

ГЕНЕТИКА В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ



Санкт-Петербург
СпецЛит

Серия «Руководство для врачей»
под общей редакцией С. И. Рябова

Авторы:

Горбунова Виктория Николаевна — доктор биологических наук, профессор кафедры медицинской генетики СПбГПМУ;

Корженевская Марина Анатольевна — кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой медицинской биологии и генетики ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Анисимова Людмила Евгеньевна — кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии и генетики ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Карпова Екатерина Владимировна — старший преподаватель кафедры медицинской биологии и генетики ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Розенфельд Светлана Владимировна — кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии и генетики ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова;

Степанов Николай Николаевич — кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник ФТИ им. А. Ф. Иоффе РАН;

Того Екатерина Феликсовна — кандидат биологических наук, доцент кафедры медицинской биологии и генетики ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова

Рецензенты:

Инге-Веттомов Сергей Георгиевич — доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой генетики и селекции Санкт-Петербургского государственного университета, иностранный член Литовской АН, заслуженный деятель науки РФ, директор Санкт-Петербургского филиала Института общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН;

Мамон Людмила Андреевна — доктор биологических наук, доцент кафедры генетики и селекции Санкт-Петербургского государственного университета;

Баранов Владислав Сергеевич — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией пренатальной диагностики наследственных и врожденных заболеваний Научно-исследовательского института акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта Северо-Западного отделения РАН, главный специалист города по медицинской генетике

Генетика в клинической практике : руководство для врачей /
ГЗ4 В. Н. Горбунова, М. А. Корженевская, Л. Е. Анисимова, Е. В. Карпова [и др.] ;
под ред. В. Н. Горбуновой, М. А. Корженевской. — Санкт-Петербург :
СпецЛит, 2015. — 329 с.
ISBN 978-5-299-00672-8

В руководстве описаны основные положения современной медицинской генетики и возможности их использования в клинической практике. В первой части дано описание материальных основ наследственности. Показано, как менялись представления о генах, их организации и работе, способах упаковки генетического материала в клетках, его наследственной передачи в ряду поколений. Отдельные главы посвящены типам наследования признаков, характеристике мутаций, генетическим основам развития, описанию генетической структуры и динамики популяций, эпигенетическим модификациям, результатам международного проекта «Геном человека» и их значению для развития молекулярной медицины. Вторая часть книги целиком посвящена проблемам и методам медицинской генетики. Дано подробное описание врожденных пороков развития, хромосомных и моногенных болезней, классифицированных по типам наследования. Обсуждается роль генетических составляющих в этиологии многофакторных болезней, возможность идентификации и клинической интерпретации генетических факторов риска, предрасполагающих к их развитию. Изложены основы фармакогенетики и генетическая теория канцерогенеза. Отдельная глава посвящена вопросам диагностики и профилактики, а также лечения наследственных и врожденных заболеваний. Книга снабжена словарем генетических терминов.

Руководство предназначено для студентов, интернов, ординаторов и аспирантов медицинских вузов, а также практических врачей, интересующихся вопросами клинической генетики.

УДК 616:575(075.8)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Условные сокращения	7
Предисловие	9

ЧАСТЬ 1 МАТЕРИАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Глава 1. Законы Менделя	12
Глава 2. Цитологические основы наследственности	16
2.1. Клеточный цикл	17
2.2. Хромосомы	18
2.3. Митоз	22
2.4. Мейоз	23
2.5. Хромосомная теория наследственности	27
2.6. Цитогенетические карты	28
Глава 3. Молекулярные основы наследственности	33
3.1. Структура ДНК	34
3.2. Организация хроматина	37
3.3. Репликация ДНК	39
3.4. Наследственная информация и пути ее передачи (транскрипция, трансляция, генетический код)	40
3.5. Репарация ДНК	46
3.6. Структура и экспрессия генов эукариот	47
3.7. Экспрессия генов иммуноглобулинов и Т-клеточных рецепторов	54
3.8. Обратная генетика, «ген в пробирке»	55
Глава 4. Мутации	58
4.1. Спонтанный и индуцированный мутагенез	59
4.2. Хромосомные мутации	61
4.3. Генные мутации	66
4.4. Номенклатура мутаций	72
Глава 5. Типы наследования признаков	73
5.1. Каталог генов и наследственных болезней человека В. А. Мак-Кьюсика	73
5.2. Аутомно-доминантное наследование	74
5.3. Аутомно-рецессивное наследование	76
5.4. Сцепленное с полом наследование	78
5.5. Отклонения от менделевских закономерностей наследования	83
5.6. Полигенное наследование	84
5.7. Генотип и фенотип. Взаимодействие генов	85
5.8. Наследование групп крови АВ0 (ABH) и Rh	91
Глава 6. Генетика популяций	96
6.1. Закон Харди–Вайнберга	97
6.2. Генетический изолят, дрейф генов	100
6.3. Полиморфизм популяций, генетический груз	103
6.4. Неравновесие по сцеплению	104
Глава 7. Генетические основы развития	105
7.1. Тотипотентность	106
7.2. Материнский эффект ооплазмы	107
7.3. Межклеточные взаимодействия и позиционные эффекты	108

