

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.Б.21 ВЕТЕРИНАРНАЯ ГЕНЕТИКА

Специальность 36.05.01 Ветеринария

Специализация Ветеринарное дело

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	2
1.1 Лекция № 1 «Введение в ветеринарную генетику»	2
1.2 Лекция № 2 «Цитологические основы наследственности»	5
1.3 Лекция № 3 «Закономерности наследования признаков»	9
1.4 Лекция № 4 «Хромосомная теория наследственности»	13
1.5 Лекция № 5 «Генетика пола»	19
1.6 Лекция № 6 «Молекулярные основы наследственности»	22
1.7 Лекция № 7 «Изменчивость и методы ее изучения»	32
1.8 Лекция №8 «Генетика популяций»	36
1.9 Лекция №9 «Генетические основы иммунитета»	39
1.10 Лекция № 10 «Генетические аномалии их причины и принципы профилактики» ...	45
1.11 Лекция № 11 «Основы биотехнологии, генной и клеточной инженерии»	53
 2. Методические материалы по выполнению лабораторных работ	 60
2.1. Лабораторная работа № ЛР-1 Тема: «Клетка как целостная самовоспроизводящая система»	60
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 Тема: «Передача наследственной информации в процессе размножения клеток»	63
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 Тема: «Законы Г.Менделя»	66
2.4 Лабораторная работа № ЛР-4 Тема: «Морфологическое строение хромосом»	68
2.5 Лабораторная работа № ЛР-5 Тема: «Наследование сцепленное с полом»	72
2.6 Лабораторная работа № ЛР-6 Тема: «Основы молекулярной генетики»	75
2.7 Лабораторная работа № ЛР-7 Тема: «Морфофункциональные нарушения вследствие генных и хромосомных мутаций»	77
2.8 Лабораторная работа № ЛР-8 Тема: «Популяционная генетика»	81
2.9 Лабораторная работа № ЛР-9 Тема: «Иммуногенетика»	84
 3. Методические материалы по проведению практических занятий	 85
3.1. Практическое занятие № ПЗ-1 «Генетические аномалии сельскохозяйственных животных»	85

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1.1 Лекция №1 (2 часа)

Тема: «Введение в ветеринарную генетику»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Генетика как наука о наследственности и изменчивости
2. Этапы развития генетики
3. Методы генетики

1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. Генетика как наука о наследственности и изменчивости

Генетика (от греч. genesis— происхождение) - наука о наследственности и изменчивости организмов. Термин «Генетика» предложил в 1906 г. У. Бэтсон.

Наследственность - свойство живых существ обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями, а также обуславливать специфический характер индивидуального развития в определенных условиях внешней среды.

Изменчивость - это возникновение различий между организмами по ряду признаков и свойств.

Наследственность, изменчивость и отбор — основа эволюции. Благодаря им возникло огромное разнообразие живых существ на Земле. Мутации поставляют первичный материал для эволюции. В результате отбора сохраняются положительные признаки и свойства, которые благодаря наследственности передаются из поколения в поколение. Знание закономерностей наследственности и изменчивости способствует более быстрому созданию новых пород животных, сортов растений и штаммов микроорганизмов.

С. М. Гершензон выделяет четыре основные теоретические проблемы, изучаемые генетикой:

1. хранения генетической информации (где и каким образом закодирована генетическая информация);
2. передача генетической информации от клетки к клетке, от поколения к поколению;
3. реализации генетической информации в процессе онтогенеза;
4. изменения генетической информации в процессе мутаций.

Бурное развитие генетики связано с тем, что она открывает возможность познания явлений жизни и намечает пути управлений ею. В настоящее время генетика занимает центральное место в биологии. Наблюдается все более тесная интеграция генетики, селекции, ветеринарии, биохимии и других наук. В результате интеграции генетики и ветеринарии возникла ветеринарная генетика.

Ветеринарная генетика — наука, изучающая наследование генов, что позволит повысить продуктивность животных, резистентность к болезням, подавить проявление нежелательных признаков.

Перед ветеринарной генетикой ставятся задачи:

1. изучение наследственных аномалий;
2. разработка методов выявления гетерозиготных носителей наследственных аномалий;
3. контролирование (мониторинг) распространения вредных генов в популяциях и их элиминация;
4. цитогенетический анализ животных в связи с заболеваниями;
5. изучение генетики иммунитета;

6. изучение генетики патогенности и вирулентности микроорганизмов, а также взаимодействие микро- и макроорганизмов;
7. изучение болезней с наследственным предрасположением;
8. разработка методов раннего выявления (т. е. маркеров) устойчивости восприимчивости организма к болезням, в том числе при отсутствии инфекционного фона;
9. изучение влияния вредных экологических веществ на наследственный аппарат животных;
10. изучение генетически детерминированных реакций животных на лекарственные препараты;
11. создание устойчивых к болезням, с низким генетическим грузом и приспособленных к определенным условиям среды стад, линий, типов, пород. Последние две проблемы — предмет изучения селекционно-ветеринарной генетики;
12. использование методов биотехнологии для повышения резистентности животных к болезням.

2. Этапы развития генетики

Датой рождения генетики принято считать 1900 г., когда Г. де Фриз, К. Корренс и Э. Чермак переоткрыли законы Г. Менделя (1865). В развитии генетики можно выделить три этапа:

первый (с 1900 по 1925 г.) — этап классической генетики. В этот период были переоткрыты и подтверждены на многих видах растений и животных законы Г. Менделя, создана хромосомная теория наследственности (Т. Г. Морган);

второй (с 1926 по 1953 г.) — этап широкого развертывания работ по искусственному мутагенезу (Г. Меллер и др.). В это время было показано сложное строение и дробимость гена, заложены основы биохимической, популяционной и эволюционной генетики, доказано, что молекула ДНК является носителем наследственной информации (О. Эвери и др.)» были заложены основы ветеринарной генетики;

третий (начиная с 1953 г.) — этап современной генетики, для которого характерны исследования явлений наследственности на молекулярном уровне. Была открыта структура молекулы ДНК (Ф. Крик, Дж. Уотсон), расшифрован генетический код (Ф. Крик, М. Ниренберг, С. Очоа, Д. Маттеи и др.), химическим путем синтезирован ген (Г. Корана).

В настоящее время успешно развивается генетическая инженерия, давшая возможность переносить гены из одного организма в другой. Значительные достижения имеются в области генетики микроорганизмов, растений.

Большой вклад в развитие генетики внесли отечественные ученые. Научные генетические школы созданы Н. К. Кольцовым, Ю. А. Филипченко, Н. И. Вавиловым, А. С. Серебровским. Г. А. Надсон и Г. С. Филиппов получили искусственным путем мутации. Н. И. Вавилов сформулировал закон гомологических рядов наследственной изменчивости. Г. Д. Карпеченко предложил метод преодоления бесплодия у отдаленных гибридов. А. С. Серебровский и др. показали сложное строение и дробимость гена. С. С. Четвериков — основатель учения о генетике популяций. Б. Л. Астауров на тутовом шелкопряде доказал возможность искусственного регулирования пола. Большой вклад в становление ветеринарной генетики в нашей стране внес академик Л. К. Эрнст. В Новосибирске создан первый НИИ ветеринарной генетики и селекции.

Значение генетики для практики. Большое значение имеют теоретические исследования по проблемам генетической инженерии в селекции растений, микроорганизмов и

животных, разработке более эффективных методов и средств предупреждения болезней и лечения животных. В большой степени от успешного развития генетики зависят решение проблемы пищевых ресурсов, охрана здоровья человека и животных, борьба с наследственными болезнями, охрана окружающей среды.

Фундаментальные открытия в современной генетике реализуются в селекции растений, животных и микроорганизмов. За последние годы созданы гибриды ячменя и пшеницы, ячменя, ржи, выведены сорта пшеницы, способные давать более 100 центнеров зерна с 1 га, высокомасличные сорта подсолнечника с содержанием жира в семенах до 55 %, сорт подсолнечника, масло которого по составу сходно с оливковым. Выведены фитофтороустойчивые и ракоустойчивые сорта картофеля, триплоидная сахарная свекла и много других сортов растений. В растениеводстве широко используется явление тотипотентности, т. е. способности любой соматической клетки дать начало растению. Разработан метод микроклонального размножения нового сорта винограда, устойчивого к филлоксере.

3. Методы генетики

Явления наследственности и изменчивости на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях изучают, используя следующие основные методы:

Гибридологический анализ основан на использовании системы скрещивания в ряде поколений для определения характера наследования признаков и свойств. Гибридологический анализ — основной метод генетики.

Генеалогический метод заключается в использовании родословных для изучения закономерностей наследования признаков, в том числе наследственных болезней. Этот метод в первую очередь применяется при изучении наследственности человека и медленно плодящихся животных.

Цитогенетический метод служит для изучения строения хромосом, их репликации и функционирования, хромосомных перестроек и изменчивости числа хромосом. С помощью цитогенетики выявляют разные болезни и аномалии, связанные с нарушением в строении хромосом и изменением их числа.

Популяционно-статистический метод применяется при обработке результатов скрещиваний, изучении связи между признаками, анализе генетической структуры популяций, распространении генетических аномалий в популяциях и т. д.

Иммуногенетический метод включает серологические методы, иммуноэлектрофорез и др., которые используют для изучения групп крови, белков и ферментов сыворотки крови тканей. С его помощью можно установить иммунологическую несовместимость, выявить иммунодефициты, мозаицизм близнецов и т. д.

Онтогенетический метод используют для анализа действия и проявления генов в онтогенезе при различных условиях среды. Для изучения явлений наследственности и изменчивости используют биохимический, физиологический и другие методы.

Методы генетической инженерии широко применяются в биотехнологии (область научно-технического прогресса, использующая биологические процессы для промышленных целей). Методом генетической инженерии во ВНИИ генетики и селекции

промышленных микроорганизмов создан промышленный штамм кишечной палочки, продуцирующий аминокислоту 1-треонин (до 30 г/л раствора), а также штамм — продуцент витамина В_г — рибофлавина. В Институте биоорганической химии создан штамм кишечной палочки, синтезирующий интерферон человека. Созданы штаммы бактерий, продуцирующие аминокислоту лизин, гормон роста человека соматотропин, бактерии, превращающие целлюлозу в сахар, и т. д. Ведутся работы по введению в пекарские дрожжи генов, кодирующих такие белки, как оваль-бумин (белок куриного яйца) и миозин (белок мышц). Получены штаммы бактерий, синтезирующие инсулин человека. Успешно разрабатываются методы микробиологического синтеза вакцин и сывороток.

В животноводстве методы генетики используют:

1. при выведении линий и пород животных, устойчивых к болезням;
2. для уточнения происхождения животных;
3. при оценке производителей по качеству потомства;
4. при цитогенетической аттестации производителей;
5. в пушном звероводстве;
6. для изучения влияния экологически вредных веществ на наследственный аппарат животных и т. д.

В настоящее время генетика занимается изучением следующих основных проблем:

1. проводятся обширные исследования в области генетической инженерии с целью получения в достаточном количестве инсулина, интерферона, антибиотиков, витаминов, незаменимых аминокислот, кормовых и пищевых белков, биологических средств защиты растений и т. д.;
2. решается одна из стратегических задач генетики — регуляция и управление действием генов в онтогенезе. Необходимо выяснить пути реализации генетической информации в признак в процессе онтогенеза. Такие манипуляции уже проводят у амфибий, рыб, мышей. Разрабатываются методы получения генетических копий выдающихся по продуктивности и устойчивости к болезням животных;
3. решается проблема защиты наследственности человека и животных от мутагенного действия радиации и химических мутагенов среды;
4. исследуются вопросы борьбы с наследственными болезнями у человека и животных, создания линий, пород, устойчивых к болезням.

1.2 Лекция №2 (2 часа)

Тема: «Цитологические основы наследственности»

1.2.1 Вопросы лекции:

1. Клетка как генетическая система (Кариотип. Геном)
1. Митоз
1. Мейоз

1.2.2 Краткое содержание вопросов:

1. Клетка как генетическая система (Кариотип. Геном).

Организм животных состоит из миллиардов клеток, и все они ведут начало от двух половых клеток (гамет) — отцовского сперматозоида и материнской яйцеклетки. При слиянии гамет — оплодотворении начинаются сложные процессы размножения, деления клеток и их структур, дифференциации тканей, формирования органов, становления видовых, породных и индивидуальных особенностей будущих телят, жеребят, поросят и т. д. Эти процессы реализуются под строгим генетическим контролем. Существуют материальные носители наследственности, которые локализованы главным образом в ядрах клеток. Важную роль в реализации генетической программы выполняют органоиды клетки: рибосомы, митохондрии. Анализ генетических структур клеток, их количественной и качественной изменчивости составляет предмет исследований цитогенетики. В последнее время возникло новое направление — ветеринарная цитогенетика, основная задача которой — изучение распространения хромосомной патологии в породах животных.

2. Митоз

В основе роста и дифференцировки органов и тканей животных лежит размножение клеток, смена одного клеточного поколения на другое. Клетки тела, или соматические клетки, разных поколений содержат одинаковое количество генетического материала, что обеспечивается особым механизмом деления, получившим название митоз.

В процессе митоза выделяют две основные стадии — интерфазу и собственно митоз.

Интерфаза предшествует митозу. В ней выделяют три периода:

- 1) пресинтетический (G₁);
- 2) синтетический (S) и
- 3) постсинтетический (G₂). В G₁-периоде в клетке происходит накопление белка, РНК и других продуктов, необходимых для образования клеточных структур и последующего деления. В течение S-периода синтезируется ДНК и происходит ауторепродукция (самоудвоение) хромосом, что приводит к возникновению второй хроматиды. В G₂-периоде продолжается синтез ДНК и белков, накапливается энергия.

Время прохождения клетками разных периодов интерфазы неодинаково. Так, по данным Л. В. Трофимовой, клетки костного мозга кур проходят периоды G₁, S, G₂ и митоза соответственно за 6, 7, 8 и 23 ч. ДНК в хромосомах также синтезируется с разной скоростью. Например, у коров наибольшей скоростью репликации характеризуется 14-я хромосома. Задержка в репликации (синтезе) ДНК на отдельных хромосомах может быть причиной возникновения патологии у животных.

Вслед за интерфазой начинается деление клетки — митоз. Выделяют четыре стадии митоза: профазу, метафазу, анафазу, телофазу. При изучении митоза основное внимание уделяется поведению хромосом. В профазе хромосомы представляют собой клубок длинных тонких хроматиновых нитей. К концу этой фазы митоза длина их уменьшается за счет спирализации примерно в 25 раз, наблюдается также разрушение ядрышка. Предполагают, что вещество ядрышка участвует в образовании веретена деления. Нити веретена прикрепляются к центриолям, которые в этот период уже разделились и находятся на противоположных полюсах клетки. Завершается профаза разрушением ядерной оболочки клетки.

В метафазе утолщенные спирализованные хромосомы перемещаются в экваториальную плоскость клетки. В этот момент они имеют характерную для каждой из них форму, удобную для цитогенетического анализа.

Началом анафазы считают момент разделения удвоенных хромосом на хроматиды, которые затем расходятся к противоположным полюсам клетки.

Во время телофазы сестринские хроматиды достигают противоположных полюсов и деспирализуются. Так формируются два дочерних ядра. Наряду с делением материнского ядра происходит деление цитоплазмы, образование оболочек клеток.

Таким образом, в процессе митоза из одной материнской клетки возникают две дочерние, содержащие такой же набор хромосом, как и у исходной клетки. Основное биологическое значение митоза состоит в точном распределении хромосом между двумя дочерними клетками, тем самым сохраняются преемственность хромосомного набора в ряду клеточных поколений и полноценность генетической информации каждой клетки, что необходимо для осуществления общих и специфических функций живого организма.

3. Мейоз

Процесс развития половых клеток носит название гаметогенез. У самцов этот процесс называется спермиогенезом, а у самок - овогенезом. Половые клетки в развитии последовательно проходят следующие стадии: размножения, роста, созревания и формирования. В стадии размножения клетки интенсивно делятся митотическим путем. В стадии роста клетки накапливают питательные вещества, особенно при овогенезе.

Наиболее ответственный момент с точки зрения генетики при образовании половых клеток — мейоз — процесс редукционного и эквационного деления ооцитов и сперматоцитов, в результате которого образуются половые клетки с гаплоидным набором хромосом. Рассмотрим наиболее важные моменты поведения хромосом в мейозе. В этом процессе выделяют две стадии деления: 1) редукционную и 2) эквационную.

Непосредственно перед мейозом клетки половых желез находятся в интерфазе.

Редукционное деление начинается с профазы I, которая подразделяется на пять фаз. На первой стадии профазы I — лептонеми хромосомы деспирализованы, они в 2—5 раз длиннее метафазных. Под электронным микроскопом можно видеть, что они состоят из двух хроматид, соединенных центромерой. На следующей стадии — зигонемы наблюдаются притяжение и слияние (конъюгация) гомологичных хромосом. Каждая пара конъюгирующих хромосом образует бивалент, а по числу хроматид — тетраду. На этой стадии происходит образование синаптонемного комплекса (СК), входящего в состав бивалента. Нарушение формирования СК между гомологичными хромосомами наблюдают у гетерозиготных носителей хромосомных aberrаций. Далее, на стадии пахинемы, происходят утолщение и укорочение хромосом, так что сестринские хроматиды становятся хорошо различимыми, на отдельных из них можно видеть и ядрышки.

Следующая фаза — диплонема характеризуется тем, что конъюгирующие хромосомы начинают отталкиваться и постепенно расходятся от центромеры к концам. При этом образуются характерные фигуры, напоминающие греческую букву «хи» (х) и получившие вследствие этого название хиазмы. В точках соприкосновения гомологичных хромосом возникают разрывы. Они могут быть одинарными, двойными и более сложными. В результате разрывов образуются фрагменты хроматид, которые затем могут воссоединяться на другой хромосоме, изменяя тем самым комбинацию генетического материала в клетке.

Обмен участками между гомологичными хромосомами получил название *кроссинговера*.

На последней стадии профазы I — диакинезе происходит резкое укорочение хромосом, так что к концу этой стадии хроматиды остаются связанными только на концевых участках. Этим и заканчивается профаза I. Необходимо отметить, что при более детализированном изучении мейоза в профазе выделяют и другие промежуточные стадии, например пролептонему, диктионему и т. д.

На стадии метафазы I биваленты располагаются в плоскости экватора центромерами к противоположным полюсам. Силы отталкивания здесь увеличиваются.

В анафазе I начинается расхождение гомологичных хромосом к противоположным полюсам, которое носит случайный характер. Каждая из пар гомологичных хромосом имеет одинаковую вероятность распределения в одну из двух дочерних клеток.

В телофазе I хромосомы достигают полюсов клетки. Затем восстанавливаются ядерная оболочка и ядрышко, хромосомы деконденсируются. В конце телофазы делится цитоплазма (цитокинез) и образуются две дочерние клетки с гаплоидным набором хромосом.

Отличительной особенностью первой стадии мейоза является то, что в период анафазы сами хромосомы не делятся на хроматиды, как при митозе, а лишь расходятся гомологичные пары хромосом к разным полюсам клетки и формируются две дочерние клетки с редуцированным наполовину набором хромосом, состоящим, однако, из двух хроматид.

Между первой и второй стадиями мейоза имеется непродолжительный период покоя — интеркинез, во время которого не происходит репродукции хромосом.

Эквационное, или уравнительное, деление аналогично митозу, где клетки последовательно проходят четыре фазы: профазу II, метафазу II, анафазу II, телофазу II. На стадии анафазы II хромосомы разделяются на две хроматиды, которые затем с помощью нитей веретена расходятся к противоположным полюсам. На стадии телофазы II заканчивается формирование еще двух клеток. В результате после двух последовательных, стадий мейоза из каждой клетки образуются четыре новые с гаплоидным набором хромосом.

Таким образом, в результате двух мейотических делений из одной клетки с диплоидным набором хромосом образуются четыре клетки с гаплоидным набором хромосом и в 2 раза меньшим, чем в соматических клетках, содержанием ДНК. Вероятностный характер распределения материнских и отцовских гомологичных хромосом в разные клетки позволяет создать новые комбинации негомологичных хромосом в яйцеклетках и спермиях, чем достигается огромное число новых сочетаний наследственной информации.

Новые сочетания генетической информации возникают вследствие кроссинговера. Каждая из хромосом в метафазе I содержит участки, происходящие от отцовских и материнских хромосом. Рекомбинации хромосом при кроссинговере и вероятностное распределение их по клеткам — причины наследственной изменчивости организма. Мейоз, оплодотворение и митоз обеспечивают поддержание постоянства числа хромосом в смежных поколениях видов. В этом их биологическое значение.

Отличительная особенность мейоза у самок — образование в первом и втором мейотических делениях, так называемых полярных телец, которые впоследствии дегенерируют и в размножении не участвуют. Неравные деления в овогенезе обеспечивают яйцеклетке необходимое количество цитоплазмы и запасного желтка, чтобы она могла выжить после оплодотворения. В отличие от спермиогенеза, который у самцов происходит как во внутриутробный (пренатальный) период, так и после рождения (постнатальный период), у самок яйцеклетка после рождения не образуется. Однако к концу пренатального периода у самок накапливается огромное количество овоцитов (у коров, например, десятки тысяч), а созревают и дают начало развитию потомства лишь немногие из них. Этот резерв генетического материала, особенно у малопродуктивных животных, таких, как крупный рогатый скот, в настоящее время начинают использовать для искусственного стимулирования созревания многих яйцеклеток, последующего их оплодотворения и пересадки (трансплантации) специально подготовленным коровам-реципиентам. Таким образом, от одной ценной коровы в год можно получить не одного, а несколько телят.

1.3 Лекция № 3 (2 часа)

Тема: «Закономерности наследования признаков»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Экспериментальные исследования Г. Менделя
2. Особенности гибридологического метода
3. Законы Г. Менделя

1.3.2 Краткое содержание вопросов:

1. Экспериментальные исследования Г. Менделя

Закономерности наследования признаков впервые установил: Грегор Иоганн Мендель (1822—1884). Начиная с 1856 г. в течение восьми лет он проводил свои знаменитые, опыты по скрещиванию разных сортов гороха. В 1865 г. на заседании Общества естествоиспытателей в г. Брно Мендель выступил дважды с докладами о результатах проведенных опытов, и в 1866 г. в трудах этого Общества была напечатана его работа «Опыты над растительными гибридами». Академик Н. И. Вавилов писал: «Маленькая книжка Менделя является, бесспорно, одной из замечательнейших биологических работ, на которой должен учиться каждый биолог, каждый селекционер и исследователь. Она ценна для нас как блестящий метод исследования важнейшего явления жизни — наследственности».

Работа Менделя была непонята его современниками и прошла в свое время незамеченной. Биология в тот период не была готова к восприятию его идей. Только в 1900 г. три ботаника (Г. де Фриз в Голландии, Э. Чермак в Австрии и К. Корренс в Германии) на основании проведенных ими опытов почти одновременно пришли к законам, установленным Менделем 35 лет назад. Ими была обнаружена работа Менделя, и с тех пор открытие Менделя стало достоянием широкой научной общественности. Закономерности, установленные Менделем, были подтверждены на тысячах растительных и животных объектов.

Современное учение о наследственности покоится на открытиях Менделя, и исторически возникновение генетики неизбежно связывается с его именем. Мендель разработал свой

гибридологический метод исследования, названный впоследствии законом Менделя, который позволил ему установить четкие закономерности в наследовании признаков.

2. Особенности гибридологического метода

Сущность гибридологического метода заключается в следующем:

1) для скрещивания выбирают родительские формы, четко различающиеся по одной, двум или трем парам контрастных, альтернативных признаков. Например, у одного растения окраска семядолей зрелых семян желтая, у другого — зеленая, форма семян — круглая или морщинистая и т. д. Скрещивание, в котором родители отличаются друг от друга одним признаком, в последующем получило название моногибридного, двумя — дигибридного, многими признаками — полигибридного;

2. выбранные для скрещивания родительские формы должны быть генетически чистыми. После двухлетнего предварительного испытания Мендель отобрал 22 сорта гороха, которые за время опытов ежегодно высевали и все без исключения сохраняли свою константность;
3. Мендель ввел точный математический учет наследования каждого отдельного признака. Наблюдению подвергают все без исключения растения в каждом отдельном поколении. Как правило, для определения наследования признака используют гибриды первого, второго и иногда третьего поколений;
4. гибриды и их потомки в каждом из следующих друг за другом поколений не должны обнаруживать заметных нарушений в плодовитости;
5. Мендель ввел буквенное обозначение наследственных задатков (генов) различных признаков. Например, А — ген доминантного признака, а — ген рецессивного признака.

При гибридологическом анализе довольно часто используют реципрокное скрещивание. Реципрокным называют два скрещивания, в одном из которых доминантным признаком отличается отцовская форма, в другом — материнская: например, в одном скрещивании отец черной масти, мать красной, в другом, наоборот, мать черной масти, отец красной.

Одна из главных причин, обеспечивших успех в работе Менделя, - удачный выбор объекта исследования. Горох - однолетнее растение, имеет много сортов с четко различающимися признаками, легко культивируется, строгий самоопылитель, строение его цветка таково, что почти невозможен занос чужой пыльцы, но при необходимости можно производить искусственное опыление.

При анализе закономерностей наследования признаков пользуются некоторыми терминами и понятиями, введенными уже после переоткрытия законов Менделя. Датский ученый В. Иогансен в 1909 г. ввел понятия «ген», «генотип» и «фенотип». Ген — наследственный задаток. Генотип — совокупность наследственных задатков (генов) организма. Фенотип — совокупность всех признаков и свойств организма, доступных наблюдению и анализу. Английский зоолог У. Бетсон ввел понятия «гомозигота» и «гетерозигота». Гомозиготными называют особей, получивших от отца и матери одинаковые наследственные задатки (гены) по какому-то конкретному признаку. Гетерозиготными называют особей, получивших от отца и матери разные гены. Таким образом, по генотипу особи могут быть гомозиготными (АА или аа) или гетерозиготными (Аа). Фенотип формируется под влиянием генотипа и условий среды. Фенотип можно выразить по определенному признаку такими словами, как рогатый или комолый, высокий или низкий, черный или красный. Наследственные задатки (гены) альтернативных признаков были названы аллелями. Аллели (аллельные гены) расположены в одинаковых точках (локусах) парных гомологичных хромосом. Один

аллельный ген (А или а) зигота получает с яйцеклеткой от матери, другой (А или а) — со сперматозоидом от отца.

При изучении наследования признаков составляются схемы скрещивания; скрещивание обозначают знаком умножения (х), который ставится между родителями. При написании схем родительские формы обозначают буквой Р (от слова *parentes* — родители), женский пол обозначают знаком ♀ (символ планеты Венеры), мужской - ♂ (символ планеты Марс). Рядом со знаками \$ и </ проставляют генотип родителя, а ниже записывают типы производимых ими гамет (половых клеток). Затем в результате соединения гамет родителей определяют генотип потомства. Полученное в результате скрещивания потомство называют гибридами и обозначают буквой F (от слова *filii* — дети), внизу буквы ставят цифру, указывающую, к какому поколению оно относится, например, F1 — гибрид первого поколения, F2 — второго, F3 — третьего поколения. Мендель вел учет наследования отдельно по каждой паре альтернативных признаков, отвлекаясь от других различий между родительскими формами. На основании опытов Мендель установил три закона: единообразия гибридов первого поколения, расщепления, независимого наследования признаков, а также правило чистоты гамет.

3. Законы Г.Менделя

ЗАКОН ЕДИНООБРАЗИЯ ГИБРИДОВ ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ

Мендель избрал для анализа семь пар четко различающихся признаков: форма семян — круглая или морщинистая, окраска семядолей — желтая или зеленая, окраска цветков — пурпурная или белая, рост растения — высокий или низкий, форма бобов — выпуклая или с перехватом, окраска незрелых бобов — зеленая или желтая, расположение цветков — пазушное или верхушечное. Мы можем сказать, что взятые для скрещивания сорта гороха различались по фенотипу. По генотипу растения были гомозиготными, так как принадлежали к чистым сортам и получили от своих родителей одинаковые наследственные задатки (АА или аа). Скрещивая между собой горох с альтернативными признаками, Мендель обнаружил, что гибриды первого поколения все одинаковы. При этом потомки были сходны только с одним из родителей, хотя гены данного признака они получили от обоих. Признак одного из родителей как бы исчезал.

Признак, проявившийся у потомков (гибридов) первого поколения, Мендель назвал доминантным и наследственный задаток (ген) этого признака обозначил большой буквой алфавита (А или Вит. д.) Признак, оставшийся у гибрида скрытым, был назван рецессивным и наследственный задаток его был обозначен такой же, но малой буквой алфавита (а или Лит. д.). Таким образом, было открыто два важнейших явления — доминантности и рецессивности. Так, при скрещивании гороха с круглыми и морщинистыми семенами все потомки первого поколения оказались с круглыми семенами. Значит, круглая форма семян доминирует и ген круглой формы можно обозначить буквой А. Морщинистая форма не проявилась, она является рецессивной, и ген морщинистой формы семян обозначается буквой а (аллельные гены обозначаются одинаковыми буквами).

После того как было установлено, что круглая форма доминантна, а морщинистая рецессивна, можно обозначить генотип исходных родителей: с круглой формой — АА, с морщинистой — аа. В половые клетки растений попадает только один из этих генов. У сорта с круглой формой семян все гаметы несли ген А, у сорта с морщинистой формой — ген а. В результате потомки F1 получили разные гены: от одного родителя — А, от другого — а, т. е. они были по генотипу гетерозиготны (Аа). По фенотипу полученные гибриды

были все одинаковы — с круглыми семенами, независимо от того, какому растению принадлежали доминирующие признаки — отцовскому или материнскому.

На основании результатов опыта было установлено, что в первом поколении проявляются доминирование и единообразие потомков первого поколения. В последующем оказалось, что полное доминирование признаков наблюдается не всегда. В связи с этим открытая Менделем закономерность получила название закона единообразия гибридов первого поколения. Он заключается в том, что при скрещивании гомозиготных родительских форм, различающихся по своим признакам, первое поколение получается единообразным по фенотипу и генотипу.

Установленная Менделем закономерность применима как к растениям, так и к животным. Разберем это на примере скрещивания между собой свиней белой и черной масти. Допустим, что гены белой (А) и черной (а) масти расположены в одной из гомологичных пар хромосом свиньи. Тогда белая чистопородная свиноматка, получившая от обоих родителей гены белой масти, будет иметь обе хромосомы с такими же генами (АА). Черный чистопородный хряк, получивший от обоих родителей гены черной масти, будет иметь обе хромосомы с геном черной масти (аа). В первом поколении в соответствии с первым правилом Менделя наблюдается единообразие — все потомки по фенотипу белые, по генотипу гетерозиготные (Аа).

