

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«МАЙКОПСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Кафедра технологии производства
сельскохозяйственной продукции

ШАОВА Ж.А.

ЛЕКЦИИ ПО ГЕНЕТИКЕ

Учебное пособие
для аспирантов сельскохозяйственного направления

Майкоп – 2015

УДК 575 (07)
ББК 28.04
Ш-20

Печатается по решению Научно-технического совета ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет».

Рецензенты:

доктор сельскохозяйственных наук,
ведущий научный сотрудник Майкопской станции ВИР **О.Н. Барсукова**,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор **А.В. Ярмоц**

А в т о р – к. биол. н., доцент **Шаова Ж.А.**

ЛЕКЦИИ ПО ГЕНЕТИКЕ. Учебное пособие для аспирантов сельскохозяйственного направления. – Майкоп: изд-во МГТУ, 2015. – 196 с.

В учебном пособии приведены лекции по генетике. Рассмотрены общие положения, основные этапы развития, главнейшие задачи генетики. Изложено содержание курса генетики для аспирантов. Приведены вопросы для самостоятельного контроля.

Пособие предназначается аспирантам сельскохозяйственного направления, а также научным работникам.

За стилистику и орфографию ответственность несет автор.

© Шаова Ж.А.,
Майкоп, МГТУ, 2015

ЛЕКЦИЯ 1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ: ПРЕДМЕТ И ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИКИ. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ. ГЛАВНЕЙШИЕ ЗАДАЧИ

1. *Введение*
2. *Предмет генетики*
3. *Основные этапы развития генетики*
4. *Основные задачи генетики*

Введение. Едва ли какая-нибудь другая из наук о живой природе может стремительностью развития, точностью обобщений и глубиной влияния на прочие разделы биологии сравниться с генетикой – наукой о наследственности и изменчивости организмов. А поскольку эти универсальные свойства живого теснейшим образом связаны с процессами, лежащими в основе всякой жизнедеятельности, то прогресс генетических знаний в большей степени способствовал решению многих проблем, касающихся сущности жизни. Генетика сыграла выдающуюся роль в разработке эволюционного учения, она послужила корнем, из которого возникла и развивалась молекулярная биология. Без преувеличения можно сказать, что генетика занимает сейчас в общей биологии центральное место. Очень велико и практическое значение генетики, она служит научной основой селекции полезных микроорганизмов, культурных растений и домашних животных, способствует успехам медицины. Всё это делает знакомство с главными положениями современной генетики необходимым для плодотворной работы в любой области биологии, во многих отраслях сельского хозяйства и медицины, нужно оно и для правильного понимания ряда узловых вопросов философии естествознания.

Проникновение в сущность молекулярных основ процессов жизнедеятельности в наши дни открыло такие перспективы управления наследственностью с целью создания новых форм животных, растений и микроорганизмов, о которых нельзя было и мечтать в недалёком прошлом.

За последние 30 лет генетика преобразовалась под влиянием успехов учения о молекулярных основах наследственности и изменчивости.

Предмет генетики. Генетика изучает два свойства органических форм – наследственность и изменчивость. Наследственность обеспечивает материальную и функциональную преемственность между поколениями организмов, проявляющуюся в непрерывности живой материи при смене поколений. Обеспечение преемственности свойств является одной из сторон наследственности, другая – обеспечение точной передачи специфичного для каждого организма типа развития, становления в ходе онтогенеза определённых признаков и свойств, определённого типа биосинтеза и обмена веществ. Материальной основой наследственности являются все элементы клетки, обладающие свойством воспроизводить себя и распределяться по дочерним клеткам в процессе деления. Особенно важную роль играют процессы воспроизведения и распределения специфических структур ядра клетки – хромосом.

В понятие наследственности входит свойство генов детерминировать построение специфической белковой молекулы и развитие признака. Понятие наследования отражает наличие процесса передачи информации от

одного поколения другому. Под наследственностью понимают все механизмы передачи информации в ряду поколений.

Итак, наследственностью называют свойство организмов обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями, а также обуславливать специфический характер индивидуального развития в определённых условиях внешней среды.

Наряду с явлением наследственности в предмет исследования генетики входит изучение процесса изменчивости. Изменчивость является свойством, противоположным наследственности; она заключается в изменении наследственных задатков-генов и в изменении их проявления в процессе развития организмов.

Существуют различные типы изменчивости. Изменение свойств и признаков организма может быть обусловлено изменением одного или нескольких генов под влиянием условий среды. Такие изменения называются мутациями.

Изменчивость может быть обусловлена сочетанием различных генов, новая комбинация которых приводит к изменению определённых признаков и свойств организма (комбинативная изменчивость). Развитие организма всегда совершается в определённых условиях среды, причём в зависимости от различных конкретных условий развития проявление действия гена может изменяться. Такая изменчивость в проявлении генов в зависимости от варьирования условий среды называется модификационной изменчивостью. Конкретная флуктуация признака не наследуется; однако, пределы модификационной изменчивости (норма реакции) организма определяется его наследственностью.

Наследственность является процессом, обеспечивающим сохранение не только сходства, но и различий организмов в ряду поколений. Эти наследственные различия возникают в силу изменчивости наследственных признаков. Поэтому наследственность и изменчивость являются двумя сторонами, характеризующими эволюцию органических форм.

Основные этапы развития генетики. Первые идеи о механизме наследственности высказали ещё древнегреческие учёные – Демокрит, Гиппократ, Платон, Аристотель. Гиппократ полагал, что яйцеклетки и сперма формируются при участии всех частей организма и что признаки родителей непосредственно передаются потомкам. Эту гипотезу в целом принял Аристотель, взгляды которого по разным вопросам философии и естествознания господствовали на протяжении всего средневекового периода в Европе. Автор первой научной теории эволюции Ж.Б. Ламарк также воспользовался идеями древнегреческих учёных для объяснения постулированного им на рубеже XVIII-XIX вв. принципа передачи приобретённых в течение жизни индивидуума новых признаков потомству.

В 80-х годах прошлого века теорию пангенезиса и саму идею о наследовании благоприобретённых признаков резкой критике подверг А. Вейсман (1834-1914). Вейсман принял и развил идею, согласно которой наследственный материал сосредоточен в ядерной субстанции клеток или в хромосомах. Если учесть, что о поведении хромосом в митозе и мейозе к концу XIX в. было уже довольно много известно, то не удивительно, что теория Вейсмана о зародышевой плазме во многом подготовила биологов к необходимости коренного пересмотра взглядов на наследственность сразу после вторичного открытия законов Менделя.

Годом рождения генетики считается 1900-й; она ровесница XX в. Известно, что становлению генетики как самостоятельной области биологии предшествовало необычное в истории науки событие. Фактически основные законы генетики были открыты в 1865 г. Г. Менделем. Однако, на протяжении последующих 35 лет они остались неизвестными большинству биологов, в том числе и Дарвину. Вместе с тем у Менделя были предшественники-экспериментаторы. В их числе О. Сажрэ, И.Г. Кельрейтер, Т.Э. Найт, Ш. Ноден, Дж. Госс. Они наблюдали и факты доминирования, и расщепление признаков родителей в потомстве, но их опыты не отличались той глубокой продуманностью и целенаправленностью, которые были характерны для исследований Менделя, в них отсутствовал строгий количественный учёт результатов.

Вторичное открытие законов Менделя принадлежит трём учёным – Г. де Фризу (Голландия), К. Корренсу (Германия), Э. Чермаку (Австрия). Практически они одновременно получили факты, полностью подтверждающие закономерности наследования признаков, открытые Менделем на горохе. Приоритет Менделя вскоре был восстановлен, и последующее десятилетие в истории генетики с полным правом может быть охарактеризовано как период торжества менделизма. Название новой науки – генетика – было предложено в 1906 г. английским учёным В. Бэтсоном (от латинского *genetikos* – относящийся к происхождению, рождению). Датчанин В.Иогансен в 1909 г. утвердил в биологической литературе такие принципиально важные понятия, как ген (от греческого *genos* – род, рождение, происхождение), генотип, фенотип. На этом этапе истории генетики была принята и получила дальнейшее развитие менделевская, по существу умозрительная, концепция гена как материальной единицы наследственности, ответственной за передачу отдельных признаков в ряду поколений организмов. Тогда же голландский учёный Г. де Фриз (1901) выдвинул теорию изменчивости, основанную на представлении о скачкообразности изменений наследственных свойств в результате мутаций.

Этот этап (с 1900 г. до 1912 г.) – период триумфального шествия менделизма, утверждения открытых Менделем законов наследственности гибридологическими опытами, проведенными в разных странах на высших растениях и животных (лабораторных грызунах, курах, бабочках и др.), в результате чего выяснилось, что законы эти имеют универсальный характер. В течение немногих лет генетика оформилась как самостоятельная биологическая дисциплина и получила широкое признание.

Главной отличительной чертой второго этапа истории генетики (с 1912 до 1925 г.) было создание и утверждение хромосомной теории наследственности. Ведущую роль в этом сыграли экспериментальные работы американского генетика Т. Моргана (1861-1945) и трёх его учеников – А. Стертеванта, К. Бриджеса, Г. Меллера, проведённые на плодовой мушке дрозофиле, которая благодаря ряду своих свойств (удобству содержания в лаборатории, быстроте размножения, высокой плодовитости, малому числу хромосом) стала с тех пор излюбленным объектом генетических исследований. Блестящие работы Моргана, подтверждённые затем в других лабораториях и на других объектах, показали, что наследственные задатки-гены – лежат в хромосомах клетки ядра и что передача наследственных признаков определяется

судьбой хромосом при созревании половых клеток при оплодотворении. Вывод этот подтверждался двумя методами – гибридологическим и цитологическим, дававшими согласные взаимно подтверждающие результаты. Генетические работы школы Моргана показали возможность строить карты хромосом с указанием точного расположения там разных генов (первую карту составил в 1913 г. Стертевант для одной из хромосом дрозофилы). На основе хромосомной теории наследственности был выяснен и доказан хромосомный механизм определения пола – главные заслуги в этом принадлежали Моргану и американскому цитологу Э. Вильсону. Не только всё дальнейшее развитие генетики проходило в свете этой теории, но она оказала глубокое влияние на другие биологические дисциплины – цитологию, эмбриологию, биохимию, эволюционное учение, а позже послужила одной из главных предпосылок зарождения и становления современной молекулярной биологии.

Третий этап истории генетики (1925-1940 г.) ознаменован в первую очередь открытием возможности искусственно вызвать мутации. До тех пор существовала ошибочная концепция, что мутации возникают в организме самопроизвольно, под влиянием каких-то чисто внутренних причин.

Первые данные о том, что мутации можно вызвать искусственно были получены в 1925 г. в СССР Г.А. Надсоном и Г.С. Филипповым в опытах по облучению дрожжей радием, а решающие доказательства возможности экспериментального получения мутаций дали в 1927 г. опыты Г. Меллера (1890-1967 гг.) по воздействию на дрозофилу рентгеновских лучей. Работа Меллера вызвала огромное число экспериментальных исследований, проводившихся на разных объектах и быстро показавших, что ионизирующие излучения обладают универсальным мутагенным действием. Затем было обнаружено, что ультрафиолетовые лучи тоже могут вызывать мутации и что этой способностью, хотя и в слабой степени, обладает высокая температура. Вскоре появились сведения о том, что мутации можно вызвать химическими веществами.

Наиболее характерными чертами четвертого этапа истории генетики (1940-1955) было развитие работ по генетике физиологических и биохимических признаков и вовлечение в круг генетического эксперимента микроорганизмов и вирусов, что повысило разрешающую способность генетического анализа. Изучение биохимических процессов, лежащих в основе формирования наследственных признаков разных организмов, пролило свет на то, как действуют гены и, в частности, привело к важному обобщению, сделанному американскими генетиками Дж. Бидлом и Э. Тэтумом, согласно которого всякий ген определяет синтез в организме одного фермента (эта формула: «один ген – один фермент» впоследствии: «один ген – один белок»).

Очень большое значение имело выяснение в 1944 г. американского генетика О. Эвери с сотрудниками природы генетической трансформации у бактерий. Исключительное значение для развития молекулярной биологии и генетики имела расшифровка строения молекулы ДНК Дж. Уотсоном и Ф. Криком на основе её химических и рентгеноструктурных исследований. Предложенная ими модель двойной спирали ДНК объяснила такие фундаментальные свойства генетического материала, как способность к репликации, мутированию, кодированию наследственной информации.

Большие успехи были достигнуты в генетических и цитологических исследованиях различных наследственных болезней человека, сложилось и окрепло новое направление медицинской генетики, ставящее основной целью профилактику наследственных дефектов человека. Получили развитие работы по генетике природных популяций, особенно интенсивно они проводились в СССР Н.П. Дубининым и С.М. Гершензоном, в США Ф. Добржанским с сотрудниками.

В эти же годы появились первые высокопродуктивные сорта культурных растений, созданные на основе мутаций, были широко внедрены в сельскохозяйственную практику генетические методы, использования гибридной мощности, особенно у кукурузы и шелкопряда.

Однако в конце 40-х годов в Советском Союзе получили широкое распространение взгляды Т.Д. Лысенко, нацело отрицающие законы Менделя, хромосомную теорию наследственности, учение о мутациях, а также ряд основных положений дарвинизма. Генетические исследования в СССР оказались заторможенными, прекратилась подготовка кадров, не издавалась литература по генетике. Возрождение генетики в СССР началось только в конце 1950-х годов, когда советская биология освободилась от господства неверных воззрений Лысенко.

Для последнего современного этапа истории генетики, начавшегося приблизительно в середине 1950-х г., наиболее характерно исследование генетических явлений на молекулярном уровне благодаря внедрению в генетику новых химических, физических, математических подходов и методов, совершенных приборов и сложных реактивов.

В результате беспрецедентно быстрого прогресса в области молекулярной биологии и молекулярной генетики, появления в последнее десятилетие принципиально новых методов манипулирования с генетическим материалом, положивших начало генетической инженерии, был полностью раскрыт генетический код (в этой расшифровке большую роль сыграли работы Крика и его сотрудников в Англии, С. Очоа и М. Ниренберга в Америке), удалось выделить отдельные гены и установить их нуклеиновую последовательность, понять тонкое строение генов различных про- и эукариотов, изучить принципы регуляции генной активности. В 1969 г. в США Г. Корана с сотрудниками синтезировали химическим путём вне организма первый простой по своей структуре ген (один из генов дрожжей), а в начале 1970-х годов в ряде американских лабораторий, а затем в лабораториях других стран, в том числе в СССР, иным способом – с помощью особых ферментов – были синтезированы вне организма много гораздо более крупных и сложноустроенных генов про- и эукариотов.

Благодаря совершенствованию методов переноса генов между разными организмами и их экспрессии в новых хозяевах закладываются основы для получения новых сортов растений, пород животных, генотерапии наследственных заболеваний у человека. Современная генетика не только ставит и решает фундаментальные проблемы организации живой материи; её методы активно используют в осуществлении продовольственной, экологической, космической и иных глобальных программ человека.

Основные задачи генетики. Генетика преследует цели двоякого рода: во-первых, познание закономерностей наследственности и изменчивости и, во-

вторых, изыскание путей практического использования этих закономерностей. Оба направления тесно связаны между собой: решение практических задач основывается на заключениях, полученных при изучении теоретических генетических проблем, и в то же время нередко доставляет фактические данные, важные для расширения и углубления теоретических представлений.

У большинства видов живых существ материальным мостиком, связывающим два поколения, служат мужская и женская половые клетки, сливающиеся при оплодотворении. В этих клетках заключены сведения, определяющие сходство потомков с родителями. В то же время наблюдается изменчивость, вследствие чего потомки обычно в той или иной степени отличаются от родителей и друг от друга.

Таким образом, от одного поколения к другому через половые клетки передаётся (хотя и несколько в искаженном виде) информация о всех тех многообразных морфологических, физиологических и биохимических признаках, которые должны реализоваться у потомков. Исходя из такого кибернетического характера генетических процессов, удобно следующим образом сформулировать четыре основные теоретические пробелы, исследуемые генетикой.

1. Проблема хранения генетической информации. Изучается, в каких материальных структурах клетки заключена генетическая информация и каким образом она закодирована.

2. Проблема передачи генетической информации. Изучаются механизмы и закономерности передачи генетической информации от клетки к клетке и от поколения к поколению.

3. Проблема реализации генетической информации. Изучается, как генетическая информация воплощается в конкретных признаках развивающегося организма, взаимодействуя при этом с влияниями окружающей среды (феногенетика).

4. Проблема изменения генетической информации. Изучаются типы и причины изменений, которым подвергается генетическая информация, и механизмы их возникновения.

Все эти проблемы изучаются генетикой на разных уровнях – молекулярном, клеточном, организменном и популяционном. Заключение, полученные при изучении теоретических проблем наследственности и изменчивости, служат основой для решения стоящих перед генетикой практических задач, главные из которых следующие:

1. Использование достижений генетики для выбора наилучших типов скрещивания.

2. Использование достижений генетики для выбора наиболее эффективных способов отбора.

3. Использование достижений генетики для управления развитием наследственных признаков.

4. Использование достижений генетики в области изучения мутаций.

Вопросы

1. Что такое генетика?

2. Что такое наследственность и наследование?

3. Какие основные методы генетики Вы знаете?

4. Перечислите основные этапы генетики.

5. Какие основные теоретические и практические задачи генетики?

ЛЕКЦИЯ 2. КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

1. *Роль ядра и цитоплазмы в наследственности*
2. *Хромосомы эукариот. Митоз*
3. *Мейоз*
4. *Кариотип*

Роль ядра и цитоплазмы в наследственности Материальная и информационная преемственность между поколениями организмов, размножающихся половым путем, осуществляется в процессе оплодотворения, т. е. слияния мужской и женской половых клеток. Следовательно, носителем наследственной информации является клетка – универсальная единица структурно-функциональной организации живой материи. Это положение распространяется и на организмы с бесполом типом размножения. В ходе эволюции на Земле сформировались два типа клеточной организации – эукариотический и прокариотический. У эукариот протоплазматическая масса клетки четко разделена на ядро и цитоплазму вследствие того, что ядерный материал отграничен мембраной. У прокариот ядерный материал не обособлен от цитоплазмы. Вирусы представляют собой неклеточную форму живой материи.

Существует много доказательств того, что материальные носители наследственности локализованы почти исключительно в ядре. Приведем три из них. Т. Бовери еще в конце прошлого века в опытах по гибридизации двух видов морских ежей (*Psammechinus microtuberculatus* и *Sphaerichinus granularis*), имевших четкие морфологические различия, показал, что особи, развившиеся после оплодотворения энуклеированных (безъядерных) фрагментов яиц *Sphaerichinus* спермой *Psammechinus*, развиваются в личинки с анатомическим строением *Psammechinus*.

Автор пришел к выводу, что наследственные признаки у морских ежей определяются только ядром.

К такому же выводу привели и эксперименты с одноклеточной водорослью ацетабулярией, которые провел Р. Геммерлинг. В период вегетативного цикла эта водоросль представляет собой крупную одноядерную клетку, имеющую форму шляпочного гриба или зонтика. Ядро расположено в ризоиде – «корешке». Длина стебелька достигает 6 см. Различные виды ацетабулярии имеют специфическую форму шапочки. Если с помощью микроманипулятора сконструировать трансплантат, состоящий из стебелька незрелого (т.е. еще не развившего шапочку) растения одного вида и ризоидной системы другого, то выросшее растение будет иметь ядро одного вида и часть цитоплазмы другого. Такие растения в зависимости от доли цитоплазмы вида, которому не принадлежит ризоид с ядром, в той или иной мере будут проявлять промежуточные признаки. Однако если удалить такую шапочку, то на ее месте разовьется новая, полностью повторяющая признаки вида, которому принадлежит ядро. Из этих данных можно заключить, что форму шапочки определяет некая субстанция в цитоплазме, которая сама полностью контролируется ядром. Этот вывод позже был подкреплён экспериментом по пересадке изолированных ядер из ризоида одного вида в

стебелек другого вида. Подобные опыты в настоящее время проведены на многих объектах и особенно успешно на амфибиях.

Б.Л. Астауров, основываясь на резко различной чувствительности ядра и цитоплазмы к ионизирующим излучениям, показал решающую роль ядра в определении признаков многоклеточных организмов. Он облучал яйцеклетки бабочек шелкопряда рентгеновскими лучами так, чтобы инактивировать их ядра, в то время как цитоплазма при данных дозах облучения полностью сохраняла способность обеспечивать дальнейшее развитие организма. Затем эти яйцеклетки осеменяли, и ядра зиготы образовывались путем слияния ядер двух спермиев. В результате из таких яиц развивались только самцы (андрогенез), имевшие в случае межвидовых гибридов признаки исключительно отцовского вида.

Таким образом, можно заключить, что по крайней мере у ядерных организмов факторы наследственности распределены в клетке не случайно: они сосредоточены в ядре. Хотя позже и было установлено, что небольшая часть наследственного материала содержится и в цитоплазме, это не поколебало вывод о том, что ядро – основной хранитель наследственной информации.

Ядро. Ядро является центром, управляющим жизнедеятельностью всей клетки и координирующим её. Оно имеет сложное строение, изменяющееся на разных фазах жизненного цикла клетки. В неделящейся клетке (интерфазе) ядро занимает 10-20% её объёма. Оно окружено ядерной оболочкой (мембраной), пронизанной порами, через которые осуществляется обмен веществ между ядром и цитоплазмой.

Внутри ядра находится хроматин, одно или несколько ядрышек и ядерный сок (кариолимфа, нуклеоплазма).

В ядерном соке в световом микроскопе можно различить сетчатую структуру с глыбками хроматина. По данным электронной микроскопии, эта сеть есть не что иное, как хромосомы, которые становятся хорошо различимыми только во время деления клетки.

Ядрышки – тельца, связанные с хромосомами, содержат большое количество рибонуклеиновой кислоты (РНК). В них происходит синтез одной из РНК клетки (рРНК), а также образование рибосом, на которых идёт синтез белка в клетке.

Цитоплазма клетки. Цитоплазма наряду с ядром является главным компонентом клетки, с ней связан обмен веществ. Цитоплазма на 85% состоит из воды, на 10% из белков, на 5% из других соединений. Она обладает рядом органелл, ответственных за энергетический и химический обмен клетки. Часть из них включает в себя молекулы ДНК, содержит внеядерные гены. Энергия в клетке вырабатывается особыми организмами, получившими название митохондрий. Митохондрии вырабатывают АТФ, являющийся веществом, богатым энергией. Макроэнергетические связи АТФ являются главным источником энергии в клетках.

Важнейшими органеллами растительной клетки являются пластиды. Пластиды, как и митохондрии, способны самовоспроизводиться.

Электронно-микроскопические исследования в цитоплазме обнаружили мембраны и канальца, связанные с мембранами ядерной оболочки.

Эта система называется эндоплазматическим ретикуломом, состоит из белков и фосфолипидов. В цитоплазме находятся субмикроскопические частицы – рибосомы, состоящие из белка и РНК. В рибосомах осуществляется синтез белка, в их состав входит до 90% РНК клетки.

Аппарат Гольджи, по-видимому, накапливает и секретирует вещества, синтезированные в клетке; он может исчезать и вновь появляться в клетках. Проблема строения и биохимии цитоплазмы с точки зрения генетики в первую очередь должна рассматриваться в свете ядерно-цитоплазматических взаимоотношений, т.е. в свете проблемы переноса генетической информации из ядра в цитоплазму и в свете проблемы влияния цитоплазмы на генетическую информацию ядра.

Современными исследованиями показано многообразие структурно-биохимического выражения процессов взаимоотношения ядра и цитоплазмы. Большое значение в этих процессах имеют клеточные ядерные мембраны. Цитоплазматические мембраны в клетке оказались структурами, активными в физиологическом отношении и находятся под генетически контролем. Вместе тем они могут быть регуляторами поведения хромосом и действия генов. Контакт хромосомы с мембранной оболочкой обеспечивает удвоение хромосомных бактерий и т.д. Большое внимание современных исследований обращено на плазмиды. Они представлены в клетках внеядерными, внехромосомными автономно размножающимися небольшими кольцевыми молекулами ДНК.

Процессы, идущие в цитоплазме, обеспечивают ход метаболизма, т.е. обмен веществ. Они состоят из синтеза и распада.

Основные строительные блоки клетки, в частности аминокислоты – блоки белков и нуклеотиды – блоки нуклеиновых кислот, синтезируются из глюкозы и аммиака в результате одной-двух тысяч различных химических реакций. Для синтеза этих соединений нужна химическая энергия, которая получается клеткой при последовательном окислении глюкозы до CO_2 в реакциях гликолиза и цикла трикарбоновых кислот. Высвобождающаяся при этом энергия связывает в макроэнергетических связях молекулы АТФ путём фосфорилирования неорганического фосфора молекул АДФ.

Синтез веществ клетки не может происходить без катализаторов, которыми являются ферменты. Тысячи ферментов катализируют разнообразные химические реакции в клетках. Поскольку каждый из ферментов своим проявлением обязан программирующему действию соответствующего гена, это обеспечивает глубокий всесторонний контроль со стороны генетической программы над всеми биохимическими процессами в клетке.

Последовательность аминокислот в полипептидах целиком программируется составом нуклеотидов, входящих в каждый из генов. Это свидетельствует о том, что воспроизведение живых форм, основанное на воспроизведении типа и особенностей обмена веществ, является следствием реализации в клетке присущей ей генетической информации.

Хромосомы эукариот. Митоз. В 80-х годах XX столетия в ядрах эукариотических клеток были открыты нитевидные структуры (В. Флеминг, Э. Страсбургер, Э. Ван Бенеден), названные В. Вальдейером (1888 г.)

хромосомами (от греч. Chroma – цвет, окраска, soma – тело). Этим термином было подчеркнуто сильное сродство хромосом по сравнению с другими клеточными органеллами к основным красителям. В течение последующих 10-15 лет большинством биологов было подтверждено, что именно хромосомы служат материальными носителями наследственности.

Хромосомы особенно четко видны во время делений клеток, однако факт непрерывности их существования и в неделящихся ядрах сомений не вызывает. Основная особенность функциональных превращений хромосом состоит в цикле компактизации – декомпактизации. В компактизованном состоянии хромосомы представляют собой короткие толстые нити, видимые в световой микроскоп. В результате декомпактизации хромосомная нить становится невидимой в световой микроскоп, поэтому ядра многих живых клеток выглядят оптически пустыми. Превращения хромосом строго зависят от фаз клеточного цикла, поэтому их особенности могут рассматриваться только применительно к той или иной фазе цикла. Промежуток времени между окончанием одного клеточного деления – митоза и окончанием последующего называется митотическим циклом. Таким образом, митотический цикл включает митоз и промежуток между митозами – интерфазу. Интерфаза состоит из трех периодов: центрального – фазы синтеза ДНК (S), когда генетический материал удваивается, а также предсинтетического (G_1) и постсинтетического (G_2), после которого клетка вступает в митоз (M). После фазы синтеза ДНК в G_2 -периоде и в митозе, вплоть до анафазы, в хромосоме обнаруживаются две нити, называемые сестринскими хроматидами. Основной химический компонент хромосом – молекулы ДНК. Содержание ее в ядрах соматических клеток в два раза больше, чем в ядрах зрелых половых клеток. Эти два типа клеток отличаются друг от друга и по числу хромосом. Число хромосом – n в соматических клетках и количество ДНК – c (от англ. content – содержание) в них обозначают как диплоидное ($2n$ хромосом, $2c$ ДНК), а в зрелых половых клетках – как гаплоидное (n хромосом, c ДНК). После фазы синтеза ДНК в соматических клетках число хромосом не изменяется ($2n$), однако каждая из них содержит две сестринские хроматиды, т.е. идентичные молекулы ДНК, поэтому содержание ДНК в ядрах G_2 -фазы $4c$.

Митоз или непрямоe деление – основной способ размножения эукариотических клеток, обуславливающий, в частности, возможность увеличения их биомассы, рост и регенерацию. Митоз состоит из четырех фаз.

Первая – профазы – характеризуется началом цикла компактизации хромосом, который продолжается в течение всей этой фазы. Вследствие этого хромосомы становятся видимыми под микроскопом, причем уже в средней профазе митоза они представляются двойными структурами – сестринскими хроматидами, закрученными одна вокруг другой. К концу профазы исчезают ядрышко и ядерная мембрана.

Вторая – метафаза. Процесс компактизации хромосом продолжается и ведет к еще большему укорочению их длины. Хромосомы выстраиваются по экватору клетки. Хроматиды соединены между собой в центромере, называемой также первичной перетяжкой. Появляются нити митотическо-

го веретена, которые присоединяются к центромерам. Каждая центромера испытывает напряжение, поскольку нити веретена тянут ее к противоположным полюсам.

Полюса клетки формируются специальными органеллами-центросомами.

Третья – анафаза – начинается с разрыва центромеры, в результате чего сестринские хроматиды расходятся к разным полюсам клетки. С этого момента каждая пара сестринских хроматид получает название дочерних хромосом.

Четвертая – телофаза. Хромосомы достигают полюсов клетки, появляются ядерная мембрана, ядрышко. Происходят декомпактизация хромосом и восстановление структуры интерфазного ядра. Заканчивается митоз делением цитоплазмы и в типичных случаях – восстановлением исходной биомассы дочерних клеток.

Биологическая роль митоза состоит в обеспечении идентичной генетической информацией двух дочерних клеток. Это достижимо только благодаря циклу компактизации-декомпактизации, который и позволяет распределить наследственные молекулы в минимальном объеме митотических хромосом. В противном случае, учитывая размеры клетки (десятки или сотни кубических микрометров) и длину декомпактизированной хромосомы (сантиметры), каждое клеточное деление сопровождалось бы хаотическим переплетением хромосомного материала.

В эволюции эукариотических клеток, видимо, это обстоятельство и послужило причиной становления столь сложного генетического процесса, как митоз.

Мейоз. Термином «мейоз» обозначают два следующих друг за другом деления, в результате которых из диплоидных клеток образуются гаплоидные половые клетки – гаметы. Если бы оплодотворение происходило диплоидными гаметами, то пloidность потомков в каждом следующем поколении должна была бы возрастать в геометрической прогрессии. В то же время благодаря мейозу зрелые гаметы всегда гаплоидны, что позволяет сохранять диплоидность соматических клеток вида. Возможность существования подобного мейозу деления при созревании гамет животных и растений была предсказана А. Вейсманом еще в 1887 г. Мейотические деления не эквивалентны митозу. Общим мейотическим делениям предшествует только одна фаза синтеза ДНК. Продолжительность ее, как и профазы I деления мейоза, во много раз превосходит соответствующие показатели митотического цикла любых соматических клеток данного вида. Главные события мейоза разворачиваются в профазе I деления. Она состоит из пяти стадий. В первой стадии – лептотене, следующей непосредственно за окончанием предмейотического синтеза ДНК, выявляются тонкие длинные хромосомы. Они отличаются от хромосом в профазе митоза двумя особенностями: во-первых, в них не обнаруживается двойственность, т.е. не видно сестринских хроматид, во-вторых, лептотенные хромосомы имеют выраженное хромомерное строение. Хромомеры – узелки, участки плотной компактизации ДНК, размеры и расположение которых строго видоспецифично. Хромомеры встречаются как в мейотических, так и в митотических хромосомах, однако в последних без специфической обработки они не видны.

Во второй стадии профазы I деления – зиготене – происходит тесное сближение по всей длине (конъюгация) гомологичных хромосом. Гомологичными называют хромосомы, имеющие одинаковую форму и размер, но одна из них получена от матери, другая – от отца. Гаплоидный набор равен числу пар гомологов. Конъюгация гомологичных хромосом происходит по принципу действия застежки-молнии. По окончании конъюгации число хромосом как бы уменьшается вдвое. Каждый элемент, состоящий из двух гомологов, называют бивалентом или тетрадой. Последний термин подчеркивает, что бивалент содержит четыре хроматиды, образующиеся в ходе предмейотического синтеза ДНК. Механизмы конъюгации хромосом эукариот в мейозе пока не раскрыты полностью как единая цепь событий, хотя отдельные этапы биохимических процессов в профазе изучены довольно подробно.

Третья стадия профазы I деления – пахитена – у большинства видов самая длительная. Под световым микроскопом видны конъюгировавшие хромосомы с более или менее четко выраженным хромомерным строением. Приблизительно в середине пахитены между хроматидами гомологичных хромосом появляется продольная щель, которая ясно показывает, что бивалент – это, по существу, четверная хромосомная структура. В пахитене происходит важное генетическое событие – кроссинговер, или перекрест хроматид гомологичных хромосом. В результате этого в каждом гомологе смешивается отцовский и материнский наследственный материал.

Результаты кроссинговера становятся заметными лишь в четвертой и пятой стадиях профазы I деления – диплотене и диакинезе. Диплотена начинается с момента расхождения гомологичных хромосом. В это время в точках кроссинговера видны перекрещенные хроматиды. Область перекреста хроматид называют хиазмой. Число хиазм в целом соответствует количеству актов кроссинговера в биваленте и пропорционально длине гомологичных хромосом, его составляющих. Для диплотены и диакинеза характерно прогрессирующее укорочение хромосом в результате компактизации; поэтому хиазмы постепенно терминализуются, т.е. приближаются к концам бивалента и спадают с него. Таким образом, по мере приближения к метафазе первого деления число хиазм уменьшается.

В метафазе I деления мейоза район центромеры каждой хромосомы соединен (в отличие от метафазы митоза) нитью веретена только с одним полюсом клетки, причем центромеры разошедшихся гомологов всегда связаны с противоположными полюсами. Анафазе I деления мейоза не предшествует расщепление центромеры, как при митозе, и поэтому к полюсам отходят не хроматиды, а целые хромосомы, состоящие из двух хроматид. Однако, поскольку гомологичные хромосомы расходятся к разным полюсам, первое мейотическое деление приводит к редукции числа хромосом. Другими словами, по числу хромосом продукты I деления мейоза становятся гаплоидными. Однако в связи с тем, что хромосомы в них сохраняют двойственность, т.е. содержат две хроматиды, количество ДНК уменьшается лишь до 2 с.

Второе деление мейоза, следующее после краткого промежутка – интеркинеза, приводит в соответствие число хромосом и содержание ДНК.

Формально оно напоминает митоз. В начале анафазы происходит разделение центромеры, сестринские хроматиды становятся дочерними хромосомами и расходятся к полюсам. Таким образом, каждая из четырех клеток, образовавшихся вследствие двух мейотических делений одной клетки, прошедшей предмейотическую S-фазу, будет содержать n хромосом и с ДНК.

Итак, главное отличие мейоза от митоза – конъюгация гомологичных хромосом с последующим расхождением их в разные гаметы. Точность расхождения обусловлена точностью конъюгации, а последняя – идентичностью молекулярной структуры ДНК гомологов.

В заключение отметим, что цитологами доказано независимое расхождение негомологичных хромосом в профазе I деления мейоза. Это означает, что любая отцовская хромосома может попасть в гамету с любой, в крайнем варианте – со всеми материнскими негомологичными хромосомами. Однако если речь идет о дочерних хромосомах (во II делении мейоза), образовавшихся из перекрещенных, т.е. претерпевших кроссинговер, или кроссоверных хроматид, то их, строго говоря, нельзя рассматривать ни как чисто отцовские, ни как чисто материнские.

Кариотип. Кариотипом называется хромосомный комплекс вида со всеми его особенностями: числом хромосом, их формой, наличием видимых под световым микроскопом деталей строения отдельных хромосом. Иногда термин «кариотип» употребляют по отношению к хромосомному набору единичной клетки или группы тканевых клеток. В начале 70-х годов были разработаны методы дифференциальной окраски, которые позволили выявить в каждой хромосоме любого вида специфическое чередование различно окрашенных (темных и светлых) полос. В принципе, гомологичные хромосомы имеют одинаковую картину дифференциальной окрашиваемости. Специфичность поперечной исчерченности хромосом заключается в числе и размерах этих полос. Уже в 1971 г. была принята действующая и в настоящее время унифицированная система идентификации хромосом и хромосомных сегментов человека.

Среди методов выявления полос наиболее распространены C-метод и G-метод. В обоих случаях в качестве красителя используют реактив Гимза, а различия в расположении полос проявляются вследствие особенностей предфиксационной обработки.

В составе хромосом в виде темных полос C-метод позволяет выявить гетерохроматические районы, т.е. те участки, которые в ядрах интерфазных клеток остаются компактными и под микроскопом выглядят как плотно окрашенные глыбки. Темные C-полосы располагаются чаще всего в прицентромерных участках хромосом, что указывает на внутривхромосомное распределение гетерохроматических районов.

Гетерохроматические районы в функциональном отношении слабоактивны. Различают конститутивный (истинный) и факультативный гетерохроматин. Первый имеет специфичную структуру и постоянно находится в идентичных участках гомологичных хромосом: в прицентромерных районах и возле уплотнений на концах плеч – так называемых теломеров, реже в других, характерных для каждой хромосомы местах. Второй появляется

лишь в определенные периоды жизни клетки либо содержится в хромосомах клеток некоторых тканей. Факультативный гетерохроматин – это целые хромосомы или эухроматические районы хромосом, находящиеся в состоянии компактизации, подобно конститутивному гетерохроматину, и вследствие этого почти лишены генетической активности. Из двух гомологичных хромосом такой хроматин, как правило, содержит лишь одна.

Неокрашенные С-методом участки хромосом (светлые полосы) соответствуют эухроматическим районам, составляющим у большинства видов 80-90 % всего генетического материала клетки. В отличие от гетерохроматических эухроматических районов декомпактизуются в телофазе митоза.

Как отмечалось ранее, каждая хромосома имеет центромеру, или первичную перетяжку, – место прикрепления нитей веретена. Иногда наблюдаются вторичные перетяжки, не связанные с функциями митотических движений хромосом. Первая перетяжка делит хромосомы на плечи. Ее положение в середине, близко к середине или почти у концевых участков хромосомы, называемых теломерами, позволяет классифицировать хромосомы на метацентрические, субметацентрические и акроцентрические соответственно. У некоторых хромосом во всех или в большинстве клеток бывают видны спутники – небольшие, как правило, специфические фрагменты тела хромосомы, соединенные с теломерами участком декомпактизованной ДНК – спутничной нитью.

Число хромосом видоспецифично. Ниже приводится диплоидное число хромосом у некоторых животных и растений.

Животные		Растения	
Человек	46	Кукуруза	20
Шимпанзе	48	Рожь	14
Крыса	42	Рис	24
Мышь	40	Яблоня	51,34
Курица	78	Слива	48
Кролик	44	Хлопчатник	52
Собака	78	Картофель	48
Дрозофила	8	Томат	24
Окунь	28	Скерда зелёная	6
Сазан	108	Подсолнечник	34
Пчела	16,32	Бобы конские	12
Речной рак	98	Твёрдая пшеница	28
Лошадиная аскарида	2,4		

Хотя закономерности, характеризующие кариотип, иногда и отражают эволюцию определенных видов, в целом по структуре кариотипа прямо судить о систематическом положении вида нельзя. Вариации числа хромосом (если учесть, что у одного из вариантов лошадиной аскариды $2n = 2$) достигают двух порядков, т.е. существуют виды с кариотипом, включающим сотни хромосом

Таким образом, благодаря исследованиям цитологов и генетиков в конце XIX – начале XX в. была обоснована роль ядра в наследственности, а

наблюдения за поведением хромосом в митозе и мейозе привели к заключению, что именно с ними связана передача наследственных признаков.

Вопросы

1. Что такое клетка? Почему её называют элементарной единицей жизни?
2. Что Вы знаете о клеточных мембранах?
3. Каковы строение и функции ядра?
4. Что Вам известно о строении цитоплазмы и основных клеточных органелл?
5. Может ли существовать и функционировать клетка, лишённая ядра?
6. Какие структуры клетки связаны с передачей наследственности?
7. Какие изменения происходят в клетке перед её делением?
8. Как протекает деление клеток, называемое митозом?
9. Что такое мейоз? Чем он отличается от митоза?
10. В чём генетическая сущность митоза и мейоза?

ЛЕКЦИЯ 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ И ПРИНЦИПЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

1. *Гибридологический метод*
2. *Наследование при моногибридном скрещивании*
3. *Анализирующее скрещивание*
4. *Наследование при неполном доминировании*
5. *Отклонения от ожидаемого расщепления*
6. *Тетрадный анализ, или генетическое расщепление*

История современной генетики начинается с утверждения теории гена в 1900г., когда Е. Чермак, К. Коренс и Г. де Фриз независимо друг от друга открыли законы наследования отдельных признаков, не предполагая, что эти законы были открыты Г. Менделем.

На протяжении столетий предшественники Менделя изучали наследование совокупности всех признаков у гибридного потомства. Г. Мендель положил в основу изучения наследования новые принципы.

Первая особенность метода Менделя состояла в получении в течение нескольких поколений константных форм, которые он в дальнейшем подвергал скрещиванию.

Второй особенностью метода Менделя является анализ наследования отдельных пар признаков в потомстве скрещиваемых растений одного вида гороха, отличающихся по одной, двум и трём парам контрастных, альтернативных признаков, например, цветки пурпурные и белые, форма семян гладкая и морщинистая и т.п. В каждом поколении вёлся учёт отдельно по каждой такой паре альтернативных признаков, без учёта других различий между скрещиваемыми растениями.

Третья особенность этого метода заключалась в использовании количественного учёта гибридных растений, различающихся по отдельным парам альтернативных признаков, в ряду последовательных поколений.

Четвёртой особенностью метода Менделя было применение индивидуального анализа потомства от каждого гибридного растения.

Перечисленные простые приёмы исследования составили принципиально новый гибридологический метод изучения наследования, открывший це-

лую эпоху в изучении наследственности и изменчивости. Совокупность генетических методов изучения наследования называют генетическим анализом.

Моногибридное скрещивание. Моногибридным называют такое скрещивание, в котором родительские формы различаются по одной паре альтернативных, контрастных признаков.

Доминирование, закон единообразия гибридов первого поколения. Закон расщепления. Любое скрещивание начинается с выявления признака. Признак – это определенное отдельное качество организма, по которому одна его часть отличается от другой или одна особь от другой. Признаком в генетическом смысле можно назвать любую особенность, выявляемую при описании организма: высоту, вес, форму носа, цвет глаз, форму листьев, окраску цветка, размер молекулы белка или его электрофоретическую подвижность. Признаки должны проявляться постоянно. Чтобы убедиться в их константности, Мендель на протяжении двух лет предварительно проверял различные формы гороха. Признаки должны быть контрастными. Мендель отобрал 7 признаков, каждый из которых имел по два контрастных проявления. Например, зрелые семена по морфологии были либо гладкими, либо морщинистыми, по окраске – желтыми или зелеными, окраска цветка была белой или пурпурной.

После определения признаков можно приступать к скрещиваниям, в которых используют генетические линии – родственные организмы, воспроизводящие в ряду поколений одни и те же наследственно константные признаки. Потомство от скрещивания двух особей с различной наследственностью называют гибридным, а отдельную особь – гибридом.

После того как Мендель скрестил формы гороха, различающиеся по 7 признакам, у гибридов проявился, или доминировал, только один из пары родительских признаков. Признак другого родителя (рецессивный) у гибридов первого поколения не проявлялся. Позднее это явление доминирования было названо первым законом Менделя (законом единообразия гибридов первого поколения или законом доминирования).

Мендель скрестил полученные гибриды между собой. Как он сам пишет, «в этом поколении наряду с доминирующими признаками вновь появляются также рецессивные в их полном развитии и притом в ясно выраженном среднем отношении 3:1, так что из каждых четырех растений этого поколения три получают доминирующий и одно – рецессивный признак» [Мендель, 1923. С. 12]. Всего в данном опыте было получено 7324 семени, из которых гладких было 5474, а морщинистых – 1850, откуда выводится соотношение 2,96:1. Данные этого опыта свидетельствуют о том, что рецессивный признак не теряется и в следующем поколении он снова проявляется (выщепляется) в чистом виде. Г. де Фриз в 1900 г. назвал это явление законом расщепления, а позднее его назвали вторым законом Менделя.

Разные классы потомков (с доминантным и рецессивным проявлением) Мендель вновь самоопылит. Оказалось, что признаки с рецессивным проявлением сохраняются неизменными в последующих поколениях после самоопыления. Если же самоопылить растения из доминирующего класса, то вновь будет расщепление, на этот раз в соотношении 2:1.

Прежде чем перейти к изложению наследования признаков, необходимо сообщить о некоторых символах, принятых в генетике.

Скрещивание обозначают знаком умножения – X. В схемах на первом месте принято ставить генотип женского пола. Пол принято обозначать следующими символами:

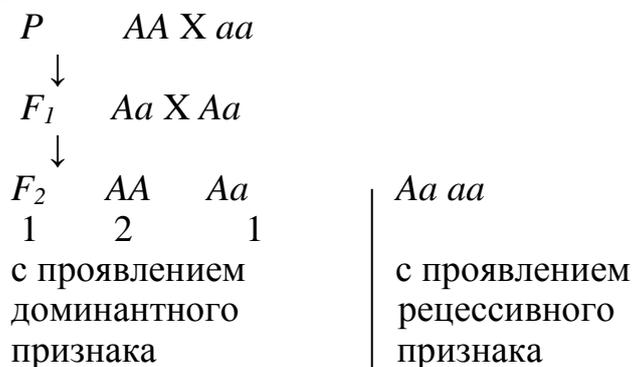
женский – ♀ (зеркало Венеры),
 мужской – ♂ (щит и копьё Марса).

Родительские организмы, взятые в скрещивание, обозначают буквой *P* (от латинского *Parento* – родители). Гибридное поколение обозначают буквой *F* (от латинского *Filii* – дети) с цифровым индексом, соответствующим порядковому номеру гибридного поколения [Лобашев, 1967. С. 105]. Доминирующий признак Мендель предложил обозначать заглавной буквой, а рецессивный – той же буквой, но строчной.

Для облегчения расчёта сочетаний разных типов гамет английский генетик Р. Пэннет предложил запись в виде решётки – таблицы с числом строк (столбцов) по числу типов гамет, образуемых скрещиваемыми особями (широко известна как решётка Пэннета), а на пересечении вписывают образующиеся сочетания гамет. Так, в скрещивании *Aa X Aa* будут следующие гаметы и их сочетания:

	<i>Ga</i>		
<i>меты</i>		<i>A</i>	<i>a</i>
	<i>A</i>	<i>A</i>	<i>a</i>
	<i>a</i>	<i>A</i>	<i>a</i>

Скрещивание, выполненное Менделем, можно показать на следующей схеме:



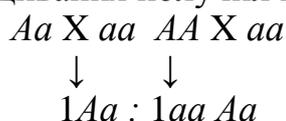
В *F₂* можно выделить два типа расщепления: 3:1 по внешнему проявлению и 1:2:1 по наследственным потенциям. Для «внешней» характеристики признака В. Иогансен в 1909 г. предложил термин «фенотип», а для характеристики истинно наследственных задатков – «генотип». Поэтому расщепление по генотипу в *F₂* моногибридного скрещивания составляет ряд 1:2:1, а по фенотипу – 3:1.

Константные формы *AA* и *aa*, которые в последующих поколениях не дают расщепления, У. Бэтсон в 1902 г. предложил называть гомозиготными, а формы *Aa*, дающие расщепление, – гетерозиготными.

Как мы видели, у гибридов *F₁* рецессивная аллель *a*, хотя и не проявляется, но и не смешивается с доминантной аллелью *A₁*, а в *F₂* обе аллели вновь

проявляются в чистом виде. Такое явление можно объяснить, лишь исходя из допущения, что гибрид $F_1 Aa$ образует не гибридные, а «чистые гаметы», при этом указанные аллели оказываются в разных гаметах. Гаметы, несущие аллели A и a , образуются в равном числе; исходя из этого становится понятным расщепление по генотипу 1:2:1. Несмешивание аллелей каждой пары альтернативных признаков в гаметах гибридного организма называется правилом чистоты гамет, в основе которого лежат цитологические механизмы мейоза.

Анализирующее скрещивание. Чтобы проверить, является ли данный организм гомо- или гетерозиготным, можно, как предложил Мендель, скрестить его с исходной гомозиготой по рецессивным аллелям. Такой тип скрещивания получил название анализирующего.



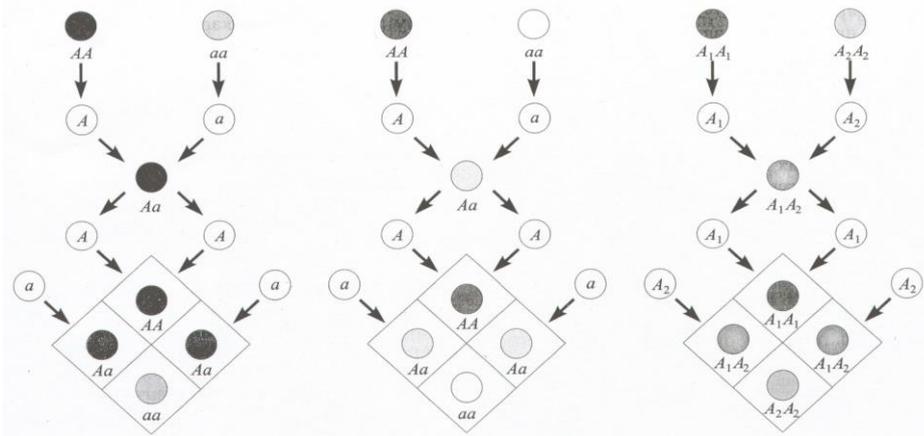
Если особь была гомозиготной по доминантному признаку, все потомки принадлежат к одному классу. Если в результате анализирующего скрещивания расщепление и по фенотипу, и по генотипу составляет 1:1, это свидетельствует о гетерозиготности одного из родителей.

Неполное доминирование и кодоминирование. Кроме полного доминирования, описанного Менделем, найдены также неполное, или частичное, доминирование и кодоминирование. При неполном доминировании гетерозигота имеет фенотип, промежуточный между фенотипами гомозигот. При этом правило Менделя о единообразии фенотипа в F_1 соблюдается. В F_2 и по фенотипу, и по генотипу расщепление выражается соотношением 1:2:1. Примером неполного доминирования может служить промежуточная розовая окраска цветка у гибридов ночной красавицы *Mirabilis jalapa*, полученных от скрещивания красноцветковой и белоцветковой форм.

Неполное доминирование оказалось широко распространенным явлением и было отмечено при изучении наследования окраски цветка у львиного зева, окраски оперения у андалузских кур, шерсти у крупного рогатого скота и овец и др. [см. подробнее: Лобашев, 1967].

Кодоминирование – это явление, когда оба аллеля дают равноценный вклад в формирование фенотипа. Так, если материнский организм имеет группу крови А, а отцовский В, то у детей бывает группа крови АВ.

Полное доминирование Неполное доминирование Кодоминирование



Типы доминирования различных аллелей

Отклонения от ожидаемого расщепления. Мендель [1923] отмечал, что «в гибридах и их потомках в последующих поколениях не должно происходить заметного нарушения в плодовитости». В расщеплениях будут нарушения, если классы имеют разную жизнеспособность. Случаи отклонений от ожидаемого соотношения 3:1 довольно многочисленны.

Много десятилетий известно, что при скрещивании желтых мышей между собой в потомстве наблюдается расщепление по окраске на желтых и черных в соотношении 2:1. Аналогичное расщепление было обнаружено в скрещиваниях лисиц платиновой окраски между собой, в потомстве от которых появлялись как платиновые, так и серебристо-черные лисицы. Детальный анализ этого явления показал, что лисицы платиновой окраски всегда гетерозиготны, а гомозиготы по доминантному аллелю этого гена гибнут на эмбриональной стадии, гомозиготы по рецессивному аллелю имеют серебристо-черную окраску.

У овец доминантный аллель, дающий окраску ширази (серый каракуль), летален в гомозиготе, в результате чего ягнята гибнут вскоре после рождения, и расщепление также смещается в сторону 2:1 (ширази – черные). Летальным в гомозиготе является также доминантный аллель, обуславливающий линейное расположение чешуи у карпа [Лобашев, 1967]. Множество таких мутаций известно у дрозофилы (*N*, *Sb*, *D*, *Cy*, *L* и др.). Во всех случаях получается расщепление 2:1 вместо 3:1. Это отклонение не только не свидетельствует об ошибочности законов Менделя, но дает дополнительные доказательства их справедливости. Однако на этих примерах видно, что для выявления одного из классов потомков требуется провести дополнительную работу.

Тетрадный анализ, или гаметическое расщепление. При развитии половых клеток в результате двух мейотических делений у моногибрида *Aa*, т.е. организма, гетерозиготного по одному гену, из одной диплоидной клетки возникают 4 клетки (клеточная тетрада): две клетки несут аллели *A*, а две другие – *a*. Именно механизм мейоза является тем биологическим процессом, который обеспечивает расщепление по типам гамет в отношении $2A:2a$ или $1A:1a$. Следовательно, расщепление по типам гамет в случае одной аллельной пары будет 1:1. Расщепление 3:1, или 1:2:1 установлено на зиготах как следствие сочетания гамет в процессе оплодотворения.

При рассмотрении микроспорогенеза у растений можно было убедиться в том, что в результате двух мейотических делений образуется клеточная тетрада из 4-х микроспор, имеющих гаплоидный набор хромосом и расщепление в отношении $2A:2a$. У покрытосеменных каждую тетраду учесть невозможно, т.к. зрелые пыльцевые зерна из клеточной тетрады распадаются и не сохраняются вместе. У таких растений можно учесть расщепление только по совокупности всех пыльцевых зерен. У кукурузы известна одна пара аллелей гена, которая определяет крахмалистый или восковидный типы пыльцевых зерен. Если пыльцевые зерна гибридной кукурузы (*Aa*) обработать йодом, то крахмалистые приобретают синюю окраску, и восковидные – красноватую, и их можно подсчитать. Это расщепление 1:1.

Ещё в 20-х г. были найдены объекты (мхи), у которых удалось проанализировать расщепление в пределах одиночной тетрады. Данный метод, позволяющий устанавливать расщепление гамет после двух делений созревания (мейоза), был назван тетрадным анализом. Этот метод впервые позволил непосредственно доказать, что менделевское расщепление является результатом закономерного хода мейоза, что оно представляет не статистическую, а биологическую закономерность. Приведём пример тетрадного анализа при исследовании одной аллельной пары у дрожжей. У дрожжей рода *Saccharomyces* встречаются клетки, дающие красные и белые колонии. Эти альтернативные признаки определяются одной аллельной парой гена окраски A – белый цвет, a – красный. При слиянии гаплоидных гамет образуется диплоидная зигота F_1 . Она вскоре приступает к мейозу, в результате чего в одном аске образуется тетрада гаплоидных спор. Разрезав аск и вынув каждую спору, отдельно переносят их на субстрат, где они размножаются. Каждая из 4-х гаплоидных клеток начинает делиться и образуются 4 колонии. Две из них оказываются белыми и две красными, т.е. наблюдается расщепление, точно соответствующее $1A:1a$.

Вопросы

1. Что помешало предшественникам Менделя подойти к анализу наследственных признаков? В чём проявилась гениальность Менделя?
2. Какие основные законы Менделя Вам известны? В чём их сущность? Знаете ли Вы о вторичном их открытии?
3. Все ли случаи наследования признаков не противоречат законам Менделя, их дополняют? Какие это дополнения?
4. Что такое доминантный и рецессивный признак, гомо- и гетерозиготность, гено- и фенотип?
5. В чём заключается сущность закона чистоты гамет?
6. Какой вид наследственности называется промежуточным?

ЛЕКЦИЯ 4. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ ПОЛИГИБРИДНОМ СКРЕЩИВАНИИ

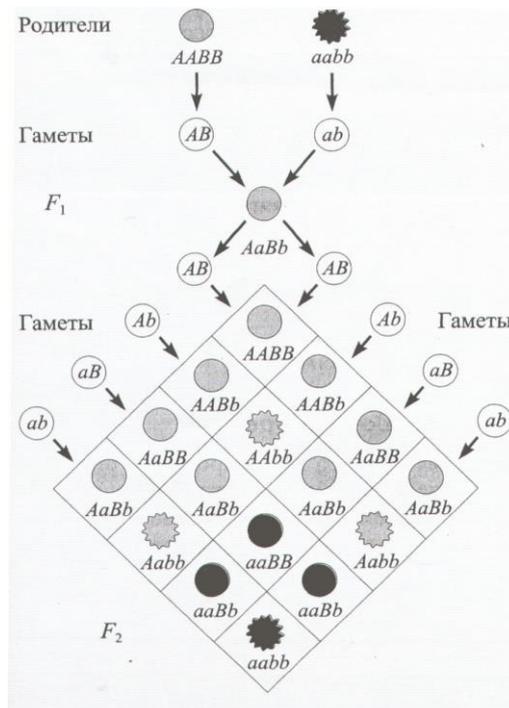
1. *Анализ наследования при дигибридном скрещивании*
2. *Цитологические основы дигибридного расщепления*
3. *Тригибридное скрещивание*
4. *Закономерности полигибридного расщепления*
5. *Ограниченность закона независимого наследования*
6. *Основные законы наследования и принципы наследственности*

До сих пор мы рассматривали наследование при скрещивании растений и животных, условно принимая, что родительские формы отличаются по одной паре признаков, или аллелей гена. Совершенно очевидно, что в большинстве случаев организмы различаются по многим признакам. Чтобы одновременно проанализировать наследование нескольких признаков, необходимо разложить это сложное явление на более простые составные элементы, а затем представить себе весь процесс в целом. Именно так поступил Мендель. Он

изучал наследование каждой пары признаков в отдельности, не обращая внимания на другие пары, а затем сопоставил и объединил все эти наблюдения.

Дигибридное скрещивание. Г. де Фриз (1900) предложил дигибридами называть организмы, полученные от скрещивания особей, различающихся одновременно двумя парами альтернативных признаков; если признаков три пары – тригибридами, более – полигибридами.

Мендель скрещивал формы гороха, различающиеся по двум парам признаков: с желтыми и гладкими семенами (AB) и с зелеными и морщинистыми (ab).



Дигибридное скрещивание

Родительские растения будут иметь генотипы $AABB$ и $aabb$ и образовывать гаметы соответственно. В этом случае генотип гибрида F_1 будет $AaBb$, т.е. является дигетерозиготой. Для проверки генотипа гибрида и определения типов гамет, которые он образует, Мендель провёл анализирующее скрещивание гибрида F_1 с рецессивной родительской формой $aabb$. В F_2 он получил четыре фенотипических класса: гладких жёлтых семян 56, гладких зелёных – 51, морщинистых жёлтых – 49 и морщинистых зелёных – 53. Все четыре класса встречаются примерно с равной частотой, т.е. отношение этих классов 1:1:1:1. С помощью анализирующего скрещивания можно определить, что дигетерозигота ($AaBb$) образует четыре сорта гамет – AB , Ab , aB , ab в равных количествах. От рецессивной родительской формы ($aabb$) все гибриды получают только рецессивные аллели (ab).

В потомстве от этого скрещивания было получено 556 семян, из них 315 было гладких желтых, 101 морщинистое желтое, 108 гладких зеленых, 32 морщинистых зеленых. Гаметы в этом скрещивании образуются в соответствии с расщеплением хромосом в мейозе, сочетания гамет могут быть определены с помощью решетки Пэннета. Всего можно получить 16 ком-

бинаций гамет, из них 9 клеток, в которых есть хотя бы по одному доминантному аллелю из каждой пары, 3 комбинации, в которых встречается *A* аллель, а *b* в гомозиготе, еще три, в которых гомозиготным является *a*, и, наконец, один класс, в котором и *a*, и *b* – гомозиготы. Можно рассчитать ожидаемое расщепление для этих 4 фенотипических классов:

$$A-B- \quad 556 \times 9/16 = 312 \text{ (получено 315)}$$

$$A-bb \quad 556 \times 3/16 = 104 \text{ (получено 101)}$$

$$aaB- \quad 556 \times 3/16 = 104 \text{ (получено 108)}$$

$$aabb \quad 556 \times 1/16 = 32 \text{ (получено 34)}$$

Реальное расщепление идеально соответствует теоретически ожидаемому.

Если подсчитать число семян по каждой паре признаков отдельно, окажется, что отношение числа гладких семян к числу морщинистых было 423:133, а желтых к зеленым – 416:140, т.е. для каждой пары соотношение было 3:1. Очевидно, что в дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведет себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. Таким образом, Мендель объективно установил существование третьего закона наследования – закона независимого наследования признаков и сформулировал принцип генетической рекомбинации – появление потомства с комбинацией признаков, отличной от родительской. Рекомбинация связана с независимым расхождением хромосом при гаметогенезе или с кроссинговером.

Второй путь является математическим, основанном на законе сочетания двух и более независимых явлений. Этот закон гласит: если два явления независимы, то вероятность того, что они произойдут одновременно, равны произведению вероятности каждого из них.

Расщепления по каждой паре аллелей при дигибридном скрещивании происходят как два независимых явления. Появление особей с доминантными признаками при моногибридном скрещивании происходит в 3/4 всех случаев, а с рецессивными 1/4. Вероятность того, что признаки гладкая форма и жёлтая окраска семян проявляется одновременно, вместе равна произведению $3/4 \times 3/4 = 9/16$, морщинистая форма и жёлтая окраска $1/4 \times 3/4 = 3/16$ и морщинистая форма и зелёная окраска – $1/4 \times 1/4 = 1/16$. Произведение отдельных вероятностей даёт отношение классов расщепления по фенотипу $9/16:3/16:3/16:1/16$ или 9:3:3:1. Таким образом, генетическими методами было показано, что дигибридный организм образует 4 сорта гамет в равном отношении и, следовательно, является гетерозиготным по обоим аллельным парам. В дигибридном скрещивании каждая пара признаков при расщеплении в потомстве ведёт себя так же, как в моногибридном скрещивании, т.е. независимо от другой пары признаков. На основании одновременного анализа наследования нескольких пар альтернативных признаков Мендель установил закономерность независимого распределения факторов, или генов, которая известна как третий закон Менделя.

Формула 9:3:3:1 выражает расщепление в F_2 по фенотипу при дигибридном скрещивании. Анализ расщепления по генотипу даёт нам формулу расщепления: $1AABB$, $2AaBB$, $2AABb$, $4AaBb$, $1Aabb$, $2Aabb$, $1aaBB$, $2aaBb$ и $1aabb$. Расщепление по генотипу в F_2 при дигибридном скрещивании 1:2:2:4:1:2:1:2:1 отражает расщепление 9:3:3:1. При полном доминиро-

вании гомозиготные формы по фенотипу неотличимы от гетерозиготных. Сходные фенотипы иногда обозначают фенотипическим радикалом. Под фенотипическим радикалом понимается та часть генотипа организма, которая определяет его фенотип. Так, $AABB$, $AaBb$, $AABb$ и $AaBB$ не отличаются по фенотипу и имеют одинаковый фенотипический радикал $A-B$. Следующие из перечисленных выше генотипов $1AAbb$ и $2Aabb$ имеют фенотипический радикал $A-bb$, $1aaBB$, $2aaBb-aaB$ -, $1aabb-ab$.

Цитологические основы дигибридного расщепления. К моменту переоткрытия законов Менделя цитология накопила достаточно знаний о развитии половых клеток и идея о связи генов с хромосомами была подготовлена. Была высказана мысль о параллелизме между независимым расщеплением по разным генам и поведением негомологичных закономерностей расщепления и цитологических данных о поведении хромосом в мейозе явилась первым шагом к формированию хромосомной теории наследственности.

В тех случаях, когда необходимо указать, что те или иные гены находятся в гомологичных хромосомах, принято при написании генетических формул зигот изображать хромосомы в виде двух или одной черточки с указанием обеих аллелей гена.

Формула дигетерозиготы ($AaBb$) может быть написана так:

$$\frac{A}{a} \frac{B}{b}$$

Поскольку гаметы несут только по одной из гомологичных хромосом и соответственно по одной аллели каждого гена, то формулы гамет могут быть написаны так: $\underline{A} \underline{B}$, $\underline{a} \underline{b}$ и т.п.

В процессе мейоза у гибридных организмов $\frac{A}{a} \frac{B}{b}$ в анафазе осуществляется расхождение к полюсам гомологичных хромосом каждой пары, причем негомологичные хромосомы у полюсов комбинируются случайно во всех возможных сочетаниях. Хромосома, несущая аллель A , с равной вероятностью может отойти к одному полюсу как вместе с хромосомой, имеющей аллель B , так и с хромосомой, несущей аллель b ; такая же вероятность имеется и для другой хромосомы – с аллелью a . Таким образом, при образовании как женских, так и мужских гамет возможны четыре сочетания материнских и отцовских хромосом с содержащимися в них аллелями генов: AB , aB , Ab , a .

При оплодотворении соединение гамет должно происходить также по правилам случайных сочетаний с равной вероятностью для каждого. В F_2 возникают все возможные типы зигот и в таком же соотношении, как это наблюдается в скрещивании (9:3:3:1).

Изучение двух процессов – поведения хромосом в редукционном делении и распределения наследственных факторов в потомстве гибридов – является классическим примером научного синтеза. Эти принципы установлены цитологией и генетикой независимо друг от друга в разное время.

Закономерности полигибридного расщепления. Анализ наследования одной пары признаков в моногибридном скрещивании позволяет

понять наследование двух и более пар признаков при дигибридном и полигибридном скрещиваниях.

Расщепление в F_2 по фенотипу для каждой пары альтернативных признаков равно 3:1. Это исходное отношение обеспечивается точным цитологическим механизмом расхождения гомологичных хромосом в мейозе.

Принцип независимого поведения разных пар альтернативных признаков в расщеплении по фенотипу в F_2 выражается формулой $(3+1)^n$, где n – степень гетерозиготности. Исходя из приведенной формулы, можно рассчитать число ожидаемых классов (в расщеплении по фенотипу при любом числе пар признаков, взятых в скрещивание):

моногибридное скрещивание $(3 + 1)^1=3:1$, т.е. 2 класса,

дигибридное скрещивание $(3 + 1)^2 = 9:3:3:1$, т.е. 4 класса,

тригибридное скрещивание $(3 + 1)^3 = 27:9:9:9:3:3:3:1$, т.е. 8 классов, и т.д.

Иначе говоря, число фенотипических классов в F_2 может быть выражено формулой 2^n , где основание 2 указывает на парность (аллельность) двух аллелей одного гена, находящихся в одной паре гомологичных хромосом, а степень n – число генов в негомологичных хромосомах, по которым различаются скрещиваемые родительские формы.

Таким же образом можно рассчитать число типов гамет, образующихся у любого гибрида первого поколения, и число комбинаций гамет, дающих различные генотипы в F_2 : моногибрида Aa образуются два сорта гамет, или 2^1 ; у дигибрида $AaBb$ – четыре, или 2^2 ; у тригибрида – 2^3 , или восемь сортов гамет и т.д. Следовательно, число различных типов гамет, образуемых гибридом F_1 , также может быть выражено формулой 2^n , где n – число генов, по которым различаются скрещиваемые формы.

Так как при моногибридном скрещивании у гибрида F_1 образуются два сорта женских и мужских гамет, то очевидно, что при этом возможно образование 4 комбинаций в отношении: $1AA:2Aa:1aa$, т.е. 4^1 . При дигибридном скрещивании таких сочетаний будет $4^2=16$, при тригибридном $4^3 = 64$ и т.д., т.е. число возможных комбинаций гамет выражается формулой 4^n , где основание 4 отражает число возможных комбинаций мужских и женских гамет в моногибридном скрещивании, n – число пар аллелей.

Число генотипических классов в потомстве моногибрида составляет 3, при дигибридном скрещивании в F_2 генотипических классов 9 или 3^2 , при тригибридном – 3^3 и т.д.

Итак, число генотипических классов можно определить по формуле 3^n , где n – число гетерозиготных пар аллелей.

Ограниченность закона независимого наследования. Все эти расчеты, проведенные еще Менделем, правомочны при одном важном условии: гены находятся в негомологичных хромосомах. Однако известно, что число последних для каждого вида организмов является относительно небольшим и постоянным. Так, у человека имеется 23 пары гомологичных хромосом, у кукурузы – 10 и т.д. Следовательно, возможно одновременное

независимое наследование лишь столько генов, сколько пар гомологичных хромосом имеется у организмов данного вида.

На первый взгляд это ограничение закона независимого сочетания признаков может создать впечатление ограниченности наследственной изменчивости в силу небольшого числа возможных комбинаций гамет. Однако это не так. Рассмотрим для примера возможный размах комбинативной изменчивости, возникающей в силу свободной комбинации гамет у человека. Допустим, что в каждой из 23 пар хромосом человека имеется только по одной паре аллелей. При этом число различных типов гамет выразится величиной $8\ 388\ 608$, а их возможных комбинаций – $70\ 368\ 744\ 177\ 664$.

Закономерное расщепление при полигибридном скрещивании осуществляется при соблюдении всех условий, о которых шла речь при анализе моногибридного скрещивания. К ним нужно добавить 2 следующих условия: 1) нахождение учитываемых генов в негомологичных хромосомах; 2) равновероятное образование всех сортов гамет на основе случайного расхождения негомологичных хромосом в мейозе.

Анализ полигибридных скрещиваний производится так же, как и дигибридных, однако с каждым увеличением числа признаков возрастает число комбинаций гамет.

Если у дигибрида, как мы видели, получается 16 комбинаций, у тригибрида их уже 64, а у тетрагибрида – 256.

Тригибридное скрещивание. Для тригибридного скрещивания Мендель избрал следующие три пары альтернативных признаков семян: гладкая – морщинистая форма семян, жёлтая – зелёная окраска семядолей, а также серо-коричневая и неокрашенная кожа. В этом скрещивании материнское растение было гомозиготным по всем трём доминантным признакам, т.е. имело генотип $AABBCC$, отцовское гомозиготным по трём рецессивным признакам $aabbcc$. Все три гена находились в негомологичных хромосомах. Тригибрид первого поколения имел структуру $\frac{A}{a} \frac{B}{b} \frac{C}{c}$.