7.4. Ранние эмбриональные гены транскрипционных факторов	109
7.5. Генетика пола и наследственные нарушения половой дифференцировки	111
7.6. Клонирование	118
7.7. Трансгеноз	120
Глава 8. Структура генома эукариот	123
8.1. Основные компоненты генома	123
8.2. Повторяющиеся элементы	124
8.3. Мобильные элементы генома	127
8.4. Облигатные и факультативные элементы генома	130
8.5. Структурный полиморфизм генома	131
8.6. Компактность размещения информации в кодирующих областях генома	132
8.7. Структура митохондриального генома	134
8.8. Общая характеристика генома человека	134
Глава 9. Эпигенетика	135
9.1. Метилирование ДНК	136
9.2. Модификация гистонов и ремоделирование хроматина	138
9.3. РНК-регуляция экспрессии генов	141
9.4. Эпигеном человека	144
Глава 10. Геномика, проект «Геном человека»	146
10.1. Структурная и функциональная геномика	146
10.2. Проект «Геном человека» и его значение для медицины	149

ЧАСТЬ 2

МЕДИЦИНСКАЯ ГЕНЕТИКА

Глава 11. Методы медицинской генетики	154
11.1. Клинико-генеалогический метод	154
11.2. Близнецовый метод	156
11.3. Дерматоглифика в клинической практике	158
11.4. Популяционный метод	159
11.5. Цитогенетический метод	160
11.6. Биохимический и иммунологический методы	163
11.7. Молекулярно-генетический метод	165
11.7.1. Выделение ДНК	165
11.7.2. Полимеразная цепная реакция	166
11.7.3. Методы идентификации мутаций	168
Глава 12. Общая характеристика врожденных и наследственных заболеваний	173
12.1. Эпидемиология	174
12.2. Хромосомные болезни	175
12.3. Моногенные болезни	176
12.4. Многофакторные, или комплексные, заболевания с наследственной предрасположенностью	184
Глава 13. Врожденные пороки развития	185
13.1. Эпидемиология врожденных пороков развития	186
13.2. Классификация врожденных пороков развития	189
13.3. Тератогенные пороки развития	193
13.4. Патогенез некоторых врожденных пороков развития	199
13.5. Большие и малые аномалии развития	203
Глава 14. Хромосомные болезни	204
14.1. Трисомии	204
14.2. Числовые аномалии половых хромосом	208
14.3. Структурные аномалии хромосом	211
14.4. Однородительские дисомии и геномный импринтинг	213