ЗАКОН РАСЩЕПЛЕНИЯ

В следующем опыте путем скрещивания между собой гибридов первого поколения Мендель получил второе поколение, в котором наряду с доминирующими признаками проявились и рецессивные. Появление во втором поколении растений и с доминантным, и с рецессивным признаками Мендель назвал явлением расщепления. Соотношение потомков с доминантным и рецессивным признаками оказалось очень близким 3:1. Так, по окраске семян в F₂ из 8023 горошин было желтых 6022, зеленых — 2001 (соотношение 3,01:1). Результаты были аналогичны по всем семи парам изученных признаков.

На основании того, что рецессивный признак скрыт у гибридов в F₁ и вновь появляется в F₂ (выщепляется у потомков гибридов), Мендель делает вывод, что наследственность дискретна, любой признак, по которому организмы различаются, представлен в наследственности отдельными наследственными задатками. Он выдвинул гипотезу о парности наследственных задатков в организме и предположил, что половые клетки получают один из них.

Из первого опыта нам известно, что гибриды F₁ по фенотипу имеют круглую форму, по генотипу гетерозиготны (Аа). Гетерозиготные особи F₁ образуют по два сорта гамет: с доминантным геном круглой формы семян (А) и с рецессивным геном морщинистой формы (а). При скрещивании гибридов F₁ между собой происходит равновероятное сочетание гамет родителей с тем или иным геном, что и обуславливает расщепление по фенотипу 3:1 во втором поколении. Наследование признаков идет по следующей схеме:

Три части потомства получают доминантный признак круглой формы семян, одна часть — рецессивный признак морщинистой формы. Расщепление по генотипу будет 1:2:1. Такое расщепление по генотипу было подтверждено опытами Менделя. При самоопылении растения с рецессивным признаком дали константное (гомозиготное) потомство (аа). Из растений с доминантным признаком (круглой формы) 1/3 была константной (АА), а 2/3 потомков были гетерозиготными по генотипу (Аа), так как давали расщепление по фенотипу 3:1. Было выяснено, что в основе соотношения доминантных и рецессивных

признаков 3:1 лежит различие в генетической основе особей второго поколения. На основании проведенных исследований установлен закон расщепления. Закон расщепления заключается в том, что во втором поколении моногибридного скрещивания наблюдается расщепление по фенотипу в соотношении 3:1, по генотипу в соотношении 1:2:1 (одна часть особей, гомозиготных по доминантному признаку, две части гетерозиготных и одна часть гомозиготных по рецессивному признаку).

Аналогичная картина наблюдается и при анализе наследования качественных признаков у животных, например белой и черной масти у свиней. Возвратимся к рисунку 8. Вспомним, что потомки первого поколения обладают двумя хромосомами той же пары, что и родители, но от матери пришла хромосома с геном белой, от отца — с геном черной масти. Эти животные по фенотипу белые, по генотипу гетерозиготны, так как имеют разные аллельные гены (Aa). При образовании половых клеток в результате мейоза гомологичные хромосомы разойдутся, образуя два сорта гамет — с геном белой масти (A) и геном черной масти (a). При спаривании двух особей из F1 эти сорта гамет вследствие равных шансов для случайной встречи в процессе оплодотворения свободно рекомбинируются друг с другом. В результате во втором поколении возникает расщепление по фенотипу в количественном соотношении 3:1, т. е. на три части потомков с доминантным признаком белой масти приходится одна часть потомков с рецессивным признаком черной масти. Расщепление по генотипу составляет 1AA:2 Aa:1aa, т. е. 1/4 часть потомков гомозиготна по доминантному признаку, 2/4 гетерозиготны, 1/4 гомозиготна по рецессивному признаку.

В основе расщепления 1:2:1 по генотипу лежат следующие биологические явления: расположение генов в хромосомах, парность хромосом в клетках организма, мейоз, обеспечивающий гаплоидный набор хромосом в половых клетках и случайный характер соединения любой яйцеклетки с любым сперматозоидом, с тем или иным геном.

1.4 Лекция № 4 (2 часа)

Тема: «Хромосомная теория наследственности»

1.4.1 Вопросы лекции

1. Открытие явления сцепления. Опыт Т.Моргана
2. Основные положения хромосомной теории
3. Генетические карты

1.4.2. Краткое содержание вопросов

1. Открытие явления сцепления. Опыт Т.Моргана

Сцепленное наследование открыли в 1906 г. английские генетики У. Бэтсон и Р. Пеннет при изучении наследования признаков у душистого горошка, но они не смогли вскрыть причины этого явления. Природу сцепленного наследования в 1910 г. выяснили ученые Т. Морган и его сотрудники К. Бриджес и А. Стертевант. В качестве объекта исследования они избрали плодовую муху дрозофилу, которая оказалась очень удобной для генетических опытов. В клетках тела дрозофилы находится 4 пары хромосом. Она отличается очень высокой плодовитостью — одна пара дает более ста потомков. У нее большая скорость развития — в течение 12—15 дней после оплодотворения из яйца развиваются личинка, куколка и взрослая особь, которая почти сразу же способна давать потомство. Можно исследовать в течение года более двадцати поколений. Мухи серого

цвета, с красными глазами, имеют маленькие размеры (около 3 мм), легко разводятся в биологических пробирках; для изучения их признаков можно пользоваться лупами. При просмотре сотен тысяч особей Морган обнаружил множество разных мутаций: встречались мухи с черным и желтым телом, с белыми и другого цвета глазами, с измененной формой и положением крыльев и т. д. Иногда попадались особи, имеющие сразу несколько мутаций, например черное тело, зачаточные крылья, киношные глаза.

Изучая наследование разных пар признаков при дигибридном и полигибридном скрещиваниях, Морган и его сотрудники обнаружили большое число примеров сцепленного (совместного) их наследования. Все изученные признаки распределились на четыре группы сцепления в соответствии с числом и размерами хромосом у дрозофилы. На этом основании Морган сделал вывод о том, что гены, определяющие эти признаки, находятся в хромосомах. Гены, расположенные в одной хромосоме, представляют собой группу сцепления.

Сцепление генов — это совместное наследование генов, расположенных в одной и той же хромосоме. Количество групп сцепления соответствует гаплоидному числу хромосом. Например, у дрозофилы 4 группы сцепления, у человека 23, у крупного рогатого скота 30, у свиней 19 и т. д.

Мысль о расположении генов в хромосомах высказал Сеттон еще в 1902 г. Он обнаружил параллелизм в поведении хромосом в мейозе и наследовании признаков у одного из видов кузнечика. Дальнейшие исследования, проведенные Морганом, показали, что сцепление генов, расположенных в одной хромосоме, может быть полным или неполным.

Наиболее четко разница в поведении сцепленных и независимо наследующихся генов выявляется при проведении анализирующего скрещивания. При независимом наследовании двух пар признаков у гибрида F₁ (AaBb) с равной вероятностью образуется 4 сорта гамет: AB, Ab, aB, ab. При скрещивании с полным рецессивом (aabb) количество сортов гамет у гибрида обуславливает число типов потомков и одинаковую вероятность их появления, так как гаметы рецессивной особи (ab) не могут изменить проявления доминантных и рецессивных генов гамет гибрида. В результате соотношение фенотипов потомства будет равно 1:1:1:1. Если же обе пары аллельных генов расположены в одной паре хромосом, то при образовании половых клеток гены этих аллелей не смогут свободно комбинироваться. В этом случае наблюдается сцепленное наследование.

2. Основные положения хромосомной теории.

ПОЛНОЕ СЦЕПЛЕНИЕ. Т. Морган скрещивал черных длиннокрылых самок с серыми с зачаточными крыльями самцами. У дрозофилы серая окраска тела доминирует над черной, длиннокрылость — над зачаточными крыльями. Обозначим ген серой окраски тела В, аллельный ему ген черной окраски тела б; ген длиннокрылости V, аллельный ему ген зачаточных крыльев v. Обе пары этих генов находятся в одной и той же второй паре хромосом. По обоим парам признаков родительские формы были гомозиготны: самка по рецессивному признаку черного тела (bb) и доминантному признаку длиннокрылости (VV), самец по доминантному признаку серой окраски (BB) и рецессивному признаку зачаточных крыльев (vv). Гаметы родителей при редукционном делении получают у материнской формы хромосому с генами b и V, у отцовской — с генами B и v. Все потомство первого поколения (F₁) имело серое тело и длинные крылья и было гетерозиготно по обоим парам признаков (bV/Bv). Затем из F₁ были отобраны самцы, которых скрестили с гомозиготными по обоим рецессивным генам самками, черными зачаточнокрылыми (bv/bv), т. е. было проведено анализирующее скрещивание, в

результате которого при независимом комбинировании признаков должны были бы получить потомство четырех фенотипов в равных соотношениях: серых длиннокрылых, серых с зачаточными крыльями, черных длиннокрылых, черных с зачаточными крыльями, но были получены потомки только «двух» фенотипов, похожих на исходные родительские формы: черные длиннокрылые и серые короткокрылые. В этом случае наблюдается полное сцепление признаков. Это связано с тем, что у гетерозиготного самца в одной и той же хромосоме из гомологичной пары расположены и ген черной окраски, и ген длинных крыльев, в другой — ген серой окраски и ген зачаточнокрылости.

При спермиогенезе в период мейоза гомологичные хромосомы расходятся в разные половые клетки. Образуется только два сорта гамет: один с хромосомой, которая несет гены *b* и *V*, другой с хромосомой, в которой расположены гены *B* и *v*. При сочетании указанных гамет с гаметами особи с рецессивными признаками и образуется потомство только двух типов. При полном сцеплении гены, расположенные в одной хромосоме, всегда передаются вместе. Полное сцепление пока установлено только у самцов дрозофилы и самок тутового шелкопряда.

НЕПОЛНОЕ СЦЕПЛЕНИЕ. В следующем опыте, так же как и в предыдущем, Морган скрещивал черных длиннокрылых самок с серыми зачаточнокрылыми самцами. В первом поколении получил все потомство серое длиннокрылое. Затем снова произвел анализирующее скрещивание, но из первого поколения отобрал не самца, а самку и скрестил ее с черным с зачаточными крыльями самцом. В этом случае появилось потомство не двух типов, как при полном сцеплении, а четырех: серое с зачаточными крыльями, черное длиннокрылое, серое длиннокрылое и черное с зачаточными крыльями, но не в равных соотношениях, как при независимом комбинировании признаков, а со значительным преобладанием фенотипов, сходных с родительскими формами. 41,5 % мух было серых с зачаточными крыльями, как у одного исходного родителя, и 41,5 % особей черных длиннокрылых, как у другого исходного родителя. Только 17 % потомков родилось с новым сочетанием признаков: 8,5 % черных с зачаточными крыльями и 8,5 % серых длиннокрылых. Таким образом, 83 % потомков имели сочетание признаков, как у исходных родительских форм, но появились особи и с новым сочетанием признаков. Следовательно, сцепление является неполным. Встал вопрос: почему появились особи с новой комбинацией родительских признаков? Для объяснения этого явления Морган использовал и развил теорию хиазмотипии бельгийского цитолога Янсенса. В 1909 г. Янсенс наблюдал, что при спермиогенезе у саламандры в профазе мейоза гомологичные хромосомы конъюгируют, а затем, при начале расхождения, образуют фигуры в виде греческой буквы «хи» (х), откуда это явление и получило название хиазмотипии, а фигуры перекреста хромосом — название хиазм. Морган на основании этих наблюдений Янсенса высказал гипотезу о том, что при образовании хиазм гомологичные хромосомы обмениваются участками. Если сцепленные гены лежат в одной хромосоме и у гетерозигот при образовании гамет происходит рекомбинация этих генов, значит, гомологичные хромосомы во время мейоза обменивались своими частями. Обмен гомологичных хромосом своими частями называется перекрестом или кроссинговером (английское слово *crossingover* означает образование перекреста). Особей с новыми сочетаниями признаков, образовавшимися в результате кроссинговера, называют кроссоверами.

Вернемся к рисунку 14. У самки F₁, гетерозиготной по обоим парам признаков, в одной из гомологичных хромосом расположены гены *b* и *V*, в другой — аллельные им гены *B* и *v*. В профазе редукционного деления, когда две гомологичные хромосомы соединились в один бивалент, каждая из хромосом удвоена и состоит из двух хроматид. Всего будет 4 хроматиды. Между двумя хроматидами гомологичных хромосом и происходит обмен их частями. В результате ген *b*, расположенный в хроматиде одной гомологичной хромосомы, может соединиться с геном *v*, расположенным в хроматиде другой

гомологичной хромосомы, и как результат одного события образуется вторая хроматина, где соединятся гены В и V. В дальнейшем хроматиды разойдутся и образуются кроссоверные гаметы с хромосомами с новым сочетанием генов (b v и B V).

Две другие хроматиды из пары гомологичных хромосом не участвуют в перекресте и сохраняют в первоначальном сочетании материнские (bV) и отцовские (Bv) гены. Образование новых кроссоверных гамет обеспечило появление дрозофил с новым сочетанием признаков: черных с зачаточными крыльями и серых длиннокрылых. Однако большая часть потомков будет сходна с исходными родителями (черные длиннокрылые и серые короткокрылые). Морган приходит к выводу, что количество появления новых форм зависит от частоты перекреста, которая определяется по следующей формуле:

Если, например, общее число потомков 900, а новых кроссоверных форм 180, то частота перекреста будет составлять 20 %. Морган установил, что частота перекреста между определенной парой генов — относительно постоянная величина, но различная для разных пар генов. На основании этого был сделан вывод о том, что по частоте перекреста можно судить о расстояниях между генами. За единицу измерения перекреста принята его величина, равная 1 %. Иногда ее называют морганидой. Величина перекреста зависит от расстояния между изучаемыми генами. Чем больше отдалены гены друг от друга, тем чаще происходит перекрест; чем ближе они расположены, тем вероятность перекреста меньше. Установлено, что количество кроссоверных особей к общему числу потомков никогда не превышает 50%, так как при больших расстояниях между генами чаще происходит двойной кроссинговер и часть кроссоверных особей остается неучтенной. Их можно учесть при изучении не двух пар сцепленных признаков, а трех или четырех. В этом случае, учитывая двойные и тройные перекресты, можно точнее судить о расстояниях и частоте перекреста между генами.

3. Генетические карты

КАРТЫ ХРОМОСОМ. После того как была установлена связь генов с хромосомами и обнаружено, что частота кроссинговера всегда вполне определенная для каждой пары генов, расположенных в одной группе сцепления, встал вопрос о пространственном расположении генов в хромосомах. На основе анализа генетических исследований Т. Морган и его ученик А. Стертевант выдвинули гипотезу линейного расположения генов в хромосоме. Изучение взаимоотношений между тремя генами при неполном сцеплении показало, что частота (процент) перекреста между первым и вторым, вторым и третьим, первым и третьим генами равна сумме или разности между ними. Так, в одной группе сцепления расположены 3 гена — А, В, С. Оказалось, что процент перекреста между генами АС равен сумме процентов перекреста между генами АВ и ВС, частота перекреста между генами АВ оказалась равной АС — ВС, а между генами ВС = АС — АВ. Приведенные данные соответствуют геометрической закономерности в расстояниях между тремя точками на прямой. На этом основании был сделан вывод: гены расположены в хромосомах в линейной последовательности на определенных расстояниях друг от друга.

На основании анализа частоты кроссинговера между генами к настоящему времени для многих видов животных и растений построены карты хромосом. Картой хромосом называется план расположения генов в хромосоме.

Кестл провел опыт анализирующего тригибридного скрещивания кроликов с тройными рецессивами с целью выяснения сцепления между такими генами:

сплошная окраска — С, гималайская окраска — ch;

белый жир — Y, желтый жир — y,

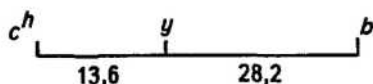
черная окраска — В, коричневая окраска — b.

В результате анализирующего скрещивания было получено 908 кроликов восьми разных фенотипов соответственно количеству разных сортов гамет (табл. 4). Численное соотношение особей разных фенотипических классов указывало на отсутствие независимого наследования по этим трем парам аллелей. Нужно было установить порядок расположения этих генов в хромосоме. Поскольку известно, что численность гамет родительских форм должна значительно превышать численность кроссоверных гамет, то можно прийти к выводу, что родительские комбинации генов были $chYb$ и CyB ($276 + 275 = 551$). Они составляли от общего числа 60,7 %. Далее при анализе исходим из того, что двойных перекрестов должно быть значительно меньше, чем одинарных. Меньше всего было комбинаций $chyB$ и CYb ($7 + 16 = 23$) - 2,5 %. Генотипы этих кроликов отличались от родительских только тем, что Y и y поменялись местами. Так могло произойти только при двойном перекресте, и это является подтверждением того, что расположение генов было именно таким. Вычисляем частоту одиночных перекрестов. От одиночного перекреста на первом участке образовались гаметы CYB и $chyb$ (рис. 15). Случаев одиночного перекреста на первом участке было 101 ($55 + 46$), или 11,1 %. В результате одиночного перекреста на втором участке образовались гаметы $chYb$ и CyB и получено особей 233 ($125 + 108$), или 25,7 %. Для того чтобы определить более правильно частоту одиночных перекрестов, мы должны к каждому из них прибавить величину двойного перекреста - 2,5 %, так как двойной перекрест проходил по обоим участкам хромосомы. Следовательно, частота кроссинговера на первом участке между генами ch и y составит 13,6 % ($11,1 + 2,5$). На втором участке между генами y и b — 28,2 % ($25,7 + 2,5$). Отсюда общая протяженность обоих участков, или процент перекреста между генами ch и b составит 41,8 ($13,6 + 28,2$).

Расстояние между генами ch и b можно определить и путем учета общего числа одиночных перекрестов (без включения двойных перекрестов). Оно составляет 36,8 %. Прибавив к этому удвоенный процент двойных перекрестов, т. е. 5,0 % ($2,5 \cdot 2$), получим 41,8 %, что совпадает с результатами уже сделанного расчета по сумме перекрестов на каждом из участков. Теперь можно проверить, насколько фактическая величина двойного перекреста совпадает с теоретически ожидаемой. Теоретически ожидаемую величину рассчитывают путем перемножения процентов перекреста между генами на первом и втором участках, т. е. $(13,6 : 100)(28,2 : 100)100 = 3,83$ %. Фактически их было 2,5 %. Уменьшение числа ожидаемых двойных кроссоверов показывает, что кроссинговер на одном участке влияет на прохождение обмена на соседнем участке.

Явление торможения кроссинговера на одном участке кроссинговером на другом получило название интерференции. Чем меньше будет расстояние, разделяющее три гена, тем больше интерференция.

Принимая во внимание линейное расположение генов в хромосоме, взяв за единицу расстояния частоту кроссинговера, Морган с сотрудниками составили первую карту расположения генов в одной из хромосом дрозофилы. Затем были составлены карты других ее хромосом. Оказалось, что установленное распределение генов в хромосоме является общебиологической закономерностью. К настоящему времени составлены карты хромосом для животных и растений многих видов. Если для какого-то вида установлена группа сцепления, которая содержит три и более гена, можно составить план их расположения в хромосоме. Так, в разобранный выше примере кроссинговер между генами ch и y обнаружен у 13,6 % кроликов, между генами y и b — у 28,2, а между генами ch и b с учетом двойного перекреста — у 41,8 % животных. Ген b не может быть расположен между генами ch и y , так как расстояние его от гена ch значительно больше, чем между генами ch и y (41,8 % против 13,6 %). Следовательно, три изученных гена расположены в хромосоме в таком порядке:



Внизу цифрами указано расстояние между генами. Далее устанавливают сцепление хотя бы одного из этих генов с каким-то четвертым геном и снова проводят анализирующее скрещивание, выявляя частоту кроссинговера между вновь изучаемым геном и прежними хотя бы двумя уже изученными. На основании величины кроссинговера определяют его место в отношении к известным генам. При построении карт в хорошо изученных хромосомах указывают не расстояние между генами, а расстояние до каждого гена от нулевой точки начала хромосомы.

Для лучшего усвоения материала нами везде доминантный аллель обозначается прописной буквой, рецессивный — строчной. В специальной литературе и при построении карт хромосом название (символ) гена может включать от 1 до 4 букв. Берется такое минимальное количество букв, чтобы сокращенное обозначение не совпало с любым другим обозначением генов данного вида организмов. При сокращении символа гена, как правило, берут первую букву названия признака и в случае необходимости добавляют буквы из середины или конца слова либо из других слов, входящих в название. Для обозначения генов рекомендуется использовать прилагательные или существительные латинского или английского языка. Например, гены курицы обозначают: Barring—B (оперение полосатое); Crest—Cr (черепно-мозговая грыжа); Prenatal—pn (гибель на поздней стадии инкубации).

После построения генетических карт встал вопрос о том, отвечает ли расположение генов в хромосоме, построенное на основании частоты кроссинговера, истинному расположению. С этой целью генетические карты нужно было сравнить с цитологическими. В 30-х годах нашего столетия Пайнтер открыл в слюнных железах дрозофилы гигантские хромосомы, строение которых можно было изучать под микроскопом. Хромосомы эти имеют характерный для них поперечный рисунок в виде дисков разной толщины, которые окрашиваются кармином. Каждая хромосома по длине имеет специфические рисунки дисков, что позволяет отличать разные ее участки друг от друга. Появилась возможность сверить генетические карты с фактическим расположением генов в хромосомах. Материалом для проверки служили хромосомы, у которых вследствие мутации возникали различные хромосомные перестройки: или не хватало отдельных дисков, или они были перевернуты, или удвоены и т. д. Диски служили маркерами, с их помощью определяли характер хромосомных перестроек и место расположения генов, о существовании которых было известно на основании данных генетического анализа. При сопоставлении генетических карт хромосом с цитологическими было установлено, что каждый ген находится в определенном месте (локусе) хромосомы и что гены в хромосомах расположены в определенной линейной последовательности. В то же время было обнаружено, что физические расстояния между генами на генетической карте не вполне соответствуют установленным цитологически. Однако это не снижает ценности генетических карт хромосом для предсказания вероятности появления особей с новыми сочетаниями признаков.

На основании анализа результатов многочисленных экспериментов с дрозофилой Т. Морган сформулировал хромосомную теорию наследственности, сущность которой заключается в следующем: 1) гены находятся в хромосомах, располагаются в них линейно на определенном расстоянии друг от друга; 2) гены, расположенные в одной хромосоме, относятся к одной группе сцепления. Число групп сцепления соответствует гаплоидному числу хромосом; 3) признаки, гены которых находятся в одной хромосоме, наследуются сцепленно; 4) в потомстве гетерозиготных родителей новые сочетания генов, расположенных в одной паре хромосом, могут возникать в результате кроссинговера в процессе мейоза. Частота кроссинговера зависит от расстояния между генами; 5) на

основании линейного расположения генов в хромосоме и частоты кроссинговера как показателя расстояния между генами можно построить карты хромосом.

1.5 Лекция № 5 (2 часа)

Тема: «Генетика пола»

1.5.1 Вопросы лекции:

1. Пол как биологический признак
2. Хромосомные болезни пола
3. Интерсексуальность у животных

1.5.2 Краткое содержание вопросов:

1. Пол как биологический признак

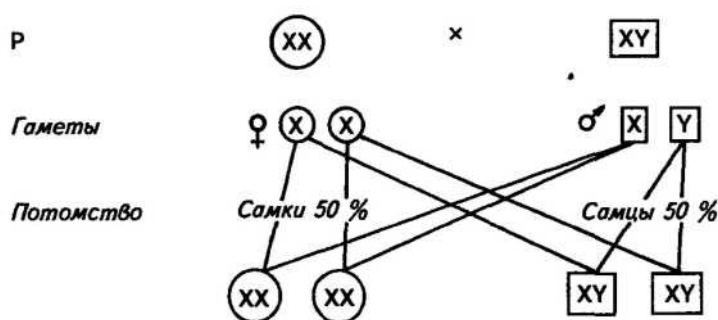
В ходе эволюции у большинства раздельнополых организмов сформировался механизм детерминации пола, обеспечивающий образование равного количества самцов и самок, что необходимо для нормального самовоспроизведения вида. Детерминация пола может происходить на разных этапах размножения. Различают три основных типа детерминации:

- 1) эпигамный, когда пол особи определяется в процессе онтогенеза. Детерминация пола в данном случае значительно зависит от внешней среды;
- 2) прогамный, когда пол будущего дочернего организма определяется в ходе гаметогенеза у родителей особи;
- 3) сингамный, при котором пол дочерней особи определяется в момент слияния гамет. Это наиболее распространенный тип детерминации пола, характерный для животных всех видов.

При прогамном и сингамном типах детерминации пол зависит от определенных половых хромосом.

У самок млекопитающих в диплоидном наборе хромосом выделяют пару одинаковых по форме гоносом (половых хромосом), обозначаемых XX-хромосомами. Самцы в кариотипе содержат X- и Y-хромосомы. Самки птиц содержат две разные (XY), а самцы одинаковые (XX) половые хромосомы. В период редукционного деления (мейоза) у самок млекопитающих образуется один тип гамет с X-хромосомой, поэтому женский пол называют гомогаметным. У самцов образуется два типа гамет с X- и Y-хромосомами, поэтому мужской пол называют гетерогаметным. Определение пола млекопитающих зависит от того, каким спермием будет оплодотворена яйцеклетка. Если яйцеклетка оплодотворена спермием, содержащим X-хромосому, то происходит закладка особи женского пола, если спермий несет Y-хромосому — закладывается особь мужского пола.

Схема образования гамет в мейозе самцов и самок, определения пола при оплодотворении следующая:



Существует равная вероятность закладки особи мужского или женского пола, так как число сперматозоидов у самцов (яйцеклеток у птиц) с X- и Y-хромосомами одинаково.

Самцов обычно рождается на несколько процентов больше, чем самок, но в ходе эволюции выработался механизм сохранения числового соотношения полов, поэтому к возрасту половой и физиологической зрелости это соотношение выравнивается вследствие более высокой смертности самцов.

2. Хромосомные болезни пола

НАРУШЕНИЯ В РАЗВИТИИ ПОЛА. В процессе индивидуального развития (онтогенеза) происходит дифференциация пола — формирование первичных и вторичных половых признаков, которые приводят к возникновению полового диморфизма, т. е. различию между особями противоположных полов по внешним признакам (пропорции телосложения, масса, окраска шерсти, перьев, наличие или отсутствие вымени, различие в строении половых органов и т. д.). Так, самцы сельскохозяйственных животных всех видов крупнее самок, имеют более мужественный вид — массивную голову, передняя часть туловища у них развита сильнее задней и т. д. У самок лучше развита задняя часть туловища, выражены органы, связанные с осуществлением детородной функции и выкармливанием приплода.

У животных нередко нарушено развитие признаков пола. Важный вклад в объяснение причин такого рода патологии внесли исследования Бриджеса и Гольдшмидта. Изучая явления первичного и вторичного нерасхождения половых хромосом у мухи-дрозофилы, Бриджес обнаружил у них изменения первичных и вторичных половых признаков, что зависело от числа половых хромосом и их отношения к числу аутосом в кариотипе (табл. 5). Интерсексуальные особи имели переходные формы между самцами и самками; «сверхсамки» и «сверхсамцы» характеризовались резко выраженными женскими или мужскими признаками. На основании результатов этих исследований Бриджес пришел к выводу, что пол особи определяется отношением числа X-хромосом к числу аутосом (A). У нормальных самок отношение числа X: A равно 1, а у самцов 0,5. Эксперименты Бриджеса показали, что у дрозофил X-хромосома не содержит генов, определяющих пол. Исходя из этих данных, Бриджес сформулировал теорию пола, суть которой состоит в том, что развитие половых признаков зависит от баланса генов, контролирующих их развитие.

Нарушения в системе половых хромосом. В процессе изучения кариотипов животных были выявлены аномалии в системе половых хромосом, связанные в основном с нарушениями расхождения в мейозе, а также в результате обмена клетками разных индивидуумов. В таблице 6 дана сводка таких нарушений и их связь с фенотипом. Как

видно из ее данных, нарушения в системе половых хромосом приводят к резко выраженным нарушениям воспроизводительных функций у животных.

Половой хроматин. В ядрах интерфазных клеток у нормальных особей женского пола очень часто обнаруживают небольшую глыбку хроматина, лежащую у ядерной оболочки или представленную в форме барабанной палочки, прикрепленной тонкой нитью к ядру. Барр и Бертрам, впервые обнаружившие это тельце, назвали его «сателлитом ядра». Лайон установила, что эта глыбка хроматина представляет собой одну из двух X-хромосом, которая находится во время интерфазы в гетеропикнотическом состоянии. Положительный гетеропикноз, по гипотезе Лайон, свидетельствует о генетической инактивации одной из X-хромосом кариотипа женского пола. Ввиду того что это тельце встречается только в ядрах клеток самок, его рассматривают как признак, отличающий клетки самок от клеток самца, и называют половым хроматином или тельцем Барра.

Этот признак можно использовать для изучения нарушений в системе половых хромосом, в диагностике пола при интерсексуальности. Количество телец Барра всегда на единицу меньше числа X-хромосом. Так, если у самок обнаруживается два тельца Барра, то они являются носителями трисомии по X-хромосоме. Если половой хроматин отсутствует, то у особи женского пола имеется только одна X-хромосома. Если у самца обнаруживают тельце Барра, это значит, что у него в кариотипе не одна, а две X-хромосомы.

Для исследования полового хроматина используют клетки лейкоцитов, слизистых оболочек и др.

3. Интерсексуальность у животных

Влияние внутренней среды организма на изменение признаков пола в онтогенезе прослеживается при изучении интерсексуальности. У домашних животных существуют разные формы интерсексуальности, которые объединяются под названием гермафродитизм. Кроме того, обнаружены отдельные формы, очень сходные с известными синдромами Клайнфельтера и Тернера.

Образование гермафродитов — особей, имеющих гонады и (или) половые органы противоположного пола, рассматриваются как результат нарушения мейоза в период развития бластоцисты.

Синдром Клайнфельтера характеризуется недоразвитием гонад, повышением выделения гонадотропина и другими изменениями. Классической формой кариотипа синдрома Клайнфельтера является 2л (аутосом) + XXУ. Однако часто в кариотипе обнаруживают мозаицизм по половым хромосомам: XXУ/XY/XX и трисомию XXX (синдром «трипло-Х»). У крупного рогатого скота XXУ-синдром наблюдали в сочетании с Х-трисомией. Характерными признаками животных были нарушения роста и развития, двусторонняя гипоплазия семенников с олиго-и некроспермией и другими изменениями.

Возникновение синдрома Клайнфельтера связано с нерасхождением половых хромосом в мейозе. Примечательной особенностью фенотипа при этом синдроме является то, что животные при наличии даже двух X-хромосом и одной Y-хромосомы имеют признаки мужского пола, хотя и стерильные. При отсутствии Y-хромосомы животные имеют женский фенотип. Это указывает на то, что Y-хромосома у животных содержит гены, контролирующие развитие мужского пола и плодовитость.