По внешнему виду семена тригибрида полностью походили на материнские. Гибриды F_1 образуют 8 сортов гамет как женских, так и мужских, а именно: $ABC, AbC, ABc, aBC, Abc, aBc, abC, abc$. При оплодотворении в результате сочетания восьми сортов женских и восьми сортов мужских гамет во втором поколении образуется 64 комбинаций. У тригибрида расщепление в F_2 по фенотипу включает 8 классов в определённом числовом отношении: $27:9:9:9:3:3:3:1$. чтобы убедиться в том, что тригибрид действительно образует 8 типов гамет в равных количествах, можно воспользоваться методом анализирующего скрещивания. Скрещивая тригибрид с формой гомозиготной по всем трём рецессивным признакам, $\frac{A}{a} \frac{B}{b} \frac{C}{c} \times \frac{a}{a} \frac{b}{b} \frac{c}{c}$, мы получим расщепление в отношении $1:1:1:1:1:1:1:1$.

Основные законы наследования и принципы наследственности. Наследственность и наследование есть два разных явления, которые не всегда различают. Наследование – процесс передачи задатков наследственно детерминированных признаков и свойств организма в процессе

размножения от родителей потомкам. Под наследственностью следует понимать свойство структур клетки и организма в целом обеспечивать материальную и функциональную преемственность между поколениями. В основе того и другого лежит точная репродукция наследственно значимых структур и закономерное распределение их при делении клеток.

Закономерности единообразия гибридов первого поколения, расщепления и независимого комбинирования признаков, открытые Менделем, а также сцепление и наследование признаков, сцепленных с полом, открытые Морганом, относятся к закономерностям наследования, а не наследственности.

Успех Менделя в их открытии обусловлен разработкой им метода генетического анализа отдельных пар признаков; Мендель, по существу, создал научные основы генетики, открыв следующие явления:

1. Каждый признак определяется отдельным наследственным фактором, передающимся через половые клетки; в современном представлении эти задатки соответствуют генам.

2. Гены сохраняются в чистом виде в ряду поколений, не утрачивая своей индивидуальности и не изменяясь, т.е. ген относительно постоянен.

3. Наследственные задатки являются парными: один – материнский, другой – отцовский; один из них может быть доминантным, другой – рецессивным; это положение соответствует открытию принципа аллелизма, согласно которому ген представлен всегда минимум двумя аллелями.

4. Оба пола в равной мере участвуют в передаче своих наследственных свойств потомству.

5. Число генов уменьшается в половых клетках вдвое; это положение явилось генетическим предвидением существования мейоза.

На основании изложенного нам представляется полезным различать законы, непосредственно сформулированные Менделем и относящиеся к процессу наследования, и принципы наследственности, вытекающие из работы Менделя.

К законам наследования относятся закон единообразия гибридов первого поколения, расщепления наследственных признаков в потомстве гибрида и закон независимого комбинирования наследственных признаков. Эти законы отражают процесс передачи наследственной информации в поколениях при половом размножении.

Принципы наследственности имеют другое содержание и могут быть сформулированы в следующем виде:

1. Дискретная (генная) наследственная детерминация признаков.
2. Относительное постоянство наследственной единицы – гена.
3. Аллельное состояние гена (доминантность и рецессивность).

Менделевские законы наследования и вытекающие из них принципы наследственности являются основным содержанием генетики. Их открытие дало современному естествознанию единицу измерения жизненных процессов – ген – и тем самым создало возможности объединения естественных наук – биологии, физики, химии и математики с целью анализа биологических процессов.

Вопросы

1. С чем связана генетическая рекомбинация?
2. Как происходит расщепление по каждой паре аллелей при дигибридном скрещивании?
3. Что такое фенотипический радикал?
4. Каковы закономерности полигибридного расщепления?
5. В чём сущность ограниченности закона независимого наследования?
6. В чём различие используемых в генетике понятий «наследственность», «наследование», «наследуемость».

ЛЕКЦИЯ 5. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОВ

1. Типы взаимодействия генов
2. Комплементарное действие генов
3. Эпистаз
4. Полимерия
5. Множественное (плейотропное) действие гена

Наследование при взаимодействии генов. При анализе закономерностей наследования было выяснено, что расщепление в потомстве дигетерозиготы в отношении 9:3:3:1 возможно, если каждый ген действует на определяемый им признак или свойство организма независимо от действия других генов. Становление же признака осуществляется в процессе индивидуального развития организма, определяемого не одним геном, а их совокупностью, т.е. генотипом, во взаимодействии с внешней средой. Поэтому при анализе закономерностей наследования по фенотипу необходимо изучать не только характер распределения и сочетания хромосом и содержащихся в них генов, но и взаимодействие генов в онтогенезе.

Один из первых примеров взаимодействия генов был обнаружен вначале XX в. при анализе наследования формы гребня у кур. Описано четыре разновидности форм гребней, при этом разные породы имеют характерную морфологию гребня: леггорны – листовидный, виандоты – розовидный, европейские – гороховидный, малайские – ореховидный.

В результате скрещиваний кур, имеющих розовидный и гороховидный гребни, в F_1 возникает новая форма гребня – ореховидный (из-за взаимодействия генов A и B).

P Розовидный \times Гороховидный

$AAbb \downarrow aaBB$

$F_1 AaBb$

Ореховидный

Скрещивание гибридов F_1 дает следующие результаты в F_2 :

	AB	Ab	aB	ab
AB	Орех. $AABB$	Орех. $AABb$	Орех. $AaBB$	Орех. $AaBb$
Ab	Орех. $AABb$	Розов. $AAbb$	Орех. $AbBb$	Розов. $Aabb$
aB	Орех. $AaBB$	Орех. $AaBb$	Горох. $aaBB$	Горох. $aaBb$
ab	Орех. $AaBb$	Розов. $Aabb$	Горох. $aaBb$	Листов. $aabb$

Потомство F_2 характеризуется следующими особенностями:

1. Присутствие доминантных аллелей двух генов A и B у $9/16$ кур второго поколения ведет к образованию ореховидного гребня.

2. Присутствие гена A в гомо- или гетерозиготном состоянии при рецессивном b дает розовидную форму у $3/16$ особей, а гены aaB – у $3/16$ потомства дают гороховидный гребень.

3. Гомозиготы по обоим рецессивным генам $aabb$ имеют новый фенотип – простой листовидный гребень. Этот признак в последующих скрещиваниях не дает расщепления.

Итак, взаимодействие доминантных генов A и B изменяет форму гребня. В этом случае расщепление в дигибридном скрещивании нарушается, однако очевидно, что общее соотношение классов $9:3:3:1$ сохраняется.

При взаимодействии генов в случае дигибридных скрещиваний расщепление в F_2 по фенотипу может быть разнообразным: $9:7$, $9:3:4$, $13:3$, $12:3:1$, $15:1$ и т.д. Но во всех случаях это видоизменение расщепления $9:3:3:1$.

Типы взаимодействия генов. Если несколько генов определяют одно свойство организма (окраску цветка длину шерсти и др.), то они взаимодействуют друг с другом. При этом в потомстве дигетерозиготы может наблюдаться необычное расщепление – $9:3:4$; $9:7$; $9:6:1$, $13:3$; $12:3$, $15:1$. Генетический анализ показывает, что необычные расщепления по фенотипу в F_2 представляют видоизменение общей менделевской формулы $9:3:3:1$. Известны случаи взаимодействия трех и большего числа генов.

Различают следующие основные типы взаимодействия неаллельных генов: комплементарность, эпистаз, полимерию.

Комплементарное действие генов. К комплементарным относятся такие гены, которые при совместном действии в генотипе в гомо- или гетерозиготном состоянии ($A-B$ -) обуславливают развитие нового признака. Действие же каждого гена в отдельности ($A-bb$ и aaB -) воспроизводит признак лишь одного из скрещиваемых родителей. Впервые такого рода взаимодействие было обнаружено у душистого горошка *Lathyrus odoratus*. При скрещивании двух рас этого растения с белыми цветками у гибрида F_1 цветки оказались пурпурными. При самоопылении растений F_1 и F_2 наблюдалось расщепление по окраске цветков в отношении $9:7$. один фенотипический класс ($9/16$) имел такую же окраску, как и растения F_1 , а второй ($7/16$) – белую окраску.

P $AAbb$ \times $aaBB$

F_1 $AaBb$

пурпурный

F_2 $A-B$ - $A-bb$, aaB - и $aabb$

пурпурные белые

$9/16$ $7/16$

Взаимодействие доминантных аллелей ($AAbb$ и $aaBB$) определяет развитие окраски.

Расщепление $9:3:3:1$. У попугайчиков (*Melophittacus undulatus*) встречаются голубая и жёлтая окраски оперения. Обе они рецессивны по отношению к зелёной окраске и доминантны – к белой. При скрещивании голубых птиц с жёлтыми

гибриды F_1 оказываются зелёными, а в F_2 наблюдается расщепление на 4 фенотипических класса в отношении 9 зелёных : 3 голубых : 3 жёлтых : 1 белый.

Генетический анализ свидетельствует о том, что в этом скрещивании участвуют не одна, а две пары аллелей. Мы можем сделать вывод, что ген A определяет голубую окраску оперения, B – желтую, а вместе ($A-B$ -) они дают новое качество – зеленую окраску. Рецессивные аллели обоих генов определяют белое оперение. Тогда генотип голубых попугайчиков должен быть $AAbb$, желтых – $aaBB$, зеленых гибридов F_1 – $AaBb$ и выщепляющихся в F_2 белых – $aabb$.

Биохимический анализ показал, что зеленая окраска есть результат смешения двух пигментов – голубого и желтого. Рецессивная аллель a блокирует синтез голубого пигмента, вследствие чего окраска птицы получается желтая. Другая рецессивная аллель (b) блокирует синтез желтого пигмента, благодаря чему образуется голубая окраска. Поскольку у гибридов F_1 объединяются доминантные аллели этих генов, попугайчики оказываются зелёными. Белые птицы, выщепляющиеся в F_2 , являются результатом одновременного блокирования синтеза и голубого и желтого пигментов.

Таким образом, в случае, когда каждый из двух доминантных генов проявляет самостоятельный фенотипический эффект, расщепление в F_2 по фенотипу соответствует менделевскому отношению 9:3:3:1, ибо каждый из четырех классов имеет свой особый фенотип.

Эпистаз. При доминировании действие одной аллели подавляется другой аллелью этого же гена: $A > a$, $B > b$ и т.д. Но существует взаимодействие, при котором один ген подавляет действие другого, например $A > B$ или $B > A$, $a > B$ или $b > A$ и т.д. Такое явление называют эпистазом. Гены, подавляющие действие других генов, называют супрессорами или ингибиторами. Они могут быть как доминантными, так и рецессивными. Гены-супрессоры известны у животных, растений и микроорганизмов. Обычно они обозначаются I или S .

Эпистаз принято делить на два типа: доминантный и рецессивный. Под доминантным эпистазом понимают подавление одним доминантным геном действия другого гена. Гены, подавляющие действие других генов, называются супрессорами, или ингибиторами.

Расщепление 13:3. У лука (*Allium* сера) гибриды от скрещивания двух форм с неокрашенной луковицей имеют луковицы также неокрашенные, а в F_2 получается расщепление: 13 растений с неокрашенными луковицами и 3 – с окрашенными. Характер расщепления свидетельствует о том, что окраска луковицы определяется двумя генами. В таком случае одно из исходных растений должно нести в скрытом состоянии ген окрашенности луковицы, действие которого подавлено ингибитором. Следовательно, у растений этого генотипа неокрашенность луковицы определяется не особым геном неокрашенности, а геном – подавителем окраски.

Обозначим аллель окрашенности луковицы A , неокрашенности – a (это основной ген окраски), ингибитор окраски – I , аллель, не подавляющую окраску, – i . Тогда исходные формы будут иметь генотипы $IIAA$ и $ii aa$, гибриды F_1 – $IiAa$. Они, как и родительские растения, являются неокрашенными. В F_2 на 13/16 неокрашенных получилось 3/16 окрашенных луковиц.

Это расщепление можно представить как $9(I-A-) + 3(I-aa) + 1(iaa) = 13$ неокрашенных и $3 iiA$ – окрашенных. Таким образом, подавление действия доминантного гена окрашенности луковицы доминантной же аллелью другого гена (ингибитора) обуславливает расщепление по фенотипу 13:3.

Расщепление 12:3:1. Доминантный эпистаз может давать и другое расщепление в F_2 по фенотипу, а именно 12:3:1 [(9 + 3):3:1]. В этом случае, в отличие от предыдущего, форма, гомозиготная по обоим рецессивным генам, имеет специфический фенотип.

Например, некоторые собаки с белой окраской шерсти при скрещивании с собаками, имеющими коричневую окраску, дают в F_1 щенков с белой окраской, а в F_2 расщепление на 12/16 белых, 3/16 черных и 1/16 коричневых. Если проанализировать это скрещивание отдельно по свойству окрашенности – неокрашенности и черной – коричневой окраске, то можно убедиться, что отсутствие окраски в F_1 доминирует над ее наличием, а в F_2 наблюдается расщепление 12:4 или 3:1. Расщепление на 3 черные и 1 коричневую свидетельствует о том, что черная окраска определяется доминантным геном, а коричневая – рецессивным. Теперь можно обозначить ингибитор окраски – I , его отсутствие – i , черную окраску – A , коричневую – a . Тогда легко представить генотипы исходных форм и гибридов. Подобный тип эпистаза встречается в наследовании окраски плодов у тыквы, окраски шерсти у овец и во многих других случаях.

Расщепление по фенотипу в случае эпистаза 13:3 отличается от 12:3:1 потому, что в первом случае доминантный ингибитор (I) и рецессивная аллель основного гена (a) имеют одинаковый фенотипический эффект, а во втором случае эти эффекты различны. Таким образом, гены-подаватели обычно не определяют сами какой-либо качественной реакции в развитии данного признака, а лишь подавляют действие других генов.

Под рецессивным эпистазом понимают такой тип взаимодействия, когда рецессивная аллель одного гена, будучи в гомозиготном состоянии, не дает возможности проявиться доминантной или рецессивной аллели другого гена: $aa > B-$ или $aa > bb$.

Кроме описанных случаев одинарного рецессивного эпистаза, существуют и такие, когда рецессивная аллель каждого гена в гомозиготном состоянии одновременно реципрокно подавляет действие доминантной аллели комплементарного гена, т.е. aa эпистатирует над $B-$, bb – над $A-$. Такое взаимодействие двух рецессивных подавителей – двойной рецессивный эпистаз – дает в дигибридном скрещивании расщепление по фенотипу 9:7, как и в случае комплементарного взаимодействия генов.

Полимерия. Рассмотренные до сих пор типы взаимодействия генов относились к альтернативным, т.е. качественно различающимся признакам.

Кумулятивная полимерия. Допустим, что количественные признаки, образующие по своему проявлению непрерывный ряд, определяются взаимодействием многих доминантных генов, действующих на один и тот же признак или свойство. В таком случае количественно варьирующий признак у разных особей одного и того же поколения будет определяться разным числом доминантных генов в генотипе. Так, при скрещивании рас пшениц с красными и белыми (неокрашенными) зернами шведский генетик Г. Нильсон-Эле в 1908 г. обнаружил в F_2 обычное моногибридное расщепление в отношении 3:1.

Однако при скрещивании некоторых других линий пшениц, различающихся по таким же признакам, в F_2 наблюдается расщепление в отношении 15/16 окрашенных: 1/16 белых. Окраска зерен из первой группы варьирует от темно- до светло-красной. Интенсивность окраски зерен зависит от числа доминантных генов в генотипе. Гены такого типа, одинаково влияющие на развитие одного признака, были названы генами с однозначным действием, а сами признаки – полимерными. Поскольку эти гены однозначно влияют на один и тот же признак, было принято обозначать их одной латинской буквой с указанием номера разных генов: A_1, A_2, A_3 , и т.д. Этот тип взаимодействия генов получил название полимерии.

P $A_1A_1A_2A_2$ x $a_1a_1a_2a_2$

красное ↓ белое

F_1 $A_1a_1A_2a_2$

красное

Гаметы F_1 ♀ ♂	A_1A_2	A_1a_2	a_1A_2	a_1a_2
A_1A_2	$A_1A_1A_2A_2$	$A_1A_1A_2a_2$	$A_1a_1A_2A_2$	$A_1a_1A_2a_2$
A_1a_2	$A_1A_1A_2a_2$	$A_1A_1a_2a_2$	$A_1a_1A_2a_2$	$A_1a_1a_2a_2$
a_1A_2	$A_1a_1A_2A_2$	$A_1a_1A_2a_2$	$a_1a_1A_2A_2$	$a_1a_1A_2a_2$
a_1a_2	$A_1a_1A_2a_2$	$A_1a_1a_2a_2$	$a_1a_1A_2a_2$	$a_1a_1a_2a_2$

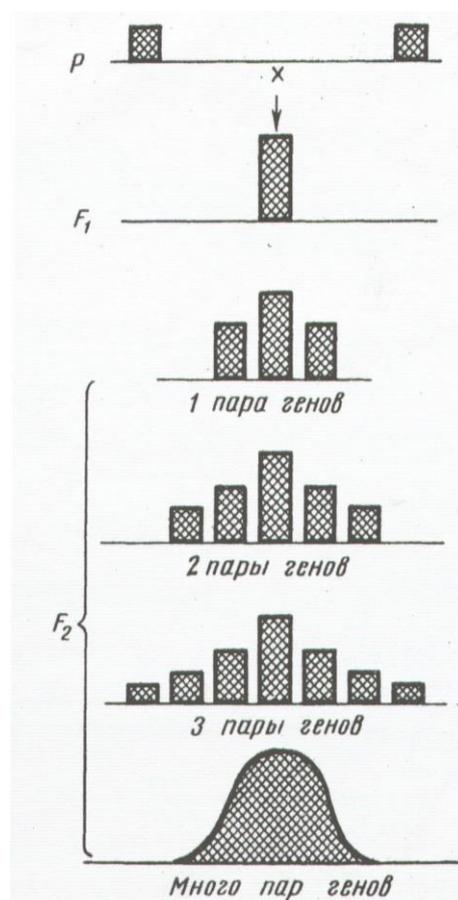
Наследование окраски зерна у пшеницы (полимерия)

Следовательно, исходные родительские формы, давшие расщепление в F_2 15:1, имели генотипы $A_1A_1A_2A_2$ и $a_1a_1a_2a_2$. Гибрид F_1 обладал генотипом $A_1a_1A_2a_2$, а в F_2 появились зерна с разным числом доминантных генов. Наличие всех четырех доминантных аллелей $A_1A_1A_2A_2$ у 1/16 растений определяет самую интенсивную окраску зерна; 4/16 всех зерен имели три доминантные аллели (типа $A_1A_1A_2a_2$), 6/16 – две ($A_1a_1A_2a_2$), 4/16 – одну (типа $A_1a_1a_2a_2$). Все эти генотипы определяли различную промежуточную окраску, переходную между интенсивно-красной и белой. Гомозиготной по обоим рецессивным генам ($a_1a_1a_2a_2$) являлась 1/16 всех зерен, и эти зерна оказались неокрашенными.

Частоты пяти перечисленных генотипических классов F_2 распределяются в ряду: 1 + 4 + 6 + 4 + 1 = 16, который отображает изменчивость признака окраски зерна пшеницы в зависимости от числа доминантных аллелей в генотипе.

При накоплении таких доминантных генов их действие суммируется, т.е. они имеют кумулятивный эффект, поэтому взаимодействие такого типа называют кумулятивной полимерией.

Если у гибридов F_1 таких генов в гетерозиготном состоянии оказывается не два, а три ($A_1a_1A_2a_2A_3a_3$) или более, то число комбинаций генотипов в F_2 увеличивается. Этот ряд гено-



типов можно представить в виде биномиальной кривой изменчивости данного признака.

В опыте Нильсона-Эле тригибридное расщепление в F_2 по генам окраски зерен пшеницы давало соотношение 63 красных к 1 неокрашенному. В F_2 наблюдались все переходы от интенсивной окраски зерен с генотипом $A_1A_1A_2A_2A_3A_3$ до полного ее отсутствия у $a_1a_1a_2a_2a_3a_3$. При этом частоты генотипов с разным количеством доминантных генов распределялись в следующий ряд: $1 + 6 + 15 + 20 + 15 + 6 + 1 = 64$. На рисунке приведены гистограммы распределения частот генотипов с разным числом доминантных генов кумулятивного действия в моно-, ди-, три- и полигибридном скрещивании. Из этого сопоставления видно, что, чем большее число доминантных генов определяет данный признак, тем больше амплитуда изменчивости и тем более плавные переходы между различными группами особей.

Полимерно наследуется, например, пигментация кожи у человека. При бракосочетании негра и белой женщины рождаются дети с промежуточным цветом кожи (мулаты). У отца и матери мулатов могут родиться дети всех типов кожи с окраской разных оттенков, от черной до белой, что определяется комбинацией двух пар аллелей.

Некумулятивная полимерия. Гены с однозначным действием могут определять и качественные, т.е. альтернативные, признаки. Примером может служить наследование оперенности ног у кур. От скрещивания пород, имеющих оперенные и неоперенные ноги, в F_1 появляются цыплята с оперенными ногами. Во втором поколении происходит расщепление по фенотипу в отношении 15/16 с оперенными ногами и 1/16 с неоперенными, т.е. наблюдаются два фенотипических класса.

Очевидно, порода с оперенными ногами гомозиготна по двум парам доминантных аллелей с однозначным действием ($A_1A_1A_2A_2$), а с неоперенными имеет генотип $a_1a_1a_2a_2$. Гибриды F_1 имеют генотип $A_1a_1A_2a_2$. Доминантные аллели каждого из двух генов действуют качественно однозначно, т.е. определяют оперенность ног. Поэтому генотипы A_1A_2 -(9/16), A_1 - a_2a_2 -(3/16) и $a_1a_1A_2$ -(3/16) соответствуют фенотипу с оперенными ногами, а генотип $a_1a_1a_2a_2$ (1/16) – с неоперенными.

В приведенном примере наличие в генотипе разного количества доминантных генов однозначного действия не изменяет выраженности признака. Достаточно одной доминантной аллели любого из двух генов, чтобы вызвать развитие признака. Поэтому такой тип взаимодействия генов был назван некумулятивной полимерией.

Итак, были разобраны три типа взаимодействия генов: комплементарное, эпистатическое и полимерное. Все они видоизменяют классическую формулу расщепления по фенотипу (9:3:3:1), установленную Менделем для дигибридного скрещивания.

Все приведенные типы расщепления по фенотипу столь же закономерны, как 9:3:3:1; они являются не следствием нарушения генетического механизма расщепления, а результатом взаимодействия генов в индивидуальном развитии.

Множественное (плейотропное) действие генов. Наряду с явлением взаимодействия генов, свидетельствующим о влиянии на одно какое-либо свойство двух и более пар генов, существует и множественное (плейотропное) действие генов. В этом случае один ген определяет развитие одновременно не одного, а нескольких признаков, т.е. он имеет плейотропный эффект.

Рассмотрим пример множественного действия гена.

У человека встречается рецессивная наследственная болезнь – серповидно-клеточная анемия. Первичный дефект в этом случае – замена одной из аминокислот в молекуле гемоглобина. Следствием этого, казалось бы незначительного изменения являются глубокие нарушения в сердечно-сосудистой, нервной, пищеварительной, выделительной системах. В результате человек гомозиготный по этому заболеванию, погибает в детстве.

Примером плейотропного действия у человека служит рецессивный ген, определяющий фенилкетонурию – болезнь, приводящую к серьёзным умственным нарушениям. Люди гомозиготные по этому гену отличаются по уровню содержания фенилаланина в крови, по коэффициенту умственного развития (IQ), размеру головы, цвету волос. У дрозофилы, у мух с зачаточными крыльями изменяются жужжальца, репродуктивные органы, продолжительность жизни, репродуктивность.

Таким образом, на основе изучения взаимодействия и множественного действия генов был сделан вывод, что любой наследственный признак определяется многими генами, точнее, всем генотипом и что каждый ген может действовать на развитие многих признаков или, точнее, на всю систему развивающегося организма. Следовательно, генотип является не суммой, а сложной системой взаимодействующих генов.

Вопросы

1. Что такое комплементарность?
2. Что означает полигенность признака?
3. Что такое эпистаз?
4. Что такое полимерия?
5. Как наследуются количественные признаки?
6. Может ли признак в потомстве быть выражен слабее или сильнее, чем у родителей?
7. Может ли один ген влиять одновременно на несколько признаков организма?

ЛЕКЦИЯ 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛА.

НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ПОЛОМ

1. *Эпигамное, програмное и сингамное определение пола*
2. *Гомо- и гетерогаметный пол*
3. *Признаки, сцепленные с полом*
4. *Наследование признаков, сцепленных с полом, при гетерогаметности мужского пола*

5. Наследование признаков, сцепленных с полом, при гетерогаметности женского пола

6. Наследование при нерасхождении половых хромосом

7. Балансовая теория определения пола

8. Половой хроматин

9. Гинандроморфы

10. Особенности X- и Y-хромосом, компенсация доз генов

11. Зависимые от пола признаки и признаки, ограниченные полом

Пол, как и любой другой признак организма, наследственно детерминирован. Важнейшая роль в генетической детерминации пола и в поддержании закономерного соотношения полов принадлежит хромосомному аппарату.

Эпигамное, програмное и сингамное определение пола. Наиболее древняя форма полового размножения – обоеполость, когда особь способна производить и женские, и мужские гаметы. С возникновением раздельнополости эта способность утрачивается. Однако любая особь остаётся потенциально двуполой, т.е. сохраняет тенденцию к развитию в мужскую и женскую сторону. У немногих организмов преобладание женской или мужской тенденции развития обуславливается внешними причинами. Это так называемое эпигамное (т.е. происходит после оплодотворения) определение пола. Пример – морской червь боннелия. У боннелии очень мелкие самцы обитают в матке крупных самок. Если личинка прикрепляется ко дну, она развивается в самку. Если попадает на хоботок самки под влиянием выделяемых хоботком веществ, то превращается в самца, мигрирующего в половые органы самки. У растений японской ариземы экземпляры, выросшие из крупных клубней, образуют женские цветки, из щуплых клубней – мужские.

У немногих организмов встречается програмное (происходящее до оплодотворения) определение пола (червей, коловраток). Пол зависит от того, что самки производят яйца двух сортов – крупные, богатые цитоплазмой, из которых развиваются самки, мелкие – самцы.

У большинства раздельнополых вопрос о том, получится из зиготы женская или мужская особь, решается в момент оплодотворения. При таком сингамном определении пола преобладание мужской или женской тенденции развития обеспечивается генотипом зиготы и не зависит от внешних условий.

Расщепление по полу. Ещё Мендель отметил, что пол наследуется как любой признак при моногибридном анализирующем скрещивании между гетерозиготным (Aa) и гомозиготным рецессивным (aa) родителями.

Каждому виду животных и двудомных растений свойственно примерно равное количество особей мужского и женского пола, т.е. соотношение полов, близкое к расщеплению 1:1.

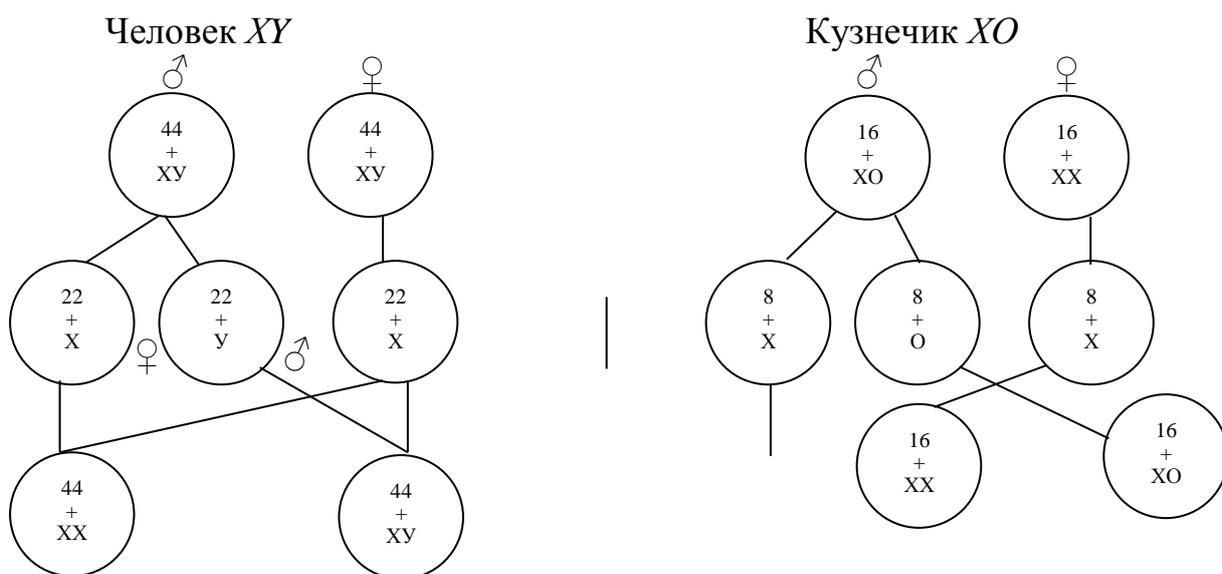
Это соотношение совпадает с расщеплением в анализирующем скрещивании, когда одна из скрещивающихся форм является гомозиготной по рецессивной аллели (aa), а другая – гетерозиготная (Aa). В потомстве в этом случае наблюдается расщепление в отношении 1 Aa :1 aa . Если пол наследуется по та-

кому же принципу, то следует предположить, что один пол, например женский, должен быть гомозиготным, а мужской гетерозиготным, или наоборот. Тогда расщепление по полу должно быть в каждом поколении равным 1:1, что и имеет место в действительности у раздельнополых организмов.

Гомо- и гетерогамегный пол. Однако эти факты не могли дать доказательств гомо- и гетерозиготности полов, пока они не были сопоставлены с цитологическими данными. Оказалось, что у животных особи женского и мужского полов различаются по хромосомным наборам. Так, у самок некоторых видов (дрозофила) все хромосомы парные, а у самцов две хромосомы гетероморфные, причем одна из них такая же, как и у самки. Такие хромосомы, по которым различаются особи мужского и женского полов, получили название половых хромосом. Те из них, которые являются парными у одного из полов, называют *X*-хромосомами. Непарная половая хромосома, имеющаяся только у особей одного пола и отсутствующая у другого, была названа *Y*-хромосомой. Хромосомы, по которым мужской и женский пол не различаются, называют аутосомами.

Таким образом, у дрозофилы особи обоих полов имеют по 6 одинаковых аутосом плюс половые хромосомы *XX* у самок и *X^Y* у самцов. Поскольку у самок *X*-хромосомы парные, в результате мейоза у них будут образовываться одинаковые яйцеклетки, каждая с одной *X*-хромосомой. Пол, производящий одинаковые гаметы в отношении половых хромосом, называют гомогаметным. У самца будут образовываться сперматозоиды двух сортов – с *X*- или *Y*-хромосомой, причем в равных количествах, в соответствии с механизмом мейоза, поэтому мужской пол дрозофилы называют гетерогаметным. Ясно, что образование сперматозоидов с *X*- и *Y*-хромосомами в отношении 1:1 обеспечивает расщепление по полу в потомстве также 1:1. Подобный тип определения пола (♀ - *XX*, ♂ - *X^Y*) найден у всех млекопитающих, в том числе у человека, двукрылых насекомых, некоторых рыб и т.п.

На рисунке дано схематическое изображение основных типов определения пола.



Схематическое изображение основных типов определения пола.

У некоторых организмов нет Y хромосомы. Этот тип определения пола называется $XX-XO$, в отличие от $XX-XY$.

Гетерогаметность не всегда присуща именно мужскому полу. Например, у птиц, некоторых рыб и бабочек гетерогаметным полом является женский, а гомогаметным – мужской. Яйцеклетки у этих животных двух типов – с Z и W хромосомами, а сперматозоиды несут только Z -хромосому (тип $ZZ-ZW$ у кур).

Определение пола у пчёл, ос и муравьёв происходит также с помощью хромосомного аппарата, в котором отсутствует специальная пара половых хромосом. Если яйцеклетки развиваются без оплодотворения, превращаются в самцов, оплодотворённые яйцеклетки превращаются в самок. Оплодотворением яйцеклеток управляет самка, которая хранит в специальных хранилищах большое количество сперматозоидов, полученных от трутня. Это выгодно такому насекомому как медоносные пчёлы, для сообщества которых достаточно 1 матки, несколько сот трутней и тысячи рабочих пчёл. Рабочие пчёлы, подобно матке развиваются из оплодотворённых яйцеклеток, но остаются недоразвитыми, что определяется кормом, на котором они выращиваются.

Прямые доказательства того, что именно механизм гетерогаметности и гомогаметности имеет непосредственное отношение к определению пола и расщеплению по полу, были получены при изучении закономерностей наследований сцепленных с полом признаков и особенностей наследования последних при различных типах нарушения расхождения хромосом в мейозе.

Признаки, сцепленные с полом. Для менделевских закономерностей не имеют значения, каким полом привносятся доминантные или рецессивные аллели. Это правильно для всех случаев, когда гены находятся в аутосомах, одинаково представленных у особей обоих полов. В том случае, когда гены находятся в половых хромосомах, характер наследования обусловлен поведением этих хромосом в мейозе и их сочетанием при оплодотворении. Генетическими исследованиями установлено, что у дрозофилы Y -хромосома, в отличие от X -хромосомы, за некоторым исключением, не содержит генов, т. е. наследственно инертна. Поэтому гены, находящиеся в X -хромосоме, как правило, не имеют аллелей в Y -хромосоме. В силу этого рецессивные гены в X -хромосоме гетерогаметного пола могут проявляться, будучи в единственном числе. Следовательно, признаки, гены которых находятся в половых хромосомах, должны наследоваться своеобразно.

Признаки, определяемые генами, находящимися в X -хромосомах, называют признаками, сцепленными с полом. Это явление было открыто Т.Морганом на дрозофиле.

Наследование признаков, сцепленных с полом, при гетерогаметности мужского пола. От скрещивания белоглазых самцов дрозофилы с красноглазыми самками в первом поколении все потомство (самки и самцы) красноглазое. Следовательно, красноглазость доминантна, а белая окраска глаз рецессивна. В F_2 происходит расщепление в отношении 3 красноглазых к 1 белоглазой мухе, но белые глаза только у половины самцов, самки все красноглазые. Это кажется отступлением от менделевских закономерностей.

В обратном скрещивании, когда белоглазая самка скрещивается с красноглазым самцом, в первом же поколении наблюдается расщепление по окраске глаз 1:1. При этом белоглазыми оказываются только самцы, а все

самки красноглазые, т.е. дочери наследуют красную окраску глаз от отцов, а сыновья – белый цвет глаз от матерей. Такой тип передачи признаков от матерей сыновьям, а от отцов дочерям получил название наследования крест-накрест или крисс-кросс. В F_2 этого скрещивания появляются мухи с обоими признаками в равном отношении 1:1 как среди самок, так и среди самцов.

Закономерная связь наследования признаков с полом соответствует гипотезе о наследовании пола через половые хромосомы. Если самка является гомозиготной по доминантной аллели красной окраски глаз, находящейся в X -хромосоме, то эта аллель вместе с половой хромосомой передается сыновьям F_1 , и поэтому они оказываются красноглазыми. Дочери F_1 получают одну X -хромосому с рецессивной аллелью белой окраски глаз от отца, а вторую X -хромосому с доминантной аллелью красного цвета глаз от матери. В силу доминирования красной окраски они оказываются также красноглазыми.

В обратном скрещивании дочери получают от отца X -хромосому, несущую доминантную аллель красной окраски глаз, а другую X -хромосому с рецессивной аллелью белого цвета глаз от матери, поэтому они оказываются красноглазыми. Так как сыновья получают свою единственную X -хромосому с аллелью белых глаз от матери, а Y -хромосому, которая не содержит доминантной аллели красной окраски, от отца, то рецессивная аллель белых глаз у самца, находясь в одной дозе, тем не менее проявляется. Такое состояние гена принято называть гемизиготным, а организм подобного генотипа – гемизиготой.

У человека также известны случаи наследования признаков, сцепленных с полом. К ним относятся, в частности, дальтонизм (красно зеленая слепота) и гемофилия (несвертываемость крови), определяемые рецессивными генами. Так как у человека мужской пол гетерогаметен, подобные признаки чаще проявляются у мужчин, а передатчиками таких заболеваний служат здоровые женщины, которые несут эти гены в гетерозиготном состоянии.

Наследование признаков, сцепленных с полом, при гетерогаметности женского пола. В этом случае все гены X -хромосомы будут находиться в гемизиготном состоянии у самок, а не у самцов. У кур наследуется сцепленно с полом полосатое оперение, которое определяется доминантным геном B . Если скрещивать полосатых кур ($X^B Y$) с петухом ($X^b X^b$) рецессивной черной окраски, то петушки F_1 , получившие доминантный ген полосатости с X -хромосомой от матери, будут иметь полосатую окраску. Курочки, получившие рецессивную аллель от отца, оказываются черными. Обратное скрещивание курицы, имеющей черную окраску, с петухом, гомозиготным по доминантному гену полосатости, даст в F_1 петухов и кур только полосатой окраски.

Таким образом, в данном примере, как и в случае с окраской глаз у дрозофилы, наследование признаков, сцепленных с полом, полностью соответствует распределению половых хромосом в мейозе и сочетанию их при оплодотворении.

Наследование при нерасхождении половых хромосом. Как отмечалось ранее, при скрещивании белоглазой самки дрозофилы с красноглазым самцом в F_1 все дочери имеют красные глаза, а у всех сыновей, получающих свою единственную X -хромосому от матери, глаза белые. Однако иногда в таком скрещивании проявляются единичные красноглазые самцы и белоглазые

самки, так называемые исключительные мухи с частотой 0,1-0,001%. Бриджес предположил, что появление таких «исключительных особей» объясняется тем, что у их матери во время мейоза обе X-хромосомы попали в одно яйцо, т.е. произошло нерасхождение X-хромосом. Каждое из таких яиц может быть оплодотворено либо спермием с X-хромосомой, либо Y-хромосомой. В результате может образоваться 4 типа зигот: 1) с тремя X-хромосомами – XXX; 2) с двумя материнскими X-хромосомами и Y-хромосомой XXY; 3) с одной отцовской X-хромосомой; 4) без X-хромосомы, но с Y-хромосомой.

XXY являются нормальными плодовитыми самками. XO-самцы, но стерильны. Это показывает, что у дрозофилы Y-хромосома не содержит генов, определяющих пол. При скрещивании XXY самок с нормальными красноглазыми самцами (XY) Бриджес обнаружил среди потомства 4% белоглазых самок и 4% красноглазых самцов. Остальная часть потомства состояла из красноглазых самок и белоглазых самцов. Появление подобных исключительных особей автор объяснил вторичным нерасхождением X-хромосом в мейозе, потому что самки, взятые в скрещивании (XXY), возникли вследствие первичного нерасхождения хромосом. Вторичное нерасхождение хромосом у таких самок в мейозе наблюдается в 100 раз чаще, чем первичное.

У ряда других организмов, в том числе у человека, также известно нерасхождение половых хромосом. Из 4-х типов потомков, получающихся при нерасхождении X-хромосом у женщин, особи, не имеющие ни одной X-хромосомы, погибают в течение эмбрионального развития. Зиготы XXX развиваются у женщин, у которых чаще обычного встречаются умственные дефекты и бесплодие. Из зигот XXY развиваются неполноценные мужчины – синдром Клайнфельтера – бесплодие, умственная отсталость, евнухоидное телосложение. Потомки с одной X-хромосомой чаще погибают в эмбриональном развитии, редкие выжившие – женщины с синдромом Шерешевского-Тернера. Они низкого роста, инфантильны, бесплодны. У человека Y-хромосомы содержат гены, определяющие развитие организма мужского пола. При отсутствии Y-хромосомы развитие идет по женскому типу. Нерасхождение половых хромосом у человека происходит чаще, чем у дрозофилы; в среднем на каждые 600 родившихся мальчиков приходится один с синдромом Клайнфельтера.

Балансовая теория определения пола. Изучая нерасхождение хромосом, Бриджес открыл важную роль баланса между числом наборов аутосом и числом X-хромосом у дрозофилы в механизме определения пола. Оказалось, что при отношении числа X-хромосом к числу наборов аутосом (X/A) равно 1, развиваются самки. Если X/A равно 0,5, то самцы образуются независимо от присутствия Y-хромосомы. Когда же отношение X/A промежуточное между 0,5 и 1, насекомые приобретают черты интерсексуальности. Эта концепция получила название балансовой теории определения пола. У человека X-хромосома направляет развитие организма в женскую сторону, а Y-хромосома в мужскую. При соотношении X/Y равным 1 развивается нормальный мужчина, $2X$ – нормальная женщина. Согласно балансовой теории определения пола особи определяется балансом генов, детерминирующих мужской и женский пол и локализованных в любых хромосомах генома. В настоящее время у человека описано 6 генов (3 в X-хромосоме и 3 в Y-хромосоме), взаимодействие

которых определяет пол особи. При отсутствии Y -хромосом и любом числе X -хромосом особь определяется как женская. Балансовая теория определения пола показывает генетически обусловленную потенциальную бисексуальность всех раздельнополых организмов и их гамет.

Половой хроматин. Во многих интерфазных клеточных ядрах млекопитающих, в том числе человека, присутствуют небольшие дисковидные тельца, легко окрашивающиеся основными красителями. Это тельце имеется в большинстве (60-70%) клеточных ядер у особей женского пола, у мужского пола их нет или имеется в небольшом количестве (5-10%). Вследствие различной встречаемости этого образования у различных полов получило название полового хроматина. Установлено, что наличие и число половых хроматин зависит от числа X -хромосом. Как правило, половой хроматин отсутствует при наличии одной X -хромосомы, у мужчин – XY , у женщин XO (синдром Шерешевского-Тернера). Один половой хроматин у нормальной женщины – XX , у мужчин XXY . У женщин трисомиков – XXX – два половых хроматина. Половой хроматин – черта женского пола. Определение полового хроматина используется как тест при определении болезней.

Гинандроморфы. У насекомых известны случаи появления особей, половина тела которых имеет женское строение, половина – мужское. Гинандроморфы развиваются из яиц, несущих две X -хромосомы, т.е. потенциальных самок. Если во время первого деления дробления одно из дочерних ядер получает обе X -хромосомы, а другое – только одну, то кариотип второго ядра будет XO . Такие особи, согласно балансовой теории определения пола, дают самцов. Гинандроморфы могут получаться вследствие того, что после мейоза в неоплодотворённом яйце случайно оказывается не одно, а два гаплоидных ядра. Ядра двух сперматозоидов сливаются с двумя ядрами яйцеклеток. Один сперматозоид имеет X -хромосому, другой – Y . Образуется гинандроморф, половина тела которого развивается из XY , другая – из XX .

Особенности X - и Y -хромосом. Компенсация доз генов. У многих видов X - и Y -хромосомы резко различны по величине. Как правило, Y -хромосома невелика по величине и содержит большой гетерохроматиновый район. У человека обнаружено около 200 генов, наследующихся в связи с X -хромосомой, в том числе гены гемофилии, дальтонизма, мускульной дистрофии. Гены, локализованные в Y -хромосоме, передаются только по мужской линии, а признаки человека-дикообраза, синдактимии, гипертрихоза ушной раковины передаются мальчикам. В связи с различием в величине хромосом и числом генов в X - и Y -хромосомах эволюционно сложились механизмы компенсации доз генов. Однако у человека и млекопитающих, с одной стороны, у дрозофилы – с другой, эти механизмы неодинаковы. У млекопитающих компенсация достигается почти полной генетической инактивацией одной из двух X -хромосом. Инактивация X -хромосом отсутствует в клетках зародышевого пути. Выбор активной и неактивной X -хромосомы происходит случайно. Происходит она по механизму гетерохроматинизации, X -хромосома превращается в плотно конденсированное тельце, в котором отсутствует генетическая активность. У дрозофилы единственная X -хромосома самца направляет синтез стольких же генных продуктов, сколько обе функционально активные X -хромосомы самки.

Зависимые от пола признаки и признаки, ограниченные полом. Ограниченными полом называются такие наследственные признаки, которые проявляются только у одного пола или выражения которых различно у разных полов. Они могут определяться как аутосомными, так и генами, лежащими в половых хромосомах. Различия в молочности разных пород крупного рогатого скота, а также в яйценоскости разных пород кур обусловлены генами, имеющимися у самок, и у самцов, но проявляющимися, естественно, только у первых.

Вопросы

1. Почему рождается примерно одинаковое количество особей мужского и женского пола?
2. Что такое балансовая теория определения пола?
3. Что такое половой хроматин?
4. Существует ли пол у растений?
5. Что такое гинандроморфы?
6. Какие признаки называются сцепленными с полом?
7. Какие признаки называются ограниченными полом и зависимыми от пола?
8. Каково значение полового размножения?
9. Что такое дозовая компенсация генов?
10. Какие типы определения пола Вам известны?

ЛЕКЦИЯ 7. СЦЕПЛЕНИЕ И КРОССИНГОВЕР

1. *Явление сцепленного наследования*
2. *Кроссинговер и его генетическое доказательство*
3. *Закон сцепления Моргана*
4. *Величина перекреста и линейное расположение генов в хромосоме*
5. *Локализация гена*
6. *Генетические карты*
7. *Учёт кроссинговера при тетрадном анализе*
8. *Цитологическое доказательство кроссинговера*
9. *Механизм кроссинговера*
10. *Митотический кроссинговер*
11. *Факторы, влияющие на перекрест хромосом*

Сцепление и кроссинговер. Из принципов генетического анализа, изложенных в предыдущих главах, с очевидностью вытекает, что независимое комбинирование признаков может осуществляться лишь при условии, что гены, определяющие эти признаки, находятся в негомологичных хромосомах. Следовательно, у каждого организма число пар признаков, по которым наблюдается независимое наследование, ограничено числом пар хромосом. С другой стороны, очевидно, что число признаков и свойств организма, контролируемых генами, чрезвычайно велико, а число пар хромосом у каждого вида относительно мало и постоянно.

Остается предположить, что в каждой хромосоме находится не один ген, а много. Если это так, то третий закон Менделя касается распределения хромосом, а не генов, т.е. его действие ограничено.

Явление сцепленного наследования. Из третьего закона Менделя следует, что при скрещивании форм, различающихся двумя парами генов (AB и ab), получается гибрид $AaBb$, образующий четыре сорта гамет AB , Ab , aB и ab в равных количествах.

В соответствии с этим в анализирующем скрещивании осуществляется расщепление 1:1:1:1, т.е. сочетания признаков, свойственные родительским формам (AB и ab), встречаются с такой же частотой, как и новые комбинации (Ab и aB), – по 25%. Однако по мере накопления фактов генетики все чаще стали сталкиваться с отклонениями от независимого наследования. В отдельных случаях новые комбинации признаков (Ab и aB) в F_2 совсем отсутствовали – наблюдалось полное сцепление между генами исходных форм. Но чаще в потомстве в той или иной степени преобладали родительские сочетания признаков, а новые комбинации встречались с меньшей частотой, чем ожидается при независимом наследовании, т.е. меньше 50%. Таким образом, в данном случае гены чаще наследовались в исходном сочетании (были сцеплены), но иногда это сцепление нарушалось, давая новые комбинации.

Совместное наследование генов, ограничивающее их свободное комбинирование, Морган предложил называть сцеплением генов или сцепленным наследованием.

Кроссинговер и его генетическое доказательство. При допущении размещения в одной хромосоме более одного гена встает вопрос, могут ли аллели одного гена в гомологичной паре хромосом меняться местами, перемещаясь из одной гомологичной хромосомы в другую. Если бы такой процесс не происходил, то гены комбинировались бы только путем случайного расхождения негомологичных хромосом в мейозе, а гены, находящиеся в одной паре гомологичных хромосом, наследовались бы всегда сцепленно – группой.

Исследования Т.Моргана и его школы показали, что в гомологичной паре хромосом регулярно происходит обмен генами. Процесс обмена идентичными участками гомологичных хромосом с содержащимися в них генами называют перекрестом хромосом или кроссинговером. Кроссинговер обеспечивает новые сочетания генов, находящихся в гомологичных хромосомах. Явление кроссинговера, так же как и сцепление, оказалось общим для всех животных, растений и микроорганизмов. Наличие обмена идентичными участками между гомологичными хромосомами обеспечивает обмен или рекомбинацию генов и тем самым значительно увеличивает роль комбинативной изменчивости в эволюции. О перекресте хромосом можно судить по частоте возникновения организмов с новым сочетанием признаков. Такие организмы называют рекомбинантами.

Рассмотрим один из классических опытов Моргана на дрозофиле, позволивший ему доказать, что гены расположены в хромосомах в определенном порядке. Когда гены находятся в разных парах хромосом, то, например, генотип дигетерозиготы записывается так: $\frac{A}{a} \frac{B}{b}$. Если гены находятся в одной паре гомологичных хромосом, формула видоизменяется:

$\frac{AB}{ab}$. При этом аллели одного гена (Aa и Bb), находящиеся в гомологичных хромосомах, пишутся строго одна под другой.

У дрозофилы рецессивный ген черной окраски тела обозначается b , а его доминантная аллель, определяющая дикую серую окраску, — b^+ , ген рудиментарных крыльев — vg , нормальных — vg^+ . При скрещивании мух, различающихся по двум парам сцепленных признаков, серых с рудиментарными крыльями $\left(\frac{b^+vg}{b^+vg}\right)$ и черных с нормальными крыльями $\left(\frac{bvg^+}{bvg^+}\right)$ — гибриды $F_1\left(\frac{b^+vg}{bvg^+}\right)$ серые с нормальными крыльями.

Если гибридные самцы скрещиваются с самками, гомозиготными по обоим рецессивным генам ($\text{♀} \frac{bvg}{bvg} \times \text{♂} \frac{b^+vg}{bvg^+}$), то в потомстве получается расщепление в отношении 1 серотелая муха с рудиментарными крыльями: 1 чернотелая с нормальными крыльями. Следовательно, данная дигетерозигота образует только два сорта гамет (b^+vg и bvg^+) вместо четырех, причем сочетание генов в гаметах самца соответствует тому, которое было у его родителей. Исходя из указанного расщепления, следует предположить, что у самца не происходит обмен участками гомологичных хромосом. Действительно, у самцов дрозофилы как в аутосомах, так и в половых хромосомах, кроссинговер в норме не происходит, благодаря чему наблюдается полное сцепление генов, находящихся в одной хромосоме.

Гаметы с хромосомами, претерпевшими кроссинговер, называют кроссоверными, а с непретерпевшими — некроссоверными. Соответственно организмы, возникшие от сочетания кроссоверных гамет гибрида с гаметами анализатора, называют кроссоверами или рекомбинантами, а возникшие за счет некроссоверных гамет гибрида — некроссоверными или нерекомбинантными.

Закон сцепления Моргана. При анализе расщепления в случае кроссинговера обращает на себя внимание определенное количественное отношение кроссоверных и некроссоверных классов. Обе исходные родительские комбинации признаков, образовавшиеся из некроссоверных гамет, оказываются в потомстве анализирующего скрещивания в равном количественном отношении. В указанном опыте с дрозофилой тех и других особей было примерно по 41,5%. В сумме некроссоверные мухи составили 83% от общего числа потомков. Два кроссоверных класса по числу особей также одинаковы, и сумма их равна 17%.

Частота кроссинговера не зависит от аллельного состояния генов, участвующих в скрещивании. Если в качестве родителя использовать мух $\frac{bvg}{bvg}$ и $\frac{b^+vg^+}{b^+vg^+}$, то в анализирующем скрещивании кроссоверные (b^+vg и bvg^+) и некроссоверные (bvg и b^+vg^+) особи появятся с той же частотой (соответственно 17 и 83%), что и в первом случае.

Результаты этих опытов показывают, что сцепление генов реально существует, и лишь в известном проценте случаев оно нарушается вследствие кроссинговера. Отсюда и был сделан вывод, что между гомологичными хромосома-

ми может осуществляться взаимный обмен идентичными участками, в результате чего гены, находящиеся в этих участках парных хромосом, перемещаются из одной гомологичной хромосомы в другую. Отсутствие перекреста (полное сцепление) между генами представляет исключение и известно лишь у гетерогаметного пола немногих видов, например у дрозофилы и шелкопряда.

Изученное Морганом сцепленное наследование признаков получило название закона сцепления Моргана. Поскольку рекомбинация осуществляется между генами, а сам ген кроссинговером не разделяется, его стали считать единицей кроссинговера.

Величина кроссинговера. Величина кроссинговера измеряется отношением числа кроссоверных особей к общему числу особей в потомстве от анализирующего скрещивания. Рекомбинация происходит реципрокно, т.е. между родительскими хромосомами осуществляется взаимный обмен; это обязывает подсчитывать кроссоверные классы вместе как результат одного события. Величина кроссинговера выражается в процентах. Один процент кроссинговера составляет единицу расстояния между генами.

Линейное расположение генов в хромосоме. Т. Морган предположил, что гены расположены в хромосомах линейно, а частота кроссинговера отражает относительное расстояние между ними: чем чаще осуществляется кроссинговер, тем далее отстоят гены друг от друга в хромосоме; чем реже кроссинговер, тем они ближе друг к другу.

Одним из классических опытов Моргана на дрозофиле, доказывающим линейное расположение генов, был следующий. Самки, гетерозиготные по трем сцепленным рецессивным генам, определяющим желтую окраску тела y , белый цвет глаз w и вильчатые крылья bi , были скрещены с самцами, гомозиготными по этим трем генам. В потомстве было получено 1,2% мух кроссоверных, возникших от перекреста между генами y и w ; 3,5% – от кроссинговера между генами w и bi и 4,7% – между y и bi .

Из этих данных с очевидностью вытекает, что процент перекреста является функцией расстояния между генами. Поскольку расстояние между крайними генами y и bi равно сумме двух расстояний между y и w , w и bi , следует предположить, что гены расположены в хромосоме последовательно, т.е. линейно.

Воспроизводимость этих результатов в повторных опытах указывает на то, что местоположение генов в хромосоме строго фиксировано, т.е. каждый ген занимает в хромосоме свое определенное место – локус.

Основным положениям хромосомной теории наследственности – парности аллелей, их редукции в мейозе и линейному расположению генов в хромосоме – соответствует однонитчатая модель хромосомы.

Одинарный и множественный перекресты. Приняв положения, что генов в хромосоме может быть много и расположены они в хромосоме в линейном порядке, а каждый ген занимает определённый локус в хромосоме, Морган допустил, что перекрест между гомологичными хромосомами может происходить одновременно в нескольких точках. Это предположение

было им доказано тоже на дрозофиле, а затем полностью подтвердилось на ряде других животных, а также на растениях и микроорганизмах.

Кроссинговер, происходящий лишь в одном месте, называют одинарным, в двух точках одновременно – двойным, в трёх – тройным и т.д., т.е. он может быть множественным.

Чем дальше отстоят друг от друга в хромосоме гены, тем больше вероятность двойных перекрестов между ними. Процент рекомбинаций между двумя генами тем точнее отражает расстояние между ними, чем оно меньше, так как в случае малого расстояния уменьшается возможность двойных обменов.

Для учета двойного кроссинговера необходимо иметь дополнительный маркер, находящийся между двумя изучаемыми генами. Определение расстояния между генами осуществляют следующим образом: к сумме процентов одинарных кроссоверных классов прибавляют удвоенный процент двойных кроссинговеров. Удвоение процента двойных кроссинговеров необходимо в связи с тем, что каждый двойной кроссинговер возникает благодаря двум независимым одинарным разрывам в двух точках.

Интерференция. Установлено, что кроссинговер, происшедший в одном месте хромосомы, подавляет кроссинговер в близлежащих районах. Это явление носит название интерференции. При двойном перекресте интерференция проявляется особенно сильно в случае малых расстояний между генами. Разрывы хромосом оказываются зависимыми друг от друга. Степень этой зависимости определяется расстоянием между происходящими разрывами: по мере удаления от места разрыва возможность другого разрыва увеличивается.

Эффект интерференции измеряется отношением числа наблюдаемых двойных разрывов к числу возможных при допущении полной независимости каждого из разрывов.

Объясним это на рассмотренном ранее примере с кукурузой. На основании измерения частоты перекреста было установлено, что в генотипе $\frac{v^+ gl^+ sl^+}{vglsl}$ гены v и gl разделяются расстоянием 18,3%, а gl и sl – 13,6%. Если разрывы на участках $v - gl$ и $gl - sl$ происходят как независимые друг от друга события, то вероятность двойного кроссинговера между генами v и sl должна быть равна произведению процентов кроссинговера на участках $v - gl$ и $gl - sl$, т.е.

$$\frac{18,3}{100} \times \frac{13,6}{100} \times 100 = 2,5\%$$

Но в опыте получено всего 1,5% растений, возникших вследствие двойного кроссинговера, т.е. ниже ожидаемого, что и объясняется наличием интерференции. Величину интерференции измеряют отношением наблюдаемого числа двойных перекрестов к теоретически ожидаемому. Это отношение в генетике называют коинцидентией и выражают в долях единицы или в процентах. В приведенном примере она равна 1,5:2,5, т.е. 0,6, или 60%.

На небольшом расстоянии, где имеет место влияние одного разрыва на другой, коинцидентия будет меньше 1. Но влияние интерференции распространяется лишь на определенное расстояние, а затем исчезает. В последнем случае коинцидентия равна 1 или 100%. Коинцидентия в разных хромосомах и в разных участках одной и той же хромосомы различна. Особенности распределения

генов в хромосомах, их строение, а также расположение центромеры влияют на частоту перекреста хромосом. Подробно об этом будет сказано дальше.

Локализация гена. Если гены расположены в хромосоме линейно, а частота кроссинговера отражает расстояние между ними, то можно определить местоположение гена в хромосоме.

Прежде чем определить, положение гена, т.е. его локализацию, необходимо определить, в какой хромосоме находится данный ген. Гены, находящиеся в одной хромосоме и наследующиеся сцепленно, составляют группу сцепления. Очевидно, что количество групп сцепления у каждого вида должно соответствовать гаплоидному набору хромосом.

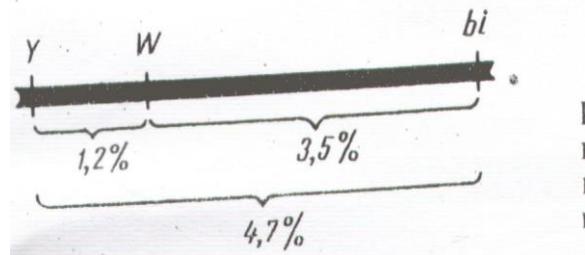


Схема локализации генов в хромосоме.
Цифры указывают на процент кроссинговера между генами.

К настоящему времени группы сцепления определены у наиболее изученных в генетическом отношении объектов, причем во всех этих случаях обнаружено полное соответствие числа групп сцепления гаплоидному числу хромосом. Так, у кукурузы (*Zea mays*) гаплоидный набор хромосом и число групп сцепления составляют 10, у гороха (*Pisum sativum*) – 7, дрозофила (*Drosophila melanogaster*) – 4, домовая мышь (*Mus musculus*) – 20 и т.п.

В рассмотренном ранее примере с дрозофилой процент кроссинговера между генами *y* и *w* равен 1,2, а между генами *w* и *bi* – 3,5. Но по этим показателям еще нельзя сказать, где находится ген *y*, слева или справа от гена *w*, нельзя судить и о положении гена *w* по отношению к гену *bi*. И, только определив процент перекреста между третьей парой генов *y* и *bi* (в данном случае 4,7%), можно прийти к заключению, что ген *w* должен находиться обязательно между генами *y* и *bi*.

Поскольку ген занимает определенное место в группе сцепления, это позволяет устанавливать порядок расположения генов в каждой хромосоме и строить генетические карты хромосом.

Генетические карты. Генетической картой хромосом называют схему относительного расположения генов, находящихся в данной группе сцепления. Они составлены пока лишь для некоторых наиболее изученных с генетической точки зрения объектов: дрозофила, кукурузы, томатов, мыши, нейроспоры, кишечной палочки и др. Генетические карты составляют для каждой пары гомологичных хромосом. Группы сцепления нумеруют.

Для того, чтобы составить карты, необходимо изучить закономерности наследования большого числа генов. У дрозофила, например, изучено более 500 генов, локализованных в четырех группах сцепления, у кукурузы – более 400 генов, локализованных в десяти группах сцепления и т.д. При составлении генетических карт указывается группа сцепления, полное или сокращенное название генов, расстояние в процентах от одного из концов хромосомы, принятого за нулевую точку; иногда обозначается место центромеры.

У многоклеточных организмов рекомбинация генов бывает реципрокной. У микроорганизмов она может быть односторонней. Так, у ряда бактерий, например у кишечной палочки (*Escherichia coli*), перенос генетической информации происходит во время конъюгации клеток. Единственная хромосома бактерии, имеющая форму замкнутого кольца, рвется во время конъюгации всегда в определенной точке и переходит из одной клетки в другую.

Длина переданного участка хромосомы зависит от длительности конъюгации. Последовательность генов в хромосоме оказывается постоянной. В силу этого расстояние между генами на такой кольцевой карте измеряется не в процентах кроссинговера, а в минутах, что отражает продолжительность конъюгации.

Учёт кроссинговера при тетрадном анализе. У нейроспоры продукты мейоза – споры – располагаются в сумке цепочкой. В мейозе протекают два обычных деления созревания, затем одно митотическое, в результате чего в каждой сумке образуется 8 аскоспор. Поскольку у нейроспоры имеется возможность непосредственно определять результаты кроссинговера по продуктам мейоза, установление в этом случае характера расщепления будет прямым доказательством того, что расщепление и кроссинговер осуществляются в мейозе. Этот метод является разновидностью уже описанного тетрадного анализа, но применительно к сцепленным генам.

В случае моногибридного скрещивания ожидается расщепление по гаплоидным продуктам (спорам) в соотношении $1A:1a$. Установлено расщепление по одной паре аллелей (A и a), определяющих окраску аскоспор. В асках среди 8 спор видны 4 окрашенные (A) и 4 неокрашенные (a) споры, т. е. наблюдается расщепление 1:1. При отсутствии кроссинговера между геном и центромерой порядок расположения спор в сумке таков: $AAAAaaaa$. Если порядок аскоспор меняется, например $AAaaAAaa$, то это будет говорить о происшедшем перекресте между локусом a и центромерой.

Расположение спор будет зависеть от расхождения хромосом в первом и втором мейотических делениях. Аллели A и a могут распределиться в сумке по спорам и в ином порядке: $aaAAaaAA$, $aaAAAAaa$, $AAAAaaAA$.

В рассматриваемом случае перекрест происходит на участке между локусом данного гена и центромерой. Чем дальше ген a будет удален от центромеры, тем вероятнее перекрест и, следовательно, больше будет кроссоверных асков. Если перекрест произойдет между дистальным концом хромосомы и геном a , то кроссоверное расположение аскоспор не будет обнаружено.

Изменение порядка спор в аске при кроссинговере между геном и центромерой возможно только в случае, если он осуществляется на стадии четырех нитей, т.е. между хроматидами. Если бы рекомбинация происходила в момент, когда каждая хромосома еще не удвоилась, порядок спор в аске не изменился бы. Следовательно, изменение порядка спор в данном случае служит доказательством того, что кроссинговер осуществляется между несестринскими хроматидами, т.е. на стадии четырех нитей.

Цитологическое доказательство кроссинговера. После того как генетическими методами удалось установить явление кроссинговера, необходимо было получить прямое доказательство обмена участками го-

гомологичных хромосом, сопровождающегося рекомбинацией генов. Наблюдаемые в профазе мейоза картины хиазм могут служить лишь косвенным доказательством этого явления, констатация происшедшего обмена прямым наблюдением невозможна, так как обменивающиеся участками гомологичные хромосомы обычно абсолютно одинаковы по величине и форме.

Чтобы сопоставить цитологические карты гигантских хромосом с генетическими, Бриджес предложил воспользоваться коэффициентом кроссинговера. Для этого он разделил общую длину всех хромосом слюнных желез (1180 мкм) на общую длину генетических карт (279 единиц). В среднем это отношение оказалось равным 4,2. Следовательно, каждой единице перекреста на генетической карте соответствует 4,2 мкм на цитологической карте (для хромосом слюнных желез). Зная расстояние между генами на генетической карте какой-либо хромосомы, можно сравнить относительную частоту перекреста в разных ее районах. Например, в X-хромосоме дрозофилы гены *u* и *ec* находятся на расстоянии 5,5%, следовательно, расстояние между ними в гигантской хромосоме должно быть $4,2 \text{ мкм} \times 5,5 = 23 \text{ мкм}$, но непосредственное измерение дает 30 мкм. Значит, в этом районе X-хромосомы кроссинговер идет реже средней нормы.

В силу неравномерного осуществления обменов по длине хромосом гены при нанесении их на карту распределяются на ней с разной плотностью. Следовательно, распределение генов на генетических картах можно рассматривать как показатель возможности осуществления перекреста по длине хромосомы.

Механизм кроссинговера. Еще до открытия перекреста хромосом генетическими методами цитологи, изучая профазу мейоза, наблюдали явление взаимного обвивания хромосом, образования ими χ -образных фигур – хиазм (χ -греческая буква «хи»). В 1909 г. Ф. Янсенс высказал предположение, что хиазмы связаны с обменом участками хромосом. Впоследствии эти картины послужили дополнительным аргументом в пользу гипотезы генетического перекреста хромосом, выдвинутой Т. Морганом в 1911 г.

Механизм перекреста хромосом связан с поведением гомологичных хромосом в профазе I мейоза.

Кроссинговер происходит на стадии четырех хроматид и приурочен к образованию хиазм. Если в одном биваленте произошел не один обмен, а два и более, то и этом случае образуется несколько хиазм. Поскольку в биваленте четыре хроматиды, то, очевидно, каждая из них имеет равную вероятность обменяться участками с любой другой. При этом в обмене могут участвовать две, три или четыре хроматиды.

Обмен внутри сестринских хроматид не может приводить к рекомбинациям, поскольку они генетически идентичны, и в силу этого такой обмен не имеет смысла в качестве биологического механизма комбинативной изменчивости.

Соматический (митотический) кроссинговер. Как уже говорилось, кроссинговер происходит в профазе I мейоза при образовании гамет. Однако существует соматический, или митотический, кроссинговер, который осуществляется при митотическом делении соматических клеток главным образом эмбриональных тканей.

Известно, что гомологичные хромосомы в профазе митоза обычно не конъюгируют и располагаются независимо друг от друга. Однако иногда удается наблюдать синапсис гомологичных хромосом и фигуры, похожие на хиазмы, но при этом редукции числа хромосом не наблюдается.

Соматический кроссинговер может приводить к мозаичности в проявлении признаков. Механизм этого явления ясен из следующего примера. Самки дрозофилы, гетерозиготные по сцепленным рецессивным генам y (желтая окраска тела) и sn (опаленные щетинки) $\frac{ysn^+}{y^+sn}$ имеют серое тело и нормальные щетинки. В случае, если соматических клетках происходит перекрест в этой паре хромосом, на теле могут появляться пятна с рецессивными признаками.

Соматический кроссинговер может быть обнаружен, если он осуществляется между двумя несестринскими хроматидами. Он выявляется в виде двойных пятен, если место обмена находится между геном sn и центромерой и если в анафазе того же митотического цикла случайно обе хромосомы $y sn^+$ отойдут к одному полюсу, а обе хромосомы $y^+ sn$ – к другому. Две клетки, возникшие как следствие одного митоза, при размножении дадут два вида пятен ткани, примерно равных по размеру и проявляющих рецессивные признаки, в силу того, что гены y и sn оказываются в результате происшедшего перекреста в гомозиготном состоянии: $\frac{ysn^+}{ysn^+}$ и $\frac{y^+sn}{y^+sn}$.

На сером теле мухи с нормальными щетинками появляются одно пятно желтого цвета, а другое серого цвета с «опаленными» щетинками. Поскольку появление пятен может быть следствием обменов только на стадии четырех нитей, то этот случай является прямым доказательством того, что кроссинговер у многоклеточных организмов осуществляется между хроматидами.

Гипотезы о механизме кроссинговера. По поводу механизма перекреста существует несколько гипотез, но ни одна из них не объясняет полностью фактов рекомбинации генов и наблюдаемых при этом цитологических картин.

Согласно гипотезе, предложенной Ф. Янсеном и развитой К. Дарлингтоном, в процессе синапсиса гомологичных хромосом в биваленте создается динамическое напряжение, возникающее в связи со спирализацией хромосомных нитей, а также при взаимном обвивании гомологов в биваленте. В силу этого напряжения одна из четырех хроматид рвется. Разрыв, нарушая равновесие в биваленте, приводит к компенсирующему разрыву в строго идентичной точке какой-либо другой хроматиды этого же бивалента. Затем происходит реципрокное воссоединение разорванных концов, приводящее к кроссинговеру. Согласно этой гипотезе хиазмы непосредственно связаны с кроссинговером.

По гипотезе К. Сакса хиазмы не являются результатом кроссинговера: сначала образуются хиазмы, а затем происходит обмен. При расхождении хромосом к полюсам вследствие механического напряжения в местах хиазм происходят разрывы и обмен соответствующими участками. После обмена хиазма исчезает.

Смысл другой гипотезы, предложенной Д. Беллингом и модернизированной И. Ледербергом, заключается в том, что процесс репликации ДНК может реципрокно переключаться с одной нити на другую; воспроизведение, начавшись на одной матрице, с какой-то точки переключается на матричную нить ДНК.