Глава 15. Аутосомно-доминантные заболевания	218
15.1. Наследственные дисплазии соединительной ткани	219
15.1.1. Наследственные коллагенопатии	219
15.1.2. Синдром Марфана и другие наследственные синдромы с марфано-подобным фенотипом	226
15.2. Аутосомно-доминантные болезни нервной системы	229
15.2.1. Моторно-сенсорные полинейропатии	229
15.2.2. Боковой амиотрофический склероз	230
15.2.3. Наследственные факоматозы	231
Глава 16. Аутосомно-рецессивные заболевания	234
16.1. Муковисцидоз	235
16.2. Проксимальная спинальная амиотрофия	237
16.3. Наследственные болезни обмена	240
16.3.1. Фенилкетонурия	241
16.3.2. Галактоземия	243
16.3.3. Сфинголипидозы	245
16.3.4. Мукополисахаридозы	249
16.3.5. Адреногенитальный синдром	251
16.3.6. Гепатолентикулярная дегенерация	253
Глава 17. Заболевания, обусловленные мутациями генов, локализованных в половых хромосомах	256
17.1. Х-сцепленные доминантные заболевания	257
17.1.1. Витамин-D-резистентный рахит	257
17.1.2. Синдром Ретта	258
17.2. Х-сцепленные рецессивные заболевания	258
17.2.1. Гемофилия А и В	258
17.2.2. Миодистрофия Дюшена — Беккера	259
17.3. Отцовский, или голандрический, тип наследования	262
Глава 18. Заболевания с нетрадиционным наследованием	263
18.1. Митохондриальные болезни	263
18.2. Болезни экспансии	265
18.2.1. Синдром Мартина — Белл	267
18.2.2. Миотоническая дистрофия	268
18.2.3. Хорея Гентингтона	269
18.3. Эпигенетические болезни, вызванные нарушением регуляции экспрессии генов	272
Глава 19. Генетический контроль предрасположенности к многофакторной патологии	273
19.1. Генетические факторы риска. Анализ генетических ассоциаций	273
19.2. Генетический контроль предрасположенности к сердечно-сосудистой патологии	276
19.3. Роль HLA-генов и генов ферментов детоксикации в формировании наследственной предрасположенности к многофакторной патологии	278
19.4. Проблемы генетической паспортизации	282
19.5. Полногеномное сканирование ассоциаций	285
Глава 20. Фармакогенетика	289
20.1. Наследственные медикаментозные идиосинкразии	289
20.2. Полиморфизм генов лекарственного метаболизма	290
Глава 21. Генетические основы канцерогенеза	293
21.1. Генетическая теория канцерогенеза	293
21.2. Наследственные опухолевые синдромы	303
Глава 22. Диагностика и профилактика наследственных и врожденных заболеваний	305
22.1. Показания для направления на консультацию к врачу-генетику	305
22.2. Медико-генетическое консультирование	307

22.3. Организация медико-генетической службы	308
22.4. Скринирующие программы	310
22.4.1. Биохимический скрининг маркерных белков при беременности	310
22.4.2. Неонатальный биохимический скрининг	312
22.5. Пренатальная диагностика наследственных и врожденных заболеваний	315
22.5.1. Пренатальная диагностика хромосомных болезней	317
22.5.2. Пренатальная диагностика моногенных болезней	318
Литература	322
Словарь генетических терминов	324

Часть 1

МАТЕРИАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Глава || ЗАКОНЫ МЕНДЕЛЯ

1

Основополагающие законы наследования были открыты во второй половине XIX в. Грегором Менделем. В своей знаменитой работе «Опыты над растительными гибридами», вышедшей в 1865 г., Г. Мендель описал два важных явления:

- определение признаков по отдельным наследственным факторам;
- сохранение неизменными отдельных признаков организма у потомства.

Г. Мендель скрещивал сорта гороха, различающиеся одной парой альтернативных признаков, главным образом окраски и формы семян и цветков. Предварительно Мендель изучал эти сорта в течение двух лет и отобрал для своих экспериментов те из них, в которых исследуемые признаки стабильно наследовались. Оказалось, что при скрещивании растений гороха с указанным различием все гибриды первого поколения были похожи на одного из родителей. Эти наблюдения явились основой для формулировки первого закона Менделя — *закона доминирования, или единообразия, гибридов первого поколения*. Тот признак, который проявлялся у гибридов первого поколения, был назван Менделем *доминантным*, а не проявляющийся признак — *рецессивным*. В дальнейшем было показано, что этот закон относится к разряду общебиологических закономерностей.

При проведении межсортовых скрещиваний на протяжении нескольких последующих поколений Мендель проводил количественный учет растений отдельно по каждой паре признаков. При самоопылении гибридов во втором поколении появлялись растения как с доминантным, так и с рецессивным признаком, причем в соотношении примерно 3 : 1. Эти наблюдения позволили Менделю сформулировать второй закон — *закон расщепления признаков*, который носит статистический характер, то есть реализуется только на больших выборках. Если мы ограничимся анализом потомства от скрещивания всего лишь двух гибридных особей, то расщепление в потомстве не обязательно будет строго соответствовать соотношению 3 : 1. Для обнаружения закономерности расщепления 3 : 1 Менделю пришлось подсчитывать более 10 000 растений во втором поколении отдельно для каждой пары признаков.