Синдром Тернера характеризуется женским фенотипом с дисгенезией гонад и другими генитальными дефектами. Цитогенетически синдром Тернера определяется формулой 2л (аутосом) + XO (отсутствует вторая X-хромосома).

Животных с признаками гермафродитизма, а также носителей синдромов Клайнфельтера и Тернера следует своевременно выделять в группы откорма.

Фримартинизм — особая форма интерсексуальности, выявляемая у крупного рогатого скота. Наблюдения показывают, что бесплодные телки — фримартины рождаются в двойне с бычком. Установлено, что в среднем 95 % телок из разнополых двоен имеют признаки фримартинизма. У них часто обнаруживают мужской тип экстерьера, недоразвитие матки и др.

Для объяснения причин бесплодия телок-фримартинов ученые выдвигают разные теории. Основные из них — гормональная и клеточная. Гормональная теория предполагает возникновение фримартинизма вследствие слияния плодного мешка при беременности двойней и образования анастомозов между плацентарными сосудами разнополых плодов, по которым осуществляется обмен мужскими гормонами — андрогенами (тестостерон) и женскими — эстрогенами. Поскольку мужской гормон тестостерон начинает продуцироваться раньше, то длительное воздействие на женские половые органы приводит к вирилизации (недоразвитию) последних, отклонениям в сторону мужского пола и рождению, наконец, бесплодных телок. Клеточная теория исходит из того, что при плацентарных анастомозах происходит обмен не только гормонами, но и другими элементами. Так, у телок-фримартинов был обнаружен химеризм по эритроцитарным антигенам и по половым хромосомам (рис. 16).

Химеризм по половым хромосомам наблюдается и у быков из разнополых двоен. У бычков на племпредприятиях частота химизма в среднем составляла 1,5 %, у отдельных из них — свыше 3% (А. И. Жигачев и др., 1989). Эти животные часто имеют нарушения воспроизводительной функции — от снижения количества спермиев в эякуляте и пониженной оплодотворяющей способности до полного бесплодия. Степень нарушения плодовитости связана, очевидно, с временем образования сосудистых анастомозов во время внутриутробного развития быков-химериков. Химеризм по половым хромосомам наблюдается не только в двойнях, но и в отелах коров с большим числом телят разного пола. Присутствие Y-хромосомы в кариотипе телок фримартинов и изменение у них признаков в сторону мужского пола — явное свидетельство ее влияния на половые признаки. Цитогенетический анализ — надежный метод ранней диагностики фримартинизма у телок. Выявление химеризма XY/XX-хромосом у быков — это критерий малой пригодности их в воспроизводстве. Химеризм по половым хромосомам обнаружен также у коз, овец, свиней, норок. В некоторых породах коз (зааненская, тог-денбургская) интерсексуальность встречается довольно часто — 6,5—8,4 %. Этот признак связан с комолостью животных. По данным Г. И. Исаевой и Д. К. Беляева, химеризм наиболее часто регистрировали у норок, гомозиготных или гетерозиготных по генам алеутской окраски или хедлунд

1.6 Лекция № 6 (2 часа)

Тема: «Молекулярные основы наследственности»

1.6.1 Вопросы лекции:

1. Нуклеиновые кислоты, их строение и функции
2. Основные этапы биосинтеза белков.

3. Генетический код. Регуляция экспрессия генов.

1.6.2 Краткое содержание вопросов

1. Нуклеиновые кислоты, их строение и функции

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. До 40-х годов нашего столетия большинство ученых считали, что гены имеют белковую природу. Выдающийся русский исследователь Н. К. Кольцов высказал мысль о том, что хромосома — это гигантская биологическая молекула, обладающая свойством самоудвоения, и что все признаки и свойства организма обусловлены строением белка и взаимодействием его молекул. В 1927 г. Н. К. Кольцов подготовил базу для понимания ауторепродукции хромосом, что составляет в настоящее время основу молекулярной генетики. Казалось вероятным, что именно в белках заключена наследственная информация о развитии всех признаков и свойств организма. Однако проведенные в последующем эксперименты на микроорганизмах с применением новейших методов исследований, рентгеноструктурного анализа, электронной микроскопии, меченых атомов и т. д. позволили установить, что генетическая информация сосредоточена в нуклеиновых кислотах.

ДОКАЗАТЕЛЬСТВА РОЛИ ДНК В НАСЛЕДСТВЕННОСТИ. В 1928 г. Ф. Гриффит впервые получил доказательства возможной передачи наследственных задатков от одной бактерии к другой. Ученый вводил мышам вирулентный капсульный и авирулентный бескапсульный штаммы пневмококков. При введении вирулентного штамма мыши заболевали пневмонией и погибали. При введении авирулентного штамма мыши оставались живыми. При введении вирулентного капсульного штамма, убитого нагреванием, мыши также не погибали. В следующем опыте он ввел смесь живой культуры авирулентного бескапсульного штамма со штаммом убитого нагреванием вирулентного капсульного и получил неожиданный результат — мыши заболели пневмонией и погибли. Из крови погибших животных были выделены бактерии, которые обладали вирулентностью и были способны образовать капсулу. Следовательно, живые бактерии авирулентного бескапсульного штамма трансформировались — приобрели свойства убитых болезнетворных бактерий. В дальнейшем другими учеными были подтверждены результаты опытов Ф. Гриффита в условиях пробирки. Основываясь на этих опытах, в 1944 г.

О. Эвери и его сотрудники Мак-Леод и Мак-Карги изучили роль разных веществ клетки в явлениях трансформации и получили убедительные доказательства того, что трансформирующим фактором является дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК). Было установлено, что под действием дезоксирибонуклеазы — фермента, специфически разрушающего ДНК, активность трансформирующего фактора исчезла. В то же время рибонуклеаза и протеолитические ферменты не изменяли биологической активности трансформирующего фактора.

Следующим доказательством генетической роли ДНК были эксперименты А. Херши и М. Чейза, проведенные с бактериофагом в 1952 г. Основные компоненты фага — ДНК и белок. ДНК фага была помечена радиоактивным фосфором (^{32}P), который включается только в ДНК. Белок фага помечали с помощью радиоактивной серы (^{35}S), которая включается только в белок. После заражения бактерий мечеными фагами было установлено, что в клетку бактерии проникает только молекула ДНК, а белковая оболочка фага остается снаружи. Тем не менее в клетках зараженных бактерий образовалось множество зрелых частиц фага. Это говорило о том, что в ДНК заключена наследственная информация о всех признаках и свойствах фага. Опыты А. Херши и М. Чейза еще раз

подтвердили, что наследственная информация заключена в молекулах ДНК и передается ими по наследству. В последующем было установлено, что у некоторых прокариот наследственная информация зашифрована в молекулах РНК.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. Генетическая информация реализуется в процессе биосинтеза белков. Все основные свойства живых существ определяются структурой и функцией белковых молекул. В последние 40 лет в ряде лабораторий разных стран мира было выяснено, что синтез специфических белков предопределен генетически. Материальным субстратом наследственности является ДНК. В молекулах ДНК зашифрована наследственная информация о строении каждого белка. ДНК обеспечивает хранение и передачу генетической информации из поколения в поколение. Участок молекулы ДНК, кодирующий первичную структуру полипептида, молекулы транспортной или рибосомной РНК, называется геном. Реализация наследственной информации осуществляется с участием рибонуклеиновых кислот (РНК).

Белки — структурная основа всех клеток, органов и тканей организма. В сочетании с другими веществами они участвуют в формировании различного рода клеточных структур.

Многочисленными исследованиями установлено, что белки различаются как у отдельных видов микроорганизмов, растений и животных, так и в пределах одного вида. Главные структурные элементы белковых молекул — 20 аминокислот. Специфика строения белковой молекулы определяется наличием определенных аминокислот и порядком их расположения в полипептидных цепях. К настоящему времени достигнуты значительные успехи в раскрытии химической структуры различных белков и полипептидов. Рассмотрим, как влияет содержание аминокислот и их чередование в полипептидных цепях гормонов гипофиза окситоцина и вазопрессина на их биологическую роль. Эти гормоны включают по 9 аминокислотных остатков:

окситоцин: цистеил — тирозил — изолейцил — глутамил — аспарагил — цистеил — пролил — лейцил — глицин;

вазопрессин: цистеил — тирозил — феншаланил — глутамил — аспарагил — цистеил — пролил — аргинил — глицин. Как видим, разница состоит только в том, что в окситоцине на третьем месте стоит аминокислота изолейцин, на восьмом лейцин, а у вазопрессина соответственно фенилаланин и аргинин. Эти небольшие изменения обусловили разную биологическую роль гормонов: окситоцин вызывает сокращение матки во время родов, а вазопрессин увеличивает кровяное давление.

Обнаружено, что виды, породы и отдельные индивидуумы имеют незначительные специфические отличия в строении ферментов и других белковых молекул, выполняющих одинаковые функции.

Однако имеется много случаев, когда незначительные изменения в структуре белка приводят к серьезным последствиям. Так, известно, что от 5 до 20 % коренного населения Африки, Индии и Средиземноморских стран имеют аномальный гемоглобин S, который отличается от нормального гемоглобина A только по одной аминокислоте. Ниже приведено чередование аминокислот на определенном участке гемоглобина A и S:

гемоглобин A — лей-тре-про-глу-глу-лиз;

гемоглобин S — лей-тре-про-вал-глу-лиз.

Незначительные изменения в строении гемоглобина являются причиной тяжелого наследственного заболевания — серповидно-клеточной анемии. Эритроциты больных серповидноклеточной анемией имеют форму серпа, а не округлую, как в норме.

Нуклеиновые кислоты впервые открыл И. Ф. Мишер в 1868 г. Он выделил из ядер клеток особое вещество кислотной природы и назвал его нуклеином. Впоследствии ему дали название «нуклеиновая кислота». Было обнаружено два типа нуклеиновых кислот. Их назвали в зависимости от углеводного компонента, входящего в состав. Нуклеиновую кислоту, в состав которой входит углевод дезоксирибоза, назвали дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК), а в состав которой входит углевод рибоза, — рибонуклеиновой кислотой (РНК). В период с 1900 по 1932 г. был определен химический состав нуклеиновых кислот. Они включают следующие компоненты:

РНК

Аденин, гуанин Цитозин, урацил Рибоза

ДНК

Аденин, гуанин Цитозин, тимин Дезоксирибоза

Пуриновые основания Пиримидиновые основания Углеводный компонент

Обе нуклеиновые кислоты включают остатки фосфорной кислоты. Различие заключается в том, что в состав РНК входит азотистое основание урацил вместо тимина и рибоза вместо дезоксирибозы.

В 1936 г. на кафедре биохимии растений Московского университета А. Н. Белозерский с И. И. Дубровской впервые выделили ДНК в чистом виде из растительного материала. К середине 40-х годов было выяснено, что ДНК и РНК одновременно присутствуют в каждом живом организме.

В конце 40-х — начале 50-х годов при изучении нуклеиновых кислот стали использовать новые физические и химические методы исследования. В 1950 г. Э. Чаргафф установил правила нуклеотидных отношений, лежащие в основе строения всех ДНК.

Правила Чаргаффа заключаются в том, что в ДНК содержание аденина равно содержанию тимина ($A = T$), а содержание гуанина равно содержанию цитозина ($G = C$), отсюда $A + G/T + C = 1$; сумма пуриновых нуклеотидов равна сумме пиримидиновых нуклеотидов. В соответствии с этим правилом нуклеотидный состав разных организмов может варьировать только по величине $A + T/G + C$.

К 1952 г. Р. Франклин и М. Уилкинс добились получения высококачественных рентгенограмм ДНК, показавших, что она имеет форму спирали и двойственную структуру.

В 1953 г. Дж. Уотсон и Ф. Крик, опираясь на данные рентгеноструктурного анализа и правила Чаргаффа, установили структуру ДНК. Согласно их модели молекула ДНК имеет двойную спираль, состоящую из двух полинуклеотидных цепей с общей осью (рис. 17). Диаметр двойной спирали ДНК равен 2 нм, а расстояние между витками 3,4 нм. На каждый виток спирали приходится 10 пар нуклеотидов, отсюда расстояние между азотистыми основаниями равно 0,34 нм.

Структурными единицами полинуклеотидных цепей являются нуклеотиды. В состав нуклеотида входят: одно из азотистых оснований — пуриновое (аденин или гуанин) или пиримидиновое (тимин или цитозин), дезоксирибоза, фосфатный остаток. Эти компоненты соединены друг с другом в следующем порядке: азотистое основание — дезоксирибоза — фосфатный остаток. Соединение одного из оснований с дезоксирибозой приводит к образованию нуклеозида. В случае присоединения фосфатной группы к углеводной части нуклеозида образуется нуклеотид.

Дезоксирибоза в нуклеотидах соединяется с основаниями гликозидной связью, а с фосфорной кислотой — эфирными связями. Следовательно, по химическому составу любой нуклеотид — это фосфорный эфир нуклеозидов. В соответствии с этим нуклеотиды называются дезоксиадениловой, дезоксигуаниловой, дезоксицитидиловой и тимидиловой кислотами.

Наряду с главными азотистыми основаниями ДНК содержит также метилированные основания, такие, как 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин и др. У животных количество 5-метилцитозина в ДНК обычно не превышает 1,5—2 %.

В каждой из цепей ДНК нуклеотиды последовательно соединены друг с другом с помощью остатка фосфорной кислоты и молекулы дезоксирибозы. Дезоксирибоза связывается с одной молекулой фосфорной кислоты через углерод в положении 3', а с другой — через углерод 5', образуя углеводно-фосфатный остов (рис. 18).

Обе цепи в молекуле ДНК имеют противоположную полярность. Это означает, что межнауклеотидная связь в одной цепи имеет направление 5'→3', а в другой 3'→5'.

Азотистые основания нуклеотидов обеих цепей ДНК заключены внутри между витками спирали и соединены водородными связями. В соответствии с правилами Чаргаффа аденин одной цепи связан только с тимином другой цепи, а гуанин — только с цитозином. Пара аденин — тимин соединена двумя водородными связями, а пара гуанин — цитозин — тремя. Такой порядок соответствия азотистых оснований ($A \rightarrow T$ и $G \rightarrow C$) называется

комплементарностью, и, следовательно, цепи в ДНК комплементарны, они взаимно дополняют друг друга.

Углеводно-фосфатный остов по всей длине во всех молекулах ДНК имеет однотипную структуру и не может нести генетической информации. В противоположность этому рас-

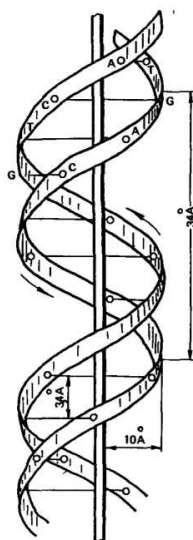


Рис. 17. Схема строения молекулы ДНК из двух спирально закрученных цепей (по Д. Уотсону в Ф. Кряку) (Цифры указывают на расстоянием в Å между разными точками молекулы)

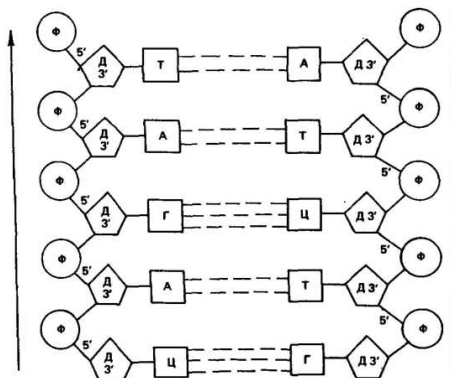


Рис. 18. Схема отрезка двухцепочной молекулы ДНК (по С. М. Гершензону)

положение пуриновых и пиримидиновых оснований нуклеотидов вдоль цепи ДНК очень изменчиво и характерно для каждого данного типа молекул ДНК. Значит, наследственная информация зашифрована различной последовательностью оснований.

Нуклеотидный состав ДНК значительно варьирует в зависимости от принадлежности организма к той или иной систематической группе (табл. 7). Специфичность ДНК выражается соотношением $A + T / G + C$, получившим название коэффициента видовой специфичности.

В ДНК животных наблюдается избыток $A + T$ по отношению к $G + C$. У грибов и бактерий встречаются формы как богатые $A + T$, так и с преобладанием $G + C$, в то же время есть близкие по коэффициенту специфичности к животным. Это говорит о том, что изменчивость в расположении оснований уже достаточна для того, чтобы обеспечить различия между генами этих организмов.

Молекулы ДНК состоят примерно из $2 \cdot 10^3$ — $1 \cdot 10^8$ и более нуклеотидов и имеют большую относительную молекулярную массу.

Репликация (удвоение) ДНК. ДНК находится в хромосомах, и репликация ее происходит перед каждым удвоением хромосом и делением клетки. Дж. Уотсон и Ф. Крик предложили схему удвоения ДНК, согласно которой спиралевидная двухцепочная ДНК сначала раскручивается (расплетается) вдоль оси. При этом водородные связи между азотистыми основаниями рвутся и цепи расходятся. Одновременно к нуклеотидам каждой цепи пристраиваются комплементарные азотистые основания нуклеотидов второй цепи, где против аденина встает тимин, против тимина — аденин, против гуанина — цитозин и т. д., которые с помощью ферментов ДНК-полимераз связываются в новые полинуклеотидные цепи. В результате из одной образуются две новые дочерние молекулы ДНК. Каждая дочерняя молекула, наследуя структуру одной цепи материнской молекулы, строго сохраняет специфичность заключенной в ней информации. Поскольку матрицей для репликации служит одна из двух цепей молекулы, такой тип синтеза ДНК носит название полуконсервативной ауторепродукции.

Дальнейшие исследования показали, что репликация бактериальных и других молекул ДНК начинается в определенной точке старта. В хромосомах эукариот обнаружено по несколько таких начальных точек. Цепи ДНК в точке инициации репликации разъединяются под влиянием особого белка геликазы (рис. 19). Возникают одноцепочные участки ДНК, которые становятся матрицами для репликации-притяжения комплементарных нуклеотидов. Эти одноцепочные участки связываются с особыми белками, которые их стабилизируют (препятствуют их комплементарному взаимодействию). Особый фермент топоизомераза (у прокариот называется ДНК-гиразой) способствует расщеплению спирали ДНК в области репликационной вилки.

Репликация на материнской цепи, идущей от точки старта в направлении $5' \rightarrow 3'$, идет в виде сплошной линии. Эта цепь получила название лидирующей. Синтез на второй цепи $3' \rightarrow 5'$ идет отдельными фрагментами в противоположном направлении (тоже $5' \rightarrow 3'$). Эта цепь получила название запаздывающей. Фрагментами являются небольшие участки ДНК (у кишечной палочки около 2000 нуклеотидов, у эукариот около 200). Они называются по

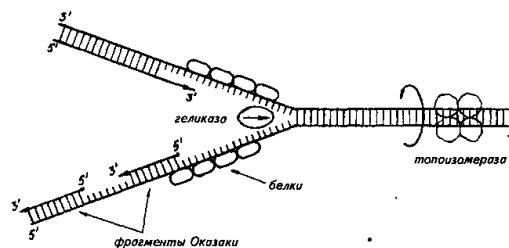


Рис. 19. Синтез лидирующей (вверху) и запаздывающей (внизу) цепей ДНК в вилке репликации (по В. Alberts, R. Sternglanz)

имени открывшего их японского ученого Р. Оказаки. После завершения синтеза фрагменты Оказаки соединяются при помощи фермента лигазы в общую полинуклеотидную цепочку. У эукариот репликация ДНК и соединение различных ее репликационных участков происходят в фазе S-периода интерфазы. После завершения этой фазы в каждой хромосоме имеется две молекулы ДНК, которые становятся двумя идентичными хроматидами. Структура, способная к репликации (хромосома, плазида, вирусный геном), называется репликоном. Самоудвоение молекул ДНК — основа устойчивости генетической информации данного вида и обеспечивает материальную непрерывность наследственного вещества клетки.

2. Основные этапы биосинтеза белков.

В настоящее время можно считать установленным, что наследственность реализуется в процессе биосинтеза белка. Синтез ферментов и других белков, необходимых для жизнедеятельности и развития организмов, происходит в основном на первой стадии интерфазы, до начала репликации ДНК. В процессе синтеза белка различают этапы транскрипции и трансляции.

Транскрипция заключается в том, что наследственная информация, записанная в ДНК (гене), точно транскрибируется (переписывается) в нуклеотидную последовательность иРНК. Синтез иРНК начинается с участка инициации транскрипции, называемого промотором. Промотор расположен перед геном и включает около 80 нуклеотидов. У вирусов и бактерий этот участок включает около 10 нуклеотидов (один виток спирали). Транскрипция осуществляется с помощью ферментов РНК-полимераз. РНК-полимераза прочно связывается с промотором и «расплавляет» его, разъединяя нуклеотиды комплементарных /цепей. Затем этот фермент начинает двигаться вдоль гена и по мере разъединения цепей ДНК на одной из них, которая является смысловой, ведет синтез иРНК, согласно принципу комплементарности присоединяя аденин к тимину, урацил к аденину, цитозин к гуанину и гуанин к цитозину. Те участки гена, на которых полимераза образовала иРНК, вновь соединяются, а синтезируемая молекула иРНК постепенно отделяется от ДНК. Конец синтеза иРНК определяется участком остановки транскрипции — терминатором. Нуклеотидные последовательности промотора и терминатора узнаются специальными белками, регулирующими активность РНК-полимеразы.

В 1977 г. было обнаружено, что у эукариот в последовательности нуклеотидов ДНК имеются отрезки, не содержащие информации, которые были названы интронами. Участки ДНК, несущие информацию, называются экзонами.

При считывании информации с определенного участка ДНК (гена) сначала образуется транскрипт всей последовательности (про-мРНК), а затем происходит процесс созревания иРНК, называемый процессингом. При процессинге происходит сплайсинг, который заключается в том, что в ядре интроны из РНК как бы «выпелливаются» и удаляются, а информативные участки — экзоны соединяются при помощи ферментов лигаз в одну непрерывную последовательность иРНК. Перед выходом из ядра к начальной части иРНК (5'-концу) присоединяется остаток метилированного гуанина, называемый «колпачком», а к концу иРНК (3'-концу) присоединяется примерно 200 остатков адениловой кислоты. В таком виде зрелая иРНК (матричная РНК) проходит через ядерную мембрану в цитоплазму, где соединяется с рибосомой. Считают, что у эукариот «колпачок» иРНК играет роль в связывании с малой субчастицей.

Трансляция заключается в том, что последовательность расположения нуклеотидов в иРНК переводится в строго упорядоченную последовательность расположения аминокислот в молекуле синтезируемого белка. Процесс трансляции включает два этапа: активирование аминокислот и непосредственно синтез белковой молекулы. Активирование свободных аминокислот и присоединение их к тРНК осуществляются при помощи ферментов аминоацил-тРНК-синтетаз. Точность процесса трансляции зависит, по-видимому, в значительной мере от того, с какой точностью каждая синтетаза выберет одну определенную аминокислоту и присоединит ее к соответствующей тРНК. Считается, что в молекуле каждой аминоацил-тРНК-синтетазы имеется по крайней мере три центра связывания: для аминокислоты, тРНК и АТФ. Сначала осуществляется связь аминоацил-тРНК-синтетазы с определенной аминокислотой, а затем активированная аминокислота присоединяется к акцепторному участку (ЦЦА) транспортной РНК. В результате образуется аминоацил-тРНК (аа-тРНК). Нагруженная аминокислотой тРНК взаимодействует с одним из белковых факторов, который в комплексе с ГТФ необходим для транспорта тРНК к рибосоме и связывания с ней.

В период трансляции происходит реализация генетической информации в процессе синтеза белковой молекулы определенной структуры. Синтез подразделяется на три стадии: инициации, элонгации и терминации.

Инициация. В период стадии инициации рибосома сначала представлена двумя отдельными субчастицами, так как для начала процесса необходима рибосома диссоциированная. Инициация синтеза полипептидной цепи начинается с присоединения малой субчастицы рибосомы к соответствующему центру связывания на иРНК. Сигналом инициации трансляции служит кодон для метионина АУТ, который расположен в начале иРНК (рис. 21). К кодону АУТ своим антикодоном УАЦ присоединяется тРНК, нагруженная аминокислотой метионином (у бактерий инициаторной является тРНК, которая переносит фор-милметионин). Затем к комплексу, состоящему из малой субъединицы, иРНК и тРНК, присоединяется большая субъединица рибосомы. В результате образуется полностью собранная рибосома (80S), включающая одну молекулу иРНК и инициаторную тРНК с аминокислотой. В большой субъединице имеется аминоацильный и пептидильный центры. Сначала первая аминокислота (метионин) попадает в аминоацильный центр. В процессе присоединения большой субчастицы рибосомы иРНК продвигается на один кодон, тРНК из аминоацильного центра перемещается в пептидильный центр. В аминоацильный центр поступает следующий кодон иРНК, который может принять следующую аминоацил-тРНК. С этого момента начинается вторая стадия трансляции.

Элонгация. В эту стадию многократно повторяется цикл присоединения аминокислот к растущей полипептидной цепи. Так, в аминоацильный центр рибосомы строго в соответствии с кодоном иРНК поступает вторая нагруженная тРНК, которая своим антикодоном соединяется с комплементарным кодоном иРНК. Сразу же при помощи фермента пептидилтрансферазы предшествующая аминокислота (метионин) своей карбоксильной группой (COOH) соединяется с аминогруппой (NH₂) вновь пришедшей аминокислоты. Между ними образуется пептидная связь (—CO—NH—). В результате тРНК, принеся метионин, освобождается, а в аминоацильном центре к тРНК присоединен уже дипептид. Для дальнейшего процесса элонгации требуется освободить аминоацильный центр. И он освобождается.

В результате процесса транслокации дипептидил-тРНК продвигается из аминоацильного центра в пептидильный. Это происходит благодаря перемещению рибосомы на один кодон при участии фермента транслоказы и белкового фактора элонгации. Освободившаяся тРНК и кодон иРНК, который был связан с ней, выходят из рибосомы. В освободившийся аминоацильный центр следующая тРНК приносит аминокислоту в соответствии с поступившим туда кодоном. Эта аминокислота при помощи пептидной связи соединяется с предыдущей. При этом рибосома снова продвигается еще на один кодон, и процесс повторяется. Полипептидный синтез в рибосоме идет до тех пор, пока в аминоацильный центр не поступит терминирующий кодон.

Терминация. После того как в аминоацильный центр рибосомы поступит терминирующий кодон иРНК (УАА, УАГ или УГА), к нему присоединяется один из белковых факторов терминации блокируется дальнейшая элонгация цепи. Полипептидная цепь отделяется от тРНК и рибосомы, освобождаются тРНК и иРНК. Рибосомные субъединицы диссоциируют и могут принять участие в синтезе следующей полипептидной цепи.

На одной молекуле иРНК работает не одна рибосома, а многие (до 100). На каждой из рибосом строится полипептидная цепь. У бактерий транскрипция и трансляция связаны между собой и трансляция начинается до завершения синтеза иРНК на ДНК.

Образующиеся при синтезе белка полипептидные цепи претерпевают посттрансляционные преобразования и в конечном итоге выполняют специфические функции, принимая участие в определении признаков организма.

Ингибиторы синтеза белка. В последние годы был выявлен целый ряд ингибиторов, вызывающих нарушение реализации генетической информации у микроорганизмов. Примером могут служить антибиотики. Одним из мощных ингибиторов является пуромицин. Он имеет структурное сходство с концевым остатком адениновой кислоты в аминоацил-тРНК, легко взаимодействует с А-участком пептидил-тРНК с образованием пептидильпуромицина. Пептидильпуромицин нарушает элонгацию, вызывая обрыв реакции. Предполагается, что стрептомицин и неомицин вызывают ошибки в трансляции иРНК, приводящие к нарушению соответствия между кодонами и включаемыми аминокислотами. Например, кодон УУУ вместо фенилаланина начинает кодировать лейцин, в результате образуется аномальный белок, что ведет к гибели бактерий. Тетрациклины являются ингибиторами синтеза белка в 70S-рибосоме. Считается, что тетрациклины тормозят связывание аминоацил-тРНК с аминоацильным центром рибосом. Синтез клеточной иРНК тормозит антибиотик рифамицин, используемый при лечении туберкулеза. Этот препарат тормозяще действует на ДНК-зависимую РНК-полимеразу путем связывания с ней. Наиболее чувствительна к нему бактериальная РНК-полимераза. Недавно обнаружено и противовирусное действие рифамицина. Его используют при лечении трахомы, которая вызывается ДНК-содержащим вирусом. Известно ингибирующее действие на синтез белка у микроорганизмов и целого ряда других антибиотиков.

3. Генетический код. Регуляция экспрессия генов.

Представление о том, что генетическая информация о структуре белковых молекул зашифрована в ДНК путем определенного расположения нуклеотидов, конкретизировал Ф. Крик в гипотезе последовательности, согласно которой последовательность элементов гена определяет последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи. Было установлено, что наследственную информацию с ДНК считывает иРНК, которая образуется комплементарно одной из цепей ДНК. Однако не было известно, каким образом переводится нуклеотидная последовательность иРНК в аминокислотную последовательность полипептидной цепи. Можно было предположить, что генетический код не может состоять из одного или двух нуклеотидов, так как их только четыре и сочетаний из двух (4^2) может быть только 16, а аминокислот 20. Г. Гамов в 1954 г. впервые высказал мысль о том, что генетический код должен быть триплетным. В этом случае получается (4^3) 64 сочетания, и их вполне достаточно для кодирования всех аминокислот. Начало экспериментальному анализу природы генетического кода положили М. Ниренберг и Дж. Маттеи в 1961 г. Они создали простейшие синтетические полимеры типа иРНК. Искусственно полученный полимер, содержащий только уридиновые нуклеотиды, в которых основанием является урацил, вводили в бесклеточную среду, полученную из кишечной палочки. В результате был получен полипептид, состоящий только из фенилаланина — полифенилаланин. Кодон для фенилаланина был расшифрован как УУУ.

К расшифровке генетического кода активно подключился С. Очоа с сотр. В течение 3—4 лет в лабораториях М. Ниренберга и С. Очоа был определен состав большинства кодонов. Однако требовалось определить последовательность нуклеотидов в кодонах. Это удалось сделать при помощи двух методов. Г. Корана с сотр. разработал метод химического синтеза ДНК-подобных полимеров с заданной последовательностью нуклеотидов, что позволяло получить РНК также с заранее известной последовательностью нуклеотидов и использовать ее в бесклеточной системе белкового синтеза.

Второй метод предложили М. Ниренберг и П. Ледер, исходя из того, что промежуточными продуктами при синтезе белка являются аминокислоты, связанные с тРНК. Убедившись в том, что одного триплета иРНК (трех нуклеотидов) достаточно для связывания с рибосомой и тРНК, ученые использовали тринуклеотидные матрицы с известным чередованием оснований для того, чтобы изучить, какую аминокислоту доставит тРНК.