Факторы, влияющие на перекрест хромосом. На кроссинговер влияет множество факторов как генетической природы, так и внешней среды. Поэтому в реальном эксперименте о частоте кроссинговера можно говорить, имея в виду все те условия, в которых она была определена. Кроссинговер практически отсутствует между гетероморфными *X*- и *Y*-хромосомами. Если бы он происходил, то хромосомный механизм определения пола постоянно разрушался бы. Блокирование кроссинговера между этими хромосомами связано не только с различием в их величине (оно наблюдается не всегда), но и обусловлено *Y*-специфичными нуклеотидными последовательностями. Обязательное условие синапса хромосом (или их участков) – гомология нуклеотидных последовательностей.

Для абсолютного большинства высших эукариот характерна примерно одинаковая частота кроссинговера как у гомогаметного, так и гетерогаметного полов. Однако есть виды, у которых кроссинговер отсутствует у особей гетерогаметного пола, в то время как у особей гомогаметного пола он протекает нормально. Такая ситуация наблюдается у гетерогаметных самцов дрозофилы и самок шелкопряда. Существенно, что частота митотического кроссинговера у этих видов у самцов и самок практически одинакова, что указывает на различные элементы контроля отдельных этапов генетической рекомбинации в половых и соматических клетках. В гетерохроматических районах, в частности прицентромерных, частота кроссинговера снижена, и поэтому истинное расстояние между генами в этих участках может быть изменено.

Обнаружены гены, выполняющие роль запиравателей кроссинговера, но есть также гены, повышающие его частоту. Они иногда могут индуцировать заметное число кроссоверов у самцов дрозофилы. В качестве запиравателей кроссинговера могут выступать также хромосомные перестройки, в частности инверсии. Они нарушают нормальную конъюгацию хромосом в зиготене.

Обнаружено, что на частоту кроссинговера влияют возраст организма, а также экзогенные факторы: температура, радиация, концентрация солей, химические мутагены, лекарства, гормоны. При большинстве указанных воздействий частота кроссинговера повышается.

В целом кроссинговер представляет собой один из регулярных генетических процессов, контролируемых многими генами как непосредственно, так и через физиологическое состояние мейотических или митотических клеток. Частота различных типов рекомбинаций (мейотический, митотический кроссинговер и сестринские, хроматидные обмены) может служить мерой действия мутагенов, канцерогенов, антибиотиков и др.

Законы наследования Моргана и вытекающие из них принципы наследственности. Огромную роль в создании и развитии генетики сыграли работы Т. Моргана. Он автор хромосомной теории наследственности. Им были открыты законы наследования: наследование признаков, сцепленных с полом, сцепленное наследование.

Из этих законов вытекает следующие принципы наследственности:

1. Фактор-ген есть определённый локус хромосомы.
2. Аллели гена расположены в идентичных локусах гомологичных хромосом.
3. Гены расположены в хромосоме линейно.
4. Кроссинговер – регулярный процесс обмена генами между гомологичными хромосомами.

Вопросы

1. Какие признаки называются сцепленными? Как они наследуются?
2. Как учитывать кроссинговер у гаплоидных организмов?
3. Что такое множественный кроссинговер?
4. Что такое соматический кроссинговер?
5. Что такое цитологические карты хромосом и как они составляются?
6. Изменяется ли действие гена в зависимости от его положения в хромосоме?
7. Что такое кроссинговер, в чём его сущность и значение?
8. Какие факторы влияют на перекрест хромосом?

ЛЕКЦИЯ 8. ВНЕЯДЕРНАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ

1. *Критерии цитоплазматической наследственности*
2. *Пластидная наследственность*
3. *Митохондриальная наследственность*
4. *Цитоплазматическая мужская стерильность у растений*
5. *Эндосимбионты*
6. *Материнский эффект*

Главные носители наследственности у про- и эукариот – гены клеточного ядерного аппарата. Наследование этих генов подчинено менделевским закономерностям расщепления признаков родителей в потомстве. Наряду с этим существует внеядерная, или неменделевская, наследственность, обусловленная молекулами нуклеиновых кислот (ДНК или реже РНК), реплицирующихся в цитоплазме в виде автономных структур либо в составе органелл.

В клетках бактерий цитоплазматический генетический материал представлен сверхскрученными ковалентно-замкнутыми кольцевыми молекулами ДНК – плазмидами, реплицирующимися автономно, т.е. независимо от репликации бактериальной хромосомы. Строение и свойства плазмид были охарактеризованы в лекции «Генетика микроорганизмов». Там же на примере «частиц-убийц» («киллеров») у дрожжей *S.cerevisiae* рассматривался случай, когда цитоплазматические гены находятся в составе двухцепочечной РНК. В этой лекции будут приведены данные о внеядерных генетических элементах у других эукариот.

Критерии цитоплазматической наследственности. Используют следующие основные критерии, позволяющие отличить внеядерную наследственность от хромосомной:

1. Различия в результатах реципрокных скрещиваний. У высших растений и животных реципрокные скрещивания типа ♀А х ♂а и ♀а х ♂А дают оди-

наковое потомство по исследуемому признаку. За исключением случаев наследования сцепленных с полом маркеров, различия в реципрокных скрещиваниях указывают на то, что один из родительских организмов, как правило, материнский, оказывает большее влияние на проявление данного признака, чем другой.

2. Связь наследования определенных признаков с переносом в клетку цитоплазматической ДНК. У бактерий перенос плазмид с помощью конъюгации, трансформации либо трансдукции сопровождается появлением у реципиентов таких признаков, как донорная способность, устойчивость к антибиотикам, продукция колицинов и многие другие, что доказывает их детерминированность плазмидными генами. Подобно этому, у эукариот компоненты цитоплазмы, например отдельные клеточные органеллы, можно искусственно вводить в клетки путем микроинъекций, инфекции либо имплантации. Так, выявлена связь определенных признаков с внеядерными генами у нейроспоры (признаки замедления роста и снижения уровня дыхания, обусловленные дефектностью митохондрий), у парамеции (детерминируемая митохондриями устойчивость к лекарственным препаратам), у дрозофилы (детерминируемое присутствием эндосимбионтов соотношение полов) и др.

3. Хромосомные гены располагаются в определенных участках хромосомной ДНК и картируются, обнаруживая сцепленность с другими хромосомными генами. Невозможность выявить подобные сцепления генов может свидетельствовать об их внеядерной локализации.

4. Отсутствие типичного количественного менделевского расщепления признаков в потомстве, зависящего от расхождения гомологичных хромосом в мейозе, указывает на то, что они детерминируются внеядерными генами.

5. Замена ядер, возможная, например, у амебы, доказывает относительное участие ядра и цитоплазмы в проявлении какого-либо признака. Передача признака потомству, не сопровождающаяся переносом ядерных генов, свидетельствует о внеядерной наследственности.

Пластидная ДНК. Первые наблюдения о возможности неменделевского наследования у растений были сделаны на ночной красавице (*Mirabilis jalapa*) К. Корренсом (одним из переоткрывателей законов Менделя) и на львином зеве (*Antirrhinum majus*) Э. Бауэром еще в начале XX в. Изучение наследования признака пестролистности, выражающегося в широкой гамме оттенков цвета листьев от белого до темно-зеленого, выявило его полную зависимость от того, какое из растений было женским, т.е. опылялось и образовывало семена. Цвет листьев определяется цитоплазматическими органеллами растений – пластидами, из которых главные – хлоропласты, содержащие хлорофилл. Хлоропласты находятся только в клетках фотосинтезирующих органов растений (листьев, стеблей), и их число варьирует от нескольких сотен (некоторые водоросли) до одного (некоторые хламидомонады). В клетке высших растений содержится около 300 хлоропластов. Во время мейоза хлоропласты проникают в цитоплазму яйцеклетки, а в клетках пыльцы большинства видов растений они практически отсутствуют. Помимо мембранных структур, содержащих все необходимые компоненты для транспорта электронов при фотосинтезе, рибосом и РНК, хлоропласты содержат кольцевую ДНК длиной около 40 мкм с $M_r - 10^8$.

Имеются данные о полиплоидности хлоропластов, в 5-6 участках которых находят 10-60 копий кольцевых ДНК.

Признак пестролистности связан с мутациями в хлоропластах, нарушающими синтез хлорофилла. Яйцеклетки и соматические клетки пестролистных растений содержат в цитоплазме обесцвеченные и нормальные хлоропласты с зеленым пигментом. Наследование пестролистности передается по материнской линии. Например, если яйцеклетка образовалась у полностью зелёного растения, независимо от источника пыльцы развивается зелёное потомство, у обесцвеченных частей растений – белые, у пестролистных – зелёные, белые, пестролистные.

Помимо пестролистности мутации в ДНК хлоропластов могут приводить к антибиотикоустойчивости. В 1954 г. Р. Сэджер получила спонтанные мутанты хламидомонады, устойчивые к высоким концентрациям стрептомицина. 90% этих мутантов возникли в результате мутаций Sm-1 в ядерном гене, а 10% – в результате мутаций Sm-2, локализованных в цитоплазме.

Митохондриальная наследственность. Митохондрии имеются в подавляющем большинстве эукариотических клеток. Происходящие в них процессы аэробного дыхания и соответственно окислительного фосфорилирования приводят к запасанию энергии в форме АТФ. В составе митохондрий обнаружена ДНК, состоящая из ковалентно-замкнутых сверхскрученных колец длиной от 5 мкм у животных до 20-30 мкм у грибов и высших растений.

Митохондриальные гены кодируют в основном две группы признаков. К первой относятся признаки, связанные с работой дыхательных систем, ко второй – с устойчивостью к антибиотикам и другим клеточным ядам. Помимо ДНК митохондрии содержат собственный белоксинтезирующий аппарат, включающий рибосомы, тРНК, аминоацил тРНК-синтетазы, отличающийся от соответствующего аппарата, детерминируемого ядерными генами.

С мутациями в митохондриальной ДНК либо с утратой митохондрий связано образование мелких (карликовых) колоний (фенотип «petite») в культуре *S.cerevisiae*. Штаммы карликовых мутантов растут очень медленно, формируя на агаре, содержащем недостаточное для нормального роста количество глюкозы, мелкие колонии. Они имеют дефектный дыхательный метаболизм вследствие недостатка цитохромов а и b, а также фермента цитохромоксидазы и не способны к образованию спор. Частота спонтанного возникновения карликовых мутантов составляет примерно 0,2 % в расчете на клетку за одну генерацию, что намного больше, чем обычные частоты спонтанного мутирования ядерных генов.

Помимо мутаций «карликовости», мутаций *mit* и др., нарушающих дыхание дрожжей, у этих организмов индуцированы мутации в ДНК митохондрий, приводящие к устойчивости к хлорамфениколу, эритромицину и некоторым другим антибиотикам. Подобные мутанты, связанные с повреждением митохондриальных генов, описаны также у нейроспоры, парамеций и в культивируемых *in vitro* клетках человека и мыши.

У некоторых организмов найдена цитоплазматическая ДНК, структурно ассоциированная с митохондриями, но отличающаяся от собствен-

ной ДНК этих органелл. Например, у патогенных жгутиковых (*Trypanosoma*, *Leishmania*) и свободноживущих простейших (*Bodo*) митохондрии ассоциируются с ДНК-содержащей структурой, называемой кинетопластом. В нём может находиться до 30 % всей ДНК клетки или даже больше, чем в самом ядре. Функции кинетопластов не ясны, однако их утрата на стадиях жизненного цикла некоторых видов жгутиковых, проходящих в организме насекомого, летальна. Цитоплазматические ДНК, совсем не связанные с митохондриями, обнаружены у многих эукариот: животных, дрозофилы, высших растений. В цитоплазме клеток позвоночных найдены кольцевые, сверхспирализованные либо линейные ДНК, напоминающие плазмиды бактерий. Предполагают, что они имеют ядерное происхождение, но несут локусы *ori* – точки инициации репликации и поэтому способны к внехромосомному размножению и наследованию. Роль этих плазмидоподобных структур в организмах эукариот не ясна, однако у кукурузы с ними связывают феномен цитоплазматически наследуемой мужской стерильности.

Цитоплазматическая мужская стерильность у растений. Один из ярких примеров внеядерной наследственности, определяемой дефектностью пыльцы, описан у самоопыляющихся и перекрестноопыляющихся растений. Дефектность пыльцы полностью исключает возможность самоопыления, так как растения становятся однодомными (женскими).

М. Роадс (1933) обнаружил, что признак мужской стерильности у кукурузы – перекрестноопыляющегося растения – наследуется по материнской линии, через цитоплазму яйцеклетки. Ядерные гены не ответственны за этот признак. Растение с мужской стерильностью при опылении пыльцой от нормального растения образует потомство только со стерильной пыльцой. В серии повторных скрещиваний с использованием в качестве материнских родителей растения с мужской стерильностью, а в качестве мужских – линии растений с нормальной пыльцой, но маркированных по генам, входящим в каждую из 10 пар хромосом кукурузы, Роадс сумел заменить все хромосомы исходной линии с мужской стерильностью на хромосомы нормальной по фертильности линии. При этом многие растения, полученные в результате замены хромосомных наборов, сохраняли признак мужской стерильности. Эти опыты послужили важным доказательством того, что мужская стерильность контролируется цитоплазмой. Хотя описанный признак назван цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС), его проявление зависит также от ядерных генов. Такой вывод был сделан при исследовании небольшого количества растений, полученных в потомстве от указанных скрещиваний, имевших лишь частично сниженную или даже нормальную фертильность. Возникновение таких растений связано с тем, что наследование признака ЦМС у кукурузы контролируется специфичными ядерными генами-супрессорами, называемыми также генами-восстановителями. Эти доминантные гены в сочетании с цитоплазмой линий растений с ЦМС – обеспечивают восстановление фертильности растений.

Гены-восстановители не приводят к необратимому повреждению или удалению факторов ЦМС из цитоплазмы, а лишь подавляют их действие,

поэтому замещение этих генов путем скрещивания на их аллели-невосстановители вновь приводит к стерильности.

Наряду с генами-восстановителями известны ядерные гены-закрепители, обуславливающие полное проявление цитоплазматических факторов стерильности пыльцы. Явление ЦМС широко применяется при производстве гибридных семян кукурузы, дающих значительно больший урожай, чем негибридные. Использование растений с ЦМС позволяет обойтись без трудоемкого, экономически невыгодного обрывания метелок, предотвращающего возможность самоопыления растений.

Эндосимбионты. Некоторые виды цитоплазматической наследственности связаны с присутствием в цитоплазме эукариот эндосимбионтов – бактерий или вирусов. Эндосимбионтами называют организмы, живущие в клетках другого организма независимо от того, выгодно это последнему или нет. Генетически эндосимбиоз хорошо исследован на примере каппа-частиц инфузории туфельки (*Paramecium aereia*).

Т. Соннеборн с соавторами (1938) обнаружили, что некоторые особи парамеции выделяют вещество, убивающее других, чувствительных особей парамеций, и что это свойство наследуется как цитоплазматический признак. Оказалось, что парамеции-убийцы (киллеры) несут в цитоплазме каппа-частицы – бактерии вида *Caedobacter taeniospiralis*. Эти бактерии выделяют токсическое вещество парамеции, которое не действует на самих хозяев – парамеций-киллеров, а убивает только чувствительные клетки. Способностью к выработке парамецина обладают не все каппа-частицы, а лишь те, в которых обнаруживаются преломляющие свет спиралевидные белковые тельца, называемые «яркими». Появление «ярких» телец связано с вирусоподобными частицами, присутствующими в каппа-частицах. Эти вирусные частицы содержат ковалентно-замкнутую кольцевую ДНК длиной около 14 мкм.

Генетические исследования показали, что каппа-бактерии наследуются с цитоплазмой, но способны поддерживаться лишь в парамециях, несущих доминантную ядерную аллель К, необходимую для репродукции каппа-бактерий. При скрещивании парамеций-убийц (КК) с чувствительными особями (кк) характер гетерозиготного потомства Кк зависит от того, успеют ли конъюгирующие клетки обменяться цитоплазмой. В случае длительного скрещивания такой обмен происходит и все потомство с генотипом Кк и цитоплазмой родителя КК имеет фенотип «убийцы». При кратковременной конъюгации после скрещивания клетки расходятся каждая со своей цитоплазмой, поэтому, имея общий генотип Кк, они различаются по фенотипу. Особи, получившие цитоплазму от родителя КК, являются «убийцами». Напротив, особи Кк, получившие цитоплазму от родителей кк, оказываются чувствительными. При последующей аутогамии образуются гомозиготные клоны, фенотип которых зависит от присутствия гена К в ядре и каппа-бактерий в цитоплазме.

С эндосимбиозом связаны и некоторые признаки у дрозофил. Один из них, известный как «соотношение полов», или SR (от англ. sex ratio), заключается в том, что у ряда видов дрозофил в потомстве либо вовсе не об-

наруживаются самцы, либо их количество значительно меньше ожидаемых 50%. Имеются данные, показывающие, что этот признак передается по материнской линии и обусловлен присутствием в цитоплазме клеток дрозофилы симбионтов типа спироплазм, относящихся к роду спирохет *TREPONETA*, содержащих вирусы, но контролируется также некоторыми ядерными генами.

Другой признак дрозофилы, определяемый внеядерным генетическим компонентом, – необычно высокая чувствительность некоторых линий мух к CO_2 , используемому для наркоза при генетических исследованиях. Этот признак, наследующийся по материнской линии, обусловлен присутствием в цитоплазме вирусоподобной частицы σ . Чувствительные мухи парализуются и гибнут от концентраций CO_2 , которые для нормальных мух имеют только усыпляющее действие.

Материнский эффект. Наряду с внеядерной наследственностью, обусловленной цитоплазматическими генетическими элементами, существует и другая форма ядерно-цитоплазматических отношений, связанная с присутствием в цитоплазме негенетических факторов (например, ферментов, белков-репрессоров), влияющих на экспрессию ядерных генов. Отмечено, что различия между потомством реципрокных скрещиваний не обязательно определяются внеядерными генетическими элементами, но могут быть связаны с так называемым «материнским эффектом», т.е. влиянием генотипа матери на характер развития потомства в F_1 , передаваемым через цитоплазму яйцеклеток. Примером может служить наследование направления закручивания спирали раковины у прудовика (*Limnea peregra*), детерминируемое генотипом матери, но не генами развивающегося зародыша. Аллель S^+ , кодирующая правозакрученные витки спирали, доминирует над аллелью S , кодирующей левозакрученные витки. Скрещивание типа ♀ S^+S^+ х ♂ SS дает в F_1 потомство S^+S с правозакрученной спиралью. В F_2 вместо ожидаемого расщепления 3:1 все потомство также имеет правозакрученную спираль, поскольку фенотип SS не выявляется. Таким образом, только материнский генотип ($S^+ S^+$) обнаруживается и в F_1 , и в F_2 . Однако в реципрокных скрещиваниях ♀ SS х ♂ S^+S^+ в F_1 все потомство будет «левозакрученным», несмотря на генотип S^+S , а в F_2 – «правозакрученным». Последующий инбридинг между потомством F_2 из первого или второго скрещиваний приводит к образованию «правозакрученных» улиток, за исключением скрещиваний, в которых материнские особи имели генотип SS : в этом случае все потомство было «левозакрученным». Дальнейшее исследование этого феномена показало, что направление спирали улиток зависит от ориентации веретена, образуемого в метафазе I деления дробления. Материнские гены детерминируют ориентацию веретена (верхушкой вправо или влево), которая, в свою очередь, влияет на последующее деление клетки и в результате на исправление закрученности спирали у взрослой особи. Таким образом, этот признак у потомства непосредственно контролируется матерью и не связан с функционированием генов яйца, спермия или зиготы.

Вопросы

1. Какие имеются доказательства цитоплазматической наследственности?
2. Каковы особенности пластидной ДНК?
3. Какие черты сходства митохондрий и хлоропластов позволяют думать об их эндосимбиотическом происхождении?
4. Какие нарушения происходят при мутациях митохондрий?
5. С чем связана ЦМС?
6. Какую функцию выполняют эндосимбионты?
7. Что такое «материнский эффект»?

ЛЕКЦИЯ 9. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

1. *Роль нуклеиновых кислот как носителей генетической информации*
2. *Структура нуклеиновых кислот*
3. *Репликация ДНК. Этапы. Ферменты*
4. *Транскрипция ДНК. Этапы. Сплайсинг про- и РНК у эукариот*
5. *Генетический код*
6. *Трансляция и РНК. Рибосомы, и РНК, тРНК*

Период между открытием единиц наследственности и выявлением их материальной сущности был довольно длительным. Ни Г. Мендель, сумевший на частном мере наследования единичных признаков у гороха единый для всего живого принцип переноса единиц наследственности (генов) от родителей к потомству, ни Г. де Фриз, К. Корренс и Э. Чермак, переоткрывшие законы Менделя, ни цитологи В. Ру, Т. Бовери, В. Сэттон, ни даже создатели хромосомной теории Т. Морган и его школа, получившие строгие доказательства локализации генов в виде дискретных единиц в хромосомах, ничего не знали о химической природе генов. Вместе с тем основное вещество наследственности – дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) – было открыто швейцарским врачом и химиком Р. Мишером еще в 1868 г., т.е. всего через три года после опубликования работ Менделя, знаменующего собой рождение генетики как науки. Понадобилось около 80 лет, чтобы установить роль ДНК как главного носителя наследственной информации.

Роль нуклеиновых кислот как носителей генетической информации. Большую роль в выяснении химической природы генов сыграли опыты Ф. Гриффитса (1928), обнаружившего у пневмококков (*Streptococcus pneumoniae*) явление трансформации. Известно несколько типов пневмококков, различающихся по виду и размеру колоний, наличию или отсутствию плотной полисахаридной капсулы, защищающей их от фагоцитоза. При росте на питательной среде пневмококки, окруженные капсулой, образуют крупные гладкие колонии. Такие пневмококки, отнесенные к типу S (от англ. smooth – гладкий), являются возбудителем пневмонии у человека и некоторых животных, в том числе мышей. Примерно одна из 10^7 клеток пневмококков может спонтанно превратиться (мутировать) в форму, лишенную полисахаридной капсулы. Бескапсульные пневмококки непатогенны, поскольку быстро уничтожаются путем фагоцитоза в организме зараженного животного или человека. На поверхности

питательной среды такие бактерии, отнесенные к типу R (от англ. rough – шероховатый), образуют мелкие шероховатые колонии, которые легко отличить от гладких колоний, образуемых пневмококками типа S. Пневмококки, кроме того, различаются по типу поверхностных антигенов, определяемому особенностями капсульного липополисахарида (например, тип III_S, II_R и др.), что служит еще одним важным признаком, наследующимся в потомстве. Введение мышам убитых нагреванием пневмококков типа III_S либо живых пневмококков типа II_R не вызывало гибели животных. Напротив, введение живых бактерий типа III_S, как и предполагалось, привело к развитию тяжелой пневмонии и гибели большинства зараженных мышей. Неожиданными оказались результаты опытов, в которых мышам вводили смесь убитых бактерий типа III_S и неvirulentных пневмококков типа II_R. В этом случае многие животные также погибли от пневмонии, а из организма погибших мышей были высеяны живые пневмококки типа III_S. Такое превращение некапсульных форм бактерий в virulentные капсульные не зависело от организма хозяина, поскольку наблюдалось и в опытах *in vitro*, когда в пробирку, содержащую живые R-клетки, добавляли убитые клетки типа III_S либо экстракты из них. В обоих случаях при высевах бактерий из пробирок на чашки Петри с питательной средой формировались не только шероховатые колонии, образованные бескапсульными бактериями, но обнаруживались и гладкие колонии, состоящие из клеток капсульных бактерий. Частота появления последних значительно превышала частоту спонтанного мутирования бактерий из II_R-типа в III_S-тип.

Эксперименты Гриффитса выявили существование некоего «трансформирующего начала», превращающего клетки пневмококков типа II_R в клетки типа III_S. Однако сами по себе эти эксперименты не выявили химической природы вещества, обеспечивающего стойкое, наследуемое в потомстве превращение бактерий одного типа в другой. Это было сделано лишь спустя 16 лет, когда О. Эвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Картти (1944) показали, что если ДНК, выделенную из убитых нагреванием пневмококков типа III_S, смешать с живыми бактериями типа II_R, то последние приобретают способность формировать на агаре гладкие крупные колонии, состоящие из бактерий типа III_S.

Следует иметь в виду, что в 20-40-годах XX века господствовало представление, согласно которому основным веществом наследственности является белок. Поэтому для доказательства того, что ДНК действительно являлась трансформирующим началом в опытах Гриффитса, препараты ДНК из пневмококков типа III_S делили на порции, каждую из которых обрабатывали дезоксирибонуклеазой (ДНК-азой), рибонуклеазой или протеазой – ферментами, разрушающими соответственно ДНК, РНК или белки, а затем применяли для трансформации клеток типа II_R в тип III_S. Оказалось, что только обработка ДНК-азой полностью снимала трансформирующую активность препаратов ДНК. С другой стороны, по мере очистки ДНК от примесей белка частота трансформации увеличилась. Эта очистка была доведена до такой степени, что в препарате ДНК, полностью сохранившем трансформирующую активность, белка было в 10000 раз меньше, чем ДНК. Обе группы фактов явились доказательством того, что генетическая информация, кодирующая капсульный полисахарид и его антигенную специфичность у пневмококков, находится в ДНК.

Дальнейшее развитие этот важнейший вывод получил в экспериментах А. Херши и М. Чейз (1952). В качестве объекта генетических исследований был использован один из вирусов бактерий – бактериофаг Т2, состоящий лишь из белковой оболочки, или чехла – капсида, и упакованной в него молекулы ДНК.

Структура нуклеиновых кислот. Доказательства генетической роли ДНК не отвечали, однако, на не менее важный вопрос: каким образом ДНК осуществляет две свои главные функции? Первая из них, аутокаталитическая, обуславливает способность ДНК к редупликации, или самоудвоению. Другая, гетерокаталитическая, определяет способность ДНК кодировать генетическую информацию, необходимую для того, чтобы образующееся потомство сохранило видовые признаки родителей. Прежде чем получить ответ на этот вопрос, рассмотрим, что было известно о структуре ДНК до 1953 г., когда Дж. Уотсон и Ф. Крик предложили свою модель двойной спирали ДНК, положившую начало изучению основ генетики на молекулярном уровне.

Нуклеиновые кислоты представляют собой макромолекулы, образованные повторяющимися структурами – нуклеотидами. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: циклического азотсодержащего соединения, называемого основанием, сахара пентозы, включающего пять атомов углерода, и фосфорной кислоты. Известны пять главных азотистых оснований. Одно из них, урацил (2,6-оксипиримидин), обнаруживается только в РНК. Другое, тимин (2,6-окси-5-метилпиримидин), находится, как правило, только в ДНК. Остальные три основания: цитозин (6-амино-2-оксипиримидин), аденин (6-аминопурин) и гуанин (2-амино-6-оксипуридин) – присутствуют как в ДНК, так и в РНК. Двухциклические основания – аденин и гуанин – относятся к пуринам, моноциклические основания – цитозин, тимин и урацил – к пиримидинам. Наряду с этими главными азотистыми основаниями в ДНК некоторых организмов обнаружены минорные редко встречающиеся основания: 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин и др.

Сахар пентоза, входящий в состав РНК, является рибозой, а входящий в состав ДНК – 2-дезоксирибозой. Молекула РНК состоит из одной цепи, в которой последовательно чередуются четыре возможных нуклеотида. Существенное значение для понимания строения ДНК имели установленные Э.Чаргаффом закономерности, в соответствии с которыми в любой молекуле ДНК: 1) сумма пуринов равна сумме пиримидинов, т.е. $A+G=T+U$; 2) содержание $A=T$, а содержание $G=C$; 3) $G+T=A+C$.

Большую роль в расшифровке строения ДНК сыграло рентгеноструктурное исследование, проведённое (1953) М. Уолкинсом и Р. Франклин. Оно показало, что ДНК – упорядоченная структура, состоящая из повторяющихся элементов, расположенных вдоль оси молекулы на расстоянии 0,34 мм друг от друга.

Существенный элемент модели двойной спирали – принцип комплементарности, заключающийся в том, что спаривание оснований осуществляется строго специфично.

Комплементарность нуклеотидного состава противоположных цепей молекул ДНК обеспечивает её способность хранить и передавать генетическую информацию, она же лежит в основе аутокаталитической функции ДНК, т.е. репликации.

Репликация ДНК. Для того чтобы объяснить, каким образом может самокопироваться, или редуцироваться, такая стабильная и замкнутая на себя структура, как двойная спираль ДНК, Уотсон и Крик предположили, что ее цепи способны к раскручиванию и последующему частичному разделению вследствие разрыва водородных связей в каждой комплементарной паре оснований. Образовавшиеся одноцепочечные участки родительской молекулы могут служить матрицей, к которой на основе комплементарности оснований присоединяются соответствующие нуклеотиды. Эти нуклеотиды скрепляются между собой фосфодиэфирными связями с образованием новой цепи, комплементарной родительской. Так как этот процесс происходит на каждой разделившейся цепи исходной молекулы, то в результате образуются две двухцепочечные структуры, идентичные родительской ДНК. Такой способ репликации получил название полуконсервативного, поскольку в каждой из вновь образовавшихся молекул одна цепь является старой (родительской), а другая – вновь синтезированной (дочерней). Этот механизм обеспечивает возможность такого распределения ДНК между делящимися клетками, при котором каждая дочерняя клетка получает гибридную двухцепочечную молекулу ДНК, состоящую из родительской и вновь синтезированной цепей.

Первые данные в пользу гипотезы полуконсервативного механизма синтеза ДНК были получены Дж. Тэйлором с соавторами (1957) цитологическим методом при изучении репликации хромосом конских бобов (*Vicia faba*). Экспериментально эта гипотеза была доказана с помощью физико-химических методов М. Мезельсоном и Ф. Сталем (1958). Сущность их опыта состояла в следующем. Бактерии (*E. coli*) на протяжении многих поколений выращивали в среде, содержащей в качестве источника азота только его тяжелый изотоп ^{15}N . Эта метка включалась в азотсодержащие пуриновые и пиримидиновые основания в ДНК, вследствие чего ДНК в клетках, выращенных в среде с ^{15}N , имела большую молекулярную массу на единицу объема (т.е. большую плотность), чем ДНК в клетках, выращенных в обычных условиях, в присутствии легкого изотопа ^{14}N . Поэтому если клетки после длительного выращивания на среде с ^{15}N отмывали и переносили на время, равное одной, двум и т.д. поколениям, в среду с ^{14}N вместо ^{15}N , то это должно было привести к появлению молекул ДНК с меньшей плотностью.

По прошествии одной генерации после переноса из среды с ^{15}N в среду с ^{14}N в клетках появилась гибридная по плотности ДНК, у которой одна цепь была «тяжелой», а другая – «легкой». Если ДНК выделяли из клетки через две генерации после такого переноса, то «гибридная» ДНК составляла лишь половину всей ДНК. В следующем поколении эта «легкая» фракция увеличивалась и составляла 75 % тотальной ДНК. Такое изменение можно объяснить только с позиций представления о полуконсервативном способе репликации ДНК.

Сделанный Мезельсоном и Сталем вывод был полностью подтвержден и для других объектов, включая животных и высшие растения. Вместе с тем оставалось неясным, в каком направлении происходит репликация ДНК и какие ферменты обеспечивают этот процесс. Ответ на первый вопрос удалось получить Дж. Кэрнсу (1963) в опытах на *E. coli*. Результаты опытов показали, что раскручивание двух комплементарных цепей родительской ДНК и их по-

луконсервативная репликация происходят практически одновременно и начинаются в общей точке начала репликации, обозначаемой как локус *ori* (от англ. origin – начало). Последующий анализ результатов опыта Кэрнса и данные других экспериментов, нацеленных на изучение механизма репликации ДНК у различных бактерий, фагов, плазмид, показали, что в большинстве случаев она происходит двунаправленно и начинается, как правило, от одного уникального локуса *ori*. В этом месте в одной из цепей ДНК разрывается фосфодиэфирная связь, обеспечивающая последующее раскручивание дуплекса и образование особых структур – репликативных вилок, движущихся в противоположных направлениях по кольцевой ДНК. Следует, однако, отметить, что в ДНК эукариот, как правило, обнаруживается не один, а множество локусов *ori*, что, по-видимому, служит необходимым условием для того, чтобы громадные молекулы ДНК в хромосомах эукариот успели полностью отреплицироваться за время одного клеточного цикла.

Эксперименты, проведенные на прокариотах (*E. coli*, фаг Т7, некоторые плазмиды), также выявили в их ДНК (скорость репликации которых составляет около 20 мкм/мин, что в 20-30 раз выше, чем у эукариот) не по одному, а по два или даже более локусов *ori*.

Ферменты репликации. Как уже отмечалось, принцип комплементарности, заложенный в структуре двойной спирали ДНК, определяет возможность самокопирования генетического материала. Как и большинство других биологических процессов, репликация ДНК обеспечивается координированной работой ряда ферментов. Важнейшие из них:

- ДНК-топоизомеразы, обеспечивающие локальное расплетание ДНК, необходимое для инициации ее репликации и образования одиночных цепей, служащих матрицами для вновь синтезируемых дочерних молекул. Расплетенная замкнутая кольцевая молекула под действием фермента ДНК-гиразы образует сверхскрученную форму с большим запасом свободной энергии, расходуемой затем в ходе репликации;

- ДНК-полимеразы, катализирующие добавление нуклеотидов к 3'-ОН концу цепи ДНК;

- ДНК-лигазы, сшивающие сахарофосфатный каркас молекулы.

Этапы репликации. Рассмотрим вкратце механизм осуществления основных этапов репликации ДНК – инициации и элонгации. Инициация репликации происходит в локусе *ori* и начинается с появления Y-образной структуры – репликативной вилки, образование которой связано с раскручиванием дуплекса ДНК и локальным разделением ее цепей.

Поскольку две цепи дуплекса ДНК антипараллельны, синтез комплементарных им нитей должен в одном случае идти в направлении 5'-3', а в другом – в направлении 3'-5'. Первая нить называется лидирующей, вторая – запаздывающей. Как отмечалось, все известные ДНК-полимеразы нуждаются для своей активности в свободном 3'-ОН конце, к которому они присоединяют нуклеотиды. В результате происходит рост цепи ДНК в направлении 5'-3'. Как же в таком случае осуществляется синтез цепи ДНК в направлении 3'-5'? Предполагалось, что для этого необходима какая-то особая ДНК-полимераза. Оказалось, однако, что синтез 3'-5'-цепей носит прерывистый характер.

После завершения синтеза ДНК фрагменты объединяются. Помимо рассмотренного известен еще один тип репликации ДНК – по способу «качающегося кольца»; так реплицируются кольцевые ДНК некоторых фагов, вирусов, митохондрий, плазмид. При этом способе в одной из цепей исходной ДНК («+» – цепь), происходит разрыв и освободившийся 5'-конец присоединяется к клеточной мембране. На 3'-конце «+» – цепи по комплементарной матрице неразорванной «-» – цепи начинается прерывистый синтез дочерней цепи. При этом происходит вращение кольцевой «-» – цепи родительской молекулы, обеспечивающее «сползание» с нее удлиняющейся дочерней цепи. Последняя нарезается на куски, соответствующие по длине исходной молекуле ДНК. Такой способ репликации обуславливает образование многих копий материнской ДНК. Осуществляется он и в случае переноса плазмидной или хромосомной ДНК от донора к реципиенту в процессе конъюгации у бактерий.

Транскрипция ДНК. Воспроизводство генетического материала обеспечивается репликацией ДНК, приводящей к ее самокопированию в виде двух идентичных дочерних молекул. Однако проблема химических основ наследственности включает и вопрос о том, каким образом осуществляется гетерокаталитическая функция ДНК, т. е. экспрессия генов.

Сформулированная Ф. Криком так называемая центральная догма молекулярной биологии утверждает, что перенос генетической информации осуществляется: 1) от ДНК к ДНК (путем репликации); 2) от ДНК через информационную, или матричную РНК (иРНК) к белку.

Несмотря на то что в последнее десятилетие на примере РНК-содержащих вирусов была доказана возможность переноса генетической информации в направлении от РНК к ДНК с помощью процесса обратной транскрипции, основным путем экспрессии генов является их транскрипция, т.е. синтез одной цепи иРНК по матрице ДНК, и последующая трансляция этой иРНК на рибосомах, т.е. сборка аминокислот в полипептидную цепь на матрице иРНК. В клетках эукариот эти процессы отделены друг от друга в пространстве и во времени, поскольку первый происходит в окруженном ядерной мембраной ядре, откуда синтезированная иРНК поступает в цитоплазму, а затем начинает транслироваться на рибосомах. У прокариот с их плавающей в цитоплазме хромосомой (нуклеоидом) указанные процессы не разобщены и трансляция генных транскриптов, т.е. молекул иРНК, начинается до полного завершения их синтеза одновременно на многих рибосомах. Сопряженность транскрипции и трансляции у бактерий приводит к тому, что при 37°C за 1 с синтезируется 15 кодонов (т.е. триплетов нуклеотидов в иРНК, кодирующих определенную аминокислоту), а за 1 мин – 2500 нуклеотидов. Это хорошо согласуется со скоростью синтеза белка, равной при 37 °С примерно 15 аминокислот в 1 с. С момента инициации экспрессии гена его иРНК появляется в клетке через 2,5 мин, а соответствующий белок – еще через 30 с.

Этапы транскрипции. Различают три этапа транскрипции: инициацию, элонгацию и терминацию.

Инициация. Последовательность ДНК, транскрибирующаяся в одну иРНК, начинающаяся промотором на 5'-конце и заканчивающаяся термини-

натором на 3'-конце, является единицей транскрипции и соответствует современному понятию «ген». Контроль экспрессии генов может осуществляться на этапе инициации транскрипции. На этом этапе РНК-полимераза распознает промотор – фрагмент длиной 41-44 п.н. Транскрипция ДНК происходит в направлении 5'-3', или слева направо. Предполагается, что последовательность ТАТА контролирует выбор стартового нуклеотида, а ЦААТ – первичное связывание РНК-полимеразы с ДНК-матрицей.

Элонгация. Стадия элонгации иРНК имеет ряд аналогий с элонгацией ДНК. В качестве предшественников для нее необходимы рибонуклеозидтрифосфаты. Этап элонгации транскрипции, т.е. рост цепи иРНК, происходит путем присоединения рибонуклеозидмонофосфатов к 3'-концу цепи с одновременным освобождением пирофосфата. Копирование у эукариот обычно осуществляется на ограниченном участке ДНК (т.е. в пределах гена), хотя у прокариот в ряде случаев транскрипция может проходить последовательно через несколько сцепленных генов (цистронов), формирующих единый оперон, и с одного общего промотора. В таком случае образуется полицистронная иРНК.

Терминация. Транскрипция завершается в специфическом участке ДНК, содержащем терминирующую последовательность. В клетках *E. coli* выявлен особый белок (ро-фактор), повышающий точность терминации. Белок присоединяется к 5'-концу растущей иРНК и продвигается по ней, постепенно приближаясь к ДНК и как бы преследуя РНК-полимеразу. В момент, когда РНК-полимераза останавливается в сайте-терминаторе, фермент захватывается ро-фактором и сбрасывается с ДНК. Терминатор содержит особую последовательность оснований, прочитывающуюся одинаково в обеих цепях ДНК, но в противоположных направлениях. Например,

5' ЦЦА ТГГ 3'

3' ГГТ АЦЦ 5'

Сплайсинг про-иРНК у эукариот. Сравнение структуры ДНК и соответствующей ей иРНК у эукариот привело к открытию прерывистого строения генов. Оказалось, что гены эукариот состоят из экзонов – последовательностей нуклеотидов, представленных в иРНК, и интронов – последовательностей, отсутствующих в иРНК. Отсюда было сделано заключение, что процесс экспрессии генов у эукариот включает этап, которого нет у бактерий: ДНК детерминирует синтез копии РНК, соответствующей последовательностям генома, однако это еще только РНК-предшественник, или про-иРНК. Непосредственно для образования белка она не используется. Для того чтобы РНК-предшественник превратилась в транслирующуюся иРНК, она должна пройти созревание, или процессинг. Сначала из РНК-предшественника должны вырезаться последовательности, соответствующие интронным участкам. После вырезания интронов оставшиеся последовательности РНК, соответствующие экзонам в ДНК, объединяются между собой с образованием зрелой иРНК. Этот процесс называют сплайсингом (сшиванием). Сплайсинг приводит к тому, что, хотя порядок расположения триплетов (см. ниже) в эукариотическом гене соответствует порядку расположения кодируемых ими аминокислот в белке,

расстояние между триплетами внутри гена не совпадает с расстояниями между соответствующими аминокислотами в белке. В результате сплайсинга иРНК составляет по длине лишь 1/10 первоначального транскрипта. В некоторых случаях в аминокислотные последовательности транслируются не все существующие экзоны. В результате с одного гена считывается более одного типа иРНК. По мнению некоторых авторов, наличие альтернативного сплайсинга может объяснять кажущееся несоответствие между числом генов и сложностью организма, поскольку один ген может давать много разных транскриптов.

Генетический код. Синтезированная иРНК транслируется в последовательность аминокислот, образующую полипептидный генный продукт и определяемую генетическим кодом, т.е. системой записи наследственной информации в молекулах нуклеиновых кислот различных организмов путем определенного чередования последовательностей нуклеотидов. Поскольку генетический код читается по иРНК, он записывается с помощью четырех оснований РНК (А, Г, Ц, У). Расшифровка заключенного в ДНК генетического кода – крупнейшее достижение биологии XX в., равное по значению открытию генетической роли ДНК и ее строения. Идея о том, что гены контролируют структуру образующихся в организме белков, была высказана еще в 1904 г. английским врачом-биохимиком А. Гарродом, изучавшим некоторые врожденные нарушения обмена веществ у людей. Одно из таких нарушений – алкаптонурия. Гаррод, намного опередив свое время, сумел понять, что этот дефект связан с блокированием нормального пути метаболизма указанных аминокислот и наследуется в виде одиночного рецессивного гена. Таким образом, впервые была высказана мысль о том, что между генами и метаболическими реакциями организма существует взаимосвязь. Спустя 30 лет Бидл и Татум облучали неполовые споры (конидии) нейроспоры рентгеновскими либо УФ-лучами, для того чтобы индуцировать мутации в её ДНК. Генетический анализ показал, что в отобранных клонах мутация каждый раз происходила только в одном гене. В связи с этим было сделано заключение: одна мутация приводит к потере одной метаболической активности, и, следовательно, один ген кодирует один фермент. Один ген – одна полипептидная цепь, вывод Бидла и Татума (1941) заложил основу современной биохимической генетики. Общие свойства кода были выявлены генетическими методами путем изучения молекулярных закономерностей образования мутаций. Они сводятся к следующему: 1) генетический код универсален (т.е. идентичен в основном для всех живых организмов); 2) триплетен (т.е. каждая аминокислота кодируется тремя нуклеотидами); 3) не перекрывается (т.е. соседние триплеты не имеют общих оснований); 4) не содержит каких-либо разделительных знаков между отдельными триплетами (код без запятых); 5) имеет линейный порядок считывания и характеризуется коллинеарностью, т.е. совпадением порядка расположения кодонов в иРНК с порядком кодируемых ими аминокислот в синтезирующемся белке; 6) является вырожденным, или избыточным, так как все аминокислоты (за исключением метионина и триптофана) имеют более одного кодона; 7) из трех нуклеотидов кодона преимущественное значение имеют два первых, третий может варьировать; 8) в среднем каждая аминокислота кодируется тремя

триплетами; 9) число кодонов для каждой аминокислоты (кроме аргинина) коррелирует с частотой ее встречаемости в белках; 10) частота использования различных кодонов для включения одной и той же аминокислоты может быть видоспецифичной. Для пунктуации генетической информации во время ее трансляции имеют значение пять кодонов. Кодоны АУГ и ГУГ называются иницирующими. Они определяют правильное начало синтеза генного продукта при трансляции иРНК. Эти кодоны располагаются на границе последовательностей иРНК, списываемых с регуляторной и структурной частей гена. Они указывают точку, от которой начинается синтез полипептидной цепи, поскольку регуляторная часть гена не транслируется. Если те же кодоны располагаются в структурной части гена (за редким исключением, связанным с особенностями кода в митохондриях), они теряют свое иницирующее значение и направляют включение метионина или валина соответственно. Помимо двух иницирующих код содержит три терминирующих, или нонсенс (бессмысленных), кодона (УАА, УАГ и УГА), определяющих окончание синтеза полипептидной цепи.

Трансляция иРНК. Рибосомы. Биосинтез белка осуществляется путём трансляции иРНК рибосомами – структурами, локализованными у эукариот в цитоплазме, часто на разветвлённой внутриклеточной мембранной сети, называемой эндоплазматическим ретикулумом. У прокариот рибосомы разбросаны по всей клетке. Рибосомы состоят примерно из 50 белков и 3-5 молекул рРНК, различающихся по молекулярной массе. Размер рибосом обычно обозначают в единицах Сведберга (S), отражающих скорость их осаждения при центрифугировании. Независимо от происхождения рибосомы состоят из двух субъединиц. У *E. coli* рибосомы имеют коэффициент седиментации 70S, а более крупные рибосомы эукариот – 80S. Поскольку в клетках как про-, так и эукариот число рибосом очень велико, гены *rnp*, кодирующие рРНК, представлены в ДНК во многих копиях. Так, у *E. coli* имеется по 5-10 копий таких генов, локализованных в трех различных районах хромосомы. У эукариот гены, кодирующие синтез рРНК, представлены в сотнях и даже тысячах копий и тандемно повторяются (т.е. расположены непосредственно друг за другом) в районе ядрышкового организатора определенных хромосом либо сгруппированы в виде тандемных повторов в других участках генома.

Информационная РНК. Как отмечалось, многие прокариотические иРНК полицистронны, т.е. содержат последовательности, детерминирующие синтез нескольких полипептидов. Поэтому такие иРНК содержат серию старт (иницирующих) – и стоп (терминирующих) – кодонов.

В отличие от короткоживущих прокариотических иРНК в клетках млекопитающих около 50% иРНК имеют период полураспада около 6 ч и более. Особенно стабильна эукариотическая иРНК в дифференцированных клетках, синтезирующих специальные белки. У эукариот иРНК всегда списывается с одного, а не сразу с нескольких генов, организованных у прокариот в опероны.

У эукариот, так же как у бактерий, иРНК составляет всего 3% от всей клеточной РНК.

Транспортные РНК. В раскрытии механизма трансляции важную роль сыграла предложенная Криком (1958) гипотеза, согласно которой распознавание аминокислот в процессе синтеза белка происходит не прямо путем взаимодействия между ними и соответствующими кодонами в иРНК, а с участием промежуточных молекул – адаптеров. Такие молекулы действительно вскоре были открыты. Ими оказались тРНК. Эти небольшие (4S) молекулы длиной 75-85 нуклеотидов имеют характерную вторичную структуру в форме листа клевера.

«Распознавание» кодона антикодоном контролируется рибосомами. Рибосомы движутся вдоль иРНК в направлении 5'-3', считывая кодоны путём присоединения к ним аминоацил – тРНК, несущих соответствующие антикодоны. К каждой иРНК присоединяется одновременно несколько рибосом, располагающихся вдоль её молекулы на расстоянии примерно 90 нуклеотидов друг от друга. Такой трансляционный комплекс называют полирибосомой или полисомой. У бактерий полисомы намного крупнее, чем у эукариот. Это, в частности, связано с тем, что у прокариот иРНК имеют большую длину (особенно в случае полицистронной иРНК). Присоединение рибосом к иРНК происходит до окончания транскрипции. У *E. coli* каждая иРНК транслируется сразу 30 рибосомами в отрезке времени между её транскрипцией и деградацией. У эукариот обычно к одной иРНК присоединяется менее 10 рибосом одновременно. В среднем у обеих групп организмов полисомы соответствуют величине синтезируемого полипептида.

Этапы трансляции. Процесс трансляции подразделяют на три стадии: инициацию, элонгацию и терминацию. Стадия инициации включает все реакции, осуществляющиеся до формирования пептидной связи между первыми двумя аминокислотами. У *E. coli* от инициации транскрипции гена до появления в клетке его иРНК проходит 2,5 мин, а соответствующего белка – еще 30 с. Инициация синтеза полипептидной цепи происходит в момент формирования комплекса между иРНК, 30S субъединицей рибосомы и формилметионил-тРНК.

Стадия элонгации включает все реакции от момента образования первой пептидной связи до присоединения к синтезирующемуся полипептиду последней аминокислоты. У прокариот этап элонгации идет очень быстро; как отмечалось, при 37°C в полипептид за 1 с включается в среднем 15 аминокислот. Следовательно, если исходить из того, что средний размер гена составляет 1000 п.н., синтез кодируемого им белка из 300 аминокислот осуществляется всего за 20 с. При этом в синтезе белка участвует одновременно до 80% всех клеточных рибосом. У эукариот скорость синтеза белка существенно ниже: за 1 с при 37°C в цепь включаются лишь 5 аминокислот. На стадии терминации трансляции полностью синтезированный полипептид освобождается от концевой тРНК, а рибосомы отходят от иРНК.

Сформировавшийся в ходе трансляции полипептид полностью соответствует (колинеарен) кодирующему его гену.

Вопросы

1. Какие основные различия в химическом строении ДНК и РНК?
2. Что такое пурины и пиримидины? Какие пурины и пиримидины входят в состав ДНК и РНК?
3. Что такое нуклеотид?
4. Какие опыты с фагами позволили заключить, что ДНК может воспроизводить подобные себе молекулы?
5. Что такое генетический код?
6. Какие три вида РНК встречаются в клетках? Каковы их функции?
7. Каким образом иРНК становится матрицей для синтеза белка?
8. Что такое сплайсинг иРНК?
9. Какие ферменты участвуют в репликации ДНК?
10. Каковы основные этапы репликации, транскрипции, трансляции?

ЛЕКЦИЯ 10. ТОНКОЕ СТРОЕНИЕ ХРОМОСОМ И ГЕНОВ, ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА

1. *Хромосомы вирусов и прокариотов*
2. *Молекулярная структура хромосом эукариотов*
3. *Число молекул ДНК в хромосомах эукариотов*
4. *Организация генома*
5. *Тонкое строение гена*
6. *Цис-транс-тест*
7. *Мобильные элементы генома*

Несмотря на то, что хромосомы изучаются уже на протяжении целого столетия, проникнуть в их тонкое строение удалось только в последние годы, благодаря разработке и применению электронномикроскопических, автордиографических и цитохимических методов.

Хромосомы вирусов и прокариотов. У ДНК-содержащих вирусов, бактерий, сине-зелёных водорослей, а также в самореплицирующихся органеллах клеток у эукариотов, т.е. в пластидах, митохондриях и т.д. хромосома представляет собой голую двуспиральную молекулу ДНК. Молекула эта у некоторых форм линейна, но у большинства концы её соединены так, что она образует кольцо, которое закручено в шпильку, и хромосома сверхспирализована.

Репликация этих хромосом – молекул ДНК начинается с определённой точки и прогрессирует, пока не закончится репликация всей хромосомы. Длина молекул ДНК, служащих хромосомами вирусов, прокариотов и клеточных органелл, составляет от 0,4 до 1 мк у мелких вирусов и кинетопластов, 5-100 мк у других вирусов, пластид и митохондрий и достигает 1000-2000 мк у бактерий. У большинства РНК-содержащих вирусов хромосома представлена голой однонитевой молекулой РНК, которая подобно однонитевой ДНК превращается в заражённой клетке в репликативную двунитевую молекулу. Однако известны и вирусы с двунитевой молекулой РНК. У бактериального генома организован в компактное тело, называемое нуклеотидом.

В отличие от прокариотов в хромосомах эукариотов молекулы ДНК имеют гигантские размеры, длина их может достигать нескольких санти-

метров. У эукариотов хромосома состоит из множества репликонов, т.е. в хромосоме есть множество определённых точек, с которых начинается репликация ДНК. Обычно возле каждой такой точки инициации образуются две вилки репликации и синтез новой нити ДНК идёт в обе стороны до концов данного репликона. В эухроматиновых участках хромосом репликация всех репликанов происходит более или менее одновременно, гетерохроматиновые же участки реплицируются с опозданием. Длина репликона у эукариотов колеблется от 10 до 150 микронов, что соответствует приблизительно 20-300 тысячам пар нуклеотидов. В хромосоме бывает от 200-300 до более 1000 репликонов. В геноме дрозофилы насчитывается, по-видимому, свыше 1000 репликонов, в геноме человека их около 37000.

Молекулярная структура хромосом эукариотов. Возникает вопрос: каким образом хромосомная ДНК упаковывается в интерфазную и митотическую хромосому? В последнее десятилетие выяснено, что эукариотические хромосомы имеют несколько уровней организации, соответствующих уровням компактизации ДНК. От этой организации в значительной мере зависят и другие элементарные генетические процессы. Комплекс ДНК с белками, имеющий специфическую структурную организацию, получил название хроматина, которое ранее применялось для обозначения вещества хромосом. Существенные элементы хроматина – нуклеосомы, дисковидные частицы 10 нм в диаметре. Нуклеосомы образуются в результате взаимодействия четырех классов основных белков – гистонов H2A, H2B, H3 и H4, причем молекулы двух последних гистонов могут *in vitro* формировать тетрамер, к которому присоединяются два димера – H2A и H2B. Участок двойной спирали ДНК образует $1\frac{3}{4}$ оборота вокруг так называемой сердцевинки нуклеосомы. Этот участок ДНК, непосредственно связанный с сердцевинкой, имеет постоянную длину, равную 140 п.н. В то же время межнуклеосомные линкеры (связки) варьируют по длине от 15 до 100 п.н. и даже больше. Таким образом, закручивание ДНК вокруг нуклеосомы уменьшает ее длину в семь раз. Еще один тип гистонов – H1 – непосредственно в формировании нуклеосом не участвует. Он прикреплен к линкеру обоими своими концами и стабилизирует связь нуклеосом, образующих спираль более высокого порядка – соленоид, диаметр которого 25-50 нм. Конденсация ДНК в структуре соленоида дополнительно (к нуклеосомному уровню) уменьшает ее длину в шесть раз. В интерфазных хромосомах путем еще одного цикла конденсации соленоиды образуют полые трубочки диаметром 200 нм, что уменьшает длину ДНК еще в 18 раз.

В метафазе вследствие дальнейшей конденсации возникает большая образованная дезоксиноклеопротеидом спираль диаметром около 600 нм. В результате строго упорядоченной иерархии спиралей, в основе которой лежит нуклеосома, в митозе и мейозе хромосомы эукариот совершают цикл компактизации – декомпактизации. Следствие этого цикла – укорочение метафазных хромосом по сравнению с размерами заключенной в них молекулы ДНК в 10^3 - 10^4 раз. По-видимому, цикл компактизации – декомпактизации регулируется белками хроматина негистонового типа. Возможно, что некоторые из них выполняют и структурную роль, образуя элементы каркаса метафазных хромосом.

Число молекул ДНК в хромосомах эукариот. Существуют три гипотезы о способах упаковки ДНК в хромосомах эукариот. Согласно первой, по всей длине хромосомы тянется одна-единственная непрерывная молекула ДНК (гипотеза однонитчатой, или унинемной, хромосомы). По второй гипотезе, хромосома (хроматида в G_2) состоит из двух (или более) субъединиц – полухроматид, субхроматид, которые могут идти параллельно или быть взаимно закрученными. Каждая субхроматида содержит молекулу (лы) ДНК. Это гипотеза многонитчатой, или полинемной, в простейшем случае – бинемной хромосомы. Наконец, некоторые авторы полагали, что ДНК в эукариотических хромосомах периодически прерывается связками иной химической природы, например белковой или фосфолипидной. Последнее предположение не нашло экспериментального подтверждения и в настоящее время в основном оставлено.

Что касается моделей многонитчатой хромосомы, то они основаны преимущественно на данных цитологов, наблюдавших «субхроматиды» в живых клетках или после их специальной фиксации. Однако теперь ясно, что с помощью световой и электронной микроскопии строго обосновать эти модели невозможно.

На сегодняшний день по совокупности фактов предпочтение следует отдать гипотезе «одна ДНК: одна хромосома». В пользу ее свидетельствуют: а) данные генетики о линейном расположении генов в хромосомах; б) наличие уникальных нуклеотидных последовательностей в геномах эукариот; в) распределение ^3H -тимидиновой метки в I и II циклах репликации, полностью соответствующее модели Уотсона и Крика; г) данные вискозиметрического анализа лизатов клеток культуры ткани дрозофилы с нормальным и перестроенным хромосомными наборами, показывающие, что молекулярная масса самых крупных частиц в лизате (после его депротеинизации) сравнима с молекулярной массой ДНК самых крупных хромосом данного кариотипа; д) данные по контролируемому растяжению политенных хромосом хирономуса, указывающие на то, что их разрывы начинаются только тогда, когда растянутая с помощью микроманипулятора хромосома достигает длины упакованной в ней ДНК; е) данные радиационной цитогенетики, доказывающие, что перестройки хромосом, ранее считавшиеся субхроматидными, в действительности являются хроматидными абберациями, имеющими своеобразную конфигурацию при облучении клеток в профазе митоза. Если верна модель однонитчатой хромосомы, то длина ДНК, заключенной в эукариотических хромосомах, может достигать нескольких сантиметров.

В беспорядочном сплетении хроматид интерфазного ядра довольно трудно обнаружить активные участки. Однако в некоторых участках удаётся видеть ответвляющиеся от хроматид тонкие нити мРНК. Особенно хорошо различимы активные участки в хромосомах ооцитах земноводных, в политенных хромосомах слюнных желез дрозофилы и других двукрылых насекомых, а также в ядрышковом организаторе. В ооцитах амфибий, рыб, птиц и рептилий хромосомы сильно вытянуты и образуют симметричные петли (хромосомы типа «ламповых щеток»). Как показали электронно-микроскопические исследования петли состоят из деспирализованного участка ДНК. Вдоль петли расположены молекулы РНК-полимеразы и от каждой из них отходит нить иРНК. В слюнных железах большинство генов репрессировано. Активация ге-

на ведёт к разбуханию соответствующего хромомера. Такие вздувшиеся хромомеры получили название пуффов. Пуфф образован петлями деспирализованных нитей ДНК хромомеров, подобно петлям «ламповых щеток».

Особый вид активного хроматина представлен ядрашками, хорошо видимыми в большинстве интерфазных фдер, ДНК в этом участке хромосом (ядрышковом оргазиторе) состоит из многократных повторов генов рРНК, число таких повторов может составлять у разных объектов от сотен до тысяч.

В некоторых клетках, в которых происходит интенсивный синтез белка и поэтому нужно большое количество рибосом, происходит амплификация генов рРНК. При репликации генов рРНК часть этих генов выходит из хромосомы в ядерный сок, располагается вблизи ядерной мембраны и продолжает там автономно реплицироваться по способу «катящегося обруча». Затем в сотнях, тысячах или даже миллионах сформированных таким образом добавочных ядрышек происходит транскрипция, и огромное количество молекул рРНК поступает из ядра в цитоплазму и используется при образовании рибосом.

Другой способ компенсаторного увеличения числа генов рРНК, называется магнификацией. Существенно отличается от амплификации тем, что: 1. происходит не только в ооцитах, но и во всех клетках зародыша; 2. гены рРНК встраиваются в хромосомы и стойко сохраняются в ряду клеточных поколений; 3. магнификации могут подвергаться не только гены, кодирующие рРНК, но и гены, кодирующие белки.

Организация генома. Главная количественная особенность генетического материала эукариот – наличие избыточной ДНК. Этот факт легко выявляется при анализе отношения числа генов к количеству ДНК в геноме бактерий и млекопитающих. Если средний размер гена бактерий 1500 пар нуклеотидов (п.н.), а длина кольцевой молекулы ДНК хромосомы *E.coli* и *B.subtilis* составляет около 1,1 мкм, то в такой хромосоме могут разместиться около 3000 генов. Примерно такое число генов было экспериментально определено у бактерий по числу типов иРНК. Если это число умножить на средний размер гена, то получится, что около 95% генома бактерий состоит из кодирующих (генных) последовательностей. Остальные 5%, по-видимому, заняты регуляторными элементами. Иная картина наблюдается у эукариотических организмов. Например, у человека насчитывают приблизительно $5 \cdot 10^4$ генов (имеется в виду только суммарная длина кодирующих участков ДНК – экзонов). В то же время размер генома человека $3 \cdot 10^9$ п.н. Это означает, что кодирующая часть его генома составляет всего 15-20% от тотальной ДНК. Существует значительное число видов, геном которых в десятки раз больше генома человека, например некоторые рыбы, хвостатые амфибии, лилейные. Избыточная ДНК характерна для всех эукариот. В этой связи необходимо подчеркнуть неоднозначность терминов генотип и геном. Под генотипом следует понимать совокупность генов, имеющих фенотипическое проявление, тогда как понятие генома обозначает количество ДНК, находящееся в гаплоидном наборе хромосом данного вида.

В конце 60-х годов XX века работами американских ученых Р. Бриттена, Э. Дэвидсона и других была открыта фундаментальная особенность молекулярной структуры генома эукариот – нуклеотидные последовательности разной степени повторяемости. Это открытие было сделано с помощью молекулярно-биологического метода изучения кинетики ренатурации денатурированной ДНК. Различают следующие фракции в геноме эукариот.

1. Уникальные, т.е. последовательности, представленные в одном экземпляре.

2. Промежуточные, или среднечастотные, повторы – последовательности, повторяющиеся десятки и сотни раз.

3. Высокочастотные повторы, число которых достигает 10^6 (на геном). Повторы образуют так называемые семейства, под которыми понимают совокупность последовательностей, полностью или по большей части гомологичных друг другу.

У вирусов их нуклеиновая кислота состоит целиком из структурных генов. Хромосома РНК-содержащего вируса длиной 1200 нуклеотидов содержит один структурный ген. У других мелких вирусов 3 тыс. нуклеотидов, т.е. три гена среднего размера. ДНК сложных вирусов содержит более 200 тыс. пар нуклеотидов и от десятков до сотен структурных генов. В гораздо более крупном бактериальном геноме молекула ДНК состоит из нескольких миллионов пар оснований, большинство генов уникальны (за исключением генов рРНК и тРНК).

У животных больше половины гаплоидного генома занимают, как правило, участки ДНК, представленные там лишь по одному разу. У высших растений доля уникальных генов составляет 20-30%. По-видимому, к числу таких уникальных участков относится большинство структурных генов, кодирующих белки (кроме гистонов).

К повторам средней частоты относятся гены рибосомальной РНК, транспортной РНК и гистонов. Число копий в гаплоидном геноме колеблется от нескольких сот до нескольких тысяч. Общая доля всех видов повторов средней многократности составляет у эукариотов от $1/10$ до $1/4$ генома.

Нередко из-за существенных различий в нуклеотидном составе высокочастотных повторов и остальной ДНК первые образуют при центрифугировании в градиенте плотности хлористого цезия так называемые сателлитные пики, которые имеют большую или меньшую плавучую плотность, чем остальная ДНК. Эта фракция генома представлена небольшим (10-15) числом семейств коротких (5-12 п.н.) повторов, образующих протяженные блоки. Внутри блоков группы повторов отдельных семейств могут чередоваться друг с другом, так что сателлитная ДНК имеет как бы лоскутную структуру. Гибридизация фракций высокочастотных последовательностей с ДНК непосредственно на препаратах хромосом позволила установить, что эта фракция генома локализована в районах конститутивного гетерохроматина, чаще всего прицентромерного или теломерного. Еще в 30-х годах XX столетия было показано, что в генетическом отношении эти районы инертны, т.е. не содержат генов. В действительности столь малые последовательности, составляющие сателлитную ДНК, не могут кодировать ничего, кроме олигопептидов. Более того, гетерохроматические районы не транскрибируются. Таким образом, в случае высокочастотных последовательностей ДНК обнаруживается тождество молекулярной организации и генетических свойств хромосомной ДНК эукариот. Следует отметить, что эта фракция у огромного большинства видов занимает не более 10% генома.

Тонкое строение генома. Представление о генах, основанное на данных классической генетики и прежде всего на работах школы Т. Моргана, сформулировалось к концу 30-х годов XX века. В основу определения гена как единицы наследственности были положены три критерия: функция, мутация, рекомбинация. В дальнейшем стало ясно, что лишь один из перечисленных критериев, в основном, соответствует определению гена: ген является единицей функции, кодирующей молекулы полипептида либо нуклеиновой кислоты (рРНК и тРНК). Что же касается определения гена как единицы рекомбинации и мутации, то оно пересмотрено, была установлена делимость гена на части в результате кроссинговера, а затем показано, что единица структуры не ген, а лишь одиночная пара нуклеотидов, способная к мутации и рекомбинации.

Первые экспериментальные доказательства делимости гена были получены в опытах с *D.melanogaster* и связаны с открытием явлений ступенчатого аллеломорфизма, и псевдоаллелизма. Ступенчатый аллелизм был обнаружен в конце 20-х годов советскими генетиками А.С. Серебровским и его учениками. Авторы изучали мутации гена *scute-sc*, *sc₂* и т.д., вызывающие редукцию щетинок на разных участках тела дрозофилы. При скрещивании гомозиготных по аллелям гена *scute* особей, например $\frac{SC_1}{SC_1} \times \frac{SC_2}{SC_2}$ у гетерозигот

$\frac{SC_1}{SC_2}$ чаще всего отсутствовали только те щетинки, которых не было у обеих гомозиготных особей. Если аллель *SC₁* приводит к редукции щетинок в частях тела, условно обозначаемых *A₁V₁C₁*, а аллель *SC₂* в частях – *V₁C₁D₁*, то у гетерозигот не было щетинок *V* и *C*, а *A* и *D* развивались нормально. Авторы приходят к заключению, что функциональной единицей может быть не вся аллель, а отдельные её части. Явление ступенчатого аллелизма было истолковано как свидетельство дробимости, сложности структурного гена.

Цис-транс-тест. Дальнейшее развитие исследований структуры гена с введением Э. Льюисом и С. Бензером в качестве критерия аллелизма комплементационного или цис-транс-теста. Напомним, что аллелями называют формы одного и того же гена, возникающие в результате его мутационной изменчивости. Аллели дикого типа, как правило, доминантные, мутантные аллели обычно рецессивны. Гетероаллели – различаются по типу и (или) локализации, изоаллели (когда в гомологичных точках содержатся одинаковые, но противоположно ориентированные в отношении цепей ДНК пары нуклеотидов), гомоаллели (когда в гомологичных точках аллелей в той же ориентации расположены одинаковые пары нуклеотидов).

Для того, чтобы две мутации, *a₁* и *a₂* могли быть исследованы с помощью цис-транс-теста они должны оказаться в одной клетке в одной, из двух возможных конфигураций по отношению друг к другу. Организм или клетку, несущую обе мутации в цис-положении, т.е. в одной хромосоме называют цис-гетерозиготой. Расположение этих мутаций в разных хромосомах одной пары (у эукариот) означает, что они находятся в транс-конфигурации в составе транс-гетерозиготы. Поскольку речь идёт о рецессивных мутациях, цис-гетерозигота будет иметь дикий фенотип, независимо от того, находятся ли мутации в разных аллелях одного гена, или разных генах. В транс-гетерозиготе результат будет различен. Если мутации расположены в разных генах, фенотип будет диким, если же обе мутации затрагивают одну единицу функции, возникает гомозигота с мутантным фенотипом, так как в гомологичных хромосомах мутантны одинаковые гены.

Мобильные элементы генома. В 1948 г. американская исследовательница Мак-Клинток открыла у кукурузы гены перемещающиеся из одного участка хромосомы в другой и назвала феномен транспозицией, а сами гены контролируемыми элементами (КЭ). 1. Эти элементы могут перемещаться из одного сайта в другой; 2. их встраивание в данный район влияет на активность генов расположенных рядом; 3. утрата КЭ в данном локусе превращает прежде мутабельный локус в стабильный; 4. в сайтах, в которых присутствуют КЭ, могут возникать делеции, транслокации, транспозиции, инверсии, а также разрывы хромосом. В 1983 г. за открытие мобильных генетических элементов Нобелевская премия была присуждена Барбаре Мак-Клинток.

Наличие мобильных элементов в геномах имеет разнообразные последствия:

1. Перемещения и внедрение мобильных элементов в гены может вызывать мутации;

2. Изменение состояния активности генов;
3. Формирование хромосомных перестроек;
4. Формирование теломер.
5. Участие в горизонтальном переносе генов;
6. Транспозоны на основе Р-элемента используют для трансформации у эукариот, клонирования генов, поиска энхансеров и т.д.

У прокариот существуют три типа мобильных элементов – IS-элементы (инсерции), транспозоны, и некоторые бактериофаги. IS-элементы встраиваются в любой участок ДНК, часто вызывают мутации, разрушая кодирующие или регуляторные последовательности, влияют на экспрессию соседних генов. Бактериофаг может вызывать мутации в результате встраивания.

Вопросы

1. Каковы различия хромосом прокариотов и эукариотов?
2. Какова роль гистонов в организации хромосом?
3. Что такое нуклеосомы?
4. Каково число молекул ДНК в хромосомах эукариотов?
5. Какие виды активного хроматина Вам известны?
6. В чём заключается количественная особенность генома эукариотов?
7. Какие фракции различают в геноме эукариотов? Опишите их.
8. Каково современное представление о генах?
9. Что такое цис-транс-тест?
10. Какие свойства имеют мобильные элементы генома?
11. Каково функциональное значение мобильных элементов?
12. Какие типы мобильных элементов у прокариотов существуют?

ЛЕКЦИЯ 11. ИЗМЕНЧИВОСТЬ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА

1. Классификация мутаций

2. Спонтанные мутации

3. Закон гомологичных рядов наследственной изменчивости Н.И.