Наблюдаемые закономерности позволили Менделю высказать гипотезу о существовании двух дискретных наследственных факторов (или задатков), ответственных за проявление одного признака. Один из этих факторов, доминантный, он обозначил заглавной буквой А, а второй, рецессивный, — а. Таким образом, исходные сорта гороха несут два одинаковых наследственных фактора, ответственных за изучаемый признак, в одном сорте это АА, в другом — аа. Следующее предположение Менделя заключалось в том, что только один из этих факторов попадает в зародышевые клетки, или гаметы. Тогда гибриды первого поколения несут два разных наследственных фактора — Аа. Хотя рецессивный фактор (а) не проявляется в присутствии доминантного (А), но он и не исчезает. Каждый из этих двух дискретных наследственных факторов у гибрида (Аа)



Рис. 1.1. Моногибридное скрещивание:
а — закон доминирования; б — закон расщепления

с равной вероятностью попадает в разные половые клетки — гаметы. Эти предположения Менделя получили название гипотезы чистоты гамет.

Гибридные растения Аа образуют гаметы как с доминантным, так и с рецессивным фактором, которые в равной степени участвуют в оплодотворении. В результате образуются растения трех типов: АА, Аа и аа в соотношении 1 : 2 : 1. Поскольку рецессивный наследственный фактор не проявляется в присутствии доминантного, растения АА и Аа (А—) внешне будут идентичны друг другу и по признаку будет наблюдаться расщепление 3 : 1.

При описании схемы скрещивания в генетике используются следующие обозначения: родители — Р (от лат. *parentes* — родитель), особи женского пола — Т (зеркало Венеры), мужского — У (щит и копье Марса), скрещивание — × (знак умножения), потомство от скрещивания — F (от лат. *filialis* — сыновний) с цифровым индексом: F₁ — первое поколение, F₂ — второе и т. д. Запишем в этих обозначениях использованную Менделем схему моногибридного скрещивания (рис. 1.1).

В дальнейшем для упрощения расчета сочетаний разных типов гамет Р. Пеннетом была предложена форма записи скрещивания в виде таблицы, в первой строке и первом столбце которой записываются типы женских и мужских гамет, а на их пересечении типы образующихся потомков — *решетка Пеннета*. Ее вариант для моногибридного скрещивания дан в табл. 1.

Таблица 1

Решетка Пеннета для моногибридного скрещивания

Гаметы ♀/♂	А	а
А	АА	Аа
а	Аа	аа

При изучении Г. Менделем наследования одновременно по двум парам признаков (дигибридное скрещивание) оказалось, что каждый из них ведет себя независимо от других. При этом во втором поколении появляются 4 группы растений с разными комбинациями двух признаков в соотношении $9 : 3 : 3 : 1$ соответственно. В первой, самой многочисленной, группе растения имеют одновременно оба доминантных признака, в двух других — только один из доминантных признаков, и меньше всего будет растений с рецессивными признаками.

Обозначим доминантный и рецессивный наследственный фактор, ответственный за первый признак (например, желтую или зеленую окраску семян), — A и a , за второй признак (гладкую или морщинистую форму семян) — B и b соответственно. В этих обозначениях исходные родительские сорта будут иметь наследственные факторы $AABB$ и $aabb$, а схема дигибридного скрещивания показана на рис. 1.2.

Независимое наследование и комбинирование признаков в соотношении $9 : 3 : 3 : 1$, или $(3 : 1)^2$, показано в анализе расщепления по каждой паре признаков отдельно ($12A$ -желтый : $4aa$ -зеленый; $12B$ -гладкий : $4bb$ -морщинистый), сокращая на общий множитель, получаем $3 : 1$. Отсюда следует, что дигибридное скрещивание происходит как два моногибридных, идущих независимо друг от друга, то есть окраска семян наследуется независимо от их формы.