В результате использования методов, разработанных Г. Кораной, М. Ниренбергом и П. Ледером, к 1960 г. были определены все триплеты, кодирующие ту или иную аминокислоту. Триплет иРНК получил название кодона. Генетический код был полностью расшифрован (табл. 8), значит, была выяснена природа связи между структурой гена и соответствующего белка. Было установлено, что 61 триплет кодирует аминокислоты, 3 триплета не соответствуют никакой аминокислоте и определяют конец трансляции. .

Выявлены следующие особенности генетического кода: 1) генетический код триплетный (каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами); 2) неперекрывающийся (соседние триплеты не имеют общих нуклеотидов); 3) вырожденный (за исключением метионина и триптофана все аминокислоты имеют более одного кодона); 4) универсальный (в основном одинаков для всех живых организмов); 5) в кодонах для одной аминокислоты первые два нуклеотида, как правило, одинаковы, а третий варьирует; 6) имеет линейный порядок считывания и характеризуется колинеарностью, т. е. совпадением порядка расположения кодонов в иРНК с порядком расположения аминокислот в синтезирующейся полипептидной цепи.

Сравнительно недавно выяснилось, что в митохондриях нарушается универсальность генетического кода. Четыре кодона в митохондриях изменили свой смысл: кодон УГА отвечает триптофану, АУА — метионину, а кодоны АГА и АГГ стали терминирующими. В митохондриях синтезируется небольшое количество белков, которые используются ими же. Открытие новых кодонов у митохондрий может служить доказательством того, что код эволюционировал, что он не сразу стал таким, каким мы его знаем теперь.

1.7 Лекция № 7 (2 часа)

Тема: «Изменчивость и методы ее изучения»

1.7.1 Вопросы лекции:

1. Виды изменчивости
2. Методы изучения изменчивости
3. Вариационный ряд и его построение

1.7.2. Краткое содержание вопросов

1. Виды изменчивости

Изменчивость свойственна всем живым существам и является одним из основных факторов эволюции. В настоящее время известно около миллиона видов животных и около полумиллиона видов растений. Изменчивость организмов — основа для выведения новых пород животных, сортов растений и штаммов микроорганизмов.

ВИДЫ ИЗМЕНЧИВОСТИ. Выделяют следующие виды изменчивости: мутационную, комбинативную, коррелятивную и модификационную.

Мутационная изменчивость. Мутация — стойкое изменение в структуре ДНК и кариотипе. Мутационный процесс — первоисточник наследственной изменчивости. В

результате его у потомков появляются новые признаки и свойства, которых не было у предков. Различная окраска меха у норок и лисиц, полиморфизм белков и ферментов, наследственные дефекты (ахондроплазия, пупочная грыжа, врожденное отсутствие конечностей и т. д.) — это примеры мутационной изменчивости.

Мутации — один из главных факторов эволюции и создания новых пород животных и сортов растений.

Комбинативная (комбинационная) изменчивость. Это наследственная изменчивость, возникающая в потомстве в результате новых сочетаний признаков и свойств при скрещиваниях. Она не ведет к возникновению новых наследственных признаков, а происходят лишь комбинация и рекомбинация генов, имеющихся у родительских форм. На основе комбинативной изменчивости выведено много пород животных: орловская рысистая порода лошадей, костромская порода крупного рогатого скота, алтайская тонкорунная порода овец и т. д. Например, в результате скрещивания зебу с европейскими породами скота был создан австралийский молочный зебу. В новой породе сочетаются устойчивость к клещам, жаре, как у зебу, и высокая молочная продуктивность, как у европейского скота.

Зная характер наследования признаков и свойств, можно создать желаемое их сочетание. Если селекционер ставит перед собой цель получить сапфировую окраску меха у норок, то он должен скрестить алеутских норок (генотип aaPP) с платиновыми (AApp). Первое поколение норок имеет коричневый мех. При скрещивании гибридов первого поколения между собой в F₂ получают 1/16 сапфировых норок (aapp). При разведении сапфировых норок появляются только сапфировые норки.

Коррелятивная изменчивость. Организм развивается как единое целое под влиянием наследственности и условий среды. Поэтому изменение одних органов и тканей может вести к изменению других органов, тканей или функции организма. Так, недоразвитие передней доли гипофиза ведет к задержке роста и половозрелости.

В зоотехнической и ветеринарной практике изучение корреляционной изменчивости имеет большое значение. Известно, что между высокой молочностью и высокой способностью к откорму существует отрицательная корреляция. Поэтому не выведены породы, сочетающие высокую молочную продуктивность, как у молочных пород, и мясные качества, как у мясных пород. Между устойчивостью к болезням и признаками продуктивности может быть положительная или отрицательная связь. Например, между устойчивостью к эймериозу (кокцидиозу) у кур и массой тела существует положительная корреляция.

Модификационная изменчивость. Это ненаследственная фенотипическая изменчивость, возникающая под влиянием условий среды и не изменяющая генотип. Модификационная изменчивость широко распространена в природе, так как на развитие организма влияют условия среды. Однояйцовые близнецы, находящиеся в разных условиях среды, различаются по своим признакам, несмотря на одинаковый генотип. У медоносной пчелы самки развиваются из оплодотворенных яиц, но в зависимости от качества пищи в личиночной стадии могут стать или рабочими пчелами, или маткой. При питании маточным молочком женская особь превращается в матку. Количественные признаки (удой, масса, настриг шерсти и т. д.) подвержены сильному влиянию условий среды и характеризуются большой модификационной изменчивостью. Качественные признаки (группы крови, масть и т. д.) в основном контролируются наследственностью.

Условия среды иногда сглаживают генетические различия между животными. Тогда худшие и лучшие по генотипу особи могут иметь одинаковую продуктивность. Поэтому в

плохих условиях среды отбор по фенотипу по многим признакам малоэффективен. Недостаточный уровень кормления матерей может привести к недоразвитию потомков не только в первом, но и в последующих поколениях. В таких случаях мы имеем дело с длительными модификациями.

2. Методы изучения изменчивости

Биометрия (вариационная статистика, биологическая статистика). Это наука о способах применения математических методов в биологии. Предметом биометрии служит группа биологических объектов. Группа определенных объектов составляет совокупность. Совокупностями являются породы, стада животных, линии, семейства, дочери определенного производителя, группа овец, на которых проводится опыт, количество эритроцитов в каком-то объеме крови животного и т. д. Совокупность состоит из единиц или членов. Для стада овец единицей будет каждая овца.

Число единиц, входящих в совокупность, называется объектом совокупности и обозначается буквой n . Единица совокупности может характеризоваться определенными признаками. Например, коровы характеризуются удоями за некоторый отрезок времени, жирномолочностью и белкомолочностью, живой массой, промерами, мастью, рогатостью и комолостью, числом эритроцитов или процентом гемоглобина в крови и т. д. Сумма отдельных измерений или наблюдений также является совокупностью.

Величину изучаемого признака для какой-то единицы совокупности называют вариантой и обозначают $V_1, V_2, \dots, V_n$, а в общем виде V_h , где h — порядковый номер варианты. Например, при изучении удоя (ц) за первую лактацию у трех коров получены следующие данные: 40, 43, 39. Эти величины и будут вариантами, т. е. $V_1 = 40, V_2 = 43, V_3 = 39$. Различия между отдельными вариантами называются изменчивостью или вариацией. В этих случаях говорят, что удой или признак варьирует.

Количественные и качественные признаки. Количественные признаки измеряются, подсчитываются и выражаются цифрами, например титр антител, живая масса, настриг шерсти, яйценоскость и т. д. Качественные признаки описываются словами, например масть черная, черно-пестрая, красная, рыжая и т. д. Если имеются два взаимоисключающих варианта, то такие качественные признаки называются альтернативными, например пол животных — мужской или женский, скот — комолый или рогатый, состояние животных — здоровые или больные.

Соответственно делению признаков на количественные и качественные различают количественную и качественную изменчивость. Количественная изменчивость бывает двух типов: непрерывная и прерывная (дискретная). При непрерывной изменчивости между вариантами нет резких границ и переходов, все определяется точностью измерений (удой, живая масса и т. д.). Если различия между вариантами определяются целыми числами, то это будет прерывная (дискретная) изменчивость. Так, число поросят у каждой свиноматки выражается целым числом 9, 10, 11 и т. д.

Генеральная и выборочная совокупность. Генеральная совокупность — это группа животных, составляющих вид, породу, например все коровы или овцы данной породы или вида. К ней относится и общее число эритроцитов и лейкоцитов в крови одного животного. Все теоретически возможное потомство, которое может быть получено от одного производителя, также составляет генеральную совокупность. В генеральную совокупность (породу) входит иногда несколько миллионов животных. Порода распадается на много совокупностей — стада отдельных хозяйств, а в пределах одного стада может быть несколько совокупностей: линии, семейства и т. д. Конечно, охарактеризовать всю генеральную совокупность, например, по количеству лейкоцитов, проценту белка в молоке, удою, живой массе и т. д. практически невозможно. Поэтому изучают не всю генеральную совокупность, а только ее часть, которая называется

выборкой или выборочной, совокупностью. Из выборки можно выбрать еще меньшую выборку. Каждый член выборки из определенной совокупности должен быть отобран случайно. Только в этом случае выборка дает довольно точное представление о генеральной совокупности, т. е. она является репрезентативной (представительной). Если в выборку входит до 30 членов, она называется малой ($n < 30$), а свыше 30 единиц — большой ($n > 30$).

3. Вариационный ряд и его построение

При анализе совокупности часто полученные данные нужно сгруппировать и представить их в виде таблицы или ряда. При характеристике количественных признаков и большом числе вариантов производят группировку данных и их разность по классам, т. е. строят вариационный ряд.

Вариационный ряд — это упорядоченное изображение реально существующего распределения особей в группе по величине признака. Вариационный ряд — это двойной ряд чисел, состоящий из обозначения классов и соответствующих частот. Он показывает, как изменяется признак от минимальной до максимальной величины, какая частота вариантов в каждом классе. Класс, в котором встречается наибольшее число вариантов, называется модальным.

Для построения вариационного ряда необходимо: 1) из всей выборки (в нашем задании $n = 64$) найти максимальную (в данном примере $\max = 11,4$), минимальную ($\min = 3,2$) варианты и разность между ними ($\max - \min = 11,4 - 3,2 = 8,2$); 2) определить число классов, которое зависит от объема выборки:

Число вариантов Число классов

100-200 8—12

40-60 6-8

60-100 7-10

25-40 5-6

Найти классный промежуток (k) путем деления разности на предполагаемое число классов ($k = 8,2 : 8 \approx 1,0$); 3) установить начало классов, для чего k минимальному значению признака 3,2 (лучше округленному в меньшую сторону до 3,0, но не больше, чем на величину k) прибавляют классный промежуток ($k = 1,0$), пока не включится максимальное значение (11,4) признака (3,0; 4,0;... ;11,0); 4) установить верхние границы классов, которые должны быть меньше начала последующих классов на величину, равную точности измерения признака (3,0—3,9; 4,0—4,9;... ;11,0—11,9); 5) последовательно, начиная с первой, разнести варианты по классам (табл. 9). По вариационному ряду можно судить о распределении признака в данной группе. В крайних классах находится наименьшее число вариантов, а в средних — большее. Причем видно смещение распределения вариантов от середины вариационного ряда в сторону больших значений классов. Наибольшее число вариантов (48) относится к 3—5-му классам.

- Модальным классом (обладающим наибольшей частотой — 24) является 4-й класс (границы 6—6,9).

При рассмотрении вариационного ряда можно приблизительно определить среднее значение признака, находящееся между 6 и 6,9, вероятно, недалеко от 6,5, а также лимиты — $3,5 - 11,5 = 8$ (взяты средние значения крайних классов). Среднее квадратическое отклонение, исходя из лимита, равно $8 : 6 = 1,3$, потому что весь размах изменчивости охватывается шестью сигмами. Фактически полученные величины были близки к предсказанным $\sigma = 6,65$; а — 1,51.

Графическое изображение вариационного ряда дает наглядное представление о характере распределения признака в изучаемой совокупности. Вариационный ряд можно представить в виде ступенчатой кривой, называемой гистограммой. Для этого на горизонтальной линии (ось абсцисс) наносятся классы, а на вертикальной (ось ординат) —

частоты. Основанием каждого столбика является соответствующее значение класса, а высотой — число особей в нем. Если соединить прямыми линиями середины всех столбиков, получается вариационная кривая, или полигон распределения. Полигон распределения своими ветвями должен касаться на' оси абсцисс середины соседних классов.

При анализе графика (рис. 31) можно видеть: 1) около середины вариационной кривой располагается наибольшее число вариантов; 2) распределение вариантов по обе стороны от вершины вариационной кривой примерно симметрично; 3) число вариантов (коров) убывает к краям вариационного ряда. Вышеназванные закономерности характерны для большинства вариационных рядов. Для сравнения на одном графике нескольких распределений удобно пользоваться не гистограммой, а полигоном распределения.

Если взято малое количество животных, то в некоторых классах вариационного ряда варианты могут отсутствовать, тогда вариационная кривая бывает разорванной. При малом числе особей и растянутых вариационных рядах часто наблюдается д в у х - |§ершинность или многовершинность. Если выборка |Фаята достаточно большой, то двухвершинность указывает на ^смещение двух различных совокупностей (двух пород, линий и т. д.) или на выращивание и содержание животных в разных условиях и т. д.

Встречаются асимметричные вариационные кривые со смеще-|Нием влево или вправо, т. е: положительная или отри-|ц а т е л ь н а я асимметрия. Это объясняется неоднородностью условий развития животных данной совокупности, наличием в изучаемой группе большого количества особей с лучшими худшими наследственными задатками,, отбором. В нашем примере (см. рис. 31) наблюдается небольшая положительная асимметрия, т. е. вершина смещена влево. Если в средних классах вариационного ряда наблюдается преобладание вариантов, то получается островершинная кривая, называемая эксцессом.

1.8. Лекция № 8 (2 часа)

Тема: «Генетика популяций»

1.8.1 Вопросы лекции:

1. Популяция и «Чистая линия»
2. Закон Харди-Вайнберга – основной закон популяционной генетики
3. Основные факторы генетической эволюции популяций

1.8.2 Краткое содержание вопросов:

1. Популяция и «Чистая линия»

По Н. В. Тимофееву-Ресовскому, популяция — это совокупность особей данного вида, в течение длительного времени (большого числа поколений) населяющая определенное пространство, состоящая из особей, могущих свободно скрещиваться друг с другом, и отделенная от таких же соседних совокупностей одной из форм изоляции (пространственной, сезонной, физиологической, генетической). Например, олени острова Колгуев изолированы от оленей, разводимых на материковой части Крайнего Севера, широкой полосой моря. В результате сформировалась особая популяция колгуевских оленей, отличающаяся от другой части этого вида генотипическими и фенотипическими признаками — они более крупные и обладают лучшей жизнеспособностью.

В животноводстве под популяцией понимают группу животных одного вида, характеризующихся определенной численностью и ареалом распространения. Такая группа отличается от других популяций генетической структурой, экстерьерными, интерьерными и продуктивными качествами. Популяцией в животноводстве может быть

отдельное стадо животных, порода или отродье. Обычно популяция — замкнутая группа. Ввоз в нее или вывоз из нее животных из других популяций ограничен, поэтому размножение в популяции осуществляется за счет подбора самцов и самок, принадлежащих к данной популяции. В Ярославской области, например, разводится популяция крупного рогатого скота ярославской породы.

Каждая популяция характеризуется определенным генофондом, т. е. совокупностью аллелей, входящих в ее состав.

Наряду с популяцией в генетике существует понятие «чистая линия» — это потомство, полученное только от одного родителя и имеющее с ним полное сходство по генотипу. Чистые линии могут быть созданы в растениеводстве у самоопыляющихся растений. В отличие от популяций они характеризуются полной гомозиготностью. Вследствие полной гомозиготности отбор в чистой линии невозможен, так как все особи, входящие в нее, имеют идентичный набор генов. Высоко гомозиготных линейных мышей, крыс и других лабораторных животных создают в целях проведения различных экспериментов, например для проверки на мутагенность тех или иных препаратов, оценки вакцин и т. д.

Популяция состоит из животных разных генотипов. Эффективность отбора в ней зависит от степени генетической изменчивости — соотношения доминантных и рецессивных генов.

2. Закон Харди-Вайнберга – основной закон популяционной генетики

Харди и Вайнберг провели математический анализ распределения генов в больших популяциях, где нет отбора, мутаций и смешивания популяций. Они установили, что такая популяция находится в состоянии равновесия по соотношению генотипов, что определяется формулой $p^2AA + 2pqAa + q^2aa = 1$, где p — частота доминантного гена A , q — частота его рецессивного аллеля a . В соответствии с этим был сформулирован закон, или правило, Харди — Вайнберга, согласно которому при отсутствии факторов, изменяющих частоты генов, популяции при любом соотношении аллелей от поколения к поколению сохраняют эти частоты аллелей постоянными. Несмотря на известные ограничения, по формуле Харди — Вайнберга можно рассчитать структуру популяции и определить частоты гетерозигот (например, по летальным или сублетальным генам, зная частоты гомозигот по рецессивным признакам и частоты особей с доминантным признаком), проанализировать сдвиги в генных частотах по конкретным признакам в результате отбора, мутаций и других факторов.

Пользуясь формулой Харди — Вайнберга, мы рассчитали частоту гетерозиготных носителей некоторых форм рецессивно обусловленных аномалий в стаде крупного рогатого скота племзавода «Караваново» (табл. 28).

28. Частота гетерозиготных носителей разных рецессивных генов в костромской породе (проанализировано 9608 животных)

Популяция находится в равновесии только тогда, когда в ней не происходит отбора. При выбраковке же отдельных животных в такой популяции изменяется соотношение гамет, что влияет на генетическую структуру следующего поколения. Однако К. Пирсон показал, что, как только возникает состояние панмиксии (свободное скрещивание), соотношение генотипов и фенотипов в популяции в следующем поколении возвращается к тому, которое соответствует формуле Харди — Вайнберга, но уже при другом их соотношении. Скрещивание, восстанавливающее соотношение генотипов в популяции, в соответствии с формулой Харди — Вайнберга получило название стабилизирующего. Из этого следует вывод: при использовании в популяции случайных, неотобранных производителей или маток наблюдается стабилизация признаков продуктивности на одном уровне, и повышение продуктивности животных в такой ситуации невозможно. Точно так же при отсутствии браковки гетерозиготных носителей рецессивных аномалий частота проявления аномальных животных в популяции остается неизменной.

3. Основные факторы генетической эволюции популяций

В популяциях сельскохозяйственных животных постоянно изменяются частоты генов, что можно наблюдать при анализе смежных поколений. Такие изменения составляют суть генетической эволюции. Основные факторы эволюции: мутации, естественный и искусственный отбор, миграции, дрейф генов.

Одна из основных причин генетической изменчивости в популяции — мутации. Спонтанные мутации каждого гена происходят с низкой частотой, однако общая частота мутаций всех генов, которые содержат популяции, очень велика. Мутации, возникающие в половых клетках родительского поколения, приводят к изменению генетической структуры у потомства. В популяции постоянной численности в отсутствие отбора большинство возникших мутаций быстро утрачивается, однако некоторые из них могут сохраниться в ряде поколений. Исчезновению мутантных генов из популяции противостоит действие мутационного процесса, в результате которого образуются повторные мутации.

Генетическая структура популяций формируется и изменяется под действием естественного и искусственного отбора. Действие естественного отбора состоит в том, что преимущественное размножение имеют особи с высокой жизнеспособностью, скороспелостью, плодовитостью и т. д., т. е. более приспособленные к условиям окружающей среды. При искусственном отборе определяющее значение имеют признаки продуктивности.

В. И. Власов отмечает, что естественный отбор идет на всех этапах онтогенеза популяции — от образования гамет до взрослого организма. При этом он существенно влияет на темпы искусственного отбора вследствие противоположного действия при селекции на высокий уровень развития продуктивных признаков, несвойственный видовым биологическим границам. Исходя из этого, при отборе животных необходимо учитывать не только продуктивные признаки, но и признаки приспособленности к условиям окружающей среды.

По С. М. Гершензону, критерием интенсивности естественного отбора служит разность приспособленности сравниваемых групп, называемая коэффициентом отбора и выражаемая в долях единицы. Например, если вероятность оставления потомства особями с генотипом aa на 10 % меньше, чем особями с генотипом AA или Aa , то приспособленность этих групп для особей AA и Aa равна 1, для особей aa — 0,9.

С точки зрения ветеринарной генетики имеет значение эффективность отбора против вредных мутаций, прежде всего рецессивного типа. Анализ показывает, что высокие частоты рецессивного мутантного гена путем отбора могут быть быстро снижены до низких значений. Чтобы снизить частоту летального гена, например с 0,3 до 0,2, достаточно двух поколений (табл. 29).

29. Снижение частоты рецессивного аллеля a при полной элиминации гомозигот aa (по Визнеру и Виллеру, 1979)

Из данных таблицы 29 видно, что частота гомозигот (aa) по мутантному гену зависит от частоты гетерозиготных животных в популяции. Выявление этих гетерозигот и элиминация их соответственно будут снижать частоту генетических аномалий, обусловленных мутантным геном, что особенно важно при высокой частоте мутаций.

Генетическая структура популяции может изменяться в силу случайных генетико-автоматических процессов (по Н. П. Дубинину) или дрейфа генов (по С. Райту). Наблюдения показывают, что наиболее интенсивно дрейф генов протекает в малых популяциях. Например, известны случаи высокой концентрации редких мутаций в малочисленных изолированных популяциях крупного рогатого скота и других видов животных, связанные, очевидно, с генетико-автоматическими процессами.

Распространение мутаций в разных популяциях животных может произойти в результате миграций. На практике это означает завоз животных, особенно производителей или их спермы, из других зон страны или стран. Известно много случаев, когда импортные производители оказывались носителями мутаций и распространяли генетические аномалии при использовании в воспроизводстве местных популяций. Так, экспорт голштинов из США в ФРГ, по данным Рика, способствовал распространению пупочных грыж у немецкого черно-пестрого скота. В нашей стране наблюдалась ситуация, когда из одного племязавода ремонтных быков с транслокацией 1/29 хромосомы продавали без ограничений в разные области. Это могло бы привести к распространению нежелательной мутации в других популяциях. По рекомендации ученых были приняты меры по элиминации носителей транслокаций.

1.9 Лекция № 9 (2 часа)

Тема: «Генетические основы иммунитета»

1.9.1 Вопросы лекции:

1. Понятие об иммунитете и иммунной системе
2. Генетический контроль иммунного ответа
3. Первичные (врожденные) дефекты иммунной системы

1.9.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятие об иммунитете и иммунной системе

Иммунитет — невосприимчивость организма к инфекционным агентам и генетически чужеродным веществам антигенной природы. По Р. В. Петрову (1983), иммунитет — способ защиты организма от живых тел и веществ, несущих на себе признаки генетической чужеродности.

Главная функция иммунитета — иммунологический надзор за внутренним постоянством (гомеостазом) организма. Следствие этой функции — распознавание, а потом специфическое блокирование, нейтрализация или уничтожение генетически чужеродных веществ (бактерий, вирусов, раковых клеток и т. д.). За сохранение генетически обусловленной биологической индивидуальности отвечает иммунная система организма — совокупность всех лимфоидных органов и скоплений лимфоидных клеток. Она состоит из центральных и периферических органов. Центральные органы иммунной системы включают тимус, сумку Фабриция (у птиц) и ее аналог у млекопитающих, костный мозг, пейеровы бляшки и миндалины. К периферическим органам относят лимфатические узлы, селезенку и кровь. Иммунная система и ее главные исполнители — лимфоциты обеспечивают специфическую реакцию организма на чужеродные антигены. Кроме этой системы существуют механизмы, обеспечивающие первичную ступень неспецифической сопротивляемости организма паразитам (бактериям, вирусам, гельминтам и т. д.).

К неспецифическим факторам защиты относят кожные и слизистые покровы, фагоциты (нейтрофилы, тканевые макрофаги), естественные иммуноглобулины, систему комплемента (включающая около 20 белков), интерферон, лизоцим, пропердин, лактоферрин и т. д. Неспецифические факторы защиты действуют в широком спектре, хотя ряд из них может быть в большей или меньшей степени направлен против некоторых групп микроорганизмов. Интерферон обладает противовирусным действием, пропердин характеризуется выраженным антимикробным свойством, комплемент осуществляет бактериологическое действие.

В то же время фагоциты и комплемент участвуют и в специфических реакциях. Фагоциты, кооперируясь с Т- и В-лимфоцитами, принимают участие в иммунном ответе.

Большинство защитных механизмов организма находится под генетическим контролем. Видимо, содержание лизоцима комплемента, пропердина и других веществ наследуется полигенно. На генетическое разнообразие по этим признакам указывают межпородные, межлинейные и межсемейные различия. Имеются генетические дефекты, ведущие к потере способности нейтрофилов к фагоцитозу. Один из них впервые открыт у человека и назван синдромом Чедиака - Хигаши, а сейчас он известен и у крупного рогатого скота (особенно герефордской породы), норки, бизонов, мышей и др. Синдром характеризуется наличием в цитоплазме лейкоцитов больших гранул. У крупного рогатого скота это приводит к частичному альбинизму, светобоязни и чувствительности к инфекциям. У алеутских голубых норок известна алеутская болезнь, вызываемая вирусом, при которой наблюдаются нарушения, как и при синдроме Чедиака—Хигаши. Синдром у скота и норки наследуется как аутосомно-рецессивный признак. Заболевают гомозиготные особи (aa).

Было также обнаружено у человека и собак генетически детерминированное снижение числа нейтрофилов — синдром циклическая нейтропения. Эта болезнь встречается у колли с серым окрасом, которые погибают до полового созревания. Рецессивный ген серой окраски у колли обладает и плеiotропным эффектом в отношении этого летального дефекта.

Клеточная и гуморальная системы иммунитета. Стволовые лимфоидные клетки, мигрировавшие в тимус, превращаются в Т-лимфоциты (Т-клетки), которые ответственны за клеточную форму иммунного ответа, а сформированные в сумке Фабриция (у птиц) или ее аналоге у млекопитающих становятся В-лимфоцитами (В-клетки), которые ответственны за реализацию гуморального иммунного ответа. Т- и В-системы лимфоцитов состоят из субпопуляций клеток. Так, Т-клетки образуют субпопуляцию Т-хелперов, Т-супрессоров, Т-киллеров. Первые из них способствуют превращению В-лимфоцитов в плазматические клетки, вторые блокируют антителообразование В-лимфоцитами и участвуют в становлении и поддержании иммунологической толерантности, третьи разрушают клетки чужеродных трансплантатов и злокачественные клетки.

Многообразие иммунологических реакций является следствием кооперации Т- и В-лимфоцитов и макрофагов, в результате чего образуются антитела (иммуноглобулины). Синтез антител осуществляется в плазматических клетках, происходящих из В-лимфоцитов. Одна клетка после стимуляции антигена за 1 с секретирует около 2 тыс. молекул одной специфичности и определенного класса.

На поверхности В- и Т-лимфоцитов имеются рецепторы иммуноглобулиновой природы, причем на В-лимфоцитах их в десятки и сотни раз больше. Рецепторы — это макромолекулярные структуры клеточной поверхности, с помощью которых клетки узнают антигены. Поэтому проблема специфических рецепторов — одна из центральных в иммунологии, так как благодаря этому происходит распознавание генетически «своего» и «чужого». Синтез и специфичность рецепторов контролируются генетически.

В-система в большей степени ответственна за иммунитет при многих бактериальных инфекциях, антитоксический иммунитет, анафилаксию, аллергию немедленного типа, некоторые аутоиммунные заболевания (красная волчанка и др.). Т-система играет главную роль в иммунитете против большинства вирусных инфекций, туберкулеза, бруцеллеза, туляремии, в трансплантационном и противоопухолевом иммунитете, аллергии замедленного типа, ряде иммунопатологии и др.

2. Генетический контроль иммунного ответа

Иммунный ответ, или иммунологическая реактивность – высоко специфическая форма реакции организма на чужеродные вещества (антигены). При иммунном ответе происходят распознавание чужеродного агента и его элиминация. При введении антигена возникает первичный иммунный ответ — приблизительно через 2 дня в крови образуются антитела, титр которых возрастает, достигает максимума (к 4—6-му дню), а затем падает. Вторичный иммунный ответ возникает на повторное введение того же антигена и характеризуется более высоким и быстрым нарастанием титра антител. Подобная реакция более усиленного образования антител на повторное введение антигена, как вы знаете, называется иммунологической памятью, обусловлена наличием клеток иммунологической памяти и может сохраняться в течение многих месяцев и даже лет. Иммунный ответ зависит от генотипа организма.

Иммунный ответ на инфекцию в общем виде показан на рисунке 53. Сначала антиген захватывается (1) представляющей клеткой (макрофагом). Внутри макрофага антиген перерабатывается (процессинг антигена) и попадает на его поверхность (2). Антиген на поверхности макрофага узнает активированный Т-хелпер (3). Т-супрессоры при иммунном ответе взаимодействуют с Т-хелперами и В-лимфоцитами. Т-хелпер активирует В-лимфоцит, на поверхности которого находится процессированный антиген (4). В-лимфоциты на своей поверхности имеют рецепторы - иммуноглобулины, которыми они узнают и связывают циркулирующий в организме антиген (5). Активированные В-лимфоциты пролиферируют и превращаются в клон плазматических клеток (6), а некоторые из их потомков становятся клетками памяти (7), обеспечивающими быстрый ответ на инфекцию в будущем. Клон плазматических клеток продуцирует антитела, которые связываются с антигеном, маркируют его (8), антигены узнаются и уничтожаются макрофагами (9).

При вирусной инфекции ДНК или РНК вируса попадает в клетку, а вирусные белки остаются на клеточной

Мембране (рис. 54). Цитотоксические Т-клетки (Т-киллеры) своими рецепторами специфически узнают вирусные антигены только в комбинации с белком -главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I, которые имеются почти на всех клетках организма. МНС класса I определяют иммунологическую индивидуальность клетки. В отличие от антител Т-рецепторы не узнают и не связывают антиген, если тот не находится вместе с белком МНС. После узнавания антигенов цитотоксические Т-клетки убивают зараженные вирусом клетки.

Мутации любых локусов, обуславливающие разные звенья иммунной системы организма, в той или иной степени влияют на иммунный ответ. У кроликов, свиней, птицы, мышей и т. д. обнаружены индивидуальные и межлинейные различия по силе иммунного ответа.

Гены иммунного ответа (Iг-гены). При иммунизации инбредных мышей различными антигенами выявлены линии с сильным и слабым иммунным ответом. Гены, кодирующие иммунный ответ, были названы генами иммунного ответа (immuneresponse).