Вавилова

4. Хромосомные перестройки

5. Автополиплоидия, аллополиплоидия

6. Анеуплоидия и гаплоидия

Изменчивостью называют различия между особями, принадлежащими к одной и той же группе, а также отличия одной особи от других того же вида, которые не могут быть приписаны различиям в возрасте, поле и стадии жизненного цикла.

Различают два вида изменчивости: наследственную и ненаследственную. Первая имеет отношение к изменениям в наследственном материале, вторая является результатом реагирования организма на условия окружающей среды.

Наследственную изменчивость подразделяют на мутационную и комбинативную. Первопричиной мутационной изменчивости являются мутации. Их можно определить как наследуемые изменения генетического материала. Изменчивость, вызываемая расщеплением и рекомбинацией мутаций и обусловленная тем, что гены существуют в разных аллельных состояниях, называется комбинативной.

Мутационная теория и классификации мутаций. Мутационная теория зародилась в начале XX в. в работах Г. де Фриза (1901-1903). Суть

ее сводится к следующим основным положениям, которые представляют интерес и в наше время:

1. Мутация возникает скачкообразно, без переходов.
2. Образовавшиеся новые формы константны.
3. Мутация является качественным изменением.
4. Мутации разнонаправленны (полезные и вредные).
5. Выявляемость мутаций зависит от размеров выборки изучаемых организмов.
6. Одни и те же мутации могут возникать повторно.

Мутационные изменения чрезвычайно разнообразны. Они могут затрагивать буквально все морфологические, физиологические и биохимические признаки организма, могут вызывать резкие или, наоборот, едва заметные фенотипические отклонения от нормы.

Известно много принципов классификации мутаций. Фактически все авторы отмечают, что очень трудно создать хорошую классификацию мутаций и что все существующие классификации очень схематичны.

С.Г. Инге-Вечтомов [1989] предлагает следующие классификации мутаций:

I. По характеру изменения генотипа:

1. Генные мутации, или точечные.
2. Изменения структуры хромосом, или хромосомные перестройки.
3. Изменения числа наборов хромосом.

II. По характеру изменения фенотипа:

1. Летальные.
2. Морфологические.
3. Физиологические.
4. Биохимические.
5. Поведенческие.

III. По проявлению в гетерозиготе:

1. Доминантные.
2. Рецессивные.

IV. По условиям возникновения:

1. Спонтанные, т.е. возникающие без видимых причин или усилий со стороны экспериментатора. Обычно спонтанными называют мутации, причина возникновения которых неизвестна.

2. Индуцированные, т.е. возникшие в результате какого-то воздействия.

V. По степени отклонения от нормального фенотипа.

В 1932 г. Г. Мёллер предложил классифицировать мутации на следующие категории: гипоморфные, аморфные, антиморфные, неоморфные и гиперморфные.

VI. По локализации в клетке:

1. Ядерные.
2. Цитоплазматические (мутации внеядерных генов).

VII. По возможности наследования:

1. Генеративные, т.е. индуцированные в половых клетках.
2. Соматические, индуцированные в соматических клетках.

Различают также мутации прямые и обратные.

Спонтанные мутации. В любой популяции живых организмов всегда есть особи, несущие мутации. Многие годы до открытия искусственной индукции мутаций селекционеры и исследователи наследственности, включая Менделя и Моргана, использовали мутации этого типа. Их называют спонтанными.

Начиная с 1925 г. С.С.Четвериков и его молодые коллеги Б.Л. Астауров, Н.К. Беляев, С.М. Гершензон, П.Ф. Рокицкий, Д.Д. Ромашов в результате экспериментальной проверки природных популяций дрозофилы нашли в них большое число различных мутаций. Каждый ген с той или иной частотой спонтанно переходит в мутантное состояние

Причины индукции спонтанных мутаций не совсем ясны. Долгое время полагали, что к числу индуцирующих факторов относится естественный фон ионизирующих излучений. Однако, как показали расчеты, для дрозофилы естественный радиационный фон может быть ответствен только приблизительно за 0,1 % спонтанных мутаций. Хотя по мере увеличения продолжительности жизни организма воздействие естественного фона может накапливаться, и у человека от 1/4 до 1/10 спонтанных мутаций может быть отнесено за счет естественного фона радиации [Гершензон, 1983].

Второй причиной спонтанных мутаций являются случайные повреждения хромосом и генов в ходе нормальных метаболических процессов, происходящих в клетке. По многочисленным данным, спонтанные мутации возникают во время деления хромосом и репликации ДНК. Считают вероятным, что спонтанные мутации представляют собой чаще всего следствие случайных ошибок в функционировании молекулярных механизмов.

Третьей причиной спонтанных мутаций является перемещение по геному мобильных элементов, которые могут внедриться в любой ген и вызвать в нём мутацию. По расчётам американского генетика М.Грина, около 80% мутаций, которые были открыты как спонтанные, возникли в результате перемещений мобильных элементов.

Закон гомологических рядов наследственной изменчивости Н.И. Вавилова. Первым наиболее серьезным исследованием мутаций была работа Н.И. Вавилова по установлению параллелизма в наследственной изменчивости у видов растений, принадлежащих близким таксонам. На базе обширных исследований морфологии различных рас растительного мира Вавилов в 1920 г. пришел к выводу, что, несмотря на резко выраженное разнообразие (полимофизм) многих видов, можно заметить ряд закономерностей в их изменчивости. Если взять для примера семейство злаков и рассмотреть варьирование некоторых признаков, то окажется, что одинаковые отклонения присущи всем видам.

Закон Вавилова гласит: «Виды и роды, генетически близкие, характеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов. Чем ближе генетически расположены в общей системе роды и линнеоны, т. е. виды, тем полнее сходство в рядах их изменчивости». Свой закон Н.И. Вавилов выразил формулой:

$$G_1 (a + b + c \dots)$$

$$G_2 (a + b + c \dots)$$

$$G_3 (a + b + c \dots)$$

где G_1 , G_2 , G_3 – виды, а a , b , c – различные варьирующие признаки.

Для селекционной практики этот закон важен потому, что прогнозирует возможность найти неизвестные формы растений у данного вида, если они уже известны у других видов

Н.И. Вавилов положил закон гомологических рядов в наследственной изменчивости в основу поиска новых форм растений. Под его руководством были организованы многочисленные экспедиции по всему миру. Из разных стран были привезены сотни тысяч образцов семян культурных растений, составивших основу коллекций Всесоюзного института растениеводства (ВИР). Мутантные линии являются важнейшим исходным материалом при создании сортов культурных растений.

Генеративные и соматические мутации. Мутации могут возникать в любой клетке многоклеточного организма. Те из них, которые возникают в клетках зародышевого пути, называются генеративными. Мутации, возникающие в других клетках, называют соматическими.

Генеративная мутация может возникнуть на любом этапе развития половых клеток. Если это происходит на ранних стадиях, она размножится так, что число мутантных клеток будет пропорционально числу клеточных делений после появления мутации. В результате она будет представлена многими копиями, которые в совокупности называют пучком мутаций. Мутации, возникшие на последних этапах развития половых клеток, в спермиях и яйцеклетках, только в этих клетках и представлены. В случае соматической мутации проявление мутантного фенотипа также сильно зависит от стадии, на которой она произошла. Чем раньше мутация возникает, тем больше клеток ее несут.

Соматические и генеративные мутации различаются главным образом возможностью наследования: генеративные всегда передаются по наследству. У соматических мутаций две судьбы:

а) они не играют роли в наследственности, если организм размножается исключительно половым путем и клетки зародышевого пути уже на ранних этапах развития обособляются от соматических;

б) они могут передаваться потомству, если организм может размножаться бесполом путем, например, при вегетативном размножении у картофеля.

Для растений, у которых из соматических клеток впоследствии развивается почка, дающая цветок, соматические мутации имеют огромное значение.

Соматические мутации могут вызывать злокачественные опухоли у человека и животных. Не исключено, что соматические мутации имеют также отношение к процессам старения, так как с возрастом может происходить накопление физиологических мутаций.

Прямые и обратные мутации. Обычно мутации, вызывающие изменения от дикого типа к новому, называют прямыми, а от мутантного к дикому – обратными.

Прямые и обратные мутации возникают с разной частотой. Например, аморфные мутации не дают реверсий к норме. Такие мутации, возможно, связаны с серьезными повреждениями или делецией гена. Возник-

новение обратных мутаций свидетельствует о том, что при прямом мутировании ген не потерян, а произошло лишь его изменение.

По степени отклонения от нормального фенотипа Меллер предложил выделить как уже отмечалось выше, гипоморфные, аморфные, антиморфные, неоморфные и гиперморфные мутации. Рассмотрим эту классификацию.

При гипоморфных мутациях измененные аллели действуют в том же направлении, что и аллель дикого типа, но дают ослабленный эффект. Гипоморфная мутация w^e (*white eozine*) в одной или двух дозах дает мутантный фенотип, в трех – почти нормальный.

Аморфные мутации выглядят как потеря гена. Характерным примером является аморфная мутация w . Мутанты демонстрируют четкий фенотип независимо от дозы мутантного аллеля (при отсутствии нормального) и внешних условий. Фенотип – белые глаза – обусловлен полной потерей функции гена, который контролирует транспорт пигмента в клетки глаза.

Антиморфные мутации изменяют фенотип дикого типа на противоположный. Например, у кукурузы ген A (дикий тип) обеспечивает пурпурный цвет растений и семян из-за наличия антоциана. Аллель a^p (антиморф) действует в противоположном направлении из-за формирования бурой окраски и блокирования образования антоцианов.

Неоморфные мутации – фенотип мутантов совершенно отличен от дикого. Например, мутация $Antp$ у дрозофилы приводит к формированию ноги на голове – на месте антенны.

Гиперморфные мутации – у этих мутантов количество биохимического продукта резко увеличивается.

w^+	→	w^e	→	w^{re}
Красный		Глаз цвета		Темно-красный
глаз		эозина		глаз

Методы учета мутаций. Для учета частоты возникновения или для выявления мутаций используют различные методические приемы. Первые методы были предложены Г. Мёллером для определения частоты образования мутаций у дрозофилы.

Метод CIB . Наиболее объективно можно учитывать частоту возникновения рецессивных летальных мутаций, приводящих в гомозиготном состоянии к смерти несущих их особей. Генетическая структура линии CIB характеризуется тем, что одна из X -хромосом маркирована доминантным геном Bar (B) и инверсией, названной C . Эта инверсия препятствует кроссинговеру и обладает рецессивным летальным эффектом – l . Поэтому линия и названа CIB .

Самок этой линии-анализатора скрещивают с самцами из исследуемой выборки. Если самцы взяты из природной популяции, то можно оценить частоту деталей в ней. Или же берут самцов, обработанных мутагеном. В этом случае оценивается частота летальных мутаций, вызванных этим мутагеном. В F_1 , отбирают самок CIB^+ , гетерозиготных по мутации Bar , и скрещивают индивидуально (каждую самку в отдельной пробирке) с самцом дикого типа. Если в проверяемой хромосоме нет мутации, то в потом-

стве будет два класса самок и один класс самцов (B^+), поскольку самцы ClB гибнут из-за наличия летали l , т.е. общее расщепление по полу будет 2:1.

Если же в опытной хромосоме есть летальная мутация l , то в F_2 будут только самки, так как самцы обоих классов погибнут – в одном случае из-за наличия летали в X -хромосоме ClB , в другом – из-за наличия летали l_m в опытной X -хромосоме. Определяя отношение числа X -хромосом (пробирок с индивидуальными скрещиваниями), в которых возникла леталь, к общему числу изученных X -хромосом (пробирок), подсчитывают частоту летальных мутаций в определенной группе или выборке.

Хромосомные перестройки. Инверсии. Инверсии – хромосомные перестройки, связанные с поворотом отдельных участков хромосомы на 180° , были открыты А. Стертевантом в 1926 г.

Инверсии бывают пара- и перичентрическими. В случае парацентрической инверсии происходят два разрыва хромосом, оба по одну сторону от центромеры. Участок между точками разрывов поворачивается на 180° .

При перичентрической инверсии точки разрывов расположены по обе стороны от центромеры.

У гомозигот по инверсиям кроссинговер происходит нормально. У особей, гетерозиготных по инверсии, в хромосомах образуется петля.

У гетерозигот по парацентрической инверсии происходит «запирание» кроссинговера.

Транслокации. Хромосомные перестройки, в результате которых часть хромосомы переносится в другое место той же хромосомы или в другую хромосому, но общее число генов не изменяется, называются транслокациями. Транслокации были открыты К.Бриджесом в 1923 г. у дрозофилы. Внутрихромосомные транслокации возникают в результате образования трех разрывов и перенесения хромосомного сегмента в другой район той же хромосомы. Межхромосомные реципрокные транслокации возникают в результате образования двух разрывов и обмена участками негомологичных хромосом.

Реципрокные транслокации выявляют в генетических экспериментах, если в результате скрещивания изменяется расщепление.

В результате перестройки, называемой «филадельфийская транслокация», у человека возникает лейкемия.

У животных гетерозиготы по реципрокным транслокациям встречаются сравнительно редко, тогда как в некоторых природных популяциях многих растений иногда встречаются транслокации, затрагивающие даже более двух негомологичных хромосом. Наиболее ярким примером может служить растение ослинник (энотера), гетерозиготное по транслокациям, вовлекающим 12 из 14 хромосом.

Разрывы и объединения плеч негомологичных хромосом, в результате чего возникают новые хромосомы, состоящие из двух исходных (робертсоновские транслокации), описаны в учебниках по генетике.

Делеции. Делецией называют утрату какого-то участка хромосомы. Делеции были открыты в 1917 г. К.Бриджесом генетическими методами.

Делеции не могут быть очень длинными, поскольку чем они длиннее, тем больше вероятность того, что в районе хромосомы, гомологичном удаленному делецией, находится ген, необходимый для выживания в двух дозах. У человека синдром «кошачьего крика» возникает у гетерозигот по делеции в коротком плече пятой хромосомы. У младенцев-гетерозигот очень высокий мяукающий плач, кроме этого микроцефалия (малый размер головы), значительные нарушения физического и умственного развития. Коэффициент интеллектуальности у детей с этим синдромом колеблется от 20 до 40.

Дупликации. Дупликацией называют дополнительный наследственный материал, идентичный тому, который уже есть в геноме.

Дупликации могут приводить к фенотипическому проявлению. Наиболее известным примером служит мутация *Var* в X-хромосоме у дрозофилы. Эта мутация проявляет неполное доминирование, уменьшая число глазных фасеток. У самок, гетерозиготных по *Var*, глаза маленькие и полосковидной формы.

Полиплоидия. Изменение числа хромосом, когда в клетке присутствует более двух гаплоидных наборов, называют полиплоидией. Этот термин был введен Е.Страсбургером в 1910 г.

В свою очередь гаплоидным (n) называют такой набор хромосом, в котором из каждой пары гомологичных хромосом представлена только одна. Он несет в себе часть наследственной информации родителей. Гаплоидный набор хромосом с локализованными в нем генами Г. Винклер (G. Winkler) в 1920 г. предложил называть геномом.

Возможны следующие причины полиплоидии:

1. Неравное расхождение хромосом к полюсам в анафазе.
2. Деление ядра без деления клетки.
3. Удвоение хромосом без их отделения друг от друга.

Организмы, у которых произошло умножение целых гаплоидных наборов, называют собственно полиплоидами или эуплоидами. Полиплоиды, у которых число хромосом не является кратным гаплоидному, называют гетероплоидами или анеуплоидами. Если организм имел $n = 4$ хромосомы, $2n = 8$, то тетраплоид имеет $4n = 16$ хромосом.

Полиплоидизация может также возникать в части клеток в результате нарушения митоза – это соматическая полиплоидия.

Если удвоение геномов происходит в первом делении зиготы, такая полиплоидия называется мейотической, все клетки зародыша будут полиплоидными.

Г. Винклер в 1916 г. впервые описал полиплоиды томатов и паслена. К настоящему времени установлено, что около 30 % всех покрытосеменных растений являются полиплоидами. Широко распространена полиплоидия среди растений, возделываемых человеком. У голосеменных растений она редка, хотя встречается у папоротников и мхов. Возможно, полиплоиды, лучше приспособлены к произрастанию в суровых условиях: среди всех видов цветковых растений в арктических широтах полиплоиды составляют более 70 %, на Памире – 86 %, на Алтае – 65 %. У животных встречается главным образом соматическая полиплоидия. Группа видов, которые относятся к одному роду и кариотипы которых составляют ряд возрастающего кратного увеличения числа хромосом, называется полиплоидным рядом, например род *Triticum*:

<i>T. monococcum</i> (однозернянка)	$2n = 14$
<i>T. durum</i> (твердая)	$2n = 28$
<i>T. aestivum</i> (мягкая)	$2n = 42$

Таким образом, основное число хромосом, или наименьшее гаплоидное число в полиплоидном ряду (x), у пшениц составляет 7, а *T. monococcum* называют диплоидом, *T. durum* – тетраплоидом и *T. aestivum* – гексаплоидом.

Полиплоидные ряды известны и у других растений: пшеницы, овса, розы, земляники, шелковицы, люцерны, сахарного тростника, свеклы, хризантемы, щавеля, хлопчатника.

Автополиплоидия. Полиплоиды, возникающие на основе увеличения числа наборов хромосом внутри рода, называют автополиплоидами.

Особенности мейоза автополиплоидов. В норме, у диплоидов, в профазе мейоза образуются биваленты. У тетраплоидов в мейозе образуются квадриналенты – группы из четырех конъюгирующих хромосом, и не всегда четверем гомологичным хромосомам удастся найти друг друга и образовать квадриналент.

Иногда они образуют группу из трех хромосом (тривалент) и унивалент или два бивалента. Наличие квадриналентов, тривалентов и унивалентов в мейозе у тетраплоидов ведет к нарушениям в распределении хромосом и к образованию гамет с измененным числом хромосом. Кроме правильного расхождения хромосом в мейозе у автотетраплоида ($AAaa$) возможно также расхождение хромосом в соотношении 3:1 и 4:0. При этом возникнут гаметы AAa и a , Aaa и A , а также $AAaa$ и 0 . Часть таких гамет нежизнеспособна. У диплоида Aa ($2n$) образуются гаметы A и a в соотношении 1:1. У тетраплоида $AAaa$ ($4n$) расхождение гомологичных хромосом в мейозе возможно в соотношениях 2:2, 3:1, 1:3, 4:0, 0:4.

Даже если расхождение хромосом к полюсам будет регулярным (2:2), автотетраплоид, гетерозиготный по аллелям $AAaa$, образует три типа гамет в соотношении $1AA:4Aa:1aa$, и расщепление в моногибридном скрещивании будет сильно отличаться от такового у диплоида:

Гаметы	1 AA	4 Aa	1 aa
1 AA	1 $AAAA$	4 $AAAa$	1 $AAaa$
4 Aa	4 $AAAa$	16 $AAaa$	4 $Aaaa$
1 aa	1 $AAaa$	4 $Aaaa$	1 $aaaa$

Расщепление по фенотипу в F_2 вместо 3:1 будет 35:1, т.е. при моногибридном скрещивании вероятность появления гомозиготных рецессивных форм во много раз ниже, чем у диплоидов. Поэтому селекционеру отбор по признакам рациональнее вести на низком уровне ploidy.

Аллополиплоидия (амфиполиплоидия). Аллополиплоидией называют удвоение или многократное умножение хромосомных наборов различной структуры.

В 1925 г. два американских генетика Т. Гудспид (*T. Goodspeed*) и Дж. Клаусен (*J. Clausen*) получили вид табака с 72 хромосомами в результате гибридизации 48- и 24-хромосомных видов. Фертильные аллополиплоиды в результате межродовых скрещиваний получил Г.Д. Карпеченко в 1927 г. на растениях. Аллополиплоид у животных от межвидового скрещивания

шелкопрядов *Bombix mori* и *B. mandarina* впервые в 1961 г. получили Б.Л. Астауров и В.Н. Верейская.

Г.Д. Карпеченко использовал в скрещиваниях два вида из разных родов – *Brassica oleacea* (капуста) и *Raphanus sativus* (редька). У обоих видов диплоидное число хромосом $2n = 18$. Гибрид имел 18 хромосом, был мощным, сильно цвел, но семян не образовывал. Отдельные гаметы были нередуцированными, т.е. имели по 9R и 9B хромосом. От них получились устойчивые фертильные аллополиплоидные (или амфидиплоидные) растения с $4n = 36$, которым автор дал новое видовое название – Рафанобрассика.

Аллополиплоидия широко распространена в природе. Известны многие полиплоидные виды и у возделываемых растений. Детально изучены пути формирования аллополиплоидов среди пшениц. Естественный аллополиплоид ($2n = 42$) *Triticum aestivum* (пшеница мягкая, или хлебная) является одним из основных хлебных растений мира. Она имеет геном AABBDD. Для 35 % населения Земли это основной продукт питания. Естественный аллотетраплоид *T. durum* (пшеница твердая, или макаронная) имеет $2n = 28$. Единственный возделываемый диплоидный вид *T. monosocum* (пшеница однозернянка) имеет 14 хромосом.

Анеуплоидия. Организм с набором $2n - 1$ называют моносомиком, $2n + 1$ – трисомиком, $2n + 2$ – тетрасомиком, $2n + 3$ – пентасомиком, $2n - 2$ – нуллисомиком.

В 1954 г американский ученый Е.Сирс после 15 лет работы создал на базе сорта пшеницы «Чайниз Спринг» коллекцию нуллисомиков, моно-, три- и тетрасомиков.

У организмов, у которых нет дублирующих геномов, как у пшеницы, потеря целой хромосомы, т.е. образование нуллисомиков, почти всегда детально. Летальны также потери больших кусков хромосом. У дурмана добавление одной хромосомы тоже ведет к изменению фенотипа – формы семенной коробки.

Гаплоидия. Гаплоидия – это явление уменьшения числа хромосом, когда в наборе соматической или половой клетки каждая пара гомологичных хромосом представлена лишь одной из них. Гаплоидом называют организм, имеющий в соматических клетках гаплоидный набор негомологичных хромосом.

Естественная гаплоидия встречается в жизненном цикле спорообразующих грибов, бактерий и одноклеточных водорослей.

У высших растений гаплоид впервые был обнаружен у дурмана в 1921г., затем гаплоиды были найдены у пшеницы, кукурузы. В настоящее время гаплоидия известна для 71 вида из 39 родов и 16 семейств [Лобашев, 1967]. Фенотип гаплоидов имеет следующие особенности:

1. Проявляются рецессивные гены, так как их не прикрывают доминантные аллели.

2. По внешнему виду, как правило, они сходны с соответствующими диплоидными организмами, но мельче их.

3. Гаплоиды перекрестноопылителей маложизнеспособны в отличие от гаплоидов самоопылителей.

4. Клетки имеют меньший размер, что может объясняться уменьшением дозы генов.

5. Гаплоиды почти бесплодны, так как у них в мейозе не образуются полноценные гаметы, хромосомы не имеют гомологов, в силу чего они не конъюгируют и расходятся случайно, образуя несбалансированные гаметы. В редких случаях весь набор хромосом отходит к одному полюсу. Из этих клеток образуются гаметы с нередуцированным гаплоидным числом хромосом. При встрече таких гамет в процессе самоопыления образуется диплоид, гомозиготный по всем генам. Растения, полученные от гаплоида путем вегетативного размножения, имеют фенотип, полностью соответствующий генотипу.

В гаплоидных тканях растений можно улавливать полезные и устранять летальные рецессивные соматические мутации.

Искусственное получение полиплоидов. Все факторы, влияющие на митоз и мейоз, могут вызвать полиплоидию: изменение температуры, радиация, действие наркотиков, механические воздействия – пасынкование, декапитация.

И.И. Герасимов в 1898-1901 гг. впервые экспериментально получил тетраплоидные клетки водоросли спирогиры после воздействия на исходные клетки парами эфира, высокой температурой и др.

Особенно популярен колхицин – алкалоид, выделяемый из растения безвременника осеннего – *Colchicum autumnale*. Впервые его применили А. Блексли, О. Эйвери и Б. Небел в 1937 г. Колхицином обрабатывают точки роста растений или инъецируют его животным в водной растворе. Этот алкалоид парализует расхождение хромосом к полюсам (ингибирует просоединение молекул тубулина к микротрубочкам), но не препятствует их репродукции.

Вопросы

1. Каковы формы изменчивости?
2. Различают ли мутации по своему действию на организм?
3. Что Вам известно о причинах изменчивости?
4. В чём суть закона гомологичных рядов? Кто её автор?
5. Можно ли определить частоту мутаций?
6. Что такое транслокация, дупликация, инверсия, делеция, гетеро- и полиплоидия?
7. Какие существуют формы полиплоидии?
8. В чём заключается разница между автополиплоидией и аллополиплоидией?

ЛЕКЦИЯ 12. ПРИЧИНЫ МУТАЦИЙ И ИХ ИСКУССТВЕННОЕ ВЫЗЫВАНИЕ

1. *Физические мутагены*
2. *Химические мутагены*
3. *Другие мутагенные факторы*
4. *Причины спонтанных мутаций*
5. *Теоретическое и практическое значение работ по искусственному вызыванию мутаций*

Мутациям уделялось много внимания с первых же лет развития генетики, но их причины долгое время оставались неизвестными. Они стали проясняться только после того, как были разработаны методы точного ко-

личественного учёта мутаций и Меллер, используя эти методы, в 1927 г. впервые доказал в опытах по воздействию рентгеновских лучей на дрозофилу, что мутации можно вызывать искусственно. Это открытие послужило толчком к широкому развертыванию работ по экспериментальному мутагенезу, т.е. по выявлению и изучению вызывающих мутации физических и химических факторов (мутагенов) и исследованию их действия у разных форм жизни. В результате были получены ценные сведения о причинах мутаций и разработаны эффективные методы их искусственного получения.

Физические мутагены. Среди физических мутагенов наибольшее значение имеют ионизирующие излучения. Они делятся на электромагнитные (волновые), к которым принадлежат рентгеновские лучи (длина волны от 0,005 до 2 нм) и более коротковолновые гамма-лучи и космические лучи, и на корпускулярные, такие как бета-частицы (электроны и позитроны), протоны, нейтроны (быстрые, обладающие высокой энергией, и так называемые тепловые, энергия которых гораздо ниже), альфа-частицы (ядра атома гелия) и др. Все виды ионизирующих излучений мутагенны, но для искусственного вызывания мутаций используются почти исключительно рентгеновские и гамма-лучи. Источники их (рентгеновские трубки, радиоактивные элементы) удобны в обращении, а сами эти лучи значительно лучше проникают в ткани организма, чем большинство корпускулярных излучений (за исключением нейтронов).

Проходя через живое вещество, рентгеновские лучи, гамма-лучи или ядерные частицы на своем пути вырывают электроны из внешней оболочки атомов или молекул, что превращает их в положительно заряженные ионы. Это же продолжают делать и вырванные таким образом электроны, но в конце концов энергия излучения оказывается исчерпанной и все освободившиеся электроны присоединяются к другим атомам и молекулам, от чего они становятся отрицательно заряженными ионами, число которых, таким образом, равно числу образовавшихся положительно заряженных ионов. В результате нейтральные атомы или молекулы приобретают заряд, что ведет к дальнейшим химическим превращениям вещества, в состав которого они входят.

Для измерения доз ионизирующих излучений применяются две единицы: рентген (сокращенно обозначается р) и рад. Один рентген – это доза радиации, которая вызывает образование около двух миллиардов ($2,1 \times 10^9$) пар ионов проходя через 1 см^3 сухого воздуха при температуре 0° и давлении 760 мм рт.ст. Один рад – это доза радиации, соответствующая поглощению 100 эргов энергии в 1 г вещества. В воздухе и в мягких тканях организма значение этих единиц очень близко: 1 рад равен 1,07 рентгена.

Разные формы живых существ характеризуются очень различной чувствительностью к ионизирующим излучениям – смертельная доза может колебаться от нескольких сотен рентгенов у млекопитающих (600 р для мыши, 700 р для человека) до сотен тысяч и миллионов рентгенов для бактерий и вирусов. Биологическое действие ионизирующих излучений обязано в первую очередь вызываемым ими изменениям генетического аппарата – хромосом и генов, гораздо более чувствительных к этим излучениям, чем цитоплазма. Эти изменения выражаются в мутациях, а при облучении организма дозами, превосходящими определенный предел, происходит

столь сильное нарушение функций генетического аппарата клеток, что наступает лучевая болезнь, которая может привести к смертельному исходу.

Изучение мутагенного действия ионизирующих излучений показало, что у всех разнообразных исследованных в этом отношении организмов они вызывают многочисленные генные мутации и перестройки хромосом и что частота индуцированных таким образом мутаций зависит в основном от дозы радиации. При этом не имеет большого значения, в один ли прием дана та или иная доза или она разбита на дробные порции, разделенные во времени – мутагенный эффект грубо соответствует общей дозе облучения, хотя он несколько выше при однократном облучении. Не играет роли и интенсивность радиации, т.е. время, за которое дается полная доза. Так, если одна рентгеновская трубка излучает 100 р в минуту, а другая – 10 000 р в минуту, то облучение организма первой трубкой в течение 10 минут вызовет приблизительно столько же мутаций, сколько возникает при облучении второй трубкой в течение 0,1 минуты, так как в обоих случаях общая доза одинакова (1000 р.) Такая закономерность сохраняется и при еще более резких различиях в интенсивности радиации, например, когда один источник дает излучение в 1000 раз или даже в 100 000 раз более интенсивное, чем другой: одинаковые дозы радиации обоих источников вызывают мутации с приблизительно одинаковой частотой.

Многочисленные опыты, проведенные с вирусами, бактериями, низшими и высшими растениями, насекомыми и лабораторными млекопитающими позволили сделать вывод, что частота генных мутаций и мелких перестроек хромосом (нехваток, микроделений), вызываемых ионизирующими излучениями, прямо пропорциональна дозе последних. Другими словами, при увеличении дозы вдвое возникает в два раза больше таких мутаций, тройная доза облучения индуцирует мутаций втрое больше и т.д. Такая прямолинейная зависимость описывается уравнением $y = (k + ad)$, где y – общая частота наблюдаемых мутаций, k – частота спонтанно возникших мутаций, a – коэффициент пропорциональности (т.е. вероятность возникновения мутаций у данного объекта в результате облучения дозой 1 р), d – доза в рентгенах.

То обстоятельство, что частота генных мутаций линейно зависит от дозы излучений, привело к предположению, что каждая такая мутация представляет результат единичной ионизации и сопутствующего ей возбуждения атома. Это же относится к мелким перестройкам хромосом – к нехваткам, обзанным одиночным разрывам хромосомы, и к микроделениям. Линейная зависимость частоты возникновения последних от дозы, согласно этому предположению, объясняется тем, что два разрыва, происходящие в хромосоме очень близко друг к другу, вызываются одной и той же причиной, т.е. тоже единичной ионизацией. Если это предположение правильно, то следует ожидать иной зависимости частоты крупных хромосомных перестроек от дозы облучения: такие перестройки происходят в результате двух далеко отстоящих друг от друга разрывов хромосом и поэтому частота этих перестроек должна была бы быть пропорциональной не дозе облучения, а квадрату этой дозы.

Изложенная выше концепция (так называемая теория мишени), согласно которой вызываемые радиацией мутации обязаны единичным актам ионизации, повреждающим чувствительные структуры («мишени») наследственного аппарата.

Главное положение теории мишени состоит в том, что ионизирующие излучения непосредственно действуют на гены и хромосомы. Несомненно, что такое прямое действие радиации действительно играет основную роль в индукции мутаций. Это видно, например, из того, что облучение яйцеклеток не ведет к сколько-нибудь заметному возрастанию числа мутаций в хромосомах, получаемых зиготой от отца, хотя эти хромосомы попадают при оплодотворении в подвергнутую облучению цитоплазму яйцеклетки. Тем не менее существуют факты, указывающие на то, что ионизирующие излучения действуют на генетический аппарат не только прямо, но и косвенно. При прохождении их через цитоплазму они вызывают там наряду с ионизацией образование короткоживущих свободных радикалов, которые могут реагировать с химическими компонентами хромосом. В частности, большое значение в этом смысле имеют свободные радикалы водорода (H) и гидроксила (OH), возникающие в результате радиолиза воды, которой богата всякая клетка. Эти радикалы сейчас же соединяются в трех возможных сочетаниях, давая либо воду ($H + OH = H_2O$), либо атомарный водород ($H + H = H_2$), либо химически очень активную перекись водорода ($OH + OH = H_2O_2$).

Хорошее доказательство существования косвенного генетического действия ионизирующих излучений дали опыты, показавшие, что облучение жидкой питательной среды делает ее мутагенной для помещаемых в нее затем бактерий. Это свойство придают ей свободные радикалы и перекиси, образовавшиеся в результате облучения. На косвенное мутагенное действие ионизирующих излучений указывает также так называемый кислородный эффект, заключающийся в том, что облучение организма, проводимое в атмосфере, богатой кислородом, приводит к возникновению большего числа мутации, чем проводимое в атмосфере, бедной кислородом.

Ионизирующие излучения в большей степени увеличивают частоту перестроек хромосом, чем частоту генных мутаций, поэтому среди мутаций, индуцируемых радиацией, перестройки хромосом гораздо многочисленнее, чем среди спонтанных мутаций. По мере повышения дозы облучения доля перестроек хромосом еще возрастает; касается это, в первую очередь, крупных перестроек, возникающих в результате двух разрывов (инверсии, большие делеции, транслокации). Особенно много таких перестроек индуцируют корпускулярные излучения. Это объясняется тем, что они создают на своем пути более плотную ионизацию среды, нежели электромагнитные излучения, а чем плотнее ионизация, тем чаще рвет она хромосомы.

Не все повреждения генетического аппарата, производимые ионизирующими излучениями, реализуются в виде мутаций. Многие из них исправляются с помощью особых репарирующих ферментов, имеющих в клетках. Существование этого явления репарации четко обнаруживается при изучении индукции фракционированным облучением крупных перестроек хромосом. Выше отмечалось, что мутагенный эффект радиации определяется только суммарной дозой и не зависит от того, дана ли эта доза в один прием или же разбита на меньшие порции разделенные промежутками времени. Это положение верно для генных мутаций и для мелких перестроек, обязанных единичным ионизациям, т.е. для большинства индуцируемых облучением мутаций, но оно не вполне справедливо в отношении крупных перестроек хромо-

сом, вызываемых двумя или более разрывами. Если вся доза дается сразу, то в клетках одновременно присутствуют многочисленные концы, образовавшиеся при разных разрывах хромосом, и эти концы могут соединяться в новых сочетаниях, что приводит к появлению инверсии, транслокаций и больших делеций. Если же доза дается в несколько приемов, то часть ранее возникших разрывов успевает репарироваться до того, как следующая порция облучения вызовет новые разрывы. В результате та же суммарная доза, но разбитая на несколько фракций, приводит к меньшему числу крупных перестроек хромосом, чем когда она дана сразу. Такой же результат и по той же причине получается, если кратковременное высокоинтенсивное облучение заменить тождественной дозой растянутого во времени менее интенсивного облучения.

Чувствительность разных типов клеток к мутагенному действию ионизирующих излучений может довольно сильно отличаться. Так, у дрозофилы рентгеновские лучи вызывают сравнительно мало мутаций в сперматогониях, много – в сперматоцитах и сперматиде, меньше – в зрелых спермиях, много – в дробящихся яйцах. Подобная дифференциальная восприимчивость разных клеток к мутагенному воздействию радиации обнаружена и у других организмов. Эти различия связаны, по-видимому, с разным состоянием хромосом в разных типах клеток (различная степень спирализации хромосом, неодинаковая плотность упаковки их в ядре) и с разной митотической активностью клеток, что важно вследствие большей повреждаемости хромосом во время митоза. Играет роль, вероятно, и разное содержание репарирующих ферментов и ферментов, участвующих в воссоединении разорванных концов хромосом, а также различная вероятность образования в клетке под влиянием облучения мутагенных свободных радикалов и перекисей, что связано, в частности, с большим или меньшим содержанием воды в протоплазме.

Как уже отмечалось выше, очень различна и чувствительность разных организмов к мутагенному действию ионизирующих излучений. Так, разными исследователями установлено, что одинаковая доза рентгеновских лучей индуцирует у дрозофилы в 4-18 раз меньше генных мутаций, чем у мыши. У бактерий и вирусов радиация вызывает еще гораздо меньше генных мутаций, нежели у дрозофилы. В общем наблюдается грубое соответствие между восприимчивостью организма к генному действию ионизирующих излучений и суммарной длиной молекул ДНК в его хромосомном наборе. Так, бактериальная хромосома, состоящая из ДНК, имеет длину порядка 1000-1500 микронов, а общая длина молекул ДНК в гаплоидном наборе хромосом млекопитающих (в том числе человека) составляет почти два метра, т.е. на три с лишним порядка больше, чем у бактерий, что довольно хорошо согласуется с разницей в частоте мутаций, индуцируемых у этих организмов облучением.

Кроме ионизирующих излучений сильным физическим мутагенам принадлежат ультрафиолетовые лучи. Они характеризуются значительно большей длиной волны (до 400 нм) и меньшей энергией, чем рентгеновские лучи.

В отличие от рентгеновских лучей мутагенность которых не зависит от длины волны, ультрафиолетовые лучи с разной длиной волны очень разнятся своими мутагенными свойствами. Наиболее мутагенны ультрафиолетовые лучи с длиной волны около 260 нм; мутагенность их резко падает как при меньшей, так и при большей длине волны. Высокая мутагенная эффек-

тивность этой части спектра ультрафиолетовых лучей связана с тем, что дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК), составляющая основу хромосом, поглощает ультрафиолетовые лучи именно с длиной волны 260 нм.

Кроме такого прямого действия на ДНК, ультрафиолетовые лучи индуцируют мутации и косвенно, вызывая образование в клетках свободных радикалов и перекисей, обладающих мутагенными свойствами. Такие же мутагенные вещества возникают под влиянием ультрафиолетового света и в жидких, питательных средах, применяемых для культивирования бактерий у бактерий помещенных в облученную среду, заметно возрастает частота мутаций.

Многие повреждения генетического аппарата, вызываемые ультрафиолетовыми лучами, репарируются подобно тому, как это происходит при действии ионизирующих излучений. Добавим, что при ультрафиолетовом облучении наблюдается еще явление фотореактивации, состоящее в том, что более длинноволновые лучи (в диапазоне от 365 до 490 нм, куда относятся наиболее длинноволновые ультрафиолетовые лучи и примыкающие к ним видимые синие лучи) частично подавляют мутагенное действие более коротковолновой части ультрафиолетового света. Это осуществляется с помощью особого фотореактивирующего фермента, исправляющего дефекты, возникающие в ДНК хромосом при поглощении ультрафиолетовых лучей.

Гораздо более слабым физическим мутагеном, чем ионизирующая радиация и ультрафиолетовые лучи, является повышенная температура. У изученных в этом отношении организмов повышение температуры на каждые 10 градусов увеличивает частоту мутаций приблизительно в 3-5 раз. При этом возникают почти исключительно генные мутации. Характер их не отличается от спонтанных. Перестройки хромосом начинают индуцироваться только при приближении температуры к верхнему переносимому организмом пределу. Повышение температуры также усиливает действие других физических и химических мутагенов. Понятно, что все это не относится к теплокровным животным и человеку, у которых температура тела практически постоянна.

Химические мутагены. Химические мутагены, открытые позже физических, насчитывают множество разнообразных веществ и каждый год список их пополняется вновь описываемыми. Наиболее хорошо изученные химические мутагены могут быть разбиты на перечисленные ниже группы.

Самые сильные химические мутагены принадлежат к группе так называемых алкилирующих соединений – высокоактивных веществ, способных переносить алкильные группировки (CH_3 , C_2H_5 и т.д.) в другие молекулы. К числу алкилирующих соединений, мутагенное действие которых исследовано лучше других, относятся диметилсульфат, диэтилсульфат, горчичный газ (иприт) и его производные, этиленмин, N-нитрозоалкилмочевина, нитрозо-метил-мочевина, нитрозоэтилмочевина, 1,4-бисдиазоацетилбутан, этилметансульфонат, диэтилнитрозомочевина. Последние пять из них (а также некоторые другие, здесь не упомянутые), получили название супермутагенов из-за их особенно высокой мутагенности. Самый сильный из известных супермутагенов, диэтилнитрозомочевина, повышает частоту мутаций у мышей (по сравнению со спонтанной) почти в 90 раз, т.е. в пять раз больше, чем максимально переносимая мышами доза рентгеновских лучей. Многие мутагены, принад-

лежащие к группе алкилирующих соединений, обладают еще и канцерогенными свойствами, т.е. могут вызывать возникновение злокачественных опухолей.

Во вторую группу можно отнести вещества, по своей химической структуре близкие к азотистым основаниям, входящим в состав нуклеиновых кислот. Такие аналоги азотистых оснований представлены 5-бромурацилом, 5-бромдезоксиуридином, 5-фтордезоксиуридином, 8-азагуанином, 2-аминопурином, кофеином и рядом других.

Третью группу химических мутагенов составляют акридиновые красители, например акридин желтый, акридин оранжевый, 5-аминоакридин, профлавин.

По своей химической природе эти три группы веществ очень различны, но в пределах каждой из них соединения химически родственны. Как мы увидим в главе 15, это находит отражение в молекулярных механизмах, посредством которых эти группы веществ вызывают мутации: механизмы эти довольно различны и специфичны для каждой из трех групп, но одинаковы или очень близки для соединений, принадлежащих к одной и той же группе.

Четвертая группа – сборная; к ней можно отнести вещества, мутагенные свойства которых изучены сравнительно хорошо, но которые весьма разнообразны по своему химическому строению, почему различаются и молекулярные механизмы их действия. Сюда принадлежат азотистая кислота, гидроксилламин, разные перекиси, уретан и его производные, формальдегид.

Химические мутагены всех этих четырех групп способны индуцировать как генные мутации, так и перестройки хромосом, но соотношение этих двух типов мутаций очень различно в случае применения разных химических мутагенов, в среднем же они вызывают относительно меньше перестроек хромосом и больше генных мутаций, чем ионизирующие излучения и ультрафиолетовый свет. Общая частота мутаций, индуцируемых химическими мутагенами, довольно часто значительно превышает достижимую посредством физических мутагенов, а некоторые супермутагены настолько эффективны, что общая частота вызываемых ими мутаций приближается к 100%.

У эукариотов химические мутагены рассмотренных групп повышают частоту мутаций более или менее одинаково для всех генов, так что соотношение сравнительно часто и относительно редко мутирующих генов («спектр» генных мутаций) остается примерно таким же, как при спонтанном мутационном процессе или при индукции мутаций радиацией. Однако у прокариотов и вирусов некоторые химические мутагены в большей мере действуют на определенные гены (так называемые «горячие точки» хромосом), чем на остальные, так что «спектр» генных мутаций несколько изменяется, причем по-разному в случае разных химических мутагенов.

Для многих химических мутагенов характерно их продленное действие, чего не наблюдается при индукции мутаций физическими мутагенами. Под влиянием физических факторов мутации возникают либо сразу же в момент воздействия, либо в течение некоторого, но все же очень короткого времени (так бывает при перестройках, представляющих результат хромосомных разрывов и последующего воссоединения фрагментов).

Несколько особняком стоит еще одна группа химических мутагенов, довольно сильно отличающаяся по характеру своего действия от всех других как химических, так и физических мутагенных факторов. Это – природные нуклеиновые кислоты, прежде всего ДНК. Введение в организм дрозофилы препаратов ДНК, выделенной из разных источников – из тканей млекопитающих, птиц, рыб, насекомых, растений и из вирусов, вызывает большое число видимых и летальных мутаций, однако мутации эти представлены только генными мутациями и микроделециями; крупные перестройки хромосом, обычно имеющие место среди мутаций, индуцированных другими мутагенами, по видимому, полностью отсутствуют среди мутаций, вызываемых ДНК. Другое важное отличие мутагенного эффекта чужеродных (экзогенных) ДНК от прочих химических и физических мутагенов состоит в высоко избирательном действии ДНК на определенные гены и участки хромосом: частота мутаций некоторых генов возрастает очень сильно (на два-три порядка), а мутабельность других генов не превышает наблюдаемую без воздействия или возрастает в небольшой мере. Поэтому «спектр» мутаций, индуцируемых ДНК у дрозофилы, сильно отличается от «спектра» спонтанных мутаций или мутаций, вызываемых другими мутагенами, ни один из которых не проявляет подобной избирательности при действии на эукариотов. Еще одно отличие заключается в очень продленном мутагенном эффекте ДНК – мутации индуцируются не только в потомстве подвергавшихся воздействию мух, но и в нескольких последующих поколениях потомков, т.е. охватывают период в десятки клеточных поколений. Такого длительного действия не описано ни для одного другого мутагена. Мутагенность чужеродных ДНК отмечена и для некоторых других организмов, у которых проводились такие исследования (бактерий, синезеленых водорослей, кукурузы). Очень вероятно, что мутагенное действие препаратов ДНК обязано хотя бы отчасти тому, что фрагменты вводимых в организм молекул чужеродных ДНК включаются в хромосомы по типу транспозиций, о которых шла речь в предыдущей лекции.

Другие мутагенные факторы. За последние годы выяснилось, что мутагенными свойствами обладают вирусы. Изучение патологических изменений, происходящих в зараженных вирусами клетках человека и животных, показало, что там гораздо чаще встречаются aberrации хромосом, главным образом хромосомные и хроматидные разрывы, чем в здоровых клетках. Иногда эти повреждения настолько резко выражены, что хромосомы оказываются разорванными на несколько частей (фрагментация) или даже на мелкие кусочки (пульверизация). Многие из хромосомных aberrаций в зараженных вирусами клетках напоминают индуцируемые радиацией и другими мутагенами, и это дало повод предположить, что вирусы способны вызывать мутации. Подтверждение этому получено в последние годы. Показано, что заражение культур клеток человека и хомячка вирусом ОВ40 обезьян и некоторыми другими вирусами вызывает в них не только хромосомные перестройки, но и генные мутации. Особенно яркие доказательства тому, что вирусы в самом деле имеют мутагенные свойства, были получены при инъекции дрозофилам разных инфекционных для этого насекомого вирусов, т.е. таких, которые не размножаются в организме дрозофилы и не вызывают там патологических явлений. Выяснилось, что все испытывавшиеся вирусы человека, животных и растений индуцируют у дрозофилы мутации,

причем их мутагенное действие характеризуется теми же особенностями, которые были отмечены для ДНК. Вероятно, именно молекулы нуклеиновой кислоты, содержащиеся в вирусных частицах, представляют мутагенный элемент вирусов; в пользу этого свидетельствуют и результаты некоторых опытов, показавших, что мутагенными свойствами обладает нуклеиновая кислота вирусных частиц, а не их белковая оболочка. Способность вирусов вызывать мутации была обнаружена также у бактерий и актиномицетов.

Выше уже упоминалось, что частота индуцированных мутаций бывает различной в половых клетках, находящихся на разных стадиях развития. Влияние физиологического состояния клеток на мутационный процесс подтверждают и данные об увеличении спонтанной мутабельности по мере их старения. Так, у семян львиного зева, хранившихся в течение 10 лет, частота спонтанных мутаций (14,03%) была почти в 10 раз больше, чем у семян пятилетнего хранения (1,50%).

Причины спонтанных мутаций. Работы по экспериментальному мутагенезу пролили некоторый свет на причины спонтанных мутаций, хотя далеко не все здесь еще ясно, и вопрос о факторах, вызывающих спонтанные мутации, остается в значительной мере нерешенным.

Вполне очевидно, что к числу таких факторов относится естественный фон ионизирующих излучений, образуемый доходящими до поверхности земли космическими лучами, гамма-излучениями земли и радиоактивными веществами (главным образом калием-40, углеродом-14 и радоном), поступающими в очень малых количествах в организмы из окружающей среды (в основном с пищей). Однако действием естественной радиации можно объяснить только относительно небольшую часть спонтанных мутаций. По оценкам разных авторов, у человека от 1/4 до 1/10 спонтанных мутаций может быть отнесено за счет естественного фона ионизирующей радиации. Известное значение в спонтанном мутагенезе у человека, животных, растений и микроорганизмов имеют, очевидно, поражающие их вирусы.

Однако представляется несомненным, что главной причиной спонтанных мутаций являются случайные повреждения хромосом и генов в ходе нормальных метаболических процессов, происходящих в клетке. Многочисленные данные, полученные на вирусах, бактериях, низших растениях, дрожжах и на клетках млекопитающих, показывают, что большинство спонтанных мутаций возникает во время деления хромосом и удвоения (репликации) генов. По-видимому, все мутагены, как физические, так и химические, в принципе универсальны, т.е. могут вызывать мутации у любых форм жизни – от вирусов и бактерий до высших растений, животных и человека при условии, что не будет препятствий к достижению данным мутагеном генетического аппарата. Однако фактически чувствительность разных видов к разным мутагенам далеко не одинакова. Эти различия объясняются в большой мере именно разной доступностью хромосом и генов для того или иного мутагена.

До сих пор мы рассматривали способность мутагенов вызывать перестройки хромосом и генные мутации. Но многие физические и химические мутагены кроме того в той или иной мере повреждают и цитоплазматический митотический аппарат, следствием чего бывает либо нерасхожде-

ние всех разделившихся хромосом, либо неправильное их распределение между дочерними клетками; в первом случае возникает полиплоидия, во втором – анеуплоидия. Известны химические вещества, специфически действующие таким образом. Например, как уже упоминалось, алкалоид колхицин особенно эффективно индуцирует полиплоидные мутации.

Теоретическое и практическое значение работ по искусственному вызыванию мутаций. Установление факторов, вызывающих мутации, и исследование их действия позволили вскрыть ряд закономерностей мутационного процесса, важных для выяснения тонкой структуры и функционирования хромосом и генов, а также для понимания роли мутаций в эволюции. В то же время знание этих закономерностей послужило основой для использования методов искусственного вызывания мутаций в практической селекции и для разработки мер, ограждающих генотип человека от повреждающего действия разных мутагенных факторов.

Работы по экспериментальному мутагенезу наглядно и на очень большем фактическом материале показали, мутации не являются однозначно реакцией на вызывающее их воздействие: один и тот же мутаген приводит к возникновению самых разнообразных мутаций, затрагивающих различные признаки организма и изменяющих их в разных направлениях. Такое отсутствие избирательности генетического действия свойственно почти всем изученным мутагенным факторам и соответствует тому, что известно о ненаправленном характере спонтанных мутаций. Из этого вытекает, что сами по себе мутации не имеют приспособительного значения, хотя и служат тем источником наследственной изменчивости, который позволяет естественному отбору перестраивать наследственные признаки организмов, приспособлявая их к изменяющимся условиям среды. Иными словами, адаптивность эволюционных изменений есть следствие сохранения естественным отбором тех мутаций и их сочетаний, которые оказываются полезными в данной обстановке.

Разработка способов искусственного вызывания мутаций открыла возможность значительного ускорения селекции путем применения мутагенов, что дает селекционеру больший исходный материал для отбора, чем при использовании одних только гораздо более редких спонтанных мутаций. Сочетанием обычных селекционных методов с искусственным вызыванием генных и сегментных мутаций ионизирующими излучениями были выведены многие новые высокоурожайные сорта ряда сельскохозяйственных растений ценные штаммы микроорганизмов – продуцентов антибиотиков. В последние годы с этой же целью в селекции все шире и с большим успехом применяются химические мутагены и супермутагены. Используется в селекции растений и искусственное получение полиплоидных мутаций. Результаты работ по искусственному вызыванию мутаций нашли применение и в такой важной практической области, как борьба с вредными насекомыми, наносящими большой урон сельскому и лесному хозяйству или являющимися переносчиками возбудителей болезней человека и животных. Принципы таких генетических методов борьбы с вредными насекомыми были разработаны еще в 1940 г. Серебровским, однако испытания и внедрение этих методов в ряде стран начались только в последние годы, причем достигнуты успехи в сокращении численности локальных популяций некоторых видов вредителей. Суть этого метода заключается в выпуске в природу

ду большого числа самцов подлежащего уничтожению вида, подвергнутых до этого сильному действию радиации или химических мутагенов.

Хромосомные аберрации и генные мутации вызывают многочисленные врожденные уродства и наследственные болезни человека. Поэтому насущной задачей является ограждение людей от действия мутагенов, повышающих в большинстве своем частоту вредных мутаций. Очень важно тщательное соблюдение мер защиты людей от радиации в атомной промышленности, при использовании радиоактивных изотопов, рентгеновских лучей и т.п. Необходимо изучение возможного мутагенного действия различных новых лекарственных средств, инсектицидов, гербицидов, химических препаратов, применяемых в промышленности, а также запрещение производства тех из них, которые окажутся мутагенными. Профилактика вирусных инфекций имеет значение не только для борьбы с вызываемыми вирусами болезнями человека, но и для защиты потомства от мутагенного действия вирусов.

Для предотвращения генетического вреда, причиняемого человеку мутагенными факторами, могут найти применение вещества, снижающие эффект действия мутагенов. Такие вещества, которых за последние годы обнаружено довольно много, получили название антимутагенов. К их числу относятся разнообразные по своей химической природе соединения, например, цистеамин, хинакрин, некоторые сульфаниламиды, производные пропионовой и галловой кислот и многие другие. Разные антимутагены в различной степени тормозят действие разных мутагенов и кроме того эффективность их очень различна у разных организмов. Исследование антимутагенов помимо своего практического значения представляет также интерес для понимания молекулярных механизмов мутагенеза.

Вопросы

1. Что такое мутация спонтанная и индуцированная?
2. Какие мутагены Вам известны?
3. Какие изменения вызывают физические мутагены?
4. На какие группы разделяют химические мутагены?
5. Каково практическое и теоретическое значение работ по искусственному вызыванию мутаций?
6. Какие соединения обладают антимутагенным свойством?

ЛЕКЦИЯ 13. МОДИФИКАЦИИ И НОРМА РЕАКЦИИ

1. Характер зависимости модификаций от вызывающих их факторов

2. Адаптивность модификаций

3. Ненаследственный характер модификаций и проблема наследования приобретённых признаков

4. Норма реакции

5. Различия между модификациями и мутациями

Анализируя изменчивость любого организма, исследователь всегда убеждается в том, что многие различия между особями находятся в большой зависимости от условий окружающей среды. Даже при совершенно

тождественном генотипе две особи могут быть фенотипически несхожими, если они в течение своего развития по-разному питались, находились при разной температуре или влажности, болели разными болезнями и т.п. Такие фенотипические различия, вызываемые внешними факторами у одинаковых в наследственном отношении организмов, называются модификациями.

Изучение модификаций очень важно и в теоретическом, и в практическом отношении. Сведения о модификациях требуются прежде всего для понимания того, как происходит реализация генетической информации. Ведь наблюдаемая совокупность всех морфологических, физиологических и биохимических признаков организма, т.е. его фенотип, определяется не только генами, полученными от родителей, но в большой мере также разнообразными влияниями среды, в которой организм развивался и существует. Выяснить соотносительную роль и характер взаимодействия генотипа и среды в становлении фенотипа особи можно только установив, как окружающие условия изменяют фенотип, т.е. исследовав модификации, возникающие под воздействием различных факторов среды. Далее, знание характера модификаций и причин, их вызывающих, нужно для понимания закономерностей эволюции, поскольку естественный отбор, представляющий ее движущую силу сохраняет благоприятные для организма изменения и отбрасывает вредные, руководствуясь исключительно фенотипом, т.е. оперирует как с мутациями и их комбинациями, так и с модификациями.

Очевидно и большое значение модификаций для практики сельского хозяйства и медицины. Важнейшая задача растениевода, животновода, промышленного микробиолога заключается в создании условий, при которых у хозяйственно полезного организма в наибольшей степени будут развиваться желательные фенотипические признаки и подавляться отрицательные, т.е. возникнут модификации в направлениях, выгодных для человека.

Характер зависимости модификаций от вызывающих их факторов. Модификации представляют однозначные реакции организма на воздействие среды: одно и то же воздействие вызывает одинаковую и вполне определенную модификацию у всех подвергающихся ему генотипически сходных особей. В этом одно из главных отличий модификации от мутаций, как правило, лишенных направленности (ведь каждый мутаген способен вызывать самые различные мутации, а разные мутагены могут быть причиной одинаковых мутаций).

Такая определенность, однозначность модификаций прослеживается во всем органическом мире от самых примитивных до наиболее высоко развитых форм жизни. Это можно было бы проиллюстрировать бесчисленными примерами, из которых мы приведем лишь несколько, относящихся к организмам, стоящим на разных эволюционных ступенях.

Кишечная палочка усваивает молочный сахар (лактозу) с помощью трех ферментов – галактозидпермеазы, бетагалактозидазы и галактозидтрансацилазы. Если в питательной среде нет лактозы, то эти три фермента в бактериях не вырабатываются и источником углеводов для питания служат другие вещества, чаще всего виноградный сахар (глюкоза). Но стоит перенести бактерии в питательную среду, в которой единственным углеводом является лактоза, как в них сразу же начинается синтез всех трех ферментов, необходимых для ее усвоения. Подобная индукция теми или иными компонентами культуральной среды синтеза ферментов широко распростра-

нена у бактерий и молекулярные механизмы таких модификаций хорошо изучены.

Всем хорошо известно, сколь разительно различаются растения одинакового сорта, выращенные на удобренной и на тощей почве. Модификациями затрагиваются при этом множество морфологических, физиологических и биохимических признаков. Такие различия наблюдаются и тогда, когда выращиваемые на разной почве экземпляры совершенно тождественны в генетическом отношении, например, получены из частей одного клубня или корневища, из черенков одного растения и т. п.

Модификации, также вызванные изменением питания, получаются у многих растений (бобы, душистый горошек, роза, сирень, белая акация и др.) при экспериментальном удалении листьев, вследствие чего увеличивается число зерен хлорофилла в ассимилирующих тканях стебля и черешков листьев, а также заново образуются хлоропласты в нижележащих слоях клеток, возникает и развивается палисадная паренхима.

У ряда растений листья, развивающиеся в тени, сильно отличаются от освещаемых солнцем.

У стрелолиста форма листьев – погруженные листья длинные и тонкие, плавающие листья широкие и надводные листья стреловидные стоячие. Изменяя уровень воды, можно получить у таких растений воздушные и водяные листья в желаемом месте стебля и даже добиться того, что одна часть листа будет иметь характерную «воздушную» форму, а другая часть того же листа – «водяную» форму.

У китайской примулы при высокой температуре (30° и больше) образуются белые цветки, а при более низкой температуре – розовые. У льна, наоборот, белые цветки развиваются при низкой температуре, а окрашенные (голубые) – при умеренной или высокой. Регулируя температурные условия во время формирования цветков, можно у этих (и у некоторых других) растений получить интенсивно окрашенные, слабо окрашенные или белые цветки.

Не менее разнообразны модификации животных. Начнем с примеров, относящихся к беспозвоночным. У пресноводного рачка гиалодафнии особи весенних поколений, выросшие при низкой температуре и скудном питании характеризуются низкой головой («шлемом»), а у особей летних поколений развивающихся в более теплой воде и обильно питающихся, «шлем» высокий.

Окраска бабочек сильно варьирует в зависимости от температуры. Особенно заметно это в семействе многоцветниц.

Примером модификации у птиц может быть изменение яйценоскости под влиянием длины светового дня. Молодки позднего выводка – плохие несушки, но их яйценоскость удается значительно улучшить, искусственно удлиняя световой день до 13-14 часов. У индеек описана модификация, вызываемая жарким климатом. В птицеводческих хозяйствах на юге США было обнаружено, что у индюшат мамонтовой бронзовой породы (но не других пород) в возрасте двух-четырех месяцев часто образуется отвислый зоб, после того как они в знойную погоду пьют много воды. Затем отвислость зоба прогрессирует и многие птицы погибают от пневмонии или от инфицирования ран зоба, наносимых ими самими. Связь этой аномалии с климатическими условиями выяснилась тогда, когда половину молодых индюшат перевезли в более прохладную местность, где отвисание зоба полностью прекратилось.

Степень выраженности модификации, как правило, пропорциональна силе и продолжительности действия на организм вызывающего модификацию фактора. Другими словами, чем интенсивнее и длительнее воздействие такого фактора, тем сильнее модифицируется фенотип организма характерным для этого фактора образом.

Адаптивность модификаций. В подавляющем большинстве случаев модификация представляет собой полезную, приспособительную реак-

цию организма на тот или иной внешний фактор. Это можно видеть на примере почти всех перечисленных выше и множестве других модификаций микробов, растений, животных и человека.

Изучение этого вопроса у разных организмов показало, что адаптивными бывают только те модификации, которые вызываются обычными изменениями природных условий, множество раз встречавшимися особям данного вида на протяжении его прошлой эволюционной истории. Если же организм попадает в необычные обстоятельства, с которыми не приходилось сталкиваться его предкам, то возникают модификации, лишенные приспособительного значения. Изменения не только количества, но и качества пищи могут обуславливать возникновение модификаций. Особенно хорошо это видно при авитаминозах. Недостаток витамина А и рибофлавина (витамин В₂) в кормовом рационе свиноматок в первый месяц супоросности ведет к рождению поросят с дефектами глаз, раздвоенным небом, укороченной нижней челюстью и другими дефектами. Ряд болезненных состояний человека с характерными для каждого из них изменениями различных тканей и органов связан с недостатком в пище тех или иных витаминов (цинга при недостатке витамина С, бери-бери при недостатке витамина В₁, куриная слепота и ксерофтальмия при недостатке витамина А, рахит при недостатке витамина D т.д.).

Не имеют приспособительного значения (а нередко представляют даже настоящие уродства) модификации, вызываемые физическими и химическими факторами, с которыми организм не сталкивается в природе или которые применяются в эксперименте с интенсивностью, превосходящей встречающуюся в естественных условиях. Индуцированные таким образом модификации часто называют морфозами. Некоторые из этих морфозов очень похожи на изменения, вызываемые мутациями известных генов. Такие модификации, напоминающие проявление известных генов получили название фенокopies.

Степень стойкости модификаций. В отличие от высокой константности мутаций, модификации обладают разной степенью стойкости. Многие из них обратимы, т.е. возникшее изменение постепенно исчезает на протяжении жизни особи, если устранено вызвавшее его воздействие. Так, загар у человека проходит, когда кожа перестает подвергаться инсоляции; объем мышц уменьшается после прекращения тренировки; количество эритроцитов, возросшее вследствие пребывания человека или животного высоко в горах, падает после возвращения в долину; потемневшая на черном фоне окраска саламандры светлеет при переселении животного на песчаную почву; воздушные листья стрелолиста заменяются водными при подъеме уровня воды и т.п. Другие модификации, главным образом возникшие на ранних стадиях онтогенеза, сохраняются в течение всей жизни особи. Например, личинка пчелы превращается в зависимости от качества скармливаемой ей пищи либо в матку, либо в рабочую пчелу; человек на всю жизнь остается кривоногим, если в детском возрасте его кости неправильно формировались от недостатка витамина D в пище. Относительно немногие модификации могут проявлять некоторое последствие, частично распространяясь на следующее поколение. Так, у млекопитающих потомки, выношенные и выкормленные истощенной матерью, как правило, мельче и слабее сверстников, происходящих от цветущих здоровьем матерей; растения, выросшие на скудной почве, часто дают щуплые семена, всходы из которых уступают, по крайней мере на первых порах, всходам из семян растений, выросших на плодородной почве. Однако подобное влияние материнских модификаций на потомство обычно довольно быстро сходит на нет, если потомки не подвергаются действию факторов, вызвавших модификацию у матери.

Ненаследственный характер модификаций и проблема наследования приобретенных признаков. В отличие от мутаций, модификации не передаются по наследству. Однако еще долгое время после того, как положение это было до-

казано тщательными генетическими исследованиями, оно с сомнением воспринималось многими биологами, а некоторыми даже горячо оспаривалось.

Множество тщательных опытов, проведенных на разных организмах, показало ненаследуемость модификаций, вызываемых прямым воздействием пищи, света, температуры, влажности и других подобных факторов, а также упражнением и неупражнением органов.

Отрицательные результаты дала проверка сообщений последователей Лысенко о якобы полученном ими наследовании изменений, вызванных «вегетативной гибридизацией» у млекопитающих животных и птиц, заключавшейся в межвидовых и межпородных сращиваниях особей, пересадке гонад, переливании крови или яичного белка. Повторение этих опытов при соблюдении мер, необходимых для ограждения от ошибок, связанных с использованием генетически нечистопородного исходного материала, отсутствием надлежащего контроля и т. п. показало, что приемы, применявшиеся при так называемой «вегетативной гибридизации» у животных, не вызывают у них никаких наследственных изменений.

Норма реакции. Фенотип организма определяется, с одной стороны, генетической информацией, полученной им от родителей, т.е. его генотипом, с другой стороны – теми конкретными условиями среды, в которых эта информация реализуется в ходе развития организма. Относительная роль генотипических факторов и факторов среды в формировании разных признаков организма может быть очень различной. Так, характер расположения листьев на стебле растения (спиральное, супротивное или мутовчатое) и тип их жилкования (параллельное, перистое, пальчатое, дихотомическое) почти нацело обусловлены генотипом и лишь очень незначительно изменяются под влиянием внешних условий. Форма листовой пластинки, степень ее рассеченности, зазубренности краев значительно больше зависит от среды (вспомним рассмотренные выше примеры, касающиеся стрелолиста и водяного лютика), но у большинства видов все же определяются в основном генотипом растения. За интенсивность же зеленой окраски листьев ответственны главным образом внешние факторы – плодородие почвы и особенно освещение; роль наследственности здесь относительно невелика. У человека можно проследить всю гамму переходов от признаков, полностью определяемых генотипом (каковы, например, группы крови или цвет радужной оболочки глаз), через такие, на которые факторы среды налагают заметный отпечаток (как, например, рост), к признакам, очень сильно зависящим от внешних условий (например, вес тела или степень развитости мышц). Но у всех организмов характер фенотипических изменений, вызываемых влиянием среды, т.е. способность организма отвечать на действие внешних факторов именно такими, а не иными модификациями, или норма реакции организма, всегда бывает врожденной, обусловленной его генотипом.

Знание различий между мутациями и модификациями важно как в теоретическом, так и в практическом отношении. Для понимания эволюционного процесса нужно иметь в виду, что естественный отбор в равной мере учитывает как мутационные, так и модификационные изменения фенотипа, но наследуются только первые. При селекции домашних животных, культурных растений и полезных микроорганизмов следует принимать во внимание, что желательные изменения, носителей которых оставляют для размножения, могут быть обусловлены как мутациями (тогда эти изменения наследуются), так и модификациями (тогда они не передаются потомкам).

Модификации	Мутации
1. Определенность (каждый внешний фактор вызывает изменение определенных признаков в определенных направлениях).	1. Неопределенность (один и тот же внешний фактор может вызывать изменения разных признаков в разных направлениях, разные

	внешние факторы могут вызывать одинаковые изменения).
2. Степень изменения признака прямо пропорциональна силе или длительности действия внешнего фактора, вызвавшего изменение.	2. Степень изменения признака не зависит от силы или длительности действия внешнего фактора, вызвавшего изменение.
3. Большинство имеют адаптивное значение.	3. За редкими исключениями не имеют адаптивного значения.
4. Нередко обратимы в течение жизни особи (постепенно исчезают после прекращения действия внешнего фактора вызвавшего изменения).	4. Константны (не исчезают в течение жизни особи)
5. Не наследуются.	5. Наследуются

Вопросы

1. Являются ли модификации наследственным признаком?
2. Передаются ли модификации по наследству?
3. Что такое норма реакции?
4. Что такое морфозы и фенкопии?
5. Каковы основные различия между модификациями и мутациями.

ЛЕКЦИЯ 14. РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ

1. Индукция и репрессия генов

2. Модель оперона

3. Переключение генной активности во время фаговой инфекции

4. Особенности генетической регуляции у высших эукариот

5. Другие формы регуляции генной активности у про- и эукариотов

В любой клетке различие между ее фенотипом и генотипом определяется механизмами регуляции работы генов, кодирующих структуру полипептидов, белков, рРНК и тРНК. Такие гены называют структурными. Именно регуляцией активности структурных генов объясняется тот факт, что, несмотря на идентичность генотипов клеток многоклеточного организма, они значительно различаются по строению и функции. Переключение синтеза с одних белков на другие лежит в основе всякого развития, будь то репродукция вирусов в зараженных клетках, рост и спорообразование у бактерий, развитие эмбрионов или дифференцировка тканей. На каждом этапе этих процессов синтезируются специфичные белки.

Известно несколько типов механизмов, с помощью которых один и тот же набор генов в неодинаковых условиях жизнедеятельности организма и на разных стадиях развития детерминирует синтез белков. Регуляция экспрессии (выражения) генов может осуществляться на нескольких уровнях: генном, транскрипционном, трансляционном и функциональном. Первый из них связан с изменением количества или локализации генов, контролирующих данный признак. Второй определяет, какие и сколько иРНК должны синтезироваться в данный момент. Третий обеспечивает отбор иРНК, транслирующихся на рибосомах. Четвертый связан с аллостериче-

ской регуляцией активности ферментов. Наконец, контроль действия генов может осуществляться путем посттрансляционной модификации полипептидов, посттранскрипционной модификации иРНК и другими путями.

Рассмотрим подробнее транскрипционный уровень регуляции, в отношении которого имеется большое число данных, полученных главным образом на бактериях.

Индукция и репрессия генов. Действующие в клетках про- и эукариот регуляторные механизмы обеспечивают: 1) возможность включения или выключения экспрессии гена в ответ на изменение внешних условий; 2) программированное каскадное включение экспрессии многих генов.

Первый тип регуляции наиболее полно изучен у бактерий. У *E.coli* ферменты, обеспечивающие утилизацию сахаров в качестве единственных источников углерода и азота, синтезируются лишь в ответ на появление в среде индуктора-субстрата, которым служит соответствующий сахар. До появления субстрата в среде ген, ответственный за синтез фермента, осуществляющего его гидролиз, неактивен, или репрессирован. Под действием индуктора происходит дерепрессия гена: он включается (индуцируется).

