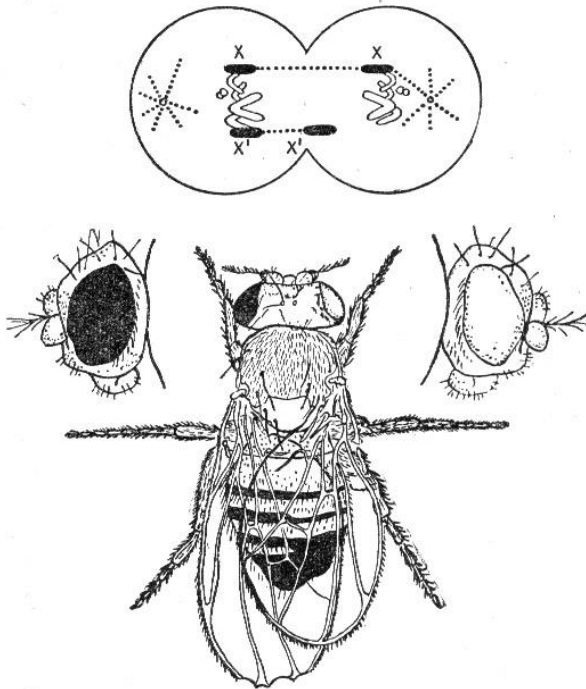


Сіренко А. Г.

ОСНОВИ ЗАГАЛЬНОЇ ТА МЕДИЧНОЇ ГЕНЕТИКИ



Івано-Франківськ
Видавець Супрун В. П.
2023

ББК 28.04

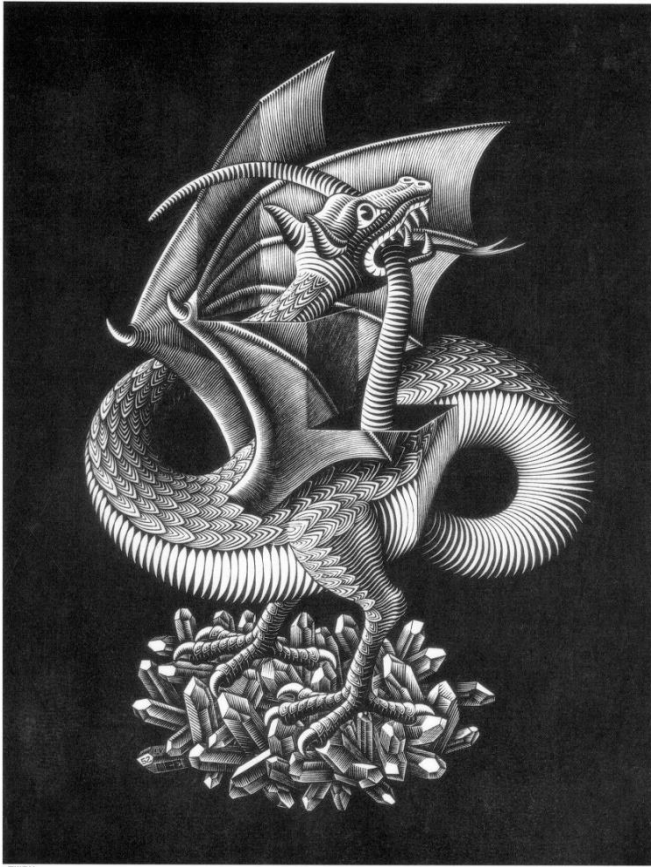
С40

УДК 575 Основи загальної та медичної генетики / Сіренко А. Г.
– Івано-Франківськ: Видавець Супрун В. П., 2023. - 558 с.

Книга являє собою курс лекцій загальної та медичної генетики, що читається у Прикарпатському національному університеті імені Василя Стефаника та збірник задач, які розв'язуються на семінарських та практичних заняттях з генетики. Книга розрахована на науковців, викладачів, аспірантів, студентів, а також усіх тих, хто цікавиться проблемами генетики. Розглядаються основні закони генетики, основні генетичні явища, мутагенез, організація генома, основи генної інженерії, різноманітні спадкові моногенні та хромосомні хвороби людини, пояснюється основна генетична термінологія.

© Сіренко А. Г., 2023

**“Є дві різновидності істини – тривіальна, яку заперечувати безглуздо, і глибока, для якої протилежний вислів – теж глибока істина.”
(Нільс Бор)**



**«Істина народжується
як єресь і помирає як
забобон.»**

(Томас Гекслі)

ВСТУП

Характерна риса сучасної науки – це зростаюча диференціація і спеціалізація знань. Цей процес досяг такої межі, за якою вже відчувається реальна загроза втрати взаєморозуміння навіть між представниками однієї дисципліни. Це особливо стосується сучасної генетики. Генетику можна уявити собі у вигляді дерева, що коріннями йде у закони Менделя, що були викладені на кількох сторінках. Гілки цього дерева – це складні сучасні науки, кожна з яких має свою специфічну термінологію – свою наукову мову. Але наука повинна бути єдиною – тільки тоді вона дає змогу адекватно сприймати, аналізувати оточуючий світ і його закони. Курс лекцій покликаний власне впорядковувати існуючі знання з конкретної наукової дисципліни для цілісного сприйняття. Серед сучасних наук ми навряд чи знайдем якусь іншу дисципліну, яка б так швидко розвивалась як генетика. Кожного року кількість інформації по генетиці подвоюється. Методи і досягнення, які ще вчора вважались чимось фантастичним і нереальним, сьогодні стають рутинними і банальними. Жодна інша сучасна наука не викликає зараз стільки сподівань і стільки побоювань у суспільстві одночасно як генетика. Особливо це стосується таких напрямків і галузей генетики, як генна інженерія та генетична інженерія. У людському суспільстві є значні побоювання щодо розвитку цих дисциплін і дискусії, які стосуються самої можливості застосування цих підходів до живого, самого права на існування цих наук, не дивлячись на те, що застосування генної інженерії зайшло нині настільки далеко, що сучасна цивілізація вже не може відмовитись від них. Це зокрема стосується виробництва інсуліну та багатьох інших медичних препаратів, які було просто неможливо виготовляти іншими способами. Нинішні протести проти самого існування таких наук як генна інженерія часто носять абсолютно спекулятивний і ненауковий характер. Але головне щодо цієї дискусії те, що будь-яку науку і будь-яке відкриття можна використати по різному: все залежить не від самого відкриття, а від того хто, як і з якою метою це відкриття використовує.

Зараз генетика - це наука, якій судилось змінити світ. Чи будуть досягнення сучасної генетики використані на благо чи на зло людству - залежить від суспільства і від людей, а не від науки. Перспективи сучасної генетики справді вражаючі: розв'язання проблем старіння і смерті, онкогенезу, створення ефективних вакцин проти вірусних захворювань, створення екологічно чистих біотехнологій.

Особливо актуальним є такий напрямок генетики як медична генетика або генетика людини. На сьогодні описано сотні спадкових патологій людини – моногенних, полігенних, хромосомних, що становлять серйозну проблему медицини. Кожний випадок спадкового захворювання є величезною трагедією для конкретної сім'ї і суспільства в цілому. Медична генетика покликана запобігти появи на світ дітей хворих на ці важкі, переважно невиліковні патології, здійснити корекцію перебігу захворювань. Чимало неспадкових патологій людини (у тому числі імунологічних, онкологічних та ін.) мають генетичні механізми патогенезу, що потребує подальшого дослідження з метою розробки ефективних методів діагностики та лікування цих захворювань. Щодо різних патологій (у тому числі інфекційних та паразитарних) люди з різним генотипом мають різну схильність, що потребує подальших досліджень з метою профілактики цих захворювань. У цій книзі описана низка спадкових патологій людини – генних, хромосомних, доміантних, рецесивних, аутосомних, зчеплених зі статтю та ін.

У даному курсі лекцій більше уваги приділено класичній генетиці, цитогенетиці, мутагенезу та генній інженерії – галузі, що викликає найбільше суперечок в суспільстві. Молекулярна генетика тут подається оглядово. Це пояснюється тим, що молекулярна генетика викладається окремо під час вивчення курсу молекулярної біології.

Сучасна генетика – це наука, є теоретичною і методологічною базою інших біологічних наук. На сьогодні генетика вважається однією з найактуальніших наук якими оперує людство, вважається наукою, на яку покладається найбільше надій сучасного людства, наукою, в якій очікується

черговий прорив людської думки, наукою, яка, можливо, в недалекому майбутньому вирішить кардинальні проблеми людства.

Для оволодіння основами генетики студентам університету в першу чергу необхідно засвоїти основну генетичну термінологію, навчитися здійснювати генетичний аналіз, розв'язувати різні типи задач, використовуючи критерій Пірсона - метод «хі-квадрат» для перевірки висунутої гіпотези про характер успадкування тої чи іншої ознаки, вміти скласти родоводи.

У цій книзі наводяться пояснення основних термінів сучасної генетики – подається короткий словничок основних термінів генетики. Він дозволяє орієнтуватися в тому величезному морі генетичних термінів, кількість яких постійно зростає. Наведені приклади основних типів задач по генетиці різної складності, пояснюється метод «хі-квадрат» за допомогою якого можна перевірити правильність висунутої гіпотези.

Пропонуються задачі по різних темах і розділах генетики – як з класичної менделівської генетики так і з молекулярної генетики. Особлива увага приділяється задачам з генетичного аналізу – визначенню генотипів та складенню генетичних карт. Теорія генетичного аналізу пов'язана з побудовою логічних, математичних, експериментальних моделей, що допомагають зрозуміти суть генетичних процесів і явищ. Предметом вивчення в генетичному аналізі є фенотип організму, його окремі ознаки. Ознакою в генетиці вважається будь-яка властивість, будь-яка особливість, по яким особини можуть відрізнятися одна від одної. Хоча сучасна генетика оперує методами молекулярного аналізу, але класичні підходи схрещування і моделювання успадкування, аналізу родоводів не втратили своєї актуальності.

МІСЦЕ ГЕНЕТИКИ СЕРЕД БІОЛОГІЧНИХ НАУК

Предмет генетики

Генетика – це наука про спадковість і мінливість, це біологічна наука, що всебічно, на різних рівнях організації живого – молекулярному, субклітинному, клітинному, організменному, популяційному вивчає фундаментальні біологічні явища – спадковість і мінливість живих організмів. Без цих двох явищ неможливо уявити собі сам феномен життя в тому сенсі в якому ми зіштовхнулись з ним у Всесвіті. У самому визначенні поняття життя є дискретність існування окремих живих організмів і здатність самовідтворюватись, що неможливо без спадковості і мінливості. Без спадковості і мінливості це було б не життя, а якийсь інший феномен існування матерії. Термін «генетика» походить від латинських слів *geneo* – народжую, *genus* – рід. І якщо ми даємо таке визначення цієї науки, то необхідно дати визначення цим двом феноменам – спадковості і мінливості.

Спадковість – це властивість живих організмів, яка полягає у здатності батьків передавати свої ознаки нащадкам.

Мінливість – це властивість живих організмів, яка полягає у здатності нащадків відрізнятись від батьків.

В основі цих феноменів лежить механізм успадкування.

Успадкування – це процес передачі ознак нащадкам.

Розділи і напрямки сучасної генетики

Сучасна генетика – наука комплексна. Складається з багатьох напрямків, галузей, розділів. Спеціалізація цих напрямків пішла настільки далеко, що вони по суті стали окремими науками. Ця диференціація науки зумовлена в першу чергу необхідністю вивчення феноменів спадковості і мінливості на різних рівнях організації живого, вивчення спадковості і мінливості різних груп живих організмів, різних методів дослідження за різної направленості досліджень щодо практичного застосування. Отже, в сучасній генетиці виділяють наступні розділи:

Класична (або менделівська) генетика – наука, що вивчає основні закономірності і закони спадковості. Ця наука використовує методи схрещування.

Цитогенетика – наука, що вивчає будову та функціонування хромосом, це наука що вивчає спадковість та мінливість на клітинному рівні. Цитогенетичні методи полягають у створенні та мікроскопічному аналізі хромосомних препаратів.

Молекулярна генетика – наука, що вивчає молекулярні основи спадковості, молекулярну будову генів. Це найсучасніший напрямок генетики, використовує величезну кількість найсучасніших і найбільш перспективних методів дослідження молекул ДНК та РНК.

Генна інженерія – наука, що вивчає способи маніпуляцій з генами – синтез або виділення гену з одного геному і перенесення в інший геном з метою створення різновидності живих організмів які були б корисні для діяльності людини чи для певних біотехнологій.

Генетична інженерія – наука, що вивчає способи маніпуляцій з цілими геномами, зокрема поєднання двох різних геномів в одній клітині, в одному організмі.

З усіх наук які тільки є (не тільки біологічних) ці два напрямки генетики викликають найбільше дискусій в паранаукових чи квазінаукових колах та суспільстві загалом. Аж до питання чи допустиме існування такого роду наук і досліджень. Що до цього питання, то багато аргументів противників методів створення трансгенних організмів носять спекулятивний характер, базуються на ненаукових публікаціях. Крім того слід зазначити, що в сільському господарстві давно не лишилося жодного виду чи сорту чи породи живих організмів, що мали б не змінений генотип – такий який був у далеких предківських диких форм. За тисячі років доместикації, тисячі років штучного добору генотипи сільськогосподарських рослин і тварин змінилися незворотно і до невпізнання. У природі не існує форм, які людина використовує в сільському господарстві – створила штучно. Наприклад, мало хто знає, що довгий час людина вирощувала і споживала моркву з коренеплодами білого

або фіолетового кольору дуже гіркими на смак, яка власне і зустрічається в природі. Тільки в XVI – XVII були створені голландськими селекціонерами з міста Горн помаранчеві сорти моркви солодкі на смак і багаті на каротин. Є навіть легенда, що оранжеву моркву вони вивели з патріотичних міркувань на честь свого принца Оранського, у якого основний колір на гербі і прапорі був помаранчевий. Але це не більше ніж легенда. І така докорінна генетична трансформація стосується всіх сільськогосподарських рослин і тварин. Тільки раніше – протягом тисячоліть селекції людина в сліпу шукала і поєднувала корисні мутації. Зараз технології генної інженерії дозволяють наперед знати які будуть наслідки маніпуляції з конкретними генами. Застосування методів генної та генетичної інженерії зайшло настільки далеко, що відмовитись від них сучасна цивілізація вже не може. Можна привести кілька прикладів щодо цього.

Один із прикладів це виробництво інсуліну. До епохи генної інженерії інсулінзалежний цукровий діабет був величезною проблемою. Інсулін – це поліпептидний гормон, що контролює поглинання глюкози клітинами. У хворих на цю форму цукрового діабету інсулін перестає синтезуватися бета-клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози. Глюкоза накопичується в крові людини, що завершується гіперглікемічною комою і смертю. Штучно синтезувати інсулін неможливо – це надто складна речовина. Пробували застосовувати модифікований інсулін свиней. Але він не зовсім підходив людині і був надто дорогий. Все змінилось в епоху генної інженерії. З геному людини виділили ген відповідальний за синтез інсуліну і вставили в геном бактерії. Отримали таким чином суперпродуцента людського інсуліну. Лишилось його тільки очистити. Людський інсулін тепер можна було отримувати у нескінченній кількості, забезпечити всіх хворих, його собівартість знизалась у багато разів. Нині всі хворі на цукровий діабет забезпечуються інсуліном, що виготовляється методами генної інженерії.

Другий приклад – це соматотропін – гормон росту людини, що виробляється аденогіпофізом. Є хворі, у яких гормон росту синтезується в недостатній кількості, що призводить до карликовості. Але якщо цю патологію вчасно розпізнати і вводити цим хворим дітям гормон росту, що розвиток хворої дитини відбувається нормально. Але гормон росту людини – складна білкова речовина. Синтезувати штучно його неможливо. Гормони росту тварин абсолютно не підходять людині. До епохи генної інженерії пробували виділяти цей гормон з гіпофізу людей, що загинули в результаті нещасних випадків. Але тут поставало питання біоетики і таким способом гормон росту можна отримати тільки в мізерних кількостях. Крім того важко забезпечити стерильність таких препаратів щодо вірусів, що вражають нервову систему людини. Все змінилось в епоху генної інженерії – ген гормону росту людини був клонований в бактерії і було отримано суперпродуцента гормону росту людини.

Проблема генної інженерії і трансгенних організмів – це не проблема науки як такої, а проблема людей, що використовують досягнення науки. Можна методами генної інженерії створити нові медичні препарати, що будуть рятувати життя людям, а можна створити нові патогенні мікроорганізми, що згубні для певної категорії людей. Будь-яку науку можна використати і во благо і на згубу людей і довкілля.

Є напрямки генетики, що вивчають спадковість і мінливість окремих груп живих організмів. Це такі напрямки генетики як:

Генетика рослин – наука, що вивчає спадковість і мінливість рослин.

Генетика тварин – наука, що вивчає спадковість і мінливість тварин.

Генетика бактерій – наука, що вивчає спадковість і мінливість бактерій.

Генетика вірусів – наука, що вивчає спадковість і мінливість вірусів.

Медична генетика (генетика людини) – наука що вивчає спадкові захворювання людини, успадкування патологічних та нормальних ознак людини, вивчає можливості запобігання

народженню дітей зі спадковими захворюваннями, методи діагностики спадкових захворювань, геном людини.

Популяційна генетика – наука, що вивчає генетичну структуру і динаміку популяцій.

Імуногенетика – наука, що вивчає генетичні механізми імунітету.

Онкогенетика – наука, що вивчає генетичні механізми канцерогенезу (онкогенезу). На сьогодні для переважної більшості онкологічних захворювань доведено, що першопричиною онкологічного захворювання є мутація протонкогену в онкоген в клітині або привнесенні в геном клітини онкогену вірусом. Онкоген – це ген, що викликає трансформацію клітини з подальшим перетворенням її в ракову клітину і виникнення клону ракових клітин.

Фармакогенетика – наука, що вивчає вплив на спадковість і мінливість медичних препаратів.

Генетика поведінки – наука про спадковість поведінки і психіки людини і тварин.

Радіаційна генетика – наука про вплив на спадковість та мінливість іонізуючого випромінювання.

Класична селекція – наука, що вивчає можливості створення нових сортів сільськогосподарських рослин та нових порід тварин методами штучного добору та схрещування.

Є ще один напрямок генетики, що нині не існує, але який колись був популярним, особливо в часи поширення ідей Фрідріха Ніцше про надлюдину. Це євгеніка.

Євгеніка – це була наука про вдосконалення людини як виду, виведення нової породи людини. Розрізняли негативну євгеніку – науку про елімінацію шкідливих мутацій людини, і позитивну євгеніку – науку про поєднання корисних мутацій людини. Зараз подібні дослідження з людиною вважаються негуманними і такого розділу генетики не існує. Крім того, сама ідея про створення ідеального генотипу людини ненаукова. Людський геном нараховує біля 30 000 генів. Всі гени мутують з певною частотою. Кожна популяція як губка всмоктує в себе мутації, бо рецесивні мутації не проявляються в фенотипі і добір безсилий їх

вилучити. Кожна людина є носієм якихось шкідливих мутацій. Будь-яка популяція поліморфна. Ті самі мутації в одних умовах середовища і в одному генетичному оточенні шкідливі, а в інших умовах середовища і в іншому генетичному оточенні корисні. Більшість ознак утворюються не в наслідок роботи конкретного гена, а в наслідок взаємодії різних неалельних генів. Проте на початку ХХ століття цього не знали, євгеніка була популярна, особливо у тоталітарних суспільствах, і навіть застосовувались певні євгенічні заходи, що мали трагічні наслідки – знищувались чи стерилізувались люди, яких вважали носіями шкідливої спадковості. Будемо сподіватись, що ці хибні уявлення про спадковість назавжди пішли в минуле.

Методи генетики

Основним методом генетики є генетичний аналіз. Розрізняють такі його різновидності:

- 1) **гібридологічний аналіз** – полягає у схрещуванні особин з альтернативними ознаками і аналізі співвідношення числа особин з різними ознаками, висунення і перевірки відповідних генетичних гіпотез;
- 2) **цитологенетичний аналіз** – полягає у приготуванні хромосомних препаратів з послідуємим їх подальшим зафарбуванням та мікроскопічним аналізом;
- 3) **молекулярний аналіз** – полягає у використанні методів з використанням рекомбінантних молекул ДНК та РНК;
- 4) **близнюковий метод** – полягає в аналізі ознак монозиготних близнюків, які є точними генетичними копіями один одного;
- 5) **генеалогічний аналіз** – полягає в створенні та аналізі генеалогічного (родового) дерева – схемі, де відображається інформація про предків та родичів хворої людини (пробанда).

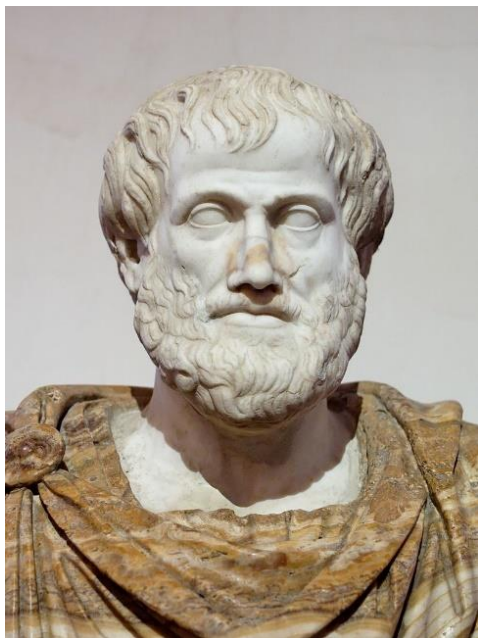
Історія генетики

У будь-якому, навіть примітивному, первісному суспільстві спадковість і мінливість викликала жагучий, іноді навіть хворобливий інтерес. Чому діти схожі на батьків, але відрізняються від них? Чому з курячого яйця вилуплюється саме

курча, а не змія і не орел? Ці запитання люди ставили собі завжди. У найпримітивніших суспільствах і в найдавніші часи, відколи виникла людина як мисляча істота люди робили спостереження щодо спадковості і мінливості і робилися часто правильні висновки. Особливо актуальними ці питання стали в часи після так званої неолітичної революції, коли людство перейшло від мезоліту до неоліту, від часів мисливства та збиральництва до сільського господарства, до вирощування рослин та тварин собі на потребу. Але дикоростучі рослини та дикі тварини, що були одомашнені людиною вперше на території Малої Азії в IX тисячолітті до нової ери, а потім і в інших країнах погано підходили для сільського господарства. Вони були низькопродуктивні. Необхідно було створити нові породи тварин і сорти рослин, що були б більш продуктивними. Почалась епоха стихійної селекції та штучного добору. І ще в ті далекі часи неоліту та енеоліту були створені перші нові сорти рослин і породи тварин.

У античні часи існували вже певні уявлення про основні закономірності спадковості, було помічено, що існують спадкові захворювання. У деяких античних державах, таких як Спарта навіть застосовували євгенічні заходи. У Спарті, коли у спартіатів – повноправних громадян народжувалась дитина, батьки відносили її до колегії жреців, що оглядали дитину і виносили рішення: якщо дитина була носієм хорошої спадковості, то її лишали на виховання батькам, якщо поганої спадковості, то дитину несли на вершину гори Тайгет і кидали і прірву. Таким чином намагалися створити суспільство сильних воїнів і хороших матерів. Але такий євгенічний експеримент закінчився погано. Спарта занепадала і зникла з історичної арени. Бо людина – це не тільки фізична сила, але в першу чергу інтелект, що рухає суспільство.

Перші наукові спостереження та теорії, які стосуються спадковості і мінливості, ми знаходимо у працях Арістотеля, Платона, Демокріта, Анаксагора, Гіпократів, Галена. Тоді ж була створена теорія **пангенезису**, що, не дивлячись на свою очевидну помилковість, проіснувала більше 2500 років.

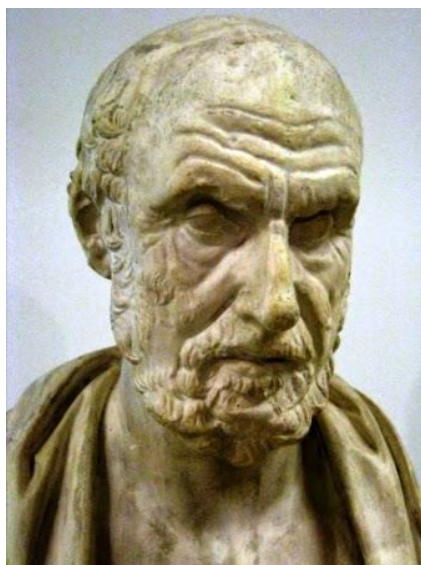


Арістотель (Αριστοτέλης)
(384 – 322 pp. до н. е.)

Згідно цієї теорії в кожній частині організму і в кожному органі утворюються гіпотетичні зачатки – **гемули**, що з кров'ю чи з якимись іншими рідинами організму в гонади, де формується з цих зачатків новий організм. Згідно цієї теорії всі набуті зміни організму успадковуються. Навіть Чарльз Дарвін був прихильником цієї теорії, що створило протиріччя з його теорією еволюції. Про хибність цієї теорії можна було додуматись ще в часи античності. Якби теорія пангенезису була вірною, що в інвалідів народжувались би діти інваліди, що не спостерігається.

Автором ще однієї хибної теорії про спадковість був філософ Арістотель (384 – 322 pp. до н. е.). Він створив теорію **ентелехії**. Згідно цієї теорії спадковість і мінливість обумовлюються нематеріальною містичною силою – ентелехією. Новий організм формується з менструаційної крові під дією ентелехії, що привноситься спермою. Ця теорія далека від

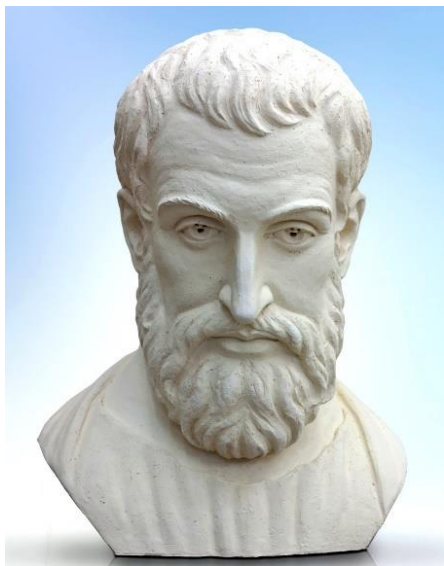
наукового пояснення явищ спадковості і мінливості, належить більше до сфери містики.



Гіппократ (Ιπποκράτης)
(460 – 370 р. до н. е.)



Демокріт (Δημόκριτος)
(460 – 370 р. до н. е.)



Гален (Γαληνός)
(129 – 200)

Проте деякі здогадки античних мислителів були цілком вірними. До цих здогадок належить ідея *ab ovo* – «все з яйця». Тобто розвиток будь-якого живого організму починається з яйцеклітини. Звісно, яйцеклітини в ті часи ще не були відкриті, але про їх існування здогадувались.

У часи середньовіччя не було дослідників, що займались бi цими питаннями чи створювали нові теорії. Але в середньовіччя розвинувся хворобливий інтерес до різних патологій новонароджених, вад розвитку, мутацій людини і тварин. Таких хворих новонароджених називали «монстри» від латинського *monstere* – вказувати (лат.). Таких хворих вважали знаком з потойбічного світу, вказівкою на подію, які відбудуться в майбутньому в цьому, реальному світі. З'явилися цілі наукові трактати, де описувались і зображались різні люди з вадами розвитку та мутаціями. Але ці книги не мають навіть історичного інтересу, бо всі ці «монстри» було плодом фантазії авторів або

інформаторів, що отримували відомості далеко не з перших уст – інформація при цьому спотворювалась.

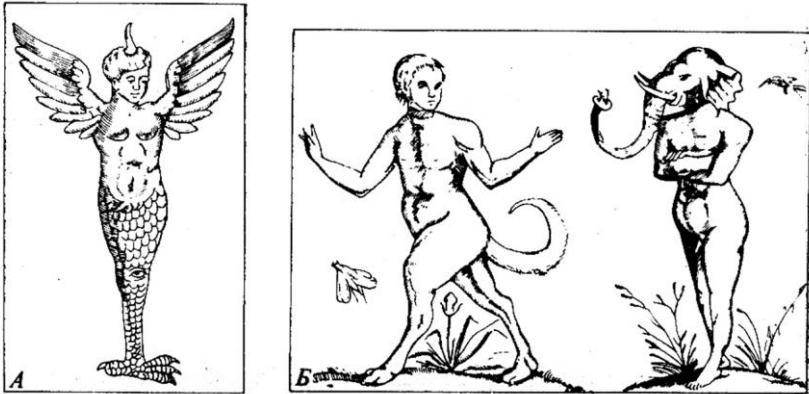


Рис. 1. «Монстри» - аномалії розвитку людини у середньовічних трактатах.

Новий інтерес до проблем спадковості та мінливості з'явився в часи ренесансу в зв'язку з розвитком сільського господарства в європейській цивілізації, що освоювала нові материки і країни і гостро потребувала нових сортів рослин і порід тварин. Поштовхом до нових досліджень спадковості та мінливості живих організмів було також винайдення мікроскопа першими мікроскопістами – Антоні ван Левенгуком, Йоганом Гамом, Марчелло Мальпігі, Робертом Гуком, Ніколасом Хартсекером та іншими, і відкриттям клітин цими дослідниками і статевої клітини зокрема.

Досліди по вивченню спадковості різних живих організмів проводились ще у XVIII – на початку XIX століття. Так, досліди по гібридизації рослин в цей період проводили вчені Йозеф Готліб Кельрейтер, А. Гертер у Німеччині, О. Сажре, Шарль Віктор Ноден у Франції, Томас Ендрю Найт у Великобританії. Але ці дослідники намагались аналізувати не одну пару ознак, а всі ознаки організму одночасно, що дуже важко, і в результаті

прийшли до помилкових висновків про «повернення нащадків до ознак предків».

Йозеф Готтліб Кельрейтер (Joseph Gottlieb Kölreuter) (1733 – 1806) був видатним німецьким ботаніком, народився в місті Зульц-на-Неккері у 1733 році. Навчався в Тюбенгенському університеті, де вивчав медицину та природничі науки. У 1756 – 1760 роках він проводив дослідження з гібридизації рослин, результати яких опублікував, написав книгу «Вчення про стать та гібридизацію рослин», відкрив явище гетерозису, розробив методи штучної гібридизації рослин, запровадив селекційну практику, метод реципрокних схрещувань.

Томас Ендрю Найт (Thomas Andrew Knight) (1759 – 1838) – відомий англійський ботанік. Відомий в першу чергу своїми дослідженнями тропності рослин. Він народився Вормслі-Грейдж і жив у Елтон-Холлі, що в Герефордширі. Освіту отримав в коледжі Балліол, що в Оксфорді. Присвятив своє життя дослідженню садівництва та створенню нових сортів плодових дерев. У 1795 році опублікував перші результати своїх досліджень по гібридизації плодових дерев і кущів. Створив експериментальний сад і теплицю. Створив нові сорти яблук та груш. Був обраний другим президентом Британського Королівського товариства садівників. Створив новий сорт полуниць «Даунтон», який на той час вважався найкращим сортом полуниць в Англії. Проводив дослідження з горохом аналогічні до пізніших дослідів Грегора Менделя, але прийшов до помилкових висновків.

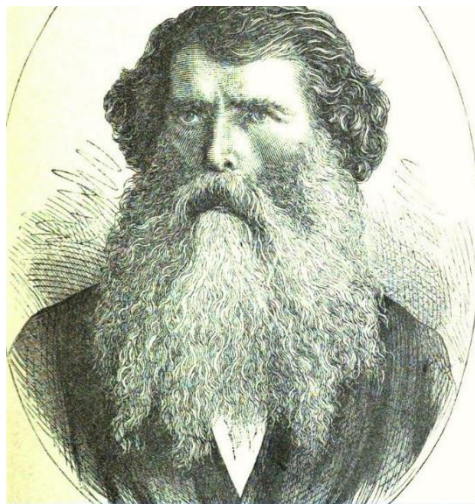
Шарль Віктор Ноден (Charles Victor Naudin) (1815 – 1899) навчався в університеті Монпел'є, захистив докторську дисертацію в 1842 році, працював в гербарії Національного музею природної історії, досліджував тропічні флори, займався питаннями акліматизації тропічних рослин в Європі, описав велику кількість нових для науки видів рослин, проводив гібридизації рослин, досліджував методи штучного добору та селекції, заснував експериментальний сад, робив спроби штучно отримати нові види рослин.



Йозеф Готтліб Кельрейтер (Joseph Gottlieb Kölreuter)
(1733 – 1806)



Томас Ендрю Найт (Thomas Andrew Knight)
(1759 – 1838)



Шарль Віктор Ноден (Charles Victor Naudin)
(1815 – 1899)



Грегор Йоганн Мендель (Gregor Johann Mendel)
(1822 – 1884)

Поява генетики як науки навряд чи була можлива без низки відкриттів цитологів початку XIX століття, зокрема без створення **клітинної теорії** цитологами Теодором Шванном (Theodor Schwann) (1810 – 1882) та Маттіасом Якобом Шляйденем (Matthias Jakob Schleiden) (1804 – 1881), згідно якої клітина є елементарною одиницею живого і будь-який організм починає свій розвиток із зиготи – заплідненої яйцеклітини. У 1831 році Роберт Броун (Robert Brown) (1773 – 1858) відкрив клітинне ядро.

У 60-тих роках XIX століття свої знамениті дослідження по схрещуванню рослин гороху посівного провів Грегор Йоганн Мендель (Gregor Johann Mendel) (1822 – 1884) і, зробивши правильні висновки, відкрив основні закони генетики – три закони спадковості, що потім були названі на його честь закони Менделя. Ці відкриття він зробив завдяки тому, що він аналізував не всі ознаки організму одночасно, а лише пари альтернативних ознак. Крім того Грегор Мендель застосував математичний апарат, досліджував не тільки як і які успадковуються ознаки, але і скільки і в яких співвідношеннях з'являються нащадки в різних поколіннях гібридів. Чисто випадково він обрав ідеальний об'єкт для досліджень – горох посівний розмножується самозаплідненням і автоматично утворюються чисті лінії – гомозиготи. Крім відкриття законів спадковості він ще зумів правильно їх пояснити, створивши **факторіальну теорію спадковості**, згідно якої існують певні матеріальні носії спадковості, які існують дискретно, взаємодіють між собою, перекомбінуються у нащадків. Але його відкриття не було визнане – спеціалісти вважали Менделя дилетантом, що зайнявся не своєю справою. Його відкриття були забуті майже на сорок років. Справді, Грегор Йоганн Мендель не був професійним натуралістом. Він народився в 1822 в Гайнцендорфі (Гинчице) в селянській родині. Працював садівником, потім вивчав філософію в університеті Оломоуца (Чехія). Потім постригся в монахи Августинського монастиря в Брно. У 1847 році отримав сан католицького священника. У 1851 – 1853 роках навчався у Віденському університеті, але багато наук він вивчав самостійно.

Живучи в монастирі на дозвіллі він займався дослідженням гібридизації рослин. Після здійснення свої дослідів та відкриттів він зробив доповідь на засіданні наукового товариства природодослідників Брно в 1865, опублікував результати своїх досліджень у 1866 році. Тодішній науковий світ мало того що проігнорував його відкриття, ще й дав йому погані поради. Зокрема Негелі порадив підтвердити відкриття здійснивши досліди на рослинах з роду нечуйвітер (*Hieracium*), які завершилися невдачею.

Не дивлячись на те, що відкриття Менделя було забуте, в другій половині XIX століття було зроблено ряд відкриттів, що послужили потім базою для розвитку генетики. Так, Фрідріх Леопольд Август Вайсманн (*Friedrich Leopold August Weismann*) (1834 – 1914) провів низку простих, але переконливих дослідів, що показали хибність теорії пангенезису (досліди з хвостами мишей). На той час порода безхвостих мишей уже була відома. Якби теорія пангенезису була б правильна, то безхвосту породу мишей можна було б вивести шляхом резекції хвостів з подальшим схрещуванням. Август Вайсманн протягом десяти поколінь здійснював резекцію хвостів у мишей і схрещував їх між собою. Але все одно народжувались тільки хвостаті мишенята.

Тоді Август Вайсманн створив свою теорію спадковості – теорію гамет і сом, він висунув гіпотезу про те, що тіло будь-якої живої істоти ділиться на сом і гамети – клітини зародкової лінії (гоноцити), які є безсмертними, формують наступне покоління і є носіями спадкової інформації. Решта клітин – соматичні клітини, які запрограмовані на старіння і смерть, вони не беруть ніякої участі у передачі спадкової інформації, ніякі зміни в соматичних клітинах не успадковуються. Згідно його теорії існує так звана «зародкова плазма», що міститься у хромосомах клітинного ядра і є носієм спадкової інформації.

Подібну теорію висував в той час і Карл Вільгельм фон Негелі (*Carl Wilhelm von Nägeli*) (1817 – 1891), що стверджував, що кожна клітина має так звану «ідіоплазму» - речовину спадковості.



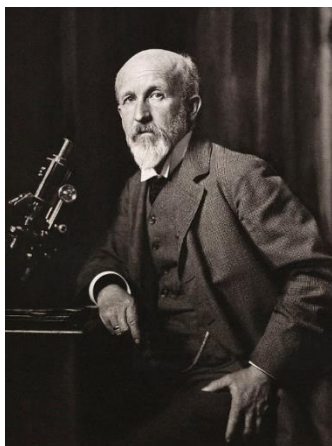
Фрідріх Леопольд Август Вайсманн
(Friedrich Leopold August Weismann)
(1834 – 1914)



Карл Вільгельм фон Негелі
(Carl Wilhelm von Nägeli)
(1817 – 1891)



Йоганн Фрідріх Мішер-Рюш
(Johann Friedrich Miescher-Rüsch)
(1844 – 1895)



Оскар Вільгельм Август Гертвіг
(Oscar Wilhelm August Hertwig)
(1849 – 1922)



E. A. Strasburger

Едуард Адольф Страсбургер
(Eduard Adolf Strasburger)
(1844 — 1912)

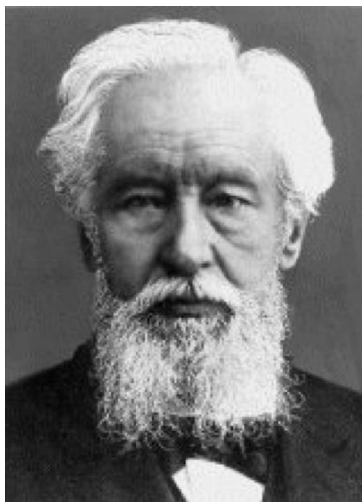


Теодор Бовери (Theodor Boveri)
(1862 — 1915)

Фрідріх Леопольд Август Вайсманн народився в 1834 році у Франкфурті-на-Майні. Освіту отримав у Гетінгенському університеті в 1852 – 1856 роках. Працював лікарем, брав участь австро-італо-французькій війні у 1859 році. Займався зоологічними дослідженнями в Паризькому університеті та в Гісенському університеті. У 1863 році був обраний приват-доцентом університету в Фрайбурзі, а потім і професором в 1873 році там же. Проводив дослідження в царинах гістології, цитології, біології розмноження, теорії еволюції. Послідовно і обґрунтовано заперечив ламаркізм. Багато його теорій про дискретність спадковості, про хромосомну теорію спадковості випереджали час.

Карл Вільгельм фон Негелі (Carl Wilhelm von Nägeli) (1817 – 1891) – відомий швейцарський ботанік. Освіту отримав в університеті в Цюріху. Спочатку присвятив себе медицині, потім зайнявся природничими науками. З 1839 року працював в Женеві. Потім працював в Берліні. Проводив дослідження в Італії, займався альгологією – досліджував водорості. Був обраний професором в Цюріху в 1852 році, потім професором у Фрайбурзі. Досліджував анатомію і фізіологію рослин. У Мюнхені очолив ботанічний інститут. Описав нові види водоростей, розробив їх систематику. Описав сперматозоїди в папороті. Досліджував гібридизацію, висловив ідею про існування речовини спадковості, яку він назвав ідіоплазмою.

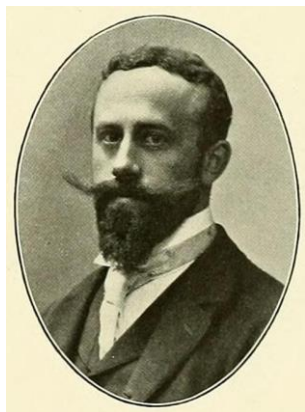
Але як це не дивно, але справжня речовина спадковості на той час вже була відкрита. Тільки про її роль в живих організмах ніхто не здогадався. У 1869 році швейцарський вчений Йоганн Фрідріх Мішер-Рюш (Johann Friedrich Miescher-Rüsch) (1844 – 1895) відкрив ДНК у спермі реїнського лосося. Але важливість цього відкриття тоді ніхто не усвідомив. По суті це відкриття пройшло поза увагою наукового світу. Йоганн Фрідріх Мішер-Рюш вчився в університетах Базеля, Геттінгена, Тюбінгена, Лейпцигу. Крім сперми лосося він виявив ДНК в ядрах лейкоцитів людини досліджуючи матеріал гнійних ран.



Гуго де Фріз (Hugo de Vries)
(1848 – 1935)



Карл Франц Йозеф Еріх Корренс
(Carl Franz Joseph Erich Correns)
(1864 – 1933)



Еріх Чермак-Зейзенегг
(Erich Tschermak-Seysenegg)
(1871 – 1962)

У 1870-тих роках німецький ембріолог Оскар Вільгельм Август Гертвіг (Oscar Wilhelm August Hertwig) (1849 – 1922) досліджуючи розвиток голкошкірих довів, що під час запліднення зливаються не тільки сперматозоїд з яйцеклітиною, але і зливаються ядра сперматозоїда та яйцеклітини (пронуклеуси) утворюючи ядро зиготи синкаріон. Це остаточно довело роль сперматозоїда в спадковості і мінливості, бо до того панувала хибна думка, що сперматозоїди – це маленькі тваринки, що паразитують в спермі.

У ті ж роки були відкриті і описані хромосоми. Одним із вчених хто першим відкрив хромосоми був Едуард Адольф Страсбургер (Eduard Adolf Strasburger) (1844 — 1912). Він же першим відкрив і описав мейоз. Довів, що у рослин так само як і у тварин під час запліднення ядро спермію зливається з ядром яйцеклітини.

Німецький зоолог Теодор Бовері (Theodor Boveri) (1862 — 1915) продемонстрував, що для кожного виду живих організмів притаманний свій сталий набір хромосом.

У 1900 році троє вчених у трьох різних країнах незалежно один від одного – Гуго де Фріз (Hugo de Vries) (1848 – 1935) в

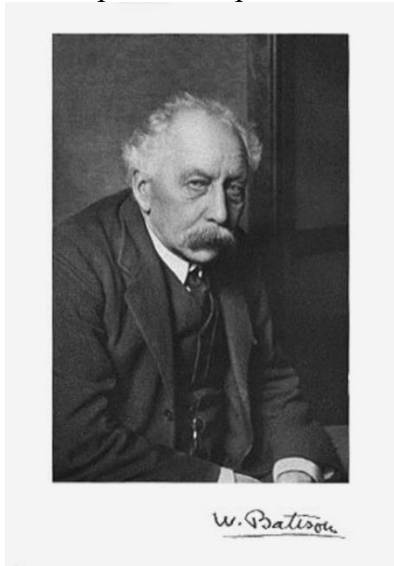
Нідерландах, Карл Франц Йозеф Еріх Корренс (Carl Franz Joseph Erich Correns) (1864 – 1933) в Німеччині та Еріх Чермак-Зейзенегг (Erich Tschermak-Seysenegg) (1871 – 1962) в Австрії працюючи з різними рослинами, здійснюючи досліди з гібридизації перевідкрили закони Менделя. Всім стало зрозуміло, що Грегор Мендель був правий. Це і був рік народження нової науки – генетики.

Гуго де Фріз (Hugo de Vries) (1848 – 1935) освіту здобув у Лейденському та Гейдельберзькому університетах. Працював в лабораторії в Вюрцбурзі. Був обраний в 1878 році професором Амстердамського університету. Став директором Амстердамського ботанічного саду. Досліджував осмотичний тиск, плазмоліз і деплазмоліз у рослин. Досліджував мінливість енотери, одним із перших відкрив мутації, розробив теорію мутацій і нову теорію видоутворення, теорію стрибкоподібної еволюції. Перевідкрив закони Менделя здійснюючи гібридизацію серед багатьох видів рослин. Після отримання результатів своїх досліджень знайшов статтю Грегора Менделя і віддав йому пріоритет відкриття законів спадковості.

Карл Франц Йозеф Еріх Корренс (Carl Franz Joseph Erich Correns) (1864 – 1933) народився в Мюнхені, освіту отримав в Мюнхенському університеті. Як і де Фріз був учнем Негелі. Отримав ступінь доктора наук в університеті Тюбінгена. Потім був обраний професором в Лейпцігському, Мюнстерському та Берлінському університетах. Займався питаннями цитоплазматичної спадковості у рослин, явища строкатолистості. Закони Менделя перевідкрив гібридизуючі рослини різних видів, пріоритет відкриття законів спадковості визнав за Менделем, знайшовши його публікацію.

Еріх Чермак-Зейзенегг (Erich Tschermak-Seysenegg) (1871 – 1962) народився у Відні в родині вченого-мінералогога. Освіту отримав в університеті в Галле. Працював в науково-дослідному інституті в Генті. Займався селекцією плодкових дерев та овочевих культур. Провів досліди по гібридизації посівного гороху і отримав результати і висновки аналогічні результатам

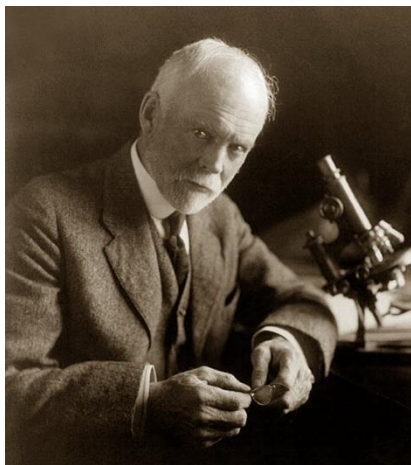
Грегора Менделя. Визнав його пріоритет щодо відкриття законів спадковості. Одним із перших відкрив явище криптомерії.



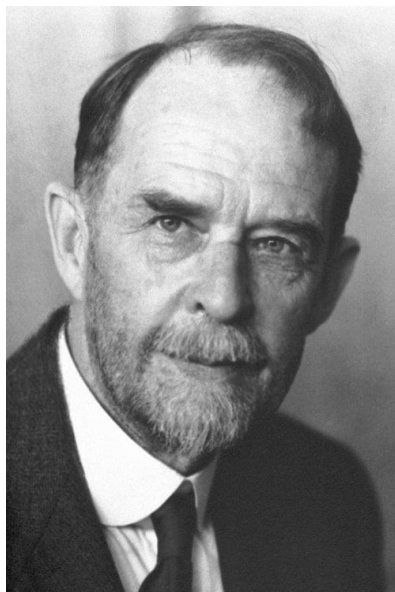
Вільям Бетсон (William Bateson)
(1861 – 1926)



Волтер Станборо Саттон
(Walter Stanborough Sutton)
(1877 – 1916)



Едмунд Бічер Вілсон (Edmund Beecher Wilson)
(1856 – 1939)



Томас Гант Морган (Thomas Hunt Morgan)
(1866 — 1945)

Після перевідкриттів законів Менделя народилась нова наука, яку назвали генетика.

Подальший розвиток генетики можна умовно розбити на 6 етапів.

I етап: 1900 – 1912 роки. Цей етап можна назвати етапом тріумфального ходу менделізму. Постало закономірне питання: відкриті закони спадковості стосуються тільки гороху, чи поширюються на все живе? Почалась перевірка законів Менделя на різних живих істотах, що належать до різних таксонів. Дослідження показали, що закони Менделя носять універсальний характер і стосуються всього живого. На цьому ж етапі у 1904 році цитолог Теодор Бовері разом з американським цитологом та генетиком Волтером Станборо Саттоном (Walter Stanborough Sutton) (1877 – 1916) висунули та обґрунтували хромосомну теорію спадковості, зауваживши, що хромосоми під час мейозу та мітозу ведуть себе так само як гени.

У цей період у 1906 році Вільям Бетсон (William Bateson) (1861 – 1826) запропонував назву новій науці – «генетика». Він же висунув теорію чистоти гамет, згідно якої кожна гамета є носієм тільки одного алеля з пари алельних генів. У цей же період були відкриті ознаки, що зчеплені зі статтю. У 1909 році данський генетик Вільгельм Людвіг Йогансенем (Wilhelm Ludvig Johannsen) (1857 – 1927) запропонував основні генетичні терміни, такі як «ген», «генотип», «фенотип», «популяція», «фен», «чиста лінія», які стали загальноприйнятими.

У 1905 році американський цитолог та генетик Едмунд Бічер Вілсон (Edmund Beecher Wilson) (1856 – 1939) відкрив статеві хромосоми і назвав їх X та Y хромосомами і довів, що саме ці хромосоми у багатьох живих істот визначають стать.

На цьому ж етапі у 1908 році були сформовані основні ідеї та принципи популяційної генетики, був сформований основний закон популяційної генетики – закон Гарді-Вайнберга-Кастла. Його сформували три науковці одночасно: англійський математик та генетик Годфрі Гарольд Гарді (Godfrey Harold Hardy) (1877 – 1947), німецький лікар та генетик Вільгельм Вайнберг (Wilhelm Weinberg) (1862 – 1937), американський

генетик Вільям Ернест Кастл (William Ernest Castle) (1867 – 1962). Але в той час ці ідеї не були сприйняті і зрозумілі. Вони стали відомими і загальноновизнаними тільки через 30 років, коли почалась створюватись синтетична теорія еволюції і стало зрозуміло, що популяція це одиниця еволюції.



Вільям Ернест Кастл (William Ernest Castle)
(1867 – 1962)



Годфрі Гарольд Гарді (Godfrey Harold Hardy)
(1877 – 1947)



Вільгельм Вайнберг (Wilhelm Weinberg)
(1862 – 1937)



Чарльз Вільям Вудворт (Charles William Woodworth)
(1865 – 1940)

II етап: 1912 – 1925 роки – етап утвердження та доведення хромосомної теорії спадковості. У ці роки американський генетик Томас Гант Морган (Thomas Hunt Morgan) (1866 — 1945) заснував свою школу роботи з дрозозфілою – об'єктом, на якому було відкрито величезну кількість закономірностей спадковості. Роботу з дрозозфілою запропонували і почали американський ентомолог та генетик Чарльз Вільям Вудворт (Charles William Woodworth) (1865 – 1940) та американський генетик Вільям Ернест Кастл (William Ernest Castle) (1867 – 1962). Дрозозфіла виявилась дуже вдалим, мало не ідеальним об'єктом для генетичних досліджень: плодому мушку дрозозфілу темночеревцеву (*Drosophila melanogaster* Meigen, 1930) легко розводити в лабораторії, вона надзвичайно плодюча (від однієї пари можна отримати кілька тисяч нащадків), швидко змінюються покоління (протягом 10 днів змінюється покоління), вона надзвичайно мінлива – є дуже багато альтернативних ознак, мутацій. Томас Морган, працюючи з дрозозфілою, довів хромосомну теорію спадковості, довів, що гени розташовані в хромосомах в лінійному порядку і розробив методики картування генів на хромосомах, склав перші карті хромосом дрозозфіли. Внесок Томаса Моргана в генетику настільки вагомий, що деякий час генетику називали морганізмом.

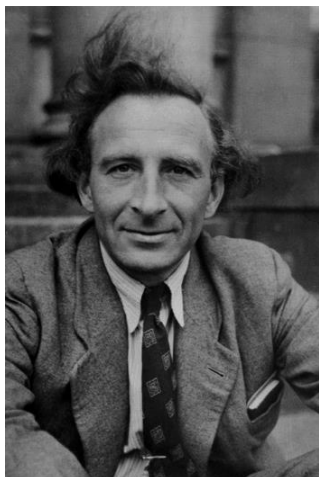
У цей період створив свою наукову школу і почав роботу видатний вчений генетик, популяціоніст, біофізик та радіобіолог Микола Володимирович Тимофєєв-Ресовський (1900 – 1981). Доля в нього склалася трагічно, ще за життя він став людиною-легендою. Тимофєєв-Ресовський М. В. був засновником низки біологічних наук: популяційної генетики, фенетики, популяційної біології, радіобіології, радіоекології. Зробив величезний внесок в генетику, теорію еволюції, біофізику, екологію. Народився Тимофєєв-Ресовський М. В. в аристократичній родині в Москві. Батько був інженером шляхів сполучення. Дитинство Миколи Тимофєєва-Ресовського пройшло в Києві, де він вчився в Першій Київській Імператорській Олександрівській гімназії. З 1916 року він вчився в Московському вільному університеті імені А. Л. Шанявського,

але диплому так і не одержав в зв'язку з подіями Першої світової війни, революції та громадянської війни в Росії в які його втягнула історія і саме життя. Він потрапив до лав Червоної армії, захворів та тиф, дивом вижив. З 1922 року працював в новоствореному Інституті експериментальної біології під керівництвом Кольцова М. К., в Практичному інституті на біотехнічному факультеті, в Московському медико-педагогічному інституті. Наукові дослідження проводив на дрозофілі, виявив явище плейотропії – множинної дії гена на ознаки організму. Досліджуючи дію іонізуючого випромінювання на живі організми вивів поняття «радіобіологічний парадокс» - невідповідність між мізерною енергією іонізуючого випромінювання і сильною його дією на живі організми. Першим запропонував захищати лікарів-рентгенологів свинцевими фартухами. У 1925 році Кольцов М. К. та Семашко М. А. рекомендували його для роботи в Нейробиологічному інституті в Берліні.

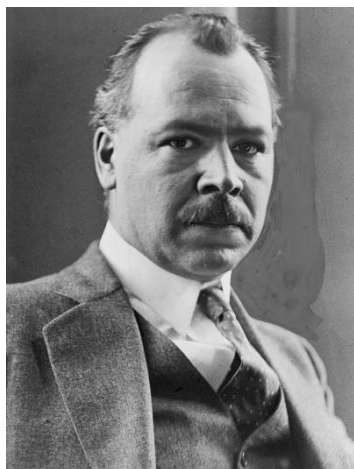
Тимофєєв-Ресовський переїхав в Берлін (Німеччина) і незабаром очолив відділ генетики та біофізики Інституту мозку. Радянське посольство вимагало негайного повернення в СРСР і відмовилось продовжувати візу. Тим часом в СРСР були репресовані троє братів Тимофєєва-Ресовського.

Кольцов та Вавілов повідомили Тимофєєва-Ресовського через Г. Меллера, що у випадку його повернення в Радянський Союз «на нього чекає тюрма або щось гірше». Тимофєєв-Ресовський вирішив не повертатися в Радянський Союз і продовжити свої дослідження. Але в 1945 році коли наближався до Берліна фронт він вирішив не тікати на Захід а лишитися і чекати приходу Червоної армії. До 13 вересня 1945 року він продовжував роботу, але потім був репресований. Ув'язнення відбував в концтаборі Карлагу і вже помирав там від виснаження, коли в 1947 році керівництво Радянського Союзу, створюючи атомну бомбу і розпочинаючи гонитву ядерних озброєнь, згадало по Тимофєєва-Ресовського. Його вилікували, перевели з Карлагу на «Об'єкт 0211. Лабораторія Б» - таємну установу в

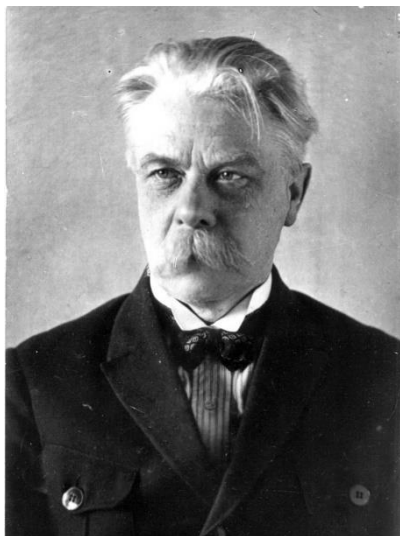
Челябинській області Росії в м. Снежинську для роботи над проблемами радіаційної безпеки.



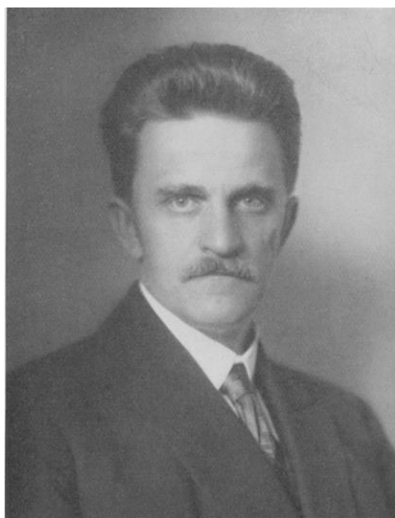
Микола Володимирович Тимофєєв-Ресовський
(1900 – 1981)



Микола Іванович Вавілов
(1887 – 1943)



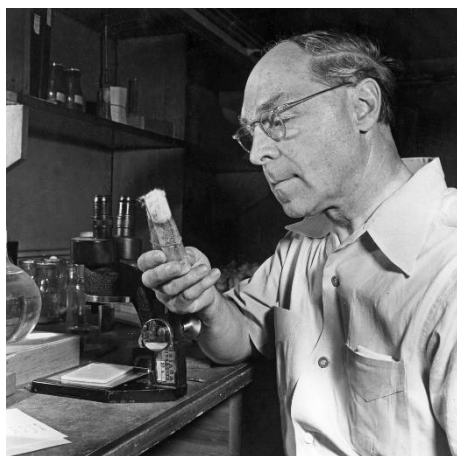
Микола Костянтинович Кольцов
(1872 – 1940)



Юрій Олександрович Філіпченко
(1882 – 1930)



Нільс Герман Нільсон-Еле
(Nils Herman Nilsson-Ehle)
(1873 – 1949)



Германн Джозеф Меллер
(Hermann Joseph Muller)
(1890 – 1967)



Фредерік Гріффіт (Frederick Griffith)
(1879 – 1941)

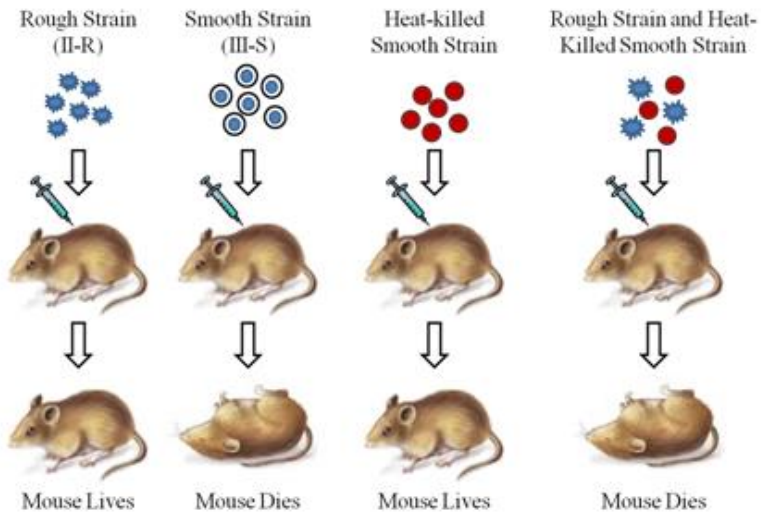
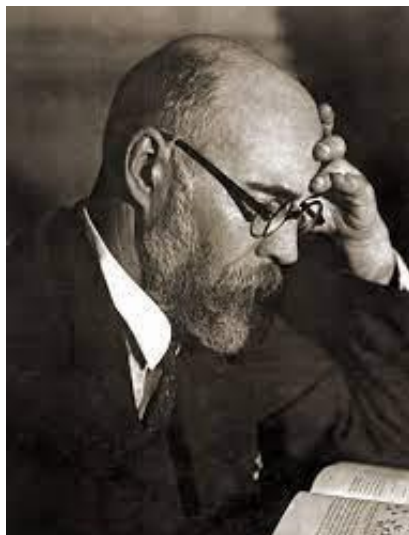


Рис. 2. Схема дослідження Фредеріка Гріффіта.



Георгій Адамович Надсон
(1867 – 1939)



Олександр Сергійович Серебровський
(1892 – 1948)

Пізніше він працював в Інституті біології в Свердловську (Катеринбурзі), на фізичному факультеті Уральського університету, на біостанції Ільменського заповідника, і Інституті медичної радіології в Обнінську (Калужська область Росії). Всі ці роки його діяльність, наукові дослідження і саме його існування були суворо засекречені. Тільки під кінець його життя науковому світу стало відомо, що він і досі живий.

У цей же період почали працювати і створили свої наукові школи такі видатні генетики як Н. І. Вавілов, М. К. Кольцов, Ю. О. Філіпченко, Н. Г. Нільсон-Еле.

Микола Іванович Вавілов (1887 – 1943) – видатний генетик, селекціонер, академік. Відомий своїми роботами з селекції та створення нових сортів сільськогосподарських рослин. Освіту отримав в Петровській сільськогосподарській академії (Москва). Працював в лабораторіях Бетсона в Кембріджі (1910 – 1914), обраний професором Саратовського університету. Створив вчення про імунітет рослин. Вивів закон гомологічних рядів спадкової мінливості. Суть цього закону в тому, що якщо виявлена якась мутація в певної рослини, то аналогічні мутації будуть простежуватись в родичів цієї рослини. Закон широко використовувався в селекції сільськогосподарських рослин. Організував Всесоюзний інститут рослинництва, директором якого він став, очолював Інститут генетики. Здійснив більше 180 експедицій в різні найвіддаленіші куточки світу (Афганістан, Ефіопія і т. д.), де зібрав колекції насіння різних сортів рослин (більшість з цих сортів рослин на сьогодні вже зникли). Колекція зберіглась, це насіння досі зберегло схожість і може використовуватись для секційної роботи. Розробив вчення про центри походження культурних рослин, вчення про вид як біологічну систему, описав низку нових для науки видів. Доля його була трагічною: у 1940 році був репресований – арештований внаслідок анонімного наклепницького доносу і помер у тюрмі.

Микола Костянтинович Кольцов (1872 – 1940) – відомий цитолог та генетик, академік. Відкрив цитоскелет в клітинах еукаріот, висловив гіпотезу про матричний синтез хромосом, що

випереджала час, створив теорію хімічного та радіаційного мутагенезу. Розробляв ідеї мутагенезу, генетики розвитку, епігенезу та теорію еволюції як процес зміни геному. Заснував інститути експериментальної біології та біології розвитку. Доля була трагічною – пережив кілька арештів по звинуваченнях по нелояльності до комуністичного режиму. Помер при загадкових обставинах: підозрюють отруєння за наказом большевицького керівництва совітів.

Юрій Олександрович Філіпченко (1882 – 1930) створив наукову школу по дослідженню кількісних ознак, займався дослідженням сортів пшениці, гібридизації зубрів і бізонів (яку здійснив вперше в Асканії Нова), успадкування таланту та психіки в людини, досліджував генетичні основи еволюції, автор термінів «макроеволюція» та «мікроеволюція», створив нові сорти пшениці. Пережив кілька арештів як в часи царського режиму в Росії так і большевиків за політичними звинуваченнями. Рано помер.

Нільс Герман Нільсон-Еле (Nils Herman Nilsson-Ehle) (1873 – 1949) був відомим шведським генетиком. Займався проблемами селекції та успадкування кількісних ознак. Встановив механізми полімерії та полігенного успадкування кількісних ознак в сільськогосподарських культур. Першим використав генетичні методи в селекції пшениці, вівса, ячменю.

III етап: 1925 – 1942 роки. Почався з того, що Герман Джозеф Меллер (Hermann Joseph Muller) (1890 – 1967) продемонстрував мутагенну дію X-променів (рентгенівських променів) опромінивши популяцію дрозофіл – вперше мутації були викликані штучно. Були відкриті фізичні і хімічні мутагени. Над цими проблемами працювали вчені Г. А. Надсон, Г. С. Філіппов, Г. Д. Меллер, О. С. Серебровський, С. С. Четвериков.

У цей період постало питання речовини спадковості – стало ясно, що спадкова інформація записана на молекулярному рівні. Але що це за речовина спадковості? Довести наявність речовини спадковості зумів англійський лікар та генетик Фредерік Гріффіт (Frederick Griffith) (1879 – 1941) у 1928 році. Він провів знамениті досліді з бактеріями диплококами *Diplococcus pneumoniae*, що

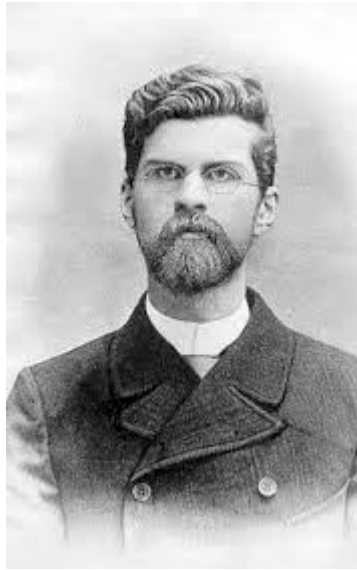
викликають смертельну пневмонію у щурів. Існують два штами цього збудника інфекції III-S та II-R. Штам III-S летальний, зараження штамом II-R щурі переносять в легкій формі і виживають. Гріффіт взяв летальний штам III-S, нагрів його до високої температури, клітини зруйнувались і перетворились в суспензію речовин (коли ввести щурам цю суспензію, то вони не хворіють взагалі) і змішав з нелетальним штамом II-R. Після зараження цими бактеріями всі щурі загинули. Ці результати можна пояснити тільки одним чином: існує певна речовина спадковості, яку поглинув нелетальний штам, і здійснилась генетична трансформація – перетворення нелетального штаму бактерій в летальний. Почались пошуки цієї речовини спадковості. Про те, що це ДНК ніхто навіть не міг здогадатись. Вважали, що ДНК збудована занадто просто, складається всього з чотирьох нуклеотидів і помилково думали, що ніякої інформації таким чином записати неможливо.

Георгій Адамович Надсон (1867 – 1939) був відомим генетиком, мікробіологом, ботаніком. Академік. Директор Інституту мікробіології. Народився в Києві. Освіту отримав в Санкт-Петербурзі. Довів мутагенну дію X-променів в експериментах на культурі мікроскопічних грибів. Заарештований і розстріляний в 1939 році за ніби то «контрреволюційну діяльність».

Олександр Сергійович Серебровський (1892 – 1948) займався проблемами селекції сільськогосподарських тварин і птахів, в тому числі курей, популяційної генетики тварин, генетичних аспектів еволюції. Запропонував поняття генофонду популяції, геногеографії. Розробив генетичні методи боротьби з комахами-шкідниками. Отримав дані, що свідчили про складну будову гена та рекомбінації в середині гена.

Сергій Сергійович Четвериков (1880 – 1959) став одним із фундаторів сучасної еволюційної генетики. Один із творців **синтетичної теорії еволюції**, що поєднала дарвінізм і генетику (до цього їх вважали несумісними вченнями), згідно якої популяція є елементарною одиницею еволюційного процесу, а елементарною еволюційною подією є зміна генетичної структури

популяції. Довів, що мутації накопичуються в природних популяціях, обумовлюючи поліморфізм популяцій.



Сергій Сергійович Четвериков
(1880 – 1959)

Виконав багато оригінальних робіт на лініях дрозофіли. Здійснив багато експедицій. У 1929 році почалось цькування Четверикова в комуністичній пресі (стаття «Класовий ворог в наукових інститутах» та ін.), він був заарештований і відправлений на заслання, де провів решту свого життя. На засланні продовжував наукову роботу, зібрав багату колекцію метеликів.

IV етап: 1942 – 1953 роки. У цей період почали досліджуватись генетика фізіологічних і біохімічних ознак, генетика мікроорганізмів і вірусів. Період почався з того, що в 1942 році Освальд Теодор Евері (Oswald Theodore Avery) (1877 – 1955) продемонстрував, що речовиною спадковості є ДНК, продовживши досліди Ф. Гріффіта.



Освальд Теодор Евері (Oswald Theodore Avery)
(1877 – 1955)



Джордж Велс Бідл (George Wells Beadle)
(1903 – 1989)

Суть досліду полягала в тому, що перед додаванням суспензії отриманої з летального штаму пневмококу до клітин нелетального штаму до суспензії додали фермент ДНК-азу. У результаті генетичної трансформації не відбулося і всі щурі вижили. Освальд Евері зробив правильний висновок, що ДНК є речовиною спадковості. Але йому ніхто не повірив. Його звинуватили в тому, що його ДНК-аза була не чистою і містила протеїнкази, що і зруйнували гіпотетичний «білок спадковості».

У цей період вперше була сформована концепція «один ген – один фермент», яку сформував американський генетик Джордж Велс Бідл (George Wells Beadle) (1903 – 1989), що випереджала час. Зараз ми знаємо, що є винятки з цього правила, але по суті ця ідея відкривала нові істини та перспективи в генетиці.

У 1948 році відбулась фатальна для генетики і для науки взагалі подія – у Радянському Союзі відбулась сумнозвісна сесія ВАСГНІЛ, на якій було оголошено, що генетика є «буржуазною лженаукою», «продажною дівкою імперіалізму» і протирічить марксизму-ленінізму. Генетика у Радянському Союзі була заборонена, кафедри і лабораторії закриті, вчені репресовані. Це було пов'язано з діяльністю лжевченого і псевдоакадеміка Т. Д. Лисенка, що будував свою кар'єру на фантастичних і нездійснених обіцянках, висував безглузді «теорії» про «перевиховання живих істот методами марксизму-ленінізму», про «самозародження життя», про успадкування всіх набутих ознак. Він обіцяв за дуже короткий час методом перевиховання створити сорти рослин і породи тварин, що будуть в десять разів продуктивніші за існуючі, що неможливо. Обіцяв, зокрема, створити корів, що будуть замість молока давати шоколад методом годування корів шоколадом, морозостійкі сорти рослин методом їх посіву на сніг і подібне безглуздя. А коли нічого з цього не виходило і від нього вимагали результатів, він говорив, що в усьому винні генетики, які заважають йому працювати своєю критикою. Генетика була заборонена, кафедри та інститути закриті, вчені репресовані. У результаті цього

Радянський Союз безнадійно відстав від західних країн щодо розвитку генетики.

V етап: 1953 – 1973 роки. Цей етап почався з того, що у 1953 році двоє вчених – американський біолог Джеймс Дев'ї Ватсон (James Dewey Watson) (нар. 1928) та британський науковець Френсіс Гаррі Комптон Крік (Francis Harry Compton Crick) (1916 – 2004) на основі даних по дифракції рентгенівських променів пропущених через ДНК продемонстрували, що ДНК є подвійною спіраллю. Стало ясно, що саме ДНК є носієм генетичної інформації.

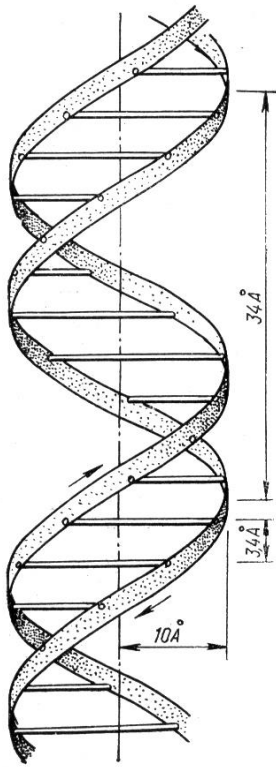


Рис. 3. Модель молекули ДНК Ватсона та Кріка.

Але потрібно було ще довести, що синтез ДНК відбувається напівконсервативно – одна нитка ДНК під час синтезу є матрицею, а друга – копією. Це блискуче було доведено дослідом, що ввійшов в історію науки як дослід Мезелсона-Сталя. Мет'ю

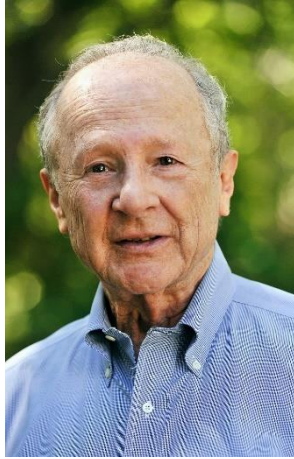
Стенлі Мезелсон (Matthew Stanley Meselson) (нар. 1930) провів такий дослід. Бактерія кишківникова паличка людини (*Escherichia coli*) вирощувалась в середовищі, де були тільки важкі ізотопи азоту N^{15} . У результаті утворилась у цієї бактерії так звана «важка» молекула ДНК, що мала зовсім інший коефіцієнт седиментації в порівнянні з нормальною «легкою» ДНК, що мітила ізотоп азоту N^{14} . Бактерії дали можливість поділитися тільки один раз на середовищі, що містило тільки

легкий ізотоп азоту. В результаті утворилась ДНК, що була не «легка» і не «важка», а мела посередній коефіцієнт седиментації. Значить, ця ДНК мала один «важкий» ланцюг і один «легкий» ланцюг, а значить синтез ДНК відбувається по матричному механізму.

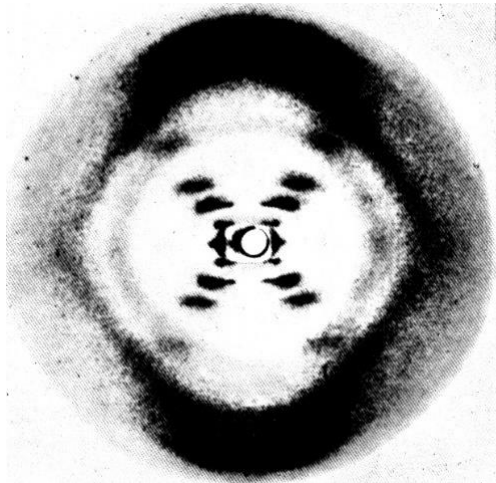


Джеймс Дев'ї Ватсон (James Dewey Watson) (нар. 1928) - справа та Френсіс Гаррі Комптон Крік (Francis Harry Compton Crick) (1916 – 2004) – зліва.

У 1956 році було доведено, що інформація у ДНК кодується парами нуклеотидів. У 1958 році було доведено, що при реплікації ДНК відбувається розходження комплементарних ланцюгів, була відкрита ДНК-полімераза I. У 1960 році була відкрита РНК-полімераза та мРНК. У 1961 році були розшифровані перші знаки генетичного коду, синтезована перша синтетична мРНК (polyU). У 1965 році були відкриті плазмідни. У 1966 році американський генетик індійського походження Гар Гобінд Корана (Har Gobind Khorana) (1922 — 2011) повністю розшифрував генетичний код за допомогою методів синтезу білків в пробірці (in vitro) на основі штучних РНК. У 1967 році був виділений фермент ДНК-лігаза, який зшиває ланцюги ДНК.



Мет'ю Стенлі Мезелсон (Matthew Stanley Meselson)
(нар. 1930)



Перша фотографія дифракційної картини при проходженні рентгенівських променів через ДНК. На основі цієї фотографії була створена дволанцюгова модель ДНК і доведено, що ДНК є речовиною спадковості.



Гар Гобінд Хорана (Har Gobind Khorana)
(1922 — 2011)



Франсуа Жакоб (François Jacob)
(1920 – 2013)



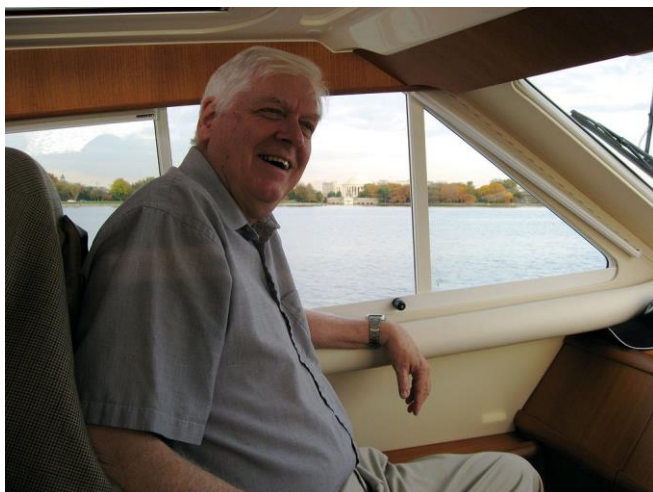
Жак Люс'єн Моно (Jacques Lucien Monod)
(1910 – 1976)



Денієл Натанс (Daniel Nathans)
(1928 — 1999)



Вернер Арбер (Werner Arber)
(нар. 1929)



Гамільтон Отанел Сміт (Hamilton Othanel Smith)
(нар. 1931)

У 1965 році двоє французьких вчених Франсуа Жакоб (François Jacob) (1920 – 2013) та Жак Люс'єн Моно (Jacques Lucien Monod) (1910 – 1976) отримали Нобелівську премію за створення моделі оперону – моделі, яка пояснювала регуляцію активності генів.

І на початок 1970-тих років встановилася думка, що все – в генетиці нічого принципово нового вже не відкрито: основні закони і явища спадковості вже відкриті, генетичний код розшифровано. На питання а чи можливо розшифрувати будову гена, послідовність нуклеотидів в гені відповідали – це неможливо, ген має тисячі нуклеотидів. На питання а чи можна виділити певних ген з геному і вставити його в інший геном відповідали – це фантастика, це не здійснено. Багато хто з генетиків розчарувався і переключився на інший вид діяльності, наприклад, зайнявся нейробиологією. Дехто просто спився – це майже те саме, що зайнятись нейробиологією. Ніхто навіть не здогадувався напередодні яких неймовірних відкриттів стоїть генетика.

VI етап: 1972 – і до сьогодні. Почалось все з того, що різні вчені в різних країнах відкрили рестриктази (специфічні ендонуклеази) – ферменти, що розрізають ДНК не будь-де, а в конкретних точках – у сайтах рестрикції, розпізнаючи певну послідовність нуклеотидів. Серед тих вчених, що відкрили рестриктази були: американець Деніел Натанс (Daniel Nathans) (1928 — 1999), швейцарський генетик Вернер Арбер (Werner Arber) (нар. 1929) та американський мікробіолог Гамільтон Отанел Смит (Hamilton Othanel Smith) (нар. 1931). 1972 рік – вперше фермент ДНК-лігаза був використаний для зшивання фрагментів ДНК, отриманих за допомогою рестриктаз. 1973 рік – вперше у плазмідну ДНК вбудовані фрагменти чужорідної ДНК – створені химерні плазміди. Продемонстрована принципова можливість клонування в бактеріях будь-якого гена. І тут почалась паніка, що охопила як громадськість так і наукові кола. Здавалось би, нічого ж не відбулося, відкрили якісь ферменти. Що тут такого? Але тепер стало зрозуміло – тепер можливо все. Можна створити зелену курку з зубами розміром зі страуса,

можна створити синю мишу з трьома головами розміром зі слона, можна створити вірус, що буде летальним тільки для людей певної раси, будь-які фантазії можна реалізувати. Як заявив один із науковців: «Тепер будуть робити людей, які будуть купувати тільки певні сорти мила». Паніка посилилась тим, що один із науковців заявив, що починає клонування онкогенів в бактеріях з метою їх вивчення. Подумали, що ці бактерії втечуть з лабораторії і почнеться епідемія онкологічних захворювань. Тоді ще не знали, що це неможливо – для того щоб розвинулось онкологічне захворювання потрібно щоб онкоген виник і працював безпосередньо в клітині людини. Крім того, як відомо на сьогодні, у кожної людини кожен день утворюються нові ракові клітини, але спрацьовують захисні механізми і ці клітини знищуються. Але тоді цього всього не знали. У той час різні люди в різних країнах висловили занепокоєння в зв'язку з небезпекою штучного створення нових небезпечних для людини вірусів і бактерій. Провідні науковці світу оголосили мораторій на будь-які дослідження в галузі молекулярної генетики. Але цей мораторій тривав тільки два роки. У 1975 році була скликана Асіломарська конференція. На цій конференції були прийняті суворі правила роботи з рекомбінантними ДНК. Цих правил всього два: можна працювати тільки з безпечними штамми бактерій (які можуть жити тільки в умовах лабораторії) і тільки з безпечними векторами (вектори – це певні молекулярні структури, що можуть переносити гени з одного геному в інший, безпечні вектори – це вектори, які можуть це робити тільки в умовах лабораторії). Правила прості, але ефективні – не дозволяють навіть випадково створити небезпечні для довкілля мікроорганізми. Насправді небезпека була перебільшена: тоді думали, що молекулярні генетики винайшли щось принципово нове, чого ніколи не було в біосфері. Насправді в біосфері відколи існує життя на землі відтоді існують природні вектори і так зване горизонтальне перенесення генів. Зокрема, природніми векторами є бактеріофаги, віруси, плазміді. Але тоді цього не знали. Після асіломарської конференції почався інтенсивний розвиток молекулярної генетики та генної інженерії.

1976 рік – розроблені правила Національного інституту охорони здоров'я США щодо роботи з рекомбінантними ДНК. Заклик не присуджувати Нобелівські премії за дослідження в області вивчення ДНК.

1977 рік – створена перша гено-інженерна компанія («Genetech») по виробництву медичних препаратів з використанням методик рекомбінантних ДНК. Отримані перші рекомбінантні молекули ДНК, що містили гени ссавців. Відкриті мозаїчні гени. Розроблені методи секвінування ДНК.

1978 рік – присуджена Нобелівська премія за відкриття рестриктаз. З використанням методів рекомбінантних ДНК отримано перший людський гормон – соматостатин.

1979 рік – пом'якшення правил роботи з ДНК. Початок вивчення вірусних ДНК. ДНК пухлинних клітин використана для трансформації культури нормальних клітин. Початок вивчення ракових генів.

1980 рік – здійснено перше промислове виготовлення інсуліну з використанням методів рекомбінантних ДНК. Присуджена Нобелівська премія за створення рекомбінантних ДНК і за розробку методів секвенування ДНК.

1981 рік – населенню запропоновані акції компанії «Genetech». На Волл-стріт ці акції були оцінені у 200 млн. доларів. Вперше пренатально було діагностовано спадкове захворювання – серповидноклітинну анемію з використанням методик рестриктазного аналізу ДНК.

1982 рік – доведено, що чужорідні гени, введені у клітини тютюну, успадковуються згідно законів Менделя. Виділено і клоновано в *E. coli* онкоген раку сечового міхура. Показано, що нуклеотидна послідовність гену раку сечового міхура відрізняється від його нормального гомологу єдиною нуклеотидною заміною.

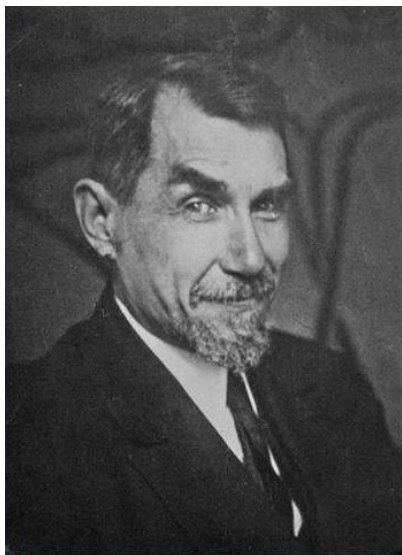
1983 рік – розшифрована повна нуклеотидна послідовність ДНК бактеріофага λ .



Іван Федорович Шмальгаузен
(Johannes Theodor Schmalhausen)
(1849 — 1894)



Сергій Гаврилович Навашин
(1857 – 1930)



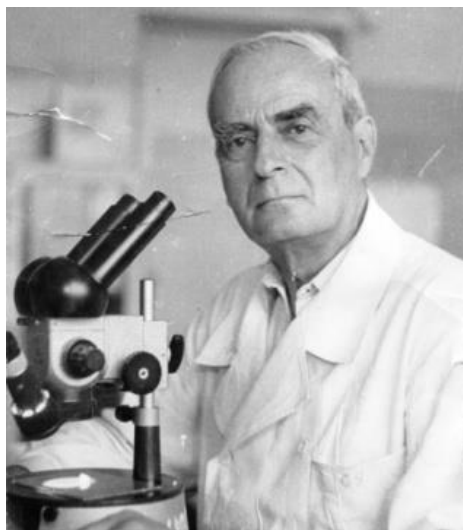
Григорій Андрійович Левицький
(1878 – 1942)



Феодосій Григорович Добжанський
(1900 – 1975)



Григорій Дмитрович Карпеченко
(1899 – 1941)



Сергій Михайлович Гершензон
(1906 – 1998)

1986 – 2000 роки – здійснена програма «Геном людини» – повністю розшифрована нуклетидна послідовність геному людини. Виявилось, що геном людини містить лише 32 000 генів – втричі менше ніж думали. Постало завдання зрозуміти як ця система генів працює, як використати цю інформацію для діагностики різних патологій і в медицині взагалі. Перспективи які є нині перед генетикою взагалі і генетикою людини зокрема величезні: розшифрування генетичних механізмів проблеми старіння і смерті, створення нового покоління медичних препаратів, подолання екологічних проблем людства за допомогою генетично змінених організмів та ін. Нові програми гальмуються нині не розвитком науки, а фінансуванням – нові програми потребують величезних коштів, величезних зусиль, на які людство не готове йти.

Розвиток генетики в Україні

Україна та українці внесли величезний внесок в розвиток науки генетики. У XIX столітті в Києві працював ботанік Іван Федорович Шмальгаузен (Johannes Theodor Schmalhausen) (1849 — 1894) – єдиний на той час вчений, хто позитивно оцінив роботи Грегора Менделя. Пізніше у Київському університеті працював і зробив свої відкриття академік Сергій Гаврилович Навашин (1857 – 1930), що відкрив подвійне запліднення у покритонасінних рослин, заклав основи дослідження морфології хромосом і каріосистематики. Його роботи продовжив у XX столітті в Києві його учень Григорій Андрійович Левицький (1878 – 1942) – всесвітньовідомий генетик, що вивчав цитологічні процеси запліднення, вивчав нехромосомну спадковість, став засновником цитогенетики як науки, автор поняття каріотип. Виявив, що у близьких видів відмінностей у каріотипі менше, аніж у віддалених видів. Вперше описав мітохондрії в рослинній клітині. Вперше показав перебудови в каріотипі рослинної клітини, що відбуваються під дією іонізуючого випромінювання. Він був тричі репресований радянською владою і помер у в'язниці.

На початку ХХ століття у Києві працював відомий генетик Феодосій Григорович Добжанський (1900 – 1975), що вивчав лінійне розміщення генів у хромосомах, склав карту третьої хромосоми дрозофіли, став одним із засновників популяційної генетики, вивчав генетичні причини стерильності гібридів. Працював над створенням синтетичної теорії еволюції, проводив дослідження в галузі популяційної генетики, одним із основоположників якої він став. У 1928 році його примусили емігрувати і його ім'я на батьківщині замовчувалось. В історію він ввійшов як американський генетик.

У Києві працював видатний генетик Іван Іванович Клодницький (1884 – 1949) – доктор наук, професор, фахівець у галузі тваринництва, селекції, племінного добору. Вчився в Августа Вайсмана.

Григорій Дмитрович Карпеченко (1899 – 1941) – видатний генетик та селекціонер, досліджував міжвидову гібридизацію, штучно створив нові види рослин задовго до епохи генної інженерії. Показав можливість подолати міжвидовий бар'єр при віддаленій гібридизації рослин шляхом попередньої штучної поліплоїдизації — кратного збільшення числа хромосом. Таким методом вивів гібрид редьки і капусти — рафанобрассіку. Цей приклад увійшов у всі підручники з генетики, хоча надалі Карпеченком було виведено й інші гібриди. Досліджував генетичні підвалини еволюції. Виступав проти переслідувань генетики і лисенківщини. Був співробітником академіка Н. І. Вавілова, що розділив його трагічну долю. Був заарештований за сфабрикованим звинуваченням і розстріляний. Його дружина покінчила життя самогубством у тюрмі.

У 1948 році генетика в Україні була повністю заборонена, наукові школи знищені. Після відродження генетики у 60-тих роках ХХ століття в Києві працював визначний генетик Сергій Михайлович Гершензон (1906 – 1998), що вивчав мутагенез, мутагени, відкрив мутагенну дію чужорідної ДНК, транспозони, передбачив зворотню транскрипцію, вивчав природні популяції.

ЗАКОНИ МЕНДЕЛЯ

Досліди Менделя

У 1866 році Грегор Йоганн Мендель опублікував свою епохальну роботу «Експерименти з рослинними гібридами» («Versuche über Pflanzenhybriden»), де повідомив про результати своїх багаторічних досліджень, відкриття основних законів спадковості та факторіальну теорію спадковості. Чому саме йому вдалося відкрити три основні закони спадковості, які ввійшли в історію як **Закони Менделя**. Успіх робіт Менделя визначився тим, що по-перше Мендель досліджував успадкування не всіх ознак організму одночасно (що практично неможливо), а однієї або кількох пар альтернативних ознак. **Альтернативні ознаки** – це ознаки які одна одну заперечують, які проявляються в організмі в числі один, взаємовиключні ознаки, наприклад: карликовість або високий ріст гороху, крохмальність або цукристість кукурудзи, стійкість або чутливість до ДДТ у комах, наявність чи відсутність пір'я на ногах у курей, темна або світла райдужна оболонка очей людини, червоні або білі очі в дрозофіли.

Мендель, працюючи з рослиною горох, досліджував успадкування таких пар альтернативних ознак:

- 1) сіра або біла насінна оболонка;
- 2) зелений або жовтий стручок;
- 3) довге або коротке стебло;
- 4) здутий або стиснутий стручок;
- 5) гладке або зморшкувате насіння;
- 6) жовте або зелене насіння;
- 7) пазушні або верхівкові квіти.

(Першими наведені домінуючі ознаки, другими – рецесивні).

По-друге Грегор Мендель не тільки досліджував які ознаки успадковуються, але і скільки і в якому співвідношенні з'являються нащадки гібридів. І зауважив, що кількість нащадків є в чіткому співвідношенні – 3:1 або 1:1 або 9:3:3:1.

По-третє Мендель чисто випадково вибрав ідеальний об'єкт для досліджень – горох посівний (*Pisum sativum*), що

розмножується самозаплідненням, а значить автоматично утворюються чисті лінії – гомозиготи. Експеримент тоді є однозначним дає мінімум похибок.

Перша серія дослідів полягала в тому, що Мендель штучно схрещував рослини гороху (видаляючи тичинки з квіток однієї рослини і запилюючи цю квітку пилом іншої рослини) з однією парою різних альтернативних ознак. Наприклад, схрещував горох з жовтим насінням і з зеленим насінням. У першому поколінні він одержав тільки рослини з жовтим насінням. І так було з будь-якою парою альтернативних ознак. Мендель сформулював перши закон спадковості – закон одноманітності першого покоління або закон домінування.

Потім він схрестив між собою гібридів першого покоління, наприклад, гібридні особини з жовтим насінням. У другому поколінні він одержав нащадків у співвідношенні 3:1 – три частини нащадків з жовтим насінням і одна частина нащадків з зеленим насінням.

Аналізуючи результати своїх дослідів, Грегор Мендель прийшов до висновку про наявність певних спадкових факторів, які обумовлюють розвиток однієї ознаки, і потім були названі гени. Мендель прийшов до висновку, що в зиготі гени не змішуються, а існують відокремлено один від одного (дискретно). При цьому фактори в організмі які визначають певну пару альтернативних ознак присутні в числі два – в парі. Один із цих факторів дістається від батьківської рослини, інший від материнської. Фактори можуть бути однакові, можуть бути різні. Коли фактори різні, то один із цих факторів подавлює інший фактор. Фактор який подавлює назвали домінантним, а фактор який подавлюється – рецесивним. Для зручності їх можна позначати великою літерою (домінантний фактор) і маленькою (рецесивний). Цю гіпотезу Менделя пізніше назвали **факторіальна гіпотеза спадковості**. Ці менделівські фактори спадковості пізніше були названі генами. **Гени** в класичній генетиці розумілись як певні спадкові зачатки, що визначають розвиток певних ознак організму, спадкові властивості організму. Те, що алельні фактори (гени) у гетерозиготі не

змішуються і в чистому стані розходяться по гаметах, відомо як **правило чистоти гамет**, сформульоване Вільямом Бетсоном на початку ХХ століття.

Тобто механізми спадковості і дослідів Менделя наступні:

A – жовте насіння

a – зелене насіння

P: ♀ AA X ♂ aa

жовте зелене

F1: ♀ Aa X ♂ Aa

жовте жовте

F2:

	A	a
A	AA жовте	Aa жовте
a	Aa жовте	aa зелене

Співвідношення нащадків з жовтим і зеленим насінням 3:1.

Наступна серія експериментів полягала в тому, що Мендель брав не одну, а дві чи більше пар альтернативних ознак. Наприклад брав горох з жовтим гладким насінням і схрещував з горохом з зеленим зморшкуватим насінням. У першому поколінні всі рослини були з жовтим гладким насінням. У другому поколінні співвідношення (розщеплення) нащадків з різними ознаками було таке: 9 частин з жовтим гладким насінням, 3 частини з жовтим зморшкуватим насінням, 3 частини з зеленим гладким насінням, 1 частина з зеленим зморшкуватим насінням. Тобто розщеплення 9:3:3:1. Але тепер, якщо порахувати кількість з жовтим і зеленим насінням виходило 12:4 тобто 3:1. Якщо порахувати співвідношення з гладким і зморшкуватим насінням виходить теж 12:4 тобто 3:1. І Мендель вивів третій закон спадковості – закон незалежного комбінування ознак. І пояснити механізм цього закону можна тільки наступним чином:

А – жовте насіння
 а – зелене насіння
 В – гладке насіння
 в – зморшкувате насіння

P: ♀ AABV X ♂ aabb
 жовте гладке зелене зморшкувате

F1: ♀ AaVb X ♂ AaVb
 жовте гладке жовте гладке

F2:

	AV	Ab	aV	ab
AV	AABV жовте гладке	AABv жовте гладке	AaVV жовте гладке	AaVb жовте гладке
Ab	AABv жовте гладке	AAbb жовте зморшкувате	AaVb жовте гладке	Aabb жовте зморшкувате
aV	AaVV жовте гладке	AaVb жовте гладке	aaVV зелене гладке	aaVb зелене гладке
ab	AaVb жовте гладке	Aabb жовте зморшкувате	aaVb зелене гладке	aabb зелене зморшкувате

Співвідношення різних фенотипічних класів нащадків з різними ознаками (розщеплення) 9:3:3:1

Отже, Мендель сформулював три основні закони спадковості:

I закон Менделя – закон домінування або закон одноманітності першого покоління. У першому поколінні гібридів при схрещуванні особин з альтернативними ознаками проявляється тільки одна ознака. Ця ознака була названа домінантною. Ознака яка подавлюється була названа рецесивною.

II закон Менделя – закон розщеплення. У другому поколінні гібридів при схрещуванні особин з альтернативними ознаками відбувається розщеплення у співвідношенні 3:1 – три частини нащадків з домінантною ознакою, одна частина нащадків з рецесивною ознакою.

III закон Менделя – закон незалежного комбінування. При дигібридному схрещуванні кожна пара альтернативних ознак комбінується незалежно і відбувається розщеплення 9:3:3:1.

Мендель працював методами моногібридного, дигібридного і полігібридного схрещувань.

Моногібридне схрещування – це схрещування, при якому батьківські особини відрізняються однією парою подібних контрастуючих (альтернативних) ознак.

Дигібридне схрещування – це схрещування, при якому батьківські особини відрізняються двома парами альтернативних ознак.

Полігібридне схрещування – це схрещування при якому батьківські особини відрізняються багатьма парами альтернативних ознак.

Мендель зауважив явище **розщеплення генів** – розходження генів або визначених ними спадкових ознак у нащадків гібриду.

Алельні гени

Альтернативні ознаки обумовлюються **алельними генами** – генами, що визначають моногібридно успадковані ознаки, це гени-партнери, що присутні в зиготі в числі два, а при утворенні статевих клітин завжди розходяться так, що кожна гамета або спора отримує по одному гену цієї пари. Алельні гени – це різні стани, різні форми одного і того ж гена.

Гамети – це статеві клітини – несуть тільки один алельний ген.

Простежується явище подавлення одного алеля присутнім разом з ним алелем тої ж пари – це явище називається домінуванням.

Тобто, серед пари різних алелей один алель є **домінантним** – алелем, що проявляється у гібридній особини, другий алель є **рецесивним** – алелем, прояв якого подавлено у гібридній особини.

Мендель зіштовхнувся з явищем **повного домінування** – явищем, при якому прояв одного алелю повністю подавлено іншим алелем. Прикладом повного домінування може бути успадкування плямистості шерсті кроликів – ген суцільного забарвлення хутра повністю домінує над плямистим забарвленням.

P: ♀ AA X ♂ aa
 Сіра плямистий
 F1: Aa – сірі
 F2:

	A	a
A	AA сірі	Aa сірі
a	Aa сірі	aa плямисті

Розщеплення 3:1



Рис. 4. Форма еритроцитів людини при низькому тиску кисня. а – гомозиготи по алелю нормальної форми еритроцитів, б – у гетерозигот по алелю серповидноклітинної анемії, в – у гомозигот по алелю серповидноклітинної анемії.

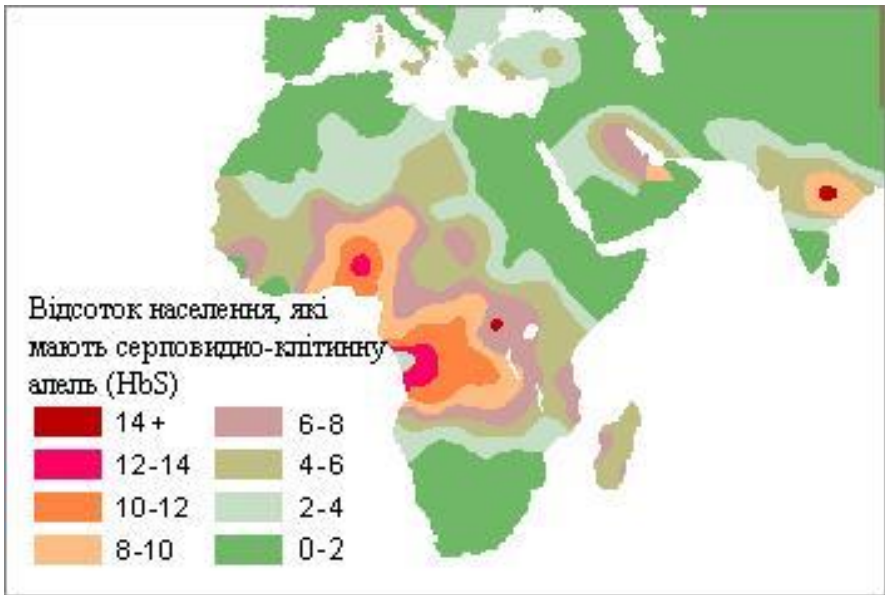


Рис. 5. Поширення серповидноклітинної анемії в Африці серед тубільного населення.

Ознаки, які обумовлені тільки однією парою алельних генів називаються **моногенними**. Ознаки, успадкування яких обумовлено одночасно кількома парами алельних генів називаються **полігенними**. У людини є багато прикладів моногенного успадкування нормальних ознак з характером повного домінування. Наприклад, здатність згортати язик в трубочку домінуюча ознака, не здатність згортати язик в трубочку – рецесивна ознака. Вільна мочка вух – домінуюча ознака, прикріплена мочка вух – рецесивна ознака. Ямочки на щоках – домінуюча ознака, відсутність ямочок на щоках – рецесивна ознака. Наявність трикутника вкритого волоссям на лобі (так звана «лінія вдови») – домінуюча ознака, відсутність «лінії вдови» - рецесивна ознака. Загалом деякі ознаки людини,

що проявляють характер моногенного успадкування і повного домінування представлені в таблиці 1.

Таблиця 1. Деякі нормальні моногенні ознаки людини з характером повного домінування.

Домінантна ознака	Рецесивна ознака
Великі очі	Малі очі
Карі очі	Блакитні очі
Короткозорість	Норма
Косоокість	Норма
Широке підборіддя	Гостре підборіддя
Ямка на підборідді	Відсутність ямки на підборідді
Товсті губи	Тонкі губи
Є ластовиння	Відсутнє ластовиння
Густі товсті брови	Рідкі тонкі брови
Брови з'єднані	Брови роз'єднані
Довгі вії	Короткі вії
Круглий ніс	Гострий ніс
Великий ніс	Нормальний ніс
Горбате перенісся	Пряме перенісся
Широкі ніздрі	Вузькі ніздрі
Випнута нижня губа	Нормальна нижня губа
«Вдовина лінія» волосся	Відсутність «вдовиної лінії» волосся
Жорстке волосся	М'яке волосся
Темне волосся	Світле волосся
Голос сопрано у жінок	Голос альт у жінок
Голос бас у чоловіків	Голос баритон у чоловіків
Низький зріст	Високий зріст
Багатопалість	Норма
Позитивний резус крові	Негативний резус крові
Смаглява шкіра	Бліда шкіра
Товста шкіра	Тонка шкіра
Ліворукість	Праворукість
Кругле обличчя	Видовжене обличчя

У моногібридному схрещуванні, крім повного домінування, існують ще такі явища пов'язані з взаємодією алельних генів:

Неповне домінування – явище, при якому гібридна особина більше схожа на домінантну батьківську особину, але відрізняється від неї.

Класичним прикладом неповного домінування у людини може бути серповидноклітинна анемія – спадкове захворювання, при якому еритроцити мають змінену форму – форму серпа. Захворювання моногенне, рецесивне. У гетерозигот форма еритроцитів нормальна, але при низькому тиску еритроцити змінюють свою форму, наближаючись до серповидних. Серповидноклітинна анемія серед європеоїдів рідкісне захворювання, але серед людей негроїдної (африканської) раси зустрічається дуже часто. Є райони Африки, де більше 15 % населення страждають на серповидноклітинну анемію, а є райони Африки, де 25 % населення страждають на цю хворобу. Це пояснюється тим, що в Африці споконвіку вирували епідемії малярії, які викошували щороку мільйони людей. А хворі на серповидноклітинну анемію не хворіють на малярію, малярійний плазмодій не може розвиватися в серповидних еритроцитах. Тому добір сприяв поширенню цього патологічного гена в Африці та деяких районах Азії.

Проміжне успадкування – явище, при якому у парі алелей домінування взагалі відсутнє. У гібридної гетерозиготної особини ознака по своєму характеру займає середнє положення. Прикладом проміжного успадкування може бути успадкування масті у шортгорнської породи великої рогатої худоби (ВРХ). РР – червона масть, рр – біла масть, Рр – чала масть – проміжна між білою і червоною.

Класичним прикладом проміжного успадкування є успадкування кольору квітки у рослини нічна красуня (*Mirabilis jalapa* L.). У цієї рослини квіти бувають, зокрема, червоного кольору (домінантна ознака, алель Р), білого кольору (рецесивна ознака, алель р). Але при схрещуванні чистих ліній (гомозигот) рослин з білими та червоними квітами утворюються гібриди з рожевими квітами – ознака є проміжною між домінантною і рецесивною ознаками:

AA – червоні квіти

aa – білі квіти

Aa – рожеві квіти

P: ♀ AA X ♂ aa
червоні білі

F1: ♀ Aa X ♂ Aa
рожеві рожеві

F2:

	A	a
A	AA червоні	Aa рожеві
a	Aa рожеві	aa білі

Розщеплення 1:2:1 – таке розщеплення є характерним для проміжного успадкування.

Кодомінування – явище, при якому обидва алелі повністю проявляються у гібридній гетерозиготній особині, так що гібридна особина має обидві батьківські ознаки. Прикладом кодомінування може бути успадкування груп крові у людини. Система груп крові АВО визначається трьома алелями – I^0 , I^A , I^B . Алелі I^A , I^B проявляють повне домінування над алелем I^0 , але алелі I^A , I^B один до одного проявляють кодомінування – повністю проявляються у гетерозиготі, утворюючи четверту групу крові. Загалом, групи крові визначаються такими генотипами:

	Групи крові по системі АВО			
	I (0)	II (A)	III (B)	IV (AB)
Генотипи	$I^0 I^0$	$I^A I^A$ $I^A I^0$	$I^B I^B$ $I^B I^0$	$I^A I^B$

Надомінування – явище, при якому у гібридній гетерозиготній особині домінуюча ознака проявляється у

більшій степені, ніж у гомозиготі. Як правило, під наддомінуванням розуміють більшу пристосованість гетерозигот до факторів зовнішнього середовища у порівнянні з обома гомозиготами. Тоді прикладом наддомінування може бути система збалансованих леталей у дрозофіли *Curly-Plum* (*Cy-Pm*).

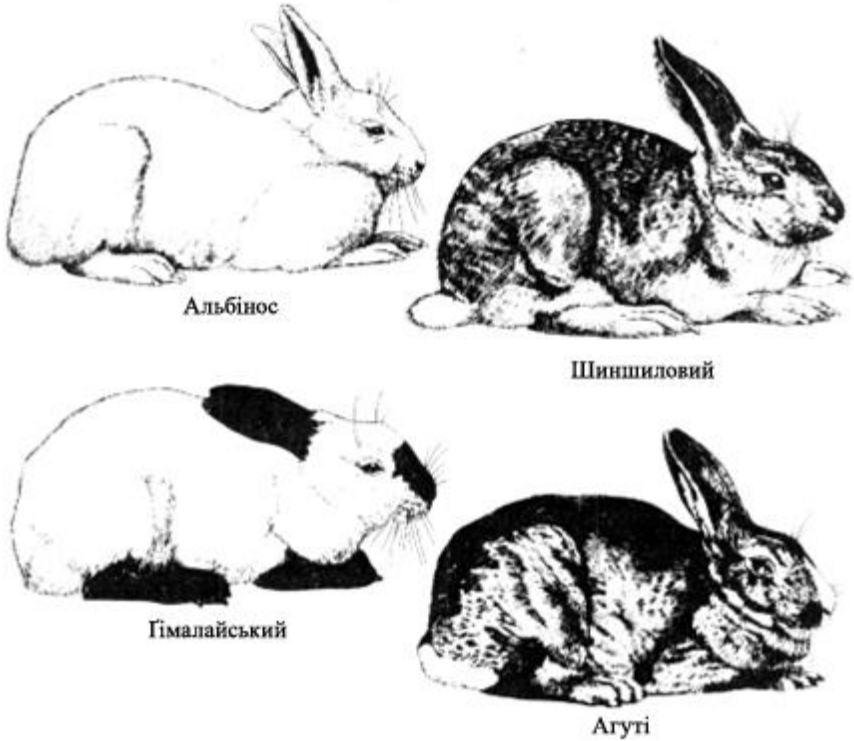


Рис. 6. Різні фенотипи кроликів обумовлені компаундами альбіністичної серії алелей.

Множинний алелізм – явище, при якому в популяції наявні не два, а більше алельних станів якогось певного одного і того ж гена. При цьому кожна окремо взята диплоїдна особина несе тільки два алелі, а в гаметі – тільки один алель. Прикладом множинного алелізму, крім системи алелей АВО груп крові людини, може бути успадкування забарвлення шерсті у кроликів

– альбіністична серія алелей. Альбіністичну серію утворюють такі гени:

c^+ - обумовлює дикий тип (забарвлення дикого типу може бути різне, обумовлене іншими генами, що не алельні генам альбіністичної серії, наприклад, темне, рівномірне, або агуті – забарвлення, при якому кожна волосина забарвлена нерівномірно – середина жовта, а кінці чорні), c^{ch} – обумовлює забарвлення шиншила, c^m – обумовлює забарвлення мардер, c^h – обумовлює забарвлення гімалайське, c^a – обумовлює забарвлення альбінос. Ген дикого типу повністю домінує над іншими генами, а ген забарвлення шиншила неповністю домінує над іншими генами і у гетерозиготи виникає забарвлення, що відрізняється від забарвлення шиншила і близьке до світло-сірого. Загалом, система домінування у цій серії така:

$$c^+ > c^{ch} \geq c^m > c^h > c^a$$

Іншим прикладом множинного алелізму є серія алелей забарвлення кукурудзи, що обумовлюється пігментом антоціану – відомо 20 варіантів гену r – r^1, r^2, \dots, r^{20} .

Наступний приклад множинного алелізму – серія алелей, що обумовлюють забарвлення очей у дрозоді. Відомо більше 20 генів, що обумовлюють колір очей від червоного (дикий тип) до білого.

Яскравим прикладом явища множинного алелізму є гени самостерильності рослин. Так, у тютюну є 30 алелів гену самостерильності s ($s^1, s^2, s^3, \dots, s^{30}$). Гени самостерильності подавляють проростання пилку або ріст пилкової трубки, коли один і той же алель присутній і в пилку, і в рослині, що запилюється. Так, пилко s^1 не може запилити рослини $s^1 s^2$ чи $s^1 s^3$, s^1 але може запилити рослини $s^2 s^3$. У конюшини аналогічна серія нараховує більше 200 алелей. Ці гени необхідні в першу чергу для блокади самозапилення і підвищення гетерозиготності особин в популяції.

Різні комбінації генів при множинному алелізмі називаються **компаунди**.

Ще один тип взаємодії алельних генів – **міжалельна комплементация** – спостерігається у компаундів. Якщо

продуктом мутантного гена а слугує поліпептид, який є субодиницею білка-гомомультимера (значно рідше – гетеромультимера), то поєднання у компаунда двох рецесивних алельних генів, кожен з яких кодує мутантний поліпептидний ланцюг, іноді призводить до відтворення ознаки дикого типу, бо із двох типів частково ушкоджених суб-одиниць збирається четвертинний білок з майже нормальною функцією.

Вищеописані явища не дозволяють за безпосередніми спостереженнями судити про генетичну будову організму, тому розрізняють поняття:

Фенотип – сукупність ознак організму, що можуть бути безпосередньо виявлені.

Генотип – сукупність генів організму, його генетична будова.

Гомозигота – організм, який має два однакових алелі з якої-небудь пари алелів.

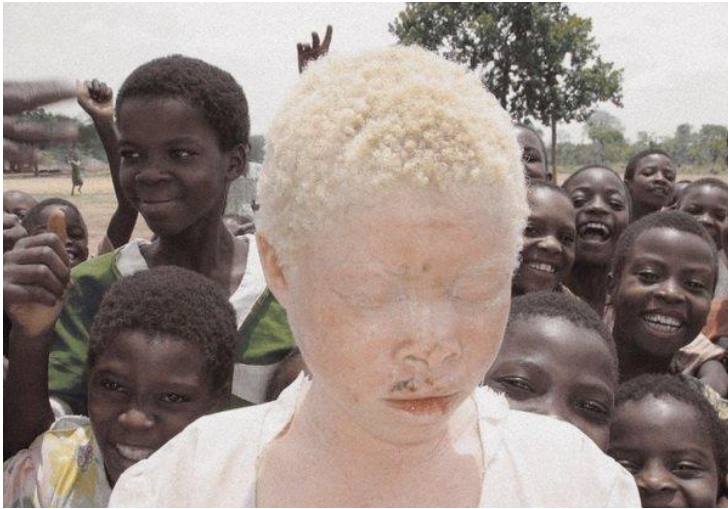
Гетерозигота – організм, який має два різних алелі з якої-небудь пари алелів.

Гемізігота – організм, який має лише один алель з якої-небудь пари алелів.

Є багато патологій людини, спадкових захворювань, що обумовлюються моногенним успадкуванням. Серед цих патологій є домінантні захворювання і рецесивні.

Вище згадувалось про явище альбінізму серед кроликів і альбіністичну серію алелей у кроликів – алелей при наявності яких пігменти шкіри, шерсті, райдужної оболонки очей синтезуються з різною інтенсивністю. Альбінізм як генетичне явище – відсутність пігментів в організмі трапляється серед всіх живих істот. Але серед рослин – це леталь, рослини при відсутності пігменту хлорофілу гинуть, але ми можемо зафіксувати пророслі рослини-альбіноси. Серед тварин альбінізм може бути шкідливою ознакою, може бути нейтральною – особливо для жителів печер чи глибин океанів, що живуть в повній темряві. Альбінізм переважно є моногенна рецесивна ознака. У людини теж трапляється явище альбінізму. Повні альбіноси мають безбарвну шкіру, безбарвне волосся і червону

райдужну оболонку очей (просвічуються кровоносні судини). Для людини це шкідлива ознака, патологія – альбіноси дуже чутливі до сонячного світла, особливо до ультрафіолету. Альбіноси трапляються серед представників всіх рас з певною частотою. Для представників негроїдної (африканської) раси така патологія особливо шкідлива в умовах інтенсивного сонячного випромінювання тропіків.



Альбінізм у представника африканської раси – моногенна рецесивна аутосомна патологія.

Деякі аутосомно-домінантні моногенні спадкові хвороби людини

Синдром Марфана

Захворювання аутосомно-домінантне, обумовлене мутацією гена *FBN1*, що розташований в 15 хромосомі і кодує білок фібрилін-1. При синдромі Марфана мають місце такі ознаки: вади суглобів, сколіоз, вади кристалика, видовжені пальці (арахнодактилія), дуже гнучкі суглоби, високий зріст, вади серця. Частота новонароджених з синдромом Марфана в різних популяціях

людини коливається в межах 1:3000 – 1: 10000. Білок фібрилін-1 є необхідний для правильного формування екстрацелюлярного матриксу, а саме біогенезу і підтримання еластичних волокон. Частота синдрому Марфана не залежить від раси чи етносу. Інтелектуальний розвиток хворих на синдром Марфана нормальний, більше того, деякі відомі талановиті люди страждали на синдром Марфана.



Хвора на синдром Марфана.

Синдром Холт-Орама

Аутосомно-домінантне захворювання обумовлене різними мутаціями гена TBX5 (ідентифіковано більше 70 різних мутацій цього гена, що обумовлюють синдром Холт-Орама), що розташований в 12 хромосомі і кодує білок TBX5. Існують різні форми цього синдрому в залежності якого яка ділянка гена зачеплена мутацією. При цьому синдромі мають місце аномалії: вади розвитку передніх кінцівок аж до повної їх відсутності, вади розвитку фаланг пальців, вади розвитку серця. Частота серед

новонароджених – 1:100 000. Патологія названа на честь лікарів Мери Холт та Самуеля Орама, що описали цю спадкову хворобу в 1960 році.



Мати і син хворі на синдром Холт-Орама.



Кисть руки хворих на різні форми синдрому Холт-Орама.

Синдром Бьорта-Хога-Д'юба

Аутосомно-домінантне спадкове захворювання обумовлене мутацією гена *FLCN*, що розташований в 17 хромосомі. При цій патології має місце вроджений пухлинний процес шкіри, легень, нирок.



Шкіра людини хворої на Синдром Бьорта-Хога-Д'юба.

Синдром Бушке-Оллендорф

Синдром названий на честь лікарів Авраама Бушке та Елен Оллендорф-Курт, що описали цю свадкову патологію в 1928 році. Аутосомно-домінантне захворювання обумовлене мутацією гена *LEMBD 3*, що розташований в довгому плечі 12 хромосоми в області 12q14. При цій патології простежуються дерматофіброз, розумова відсталість, епілепсія, аномалії кісток, скелету, зокрема, фаланг пальців, аномалії шкіри щільної консистенції світло-жовтого кольору. Рідше трапляються аномалії хребта, ребер, грудини, черепа.

Синдром херувізму

Назва синдрому пов'язане з тим, що в середньовічних скульптурах зображали херувимів з сильно збільшеними

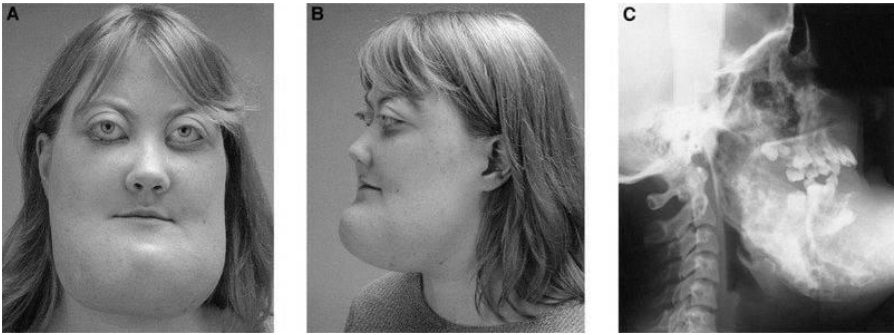
нижніми щелепами, що і простежується при цій спадковій хворобі.



Аномалії скелету кисті рук людини при синдромі Бушке-Оллендорф.

Синдром херувізму (спадкова фіброзна остеодисплазія) – аутосомно-домінантне захворювання, що проявляється в формі дефекту нижньої частини обличчя, обумовлене мутацією гена SH3BP2, що розташований в короткому плечі 4 хромосоми, в області 4p16.3. Внаслідок мутації цього гена утворюється гіперчутливість імунної системи, клітини якої сприймають власні клітини організму, зокрема клітини кісткової тканини – остеобласти як чужі. Знищується кісткова тканина в нижній щелепі, утворюються кисти, нижня щелепа розростається. Патологія вперше була описана лікарем В. Джонсоном в 1933 році в Канаді. Захворювання починає проявлятися в перші роки життя. Якщо крім нижньої щелепи вражається верхня щелепа, то вражаються також орбіти очей. Гістологічна картина проявляється у вигляді великої кількості клітинно-волокнистої

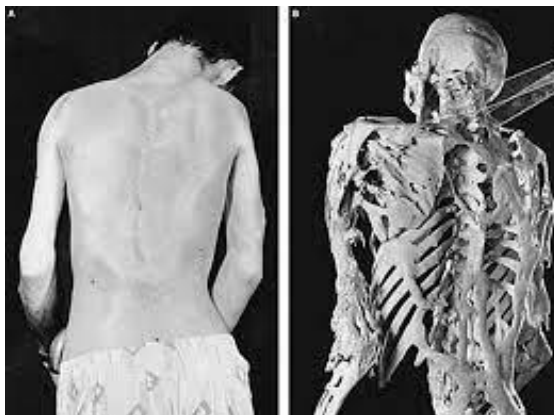
фіброзної сполучної тканини з вузликами сукупчення остеокластів з округлими та овальними мономорфними ядрами.



Хвора з синдромом херувізму.

Синдром фібродисплазії

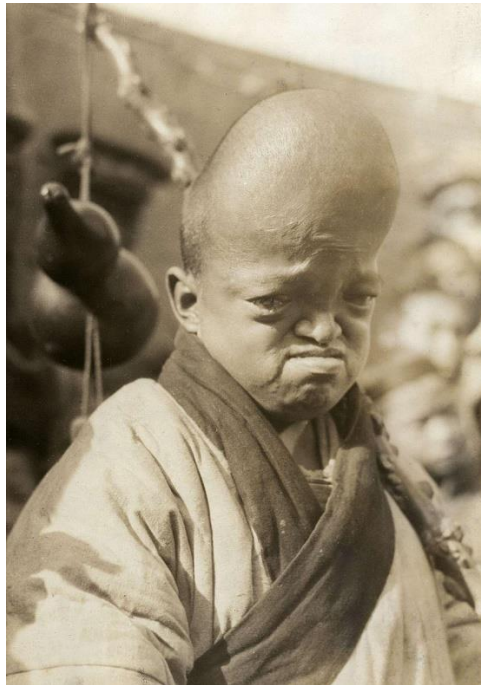
Аутосомно-домінантне моногенне спадкове захворювання, що обумовлене мутацією гена *ACVPL/ALK2*, розташованого в довгому плечі 2 хромосоми в області 2q23-24. Патологія проявляється в тому, що в хворого м'яка сполучна тканина замінюється на кісткову і організм вкривається свого роду панциром, що завдає нестерпних страждань пацієнту.



Тіло і скелет хворого на синдром спадкової фібродисплазії.

Синдром Пфайффера

Аутосомно-домінантне спадкове захворювання. Патологія проявляється в ранньому зрощуванні кісток черепа з подальшою деформацією черепа, порушенням розвитку мозку. Причина патології – мутації в генах *FGFR1* (розташований в хромосомі 8) та *FGFR2* (розташований в хромосомі 10), що кодують рецептори фактору росту фібробластів. Розрізняють різні типи захворювання, що обумовлюються різними мутаціями: форма 1 (класична форма), форми 2 та 3 (важкі форми, смертність в дитинстві, мутації гена *FGFR2*). Хворі на форму 1 мають переважно нормальний інтелект і нормальну тривалість життя, але спотворений череп. Частота патології 1:100000 новонароджених. Хвороба названа на честь Рудольфа Артура Пфайффера (1931 – 2012), що описав цю патологію в 1964 році.



Хворий на синдром Пфайффера.

Синдром Ашара

Аутосомно-домінантне захворювання. Проявляється у вигляді порушень сполучної тканини, що має наслідком арахнодактилію, брахіцефалію, порушення розвитку кісток, прогенії нижньої щелепи, гіпермобільності суглобів, малої довжини великих пальців рук та ніг. Статура звичайна, не видовжена. Немає характерних для синдрому Марфана патологій очей та серця. Патологія названа на честь лікаря Еміля Шарля Ашара (Emile Charles Achard) (1860 – 1944), що описав цю патологію в 1902 році і довів, що ця патологія відмінна від синдрому Марфана.

Синдром Муїр-Торре

Аутосомно-домінантне спадкове захворювання. Хворі схильні до онкологічних захворювань товстого кишківника, сечостатевої шляхів, шкіри. Причиною патології є мутації генів MLH1, MSH2, MSH6, що відповідають за процес репарації помилкового спарування основ ДНК. Мутації цих же генів можуть викликати синдром Туркота. Патологію описали лікарі Едвард Грайндер Муїр та Дуглас Торре в 1960-тих роках. Генрі Лінч у 1980-тих роках продемонстрував, що синдром Муїр-Торре часто трапляється в родинах хворих на синдром Лінча. Синдром Лінча – спадкове аутосомно-домінантне захворювання, що пов'язаний з високим ризиком різних онкологічних захворювань, пов'язаний з мутаціями генів, що відповідають за репарацію ДНК.