Высота иммунного ответа детерминирована многими генами иммунного ответа, обозначаемыми Iг-1, Iг-2 и т. д. У мышей известно более 20 Iг-генов. Iг-гены контролируют ответ на тимусзависимые антигены и реализуют свое действие на уровне Т-лимфоцитов. Контроль иммунного ответа осуществляется Iг-генами путем контроля синтеза белков (продукты генов 1-района МНС). Эти белки на мембране макрофага вступают в ассоциацию с молекулами процессированного (переработанного в макрофаге) антигена.

В I-районе главного комплекса гистосовместимости мышей H-2 существует три локуса Iг (Iг-1A, Iг-1B, Iг-1C). Кроме того, известны Iг-гены, расположенные вне H-2 комплекса. Это

локусы Ir-2, Ir-4, а также локус Ir, сцепленный с полом. Общее количество Ir-генов неизвестно. Ir-гены контролируют также - клеточные реакции иммунитета. Во многих случаях иммунный ответ против антигенов наследуется полигенно.

Иммунизация свиней различными антигенами позволила также открыть гены иммунного ответа, которые имеют сходство с Ir-генами мышей. Иммунный ответ носит количественный характер, а Ir-гены сцеплены с главным комплексом гистосовместимости свиней SLA.

Межлинейные и межпородные различия антителогенеза. Путем , селекции можно усилить иммунный ответ на различные антигены. При иммунизации лептоспирами мышей 12 инбредных Ж. Линий и сублиний установлено, что титры антител у особей некоторых линий были в 2 раза выше, чем у других. При скрещивании контрастных линий обнаружено доминирование высокого иммунного ответа. Анализирующее скрещивание дало возможность сделать заключение о детерминации иммунного ответа более чем одной парой генов.

Обнаружены различия в титрах антител поросят разных Пород, вакцинированных модифицированной живой вирус вакциной против псевдобешенства (табл. 36).

К. В. Жучаев и С. П. Князев (1990—1993) установили у свиней значительную внутрипопуляционную дифференциацию по гуморальному иммунному ответу на сальмонеллы и эритроциты барана, по клеточной реакции на фитогемагглютинин: группы потомков разных хряков-производителей различались на 25—40 %.

Установлено, что у монозиготных двоен крупного рогатого скота наблюдается большее сходство в иммунном ответе на ряд антигенов, чем у дизиготных двоен.

Биози с соавт. (1973) в результате отбора инбредных мышей одной линии по высоте иммунного ответа на эритроциты барана в девятом поколении добились 30-кратных различий по титру антител между высоко- и низкореагирующими группами. Биози также проводил селекцию в течение 20 поколений и создал две линии мышей (AB/A и AB/L), которые имели 200-кратные различия по титру антител против эритроцитов барана (1:10 000 и 1:40). Животные этих линий различались по высоте иммунного ответа ко многим, но не ко всем антигенам. Иммунологическая реактивность на некоторые антигены у животных этих линий оказалась одинаковой.

На основании вышесказанного можно сделать важный для селекционера вывод о том, что общей высокой иммунологической реактивности нет, а имеется конкретный иммунный ответ (Петров, 1983). Поэтому невозможно создать линии и породы животных, которые были бы в одинаковой мере резистентны ко всем болезням.

Очень важно для селекции то, что генетические различия между высоко реагирующими и низко реагирующими особями на какие-то антигены сохраняются не только в течение жизни организмов, но даже после воздействия ионизирующей радиации — сильного иммунодепрессивного фактора. Так, воздействие сублетальных доз у-лучей на мышей, различающихся в 20 раз по продукции антител к лептоспирам, приводит к снижению титра антител в этих группах, но межлинейные различия сохраняются.

Можно сделать некоторые обобщения в отношении генов иммунного ответа:

1. Ir-гены определяют количество синтезируемых антител против определенных антигенов;

2. многие Ig-гены связаны с генами главного комплекса гистосовместимости и отвечают за кооперацию Т- и В-лимфоцитов;
3. Ig-гены не сцеплены с локусами, кодирующими иммуноглобулины;
4. Ig-гены высокоспецифичны. У организмов с одним и тем же генотипом может быть высокий иммунный ответ против одного антигена и низкий — против другого. Не обнаружены гаплотипы, определяющие общую высокую или низкую иммунологическую реактивность;
5. генетически обусловленные различия в высоте иммунного ответа сохраняются в разные возрастные периоды;
6. между генами, контролирующими высокий или низкий иммунный ответ против различных антигенов, в основном не существует никакой связи;
7. эффект генов, отвечающих за иммунологическую реактивность, реализуется на уровне популяции лимфоидных клеток.
8. Теории иммунитета. В регуляции иммунитета на внутриклеточном уровне принимают участие Ig-гены. На межклеточном уровне в регуляции участвуют различные вещества, выделяемые Т-лимфоцитами и в меньшей мере В-лимфоцитами. Антитела также выполняют регуляторные функции. На уровне организма регуляция осуществляется нейрогуморальной системой.

Из многих теорий иммунитета наибольшее признание получила клонально-селекционная теория Ф. Бернета (1959). Она основана на четырех основных принципах: 1) в организме имеется большое число лимфоидных клеток; 2) популяция Лимфоидных клеток гетерогенна, и в результате интенсивного деления клеток образуется большое число клонов (популяция клеток, происходящая от одного предшественника); 3) небольшое количество антигена стимулирует клон клеток к размножению; 4) большое количество антигена элиминирует соответствующий клон. Согласно этой теории антиген, взаимодействуя с рецептором клетки (В-клетки), вызывает ее интенсивную пролиферацию (деление), в результате чего образуется клон, синтезирующий антитела одной специфичности. Все клетки клона имеют один и тот же генотип. При соматических мутациях одного клона могут возникать новые клоны.

3. Первичные (врожденные) дефекты иммунной системы

Нарушения в различных звеньях иммунной системы приводят к многообразным патологическим иммунным реакциям. Гиперчувствительность (аллергия) возникает в результате чрезмерной иммунной реакции на чужеродные антигены. Иногда иммунные реакции направлены и против структур собственного организма (аутоиммунные реакции). Нарушение иммунного ответа может быть вызвано и в результате неполноценного развития и созревания клеток иммунной системы. Обычно поражение одного звена иммунной системы не затрагивает функционирования других. Выделяют первичные и вторичные иммунодефициты.

Первичные иммунодефициты — это генетически обусловленная неспособность организма реализовать то или иное звено иммунного ответа.

Вторичные иммунодефициты являются приобретенными при индивидуальном развитии организма (онтогенез). Они возникают в результате недостаточного кормления, воздействия ионизирующего излучения, заболевания лейкозом и т. д.

В США в 1981 г. обнаружено новое заболевание иммунной Системы — СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита). Болезнь вызывается вирусом (LAV), в основном поражающим лимфоциты Т-хелперы, и характеризуется длительным инкубационным периодом — более 5 лет. Роль наследственности в реакции организма на приобретенный иммунодефицит отчасти выражается в том, что только около 10 % носителей вируса заболевают СПИДом.

Недостаточность иммунной системы может быть обусловлена недостаточностью фагоцитов, клеточного иммунитета, гуморального иммунитета, системы комплемента, а также комбинированным иммунодефицитом.

У сельскохозяйственных животных наследственные иммуно-дефициты изучены недостаточно. Но в соответствии с законом гомологических рядов в наследственной изменчивости Н. И. Вавилова можно найти иммунодефициты, подобные тем, которые описаны у человека.

Летальный фактор А-46. Известен у скота черно-пестрой, датской и фризской пород и является аутосомно-рецессивным. Телята рождаются нормальными, а к 4—8 недель у них наблюдаются поражение кожи, сыпь, алоpecia (выпадение волос), паракератоз (аномальное ороговение) вокруг рта, глаз, нижней челюсти. Животные более чувствительны к вирусным инфекциям вследствие снижения клеточного иммунитета.

Синтез Ig всех классов и иммунный ответ нормальны. Без лечения животные погибают в 4-месячном возрасте. У больных животных возникает гипоплазия тимуса, селезенки, лимфатических узлов. Предполагают, что у гомозиготных по рецессивному гену телят необычайно повышена потребность в цинке, который нужен для поддержания нормального развития и функционирования Т-лимфоцитов.

Комбинированный иммунодефицит (CID). Известен у человека, жеребят арабской породы и длинношерстной таксы. Связан с генетическим нарушением образования и функционирования Т- и В-лимфоцитов. Наследуется по аутосомно-рецессивному типу. Это подтверждается тем, что у пораженных жеребят матери и отцы здоровы, однако ни один жеребенок не доживает до репродуктивного возраста без трансплантации костного мозга.

Болезнь встречается у самок и самцов. У новорожденных жеребят очень мало или нет циркулирующих лимфоцитов, а в сыворотке крови почти отсутствуют иммуноглобулины. Наблюдается недоразвитие тимуса. Животные не способны отвечать на иммунизацию. Жеребята остаются здоровыми до 2-месячного возраста, а после уменьшения количества материнских Ig погибают к 5-месячному возрасту от различных инфекций. У жеребят арабской породы CID встречается с частотой 2,3—3,7 %.

Агаммаглобулинемия — дефект гуморальной системы (В-лимфоцитов). Встречается у человека и лошадей. Признак сцеплен с полом (с Х-хромосомой). Болезнь описана у жеребят пород американский рысак и английская чистокровная верховая. Животные не способны синтезировать иммуноглобулины всех классов, но функция Т-лимфоцитов нормальная. Больные особенно восприимчивы к бактериальным инфекциям, но чувствительность к вирусным инфекциям не повышена. Жеребята доживают до 17—18 мес, тогда как с комбинированным иммунодефицитом (CID) — до 5 мес. Это указывает на важную роль Т-лимфоцитов в резистентности животных.

Селективный дефицит IgM встречается у лошадей и характеризуется частичным или полным отсутствием IgMв сыворотке крови. Общее количество лимфоцитов с поверхностно расположенными Ig и количество Т-клеток нормальные. Это значит, что отсутствуют Ig MB- клеток или В-клетки не способны секретировать IgM. Большинство жеребят погибают к 4—8 мес в результате повторяющихся с месячного возраста

респираторных инфекций. Некоторые из них доживают до 2 лет, но плохо растут из-за повторных респираторных инфекций. Генетическая природа этой болезни не выяснена.

У кур также выявлена дисгаммаглобулинемия, при которой наблюдаются низкое содержание IgG и повышенный уровень IgM. Это приводит к высокой смертности птицы.

Известна большая группа генетически детерминированных дефектов системы комплемента у человека (C2, C3). Дефицит комплемента C6 у кроликов сопровождается кровоточивостью и обусловлен аутосомно-рецессивным геном. У них легко выявить гетерозиготные особи, что дает возможность избавиться от этого дефекта.

Приведенные здесь примеры указывают на необходимость учета врожденных дефектов иммунной системы. Недостаточно изучены генетический контроль синтеза иммуноглобулинов, главный комплекс гистосовместимости, гены иммунного ответа у разных видов сельскохозяйственных животных и генетическая детерминация силы иммунного ответа у них. Интересно и важно для ветеринарной медицины дальнейшее изучение у животных первичных дефектов всех звеньев иммунологической системы.

1.10 Лекция № 10 (2 часа)

Тема: «Генетические аномалии их причины и принципы профилактики»

1.10.1 Вопросы лекции:

1. Понятия о генетических аномалиях
2. Учет врожденных аномалий
3. Диагностика генетических нарушений

1.10.2 Краткое содержание вопросов:

1. Понятия о генетических аномалиях

Генетические аномалии — это морфофункциональные нарушения в организме животных, возникающие в результате генных и хромосомных мутаций. Генные мутации могут нарушать морфогенез органов и тканей на разных этапах онтогенеза, отсюда столь широкий спектр врожденных аномалий, связанных с изменениями молекулы ДНК. Изменения числа хромосом в клетках или их структуры приводят обычно к прекращению развития эмбриона или рождению особей с тяжелыми пороками развития, нарушению у животных воспроизводительной функции.

Основная роль в этиологии врожденных аномалий принадлежит летальным и сублетальным генам. Так, у человека известно около 2000 аномалий, обусловленных мутантными генами с летальным или сублетальным действием. Большое число таких же признаков изучено у животных. За последнее время значительно расширились знания о хромосомных aberrациях и их связи с нарушениями жизненно важных функций организма животных.

Генетические аномалии представляют собой признаки, контролируемые одной парой аллельных генов (главных генов по Мазеру). Характерной особенностью наследования для этой категории аномалий является мендельский тип распределения, соответствующий доминантным и рецессивным качественным признакам. Для проявления генетической рецессивной аномалии достаточно наличия в обеих хромосомах двух одинаковых мутантных генов.

НАСЛЕДСТВЕННО-СРЕДОВЫЕ АНОМАЛИИ. В отношении определенной категории врожденных аномалий можно говорить, что проявление их примерно в равной степени зависит от эндогенных (генотипа) и экзогенных (внешняя среда) факторов. Это так называемые наследственно-средовые аномалии. Предполагается, что они контролируются полилокусной системой генов. Фенотипическое проявление этих признаков зависит от количества мутантных генов, обуславливающих аномалию. Существует понятие порога действия таких генов, что соответствует их числу или силе кумулятивного эффекта. Если число генов или сила их действия превышают порог, аномалия проявляется. Если эти показатели ниже порога, животное остается нормальным. Сила кумулятивного действия генов, а соответственно фенотипическое проявление аномалии, очевидно, зависят от условий среды. При изменении последней в худшую сторону вредный эффект генов проявляется, в оптимальных условиях среды порог для проявления аномалии, очевидно, повышается.

В некоторых случаях фенотипически сходные аномалии имеют разную генетическую детерминацию (генокопии). С одной стороны, это указывает на генотипическую гетерогенность аномалий. С другой стороны, как это было впервые показано Гольдшмидтом (1935), фенотип генетической аномалии может быть «скопирован» факторами внешней среды у особей с определенным генотипом. Такие аномалии Гольдшмидт называл фенокопиями. Впоследствии было установлено, что образование фенокопий происходит под действием одновременно генетических и средовых факторов. Ландауэр, например, объясняет причину фенокопий более сильной чувствительностью на тератогенные вещества гетерозиготных носителей рецессивных мутаций, а также совместным влиянием генов-модификаторов и факторов среды.

Результаты экспериментальных данных свидетельствуют о том, что отсутствующий у гетерозиготных индивидуумов второй мутантный аллель может восполняться определенными факторами внешней среды. Так возникает характерный для гомозигот фенотип. Аномалии могут возникать в результате действия на эмбрион или плод определенных повреждающих факторов внешней среды, называемых тератогенами. Эти нарушения могут диагностироваться уже после рождения, если тератогенный фактор воздействует в послеродовой период развития.

ЭКЗОГЕННЫЕ АНОМАЛИИ. Аномалии, или пороки развития, возникающие в результате действия на организм факторов внешней среды, являются ненаследственными, или экзогенными. Тератогенные факторы внешней среды можно разделить на физические, химические и биологические. Тератогены одновременно могут быть и мутагенами. Если повреждающий фактор действует на генетический аппарат половые* клетки, он вызывает наследуемую мутацию. В другом случае при воздействии на зрелые соматические клетки возникает соматическая мутация, а в третьем варианте, когда мишенью являются незрелые эмбриональные клетки, вредное вещество проявляет тератогенное действие.

Для того чтобы установить причину врожденных аномалий необходимо провести комплексный анализ на наличие или отсутствие действия тератогенных факторов и влияния наследственности. •

Вот некоторые примеры такого анализа. В двух племенных хозяйствах Ленинградской и Мурманской областей с высоким уровнем кормления на протяжении трех лет регистрировали появление необычного уродства: у телок а затем и у бычков к годовалому возрасту наблюдали отставание в росте и развитии крестцово-бедренной части скелета, так что животные внешне напоминали гиен у них наблюдались сильное недоразвитие

бедренных костей, нарушение гормонального статуса и некоторые другие изменения. При проведении генеалогического анализа оказалось, что все животные с «синдромом гиены» происходили от разных отцов, не связанных общим происхождением. Эти данные дают основание считать, что проявление указанной аномалии прямо не зависит от генотипа животных. Еще пример. В хозяйстве, разводящем черно-пестрый скот, при использовании спермы единственного быка участились случаи рождения телят с пупочными грыжами. Наблюдения, проведенные нами, не выявили каких-либо нарушений процесса отелов коров и содержания новорожденных телят. Поскольку использование одного быка в хозяйстве еще не давало полного основания говорить о наследственном характере возникновения грыж у телят (хотя в литературе такие данные имеются), был поставлен специальный эксперимент. Коров в этом хозяйстве осеменили спермой трех быков. Один из них Заказник 82 черно-пестрой породы уже использовался в хозяйстве, и от него получали телят с грыжами другой бык Блок 107 голштино-фризской породы имел общие корни с черно-пестрой породой скота и третий бык Вяз 338 холмогорской породы не состоял в родстве с двумя первыми.

2. Учет врожденных аномалий

Вначале подчеркнем общую закономерность: проявление наследственно обусловленных аномалий замыкается в пределах определенных семейств и родственных групп животных. Исходя из этого, основным методом генетического анализа аномалий является семейно-групповой метод в пределах одного или нескольких поколений животных. Важное значение в проведении генетического анализа имеют данные патологической анатомии, гистологии, цитологии, физиологии, биохимии, рентгенологии и других наук. Например, было установлено, что аномалия с клиническими признаками нарушения координации движений, агрессивности и летального исхода у телят проявлялась в определенных типах спариваний. Механизм ее возникновения и возможности профилактики открылись благодаря биохимическому анализу. У аномальных животных обнаружили почти полное отсутствие фермента кислой маннозидазы вследствие рецессивной мутации. Гетерозиготные носители мутантного гена содержали в сыворотке крови половину нормы этого фермента.

В другом случае наблюдали гибель телят, полученных от трех родственных между собой производителей, без видимых причин. Только с помощью рентгеноскопии были обнаружены у нежизнеспособных телят щели в позвоночнике, как следствие действия мутантного гена. Так была доказана наследственная причина гибели телят.

Нарушения воспроизводительных функций у животных могут иметь разные причины. С помощью цитогенетического анализа можно установить, являются ли эти нарушения следствием транслокаций или других аберраций хромосом.

Определение типа наследования аномалий. Это важно в целях разработки селекционных методов для профилактики распространения аномального приплода у животных. Тип наследования аномалий обычно определяют на основании анализа генеалогии — родословных, в которых должны быть записаны сведения о характере аномалий. Графическое изображение родственных связей аномальных животных позволяет установить источник распространения аномалий, тип наследования. «Родословные начинают составлять обычно с аномального животного, называемого пробандом. Животных одного поколения с пробандом располагают по горизонтальной линии, каждое предшествующее поколение находится на схеме выше линии пробанда, а каждое последующее — ниже линии пробанда. Особей мужского пола обозначают квадратом, женского — кружком. Прямая линия между квадратом и кружком обозначает

скрещивание, линия, идущая книзу, — потомство. При составлении родословных нередко показывают неполную родословную — только ту линию, в которой имеются аномальные особи.

ПРОСТОЙ АУТОСОМНЫЙ РЕЦЕССИВНЫЙ ТИП НАСЛЕДОВАНИЯ. Этим, термином пользуются, когда аномалия обусловлена одним рецессивным геном, локализованным в аутосоме. Иногда употребляют термин моногенно - аутосомный тип наследования, что является синонимом. Аномалия при этом выявляется в равном соотношении у самцов и самок. Аутосомные рецессивные мутантные гены проявляют свой видимый эффект только в гомозиготном состоянии, когда животное получит его от каждого из родителей. Вероятность такого события возрастает при скрещивании между собой родственных индивидуумов, имеющих большое сходство по генотипам. Поэтому при анализе родословных аномальных животных необходимо прежде всего определить, имеют ли их родители общих предков. Если имеют, то это уже позволяет предположить причину аномалий, как наследственную рецессивную.

Рассмотрим ход генетического анализа на конкретном примере. Так, в совхозе «Новое время» Ленинградской области, где разводят скот черно-пестрой породы, вдруг стали рождаться телята, полностью лишённые шерстного покрова. Количество их с каждым месяцем нарастало, и ветврачи хозяйства и района вынуждены были обратиться к нам в ветеринарный институт за консультацией. Приехав в хозяйство, мы попросили родословную быка Дока 4476, сперму которого использовали для получения приплода. Взяли племенные карточки коров — матерей телят-уродов. В родословных этого производителя и коров обнаружили общих предков — быков Кеймпе 37132, Атхо 15 и Лукавого 1837. Телята уроды, таким образом, оказались инбредными на них. Отметим, что от неродственных спариваний быка Дока 4476 потомство рождалось нормальными. Следовательно, можно сделать вывод о наследственном характере признака бесшерстности, у телят.

Для селекционно-ветеринарной профилактики этого летального дефекта, а он проявлялся в сочетании с расщеплением нёба и укорочением верхней челюсти, важно установить источник данного рецессивного мутантного гена. Этому способствовал наш предыдущий генетический анализ бесшерстности, зарегистрированный у телят в совхозе «Красная Балтика». При сопоставлении родословных аномальных животных выявлен все тот же предок — бык Лукавый 183. Он-то и оказался гетерозиготным носителем летального гена, который, очевидно, унаследовал от своего деда быка Трувора 2918 и, в свою очередь, передал своим сыновьям, дочерям, внукам и т. д. Быки Док 4471, Гофрит 3117, Фист 3222, Автомат 1597 были явными носителями мутантного гена, обладающего заметным плеiotропным действием. За полтора года использования быка Дока 4471 в совхозе «Новое время» зарегистрировано 138 аномальных телят, что составило примерно 5 % от общего числа родившихся животных. После смены этого быка и осеменения коров другим производителем рождение бесшерстных телят прекратилось. Это убедительно свидетельствует о наследственной причине данной аномалии.

Аномальные животные в большинстве случаев рождаются от нормальных, но гетерозиготных родителей. В этом особенность рецессивного типа наследования, когда признак как бы скрывается или перепрыгивает через поколение. Расщепление по рецессивным признакам с полным фенотипическим проявлением (пенетрантностью) соответствует правилам Менделя, так что анализ частоты нормальных и аномальных особей в потомстве того или другого производителя позволяет определить тип наследования аномалий. Так, при скрещивании гетерозиготного производителя (Aa) с гетерозиготными матками (Aa) 25 % потомков будут носителями аномалий (aa). Если

гетерозиготный производитель (Aa) скрещивается с нормальными матками (AA), а затем на этих матках используют производителя, гетерозиготного по тому же рецессивному гену, один из восьми потомков окажется носителем аномалии (aa).

Например, де Гроот для выяснения типа наследования синдрома «гладкий язык» у голландского скота выявил 146 предполагаемых гетерозигот и провел скрещивание между ними. Из полученных 120 телят 30 были носителями этого синдрома, что полностью соответствует расщеплению 3:1. В эксперименте, проведенном Мором и Вридтом, при скрещивании трех быков, от которых рождались бесшерстные телята, с дочерьми других быков, передававших эту аномалию по наследству, были получены следующие результаты:

При рецессивном типе наследования в потомстве в этом случае следует ожидать $1/8$, или 14, бесшерстных телят. Фактически данные близки к теоретически ожидаемым, что доказывает наследование бесшерстности как простого рецессивного признака.

Частота рецессивных аномалий особенно повышается в популяциях, где нередко применяют родственное спаривание. Вероятность рождения животных с генетической аномалией при родственном подборе в случаях, когда каждый из родителей несет мутантный рецессивный ген в скрытом состоянии, значительно выше, чем при неродственном подборе, поскольку число одинаковых (в том числе мутантных) генов у родственников выше, чем в общей популяции.

При рецессивном наследовании выражена закономерность: чем ниже распространение рецессивного гена в популяции, тем чаще аномалия, им обусловленная, проявляется в кровно родственных спариваниях. Однако в некоторых случаях родословная может «принять вид» псевдодоминантного типа наследования. Это может быть при следующих обстоятельствах: в популяции высокая частота гетерозиготных носителей; аномалия обусловлена редко встречающимися рецессивными генами, но в популяции (стаде) высокий процент родственных спариваний.

Примером первой ситуации может быть распространение пупочных грыж у черно-пестрого скота, если принять во внимание рецессивный тип наследования (см. табл. 39). Этот случай интересен и*% том плане, что мутантный ген обладает множественным (плейотропным) эффектом.

3. Диагностика генетических нарушений

Ветеринарный врач должен обследовать весь приплод на наличие аномалий и регистрировать в журнале каждое дефектное животное с подробным описанием характера аномалии, пола индивидуума, даты его рождения, особенностей эмбрионального развития. Особенно тщательно следует проверить происхождение этого животного: правильно ли записана мать, соответствует ли записям отец. Аномальные особи и их родители должны быть подвергнуты анализу на предмет зараженности вирусами и бактериями и по другим параметрам внешней среды, которые могут быть потенциальной причиной аномалии.

Учет аномального приплода и регистрация его в племенных карточках родителей служат предпосылкой для проведения генетического анализа с целью выявления роли наследственности в этиологии аномалий.

Генетический анализ при этом осуществляют в следующей последовательности:

1) определить происхождение аномальных животных по племенным карточкам;

2) определить достоверность происхождения по группам крови и полиморфным системам белков и ферментов;

3) составить родословные на аномальных особей для определения типа спаривания родителей (инбридинг, аутбридинг) и родства между аномальными особями (поиск общих предков);

4. определить тип наследования аномалий (моногенный, полигенный, аутосомный, сцепленный с полом, доминантный, рецессивный);
5. изучить кариотип у аномальных особей и их родителей с целью обнаружения хромосомных и геномных мутаций как причины аномалий;
6. сделать анализ генотипов по аллелям групп крови, полиморфным системам ферментов и белков для поиска маркеров мутации;
7. изучить уровень ферментов и их структуры у аномальных и нормальных животных для обнаружения фенотипического проявления мутантного гена.

В перспективе для выявления носителей мутаций у животных широко могут использоваться современные методы молекулярной генетики, генной инженерии и биотехнологии.

На практике наиболее простой и достаточно точный метод изучения роли наследственности в этиологии аномалий — анализ родословных, или генеалогии, животных. Наличие общего предка с одной (доминантность) или с обеих сторон родословной (рецессивность) указывает на наследственный характер аномалии.

Генеалогический анализ необходимо подкреплять генетико-статистическими расчетами случайности или редкости появления аномалии и т. д. на основе закономерностей популяционной генетики и биометрии.

В условиях крупномасштабной селекции животных, основным содержанием которой прежде всего является интенсивное использование отдельных производителей благодаря методу искусственного осеменения, накоплению миллионов доз семени и возможности длительного хранения его в замороженном состоянии, необходима проверка генотипа каждого из производителей не только по продуктивным признакам, но и на гетерозиготное носительство вредных рецессивных генов. Это можно осуществить следующими методами:

1. спариванием проверяемого производителя с аномальными самками (анализирующее скрещивание);
2. спариванием проверяемого производителя с самками, о которых известно, что они являются гетерозиготными носителями мутантного гена;
3. спариванием проверяемого производителя с собственными дочерьми (инцест-тест);
4. спариванием с дочерьми известных гетерозиготных производителей;
5. спариванием производителя с самками неизвестного генотипа.

В условиях производства использование первых четырех методов целесообразно лишь в определенных ситуациях. Например, анализирующее скрещивание можно допустить для проверки хряков на носительство рецессивного гена кратерности сосков.

В большинстве случаев гомозиготные носители мутантных генов — это нежизнеспособные аномальные особи. Экономически невыгодно и трудно формировать гетерозиготное маточное поголовье. Делать это имеет смысл в условиях широкого распространения в породе той или иной аномалии. Тогда гетерозиготные самки будут тем ситом, через которое просеиваются нормальные производители, а остаются в нем, т. е. выявляются как гетерозиготные, остальные производители.

Третий метод позволяет проверять производителей сразу на все возможные мутации, поскольку сходство между генотипами прямых родственников более полное, чем с остальной частью популяции.

Применяют инцест-тест, исходя из нескольких предпосылок, которые снижают практическое значение получаемых результатов: проверяют на аномалии с моногенным аутосомным рецессивным типом наследования и пренебрегают при этом аномалиями со сложным характером наследования, неполной пенетрантностью и экспрессивностью, а также фенотипами. Для получения достоверных результатов при спаривании отец — дочь необходимо получить не менее 35 потомков, а при проверке на известных гетерозиготных или гомозиготных носительницах число животных меньше. Количество нормального потомства при разных типах спаривания, необходимое для проверки гетерозиготного носительства у животных одноплодных видов.

Принято считать, что каждая гамета обладает 3—5 летальными эквивалентами на каждую зиготу. Летальный эквивалент — это один мутант, со 100%-ной вероятностью ведущий к смерти, и т. д. Следуя этой предпосылке, полагают, что при инцест-тесте трудно найти производителя, от спаривания с которым не наблюдали бы аномальных потомков. Однако Лесли приводит пример, опровергающий это положение. Спермой быка Сэма 951 (порода шароле) осеменено более 200 дочерей. В приплоде не было обнаружено каких-либо рецессивных дефектов. Сотрудники ВИЖа осуществили проверку на гетерозиготное носительство вредных рецессивных генов одного из лидеров голштинской породы, быка Мастера 0001 путем спаривания его с собственными дочерьми. Весь приплод был нормальным.

Четвертый метод проверки аналогичен второму, с тем лишь различием, что частота гетерозигот здесь при прочих равных условиях наполовину ниже и что для достоверной проверки потребуется соответственно вдвое большее количество самок.

Все четыре рассмотренных метода проверки в широкой практике не применяют, так как это связано с определенными экономическими затратами, потерей продуктивности, а при инцест-тесте и с возможной инбредной депрессией у потомства.

Однако в некоторых случаях, например при использовании импортных производителей из тех стран, где в данной породе распространена та или иная аномалия, желательно проверить их генотип в родственных спариваниях.

Применение инбридинга в племенных хозяйствах для получения производителей и маток с консолидированной наследственностью — более высокой гомозиготностью по нормальным доминантным генам — позволяет, как отмечалось раньше, выявлять и гетерозиготных носителей вредных рецессивных генов.

Если в приплоде производителя, полученном от инбридинга, будет зарегистрировано рождение хотя бы одного аномального потомка, такого производителя необходимо взять на учет и целесообразно проверить, является ли данная аномалия экзогенной природы или генетической. Для этого можно воспользоваться одним из четырех рассмотренных выше методов. Выявление производителей — гетерозиготных носителей рецессивных генных мутаций позволяет избежать распространения аномалий в товарных стадах при интенсивном использовании их посредством искусственного осеменения.

Важное значение в деле профилактики генетических аномалий будет иметь разработка методов выявления гетерозиготных животных в самом раннем возрасте по определенным тестам или маркерам. Маркерами мутаций могут быть определенные типы белков и ферментов. Как известно, для последних характерно многообразие вариантов, полиморфизм, обусловленный мутациями. Однако имеется и группа ферментов, которые при электрофорезе обычно не разделяются на фракции, т. е. являются мономорфными. Ученые (Н. П. Дубинин, Ю. П. Алтухов и др.) считают, что мутации, возникающие у животных, можно выявить этой системе ферментов.