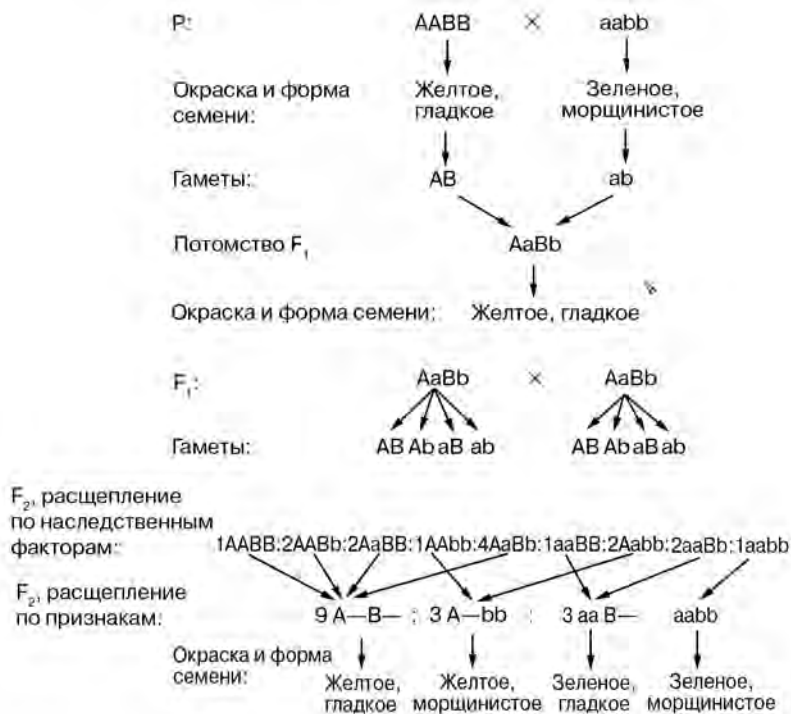


Рис. 1.2. Независимое комбинирование признаков при дигибридном скрещивании

Решетка Пеннета для дигибридного скрещивания представлена в табл. 2.

При тригибридном скрещивании количество различных комбинаций признаков в F_2 увеличивается до 8 и соотношения становятся еще более сложными (27 : 9 : 9 : 9 : 3 : 3 : 3 : 1).

Таблица 2

Решетка Пеннета для дигибридного скрещивания

Гаметы ♀/♂	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
Ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

На основании своих наблюдений Мендель сформулировал *закон независимого наследования и комбинирования признаков*. Однако этот закон оказался справедливым далеко не для всех признаков. Он соблюдается только в том случае, если наследственные факторы, ответственные за формирование каждого из этих признаков, находятся в разных парах хромосом.

К сожалению, работы Грегора Менделя остались незамеченными современниками, и его законы были вновь открыты в самом начале XX в. тремя исследователями — Г. де Фризом, К. Корренсом и Э. Чермаком. Затем датский биолог В. Иогансен предложил назвать постулированные Менделем наследственные факторы *генами*. Варианты наследственных факторов, или альтернативные состояния генов (доминантный, рецессивный), указываются как *аллели*. Совокупность аллелей различных генов организма называется *генотипом*, а совокупность внешних и внутренних признаков организма — *фенотипом*. Генотип может быть *гомозиготным* при наличии двух одинаковых аллелей (AA или aa) или *гетерозиготным*, если аллели разные (Aa).

Необходимыми и достаточными условиями для соблюдения законов Менделя являются:

- гомозиготность исходных родительских форм;
- альтернативное проявление каждой пары признаков;
- равная вероятность образования всех типов гамет;
- равновероятная встреча гамет при оплодотворении;
- одинаковая жизнеспособность зигот с разными генотипами;
- достаточная численность скрещивающихся особей;
- независимость проявления признаков от внешних условий или действия других генов (генетического фона).

На практике эти условия чаще всего соблюдаются.

Аллели, или состояния генов, влияют на характер проявления признаков, и служат основой для фенотипической изменчивости. Если эта изменчивость не выходит за пределы нормы, то соответствующие аллели называют *нормальными аллелями* или *аллелями дикого типа*. Они достаточно широко распространены в популяциях и в разных этнических группах, однако их частоты могут существенно различаться. Те аллели, частоты которых в популяции превышают определенный уровень, например 1,0 или 5,0 %, называют *полиморфными аллелями*. Присутствие в популяциях нескольких вариантов аллелей с такими частотами называют *генетическим полиморфизмом*. В последнее время термин «полимор-

физм» широко используется в литературе по молекулярной и медицинской генетике для обозначения полиморфных аллелей. Набор аллелей индивидуума по одному или нескольким полиморфным маркерам — *гаплотип*.

Аллели, приводящие к изменению развития признака и работы гена, называют *мутантными аллелями*. В популяциях они встречаются гораздо реже, так как могут оказывать отрицательное влияние на общую жизнеспособность и подвергаться давлению естественного отбора. Мутантные аллели разных генов ассоциированы с наследственными болезнями человека. Сочетания нормальных и мутантных аллелей всех генов человека определяют его индивидуальную *наследственную конституцию*. Таким образом, люди отличаются между собой не по наборам генов, а по их состояниям, то есть по наследственной конституции.