Синдром Герстмана-Штройслера-Шейнкера

Аутосомно-домінантне захворювання. У хворих на цю спадкову патологію спонтанно з'являється в організмі пріон PrP^{sc} у результаті мутації гена PrP^c, що розташований в 20 хромосомі. Внаслідок цього розвивається енцефалопатія, нейродегенерація. Хвороба прогресує від 3 місяців до 13 років, після чого настає смерть. Патологія вражає людей віком від 20 до 60 років. Патологія описана групою австрійських лікарів - Йозефом Герстманом, Ернстом Штройслером та Іллею Михайловичем Шейнкером в 1936 році і названа їхніми іменами.

Синдром Віллебранда

Розрізняють спадкову і неспадкову форму синдрому Віллебранда. Основна спадкова форма цього синдрому – аутосомно-домінантне спадкове захворювання, окремі типи синдрому Віллебранда є аутосомно-рецесивні. Проявляється в формі епізодичних кровотеч, що пояснюються дефіцитом фактору фон Віллебранда, що бере участь в адгезії тромбоцитів на колагені і захищає VIII фактор згортання крові від протеолізу. При дефіциті фактора фон Віллебранда, VIII фактор згортання крові піддається протеолізу і його вміст у плазмі знижується. Крім того при синдромі Віллебранда знижується вміст серотоніну в крові і розвивається патологічна дилатація судин та підвищення їх проникності. При синдромі Віллебранда спостерігаються найдовші кровотечі через те, що у хворих порушені всі три ланки гемостазу. Щодо спадкової форми синдрому Віллебранда розрізняють три типи і чотири підтипи: I, II (включає підтипи A, B, M, N), III.

I тип обумовлений частковим кількісним дефіцитом фактору Віллебранда. При цьому його мультимірна структура збережена. Наявне зниження прокоагулянтної активності фактора VIII, агрегації тромбоцитів, індукованої ристоцетіном, ристоцетінкофакторної активності, антигену фактора Віллебранда. Частота даної форми становить від 75 % до 80 % усіх випадків синдрому Віллебранда. Успадкування аутосомно-домінантне.

II тип обумовлений якісними змінами фактору Віллебранда, пов'язаний з порушенням утворення мультимерів і поділяється на підтипи: 2A, 2B, 2M, 2N. Успадкування цього типу синдрому Віллебранда аутосомно-домінантне, але успадкування синдрому підтипу 2N аутосомно-рецесивне. Частота цієї форми становить від 5 % до 15 % усіх випадків синдрому Віллебранда. Фенотип підтипу 2A є результатом порушення двох різних механізмів: дефекту синтезу високомолекулярних мультимерів та підвищення протеолізу фактору Віллебранда. При підтипі 2B відзначається підвищена спорідненість фактору Віллебранда до рецептора на мембрані тромбоцитів глікопротеїну Ib. Підтип 2B

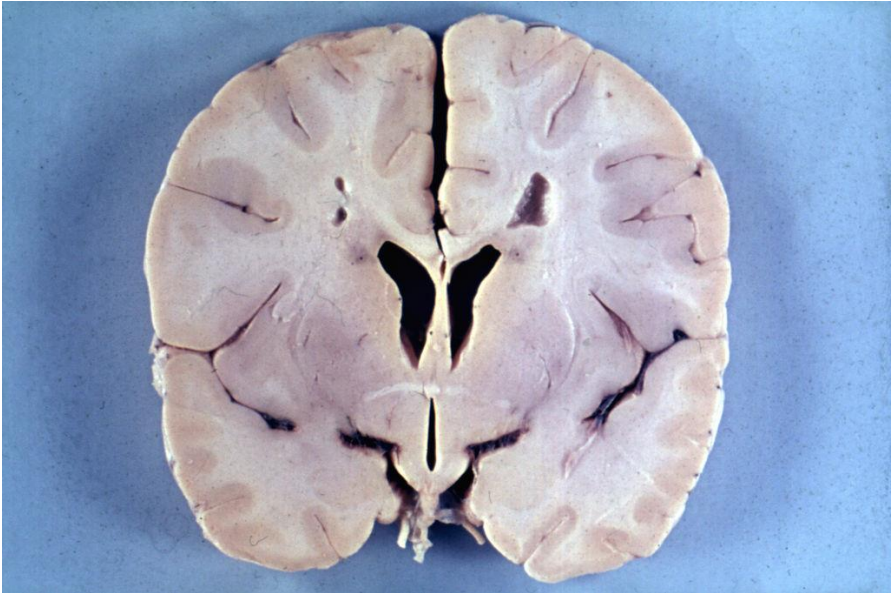
– дефект «посилення функції» - здатність дефектного фактору Віллебранда зв'язуватись з глікопротеїном 1 (GP1) рецептора на мембрані тромбоцитів аномально підвищена, що має наслідком спонтанний зв'язок з тромбоцитами і подальший швидкий кліренс. Може виникнути тромбоцитопенія, а великі мультимери Віллебранда зникнути з циркуляції. Підтип 2M характеризується порушенням зв'язуючого фактора Віллебранда з рецептором глікопротеїну Ib на мембрані тромбоцитів. Підтип 2N характеризується нормальним рівнем фактора Віллебранда і низькою прокоагулянтною активністю, що зумовлено порушенням зв'язування фактору VIII і фактору Віллебранда. 3-й тип — найбільш важка форма з повним дефіцитом фактору Віллебранда. Ця форма характеризується відсутністю фактору Віллебранда в плазмі крові, тромбоцитах і судинній стінці. Рівень фактора VIII нижче 10 %. Успадкування — аутосомно-рецесивне. Захворювання проявляється у гомозигот з однаковими дефектними алелями або у подвійних гетерозигот з двома відмінними дефектними алелями. Частота III типу синдрому Віллебранда – менше 5 % від усіх випадків цього синдрому.

Патологія названа на честь фінського педіатра Еріка Адольфа фон Віллебранда, що вперше описав це захворювання в 1926 році.

Синдром Александра

Аутосомно-домінантне спадкове захворювання. Патогенез полягає у враженні головного мозку, нейродегенерації. Супроводжується деградацією мієліну, що захищає нейрони. Вражається переважно мозочок і середній мозок. Причина патології – мутація гену, що кодує гліальний фібрилярний кислий білок. (ГФКБ - GFAP). Ген розташований в 17 хромосомі в області 17q21. Найпоширеніша є інфантильна форма цієї патології, при якій патогенез починається у віці до 2 років. Симптоми полягають у затримці психічного та фізичного розвитку, аномальному збільшенні голови, судомах. Ювенільна форма цієї патології починається у віці від 2 до 13 років. У хворих

порушується координація рухів, моторика, ковтання. Дорослі форми зустрічаються набагато рідше. Патогенез завершується летально. Патологію вперше описав новозеландський лікар Вільям Стюарт Александер у 1949 році.



Мозок хворого на синдром Александера.

Синдром Аазе-Сміта

Аутосомно-домінантне захворювання. Патогенез полягає в гіпопластичній анемії, аномаліях та деформаціях скелету і окремих кісток. При цьому кістковий мозок розвинений недостатньо. На великих пальцях наявні три фаланги. Спостерігається порушення суглобів та вузькі плечі, бліда шкіра. Частими є вади серця, зокрема дефект міжшлуночкової перетинки. Генетичний механізм цієї патології досі невідомий. Патологія названа на честь американських педіатрів Йона Мортон Аазе (нар. 1936) та Девіда Вея Сміта (1926 – 1981), що описали цю хворобу у 1968 році.



Руки хворого на синдром Аазе-Сміта

Деякі аутосомно-рецесивні спадкові хвороби людини

Синдром Дабіна-Джонсона

Хвороба названа на честь лікарів Ізідора Натана Дабіна та Франка Б. Джонсона, що описали цю спадкову хворобу. Причиною синдрому є мутація гену, що кодує білок MRP-2, який здійснює транспорт аніонів через клітинну мембрану, виділення глюкорунованого білірубину в жовчні каналці. Внаслідок цього жовч не може повноцінно переходити з гепатоцитів в жовчні капіляри, що призводить до накопичення білірубину в печінці і зворотного переходу кон'югованого (прямого) білірубину в кров. Патогенез проявляється у вигляді в першу чергу у враженні печінки, що набуває темного, майже чорного кольору, жовтяниці, накопиченню білірубину в печінці.



Хворий на синдром Дабіна-Джонсона.

Синдром Канавана-Ван Богерт-Бертрана

Аутосомно-рецесивне спадкове захворювання, що обумовлене мутацією гена ASPA, який розташований в короткому плечі 17 хромосоми в області 17p13.2. При цьому синдромі синтезується аномальний фермент аспартоацилази. При цій патології простежується макроцефалія, аномалії нервової системи, конвульсії, порушення мієлінової оболонки нервів, розвивається сліпота. Смертність настає переважно у віці до 10 років, переважно до 4 років, в залежності від форми хвороби – яка саме ділянка гена зачеплена мутацією. Патогенез починається в ранньому дитинстві і швидко розвивається. Патологічний ген особливо поширений в популяції гебреїв-ашкеназі.



Батько з сином, що хворий на синдром Канавана-Ван Богерт-Бертрана.

Синдром Куфса

Синдром Куфса (спадковий восковидний ліпофусциноз нейронів) - аутосомно-рецесивне захворювання. Обумовлюється мутаціями генів CLN4, що розташовані в довгих плечах 15 та 20 хромосом в областях 15q21-23 та 20q13.23 відповідно. В залежності від того який ген вражений мутацією (і присутній в ненотипі в гомозиготі) розрізняють а та b форми синдрому Куфса. Патологія лізосомна – внаслідок неправильної роботи ферменту в лізосомах накопичується сапозіни А та D. При цьому вражається нервова система: мають місце судоми, епілепсія, атаксія (порушення координації рухів), тремор, дизартрія (труднощі з мовленням), інтелектуальна деградація, порушення психіки. Більшість пацієнтів помирають протягом 15 років від початку прояву синдрому.



Хвора на синдром Куфса і враження нервової системи при синдромі Куфса.

Синдром Кріглера-Найяра

Аутосомно-рецесивна спадкова хвороба обумовлена мутацією гена *UGT1A1*, що розташований в довгому плечі 2 хромосоми в області 2q37. При цьому дефектним є фермент урідиндифосфатглюкуронідаза. Вражається нервова система, накопичується білірубін, розвивається енцефалопатія, деградація базальних гангліїв. Розрізняють дві основні форми: I та II і більше 10 мутацій тільки форми II. Частота патології серед новонароджених 1:1 000 000.

Синдром Фарбера

Аутосомно-рецесивна спадкова хвороба обумовлена мутацією гена *ASAH1*, що кодує фермент керамідазу. Це лізосомне захворювання. При цій патології в лізосомах накопичується керамід, внаслідок чого розвивається патологія суглобів, печінки, центральної нервової системи, нирок. Патологія названа на честь лікаря Сідні Фарбера, що вперше описав цю хворобу в 1952 році.



Хворий на синдром Кріглера-Найяра.



Хворий на синдром Фарбера.

Синдром Німанна-Піка

Аутосомно-рецесивне лізосомне спадкове захворювання причиною якого є мутації генів NPC1, NPC2, SMPD1. Відповідно до того який саме ген мутантний розрізняють три основні форми: А, В, С. Ці гени кодують лізосомні сфінгомієлази. При цій патології простежується порушення транспорту холестеролу та ліпідів. Вражаються центральна нервова система, печінка, легені.



Дитина хвора на синдром Німанна-Піка.

Муковісцидоз (кістозний фіброз)

Найпоширеніше в популяціях людини аутосомно-рецесивне спадкове захворювання. Причиною захворювання є мутації в гені CFTR, що розташований в довгому плечі 7 хромосоми в області 7q 31. Білок, що кодує ген CFTR відповідає за транспорт йонів хлору через біліпідну мембрану. Існує 2 основні форми муковісцидозу: кишківникова та легенева. Кишківникова форма більш важка і викликає смерть пацієнтів у віці 0 – 3 року. Легенева форма завершується заповненням легень слизом і некрозом легень – пацієнти гинуть переважно у віці до 14 років, хоча сучасні методи терапії при легких легневих формах дозволяють значно продовжити життя пацієнтів.



Дитина хвора на муковісцидоз.

Синдром Тея-Сакса

Аутосомно-рецесивне спадкове захворювання. Причина – мутація гена *HEXA*, що розташований в 15 хромосомі і кодує фермент Фермент бета-N-ацетилгексоамінідазу А. Синдром Тея-Сакса лізосомне захворювання. Час життя хворих – переважно до 4 років. Але є різні форми захворювання в залежності від ділянок гену, який зачеплений мутацією. Патогенез полягає в деградації мозку, розвитку сліпоти та глухоти.

Синдром Коккейна (Ніл-Дінгоулл)

Аутосомно-рецесивне спадкове захворювання. Причина – мутація гена *ERCC6*, який ще позначають як *CSB* або як *CSA*. Цей ген – один із генів, що відповідають за репарацію ДНК – ремонт ушкодженої молекули ДНК. Патогенез синдрому Коккейна супроводжується враженням центральної нервової

системи, мікроцефалією, карликовим ростом, деградацією зору та слуху, високим ризиком онкологічних захворювань.



Дитина хвора на синдром Тея-Сакса.



Дитина хвора на синдром Коккейна.

Фенілкетонурія

Аутосомно-рецесивне спадкове захворювання. Причина патогенезу – дефіцит ферменту фенілаланін-4-гідроксилази чи його кофактору тетрагідротіоптерину. У нормі цей фермент переробляє фенілаланін в тирозин. Ген, що обумовлює синтез цього ферменту розташований в довгому плечі 12 хромосоми в області 12q 22-24. Описана в 1924 році Феллінгом. У хворих на цю патологію порушений метаболізм амінокислоти фенілаланіну, в результаті чого ця амінокислота накопичується в організмі. Аномально висока концентрація фенілаланіну перешкоджає нормальному розвитку та функціонуванню мозку. При відсутності відповідної терапії вражається нервова система, розвивається розумова відсталість. При народженні дитина виглядає здоровою, але через кілька місяців стає очевидне порушення психічного розвитку. Хворі діти мають незвичайний запах фенілоцтової кислоти. Часто у нелікованих дітей простежується мікроцефалія, судоми, відставання в рості. При лікуванні (точніше корекції) захворювання застосовується спеціальна дієта та суміші, що містять різні амінокислоти крім фенілаланіну.

Синдром Жильбера

Аутосомно-рецесивне (зрідка аутосомно-домінантне) спадкове захворювання. Патогенез проявляється у вигляді пігментного гепатозу, підвищенням рівня непрямого білірубину в крові внаслідок порушення внутрішньоклітинного транспорту білірубину в гепатоцитах до місця його з'єднання з глюкоуроновою кислотою. Причина – аномальний білок UGT1A1, що кодується відповідним геном, що розташований в короткому плечі 2 хромосоми. Патологію вперше описали в 1900 році французькі лікарі Августин Ніколя Жильбер та П'єр Леребулле. Хоча деякі дослідники не погоджуються з цим і вважають, що правильно цю патологію описав лікар Йенс Мейленграхт у 1939 році і тому називають цю патологію синдром Мейленграхта. Частота в популяціях людини 1 – 5 %. Найчастіше трапляється в африканців. Перебіг хвороби переважно доброякісний.



Людина хвора на синдром Жильбера.

Талассемія

Є різні форми талассемії: є аутосомно-домінантні, є аутосомно-рецесивні форми захворювання. Назва походить від грецького слова «таласса» - Середземне море. Мається на увазі, що райони, де часто зустрічається це захворювання були в свій час виявлені в середземноморському регіоні, зокрема на острові Сардинія. Причина патології – аномальні гемоглобіни, що синтезуються в результаті мутацій відповідних генів, зокрема делецій відповідних генів. Ці мутації викликають дефекти одного з чотирьох поліпептидних ланцюгів гемоглобіну. При цьому відбувається деформація молекули гемоглобіну з подальшою деформацією еритроцитів, порушенням їх функції та високим рівнем руйнування еритроцитів. Внаслідок цього розвивається анемія. У зв'язку з тим, що є різні форми гемоглобіну з різними білковими ланцюгами: α , β , γ , δ , розрізняють наступні форми талассемії: α -форма, β -форма, γ -форма, δ -форма, β - δ -форма. Хвороба поширена в тропіках, у Південно-Східній Азії в зв'язку з тим, що хворі на талассемію не хворіють на малярію. Тому інколи цю патологію називають анемія кулі (за назвою китайських низькокваліфікованих робітників). Патологія

починає проявлятися в дитинстві. Характерними симптомами є блідо-жовтяничний колір шкіри, загальна слабкість, втомлюваність, відставання в фізичному та статевому розвитку, знижений імунітет. Часто зустрічаються деформації кісток, баштоподібний череп, звужені очі, збільшені щелепи, трофічні виразки на гомілкях, збільшення печінки та селезінки, темний колір сечі.

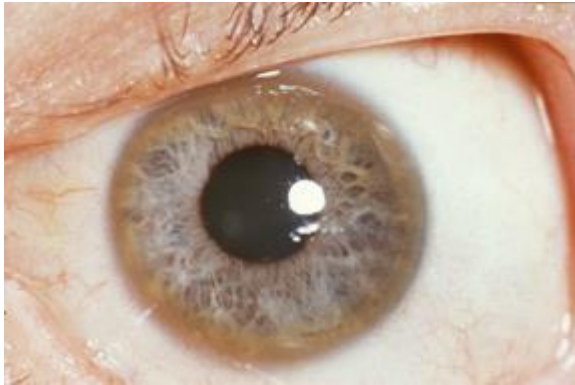


Хворий на синдром Ларона чоловік поруч з дітьми.

Синдром Ларона

Аутосомно-рецесивне захворювання. Проявляється у формі карликовості. Причина патології – дефект рецептора гормону росту – GHR (соматотропіну – соматотропного гормону - СТГ) або (рідше) дефектами самого гормону СТГ. Ген, що кодує рецептор СТГ розташований в короткому плечі 5 хромосоми, ген, що кодує соматоденін С – IGF-1 розташований в довгому плечі 12 хромосоми, ген, що кодує соматотропін розташований в 17 хромосомі в області 17q 22-24. Резистентність до гормону росту

соматомедіну С виявлена в африканських пігмеїв. Патологія вперше була описана в 1966 році лікарем Цві Лароном (צבי לרון), що був родом із Чернівців. Цікавими фактами є те, що хворі на синдром Ларона на хворіють на онкологічні захворювання та діабет і в мутантних клітинах цих хворих спостерігається підвищений рівень апоптозу. Середній зріст хворих на синдром Ларона чоловіків 130 см, а жінок 120 см. Частота патології 1: 1 000 000 новонароджених.



Кільце Кейзера-Флайшера у пацієнта з синдромом Вільсона.

Синдром Вільсона

Спадкове аутосомно-рецесивне захворювання. Патогенез проявляється у вигляді накопичення міді в тканинах та органах. Як наслідок цього – неврологічні та психічні розлади, враження печінки. Крім цього, вражаються очі, нирки, серце, порушується синтез гормонів, виникає безпліддя. Причинами патології є мутації генів *ATP7B*, що знаходиться в 13 хромосомі в області 13q14.3 і кодує фермент АТФ-аза Р-типу, що транспортує йон міді. Мідь виконує багато функцій в організмі, входить до складу кофакторів багатьох ферментів (церулоплазмін, цитохром С-оксидаза, дофамін- β -гідроксилаза, супероксиддисмутаза, тирозиназа та ін.). При порушенні транспорту катіонів міді синтез цих ферментів порушується. При відсутності лікування

хвороба швидко прогресує і призводить до смерті пацієнта. Корекція захворювання дозволяє значно полегшити перебіг та продовжити життя пацієнтів. Патогенез починається у віці 6 – 20 років. Частота патології серед новонароджених 1-4:100 000. Патологія названа на честь британського лікаря Семюеля Александра Кіннієра Вільсона (1878 – 1937), що описав цю патологію в 1912 році.

Основні генетичні позначення

A – домінантний алель.

a – рецесивний алель.

Aa – гетерозигота.

AA, aa – гомозиготи.

P: - батьківське покоління.

F₁, F₂ – перше, друге покоління нащадків.

c⁺ або + - алель дикого типу.

c⁺ c^{ch} або c⁺ / c^{ch} – диплоїдний генотип, гетерозигота.

Aa Bv – гени розташовані в різних хромосомах, комбінуються незалежно.

Ac / aC – гени розташовані в одній хромосомі, комбінуються зчеплено.

Дигібридне і полігібридне схрещування

Дигібридне схрещування – це схрещування, в якому вивчається успадкування одночасно двох пар генів.

При дигібридному, тригібридному чи полігібридному схрещуванні виникають нові комбінації генів чи ознак, що відсутні у батьківському поколінні. Такий процес називається **рекомбінація**. Прикладом рекомбінацій може бути успадкування ознак кольору клітин і наявності очка у хламідомонади.

Якщо ми схрестимо хламідомонаду зелену, очко наявне з хламідомонадою жовтою, без очка отримаємо нащадків з новими комбінаціями цих ознак: отримаємо, крім особин з ознаками, що були у батьків хламідомонад жовтих, очко наявне; зелених, без

очка. (Нагадую, хламідомонади істоти гаплоїдні, диплоїдна тільки зигота).

G – ген, що обумовлює зелений колір клітин

g – ген, що обумовлює жовтий колір клітин

H – ген, що обумовлює наявність очка

h – ген, що обумовлює відсутність очка

P: GH X gh

GgHh – зигота

F₁: GH, Gh, gH, gh

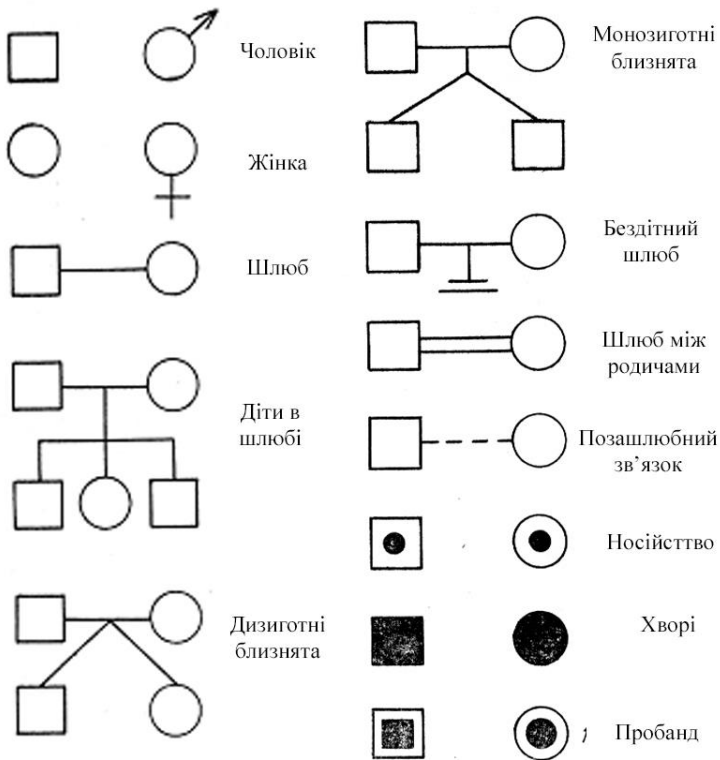


Рис. 7. Основні генетичні позначення при складанні родоводів.

Розщеплення обох пар генів при дигібридному схрещуванні відбувається незалежно, якщо ці гени розташовані у різних хромосомах. Прикладом такого незалежного

комбінування є успадкування забарвлення личинок та імаго у тутового шовкопряду.

P – темні смуги на гусені (Т)

p – світла гусинь (С)

B – білий метелик (Б)

b – метелик з темною каймою на крилах (К)

P: ♀ PP BB X ♂ pp bb

Т Б С К

F₁ : Pp Bb – Т Б

F₂ :

	PB	Pb	pB	pb
PB	PPBB Т Б	PPBb Т Б	PpBB Т Б	PpBb Т Б
Pb	PPBb Т Б	PPbb Т К	PpBb Т Б	Ppbb Т К
pB	PpBB Т Б	PpBb Т Б	ppBB С Б	ppBb С Б
pb	PpBb Т Б	Ppbb Т К	ppBb С Б	ppbb С К

Розщеплення 9:3:3:1

Зчеплення генів – явище, при якому гени розташовані в одній хромосомі, порушує закон незалежного комбінування.








Полігенне успадкування ознак у людини

Прикладом полігенного успадкування ознаки у людини є успадкування кольору шкіри. Колір шкіри у людини визначається, в основному, коричневим пігментом меланіном. Частка меланіну в шкірі обумовлена генетично, однак в рамках певного інтервалу вона залежить і від інтенсивності ультрафіолетового випромінювання, що потрапляє на шкіру – є певні модифікації щодо кольору шкіри. Другим важливим фактором, що визначає колір шкіри, є природа кровоносних судин, що знаходяться під нею. Залежно від міри їх розширення

або, навпаки, звуження, спостерігається почервоніння або блідість.

Колір шкіри не однаковий по всьому тілу. Долоні і ступні містять мало меланіну, і тому шкіра на них світліша решти шкіри. Губи, як і слизові оболонки, червоного кольору, який їм надають кровоносні судини, розташовані відносно близько до тонкого і практично прозорого шару шкіри. Шкіра на кінчиках пальців, на вухах і на носі також трошки червонуваті, так як кровоносні судини також розташовані поруч з поверхнею. У районі сосків шкіра темніша внаслідок підвищеної концентрації меланіну.

Колір шкіри є результатом пристосування певної популяції до інтенсивності сонячного випромінювання в її географічному ареалі. Меланін при цьому виконує функції захисту від ультрафіолетового випромінювання зірки на ім'я Сонце, без нього шкіра б старіла значно швидше, а також був би підвищений ризик захворювання на рак шкіри. Меланін запобігає впливу ультрафіолетового випромінювання, що пошкоджує генетичний апарат клітин шкіри і викликає мутації.

Локус 1	d^1d^1	d^1D^1	d^1D^1	D^1D^1	D^1d^1	D^1d^1	D^1D^1
Локус 2	d^2d^2	d^2d^2	d^2D^2	D^2d^2	D^2d^2	D^2D^2	D^2D^2
Локус 3	d^3d^3	d^3d^3	d^3d^3	d^3d^3	D^3D^3	D^3D^3	D^3D^3
Загальна кількість генів, що обумовлюють темну пігментацію шкіри	0	1	2	3	4	5	6
							
	Дуже світлий		Смуглий			Дуже темний	

Полігенне спадкування пігментації шкіри в людини

Рис. 8. Деякі гени та локуси геному людини, відповідальні за успадкування ознаки кольору шкіри людини. Приклад полігенного успадкування ознаки.

Перші люди виду *Homo sapiens* були темношкірими, що в умовах центральної і східної Африки забезпечувало їм захист від ультрафіолетового випромінювання. У частині популяцій, що переселилися з Африки в більш північні широти, закріпилася мутація, яка забезпечує більш світлий відтінок шкіри і кращий синтез вітаміну D. Існує також теорія про те, що депігментація сталася внаслідок принципової зміни в раціоні харчування (збільшення частки вуглеводів з переходом до сільського господарства близько 10 тисяч років тому). Є також теорія, що світлий колір шкіри був притаманний іншому виду людини – неандертальцям. І ген світлого кольору шкіри вид *Homo sapiens* отримав від неандертальців, коли ці два види ще не були розділені, були підвидами і була можлива гібридизація в місцях контакту цих двох гілок еволюції роду людина.

У жінок шкіра в середньому на 3 - 4 % світліша, ніж у чоловіків. У альбіносів меланін відсутній повністю через генетичну мутацію. Внаслідок цього у них абсолютно світла, безколірна не тільки шкіра, але і волосся і роги́вка очей.

В сучасних популяціях з темною шкірою асоційовані варіанти генів SLC24A5 (G) і MFSD12 (T), зі світлою шкірою — варіанти генів SLC24A5 (A) і MFSD12 (C).

У геномі людини вісім ділянок особливо пов'язані з рівнем пігментації шкіри. Сім більш блідих варіантів шкіри з'явилися приблизно 270 тисяч років тому. Чотири з них виникли понад 900 тисяч років тому. Дві мутації, пов'язані зі зниженою активністю гена MFSD12, знайдені у африканців з дуже темною шкірою, з'явилися близько 500 тисяч років тому. Ген DDB1 грає важливу роль в ремонті ДНК після впливу ультрафіолету і, відповідно, знижує ризик меланоми. В африканських популяціях висока частота захисних алелей, і, як наслідок, меланома практично не зустрічається. Вчені виявили, що ген DDB1 за межами Африки знаходиться під сильним тиском добору. Мутації, асоційовані з темною шкірою, в неафриканських популяціях почали вимиватися з популяцій від 80 до 60 тисяч років тому. Мутація rs1426654 (A) в гені SLC24A5 на хромосомі 15, пов'язана зі

світлою шкірою, поширена в Європі, Північній Індії, Пакистані, у деяких східноафриканських афроазійських популяцій в Ефіопії і Танзанії, які мають генетичний внесок з Південної Азії і з Близького Сходу, (28-50%), у південноафриканських банту і бушменів в Ботсвані (5-11%). В Єврозії популяції з мутацією rs1426654 (A) розділилися близько 29 тис. років тому (від 31 до 28 тис. років тому). В Африку алель rs1426654 (A) потрапив в результаті потоку генів під час зворотної міграції неафриканців із Західної Єврозії в Східну Африку більше 5 тисяч років тому (від 9 до 3 тис. років тому). Стародавні жителі Європи епохи палеоліту і мезоліту – кроманьйонці були темношкірими. Вперше гени SLC24A5 і SLC45A2, які призводять до депігментації та освітленню шкіри, були виявлені в останках древньої людини, що жила на території сучасної Швеції близько 7700 років тому. У гена MFSD12 виявлено варіант, який викликає його підвищену експресію і світлий колір шкіри. Він зустрічається лише у індіанців і у жителів Східної Азії.

Типи схрещувань

Методи схрещування лежать в основі гібридологічного аналізу. Крім моногібридних, дигібридних, тригібридних, полігібридних розрізняють ще такі типи схрещувань:

1) реципрокні схрещування – два досліди по схрещуванню з прямо протилежними поєднаннями статі та досліджуваних ознак. Наприклад: ♀AAX ♂aa і ♀aa X ♂AA. Використовується для дослідження ролі статевого фактору щодо успадкування ознак;

2) зворотне схрещування (бекрос) – схрещування нащадків першого покоління гібридів з однією з батьківських форм;

3) аналізуюче схрещування – схрещування особини, генотип якої невідомий, яка є носієм домінантної ознаки з рецесивною гомозиготою (аналізатором).

ПРИЧИНИ ВІДХИЛЕННЯ ВІД ЗАКОНІВ МЕНДЕЛЯ

Розрізняють дві групи причин відхилення від законів Менделя:

- 1) Відхилення внаслідок причин, що не зачіпають механізм успадкування – статистичні або стохастичні причини.
- 2) Відхилення внаслідок причин, що зачіпають механізм успадкування: зчеплення зі статтю, зчеплення генів. Успадкування через цитоплазму, кросинговер, диференційна летальність, наявність генів-модифікаторів та інше.

Статистичні причини відхилення від законів Менделя

Розщеплення завжди виявляється посередньо – за числовим співвідношенням фенотипічних класів. Дія генетичних законів завжди ускладнюється законами, що управляють будь-якими випадковими процесами, тому результати схрещувань мають статистичний характер: зустріч гамет явище випадкове. Існує певна імовірність того, яка саме гамета може з'єднатись з іншою певною гаметою. Існують розміри можливих відхилень від теоретично очікуваного співвідношення у нащадків, які викликаються статистичними причинами, та існує метод визначення, чи ці відхилення вкладаються у ці розміри.

Для перевірки висунутої гіпотези про механізм успадкування існують спеціальні методи. Один із цих методів – метод «хі-квадрат» або метод Пірсона. Критерій «хі-квадрат» - критерій Пірсона вираховується за формулою:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Де :

O – фактично спостережене число особин в даному фенотипічному класі.

E – теоретично очікуване число особин в даному фенотипічному класі.

Для перевірки, в якій мірі спостережене розщеплення відповідає теоретично очікуваному результату, використовують спеціальну таблицю. Як правило, у задачах з генетики беруть допустиме значення ймовірності 0,05. Якщо значення критерію «хі-квадрат» більше ніж у стовпчику, що відповідає ймовірності 0,05, то розщеплення не відповідає гіпотезі, відхилення не є випадковим. Якщо значення «хі-квадрат» менше ніж у стовпчику, що відповідає ймовірності 0,05, то розщеплення відповідає гіпотезі, відхилення є випадковим, гіпотеза приймається. Число ступенів свободи рівне числу фенотипічних класів, зменшеному на один. Якщо у розпорядженні дослідника

мала вибірка (менше 10 особин), необхідно при вирахуванні «хі-квадрат» вносити поправку Єйтса – зменшення на 0,5 кожної різниці (O – E).

Генетичні причини відхилення від законів Менделя

Диференційована смертність

Диференційовану смертність можуть спричинювати певні гени. Гени, що викликають загибель організму на певних стадіях розвитку, називаються **летальними генами (летелями)**. Прикладом летальних генів є ген жовтого забарвлення шерсті у мишей. При схрещуванні жовтих мишей ми завжди будемо отримувати розщеплення 2:1 (жовтих : чорних) і ніколи не зможемо вивести чисту лінію жовтих мишей. Це пояснюється тим, що гомозиготи по гену жовтого забарвлення шерсті мишей гинуть ще у ембріональному розвитку.

Y – ген, що обумовлює жовту шерсть мишей (Ж)

y – ген, що обумовлює не жовту шерсть мишей, наприклад, чорну (Ч).

P: ♂ Yy X ♀ Yy

F₁:

	Y	y
Y	YY леталь, гинуть	Yy жовті
y	Yy жовті	yy чорні

Подібна дія летальних генів, коли вони є летальними виключно у гомозиготі, називається **рецесивна летальна дія**.

Другим прикладом летальних генів є ген, що обумовлює сіре забарвлення каракуля. Цей ген – домінантний, у гомозиготі – летальний. Ss – сірий каракуль, ss – чорний каракуль, SS – леталь.

Крім летальних генів, відомі ще напівлетальні гени.

Напівлетальні гени – це гени, що в тій чи іншій мірі знижують життєздатність організму, але не призводять до 100 % смертності особин, що є носіями цих генів.

Іноді межа між летальними, напівлетальними і нормальними генами умовна – залежить від факторів зовнішнього середовища. Прикладом цього є мутація короткокрилості у дрозофіли – в одних умовах такий генотип є летальним, в інших умовах – напівлетальним і в умовах лабораторії ми можемо створити умови, при яких цей генотип не буде впливати на життєздатність. Напівлетальні гени бувають рецесивними і домінантними. Летальні гени з одного боку зменшують продуктивність їх носіїв, але вони не зникають з популяції по тій причині, що часто життєздатність гетерозигот вища, ніж обох гомозигот.

Неповне проявлення генів

Неповне проявлення генів – це явище, при якому дія гена на ознаку виявляється тільки при певних умовах середовища або в залежності від наявності чи відсутності інших генів. Прикладом є успадкування кольору квітів у китайської примули: китайська примула має рослини з білими і рожевими квітами. Ген рожевих – p^+ квітів домінує над геном білих квітів p ($p^+ > p$). Але ген p^+ проявляється тільки при температурах, нижчих за 30°C . Якщо ж температура вища за 30°C – квіти у цієї рослини будуть білі, навіть при генотипі $p^+ p^+$. Якщо ж температура буде коливатися біля 30°C , то рослини з рожевими і білими квітами будуть спостерігатися у дуже різних співвідношеннях від 3:1 до 0:1.

Вплив зовнішніх умов на характер домінування

Зовнішні умови можуть впливати на характер домінування – при певних умовах домінантні гени можуть перетворюватись на рецесивні. Прикладом цього явища є успадкування забарвлення тіла у дрозофіл. У дрозофіл є ген e (e) – обумовлює чорне забарвлення тіла і його алель e^+ - обумовлює дикий тип забарвлення тіла – сірий. При нормальних

температурних умовах ($t = 14 - 21^{\circ}\text{C}$) ген e (чорного тіла) проявляє часткове домінування над геном дикого типу (e^{+}). При температурах $t = 21-25^{\circ}\text{C}$ гетерозигота мало відрізняється від дикого типу, а при $t = 26 - 29^{\circ}\text{C}$ ген e з домінантного перетворюється у рецесивний.

Гени-модифікатори

Гени-модифікатори – це неалельні гени, які впливають на інші неалельні їм гени і фенотипічно проявляються по такій дії. Прикладом дії генів-модифікаторів може бути успадкування жилкування крил у дрозофіли. У дрозофіли є рецесивний ген vti , що викликає редукцію поперечних жилок крила дрозофіли. Ген дикого типу vti^{+} викликає розвиток нормального жилкування крил. Але на прояв гену vti впливають гени-модифікатори, які дуже ускладнюють успадкування. Серед генів-модифікаторів можна виділити дві великі групи генів: **гени-інтенсифікатори** – гени, що стимулюють функцію інших генів; **гени-супресори** – гени, що пригнічують функцію інших генів.

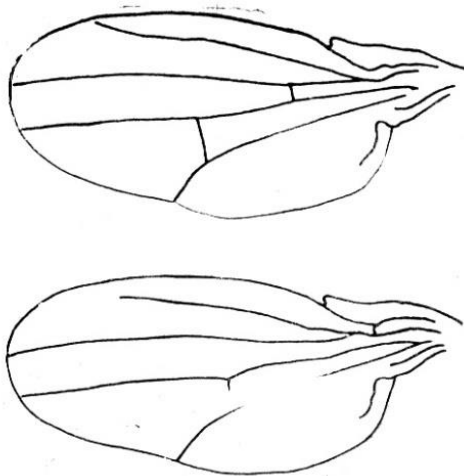


Рис. 9. Нормальне крило дрозофіли і крило, що проявляє ознаку vti .

Гени-супресори

Значне відхилення від чисельних співвідношень фенотипічних класів простежується при розщепленні, якщо дві або більше пари генів діють на одну і ту ж ознаку організму. Зокрема, до таких генів належать гени-супресори.

Гени-супресори – це гени, в присутності яких не можуть проявлятися інші неалельні їм гени, причому, такі гени-супресори не виявляють ніякої іншої дії на фенотип.

Прикладом дії гена-супресора є прояв гена пурпурного забарвлення очей у дрозофіли (pr). Цей ген рецесивний і в гомозиготі $pr\ pr$ зумовлює розвиток пурпурних очей. У гетерозиготі – $pr^+ pr$ забарвлення очей нормальне (дикий тип – червоні очі). Але ген pr проявляється тільки тоді, якщо в геномі присутній ген-супресор дикого дипу su^+ . Якщо в гомозиготі наявний ген-супресор $su\ su$, то відбувається супресія – подавлення прояву гена pr і у гомозиготи $pr\ pr$ пурпурного забарвлення очей немає – очі дикого типу. Тобто ген su є супресором гена pr . При схрещуванні гетерозигот розщеплення по фенотипу буде 13:3. Таке розщеплення є характерним для явища супресії – наявності в генетичній системі генів-супресорів, які можуть бути і домінантними і рецесивними, можуть супресувати і домінантні і рецесивні гени.

Бувають випадки, коли ген-супресор має прояв у фенотипі і в той же час служить супресором неалельного йому гена, що зачіпає ту ж ознаку. Таке явище називається **епістаз**. Ген-супресор в цьому випадку називається **епістатичним**, а ген, прояв якого подавлено, називається **гіпостатичним**.

Прикладом епістазу є успадкування масті у коней. Ген В обумовлює чорну масть, алельний йому ген в обумовлює руду масть, ген С обумовлює раннє посивіння, а його рецесивний алель с – відсутність раннього посивіння. Тоді при генотипах ВВ сс, Вв сс - чорна масть, вв сс – руда масть, при наявності домінантного гена С має місце явище епістазу і утворюється при генотипах ВВ Сс, вв Сс і т. д. – сіра масть.

Приклад дії генів-супресорів: схрестили дві чистих лінії дрозофіл – з пурпурними очима і з червоними очима:

P: ♀ pr pr su⁺ su⁺ X ♂ pr⁺ pr⁺ su su
 пурпурні червоні

F1: ♀ pr⁺ pr su⁺ su X ♂ pr⁺ pr su⁺ su
 червоні червоні

F2:

	pr+ su+	pr+ su	pr su+	pr su
pr+ su+	pr+pr+su+ su+ червоні	pr+ pr+su+ su червоні	pr+ pr su+ su+ червоні	pr+ pr su+ su червоні
pr+ su	pr+ pr+ su+ su червоні	pr+ pr+ su su червоні	pr+ pr su+ su червоні	pr+ pr su su червоні
pr su+	pr+ pr su+su+ червоні	pr+ pr su+su червоні	pr pr su+ su+ пурпурні	pr pr su+ su пурпурні
pr su	pr+ pr su+ su червоні	pr+ pr su su червоні	pr pr su+ su пурпурні	pr pr su su червоні

Розщеплення - 13:3

Іншим прикладом епістазу є успадкування забарвлення плодів у гарбуза. У цієї рослини ген W обумовлює біле забарвлення плодів, ген w – пігментне забарвлення плодів, ген Y – жовте забарвлення плодів, ген y – зелене забарвлення плодів. При генотипах WwYY, Wwyy – плоди будуть білі, а при генотипах wwYy – жовті, wwyy – зелені. Розщеплення при схрещуванні гетерозигот буде 12:3:1.

Якщо епістатичну дію проявляє рецесивний ген, то таке явище називається **криптомерія**. Прикладом криптомерії є успадкування забарвлення шерсті у миші домашньої. Забарвлення дикого типу миші домашньої – це забарвлення агуті – зональне забарвлення кожної волосини – основа і кінчик чорні – середина – жовта. Це забарвлення у миші обумовлюється домінантним геном A. У гетерозиготі Aa – забарвлення агуті, у рецесивній гомозиготі aa – суцільне (рівномірне) забарвлення. Але наявний ще один ген, що впливає на ту ж ознаку. Домінантний ген C викликає розвиток пігменту, а у рецесивній гомозиготі cc – пігмент шерсті не синтезується – виникають альбіноси. Ген c

проявляє криптомерію по відношенню до гена А – навіть у гомозиготі ААсс забарвлення агуті не виникає – виникає суцільне біле забарвлення шерсті. При схрещуванні гетерозигот розщеплення буде 9:3:4 (агуті : чорних : білих). Забарвлення особин з генотипами ААсс, Аасс, аасс буде однакове – біле, бо ген с супресує прояв генів А і а. Буває ще подвійний рецесивний епістаз або подвійна криптомерія, коли $aa > C$, $cc > A$.

Приклад епістазу: успадкування масті коней

P: ♀ AA cc X ♂ aa CC
 чорні сірі

F1: ♀ Aa Cc X ♂ Aa Cc
 сірі сірі

F2:

	AC	Ac	aC	ac
AC	AACC сірі	AACc сірі	AaCC сірі	AaCc сірі
Ac	AACc сірі	AAcc чорні	AaCc сірі	Aacc чорні
aC	AaCC сірі	AaCc сірі	aaCC сірі	aaCc сірі
ac	AaCc сірі	Aacc чорні	aaCc сірі	aacc руді

Розщеплення – 12:3:1

Приклад криптомерії: успадкування забарвлення шерсті мишей:

P: ♀ AACC X ♂ aacc
 агуті білі
 F1: ♀ AaCc X ♂ AaCc
 агуті агуті
 F2:

	AC	Ac	aC	ac
AC	AACC агуті	AACc агуті	AaCC агуті	AaCc агуті
Ac	AACc агуті	AAcc білі	AaCc агуті	Aacc білі
aC	AaCC агуті	AaCc агуті	aaCC чорні	aaCc чорні
ac	AaCc агуті	Aacc білі	aaCc чорні	aacc білі

Розщеплення – 12:3:4

Прикладом взаємодії неалельних генів є також **комплементарні гени** – неалельні гени, наявність яких необхідна в числі два або більше для розвитку однієї ознаки. Прикладом комплементарних генів є гени, що обумовлюють забарвлення плодів баклажанів. У баклажанів плоди бувають темно-синього і білого кольору. Темно-синє забарвлення плодів виникає тоді, коли рослина несе два домінуючих гени: D і P. Тоді при генотипах DDpp, ddPP – розвиваються білі плоди, а при генотипі DdPp – темно-сині плоди. При схрещуванні гетерозигот розщеплення по фенотипах буде 9:7 (білі : сині).

Іншим прикладом комплементарних генів є гени, що обумовлюють забарвлення личинок індійського дубового шовкопряда. Личинки у цього метелика бувають блакитні (генотип B_S_yy), зелені (B_S_Y_), жовті (bbS_Y_, bbssY_, B_ssY_), мигдальні (bbS_yy, B_ssyу, bbssyy). При схрещуванні комах з жовтими личинками з комахами з мигдальними личинками у нас може виникнути розщеплення 27:9:21:7.

Приклад домінантних комплементарних генів: схрестили дві чистих лінії баклажанів з синіми та білими плодами:

P: ♀ DD PP X ♂ dd pp
 сині білі

F1: ♀ DdPp X ♂ DdPp
 сині сині

F2:

	DP	Dp	dP	dp
DP	DDPP сині	DDPp сині	DdPP сині	DdPp сині
Dp	DDPp сині	DDpp білі	DdPp сині	Ddpp білі
dP	DdPP сині	DdPp сині	ddPP білі	ddPp білі
dp	DdPp сині	Ddpp білі	ddPp білі	ddpp білі

Розщеплення 9:7

Приклад рецесивних комплементарних генів: схрестили дві чистих лінії грициків з трикутними та овальними плодами:

P: ♀ AABV X ♂ aabb
 трикутні овальні

F1: ♀ AaVb X ♂ AaVb
 трикутні трикутні

F2:

	AV	Ab	aV	ab
AV	AABV трикутні	AABb трикутні	AaVV трикутні	AaVb трикутні
Ab	AABb трикутні	AAbb трикутні	AaVb трикутні	Aabb трикутні
aV	AaVV трикутні	AaVb трикутні	aaVV трикутні	aaVb трикутні
ab	AaVb трикутні	Aabb трикутні	aaVb трикутні	aabb овальні

Розщеплення 15:1

Приклад більш складної комплементації трьох пар доміантних і рецесивних генів: схрестили дві чисті лінії індійських дубових шовкопрядів з зеленими та з мигдальними личинками:

P: ♀ BB SS YY X ♂ bb ss yy
 зелені мигдальні

F1: ♀ Bb Ss Yy X ♂ Bb Ss Yy
 зелені зелені

F2:

	BSY	BSy	BsY	bSY	Bsy	bSy	bsY	bsy
BSY	BBSSYY зелені	BBSSyY зелені	BBSSYY зелені	BbSSYY зелені	BBSSyY зелені	BbSSyY зелені	BbSSYY зелені	BbSSyY зелені
BSy	BBSSyY зелені	BBSSyy блакитні	BBSSyY зелені	BbSSyY зелені	BBSSyy блакитні	BbSSyy блакитні	BbSSyY зелені	BbSSyy блакитні
BsY	BBSsYY зелені	BBSsYy зелені	BBSsYY жовті	BbSsYY зелені	BBSsYy жовті	BbSsYy зелені	BbsYY жовті	BbsYy жовті
bSY	BbSSYY зелені	BbSSyY зелені	BbSSYY зелені	bbSSYY жовті	BbSSyY зелені	bbSSyY жовті	bbSSYY жовті	bbSSyY жовті
Bsy	BBSsYy зелені	BBSsyy блакитні	BBSsYy жовті	BbSsYy зелені	BBSsyy мигдальні	BbSsyy блакитні	BbsYy жовті	Bbsyy мигдальні
bSy	BbSSyY зелені	BbSSyy блакитні	BbSSyY зелені	bbSSyY жовті	BbSsyy блакитні	bbSSyy мигдальні	bbSsYy жовті	bbSsyy мигдальні
bsY	BbSsYY зелені	BbSsYy зелені	BbsYY жовті	bbSsYY жовті	BbsYY жовті	bbSsYy жовті	bbssYY жовті	bbssYy жовті
bsy	BbSsYy зелені	BbSsyy блакитні	BbsYy жовті	bbSsYy жовті	Bbsyy мигдальні	bbSsyy мигдальні	bbssYy жовті	bbssyy мигдальні

Розщеплення 27:9:21:7

Третім прикладом комплемтарних – на цей раз коплемтарних рецесивних генів може бути успадкування форми стручка у рослини грицики – пастушої сумки (*Capsella bursa-pastoris* L.). Стручки овальної форми розвиваються тільки при наявності двох рецесивних генів у гомозиготі – aabb. У всіх інших випадках розвиваються стручки трикутної форми. Розщеплення по фенотипах при схрещуванні гетерозигот буде 15:1 (трикутні : овальні).

Це все приклади **однозначних комплемтарних генів** – комплемтарних генів, що визначають розвиток однієї ознаки.

Крім них, є ще **полімерні адитивні (кумулятивні) гени** – неалельні гени, що однаково впливають на одну і ту ж ознаку, але мають адитивну – сумуючу дію. Тоді степінь вираження ознаки залежить від числа присутніх в генотипі полімерних генів.

Прикладом полімерних генів є гени, що визначають форму плода у гарбуза. Гарбуз має незалежні, неалельні гени G і D, кожен з яких збільшує діаметр плоду гарбуза. Тоді при генотипах G_D_ виникає плід дисковидної форми, GGdd, ggDD - сферичної форми, ggDd, Ggdd – кульовидної форми, ggdd – видовженої форми. І при схрещуванні гетерозигот виникає розщеплення 9:6:1, а при врахуванні всіх тонкощів варіації форми плода - 9:2:4:1.

В процесі взаємодії генів можна виділити дві групи явищ – полімерію і плейотропію.

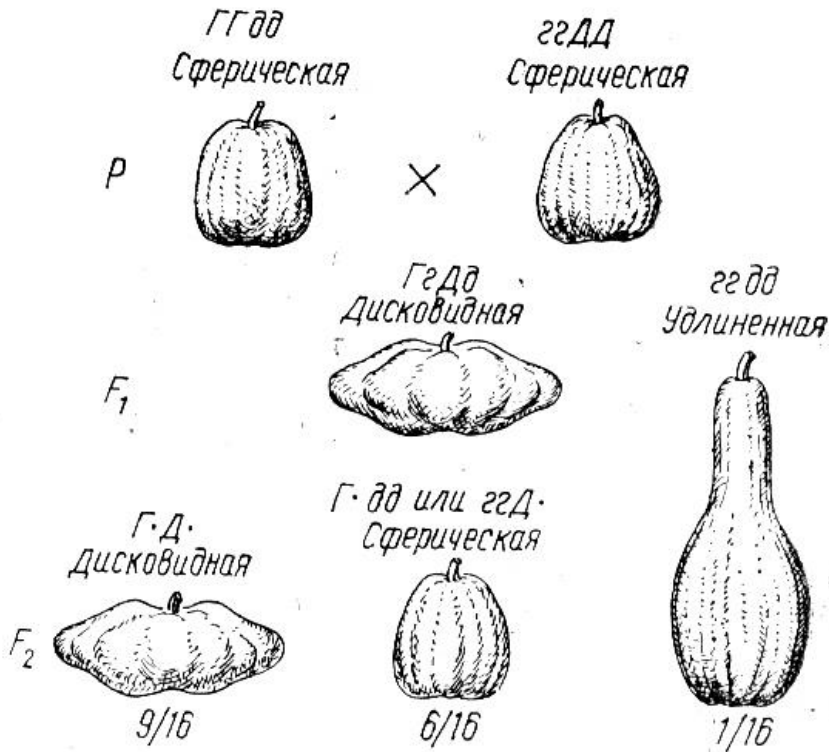


Рис. 10. Різні форми плодів гарбуза, обумовлені дією полімерних адитивних генів.

Полімерія – група явищ, при яких кілька генів діють на одну і ту ж ознаку. Розрізняють некумулятивну (дія генів не сумується) і кумулятивну (дія генів сумується) полімерії.

Плейотропія – група явищ, при яких один ген діє на кілька ознак. Виявлено деякі гени, які діють на величезну кількість ознак, докорінно змінюють весь фенотип.

Іноді в геномі утворюються внаслідок дуплікацій зіпсовані копії генів, що не експресуються. Такі гени називаються **псевдогени (ψ -генів)**.

Всі описані вище відхилення від класичних розщеплень стосуються тільки фенотипічних класів. Розщеплення по генотипах у віх цих випадках відбувається згідно законів Менделя. Ніяких порушень механізму успадкування тут немає.

ЦИТОЛОГІЧНІ ОСНОВИ СПАДКОВОСТІ

Цитогенетика

У 1902 році вчені Саттон і Бовері довершили хромосомну теорію спадковості. Вони простежили паралелі між поведінкою хромосом у мейозі і поведінкою генів. Зв'язок між конкретними генами і конкретними хромосомами вперше продемонстрував Томас Морган у 1910 році на *Drosophila melanogaster*.

Тоді ж виникла **цитогенетика** – наука про цитологічні основи спадковості. Ще у кінці XIX століття Вайсман, Гертвіг, Страсбургер висунули гіпотезу про те, що спадкові ознаки передаються через ядро. Для доведення цього Герберт здійснював досліди по гібридизації морських їжаків, а Астауров здійснив досліди з шовкопрядами.

Досліди Астаурова

Досліди Астаурова полягали в тому, що незапліднені яйця шовкопряда опромінювали рентгенівськими променями – материнське ядро гинуло. Для комах властива фізіологічна поліспермія – явище, при якому одну яйцеклітину запліднюють кілька сперматозоїдів. В цьому досліді після загибелі материнського ядра двох сперміїв зливались між собою і

утворювали ядро зиготи. Тобто в цьому досліді ядро було виключно батьківське, а цитоплазма – материнська. Утворювалась так звана **андрогенетична зигота** – зигота, що утворилась внаслідок злиття ядер двох сперміїв. В результаті розвитку цієї зиготи утворювались організми, які точно відтворювали фенотип батька. Це явище отримало назву – **андрогенез** – розвиток організму з зиготи, ядро якої утворилося внаслідок злиття ядер двох сперміїв. Ці досліді Астауров продовжив, використовуючи міжвидову гібридизацію, брав яйця мандаринового шовкопряду і спермії тутового шовкопряду. Із андрогенетичних зигот розвивались виключно особини тутового шовкопряду і виключно самці.

Партеногенез

Зигота, що утворюється в результаті злиття двох ядер яйцеклітин називається **гіногенетичною зиготою**. У природі гінегенез або **партеногенез** зустрічається в дуже багатьох групах живих істот – як безхребетних так і хребетних. При цьому розрізняють дуже різні форми партеногенезу. Для багатьох видів живих істот партеногенез або неохідна частина життєвого циклу або взагалі єдиний спосіб розмноження. Ряд організмів розмножуються шляхом партеногенезу – багато видів комах, деякі риби, земноводні, ящірки і навіть птахи. Партеногенез виявлений майже у всіх рядах комах (крім бабок).

Розрізняють такі форми партеногенезу:

- 1) **Аррентокія** – розвиток з незапліднених яйцеклітин тільки самців.
- 2) **Телітокія** - розвиток з незапліднених яйцеклітин тільки самок.
- 3) **Амфітокія** - розвиток з незапліднених яйцеклітин самців і самок.

Крім того розрізняють:

- 1) Факультативний партеногенез
- 2) Постійний партеногенез
- 3) Циклічний партеногенез

Також розрізняють:

- 1) генеративний партеногенез – розвиток з гаплоїдної яйцеклітини
- 2) соматичний партеногенез – розвиток з диплоїдної або поліплоїдної яйцеклітини

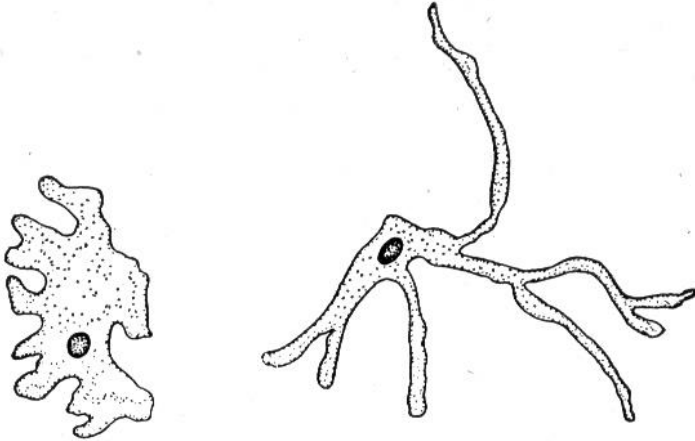


Рис. 11. Різні штами амеб, що відрізняються морфологічно.

Педогенез – розмноження на стадії личинки. Властивий для галиць, деяких жуків, деяких клопів. По суті це форма партеногенезу.

Поліембріонія – розмноження на стадії зародку в яйці. Властивий для паразитичних перетинчастокрилих.

Якщо у ссавців подавити утворення полярного тільця – утворити диплоїдну яйцеклітину і стимулювати розвиток, партеногенезу не спостерігається – партеногенетичний ембріон після початку розвитку втрачає нормальну організацію і гине. Андрогенез у ссавців теж неможливий – з андрогенетичної зиготи у ссавців замість ембріона утворюється не зародок, а своєрідна пухлина – хоріонаденома. Чомусь у різних живих істот крім ссавців пронуклеуси однозначні – немає значення пронуклеус якого походження зливається з яким пронуклеусом, головне щоб утворився нормальний розвиток хромосом – розвивається нормальний ембріон. У ссавців пронуклеуси

неоднозначні – обов'язково повинні зливатися пронулеус сперматозоїда і пронуклеус яйцеклітини – тільки тоді розвиток ембріона можливий. Механізми неоднозначності пронуклеусів у ссавців досі невідомі.

Пізніше проводились дослідження із пересадкою ядер у земноводних – ядро одного виду земноводних пересажували у яйцеклітини іншого виду земноводних. Ці дослідження не виявили ніякого впливу цитоплазми на спадковість. Аналогічні дослідження були проведені і з амебами. Здійснювали пересадку ядер амеб, що належали до різних штамів.

Штами – це раси одноклітинних організмів.

Число і будова хромосом

Кожний вид еукаріот характеризується певним числом хромосом. Частіше гаплоїдні набори становлять від 5 до 30 хромосом, але є винятки: є види, що мають тільки одну хромосому і є види, що мають кілька сотень хромосом. Приклади гаплоїдних наборів хромосом наведені у таблиці 1.

В гаплоїдному наборі кожна хромосома має сувору індивідуальність, що проявляється навіть у грубій морфології хромосом. Кожна хромосома має **первісну перетяжку**, в якій розташована центромера (місце прикріплення кінетохору) і яка ділить хромосому на два плеча.

Хромосоми по грубій морфології прийнято класифікувати на:

Метацентричні хромосоми – хромосоми, що мають два однакових плеча. У людини – це хромосоми 3 (група А), групи F – 19, 20.

Субметацентричні хромосоми – хромосоми, у яких є коротке (p) і довге (q) плече. У людини – це хромосоми 1, 2 (група А), групи B – 4, 5, Групи C – 6 – 12 та X хромосоми, групи E – 16 – 18 хромосоми.

Акроцентричні хромосоми – хромосоми, що мають дуже коротке (p) плече у вигляді нитковидного придатка або супутника. У людини це хромосоми групи D – 13 – 15 хромосоми та групи G – 21, 22 та Y хромосоми.

Телоцентричні хромосоми – хромосоми, що взагалі не мають короткого плеча – тільки довге. У людини телоцентричних хромосом немає.

Супутники хромосом (або сателіти хромосом) – це тільця, що з'єднані з хромосомою лише тоненькою ниткою і не несуть ніякої генетичної інформації. Наявність, відсутність, величина, кількість супутників хромосом – це все варіанти норми. Хромосоми з супутниками називають SAT-хромосоми.

Поява деяких вторинних перетяжок пов'язана з утворенням ядерця. Ці спеціалізовані ділянки окремих хромосом називають **зонами ядерця** або **ядерцевими організаторами**.

Табл. 2. Гаплоїдні набори хромосом різних видів еукаріот.

№ п/п	Вид	Число хромосом гаплоїдного набору
1	хламідомонада	16
2	нейроспора	7
3	капуста	9
4	картопля	24
5	жито	7
6	Пшениця м'яка	21
7	рис	12
8	сосна	12
9	радіолярія	>800
10	Малярійний плазмодій	1
11	Муха кімнатна	6
12	Миша	20
13	собака	39
14	кінь	33
15	шимпанзе	24
16	людина	23

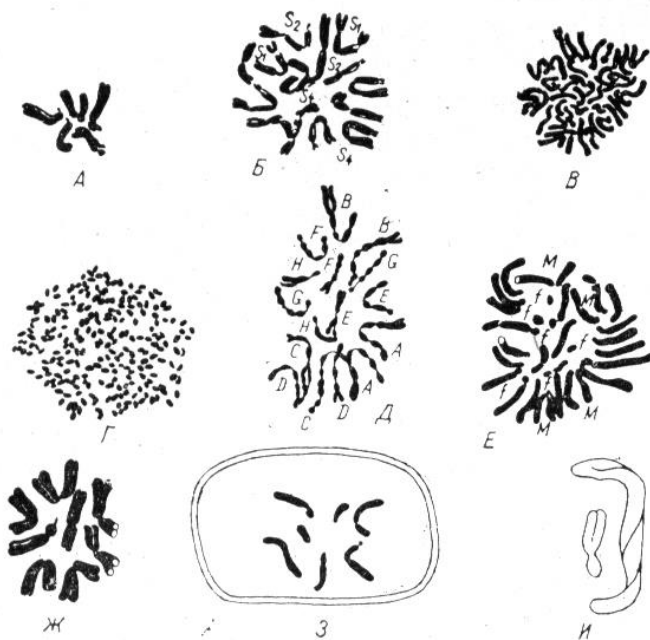


Рис. 12. Хромосоми різних квіткових рослин. А – скерди зеленої, Б – жита, В – м'якої пшениці, Г – німфеї гігантської, Д – жовтеця малого, Е – плямистика царського, Ж – цибулі, З – віночник війчастий, И – бульбоочеретяник приморський.

У диплоїдному наборі кожна хромосома представлена парою хромосом. Це **гомологічні хромосоми** – хромосоми-партнери, що належать до однієї пари хромосом. В кожній парі гомологічних хромосом одна походить від батька, інша від матері. Хромосоми різних пар називають гетерологічними хромосомами.

Груба морфологія хромосом настільки індивідуальна для кожного виду еукаріот, що часто лише по одній хромосомній пластинці можна визначити, до якого виду належить клітина, яку досліджують.

У зв'язку з цим був запропонований термін **каріотип** – характерні для кожного виду особливості хромосомного набору,

що стосуються числа, розмірів і форми хромосом. Каріотип певної особини або даного виду може бути представлений у вигляді схеми – **ідіограми**, на якій пари гомологів розташовуються рядами у порядку зменшення розмірів.

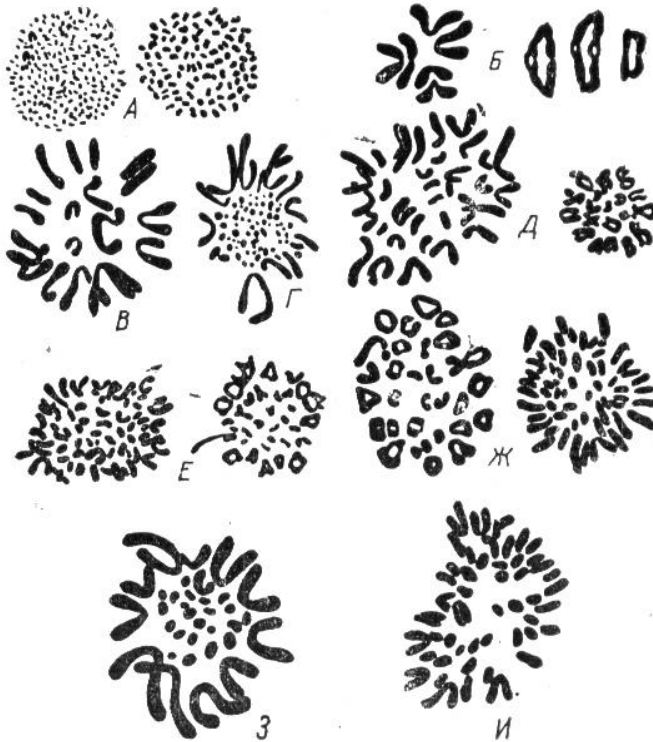


Рис. 13. Хромосоми різних видів тварин. А – річковий рак, Б – комар звичайний, В – щука, Г – курка, Д – кішка, Е – кінь, Ж – бик, З – саламандра, И – вівця.

Спеціальні методи диференційного забарвлення (G-, C-, R-забарвлення) хромосом дозволяють виявити в хромосомах **еухроматин** – нещільно упаковані ділянки хромосом та **гетерохроматин** – щільно упаковані ділянки хромосом.

Гетерохроматин зосереджений в основному в області центромер, теломер, супутників хромосом. Гетерохроматин ділиться на конститутивний і факультативний.

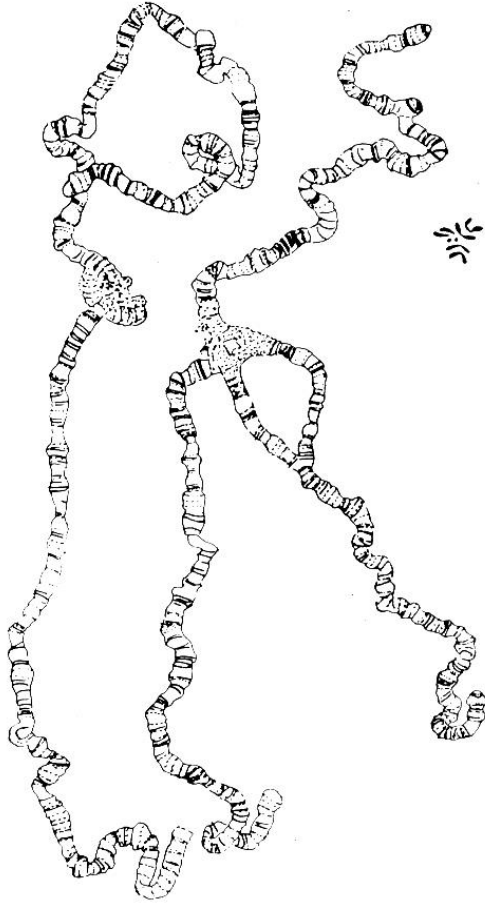


Рис. 14. Гігантські політенні хромосоми слинних залоз дрозофіли.

Конститутивний гетерохроматин – це постійно існуючий у певних ділянках гетерохроматин.

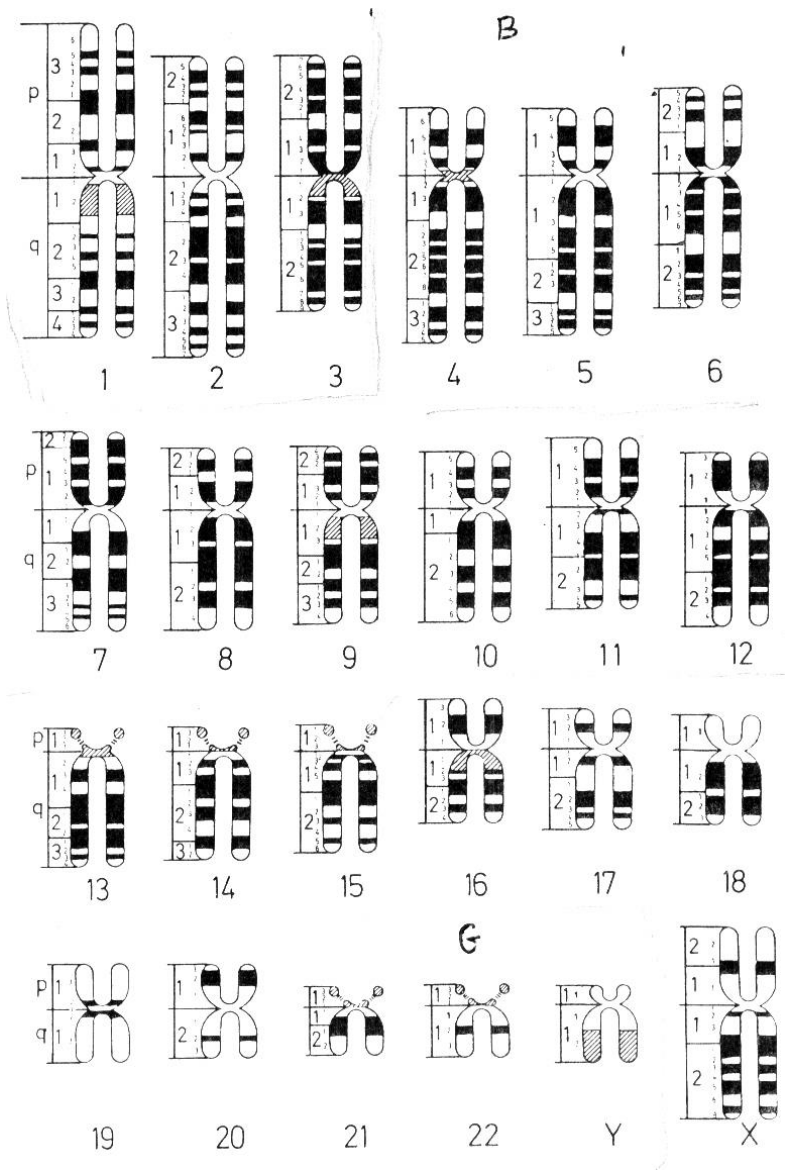


Рис. 15. Хромосоми людини. Схема отримана з використанням диференційного забарвлення хромосом. Варіабельні ділянки заштриховані.

Факультативний гетерохроматин – це гетерохроматин, що з’являється тільки у певні періоди життя клітини.

Кожна хромосома, кожна ділянка хромосоми має суворо індивідуальну картину смуг гетеро- та еухроматину.

У багатьох видів живих істот, крім постійних компонентів каріотипу – так званих **А-хромосом** – в ядрах деяких особин даного виду виявляються ще додаткові **В-хромосоми**. Часто вони складаються з гетерохроматину, і їх кількість з віком може збільшуватись, іноді до кількох десятків. Спостереження на рослинах (кукурудзі) свідчать, що накопичення В-хромосом у клітинах супроводжується зменшенням життєздатності організмів.

У хромосомах наявні **реплікатори** або **ARS-елементи** – ділянки, з яких починається реплікація (подвоєння) ДНК. У хромосомах дріжджів виявлено кілька сотень таких реплікаторів. Всі вони містять спільну для них послідовність з 11 пар нуклеотидів, головним чином з АТ-пар. Структура реплікаторів видоспецифічна. У профазних хромосомах розрізняють **хромери** – чисельні невеликі потовщення різної величини на слабкоспіралізованих профазних хромосомах.

У деяких живих істот в окремих органах (наприклад, у слинних залозах комах) зустрічаються так звані **політенні хромосоми** – гігантські хромосоми, які у 100 - 150 разів більші ніж відповідні нормальні хромосоми в інших тканинах. Політенні хромосоми мають характерні смуги – диски, що суворо індивідуальні для кожної хромосоми. Політенні хромосоми утворюються шляхом поділу хромосом без розходження дочірніх хромосом з утворенням пучка хромосом.

Кінцеві ділянки хромосом, що представлені повторами, називаються **теломерами**. Вони не несуть ніякої генетичної інформації і виконують функцію захисту хромосоми з кінців. Теломери містять особливу нуклеотидну послідовність, збагачену GC-парами.

Центромера – ділянка ДНК на хромосомі до якої приєднуються нитки веретена поділу. Це сегмент ДНК величиною 1 kb, в якому є ділянка багата АТ-парами. Ця ділянка

з обох боків невеликими консервативними послідовностями, структура яких дуже важлива для функціонування центримери. Центромери видоспецифічні.

Було запропоноване поняття **геном** – набір генів, що міститься в гаплоїдному наборі хромосом і являє собою у генетичному відношенні одне ціле.

ГЕНЕТИКА СТАТІ І ЗЧЕПЛЕНЕ ЗІ СТАТТЮ УСПАДКУВАННЯ

Статевий процес

Переважає більшість живих організмів на планеті Земля розмножуються статевим способом. Статеве розмноження це основна форма розмноження в усіх групах живих організмів – від бактерій до людини. Безстатеве розмноження – це додаткова форма розмноження, яка використовується в тих випадках, коли треба швидко збільшити чисельність популяції. Звичайно, є види живих організмів в біосфері, які розмножуються тільки безстатевим способом – вважається, що вони втратили здатність до статевого розмноження. Але ці види живих організмів зупинились в своєму еволюційному розвитку. Більше того, у них простежуються ознаки деградації – це еволюційні тупики. Причина цього полягає в тому, що статевий процес має низку переваг порівняно з безстатевим розмноженням. Більше того – статевий процес необхідний для еволюції і підтримки нормальної організації живого. Але перш ніж перейти до переваг статевого процесу, необхідно дати визначення статевому розмноженню. І це визначення треба дати універсальне. Бо форми статевого процесу є дуже різні. Розрізняють, зокрема, наступні форми статевого процесу:

- 1) **Гологамія** – злиття двох одноклітинних організмів;
- 2) **Ізогамія** – злиття двох однакових гамет, що мають джгутики. Зливаються фізіологічно різні гамети «+» і «-». Це явище називається **гетероталлізм**.
- 3) **Кон'югація** – полягає в тому, що між різними клітинами утворюються цитоплазматичні містки по яких протопласт

однієї клітини перетікає в іншу клітину. При цьому відбувається обмін генетичним матеріалом – ядрами, ДНК з подальшою рекомбінацією генів.

- 4) **Гетерогамія** – злиття двох гамет, що рухомі, мають джгутики, але гамети різні за розміром.
- 5) **Оогамія** – злиття великої нерухомої або малорухомої безджгутикової гамет (яйцеклітини) і рухомого спермія чи сперматозоїда.

Найбільш універсальне визначення статевого розмноження наступне:

Статеве розмноження – це чергування поколінь клітин – диплоїдного та гаплоїдного.

Переваги статевого процесу

Статевий процес слід відрізнити від статевого розмноження: статевий процес це утворення нових комбінацій генів, статеве розмноження – утворення нових живих організмів.

Розмноження можливе і без статевого процесу. **Безстатеве розмноження** – процес вельми нескладний, але він не приводить до утворення нових форм: всі нащадки генетично ідентичні батьківському організму. На відміну від нього при **статевому розмноженні** відбувається змішування геномів батьківських особин і утворення нащадків, що генетично відрізняються одне від одного і від батьківських особин. Статеве розмноження має ряд переваг над безстатевим. Статеве розмноження переважає у більшості живих організмів і навіть у найдавніших, найпростіших організмах – у прокаріот і одноклітинних еукаріот є здатність розмножуватись статевим шляхом.

Цикл статевого розмноження включає чергування **гаплоїдних** поколінь клітин – клітин, що мають одиночний набір хромосом, з **диплоїдними** поколіннями клітин, що мають подвійний набір хромосом. Змішування геномів відбувається завдяки злиттю двох гаплоїдних клітин, з яких утворюється диплоїдна. У свою чергу нові гаплоїдні клітини утворюються в результаті особливого типу поділу клітин, що називається

мейозом, при якому гени подвійного набору заново перерозподіляються між одиночними наборами. Генетична рекомбінація хромосом в процесі мейозу приводить до того, що кожна клітина нового гаплоїдного покоління отримує нову комбінацію генів, що походять частково від однієї батьківської і однієї материнської клітини попереднього гаплоїдного покоління. Таким чином створюються нові комбінації генів.

У багатоклітинних тварин диплоїдна фаза буває складною і довгочасною, а гаплоїдна – простою і короткочасною. По ходу статевого циклу клітини розмножуються шляхом звичайного мітотичного поділу – частіше всього під час диплоїдної фази. Деякі прості організми, наприклад дріжджі, є винятком: шляхом мітозу у них розмножуються тільки гаплоїдні клітини, диплоїдна ж клітина, утворившись, одразу переходить до мейозу.

У таких відносно примітивних рослин як мохи і папороті, досить розвинуті обидві фази – і гаплоїдна, і диплоїдна. Високорозвинені живі організми майже весь життєвий цикл перебувають у диплоїдній фазі, гаплоїдні клітини живуть дуже недовго, вони зовсім не діляться і специфічно пристосовані для статевого злиття. Ці гаплоїдні клітини називаються **гамети**. У типовому випадку утворюються гамети двох типів: крупні нерухомі – **яйцеклітини** і дрібні рухомі – **спермії**. Під час диплоїдної фази, що починається одразу після злиття гамет, клітини розмножуються і спеціалізуються, утворюючи складний багатоклітинний організм. У більшості тварин (але не рослин) розрізняються клітини зародкової лінії, від яких бере початок наступне покоління гамет і соматичні клітини, що утворюють весь інший організм і не лишають нащадків.

Статеве розмноження робить організми конкурентноздатними в умовах непередбачливої зміни оточуючого середовища. При статевому розмноженні батьківські особини будуть продукувати особин, які будуть відрізнятися від них найнепередбачливішим чином, причому серед нових випадкових комбінацій генів частина може виявитись гіршою (менш пристосованою) батьківських генотипів. Але перетасовка генів сприяє виживанню виду в умовах

непередбачуваної зміни навколишнього середовища. Якщо батьківські особини продукують багато нащадків з найрізноманітнішими комбінаціями генів, є більше шансів того, що хоча б один нащадок виявиться добре пристосованим для майбутніх життєвих обставин, якими б вони не були.

У великій популяції статеве розмноження сприяє закріпленню сприятливої комбінації алелей і закріпленню сприятливої комбінації неалельних генів. Припустимо, що у якогось виду живих організмів періодично виникають мутації трьох різних генів: $a^+ \rightarrow a^1$, $b^+ \rightarrow b^1$, $c^+ \rightarrow c^1$. Кожна із цих мутацій є несприятливою, але комбінація поєднання всіх трьох мутацій $a^1 b^1 c^1$ надзвичайно сприятлива. При безстатевому розмноженні кожна із цих мутацій буде елімінуватися, а ймовірність виникнення одночасно трьох мутацій надзвичайно низька. При статевому розмноженні відбувається перекомбінація генів і сприятлива комбінація може виникнути швидко і в популяції буде поширюватись генотип $a^1 b^1 c^1$.

Статевий процес сприяє появі нових генів. Нові гени виникають в результаті дуплікації і дивергенції. Диплоїдний організм по ходу статевого процесу отримує суттєву перевагу: у нього наявна додаткова копія кожного гена і ця копія може мутувати, дуплікуватися і служити вихідним матеріалом для створення іншого гена з принципово новою функцією.

Статеве розмноження зберігає диплоїдність у диплоїдних видів. Кожний ген періодично мутує. Більшість мутацій є шкідливими або навіть летальними. У диплоїдного організму, який має дві копії кожного гена, при мутаціях зберігається одна нормальна копія гена, яка виконує свою нормальну функцію (більшість мутацій рецесивні і шкідливі). При безстатевому розмноженні кількість мутацій збільшується, диплоїдний вид поступово перетворюється в гаплоїдний. При статевому розмноженні виникають нові комбінації генів, рецесивні гомозиготи елімінуються зберігаються гетерозиготи і гомозиготи по нормальному алеллю. Таким чином диплоїдний вид лишається диплоїдним.

Всі ці переваги сильно прискорюють процеси адаптації популяцій і еволюції.

Крім того (щодо вищих організмів з розвинутою нервовою системою), статевий процес приносить радість його учасникам – без нього світ був би сірим.

Визначення статі

Багатоклітинні організми бувають двостатеві (гермафродити) і роздільностатеві. **Двостатевість (гермафродитизм)** – архаїчна форма статевого розмноження, коли одна особина здатна продукувати як чоловічі так і жіночі статеві клітини (гамети). Більш прогресивна форма статевого розмноження – **роздільностатевість** – форма статевого розмноження, при якій одна особина здатна продукувати тільки чоловічі або тільки жіночі статеві клітини. Але навіть при роздільностатевості будь-яка особина лишається потенційно двостатевою, зберігає тенденції до розвитку як у жіночу, так і в чоловічу сторону. Доказом цього є рідкісні випадки появи жінок фенотипічно цілком нормальних з генотипом ХУ.

Для розвитку особини певної статі повинно відбутись визначення статі майбутньої особини на самих ранніх етапах розвитку. При роздільностатевості існують три способи визначення статі майбутньої особини – епігамне, прогамне та сингамне визначення статі.

При **епігамному** визначенні статі відбувається визначення статі після запліднення, тенденції до розвитку чоловічої чи жіночої статі обумовлюються чисто зовнішніми причинами. Наприклад, у морського черва *Vonnelia* самці паразитують на самках – дрібні самці живуть у матці самок. Якщо личинка потрапляє на ґрунт – з неї розвивається самка, а якщо личинка потрапляє на хоботок самки – з неї розвивається самець. Другий приклад епігамного визначення статі – *Arizema japonika*. У цієї рослини особини чоловічої статі розвиваються, якщо рослина росте на ґрунті, що бідний на поживні речовини, і розвиваються особини жіночої статі, якщо ґрунт багатий на поживні речовини. Навіть у деяких хребетних,

яких наявні статеві хромосоми, простежується епігамне визначення статі: у деяких плазунів, зокрема, у крокодилів стать визначається температурою середовища при якій відбувається розвиток ембріона в яйці.

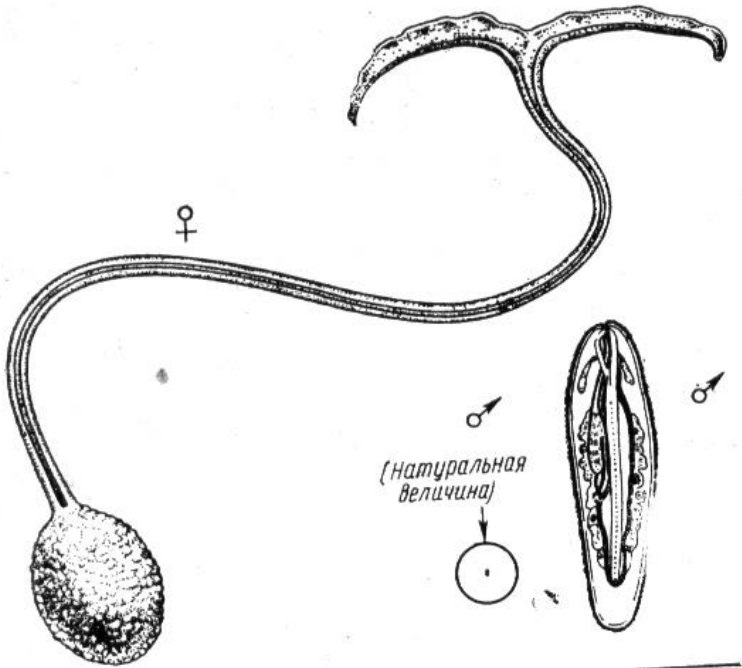


Рис. 16. Морський черв боннелія – приклад епігамного визначення статі (по Добжанському).

При **прогамному** визначенні статі відбувається визначення статі майбутньої особини до запліднення, тобто стать майбутньої особини залежить від того, які сорти яєць продукують самки – з крупних яєць, що багаті на цитоплазму, розвиваються самки, з дрібних яєць, що бідні на цитоплазму, розвиваються самці. Такий спосіб визначення статі виявлений у коловерток.

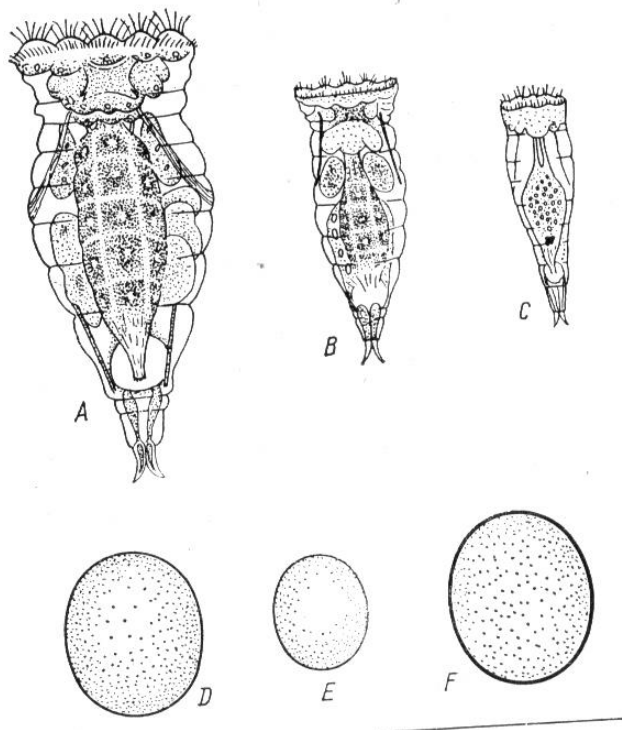


Рис. 17. Коловертка хідантіна. А – доросла самка, В – молода самка, С – самець. Як правило самки відкладають крупні яйця (D), що партеногенетично розвиваються в самок. Але при зміні умов середовища самки відкладають дрібні яйця (E), що завершують мейоз і партеногенетично розвиваються в гапліодних самців. Якщо ці яйця запліднюються, то вкриваються товстою оболонкою (F), зимують і весною розвиваються в диплоїдну самку.

При **сингамному** визначенні статі відбувається визначення статі в момент запліднення – стать визначається сформованим при заплідненні генотипом зиготи і не залежить від зовнішніх умов. При сингамному визначенні статі найпоширенішим варіантом є хромосомне визначення статі – визначення статі при участі статевих хромосом. Але при цьому, як в статевих

хромосомах, так і в аутосомах розміщені гени, що впливають на визначення статі. Так, у дрозофіли в аутосомі є ген transformer (tra або t) – ген, що змінює (трансформує) стать. При наявності генотипу tt зигота жіночої статі з наявністю набору хромосом XX розвивається у фенотипічних самців, які є стерильними (безплідними). При цьому з зиготи з генотипом tt та набором хромосом XY розвиваються цілком нормальні плодючі самці.

Гени трансформери виявлені в ссавців. Так в популяціях лемінгів *Myopus schisticolor* (Lilljeborg, 1844) є ген трансформер (t), який змінює стать і перетворює зиготи XY в нормальних плодючих самок. При цьому цей ген трансформер розташований в X хромосомі. Його алель дикого типу (t^+ або +) не змінює стать ембріона. Таким чином в популяціях лемінгів є плодючі самки трьох типів – з геном трансформер і без нього: X^+X^+ , $X^t X^+$, $X^t Y$, а самці тільки одного типу $X^+ Y$. Завдяки цьому статева структура популяції лемінгів різко змінена: в деяких популяціях кількість самок в три рази більша ніж самців. При схрещуванні самок з геном трансформер з нормальними самцями різко змінюється співвідношення особин різних статей серед нащадків:

P: ♀ $X^t X^+$ X ♂ $X^+ Y$

F1:

	X^t	X^+
X^+	$X^t X^+$ ♀	$X^+ X^+$ ♀
Y	$X^t Y$ ♀	$X^+ Y$ ♂

Розщеплення по статі – самки : самці – 3:1

Схожий (хоча і заснований на іншому типі визначення статі – X0) хромосомний механізм визначає появу різних статевих типів у копитного лемінга *Dicrostonyx torquatus* (Pallas, 1778).

Є гени, які перетворюють однодомні рослини на дводомні, так, ген silkless (sk) перетворює рослину кукурудзи на таку, що має виключно чоловічі квіти. Ген tassel seed (ts) перетворює рослину кукурудзи на таку, що має виключно жіночі квіти.

Зміна локалізації того чи іншого гена відповідального за розвиток статі може привести до серйозних порушень у прояві статевих ознак. Ген *sex reserved* (*Sry*) розташований в Y хромосомі ссавців і обумовлює розвиток чоловічої статі. Цей ген відповідальний за синтез білка TDF, χ -фактора, що переключають гени в клітинах в напрямку розвитку морфологічних структур чоловічої статі, обумовлюють високий рівень синтезу тестостерону. У нормі кросинговеру між X та Y хромосомами ніколи не відбувається. Якщо відбувся збій і відбувся кросинговер між статевими хромосомами, то ген *sry* може потрапити до X хромосоми. Якщо ген *Sry* випадково переноситься на X хромосому, то розвивається при генотипі XX чоловічий фенотип, але при цьому ці особини є стерильні. У людини така мутація з наявністю гена *Sry* в X-хромосомі і розвитку особини морфологічно чоловічої статі з каріотипом XX обумовлює патологію **синдром де ля Шапеля**. Хвороба названа на честь вченого-лікаря, що описав цю хворобу вперше в 1972 році. Частота захворювання серед новонароджених 5:100000. У хворих на цей синдром фенотип чоловічий, але вони є стерильні, бо немає всіх генів (а їх біля 60), які необхідні для нормального сперматогенезу. Сперматозоїди та клітини Сертолі у цих хворих не утворюються, є тільки клітини зародкової лінії – гоноцити. Хворі на синдром де ля Шапеля характеризуються низьким ростом, євнухоїдністю, фемінізацією. При цьому інтелектуальний розвиток хворих на синдром де ля Шапеля нормальний. **Фемінізація** – це процес розвитку вторинних жіночих статевих ознак при первинних чоловічих статевих ознаках. Первинні статеві ознаки – це будова органів розмноження. Вторинні статеві ознаки – це знаки по яким відрізняються особини чоловічої і жіночої статі, але які не мають безпосереднього відношення до розмноження. У людини до вторинних статевих ознак відносять особливості волосяного покриву, особливості розвитку м'язів, особливості жирових відкладів під шкірою, особливості скелету, тембр голосу, розвиток молочних залоз. Протилежний процес – розвиток вторинних чоловічих статевих ознак при первинних жіночих

статевих ознаках називається **маскулізація**. Якщо жінкам вводити тестостерон (чоловічий статевий гормон) у великих кількостях відбувається маскулізація (що практикували в тоталітарних країнах щодо спортсменок для досягнення спортивних результатів). В особин чоловічої статі трапляється **гіпермаскулізація** – гіпертрофований, надлишковий розвиток вторинних чоловічих ознак. І в особин жіночої статі трапляється **гіперфемінізація** – гіпертрофований розвиток жіночих вторинних статевих ознак.



Хворий на синдром Ла Шапеля. Чоловічий фенотип з каріотипом XX.

Стать як менделююча ознака

Ще Мендель помітив, що стать успадковується як будь-яка ознака при моногібридному аналізуючому схрещуванні між гетерозиготними і гомозиготними рецесивними батьками. Розщеплення в цих випадках буде 1:1.

Для виявлення механізмів генетичного визначення статі Коренс проводив гібридизацію різних видів бріонії – рослин з родини Cucurbitaceae. Він схрещував дводомну бріонію з білою бріонією. При схрещуванні чоловічих рослин дводомної бріонії і жіночих квітів білої бріонії в першому поколінні було розщеплення 1:1 чоловічих і жіночих рослин. Якщо ж брали

жілочі рослини дводомної бріонії і чоловічі квіти білої бріонії, то в першому поколінні отримували тільки жіночі рослини. Коренс зробив висновок, що чоловічі рослини дводомної бріонії є гетерозиготами, а жіночі гомозиготами по певному гену. Домінантний ген А визначає чоловічу стать, а рецесивний а – жіночу. У білої бріонії є інші гени, що обумовлюють однодомність цього виду.

Були проведені досліді з рослиною *Ecballium elaterium*, які показали, що у цієї рослини стать визначається трьома генами: $a^D > a^+ > a^d$. Ген a^D визначає чоловічу стать, ген a^+ - гермафродитизм, ген a^d – жіночу стать. Генотип $a^D a^D$ – не існує, бо для його утворення довелось би схрещувати дві чоловічі рослини, генотипи $a^D a^+$, $a^D a^d$ – обумовлюють чоловічу стать, генотипи $a^+ a^+$, $a^+ a^d$ обумовлюють гермафродитизм, генотип $a^d a^d$ обумовлює жіночу стать.

Статеві хромосоми

Статеві хромосоми вперше відкрив американський цитолог Вільсон, досліджуючи хромосоми дрозофіли. Він виявив, що у дрозофіли 8 хромосом (4 пари) – 3 пари гомоморфні і четверта пара гетероморфна – у самців одна хромосома аналогічна до обох хромосом самок, а інша хромосома – менша, у вигляді гачка, по формі нагадує літеру Y. Тому цю пару хромосом назвали хромосомами X і Y або статевими хромосомами.

Статеві хромосоми – це хромосоми, по яким особини різної статі відрізняються одне від одного. Інші хромосоми називаються **аутосоми** – це хромосоми однакові у обох статей.

Отже, один із способів визначення статі на рівні хромосом – це система XX/X_Y. Модифікацією механізму XX/X_Y є система XX/X₀ – при якій у самця є на одну X хромосому менше. Така система визначення статі є, наприклад, у морського черва анциракатуса. Самки мають каріотип 12, XX, а самці 11, X.

У зв'язку з виявленням статевих хромосом почали розрізняти гомогаметну і гетерогаметну стать.

Гомогаметна стать – стать, що продукує гамети однакові по відношенню до статевих хромосом (XX).

Гетерогаметна стать – стать, що продукує гамети різні по відношенню до статевих хромосом (XY).

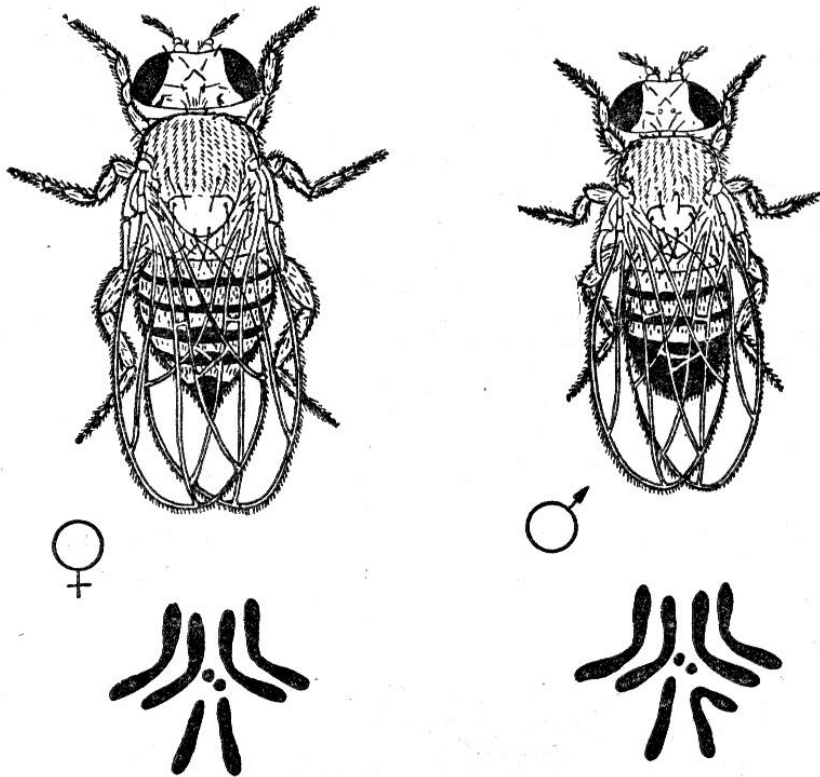


Рис. 19. *Drosophila melanogaster*. Каріотиби самців і самок.

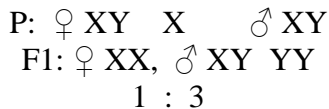
Але бувають випадки, коли гомогаметною є не жіноча, а чоловіча стать. В такому випадку статеві хромосоми називають Z і W. Такий спосіб визначення статі властивий для метеликів і птахів. Модифікацією цієї системи є система ZZ/Z0. Серед живих організмів більш поширеною є система XX/XY ніж система ZZ/ZW. Поширення обох систем статевих хромосом наведені у табл. 2.

Табл. 3. Системи статевих хромосом у різних живих істот.

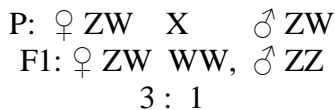
№ п\п	XX/XY – XX/X0	ZZ/ZW – ZZ/Z0
1	Черви	Метелики
2	Ракоподібні	Волохокрилі
3	Більшість комах	Деякі риби
4	Деякі риби	Деякі земноводні
5	Більшість земноводних	Плазуни
6	Ссавці	Птахи
7	Більшість дводомних рослин	Деякі рослини (суниця)

У деяких живих істот у визначенні статі є певна специфіка і трапляються випадки нормального перевизначення статі, коли під дією гормонів, не дивлячись на каріотип і статеві хромосоми стать особин може змінюватись – самці перетворюються на нормальних плодючих самок і навпаки – змінюються статеві залози, первинні і вторинні статеві ознаки.

Так, у багатьох риб, зокрема, у риб з роду менака, під дією гормонів стать особин може змінюватись: самців з набором хромосом XY можна перетворювати у повноцінних самок і навпаки. Причому, ці трансформовані особини здатні брати участь у статевому розмноженні:



У аксолотля під дією гормонів особини ♀ ZW перетворюються у ♂ ZW, що теж можуть вступати у нормальний статевий процес:



Таблиця 3. Основні типи хромосомного визначення статі (згідно робіт Тихомирової М. М., 1976).

№ п/п	Тип визначення статі	Гетерогаметна стать	Зигота		Групи організмів
			♂	♀	
1.	X ₁ Y	Чоловіча	X ₁ Y	XX	Більшість ссавців, деякі риби, всі двокрили та ін.
2.	X ₁ 0	Чоловіча	X ₁ 0	XX	Нематоди, деякі ракоподібні, клопи, прямокрилі, бабки, жуки, веснянки, сіноїди, скорпіониці, деякі ссавці (кенгуру).
3.	X ₁ X ₂ ...X _n Y	Чоловіча	X ₁ X ₂ ...X _n Y	X ₁ X ₂ ...X _{n+1}	Богомоли, деякі ссавці.
4.	X ₁ Y ₁ Y ₂ ...Y _n	Чоловіча	X ₁ Y ₁ Y ₂ ...Y _n	XX	Богомоли, деякі ссавці.
5.	X ₁ X ₂ ...X _n 0	Чоловіча	X ₁ X ₂ ...X _n 0	X ₁ X ₂ ...X _n X _{n+1}	Павуки, попелиці, деякі метелики.
6.	ZW	Жіноча	ZZ	ZW	Птахи, рептилії, аксолотль, риби, метелики.
7.	Z0	Жіноча	ZZ	Z0	Ящірки, жаби, молі та ін.
8.	Z ₁ Z ₂ ...Z _n W	Жіноча	Z ₁ Z ₂ ...Z _{n+1}	Z ₁ Z ₂ ...Z _n W	Деякі змії, метелики.
9.	Z ₁ W ₁ W ₂ ...W _n	Жіноча	ZZ	Z ₁ W ₁ W ₂ ...W _n	Рівноногі раки
10.	Z ₁ Z ₂ ...Z _n 0	Жіноча	Z ₁ Z ₂ ...Z _{n+1}	Z ₁ Z ₂ ...Z _n 0	Деякі птахи (цесарка, вальдшнеп)

Аналогічне явище трапляється в птахів, зокрема в курей. Якщо в популяції немає самців, то частина самок перетворюється на самців – так званих псевдопівнів. У них деградують яєчники, розвиваються сім'яники, розвиваються первинні і вторинні статеві ознаки чоловічої статі. При цьому в наступному поколінні простежується відхилення в статевій структурі популяції:

P: ♂ ZW X ♀ ZW
 псевдопівні нормальні самки

F1:

	Z	W
Z	ZZ ♂	ZW ♀
W	ZW ♀	WW гинуть, леталь

Співвідношення особин різної статі серед нащадків 2:1 – самок в 2 рази більше ніж самців.

У перетинчастокрилих самки розвиваються із запліднених диплоїдних яєць, а самці розвиваються з незапліднених гаплоїдних яєць. Самці первісно гаплоїдні, але гаплоїдними лишаються тільки клітини зародкової лінії, у інших клітин набір хромосом подвоюється. У перетинчастокрилих є більше 12 алелей гена, що пов'язаний з визначенням статі: a_1, a_2, a_3, \dots і визначення статі відбувається за схемою:

P: ♀ $a_1 a_2$ X ♂ a_1

F1: $a_1 a_1$ – не розвиваються, $a_1 a_2$ – ♀,
 a_1 – ♂, a_2 – ♂ (з незапліднених яєць).

У попелиць відбувається чергування поколінь: партеногенетичне покоління – відбувається розвиток одних самок з диплоїдних яйцеклітин (при мейозі відсутня редукція числа хромосом) – розвиток відбувається без запліднення. Але періодично з незапліднених яєць розвиваються так звані сексупарні самки – самки, що дають нащадків, які розмножуються статевим шляхом. Сексупарні самки продукують яйцеклітини, з яких розвиваються самки і самці (самці розвиваються при втраті яйцеклітиною однієї X хромосоми). При

мейозі у самців клітини без X хромосоми дегенерують. При заплідненні утворюються тільки самки, які потім розмножуються партеногенетично.

Теорії визначення статі

Історично склалися різні теорії визначення статі, які одна одній протирічили. Але потім було встановлено, що у різних живих організмів механізми визначення статі різні, і ці теорії пояснюють визначення статі у різних живих істот.

У свій час була створена **балансова теорія Бріджеса**, яка пояснила, як визначається стать у дрозозфіли. Бріджес зробив припущення, що у дрозозфіли гени чоловічих потенцій знаходяться в аутозомах, а жіночих у X-хромосомах. Ці припущення підтвердились під час дослідів зі схрещуваннями триплоїдних самок дрозозфіли (такі дрозозфіли іноді утворюються, розвиваються і є плодючими) з нормальними самцями. При таких схрещуваннях можуть утворюватись особини з дуже нетиповим співвідношенням статевих хромосом і аутозом. Виявилось, що розвиток статі у дрозозфіли залежить саме від співвідношення кількості X-хромосом і набору аутозом, точніше стать визначається балансом генів аутозом і X-хромосом. Так, якщо це співвідношення (S) рівне 1,5 - $S=X/A=1,5$ то розвивається з такої зиготи так звана суперсамка – особина, у якої статеві ознаки самки (як первинні так і вторинні) гіпертрофовані. Суперсамки, як правило, безплідні. Якщо $S=X/A=1$, то розвиваються нормальні самки, якщо $S=X/A=0,67$ – розвивається інтерсекс – безплідні особини, ознаки яких займають проміжне значення між ознаками самки і самця. Якщо $S=X/A=0,5$ то розвиваються нормальні самці. Якщо $S=X/A=0,33$ розвиваються суперсамці, які є безплідними. У людини визначення статі не залежить від кількості X-хромосом, залежить від наявності конкретних генів, що визначають стать.

На противагу цій теорії була створена **фізіологічна теорія Гольдшмідта**. Цю теорію Гольдшмідт створив, опираючись на досліди зі схрещування різних географічних рас непарного шовкопряда, що відрізняються статевими потенціями.

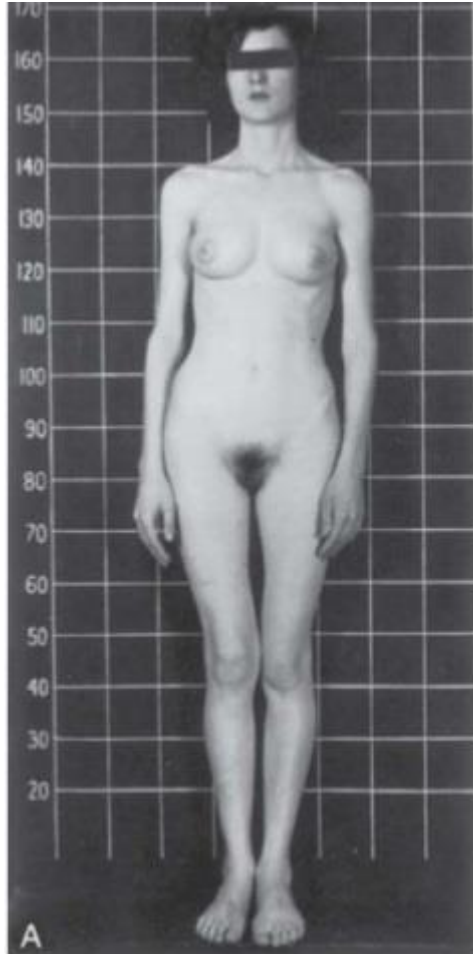
Європейська раса за цими потенціями є квола, японська – сильна. Було проведено схрещування самок європейської раси з самцями японської раси. В результаті в першому поколінні утворились самки, які були інтерсексами. Було зроблено висновок, що для становлення статі у непарного шовкопряда визначальною є ступінь експресії тих чи інших генів, що визначають тип статевого розвитку.

Особливості визначення статі у ссавців і людини

Розвиток статі у ссавців – процес, що складається з двох етапів. Хромосомний склад ядра визначає статеву диференціацію гонад або в сім'яники або в яєчники. Сім'яники продукують тестостерон, у цьому випадку розвиток іде по чоловічому типу. Інший гормон сім'яників χ -фактор, білок TDF подавляють розвиток яєчників і фаллопієвих труб. Отже, розвиток сім'яників і продукція чоловічих гормонів – результат експресії генів Y-хромосоми. Найважливіше значення при цьому має домінуючий ген Sex reserved (Sry).

Розвиток зигот за чоловічим типом можливий лише за наявності продукту зчепленого з X-хромосомою гена Tfm^+ , що обумовлює утворення рецептора - зв'язуючого тестостерон протеїну, який є в цитоплазмі клітин як самців, так і самок, у людини – як у чоловіків, так і жінок. Цей білок виконує функцію регулятора, який активується, зв'язуючи тестостерон. Комплекс білок-тестостерон входить в ядро і активує гени, необхідні для диференціації клітин за чоловічим типом. Відомий синдром, що називається тестикулярна фемінізація (**синдром Моріса**). Клітини мутантних ембріонів $X^{Tfm}Y$ абсолютно нечутливі до дії андрогенів – тестостерону, білка TDF, χ -фактора, тому в таких випадках при генотипі XY розвивається жіночий фенотип. Ці жінки зовні не відрізняються від нормальних жінок, але є безплідними, мають недорозвинені статеві залози, недорозвинені внутрішні статеві органи – матку і фаллопієві труби, часто так звану сліпу вагіну, цикл відсутній, замість яйцеклітин в гонадах наявні лише гоноцити, що не функціональні і часто трансформуються в пухлинні клітини. Тому при діагностиці

синдрому Моріса переважно пропонують резекцію (видалення) аномальних статевих залоз. У різних популяціях людини частота синдрому коливається від 1:20 000 до 1: 100 000. Синдром названий на честь американського дослідника Д. Моріса, що вперше описав цей синдром в 1953 році.



Людина хвора на синдром Моріса. Фенотип жіночий, набір хромосом XY.



Людина – відома актриса, що хвора на синдром Сваєра і не приховує цього. Фенотип жіночий, каріотип XY.

Мутувати може і ген Sry і перетворюватись в нефункціональну форму, андрогени – χ -фактор, білок TDF не синтезуються або синтезуються аномальні, тестостерон синтезується в недостатній кількості. Тоді при каріотипі XY і наявності мутантного гена sry розвивається людина з жіночим фенотипом. Така патологія називається **синдром Сваєра**. При цьому синдромі у хворих безпліддя, недорозвинені статеві залози та статеві органи – матка, фаллопієві труби, часто наявна сліпа вагіна, замість яйцеклітин незрілі гонадоцити, які часто трансформуються в ракові клітини. Синдром названий на честь лікаря Джеральда Сваєра, що описав цю хворобу вперше в 1955 році. Частота синдрому у новонароджених 1:80 000. Відомо дві основні мутації гена sry, що викликають синдром Сваєра: DHH

та NR5A1 і повна делеція ділянки Y-хромосоми з геном Sry. Виділяють 5 основних форм синдрому Сваєра.

Отже, у ссавців, в тому числі і у людини інколи виникають генетичні аномалії, коли при каріотипі XX замість жіночої статі розвивається чоловіча (синдром де ля Шапеля) і навпаки при каріотипі XY замість чоловічої статі розвивається жіноча (синдроми Моріса та Сваєра). Ці аномалії є рідкісними.

Успадкування зчеплене зі статтю

Більшість ознак успадковується незалежно від статі, але деякі ознаки зчеплені зі статтю ознаки. Пояснення цього явища – локалізація цих генів у статевих хромосомах. У статевих хромосомах крім генів відповідальних за визначення статі та генів, що забезпечують дозрівання гамет, є ще велика кількість генів, що не пов'язані з процесом розмноження, але успадкування цих генів та ознак, що вони визначають буде зчеплене зі статтю – буде успадковуватись в особин різної статі по різному.

Прикладом таких генів є гени забарвлення очей у дрозофіли. Ген дикого типу w^+ (тут W^+) обумовлює червоний колір очей дрозофіли. Але є ще серія алелей, що обумовлюють різні відтінки забарвлення очей. Найбільш рецесивний алель – w , який обумовлює білий колір очей у дрозофіли. При розв'язанні задач на зчеплене зі статтю успадкування необхідно враховувати статеві хромосоми в яких розташовані ці гени.

Приклад. Схрестили самців з чистої лінії дрозофіл з білими очима з самками з чистої лінії з червоними очима:

P: ♀ $X^{W^+} X^{W^+}$ X ♂ $X^w Y$
 червоні очі білі очі

F1: ♀ $X^{W^+} X^w$ X ♂ $X^{W^+} Y$
 червоні очі червоні очі

F2:

	X^{W+}	X^w
X^{W+}	$X^{W+} X^{W+}$ ♀ червоні очі	$X^{W+} X^w$ ♀ червоні очі
Y	$X^{W+} Y$ ♂ червоні очі	$X^w Y$ ♂ білі очі

Серед самок розщеплення немає, серед самців розщеплення 1:1.

Якщо ж проведемо реципрокне схрещування, візьмемо навпаки самок з чистої лінії дрозофіл з білими очима, а самців з чистої лінії дрозофіл з червоними очима, отримаємо зовсім інший результат:

P: ♀ $X^w X^w$ X білі очі ♂ $X^{W+} Y$ червоні очі
 F1: ♀ $X^{W+} X^w$ X червоні очі ♂ $X^w Y$ білі очі

F2:

	X^{W+}	X^w
X^w	$X^{W+} X^w$ ♀ червоні очі	$X^w X^w$ ♀ білі очі
Y	$X^{W+} Y$ ♂ червоні очі	$X^w Y$ ♂ білі очі

Отримаємо зовсім інший результат. У першому поколінні всі самки з червоними очима, а всі самці з білими очима. У другому поколінні і серед самців, і серед самок розщеплення 1:1.

Тобто, результати схрещувань будуть залежати від того, якої статі будуть взяті особини певних фенотипів.

У людини теж є ряд ознак, що зчеплені зі статтю. Це такі ознаки, як дальтонізм (нездатність розрізняти червоний і зелений кольори – рецесивна ознака) та гемофілія (незгортваність крові – рецесивна ознака). Ці гени локалізовані у X хромосомі, тому

серед жінок гемофілія не трапляється взагалі, а дальтонізм трапляється вкрай рідко – жінки можуть бути носіями цих патологічних генів. Чоловіки, які успадковують X хромосому з патологічним геном не можуть бути гетерозиготами по цих генах, можуть бути лише гемізіготними і можуть бути тільки хворими.

У курей теж є ознаки зчеплені зі статтю. Це ознака поперечно-смугастого забарвлення пера породи плімутрок. Ознака домінантна. Гени локалізовані у Z хромосомі ($B > b^+$. B – посмуговане перо, b^+ - дикий тип, рівномірно забарвлене перо).

В Y чи W хромосомах теж є певні гени, яких немає у X чи Z хромосомах. Прикладом таких генів є гени мутацій темної плями на спинному плавці рибок лебітусів (гуппі) – локалізовані у Y хромосомі. У людини у Y хромосомі локалізований ген наявності перепонок між пальцями ніг – варіант норми – багато нормальних, видатних, геніальних людей мали цю ознаку (зокрема, цю ознаку мав Сідхартха Шак'ямуні Гаутама, якого потім назвали Буддою). Ці ознаки, що успадковуються виключно по чоловічій лінії називаються **голандричними ознаками**. Все це приклади **повного зчеплення зі статтю** – явища, коли відповідні гени не мають алельних копій у іншій статевій хромосомі (X або Y). Але є ще явище **неповного зчеплення зі статтю**, коли відповідні алелі знаходяться у обох статевих гетерохромосомах (X та Y). Такі гени в нормі не перебувають у гемізіготному стані. До таких генів, наприклад, належать гени (серія алелей), що обумовлюють забарвлення кутикули жука *Phitodecta variabilis* (жуки можуть бути чорного, червоного, жовтого, смугастого кольорів. Серія алелей: $e^b > e^r > e^y > e^l$). Також прикладами таких генів є гени недорозвиненості щетинок у дрозофіли: b^+ - дикий тип, b – недорозвинені щетинки, рецесивна ознака). У людини деякі патології (рак шкіри, загальна кольорова сліпота) успадковуються теж за такою схемою.

Нерозходження статевих хромосом

Вперше виявив Бріджес на дрозофілі: на кожні 2000 нащадків схрещування білооких самок з червонооокими самцями

в першому поколінні є 1-2 виключення – білоокі самки або червоноокі самці. Виявилось, що це є наслідком нерозходження X хромосом в мейозі. При цьому утворюються гамети або зовсім без X хромосоми або з двома X хромосомами. Відповідно будуть утворюватись у дрозофіли зиготи таких типів: XXX – як правило гинуть (або утворюються суперсамки), ХХУ – нормальні самки, Х0 – безплідні самці, 0У – всі гинуть.

При наборі статевих хромосом ХХУ У-хромосома не бере участь в кон'югації і розподіляється між дочірніми клітинами випадково – при цьому виникає **явище вторинного нерозходження статевих хромосом**. Виникають зиготи: ХХУ – нормальні самки, ХУУ – нормальні самці, ХХХ – суперсамки або гинуть, УУ – всі гинуть.

Фізичне зчеплення Х хромосом

Явище фізичного зчеплення Х-хромосом відкрито Ліліан Морган на дрозофілі. При цьому явищі дві Х хромосоми з'єднані фізично в районі центромери і має місце 100 % нерозходження статевих хромосом. Явище було продемонстровано з використанням мутації у (yellow) – жовте тіло дрозофіли. Ця мутація зчеплена з Х хромосомою. Простежується наступне успадкування:

P: ♀ X^y X^y X ♂ X⁺ Y
 жовті сірі

F1:

	<u>X^y X^y</u>	
X ⁺	<u>X^y X^y</u> X ⁺ суперсамки стерильні сірі	X ⁺ ♂ стерильні сірі
Y	<u>X^y X^y</u> Y ♀ плодючі жовті	Y леталь гинуть

Нерозходження статевих хромосом у людини

У людини також в процесі мейозу бувають порушення, які приводять до нерозходження хромосом. Частота нерозходження

хромосом у людини корелює з віком матері – у матерів старших вікових груп (особливо старших 45 років) частіше народжуються діти з хромосомними порушеннями і нерозходженням хромосом. Як правило, ембріони з нерозходженням хромосом елімінуються у вигляді спонтанних абортусів – ембріони знищуються на дуже ранній стадії розвитку. Так у людини 60 % вагітностей не фіксуються, жінки навіть не здогадуються, що вони були вагітними. Але при нерозходженні деяких хромосом, зокрема 21 хромосоми та статевих хромосом – ембріони розвиваються з виникненням характерного патологічного фенотипу. Так, при нерозходженні 21 пари хромосом виникає трисомія 21 хромосоми (каріотип 47, XX +21), що фенотипічно проявляється у патології синдром Дауна. Значно рідше трапляються новонароджені з трисомією 16 хромосоми чи з трисомією 18 хромосоми. Частота народження дітей з трисоміями аутосом корелює з віком матері – із збільшенням віку матері число хромосом, що не розійшлися у дозріваючих яйцеклітинах, зростає. Це пояснюється затримкою оогенезу на стадії диплотени профазі мейозу – чим довше перебувають клітини у цій зупинці, тим більше накопичується помилок, в тому числі нерозходжень гомологічних хромосом під час редукційного поділу мейозу.

Нерозходження статевих хромосом спостерігається частіше, ніж аутосом. При нерозходженні статевих хромосом у людини виникають наступні патології:

Нулісомія статевих хромосом - 0 статевих хромосом (44, -X, -X) – леталь, ембріони гинуть на ранніх стадіях розвитку.

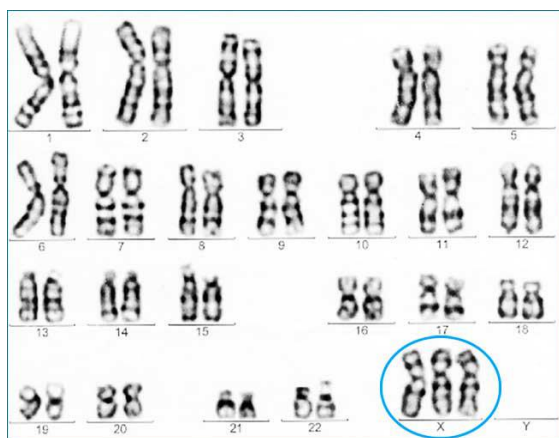
Нулісомія X-хромосом – 45, 0Y, -X – леталь, ембріон не розвивається, гине на ранній етапах ембріогенезу.

Трисомія X-ромосоми

47, XXX – жіночий фенотип, часто незначна розумова відсталість, інколи безпліддя і вади розвитку, високий зріст, рання менопауза. У середньому інтелектуальний розвиток жінок з трисомією X-хромосоми занижений в порівнянні з нормою. Дуже часто при трисомії по X-хромосомі відхилення і патології незначні і патологія так і лишається недиагностованою.



Хвора з трисомією Х-хромосоми.



Каріотип хворої на трисомії по Х-хромосомі.

Рівень ембріональної смертності незначний. Постнатальний розвиток відбувається з порушеннями, простежуються проблеми з координацією рухів, моторикою, розвитком мови, збільшення відстані між очима, часто спостерігається кривизна пальців. Відмічається зменшення розмірів черепа. Зміни фертильності переважно незначні або відсутні. Але у жінок з трисомією Х-ромосоми є підвищений

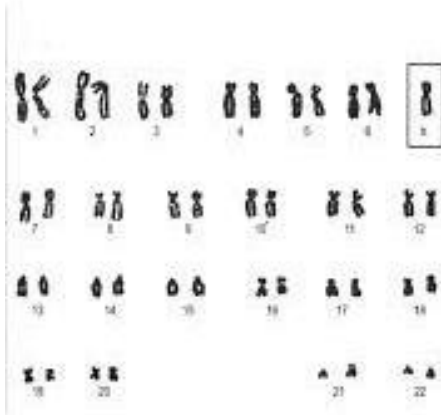
ризик народження дітей з хромосомними аномаліями. Незначні відхилення при цій патології пояснюються тим, що у всіх ссавців і людини включно в кожній клітині активною є тільки одна Х-хромосома, друга і надлишкові Х-хромосоми репресуються і перетворюються в глобулу гетерохроматину. Частота серед новонароджених жіночої статі 1:1000. Вперше цю патологію описала генетик Патриція Джекобс у 1959 році.

Тетрасомія по Х-хромосомі

Каріотип 48, XXXX. Патологічні відхилення сильно варіюють, загалом схожі на патологію при трисомії Х-хромосоми, але набагато сильніше виражені. Фенотип жіночий. Простежуються характерні риси обличчя: особлива форма очей, плоскі носові мостики, маленький рот, гіпоплазія нижньої частини обличчя, дефекти зубів, високий ріст, порушення тону м'язів, гіпотонію суглобів, викривлення кісток і хребта зокрема. Розумова відсталість, затримка розвитку, проблеми з мовленням, моторикою, порушення статевого дозрівання, порушення розвитку вторинних статевих ознак. Порушення фертильності, часто безпліддя (але не завжди) чи менопауза ще в підлітковому віці. Часто порушення органів зору та вади розвитку серця. Ще значно рідше трапляється **пентасомія по Х-хромосомі** (49, XXXXX) – відомо всього 40 випадків за всю історію досліджень з часу опису цієї патології в 1963 році. При цій патології перелічені аномалії виражені ще сильніше.

Синдром Шерешевського-Тернера

45, X0 – моносомія по Х-хромосомі. Жіночий фенотип з сильними патологічними відхиленнями – в першу чергу недорозвиненість статевих органів, безпліддя і низка інших відхилень: низький зріст, вкорочені кінцівки, коротка шия, характерне «сфінксове» обличчя, своєрідна складка шкіри на шиї і голові, що утворює ніби капюшон.



Хвора на синдром Шерешевського-Тернера та каріотип.

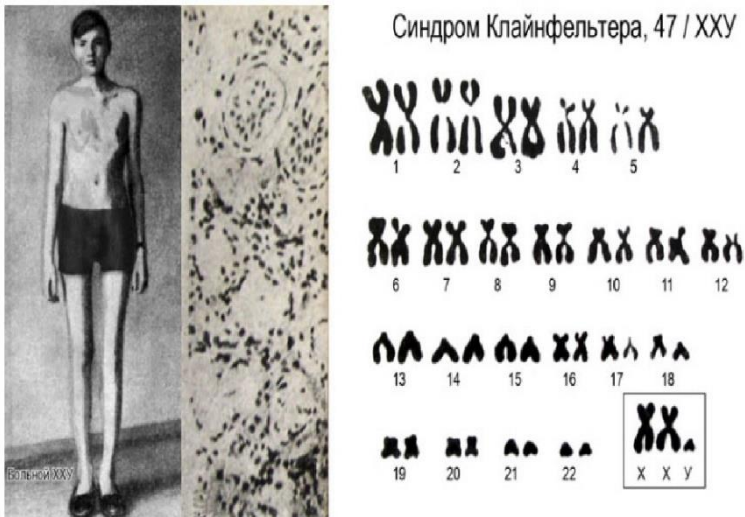
Недорозвинені яєчники, фаллопієві труби та матка, інколи сліпа вагіна. Статеве дозрівання і цикл відсутній, молочні залози або відсутні або не розвиваються. Часто вади розвитку серця. Низький рівень синтезу статевих гормонів.