В результате исследований, например, обнаружена связь между частотой редких вариантов эстераз и аномалиями развития.

У животных, в частности у крупного рогатого скота, гетерозиготных носителей таких наследственных дефектов обмена веществ, как маннозидоз, паракератоз, порфирия, выявляют путем определения уровня активности соответственно фермента маннозидазы, цинка в сыворотке крови и пропорфирина в эритроцитах. Гетерозиготные животные (Aa) по этим показателям занимают промежуточное положение между нормальными (AA) и аномальными (aa).

Важное значение для профилактики распространения генетических аномалий имеет цитогенетический анализ. Он позволяет выявлять как числовые, так и структурные мутации кариотипа, снижающие жизнеспособность, плодовитость, продуктивность и племенную ценность животных.

Эффективная профилактика вредных последствий хромосомных и геномных мутаций может быть обеспечена отбором на станциях по искусственному осеменению производителей без нарушений в кариотипе. Впервые такая работа в нашей стране начата в Ленинградской области кафедрой животноводства и проблемной лабораторией ветеринарной генетики Ленинградского ветеринарного института.

В результате наших исследований обнаружено распространение транслокации 1/29 хромосом у быков на племпредприятиях нечерноземной зоны России. Выбраковка этих производителей или их спермы — способ профилактики дальнейшего увеличения частоты транслокаций в породе, метод повышения выхода телят, производства мяса и молока в хозяйствах.

Цитогенетическая аттестация производителей и маток — матерей ремонтных животных необходима и у других видов, где используют искусственное осеменение. Например, в свиноводстве установлено распространение разных вариантов транслокаций, резко понижающих плодовитость свиней.

Интенсификация животноводства, внедрение в практику крупномасштабной селекции, главным звеном которой является возрастание нагрузки на каждого производителя, используемого в воспроизводстве, а также потенциальная опасность увеличения давления

на генетический аппарат животных мутагенных факторов ставят в ряд актуальных проблем организацию службы генетического мониторинга — контроля за частотой вредных мутаций в популяциях и породах.

Основные принципы такого контроля рассмотрены в начале настоящей главы. Это учет и правильная классификация аномалий, определение роли наследственности в их этиологии, использование цитогенетических и биохимических маркеров. Создание специальных карточек аномальных животных — носителей хромосомных мутаций в зоне деятельности районных и областных ветеринарных станций, племпредприятий, селекционных центров — исходные данные для контроля за частотой вредных мутаций, на основании которых можно проводить эффективный отбор — селекцию, направленную на снижение частоты рождения аномальных особей, повышение уровня воспроизводительной функции, жизнеспособности и продуктивности животных.

Селекция на снижение частоты аномалий в популяциях животных может быть весьма эффективной. Так, шведские фермеры стали проводить жесткий отбор коров и быков по признаку гипоплазии гонад. В результате частота этой аномалии снизилась с 28,1 % в 1937 г. до 7 % в конце 60-х годов. В наших исследованиях показано, что выбраковка быка Красавчика 4874 красной горбатовской породы и быка Жетона 3501 костромской породы позволила избежать дальнейшего распространения в первом случае врожденной слепоты и во втором — мопсовидности. По данным И. Густавссона, выбраковка быков — носителей транслокации 1/29 хромосом в красно-пестрой шведской породе позволила за 2,5 года повысить выход телят на пять голов в расчете на 100 коров.

В ряде стран проводится анализ кариотипов хряков на реципрокные транслокации. Носителей aberrаций выбраковывают.

Интересная практическая реализация проблемы преодоления признака летальности у серых каракульских овец предложена монгольским ученым Думаажавом Баатаром (1982). Автор экспериментально доказал, что при скрещивании серых каракульских овец с серыми аборигенными монгольскими потомство не заболевает хроническим тимпанитом и обладает хорошими жизнеспособностью и плодовитостью. Таким образом, становится перспективной разработка генетического метода получения гомозиготных серых баранов с целью повышения производства серых смушек на товарных фермах.

1.11 Лекция №11 (2 часа)

Тема: «Основы биотехнологии, генной и клеточной инженерии»

1.11.1 Вопросы лекции:

1. Роль биотехнологии в ветеринарии и животноводстве
2. Клеточная инженерия
3. Генная инженерия

1.11. 2 Краткое содержание вопросов:

1. Роль биотехнологии в ветеринарии и животноводстве

Термин «биотехнология» получил широкое распространение в 70-е годы нашего столетия. Биотехнология опирается, с одной стороны, на древнейшие традиции бродильных и микробиологических производств, с другой — на новейшие открытия

биологических наук. Биотехнология — это наука об использовании живых организмов и биологических процессов в производстве. Это комплексная многопрофильная область научно-технического прогресса, включающая многообразный микробиологический синтез, генетическую и клеточную инженерию, инженерную энзимологию. Биотехнология возникла на стыке микробиологии, биохимии и биофизики, генетики и молекулярной генетики, цитологии и иммунологии. Уровень развития ее во многом определяет научно-технический потенциал страны. Стоимость мировой биотехнологической продукции к концу XX в., по прогнозам специалистов, достигнет 20 млрд долларов. Прогресс биотехнологии в животноводстве в предстоящие 10—15 лет будет определяться развитием генной, клеточной и эмбриогенетической инженерии.

2. Клеточная инженерия

Под клеточной инженерией понимают метод конструирования клеток нового типа на основе их культивирования, гибридизации и реконструкции.

Культура клеток — метод сохранения жизнеспособности клеток вне организма в искусственно созданных условиях жидкой или плотной питательных сред. Использование культуры клеток начато в 50-е годы нашего столетия, когда была показана возможность выращивания вирусов в культивируемых клетках. Затем развитие вирусологии и методов культивирования клеток животных и человека позволило ученым приступить к созданию вирусных вакцин.

Для культивирования могут быть использованы клетки опухолевых тканей, клетки различных органов, лимфоциты, фибробласты, эмбрионы, клетки почек животных и человека, раковые клетки человека и т. д. Культуры, приготовленные непосредственно из тканей организма, называются первичными. В большинстве случаев клетки первичной культуры можно перенести из культуральной чашки и использовать для получения вторичных культур, которые можно последовательно перевивать в течение недель и месяцев. Многие клетки при этом сохраняют признаки дифференцировки тех тканей, из которых они были получены. Например, фибробласты продолжают секретировать коллаген, клетки скелетных мышц эмбриона сливаются и образуют гигантские мышечные волокна, которые спонтанно сокращаются в чашке для культуры тканей, и т. д. Так как все это происходит в культуре, то является доступным для изучения с помощью приемов, которые неприемлемы при работе с интактными тканями.

Клетки животных и человека выращивают на специальных средах в виде суспензии или монослоя на стекле. Технология культивирования некоторых клеток животных настолько хорошо отработана, что может быть использована в производственных целях для получения различных продуктов. В настоящее время клонировано много генов, кодирующих синтез белков разной биологической ценности. Некоторые из таких генов удалось перенести в клетки животных, и они стали продуцентами биологически активных белков. В промышленных масштабах в биореакторах с использованием клеток животных налажено производство таких белков. Они используются как медицинские препараты. Например, эритропоэтин (гормон, стимулирующий образование красных кровяных тел), активатор пламиногена (используется для предотвращения образования тромбов), фактор свертывания крови III (используется при гемофилии), инсулин (для лечения диабета), поверхностный белок вируса гепатита В, интерлейкины и др.

Соматическая гибридизация. Одним из важных направлений клеточной инженерии является гибридизация соматических клеток. Сущность ее заключается в соединении клеток с хромосомными наборами систематически далеких форм.

Впервые гибриды соматических клеток обнаружил в 1960 г. французский биолог Ж. Барский. В культуре ткани клеток двух линий мышей он выявил третий тип клеток. Клетки эти оказались гибридными. Они содержали хромосомы клеток обеих исходных линий. Морфологические и биохимические признаки гибридных клеток были промежуточными между признаками исходных. Однако спонтанное слияние клеток наблюдается редко. В связи с этим разработана техника гибридизации соматических клеток с использованием вируса Сендай. Вирус инактивируют ультрафиолетовыми лучами или алкилирующим мутагеном. Инактивированный вирус вносят в смешанную культуру двух типов клеток. Некоторые клетки при этом сливаются с образованием одной с двумя ядрами. После митотического деления из двуядерной клетки формируются две одноядерные гибридные соматические клетки. В каждой гибридной клетке содержится по одному набору хромосом каждого типа родительских клеток.

При помощи вируса Сендай к настоящему времени получены гибриды клеток многих далеких видов (мыши и курицы, мула и мыши, кролика и обезьяны, человека и курицы, коровы и норки и др.). Гибридные клетки могут размножаться в течение длительного времени, но межвидовая несовместимость имеет место и при соматической гибридизации. Так, в культуре клеток с течением времени образуются клоны, которые почти совсем или совсем утрачивают хромосомы второго вида. Это явление открывает возможности для изучения локализации и характера действия тех или иных генов.

Можно изучить клеточный клон, в котором сохранилась только одна хромосома другого вида, и по наличию или отсутствию в клетке определенных соединений решить вопрос, имеется ли в той или иной хромосоме определенный ген. Можно установить, какой, например, фермент прекращает вырабатывать клетка при утрате той или иной хромосомы. На этом основании можно определить, что ген, кодирующий данный фермент, сцеплен с ушедшей хромосомой. Таким путем была определена локализация многих генов в определенных хромосомах человека.

Соматическая гибридизация может быть использована для картирования хромосом, а также для изучения регуляции действия генов, дифференцировки клеток в онтогенезе и механизма взаимодействия ядра и цитоплазмы.

3. Генная инженерия

Генная инженерия — раздел биотехнологии, связанный с целенаправленным конструированием *in vitro* новых комбинаций генетического материала, способного размножаться в клетке и синтезировать определенный продукт.

Генная инженерия решает следующие задачи:

1. получение генов путем их синтеза или выделения из клеток;
2. получение рекомбинантных молекул ДНК;
3. клонирование генов или генетических структур;
4. введение в клетку генов или генетических структур и синтез чужеродного белка.

Получение генов. Известны два способа искусственного синтеза генов вне организма — химический и ферментативный. Химическим путем в 1969 г. американский ученый Г. Корана с сотр. синтезировали ген аланиновой тРНК дрожжей. Этот ген включал 77 пар нуклеотидов, последовательность которых была

уже ранее расшифрована. Ученые сначала синтезировали фрагменты ДНК длиной от 5 до 12 нуклеотидов, затем соединили их в определенном порядке при помощи открытого к тому времени фермента лигазы. Однако ген аланиновой тРНК при введении в клетку кишечной палочки или бесклеточную среду не функционировал. Оказалось, что он не имел регуляторных элементов — промотора, где локализована точка инициации синтеза, и терминальных кодонов, которые дают сигнал о завершении синтеза иРНК. В 1976 г. Г. Корана с сотр. осуществили синтез гена супрессорной тирозиновой тРНК протяженностью 126 пар нуклеотидов. Были также синтезированы примыкающие к гену регуляторные участки: промотор (52 пары нуклеотидов) и терминатор (21 пара нуклеотидов) и прикрепленные к концам полимера тетрануклеотиды ААТТ и ТТАА. В этом случае искусственно синтезированный ген, встроенный в геном мутантного фага Т4, при введении в живую кишечную палочку оказался работоспособным. В 1979 г. в нашей стране под руководством Ю. А. Овчинникова и М. Н. Колосова химическим путем с помощью ферментов были синтезированы гены гормонов человека и животных — энкефалина и брадикинина.

Химико-ферментативный синтез довольно широко применяют в генной инженерии для получения мелких генов. Для получения генов животных, растений и человека, размер которых составляет 1000—3000 нуклеотидов, этот метод слишком сложен и пока неосуществим. Ученые нашли более простой способ получения таких генов.

В 1970 г. Г. Темин с сотр. обнаружили фермент обратную транскриптазу (ревертазу). В 1972 г. было открыто, что некоторые онкогенные вирусы при помощи обратной транскриптазы могут синтезировать ДНК, используя в качестве матрицы иРНК. Дальнейшие исследования показали, что матрицами для образования копий ДНК могут служить не только РНК онкогенных вирусов, но и другие иРНК. Это открывало принципиальные возможности ферментативного синтеза любых индивидуальных генов (ДНК), используя их РНК-копии. Под ферментативным синтезом гена имеют в виду транскрибирование комплементарной нити ДНК (гена) на молекулах РНК в пробирке. Система для синтеза представляет собой раствор, в котором содержатся все четыре нуклеотида, входящих в состав ДНК, ионы магния, фермент обратная транскриптаза (ее получают из онкогенных вирусов) и матричная (информационная) РНК, кодированная геном, копию которого ставится задача снять. На иРНК обратная транскриптаза синтезирует комплементарную ей цепь ДНК, а затем на ней при помощи этого же фермента синтезируется вторая цепь ДНК. В результате получается ген по структуре такой же, как и тот, на котором была синтезирована иРНК.

Этим способом в лабораториях многих стран создан целый ряд генов. В нашей стране под руководством В. А. Энгельгардта был разработан проект «Реввертаза» — программа синтеза генов с помощью этого фермента. В осуществлении проекта участвовали ведущие отечественные и зарубежные институты. В итоге с 1974 по 1978 г. были синтезированы гены глобина голубя, кролика и человека, а также гены митохондрий печени крыс, часть гена, кодирующего иммунные белки мышей, и др.

Гены, синтезированные при помощи обратной транскриптазы, не имеют регуляторных участков и функционально неактивны. Поэтому транскрибирование копий ДНК рекомендуется проводить с про мРНК, которые имеют все необходимые копии регуляторных частей гена.

Кроме изложенных способов ген можно получить путем выделения с помощью трансдуцирующих фагов. Таким путем в 1969 г. был впервые выделен лактозный ген кишечной палочки. Однако такой способ получения генов не всегда пригоден, так как

предусматривает строгие места локализации фагов. Поэтому используются и другие приемы выделения фрагментов ДНК с нужными для переноса генами.

Рестриктирующие эндонуклеазы (рестриктазы). Важным событием для развития генной инженерии было открытие в клетках бактерий ферментов, способных разрезать молекулу ДНК в строго определенных местах. Ферменты эти называются рестриктирующими эндонуклеазами или рестриктазами, а процесс «разрезания» молекулы ДНК называется рестрикцией. С рестриктазами связаны дальнейшие успехи в молекулярной биологии. Они стали одним из главных элементов генной инженерии. Участок ДНК, узнаваемый определенной рестриктазой, включает специфическую последовательность из 6—8 пар оснований, являющихся палиндромом. Палиндромом называется последовательность ДНК, которая считывается одинаково в обоих направлениях, начиная от 3'-конца каждой цепи. Например, рестриктаза *E.coli* под названием *Eco RI* узнает последовательность

Г 4 ААТТ Ц

Ц ТТАА т Г

и, прикрепляясь к ней, делает по одному одностороннему надрезу с обеих сторон, т. е. разрезает ее в симметричных участках, указанных стрелками. В результате двуцепочная молекула ДНК, если была кольцевой, вследствие разрыва приобретает линейное строение. На краях молекулы образуются липкие концы, представленные односторонними участками из четырех нуклеотидов: на одном конце будет последовательность ААТТ, на другом — ТТАА. При наличии липких концов молекула ДНК из линейной формы вновь способна замкнуться в кольцо без дополнительной обработки. Были обнаружены рестриктазы, узнающие самые разнообразные последовательности нуклеотидов. Например, рестриктаза *EcoRII* узнает последовательность ЦЦТГГ.

К настоящему времени известно свыше 200 рестриктаз, характерных для разных видов микроорганизмов. Это открывает новые возможности для экспериментаторов. Огромные молекулы высших организмов включают большое число мест разрезания для ферментов рестрикции. При обработке ДНК рестриктазами образуются многочисленные фрагменты ДНК, в которых представлены отдельные гены. Затем гены можно соединять в определенные структуры. Остающиеся в такой структуре разрывы нитей ДНК воссоединяются лигазой. Имеется и другой способ получения фрагментов ДНК с липкими концами. Он состоит в том, что выделенные или искусственно синтезированные участки ДНК обрабатывают эндонуклеазой, укорачивающей участки ДНК с обоих концов, после чего при помощи фермента полинуклеотидтрансферазы пристраивают к этим концам последовательности адениловых и тимидиловых нуклеотидов. Длина липких поли-А и поли-Т составляет 50—100 нуклеотидов. При встраивании гена в вектор используются оба рассмотренных метода и часто совместно.

Рекомбинантные ДНК. Рекомбинантная ДНК - это искусственно полученная молекула ДНК. Она имеет форму кольца, включает ген (гены), составляющий объект генетических манипуляций, и так называемый вектор, обеспечивающий размножение рекомбинантной ДНК и синтез в клетке хозяина определенного продукта, кодируемого внесенным геном. Векторами являются те компоненты рекомбинантных ДНК, которые способны акцептировать чужеродные гены и обеспечивать их репликацию в клетках хозяина. Векторы должны обладать следующими особенностями: 1) иметь свойства репликона; 2) нести субстратные участки для рестриктаз, иначе невозможна встройка ДНК; 3) содержать один или несколько маркирующих генов, чтобы по фенотипу можно было определить факт его передачи. Исследования показали, что эффективными векторами являются плазмиды. Из

них в качестве векторов используются ColEI, pSC101 и др. Из вирусов в качестве векторов используют фаги λ , SV40 и их производные. Векторы придают рекомбинантной молекуле способность воспроизводиться независимо от хромосомы клетки бактерии.

Соединение вектора с фрагментом ДНК может производиться следующими путями: при помощи липких концов, образующихся в ДНК под действием эндонуклеаз рестрикции; дополнительного синтеза полинуклеотидных фрагментов каждой из цепей ДНК (поли-А и поли-Т); соединения тупых концов при помощи Т4-лигазы.

На рисунке 25 показаны ферментативный синтез гена и встраивание его в векторную плазмиду. Слева на иРНК при помощи обратной транскриптазы синтезируется цепь ДНК (кДНК), затем иРНК удаляют щелочью и при помощи ДНК-полимеразы достраивают вторую цепь кДНК, экзонуклеазой укорачивают обе цепи ДНК и концевой трансферазой пришивают к их концам поли-Т-последовательности. На этом же рисунке справа показано, что кольцевую ДНК векторной плазмиды разрезают рестриктазой и превращают ее в линейную форму, затем экзонуклеазой цепи укорачивают и концевой трансферазой пришивают к ним поли-А-последовательности. На последнем этапе соединяют оба типа молекул ДНК и получают гибридную молекулу — векторную плазмиду со встроенным в нее синтезированным геном. Разрывы в цепях ДНК воссоединяют лигазой.

В данном случае было известно, какой ген включен в векторную плазмиду. Но в работах по трансгенозу чаще имеют дело со многими фрагментами ДНК, и среди них только единичные включают ген, который подлежит переносу. Для получения фрагментов ДНК с определенным геном применяют так называемый способ дробового ружья, который заключается в том, что ДНК механически или ферментами дробится на множество мелких фрагментов, после чего их вслепую гибридизируют с молекулами ДНК вектора. Перед этим ДНК вектора обрабатывают рестриктазой для придания им линейной формы и образования липких концов. После введения рекомбинантных молекул в кишечную палочку при помощи селективных сред выделяют те бактерии, в которые попал фрагмент ДНК с нужным геном. Включенный ген обнаруживают по продукту его действия в виде определенного вещества (фермент, гормон и т. д.). Размножение в бактериях

идентичных рекомбинантных ДНК называется клонированием. Каждый клон бактерий содержит свою рекомбинантную ДНК. Разрабатываются методы, позволяющие производить замены нуклеотидов в ДНК клонированного гена и тем самым изменять свойства кодируемого этим геном белка.

Введение в клетку рекомбинантных молекул и синтез чужеродного белка. Чаще всего рекомбинантные молекулы вводятся в клетки бактерий методом трансформации. Сначала клетки бактерий с целью повышения их способности поглощать плазмидную ДНК обрабатывают хлористым кальцием или хлористым барием. После этого в клеточную взвесь вводят раствор с рекомбинантными молекулами. Некоторые из этих молекул проникают внутрь клетки, и часть из них, прикрепясь к мембранам клетки, начинает размножаться и функционировать.

Одно из наиболее важных для практики направлений генной инженерии — конструирование микроорганизмов-продуцентов нужных веществ. Первыми в этом направлении были исследования К. Итакуры и Г. Боейра с соавт. (1977). Им удалось добиться экспрессии гена, кодирующего гормон соматостатин в клетках кишечной палочки. Затем в разных странах клетки кишечной палочки использовались для синтеза ряда белков и гормонов человека и животных: инсулина, интерферонов, гормона роста, урокиназы, кальцитонина, альбумина, тимозина и др. В лабораториях А. А. Баева, Ю. А.

Овчинникова, М. Н. Колосова, Е. Д. Свердлова и др. осуществлена экспрессия генов, кодирующих энкефалин, лейкоцитарный интерферон, брадикинин, соматотропин.

В последние годы уделяется много внимания созданию генно-инженерных вакцин. Получают антигены из рекомбинантных микроорганизмов или культур клеток, в которые введен определенный ген возбудителя болезни. Этим методом получен материал для вакцинации против гепатита В, гриппа А, малярии, ящура, бешенства, паравируса свиней и др. В нашей стране произведена обратная транскрипция РНК вируса гепатита А. ДНК, кодирующая вирусный белок гепатита, была пришта к

ДНК вируса оспы. В результате ослабленная культура оспы вызывает иммунитет против опасной болезни — гепатита. Вакцина проходит производственное испытание.

Штаммы бактерий, продуцирующие вещества, активные в организме человека и животных, могут быть использованы для промышленного производства лекарственных препаратов.

В нашей стране ведутся работы по получению методами генной инженерии суперпродуцентов продуктов, свойственных клеткам, таких, как аминокислоты, витамины, ферменты, а также по созданию культур, активно разлагающих нефть, пластмассы, разрушающих нафталин, фиксирующих азот, и т. д.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа №1 (2 часа).

Тема: «Клетка как целостная самовоспроизводящая система»

2.1.1 Цель работы:

1. Изучить предмет, задачи и объект исследования ветеринарной генетики, связь генетики с другими науками.

2.1.1 Задачи работы:

1. Основные вехи в истории генетики.
2. Роль ядра и органелл цитоплазмы в передаче наследственной информации.
3. Решение и оформление генетических задач.

2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.1.4 Описание (ход) работы:

Основные вехи в истории генетики

Середина 18 – начало 21 века	Первые попытки научного объяснения причин наследственности и изменчивости
1763–1851 гг.	Французский исследователь ввел представление о контрастных или альтернативных признаках
1856–1865 гг.	Работы Г. Менделя по гибридизации растений – первый научный шаг в изучении наследственности.
1865 г.	Вышла в свет работа Г. Менделя «Опыты над растительными гибридами», в которой изложены закономерности наследования, открытые им в результате восьмилетних исследований на различных сортах гороха.
1900 г.	К. Корренс, Г. Де Фриз и К. Чермак, проводя эксперименты на различных объектах, заново переоткрыли основные законы наследования признаков,

	открытые Г. Менделем.
1901–1903 г.г.	Была разработана мутационная теория Г. де Фриза.
1906 г.	Генетики в США и Европе начинают работать с плодовой мушкой дрозофилой.
1911 г.	Т. Морган сформулировал хромосомную теорию наследственности в ее первом представлении.
1920 г.	Н.И. Вавилов сформулировал закон гомологических рядов наследственной изменчивости.
1929 г.	А.С. Серебровский и Н.П. Дубинин доказали сложную структуру гена.
1933 г.	Т. Мограну, первому среди профессиональных биологов, была присуждена Нобелевская премия по физиологии и медицине
1944 г.	Американскими биохимиками (О.Эверин и др.) было установлено, что носителем свойства наследственности является ДНК.
1953 г.	Расшифрована структура ДНК Ф. Криком и Д. Уотсоном
1955–1960 г.г.	Выяснение природы генетического материала и основных закономерностей сохранения генетической информации, ее передачи и реализации в молекулярные признаки (белки)
1962 г.	Английский физик ф. Крик и биофизик М. Уилкине, и американский биофизик Д. Уотсон получают Нобелевскую премию за открытие структуры нуклеиновых кислот и их роли в наследственной передаче признаков организма.
1968 г.	Американским биохимикам Р. Холи, Х. Коранс, М. Ниренбергу присуждена Нобелевская премия за расшифровку генетического кода и его роли в синтезе белка.
1980–1990 г.г.	Первые геномные проекты и начало и начало их реализации. Механизмы регуляции генной активности, проблемы генетического контроля за формирование признаков. Развитие медицинских аспектов генетики.
1997 г.	Первое клонированное животное (овечка Долли), полученное из ядра взрослой соматической клетки; собственное ядро ооцита было заменено на ядро клетки из культуры эпителиальных клеток молочной железы взрослой лактирующей овцы.
1990–2000 г.г.	Первые расшифрованные геномы прокариот (бактерий) и эукариот. Создание трансгенных организмов.
2001 г.	Расшифрован геном человека. Этические проблемы использования генетических технологий.

2. Роль ядра и органелл цитоплазмы в передаче наследственной информации.

Ядро осуществляет две группы общих функций: одну, связанную собственно с хранением генетической информации, другую – с ее реализацией. Ядро (лат. *nucleus*) — это один из структурных компонентов эукариотической клетки, содержащий генетическую информацию (молекулы ДНК), осуществляющий основные функции: хранение, передача и реализация наследственной информации с обеспечением синтеза белка.

В первую группу входят процессы, связанные с поддержанием информации в виде неизменной структуры ДНК. Важно, чтобы молекулы ДНК передавались из поколения в поколение стабильными, а поскольку это невозможно в силу мутагенеза, существуют репарационные механизмы на молекулярном уровне, т.е. самовосстановление первичной структуры. Существует световая репарация: при облучении видимым светом (УФ) активируется фермент, восстанавливающий первичную структуру ДНК за счет расщепления образовавшихся в мутированной молекуле димеров пиримидиновых оснований.

При темновой репарации происходит вырезание димеров пиримидинов с помощью эндонуклеазы, далее к интактной цепи ДНК присоединяются комплементарные нуклеотиды и цепь сливается лигазами с получением исходной структуры.

Чтобы дочерние клетки при делении (митозе) получили совершенно одинаковые в количественном и качественном отношении объемы генетической информации, в ядре должна пройти редупликация молекул ДНК, что и наблюдается в S-периоде интерфазы.

Во время образования половых клеток происходят рекомбинации генетической информации, что обеспечивает их генетическую разнородность при одинаковом количественном объеме (кроссинговер при редукционном делении).

Далее, в функции ядра входит распределение генетической информации между дочерними клетками, для чего в ядре происходит предварительная компактизация хромосом (выше описана).

Для реализации генетической информации требуется создание собственно аппарата белкового синтеза. Это включает синтез на молекулах ДНК разных информационных РНК, транспортных и рибосомных РНК. Кроме того в ядре эукариотических клеток происходит образование субъединиц рибосом путем образования комплексов рибосомных белков и рибосомных РНК, которые затем переходят в цитоплазму и на мембраны ЭПС, где и функционируют.

Коллинеарногенетическому коду, через транскрипцию и трансляцию, конечным результатом реализации генетической информации является синтез полипептидных цепей в рибосоме. Такая однонаправленность и универсальность может быть представлена в виде схемы, известной как «центральная догма молекулярной биологии» ДНК:

ДНК → репликация → ДНК → транскрипция → РНК → трансляция → полипептид → эпигенез → белок → признак.

Таким образом, ядро представляет собой не только хранилище генетической информации (хорошо защищенной ядерной мембраной), но и место где этот материал воспроизводится и функционирует. Поэтому выпадение или нарушение любой из перечисленных функций губительно для клетки в целом. Так, нарушение репарационных процессов будет приводить к изменению первичной структуры белков до несвойственных данной клетке, что проявится в виде патологии или гибели.

Важнейшая роль цитоплазмы — объединение всех клеточных структур (компонентов) и обеспечение их химического взаимодействия. Она выполняет и другие функции, в частности, поддерживает тургор клетки.

В процессе реализации заключенной в ядерных генах генетической информации важную роль играет цитоплазма клетки. Именно в цитоплазме осуществляется синтез белковых молекул на основе информации, закодированной в молекулах ядерной ДНК. Одновременно некоторые структурные элементы цитоплазмы могут хранить и передавать по наследству определенную долю генетической информации, не связанной с

ядром. Такой способ передачи генетической информации называется цитоплазматической, или нехромосомной, наследственностью.

Цитоплазматическая наследственность связана с действием генов, локализованных в таких элементах цитоплазмы, которые содержат ДНК, способны к автономной репликации и равномерному распределению между дочерними клетками. Важнейшими из них являются пластиды, митохондрии и плазмиды.

2.2 Лабораторная работа №2 (2 часа).

Тема: «Передача наследственной информации в процессе размножения клеток»

2.2.1 Цель работы:

1. Изучить стадии митоза и процессы происходящие при мейозе.
2. Рассмотреть основные различия между сперматогенезом и оогенезом.

2.2.2 Задачи работы:

1. Митотический цикл и митоз.
2. Передача наследственной информации при половом размножении.
3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.2.4 Описание (ход) работы:

1. Митотический цикл и митоз.

Под малым увеличением микроскопа находят на продольном срезе зону, в которой имеется много делящихся клеток. Она расположена, несколько отступая от конца корешка. Затем переводят микроскоп на большое увеличение и находят различные фазы митоза.

Процесс митоза принято подразделять на четыре основные фазы: *профазу*, *метафазу*, *анафазу* и *телофазу* (рис. 1–3). Так как он непрерывен, смена фаз осуществляется плавно — одна незаметно переходит в другую.

В профазе увеличивается объем ядра, и вследствие спирализации хроматина формируются хромосомы. К концу профазы видно, что каждая хромосома состоит из двух хроматид. Постепенно растворяются ядрышки и ядерная оболочка, и хромосомы оказываются беспорядочно расположенными в цитоплазме клетки. Центриоли расходятся к полюсам клетки. Формируется ахроматиновое веретено деления, часть нитей которого

идет от полюса к полюсу, а часть — прикрепляется к центромерам хромосом. Содержание генетического материала в клетке остается неизменным ($2n4c$).