Законы Менделя справедливы для *моногенных признаков*, которые также называют *менделирующими*. Чаще всего их проявления носят качественный альтернативный характер: карий или голубой цвет глаз, отсутствие или наличие веснушек, полидактилия или пятипалая конечность, наличие или отсутствие резус-фактора и т. д. В формировании других признаков, таких как рост, вес, характер телосложения или тип поведения, могут участвовать десятки или даже сотни генов. Степень выраженности подобных признаков у отдельных особей часто может быть измерена количественно, и потому такие признаки называют *количественными*. Является ли признак моногенным и подчиняется ли характер его наследственной передачи в ряду поколений законам Менделя, легко установить экспериментально, проводя определенные скрещивания между растительными или животными объектами генетических исследований. Термин «скрещивание» неприменим к человеку. Мы можем только анализировать *родословные* человека, что дает нам возможность судить о характере наследования признаков.

Глава 2 ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ

Клетка является единицей всего живого: она обладает способностью размножаться, видоизменяться и реагировать на поступающие извне сигналы. В 1838—1939 гг. двое немецких ученых, ботаник М. Шлейден и зоолог Т. Шванн, обобщили результаты исследований строения организмов в единую теорию: клетки, содержащие ядра, представляют собой структурную и функциональную основу всех живых существ. Немецкий врач Р. Вирхов постулировал еще одно положение клеточной теории о том, что каждая новая клетка может возникнуть только путем деления предшествующей клетки (рис. 2.1).

Организм взрослого человека включает в себя примерно $5 \cdot 10^{13}$ клеток. Для поддержания нормального состояния многоклеточности каждую секунду должны образовываться миллионы клеток. В случае прекращения деления всех клеток организма человек погибает через несколько дней, как это и происходит после радиационного облучения. Изучение процессов клеточного деления представляет собой несомненный научный и практический интерес, поскольку деление обеспечивает биологическое бессмертие клеток путем непрерывного обновления цитоплазмы и безошибочного воспроизведения генетического материала.

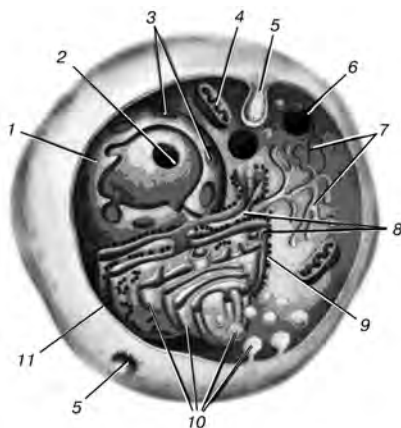


Рис. 2.1. Схема строения эукариотической клетки:

1 — ядро; 2 — ядрышко; 3 — поры ядерной оболочки; 4 — митохондрия; 5 — эндоцитозное впячивание; 6 — лизосома; 7 — агранулярный эндоплазматический ретикулум; 8 — гранулярный эндоплазматический ретикулум; 9 — рибосомы; 10 — комплекс Гольджи; 11 — плазматическая мембрана

2.1. Клеточный цикл

Время жизни клетки от одного деления до другого называется *клеточным циклом*. Его длительность в разных тканях человеческого организма различна. Эмбриональные клетки, к примеру, делятся каждый час, клетки эпителия кишки — один-два раза в сутки, клетки печени — 1 раз в год, а нервные клетки практически не делятся. Графически клеточный цикл представлен на рис. 2.2.

На М-фазу приходится примерно 10 % времени клеточного цикла эукариотической клетки, а на интерфазу — 90 % времени.

Интерфазу составляют три периода подготовки клетки к делению:

- пресинтетический длительностью до нескольких суток;
- синтетический — обычно продолжающийся 3–5 ч;
- постсинтетический — 6–8 ч.

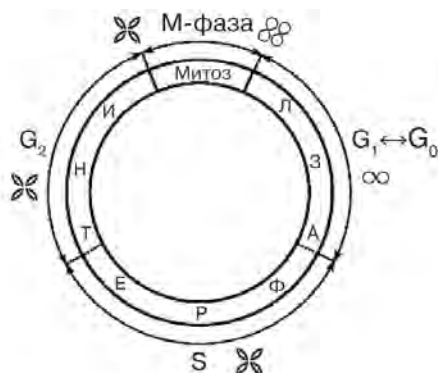


Рис. 2.2. Клеточный цикл:

∞ — хромосома, представленная одной хроматидой; X — хромосома, представленная двумя хроматидами; G₁, S, G₂ — пресинтетический, синтетический и постсинтетический периоды; G₀ — период покоя

Вариант обычного чередования интерфазы и деления клетки составляет основу формирования многоклеточного организма, именно так происходит при дроблении бластомеров. Однако по мере роста и развития организма возникает необходимость в специализации и дифференцировке клеток. Во всех эукариотических клетках клеточный цикл протекает и регулируется примерно одинаково. Нарушение его регуляции приводит к неконтролируемому клеточному росту, характерному для процесса образования опухолей.