Відмічені окремі випадки фертильності і нормального розвитку статевих органів, що пояснюється випадками мозаїцизму серед хворих – одні клітини мають моносомію, інші нормальний каріотип. Інтелектуальний розвиток нормальний, але простежується інфантилізм. Частота серед новонароджених жіночої статі в різних популяціях від 1:2000 до 1:5000.

Патологію описували Н. А. Шерешевський в 1925 році та Генрі Тернер в 1938 році, але тільки в 1959 році Едмунд Форд пояснив причину патології.

Синдром Клайнфельтера

Каріотип 47, XXУ – надлишкова Х-хромосома при наявності Y-хромосоми. Чоловічий фенотип, простежуються аномалії – фемінізація, безпліддя, розумова відсталість, високий зріст, видовжені кінцівки, недостатній синтез статевих гормонів. Інколи простежується мозаїцизм і нормальний інтелектуальний розвиток. Частота 1:700 новонароджених чоловічої статі. Вперше описали цю патологію Гаррі Клайнфельтер та Фуллер Олбрайт в 1942 році.



Хворий на синдром Клайнфельтера та каріотип при цій патології.

Синдром Якобс (Джекобс)

Каріотип 47, ХУУ – надлишкова Y-хромосома, чоловічий фенотип. Деякий час вважали цю патологію варіантом норми, але при більш детальних дослідженнях виявили, що для цієї патології характерні порушення психіки, підвищена агресивність, гіпермаскулізація, високий ріст, часто підвищений рівень статевих гормонів. Відомі випадки безпліддя серед хворих на синдром Якобс, але це не типово. Цей каріотип частіше зустрічається серед кримінальних злочинців, ніж серед

нормальних чоловіків. Частота 1:1000 новонароджених чоловічої статі. Вперше описала Патрісія Якобс (Джекобс) в 1959 році.



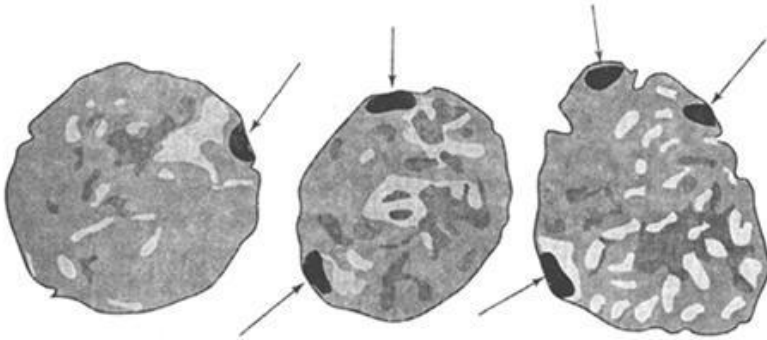
Хворий на синдром Якобс та каріотип при цій патології.

Загалом вважається, що частота появи дітей з аномальними каріотипами по статевих хромосомах становить понад 1 дитину на 600 новонароджених.

Статевий хроматин

У інтерфазних ядрах ссавців простежується невелике дисковидне тільце гетерохроматину під ядерною оболонкою – **тільце Барра**. Це тільце виявляється виключно у самок з каріотипом XX. Воно отримало назву статевий хроматин. Як виявилось, статевий хроматин утворюється з однієї X хромосоми, яка повністю репресується – активною лишається тільки одна X хромосома. Це було доведено наступними фактами: у людей з каріотипами X0, XY, XYY, XYYX статевого хроматину немає взагалі, у людей з каріотипами XX, XXY, XXYY наявна одна глобула статевого хроматину, у людей з каріотипами XXX, XXXY, XXXYY наявні дві глобули статевого хроматину, у людей з каріотипами XXXX, XXXXY наявні три глобули

статевого хроматину, у людей з каріотипами XXXXX наявні чотири глобули статевих хроматину.



Статевий хроматин (тільці Барра) в ядрах клітин епітелію ротової порожнини у людей з різними каріотипами – різними наборами статевих хромосом: XX, XXX, XXXX.

Материнські і батьківські X-хромосоми самок інактивуються в різних клітинах ембріона за законом випадковості. Саме тому самки, гетерозиготні по генах X-хромосоми, є мозаїками: в різних частинах клітин експресуються різні алелі гетерозиготи. Прикладом можуть бути кішки з черепаховим забарвленням, що мають мозаїку шерсті чорних та жовтих плям. Кошенята-самці від таких матерів завжди або жовті або чорні – експресується або ген yellow coat (C^Y) або ген black coat (C^B). Плямисте черепахове забарвлення кішок з генотипом $C^Y C^B$ обумовлене випадковою інактивацією X-хромосом у ранньому періоді розвитку. Жінки, гетерозиготні за генами X-хромосом, теж є мозаїками. Так мутація ектодермальної дисплазії, що обумовлює відсутність зубів і потових залоз, проявляється лише в деяких місцях щелеп і шкіри.



Самка підвиду *Felis silvestris catus* (Linnaeus, 1758) з мозаїчним – так званим «черепажовим» забарвленням шерсті, що утворюється внаслідок випадкової репресії однієї X-хромосоми в клонах ембріональних клітин.

У людини теж трапляються патологічні випадку мозаїцизму, пов'язані з інактивацією однієї з двох X-хромосом. У людини є патології, що полягає у відсутності потових залоз та у відсутності зубів. Гени відповідальні за ці патології є в X-хромосомі. Відповідно чоловіки можуть бути тільки гемізіготні – норма або повна відсутність потових залоз, повна відсутність зубів, жінки – гетерозиготні, утворюється клональний мозаїцизм – частина шкіри має потові залози, частина не має, розподіл плямистий, частина щелеп має зуби, частина немає – розподіл ділянок випадковий.

Механізм інактивації X-хромосом до кінця не з'ясований. Відомо, що у дрозофіли за **дозової компенсації** регулюється не активність всієї X-хромосоми, а кожного гена окремо. Якщо ген аутономи перенесений у X-хромосому, то регуляції його активності по типу компенсації дози не спостерігається. Отже,

цей механізм регуляції специфічний саме для генів Х-хромосом. Його пояснюють наявністю гіпотетичного гена-компенсатора в Х-хромосомі, який не підлягає дозовій компенсації і обумовлює синтез інгібітора транскрипції генів Х-хромосоми. Чим більше Х-хромосом, тим більше синтезується інгібітора і тим нижча активність відповідних генів.

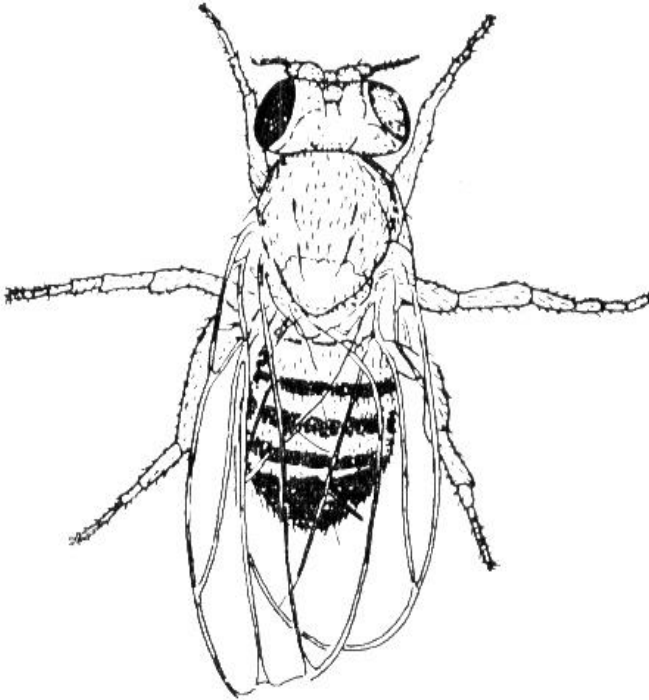


Рис. 22. Гінандроморф дрозофіли.

Гінандроморфи

Гінандроморфи – це особини, у яких половина тіла має жіночу будову, інша половина тіла – чоловічу будову.

Гінандроморфи утворюються тоді, коли при першому поділі зиготи, що має дві Х хромосоми, один із бластомерів отримує обидві Х хромосоми, а інший тільки одну (друга

губиться). Також гіандроморфи можуть виникати, якщо після мейозу в яйці виявляється не одне, а два гаплоїдних ядра. У комах є фізіологічна поліспермія, обидва ядра запліднюються і розвивається гіандроморф. Гіандроморфи відомі у птахів і у комах.

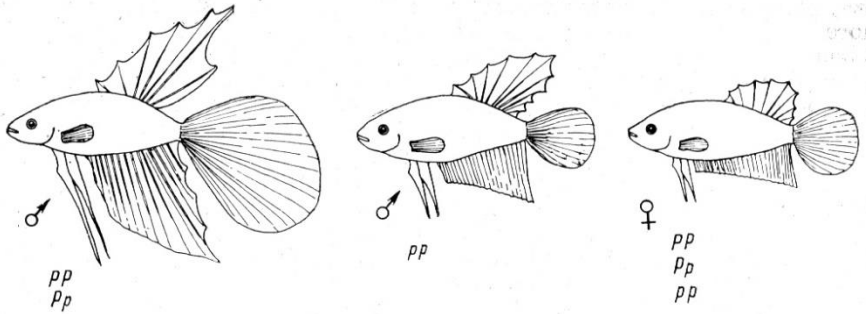


Рис. 23. Обмежені статтю спадкові відмінності розмірів плавців у сіамського риби-півника.

Гени статевих хромосом людини

Гени Х-хромосоми людини

У людини в Х-хромосомі є величезна кількість генів, що не мають відношення до визначення статі, але успадковуються зчеплено зі статтю. На сьогодні в Х-хромосомі відомо більше 1400 генів. Серед цих генів є гени, які в мутантній формі є причиною важких спадкових захворювань людини. Нижче наведені окремі спадкові захворювання людини, що обумовлені генами Х-хромосоми.

Гемофілія

Гемофілія – спадкове захворювання, при якому порушується коагуляція крові, кров не зсідається. Високий ризик внутрішніх кровотеч, що можуть завершитись летально. Існують три основні форми гемофілії А, В, С.



Дитина хвора на гемофілію А з частими кровотечами.

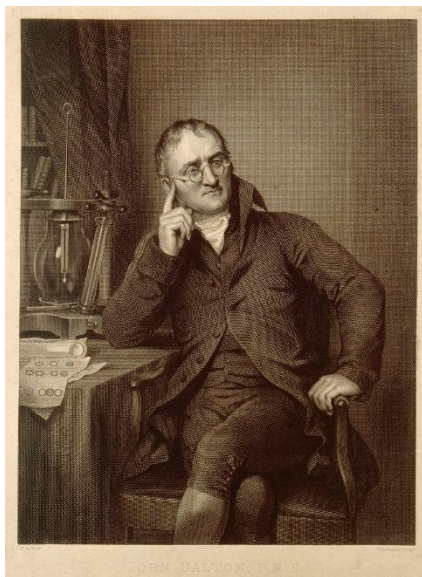
Гемофілія А – причиною є недолік фактору зсідання крові VIII. Це класична найбільш вивчена форма гемофілії. Частота 1:5000 – 1:10000 новонароджених чоловіків в різних популяціях.

Гемофілія В – хвороба Крістмаса – недолік фактора зсідання крові IX. Частота 1:40000 новонароджених чоловіків.

Гемофілія С – хвороба Розенталя – недолік фактору зсідання крові XI. Дуже рідкісна аутосомна гемофілія. Виявлена в популяціях гебреїв ашкеназі.

Зчеплені зі статтю форми гемофілії А та В виявлені тільки серед чоловіків – жінки є тільки носіями захворювання. За всю історію медицини було тільки одне повідомлення про жінку хвору на X-зчеплену гемофілію, але це повідомлення сумнівне – не виключно, що хвора людина страждала одночано на синдром Моріса чи Сваєра і мала каріотип XY. Це пояснюється низкою причин: хворі на гемофілію чоловіки часто не доживають до репродуктивного віку, а якщо доживають то не одружуються. Але в сучасному світі не виключено одруження чоловіка хворого на гемофілію з жінкою носієм гемофілії – тільки тоді можуть народитися жінки хворі на гемофілію. Те, що таких випадків не фіксується пояснюється тим, що гомозигота по гену гемофілії –

X^hX^h леталь і ембріон припиняє свій розвиток – така вагітність завершується викиднем. Носійство гемофілії та захворювання на гемофілію траплялося в королівських родинах Європи, які всі були між собою споріднені. І це інколи фатальним чином впливало на хід історії.



Джон Дальтон (John Dalton)
(1766 – 1844)

Дальтонізм

В X-хромосомі є ген, що відповідальний за кольоровий зір у людини. Якщо цей ген мутантний, то людина не розрізняє певні кольори. Найпоширеніша форма дальтонізму полягає в тому, що людина не розрізняє зелений, червоний та коричневий кольори – для неї ці кольори однакові. Хвороба названа на честь британського фізика і хіміка Джона Дальтона (John Dalton) (1766 – 1844), що теж страждав на дальтонізм і описав на собі цю хворобу. У різних популяціях частота дальтонізму різна. Є унікальні випадки – аборигени острова Пінгелап (Мікронезія) всі

страждають на дальтонізм внаслідок ізоляції та близкоспорідненим шлюбом. Серед чоловіків дальтонізм дуже поширений – частота 2:100 – 8:100 серед новонароджених чоловіків в різних популяціях. Серед жінок трапляється значно рідше – частота 4:1000. Для того, щоб народилася жінка хвора на дальтонізм потрібно щоб чоловік-дальтонік одружився з жінкою, яка є носієм дальтонізму.



Острів Пінгелап в Тихому океані (Каролінгські острови) – світлина з космосу. Всі жителі цього острова страждають на дальтонізм.

Синдром Каллманна

Цю спадкову хворобу вперше описав лікар Франц Йозеф Каллманн в 1944 році. Патогенез полягає в тому, що в хворих, які є гемізіготними по мутантному гену X-хромосоми порушена секреція гонадотропін-релізінг гормону (ГнРг) гіпоталамуса, що впливає на синтез лютинізуючого гормону (ЛГ) та фолікул-стимулюючого гормону (ФСГ) гіпофізу, які регулюють розвиток статевих залоз і відповідно синтезують статеві гормони. У

результаті порушення цього гормонального каскаду статеві залози лишається недорозвиненими, не розвиваються вторинні чоловічі статеві ознаки – виникає комплекс відхилень який назвали євнухoidність.



Хворий на синдром Каллманна.

Хворі є безплідними, тому відповідно хворіють на цей синдром тільки чоловіки, жінки є тільки носіями. У хворих на синдром Каллманна часто трапляються різні вади розвитку піднебіння та полідактилія. Якщо хворому вчасно почати гормональну терапію, то розвиток відбувається нормально, включно з функцією розмноження, тоді з'являється певна імовірність народження жінки з синдромом Каллманна, але досі медицина таких фактів не фіксувала.

Синдром Фабрі (Андерсона – Фабрі)

Лізосомне спадкове X-зчеплене доміантне захворювання з низькою пенетрантністю у жінок. При цій патології порушується метаболізм сфінголіпідів. У хворих страждають в першу чергу нирки, де накопичуються сфінголіпіди в клітинах дистальних каналів нирки. Патологію вперше описали одночасно незалежно один від одного Джон Фабрі (1860 – 1930) та Вільям Андерсон

(1842 – 1900). Частота захворювання 1:40000 – 1:120000 в різних популяціях. Хвороба обумовлена мутацією гена GLA, що розташований в області Xq22 і кодує фермент α -галактозидазу А. Хворі страждають на вади розвитку, акромегалію, сильні своєрідні болі, порушення потовиділення, швидку втомлюваність, своєрідні папули на шкірі – ангіокератоми, порушення роботи нирок, серця, нервової системи, слуху, психіки.



Рука хворого на синдром Фабрі.

Синдром Віскотта – Олдріча

Синдром Віскотта – Олдріча – рідкісне Х-зчеплене рецесивне захворювання. При цій патології простежується імунодефіцит, тромбоцитопенія, екзема. Вперше описав хворобу лікар Альфред Віскотт в 1937 році, але тільки в 1954 році Роберт Андресон Олдріч довів, що це спадкове Х-зчеплене захворювання. Частота хвороби 4:1000000 серед новонароджених. При цій патології порушується синтез білка WAS, що пов'язаний з формуванням цитоскелету і це в першу чергу діє на лейкоцити і мегакаріоцити – білок WAS синтезується тільки в клітинах системи кровотворення. У хворих утворюється дуже мало В та Т лімфоцитів, тромбоцитів, дуже низький рівень імуноглобулінів.

У хворих дуже часто розвиваються лімфоми та лейкози. Є різні форми захворювання, в залежності від того, яка ділянка гена пошкоджена мутацією. Тривалість життя пацієнтів 0 – 11 років. Лікують шляхом трансплантації червоного кісткового мозку.

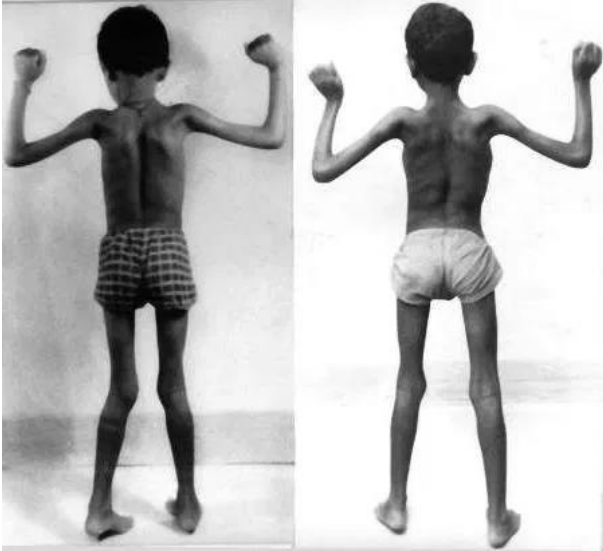


Дитина хвора на синдром Віскотта – Олдріча.

Міодистрофія Дюшена

Міодистрофія дюшена – важке спадкове Х-зчеплене рецесивне захворювання, що проявляється в прогресуючій дистрофії м'язів, яка завершується інвалідністю, а потім і смертю хворого. Хворіють тільки чоловіки, жінки є носіями захворювання, бо хворі не доживають до репродуктивного віку, а якщо і доживають, то є глибокими інвалідами не здатними на продовження роду. Причиною є мутація гена, що відповідає за синтез білка, який розташовується між тяжами актину та грає ключову роль у формуванні каркасу для актину в актино-міозиновому комплексі скелетних м'язів. Цей ген є дуже великим – довжиною близько 1,5 млн. пар нуклеотидів (1 500 kb), через це міодистрофію Дюшена можуть спричинити дуже різні мутації, що виникають на різних ділянках гену. Відомо принаймні кілька тисяч таких мутацій. Середня частота захворювання 1:10000 серед новонароджених чоловіків. Хвороба розвивається

поступово, першими деградують м'язи спини. Є різні форми захворювання з різним рівнем важкості. Час життя хворих – до 17 років, інколи до 21 року.



Хворі на міодистрофію Дюшена.

Міодистрофія Беккера

Важке спадкове Х-зчеплене рецесивне захворювання. Полягає в прогресуючій деградації м'язів ніг і слабкістю м'язів рук. Супроводжується аритмією серця, легеневою недостатністю, пневмоніями та психічними розладами. По суті є легшою формою міодистрофії Дюшена, бо спричинена мутацією того самого гена, який ще називають геном дистрофіну.

Синдром Альпорта

Важке спадкове Х-зчеплене захворювання. Нормальний ген проявляє неповне домінування щодо мутантного гена. Патогенез полягає в порушенні функції нирок – в сечі наявна кров та білок. Розвивається глухота та сліпота. Хворіють гемізиготні чоловіки, але в гетерозиготних жінок функція нирок занижена. Ниркова

недостатність у хворих розвивається переважно у віці 20 – 30 років.

Синдром Шарко-Марі-Тута

Відомо більше 9 форм синдрому Шарко-Марі-Тута. Серед цих форм є аутосомно-домінантні спадкові захворювання, викликані мутаціями гена PMP22, що розташований в короткому плечі 17 хромосоми в області 17p11.2. Є форми аутосомно-домінантні, що обумовлені мутацією гена MPZ. Є форми пов'язані з мутаціями генів PMP22, MPZ, GJB1 и MFN2. Є ще форма зчеплена з X-хромосомою. Всі форми синдрому Шарко-Марі-Тута супроводжуються аномаліями мієлінової оболонки нервів, порушенням інервації нижніх кінцівок, втратою чутливості нижніх кінцівок, зниженням сухожильних рефлексів, що призводить до деформації кінцівок, деградації м'язів та інвалідності.



Стопа людини хворої на синдром Шарко-Марі-Тута

X-зчеплений іхтіоз

Є дуже різні форми іхтіозу, серед них є X-зчеплений. Це спадкове захворювання шкіри – рецесивне зчеплене з X-хромосомою, викликане спадковим дефіцитом ферменту стероїдної сульфатази (STS), обумовлено мутацією гена, що розташований в області Xp22.3. Зустрічається з частотою 1:2000 – 1:6000 серед

новонароджених чоловіків. Проявляється у вигляді сухої шкіри, яка лущиться. Переважно мутаціями гена STS, що викликають це захворювання є делеції, рідше точкові мутації. Хворіють переважно чоловіки, але серед жінок дуже рідко, але трапляється це захворювання – у дочок батька хворого на X-зчеплений іхтіоз.



Дитина хвора на X-зчеплений іхтіоз

Синдром Мартіна-Белла (синдром ламкої X-хромосоми)

Спадкова X-зчеплена рецесивна патологія. Причина захворювання – своєрідна мутація, що полягає в збільшенні повторів CGG в одній з областей довгого плеча X-хромосоми у так званому CGG-острівці гена FMR1, що розташований біля гена NLS. У здорових людей число цих повторів в цій ділянці X-хромосоми 6 – 54. У хворих людей число повторів CGG збільшується до 200 і більше. Патологія проявляється в розумовій відсталості, порушенні психіці, аутизмі, аномаліях будови черепа, збільшені вуха. У хворих жінок порушення репродуктивної функції. Хворіють переважно чоловіки, дуже рідко трапляються хворі жінки гомозиготні по аномальних X-хромосомах. Частоти захворювання серед новонароджених: 1:4000 серед чоловіків і 1:8000 серед жінок.



Дитина хвора на синдром Мартіна-Белла.

Синдром Менкеса (синдром кучерявого волосся)

Спадкове Х-зчеплене рецесивне захворювання, що пов'язана з обміном міді в організмі, що призводить до її нестачі.



Дитина хвора на синдром Менкеса.

Супроводжується неврологічними розладами, затримкою росту і характерним кучерявим волоссям. Причина – мутація в гені, що кодує пептид АТР7А – АТФ-азу Р-типу, що транспортує катіон міді. Частота зустрічі у новонароджених 1:100000. Летальність настає переважно у віці до 3 років. Хворобу вперше описав Джон Ганс Менкес (1928 – 2008) у 1962 році.

Гени Y хромосоми

Y хромосома – мініатюрна субметацентрична хромосома, розміром 59 000 kb. Виявлено 86 генів, що розташовані в Y хромосомі людини. Майже всі ці гени відповідають за сперматогенез або за визначення статі в процесі ембріонального розвитку. Мутації цих генів призводять до порушення сперматогенезу і стерильності. Проте, в Y хромосомі є гени, які одночасно є в X хромосомі. Наприклад ген AMELY/AMELX, що кодує амелогенін – білок, що бере участь у розвитку емалі зубів. Ген RPS4Y1/RPS4Y2/RPS4X належить до рибосомних білків.

В Y хромосомі розташований ген ZFY, мутація якого викликає **синдром Фрейзера**. Синдром супроводжується криптофральною – нерозділенням повік оцей, вадами розвитку. Проте, є ще аутосомний рецесивний ген, що викликає цей же синдром.

В Y хромосомі розташовані низка генів, що не пов'язані ні з розвитком статі, ні зі сперматогенезом, кодують ознаки, що успадковуються тільки по чоловічій лінії – голандричні ознаки. До цих генів належать гени, мутації яких викликають перетинки між пальцями ніг, Y-зчеплений іхтіоз, надмірне волосся на вухах.

Чисельні співвідношення статей і їх регуляція

Як правило, співвідношення статей у різних тварин х сингамним визначенням статі та в людини є 1 : 1, але часто це співвідношення порушується за рахунок:

1) диференційованої смертності. Так, у людини смертність серед чоловіків вища, ніж смертність серед жінок. І якщо хлопчиків народжується більше (52 : 48), то до 50 років співвідношення

статей у людини становить 85 : 100. У метеликів смертність на фазі гусениці у самок більша, ніж у самців.

2) Генетичні причини: інколи в популяції наявні летальні гени, що порушують поведінку статевих хромосом. Так, у дрозофіли виявлено ген, що усуває Y-хромосому з популяції, знищує гамети з Y-хромосоною і народжуються виключно самки.

Явище відносної сексуальності

Явище відносної сексуальності полягає в тому, що в рамках виду існують не дві статі, а кілька різних статевих форм, що здатні брати участь у статевому процесі, але лише у певних комбінаціях. Так, у хламідомонади існують «+» і «-» статі, але кожна з цих статей має слабку і сильну форму – наприклад, слабкий «+» і сильний «+». Тобто фактично існує не дві, а чотири статі. Сильний «+» може вступати у статевий процес із слабким «+», тоді слабкий «+» грає роль мінуса.

У гриба алейродискусу існують чотири статевих форми, що обумовлюються генами А, а, В, b. Здатні вступати у статевий процес клітини, що відрізняються по обох генах:

AB X ab

Ab X aB

aB X Ab

У інфузорій є вісім статей. Кожна стаття може вступати в кон'югацію з сімома іншими статтями, але не зі своєю.

У бактерій є клітини донори ДНК (умовно чоловічі) і клітини акцептори ДНК (умовно жіночі). Чоловічі клітини містять статевий фактор – епісому F. Фактор F може передаватися від однієї клітини до іншої і тоді жіноча клітина перетворюється у чоловічу, або може втрачатися клітиною, і тоді чоловіча клітина перетворюється на жіночу.

ЗЧЕПЛЕННЯ ГЕНІВ І КРОСИНГОВЕР

Зчеплення генів – це явище, яке полягає в тому, що при розщепленні в потомстві дигібридних особин-число особин, що несуть поєднання генів, яке є у батьківських особин перевищує

очікуване у відповідності із законом незалежного комбінування, а число рекомбінантів менше очікуваного.

Наприклад: у дрозофіли є гени e (*ebony*) – чорне тіло і ss (*spineless*) – редуковані щетинки. Відповідно гени e^+ - дикий тип (*сіре тіло*), ss^+ дикий тип (нормальні щетинки). При схрещуванні:

P: ♀ $e^+ e^+ ss^+ ss^+$ X ♂ $e e ss ss$
сірі щетинкові чорні безщетинкові

F1: ♀ $e^+ e ss^+ ss$ X ♂ $e e ss ss$ (аналізуюче схрещування)
сірі щетинкові чорні безщетинкові

F2: Сумарна кількість особин 861 і з них:

Сірих щетинкових - 384

Чорних безщетинкових - 371

Чорних щетинкових – 53

Сірих безщетинкових – 45

Згідно із законом незалежного комбінування таке схрещування повинно було б дати нащадків у співвідношенні 1 : 1 : 1 : 1. Але доля рекомбінантів виявилась 11,4 %. Тобто ці гени виявились зчеплені між собою.

У кожного виду виявлена певна кількість груп зчеплення. Так у *Drosophila melanogaster* – 4 групи зчеплення, у *D. virilis* – 6, *D. funebris* – 6, *D. pseudoobscura* – 5, *D. willistoni* – 3, *Homo sapiens* – 23. Розгадка цього явища проста: гени розташовані у хромосомах і у кожного організму число генів набагато більше ніж число хромосом.

Основою незалежного розподілу генів служить незалежне комбінування різних негомологічних хромосом при мейозі, внаслідок чого гамети або спори, які утворюються гетерозиготою, отримують вихідні батьківські хромосоми у випадкових комбінаціях. Тому очевидно, що зчеплення спостерігається між генами, що лежать в одній хромосомі. Такі гени утворюють **групу зчеплення**. Число груп зчеплення рівне числу хромосом.

Кросинговер

Якщо зчеплені гени лежать в одній хромосомі, але у гетерозигот за ними при утворенні гамет або спор у відомому числі випадків відбувається рекомбінація цих генів, значить, пара гомологічних хромосом може під час мейозу обмінюватись частинами хромосом. Такий обмін отримав назву кросинговеру (від англ. crossing over – утворення перехресту). Під час кросинговеру утворюються **кросоверні гамети** – гамети, що містять рекомбінації зчеплених генів.

Вивчення кросинговеру показало, що частота кросинговеру між двома зчепленими генами являє собою величину, характерну саме для даної конкретної пари генів. Наприклад, *Drosophila melanogaster* у другій хромосомі містить такі гени: al – відсутність відгалужень на вусиках, dr – усічені кінці крил, b – чорне тіло, j – загнуті догори крила, Bl – товсті вкорочені щетинки, pr – пурпурні очі, cn – кіноварні очі, vg – зачаткові крила, L – зменшені очі, c – загнуті вниз крила, a – розсунуті дугоподібні крила, px – сітка додаткових жилок, bw – коричневі очі. Частоти кросинговеру між цими генами в нормальних умовах є величини сталі:

Пари генів	Частота кросинговеру (%)	Пари генів	Частота кросинговеру (%)
b-j	0,2	vg-L	5,0
b-pr	6,0	vg-c	8,5
b-Bl	6,3	c-L	3,5
b-cn	9,0	a-px	1,3
vg-cn	9,5	px-bw	4,0

Карти хромосом

Чим далі один від одного розташовані гени в хромосомі, тим більша ймовірність того, що між ними відбудеться кросинговер. Наприклад, у якомусь організмі існують гени А, В, С. Частота кросинговеру між генами А і В становить 3 %, між

генами В і С – 5 %, між генами А і С – 8 %. З цих даних висновок напрашується такий: зчеплені гени розташовані у хромосомі в лінійному порядку і частота кросинговеру між ними прямо пропорційна відстані, що розділяє їх у хромосомі. Це вірно для генів, що розташовані відносно недалеко на хромосомі. Це дозволило **скласти генетичні карти хромосом**. Відстань на генетичних картах хромосом виражають в одиницях, що відповідають 1 % кросинговеру. Ця одиниця називається **Морганіда (М)**. Місце, яке займає ген на хромосомі чи генетичній карті, називається **локус**.

Подвійний і множинний кросинговер. Інтерференція

Кросинговер може відбуватися одночасно у двох чи кількох точках пари гомологічних хромосом. Так, гетерозигота по трьох зчеплених генах АВС/abc може, крім некросоверних гамет АВС і abc та гамет з комбінацією генів з одиночним кросинговером (Abc, aBC, AVc, abC), утворювати гамети AbC, aBc, що виникають у випадках подвійного кросинговеру, що відбувається одночасно між генами А і В та між генами В і С.

Можуть виникати не тільки подвійні, але і потрійні, четвертинні та інші кросинговери. Парне число перехрестів між двома генами не приводить до рекомбінації. Кросинговер, що відбувся, утруднює одночасне здійснення інших кросинговерів на сусідніх ділянках хромосоми. Це явище отримало назву **інтерференція**. Силу інтерференції виражають **коефіцієнтом коінциденції (К)** :

$$K = F/T$$

К – коефіцієнт коінциденції

F – фактична частота подвійного кросинговеру

T – теоретична частота подвійного кросинговеру (рівна добутку частот одинарного кросинговеру).

Розрізняють ще поняття **значення інтерференції (I)**:

$$I = 1 - K$$

Сила інтерференції різна у різних видів і у різних хромосомах одного виду і в різних ділянках однієї хромосоми. Сила інтерференції тим сильніша, чим коротша ділянка

хромосоми. Так, на відстані 10 морганід у дрозофіли $K = 0$, на відстані 40 морганід $K = 1$.

Для генів, що розташовані далеко один від одного, можна застосовувати формулу:

$$P = \frac{1}{2} (1 - e^{-2d} \cos 2d)$$

d – відстань між генами у одиницях карти

e – основа натурального логарифма.

P – фактично виявлена частота рекомбінації

Але поблизу центромери цю формулу застосовувати не слід – біля центромери спостерігається повна ($K = 1$) або навіть від’ємна інтерференція ($K > 1, I < 0$).

Нерівний кросинговер

Під час мейозу гомологічні хромосоми зближуються по всій довжині, розташовуються так, що відповідні точки двох парних хромосом точно співпадають, розриви відбуваються у суворо тотожних місцях. Тому кросинговер приводить до обміну рівними ділянками хромосом, що містять рівне число генів. Але ці закономірності іноді порушуються. Зокрема, при тандемних дуплікаціях. Прикладом нерівного кросинговеру є прояв мутації *Var* у дрозофіли. Мутація *Var* викликає смугасті очі у дрозофіли внаслідок редукції очних фасеток. В лінії *Var Var* періодично з частотою 1 : 1600 з’являються мухи з нормальними очима і з більш сильною редукцією очних фасеток, ніж у *Var* – так звані *UltraVar*. Мутанти *UltraVar* виникають в результаті потрійної дуплікації ділянки *X* хромосоми: в результаті нерівного кросинговеру – одна хромосома втрачає, інша отримує ту ж ділянку.

Цитологічний механізм кросинговера

Кросинговер відбувається на зиготенній і пахітенній стадіях профазі мейозу, коли кожна хромосома вже розділена на дві хроматиди – пара хромосом представлена чотирма хроматидами. В акті кросинговеру беруть участь дві з чотирьох хроматид.

Мейоз

Статеві клітини – гаплоїдні, тому повинні формуватись за допомогою особливого механізму клітинного поділу, який отримав назву **мейоз**. Тобто, мейоз – це процес поділу клітин, в результаті якого утворюються гаплоїдні клітини – **гамети**.

При мейозі відбувається не один, а два поділи ядра. В результаті цього з однієї диплоїдної клітини утворюються чотири гаплоїдних. Редукція генетичного матеріалу досягається завдяки двом поділам клітини – **поділам дозрівання**:

- 1) **Редукційний поділ** – приводить до утворення двох генетично не однорідних дочірніх клітин (1n, 2c).
- 2) **Еквацийний поділ** – кожна з клітин попереднього поділу дає дві генетично ідентичні клітини (1n, 1c).

Мейоз був відкритий у 1883 році при цитологічному дослідженні черва *Parasacris equorum*. Було виявлено, що гамети містять по дві хромосоми, тоді як інші клітини містять по чотири хромосоми.

Найважливіші процеси мейозу – взаємне розпізнавання гомологічних хромосом, кон'югація, кросинговер - відбуваються під час **профази мейозу I**. Це складний і довгий процес, протягом якого ядерна мембрана зберігається. Його прийнято ділити на 5 етапів – лептотену, зиготену, пахітену, диплотену і діакінез.

Під час **лептотени** кожна хромосома змінює свою інтерфазну конформацію, переходить у більш конденсовану форму, утворюючи довге волокно з білковим тяжем. Кожна хромосома обома кінцями прикріплюється до ядерної мембрани – утворюються спеціалізовані структури - так звані **прикріплювальні диски**. Кожна хромосома вже реплікована і складається з **сестринських хроматид**. Ці хроматиди тісно зближені між собою, тому кожна хромосома візуально здається одиночною.

Під час **зиготени** починається **синапсис** – тісна кон'югація двох гомологічних хромосом. На початковому етапі необхідно, щоб гомологи розпізнали один одного на відстані. Кон'югація починається з того, що гомологічні кінці двох хромосом зближуються на ядерній мембрані, а потім процес з'єднання

гомологів поширюється вздовж хромосом від обох кінців. В деяких випадках синапсис може починатися у внутрішніх ділянках хромосом і продовжуватись по напрямку до кінців хромосом. Коли гомологи кон'югують, їх білкові тяжі зближуються, утворюючи два **бокових елементи** синаптонемального комплексу. Кожну пару хромосом на цій стадії називають **бівалентом**, але поскільки кожна гомологічна хромосома пари складається з двох, тісно зближених сестринських хроматид, для кожної пари хромосом більше підходить інша поширена назва – **тетрада**.

Пахітена починається після завершення синапсису по всій довжині хромосом. На цій стадії вони можуть лишатися на кілька діб. На цій стадії повністю формується **синаптонемальний комплекс**, у ньому з'являються **рекомбінантні вузлики**, які здійснюють обмін ділянками хромосом. Такі обміни приводять до утворення перехрестів – **хіазм**. Синаптонемальний комплекс являє собою довге білкове утворення, що нагадує мотузку драбини, до протилежних сторін якої прикріплені дві гомологічних хромосоми, так, що виходить довга і вузька пара хромосом.

Сестринські хроматиди лишаються тісно зближені, а їх ДНК утворює чисельні петлі. Рекомбінантний вузлик являє собою мультиферментний комплекс. Він може бути сферичним, еліпсоїдним або стержневидним білковим комплексом, величиною біля 90 нм (молекули найбільших білків мають в діаметрі 10 нм). Рекомбінантні вузлики сидять на деякій відстані один від одного, на драбині синаптонемального комплексу між двома гомологічними хроматидами і ефективно здійснюють процес кросинговера (рис. 19, 20).

Диплотена починається з розділення кон'югуючих хромосом. Синаптонемальний комплекс розпадається, що дозволяє двом гомологічним хромосомам біваленту відсунутись один від одного. Але гомологи ще зв'язані кількома хіазмами, тобто місцями де відбувся кросинговер. В ооцитах диплотена може розтягнутися на роки і десятиліття. На цій стадії хромосоми деконденсуються, починається синтез РНК, що забезпечує

дозріваючі гамети запасними речовинами. Утворюються так звані **хромосоми типу лампових щіток**.

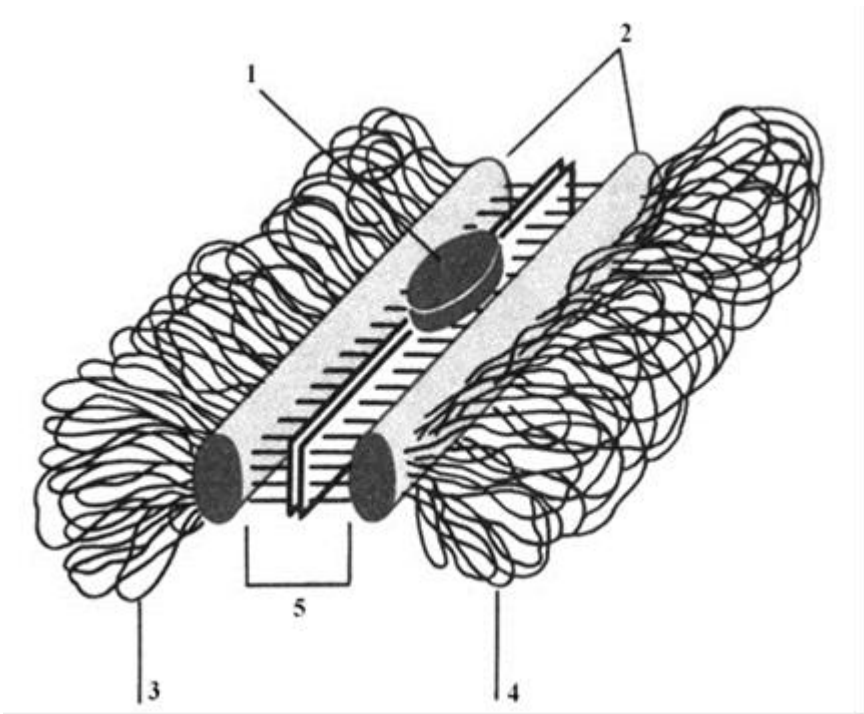


Рис. 24. Синаптонемальний комплекс.

1 – рекомбінантний вузлик

2 – бокові елементи

3 – хроматин сестринських хроматид 1 і 2

4 – хроматин сестринських хроматид 3 і 4

5 – осьовий елемент

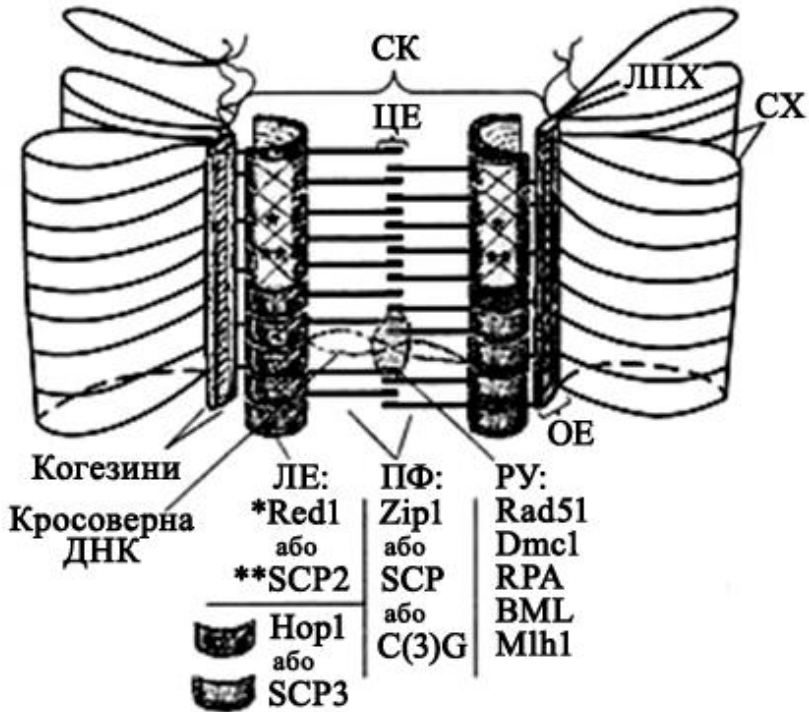


Рис. 25. Білки синаптонемального комплексу.

Діакінез – стадія, яка передує метафазі, синтез РНК припиняється, хромосоми конденсуються, потовщуються, віддаляються від ядерної мембрани. Візуально простежується будова біваленту – чотири окремі хроматиди, причому кожна пара сестринських хроматид з'єднана центромером, тоді як несестринські хроматиди з'єднані хіазмами.

Подальші стадії мейозу. Подальші стадії займають не більше 10 % всього часу, що необхідний для мейозу і вони носять ті ж назви, що і відповідні стадії мітозу. В першому поділі мейозу розрізняють метафазу I, анафазу I, телофазу I. До кінця першого поділу хромосомний набір редукується – розходяться по дочірнім клітинам гомологічні хромосоми, хромосомний набір перетворюється з тетраплоїдного в диплоїдний. Відмінність від

мітозу полягає в тому, що при першому поділі мейозу в кожен дочірню клітину потрапляють дві сестринські хроматиди, з'єднані в області центромери, а при мітозі – дві розділені хроматиди. Далі після короткої інтерфази II, в якій хромосоми не подвоюються, швидко відбувається другий поділ – профаза II, метафаза II, анафаза II, телофаза II. В результаті з однієї диплоїдної клітини, що вступила в мейоз, утворюється чотири гаплоїдних ядра.

Постає питання: чи кросинговер може відбуватись між сестринськими хроматидами, які є тотожними? Виявилось, що такий обмін відбувається при так званому мітотичному кросинговері.

Мітотичний кросинговер або **соматичний кросинговер** – це рекомбінація зчеплених генів, що лежать у парі гомологічних хромосом і яка відбувається під час мітозу – головним чином у соматичних клітинах. Вперше виявлений у дрозофіли. В результаті мітотичного кросинговеру можуть утворюватись так звані «близнюкові плями» – мозаїчні плями, де поруч розташовані два генетичні типи клітин, що відрізняються один від одного і від інших клітин даної особини.

Фактори, що впливають на кросинговер

Частота кросинговера між двома зчепленими генами є постійною тільки у нормальних умовах. Ряд факторів впливають на частоту кросинговеру:

- 1) Статевий фактор – у багатьох видів живих істот у гетерогаметної статі частота кросинговера занижена або у гетерогаметної статі кросинговер взагалі відсутній. Так, у дрозофіли мейотичний кросинговер є тільки у самок.
- 2) Мутації – часто роблять кросинговер неможливим.
- 3) Є гени, які подавляють кросинговер.
- 4) Є гени, які підвищують частоту кросинговеру або роблять кросинговер можливим у самців.

5) Віковий фактор – у дрозофіли у молодих самок кросинговер є високим, потім його частота знижується і з віком потім знову зростає.

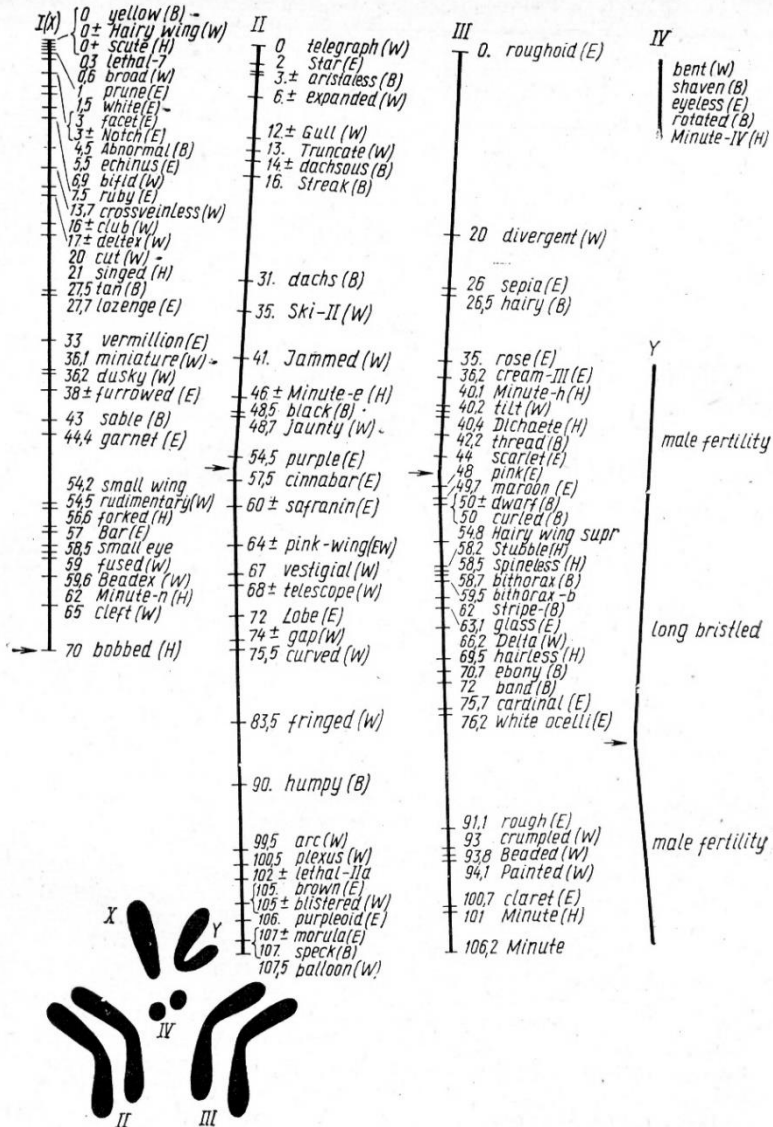


Рис. 26. Генетична карта хромосом дрозофіли.

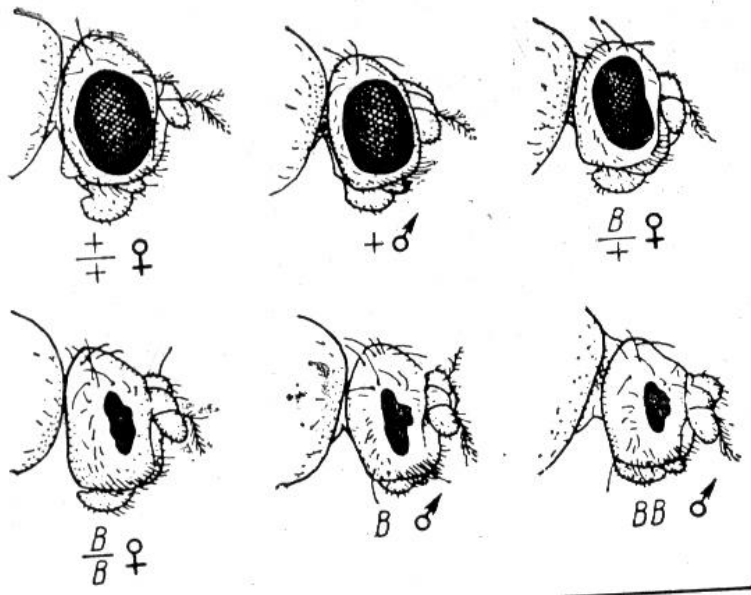


Рис. 27. Різний прояв ознаки Bar у дрозофіли. Ознаки ультра-*Bar* можуть виникати в результаті нерівного кросинговеру.

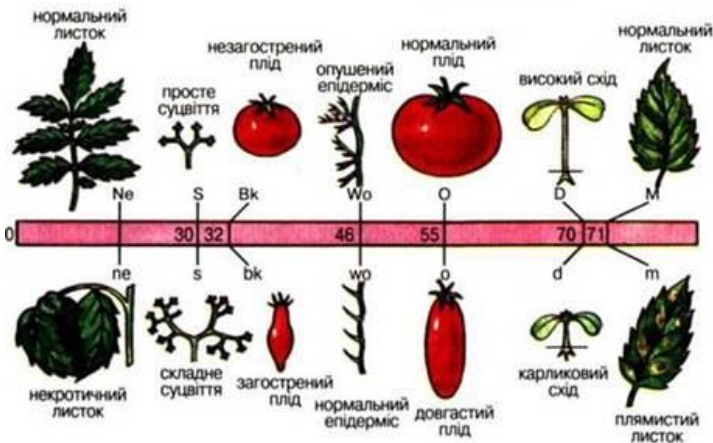


Рис. 28. Приклад зчепленого успадкування генів у рослин томату.

- 6) Температурний фактор – при температурі 25°C кросинговер мінімальний, при підвищенні або зниженні температури частота кросинговеру зростає.
- 7) Голодування – призводить до зростання частоти кросинговеру.
- 8) Недолік вологи - призводить до зниження частоти кросинговеру.
- 9) Опромінення – підвищує частоту кросинговеру.
- 10) Йони кальцію – підвищують частоту кросинговеру.

Прилад розв'язування задач на кросинговер і картування генів

Задача. Схрестили самку дрозюфілі дикого типу з самцем чорним (мутація black – b), із загнутими догори крилами (мутація jump – j) та червоно-коричними очима (мутація rosy – ry). Отримали в першому поколінні: 1024 мух дикого типу, 1031 муху чорну, з загнутими догори крилами, червоно-коричневими очима, 150 мух чорних, 157 мухи із загнутими догори крилами і червоно-коричневими очима, 71 муху чорну із загнутими догори крилами, 65 мух з червоно-коричневими очима, 1 муху із загнутими догори крилами, 1 муху чорну з червоно-коричневими очима. Визначити генотипи всіх мух, розрахувати частоту рекомбінації і відстань між генами, намалювати генетичну карту ділянки хромосоми з цими генами, визначити коефіцієнт коінциденції та значення генетичної інтерференції. Пояснити отримані результати. Розв'язок:

P: ♀ +++ / b j ry X ♂ b j ry / b j ry

F1:

1. b j ry / +++ - 1024

2. b j ry / b j ry - 1031

3. b j ry / b ++ - 150 $|b-j| = (150+157+1+1)/2500 = 0,124$ (12,4 М)

4. b j ry / + j ry - 157 $|j-ry| = (71+65+1+1)/2500 = 0,054$ (5,4 М)

5. b j ry / b j + - 71 $|b-ry| = (150+157+71+65)/2500 = 0,177$ (17,7 М)

6. b j ry / +++ ry - 65

7. b j ry / b + ry - 1

8. b j ry / + j + - 1

b j ry

12,4 5,4

17,7

K = F/T F = (1 + 1) / 2500 = 0,0008

T = 0,124 X 0,054 = 0,0067

K = 0,0008 / 0,0067 = 0,119

I = 1 – K = 1 – 0,119 = 0,881

Висновок: кросинговер на між генами b – j ускладнює і зменшує частоту між генами j – ry. Гени знаходяться на одному плечі хромосоми, по один бік від центромери.

ГЕНЕТИКА БАКТЕРІЙ І ВІРУСІВ

Картування бактеріальної хромосоми

Хромосоми бактерій і вірусів складаються тільки з однієї молекули нуклеїнової кислоти (ДНК або РНК). У бактерій геном складається з однієї бактеріальної хромосоми, що являє собою одну кільцеву постійно релаксовану молекулу ДНК, інформація з якої постійно зчитується. У бактерій під час статевого розмноження на відміну від еукаріот внесок батьківських організмів (донора і реципієнта) – нерівний (реципієнт – вносить цілу хромосому, донор – частину хромосоми), тому клітина, в якій відбувається кросинговер не диплоїдна, а частково диплоїдна – **меродиплоїдна**. Така клітина називається **мерозигота**. Крім бактеріальної хромосоми в клітині бактерій існують ще мініатюрні кільцеві ДНК, що в сотні і в тисячі разів менші за бактеріальну хромосому – **плазмід**. Бактерії можуть обмінюватись плазмідами або поглинати плазмід з зовнішнього середовища. Крім того, плазмід можуть входити до складу бактеріальної хромосоми, можуть виходити з неї. Такі плазмід називаються **епісомами**.

Існують різні способи перенесення генетичного матеріалу у бактерій:

- 1) **Трансдукція** – спосіб змішування генів у бактерій, при якому фрагмент хромосоми однієї бактерії переноситься у іншу бактерію бактеріальним вірусом (бактеріофагом).
- 2) **Сексдукція** - спосіб змішування генів у бактерій, при якому фрагмент хромосоми однієї бактерії переноситься у іншу бактерію статевим фактором F.
- 3) **Трансформація** – спосіб змішування генів у бактерій, при якому фрагмент хромосоми однієї бактерії переноситься у іншу бактерію безпосередньо – бактерія поглинає чужорідну ДНК з розчину після руйнування іншої бактерії і включає чужорідну ДНК у свій геном.

Статевий фактор бактерій являє собою епісому – плазмід, що здатна включатися у бактеріальну хромосому. Фактор F

включається в бактеріальну хромосому *E. coli* між генами *lac* і *ton* (генами утилізації лактози і геном чутливості до фагу T1).

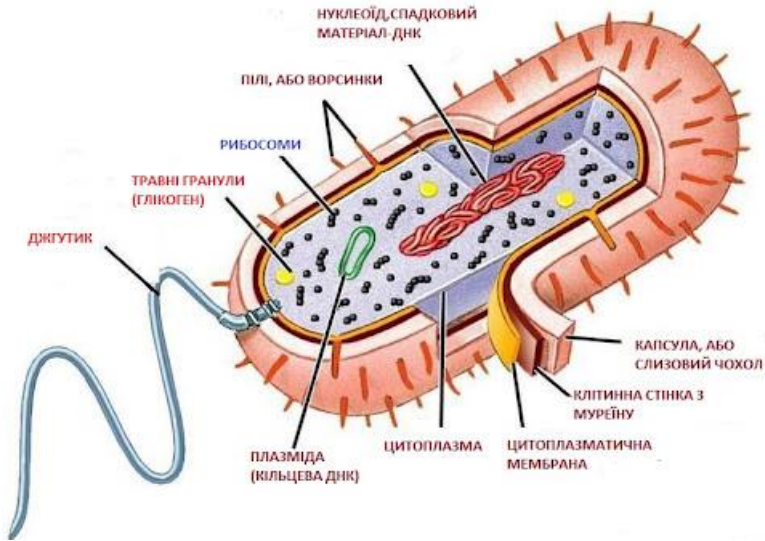


Рис. 30. Схема будови клітини і геному бактерій.

При такому включенні штамп F перетворюється у Hfr штамп (від англ. High frequency recombination – висока частота рекомбінації).

Хромосома бактерій кільцева, її цілісність при кросинговері може зберігатися тільки у випадку парного числа обмінів між нею і привнесеним фрагментом хромосоми донора – **екзогеноту**. При непарному числі обмінів утворюється нежиттєздатна рекомбінантна лінійна хромосома з дуплікаціями на обох кінцях. Обмін ділянками між хромосомою бактерії-реципієнта і бактерії-донора можна виявити, якщо гени, що містяться в цьому фрагменті, представлені іншими алелями, ніж гени в хромосомі реципієнта, тобто якщо мерозигота буде гетерозиготна по цих генах (тобто буде **гетерогеноту**).



Статевий процес (сексдукція) у бактерій кишківникової палички людини (*Escherichia coli*).

Гетерогенота – це мерозигота по генах, що вступили у кросингвер.

Екзогенота, як правило, нежиттєздатна, тому реєструється тільки половина продуктів рекомбінації. Але, коли донорний фрагмент включений в плазмиду, обидва продукти рекомбінації лишаються у клітині і можуть бути виявлені. Визначення частоти кросингверу між бактеріальними генами складніше, ніж у еукаріот, бо лишається невідомим число мерозигот, від яких

пішли виявлені в досліді рекомбінанти. Інтерференція практично відсутня у бактерій, але має місце явище від'ємної інтерференції.

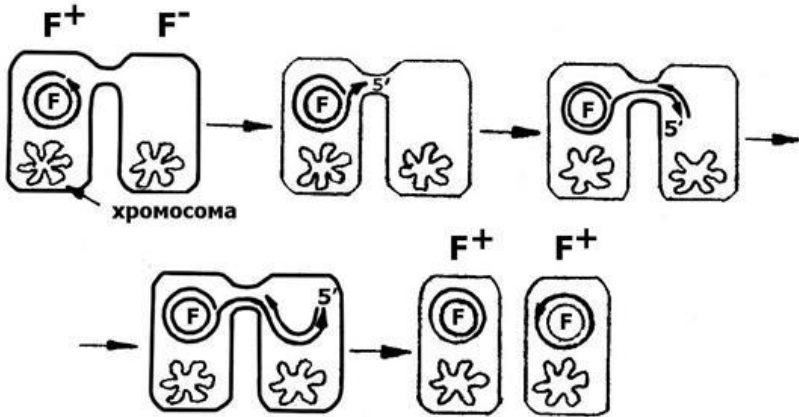


Рис. 31. Схема передачі статевого фактору бактерій (F-фактору) від одної бактеріальної клітини до іншої.

Від'ємна інтерференція – це явище, при якому кросинговер підвищує рівень кросинговеру на сусідніх ділянках хромосоми.

Фізичне картування бактеріальних генів методом перерваної кон'югації

Перенесення ДНК з клітини донора до клітини реципієнта у бактерій здійснюється по механізму «кільця, що котиться». Але часто відбувається руйнування кон'югаційної трубки і обрив хромосоми Hfr (навіть під дією механічних струсів) – у F^- клітину ціла Hfr –хромосома потрапляє дуже рідко. Послідовність поступлення генів з Hfr клітин у F^- клітини надає можливість картувати їх у бактеріальній хромосомі у відповідності з порядком і часом їх потрапляння в клітини.

Приклад: Hfr, Thr⁺, Leu⁺, Az^S, Tl^S, Lac⁺, Gal⁺, Str^S X F^- , Thr⁺, Leu⁻, Az^R, Tl^R, Lac⁻, Gal⁻, Str^R.

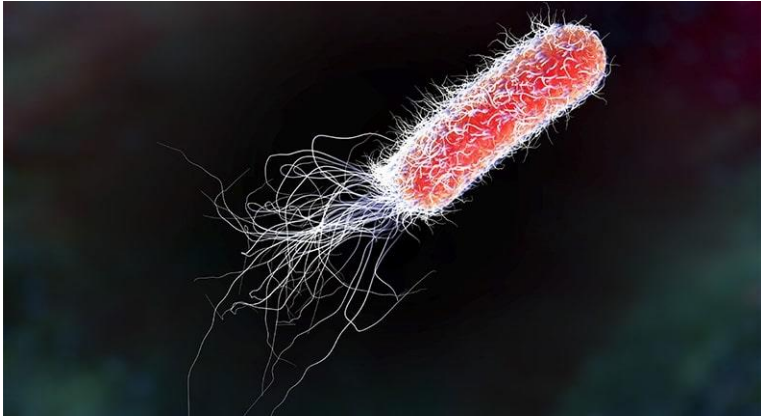
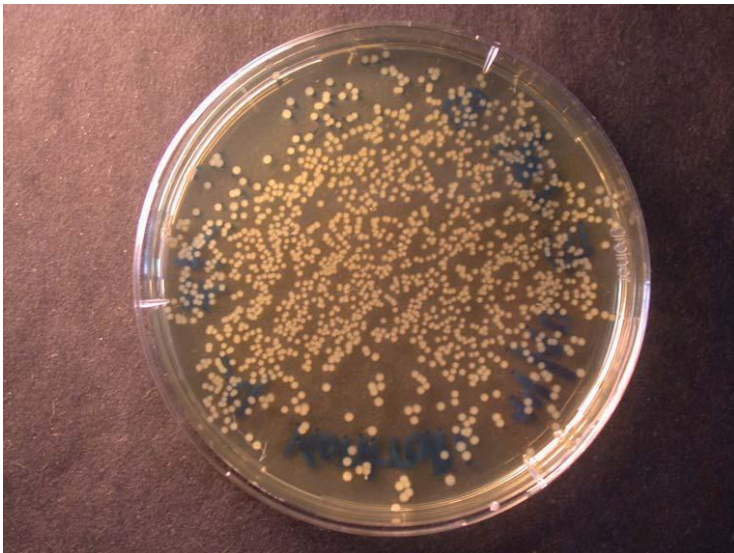


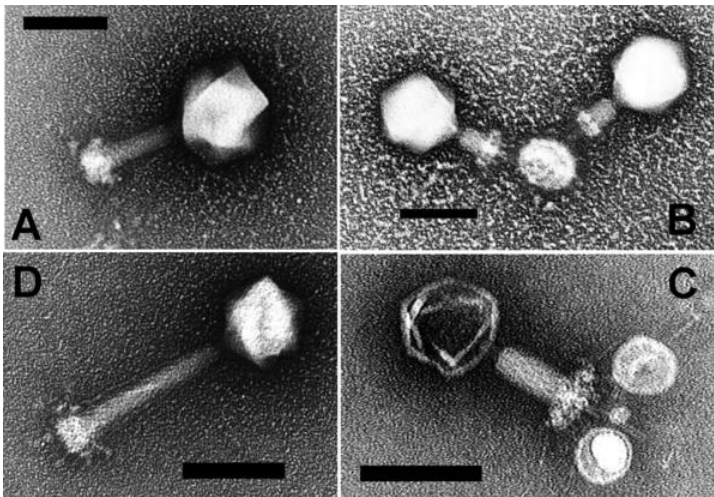
Рис. 32. Бактерія кишківникова паличка людини (*Escherichia coli*) – основний модельний об'єкт молекулярної генетики та вивчення генетики бактерій.



Колонії бактерій на поживному середовищі, що приготоване на агарі в чашці Петрі.



Рис. 33. Схема будови бактеріофага – вірусу бактерій.



Бактеріофаг λ – електронна мікроскопія.

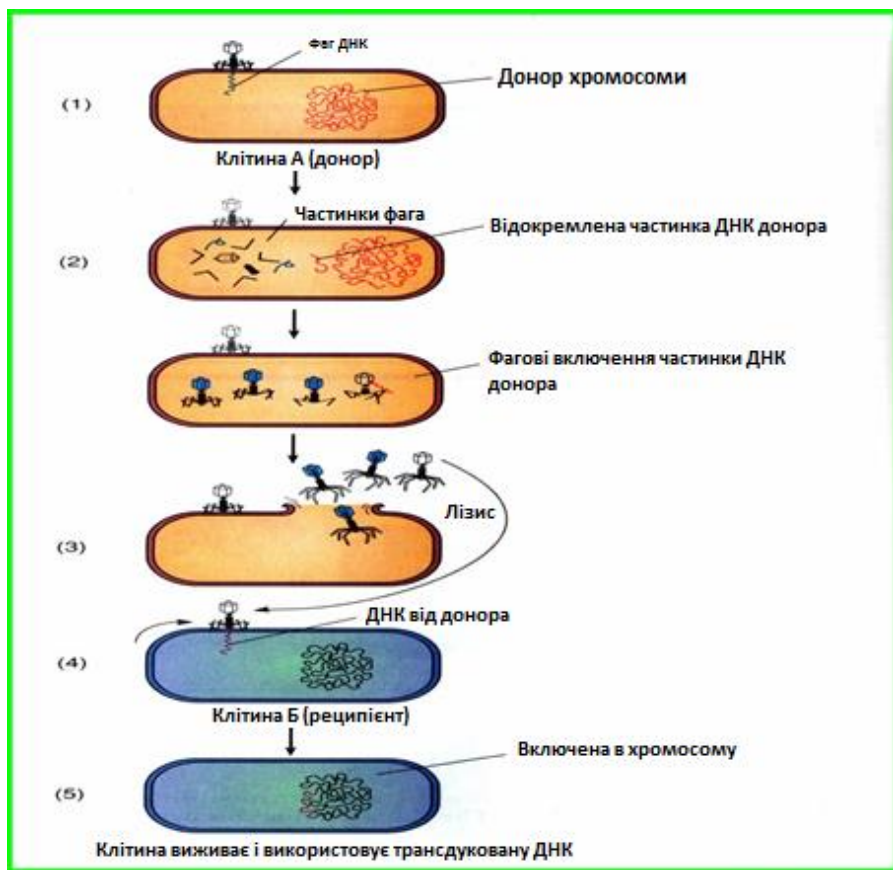


Рис. 34. Схема трансдукції, лізису та лізогенії.

Починають схрещування між штамами зі змішування двох культур (час – $t = 0$). Через інтервали часу із суміші відбирають проби і різко їх струшують – кон'югаційні містки руйнуються. Висівають проби на агар із стрептоміцином і глюкозою. На середовищі відбираються рекомбінанти по **селективних маркерах**. Потім рекомбінанти пересівають на різні середовища, щоб визначити генотипи по інших маркерах.

З одного F^+ штаму може виникнути багато різних Hfr штамів, для кожного з яких властива своя локалізація і орієнтація

в хромосомі бактерії. В кожному штамі передача бактеріальної хромосоми починається з іншої точки. Сукупність даних по різних Hfr штаммах дозволяє встановити кільцевий характер бактеріальної хромосоми і розміщення на цій хромосомі генів.



Негативні колонії бактеріофагу λ на бактеріальному газоні *E. coli*.

Рухомі генетичні елементи – транспозони

Первісні уявлення про стабільність генетичної організації були порушені відкриттям рухомих генетичних елементів бактерій. Перші рухомі генетичні елементи – генетичні елементи, що змінюють своє положення у геномі, були названі **інсерційні послідовності (IS-елементи)** або вставки. Вони були виявлені як причина мутацій, що подавляють експресію певного гена, в який вони вбудовуються. Вивчення гетеродуплексних молекул, що утворюються з ДНК мутанта і ДНК дикого типу, показало, що інсерційні мутанти містять ділянки ДНК, вбудовані у ДНК дикого типу. IS-послідовності можуть викликати мутації багатьох генів. Різні IS-елементи відрізняються розмірами, але мають спільні риси: на кінцях IS-елементів є однакові або майже однакові нуклеотидні послідовності, розташовані у зворотному

порядку (типу паліндромів). Наприклад, IS1 елемент має кінцеві послідовності величиною 23 нуклеотиди і з них 18 - однакові. Коли IS-послідовності вбудовуються у ДНК-мішень, невелика ділянка послідовності ДНК-мішені повторюється біля кожного кінця IS-послідовності (5-9 нуклеотидів).

Спільні властивості рухомих генетичних елементів такі:

- 1) Здатність переміщуватись по геному: копія вбудовується в мішень. Функції, що забезпечують транспозицію, закодовані у самому транспозоні.
- 2) Рухомі генетичні елементи можуть точно вирізатися – при цьому відбувається реверсія до дикого типу.
- 3) У сайтах, суміжних до інсерції, відбуваються інверсії бактеріальних генів.
- 4) У сайтах, суміжних до інсерції, відбуваються делеції бактеріальних генів.
- 5) Рухомі генетичні елементи забезпечують взаємодію між такими елементами як F-фактор і бактеріальна хромосома.

IS-послідовності порівняно невеликі, кодують лише функції, необхідні для їх транспозиції. Але існує ще другий клас рухомих елементів – Tn-елементи або власне транспозони – це рухомі генетичні елементи, що містять гени, які не мають відношення до транспозиції. Приклад: транспозони Tn1, Tn2, Tn3 містять гени стійкості до ампіциліну. Деякі Tn-елементи містять Is-елементи – наприклад, транспозон Tn5 містить на кінцях Is50. Багато Tn-елементів містять на кінцях повтори. Цікаво, що деякі бактеріофаги можуть існувати у формі транспозона: так, бактеріофаг Mu може існувати і у формі профага і у формі транспозона і вбудовуватись у будь-яке місце геному *E. coli* інактивуючи гени, що виявились у місці мішені. Перші транспозони були описані ще у 1951 році Барбарою Мак-Клінток на кукурудзі. Транспозони еукаріот, як правило, називають мігруючими генетичними елементами (МГЕ). У еукаріот розрізняють генералізовану транспозицію – випадкову транспозицію, включення транспозонів у будь-які сайти і спрямовану транспозицію – включення транспозонів у конкретні сайти.

У дріжджів виявлено транспозицію генів, що визначають тип спарювання (α або α) з мовчазних касетних локусів у єдиний адаптивний реципієнтний локус (MAT). Серед траспозонів у еукаріот розрізняють ретропозони і ретротраспозони – транспозони, що мігрують по геному за допомогою зворотньої траскрипції, яку здійснює ревертаза – фермент, що синтезує ДНК на основі мРНК. У дріжджів виявлено сімейство транспозонів Tu. Кожен Tu-елемент нагадує складний транспозон бактерій – складається з серцевидної послідовності («тіла») – 6,3 kb і має довгі прямі повтори на обох кінцях, що нагадують елементи LTR. Кожен кінцевий повтор елемента Tu має розмір 0,33 kb і називається δ -повтор. Крім Tu-елементів виявлені ще незалежні поодинокі δ -елементи. У дрозофіли теж виявлено транспозони – це соріа-елементи і FB-елементи. Ці мігруючі елементи мають довгі кінцеві повтори. Розрізняють також у дрозофіли соріа-подібні елементи – це мігруючі елементи *mgd1*, *mgd3*, *B104*, *412*, *297*, *gypsy*-елементи. FB-елементи за будовою нагадують сателітну ДНК. Багато дослідників пов'язують наявність псевдогенів – зіпсованих копій генів (ψ -генів) з транспозонами. Псевдогени виявлені у всіх еукаріот, псевдогени, як правило, позбавлені інтронів, що наводить на думку, що це ретропозони. Іноді у еукаріот ретропозон вбудовується під чужий промотор і транскрибується – тоді він стає так званим **ретрогеном**. З переміщеннями МГЕ еукаріот пов'язане явище **гібридного дисгенезу** – виникнення комплексу генетичних аномалій (хромосомних аберацій, мутацій, стерильності, порушення мейозу та ін.) у деяких гібридів.

У дрозофіли виявлено кілька генетичних систем, що обумовлюють гібридний дисгенез. Дрозофіли першої системи поділяються на типи I (*inducer*) I R(*reactive*). При схрещуванні самців I з самками R зменшується плодючість, чого не буває при реципрокних схрещуваннях.

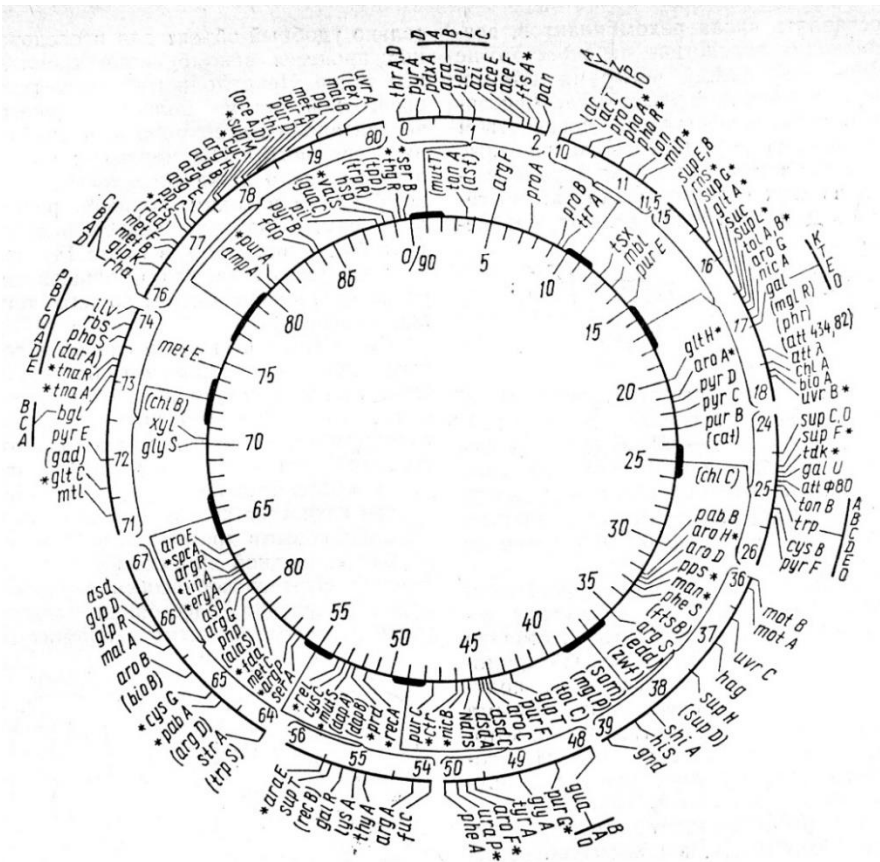


Рис. 35. Генетична карта *Escherichia coli* складена методом першої кон'югації.

Дрозофіли іншої системи складаються з типів Р (paternal contributing) та М (maternal contributing). Схрещування між самцями Р і самками М викликає гібридний дизгенез, у реципрокному схрещуванні такого ефекту немає. Явище гібридного дизгенезу у дрозофіли проявляється головним чином у зародкових генеративних клітинах. Морфологічні дефекти в розвитку гамет розпочинаються на стадії швидкого розмноження клітин зародкової лінії. Виявилось, що хромосоми самців Р-типу

мають мобільні Р-елементи, а у дрозофіл М-типу цих елементів немає. У гібридів F₁(♀М X ♂Р) і їх нащадків спостерігаються дуже інтенсивні переміщення Р-елементів і багато викликаних цим процесом мутацій у зародкових клітинах, що часто приводить до стерильності нащадків.



Рис. 36. Поширеність транспозонів у геномі людини.

Тому лінії дрозофіл з Р-елементом і без нього виглядають як репродуктивно ізольовані, принаймні, частково. Гібридний

дизгенез проявляється лише тоді, коли фактори Р потрапляють у цитоплазму М-типу (М-цитотип). У цьому випадку активується процес транспозиції всіх Р-елементів, які дуже варіабельні щодо їх довжини із-за частих внутрішніх делецій. Інтактні Р-елементи кодуєть транспозазу, яка неактивна у Р-цитотипі, але стає активною у М-цитотипі. Р-елементи з делеціями можуть втратити здатність продукувати транспозазу і стати неавтономними, однак їх активація здійснюється за рахунок активності транспозази нормальних за будовою Р-елементів. Те, що гібридний дизгенез проявляється виключно в клітинах зародкової лінії, пояснюється тим, що лише в останніх можливий такий хід сплайсінгу транскрипту Р-елемента, за якого утворюється безперервна відкрита рамка трансляції для транспозази. Дисгенетичні взаємини Р-М здатні до активації у гібридів F₁ транспозицій не тільки Р-елементів, але і інших МГЕ, наприклад, елементів соріа. Типові для гібридного дизгенезу розриви хромосом здійснюються в гарячих точках, які, переважно, і є місцями інсерцій Р-фактора. Властивості М-цитоплазми, що обумовлює гібридний дизгенез за взаємодії з Р-генотипом, можуть змінитися, але для цього потрібно, щоб хромосоми Р-генотипу діяли на цю цитоплазму протягом багатьох поколінь. Повна перебудова цитотипу від Р до М або від М до Р здійснюється за 10 і більше поколінь. Причетними до такої перебудови є гени дистальної частини Х-хромосоми і частково гени аутосом.

Фізична карта F-фактора

F-фактор являє собою епісому розміром 94,5 kb. F-фактор містить гени *tra* – гени, що забезпечують кон'югаційний перенос, гени автономної реплікації ДНК і 0-пункт кон'югаційного переносу; інсерційні елементи IS3, $\gamma\delta$, IS2 - за допомогою яких F-фактор вбудовується у хромосому бактерій і перетворюється у Hfr; послідовності, що забезпечують гомологію між епісомною F і F-подібними плазмідами R1, R100, R6, ColV; послідовності генів резистентності щодо фагів T3, T7, ϕ 11.

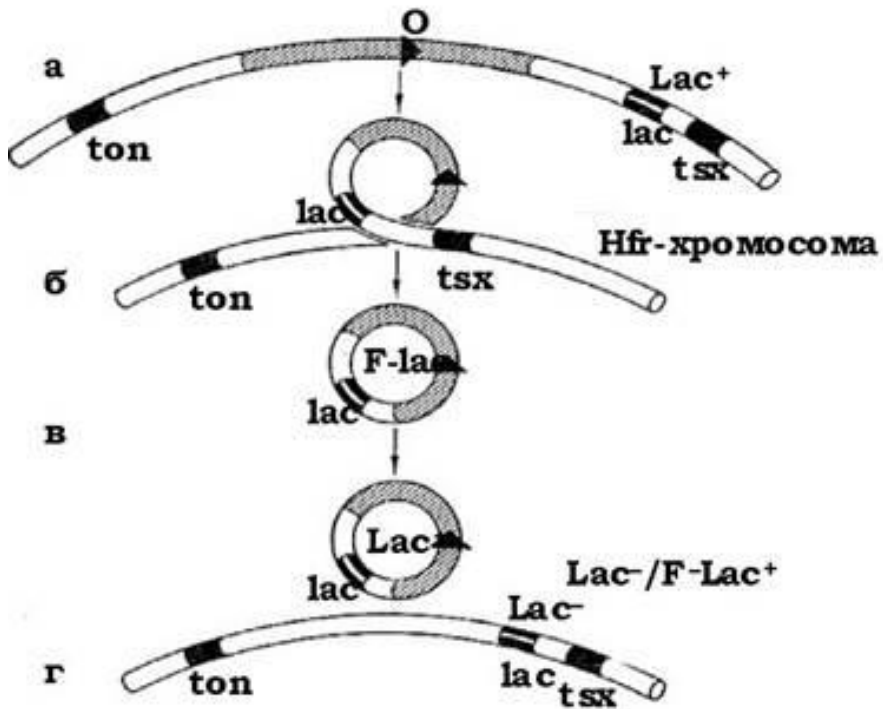


Рис. 37. Схема інтеграції F-актора в бактеріальну хромосому.

Генетичне картування *Escherichia coli*

Метод перерваної кон'югації не може бути використаний при картуванні маркерів, що лежать близько одне від одного. Для рекомбінантного картування потрібно клітину реципієнта і клітину донора. ДНК донора може вводиться у клітину реципієнта різними способами:

- 1) кон'югацією (з використанням Hfr-хромосоми).
- 2) За допомогою фага-вектора – методом трансдукції.
- 3) Методом трансформації – прямої передачі ДНК.

Часто створення штамів Hfr і F- справа непроста і картування відбувається за допомогою мерозигот, що виникають при трансдукції помірними бактеріофагами, такими як P1. Після

інфікування такими фагами *E. coli* розвиток може піти двома шляхами:

- 1) по літичному шляху (поява нащадків фага).
- 2) По шляху лізогенії (інтеграції профага у бактеріальну хромосому).

В окремих випадках під час упаковки фагової ДНК послідовності перетасовуються один відносно одного. Іноді у фаг потрапляє замість фагової ДНК фрагмент хромосоми клітини-господаря, що зруйнувалася у процесі лізису. Дефектні фаги, що містять ДНК *E. coli*, можуть бути виявлені посередністю генетичного аналізу при наявності у ДНК *E. coli* генетичних маркерів (наприклад, клітина thr^- «інфікована» фагом, що містить фрагмент ДНК *E. coli* з геном thr^+ . Утворюється прототрофний рекомбінант, що здатний рости при відсутності треоніну). Фаг P1 проявляє **неспецифічну трансдукцію** – здатність переносити будь-які частини геному бактерії. Крім неспецифічної є ще **специфічна трансдукція** – трансдукція, при якій переносяться тільки ті бактеріальні гени, які локалізовані недалеко від сайту інтеграції профагу. Специфічна трансдукція властива для таких фагів як фаг λ . Коли фаг P1 розмножують на клітинах thr^+ , leu^+ , azi^R , то лише 3 % від рекомбінантів типу thr^+ мають фенотип leu^+ і жоден із них не має фенотипу azi^R . Але 50 % клітин з фенотипом leu^+ містять ген azi^R . З цього можна зробити висновок, що ген leu^+ більш зчеплений з геном azi^R , аніж з геном thr^+ .

Перенесення фагом одночасно двох генів господаря називається **сумісна трансдукція (котрансдукція)**. Частоти котрансдукції відповідних маркерів можна використати для визначення ступені їх зчеплення. Для цього зручно використовувати мутанти фагів P1 *clear*, що не здатні до лізогенізації бактерій і **ауксотрофів** – мутантів бактерій, що потребують додаткового живлення (вони є носіями мутацій, що порушують експресію необхідних біосинтетичних функцій).

Картування генів вірусів

Рекомбінації генів виявлені практично у всіх досліджених вірусах, найбільш детально вивчені у ДНК-бактеріофагах. По

відношенню до клітини господаря вірус може вести себе по різному. Вірус може:

- 1) Вбивати клітину господаря в процесі розмноження (фаг T4).
- 2) Не руйнувати повністю інфіковану клітину, а дозволяти їй рости і ділитися, виділяючи назовні нащадків вірусу.
- 3) Вбудовуватись у геном господаря і пасивно реплікуватися по мірі поділу клітин – переходити у стан профагу (фаг λ , вірус SV40).

Для досліджень, розробки систем картування генів вірусів виявились зручними віруси фХ174, λ . (малі розміри геному - фХ174 має всього 10 генів у геномі, λ - має 60 генів у геномі. Швидкість розмноження – за одну добу змінюється кілька поколінь).

Для картування генів бактеріофагів використовуються мутантні бактеріофаги. Але лише деякі фагові гени мають мутації, що змінюють морфологію негативних колоній, але у всіх генах фага можуть відбуватися летальні мутації, що унеможливають появу фагових нащадків.

Умовно летальні мутанти – це мутанти, що нежиттєздатні в одних умовах і нормально життєздатні у інших умовах. Розрізняють такі основні різновидності умовно летальних мутантів фагів:

- 1) Температурочутливі мутанти (ts) – мутанти, що здатні розмножуватись при 30°C (пермісивні умови) і не здатні розмножуватись при 40°C (непермісивні умови).
- 2) Мутанти чутливі до холоду (cs) – мутанти, що мають нестабільний при певній температурі білок.
- 3) Супресорчутливі мутанти (sus) – мутанти, що здатні розмножуватись тільки у бактеріях з певним генотипом. Наприклад, sus-мутанти можуть розмножуватись тільки у бактеріях su^+ і не можуть розмножуватись у бактеріях su^- . Фаг дикого типу розмножується у обох типах клітин.

Розрізняють три класи супресорних мутацій: amber (am), ochre (och), opal (op). Супресорні мутації можуть зачіпати всі гени, що кодують синтез білків. Ці мутації порушують синтез

білків у клітинах господаря типу su^- і не перешкоджають синтезу білку у клітинах типу su^+ .

Для картування умовно летальних мутацій бактеріофагів здійснюють комплементарний аналіз. Суть цього методу така. Для того, щоб визначити, чи впливають дві незалежні мутації на одну і ту ж генетичну функцію або на дві різні, бактеріальні клітини одночасно заражують фагами обох мутантних типів при непермісивних умовах. Якщо в таких умовах у двічі інфікованих бактеріальних клітинах продукуються нащадки фага, то можна зробити висновок, що кожен фаг здійснює функцію, яку не може здійснити інший. Такі мутації називають **комплементарними**. Розрізняють групи комплементарності у фагів. Наприклад, при одночасному зараженні бактерій мутантами $am10$ і $am9$ нащадки виникають, а при одночасному зараженні бактерій мутантами $am9$ і $am32$ нащадки не виникають. Значить, мутації $am9$ і $am32$ становлять одну групу комплементарності.

ЦИТОПЛАЗМАТИЧНА СПАДКОВІСТЬ

Цитоплазматична спадковість – це вид спадковості, при якій цитоплазма теж зберігає і передає нащадкам частину отриманої від батьків генетичної інформації, хоча суттєво меншу ніж ядро. Цитоплазматична спадковість визначається:

- 1) Ядерними генами матері, які виявляють вплив через цитоплазму яйцеклітини.
- 2) Позаядерними генами, що локалізовані в різних реплікуючих компонентах цитоплазми (пластидах, мітохондріях, плазмідах, внутрішньоклітинних симбіонтах і паразитах).

Дія генів матері через цитоплазму яйцеклітини

Цитоплазма яйцеклітини синтезує речовини під дією експресії материнських генів і це впливає на ознаки нащадків.

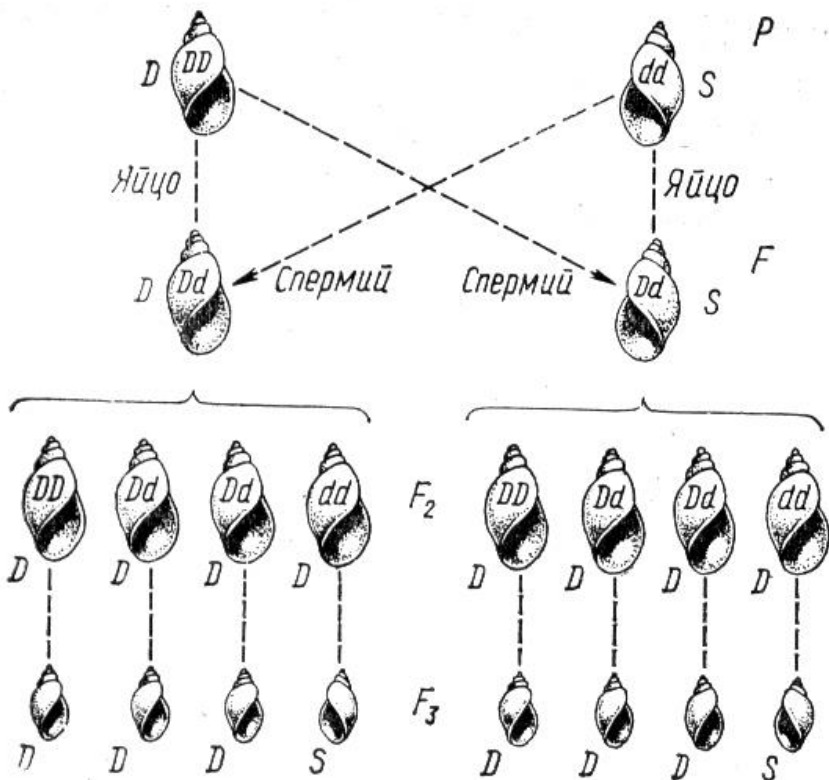


Рис. 38. Успадкування правобічної (D) і лівобічної (S) мушлі у ставковика.

Прикладом такої дії материнських генів через цитоплазму яйцеклітини може бути успадкування забарвлення зовнішніх покривів і очей у вогнівки млинної. У цього метелика є ген А, що обумовлює синтез протопігменту формілкінереніну. За рахунок цієї речовини утворюється темне забарвлення зовнішніх покривів і очей. При наявності гену а протопігмент не синтезується – утворюється світлі личинки і червоноокі метелики. При схрещуванні:

$$P: \text{♀ } Aa \times \text{♂ } aa$$

F1: всі личинки мають темні ділянки покриву, але потім у личинок з генотипом aa покриви з кожною линькою світліють і з личинок aa утворюються червоноокі метелики, а з личинок Aa – чорноокі метелики. При протилежному схрещуванні отримаємо інші результати:

P: ♀ Aa X ♂ aa

F1: всі личинки світлі, але личинки з генотипом Aa з кожною линькою темніють і з личинок aa утворюються червоноокі метелики, а з личинок Aa – чорноокі метелики.

Другим прикладом – більш глибокої дії материнських генів через цитоплазму яйцеклітини може бути успадкування завитків мушлі у молюска ставковика. У цього молюска відомі раси з лівозакрученою (фенотип S - рецесивний) і з правозакрученою (фенотип D - доміантний) мушлею. Причому, напрям завитка задається не генами особини, а генами матері особини. Ген D обумовлює правозакручену мушлю, ген d – лівозакручену мушлю. При схрещуванні:

P: ♀ DD X ♂ dd

F1: Dd – фенотип D

F2: DD, Dd, dd – у всіх фенотипи D

F3: Від материнських особин DD, Dd народжуються особини з фенотипом D , від особин dd з фенотипом S .

При схрещуванні: P: ♀ dd X ♂ DD

F1: Dd – у всіх особин фенотип S

F2: DD, Dd, dd – у всіх фенотипи D

F3: Від материнських особин DD, Dd народжуються особини з фенотипом D , від особин dd з фенотипом S .

Фенотипічний прояв даного гена запізнюється на одне покоління. Причина цього така: направлення завитка мушлі залежить від орієнтації веретена другого мітотичного дроблення.

Дія материнських генів може:

- 1) Впливати тільки на ознаки яйця.
- 2) Впливати на ознаки яйця і ембріона.
- 3) Поступово зникати по ходу індивідуального розвитку.

Зберігатись протягом всього життя індивідууму наступного покоління.

Ці дії об'єднує те, що фенотип нащадків визначається хромосомними генами матері, але не прямо, а посередньо через цитоплазму яйцеклітини.

Гени пластид

Вперше гени пластид були виявлені на початку ХХ століття при дослідженні успадкування строкатолистості рослин. Потім інтерес до цих генів зменшився і досліджено було ці гени тільки у 80-тих роках ХХ століття. Зокрема, дослідили гени пластид хламідомонади: виявилось, що у геномі пластид хламідомонади є гени стійкості до антибіотиків.

У хламідомонади є раси S^R і S^S – резистентні і чутливі до стрептоміцину. Виявилось, що чутливість до стрептоміцину нащадків визначається тим, до якої раси (S^R чи S^S) належить батьківська клітина типу “+” і не залежить від раси батьківської клітини типу ”-“. Відомо ще кілька десятків ознак хламідомонади, що залежать від геному хлоропласта і успадковуються аналогічно – це здатність до фотосинтезу, розміри колоній і клітин при рості на агарному середовищі, стійкість до підвищеної температури та ін. Передача генів тільки від «+» клітини пояснюється тим, що пластидні гени, що привносяться в зиготу батьківською клітиною «-» елімуються в зиготі і не потрапляють до чотирьох дочірніх клітин. Але у рідкісних випадках (менше 1 %) зигота отримує пластидні гени обох батьківських організмів. Утворюється гетерозигота – **цитогета** – гетерозигота по пластидних генах. Частоту цитогет можна значно збільшити, якщо перед копуляцією клітини «+» опромінити ультрафіолетом.

При **мейозі цитогет** пластидні гени не розщеплюються, всі тетради є цитогетами. Але по ходу подальшого мітозу поступово вищеплюються обидва батьківських гени і виникають клони клітин, що несуть ту чи іншу ознаку. Вивчення нащадків цитогет показало, що всі пластидні гени хламідомонади складають одну групу зчеплення. Визначаючи частоту рекомбінацій пластидних генів, вдалося скласти кросинговерну карту пластидної групи зчеплення хламідомонади. Виявилось, що хромосоми пластид

подібні до бактеріальних хромосом і теж являють собою кільцеву структуру.

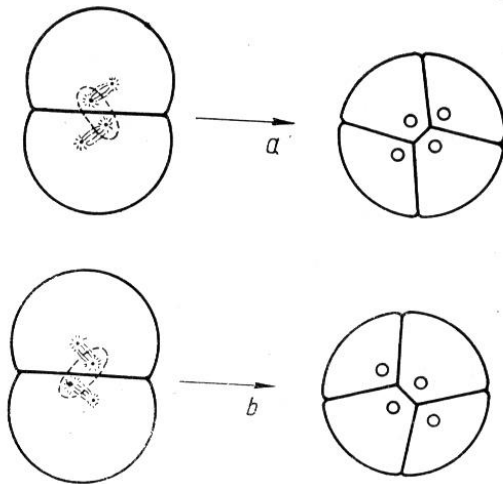


Рис. 39. Направлення завитка мушлі у молюсків визначається орієнтацією мітотичних веретен при другому поділі дроблення заплідненого яйця.

Вищі рослини теж мають у пластидах цілу низку генів. Зокрема, гени, що обумовлюють строкатолистість. **Строкатолистість** – це явище, яке полягає у наявності на листку рослини мозаїки із зелених і білих (або жовтих) тканин рослини. Строкатолисті рослини – це лише одна із різновидностей **рослин-химер**. Химери – це рослини, що складаються з генетично різних тканин. Розрізняють секторіальні і периклиральні химери.

Секторіальні химери - це рослини, у яких генетично різні тканини утворюють в рослині різні сектори, наприклад, радіальні сектори на пластині листка.

Периклиральні химери – рослини, у яких шар тканин одного типу покриває шар тканин іншого типу або заключений між двома такими шарами.



Рис. 40. Приклад строкатолистості у рослин.

Строкатолистість проявляється обома цими способами. Успадкування строкатолистості у химер має специфічний характер: так, зелені пагони химер продукують насіння, з яких розвиваються всі зелені рослини, строкаті пагони продукують насіння, з яких розвиваються і зелені, і строкаті, і білі (летальна ознака) рослини. Характер нащадків визначається тільки материнською рослиною. Пилок може бути будь-який і це не відображається на нащадках. Пояснення цього явища наступне: відновлення пластид відбувається незалежно від поділу клітин і при мітозі вони розподіляються між дочірніми клітинами випадково. Клітина, що має суміш зелених і білих пластид, утворює клітини і зі змішаними пластидами і з одноманітними пластидами – зеленими або білими. Відповідно, з цих клітин можуть утворюватись різні рослини. У деяких рослин (пеларгонія, енотера) пластиди передаються не тільки материнською клітиною, але і пилом, тому у строкатолистих форм цих видів характер пластид нащадків залежить від обох

батьків, але при реципрокних схрещуваннях переважає значення материнської рослини.

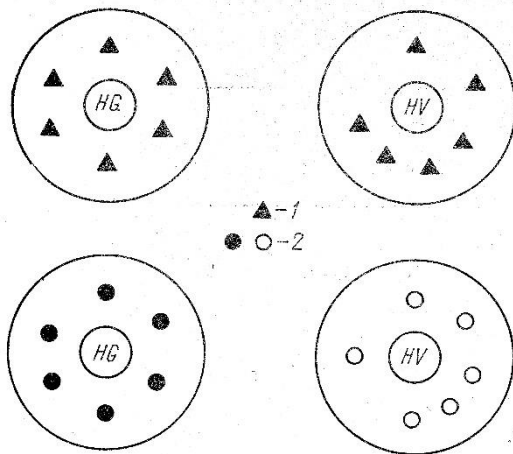


Рис. 41. Вплив ядерного геному на забарвлення пластид при міжвидовій гібридизації енотери.

1 – пластиди *Oenothera elata* Kunth, 1823.

2 – пластиди *Oenothera glazioviana* Micheli, 1875

H – ядерний геном *Oenothera elata* Kunth.

G – комплекс хромосом *gaudens*.

V – комплекс хромосом *velans*.

Ядерні і пластидні гени можуть взаємодіяти між собою, бо властивості пластид визначаються не тільки генами пластид але і ядерними генами клітини, в цитоплазмі якої знаходяться ці пластиди. Це було продемонстровано, зокрема, на дослідях з міжвидовими схрещуваннями енотери. Виявилось, що у енотери наявні так звані **комплексні гетерозиготи** – гетерозиготи, у яких в межах кожного гаплоїдного набору всі хромосоми зв'язані між собою так, що в мейозі вони не перекомбінуються, а в кожену гамету потрапляє цілком або один або другий з цих хромосомних наборів. Експериментували з наборами хромосом *gaudens* та *velans*. Постійність такої гетерозиготності підтримується

збалансованими летелями: і *gaudens* і *velans* мають рецесивні летальні гени, але ці гени різні і в стані гетерозиготи подавлюються нормальними алелями.

Досліди з міжвидовою гібридизацією енотери показали, що пластиди зберігають свої властивості в ряді поколінь, але отримують нові властивості як тільки потрапляють у клітину, що має відповідне сполучення генів. Так, деякі білі пластиди в новому ядерному генному сполученні отримували зелене забарвлення і навпаки. Зокрема, проводили досліди зі схрещування видів *Oenothera glazioviana* Micheli, 1875 (= *Oenothera lamarckiana* Auct.) та *Oenothera elata* Kunth, 1823 (*Oenothera elata* ssp. *hookeri*). Виявилось, що пластиди *Oenothera glazioviana* під впливом ядерного геному *Oenothera elata* і набору хромосом *velans* втрачають зелене забарвлення – стають білими.

У кукурудзи виявлено ще більш складний тип взаємовідносин між геномами пластид і ядерними генами. У кукурудзи в ядрі є рецесивний ген *ij* у сьомій хромосомі. Цей ген обумовлює безколірність пластид. У рослин з генотипом *ij ij* або наявні білі смуги або ці рослини взагалі альбіноси – без хлорофілу. При схрещуванні:

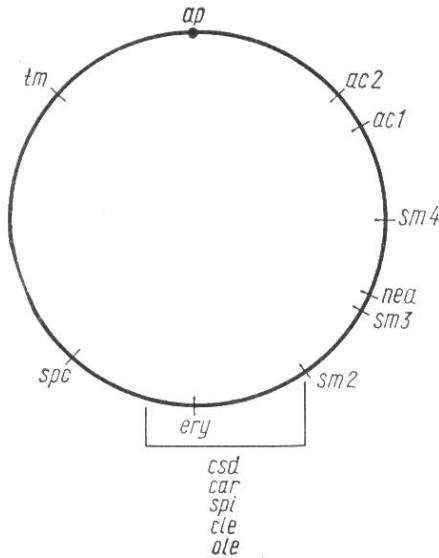
$$P: \text{♀ } Ij Ij \times \text{♂ } ij ij$$

У першому поколінні всі рослини зелені, але реципрокне схрещування дає зелені, білосмугасті і білі рослини, тобто дефектні пластиди передаються тільки через яйцеклітини. При схрещуванні:

$$P: \text{♀ } ij ij \times \text{♂ } Ij Ij$$

Всі рослини у першому поколінні білі і білосмугасті, і у будь-якому числі поколінь нащадків цих рослин простежуються тільки білі і білосмугасті рослини.

Таким чином, пластиди, що стали безколірні під дією гена *ij*, стійко лишуються такими ж незалежно від ядерного генотипу клітини, в цитоплазмі якої вони знаходяться. Ці безколірні пластиди мають певний набір нормальних генів, але



під дією гена *ij* у них виходить з ладу білок-синтезуючий апарат.

Сукупність генів пластид називається **пластом**. Гени, що розташовані в цитоплазмі називаються **плазмогени**.

Рис. 42. Генетична карта хромосоми хлоропластів хламідомонади. *Tm* – ген стійкості до підвищеної температури, інші гени – гени стійкості до конкретних антибіотиків.

Гени пластид вищих рослин

Існування ДНК в пластидах вищих рослин було доведено в 1959 році. Мікроскопічне підтвердження пластоому було здійснене в 1962 році. Тоді ж було доведено існування в хлоробластих рибосом і власного білок-синтезуючого апарату. Перше сіквенування геному хлоропластів вищих рослин здійснив Масахіро Сугіура в 1986 році під час дослідження пластид рослини тютюн справжній (*Nicotiana tabacum* Linnaeus, 1753). Тоді ж Гаруо Озекі розшифрував геном хлоропластів моху маршанції мінливої (*Marchantia polymorpha* Linnaeus, 1753). Виявилось, що в пластоми вищих рослин є всі гени тРНК та рРНК, що забезпечують біосинтез білків хлоропластів, гени рибосомальних білків, гени білків біліпідних мембран пластид, гени РНК-полімерази, гени, що забезпечують синтез ферменту

рибулозобісфосфаткарбоксилази (РБФК) – ферменту, що забезпечує фіксацію вуглекислого газу.

Переважно пластом рослина отримує від материнської рослини – або цілком, як у рослини нічна красуня (*Mirabilis jalapa* Linnaeus, 1753), або лише від батьківської рослини, як в рослин з роду герань (*Geranium*), або від обох батьківських рослин – як в рослин з роду кіпрей (*Epilobium*).

У багатьох рослин ДНК пластид кільцева розміром 120 – 170 kb. У більшості рослин ДНК пластид представлена одним ланцюгом, проте в динофлагелят ДНК пластид представлена 4 плазмідами розміром 2 – 10 kb. Раніше вважалося, що у всіх рослин ДНК пластид кільцева, проте з'являється все більше даних, що є рослини, у яких є ДНК пластид не тільки кільцева, але і лінійна (зокрема, в кукурудзи). Хоча, є точка зору, що лінійні ДНК в пластидах утворюються в результаті розривів кільцевої ДНК.

Багато пластомів містять 2 інвертовані повтори, які розділяють 2 області з унікальними послідовностями ДНК – велику і малу. Довжина цих повторів у різних рослин від 4 до 25 kb. Генетичний склад повторів теж різний. Переважно повтори містять 3 гени рРНК та 2 гени тРНК, проте є рослини, що містять в цих повторах від 4 до 150 генів. Ці два повтори рідко бувають ідентичні, переважно вони лише схожі між собою, що свідчить про їх узгоджену еволюцію. Інвертовані повтори висококонсервативні. Іноді ці повтори дуже подібні у дуже віддалених груп фотосинтезуючих організмів, як прокаріот так і еукаріот. Але деякі рослини, такі як червоні водорості та горох втратили ці інвертовані повтори. Червоні водорості з роду *Porphyra* набули прямі, а не інвертовані повтори в пластомі. Вважається, що одна з функцій цих інвертованих повторів – стабілізація геному пластид, бо при втраті цих повторів спостерігається висока частота перебудови пластоми. Переважна більшість генів пластоми забезпечують процес фотосинтезу. РНК-полімераза пластид та рибосоми пластид дуже нагадують відповідні структури бактерій, що підтверджує ендосимбіотну гіпотезу походження пластид.

Вважається, що деякі гени перемістились з пластоми в ядерний геном і при цьому деякі з них набули нових функцій. Кілька генів з пластоми перемістились в геном мітохондрій і стали нефункціональними псевдогенами.

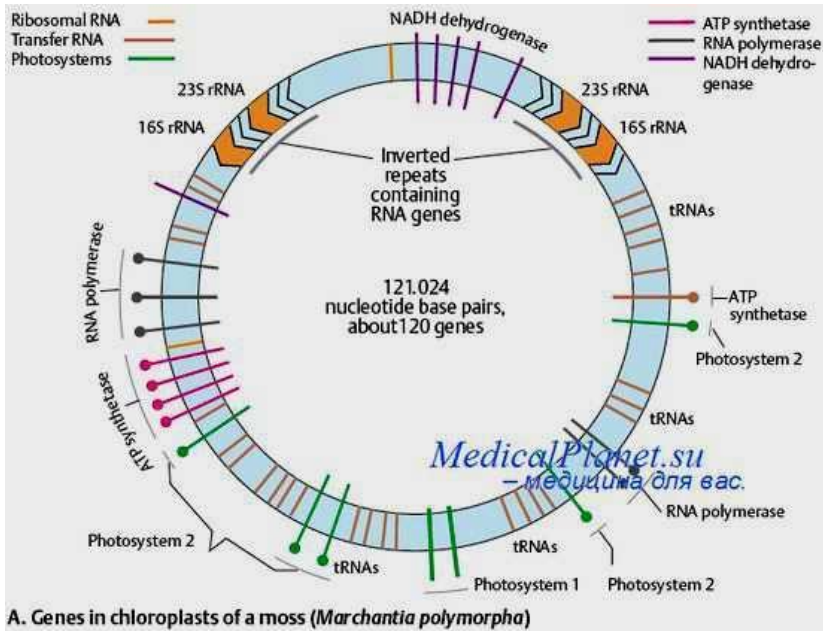


Рис. 43. Гени пластоми моху *Marchantia polymorpha* Linnaeus, 1753.

Гени мітохондрій

Сукупність генів мітохондрій називається **хондріом**. Найбільш детально вивчені гени мітохондрій у дріжджів. Це пояснюється тим, що пекарські дріжджі (*Saccharomices cerevisiae*) - найзручніший еукаріотичний об'єкт для подібних досліджень (зручність культивування, можливість культивування як диплоїдних так і гаплоїдних культур, малі розміри геному і т. д.) Дріжджі мають специфічний клітинний цикл: Зигота – Диплоїдний клон – Споруючі і мейоз – Сумка – Спори – Гаплоїдні клони α і a – Зигота. a і α – це два статеві типи

дріжджів, що можуть зливатися між собою під час статевого процесу. Деякі колонії дріжджів відрізняються малими розмірами (фенотип *petites* – «петіт»).

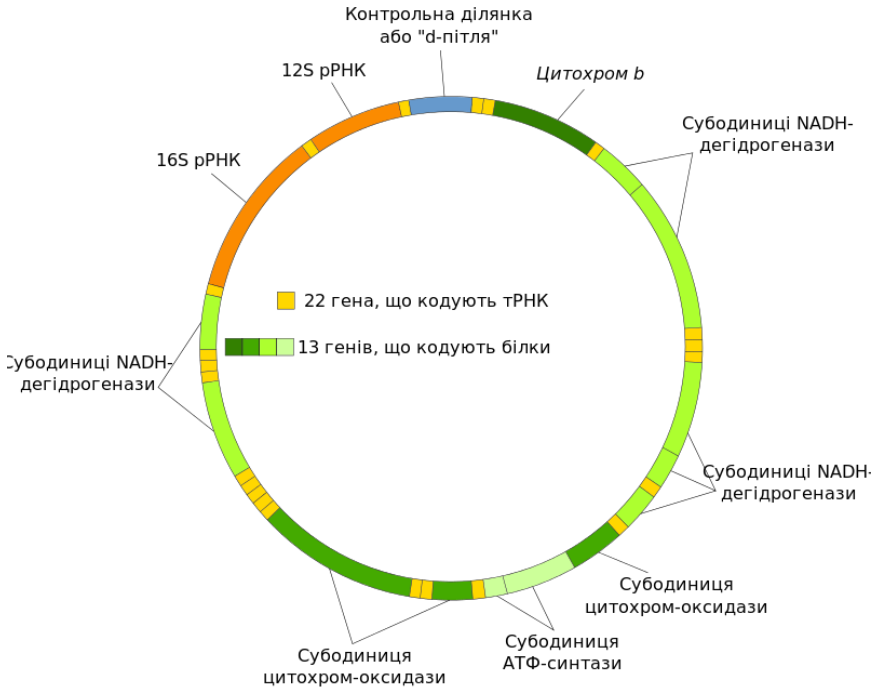


Рис. 44. Гени мітохондріальної ДНК людини.

Виявилось, що клітини *petites* позбавлені ряду дихальних ферментів. При схрещуванні:

P: дикий тип (+) X *petites*

F1: всі дикий тип (+) X *petites*

F2: всі дикий тип (+) X *petites*

F3: всі дикий тип (+) X *petites* і т.д.

Виявилось, що у *petites* у мітохондріях є тільки четверта частина ДНК притаманної нормальним клітинам, *petites* утворились у результаті делеції мітохондріальної ДНК, з якої випали ряд генів, які відповідальні за синтез цитохромоксидаз,

клітина позбавляється здатності до аеробного дихання. При гібридизації нормальні мітохондрії розмножуються швидше дефектних і витісняють їх. У геномі мітохондрій дріжджів виявлено ще ряд генів стійкості до антибіотиків – рекомбінація цих генів не залежить від рекомбінації генів ядра.

Гени мітохондріальної ДНК людини

Геном мітохондрій містить гени тРНК, рРНК, гени ферментів, що забезпечують процес окисного фосфорилування та синтезу АТФ: гени цитохрому b, NADH-дегідрогенази, цитохром-оксидази, АТФ-синтетази.

Мутації певних генів тРНК мітохондрій призводять до важких спадкових захворювань людини, що успадковуються через цитоплазму. До таких спадкових захворювань людини належать:

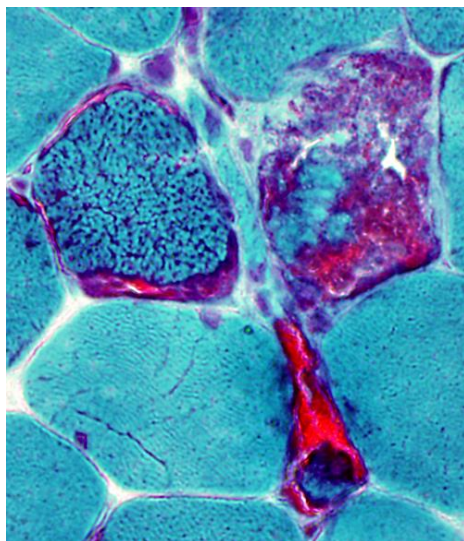
Синдром Кернса-Сейра

Мітохондріальна спадкова міопатія. Патогенез починається до 20 років. Перші ознаки хвороби переважно з'являються у віці 4 років. Проявляється у вигляді ізольованого враження м'язів, зокрема, тих, що контролюють рух очей, що призводить до офтальмоплегії, проблеми руху вік, блокади серця, раптової смерті. Може розвиватися проксимальна м'язова слабкість, глухота, ендокринні порушення, порушення пігментації сітківки, до порушення зору, порушення роботи серця, брадикардії, недолік фолатів у спинномозковій рідині, енцефаломіопатія, зниження інтелекту, атрофія нервової систему, поява рваних волокон в м'язах. Простежується підвищений рівень молочної та піровиноградної кислот в крові та спинномозковій рідині. Переважна більшість випадків синдрому Кернса-Сейра обумовлена мутаціями в ДНК мітохондрій, що відбулись *de novo* до запліднення в яйцеклітині чи після запліднення в соматичних клітинах ембріону. Патологія вперше була описана лікарями Томасом Кернсом (Thomas P. Kearns) та Джорджем Помероєм Сейром (George Pomeroy Sayre) в 1960 році.

Синдром Кернса-Сейра



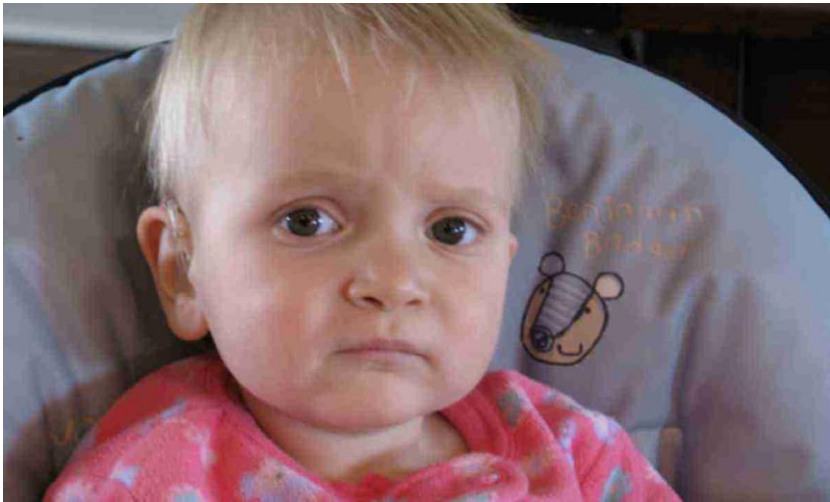
Хворий на синдром Кернса-Сейра.



Рвані червоні волокна в м'язах хворого на синдром Кернса-Сейра.

Синдром Пірсона

Рідкісна мітохондріальна спадкова патологія. Під час патогенезу синдрому Пірсона простежуються наступні аномалії: порушення функції підшлункової залози, гіпопластична анемія, енцефаломіопатія, офтальмоплегія, затримка розвитку, розриви м'язів, зменшення розмірів голови, епікантус (своєрідна складка біля очей), плоске обличчя, плоский губний жолоб, недорозвинена нижня щелепа, тонка верхня губа, короткий ніс, коротка очна щілина, низький ніс.



Дитина хвора на синдром Пірсона.

Є високий ризик ранньої смерті. Виникають проблеми з травленням, діти хворі на синдром Пірсона не ростуть і не збільшують вагу. Причина патології – делеція в мітохондріальній ДНК (мтДНК). Є різні форми синдрому Пірсона, що обумовлені різними делеціями – різних розмірів мтДНК. Переважно ці делеції стосуються одного або кілької генів тРНК. Переважна більшість випадків синдрому Пірсона обумовлена делецією розміром 4,977 kb.

Синдром MERRF

Синдром MERRF – важка спадкова мітохондріальна патологія. Простежується патологія нервової системи, епілепсія, набряк мозку, глухота, атрофія зорових нервів, епілепсія, поява рваних волокон в м'язах. Причина синдрому – мутації генів, що кодує лізинову тРНК мітохондрій – це мутації генів MTTK, MTTL1, MTTN, MTTS1, MTTS2, MTTF, MTND5. Патологію вперше описав невропатолог Н. Фукухара в 1980 році. Середня частота серед новонароджених 1:1000000. Успадкування тільки по материнській лінії, патологія трапляється у хворих обох статей з однаковою частотою. Початок патогенезу може початись у будь-якому віці. Початок патогенезу в дитячому віці супроводжується більш негативним прогнозом перебігу захворювання.



Дитина хвора на синдром MERRF.

У залежності від мутацій є різні форми синдрому MERRF – від безсимптомних та латентних (з незначною м'язовою слабкістю) до важких летальних патологій.

Синдром MELAS

Синдром MELAS – важка спадкова мітохондріальна енцефаломіопатія, прогресуюче нейродегенеративне захворювання, лактацидоз. Симптоматика поліморфна. Супроводжується судомами, діабетом, зниженням слуху, вадами серця, низьким зростом, ендокринними проблемами, швидкою втомою, психічними розладами. Простежується кальцифікація нервів головного мозку, атрофія мозку, підвищення концентрації в організмі лактату, рвані червоні м'язові волокна, сукупчення мітохондрій в м'язових клітинах.



Мати з дитиною, що хвора на синдром MELAS.

Причини – мутації наступних генів хондріому: MTTL1, MTTQ, MTTN, MTTK, MTTS1, MTND1, MTND5, MTND6, MTTS2. Ці мутації з'являються або *de novo* або успадковуються по

материнській лінії. Ідентифіковано 29 мутацій і 4 делеції мтДНК, які викликають синдром MELAS. Вважається, що це найпоширеніше мітохондріальне захворювання людини. В окремих популяціях людини його частота становить 1:10000 – 1:13000. Імовірно, його частота ще вища, враховуючи варіанти поліморфізму мітохондрій, коли в конкретного пацієнта частина мітохондрій нормальні, частина патологічні і цей синдром є латентним. Таке явище відмінності геному різних мітохондрій (навіть в рамках однієї клітини) називається **гетероплазмією**. Синдром MELAS вперше описав лікар Стевен Павлакис в 1984 році.



Так бачать світ здорова людина і хворий на синдром Лебера на початковій стадії захворювання.

Синдром Лебера

Синдром Лебера – спадкове мітохондріальне захворювання. Супроводжується деградацією гангліозних клітин сітківки та аксонів, що призводить до повної втрати зору. Причина – мутації в субодинацях ND4, ND1, ND6 генів окислювального фосфорилування – генів, що кодують мембранну частину ферменту НАДН-дегідрогенази. Оскільки мітохондрії задіяні в процес апоптозу, то ці аномалії мітохондрій посилюють апоптоз, особливо в гангліозних клітинах сітківки ока. Важкі форми синдрому Лебера супроводжуються розсіяним склерозом. Успадковується по жіночій лінії. Хвороба була вперше описана лікарем Теодором Лебером (1840 – 1917). Клінічно проявляється

в гострій втраті зору спочатку одним оком, потім іншим. Хвороба починає розвиватися в юності, інколи з 7 років, але в середньому у жінок в 31 рік, а в чоловіків в 24 роки. Частота захворювання: 1:30000 – 1:50000.

Плазмід

Плазмід – маленькі додаткові кільцеві хромосоми бактерій і дріжджів, що складаються всього з кількох тисяч пар основ, мініатюрні голі кільцеві ДНК, що здатні автономно реплікуватися, свого роду мініхромосоми бактерій. У бактерій плазмід функціонують у цитоплазмі, у дріжджів – у нуклеоплазмі. Величина плазмід, як правило, біля 1 % бактеріальної хромосоми, але є дуже дрібні плазмід, величина яких становить всього 0,05 – 0,1 % бактеріальної хромосоми.

Розрізняють наступні типи плазмід:

Нетрансмісібельні плазмід – плазмід, що не здатні включатися у бактеріальну хромосому.

Епісоми - плазмід, що здатні включатися у бактеріальну хромосому.

Плазмід під сильним контролем бактеріальної хромосоми – існують у вигляді 1 або 2 копій у цитоплазмі.

Плазмід під слабким контролем бактеріальної хромосоми – існують у вигляді сотень (більше 200) копій у цитоплазмі.

Плазмід, що здатні передаватись від одної біктерії до іншої в процесі кон'югації (навіть якщо ці біктерії належать до різних видів) називають **інфекційними** або **трансмисивними**. Властивості інфекційних плазмід визначаються групою генів, відповідальних за кон'югаційний перенос. Ці гени утворюють найбільший у бактерій оперон *tra*. Гени *tra*-операона обумовлюють утворення спеціальних ворсинок або пилів на поверхні клітини. Ці пилі властиві клітинам чоловічого типу і неохідні для взаємодії двох біктерій, які вступають у процес кон'югації. Дрібні плазмід, які не мають власних *tra*-операонів і можуть передаватись в іншу клітину лише за наявності трансмісивних плазмід називаються **мобілізаційними**.

Крім того, розрізняють плазмід:

F-фактори – статеві фактори бактерій

R-фактори – фактори стійкості до антибіотиків

C-фактори – коліциногени.

R-фактори (від англ. resistance – стійкість) – доволі крупні плазмід, несуть гени стійкості до антибіотиків. Крім того, ці плазмід часто мають гени, що викликають здатність бактерій створювати кон'югаційний місток навіть з бактеріями іншого виду. Наприклад, бактерія кишківникового тифу може стати стійкою до дії антибіотиків внаслідок проникнення у неї генів з *E. coli*. R-фактори можуть втрачатися бактерією і не відновлюватись при цьому, зокрема, під дією акридинів, які перешкоджають реплікацією плазмід.

Коліциногени – дрібні плазмід (Col-плазмід), передаються при поділі клітини нащадкам, можуть утворювати кон'югаційний місток і передаватися іншим бактеріям, деякі можуть вбудовуватися у хромосому бактерій. Коліциногени містять гени, що продукують особливі речовини – коліцини – речовини, що здатні навіть у дуже низьких концентраціях вбивати бактерій того ж виду, але які не мають відповідного коліциногену. Коліциногенів відомо декілька. Їх ділять на кон'югаційні коліциногени (наприклад, ColI, ColB, ColIV) і некон'югаційні (ColE1, ColE2, ColE3). Носії коліциногену імунні до відповідного коліцину, що дає їм відповідну перевагу в порівнянні з бактеріями, не захищеними таким чином. У клітині може бути більше 20 різних коліциногенів одночасно. Коліцин виробляється бактерією-носієм не завжди, а тільки у випадку певної індукції, під час якої активуються гени коліциногена. Індукція часто самовільна, іноді можна викликати індукцію штучно, наприклад, опромінюючи ультрафіолетом чи діючи алкілюючими сполуками. При індукції коліцин вбиває не тільки чужі для популяції бактерії, але і саму бактерію-носія, що приноситься в жертву для блага всієї колонії. Іноді коліциногени взаємодіють з F-факторами, і бактерія втрачає можливість утворювати кон'югаційні містки. Крім бактерій, плазмід описані у синьо-зелених водоростей і дріжджів. Є підстави

вважати, що плазмідні зустрічаються і у еукаріот. Формування ентеропатогенних властивостей деяких штамів *E.coli* обумовлюють плазмідні *Ept* (детермінують синтез ентеротоксину), *Hly* (визначають синтез гемолізину), *K* (блокують деякі поверхневі антигени).

Також носіями цитоплазматичної спадковості можуть бути фаги і профаги, що можуть виступати в ролі епісом (*Mu*, *SPO1*, λ).

Плазмідні здатні суперспіралізуватися. Суперспіралізацію плазмід здійснює фермент гіраза в присутності АТФ, релаксацію плазмід здійснює фермент топоізомераза.