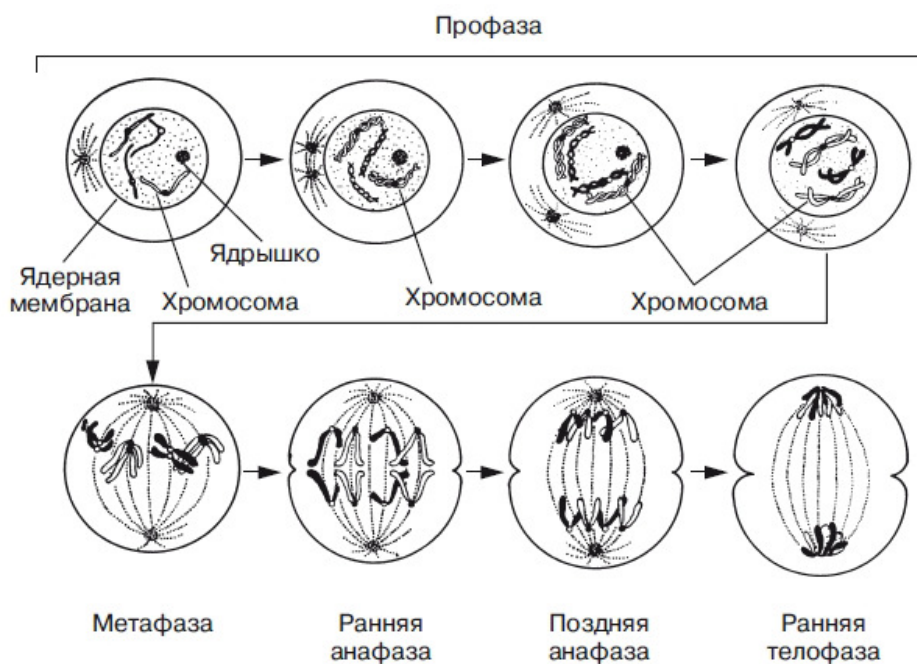


Рис. 1. Схема митоза в клетках корешка лука

В метафазе хромосомы достигают максимальной спирализации и располагаются упорядоченно на экваторе клетки, поэтому их подсчет и изучение проводят в этот период. Содержание генетического материала не изменяется ($2n4c$).

В анафазе каждая хромосома «расщепляется» на две хроматиды, которые с этого момента называются дочерними хромосомами. Нити веретена, прикрепленные к центромерам, сокращаются и тянут хроматиды (дочерние хромосомы) к противоположным полюсам клетки. Содержание генетического материала в клетке у каждого полюса представлено диплоидным набором хромосом, но каждая хромосома содержит одну хроматиду ($4n4c$).

В телофазе расположившиеся у полюсов хромосомы деспирализуются и становятся плохо видимыми. Вокруг хромосом у каждого полюса из мембранных структур цитоплазмы формируется ядерная оболочка, в ядрах образуются ядрышки. Разрушается веретено деления. Одновременно идет деление цитоплазмы. Дочерние клетки имеют диплоидный набор хромосом, каждая из которых состоит из одной хроматиды ($2n2c$).

2. Передача наследственной информации при половом размножении.

На препаратах яичников взрослых кроликов половые клетки – ооциты находятся на стадиях диплотены и диакинеза, которые и следует изучить. При рассмотрении под малым увеличением микроскопа препарата можно найти растущий фолликул, окруженный двумя или несколькими слоями фолликулярного эпителия, но не имеющий внутренней полости.

В профазе мейоза I происходит постепенная спирализация хроматина с образованием хромосом. Гомологичные хромосомы сближаются, образуя общую структуру, состоящую из двух хромосом (бивалент) и четырех хроматид (тетрада). Соприкосновение двух гомологичных хромосом по всей длине называется конъюгацией. Затем между гомологичными хромосомами появляются силы отталкивания, и хромосомы

сначала разделяются в области центромер, оставаясь соединенными в области плеч, и образуют перекресты (хиазмы). Расхождение хроматид постепенно увеличивается, и перекресты смещаются к их концам. В процессе конъюгации между некоторыми хроматидами гомологичных хромосом может происходить обмен участками — кроссинговер, приводящий к рекомбинации генетического материала. К концу профазы растворяются ядерная оболочка и ядрышки, формируется ахроматиновое веретено деления. Содержание генетического материала остается прежним ($2n2xr$).

В метафазе мейоза I биваленты хромосом располагаются в экваториальной плоскости клетки. В этот момент спирализация их достигает максимума. Содержание генетического материала не изменяется ($2n2xr$).

В анафазе мейоза I гомологичные хромосомы, состоящие из двух хроматид, окончательно отходят друг от друга и расходятся к полюсам клетки. Следовательно, из каждой пары гомологичных хромосом в дочернюю клетку попадает только одна — число хромосом уменьшается вдвое (происходит редукция). Содержание генетического материала становится $1n2xr$ у каждого полюса.

В телофазе происходит формирование ядер и разделение цитоплазмы — образуются две дочерние клетки. Дочерние клетки содержат гаплоидный набор хромосом, каждая хромосома — две хроматиды ($1n2xr$).

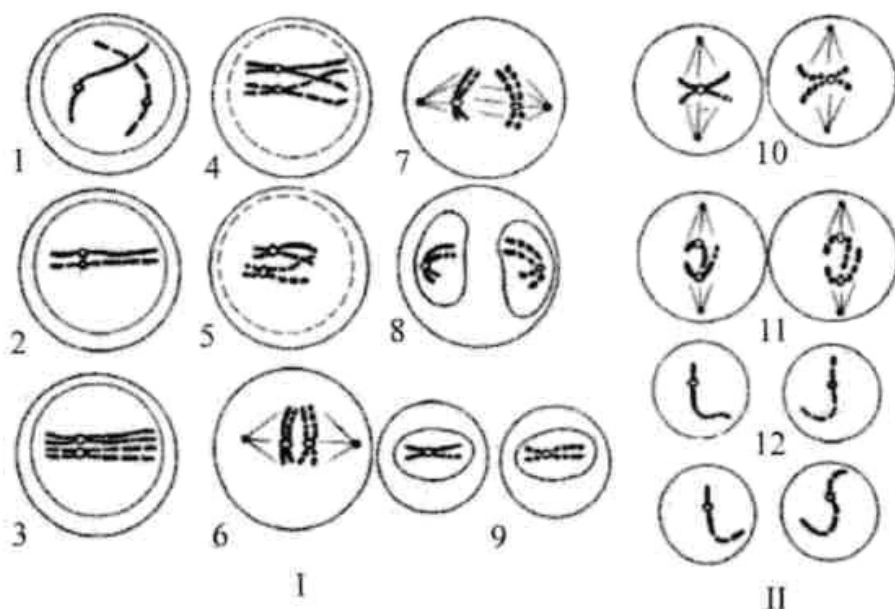


Рис. 1. Схема мейоза (показана одна пара гомологичных хромосом). Мейоз I: 1, 2, 3, 4, 5 — профазы; 6 — метафаза; 7 — анафаза; 8 — телофаза; 9 — интеркинез. Мейоз II: 10 — метафаза; 11 — анафаза; 12 — дочерние клетки.

В профазе мейоза II происходят те же процессы, что и в профазе митоза. В метафазе хромосомы располагаются в экваториальной плоскости. Изменений содержания генетического материала не происходит ($1n2xr$). В анафазе мейоза II хроматиды каждой хромосомы отходят к противоположным полюсам клетки, и содержание генетического материала у каждого полюса становится $1n1xr$. В телофазе образуются 4 гаплоидные клетки ($1n1xr$).

Таким образом, в результате мейоза из одной диплоидной материнской клетки образуются 4 клетки с гаплоидным набором хромосом. Кроме того, в профазе мейоза I происходит рекомбинация генетического материала (кроссинговер), а в анафазе I и II — случайное отхождение хромосом и хроматид к одному или другому полюсу. Эти процессы являются причиной комбинативной изменчивости.

2.3 Лабораторная работа №3 (2 часа).

Тема: «Законы Г.Менделя»

2.3.1 Цель работы:

1. Изучение закономерностей наследования при моногибридном скрещивании. В процессе постановки опыта осмыслить первый и второй закон Менделя.
2. Ознакомление с закономерностями наследования признаков при дигибридном скрещивании. Осмысление третьего закона Менделя.

2.3.2 Задачи работы:

1. Моно- и дигибридное скрещивание.
2. Полигибридное скрещивание.
3. Решение генетических задач.

2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.3.4 Описание (ход) работы:

1. Моно- и дигибридное скрещивание.

При изучении наследования признаков путем гибридологического анализа берут гомозиготных особей по изучаемым признакам, проверенных на чистоту генетического материала.

Для эксперимента взяли самок дикой расы дрозофилы, имеющей доминантный признак (длинные крылья), и самца мутантной линии имеющей рецессивный признак (зачаточные крылья). Особи, имеющие одинаковые гены аллельной пары (АА,аа), полученные от матери и отца, называются **гомозиготными**. При размножении таких особей расщепления не происходит. Особи, имеющие разные гены аллельной пары (Аа), называются **гетерозиготными**. При размножении гетерозиготных особей происходит расщепление признаков.

Первый закон Менделя. При скрещивании гомозиготных организмов, отличающихся друг от друга одной или несколькими парами аллельных генов, все первое поколение гибридов фенотипически и генотипически единообразно и имеет доминантный признак.

Все потомство мух в реципрокных скрещиваниях имеет длинные крылья, т.к. гены, контролирующие развитие изучаемого признака, находятся в соматических хромосомах, а поэтому не имеет значения, кто из родителей имеет тот или иной признак.

Второй закон Менделя. При скрещивании гетерозиготных особей первого поколения между собой во втором поколении наблюдается расщепление признаком в соотношении 3 доминантных : 1 рецессивный. Расщепление по генотипу составляет 1:2:1, т.е. 1 гомозиготный доминант к 2 гетерозиготным и к 1 рецессивному.

Для дигибридного скрещивания берут линии с аутосомными рецессивными мутациями, гены которых находятся в разных хромосомах. Кроме указанных выше линий, для дигибридного скрещивания можно использовать и другие: черные с глазами цвета коновари, с нормальными крыльями и коричневыми глазами.

2. Полигибридное скрещивание.

Третий закон Менделя (правило независимого наследования признаков) Генетически обусловленные признаки наследуются независимо друг от друга, сочетаясь во всей возможных комбинациях (исключение – наследование сцепленных признаков). Несмешивание аллелей каждой пары альтернативных признаков в гаметах гибридного организма называют чистой гаметой. В основе этого явления лежит механизм мейоза.

3. Решение генетических задач.

Иллюстрации первого и второго законов Менделя

Задача 1

Ген черной масти у крупнорогатого скота доминирует над геном красной масти. Какое потомство F₁ получится от скрещивания чистопородного черного быка с красными коровами? Какое потомство F₂ получится от скрещивания между собой гибридов?

Решение

A – ген черной масти,

a – ген красной масти.

1. Красные коровы несут рецессивный признак, следовательно, они гомозиготны по рецессивному гену и их генотип – aa.

2. Бык несет доминантный признак черной масти и является чистопородным, т.е. гомозиготным. Следовательно, его генотип – AA.

3. Гомозиготные особи образуют один тип гамет, поэтому черный бык может продуцировать только гаметы, несущие доминантный ген A, а красные коровы несут только рецессивный ген a.

4. Они могут сочетаться только одним способом, в результате чего образуется единообразное поколение F₁ с генотипом Aa.

5. Гетерозиготы с равной вероятностью формируют гаметы, содержащие гены A и a. Их слияние носит случайный характер, поэтому в F₂ будут встречаться животные с генотипами AA (25%), Aa (50%) и aa (25%), то есть особи с доминантным признаком будут составлять примерно 75%.

Ответ: При скрещивании чистопородного черного быка с красными коровами все потомство будет черного цвета. При скрещивании между собой гибридов F₁ в их потомстве (F₂) будет наблюдаться расщепление: 3/4 особей будет черного цвета, 1/4 – красного.

Задача 2

Гладкая окраска арбузов наследуется как рецессивный признак. Какое потомство получится от скрещивания двух гетерозиготных растений с полосатыми плодами?

2. Выяснение генотипов организмов по генотипам и фенотипам родителей и потомков
При решении таких задач необходимо помнить, что генотип особей с рецессивным

признаком из-вестен – они гомозиготны. Наличие доминантного или рецессивного гена у организмов, несущих доминантный признак (их гомо- или гетерозиготность), можно определить по генотипам их родителей или потомков, учитывая то, что один ген из каждой пары ребенок получает от отца, а второй – от матери.

Задача 3

Способность человека ощущать горький вкус фенилтиомочевина (ФТМ) – доминантный признак, ген которого (Т) локализован в 17-й аутосоме. В семье мать и дочь ощущают вкус ФТМ, а отец и сын не ощущают. Определить генотипы всех членов семьи.

Решение

1. Отец и сын не ощущают вкус ФТМ, т.е. несут рецессивный признак, следовательно, их гено-тип – tt.
2. Мать и дочь ощущают вкус, значит, каждая из них несет доминантный ген Т.
3. Одну хромосому ребенок получает от отца, другую – от матери. От отца дочь может получить только рецессивный ген t (поскольку он гомозиготен). Следовательно, генотип дочери – Tt.
4. В потомстве матери есть особь с генотипом tt, следовательно, она также несет рецессивный ген t, и ее генотип – Tt.

Ответ: Генотип матери и дочери – Tt, отца и сына – tt.

2.4 Лабораторная работа №4 (2 часа).

Тема: «Морфологическое строение хромосом»

2.4.1 Цель работы:

1. Ознакомиться с морфологическим строением хромосом.
2. Изучить различные типы хромосом.

2.4.2 Задачи работы:

1. Строение хромосом.
2. Кариотипы сельскохозяйственных животных.
3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.4.4 Описание (ход) работы:

1. Строение хромосом.

Диплоидное число хромосом у домашних свиней равно 38 (19 пар гомологичных хромосом). Обратите внимание на то, что каждая хромосома на этом рисунке расщеплена вдоль по всей длине на две хроматиды. Согласно классификации В.Н.Тихонова и

А.И.Трошиной, по длине и положению центромеры хромосомы свиньи подразделяют на 4 группы (А, В, С, D)

В диплоидном наборе соматических клеток крупного рогатого скота содержится 60 хромосом (30 пар). На хорошо изготовленных препаратах и при удачном выборе метафазной пластинки подсчет хромосом не вызывает затруднения. Однако классификация хромосом трудна, т.к. аутосомы (29 пар) не отличаются друг от друга по положению центромеры. Все они относятся к акроцентрикам. Поэтому на практических занятиях следует ограничиваться лишь подсчетом числа хромосом и выявлением субметацентрических половых хромосом.

Хромосома - постоянный компонент ядра, отличающийся особой структурой, индивидуальностью, функцией и способностью к самовоспроизведению, что обеспечивает их преемственность, а тем самым и передачу наследственной информации от одного поколения растительных и животных организмов к другому.

Размеры хромосом у разных организмов варьируют в широких пределах. Длина хромосом может колебаться от 0,2 до 50 мкм. Число хромосом у различных объектов также значительно колеблется, но характерно для каждого вида животных или растений. Совокупность числа, величины и морфологии хромосом называется **кариотипом** данного вида.

Хромосомы животных и растений представляют собой палочковидные структуры разной длины с довольно постоянной толщиной, у большей части хромосом удается легко найти зону первичной перетяжки, которая делит хромосому на два плеча. В области первичной перетяжки находится **центромера**, где расположен **кинетохор**. Некоторые хромосомы имеют **вторичную перетяжку**.

В конце интерфазы каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид. Каждая из них, в свою очередь, состоит из двух половинок – полухроматид или хромонем. Хромонемы содержат уплотненные участки – хромомеры, которые в световом микроскопе имеют вид темноокрашенных гранул. Их число, положение и величина в обеих хроматидах одинаковы и для каждой хромосомы относительно постоянны. Расстояния между хромомерами называются межхромомерными участками.

Когда говорят о морфологии хромосом, то принимают во внимание следующие признаки: длину плеч, положение центромеры, наличие вторичной перетяжки или спутника. Спутники разных хромосом отличаются по форме, величине и длине нити, соединяющей их с основным телом.

Спутник – это хромосомный сегмент, чаще всего гетерохроматический, расположенный дистально от вторичной перетяжки. По классическим определениям спутник – сферическое тельце с диаметром, равным диаметру хромосомы или меньше его, которое связано с хромосомой тонкой нитью. Выделяют следующие 5 типов спутников:

1. **микроспутники** – сфероидальной формы, маленькие спутники с диаметром вдвое или еще меньше диаметра хромосомы;
2. **макроспутники** – довольно крупные формы спутников с диаметром, превышающим половину диаметра хромосомы;
3. **линейные С.** - спутники, имеющие форму длинного хромосомного сегмента. Вторичная перетяжка значительно удалена от терминального конца;
4. **терминальные С.** – спутники, локализованные на конце хромосомы;
5. **интеркалярные С.** – спутники, локализованные между двумя вторичными перетяжками.

2. Кариотипы сельскохозяйственных животных.

Анализ хромосом в клетках животных и растений разных видов позволил выявить ряд общих закономерностей, имеющих важное значение при изучении явлений

наследственности и изменчивости. Установлено, что количество хромосом в клетках разных тканей одного вида одинаково. Например, у домашней мыши подсчитывали число хромосом в клетках костного мозга, селезенки, лимфатических узлов, печени, почек, слюнной железы, пейеровых бляшек, роговицы, эпителия кишечника; все они содержали по 40 хромосом. Форма и размеры хромосом в пределах вида также постоянны. Каждая хромосома в клетке отличается от других хромосом по внешнему строению и функциональным особенностям, т. е. индивидуальностью, которая сохраняется от одной генерации клеток к другой и передается от родителей к потомкам.

В соматических клетках хромосомы парные, а набор хромосом в них диплоидный (2n). Пары одинаковых по форме и величине хромосом называют гомологичными. Парность хромосом возникает при слиянии (оплодотворении) мужской и женской половых клеток, которые содержат гаплоидный набор хромосом (n). Таким образом, к закономерностям строения хромосомных наборов можно отнести постоянство числа хромосом, парность, индивидуальность и непрерывность хромосом. Изучение хромосомных наборов у самцов и самок одного вида показывает, что различаются они только по одной паре хромосом. Их обозначают X (икс) и Y (игрек).

Другими словами, хромосомы, по-разному представленные у двух полов и противоположно участвующие в генетическом контроле половой дифференциации и половых функций, называют половыми хромосомами или гонадами; хромосомы, одинаковые у разных полов, — аутозомами.

При анализе наборов хромосом в клетках разных видов были выявлены различия по числу хромосом или их строению либо те и другие одновременно. Совокупность количественных и структурных особенностей диплоидного набора хромосом вида получила название кариотипа. По определению С. Г. Навашина, кариотип — это структура — своеобразная формула вида. В кариотипе заложена генетическая информация особи, изменения которой влекут за собой изменения признаков и функций организма данной особи или ее потомства. Поэтому так важно знать особенности нормального строения хромосом, чтобы при возможности суметь выявить изменения в кариотипе.

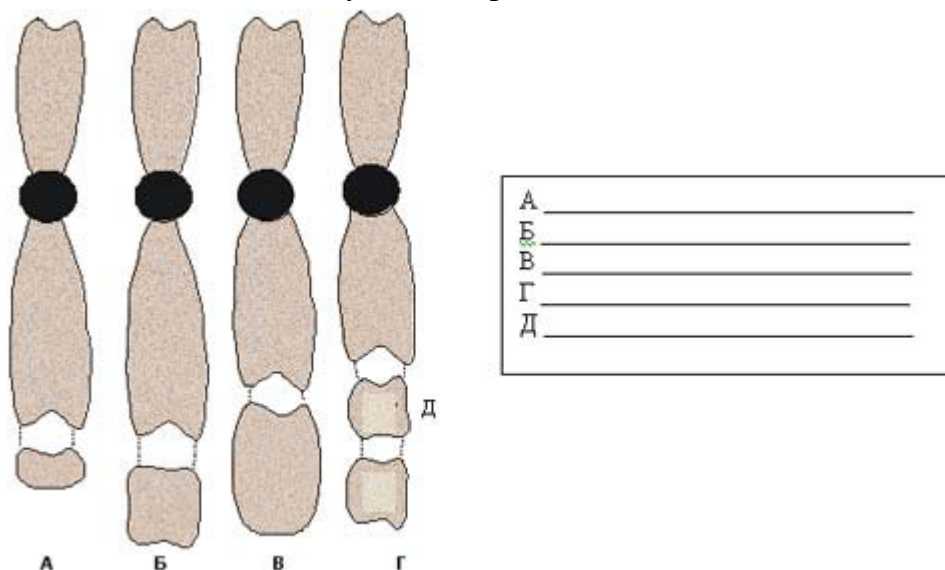
Для анализа хромосом важное значение имеет микрофотографирование. Оно позволяет детально изучить морфологию, подсчитать число хромосом в метафазной пластинке, измерить каждую из них. После визуальной оценки, измерений хромосомы можно вырезать и разложить по парам гомологов (идиограмма) в порядке убывающей величины (рис. 4). В таблице 1 дана характеристика кариотипов основных видов сельскохозяйственных животных.

Вид животного	Число хромосом (2n)	В том числе по форме			
		Аутосомы		Половые хромосомы	
		мета-центрического и субмета-центрического типов	ахро-центрического типа	мета-центрического и субмета-центрического типов	ахро-центрического типа
Европейский крупный рогатый скот (<i>Bos taurus</i> L.)	60		58	XY	
Азиатский крупный рогатый скот (<i>Bos indicus</i>)	60		58	X	Y
Коза (<i>Capra hircus</i>)	60		58	Y	X
Овца (<i>Ovis aries</i>)	54	6	46	Y	X
Домашняя свинья (<i>Sus scrofa domestica</i>)	38	24	12	XY	
Лошадь (<i>Equus caballus</i>)	64	26	36	X	Y
Кавказский буйвол (<i>Bubalus bubalis</i>)	50	10	38		X, Y
Як (<i>Bos grunniens</i>)	60		58	XY	
Верблюд двугорбый (<i>Camelus bactrianus</i>)	74	12	60	XY	
Осел (<i>Equus asinus</i>)	62	40	20	XY	
Зубр (<i>Bison bison</i>)	60		58	XY	
Дикий кабан (<i>Sus scrofa scrofa</i>)	36	26	8	XY	
Северный олень (<i>Rangifer tarandus</i>)	70		68	XY	
Кошка (<i>Felis catus</i>)	36				
Собака (<i>Canis</i>)	78				
Куры (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	78				
Индейки (<i>Meleagris gallopago</i>)	80				
Утки (<i>Anas platyrhynchos domesticus</i>)	80				
Гуси (<i>Anser anser</i>)	82				

15

3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

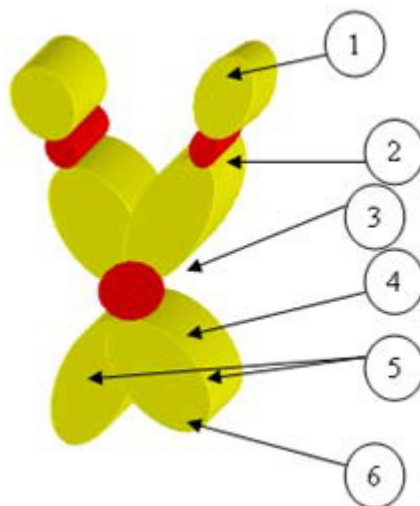
Задание 1: Подпишите названия спутников хромосом.



Вторичная перетяжка, соединяющая спутник с телом хромосомы, способна к участию в процессе формирования и сборки ядрышек. Такая вторичная перетяжка поэтому называется еще **ядрышковым организатором**.

Спутник вместе с вторичной перетяжкой составляют **спутничный район**. Вторичные перетяжки могут быть у одних хромосом на длинном плече, у других - на коротком. Концевые участки хромосомы называют **теломерами**. Особенность их состоит в том, что они не способны к соединению с другими участками хромосом.

Задание 2: Подпишите рисунок, указав все части хромосомы.



1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____

Нормальная длина каждой хромосомы и суммарная длина всех хромосом кариотипа постоянна. Морфология хромосомы определяется в первую очередь положением центromеры. В соответствии с местом расположения центromеры выделяют основные формы хромосом: метацентрические, субметацентрические, акроцентрические и изохромосомы.

Метацентрические хромосомы отличаются тем что плечи у них одинаковой или почти одинаковой длины. **Субметацентрические** хромосомы имеют плечи разной длины. У **acroцентрических** хромосом центromера расположена к близко к одной из теломер.

Изохромосомы – моноцентрические хромосомы с двумя генетически идентичными плечами, появляющиеся как результат неправильного деления центromеры после разрыва и воссоединения сестринских хроматид в области центromеры.

Изохромосома имеет одинаковые плечи в результате деления центromеры по горизонтали. **Дисцентрические и ацентрические** изохромосомы образуются после разрыва сестринских хроматид вне центromерной области и воссоединения их в центрические и ацентрический фрагменты.

2.5 Лабораторная работа №5 (2 часа).

Тема: «Наследование сцепленное с полом»

2.5.1 Цель работы:

1. Изучить закономерности наследования признаков сцепленных с полом.
2. Ознакомиться с нарушениями в системе половых хромосом и их фенотипическим проявлением.

2.5.2 Задачи работы:

1. Наследование генов, локализованных в X-хромосоме.
2. Наследование генов, сцепленных с Y-хромосомой.
3. Решение генетических задач.

2.5.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.5.4 Описание (ход) работы:

Признаки, сцепленные с полом

Это признаки, которые кодируются генами, находящимися на половых хромосомах. У человека признаки, кодируемые генами X-хромосомы, могут проявляться у представителей обоих полов, а кодируемые генами Y-хромосомы — только у мужчин.

Следует иметь в виду, что в мужском генотипе только одна X-хромосома, которая почти не содержит участков, гомологичных с Y-хромосомой, поэтому все локализованные в X-хромосоме гены, в том числе и рецессивные, проявляются в фенотипе в первом же поколении.

В половых хромосомах содержатся гены, регулирующие проявление не только половых признаков. X-хромосома имеет гены, отвечающие за свертываемость крови, цветовое восприятие, синтез ряда ферментов. В Y-хромосоме содержится ряд генов, контролирующих признаки, наследуемые по мужской линии (голандрические признаки): волосистость ушной раковины, наличие кожной перепонки между пальцами и др. Известно очень мало генов, общих для X- и Y-хромосом.

Различают X-сцепленное и Y-сцепленное (голандрическое) наследование.

X-сцепленное наследование

Так как X-хромосома присутствует в кариотипе каждого человека, то и признаки, наследуемые сцеплено с X-хромосомой, проявляются у представителей обоих полов. Женщины получают эти гены от обоих родителей и через свои гаметы передают их потомкам. Мужчины получают X-хромосому от матери и передают ее своему потомству женского пола.

Различают X-сцепленное доминантное и X-сцепленное рецессивное наследование. У человека X-сцепленный доминантный признак передается матерью всему потомству. Мужчина передает свой X-сцепленный доминантный признак лишь своим дочерям. X-сцепленный рецессивный признак у женщин проявляется лишь при получении ими соответствующего аллеля от обоих родителей. У мужчин он развивается при получении рецессивного аллеля от матери. Женщины передают рецессивный аллель потомкам обоих

полов, а мужчины — только дочерям. При X-сцепленном наследовании возможен промежуточный характер проявления признака у гетерозигот. Y-сцепленные гены присутствуют в генотипе только мужчин и передаются из поколения в поколение от отца к сыну.

Решение генетических задач.

1) Классическая гемофилия передается как рецессивный, сцепленный с X-хромосомой, признак. Мужчина, больной гемофилией, женился на здоровой женщине (все ее предки были здоровы). У них родилась здоровая дочь. Определить вероятность рождения больного гемофилией ребенка от брака этой дочери со здоровым мужчиной.

Решение

A – нормальная свертываемость, a – гемофилия.

1. Мужчина болен гемофилией, следовательно, его генотип – X^aY .
2. Женщина здорова, значит, она несет доминантный ген A. Все ее предки были здоровы (чистая линия), следовательно, она не является носительницей, и ее генотип – X^AX^A .
3. Одну X-хромосому дочь получила от матери, другую от отца. Мать могла передать ей только хромосому X^A , а отец – только X^a . Генотип дочери – X^AX^a .
4. Генотип мужа дочери – X^AY , по условию задачи.

Схема брака

P	♀ X^AX^a здорова		×	♂ X^aY гемофилия	
гаметы					
F ₁	X^AX^a носитель			X^AY здоров	
гаметы					
F ₂	X^AX^A здорова 25%	X^AX^a носитель 25%		X^AY здоров 25%	X^aY гемофилия 25%

Ответ

Вероятность рождения больного гемофилией ребенка – 25% (50% мальчиков будут страдать этим заболеванием).

2) Перепончатопалость передается через Y-хромосому. Определить возможные фенотипы детей от брака перепончатопалого мужчины и нормальной женщины.

Решение

1. Генотип мужчины – XY^A , так как он несет ген перепончатопалости (ген можно обозначать и заглавной, и строчной буквой, так как понятие доминантности или рецессивности в данном случае не имеет смысла).
2. Генотип женщины – XX , поскольку у нее отсутствует Y-хромосома, содержащая ген перепончатопалости.

Схема брака

P	♀ XX нормальная	×	♂ XY^A перепончатопалый
гаметы			 
F ₁	♀ XX нормальная		♂ XY^A перепончатопалый

Ответ

Все девочки будут здоровы, а мальчики будут перепончатопалыми.

2.6 Лабораторная работа №6 (2 часа).

Тема: «Основы молекулярной генетики»

2.6.1 Цель работы:

1. Изучить структуру и функции нуклеиновых кислот (ДНК, РНК).
2. Приобрести навыки графического моделирования строения нуклеиновых кислот.

2.6.2 Задачи работы:

1. Структурное моделирование генетических процессов в организме.
2. Моделирование синтеза белка в клетке.
3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

2.6.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.6.4 Описание (ход) работы:

Синтез белка (**трансляция**) является самым сложным из биосинтетических процессов: он требует очень большого количества ферментов и других специфических макромолекул, общее количество которых, видимо, доходит до трёхсот. Часть из них к тому же объединены в сложную трёхмерную структуру рибосом. Но несмотря на большую сложность синтез протекает с чрезвычайно высокой скоростью (десятки аминокислотных остатков в секунду). Процесс может замедляться и даже останавливаться ингибиторами-антибиотиками.

В пятидесятых годах XX века было установлено, что синтез белка происходит в рибонуклеопротеиновых частицах, называемых **рибосомами**. Диаметр рибосомы бактерии *E. coli* составляет 18 нм, а их общее количество – десятки тысяч в клетке. Рибосомы эукариот несколько крупнее (21 нм). Сам процесс протекает в пять этапов.

1. Активация аминокислот. Каждая из 20 аминокислот белка соединяется ковалентными связями к определённой т-РНК, используя энергию АТФ. Реакция катализируется специализированными ферментами, требующими присутствия ионов магния.

2. Инициация белковой цепи. и-РНК, содержащая информацию о данном белке, связывается с малой частицей рибосомы и с иницирующей аминокислотой, прикреплённой к соответствующей т-РНК. т-РНК комплементарна с находящимся в составе и-РНК триплетом, сигнализирующим о начале белковой цепи.

3. Элонгация. Полипептидная цепь удлиняется за счёт последовательного присоединения аминокислот, каждая из которых доставляется к рибосоме и встраивается в определённое положение при помощи соответствующей т-РНК. В настоящее время генетический код полностью расшифрован, то есть всем аминокислотам поставлены в соответствие триплеты нуклеотидов. Элонгация осуществляется при помощи белков цитозоля (так называемые факторы элонгации).