Выключение генов (репрессия) также может вызываться факторами внешней среды. Так, большинство генов, кодирующих ферменты синтеза аминокислот у *E.coli* или *S.typhimurium*, функционируют, когда в среде культивирования отсутствуют соответствующие аминокислоты. При выращивании в питательной среде, содержащей достаточное для роста бактерий количество этих же аминокислот, экспрессия кодирующих их генов подавляется. Эти примеры показывают существование двух групп генов (и соответственно ферментов). Одни из них в норме репрессированы и их дерепрессия происходит под влиянием индукторов, другие находятся в дерепрессированном состоянии и репрессируются собственными продуктами. Несмотря на это различие, принципиальные механизмы регуляции обеих групп генов сходны – они действуют на уровне транскрипции и будут рассмотрены далее на примере генов, контролирующего сбраживание лактозы и биосинтез некоторых аминокислот у бактерий.

Регуляция второго типа, обеспечивающая запуск «цепной реакции» включения многих генов, обнаружена у фагов, инфицировавших клетки бактерий. При сравнении наборов фаговых иРНК были открыты «ранние» и «поздние» фаговые гены, причем каждая группа генов функционирует лишь на определенной стадии репродукции фага.

Следует отметить, что оба типа регуляции осуществляются в отношении лишь тех генов, постоянное функционирование которых нежелательно для клетки, поскольку при этом расходуется энергия, необходимая для ее роста и размножения в условиях, когда продукты, кодируемые этими генами, не требуются (например, синтез ферментов, расщепляющих сахара, отсутствующие в среде культивирования бактерий, либо образование ферментов биосинтеза аминокислот, находящихся в среде культивирования в достаточном количестве). Многие же гены детерминируют синтез таких продуктов, которые нужны клетке постоянно, например ДНК- и РНК-полимераз, рибосомальных белков, молекул тРНК и рРНК и др. Подобные гены обычно экспрессируются постоянно, поэтому их называют конститутивными.

Модель оперона. Исследование механизмов регуляции генов, кодирующих утилизацию молочного сахара лактозы у *E. coli*, позволило Ф. Жакобу и Ж. Моно (1961) предложить модель координированного контроля работы структурных генов, известную как модель оперона. Согласно этой модели в ее нынешнем виде, транскрипция группы структурных генов, кодирующих полипептиды, тесно связанные между собой функционально, регулируется двумя контролирующими элементами – геном-регулятором и оператором. Последний представляет собой последовательность нуклеотидов, примыкающую к регулируемым структурным генам. Если продуктом гена-регулятора является белок-репрессор, его присоединение к оператору блокирует транскрипцию структурных генов, создавая стерические препятствия для присоединения РНК-полимеразы к специфичному участку-промотору, необходимому для инициации транскрипции. Напротив, если белком-регулятором служит активный апоиндуктор, его присоединение к оператору создает условия для инициации транскрипции. Оператор часто локализуется между промотором и структурными генами. Последовательность ДНК, состоящая из тесно сцепленных структурных генов, оператора и промотора и образующая единицу генетической регуляции, называется опероном. Ген-регулятор может локализоваться рядом с опероном или на расстоянии от него. В регуляции работы оперонов участвуют также низкомолекулярные вещества – эффекторы, выступающие как индукторы либо корепрессоры структурных генов, входящих в состав оперонов.

Различают индуцируемые и репрессируемые опероны в зависимости от типа влияния на их работу молекул-эффекторов. У индуцируемых оперонов эффектор присоединяется к белку-репрессору и блокирует его связывание с оператором, препятствуя транскрипции структурных генов. Такой тип регуляции работы оперона называют негативным. Наряду с этим индуцируемые опероны могут находиться под позитивным контролем регуляции, при котором эффектор связывается с регуляторным белком и активирует его. Активный апоиндуктор присоединяется к оператору, что обеспечивает возможность транскрипции оперона. Оба типа контроля регуляции действуют и в отношении репрессируемых оперонов. При негативном контроле эффектор, являющийся корепрессором, присоединяется к неактивному репрессору и активирует его. В результате репрессор приобретает способность присоединяться к оператору и тем самым блокировать транскрипцию оперона. При позитивном контроле функционирования репрессируемого оперона корепрессор связывается с активным апоиндуктором. Такой комплекс не может присоединяться к оператору, и структурные гены не транскрибируются.

Таким образом, при негативном контроле эффектор связывается с репрессором, что приводит к его инактивации либо активации и соответственно индуцирует либо репрессирует транскрипцию оперона. При позитивном контроле эффектор присоединяется не к репрессору, а к апоиндуктору, что разрешает, или, напротив, блокирует транскрипцию в зависимости от того, какую форму (активную или неактивную) приобретает апоиндуктор в результате связывания с эффектором. Поскольку при транскрипции оперона, состоящего из нескольких структурных генов, образуется один общий транскрипт в виде молекулы полицистронной иРНК, все эти гены экспрессируются координировано.

Оперон, обеспечивающий у *E.coli* способность к сбраживанию молочного сахара – лактозы, состоит из промотора, оператора и трех структурных генов. Ген *lac Z* кодирует фермент β -галактозидазу, катализирующую гидролиз лактозы до глюкозы и галактозы; ген *lac Y* -галактозидпермеазу, обеспечивающую транспорт различных сахаров включая лактозу, мелибиозу и рафинозу в клетку; ген *lac A* - тиогалактозидтрансацилазу, роль которой в утилизации лактозы не ясна. Все три белка обычно присутствуют в клетках *E.coli* в следовых количествах. Однако при выращивании бактерий на среде, в которой единственным источником углерода и энергии служит лактоза, количество указанных ферментов увеличивается в 1000 раз.

В качестве индукторов могут служить различные соединения. Лактоза представляет собой индуктор и одновременно субстрат. Транскрипция *lac*-оперона контролируется двумя элементами: небольшой молекулой-эффектором, циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ) и белком-активатором CAP (от первых букв англ. catabolite activator protein – белок-активатор катаболизма), называемым также белком-рецептором цАМФ.

В структуре промотора *lac*-оперона выявлено два сайта связывания. Один из них взаимодействует с РНК-полимеразой, другой – с комплексом CAP-цАМФ. Присоединение комплекса CAP-цАМФ к своему сайту на промоторе – условие индукции оперона. Следовательно, этот комплекс позитивно контролирует транскрипцию *lac*-оперона. Белок CAP состоит из двух идентичных субъединиц с общей $M_r \approx 45000$, кодируемых геном *cap*, или *cpr*.

Таким образом, транскрипция *lac*-оперона на самом деле находится под двойным – негативным и позитивным – контролем. Комплекс CAP-цАМФ позволяет РНК-полимеразе присоединиться к матричной ДНК до начала транскрипции. Репрессор – продукт гена *lacI* – препятствует инициации синтеза иРНК.

В настоящее время расшифрована полная нуклеотидная последовательность регуляторной области *lac*-оперона, включающая промотор и оператор.

Выяснение структурной организации оператора *lac*-оперона показало, что существенную роль во взаимодействиях мультимерных белков типа *lac*-репрессора или РНК-полимеразы с ДНК играют симметричные структуры – палиндромы. Оператор *lac*-оперона состоит из 26 п.н., из которых 14 представляют собой палиндром: в различных цепях они читаются одинаково, но в противоположных направлениях. Палиндром обнаружен и в участке промотора, связывающемся с комплексом CAP-цАМФ.

Лактозный оперон *E.coli* – пример негативной регуляции транскрипции в случае индуцируемых генов. Рассмотрим теперь, как действует система негативного контроля в случае репрессированного оперона на примере группы генов, детерминирующих биосинтез аминокислоты гистидина у *S.typhimurium*. Гистидиновый (*his*) оперон состоит из девяти структурных генов (*his E, I, F, A, H, B, C, D, G*), порядок расположения которых не соответствует очередности осуществления кодируемых ими этапов метаболизма гистидина, и прилегающей к ним справа операторной последовательности (O). Особенностью регуляции *his*-оперона является участие корепрессора, в отсутствие которого ука-

занные структурные гены транскрибируются. Этим корепрессором служит особым образом модифицированная гистидиновая тРНК. Активный корепрессор образуется под контролем пяти генов, не сцепленных друг с другом и с his-опероном. Мутации в любом из этих генов-регуляторов (his R, S, T, U, W) приводят к конститутивному синтезу ферментов биосинтеза гистидина. Таким образом, в случае his-оперона отсутствует продукт-репрессор, непосредственно выключающий транскрипцию структурных генов путем присоединения к оператору. Вместо одного гена-регулятора имеется целых пять генов, мутации в которых снижают концентрацию и активность корепрессора, способного присоединиться к оператору, блокируя тем самым транскрипцию структурных генов his-оперона. Истинного репрессора -his-оперона не найдено.

Триптофановый оперон обладает важными особенностями, характерными и для других бактериальных оперонов, контролирующих биосинтез аминокислот. Регуляция биосинтеза триптофана осуществляется на трех уровнях. Первый из них связан с ингибированием конечным продуктом, не затрагивающим непосредственно активность генов. Суть этого феномена состоит в том, что один из продуктов биосинтетической цепи, обычно конечный, подавляет активность продуктов-предшественников.

Второй тип регуляции биосинтеза триптофана осуществляется на уровне взаимодействия репрессора с оператором. В отличие от оперонов, определяющих утилизацию сахаров, цАМФ и белок CAP не участвуют в регуляции оперонов, детерминирующих биосинтез аминокислот. Второе отличие состоит в том, что молекула-эффектор не индуцирует генную активность в результате отсоединения репрессора от оператора, а, напротив, подавляет функционирование структурных генов вследствие присоединения к оператору апорепрессора. Последний представляет собой комплекс репрессора с конечным продуктом всего биохимического пути, т.е., в данном случае с триптофаном. Таким образом, триптофан обеспечивает оба уровня регуляции собственного биосинтеза. С одной стороны, он действует как аллостерический ингибитор фермента антранилатсинтетазы, а с другой – входит в состав апорепрессора, блокирующего транскрипцию оперона. При избытке триптофана в среде апорепрессор подавляет образование иРНК, что снижает уровень продукции ферментов биосинтеза триптофана примерно в 70 раз.

Переключение генной активности во время фаговой инфекции. Несмотря на различия специфических механизмов, с помощью которых отдельные фаги перестраивают клеточный метаболизм, все они несут две группы генов. Одни, называемые «ранними», выражаются сразу же после инфекции. Продукт одного из нескольких таких генов обеспечивает включение одних и выключение других «ранних» генов, которые, в свою очередь, регулируют следующую группу генов и т.д. Подобная регуляция последовательного выражения генов происходит на уровне транскрипции.

Ещё более сложная система обеспечивает каскадную регуляцию генной активности в случае фага T4. Однако во всех рассмотренных примерах эта регуляция осуществляется на уровне транскрипции и включает специфичные взаимодействия между промоторами и РНК-полимеразой, обусловленные σ -факторами.

Регуляция активности генов у эукариотов. У эукариотов существует другой путь регуляции активности генов, отсутствующий у более простых форм – это одновременное групповое подавление активности генов во всём

ядре, в целой хромосоме или в большом её участке. Такая групповая репрессия работы генов осуществляется в значительной мере гистонами. В ядрах дифференцированных клеток большинство генов находится в репрессивном состоянии, число же активно работающих структурных генов различно в различных органах и тканях и на разных стадиях развития. У высших эукариотов клетка содержит чаще всего от 10 тыс. до 20 тыс. разных мРНК, но большинство из них представлено в малом количестве, обычно порядка 10 копий на клетку. Напротив, остальные 10% типов мРНК буквально наводняют клетку – там их бывает от тысячи до 150 тыс. молекул каждого типа.

Все структурные гены эукариотов можно условно разделить на три типа. Во-первых, гены, функционирующие во всех клетках организма (гены, кодирующие ферменты энергетического обмена, а также гены, ответственные за синтез важнейших макромолекул и образование общих для всех клеток структур). Во-вторых, гены, функционирующие только в тканях одного типа (определяющие синтез миозина в мышцах, коллагена – во всех опорных тканях и т.п.). В третьих, гены, нужные для выполнения более узких функций (синтеза гемоглобина в эритроцитах, гормонов в эндокринных железах, белка хрусталика, фиброина шелка, кератина волос и т.д.). У вирусов и прокариот мРНК почти всегда оперон содержит только один структурный ген, у прокариот их несколько. У эукариотов структурные гены, ответственные за разные звенья той или иной цепи биохимических реакций, как правило, разбросаны по геному.

У эукариотов широко распространена согласованная регуляция генов, принадлежащих к разным оперонам, пространственно разобщённых в хромосоме или даже находящихся в разных хромосомах. Наиболее яркий пример групповой регуляции активности генов – это полное прекращение транскрипции всех генов, происходящее в сперматогенезе у животных. Групповое выключение генов, находящихся в одной хромосоме, происходит в онтогенезе самок млекопитающих. У них гены обеих X-хромосом активны на ранних эмбриональных стадиях, до определения пола. С определённой стадии развития гомогаметных особей в их соматических клетках одна из двух X-хромосом целиком гетерохроматизируется и гены перестают транскрибироваться. Вследствие этого у гомогаметного пола фенотипически проявляется только один набор лежащих в X-хромосоме генов, т.е. в этом отношении положение уравнивается с гетерогаметным полом.

Другим способом эта же цель достигается у дрозофилы. Здесь активность X-хромосомных генов вдвое выше, чем у самок. Явление это получило название компенсации доз генов.

Особенности генетической регуляции у высших эукариот. Важнейшая особенность функционально-генетической организации эукариот – отсутствие у них оперонов, подобных оперонам бактерий. У высших эукариот гены, кодирующие ферменты, катализирующие последовательные этапы биосинтеза какого-либо метаболита, могут находиться в разных участках одной хромосомы или даже в разных хромосомах. Тем не менее и физико-химический и прямой визуальный анализ вновь синтезированной РНК с помощью электронного микроскопа показывают, что очень часто она состоит из огромных молекул длиной в несколько десятков тысяч нуклеотидов. Поэтому правильнее говорить о функциональной генетической

единице у эукариот как о транскриптоне (Г.П. Георгиев), т.е. участке ДНК, с которого считывается единая непрерывная молекула РНК.

Тем не менее координация работы генов, детерминирующих какие-либо функции клетки, убедительно показана на ряде примеров. Так, введение в организм животного гидрокортизона или фенobarбитала, являющихся индукторами-дерепрессорами генома клеток печени, активирует группу генов, среди которых находятся как гены, кодирующие определенные белки, так и гены рРНК и тРНК. Иными словами, в ответ на действие указанных индукторов активируется целая батарея генов. Предполагается, что существование гомологичных повторов способствует тому, что сигналы индукции служат как бы «ключами», отпирающими один и тот же «замок» в различных генах одной батареи. Это может означать, что один и тот же белок-репрессор связан с гомологичными повторами в каждом члене одной генной батареи.

Фактов, указывающих на существование системы генетической регуляции в клетках высших растений и животных, немало: часть из них рассматривается в связи с проблемами генетики развития, другие – при описании особенностей транскрипции у эукариот.

Существенная особенность генетической регуляции в клетках эукариот – то, что процесс транскрипции зависит от состояния хроматина. Локальная компактизация ДНК в структуре хромомера полностью блокирует синтез РНК.

Другие формы регуляции генной активности у про- и эукариот. Генная активность может регулироваться в процессе развития организма. Известно, например, что у человека каждая молекула гемоглобина состоит из двух полипептидов типа α и двух типа β . Полипептид типа α состоит из двух цепей – ζ и α . Обе цепи кодируются дублированными генами (ζ_1 , ζ_2 и α_1 , α_2). Гены ζ активируются в раннем эмбриогенезе, гены α – преимущественно у плодов и у взрослых организмов. Полипептиды типа β представлены субъединицами ϵ , γ , δ , β . Кодирующие их гены расположены в 11-й хромосоме, причем также в порядке их экспрессии. Ген ϵ экспрессируется у эмбрионов, γ – у плодов, δ и β – у взрослых особей. Однако ген δ экспрессируется плохо, поэтому у взрослых гемоглобин состоит из четырех цепей $\alpha_2\beta_2$.

Модификации ДНК, главным образом метилирование цитозина, также влияют на действие генов. Например, активные гены гемоглобина менее метилированы, чем неактивные.

Примеры регуляции на генном уровне – различные случаи программных количественных изменений ДНК.

Примером регуляции, обусловленной транспозицией служит феномен переключения типов спаривания у дрожжей, который будет рассмотрен.

Регуляция, связанная со сплайсингом ДНК, изучена на примере генов, кодирующих синтез антител. Сплайсинг обеспечивает сшивание консервативных (т.е. постоянно присутствующих) районов этих генов с различными варьирующими. Подобный механизм лежит в основе разнообразных комбинаций последовательностей, в результате чего появляется большое число типов антител, поскольку любая консервативная область может быть присоединена к любой варьирующей. Регуляция на уровне процессинга РНК обеспечивает возможность образования зрелой, функционально активной иРНК.

Экспрессия генов на уровне посттрансляционной модификации полипептидов регулируется путем расщепления различных белков-предшественников на их конечные функционально активные продукты.

Рассмотренные примеры свидетельствуют о многообразии способов реализации генетической информации путем регуляции активности самих генов либо их продуктов. Следует, однако, отметить, что для клетки наиболее экономична регуляция на уровне транскрипции, поскольку она препятствует образованию соответствующих иРНК и белков, когда клетка не испытывает в них потребности. Вместе с тем регуляция на уровне транскрипции идет сравнительно медленно, тогда как, например, активация белков путем расщепления молекул-предшественников хотя и неэкономична, но происходит очень быстро.

Вопросы

1. Как осуществляется индукция и репрессия генов?
2. Что такое оперон? Кто предложил модель оперона?
3. Каковы функции гена-оператора?
4. Как действует ген-регулятор и что такое репрессор?
5. Какие особенности регуляции активности генов у эукариотов?

ЛЕКЦИЯ 15. ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ

1. *Эукариотические микроорганизмы*
2. *Прокариотические микроорганизмы*
3. *Бактериофаги*
4. *Рекомбинация у микроорганизмов*
5. *Трансформация*
6. *Трансдукция*
7. *Конъюгация*
8. *Внехромосомные генетические элементы микроорганизмов*

Генетика микроорганизмов зародилась в 1940 г., когда Г. Бидл и Э. Татум поставили классические эксперименты по получению и анализу индуцированных мутаций у гриба *Neurospora crassa*. Эти опыты позволили сформулировать концепцию «один ген – один фермент» и положили начало современной биохимической генетике. Вскоре в круг объектов генетических исследований были включены и другие микроорганизмы – прокариоты (бактерии, синезеленые водоросли), эукариоты (грибы и водоросли) и вирусы, в первую очередь вирусы бактерий – бактериофаги.

Благодаря этим исследованиям на микроорганизмах была установлена роль ДНК как генетического материала, выяснены тонкая структура генов и принципы регуляции их действия, расшифрована общая природа генетического кода, раскрыты многие молекулярные механизмы репликации, рекомбинации, репарации и мутагенеза ДНК.

Исследования по генетике микроорганизмов в значительной мере способствовали возникновению новых отраслей биологии (молекулярной биологии, молекулярной генетики, вирусологии, биотехнологии) и новых аспектов классических биологических наук (изучение эволюции и систематики различных видов путем сравнения структурной организации их генов и генных

продуктов, исследование молекулярных механизмов канцерогенеза и старения; изучение возможности межвидового обмена генетическим материалом в природе и т.д.). Важное значение имеет генетика микроорганизмов и для медицины. С ее помощью расшифрованы многие молекулярные механизмы патогенности микробов и их устойчивости к лекарственным препаратам, причины появления атипичных форм патогенных бактерий. Углубленное изучение генетики микроорганизмов позволило использовать их в качестве тест-систем для выявления факторов загрязнения окружающей среды. Наконец, достижения молекулярной генетики микроорганизмов, открытые ею закономерности, ее идеи и методы легли в основу наиболее современного направления биологической науки – генной инженерии.

Эукариотические микроорганизмы. Нейроспора. Первым микроорганизмом, использованным для генетических исследований, стала нейроспора *Neurospora crassa* – плесневый хлебный гриб из класса аскомицетов. Размножается бесполом (вегетативным) и половым путем. В вегетативном состоянии тело гриба представляет собой мицелий, от которого отходят вверх спороносные гифы – конидиеносцы, содержащие цепочки спор – конидий. Они образуются вследствие митотического деления гаплоидных клеток мицелия. Конидии пигментированы и придают колониям характерный цвет (от розового до оранжевого). Зрелые конидии легко отделяются от гиф и разносятся по воздуху. Попадая в благоприятные условия, они прорастают и вновь образуют вегетативный мицелий, который состоит из многоядерных клеток, причем каждое ядро гаплоидно и содержит семь хромосом. Нейроспора – героталлический гриб, т.е. оплодотворение возможно лишь между клетками разного происхождения и разных типов спаривания (А либо а). Гаплоидный мицелий образует незрелые плодовые тела – протоперитеции, которые оплодотворяются конидиями или гифами мицелия противоположного типа спаривания. Диплоидное ядро образующейся зиготы дважды мейотически делится, что приводит к удлинению клетки и образованию сумки (аска), в которой находятся гаплоидные продукты мейоза – четыре аскоспоры. Каждая аскоспора содержит одну из хроматид тетрады, образующейся в диплотене мейоза и состоящей из четырех хроматид от двух хромосом (материнской и отцовской). Четыре аскоспоры одного аска обычно называют тетрадой, отсюда анализ проводимый по гаплоидным продуктам мейоза, называют тетрадным. Вслед за мейотическими делениями происходит митотическое, в результате которого в каждом аске образуются восемь (четыре пары) аскоспор. Аскоспоры в одном аске после митотического деления называют октадой. Существенно, что линейное расположение аскоспор в аске соответствует ходу мейотического деления, поэтому порядок расположения аскоспор позволяет судить об их происхождении относительно этапов мейоза. Если аскоспоры будут различаться между собой (например, окраской), то можно подвергнуть анализу расщепление признаков в процессе мейоза.

Дрожжи. Это одноклеточные грибы, различающиеся по типу деления. К почкующимся относятся сахаромицеты (*Accharomyces cerevisiae*), к равноделящимся – шизо-сахаромицеты (*Schiziaccharomyces pombe*). Вегетативный рост дрожжей сменяется половым размножением, поэтому их жизненный цикл включает стадии митоза и мейоза. Вегетативные клетки

(в отличие от нейроспоры) диплоидные. Известны два вида штаммов дрожжей – гетероталлические и гомоталлические.

Использование сахаромицетов дает ряд уникальных возможностей для генетического анализа, в том числе возможность исследования закономерностей рекомбинации на стадии четырех хроматид с помощью тетрадного анализа. В отличие от мицелиальных грибов клетки дрожжей одноядерны, что служит важным преимуществом для количественной оценки мутационного процесса, проведения радиобиологических исследований и т.д.

Прокариотические микроорганизмы. К микроорганизмам – прокариотам – относятся цианобактерии (синезеленые водоросли), бактерии и близкие к ним актиномицеты. Наиболее генетически изучены различные представители истинных бактерий (Eubacteriales). Средний размер клеток 0,8-1,5 мкм в длину и 0,5-2 мкм в ширину.

Морфология клеток бактерий, несмотря на их значительное функциональное разнообразие, имеет принципиально общие черты. Бактерии окружены клеточной стенкой, основу которой составляют пептидогликан или муреин, определяющий ее плотность и ригидность (упругость). Клеточная стенка обуславливает характерную для данных бактерий форму (палочковидную, шаровидную и др.). Химический состав и строение клеточной стенки специфичны для определенных групп бактерий. В зависимости от отношения к окраске по методу К. Грамма бактерии разделяют на грамположительные и грамотрицательные.

В цитоплазме бактерий, заполняющей полость клетки, отграниченную цитоплазматической мембраной, содержатся мезосомы, рибосомы, плазмиды и нуклеоид. Здесь же присутствуют растворимые белки, например, белки-репрессоры различных индуцируемых оперонов, многие ферменты.

Нуклеоид бактерий и других прокариот представляет собой эквивалент ядра клетки эукариот. Он не окружен мембраной, отделяющей у эукариот ядро от цитоплазмы, а расположен в виде компактной массы в центре клетки, занимающей свыше 1/3 ее объема. В состав нуклеоида входят ДНК, РНК и белки. Число нуклеоидов в бактериальной клетке может варьировать от одного (в культурах, находящихся в стационарной фазе роста) до двух (в стадии задержки размножения после переноса клеток в свежую среду) и четырех (в культурах с постоянной скоростью роста). Каждый нуклеоид содержит двухцепочечную замкнутую в кольцо молекулу ДНК с $M_r(1-3) \cdot 10^9$. В молекуле ДНК нуклеоида закодирована вся генетическая информация, необходимая для жизнедеятельности клетки, поэтому нуклеоид рассматривают как бактериальную хромосому. Кольцевое строение бактериальной хромосомы было доказано Дж. Кэрнсом (1963) методом радиоавтографии. Гигантская молекула ДНК бактериальной хромосомы поддерживается связанными с ней молекулами РНК и белка в форме компактной структуры, свернутой в отдельные сверхспирализованные петли (домены), число которых колеблется от 12 до 80. Типичная бактерия содержит около 10^{-11} мг ДНК или $2 \cdot 10^7$ нуклеотидов с общей длиной 1100 мкм, что в 1000 раз превышает длину самой бактериальной клетки.

Помимо хромосомной ДНК в состав генома многих прокариот входят также сверхскрученные, ковалентно-замкнутые кольцевые молекулы

внехромосомной, или плазмидной, ДНК, по величине составляющие в среднем около 1/100 бактериальной хромосомы.

Распределение (сегрегация) ДНК хромосом и плазмид между делящимися клетками происходит без видимой реорганизации внутренней структуры, характерной для митозов у эукариот, и без образования веретена. Данные электронно-микроскопического исследования спорообразующих бацилл показывают, что нуклеоид прикреплен к мезосоме – структуре, сформированной путем впячивания цитоплазматической мембраны в цитоплазму. Подобные прикрепления к участкам мембраны характерны и для плазмид на определенных стадиях клеточного цикла. После окончания репликации ДНК хромосом и плазмид отреплицированные дуплексы разделяются благодаря разрастанию мембраны между участками присоединения с двух молекул ДНК, образовавшихся в процессе репликации. Молекулы ДНК расходятся к полюсам клетки, которая затем разделится на две дочерние. В настоящее время из огромного числа существующих в природе бактерий генетически изучено сравнительно немного. К наиболее исследованным в этом отношении объектам относится кишечная палочка (*Escherichia coli*), непатогенный для человека возбудитель мышинного тифа (*Salmonella typhimurium*), различные виды бактерий из рода *Pseudomonas*, вступающие в симбиоз с растениями бактерии из семейства Rhizobiaceae, непатогенный сапрофит сенная палочка (*Bacillus subtilis*), некоторые виды стрептококков и стафилококков, способная к фиксации атмосферного азота бактерия вида *Klebsiella pneumoniae*, различные фотосинтезирующие азотфиксаторы, включая цианобактерии, и некоторые другие. Генетические исследования проводят и на актиномицетах, из которых многие являются продуцентами широко используемых антибиотиков.

Бактериофаги. Вирусы бактерий – бактериофаги или фаги могут быть разделены на два класса – вирулентные и умеренные. Среди вирулентных фагов наиболее изучены семь фагов Т-группы (от англ. type – тип), в свою очередь, включающие подгруппы Т-четных (Т2, Т4, Т6) и Т-нечетных (Т1, Т3, Т5, Т7). Фаги Т-группы паразитируют на клетках *E.coli*. Независимо от принадлежности к определенной группе жизненный, или литический, цикл вирулентных фагов включает пять стадий: 1) адсорбцию фага на поверхности бактериальной клетки; 2) проникновение фаговой ДНК (или РНК в случае РНК-содержащих бактериофагов) внутрь клетки; 3) внутриклеточное развитие (репродукция фаговых ДНК или РНК внутри клетки); 4) созревание (сборка зрелых фаговых частиц); 5) лизис клеток. Все эти процессы происходят достаточно быстро. Так, одна частица фага Т4 при заражении клеток *E. coli* уже через 20-25 мин образует 200-400 частиц фагового потомства.

Структуру и химический состав фагов можно рассмотреть на примере внешне не отличающихся друг от друга фагов Т-четной группы, имеющих сперматозоидную форму. Они состоят из головки гексагональной формы и отходящего от нее хвостового отростка. В головке фага находится молекула ДНК, окруженная белковой оболочкой. Хвостовой отросток обеспечивает прикрепление фаговой частицы к бактерии. Отросток состоит из полого стержня диаметром около 2,5 нм, окруженного полым футляром, или чехлом, способным к сокращению. Один конец стержня прикреплен к головке, дру-

гой – к шестиугольной базальной пластинке, от которой отходят короткие зубцы с длинными нитями на концах. Длина всего фага от конца хвостового отростка до вершины головки составляет около 200 нм, ширина головки – около 50- 60 нм. Белковая оболочка головки фага, называемая капсидом, а также футляр отростка состоят из упорядоченных полипептидных субъединиц. Сокращение футляра позволяет стержню отростка проникнуть сквозь клеточную оболочку и «впрыснуть» фаговую ДНК в клетку. При этом белковая оболочка фага остается снаружи. Избирательность проникновения в клетку фаговой ДНК была продемонстрирована А. Херши и М. Чейз.

У Т-четных фагов упакованная в фаговой головке ДНК состоит примерно из 200 тыс. п.н., образующих около 100 генов, и имеет длину 34 мкм, что в сотни раз превышает длину самой головки.

ДНК фагов, как и вирусов животных, различается по структуре. Она может быть одноцепочечной: линейной (парвовирус) или кольцевой (фаги φX174, fd); двухцепочечной: линейной (фаг T7), с одноцепочечными разрывами (фаг T5), с замкнутыми концами (вирус оспы) и ковалентно-замкнутой кольцевой сверхспирализованной (паповавирус). Концы линейных молекул вирусных ДНК содержат различные типы повторов. Это либо инвертированные (обращенные) повторы (парвовирус, аденовирус), либо концевая избыточность как с циклическими перестановками нуклеотидов – пермутациями (фаг T4), так и без них.

Характерная черта вирулентных фагов – последовательная экспрессия входящих в их состав «ранних» и «поздних» генов. Если проследить за биохимическими изменениями, происходящими, например, в клетке, зараженной фагом T4, то оказывается, что в первые минуты после адсорбции под контролем «ранних» генов синтезируются иРНК, необходимые для синтеза ДНК и других структурных компонентов зрелого фага. Через 6 мин после адсорбции общий уровень синтеза ДНК в клетке резко повышается, что отражает начало синтеза фаговой ДНК. За 20-25 мин, составляющих скрытый (латентный) период внутриклеточного развития бактериофага, успевают образоваться сотни копий фаговой ДНК. С 9-й минуты после инфекции под контролем «поздних» генов, транскрибирующихся в условиях активной репликации ДНК, с помощью модифицированной РНК-полимеразы хозяина начинают синтезироваться специфичные фаговые белки. Эти белки «одевают» фаговую ДНК в процессе сборки зрелых фаговых частиц. Выход их из клетки приводит ее к гибели.

В отличие от вирулентных умеренные фаги имеют два цикла развития – литический и лизогенный. При заражении бактерий умеренным бактериофагом он может перейти в вегетативное состояние, характерное для вирулентных фагов, что приведет к лизису клетки, либо в состояние профага, при котором бактериальная клетка не погибает. Пример умеренных фагов – фаги γ и φ 80 *E.coli*. Носительство умеренных фагов в форме профагов – широко распространенное свойство различных видов бактерий. Некоторые из них содержат одновременно по несколько профагов. Переход фага в состояние профага связан с включением фаговой ДНК в состав бактериальной хромосомы. При этом ДНК профага реплицируется как часть хромосомы клетки-хозяина. Бактерии, в хромосоме которых находится профаг, называют лизогенными. Ха-

рактрное свойство лизогенных бактерий – иммунитет к литической инфекции осуществляемой тем же или близкородственным фагом.

Рекомбинация у микроорганизмов. Независимо от того, как происходит перенос генетического материала у бактерий – трансформацией, трансдукцией или конъюгацией, – формирование рекомбинантного потомства связано со стабильной интеграцией экзогеноты (гена или группы генов донора) с эндогенотой (геномом реципиента), обуславливающей возможность наследования этой новой генетической информации в ряду поколений.

Исходная структура для образования рекомбинантной хромосомы – мерозигота, т.е. реципиентная клетка, получившая фрагмент хромосомной ДНК донора.

Процесс формирования рекомбинантов состоит из нескольких этапов: 1) пресинапса, или узнавания гомологичных участков; 2) синапса, или спаривания, переносимого фрагмента ДНК донора с хромосомой реципиента; 3) собственно рекомбинации, или интеграции; 4) сегрегации, или выщепления, различных рекомбинантных клонов в процессе клеточного деления.

Рекомбинация участков хромосом или иных репликонов, представленных непрерывными молекулами ДНК, подразделяется на три типа. К первому относится общая, или генерализованная, рекомбинация между молекулами ДНК с протяженными участками гомологии. Обмен гомологичными участками в различных точках приводит к появлению новых сочетаний сцепленных генов. Второй тип – сайт-специфичная рекомбинация, осуществляющаяся на коротких специализированных последовательностях нуклеотидов. Она обеспечивает обмен в основном не гомологичных между собой молекул ДНК. Третий тип – «незаконная» рекомбинация, в результате которой происходят негомологичные обмены.

Трансформация. Процесс трансформации можно разделить на несколько стадий: 1) обратимое присоединение молекул двухцепочечной ДНК к рецепторным сайтам на поверхности клетки реципиента (на этой стадии ДНК донора чувствительна к разрушению ДНК-азой); 2) необратимое поглощение ДНК донора (с этого времени процессу трансформации нельзя помешать обработкой ДНК-азой); 3) превращение двухцепочечной ДНК донора в одноцепочечные фрагменты под действием клеточных нуклеаз; 4) ковалентное присоединение (интеграция) одноцепочечной ДНК донора к хромосоме реципиента; 5) сегрегация и фенотипическая экспрессия интегрированного гена донора (или генов) в рекомбинантной трансформированной клетке.

Важное условие способности клетки к трансформации – развитие у неё особого физиологического состояния, называемого компетентностью. Компетентность можно индуцировать определенными условиями роста клеток.

Условиями, существенными для присоединения ДНК к компетентным клеткам, являются ее размеры (M_r не менее 3×10^5 ; по этой причине ДНК, разрушенная ДНК-азой, не обладает трансформирующей активностью) и интактность двухцепочечной структуры. Одноцепочечная ДНК может присоединяться к клеткам, но характеризуется очень низкой трансформирующей способностью вследствие своей высокой чувствительности к деградирующему действию клеточных нуклеаз.

После присоединения трансформирующая ДНК должна проникнуть внутрь клетки, чему способствует пористость клеточной стенки. Вместе с тем процесс поглощения ДНК донора реципиентной бактерией активен и энергетич-

чески зависим. Перед проникновением, но вскоре после присоединения одна из цепей трансформирующей ДНК надрезается эндонуклеазой, находящейся в периплазматическом пространстве между стенкой и мембраной. Затем эта же или другая эндонуклеаза присоединяется к комплементарной неповрежденной нити и делает в ней несколько надрезов. В результате образуются двухцепочечные фрагменты трансформирующей ДНК с максимальным M_r около 10^7 . Далее эти фрагменты подвергаются экзонуклеазной атаке, приводящей к полной деградации одной цепи ДНК и образованию одноцепочечных фрагментов. Именно в такой форме трансформирующая ДНК проникает внутрь клетки. Предполагается, что по крайней мере в случае пневмококков эта же экзонуклеаза помогает втаскиванию одноцепочечной донорной ДНК в клетку за счет энергии, высвобождающейся при деградации комплементарной цепи.

Первые три стадии трансформации – присоединение ДНК, ее поглощение и деградация одной цепи – осуществляются с равной эффективностью независимо от ее гомологии с ДНК реципиента. На этом основана возможность конкурентного подавления трансформирующей активности гомологичной ДНК препаратами чужеродной ДНК, например из тимуса теленка или спермы лосося. Однако процесс интеграции, или рекомбинации, ДНК специфичен в отношении гомологичной ДНК и с негомологичной ДНК происходит с очень низкой частотой.

Минимальная длина цепочки ДНК, способной интегрировать в реципиентную хромосому, составляет около 500 нуклеотидов. Однако обычно в рекомбинации участвуют ДНК донора длиной около 200 тыс. нуклеотидов или 1/200 всей бактериальной хромосомы.

Трансдукция. Трансдукцией называется перенос ДНК из одной клетки (донора) в другую (реципиент) с помощью бактериофагов. Этот способ генетического обмена был открыт в 1952 г. Н. Зиндером и Дж. Ледербергом в отношении штаммов *Salmonella* и фага P22. С тех пор возможность трансдукции была подтверждена на различных бактериях и фагах. Различают три типа трансдукции: общую (или неспецифическую, генерализованную), ограниченную (или специфическую) и abortивную.

В случае общей трансдукции фрагменты бактериальной ДНК донора могут случайно включиться в созревающую фаговую частицу вместе с фаговой ДНК или даже вместо нее. Это ведет к образованию трансдуцирующих частиц дефектного фага, утратившего часть своего генома. При таком типе трансдукции в головку фага может упаковываться бактериальная ДНК длиной $1/50=1/100$ от всей хромосомы, т.е. имеющая $M_r (2,5-5,0) \cdot 10^7$. При ограниченной трансдукции происходит рекомбинация между фаговой и хромосомной ДНК, поэтому фаговые трансдуцирующие частицы обязательно содержат ДНК обоих типов. При abortивной трансдукции трансдуцируемый фагом фрагмент ДНК донора не включается в хромосому клетки-реципиента, а остается в ее цитоплазме и в таком виде способен поддерживаться и проявляться фенотипически. Во время деления этот фрагмент передается только одной из двух дочерних клеток, т.е. наследуется однолинейно. В конечном итоге он утрачивается в потомстве, однако с помощью abortивной трансдукции можно установить, относятся ли мутации, контролируемые потребностью в каком-либо веществе, к разным цистронам или к одному и тому же, т.е. провести цистранс-тест.

Конъюгация. Основу генетического анализа составляет изучение рекомбинации или перераспределения наследственной информации донорного и реципиентного организмов. Необходимая предпосылка рекомбинации у эукариот – слияние двух гаплоидных гамет с образованием диплоидного ядра – зиготы. Дж. Ледерберг и Э. Татум (1946) обнаружили, что у бактерий также существует половой процесс в форме прямого переноса генетического материала от одной бактериальной клетки (донора) к другой (реципиенту) при их непосредственном контакте. Этот процесс назван конъюгацией. Во время конъюгации от двух до 10 и более донорных и реципиентных клеток образуют агрегаты скрещивания. Их формированию способствуют половые ворсинки (пили), находящиеся на наружной поверхности доноров. Втягивание таких ворсинок внутрь донорной клетки после их присоединения к специфичным рецепторам на поверхности реципиента как бы подтягивает его к донору и способствует пристеночному контакту конъюгирующих бактерий. Некоторые типы пилей представляют собой полые цилиндры, служащие каналом для переноса ДНК от донора к реципиенту. Как и в случаях трансформации и трансдукции, генетический материал при конъюгации переносится в одном направлении – от донорных клеток к реципиентным. Способность бактерий быть донорами при конъюгации определяется присутствием в них внехромосомных ДНК – плазмид особого типа, называемых половыми факторами. Половые факторы несут гены, контролирующие образование пилей и способность к переносу самих этих факторов, а также бактериальной хромосомы и (или) других плазмид, не являющихся половыми факторами. Первый половой фактор – плазмиду F (от англ. fertility – плодовитость) обнаружил У. Хейс (1952). Он выявил, что штаммы *E. coli* K12 дифференцированы по половому признаку. Одни, содержащие фактор F, переносят ДНК. Их обозначают как донорные, или мужские. Другие штаммы не несут F-фактор и воспринимают ДНК, передающуюся от донора. Такие штаммы называют реципиентными или женскими.

F⁺ и Hfr-доноры. F-фактор может находиться в мужской клетке в двух альтернативных состояниях: в автономном, когда он реплицируется независимо от хромосомы, и в интегрированном, когда он ковалентно присоединяется к хромосомной ДНК.

Внехромосомные генетические элементы микроорганизмов. Плазмиды бактерий. В предыдущих разделах неоднократно отмечалось, что генетический материал бактерий представлен не только хромосомой, но и плазмидами. Этим термином, предложенным Дж. Ледербергом (1952), обозначают репликоны (т.е. единицы генетического материала, способные к независимой репликации), существующие в клетках стабильно и автономно от хромосомы. Во многих случаях носительство плазмид для клеток не обязательно и их утрата не влияет на жизнеспособность бактерий-хозяев. В других случаях, связанных, например, с изменениями внешней среды, их присутствие в клетке – условие выживания не только отдельной бактерии, но и бактериальной популяции в целом.

Плазмидология – учение о плазмидах – внехромосомных молекулах нуклеиновых кислот, автономно реплицирующихся в цитоплазме клеток. Плазмидоносительство описано у представителей более 40 родов бактерий.

В 1961 г. Р. Лавалле и Ф. Жакоб показали, что плазмиды, как и бактериальная хромосома, чувствительны к распаду ^{32}P . Из этого был сделан вывод, что плазмиды представляют собой ДНК. В дальнейшем был разработан способ избирательного выделения плазмидных ДНК с помощью центрифугирования в градиентах плотности CsCl , содержащих краситель бромид этидия, преимущественно вставляющийся в хромосомную, а не в плазмидную ДНК, тем самым позволяя разделить эти молекулы по плотности. Плазмидные ДНК отделяют от хромосомы также с помощью электрофореза в агарозном геле и другими методами.

С помощью физических методов показано, что ДНК F-фактора и других бактериальных плазмид представляет собой двухцепочечную ковалентно-замкнутую кольцевую (КЗК) молекулу, имеющую к тому же сверхскрученную конфигурацию. Молекулы плазмидных ДНК могут объединяться друг с другом в результате рекомбинации, приводящей к образованию соединенных друг с другом колец – конкатомеров либо коинтегратов двух плазмид в виде одной крупной молекулы в КЗК-форме. Предполагается, что сверхскрученная КЗК-форма плазмидных ДНК существенна для их стабильного наследования, возможности переноса путем конъюгации и трансформации, а также транскрипции. Помимо КЗК-форм плазмидные ДНК представлены в клетке некоторым количеством открытых кольцевых и линейных структур, являющихся промежуточными продуктами репликации.

Встречающиеся в природных условиях бактериальные плазмиды значительно варьируют по размерам. M_r наиболее мелкой из известных – плазмиды в штамме *E. Coli* N15 – составляет около $1,5 \cdot 10^6$. Это достаточно для кодирования всего лишь двух белков средней величины, возможно, участвующих в репликации плазмидной ДНК. M_r ДНК плазмиды $F \sim 65 \cdot 10^6$, длина молекулы, содержащей около 100 000 п.н., 30,8–31,7 нм. Примерно такие же величины характеризуют размеры и других плазмид – половых факторов. Известны, однако, и более крупные плазмиды. Так, в штаммах ризобий обнаружены плазмиды с M_r до $600 \cdot 10^6$, т.е. равные по величине почти 1/4 длины всей хромосомы.

Плазмиды эукариотических микроорганизмов. Плазмидоподобные структуры обнаружены у некоторых эукариотических микроорганизмов. Примером может служить ДНК дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* размером 2 или 3 мкм. ДНК размером 3 мкм представляет собой автономно реплицирующуюся кольцевую молекулу, несущую рибосомные гены. Предполагается, что такие структуры могут «корректировать» концевые нехватки либо делеции хромосом, содержащих гены рРНК. ДНК размером 2 мкм, называемая также омикроном-ДНК, или О-ДНК, имеет M_r около $4 \cdot 10^6$ и разделена на две половины инвертированными повторами, состоящими примерно из 600 п.н. Она используется как эффективный вектор в работах по клонированию различных генов в дрожжах.

У этого же вида дрожжей известны плазмидоподобные частицы V1 и V2, являющиеся двухцепочечной РНК (это один из немногих примеров того, что плазмиды могут быть образованы РНК) и называемые факторами-убийцами (англ. killer – убийцы). Клетки дрожжей, несущие обе эти частицы, выделяют токсин, убивающий другие клетки, в которых находится только V1, либо отсутствуют обе частицы. Репликация частицы V2 невозможна без частицы V1. В то же время репликация и поддержание (т.е. ста-

бильное существование и наследование) обеих частиц зависят от функционирования по крайней мере десяти ядерных генов.

У дрожжей и других грибов описаны также внеядерные плазмидоподобные элементы, несущие детерминанты устойчивости к антибиотикам и необходимые для функционирования митохондрий.

Приведенные примеры показывают, что цитоплазматические детерминанты наследственности, или «плазмагены» эукариотических микроорганизмов, подобно плазмидам бактерий, могут функционально взаимодействовать с ядерным геномом, усиливая генетический потенциал клетки-хозяина.

Мигрирующие генетические элементы микроорганизмов. IS-элементы и транспозоны бактерий. О мигрирующих генетических элементах (МГЭ) уже упоминалось при рассмотрении проблемы спонтанного мутагенеза и структурной организации плазмид. К МГЭ относятся IS-элементы (от англ. insertion – вставочные последовательности) и транспозоны способные к перемещению (транспозиции) в пределах одной молекулы ДНК либо из одной молекулы ДНК в другую. МГЭ опосредуют рекомбинацию между негомологичными ДНК, в которых эти элементы находятся, а также обуславливают интеграцию плазмиды с хромосомой. Общая длина IS-элементов в среднем составляет 700-1500 п.н. Они не содержат генов, не связанных собственно с процессом транспозиции, но несут на концах инвертированные повторы длиной 8-40 п.н. Число IS-элементов в геноме различных видов бактерий и даже отдельных бактериальных штаммов колеблется от 0 до 20.

IS-элементы имеют три важных свойства: 1) при перемещениях могут инактивировать гены или нарушить их регуляцию; 2) способны индуцировать все виды хромосомных перестроек – нехватки, дупликации, инверсии, транслокации, слияние и разрывы репликаонов; 3) могут приводить к образованию транспозонов.

В отличие от IS-элементов транспозоны, или Tn-элементы, состоят из генов, необходимых для собственно транспозиции, из структурных генов, определяющих функции, не связанные с самим процессом транспозиции, и из концевых прямых либо инвертированных повторов в виде IS-элементов или иных, более коротких последовательностей, необходимых для транспозиции. Входящие в состав транспозонов структурные гены кодируют устойчивость к разным антибиотикам, солям металлов, реже это могут быть гены утилизации некоторых источников углерода, синтеза токсинов и др. Один и тот же транспозон иногда может содержать целый набор генов резистентности. Включившись в состав конъюгативных либо неконъюгативных, однако мобилизуемых плазмид, такие транспозоны быстро распространяются в природе и особенно в больничных условиях, что препятствует эффективному использованию многих антибиотиков в лечебных целях.

Транспозонсодержащие плазмиды переносятся между клетками не только путем конъюгации, но и трансформации *in vivo*, т.е. в организме животных. В этом случае повышается вероятность межвидового перемещения плазмид, причем структурные гены транспозонов обычно способны проявляться в новых хозяевах. Создается основа для включения гомологичных генов в состав плазмид и хромосом различных неродственных бактерий. В этом процессе могут участвовать и трансдуцирующие фаги. Помимо соб-

ственных генов МГЭ их функционирование регулируется рядом генов бактерий, присутствующих в плазидах или в хромосоме. Некоторые из этих генов влияют на точное вырезание транспозонов, другие – на индукцию делеций, обусловленную IS и Tn-элементами, третьи – на частоту транспозиции.

Общая особенность всех МГЭ – образование дупликаций из 5-12 коротких нуклеотидных последовательностей в местах их внедрения. Подобные дупликации происходят вследствие удвоения участка ДНК, в который вставляется МГЭ. Размер дупликации специфичен для каждого IS- или Tn-элемента и определяется структурой их концевых инвертированных повторов. В основе таких дупликаций лежат «ступенчатые» разрывы цепей ДНК в сайтах-мишенях. Встраивание внутрь этого перекрывающегося участка МГЭ приводит к формированию одноцепочечных брешей строго определенного размера, которые затем достраиваются репаративной системой. Это ведет к появлению дупликации, внутри которой встроены МГЭ.

Вопросы

1. Какова роль исследований по генетике микроорганизмов в развитии биологии?
2. Каковы структура и функция эукариотических и прокариотических микроорганизмов?
3. В чём отличие вирулентных и умеренных фагов?
4. Что такое трансформация? Возможна ли трансформация у высших организмов?
5. Что такое трансдукция?
6. Что такое конъюгация?
7. Что изучает плазмидология?
8. Какова роль транспозонов и IS-элементов?

ЛЕКЦИЯ 16. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МУТАЦИЙ И РЕКОМБИНАЦИЙ

1. Типы повреждений нуклеиновых кислот, проявляющиеся в виде мутаций

2. *Молекулярные механизмы действия мутагенов*
3. *Репарация повреждений ДНК*
4. *Молекулярный механизм конъюгации хромосом*
5. *Молекулярные механизмы кроссинговера*
6. *Мобильные элементы генома*

Анализ молекулярных механизмов наследственной изменчивости стал возможен только после того, как многие важные аспекты этого универсального биологического явления были выяснены разнообразными гибридологическими и цитогенетическими исследованиями, главные результаты которых были рассмотрены в предыдущих лекциях. Но хотя изучение на молекулярном уровне обеих основных категорий наследственных изменений – мутаций и рекомбинаций – началось относительно недавно, в этой области к настоящему времени достигнуты большие успехи, получены сведения, касающиеся непосредственно не только закономерностей наследственной изменчивости, а имеющие и более широкое значение, так как они углубили существовавшие ранее представления

о тонком строении и функционировании генетического аппарата и открыли новые подходы к управлению наследственностью живых существ.

Так как носителем генетической информации являются молекулы нуклеиновых кислот, следовало ожидать, что генные и сегментные мутации обязаны изменениям этих молекул. Предположение это полностью подтвердилось многочисленными экспериментальными работами, имевшими целью выяснение молекулярного механизма мутаций. Огромное большинство таких исследований было выполнено путем изучения мутаций, искусственно вызванными разными физическими и химическими факторами. Этот подход определяется тем, что применение мутагенов позволяет получать мутации с гораздо большей частотой, чем они возникают спонтанно, т.е. без искусственного воздействия, а также тем, что использование хорошо охарактеризованного в физическом или химическом отношении фактора дает возможность сравнить его действие на геном клетки или вируса с действием того же фактора непосредственно на молекулы нуклеиновой кислоты в пробирке, что облегчает интерпретацию результатов опыта. Быстрота размножения бактерий и вирусов, возможность получать у них чрезвычайно многочисленное потомство и относительная простота организации их хромосом послужили причиной того, что преобладающая доля работ, посвященных изучению молекулярных механизмов мутаций, была выполнена на этих объектах. Заключение, вытекающее из этих работ, сопоставляется с не столь полными и часто менее точными данными аналогичных исследований, проводимых на эукариотах, и помогают их истолкованию. Существующие в настоящее время представления о молекулярных механизмах спонтанных мутаций основаны главным образом на экстраполяции выводов, сделанных из опытов по искусственному вызыванию мутаций.

Типы повреждений нуклеиновых кислот, проявляющихся в виде мутаций. Повреждения молекул ДНК (и молекул РНК, представляющих геном РНК-содержащих вирусов), возникающие спонтанно или вызываемые разными мутагенами и могущие проявляться как мутации, относятся к следующим основным типам: разрывы углеводно-фосфатного остова молекулы, вставки, выпадения или химические изменения отдельных нуклеотидов, образование сшивок азотистых оснований в пределах одной нити или между двумя нитями молекулы, возникновение сшивок молекул нуклеиновых кислот с белками. Все эти повреждения молекул геномных нуклеиновых кислот не обязательно реализуются в виде мутаций: они могут репарироваться (исправляться) особыми репарирующими ферментами, восстанавливающими нормальное строение молекулы и тогда мутация не возникает (эти репаративные процессы будут рассмотрены ниже). Разрывы углеводно-фосфатного скелета молекул нуклеиновых кислот (без воссоединения оборванных концов или с их воссоединением в новых сочетаниях) могут приводить к возникновению различных перестроек хромосом — нехваток, делеций, дупликаций, инверсий, транслокаций, транспозиций.

Вставки или выпадения отдельных нуклеотидов приводят к искажению транскрипции и, соответственно, строения синтезируемых полипептидов. Степень фенотипических изменений, обязанных мутациям этого типа, получивших название сдвига рамки считывания, зависит от функций, выполняемых в организме затронутым мутацией белком, а также от того, в каком ме-

сте гена произошла вставка или выпадение нуклеотида. Как правило, если вставка или выпадение нуклеотида имели место в участке гена вблизи промотора, т.е. недалеко от точки, с которой начинается транскрипция этого гена, то полипептид, кодируемый им, оказывается испорченным на большом протяжении, и соответствующий белок полностью или в очень большой степени инактивируется. Кроме того, на степень фенотипического выражения мутаций сдвига рамки считывания влияет то, какая часть полипептида повреждена: некоторые участки белковой молекулы (например, активные центры ферментов) гораздо важнее для ее нормального функционирования, чем другие. Но если в пределах гена возникнет не одна, а две мутации сдвига рамки считывания (причем одна из них представляет вставку, а другая – выпадение нуклеотида и они будут расположены по соседству), то они окажутся супрессорами по отношению друг к другу, так как считывание генетической информации при транскрипции, искажаемое каждой мутацией порознь, в значительной мере нормализуется сочетанием двух таких мутаций.

Химические изменения азотистых оснований нуклеиновых кислот или сразу проявляются в виде генных мутаций, или приводят к появлению генных мутаций в ходе последующей репликации поврежденной молекулы нуклеиновой кислоты вследствие включения в дочернюю молекулу нуклеотида с неверным азотистым основанием. При этом пуриновое основание заменяется другим пуриновым или пиримидиновое – другим пиримидиновым (такие замены называются транзициями) либо пуриновое основание заменяется пиримидиновым или пиримидиновое – пуриновым (такие замены называются трансверсиями). Эти замены азотистых оснований молекул нуклеиновой кислоты обуславливают два типа нарушений нуклеотидного состава кодонов, а следовательно, и направляемого ими синтеза белков: либо возникают так называемые нонсенс («бессмысленные») мутации, в результате которых измененный кодон вообще не определяет включение какой-нибудь аминокислоты в синтезируемый белок, либо появляются так называемые миссенс («искажающие смысл») мутации, при которых измененный кодон определяет включение в синтезируемый белок неверной аминокислоты вместо той, которая нормально должна была бы занимать соответствующее место в полипептидной цепи.

Нонсенс-мутации обязаны таким транзициям и трансверсиям, вследствие которых кодон матричной РНК, нормально кодирующий включение в растущую полипептидную цепь какой-нибудь определенной аминокислоты, превращается в терминирующий кодон УАГ, УАА или УГА, обрывающий дальнейший синтез полипептидной цепи, так что она оказывается укороченной. Так, например, если кодон ААГ матричной РНК, кодирующий включение в полипептид лизина, превратится вследствие транзиции А→У в кодон УАГ, то синтез полипептидной цепи не сможет завершиться – он дойдет только до того места, где должен был находиться этот лизин, после чего прекратится.

Нонсенс-мутации обычно очень сильно повреждают соответствующие белки и поэтому часто бывают летальными. Кроме того, нонсенс-мутации могут снижать синтетическую активность всех позже считываемых структурных генов того же оперона; активность же генов, лежащих между оператором и му- тантным геном, т.е. считываемых ранее него, при этом не затрагивается.

Полярный эффект нонсенс-мутаций объясняется следующим образом. Нормально вся матричная РНК густо покрыта рибосомами, защищающими ее от действия имеющихся в клетке нуклеаз. Рибосомы продвигаются по мРНК и, дойдя до терминирующего кодона, освобождают синтезированный полипептид и отрываются от мРНК, чтобы сразу же затем присоединиться к ней у начального кодона следующего гена. При этом не занятым рибосомами остается лишь очень маленький участок мРНК между терминирующим кодоном одного гена и начальным кодоном другого гена. Когда же в результате нонсенс-мутации трансляция гена заканчивается преждевременно, то оказывается свободным от рибосом и не защищенным от нуклеаз гораздо более протяженный кусок мРНК от точки, где произошла нонсенс-мутация, до терминирующего кодона претерпевшего эту мутацию гена. Вероятность разрыва нуклеазами этого куска довольно высока и в случае такого разрыва вся часть мРНК, лежащая правее него, теряется и заключенная в ней генетическая информация не транслируется. Поэтому степень проявления полярности тем сильнее, чем ближе находится нонсенс-мутация к начальному (примыкающему к оператору) участку затронутого ею гена. Из-за этого различные нонсенс-мутации в разной мере снижают активность генов, расположенных правее мутантного.

В зависимости от того, какой из терминирующих кодонов возникает при нонсенс-мутации, они получили разные условные названия: амбер-мутации (кодон УАГ), охра-мутации (кодон УАА) и опал-мутации (кодон УГА).

Миссенс-мутации встречаются значительно чаще нонсенс-мутаций. Это и понятно – ведь гораздо вероятнее, что замена основания в кодоне превратит его не в один из трех терминирующих кодонов, а в какой-нибудь из десятков кодонов, определяющих включение других аминокислот в полипептидную цепь.

Поскольку всякая миссенс-мутация приводит к замене только одной аминокислоты в синтезируемой полипептидной цепи, такие мутации обычно менее глубоко изменяют свойства белка, чем нонсенс-мутации, но многое зависит от того, какая именно произошла замена. Так, замена валина на лейцин, глицина на аланин или тирозина на фенилаланин мало отражается на функциях полипептида, поскольку в каждой из этих пар аминокислоты, химически сходны между собой; это так называемые консервативные замены. Другие замены отдельных аминокислот могут значительно сильнее повреждать полипептид. Например, замены лейцина на аргинин или аспарагиновой кислоты на валин изменяют суммарный заряд полипептидной цепи. Замена цистеина (единственной аминокислоты, содержащей серу) другими аминокислотами часто нарушает третичную или четвертичную структуру белковой молекулы, в значительной мере обуславливаемую дисульфидными связями между цистеинами.

Особенно сильные фенотипические изменения могут вызываться миссенс-мутациями, затрагивающими в генах транспортных РНК участки, кодирующие антикодоны последних. Образующиеся в результате подобных мутаций измененные тРНК включают ошибочную аминокислоту не в одну точку одного какого-нибудь белка, а во множество точек всех белков, синтезируемых при участии этой тРНК. Например, транспортная РНК, содержащая антикодон УГГ, присоединяет к себе аминокислоту триптофан и обеспечивает включение триптофана в нужные места синтезируемой полипептидной цепи. Но если

вследствие миссенс-мутации соответствующего гена антикодон этой тРНК три превратится в УГЦ, то она будет включать прицепленный к ней триптофан не в те точки полипептидной цепи, где это предусмотрено информацией, заключенной в мРНК, а в точки, где должны были бы находиться цистеины, конкурируя при этом с тРНК_{цис}. Наиболее глубокие повреждения белков вызывают миссенс-мутации, изменяющие кодоны тРНК тех двух аминокислот (метионина и триптофана), код которых не вырожден, т.е. которые переносятся в рибосомы только одним сортом тРНК каждая. В этих случаях все, синтезируемые белки будут испорчены, так как будут полностью лишены соответственно метионина или триптофана. Включение в белок других аминокислот, кодируемых двумя или более разными триплетами, менее нарушается подобными миссенс-мутациями, изменяющими антикодоны тРНК, так как мутантные тРНК будут конкурировать при трансляции с изоакцепторными тРНК, способными включать данную аминокислоту в правильные места синтезируемого полипептида. Разумеется, очень сильно нарушают структуру белков также и нонсенс-мутации, изменяющие, антикодоны транспортных РНК, образуемые при этом тРНК, антикодоны которых заменены терминирующими триплетами УАГ, УАА или УГА, теряют способность, включать присоединенную к ним аминокислоту в растущую полипептидную цепь.

Замена основания в терминирующем триплете, разделяющем два соседних гена, может превратить его в кодон, определяющий включение в полипептид какой-нибудь аминокислоты. Тогда два полипептида, кодируемых этими, генами, окажутся связанными в одну длинную полипептидную цепь, что неизбежно исказит нормальное функционирование этих полипептидов. Не всякие замены оснований в молекулах геномных нуклеиновых кислот проявляются в виде мутаций. Из-за вырожденности генетического кода все аминокислоты, кроме метионина и триптофана, кодируются двумя или несколькими кодонами каждая. Иногда замена основания может привести к превращению кодона в другой, кодирующий ту же аминокислоту. Например, если в мРНК произойдет замена третьего основания в кодоне ЦЦА, кодирующем пролин, этот кодон превратится либо в ЦЦУ, либо в ЦЦЦ, либо в ЦЦГ, которые все также кодируют пролин. Такие замены оснований, сохраняющие «смысл» кодона, не влияют на свойства полипептида, синтезируемого под контролем гена, в котором произошла подобная замена, но могут замедлять скорость синтеза этого полипептида, потому что клетка обычно содержит неодинаковое количество разных изоакцепторных тРНК. Так, если подавляющее большинство присутствующих в клетке молекул тРНК^{про} принадлежит к способным узнавать кодон ЦЦА, а способные узнавать кодон ЦЦУ представлены в меньшинстве, то транзигция, превращающая кодон ЦЦА в ЦЦУ, будет заметно снижать скорость синтеза полипептида, хотя и не вызовет изменения его первичной структуры.

Сшивки, образующиеся между азотистыми основаниями в пределах одной нити или соединяющие две нити молекул геномных нуклеиновых кислот, приводят при последующей репликации молекулы либо к ее разрыву, либо к выпадению нуклеотида, на месте которого может вставиться нуклеотид с другим (ошибочным) основанием. По-видимому, к аналогичным последствиям приводят и сшивки молекул нуклеиновых кислот с белками.

Молекулярные механизмы действия некоторых мутагенов. Лучше всего изучены молекулярные механизмы мутагенного действия аномальных азотистых оснований (5-бромурацила, 2-аминопурина и др.) и азотистой кислоты. Действие аномальных оснований проявляется в образовании таутомерных форм азотистых оснований в результате перемещения атомов водорода в новое положение. Это может приводить к возникновению водородных связей между необычными парами оснований двух нитей молекулы ДНК. Такие таутомерные формы иногда возникают и без воздействия мутагенов (спонтанно) вследствие случайных тепловых колебаний атомов в молекуле. Так, аденин в своем обычном, т.е. наиболее вероятном состоянии (так называемой аминной форме), спаривается с тиминном соседней нити той же молекулы ДНК. Однако в редких, но постоянно встречающихся с определенной частотой случаях аденин в результате таутомеризации переходит в иминную форму и тогда он спаривается не с тиминном, а с цитозином. Точно так же тимин в своей обычной кето-форме спаривается с аденином, но при таутомеризации переходит в энольную форму, предпочтительно спаривающуюся с гуанином.

Аномальные аналоги азотистых оснований нуклеиновых кислот таутомеризуются гораздо чаще, чем их обычные азотистые основания, а таутомеризация приводит к возникновению генных мутаций. Рассмотрим, как это происходит на примере 5-бромурацила (сокращенно обозначаемого 5БУ), структурно очень близкого к тимину.

Введенный в клетку 5БУ в своей более частой кето-форме включается в синтезируемую нить ДНК на место тимина. Если при последующей репликации 5БУ перейдет в энольную форму, то во вновь образуемую комплементарную нить ДНК напротив 5БУ встроится не аденин, а гуанин, с которым энольная форма 5БУ предпочтительно упаривается. При следующей репликации на нити, содержащей в этом месте гуанин, будет синтезироваться новая нить, в которой против гуанина встроится цитозин. Это означает, что возникла мутантная молекула ДНК, в которой пара А-Т исходной молекулы заменена парой Г-Ц. Г-Ц исходной молекулы окажется парой А-Т. Принципиально так же вызывают мутации и другие аномальные азотистые основания нуклеиновых кислот.

Когда были выяснены молекулярные механизмы образования мутаций вследствие таутомеризации аномальных азотистых оснований, то стало очевидным, что изредка происходящая таутомеризация нормальных оснований, должна быть одной из причин спонтанных мутаций, возникающих без всякого экспериментального воздействия.

Азотистая кислота вызывает генные мутации, непосредственно действуя на нуклеиновые кислоты. Она окислительно дезаминирует их азотистые основания. При этом аденин превращается в гипоксантин, спаривающийся с цитозином вместо тимина, а цитозин под влиянием азотистой кислоты превращается в урацил, спаривающийся с аденином вместо гуанина. Во время последующей репликации образуются мутантные молекулы ДНК, в которых в первом случае пара А-Т заменена парой Г-Ц, а во втором случае, наоборот, пара Г-Ц заменена парой А-Т. Гуанин азотистая кислота превращается в ксантин, продолжающий спариваться с цитозином, а тимин и заменяющий его в РНК урацил не содержат аминогруппы, почему они и не изменяются под действием азотистой кислоты. Поэтому следует полагать, что вы-

зываемые ею мутации обязаны главным образом изменению аденина и цитозина.

Алкилирующие соединения, к числу которых относятся самые сильные из известных мутагенов (этилметансульфонат, нитрозометилмочевина и др.), химически изменяют азотистые основания нуклеиновых кислот, вводя в них остатки углеводов, главным образом метила и этила. Например, они превращают гуанин в 7-метилгуанин или 7-этилгуанин, аденин в 3-метиладенин, цитозин – в 1-метилцитозин и т.п. Чаще всего затрагивается аминогруппа гуанина. Измененные алкилирующими соединениями азотистые основания нередко образуют водородные связи с ошибочными партнерами и такие неверные спаривания приводят к возникновению генных мутаций подобно тому, что имеет место при действии аномальных оснований или азотистой кислоты. Кроме того, алкилирующие мутагены иногда разрушают связь гуанина и реже аденина с дезоксирибозой, вследствие чего основание теряется и в такую депурированную нить ДНК на место выпавшего пурина может встроиться какое-нибудь другое основание, что также приводит к генной мутации. Наконец, алкилирующие агенты химически изменяют фосфатные группы молекулы нуклеиновой кислоты и этим вызывают разрывы ее углеводнофосфатного скелета, следствием чего могут быть различные перестройки хромосом.

Акридиновые красители, из которых в качестве мутагена чаще всего используется профлавин, образуют комплекс с ДНК, мешающий нормальному ходу её репликации. В результате получаются молекулы ДНК, в которых выпала или добавочно вставилась пара нуклеотидов, т.е. возникают мутации типа сдвига рамки считывания.

Ультрафиолетовые лучи вызывают разнообразные повреждения нуклеиновых кислот, из которых наибольшее мутагенное значение имеют гидратация пиримидинов, особенно цитозина, и образование димеров пиримидинов главным образом тимина. Димеры пиримидинов, если они не удалены особыми репарирующими ферментами, о которых речь будет ниже, ведут к таким же мутациям, потому что димер не спаривается ни с одним основанием и при репликации ДНК в синтезируемой цепи остается незаполненная брешь. Меньшее значение в мутагенном действии ультрафиолетового света имеют иногда вызываемые им разрывы углеводно-фосфатного состава и некоторые другие изменения молекул нуклеиновых кислот.

В опытах на дрозофиле установлено, что генные мутации могут индуцироваться введением любых вирусов – как неинфекционных, т.е. не способных размножаться в ее клетках, так и инфекционных, размножающихся в них. Наряду с этим исследованиями на лабораторных млекопитающих и на их клетках, а также на клетках человека, культивируемых вне организма, показано, что многие инфекционные для этих объектов вирусы могут вызывать разнообразные повреждения хромосом, иногда очень тяжелые, вплоть до пульверизации хромосом, т.е. распадаения их на мелкие фрагменты. Можно полагать, что эти хромосомные aberrации, индуцируемые размножающимися в клетке вирусами, являются неспецифическим результатом патологических процессов, развивающихся в клетке при вирусной инфекции, коренным образом нарушающих весь метаболизм клетки и обычно ведущих к ее гибели.

Причиной генных мутаций могут быть и дефектные ДНК-полимеразы. Например, мутация, произошедшая в гене, кодирующем ДНК-полимеразу фага Т4, приводит к тому, что измененная полимераза начинает при репликации ДНК ошибочно включать в строящуюся нить ДНК тимин не напротив аденина, а напротив цитозина матричной нити, что при последующей репликации ведет к замене пары А-Т парой Г-Ц.

Репарация повреждений ДНК. Многие повреждения ДНК, которые могли бы реализоваться в виде мутаций, не становятся таковыми, а исправляются особыми репарирующими механизмами клетки, представляющими эволюционно выработанные приспособления, повышающие помехоустойчивость геномной информации и ее стабильность в ряду поколений. Принцип работы этих механизмов основан на том, что каждая молекула ДНК содержит два полных набора генетической информации, записанной в комплементарных друг другу полинуклеотидных нитях ее двойной спирали: это обеспечивает сохранение неискаженной информации в одной нити, даже если другая повреждена, и дает возможность использовать неповрежденную нить в качестве образца при исправлении возникшего дефекта.

В настоящее время известно несколько механизмов репарации повреждений ДНК. Все они имеют ферментативную природу и исправляют только однонитевые повреждения. Наиболее хорошо изучены три таких механизма, на которых мы и остановимся, а именно фотореактивация, темновая репарация и пострепликативная репарация.