Вплив на спадковість внутрішньоклітинних паразитів і симбіонтів

У природних популяціях дрозофіли знайдені самки, які дають виключно потомство самок. Виявилось, що ці самки заражені дрібними спірохетами, які спричиняють загибель ембріонів чоловічої статі. Якщо на таких самок подіяти високою температурою, то спірохети гинуть і самки починають давати потомство обох статей. Навпаки, якщо зробити ін'єкцію спірохет від зараженої самки до здорової, то її потомство буде складатися виключно з самок.

У парамецій (інфузорій) деякі штами виділяють речовину – парамецин, що не виявляє шкідливої дії на особин цього штаму, але згубно діє на інші штами цього ж виду. Штами, що виділяють парамецин, отримали назву «кілерів». У цитоплазмі кілерів знаходяться частинки розміром біля 1 мкм – так звані к- фактори – «частинки каппа», що виявились дрібними бактеріями. У інфузорій було знайдено три домінуючі гени *K*, *S1*, *S2*, що обумовлюють стійкість інфузорій до парамецину. Якщо інфузорія гомозиготна хоча б по одному рецесиву з цих алелей – парамецин її вбиває (наприклад, парамецин цетальний для штаму *kk S1S1 S2s2*). При статевому процесі інфузорії обмінюються тільки ядерним матеріалом (мікронуклеусами) – в результаті обидва екскон'югати отримують по гаплоїдному набору хромосом того і іншого кон'югата. При вегетативному

розмноженні кіллер продукує тільки кіллерів, чутливі – тільки чутливих. При статевому процесі, якщо інфузорія-кіллер кон'югує з чутливою, то після розходження обидва кон'югати зберігають свої властивості. Це пояснюється тим, що при кон'югації інфузорії обмінюються тільки ядерним матеріалом – цитоплазма лишається негібридною. Але інколи кон'югація затримується, між інфузоріями утворюється цитоплазматична перемичка, коли затримка кон'югації довга, то цитоплазма обох інфузорій змішується і обидва екскон'югата виявляються кіллерами. Кіллерів можна звільнити від «частинок каппа (κ)» - діючи підвищеною температурою, рентгенівськими променями, алкілюючими сполуками. Цікаво, що гени K, S1, S2 не тільки охороняють інфузорій від згубної дії парамецину, але і потрібні для розмноження в них «частинок каппа (κ)».

У дрозофіли виявлені лінії, високочутливі до вуглекислого газу. При схрещуванні чутливих самок з нормальними самцями все потомство буде чутливим. При схрещуванні нормальних самок з чутливими самцями чутливість буде передаватися з дуже низькою частотою. Виявилось, що чутливість до вуглекислого газу у дрозофіл викликає особливий вірус, що був названий “фактор сигма (σ)”.

Цитоплазматичні фактори невідомої природи

У багатьох живих організмів виявлено цитоплазматичні фактори спадковості, природу яких досі не вдалось встановити. Наприклад:

- 1) Успадкування незвичайної форми тіла інфузорій – так званої псевдоподвійної форми тіла – цей фенотип обумовлюється особливостями ектоплазми, формується подвійний набір кінетопластів. Фенотип обумовлюється якимось цитоплазматичним фактором, природа якого досі не встановлена.
- 2) Цитоплазматичний фактор Δ – «фактор дельта» дрозофіли, що підвищує частоту мутацій, змінює частоту кросинговеру, вбиває зиготи певних генотипів. Природа його досі невідома, але відомо, що розмноження цього фактору залежить від

наявності у другій хромосомі дрозофіли домінантного гена Da. Імовірно, мутантна копія гена Da може утворювати позахромосомні копії, які здатні розмножуватися у цитоплазмі. Поводить себе цей ген як вірус.

- 3) Цитоплазматичний фактор спадковості рослин з роду зніт. При міжвидовому схрещуванні рослин видів *Epilobium hirtusum* Linnaeus, 1753 та *Epilobium luteum* Pursh, коли пилкок береться виду *E. luteum*, утворюються рослини з пригніченим ростом і стерильним пилком. При протилежному схрещуванні, коли пилкок береться виду *Epilobium hirtusum*, утворюються нормальні рослини.
- 4) Цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦЧС). Найбільш детально це явище вивчено у кукурудзи. При запиленні рослин з ЦЧС нормальним пилком утворюються нащадки з абортивним пилком. Ознака передається якимось реплікуючим цитоплазматичним фактором. Згідно сучасної гіпотези цей фактор є особливою плазмідною мітохондрій. Якщо плазміда вбудовується у ДНК мітохондрій, то фертильність пилку відновлюється. Знайдено ряд хромосомних генів, що відновлюють фертильність пилку у певних лініях з ЦЧС. Гени подавляють прояв генів ЦЧС, але не перешкоджають реплікації факторів ЦЧС. ЦЧС описані також у одного виду двокрилих.
- 5) Гібридний дисгінез. Виявлений у дрозофіли. Явище гібридного дисгінезу полягає в тому, що при схрещуванні певних ліній мух нащадки характеризуються підвищеною мутабільністю, кросинговером у самців. Явище залежить від цитоплазми самок. У цитоплазмі є якісь стійкі фактори, що обумовлюють її несумісність з певними хромосомними генами, що викликають гібридний дисгінез.
- 6) Успадкування смугастості шкіри коней. При схрещуванні кобилиць зі смугастими конями всі нащадки кобилиць, незалежно від типів інших схрещувань, мають смугасту шкіру. Можливо, цей цитоплазматичний фактор подібний до вірусу. Навколо цього факту виникло багато псевдонаукових

спекуляцій. У паранауковій літературі цей факт отримав назву цілого «явища», яке назвали **телегонія**.



Смугастошкіра форма коней.

МУТАЦІЇ

Мутації – це раптово виникаючі стійкі зміни генетичного апарату.

Здатність до мутацій називається мутування – універсальна властивість всього живого. Розрізняють різні типи мутацій, наприклад:

Генеративні мутації – мутації, що виникають у генеративних клітинах і передаються по спадковості.

Соматичні мутації – мутації в соматичних клітинах, що можуть призводити до генетичної мозаїчності чи до онкологічних захворювань.

Є різні підходи до класифікації мутацій. Так, можна розрізнити мутації за характером взаємодії алельних генів: домінантні, напівдомінантні, рецесивні, кодомінантні, наддомінантні. Можна розрізнити мутації за впливом на

життєздатність: летальні, напівлетальні, нейтральні, мутації, що підвищують життєздатність.

Але прийнято класифікувати мутації не за фенотипічним проявом, а за характером зміни генетичного апарату. Тому розрізняють такі основні типи мутацій:

Геномні мутації – зміна числа наборів хромосом.

Хромосомні мутації – мутації, що впливають на будову хромосом чи на кількість хромосом окремої пари. Серед них вирізняють:

Ануплоїдію – зміну числа окремих хромосом.

Сегментні хромосомні мутації – мутації перебудови хромосом, зміни їх структури.

Генні (точкові) мутації – зміни у нуклеотидній послідовності в середині конкретного гена.

Геномні мутації

Поліплоїдія

Нормальний набір хромосом, що властивий для даного виду живих організмів, називається **ортоплоїдний** набір хромосом (відповідно, диплоїдний чи гаплоїдний для видів, основна фаза розвитку яких є гаплоїдна). Під час геномних мутацій набір хромосом збільшується у кратне число разів. Утворюються так звані поліплоїди. Серед поліплоїдів розрізняють:

Триплоїди – набір хромосом $3n$

Тетраплоїди – набір хромосом $4n$

Пентаплоїди – набір хромосом $5n$

Гексаплоїди – набір хромосом $6n$ і т. д.

Де n – гаплоїдний набір хромосом.

Також серед поліплоїдів розрізняють:

Аутополіплоїди – поліплоїди, у яких кілька разів повторений один і той же набір хромосом.

Аллополіплоїди – поліплоїди, що виникли в результаті міжвидової гібридизації, містять повтори різних наборів хромосом.

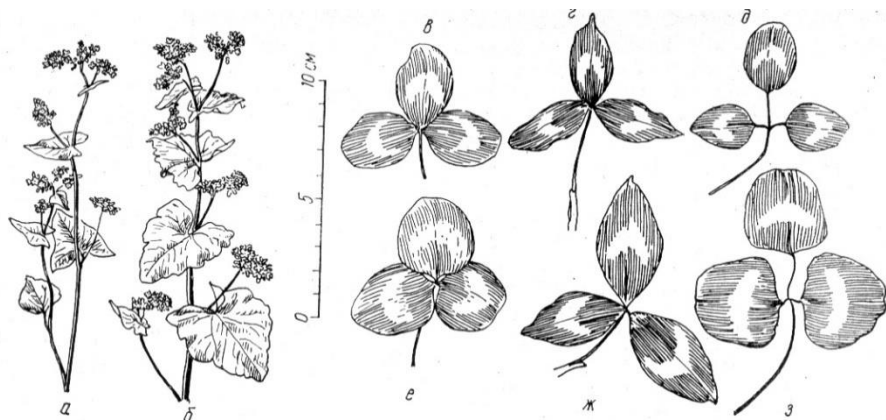


Рис. 45. Рослини диплоїдної (а) і тетраплоїдної гречки (б),
листя диплоїдної (в-д) і тетраплоїдної (е-з) конюшини.

Поліплоїдні мутанти відомі і часто зустрічаються серед рослин. Поліплоїдні мутанти мають більші розміри всіх вегетативних органів, більші розміри клітин, сповільнений розвиток, вищу концентрацію цукрів у вакуолях клітин. Гаплоїдні мутанти значно дрібніші диплоїдів і менш життєздатні. Плодовитість поліплоїдів залежить від парного чи не парного набору хромосом. Поліплоїди з парним набором хромосом ($4n$, $6n$, $8n$) називаються збалансовані поліплоїди. При мейозі у них утворюються не біваленти, а квадріваленти хромосом або два біваленти і розходження хромосом відбувається типово. Тетраплоїди іноді утворюють не квадріваленти, а один тривалент і один унівалент, що не бере участі у кон'югації. В такому випадку утворюються ненормальні набори хромосом – такі гамети часто нежиттєздатні. Тому поліплоїди мають нижчу плодовитість ніж диплоїди. Поліплоїди з непарним набором хромосом ($3n$, $5n$, $7n$) стерильні.

Розрізняють також:

Амфідиплоїди – тетраплоїди типу $2n+2n$ – подвійні диплоїди – містять по два набори хромосом обох батьківських видів. Життєздатні і плодовиті.

Незбалансовані поліплоїди – містять непарне число наборів хромосом. Мейоз завжди неправильний. Розподіл хромосом випадковий. Більшість гамет нежиттєздатні.

У гаплоїдів мейоз порушений ще у більшій степені.

При схрещуванні поліплоїдів нормальне менделівське розщеплення порушується. Наприклад, по фенотипу може бути розщеплення 35:1 – при схрещуванні тетраплоїдів.



Рис. 46. Поліплоїдні мутанти пасльону чорного. А – диплоїдна рослина (36 хромосом), Б – тетраплоїдна (72 хромосом), В – гексаплоїдна (108 хромосом), Г – октоплоїдна (144 хромосом).

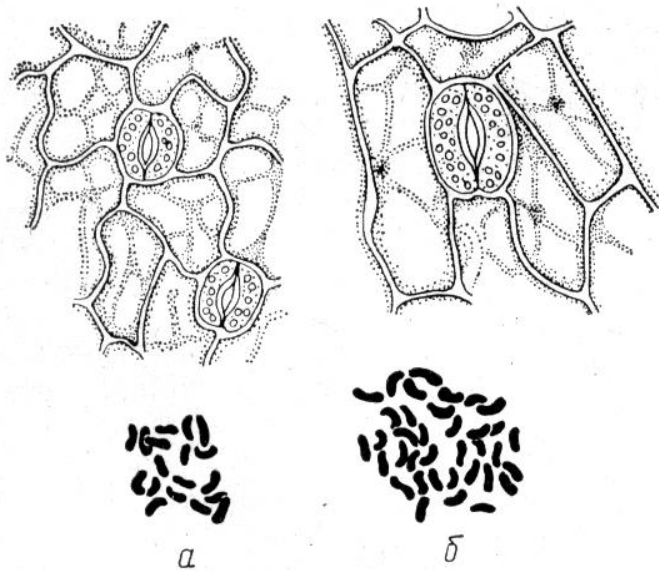


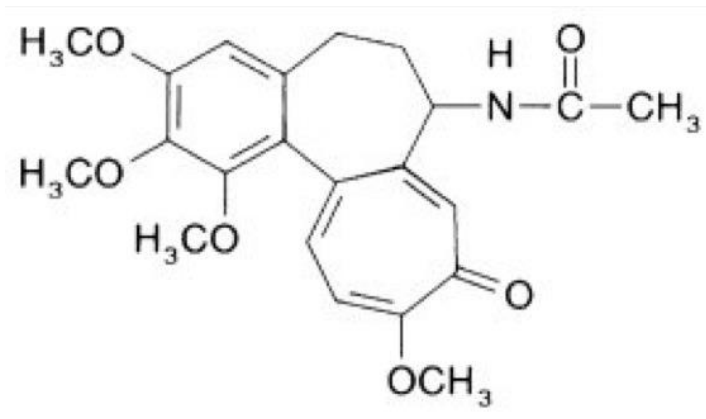
Рис. 47. Розміри замикаючих клітин устя, число хлоропластів у них у диплоїдного (а) та тетраплоїдного (б) цукрового буряку.

У людини поліплоїдні клони клітин можуть виникати при різних онкологічних захворюваннях.

Шляхи виникнення поліплоїдії:

- 1) поділ хромосом без клітинного поділу;
- 2) злиття соматичних клітин або їх ядер;
- 3) утворення гамет або спор з нередукованим числом хромосом внаслідок аномального мейозу.

Є цілий ряд факторів, що діють на мітотичне веретено – внаслідок ушкодження мітотичного веретена хромосоми, що мали б розійтися по дочірніх клітинах, об'єднуються в одне ядро. До таких факторів належать як фізичні фактори – різке коливання температури, стрес, так і хімічні фактори – колхіцин, колцемід, ацетонафтен, різні наркотичні речовини.



Структурна формула колхіцину.



Диплоїдний (справа) та поліплоїдний (зліва) сорти картоплі. Поліплоїди відрізняються більшим розміром бульб, більшим розміром всіх вегетативних органів, більшим розміром клітин, більшим вмістом крохмалю в бульбах.

Гаплоїдні мутанти

Гаплоїдні мутанти у рослин відрізняються низьким ростом, різким зниженням життєздатності внаслідок прояву всіх рецесивних алелей, повною втратою здатність до статевого розмноження.



Рис. 48. Гаплоїдна (а) і диплоїдна (б) рослина томату.

Шляхи отримання гаплоїдних мутацій:

- 1) запилення рослин пилком далекого виду;
- 2) запилення пилком, хромосомний апарат якого інактивованій опроміненням;
- 3) вирощування на штучних середовищах клонів гаплоїдних клітин, що отримані з пророслого пилку.

Зміна числа окремих хромосом (анеуплоїдія)

Розрізняють такі основні різновидності анеуплоїдії:

- 1) Трисомія – наявність трьох гомологічних хромосом, каріотип типу $2n + 1$;
- 2) Моносомія – наявність тільки однієї з гомологічних хромосом, каріотип типу $2n - 1$;
- 3) Нулісомія – відсутність обох гомологічних хромосом, бракує цілої пари хромосом, каріотип типу $2n - 2$.

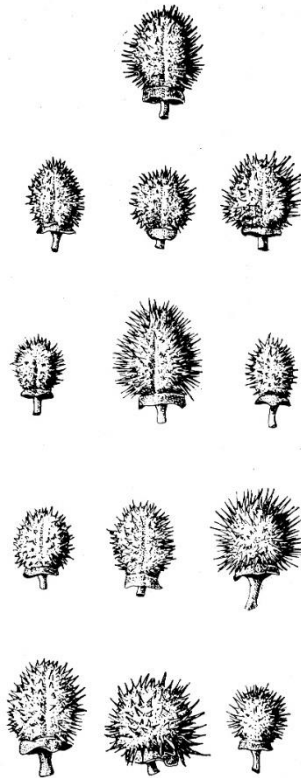


Рис. 49. Сім'яні коробочки трисоміків дурману ($n=12$) (згідно робіт Бекслі). Вгорі – у нормальної диплоїдної рослини ($2n = 24$), під ним – у трисоміків по кожній з 12 хромосом галоїдного набору.

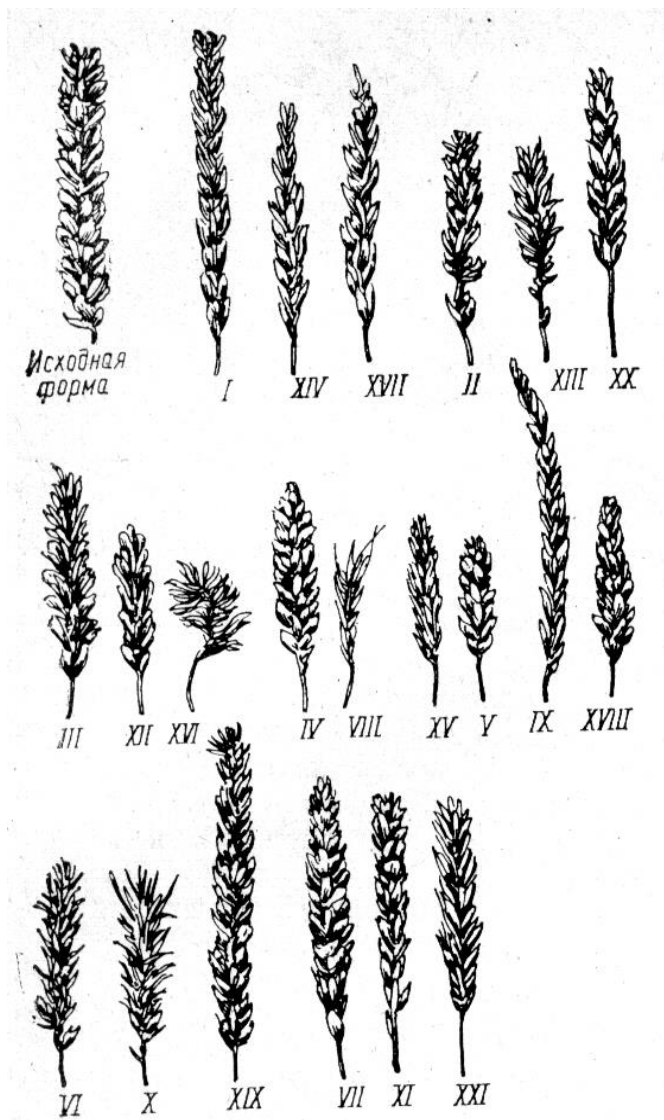
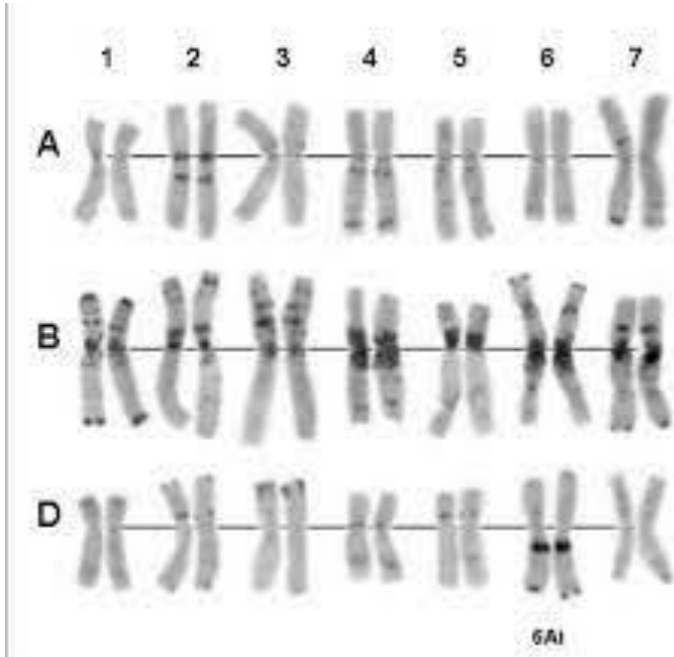


Рис. 50. Колоски нулісоміків м'якої пшениці сорту «Чайна спрінг». Зміни викликані відсутністю однієї пари гомологічних хромосом; цифри показують, яка з 21 пари хромосом відсутня в даній рослині.

Анеуплоїдія спричиняє значну зміну фенотипічних ознак. Причому, у трисоміків простежуються менш значні зміни, ніж у моносоміків і нулісоміків. Це пояснюється тим, що додавання зайвих генів менше порушує процеси розвитку, ніж їх відсутність. Часто відсутність певних генів є леталь.



Каріотип м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту «Чайна спрінг». Було отримано мутантів нулісоміків по кожній з 21 пари хромосом пшениці.

Найкраще вивчена анеуплоїдія у рослини дурман (*Datura stramonium* L.). У дурману в каріотипі диплоїдного набору 24 хромосоми ($2n=24$). Було отримано 12 різних типів трисоміків ($n=12$). Кожний трисомік характеризувався характерним тільки для нього фенотипом.

У людини нуллісомія по всіх хромосомах завжди є леталь – ембріон не розвивається або гине на ранніх етапах ембріогенезу. Моносомія по всіх аутосомах завжди є леталь. Моносомії, трисомії та інші аномалії набору статевих хромосом, що широко представлені у живих новонароджених описані в розділі «Генетика статі». Трисомії по багатьох аутосомах теж є леталь, тільки щодо окремих хромосом трапляються трисомії у живих новонароджених. Це наступні патології:

Синдром Дауна

Причина синдрому Дауна - трисомія по 21 хромосомі – каріотипи 47, XX, +21 чи 47, XY, +21 відповідно. Крім цього синдром Дауна може бути спричинений дуплікацією генів 21 хромосоми чи транслокацією з відповідним збільшення числа генів 21 хромосоми в каріотипі. Синдром проявляється у характерному фенотипі – розумова відсталість (до ідіотизму), характерний розріз очей, характерний епікантус (складками внутрішнього кута ока), змінена форма голови, сплющене обличчя, вкорочені кінцівки і шия, характерний розріз очей, плоске перенісся, випнутий язик, гіпотонія м'язів, малий розмір ротової порожнини, білі плями на рогівці (плями Брашфілда), надмірна гнучкість суглобів, вади серця, надмірний проміжок між першим і другим пальцем стопи, поодинокую згинальну складку мізинця (клинодактилія) і підвищену кількість дерматогліфів з ліктьової сторони долоні. Але жодна з цих ознак не є обов'язковою. Хворі на синдром Дауна частіше за контрольну групу хворіють на різні гематологічні патології, мають підвищений ризик розвитку лейкозів та лімфом. Біля 50 % хворих на синдром Дауна мають вроджені вади розвитку серця, шлунку, кишківника. Хворі є візуалами – інформацію сприймають переважно органами зору. Як правило, хворі на синдром Дауна не доживають до 30 років, в середньому живуть 21 рік. Але в умовах підтримуючої терапії та корекції час життя може бути збільшений до 60 років. Крім того, у хворих на синдром Дауна, як і в усіх хворих на певні хромосомні аномалії часто простежується мозаїцизм, коли частина клітин мають аномальний каріотип, а частина

нормальний. У цих випадках всі відхилення, характерні для синдрому Дауна проявляють в меншій мірі. Частота – 1:700 живих новонароджених.



Дитина хвора на синдром Дауна.

Переважна більшість хворих на синдром Дауна, якщо доживають до репродуктивного віку безплідні. Чоловіки – всі безплідні, а жінки часто. Якщо жінки фертильні, то вагітність часто завершується викиднем. Вперше ця патологія була описана лікарем Джоном Легдоном Дауном в 1862 році і названа на його честь. У тоталітарних суспільствах на хворих з синдромом Дауна застосовувались евгенічні заходи. Тривалий час причини синдрому Дауна були невідомі і ознаки синдрому Дауна як аргумент використовували расисти. Хромосомний механізм синдрому Дауна довів Жером Лежен у 1959 році. Синдром Дауна лишається найчастішою аутосомною хромосомною аномалією серед живих новонароджених, частота народження хворих з цією вадою корелює з віком матері – зі збільшенням віку матері, особливо після 45 років різко зростає імовірність появи дітей з синдромом Дауна, як, зрештою, і будь-яких інших хромосомних аномалій.

Синдром Варкані

Причина синдрому Віркани - трисомія по 8 хромосомі. Супроводжується чисельними важкими аномаліями розвитку – розумова відсталість, аномалії черепа, косоокість, короткопалість, епікант, аномалії скелету, коротка шия зі складками, видовжені пальці, вузькі плечі, пахова грижа, дефекти будови нігтів, збільшення вушних раковин, вади серця, додаткові хребці, неповне закриття хребтового каналу, додаткові ребра та ін. Повна трисомія по 8 хромосомі переважно леталь, часто трапляється у мертвонароджених та викиднів, у живих новонароджених трапляється мозаїцизм по трисомії 8 хромосоми. Частота серед живих новонароджених 1:50000. Співвідношення хворих різної статі серед живих новонароджених – чоловічої та жіночої 5:2 відповідно. Прогноз вкрай несприятливий, хоча бували окремі випадки, коли пацієнти доживали до 17 років.



Хворий на синдром Варкані з мозаїцизмом по трисомії 8 хромосоми.

Синдром Патау

Трисомія по 13 хромосомі викликає патологію **синдром Патау**, що фенотипічно проявляється у розщепленні піднебіння («заяча губа» і «вовча паша»), порушення діяльності нервової і серцево-судинної систем, чисельними вадами розвитку, мікроцефалія, полідактилія, додаткова селезінка, вади розвитку нирок, ембріональні грижі. Іноді трапляється циклопізм. Часто простежується у хворих мозаїцизм. Частота виникнення від 1:12000 до 1:29000 в різних популяціях людини серед живих новонароджених. Причиною також може бути робертсонівська транслокація з виникненням додаткових копій фрагменту 13 хромосоми в каріотипі. Вперше цю патологію описав ще в 1657 році лікар Томас Бартолін. Але хромосомну природу цієї патології довів в 1960 році американський генетик Клаус Патау. Більшість хворих на синдром Патау помирають не проживши і 1 року. Але при мозаїцизмі можливий більш тривалий час життя.



Дитина з синдромом Патау.

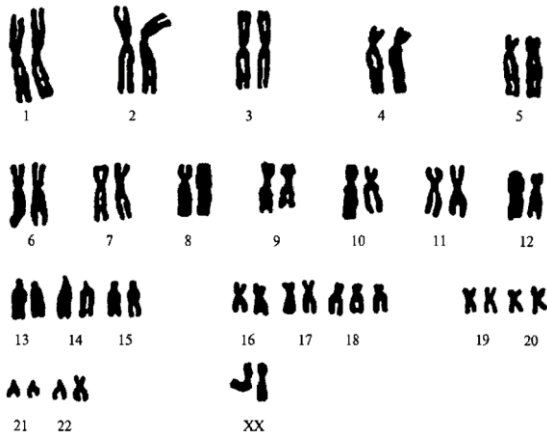
Синдром Едвардса

Трисомія по 18 хромосомі викликає патологію, що називається **синдром Едвардса** другу по частоті поширення хромосомну

аутосомну патологію у живих новонароджених людини. Синдром Едвардса проявляється у вадах практично всіх систем органів.



Дитина з синдромом Едвардса.



Каріотип хворої на синдром Едвардса.

Для цього синдрому типові наступні аномалії: череп доліхоцефальний, здавлений з боків, чоло низьке, потилиця виступає, трапляється мікроцефалія або гідроцефалія. Очні щілини спотворені, спостерігається епікант, птоз, трапляється мікрофтальмія, катаракта, інші аномалії очей. Перенісся втиснене, вушні раковини розташовані аномально низько, недорозвинене внутрішнє вухо. Рот маленький, трикутної форми з короткою верхньою губою; піднебіння високе, іноді з щілиною, шия коротка, часто з крилоподібною складкою. Різноманітні аномалії скелету, кінцівки вкорочені і спотворені. Стопа і пальці спотворені. Сильна розумова відсталість, судомний синдром. Вади розвитку мозку. Вади серця та травної системи. Діти з цим синдромом, як правило, живуть біля кілька місяців – чоловічої статі до 3 місяців, жіночої статі до 10 місяців. У випадку мозаїцизму час життя може бути триваліший. Частота - 1:7000 серед живих новонароджених. Серед особин жіночої статі синдром Едварса трапляється у 3 рази частіше, ніж серед особин чоловічої статі (імовірно за рахунок ембріональної смертності). І. В. Лур'є та Г. І Лазюк висловлюють думку про стабілізуючу дію Х-хромосоми, під час аберації 18 пари, тоді як зиготи з трисомією 18, що мають чоловічий генотип, елімінуються. Патологію вперше описав Джон Едвардс у 1960 році.

Причини виникнення трисомії:

- 1) Нерозходження якоїсь пари гомологів під час мейозу, внаслідок чого у гамету потрапляє або обидва гомологи або жодного гомологу.
- 2) Схрещування поліплоїдів з диплоїдами.
- 3) Неправильне розходження хромосом при мітозах у генеративних клітинах.
- 4) Вплив зовнішніх факторів – температурного шоку, іонізуючого випромінювання.
- 5) Дія внутрішніх факторів, наприклад, старіння.

У трисомиків гени, представлені тривалентом, успадковуються інакше ніж інші гени – при гаметогенезі

утворюється чотири класи гамет: 1AA:2A:2Aa:1a, тому розщеплення буде не 3:1, а 17:1 у фенотипі. Подібні схрещування дозволяють довідатись, у якій хромосомі локалізований той чи інший ген. Це цінно особливо для рослин, у яких відомий повний набір трисомиків. Також отримав у генетиці застосування моносомний аналіз – створення серії моносомиків або нуллісомиків по кожній хромосомі з подальшою гібридизацією з нормальними рослинами.

Перебудови хромосом (сегментні мутації)

При перебудовах хромосом число хромосом не змінюється, але одна або декілька хромосом отримують перебудови, що викликаються розривами, що супроводжуються з'єднанням фрагментів, що розташовуються інакше, ніж це було у вихідних немутантних хромосомах. Перебудови хромосом можуть зачіпати або тільки одну хроматиду – тоді вони називаються хроматидні перебудови або обидві хроматиди - тоді вони називаються хромосомні перебудови.

Розрізняють наступні різновидності перебудов хромосом:

Недоліки (дефішенси) – відривається кінцевий фрагмент хромосоми, що не містить центромери, хромосома виявляється вкороченою. Під час дефішенсів втрачаються в першу чергу теломери – повтори на кінцях лінійних хромосом, що захищають хромосому з кінців. Внаслідок цього при подальшому поділі клітин цього мутантного клону чи організму хромосома вкорочується і руйнуються життєвоважливі структурні гени.

Делеції – втрачається фрагмент хромосоми, але не кінцевий, а із середини хромосоми. Відбуваються внаслідок двох розривів, втрати проміжного фрагмента і з'єднання двох частин хромосоми, що лишилися. При делеціях часто відбувається прояв рецесивного гена, що лежить у гомологічній хромосомі, яка відповідає втраченому фрагменту. Наприклад, у гетерозиготних самок дрозофіли при делеціях у X-хромосомі можуть проявлятися рецесивні гени у – жовте тіло і w – білі очі.

Прикладом патології у людини, що пов'язана з делеціями є **синдром Вольфа-Хіршохорна** – обумовлений делецією частини короткого плеча 4 хромосоми області p16, супроводжується чисельними вадами. Делеція частини короткого плеча 5 хромосоми є причиною **синдрому котячого крику**. Делеція частини довгого плеча 22 хромосоми викликає **синдром Ді Георга**.



Хвора на синдром котячого крику дитина.

Синдром котячого крику (синдром Лежена)

Причиною синдрому котячого крику є делеція в короткому плечі 5 хромосоми: Del 5p15.2-3. Назву отримав цей синдром завдяки тому, що крик хворих на цю патологію дітей нагадує крик котів завдяки аномаліям гортані. При цьому синдромі спостерігається мікроцефалія, низькі темпи розвитку, розумова відсталість, істерія, порушення травлення, вади розвитку, розумова відсталість, часто косоокість, вади серця. Репродуктивна функція переважно не порушена. При цій делеції зачіпаються гени SEMA5A, CNNND2, що відповідають за синтез ферментів семафорину F та дельта-каненіну. Синдром вперше описав Жером Лежен в 1963 році. Частота – 1:50000. Частіше хворіють

жінки – співвідношення хворих жіночої та чоловічої статі 3:4. Тривалість життя хворих сильно відрізняється в залежності від розвитку різних вад розвитку.

Синдром Вольфа-Хіршхорна

Причина синдрому делеція в короткому плечі 4 хромосоми - Del 4p16.3. При цьому синдромі спостерігається розумова відсталість, мікроцефалія, вади серця, вади нирок, епілепсія, імунодефіцит, аномалії кінцівок, аномалії очей. Аномалії черепа при цьому синдромі називають ще «шолом грецького воїна». Очі великі та випуклі, складки рота направлені вниз. Деформації стопи. М'язова гіпотонія, затримка розвитку. Час життя хворих в залежності від розмірів делеції та вад розвитку від 1 до 25 років. Частота 1:50000 серед живих новонароджених. Частіше у жіночої статі в співвідношенні 2:1.



Дитина хвора на синдром Вольфа-Хіршхорна.

Синдром Ді Георга обумовлений делецією в довгому плечі 22 хромосоми в області 22q11.2 або чи мікроделеціями в інших хромосомах – в 10, 17, 18 в областях 10p13, 17p13, 18q21. При цьому синдромі мають місце аномалії: гіпаратеріоз, кандомікоз, аномалії рота, носа, вух, аномалії тимусу, аномалії

паращитовидної залози, судоми, вади серця, імунодефіцит, кальцифікація мозку. Захворювання розвивається в результаті ушкодження закладки 3 – 4 зябрових кишень під час ембріогенезу, в результаті чого порушується розвиток паращитоподібної залози і тимуся.



Хворий на синдром Ді Георга.

Дуплікації – подвоєння якої-небудь ділянки хромосоми – відбувається вставка в хромосому додаткового фрагмента або внаслідок нерівного кросинговера або при нерозходженні хромосом з делецією – тоді дуплікована ділянка хромосоми може існувати у вигляді маленької надкомплектної хромосоми. У фенотипі прояв дуплікацій слабший ніж делецій. Дуплікації мають велике значення для еволюції і виникнення нових генів.

Інверсії – змінюється порядок розташування генів у хромосомі – ділянка хромосоми, що утворюється у результаті двох розривів, знову вбудовується в неї, але повернутою на 180

градусів. Інверсії, як правило, не впливають на фенотип, але впливають на мейотичну кон'югацію, що приводить до нерозходження хромосом, утворення анеуплоїдних гамет. При інверсіях кросинговер утруднений, знижується здатність давати нормальне потомство. Важливі для еволюції – завдяки інверсіям відбувається розходження форм у середині виду.

Транслокації – перебудови хромосом, у яких беруть участь 2 або більше хромосом, що належать до різних пар хромосом – відбувається обмін ділянками між негомологічними хромосомами. У кожній з цих хромосом відбувається розрив і приєднання ділянки до іншої хромосоми. Інколи транслокації фенотипічно не проявляються – це так звані збалансовані транслокації, але часто при транслокаціях гени переміщуються у іншу групу зчеплення, що впливає на фенотип. Також транслокації часто впливають на мейоз, призводять до утворення нежиттєздатних зигот. Важливі для процесу еволюції як фактор розходження форм в середині виду. Прикладом патології людини, що виникають в результаті транслокацій є філадельфійська хромосома – мініатюрна хромосома, що виникла в результаті транслокації $t(9;22)(q34;q11)$. Наслідком такої соматичної мутації може бути хронічна мієлобластна лейкемія.

Транспозиції – вставки (інсерції) у яесь місце хромосоми маленького фрагмента, що містить гени, не властиві цьому фрагменту.

Центричне злиття – злиття хромосом, яке супроводжується втратою однієї центромери і з'єднанням двох негомологічних акроцентричних хромосом в одну. Протилежне явище – **центричний поділ** – мутація при якій одна хромосома поділяється на дві, кожна з яких має свою центромеру. Ці мутації називають **Робертсонівськими перебудовами** за ім'ям Вільяма Робертсона, який злиттям хромосом спробував пояснити зменшення їх числа в хромосомних наборах деяких видів. Прикладом таких мутацій може бути кількість хромосом у людини (23 пари)

і людиноподібних мавп (24 пари). Два плеча хромосоми 2 людини відповідають двом різним хромосомам мавп (12 і 13 хромосомам шимпанзе). Таким чином в процесі еволюції людини мала місце робертсонівська перебудова.

При хромосомних перебудовах проявляється так званий **ефект положення** гена. Вбудовування в хромосому стороннього фрагмента може впливати на прояв сусідніх генів. Часто це змінює дію і самого перенесеного гена. У дрозофіли виявлені летальні інверсії і реінверсії, зокрема, у Х-хромосомі. Також у дрозофіли зміна положення гена може привести до дестабілізації дії генів, що призводить до мозаїчності. Наприклад у гетерозиготи $w^+ w$ виникають мозаїчні очі при переносі ділянки хромосоми з геном w^+ на нове місце.

Ефект положення може бути стабільним і нестабільним або мозаїчним. До стабільного ефекту положення відносять такий ефект, за якого нормальний алель у зміненому геномному оточенні стабільно зберігає свій зовнішній вплив. Прикладом може бути зміна домінування гена *ci* (*cubitus interruptus*), який знаходиться в 4-тій хромосомі дрозофіли. Рецесивний алель цього гена в гомозиготному стані викликає переривчастість кубітальної жилки крила. Якщо в 4-тій хромосомі безпосередньо біля нормального домінантного алеля ci^+ здійснюється розрив і обмін фрагментами з іншою хромосомою (транс локація), то цей домінантний алель не спрацьовує, і всі гетерозиготи ci^+/ci мають рецесивний фенотип (перервану кубітальну жилку). Підвищену мутабільність деяких генів можна пояснити особливостями їх локалізації у хромосомі. Доведено, що чимало мутантних фенотипів є наслідком незначних хромосомних порушень (мікро інверсій та ін.), які відбуваються поруч з відповідним нормальним геном.

Генні мутації

Генні мутації – це стійкі зміни окремих генів. Це найбільша і найважливіша частка всіх мутацій, основа різноманітності генів і комбінаторної мінливості, матеріал

добору. Мутація одного гена, як правило, зачіпає кілька ознак – в цьому проявляється явище плейотропії. У дрозофіли виявлено тисячі різних генних мутацій, що впливають на колір, розмір і будову очей, колір і розмір тіла, колір, розмір і жилкування крил, будову черевця і ніг, будову вусиків, число, товщину і форму щетинок, плодовитість, довжину життя, серологічні особливості, ферменти, реакцію комахи на світло, тяжіння, поведінку і т. д.

Серед генних мутацій можна виділити: прямі і зворотні мутації.

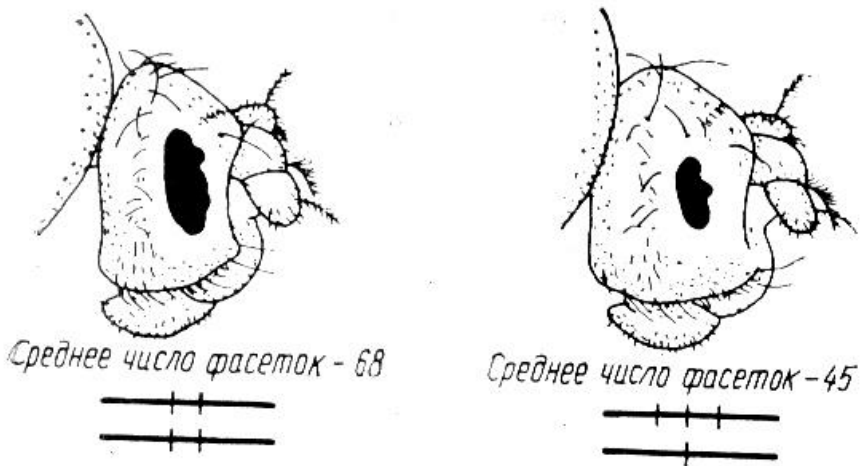


Рис. 52. Ефект положення в ділянці *Bar* X-хромосоми дрозофіли.

Зворотні мутації або **реверсії** – це мутації, що повертають мутантний ген у його вихідний стан. Також можна виділити домінантні, напівдомінантні, рецесивні, летальні, напівлетальні генні мутації, мутації, байдужі до життєдіяльності, мутації, що покращують життєдіяльність, видимі мутації, приховані (латентні) мутації, «малі» (слабко помітні) мутації і т. д. Але частіше генні мутації класифікують по зміні кількості або якості біохімічного продукту (частіше всього ферменту), синтез якого

контролюється відповідним геном. Згідно такого підходу серед генних мутацій розрізняють:

Гіпоморфні мутації – генні мутації, в результаті яких ген мутує у рецесивний стан, для якого характерно зменшення кількості того ж біохімічного продукту, синтез якого визначається домінантним алелем гена. Приклад – мутація *eosin* (w^e) – викликає світло-оранжевий колір очей у дрозофіли. $w^e w^{e-}$ очі темніють, $w^e w^e w^e$ – наближення до нормального кольору, $w^e w^e w^e w^e$ – нормальний колір очей як і у w^+ .

Аморфні мутації - генні мутації, в результаті яких повністю перестає вироблятися продукт, ген повністю інактивується. Генна мутація в цьому випадку не відрізняється від делеції. Приклад - мутація *white* (w) – викликає білий колір очей у дрозофіли.

Гіперморфні мутації - генні мутації, в результаті яких кількість біохімічного продукту збільшується. Приклад: реверсія $w^e \rightarrow w^+$.

Антиморфні мутації - генні мутації, в результаті яких мутантний алель викликає утворення продукту, що гальмує синтез або дію продукту вихідного алеля гена. Приклад: мутація *ebony* (e) – викликає розвиток чорного забарвлення тіла у дрозофіли, $e e$ – чорне тіло, $e e e$ – ще чорніше тіло, $e e e e^+$ - тіло світліє – антагонізм між генами e та e^+ .

Неоморфні мутації - генні мутації, в результаті яких мутантний алель визначає синтез в організмі біохімічного продукту, що докорінно відрізняється від вихідного немутантного алеля і не взаємодіє з цим продуктом. Приклад: мутація *Hairy wing* (Hw) – викликає розвиток на крилах дрозофіли чисельних щетинок.

Частота спонтанних мутацій різних генів у одного і того ж виду чи організму часто доволі різна, деякі гени здатні мутувати частіше за інші у сотні разів. Але якщо вивчена мутабельність – здатність мутувати, то можна вирахувати середню частоту мутацій певного гена того чи іншого організму. Для вищих організмів для індивідуального гена середня частота мутацій в нормальних умовах становить 1×10^{-5} на покоління, тобто на 100

000 гамет припадає в середньому 1 гамета, в якій цей ген мутантний. А значить, сумарна частота мутацій виявляється досить значною за рахунок великого числа генів. Так, у дрозофіли в середньому 5 % гамет кожного покоління несуть мутацію. У людини частка мутантних гамет досягає 60 %.

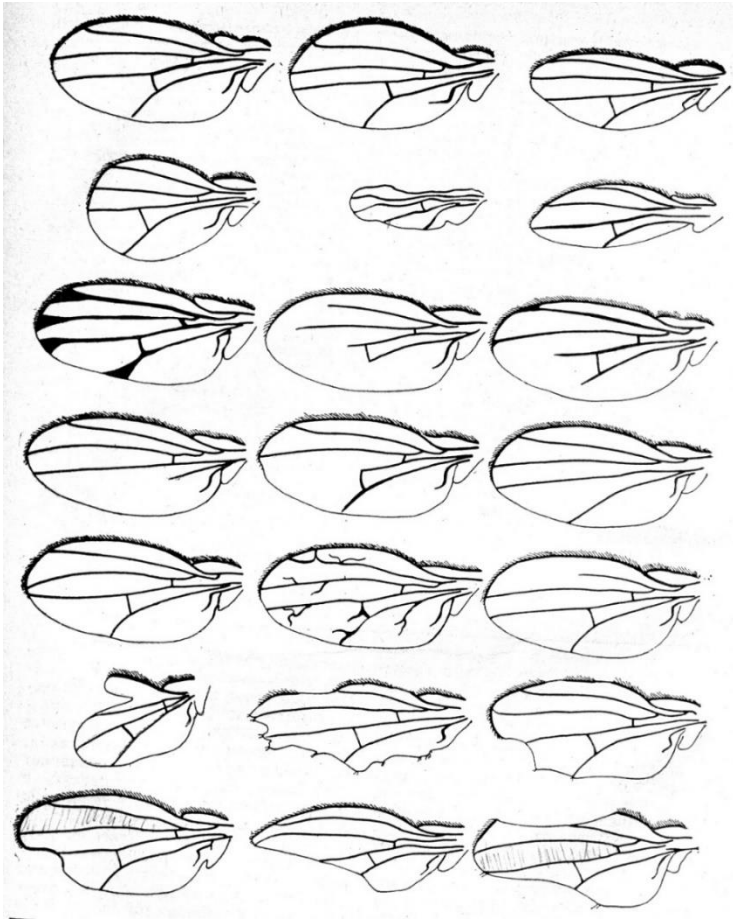


Рис. 53. Різні мутації дрозофіли, що зачіпають розміри, форму і жилкування крил. Крайнє ліве верхнє – нормальне, властиве не мутантним особинам.

Мутабільність перебуває під контролем геному. Різні у генетичному відношенні лінії мають різну мутабільність.

Є у геномі так звані **гени-мутатори** – гени, що сильно підвищують частоту генних мутацій інших не алельних їм генів. Ще існують **мутабільні гени** – гени, що мають виключно високу здатність мутувати. Прикладом мутабільних генів є гени miniature у дрозофіли: m^+ - нормальні розміри крил, m^a , m^b , m^c - зменшення розмірів крил і зміна їх структури. Гени m^a та m^c надзвичайно часто мутують в ген m^+ . Мутації $m^a \rightarrow m^+$ становлять 10 % соматичних мутацій та 4 % генеративних мутацій у дрозофіли. Мутації $m^c \rightarrow m^+$ становлять 4 % соматичних мутацій, але таких генеративних мутацій не простежується. Мутації $m^c \rightarrow m^b$, $m^c \rightarrow m^a$, $m^a \rightarrow m^b$, $m^a \rightarrow m^c$, $m^b \rightarrow m^a$, $m^b \rightarrow m^c$ трапляються значно рідше.

ПРИЧИНИ МУТАЦІЙ.

У 1927 році Меллер вперше довів, що мутації можна викликати штучно, зокрема Рентгенівськими променями. Таким чином, були відкриті **мутагени** – фізичні і хімічні фактори, що викликають мутації.

Фізичні мутагени

До фізичних мутагенів належать: рентгенівські промені, гамма промені, бета частинки, нейтрони, альфа частинки, протони, ультрафіолет (іонізуюче випромінювання), а також різке коливання температури (дуже слабкий мутаген). До фізичних мутагенів різні живі істоти мають різну чутливість. Якщо доза опромінення перевищує певну межу, то відбувається настільки сильне порушення генетичного апарату, що викликає загибель клітин і організму.

Частота мутацій залежить від дози радіації – мутагенний ефект відповідає загальній дозі опромінення. Не грає ролі ні інтенсивність, ні час опромінення. Частота мутацій прямо пропорційна дозі опромінення: $y = k + ad$

де y – загальна частота мутацій

k – частота спонтанних мутацій
a – коефіцієнт пропорційності
d – доза опромінення

Кожна мутація є результатом одиної іонізації або збудження атому. Теоретично частота мутацій повинна б бути пропорційною квадрату дози, але цього не спостерігається по ряду причин: зберігаються тільки нелетальні мутації – інші не виявляються – клітини гинуть; репарація зменшує кількість мутацій.

Пояснення дії фізичних мутагенів було здійснено Тимофєєвим-Ресовським, що розробив **теорію мішені**. Згідно цієї теорії мутації викликаються одиїним актом іонізації, що пошкоджує чутливу структуру клітини – мішень – спадкового апарату.

Дія радіації на гени і хромосоми може бути пряма (основна) і посередня – за рахунок утворення вільних радикалів, які можуть реагувати з хімічними компонентами хромосом. Зокрема, внаслідок радіолізу води виникають вільні радикали H^{\bullet} та OH^{\bullet} , що можуть діяти на ДНК. Доведено це було шляхом інкубації бактерій у опроміненій воді. При дії радіації на ДНК проявляється так званий **кисневий ефект**, що полягає в тому, що опромінення організму в атмосфері, що багата на кисень, призводить до більшого числа мутацій, аніж у атмосфері, що бідна на кисень. Це відбувається за рахунок утворення перекисних органічних сполук, що мають мутагенну дію.

Зростання частоти мутацій зі збільшенням дози радіації відбувається тільки до відомої межі, вище якої частота мутацій починає знижуватися. Пояснюється це тим, що при дуже великих дозах опромінення ураження генів і хромосом досягає такої степені, що клітини стають нежиттєздатними, а виживають ті, які не пошкоджені радіацією. Якщо статеві клітини, сильно вражені радіацією, все ще здатні брати участь у заплідненні, то зиготи, що утворюються, часто не можуть розвиватися або гинуть у процесі розвитку внаслідок появи так званих домінантних леталей. Все це призводить до зменшення числа

мутацій, що виявляються серед нащадків особин, що були опромінені великими дозами випромінювання. Максимальна частота генних мутацій, що індуковані випромінюванням, зростає не більше ніж на 2 порядки. Спектр мутацій лишається тим же: гени, які рідко мутують у нормі, рідко мутують при опроміненні; гени, які часто мутують у нормі, часто мутують при опроміненні.

Радіація більше підвищує частоту перебудов хромосом, аніж частоту генних мутацій. Особливо сильно підвищують частоту перебудов хромосом корпускулярні випромінювання внаслідок більш щільної іонізації середовища.

Різні живі організми мають різну чутливість до іонізуючого випромінювання. Так, однакова доза рентгенівського опромінення індукує у дрозофіли у 4-18 разів менше генних мутацій, аніж у миші, у бактерій ще менше. Різні клітини одного живого організму теж мають різну чутливість до іонізуючого опромінення. Так, нервові клітини з усіх клітин найменш чутливі до опромінення, найбільш стійкі, зрілі спермії мало чутливі до опромінення, яйцеклітини – дуже чутливі до опромінення.

Ультрафіолетові промені (УФ) теж є сильним мутагеном. Ультрафіолетові промені найбільше викликають утворення димерів піримідинів, якщо вони розташовані поруч на ланцюгу ДНК – утворюються димери Т=Т, С=С, Т=С. Внаслідок утворення димерів стає неможливою реплікація ДНК, транскрипція. Але щодо дії цього випромінювання на живі клітини характерне явище фотореактивації – відновлення ДНК в присутності квантів світла. Так, довгохвильові ультрафіолетові промені частково подавляють мутагенну дію короткохвильових УФ. У клітинах наявний особливий фотореактивуєчий фермент – фотоліаза – що виправляє дефекти, які виникають у ДНК при поглинанні УФ променів, мономеризує димери тиміну.

Різке коливання температури теж є мутагенним фактором, хоча і дуже слабким. Так, різке підвищення температури на 10 градусів у 3-5 разів підвищує частоту мутацій, причому виключно генних мутацій. Характер цих мутацій не відрізняється від спонтанних. Взагалі, будь-який фізичний фактор середовища,

який є на рівні стресу викликає мутації. Стрес сам по собі є мутагенним фактором. Такі фактори як термошок, барошок, ультразвук є мутагенами. Але їх мутагенна дія в десятки разів нижча, аніж дія іонізуючого випромінювання. Те, що стрес є мутагенним фактором має свою біологічну причину – в умовах стресу популяції живих організмів необхідно різко підвищити рівень мінливості, щоб серед нових форм нащадків виникла така нова форма, яка змогла би адаптуватись до стресового фактору.

Живі клітини здатні до **репарації** – відновлення, ремонту пошкодженого генетичного апарату, повернення у вихідний стан. Як виявилось клітина здатна до репарації ДНК, навіть тоді, коли немає відповідної матриці, що саме по собі є неймовірним і сенсаційним фактом. Існують дуже різні форми репарації ДНК – фотореактивація, постреплікативна репарація, темнова (ексцизійно-енцизійна) репарація, SOS-репарація, репарація від однострункових розривів ДНК, репарація від двострункових розривів ДНК і т. д. І всі ці форми репарації, далеко не всі з яких вивчені та відомі, працюють одночасно, зберігаючи цілісність геному. Існують складні генетичні системи, що відповідають і контролюють різні форми репарації. Відповідно існують мутації генів, що відповідають за репарацію. У гомозиготі ці мутації у людини викликають патологію. У людей, в яких не відбувається певної форми репарації ДНК є високий ризик соматичного і генеративного мутагенезу, відповідно, високий ризик появи генетично хворих нащадків, високий ризик канцерогенезу, імунодефіциту, анемії і т. д. До таких патологій у людини належать синдром Блума, анемію Фанконі, пігментна ксеродерма та інші спадкові захворювання.

Крім репарації ДНК в живих клітинах існують системи негенетичної репарації дуже різних молекул: РНК, білків, ліпідів. Дуже різні ушкоджені радіацією чи хімічними речовинами, чи вільними радикалами клітина здатна ремонтувати. Наявність високоскональних систем репарації обумовлює високу радіостійкість деяких живих організмів, таких як синьо-зелені водорості (ціанобактерії) чи бактерія *Diplococcus radiodurans*. Ці організми можуть жити в ядерних реакторах, виживати в

епіцентрі ядерного вибуху, витримувати дози в тисячі Грей поглинутого випромінювання, що саме по собі є неймовірним і дивовижним.

Ось деякі спадкові захворювання, пов'язані з мутаціями генів, що відповідають за процес репарації ДНК:

Синдром Блума

Синдром Блума – важке спадкове аутосомно-рецесивне захворювання, що проявляється, зокрема, в низькому рості пацієнтів та високою імовірністю онкологічних захворювань, особливо лейкозів, лімфом та карцином. Причиною синдрому Блума є мутації генів, що відповідають за репарацію ДНК.



Хворий на синдром Блума.

У хворих на синдром Блума відмічена висока генетична нестабільність клітин. Хвороба була вперше описана американським лікарем Девідом Блумом у 1954 році. У хворих на синдром Блума відмічаються дерматологічні проблеми, висока чутливість сонячних променів, до іонізуючого опромінення, зокрема до ультрафіолетових променів,

відмічаються еритремні та склеродермічні враження шкіри, довге вузьке обличчя, мікрогнатія (вада розвитку щелеп), аномалії вух та рота, гіпопігментація або гіперпігментація шкіри, склеродермія очей, імунодефіцит, високий ризик інфекцій, недорозвиненість статевих органів, недолік статевих гормонів. Може спостерігатись діабет та розумова відсталість. Переважно хворі на синдром Блума гомозиготні по мутації гену *BLM*, білок якого пов'язаний з роботою геліказ, роботою АТФаз, білок цього гену є супресором невірної гомологічної рекомбінації. Виявлена взаємодія білку гена *BLM* з чисельними генами, що відповідають за репарацію, апоптоз, регуляцію клітинного циклу. У хворих на синдром Блума є високий ризик розривів хромосом, перебудов хромосом та хроматидних обмінів.



Хворий на анемію Фанконі.

Анемія Фанконі

Анемія Фанконі – спадкове аутосомно-рецесивне захворювання, що пов'язане з мутацією генів, відповідальних за репарацію ДНК. Частота – 1:350000. Але ізольовані популяції, де ця патологія зустрічається значно частіше. У хворих на цю патологію спостерігається підвищена ламкість хромосом, високий ризик розвитку онкологічних захворювань, зокрема, лейкозів та апластичної анемії. У хворих спостерігаються вади

розвитку, низький зріст, порушена пігментація, мікроцефалія, аномалії скелету, вади розвитку кінцівок, пальців, стопи. Інколи спостерігається косоокість, глухота, недорозвиненість очей, розумова відсталість, недорозвиненість статевих органів, аномалії нирок, серця. Переважно смерть хворих настає до 30 років. На сьогодні відомо 15 генів, пов'язаних з патогенезом анемії Фанконі. Серед них лише один ген – FANCB знаходиться в X-хромосомі, інші знаходяться в аутосомах. Це гени: FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1 (BRCA2), FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCM, FANCN, FANCP и RAD51C.

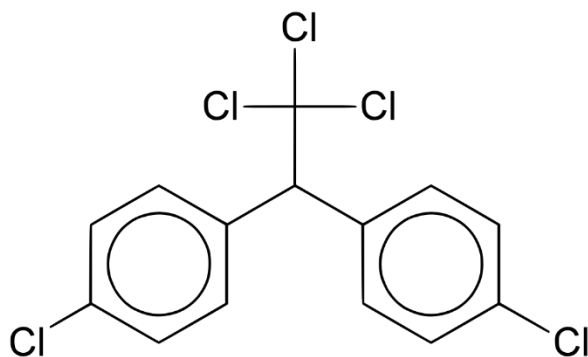


Хвора на пігментну ксеродерму – синдром Піка.

Пігментна ксеродерма (синдром Піка)

Пігментна ксеродерма – спадкове аутосомно-рецесивне захворювання. Причина – мутації генів, що відповідають за репарацію ДНК. Хворі дуже чутливі до сонячних променів та радіації, особливо до УФ випромінювання. При цьому синдромі є високий ризик онкологічних захворювань, особливо раку шкіри. Патогенез починається у віці 2 роки і швидко прогресує. Спостерігається гіперпігментація шкіри та гостре запалення

ділянок шкіри, лентіго, атрофія шкіри, дерматит, виразки, бородавки, вражаються вушні мушлі та хрящі носа, вії, віки, очі. У пацієнтів спостерігається фотофобія – страх щодо сонячних променів. Розвиваються різні онкологічні захворювання, в першу чергу ангіоми, фіброми, кератоми, меланоми з подальшими метастазами. У випадку важких форм спостерігається мікроцефалія, враження мозку, втрата слуху, розумова відсталість, затримка росту, порушення репродуктивної функції. Висока частота цієї патології відмічена в селищі Апарас в Бразилії внаслідок високої частоти шлюбів між родичами.



Небезпечний мутаген – ДДТ (дифенілдихлортрихлоретан) – речовина, що використовувалась в якості інсектициду.

Хімічні мутагени

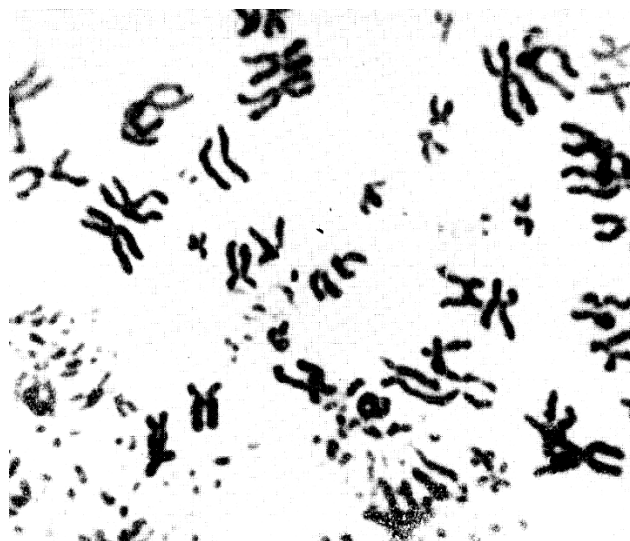
Хімічні мутагени – це різноманітні хімічні сполуки, що активно взаємодіють з ДНК і викликають в ДНК зміни. Хімічні мутагени можна класифікувати на такі групи:

Алкілюючі сполуки – найсильніші хімічні мутагени – високоактивні речовини, що здатні переносити алкільні групи CH_3 -, C_2H_5 - і т. д. у інші молекули. До цих мутагенів належать речовини: диметилсульфат, етиленімін, іприт, N-нітрозосечовина, 1,4-бісдіазаоцетилбутан, етилметансульфонат, діетилнітрозосечовина. Остання речовина є найсильнішим з усіх відомих мутагенів – ця

речовина підвищує частоту мутацій у мишей у 90 разів – у 5 разів більше, ніж максимально переносима мишами доза радіації. Перелічені сполуки називають ще супермутагенами. Всі хімічні мутагени, а особливо супермутагени, мають канцерогенні властивості.

Аналоги азотистих основ - 5-бромурацил, 5-дезоксисуридин, 5-фтордезоксисуридин, 8-азагуанін, 2-амінопурин, кофеїн і т. д.

Акридинові фарбники – акридин жовтий, акридин оранжевий і т. д.

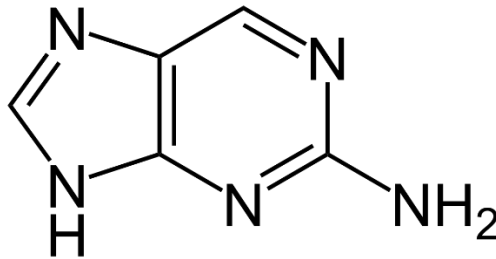


Порушення хромосомного апарату, що викликані вірусом кіру в клітинах нирок людини, що культивуються поза організмом.

Збірна група – речовини різного походження, що виявляють мутагенні властивості: азотиста кислота, гідроксиламін, перекис водню, уретан, формальдегід та ін. До цієї групи входять різноманітні окисники.

Цитостатики – речовини, що зупиняють поділ клітин. При цьому вони можуть викликати мутації клітин. До найбільш

відомих цитостатиків належать: метотрексат, фторурацил, доксорубіцин, гідроксикарбамід, циклофосфан.



2-амінопурин – один із мутагенів.

Важкі метали та їх сполуки, особливо органічні сполуки важких металів – сполуки ртуті, кадмію, талію, свинцю. Наприклад, диметил ртуть ($\text{CH}_3\text{-Hg-CH}_3$).

Імунодепресанти – речовини, що штучно знижують імунітет. При цьому вони можуть викликати мутації. До імунодепресантів належать такі препарати як тимодепресин, циклоспорин А і такролімус.

Пестициди – речовини, які згубно діють на деякі шкідливі для діяльності людини організми. До пестицидів належать інсектициди (речовини, що знищують шкідливих комах), фунгіциди (речовини, які знищують шкідливі гриби), гербіциди (речовини, що знищують шкідливі рослини) і т. д. Багато пестицидів, що використовувались в сільському господарстві виявились небезпечними мутагенами. Наприклад, ДДТ.

Біологічні мутагени

Чужорідна ДНК – теж проявляє мутагенні властивості. Має високовибіркову дію. У деяких генів при дії чужорідної ДНК частота мутацій зростає на 3 порядки, але мутабельність інших генів лишається тою ж. Чужорідна ДНК сильно змінює спектр мутацій. Має дуже продовжений мутагенний

ефект, дія розтягується на багато поколінь. Інші мутагени не мають такої продовженої дії. Механізм дії чужорідної ДНК – включення її у хромосому по типу транспозицій.

Віруси – теж є мутагенним фактором. У клітинах, що вражені вірусом, частіше відбуваються аберації хромосом, фрагментація хромосом, пульверизація хромосом, генні мутації. Доведено це було, зокрема, дослідями з дрозофілою – дрозофілам вводили непатогенні для них віруси, і це суттєво підвищувало частоту мутацій.

Старіння клітин – теж є мутагенним фактором, старіння клітин суттєво підвищує частоту мутацій.

Транспозони мобільні генетичні елементи мандруючи по геному викликають мутації.

Антигени мікроорганізмів, взаємодіючи з клітинами, здатні викликати мутації.

Продукти обміну речовин, зокрема продукти окислення ліпідів.

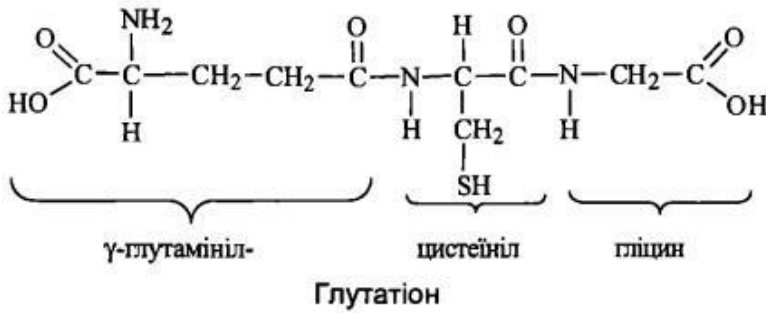
Всі хімічні мутагени викликають більше генних мутацій, аніж хромосомних. Хімічні мутагени набагато більш ефективні, ніж фізичні, часто частка мутацій, що викликані хімічними мутагенами при комбінованій дії, становить 100 %. Як правило, при дії хімічних мутагенів спектр мутацій лишається той же. Хімічні мутагени мають так звану **продовжену (продлонговану) дію** – дія хімічних мутагенів триває і через кілька клітинних поколінь після безпосередньої дії мутагену.

Мутагени є універсальними – викликають мутації у всіх живих істот.

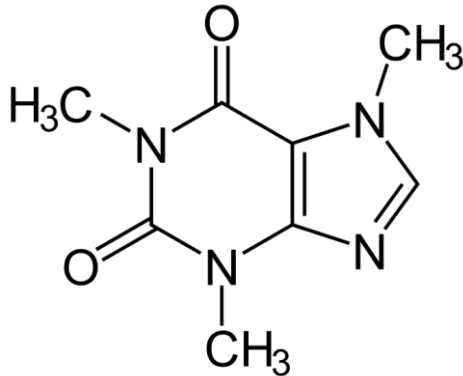
Для всіх мутагенів не існує нижнього порогу їх мутагенної дії.

Серед речовин, що впливають на процес виникнення мутацій, розрізняють так звані **антимутагени** – речовини, що знижують частоту мутацій: цистеамін, хінакрин, похідні пропіонової кислоти, похідні галової кислоти, кофеїн (у різних дозах він є то мутагеном, то антимутагеном) та ін. Механізми дії антимутагенів полягають в тому, що вони взаємодіють з

вільними радикалами, зокрема з перекисними радикалами і не дозволяють їм руйнувати ДНК.



Один із антимуtagenів – глутатіон.



Кофеїн – речовина, що при різних концентраціях і в різних ситуаціях може виступати як в ролі антимуtagenу так і муtagenу.

Причини спонтанних мутацій

До причин спонтанних (неіндукованих) мутацій належать фактори:

- 1) Природній фон, що виникає за рахунок природніх радіоактивних ізотопів таких як K^{40} , космічних променів,

сонячної радіації. Але цим можна пояснити тільки дуже незначну частку спонтанних мутацій. Так, у дрозофіли лише 0,1 % всіх спонтанних мутацій можна пояснити дією цих факторів.

- 2) Випадкове пошкодження хромосом і генів по ходу нормальних метаболічних процесів, що відбуваються у клітині – помилки реплікації, вплив вільних радикалів.

МОДИФІКАЦІЇ ТА РЕГУЛЯЦІЯ АКТИВНОСТІ ГЕНІВ

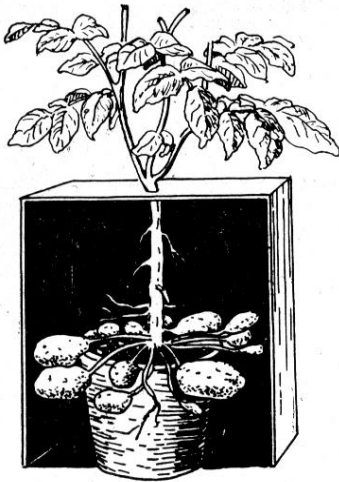
Модифікації

При тотожному генотипі дві особини можуть бути фенотипічно несхожими. Це виникає за рахунок впливу зовнішнього середовища.

Модифікації – це фенотипічні відмінності, що викликані зовнішніми факторами у однакових у спадковому відношенні організмів. Фенотип визначається не тільки генами, отриманими від батьків, але і впливом середовища, в якому організм розвивається та існує. Модифікації важливі для процесу еволюції, бо відбір працює виключно з фенотипом.

Модифікації виникають як реакція організму на дію середовища – одна і та ж дія викликає однакову і цілком визначену модифікацію у всіх генетично схожих особин. Це основна відмінність від мутацій, які позбавлені направленості. Модифікації можуть відбуватися як на морфологічному так і на молекулярному рівнях. Прикладом модифікації на молекулярному рівні є процес засвоєння лактози *E. coli*: ця бактерія засвоює лактозу трьома ферментами – галактозидпермазою, бетагалактозидазою, галактозидтрансацетилазою. Якщо у поживному середовищі лактози немає, то ці три ферменти не синтезуються. Якщо ж лактоза у середовищі з'являється – відбувається індукція синтезу цих ферментів. Ще один цікавий приклад модифікацій на молекулярному рівні – забарвлення крил метеликів, що залежить від температури. У метелика багатоколірниці з родини німфалід

весною фон крил - рудий, літом фон чорний. Загальна закономірність прояву модифікацій така: степінь вираження модифікації пропорційна силі і довжині дії на організм фактору, що викликає модифікацію. Це корінним чином відрізняє модифікації від мутацій. Модифікації мають адаптивний характер. Модифікація являє собою корисну адаптивну реакцію організму на той чи інший зовнішній фактор. Приклади адаптивних модифікацій: зміна забарвлення у тварин, зміна густоти хутра у тварин, підвищення числа еритроцитів і вмісту гемоглобіну у людей, що потрапили в гори та ін. Але з правила адаптивності модифікацій є винятки: адаптивними бувають



тільки ті модифікації, які викликаються звичайними змінами природніх умов, які багато разів зустрічалися особинам даного виду протягом його минулої еволюційної історії.

Рис. 54. Морфози картоплі, що викликані затемненням стебла.

Якщо ж організм потрапляє в умови, які ніколи не зустрічалися ні йому, ні його предкам, то виникають модифікації, позбавлені адаптаційного значення. Прикладом таких модифікацій є поява на надземній частині стебла картоплі бульб при його ізоляції від світла. Не мають адаптаційного значення, а часто навіть шкідливі модифікації, що викликаються фізичними чи хімічними факторами (**тератогенами**), які застосовуються в експерименті з інтенсивністю, що не зустрічається у природі. Такі модифікації називаються **морфозами**.

Морфози у дрозофіли можуть викликати температурний шок, ультрафіолет, іонізуюча радіація. Деякі з морфозів

нагадують відомі мутації. Такі морфози, що нагадують прояви відомих генів, називаються **фенокопіями**.



Приклад морфозів у людини – двоголова людина.

Прикладом фенокопій, що викликаються хімічними факторами, є забарвлення жиру у курей. У курей є гени W – викликає розвиток білого жиру у курей і ген w – викликає розвиток жовтого жиру у курей. Але якщо у кормах відсутній каротин, то у курей навіть з генотипом ww буде розвиватися білий жир. Другий приклад фенокопій – ін'єкція інсуліну в курячі яйця, що призводить до появи курчат із сильними вадами розвитку (якщо ввести інсулін на 72 годині після початку інкубації – розвиваються курчата без хвоста, якщо ввести інсулін на 120 годині після початку інкубації, розвиваються курчата з вадами кінцівок, але нормальним хвостом та ін.). Третій приклад фенокопій – висока концентрація $LiCl$ у воді при розвитку риб – у риб розвивається тільки одне око (циклопізм).

Отже, адаптивність модифікацій не є наслідком якоїсь початкової притаманної організмам здатності доцільно реагувати на дію факторів середовища, а являє собою результат попередньої еволюції.

Модифікації мають різну ступінь стійкості. Багато модифікацій є оборотними – зміна, що виникла, поступово

зникає протягом життя особини, якщо зникає фактор, що викликав модифікацію. Приклад: засмага шкіри у європеоїда. Інші модифікації, особливо ті, що виникають на ранніх стадіях онтогенезу зберігаються протягом життя індивідууму. Приклади: вади розвитку, рахіт, касти у суспільних комах. Деякі модифікації можуть частково поширюватись і на наступне покоління (наприклад, дистрофія – у дистрофічної матері народжуються дистрофічні діти). Але така зміна поступово зникає, якщо особини потрапляють у нормальні умови.



Приклад фенкопій у людини. Морфоз фокомелія, що виникла під дією тератогену талідоміду – імітує відому мутацію синдром Холт-Орама.

Дуже рідко модифікації зачіпають кілька поколінь – це так звані **тривалі модифікації**. Приклад – дія миш'якової кислоти на інфузорій: якщо збільшувати концентрацію миш'якової кислоти поступово, виробляється стійкість до цієї отрути до концентрації 5 % (принцип або метод Мітрідата). Після припинення дії отрути модифікація буде зберігатися протягом 600 поколінь при безстатевому (вегетативному) розмноженні. Але якщо мав місце статевий процес, то ця модифікація зникає одразу після статевого процесу.



Приклад незворотних модифікацій – рахіт – патологія, що виникає внаслідок недоліку вітаміну D.



Приклад тривалих модифікацій – дистрофія.

Модифікації мають неспадковий характер. Модифікації реалізуються у рамках норми реакції – здатності організму відповідати на дію зовнішніх факторів саме такими, а не

інакшими модифікаціями. Багато модифікацій виявляються виключно у лабораторних експериментах.

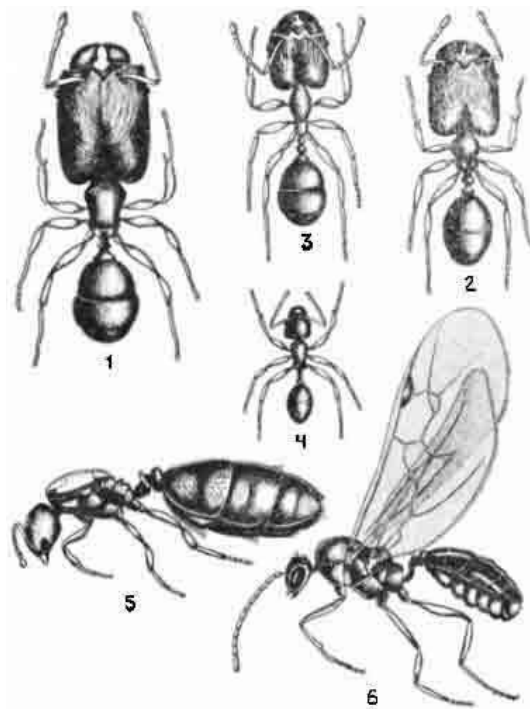


Рис. 55. Приклад модифікацій – касты термітів, що виникають під дією телергонів матки (цариці) термітів.

Регуляція активності генів

Оперон

Кожна клітина організму, за невеликим винятком, **омніпотентна** – несе всю повноту генетичної інформації.

Гени здатні включатися і виключатися. Одиницею переключення генів у геномі є **оперон**. Теорію організації оперона вперше створили вчені Жакоб і Моно. Згідно їхньої теорії існують структурні і регуляторні гени. Найкраще оперон –

його будова і функціонування, вивчений у прокариот. У еукаріот оперон влаштований складніше.

Отже, **оперон** – це одиниця генетичної регуляції, система, що складається з одного або декількох структурних генів, що розташовані біля регуляторних генів.

З усіх оперонів найбільш детально вивчений лактозний оперон (lac-оперон). Основні структурні одиниці його такі:

Сар-ділянка – ділянка ДНК, до якої приєднується білок-активатор – Сар-білок (від англійського catabolite gene activation protein) – без цього білку РНК-полімераза не може зв'язатися з опероном і почати транскрипцію. Сам Сар-протеїн попередньо повинен бути активований цАМФ. Якщо концентрація цАМФ в цитоплазмі знижена, то Сар-протеїн не здатний приєднатися до оперону.

Промотор – послідовність нуклеотидних пар, яку розпізнає РНК-полімераза, яка прикріплюється до промотора і потім просувається вздовж оперона, транскрибуючи його. Для різних оперонів і для різних живих організмів не існує єдиної промоторної послідовності. Є різні послідовності ДНК, що розпізнаються РНК-полімеразою. Але є спільні властивості різних промоторів. Так, всі промотори у позиції -35 (від точки початку транскрипції) мають послідовність TTGACA, а в позиції -10 розташований так званий Прібнов-бокс або як його ще називають ТАТА-бокс – послідовність ТАТААТ. Области -35 та -10 розпізнаються білком «сигма», який необхідний для точної ініціації транскрипції – точного розпізнавання РНК-полімеразою точки початку транскрипції.

Оператор – послідовність нуклеотидів, з якими зв'язується білок-репресор. Білок-репресор кодується геном I^S. Існують мутанти гена I^S. При їх наявності має місце явище **суперрепресії** – репресор зв'язується з оператором незалежно від присутності індуктора чи ефектора.

Спейсери – невеликі нетранскрибовані ділянки ДНК, що відмежовують регуляторні гени від структурних.

Далі розташовані 3 структурні гени – гени Z, Y, A, що кодують білки бета-галактозидазу, галактопермазу і трансацетилазу відповідно. Після них розташований термінатор.

Термінатор – це невелика ділянка ДНК, що служить «стоп-сигналом», що припиняє рух РНК-полімерази. Перш ніж термінатор розпізнається, він зчитується РНК-полімеразою. Ці транскрипти закінчуються ланцюгом poly U, якому передують ділянка, що містить взаємно комплементарні послідовності в протилежних орієнтаціях. При цьому утворюються так звані «шпилечні структури». Відмічено, що область шпильки збагачена CG – парами. Шпилечна структура розпізнається білком NusA, що є одним із компонентів РНК-полімерази. Серед термінаторів розрізняють ρ -залежні і ρ -незалежні термінатори. У ρ -незалежних термінаторах РНК-полімераза здатна закінчувати синтез РНК при відсутності ρ -фактора. У них по ходу транскрипції спершу йде GC-багата послідовність з центральною симетрією, а потім послідовність з 4-8 розташованих залишків A в кодогенному ланцюгу. Транскрипція закінчується на кінці олігоA-послідовності або ж зразу за нею. Вважають, що після проходження РНК-полімеразою GC-багатої ділянки з інвертованими повторами в РНК-продукті виникає шпилька, що і призводить до зупинки РНК-полімерази і звільнення РНК з гібриду РНК-ДНК транскрибуючого комплексу. Цьому сприяє нестабільність ділянки гібридних послідовностей олігоA(ДНК)-олігоU(РНК), яка локалізується зразу ж за шпилькою. Виявлено білковий фактор tau (τ), який підвищує ефективність і точність термінації на ρ -незалежних термінаторах. Чисельні ρ -залежні термінатори впізнаються РНК-полімеразою лише за допомогою фактора ρ (46 kD), який виявляє РНК-залежну нуклеозидтрифосфатну активність за умов утворення фактором ρ комплексу з одонитковою РНК. Вважають, що фактор ρ сприяє витісненню РНК із транскрипційного комплексу завдяки гідролізу NTP, що призводить до конформаційної перебудови фактору ρ .

Іноді в оперонах зустрічаються внутрішні термінатори – **атенуатори** – регуляторні послідовності, які здатні плавно

регулювати рівень транскрипції. Перед атенуатором, якій міститься в лідерній послідовності ДНК, є кілька послідовностей з центральною симетрією. Лідерна РНК, що на них синтезується, утримує чотири ділянки послідовностей, здатних утворювати шпильки в різних варіантах поєднання цих ділянок. Атенуатори виявлені у гістидиновому та триптофановому оперонах.

Ефектором в лактозному опероні є лактоза. Коли ефектор з'єднується з білком-репресором, це сильно змінює структуру репресора, і він не може зв'язуватися з оператором і РНК-полімераза зчитує структурні гени. Такий ефект зміни конфігурації регуляторного білку під дією низькомолекулярних речовин називається **аллостеричним ефектом**. Якщо репресор з'єднується з оператором тільки в комплексі з ефектором (як у триптофановому опероні), то такий ефектор називають **корепресором**.

У деяких оперонах виявлені специфічні послідовності – енхансери – послідовності, які посилюють транскрипцію, активують стан промоторів, але можуть міститися при цьому і за межами промотору, досить далеко від нього. Механізми дії енхансерів досі не досліджені.

Існують різні оперони з різною системою регуляції активності генів. Розрізняють такі чотири основні типи регуляції активності генів:

- 1) **Негативна індукція** – регуляторний білок (репресор) при взаємодії з ефектором не прикріплюється до оператора і це дозволяє транскрипцію. Прикладом такої регуляції є *lac*-оперон.
- 2) **Негативна репресія** – до оператора прикріплюється білок-репресор, зв'язаний з ефектором. При відсутності ефектора дозволяється транскрипція. Прикладом такої регуляції є триптофановий оперон. Але цей оперон має свою специфіку. У триптофановому опероні є 5 структурних генів, оператор, 2 промотори – другий зі структурних генів не підпорядкований оператору.
- 3) **Позитивна індукція** - прикладом такої регуляції є *aga*-оперон (утилізація арабінози). Репресор, зв'язуючись з арабінозою, перетворюється в активатор.

4) **Позитивна репресія** – при цьому типі регуляції регуляторний білок, що активує оперон, інактивується ефектором.

The *lac* operon:

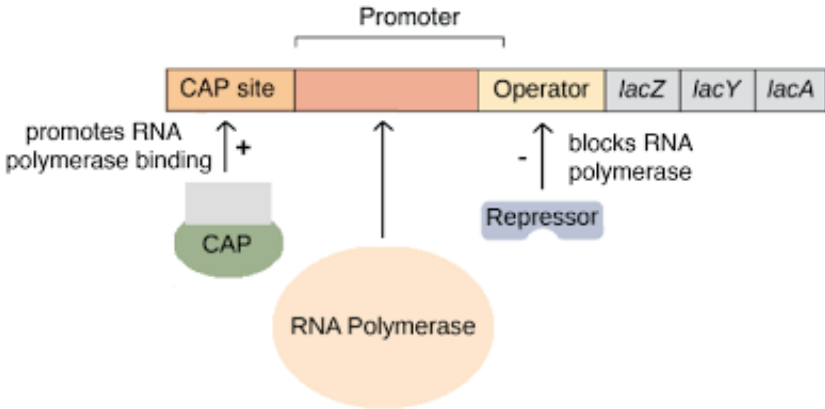


Рис. 56. Схема роботи лактозного оперону *E. coli*.

Часто трапляються змішані типи регуляції активності генів – одночасно функціонують і репресор, і активатор (Сар-протеїн)

У еукаріот система переключення генів вивчена слабше. Основна відмінність полягає в тому, що у еукаріот має місце не індивідуальне, а групове подавлення генів – у ділянці хромосоми, у всій хромосомі, в усьому ядрі. Таке подавлення може здійснюватись гістонами – позитивно зарядженими білками, що взаємодіють з ДНК. Оперон еукаріот теж суттєво відрізняється від оперону прокаріот. В першу чергу тим, що еукаріоти мають складний оператор, що складається часто з п'яти різних операторів, кожен з яких здатний зв'язуватися з іншим репресором. Еукаріоти мають в опероні, як правило, лише один структурний ген, тоді як прокаріоти – до 12 структурних генів в опероні (оперон генів переносу F-фактора). Оперон може мати 1 або 2 промотора, 1 або 2 термінатора (2 термінатори працюють як блок, якщо один термінатор не спрацює). IS і Tn елементи

здатні порушувати нормальну регуляцію активності генів. Так, наприклад, IS2 має власний промотор. І при транспозиції простежується залежність від орієнтації промотора. Якщо промотори зорієнтовані в протилежних напрямках – гени оперону не функціонують. Якщо промотори зорієнтовані в однакових напрямках – гени оперону функціонують безперервно, навіть якщо оператор репресований.

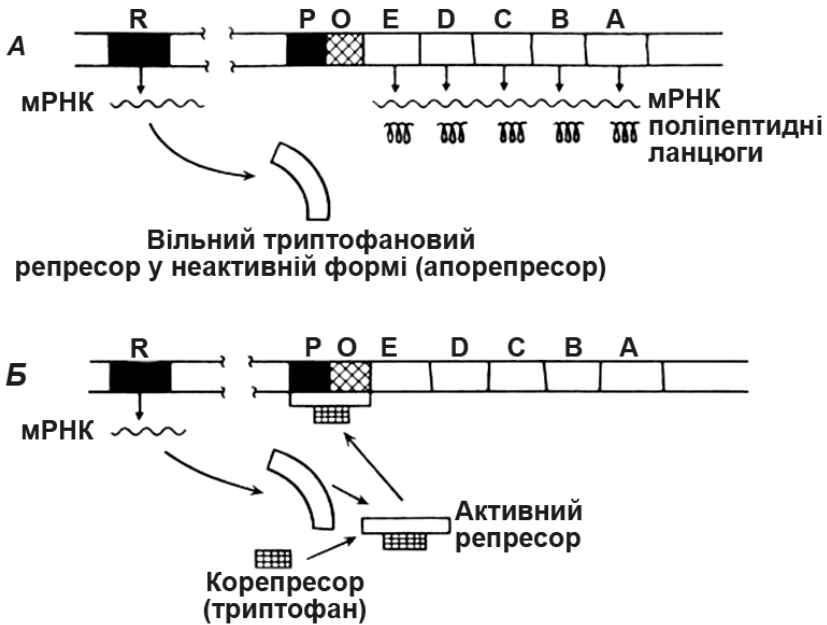


Рис. 57. Схема роботи триптофанового оперону.

При дослідженні систем регуляції активності генів виявлено явище **фазової варіації**. Це явище виявили у бактерії з роду *Salmonella* – у збудника тифу мишей. Цей вид бактерій має 2 штами, що відрізняються джгутиковими антигенами. Ці антигени кодуються генами H1 та H2. У бактерій проявляється тільки один із цих генів, інший автоматично стає неактивним. Але фаза клону час від часу змінюється, ген H1 перестає

проявлятися, починає проявлятися ген H2 і навпаки. Частота зміни фаз висока, мутаціями це не пояснюється. Причини цього явища полягають в наявності ділянки типу IS-послідовності, що здатна до інверсій. При інверсіях змінюється орієнтація цієї ділянки. Інверсії здійснюються дією специфічного поліпептиду, що кодується особливим геном, що лежить в середині IS. У багатьох живих організмів є узгоджена регуляція різних оперонів. Прикладом такої узгодженої регуляції є каскадна регуляція, що найкраще вивчена у фагів. Так, фаг T4 має три групи генів: передранні, ранні, пізні, які включаються каскадно.

ТОНКА БУДОВА ХРОМОСОМ І ГЕНІВ ОРГАНІЗАЦІЯ ГЕНОМА

Хромосоми вірусів і бактерій влаштовані відносно просто і являють собою кільцеву ДНК, що функціонує як один реплікон. Точка початку реплікації називається реплікатор. Значно складніше організовані хромосоми еукаріот.

Молекулярна будова хромосом еукаріот

Хромосоми еукаріот містять гістони і негістонові білки, які зв'язуються з ДНК. Гістони – позитивно заряджені білки з дуже високим вмістом лізину (Lys) та аргініну (Arg). Гістони – найконсервативніші з усіх білків – будь-які мутації в генах гістонів тут же елімінуються. Розрізняють нуклеосомні гістони (H2A, H2B, H3, H4) та гістон H1. Нуклеосомні гістони, взаємодіючи між собою та ДНК, утворюють нуклеосому, що є одиницею хроматину. Нуклеосома складається з октамерного гістонового кору (8 нуклеосомних гістонів – по 2 кожного) та петлі ДНК розміром 146 нуклеотидів, що спіральсно обкручена навколо кору. Ділянки ДНК між нуклеосомами називаються **лінкерними ділянками**. Їх розмір – 60 нуклеотидів. Гістон H1 забезпечує укладку нуклеосомної «нитки намистин». Не всі нуклеосоми упаковані однаково. Очищені гістони здатні *in vitro* формувати нуклеосоми з будь-якою ДНК, включно з бактеріальною. Нуклеосоми наявні у будь-якій ділянці

хроматину, але не всюди вони розташовані однаково, невеликі зміни у нуклеосомній організації хроматину викликають модуляцію деяких важливих функцій геномної ДНК. Причому, структурна гетерогенність хроматину є у місцях розташування активних генів.

Гетерогенність нуклеосомних гістонів може виникнути за рахунок ацетилювання залишків лізину, фосфорилування залишків серину. Тільки частина гістонів кожного типу модифікується таким чином. Тому одні нуклеосоми мають модифіковані гістони, інші – нормальні. Ковалентні модифікації гістонів – зворотні. Ацетильні групи приєднуються ферментом гістонацетилазою і видаляються гістондеацетилазою. Ацетилювання позбавляє лізин позитивного заряду. Клітини у відповідь на сигнал можуть швидко змінювати картину ацетилювання нуклеосом. Ацетилювання гістонів посилюється у тих ділянках хроматину, в яких знаходяться активні гени. Гістон H2A здатний з'єднуватись з висококонсервативним білком убікітіном – в результаті цього процесу виникає модифікований гістон uH2A, що властивий інтерфазному хроматину активних генів. Під час мітозу і конденсації хромосом цей комплекс зникає. Відомі і незворотні модифікації гістонів. Так, деякі клітини синтезують один або кілька мінорних варіантів гістонів, які відрізняються амінокислотними послідовностями.

Гістон H1 теж проявляє гетерогенність. Виявлено 5 підтипів гістона H1, які можуть специфічно фосфорилуватися по певних амінокислотних залишках. Гетерогенність нуклеосом може бути обумовлена зв'язуванням їх з мажорними негістоновими білками.

Регуляторних білків у ядрі клітини є мало – 1 білок припадає на 3 000 нуклеосом. Це так звані мінорні білки.

Але є у ядрі і, так звані, мажорні негістонові білки, концентрація яких значно вища – 1 білок на 10 нуклеосом. До мажорних негістонових білків належать так звані **високорухомі білки** – або **НМГ-протеїни**. Ці білки мають малі розміри і великий заряд. Особливо зацікавили дослідників такі високорухомі білки як НМГ-14, НМГ-17, які є в усіх клітинах

савців. Ці білки зв'язуються з нуклеосомами в районах активних генів. Дві молекули високорухомих білків безпосередньо приєднуються до нуклеосомної кор-частинки.

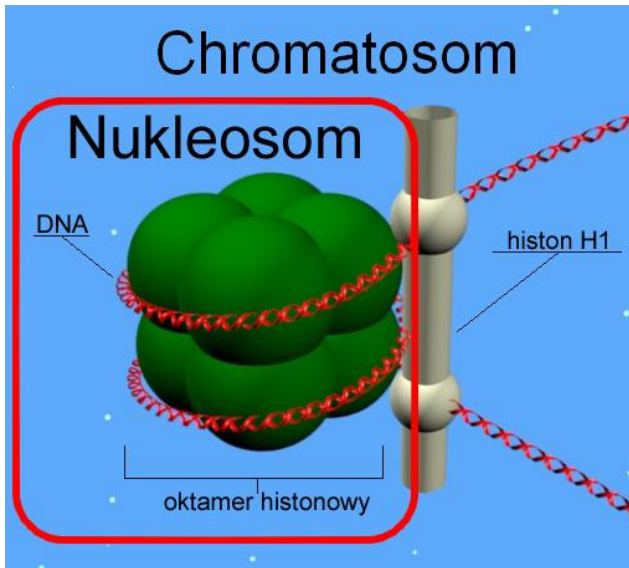


Рис. 58. Схема організації нуклеосом.

Крім того, подвійна спіраль ДНК всіяна білками, які впізнають специфічні послідовності нуклеотидів, утворюючи водневі зв'язки з певними азотистими основами і «відчуваючи» геометричну форму даної ділянки подвійної спіралі – це регуляторні білки. Виявилось, що подвійна спіраль ДНК може існувати у кількох формах. Найпоширеніша і найстабільніша – В-форма подвійної спіралі ДНК – правозакручена. Окремі ділянки ДНК мають ще правозакручену А-форму. Була виявлена і лівозакручена Z-форма ДНК. Наскільки вона поширена у живій клітині – дискутується. Не виключено, що ділянки з різними формами подвійної спіралі ДНК служать сигнальними структурами для спеціальних регуляторних білків. В залежності від того, які саме нуклеотиди беруть участь в утворенні ДНК,

змінюються параметри В-форми, утворюються мінорні зсуви ДНК.

Гістони обмежують доступність ДНК для інших ДНК-зв'язуючих білків, беруть участь у регуляції активності генів. Нуклеосомний кор перешкоджає взаємодії ДНК зі специфічними регуляторними білками. Регуляторний білок зв'язується з ДНК тільки тоді, коли він вільний від нуклеосом.

Нуклеосоми розташовані на ДНК не випадково. Такий специфічний розподіл нуклеосом називається фазуванням, а розташовані таким чином нуклеосом називаються фазованими.

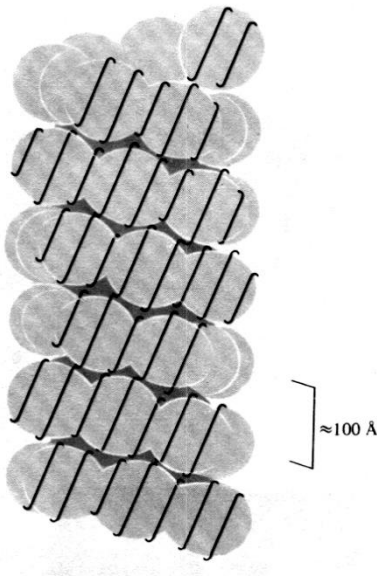
Області, вільні від нуклеосом, виявляються при обробці клітинних ядер слідовими кількостями фермента ДНК-ази I, яка при низьких концентраціях гідролізує вільну ДНК, але не діє на ділянки лінкерної ДНК і ДНК, що асоційована з нуклеосомами. Наявність гіперчутливих до ДНК-ази I областей хроматину свідчить про те, що хроматинові фібрили нагадують більше низку хроматинових глибок, аніж безперестанну гомогенну структуру. Ці гіперчутливі ділянки грають важливу роль у регуляції генної активності. Кожна хромосома містить тільки одну дуже довгу молекулу ДНК, що має петельну організацію. Гігантські петлі хроматину утворюються і підтримуються за допомогою ДНК-зв'язуючих білків, які впізнають специфічні нуклеотидні послідовності двох віддалених ділянок хроматинової фібрили і зближують їх. Утворюються серії петельних доменів, які відповідно утворюють смуги на хромосомах. Кожний петельний домен відповідає окремій функціональній одиниці. Різні хроматинові домени містять різні по структурі нуклеосоми. Це досліджувалось на політенних хромосомах – гігантських хромосомах слинних залоз комах. Виявилось, що політенні хромосоми мають **пуфи** – диски політенних хромосом, що частково декомпактизуються з початком транскрипції генів, що в них містяться.

Більша частина хромосомної ДНК не кодує ніяких білків. У деяких живих організмів виявлено аномально велику кількість ДНК, що припадає на одну клітину. Зокрема, у деяких земноводних і риб на одну клітину припадає ДНК у 30 разів

більше ніж у людини. Кількість ДНК у багатьох споріднених видів сильно відрізняється – у амфібій кількість ДНК в залежності від виду може коливатися у 100 разів. Ці дані наштовхнули на створення гіпотези «егоїстичної ДНК». Суть цієї концепції в тому, що більшість послідовностей ДНК будь-якого геному взагалі не виконують ніяких функцій ні в геномі, ні в організмі в цілому і «дбають» тільки про самовідтворення. По суті ці частини геному є паразитичними – паразитують на функціональних частинах геному і на організмі в цілому. Первинною гіпотезою щодо існування ДНК була гіпотеза, що передбачала, що всі частини геному (всі нуклеотиди) функціональні. Це корегувало з синтетичною теорією еволюції (СТЕ) та панадаціоністським підходом щодо існування макромолекул. Але це підпало під сумніви в 1970-тих роках під час накопичення даних про відсутність прямого зв'язку між розміром геному і фенотипічною складністю організму. Стало ясно, що організми з однаковим рівнем фенотипічної складності можуть відрізнятися розмірами геномів в 100 і більше разів (**парадокс гаплоїдної величини**). Цей парадокс спробували пояснити двома концепціями: **егоїстичний генів** та **смітцевої ДНК**. Концепція егоїстичних генів була запропонована Річардом Довкінзом (Richard Dawkins) в 1976 році. Різко відступивши від організм-центричної парадигми СТЕ, Довкінз приходить до висновку, що природний добір може діяти не тільки на рівні організму в цілому, а й на рівні індивідуального гена. Цей погляд, поданий в навмисне провокаційній формі, представляє геноми і організми, по суті, засобами розмноження генів. Один з аспектів цієї теорії, що має безпосереднє відношення до парадоксу гаплоїдної величини, був всебічно розглянуто Фордом Дулітл і Кармен Сapiaнца (Doolittle and Sapienza, 1980), а також Леслі Оргелом і Френсісом Кріком (Orgel and Crick, 1980). Вони припустили, що чимала або навіть основна частина геномної ДНК (принаймні в складних багатоклітинних організмах) складається з різних класів повторів, які утворюються в результаті ампліфікації егоїстичних елементів - абсолютних паразитів геному. Згідно цієї концепції більша частина ДНК

геному повинна бути визнана надлишковою. Такий погляд на геном принципово відрізняється від панселекціоністської парадигми, властивої СТЕ, в рамках якої більшість або навіть всі нуклеотиди в геномі схильні до впливу відсікаючого або позитивного відбору, чинного на рівні організму.

Особливий вид активного хроматину представлений ядерцями. ДНК в області ядерцевого організатора хромосоми складається з чисельних повторів генів рРНК – число таких



повторів може складати кілька тисяч. Розділені повтори спейсерами – невеликими нетранскрибованими ділянками ДНК. Продукти транскрипції генів району ядерцевого організатора крупні молекули – попередники рРНК. Вони тут же «одягаються» білками, потім кожна з цих великих молекул розпадається на дві нерівні частини, які разом з оточуючими їх білками проходять через ядерні пори у цитоплазму і утворюють велику і малу субодиницю рибосом.

Рис. 59. Соленоїд хроматину, який утворюють нуклеосоми.

У деяких клітинах (зокрема, у ооцитах) відбувається **ампліфікація** генів рРНК – частина генів рРНК виходить з хромосоми у нуклеоплазму, розташовується біля ядерної мембрани і продовжує автономно реплікуватися, причому число таких генів набагато перевищує число генів ядерцевого організатора. Є дані, що ампліфікуватися можуть і інші гени, що беруть участь в онтогенезі.

Другий спосіб збільшення числа генів рРНК називається **магніфікація** і спостерігається у тих випадках, коли частина

генів втрачена у результаті нерівного кросинговера. Виявлена у дрозофіли. Відбуватися може у всіх клітинах ембріону. Полягає в тому, що гени рРНК виходять з хромосоми, існують деякий час у вигляді кільцевої ДНК і копіюються, а потім чисельні копії вбудовуються у хромосому.

Тонка будова гена

Протягом історії генетики уявлення про ген змінювались. На світанку генетики ген уявляли як якусь сталу, непорушну структуру, свого роду неділимий атом спадковості, одиницю рекомбінації. Але після відкриття мутацій ці уявлення почали змінюватися. Постало питання – а що власне є одиницею спадковості? У тридцяті роки були проведені цікаві дослідження гену *scute*, що викликає редукцію щетинок у дрозофіли, і було показано, що цей ген складається із субодиниць, які впливають на різні групи щетинок.

У 1949 році М. Грін та К. Грін показали, що ген може бути розділений кросинговером. Вони дослідили ген *lozenge*, що зменшує розміри очей і викликає злиття фасеток у дрозофіли. Різні мутантні алелі цього гена при схрещуванні інколи давали нормальних нащадків. Так, у самок-гетерозигот по різних мутантних алелях $Iz^{BS} Iz^g$ 0,1 % нащадків мали нормальні очі. У самок гомозиготних по мутантних алелях цього гена $Iz^{BS} Iz^{BS}$ ніколи нормальних нащадків не з'являлося. Причина цього феномену – кросинговер. Мутації Iz^{BS} та Iz^g зачіпають різні ділянки одного і того ж гена і при кросинговері можуть утворюватись нормальні гени. Після відкриття цього явища був запропонований так званий **цис-транс тест**. Стало зрозуміло, що мутації можуть розташовуватись у цис- і у транс-положенні:

$Iz^{BS} Iz^g / ++$ - цис положення, очі нормальні.

$Iz^{BS} + / + Iz^g$ – транс-положення, очі *lozenge*.

Цис-транс тест дозволяє встановити, чи мутації зачепили два різних гени, чи розташовані в одному гені. Мутації можуть виникати у багатьох частинах гена – у багатьох сайтах.

Сайт – це відрізок гена, який змінений мутацією.

У зв'язку з вивченням складної структури гена було диференційовано поняття алелізму. Почали розрізняти два види алелей:

1) **Гомоалелі (ізоалелі)** – алелі, у яких відмінності між алелями торкаються тільки одного сайта.

2) **Гетероалелі** – алелі, у яких відмінності між алелями торкаються різних сайтів.

З'ясувалось, що розміри різних генів різні. Є короткі гени розміром біля 190 пар нуклеотидів (b. p.) –наприклад, гени тРНК і є крупні гени – розміром більше 16 000 пар нуклеотидів (16 kb) – наприклад, ген фіброїну шовку тутового шовкопряда. Пізніше було також виявлено, що у вірусів інколи один ген кодує абсолютно різні білки – за рахунок перекриття транскриптів і зсуву рамки зчитування. Аналогічне явище було виявлене і у еукаріот: у щурів один і той же ген в різних клітинах продукує різні білки – транскрипти мають різну довжину.

Після виявлення тонкої структури гена було запропоновано терміни:

Цистрон – мінімальна одиниця генетичної функції.

Рекон – мінімальна одиниця рекомбінації.

Мутон – мінімальна одиниця мутації.

Організація геному

У вірусів геном організований відносно просто – геном містить виключно структурні гени. Іноді тільки один структурний ген.

У бактерій у геномі всі гени унікальні, крім генів рРНК і генів тРНК. Половина геному бактерій складають спейсери – невеликі некодуючі ділянки ДНК. Функції цих спейсерів до кінця неясні. ДНК бактерій сильно спіралізована.

У еукаріот геном влаштований набагато складніше. Геном еукаріот містить величезну кількість генів, має складну систему контролю активності генів, гени повторюються багато разів в геномі, унікальних генів досить мало, є велике число регуляторних генів, значна частина ДНК взагалі не містить генів.

Отже, геном еукаріот містить повтори послідовностей ДНК. Серед цих повторів можна виділити повтори середньої чисельності (повторюються в геномі десятки – сотні разів) і повтори високої чисельності (повторюються в геномі тисячі або й мільйони разів).

Повтори середньої чисельності це:

1) Повтори генів рРНК – гени 28S; 18S; 5,8S; 5S рРНК. Розташовуються гени 28S; 18S; 5,8S у геномі тільки трійками, таких повторів є до 1000 на геном. Трійки генів зібрані у кластери (блоки генів), що знаходяться у прицентромерних районах. Трійки генів відділені спейсерами, але ці спейсери транскрибуються. Три гени транскрибуються як єдине ціле, але потім у цитоплазмі розділяються. Генів 5S у геномі кілька тисяч. Також об'єднані у кластери. Причому ці кластери розташовані у хромосомі в інших місцях ніж кластери генів 28S; 18S; 5,8S

2) Повтори генів тРНК і гістонів. Організовані ці повтори у кластери. Генів гістонів по одному в кожному кластері кожного з усіх п'яти генів гістонів (H1, H2A і т.д.). Гени тРНК теж організовані у кластери. У кожному кластері є більше 200 генів тРНК.

Повтори середньої чисельності складають приблизно 25% геному.

Повтори високої чисельності:

1) Сателітна ДНК – кластери повтореної 150-300 разів короткої послідовності ДНК. У різних видів живих істот склад цієї послідовності різний:

Дрозофіла - пентамер АТААG

Морська свинка – гексамер ТТТТТС

Миша домашня – СССТАА

Таких повторів у геномі є десятки мільйонів. У дрозофіли вони складають 4 – 12 % генома, у людини – 10 – 12 % генома, у крабів – більше 50 % генома. Кластери сателітної ДНК зосереджені переважно у прицентромерних районах і у інтерфазі являють собою гетерохроматин. Також містяться у теломерах. Є у всіх еукаріот. Не несуть ніякої генетичної інформації. Відіграють чисто механічну роль у мітозі та мейозі.

2) Повтори АТ-пар, polyA-послідовності до 200 нуклеотидів. Такі повтори складають до 1 % геному.

Але надлишкова ДНК цими повторами не пояснюється.

Процесінг

У еукаріот у структурних генах містяться так звані інтрони – послідовності ДНК, яких немає у зрілій мРНК і з яких не відбувається трансляції поліамінокислотної послідовності. Під час трансляції у еукаріот утворюється в ядрі так звана гігантська ядерна РНК – гяРНК або промРНК. Під час виходу цієї РНК з ядра в районі ядерної пори відбувається процес вирізання інтронів і зшивання екзонів (кодуючих амінокислотну послідовність ділянок РНК). Процес дозрівання мРНК називається процесінг, процес зшивання екзонів називається сплайсінг. Виявилось, що всі гени еукаріот містять інтрони крім генів гістонів. Інтрони виявлені також у генах багатьох вірусів еукаріот. Гени бактерій та бактеріофагів не містять інтронів. Але процесінг у бактерій теж є і зводиться до розпаду поліцистронних (полігенних) транскриптів на менші за розміром продукти окремих генів. Прикладом такого процесінгу є утворення тРНК і рРНК. Транскрипт-попередник синтезується на оперонах, що складаються з 16S, 23S, 5S і тРНК. У хромосомі *E. coli* є 7 таких гпн-оперонів, які відрізняються один від одного типами і кількістю генів тРНК. Спільний транскрипт цих генів, що включає 5600 нуклеотидів підлягає дії ендонуклеаз. Вирізання про-тРНК зі складу первинного транскрипту здійснюється РНК-азою III. У еукаріот зшивання фрагментів молекули РНК по схемі «кінець в кінець» після вилучення інтрона часто здійснюється без ферментів і без затрат енергії, тобто шляхом **самосплайсінгу**. У цих випадках молекула проРНК виступає в ролі автокаталізатора своєї перебудови. РНК, що здатні до біокаталізу, називаються **рибозимами**. Після вилучення інтронів та сплайсінгу розміри РНК значно зменшуються. Одночасно здійснюється модифікація 5'-кінця РНК-продукту – до РНК пришивається специфічна нуклеотидна структура – так званий **кеп** (cap). До 3'-кінця щойно синтезованого попередника мРНК ядерний фермент poly(A)-

полімераза добудовує поліаденіловий хвіст (тейлор) довжиною 150-200 нуклеотидів. Зазначена будова промРНК необхідна для нормального сплайсінгу і трансляції. Дозліджуючи сплайсінг про-РНК виявили, що сплайсінг одної і тої ж молекули РНК може відбуватись по різному при цьому можуть утворюватись різні мРНК. Тобто існує **альтернативний сплайсінг**, оснований на використанні різних екзонів (а деколи і інтронів) при утворенні зрілої мРНК. У ряді випадків окрема послідовність нуклеотидів у гені слугує екзоном за одного варіанту сплайсінгу і інтроном – за іншого. Різні способи експресії одного і того ж гена можуть призводити до утворення різних поліпептидів (так званих ізотипів або ізоформ). В окремих випадках у еукаріот наявний **трансплайсінг** – процес об'єднання в одній молекулі іРНК екзонів, що походять від первинних транскриптів різних генів. Прикладом трансплайсінгу є формування іРНК тубулінів трипаносом, що формуються з міні-екзонів та екзонів тіла які розміщуються у різних хромосомах.

Сучасні уявлення про ген

Протягом розвитку генетики уявлення про ген змінювались. Після відкриття ДНК ген уявляли як ділянку ДНК, що несе інформацію про синтез одного білка. Пізніше стало зрозуміло, що таке визначення гена не коректне – виявлено ряд регуляторних генів, що не транскрибуються. Тому було запропоновано нові визначення гена:

Ген – це ділянка молекули геномної нуклеїнової кислоти, що характеризується специфічною послідовністю нуклеотидів, являє собою дискретну одиницю функції, що відрізняється від функції інших генів і здатна змінюватись шляхом мутування. Або:

Ген – це послідовність нуклеотидів, якій може бути притаманна певна функція в організмі.

МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ МУТАЦІЙ І РЕКОМБІНАЦІЙ

Всі пошкодження ДНК здатні клітиною репаруватися – виправлятися особливими репаруючими ферментами, що відновлюють нормальну будову молекули ДНК. Якщо репарація має місце – мутація не відбувається. Якщо ж репарація не спрацьовує, то основні механізми виникнення мутацій наступні:

1) Розрив вуглеводно-фосфатного скелету нуклеїнових кислот без відновлення, воз'єднання розірваних кінців. Такі розриви приводять як правило до хромосомних мутацій.

2) Вставки або випадання окремих нуклеотидів – призводять або до викривлення транскрипції або до зсуву рамки зчитування. Іноді, якщо відбулось дві мутації зсуву рамки зчитування поруч, то вони можуть бути супресорними одна відносно одної і нормальна функція гена буде відновлена. Аналогічно, три однакових мутації зсуву рамки зчитування якщо вони однозначні і розташовані поруч нормалізують зчитування інформації.

3) Зміни азотистих основ. Розрізняють:

Транзиції: заміни типу пурин – пурин, піримідин – піримідин

Трансверсії: заміни типу пурин – піримідин або навпаки.

Зміни азотистих основ можуть привести до порушення нуклеотидного складу кодонів, серед яких розрізняють:

Нонсенс мутації – мутації при яких утворюється кодон, що не кодує ніякої амінокислоти.

Міссенс мутації - мутації при яких утворюється кодон, що кодує іншу амінокислоту аніж вихідний кодон.

Нонсенс мутації утворюють термінуючий стоп-кодон: UAG або UAA або UGA – ці кодони припиняють синтез поліпептидного ланцюга. Наприклад з кодону AAG, що кодує лізин може при мутації утворитись кодон UAG, що є стоп-кодоном. В такому випадку поліпептидний ланцюг білкової молекули вкорочується. Нонсенс мутації часто бувають летальні. Розрізняють **полярні нонсенс мутації** – нонсенс мутації, що знижують синтетичну активність всіх структурних генів, що

зчитуються в опероні пізніше. Причина цього – дія нуклеаз: мРНК обліплена рибосомами – це захищає її від дії нуклеаз (РНКази). Але якщо наявний зайвий нонсенс кодон, звільнюється від рибосом довга ділянка мРНК і збільшується імовірність руйнування її нуклеазами.

Розрізняють три типи нонсенс мутацій: амбер-мутація (UAG), охра-мутація (UAA), опал-мутація (UGA).

У бактерій існує явище супресії нонсенс-кодонів: існує ряд супресорних генів, що подавляють нонсенс-мутації. Це гени: *supD*, *supE*, *supF* – супресують кодон UAG, *supC*, *supG* – супресують *amber* і *ochre*-кодони. Ефективність дії генів-супресорів складає від 5 до 60 %. Механізм дії генів-супресорів нонсенс-кодонів полягає в тому, що ген-супресор (наприклад, *supD*) спричинює появи незвичайної різновидності тРНК (в цьому випадку серинової тРНК, антикодон якої здатний впізнавати UAG і включати у поліпептидний ланцюг амінокислоту серин на його місце). *SupF* кодує незвичайну різновидність тирозинової тРНК.

Міссенс мутації зустрічаються набагато частіше. Багато при міссенс мутаціях залежить від того, яка саме заміна відбулася. Наприклад, заміни типу Val → Leu, Gly → Ala, Tyr → Phe несуттєві, це так звані консервативні заміни. Тоді як заміни типу Leu → Arg, Asp → Val суттєво змінюють заряд поліпептидного ланцюга. Дуже сильно впливають на поліпептидний ланцюг заміни типу Cys → ... - змінюється третинна і четвертинна структура протеїну, бо цистеїн – амінокислота, що містить сірку, і за рахунок неї утворюються дисульфідні містки у білковій молекулі. Особливо сильні порушення викликають міссенс-мутації, що зачіпають в генах тРНК ділянки, що кодують антикодони – в результаті цього змінюється дуже багато точок всіх білків.

Молекулярні механізми дії мутагенів

1) Дія аномальних азотистих основ – 5-бромурацилу, 2-амінопурину та ін. та азотистої кислоти полягає в тому, що утворюються таутомерні форми азотистих основ за рахунок

зміщення атомів водню. Крім того, аномальні нуклеотиди таутомеризуються частіше. Так, аденін існує у двох формах: амінна форма – спарюється з тиміном (норма); імінна форма – спарюється з цитозином (аномалія). Тимін існує у таких формах: кето-форма – спарюється з аденіном (норма); енольна форма – спарюється з гуаніном (аномалія). В результаті виникнення таких таутомерних форм нуклеотидів утворюється мутантна молекула ДНК. Азотиста кислота дезамінує азотисті основи, в результаті чого аденін перетворюється у гіпоксантин, що спарюється з цитозином, а цитозин перетворюється в урацил, що спарюється з аденіном.

2) Дія алкілюючих сполук – змінює нуклеотиди, утворюються, наприклад, 7-метилгуанін, 7-етилгуанін, 3-метиладенін. 1-метилцитозин і т. д. Ці нуклеотиди утворюють водневі зв'язки з помилковими партнерами.

3) Ультрафіолетові промені викликають гідратацію нуклеїнових кислот та утворюють димери піримідинів.

Всі ушкодження ДНК здатні репаруватися. Розрізняють багато різновидностей репарації ДНК. Найбільш вивчені різновидності репарації – фотореактивація і темнова (ексцизійна) репарації.

Фотореактивація – усунення димерів піримідинів з ДНК під дією квантів світла певного діапазону спектра. Розрізняють неферментативну і ферментативну фотореактивації. Неферментативна фотореактивація – безпосереднє руйнування димерів при потраплянні у них кванту світла. Ферментативна фотореактивація відбувається з участю особливих ферментів – фотореактивуючого ферменту – фотоліази. Цей фермент впізнає димери тиміну одразу після їх утворення. Утворюється комплекс димер-фотоліаза, який є стабільним до того часу, поки на нього не потрапить квант світла певної довжини хвилі, який активізує фотоліазу. У результаті дії фермента димер роз'єднується.

Темнова або ексцизійно-енцизійна репарація виправляє різні дефекти ДНК. У цій репарації задіяно багато ферментів:

1) ендонуклеаза – впізнають пошкодження і надрізають ДНК.

- 2) Інша ендонуклеаза здійснює другий надріз і повністю вирізає пошкоджену ділянку.
- 3) Екзонуклеаза – розширює утворений проміжок у ДНК.
- 4) Полімераза – забудовує проміжок у ДНК.
- 5) ДНК-лігаза скріплює синтезовані кінці ДНК.

ГЕНЕТИКА ІНДИВІДУАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

Під час індивідуального розвитку організмів мають місце в тому числі такі генетичні явища та феномени як: пенетрантність, експресивність, плейотропність, взаємодія генів, генний баланс, комплементация, генетичний фон.

Пенетрантність - це здатність гена проявлятися у фенотипі. Вимірюється як частка особин гомозиготних по певному гену, у яких цей ген фенотипічно проявляється. При 100 % пенетрантності всі гомозиготні особини по цьому гену (наприклад, aa) мають фенотипічні особливості, що відрізняють їх від AA та Aa особин. Варіабельне співвідношення фенотипічних класів залежно від умов середовища або генотипічного фону носить назву **варіабельності пенетрантності**.

Експресивність – ступінь впливу гена на фенотип, інтенсивність (ступінь) прояву досліджуваної ознаки в залежності від генотипу та зовнішніх умов. Для аналізу експресивності визначають діапазон фенотипів від найменшого вираження до такого, де цей ген виражений найсильніше, загальну кількість особин ділять на кілька класів, що відрізняються рівнем вираження гена. Створюють систему цифрових балів вираження гена. Підраховують число класів і кількість особин у кожному класі. Наприклад, ген *eyeless* (*ey*) викликає у дрозофіли зменшення розмірів очей, але цей ген може по-різному проявлятися у фенотипі, відповідно, можна визначити експресивність і пенетрантність цього гена.

Пенетрантність і експресивність можуть залежати від умов середовища, в якому розвивається організм, і від інших генів

геному. Є гени, які мають повну (100%) пенетрантність у будь-яких умовах і при будь-якому наборі інших генів. Істотне значення для пенетрантності і експресивності має **доза гена** – кількість копій гена у геномі, а також **положення гена** – місце розташування гена у хромосомі.

Плейотропність – це явище, при якому один ген впливає на кілька ознак. Плейотропність проявляє переважна більшість генів. Прикладом плейотропності є синдроми, характерні для багатьох мутацій. Так, моногенна домінантна мутація, що викликає арахнодактилію (видовження пальців рук і ніг), одночасно викликає розвиток вад серця і порушення кришталика. Моногенна мутація, що викликає галактоземію (дефект фермента, що розкладає галактозу), одночасно викликає розвиток розумової відсталості, цирозу печінки, сліпоти. У дрозофіли виявлена моногенна мутація *polyomorph* – ця мутація одночасно викликає розвиток рубінових очей, безколірних очок, неправильної будови тіла, вкорочених і хвилястих крил з вирізкою по краях, відсутність першої жилки на крилі, тонкі щетинки, знижену життєздатність, безпліддя самців і самок.

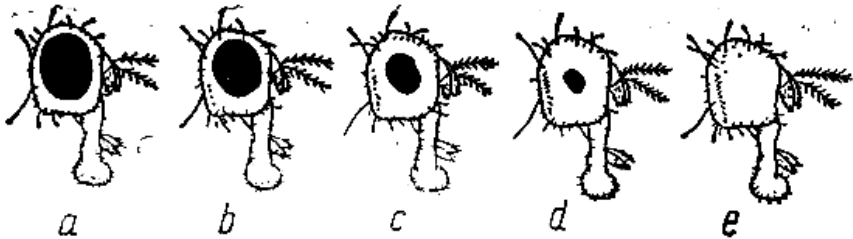


Рис. 60. Зміна експресивності гена *eyeless* у дрозофіли. а – нормальне око, б – е – різна ступінь редукції очей у мух, гомозиготним по гену *eyeless*.

Під час онтогенезу гени взаємодіють між собою. На дію конкретних генів на фенотип еукаріот впливає так званий генний баланс.

Генний баланс – це залежність ознаки від відповідного числа різних хромосом в клітинах організму, співвідношення числа генів, що містяться у хромосомах. Прикладом генного балансу може бути визначення статі у дрозозфіли. Стать у дрозозфіли визначається співвідношенням числа X-хромосом до аутосом. Якщо це співвідношення (S) рівне 1,5 - $S=X/A=1,5$ то розвивається з такої зиготи так звана суперсамка – особина, у якої статеві ознаки самки гіпертрофовані. Суперсамки, як правило, безплідні. Якщо $S=X/A=1$, то розвиваються нормальні самки, якщо $S=X/A=0,67$ – розвивається інтерсекс – безплідні особини, ознаки яких займають проміжне значення між ознаками самки і самця. Якщо $S=X/A=0,5$, то розвиваються нормальні самці. Якщо $S=X/A=0,33$, розвиваються суперсамці, які є безплідними.

Комплементация – це синтез кінцевого продукту з продуктів кількох генів. Наприклад, фермент лужна фосфатаза збирається з двох різних поліпептидних ланцюгів. Білок фібриноген – з трьох різних поліпептидних ланцюгів. Причому, кожен ланцюг кодується окремим геном.

Міжалельна комплементация – це комплементация алельних генів. Причому, молекула, зібрана з двох по-різному мутантних ланцюгів, може мати нормальну активність.

Генетичний фон – це вплив на прояв і вираз гена інших генів геному.

ІМУНОГЕНЕТИКА

Імуногенетика – це наука, яка вивчає спадкові фактори, які визначають синтез, різноманітність і специфічність антитіл – імуноглобулінів.

Імуноглобуліни являють собою білки, що виробляються у відповідь на введення в організм антигенів – чужорідних білків або полісахаридів, з якими імуноглобуліни специфічно зв'язуються, нейтралізуючи їх шкідливу дію. В розвитку імунітету беруть участь в основному лімфоцити, що утворюються в кістковому мозку. Ці лімфоцити є двох типів: одні потім диференціюються у тимусі і називаються Т-лімфоцити,

інші – в селезінці та лімфоїдних органах і називаються В-лімфоцити. Біосинтез антитіл здійснюється В-лімфоцитами або їх нащадками. Для цього потрібно щоб антиген зв'язувався на поверхні В-лімфоциту з імуноглобуліновими рецепторами, що мають спорідненість з цим антигеном. Але для більшості антигенів цього недостатньо. В-лімфоцит певної специфічності починає розмножуватись і диференціюється у зрілий плазмоцит, що синтезує імуноглобулін, тільки після того, як цей В-лімфоцит отримав позитивний сигнал від Т-лімфоцита, який теж повинен «впізнати» цей же антиген. Це процес кооперації В- і Т-лімфоцитів.

Процес синтезу антитіл контролюється різними структурними генами імуноглобулінів і генами інтенсивності імунної відповіді. Цей процес характеризується двома наступними особливостями. По-перше, це здатність лімфоцитів впізнавати молекули величезного числа антигенів і виробляти стільки ж різних імуноглобулінів, кожний з котрих специфічно реагує з тим чи іншим антигеном; при цьому роль Т- і В-лімфоцитів у впізнаванні антигенів різна – перші ідентифікують характер антигену, інші впізнають не тільки сам антиген, але і специфічний сигнал про цей антиген, отриманий від Т-лімфоцитів. По друге, це здатність лімфоцитів «запам'ятовувати» антиген, для зв'язування з яким вони синтезували відповідний імуноглобулін, і відповідати на повторне потрапляння в організм цього антигену прискороною і посиленою продукцією цього ж імуноглобуліну. Генетичні механізми, що визначають перераховані властивості обох типів лімфоцитів, вивчені головним чином у В-лімфоцитів.