4. Терминация. После завершения синтеза цепи, о чём сигнализирует ещё один специальный кодон и-РНК, полипептид высвобождается из рибосомы.

5. Сворачивание и процессинг. Чтобы принять обычную форму, белок должен свернуться, образуя при этом определённую пространственную конфигурацию. До или после сворачивания полипептид может претерпевать процессинг, осуществляющийся ферментами и заключающийся в удалении лишних аминокислот, присоединении фосфатных, метильных и других групп и т. п.

Генетический код обладает рядом особенностей. Во-первых, в коде отсутствуют «знаки препинания», то есть сигналы, показывающие начало и конец кодонов. Во-вторых, 3 нуклеотидных триплета (УАГ, УАА, УГА) не соответствуют никакой аминокислоте, а обозначают конец полипептидной цепи, а кодон АУГ сигнализирует о начале цепи либо (если он в середине последовательности) об аминокислоте метионине. Многие аминокислоты могут кодироваться несколькими различными кодонами. Все кодоны аминокислот одинаковы у всех изученных организмов: от вируса до человека. Создаётся впечатление, что все организмы на Земле происходят от единого генетического предка. Впрочем, в последнее время в митохондриях клеток человека были обнаружены кодоны, не совпадающие с «нормальным» словарём. Их наличие представляет собой загадку для ученых.

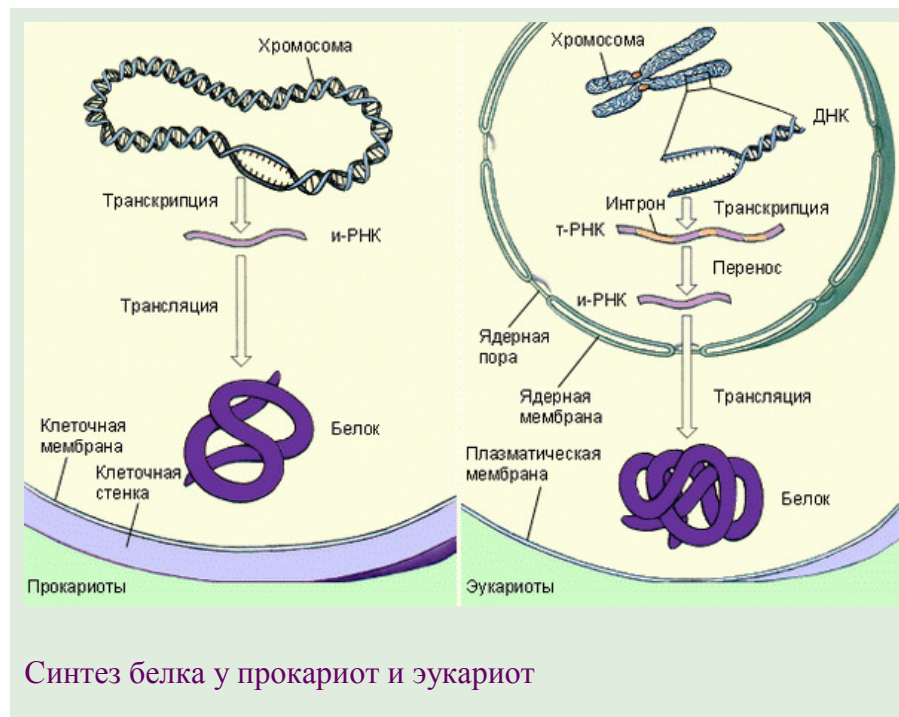
Синтез белка требует больших затрат энергии – 24,2 ккал/моль. После окончания синтеза белок при помощи специального полипептидного лидера доставляется к месту своего назначения.

Синтез белка контролируют **гены-операторы**. Совокупность рабочих генов – операторов и структурных генов – называется **оперон**. Опероны не являются самостоятельной системой, а «подчиняются» **генам-регуляторам**, отвечающим за начало или прекращение

работы оперона. Свой контроль гены-регуляторы осуществляют при помощи специального вещества, которое они при необходимости синтезируют. Это вещество реагирует с оператором и блокирует его, что влечёт за собой прекращение работы оперона. Если же вещество реагирует с небольшими молекулами – **индукторами**, это будет являться сигналом к возобновлению работы системы.

Модель оперонов была разработана на микроорганизмах, но она соответствует и принципу работы генома эукариот. У последних гены образуют сложные системы, называемые супергенами, которые могут одновременно кодировать множество идентичных друг другу молекул белка.

		Вторая буква кодонов							
		У		Ц		А		Г	
Первая буква кодонов	У	УУ У	Phe	УЦ У	Ser	УА У	Tyr	УГ У	Cys
		УУ Ц	Phe	УЦ Ц	Ser	УА Ц	Tyr	УГ Ц	Cys
		УУ А	Leu	УЦ А	Ser	УА А	Стоп	УГ А	Стоп
		УУ Г	Leu	УЦ Г	Ser	УА Г	Стоп	УГ Г	Trp
	Ц	ЦУ У	Leu	ЦЦ У	Pro	ЦА У	His	ЦГ У	Arg
		ЦУ Ц	Leu	ЦЦ Ц	Pro	ЦА Ц	His	ЦГ Ц	Arg
		ЦУ А	Leu	ЦЦ А	Pro	ЦА А	Gln	ЦГ А	Arg
		ЦУ Г	Leu	ЦЦ Г	Pro	ЦА Г	Gln	ЦГ Г	Arg
	А	АУ У	Ile	АЦ У	Thr	АА У	Asn	АГ У	Ser
		АУ Ц	Ile	АЦ Ц	Thr	АА Ц	Asn	АГ Ц	Ser
		АУ А	Ile	АЦ А	Thr	АА А	Lys	АГ А	Arg
		АУ Г	Met	АЦ Г	Thr	АА Г	Lys	АГ Г	Arg
	Г	ГУ У	Val	ГЦ У	Ala	ГА У	Asp	ГГ У	Gly
		ГУ Ц	Val	ГЦ Ц	Ala	ГА Ц	Asp	ГГ Ц	Gly
		ГУ А	Val	ГЦ А	Ala	ГА А	Glu	ГГ А	Gly
		ГУ Г	Val	ГЦ Г	Ala	ГА Г	Glu	ГГ Г	Gly



Все многоклеточные организмы развиваются из одной-единственной клетки – зиготы. Процесс дифференцировки клеток, видимо, связан с управлением синтезом белка генами-регуляторами, но каким конкретно образом осуществляется это управление – пока остаётся неясным.

2.7 Лабораторная работа №7 (2 часа).

Тема: «Морфофункциональные нарушения вследствие генных и хромосомных мутаций»

2.7.1 Цель работы:

1. Изучить классификацию мутаций, уметь анализировать результаты генных мутаций.
2. Ознакомиться с причинами появления мутаций у животных и растений.

2.7.2 Задачи работы:

1. Хромосомные мутации
2. Генные мутации
3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

2.7.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.7.4 Описание (ход) работы:

Геномные и хромосомные мутации, часто наблюдаемые на уровне соматических клеток. Если они имеют место в половых клетках, то для организма это имеет чаще всего летальные последствия. Частота мутаций в половых клетках высока. Существуют данные, указывающие на то, что в 20% случаев при беременности у эмбрионов наблюдают нарушения структуры хромосом. В 90% случаев это приводит к ненормальному развитию плода и элиминированию зародышей в результате спонтанных аборт. Выкидыши, происходящие в течение первых нескольких недель беременности, связаны с серьезными нарушениями хромосом. В 50% случаев отмечается трисомия по аутосомам, т.е. вместо пары хромосом наблюдаются три. Пример такой патологии - болезнь Дауна, при которой хромосома 21 присутствует в 3 экземплярах.

Классификация мутаций

Тип мутаций	Характер мутационных изменений	Примеры последствий
Геномный	Изменение числа хромосом	Болезнь Дауна (появление дополнительной хромосомы 21)

Хромосомные	Общее число хромосом не меняется. Наблюдают перестройки хромосом, обычно видимые при микроскопическом исследовании.	Мышечная дистрофия Дюшенна (делеции X-хромосомы)
Генные	Изменения затрагивают один кодон или небольшой отрезок гена и не обнаруживаются цитогенетически	Серповидно-клеточная анемия, вызванная заменой одного нуклеотида в гене β -цепи глобина

Некоторые генные мутации закрепляются в популяции, становятся наследственными и определяют эволюционные процессы. С мутациями такого типа связано появление различных наследственных патологий, сопровождающихся прекращением синтеза белка, кодируемого повреждённым геном, либо синтезом изменённого белка.

Генные, или точечные, мутации бывают в основном 3 видов:

- **замены**, при которых одно азотистое основание в ДНК замещается на другое;
- **вставки**, обеспечивающие внедрение в молекулу ДНК одного или нескольких дополнительных нуклеотидов;
- **делеции** (или выпадения) одного или нескольких нуклеотидов, при которых происходит укорочение молекулы ДНК.

1. Мутации по типу замены возникают в результате замены одного азотистого основания на другое, что вызывает изменение в одном из кодонов мутантного гена. Если кодирующий триплет, в котором находится изменённый нуклеотид, из-за вырожденности кода вызывает включение в белок той же аминокислоты, что исходный кодон (или кодон "дикого" типа), то такую мутацию называют "молчащей", и белковый продукт остаётся тем же.

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-GGT-5' 3'-	3'-GGA-5'
Кодон мРНК	CCA-3' -Про-	5'-CCU-3'
Аминокислота		-Про-

Когда замена одного основания приводит к замене аминокислоты в мутантном белке, то такую мутацию называют **"миссенс-мутация"**. В ряде случаев, несмотря на произошедшую замену, белок сохраняет биологическую активность. Это, как правило, связано с тем, что изменённая аминокислота находится в участке белка, не имеющем функционального значения, и к тому же она по структуре и свойствам напоминает исходную аминокислоту. Такая мутация тоже будет "молчащей", а замена - эквивалентной.

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-TAA-5'	3'-GAA-5'
Кодон мРНК	5'-AUU-3'	5'-CUUU-3'

Аминокислота	-Иле-	-Лей-
--------------	-------	-------

Иногда аминокислота, оказавшаяся заменённой, располагается в области, важной для проявления функциональной активности белка, и её замещение приводит к образованию функционально неактивного продукта. Так, точечная мутация в кодоне серина (Сер - важнейший структурный компонент активного центра сериновых протеаз: трипсина, химотрипсина и некоторых других ферментов) приводит к полной потере активности. Если подобный фермент участвует в реакциях главных метаболических путей, то такая "неэквивалентная" замена может стать летальной.

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-AGA-3'	3'-AAA-5'
Кодон мРНК	5'-UCU-3'	5'-UUU-3' -
Аминокислота	-Сер-	Фен-

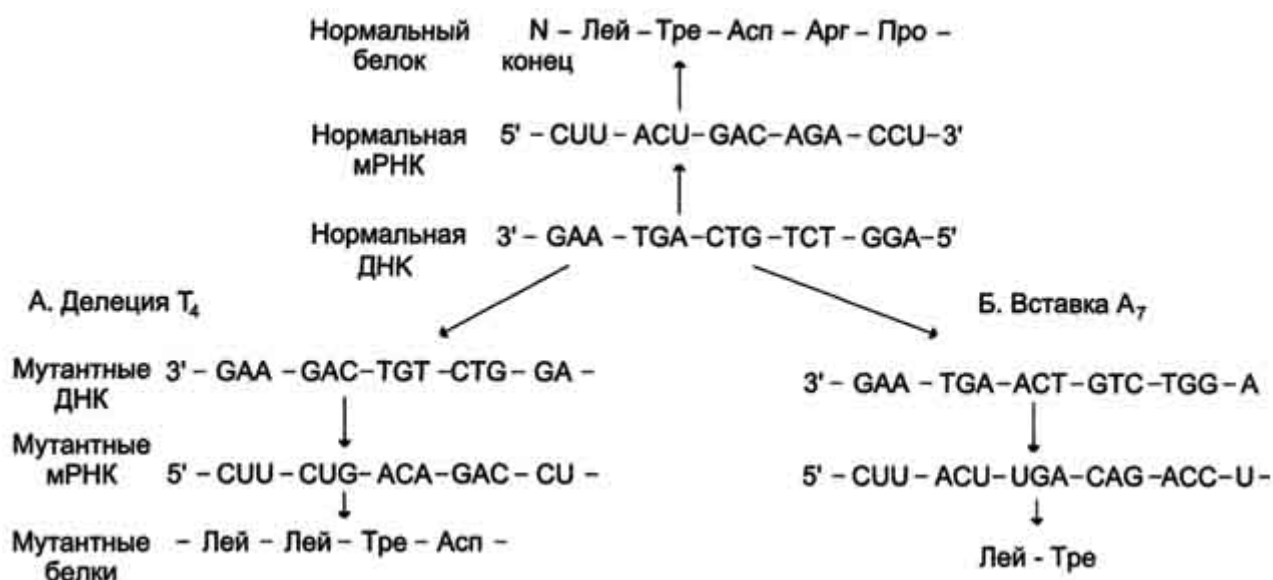
2. Мутации по типу вставки или делеции нуклеотидов

Если мутация приводит к вставке или делеции в ген одной нуклеотидной пары или участка двухцепочечной молекулы ДНК с числом мономеров, не кратным 3, то это вызывает изменение считывания всех последующих кодонов, так как происходит сдвиг "рамки считывания" ДНК и нарушение соответствия между кодонами в ДНК и аминокислотами в конечном продукте – белке.

Нарушения в прочтении информации начинаются с участка, в котором произошла мутация, так как именно в этом месте происходит сдвиг "рамки считывания" информации. Белковый продукт за точкой мутации будет иметь случайную последовательность аминокислот. Мутации со сдвигом рамки считывания часто приводят к появлению внутреннего терминирующего кодона, вызывающего преждевременное прекращение синтеза полипептидной цепи и образование укороченного продукта, лишённого биологической активности.

3. Частота мутаций

Считается, что средняя частота возникновения мутаций в структурных локусах (областях локализации гена в хромосоме или в молекуле ДНК) человека колеблется в пределах от 10^{-5} до 10^{-6} на одну гамету за каждое поколение. Однако эта величина может значительно варьировать для разных генов (от 10^{-4} для генов с высокой скоростью мутаций до 10^{-11} для наиболее устойчивых участков генома).



Делеции (А) или вставки (Б) нуклеотидов вызывают мутации со сдвигом "рамки считывания".

Основные виды генных мутаций

Виды мутаций	Изменения в структуре ДНК	Изменения в структуре белка
ЗАМЕНА		
Без изменения смысла кодона	Замена одного нуклеотида в кодоне	Белок не изменён
С изменением смысла кодона (миссенс-мутация)		Происходит замена одной аминокислоты на другую
С образованием терминирующего кодона (нонсенс-мутация)		Синтез пептидной цепи прерывается, и образуется укороченный продукт
ВСТАВКА		
Без сдвига «рамки считывания»	Вставка фрагмента ДНК из 3 нуклеотидов или с числом нуклеотидов, кратным 3	Происходит удлинение полипептидной цепи на одну или несколько аминокислот
Со сдвигом «рамки считывания»	Вставка одного или нескольких нуклеотидов, не кратных 3	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, так как изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации
ДЕЛЕЦИЯ		
Без сдвига «рамки считывания»	Выпадение фрагмента ДНК из 3 нуклеотидов или с	Происходит укорочение белка на одну или несколько

	числом нуклеотидов, кратным 3	аминокислот
Со сдвигом «рамки считывания»	Выпадение одного или нескольких нуклеотидов, не кратных 3	Синтезируется пептид со «случайной» последовательностью аминокислот, так как изменяется смысл всех кодонов, следующих за местом мутации

2.8 Лабораторная работа №8 (2 часа).

Тема: «Популяционная генетика»

2.8.1 Цель работы:

1. Приобрести навыки по анализу структуры популяций.
2. На основе параметров популяционной генетики научиться прогнозировать вероятность появления новых генотипов и эффект селекции.

2.8.2 Задачи работы:

1. Генетические процессы в популяциях.
2. Определение генетических сходств в популяциях.
3. Решение генетических задач.

2.8.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.8.4 Описание (ход) работы:

1. Генетические процессы в популяциях.

В настоящее время генетика популяций — одна из наиболее стремительно развивающихся областей общей генетики.

Популяция в широком смысле слова — это совокупность особей одного биологического вида, характеризующаяся общностью местообитания и определенным уровнем свободного скрещивания особей между собой (панмиксии). Популяции присущ генофонд — система ее генов с определенной частотой встречаемости каждого гена.

Динамическое равновесие панмиктической популяции теоретически описывается законом Харди-Вайнберга, по которому чистота встречаемости любого аллеля в идеальной популяции есть величина постоянная. Уделите внимание изучению этого закона. Этот закон можно представить в виде формулы: $p^2 AA + 2pq Aa + q^2 aa = 1$. В этой формуле относительная частота доминантного аллеля A обозначена через p , а частота рецессивного аллеля a — через q и $p + q = 1$.

Несмотря на то, что закономерности, установленные Харди и Вайнбергом, правильны только для идеальной, панмиктической популяции, этот закон очень важен и для анализа динамики генетических преобразований естественных популяций и для изучения эволюционных процессов.

В реальных естественных популяциях их генетическая структура из поколения в поколение изменяется под действием следующих факторов: отсутствие или ограничение свободы скрещивания — нарушение панмиксии, дрейфа генов; мутационного процесса; миграций; отбора, изоляции. Проанализируйте влияние каждого из этих факторов и объясните как под их действием преобразуется наследственность сортов растений и пород животных и целых видов.

2. Определение генетических сходств в популяциях.

Характер взаимоотношений между особями, в частности то место в иерархии, установившейся внутри популяции, какое занимает данная особь, определяет важные свойства популяции. Динамика генетического состава популяции, её численности, структуры, а также взаимодействие с внешней средой относятся к сфере интересов популяционной генетики — раздела генетики, изучающего генетическое строение и динамику генетического состава популяций.

Факторами, определяющими изменения частот отдельных генов и генотипов в популяциях, являются мутационный процесс, характер внутривидовых скрещиваний (инбридинг, разведение по линиям) и межвидовые миграции (ввоз животных, выездные вязки).

Генетически разнящиеся линии могут обладать различной мутабельностью в пределах одного вида. Многие мутации длительно сохраняются в популяции в скрытом виде (рецессивные мутации). В результате ту или иную генную мутацию несёт большая доля образуемых организмом гамет — у животных эта доля достигает 5–30% — что создаёт предпосылки для эффективного действия естественного отбора. Геномные мутации, хромосомные перестройки и генные мутации — причина многих наследственных заболеваний и врождённых уродств у животных.

Фактором, характеризующим генетическое состояние популяции, является частота несущих определённые признаки генов в её генофонде. В зависимости от частот отдельных генов в популяции складывается соотношение генотипов и фенотипов. Под частотой генов понимают долю каждого аллеломорфного гена или аллеля, когда сумма всех имеющихся в популяции генов этого локуса приравнена к единице — закон Харди-Вейнберга. Механизм, приводящий популяцию в такое состояние, реализуется за счёт панмиксии — свободного (случайного) скрещивания ее членов между собой, отсутствия отбора и подбора. В чистопородном собаководстве панмиксия не встречается. Закон Харди-Вайнберга может проявляться в чистом виде в следующих случаях: 1) если популяция достаточно многочисленна; 2) если в ней происходит свободное спаривание животных; 3) если нет выбраковки и введения новых животных (ввоза); 4) не наблюдается мутаций, миграций и случайного дрейфа генов. Популяцию характеризуют такими

параметрами, как частота и выраженность количественных признаков, определяемых с помощью статистических методов. Следует отметить, что ускорение отбора и консолидация популяции по одному какому-либо признаку, как правило, ведет к увеличению разброса по другим. Это объясняется тем, что число действующих генов, определяющих все свойственные породе признаки, крайне велико. Отбор на гомозиготность по одному из них не только не гарантирует повышения гомозиготности по другим, но зачастую дает обратную картину.

3. Решение генетических задач.

Задача 1. У клевера лугового поздняя спелость доминирует над скороспелостью и наследуется моногено. При апробации установлено, что 4% растений относятся к раннеспелому типу клевера, какую часть от позднеспелых растений составляют гетерозиготы?

В данном контексте апробация означает оценку чистоты сорта. А что, разве сортом не является чистая линия как сорта гороха у Менделя, например. Теоретически “да”, но на практике (поля то большие – это не опытные делянки гениального Менделя) в каждом производственном сорте могут находиться в каком-то количестве и “мусорные” аллели генов. В данном случае с позднеспелым сортом клевера, если бы сорт был чистым, присутствовали бы только растения с генотипом АА. Но сорт оказался на момент проверки (апробации) не очень чистым, так как 4% особей составляли раннеспелые растения с генотипом аа. Значит в этот сорт “затесались” аллели а. Так вот, раз они “затесались”, то в данном сорте должны присутствовать и особи, хотя по фенотипу и позднеспелые, но гетерозиготные с генотипом Аа - их количество нам и надо определить? По условию задачи 4% особей с генотипом аа составят 0,04 часть от всего сорта. Фактически это q^2 , значит частота встречаемости рецессивного аллеля а равна $q = 0,2$. Тогда частота встречаемости доминантного аллеля А равна $p = 1 - 0,2 = 0,8$. Отсюда количество позднеспелых гомозигот $p^2 = 0,64$ или 64%. Тогда количество гетерозигот Аа будет составлять $100\% - 4\% - 64\% = 32\%$. Поскольку всего позднеспелых растений 96%, то доля гетерозигот среди них составит: $32 \times 100 : 96 = 33,3\%$.

2.9 Лабораторная работа №9 (2 часа).

Тема: «Иммуногенетика»

2.9.1 Цель работы:

1. Изучить методы определения групп крови и приобрести навыки в проведении контроля за происхождением животных.
2. Изучить генетический контроль иммунного ответа.

2.9.2 Задачи работы:

1. Моделирование генетического иммунного ответа.
2. Наследование групп крови.
3. Выполнение рисунков. Заполнение таблиц.

2.9.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

2.9.4 Описание (ход) работы:

1. Моделирование генетического иммунного ответа.

Иммуногенетика – раздел генетики, объединяющий иммунологические и генетические методы исследований. Иммуногенетические методы используются в медицине, животноводстве (особенно в селекционной работе), ветеринарии, судебно-медицинской и ветеринарной экспертизах. Иммуногенетический метод основан на изучении наследственного полиморфизма белков, ферментов, антигенного состава клеток крови, слюны и других жидкостей организма человека и животных. Полиморфные системы объединены под названием «генетические маркеры». Генетические маркеры используются при решении следующих вопросов.

1. Контроль за происхождением потомства при выращивании племенного молодняка, при оценке производителей по качеству потомства.
2. Характеристика генетической структуры популяций сельскохозяйственных животных по иммуногенетическим параметрам, выяснение происхождения и эволюции популяций в филогенезе.
3. Установление связи иммуногенетических показателей с устойчивостью к некоторым наследственным болезням, стрессам, с продуктивностью, воспроизводительными качествами и др.
2. Наследование групп крови.

Выделяют три основные правила наследования групп крови:

- 1) каждая особь наследует по одному из двух аллелей от матери и отца в каждой системе групп крови;
- 2) особь с антигенами, не обнаруженными хотя бы у одного из родителей, не может быть потомком данной родительской пары (например, $P. \text{♀ } F^{B/B} \times \text{♂ } F^{B/V} = F_1. F^{N/N}$);
- 3) гомозиготная особь по одному антигену, например $F^{D/D}$ не может быть потомком гомозиготной особи с противоположным антигеном, например $F^{V/V}$

3. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ

3.1. Практическое занятие № ПЗ-1

Тема: «Генетические аномалии сельскохозяйственных животных»

3.1.1 Цель работы:

1. Приобрести навыки генетического анализа и этиологию врожденных аномалий.
2. Изучить генетические аномалии сельскохозяйственных животных.

3.1.2 Задачи работы:

1. Генетический анализ в изучении этиологии врожденных аномалий.
2. Повышение наследственной устойчивости к болезням.
3. Решение генетических задач.

3.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Лабораторная стеклянная посуда: предметные и покровные стекла, пробирки, пипетки, чашки Петри.
2. Микроскопы Биолам Р11.
3. Калькуляторы.
4. Цветные карандаши.
5. Мультимедийная аппаратура: проектор, ноутбук, экран.
6. Таблицы, рисунки, макеты.
7. Фотографии животных.
8. Микропрепараты митотические пластинки с/х. животных.
9. Модель ДНК.
10. Программа КариоТест

3.1.4 Описание (ход) работы:

1. Генетический анализ в изучении этиологии врожденных аномалий.

Основным методом генетического анализа аномалий является семейно-групповой метод в пределах одного или нескольких поколений животных. Важное значение в проведении генетического анализа имеют данные патологической анатомии, гистологии, биохимии, рентгеноскопии и других наук. Например, благодаря рентгеноскопии были обнаружены щели в позвоночнике как следствие мутагенного гена. Или механизм возникновения нарушений координации движений, агрессивности и летального исхода открылись благодаря биохимическому анализу.

Тип наследования аномалий обычно определяется на основании анализа генеалогии – родословных, в которых должны быть записаны сведения о характере аномалий. Родословную начинают составлять с аномального животного – пробанда. Братья и сестры – сибсы. Особи мужского пола – квадрат, женского – круг, прямая между квадратом и кругом – скрещивание. Исследуют как минимум 5 поколений.

Типы наследования:

- 1- Аутосомный доминантный. Определяется 1 парой генов в аутосоме, по типу – доминант. Большая частота встречаемости. Болеют и самки, и самцы. От здоровых родителей – здоровое потомство, если 1 из родителей болен – больное. Аномалии в каждом поколении (Волчья пасть, слепота, помутнение хрусталика).

2- Аутосомный рецессивный. 1 пара генов в аутосоме. Относительно небольшая частота встречаемости. Болеют и самцы, и самки. От здоровых родителей могут быть аномальные потомки. Аномалии встречаются не в каждом поколении. При имбридинге частота проявления аномалий увеличивается. (Укорочение челюстей, альбинизм, бесшерстность, мозговая грыжа).

3- Сцепленный с х-хромосомой. Ген расположен в х-хромосоме, может быть и доминантным, и рецессивным. Болеют обычно самцы, самки – носители при сцепленном рецессивном (при доминантном болеют и самки, и самцы, но самок в 2 раза больше). (Искривление и деформация передних конечностей).

4- Полигенный. Определяется несколькими парами генов. Разная степень выраженности аномалии, разный возраст проявления. Разновидностью четвертого типа являются аномалии с «пороговым» эффектом (не выражена степень признака, аномалия проявится только у тех животных, у которых количество вредных полигенов достигнет определенного числа) (Эпилепсия, судороги).

У всех видов сельскохозяйственных животных встречаются наследственные дефекты, которые отрицательно влияют на жизнеспособность, хозяйственно полезные признаки и воспроизводительную способность. Это генетические аномалии, обусловленные мутациями. По степени влияния на жизнеспособность наследственные дефекты, или факторы, подразделяются на летальные, полумлетальные и субвитаальные.

2. Повышение наследственной устойчивости к болезням.

Устойчивость животных к болезням связана с их способностью противостоять болезнетворным агентам и вредным воздействиям окружающей среды. Науку, изучающую причины и условия возникновения заболеваний животных, называют этиологией. Различают две главные причины болезней: действие средовых и наследственных факторов. Наиболее частой причиной заболеваний являются инфекционные и неинфекционные факторы среды. Разработан целый ряд мер, направленных на охрану здоровья животных.

Устойчивостью называется наследственно обусловленная невосприимчивость организма к определенным болезнетворным факторам. Некоторые авторы понятие устойчивости к инфекционным заболеваниям заменяют понятием неспецифической устойчивости (резистентности) в противоположность специфической устойчивости (иммунитету), при которой защитную роль в организме играют специфические антитела. Неспецифическая устойчивость обусловлена действием активных и пассивных защитных механизмов. К активным механизмам относятся фагоцитоз и антибактериальное действие некоторых неспецифических факторов, содержащихся в крови. Из пассивных механизмов следует упомянуть защитные барьеры организма, каковыми являются кожа и ее производные, лимфатические железы, соединительная ткань и процессы обмена. Устойчивость - первый защитный барьер организма, часто определяющий исход поражения. Различают следующие типы устойчивости:

- видовую (например, коровы и лошади невосприимчивы к ору свиной, а свиньи - к сапу);
- породную (например, овцы породы кент менее чувствительны к трихостронгилузу, чем другие породы);
- индивидуальную, при которой в случае появления болезни в стаде у части особей заболевание не развивается.

Устойчивость к определенной болезни может быть абсолютной, если организм при любых условиях невосприимчив к данному болезнетворному агенту, и условной, когда болезнь развивается в определенных условиях среды. Противоположностью устойчивости к

болезням является предрасположенность, или восприимчивость, животных к заболеваниям. Восприимчивость животного к данному заболеванию может определяться отсутствием некоторых из упомянутых неспецифических защитных систем. Устойчивость к вредным влияниям среды зависит также от деятельности активных защитных механизмов и определенных качеств, обусловленных анатомическим строением и функционированием нейрогуморальной системы. Неблагоприятные факторы окружающей среды могут вызвать стрессовую реакцию организма, которой эффективно противостоит адаптационный синдром, контролируемый гипоталамо-надпочечниковой системой. Стрессовое воздействие на организм оказывают и инфекционные заболевания. Наследование устойчивости к заболеваниям подробно еще не исследовано. В некоторых случаях устойчивость к некоторым заболеваниям определяется одной или двумя парами генов, иногда она обусловлена полигенной системой, что при сильном взаимодействии таких факторов, как пол, возраст, уровень производительности, разные условия содержания, ведет к высокой изменчивости в проявлении устойчивости в популяции животных.

3. Решение генетических задач.

1) У человека ген полидактилии (многопалости) доминирует над нормальным строением кисти. У жены кисть нормальная, муж гетерозиготен по гену полидактилии. Определите вероятность рождения в этой семье многопалого ребенка.

Решение этой задачи начинается с записи ее условия и обозначения генов. Затем определяются (предположительно) генотипы родителей. Генотип мужа известен, генотип жены легко установить по фенотипу – она носительница рецессивного признака, значит, гомозиготна по соответствующему гену. Следующий этап – написание значений гамет. Следует обратить внимание на то, что гомозиготный организм образует один тип гамет, поэтому нередко встречающееся написание в этом случае двух одинаковых гамет не имеет смысла. Гетерозиготный организм формирует два типа гамет. Соединение гамет случайно, поэтому появление двух типов зигот равновероятно: 1:1.

Решение.

P: ♀ **aa** x ♂ **Aa**

гаметы: **(a)** **(A)** **(a)**

F₁ : **Aa, aa,**

где: **A** – ген полидактилии, **a** – нормальный ген.

Ответ: вероятность рождения многопалого ребенка составляет примерно 50%.