Явление фотореактивации заключается в устранении видимым светом димеров тимина, особенно часто возникающих в ДНК под влиянием ультрафиолетовых лучей. Это осуществляется особым фотореактивирующим ферментом, молекулы которого не обладают сродством с неповрежденной ДНК, но опознают димеры тимина и связываются с ними сразу после их образования. Даже если поврежденные молекулы успеют реплицироваться, то это не всегда дает начало мутациям, так как дефекты синтезированных при репликации дочерних молекул могут подвергнуться пострепликативной репарации. Комплекс, состоящий из димера тимина и молекулы фермента, остается стабильным до тех пор, пока не подвергнется действию видимого света. Видимый свет активирует молекулу фермента, она отделяется от димера тимина и одновременно разъединяет его на два отдельных тимина, восстанавливая этим исходную нормальную структуру ДНК.

Более сложен механизм темновой репарации, не требующей света. Этот механизм способен исправлять очень разнообразные повреждения ДНК, возникающие спонтанно или вызванные действием разных физических и химических мутагенов (димеры пиримидинов, наличие неправильных пар оснований, однонитевые разрывы и др.). Темновая репарация протекает в несколько этапов и при участии нескольких ферментов.

Явление репарации ДНК распространено очень широко, от бактерий до высших растений, животных и человека и несомненно имеет важное значение для сохранения стабильности передаваемой из поколения в поколение генетической информации.

Трансформация, трансдукция, сексдукция. Предпосылкой всякой рекомбинации, а, следовательно, и комбинативной изменчивости вообще,

является возникновение гетерозиготности по двум или более генам – ведь очевидно, что у гаплоида или у полностью гомозиготного по всем генам диплоида неоткуда взяться новым сочетаниям генов. У эукариотов гетерозиготность, ведущая к рекомбинациям, почти всегда представляет следствие скрещивания. В отличие от этого у прокариотов она может возникать несколькими путями, что обусловлено наличием у них разных способов передачи генетической информации от одной клетки другой, – конъюгации, трансформации, трансдукции и сексдукции.

Явления трансформации, трансдукции, сексдукции и конъюгации описаны в разделе «Генетика микроорганизмов».

Молекулярный механизм конъюгации хромосом. У эукариотов необходимой предпосылкой рекомбинации как несцепленных генов, лежащих в разных хромосомах, так и сцепленных генов, локализованных в одной и той же хромосоме, является конъюгация гомологичных хромосом, обеспечивающая правильное их распределение во время мейоза и делающая возможным обмен их частями путем кроссинговера.

Хотя конъюгация хромосом известна очень давно, лишь в самые последние годы удалось пролить свет на лежащие в ее основе молекулярные процессы, понять, почему во время мейоза гомологичные хромосомы продольно соединяются попарно, как они опознают друг друга, чем обусловлено высокоспецифичное взаимное притяжение соответствующих точек по всей длине двух конъюгирующих хромосом, особенно наглядно заметное в случае различных хромосомных перестроек и определяющее тождество мест разрыва обоих партнеров при кроссинговере.

Современные представления о механизме мейотической конъюгации хромосом основаны на недавних исследованиях, проведенных молекулярно-биологическими и цитологическими методами главным образом на культурах клеток растений во время мейоза в них. Эти работы не только очень углубили представления о поведении хромосом в мейозе, но дали и важные новые сведения, касающиеся общих вопросов организации генома.

Было установлено, что в ДНК хромосом эукариотов по всей их длине разбросано множество коротких участков, ответственных за мейотическое притяжение гомологичных хромосом друг к другу. Эти участки, длиной в среднем порядка 100 пар нуклеотидов каждый, получили название зиготенной ДНК, или, сокращенно, зДНК (ниже станет ясно, почему их так называют). В общей сложности они занимают около 0,3% общей длины ДНК и представляют уникальные последовательности нуклеотидных пар, т.е. все они различны. Число их очень велико и, по-видимому, приблизительно соответствует числу генов, поэтому предполагают, что либо в каждом гене, либо в каждом межгенном промежутке присутствует такой маленький участок зДНК.

В интерфазе, предшествующей первому мейотическому делению, происходит репликация всей ДНК хромосом, кроме участков зДНК, репликация которых задерживается. Поэтому к началу первого деления мейоза, т.е. на лентотенной стадии, ДНК хромосом удвоена не на всем протяжении, за исключением вкрапленных в нее участков зДНК. Этого не наблюдается в митозах – там зДНК реплицируется одновременно со всей остальной ДНК. Составлена предположительная схема дальнейших собы-

тий. По всей видимости, эта схема в основном соответствует действительности, хотя не все ее детали строго доказаны и она опирается на исследования пока лишь ограниченного числа объектов.

Участки зДНК контактируют по всей длине двух конъюгирующих хромосом, а остальная ДНК (т.е. подавляющая ее часть) в виде суперспирализованных соединенных с гистонами нитей образует большие извитые петли, перпендикулярные оси хромосом и хорошо видимые на препаратах. Затем, в начале зиготенной стадии, в конъюгирующих хромосомах появляется белок, способный расплетать двойную спираль ДНК; этот белок тождествен или аналогичен белку, обладающему той же функцией (геликазе). Расплетающий белок разъединяет зДНК после чего одиночные зДНК двух гомологичных хромосом комплементарно соединяются водородными связями, образуя гетеродуплекс, т.е. гибридную двойную спираль, нити которой принадлежат разным хромосомам. Специфичность узнавания нитей в гетеродуплексах определяется уникальностью порядка нуклеотидов в каждом участке зДНК, вследствие чего гетеродуплексы возможны только между комплементарными нитями гомологичных, но не разных участков. Образуются гетеродуплексы не сразу по всей длине конъюгирующих хромосом, а прогрессируя постепенно, подобно тому, как соединяются половинки застежки «молния».

Наряду с возникновением таких контактов между конъюгирующими хромосомами идет формирование так называемого синаптонемального комплекса, состоящего из двух продольных белковых тяжей, соединенных между собой тонкими поперечными белковыми волокнами, Синаптонемальный комплекс выполняет две функции: он не позволяет конъюгирующим хромосомам необратимо слипнуться и закрепляет расположение гомологичных генов этих хромосом точно друг против друга, что необходимо для последующего кроссинговера.

Когда пара хромосом скреплена по всей длине синаптонемальным комплексом, то гетеродуплексы зДНК распадаются. Их нити разъединяет расплетающий белок и каждая из одиночных нитей наконец реплицируется (именно из-за такой задержки репликации до зиготенной стадии зДНК получила свое название). Притяжение гомологичных хроматид в политенных хромосомах предположительно тоже обязано имеющимся в них участкам зДНК.

Молекулярные механизмы кроссинговера. Хотя молекулярные процессы, происходящие при кроссинговере, раскрыты еще не полностью, все же к настоящему времени накоплены важные сведения, проливающие свет на их сущность.

Прежде всего нужно отметить решение главного вопроса о принципе, лежащем в основе рекомбинации сцепленных генов. По этому поводу в генетике долго существовали две на первый взгляд исключаящие друг друга гипотезы. Одна из них – гипотеза «разрыва и воссоединения» – является, по сути дела, молекулярно-биологической интерпретацией классической теории хиазмотипии, рассмотренной нами в лекции 7. Согласно этой гипотезе, кроссинговер осуществляется путем разрывов, возникающих одновременно в тождественных точках двух родительских молекул ДНК и последующего ковалентного соединения образовавшихся фрагментов в новых сочетаниях. Таким образом, по этой гипотезе крос-

синговер протекает без репликации ДНК, а кроссоверная молекула ДНК составлена из вещества двух родительских молекул. Другая гипотеза, названная гипотезой «выборочного копирования», предполагает, что при кроссинговере вовсе не происходит обмена участками между родительскими молекулами ДНК, но записанная в них генетическая информация частично передается вновь синтезируемой молекуле во время репликации: эта молекула при своем росте сначала использует в качестве матрицы нить одной родительской молекулы, а затем переключается на использование нити другой родительской молекулы. Таким образом, согласно этой гипотезе кроссинговер осуществляется в процессе репликации ДНК, а связь кроссоверной молекулы ДНК с родительскими имеет чисто информационный характер: часть получаемой ею генетической информации поставляет один родитель, часть – второй, вещество же родительских молекул в кроссоверную молекулу не попадает.

Исследования последних двух десятилетий однозначно показали, что при кроссинговере всегда происходит реальный обмен частями двух молекул ДНК и, следовательно, правильна гипотеза «разрыва и воссоединения», а не гипотеза «выборочного копирования».

Хотя у эукариотов к началу пахитенной стадии полностью закончена репликация всех хромосом, в течение этой стадии все же обнаруживается синтез небольшого количества ДНК. Этот синтез не увеличивает содержания ДНК в ядре, а приводит к замене некоторых уже имеющихся ее участков и протекает не так, как это бывает при обычной репликации хромосомной ДНК, а по типу репаративного синтеза: сначала эндонуклеаза надрезает одну из нитей наличной молекулы ДНК, затем экзонуклеаза расширяет разрыв и только после этого ДНК-полимераза синтезирует недостающий отрезок нити, восстанавливая ее целостность. Синтез этой ДНК, получившей название пахитенной ДНК (сокращенно пДНК), приурочен к разбросанным по хромосомной ДНК очень многократно повторенным небольшим участкам с одинаковой последовательностью нуклеотидных пар во всех них; в общей сложности участки эти составляют около 0,1% длины всего генома. Вывод о существовании таких участков, по-видимому, справедлив не только для эукариотов, но также для бактерий и вирусов. К настоящему времени получено много данных в пользу того, что и у них при кроссинговере первоначальные разрывы ДНК происходят избирательно в определенных точках хромосомы.

Синтез пДНК осуществляется, по-видимому, теми же реларирующими и реплицирующими ДНК ферментами, которые присутствуют в соматических клетках. Исключение составляет только эндонуклеаза, вызывающая первоначальные одонитевые разрывы при синтезе пДНК: она отличается по своим физико-химическим свойствам от аналогичного фермента соматических клеток, появляется в мейотических клетках только на пахитенной стадии и исчезает после ее окончания. Этой специфичной для пДНК эндонуклеазе присвоено название «никаза» (от английского слова nick, означающего надрез).

На пахитенной стадии митоза эти многократно повторенные участки, в которых происходит синтез пДНК, лежат в просвете синаптонемального комплекса там же, где участки зДНК и, вероятно, непосредственно примыкают к ним. Предполагается, что у эукариотов участки пДНК имеются в каждом гене

или каждом межгенном промежутке и что кроссинговер может происходить только в них, причем тождество нуклеотидной последовательности этих участков обеспечивает в любом из них возможность первоначального надрезания нити ДНК одной и той же никазой, опознающей эту последовательность.

То обстоятельство, что в настоящее время в генетике существует несколько гипотез, каждая из которых предлагает отличную от других молекулярную модель кроссинговера означает, что в этом вопросе еще не достигнуто полной ясности; приходится отметить, что во всех выдвинутых за последние годы гипотезах этого рода имеются спорные допущения, опирающиеся скорее на догадки, чем на прочно установленные факты. Тем не менее в этих гипотезах есть и ряд объединяющих их общих положений, правильно отражающих некоторые важные стороны молекулярных механизмов кроссинговера. Мы рассмотрим здесь две такие гипотезы, наиболее широко обсуждаемые в современной генетической литературе.

Согласно гипотезе, предложенной английским генетиком Холлидеем, первый акт кроссинговера состоит в возникновении одностранных разрывов ДНК конъюгирующих гомологичных хромосом. Такие разрывы происходят в нитях ДНК одинаковой полярности и вызываются специфической эндонуклеазой (никазой), избирательно узнающей последовательность нуклеотидов в особых участках, с которых начинается кроссинговер (Холлидей называет эти рассеянные по длине хромосомы участки «рекомбинаторами»). Первичные разрывы позволяют расплетающему белку разъединить нити ДНК, после чего две претерпевшие разрыв нити обмениваются концевыми фрагментами и каждая комплементарно спаривается с интактной нитью другой молекулы, так что кроссоверные нити оказываются перекрещенными (полухиазма). В результате две образовавшиеся хроматиды состоят на своих концах из родительских нитей ДНК, а в середине из участков, полученных от разных родительских молекул. Как уже говорилось, такие «гибридные» участки ДНК называются гетеродуплексами.

Другая гипотеза о молекулярном механизме кроссинговера, выдвинутая английскими генетиками Уайтхаузом и Хэстингсом, тоже исходит из предположения, что первичные одностранные разрывы, с которых начинается кроссинговер, происходят в определенных точках ДНК, но только при этом в гомологичных хроматидах рвутся нити не одинаковой, а разной полярности. После разрыва нити ДНК в обоих хроматидах расплетаются и разъединяются, а вдоль оставшихся неразорванными нитей начинается синтез новых, нитей. Эти новые нити перекрестно спариваются с разошедшимися старыми и продолжают расти, используя последние в качестве матрицы. Понятно, что образующиеся таким путем кроссоверные молекулы в своей средней части представляют гетеродуплексы. Заканчивается процесс рекомбинации разрушением оставшихся неспаренными частей родительских нитей ДНК.

Несмотря на существенные различия двух рассмотренных гипотез о молекулярных механизмах кроссинговера, они имеют и важные общие черты, которые следует перечислить, так как они отражают наиболее надежно обоснованные выводы многочисленных экспериментальных работ в данной области. Вот эти положения, общие для гипотезы Холлидея и гипотезы

Уайтхауза и Хэстингса. Начинается кроссинговер одностранными разрывами, вызываемыми специфической эндонуклеазой в определенных местах молекул ДНК хроматид конъюгирующих хромосом. Дальнейшие этапы включают разъединение нитей ДНК расплетающим белком, частичное разрушение их экзонуклеазой и репаративный синтез нитей со сменой матриц, осуществляемый полимеразой; образование при этом гетеродуплексов, в которых может происходить конверсия; замыкание лигазой соединившихся концов нитей. Эти же положения характеризуют и некоторые другие гипотезы о молекулярных механизмах кроссинговера, здесь не приведенные и представляющие в основном модификации двух описанных выше.

Некоторые экспериментальные данные, полученные в самые последние годы, а также ряд теоретических соображений говорят в пользу гипотезы Холлидея, которая, по-видимому, правильнее отражает действительный молекулярный механизм кроссинговера, чем гипотеза Уайтхауза и Хэстингса.

Как уже отмечалось, углубленное изучение особых хромосомных перестроек, получивших название транспозиции, началось только в самые последние годы и мы до сих пор не имеем достаточных сведений, чтобы составить полное представление о природе и значении этих перестроек.

Мобильные элементы генома. Напомним, что транспозиция – это встраивание (инсерция) в какое-либо место хромосомы фрагмента ДНК, содержащего ген или гены, нормально не свойственные этому участку хромосомы, т.е. не гомологичные присутствующим там генам. Генетические элементы, способные к транспозиции (ТЭ), могут быть разной длины – очень короткие (500-1500 пар нуклеотидов, как ИС-элементы бактерий), несколько более длинные (3000-25000 пар нуклеотидов, как транспозоны бактерий) и относительно весьма крупные – десятки тысяч пар нуклеотидов, как некоторые ТЭ дрозофилы, которые настолько велики, что их даже удается разглядеть в оптический микроскоп.

Но какого бы размера не были ТЭ, для них всех характерны некоторые общие особенности генетического строения. Два конца ТЭ, по-видимому, всегда представляют повторы одинаковых последовательностей нуклеотидных пар. Длина таких концевых повторов может быть очень различной у разных ТЭ (от двух – трех десятков до почти 1500 пар нуклеотидов), но постоянна для каждого ТЭ. У бактериальных ТЭ эти концевые повторы всегда палиндромные, т.е. инвертированы по отношению друг к другу (А-Б-В-Г-Д... Д-Г-В-Б-А), но у ТЭ эукариотов они обычно прямые, т.е. ориентированы одинаково (А-Б-В-Г-Д... А-Б-В-Г-Д). Между концевыми повторами, т.е. в центральном участке ТЭ, находится ген или гены, ответственные за способность ТЭ перемещаться с места на место. У всех бактериальных ТЭ и по крайней мере у ТЭ некоторых эукариотов, например дрожжей, вплотную к обоим концам ТЭ, но вне его, имеются маленькие дубликации отрезков хромосомы реципиента; эти дубликации очень малы – в случае разных ТЭ они состоят всего из 5, 9 или 11 нуклеотидных пар и представляют прямые повторы прилегающих к ТЭ последовательностей нуклеотидных пар реципиентной хромосомы. Как концевые повторы внутри ТЭ, так и маленькие дубликации вне ТЭ, несомненно, как-то связаны с процессами инсерции и эксцизии ТЭ, но конкретная роль их в этих событиях пока не известна.

В простейшем случае структура ТЭ этим и ограничивается. В более сложных ТЭ, в центральной части добавляются ген или гены, не имеющие прямого отношения к транспозиции; как правило, это гены, захваченные ТЭ из хромосомы клетки или плазмиды. Так, например, бактериальный транспозон ТЗ, придающий клетке устойчивость к ампициллину, несет в своей центральной части три гена: один, кодирующий фермент бета-лактамазу, сообщаящий бактерии устойчивость к ампициллину, затем ген, кодирующий фермент транспозазу, осуществляющий транспозицию ТнЗ, и, наконец, ген-репрессор, регулирующий транскрипцию гена транспозазы и самого себя. Более крупные ТЭ могут захватывать и перебрасывать в пределах генома хозяина по несколько генов сразу.

По своей способности встраиваться в разные места генома, т.е. по специфичности мест инсерции, ТЭ сильно различаются между собой. Есть такие ТЭ, которые могут встраиваться во множество, по-видимому, совершенно случайных мест генома. Однако большинство ТЭ проявляет ту или иную степень инсерционной специфичности, начиная от таких ТЭ, которые встраиваются во многие места генома, но все же предпочтительно в некоторые из них, до таких, которые встраиваются только в определенный участок хромосомы или даже в единственный определенный локус.

Эксцизия ТЭ, т.е. освобождение ТЭ из хромосомы, в которую он был встроен, чаще всего не влечет за собой какого-либо нарушения целостности ТЭ, т.е. разрывы при эксцизии происходят точно по границам, разделяющим концы ТЭ от прилегающих участков реципиентной хромосомы,

Встраиваясь в хромосому, ТЭ вызывают там мутации. Выше уже говорилось, что у границ ТЭ в хромосоме-реципиенте всегда возникают маленькие дупликации, что, по-видимому, обусловлено самим механизмом инсерции ТЭ. Но и помимо этого ТЭ довольно часто (но не всегда) индуцируют вблизи места встройки в хромосому генные мутации, делеции и инверсии.

У прокариот существуют три типа мобильных элементов – IS-элементы, транспозоны и некоторые бактериофаги. IS-элементы содержат минимальное число генов, необходимых для мобилизации элемента и его инсерции в новый участок хромосомы. IS-элементы являются обычным компонентом бактериальных хромосом и плазмид. На концах IS-элементов находятся инвертированные повторы IR, длина которых варьирует от 22 до 41 пн. В участке встраивания IS –элементов в геномной ДНК образуется дупликация размером от 5 до 9 пн. Три инсерционных элемента – ISI, IS2 и ISIOR представлены в геноме *E.coli* в 0-30 копиях. Их размеры варьируют от 768 до 1329 пн. Некоторое число копий этих элементов встречается в плазмидах. Они содержат ген транспозазы.

Поскольку IS-элементы встраиваются в любой участок ДНК, они часто вызывают мутации, разрушая кодирующие или регуляторные последовательности. Промоторы в самом IS-элементе могут влиять на экспрессию соседних генов.

В процессе перемещения IS-элементов происходит точное копирование уже встроеного элемента, затем старая копия остается на месте, а вновь синтезированная внедряется в новый сайт. Транспозиция происхо-

дит с использованием транспозазы, которая опознает IR-последовательности, где и инициируется транспозиция.

Бактериофаг Ми, инициирующий E.coli, в то же время является транспозоном и может вызывать мутации в результате встраивания.

По-видимому, число транспозонов, т.е. участков ДНК, способных кочевать в геноме с места на место, довольно значительно у любого организма. В единственной хромосоме кишечной палочки всегда присутствует с десяток или даже больше транспозонов. У дрозофилы с ее гораздо более крупным геномом их во много раз больше. Как уже отмечалось в разделе 15, мобильные диспергированные гены представлены в геноме дрозофилы десятками и сотнями копий и найдены сходные многочисленные кочующие гены у мышей и дрожжей. Можно полагать, что они имеются у всех эукариотов.

В геноме человека SINE (short interspersed nuclear element) представлены семейством Alu-повторов. Члены этого семейства имеют длину 300 пн и повторены в геноме от 300000 до 500000 раз. Около 3% генома человека составляют Alu-повторы. Каждая Alu-последовательность фланкирована прямыми повторами от 7 до 20 пн. по этой причине полагают, что Alu-повторы являются мобильными элементами, скорее всего ретротранспозонами.

Наличие мобильных элементов в геномах имеет разнообразные генетические последствия.

1. Перемещения и внедрение мобильных элементов в гены может вызывать мутации.

2. Изменение состояния активности генов.

3. Формирование хромосомных перестроек.

4. Формирование теломер.

5. Участие в горизонтальном переносе генов.

6. Транспозоны на основе Р-элемента используют для трансформации у эукариот, клонирования генов, поиска энхансеров и т.д.

Транспозиции, вероятно играли довольно существенную роль в эволюции прокариотов (во всяком случае, бактерий), позволяя обмениваться генами даже видам, у которых отсутствует конъюгация и поэтому рекомбинация не осуществима обычным путем. Очень небольшое значение могли иметь транспозиции и в эволюции эукариотов, слегка повышая частоту мутаций и этим расширяя материал, с которым оперирует естественный отбор.

Но если транспозиции едва ли сколько-либо сильно влияли на эволюцию эукариотов, то роль их в индивидуальном развитии эукариотов, возможно, весьма значительна.

Вопросы

1. Какие повреждения в нуклеиновых кислотах приводят к возникновению мутаций?

2. Какие кодоны являются терминирующими?

3. Что означает таутомерные формы и как они возникают?

4. Какие типы репарации ДНК Вам известны?

5. Какие ДНК синтезируются при конъюгации хромосом?
6. Какие гипотезы о молекулярных механизмах кроссинговера Вам известны?
7. Какие типы мобильных элементов существуют у прокариот?
8. Какова роль мобильных элементов?
9. Чем отличаются транспозоны от IS-элементов?

ЛЕКЦИЯ 17. ГЕНЕТИКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

1. *Общие закономерности изменения активности генов в онтогенезе*
2. *Плейотропное действие генов*
3. *Взаимодействие генов в онтогенезе. Генный баланс*
4. *Иммуногенетика*
5. *Исследование дифференцированного состояния в ряду клеточных поколений*
6. *Генетические факторы избирательного размножения и гибели клеток*
7. *Пенетрантность и экспрессивность генов*

Реализация у многоклеточных организмов осуществляется сложной системой процессов роста и дифференцировки. Характер и последовательность этих процессов различны у представителей разных систематических групп, но всюду определяются врожденным и строго запрограммированным в геноме порядком включения и выключения активности генов. А так как разнообразные факторы среды могут в известной степени изменять течение этих обусловленных генами процессов, то фенотип организма всегда представляет результат взаимодействия генотипа и окружающей среды.

У прокариотов и одноклеточных эукариотов путь от гена до признака относительно очень короток, все наследственные признаки непосредственно определяются содержащимися в клетке генами, активность которых регулируется протекающими в ней же процессами. В отличие от этого, у огромного большинства многоклеточных организмов, в том числе у всех высших растений, животных и человека, путь от гена до признака гораздо длиннее и сложнее. Их морфологические и биохимические признаки, как правило, обусловлены деятельностью ряда поколений множества взаимодействующих между собой клеток, различающихся находящимися в активном состоянии генами и поэтому обладающих разными свойствами.

Общие закономерности изменения активности генов в онтогенезе. Молекулярно-генетические процессы, определяющие течение начальных этапов индивидуального развития, изучены главным образом у животных и оказались в основном сходными у разных исследованных в этом отношении представителей как беспозвоночных (насекомые, иглокожие), так и позвоночных (земноводные, млекопитающие). В качестве типичных примеров показано, как изменяется активность генов в раннем эмбриогенезе лягушки и мыши.

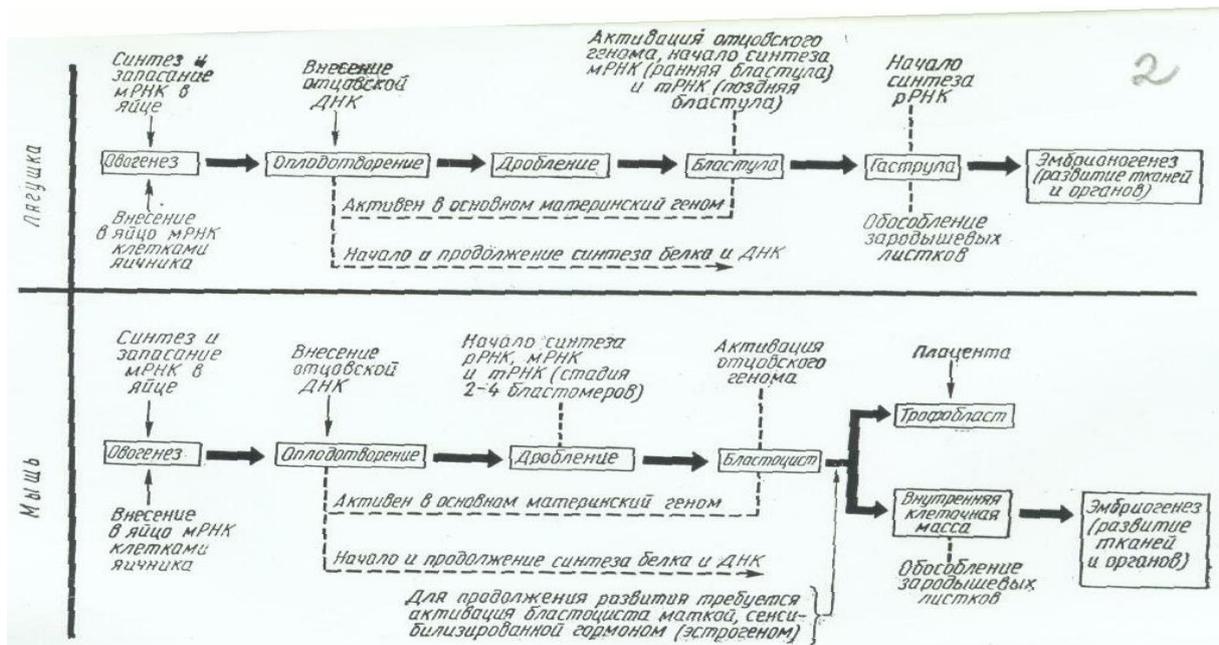
В течение онтогенеза в будущей яйцеклетке происходит усиленный синтез рРНК, рибосом и тех мРНК, которые после оплодотворения понадобятся для начального периода развития. В ооцитах земноводных некоторых других животных интенсивность этого синтеза, по крайней мере в отношении

рРНК, ещё резко возрастает благодаря процессу амплификации. Запасы мРНК в яйце пополняются, кроме того молекулами мРНК, проникающими в него из клеток яичника. Это с очевидностью вытекает из явлений материнской наследственности, при которой у потомков проявляются некоторые признаки, обуславливаемые генами, отсутствовавшими как в гаплоидном яйце, так и в оплодотворившем его спермии, но присутствовавшими в гетерозиготном состоянии в диплоидных клетках яичника. Запасенные в яйце, но не используемые в нем продукты транскрипции сохраняются в его цитоплазме – в рибосомах и в информосомах (т.е. в комплексах молекул мРНК с белками).

После оплодотворения, при котором спермий вносит в яйцо отцовский геном, начинается дробление, на первых порах регулируемое исключительно информацией, содержащейся в яйце.

Реплицируется ДНК, идёт активный синтез белка за счет полученного из яйца запаса рибосом и мРНК, но не происходит синтез новых молекул РНК, так что ни материнский, ни отцовский геном в этом периоде не транскрибируются. То, что в цитоплазме яйца имеются какие-то репрессирующие транскрипцию факторы, вытекает, в частности, из опытов по пересадке ядра дифференцированной соматической клетки головастика в неоплодотворенное энуклеированное яйцо лягушки того же вида. При этом сразу прекращается прежде активная транскрипция генов этого ядра и в течении первых делений дробления мРНК не синтезируется.

В эмбриогенезе лягушки синтез мРНК, прекратившийся в яйце, возобновляется только после десяти делений дробления, т.е. в середине стадии бластулы, когда зародыш состоит уже приблизительно из 1000 клеток; тРНК начинают синтезироваться в конце стадии бластулы, а рРНК и новые рибосомы впервые образуются только на стадии гаструлы. В эмбриогенезе мыши синтез мРНК, тРНК и рРНК начинается раньше, на стадии 2-4 бластомеров, но и тут первые стадии развития зародыша протекают по плану сначала исключительно, а затем преимущественно информацией, полученной от матери через цитоплазму яйца. Такой разрыв во времени между транскрипцией и трансляцией генетической информации не имеет места у прокариотов и вирусов, но характерен для эукариотов и встречается у них не только в эмбриональном развитии, но и на более поздних этапах онтогенеза, к чему мы еще вернемся.



Изменение активности генов в раннем эмбриогенезе лягушки и мыши (по Гердону – для лягушки, по Конюхову – для мыши, с изменениями)

На протяжении первых стадий эмбриогенеза, вплоть до поздней бластулы, реализуется главным образом та часть генетической информации, которая касается общих метаболических процессов, присущих всем делящимся клеткам. Затем происходит постепенная дерепрессия тканеспецифичных генов, т.е., начинается дифференцировка клеток зародыша. У животных на стадии гастрюлы и позже обособляются так называемые стволовые клетки, разные популяции которых дают начало различным тканям и органам. Дальнейшее развитие и у животных, и у растений происходит путем каскадной активации и репрессии генов в разных взаимозависимых цепях онтогенетических процессов, о чем уже говорилось в разделе 14. Большую роль при этом играет генетически запрограммированное усиление размножения одних клеточных клонов и отмирание других, что конечно тоже связано с регуляцией активности их генов.

Плейотропное действие генов. На заре генетических исследований молчаливо принималось, что различию особей по одному гену соответствует их различие по одному фенотипическому признаку. Однако очень скоро выяснилась ошибочность этого упрощенного представления о том, что каждый ген определяет какой-нибудь один признак организма. Оказалось, что почти всегда можно обнаружить влияние гена на разные признаки и стало очевидным что такое плейотропное проявление характерно для огромного большинства.

У человека плейотропное проявление генов обнаруживается при изучении синдромов (комплексов патологических изменений фенотипа), характерных для многих генных мутаций. Так, у лиц, страдающих арахнодактилией, вызываемой доминантной мутацией, очень удлинены пальцы рук и ног и в то же время наблюдаются вывихи хрусталика и врожденные пороки сердца. Редкое наследственное заболевание галактоземия ведет к слабоумию, циррозу печени и слепоте; это сочетание симптомов обязано рецессивной мутации гена, кодирующего галактозо-1- фосфатуридилтрансферазу – один из ферментов, необходимых для усвоения клетками молочного сахара. Предупредить развитие патоло-

гических признаков можно, если больного галактоземией новорожденного младенца сразу же перевести на искусственную диету, не содержащую молочного сахара, накопление которого в крови действует отравляюще. Известно большое число подобных наследственных болезней человека, при которых мутация отдельного гена приводит к многообразному изменению фенотипа.

У крыс описано плейотропное проявление мутантного гена, обладающего рецессивным летальным действием на ранних постнатальных стадиях. На первый взгляд, большинство этих изменений не имеют ничего общего друг с другом – в самом деле, какая может быть связь между, скажем, увеличением содержания гемоглобина в крови, неправильным прикусом, сердечной декомпенсацией, деформацией ребер и невозможностью сосания? Однако более глубокое исследование показывает, что все эти изменения представляют следствия одной и той же причины – произошедшая мутация нарушила нормальное развитие хрящей.

Среди сотен изученных генных мутаций дрозофилы у подавляющего большинства обнаружена та или иная степень плейотропности. Некоторые мутации изменяют фенотип мухи очень разносторонне. Так, мухи, гомозиготные по одному из рецессивных мутантных аллелей гена *polymorph* («полиморфный»), характеризуются рубиновой окраской глаз, почти бесцветными глазками, уменьшенным размером и неправильным строением тела, укороченными и волнистыми крыльями с вырезками по краям, отсутствием одной из крыловых жилок, утонченными щетинками, пониженной жизнеспособностью и полным бесплодием самок и самцов из-за недоразвития яичников и семенников. В других случаях генная мутация заметно изменяет только немногие фенотипические признаки. Например, мухи, гомозиготные по рецессивному мутантному аллелю гена *rudimentary* («рудиментарный»), имеют резко укороченные и очень широкие крылья, а такие самки к тому же малоплодовиты и отложенные ими яйца способны развиваться только будучи оплодотворенными спермием, содержащим нормальный доминантный аллель этого гена, если же яйцо оплодотворено спермием, несущим мутантный аллель, то эмбрион погибает на ранней стадии.

Явление преитропии очень широко распространено и в мире растений. У многих низших и высших, растений известны генные мутации, затрагивающие синтез хлорофилла, но не в такой степени, чтобы сделать невозможным фотосинтез. Такие мутации наряду с ослаблением зеленой окраски листьев и стеблей, вызывают изменения множества других морфологических и физиологических признаков – высоты растения, числа и размера листьев и цветков, продолжительности развития, продукции семян или спор, стойкости по отношению к неблагоприятным внешним условиям и т.п. У ряда цветковых растений описано плейотропное проявление генов, ответственных за образование антоциановых пигментов. Так, у картофеля доминантный ген *R* обуславливает розовую окраску клубней и красно-фиолетовую окраску венчика, а гомозиготы по рецессивному аллелю этого гена (*r*) имеют синеватые или белые клубни и цветки. Когда селекционер, создавая сорт какого-либо растения, использует для этого мутанты, обладающие тем или иным ценным признаком, ему всегда приходится иметь в виду, что из-за плейотропности большинства генов отобранные мутанты почти, наверное, отличаются от исходной формы еще и в каких-то других отношениях.

Взаимодействие генов в онтогенезе, генный баланс. Каждый ген влияет, как правило, на разные признаки организма. В то же время имеется огромное количество фактов, указывающих на то, что любой морфологический, физиологический или биохимический признак определяется взаимодействием многих генов. Образование красного глазного пигмента дрозофилы контролируется несколькими генами. На самом деле, гены, управляющие синтезом таких пигментов у дрозофилы, еще гораздо многочисленнее. Описаны мутации свыше 50 разных генов, влияющих на окраску глаз этого насекомого, и установлено, что нормальный темно-красный цвет глаз диких дрозофил (он обусловлен наличием в глазах красного и бурого пигментов) определяется взаимодействием по меньшей мере всех этих генов; в действительности же, число генов, ответственных за синтез глазных пигментов дрозофилы, вероятно, еще больше, так как едва ли уже найдены мутации всех таких генов. У кукурузы и ряда других растений известно множество различных генов, влияющих на синтез хлорофилла. Еще от большего числа генов зависят такие сложные интегральные признаки, как жизнеспособность и плодовитость. Это установлено для кишечной палочки, нейроспоры, кукурузы, дрозофилы, мыши и многих других организмов и несомненно является общим правилом.

Таким образом, участие большого числа взаимодействующих генов в определении любого фенотипического признака представляет универсальную закономерность, хотя степень влияния разных генов на данный признак может быть очень различной. Обычно мутации одних генов сильно изменяют признак, мутации других генов затрагивают его несколько меньше мутации третьих сказываются на нем, совсем слабо.

Взаимодействие многих генов в формировании различных фенотипических признаков может быть обнаружено и без идентификации конкретных генов, влияющих на тот или иной признак. Это достигается изучением зависимости признака от соотношения числа разных хромосом в клетках организма, т.е. от общего баланса генов, содержащихся в этих хромосомах.

Хорошей иллюстрацией такого генного баланса может служить влияние соотношения половых хромосом и аутосом на половые признаки большинства раздельнополых организмов.

Приведенные в табл. данные показывают, что половые признаки дрозофилы определяются соотношением числа X-хромосом и наборов аутосом. X-хромосома направляет развитие организма в сторону самки, а аутосомы – в сторону самца. При соотношении $\frac{X}{A}=1,5$ получаются «сверхсамки», имеющие женский фенотип, но бесплодные и со слегка измененной структурой глаз и крыльев. Равенство числа X-хромосом и наборов аутосом, т.е. соотношение $\frac{X}{A} = 1$, определяет нормальный женский фенотип и у диплоидных, и у полиплоидных мух. Уменьшение числа X-хромосом относительно числа наборов аутосом сдвигает фенотип в мужскую сторону. При соотношении $\frac{X}{A} = 0,67$ получаются бесплодные интерсексы, по своим половым признакам занимающие промежуточное положение между самками, и самцами, соотношение $\frac{X}{A} = 0,5$ дает нор-

мальных самцов, а соотношение $\frac{X}{A} = 0,33$ «сверхсамцов», фенотипически сходных с нормальными самцами, но бесплодных.

Зависимости пола дрозофилы от соотношения числа X-хромосом и наборов аутосом

Число X-хромосом	Число наборов (A) аутосом	Соотношение числа X-хромосом и наборов аутосом ($\frac{X}{A}$)	Половой фенотип
3X	2A	1,5	«Сверхсамка»
2X	2A	1	Самка
3X	3A	1	Самка
4X	4A	1	Самка
2X	3A	0,67	Интерсекс
1X	2A	0,5	Самец
1X	3A	0,33	«Сверхсамец»

Очень сходная зависимость пола организма от соотношения числа X-хромосом и аутосом наблюдается у щавеля.

У млекопитающих пол определяется в основном соотношением числа X- и Y-хромосом (а не числа X-хромосом и наборов хромосом, как у дрозофилы и щавеля). Это можно проиллюстрировать данными, относящимися к человеку.

У человека X-хромосома направляет развитие организма в женскую сторону, а Y-хромосома – в мужскую, причем влияние Y-хромосомы на половые признаки значительно сильнее, чем влияние X-хромосомы. Влияние аутосом на эти признаки очень слабое, оно заметно только при сравнении нормальной женщины (2X2A) со страдающей синдромом Шерешевского-Тернера (1X2A). У мышей не обнаруживается даже и такого слабого влияния аутосом на пол – у них особи с хромосомным набором 1X2A фенотипически не отличаются от нормальных самок.

Зависимость пола человека от соотношения числа X- и Y-хромосом

Число X-хромосом	Число наборов (A) аутосом	Соотношение числа X-хромосом с числом Y-хромосом ($\frac{X}{Y}$)	Половой фенотип
1X	2Y	0,5	Фенотипически обычно неотличим от нормального мужчины; рост часто выше среднего
1X	1Y	1	Нормальный мужчина
2X	2Y	1	Сильно евнухоидный мужчина
3X	2Y	1,5	Сильно евнухоидный бесплодный мужчина
2X	1Y	2	Мужчина со слабой формой синдрома Клейнфельтера
3X	1Y	3	Мужчина со средней формой синдрома Клейнфельтера
4X	1Y	4	Мужчина с тяжёлой формой

			синдрома Клейнфельтера
1X	-	-	Женщина с синдромом Шенешевского-Тернера
2X	-	-	Нормальная женщина
3X	-	-	Нормальная женщина, иногда бесплодная

Хорошей иллюстрацией такого взаимодействия является синтез пигмента меланина в волосяном покрове млекопитающих. Этот пигмент образуется в особых клетках, возникающих из нервного валика зародыша в виде непигментированных меланобластов, мигрирующих затем в кожу и волосяные фолликулы, где они превращаются в пигментированные меланоциты. Все этапы дифференцировки меланобластов в меланоциты и синтез в них меланина контролируются многими генами, особенно хорошо изученными у мышей (некоторые из этих генов упоминались в предыдущих разделах. Так, доминантный ген *C* кодирует фермент тирозиназу, играющий важную роль в биохимических реакциях, ведущих к синтезу меланина; у гомозигот по рецессивному аллелю с этого гена тирозиназа не вырабатывается, почему они и являются альбиносами. Доминантный ген *P* ответственен за формирование меланосом – сложно устроенных внутриклеточных белковых структур, в которых откладывается меланин; под влиянием рецессивного аллеля *p* этого гена нарушается строение меланосом, вследствие чего они оказываются слабо пигментированными и это приводит к ослаблению окраски, всего волосяного покрова. Доминантный ген *D* определяет форму меланоцитов, нормально имеющих длинные разветвленные отростки – дендриты; рецессивный аллель *d* вызывает уменьшение числа дендридов и их укорочение, в результате чего меланоциты передают меньше меланосом окружающим кератиноцитам (клеткам, образующим волосы), и это тоже ведет к посветлению окраски животного. Меланоциты способны синтезировать меланин разных цветов – черный, коричневый и желтый. Доминантный ген *B* определяет черный цвет меланина, а его рецессивный аллель *b* – коричневый цвет. Доминантный ген *A^y* эпистатичен по отношению к паре *B-b* и в присутствии этого гена в меланоцитах синтезируется желтая разновидность меланина. Известен и ряд других генов, контролирующих пигментацию меланоцитов мышей. Цвет синтезируемого меланина зависит не только от генотипа самого меланоцита, но и от генотипа окружающих его клеток. Это обнаруживается опытами по пересадке кожи. Если пересадка производится новорожденным мышатам, то меланобласты из трансплантата мигрируют в окружающую ткань и проникают в волосяные фолликулы. Реципиентами в опытах были мышата-альбиносы; двух генотипов: *ccA^yaBB* и *csaaBB*. Первым пересаживали кусочки кожи черных мышей (генотип *CSaaBB*). Меланобласты мигрировали из черного трансплантата в волосяные фолликулы реципиента, в результате чего вокруг пересаженного кусочка в виде каймы вырастали желтые волосы. Очевидно, сам факт наличия пигмента в волосах этой каймы, образованных клетками альбиноса, обязан генотипу мигрировавших из трансплантата меланобластов, в которых присутствовал ген *C*, однако желтый цвет синтезированного в них пигмента определялся генотипом окружающих их клеток реципиента, в которых присутство-

вал ген A^y . Следовательно, эти клетки вырабатывают какое-то вещество, заставляющее меланоциты, происходящие из трансплантата синтезировать желтый пигмент, а не черный, как соответствовало бы их генотипу. Реципиентам-альбиносам другого генотипа (без гена A^y) пересаживали кожу желтых мышей, у которых был этот ген (генотип $CC^y aBB$). Меланобласты из трансплантата мигрировали в волосяные фолликулы соседних тканей, вследствие чего вокруг пересаженного кусочка развилась кайма черных волос. Как и в первом случае, присутствие пигмента в волосках этой каймы было обусловлено генотипом меланоцитов из желтого трансплантата, цвет же этого пигмента (черный, а не желтый) определял генотип окружающих клеток хозяина.

У многих млекопитающих синтез меланина подвержен гормональной регуляции. Это особенно ярко проявляется у тех животных, окраска волосяного покрова которых меняется в зависимости от времени года (заяц-беляк, белка, песец и др.). Изменения эти связаны с увеличением или уменьшением содержания в крови некоторых гормонов, особенно гормонов, продуцируемых гипофизом, активность которого в свою очередь определяется длительностью светового дня. Есть основания думать, что гормоны действуют на меланоциты не прямо, а через клетки окружающих тканей.

Сведения о взаимодействии генов, находящихся в разных клетках, существенно пополнились за последние годы благодаря исследованиям, выполненным на аллофенных мышах. Аллофенными называют химерные организмы, развивающиеся из сочетания бластомеров двух или более генотипически разнородных зародышей. Из яйцеводов беременных мышей извлекают начавшие дробиться яйцеклетки, разъединяют бластомеры с помощью протеолитического фермента проназы и смешивают бластомеры разных зародышей друг с другом. Когда бластомеры соединятся, их вводят в матку другой мыши, гормонально подготовленной к тому, чтобы у нее произошла имплантация зародыша. Рождающиеся мышата представляют собой мозаиков, каждый из которых происходит от четырех или более родителей. К настоящему времени разработаны приемы, позволяющие добиться слияния культивируемых в искусственных средах не только клеток различных млекопитающих (мыши и крысы, мыши и человека и др.), но и клеток столь отдаленных видов, как человек и курица, человек и комар и даже человек и морковь, человек и табак, курица и дрожжи и т.п.

Иммуногенетика. Примером особенно сложного взаимодействия генов в процессах дифференцировки клеток может служить синтез иммуноглобулинов (антител), лежащий в основе явлений иммунитета у человека и позвоночных животных. В исследовании этих явлений, очень интересных в теоретическом отношении и имеющих важное значение для практической медицины и ветеринарии, большая роль принадлежит разделу генетики, получившему название иммуногенетики. Иммуногенетика изучает наследственные факторы иммунитета, в том числе определяющие разнообразие и специфичность иммуноглобулинов.

Иммуноглобулины представляют собой особые белки, вырабатываемые в ответ на внедрение в организм антигенов – чужеродных белков или полисахаридов, с которыми иммуноглобулины специфически связываются, нейтрализуя их вредное действие. В развитии иммунитета участвуют в основном об-

разуемые в костном мозге лимфоциты двух типов; одни из них затем дифференцируются в зобной железе (тимусе) и называются Т-лимфоцитами, а другие – в селезенке и лимфоидных органах и называются В-лимфоцитами.

Биосинтез антител осуществляется В-лимфоцитами или их потомками. Для этого нужно, чтобы антиген связался на поверхности В-лимфоцита с иммуноглобулиновыми рецепторами, обладающими сродством с этим антигеном. Однако для большинства антигенов этого недостаточно. В-лимфоцит определенной специфичности начинает размножаться и дифференцируется в зрелый плазмочит, синтезирующий иммуноглобулин, только после того, как этот В-лимфоцит получил положительный сигнал от Т-лимфоцита, который тоже должен «узнать» этот же антиген. Этот процесс называется кооперацией В- и Т-лимфоцитов.

Процесс синтеза антител контролируется различными структурными генами иммуноглобулинов и генами интенсивности иммунного ответа. Этот процесс характеризуется двумя следующими важными особенностями. Во-первых, это способность лимфоцитов распознавать молекулы огромного числа антигенов и вырабатывать столь же много разных иммуноглобулинов, каждый из которых специфически реагирует с тем или иным антигеном; при этом роль Т- и В-лимфоцитов в распознавании антигенов различна – первые распознают характер антигена, вторые же распознают не только сам антиген, но и специфический сигнал об этом антигене, полученный от Т-лимфоцитов. Во-вторых, это способность лимфоцитов «запоминать» антиген, для связывания с которым они синтезировали соответствующий иммуноглобулин, и отвечать на повторное попадание в организм этого антигена ускоренной и усиленной продукцией того же иммуноглобулина. Генетические механизмы, определяющие перечисленные свойства обоих типов лимфоцитов, изучены главным образом у В-лимфоцитов, поэтому мы ограничимся рассмотрением этих механизмов только у них.

Молекула иммуноглобулина состоит из двух одинаковых тяжелых полипептидных цепей (обозначаются буквой H от английского слова heavy – тяжелый) и двух одинаковых легких полипептидных цепей (обозначаются буквой L, от английского light – легкий). Каждая тяжелая цепь соединена с легкой цепью дисульфидной связью, этими же связями соединены две тяжелые цепи молекулы иммуноглобулина; кроме того, в пределах и тяжелых и легких цепей имеются дисульфидные связи, обуславливающие частичное свертывание этих нитей. И тяжелая, и легкая цепи состоят из двух участков каждая – переменного (обозначается буквой V от английского слова variable) и постоянного (обозначается буквой C от английского слова constant).

Специфичность по отношению к разным антигенам определяется первичной структурой переменных участков полипептидных цепей молекулы иммуноглобулина. Последовательность аминокислот в постоянных участках цепей мало изменчива, она одинакова или почти одинакова у иммуноглобулинов, принадлежащих к одному из классов, на которые они делятся (так, у человека сейчас определено пять классов иммуноглобулинов). Наоборот, V-участки цепей очень разнообразны по последовательности образующих их аминокислот; для каждого из множества различных иммуноглобулинов характерна своя особая первичная структура V-участков полипептидных цепей.

Созревание продуцирующих антитела В-лимфоцитов происходит в два этапа; один из них зависит, а другой не зависит от антигена. На первом этапе клетки размножаются и образуют очень гетерогенную популяцию малых В-лимфоцитов, различающихся по способности вырабатывать иммуноглобулины; каждая такая клетка потенциально может синтезировать антитела только одной специфичности, связывающие только один определенный антиген, хотя эти антитела могут принадлежать к различным классам иммуноглобулинов. Другими словами, у них будут одинаковые V-участки, но могут быть разные С-участки полипептидных цепей. Те из этих клеток, которые получили положительный сигнал от Т-лимфоцитов, начинают усиленно размножаться, давая отдельные клоны зрелых В-лимфоцитов, синтезирующих один и тот же иммуноглобулин и передающих эту способность своим потомкам. Поэтому при повторном попадании в организм того же антигена его встречает достаточно большое число В-лимфоцитов, синтезирующих иммуноглобулин, связывающий данный антиген, и происходит более быстрое и интенсивное обезвреживание этого антигена, чем при первичном контакте с ним.

Центральное место в иммуногенетике занимает вопрос о причинах разнообразия синтезируемых организмом антител. Это разнообразие определяется в первую очередь тем, что геном позвоночных содержит большое число генов, определяющих структуру V-участков легкой и тяжелой цепей молекул различных антител; роль антигена сводится к стимуляции размножения некоторых клеток, в которых произошла активация генов определяющих синтез иммуноглобулинов, способных связываться с данным антигеном, т.е. антиген является тут селекционирующим фактором. Во-вторых, разнообразие В-лимфоцитов в отношении продуцирования ими различных антител до некоторой степени обусловлено высокой частотой возникающих в них соматических мутаций, либо независимо от действия антигена, либо под его влиянием. В-третьих, при дифференцировке В-лимфоцитов в них до или после воздействия антигена имеют место соматические рекомбинации генов, кодирующих иммуноглобулины. Очень важной причиной разнообразия синтезируемых В-лимфоцитами иммуноглобулинов, несомненно, является образование различных сочетаний в молекуле тяжелых и легких полипептидных цепей: ведь каждая молекула иммуноглобулина состоит из цепей обоих этих видов и специфичность связывания антигена молекулой иммуноглобулина зависит от обеих цепей. Как уже говорилось, имеется множество генов, кодирующих участки обеих цепей; по-видимому, этих генов в геноме позвоночных несколько сотен. Генов, кодирующих С-участки, меньше, их бывает до десятка. Ясно, что число возможных сочетаний этих генов чрезвычайно велико. Если любая тяжелая цепь может объединяться с любой легкой цепью при сборке молекулы функционально активного антитела, то при наличии 1000 разных тяжелых цепей и 1000 разных легких цепей. Их сочетания могут привести к образованию миллиона (1000^2) различных иммуноглобулинов.

Число возможных различных тяжелых цепей может быть значительно больше, чем 1000. Ведь каждая тяжелая цепь антител кодируется примерно 200 V-генами, из которых каждый может соединяться с любой из десятка

Д-последовательностей, с любой из нескольких J-последовательностей и с любым из десятка С-генов, что, по скромным расчетам, делает возможным синтез около 80000 различных тяжелых цепей ($200 \times 10 \times 4 \times 10 = 80000$).

Принципиально также синтезируются легкие цепи иммуноглобулинов.

Наследственные различия между особями, касающиеся их белков, служат причиной несовместимости тканей (гистонесовместимости), которая может проявляться при переливаниях крови и пересадках тканей и органов.

У млекопитающих на развитие плода существенно влияют его иммунологические взаимоотношения с материнским организмом. В некоторых случаях различия белков матери и плода приводят к иммунологическому конфликту, от которого страдает и даже может погибнуть плод или новорожденный потомок. Примером этого может служить гемолитическая желтуха новорожденных у человека. Если морских свинок иммунизируют эритроцитами обезьян-резусов, то сыворотка крови таких свинок агглютинирует эритроциты приблизительно у 85 % людей, так называемых резус-положительных, обозначаемых Rh⁺. У остальных 15% людей, обозначаемых Rh⁻, сыворотка иммунизированных морских свинок не вызывает агглютинации эритроцитов. Наличие резусного антигена определяется присутствием гена *D*, доминирующего над резус-отрицательностью (*d*). Если резус-отрицательная женщина (*dd*) зачала от резус-положительного мужчины (*DD*), то плод будет резус-положительным (*Dd*). Его эритроциты с содержащимися в них антигенами проникают в матку через плаценту и вызывают в ней синтез антител против резус-положительного плода. Эти антитела попадают через плаценту в кровь зародыша и разрушают в нем зрелые эритроциты, результатом чего является гемолитическая желтуха, обычно приводящая к гибели либо плода, либо новорожденного младенца, которого можно спасти только переливанием крови в первые часы после рождения. Понятно, что от гетерозиготного Rh⁺ отца (*Dd*) и Rh⁻ матери (*dd*) в среднем лишь у половины потомков может развиваться гемолитическая желтуха. При резус-несовместимости первая беременность обычно проходит без гемолитической желтухи новорожденных или болезнь эта проявляется в легкой форме, но при последующих беременностях концентрация антител против Rh⁺ плода возрастает и поражения плода становятся все более тяжелыми.

Наследование дифференцированного состояния в ряду клеточных поколений. Специфические особенности дифференцированных клеток, возникающие в ходе онтогенеза, стабилизируются и наследуются последующими клеточными поколениями. Это четко доказано, в частности, исследованиями, проведенными на клетках, культивируемых вне организма. Так, культивируемые в искусственной питательной среде хрящевые клетки куриного эмбриона сохраняют в течение десятков клеточных поколений характерные для них свойства вырабатывать внеклеточную капсулу, синтезировать хондритинсульфат и образовывать клоны определенной морфологии. Соединительнотканые клетки, аорты на протяжении многих пассажей в культуре проявляют способность вырабатывать коллаген. Культивируемые вне организма клетки сетчатки глаза так же длительно сохраняют способность производить пигмент. Подобных примеров известно очень много.

Передаваемые ряду клеточных поколений различия разных типов дифференцированных клеток не могут быть объяснены изменениями их генотипа. К настоящему времени доказано, что дифференциация клеток в большинстве случаев полностью обратима. Об этом говорят многие факты, о некоторых из которых мы уже упоминали. Эти факты показывают, что дифференцированная клетка содержит полный комплект генов, свойственных данному организму. Экспериментальные данные, объясняющие механизмы дифференциации, были получены Дж. Гердоном в начале 60-х годов на *Xenopus laevis*. Неоплодотворённые яйцеклетки облучали дозой ультрафиолета, которая инактивировала ядра, но практически не повреждала цитоплазму. С помощью микрохирургической техники в такие энуклеированные яйцеклетки пересаживались ядра из дифференцированных клеток – эпителия кишечника головастика. В некоторых случаях удалось получить полностью нормальных плодовитых взрослых особей: из опытов Гердона можно сделать два вывода: во-первых, в процессе дифференцировки не происходит необратимых повреждений генома; во-вторых, перенесённые ядра тканевой клетки в неоплодотворённое яйцо приводит к полному возврату дифференцированного состояния. Эти и многие другие аналогичные факты не составляют сомнения в том, что каждая клетка организма в генетическом смысле тотипотентна, т.е. несёт всю полноту его генетической информации.

У высших растений из соматических клеток растений также можно получить полноценные фертильные растения.

Генетические факторы избирательного размножения и гибели клеток и старения организма. Важную роль в онтогенезе большинства эукариотов играет генетически запрограммированное размножение одних типов клеток и гибель других.

Запрограммированная гибель некоторых типов дифференцированных клеток представляет важную черту нормального онтогенеза высших организмов и происходит как на протяжении эмбрионального развития, так и в постэмбриональный период. Разделение пальцев конечностей у эмбрионов позвоночных вызвано гибелью клеток, соединяющих зачатки пальцев. Образование просветов многих внутренних органов происходит тоже вследствие гибели клеток. Гибель некоторых типов дифференцированных клеток в постэмбриональном периоде необходима для правильного развития и нормальной жизнеспособности организма. При превращении головастика в лягушку клетки хвоста и жабер погибают и резорбируются. Выше уже упоминалось о разрушении личиночных тканей и органов во время метаморфозы насекомых. Всем известны отмирание семядолей проростков растений, увядание и опадение отцветших цветков. При образовании эритроцитов у млекопитающих клетка теряет ядро, поэтому эритроциты обречены на скорую гибель и количество их должно непрерывно пополняться. Многие секреторные клетки погибают после выделения ими секрета. Во всех этих и множестве других примеров предусмотренная наследственной программой гибель клеток наступает на определенной стадии их дифференциации. Так, врожденное уродство – сросстопалость, встречающаяся у человека, определяется доминантным мутантным геном, в присутствии которого клетки

эмбриона, соединяющие зачатки пальцев и в норме погибающие, выживают, вследствие чего пальцы остаются сросшимися.

Апоптоз (генетически запрограммированная смерть клетки). Большинство, если не все клетки животных обладают способностью к саморазрушению в результате активирования внутренних генетических программ самоубийства в тех случаях, когда данные клетки более не требуются организму или если они серьезно повреждены. Исполнение этой программы смерти часто связано с характерными морфологическими и биохимическими изменениями, и эта форма клеточной смерти называется апоптозом (термин происходит от греческого слова, описывающего растение, теряющее листья). В ходе апоптоза ядро и цитоплазма конденсируются и умирающая клетка часто фрагментируется на апоптозные тела, окруженные мембранами, которые затем подвергаются фагоцитозу и перевариваются макрофагами или соседними клетками.

Апоптоз следует отличать от обычной некротической гибели клеток. Последняя, как правило, вызывается острым повреждением клетки, которое характеризуется быстрым ее набуханием и лизисом. Апоптоз часто сопровождается активацией нуклеаз, расщепляющих хромосомную ДНК сначала на большие (50-300 тпн), а потом на все более мелкие фрагменты.

Как сейчас широко признается, апоптоз играет важную роль в формировании организма, регулировании числа клеток в организме, как защитный механизм для удаления ненужных или потенциально опасных клеток, таких как самоактивирующиеся лимфоциты, клетки, инфицированные вирусами, или опухолевые клетки.

Лучше всего генетический контроль процесса апоптоза изучен у нематоды *C. elegans*. Программированная смерть клеток у этого вида проходит четыре этапа. Сначала формируется «решение» о том, будет клетка жить или должна погибнуть, затем происходит гибель клетки, ее поглощение фагоцитами или другой клеткой и деградация поглощенных остатков клетки.

Выявлено 14 генов, участвующих в этом процессе у нематоды. Три гена - *ced-3*, *ced-4* и *ced-9* (*ced* – cell death defective) – вовлечены в процесс гибели всех клеток. Активность первых двух требуется для того, чтобы произошла гибель клеток, ген *ced-9* необходим, чтобы защитить клетки, которые должны выжить в ходе развития. Этот ген кодирует белок *Bcl-2*, принадлежащий к семейству белков – регуляторов клеточной смерти. Белки, видимо, взаимозаменяемы: экспрессия гена *Bcl-2* человека ингибирует апоптоз у нематоды. Эти данные свидетельствуют о значительном консерватизме по крайней мере части системы клеточного самоубийства. Оказалось также, что активность антиапоптозного белка p35, выделенного из бакуловируса, защищает от апоптоза клетки насекомых, нематод и нейроны млекопитающих.

Каким образом регулируется программа апоптоза и каким образом только определенные клетки отбираются для гибели? Апоптоз контролируется многими сигналами. Один из них был найден у дрозофилы. В результате генетического анализа был обнаружен ген *reaper* (*rpr*) (в переводе с англ. – «жнец» или «косец»), который способен аккумулировать внешние и внутренние сигналы. Делеции, удаляющие ген *rpr*, подавляют апоптоз в ответ на любой стимул, известный до сих пор. У эмбрионов дрозофилы

мРНК гена *rpr* специфически выявляется в клетках, которые обречены на гибель. Начало экспрессии гена на 1-2 ч опережает появление первых морфологических признаков апоптоза. Этот ген быстро индуцируется в ответ на облучение рентгеновскими лучами. Кроме того, искусственная активация гена *rpr* приводит к гибели клеток, которые обычно не подвержены апоптозу. Ген *rpr* кодирует небольшой полипептид из 65 аминокислот, который не имеет существенного сходства с другими известными белками.

Пенетрантность и экспрессивность генов. Формирование фенотипа в ходе развития организма в большой мере зависит от того, насколько полно проявляются его гены и каково их выражение. Способность гена проявляться в фенотипе называют пенетрантностью. Мерилом пенетрантности служит доля особей, гетерозиготных или гомозиготных по определенному доминантному гену, или особей, гомозиготных по определенному рецессивному гену, у которых этот ген фенотипически проявился. Например, 100%-ная пенетрантность рецессивного гена *a* означает, что все особи *aa* имеют фенотипические особенности, отличающие их от особей *AA* и *Aa*; если же этой фенотипической особенностью обладает только половина особей *aa*, другая половина их фенотипически подобна особям *AA* и *Aa*, то говорят, что ген *a* характеризуется 50%-ной пенетрантностью.

Степень выражения влияния гена на фенотип называется экспрессивностью.

И пенетрантность, и экспрессивность гена могут зависеть и от условий среды, в которых развивается организм, и от влияния других присутствующих в организме генов. Есть гены, которым присуща полная, т.е. 100%-ная пенетрантность в любых условиях, позволяющих организму выжить, и при любом наборе других генов в его геноме. Так, у человека доминантный ген темной окраски радужной оболочки глаз и его рецессивный аллель, обуславливающий ее светлую окраску, всегда проявляются у всех лиц в полном соответствии с тем, в каком сочетании находятся у них эти аллели. Это же справедливо для пары аллельных генов, определяющих у человека группы крови АВ, А, В и 0. Такой неизменно полной пенетрантностью характеризуются многие гены у всех генетически изученных организмов, но наряду с этими генами известно и множество неполнопенетрантных. В отношении экспрессивности тоже имеются существенные различия между генами. Есть гены, экспрессивность которых остается постоянной или почти постоянной при разных условиях окружающей среды и в разных генотипах, у других же она варьирует под влиянием этих факторов. Так, из двух только что упомянутых пар генов человека аллели, определяющие группы крови, характеризуются весьма константной экспрессивностью.

Генотип и развитие особенностей поведения. Несомненно, что наследственность, играет существенную роль в формировании поведения животных, и человека, но изучение этой роли весьма затрудняется тем, что поведение в очень большой степени зависит от условий среды, в которой развивается и живет организм, причем удельный вес влияния среды в становлении особенностей поведения в общем тем больше, чем совершеннее строение нервной системы и чем сложнее и разнообразнее формы поведе-

ния. Кроме того, проведенные исследования показывают, что наследственные различия часто определяются многими генами, что создает дополнительные трудности для генетического анализа. Особенно это касается сложных интегративных форм поведения.

Работы по генетике поведения, начавшиеся еще в первые годы прошлого столетия и развернувшиеся более широко главным образом за последние 10-15 лет, охватывают обширный круг организмов от относительно примитивных – инфузорий, колероваток, нематод – и до млекопитающих, включая человека, но большинство исследований в этой области выполнено на немногих хорошо изученных в генетическом отношении и быстро размножающихся лабораторных животных (дрозофила, мышь, крыса), которых к тому же можно содержать в строго контролируемых условиях, и для которых разработаны тесты, позволявшие достаточно точно количественно охарактеризовать различные поведенческие реакции.

Вопросы

1. Какие молекулярно-генетические процессы определяют раннее развитие?
2. В чём сущность плейотропного действия генов?
3. Каковы особенности взаимодействия генов? Что такое генный баланс?
4. Что такое иммуногенетика, и какова её роль в генетике человека?
5. Какова роль В- и Т-лимфоцитов?
6. В чём заключаются причины разнообразия синтезируемых организмом антител?
7. Что такое резус-фактор и как он наследуется?
8. Чем объясняется причина наследования дифференцированного состояния в ряду клеточных поколений?
9. Что такое апоптоз?
10. Что такое пенетрантность и экспрессивность?

ЛЕКЦИЯ 18. ГЕНЕТИКА ПОПУЛЯЦИЙ

1. Закон Харди-Вайнберга

2. Изменения генетического строения популяций, вызываемые нарушением панмиксии, дрейфом генов и миграциями

3. Влияние мутаций на генетическое строение популяций

4. Изменения генетического строения популяций, вызываемое отбором

5. Генетическая гетерогенность природных популяций

Одним из важных направлений современной генетики, имеющим большое значение для эволюционного учения, является исследование генетических процессов, протекающих в природных популяциях организмов.

Любой вид живых существ распространен по занимаемому им ареалу не сплошь, а в той или иной мере обособленными друг от друга совокупностями особей – популяциями. Это объясняется прежде всего тем, что условия жизни в разных местах ареала неоднородны и особи данного вида концентрируются преимущественно в наиболее благоприятных для них участках ареала. Таким образом, популяции – это реально существующие ячейки, из которых состоит

вид, и именно в них осуществляются начальные этапы эволюционного процесса, ведущие в дальнейшем к возникновению новых видов. Однако не всякая изолированная группа особей представляет популяцию: в пределах популяции особи часто тоже распространены неравномерно, образуя относительно немногочисленные группы, сохраняющиеся лишь в течение короткого времени (на протяжении одного-двух поколений, иногда и того меньше), почему такие группы не обладают собственной эволюционной судьбой, отличной от судьбы остальной части популяции, из которой они временно выделились и с которой быстро снова смешиваются. Наиболее четкое определение популяции можно дать для видов, размножающихся половым путем при перекрестном оплодотворении. У них 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).

Закон Харди – Вайнберга. Любая популяция представляет смесь особей, не вполне генотипически одинаковых. Многие гены существуют там в виде различных аллелей и разные особи отличаются друг от друга по этим аллелям. Для понимания генетических процессов, протекающих в популяции, необходимо знать, какие закономерности управляют распределением генов между особями, изменяется ли это распределение из поколения в поколение и если изменятся, то каким образом. Некоторые аспекты этой проблемы были теоретически проанализированы еще в 1908г. одновременно двумя учеными – Г. Харди в Англии и В. Вайнбергом в Германии. Важный итог их работ известен в генетике, как формула Харди-Вайнберга.

Рассмотрим распределение двух аллелей A и a аутосомного гена в популяции перекрестнооплодотворяющихся организмов. Допустим, что численность этой популяции бесконечно велика, популяция полностью изолирована от других популяций этого вида и в ней происходит чисто случайное образование родительских пар, не зависящих от их генотипов и фенотипов (свободное скрещивание или панмиксия). Временно отвлечемся от изменений в составе популяции, могущих возникать вследствие мутаций, превращающих аллель A в аллель a или аллель a в аллель A , либо в результате отбора, обусловленного возможными различиями в жизнеспособности или плодовитости особей разного генотипа (AA , Aa и aa).

В такой гипотетической панмиктической популяции любая особь может скрещиваться с любой другой и все они имеют равную вероятность оставить одинаковое в среднем число потомков. Поэтому можно рассматривать всю совокупность половых клеток, образуемых в популяции, как одно целое. Результаты соединения мужских и женских половых клеток, происходящего случайно, будут определяться только частотой разных их типов. Каждая половая клетка содержит лишь один аллель данного гена, следовательно, частота этого аллеля в популяции будет равна частоте несущих его половых клеток.

Допустим, что число доминантной и рецессивной аллелей будет одинаковым и равным 0,5. построив решётку Пеннета убедимся, что в F_1 соотношение генотипов будет $0,25AA : 0,5Aa : 0,25aa$.

♂	0,5A	0,5a
---	------	------

♀		
0,5A	0,25AA	0,25Aa
0,5a	0,25Aa	0,25aa

Ясно, что в следующем поколении частота образования гамет с доминантной и рецессивной аллелями тоже будет равновероятна, т.е. 0,5A и 0,5a. В таком случае, если свободное скрещивание сохранится, относительная частота разных генотипов не изменится, и такая же картина генетической структуры популяции будет сохраняться и в последующем. Аналогичные закономерности будут наблюдаться и в тех случаях, когда исходные частоты аллелей неодинаковы. Формула Харди-Вайнберга, отражающая частоту генов в популяциях, имеет следующий вид:

$$(p+q)^2=1 \text{ или } p^2+2pq+q^2=1,$$

где p^2 – частота гомозиготного потомства по аллели A; $2pq$ – частота гетерозигот Aa; q^2 – частота гомозиготного потомства по аллели a. Аллели A и a присутствуют в популяции с частотами p и q, сумма которых равна 1, т.е. формулу Харди-Вайнберга можно записать и так: $p^2AA+2pqAa+q^2aa$

Формула Харди-Вайнберга даёт возможность рассчитывать относительную частоту генотипов и фенотипов в популяциях, она пригодна и для тех случаев, когда генетические локусы представлены множественными аллелями.

Согласно формуле Харди-Вайнберга, в идеальной популяции, находящейся в равновесии, доли разных генотипов должны неограниченно долго оставаться постоянными. Однако в реальных популяциях эти доли могут изменяться из поколения в поколение вследствие следующих причин: нарушения панмиксии (отсутствия или ограничения свободы скрещиваний), малочисленности популяции, частичного перемешивания разных популяций, возникновения мутаций, наличия отбора (из-за чего различны шансы оставления потомства особями разного генотипа). Теоретический анализ и исследования генетического строения реальных популяций разных организмов показало, что только две первые из перечисленных причин могут приводить к существенному искажению соотношения частот генотипов, ожидаемого в соответствии с формулой Харди-Вайнберга. Поэтому если популяция достаточно велика и в ней наблюдается панмиксия, то распределение генотипов в такой популяции оказывается близким к требуемому этой формулой. И наоборот, обнаружение в реальной популяции соотношения частот генотипов, приближающегося к предсказываемому формулой Харди-Вайнберга, служит показателем того, что эта популяция довольно многочисленна и что в ней осуществляются свободные скрещивания. Приведем два примера, иллюстрирующие приложимость формулы Харди-Вайнберга к реально существующим популяциям.