Імунна система людини здатна синтезувати мільйони різних антитіл, що взаємодіють з мільйонами різних антигенів, багато з яких навіть не зустрічаються в природі. Постало закономірне питання – яким чином в геномі кодується така колосальна різноманітність імуноглобулінів. Перша гіпотеза, яка була висунута, стверджувала – всі імуноглобуліни складаються з однакових поліпептидних ланцюгів, які змінюють свою конфігурацію, взаємодіючи з антигенами. Але ця теорія

виявилась невірною. Антитіла виявились різними – кожне специфічне антитіло мало унікальну послідовність амінокислот. Наступна гіпотеза, яка висувалась, стверджувала: кожен імуноглобулін кодується окремим геном. Тоді ніякого найбільшого геному не вистачило б для такої кількості генів, і більша частина геному тоді б кодувала саме імуноглобуліни, що не відповідає стану речей. Пізніше виявилось, що геном людини містить всього біля 30 000 генів, а не мільйони. Дослідження 60-тих років ХХ століття виявили, що кожне антитіло складається з легких і важких ланцюгів. Кожен ланцюг має константну частину (С), яка однакова у всіх антитіл, і варіабельну (V), яка відрізняється у різних антитіл. В. Дрейер та К. Беннет висунули сміливу гіпотезу, яка потім була блискуче підтверджена дослідженнями Сусуму Тонегави (利根川進). Виявилось, що по ходу дозрівання лімфоцитів у їхньому геномі відбувається перетасовка ділянок ДНК і формуються в кожному дозріваючому лімфоциті інакші гени, що кодують варіабельну частину імуноглобулінів. Таких ділянок ДНК, що комбінуються, є декілька – це V, D, J, C – послідовності, кожна з яких представлена серією різних ділянок – V₁, V₂, V₃, ... і т. д. Ген варіабельної частини антитіла формується внаслідок перетасовки цих ділянок: наприклад, може сформуватися ген V₃D₂J₁C₃, або якийсь інший ген з іншої комбінації. За рахунок такої перекомбінації і виникає вся різноманітність антитіл.

При дозріванні В-лімфоцитів відбуваються три транспозиції, які докорінно змінюють генетичну структуру. До основної частини якогось V-гена прикріплюється одна з D-послідовностей. Потім утворений таким чином VD-ген сполучається з однією з J-послідовністю, що доповнює його. Відрізок ДНК, що знаходиться між ними вирізається. Наступний етап полягає в тому, що до такого VDJ-гена присувається один C-генів, знову ж таки з вирізанням ділянки ДНК, що лежить між ними. В результаті в хромосомі зрілого лімфоцита є лише один VDJ-ген, що кодує варіабельну ділянку важкого ланцюга молекули імуноглобуліну, один C-ген, що кодує константну частину і поділяючий їх невеликий спейсер. Ця структура

повністю транскрибується, так, що отримані при цьому про-мРНК мають транскрипти VDJ-гена, спейсера і С-гена. Під час процесінгу транс крипт спейсера викидається, а транскрипти VDJ-гена і С-гена виявляються локалізовані щільно один до одного. По такому ж принципу синтезуються легкі ланцюги імуноглобулінів.

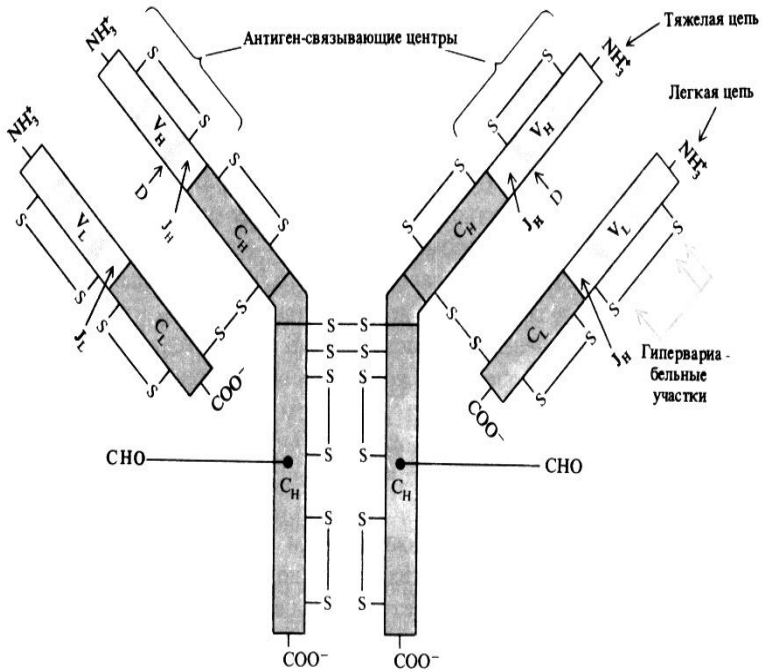


Рис. 61. Схема будови молекули імуноглобуліну.

ОНКОГЕНЕТИКА

На сьогодні однозначно встановлено, що переважна більшість онкологічних захворювань починається з утворення або проникнення в геном клітини онкогена – гена, що викликає трансформацію клітини, перетворення її з нормальної клітини в ракову. Онкоген може виникнути в клітині в результаті мутації або бути привнесений вірусом. Віруси, які привносять в клітини

онкогени названі були онковірусами. Онкогенів на сьогодні ідентифіковано величезну кількість – як клітинних так і вірусних. Клітинні онкогени утворюються в результаті мутації протоонкогенів, що виконують в клітині якусь нормальну функцію. Більшість протоонкогенів є факторами росту певних клонів клітин, ембріональними факторами росту, генами, що контролюють поділ та диференціацію клітин, генами, що контролюють апоптоз – запрограмовану смерть клітини. Підраховано, що протоонкогенів в людському геномі надзвичайно багато. Кожен з них має певну частоту мутацій. Якщо помножити кількість онкогенів, частоти мутацій на кількість клітин в людському організмі, виходить, що в кожній людині кожен день утворюються ракові клітини. Але всі ми не хворіємо на рак – на рак хворіють тільки окремі люди. Чому? Тому, що в будь-якому багатоклітинному організмі, в тому числі у людини є механізми захисту від онкологічних захворювань. Перший рівень захисту – репарація ДНК. Якщо відбулась мутація, клітина одразу починає ремонтувати ушкоджену ДНК і повертає її у вихідний стан. Якщо репарація не спрацювала і ремонт не відбувся чи відбувся неправильно, працюють так звані молекулярні поліцейські – речовини, що виводять клітину з клітинного циклу. Клітина перестає ділитися, а значить вже не може стати раковою. До молекулярних поліцейських належать такі білки як p53, p21 та ін. Наступний рівень захисту – апоптоз – запрограмована смерть клітини. Якщо в клітині щось пішло не так, вона стає потенційно небезпечною. Тоді запускаються в клітині механізми самознищення. Якщо і це не спрацює – працює імунна система, в якій є спеціальні клітини-кіллери, що знищують ракові клітини. І тільки коли всі ці механізми не спрацюють, настає онкологічне захворювання.

Дослідження соматичних клітин багатоклітинних еукаріот методом генетичної трансформації культур клітин за допомогою чужорідної ДНК призвело до відкриття генів, що беруть участь у **канцерогенезі** – виникненню і розвитку онкологічних захворювань. Ці гени були названі **онкогенами**. Окремі онкологічні захворювання обумовлюються одним єдиним геном

– наприклад, ретинобластома, що успадковується по аутосомно-домінантному типу. Це захворювання проявляється в дитинстві як захворювання очей, що метастазує в мозок і призводить до ранньої смерті. Хоча лише для деяких онкозахворювань продемонстровано спадковий характер чи успадкування схильності до них, вважається, що на клітинному рівні переважна більшість онкозахворювань мають визначено генетичну природу. Ракова клітина передає свої неопластичні властивості дочірнім клітинам. Цим можна пояснити високу проліферативну активність ракових клітин. Тобто, перетворення нормальної соматичної клітини в ракову пов'язано з певними генетичними змінами в клітинах – найчастіше мутацією протоонкогена в онкоген або утворення химерного гена в результаті транслокації або мутації регуляторної частини протоонкогена. Було також виявлено, що деякі віруси викликають онкологічні захворювання шляхом вбудовування в геном клітини певних генів. Такі перетворення клітин називаються **онкотрансформацією**. Деякі ретровіруси високоонкогенні. Онковіруси були, зокрема, виявлені у щурів, мишей, мавп, котів, курей, індиків (наприклад, віруси саркоми Харвея і саркоми Малоні в щурів та мишей відповідно). Крім генетичної інформації необхідної для реплікації ці віруси мають специфічні гени, що викликають онкотрансформацію клітин. На сьогодні відомо, зокрема, 15 генів *onc*, включаючи ген *src* вірусу саркоми Рауса, ген *mos* вірусу саркоми мишей та ген *ras* вірусу саркоми щурів. Було виявлено, що онкогени гомологічні генам нормальних клітин ссавців не інфікованих онковірусами. Це дозволило припустити, що онкогени виникли з нормальних генів шляхом мутації. Крім того, онкотрансформація можлива в результаті аномальної експресії нормального гена. Допускаючи існування **протоонкогенів** в нормальних клітинах дослідники зіштовхнулись з питаннями: який нормальний продукт активності цих генів? Як вони функціонують під час нормальної життєдіяльності клітини? Як ці онкогени викликають онкотрасформацію? Як виявилось, більшість протоонкогенів – це гени, які контролюють синтез ДНК та клітинні поділи. Розвиток злоякісної пухлини може бути

викликано порушенням регуляції активності генів, які забезпечують процес клітинного поділу. До цих генів належать гени факторів росту різних типів клітин. Прикладом може бути онкоген *v-sis* вірусу саркоми мавп. (У цих позначеннях генів *v* – вірусний, *c* – клітинний). Цей онкоген кодує фактор росту тромбоцитів. Вірус саркоми мавп викликає пухлини тільки в тих тканинах які мають рецептори до ФРТ (фактору росту тромбоцитів). Механізми функціонування факторів росту наступні: пептидний фактор росту з оточення клітини зв'язується з рецептором фактору росту її плазматичної мембрани. У результаті рецептор фактору росту змінює конформацію, його цитоплазматична область отримує тирозинкіназну активність або здатність індукувати тирозинкіназну активність в інших молекулах мембрани. Це стимулює активність певних компонентів фосфоатидилинозитольного шляху. У результаті цих процесів виникає індукція деяких ядерних білків, що веде до змін транскрипційної активності клітини і початку синтезу ДНК. При інфікуванні вірусом клітин починається транскрипція гену *v-sis*, а потім трансляція з утворенням субодиниць ФРТ. Ця субодиниця розпізнається власними рецепторами клітин до ФРТ і служить сигналом для поділу цих клітин. Описаний процес називають **аутокринною стимуляцією**, яка не властива для організму, що розвивається. Проте, бувають випадки коли аутокринна стимуляція має місце і під час нормального ембріогенезу. Мова йде про цитотрофобласт ссавців. Ці ембріональні клітини здатні не тільки синтезувати ФРТ але і зв'язувати його. Відомі інші онкогени, що кодують білки, які імітують рецептори факторів росту. Онкоген *v-erb-B* вірусу еритробластозу птахів кодує білок, що майже ідентичний до людського рецептора епідермального фактора росту (ЕФР). Цей білок являє собою цитоплазматичні і трансмембранні домени і тільки невелика частина його дійсно зв'язується з ЕФР. Вважається, що рецептори фактора росту, такі як рецептор ЕФР, активують фосфоліпазу С або прямо, або посередньо за допомогою білку G. Це викликає низку змін в клітині, які стимулюють поділ клітин. Інший онкоген, що імітує рецептор

фактора росту – це онкоген *v-fms* вірусу саркоми Мак-Доноу кішок. Він імітує рецептор для КСФ-І фактора росту, специфічного по відношенню до макрофагів і їх попередників. Людський протоонкоген для рецептора КСФ-І подібний до *v-fms* картований на довгому плечі хромосоми 5 людини. Індивідууми з мікрделеціями в цій ділянці хромосоми втрачають цей ген і характеризуються аномальним дозрівнням клітин крові. Екстракопії гена *v-fms* в клітинах кісткового мозку мишей стимулюють злякисний ріст багатьох ліній кровотворних клітин. Деякі онкогени імітують елементи, що переносять сигнал, що стимулює поділ клітин, від мембрани до ядра. Вивчення таких месенджерів – одна з найбільш хвилюючих областей у вивченні раку і клітинного росту, оскільки ці продукти онкогенів можуть допомогти в ідентифікації гіпотетичних сполук-переносників. Онкоген *v-ras* вірусів саркоми Гарвея і Крістена кодує зв'язаний з мембраною білок з молекулярною масою 21 000 D, який зв'язує ГТФ та ГДФ. Ці ГТФ-зв'язані білки беруть участь в регуляції клітинного росту, контролюють ефекторні функції, відкривання в клітинній мембрані йонних каналів або активації протеїнкінази С. Ще один клас онкогенів – варіанти ядерних факторів. Функція цього класу онкогенів приурочена до періоду, коли сигнал до поділу надійшов і сприйнятий ядром. Ці онкогени кодуєть білки, які здійснюють відповідь ядра на цитоплазматичний стимул, що викликає мітоз. Подібна ситуація має місце у випадку дії онкогенів *v-myc* та *v-fos*. Протоонкоген *c-fos* експресується протягом дуже короткого часу, коли клітина переходить з фази G₀ до фази G₁ клітинного циклу. Продукт *c-fos* димеризується з продуктом іншого протоонкогену *c-jun* утворюючи людський фактор транскрипції AP-І. Онкоген *v-fos* вірусу остеосаркоми FBJ мишей забезпечує клітину такою ж інформацією.

Формування більшості людських пухлин обумовлено не вірусами. Існують інші механізми перетворення протоонкогенів в онкогени в результаті дії яких відбувається онкотрансформація клітин. Ці механізми включають соматичні мутації, ампліфікацію генів і перебудову хромосом. Ще у 60-тих роках ХХ століття стало відомо, що мутагени є одночасно

канцерогенами (речовинами, що викликають розвиток зляжкісних пухлин). Дослідження клітин раку сечового міхура людини дозволило виділити з цих клітин онкоген, який виявився гомологом онкогену *ras* вірусу саркоми Гарвея та Крістена щурів. Виявилось, що цей ген відрізняється від нормального людського гену всього одним нуклеотидом – кодон 12-тої амінокислоти замість GGG (кодон гліцину) стає GTG (кодоном валіну). Онкогенез шляхом ампліфікації генів був продемонстрований на прикладі нейробластоми людини. В клітинах цієї пухлини виявлені чисельні копії послідовності ДНК спорідненої з онкогеном *v-тус*. Цей ген був названий *N-тус* (N – нерв). Вважається, що ампліфіковані гени транскрибують велику кількість мРНК для відповідних білків. Надлишок матриці *тус* обумовлює велику кількість білка в клітині який в нормі швидко руйнується. Оскільки білок *тус* в нормі синтезується у відповідь на сигнали росту, що йдуть від клітинної поверхні, в результаті постійної присутності білка *c-тус* ядро буде отримувати сигнали росту, тоді коли насправді їх немає.

Онкогенез іноді відбувається шляхом **інсерції промотора**. Наприклад, у курей деякі онковіруси не несуть ніяких онкогенів, але мають сильний промотор, який вбудовується перед клітинним протоонкогеном і в результаті протоонкоген потрапляє під вірусний контроль.

Для лімфоцитарних пухлин людини виявлено онкогенез у результаті перебудов хромосом. Зокрема, при дослідженні лімфоми Беркітта (пухлина, утворена трансформованими В-клітинами) виявлено, що в результаті перебудови хромосоми 8 ген *c-тус*, що контролює ріст потрапляє під контроль промотора чи інханцера імуноглобулінів.

Ще один шлях онкогенезу – онкогенез шляхом втрати генів, що подавляють пухлинний ріст (генів-супресорів пухлинного росту). Це було продемонстровано щодо різних форм ретинобластоми – спорадичної та спадкової. Серед членів сімей в роду яких спостерігались випадки ретинобластоми виявлено відсутність певної ділянки довгого плеча хромосоми 13. Було виявлено, що саме в цій області локалізований ген стійкості до

ретинобластоми і, таким чином, в їх клітинах наявний тільки один алель цього гену – будь-яка соматична мутація цього гену може бути причиною того, що клітина продовжить проліферацію і дасть початок пухлині. Білок RB, який кодується цим геном являє собою фосфопротеїн розміром 105 kD і здатний зв'язуватись з ДНК і фосфорилування якого залежить від стадії клітинного циклу. Було виявлено, що білок RB служить мішенню для трансформуючих білків онковірусів. Високомолекулярний Т-білок вірусу SV-40, білок E1A аденовірусів, білок E7 вірусу папіломи людини – всі вони зв'язуються з нефосфорильованим (активним) білком RB. Ці білки можуть проявляти свою дію шляхом функціонального усунення клітинного білку RB, внаслідок чого виникають безперервні клітинні цикли.

Серед злоякісних онкологічних захворювань прийнято виділяти такі великі групи захворювань:

- **карциноми** – пухлини, що виникають внаслідок злоякісного переродження (малігнізації) епітеліальних тканин;
- **саркоми** – пухлини, що утворюються внаслідок малігнізації мезенхімних тканин;
- **лейкемії (лейкози)** – онкологічні захворювання, що виникають в результаті малігнізації стовбурових клітин кровотворення – клітин червоного кісткового мозку;
- **лімфоми** – пухлини, що виникають в результаті малігнізації клітин лімфатичної системи;
- **нейробластоми** – пухлини, що виникають в результаті малігнізації клітин центральної нервової системи та їх попередників – нейробластів;
- **тератоми** – пухлини, що утворюються з гоноцитів – клітин зародкової лінії.

Більшість злоякісних пухлин виникають з однієї ініціальної клітини, яка зазнала злоякісної трансформації. Початковим етапом у радіаційному канцерогенезі є поява мутації критичного онкогена або гена-супресора пухлини. Крім того, в ініціальній клітині мають нагромадитись додаткові мутації 6-8 генів, аби

клітина стала цілком злоякісною. Ініціальним критичним кроком у радіаційному канцерогенезі є індукція генетичної нестабільності в досить значній частині клітинної популяції. Як правило, між опроміненням і розвитком пухлини проходить чимало часу. Таке відстрочення реалізації радіаційного ефекту пов'язують із **латентним періодом**. У людини він може тривати понад 30 років. Для багатьох онкологічних захворювань властиві хромосомні транслокації. Внаслідок цих транслокацій відбувається виникнення чи надекспресія онкогенів, зокрема таких як тус-ген, або виникнення так званих химерних генів, що складаються з частин різних генів і теж є онкогенами.

Є підстави вважати схильність до захворювань на різні форми раку спадковою. Частота таких генетичних ушкоджень невелика – не менше одного випадку на 10 000. До генів, які безпосередньо визначають цю спадкову схильність до радіаційного канцерогенезу, належать at-ген (атаксії телангіектазії), tr53-ген (ген синдрому Лі-Фраумені), mlm1, mlm2-гени (гени родини меланоми), арс-ген (ген родинного аденоматозного поліпозу), brca1, brca2-гени (гени спадкового раку молочної залози), mlh1, mlh2, pms1, pms2-гени (гени спадкового неполіпозного раку прямої кишки) та ін.

Внаслідок мутації протоонкоген або переноситься, або ставиться в такі умови (внаслідок мутації в регуляторній ділянці), що спонукають його до активації, чи вимикають механізм контролю. Не виключено, що для повної злоякісної трансформації клітини повинна пройти багатоетапна послідовність подій: стимуляція проліферації з виникненням популяції постійно проліферуючих клітин, трансформація і власне малігнізація.

Одним із найбільш досліджених протоонкогенів людини є ген **ALB**. Це доволі великий (200 kb) гомолог гена v-alb мишачого лейкозу Абелонса. Внаслідок мутації t(9;22) відбувається вбудовування цього гена в кластерну область середньої частини іншого великого гена (130 kb) в сайт BCR (5,8 kb). Химерний ген BCR/ALB – матриця великої (210 kD) тирозинкінази, що гомологічна до інших цитоплазматичних

тирозинкіназ (SRC, SH1). Цей химерний білок, активуючи RAS-сигнальний шлях, викликає онкотрансформацію клітин.

Іншим дослідженим протоонкогеном є ген **TEL** – ген транскрипційного активатора, що входить до ETS сімейства генів. Він здійснює контроль реплікації ДНК, визначає взаємодію «протеїн – протеїн». Внаслідок мутації t(5;12) утворюється химерний ген TEL/PDGFRB. Другий компонент химерного гена в нормі – ген β -рецептора росту продукування тромбоцитів, що локалізований на хромосомі 5. Ген TEL вбудовується в ген PDGFRB і стимулює його тирозинкіназну активність, вмикає RAS-сигнальний шлях, чим і викликає онкотрансформацію клітин.

Доволі ретельно досліджений протоонкоген **BCL**, точніше ціле сімейство генів, гомологічне гену *ced* нематод – деякі гени з цього сімейства (*ced-3*, *ced-4*) стимулюють апоптоз клітин.

Інші гени цього сімейства (*ced-9*) пригнічують апоптоз. Химерний продукт BCL3 надає лімфоїдним клітинам ознаки «безсмертя».

Ген BCL2 картований у людини в 18 хромосомі в області q21. Він гомологічний гену *ced-9*. Його білковий продукт (25 kD) відноситься до мембранних білків. Вбудовування цього гену в проксимальні області локалізації локусу важких ланцюгів імуноглобулінів призводить до неадекватного рівня експресії цього протеїну, інгібує апоптоз, надає проліферативні переваги мутантним клітинам, підвищує чутливість до мутагенних сигналів.

Протоонкоген **MLL** (його ще називають ALL-1, Htrx, HRX) – в нормі експресується в селезінці, в печінці, в серці, в легенях, у Т-лімфоцитах, В-лімфоцитах та їх попередниках. Цей ген кодує протеїн розміром 430 kD, діє як транскрипційний фактор.

Протоонкоген **AML1** належить до цілого сімейства транскрипційних регуляторних білків, гомологічних ядерному ДНК-зв'язуючому *gunt*-протеїну дрозофіли, експресується в гемопоетичних клітинах та ідентифікується як α -субодиниця зв'язуючого фактора (CBF). У людини цей ген кодує поліпептид,

який складається з 250 амінокислот, що може інгібувати диференціювання клітин гранулоцитного ряду.

Протоонкоген **PML** у нормі експресується різними тканинами ембріону або дорослого організму, очевидно, має функцію міжбілкової взаємодії, димеризації протеїнів і посттрансляційно фосфорилується протеїнкіназою II. При транслокаціях типу t(15;17) зачіпаються кластерні області генів BCR1, BCR3, BCR2. Саме ці ділянки гена зливаються з інтроном 2 гена RARA рецептора вітаміну А, тобто транскрипційного фактора суперсімейства стероїдних рецепторів на хромосомі 17, що беруть участь у морфогенезі клітин. При цьому утворюються химерні гени PML/RARA або RARA/PML.

Окрему проблему складає радіотерапія онкозахворювань. Основна мета радіотерапії при злоякісних пухлинах полягає в інактивації клітин пухлин за мінімального ушкодження здорових клітин тіла. Клітинна популяція пухлин складається з кількох субпопуляцій, класів, компартментів. Зокрема, виділяють компартмент клоногенних клітин і низку компартментів, що відрізняються між собою ступенем оксигенації, в тому числі аноксичні клітини, які характеризуються підвищеною радіостійкістю. Для обрання оптимальної стратегії лікування опроміненням враховується наступне:

- 1) клітинні ефекти – репродуктивна загибель клітин, індукція сублетальних і нелетальних ушкоджень клітин, реакції на опромінення клітин різного віку, збільшення тривалості клітинного циклу під впливом опромінення, гетерогенність поклітинної радіочутливості;
- 2) ефекти клітинної популяції – фракціонування клітин пухлини, утворення фракцій, що перебувають у стані аноксії, реоксигенація, репопуляція клоногенних клітин.

У процесах онкогенезу важливу роль відіграє апотоз – одна з форм запрограмованої смерті клітини. Апоптоз взагалі відіграє надзвичайно важливу роль в житті будь-якого живого організму, особливо під час ебріогенезу. Апоптоз регулюється спеціальною генетичною програмою.

Апоптоз

Ще не початку ХХ століття було виявлено, що лімфоцити відрізняються підвищеною радіочутливістю і після опромінення гинуть дуже швидко, хоча диференційовані лімфоцити периферійної крові втрачають здатність до проліферації і тут не може йти мови про проліферативну загибель клітин – тут є якась інша форма загибелі клітин. Загибель клітин на стадії інтерфази клітинного циклу називають **інтерфазною загибеллю клітин**. Інтерфазна загибель лімфоцитів виявилась випадком апоптозу – однієї з форм запрограмованої загибелі клітин.

Розрізняють дві принципово різні форми загибелі клітин, що в тому числі можуть бути викликані радіацією – некроз і апоптоз. При некрозі відбувається ушкодження клітинних структур, що викликає необоротне припинення фізіологічних процесів, розпад клітин, що супроводжується виділенням в міжклітинний просторі продуктів некрозу, що є токсичними і/або руйнівними для організму в цілому. При апоптозі запускається механізм самознищення клітин, працюють відповідні ферменти та спеціальні органели – апоптосоми, і хромосоми, ядро, клітина в цілому фрагментується на апоптичні тільця, що оточені біліпідними мембранами. Ці апоптичні тільця потім фагоцитуються спеціальними фагоцитами макрофагами. При цьому у міжклітинний простір не потрапляють токсичні продукти некрозу і отруєння організму не відбувається. Апоптоз існує в організмі в нормі – для усунення непотрібних клітин, що виконали свою функцію. Особливо інтенсивно апоптоз відбувається під час ембріогенезу та під час метаморфозу для ліквідації цілих структур та органів, які стають непотрібними і зайвими. Розрізняють спонтанний та індукований апоптоз. Надлишковий апоптоз викликає порушення балансу клітин і має негативні наслідки для організму в цілому. Радіація викликає індукований апоптоз клітин.

Апоптоз (від дав.-гр. *απόπτωσις* — опадання, листопад) — найбільш розповсюджений тип запрограмованої клітинної смерті. Це сукупність клітинних процесів, що призводять до запрограмованої загибелі клітини, свого роду клітинного

самогубства – суїциду. На відміну від іншого виду клітинної смерті — некрозу — при апоптозі не відбувається руйнування цитоплазматичної клітинної мембрани і, відповідно, вміст клітини не потрапляє в позаклітинне середовище. Характерною ознакою є фрагментація ДНК у міжнуклеосомальних ділянках специфічною ендонуклеазою — CAD (caspase activated DNAase) на фрагменти з розміром, кратним 180 – 200 нуклеотидам. В результаті апоптозу відбувається утворення апоптичних тілець — мембранних везикул, які містять цілісні органели і фрагменти ядерного хроматину. Ці тільця поглинаються сусідніми клітинами чи макрофагами в результаті фагоцитозу. Оскільки позаклітинний матрикс не уражається клітинними ферментами, навіть при великій кількості апоптозних клітин, запалення не спостерігається.

Процес апоптозу є необхідним для фізіологічного регулювання кількості клітин організму, для знищення старих клітин, для формування лімфоцитів, що не є реактивними до своїх антигенів (аутоантигенів), для осіннього опадання листків рослин, для цитотоксичної дії Т-лімфоцитів кіллерів, для ембріонального розвитку організму (зникнення шкірних перетинок між пальцями у ембріонів птахів) та іншого.

Порушення нормального апоптозу клітин призводить до неконтрольованого розмноження клітини і появи пухлини.

Термін «апоптоз» був вперше вжитий 1972 року Керром, Віллі і Керрі, які описали його як доповнювальний, але протилежний до мітозу механізм регуляції популяції тваринних клітин.

Клітинні системи, що забезпечують проходження апоптозу, аналогічні у всіх тварин, центральне місце в них займає родина білків каспаз. Каспази – це протеази, що мають в активному центрі залишок цистеїну, і розрізають свої субстрати по специфічному залишку аспарагінової кислоти (звідси назва: с від cysteine і asp від aspartic acid). Каспази синтезуються в клітині у вигляді неактивних прокаспаз, які можуть ставати субстратами для інших, вже активованих каспаз, що ріжуть їх в одному або двох місцях по залишку аспартату. Два утворені фрагменти –

більший і менший - з'єднуються між собою, формуючи димер, що асоціює із таким самим димером. Сформований таким чином тетрамер і є активною протеазою, що може розрізати білки-субстрати. Крім ділянок, що відповідають більший і менший субодинам, прокаспазі інколи також містять інгібіторні продомени, які деградують після відщеплення.

Внаслідок розщеплення й активації одних каспаз іншими формується протеалітичний каскад, який суттєво посилює сигнал і робить апоптоз із певного моменту незворотним процесом. Ті прокаспазі, які розпочинають цей каскад називаються ініціаторними, а їхні субстрати – ефекторними. Після активації ефекторні каспази можуть розщеплювати інші ефекторні прокаспазі або білки-мішені. До мішеней ефекторних каспаз, що руйнуються під час апоптозу належать зокрема білки ядерної ламіни, розщелення яких призводить до розпаду цієї структури. Також деградує білок, що за нормальних умов пригнічує ендонуклеазу CAD, внаслідок цього розпочинається фрагментація ДНК. Розщеплюються каспазами і білки цитоскелету та міжклітинної адгезії, внаслідок чого апоптичні клітини округлюються і від'єднуються від сусідніх клітин, і таким чином стають легшою мішенню для фагоцитів.

Набір каспаз, необхідний для проходження апоптозу залежить від типу тканини і шляху, за яким активується клітинна смерть. Наприклад у мишей при «вимкненні» гену, що кодує ефекторну каспазу-3, апоптоз не відбувається у мозку, проте нормально протікає в інших тканинах.

Гени прокаспаз активні у здорових клітинах, а отже білки необхідні для протікання апоптозу постійно наявні, потрібна лише їх активація для запуску клітинного суїциду. До складу ініціаторних прокаспаз входить довгий продомен, що містить CARD (caspase recruitment domain, домен залучення каспаз). CARD дає змогу ініціаторним прокаспазам приєднуватись до адаптерних білків утворюючи активаційні комплекси, коли клітина отримує сигнал, що стимулює апоптоз. В активаційних комплексах кілька молекул прокаспаз опиняються безпосередньо

поблизу одна одної, чого достатньо для їх переходу в активний стан, після чого вони розрізають одна одну.

Два найкраще вивчені сигнальні шляхи активації каскаду каспаз у клітинах ссавців називаються зовнішній і внутрішній (мітохондріальний), кожен із них використовує власні ініціаторні прокаспази.

Клітина може отримувати сигнал, що індукуює апоптоз, іззовні, наприклад, від цитотоксичних лімфоцитів. В такому разі активується так званий зовнішній шлях (extrinsic pathway), що починається із рецепторів смерті. **Рецептори смерті** – це трансмембранні білки, що належать до родини рецепторів фактора некрозу пухлин (ФНП), наприклад сам рецептор ФНП і рецептор смерті Fas. Вони формують гомотримери, в яких кожен мономер має позаклітинний ліганд-зв'язувальний домен, трансмембранний домен і цитоплазматичний домен смерті, що через адаптерні білки залучає та активує прокаспази.

Ліганди рецепторів смерті також є гомотримерами. Вони споріднені між собою і належать до родини сигнальних молекул фактора некрозу пухлин. Наприклад, цитотоксичні лімфоцити несуть на своїй поверхні ліганди Fas, що можуть приєднуватись до рецепторів смерті Fas на плазмалемі клітин-мішеней. У такому випадку внутрішньоклітинні домени цих рецепторів з'єднуються із адаптерними білками (FADD, Fas-associated death domain), а ті у свою чергу залучають ініціаторні прокаспази 8 і/або 10. Внаслідок цієї серії подій формується сигнальний комплекс, що індукуює смерть клітини, - DISC (death inducing signaling complex). Після активації в цьому комплексі ініціаторні каспази розрізають ефекторні прокаспази і запускають апоптичний каскад.

Багато клітин синтезують молекули, що у певній мірі захищають їх від активації зовнішнього шляху апоптозу. Прикладом такого захисту може бути експресія так званих рецепторів-приманок (decoy receptors), що мають позаклітинні домени зв'язування лігандів, проте не мають цитоплазматичних доменів смерті, а отже не можуть запускати апоптозу і конкурують зі звичайними рецепторами смерті за ліганди.

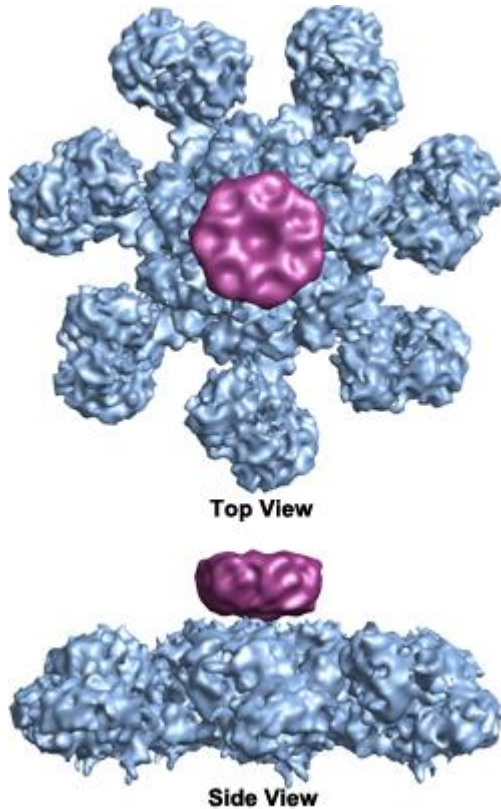


Рис. 62. Апоптосома.

Клітини також можуть продукувати білки, що блокують зовнішній шлях апоптозу, наприклад FLIP, що схожий за структурою до прокаспаз 8 і 10, проте не має протеолітичної активності. Він пригнічує зв'язування ініціаторних прокаспаз із комплексом DISC.

Апоптоз також може запускатись із середини клітини, наприклад у випадку її травмування, пошкодження ДНК, нестачі кисню, поживних речовин або позаклітинних сигналів виживання. У хребетних цей сигнальний шлях називається внутрішнім (intrinsic pathway) або мітохондріальним, ключовою

подією в ньому є вивільнення певних молекул із міжмембранного простору мітохондрій. До таких молекул зокрема належить цитохром с, що за звичайних умов входить до електрон-транспортного ланцюга мітохондрій. Цитохром С синтезується мітохондрією та виходить з неї завдяки формуванню мітохондріального апоптоз-індукуючого каналу (МАК) та виконує регуляторну роль до настання морфологічних змін, пов'язаних з апоптозом. Після виходу цитохрому С, відбувається його зв'язування з адаптерним білком АРАФ1 (apoptotic protease activating factor-1), викликаючи олігомеризацію останнього у колесоподібну семичленну структуру, що називається апоптосомою. Апоптосома залучає і активує ініціаторну прокаспазу-9, яка після цього може активувати ініціаторні прокаспазу.

У деяких клітинах зовнішній шлях апоптозу повинен активувати внутрішній для того щоб ефективно знищити клітину. Внутрішній шлях суворо регулюється білками родини Bcl-2.

До родини Bcl-2 належать еволюційно консервативні білки, головною функцією яких є регуляція вивільнення цитохрому с та інших молекул із міжмембранного простору мітохондрій. Серед них є про-апоптичні та анти-апоптичні молекули, які можуть взаємодіяти між собою у різних комбінаціях, пригнічуючи одне одного, баланс між їхньою активністю і визначатиме долю клітини.

Зараз відомо близько 20 білків із цієї родини, всі вони містять хоча б один із чотирьох альфа-спіральних доменів гомології Bcl2, що зветься BH1-4 (bcl2 homology). Антиапоптичні білки родини Bcl2 містять всі чотири домени, до них належить сам BCL2, а також Bcl-XL, Bcl-w, Mcl-1 та BCL2A1. Проапоптичні білки діляться на дві групи, члени першої із яких містять три BH-домени (BH1-3), це зокрема BAK, BAX і BOK (останній експресується тільки у тканинах репродуктивних органів). Найбільш численною серед родини Bcl-2 є друга група проапоптичних білків, які містять тільки

домен BH3 (BH3-only), до неї належать Bim, BID, BAD, Bik/Nbk, BMF, Nix/Bnip3, Hrk, Noxa, Puma.

За нормальних умов (тобто, коли клітина не проходить апоптозу) антиапоптичні білки, такі як Bcl-2 і Bcl-XL, зв'язуються із проапоптичними білками BH123 (Bax і Bak) і не дозволяють їм полімеризуватись у зовнішній мембрані мітохондрій утворюючи пори. Внаслідок дії певного апоптичного стимулу в клітині активуються або починають синтезуватись проапоптичні білки, що містять тільки домен BH3. Вони у свою чергу інгібують антиапоптичні білки, знімаючи їх пригнічувальний ефект на Bak і Bax, або напряму взаємодіють із останніми і сприяють їх олігомеризації та утворенню пор. Внаслідок пермеабілізації зовнішньої мембрани у цитозоль потрапляє цитохром c, а також інші медіатори апоптозу, такі як AIF (apoptosis inducing factor).

Наприклад, за браку сигналів виживання у клітині за посередництва MAP-кінази JNK активується експресія BH3 білка Bim, що запускає внутрішній шлях апоптозу. У разі ушкодження ДНК відбувається накопичення супресору пухлин p53, який стимулює транскрипцію генів, що кодують BH3 білки Puma і Noxa, які також забезпечують проходження апоптозу. Ще один BH3 білок – Bid забезпечує зв'язок між зовнішнім та внутрішнім шляхами апоптозу. Після активації рецепторів смерті і, як наслідок, каспази-8, остання розрізає Bid з утворенням усіченої форми tBid (truncated Bid), яка переміщується до мітохондрій, де пригнічує Bcl-2.

Апоптоз як запрограмована загибель клітин є активною реакцією на фізіологічний сигнал або ушкодження. Програмованість загибелі клітин відіграє важливу роль у численних біологічних явищах, зокрема в ембріології, морфогенезі, клітинному імунітеті, регресії пухлин.

Апоптоз є спонтанним явищем. Опромінення, так само, як і вплив цитотоксичних факторів іншої природи, збільшує частоту його прояву. Вважають, що спонтанний апоптоз є частиною гомеостатичних механізмів, які підтримують чисельність популяції стовбурових клітин. У більш широкому розуміння

апоптоз є частиною гомеостатичної рівноваги Всесвіту. Всесвіт взагалі є гомеостатичним.

Апоптоз може спостерігатися як наслідок опромінення в дуже малих дозах довгоіснуючих в нормі клітин, які ніколи повторно не діляться, наприклад малих лімфоцитів. Є три типи Т-лімфоцитів: малі, середні, великі. Частка малих лімфоцитів становить 95 % від загального числа лімфоцитів. Тривалість їхнього життя 100 – 200 днів і більше. Малі лімфоцити, на відміну від середніх і великих, не здатні до мітотичного поділу.

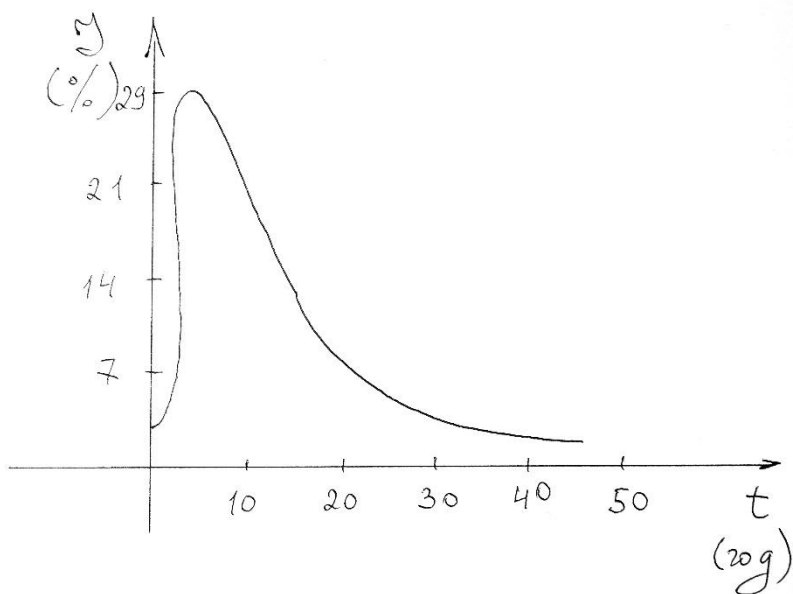


Рис. 63. Зміна інтенсивності апоптозу з часом після гострого одноразового опромінення клітин карциноми молочної залози мишей в дозі 15 Гр.

Апоптоз індукується опроміненням також у клітин, які тривалий час не зазнають мітотичного поділу. До таких клітин належать ооцити першого порядку. Спостерігається також

апоптоз клітин, що швидко діляться, наприклад сперматогоніїв, які характеризуються дуже великою мітотичною активністю.

Апоптоз клітин печінки, м'язів, нервової системи спостерігається після опромінення в дуже великих дозах.

Крім апоптозу серед клітин ссавців за великих доз спостерігається інші типи інтерфазної загибелі клітин:

- **некроз** (необоротне припинення життя клітини);
- **пiкноз** (різке зменшення клітинного ядра або всієї клітини в процесі загибелі);
- **каріорексис** (фрагментація ядра).

Під час некрозу спостерігається зморщування ядра (каріопікноз), розпад ядра (каріорексис), розчинення ядра (каріолізис), дезорганізація ферментативних систем, що призводить до автолізу клітини.

Радіаційно-індукований апоптоз характеризується підвищенням плавної щільності та істотним зменшенням розмірів клітин внаслідок їх ущільнення. Клітини втрачають поверхневі мікрворсинки. Хроматин зазнає фрагментації: якщо в нормі тимоцит має складну мережу ниток хроматину, то в апоптозному стані клітини замість волокнистої структури хроматину спостерігаються ізольовані щільні частинки, які утворилися з фрагментованого хроматину. Інтерфазна загибель тимоцитів є типовим апоптозом.

Апоптоз є частиною захисного механізму від канцерогенезу, що полягає у вилученні клітин з генетичними ушкодженнями.

Апоптоз уповільнюється під впливом інгібіторів синтезу білків та РНК, що свідчить про зв'язок цього процесу з експресією відповідних генів. Справді, інгібітор синтезу білка циклогексимід гальмує розвиток апоптозу, отже, ця форма загибелі клітин пов'язана із синтезом білків. Разом з тим, апоптоз гальмується під впливом протеаз, і це підтверджує його залежність не лише від біосинтезу білків, а й від протеолізу.

Радіаційний апоптоз тимоцитів розпочинається дією радіації дією радіації на певні рецептори плазматичної мембрани клітин. Сигнал, який при цьому виникає, передається від

протеїнтирозинкінази через Ras-білки, протеїнкіназу C, фактори транскрипції генів, що здійснюють контроль апоптозу. Факторами, які підтримують і посилюють апоптозний сигнал, є продукти ліпоксигенази.

У пусковому механізмі апоптозу певну роль відіграє порушення пасивної проникності мембран для іонів Ca^{2+} та зміна клітинного гомеостазу цього катіону. Відомо, що участь катіону кальцію в трансдукції сигналів міжклітинної взаємодії дуже значна.

Деструктивні процеси під час апоптозу пов'язані з конформаційними змінами макромолекул у геномі, а ці зміни залежать від властивостей внутрішньоклітинного середовища. При цьому абсолютно не виключається участь іонів Ca^{2+} в цьому процесі.

ГЕНЕТИКА СТАРІННЯ

Однією з найбільш хвилюючих біологічних проблем, які хвилювали людей, завжди була проблема старіння і смерті. Про те, що старіння і смерть запрограмовані спадково. Але якщо є така генетична програма, яка реалізується у формі старіння і смерті, то чи не можна цю програму якось обійти чи вимкнути? Чи не можна створити вічно молодую людину? Вирішити чи навіть дати відповідь на ці питання досі не вдалося. Але було знайдено багато інформації про гени, що контролюють старіння і смерть.

Старіння – це процес поступового руйнування і втрати важливих функцій організму або його частин, зокрема здатності до розмноження і регенерації. Внаслідок цього організм стає менш пристосованим до умов навколишнього середовища, зменшує свою здатність боротися із хижакими та хворобами. Явище старіння у тій чи іншій мірі спостерігається практично у всіх живих організмів. Наука, що вивчає старіння, називається геронтологією. Старіння і смерть – це свого роду плата живих організмів за багатоклітинність. І одночасно плата за можливість еволюції та адаптації популяції чи виду в цілому – менш

приспособане покоління сходить з арили життя і замінюється більш приспособаним поколінням.

Різні види живих організмів мають різну тривалість життя – як середню так і максимальну. Є види-довгожителі, що живуть тисячоліттями - секвоядендрон велетенський (*Sequoiadendron giganteum*) доживає до 4000 і більше, знайдено екземпляри глибоководних губок, що живуть як єдиний багатоклітинний організм вже 12 000 років. І в той же час є види які живуть дуже короткий час – одноденки (Ephemeroptera) у дорослій фазі живуть тільки один день і потім масово гинуть. У тієї ж людини є безсмертні лінії клітин – ракові клітини та клітини зародкової лінії (гоноцити), що є вічними, і соматичні клітини, що запрограмовані на старіння і смерть.

Після відкриття теломер, теломерази та процесу репарації ДНК з'явилися нові теорії про генетичну запрограмованість старіння і фізіологічної смерті. Теломери – повтори на кінцях лінійних хромосом еукаріот. У соматичних клітинах еукаріот з кожним поділом клітин хромосоми скорочуються на певну кількість теломер – ДНК-полімераза не може синтезувати повністю лінійну хромосому. Коли закінчуються теломери в клітинах починаються незворотні процеси – руйнуються життєвоважливі структурні гени, клітини гинуть, популяція клітин не може відтворюватись, а значить гине організм в цілому. У клітинах зародкової лінії та ракових клітинах активно працює теломераза, що досинтезовує щоразу після поділу теломери, яких бракує. У соматичних клітинах теломераза пасивна.

Було виявлено, що в соматичних клітинах еукаріот в процесі старіння перестають працювати програми репарації ДНК - ушкоджена ДНК перестає ремонтуватись, в клітинах накопичуються помилки і це на рівні організму реалізується як старіння і смерть.

Було виявлено, що під час старіння клітини багатоклітинних еукаріот проходять через ряд генетичних змін, які певним чином впливають на процес старіння. Дослідження старіння еукаріот були проведені за допомогою цілої низки модельних організмів, таких як домашня миша (*Mus musculus*),

плодова мушка темночеревцева (*Drosophila melanogaster*), круглі черви *Caenorhabditis elegans*, філаментарні гриби *Podospora anserina* і пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*. Дослідження цих організмів виявили присутність як мінімум двох збережених генетичних шляхів, що активізуються під час старіння.

Один з цих шляхів залучає ген SIR2, NAD⁺-залежну гістонову деацетилазу. У дріжджах білок Sir2 потрібний для супресії генів в трьох локусах (місцезоложеннях): локусі спаровування дріжджів та генах теломер і рибосомної ДНК (рДНК). У деяких видів дріжджів симптоми реплікативного старіння можуть частково викликатися гомологічною рекомбінацією між повторами рРНК, вилучення повторів рРНК провидить до утворення екстрахромосомної циклічної рРНК (ЕЦР або ERC - Extrachromosomal rRNA circles). Ці ЕЦР реплікуються і переважно акумулюються в материнській клітині під час поділу, та викликають клітинне старіння за рахунок конкурентного зв'язування з важливими ядерними факторами. ЕЦР не спостерігалися в інших видах дріжджів (які також проявляють реплікативне старіння) та у вищих організмах, таких як людина. Екстрахромосомна циклічна ДНК (ехцДНК - ессDNA) була знайдена в черв'як, мух і людини. Роль ехцДНК в старінні, якщо є, невідома.

Не зважаючи на відсутність зв'язку між циклічною ДНК і старінням у вищих організмах, додаткові копії гомологів Sir2 здібні до збільшення тривалості життя як черв'як, так і мух. Механізми, якими гомологи Sir2 у вищих організмах регулюють тривалість життя, залишаються неясними, але було встановлено, що людський білок SIRT1 деацетилує білки p53, Ku70 і сімейство факторів транскрипції forkhead. SIRT1 також може також регулювати інші ацетильовані білки, такі як CBP/p300, і може деацетилувати деякі амінокислоти гістонів.

Гени RAS1 і RAS2 також впливають на старіння в клітинах дріжджів і мають гомологи в геномі людини. Було показано, що надмірна експресія RAS2 збільшує тривалість життя дріжджів.

Кілька інших генів регулюють старіння в дріжджах, збільшуючи опір окислювальному стресу. Супероксидна дисмутаза, білок, що захищає клітину проти ефектів активних форм кисню (АФК) мітохондрій, може уповільнити умовне старіння дріжджів, якщо надмірно експресується протягом стаціонарної фази.

Сильно пов'язаним із старінням вищих організмів є шлях інсуліну/IGF-1. Мутації, що впливають на інсуліно-подібну передачу сигналів у черв'як, мух і мишей, часто пов'язані із збільшеною тривалістю життя. Цей шлях пригнічується за умовами обмеження калорій, і у свою чергу впливає на тривалість життя через механізм, залежний від білків p53/p21/Akt.

У дріжджах, активність Sir2 регулюється нікотинамідазою PNC1. Синтез ферменту PNC1 збільшується на рівні транскрипції за умовами стресу, наприклад, під час низькокалорійної дієти, теплового або осмотичного шоку. Перетворюючи нікотинамід на ніацин, він усуває нікотинамід, який інгібує активність Sir2. Нікотинамідаза знайдена і у людини, де вона відома як PBEF і, можливо, виконує подібну функцію, а секретована форма PBEF, відома як вісфатін, можливо, допомагає регулювати рівень інсуліну в сироватці. Не відомо, проте, чи ці механізми також існують у людини через значні відмінності в фізіології миші та людини.

Активність гену Sir2 зростає за умовами обмеження калорій в дієті мишей. Через відсутність доступної глюкози в клітинах утворюється більше вільного NAD⁺, що приводить до активації Sir2. Резвератрол, поліфенол знайдений в деяких фруктах, збільшує тривалість життя дріжджів, черв'як та мух за рахунок активізації діяльності Sir2 та імітації ефекту низькокалорійної дієти.

За деякими даними, процесу старіння можуть сприяти і флуктуації в експресії багатьох генів. Індивідуальні, генетично ідентичні клітини можуть мати істотно різні відповіді на зовнішні стимули і помітно різні тривалості життя, указуючи, що

епігенетичні фактори грають важливу роль у експресії генів і старінні.

Набагато менше відомо про старіння бактерій, незважаючи на їхню простішу структуру та зручність дослідження. Серед бактерій найкраще відомі зміни, що відбуваються під час умовного старіння (хронологічного старіння у стаціонарній фазі) бактерії *E. coli*.

Більшість генетично контрольованих змін під час умовного старіння *E. coli* відбуваються через зміну в рівні експресії сігма-фактору σ_s , який відповідає за експресію генів, пов'язаних за ремонт пошкоджених білків, аналогічно гену черв'я *C. elegans* *daf-16* та генам дріжджів RAS/РКА. σ_s конкурує з іншим сігма-фактором, σ_{70} , який відповідає за ріст бактерії, і ніколи не експресується у «повну силу». Таким чином, бактерія продовжує обмежений ріст навіть в умовах стаціонарної фази, що надає їй можливість швидко відновити ріст, якщо умови змінюються, але недоліком є неможливість σ_s впоратися із значним окислювальним стресом. Таким чином, залишкова активність σ_{70} у стаціонарній фазі є прикладом так званої антагоністичної плейотропії (див. нижче), типу генетичної системи, яка розвивається за рахунок позитивного ефекту на одних стадіях життя, незважаючи на негативний ефект на інших, рідкісніших, стадіях.

Перша ідея, що лягла в основу генетичного підходу, була запропонована Пітером Медаваром в 1952 році і відома зараз як «теорія накопичення мутацій» (*Mutations accumulation theory*). Медавар відмітив, що тварини в природі дуже рідко доживають до віку, коли старіння стає помітним. Згідно з його ідеєю, алелі, що проявляються протягом пізніх періодів життя і що виникають в результаті мутацій зародкових клітин, піддаються досить слабкому еволюційному тиску проти себе, навіть якщо в результаті них страждають такі риси, як виживання та розмноження. Таким чином, ці мутації можуть накопичуватися в геномі протягом багатьох поколінь. Проте, будь-яка особина, що зуміла уникнути смерті протягом довгого часу, випробує на собі

їхню дію, що проявляється як старіння. Те ж саме вірно і для тварин у захищених умовах.

На додаток, у 1957 році Д. Вільямс запропонував існування плейотропних генів, які мають різний ефект на виживання організмів протягом різних періодів життя, тобто корисні у молодому віці, коли ефект природного відбору сильний, та шкідливі пізніше, коли ефект природного відбору слабкий. Ця ідея зараз відома як «антагоністична плейотропія» (Antagonistic pleiotropy).

Разом ці дві теорії складають основу сучасних уявлень про генетику старіння. Проте, ідентифікація відповідних генів мала лише обмежений успіх. Свідоцтва про накопичення мутацій залишаються дискусійними, тоді як свідоцтва наявності плейотропічних генів сильніші, але й вони бракують деталей. Прикладами плейотропних генів можна назвати теломеразу у еукаріотів та сігма-фактор ($\sigma 70$) у бактерій. Хоча відомо багато генів, що впливають на тривалість життя різних організмів, інших чітких прикладів плейотропних генів все ще немає.

Хоча і відомо кілька специфічних генів, запропонованих теоріями накопичення мутацій та антагоністичної плейотропії, безпосереднього зв'язку цих генів із старінням доведено не було, тим більш не було показано, що ефект цих генів типовий для всіх організмів та відповідає за всі аспекти старіння. Тобто ці гени можуть розглядатися лише як кандидати на роль генів, передбачених теорією. З іншого боку, низка фізіологічних ефектів, передбачених в роботі Вільямса 1957 року про антагоністичну плейотропію, показані без визначення генів, що відповідають за них. Можна говорити про компроміси, аналогічні передбаченим цією теорією, без чіткого визначення генів, від яких вони залежать. Фізіологічна основа таких компромісів закладена у так званій «теорії одноразової соми» (Disposable soma theory). Ця теорія задається питанням, як організм має розпорядитися своїми ресурсами (у першому варіанті теорії мова йшла тільки про енергію) між підтримкою та ремонтом соми та іншими функціями, необхідними для виживання. Необхідність компромісу виникає через обмеженість

ресурсів та необхідність вибору найкращого шляху їхнього використання.

Підтримка соми повинна виконуватися лише настільки, наскільки це необхідно протягом звичайного часу виживання у природі. Наприклад, оскільки 90 % диких мишей вмирає протягом першого року життя, переважно від холоду, інвестиції ресурсів у виживання протягом довшого часу будуть стосуватися лише 10 % популяції. Таким чином, трьохрічна тривалість життя мишей повністю достатня для всіх потреб у природі, а з точки зору еволюції, ресурси слід витратити, наприклад, на покращення збереження тепла або розмноження, замість боротьби із старістю. Таким чином, тривалість життя миші найкраще відповідає екологічним умовам її життя.

Теорія одноразової соми робить кілька передбачень щодо фізіології процесу старіння. Згідно з цією теорією, старіння виникає в результаті неідеальних функцій ремонту і підтримки соматичних клітин, що адаптовані для задоволення екологічних потреб. Пошкодження, у свою чергу, є результатом стохастичних процесів, пов'язаних з життєдіяльністю клітин. Довголіття контролюється за рахунок контролю генів, що відповідають за ці функції, а безсмертя генеративних клітин, на відміну від соми, є результатом більших витрат ресурсів та, можливо, відсутності деяких джерел пошкоджень.

Отримані результати і теорії кількох найважливіших механізмів пошкодження макромолекул, які звичайно діють паралельно один одному або залежать один від одного і викликають процеси старіння. Будь-який з цих механізмів може займати домінуючу роль у цьому процесі.

У багатьох з цих процесів важливу роль приймають активні форми кисню (зокрема вільні радикали), дані про їхній вплив на старіння був отриманий досить давно і зараз відомий під назвою «вільно-радикальної теорії старіння». Нині цей аспект механізмів старіння набагато більш деталізований.

Теорія соматичних мутацій. Багато робіт показали збільшення з віком числа соматичних мутацій та інших форм пошкодження ДНК, пропонуючи репарацію ДНК як важливий

фактор підтримання довголіття клітин. Пошкодження ДНК типові в клітинах, та викликаються такими факторами як жорстка радіація та активні форми кисню, і тому цільність ДНК може підтримуватися тільки за рахунок механізмів репарації. Дійсно, існує залежність між довголіттям та репарацією ДНК, як це було продемонстровано на прикладі ферменту полі-АДФ-рибоза-полімераза-1 (PARP-1), важливого гравця в клітинній відповіді на викликане стресом пошкодження ДНК. Вищі рівні PARP-1 асоціюються з більшою тривалістю життя.

Накопичення сміття і змінених білків. Також важливим для виживання клітини є кругообіг білків, для якого критичне усунення пошкоджених та зайвих білків. Окислені та карбонільовані білки є типовим результатом впливу активних форм кисню, що утворюються в результаті багатьох метаболічних процесів клітини та часто перешкоджають коректній роботі білка. Проте, механізми репарації не завжди можуть розпізнати пошкоджені білки та стають менш ефективними з віком за рахунок зниження активності протеасом. У деяких випадках, білки є частиною статичних структур, таких як клітинна стінка, які не можуть бути легко зруйновані. Кругообіг білків залежить також і від білків-шаперонів, які допомагають білкам отримувати належну конформацію. Проте, з віком спостерігається зниження їхньої активності, хоча це зниження може бути результатом перевантаження шаперонів (та протеазом) пошкодженими білками.

Існують свідчення, що накопичення пошкоджених білків дійсно відбувається з віком та може відповідати за такі асоційовані з віком захворювання як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона та катаракта.

Мітохондріальна теорія. Важливий зв'язок між молекулярним стресом та старінням був запропонований, засновуючись на накопиченні мутацій в мітохондріальній ДНК (мтДНК). Ці дані були підкріплені спостереженням зростання з віком числа клітин, що бракують цитохром-с-оксидази (СОХ), асоційованих з мутаціями мтДНК. Такі клітини часто мають

порушення у виробництві АТФ та клітинному енергетичному балансі.

Втрата теломер. В багатьох клітинах людини втрата здатності клітин до поділу пов'язана із втратою теломер на кінцях хромосом, що витрачаються після певної кількості поділів. Це трапляється через відсутність ферменту теломерази, який звичайно експресується тільки у зародкових та стовбурових клітинах. Нещодавно було знайдено, що окислювальний стрес (надмірне виділення активних форм кисню) також може мати ефект на втрату теломер, значно прискорюючи цей процес у певних тканинах.

Системні та мережеві механізми. На перших етапах дослідження старіння, численні теорії розглядалися як конкуруючі в поясненні ефекту старіння. Проте, зараз здається, що багато механізмів пошкодження клітин діють паралельно, і клітини також повинні витрачати ресурси на боротьбу з багатьма механізмами. Для дослідження взаємодії між всіма механізмами боротьби та пошкодження був запропонований системний підхід до старіння, який намагається одночасно прийняти до уваги багато таких механізмів. Більш того, цей підхід здатний чітко розрізнити механізми, що діють на різних стадіях життя організму. Наприклад, поступове накопичення мутацій у мітохондріальній ДНК з часом приводить до накопичення активних форм кисню та зниження виробництва енергії, що у свою чергу приводить до збільшення швидкості пошкодження ДНК та білків клітини. Інший аспект, який робить системний підхід привабливим, це розуміння різниць між різними типами клітин та тканин організму. Наприклад, клітини, що активно діляться, ймовірніше постраждають від накопичення мутацій та втрати теломер, ніж диференційовані клітини. Проте, диференційовані клітини ймовірніше постраждають від пошкодження білків, які швидко розбавляються новими білками в клітинах, що швидко діляться. Навіть якщо клітина втрачає здатність до проліферації за рахунок процесів старіння, баланс механізмів пошкодження в ній зсувається.

Клітинна відповідь на старіння. Важливим питанням старіння на рівні клітин та тканин є клітинна відповідь на пошкодження. Через стохастичну природу пошкоджень, окремі клітини старіють, наприклад через досягнення межі Гейфліка, швидше за решту клітин. Такі клітин потенційно можуть загрозувати здоров'ю всієї тканини. У найбільшій мірі така загроза проявляється серед стовбурових клітин та клітин, що проходять через швидкий поділ, таких як клітини кісткового мозку або епітелію кишечника, через великий потенціал таких тканин до створення мутантних, можливо ракових, клітин. Відомо, що саме клітини цих тканин швидко відповідають на пошкодження ініціацією програми апоптозу. Наприклад, навіть низькі дози радіації (0,1 Gy) викликають апоптоз в клітинах епітелію кишечника, а навіть слабкий хімічний стрес викликає апоптоз стовбурових клітин старих мишей.

Як правило, в таких тканинах масовий апоптоз є ознакою зростання числа пошкоджень клітин. Проте, в інших тканинах відповіддю на зростання рівню пошкоджень може бути арешт клітини на певній стадії клітинного циклу для припинення поділу. Баланс між апоптозом та арештом пошкоджених клітин найважливіший як компроміс між старінням та раком. Тобто, або організм повинен вбити пошкоджені клітини, або дати їм можливість існувати, збільшуючи ризик виникнення раку. Таким чином, р53 і скорочення теломер, важливі фактори у викликанні апоптозу клітин, можуть розглядатися як приклад антагоністичної плейотропії, як було вказано вище.

У підсумку, згідно з сучасними поглядами, клітина старіє через накопичення пошкоджень. Швидкість цього накопичення визначається, у першу чергу, генетично визначеними витратами на ремонт та підтримку клітинних структур, які у свою чергу визначаються організмом для задоволення своїх екологічних потреб. Довго-живучі організми мають більші витрати (інколи повільніший метаболізм), що приводить до повільнішого накопичення пошкоджень. Для боротьби з ризиком, який створюють пошкоджені клітини, організм має систему

механізмів для боротьби з ними, які часто залучають другий ряд компромісів.

Синдром передчасного старіння

Є рідкісна спадкова патологія – синдром передчасного старіння, коли старіння організму (і відповідно, смерть) починаються не в похилому віці, а набагато раніше – в юності, або навіть, в дитячому віці. Цю патологію називають ще **прогерія**.



Дитина хвора на синдром Гатчінсона-Гілфорда.

При цій патології у хворого розвиваються всі зміни характерні для старіння. Розрізняють прогерію дітей – **синдром Гатчінсона-Гілфорда** та прогерію дорослих – **синдром Вернера**. Британський лікар Джонатан Гатчінсон вперше описав у 1886 році випадок старіння у шестирічного хлопчика. Гастінгс Гілфорд вивчивши особливості цієї патології запропонував термін прогерія. Прогерію дорослих описав німецький лікар Карл Вільгельм Отто Вернер у чотирьох братів і сестер віком до 30 років і опублікував результати досліджень у 1904 році.

Встановлено одну з причин синдрому Гатчінсона-Гілфорда. Це мутація гена LMNA, що кодує білок ламін А – білок ламіни ядра клітин. Ламіни – білки, які утворюють особливий шар внутрішньої поверхні ядерної оболонки клітин. Ядерна ламіна контактує з хроматином ядра, з комплексами ядерних пор, з ядерними РНК, бере участь у впорядкуванні хромосом у ядрі, в руйнуванні ядерної оболонки під час мітозу та мейозу.



Хвора на синдром Вернера. Хвора – молода людина віком 25 років.

Синдром має аутосомно-рецесивний характер. Супроводжується порушенням процесів репарації ДНК. Простежується атрофія шкіри, епідермісу, підшкірної мезенхіми. Патогенез починається у віці 2-3 років. У хворих збільшені розміри голови, сповільнений ріст, дзьобовидний ніс, загострене («пташине») обличчя. Спостерігається дистрофія м'язів, руйнування зубів, волосся, суглобів, порушення жирового обміну, атеросклероз, помутніння кришталика. Середня тривалість життя – 13 років. В окремих випадках пацієнти доживають до 27 років чи навіть до 45 років (один випадок). Синдром супроводжується молекулярними змінами

характерними для типового нормального старіння, простежується нестабільність геному, в тому числі нестабільність хромосом, зменшення числа теломер, порушення гомеостазу стовбурових клітин.

Синдром Вернера характеризується аутосомно-рецесивним типом успадкування. Одна з причин – мутація гена WRN, що відповідає за синтез АТФ-залежної гелікази. При цьому синдромі простежуються порушення репарації ДНК, зміни в сполучних тканинах – гомогенізація та склероз, сплющення епідермісу, атрофія підшкірної мезенхіми. Патогенез починається в час статевого дозрівання. До 30 років у хворих сивіє та випадає волосся. Розвивається остеопороз, кальцифікація тканин, трофічні виразки, атеросклероз. Висока імовірність онкологічних захворювань. Більшість хворих помирає у віці до 30 років.

ПОПУЛЯЦІЙНА ГЕНЕТИКА

Популяції та гени

Популяція – це група особин певного виду живих організмів, які здатні вільно схрещуватись між собою, ізольовані від таких самих груп особин цього ж виду. Популяція – реально існуюча одиниця, з якої складається вид, реально існуюча одиниця еволюції. Популяція – це безперервний в часі потік онтогенезів, що пов'язані спорідненістю. Популяція – це мінімальна самовідтворююча група особин одного виду, що протягом еволюційно довгого часу населяє певний простір, утворює самостійну генетичну систему і формує власний екологічний гіперпростір.

Популяція – це достатньо чисельна група особин, що протягом великого числа поколінь у високій степені ізольована від інших аналогічних груп особин.

Для вивчення генетики популяцій була запропонована модель – **ідеальна популяція** – популяція, в якій є повна панміксія (вільне невпорядковане схрещування особин), відсутні природний добір, мутаційний тиск, дрейф генів і потік генів. В

реальному житті таких популяцій не існує. В реальних популяціях є певні обмеження щодо схрещування, існує певна статевая структура популяції – моногамія (рівне співвідношення самців і самок, що вступають у статевий процес), полігамія (явище, при якому у статевому процесі на одного самця припадає кілька самок), поліандрія (явище, при якому у статевому процесі на одну самку припадає кілька самців). Крім того, далеко не всі особини з популяції можуть вступати у статевий процес, співвідношення самців і самок, що вступають у статевий процес, може бути різним. Тому розрізняють поняття чисельність популяції – загальне число особин у популяції, і ефективна чисельність популяції, що вираховується за формулою:

$$N_e = \frac{4N_m N_f}{N_m + N_f}$$

де N_e – ефективна чисельність популяції, N_m , N_f – число самців і самок, від яких утворюється нове покоління.

Закон Гарді-Вайнберга-Кастла

Генетику ідеальної популяції характеризує **закон Гарді-Вайнберга-Кастла**, який виражається **формулою Гарді-Вайнберга**, що характеризує частоти зустрічі в популяції генотипів та алелей:

$$p^2 AA + 2pq Aa + q^2 aa = 1$$

Де: p – частота зустрічі алеля A

q – частота зустрічі алеля a

p^2 – частота зустрічі генотипу AA

q^2 – частота зустрічі генотипу aa .

При цьому: $p + q = 1$

Згідно закону Гарді-Вайнберга-Кастла, в ідеальній популяції в стані рівноваги частоти зустрічі генотипів повинні необмежено довго лишатися постійними. Формулу Гарді-Вайнберга можна використовувати для розрахунку рівноважних частот зустрічі генотипів та алелей. Наприклад: припустимо, що

у популяції чисельність генетичних класів співвідноситься так: $2 : 2 : 1$, тобто $4AA : 4Aa : 2aa = 8AA : 8Aa : 4aa$, тоді чисельність алеля А буде становити $8 + 4 = 12$, алеля а $4 + 4 = 8$. Тоді, прийнявши загальне число генів за 1, отримуємо частоти зустрічі алелей: (А) $p = 12/20 = 0,6$ (а) $q = 8/20 = 0,4$ $p + q = 1$. Тепер можна розрахувати, яке буде співвідношення частоти зустрічі у популяції алелей у наступному поколінні панміктичної популяції: $p^2AA + 2pqAa + q^2 = 0,6^2 + 2 \times (0,6 \times 0,4) + 0,4^2 = 0,36 + 0,48 + 0,16$.

Формула Гарді-Вайнберга справедлива при будь-якому співвідношенні генотипів, уже в наступному поколінні вони розподіляються згідно формули. Якщо гени зчеплені, то рівновага встановлюється через тим більше число поколінь, чим тісніше зчеплені гени.

Але у природних популяціях закон Гарді-Вайнберга-Кастла порушується. Причин цьому є багато:

1. Обмеження панміксії або її обмеження. Крайній варіант обмеження панміксії – самозапліднення. При наявності виключно самозапліднення у популяції з кожним поколінням частка гетерозигот у популяції зменшується наполовину, а частота гомозигот невинно зростає, поки вся популяція не розпадеться на **чисті лінії**. Частку гетерозигот (К) у такій популяції можна визначити за формулою:

$$K = 2pq(1/2)^n$$

Де n – число поколінь, $2pq$ – частка гетерозигот в поколінні F_0 .

Порушення панміксії може відбуватись у формі, у якій особини з певними генотипами (однаковими чи різними) схрещуються частіше, ніж цього варто очікувати на основі теорії імовірності. Такі схрещування називаються **асортативні схрещування**. Вони не змінюють частот генів, але змінюють частоти генотипів. Формою асортативних схрещувань є **інбридинг** – схрещування між спорідненими особинами. У популяціях інбридинг приводить до збільшення частот гомозигот, що призводить до **інбердної депресії** – зниження життєздатності популяції. Мірою інбердності служить

коефіцієнт інбридингу (F), який вказує на ймовірність знаходження в даному локусі двох ідентичних за походженням алелів. Якщо спільні предки неінбредовані, то цей коефіцієнт можна розрахувати за формулою Райта:

$$F = (1/2)^{s+d+1} (1 + F_A)$$

Де s – кількість поколінь під батька до спільного предка, d – кількість поколінь під матері до спільного предка A (враховуючи і його), F_A – коефіцієнт інбридингу спільного предка.



Аміші – замкнена релігійна секта, де простежується високий рівень ізоляції внаслідок соціальної поведінки, високий рівень близькоспоріднених шлюбів, що має наслідком високу частоту спадкових захворювань та інбридинг.

2. Дрейф генів – зміна генетичної структури популяції під впливом коливання чисельності популяції. Виникнення нової популяції з поодиноких або дуже малочисельних особин називається **ефектом засновника**. Зміна частот алелів, що виникають тоді, коли популяція різко зменшується в чисельності, називається **ефектом пляшкової шийки (ефектом колби)**. Якщо популяція не дуже мала, то навіть незначні зміни частот

алелів можуть накопичуватися протягом поколінь, тобто виявляти **кумулятивний ефект**. Іноді внаслідок коливання чисельності популяцій нова популяція може виникати з поодиноких особин або з дуже мало чисельних груп виду. Тоді нова популяція може суттєво відрізнятись від інших популяцій по генетичній структурі. Таке явище називається **ефектом засновника**. Така ситуація особливо характерна для ізолятів. Це може обумовити інший шлях еволюції новоутвореної популяції.

3. Потік генів – зміна генетичної структури популяції під впливом міграцій. Зміни частот алелів у популяції, що приймає мігрантів, тим значніші, чим більша доля прибулих і чим істотніше вони генетично відрізняються від старожилів. Нехай частка прибулих у популяції складає m , тоді наступне покоління отримує від старожилів частку генів, яка рівна $1 - m$, а від мігрантів m . Припустимо, що у місцевій популяції частота алеля A складає p_0 , а у прибульців p . Тоді в наступному поколінні частоту алеля A в місцевій популяції можна виразити так:

$$p_1 = (1 - m)p_0 + mp = p_0 - m(p_0 - p)$$

Отже, зміна частоти алеля за одне покоління складає:

$$\Delta p = p_1 - p_0$$

A значить:

$$\Delta p = p_0 - m(p_0 - p) - p_0 = -m(p_0 - p)$$

A після n поколінь:

$$p_n = (1 - m)^n (p_0 - p) + p$$

4. Мутаційний тиск – зміна генетичної структури популяції під впливом мутацій.

Кожен ген здатний мутувати з певною частотою у інший алель. Нехай частоти мутацій у популяції становлять:

$A \rightarrow a$ (u) – імовірність прямих мутацій

$a \rightarrow A$ (v) – імовірність обернених мутацій

тоді:

$$\Delta p = vq - up$$

Причому зміна співвідношення частоти зустрічі алелей йде тільки до певної межі. Потім встановлюється рівновага: $vq = up$ – мутаційний тиск зникає і встановлюється рівноважний стан.

Таким чином, мутаційний тиск не може спричинити високу концентрацію певного алеля:

$$up = v(1 - p)$$

$$p(u + v) = v$$

$$p = v / (u + v)$$

$$q = u / (u + v)$$

5. Тиск добору – зміна генетичної структури популяції під впливом природного добору.

Позначимо пристосованість особин з певним фенотипом чи генотипом як w . Тоді коефіцієнт добору s буде становити:

$$S = w_{AA} - w_{aa}$$

Нехай імовірність залишити нащадків для особин aa на 10 % менша, ніж для особин AA і Aa , тоді $w_{AA,Aa} = 1$, $w_{aa} = 0,9$.

У наступному поколінні:

$$p_1 = p_0 + p_0 s$$

$$q_1 = q_0 - q_0 s$$

Зміна частоти зустрічі гена A за покоління буде становити:

$$\Delta p = p_1 - p_0 = (p_0^2 + p_0 q_0) / (1 - s q_0^2) = a p_0 q_0^2 / (1 - s q_0^2)$$

якщо $s q_0^2$ мале, то:

$$\Delta p = s p q^2$$

Добір, який дає перевагу рідкісним генотипам за певних умов середовища, називають **частотно-залежним добром**. Якщо на певний момент часу генотип є рідкісним, то добір буде сприяти підвищенню його частоти; однак поступово, в міру того, як це відбувається, пристосованість цього генотипу зменшується, а пристосованість альтернативного генотипу зростає. Якщо існує частота, за якої пристосованість генотипів зрівнюється, до досягається стійка поліморфна рівновага навіть за відсутності гетерозису. Частотно-залежний статевий добір виникає, якщо ймовірність схрещувань певних генотипів залежить від їх частоти. Нерідко вибір статевих партнерів здійснюється на користь носіїв рідкісних генотипів та іммігрантів. Це явище називається **перевага статевих партнерів рідкісного типу**, було вивчене на дрозофілі, у якої воно виявляється в особливостях вибору самців самками. Самок і самців двох різних популяцій *Drosophila pseudoobscura* змішували в різних

співвідношеннях. Виявилось, що в тих випадках, коли мухи однієї із популяцій були у виразній меншості (1:23) щодо мух іншої, то самці, що були в меншості, злучалися із самками в декілька разів частіше, ніж самці, що складали більшість. Частотно-залежний добір на користь рідкісних генотипів – це один із механізмів збереження генетичного поліморфізму популяцій, особливо важливий за появи у популяціях нових мутацій і генотипів.

Підсумовуючи основні закономірності змін генетичної структури популяцій, можна зробити такі висновки:

- 1) Коли p або q мале – добір не ефективний, тобто коли ген представлений у популяції єдиною аельною формою, добір може змінити генетичну будову популяції тільки в тому випадку, якщо в ній присутні альтернативні алелі.
- 2) Швидше всього добір діє при середніх значеннях p і q .
- 3) Виникаючі в популяції мутантні гени повинні досягти помітної частоти внаслідок мутаційного тиску або дрейфу генів раніше, ніж добір почне ефективно змінювати їх частоту.
- 4) Хід зміни генетичної будови популяції різний, в залежності від того домінантні чи рецесивні елімінуються гени.

Генетична гетерогенність природних популяцій

Зміна генетичної будови будь-якої реальної популяції являє собою інтегральний результат загальної дії факторів: обмеження панміксії, дрейфу генів, потоку генів, порушення ізоляції, мутаційного тиску, тиску добору. У природних популяціях наявні чисельні рецесивні мутації, що приховано присутні у гетерозиготних фенотипічно нормальних особинах. Спектр цих мутацій не відрізняється від спектру рецесивних мутацій, що виникають спонтанно чи під дією мутагенів. Насиченість природних популяцій рецесивними мутаціями дуже велика і часто майже кожна фенотипічно нормальна особина є гетерозиготною по тій чи іншій мутації. Частота кожного окремого мутантного гена є низькою. Імовірність прояву мутантного гена є низькою. Набори рецесивних мутацій різні в

різних популяціях. Таким чином, кожна природна популяція, ніби губка, вбирає в себе мутації.

Природні популяції за своєю гетерогенністю можна поділити на мономорфні і поліморфні популяції.

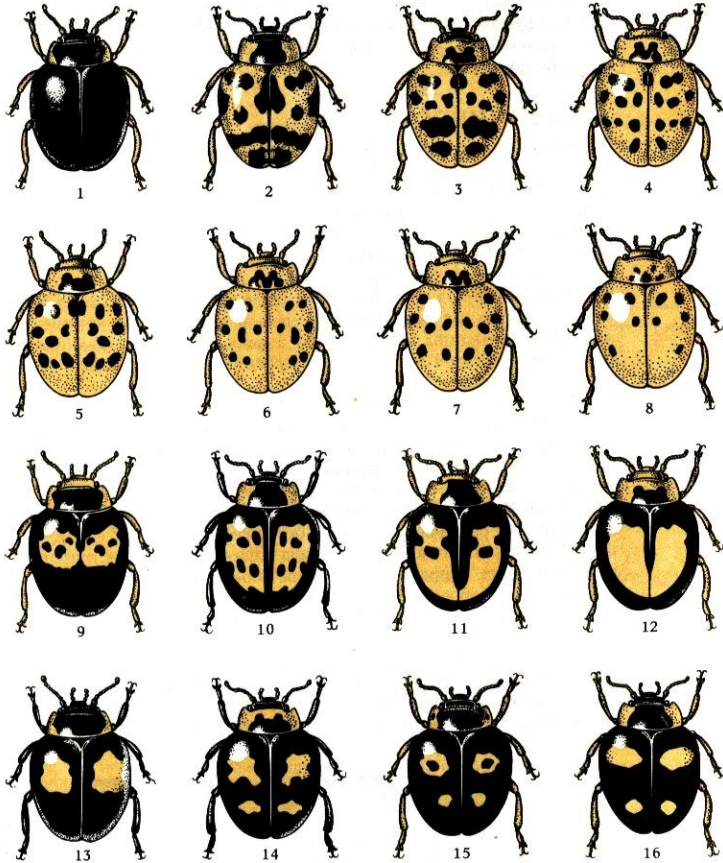


Рис. 66. Поліморфізм популяцій *Adalia bipunctata* (Linnaeus, 1758). В одній популяції зустрічається велика кількість різних морфологічних форм по забарвленню.

Мономорфні популяції – це популяції, що складаються з особин з типовими для даного виду ознаками, змінні особини трапляються у таких популяціях лише зрідка, бо рецесивні мутації із-за малої частоти ніколи не приходять у гомозиготний стан, а домінантні – низькопенетрантні і з’являються тільки у невеликої частини носіїв.

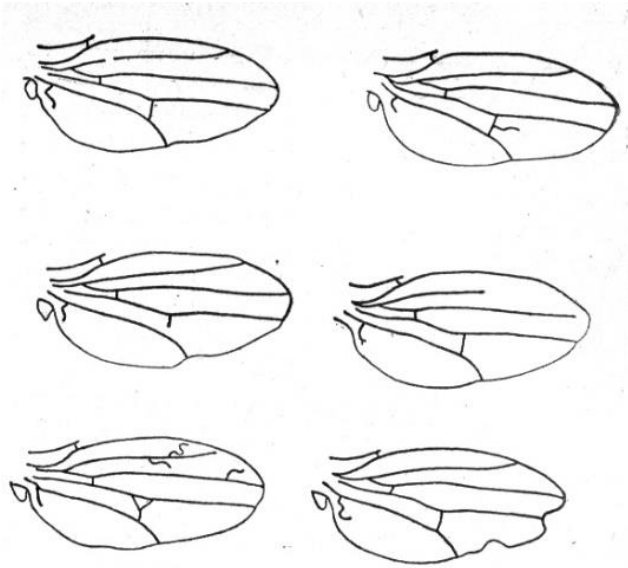


Рис. 67. Низькопенетрантні домінантні мутації дрозофіли широко поширені у природних популяціях.

Поліморфні популяції – популяції, що утворені особинами кількох різних фенотипів чи генотипів. Кількісну оцінку поліморфізму популяцій провадять, використовуючи показники поліморфності (P) – доля поліморфних локусів з числа всіх досліджених локусів геному, і гетерозиготності (H) – відношення кількості гетерозигот до загальної кількості досліджених генотипів.

Причини поліморфізму природних популяцій:

- 1) модифікації;

2) генетичні, що реалізуються в результаті добору – гетерозиготи часто мають більше шансів лишити нащадків ніж гомозиготи. Або ж добір може сприяти то одному, то іншому алелю в силу зміни умов середовища. Поліморфізм або генетичну гетерогенність природних популяцій пояснюють за допомогою **балансової моделі** природних популяцій, що була розроблена С. С. Четвериковим. Згідно цієї моделі в популяції не існує стандартних генів дикого типу. Більшість генних локусів, а може й усі генні локуси, що є у хромосомах особин, зайняті генами, що належать до серій множинних алелів; еволюційні зрушення у популяції йдуть не шляхом добору якогось гена, а шляхом добору комбінації багатьох генів, алелі яких перебувають у певному співвідношенні (балансі) один до одного. Явище, при якому обидві гомозиготи мають меншу пристосованість (адаптивність) і життєздатність, ніж гетерозиготи, називають наддомінуванням або **гетерозисом**. Розрізняють репродуктивний гетерозис – який проявляється у підвищеній плодючості; соматичний гетерозис – який проявляється у підсиленому рості і розвитку; адаптивний гетерозис – який проявляється у підвищенні загальної життєздатності. Гетерозис, який стосується виключно одного гена, при якому $AA < Aa > aa$, називають **моногенним гетерозисом**.

Причину такої переваги гетерозигот пояснюють **теорією біохімічного збагачення**, яка полягає в тому, що у гетерозигот можливий прояв нових форм міжалельної комплементарності, утворення гібридних білків-мультимерів для великої кількості ізозимів. Географічно розділені групи популяцій, що генетично відрізняються одна від одної, називають **расами**. Відмінності між расами відносяться до генофонду в цілому, складаються із змін частот алелів по багатьом локусах. Але раси часто виділяють по якійсь одній ідентифікаційній ознаці, наприклад по забарвленню крил у метеликів.

Розрізняють **спадковий поліморфізм** – існування в популяції цілого ряду морфологічних форм, обумовлених генотипічною мінливістю і відтворюваних під час розмноження;

і **збалансований поліморфізм** – поліморфізм, при якому у популяції між гетерозиготами і гомозиготами встановлюються певні кількісні співвідношення. Адаптивну взаємодію між генами, що складають геном, називають генетичною коадаптацією. В процесі затяжної еволюції сукупність найбільш коадаптованих генів може перетворитися у міцно зчеплені блоки коадаптивних генів, наявністю яких пояснюються адаптивні особливості популяцій, що існують у різних географічних широтах (клінальні відмінності).

В одних і тих же популяціях між одними алелями існує коадаптація, тоді як між іншими вона не виявляється. Коадаптивними у відношенні певних алелів одного локуса іноді можуть бути лише деякі, а не всі алелі іншого локуса. Якщо алелі різних локусів в одних комбінаціях (гаплотипах) зустрічаються частіше, ніж в інших, то це прояв **нерівноважності по зчепленню**. Якщо ж алелі різних локусів поєднуються один з одним згідно з теорією випадковості, то популяція вважається рівноважною по зчепленню.

Природні популяції мають **генетичний вантаж (тягар)** – наявність генетичного вантажу – це явище, при якому генетична гетерогенність природних популяцій призводить до того, що середня пристосованість популяції завжди нижча тої, яка характеризувала б дану популяцію, якби всі її особини мали б генотип, притаманний найбільш пристосованим особинам.

Генетичний вантаж знижує пристосованість популяцій. Генетичний вантаж обумовлюється постійним утворенням менш пристосованих генотипів в результаті розщеплення і комбінування генів, безперервного виникнення мутацій, більшість з яких негативні. Але в цілому для виду генетичний вантаж – це плата за можливість подальшого вдосконалення, бо процеси комбінації генів і мутації можуть бути корисними за тих чи інших умов існування. Генетичний вантаж є мобілізаційним резервом, з якого добір черпає матеріал для подальшої еволюції.

Здатність популяції зберігати свою генетичну структуру у відповідь на вплив чинників зовнішнього середовища називають **генетичним гомеостазом** в основі якого лежать механізми:

збереження рівноважного стану структури популяції у відповідності до закону Гарді-Вайнберга-Кастла; підтримка гетерозиготності і поліморфізму; збереження певного темпу і напрямку мутаційного процесу. Гени існують і відтворюються в цілісних організмах, де вони взаємодіють, утворюючи єдиний **генний баланс**. Тому прояв і збереження тих чи інших алелів у популяції залежить не тільки від факторів динаміки, але й від інших генів, що входять у геноми особин популяції. Природний добір сприяє збереженню в кожному локусі лише тих алелів, які найкраще взаємодіють з алелями інших локусів, тобто утворюють **оптимальний генний баланс**. Кожна нова генна або хромосомна мутація під впливом природного добору вилучається з популяції або зберігається з невисокою частотою, поки вона не потрапить у сприятливе генне оточення. Адаптивну взаємодію між генами, що складають геном, називають **генетичною коадаптацією**. Слабка експресія генів, пересаджених в інший геном, нежиттєздатність або стерильність міжвидових гібридів переконливо свідчать про важливість генетичної коадаптації. В процесі затяжної еволюції сукупність найбільш коадаптивних генів може перетворитися у досить у досить міцно зчеплені **блоки коадаптивних генів**, наявністю яких пояснюються адаптивні особливості популяцій, що існують у різних географічних широтах (**клінальні відмінності**). В одній і тій же популяції між одними алелями існує коадаптація, тоді як між іншими вона не виявляється. Коадаптивними по відношенню певних алелів одного локуса іноді можуть бути лише деякі, а не всі алелі даного локуса. Якщо алелі різних локусів в одних комбінаціях (**гаплотипах**) зустрічаються частіше, ніж в інших, то це є проявом **нерівноважності по зчепленню**. Якщо ж алелі різних локусів поєднуються один з одним згідно з теорією випадковості, то популяція вважається **рівноважною** по зчепленню. Рекомбінації зменшують нерівноважність по зчепленню, отже ймовірність збереження сприятливих сукупностей алелів у стані, нерівноважному по зчепленню, зростає за зниження частоти рекомбінацій між відповідними локусами. Це може бути наслідком транслокацій або інверсій.

Якщо добір сприяє нерівноважності по зчепленню, то він буде сприяти також хромосомним перебудовам, які збільшують зчеплення між локусами. Декілька тісно зчеплених локусів, що впливають на прояв однієї ознаки або на цілу серію взаємопов'язаних ознак, називають **супергеном, складним локусом** або **множинним локусом**. Прикладом суперменів у людини слугують кластери гемоглобінових генів. Гени поліпептидних ланцюгів α -типу, що входять до складу гемоглобіну, тісно зчеплені в послідовність довжиною 30 kb, локалізовані в хромосомі 16. Гени імуноглобулінів також утворюють супермени. Розташований у хромосомі 6 суперген HLA містить 4 локуси, які кодують антигени гістосумісності, а також деякі гени з близькими функціями.

Адаптивні зрушення в генетичній будові популяції, які спочатку є цілком зворотними, під час еволюційного процесу можуть закріпитися шляхом незворотних перебудов структури генотипів і це, очевидно, є основою подальшої дивергенції і видоутворення. Наука, яка вивчає процес адаптивності комбінацій генів, що виникають в популяціях називається **екологічна генетика**.

Інбридинг у популяціях людини

У людини шлюбні відносини між батьками і дітьми або між братами і сестрами називаються кровозмішуванням. У більшості людських культур існує сувора заборона на подібні шлюби, хоча в династіях єгипетських фараонів вони зустрічалися часто. Шлюб між близькими родичами, такими як двоюрідні брати і сестри, також часто бувають заборонені законом чи релігійними звичаями. У ЗСА приблизно в половині стейтів існують закони, що забороняють шлюби між дядечком та племінницею, між двоюрідними сибсами.

У більшості випадків закони і релігійні звичаї забороняють шлюби між близькими родичами, але іноді трапляються виключення. У римській католицькій церкві шлюби між дядечком та племінницею, двоюрідними та троюрідними сибсами та іншими двоюрідними родичами вимагають

спеціального дозволу церковної влади. Церковноприходські архіви являють собою одне з кращих джерел інформації про шлюб між родичами в популяціях людини.

У деяких суспільствах шлюби між родичами не тільки дозволені, але і вважаються бажаними. В Японії, наприклад, шлюби між двоюрідними сибсами заохочуються і в низці місцевостей та в деяких соціальних групах складають до 10% загального числа шлюбів. У стейті Андхра-Прадеш (Індія) є каста які схвально ставляться до шлюбів між дядечком і племінницею і такі шлюби складають до 10 % шлюбів у цих кастах.

У результаті інбридингу в популяціях людини зростає частота появи гомозигот по різним шкідливим мутаціям. Частота гомозигот по рецесивному летальному алелю при темпі мутування $u = 10^{-5}$ серед нащадків шлюбів між двоюрідними сибсами приблизно в 20 разів вища, аніж при випадкових схрещуваннях.

Таблиця 23. Інбредна депресія в популяціях людини. Частота різних захворювань, фізичних та розумових дефектів у дітей, батьки яких не є родичами і в дітей від шлюбу між двоюрідними сибсами (Stern C., 1973).

Популяції	Батьки є не родичі		Батьки – двоюрідні сибси	
	Величина вибірки	Частота %	Величина вибірки	Частота %
ЗСА	163	9,8	192	16,2
Франція	833	3,5	144	12,8
Швеція	165	4,0	218	16,0
Японія	3570	8,5	1817	11,7
Середнє		6,5		14,2

У випадку шкідливих, але не летальних рецесивних алелей при коефіцієнті добору $s = 0,1$ рівноважна частота алеля рівна q

$= \sqrt{10^{-5}/10^{-1}} = \sqrt{10^{-4}} = 0,01$. Серед нащадків шлюбів між двоюрідними сибсами частота гомозигот буде приблизно в 7 разів вищою, аніж при випадкових схрещуваннях. Якщо ж коефіцієнт добору $s = 0,01$; то теоретично очікувана частота гомозигот серед нащадків від шлюбів між двоюрідними сибсами буде приблизно в 3 рази вища, аніж при випадкових схрещуваннях.

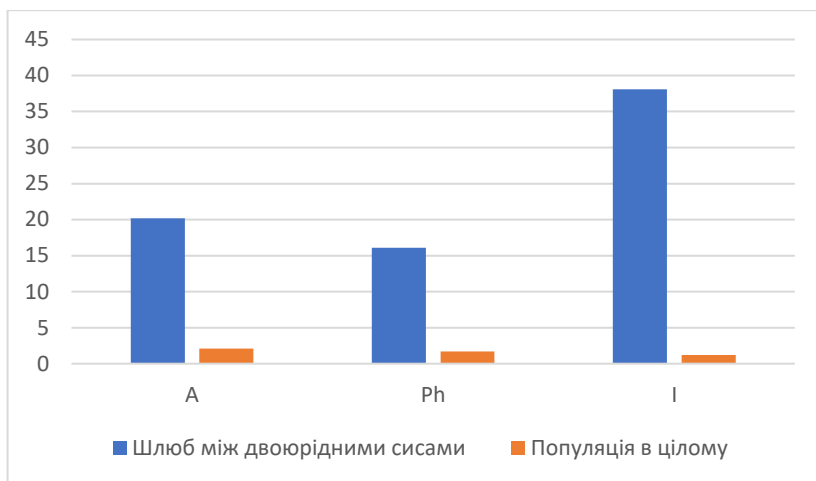


Рис. 68. Частота появи дітей зі спадковими захворюваннями у шлюбах між двоюрідними сибсами і в людській популяції в цілому. А – альбінізм, Ph – фенілкетонурія, I – спадкових іхтіоз.

Загалом частота появи дітей з різними дефектами чи захворюваннями серед нащадків від шлюбів між двоюрідними сибсами приблизно в 2 рази вища, аніж від шлюбів між людьми, що не є родичами (табл. 23). Це менше, аніж впливає із розрахунків. Але розрахунки велися щодо рецесивних мутацій, а не різних патологій в цілому. Щодо домінантних мутацій, то їх частота прояву в нащадків не залежить від рівня спорідненості батьків. На малюнку 56 проказано, що частота появи гомозиготних дітей з різними рецесивними спадковими патологіями набагато вища від очікуваної у шлюбах між

двоюрідними сибсами і набагато вища ніж від шлюбів між людьми, що не є родичами.

Особливості соціальних відносин часто призводять до певних генетичних наслідків. До 1700 року римська католицька церква надзвичайно рідко дозволяла шлюб між родичами. Число таких шлюбів серед католиків Європи зростало протягом 1700 – 1850 років, а потім почало зменшуватись. Висока частота шлюбів між родичами в ХІХ столітті, зокрема пояснюється відміною Наполеоном Бонапартом права первістків, що призвело до дроблення земельної власності. Шлюби між родичами протидіяли цій тенденції.

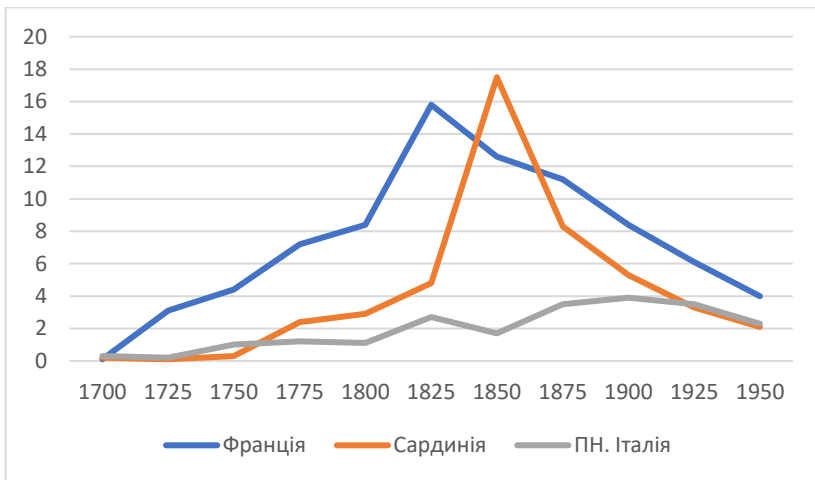


Рис. 69. Частота шлюбів між родичами у трьох європейських популяціях в 1700 – 1950 роках (Moroni A., 1969).

Промислова революція, завдяки якій зросла мобільність населення відповідальна за зниження частоти шлюбів між родичами в 1850 – 1900 роках. Але якими б не були причини цих змін, вони мали важливі генетичні і медичні наслідки, оскільки впливали на частоту появи в популяції шкідливих рецесивних ознак.



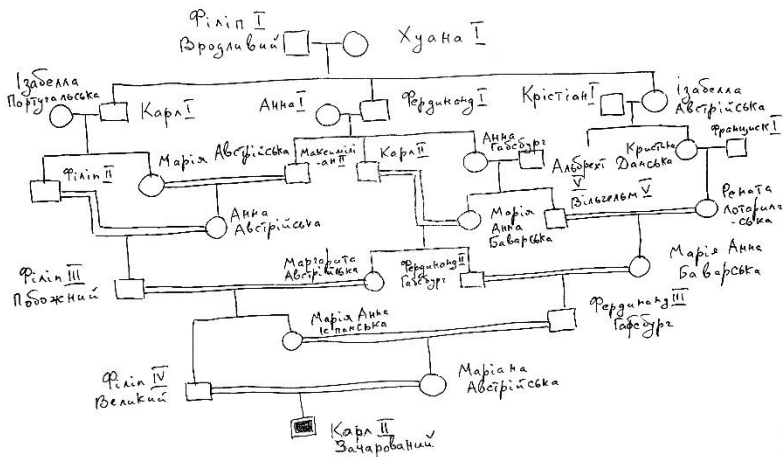
Жителі острова Пальмерстон. Всі жителі цього острова, популяція людей, що нараховувала до примусового розселення Британською владою більше 5000 – нащадки одного єдиного матроса – Джона Майстера. Інbredна депресія не спостерігась внаслідок гетерозису – віддаленої міжрасової гібридизації в рамках полігамної сім'ї і гетерозиготності всіх нащадків.



Джон Майстер – засновник популяції людей на острів Пальмерстон.



Приклад індбредної депресії в популяціях людини. Король Іспанії Карл II Зачарований Габсбург. Страждав низкою спадкових патологій, в тому числі вадами розвитку, мав розумову відсталість, безпліддя в результаті низки близькоспоріднених шлюбів його предків, саме за це і був названий «зачарованим». На ньому увірвався рід іспанських Габсбургів.



Родовід Карла II Зачарованого. У родоводі наявна низка шлюбів між близькими родичами.

Генетика кількісних ознак як основа селекції

Ознаки які простежуються у будь-якому організмі можна розділити на дві групи – **якісні**, які характеризуються дискретністю, альтернативністю і **кількісні** по яким між різними особинами спостерігаються поступові малопомітні переходи, а при розщепленні немає ясно виражених фенотипічних класів. Ці ознаки доводиться вивчати шляхом вимірювань чи підрахунків, що дозволяють дати ознаці цифрову характеристику. До таких ознак належать вага, розміри тіла, плодовитість, вміст білків і жирів, число однакових частин в певному органі і т. д.

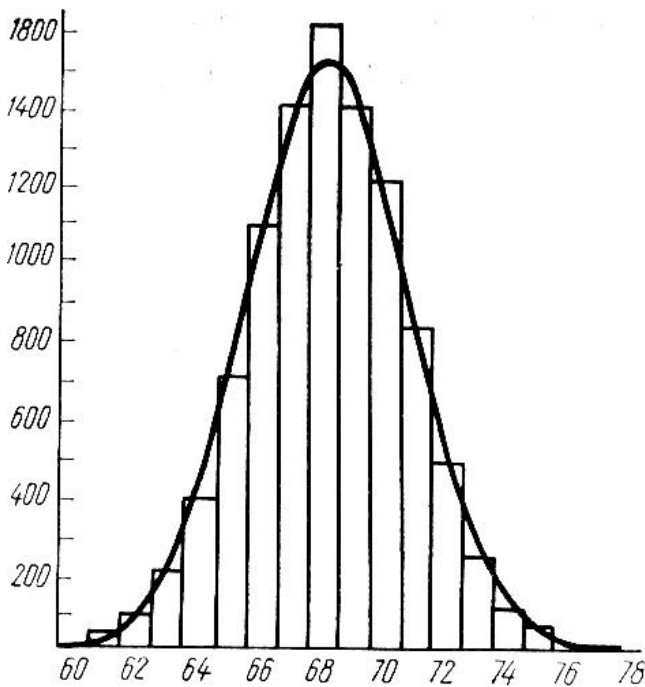


Рис. 70. Розподіл по росту 10004 американських індіанців (чоловіків) згідно робіт Девенпорта та Лав. Накладена теоретична крива нормального розподілу при тій же середній арифметичній і тій же мінливості. Ріст вказаний у дюймах. По горизонталі: ріст в дюймах, по вертикалі – число особин.

Суворої межі між кількісними і якісними ознаками часто провести неможливо: деякі кількісні ознаки можуть мати дискретний характер (високий – карликовий та ін.) Але якісне описання таких ознак можливе лише в деяких випадках. Для дослідження успадкування кількісних ознак досліджувану ознаку вимірюють у всіх особин досліджуваної групи і отримані дані розбивають на довільне але невелике число класів в кожному з яких об'єднані особини більш чи менш схожі по значенню ознаки. Сукупність таких класів становить **варіаційний ряд** який зручно зображати у вигляді **гістограми** – стовбчиків з основами, що відповідають класовому інтервалу і висотою, що відповідає числу **варіант** (досліджених особин) в класі або у вигляді **кривої розподілу**. Кількісні ознаки більш мінливі ніж якісні. Це пояснюється тим, що успадкування відмінностей особин по тій чи іншій кількісній ознаці обумовлені взаємодією багатьох пар полімерних генів, причому кожний ген виявляє суттєвий вплив на розвиток ознаки. Крім того кількісні ознаки сильніше залежать від зовнішніх факторів середовища ніж якісні.

В якості мірила мінливості в цих випадках використовують **середнє квадратичне відхилення (σ)** яке вираховують по формулі:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum fa^2}{n-1}}$$

Де f – число варіант в класі, a – виражене в числі класів відхилення кожного класу від класу в якому знаходиться умовна середня, n – число особин.

При схрещуванні особин, що відрізняються по кількісній ознаці в першому поколінні як правило не спостерігається домінування ознаки одного з батьків, в другому поколінні немає чіткого розщеплення на невелике число фенотипічних класів, що знаходяться між собою в певних і характерних чисельних співвідношеннях. Але кількісні ознаки теж підпорядковуються законам Менделя. Вперше це продемонстрував Нільсон-Еле. На основі результатів своїх досліджень він висунув гіпотезу згідно

якій особливості успадкування кількісних ознак обумовлюються полімерними генами. Мінливість будь-якого кількісної ознаки в будь-якій групі особин обумовлена сумісною дією генетичних факторів і різноманітних факторів оточуючого середовища (сукупність яких об'єднують загальним поняттям **паратипічних** факторів). Коефіцієнт успадкування являє собою величину, що показує яка частка генетичної компоненти у фенотипічній мінливості кількісної ознаки яка вивчається. Фенотипічна мінливість ознаки характеризується середнім квадратичним відхиленням або квадратом цього відхилення – **варіансою** (σ^2). Загальна фенотипічна варіанса (σ^2_P) складається з варіанси, що обумовлена генетичною різноманітністю особин (σ^2_G) та варіанси, що обумовлена паратипічними впливами (σ^2_E). Тоді частка генетичної компоненти може бути виражена співвідношенням:

$$h^2 = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_G^2 + \sigma_E^2} = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_P^2}.$$

Це і є коефіцієнт успадкування. Цей коефіцієнт дозволяє судити лише про питому вагу генотипічної мінливості і тільки в конкретній групі особин.

ГЕНЕТИКА ЕВОЛЮЦІЇ

Популяція – елементарна одиниця еволюції

У будь-якій області біологічних досліджень доводиться розділяти досліджуваний матеріал на певні одиниці, що потім не підлягають поділу в контексті даної області досліджень. У генетиці такою одиницею є ген, у систематиці – вид, в екології – біогеоценоз. Таке розділення відображає дискретну природу життя. В еволюційних дослідженнях такою одиницею виявилась популяція.

Будь-які зміни окремих особин до будь-яких еволюційних процесів самі по собі призвести не можуть: індивідуально та дискретно виникаючі зміни повинні бути груповими, підпадати

під дію тих чи інших еволюційних факторів. Це можливо лише в рамках популяції як мінімальної, довгоіснуючої, організованої групи особин, що неподільна без втрати її цілісності та інших властивостей (і в цьому сенсі елементарна) і має власну **еволюційну долю**.

Іноді при визначенні популяції відкидається **принцип елементарності** її як еволюційної одиниці. При цьому начебто виникає можливість несуперечливого визначення популяції як будь-якої самовідворювальної групи, що складається з особин, імовірність схрещування яких з особою цієї групи вище, аніж з особиною не з цієї групи, і які несуть гени в низці поколінь об'єднані в складі геному однієї особини (Міна М. В., 1986). Але таке логічне визначення застосовуване і до окремої популяції в еволюційно-генетичному сенсі цього терміну, і до будь-яких груп популяцій, геть аж до підвиду, виду, до груп, що іноді включають навіть близькі види. Це можливе під час випадків **міжвидової інтрогресії генів**. Визначені Міною М. В. групи особин реально існують в природі в особин, що розмножуються схрещуванням. Але вони являють собою інший природний феномен, лише частково співпадаючий з популяціями як елементарними одиницями еволюції і мінімальні по величині самостійними природно-історичними групами особин.

У природних популяціях або поступово, або відносно різко змінюється частота різних генотипів: один набір і числові співвідношення генотипів змінюються іншим набором і відповідними частотами. Така зміна популяційного аделофонду – генотипічного складу популяції – є елементарною еволюційною подією. Не тимчасову флуктуацію генетичного складу популяції (що відбувається всюди і безперервно у будь-якій популяції), а тільки достатньо тривалу зміну можна вважати елементарною еволюційною подією. Критерієм тривалості виявляється час (у числі поколінь), що необхідний для виникнення генетичної рівноваги: перехід від одної генотипічної рівноваги до іншої і буде елементарним еволюційним явищем. Кожне таке явище виникає у природній популяції не саме по собі,

а в результаті дій елементарних еволюційних факторів на елементарний еволюційний матеріал.

Елементарним еволюційним матеріалом виявляються мутації – дискретні зміни дискретних одиниць спадкової інформації – генів, хромосом, хромосомних наборів і таких реплікуючих позаядерних структур як пластиди, мітохондрії, плазмиди, що теж несуть генетичну інформацію, а також транспозонів – мобільних генетичних елементів (МГЕ). Мутації є причинами змін різних ознак і властивостей фенотипу в цілому, їх комбінації та рекомбінації визначають всю мінливість живих організмів, а також гетерогенність природних популяцій і відмінності між таксонами.

Елементарними еволюційними факторами, тобто причинами, що первісно викликають зміни генотипічного складу популяцій є чотири фактори:

- 1) мутаційний процес;
- 2) коливання чисельності (популяційні хвилі або хвилі життя);
- 3) ізоляція;
- 4) природний добір.

Ці фактори по характеру дії можна розділити на дві групи: (1-3) фактори, що ненаправлено і стохастично змінюють генотипічний склад популяцій (їх часом називають генетико-автоматичними процесами); (4) – природний добір – єдиний направлений фактор еволюції. При цьому мутаційний процес, дрейф генів, популяційні хвилі є **факторами-постачальниками** елементарного еволюційного матеріалу, ізоляція – **фактором-посилувачем** генетичних відмінностей, що виникають, а природний добір – єдиним фактором, що формує адаптації.

Будь-яка популяція постійно підпадає під сумісний тиск усіх чотирьох елементарних факторів еволюції: в популяціях всіх організмів постійно відбувається мутаційний процес, у всіх популяціях відбуваються флуктуації чисельності, будь-яка популяція ізольована від сусідніх, постійно наявний природний добір. Але тиск цих факторів може змінюватися незалежно один від одного і достатньо різко.

Тиск мутаційного процесу може змінюватись в зв'язку з локальними підвищеннями фону фізичних та хімічних мутагенів. В історії будь-якої популяції час від часу відбувається підвищення або зниження чисельності (що призводить до змін тиску популяційних хвиль як еволюційного фактору). Ізоляційні бар'єри, що обмежують будь-яку популяцію, час від часу зростають або знижуються. Нарешті, постійно змінюється вектор (тиск і напрямок) природного добору (хоча, тиск добору в більшості випадків виявляється вище сумарного тиску всіх інших елементарних факторів). Це посередньо підтверджується швидким виникненням резистентності до інсектицидів у комах, виникненням нечутливості до високих концентрацій важких металів в ґрунті в деяких рослин та іншими прикладами виникнення адаптацій, якими може бути свідком дослідник.

Дію кожного з цих факторів необхідно розглядати завжди по відношенню до конкретної популяції, а не до виду в цілому.

Природні популяції кожного виду перебувають в матриці різного роду взаємодій. Характер цих взаємодій визначається, переважно, рівнем тиску ізоляції між цими популяціями. По біологічному вмісту такі взаємодії можуть бути двох типів. До першого типу відносяться випадки одnobічних або двобічних міграцій особин окремих генотипів, що перебувають під особливим тиском добору з однієї популяції до іншої (**дифузія алелів**). Таким чином прогресивні ознаки і властивості (що завжди відносно) можуть поширюватись в межах ареалу виду, доки не досягнуть або нездоланих бар'єрів або адаптивних меж.

Крім такої дифузії алелів можливий інший тип взаємодії між популяціями: витіснення особин однієї популяції іншою. Цим шляхом відбувається розселення однієї популяції за рахунок іншої, що можливо лише в тих випадках, коли одна з популяцій щодо більшості особин цієї популяції досягає більш високого рівня відносної життєздатності у конкретній сукупності екологічних умов. Ці два типи взаємодії популяцій являють

собою крайні випадки: в природі повинні спостерігатися всі перехідні події.

Аналіз популяційних процесів з мікроеволюційної точки зору є важливим завданням під час будь-якого вивчення природних популяцій.

Вплив особливостей популяції на формування еволюційних явищ

Елементарні еволюційні явища лежать в основі всіх подальших, більш крупних, механізмів та явищ в еволюції, що складають її первісний вихідний момент. Різні особливості популяції безпосередньо або опосередковано впливають на формування еволюційних явищ. Не можна забувати і про те, що при визначенні властивостей самих популяцій первісним виявляється дія елементарних еволюційних факторів.

Найважливіші особливості популяцій, які впливають на формування елементарних еволюційних явищ, наступні: величина популяції, рівень ізоляції популяції від сусідніх популяцій, стан популяції в загальній системі популяцій виду (периферійний чи центральний), статева структура, вікова структура популяції.

Зменшення ефективної величини популяції та ареалу популяції (сумісно з іншими рівними умовами) повинно прискорювати більшість змін, що виникають. При цьому, як свідчить практика, буде суттєво посилюватись роль стохастичних факторів.

Зниження тиску ізоляції призводить до більшого впливу сусідніх популяцій, що ніби розчиняють специфічний генотипічний склад конкретної популяції. Високий рівень ізоляції підвищує імовірність змін генотипічного складу популяції під впливом стохастичних факторів. Збільшення рівня ізоляції (разом з одночасним зменшенням розміру популяції) різко підвищує імовірність прояву рецесивних мутацій і призводить до підвищення гомозиготності популяції. Це, з одного боку, може прискорити виникнення елементарного еволюційного явища, а з іншого – різко обмежити потенційні

зміни тиску і напрямку добору, може поставити популяцію перед загрозою вимирання.

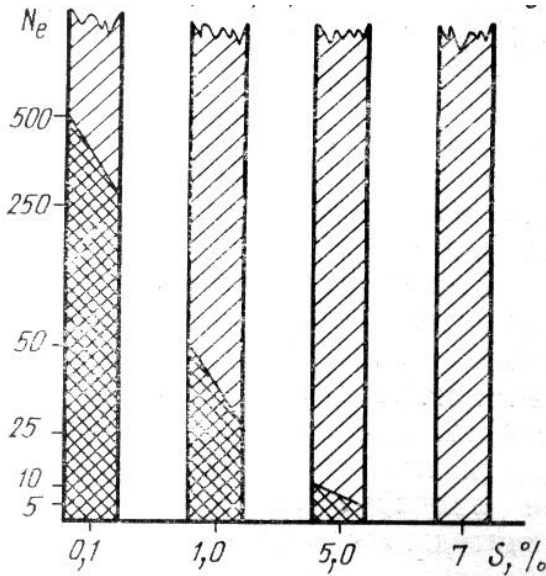


Рис. 71. Відносні значення природного добору (направленого фактору) та стохастичних еволюційних сил (дрейфу генів) при різних ефективних величинах популяції (N_e). S – коефіцієнт добору (R. Berry, 1971).

Загалом ефект ізоляції виявляється сприятливим для швидкого формоутворення: аналіз випадків швидкого формоутворення деяких острівних форм однозначно свідчить про це. З 30 досліджених у Великобританії підвидів дрібних ссавців (мишей та полівок) 29 (97 %) виявлені саме на островах (R. Berry, 1977).

Маленькі і сильно ізольовані популяції частіше зустрічаються на периферіях видового ареалу: загального видового ареалу, окремих, ізольованих одна від іншої частин видового ареалу, на еколого-фізіологічній периферії (біля висотних, температурних та інших будь-яких меж поширення виду).

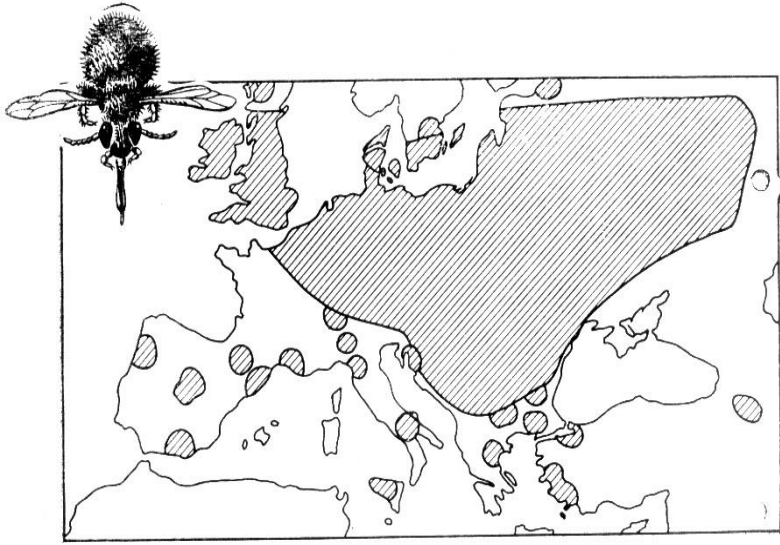


Рис. 72. Виникнення фенотипічно відмінних груп популяцій на периферії ареалу (W. Reinig, 1939). У безперервному ареалі основного підвиду джмеля *Bombus agrorum* географічна мінливість порівняно невелика. Більшість периферійних груп популяцій морфологічно відрізняються від інших і більшість з них є самостійними підвидами.

На їх основі можуть виникати групи популяцій, що значно відрізняються генотипічною складовою (і фенотипічною) від основної частини виду; саме така ситуація була виявлена W. Reinig, 1939 під час вивчення географічної мінливості джмеля *Bombus agrorum* в Європі. Частіше саме на периферії видового ареалу виявляються поліплоїдні форми та інші відхилення.

З генетичної точки зору периферійні популяції виявляються частіше з меншим розміром генетичного вантажу (і відповідно, з меншим резервом мобілізаційної мінливості), з

меншим числом леталей і меншою гетерозиготністю (P. Pfrim, 1983).

Імовірно, кожна популяція на межі ареалу може мати менший об'єм генетичної мінливості. Але сумісно всі межові (кресові) популяції будуть більш різноманітні, аніж центральні. Отаке то життя на кресах! А ви думали...

Структура популяції щодо багатьох вікових груп призводить до одночасного існування в популяціях кількох поколінь дорослих, що перекриваються і розмножуються. Це може суттєво ускладнити систему схрещувань у такій популяції і послабити ізоляцію в часі між поколіннями в порівнянні з популяціями, що мають у момент розмноження особин лише одне покоління або одну вікову групу. Така ситуація може бути не сприятлива для виникнення і закріплення елементарних еволюційних явищ і наступного формоутворення. Мала популяційна дослідженість більшості видів не дозволяє наводити порівняльні дані щодо різних видів, але посереднім підтвердженням цього висновку може служити явище виявлене М. В. Міною (1971): зворотний зв'язок між числом видів в роді і числом вікових груп, що розмножуються одночасно і поколінь, що характерні для популяцій конкретного роду.

Є дані, що свідчать про існування достовірно високої і тривалої кореляції між числом річних класів чи вікових груп, що одночасно розмножуються в різних видів в родині лососевих риб (Salmonidae), і рівнем «прогресивності» каріотипу (що визначається по індексу каріотипічного різноманіття щодо вихідного каріотипу $2n = 100$, $NF = 100$).

Процес формоутворення в цілому і процес еволюції каріотипу не обов'язково повинні співпадати в часі, хоча імовірність закріплення в процесі мікроеволюції нової мутації у широкому розумінні цього поняття (в тому числі і будь-якої хромосомної перебудови), повинна бути вища в форм з більш сильною ізоляцією в часі, тобто при меншому числі поколінь, що перекриваються і різних вікових груп, що розмножуються одночасно.

Між відхиленням від вихідного співвідношення статей 1 : 1 і особливостями формування еволюційних явищ не простежується певного зв'язку. Різке відхилення від рівноважного співвідношення статей є переважно спеціальними адаптаціями для певних популяцій і не впливають самі по собі на швидкість чи інші особливості процесу мікроеволюції.

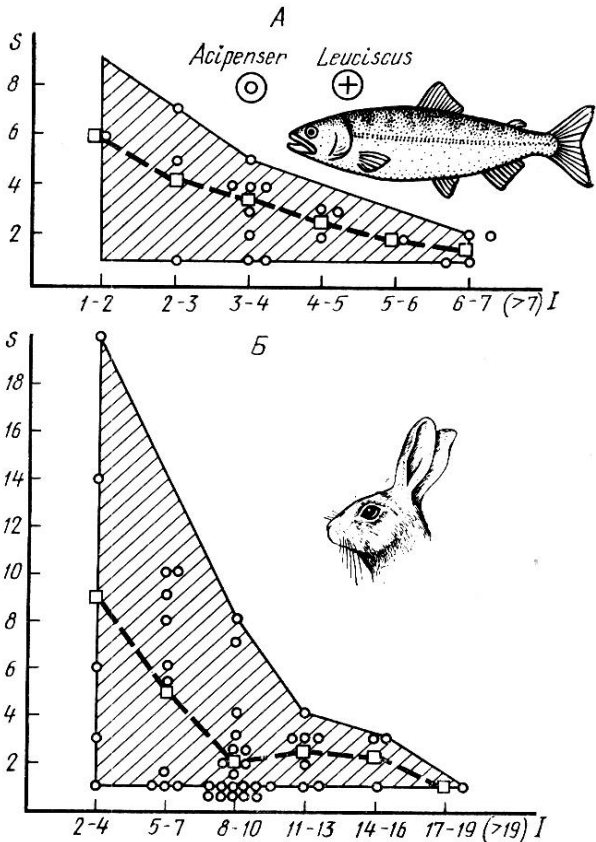


Рис. 73. Зв'язок між числом видів у роді і числом поколінь, що одночасно розмножуються серед риб (А) та ссавців (Б) (Міна М. В., Тимофеев-Ресовський Н. В., 1977).

В агамних та партеногенетичних форм можливості еволюційної апробації спадкових форм, що виникли de novo вища: в них будь-яка мутація одразу ж проявляється, не приховується в гетерозиготному стані. Але темп еволюції таких форм нижчий, аніж в двостатевих організмів. Їх широкі можливості пристосувань до різких змін умов середовища гальмують прогресивний розвиток, що пов'язаний з отриманням адаптацій більш широкого значення. Другою важливою еволюційною якістю таких популяцій є здатність переносити більш різкі коливання чисельності: виникнення цілої популяції можливе від єдиної **пропагули**, що зберігає часом життєздатність довгий період часу.

Просторово-генетична структура популяції – важливий фактор, що впливає на виникнення елементарних еволюційних явищ. В одних випадках відбувається розділення популяції на групи демів, що зберігають свою самостійність протягом низки поколінь, в іншому випадку відбувається інтенсивне «перемішування» особин. Таке от спостерігається в популяціях деяких видів качок (з величезним радіусом репродуктивної активності) або в риб при наявності одного або кількох нерестилищ для всієї популяції. Звичайно, ці ситуації утворюють різний еволюційний фон для виникнення і поширення стійких змін генофонду популяції: під час наявності рівних умов у першому випадку генотипи, що знову виникають виявляються локалізованими протягом низки поколінь, у другому випадку – можуть швидко поширитись по всій популяції. Але в першому випадку популяція може являти собою мозаїку генетично відмінних демів з якої (під час зміни вектора добору) можливий швидкий добір і розмноження (з повним використанням потенції геометричної прогресії розмноження) рідкісного генотипу. У другому випадку такий процес буде явно сповільнений.

С. Райт у 1948 році встановив, що швидкість мікроеволюції повинна бути більша в розділеній на дрібні групи особин популяції в тому випадку, якщо кожна з груп підпадає під власний вектор природного добору. Якщо такі групи особин представлені острівцями, то характер поширення нового алеля

буде відповідати моделі «stepping – stone» (моделі «каменю для переходу через струмок»), яку розробили Мотоо Кімура (木村資生) (1924 – 1994) та Г. Вейсс (1963). Згідно цій моделі найближчі острівці мають генофонд, більш корельований з предковим, чим островці, взяті випадково. Відповідно, чим більше проміжних острівців виявляються між двома острівцями, що порівнюються, тим більш корельованими будуть їх генофонди (не дивлячись на те, що загальна дистанція між острівцями лишається тою ж самою). Насправді, замість зміни алелофонду «одним стрибком» потік алелей через багато проміжних острівців повинен привести до змін кожного маленького острівця, і цей процес повинен повторюватись багато разів (D. Levin, H. Kerster, 1969).

Подібних модельних ситуацій відомо багато в теоретичній популяційній біології. У той же час в будь-якій популяції діє одразу велике число різних факторів. Ясно, наприклад, що (при наявності інших рівних умов) розділення популяції на дрібні групи особин є одним з реальних умов для швидкої еволюції. Саме таке розділення і відбувається, наприклад, в більшості гризунів роду *Marmota*, що утворюють стійкі багатосімейні групи протягом багатьох років. Але виявляється, що дифузія алелей за рахунок дуже активної міграції молодих особин настільки велика, що перешкоджає фіксації генетичних варіантів, що виникають (O. Schwartz, K. Armitage, 1980).

Загалом, можна прийти до висновку, що просторово-генетична структура популяції буде визначати просторово-генетичну структуру виду в цілому: у видів з дуже великими радіусами репродуктивної активності процеси формоутворення сповільнені (В. Грант, 1985).

Існує прямий зв'язок між рівнем генетичної мінливості популяції і можливістю швидких змін. Ця теза не тільки основана на теоретичних розрахунках (R. Fisher, 1930), але і підтвержене прямими дослідженнями. Так були створені експериментальні популяції дрозофіл, що складались з різних ліній різного походження – ці популяції мали підвищену генетичну мінливість і швидкість її змін була в середньому в два рази вища, ніж у вихідних популяціях.