У человека антигены крови M и N определяются двумя аллелями, которые мы обозначили K^M и K^N . Кровь гомозигот $K^M K^M$ содержит антиген M, кровь гомозигот $K^N K^N$ содержит антиген N, а в крови гетерозигот $K^M K^N$ присутствуют оба антигена – M и N. Люди, вступающие в брак, не руководствуются тем, какова антигенная группа партнера, поэтому в отношении этого признака браки заключаются случайно.

Частота групп крови M, N и MN в различных популяциях (по Винеру)

Популяция	Число лиц	Соотношение	Процент группы крови			Частота аллелей	
			М	МН	Н	$K^M(p)$	$K^N(q)$
Белые в США	6129	Фактическое	29,16	49,58	21,26	0,540	0,460
		Теоретическое	29,16	49,68	21,16	-	-
Эскимосы в Восточной Гренландии	569	Фактическое	83,48	15,64	0,88	0,913	0,087
		Теоретическое	83,48	15,89	0,76	-	-
Австралийцы-аборигены	730	Фактическое	3,00	29,60	67,40	0,178	0,882
		Теоретическое	3,17	29,26	67,57	-	-

В таблице для каждой из исследованных популяций указаны фактически наблюдавшиеся частоты трёх фенотипов и их частоты, теоретически ожидаемые по формуле Харди-Вайберга. Последние вычислены исходя из частот аллелей $K^M(p)$ и $K^N(q)$, приведенных в правом столбце таблицы.

Значения p и q найдены путем следующих рассуждений. Число генов K^M популяции равно удвоенному числу лиц группы крови М, сложенному с числом лиц группы крови МН (первые несут по два аллеля K^M , а вторые – по одному такому аллелю). Общее число обоих аллелей в популяции вдвое больше числа составляющих ее лиц. В таблице численность каждой группы выражена не в абсолютных цифрах, а в процентах. Поэтому значение p равно дроби, числитель которой образован удвоенным процентом группы М, сложенным с процентом группы МН, а знаменатель равен 200 (т.е. удвоенному проценту всех лиц в популяции). Так, для первой популяции, $p = \frac{2 \times 29,16 + 49,58}{200} = 0,540$, p , а поскольку $q=1-p$, то $q=1-0,540=0,460$.

Изменения генетического строения популяций, вызываемые нарушением панмиксии, дрейфом генов и миграциями. Отсутствие или ограничение панмиксии может очень сильно отражаться на генетическом строении популяций. Рассмотрим крайний случай – полное отсутствие панмиксии, наблюдаемое в популяциях строго самооплодотворяющихся организмов, например растений, размножающихся только самоопылением. Представим себе, что на остров, где нет растений изучаемого самоопыляющегося вида, попало одно растение этого вида, имеющее генотип Аа. В результате самоопыления генотипы в F_2 распределятся в соотношении $1AA+2Aa+1aa$, т.е. в соответствии с формулой Харди-Вайнберга. Однако уже в следующем поколении соотношение частот генотипов будет иным. Если мы обозначим число поколений буквой n , то соотношение частот генотипов в поколении n будет выражаться формулой $(2^n-1)AA + 2Aa + (2^n-1)aa$

В популяции не будет сохраняться равновесие ее генетического состава требуемое формулой Харди-Вайнберга, а, напротив, распределение частот генотипов будет изменяться от поколения к поколению, причем доля в популяции обоих типов гомозигот (АА и аа) будет непрерывно возрастать за счет уменьшения доли гетерозигот Аа. Если в популяции панмиксия отсутствует не полностью, как в рассмотренном примере, а лишь ограничена в той или иной степени, то распределение частот генотипов будет тем сильнее отличаться от предсказываемого формулой Харди-Вайнберга, чем менее свободно, происходит скрещивание между составляющими ее особями разного генотипа.

Изменения генетического строения популяции могут вызываться и чисто случайными, статистическими причинами. В реальной популяции численность родителей, дающих следующее поколение, всегда не бесконечно велика, как принималось для идеальной популяции, а ограничена, и поэтому распределение частот генотипов среди них может в силу случайного характера выборки оказаться несколько иным, чем во всей популяции в целом. Изменения такого рода тем значительнее, чем меньше эффективная численность популяции, т.е. число особей, фактически участвующих в размножении. Таким образом, при эффективной численности популяции, равной 2, когда в образовании следующего поколения принимают участие всего только две особи – одна женская и одна мужская и при одинаковой частоте обоих аллелей ($p=q=0,5$), потеря того или другого из этих аллелей происходит с вероятностью $1/16+1/16=1/8$ за поколение т.е. с этой вероятностью популяция становится гомозиготной по рассматриваемому гену, другими словами, можно ожидать, что в среднем всего через восемь поколений в популяции сохранится только либо аллель A , либо аллель a . Этот процесс изменения частот генов, в малочисленных популяциях, обязанный случайному сочетанию пар при размножении, получил название дрейфа генов.

Роль дрейфа генов в изменении генетического строения популяции быстро падает с ростом её эффективной численности. Математический анализ этого процесса показывает, что частота гетерозигот в популяции уменьшается за поколение вследствие дрейфа генов на величину, выражаемую формулой $K = \frac{1}{2n}$, где K – доля, на которую уменьшается частота гетерозигот (или что то же, возрастает частота гомозигот), а n – эффективная численность популяции.

Реальные популяции в пределах вида сравнительно редко бывают полностью изолированными; большей частью происходит некоторое передвижение особей из одной популяции в другую (миграции). Такое передвижение может быть не только активным, но и пассивным (например, перенос семян ветром или птицами). Иногда человек умышленно частично перемешивает популяции. Так, в Сибири, для улучшения местных соболей, в их популяции выпускали баргузинских соболей, обладающих очень темной окраской, ценимой в меховой промышленности. Включение новых групп в исторически сложившиеся популяции постоянно имеет место и в популяциях самого человека. Изменения частот генов, связанные с миграцией особей из популяции в популяцию, называют «перетеканием генов». Изменения эти тем значительнее, чем большую долю составляют иммигранты в популяции, в которую они вливались, и чем сильнее различаются частоты генов в основной популяции и среди иммигрантов.

Влияние мутаций на генетическое строение популяций. Во всякой популяции постоянно возникают мутации различных генов. Хотя спонтанные мутации каждого гена происходят с небольшой частотой, но суммарная роль их в генетике популяций очень велика. Мутационный процесс не только представляет основу разнообразия генов в популяциях, но может существенно влиять на генетическое строение популяции, т.е. на соотношение в ней частот разных генов.

Представим себе популяцию, в которой все особи гомозиготны по гену A , так что частота этого гена в популяции равна единице ($p=1$). Допустим, что этот

ген мутирует в состояние a с вероятностью 3×10^{-5} , т.е. в среднем в трех гаметах из ста тысяч. Если исходить только из этого допущения, то в следующем поколении аллель a будет встречаться в популяции с частотой $q=3 \times 10^{-5}$ и в дальнейшем частота этого аллеля должна только за счет мутаций возрастать за каждое поколение на такую же величину пока, спустя длительное время, все аллели A превратятся в a , т.е. значение p упадет в популяции до 0, значение q достигнет 1.

Так было бы, если бы мутации происходили только в одном направлении — от аллеля A к аллелю a . Но ведь бывают и обратные мутации, превращающие аллель a в аллель A . Прямые и обратные мутации гена обычно возникают с несколько различной частотой. При этом будет увеличиваться частота того аллеля этого гена, в сторону которого мутации происходят с большей вероятностью. Однако изменение соотношения частот аллелей в популяции вследствие такого мутационного давления идет только до определенного предела, при котором число возникающих прямых мутаций становится равным числу возникающих обратных мутаций

Большинство возникающих в популяции мутаций обречено в силу статистических причин на быстрое исчезновение, но некоторые из них могут сохраняться в течение ряда поколений. Это создает возможность для повышения в популяции частоты тех или иных мутантных генов либо потому, что они будут подхвачены отбором, либо вследствие их случайного дрейфа при колебаниях численности популяции. Кроме того, исчезновению мутантных генов из популяции противостоит действие мутационного процесса, благодаря которому эти же гены появляются там вновь и вновь.

Изменения генетического строения популяций, вызываемые отбором. Единственной силой, направляющей эволюцию органического мира, является естественный отбор. Это направляющее действие отбора проявляется и на начальных этапах эволюционных изменений, протекающих в популяциях и ведущих к внутривидовой дифференциации и образованию новых видов. Поэтому очень важно знать, как влияет отбор на генетическое строение популяций.

Отбор означает дифференциальную вероятность оставления потомства разными особями или группами особей. Вероятность дать потомство детерминруется многими свойствами организма — его жизнеспособностью, быстротой достижения репродуктивного возраста, продолжительностью репродуктивного периода, способностью к скрещиванию, плодовитостью и т.д. Совокупность этих свойств называется приспособленностью особи к условиям среды, в которой они обитают. Как и другие фенотипические характеристики организма, приспособленность в значительной мере определяется генотипом, поэтому генотипически различным особям обычно присуща разная приспособленность. Действие отбора на генетическое строение популяции состоит в том, что некоторые группы особей, генотипически отличающиеся от других, частично или полностью устраняются от размножения, так что на генетическое строение будущего поколения оказывает влияние только оставшаяся часть популяции, обладающая относительно более высокой приспособленностью.

Ход изменения генетического строения популяции различен в зависимости от того, доминантны или рецессивны элиминируемые отбором гены. Когда отбор ведет к устранению от размножения особей, несущих снижающий приспособленность доминантный ген, то частота этого гена падает относи-

тельно быстро, так как он всегда фенотипически проявляется и поэтому в каждом поколении находится под контролем отбора. В популяции, где присутствует такой вредный доминантный ген и его рецессивный аллель, отбор в течение немногих поколений резко снижает долю гомозиготных доминантов и повышает долю гомозиготных рецессивов, доля же гетерозигот снижается постепенно и полная их элиминация происходит значительно позже, чем гомозиготных доминантов. Гораздо медленнее изменяется генетическое строение популяции, когда отбор ведет к устранению от размножения гомозигот по рецессивному гену, делающему их менее приспособленными к окружающим условиям, чем гетерозиготы или гомозиготные доминанты. В этом случае под контроль отбора попадают только особи, гомозиготные по рецессивному гену, а в гетерозиготах этот ген ускользает от отбора. Отбор сперва относительно быстро повышает долю гомозиготных доминантов и уменьшает долю гомозиготных рецессивов, но затем процессы эти сильно замедляются, причем особенно медленно снижается доля гомозиготных рецессивов, так как в каждом поколении они вновь выщепляются в потомстве скрестившихся между собой гетерозигот, доля которых долго остается значительной.

Генетическая гетерогенность природных популяций. Со времени первых работ по генетике природных популяций, проведенных Четвериковым и его сотрудниками в 1920-х годах, различными исследователями накоплен весьма значительный материал о генетическом строении природных популяций ряда организмов.

Многочисленными работами было установлено, что все обследованные природные популяции характеризуются большим генотипическим разнообразием составляющих их особей. Эта генетическая гетерогенность популяций выявляется при изучении наследования встречающихся там фенотипических изменений, генетическим анализом фенотипически нормальных особей на присутствие в них скрытых рецессивных мутаций и цитологическими исследованиями, дающими возможность обнаружить хромосомные перестройки. Работы эти показали, что генетическое строение природных популяций разных организмов обладает некоторыми общими для них типичными чертами.

Самая разительная из этих черт – наличие в природных популяциях множества рецессивных мутаций, скрыто присутствующих в гетерозиготных фенотипически нормальных особях. Насыщенность же популяций рецессивными мутациями объясняется крайней редкостью их фенотипического проявления, вследствие чего они ускользают от действия естественного отбора и некоторое время после возникновения сохраняются там независимо от того, как изменяются признаки организма этими мутациями в гомозиготном состоянии.

В природных популяциях распространены не только рецессивные, но и доминантные мутации. Однако, кроме мономорфных природных популяций, известны и популяции, образуемые особями двух или нескольких четко различных фенотипов. Такой диморфизм или полиморфизм популяций может объясняться модификациями (например, касты у муравьев обязаны разному питанию личинок), а может вызываться генетическими различиями особей. Генетически обусловленный диморфизм или полиморфизм популя-

ции всегда представляет результат естественного отбора, но возникает двояким путём: либо потому, что гетерозиготы по каким-нибудь аллелям имеют больше шансов оставить потомство, чем соответствующие гомозиготы, либо отбор попеременно благоприятствует то одному, то другому аллелю в силу переменчивости условий, в которых обитает популяция.

Примером полиморфизма, вызываемого отбором в пользу гетерозигот, могут служить некоторые африканские популяции человека, в которых широко распространена серповидноклеточная анемия. Эта болезнь обязана мутации, возникшей в гене, кодирующем β -цепь гемоглобина, в результате чего один из валинов оказался заменённым в этой цепи глутаминовой кислотой. Как уже отмечалось ранее, гомозиготы по этому мутантному гену страдают тяжёлым малокровием, почти всегда, приводящим их к гибели в детском возрасте. Эритроциты этих гомозигот характеризуются необычной серповидной формой, по которой болезнь получила свое название. Гетерозиготность по гену серповидноклеточной анемии к малокровию не ведёт. Эритроциты гетерозигот имеют обычную форму, но если их поместить в условия пониженного парциального давления кислорода, они становятся серповидными. В них содержится около 60 % нормального и 40 % изменённого гемоглобина, а это говорит о том, что в гетерозиготах функционируют оба аллеля – немутантный и мутантный. Поскольку гомозиготы по мутантному аллелю полностью устраняются из воспроизводства, казалось бы, что популяции должны быстро освободиться от этого аллеля, а между тем доля гетерозигот по этому гену достигает в некоторых африканских племенах 30-40 %. Причина этого выяснилась, когда было установлено, что высокая частота гена серповидноклеточной анемии наблюдается у племен, обитающих в районах, где широко распространена и вызывает большую смертность тропическая малярия. Оказалось, что гетерозиготы по гену серповидноклеточной анемии менее подвержены заражению тропической малярией, чем не содержащие этого гена нормальные гомозиготы. Это было подтверждено и опытами, проведенными на добровольцах.

Гетерозиготное состояние мутаций в популяции приводит к тому, что даже при резко сниженных показателях жизнеспособности и плодовитости рецессивных гомозигот мутантные аллели могут устойчиво сохраняться длительное время. При этом у гетерозигот может наблюдаться более высокая жизнеспособность, чем у доминантных гомозигот. Следствием этого будет существование в популяции нескольких генетически различных форм, что создаёт сбалансированный полиморфизм, т.е. устойчивое воспроизведение нескольких фенотипических классов особей, обусловленное преимуществом гетерозигот.

Генетический полиморфизм, обусловленный тем, что естественный отбор попеременно действует в пользу то одного, то другого аллеля, по-видимому, представляет частое явление в природных популяциях разных организмов. Подробно этот тип полиморфизма изучен у божьих коровок и у хомяков.

Природные популяции разных видов дрозофил характеризуются присутствием в них многих особей, гетерозиготных по инверсиям хромосом. Некоторые из инверсий широко и с большой частотой распространены во многих популяциях. Лабораторными опытами установлено, что гетерозиготы по разным инверсиям различаются по своей приспособленности к повышенной и пониженной температуре и влажности.

Генетический полиморфизм нередок и в природных популяциях растений. В популяциях некоторых видов растений наблюдается генетически обусловленная гетеростилия. Так, в природных популяциях обыкновенного первоцвета всегда имеются особи трех типов: с коротким пестиком и длинными тычинками, с длинным пестиком и короткими тычинками и с пестиками и тычинками одинаковой длины.

Генетическая гетерогенность природных популяций приводит к тому, что средняя приспособленность популяции всегда несколько ниже той, которая характеризовала бы данную популяцию, если бы все составляющие ее особи имели генотип, присущий наиболее приспособленным особям. Этот генетический груз, снижающий приспособленность популяции, складывается из двух основных компонентов: во-первых, постоянно происходящего образования менее приспособленных генотипов в результате расщепления и комбинирования генов при скрещивании генотипически разнородных родителей, и, во-вторых, непрерывного возникновения мутаций, в большинстве своем изменяющих фенотип организма в неблагоприятную сторону. Но для вида в целом генетический груз – это плата за возможность дальнейшего совершенствования. Ведь те же факторы, которые создают генетический груз – комбинации генов и мутации – являются единственным источником не только вредных, но и полезных или потенциально полезных изменений генотипа, представляющих, так сказать, мобилизационный резерв наследственной изменчивости, откуда естественный отбор черпает материал для эволюционных преобразований вида.

Вопросы

1. Как провести генетический анализ популяции?
2. Каким образом может быть нарушено генетическое равновесие в популяции?
3. Какое действие оказывают на популяцию мутации, отбор, миграция?
4. Какое значение имеют рецессивные и доминантные мутации?
5. Что означает сбалансированный полиморфизм, генетический полиморфизм?
6. Что такое генетический груз?

ЛЕКЦИЯ 19. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЭВОЛЮЦИИ

1. *Генетические доказательства реальности эволюции*
2. *Эволюционное значение полиплоидии и хромосомных перестроек*
3. *Эволюционное значение генных мутаций*
4. *Формы воздействия естественного отбора на генотип*
5. *Генетика и пути эволюции*

Генетикой накоплены факты и сделаны обобщения, представляющие существенный вклад во все три основных раздела, из которых складывается эволюционная теория: доказательства реальности эволюции, учение о движущих силах эволюции и выяснение тех конкретных путей, которыми шла эволюция.

Вместе с тем принципы эволюционной теории проливают свет на происхождение и становление важнейших генетических структур и процессов и позволяют понять, в силу каких причин они должны были приобрести именно те черты, какие наблюдаются в действительности

Генетические доказательства реальности эволюции. Единство плана строения и основных физиологических и биохимических процессов у различных по внешнему виду и образу жизни организмов, наблюдаемое в пределах всех систематических групп микробов, растений и животных, рационально объяснимо только допущением происхождения представителей каждой такой группы от общего родоначальника, от которого они унаследовали общий для них план своей организации. Кроме сравнительных морфологических, физиологических и биохимических исследований, подтверждающих это положение, значительный материал по этому вопросу накоплен генетикой. Важное значение имеют результаты, полученные Вавиловым и его сотрудниками при изучении наследственной изменчивости систематических групп растений. Итогом этих работ был закон гомологичных рядов наследственной изменчивости, сформулированный Вавиловым следующим образом:

1. Виды и роды, генетически близкие, характеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов. Чем ближе расположены в общей системе роды и линейные (т.е. виды), тем полнее сходство в рядах их изменчивости.

2. Целые семейства растений в общем характеризуются определённым циклом изменчивости, проходящей через все роды и виды, составляющие семейство.

Развитие цитологии в конце XIX и начале XX ст. Показало, что клетки, из которых состоят все организмы, устроены в основном одинаково, что значительно расширило приложимость принципа общности происхождения и позволило утверждать родство всех живых существ, включая одноклеточные формы. Ещё позже этот вывод был подкреплён биохимическими работами, установившими единый для всех организмов характер ряда важнейших метаболических процессов (окислительное фосфорилирование, гликолиз, роль аденозинтрифосфорной кислоты и т.д.).

Молекулярная генетика пролила свет на некоторые важнейшие атрибуты живого, общие как для клеточных существ, так и для вирусов.

Установлено, что везде наследственная информация записана в структуре нуклеиновых кислот и что генетический код, согласно которому эта информация реализуется белками в признаках организма, универсален. Основанные на этих открытиях другие молекулярно-биологические исследования развили их и установили поразительное единообразие структуры сложных молекулярных механизмов и характера протекающих в них процессов, отображающее коренные различия живой материи от неживой и представляющее наиболее веское и всеобъемлющее свидетельство общности организации всех без исключения живых систем, от вирусов до эукариотов, несомненно унаследованной ими от первичных форм жизни, некогда возникающих на нашей планете.

Эволюционное значение полиплоидии и хромосомных перестроек. Полиплоидия несомненно играла существенную роль в видообразовании у растений, в особенности покрытосеменных. Это видно из того, что многие роды состоят из видов, образующих полиплоидные ряды, т.е. раз-

личающихся кратностью повторения у них определённого основного исходного гаплоидного набора хромосом.

Очень широко распространена полиплоидия среди возделываемых человеком растений: полиплоидны все или большинство культурных сортов пшеницы, овса, риса, сорго, тимофеевки, сахарного тростника, люцерны, арахиса, белого клевера, табака, картофеля, брюквы, хлопчатника, земляники, роз, ириса, тюльпанов, гладиолусов, малины, сливы, яблони, груши, лимона, апельсина и т.д.

У голосеменных растений полиплоидия редка, но папоротников и мхов она встречается. Среди животных подиплоидны очень немногие виды, притом почти исключительно размножающиеся партеногенетически. К таким полиплоидам относятся, например, рачок-бокоплав артемия, немногочисленные представители нескольких групп насекомых, некоторые черви. Главная причина столь малого распространения полиплоидии у животных состоит, по-видимому, в том, что возникновение полиплоидной мутации должно большей частью вести к нарушению хромосомного механизма определения пола. Так, полиплоиды, по-видимому, нередко лучше диплоидов приспособлены к произрастанию в суровых северных и высокогорных климатических условиях: среди всех видов цветковых растений полиплоидные составляют в Арктике свыше 70%, на Памире – 86%, на Алтае – 65%. Полиплоидны очень многие из возделываемых человеком видов и сортов растений; значит, некоторые полиплоидные мутации придавали растениям свойства, повышавшие их хозяйственную ценность, что побуждало человека сохранять и размножать такие мутанты.

Закреплению полиплоидных мутаций естественным отбором способствует и то обстоятельство, что возникающие у полиплоидов летальные и другие вредные рецессивные генные мутации имеют меньше шансов прийти в гомозиготное состояние и проявиться, чем у диплоидов. Понятно, что это особенно важно для растений-самоопылителей, у которых гомозиготизация рецессивных мутаций происходит очень быстро.

Наряду с аутоплоидией существенная роль в образовании новых видов растений принадлежит аллоплоидии. Многие межвидовые гибриды растений бесплодны или почти бесплодны, чаще всего из-за того, что хромосомы, полученные гибридом от разных видов, не конъюгируют друг с другом при мейозе нежиснеспособны. Но если у межвидового гибрида число хромосом удваивается, то мейоз нормализуется. Такой тетраплоидный гибрид имеет по два набора хромосом того и другого родительского вида (является амфидиплоидом), каждая хромосома представлена у него дважды; при мейозе все хромосомы конъюгируют со своими гомологами и правильно расходятся, а образующиеся гаметы получают по полному гаплоидному набору хромосом обоих видов и способны функционировать.

Возможность восстановления плодов межвидового гибрида в результате удвоения числа хромосом была впервые доказана Карпеченко в опытах по межродовому скрещиванию редьки с капустой. Эти виды, имеющие одинаковое диплоидное число хромосом ($2n=18$), гибридизируются лишь с трудом; гибриды, получающие 9 хромосом от редьки и 9 хромосом от капусты, жизнеспособны, но почти полностью бесплодны и капустные хромосомы в большинстве случаев не конъюгируют друг с другом и распределяются между до-

черными клетками случайно. Однако изредка в отдельных клетках число хромосом удваивается, и это ведёт к образованию немногих функционально нормальных гамет, содержащих по 18 хромосом, т.е. по полному гаплоидному набору как редьки, так и капусты. От слияния таких гамет при оплодотворении получаются амдиплоидные гибриды, имеющие по 36 хромосом (два редечных и два капустных набора). Эти гибриды представляют собой крупные растения, фенотипически промежуточные между редькой и капустой. Мейоз протекает у них вполне нормально, редечные хромосомы конъюгируют со своими редечными гомологами, капустные – с капустными, образующиеся гаметы диплоидны и содержат по 9 редечных и 9 капустных хромосом. Будучи скрещенными между собой, эти аллоплоиды вполне плодовиты и дают подобных себе потомков.

Так, шведский генетик А. Мюнтцинг скрестил два вида растений из семейства губоцветных – пикульник опушенный (*Galeopsis pubescens*) и пикульник красивый (*G. speciosa*). Оба вида имеют в диплоидном наборе по 16 хромосом, поэтому у гибрида было 8 хромосом *pubescens* и 8 хромосом *speciosa*. От этого гибрида был получен тетраплоид (амфидиплоид) с 32 хромосомами, оказавшийся морфологически очень похожим на третий вид пикульника – пикульник обыкновенный (*G. tetrahit*). тоже имеющий 32 хромосомы. Позже аналогичным способом в разных лабораториях были ресинтезированы и другие существующие виды растений; например, слива ($2n=48$) была получена удвоением хромосом у гибрида терна ($2n=32$) с алычей ($2n=16$), брюква ($2n=38$) – удвоением хромосом у гибрида турнепса ($2n=20$) с капустой ($2n=18$), так же были экспериментально воссозданы лук, ирис, примула, овсюг, мятлик, некоторые виды пшеницы, табака, хлопчатника и т.д. Все эти синтетические аллополиплоиды плодовиты при размножении в себе, легко скрещиваются с соответствующими естественными видами, дают с ними плодовитое потомство и фенотипически очень близки к ним.

Аллополиплоидную природу и этапы становления многих других видов диких и культурных растений удастся выявить сравнительными цитологическими исследованиями их самих и их родичей. В частности, так была выяснена история возникновения двух наиболее важных в хозяйственном отношении видов пшеницы – твердой пшеницы (*Triticum durum*) и мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*).

Одним из родоначальников этих пшениц была пшеница-однозернянка (*Triticum monococcum*), древнейший вид культурной пшеницы, в настоящее время мало где возделываемый. Однозернянка диплоидна ($2n=14$); геном ее принято обозначать буквой *A*, так что геномная формула однозернянки *AA*. Твердая пшеница, занимающая сейчас обширные посевные площади во многих странах – аллотетраплоид ($2n=28$), образовавшийся в результате удвоения хромосом у гибрида от скрещивания однозернянки с диким злаком из рода эгилопс (*Aegilops speltoides*, $2n=14$); геном этого злака обозначается буквой *B*, поэтому геномная формула твердой пшеницы *AABB*. Наконец, мягкая пшеница, шире всего культивируемая во всем мире – аллогексаплоид ($2n=42$), получившийся путем удвоения хромосом у гибрида от скрещивания аллотетраплоидной пшеницы с другим видом эгилопса (*Aegilops squarrosa*, $2n=14$); геном этого эгилопса обозначается буквой *D*. Следовательно, геномная формула мягкой пшеницы *AABBDD*.

Из хромосомных перестроек наиболее важную роль в эволюции играют дупликации. По-видимому, дупликации представляют основной способ увеличения числа и разнообразия генов в ходе эволюционного развития организмов. Гены, оказавшиеся повторенными в результате дупликации, постепенно изменяются в связи с возникающими в них мутациями и делаются все менее похожими друг на друга, превращаясь в разные неаллельные гены, различным образом влияющие на признаки организма.

В пользу этого говорит недавно сделанное открытие, что в хромосомах по крайней мере некоторых организмов имеются особые короткие участки ДНК, получившие название псевдогенов. По последовательности нуклеотидных пар такой участок чрезвычайно похож на тот или иной структурный ген этого же организма, лежащий по соседству, но отличается отсутствием нескольких нуклеотидных пар и присутствием нескольких лишних, вследствие чего псевдоген явно не может служить для биосинтеза того полипептида, который специфичен для соответствующего структурного гена.

Нехватки и делеции значительно сильнее изменяют фенотип организма, чем дупликации сравнимой длины, а в гомозиготном состоянии они большей частью летальны, поэтому если они и играли в эволюции какую-то роль, то вероятно, очень небольшую.

Инверсии и транслокации способствуют репродуктивной изоляции мутантов от немутантных форм и могут быть причиной их эволюционной дивергенции. Транслокации распространены в природе довольно широко. Гомозиготные по транслокациям расы известны у гороха, дурмана и других растений. Сравнительно-генетические и цитогенетические исследования показывают, что и у растений, и у животных видообразование нередко происходило при участии транслокаций. Как уже упоминалось, во многих случаях транслокации были причиной различий числа хромосом у близких видов. В ряде случаев транслокации приводят к возникновению системы сбалансированных леталей; в таких системах автоматически поддерживается гетерозиготность по многим или даже по всем генам, вследствие чего исключается проявление вредных рецессивных мутаций, что повышает жизнеспособность и может компенсировать сниженную плодовитость таких гетерозигот.

Инверсии тоже часто встречаются в природе. Это установлено для ряда изученных в этом отношении растений, например, тюльпана и вороньего глаза, но особенно много получено данных о распространении инверсий в популяциях мух, комаров и мошек, у которых инверсии легко обнаружить при исследовании политенных хромосом слюнных желез. Природные популяции этих насекомых насыщены множеством инверсий, причем некоторые инверсии встречаются во многих популяциях, другие же характерны только для отдельных популяций того же вида. У дрозофилы обнаружено, что иногда гетерозиготность по инвертированной хромосоме повышает жизнеспособность особи, что приводит к длительно поддерживаемому полиморфизму популяций в отношении структуры той или иной хромосомы. Иногда такое благоприятное влияние инвертированной хромосомы проявляется только в определенных условиях окружающей среды, о чем уже говорилось в предыдущем разделе. Группа генов, локализованных в инвертированном участке, передается из поколения в поколение как единый блок, не разрываемый

кроссинговером (напомним, что кроссинговер между хромосомой с инверсией и хромосомой без нее в большинстве случаев приводит к утере кроссоверных хромосом). Поэтому если в этом блоке есть гены, имеющие адаптивное значение, отбор будет стремиться сохранить данную инверсию.

Близкие виды дрозофил часто содержат по-разному инвертированные участки одной и той же хромосомы, и руководствуясь этим иногда удается с большой вероятностью установить, какой вид произошел от каково в пределах их родственной группы.

В последние годы накопились данные, позволяющие предполагать, что существенную роль в эволюции, особенно у прокариотов, играли транспозиции, с помощью которых могли обмениваться генами даже виды, не способные к половой гибридизации.

Эволюционное значение генных мутаций. Сравнительно-генетические исследования с полной определенностью показывают, что самые многочисленные, разнообразные и важные наследственные изменения, лежащие в основе эволюционных преобразований организмов, обязаны генным мутациям. Рассмотрим, какие же генные мутации имеют наибольшее значение в этом отношении.

Естественный отбор, трансформируя вид, оперирует не только с вновь возникающими мутациями, но и с мутациями, накопленными в популяции на протяжении ряда предшествующих поколений и образующими, по выражению выдающегося советского теоретика эволюционного учения Шмальгаузена, «мобилизационный резерв» внутривидовой изменчивости. Работами по генетике природных популяций обнаружено, что они насыщены огромным количеством скрытых в гетерозиготах рецессивных генных мутаций. Это обстоятельство позволило предположить, что такие мутации играют очень большую роль в эволюции, что именно они обуславливают эволюционную пластичность вида, поставляя основной материал для естественного отбора. Однако ряд фактов и соображений противоречат подобной высокой оценке эволюционного значения рецессивных мутаций и заставляют думать, что эволюция осуществляется преимущественно за счет доминантных и полудоминантных генных мутаций. Об этом говорят, во-первых, аргументы, свидетельствующие против того, что накапливающиеся в природных популяциях рецессивные мутации могут служить материалом для адаптивных эволюционных изменений; во-вторых, данные, показывающие, что эволюция может успешно осуществляться и без запаса таких скрытых рецессивных мутаций в популяциях; в-третьих, некоторые факты, указывающие на пути использования доминантных мутаций в эволюционных изменениях вида.

Чтобы рецессивная мутация могла послужить для эволюционной трансформации диплоидного вида, необходимо выполнение следующих условий: нужно, чтобы произошло скрещивание между гетерозиготными по ней особями, нужно, чтобы у возникающих в результате такого скрещивания гомозиготных рецессивов не было дефектов, препятствующих нормальному функционированию организма, и нужно, чтобы проявляемые этими гомозиготами мутантные изменения давали им какие-нибудь преимущества перед немутантными особями.

Вероятность распространения рецессивных мутаций в больших популяциях очень мала, так как в силу случайных причин они будут утеряны

раньше, чем перейдут в гомозиготное состояние, когда только их может подхватить и закрепить естественный отбор.

Наконец, можно привести еще один довод, говорящий о малой вероятности приспособительного значения признаков, обусловливаемых рецессивными мутантными генами. Довод этот основан на теории эволюции доминантности, на чём следует кратко остановиться. Давно замечено, что у всех диплоидных организмов, как растительных, так и животных, у которых изучали мутационный процесс, большинство возникающих генных мутаций рецессивны, другими словами, нормальные для данного вида аллели, как правило, доминируют над мутантными. Для объяснения этого явления и была выдвинута теория эволюции доминантности. Суть ее такова.

Предполагается, что любая генная мутация, впервые возникшая в истории данного вида, сначала проявляется в гетерозиготе, обнаруживая неполное доминирование (промежуточное наследование).

Все эти соображения приводят к выводу, что рецессивные мутации – это такие мутации, которые, возникая многократно на протяжении истории вида, раньше всегда были неблагоприятными для обнаруживающих их особей, почему они и утратили способность проявляться в гетерозиготе. Маловероятно (хотя и не невозможно), чтобы мутационное изменение, постоянно оказывавшееся вредным в различных условиях существования, в каких протекала предшествующая эволюция вида, затем неожиданно вдруг стало полезным.

Таким образом, существуют веские обстоятельства, мешающие использованию рецессивных мутаций в качестве «мобилизационного резерва» эволюции. Конечно, даже при всех этих ограничениях возможно, что некоторые рецессивные мутации будут все же использоваться естественным отбором для прогрессивной эволюции, но все же представляется маловероятным, чтобы они могли обеспечивать на необходимом уровне эволюционную пластичность вида. Эволюционная роль рецессивных мутаций скорее всего иная – оперируя ими, естественный отбор редуцирует те структуры организма, которые утратили свое адаптивное значение, перестали быть функционально нужными и поэтому подлежат устранению.

Подтверждением того, что прогрессивная эволюция может осуществляться в отсутствие запаса скрытых рецессивных мутаций в природных популяциях, могут служить результаты изучения популяций организмов, которые заведомо быстро эволюционировали, но в популяциях которых накопление рецессивов было невозможно в силу тех или иных их генетических особенностей.

В отличие от рецессивных мутаций, доминантные и полудоминантные мутации фенотипически проявляются сразу после своего возникновения и поэтому немедленно попадают под действие естественного отбора. Если такая мутация вредна для организма, то она тотчас же элиминируется. Если она оказывается полезной, отбор будет стремиться распространить ее на всю популяцию. Так, например, произошло с доминантной мутацией, определяющей темную окраску бабочки березовой пяденицы. Эта мутация, возникшая в Англии в середине прошлого столетия, стала затем быстро распространяться в заочерченных и загрязненных промышленных районах, вытесняя белую форму, так как там темные бабочки меньше поедались птицами, чем белые, что было установлено прямыми наблюдениями; к настоящему времени темная форма

березовой пядницы стала преобладающей в большинстве местностей Англии. Наконец, третья возможная судьба доминантной мутации в популяции – это распространение ее на часть особей длительное сохранение диморфизма по этому признаку. Такое положение наблюдается, если в некоторых биотипах в пределах ареала или в известные периоды жизненного цикла эта мутация повышает приспособленность особей, в других биотипах или в другие периоды жизненного цикла, наоборот, снижает их приспособленность. Подобная картина диморфизма в отношении доминантных мутаций описана для лисиц в Канаде; два сходных примера, касающиеся диморфных популяций божьих коровок и хомяков, мы уже упоминали в предыдущем разделе; описано много сходных полиморфных популяций и у других организмов.

Формы воздействия естественного отбора на генотип. Генетика дала много ценного для понимания механизмов действия главной движущей силы эволюции – естественного отбора.

Биологией накоплено много доказательств созидательной роли естественного отбора, но до последнего времени почти все такие доказательства получали в исследованиях, проведенных на высокоразвитых и в эволюционном отношении относительно молодых группах растений и животных. Оставался невыясненным вопрос о применимости естественного отбора к самым начальным этапам эволюции на заре появления жизни на Земле. Ответ на это вопрос дали недавние генетические опыты.

Совершенно очевидно, что первичные формы жизни существовали в виде нуклеопротеидов (ибо только сочетание нуклеиновой кислоты и белка обеспечивает элементарные свойства живого – обмен веществ, репродукцию, наследственность и изменчивость), можно спланировать опыты с нуклеиновой кислотой и белком, которые пролили бы свет на факторы, двигавшие эволюцию в ту древнюю пору. Некоторые такие опыты уже проведены молекулярными генетиками и дали важные результаты. Среди них особенно интересны опыты с одним РНК-содержащим вирусом бактерий – фагом «кубета», поражающим кишечную палочку. В пробирку, содержащую раствор всех четырех нуклеозидтрифосфатов, из которых строится РНК (АТФ, ГТФ, ЦТФ и УТФ), и фаговую репликазу, вносили небольшое количество выделенной из фага очищенной РНК, служившей матрицей. В порядке, определяемом этой матрицей, репликаза собирала из нуклеозидтрифосфатов молекулы фаговой РНК. Часть полученного урожая таких вновь образованных молекул РНК вносили в качестве матрицы во вторую пробирку, содержащую те же нуклеозидтрифосфаты и репликазу, где синтезировалась новая порция фаговой РНК «второго поколения». Эту процедуру повторяли снова и снова (всего было сделано 75 таких пассажей), причем при каждом пассаже небольшую долю образовавшихся молекул РНК брали для засева следующей пробирки, а большую часть подвергали подробному изучению.

Оказалось, что в ходе опыта фаговая РНК значительно изменилась. Исходная РНК была способна заражать бактерии и вызывать их гибель: эта способность исчезла уже после четверых пассажей в бесклеточной системе. Молекулярный вес РНК постепенно падал, и конечный продукт, полученный в 75-м пассаже, был лишен примерно 87% первоначального содержания генома – из 3600 нуклеотидов исходной фаговой РНК в нем сохранилось

только 550. Зато к этому времени более чем в 2,5 раза возросла скорость репликации РНК (в последующих же опытах скорость репликации еще увеличилась при сокращении длины молекулы РНК всего до 180 нуклеотидов).

Мы имеем здесь яркую иллюстрацию действия на молекулярном уровне естественного отбора, определяющего эволюцию взаимоотношений основных характерных для всего живого биополимеров – нуклеиновой кислоты и белка. Единственный отбираемый тут признак – это способность РНК реплицироваться с помощью фермента. Эта способность совершенствовалась от пассажа к пассажи. Все же другие части фагового генома, например, обеспечивающие проникновение фага в бактерию, определяющие синтез структурных белков фаговой оболочки и нужных для этого ферментов и тому подобные, оказываются в данной системе лишними. Естественный отбор не стремится их сохранить и они постепенно утрачиваются вследствие непрерывно идущего мутационного процесса, в ходе которого возникают делеции соответствующих генов или их инактивация.

Эти и подобные генетические методы позволяют заключить, что дарвиновский принцип эволюции посредством естественного отбора применим и к самым начальным этапам развития органического мира, когда жизнь на Земле была представлена только первичными, доклеточными формами, состоящими из белка и нуклеиновой кислоты.

На всех стадиях эволюционного развития естественный отбор протекает в трех главных формах – это движущий, стабилизирующий и дизруптивный отбор.

Движущий естественный отбор смещает в определенном направлении среднее значение какого-либо признака или, точнее, наследственную норму реакции, определяющую это среднее значение. Эта форма отбора наблюдается при стойком изменении условий среды обитания популяции или вида в целом (например, при изменении климата или доступных источников питания, появлении новых хищников, паразитов или конкурентов и т.п.), вследствие чего популяция или вид могут сохраниться только если отбором будут закреплены те из возникающих мутаций или сочетаний генов, которые обеспечивают приспособленность к новым условиям. Движущий отбор может усиливать, ослаблять или видоизменять признаки организма. Это – главная форма отбора, творческий фактор эволюции, ответственный за преобразование организмов в течение их исторического развития.

Стабилизирующий отбор поддерживает в популяции и во всём виде ранее сложившуюся наследственную норму реакции, определяющую значение признаков, лучше всего соответствующее господствующим и относительно постоянным окружающим условиям. В отличие от движущего отбора, стабилизирующий отбор представляет собой консервативный фактор, устраняющий от размножения особей, чьи признаки отклоняются в ту или иную сторону от установившегося среднего типа.

Третья форма естественного отбора – дизруптивный отбор – встречается там, где на территории занимаемой популяцией или видом, условия среды образуют пространственную или сезонную мозаику, вследствие чего в разных местах этой территории или в разные сезоны адаптивную ценность имеют различные значения признака. Дизруптивный отбор расчле-

няет популяцию или вид на две или несколько сосуществующих групп, наследственно различающихся по данному признаку, т.е. ведет к установлению диморфизма или полиморфизма; некоторые примеры этому приводились в предыдущей главе. Действует дизруптивный отбор либо как сочетание стабилизирующего и движущего отборов, либо как сочетание разнонаправленных движущих отборов.

Генетика и пути эволюции. Прямой метод изучения истории живых существ по их ископаемым остаткам, несмотря на свою ценность, имеет весьма ограниченное применение в силу крайней неполноты палеонтологической летописи, изобилующей пробелами, большинство из которых обречено оставаться незаполненными. Поэтому для суждения о ходе эволюции приходится прибегать к косвенным способам, основанным на изучении современных форм. В ряде случаев можно, пользуясь генетическими приемами (исследованием строения хромосом, сопоставлением генетических карт, установлением аллельности генов), с достаточной точностью выяснить филогению нескольких родственных видов на протяжении отрезка времени, в течение которого они дивергировали от общего порядка. Но этот подход применим только к весьма близким формам, хорошо генетически изученным и, желательно, скрещиваемым друг с другом, т.е. к очень немногим и весьма узким систематическим группам, возникшим относительно недавно.

Чтобы выяснить происхождение более крупных систематических групп и их давнюю историю, исследователи, как правило, вынуждены оценивать степень родства между организмами, опираясь на данные сравнительной морфологии (в меньшей степени – сравнительной физиологии и биохимии), по возможности подкрепляя свои выводы данными биогеографии. Это классическое направление филогенетики позволило многое узнать о прошлых судьбах органического мира, но оно не свободно от некоторых весьма серьезных недостатков. Изучаемые им фенотипические признаки организмов имеют по большей части сложную генетическую основу, определяются взаимодействием многих генов. Сходные на первый взгляд признаки могут обуславливаться у разных организмов сочетаниями совсем разных генов и такие многочисленные конвергенции и параллелизмы отнюдь не всегда обнаружимы сравнительно-морфологическими и физиологическими методами. Степень родства часто приходится оценивать качественно, а не количественно, что не гарантирует от ошибок, особенно если принять во внимание элемент субъективности при решении, какие признаки наиболее удобны для установления родства. В результате, несмотря на большие достижения классического направления, в учении о филогенезе остается много спорных моментов, мелких и крупных нерешенных вопросов.

Молекулярная генетика открывает возможности заполнить по крайней мере часть этих пробелов, дополнить выводы, получаемые классическими методами, новыми важными сведениями, к тому же гораздо более точными.

Из всех фенотипических признаков белки наиболее адекватно отражают свою генетическую основу. Первичная структура белковой молекулы коллинеарна первичной структуре кодирующего этот белок гена и не подвержена модифицирующим влияниям среды, в которой обитает организм. Установив первичную структуру белка, можно достаточно коррект-

но определить структуру ответственного за этот белок гена; небольшие расхождения, обязанные вырожденности генетического кода, существенно не меняют этого положения, правильность которого доказана сопоставлениями мутационных изменений генов с происходящими при этом изменениями соответствующих белков. Анализируя различия первичной структуры одного и того же белка у разных организмов, удается выяснить, как эволюционировал ген, кодирующий этот белок, что проливает свет на происхождение тех форм, белок которых изучается.

Прекрасным свидетельством ценности этого метода служат работы, посвященные сравнению первичной структуры гемоглобинов разных позвоночных. Было показано, что у разных животных степень различия аминокислотных карт полипептидных цепей, входящих в состав молекулы гемоглобина, хорошо соответствует степени отдаленности этих животных в зоологической системе: чем менее родственны они в систематическом отношении, тем сильнее эти различия, что может быть выражено количественно. Более того, сравнение первичной структуры гемоглобиновых цепей у представителей разных групп позвоночных, а также сравнение этой структуры со структурой молекулы другого химически близкого белка – миоглобина, обладающего совсем иной функцией, позволило воссоздать довольно полную картину эволюции гемоглобина тех изменений, которые претерпели в ходе этой эволюции кодирующие гемоглобин гены. В частности, удалось с большей долей вероятности выяснить как возникли типы гемоглобина, свойственные человеку.

Как и гемоглобины всех позвоночных, гемоглобин человека ведет свое происхождение от некоего прабелка, служившего общим предком гемоглобину и миоглобину. В результате дупликации гена, кодирующего этот прабелок, возникло два гена, один из которых, эволюционируя, дал ген, кодирующий современный миоглобин, а другой был предком генов, кодирующих все четыре цепи (альфа, бета, гамма и дельта) гемоглобина человека. Затем (это произошло, по-видимому, когда позвоночные вышли на сушу и стали дышать легкими) прагемоглобиновый ген, в свою очередь, дублировался; один из образовавшихся при этом генов превратился в ходе дальнейшей эволюции в ген, кодирующий альфа-цепь гемоглобина, другой же был родоначальником генов, кодирующих бета-, гамма-дельта-цепи. Еще позже (очевидно, при появлении сумчатых) путем новой дупликации выделился ген, кодирующий гамма-цепь; и, наконец, опять-таки в результате дупликации (произошедшей при обособлении антропоидных приматов), образовались два гена, давшие затем гены, кодирующие бета- и дельта-цепи гемоглобина человека.

Таким образом, сравнение аминокислотных карт показывает, что эволюция гемоглобина имела дивергентный характер, т.е. происходила в полном соответствии с дарвиновскими представлениями о путях эволюции. Но, кроме того, такое сравнение позволило судить о том, сколько и каких мутаций было использовано естественным отбором на протяжении этой эволюции; этого нельзя сделать классическими методами изучения филогении. Анализ различий аминокислотных карт свидетельствует о том, что эволюция гемоглобина происходила главным образом на основе использования разных мутаций типа замены азотистых оснований ДНК (т.е. транзиций и трансверсий). Гораздо более редкие дупликации (их было в истории гемоглобина человека

всего четыре) играли тем не менее чрезвычайно важную роль, будучи событиями позволяющими эволюции идти дивергентно. Несомненно, что использовались и делеции, по, по-видимому, то же в очень небольшом числе. Сопоставление родословной гемоглобинов человека с периодизацией во времени, установленной геологической летописью для некоторых узловых точек этой родословной (появление сумчатых, обособление антропоидов и т.д.), позволяет сделать вывод, что естественный отбор закреплял в среднем по одной мутации соответствующих генов каждые пять миллионов лет.

Сходные в принципе филогенетические схемы построены сейчас таким же способом и для ряда других белков, например для лактатдегидрогеназы инсулина, цитохрома С, а также для некоторых транспортных РНК (с той разницей, что для них, естественно, сравнивались не аминокислотные, а нуклеотидные карты). Такие схемы хорошо дополняют схемы, построенные обычными методами, а главное, они уточняют механизм эволюционных изменений генов. В частности, они показывают, что скорость эволюции белков была очень различна в разное время – она резко возросла в периоды активного адаптивного изменения их функции. Это соответствует учению об эволюции путем естественного отбора и противоречит антидарвиновской концепции о так называемой нейтралистской эволюции, предполагающей постоянство скорости фиксации возникающих изменений. Но как бы ни было полезно для выяснения филогении изучение первичной структуры белков, этот метод тоже имеет существенные ограничения. Хотя структура каждого белка достаточно хорошо отражает свою генетическую основу, но все же отдельный белок – это лишь единичный фенотипический признак; правильно же оценивать родство организма с другими можно только по совокупности признаков и тем точнее, чем больше значимых признаков принимается во внимание.

Идеальным способом было бы сравнение нуклеотидных карт молекул ДНК разных видов. Поскольку вся генетическая информация записана в ДНК, такие карты должны содержать в интегрированном виде точные сведения о совокупности всех без исключения морфологических, физиологических и биохимических признаков организма. Когда такие карты будут построены и сопоставлены, будет достигнут предел, дальше которого решение проблем филогенеза не может быть продвинуто на основании сведений, относящихся к современным организмам. К сожалению, имеющиеся в руках исследователей технические приемы пока что позволяют составлять нуклеотидные карты только для маленьких вирусных хромосом и для отдельных участков хромосом бактерий и эукариотов, но не пригодны для расшифровки последовательностей десятков и сотен миллионов и даже миллиардов нуклеотидов ДНК целых хромосом большинства бактерий и всех эукариотов; этой цели можно будет достичь только после значительного усовершенствования и автоматизации современных методов анализа структуры молекул нуклеиновых кислот. Однако уже и сейчас имеется хотя гораздо менее совершенный, но все же в известной степени оправдывающий себя способ установления сходства и различий ДНК разных организмов. Это метод так называемой гибридизации нитей ДНК.

Особой обработкой можно разъединить две комплемментарные друг другу нити, из которых состоят двуспиральные молекулы ДНК. Разобщен-

ные таким образом нити фиксируются на мембранном фильтре или в агаровом геле. Если добавить в такую систему раствор, тоже содержащий разобщенные нити той же ДНК, то свободные нити соединяются с комплементарными им фиксированными, вновь образуя двойные спирали.

Метод молекулярной «гибридизации» заключается в том, что фиксированные нити ДНК одного вида таким же образом инкубируют со свободными нитями ДНК другого вида. Если оба организма-донора ДНК родственны, то здесь тоже происходит образование двойных структур («гибридных» молекул ДНК), но в меньшем проценте, чем в первом случае, так как нити двух родственных ДНК обладают более слабым сродством друг к другу, нежели нити, принадлежащие одному виду; это ослабление сродства вызвано различиями в структуре нитей ДНК разных видов, в той или иной мере нарушающими комплементарность нитей друг другу. Уменьшение процента образующихся гибридов гетерологичных ДНК по сравнению с наблюдаемым у гомологичных ДНК дает приближенное представление о том, насколько разнятся по содержащейся в них генетической информации молекулы изучаемых видов. Оценка получается количественной, хотя и довольно грубой (вероятно, по многим причинам, таким как различное у разных видов число повторов генов и групп генов в молекулах ДНК, инверсии участков ДНК и т.д.), тем не менее этим методом достигаются результаты, более или менее соответствующие положению сравниваемых организмов в системе. Так, ДНК человека оказывается гомологичной ДНК макаки на 78%, быка – на 28%, крысы – на 17%, лосося – на 8%, кишечной палочки – на 2%.

Можно полагать, что этот метод будет способствовать решению по крайней мере некоторых спорных вопросов филогении, особенно при установлении степени родства в пределах близких видов или родов, где метод «гибридизации» ДНК дает наиболее надежные результаты.

Вопросы

1. В чем сущность закона гомологичных рядов Н.И. Вавилова?
2. Каково эволюционное значение полиплоидии?
3. Какую роль в эволюции сыграли хромосомные формы мутации?
4. Какие формы естественного отбора Вам известны? Их значение.
5. Какую роль сыграли рецессивные и доминантные мутации в эволюции?
6. Какова роль молекулярной генетики в объяснении филогенеза различных видов?

ЛЕКЦИЯ 20. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕКЦИИ

1. Количественные признаки

2. Наследование количественных признаков

3. Системы скрещивания и их генетические следствия

4. Инбридинг, аутбридинг

5. Гетерозис

6. Системы отбора

7. Использование экспериментального мутагенеза в селекции

Наиболее важной областью практического приложения генетики является селекция – наука, разрабатывающая пути и методы создания новых

и улучшения существующих форм домашних животных, возделываемых растений и полезных микроорганизмов. Генетика служит теоретической основой селекции: рационально планировать селекционные мероприятия можно лишь исходя из установленных генетикой общих законов наследственности и изменчивости и из более частных сведений о механизме наследования конкретных признаков, интересующих селекционера.

Количественные признаки. В предыдущих лекциях обсуждали наследование главным образом четко выражающихся в фенотипе признаков, относительно легко отличимых от альтернативных им, так что при расщеплении не возникает сомнения, к какому фенотипическому классу по данному признаку следует отнести ту или иную особь. Такие признаки (к ним относятся, например, особенности окраски или формы, наличие или отсутствие определенного фермента и т.п.) обычно называют качественными. Наряду с этим, многим наследственным признакам нельзя дать достаточно точного качественного описания, по ним между особями наблюдаются постепенные малозаметные переходы, а при расщеплении нет ясно разграниченных фенотипических классов. Эти признаки приходится изучать путем измерений или подсчетов, позволяющих дать признаку цифровую характеристику. К таким признакам принадлежат вес и размеры тела, плодовитость, урожайность, продуктивность, скороспелость, содержание белков и жиров, число одинаковых частей (например, зерен в колосе, лепестков цветка, кровяных клеток в определенном объеме) и т.п. Подобные признаки принято называть количественными.

Большинство хозяйственно-полезных признаков возделываемых растений и домашних животных относится к категории количественных, поэтому знание того, как наследуются количественные признаки, очень важно для селекционной работы. Для того, чтобы наследование количественных признаков стало понятным, нужно ознакомиться с некоторыми математически константами, с помощью которых характеризуется значение таких признаков. Главные из этих констант – средняя арифметическая (\bar{X}), среднее квадратическое отклонение (σ), дисперсия (σ^2), ошибки средней арифметической (s_x) и коэффициент изменчивости (CV). Вычисляются эти показатели следующим образом.

Прежде всего, изучаемый признак измеряют у всех особей исследуемой группы и полученные данные разбивают на произвольное, но относительно небольшое число классов (обычно на 10-15), в каждом из которых объединены особи, более или менее сходные по значению признака и которые составляют вариационный ряд.

Вариационный ряд удобно изображать графически в виде гистограммы- столбиков с основаниями, соответствующими классовому интервалу, и высотой, соответствующей числу вариантов (т.е. измеренных особей) в классе, или в виде кривой распределения – из середины каждого класса восстанавливают перпендикуляр, высота которого соответствует числу вариантов в классе, и вершины перпендикуляров соединяют прямыми линиями.

Количественные признаки, как правило, изменчивее качественных. Это зависит от двух причин. Во-первых, наследственные различия особей по тому или иному количественному признаку обусловлены обычно взаимодействием нескольких пар полимерных генов, причем каждый ген оказывает весьма суще-

ственное влияние на развитие данного признака; между тем, в случае качественных признаков различие между особями определяется, в основном, лишь одной, двумя или, изредка, тремя парами аллелей, а все прочие гены, влияющие на данный качественный признак, лишь в ограниченной степени могут модифицировать действие этих главных генов. Во-вторых, количественные признаки большей частью сильнее зависят от внешних факторов, чем качественные. Некоторые сочетания полимерных генов, определяющих количественный признак, сдвигают его значение в положительную сторону, другие – в отрицательную. Точно так же, разнонаправленно, действуют на фенотипическое выражение этих генов разные внешние влияния. В силу чисто статистических причин чаще всего встречаются особи, у которых значение количественного признака обусловлено приблизительно одинаковым суммарным действием благоприятных и неблагоприятных для развития этого признака независимых друг от друга наследственных факторов и факторов среды. Поэтому наиболее часты особи со средним значением количественного признака, а особи у которых это значение выше или ниже среднего, встречаются тем реже чем сильнее такое отклонение. Вследствие этой закономерности распределение частот особей с разным значением количественного признака обычно соответствует коэффициентам при отдельных членах разложения бинома Ньютона $(a + b)$ при возведении его в разные степени:

$$(a+b)^2 = a^2 + 2ab + b^2$$

$$(a+b)^3 = a^3 + 3a^2b + 3ab^2 + b^3$$

$$(a+b)^4 = a^4 + 4a^3b + 6a^2b^2 + 4ab^3 + b^4 \text{ и т.д.}$$

откуда коэффициенты составляют такие ряды:

$$1+1$$

$$1+2+1$$

$$1+3+3+1$$

$$1+4 + 6+4+1 \text{ и т.д.}$$

Теоретические кривые, построенные по коэффициентам разложения бинома при бесконечно большом числе вариант, называют биномиальными, а при бесконечно большом числе независимых факторов, положительно и отрицательно влияющих на значение признака, биномиальная кривая превращается в нормальную. После того, как построен вариационный ряд, в первую очередь находят среднюю арифметическую (\bar{X}) , дающую представление о типичных размерах количественного признака в изучаемой группе особей.

При малом числе вариант (менее 25) среднюю арифметическую вычисляют по формуле:

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n}$$

где (\bar{X}) – значение признака у отдельных особей, n – число особей, Σ – знак суммирования. При большом числе вариант этот способ слишком трудоемок и среднюю арифметическую вычисляют по формуле

$$\bar{X} = A + k \frac{\sum fa}{n}$$

где A – условная средняя; a – выраженное в числе классов отклонение каждого класса от класса, в котором находится условная средняя; f – число

вариант в классе; $\frac{\sum fa}{n}$ – выраженная в классах разность между условной средней и средней арифметической данного вариационного ряда; k – классовый интервал. В качестве условной средней обычно выбирают середину класса, содержащего наибольшее число вариантов.

Между тем, вариационные ряды, имеющие одинаковую среднюю арифметическую, могут сильно различаться в отношении изменчивости признака. Наиболее удобным и употребительным мерилем изменчивости служит среднее квадратическое отклонение (σ). При малом числе вариантов среднее квадратическое отклонение вычисляют по формуле

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum fa^2}{n-1}}$$

если же в ряду более 25 вариантов, то пользуются формулой

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum fa^2}{n} - \left(\frac{\sum fa}{n}\right)^2} k$$

Квадратическое отклонение позволяет сравнивать изменчивость одного и того же признака в разных группах особей. Но, будучи числом именованным, этот показатель, очевидно не пригоден для сравнения изменчивости признаков, характеризующихся разными единицами измерения, например, изменчивости веса и роста и т. п. Для преодоления этой трудности обычно прибегают к вычислению коэффициента изменчивости (CV), представляющего собой выраженное в процентах частное от деления среднего квадратического отклонения на среднюю арифметическую: $CV = \frac{\sigma \cdot 100}{\bar{X}}$. Нужно, однако, подчеркнуть, что не следует пользоваться коэффициентом изменчивости там, где можно обойтись средним квадратическим отклонением – в математическом отношении последнее значительно точнее характеризует изменчивость признака.

Любой эмпирический вариационный ряд представляет случайную выборку, содержащую ограниченное число вариантов и поэтому в силу чисто статистических причин не вполне точно отражает характерную для данной популяции величину изучаемого признака и его изменчивость. Достоверность биометрических показателей, определяемых для эмпирической выборки, сильно зависит от числа составляющих ее особей – чем выборка многочисленнее, тем эти показатели ближе к своему истинному значению. При этом, биометрические показатели (средняя арифметическая, квадратическое отклонение, коэффициент изменчивости) отдельных эмпирических выборок распределяются вокруг истинных значений соответствующих показателей вполне определенным образом – в виде вариационного ряда, близкого к нормальному; вариантами в этом ряду служат значения того или иного биометрического показателя, вычисленные для отдельных эмпирических выборок. Разброс выборочных показателей вокруг своих истинных средних можно измерить их средним квадратическим отклонением, т.е. их σ . Среднее квадратическое отклонение биометрического показателя называется его средней квадратической ошибкой или, сокращенно, средней ошибкой (иногда говорят «стандартной ошибкой»). Средняя ошибка обозначается буквой S^* со значком, указывающим к какому биометрическому показателю эта ошибка относится. Вычисление средних ошибок рассмотренных выше показателей ведется по следующим формулам:

средняя ошибка среднего квадратического

$$s_x = \frac{\sigma}{\sqrt{n}};$$

средняя ошибка квадратического отклонения

$$s_\sigma = \frac{\sigma}{\sqrt{2n}};$$

средняя ошибка коэффициента изменчивости

$$s_{cv} = \frac{CV}{\sqrt{2n}}$$

Средние ошибки биометрических констант записывают со значком рядом со значением константы.

Наследование количественных признаков. При скрещивании особей, различающихся по количественному признаку, в F_1 , как правило, не наблюдается доминирования признака одного из родителей, а в F_2 нет четкого расщепления на небольшое число фенотипически различных классов, находящиеся между собою в определенных и характерных численных отношениях. Картина эта настолько отличается от типичной для наследования качественных признаков, что в первые годы после вторичного открытия законов Менделя многим ученым, в том числе и таким крупным, как, например, Де Фризу, казалось невозможным распространять законы Менделя на наследование количественных признаков. Но довольно скоро выяснилось, что такая точка зрения ошибочна и что в основе наследственной передачи количественных признаков лежат те же явления расщепления и перекombинации генов, что и при передаче качественных признаков.

В 1910 году шведский генетик Нильсон-Эле выдвинул предположение, согласно которому особенности наследования количественных признаков зависят от того, что признаки эти определяются полимерными генами. Правильность этого предположения в дальнейшем была подтверждена многими другими генетиками, изучавшими передачу разнообразных количественных признаков у разных растений и животных, и эта концепция, хотя и с некоторыми изменениями, лежит в основе современных представлений по данному вопросу.

Скрещивая краснозерную мягкую пшеницу с белозерной, Нильсон-Эле установил, что окраска зерен в F_1 , всегда промежуточна между родительскими и однородна, расщепление же в F_2 различно в зависимости от того, какой краснозерный родитель участвовал в скрещивании. В некоторых случаях среди зерен F_2 наблюдалось расщепление в отношениях 1 очень светло-красное : 2 светло-красным : 1 белому, в других – в отношениях темно-красное : 4 красным : 6 светло-красным : 4 очень светло-красным : 1 белому, в третьих же случаях расщепление было в отношении 63 окрашенных : 1 белому, причем цвет окрашенных зерен варьировал, так что среди них были все переходы от очень темно-красных до очень светло-красных. Эти результаты показали, что красная пигментация зерен развивается в присутствии любого из трех разных генов (обозначим их R_1 , R_2 и R_3), а белая окраска присуща зернам, гомозиготным по аллелям этих генов r_1 , r_2 и r_3 при этом все три гена красной окраски обладают примерно одинаковым по силе действием и действие этих генов может суммироваться. Таким образом, все белозерные растения имели генотип $r_1r_1r_2r_2r_3r_3$, а красные были гомозиготны либо по одному, либо по двум, либо по всем трем полимерным генам красной окраски. В первом случае скрещивание с белозерным растением дает в F_2 моногибридное расщепление 1:2:1, во втором случае расщепление в F_2 будет дигибридное. Отметим, что генотипически разные особи имеют здесь одинаковые фенотипы. В третьем случае расщепление будет тригибридным и, как нетрудно рассчитать, фенотипиче-

ские классы F₂ будут находиться в отношениях 1 :6: 15: 20 : 15 : 6: 1, т.е. зерна расположатся здесь по интенсивности окраски в биномиальный вариационный ряд, подобный наблюдаемым при наследовании других количественных признаков. Таким образом, особенности наследования количественных признаков вполне согласуются с законами Менделя, если исходить из представления, что такие признаки определяются полимерными генами.

Однако более или менее точное выяснение зависимости количественного признака от конкретных генов требует трудоемких исследований и к тому же возможно только у немногих генетически хорошо изученных организмов, у которых имеются линии с хромосомами, маркированными генами, определяющими удобные для наблюдения качественные признаки. Между тем, в практике растениеводства и животноводства постоянно возникает потребность решить, в какой мере изменчивость количественного признака в той или иной группе особей обусловлена генетическими причинами, а в какой – обязана модификациям, вызываемым окружающими условиями; от решения этого вопроса зависит прогноз эффективности отбора, проводимого по данному признаку. В таких случаях существенную пользу может принести вычисление коэффициента наследуемости изучаемого признака, что может быть сделано и без выяснения конкретных генов, определяющих этот признак.

Изменчивость всякого количественного признака в любой группе особей обусловлена совместным действием генетических факторов и разнообразных факторов окружающей среды (совокупность которых объединяют общим понятием паратипических). Коэффициент наследуемости представляет величину, показывающую, какова доля генетической компоненты в фенотипической изменчивости изучаемого количественного признака в рассматриваемой группе особей. Фенотипическая изменчивость признака характеризуется средним квадратическим отклонением или квадратом этого отклонения – дисперсией (σ^2). Общая фенотипическая дисперсия (σ^2_p) складывается из дисперсии, зависящей от генетического разнообразия особей (σ^2_G), и дисперсии, обусловленной паратипическими влияниями (σ^2_E). Отсюда следует, что доля генетической компоненты в общей изменчивости признака может быть выражена отноше-

нием $\frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_G + \sigma^2_E} = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_p}$. Это и есть коэффициент наследуемости, обозначаемый h^2 . Ясно что разность между фенотипическими дисперсиями обеих групп будет приблизительно равна генотипической дисперсии, т.е. $\sigma^2_{p_2} - \sigma^2_{p_1} = \sigma^2_G$, откуда легко вычислить коэффициент наследуемости изучаемого признака:

$$h^2 = \frac{\sigma^2_G}{\sigma^2_{p_2}}$$

В селекционной практике вычисление коэффициента наследуемости имеет значение, главным образом, для прогнозирования эффективности отбора по тому или иному признаку: чем выше этот коэффициент в изучаемой группе особей, тем больше шансов, что отбор приведет у потомков к сдвигу признака в желаемую сторону. Например, у кур яйценоскость характеризуется низким, а вес яиц высоким коэффициентом наследуемости. Отбор был почти безрезультатным по яйценоскости и весьма успешным по весу яиц.

Системы скрещивания и их генетические следствия. Все системы скрещивания могут быть разделены по своим генетическим следствиям на два основных типа: скрещивания между родственными и между неродственными особями.

Как уже указывалось, инбридинг это скрещивание между родственными особями. В зависимости от степеней родства скрещиваемых особей инбридинг может быть в разной мере тесным. Самый тесный из возможных видов инбридинга – самооплодотворение, широко распространенное среди растений, но встречаемое лишь у относительно немногих видов животных. У пе-

рекрестно оплодотворяющихся организмов наиболее тесный инбридинг – это скрещивания братьев с сестрами или родителей с детьми; несколько менее тесен инбридинг при скрещивании двоюродных братьев и сестер или племянников с дядьями и тетками; при более же отдаленном родстве скрещивающихся особей инбридинг становится соответственно еще менее тесным.

Первое важное генетическое следствие инбридинга состоит в повышении с каждым поколением гомозиготности потомков. Рассмотрим это на примере самого тесного инбридинга – самооплодотворения.

Самооплодотворение (в частности, самоопыление у растений) приводит к почти полной гомозиготизации уже в 10-м поколении. При скрещивании братьев с сестрами или родителей с детьми такой уровень гомозиготности достигается между 20-м (98,6%) и 25-м поколением. При более слабых степенях инбридинга гомозиготизация идет еще медленнее, но даже скрещивания между двоюродными родственниками обеспечивают, в конце концов, наступление 100%-ной гомозиготности.

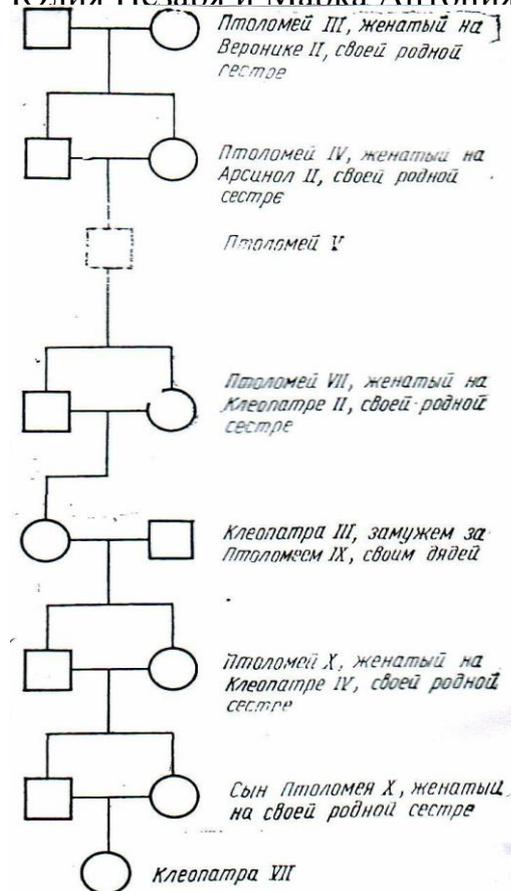
Второе важное генетическое следствие инбридинга, тесно связанное с только что рассмотренным, заключается в разложении популяции на ряд генотипически различных линий. Такие линии тем многочисленнее, чем больше число генов, по которым гетерозиготна исходная популяция. В самом деле, при гетерозиготности ее по одному гену (*Aa*) возможно возникновение двух разных полностью гомозиготных линий (*AA* и *aa*), в случае гетерозиготности по двум генам (*Aa Bb*) их может быть четыре (*AABB*, *AAaa*, *aaBB* и *aabb*), когда же исходная популяция гетерозиготна по *n*-генам, то результатом инбридинга может быть выделение 2^n различных гомозиготных линий. Вот почему инбридинг особей, взятых из панмиктической популяции, часто ведет к образованию большого числа генотипически различных линий – ведь такие популяции обычно гетерозиготны по многим генам.

Инбридинг часто ведет к ослаблению и даже вырождению потомков. Это было подмечено человечеством еще в незапамятные времена и нашло свое отражение в существующих с древности законах, запрещающих кровосмешение, т.е. браки между ближайшими родственниками. В последующем угнетающее действие инбридинга было установлено точными исследованиями для многих перекрестнооплодотворяющихся растений и животных.

Однако угнетающее действие инбридинга проявляется не всегда. Многие растения постоянно и без всяких признаков депрессии размножаются исключительно или преимущественно самоопылением, например, пшеница, овес, рис, горох, табак, томаты, ряд других возделываемых и множество диких видов растений. У лабораторных животных (мыши, крысы), у которых инбридинг большей частью приводит к вредным последствиям, в отдельных случаях даже очень длительный (50-70 поколений) тесный инбридинг не приводил к сколько-нибудь заметным отрицательным результатам. История создания некоторых высокопродуктивных пород домашних животных свидетельствует о том, что их родоначальниками были немногие особи, следовательно, эти в значительной степени инбридированы, что не отразилось на их достоинствах. У человека, у которого инбридинг, как правило, вреден, известны примеры длительного и тесного инбридинга, не сопровождавшегося вырождением. У перекрестнооплодотворяющихся организмов число предков всякой отдельной особи возрастает в каждом восходящем поколении в геометрической прогрессии. Так, в родительском поколении у нее 2 предка, в дедовском – $2^2 = 4$ предка, в прадедовском $2^3 = 8$ предков, а в *n*-м восходящем поколении число предков каждой особи равно 2^n . Поскольку численность любого вида организмов в каждый данный момент представляет конечную величину, ясно, что число разных предков в каком-то более или менее далеком восходящем

поколении должно было бы превысить численность вида, что невозможно. Отсюда вытекает, что среди предков происходили скрещивания между в той или иной степени родственными особями, вследствие чего фактическое число разных предков сокращалось. Это можно продемонстрировать и на примере человека. У человека за столетие рождается в среднем четыре поколения. Значит, 30 поколений назад, т.е. около 1200 г. н.э., у каждого из нас должно было быть по 2^{30} или по 1 073 741 824 предка. Между тем, данные истории говорят, что в ту пору численность человечества на Земле далеко не достигала миллиарда ($1 \cdot 10^9$). Неизбежно приходится заключить, что в родословной каждого человека много раз встречались браки между родственниками, хотя в основном настолько отдаленными, что они даже не подозревали о своем родстве. На самом деле такие браки встречались даже гораздо чаще, чем следует из приведенного соображения, так как на протяжении большей части своей истории человечество существовало в форме в значительной мере изолированных друг от друга народов и племенных групп, смешанные браки между которыми представляли большую редкость.

Примером тесного инбридинга, не приведшего к вырождению, является родословная Клеопатры VII, правительницы Египта, возлюбленной Юлия Цезаря и Марка Антония, известной своей красотой и умом.



Скрещивание между неродственными особями, или **аутбридинг** (*outbreeding* по-английски означает «неродственное разведение»), по своим генетическим следствиям прямо противоположно инбридингу. Аутбридинг повышает гетерозиготность потомков, объединяет в гибридах аллели, существовавшие у родителей порознь. Вредные рецессивные гены, находившиеся у родителей в гомозиготном состоянии, подавляются у гетерозиготных по ним потомков, поэтому гибриды первого поколения часто оказываются более жизнеспособными, плодовитыми и продуктивными, чем родители, т.е. проявляют гетерозис (гибридную мощность).

Гетерозис. Явление гетерозиса (повышенной мощности гибридов первого поколения по сравнению с родительскими формами) известно давно. Впервые его описал еще в XVIII веке Кельрейтер на основании результатов своих опытов с растительными гибридами.

Большое внимание уделял гетерозису Дарвин, собравший и подробно обсудивший множество примеров гетерозиса в своем труде о перекрестном опылении и самоопылении у растений. Первые важные генетические исследования гетерозиса были проведены в начале текущего столетия американскими генетиками Дж. Шеллом (ему принадлежит и сам термин гетерозис), Истом и Джонсом, а затем многие генетики разных стран вплоть до настоящего времени занимались изучением гетерозиса и разработкой способов его использования в

растениеводстве и животноводстве. Выяснение природы гетерозиса пролило свет и на причины противоположного ему явления инбредной депрессии.

В итоге всех многочисленных исследований в современной генетике сложилось представление, что гетерозис вызывается тремя основными причинами. Во-первых, это погашение у гетерозигот вредного действия рецессивных генов.

Во-вторых, в возникновении гетерозиса несомненно играет роль аддитивное действие благоприятных доминантных генов, присутствующих в разном наборе у родителей и соединяющихся в потомках, полученных скрещиванием этих родителей.

В третьих, гетерозис во многих случаях зависит частично, а иногда даже и целиком, от более полного или более благоприятного выражения некоторых генов в гетерозиготах, чем в гомозиготах. Если речь идет о доминантных генах с этим свойством, то говорят об их сверхдоминировании, однако лучше употреблять в применении к этому явлению термин моногибридный гетерозис, так как преимущество гетерозигот наблюдается не только в отношении некоторых доминантных, но и некоторых рецессивных генов.

Кроме этих трех основных причин гетерозиса (погашение у гибридов действия вредных рецессивов, суммация положительного влияния доминантных генов, полученных от обоих родителей и благоприятное проявление некоторых генов в гетерозиготном состоянии, известную роль в возникновении гетерозиса играют, по-видимому, и некоторые другие факторы, такие, как эпистатическое взаимодействие родительских генов в гибриде и взаимоотношения гибридного ядра с цитоплазмой происходящей только от матери (в частности, с ее митохондриями и пластидами), а у млекопитающих также иммунологические взаимоотношения матери и ее плода.

Получение гетерозисных гибридов прочно вошло в современную сельскохозяйственную практику. Особенно широко используется гетерозис при возделывании кукурузы, сорго, сахарной и кормовой свеклы, томатов и некоторых других овощей, а также при разведении свиней, кур и тутового шелкопряда. В ряде стран основные посевы кукурузы ведутся гетерозисными гибридными семенами и все промышленные выкормки тутового шелкопряда производятся из гетерозисной гибридной грены.

На примере кукурузы рассмотрим, как практически используется гетерозис. Сперва самоопылением создают много инбридированных (или инбредных, что то же самое) линий, добиваясь высокой степени их гомозиготности, о чем судят по их однородности в отношении морфологических и физиологических признаков; обычно это достигается после 4-6 поколений самоопыления. Затем эти линии скрещивают друг с другом во всевозможных сочетаниях, чтобы выявить их комбинационную способность, часто очень различную для разных таких сочетаний. После этого лучшие сочетания линий используют для получения гибридных семян. Однако такие семена образуются на относительно мало плодовых инбредных родительских растениях и от каждого материнского растения удается собрать сравнительно немного семян. Поэтому семена для массовых посевов производят обычно с помощью двойной межлинейной гибридизации. Эти семена образуются на высокопродуктивных гетерозисных гибридных растениях, а развивающиеся из них растения сочетают гены четырех инбредных линий и по своим качествам не уступают гетерозисным растениям F_1 , получаемых двух инбредных линий.

Инбредные линии

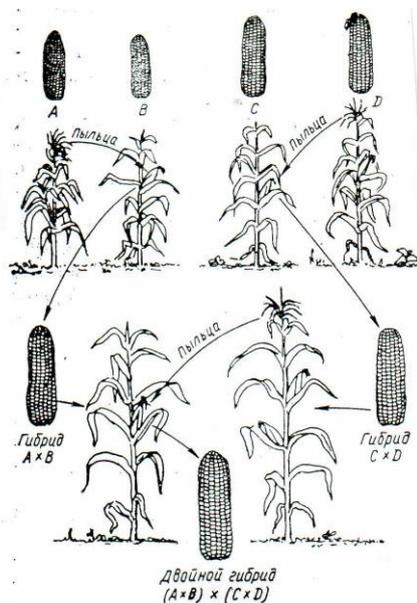


Схема получения двойных межлинейных гибридов кукурузы

Закрепить гетерозис удастся там, где возможно вегетативное размножение гибридов – клубнями, луковицами, черенками. Так сохраняют положительный эффект гетерозиса, например, у картофеля, некоторых древесных и кустарниковых растений. В естественных условиях закрепление гетерозиса могло происходить при возникновении полиморфизма по инверсиям, например в природных популяциях дрозофил, или при установлении константной гетерозиготности по транслокациям, как это имело место у энотеры. Другой путь естественного закрепления гетерозиса – это переход к апогамии или другим формам бесполого размножения, что происходило в процессе эволюции многих видов растений. Гибридные растения часто превосходят родителей по активности ряда ферментов и богатству ростовых веществ.

Одной из разновидностей неродственного скрещивания, используемой в селекции, является отдаленная гибридизация, т.е. скрещивание представителей разных видов или родов. В селекции растений, где отдаленная гибридизация применяется гораздо шире, чем в селекции животных, главная ее цель состоит не столько в получении гетерозисных гибридов, сколько в совмещении путем скрещивания ценных в хозяйственном отношении наследственных признаков, существующих порознь у разных видов.

Отдаленной гибридизацией получены многие новые формы плодовых растений, большинство из которых можно размножать вегетативно, повторяя, таким образом, особенности гибрида в неограниченном числе копий. Ряд ценных сортов сельскохозяйственных растений создан из плодовых межвидовых гибридов более сложным путем – выделением из расщепляющегося потомства экземпляров с желаемыми сочетаниями признаков и скрещиванием их друг с другом или с одним из родительских видов, а иногда и с представителем третьего вида. Так, на основе гибридизации пшеницы (твердой и мягкой) с рожью создан ряд форм, объединяемых названием тритикале (от латинских родовых названий пшеницы – *Triticum* и ржи – *Secale*), обладающих хорошей урожайностью, зимостойкостью и иммунитетом к ряду болезней пшеницы.

Особое место в современной селекции растений занимает метод переноса из дикого вида в родственный ему культурный отдельных хромосом или их частей, содержащих гены, определяющие ценные свойства дикого вида которые желательно передать культурному, например, зимостойкость, иммунитет к тем или иным болезням и т.п. Такой перенос чаще всего осуществляют с помощью нуллисомиков или моносомиков. Растение избранного дикого вида скрещивают с нуллисомиком культурного вида и полученный гибридный моносомик повторно скрещивают с нуллисомиком культурного вида. Затем такие возвратные скрещивания повторяют четыре – пять раз для вытеснения всех хромосом дикого вида, кроме единственной нужной. В результате получают моносомики, все хромосомы которых, кроме одной, происходят от культурного вида. Самоопыление таких моносомиков или скрещивание их друг с другом дает растения культурного вида, у которых одна пара хромосом заменена парой хромосомного вида.

В животноводстве отдаленная гибридизация используется главным образом для получения гетерозисных гибридов. К ним относятся, например, издавна известные своей выносливостью и работоспособностью мулы – бесплодные гибриды лошади и осла, – отличающиеся крупным ростом и силой гибриды одногорбого и двугорбого верблюдов. Скороспелостью и хорошими мясными качествами характеризуются гибриды крупного рогатого скота с яками. Ценными в хозяйственном отношении качествами обладают гибриды карпа и карася.

Скрещиванием тонкорунных мериносов с диким горным бараном архаром создана порода архаро-мериносов, приспособленная к резко континентальному климату Средней Азии. Гибридизацией обычного крупного рогатого скота с зебу в Техасе (США) и на Ямайке выведены породы, хорошо переносящие жару и мало привлекающие клещей.

Системы отбора. Отбор представляет собой важнейший элемент всякой селекционной работы.

Чтобы отбор был результативным, необходима информация о наследственном потенциале отбираемых особей. Такая информация с разной степенью полноты может быть получена тремя способами: изучением фенотипа особей, составляющих популяцию, в которой ведется отбор, анализом их родословных и исследованием оставляемого ими потомства.

Оценка фенотипа лежит в основе массового отбора. Массовый отбор стихийно применялся человечеством с незапамятных времен, затем сознательно использовался при выведении многих высокопродуктивных сортов культурных растений и пород домашних животных, не утратил своего значения и сейчас, так как он наиболее прост и доступен и в то же время нередко дает хорошие результаты. Но этот тип отбора имеет и существенные недостатки, обусловленные тем, что по фенотипу нельзя сколько-нибудь однозначно судить о генотипе отбираемых особей, а ведь только от их генотипа зависит эффективность отбора. Кроме того, в фенотипе не проявляются рецессивные гены, находящиеся в гетерозиготном состоянии, но могущие выявиться в потомстве. Поэтому массовый отбор, как правило, действует очень медленно, а иногда оказывается и вовсе безрезультатным.

Значительно совершеннее массового отбора индивидуальный отбор, использующий более полные сведения о генотипе отбираемых особей, чем

могут дать наблюдения их фенотипа. При индивидуальном отборе популяцию делят на линии или семьи и проводят отбор отдельно в каждой из них, контролируя и учитывая всякое скрещивание. Критериями отбора, вдобавок к данным о фенотипе, служат сведения, доставляемые родословными, изучение которых позволяет судить о значении признаков у предков отбираемых особей, а также у их сибсов и полусибсов и других родичей. Кроме того, в некоторых случаях очень ценную информацию о генотипе этих особей удается получить, анализируя их потомство; этот способ оценки с большим успехом применяется в селекции животных.

При любых формах индивидуального отбора необходимо принимать во внимание, что успех зависит не только от правильного выбора скрещиваемых особей, но и от того, насколько благоприятно для потомства сочетание генов обоих родителей. Другими словами, в селекционной работе важен не только отбор, но и подбор родительских пар по их генотипическим особенностям.

Использование экспериментального мутагенеза в селекции. На протяжении большей части истории селекции создание новых полезных для человека форм организмов и совершенствование имеющихся осуществлялось на основе комбинативной изменчивости и относительно редких идущих в нужном направлении спонтанных мутаций. За последние десятилетия эта основа значительно расширилась благодаря внедрению в селекционную практику методов экспериментального мутагенеза, резко повышающих частоту возникновения наследственных изменений и этим увеличивающих вероятность нахождения среди них желательных для селекционера.

Наиболее разительны успехи использования экспериментального мутагенеза в селекции бактерий и грибов-продуцентов антибиотиков и других биологически активных веществ; здесь быстрота смены поколений и огромное число особей в каждой культуре очень ускоряют темп селекции. Искусственное вызывание мутаций с большим успехом было использовано и в селекции растений. По данным на 1976 г., в разных странах выращивалось свыше 200 созданных этим путем сортов растений, в том числе таких экономически важных видов, как пшеница, ячмень, рис, овес, кукуруза, гречиха, соя, хлопчатник, а также сорта табака, масличных, овощных, плодовых и декоративных культур. Сорта эти превосходят исходные по таким важным признакам, как урожайность (пшеница, рис, кукуруза, соя, рапс, томат и др.), содержание белка (пшеница, кукуруза, люпин), содержание лизина в белке (пшеница, кукуруза), скороспелость (рис, соя, рапс), устойчивость к полеганию (пшеница, рис, ячмень), устойчивость к разным болезням (пшеница, ячмень и многие другие), комбинационная способность (кукуруза) и т.п. За прошедшее с тех пор время к этим сортам прибавились еще десятки других, созданных с применением мутагенов.

В селекции животных экспериментальное вызывание мутаций пока что нашло практическое использование лишь в шелководстве, где советским генетиком Струнниковым на основе искусственно индуцированных перестроек хромосом созданы линии, позволяющие получать потомство, состоящее только из самцов. Эта работа имеет большое практическое значение, так как коконы самцов содержат больше шелка, чем коконы самок.

Кроме искусственно индуцированных генных мутаций, в селекции растений довольно широко используют полиплоиды, получаемые воздействием

колхицина. Такие полиплоиды служат исходным материалом для выведения новых сортов ряда видов культурных растений. Этим методом созданы хорошие тетраплоидные сорта клевера, значительно превосходящие диплоидные сорта по урожаю зеленой массы (в некоторых случаях на 40-60%). Тетраплоидный клевер устойчив к нематодам и менее, чем диплоидный, поражается раком клевера, но семенная продуктивность его несколько ниже, так как крупные размеры цветков затрудняют их опыление пчелами. Тетраплоидные сорта ржи по урожайности не уступают диплоидным, иногда даже лучше их; семена тетраплоидной ржи крупнее, чем у диплоидной, и растения имеют более толстый и прочный стебель, что препятствует полеганию. Но тетраплоидную рожь надо сеять изолированно от диплоидной, так как опыление пылью с диплоидных растений приводит к стерильности многих цветков, что резко снижает урожай. Ценные полиплоидные сорта выведены у тритикале, турнепса, редиса, табака, мяты и некоторых других растений.

Большой экономический эффект дают триплоиды сахарной свеклы, получаемые скрещиванием экспериментально созданных тетраплоидов с диплоидными сортами. Благодаря этим ценным свойствам, триплоидные гибриды сахарной свеклы получили в настоящее время широкое распространение. Хорошими качествами обладают также триплоиды кормовой свеклы и гибриды кормовой свеклы с сахарной. Триплоидные арбузы, получаемые скрещиванием тетраплоидов с диплоидами, характеризуются крупными плодами, почти лишенными семян; такие арбузы выращиваются главным образом в Японии и США.

Вопросы

1. Какие признаки являются количественными?
2. Как наследуются количественные признаки?
3. Какое значение имеет инбридинг?
4. Что такое гетерозис?
5. Какое значение имеет гетерозис в сельскохозяйственной практике?
6. Какое практическое значение имеет отдаленная гибридизация?
7. Что такое массовый отбор? Индивидуальный отбор?
8. Каково значение экспериментального мутагенеза в селекции растений, животноводстве?
9. Как используется полиплоидия в улучшении растений?

ЛЕКЦИЯ 21. ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА

1. Методы генетики человека:

Генеалогический метод

Цитогенетический метод

Близнецовый метод

Популяционно-статистический метод

2. Мутационный процесс у человека

3. Факторы окружающей среды, повреждающие генотип человека

4. Генетические механизмы канцерогенеза

5. Медико-генетическое консультирование

Гибридологический анализ на основе произвольных скрещиваний для человека неприменим. Поэтому до последнего времени генетические исследования на человеке заметно отставали, например, от уровня знаний в области генетики дрозофилы, кукурузы, кишечной палочки. Сейчас при использовании арсенала новых методов, разработанных молекулярной и клеточной биологией, генетические карты хромосом человека быстро заполняются.

Твердо установлено, что в живом мире законы генетики носят всеобщий характер, действительны они и для человека. Каталог наследственных признаков человека, публикуемый более 20 лет американским ученым Маккьюстиком, в настоящее время включает более 3 тыс. таких признаков. В то же время в культивируемых клетках человека обнаружено около 35 тыс. типов иРНК, а, следовательно, такое же число функционально активных генов. По совокупности данных можно заключить, что число генов у человека составляет около 50 тыс.; доля же избыточной ДНК в его геноме приближается к 80%.

Установлено, что многие гены человека в популяции присутствуют в различных аллельных состояниях. Это, в частности, относится к хорошо изученным генам гемоглобина.

Методы генетики человека. Генеалогический метод. Наиболее фундаментальный и самый старый метод генетики человека – генеалогический, или метод анализа родословных. При этом изучают какой-либо нормальный или (чаще) патологический признак в поколениях людей, находящихся в родственных связях. Начиная с конца XIX в., когда генеалогический метод оформился не только как описательный, но и математический, он используется для определения наследственного или ненаследственного характера признака, доминантности или рецессивности картирования хромосом, т.е. для установления принадлежности гена, кодирующего данный признак, к определенной группе сцепления, сцепленности с X- или Y-хромосомами, для изучения мутационного процесса, особенно в случаях, когда необходимо отличить вновь возникшие мутации от тех, которые носят семейный характер, т.е. возникли в предыдущих поколениях. Для реализации генеалогического метода необходимо прежде всего составить родословную. При ее составлении применяют стандартные методики и обозначения. Так, индивидум, с которого начинается исследование, называется пробандом, родные братья и сестры – сибсами. Важно знать точные родственные связи между пробандом и каждым членом родословной. Каждый член родословной имеет свой шифр, состоящий из римской цифры и арабской, обозначающих соответственно номер поколения и номер индивидуума при нумерации поколений последовательно слева направо. При родословной должна быть легенда, т.е. пояснение к принятым обозначениям.

лового хроматина и числом X-хромосом в ядре имеется прямая связь. Половой хроматин в интерфазных ядрах обусловлен спирализацией одной из X-хромосом, инактивация которой является механизмом, выравнивающим баланс генов половых хромосом в клетках самцов и самок (т.е. это один из механизмов дозовой компенсации генов). По наличию лишнего или отсутствию тельца Барра можно диагностировать некоторые виды наследственных болезней. Клетки, не содержащие половой хроматин, обнаруживаются у индивидуумов, имеющих набор хромосом 45, XO (синдром Шерешевского-Тернера), 46, XY (нормальные мужчины); 47, XYY (синдром Клайнфельтера). Тельце Барра обнаруживается при хромосомном наборе 46, XX (нормальные женщины); 47, XXU и 48, XXUU (синдром Клайнфельтера).

Более перспективными для картирования генов человека оказались методы генетики соматических клеток. Суть одного из них заключается в следующем. В гибридных клетках, растущих *in vitro* и полученных из разных штаммов разных видов, один из родительских наборов хромосом, как правило, реплицируется быстрее другого. Поэтому последний постепенно теряет хромосомы. Эти процессы интенсивно протекают, например, в клеточных гибридах между мышью и человеком – видами, различающимися по многим биохимическим маркерам. Если при этом следить за каким-либо биохимическим маркером, например ферментом тимидинкиназой, и одновременно проводить цитогенетический контроль, идентифицируя хромосомы в клонах, образующихся после их частичной утраты, то в конце концов можно связать исчезновение хромосомы одновременно с биохимическим признаком. Это означает, что ген, кодирующий этот признак, локализован в данной хромосоме. Установлено, что тимидинкиназный ген у человека находится в хромосоме 17.

В настоящее время для картирования генов используют также рестрикционный анализ, позволяющий характеризовать не только сам ген, но и его окружение, и другие приемы.

Близнецовый метод. Близнецы у человека появляются приблизительно в 1% всех рождений. Около 1/4 из них – однояйцевые близнецы, развивающиеся из разъединившихся бластомеров одной единственной оплодотворенной яйцеклетки и имеющие поэтому совершенно тождественные генотипы; понятно, что оба близнеца такой пары всегда бывают одного пола. В отличие от этого, встречающиеся втрое чаще разнаяйцевые близнецы образуются из двух разных яйцеклеток, случайно одновременно созревших у матери: по сути дела, это обычные сибсы, только развившиеся совместно. Как и у сибсов, у пары разнаяйцевых близнецов общими для них обоим оказывается в среднем только половина генов. Разнаяйцевые близнецы могут быть как одинакового, так и разного пола.

Изучение близнецов помогает приближенно оценивать относительные значения генотипа и среды в становлении различных признаков человека. Это особенно важно для медицины: таким путем можно получить сведения о том, в какой мере внешние влияния могут модифицировать проявление патологических симптомов той или иной болезни, какой отпечаток накладывают наследственные различия на течение заболеваний и на устойчивость человека к разнообразным неблагоприятным факторам среды и к разным инфекциям.

Конкордантность некоторых признаков человека у однояйцевых и разнаяйцевых близнецов

Патологическое состояние или нормальный признак по которым сравнивали близнецов	Конкордантность, %	
	у однояйцевых близнецов	у разнояйцевых близнецов
Нормальные признаки		
Группы крови системы А ВО	100	64
Форма бровей	100	51
Цвет глаз	99,5	28
Цвет волос	97	23
Папиллярные линии кистей рук	92	40
Патологическое состояние		
Косолапость	23	2
Грыжа спинного мозга	77	33
Синдром Дауна	89	7
Рахит	88	22
Паралитический полиомиелит	36	6
Корь	95	87
Скарлатина	84	47
Дифтерит	50	38
Рак	16	14
Эпилепсия	67	3
Слабоумие	91	53
Шизофрения	80	13
Маниакально-депрессивный психоз	77	19

Для медицинской генетики исследование близнецов важны потому, что позволяют судить о роли генотипа в устойчивости человека к разным заболеваниям и о зависимости проявления и выражения различных наследственных болезней от факторов среды. Если изучаемый признак проявляется у обоих близнецов пары, это называется конкордантностью, если же только у одного из них, то дисконкордантностью. В таблице приведены данные о степени конкордантности ряда патологических состояний человека и, для сравнения, некоторых нормальных признаков, по которым популяции человека полиморфны.

Уже простое сличение приведенных в таблице данных о конкордантности разных признаков у однояйцевых и разнояйцевых близнецов позволяет составить представление о соотносительной роли наследственности и среды в становлении некоторых из этих признаков. Так в определении групп крови, формы бровей, цвета глаз и волос наследственность явно играет преобладающую роль, условия же среды имеют самое большое лишь сугубо второстепенное значение.

Относительные значение наследственности и среды в становлении изучаемого признака можно выразить следующим образом:

$$\frac{H}{C} = \frac{(100 - b) - (100 - a)}{100 - a}$$

где H – значение наследственности, C – значение среды, a – % конкордантности у однояйцевых близнецов, b – % конкордантности у разнояйцевых близнецов одинакового пола.

Проиллюстрируем применение этой формулы на некоторых примерах, взятых из таблицы.

$$\text{Косолапость: } \frac{H}{C} = \frac{98-77}{77} = \frac{21}{77} = 0,27$$

$$\text{Грыжа спинного мозга: } \frac{H}{C} = \frac{67-23}{23} = \frac{44}{23} = 1,91$$

$$\text{Синдром Дауна: } \frac{H}{C} = \frac{93-11}{11} = \frac{82}{11} = 7,45$$

$$\text{Дифтерит: } \frac{H}{C} = \frac{62-50}{50} = \frac{15}{20} = 0,24$$

$$\text{Корь: } \frac{H}{C} = \frac{13-5}{5} = \frac{8}{5} = 1,60$$

$$\text{Скарлатина: } \frac{H}{C} = \frac{53-16}{16} = \frac{37}{16} = 1,31$$

На основании этих расчетов можно сделать вывод, что из трех рассматриваемых врожденных дефектов косолапость определяется, главным образом, влиянием среды. В возникновении синдрома Дауна преобладающее значение имеет наследственность, а грыжа спинного мозга занимает в этом отношении промежуточное положение. Для трех инфекционных болезней расчеты показывают, что устойчивость к заболеваниям дифтеритом лишь в очень малой степени зависит от генотипа, но роль генотипа существенна в устойчивости против кори и еще в большей мере в устойчивости против скарлатины.

Популяционно-статистический метод: Популяционно-статистическое изучение частоты, с которой в данной популяции встречается тот или иной ген, дает возможность вычислить не только частоту отдельных генов и генотипов в популяции, но и изучить генетическую структуру популяции. Важно знать, какое соотношение различных генотипов в популяции, каково распространение наследственных болезней, какое соотношение между частотой гомозигот и гетерозигот и др. В отношении человека популяцией можно назвать население страны, отдельной республики, этнической группы, области, района, города, села или другой местности. Поэтому популяции могут быть большие и малые. Популяция людей формируется путем свободного скрещивания особей с разными генотипами, т.е. путем панмиксии.

Изучение генетического состава популяции производится путем определения частоты тех или иных генотипов, а также частоты отдельных аллелей. Частоту отдельного генотипа можно выразить в процентах от общего количества особей популяции, которое принимается за 100%. В популяционной генетике обычно общее число того или иного генотипа выражается в долях единицы.

Так, например, при исследовании групп крови по системе MN в популяции из 4200 особей 1218 человек имеет группу MM, 882 – группу NN, а 2100 – группу MN. Требуется определить частоту всех трех генотипов в популяции. Расчет производится таким образом. Принимаем общее число обследованных 4200 за 100%. Тогда частота генотипов группы MM будет составлять $1218 \cdot 100 = 29\%$, частота NN $= \frac{882 \cdot 100}{4200} = 21\%$, частота MN $= \frac{2100 \cdot 100}{4200} = 50\%$. В долях единицы общее число 4200 принимается за единицу, тогда MM – $\frac{1218}{4200} = 0,29$, а других соответственно 0,21 и 0,50.

Зная правило Харди-Вайнберга, можно давать оценку генетического состава популяции человека. С помощью методов популяционной генетики устанавливается степень родства между различными расами человека.

Мутационный процесс у человека. Мутационный процесс у человека и его роль в наследственной патологии характеризуются следующими показателями (Х. Ивенс, 1984). 10 % болезней человека определяются патологическими генами либо генами, обуславливающими предрасположенность к наследственным болезням. Сюда не включены некоторые формы злокачественных опухолей, которые возникают в результате соматических мутаций. Около 1 % новорожденных заболевают вследствие генных мутаций, из которых часть вновь возникшие. Темп мутирования различных локусов в генотипе человека, так же как у других видов, неодинаков. Известен локализованный в X-хромосоме ген, вызывающий врожденные уродства, который мутирует с частотой $1-10^{-4}$ на гамету на поколение. Большинство других генов мутируют с частотой, в 10^2-10^3 раз меньшей. Помимо того, один из 150 новорожденных несет структурную или числовую (полиплоидия, анеуплоидия) мутацию хромосом. Эти мутации в абсолютном большинстве возникают в половых клетках родителей. 50 % ранних аборт обусловлено хромосомными мутациями. Это связано с тем, что одна из 10 гамет человека является носителем структурных мутаций. В соматических клетках человека частота хромосомных aberrаций достигает 0,1-1 %. Приведенные расчеты не касаются перестроек генотипа, обусловленных перемещением мобильных элементов, что также может приводить к мутационным событиям. Между тем мобильность Alu-повторов и заключенных между ближайшими повторами участков генома доказана экспериментально, причем темп ее увеличивается с возрастом человека. Возраст родителей, особенно возраст матерей, играет важную роль в увеличении частоты хромосомных, а возможно, и генных мутаций.

В настоящее время мутационный процесс у человека характеризуется тем, что протекает на фоне повышенной концентрации мутагенных факторов, созданной производственной деятельностью самого человека. Несмотря на обнадеживающие результаты поиска антимутогенов, их число пока невелико по сравнению с количеством мутагенных загрязнителей среды обитания человека. Поэтому важнейшая задача сегодняшнего дня – выявление мутагенных свойств загрязнителей, особенно новых химических веществ (лекарств, пестицидов, пищевых добавок, различных видов топлива и т.д.), и разработка методов технологии, позволяющих предотвратить возникновение опасных концентраций этих агентов.

Мутагенным действием на клетки человека обладают и некоторые вирусы, причем даже в ослабленной форме, которая используется для приготовления вакцин. Мутационный процесс у человека, как и у всех других организмов, ведет к возникновению аллелей, отрицательно влияющих на здоровье. Абсолютное большинство хромосомных мутаций в конце концов приводит к той или иной форме патологии. В настоящее время открыто более 2 тыс. наследственных болезней человека. Проявление их подчиняется общим закономерностям реализации действия гена. Поэтому встречаются патологические гены, экспрессия которых практически не зависит от внешней среды, например гены фенилкетонурии, гемофилии. Сюда относятся также хромосомные перестройки. Другая группа наследственных болезней обусловлена генами,

реализация действия которых в той или иной мере зависит от неблагоприятных воздействий среды, например подагра. Отрицательным фактором среды в этом случае является неправильное питание. Наконец, множество болезней имеют мультифакториальную природу. Это болезни с наследственным предрасположением (гипертоническая болезнь, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, многие формы злокачественных опухолей).

Н.П. Бочков, А.Ф. Захаров и В.И. Иванов (1984) предлагают следующую генетическую классификацию наследственных болезней. В первую очередь их подразделяют на моногенные и полигенные. Для определения моногенных болезней решающее значение имеет клиничко-генеалогический анализ, т.е. установление на основе изучения родословных сегрегации патологических состояний в поколениях в соответствии с законами Менделя. Моногенные заболевания, в свою очередь, в зависимости от типа наследования разделяют на аутосомно-доминантные, аутосомно-рецессивные и сцепленные с половыми хромосомами. Полигенные болезни – это в первую очередь болезни с наследственным предрасположением. К наследственным болезням относят и заболевания, которые обусловлены хромосомной патологией, хотя большинство из них не передается по наследству. Хромосомные болезни возникают вследствие числовых и структурных мутаций хромосом, когда имеется частичная трисомия или моносомия.

Рассмотрим несколько примеров наследственных болезней человека.

Галактоземия. Это заболевание связано с недостаточной активностью галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы. Активность фермента больных не превышает 10 % нормы, а иногда полностью отсутствует. Это касается рецессивных гомозигот, тогда как у гетерозигот активность указанного фермента достигает 50% нормы. В норме галактоза в кишечнике превращается в глюкозу и в таком виде утилизируется организмом. Если этот путь метаболизма галактозы, которая входит в состав материнского молока, нарушен, развивается симптомокомплекс, обусловленный отравлением организма галактозой, вследствие чего наступает гипогликемия и нарушается аминокислотный обмен. По указанной причине при вскармливании материнским молоком ребенок заболевает галактоземией. При этом наблюдаются желтуха, диспептические расстройства, поражение печени и селезенки, катаракты, а главное – умственная отсталость. Частота заболевания составляет 1:50 тыс. новорожденных. Диета, не содержащая молочногo сахара, предотвращает развитие указанных симптомов. Подобный способ лечения наследственных болезней можно рассматривать как генотерапию.

Сахарный диабет. Болезнь связана с дефицитом гормона инсулина. Часто наследуется рецессивно. Имеются данные и о полигенном наследовании. Генотерапия нередко сводится к ежедневному введению в организм дефицитного гормона. Обычно для этих целей используют гормональный препарат, получаемый из поджелудочной железы крупного рогатого скота. Однако при этом примерно у 5 % больных возникают аллергические реакции, обусловленные антигенной несовместимостью гормона и клеток человека. Решение этой проблемы, фактически спасающее от неминуемой гибели эту часть больных диабетом, было найдено с помощью методов генной инженерии. Инсулиновый ген человека был введен в плазмиду и при определенных условиях активно функционировал в клетках кишечной палочки. Он вырабатывал гормон с антигенными характеристиками, полностью соответствующими человеческому гормону.

Хромосомные болезни. Как уже было упомянуто, хромосомные болезни в большинстве случаев не наследуются. Нарушения числа или структуры хромосом возникают в гаметогенезе родителей. Наследственными болезнями их можно считать потому, что они обусловлены явной патологией генетического аппарата.

Нарушения у человека, связанные с различными типами анеуплоидии (Айала, Кайгер, 1988. с. 65)

Хромосомы		Синдром	Частота среди новорожденных
Аутосомы	Трисомия 21	Дауна	1/700
	Трисомия 13	Патау	1/5000
	Трисомия 18	Эдвардса	1/100 000
Половые хромосомы (женщины)	XO, моносомия	Шерешевского-Тернера	1/5000
	XXX, трисомия	Мета-женщины Пониженная плодовитость	1/700
	XXXX, тетрасомия		
	XXXXX, пентасомия		
Половые хромосомы (мужчины)	XYY, трисомия	Норма	1/1000
	XXY, трисомия	Клайнфельтера	1/500
	XXYY, тетрасомия		
	XXXXY, тетрасомия		
	XXXXXY, пентасомия		
	XXXXXXY, гексасомия		

Практически все случаи полиплоидии, анеуплоидии и мозаицизма – это вновь возникшие мутации. Что касается структурных перестроек хромосом, то вновь возникшие составляют около половины из них у выкидышей и мертворожденных и около четверти из них у живорожденных, остальные унаследованы от родителей. В таблице представлены данные о нарушениях у человека, связанных с различными типами анеуплоидии. У человека жизнеспособны женские особи XO (моносомии) и особи мужского пола XXY (трисомии по половым хромосомам), пентасомии XXXXX – женские особи. Животные-анеуплоиды по аутосомам, как правило, нежизнеспособны. Так, в случае трисомии по 13-й и 18-й хромосомам у человека дети редко выживают после шести месяцев. Среди исключений – трисомик по хромосоме 21 у человека. Он жизнеспособен, но отягощен синдромом Дауна. Хромосомная природа этого заболевания была установлена в лаборатории Ж. Лежена в 1959 г. Особи с синдромом Дауна имеют клинические признаки умственной отсталости, характерный миндалевидный разрез глаз, широкую переносицу, складку века – эпикант, большое расстояние между ноздрями, низкий рост, короткие и короткопалые руки и ноги, особое расположение линий на ладонях, аномалии внутренних органов, особенно сердца и крупных сосудов. Они редко живут более 30 лет. Частота новорожденных с синдромом Дауна (%) резко увеличивается с возрастом матери. так, если в возрасте 20-24 лет частота синдрома Дауна (%) составляет 0,02-0,04, то в 40 лет более 0,80-1,88.

Факторы окружающей среды, повреждающие генотип человека. Огромное большинство мутаций, как хромосомных, так и генных, в той или иной степени вредны для организма. Исследования, проведенные в разных странах на обширном статистическом материале, показывают, что среди населения в среднем около 5% имеют те или иные морфологические,

физиологические или биохимические дефекты, обязанные мутациям, возникшим у их родителей или более отдаленных предков. Выявление мутагенных факторов окружающей среды, действующих на человека, и разработка мер защиты от них представляют задачи первостепенной важности.

Давно известна мутагенность ионизирующих излучений и несомненно, что часть спонтанных мутаций человека обязана этой причине. Мутагенное действие радиации кумулятивно, т.е. эффект зависит от суммарной дозы, полученной организмом. Установлено, что гонады современного человека за 30 лет, проходящих от его рождения до достижения середины репродуктивного периода, подвергаются суммарной дозе ионизирующей радиации, составляющей около 2,85 рад. Эта доза складывается из следующих основных компонентов: гамма-излучение Земли – 1,29 рад, космические лучи – 0,74 рад, радиоактивный калий (K^{40}), содержащийся в организме человека – 0,60 рад. Кроме того, незначительную долю суммарного облучения дают содержащиеся в теле человека радон и радиоактивный углерод (C^{14}), а также радон воздуха. В современную эпоху широкого использования в технике, медицине, сельском хозяйстве атомной энергии, радиоактивных изотопов, рентгеновских лучей резко возросла необходимость ограждения человека от вреда, который ионизирующие излучения могут причинять его организму. При этом нужно принимать во внимание не только ущерб, наносимый этими излучениями здоровью незащищенного от них человека, но и вызываемые ими повреждения его генетического аппарата, отрицательно сказывающиеся затем на потомках.

Понятно, что с генетической точки зрения недопустимо любое повышение фона естественной радиации и особенно такое, которое может удвоить частоту мутаций у человека.

Огромную опасность для здоровья живущего и будущих поколений людей представляют взрывы атомных и водородных бомб, сопровождаемые мощнейшим потоком ионизирующих излучений и выпадением огромных количеств радиоактивных осадков. Среди последних наиболее опасны радиоактивные изотопы стронция ($Sr\ 90$), цезия ($Cs\ 137$) и углерода (C^{14}). Первые два, обладающие периодом полураспада около 30 лет, легко проникают в организм человека и накапливаются там. Углерод-14 окисляется в воздухе до радиоактивной углекислоты и усваивается растениями в процессе фотосинтеза, а затем попадает в организм человека при поедании растительных продуктов.

Данные о мутагенности некоторых химических веществ
(по Бочкову и другим источникам)

Вещество	Мутагенность для				
	микро-организмов	высших растений	дрозофилы	лабораторных животных	человека
Промышленные химические вещества					
диэтилсульфат	+	+	+	+	н
этиленмин	+	+	+	+	н
хлоропрен	н	н	н	+	+
винилхлорид	+	-	-	-	+
уретан	+	+	+	+	н
бета-проприолактон	+	н	н	н	+
Лекарства					

милеран	+	+	+	+	+
ТиоТЭФ	н	н	н	+	+
актиномицин	+	+	н	+	+
аминоптерин	+	+	н	+	+
гикантон	+	н	+	+	+
кофеин	+	+	+	+	+
Пищевые добавки и примеси					
нитрат натрия	+	+	+	н	н
производные нитрофурана	+	н	н	н	+
афлатоксин	+	+	+	+	+
Косметические средства +					
70-90% всех красителей для волос, аэрозольные лаки для волос, содержащие винилхлорид	+	н	-	н	н
	+	-	-	-	+
Инсектициды, фунгициды, гербициды					
каптан	+	-	-	+	+
ДДТ	-	+	+	+	н
линдан	-	+	-	+	+
гидразин малеиновой кислоты	н	+	+	+	+

Примечание: (+) – доказана мутагенность; (-) – мутагенность не обнаружена; (н) – мутагенность не исследована.

К настоящему времени в окружении человека выявлены сотни химических соединений, обладающих мутагенными свойствами. В таблице перечислены некоторые из них и указано, для каких организмов доказана их мутагенность.

При испытании химических веществ на мутагенность надо иметь в виду, что иногда способностью вызывать мутации обладает не само испытываемое вещество, а его производные, образующиеся при попадании этого вещества в растение или животное. Например, атразин, широко употребляемый в США в качестве гербицида на посевах кукурузы, не мутагенен, но проникнув в растение кукурузы, превращается там в сильный мутаген.

Генетические механизмы канцерогенеза. Уже отмечалось, что при генетически обусловленных дефектах репарации ДНК (или, точнее, при синдромах хромосомной нестабильности) частота рака возрастает в 10^2 - 10^4 раз. Известны случаи семейных раков определенной локализации: по опухолям желудка, молочной железы, легких, матки и т.д. Строго научная точка зрения состоит в том, что признается передача по наследству лишь предрасположенности к раковым заболеваниям, причем иногда речь идет о моногенной, в других случаях – о полигенной наследственности.

Выдающийся немецкий ученый Т. Бовери в начале XX в. предложил мутационную теорию рака, подчеркнув роль генных и хромосомных соматических мутаций в этиологии рака. Принципиально важно отметить, что злокачественность как таковая, т.е. способность при прививке одной или многих клеток приводить к развитию опухолей и метастазированию, передается в ряду соматических клеток по наследству. Именно поэтому прививка опухоли животному одной-единственной клеткой обуславливает развитие опухоли, состоящей из многих миллионов потомков этой клетки, каждый из которых при следующей прививке может воспроизвести точно такую же опухоль. Так уже

около 80 лет культивируется путем пассирования на мышах асцитный рак Эрлиха. Уменьшение или потери злокачественности при этом не наблюдается.

Из сказанного ясно, что проблема рака, практическое решение которой дело будущего, должна рассматриваться как одна из важнейших в медицинской генетике.

Медико-генетическое консультирование. Главные цели медико-генетического консультирования заключаются в установлении роли наследственной компоненты в этиологии данного заболевания и прогнозировании риска иметь больных потомков. В распоряжении врачей имеется весь арсенал перечисленных выше методов генетики человека и некоторые другие методы. Пример с лечением фенилкетонурии диетой, из которой исключен фенилаланин, указывает на то, что лица, страдающие многими наследственными болезнями, в настоящее время не могут считаться обреченными. Большие надежды возлагаются на методы генной инженерии, которая в принципе может позволить заменять патологические аллели нормальными и, возможно, вообще постепенно освободит человечество от многих недугов.

Лишь немногие наследственные заболевания, подобно хорее Гентингтона, проявляются в зрелом возрасте. Большинство форм наследственной патологии обнаруживается уже при рождении ребенка. Поэтому в настоящее время наибольшее внимание уделяется мерам по предотвращению рождения детей с наследственной патологией. Среди методов, позволяющих диагностировать заболевание до рождения ребенка, ведущее место занимает амниоцентез – получение амниотической жидкости и клеток плода с помощью простейшей, не травмирующей плод хирургической операции. Этим методом диагностируют не только хромосомные болезни, но и некоторые заболевания, в основе которых лежат генные мутации.

Медико-генетическое консультирование призвано избавить человечество от страданий, связанных с наследственными заболеваниями. На это нацелена и генотерапия, возможности которой резко расширились с возникновением генной инженерии.

Вопросы

1. Применимы ли законы наследственности к человеку?
2. Каково число, строение и форма хромосом человека?
3. Что такое тельце Барра?
4. Известны ли Вам признаки человека, которые менделируют по рецессивному и доминантному аутосомным типам?
5. Какие хромосомные болезни Вам известны?
6. В чем заключаются особенности изучения генетики человека?
7. Какие основные методы антропогенетики Вы знаете? В чем особенности каждого из них? В чем их сущность?
8. Как определить наследственные болезни человека?

ЛЕКЦИЯ 22. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

1. Искусственный синтез белков

2. Выделение генов и включение их в вектор

3. Некоторые результаты опытов по трансгенезу

4. Генетическая инженерия на уровне хромосом и геномов

Яркой иллюстрацией совершенно новых возможностей, открываемых современной генетикой для целенаправленной переработки наслед-

ственности организмов, служат достижения генетической инженерии – отрасли, бурно развивающейся в последние десять лет.

Генетической инженерией называют прикладную молекулярную и клеточную генетику, разрабатывающую приемы экспериментального вмешательства, позволяющего по заранее намеченному плану перестраивать геном организмов, изменяя содержащую в нем генетическую информацию. При этом в понятие генетической инженерии не включают перестройку геномов обычными генетическими методами, т.е. искусственным вызыванием мутаций и получением рекомбинаций путем скрещивания. К генетической инженерии принято относить следующие операции:

- 1) синтез генов вне организма;
- 2) выделение из клеток отдельных генов или генетических структур (фрагментов хромосом, целых хромосом или даже целых клеточных ядер);
- 3) направленную перестройку выделенных структур;
- 4) копирование и размножение выделенных или синтезированных генов или генетических структур;
- 5) перенос и включение таких генов или генетических структур в подлежащий изменению геном;
- 6) экспериментальное соединение разных геномов в одной клетке.

В ходе многочисленных экспериментальных работ, проведенных по этим разделам, получены важные новые сведения о структуре геномов, репликации генов и хромосом, механизмах перестройки хромосом, переносе генетической информации. Таким образом, исследования в области генетической инженерии оказались весьма плодотворными и в познавательном отношении. Вместе с тем результаты этих исследований позволили дать обоснованные прогнозы того, что может дать в будущем для человечества дальнейшее развитие генетической инженерии. Так можно предвидеть, что такие работы во много раз увеличат эффективность микробиологического производства кормовых белков, витаминов, антибиотиков и других биологически активных веществ; в хромосомы сельскохозяйственных растений будут перенесены гены азотфиксирующих бактерий, вследствие чего растения приобретут способность усваивать молекулярный азот атмосферы и отпадет нужда в азотных удобрениях; будут найдены способы радикального лечения наследственных болезней человека. Предсказываются и другие ценные практические результаты, к которым должна привести генетическая инженерия. Наряду с этим, нельзя закрывать глаза на то, что генетическая инженерия может привести и к результатам, опасным для человека. При объединении разнородных генов могут возникнуть молекулы ДНК с непредсказуемыми свойствами. Особенно опасны опыты, которые могут привести к появлению форм болезнетворных бактерий, устойчивых к антибиотикам и другим медикаментам, а также опыты с вирусами, вызывающими злокачественные опухоли. Сейчас разработаны меры и ученые разных стран договорились на ряде международных совещаний об их обязательном применении. К числу таких мер, помимо обычно используемых в работах с болезнетворными микробами и вирусами, относится рекомендация экспериментировать только с микробами и вирусами, не способными размножаться в организме человека. Предлагается, например, пользоваться мутантными штаммами кишечной палочки, нуждающимися в питательных средах, содержащих вещества, отсутствующие в кишечнике человека, и мутантными вирусами, неспособными реплицироваться при температуре человеческого тела.

Первые указания на то, что чужая генетическая информация может быть искусственно внесена в несодержащий ее организм и приживлена там, были получены в работах с двумя разными вирусами: вирусом табачной мозаики (ВТМ), геном которого состоит из РНК, и с вирусом папилломы Шоупа, геном которого состоит из ДНК.

С помощью фермента полинуклеотидфосфорилазы к РНК ВТМ была пришта полиадениловая кислота, т.е. синтетический полинуклеотид, состоящий из многократных повторов аденина. Согласно таблице генетического кода, триплеты аденина кодируют аминокислоту лизин. Этой РНК заразили листья табака и там она вызвала синтез полилизина, т.е. полипептида, построенного из одних лизинов. Этот опыт показал, что «синтетическая генетическая информация», пришта к вирусной РНК, используется клеткой.

Вирус папилломы Шоупа вызывает в эпителиальных и печеночных клетках кролика синтез аргиназы – фермента, разрушающего аминокислоту аргинин. Кролики, которым введет этот вирус, имеют низкий уровень аргинина в крови, даже если у них не развились бородавки, обычно наблюдаемые при таком заражении. У лиц, работавших с вирусом Шоупа в лаборатории, а также у самого Р.Шоупа, открывшего этот вирус и вспырыснвшего его себе, не появилось никаких патологических симптомов, но содержание аргинина в крови у них было значительно ниже свойственного людям, не зараженным этим вирусом, и это состояние сохранилось в течение многих лет после прекращения контактов с вирусом Шоупа. У человека известно редкое наследственное заболевание аргининемия, характеризуемое высокой концентрацией аргинина в крови, резкой умственной отсталостью, эпилепсией, расстройствами обмена. Если бы аргининемия обнаруживали у ребенка достаточно рано, вероятно, можно было бы предотвратить эти патологические проявления введением в организм безвредного для человека вируса Шоупа.

К генетической инженерии, бесспорно, относятся манипуляции по направленному изменению генетической информации клетки или организма. Их можно разделить на две главные категории. Одна из них – трансгеноз, т.е. экспериментальный перенос выделенных из генома или искусственно синтезированных генов в другой геном; такие работы составляют большинство. К другой категории относится экспериментальный перенос выделенных из клетки хромосом в другую клетку или экспериментальное соединение в одной клетке разных геномов.

Трансгеноз состоит из трех основных последовательно выполняемых операций. Сначала выделяют или синтезируют ген или гены, подлежащие переносу. Затем этот ген или гены включают в вектор, т.е. в такую автономно реплицирующуюся генетическую структуру, с помощью которой этот ген или гены могут быть размножены и введены в клетку-реципиент, наследственные свойства которой желают изменить. И, наконец, создают условия для проникновения вектора с включаемыми в него генами в эту клетку, где они встраиваются в ее хромосомный аппарат или автономно реплицируются в составе вектора.

Искусственный синтез генов. В современной генетике применяются два способа искусственного синтеза генов вне организма – химический и ферментативный. Впервые синтез гена был осуществлен химическим путем в 1969 г. работающим в Америке индийским ученым Хораной с сотрудниками. Этим рукотворным геном был небольшой по размеру (77 пар нуклеотидов) ген аланиновой тРНК дрожжей, последовательность нуклеотидов в котором была к тому времени полностью расшифрована. Руководствуясь этой последовательностью, группа Хораны химически синтезировала мелкие фрагменты ДНК (от 4 до 13 пар нуклеотидов) и соединила их в нужном порядке с помощью лигазы. Изготовленный таким образом ген не имел регуляторных элементов и был функционально неактивным.

Развивая это направление и применяя те же методы, Хорана со своими помощниками синтезировали в 1976 г. отрезок ДНК кишечной палочки, содержащий ген супрессорной тирозиновой тРНК длиной 126 пар нуклеотидов, и приымающие к нему промотор (52 пары нуклеотидов) и терминатор (21 пара нуклеотидов), а также прикрепленные к концам отрезка тетрануклеотиды ААТТ и ТГАА. На этот раз искусственно созданный ген вместе с этими добавочными элементами оказался полностью работоспособным, что проявилось, когда синтезированный отрезок был встроен в геном мутантного фага Т4. Этот фаг содержал

нонсенс-мутацию, вследствие которой в транскрибируемой с его генома матричной РНК триплет УАЦ, кодирующий тирозин, превратился в УАГ т.е. в стоп-сигнал, обрывающий рост полипептидной цепи, почему этот мутантный фаг не может размножаться в нормальных клетках кишечной палочки. В присутствии такой тРНК происходит подавление (супрессия) нонсенс-мутации фага Т4 и он приобретает способность размножаться в нормальных бактериальных клетках, что и произошло после встраивания в геном мутантного фага искусственно синтезированного отрезка ДНК с геном супрессорной тирозиновой тРНК.

Другим примером искусственного создания функционально-активного гена служит химический синтез неоднократно упоминавшегося в лекциях оператора лактозного оперона кишечной палочки. Синтезированный в пробирке оператор был встроен в плазмиду, с помощью которой его удается ввести в бактерию. Когда в бактерию, у которой лактозный оперон заблокирован вырабатываемым в ней репрессором, вводят одновременно несколько таких плазмид, несущих искусственно синтезированные операторы, то количества образуемого в клетке репрессора не хватает, чтобы связаться со всеми оказавшимися в ней операторами лактозного оперона. Оперон этот дерепрессируется, его структурные гены начинают работать, обеспечивая синтез кодируемых ими ферментов, и кишечная палочка приобретает способность усваивать лактозу.

Эти блестящие результаты, достигнутые длительной кропотливой работой, показали возможность создания в пробирке генов, вполне тождественных природным, однако следует отметить, что синтезированные гены относятся к наиболее мелким из известных; изготовление же генов, кодирующих белки и состоящие из тысячи или более нуклеотидных пар, пока представляют для химического метода слишком сложную задачу. Искусственный синтез таких генов стал возможен благодаря открытию обратной транскрипции с РНК на ДНК. Изучение транскрипции показало, что матрицей для образования ДНК-вых копий может служить не только РНК онкогенных вирусов, в опытах с которыми это явление было открыто, но и разные другие РНК, в том числе даже синтетические полирибонуклеотиды. Обратная транскриптаза добросовестно строит на всех таких матрицах их ДНК-копии. Это сделало принципиально осуществимым искусственный ферментативный синтез любых индивидуальных генов (притом в числе копий) путем транскрибирования их с соответствующих РНК.

Выделение генов и включение их в вектор. Химическим путем пока что удается синтезировать только очень небольшие гены, вроде генов транспортных РНК, а посредством обратной транскрипции синтезируются, большей частью, лишь структурные гены без необходимых для их функционирования регуляторных элементов. Это ограничивает использование искусственно синтезированных генов для целей генетической инженерии и трансгеноз чаще осуществляют природными генами, тем или иным способом выделенными из генома.

Впервые гены удалось выделить в 1969 г. американскому ученому Дж. Беквитсу с сотрудниками. Они воспользовались тем, что два разных трансдуцирующих фага при размножении в кишечной палочке могут захватывать и встраивать в свой геном лактозный оперон бактерии вместе с примыкающим к нему геном-регулятором, причем данный отрезок бактериальной хромосомы встраивается в геном этих двух фагов в противоположной ориентации

Векторами чаще всего служат мелкие кольцевые бактериальные плазмиды, несущие гены устойчивости к тому или иному антибиотику или к ультрафиолетовому свету. Широко пользуются также мутантным фагом лямбда, значительная часть генома которого выпала вследствие делеции. Для переноса генов в клетки млекопитающих особенно пригоден онкогенный обезьяний вирус ОВ40. Геном этого вируса обладает способностью встраиваться в хромосомы клеток млекопитающих и кроме того этот вирус иногда превращается в псевдовирин, в котором

внутри вирусного белкового капсида находится не вирусная ДНК, а захваченный вирусом кусок ДНК хромосомы хозяйской клетки, где вирус реплицировался.

В опытах по трансгенезу наиболее употребительны методы, позволяющие изучать отрезки ДНК с «липкими концами», т.е. содержащие на концах последовательности нуклеотидов, образующие комплементарные пары с тем отрезком ДНК, с которым их хотят соединить.

Чаще всего отрезки ДНК получают с помощью рестриктаз; это эндонуклеазы, разрезающие нить ДНК в строго определенных местах – там, где нуклеотиды расположены в порядке, опознаваемом этой рестриктазой.

В настоящее время самый распространенный метод получения фрагментов ДНК с подлежащим переносу геном – это так называемый способ дробового ружья (*shot-gun*), заключающийся в том, что ДНК механически или рестриктазами дробят на многочисленные мелкие фрагменты и затем их вслепую гибридизируют с молекулами ДНК вектора, обработанными рестриктазой для превращения их в линейные и для придания им липких концов. Образовавшиеся гибридные молекулы вводят в кишечную палочку и дальнейшая задача заключается в отыскании и выделении тех бактерий, в которые попал фрагмент ДНК с нужным геном.

Некоторые результаты опытов по трансгенезу. Работы по трансгенезу имеют существенное теоретическое значение и позволяют хотя бы ориентировочно оценивать перспективы для практики.

Примером трансгенеза может служить рекомбинация, одна из которых несла ген устойчивости к тетрациклину, а другая – к стрептомицину. Полученная рекомбинантная плазмида имела оба эти гена, и когда ее ввели в кишечную палочку, придала ей устойчивость к обоим антибиотикам.

Ряд работ посвящен переносу генов из бактерии в бактерию из азотфиксирующей бактерии группа генов, определяющих это ее свойство, была перенесена в кишечную палочку, после чего кишечная палочка приобрела способность фиксировать атмосферный азот. Методы генетической инженерии уже используются для производства вакцин против вирусных болезней.

В ряде исследований осуществлен перенос генов бактерий в клетки эукариотов. Американский ученый Г. Финк с помощью рекомбинантной плазмиды ввел в клетки штамма дрожжей, ауксотрофного по лейцину, бактериальный ген, кодирующий синтез этой аминокислоты. Ген этот встроился в геном дрожжей и превратил их в прототрофные. Широко известны опыты другого американского ученого П. Меррилла с сотрудниками, которые с помощью фага лямбда перенесли ген галактозо-1-фосфат-уридилтрансферазы кишечной палочки в культивируемые вне организма клетки человека, больного галактоземией, что обеспечило синтез этого фермента клетками, т.е. излечило их.

Важные результаты дали опыты по переносу векторными молекулами генов эукариотов в клетки бактерий. Так, ген имидазолглицерофосфатдегидрогеназы (фермента, участвующего в синтезе гистидина) дрожжей был введен в кишечную палочку, дефектную по данному гену. Также в кишечную палочку были введены гены гистонов морского ежа (о чем уже упоминалось выше), гены рибосомных РНК шпорцевой лягушки и дрозофилы, многие другие гены дрозофилы, структурный ген глобина кролика, гены инсулина крысы, мыши и человека, гены митохондриальной ДНК мыши и ряда других. В большинстве случаев, хотя и не всегда, было установлено, что гены эукариотов нормально транскрибируются в клетках бактерии – там синтезируются соответствующие этим генам мРНК и даже эукариотные белки. Особенно важно, что введение генов эукариотов в бактерии может быть использовано для микробиологического синтеза некоторых биологически-активных веществ, нормально продуцируемых не бактериями, а клетками высших организмов, откуда их подчас трудно извлекать. Так, например, был синтезирован гормон соматостатин млекопитающих. Этот гормон, молекула которого состоит из 14 аминокислот, об-

разуется в очень небольших количествах в гипоталамусе и регулирует поступление в кровь гормона роста и инсулина. Кодирующий соматостатин ген был синтезирован вне организма и состыкован со встроенным в плазмиду бактериальным геном бета-галактозидазы, в том числе и с регуляторными элементами соответствующего оперона. Реконструированные плазмиды затем ввели в клетки кишечной палочки и после размножения этих бактерий из них было выделено 5 мг соматостатина (для получения такого количества этого гормона из гипоталамуса пришлось бы переработать 500 тысяч бараньих мозгов). В другой работе искусственно созданные вне организма гены, кодирующие две полипептидные цепи, образующие инсулин человека, были сходным методом встроены в клетки кишечной палочки, которые вследствие этого приобрели способность синтезировать этот гормон, очень нужный практической медицине.

Близкими в принципе генетико-инженерными методами были синтезированы и введены в клетки кишечной палочки гены, кодирующие синтез ряда других лекарственных препаратов, бывших прежде остро дефицитными и трудно добываемыми: человеческого интерферона (служащего для лечения ряда вирусных болезней и перспективного в качестве противоопухолевого средства), брадикинина и ангиотензина (регулирующих кровообращение), эндорфина (нервного медиатора, снимающего боль, но не вызывающего привыкания), гормона роста человека (необходимого для лечения некоторых форм врожденной карликовости), гормона роста домашних животных и т.д. Производство некоторых из этих веществ обычными, не генетико-инженерными методами, настолько дорого и сложно, что ими почти не пользовались; например, гормон роста человека получают из трупных гипофизов, где он содержится в таком ничтожном количестве, что для лечения одного ребенка требуется использовать гипофизы тысяч покойников. Теперь генетическая инженерия открыла перед медицинской промышленностью дорогу для относительно дешевого, простого и высокоэффективного микробиологического производства этих препаратов. Число лекарственных веществ, над генетико-инженерным синтезом которых ведется работа, непрерывно возрастает и можно быть уверенным, что ближайшие годы принесут в этой области новые достижения.

Генетическая инженерия на уровне хромосом и геномов. Относимые к генетической инженерии работы по экспериментальному переносу хромосом из одной клетки в другую и по соединению в клетке разных геномов тесно смыкаются с преследующими эти же цели работами, проводимыми с помощью обычных генетических методов (напомним перенос отдельных хромосом и их частей при гибридизации растений, использование транслокаций для регулирования пола у шелкопряда, пересадку соматических ядер в яйцеклетку, из которой удалено ядро, получение аллофенных животных и т.п.). Поэтому разграничение этих двух типов работ до известной степени условно.

В ряде исследований, проведенных на культурах клеток животных, установлено, что выделенные из клетки метафазные хромосомы могут внедряться в другую клетку путем пиноцитоза и, таким образом, передавать гены клетки-донора в клетку-реципиент. Метод пересадки ядер соматических клеток в энуклеированные яйцеклетки перспективен для животноводства. Генотип животных, особенно выдающихся по своим хозяйственно-ценным признакам, сейчас стараются сохранить и размножить посредством скрещиваний. При этом у потомков неизбежно нарушается удачное сочетание генов, определявшее высокие качества исходного животного.

Разработанные к настоящему времени приемы позволяют извлекать неоплодотворенные яйцеклетки млекопитающих, пересаживать в энуклеированные яйцеклетки диплоидные ядра соматических клеток и вводить зиготу в матку самки, гормонально подготовленную к имплантации; так, например, у мышей удалось этим способом получить потомков из энуклеированных яйцеклеток, в которых вводили ядро соматической клетки другой особи. При том удалось даже

клонировать особь, у которой брали ядра для пересадки, т.е. получить группу потомков, генетически вполне тождественных этой особи. Успех подобных опытов дает основание предполагать, что в недалеком будущем таким способом можно будет получать от ценного сельскохозяйственного животного, выделяющегося по своей продуктивности (например, от коровы или свиньи-рекордистки) неограниченное число потомков, обладающих точно таким же генотипом, как это животное, что может иметь важное значение в племенном животноводстве.

В последние годы быстро развиваются работы по гибридизации соматических клеток. Для повышения частоты слияния двух или нескольких клеток животных их обрабатывают инактивированным вирусом Сендай; клетки же растений предварительно превращают в протопласты, разрушая клеточные стенки пектиназой и целлюлазой, а для облегчения слияния протопластов на них действуют полиэтиленгликолем или некоторыми другими веществами.

С помощью гибридизации соматических клеток получены ценные сведения по ряду генетических проблем. Особенно широко этот метод применяется для картирования генов человека. Обычными генетическими приемами можно установить, в какой хромосоме лежит тот или иной ген только в том случае, если найден мутантный аллель этого гена. Гибридизация соматических клеток позволяет решить этот вопрос и для немутантных генов человека. Для этого используют гибридные клетки человек X мышь и человек X китайский хомячок. Во многих случаях "гибридные линии клеток выделяют с помощью селективных сред, на которых родительские клетки погибают, а выживают и образуют колонии только гибридные. В процессе дальнейшего размножения гибридных клеток в них постепенно теряются хромосомы человека – именно это обстоятельство позволяет определить, в какой хромосоме локализован изучаемый ген. Здесь опять пользуются особыми селективными средами, на которых выживают только те гибридные клетки, в которых имеется этот ген.

Гибридизация соматических клеток открывает новые возможности для изучения закономерностей регуляции действия генов в ходе онтогенетической дифференциации клеток. Большинство таких работ выполнено на клетках позвоночных.

Метод переноса генов с помощью ДНК может оказаться в будущем весьма ценным для практической медицины. Об этом свидетельствуют некоторые опыты, проведенные на лабораторных животных, а также попытки использования этого метода для лечения человека. Все эти методы могут быть использованы для конструирования новых форм микроорганизмов, животных и растений путем введения и стабильного наследования в них рекомбинантных ДНК, несущих гены, детерминирующие желаемые признаки.

Не менее важное значение имеет генная инженерия в качестве мощного инструмента фундаментальных исследований. С ее помощью изучают строение различных геномов, отдельных генов и кодируемых ими продуктов. Генная инженерия помогла раскрыть экзон-интронную организацию эукариотических генов, позволила понять суть явления непостоянства генома, связанного с присутствием мигрирующих генетических элементов у про- и эукариот, открыла принципиально новые возможности для изучения молекулярных основ онтогенеза, наследственных заболеваний, эволюционного происхождения различных организмов. В значительной мере этим успехам генной инженерии способствовало создание банков (или библиотек) генов отдельных организмов, резко облегчающих стратегию поиска индивидуальных генов, исследование их структуры и функции. Получение банков генов включает выделение тотальной ДНК, фрагментацию ее с помощью рестриктаз, присоединение полученных фрагментов к векторным молекулам (плазмидного или фагового происхождения) и введение рекомбинантных ДНК в реципиентные бактерии. Эта техника позволяет получить набор клонов бактерий или гибридных фагов, различающихся по включенным фрагментам ДНК. Необходимые исследователю гены отбирают из таких

банков с помощью специально разработанных генетических, биохимических, радиоизотопных и иммунологических методов. Уже в 1974 г. Д. Хогнесс с сотрудниками создали банк генов *D. melanogaster* в клетках *E. coli*. Вскоре был получен полный банк генов *E. coli*, а затем и многих других организмов, включая человека. Последнее открывает реальные перспективы для генотерапии наследственных заболеваний человека с целью исправления генетических дефектов.

Потенциальные возможности генной инженерии действительно очень велики, и их реализация в полной мере дело сегодняшнего дня и ближайшего будущего.

Вопросы

1. Существует ли разница между генной и генетической инженерией?
2. Какие методы используются в генной инженерии?
3. Каким способом искусственно синтезируются гены?
4. Каковы результаты опытов по трансгенозу?
5. Какие успехи достигнуты методами генетики соматических клеток?
6. Что такое банк генов?

ЛИТЕРАТУРА

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. Т. 1, 2, 3, Мир, 1987.
2. Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика. М.; Высшая школа, 1985.
3. Бердышев Г.Д., Криворучко И.Ф. Генетика человека с основами медицинской генетики, Киев, Вища школа, 1979.
4. Бочков Н.М., Захаров А.Ф., Иванов В.И. Медицинская генетика, М.; Медицина, 1986.
5. Гершензон С.М. Основы современной генетики. Киев, Наукова думка, 1983.
6. Дубинин Н.П. Общая генетика, М. 1976.
7. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. Новосибирск, 2002.
8. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции, 1985.
9. Лобашев М.Е., Ватти К.В., Тихомирова М.М. Генетика с основами селекции, М.; 1979.
10. Палилова А.Н. Генетические системы и их взаимодействия, Минск, наука и техника, 1986.
11. Патрушев М.И. Экспрессия гена, М, Наука, 2000.
12. Сингер М., Берг П. Гены и геномы. М., Мир, 1998.
13. Стент Г., Кэлиндар Р. Молекулярная генетика, М, 1981.
14. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. В 3 т., М., Мир, 1989.
15. Хесин Р.Б. Непостоянство генома, М., 1984.
16. Яблоков А.В., Юсуфов А.Г. Эволюционное учение, М., 1981.

О Г Л А В Л Е Н И Е

ЛЕКЦИЯ 1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ: ПРЕДМЕТ И ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ГЕНЕТИКИ. ОСНОВНЫЕ ЭТАПЫ. ГЛАВНЕЙШИЕ ЗАДАЧИ	3
ЛЕКЦИЯ 2. КЛЕТОЧНЫЕ МЕХАНИЗМЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	9
ЛЕКЦИЯ 3. ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ПРИЗНАКОВ И ПРИНЦИПЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	17
ЛЕКЦИЯ 4. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ ПОЛИГИБРИДНОМ СКРЕЩИВАНИИ ...	22
ЛЕКЦИЯ 5. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ГЕНОВ	29
ЛЕКЦИЯ 6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОЛА. НАСЛЕДОВАНИЕ ПРИЗНАКОВ, СЦЕПЛЕННЫХ С ПОЛОМ	35
ЛЕКЦИЯ 7. СЦЕПЛЕНИЕ И КРОССИНГОВЕР	42
ЛЕКЦИЯ 8. ВНЕЯДЕРНАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ	52
ЛЕКЦИЯ 9. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ	58
ЛЕКЦИЯ 10. ТОНКОЕ СТРОЕНИЕ ХРОМОСОМ И ГЕНОВ, ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНОМА	68
ЛЕКЦИЯ 11. ИЗМЕНЧИВОСТЬ НАСЛЕДСТВЕННОГО МАТЕРИАЛА	74
ЛЕКЦИЯ 12. ПРИЧИНЫ МУТАЦИЙ И ИХ ИСКУССТВЕННОЕ ВЫЗЫВАНИЕ	83
ЛЕКЦИЯ 13. МОДИФИКАЦИИ И НОРМА РЕАКЦИИ	93
ЛЕКЦИЯ 14. РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ГЕНОВ	98
ЛЕКЦИЯ 15. ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ	105
ЛЕКЦИЯ 16. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ МУТАЦИЙ И РЕКОМБИНАЦИЙ	115
ЛЕКЦИЯ 17. ГЕНЕТИКА ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ	130
ЛЕКЦИЯ 18. ГЕНЕТИКА ПОПУЛЯЦИЙ	144
ЛЕКЦИЯ 19. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЭВОЛЮЦИИ	152
ЛЕКЦИЯ 20. ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СЕЛЕКЦИИ	164
ЛЕКЦИЯ 21. ГЕНЕТИКА ЧЕЛОВЕКА	176
ЛЕКЦИЯ 22. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ	187
ЛИТЕРАТУРА	194

Шаова Жанна Аскарбиевна

ЛЕКЦИИ ПО ГЕНЕТИКЕ

Учебное пособие

Подписано в печать 21.09.2015 г.

Формат бумаги 60x84¹/₁₆. Бумага ксероксная. Гарнитура Таймс.
Усл. печ. л. 12,25. Заказ №092. Тираж 100 экз.

Издательство МГТУ
385000, г. Майкоп, ул. Первомайская, 191