Таблиця 10. Зв'язок між рівнем генетичної мінливості і швидкістю еволюції (що визначається по швидкості зміни чисельності протягом 25 поколінь) у лабораторних популяціях *Drosophila serrata* Malloch, 1927 (згідно досліджень Ф. Аюала, 1965).

Лінія	t°C	Середнє число мух в популяції $\bar{X} \pm S_x$	Середня швидкість збільшення числа мух за покоління
«Попондетта» (Нова Гвінея)	25	1862 ± 79	31,5 ± 13,8
«Попондетта» Х «Сідней» (Австралія)	25	2750 ± 112	58,5 ± 17,4
«Попондетта»	19	1724 ± 58	25,2 ± 9,9
«Попондетта» Х «Сідней»	19	2677 ± 102	61,2 ± 13,8

Загалом, можна сказати, що особливості популяції, безсумнівно, повинні впливати на швидкість фіксації елементарних еволюційних явищ. Питання полягає в тому, чи буде це явище визначальним в порівнянні з дією різних елементарних еволюційних факторів. Безсумнівно, що всі популяції певного виду мають різні еволюційні потенції.

Популяція і систематика

Популяції є нижчими встановленими, тривадий час існуючими в еволюції групами певного виду, що займають певний ареал у середині виду. Всі популяції неминуче відрізняються одна від одної певними особливостями і зрештою генетично унікальні. Як стійку і генетично унікальну групу особин популяцію можна було б вважати крім всього іншого ще й елементарним, нижчим таксоном.

Але насправді, це не так. Будь-який таксон характеризується тими або іншими морфологічними ознаками і займає певний ареал. Популяції теж займають ареал, але характеризуються не настільки різними своєрідними ознаками, що притаманні більшості особин, а різними співвідношеннями генотипів (алелей). Популяції не обов'язково виражаються в фенотипічно встановленій відмінності всіх (або більшості) особин однієї популяції від іншої. Тому, будучи елементарним розділом видового населення, популяції автоматично не можуть бути включені в систему внутрішньовидових таксонів.

У той же час в систематиці необхідно враховувати популяції. Іноді підвиди можуть співпадати або з окремими популяціями, або (що буває частіше) з невеликою групою відокремлених популяцій. Під час розширення популяційних досліджень число випадків, коли певні групи популяцій будуть відрізнятися від сусідніх на рівні 75 % відмінності особини (формальний ранг підвиду в зоологічній систематиці), буде зростати. Наприклад, безсумнівно, що багато з 200 (!) описаних підвидів *Thomomys bottae* (дослідження J. Patton, 1983) є окремими крупними популяціями або групами, що складаються з дуже небагатьох популяцій. Потрібно врахувати і лавиноподібне збільшення числа ознак, що залучаються до вивчення внутрішньовидової мінливості з фенетичним підходом. Все це дозволяє передбачити в найближчому майбутньому різке збільшення числа описаних підвидів.

Знання популяційної структури видового ареалу здатне в будь-якому випадку значно уточнити чисельні проблеми внутрішньовидової систематики. Є кілька цікавих прикладів такого аналізу. Перший йде зі сторони генетичного дослідження і стосується ситуації з комплексом видів дрозofil *Drosophila willistoni*. При цьому замість класичної схеми «популяція – підвид – вид» виявилось неминучим виділення категорій: «популяція – підвид – напіввид – вид – надвид». Другий приклад йде зі сторони систематики і стосується дослідження складного комплексу форм попелиць кількох близьких родів *Aphis*,

Disaphis, Anuraphis, Tetraneura та інших (Шапошніков Г. Х., 1974).

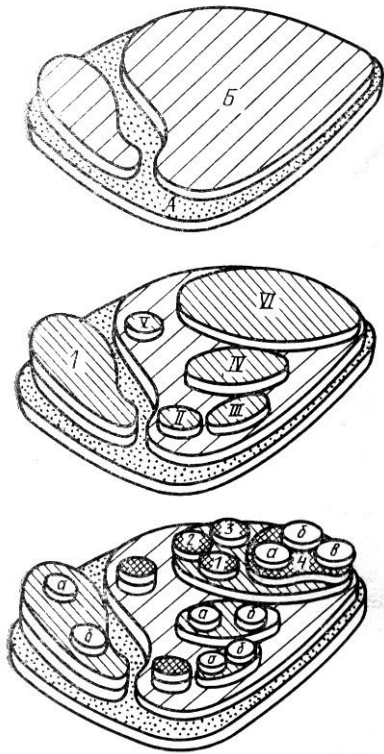


Рис. 74. Схема реальної еволюційної ситуації, що склалася в групі видів *Drosophila willistoni* у центральній та південній Америці (Ф. Айала, 1984). Відносини між формами зображені зрізами філогенетичних стовбурів. А, Б – групи близькоспоріднених видів двох різних рівнів близькості (надвидовий рівень). I – VI – окремі видові стовбури. 1 – 4 – напіввиди. а, б – підвиди.

На величезному матеріалі показана необхідність описання популяційної різноманітності в категоріях: популяція → суперпопуляція (комплекс споріднених популяцій) → раса

(комплекс географічно або екологічно подібних популяцій) → підвид (комплекс рас) → напіввид → вид.

Третій приклад підходу до внутрішньовидової систематики пов'язаний з результатами робіт медичних зоологів. Досліджували популяційну структуру широко поширеного виду кліщів *Ixodes persulcatus*. У результаті досліджень виділили п'ять категорій популяційної структури: популяція – група популяцій – клас популяцій (об'єднання груп популяцій) – регіональний комплекс популяцій (група класів популяцій) – вид (Коренберг Е. І., 1978). Вперше для конкретного виду стало можливим визначити порядок загального числа популяцій – кілька десятків тисяч (Коренберг Е. І., Лебедева Н. Н., 1976).

Четвертий приклад аналізу внутрішньовидової таксономічної структури йде від детального морфологічного аналізу спорідненості і відмінностей популяцій (Межжерін В. А., 1984). Під час такого аналізу стало можливим виділити шість різних популяційних груп (у тому числі два типи видів).

Внаслідок аналізу частот алелей (переважно електроморф, але ту ж процедуру можна здійснити і з морфологічними фенами) виникає можливість порівняння величин генетичної (фенетичної) спорідненості (I) та генетичної (фенетичної) дистанції (D) між групами популяцій, що досліджуються.

З використанням описаних вище методів були підраховані середні величини генетичних відмінностей між популяціями і групами популяцій різних рангів для різних груп організмів.

Існує цікава проблема, що підпадає дослідженню як з позицій внутрішньовидової таксономії, так і з позицій загального вивчення популяцій: співпадіння меж популяцій з кордонами внутрішньовидових таксонів. Оскільки кордони внутрішньовидових таксонів повинні в певній мірі співпадати з ізоляційними бар'єрами, а популяції теж завжди обмежені ізоляційними бар'єрами, то під час детального вивчення внутрішньовидової мінливості можна спробувати встановити зв'язок між кордонами підвидів та інших внутрішньовидових таксонів з кордонами відповідних популяцій. Цікава також

проблема зв'язку між ознаками, що характеризують той чи інший таксон, і процесами внутрішньо- і міжпопуляційних змін.

Прогрес в сучасній внутрішньовидовій систематиці буде тісно пов'язаний із залученням даних популяційної біології і, зокрема, морфології та феногеографії.

Популяція та мікрофілогенез

Одним з цікавих сучасних розділів теоретичної популяційної біології є відновлення мікрофілогенезу тих чи інших груп популяцій – історичного походження окремих частин видового населення.

Одним із прикладів є відновлення єдино можливої послідовності філогенетичних зв'язків між групами популяцій в групі дрозоділ *Drosophila pseudoobscura* – *Drosophila persimilis* на основі розрахунків поширення в них послідовностей хромосомних інверсій. Принципово схожа можливість відновлення філогенезу групи популяцій виникає під час аналізу поліплоїдних комплексів рослин. Наприклад, комплекс популяцій *Galium anisophyllum* Vill. у Європі має популяції всіх рівнів поліплоїдії від $2n$ до $10n$ (F. Ehrendorfer, 1968). Єдино можлива розшифровка таких рядів – походження груп більш високої плоїдності від груп з низькою плоїдністю. Нині відомо десятки прикладів подібних процесів (V. Grant, 1985).

Під час звичайного вивчення популяцій рідко виникає така можливість зі 100 % достовірністю відновити хід мікрофілогенезу згідно ознак фенотипу. Але іноді все таки можливо з високим рівнем достовірності судити про мікрофілогенез.

Зокрема, в Євразії існує чітка межа між популяціями людини з різною (великою та малою) частотою лопатоподібних різців. Ця межа між монголоїдами (велика частота лопатоподібних різців) та негро-індоевропейцями (мала частота лопатоподібних різців) розвитку виду *Homo sapiens*. Ця межа маркує історичні процеси давнинною не менше аніж кілька десятків тисяч років. У Східному Сибіру – нескінченному і страшному, як показали дослідження Зубова А. А. (1973), виключення стосуються аборигенного

населення Олекмінська, Кіренська та Вітима – перших поселень москалів, що виникли в процесі заселення цього регіону в XVI столітті.

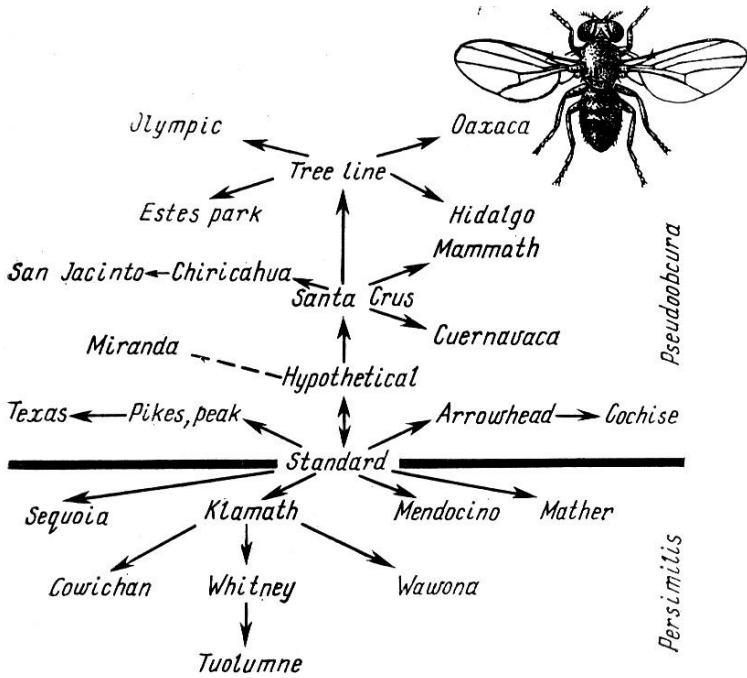


Рис. 75. Схема мікрофілогенезу груп популяцій дрозозфіли *Drosophila pseudoobscura* – *Drosophila persimilis*, що створена на основі вивчення поширення складних хромосомних інверсій (Т. Dobzhansky, 1951).

Якщо ж до частоти лопатоподібних різців додати ще й деякі фени будови зубів (такі як наявність горбика Корабеллі), то можна навіть встановити з якої губернії центральної Московії були родом перші переселенці, що заснували ці селища в глибинах Сибіру. Аналогічним чином по фенам зубів можна відновити, звідки виникла колонія гебреїв в Індії або колонія японців, що вже більше 100 років живуть в Амазонії.

У кішок *Felis catus* Linnaeus, 1758 відомо 19 різних алелей, що маркуються чіткими, здалеку помітними фенами, у тому числі 15 алелів кольору та плямистості, два алеля якості шерсті (довгошерстість та короткошерстість) і два алеля довжини хвоста. Кішки порівняно мало підпадають під штучний добір, і як показують спостереження, частота фенів (алелей) в їх популяціях зберігається стабільною і може служити хорошим маркером потоку генів.

Встановлена залежність спорідненостей щодо частоти відмічених фенотипів між популяціями кішок у Чикаго, Сан-Луїсі, Лауренсі між напрямом руху перших поселенців наприкінці XVII – на початку XVIII століття, що йшли на Дикий Захід вздовж знаменитої стежини Санта-Фе. Частота фенів в популяціях кішок у містах стејту Тексес демонструє злиття двох різних по походженню фенофондів кішок: з півночі – англійських, з півдня – іспанських колоністів (N. Todd, 1974).

Два наступних приклади теж пов'язані з просуванням людини. Перший стосується географічного поширення деяких ознак моллюска *Sepaea nemoralis* у Північній Америці. Цей вид потрапив до такого необачного Нового Світу зі старої матінки Європи тільки в XIX столітті і нині зустрічається тут на величезних територіях геть аж до Тихого океану.

Вивчення фенгеографії (фенів смугастості, кольору мушель, трьох електроморф) в 31 популяції стејтів Онтаріо, Нью-Йорк, Вірджинія, Массачусетс та популяцій Європи показало, що всі північноамериканські популяції можна розділити на дві нерівні групи: меншу, що включає популяції цього виду зі стејту Вірджинія, та більшу, що охоплює всі інші популяції. Поєднання вивчених фенів дозволило висунути версію, що вірджинські популяції цього виду моллюсків походять з італійських популяцій, тоді як всі інші популяції, що населяють решту Північної Америки утворились з північноєвропейських популяцій (P. Brussard, 1975). Аналогічні роботи відомі і щодо інших видів моллюсків (B. Burnet, 1972).

Наступний приклад теж стосується одного з мігрантів до Північної Америки – курурудзяної (стеблової) вогнівки *Ostrinia*

nubilalis (Hübner, 1796), що сильно шкодить сільському господарству.

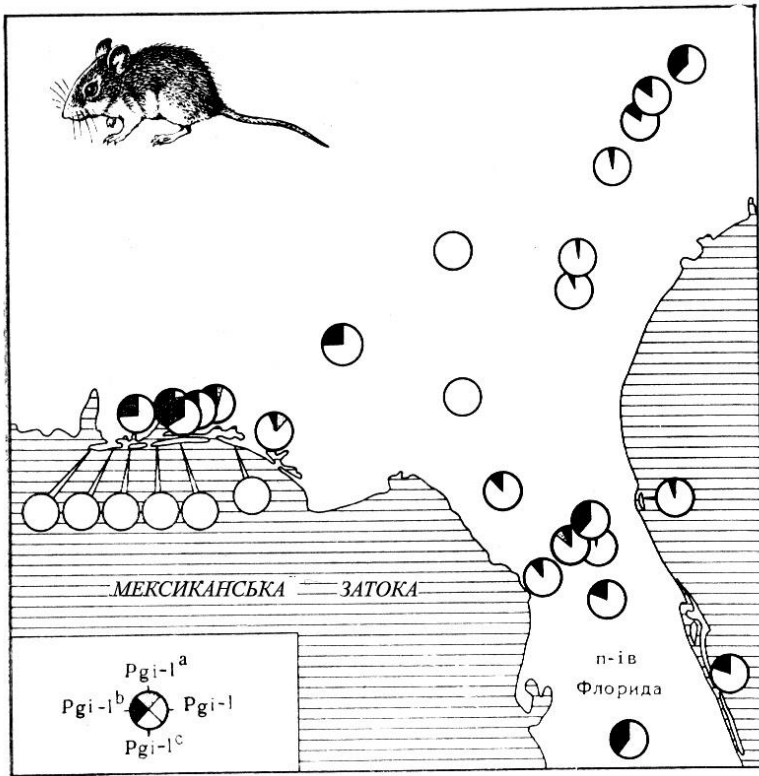


Рис. 75. Частота різних електроморф фосфоглюкоізомерази та лактатдегідрозенази в кількох популяціях мишовидних хом'ячків *Peromyscus polionotus* стейтів Флорида, Алабама, Джорджія (ЗСА) (R. Selander, 1970).

Один із методів боротьби – приваблення метеликів феромонними пастками. Для двох ізомерів найсильнішого феромона 11-тетрадецинілацетата виявили два «феромонних фенотипа»: одні метелики з популяцій цього виду підпадали під дію одного ізомеру, другі – абсолютно не реагували на цей

ізомер, але реагували на інший ізомер цієї речовини. По цій ознаці було вивчено 28 європейських і 14 американських популяцій. У популяціях зі стейтів Нью-Йорк та Пенсильванія виявились такими ж як феромонні характеристики – по суті фізіологічні фени – як і в популяціях біля міст Больнья (Італія) та Вагенінгін (Нідерланди). Виявляється, що в 1909 – 1914 роках як раз з цих європейських міст привезли до Америки велику кількість зерна; з ними і потрапив цей вид шкідників, що стійко зберіг за 100 років свій фенотип (J. Klun, 1975).

Наступний приклад стосується вивчення 4 електроморф різних популяцій мишовидних хом'ячків *Peromyscus polinotus*. Були досліджені популяції цього виду, що живуть на берегах Мексиканської затоки і на оточуючих територіях. На островах алелофонд виявився дуже однорідним – зустрічався тільки один алель з чотирьох, що характерні для цієї частини ареалу. На основі цих даних можна було висунути наступні гіпотези. Перша говорить про те, що все походить від одного кореня – невеликої групи, що колись переселилась на острови (R. Selander, 1970).

Але звідки і як вони могли потрапити на ці острови? Враховуючи подібність алелофондів хом'ячків можна було зробити висновок, що заселення островів йшло не зі сторони найближчих прибережних популяцій, а з доволі далеких популяцій, що живуть далеко від узбережжя, для яких характерне переважання того ж алелофону. Це одна з можливих відповідей. Але є інша версія. Алелофонд острівних популяцій і найближчих материкових популяцій, від яких вони виникли, може відрізнятися тому, що серед небагатьох особин (засновників острівної популяції) випадково не виявилось представників, що несуть три інші ознаки. Третя версія заснована на тому, що своєрідність острівних популяцій може бути наслідком своєрідного «острівного» добору, що був направлений проти носіїв інших алелей. Всі версії доступні для подальших перевірок. Для цього потрібно додатково порівняти популяції щодо інших алелей (фенів). Співпадіння по одному чи двом фенам може бути випадковим, але ймовірність співпадіння по кільком фенам мізерно мала, нею можна знехтувати. Інший шлях

перевірки – порівняння умов існування острівних популяцій як з віддаленими від узбережжя популяціями, що схожі по біохімічній характеристиці, так і з іншими популяціями на цих та інших островах, де схожий напрямок природного добору. Так можна від рівняння з кількома невідомими поступово перейти до бажаного рівняння з одним чи двома невідомими.

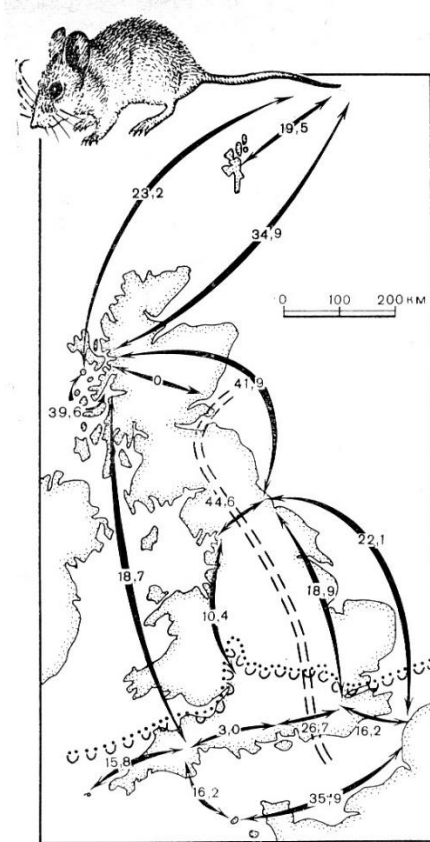


Рис. 76. Фенетичні дистанції між популяціями лісових мишей *Apodemus sylvaticus* різних районів Великобританії і сусідніх країн (R. Barry, 1977). Позначені межі максимального зледеніння та межі поширення «дольодовикових» популяцій.

Ще один приклад відноситься до вивченні 20 неметричних варіацій (фенів) черепа лісових мишей *Apodemus sylvaticus*, що живуть в Шотландії і на оточуючих цю кельтську землю островах.

Згідно сумарного коефіцієнта спорідненості (R. Berry, 1972) була відновлена історія заселення цих островів цим видом гризунів. Ця історія складалася з двох періодів. Перший почався з моменту максимального зледеніння Європи, коли тільки найпівденніша частина сучасної Англії була вільна від криги. Саме тут пережили льодовиковий період нечисельні тоді популяції мишей. Коли льодовик почав танути і відступати, миші почали поширюватись на північ, але заселили тільки південно-східну частину Англії.

Пізніше, через кілька тисяч років після цих подій, почався другий період. На північ Шотландії в VIII столітті приплили вікінги з Норвегії (їхній шлях можна прослідкувати по частоті фенотипів кішок), з ними сюди потрапили і норвезькі лісові миші. Постійним центром активності вікінгів був остів Ейгг (Внутрішні Гібриди). На це вказують археологічні так і фенетичні порівняння.

Звідси потім і поширились лісові миші по всій північній Англії. Нині на більшій частині території країни живуть лісові миші, що походять з Норвегії, лише на південному сході живуть нащадки аборигенних дольдовикових популяцій.

Значний інтерес для дослідження проблеми реконструкції мікрофілогенезу становлять роботи, пов'язані з аналізом ієрархії популяційних і внутрішньовидових угруповань. Зокрема, досліджували 15 вибірок домових мишей *Mus musculus*, що були відловлені на території 800 га в Гемпширі. Було виявлено спорідненість сумарної вибірки з характеристиками типової південно-англійської «середньої» миші. При унікальності кожної з вибірок була отримана повністю ідентична сумарна картина популяційного комплексу давниною 200 поколінь і сучасного. Ці дані дозволяють підійти до реконструкції мікрофілогенезу популяцій. Якщо група виявляється частиною більш великої

популяційної системи, це свідчить про єдине походження всіх досліджених груп з одного стовбуру.

У роботах Ю. Г. Ричкова та Є. В. Ящук (1980) міститься цікавий приклад розвитку такого підходу до реконструкції мікрофілогенезу. Було здійснено розділення внутрішньопопуляційних та міжпопуляційних компонент генетичної різноманітності під час аналізу 263 популяцій (дрібних національних груп аборигенів Євразії), що об'єднані в 100 географічних груп і 33 етноси (досліджено 43 біохімічних локусів). 89,3 % генетичної різноманітності припадало на внутрішньопопуляційний поліморфізм. При оцінці решти – 10,6 % міжпопуляційної генетичної різноманітності виявилось, що на частку етносів припадає 70 % генетичної різноманітності, на частку географічних груп – 13,4 і на частку популяцій – решта 16,7 %. Це означає, що основна частина міжпопуляційної різноманітності була успадкована від «прапопуляції». Так дещо несподівано здобула додаткові аргументи відома теза про те, що будь-яка популяція зберігає генофонд всього виду.

Під час реконструкції мікрофілогенезу груп популяцій необхідно опиратися на чітко виділені окремі дискретні ознаки будь-якої природи (морфологічні, біохімічні, етологічні, фізіологічні). Часом вивчення рідкісних і найрідкісніших (що зустрічаються з частотами набагато нижчими за 5 %) ознак дозволяє встановити зв'язок між популяціями, часто цьому сприяє виражування генетичної чи фенетичної спорідненості по комплексу таких ознак.

Мікрофілогенез обов'язково пов'язаний з виникненням та розвитком ландшафтно-географічної структури ареалу. Тому суттєвим виявляється і облік палеогеографії – історії територій, які досліджуються. У середніх та високих широтах найважливішим тут є врахування поширення льодовикового покриву і зв'язаних з ним кліматичних зон, у тропіках – реконструкція плейстоценових рефугіумів під час значної аридизації клімату.

Загалом відновлення мікрофілогенезів багатьох форм могло би бути надійною базою для в'яснення закономірностей

процесу мікроеволюції (зокрема, її швидкості на напрямку). Це дозволить суттєво уточнити сучасні мікроеволюційні концепції і полегшить перехід до еволюції, яка управляється щодо широкого кола об'єктів.

Популяція та концепція раси

Географічно розділені групи популяцій іноді називають расами, які можна визначити як популяції певного виду живих істот, що відрізняють генетично від інших груп популяцій цього ж виду. У дослідженнях щодо рас людини було в свій час допущено низку помилок і неточностей, що призводило часто до створення псевдонаукових теорій і навіть трагічних соціальних наслідків.

Розділення виду на раси може бути корисним для дослідження географічних популяцій, що певним чином відрізняються генетично одна від одної внаслідок дрейфу генів, адаптації, тиску добору в певних умовах існування. Іноді раси виділяли базуючись на якись одній ознаці, наприклад, таких як візерунок на крилах метелика чи пігментація шкіри в людини. Але насправді раси це популяції, що мають відмінні генофонди. Відмінності між расами повинні зачіпати генофонд в цілому, а значить і частоти алелей по багатьом різним локусам. Відмінності по одному локусу або по одній ознаці можуть служити лише індикаторами загальної генетичної диференціації, але насправді вони не є достатньою основою для виділення самостійних рас. Адже навіть батьки і діти можуть відрізнитися по ознаці, що визначається одним поліморфним локусом, наприклад, у батьків з групою крові А (генотипом $I^A I^0$) дитина може мати групу крові 0 ($I^0 I^0$).

Раси – це популяції одного виду, тому репродуктивно вони не ізольовані одна від одної. Процес формування нових видів часто йде через проміжні стадії расової диференціації. Але раси – це не обов'язково нові види на стадії становлення, оскільки процес расової диференціації зворотній. Відмінності між расами можуть з часом зменшуватись або навіть повністю стиратись, і це дійсно часто спостерігається. У людини, наприклад, расова

диференціація протягом кількох століть може зникати за рахунок міграції та міжрасових шлюбів.

Для утворення рас і збереження відмінностей між ними потрібно, щоб потік генів не був надто інтенсивним, інакше раси зливаються і утворюють спільний генофонд. Переважно саме географічна розділеність служить основною перешкодою для потоку генів. Виключенням з цього правила є вид людина розумна. Диференціювання людських рас зберігається навіть в умовах симпатрії, оскільки люди схильні вибирати собі шлюбного партнера переважно серед представників своєї раси. Іншим прикладом аналогічного виключення є породи собак, між якими не допускаються схрещування, хоча вони живуть на одній території. Іноді існування географічних кордонів між регіонами сприяє формуванню рас і полегшує їх виділення. Це в першу чергу стосується наземних організмів – мешканців островів, або водних, що населяють озера. Інтенсивність потоку генів між популяціями і ступінь генетичної диференціації між ними може бути досить різною, що дає можливість по різному, більш чи менш детально, проводити розділення груп популяцій на раси.

Таблиця 12. Основні частоти різних послідовностей генів у третій хромосомі *Drosophila pseudoobscura* в різних популяціях (Powell J. R., Dobzhansky T., 1973).

Місцевість	Частоти послідовностей генів (%)						
	ST	AR	CH	PP	TL	SC	OL
Метоу (Вашингтон)	70,4	27,3	0,3	0	2,0	0	0
Матер (Каліфорнія)	35,4	35,5	11,3	5,7	10,7	0,9	0,5
Сан-Джасінго (Каліфорнія)	41,5	25,6	29,2	0	3,4	0,3	0
Форт-Коллінз (Колорадо)	4,3	39,9	0,2	32,9	12,3	0	2,1
Меса-Верде (Колорадо)	0,8	97,6	0	0,5	0	0	0
Чірікахуа (Арізона)	0,7	87,6	7,8	3,1	0,6	0	0
Центральний Техас	0,1	19,3	0	70,7	7,7	0	2,4
Чіхуахуа (Мексика)	0	4,6	68,5	20,4	1,0	3,1	0,7
Дуранго (Мексика)	0	0	74,0	9,2	3,1	13,1	0
Ідальго (Мексика)	0	0	0	0,9	31,4	1,7	13,5
Теуакан (Мексика)	0	0	0	0	20,2	1,1	0
Оахака (Мексика)	0	0	10,3	0	7,9	0	0,9

Якщо, наприклад, взяти популяції виду *Drosophila pseudoobscura* Північної Америки, що населяють території від стею Вашингтон на півночі до стею Каліфорнія на півдні, то на території цього ареалу існує значна диференціація по частоті хромосомних перебудов. Частота послідовності генів ST висока в штаті Вашингтон, має проміжне значення в Каліфорнії, низька, або рівна нулю в інших місцевостях. Частота послідовності AR має проміжне значення в Вашингтоні, Каліфорнії, Форт-Коллінзі, висока в Меса-Верде та Чірікахуа, потім знижується до нуля далі на південь. Зміни частот хромосомних перебудов були б більш плавними, якби в таблицю були включені дані популяцій з проміжними ареалами (табл. 12).

Відмінності в частотах хромосомних перебудов відображають генетичні відмінності, які можна застосувати для расового диференціювання *Drosophila pseudoobscura*. Але скільки рас при цьому можна виділити?

Одна з можливих класифікацій полягає в виділенні чотирьох рас:

- 1) Північно-центральна раса (від Метю до Форт-Коллінза) – для неї характерно наявність послідовності AR з проміжною частотою.
- 2) Колорадсько-аризонська раса – для неї характерна висока частота послідовності AR.
- 3) Техаська раса – з високою частотою послідовностей CH та PP.
- 4) Мексиканська раса.

Але ми можемо розбити третю расу на дві, одна з яких відрізняється високими значеннями частот послідовностей CH, а друга – високою частотою послідовності PP. Або можемо провести кордон, що розділяє дві раси не між Форт-Коллінзом та Меса-Верде, а між Сан-Джасінго та Форт-Коллінзом. Тоді в нас буде північно-західна раса, що характеризується високими значеннями частот послідовностей ST і центральна раса, що характеризується високими частотами послідовностей AR. Вищенаведене служить ілюстрацією важливого висновку: ступінь генетичної диференціації, що необхідна для виділення рас, і відповідно число виділених рас, кордони між ними в

значній мірі залежать від інтуїції, смаків і сваволі дослідників. Расова класифікація дозволяє описати існуючу в межах виду генетичну диференціацію, але часто спостерігається не чітка відмінність, а поступова (клінальна) мінливість.

Раси людини

Враховуючи все сказана в минулому розділі, не викликає здивування той факт, що існує багато класифікацій рас людини. В одних класифікаціях всього три раси, в інших – більше п'ятдесяти.

Таблиця 13. Частоти груп крові системи АВО в різних расах та народів (Hirszfeld L., 1919).

Раса	Народ	Частота		А/В
		А	В	
Європеоїдна	Англійці	46,4	10,2	4,5
	Французи	45,6	14,2	3,2
	Італійці	41,8	14,8	2,8
	Німці	48,0	17,0	2,8
	Австрійці	48,0	18,0	2,6
	Серби	46,4	20,2	2,6
	Греки	45,6	20,2	2,5
	Болгари	46,8	20,4	2,5
Змішана	Араби	37,4	24,0	1,5
	Турки	44,6	25,2	1,8
	Москалі	37,5	28,1	1,3
	Юдеї	38,0	28,2	1,3
Африканоїдна	Негри банту	27,6	34,2	0,8
Азійсько-африканоїдна	Малагасійці	30,7	28,2	1,1
	В'єтнамці	29,4	35,6	0,8
	Індійці	27,5	49,7	0,5

Етнічну різноманітність людини відмічав ще Карл Лінней, що розрізняв чотири раси людини: африканську, американську,

азійську, європейську. У 1775 році Йоган Фрідріх Блуменбах виділив 5 рас людини: білу – кавказьку, жовту – монголоїдну, чорну – ефіопську, червону – американську, брунатну – малайську. За ознаку він взяв тільки колір шкіри, хоча ясно, що етнічні групи відрізняються по цілій низці ознак – риси обличчя, будова волосся, будова тіла та ін. Кореляція ознак далеко не повна: наприклад, в Індії риси обличчя європеїдної раси поєднуються з чорним кольором обличчя.

У 1918 році Гіршфельд Л. та Гіршфельд Г. висловили думку, що система крові АВО може бути корисна для аналізу походження рас і аналізу для етнічного походження. Дані, що вже були відомі на той час, говорили про те, що частота груп крові В (генотипи $I^B I^B$ та $I^B I^0$) поступово зростає від 10 % в Англії до 50 % в Індії; частоти групи крові А (генотипи $I^A I^A$ та $I^A I^0$) приблизно однакові по всій Європі, нижчі в Росії та на Близькому і Середньому Сході, ще нижчі в Африці та Індії. Співвідношення частот груп крові А та В послужило критерієм для виділення трьох расових груп: європейської, азійсько-африканської та проміжної.

Класифікація рас, заснована на частоті генів, що визначають групи крові, йде, звісно, не від того, що люди з різними групами крові відносяться до різних рас, а від того, що відмінності в частотах алелей, що визначають групи крові, відображають диференціацію генофонду в цілому. Тут слід пам'ятати, що мінливість частот груп крові системи АВО менша, аніж мінливість інших груп крові, таких як резус-фактор (R), даффі (F_y), дієго (D_i). Ці групи крові більш інформативні з точки зору етнічного аналізу.

Географічні межі дозволяють виділити три основні расові групи: африканоїдну, європеїдну і дуже гетерогенну східну, що включає підгрупи – американоїдну, монголоїдну, австралоїдну, меланезійську. Основні п'ять груп рас у значній мірі співпадають з п'ятьма расами, що виділяють відповідно кольору шкіри (згідно Блуменбаху). Кавказька (європеїдна) раса являє собою доволі однорідну групу, що включає населення Західної та Східної

Європи, а також жителів Близького Сходу та Індії, де спостерігається перехід до інших расових груп. Північну Африку населяють народи, що утворюють різні суміші кавказької та африканської рас.

Таблиця 14. Частоти алелей, що визначають різні групи крові в п'яти расових групах людни, % (Stern С., 1973).

Алель	Раса				
	Європеїдна	Негроїдна	Монголоїдна	Американоїдна	Австралоїдна
I ^A	24 - 38	15 - 25	15 - 25	0 - 55	20 - 45
I ^B	5 - 20	10 - 20	15 - 30	0	0
r	30 - 40	10 - 20	0 - 7	0	0
r'	0 - 2	0 - 6	0	0 - 17	13
r''	0 - 2	0 - 1	0 - 3	0 - 3	0
R ⁰	1 - 5	40 - 70	0 - 5	0 - 30	9
R ¹	30 - 50	5 - 15	60 - 76	30 - 45	56
R ²	10 - 15	6 - 20	20 - 30	30 - 60	20
Fy ^a	40	0 - 10	90	0 - 90	?
Di ^a	0 - 1	0	1 - 12	0 - 25	0

Класифікація рас повинна виявляти генетичні відмінності між популяціями. Питання полягає в тому, наскільки велика повинна бути ступінь генетичних відмінностей між популяціями, щоб виділити їх в самостійні раси. Якщо обмежитись лише виділенням всього кількох расових груп, тоді деякі групи виявляться вкрай гетерогенними. З іншого боку, при дуже ретельному та дрібному розділенні популяцій відмінності і межі між расами стають менш чіткі. Стенлі Гран запропонував розділити людство на 9 географічних рас і 34 локальні раси.

Наскільки сильні генетичні відмінності між расами людини? У низці популяцій людини було вивчено 25 локусів, по яким як мінімум в одній з расових груп існує поліморфізм.

Таблиця 15. 9 географічних та 34 локальних раси людини згідно Garn S. M., 1961.

Географічні раси		
Європеїдна	Американоїдна	Австралоїдна
Індійська	Африканоїдна	Мікронезійська
Азійська	Меланезійська	Полінезійська
Локальні раси		
Північно-західна європейська		Східноафриканська
Північно-східна європейська		Суданська
Альпійська		Негритянська
Середземноморська		Банту
Індуська		Бушменська
Тюрська		Пігмейська
Тібетська		Дравидська
Північна китайська		Негритоська
Класична монголоїдна		Меланезійська
Ескімоська		Муррейська
Південно-східна азійська		Карпентипрійська
Аїнська		Мікронезійська
Саамська		Полінезійська
Північноамериканська		Гавайська
Центральноамериканська		Ладинська
Південноамериканська		Негри Північної Америки
Вогнеземельська		Негри Південної Америки

Середня гетерозиготність організму також може служити мірою генетичної мінливості популяції, бо дозволяє оцінити ймовірність того, що два випадково обраних гени одного локусу, опинившись в геномі одного організму, будуть відмінними. Для будь-якої групи людей середня гетерозиготність по 25 поліморфним локусам на одного індивідуума складає від 28 до 30 %. Ймовірність того, що два гени, взяті навмання в представників різних расових груп, виявляться різними

(ймовірність гетерозиготності по даному локусу серед нащадків від міжрасового шлюбу), складає приблизно 35 – 40 %. Це не набагато більше рівня гетерозиготності в середині расової групи (37 % в порівнянні з 29 %). Тому генетичні відмінності між расами людини відносно малі в порівнянні з генетичною диференціацією в середині расових груп.

Насправді знання расової групи до якої належить індивідуум дає мало інформації про його генетичну конституцію. Кожна людина є носієм унікального генотипу. Кожна людина відрізняється від інших людей незалежно від того до якої раси ця людина належить.

Популяції, анагенез, кладогенез

Еволюцію можна розглядати як процес, що має два виміри:

1) **анагенез** – еволюція організмів в якомусь одному певному напрямку та 2) **кладогенез** – збільшення різноманітності організмів. Поступове накопичення змін в організмах якоїсь однієї лінії, що відбувається протягом багатьох поколінь, називається **анагенетичною еволюцією**. Ці зміни часто обумовлені природним добром, що підвищує адаптивність організмів до біотичних та абіотичних змін навколишнього середовища. Коли ж одна еволюційна лінія розщеплюється на дві або більше ліній, говорять про **кладогенетичну еволюцію**. Величезна різноманітність живих істот виникає в результаті кладогенетичної еволюції, що забезпечує адаптивність організмів до чисельних екологічних ніш (способів існування). Основний процес кладогенетичної еволюції – це **видоутворення** – процес, що призводить до розщеплення одного виду на два та більше.

Еволюція в межах виду – зміни генетичної структури популяцій називають мікроеволюцією. Відповідно еволюція, що відбувається на рівні більш високих систематичних категорій називається макроеволюцією.

Генетичне вивчення макроеволюції стало можливим завдяки розвитку молекулярної біології. Класичні методи менделівської генетики дозволяють встановити наявність генів

по розщепленню тих чи інших ознак серед нащадків від схрещування особин, що відрізняються по цим ознакам.

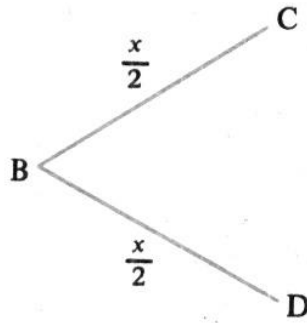


Рис. 77. Відновлення анагенетичної еволюції на основі кладогенетичних даних. С та D – два сучасних види, що виникли від спільного предкового виду В. Якщо сумарні генетичні відмінності між С та D складають x , то в кожній з двох еволюційних ліній накопичилось половина відмінностей.

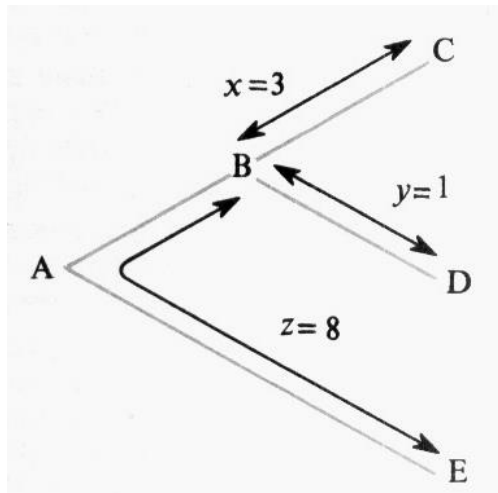


Рис. 78. Оцінка анагенетичних змін, що відбуваються в філогенезі сучасних видів.

Але міжвидові схрещування переважно неможливі, і навіть тоді, коли це все таки відбувається, гібридні нащадки виявляються нежиттєздатними або стерильними. На сьогодні генетичне співставлення різних видів можна проводити шляхом прямого порівняння нуклеотидних послідовностей ДНК видів, що вивчаються або амінокислотних послідовностей білків, що кодуються цією ДНК.

На перший погляд генетичне вивчення анагенетичної еволюції в принципі неможливе, оскільки для цього необхідно дослідити вже давно вимерлі організми. Білки та ДНК викопних істот давно розпалися. Але інформацію про процеси анагенезу дає вивчення кладогенезу. Наприклад, два якихось сучасних види С та D, що походять від спільного предка В. Припустимо, встановили, що С та D відрізняються певним числом (x) амінокислотних замін у певному білку, наприклад в міоглобіні. Природньо припустити, що за час, що пройшов з моменту розділення В на дві еволюційні лінії (С та D), у кожній з них наблизилось по $x/2$ амінокислотних замін.

Версія про те, що в кожній з цих двох еволюційних ліній відбулись кількісно однакові зміни, необов'язкова. Припустимо, що поруч з видами С та D ми розглядаємо третій сучасний вид Е і що молекули міоглобіну цих трьох видів відрізняються певним числом амінокислотних замін: С та D відрізняються по 4 амінокислотам, с та Е – по 11, а D та Е – по 9. Якщо філогенія (себто еволюційна історія) цих трьох видів відповідає схемі, що представлена на рис. 45, то ми можемо оцінити число амінокислотних замін в кожній з гілок. Позначимо літерами x та y число амінокислот, за якими відрізняються відповідно В від С та В від D, а літерою z - загальне число амінокислот, за якими відрізняються А від В та А від Е. Тоді ми отримаєм систему наступних трьох рівнянь:

$$x + y = 4$$

$$x + z = 11$$

$$y + z = 9$$

Отримаєм:

$$x - y = 2$$

Враховуючи перше рівняння:

$$2ч = 6 \text{ або } х = 3$$

Звідси:

$$у = 4 - ч = 1 \quad z = 11 - х = 8$$

Процедура розрахунків стає більш складною, коли одночасно розглядаються багато сучасних видів, але основна ідея оцінки анагенетичних змін по кладогенетичним лишається тою ж самою. Неминучі труднощі при такому аналізі полягають в тому, що деякі амінокислотні заміни (наприклад, заміна лейцину на пролін) маскуються реципрокними замінами, тому лишаються непоміченими. Та сама проблема виникає і під час аналізу послідовностей ДНК. Реконструкція філогеній не цілком надійна в тих випадках, коли вона базується на результатах аналізу амінокислотної послідовності якогось конкретного білка або нуклеотидної послідовності ДНК, що кодує цей білок, бо в одних гілках еволюції заміни могли відбуватися частіше, аніж в інших або в інший час. Але дані, отримані під час дослідження цілої низки білків у багатьох видів приводять до філогеній, що добре відповідають філогеніям, що реконструйовані на основі морфологічних та палеонтологічних даних.

Популяція та концепція виду

В організмів, що розмножуються статевим шляхом, вид – це група природних популяцій, що схрещуються між собою, репродуктивно ізольована від інших таких же груп. Вид являє собою природну систему, що визначається на основі потенційної здатності її членів схрещуватись між собою. Ця здатність до схрещувань має важливе еволюційне значення, бо дозволяє виділити вид як дискретну та незалежну одиницю еволюції. Розглянемо адаптивну мутацію або якусь іншу генетичну зміну, що виникла в певної особини. Протягом багатьох поколінь ця зміна шляхом природнього добору поширюється на всіх особин цього виду, але не на особин інших видів. Те саме можна сформулювати інакше: всі особини даного виду утворюють спільний генофонд, що існує окремо від генофондів інших видів.

Внаслідок репродуктивної ізоляції генофонди різних видів еволюціонують незалежно один від одного.

Репродуктивна ізоляція видів, що розмножуються статевим шляхом, служить критерієм видоутворення. Предковий вид перетворюється в два нових види, коли сукупність популяцій, що схрещуються між собою, розпадається на дві репродуктивно ізольовані сукупності. Не дивно, що репродуктивна ізоляція використовується як основний критерій виду – адже саме вона дозволяє генофондам видів еволюціонувати незалежно один від одного.

Біологічні особливості організмів, що запобігають схрещуванню між представниками різних видів називаються **репродуктивними ізолюючими механізмами (РІМ)**. Класифікація РІМ наступна:

1. **Презиготні РІМ**, що запобігають утворенню гібридних зигот.
 - а. **Екологічна ізоляція**: популяції займають одну і ту ж територію, але різні екологічні ніші, тому не контактують.
 - б. **Часова ізоляція**: спарювання тварин або цвітіння рослин відбувається в різних час доби або в різних період року.
 - в. **Поведінкова ізоляція** (етологічна): відсутність або слабо виражений статевий потяг між самцями і самками. Як результат – ніякого сексу.
 - г. **Механічна ізоляція**: копуляції у тварин і запиленню в рослин перешкоджають відповідно відмінності в розмірах та формі геніталій у тварин і відмінності в структурі квітки в рослин. І в результаті – знову ніякого сексу. Який жах!
 - д. **Гаметична ізоляція**: гамети самців та самок не взаємодіють між собою або ж сперматозоїди втрачають життєздатність в статевих шляхах самки, а пилок – в приймочці маточки квітки.
2. **Постзиготні РІМ**, що знижують життєздатність або плодовитість гібридів.
 - а. **Нежиттєздатність гібридів**: гібридні зиготи не розвиваються або не досягають статевої зрілості.

- б. **Стерильність гібридів:** гібриди не здатні продукувати нормально функціонуючі гамети.
- в. **Неповноцінність гібридів:** нащадки гібридів (у F_2 або під час реципрокних схрещувань) мають занижену життєздатність або плодовитість.

Репродуктивні ізолюючі механізми, як бачимо, можна розділити на презиготні і постзиготні. Презиготні РІМ перешкоджають гібридизації між представниками різних популяцій і тим самим перешкоджають утворенню гібридних зигот. Постзиготичні РІМ занижують життєздатність або плодовитість гібридів. Презиготні та постзиготні РІМ служать одній меті: вони не дозволяють обмін генів між популяціями. Але ці механізми мають одну суттєву відмінність: непродуктивна витрата генетичних та інших ресурсів у випадку невикористання постзиготичних РІМ більша, аніж у випадку презиготичних. Якщо гібридна зигота утворюється, але виявляється нежиттєздатною, то витрачаються дві гамети, що могли б дати повноцінних негібридних нащадків. Якщо гібриди життєздатні, але стерильні, то витрачаються не тільки гамети, але і ресурси, що необхідні для розвитку гібридних особин. Втрати ще більші в випадку гібридної недостатності, коли ресурси витрачаються не тільки на гібридів першого покоління, але і на їх нащадків. Один із механізмів презиготичної репродуктивної ізоляції, а саме гаметична ізоляція, теж може бути пов'язана з марною витратою гамет, коли з них не утворюється життєздатних зигот. Інші презиготичні РІМ не пов'язані з марною витратою гамет, але можуть супроводжуватись марними витратами енергії на безуспішне залицяння (поведінкова ізоляція) або на марні спроби спарювання (механічна ізоляція). Природній добір сприяє утворенню презиготичних РІМ між популяціями, що вже ізолювані за допомогою постзиготичних РІМ, якщо ці популяції мешкають на одній території і, значить, є реальна можливість утворення гібридних зигот. Це відбувається саме тому, що розвиток презиготичних РІМ зменшує або повністю перешкоджає марним витратам генетичних та інших ресурсів.

Для попередження схрещувань між двома різними видами, переважно, використовуються не всі РІМ, але як правило репродуктивну ізоляцію між видами забезпечують не один, а два або кілька механізмів. Одні РІМ більш поширені серед рослин (наприклад, часова ізоляція), тоді як інші – серед тварин (наприклад, поведінкова ізоляція). Але навіть у випадку близьких видів ізоляція різних пар видів часто здійснюється за допомогою різних механізмів. Ця обставина може служити прикладом того, наскільки глибоко діє природний добір: еволюційна функція РІМ полягає в попередженні **інтербридінгу**, а як ця функція виконується, залежить від конкретних умов і відповідної генетичної мінливості.

Популяція і процес видоутворення

Види – це репродуктивно ізольовані один від одного групи популяцій. Питання про те, як утворюються нові види, тотожне питанню про те, як між групами популяцій виникає репродуктивна ізоляція. Переважно репродуктивна ізоляція виникає спочатку як побічний результат генетичної дивергенції, завершує її становлення безпосередньо під дією природного добору. Видоутворення відбувається за допомогою найрізноманітніших способів, але в цьому процесі можна виділити дві основні стадії.

Стадія I. Для початку процесу видоутворення потрібно перш за все, щоб потік генів між двома популяціями одного виду був завдяки певним причинам повністю або частково перерваний. Відсутність потоку генів призводить до того, що дві популяції генетично диференціюються внаслідок пристосування до відмінних місцевих умов життя або до різних способів життя (а також внаслідок дрейфу генів, що залежно від обставин може відігравати більшу або меншу роль в процесі генетичної диференціації). Зупинка потоку генів між популяціями необхідна, бо в іншому випадку обидві популяції утворюють єдиний генофонд і не можуть генетично диференціюватися. Після того, як між популяціями накопичуються генетичні відмінності, виникають РІМ із-за того, що різні генофонди

виявляються некоадаптивними: гібридні особини мають дизгармонійні поєднання генів і відповідно знижену життєздатність або плодовитість.

Таким чином, для першої стадії видоутворення характерні дві особливості: 1) репродуктивна ізоляція з'являється первісно в формі постзиготичних РІМ; 2) ці РІМ являють собою побічний результат генетичної диференціації. На даній стадії природний добір не бере участі в становленні репродуктивної ізоляції.

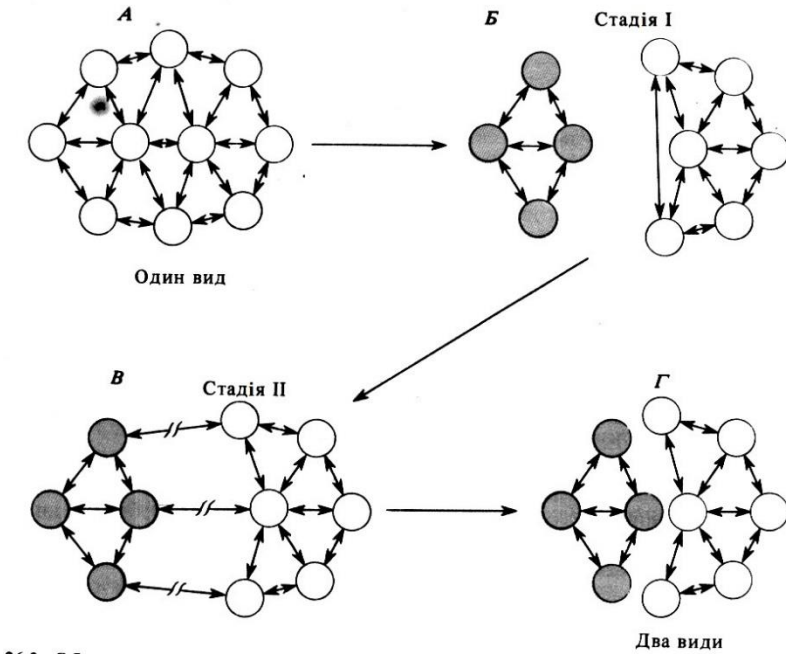


Рис. 79. Загальна модель видоутворення. А. Локальні популяції одного виду зображені колами, стрілки позначають потоки генів між популяціями Б. Популяції розпалися на дві групи, між якими відсутній потік генів. Ці групи поступово все більш диференціюються генетично. Внаслідок генетичного диференціювання виникають репродукційні ізолюючі механізми. Це перша стадія видоутворення. В. особи з обох груп популяцій здатні спаруватися одне з одним. Але, оскільки вже існують

репродуктивні ізолюючі механізми, виникає лише дуже слабкий потік генів (якщо взагалі виникає), що позначено розірваними стрілками. Природній добір сприяє розвитку нових репродуктивних ізолюючих механізмів, особливо презиготних, що попереджають спарювання між представниками різних груп популяцій. Це друга стадія видоутворення. Г. Процес видоутворення завершений, бо обидві групи повністю репродуктивно ізолювані. Утворилось два нових види, що здатні співіснувати при відсутності потоку генів між ними.

Генетична диференціація і супутній їй розвиток постзиготних РІМ відбуваються поступово. Тому в відповіді на запитання чи почався вже процес видоутворення між двома конкретними популяціями, допускається певна довільність. Можна вважати, що популяція знаходиться на першій стадії видоутворення, якщо між ними виникали РІМ. Локальні популяції одного виду часто генетично відрізняються одна від одної, але не слід думати, що вони знаходяться на першій стадії процесу видоутворення, якщо генетична диференціація мала і не викликає появи РІМ.

Стадія II. На цій стадії завершується становлення репродуктивної ізоляції. У випадку, якщо зовнішні умови перешкоджають потоку генів між популяціями на першій стадії видоутворення змінились, то це може відбутися, наприклад, коли дві раніше географічно розділені популяції починають розселятися і освоювати, хоча б частково, одну і ту ж територію. Тут можливі два наслідки: 1) утворюється єдиний генофонд, оскільки пристосованість гібридів занижена не дуже сильно і не може перешкодити злиттю популяцій; 2) виникають два види, бо природній добір сприяє закріпленню і подальшому вдосконаленню механізмів репродуктивної ізоляції.

Перша стадія процесу видоутворення зворотна: якщо процес не зайшов надто далеко, то дві раніше генетично диференційовані популяції можуть знову злитися і утворити єдиний генофонд. Але якщо в результаті схрещування між особинами, що належать до різних популяцій, утворюються

гібридні нащадки з заниженою життєздатністю або плодовитістю, то природний добір буде сприяти особам, що схрещуються з представниками своєї ж популяції. Розглянемо наступну спрощену ситуацію. Нехай в певному локусі є два алелі A_1 та A_2 . Алель A_1 забезпечує переважне схрещування між особинами однієї популяції, алель A_2 сприяє міжпопуляційним схрещуванням. Тоді алель A_1 буде частіше представлений серед нащадків від внутрішньопопуляційних схрещувань, тобто серед особин з високою життєздатністю та плодовитістю, тоді як алель A_2 буде частіше траплятись в генотипі міжпопуляційних гібридів. Оскільки останні мають занижену адаптивність, частота алеля A_2 буде зменшуватись з покоління в покоління. Природний добір призведе до збільшення частки алелей, що сприяють внутрішньопопуляційним схрещуванням. Це означає, що природний добір буде діяти на користь становлення презиготних РІМ, що запобігають утворенню гібридних зигот.

Дві характерні особливості другої стадії видоутворення полягають в тому, що: 1) репродуктивна ізоляція розвивається в основному в формі презиготичних РІМ; 2) розвиток презиготичних РІМ безпосередньо обумовлений природнім добором. Ці дві характерні особливості другої стадії видоутворення докорінним чином відрізняють її від першої стадії.

Взагалі то, видоутворення можливе і без другої стадії. При відсутності потоку генів між популяціями може виникнути повна репродуктивна ізоляція, якщо процес генетичного диференціювання продовжується достатньо довго: наприклад, коли популяції протягом необмеженого довгого часу мешкають на ізольованих островах. Але друга стадія помітно прискорює процес видоутворення внаслідок того, що природний добір безпосередньо сприяє розвитку репродуктивної ізоляції.

Популяція і географічне видоутворення

Описана вище загальна модель видоутворення може реалізовуватись у природних умовах різними способами, які відносяться до двох основних типів, а саме до географічного

видоутворення та квантового видоутворення. При географічному видоутворенні перша стадія процесу здійснюється в результаті географічного розділення популяцій. Ареали популяцій наземних тварин можуть бути розділені водними перешкодами (ріками, озерами, океанами), горами, пустелями і будь-якими іншими типами ландшафтів, що не доступні для представників даного виду. Прісноводні організми географічно ізольовані, якщо вони населяють різні річкові системи або озера, що не зв'язані між собою. Популяції морських організмів можуть бути розділені сушею, водними просторами з глибинами більшими чи меншими тих, яка необхідна для даного виду, або водами з іншою солоністю.

Під дією природного добору географічно ізольовані популяції адаптуються до місцевих умов і виникає генетична диференціація. Певну роль в становленні генетичної диференціації може відігравати і дрейф генів, особливо коли популяції малі і походять від невеликого числа особин. Якщо популяції лишаються географічно розділеними доволі довго, то можуть з'явитися зачатки репродуктивної ізоляції, зокрема в формі постзиготних РІМ. Такі популяції знаходяться на першій стадії процесу видоутворення.

Друга стадія видоутворення починається, коли раніше ізольовані популяції починають контактувати як мінімум на деякій частині ареалу. Це може відбутися, наприклад, в результаті топографічних змін земної поверхні, екологічних змін, що призводять до того, що якась територія стає придатною для життя певного виду, або під час міграцій однієї популяції в область проживання іншої. При цьому можуть відбуватися схрещування між представниками різних популяцій. У залежності від досконалості механізмів репродуктивної ізоляції, що виникли раніше і ступені гібридизації дві популяції можуть або злитися, утворюючи єдиний генофонд, або започаткувати два різних види, між якими з'являються нові (презиготні) РІМ.

Дві стадії процесу географічного видоутворення можна проілюструвати на прикладі групи близькоспоріднених видів дрозофіли, що населяють Центральну та Південну Америку. Ця

група, що має загальну назву *Drosophila willistoni* складається з 15 видів, шість з яких є **види-двійники**, тобто види, що практично однакові морфологічно. Один з них – власне *Drosophila willistoni* (Sturtevant, 1916) включає два підвиди: *Drosophila willistoni quechua*, що населяє Південну Америку західніше Анд, та *Drosophila willistoni willistoni*, що живе східніше Анд. Між ними існує певна репродуктивна ізоляція, що проявляється в певній формі стерильності гібридів: при лабораторних схрещуваннях представників цих двох підвидів результати залежать від того, до якого підвиду належать самець і самка. При схрещуваннях самок *Drosophila willistoni willistoni* з самцями *Drosophila willistoni quechua* самки і самці серед нащадків плодовиті. Під час реципрокних схрещувань самки серед нащадків плодовиті, а самці стерильні.

Якби ці два підвиди вступили в контакт у природних умовах, то природний добір діяв би на користь виникнення презиготних РІМ, оскільки всі гібридні самці серед нащадків від схрещувань *D. w. quechua* і *D. w. willistoni* стерильні. Тобто, ці два підвиди являють собою дві групи популяцій, що знаходяться на першій стадії географічного видоутворення.

На першій стадії видоутворення знаходиться і друга сукупність популяцій тієї ж групи видів. *Drosophila equinoxialis* включає два географічно розділені підвиди: *D. e. equinoxialis*, що живе в Південній Америці, і *D. e. caribbiensis*, що населяє Центральну Америку та Карибські острови. Під час лабораторних схрещувань представників цих підвидів незалежно від того, до яких підвидів належали самка та самець, гібридні самки завжди були плодовиті, а самці – завжди стерильні. Таким чином ступінь репродуктивної ізоляції між цими двома підвидами *Drosophila equinoxialis* більша, ніж між підвидами *Drosophila willistoni*. Природний добір на користь презиготних РІМ у *Drosophila equinoxialis* був би сильнішим, ніж у *Drosophila willistoni*, оскільки при схрещуваннях між підвидами *Drosophila equinoxialis* всі самці стерильні незалежно від напрямку схрещування.



Рис. 80. Географічне поширення шести споріднених видів дрозофіл групи *Drosophila willistoni*. Кожний з видів складається з двох підвидів. Ці підвиди являють собою групи популяцій, що знаходяться на першій стадії географічного видоутворення.

В обох випадках між підвидами не існує ізоляції, що обумовлена презиготними РІМ. Значить, становлення репродуктивної ізоляції між цими групами популяцій ще далеко не завершено, і, значить, вони не можуть вважатися самостійними видами.

Другу стадію процесу видоутворення можна проілюструвати на прикладі виду *Drosophila paulistorum* – цей вид, що складається з шести підвидів, тобто видів, що

знаходяться на стадії виникнення, два чи три з них в різних частинах ареалу існують симпатрично. Під час схрещувань між представниками цих підвидів виявляється гібридна стерильність такого ж типу, що і в випадку *D. equinoxialis* – гібридні самки плодовиті, а самці стерильні. Але два чи три підвиди ввійшли в контакт в багатьох місцях ареалу, і тут відбулась друга стадія процесу видоутворення, яка і призвела до виникнення повної або майже повної етологічної ізоляції. Коли в лабораторних умовах самок і самців різних підвидів інкубують разом, результати дослідів залежать від того, з якої частини ареалу взяті ці мухи. Якщо представники обох підвидів походять з одної місцевості, то спостерігаються лише **гомогамні схрещування** (тобто, схрещування між представниками одного і того ж підвиду); коли ж мухи походять з різних частин ареалу, то поруч з гомогамними схрещуваннями спостерігаються і **гетерогамні** (тобто, схрещування між представниками різних підвидів чи то напіввидів). Це означає, що етологічна ізоляція ще не зовсім завершена. Таким чином, *Drosophila paulistorum* служить чудовим прикладом дії природного добору на другій стадії видоутворення: репродуктивна ізоляція між підвидами вже повністю здійснена в тих частинах ареалу, де ці підвиди є симпатричними, але вона завершена ще не всюди, бо гени, що відповідальні за ізоляцію, ще не поширились по всьому ареалу виду.

Популяція та квантове видоутворення

Під час географічного видоутворення перша стадія супроводжується генетичною дивергенцією географічно розділених популяцій. Виникнення постзиготних РІМ в якості побічного результату генетичної дивергенції вимагає тривалого часу: тисяч, іноді мільйонів поколінь. Але існують інші способи видоутворення, під час яких перша стадія і розвиток постзиготичних РІМ здійснюються протягом невеликих проміжків часу. Видоутворення такого прискореного типу називають **квантовим** видоутворенням або **сальтаційним** видоутворенням.

Одна з форм квантового видоутворення – це поліплоїдія, тобто збільшення числа гаплоїдних наборів хромосом в каріотипі. Поліплоїдні особини можуть виникати лише за одне покоління. Поліплоїдні популяції репродуктивно ізольовані від виду, з якого вони виникли, і таким чином являють собою новий вид живих організмів. Внаслідок поліплоїдної мутації відбувається зупинка потоку генів, що необхідно для першого етапу видоутворення, що обумовлено не географічною ізоляцією популяцій, а певними цитологічними змінами. Для виникнення і поглиблення репродуктивної ізоляції в формі стерильності гібридів немає потреби в появі багатьох поколінь: репродуктивна ізоляція виникає внаслідок незбалансованості хромосомних наборів гібридних особин. Якщо диплоїдна та поліплоїдна популяція рослин, що виникла з диплоїдної ростуть поблизу один від одної і між ними виникає гібридизація, то природний добір буде сприяти формуванню презиготичних ізолюючих механізмів (друга стадія видоутворення), що блокують перехресне запилення і даремну витрату гамет.

У рослин відомі різні типи квантового видоутворення, що відмінні від поліплоїдії. Квантове видоутворення характерне для двох диплоїдних видів *Clarkia biloba* та *Clarkia lingulata*, що вивчались Харламом Л'юїсом. Обидва ці види ростуть в Каліфорнії, але *Clarkia lingulata* має вузький ареал і зустрічається тільки в двох районах гір Сьєра-Невада на південній частині ареалу *Clarkia biloba*. Обидва види є рослинами перехреснозапильними, хоча здатні і до самозапилення. Обидва види схожі морфологічно, відмінності стосуються тільки форми пелюсток. Але хромосомні набори цих видів відрізняються однією транслокацією, кількома парацентричними інверсіями, крім того, в хромосомному наборі *Clarkia lingulata* є додаткова хромосома, що гомологічна частинам двох хромосом *Clarkia biloba*. Вид з вузьким ареалом *Clarkia lingulata* виник від *Clarkia biloba* в результаті серії мутацій, що відбулися швидко одна за одною, що призвели до перебудови хромосомного набору. Особи, гетерозиготі по таким хромосомним перебудовам, як транслокації, злиття, розділення, мають занижену плодовитість.

Таким чином, перша стадія видоутворення може здійснюватись шляхом хромосомних перебудов без будь-якої диференціації алелей. Самозапилення сприяє поширенню таких перебудов в популяції. Як тільки в результаті хромосомних перебудов частина популяції стає репродуктивно ізольованою від іншої частини популяції, природний добір починає сприяти розвитку додаткових РІМ.

Швидке видоутворення, що обумовлене хромосомними перебудовами, відоме і в деяких тварин, наприклад, в австралійських прямокрилих *Moraba scurra* та *Moraba viatica*, які вивчав Вайт. Види, що живуть по сусідству перебувають на стадії становлення і відрізняються хромосомними транслокаціями. Транслокації спочатку закріплюються в малих колоніях в результаті генетичного дрейфу. Якщо особини такої колонії мають високу адаптивність, то вони можуть поступово розширити область свого проживання і витіснити вихідних вид з його ареалу. У результаті вихідна і утворена популяції можуть існувати на сусідніх територіях, межуючи одна з одною. Самостійність таких популяцій підтримується завдяки тому, що утворені в зоні контакту міжпопуляційні гібриди гетерозиготні по транслокаціям і тому мають занижену адаптивність. Таким чином, перша стадія видоутворення швидко завершується і природний добір починає сприяти розвитку додаткових РІМ (друга стадія видоутворення). Видоутворення такого типу широко поширене в деяких групах тварин, зокрема в гризунів, що ведуть підземний малорухомий спосіб життя.

Популяція і генетичне диференціювання під час видоутворення

Відкриття генетичного коду білків і розробка методу електрофорезу в гелях дали можливість якісно оцінити генетичні зміни, що відбуваються в популяціях під час видоутворення. Але ще до того, як цей метод поширився, існували дані, що свідчили про те, що число алельних замін в процесі видоутворення може бути великим, оскільки було відомо, що навіть близькі види в

генетичному розумінні сильно відрізняються. Наприклад, Ервін Баур схрещував два види рослин з роду *Antirrhinum* – *A. major* та *A. molle*, що дають плодовиті гібриди. У другому поколінні спостерігалась значна фенотипічна мінливість. Для більшості рослин були характерні різні комбінації батьківських ознак, але в деяких виявлялись ознаки, що були відсутні в обох батьківських видах, але зустрічались у рослин інших видів того ж роду, або близьких родів. Ервін Баур встановив, що існують більше сотні різних генетичних відмінностей між видами *A. major* та *A. molle*. Але виявити, яку роль в генотипі складають гени, щодо яких відрізняються ці два види, було неможливо, оскільки методи класичної менделівської генетики не дозволяють оцінити число генів, що спільні для обох видів.

Ступінь генетичного диференціювання двох популяцій можна оцінити, вивчаючи в кожній з них деякий набір випадково обраних білків. При цьому наперед не повинно бути відомо, відрізняються популяції по цим білкам чи ні. Тоді гени, що кодуєть ці білки, утворюють випадкову вибірку з усіх структурних генів з точки зору аналізу міжпопуляційних відмінностей. Результати, що були отримані при вивченні невеликого числа локусів, можуть бути потім екстрапольовані на геном в цілому.

Ефективним методом, що дозволяє вивчати мінливість білків у природних популяціях і визначати частоти генотипів та алелей в популяціях, служить електорофорез у гелях. Масатоші Ней запропонував зручний спосіб оцінки генетичного диференціювання популяцій за даними електрофорезу. При цьому використовуються дві величини:

- 1) генетична спорідненість (I), що оцінює частку структурних генів, що ідентичні в обох популяціях;
- 2) генетична відстань або дистанція (D) – оцінка середнього числа замін та алелей в кожному локусі, що відбулися за час окремішньої еволюції двох популяцій.

Заміни алелей бувають тоді, коли в результаті мутацій алелі в окремих локусах замінюються іншими або коли одразу замінюється цілий набір алелей. Цей метод враховує ту

обставину, що заміни алелей можуть бути неповними: в якійсь частині популяції «новий» алель може витіснити «старий», що продовжує бути наявним у популяції.

Генетична спорідненість – I може мати значення від нуля (коли в популяціях, що порівнюються немає спільних алелей) до одиниці (коли частоти всіх алелей однакові в обох популяціях). Генетична відстань – D змінюється від нуля (коли немає ніяких алельних замінів) до нескінченності; значення можуть бути більші одиниці, оскільки в процесі еволюції, що відбувається протягом тривалого часу, алелі в кожному локусі можуть неодноразово повністю замінюватись.

Величини I та D використовуються в якості міри генетичного диференціювання популяцій в процесі видоутворення. Щодо географічного видоутворення, то якості характерного прикладу видоутворення цього типу можна взяти групу видів та підвидів *Drosophila willistoni*, бо простежуються в цьому випадку обидві стадії процесу видоутворення. Ця група видів була ретельно вивчена засобами електрофорезу. Результати досліджень було виявлено п'ять рівнів еволюційної дивергенції.

Таблиця 16. Генетична диференціація між популяціями групи *Drosophila willistoni*, що знаходяться на різних рівнях еволюційної дивергенції. Рівні 2 та 3 відповідають першій та другій стадіям географічного видоутворення. I – міра генетичної спорідненості, D – генетична відстань. Числа відповідають середнім значенням і стандартним відхиленням для кількох порівнянь.

№ з/п	Рівень порівняння	I	D
1.	Локальні популяції	0,970±0,006	0,031±0,007
2.	Підвиди	0,795±0,013	0,230±0,016
3.	Види I стадії становлення	0,798±0,026	0,226±0,033
4.	Види-двійники	0,563±0,023	0,581±0,039
5.	Морфологічно різні види	0,352±0,023	1,056±0,068

На першому рівні порівнюються популяції, що існують окремо, але при цьому не мають якоїсь репродуктивної ізоляції. Генетична спорідненість рівна 0,970, тобто популяції мають між собою багато спільного.

На другому рівні порівнюються різні підвиди, наприклад, *Drosophila willistoni willistoni* з *Drosophila willistoni quehua* та *Drosophila equinoxialis equinoxialis* з *Drosophila equinoxialis carribiensis*. Ці популяції знаходяться на першій стадії процесу видоутворення: діють постзиготичні РІМ, що проявляються в формі стерильності гібридів. Між цими підвидами вже виявляється значна генетична диференціація: $I = 0,795$; $D = 0,230$; тобто в середньому в кожних 23 з 100 локусів відбулися повні заміни алелей.

На третьому рівні еволюційної дивергенції розташовані види комплексу *Drosophila paulistorum*, що знаходяться в процесі становлення. Це популяції, що досягли другої стадії видоутворення; між ними поруч з постзиготичними РІМ існують ще й презиготичні. Генетична диференціація при цьому не перевищує диференціації між популяціями, що знаходяться на першій стадії видоутворення. Це означає, що друга стадія видоутворення не вимагає великих генетичних змін, що не повинно викликати здивування в дослідника. Хоча інколи викликає. На першій стадії видоутворення репродуктивна ізоляція виникає як побічний продукт генетичної дивергенції, необхідно, щоб між популяціями накопичилось доволі багато генетичних відмінностей, перш ніж сформується постзиготичні РІМ в якості побічного ефекту. Але на другій стадії видоутворення природний добір безпосередньо діє на користь презиготичних РІМ. Тому для здійснення другої стадії видоутворення достатньо, щоб популяції відрізнялися лише кількома генами, наприклад генами, що впливають на шлюбну поведінку.

На четвертому рівні генетичної диференціації порівнюються види-двійники, такі як *Drosophila willistoni* та *Drosophila equinoxialis*. Не дивлячись на морфологічну спорідненість, генетично ці види абсолютно відмінні: в

середньому на кожні 100 локусів припадає приблизно 58 алельних замін. Види – це незалежно еволюціонуючі групи популяцій. Після того як процес видоутворення завершений, види продовжують безперервно генетично дивергувати. Результати цього процесу поступової дивергенції ясно видні також під час порівняння морфологічно різних видів групи *Drosophila willistoni* (п'ятий рівень генетичної диференціації). Під час незалежної еволюції цих видів в кожному локусі відбувається в середньому більше однієї заміни алелей.

За допомогою методу електрофорезу в останні роки були проведені порівняння популяцій, що знаходяться на різних рівнях еволюційної дивергенції. Еволюція – це складний процес, що визначається як зовнішніми умовами, так і природою самих організмів, тому ступінь генетичного диференціювання популяцій, що знаходяться на одному і тому ж рівні еволюційної дивергенції, може бути різним у залежності від місця, часу, особливостей організмів. Результати електрофоретичних досліджень підтверджують існування такої мінливості, але при цьому виявляються і деякі загальні закономірності.

Таблиця 17. Генетична диференціація на різних стадіях еволюційної дивергенції в деяких групах організмів. Перше число в кожному рядку – середнє значення генетичної спорідненості, друге (в дужках) – середня генетична відстань (згідно F. J. Ayala, 1975).

Організми	I (D)			
	Локальні популяції	Підвиди	Види на стадії становлення	Види і споріднені роди
Дрозозфіли	0,987 (0,013)	0,851 (0,163)	0,788 (0,239)	0,381 (1,066)
Безхребетні	0,985 (0,016)	-	-	0,465 (0,878)
Риби	0,980 (0,020)	0,850 (0,163)	-	0,531 (0,760)
Саламандри	0,984 (0,017)	0,836 (0,181)	-	0,520 (0,742)
Плазуни	0,949 (0,053)	0,738 (0,360)	-	0,437 (0,988)
Ссавці	0,944 (0,058)	0,793 (0,232)	0,769 (0,263)	0,620 (0,559)
Рослини	0,966 (0,035)	-	-	0,510 (0,808)

Крім деяких нечисельних виключень, генетичні відстані між популяціями, що знаходяться як на першій, так і на другій стадії видоутворення, складають в середньому біля 0,20 (в більшості випадків ця величина має значення від 0,16 до 0,30) в таких дуже різних тварин як комахи, риби, земноводні, плазуни, ссавці. Ці результати узгоджуються з висновками зробленими на основі вивчення групи *Drosophila willistoni*: на першій стадії процесу географічного видоутворення необхідне доволі значне генетичне диференціювання (біля 20 алельних замін на 100 локусів), тоді як на другій стадії цього процесу додатково потрібно лише невеликі генетичні зміни.

Таблиця 18. Генетична диференціація під час квантового видоутворення. Між сформованими видами або видами, що знаходяться на стадії становлення способом квантового видоутворення генетична диференціація невелика. (* - порівняння нових видів, ** - порівняння підвидів, що стають новими видами на другій стадії видоутворення).

Популяції, що порівнюються	I	D
Рослини		
<i>Clarkia biloba</i> *	0,880	0,128
<i>Clarkia linguata</i> *		
<i>Stephanomeria exigua</i> *	0,945	0,057
<i>Stephanomeria malheurensis</i> *		
Гризуни		
<i>Spalax ehrenbergi</i> **	0,978	0,022
<i>Thomomys talpoides</i> **	0,925	0,057
<i>Proechimys guairae</i> **	0,969	0,032
<i>Mus musculus</i> **	0,992	0,008
Комахи		
<i>Drosophila sylvestris</i> *	0,939	0,063
<i>Drosophila heteroneura</i> *		
<i>Culex pipiens pipiens</i> **	0,942	0,060
<i>Culex pipiens molestus</i> **		

Наскільки ж великі генетичні зміни під час квантового видоутворення? Друга стадія відбувається однаково як під час географічного, так і під час квантового видоутворення. В обох випадках у популяціях вже існують постзиготні РІМ і під дією природного добору розвиваються презиготні механізми ізоляції. Якщо для здійснення другої стадії географічного видоутворення потрібні генетичні зміни лише в малій частці генів, то це повинно мати місце і для квантового видоутворення. Результати досліджень підтверджують це передбачення. Якщо розглядати популяції двох видів однорічних рослин *Clarkia biloba* та *Clarkia lingulata*, то ці види зберігають між собою багато спільного в генетичному розумінні: $I = 0,880$ та $D = 0,128$; тобто за час окремішньої еволюції обох видів на кожні 100 локусів назбиралось в середньому біля 13 алельних замін.

Можна розглянути ще два види однорічних рослин - *Stephanomeria exigua* та *Stephanomeria malheurensis*. Останній вид виник з першого зовсім нещодавно. Леслі Готліб показав, що вихідна і нова популяції відрізняються лише однією хромосомною транслокацією і по способу розмноження: батьківський вид розмножується перехресним запиленням, дочірній – шляхом самозапилення. Як і слід було очікувати, генетичні відмінності між цими видами дуже незначні і складають лише 6 алельних замін на 100 локусів.

Щодо гризунів, то вид сліпунів *Spalax ehrenbergi* являє собою вид, що складається з чотирьох популяцій, що відрізняються по числу хромосом в наборі (52, 54, 58 та 60). Ці популяції переважно аллопатричні, хоча і вступають в контакт у вузьких зонах на межах своїх ареалів, де відбуваються певна гібридизація. Відмінності в числі хромосом, що утворилися в результаті хромосомного злиття і розділення, створюють ефективні постзиготичні РІМ. Крім того, між популяціями спостерігається деяка етологічна ізоляція; лабораторні досліди показали, що під час спарювання перевагу мають особини одного і того ж хромосомного типу, хоча особини різних хромосомних типів зовні тотожні. Ці чотири популяції перебувають на другій стадії квантового видоутворення, дуже близькі між собою

генетично: за час їх окремішньої еволюції на кожні 100 локусів відбулось біля 2 алельних замін.

Американські гофери *Thomomys talpoides* являють собою вид, що складається з більш ніж 8 популяцій, що відрізняються перебудовами в наборах хромосом. Число хромосом в наборі коливається від 40 до 60. Вони мешкають на півночі та на Дикому Заході ЗСА та в сусідніх районах Канади. Популяції цього виду так само алопатричні, але вони контактують на периферіях ареалів. У південноамериканських щетинистих щурів *Proechimys guairae* число хромосом коливається між 46 та 62. Причина полягає в робертсонівських перебудовах та інших хромосомних мутаціях. У звичайної домашньої миші нормальний набір хромосом складає 60 хромосом. Але в Швейцарії, центральній Італії та на Сицилії виявлені дикі популяції мишей з ареалами, що не перекриваються. У цих популяціях число хромосом у каріотипі коливається від 22 до 28. Хромосомні перебудови перешкоджають гібридизації особин в зонах контакту, хоча одиничні гібридні особини можуть виникати. Середня генетична відстань між такими видами, що зароджуються завжди дуже мала.

Щодо комах є теж два цікаві приклади. У першому випадку є два види, що нещодавно виникли на Гавайських островах (стейт Алоха, ЗСА). Ці види - *Drosophila sylvestris* та *Drosophila heteroneura* відрізняються морфологічно і в значній частині своїх ареалів симпатричні, що свідчить про завершення другого етапу видоутворення. Але генетична диференціація дуже мала, лише трохи більша, аніж та, що виявляється між локальними популяціями різних груп організмів.

Два підвиди комарів - *Culex pipiens pipiens* та *Culex pipiens molestus* диференціювались вже в історичний час: *molestus* – це форма, що відщепилась від *pipiens* і адаптувалась до життя в урбанізованому середовищі. Личинки розвиваються в стічних водах та в очисних відстійниках, самки живляться кров'ю людей наче вони вампіри. Представники цих двох видів, що зароджуються, не схрещуються, оскільки їх шлюбний політ відбувається на різних висотах: самці *molestus* літають біля

поверхні землі, а самці *pipiens* на висоті 2 – 3 м над поверхнею землі, на рівні крони дерев. Ця ситуація може служити прикладом виникнення механізмів презиготичної ізоляції (етологічна ізоляція та ізоляція по місцеперебуванні) без попереднього виникнення постзиготичної ізоляції.

Таким чином, квантове видоутворення може відбуватися при наявності дуже невеликих змін на рівні окремих генів, тобто ні на першій, ні на другій стадіях видоутворення такого типу не потрібно великого числа алельних заміन. Цей вихід узгоджується з висновком, що зроблений відносно географічного видоутворення: на другій стадії, коли природний добір безпосередньо сприяє встановленню презиготичних РІМ, немає необхідності в значних генетичних змінах.

Оскільки популяції є елементарними одиницями еволюції (реальними структурами, де діють елементарні еволюційні фактори, які модифікують елементарний еволюційний матеріал), без систематичного вивчення популяцій неможливе ніяке ґрунтовне дослідження мікроеволюції. Одночасно з цим слід розуміти, що мікроеволюційні ситуації є надзвичайно складними. Всі мікроеволюційні фактори в своїх діях взаємопов'язані, залежать вони і від еволюційного матеріалу. Проблемам утворення та вимирання популяцій, безумовно, слід приділяти більшу увагу в польових та експериментальних дослідженнях. Слід пам'ятати про неминуче різному еволюційному вмісті популяції в різних великих групах живих організмів. Це питання виникає по аналогії з питаннями про різний вміст виду в різних групах організмів (наприклад, морфологічні відмінності між видами ссавців і птахів значно менші, аніж між багатьма внутрішньовидовими формами риб). У майбутньому питання дослідження еволюції обов'язково мусить отримати розвиток в рамках популяційної біології: еволюційна різноякісність популяцій повинна бути виражена не тільки на інтуїтивному рівні.

ОСНОВИ ГЕННОЇ ІНЖЕНЕРІЇ

Сучасна генетика це перш за все технології маніпулювання з генами і методи роботи з рекомбінантними ДНК. Перші роки становлення генної інженерії не були радісним періодом захопленого змагання, що зазвичай буває на початку нової наукової ери. Замість того, щоб мріяти про нові захоплюючі відкриття, що очікують їх найближчим часом, вчені тривожились з приводу того, чи не будуть ці відкриття відкинуті на невизначено довгий час введенням суворих правил, що регламентують використання рекомбінантних ДНК. На щастя, найгірші прогнози і побоювання виявились безпідставними і сьогодні генна інженерія швидко розвивається і не обмежується заборонами. Ті неспокійні роки, які були відмічені спочатку введенням заборон і мораторію на роботу з рекомбінантними ДНК, а потім їх відміною, пов'язують з Асиломарською конференцією, на якій провідні вчені в області молекулярної біології і генетики прийняли правила, що регулюють роботу з ДНК. Сучасна генна інженерія має колосальні перспективи і покликана вирішити цілий ряд проблем, якими обтяжена нинішня цивілізація.

Генна інженерія – сукупність прийомів, методів, способів і технологій введення генів, виділених з певного організму чи штучно синтезованих у геном іншого живого організму з метою отримання нових сортів, порід чи видів живих організмів з корисними для людини властивостями.

Актуальність генної інженерії

Розглядаючи актуальність **генної інженерії**, слід у першу чергу зауважити такі аспекти:

- **Екологічний аспект.** Сучасні існуючі хімічні, фізичні, енергетичні технології є екологічно брудні і небезпечні, створюють цілий ряд складних екологічних проблем і ставлять людство на межу екологічної катастрофи. Сучасні класичні технології часто використовують невідновлювальні ресурси, які рано чи пізно вичерпаються і поставлять людство

перед енергетичною і сировинною кризою. Генна інженерія покликана створити екологічно чисті технології, поєднані з повним кругообігом речовин у біосфері і використанням відновлювальних джерел сировини і енергії.

- **Соціальний аспект.** Чисельність людства продовжує інтенсивно зростати. Перед людством стоять проблеми регуляції чисельності населення, забезпечення населення продуктами харчування в умовах нестачі сировини, виснаження ґрунтів та інших екологічних та соціальних проблем. Ці проблеми можна було б вирішувати шляхом запровадження нових культурних рослин, тварин та мікроорганізмів, що здатні забезпечити людство екологічно чистою сировиною для сучасних технологій і харчування.
- **Медичний аспект.** В умовах перенаселення, інтенсивних міграцій населення, порушення екосистем, накопичення в біосфері мутагенів з'являються нові патологічні мікроорганізми (віруси та бактерії), що спричинюють виникнення епідемій (СНІД та ін.) Генна інженерія покликана створити нові засоби лікування та розробку більш дешевих технологій виготовлення медичних препаратів.

Історія генної інженерії

Основні віхи появи та розвитку генної інженерії такі:

1871 рік – швейцарський вчений Фрідріх Мішер відкрив ДНК у спермі рейнського лосося.

1943 рік – Освальд Евері довів, що ДНК здатна змінювати спадковість бактерій.

1953 рік – Уотсон і Крік довели, що ДНК – комплементарна дволанцюгова структура.

1956 рік – Френк Сталь і Мет'ю Мезелсон довели, що спадкова інформація, що міститься у ДНК, кодується послідовністю пар основ.

1958 рік – доведено, що при реплікації ДНК відбувається розходження комплементарних ланцюгів. Виділена ДНК-полімераза-I – перший фермент, що каталізує синтез ДНК in vitro.

1960 рік – відкрита РНК-полімераза – фермент, що каталізує синтез РНК на основі ДНК-матриці. Відкрита мРНК та її функція.

1961 рік – синтезована перша штучна мРНК – polyU, розшифровані перші знаки генетичного коду.

1965 рік – встановлено, що резистентність до антибіотиків у бактерій обумовлена плазмідами.

1966 рік – повністю розшифрований генетичний код.

1967 рік – виділено ДНК-лігазу – фермент, що зшиває між собою фрагменти ланцюга ДНК.

1970 рік – відкрита перша рестриктаза.

1972 рік – вперше фермент ДНК-лігазу використали для зшивання фрагментів ДНК, отриманих за допомогою рестриктаз.

1973 рік – вперше у плазмідну ДНК вбудовані фрагменти чужорідної ДНК – створені химерні плазміди. Продемонстровано принципова можливість клонування в бактеріях будь-якого гена.

1974 рік – заклик до загального мораторію на дослідження в області молекулярної генетики.

1975 рік – Асіломарська конференція. Введення суворих правил роботи з рекомбінантними ДНК.

1976 рік – розроблені правила Національного інституту охорони здоров'я США щодо роботи з рекомбінантними ДНК. Заклик не присуджувати Нобелівські премії за дослідження в області вивчення ДНК.

1977 рік – створена перша генно-інженерна компанія (“Genetech”) по виробництву медичних препаратів з використанням методик рекомбінантних ДНК. Отримані перші рекомбінантні молекули ДНК, що містили гени ссавців. Відкриті мозаїчні гени. Розроблені методи секвінування ДНК.

1978 рік – присуджена Нобелівська премія за відкриття рестриктаз. З використанням методів рекомбінантних ДНК отримано перший людський гормон – соматостатин.

1979 рік – пом'якшення правил роботи з ДНК. Початок вивчення вірусних ДНК. ДНК пухлинних клітин використана для

трансформації культури нормальних клітин. Початок вивчення ракових генів.

1980 рік – перше промислове виготовлення інсуліну з використанням методів рекомбінантних ДНК. Присуджена Нобелівська премія за створення рекомбінантних ДНК і за розробку методів секвенування ДНК.

1981 рік – населенню запропоновані акції компанії «Genetech». На Уолл-стріт ці акції були оцінені у 200 млн. доларів. Вперше пренатально було діагностовано спадкове захворювання – серповидноклітинну анемію з використанням методик рестриктазного аналізу ДНК.

1982 рік – доведено, що чужорідні гени, введені у клітини тютюну, успадковуються згідно з законами Менделя. Виділено і клоновано в *E. coli* онкоген раку сечового міхура. Показано, що нуклеотидна послідовність гену раку сечового міхура відрізняється від його нормального гомологу єдиною нуклеотидною заміною.

1983 рік – розшифрована повна нуклеотидна послідовність ДНК фагу λ .

1986 – 2000 роки – здійснена програма «Геном людини» – повністю розшифрована нуклетидна послідовність геному людини.

Основна генетична речовина

Після перевідкриття законів Менделя довгий час сподівалися, що внаслідок вдосконалення мікроскопічної техніки можливо буде візуально побачити гени, що розташовані один за одним на хромосомі. Але після створення у 1940 році перших електронних мікроскопів ці надії виявились не виправданими. (Точніше ці надії пішли прахом, як піде колись все). На електронних мікрофотографіях на хромосомах не було виявлено впорядкованих структур. Стало очевидно, що гени влаштовані складніше ніж очікувалось.

Під час перших досліджень окремо взятих хромосом, відокремлених від інших частин клітини, було виявлено в хромосомах два компоненти – ДНК і гістони – позитивно

заряджені білки, що нейтралізують кислі групи ДНК. Ще у 20-ті роки ХХ століття Роберт Фольген винайшов барвники, які специфічно зв'язуються з ДНК. Виявилось, що ДНК локалізована виключно в ядрі, там, де міститься генетичний матеріал. Гістони виключалися з претендентів на роль носіїв генетичної інформації, бо вони відсутні в сперматозоїдах, які замість гістонів містять позитивно заряджені білки протаміни. Але вчені того часу продовжували вважати, що ДНК в клітині гомогенна і не може бути носієм генетичної інформації. Вони ще довгий час вважали, що якісь невовимі білки є носіями спадкової інформації.

РНК була відкрита ще в кінці ХІХ століття, але лише у 1920 році Фебус Левін (Рокфелерівський інститут) довів, що в ДНК цукор – дезоксирибоза, а в РНК цукор – рибоза.

Довгий час вважалось, що ДНК та РНК являють собою регулярні структури, в яких набір з чотирьох нуклеотидів весь час повторюється. Але існувала і альтернативна думка.

У 1928 році Фреді Гріффіт (Великобританія) провів досліди з бактеріями *Diplococcus pneumoniae*, які викликають летальну пневмонію у щурів. Вбиті нагріванням вірулентні бактерії при змішуванні з життєздатними невірулентними клітинами здатні трансформувати невелику частину невірулентних бактерій у вірулентні. Ці бактерії, стаючи вірулентними, виробляли полісахаридну клітинну стінку, наявність якої необхідна для прояву вірулентності. Таким чином, Гріффіт продемонстрував наявність якоїсь активної генетичної речовини, яка лишилась неушкодженою при нагріванні і яка може входити у невірулентні клітини і викликати їх генетичну трансформацію. Сам Гріффіт не зміг ідентифікувати цю речовину. Ці спроби продовжив Освальд Евері (США), який вважав, що ця речовина є складним полісахаридом. Потім в результаті багаторічних досліджень Евері встановив, що трансформуючим фактором є ДНК. До цих висновків він прийшов на основі того, що трансформуюча активність специфічно подавлюється високоочищеним ферментом ДНК-азою, що руйнує виключно ДНК. Результати ці були вперше опубліковані у 1944 році. Але не дивлячись на це,

більшість науковців вважало, що Евері просто не вловив певний «генетичний білок», а його ДНК-аза була не досить чистою від протеїназ.

У 30-ті роки було встановлено, що ДНК являє собою лінійний полімер довжиною більше 1000 нуклеотидів. До 1951 року було встановлено, що цей полімер має 5' і 3' кінці. Також було ясно, що чотири азотні основи присутні у ДНК в майже рівних кількостях, але у організмів, що є еволюційно віддаленими, співвідношення кількості азотистих основ може суттєво відрізнятись. Чарграфф помітив, що зміна співвідношення азотистих основ відбувається не незалежно: вміст аденіну завжди рівний вмісту тиміну, а вміст гуаніну завжди рівний вмісту цитозину, тобто число пуринових основ рівне числу піримідинових. Цей висновок отримав назву **правило Чарграффа**. Сенс цього явища і правила довго лишався неясним.

У 1953 році Джеймс Ватсон і Френсіс Крік провели свої знамениті дослідження і продемонстрували рентгеноструктурним аналізом те, що ДНК є подвійна спіраль. Стало зрозуміло, що ДНК є носієм спадкової інформації. Причому азотисті основи розташовуються всередині спіралі, цукор і фосфорна кислота – назовні. В нормальних умовах обидва ланцюги самостійно ніколи не роз'єднуються, але якщо ДНК проінкубувати при 100°C, то водневі зв'язки руйнуються, спіраль розпадається. Цей процес називається процесом денатурації ДНК.

Ще у 1940 році Полінг і Дельбрук висунули гіпотезу, що ген функціонує як шаблон або матриця, з якої робляться копії. У 1958 році були отримані докази того, що ланцюги ДНК роздвоюються при реплікації внаслідок успішних дослідів **Мет'ю Мезелсона і Франкліна Сталя**. Суть цих дослідів: виростили *E. coli* на середовищі, що багате на важкі ізотопи C^{13} та N^{15} . ДНК таких бактерій була важча ніж нормальна ДНК. Важку ДНК можна було легко відділити від нормальної центрифугуванням у $CsCl$. Коли клітини, що містили “важку” ДНК, перенесли у нормальне середовище, клітини поділились і вся “важка” ДНК була замінена на ДНК, що була проміжною по

щільності між важкою і легкою. Повна відсутність важкої ДНК свідчила про те, що реплікація не є консервативним процесом, при якому комплементарні ланцюги лишаються зв'язаними. Поява ДНК з «гібридною» щільністю вказувала на напівконсервативність процесу реплікації, при якому два батьківських важких ланцюги розходяться і служать матрицями для утворення комплементарних ланцюгів.

Денатурація і ренатурація ДНК

У фізіологічних умовах два ланцюги ДНК майже ніколи самовільно не розходяться. Але в процесі інкубації ДНК при температурі близькій до 100°C або при високих значеннях рН ($\text{pH}<3$ або $\text{pH}>10$) подвійна спіраль швидко розпадається (денатурує) на окремі ланцюги. Спочатку денатурацію вважали незворотнім процесом, але у 1960 році Джіліус Мармур та Пол Доті з Гарварда показали, що існує явище ренатурації – відтворення подвійних спіралей, якщо дві послідовності ДНК суворо комплементарні. Ренатурація може відбуватися між ДНК і РНК з комплементарними послідовностями. Саме так Хол і Спігелман у 1961 році довели, що ДНК при синтезі білку функціонує як матриця, на якій синтезуються ланцюги РНК.

Стабільність пар основ

GC пари більш стабільні ніж AT пари. В результаті цього подвійні спіралі, що мають переважно GC пари більш стабільні, тобто денатурують при більш високих температурах ніж спіралі з перевагою AT пар. Більше того: відношення AT/GC у ДНК можна визначити, вимірявши температуру, при якій дволанцюгова ДНК наполовину денатурована.

Паліндроми і утворення внутрішньоланцюгових водневих зв'язків

Пари основ можуть формуватися не тільки між основами протилежних ланцюгів, але і в межах одного ланцюга, який випадково чи не випадково містить близько розташовані повторювальні послідовності взаємопротилежної направленості

(паліндроми), що створює можливість утворення шпильок з петлями. Таким чином короткочасна денатурація паліндромних ділянок ДНК приводить до утворення метастабільних хрестоподібних петель, що здатні взаємодіяти зі специфічними ДНК-зв'язаними білками.

Метилювання основ ДНК

У ДНК живих організмів значна частина залишків цитозину модифікована: ці залишки містять метильну групу, приєднану до 5-го атому вуглецю піримідинового кільця, утворюючи 5-метилцитозин. Причому ця метилова група не шкодить утворенню водневих зв'язків між комплементарними ланцюгами. Зв'язки метилцитозину з гуаніном і цитозину з гуаніном ідентичні. У еукаріот метильовані залишки цитозину завжди у ланцюгу сусідні з гуаніном: [5'[']C(CH₃)G-3'[']]. ДНК, що має багато послідовностей [5'-CG-3'] значно більш метильована ніж ДНК, що не має таких послідовностей. У вищих рослин метильовано біля 20 % цитозину. Виявилось, що метилювання ДНК відіграє дуже важливу біологічну роль у регуляції активності генів. Крім того, у бактерій система метилювання дозволяє розпізнавати свою ДНК і ДНК бактеріофагів і вирізати її з геному.

Плазміди

Плазміди – маленькі додаткові кільцеві хромосоми бактерій і дріжджів, що складаються всього з кількох тисяч пар основ, мініатюрні голі кільцеві ДНК, що здатні автономно реплікуватися, свого роду мініхромосоми бактерій. У бактерій плазміди функціонують у цитоплазмі, у дріжджів – у нуклеоплазмі. Величина плазмід як правило біля 1 % бактеріальної хромосоми, але є дуже дрібні плазміди, величина яких становить всього 0,05 – 0,1 % бактеріальної хромосоми.

Розрізняють такі типи плазмід:

Нетрансмісібельні плазміди – плазміди, що не здатні включатися у бактеріальну хромосому.

Епісоми - плазмід, що здатні включатися у бактеріальну хромосому.

Плазмід під **сильним контролем** бактеріальної хромосоми – існують у вигляді 1 або 2 копій у цитоплазмі.

Плазмід під **слабким контролем** бактеріальної хромосоми – існують у вигляді сотень (більше 200) копій у цитоплазмі.

Крім того розрізняють плазмід:

F-фактори – статеві фактори бактерій

R-фактори – фактори стійкості до антибіотиків

C-фактори – коліциногени.

R-фактори (від англ. Resistance – стійкість) – доволі крупні плазмід, несуть гени стійкості до антибіотиків. Крім того, ці плазмід часто мають гени, що викликають здатність бактерій створювати кон'югаційний місток навіть з бактеріями іншого виду. Наприклад, бактерія кишківникового тифу може стати стійкою до дії антибіотиків внаслідок проникнення у неї генів з E. coli. R-фактори можуть втрачатися бактерією і не відновлюватись при цьому, зокрема під дією акридинів, які перешкоджають реплікації плазмід.

Коліциногени – дрібні плазмід, передаються при поділі клітини нащадкам, можуть утворювати кон'югаційний місток і передаватися іншим бактеріям, деякі можуть вбудовуватися у хромосому бактерій. Коліциногени містять гени, що продукують особливі речовини – коліцини – речовини, що здатні навіть у дуже низьких концентраціях вбивати бактерій того ж виду, але які не мають відповідного коліциногену. Коліциногенів відомо декілька. Носії коліциногену імунні до відповідного коліцину, що дає їм відповідну перевагу в порівнянні з бактеріями, незахищеними таким чином. У клітині може бути більше 20 різних коліциногенів одночасно. Коліцин виробляється бактерією-носієм не завжди, а тільки у випадку певної індукції, під час якої активуються гени коліциногена. Індукція часто самовільна, іноді можна викликати індукцію штучно, наприклад опромінюючи ультрафіолетом чи діючи алкілюючими сполуками. При індукції коліцин вбиває не тільки чужі для

популяції бактерії, але і саму бакрерію-носія, що приноситься в жертву для блага всієї колонії. Іноді коліциногени взаємодіють з F-факторами, і бактерія втрачає можливість утворювати кон'югаційні містки. Крім бактерій, плазмідні описані у синьо-зелених водоростей і дріжджів. Є підстави вважати, що плазмідні зустрічаються і у еукаріот. Також носіями цитоплазматичної спадковості можуть бути фаги і профаги.

Плазмідні здатні суперспіралізуватися. Суперспіралізацію плазмід здійснює фермент гіраза в присутності АТФ, релаксацію плазмід здійснює фермент топоізомераза.

Спіралізація ДНК

Більшість ДНК являє собою правозакручені спіралі (А і В-форми), але існують і лівозакручені спіралі ДНК (Z-форма). Переважає в ДНК В-форма. Цікаво, що метилування цитозину стабілізує лівозакручені форми ДНК.

МЕТОДИ СТВОРЕННЯ РЕКОМБІНАНТНИХ МОЛЕКУЛ ДНК

На початку 70-тих років ХХ століття багато біологів вважали, що з відкриттям репресорів і оперона закінчується певна епоха в біології, і в молекулярній біології немає майбутнього. Багато молекулярних генетиків переключилися на інші області досліджень, дехто просто спився, дехто зайнявся нейробиологією, що зрештою майже те саме, що спитися. Ніхто навіть не підозрював, які відкриття і перспективи виникнуть незабаром.

Для подальшого дослідження ДНК в першу чергу необхідно було розробити **методи секвінування нуклеїнових кислот** – розшифрування послідовності нуклеотидів. Вперше послідовність нуклеотидів була визначена не для ДНК, а для тРНК, які мають довжини всього 75-80 нуклеотидів. Вперше було встановлено послідовність аланінової тРНК дріжджів. Це здійснив Роберт Холлі. Для цього довелося знайти ферменти, які розщеплюють тРНК на все більш і більш короткі дискретні

фрагменти. Цей метод отримав назву «метод ступінчатої деградації». Цей метод вдосконалювався і у 1975 році Уолтер Фірс з Генту розшифрував цим методом повну нуклеотидну послідовність РНК-хромосоми бактеріофага MS2 (РНК-вірус). Було виявлено 3 гени, сигнали термінації і трансляції. Виявилось, що ці три гени розділені всього кількома нуклеотидами, але на кінці РНК-хромосоми виявились довгі нетранслюючі ділянки. (129 нуклеотидів на 5'-кінці і 174 нуклеотиди на 3'-кінці). Методи секвінування ДНК були ще тоді невідомі. Відомі на той час ДНК-ази, руйнуючи ДНК, давали дуже гетерогенний матеріал коротких фрагментів; встановити, в якому вони порядку в нативній ДНК, було неможливо. Всі відомі на той час ДНК-ази були неспецифічні.

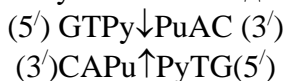
Специфічні нуклеази

Перша специфічна нуклеаза, яка була відкрита – РНК-азаТ1, що вносила розрив тільки біля гуаніну. Вважалося, що високоспецифічні нуклеази ніколи не будуть одержані. Єдиним оптимістичним фактом було те, що у 1953 році виявили, що ДНК певного штаму *E. coli*, введена у клітини іншого штаму, як правило, не проявляє генетичної активності і швидко руйнується – розщеплюється на дрібні фрагменти. Лише дуже рідко чужорідна ДНК в *E. coli* не фрагментувалася, бо з ДНК відбувалася якась модифікація і ця ДНК реплікувалася у новому бактеріальному штамі. У 1966 році в результаті аналізу вірусної ДНК було показано, що ця ДНК (що не фрагментувалася) містить метильовані основи, що відсутні у немодифікованій ДНК. Метильовані основи не включалися в ДНК в готовому вигляді, вони утворювалися в результаті ферментативного метилювання нуклеотидів у вже синтезованій ДНК.

Стюарт Лінн та Вернер Арбер з Женевського університету у 1970 році виявили у екстрактах клітин *E. coli* специфічний модифікуючий фермент, що метилює ДНК і рестриктазу (рестрикуючу нуклеазу), яка розщеплює неметильовану ДНК.

В наступні роки було виявлено ще кілька інших рестриктаз і метилаз в інших штаммах *E. coli*. Прийшли до висновку, що

існують багато сайт-специфічних нуклеаз. Але ці перші рестриктази не виправдали сподівань вчених: ці рестриктази хоч і розпізнавали неметильовані ділянки ДНК, але розрізали ДНК у випадкових точках. Але дуже скоро були виявлені рестриктази, які розщеплювали специфічні послідовності ДНК. Перша така рестриктаза була відкрита Гамільтоном Смітом (університет ім. Джона Гопкінса). Гамільтон Сміт випадково виявив, що бактерія *Haemophilus influenzae* швидко розщеплює ДНК чужорідних фагів. Потім цю нуклеазну активність він знайшов у безклітинному субстраті і було показано, що ця активність обумовлена дією істинного ферменту рестрикції, що руйнує ДНК *E. coli*, але не діє на ДНК *Haemophilus influenzae*, з якого цей фермент і виділили. Цю рестриктазу назвали Hind II. Було показано, що Hind II зв'язується з послідовностями:



Після цього рестриктази, що розщеплюють специфічні послідовності були виділені з більш ніж 300 штамів бактерій, було ідентифіковано більше 200 сайтів рестрикції. Одні рестриктази впізнають специфічні групи з чотирьох нуклеотидів (тетрануклеотидні рестриктази), інші – з шести нуклеотидів (гексануклеотидні рестриктази). Тетрануклеотидні рестриктази вносять у ДНК набагато більше розривів ніж гексануклеотидні. Гексануклеотидний сайт може бути взагалі відсутній у вірусній ДНК. Так у фага T7 (40 kb) відсутній сайт рестрикції GAATTC, який впізнає рестриктаза EcoRI.

По розташуванню сайтів рестрикції в геномі були визначені рестрикційні карти. Ці рестрикційні карти виявились високоспецифічними. Різні фрагменти, що утворюються при розщепленні специфічної вірусної ДНК якоюсь рестриктазою, легко розділити за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Швидкість міграції фрагментів ДНК залежить від їх довжини: короткі фрагменти мігрують швидше, ніж довгі. При високій концентрації агарози великі фрагменти можуть взагалі не заходити в гель.

Наведу приклади деяких найбільш популярних рестриктаз:

Мікроорганізм, з якого добули рестриктазу	Назва рестриктази	Сайт рестрикції
<i>Bacillus amyloliquefacies</i> H	BamH I	G↓GATCC CCTAG↑G
<i>Brevibacterium albidum</i>	Bal I	TGG↓CCA ACC↑GGT
<i>Escherichia coli</i>	EcoR I	G↓AATTC CTTAA↑G
<i>Haemophilus aegyptus</i>	Hae II	PuGCGC↓Py Py↑CGCGPu
<i>Haemophilus aegyptus</i>	Hae III	GG↓CC CC↑GG
<i>Haemophilus haemoliticus</i>	Hha I	GCG↓C C↑GCG
<i>Haemophilus influenzae</i> Rd	Hind III	A↓AGCTT TTCGA↑A
<i>Haemophilus parainfluenze</i>	Hpa I	GTT↓AAC CAA↑TTG
<i>Haemophilus parainfluenze</i>	Hpa II	C↓CGG GGC↑C
<i>Povidencia stuartii</i> 164	Pst I	CTGCA↓G G↑ACGTC
<i>Streptomyces albus</i> G	Sal I	G↓TCGAC CAGCT↑G
<i>Xanthomonas oryzae</i>	Xor II	CGATC↓G G↑CTAGC

При міграції в таких гелях фрагменти ДНК не деградують – їх можна елюїрувати з гелю і використовувати. При забарвленні цих гелей утворюється набір смуг. Молекулярну масу кожного

фрагменту ДНК можна визначити, провівши калібрування за допомогою ДНК з відомими молекулярними масами. Різні рестриктази дають різні рестрикційні карти одної і тої ж вірусної ДНК. Найбільш корисні в цьому контексті рестриктази, які впізнають невелике число фрагментів, що добре розділяються в агарозному гелі. Перша рестрикційна карта була складена у 1971 році Данієлем Натансом (фермент Hind II розщеплював вірус SV40 на 11 специфічних фрагментів). Повторення дослідів з іншими ферментами привело до створення детальних рестрикційних карт. Завдяки застосуванню рестриктаз був здійснений пошук біологічно активних ділянок ДНК: було показано, що реплікація SV40 завжди починається в одному і тому ж специфічному Hind II-фрагменті і поширюється в обох напрямках. Пізніше було точно картовано місце ініціації транскрипції з використанням крім рестриктаз радіаційної мітки.

Методи секвінування ДНК

Ще у 60-тих роках ХХ століття Фред Сенгер припинив роботи по секвінуванню білків і зайнявся розробкою методів секвінування довгих ділянок нуклеїнових кислот. У 1975 році він запропонував так званий «плюс-мінус-метод», що бів оснований на елонгації ланцюгів ДНК ДНК-полімеразою. Метод дозволяв секвінувати ділянки ДНК довжиною 100-500 нуклеотидів. В той же час (у 1977 році) Алан Максам і Уолтер Гілберт з Гарварду розробили метод секвінування ДНК, оснований на хімічній деградації нуклеотидів. Пізніше ці методи були вдосконалені.

Секвінування ДНК по Максаму-Гілберту.

Фрагмент ДНК, що отриманий у великій кількості методом клонування у *E. coli*, мітять радіоактивною міткою P^{32} з 5'-кінця. Мічену ДНК розділяють на 4 порції. ДНК переводять у одноланцюгову форму. Кожну порцію обробляють реагентом, що руйнує певну основу ДНК – аденін, або тимін, або гуанін, або цитозин. Ланцюг ДНК руйнується у певних точках. Умови реакції підбирають так, щоб встигали зруйнуватися в кожній точці тільки деякі з ланцюгів. Реакцію зупиняють, здійснюють електрофорез у поліакріламідному гелі. Фрагменти, що мають

радіоактивну мітку, виявляються за допомогою рентгенівської плівки. По довжині виявлених фрагментів здійснюють аналіз і визначають послідовність нуклеотидів.

Секвінування ДНК по Сенгеру.

Фрагмент ДНК, що отриманий у великій кількості методом клонування у *E. coli*, мітять радіоактивною міткою P^{32} з 5'-кінця. Мічену ДНК розділяють на 4 порції. ДНК переводять у одноланцюгову форму. Попередньо синтезують 2'-3'-дидезоксинуклеотиди для кожної з чотирьох основ ДНК. ДНК-полімераза може включати ці молекули в ДНК (бо вони мають нормальну 5'-трифосфатну групу, але включившись в ДНК ddNTP не можуть утворити фосфодієфірний зв'язок з наступним dNTP. Тому ріст ДНК у цій точці зупиняється. В якості затравки використовують коротку комплементарну по кінцю ділянку ДНК. Додають суміш цих нормальних і аномальних нуклеотидів, ДНК-полімеразу до кожної із чотиньох порцій ДНК, причому у кожену порцію додають тільки один вид аномальних нуклеотидів. Утворюється набір мічених молекул, довжини яких рівні відстані від залишків даного нуклеотиду до кінця ланцюга ДНК. Здійснюють електрофорез у поліакріламідному гелі. Фрагменти, що мають радіоактивну мітку, виявляються за допомогою рентгенівської плівки. По довжині виявлених фрагментів здійснюють аналіз і визначають послідовність нуклеотидів.

Хімічний синтез олігонуклеотидів

Одразу за розробкою швидких методів секвінування ДНК з'явилися прості і швидкі методи порівняно довгих олігонуклеотидних послідовностей. На сьогоднішній день за три дні можна синтезувати олігонуклеотид довжиною 20 нуклеотидів. Методи синтезу основані на специфічному захисті (тобто модифікації, що запобігає вступу у хімічну реакцію) 5' або 3' кінця моно- або олігонуклеотиду. Для цього до 5' або 3'-гідроксиду приєднується об'ємну блокуючу групу. Використовуючи різні блокуючі групи, деякі з них можна видалити обробкою кислотою, інші – лугом. 5'-блокуючий мононуклеотид може вступати в реакцію конденсації з 3'-

блокованим мононуклеотидом, в результаті чого утворюється динуклеотид, блокований по обидвох кінцях. Потім або 5' або 3'-блокуюча група видаляється (кислотою або лугом) і динуклеотид реагує з відповідним чином деблокованим моно- або динуклеотидом. Цей цикл, що включає конденсацію, видалення тої чи іншої блокуючої групи і подальшу конденсацію, можна повторити багато разів, поки не отримуємо олігонуклеотид потрібної довжини. Потім вдалось розробити модифікацію методу, в якому перший нуклеотид конденсують з твердим носієм і додають слідувачі нуклеотиди по одному, промиваючи носій після кожного кроку. Ця процедура була автоматизована. Блокуючі групи у цьому методі являють собою залишки великих органічних молекул, що перешкоджають утворенню фосфодієфірного зв'язку.

Липкі і тупі кінці ДНК, що утворилися внаслідок рестрикції

HindIII розщеплює ДНК в середині сайту рестрикції і утворює фрагменти з так званими «тупими» кінцями, в яких два ланцюги ДНК повністю спарені і не злипаються. EcoRI вносить розриви, що розташовані так, що на кінцях кожного фрагменту лишаються короткі одноланцюгові «хвости» з чотирьох нуклеотидів. Подібні розриви вносять багато інших рестриктаз, утворюючи специфічні одноланцюгові ділянки. Ці комплементарні ділянки мають тенденцію до асоціації за рахунок спарювання основ, тому їх назвали комплементарними або липкими кінцями. Розрізані молекули ДНК (наприклад, вірусу SV40) часто знову замикаються в кільце за рахунок спарювання основ.

Спарювання липких кінців відбувається тільки між комплементарними послідовностями, тому липкі AATT-кінці (EcoRI) не будуть спарюватись з AGCT-кінцями (Hind III). Але якщо рестриктаза одна – кінці різних ДНК можуть злипатися, а потім цю сполуку можна «зшити» за допомогою ДНК-лігази. Такі дослідження вперше виконали у 1972 році в Станфорді Дженет Мерц і Рон Девіс.

Приєднання липких кінців до тупих кінців ДНК

Використання фермента кінцевої трансферази з тимусу теляти, що приєднує нуклеотиди до 3'-кінців ланцюгів ДНК, є універсальним методом перетворення фрагментів ДНК з тупими кінцями у фрагменти з липкими кінцями. Так, наприклад, якщо до обох 3'-кінців дволанцюгового фрагмента приєднати poly(dA), а до 3'-кінців іншого фрагмента poly(dT), то при змішуванні цих двох фрагментів між комплементарними одноланцюговими кінцями буде відбуватися спарювання. Потім до цієї суміші можна додати відповідні ферменти для заповнення всіх, що є одноланцюгових пробілів і скористуватися ДНК-лігазою для ковалентного з'єднання двох фрагментів. Ці процедури розробили у 1972 році у Станфорді Пітер Лоббан, Дейл Кайзер, Девід Джексон, Пол Бегр. Недолік цього методу – наявність у новоутвореній рекомбінантній ДНК ділянок типу poly(A), що може заважати функціонуванню клонуваних генів.

Використання маленьких плазмід для клонування чужорідних генів

Перший метод створення рекомбінантних плазмід базувався на випадковому вбудовуванні EcoRI-фрагментів молекули ДНК в кільцеву плазмиду ДНК, розщеплену теж EcoRI. Це здійснили Герберт Бойер і Стенлі Коен з Каліфорнійського університету у 1973 році. Була використана плазміда pSC101, що містить один сайт рестрикції EcoRI. Змішували з фрагментами рестрикованої EcoRI іншої плазмиди. В результаті отримали плазмиди, кожна з яких мала як мінімум один фрагмент чужорідної ДНК. Таким чином, отримали химерні плазмиди, кожна з яких мала дві точки початку реплікації. Стало зрозуміло, що можна клонувати в плазмідах будь-яку чужорідну ДНК. Бактеріальна хромосома *E. coli* має 500 сайтів рестрикції EcoRI. Шляхом випадкового вбудовування EcoRI I-фрагментів у pSC101 можна клонувати всі гени *E. coli* у вигляді фрагментів, які потім виділити і використовувати для досліджень. Тоді з'явилась можливість клонування і вивчення різних генів людини, включно з онкогенами. Роберт Поллак запланував клонувати гени вірусу

SV40 в *E. coli*. І тоді здійнялась паніка. Науковці і широкі кола громадськості були стривожені, чи не призведуть подібні дослідження до непередбачуваних наслідків. На дослідження в галузі молекулярної генетики і біотехнології з використанням рекомбінантних ДНК було накладено мораторій.

КЛОНУВАННЯ ГЕНІВ

Отримання безпечних штамів бактерій і безпечних плазмідних векторів

Після Асиломарської конференції почались роботи по розробці безпечних штамів бактерій для роботи з рекомбінантними ДНК. Перші штами, що відповідали правилам Асиломарської конференції (категорія ЕК2) з'явилися у 1976 році. Через рік, у 1977 році були створені перші безпечні вектори рМВ9 і рВR322. Перший безпечний штам *E. coli* К12 отримав Рой Кертіс Третій (університет штату Алабама). Він його назвав χ 1776 (з патріотичних міркувань). Цей штам має ряд особливостей, що виключає його “втечу” з лабораторії: потреба діамінопімелінової кислоти, що відсутня у кишківнику людини; руйнування клітинної стінки при низькій концентрації солей або наявності слідів детергенту. Але працювати з таким штамом було важко. Потрібні були нові безпечні штами, які були скоро отримані. В якості векторів вимагалось використовувати тільки такі плазмідні, які в результаті мутацій втратили здатність передаватись при кон'югації і не могли в кишківнику людини перейти від “безпечних” господарів до “небезпечних”. Такі плазмідні виявилось отримати досить просто.

Зонди для виявлення клонованих генів

Були розроблені методики клонування чужорідних генів у *E. coli*. Були створені перші бібліотеки генів. Але це були бібліотеки без каталога. В кожній бібліотеці містилось мільйони різних клонів бактерій, що були носіями різних чужорідних генів. Постає питання – як у цій бібліотеці знайти потрібний нам ген ? Для цього створюють зонди – радіоактивно мічені

послідовності нуклеїнових кислот, що комплементарно гібридизуються з конкретним геном. Першими зондами були мРНК специфічні для конкретного гена. Але виділити чисту мРНК дуже важко. Вихід був знайдений у використанні кДНК.

Синтез і клонування кДНК

кДНК (сDNA) – це ДНК, що синтезована на основі мРНК. Всі мРНК еукаріот мають на 3'-кінці polyA-хвіст (тейлор). І це дуже зручно. Якщо змішати з мРНК oligo (dT) – вони будуть затравкою для фермента зворотня транскриптаза (ревертаза), що синтезує ДНК на основі РНК. Ревертазу виділяють з деяких РНК-містких онкогенних вірусів (ретровірусів), наприклад, з вірусів ретинобластоми курей. Під час синтезу ДНК на основі РНК утворюється “шпилька” – артефакт реакції *in vitro*, але вона служить затравкою для синтезу другого ланцюга ДНК.

Після синтезу кДНК вбудовують у плазмиду, наприклад, у pBR322 або за допомогою “хвостів”, добудованих кінцевою трансферазою або шляхом пришивання до кінців кДНК штучних сайтів рестрикції – **лінкерів** – хімічно синтезованих нуклеотидів. Лінкери пришивають до дволанцюгової кДНК за допомогою ДНК-лігази, а потім розщеплюють їх рестриктазами. кДНК, що містить такі липкі кінці вбудовують у плазмиду, гідролізовану тим же ферментом рестрикції. Отриману рекомбінантну плазмиду, що містить кДНК, вводять у клітини *E. coli* відповідного штаму, де вона і розмножується.

Ідентифікація специфічних клонів кДНК

Гомогенну мРНК отримати дуже важко. Завжди працюють зі змішаною популяцією мРНК. В результаті утворюється суміш різних кДНК. Але дослід можна зробити так, щоб кожна бактеріальна клітина отримала тільки одну рекомбінантну плазмиду, що містить кДНК. В результаті клітина і всі її нащадки будуть містити тільки один вид кДНК. Проблема полягає в тому, щоб довідатись, яку саме кДНК містить кожна клітина. Для цього відбирають одиничні колонії бактерій і вирощують з них великі гомогенні культури. Потім з цих генетично однорідних

клональних популяцій клітин виділяють кДНК-плазмідни і денатурують їх. Денатуровану кДНК можна іммобілізувати на нітроцелюлозних фільтрах. Коли через ці фільтри пропускають суміш мРНК, на фільтрах затримуються тільки ті молекули, які комплементарні даній гомогенній кДНК. Потім зв'язану мРНК можна елюїрувати з фільтру і додати до безклітинної системи трансляції. Синтезований при цьому білок, специфічний для даної кДНК, можна ідентифікувати хроматографічним аналізом. Коли це можливо зробити – в розпорядженні дослідників опиняється чиста кДНК, що служить зондом для пошуку індивідуального гена і відповідної мРНК. Чим більшу частку у препараті складає дана мРНК, тим легше отримати такий кДНК-зонд. Тому, природньо, технологія рекомбінатної ДНК була в першу чергу застосована для отримання зондів на гени білків, що синтезуються у великих кількостях (гемоглобін, антитіла мієлом). Потім була одержана кДНК для овальбуміну.

Коли кДНК-зонд для даного білка (і гена) отриманий, його можна застосувати з використанням методу гібридизації на нітроцелюлозних фільтрах для швидкого скринінгу великого числа бактеріальних колоній для визначення вмісту інших рекомбінантних (хімерних) плазмід, що несуть той самий або споріднений ген. За допомогою цих методів було отримано багато кДНК-зондів для різних білків, наприклад, для гемоглобіну, і у кожному випадку було встановлено чи є даний зонд повною чи частковою копією гену, який шукають. Один із підходів для в'яснення цього питання полягав у вимірюванні розмірів гетеродуплексів РНК-ДНК, що утворювались при змішуванні даної мРНК з денатурованими кДНК-зондами. Ті клони кДНК, які утворюють гетеродуплекси зі всією мРНК потім аналізували з метою визначити чи відповідає їх нуклеотидна послідовність амінокислотній послідовності даного білка. Як і очікувалось, така відповідність виявилась точною, крім того було виявлено, що багато мРНК мають на 5'-кінці додаткові нуклеотидні послідовності. Вони кодують лідерні сегменти білків, які відщеплюються після завершення синтезу і тому часто не виявляються.

Клонування фрагментів геному у бактеріофазі λ

Клонування кДНК у плазмідах дозволяє досліджувати безпосередньо структуру генів, а не РНК, що з них транскрибуються. Але для вивчення регуляторних послідовностей, що знаходяться за межами кодуєчої частини гена, може виникнути необхідність у маніпуляції значно більшими фрагментами хромосомної ДНК.

Виявилось, що плазміди, які мають великі вставки чужорідної ДНК, нестабільні і при реплікації поступово зменшуються в розмірі в результаті делецій чужорідної ДНК. Чим менший розмір плазміди, тим швидше вона реплікується. Тому генетичний матеріал, що не потрібний плазміді, поступово втрачається.

Великі фрагменти хромосомної ДНК (розміром біля 15 kb) нестабільні у складі плазмід, але стають стабільні при вбудуванні їх у ДНК спеціально сконструйованих штамів фага λ .

Можна отримати мутанти фага λ , що не здатні вбудовувати свою ДНК у хромосому *E. coli* і тому безпечні. Для отримання таких безпечних λ -векторів використовується та обставина, що вся центральна частина ДНК фага λ не потрібна для реплікації у *E. coli*, а функціонує тільки при інтеграції фагової ДНК у бактеріальну хромосому у лізогенній фазі життєвого циклу фага. Були сконструйовані спеціальні штами фага λ , в ДНК яких сайти EcoRI розташовані так, що кінцеві фрагменти фагової ДНК, необхідні для реплікації, лишаються інтактними. Після розщеплення EcoRI ці кінцеві фрагменти завдяки їх відносно великим розмірам легко відділити від інших EcoRI-фрагментів і використати потім для отримання нових λ -подібних фагів, що містять крім кінцевих фрагментів вставку чужорідної ДНК розміром біля 15 kb. Зручним виявилось те, що для дозрівання фага λ його хромосома повинна мати розміри 45 kb. Завдяки цьому при конструюванні химерних ДНК *in vitro* для наступного розмноження автоматично відбираються тільки ті з них, які мають обидва кінці фагової хромосоми і вставку чужорідної ДНК певної довжини.

Коли отримана бібліотека фагів, що містить специфічні гени еукаріот, легко провести її скрінінг за допомогою клонованої у плазміді кДНК, користуючись радіоактивним зондом для ідентифікації фагових колоній (бляшок), що містять послідовності, які комплементарні даній кДНК. Гаплоїдний набір клітини ссавця біля 3 000 kb. Кожен фаг містить 15 kb чужорідної ДНК. Отже скрінінг лише мільона фагових бляшок дозволяє перевірити весь геном ссавця на наявність даного гена. Тому, якщо є специфічна кДНК, пошук потрібного гена в бібліотеці фагів λ займає кілька тижнів.

Косміди

При клонуванні у фактеріофазі розміри клонованого сегмента еукаріотичного генома обмежується розміром 15 kb. Часто цього достатньо для отримання цілого гена і сусідніх послідовностей. Але багато генів виявились довгими ніж 15 kb – деякі гени виявились розміром біля 40 kb. Крім того, неможливо виділити два сусідніх гени у вигляді єдиної молекули рекомбінантної ДНК. Метод клонування довгих ділянок ДНК у *E. coli* отримав назву “метод клонування в космідах”.

Космідую отримують таким чином. На обох кінцях молекули ДНК бактеріофага λ є комплементарні одноланцюгові ділянки (cos-сайти). При нормальному життєвому циклі фага λ сотні молекул фагової ДНК утворюють довгий ланцюг – **конкатемер**, причому кожний геном фага λ з’єднаний зі своїм сусідом через cos-сайт. Ферменти, що каталізують упаковку фагової ДНК, впізнають у складі цього конкатемеру два cos-сайти, що знаходяться на відстані 35-45 kb один від одного, вищеплюють розташований між ними фаговий геном і упаковують його в головку фага. Cos-сайти фага λ були клоновані у гені Amp^R плазмиди pBR322, що містила інтактний ген Tet^R . Еукаріотичну ДНК частково гідролізують рестриктазою з утворенням відносно довгих фрагментів ДНК. Потім цю суміш фрагментів лігують з плазмідною, що містить cos-сайти, що гідролізована тою ж рестриктазою. При цьому повинна утворитися суміш химерних ДНК з інтактним Tet^R -геном, в яких кожний фрагмент

еукаріотичної ДНК фланкований *cos*-сайтами. При додаванні цієї суміші екстракта, що каталізує упаковку ДНК фага λ , відбувається впізнавання і вищеплення фланкованих *cos*-сайтами фрагментів еукаріотичної ДНК розміром 35-40 kb і їх упаковка в головку фага. Більш короткі фрагменти еукаріотичної ДНК, навіть якщо вони мають *cos*-сайти, упаковані не будуть. Фагові головки, що містять таку ДНК не можуть розмножуватись як фаги; ними заражують *E. coli* і відбирають заражені клітини по стійкості до тетрацекліну. Потрапивши в клітину *E. coli* гібридна молекула, що містить фланковану *cos*-сайтами еукаріотичну ДНК розмножується як плазмідна. Ефективність клонування в космідах нижча, ніж при використанні фага і космідні бібліотеки, що містять цілий геном, вдається отримати тільки для організмів з відносно малим вмістом ДНК (наприклад для дрозофіли). Але можна сконструювати кілька космідних бібліотек, що містять частину генома, що досліджується і провести їх скрінінг на присутність певного гена.

Метод «прогулянка по хромосомі»

Часто буває необхідно проаналізувати безперервну ділянку еукаріотичного геному розміром в кілька сотень kb. Але ні у бактеріофазі, ні у косміді такий довгий фрагмент ДНК клонувати не можливо. В той же час можна використовувати один рекомбінантний фаг або космідну для ідентифікації іншого, що містить у вигляді вставки ділянку генома, що перекривається з першим. Цей метод назвали «прогулянка по хромосомі». Він оснований на виділенні короткого кінцевого фрагмента вставки, що міститься в одному з рекомбінантів і використанні цього фрагменту для повторного скрінінгу фагової або космідної бібліотеки з метою виявлення рекомбінанта, що містить даний фрагмент разом з сусідньою ділянкою генома. Цей другий рекомбінант потім використовується для ідентифікації третього і т. д. Утворюється набір клонованих сегментів генома, що перериваються.

Короткий фрагмент ДНК, що використовується для скрінінгу бібліотеки, повинен бути унікальним елементом

геному, якщо він являється послідовністю, що повторюється, рекомбінанти, виділені при такому багатоступінчатому скрінінгу, можуть не містити безперервної ділянки геному. Повтори дуже поширені в геномах хребетних, часто буває важко отримати фрагменти ДНК, що не містить таких послідовностей. Тому “прогулянка по хромосомі” виявилась набагато успішнішою для аналізу геномів таких організмів як дрозофіла, що містять мало повторів. Для аналізу геномів вищих еукаріот був використаний інший прийом: він оснований на тому, що багато білків цих організмів кодуються кількома генами, що зчеплені у хромосомі. Проводячи скрінінг бібліотеки фагів λ за допомогою кДНК можна виділити всі ці гени в різних клонах фага. Якщо гени розділені в геномі відстанями не більше 10-15 kb, то ДНК рекомбінантів фага або косміди, що містить у вигляді вставки один із цих генів, може перериватися з клоном, що містить інший ген. Якщо досліджувати достатньо велику кількість рекомбінантних клонів, можна отримати кілька груп фрагментів, що перекриваються і складають в сумі безперервну ділянку хромосоми розміром 50-100 kb. За допомогою цього методу було картовано багато генів, що кодують різні класи імуноглобулінів. А також гени, що кодують білки головного комплексу тканинної сумісності.

Клонування ДНК у бактеріофазі М 13

Бактеріофаг М 13 виявся дуже зручним вектором для клонування. Фаг М 13 містить одноланцюгову ДНК, що упакована у нитковидний білковий капсид. Коли фаг, що містить такий «+» ланцюг інфікує *E. coli*, ДНК реплікується з утворенням дволанцюгових («+»/«-») проміжних продуктів, «+» ланцюги яких потім знову упаковуються з утворенням багатьох дочірніх фагових частинок. Дволанцюговий проміжний продукт (реплікативну форму - РФ) можна використовувати як вектор для клонування: вона має невеликий розмір (біля 7,2 kb) і містить унікальні сайти рестрикції, за якими в неї можна легко вбудувати фрагменти ДНК. Коли у реплікативну форму ДНК М 13 вбудовується гетерологічна послідовність, у фагові частинки

упаковується тільки один з ланцюгів цієї вставки. Клонуючи фрагмент у М 13 в обох орієнтаціях, можна отримати великі кількості кожного ланцюга. Безумовно, найважливіше застосування М 13 – це отримання одноланцюгових ДНК-матриць для секвінування по Сенгеру.

Місце генома М 13, в яке вбудовується ДНК, точно відоме, тому можна отримати 10-ти членний нуклеотид, комплементарний ділянці М 13, що безпосередньо розташована біля послідовності, яка клонована. Цей олігонуклеотид може служити затравкою для секвінування будь-якого фрагмента ДНК, клонованого в М 13, немає ніякої необхідності отримувати затравку для секвінування кожного індивідуального фрагмента. Цей метод дозволяє значно збільшити швидкість секвінування ДНК.

Блотінг по Саузерну і «Північний блотінг»

При наявності відповідної мРНК або кДНК в якості зонда структуру індивідуальних генів еукаріот можна попередньо досліджувати без клонування в бактеріях, користуючись методом, що розробив Саузерн з Едінбургу. В рамках цього методу – блотінга по Саузерну високомолекулярну ДНК розщеплюють однією або кількома рестриктазами і отримані фрагменти розділяють по розміру за допомогою електрофорезу в агарозному гелі. Потім гель кладуть на лист нітроцелюлози і пропускають через нього відповідний буферний розчин в напрямку, перпендикулярному напрямку електрофорезу. При цьому фрагмент ДНК елюїрується з гелю і зв'язується з нітроцелюлозним фільтром на якому отримується репліка геля. Потім проводять гібридизацію ДНК на цьому фільтрі з міченим зондом, що специфічний до гена, який вивчається. В якості такого зонда можна використовувати очищену мРНК, кДНК або фрагмент ДНК, клонований у *E. coli*. Мічений зонд гібридується зі специфічним фрагментом (або фрагментами), що містять комплементарні йому послідовності. Після радіоавтографії нітроцелюлозного фільтру виявляється чіткий

відтворювальний набір смуг, що відповідає фрагменту або фрагментам ДНК, які містять досліджуваний ген.

Блотінг по Саузерну, що розроблений незалежно від технології рекомбінантної ДНК, виявився виключно корисним методом для аналізу генома еукаріот. Разом з методом клонування він дозволяє:

- 1) Встановити, чи є у даному гені сайти рестрикції тої чи іншої рестриктази і визначити їх число.
- 2) Встановити число копій даного гена в геномі.

Часто метод блотінга по саузерну використовують для попереднього аналізу гена або сімейства генів з метою вибору оптимальної стратегії клонування.

Аналогічна методика для аналізу РНК отримала назву «Північний блотінг». Сумарну клітинну РНК або мРНК розділяють по розміру за допомогою електрофорезу в агарозному гелі, як правило, в присутності сильного денатуруючого агента, такого як гідроксилметилртуть або формальдегіду, щоб усунути вплив вторинної структури РНК на їх електрофоретичну рухомість. Потім матеріал з гелю переносять на оброблений спеціальним хімічним методом папір, що ковалентно зв'язує РНК або (якщо в якості денатуруючого агента був використаний формальдегід) на нітроцелюлозний фільтр. При гібридизації з відповідним міченим зондом після радіоавтографії отримуються смуги, за якими можна зробити висновок про число і розмір РНК, що комплементарні даному зонду.

«Північний блотінг» корисний як доповнення до техніки клонування ДНК, бо він дозволяє порівнювати розміри специфічної мРНК і відповідних клонованих кДНК і виявити таким чином, які з послідовностей є повними копіями мРНК.

Процедури клонування генів, що кодують мінорні білки

Мінорні компоненти – це білки, що синтезуються у малих кількостях.

Найбільш прямий шлях збагачення сумарного препарату мРНК якимось мінорним компонентом – центрифугування у градієнті концентрації сахарози. При цьому вся мРНК

розділяється на популяції з різним розміром молекул, які потім можна транслювати окремо в безклітинній системі, щоб визначити до якого класу відноситься мРНК, що кодує білок, який нас цікавить. Наприклад, мРНК, що кодує легкі ланцюги імуноглобулінів, седиментується при 13 S, РНК, що кодує α і β -ланцюги глобіну, седиментують при 9 S. Для подальшого очищення препаратів мРНК, збагачених за допомогою седиментації, їх можна розділити електрофорезом у поліакріламідному гелі при денатуруючих умовах – при цьому знову відбувається розділення молекул по розміру, але набагато краще, ніж при центрифугуванні. Таким чином можна досягти чистоти мРНК 90 %.

Але для білків, що синтезуються в дуже малих кількостях, навіть після застосування описаних процедур мРНК, яку шукали присутня в препараті в дуже невеликій кількості. Але існують інші методи, які ефективні для мінорних білків, що синтезуються у спеціалізованих клітинах. Наприклад: частка білку $\alpha 2u$ складає менше 1% сумарного протеїну, що синтезується в печінці щурів, а у самок цей білок повністю відсутній. Синтез мРНК цього протеїну стимулюється чоловічим статевим гормоном тестостероном і сильно подавлюється жіночими статевими гормонами естрогенами. Механізм регуляції синтезу цього білка досліджений слабо. Дослідження гену $\alpha 2u$ стало системою для пошуку вирішення цієї наукової проблеми. Клонували ген цього мінорного компоненту наступним чином. Гетерогенну популяцію одноланцюгової кДНК, що отримана при зворотній транскрипції з фракцією мРНК з печінки самців щурів, змішали у відповідних умовах, що спряють гібридизації, з великим надлишком мРНК з печінки самок, єдиним видом кДНК, що не утворює гібридів кДНК-мРНК виявляється кДНК для протеїну $\alpha 2u$. Оскільки одноланцюгові нуклеїнові кислоти на відміну від дволанцюгових не зв'язуються з гідроксиапатитом, можна за допомогою однієї лише хроматографії на колонці отримати препарат, сильно збагачений одноланцюговою кДНК для протеїну $\alpha 2u$. В такому препараті ця ДНК може складати більше

половини всієї кДНК і плазміди, в які вона вбудовується, вже не важко ідентифікувати.

Якщо відома амінокислотна послідовність мінорного протеїну який досліджується, можна використати інший метод для вибору кДНК-зонду. Наприклад: Для β -субодиниця хоріонічного гонадотропіну людини (ХГЛ) амінокислотна послідовність (145 амінокислотних залишків) була однозначно встановлена, були передбачені нуклеотидні послідовності відповідних мРНК і кДНК і стало ясно, які рестриктази повинні розщеплювати цю кДНК і де саме. Потім був проведений скрінінг змішаної популяції клонованих кДНК за допомогою рестриктаз, що підходили. Ті кДНК, що давали фрагменти очікуваного розміру, були відібрані для подальшого аналізу.

Скрінінг бібліотек генів за допомогою олігонуклеотидних зондів

В якості специфічних зондів для даного гена або мРНК, що кодує білок з відомою амінокислотною послідовністю, можна використовувати правильно підібраний набір синтетичних олігонуклеотидів. Виходячи з амінокислотної послідовності ділянки білкової молекули довжиною 5-6 амінокислотних залишків передбачають всі можливі послідовності мРНК, які можуть кодувати цю ділянку і синтезують відповідний набір комплементарних олігонуклеотидів. Ці олігонуклеотиди можна використовувати безпосередньо для скрінінгу суміші кДНК або геномної бібліотеки або як затравки для ревертази, щоб синтезувати кДНК, суттєво збагачену послідовностями, які шукають.

Використання векторів, що експресуються

Специфічні еукаріотичні кДНК можна виділяти також, використовуючи їх експресію в бактеріях після клонування у відповідно сконструйованих плазмідах - векторах, що експресуються. Такі досліді часто починають з кДНК, що отримана на основі збагачених препаратів мРНК. Ці кДНК вбудовують потім у ділянки генома плазмід, які можуть

ефективно експресуватися після введення в бактеріальну клітину. Для цього в екаріотичну послідовність вбудовують за сильним бактеріальним промотором. Наприклад, при включенні кДНК інсуліну в ген β -лактамази (ген стійкості до ампіциліну) плазміді pBR322 був отриманий химерний поліпептид - β -лактамаза-інсулін. Після ферментативного видалення більшої частини амінокислотної послідовності β -лактамази вдалось отримати біологічно активний інсулін.

Але використання нерегулярних сильних промоторів, таких як промотор гена β -лактамази, не завжди зручно: велика кількість чужорідного білка, що утворюється може блокувати ріст бактерій; інколи інтенсивна транскрипція плазмідного гена може заважати реплікації плазміді і плазмідна втрачається бактеріальними клітинами. Тому краще використовувати регульовані сильні промотори і було сконструйовано кілька векторів, що експресуються з такими промоторами.

Дуже корисні експресуючі вектори, в яких використовується промотор pL – регулюючий промотор, відповідальний за експресію кількох генів бактеріофага λ . У присутності λ -репресора дія цього промотора блокована, але в його відсутності він активний. Ген, що кодує репресор, можна вбудовувати у сам вектор, що експресується, але він може знаходитись і в бактеріальній хромосомі. Регуляція кількості репресора, що синтезується здійснюється за допомогою термочутливого репресора, активного при 31⁰C, але не при 38⁰C. Таким чином, еукаріотичні послідовності, розташовані слід за промотором pL при 31⁰C не транскрибуються. Але коли бактерій інкубують при більш високій температурі, λ -репресор інактивується і спостерігається високий рівень експресії цих послідовностей. Використання векторів, що експресуються і містять цей промотор дозволяє отримати чужорідний білок в кількості, що складає 10 % сумарного протеїну, що синтезується в бактеріальній клітині.

Ефективність трансляції мРНК у бактерій суттєво залежить від наявності в ній ділянки зв'язування з рибосомою – **послідовності Шайна-Дальгарно** і відстані між цією

послідовністю і ініціюючим кодоном AUG. Для ефективної експресії еукаріотичних протеїнів у випадку використання експресуючих векторів послідовність Шайна-Дальгарно включають у склад самого вектора. Досягти точної локалізації не завжди вдається, ініціюючий кодон ATG іноді включають в сам вектор, це забезпечує оптимальне взаємне розташування послідовності Шайна-Дальгарно і ініціюючого кодону. При експресії векторів такого типу утворюється гібридний протеїн, в якому кілька N-кінцевих амінокислотних залишків походять від прокаріотичного протеїну, а інші від протеїну, що кодований еукаріотичною вставкою. Ці гібридні білки часто виявляються більш стабільні у бактеріальних клітинах, ніж нативні еукаріотичні білки, інколи їх вдається так хімічно чи ферментативно обробити, щоб виділити еукаріотичну частину поліпептидного ланцюга. Частіше всього в таких векторах використовується *lac*-промотор з відповідною послідовністю Шайна-Дальгарно або гібридна структура, що складається з *trp*- (триптофанового) промотору (більш ефективного ніж *lac*-промотор) і послідовності Шайна-Дальгарно *lac*-операона з ініціюючим кодоном ATG або без нього. Для клонування векторів, що містять гібридний промотор *lac-trp*, більше всього підходить штам бактерій, що продукує репресор Iq. Цей мутантний «суперрепресор» підтримує промотор у виключеному стані до тих пір, поки в середовище не додають індуктор (ізопропіл- β -D-тіогалактозид – IPTG).

Імунологічний скрінінг продуктів векторів, що експресуються

Специфічні еукаріотичні протеїни, що утворюються в бактеріях з використанням векторів, що експресуються, легше всього реєструвати за допомогою імунологічних тестів. Цей підхід був успішно застосований при клонуванні кДНК для β -форми тропоміозину курей, основного компоненту гладеньких м'язових волокон. На першому етапі була отримана кДНК для сумарної мРНК клітин гладеньких м'язів. Два ланцюги кДНК були з'язані шпилькою на кінці, що кодував N-кінцеві

послідовності протеїнів. До 3'-кінця кДНК пришивали лінкери для SalI, шпильку гідролізували нуклеазою S1 і до 5'-кінця пришивали лінкери для EcoRI. Після розщеплення лінкерів за допомогою SalI та EcoRI отримувалась популяція молекул кДНК з відповідними липкими кінцями. Цю суміш кДНК вбудовували у вектор pUC8, що експресується, гідролізований SalI та EcoRI. В цьому векторі EcoRI-сайту на невеликій відстані передують сильний lac-промотор. Таким чином, всі кДНК, вбудовані в pUC8, опинилися у потрібній для експресії орієнтації. Отримані колонії бактерій, що містили клони кДНК, гідролізували парами хлороформу і колонії, що продукували тропоміозин, ідентифікували шляхом скрінінгу з міченими I¹²⁵ антитілами до цього протеїну. Даний метод і його модифікації (наприклад, попередній скрінінг мРНК шляхом введення їх у ооцити жаб з метою ідентифікації фракції, що кодує потрібний протеїн, повинні призводити до успішного клонування кДНК для будь-якого протеїну до якого отримані антитіла.

ГЕННА ІНЖЕНЕРІЯ ДРІЖДЖІВ

Дріжджі Saccharomyces cerevisie як об'єкт генної інженерії

Пекарські дріжджі *Saccharomyces cerevisie* виявилися дуже зручним об'єктом для сучасних біотехнологій і також для вивчення регуляції експресії генів еукаріотичних організмів завдяки малому розміру геному (тільки в 4 рази більшому ніж у *E. coli*) та короткому часу генерації (кілька годин). В той же час дріжджі – еукаріоти, їх можна використовувати для дослідження явищ, що властиві тільки еукаріотам (будову хромосоми, мітоз, мейоз, сплайсінг, процесінг і т. д.) Генетика дріжджів добре вивчена: виділено і картовано сотні мутацій, що впливають на харчові потреби виду, тип спарювання, поділ клітин, чутливість до опромінення і т. д. Крім того, ці дріжджі можна підтримувати як у гаплоїдному так і в диплоїдному стані. Комплементацию між генетичними маркерами легко досліджувати, схрещуючи пари гаплоїдних штамів, кожний з яких несе один з цих маркерів. По фенотипу отриманих диплоїдів судять про те, чи пройшла

комплементация. У таких диплоїдних клітинах можна потім індукувати мейоз; в результаті мейотичного поділу з'являються чотири гаплоїдні клітини, на яких дуже легко простежити долю рецесивних маркерів. Це дуже спрощує аналіз зчеплення і рекомбінації. На дріжджах активно вивчається будова і функції центромер, теломер, тандемних повторів, рибосомної РНК, транспозонів. Наявність клоноаних генів дозволило вивчати структуру хроматину на рівні індивідуальних генів, роль білків хроматину у регуляції експресії. Можна клонувати гени у дріжджах, вносити мутації, вбудовувати ці гени у їх нормальне положення в геномі і визначати вплив мутацій на функції генів.

Використання сферопластів дріжджів

Чужорідну ДНК дуже легко ввести в клітини дріжджів. Для цього необхідно:

- 1) Ферментами (целюлазами) видалити целюлозну клітинну стінку – отримати так звані сферопласти – клітини дріжджів, що позбавлені клітинної стінки.
- 2) Сферопласти інкубувати з чужорідною ДНК, хлоридом кальцію (CaCl_2) і полімерним спиртом (поліетиленгліколем), який робить мембрану проникною (створює можливість для проникнення ДНК в клітини).
- 3) Сферопласти інкубувати в середовищі, що містить агар, де вони відновлюють свою клітинну стінку.

Експресія генів дріжджів у *E. coli*

Деякі гени дріжджів можуть комплементувати мутації *E. coli*. Дріжджевий ген *leu2*, що кодує один із ферментів біосинтезу лейцину (β -ізопропілмалатдегідрогеназу), кооплементує з мутацією *leuV* у *E. coli*. Це обумовлено не специфічним впізнаванням дріжджевого промотора РНК-полімеразою *E. coli*, а тим, що ця полімераза іноді транскрибує ділянки дріжджевої ДНК чисто випадково. Якщо один із таких транскриптів захоплює дріжджевий структурний ген, то синтезована РНК може транслюватися з утворенням функціонально активного ферменту (якщо, звичайно, даний дріжджевий ген не містить

інтронів). Виявилось, що біля 30 % генів дріжджів можуть функціонувати в *E. coli*. І хоча це можна вважати артефактом клонування, цей артефакт є дуже зручним. Тотальну ДНК дріжджів можна клонувати в плазмідах клітин *E. coli*, що несуть відповідні мутації. Серед отриманих трансформантів неважко відібрати ті, які отримали плазмід з даним дріжджевим геном. Так були клоновані гени дріжджів, що кодуєть ферменти біосинтезу триптофану, гістидину, аргініну, урацилу (гени *trp1*, *his3*, *arg8*, *ura3*). Плазмідну ДНК можна виділити з *E. coli* і використовувати для трансформації сферопластів мутантних штамів дріжджів.

Човникові вектори

Човникові вектори – це плазмід, що містять як бактеріальні сигнальні послідовності, що запускають реплікацію ДНК в клітинах *E. coli*, так і послідовності, що необхідні для ініціації реплікації у дріжджевих клітинах.

Дріжджеву ДНК, гідролізовану відповідною рестриктазою, клонують у човниковому векторі і розмножують у *E. coli*. Суміш отриманих плазмід вводять у сферопласти дріжджів. Плазмід, комплементуючи мутацію у сферопластах-реципієнтах, можна ідентифікувати у селективних умовах, потім знову ввести у *E. coli* і розмножити у великій кількості.

Плазмід дріжджів

Більшість штамів дріжджів містять автономно реплікуючі кільцеві ДНК – так зване 2 μ кільце. Ця дріжджева плазмід розміром 6,3 kb міститься у нуклеоплазмі дріжджів в кількості біля 50 копій на клітину. 2 μ -ДНК утворює нуклеосоми з нормальним набором гістонів. 2 μ -кільце має одну точку реплікації, кодує два так звані Rep-фактори, що викликають ампліфікацію плазмід. У нормі 2 μ -кільце реплікується з тою ж швидкістю, що і інша частина геному. Але коли число копій знижується, Rep-білки можуть порушувати спряження реплікації плазмід з клітинним циклом, число копій зростає до 50.

Розрізняють наступні плазмід дріжджів:

- 1) **Інтегруючі** – містять дріжджевий селективний маркер, але не мають точки початку реплікації дріжджевої ділянки. Можуть стабільно зберігатися у дріжджевих клітинах тільки при інтеграції з дріжджевою хромосомою.
- 2) **Реплікуючі** – більш стабільні, але число копій в клітині мале. Містять дріжджевий селективний маркер і фрагмент дріжджевого 2 μ -кільця, що має ділянку початку реплікації, а також *Rep*-гени, що забезпечують підтримку плазміди у екстрахромосомному стані у невеликому числі копій.
- 3) **Епісомні** – містять фрагмент ДНК (EAP-послідовності), що забезпечує можливість автономної реплікації у дріжджевій клітині, але механізми, що підтримують високе число копій таких екстрахромосомних плазмід при мітозі, відсутні. Ці EAP-плазміди стабільні.
- 4) **Центромерні** – перебувають у клітині у вигляді однієї стабільної копії, включенням *SEN*-послідовності досягається стабільність плазміди.

Підвищення ефективності трансформації за допомогою додаткових точок реплікації

Трансформуюча ДНК може зберігатися у дріжджевих клітинах або шляхом інтеграції з хромосомою або шляхом автономної реплікації у вигляді епісоми. Доля введеної в клітини ДНК визначається присутністю або відсутністю в ній елементів автономної реплікації (EAP-елементів). Високоєфективна епісомна трансформація досягається включенням в кільцеву плазмиду сегмента ДНК, що містить точку початку реплікації, що обумовлює незалежну реплікацію епісоми у дріжджеві клітини. Послідовності EAP були виділені з ендогенної дріжджевої плазміди (2 μ кільця) і з клонованих сегментів дріжджевих хромосом. Вони складаються з 60 нуклеїнових пар, збагачені АТ-парами і містять канонічну послідовність AAAC(абоT)TAAA. В якості EAP у дріжджевих плазмідах функціонують також певні клоновані сегменти ДНК кукурудзи, дрозофіли і міксоміцету *Dictyostelium*. У всіх випадках ці послідовності служать сигналами для екстрахромосомної реплікації ДНК, введеної у

дріжджеві клітини, але поки що немає чітких доказів того, що вони ініціюють реплікацію хромосомної ДНК у дріжджів або у інших організмів.

Стабілізація дріжджевих плазмід центромерною ДНК дріжджів

Коли рекомбінантні бактеріальні плазміди, наприклад, pBR322, що містять у вигляді вставки EAP і чужорідні гени, вводять у дріжджеві клітини, відбувається високоефективна трансформація. Але при розмноженні трансформованих клітин у неселективних умовах вони втрачають плазміди. Після 10 генерацій плазміда зберігається лише у 5 % клітин. При клітинному поділі плазміди не розподіляються порівну у дві дочірні клітини. Щоб подолати цю перешкоду в плазміді можна ввести фрагменти ДНК, що містять послідовності центромер (CEN) дріжджевих хромосом. Вони забезпечують приєднання хромосоми до ниток мітотичного веретена, що необхідно для їх точної сегрегації при поділі клітини. Таким чином, плазміди, що містять CEN-послідовності, підтримуються в клітинах за допомогою того ж механізму, що забезпечує рівний розподіл хромосом.

CEN-послідовності вдалось клонувати, ідентифікувати та ізолювати методом «прогулянка по хромосомі». Для цього були вибрані два генетичних маркера, що були раніше картовані методом класичної генетики поблизу центромери по обидві сторони від неї. У бібліотеці клонованих фрагментів дріжджевої ДНК були ідентифіковані клони, що містили послідовності цих генів. Потім були відібрані ті клони, які перекриваються які перекриваються з двома першими і т. д. Відібрані клони секвінували і визначили всю послідовність сегмента ДНК, що лежить між двома вихідними маркерами і містить центромеру. Клоновані фрагменти ДНК окремо вбудовували в човниковий вектор, розмножували у *E. coli* і вводили у сферопласти дріжджів. Плазміди, що мали один з цих фрагментів, стабільно підтримувались у дріжджевих клітинах, з чого був зроблений висновок, що саме в цьому фрагменті локалізована центромера

хромосоми 3. Сегменти ДНК, що мали стабілізуючу активність були виділені також з хромосом 4 і 11 при використанні маркерів, зчеплених з центромерами цих хромосом. Порівняльний аналіз нуклеотидних послідовностей центромерних районів хромосом 3 і 4 виявив наявність декількох коротких гомологічних ділянок, що фланкують АТ-багату область розміром 90 b.p.

Сегменти ДНК, що претендують на роль центромер, повинні забезпечувати правильний розподіл хромосом при мітозі і крім того, підпорядковуватись правилам сегрегації центромер в мейозі, що веде до утворення гамет. Плазмідні, що містять догі ділянки ДНК з області центромери (біля 10 k. b.), ведуть себе в мейозі саме так як і очікувалось: кожна плазміда відходить до одного з полюсів при першому поділі мейозу, потім, при другому поділі, в кожному з дочірніх клітин потрапляє по одній копії. Більш короткі клоновані фрагменти з тої ж області здатні стабілізувати плазмідні в мітозі, але не забезпечують правильної сегрегації при мейозі. Таким чином, повноцінна центромерна область може мати більші розміри, ніж це слідує з дослідів з мітотичними клітинами.

Плазмідні, що містять CEN-послідовності підтримуються в трансформантах в невеликій кількості копій (в середньому одна на клітину). Це ще одна перевага таких плазмід, оскільки для вивчення регуляції експресії бажано мати систему, в якій дозу гена можна контролювати.

Таким чином ефективний плазмідний вектор для трансформації дріжджів повинен містити ділянку плазміді рBR322, що необхідна для реплікації у *E. coli* (елемент автономної реплікації), центромеру, а також якийсь дріжджевий селективний маркер (наприклад *leu2*). Крім того, до складу вектору повинні входити унікальні сайти рестрикції для однієї або кількох рестриктаз, що дозволяють вбудовувати у вектор чужорідну ДНК.

Теломери на кінцях дріжджевих хромосом

Метод трансформації дріжджів виявився корисним для вивчення теломер – структурних кінців еукаріотичних хромосом.

Механізм реплікації кінців лінійної дволанцюгової ДНК є проблемою. ДНК-полімераза здатна синтезувати ДНК тільки починаючи з затравки. Тому на кінцях лінійних ДНК хромосом після реплікації могли б знаходитись отвори, що утворюються після вищеплення 5'-кінцевої РНК-затравки. Деякі віруси з лінійною ДНК, наприклад, бактеріофаг λ , вирішують цю проблему шляхом утворення кільцевих проміжних продуктів реплікації. Інші віруси (фаги T7 і T4) мають на кінцях своїх лінійних ДНК ідентичні послідовності, завдяки цьому проміжні продукти на ранній стадії реплікації можуть з'єднуватися між собою з утворенням довгих лінійних конкатемерів, які потім нарізаються на молекули з довжиною, характерною для фагового геному. Інший спосіб вирішення проблема реплікації кінців полягає в утворенні кінцевої ковалентної зшивки між нитками ДНК, тобто «шпильки». Коли реплікативна вилка доходить до кінця такої структури її вершина стає центром симетрії оберненого повтору, який може утворювати хрестоподібну структуру – структуру Холідея. Якщо у протилежні нитки такої молекули ДНК вносять розриви, то утворюються дві дочірні молекули, кожна з яких має отвір або одноланцюговий розрив.

Першими детально вивченими структурами, що містили теломери, стали ампліфіковані гени рибосомної РНК (рРНК) вільчастої інфузорії *Tetrahymena*. Виявилось, що кінці цих екстрахромосомних молекул ДНК дійсно мають структуру шпильок. Теломери цієї ДНК склалися з одиниць, що повторюються зі структурою CCCC_nAA. Число таких C₄A₂ одиниць варіює в різних молекулах ДНК рибосомальної РНК (умовно ці ділянки ДНК можна назвати рибосомальна ДНК – рДНК) від 20 до 70, що обумовлює гетерогенність розмірів кінцевих рестрикційних фрагментів цієї ДНК. Шпильки з ДНК *Tetrahymena* були пришиті за допомогою ДНК-лігази до кінців лінійної плазмиди, що містила дріжджевий ген *leu2* I EAP. Така плазмідка при введенні у сферопласти дріжджів реплікувалася у вигляді лінійної молекули. Це означає, що теломери *Tetrahymena* функціонують у дріжджевих клітинах. Виявилось, що

найважливіша структура теломери рДНК, її шпилька при цьому зберігається.

Теломери *Tetrahymena* використовували надалі для клонування дріжджевих теломер. Для цього було сконструйована лінійна плазміда, яка містила теломеру *Tetrahymena* лише на одному кінці. Інший кінець цих лінійних молекул лігували з тотальною дріжджевою ДНК, гідролізованою рестриктазою Pvu II. Відомо, що при розщепленні дріжджевої ДНК, 34 з них повинні містити теломери (дріжджі мають 17 хромосом). Цю лігвану ДНК потім використовували для трансформації дріжджевих клітин. Було виявлено кілька *leu⁺* колоній, що містили лінійні плазміди з фрагментами дріжджевої ДНК на одному кінці. Всього в геномі дріжджів виявлялось 30-40 таких фрагментів, це відповідає гіпотезі, що були клоновані всі дріжджеві теломери. Подальші дослідження показали, що теломери різних хромосом дріжджів майже ідентичні по своїй первісній структурі на ділянці довжиною біля 4 kb починаючи з кінця хромосоми. Далі послідовність різних хромосом відрізняється.

Направлене вбудовування клонованої ДНК в хромосоми дріжджів

При трансформації сферопластів дріжджів введена ДНК може інтегруватися з хромосомами. Інтеграція майже завжди відбувається шляхом кросинговера між гомологічними послідовностями введеної ДНК і хромосоми. Якщо ДНК вводиться у дріжджеву клітину у вигляді кільцевої молекули, інтеграція відбувається дуже рідко (приблизно в одній клітині з мільйону) навіть тоді, коли розміри гомологічної ділянки більші за 10 kb. Але якщо плазміду вводять у сферопласти дріжджів у рестрикованому вигляді, то вона інтегрує з ділянкою хромосоми, гомологічному сайту розщеплення, приблизно у 100 разів частіше ніж кільцева молекула. Таким чином плазміду можна направлено вбудовувати у певну ділянку хромосоми, вносячи рестриктазний розрив у потрібному місці.

Направлене вбудовування трансформуючої ДНК у дріжджеві хромосоми можна використати для заміни гена дикого типу мутантним геном. Цей метод, що називається «алельним заміщенням», дозволяє досліджувати вплив специфічних внесених *in vitro* мутацій якогось гена на його експресію. Те, що мутантний ген обов'язково потрапляє у «правильне» місце дріжджевої хромосоми, дає дослідникам впевненість в тому, що будь-які спостережені зміни дійсно обумовлені внесеною мутацією, а не зміною локалізації гена в хромосомі або число його копій. Даний метод був використаний для заміни нормального алеля гена актину у дріжджів мутантним, отриманим за допомогою сайт-специфічного мутагенезу. Ця мутація виявилась рецесивною летальною, що вказує на важливу роль актину у життєвому циклі дріжджів.

Вектори-«рятівники»

Інтеграція плазмід з хромосомами дріжджів відбувається шляхом гомологічної рекомбінації. Маючи клонований ген дикого типу ми можемо виділити природні мутантні алелі дріжджевого гена. Існує два способи вирішення цього завдання:

1) Дріжджевий ген дикого типу разом з фланкуючими послідовностями вбудовується в плазміді між двома унікальними сайтами рестрикції. Плазміда-вектор (pBR322) містить ген стійкості до ампіциліну - Amp^R і селективний дріжджевий маркер (*ura3*), але немає дріжджевої ділянки початку реплікації. Єдиний спосіб для даної плазміди трансформувати дріжджеві клітини до фенотипу *ura*⁺ полягає в її інтеграції з хромосомою (хоча для кільцевої плазміди – це рідкісна подія, але в даному випадку частота події – достатня). Якщо при рекомбінації з хромосомою ДНК плазміда вбудовується у фланкуючу послідовність даного гена, трансформована дріжджева клітина буде містити дві тандемно розташовані копії цього гена: знову інтегровану (дикий тип) і ендогенну (мутантну). Потім хромосомну ДНК з трансформованих клітин розщеплюють окремо кожною рестриктазою, сайти впізнання яких фланкують дріжджевий ген в плазміді, що використана для

трансформації. В залежності від того, з якої сторони від мутантного гена, що знаходиться в хромосомі відбулась рекомбінація, розщеплення однією з цих рестриктаз і послідоюча циркуляризація приведуть до утворення стійкої до ампіциліну плазміди, що несе мутантний (з хромосоми трансформованої клітини) алель, в той час як при розщепленні іншою рестриктазою отримується плазміда з клонованим геном дикого типу.

2) Більш ефективний метод – метод «порятунку» мутантних алелей дріжджових хромосом оснований на використанні плазміди, що містить дріжджовий селективний маркер, точку початку реплікації, а також дріжджовий ген з фланкуючими послідовностями. Цей ген вирізають рестриктазами, лишаючи тільки фланкуючі послідовності. В результаті отримується плазміда з великою делецією. Коли така плазміда вводиться у дріжджові клітини, вона може реплікуватися тільки після репарації з утворенням кільцевої молекули. Найпростіший шлях такої репарації полягає в рекомбінації фланкуючих ген послідовностей з гомологічними послідовностями в хромосомі. Природньо, в хромосомі ці послідовності фланкують той же, що підлягає «рятуванню» ген, тому при рекомбінації відбувається дуплікація цього гена і одна з його копій опиняється у складі плазміди. Тепер вже кільцева плазміда, що містить копію хромосомного алеля, реплікується у дріжджових клітинах і може бути виділена з них.

ГЕНЕТИЧНА ІНЖЕНЕРІЯ ВИЩИХ РОСЛИН

У 60-70 роках ХХ століття були розроблені методи вирощування повноцінних рослин з культивованих рослинних клітин. У 80-тих роках було відкрито природну здатність плазмід деяких ґрунтових бактерій, що викликають утворення корончатих галів, інтегруватися з хромосомами клітин рослин при їх зараженні цими бактеріями. В руках дослідників з'явився зовсім новий метод введення індивідуальних генів в рослини. Значення цього методу для селекції – величезне. Розробляються

і інші методи введення чужорідної ДНК у геноми вищих рослин, але цей метод є найбільш розробленим.

Клітини рослин в культурі

Якщо рослину пошкодити, то рана, що утворилася через деякий час вкривається м'якою «латкою» з клітин, так званім каллусом. Поступово в цих клітинах накопичуються фенольні сполуки які, твердіючи, ефективно заживляють рану. Твердий каллус у рослин – еквівалент шраму. Якщо взяти шматок молодого, ще не затвердлого каллусу і помістити його у культуральне середовище, що містить солі, цукри, вітаміни, амінокислоти і певні рослинні ростові гормони, то клітини не тверднуть, а продовжують ділитися і дають початок неупорядкованій масі слабо диференційованих клітин – культурі каллуса. Шматочки тканини, взяті з внутрішніх частин рослини або з молодих проростків, вирощених у стерильних умовах, в присутності відповідних гормонів утворюють схожі культури.

Регенерація цілих рослин з культивованих рослинних клітин

При інкубації клітин деяких рослин в середовищі, що містить необхідні гормони росту, відбувається їх диференціація з утворенням проростків, коренів або цілих рослин, в залежності від концентрації і типу присутніх гормонів. Як мінімум деякі клітини тотипотентні в своєму розвитку, тобто можуть розвиватися в цілу рослину. Крім гормонального балансу на регенерацію впливає ще ряд факторів:

- 1) фактор віку культури: чим більше пасажів в середовищі проходять клітини. Тим менша їх частина зберігає тотипотентність;
- 2) фізичні фактори: вологість, температура, світло, рН та ін.

Індукувати регенерацію можливо не в усіх рослин, наприклад, у злаків, бобових, букових викликати її вдавалось лише в дуже рідкісних випадках. З іншого боку, тютюн, томати регенерують дуже легко. Диференціація культур каллуса – цінний метод селекції, бо він дозволяє швидко отримувати в

стерильних умовах багато генетично однорідних рослин. Особливо це важливо для квітникарства. Переважна більшість орхїдних, що культивуються отримані саме таким способом.

Протопласти

При обробці целюлозної клітинної стінки рослин ферментом целюлазою, що виділяється з грибів, утворюються клітини позбавлені оболонки – **протопласти**. Протопласт намагається відновити клітинну стінку, відбувається синтез її компонентів з утворенням культури каллуса. Для деяких видів, в тому числі тютюну, томатів, картоплі, петунії, дурману з індивідуальних протопластів вдається регенерувати цілі рослини. Оскільки протопласти позбавлені клітинної стінки, можна індукувати їх злиття, додаючи у культуральне середовище поліетиленгліколь і йони кальцію. Якщо у досліді використовувались протопласти різних видів, то в результаті злиття утворюється гібридний протопласт, який теж буде намагатися відновити клітинну стінку. У деяких випадках гібридні протопласти здатні до поділу і регенерації. Крім того, протопласти можуть поглинати макромолекули, в тому числі ДНК, що в нормі не проходить через клітинну стінку.

Створення гібридних рослин шляхом злиття протопластів

З гібридних соматичних клітин, що утворилися при злитті протопластів, іноді вдається регенерувати цілі рослини. Такі «вегетативні» гібриди були отримані шляхом злиття протопластів деяких видів петунії, тютюну, моркви, дурману. При злитті протопластів картоплі і томату вдалось отримати міжродовий гібрид **помато**, який нажаль не мав комерційної цінності. Щоб відрізнити гібридні протопласти від пар протопластів одного виду, що злилися використовують наступний скрінінг: використовують мутантні клітини як певні маркери (наприклад здатність синтезувати хлорофіл). Якщо мутації в клітинах комплементують, колонії міжвидових гібридів отримують зелене забарвлення.

Клітини культури каллуса спочатку мають диплоїдний набір хромосом. Але фактори, що суворо підтримують диплоїдність *in vivo*, в культурі (*in vitro*) не діють, і з часом каріотип і плоїдність змінюються. Іноді це приводить до серйозних наслідків – до втрати здатності регенерувати цілу рослину. Найпростіший спосіб подолати цю проблему – використовувати свіжі культури, в яких більшість клітин диплоїдні. В деяких випадках каріологічна варіабельність може виявитись корисною, якщо з клітин з незвичайним каріотипом вдається отримати цілі рослини. Так були отримані міжвидові гібриди ячменю.

При злитті протопластів двох диплоїдних клітин утворюються тетраплоїдний гібрид. Для деяких видів вдалося у спеціальних умовах культивування індукувати розвиток гаплоїдних рослин з пилкових зерен. При злитті таких гаплоїдних протопластів можна отримати плодовиті диплоїдні рослини.

Генетична інженерія вищих рослин

Генетична інженерія – це методи селекції з використанням технологій злиття протопластів. Але цьому методу бракує точності переносу конкретних генів, якої можна досягти під час роботи з бактеріями. Для маніпуляції з конкретними генами вищих рослин з метою введення нових генів у вищі сорти потрібно:

- 1) Отримати певні гени у чистому вигляді у достатній кількості;
- 2) Вбудувати ці гени у хромосому рослини.

Нажаль, дуже важко ідентифікувати такі гени, які детермінують такі ознаки як урожайність, смакові якості, стійкість до захворювань – такі ознаки мають полігенну природу.

Корончаті гали – пухлини рослин

У групі ґрунтових бактерій *Agrobacteria* є кілька видів. Які можуть інфікувати рослини з утворенням так званих корончатих галів – пухлин з недиференційованою тканиною, що росте у місці

інфікування. Майже всі дводольні чутливі до цих бактерій, а однодольні – нечутливі. Клітини корончатих галів нагадують ракові клітини тварин: ці клітини отримують здатність до необмеженого росту. Коли клітини корончатих галів культивувати *in vitro*, вони ростуть навіть при відсутності гормонів, які необхідні при культивуванні нормальних рослинних клітин. Крім того, клітини корончатих галів, які вже отримали властивості пухлинних клітин під дією агробактерій, продовжують зберігати трансформований фенотип, навіть якщо вбити всі бактерії антибіотиками. Вивчення особливо сильного індуктора пухлин *Agrobacterium tumefaciens* показало, що пухлинним агентом у цієї бактерії є плазміда, що діє шляхом інтеграції з хромосомами клітини вищих рослин.

Плазміди, що індують пухлини (Ті-плазміди)

Клітини галових пухлин, що індуковані *Agrobacterium tumefaciens*, починають синтезувати незвичайні амінокислоти, так звані **опіни**, що є похідними аргініну. Опіни ніколи не виявляються у здорових рослинах. Штами *Agrobacterium tumefaciens*, що індують синтез опінів, можуть використовувати їх в якості джерела вуглецю і азоту. Здатність індукувати синтез опінів і використання цих сполук детермінується плазмідами. Клітини рослин не здатні утилізувати ці незвичайні амінокислоти; бактеріальна інфекція не тільки викликає пухлинну трансформацію клітин рослини, але і модифікує метаболізм – починається синтез амінокислот, що необхідні тільки для бактерій. Найпоширеніші опіни – це октопін і нопалін.

Здатність індукувати пухлини рослин, викликати синтез опінів і їх використання залежить від присутності в бактеріальних клітинах особливих плазмід – Ті-плазмід (від англ. Tumor inducing – індуквання пухлин). Ті-плазміди являють собою кільцеві ДНК, що складають приблизно 5 % розміру хромосоми *Agrobacterium tumefaciens*, мають незалежну реплікацію. Ті-плазміди класифікують по типу індукованого опіну. Більшість Ті-плазмід – октапінові або нопалінові плазміди.

Кожна клітина *Agrobacterium tumefaciens* має тільки один тип Ті-плазмід. Аналіз нуклеотидних послідовностей ДНК нопалінових і октапінових плазмід показав наявність всього чотирьох ділянок з вираженою гомологією, одна з цих ділянок має гени, відповідальні за галову трансформацію клітин рослини. Октапінові і нопалінові плазмід, хоча і схожі між собою, але мають різну еволюційну історію.

Мутанти Ті-плазмід

Докази того, що саме Ті-плазмід, а не хромосомні гени бактерій відповідають за підтримку трансформованого клітин корончатих галів були ортимані:

- 1) шляхом гібридизаційного аналізу ДНК;
- 2) при вивченні безплазмідних штамів *Agrobacterium*;
- 3) при вивченні мутантних Ті-плазмід.

Agrobacterium, позбавлені Ті-плазмід, не індукують у зараженій рослині ні утворення корончатих галів, ні синтезу опінів. Транспозон-індуковані мутації Ті-плазмід діляться на три основні класи:

- 1) мутанти, що не індукують синтез опінів, але викликають утворення корончатих галів;
- 2) мутанти, що втрачають здатність індукувати пухлини;
- 3) мутанти, що стимулюють аномальне диференціювання нормальних клітин, що розташовані поруч з пухлиною (надлишковий ріст коренів і пагонів)

Дуже рідко виявляються пухлинні клітини, які самі можуть розвиватися у цілу рослину. Дослідження Ті-плазмід показали, що ДНК Ті-плазмід відповідальна за індукцію пухлин, синтез опінів подавлення диференціації. Гени, що кодують ці три функції, картуються дуже близько один від одного в одному з локусів ДНК плазмід, що названа трансформуючою ДНК – тДНК. Саме ця частина плазмід вбудовується в хромосому клітини при інфекції.

Інтеграція тДНК з хромосоною рослини

Коли онкогенний вірус тварин (наприклад, SV40 або аденовірус) трансформує клітину, вся вірусна ДНК інтегрує з клітинною хромосоною. Коли дослідили ДНК Ті-плазмід і геноми трансформованих рослинних клітин, то виявили, множинні копії Т-сегменту плазмідної ДНК (розміром біля 20 kb) ковалентно зв'язані з ДНК пухлинних клітин. Т-сегменти ДНК октопінових і нопалінових плазмід вбудовуються в різні, випадкові точки хромосом господаря (при цьому не інтегруються з ДНК мітохондрій і хлоропластів). Інтегрована т-ДНК обумовлює трансформований фенотип галових клітин і синтез опінів. Кілька ліній пухлинних рослинних клітин підтримувались у середовищі, що не містило гормонів більше 20 років, при цьому постійно спостерігалось утворення опінів.

У клітинах октопінових пухлин т-ДНК складається з 7 генів, з кожного з яких транскрибується унікальна РНК. Кожен з цих генів регулюється окремими промоторами. 5 генів подавляють диференціювання пухлинних клітин, 1 ген – кодує фермент, що каталізує синтез опіну. 2 гени – подавляють утворення коренів, діють подібно до рослинного гормону ауксину, який навпаки, стимулює ріст коренів. 1 ген, що подавляє утворення пагонів імітує дію цитокініну (що стимулює ріст пагонів). У нормі шлях диференціювання рослини визначається співвідношенням між ауксинами і цитокінінами. Клітини корончатих галів, що містять у високих концентраціях аналоги і цитокінів і ауксинів здатні рости в середовищі без гормонів і в той же час лишатися недиференційованими.

т-ДНК і транспозони

Єдиний сегмент ДНК Ті-плазмід, який переходить в хромосоми клітини рослини – це т-ДНК. Постає питання – чи не є тДНК елементом типу транспозону. Але результати вивчення структури т-ДНК не виявили аналогії між цим сегментом і відомими мобільними генетичними елементами.

Т-ДНК не містить кінцевих обернених повторів, характерних для транспозонів бактеріального типу, ні повторів,

що схожі з LTR ретровірусів. Але нопалінова тДНК має на межі з хромосомною ДНК прями повтори розміром біля 25 в.р. Схожа послідовність виявлена і на кінцях інтегрованої октопінової т-ДНК, що вказує на функціональну значимість цієї структури.

Проблема ускладнюється тим, що видалення послідовностей, що обмежують т-ДНК, знижує, але не подавляє повністю здатність Ті-плазмиди викликати утворення пухлин. Дослідження за допомогою направленої мутагенезу (індукція великих делецій або вставок) не вказують на те, що у ДНК закодована транспозаза або якийсь інший білок, що бере участь у рекомбінації. Ферменти, відповідальні за вбудовування т-ДНК в хромосоми рослинної клітини, кодуються або іншими ділянками Ті-плазмиди або клітинними хромосомними генами.

Менделівське успадкування т-ДНК

Була отримана мутантна октопінова плазміда, що має знижену онкотрансформуючу здатність. У популяції трансформованих нею клітин окремі рідкісні клітини можна примусити регенерувати у цілу рослину. Всі тканини таких рослин продовжують синтезувати октопін завдяки присутності в них т-ДНК. Ці рослини схрещували з нормальними рослинами і вирощували отримані насіння. Було показано, що синтез октопінів (і відповідно т-ДНК) успадковується і по чоловічій і по жіночій лінії як менделівська ознака. Після вбудування в хромосому, т-ДНК стає звичайним геном рослини.

Ті-плазмиди в якості вектору

Т-ДНК Ті-плазмід має 2 властивості, що роблять її ідеальним вектором для введення чужорідних генів в клітини рослин:

- 1) коло господарів агробактерій дуже широке – вони трансформують клітини майже всіх дводольних рослин;
- 2) інтегрована т-ДНК успадковується у відповідності із законами Менделя, її гени мають власні промотори, під контролем яких можуть експресуватися чужорідні гени.

Найпростіший спосіб введення т-ДНК в клітини рослин полягає в тому, щоб заразити рослину *Agrobacterium tumefaciens*, яка містить відповідну Ті-плазмиду. Необхідно тільки вміти вбудовувати потрібні гени у т-сегмент ДНК плазмиди. Але розміри цілої Ті-плазмиди суттєво більші розмірів молекул, які звичайно використовуються в роботі з рекомбінантними ДНК. Щоб подолати цю проблему використовують наступний метод. Т-сегмент вирізають з Ті-плазмиди за допомогою рестриктаз і вбудовують в один із стандартних плазмідних векторів для клонування в *E. coli*. Бактерії, що містять плазмиду т-ДНК, розмножують, після цього цю плазмиду виділяють. Потім у т-сегмент вставляють певний ген. Цей гібрид, що містить т-ДНК з вбудованим геном, знову розмножують у великій кількості в *E. coli*, потім вводять у клітини *Agrobacterium tumefaciens*, що несуть повну Ті-плазмиду. У результаті гомологічної рекомбінації між т-сегментами нативної Ті-плазмиди і клонованого вектору т-ДНК з вбудованим чужорідним геном включається у Ті-плазмиду, заміщуючи нормальну т-ДНК. Таким чином можливо отримати клітини *Agrobacterium tumefaciens*, що несуть Ті-плазмиду, в якій в результаті гомологічної рекомбінації між Т-сегментами нативної Ті-плазмиди і клонованого вектора т-ДНК з вбудованим чужорідним геном включається в Ті-плазмиду, заміщуючи нормальну т-ДНК. Отримуємо клітини *Agrobacterium tumefaciens*, що несуть Ті-плазмиду з вбудованим у т-сегмент потрібним геном. Останній етап полягає в зараженні рослин цими модифікованими агробактеріями. Клітини отриманих корончатих галів будуть містити інтегровану т-ДНК з вбудованим чужорідним геном.

Трансформація рослинних клітин і протопластів

Традиційний спосіб трансформації рослинних клітин т-ДНК полягає у нанесенні агробактерій, що містять Ті-плазмиду на спеціально пошкоджений пагін. Вдосконалений метод пропонує зараження і трансформацію клітин *in vitro*. Для цього отримують культуру протопластів клітин листка. На початковій стадії її росту, коли протопласти щойно регенерували клітинну стінку і почали

ділитися, культуру заражують агробактеріями. Через кілька годин додають антибіотики, щоб вбити бактерії, і вирощують клітини протягом кількох тижнів в середовищі, що містить рослинні гормони, до того часу, поки не утворяться невеликі каллуси. Після цього інкубацію продовжують в середовищі без гормонів. При цьому виживають і продовжують розмножуватись тільки трансформовані клітини. Щоб переконатися в цьому, можна перевірити клітини або прямо на присутність т-ДНК або на синтез опінів. Іноді з клітин таких культур спонтанно регенерують пагони або цілі рослини, що містять т-ДНК і здатні синтезувати опіни.

Можна, хоча і з набагато нижчою ефективністю, прямо трансформувати протопласти за допомогою ДНК Ті-плазмиди. Для цього щойноприготовані протопласти інкубують з плазмідною ДНК у присутності поліетиленгліколя і йонів кальцію, тобто в середовищі, що близьке по складу до того, яке використовується для злиття протопластів. Т-ДНК потрапляє в протопласти, які потім культивуються в присутності гормонів, що забезпечують регенерацію клітинної стінки і поділ клітин. Через кілька тижнів, коли утворюються каллуси, інкубацію продовжують у середовищі, що не містить гормонів. І в цьому випадку виживають і розмножуються тільки трансформовані клітини.

Мобілізація т-ДНК за допомогою *vir*-сегмента Ті-плазмиди

Одна із проблем при використанні Ті-плазмиди в якості вектору пов'язана з її великими розмірами (біля 180 kb). Тому більшість ранніх дослідів з Ті-плазмідами проводились по вже описаній схемі (з використанням рBR322). Але подальші дослідження показали, що цю процедуру можна спростити: виявилось, що для зараження і трансформації рослинних клітин агробактеріями необхідні інтактна т-ДНК, і ще одна ділянка Ті-плазмиди, яку називають ***vir*-сегмент**. Ще більш важливо з практичної точки зору, що ці дві ділянки ДНК не обов'язково повинні знаходитись в одній плазмиді. Якщо клітини агробактерій мають Ті-плазмиду з сегментом *vir* і іншу плазмиду з

т-ДНК, ці бактерії можуть трансформувати клітини рослин, причому т-ДНК (і будь-які вбудовані в неї гени) інтегрують з геномом рослини. Для цього не потрібна гомологічна рекомбінація в бактеріальних клітинах.

Аттенуйовані вектори на основі т-ДНК і регенерація рослини з однієї клітини

Ще одне обмеження використання Ті-плазмід в якості вектора пов'язане з тим, що з трансформованих т-ДНК клітин як правило не вдається регенерувати цілі рослини. Але відомі природні і отримані за допомогою транспозонів так звані **rooty-мутанти** т-ДНК, що трансформують рослинні клітини, але не блокують їх регенерацію. Вони картовані в певній ділянці т-ДНК. Спостереження за цими мутантами підказали дослід по направленому мутагенезу локусу *rooty* для отримання т-ДНК, що не перешкоджає регенерації рослин. Мутація полягає в тому, що в т-ДНК вбудовується ген, який дослідник хоче ввести в клітини рослини. В одному з таких дослідів ген алкогольдегідрогенази (АДГ) дріжджів вбудували в локус *rooty* клонованої т-ДНК, і такою аттенуйованою т-ДНК трансформували клітини тютюну, з яких потім регенерували цілі рослини. Було показано, що всі клітини отриманих рослин містили багато копій АДГ-т-ДНК. Ці рослини рано плодоносили, вирощені сіянці теж мали множинні копії химерної т-ДНК. Але ген дріжджової АДГ не експресувався в регенованих рослинах тютюну. Були застосовані специфічні рослинні промотори для експресії генів, що вводились у рослинний геном. Для цього було виділено і секвіновано ген Ті-плазмиди, що кодував нопалінсинтетазу. У цьому гені вдалось ідентифікувати ділянку, що містила промотор. Цей промотор був вбудований перед початком структурних генів октопінсинтетази і прокаріотичної хлорамфеніколацетилтрансферази. Отримані гібридні гени клонували і ввели в клітини рослин. Було показано, що ці гени дійсно експресуються в рослинних клітинах під контролем промотора гена нопалінсинтетази. Таким чином введення чужорідних генів в рослинні клітини і регенерація з них цілих рослин, в яких ці гени експресуються, стало реальною

справою. Цей підхід відкрив широкі перспективи для вивчення регуляції генів вищих рослин і для генної інженерії.

т-ДНК і виділення генів вищих рослин

При трансформації т-ДНК вбудовується в різні ділянки геному рослини. Місце інтеграції при кожному акті трансформації випадкове. Коли т-ДНК вбудовується в структурний ген, що кодує який-небудь фермент рослини, цей ген інактивується і трансформовані рослини стають інсерційними мутантами. Цей ефект можна використати для виділення визначених генів рослини після того, як буде встановлено, який саме ген інактивований. Для цього т-ДНК, яку можна ідентифікувати гібридизацією, за допомогою певної рестриктази вирізають з геному рослини разом з фланкуючими послідовностями. Цю ДНК можна потім використати як зонд для скрінінгу бібліотеки клонів тотальної ДНК рослини. Ділянки ДНК, фланкуючі т-сегмент, будуть при цьому гібридизуватися з нормальними копіями гена, що інактивований вставкою. Відповідні клони можна розмножувати і отримувати інтактний ген у кількостях, що достатні для подальшої роботи.

Практичне застосування генної інженерії рослин з використанням Ті-плазмід

Кінцева мета всіх досліджень Ті-плазмід полягає в тому, щоб надати селекціонерам новий метод введення індивідуальних генів в геном рослин, а молекулярним біологам – зонди для вивчення їх розвитку. Серйозне обмеження цих підходів – неможливість трансформувати Ті-плазмідами клітини однодольних рослин. Крім того, гени які підвищують урожайність та інші цінні властивості рослин ще слід ідентифікувати. Посилено вивчаються транспозони з метою використання їх як векторів. Зокрема вивчаються рухомі генетичні елементи дрозофіли – Р-елементи. Також перспективними є транспозони кукурудзи - Ac(Ds)-система мобільних елементів. Один із мобільних елементів кукурудзи – мутатор Робертсона – Му-елемент – транспозон розміром 1,5

kb з повторами на кінцях розміром 200 в. р. є перспективним вектором.

ВВЕДЕННЯ ЧУЖОРІДНИХ ГЕНІВ У КЛІТИНИ ССАВЦІВ

Йони кальцію і поглинання ДНК клітинами хребетних

ДНК онкогенних вірусів, вільна від капсидних білків, здатна входити в чутливі клітини і індукувати в них розмноження вірусу і відповідно злякисну трансформацію. Але ефективність таких дослідів була довгий час дуже низькою. Ситуація змінилась після того, як було зроблено методичне відкриття: трансформація моношарової культури нормальних клітин щура очищеною ДНК аденовірусу йде набагато швидше, якщо до трансформуючої ДНК додати йони кальцію. Механізм переважного поглинання клітинами кальцієвого преципітату ДНК полягає у фагоцитозі гранул ДНК з подальшою інтеграцією з хромосоною. Природньо було висунути гіпотезу, що поглинання будь-якої функціонально активної еукаріотичної ДНК (**трансфекція**) також повинно стимулюватися йонами кальцію. Оскільки лише невелика частина доданої ДНК інтегрує з геномом клітини і функціонує в ньому, необхідно було розробити метод маркера, що забезпечує можливість виявлення і розмноження клітин, що містять інтегровану ДНК.

Тимідінкіназа як прототип селективних маркерів у дослідях по трансфекції

У генетичних дослідженнях еукаріотичних клітин використовувались деякі селективні маркери. Найбільш детально з імовірних селективних маркерів вивчений ген тимідінкінази (tk), фермента допоміжного шляху біосинтезу піримідинів. Фермент фосфорилує тимідін, що утворюється при деградації ДНК з утворенням dTMP, який потім в результаті приєднання двох фосфатних груп перетворюється у dTTP, що знову включається у ДНК. Але нормальний шлях біосинтезу dTTP йде через dCDP, тому присутність тимідінкінази не суттєва для виживання клітин, і клітини позбавлені цієї активності,

почувають себе цілком нормально. Tk-мутанти легко ізолювати, інкубуючи клітини в середовищі з бромдезоксиприридином (BrUdr). Включення цього аналога нуклеозиду в ДНК летально для клітин. Але BrUdr включається в ДНК тільки після фосфорилування з участю тимідинкінази. Тому клітини, що містять активний фермент, в присутності BrUdr гинуть, в той час як tk⁻ мутанти виявляються життєздатними. З іншого боку, клітини, що мають генотип tk⁻ гинуть в середовищі «НАТ», що містить гіпоксантин, аміноптерин (речовину, що блокує нормальний синтетичний шлях dCDP → dTDP) і тимідин, бо в таких умовах єдиним джерелом dTTP для біосинтезу ДНК стає реакція, що каталізується тимідинкіназою.

Інкубація tk⁻-клітин мишей з кальцієвим преципітатом ДНК, що містила ген тимідинкінази вірусу герпеса, приводить до виживання стійких клонів в середовищі «НАТ». Аналіз методом блотінгу по Саузерну підтвердив, клітини, які вижили дійсно містили стабільно інтегрований ген tk вірусу герпесу. Це означало, що tk-ген можна використовувати як селективний маркер інтеграції інших зчеплених з ним генів.

Домінантні маркери для трансформації нормальних клітин

Застосування клонованого tk-гена в якості вектора для введення генів у еукаріотичні клітини вимагає використання в ролі реципієнтів клітин з генотипом tk⁻. Хоча теоритично отримати такі мутанти можливо, на практиці цей процес часто виявляється вельми важким, бо для цього потрібно інакшимувати обидва tk-алелі диплоїдної клітини; необхідно, щоб tk⁻-клітини, що використовуються для трансформації, ревертували з дуже низькою частотою. Враховуючи це, проводиться велика робота по пошуку генних маркерів, що працюють у нормальних клітинах. Є два універсальних вектори, що збудовані по одному принципу: використовуються прокаріотичні гени, з'єднані з еукаріотичними регуляторними сигнальними послідовностями. Перший вектор має ген, що кодує фермент ксантингуанінфосфорибозилтрансферазу (КГФРТ), наявність якого дозволяє бактеріям використовувати ксантин в якості

джерела пуринових нуклеозидів. Відповідний фермент з клітин ссавців, гіпоксантингуанінфосфорибозилтрансфераза (ГГФРТТ), використовує як субстрат гіпоксантин; ксантин утилізується лише з дуже низькою ефективністю. Вектором був сконструйований вбудовуванням клонованого бактеріального гена КГФРТ між промотором і сайтом поліаденілювання гена великого Т-антигена вірусу SV40. промотор цього вірусу виключно активний. В результаті утворюється велика кількість КГФРТ. Такий вектор (SVgpt) трансформує не тільки ГГФРТ-клітини ссавців до фенотипу ГГФРТ⁺, але і здатний трансформувати клітини дикого типу (тобто виступати як домінуючий маркер). У цьому випадку в якості селективного використовується середовище, що містить мікофенолову кислоту і ксантин. Мікофенолова кислота блокує активність ГГФРТ і єдиним джерелом пуринових нуклеотидів лишається ксантин. У таких умовах виживають тільки ті клітини, які отримали вектор SVgpt з активним бактеріальним геном, що дозволяє утилізувати ксантин.

Другий домінуючий вектор складається з прокаріотичного гена стійкості до неоміцину (Neo^R), вбудованого в ранню область генома SV40. Цей ген кодує фермент, що фосфорилує і тим самим інактивує антибіотик неоміцин, що діє на рибосоми. Еукаріотичні клітини чутливі до аналогу неоміцину G418, який теж інактивується продуктом гена Neo^R. Тому вектор SVneo можна використовувати для трансформації клітин до фенотипу G418^R.

Котрансформація в результаті внутрішньоклітинного лігування

Наявність селективних маркерів дає можливість дає можливість вводити в клітини ссавців будь-який ген, якщо зарані лігувати його з клонованим селективним маркером. Попереднє лігування його поза клітиною не обов'язкове: клітини миші, що поглинають tk-ген, разом з ним поглинають і іншу ДНК, що є у кальцієвому преципітаті. Клітини, трансформовані до tk⁺ фенотипу, поглинають частину ДНК-носія. Цей факт

пояснюється тим, що в середовищі клітин мишей екзогенна ДНК лігує з утворенням великого конкатемеру (групи молекул, що зв'язані у єдиний ланцюг) довжиною до 800-1000 kb. Це крупне утворення вбудовується як єдине ціле у випадковій місці хромосом. Таким чином, ДНК, що додане до клітин миші разом з tk-геном («котрансформуюча» ДНК), у середині клітин виявляється фізично зв'язаною з цим геном.

Користуючись методом котрансфекції, практично будь-який клонований сегмент ДНК легко можна ввести у культивовані клітини еукаріот (при умовах їх комплементарності і можливої селекції), включаючи цю ДНК разом з селективним маркером до складу суміші для утворення кальцієвого реципієнту.

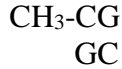
Мікроін'єкції ДНК у клітини ссавців

ДНК можна ввести у культивовані клітини шляхом прямої мікроін'єкції в ядро скляною мікропіпеткою дуже малого діаметра (0,1 – 0,5 мікрона). Ця методика вимагає складного і тонкого обладнання (спеціальний прилад для виготовлення мікропіпеток, мікроманіпулятор, що встановлює їх правильне положення). При наявності такого обладнання і достатньої практики дослідник може здійснити мікроін'єкцію ДНК в 500-1000 клітин за 1 годину. У найкращих дослідах у 50 % клітин спостерігається стабільна інтеграція і експресія введених генів. Перевага цього методу в тому, що будь-яку ДНК можна ввести в будь-які клітини. Для збереження введеного гену в клітинах не потрібно ніякого селективного тиску. Недоліки методу: необхідність складного обладнання і довгої практики для оволодіння цим методом.

Часткове успадкування картини метилювання трансфікованої ДНК

Геномна ДНК будь-якого організму містить метильовані основи, що утворюються в результаті постреплікативної модифікації. У хребетних єдина метильована основа – це 5-метилцитозин, який виявляється майже виключно в

послідовності (5'-CG-3'). У птахів і у ссавців 50 – 70 % таких динуклеотидів модифіковані метилюванням. Вважається, що метилювання знову синтезованих ниток ДНК здійснюється ферментом метилазою, що діє тільки на напівметилювані групи:



У відповідності до такої схеми, є тенденція до успадкування одного разу встановленої картини метилювання. Є гіпотеза, що функціональні гени в меншій степені метильовані, ніж їх неактивні еквіваленти. Якщо це так. То повинні існувати вибіркові механізми, які:

- 1) деметилюють ключові регуляторні послідовності, можливо, перешкоджаючи їх метилюванню після реплікації ДНК;
- 2) забезпечують точне зберігання наявної картини метилювання;
- 3) метилюють ще не метильовані раніше послідовності.

Гіпотеза про те, що специфічна картина метилювання може успадкуватися, підтверджується результатами дослідів, в яких не метильовану раніше ДНК бактеріофага $\phi 174$ метилювали *in vitro* і вводили в клітини миші. Через 25 клітинних поколінь були досліджені сайти метилювання у інтегрованій фаговій ДНК, виявилось, що більшість з них зберегли приєднані ферментативним шляхом *in vitro* метильовані групи. Але успалкування метилцитозину все таки було не повним: при кожному раунді реплікації невелика частина початково метильованих сайтів не метилювалася.

Під час іншого дослідів метилювали еукаріотичний (курячий) tk-ген, що був клонований у *E. coli*. Метилювання привело до зменшення частоти трансформації в порівнянні з контрольованим неметилюваним tk-геном. Очевидно, зниження ефективності трансформації в результаті ферментативного метилювання ДНК відображає метилювання ключових регуляторних послідовностей, що подавляє їх функціонування.

Виділення генів, введених в клітини шляхом трансфекції

Існує два підходи до виділення введених генів в клітини миші: «скрінінг» і «порятунок».

«Скрінінг» полягає в тому, що донорну ДНК спочатку обробляють великим числом рестриктаз для пошуку ферментів, що не розщеплюють даний ген і не порушують його здатність до трансформації. ДНК гідролізують цим ферментом і за допомогою лігази зшивають з якоюсь специфічною гетерологічною ДНК (часто – з pBR322). В результаті всі фрагменти еукаріотичної ДНК, в тому числі фрагмент, що містить селективний маркер, отримують прокаріотичний «ярлик». Трансформацію проводять, як звичайно; при цьому у мишиній клітині селективний ген виявляється розташований поруч з «ярликом» (наприклад, pBR322). ДНК цього «первісного реципієнту» виділяють і трансформують нею вторинну популяцію клітин. Цей етап необхідний, оскільки у вихідній ДНК були відмічені всі фрагменти і первісна клітина реципієнт може випадково містити кілька копій ДНК pBR322, крім тієї, що зв'язана з селективним маркером. Вторинний трансформант містить як правило тільки одну копію цієї послідовності – саме ту, яка зв'язана з досліджуваним геном. Потім конструюють бібліотеку цієї ДНК у бактеріофазі або в космідах і проводять її скрінінг гібридизацією з ДНК-«ярликом», яка в принципі повинна бути присутня в тому ж бактеріофазі або в тій же косміді, що і ген, який шукають. Цей підхід був вперше успішно використаний для виділення гена аденінфосфорибозилтрансферази хом'яка.

Якщо в якості донора використовують ДНК людини, необхідність в «ярлику» відпадає, бо в людській ДНК присутні A_u-послідовності, які повторюються сотні разів і не дають помітної перехресної гібридизації з якимись послідовностями ДНК мишей. A_u-послідовності всюдишчі в геномі людини, їх можна виявити практично поблизу кожного гена. Тобто гени людини мають природні «ярлики». Людською ДНК трансформують клітини миші, потім проводять другий раунд трансформації. Після цього конструюється бібліотека ДНК вторинного трансформанта і проводиться її скрінінг шляхом

гібридизації з клонованою Alu-послідовністю. Присутність Alu-послідовностей слід очікувати у рекомбінантному бактеріофазі, який містить селективний маркер.

Метод «порятунку» оснований на приєднанні до ДНК початково використаного для трансформації функціонально активного маркера. Це може бути бактеріальний маркер стійкості до якого-небудь антибіотика або ген прокаріотичної супресорної тРНК. Перший етап досліду полягає в пошуку рестриктази, що не розщеплює ген, який нас цікавить. Коли такі ферменти знайдені, ДНК гідролізують одним з них і отримані фрагменти зшивають або з рBR322, що містить інтактний ген стійкості до антибіотика і розщеплюють тим же ферментом, або з клонованим геном супресорної тРНК *E. coli* (supF). ДНК вводять у клітини мишей, з первісних трансформантів виділяють ДНК і використовують її для другого раунду трансформації. При цьому потрібний еукаріотичний ген повинен виявитись поруч з прокаріотичним селективним маркером. Якщо вихідним вектором була плазміда рBR322, ДНК вторинного трансформанта розщеплюють відповідною рестриктазою і циркуляризують лігазою. Ген, що нас цікавить повинен бути у складі одної молекули з плазмідним геном стійкості. Всю отриману суміш ДНК використовують для трансформації *E. coli* і колонії трансформантів підбирають на середовищі з відповідними антибіотиками. Всі клони, що повиростали містять плазмиди з геном стійкості і селективним еукаріотичним геном.

Якщо вихідним вектором був ген супресорної тРНК, то з ДНК вторинного трансформанту отримують бібліотеку, використовуючи фаг λ з амбер-мутацією (стоп-кодоном) у гені, що відповідальний за лізис. Щоб такий фаг міг завершити літичний цикл, потрібний активний ген supF. Таким чином, хоча вся ДНК вторинного трансформанта може бути упакована у фагові частинки, розмноження фага і лізис бактерій після трансдукції буде спостерігатись тільки для тих фагів, які містять ген supF. Поруч з цим геном повинен знаходитись і селективний еукаріотичний ген.

Регуляція активності гена після трансфекції

Розробки методів введення ДНК в клітини ссавців дозволила ідентифікувати ділянки, що відповідальні за регуляцію експресії деяких еукаріотичних генів. Як правило, при введенні клонованого гена в еукаріотичну клітину він продовжує реагувати на сигнали, які контролюють його нормальну експресію *in vivo*. Як і у прокариот, у регуляції експресії індивідуальних еукаріотичних генів беруть участь цис-діючі елементи (типу промоторів), що розташовані, звичайно, безпосередньо поруч біля відповідних генів. Зміна активності генів часто здійснюється і молекулами з трансдією, які зв'язуються з регуляторними послідовностями, вмикають або вимикають гени. Багато еукаріотичних генів вмикаються або вимикаються різними стероїдними гормонами. Наприклад, транскрипція геному вірусу раку молочних залоз мишей (MMTV) знаходиться під позитивним контролем глюкокортикоїдних гормонів. Клонований провірус MMTV при введенні у клітини мишей, що мають рецептори для тих гормонів, продовжують реагувати на додавання гормону: в його присутності швидкість транскрипції провірусу зростає в 5-10 разів. Клонований ген $\alpha 2u$ -глобуліну щура в нормі регулюється кількома гормонами, продовжує реагувати на інсулін і глюкокортикоїди при введенні у мишачі клітини. В обох випадках для нормальної регуляції активних генів потрібні лише дуже короткі ділянки фланкуючої ДНК. Коли невеликі фрагменти (300 в.р.) ДНК, яка фланкує MMTV або ген $\alpha 2u$ з 5'-кінця, пришивають до гена тмідінкінази вірусу простого герпесу, експресія tk-гену теж може ставати гормон-індуцибельною. Серед інших генів, для яких демонструвалася нормальна регуляція в гетерологічному оточенні, варто зауважити ген α -інтерферону людини (його експресія індукується вірусною інфекцією), ген металотіоніну мишей (що після трансфекції реагує на йони Cd^{2+}), ген протеїну теплового шоку дрозофіли (p70) – після введення у клітини мишей він індукується у відповідь на підвищення температури. У всіх цих

випадках регуляторні елементи знаходяться безпосередньо поблизу від гену (а іноді, можливо, і в середині нього).

Докази існування специфічних ракових генів людини у дослідях по трансфекції

Методи трансфекції були використані для ідентифікації і клонування генів, що беруть участь в утворенні ракових пухлин у людини. Початково було встановлено, що високомолекулярна ДНК, виділена з трансформованих хімічними канцерогенами клітин мишей або з первісної культури клітин солідної пухлини людини (наприклад, карциоми сечового міхура), може викликати злоякісну трансформацію нормальних мишачих фіброblastів (клітин лінії NIH). Дослід полягав у наступному: ДНК з ракових клітин у вигляді кальцієвого преципітату додавали до моношару клітин NIH. Оброблені таким чином клітини поміщали в середовище з низьким вмістом сироватки. Через кілька тижнів інкубації з'явилися невеликі фокуси (колонії трансформованих клітин). В контрольних культурах, не оброблених ДНК таких фокусів не було. Коли трансформовані клітини вводили мишам, у них розвивалися солідні пухлини. Ці результати свідчать про те, що:

- 1) як мінімум для певних пухлин трансформований фенотип є домінантним, тобто він обумовлений присутністю, а не відсутністю продукту якогось гену;
- 2) трансформація клітин NIH може індукуватися в результаті експресії одного гена. Про це свідчить факт – ефективність введення генів в клітини ссавців з використанням тотальної геномної ДНК в якості донора вкрай низька, і якщо б для трансформації потрібно було б одночасне потрапляння в клітину навіть всього двох генів, її ніколи б не вдалось спостерігати.

Розрізання ДНК пухлинних клітин різними рестриктазами подавлює її трансформуючу активність. Нахили кривих інактивації варіюють від лінії до лінії пухлинних клітин, що вказує на можливість виникнення ракових клітин в результаті багатьох різних генетичних змін.

Виявлення різних картин розподілу Alu-повторів людини в ДНК вторинних трансформантів (індукованих ДНК мишачих клітин трансформованих ДНК ракових клітин) підтверджує цей висновок. ДНК таких вторинних трансформантів повинна містити тільки ті Alu-послідовності, які знаходяться поруч з людськими раковими генами або всередині їх інтронів. Встановлено, що Alu-послідовності, які переносяться разом з генами карциноми сечового мішура, карциноми кишківника, нейробластоми різні, і ці пухлини викликаються трьома різними онкогенами. Але онкогени, присутні в ДНК ракових клітин легень, не вдається відрізнити від онкогенів ракових клітин товстого кишківника. Можливо, ці дві пухлини можуть мати одну і ту ж генетичну основу.

Клонування онкогенів людини

Використання скрінінгу шляхом гібридизації з Alu-повторами дозволило клонувати людські онкогени. Першими були клоновані ген карциноми сечового мішура (розміром 5,4 kb), онкоген нейробластоми (13,5 kb). Ген раку товстого кишківника виявився значно більшим у розмірах (45 kb). Для його дослідження було використано методи «прогулянка по хромосомі». Не дивлячись на варіації в розмірах, відмінності, ці гени мають в принципі одну і ту ж екзон-інтронну організацію з чотирма екзонами, що кодують схожі, але не ідентичні білки з молекулярною масою біля 21 000 D. Цьому протеїну дали умовну назву p21. Показано, що невеликі кількості білків p21 зв'язані з зовнішньою плазматичною мембраною ракових клітин. Для них характерний високий рівень гомології з ідентифікованими раніше онкогенами ретровірусів. Ген раку сечового мішура людини дуже схожий на онкоген *gas* вірусу саркоми Харві, а ген раку легень схожий на онкоген *ras* вірусу саркоми Кістена. Як і у онкогенів ретровірусів, у цих людських онкогенів є еквівалентні гени нормальних клітин, онкогени виникають з них в результаті мутацій, які приводять до того, що відповідні білки отримують онкогенні потенції. Секвінування онкогенів показало, що онкоген раку сечового мішура людини відрізняється від свого

гомолога з нормальних клітин єдиною точковою мутацією: гліцин в положенні 12 нормального протеїну p21 у протеїні ракових клітин замінюється на валін. Але досі не встановлено функції ні нормального ні мутантного білків p21.

Очевидно, до остаточного розв'язання проблеми канцерогенезу ще далеко, але попереду будуть нові відкриття, завдяки яким стануть зрозумілі молекулярні механізми індукції трансформації клітин білковими продуктами онкогенів.

ЗАМІСТЬ ПІСЛЯМОВИ

У підручних не прийняти писати післямов. Хоча б тому, що підручник завжди є відкритим текстом – текстом не дописаним, в якому слід що дописати чимало сторінок майбутніми поколіннями дослідників та авторів завжди невчасних компіляцій. Але я спробую додати післямову. Може тому, що живемо в часи *post scriptum*, коли післямови завжди доречні.

Ви ознайомились з однією з версій короткого викладу основ загальної та медичної генетики. Генетика нині стала не просто центральною біологічною наукою – все дослідники прекрасно розуміють (хто б чим не займався, чи систематикою хвойних чи запальними процесами в кишківнику людини), що все починається з інформації про організацію і функціонування живого, яка записана на молекулярному рівні – нуклеїнових кислотах – ДНК та РНК. Розшифровка цієї інформації, можливості практичного застосування, створення принципово нових живих організмів відкриває для людства неймовірні перспективи. Прикро, що людство досі не зуміло правильно використати ці можливості, змінити своє буття на краще, подолати всі ті проблеми – екологічні, медичні, соціальні які стоять перед людством і взагалі ставлять питання про виживання людства як біологічного виду.

Будемо сподіватись, що подальший поступ генетики, в тому числі медичної генетики дозволить людству зрозуміти хто ми, для чого ми тут – у Всесвіті і змінити наше буття на краще. В ім'я прогресу, в ім'я пізнання Істини.

ПОГРАМНІ ВИМОГИ ДО КУРСУ ГЕНЕТИКИ

1. Предмет генетики.
2. Розділи генетики.
3. Історія генетики.
4. Досліди Менделя. Закони Менделя.
5. Моногібридне схрещування.
6. Повне і неповне домінування.
7. Проміжне успадкування.
8. Кодомінування.
9. Генотип і фенотип.
10. Гомозигота, гетерозигота, гемізигота.
11. Множинний алелізм.
12. Дигібридне і полігібридне схрещування.
13. Статистичні причини відхилення від законів Менделя.
14. Летальні і напівлетальні гени.
15. Неповний прояв генів.
16. Вплив зовнішніх умов на прояв домінування.
17. Гени-модифікатори.
18. Взаємодія генів.
19. Гени-супресори.
20. Епістаз.
21. Криптомерія.
22. Комплементарні і полімерні гени.
23. Андрогенез.
24. Число і будова хромосом.
25. Каріотип.
26. Хроматин.
27. Визначення статі.
28. Статеві хромосоми.
29. Успадкування зчеплене зі статтю.
30. Нерозходження статевих хромосом.
31. Статевий хроматин.
32. Кросинговер.
33. Мітотичний кросинговер.
34. Генетика бактерій.

35. Транспозони.
36. Плазміди.
37. Картування генів бактерій.
38. Цитоплазматична спадковість.
39. Гени пластид.
40. Гени мітохондрій.
41. Мутації.
42. Поліплоїдія.
43. Хромосомні мутації.
44. Генні мутації.
45. Причини мутацій. Мутагени.
46. Фізичні мутагени. Теорія мішені. Кисневий ефект.
47. Хімічні мутагени. Супермутагени. Антимутагени.
48. Модифікації. Морфози. Фенокопії.
49. Оперон.
50. Організація генома.
51. Гістони і нуклеосоми.
52. Тонка будова гена.
53. Повтори ДНК.
54. Молекулярні механізми мутацій і рекомбінацій.
55. Імуногенетика.
56. Пенетрантність і експресивність.
57. Взаємодія генів.
58. Механізми онкогенезу.
59. Онкогени.
60. Генетика популяцій.
61. Закон Гарді-Вайнберга-Кастла.
62. Потік генів і дрейф генів.
63. Мутаційний тиск.
64. Інбридинг.
65. Гетерозис.
66. Тиск добору.
67. Поліморфізм популяцій.
68. Генетика кількісних ознак.
69. Основи генної інженерії. Методи генної інженерії.
70. Рестриктази.

71. Секвінування ДНК.
72. Вектори.
73. Генна інженерія еукаріот: дріжджів і вищих рослин.
74. Використання протопластів і сферопластів.
75. Ті-плазмиди.

ПРОГРАМНІ ВИМОГИ ДО КУРСУ МЕДИЧНОЇ ГЕНЕТИКИ

1. Предмет медичної генетики.
2. Історія медичної генетики.
3. Закони Менделя і людина.
4. Повне домінування у людини.
5. Неповне домінування у людини.
6. Проміжне успадкування у людини.
7. Кодомінування у людини.
8. Наддомінування у людини.
9. Множинний алелізм у людини.
10. Моногенне і полігенне успадкування у людини.
11. Менделюючі ознаки людини в нормі і при патології.
12. Альбінізм.
13. Серповидноклітинна анемія.
14. Успадкування груп крові системи АВ0.
15. Синдром Марфана.
16. Синдром Холт-Орама.
17. Синдром Ді Георга.
18. Синдром Бьорта-Хога-Д'юба.
19. Синдром Бушке-Оллендорф.
20. Синдрому херувізму.
21. Спадкова фіброзисплазія.
22. Причини відхилення від законів Менделя.
23. Летальні гени.
24. Неповне проявлення генів.
25. Вплив зовнішніх умов на характер домінування.
26. Гени-супресори.
27. Епістаз.

28. Криптомерія.
29. Комплементарні гени.
30. Адитивна (кумулятивна) полімерія.
31. Хромосоми людини.
32. Цитогенетика.
33. Генетика статі людини.
34. Механізми визначення статі людини в процесі ембріонального розвитку.
35. Синдром Моріса.
36. Синдром Сваєра.
37. Синдром де Ля Шапеля.
38. Наслідки нерозходження статевих хромосом.
39. Синдром Шерешевського-Тернера.
40. Синдром трисомії Х-хромосоми.
41. Синдром Клайнфельтера.
42. Синдром Якобса.
43. Гени Х-хромосоми.
44. Успадкування зчеплене зі статтю у людини.
45. Гемофілія.
46. Дальтонізм.
47. Синдром Каллмана.
48. Синдром Фабрі.
49. Синдром Віскотта-Олдріча.
50. Міодистрофія Дюшена.
51. Міодистрофія Беккера.
52. Синдром Альпорта.
53. Синдром Шарко-Марі-Тута.
54. Гени Y-хромосоми.
55. Голандричні ознаки людини.
56. Статевий хроматин. Тільця Барра.
57. Успадкування обмежене статтю у людини.
58. Цитоплазматична спадковість у людини.
59. Гени мітохондрій людини.
60. Синдром Кернса-Сейра.
61. Синдром Пірсона.
62. Синдром MERRF.

63. Синдром MELAS.
64. Синдром Лебера.
65. Мутації. Геномні, хромосомні та генні мутації людини.
66. Анеуплоїдія у людини. Нулісомія, моносомія, трисомія.
67. Синдром Дауна.
68. Синдром Патау.
69. Синдром Едвардса.
70. Синдром котячого крику.
71. Синдром Вольфа-Хіршхорна.
72. Синдром Дабіна-Джонсона.
73. Синдром Канавана-Ван-Богерта.
74. Синдром Куфса.
75. Синдром Кріглера-Найяра.
76. Синдром Фарбера.
77. Синдром Німмана-Піка.
78. Муковісцидоз (Кістозний фіброз).
79. Синдром Тея-Сакса.
80. Синдром Коккейна-Нілл-Дінгоул.
81. Причини мутацій. Мутагени.
82. Антимутагени.
83. Модифікації. Морфози. Фенокопії. Тератогени. Тератогенез.
84. Регуляція активності генів у людини.
85. Онкогенетика людини.
86. Імуногенетика людини.
87. Популяційна генетика людини.
88. Закон Гарді-Вайнберга-Кастла.
89. Інбридинг та гетерозис у людини.
90. Генетичний вантаж.
91. Поліморфізм популяцій людини.
92. Методи молекулярно-генетичної діагностики в медицині.

ЗАДАЧІ З ГЕНЕТИКИ

Алгоритм розв'язування задач на схрещування

Є різні типи задач з генетики: задачі на родовід, на схрещування, на картування генів еукаріот з використанням частоти кросинговеру, задачі з генетики бактерій та вірусів, задачі з популяційної генетики, задачі з молекулярної генетики. Найбільшу проблему для студентів переважно становлять задачі на схрещування. Для правильного розв'язку таких задач потрібно використовувати наступний алгоритм з такими кроками:

1. Перший крок. Необхідно визначити тип схрещування – моногібридне, дигібридне, тригібридне чи ін. Тип схрещування визначається по розщепленню. Розщеплення 3:1, 1:1, 2:1, 1:2:1 характерні для моногібридного схрещування (рази 4 генетичних класи, або 2, або 3 – один клас випадає). Розщеплення 9:3:2:1, 15:1, 9:7, 9:3:4, 12:3:1 іт. Д. характерні для дигібридного схрещування (разом 16 генетичних класів, або в два рази менше – вісім і т. д.) Якщо генетичних класів 64 чи в два рази менше 32 – це свідчить про тригібридне схрещування. Число класів зменшується в два рази, якщо схрещують гетерозиготу з рецесивною гомозиготою по певному гену.
2. Другий крок. Необхідно визначити, чи в задачі має місце зчеплене зі статтю успадкування, чи наявні аутосомні гени. Це визначається знову ж таки по розщепленню. Якщо розщеплення однакове в рамках кожної статі, то немає підстав говорити про зчеплене зі статтю успадкування.
3. Третій крок. Якщо є дигібридне чи тригібридне схрещування, необхідно визначити чи гени зчеплені між собою чи комбінуються незалежно. Наведені вище розщеплення є свідченням незалежного комбінуння ознак. Якщо ж в одному фенотипічному класі набагато більше особин, аніж в іншому – в десятки, сотні разів, то має місце зчеплене успадкування.
4. Четвертий крок. Необхідно в'яснити, які тут є генетичні явища. Кожному генетичному явищу відповідає своє

розщеплення і навпаки. Наприклад, розщеплення 2:1 типове для наявності в системі летальних генів, розщеплення 9:3:4 характерне для явища криптомерії і т. д.

5. П'ятий крок. Необхідно висунути генетичну гіпотезу: вияснити які гени за що відповідають, які гени є рецесивними, які домінуючими, як між собою взаємодіють.
6. Шостий крок. Необхідно перевірити гіпотезу, зобразивши відповідну ґратку та розписавши гамети та зиготи.
7. Сьомий крок. Необхідно довести правильність гіпотези методом Пірсона – довести, що відхилення від законів Менделя випадкове.

Приклад розв'язку задач на схрещування:

Задача. Схрестили хвилястих папужок: самок зелених з самцями білими. У першому поколінні одержали всіх папужок зелених. Схрестили їх між собою. У другому поколінні одержали: 95 папужок зелених, 34 папужки сині, 32 папужки жовті, 11 папужок білих. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Розв'язок:

Розщеплення – 9:3:3:1

Тип схрещування: дигібридне

Зчеплення зі статтю: не зчеплене, гени аутосомні

Незалежне комбінування генів

Генетичні явища: повне домінування, комплементарні гени

Генетична гіпотеза:

F – сині

f – не сині

O – жовті

o – не жовті

F_O_ - зелені

P: ♀ FFOO X ♂ ffoo

зелені білі

F1: ♀ FfOo X ♂ FfOo

зелені зелені

F2:

	FO	Fo	fO	fo
FO	FFOO зелені	FFOo зелені	FfOO зелені	FfOo зелені
Fo	FFOo зелені	FFoo сині	FfOo зелені	Ffoo сині
fO	FfOO зелені	FfOo зелені	ffOO жовті	ffOo жовті
fo	FfOo зелені	Ffoo сині	ffOo жовті	ffoo білі

9:3:3:1

Загальна кількість особин нащадків: 172.

Очікувана кількість особин нащадків у фенотипічних класах:

В одному класі = $172/16 = 10,75$.

У трьох класах = $10,75 \times 3 = 32,25$.

У 9 класах = $96,75$.

$$\chi^2 = (95 - 96,75)^2 / 96,75 + (34 - 32,25)^2 / 32,25 + (32 - 32,25)^2 / 32,25 + (11 - 10,75)^2 / 10,75 = 0,032 + 0,095 + 0,002 + 0,006 = 0,135.$$

Імовірність, що це відхилення випадкове = 0,99 або 99 %.

Гіпотеза приймається. Задача розв'язана вірно.

Задачі

Задача № 1. Схрестили кролицю дикого типу з кроликом забарвлення світло-сіре. В першому поколінні одержали: 21 кроленя дикого типу, 9 кроленят забарвлення гімалайське і 10 кроленят забарвлення світло-сіре. Поясніть отримані результати. Які генотипи кроликів всіх поколінь? Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 2. Кроликів чистої лінії «мардер» схрестили з чистою лінією «гімалайських» (Р). Отримали в першому поколінні (F1) всіх кроликів забарвлення «мардер». Одночасно схрестили чисту лінію кроликів «шиншила» з чистою лінією «альбінос». Всі кролики в першому поколінні (F1) мали забарвлення «світло-сіре». Яке буде розщеплення по фенотипу від схрещування кроликів перших поколінь цих двох аналізуючих зхрещувань («мардер» Х «світло-сіре»)? Які генотипи всіх поколінь кроликів?

Задача № 3. У матері четверта група крові, в батька – третя. Які групи крові можливі у дітей?

Задача № 4. Двох чорних самок щура схрещували з коричневим самцем. Було отримано кілька разів нащадків. Нащадки 1-ї самки склали 36 чорних щурят. Нащадки 2-ї самки – 14 чорних і 10 коричневих щурят. Який імовірний механізм успадкування чорного і коричневого забарвлення у щурів? Які генотипи батьків? Для перевірки вашої гіпотези використайте метод «хі-квадрат».

Задача № 5. У батька четверта група крові, у матері перша. Які групи крові можливі у їхніх дітей? В якому співвідношенні?

Задача № 6. Зелених хвилястих папужок схрестили з білими. В першому поколінні одержали 9 зелених папужок, 8 жовтих, 10 блакитних, 9 білих. Пояснить отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 7. У курей розовидний гребінь – ознака, що домінує по відношенню до простого гребеня. Фермер думає, що деякі з його курей-віандотів з розовидним гребенем є носіями аляля простого гребеня. Як він може встановити, які з курей є гетерозиготами?

Задача № 8. Генетик провів самозапилення у шести зелених рослин однієї лінії кукурудзи і отримані зерна кожної рослини проростив. У потомстві кожної рослини виявились зелені і альбіноси (позбавлені хлорофілу) рослини в наступуючій пропорції:

№ батьківських рослин	Зелені	Білі
1	38	11
2	26	11
3	42	12
4	30	9
5	36	14
6	48	12

Який імовірний механізм успадкування альбінізму у кукурудзи? Які генотипи батьківських рослин? Для перевірки вашої гіпотези використайте метод «хі-квадрат».

Задача № 9. Рослини кукурудзи тої ж лінії, що і в умовах попередньої задачі, запилювали пилом рослин іншої лінії. З отриманих рослин виростили 25 зелених і 10 білих рослин. Якому розподілу відповідає цей результат (3:1 чи 2:1)? Який імовірний генотип батьківських рослин?

Задача № 10. Чоловік з групою крові А одружився з жінкою з групою крові В. В них народилась дитина з групою крові 0. Які генотипи всіх трьох? Які ще генотипи і з якими частотами можна очікувати серед нащадків від таких шлюбів.

Задача № 11. Схрестили кролика забарвлення мардер з кролицею забарвлення світло-сіре. Отримали кілька приплодів загальною чисельністю 41 кроленятко. З них 21 було забарвлення світло-сіре, 9 забарвлення мардер і 11 забарвлення гімалайські. Поясніть отримані результати. Які генотипи батьківського покоління і нащадків? Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 12. Схрестили кролика забарвлення дикого типу з кролицею забарвлення світло-сіре. Отримали кілька приплодів загальною чисельністю 43 кроленятка. З них 21 було забарвлення дикого типу, 12 забарвлення світло-сіре і 10 забарвлення мардер. Поясніть отримані результати. Які генотипи батьківського покоління і нащадків? Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 13. Схрестили кролика забарвлення світло-сіре з кролицею забарвлення гімалайське. Отримали кілька приплодів загальною чисельністю 45 кроленят. З них 22 було забарвлення світло-сіре, 23 забарвлення мардер. Поясніть отримані результати. Які генотипи батьківського покоління і нащадків? Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 14. Зелених хвилястих папужок схрестили з білими яке можливе розщеплення в першому поколінні?

Задача № 15. Гарбуз, що має дисковидні білі плоди схрестили з гарбузом, що має видовжені зелені плоди. Який можливий генотип і фенотип рослин в першому і другому поколіннях в якому схрестили дисковидні білі з дисковидними білими гарбузами?

Задача № 16. Схрестили дві чисті лінії андалузьких курей – схрестили чорного рівномірно забарвленого півня з білою куркою. Всі курчата в першому поколінні виявились сірими. Причому всі курочки були рівномірно забарвлені, а всі півники сірі рябі. У другому поколінні отримали 10 чорних рівномірно забарвлених півників, 9 чорних рябих півників, 20 сірих рябих півників, 21 сірого рівномірно забарвленого півника, 19 білих півників, 8 чорних рівномірно забарвлених курочок, 11 чорних рябих курочок, 18 сірих рябих курочок, 20 сірих рівномірно забарвлених курочок, 21 білу курочку. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 17. На одній фермі було кілька чистих ліній білих курей. Схрестили білу курку з лінії I з білим півнем з лінії II. У першому поколінні всі курчата були білими. У другому поколінні 27 курчат були білими і 6 чорними. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 18. Схрестили пшеницю з темно-червоним насінням з пшеницею з білим насінням. У першому поколінні одержали всі рослини з червоним насінням. У другому поколінні отримали рослини:

З темно-червоним насінням – 11,

З яскраво-червоним насінням – 52,

З червним насінням – 51,

З блідо-червоним – 40,

З білим – 10.

Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 19. Схрестили самку дрозофіли сіру, з червоними очима і дельтоподібними крилами з самцем сірим, з червоними очима і нормальними крилами. У першому поколінні одержали:

Самок:

Сірих, з червоними очима, дельтоподібними крилами – 21,

Сірих, з червоними очима, нормальними крилами – 22,

Самців:

Жовтих, з червоними очима, дельтоподібними крилами – 11,

Жовтих, з червоними очима, нормальними крилами – 10,

Сірих, з білими очима, дельтоподібними крилами – 12,

Сірих, з білими очима, нормальними крилами – 9.

Окремо провели схрещування самця з дельтовидними крилами з самкою з нормальними крилами – всі мухи в першому поколінні були з дельтовидними крилами. Поясніть отримані результати. Які генотипи всіх мух? Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 20. Білу, майже глуху від народження кішку схрестили з смугастим котом з нормальним слухом. Отримали кілька виводків загальною кількістю 30 кошенят. З них - 4 було чорних, 7 – смугастих, 14 – білих глухих і 5 – попелястих. Які генотипи батьків і дітей? Гіпотезу доведіть методом «хі-квадрат».

Задача № 21. У морських свинок алель чорного забарвлення В домінує над алелем альбінізму в. Алель грубої шерсті R домінує над алелем тонкої шерсті r. Гени R та В незалежні. Які будуть результати зхрещувань між гомозиготою по генам В та R з тонкошерстими альбіносами? У F1? У F2? А який результат схрещування між F1 і тонкошерстим батьком-альбіносом?

Задача № 22. Чорну грубошерсту морську свинку схрещували з грубошерстим альбіносом. Серед нащадків виявилось 13 чорних грубошерстих, 16 альбіносів грубошерстих, 6 чорних тонкошерстих і 5 альбіносів тонкошерстих. Визначте генотипи батьків і перевірте вашу гіпотезу, використовуючи метод “хі-квадрат”.

Задача № 23. У *Drosophila melanogaster* існує рецесивний алель, що приводить до розвитку коротких рудементарних крил *vg*. Відповідний домінантний алель *vg*⁺ обумовлює розвиток нормальних крил. В іншому генному локусі існує рецесивний алель *st*, що викликає яскраво-червоний колір очей; відповідний йому домінантний алель *st*⁺ відповідає нормальному червоному кольору очей. Провели 3 досліди по вивченню цих генів:

№ досліду	Фенотип батьків	Фенотип нащадків			
		Довгі крила, червоні очі	Довгі крила, яскраві очі	Короткі крила, червоні очі	Короткі крила, яскраві очі
1.	Довгі крила, червоні очі X короткі крила, яскраві очі	178	164	142	140
2.	Довгі крила, червоні очі X довгі крила, червоні очі	364	0	107	0
3.	Довгі крила, червоні очі X довгі крила. Червоні очі	309	107	95	29

Визначте генотипи батьків. Для перевірки вашої гіпотези використайте метод «хі-квадрат».

Задача № 24. Яке число різних типів гамет, генотипів і фенотипів у нащадків самозапильюючої рослини, що гетерозиготна по трьом, п'яти, семи різним домінантним генам?

Задача № 25. Рослина, гетерозиготна по чотирьом незалежно успадкованим парам генів (Aa Bb Cc Dd), самозапильюється. Вирахуйте очікувані частоти слідуючих генотипів серед нащадків цієї рослини:

- 1) aa bb cc dd
- 2) aa bb cc Dd
- 3) Aa Bb Cc Dd

Задача № 26. У кунжута одинарний плід – ознака домінантна по відношенню до потрійного плоду, а нормальний листок – ознака домінантна по відношенню до зморшкуватого. Провели 5 дослідів:

№ п/п	Фенотип батьків	Фенотип нащадків			
		Одинарний, нормальний	Одинарний, зморшкуватий	Потрійний, нормальний	Потрійний, зморшкуватий
1.	Одинарний, нормальний X потрійний зморшкуватий	362	118	0	0
2.	Одинарний, нормальний X потрійний зморшкуватий	211	0	205	0
3.	Одинарний, зморшкуватий X потрійний нормальний	78	90	84	88
4.	Одинарний нормальний X потрійний зморшкуватий	318	98	323	104

5.	Одинарний нормальний X одинарний зморшкуватий	110	113	33	38
----	--	-----	-----	----	----

Які генотипи батьків у кожному з 5-ти дослідів ? Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “хі” - квадрат.

Задача № 27. Яку долю всіх можливих генотипів складають гомозиготи, коли число різних алелей даного гену рівне трьом? П’яти? Семи?

Задача № 28. Схрещували щурів дикого типу (агуті, рівномірно забарвлені, темноокі, неослаблене забарвлення) з чорними, плямистими, червоноокими, ослабленого забарвлення. В першому поколінні – всі щурі дикого типу. Їх схрестили з чорними плямистими, рубіновоокими, ослабленого забарвлення. Отримали потомство:

Дикий тип – 41

Чорні – 40

Агуті, плямисті – 29

Агуті, рубіновоокі - 33

Агуті, рубіновоокі, плямисті - 34

Рубіновоокі, чорні – 38

Агуті, ослаблене забарвлення – 36

Чорні, ослаблене забарвлення – 29

Плямисті, агуті, ослаблене забарвлення – 33

Плямисті, чорні, ослаблене забарвлення – 34

Рубіновоокі, агуті, ослаблене забарвлення - 39

Рубіновоокі, чорні, ослаблене забарвлення – 34

Плямисті, рубіновоокі, чорні – 32

Плямисті, рубіновоокі, агуті, ослаблене забарвлення – 25

Плямисті, червоноокі, чорні, ослаблене забарвлення – 30

Поясніть отримані результати. Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “хі” - квадрат. В яких пропорціях будуть представлені ці фенотипи в потомстві від зхрещувань F1 X F1?

Задача № 29. Схрестили двох жовтих мишей. Отримали від них 9 приплодів загальною кількістю 96 мишенят. З них 65 було жовтих, 9 білих, 5 чорних і 17 агуті. Який генотип всіх мишей? Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “хі” - квадрат.

Задача № 30. Схрестили самку дрозофіли з червоними очима з самцем дрозофіли з пурпурними очима. Отримали в першому поколінні 51 муху з червоними очима і 32 мухи з пурпурними очима. Поясніть отримані результати. Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “хі” - квадрат.

Задача № 31. Схрестили двох дрозофіл з червоними очима. У першому поколінні виявили 131 дрозофілу з червоними очима і 29 дрозофіл пурпурними очима. Потім схрестили іншу дрозофілу з червоними очима з дрозофілою з пурпурними очима. Отримали в першому поколінні 121 дрозофілу з червоними очима і 39 дрозофіл з пурпурними очима. Поясніть отримані результати. Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “хі” - квадрат.

Задача № 32. Схрестили самку дрозофіли жовту з червоними очима з самцем сірим з червоними очима. Отримали в першому поколінні:

Самок:

Сірих з яскравими очима – 10,

Сірих з червоними очима – 31,

Самців:

Жовтих з яскравими очима – 11,

Жовтих з червоними очима – 32.

Потім провели інше схрещування. Взяли самку сіру з яскравими очима і схрестили з самцем з жовтим з червоними очима. У першому поколінні одержали:

Самок:

20 жовтих з яскравими очима,

21 сіру з яскравими очима,

19 жовтих з червоними очима,

18 сірих з червоними очима.

Самців:

- 22 жовтих з яскравими очима,
- 21 сірого з яскравими очима,
- 20 жовтих з червоними очима,
- 23 сірих з червоними очима.

Поясніть отримані результати. Для перевірки вашої гіпотези використайте метод “ χ^2 ” - квадрат.

Задача № 33. Схрестили кішку черепахового забарвлення з короткою шерстю з котом чорним з довгою шерстю. Отримали кілька приплодів. Загалом у першому поколінні було:

Кішок:

- чорних з короткою шерстю – 9,
- чорних з довгою шерстю – 11,
- черепахових з короткою шерстю – 10,
- черепахових з довгою шерстю – 12;

Котів:

- чорних з короткою шерстю – 11,
- чорних з довгою шерстю – 13,
- рудих з короткою шерстю – 10,
- рудих з довгою шерстю – 11;

Потім взяли з першого покоління черепахову кішку з короткою шерстю і схрестили з рудим котом з довгою шерстю. Отримали в другому поколінні:

Кішок:

- черепахових з короткою шерстю – 5,
- черепахових з довгою шерстю – 6,
- рудих з короткою шерстю – 7,
- рудих з довгою шерстю – 6,

Котів:

- чорних з короткою шерстю – 5
- чорних з довгою шерстю – 7
- рудих з короткою шерстю – 7,
- рудих з довгою шерстю – 6.

Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 34. Схрестили дрозофіл з коричневими очима з дрозофілами з яскравими очима. У першому поколінні отримали

всіх дрозодів з червоними очима. У другому поколінні одержали 90 мух з червоними очима, 31 муху з яскравими очима, 29 мух з коричневими очима, 11 мух з білими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 35. Схрестили самця коричневої і самку сапфірової норки. У першому поколінні одержали всіх цуценят коричневих. У другому поколінні отримали цуценят: 46 – коричневих, 5 – сапфірових, 12 – алеутських, 11 – платинових. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 36. Схрестили кроликів з нормальною шерстю з ангорськими (довгошерстими) кроликами. У першому поколінні всі кролики мали нормальну шерсть. У другому поколінні 57 мали нормальну шерсть, 27 – довгу шерсть, 21 – коротку шерсть.

Коли схрестили гібридів з першого покоління з довгошерстими кроликами отримали: 39 – з довгою шерстю, 15 – з короткою шерстю, 18 – з нормальною шерстю.

Коли схрестили гібридів з першого покоління з короткошерстими, то отримали в результаті одного схрещування 30 – з нормальною шерстю, 31 – з короткою шерстю. 19 – з довгою шерстю. В результаті другого такого схрещування з іншими кроликами таких же фенотипів одержали 10 – з нормальною шерстю, 11 – з короткою шерстю. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 37. Схрестили дві чисті лінії кукурудзи. Одна чиста лінія мала забарвлений щиток (скутеллюм), інша – не забарвлений. У першому поколінні всі мали забарвлений щиток. У другому поколінні отримали рослини: 163 – із забарвленим щитком, 30 – з незабарвленим щитком. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 38. В одній лабораторії мали чотири різновидності мишей: 1) дикого типу, 2) з вкороченим хвостом, 3) з дуже коротким хвостом, 4) безхвості. Для дослідження цього феномену провели 4 схрещування:

I. Схрестили безхвостих мишей з мишами з вкороченим хвостом. Отримали у першому поколінні мишей: 30 – з дуже вкороченим хвостом, 31 – безхвоті, 29 – з вкороченим хвостом.

II. Схрестили мишей з вкороченим хвостом з мишами з вкороченим хвостом. Отримали у першому поколінні мишей: 41 – дикого типу, 83 – з вкороченим хвостом.

III. Схрестили безхвостих мишей з безхвостими мишами. Отримали у першому поколінні виключно безхвостих мишей.

IV. Схрестили мишей з дуже короткими хвостами з мишами з дуже короткими хвостами. Одержали у першому поколінні: 32 миші дикого типу, 65 – з дуже короткими хвостами. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 39. Схрестили рослини грициків з трикутними плодами. У першому схрещуванні одержали у першому поколінні 91 рослину з трикутними плодами і 29 з овальними плодами. У другому схрещуванні двох інших рослин з трикутними плодами одержали: 150 рослин з трикутними плодами і 10 рослин з овальними плодами. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 40. Схрестили жовтий гарбуз з білим гарбузом. Отримали у першому поколінні: 121 рослину з білими плодами, 92 рослини з жовтими плодами і 29 рослин з зеленими плодами. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 41. Схрестили баклажани з синіми плодами з баклажанами з білими плодами. У першому поколінні одержали 100 рослин з білими плодами і 61 рослину з синіми плодами.

Потім схрестили два баклажани з білими плодами. У першому поколінні отримали всі рослини з синіми плодами.

Потім схрестили дві рослини з білими плодами. У першому поколінні отримали 300 рослин з білими плодами і 101 рослину з синіми плодами. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 42. Шляхом злиття двох і більше восьмиклітинних морул ембріонів різних генотипів можна

отримати мишей-химер. Клітини перебудовуються і формують аномальну крупну морулу, яка при розвитку дає зародок нормальних розмірів, а потім новонароджене мишенятко нормального розміру, що складається з клітин різних генотипів. Були проведені досліди по злиттю чотирьох генетично маркованих зародків. Маркерами служили гени, що визначають біле, чорне, жовте і коричневе забарвлення шерсті мишей. Отримували мишей, що мали шерсть з плямами трьох кольорів у різних комбінаціях, але химер, які б мали плями всіх чотирьох кольорів отримувати не вдавалось. Поясніть отримані результати.

Задача № 43. Схрестили чорну мишу рівномірно забарвлену з мишею альбіносом. У першому поколінні всі мишенята були забарвлення агуті. У другому поколінні одержали мишенят: 28 – агуті, 10 – чорних рівномірно забарвлених, 12 – білих. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 44. Проводили схрещування чистих ліній шурів-альбіносів з чистими лініями сірих шурів. Під час кожного схрещування брали ту саму лінію сірих шурів і різні лінії шурів альбіносів. Отримали результати:

Перше схрещування. У першому поколінні всі шурі були сірі. У другому поколінні одержали: 292 – сірих, 87 – жовтих, 88 чорних, 32 – кремових, 171 – альбіноси.

Друге схрещування. У першому поколінні всі шурі сірі. У другому поколінні: 174 – сірих, 65 – чорних, 80 – альбіносів.

Третє схрещування. У першому поколінні всі шурі сірі. У другому поколінні: 104 – сірі, 33 – жовті, 44 – альбіноси.

Четверте схрещування. У першому поколінні всі шурі сірі. У другому поколінні: 48 – сірих, 16 – альбіноси. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 45. У північній Ірландії (Ольстер чи то Улад, графство Фермана) було вивчено кілька сімей, в яких спостерігалися випадки глухоти. В одній з таких сімей у здорових батьків народилося 8 дітей (нічого тут дивуватись – це

була католицька ірландська сім'я – такі сім'ї традиційно багатодітні), 4 з яких (два хлопчики і дві дівчинки) були глухонімі. У іншій сім'ї у глухонімих батьків було 3 дочки і один син – всі глухонімі. Глухонімиий син з 1-ї сім'ї одружився на глухонімії дочці з 2-ї сім'ї. Всі їх діти (дочка і три сини) теж були глухонімі. Але коли один із цих глухонімих синів одружився на глухонімії дівчині, що не була родичкою з цією сім'єю (вона була родом з Коннахта чи то з Муму, графство Лімерік), то їх шестеро дітей (всі сини) були здорові. Складіть родовід. Який можливий спосіб успадкування глухоти? Поясніть, чому в останньому шлюбі всі діти були здорові?

Задача № 46. Японська рослина *Pharabitis nil* може мати сині або пурпурні квіти. Схрестили дві чисті лінії рослин з пурпурними квітами. У першому поколінні всі рослини були з синіми квітами. Коли схрещували рослини в рамках однієї чистої лінії, то завжди одержували рослини тільки з пурпурними квітами. Поясніть отримані результати.

Задача № 47. Схрестили самку морської свинки чорну з грубою шерстю з самцем – альбіносом з тонкою шерстю. У першому поколінні всі морські свинки були чорними з грубою шерстю. У другому поколінні одержали 20 – чорних грубошерстих, 6 чорних тонкошерстих, 7 – альбіносів грубошерстих, 2 – альбіноси тонкошерсті. Потім взяли самку з першого покоління і схрестили з батьком альбіносом тонкошерстим. Отримали: 5 – чорних грубошерстих, 6 – чорних тонкошерстих, 4 – альбіноси грубошерсті, 7 – альбіноси тонкошерсті. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 48. Схрестили самку дрозофіли жовту з редукованими крилами і самця сірого з нормальними крилами. Отримали у першому поколінні всіх мух крилатих, але самці були жовті, а самки сірі. У другому поколінні одержали мух:

Крилатих сірих – 61,
Крилатих жовтих – 63,
Безкрилих сірих – 22,
Безкрилих жовтих – 21.

Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 49. Схрестили самку дрозофіли дикого типу з самцем з чорним тілом, загнутими догори крилами, пурпурними очима. Отримали у першому поколінні мух:

Чорних, очі пурпурні – 1801

Загнуті догори крила – 1795

Чорні, загнуті догори крила – 22

Пурпурні очі – 23

Чорні – 50

Загнуті догори крила, пурпурні очі – 54

Дикий тип – 1

Чорні, загнуті догори крила, пурпурні очі – 0

Поясніть отримані результати. Складіть карту 2-ї хромосоми. Розрахуйте коефіцієнт коінциденції і значення інтерференції.

Задача № 50. Самку медоносної бджоли (*Apis mellifera*) запліднили трутнем, що розвивається з гаплоїдного яйця. У потомстві у першому поколінні рівно половина яєць виявились не здатними до розвитку. Інші розвивались нормально. Поясніть отримані результати.

Задача № 51. У дрозофіли ген редукованих крил (*vg*) розташований в аутосомі. Ген жовтого забарвлення тіла (*y*) також рецесивний, але зчеплений зі статтю. Якщо гомозиготну по цим генам самку схрестити з нормальним самцем, то яке буде розщеплення в першому і другому поколіннях ?

Задача № 52. Дрозофіла, жовта самка з редукованими крилами, дві X-хромосоми зв'язані одною центромерою. Яких нащадків слід очікувати від схрещування з нормальним самцем?

Задача № 53. Півень гетерозиготний по зчепленій зі статтю рецесивній леталі. Яке співвідношення статей серед нащадків такого півня з нормальними курками?

Задача № 54. Іноді у курей яйники не розвиваються або не функціонують, а замість них розвиваються сім'яники. У деяких з таких “псевдопівнів” з перевизначеною статтю можуть бути курчата. Якого типу нащадків можна чекати від схрещування

таких півнів з нормальними курками? Яке буде співвідношення статей серед нащадків з врахуванням того, що яйця з генотипом WW не здатні до розвитку?

Задача № 55. У деяких тропічних риб, таких як меченосці і гуппі, в деяких лініях гетерогаметними бувають самці, а в інших – самки. В диких лініях самки часто бувають типу XX, а самці – XY. В деяких акваріумних лініях самки мають генотип ZW, а самці ZZ. При перехресних схрещуваннях можна отримати самців з комбінаціями статевих хромосом типу ZZ, XZ, XY, YY, а самок з комбінаціями XX, XW, ZW, YW. Яке буде співвідношення статей в слідуючих типах схрещування:

- А) самки XX х самці ZZ;
- Б) самки ZW х самці XZ;
- В) самки XW х XZ самці?

Задача № 56. Існують чотири фенотипічних класи жуків-листоїдів *Phylodecta variabilis*, що відрізняються забарвленням надкриль – смугастий, жовтий, червоний і чорний. Всі чотири фенотипи визначаються алелями одного гена: e^l – смугастий фенотип, e^y – жовтий фенотип, e^r – червоний фенотип, e^b – чорний фенотип. Характер домінування серед цих алелей можна описати так: $e^b > e^r > e^y > e^l$. Гени розташовані в статевих хромосомах, причому всі чотири алеля можуть бути локалізовані як в X так і в Y хромосомі. Смугастий фенотип дуже рідко зустрічається у самців (0,5% всіх самців) і широко поширений у самок (59 % всіх самок). Як ви можете пояснити цей факт?

Задача № 57. При схрещуванні смугастої самки *Phylodecta variabilis* з жовтим самцем в F1 виявлено 13 смугастих самок і 11 жовтих самців. У F2 всі самки (31) були смугасті, а всі самці (29) – жовті. Які генотипи батьків і нащадків в F1 і F2? Використайте метод “хі-квадрат” для перевірки вашої гіпотези.

Задача № 58. Припустимо, що вам невідома стать особин в поколіннях F1 і F2 з минулою задачі. Чи могли б такі результати вийти, якби ген забарвлення надкриль не був зчеплений зі статтю? Використайте метод “хі-квадрат” для перевірки гіпотези про незчеплення зі статтю даного гену вже з врахуванням статевої належності особин.

Задача № 59. При схрещуванні червоної самки *Phylodecta variabilis* з червоним самцем серед нащадків виявилось 15 жовтих самок, 15 червоних самок і 34 червоних самця. При зхрещуванні окремих жовтих самок з покоління F1 з окремими червоними самцями з того ж покоління співвідношення фенотипів серед нащадків виявилось серед різних зхрещувань різним: в половині зхрещувань всі самці і самки серед нащадків були червоними, а в іншій половині самці мали червоне забарвлення, а самки приблизно в рівному числі були жовтими і смугастими. Які імовірні генотипи батьків?

Задача № 60. У рослини *Ecballium elaterium* однодомні (гермафродитні) рослини класифікують як варіант *elaterium*, а дводомні (чоловічі і жіночі) – як варіант *dioicum*. Гермафродитизм визначається геном a^+ , чоловічі рослини - геном a^D , жіночі – геном a^d , причому домінування відбувається по схемі: $a^D > a^+ > a^d$. Які будуть результати схрещувань:

- a) *dioicum* (ж) X *dioicum* (ч)
- b) *elaterium* X *elaterium*
- c) *elaterium* X *dioicum* (ч)
- d) *dioicum* (ж) X *elaterium*?

Задача № 61. Миші, гомозиготні по мутантному алелю альбінізма c^e - білі, але з нормальними темними очима. В особин, гомозиготних по алелю p іншого гена, очі рожеві. Проводилось аналізуюче схрещування між мишами з генотипом $c^e + / + p$ та мишами, гомозиготними по обох мутаціях, результати :

Білі, очі темні	240
Білі, очі рожеві	31
Темні, очі темні	31
Темні, очі рожеві	264

Яка частота рекомбінації ? Яка відстань між цими генами на хромосомі ?

Задача № 62. Схрестили двох чебурашок. Обидва були з великими вухами, забарвлення коричневого, агуті. В першому поколінні одержали :

п/п	Фенотипи	Кількість нащадків
-----	----------	--------------------

1	З великими вухами, агуті, коричневі	6
2	З великими вухами, альбіноси	6
3	З великими вухами, рівномірно забарвлені, коричневі	3
4	З малими вухами, агуті, коричневі	2
5	З малими вухами, альбіноси	1
6	З малими вухами, рівномірно забарвлені, коричневі	1
7	Без вух, зелені, з великими зубами, довгим хвостом, стерильні	1

Поясніть отримані результати. Які генотипи в батьків і в першому поколінні у всіх особин? Перевірте правильність вашої гіпотези методом “хі-квадрат”.

Задача № 63. Схрестили двох чебурашок: самця альбіноса з чорною самкою. В першому поколінні одержали: 6 сірих самців і 5 сірих в білу крапочку самок.. У другому поколінні отримали чебурашок:

- 3 – чорних,
- 3 – чорних в білу крапочку,
- 6 – сірих,
- 7 – сірих в білу крапочку,
- 5 – білих.

Стать не визначали. Поясніть отримані результати. Перевірте правильність вашої гіпотези методом “хі-квадрат”.

Задача № 64. Проводили схрещування рослин томату, гетерозиготних по рецесивних мутаціях, що викликають карликовість (dwarf) та опушеність плодів (pubescent). Нормальні алелі цих генів викликають високий ріст рослин і гладкість плодів. Результати першого схрещування:

- Високі, гладкі 325
- Високі, опушені 8
- Карликові, гладкі 9
- Карликові, опушені 118

Аналогічне схрещування інших рослин томату, гетерозиготних по тим же алелям, дало наступні результати:

- Високі, гладкі 207
- Високі, опушені 102

Карликові, гладкі 105

Карликові, опушені 14

Чому два схрещування дали різні результати? Визначте частоту рекомбінації і генетичну відстань між цими двома генами.

Задача № 65. Самки дрозофіли, що належать до лінії з вкороченими крилами (*dumpy*), схрещувались з самцями, в яких відсутні щетинки (*spineless*) Покоління F1 всі мухи мали нормальний фенотип. В поколінні F2 з 1000 мух 49 мали короткі крила і були позбавлені щетинок. В другому експерименті короткокрилих самок схрещували з самцями лінії *brown* (коричневі очі). В поколінні F1 всі мухи володіли нормальним фенотипом, а в поколінні F2 з 3000 мух не було ні одої з короткими крилами і коричневими очима. Поясніть характер зчепленості цих трьох генів.

Задача № 66. Ген *echinus* (*ec*) зумовлює у дрозофіл збільшення очних фасеток, а ген *cut* (*ct*) - аномалію в морфології крила (обрізаний край). Самки гомозиготні по *ec*, схрещувались з самцями, гомозиготними по *ct*. В поколінні F1 всі самки були дикого типу, а самці - типу *echinus*. Розподіл фенотипів в поколінні F2 представлений в таблиці.

Фенотип	Число мух
Самки з аномалією очей	490
Самки дикого типу	510
Самці з аномалією очей	420
Самці з аномалією крил	434
Самці з аномалією очей і крил	70
Самці дикого типу	76

а) Чи зчеплені гени *echinus* і *cut*?

б) Чи локалізовані ці гени в аутосомі?

в) Яка частота рекомбінації між ними?

г) Напишіть формулу генотипу для кожного класу особин, що спостерігається в потомстві.

Задача № 67. Коричневий колір очей у дрозофіл викликають багато мутацій. До цих мутацій належать мутації *clot* (*cl*) і *safranin* (*sf*). Провели схрещування самок дикого типу

гетерозиготних по цих двох мутаціях з самцями з коричневими очима гомозиготними по цих мутаціях:

Отримали результати:

Фенотип нащадків	Число мух
Коричневі очі	73
Очі дикого типу	27

Чи зчеплені ці дві мутації?

Задача № 68. Проводили визначення зчепленості мутацій *clot* і *safranin* з мутацією *crinkled* (*ck*), що обумовлює розвиток гофрованих крил. Провели два схрещування і отримали результати:

1) Схрестили самку дикого типу з самцем гомозиготним по мутаціях *clot* і *crinkled*. Отримали:

F1 : Коричневі очі	300
Гофровані крила	340
Коричневі очі і гофровані крила	182
Дикий тип	183

2) Схрестили самку дикого типу з самцем гомозиготним по мутаціях *safranin* і *crinkled*. Отримали:

F1: Коричневі очі	400
Гофровані крила	430
Коричневі очі і гофровані крила	93
Дикий тип	92

Визначіть, чи зчеплені якийсь із цих генів. При позитивній відповіді запропонуйте взаємне розташування генів і відстань на генетичній карті.

Задача № 69. У кроликів домінантний ген *B* відповідальний за чорний пігмент хутра, а рецесивний ген *b* – за коричневий пігмент. Два алеля локуса альбінізму *chinchilla* (*c^{ch}*) і *himalayan* (*c^h*) впливають на розподіл пігменту в хутрі. Кроликів чистої лінії чорних шиншил схрестили з чистою лінією коричневих гімалайських. Отримали результати: в F1 всі кролики були чорними шиншилами. Потім кроликів з F1 схрестили з коричневими гімалайськими. Отримали результати:

Чорні шиншили	244
Коричневі шиншили	134
Чорні гімалайські	109
Коричневі гімалайські	233

Яке зчеплення між генами ? Яка відстань між локусом пігменту і локусом альбінізму якщо ці гени зчеплені ?

Задача № 70. Домінантна мутація *Antennapedia* (*Antp*) в третій хромосомі дрозофіли перетворює вусики в кінцівки, домінантна мутація *Stubble* (*Sb*) викликає вкорочення щетинок, рецесивна мутація *rosy* (*ry*) обумовлює червоно-коричневий колір очей. Проводили схрещування самки з додатковими кінцівками, короткими щетинками з самцем з червоно-коричневими очима.

Отримали результати:

№ п/п	Фенотип нащадків	Кількість нащадків
1	Додаткові кінцівки	1140
2	Короткі щетинки, Червоно-коричневі очі	1078
3	Дикий тип	58
4	Додаткові кінцівки, Короткі щетинки	70
5	Червоно-коричневі очі	110
6	Короткі щетинки	2
7	Додаткові кінцівки, Короткі щетинки, Червоно-коричневі очі	43

Визначте послідовність розташування мутантних генів, частоту рекомбінації і відстань між цими генами на генетичній карті. Розрахуйте коефіцієнт коінциденції і інтерференцію.

Задача № 71. Домінантна мутація *Luga* (*Ly*) в третій хромосомі дрозофіли приводить до виникнення вузьких, ліроподібних крил (ця мутація знаходиться по іншу сторону від центромери відносно мутації *Antp*). Проводили схрещування самок з додатковими кінцівками, ліроподібними крилами і

короткими щетинками з самцями дикого типу. Отримали результати:

№ п/п	Фенотип нащадків	Число мух
1	Додаткові кінцівки	851
2	Ліроподібні крила, короткі щетинки	823
3	Додаткові кінцівки, короткі щетинки	73
4	короткі щетинки	42
5	Ліроподібні крила	77
6	Ліроподібні крила, додаткові кінцівки	18
7	Додаткові кінцівки, ліроподібні крила, короткі щетинки	6
8	Дикий тип	6

Визначить послідовність цих генів на хромосомній карті, частоти рекомбінацій і відстань між генами на хромосомній карті. Розрахуйте коефіцієнт коіциденції і значення інтерференції. Порівняйте значення інтерференції, що спостерігалось в минулій задачі при цьому зхрещуванні. Як ви поясните ці спостереження?

Задача № 72. Один розсіяний студент визначав положення на карті третьої хромосоми трьох мутацій, а саме *gouy* (червоно-коричневі очі), *groucho* (щетинки над очима зібрані в пучки) та *ebony* (чорне тіло). Нажаль. Він забув записати генотипи батьківських мух. Тому він взяв самок з F1, які всі були дикого типу і поставив аналізуюче схрещування з самцями, гомозиготними по всім трьом мутаціям. Отримав результати:

№ п/п	Фенотип нащадків	Число мух
1	Дикий тип	51
2	Пучки щетинок	144
3	Чорні	54
4	Червоно-коричневі очі	10
5	Червоно-коричневі очі, чорні	130

6	Пучки щетинок, червоно-коричневі очі	43
7	Пучки щетинок, чорні	7
8	Чорні, пучки щетинок, червоно-коричневі очі	61

Який генотип самок дикого типу з покоління F1? Визначте послідовність генів на хромосомній карті і відстань між генами, коефіцієнт коінциденції і значення інтерференції.

Задача № 73. Послідовність передачі генів у різних Hfr штамів *E. coli* різна. Дослідили кілька штамів, у яких наявні гени А, В, С, D, Е. Послідовність передачі генів при кон'югації виявилась слідуєчою:

1 штам	А С Е
2 штам	D В Е
3 штам	Е В D
4 штам	С А D

Побудуйте фізичну карту бактеріального генома.

Задача № 74. Для визначення взаємного розташування декількох ауксотрофних мутацій *E. coli* проводили дослід по перерваній кон'югації між прототрофним штамом **Hfr Str^S** та штамом **F⁻, А⁻, В⁻, D⁻, Str^R**. В якості селективного маркеру використовували стійкість до стрептоміцину та прототрофність по D. Отримали результати:

Генотип колоній	Доля колоній
D⁺ Str^R	D⁺ Str^R (%)
A⁺ B⁺	22
A⁻ B⁺	10
A⁻ B⁻	68
A⁺ B⁻	0

Визначте розташування генів А та В відносно D, вважаючи, що **D⁺** передається при зхрещуванні останнім.

Задача № 75. Зхрещували F⁻ штам з Hfr штамми. Отримали для різних штамів порядок переносу генів:

Н	О – thr – leu – ari – ton – pro – lac – ade
4	О – thi – met – ile – mtl – xyl – mal – str
5	О – ile – met – thi – thr – leu – azi – ton

AB311 O – his – trp – gal – ade – lac – pro – ton

AB313 O – mtl – xyl – mal – str – his

На основі цих даних складіть фізичну карту бактеріальної хромосоми.

Задача № 76. Запропонуйте два способи визначення того, чи належить відібрана після схрещування Hfr та F⁻ штамів рекомбінантна колонія типу F⁺ чи F⁻ типу.

Задача № 77. Бактеріальні клітини одночасно заражували різними мутантними фагами. В одних випадках виникали нащадки фагів у вигляді негативних колоній (+) при непермісивних умовах, в інших випадках не виникали. Результати тесту слідуючі:

	Ts1	Ts2	Ts3	Ts4	Ts5	Ts6
Ts1	-	-	+	+	+	+
Ts2	-	-	+	+	+	+
Ts3	+	+	-	+	-	+
Ts4	+	+	+	-	+	+
Ts5	+	+	-	+	-	+
Ts6	+	+	+	+	+	-

Розподіліть мутації по групах комплементатії.

Задача № 78. У подружжя, зір кожного з яких нормальний, четверо дітей – 2 дочки і 2 сини. Перша дочка має нормальний зір. Вона має 3 сини, два з них дальтоніки. Друга дочка має нормальний зір, має 5 синів – зір у всіх нормальний. Перший син – дальтонік. Має 2 дочки і 2 синів (у всіх нормальний зір). Другий син має нормальний зір, має 4 сини – всі з нормальним зором. Які генотипи дідуся, бабусі, всіх дітей, їх подружніх пар і онуків? Складіть родовід.

Задача № 79. Якщо жінка, батько якої страждав на гемофілію, вийшла заміж за здорового чоловіка, то яка імовірність того, що у її дитини буде гемофілія? Припустимо тепер, що батько чоловіка також був хворий на гемофілію; яка імовірність в цьому випадку? Складіть родовід.

Задача № 80. В одній сім'ї зафіксоване спадкове захворювання, при якому у віці між 10-а та 20-а роками починається атрофія дистальних відділів м'язів ніг. Вивчення родоводу показало: Мати хворої дитини (хлопчика) страждала на це ж захворювання. Батько хворої дитини був здоровий, любив носити жовту краватку, курити гаванські сигари. Він мав позашлюбний зв'язок від якого мав двох дітей – хлопчика і дівчинку які були здорові. Бабуся хворої дитини (мати матері) була здорова, але була у молодості феміністкою і мала від першого шлюбу ще двох дітей – хлопчика і дівчинку, які були здоровими. Дідусь (батько матері) був джентельменом і був хворим на це ж захворювання. Від першого шлюбу він мав одного хворого сина, що помер у дитинстві у віці 12 років. Крім того від цього шлюбу була була 1 мертвнонароджена дитина і один медичний аборт. Прадідусь (батько дідуся) був дрібним комерсантом (торгував гудзиками, потім мав невелику тютюнову крамницю) був хворим і був одружений на двоюрідній сестрі. Його батько служив у армії Наполеона Бонапарта, був нагороджений орденом Почесного Легіона, з боями дійшов до Варшави, відзначився в битві під Лейпцігом. Його батько був піратом у карибському морі на шхуні “Веселий Роджер”, за жорстокість був висаджений на безлюдний острів. Де прожив 10 років і навчив папугу розмовляти французькою мовою. Скласти родовід папуги. Скласти родовід сім'ї. Які генотипи всіх родичів? Який механізм успадкування цього захворювання?

Задача № 81. В одній сім'ї зафіксована важка форма міодистрофії. У хворої дитини – хлопчика – обидва батьки здорові. Здорові були і брат і сестра хворої дитини. Здорові були і двоюрідні брат і сестра хворої дитини (діти сестри батька). Бабусі хворої дитини були рідними сестрами і були здоровими. Прадід (дід матері) крім 2-ох здорових дочок мав ще одного хворого сина і одну хвору дочку від цього ж шлюбу. Прабабуся (бабуся матері) мала ще одну дитину (♂) від позашлюбного зв'язку, яка була здоровою. Прадід від першого шлюбу мав ще 2-ох дітей (сина і дочку, які були здорові). Двоє його онуків від першого шлюбу, що були двоюрідними братом і сестрою

одружилися і мали двох здорових дітей – сина і дочку. Який механізм успадкування цієї хвороби? Складіть родовід. Які генотипи всіх родичів?

Задача № 82. Двох мух *Drosophila melanogaster* – самця і самку з формою крила *Dichaete* схрестили. Отримали у першому поколінні – 59 мух з формою крила *Dichaete* і 31 муху з нормальними крилами. При схрещуванні мухи *Dichaete* з нормальним мухом отримали 43 мухи з формою крила *Dichaete* і 47 мух з нормальними крилами. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом “хі-квадрат”.

Задача № 83. Самку дрозофіли з білими очима схрестили з самцем дрозофіли з білими очима. З 100 000 самців серед нащадків таких схрещувань лише 2 були з очима дикого типу. Яка відстань між локусами w^a і w^{bf} гена *white* на генетичній карті?

Задача № 84. Альбінізм у людини обумовлений гомозиготністю по аутосомному рецесивному гену. В Англії описаний випадок, коли у подружжя-альбіносів народилось троє дітей з нормальною пігментацією. Як це можна пояснити?

Задача № 85. У людей відомо три генотипи по локусу PGM1 і два алелі цього локусу – A і a. Обстежили 1110 чоловік і виявили, що число особин з різними генотипами становить:

AA – 634, Aa – 391, aa – 85

Визначте частоти генотипів і частоти алелей.

Задача № 86. Схрестили безрогого козла з рогатою козою. У першому поколінні отримали всіх козликів рогатих, а всіх кізочок безрогих. У другому поколінні отримали самців – 7 рогатих і 2 безрогих, самок – 3 – рогатих і 8 безрогих. Взяли безрогого козу з другого покоління і схрестили з рогатим козлом з другого покоління. Отримали в третьому поколінні самців – 4 рогатих і 3 безрогих, самок – 6 – безрогих. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 87. Схрестили самку дрозофіли з кривавими очима з самцем з абрикосовими очима. Отримали у першому поколінні 35 самок з кривавими очима, 33 самки з вишневыми очима, 30 самців з кривавими очима і 35 самців з вишневыми

очима. Взяли з першого покоління самку з кривавими очима і схрестили з самцем з першого покоління з вишневими очима. Отримали у другому поколінні 52 самки з кривавими очима, 50 – самок з вишневими очима, 54 самці з кривавими очима, 56 самців з абрикосовими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 88. Схрестили рудого півня з білою куркою. У першому поколінні одержали: півників – 25 рудих і 24 білих, курочок – 12 – рудих і 11 білих. Взяли білого півня з першого покоління і схрестили з рудою куркою з першого покоління. Одержали у другому поколінні : півників – 20 рудих і 21 білого, курочок – 10 рудих і 9 білих. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 89. Пробанда цікавить, чи він не полісіє. Пробанд має трьох сибсів: двох лисих братів і патлату сестру. Мама пробанда була лиса, тато патлатий. Тато мав двох братів – лисого і патлатого і патлату сестру. Дід (тато батька) був лисий, бабуся (мама батька) – патлата. Всі прадідусі і прабабусі – патлаті. Мама пробанда мала патлату сестру, одного лисого брата, одного патлатого брата. Дід (батько матері) був лисий, мама – патлата. По материнській лінії теж всі прадідусі і прабабусі були патлаті. Складіть родовід. Які генотипи всіх родичів? Складіть прогноз для пробанда.

Задача № 90. У Нігерії у племені догон одружився чоловік з брахідактилією (з вкороченими фалангами окремих пальців) на жінці, що теж мала брахідактилію. У них народилося 3 здорових дітей, 4 дітей з брахідактилією і ще 2 дітей померли у віці 1 місяць (будова фаланг пальців у них не дослідили). Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 91. Схрестили самку дрозофіли з медовими очима з самцем дрозофіли з очима кольору слонової кістки. Отримали в першому поколінні 41 самця з медовими очима, 45 самців з пурпурними очима, 44 самки з медовими очима, 40 самок з пурпурними очима. Взяли з першого покоління самку з пурпурними очима і самця з медовими очима і схрестили.

Отримали в другому поколінні 102 самці з пурпурними очима, 105 самців з очима кольору слонної кістки, 220 самок з медовими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 92. Серед 1100 жителів Токіо, досліджених на групи крові M, MN, N мали ці групи крові відповідно: 356, 519, 225 чоловік. Розрахуйте частоти алелей і теоритично очікувані у відповідності з законом Харді-Вайнберга частоти генотипів. Використовуючи критерій χ^2 , визначте чи достовірно відрізняються теоритично очікувані і спостережені частоти?

Задача № 93. Гаптоглобіни двох типів, присутні у сироватці крові людини, визначаються алелями одного локусу. Серед обстежених 219 жителів Єгипту число людей з різними генотипами було слідующим: $h_1/h_1 - 9$, $h_1/h_3 - 135$, $h_3/h_3 - 75$. Які частоти зустрічі цих двох алелей?

Задача № 94. Рослини, гомозиготні по домінантному алелю (AA) опромінили рентгенівськими променями дозою 5 Гр, а потім схрестили з рослинами гомозиготними по рецесивному алелю (aa). Три з 400 рослин у першому поколінні мали рецесивний фенотип. Поясніть отримані результати.

Задача № 95. Муковісцидоз – аутомно-рецесивне захворювання. Частота появи новонароджених з муковісцидозом – 4 на 10 000. Виходячи із закону Харді-Вайнберга, розрахуйте частоти всіх трьох генотипів у новонароджених.

Задача № 96. У *Escherichia coli* частота мутацій, що обумовлюють перетворення штаму з непотребуючого гістидин у ростучий тільки в присутності гістидину і частота зворотніх мутацій оцінюється величинами:

$$\text{his}^+ \rightarrow \text{his}^- \quad (2 \times 10^{-6})$$

$$\text{his}^- \rightarrow \text{his}^+ \quad (4 \times 10^{-8})$$

Припустимо, що ніяких інших процесів в популяції не відбувається. Розрахуйте рівноважні частоти обох алелей.

Задача № 97. У одній лінії дрозофіл виявлена домінантна летальна у гомозиготі мутація M, що викликає розвиток тонких щетинок, приповільнення розвитку. Коли мух – носіїв цієї мутації – схрещували з мухами, що гомозиготні по мутації rose,

що обумовлює рожевий колір очей, то рожеві очі успадковувались половиною нащадків. Аналогічно, коли мух – носіїв мутації – схрещували з мухами, гомозиготними по рецесивній мутації *tilt*, то характерний для цієї мутації фенотип теж проявлявся у половини нащадків. Відстань між генами *rose* і *tilt* складає 5,2 сМ. Яка найбільш вірогідна природа нової мутації?

Задача № 98. У третій хромосомі дрозофіли локалізовані рецесивні мутації *bithoraxoid* (*bxd*), що викликає подвоєння грудей, і *ebony* (*e*), що обумовлює чорний колір тіла. Домінантна мутація *Contrabithorax* (*Cbx*) дуже тісно зчеплена з *bxd*, так, що в мейозі вони розходяться майже завжди разом. Лінію дрозофіл *bxd e* / *bxd e* опромінили проміннями Рентгена. У цій лінії виник зчеплений домінантний супресор *Su* (*bxd*), що подавляє прояв гену *bxd* і не має ніяких інших фенотипічних проявів. Самців *ebony*, що були гомозиготні також по *bxd* і *Su* (*bxd*), схрещували з самками, що гомозиготні по *Cbx*. Самок з першого покоління від цього схрещування включили в аналізуюче схрещування з самцями типу *bxd e* / *bxd e*. Нашадки *Cbx*⁺, які також повинні бути гомозиготними по гену *bxd* були наступні:

Бітораксоїдні, чорні - 156

Бітораксоїдні - 72

Чорні - 256

Дикий тип - 9

Визначте послідовність розташування генів, частоти рекомбінацій і генетичні відстані. Чому враховувались тільки чотири фенотипічних класи, а не всі вісім?

Задача № 99. *Drosophila melanogaster* і *Drosophila simulans* – близькі види, що здатні схрещуватись і давати нащадків, хоча стерильних. У обох видів відомі мутації, що мають однаковий фенотипічний прояв. Той же фенотип проявляється серед гібридних нащадків при схрещуванні ідентичних мутантів різних видів. З чотирьох мутантних генів, що відомі для обох видів, два рецесивні – *scarlet* (*st*) і *peach* (*p*) і два домінантні – *Hairless* (*H*) і *Delta* (*DI*). Останні два гени являють собою рецесивні леталі для обох видів. Провели схрещування і отримали результати:

P: ♀+ H Dl + / st ++ p X ♂st ++ p / st ++ p
 F₁

N	Фенотип нащадків	Число мух melanogaster	Число мух simulans
1	H Dl	400	320
2	st p	432	330
3	p	18	69
4	st H Dl	17	75
5	st	0	181
6	H Dl p	1	181
7	H p	2	7
8	st Dl	2	11
9	Dl	10	3
10	st H p	14	0
11	Dl p	0	0
12	st H	0	1
13	Дикий тип	85	41
14	st H Dl p	91	29
15	H	0	3
16	st Dl p	1	1
Всього		1070	1252

Побудуйте карти гомологічних хромосом обох видів. Що означають отримані результати?

Задача № 100. У гаплоїдній плісняви *Neurospora crassa* відомі два типи схрещуваності – А і а. Утворення аску відбувається тільки при злитті ядер різних типів. У мейозі типи схрещуваності ведуть себе подібно до алелів одного гену і розходяться у різні аскоспори. Провели схрещування і отримали результати:

Положення спори у аску								Число асків
1	2	3	4	5	6	7	8	
А	А	А	А	а	а	а	а	105
а	а	а	а	А	А	А	А	129

A	A	a	a	A	A	a	a	9
a	a	A	A	a	a	A	A	5
A	A	a	a	a	a	A	A	11
a	a	A	A	A	A	a	a	14

Визначте відстань на генетичній карті від центромери до локуса, що визначає тип схрещуваності.

Задача № 101. Схрестили сіру самку дрозофіли з жовтим самцем. Отримали в першому поколінні: самок – 204 жовтих і 210 сірих, самців: 194 жовтих і 1 сірого. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 102. Проводили схрещування акваріумних риб лебістусів. Схрестили самку темнозбарвлену з прозорим спинним плавцем з самцем світлозбарвленим з плямою на спинному плавці. Отримали в першому поколінні:

Самок

Темних з прозорим спинним плавцем – 34

Світлих з прозорим спинним плавцем – 36

Самців

Темних з плямою на спинному плавці – 35

Світлих з плямою на спинному плавці – 37

Взяли з першого покоління самця темного з плямою на спинному плавці і схрестили з самкою світлою з прозорим спинним плавцем. Отримали в другому поколінні:

Самок

Темних з прозорим спинним плавцем – 42

Світлих з прозорим спинним плавцем – 45

Самців

Темних з плямою на спинному плавці – 48

Світлих з плямою на спинному плавці – 44

Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 103. Схрестили двох жовтих мишей з темними очима. Отримали в першому поколінні 30 мишенят жовтих з темними очима, 11 жовтих з червоними очима, 16 чорних з темними очима, 5 чорних з червоними очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 104. Схрестили півника з довгими ногами і простим гребенем з куркою з короткими ногами і гороховидним гребенем. Отримали в першому поколінні: курочок – 11 короткими ногами і гороховидним гребенем, 12 з довгими ногами і гороховидним гребенем, півників - 10 короткими ногами і гороховидним гребенем, 13 з довгими ногами і гороховидним гребенем. Взяли з першого покоління курочку з короткими ногами і гороховидним гребенем і схрестили з півником з короткими ногами і гороховидним гребенем. Отримали в другому поколінні: курочок – 31 з короткими ногами і гороховидним гребенем, 9 - з короткими ногами і простим гребенем, 16 з довгими ногами і гороховидним гребенем, 5 з довгими ногами і простим гребенем; півників - 32 з короткими ногами і гороховидним гребенем, 10 - з короткими ногами і простим гребенем, 17 з довгими ногами і гороховидним гребенем, 6 з довгими ногами і простим гребенем. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом χ^2 .

Задача № 105. Схрестили самку дрозофіли з довгими крилами, з білими очима, жовту з самцем з зачатковими крилами, з червоними очима, сірим. Отримали в першому поколінні всіх самок: з довгими крилами, з червоними очима, сірих, всіх самців: з довгими крилами, з білими очима, жовтих. У другому поколінні обержали:

Самок:

З довгими крилами, червоними очима, сірих – 302

З довгими крилами, білими очима, жовтих – 304

З короткими крилами, червоними очима, сірих – 105

З короткими крилами, білими очима, жовтих – 110

З короткими крилами, білими очима, сірих – 1

Самців:

З довгими крилами, червоними очима, сірих – 306

З довгими крилами, білими очима, жовтих – 308

З короткими крилами, червоними очима, сірих – 100

З короткими крилами, білими очима, жовтих – 104

З короткими крилами, білими очима, сірих – 2

Поясніть отримані результати.

Задача № 106. Відомо, що пептид складається з 6 амінокислот: Gly, His, Ala, Lys, Met, Trp. Але порядок їх розташування у пептидному ланцюгу невідомий. При хімічному розщепленні пептиду експериментатору вдалось ідентифікувати три слідуючих триплетних продукти деградації:

- 1) Met- His- Trp
- 2) Lys- Ala- Gly
- 3) Gly- Met- His

1. Яка амінокислотна послідовність цього пептиду?

Задача № 107. Розрахуйте число різних білків (різних по амінокислотній послідовності), яке може бути закодоване трьома генами, що містять 30, 300, 3000 пар нуклеотидів.

Задача № 108. Відомо, що кров хворих, що страждають на гемофілію зчеплену з X хромосою в пробірці згортається значно повільніше, ніж кров здорових людей. При обстеженні одного хворого N. Виявилось, що його кров погано згортається в пробірці. Це навело на думку, що він хворий на гемофілію. Але при змішуванні крові цього хворого з кров'ю іншого гемофіліка спостерігалось швидке утворення згустку так само як у здорової людини. Запропонуйте інтерпретацію цього феномену.

Задача № 109. Проводили вивчення трьох незалежно отриманих ауксотрофних мутантів Neurospora з тим, щоб визначити які проміжні метаболіти можуть поповнити потреби кожного з цих штамів у метіоніні. У наведеній нижче таблиці знаком «+» відмічена здатність кожного штаму рости на мінімальному середовищі з додаванням даної речовини, а знаком «-» відсутність росту в цих умовах.

Мутант	Метіонін	Гомосерин	Гомоцистеїн	Цистатіонін
1	+	-	+	-
2	+	-	-	-
2	+	-	+	+

Розставте ці речовини в тому порядку, в якому вони повинні розташовуватись на шляху біосинтезу метіоніну.

Задача № 110. Зустрічаються соматичні клітини, число хромосом в яких відрізняється від числа хромосом у більшості інших соматичних клітин. У людини, наприклад, деякі клітини мають 92 хромосоми. Як виникають такі клітини?

Задача № 111. У дрозофіли існує багато рецесивних мутацій, що обумовлюють стерильність самок, зокрема це мутації *dunce* та *diminutive*. Вони зчеплені зі статтю і на карті розташовані дуже близько одна від одної. Продумайте постановку досліда, що дозволив би визначити, чи алельні ці мутації.

Задача № 112. На одній фермі було 100 биків і 400 корів, яких використовували для отримання потомства. На сусідній фермі було 500 корів, і всі вони штучно запліднюються спермою одного бика. Яка ефективна чисельність популяцій?

Задача № 113. В одній популяції частота дальтонізму складає серед чоловіків 0,08. Цей дефект обумовлений зчепленим зі статтю рецесивним алелем. Які очікувані частоти трьох генотипів серед жінок?

Задача № 114. Найбільш поширену форму гемофілії викликає зчеплений зі статтю алель, частота якого в популяції складає 0,0001. Які теоритично очікувані частоти двох можливих генотипів у чоловіків і трьох у жінок?

Задача № 115. Хвороба Тея-Сакса обумовлена аутосомним рецесивним алелем. Характерні симптоми цієї хвороби – розумова відсталість і сліпота; смерть настає у віці чотирьох років. Частота захворювання серед новонароджених складає 10 на 1 млн. Виходячи з закону Гарді-Вайнберга, розрахуйте частоти алелів і генотипів, у тому числі гетерозигот.

Задача № 116. Акаталазія – захворювання, що викликається рецесивним геном; вперше виявлено в Японії. У гетерозигот по цьому гену спостерігається знижений вміст каталази у крові. Частота гетерозигот складає 0,009% серед населення Хіросімі і 1,4 % серед іншого населення Японії. Виходячи з рівноваги Гарді-Вайберга, розрахуйте частоту алеля в Хіросімі і в іншій частині Японії.

Задача № 117. У кукурудзи 10 пар хромосом, і можна отримати всі 10 можливих типів трисоміків. Нехай всі 10 типів трисоміків гомозиготні по певному домінантному алелю А, а нормальна диплоїдна лінія гомозиготна по рецесивному алелю а. Яким чином довідатись, в якій хромосомі локалізований ген А?

Задача № 118. Одна тетраплоїдна рослина утворює в мейозі виключно виключно біваленти, причому всі чотири гомологічні хромосоми беруть участь у кон'югації з однаковою імовірністю. Яке буде розщеплення в поколінні F_2 від схрещувань АААА Х аааа?

Задача № 119. Схрестили мишу альбіноса з самцем миші забарвлення коричневе агуті. В першому поколінні всі мишенята були чорні агуті. В другому поколінні отримали 271 мишенятко чорних агуті, 92 коричневих агуті, 90 чорних рівномірно забарвлених, 30 кричневих рівномірно забірвлених, 164 білих. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом Пірсона.

Задача № 120. Схрестили мишу забарвлення альбінос з самцем миші забарвлення агуті. Отримали кілька приплодів загальною чисельністю 39 мишенят. З них 19 було забарвлення альбінос, 10 забарвлення агуті і 11 забарвлення чорне. Поясніть отримані результати. Які генотипи батьківського покоління і нащадків? Доведіть правильність вашої гіпотези методом “хі-квадрат”.

Задача № 121. Схрестили двох чорних дрозофіл. В першому поколінні всі дрозофіли були сірі. В другому поколінні отримали: 911 сірих дрозофіл і 705 чорних. Поясніть отримані результати. Які генотипи батьківського покоління і нащадків? Доведіть правильність вашої гіпотези методом “хі-квадрат”.

Задача № 122. Яке буде розщеплення від схрещування двох дрозофіл – з чистих ліній, одна з яких гомозиготна по мутації black (b), інша – гомозиготна по мутації ebony (e) в першому і другому поколіннях? Гени black та ebony розташовані в різних аутосомах і обумовлюють чорне забарвлення тіла дрозофіли. Схрещування і розведення дрозофіл проводили при

температурі 28°C. А яке буде розщеплення якщо проводити схрещування і розведення дрозофіл при 18°C?

Задача № 123. Припустимо, що клітини якогось організму містять по три пари хромосом і кожна хромосома відрізняється від гомологічної однією морфологічною ознакою (наприклад, наявністю чи відсутністю перетяжки біля одного з кінців хромосоми). Скільки різних типів гамет по цій ознаці може бути в такого організму?

Задача № 124. Нормальне число хромосом в клітинах людини 46. Скільки хромосом містять: а) сперматозоїди; б) яйцеклітини; в) полярні тільця?

Задача № 125. Нерідко зустрічаються соматичні кліти, число хромосом в яких відрізняється від числа хромосом в більшості інших соматичних клітин. У людини, наприклад, деякі клітини печінки містять по 92 хромосоми. Як виникають такі клітини?

Задача № 126. Суспензію бактерій послідовно розводять 1/100, 1/100, 1/50, по 2 мл суспензії з останнього розведення висівають на поверхню трьох чашок Петрі з агаризованим середовищем. Після інкубації на цих чашках Петрі з'явилося 105, 84, 98 бактеріальних колоній. Яка була концентрація бактерій у вихідній культурі?

Ту ж вихідну культуру розведену послідовно 1/100, 1/100, 1/10, наносять по 0,2 мл на поверхню трьох чашок Петрі, що засіяні фагом T2. На чашках виросло 40, 25 і 30 колоній. Яка частота виникнення стійкості до фага T2 бактерій у вихідній культурі?

Задача № 127. Деякі ДНК-фаги, наприклад фX174, містять одну кільцеву молекулу ДНК. Який механізм реплікації їх геному? Виділена з фагу ДНК здатна інфікувати сферопласти *E. coli*; але розрив навіть однієї фосфодієфірного зв'язку в ДНК дезоксирибонуклеазою позбавляє молекулу ДНК інфекційності. Молекули ДНК того ж фагу, виділені з інфікованих клітин, набагато стійкіші до дезоксирибонуклеази. Чому?

Задача № 128. В районі дослідної станції південного полюсу впав метеорит типу вуглецевих хондритів. З його

поверхні вдалось виділити вірус Z1 та його господаря. Продумайте схему досліду, який дозволить визначити, що є спадковою речовиною вірусу Z1, білок чи ДНК.

Задача № 129. Проводили аналізуюче схрещування рослин томату, що гетерозиготні по рецесивним мутаціям, які викликають карликовість (dwarf) і опушеність плодів (pubescens). Нормальні алелі цих генів обумовлюють високий ріст рослин і гладкі плоди. Результаті першого схрещування:

№ п/п	Фенотип	Число рослин
1	Високі, гладкі	161
2	Високі, опушені	5
3	Карликові, гладкі	5
4	Карликові, опушені	118

Аналогічне аналізуючи схрещування іншої рослини томату, що гетерозиготна по тим же алелям, дало наступні результати:

№ п/п	Фенотип	Число рослин
1	Високі, гладкі	7
2	Високі, опушені	138
3	Карликові, гладкі	165
4	Карликові, опушені	4

Чому ці два схрещування дали різні результати? Визначте частоту рекомбінації і генетичну відстань між генами.

Задача № 130. У дрозофіли існують багато рецесивних мутацій, що обумовлюють стерильність самок, зокрема це мутації dunce і diminutive. Вони зчеплені зі статтю і на карті розташовані дуже близько одна від одної. Продумайте схему досліду, що дозволить визначити, чи алельні ці мутації.

Задача № 131. Збалансовані летальні лінії зіграли велику роль в розвитку генетики дрозофіли. Вони зробили можливим конструювання сбалансованих хромосом, що містять множинні інверсії, що блокують кросинговер, рецесивні леталі і гени стерильності самок, а також домінантні мутації, що свідчать про присутність хромосоми в гетерозиготному стані. Так, наприклад, X-хромосома, що позначається як FM7, - це збалансована хромосома, що містить інверсії, мутацію стерильності самок і домінантну мутацію Bar (B), що впливає на форму очей. Поясніть, чому використання збалансованої хромосоми дозволяє необмежено довго зберігати в X-хромосомі летальні та інші шкідливі мутації?

Задача № 132. Відомо, що пептид складається з 6 амінокислот: Gly, His, Ala, Lys, Met, Trp. Але порядок їх розташування в пептидному ланцюгу невідомий. При хімічному розщепленні пептиду експериментатору вдалось ідентифікувати три наступних триплетних продукти деградації:

Met-His-Trp

Lys-Ala-Gly

Gly-Met-His

Яка амінокислотна послідовність цього пептиду?

Задача № 133. Розрахуйте число різних білків (різних по амінокислотним послідовностям), яке може бути закодоване трьома генами, що містять 30, 300, 3000 пар нуклеотидів.

Задача № 134. Відомо, що кров хворих на гемофілію зчеплену з X-хромосомою в пробірці згортається значно повільніше, ніж у здорових людей. При обстеженні одного хворого N виявилось, що його кров погано згортається в пробірці. Це навело на думку, що він хворий на гемофілію. Але при змішуванні крові цього хворого з кров'ю іншого гемофіліка спостерігалось швидке утворення згустку так само як у здорової людини. Запропонуйте інтерпретацію цього феномену.

Задача № 135. Що було б, якби Ледеберги шукали доказів спонтанного виникнення стійкості бактеріальних клітин до фагів, досліджуючи стійкість не до фагу T1, а до фагу λ ? До яких висновків відносно мутацій фагостійкості вони б прийшли?

Задача № 136. Наступна послідовність основ є частиною структурного гена:

5' TACAAG

3' ATGTTT

Які мутації цього гена може індукувати гідроксиламін? Випішіть послідовність основ двох мутантних генів.

Під дією яких мутагенів можуть ревертувати ці мутантні гени до дикого типу?

Якщо РНК-полімераза в якості матриці використовує верхній ланцюг, то які будуть послідовності амінокислот, що кодуються геном дикого типу і мутантними генами?

Задача № 137. Послідовність 20 останніх амінокислот в α - і β -ланцюгах гемоглобіну людини наступна:

α : His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu-Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg

β : Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val-Ala-Gly-Val-Ala-Asn-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His

Використовуючи генетичний код, визначте мінімальне число нуклеотидних замін, що відбулись в ділянці ДНК, що кодує ці послідовності, з моменту дуплікації, яка привела до утворення α - і β -ланцюгів.

Задача № 138. Схрестили сіру самку дрозофіли з жовтим самцем. В першому поколінні одержали 211 сірих самок, 206 жовтих самок, 212 сірих самців. Взяли жовту самку з першого покоління і схрестили з сірим самцем з першого покоління. Одержали в другому поколінні: 604 сірих самки і 298 жовтих самців. Поясніть отримані результати. Визначте генотип всіх дрозофіл. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 139. Схрестили курку з короткими ногами і гороховидним гребінем з півнем з довгими ногами і простим гребенем. В першому поколінні одержали всіх курчат з гороховидним гребенем, але 10 з них були з довгими ногами, 12 з короткими ногами. Взяли з першого покоління курей з короткими ногами і гороховидним гребенем і схрестили з півнями з короткими ногами і гороховидним гребенем. Отримали

в другому поколінні: 18 курчат з короткими ногами і гороховидним гребенем, 5 курчат з короткими ногами і простим греберем, 10 курчат з довгими ногами і гороховидним гребенем, 3 курчат з довгими ногами і простим гребенем. Поясніть отримані результати. Визначте генотип всіх курей. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 140. В чистій лінії дрозофіл DN 100 половина самок були жовтими, половина сірими. Всі самці були жовтими. Причому жовті самки були стерильними. Взяли сіру самку і схрестили з жовтим самцем. Одержали в першому поколінні 167 жовтих самок, 170 сірих самок, 161 жовтого самця. Поясніть отримані результати. Визначте генотип всіх дрозофіл. Доведіть правильність вашої гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 141. Послідовність нуклеотидів ДНК в одній з ділянок гену становила:
TTTATACGGGCCTCGGTGGGTGAATAATACCCCCTTCGGGT
AGAAGCTTA

Відбулась мікрделеція – тимін з третьої позиції випав. Напишіть послідовність амінокислот поліпептидів вихідного і мутантного кінцевого продукту.

Задача № 142. Схрестили самку дрозофіли з червоними очима з самцем дрозофіли з білими очима. В першому поколінні одержали 256 самок з червоними очима, 262 самки з білими очима, 251 самця з білими очима. Потім цю ж самку схрестили з самцем з червоними очима. Одержали: 578 самок з червоними очима і 285 самців з білими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 143. Схрестили самку дрозофіли сіру з самцем чорним. В першому поколінні одержали: Самок – 304 сірих і 302 чорних. Самців: 152 сіриз і 154 чорних. Потім цю ж самку хрестили з сірим самцем. Одержали: самок – 304 сірих, 102 чорних. Самців: 151 сірих, 49 чорних. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

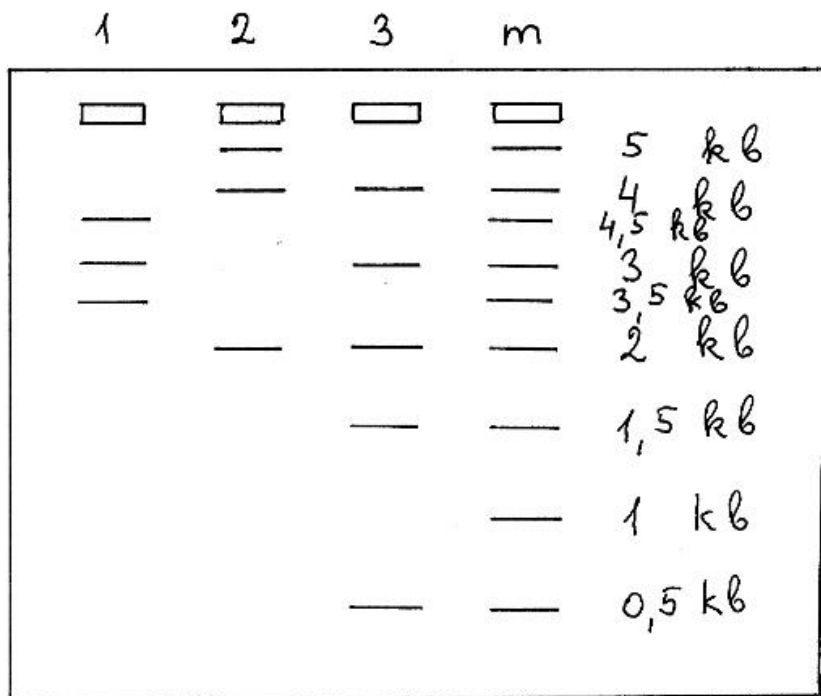
Задача № 144. Схрестили самку дрозопіли сіру з білими очима з самцем сірим з червоними очима. В першому поколінні одержали: самок – 206 сірих з червоними очима, 101 чорну з червоними очима; самців – 205 сірих з білими очима, 99 чорних з білими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 145. Схрестили самку дрозопіли чорну з червоними очима з самцем сірим з червоними очима. Одержали в першому поколінні: самок – 210 сірих з червоними очима, 208 чорних з червоними очима; самців – 102 сірих з білими очима, 101 чорних з червоними очима, 105 чорних з білими очима. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 146. Схрестили курку з розовидним гребенем з півнем з бобовидним гребенем. В першому поколінні одержали всіх курей з горіховидним гребенем. В другому поколінні одержали: курчат з горіховидним гребенем – 19, курчат з розовидним гребенем – 6, курчат з бобовидним гребенем – 7, курчат з листовидним гребенем – 2. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

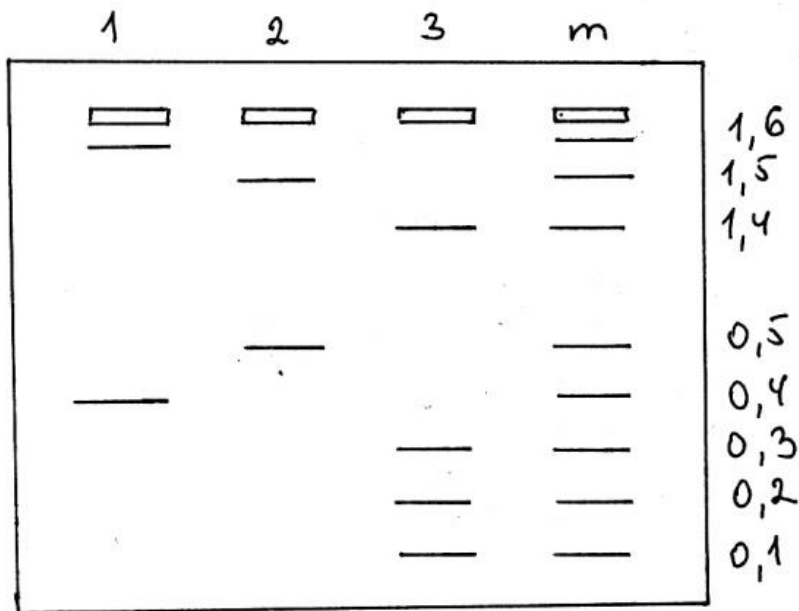
Задача № 147. Схрестили курку чорну з червоним гребенем з півнем білим з білим гребенем. В першому поколінні всі курчата були сірі з рожевим гребенем. В другому поколінні одержали: курчат чорних з червоним гребенем – 2, чорних з рожевим гребенем – 4, сірих з червоним гребенем – 5, сірих з рожевим гребенем – 9, чорних з білим гребенем – 2, сірих з білим гребенем – 4, білих з червоним гребенем – 2, білих з рожевим гребенем – 5, білих з білим гребенем – 2. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача № 148. Здійснили рестрикцію клонованого лінійного фрагмента ДНК рестриктазами Pst I та BamH I розміром 11 kb. Результати рестрикції представлені на електрофореграмі:



В першій лунці наносили зразки рестриковані Pst I. В другій лунці – зразки рестриковані BamH I. В третій лунці – двома ферментами одночасно. В четвертій лунці – маркер з набором фрагментів ДНК відомої довжини (довжини фрагментів вказані поруч). Користуючись результатами експерименту складіть карту сайтів рестрикції досліджуваного фрагменту ДНК.

Задача № 149. Здійснили рестрикцію кільцевого фрагмента ДНК (R-плазміни) рестриктазами Pst I та EcoR I розміром 2 kb. Результати рестрикції представлені на електрофореграмі:



В першій лунці наносили зразки рестриковані EcoR I. В другій лунці – зразки рестриковані Pst I. В третій лунці – двома ферментами одночасно. В четвертій лунці – маркер з набором фрагментів ДНК відомої довжини (довжини фрагментів вказані поруч). Користуючись результатами експерименту складіть карту сайтів рестрикції досліджуваної плазміди.

Задача № 150. Схрестили блакитних і світлих гуппи (лебістусів). В першому поколінні одержали всіх сірих гуппи. В другому поколінні одержали 49 сірих, 16 блакитних, 17 світлих, 5 білих гуппи. Взяли гібридів першого покоління і схрестили з білими особинами з другого покоління. Одержали 20 сірих, 23 блакитних, 21 світлого, 19 білих гуппи. Поясніть отримані результати. Доведіть правильність вашої гіпотези методом Пірсона.

Задача 151. В одній сім'ї виявлено випадок полідактилії – наявності додаткових пальців на руках. У хворої на полідактилію дитини (хлопчика) обидва батьки здорові. Здорові

три рідних сестри хворої дитини. У батька дитини від першого шлюбу було 3 сини – всі здорові. Здорові були батько і мати батька хворої дитини (дідусь і бабуся по батьківській лінії) та сестра і брат батька хворої дитини. Мати матері була здоровою, а батько матері (дід хворої дитини по материнській лінії) теж страждав на полідактилію. Сестра і один брат цього діда були здоровими, а інші двоє його братів теж мали додаткові пальці на руках. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів. Пояснити отримані результати. Визначити характер і генетичний механізм хвороби. Зробити прогноз для сім'ї – яка імовірність у них народження хворої і здорової дитини.

Задача 152. В одній популяції людини частота муковісцидозу (кістосного фіброзу) серед живих новонароджених складає 1:1200. Розрахувати частоту носійства гену муковісцидозу.

Задача 153. В одній з популяцій людини частота гемофілії серед чоловіків складає 1:1000. Розрахувати частоту носійства гену гемофілії серед жінок.

Задача 154. В одній сім'ї відмічені випадки раннього посивіння, коли посивіння починається у віці 20 років. Батьків цікавить яка імовірність раннього посивіння у їх чотирьох дітей – двох дочок і двох синів. У матері – раннє посивіння, у батька немає. У батьків батька було раннє посивіння у батька, у матері не було. У батьків матері було раннє посивіння у матері, у батька не було. У бабусі та дідуся матері раннього посивіння не було. У дідуся та бабусі батька теж раннього посивіння не було. Але бабуся матері і бабуся батька були рідними сестрами і в їхньої матері було раннє посивіння. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів. Визначити імовірність патології раннього посивіння у дітей цієї сім'ї.

Задача 155. Один чоловік одружився вдруге. У першому шлюбі у нього був син хворий на гемофілію і дві здорові дочки. Обидва батьки цього чоловіка були здоровими. Але брат його матері теж страждав на гемофілію. Брат його першої дружини був здоровий, але брат його тещі в першому шлюбі теж хворів на

гемофілію. Скласти родовід. Визначити яка імовірність народження хворих дітей у цього чоловіка в другому шлюбі.

Задача 156. У матері перша група крові (0) і блакитні очі. У батька четверта група крові (AB) і чорні очі. Які групи крові і який колір очей буде у дітей.

Задача 157. У хворої дитини (дівчинки) арахнодактилія – аномально видовжені пальці рук. У батька дитини теж арахнодактилія. У матері нормальні пальці рук. У батьків матері нормальні пальці рук. У сестри і брата матері, в її обох батьків теж нормальні пальці рук. У батьків батька у матері арахнодактилія, а у батька нормальні пальці рук. У дідуся батька – батька матері арахнодактилія, а в матері нормальні пальці рук. У дідуся батька – батька матері було два брати і дві сестри. В одній сестри була арахнодактилія, але в інших були нормальні пальці рук. У їх батьків у матері були нормальні пальці, а в батька арахнодактилія. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів і характер патології. Зробити прогноз для сім'ї хворої дитини.

Задача 158. Пацієнта чоловічої статі цікавить чи він не полісіє в ранньому віці. Його батько до глибокої старості мав волосся, його батьки теж до глибокої старості мали густе волосся. Але його мати полісіла у віці 30 років. Брат матері теж полісів у віці 30 років, але її сестра мала до старості густе волосся. Їх батьки – дідусь та бабуся пацієнта по материнській лінії – дідусь полісів у віці 30 років, а бабуся мала густе волосся до старості. Батько цього дідуся мав густе волосся до старості, але мати полісіла у віці 30 років. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів. Зробити прогноз для пацієнта.

Задача 159. В одній сім'ї народилася глуха від народження дитина (дівчинка). Обидва батьки були здоровими. Дві сестри і один брат хворої дитини здорові. Батьки хворої дитини – двоюрідні брат і сестра. Брат батька глухий від народження і сестра матері глуха від народження. Обидва батьки батька і обидва батьки матері були здоровими, але дві бабусі хворої дитини були рідними сестрами. У них батько був глухий,

а мати здоровою. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів. Зробити прогноз для сім'ї.

Задача 160. В одній сім'ї у хворої дитини (хлопчика) виявили доброякісний рак шкіри. Батько дитини був здоровий, брат і сестра хворої дитини були здоровими, але мати хворіла на рак шкіри. Батьки батька, 2 сестри і 2 брати батька були здоровими. Мати матері теж хворіла на рак шкіри, а батько матері був здоровий. Обидва батьки батька матері були здоровими, а у батьків матері матері (батьків бабусі хворої дитини по материнській лінії) батько був хворий на рак шкіри, а мати здорова. Скласти родовід. Визначити характер захворювання та генотипи всіх родичів. Скласти прогноз для сім'ї.

Задача 161. В одній ізольованій популяції людей на острові частота дальтонізму серед чоловіків складає 1:100. Визначити частоту носійства гену дальтонізму серед жінок і частоту захворювання на дальтонізм серед жінок жителів цього острова.

Задача 162. В одній сім'ї було 4 дітей – дві дочки і два сини. В одного сина виявили безпліддя і фемінізацію. Решта дітей були здоровими. Здоровими були і батьки хворої дитини. У батька обидва батьки були здоровими, 4 брати і 1 сестра були здоровими. У матері обидва батьки були здоровими, 2 сестри були здорові, але брат був безплідний і мав фемінізацію. У матері матері обидва батьки були здоровими, але її брат (брат бабусі хворої дитини по материнській лінії) теж страждав на безпліддя та фемінізацію. Скласти родовід. Визначити генотипи всіх родичів, зробити прогноз для сім'ї.

Задача 163. Схрестили дві числі лінії мишей: самки забарвлення шерсті агуті з самцями білими (альбіносами). У першому поколінні всі миші були агуті. У другому поколінні одержали: 95 мишей агуті, 33 чорних миші, 45 білих мишей. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача 164. Схрестили дві чисті лінії дрозофіл: самок з редукованими жилками на крилах з самцями з нормальними крилами. В першому поколінні отримали всіх мух з нормальними

крилами. У другому поколінні одержали 132 мухи з нормальними крилами і 31 муху з редукованими жилками на крилах. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача 165. Схрестили дві лінії курей: самок з короткими ногами і самців з довгими ногами. У першому поколінні одержали 120 курей з короткими ногами і 125 курей з довгими ногами. Схрестили з першого покоління самок з короткими ногами з самцями з короткими ногами. Одержали в другому поколінні 220 курей з короткими ногами і 105 курей довгими ногами. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача 166. Схрестили дві чисті лінії щурів: самок з кремовою шерстю з самцями коричневою шерстю. У першому поколінні одержали всіх щурів з кремовою шерстю. Схрестили їх між собою. У другому поколінні одержали: 127 щурів з кремовою шерстю, 32 щурі з чорною шерстю, 12 щурів з коричневою шерстю. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача 167. Схрестили курей: чорних самок з білими самцями. У першому поколінні всі самки були білі, а всі самці сірі. Схрестили їх між собою. У другому поколінні одержали: самців – 200 сірих, 210 білих. Самок: 220 чорних, 211 білих. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

Задача 168. Схрестили дрозофіл: самок з червоними очима з самцями з білими очима. Одержали в першому поколінні: всіх самок з червоними очима і всіх самців з червоними очима. Схрестили їх між собою. Одержали в другому поколінні: 310 самок з червоними очима, самців 150 з червоними очима, 161 з білими очима. Пояснити отримані результати, довести правильність гіпотези методом «хі-квадрат».

СЛОВНИК ОСНОВНИХ ГЕНЕТИЧНИХ ТЕРМІНІВ

Автополіплоїдія – поліплоїдія, зумовлена присутністю більше ніж двох наборів хромосом одного виду.

Адаптація – структурні і функціональні особливості організму, які забезпечують йому оптимальне пристосування в оточуючому середовищі; еволюційний процес, при якому організм пристосовується до навколишнього середовища.

Адаптивна (селективна) цінність – степінь репродуктивної ефективності організму (чи генотипу) в порівнянні з іншими організмами (чи генотипами) тієї ж популяції.

Адитивна варіанса – генетична варіанса, зумовлена адитивністю генів.

Адитивні гени – взаємодіючі гени, які не виявляють домінантності (якщо вони алельні) або епістазу (якщо гени не алельні) і дія яких сумується.

Акроцентрична хромосома – хромосома, в якій центромера знаходиться біля одного з кінців, при цьому одне із плеч хромосоми довге, а друге – коротке.

Акцепторна точка сплайсінгу – ділянка між правим кінцем інтрону і лівим кінцем екзону.

Алель – одна з двох або більше альтернативних форм гена, кожна з яких має унікальну послідовність нуклеотидів; різні алелі даного гену звичайно розпізнаються фенотипічно, в загальному випадку – при порівнянні їх нуклеотидних послідовностей.

Алельне виключення – експресія у лімфоциті тільки одного алеля, що кодує імуноглобулін.

Аллозими – альтернативні форми фермента, що кодуються різними алелями одного гена.

Аллопатичні популяції – популяції одного виду, що населяють різні географічні області.

Аллополіплоїдія – поліплоїдія, зумовлена присутністю в одній клітині хромосомних наборів двох різних видів.

Аллостеричний перехід – зміна однієї конформації білка на іншу.

Аллостеричний контроль – здатність ефекторів при взаємодії з одною ділянкою фермента виявляти вплив на активність іншої.

Амбер-кодон – триплет UAG, один з трьох нонсенс-кодонів, що обумовлюють термінацію білкового синтезу.

Амбер-мутація – будь-яка зміна в ДНК, що приводить до появи амбер-кодонів замість триплету, що кодує амінокислоту.

Амбер-супресори – мутантні гени, що кодують тРНК зі зміненими антикодонами, що здатні впізнавати кодон UAG. В деяких випадках зберігається здатність впізнавати вихідний кодон.

Аміноацил т-РНК – молекула т-РНК, ковалентно зв'язана з амінокислотою через ацильний зв'язок між карбоксильною групою амінокислоти і 3'-ОН групою т-РНК.

Аміноацил т-РНК-синтетаза – фермент, каталізуючий утворення молекул специфічних аміноацил т-РНК. Наприклад, при використанні аланіну, відповідні йому т-РНК (т-РНК^{Ala}) і АТР утворюється аланін-т-РНК.

Амніоцентез – метод пренатальної діагностики генетичних аномалій.

Ампліфікація – утворення додаткових копій хромосомних послідовностей, що виявляються в хромосомі або у позахромосомній ДНК.

Анаболізм – комплекс ферментативних реакцій, що призводять до синтезу складних біологічних молекул з менш складних.

Анагенез – еволюційна зміна окремої лінії з часом.

Аналізуючі схрещування – схрещування гетерозиготи (по одному або більше локусах) і відпоідною рецесивною гомозиготою.

Анафаза – третя стадія мітозу, або мейозу, під час якої хромосоми розходяться до протилежних полюсів клітини.

Анеуплоїдія – стан клітини, тканини або організму, при якому одна або кілька цілих хромосом із звичайного набору або відсутні, або представлені додатковими копіями.

Антиген – чужорідна молекула, проникнення якої в організм викликає синтез антитіла.

Антикодон – три суміжні нуклеотиди в молекулі т-РНК, які комплементарно спаровуються з трьома нуклеотидами кодона в молекулі м-РНК в процесі синтезу білка.

Антитермінальні білки – білки, що дозволяють РНК-полімеразі продовжувати транскрипцію, проходячи певні сайти термінації транскрипції.

Антитіло – білок, який синтезує імунна система вищого організму, що специфічно зв'язується з чужорідною молекулою (антиген), яка індукує його синтез.

Апоіндуктор – білок, що взаємодіє з ДНК для включення транскрипції РНК-полімеразою.

Асиміляція ланцюга – здатність Rec-A-протеїна обмінювати одноланцюгову ДНК на гомологічний ланцюг з дуплекса, за рахунок цього одноланцюгова нитка входить у склад дуплекса.

Аск – сумка з 8 аскоспорами в плодовому тілі грибів-аскомицетів.

Асортативне схрещування – схрещування, при якому вибір шлюбного партнера відносно однієї чи кількох ознак не випадковий. Таке схрещування позитивне (негативне), якщо частота схрещувань між подібними (різними) особинами більша, ніж можна було б очікувати при випадковому виборі.

Аттенуатор – послідовність нуклеотидів, локалізована в лідерній області між промотором і структурними генами оперона, викликаючи закінчення транскрипції в лідерній області.

Аттенуація – регуляція транскрипції на рівні термінації, що здійснюється при експресії деяких бактеріальних оперонів.

Аттенуатор – термінаторна послідовність, на якій відбувається аттенуація.

Ауксотрофи – мікроорганізми не здатні синтезувати певну органічну молекулу і внаслідок цього не ростуть в мінімальному середовищі.

Аутбридинг – схрещування між генетичними відмінностями, а не близькоспорідними особами.

Аутогенний контроль – дія генного продукту, який або подавляє (від'ємний аутогенний контроль, або активує (позитивний аутогенний контроль) експресію свого власного гена.

Аутосома – будь-яка нестатева хромосома.

Ацентричний фрагмент – фрагмент хромосоми, що позбавлений центомери, і тому губиться в процесі клітинного поділу.

ALU-родина – гомологічна родина послідовностей в геномі ссавців, що споріднена ALU-повторам людини.

АР-едонуклеази – ферменти, що розрізають ДНК у апуринових або апіримідинових ділянках з утворенням 5'-кінців.

Att-сайти – ділянки фагової і бактеріальної хромосоми, рекомбінація між якими приводить до інтеграції або виключення фагу.

α -аманітін – біциклічний октапептид, що отриманий з гриба *Amanita phalloides*, інгібує транскрипцію певних еукаріотичних РНК-полімераз, зокрема РНК-полімерази II.

Бактеріофаги (фаги) – віруси, що інфікують бактерії.

Бібліотека геному – набір клонованих фрагментів ДНК, що містять весь геном.

Білок-репресор – білок, що здатний зв'язуватися з оператором на ДНК або з РНК, блокуючи відповідно транскрипцію або трансляцію.

Бівалент – дві кон'юговані гомологічні хромосоми, що спостерігаються під час першого мейотичного поділу.

Блок Прібнова – те саме, що Прібнов-бок.

Блотінг по Саузерну – процедура переносу денатурованої ДНК з агарозного геля на нітроцелюлозний фільтр для гібридизації з комплементарним нуклеотидом.

Блотінг північний (блотінг РНК) – перенесення РНК з агарозного геля на нітроцелюлозний фільтр для гібридизації з комплементарним нуклеотидом ДНК.

Варіанса (дисперсія) – міра мінливості ознаки, розрахована як сума квадратів відхилень між значеннями ознаки у кожної особини і середнім значенням цієї ознаки в популяції, поділеної на число проаналізованих особин без одиниці.

Введення кінцевої мітки – методика введення радіоактивно міченої групи в один з кінців (5' або 3') ДНК.

Ведучий ланцюг – ланцюг ДНК, що синтезується безперестанно у 5'-3'-напрямку.

Вектор – фактор, що здатний переносити ДНК з однієї клітини чи організму до іншого і включати її в геном.

Вектор для клонування – будь-яка плазміда або фаг, в які може бути вбудована чужорідна ДНК з метою клонування.

Веретено – структура, що утворюється в процесі ділення еукаріотичної клітини до якої прикріплюються за допомогою мікротрубочок хромосоми.

Віджиг – процес, що також називається гібридизацією нуклеїнових кислот, при якому два одноланцюгових полінуклеотиди формують дволанцюгову молекулу в результаті утворення водневих зв'язків між комплементарними нуклеотидами двох ланцюгів. Віджиг може відбуватися або між комплементарними ланцюгами ДНК (або РНК) з утворенням дволанцюгової молекули, або між ланцюгом ДНК і ланцюгом РНК з утворенням гібридної молекули РНК – ДНК.

Вірулентний фаг – бактеріофаг, здатний тільки до літичного розвитку, що завершується загибеллю клітини, і не здатний до лізогенії.

Вірус-помічник – вірус, що має функції, що відсутні у дефектного вірусу, компенсує їх при змішеній інфекції.

Вибіркова реплікація – saltatory replication - побічна ампліфікація, що приводить до появи великої кількості копій певної послідовності.

Виродженість генетичного коду – відповідність кількох кодонів одній амінокислоті.

Вироджений код – код, в якому одиничний елемент однієї мови визначається більш ніж одним елементом іншої мови.

Високоповторювальна ДНК – компонент тотальної ДНК, який реасоціюється першим. Ідентична сателітній ДНК.

Витіснення мітки – **pulse-chase** – метод, що полягає у короткочасній інкубації клітин з радіоактивно міченим попередником (що бере участь у певних реакціях або ж є попередником ряду макромолекул) з подальшим вивченням долі мітки під час продовження інкубації з неміченим попередником.

Внутрішній супресор – певна мутація, що подавляє фенотипічний прояв іншої мутації в тому ж самому гені.

Гамета – зріла репродуктивна клітина, що містить гаплоїдний набір хромосом, здатна при злитті з аналогічною клітиною протилежної статі утворювати зиготу.

Гаплоїдний набір хромосом – набір хромосом, що містить по одній копії кожної аутосоми і одну статеву хромосому.

Гаплотип – комбінація алелей тісно зчеплених локусів.

Гаптен – невелика молекула, що приєднується до інертного білкового носія і виконує функцію антигена.

Гемізіготний ген – ген, що представлений в генотипі в єдиному екземплярі.

Ген – послідовність нуклеотидів, яка може нести певну функцію в організмі.

Ген-модифікатор – ген, який при взаємодії з іншими генами змінює їх фенотипічний прояв.

Ген-мутатор – ген, що підвищує швидкість мутування іншого гена.

Геном – генетичний склад клітини або віруса, повний набір хромосом даного організму.

Генотип – вся генетична інформація організму, генетична структура організму по одному або декільком генам, що досліджуються.

Генетична варіанса (дисперсія) – частина фенотипічної варіанси, обумовлена відмінностями генетичної структури особин у популяції.

Гетероалель – алель, що відрізняється від інших алелей того ж гена по нуклеотидній послідовності в різних ділянках гена.

Гетерогаметна стать – стать, що утворює гамети різні по складу статевих хромосом.

Гетерогамне схрещування – схрещування між особами з різних популяцій або видів.

Гетеродуплексна ДНК – дволанцюгова ДНК, ланцюги якої мають різне походження.

Гетерозигота – клітина або організм, що містять два різних алеля в даному локусі гомологічних хромосом.

Гетерозиготність – доля особин в популяції, гетерозиготних по даному локусу, доля гетерозиготних локусів в геномі особини.

Гетерозис – перевага гетерозиготи над гомозиготою по степені експресії одної або кількох ознак.

Гетерохроматин – область в хромосомі або ціла хромосома, що має щільність, компактну структуру в телофазі, інтерфазі і ранній профазі.

Гібрид – нащадок схрещування між двома генетично не ідентичними організмами.

Гінандроморф – особина, у якої одна частина тіла має чоловічий фенотип, а інша жіночий.

Гістон – основний білок, що утворює комплекс з ДНК в хромосомі.

Гомеотичні мутації – мутації, що викликають заміну одної з структур тіла на іншу в процесі індивідуального розвитку.

Гомогаметна стать – стать, що утворює гамети, однакові по складу статевих хромосом.

Гомогамне схрещування – схрещування між особами одної популяції або виду.

Гомозигота – клітина або організм, що містять два однакових алеля в даному локусі гомологічних хромосом.

Гомологічні хромосоми – хромосоми (або їх сегменти), ідентичні по структурі складаючих їх локусів.

Гаряча точка – область ДНК, що значно більше мутує ніж інші області такого ж розміру.

Група зчеплення – група генних локусів однієї хромосоми, яка могла б бути розташована в лінійному порядку по степені зчеплення між ними.

Делеція – хромосомна мутація, при якій втрачається ділянка хромосоми.

Денатурована ДНК – ДНК, перетворена з двохланцюгової в одноланцюгову форму внаслідок розриву водневих зв'язків.

Дефішенси – делеції кінцевої ділянки хромосоми.

Дигібридне схрещування – схрещування між організмами, що несуть різні алелі в двох різних локусах.

Дизиготні близнюки – близнюки, що розвиваються з двох незалежнозапліднених яйцеклітин.

Дикаріон – клітина, що має два ядра від організмів різних видів.

Диплоїд – клітина або організм, що має два набори хромосом.

ДНК-лігаза – фермент, що “зшиває” полінуклеотиди, шляхом утворення фосфодієфірного зв'язку між кінцевим залишком 5'-РО₄ одного полінуклеотиду і кінцевим залишком 3'-ОН іншого полінуклеотиду.

Домінантний алель – алель алель або ознака, що проявляється в гетерозиготі.

Дуплікація – хромосомна мутація, при якій відбувається подвоєння якої-небудь ділянки хромосоми в гаплоїдному наборі.

Екзон – послідовність ДНК, що відповідає частині транскрипта, яка зберігається в зрілій мРНК, тобто після видалення інтронів з гетерогенної ядерної РНК.

Екзонуклеаза – фермент, який гідролізує кінцеві фосфодієфірні зв'язки (на 3'- чи 5'- кінці) полінуклеотидів.

Експресивність – ступінь фенотипічного прояву ознаки.

Електроморфи – алоферменти, які виявляються при електрофорезі.

Електрофорез – техніка розділення молекул, що базується на їх різній рухливості в електричному полі.

Ендонуклеаза – фермент, що гідролізує внутрішні фосфодієфірні зв'язки в полінуклеотиді.

Ендосперм – спеціалізована тканина квіткових рослин, яка живить зародок, що розвивається.

Епісома – генетичний елемент (молекула ДНК), яка існує як інтегрована частина молекули ДНК господаря, або як незалежна молекула ДНК, що реплікується (плазмід), не зв'язана з хромосоною клітини, плазмід що здатна входити до складу хромосоми.

Епістаз – взаємодія двох неалельних генів, при якій один з них (епістатичний ген) впливає на (або навіть пригнічує) фенотипічне проявлення іншого гену (гіпостатичний ген).

Еуплоїдія – стан клітини, тканини чи організму, що характеризується наявністю одного чи більше повних наборів хромосом.

Еухроматин – ділянка хромосоми чи ціла хромосома, що має нормальну спорідненість до барвників і проходить нормальний цикл спіралізації.

Ефект засновника – генетичний дрейф, що зумовлений тим, що у вихідному положенні популяція складається з дуже невеликої кількості особин.

Ефект розташування – зміна фенотипічного прояву гену, що зумовлений зміною розташування цього гену в геномі.

Ефективна чисельність популяцій – кількість особин популяції, що приймають участь у відтворенні потомства.

Ефекторна молекула – ефектор – невелика молекула, концентрація якої регулює активність молекули певного білка шляхом взаємодії із специфічною ділянкою зв'язування на молекулі білку і зміни його структури (алостеричний перехід).

Закон Харді-Вайнберга – закон, згідно якого частоти генотипів в популяції можуть бути передбачені за частотами генів при умові випадкового схрещування.

Затравка – субстрат, необхідний для ініціації реакції полімеризації (наприклад, синтезу ДНК); структурно подібний до продуктів цієї реакції.

Зигота – диплоїдна клітина, що формується в результаті злиття яйцеклітини і сперматозоїда.

Ідентичні гени за походженням – два гени, що мають однакові нуклеотидні послідовності по причині походження їх від спільного предка.

Ідентичні гени за структурою – два гени, що мають однакові нуклеотидні послідовності, незалежно від того, походять вони від спільного предка чи ні.

Інбердна депресія – зниження пристосованості, що викликана інбридінгом.

Інбридінг – схрещування між особами-родичами.

Інверсія – хромосомна мутація, при якій послідовність генів в якомусь локусі хромосоми змінюється на протилежну.

Індуктор – ефекторна молекула, відповідальна за індукцію синтезу фермента.

Індукція – синтез нових молекул фермента у відповідь на вплив середовища.

Інсерційні послідовності – різні послідовності нуклеотидів, знайдені у бактерій і здатні до переміщення з одного хромосомного локуса в інший. Спонтанне переміщення таких послідовностей може викликати мутації у вихідній чи новій ділянці вторгнення. Ці послідовності можуть нести активні промотори чи термінатори синтезу мРНК і служать ділянками-мішенями для інтеграції епісом.

Інтерсекс – особина в нормі двудомного виду, в якого репродуктивні органи або вторинні статеві ознаки частково відповідають одній статі, частково – протилежній.

Інтерфаза – стадія клітинного циклу, при якій метаболізм здійснюється без якихось помітних ознак поділу клітин.

Інтерференція – вплив одного кросинговера на хроматиді на ймовірність іншого кросинговера на тій же хроматиді.

Каріотип – хромосомний набір клітини або організму, що характеризується числом, розміром та конфігурацією хромосом.

Карта зчеплення – хромосомна карта, що показує порядок лінійного розміщення генів на хромосомі.

Катаболічний – відноситься до ферментативних реакцій, що приводять до розпаду складних біологічних молекул на менш складні компоненти; енергія, що виділяється при цьому може запасатися у формі АТФ, а продукти розпаду використовуються в наступних анаболічних реакціях.

Квадріваленти – чотири повністю або частково гомологічні хромосоми, зв'язані одна з одною в результаті кон'югації в період від профазі до метафазі першого мейотичного поділу.

Квантове видоутворення – швидке виникнення нових видів, звичайно, в малих ізолятах.

Кеп – структура на 5'-кінці еукаріотичної мРНК; утворюється після транскрипції за рахунок приєднання гуанінового нуклеотиду до кінцевої основи мРНК; метильований гуанозин на 5'-кінці транскрипту РНК еукаріотичних клітин.

Кількісна ознака – ознака, що варіює безперестанно від одної особини до іншої, що дозволяє розподілити особин в класи у відповідності зі ступінню вираженості ознаки.

Кільце Бальбіані – гігантський пуф на політенній хромосомі.

Кладогенез – розгалуження одної еволюційної гілки на дві або декілька.

Клітинний цикл – цикл розвитку індивідуальної клітини.

Кліна – поступова зміна (градієнт) частоти генотипів чи фенотипів у ряді суміжних популяцій.

Кодаптація – узгоджена взаємодія генів.

Код – набір правил передачі інформації.

Кодомінантні алелі – пара алелей, кожний з яких проявляється фенотипічно в гетерозиготі.

Кодон – група з трьох суміжних нуклеотидів в молекулі мРНК, що кодуєть одну з амінокислот або позначають кінець синтезу білка.

Колінеарність – лінійна відповідність між послідовностями амінокислотних залишків в поліпептидному ланцюгу і послідовністю нуклеотидів в ДНК.

Комплементарна група – група мутантних алелей, що проявляють мутантний фенотип при об'єднанні одне з одним в гетерозиготі.

Комплементарний тест – генетичний тест для встановлення належності двох мутацій до одного гену; цис-транс-тест.

Конверсія - процес, в результаті якого алель в цілій хромосомі втрачається і замінюється іншим алелем з гомологічної хромосоми.

Конидії – вегетативні спори сумчастих та базидіальних грибів. Якщо конидії гаплоїдні, то їх злиття призводить до появи диплоїдних клітин, які, проходячи мейоз, дають початок аскам.

Контролюючий елемент – еукаріотичний елемент, що транспозується, присутність якого виявляється за зміною звичайної активності гену.

Коньюгація – процес переносу ДНК від бактерій одного статевого типу до іншого при контакті клітин.

Коефіцієнт інбридінгу – вірогідність того, що два гени в даному локусі ідентичні за походженням.

Коефіцієнт добору – міра ефективності добору, що вимірюється за зменшенням частоти зустрічі гамет даного типу у наступному поколінні.

Криптичний сателіт – послідовність сателітної ДНК, яка не виявляється у вигляді відокремленого піку в градієнті щільності, тобто цей сателіт не відокремлюється від основної ДНК.

Крок добору – (при штучному доборі) – відмінності у степені вираженості селективної фенотипічної ознаки між нащадками і батьківським поколінням.

Кросинговер – обмін ділянками між гомологічними хроматидами в процесі мейозу. Якщо хроматида мали різні набори алелів, то кросинговер може бути виявлений генетично за утворенням рекомбінантних хроматид.

Леталь – генна чи хромосомна мутація, що викликає загибель (всіх носіїв при домінантності або гомозиготних носіїв при рецесивності) до досягнення репродуктивного віку.

Лідер – ділянка молекули мРНК від 5`- кінця до початку кодуєчої ділянки першого структурного гену, може містити ділянку зв'язування рибосоми, а також атенуатор.

Лізоген – штам бактерій, що містить профаг.

Лізогенія – один з двох можливих випадків інфекції бактерії-хазяїна помірним фагом. При цьому фаговий геном репресований і ДНК фага реплікується у складі бактеріальної хромосоми, формуючи лізогенну, стійку до повторної інфекції цим фагом клітину. Іноді лізогенна клітина може індукуватися і бактерія може лізуватися, вивільнюючи велику кількість фагових частинок; інший випадок інфекції – літичний цикл розвитку.

Локус – місцезрештування даної мутації або гену на генетичній карті, часто використовується замість терміну «мутація» чи «ген».

Макроеволюція – еволюція на рівні вищих систематичних категорій, ніж вид, призводить до виникнення нових родів, родин та інших таксономічних одиниць.

Маркер – алель, успадкування якого простежується у схрещуванні.

Масовий добір – штучний добір шляхом схрещування в кожному поколінні особин з максимальним (мінімальним) ступенем вираженості даної ознаки.

Матриця – одноланцюгова ДНК, комплементарна ланцюгу РНК чи ДНК, що синтезується, визначає послідовність нуклеотидів в ланцюгу, що синтезується.

Матрична РНК (мРНК) – молекула РНК, нуклеотидна послідовність якої транслюється в послідовність амінокислот на рибосомах в процесі синтезу поліпептида.

Мегаспора – більша з двох типових гаплоїдних спор, що утворені судинними рослинами. Дрібніша зі спор називається мікроспорою. У насінині рослини мегаспора розвивається у ембріональну сумку (жіночий гаметоцит), а мікроспора дає початок клітинам пилку (чоловічий гаметоцит).

Міжгенний супресор – мутація, яка супресує фенотипічне проявлення мутації в іншому гені.

Мейоз – два послідовних поділи ядра клітини, що супроводжуються лише одним циклом реплікації хромосом, в результаті чого утворюється чотири гаплоїдні клітини.

Менделівська популяція – група організмів, що схрещуються між собою, і має спільний пул генів.

Мерозигота – частково диплоїдна бактеріальна клітина, що виникає в результаті кон'югації, трансдукції або трансформації.

Метафаза – друга стадія мітозу чи мейозу, в якій конденсовані хромосоми розподіляються в площині між полюсами клітини.

Метацентрична хромосома – хромосома, в якій центромера розташована приблизно посередині.

Метилування – модифікація в результаті додавання метильної (-CH₃) групи до якої-небудь основи в молекулі ДНК чи РНК. Метилування ДНК у клітинах еукаріот корелює з пригніченням транскрипції.

Механізм репродуктивної ізоляції – будь-яка біологічна властивість організму, яка впливає на його здатність до схрещування із особиною іншого виду.

Мітоз – поділ ядра, що йде за реплікацією хромосом, в результаті чого дочірні ядра містять таку саму кількість хромосом, що і батьківські.

Множинні алелі – наявність у особин даного виду більше ніж двох алелів для певного локуса.

Мозаїк – особина, що містить групи клітин, які мають різний генотип і фенотипічний прояв.

Монозиготні (ідентичні) близнюки – близнюки, що розвиваються з однієї і тієї ж заплідненої яйцеклітини, що дає початок двом ембріонам на ранній стадії розвитку.

Моноплоїд – клітина, тканина або організм, що мають тільки один хромосомний набір.

Моносомік – анеуплоїдна клітина, тканина або організм, в хромосомному наборі яких одна з хромосом представлена в одному екземплярі.

Мутант – організм, що є носієм мутантного (відмінного від дикого типу) алеля.

Мутування – процес, в результаті якого в гені з’являються зміни, які успадковуються.

Мутації зсуву рамки зчитування – мутації, викликані або інсерцією або делецією нуклеотидів ДНК, в результаті яких змінюється рамка трансляції кодонів в молекулі мРНК, приводять до появи ненормальної послідовності амінокислот в молекулі білка, починаючи з точки, що відповідає положенню мутації.

Мутон – найменша одиниця мутування в гені, пара основ.

Нативна ДНК – дволанцюгова ДНК, що виділена з живого організму і зберегла водневі зв’язки між ланцюгами.

Нежиттєздатність гібридів – знижена життєздатність гібридних організмів.

Негомологічні хромосоми – хромосоми, що мають несхожі гени і не кон’югують при мейозі.

Неоплазма – пухлинна тканина.

Нерівноважність за зчепленням – не випадковий розподіл частот алелів, що належать різним локусам.

Нерозходження – втрата здатності до розходження при діленні двох сестринських хроматид або гомологічних хромосом, в результаті якої обидві вони відходять до одного полюса, утворюючи анеуплоїдне ядро.

Невипадкове схрещування – система схрещувань, при якій частоти співвідношення особин, які володіють даною ознакою, відмінні від частот, що очікуються на основі випадкового підбору пар.

Нік-трансляція (зміщення розриву) – спосіб введення мічених трифосфатів в нативну ДНК *in vitro*, за допомогою ДНК-полімерази і *E. coli*. При цьому використовується 5'-PO₄/3'-ОН-розрив тільки в одній з двох ланцюгів нативної молекули ДНК; ДНК-полімераза I каталізує видалення 5'-PO₄ кінцевого нуклеотида і додавання екзогенного міченого нуклеотида до 3'-ОН групи, в результаті видалення і добудови нуклеотида відбувається зміщення розриву на один нуклеотид. Наступні цикли видалення і полімеризації зміщують розрив вздовж

молекули ДНК, при цьому серед заміщених нуклеотидів з'являється все більше мічених.

Нонсенс-мутація – зміна в ДНК, в результаті якої відбувається заміна сенсового кодону, що відповідає певній амінокислоті, на безсенсовий (термінуючий) кодон.

Нонсенс-кодон – один з трьох троиплетів – UAG, UAA, UGA, що викликають термінацію синтезу протеїну.

Норма реакції – ряд всіх можливих фенотипів, які можуть сформуватися на основі даного генотипу в різних умовах середовищ.

Нулісомік – анеуплоїдна клітина, тканина чи організм з втраченою парою гомологічних хромосом.

Однодомні організми (зазвичай рослини) – формують репродуктивні органи чоловічого і жіночого типу на одній і тій самій особині і утворюють чоловічі і жіночі гамети.

Олігомер – білок, що складається з двох чи декількох ідентичних субодиниць.

Онкоген – ген, що викликає рак.

Оогенез – процес диференціювання клітин зародкової лінії, що супроводжується мейозом і призводить до утворення зрілої яйцеклітини.

Оогоній – примордіальна зародкова клітина, яка дає при мітозі початок ооцитам, з яких шляхом мейозу розвиваються полярні тільця і яйцеклітина.

Оператор – ділянка ДНК в опероні, що зв'язується з білком репресором, в результаті чого транскрипція цього оперону пригнічується.

Оперон – ділянка регуляції транскрипції (промотор і оператор) і два чи більше структурних гени, що належать до нього, котрі транскрибуються з утворенням єдиної молекули мРНК. В результаті експресія структурних генів в опероні координовано регулюється одиничним промотором і оператором.

Органогенез – стадія ембріогенезу, на якій формуються головні органи тіла.

Ортологічні гени – гомологічні гени, які неоднаково еволюціонували в різних видів, що мають спільного предка.

Паліндром – послідовність символів, ідентична при прочитанні протилежних напрямків.

Панміктичне схрещування – випадковий підбір пар за одною чи більше ознаками.

Паралогічні гени – гомологічні гени, що виникли в результаті дуплікації і які еволюціонували паралельно в одному і тому ж організмі.

Пара основ – дві азотисті основи, які з'єднані водневими зв'язками в складі молекули дволанцюгової ДНК чи РНК.

Парацентрична інверсія – хромосомна інверсія, що не захоплює центромеру.

Партеногенез – утворення ембріону з гамети жіночого типу без участі чоловічої гамети.

Пенетрантність – імовірність фенотипічного прояву у особин певної ознаки, що кодується домінантним геном чи рецесивним геном в гомозиготному стані.

Пептидний зв'язок – ковалентний зв'язок, що формується між NH_2 -групою одної амінокислоти і COOH - групою іншої з виділенням молекули H_2O .

Перитецій – плодове тіло грибів-аскоміцетів, що містять аски з аскоспорами.

Перицентрична інверсія – інверсія ділянки хромосоми, що містить центромеру.

Підвиди – популяції, що відрізняються від інших популяцій того ж виду по частоті визначених алелей, хромосомним перебудовам, спадковим фенотипічним ознакам. Між підвидами часто спостерігається часткова репродуктивна ізоляція, недостатня для того, щоб вважати їх різними видами.

Плейотропність – вплив одного гена на дві або більше фенотипічних ознак особини.

Позагенний супресор – мутація в одному гені, що подавляє фенотипічний прояв мутації в іншому гені.

Помірний фаг – бактеріофаг, що здатний до лізогенізації клітини господаря.

Потік генів – повільний обмін генами (одnobічний чи двобічний) між популяціями, що обумовлений поширенням гамет чи міграцією особин.

Прібнов-бокс – канонічна послідовність TATAATG, що знаходиться на відстані біля 10 п.н. перед стартовою точкою бактеріальних генів, частина промотора, що відповідає за зв'язування з РНК-полімеразою.

Пробіл у ДНК – відсутність одного або кількох нуклеотидів.

Промотор – послідовність нуклеотидів в молекулі ДНК, що розташована на початку транскрипційної одиниці і розпізнається РНК-полімеразою як ділянка, з якої починається транскрипція.

Прототрофи – мікроорганізми, що здатні рости на певних мінімальних середовищах, з компонентів яких організм синтезує всі складні молекули. Що складають його організм.

Профаг – репресована форма генома фага, представлена в лізогенній бактерії.

Прямі мутації – мутації від дикого типу до мутантного.

Псевдоалелі – мутації, алельні одна до одної на основі комплементаційного тесту, але відокремлені одна від одної при рекомбінації.

Псевдоміномантність – прояв рецесивного гена (алеля), що обумовлений втратою відповідного гена в гомологічній хромосомі.

Пул генів – сукупність генів у популяції особин, що схрещуються.

Реверсія – вторинна мутація, що відновлює генетичну інформацію, змінену первинною мутацією.

Ревертанти – клітини або організми, у яких відбулась реверсія мутації.

Регуляторний ген – 1) будь-який ген, який модифікує або регулює активність інших генів; 2) ген, що кодує аллостеричний білок, який регулює транскрипцію структурних генів в опероні шляхом зв'язування з оператором.

Резолваза – фермент, що забезпечує сайтспецифічну рекомбінацію між двома транспозонами, що знаходяться у вигляді прямих повторів у коінтегрованих молекулах.

Реплікон – самореплікуючий генетичний елемент, що містить ділянку ініціації реплікації ДНК і гени, що контролюють реплікацію.

Репресор – білок, що зв'язується з операторною ділянкою молекули ДНК і подавляє транскрипцію генів, що лежать поруч, перешкоджає взаємодії РНК-полімерази з промотором цих генів.

Рецесивний – алель або відповідна ознака, яка проявляється тільки в гомозиготному стані.

Реципрокне схрещування – схрещування, в яких кожна з двох ліній виступає як материнська в одному схрещуванні і батьківська – в іншому.

Родовід – схема, що показує спорідненість по вертикалі між членами однієї сім'ї у двох або більше поколіннях.

Сателітна ДНК – ДНК, що складається з великої кількості тандем них повторів (ідентичних або схожих) основної короткої послідовності.

Селективний зсув – різниця між середніми значеннями ознаки у нащадків відібраних батьків і в батьківському поколінні в цілому.

Селекція – створення умов, при яких виживає тільки певна різновидність клітин або організмів.

Симпатричні популяції – популяції або види, що мешкають хоча б частково на одній території.

Синапсис – кон'югація хромосом в мейозі.

Синтенія – зв'язок генів з певними хромосомами, що встановлюється в культурі соматичних клітин.

Синтенні локуси – генетичні локуси, що відносяться до одної і тої ж хромосоми.

Спонтанні мутації – мутації, що виникають при відсутності якихось факторів, що збільшують частоту мутування.

Структурний ген – ген, що кодує поліпептид або РНК.

Суперген – сегмент ДНК, що містить велику кількість тіснозчеплених генів, що конторлюють одну і ту ж ознаку, або групу взаємопов'язаних ознак.

Супресія – зміна, яка усуває прояв мутації, не виправляючи при цьому початкового порушення в ДНК.

Супресія нонсенс кодону – супресія, при якій екс пресується ген, що кодує мутантну тРНК, що здатна впізнавати нонсенс кодон як змістовний.

Сферопласт – бактеріальна або дріжджова клітина, позбавлена клітинної стінки.

Талассемія – спадкове захворювання людини, що викликане відсутністю α - або β - глобіну в її еритроцитах.

Тандемні повтори – множинні копії однакових послідовностей, що розташовані одна за одною, орієнтовані в одному напрямку.

Теломера – природний кінець хромосоми.

Трансдукція – перенесення ДНК від однієї клітини до іншої через посередника, яким є вірус.

Транспозаза – фермент, що бере участь в інтеграції транспозона в новий сайт.

Транспозон – послідовність ДНК, що здатна переміщуватись по геному. Містить один або кілька генів, що не пов'язані безпосередньо з процесом транспозиції і ідентичні інсерційні послідовності, які забезпечують переміщення з одного локусу у інший.

Трансфекція – у генетиці соматичних клітин синонім трансформації.

Трансформація – пряме поглинання екзогенної ДНК клітинами, що приводить до рекомбінації між цією ДНК і ДНК клітини.

Триплоїд – клітина, або тканина чи організм, що має три хромосомних набори.

Трисомік – клітина або організм, в яких одна з хромосом представлена тричі.

Унівалент – некон'югована хромосома на стадії першого мейотичного поділу.

Умовно-летальні мутації – мутації, що призводять до загибелі організму в одних умовах зовнішнього середовища (непермісивні або рестриктивні умови), але не летальні у інших умовах (пермісивні умови).

Фенокопія – неспадкова фенотипічна модифікація, що імітує схожий фенотип, обумовлений мутацією.

Фенотип – спостережені ознаки особини, що проявляються в результаті реалізації генотипу в певних умовах середовища.

Фенотипічна варіанса (дисперсія) – дисперсія частоти розподілу особин по якійсь ознаці або сукупності ознак.

Хіазма – ділянка контакту між гомологічними хроматидами, що спостерігається від пізньої профазі мейозу до початку першої анафази. На цій ділянці відбувається обмін гомологічними частинами між сестринськими хроматидами у процесі кросинговера.

Хроматиди – дві поздовжні субдиниці дуплікованої хромосоми, які стають видимі при мітозі або мейозі.

Хроматин – матеріал, який виявляється в ядрі клітин по здатності до специфічного забарвлення, складається з ДНК, гістонів та негістонових білків.

Хромосомні мутації – зміна у структурі або в числі хромосом.

Хромосомний набір – сукупність хромосом у ядрі нормальної гамети або зиготи.

Хромосомний поліморфізм – присутність в популяції більш ніж однієї послідовності для визначеного гена в даній хромосомі.

Центричне злиття – злиття двох акроцентричних або телоцентричних хромосом у одну метацентричну хромосому.

Центромера – область хромосоми, до якої прикріплюються нитки веретена при мітотичному поділі клітин.

Цистрон – послідовність нуклетидів в ДНК, що визначають одиничну генетичну функцію, що виявляється в цис-транс тесті, послідовність нуклеотидів, що кодують одиничний поліпептидний ланцюг.

Частотно-залежний добір – природний добір, напрям і інтенсивність якого залежать від частоти генотипів або фенотипів в популяції.

Швидко лізуючі г-мутанти – мутанти Т-парних фагів, що обумовлюють зміни зони лізису *E. coli* у кінці інфекції.

Швидко реасоціюючий компонент – послідовності ДНК, які ренатурують першими, високоповторюючи ДНК.

Ядерний матрикс – сплетіння фібрил, що пронизують ядро.

Ядерце – органелла ядра еукаріот, зв'язана з ділянкою хромосоми, що містить гени рРНК; відокремлена область ядра, що утворюється при транскрипції генів рРНК.

Ядерцевий організатор – область хромосоми, що містить гени, які кодують рРНК.

Ядро – органелла еукаріотичної клітини, що оточена мембраною і містить хромосоми.

Яйцеклітина – гамета жіночого типу.

МЕТОД ПІРСОНА АБО «ХІ-КВАДРАТ»

Під час дослідження результатів моно- чи полігібридного схрещування завжди виявляються відхилення від законів Менделя. Відхилення бувають внаслідок причин, що не зачеплюють механізм успадкування (статистичні причини) і внаслідок причин, що зачеплюють механізм успадкування (внаслідок зчеплення генів, зчеплення ознаки зі статтю, летальності генів, існування генів-модифікаторів та інших причин).

Для перевірки висунутої гіпотези про механізм успадкування існують спеціальні методи. Один із цих методів – метод «хі-квадрат».

Критерій «хі квадрат» вираховується по формулі:

$$\chi^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$$

Де:

O – фактично спостережене число особин в даному класі.

E – теоритично очікуване число особин в даному класі.

Для перевірки в якій мірі спостережене розщеплення відповідає теоритично очікуваному використовують спеціальну таблицю (наведена нижче). Як правило беруть значення ймовірності 0,05. Якщо значення «хі-квадрат» більше ніж у стовпчику, що відповідає ймовірності 0,05, то розщеплення невідповідає гіпотезі, відхилення не є випадковим. Якщо значення «хі-квадрат» менше ніж у стовпчику, що відповідає ймовірності 0,05, то розщеплення відповідає гіпотезі, відхилення є випадковим. Число степенів свободи рівне числу класів, зменшеному на один. Якщо у розпорядженні дослідника мала вибірка (менше 10 особин) необхідно при вирахуванні "хі-квадрат" вносити поправку Єйтса – зменшення на 0,5 кожної різниці (O – E). Розподіл «хі-квадрат» наведений в спеціальних таблицях.

Таблиця 1. Генетичний код.

	U		C		A		G		
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC		UCC		UAC		UGC		C
	UUA	Leu	UCA		UAA	Term	UGA	Term	A
	UUG		UCG		UAG		UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC		CCC		CAC		CGC		C
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC		ACC		AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC		GCC		GAC		GGC		C
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

Таблиця 2. Умовні позначення амінокислот і відповідні їм кодони.

Амінокислота	Старі умовні позначення	Нові умовні позначення	Відповідні кодони
Аланін	Ala	A	GCA GCC GCG GCU
Цистеїн	Cys	C	UGC UGU
Аспарагінова кислота	Asp	D	GAC GAU
Глютамінова кислота	Glu	E	GAA GAG
Фенілаланін	Phe	F	UUC UUU

Гліцин	Gly	G	GGA GGC GGG GGU
Гістидин	His	H	CAC CAU
Ізолейцин	Ile	I	AUA AUC AUU
Лізин	Lys	K	AAA AAG
Лейцин	Leu	L	UUA UUG CUA CUC CUG CUU
Метіонін	Met	M	AUG
Аспарагін	Asn	N	AAC AAU
Пролін	Pro	P	CCA CCC CCG CCU
Глутамін	Gln	Q	CAA CAG
Аргінін	Arg	R	AGA AGG CGA CGC CGG CGU
Серин	Ser	S	AGC AGU UCA UCC UCG UCU
Треонін	Thr	T	ACA ACC ACG ACU
Валін	Val	V	GUA GUC GUG GUU
Триптофан	Trp	W	UGG
Тирозин	Tyr	Y	UAC UAU

Таблиця 3. Критерій Пірсона.

ЧСС	Ймовірності значень “ χ^2 ”-квадрат, що перевищують табличне												
	0,99	0,98	0,95	0,90	0,80	0,70	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01
1	0,0002	0,0006	0,004	0,016	0,064	0,148	0,455	1,074	1,642	2,706	3,841	5,412	6,635
2	0,020	0,040	0,103	0,211	0,446	0,713	1,386	2,408	3,219	4,605	5,991	7,824	9,210
3	0,115	0,185	0,352	0,584	1,005	1,424	2,366	3,665	4,642	6,251	7,815	9,837	11,341
4	0,297	0,429	0,711	1,064	1,649	2,195	3,357	4,878	5,989	7,779	9,488	11,668	13,277
5	0,554	0,752	1,145	1,610	2,343	3,000	4,351	6,064	7,289	9,236	11,070	13,388	15,086
6	0,872	1,134	1,635	2,204	3,070	3,828	5,348	7,231	8,558	10,645	12,592	15,033	16,812
7	1,239	1,564	2,167	2,833	3,822	4,671	6,346	8,383	9,803	12,017	14,067	16,622	18,475
8	1,646	2,032	2,733	3,490	4,594	5,527	7,344	9,524	11,03	13,362	15,507	18,168	20,090
9	2,088	2,532	3,325	4,168	5,380	6,393	8,343	10,66	12,24	14,684	16,919	19,679	21,666
10	2,558	3,059	3,940	4,865	6,179	7,267	9,342	11,78	13,44	15,987	18,307	21,161	23,209

Примітка: ЧСС – число ступенів свободи.

Семінарські заняття з генетики

Заняття № 1.

Тема: Предмет генетики.

Питання для обговорення:

1. Спадковість і мінливість.
2. Розділи сучасної генетики.
3. Євгеніка.
4. Цитогенетика.
5. Генна інженерія.
6. Методи сучасної генетики.
7. Гібридологічний аналіз.
8. Теорія пангенезису.
9. Досліди Кельрейтера, Сожре, Нодена, Найта, Гертера.
10. Досліди Менделя.
11. Факторіальна теорія спадковості.
12. Перевідкриття законів Менделя.
13. Внесок в розвиток генетики Августа Вайсмана.
14. Внесок в розвиток генетики Томаса Мограна.
15. Внесок в розвиток генетики Темофеева-Ресовського.
16. Внесок в розвиток генетики Вавилова.
17. Відкриття мутагенезу.
18. Досліди Ф. Гріффіта.
19. Теорія Дж. Бідла.
20. Відкриття Уотсона і Кріка.
21. Розшифровка генетичного коду.
22. Відкриття рестриктаз та його наслідки.
23. Асиломарська конференція.
24. Програма «Геном людини».
25. Розвиток генетики в Україні.

Заняття № 2.

Тема: Досліди Менделя.

Питання для обговорення:

1. Досліди Менделя.
2. Альтернативні ознаки.
3. Фенотип і генотип.

4. Ген. Поняття гена на різних етапах розвитку генетики.
5. Перший закон Менделя.
6. Другий закон Менделя.
7. Третій закон Менделя.
8. Розщеплення генів.
9. Домінантні ознаки.
10. Рецесивні ознаки.
11. Повне домінування.
12. Неповне домінування.
13. Проміжне успадкування.
14. Наддомінування.
15. Кодомінування.
16. Множинний алелізм.
17. Гомозигота, гетерозигота, гемізигота.
18. Міжалельна комплементация.
19. Комбінативна мінливість.
20. Реципрокне схрещування.
21. Зворотне схрещування (бекрос).
22. Аналізуюче схрещування.

Заняття № 3.

Тема: Причини відхилення від законів Менделя.

Питання для обговорення:

1. Статистичні причини відхилення від законів Менделя.
2. Поправка Йейтса.
3. Критерій Пірсона.
4. Летальні гени.
5. Напівлегальні гени.
6. Неповне проявлення генів.
7. Вплив зовнішніх умов на характер домінування.
8. Гени-модифікатори.
9. Гени-інтенсифікатори.
10. Гени-супресори.
11. Епістаз.
12. Криптомерія.
13. Комплементарні кени.
14. Полімерія.
15. Плейотропія.

16. Полімерні гени.
17. Псевдогени.

Заняття № 4.

Тема: Цитологічні основи спадковості.

Питання для обговорення:

1. Цитогенетика.
2. Хромосоми.
3. Андрогенез.
4. Штами.
5. Число і будова хромосом.
6. Метацентричні хромосоми.
7. Субметацентричні хромосоми.
8. Акроцентричні хромосоми.
9. Телоцентричні хромосоми.
10. Сателіти хромосом.
11. Ядерцеві організатори.
12. Гомологічні хромосоми.
13. Каріотип.
14. Гетерохроматин.
15. Еухроматин.
16. Конститутивний гетерохроматин.
17. Факультативний гетерохроматин.
18. Реплікатори.
19. Теломери.
20. Політенні хромосоми.
21. Центромери.
22. Геном.

Заняття № 5.

Тема: Генетика статі і зчеплене зі статтю успадкування.

Питання для обговорення:

1. Визначення статі.
2. Епігамне визначення статі.
3. Прогамне визначення статі.
4. Сингамне визначення статі.
5. Стать як менделююча ознака.
6. Статеві хромосоми.

7. Гомогаметна стать.
8. Гетерогаметна стать.
9. Теорія Бріджеса.
10. Теорія Гольдшміда.
11. Особливості визначення статі у ссавців.
12. Успадкування зчеплене зі статтю.
13. Нерозходження статевих хромосом.
14. Фізичне зчеплення Х-хромосом.
15. Синдром Шерешевського-Тернера.
16. Синдром Кляньфельтера.
17. Тільця Барра.
18. Гінандроморфи.
19. Чисельне співвідношення статей і їх регуляція.
20. Явище відносної сексуальності.

Заняття № 6.

Тема: Зчеплення генів і кросинговер.

Питання для обговорення:

1. Зчеплення генів.
2. Групи зчеплення.
3. Кросинговер.
4. Морганіда.
5. Коінциденція і генетична інтерференція.
6. Генетичні карти хромосом.
7. Нерівний кросинговер.
8. Цитологічний механізм кросинговера.
9. Мітотичний кросинговер.
10. Фактори, що впливають на кросинговер.
11. Стать і кросинговер.
12. Мутації і кросинговер.
13. Вік особин і кросинговер.
14. Опромінення і кросинговер.

Заняття № 7.

Тема: Генетика бактерій і вірусів.

Питання для обговорення:

1. Трансдукція.
2. Сексдукція.

3. Трансформація.
4. Бактеріальна хромосома.
5. Епісоми.
6. Екзогенота.
7. Гетерогенота.
8. Від'ємна інтерференція.
9. Фізичне картування бактеріальних генів методом перерваної кон'югації.
10. Транспозони.
11. IS-елементи.
12. Tn-елементи.
13. Ретрогени.
14. Гібридний дисгенез.
15. F-фактор.
16. Генетичне картування бактерій.
17. Картування генів вірусів.
18. Умовно летальні мутації.

Заняття № 8.

Тема: Цитоплазматична спадковість.

Питання для обговорення:

1. Дія генів матері через цитоплазму яйцеклітини.
2. Гени пластид.
3. Цитогета.
4. Мейоз цитогет.
5. Химерні організми.
6. Строкатолистість.
7. Секторіальні химери.
8. Перикленальні химери.
9. Комплексні гетерозиготи.
10. Плазмогени.
11. Пластом.
12. Гени мітохондрій.
13. Хондріом.
14. Мутації petites.
15. Плазмід.
16. Класифікація плазмід.
17. R-фактори.

18. Коліциногени.
19. Трансмісивні плазміни.
20. Вплив на спадковість паразитів і симбіонтів.
21. Цитоплазматичні фактори невідомої природи.

Заняття № 9.

Тема: Мутації.

Питання для обговорення:

1. Генеративні мутації.
2. Соматичні мутації.
3. Геномні мутації.
4. Поліплоїдія.
5. Аутополіплоїди.
6. Аллополіплоїди.
7. Ортоплоїди.
8. Амфідиплоїди.
9. Незбалансовані поліплоїди.
10. Механізми виникнення поліплоїдів.
11. Гаплоїдні мутації.
12. Шляхи отримання гаплоїдних мутацій.
13. Анеуплоїдія.
14. Трисомія.
15. Моносомія.
16. Нуллісомія.
17. Синдром Дауна.
18. Синдром Патау.
19. Синдром Едварда.
20. Перебудови хромосом.
21. Дефішенси.
22. Делеції.
23. Дуплікації.
24. Синдром Вольфа-Хіршхорна.
25. Інверсії.
26. Транслокації.
27. Транспозиції.
28. Ефект положення.
29. Генні мутації.
30. Реверсії.

31. Гіпоморфні мутації.
32. Аморфні мутації.
33. Антиморфні мутації.
34. Неоморфні мутації.
35. Гени-мутатори.
36. Мутабельні гени.

Заняття № 10.

Тема: Причини мутацій.

Питання для обговорення:

1. Мутагени.
2. Фізичні мутагени.
3. Теорія мішені.
4. Кисневий ефект.
5. Репарація.
6. Хімічні мутагени.
7. Алкілюючі сполуки і мутагенез.
8. Супермутагени.
9. Чужорідна ДНК як причина мутацій.
10. Віруси як причини мутацій.
11. Старіння клітин і мутації.
12. Пролонгована дія мутагенів.
13. Антимутагени.
14. Причини спонтанних мутацій.
15. Природний радіоактивний фон і мутації.

Заняття № 11.

Тема: Модифікації.

Питання для обговорення:

1. Визначення модифікацій.
2. Неспадковий характер модифікацій.
3. Морфози.
4. Фенокопії.
5. Тривалі модифікації.
6. Причини модифікацій.
7. Адаптивні і неадаптивні модифікації.

Заняття № 12.

Тема: Регуляція активності генів.

Питання для обговорення:

1. Оперон.
2. Сар-ділянка.
3. Промотор.
4. Оператор.
5. Спейсери.
6. Термінатори.
7. Атенуатори.
8. Ефектори.
9. Алостеричний ефект.
10. Корепресор.
11. Негативна індукція.
12. Позитивна індукція.
13. Негативна репресія.
14. Позитивна репресія.
15. Фазові варіації.

Заняття № 13.

Тема: Тонка будова хромосом і генів.

Питання для обговорення:

1. Гістони.
2. Нуклеосоми.
3. Лінкерні ділянки.
4. Гетерогенність гістонів.
5. Високорухомі протеїни ядра.
6. Різні форми спіралі ДНК.
7. Пуфи хромосом.
8. Мажорні і мінорні протеїни ядра.
9. Гіпотеза «егоїстичної» ДНК.
10. Соленоїд.
11. Ампліфікація.
12. Магніфікація.
13. Тонка будова гена.
14. Цис-транстести.
15. Гомоалелі.
16. Гетероалелі.
17. Сайти.

18. Цистрони, рекони, мутони.
19. Організація геному еукаріот.
20. Повтори низької чисельності в геномі.
21. Повтори середньої чисельності в геномі.
22. Повтори високої чисельності в геномі.
23. Процесінг.
24. Сплайсінг.
25. Аутосплайсінг.
26. Рибозими.
27. Трансплайсінг.
28. Альтернативний сплайсінг.
29. Сучасні уявлення про ген.

Заняття № 14.

Тема: Молекулярні механізми мутацій і рекомбінацій.

Питання для обговорення:

1. Нонсенс мутації.
2. Міссенс мутації.
3. Супресія нонсенс-кодонів.
4. Молекулярні механізми дії мутагенів.
5. Репарація.
6. Фотореактивація.
7. «Темнова» репарація.

Заняття № 15.

Тема: Генетика індивідуального розвитку.

Питання для обговорення:

1. Теорія омніпотентності.
2. Порушення правила омніпотентності.
3. Пенетрантність.
4. Експресивність.
5. Варіабельність.
6. Плейотропність.
7. Генний баланс.
8. Комплементация.
9. Міжалельна комплементация і розвиток.
10. Генетичний фон.
11. Імуногенетика.

12. Перекомбінації ДНК під час формуванні генів імуноглобулінів.

Заняття № 16.

Тема: Популяційна генетика.

Питання для обговорення:

1. Закон Харді-Вайнберга.
2. Ідеальна популяція.
3. Причини відхилень від закону Харді-Вайнберга.
4. Чисті лінії.
5. Панміксія та її обмеження.
6. Асортативні схрещування.
7. Інбридинг.
8. Інбредна дисперсія.
9. Дрейф генів.
10. Потік генів.
11. Ефект засновника.
12. Кумулятивний ефект.
13. Мутаційний тиск.
14. Тиск добору на популяції.
15. Частотнозалежний добір.
16. Генетична гетерогенність природних популяцій.
17. Гетерозис.
18. Поліморфізм.
19. Генетичний вантаж.
20. Геній баланс.
21. Генетична коадаптація.
22. Супергени.

Заняття № 17.

Тема: Основи генної інженерії.

Питання для обговорення:

1. Косміди.
2. Ендонуклеази.
3. Рестриктази.
4. Ті-плазмід.
5. Секвінування ДНК.
6. Зонди.

7. Плазмиди дріжджів.
8. Вектори.
9. Створення бібліотек генів.
10. Скрінінг бібліотек генів.
11. Молекулярне клонування.
12. κДНК.
13. Клонування генів в бактеріофагах.
14. Метод «прогулянка по хромосомі».
15. Сфероласти.
16. Протоласти.
17. Введення чужорідної ДНК в клітини ссавців.

Література

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. В 3 томах. – М.: Мир, 1987. – 1065 С.
2. Аликханян С. И., Акифьев А. П., Чернин Л. С. Общая генетика. – М.: Высшая школа, 1985. – 300 с.
3. Алтухов Ю. П. (ред.) Генетические процессы в популяциях. – М.: Наука, 1989. – 328.
4. Алтухов Ю. П. (ред.) Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях. – М.: Наука, 2004. – 620 с.
5. Альбертс Б. и др. Молекулярная биология клетки: в 5 т. / Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Робертс К., Уотсон Дж. – М.: Мир, 1986-1987. – 1560 с.
6. Бердышев Г. Д., Криворучко И. Ф. Медицинская генетика. - К.: Вища школа, 1990. – 326 с.
7. Бердышев Г. Д., Дуброва Ю. Е., Карпенчук К. Г. Строение, функции и эволюция генов. – К.: Наукова думка, 1980. – 256 с.
8. Бочков Н. П., Захаров А. Ф., Иванов В. И. Медицинская генетика. – М.: Медицина, 1984. – 460 с.
9. Ватти К. В., Тихомирова М. М. Руководство к практическим занятиям по генетике. – М.: Просвещение, 1979. – 320 с.
10. Гершензон С. М. Основы сучасної генетики. – К.: Наукова думка, 1983. – 458 С.
11. Гловер Н. Клонування ДНК. - М.: Мир, 1989. – 350 с.
12. Давыденко О. Г. Нехромосомная наследственность. Курс лекций. – Минск: Изд-тво БГУ, 2001. – 270 с.
13. Давыденкова Е. Ф., Либерман И. С. Клиническая генетика. – Л.: Медицина, 1976. – 426 с.
14. Дейвіс Д. Аналіз геному. - М.: Мир, 1989. – 400 с.
15. Дубинин Н. П. Общая генетика. – М.: Наука, 1986. – 480 с.
16. Захаров В. Хромосомы человека. – М.: Атлас, 1982. – 101 С.
17. Инге-Вечтомов С. И. Генетика с основами селекции. – М.: Высшая школа, 1989. – 300 с.
18. Кимура М. Теория нейтральности в молекулярной эволюции. – М.: Мир, 1983.
19. Кучук М. В. Генетична інженерія вищих рослин. – К.: Наукова думка, 1997.
20. Ли Ч. Введение в популяционную генетику. – М.: Мир, 1979. – 550 с.

21. Лобашов М. Е. Генетика. – Л.: Издательство Ленинградского университета, 1967. – 736 С.
22. Лобашов М. Е., Ватти К. В., Тихомирова М. М. Генетика с основами селекции. – М.: Просвещение, 1979. – 560 с.
23. Льюин Б. Гены. – М.: Мир. – 1987. – 550 с.
24. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. – М. Мир, 1974. – 460 с.
25. Міллер Д. Експерименти в молекулярній генетиці. - М.: Мир, 1979. – 321 С.
26. Орлова Л. Генетический анализ. – М.: Высшая школа, 1988. – 134 С.
27. Ривич-Щербо И. В., Марютина Т. М., Григоренко Е. Л. Психогенетика. – М.: Аспент Пресс, 2000. – 290 с.
28. Свиричев Ю., Пасеков В. Основы математической генетики. - М.: Высшая школа, 1989. – 207 С.
29. Ситник К. М. (ред.) Геном растений. – К.: Наукова думка, 1988.
30. Смирнов В.Г. Цитогенетика. – М.: Высшая школа, 1989. – 123 С.
31. Стент Г., Келиндер Р. Молекулярная генетика. – М.: Мир, 1982. – 524 С.
32. Тоцький В. М. Генетика. – Одеса: Астропринт, 2002. – 710 с.
33. Уотсон Д., Туз Д., Куртц Д. Рекомбинантные ДНК. – М.: Мир, 1990. – 267 С.
34. Фогель Ф., Мотульскі А. Генетика людини. В 3 томах. - М.: Мир, 1989. – 929 С.
35. Хеймс Т. Траскрипція і трансляція. Методи. – М.: Мир, 1989. – 300 с.
36. Хесин Р. Б. Непостоянство генома. М.: Наука, 1985. – 420 с.
37. Шей Д. Методы генетики соматических клеток В 2 т. – М.: Мир, 1985. – 320 с.
38. Яблоков А. В. Фенетика. – М.: Наука, 1980. – 400 с.
39. Weaver R. F. Genetics. – Wm. C. Brown Publishers, 1997. – 980 p.

Зміст

Вступ	5
Місце генетики серед біологічних наук	8
Предмет генетики	8
Розділи і напрямки сучасної генетики	8
Методи генетики	13
Історія генетики	13
Розвиток генетики в Україні	61
Закони Менделя	63
Досліди Менделя	63
Алельні гени	67
Деякі аутосомно-домінантні спадкові хвороби людини	76
Синдром Марфана	76
Синдром Холт-Орама	77
Синдром Бьорта-Хога-Д'юба	79
Синдром Бушке-Оллендорф	79
Синдром херувізму	79
Синдром фібродисплазії	81
Деякі аутосомно-рецесивні спадкові хвороби людини	82
Синдром Дабіна-Джонсона	82
Синдром Канавана-Ван Богерт-Бертрана	82
Синдром Куфса	83
Синдром Кріглера-Найяра	84
Синдром Фарбера	84
Синдром Німанна-Піка	86
Муковісцидоз (кістозний фіброз)	86
Синдром Тея-Сакса	87
Синдром Коккейна (Ніл-Дінгоулл)	87
Основні генетичні позначення	89
Дигібридне і полігібридне схрещування	89
Полігенне успадкування ознак у людини	91
Типи схрещувань	94
Причини відхилення від законів Менделя	94
Статистичні причини відхилення від законів Менделя	95
Генетичні причини відхилення від законів Менделя	96
Диференційована смертність	96
Неповне проявлення генів	97
Вплив зовнішніх умов на характер домінування	97
Гени-модифікатори	98
Гени-супресори	99
Цитологічні основи спадковості	106

Цитогенетика	106
Досліди Астаурова	106
Партеногенез	107
Число і будова хромосом	109
Генетика статі і зчеплене зі статтю успадкування	116
Статевий процес	116
Переваги статевого процесу	117
Визначення статі	120
Стать як менделююча ознака	125
Статеві хромосоми	126
Теорії визначення статі	131
Особливості визначення статі у ссавців і людини	132
Успадкування зчеплене зі статтю	135
Нерозходження статевих хромосом	137
Фізичне зчеплення Х-хромосом	138
Нерозходження статевих хромосом у людини	138
Трисомія Х-хромосоми	139
Тетрасомія по Х-хромосомі	141
Синдром Шерешевського-Тернера	141
Синдром Клайнфельтера	143
Синдром Якобса (Джекобса)	143
Статевий хроматин	144
Гінадроморфи	147
Гени статевих хромосом людини	148
Гени Х-хромосоми людини	148
Гемофілія	148
Дальтонізм	150
Синдром Каллманна	151
Синдром Фабрі (Андерсона – Фабрі)	152
Синдром Віскотта – Олдріча	153
Міодистрофія Дюшена	154
Міодистрофія Беккера	155
Синдром Альпорта	155
Синдром Шарко-Марі-Тута	156
Х-зчеплений іхтіоз	156
Синдром Мартіна-Белла (синдром ламкої Х-хромосоми)	157
Синдром Менкеса (синдром кучерявого волосся)	158
Гени Y-хромосоми	159
Чисельні співвідношення статей і їх регуляція	159
Явище відносної сексуальності	160
Зчеплення генів і кросинговер	160
Кросинговер	162
Карти хромосом	162
Подвійний і множинний кросинговер. Інтерференція	163

Нерівний кросинговер	164
Цитологічний механізм кросинговеру	164
Мейоз	165
Фактори, що впливають на кросинговер	169
Прилад розв'язування задач на кросинговер і картування генів	173
Генетика бактерій і вірусів	174
Картування бактеріальної хромосоми	174
Фізичне картування бактеріальних генів методом перерваної кон'югації	177
Рухомі генетичні елементи – транспозони	181
Фізична природа фактора F-фактора	186
Генетичне картування <i>Escherichia coli</i>	187
Картування генів вірусів	188
Цитоплазматична спадковість	190
Дія генів матері через цитоплазму яйцеклітини	190
Гени пластид	192
Гени пластид вищих рослин	198
Гени мітохондрій	200
Гени мітохондріальної ДНК людини	202
Синдром Кернса-Сейра	202
Синдром Пірсона	203
Синдром MERRF	205
Синдром MELAS	206
Синдром Лебера	207
Плазміди	208
Вплив на спадковість внутрішньоклітинних паразитів і симбіонтів	210
Цитоплазматичні фактори невідомої природи	211
Мутації	213
Геномні мутації	214
Шляхи виникнення поліплоїдії	217
Гаплоїдні мутації	219
Шляхи отримання гаплоїдних мутацій	219
Зміна числа окремих хромосом (анеуплоїдії)	220
Синдром Дауна	223
Синдром Варкані	225
Синдром Патау	226
Синдром Едвардса	226
Перебудови хромосом (сегментні мутації)	229
Дефішенси	229
Делеції	229
Синдром котячого крику (синдром Лежена)	230
Синдром Вольфа-Хіршхорна	231

Синдром Ді Георга	231
Дуплікації	232
Інверсії	232
Транспозиції	233
Транслокації	233
Центричне злиття	233
Генні мутації	234
Причини мутацій	238
Фізичні мутагени	238
Синдром Блума	242
Анемія Фанконі	243
Пігментна ксеродерма (синдром Піка)	244
Хімічні мутагени	245
Біологічні мутагени	247
Причини спонтанних мутацій	249
Модифікації та регуляція активності генів	250
Модифікації	250
Регуляція активності генів	255
Оперон	255
Тонка будова хромосом і генів. Організація геному	261
Молекулярна організація хромосом еукаріот	261
Тонка будова гена	266
Організація геному	267
Процесінг	269
Сучасні уявлення про ген	270
Молекулярні механізми мутацій та рекомбінацій	271
Молекулярні механізми дії мутагенів	272
Генетика індивідуального розвитку	274
Імуногенетика	276
Онкогенетика	279
Апоптоз	289
Генетика старіння	298
Синдром передчасного старіння	308
Популяційна генетика	310
Популяції та гени	310
Закон Гарді-Вайнберга-Кастла	311
Обмеження панміксії	312
Дрейф генів	313
Потік генів	314
Мутаційний тиск	314

Тиск добору	315
Генетична гетерогенність природних популяцій	316
Поліморфні популяції	318
Інбридинг в популяціях людини	322
Генетика кількісних ознак як основа селекції	326
Генетика еволюції	328
Вплив особливостей популяції на формування еволюційних явищ	332
Популяція і систематика	339
Популяція і мікрофілогенез	343
Популяція та концепція раси	351
Раси людини	354
Популяції, анагенез, кладогенез	358
Популяція та концепція виду	362
Популяція і процес видоутворення	364
Популяція і географічне видоутворення	367
Популяція та квантове видоутворення	371
Популяція і генетичне диференціювання під час видоутворення	373
Основи генної інженерії	382
Актуальність генної інженерії	382
Історія генної інженерії	383
Основна генетична речовина	385
Денатурація і ренатурація ДНК	388
Стабільність пар основ	388
Паліндроми і утворення внутрішньоланцюгових водневих зв'язків	388
Метилування основ ДНК	389
Плазміди	389
Спіралізація ДНК	391
Методи створення рекомбінантних молекул ДНК	391
Специфічні нуклеази	392
Методи секвінування ДНК	395
Хімічний синтез олігонуклеотидів	396
Липкі і тупі кінці ДНК, що утворилися внаслідок рестрикції	397
Приєднання липких кінців до тупих кінців ДНК	398
Використання маленьких плазмід для клонування чужорідних генів	398
Клонування генів	399
Отримання безпечних штамів бактерій і безпечних плазмідних векторів	399
Зонди для виявлення клонованих генів	399
Синтез і клонування кДНК	400
Клонування фрагментів геному у бактеріофазі λ	402
Косміди	403

Метод «прогулянка по хромосомі»	404
Клонування ДНК в бактеріофазі M 13	405
Блотінг по Саузерну і «Північний блотінг»	406
Процедури клонування генів, що кодують мінорні білки	407
Скрінінг бібліотек генів за допомогою олігонуклеотидних зондів	409
Використання векторів, що експресуються	409
Імунологічний скрінінг продуктів векторів, що експресуються	411
Генна інженерія дріжджів	412
Дріжджі <i>Saccharomyces cerevisie</i> як об'єкт генної інженерії	412
Використання сферопластів дріжджів	413
Експресія генів дріжджів у <i>E. coli</i>	413
Човникові вектори	414
Плазмиди дріжджів	414
Підвищення ефективності трансформації за допомогою додаткових точок реплікації	415
Стабілізація дріжджевих плазмід центромерною ДНК дріжджів	416
Теломери на кінцях дріжджевих хромосом	417
Направлене вбудовування клонованої ДНК в хромосоми дріжджів	419
Вектори-«рятівники»	420
Генетична інженерія вищих рослин	421
Клітини рослин у культурі	422
Регенерація цілих рослин з культивованих рослинних клітин	422
Протопласти	423
Створення гібридних рослин шляхом злиття протопластів	423
Генетична інженерія вищих рослин	424
Плазмиди, що індують пухлини (Ті-плазмиди)	425
Мутанти Ті-плазмід	426
Інтеграція т-ДНК з хромосоною рослин	426
т-ДНК і транспозони	427
Менделівське успадкування т-ДНК	428
Ті-плазмиди в якості вектора	428
Трансформація рослинних клітин і протопластів	429
Мобілізація т-ДНК за допомогою <i>vir</i> -сегмента Ті-плазмиди	430
Аттенуйовані вектори на основі т-ДНК і регенерація рослини з однієї клітини	431
т-ДНК і виділення генів вищих рослин	432
Практичне застосування генної інженерії рослин з використанням Ті-плазмід	432
Введення чужорідних генів у клітини ссавців	433
Йони кальцію і поглинання ДНК клітинами хребетних	433
Тимідінкіназа як прототип селективних маркерів у дослідах по трансфекції	433
Домінантні маркери для трансформації нормальних клітин	434
Котрансформація в результаті внутрішньоклітинного лігування	435

Мікроін'єкції ДНК у клітини ссавців	436
Часткове успадкування картини метиловання трансфікованої ДНК	436
Виділення генів, введених в клітини шляхом трансфекції	437
Регуляція активності гена після трансфекції	439
Докази існування специфічних ракових генів людини у досліджах по трансфекції	441
Клонування онкогенів людини	442
Замість післямови	443
Програмні вимоги до курсу генетики	444
Програмні вимоги до курсу медичної генетики	446
Задачі з генетики	448
Алгоритм розв'язування задач на схрещування	448
Приклад розв'язування задач на схрещування	450
Задачі	451
Словник основних генетичних термінів	498
Метод Пірсона або «хі-квадрат»	519
Семінарські заняття з генетики	524
Література	535

Навчальне видання

Сіренко Артур Геннадійович

Основи загальної та медичної генетики

Художній редактор, обкладинка – Калагурка В. С.

Комп'ютерний макет – Сіренко А. Г.

Використані малюнки художника Моріса Корнеліуса Есхера

Підписано до друку 30.01.2023 р. Формат 60X84/16

Папір офс. 80 г/с². Друк цифровий.

Гарнітура «Times New Roman». Умов друк. арк. 31,39.

Наклад 300 прим. Зам. № 69 від 20.02.2023 р.

Видавець: Супрун В. П.

м. Івано-Франківськ, вул. Витвицького, 24/2

тел./ф.: (0342)71-04-40, e-mail: printsv@ukr.net