В организме человека можно обнаружить популяции клеток, находящихся в периодах клеточного цикла разное время. Существует, например, популяция клеток, постоянно пребывающих в клеточном цикле. Это стволовые клетки крови, кишки или семенных канальцев. Они жизненно необходимы для постоянного обновления тканей.

Другие клетки имеют более сложный клеточный цикл, который включает период дифференцировки с сохранением способности к делению. Такие клетки могут уходить из клеточного цикла на неопределенно долгое время, например на годы. Такое состояние клеток называют *покоем*, или *R-периодом* (от англ. *rest* — отдых). В случае изменения обычных условий в организме, например при хирургическом вмешательстве, клетки могут вернуться обратно в клеточный цикл. Покоящиеся клетки имеются среди гепатоцитов, клеток эпителия кровеносных сосудов и клеток раковых опухолей. Установлено, что покоящиеся клетки устойчивы к радиации, химическому воздействию и недостатку питательных веществ. Существуют популяции клеток, которые могут уходить из клеточного цикла на терминальную дифференцировку. При этом такие терминально дифференцированные клетки теряют способность к делению, однако они могут быть долгоживущими. Для таких клеток характерна фаза старения, их клеточный цикл завершается гибелью. Примерами терминально дифференцированных клеток являются нейроны, кардиомиоциты, эритроциты, палочки и колбочки сетчатки глаза.

Клетка, закончившая деление, находится в стадии G_0 . Самой длительной стадией интерфазы является период относительного покоя клетки — G_1 , его продолжительность может значительно варьировать. Примерно в середине стадии G_1 имеется контрольная точка, при прохождении которой клетка неизбежно вступает в деление. После G_1 начинается очень важная синтетическая стадия S . Далее следует подготовка к митозу — стадия G_2 и сам митоз — стадия M . На M -фазу приходится примерно 10 % времени клеточного цикла эукариотической клетки.

2.2. Хромосомы

Ключевая роль при делении клеток принадлежит *хромосомам* — структурам, построенным из хроматина, который представляет собой комплекс ДНК и белков (рис. 2.3).

Хромосомы становятся видимыми в световой микроскоп в клетках, находящихся на стадии метафазы митоза, с использованием специфических методов окрашивания. Впервые существование хромосом было показано В. Флемингом в 1882 г. Термин «хромосома» был введен В. Валдеером в 1888 г. (греч. *chroma* — окраска; *soma* — тело). Оказалось, что число хромосом и их морфология относятся к видовым признакам. Количество хромосом одинаково в соматических клетках организмов одного вида, а у разных видов их количество может существенно различаться. Набор хромосом, имеющий определенные размер, форму и число

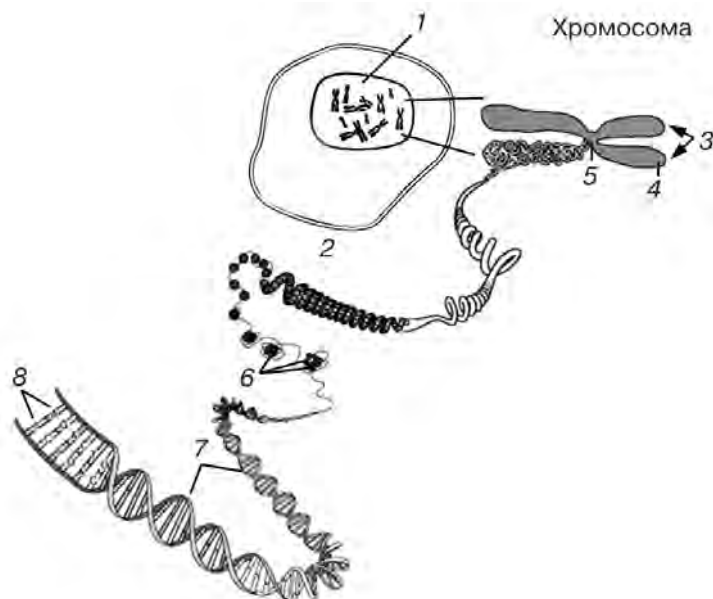


Рис. 2.3. Локализация и структура хромосом:

1 — ядро; 2 — клетка; 3 — хроматиды; 4 — теломера; 5 — центромера; 6 — нуклеосомы; 7 — ДНК; 8 — пары оснований

и находящийся в ядре соматической клетки, называется *кариотипом*. Таким образом, все виды живых организмов различаются по кариотипу, а его аномалии чаще всего ассоциированы с тяжелыми патологическими состояниями. Изучение кариотипов различных видов организмов является предметом *цитогенетики*.

Каждая хромосома имеет важный функциональный участок — *центромеру*, которая разделяет хромосому на два плеча. Если хромосома имеет неравные по длине плечи, то она называется субметацентрической, при этом короткое плечо обозначается буквой «р», а длинное — «q». Концевые участки хромосом — *теломеры* — обеспечивают их структурную целостность. На синтетической стадии интерфазы происходит удвоение каждой хромосомы с образованием двух *сестринских хроматид*, соединенных между собой одной центромерой. Каждая хроматида представляет собой одну молекулу ДНК сложноуложенную с белками.

В соматических клетках эукариот каждая хромосома представлена двумя копиями, то есть *диплоидным набором*. *Диплоидной клеткой* называют клетку, имеющую двойной набор хромосом, в котором каждая хромосома имеет себе пару или гомолога. *Гомологами*, или *гомологичными хромосомами*, называют хромосомы одинаковой формы и размера, несущие гены, отвечающие за одни и те же признаки. В каждой паре гомологов один получен от отца, а другой — от матери. Одинарный, или *гаплоидный, набор* хромосом наблюдается только в половых клетках, или гаметах. Он обеспечивается особой формой деления половых клеток — *мейозом*. Заметим, что митотическое и мейотическое деления характерны только для эукариотических клеток, имеющих ядра.

Первые обширные исследования, касающиеся структуры и морфологии хромосом, в нашей стране были проведены на растительных объектах в 1920-е гг. прошлого века выдающимся цитологом и эмбриологом С. Г. Навашиным и его талантливыми учениками — М. С. Навашиным, Г. А. Левитским, Л. Н. Делоне.

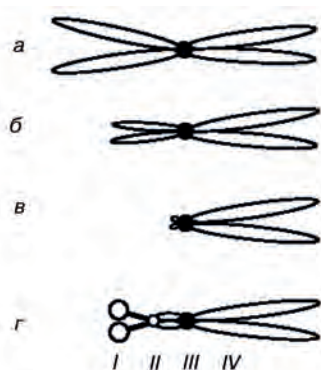


Рис. 2.4. Типы хромосом:

а — метацентрическая; *б* — субметацентрическая; *в* — акроцентрическая; *г* — спутниковая; *I* — спутник; *II* — вторичная перетяжка, или ядрышковый организатор; *III* — первичная перетяжка, или центромера; *IV* — плечи хромосомы

В 1924 г. Г. А. Левитский опубликовал первое в мире руководство по цитогенетике «Материальные основы наследственности», в котором, в частности, он ввел понятие кариотипа, в том же значении этот термин употребляется и в настоящее время. Впервые детальное морфологическое описание десяти наиболее крупных хромосом человека и различных групп более мелких было представлено в работах М. С. Навашина и А. Г. Андруса в середине 1930-х гг.

На начальных этапах анализа кариотипа человека индивидуальная идентификация могла быть осуществлена только в отношении трех первых наиболее крупных хромосом. Остальные хромосомы делили на группы в зависимости от их размера, расположения центромеры и наличия *спутников* или *сателлитов* — небольших компактных фрагментов, отделенных от хромосомы тонкими перетяжками. В соответствии с принятой классификацией у человека выделяют 7 групп хромосом: А, В, С, D, Е, F и G. На рис. 2.4 изображены различные типы хромосом: *метацентрические* — равноплечие, *субметацентрические* — неравноплечие и *acrocentric* — одноплечие. Кроме того, существуют спутниковые хромосомы со вторичной перетяжкой — областью *ядрышкового организатора*.

В 1956 г. Дж. Тийо и А. Ливан, используя обработку гистологических препаратов колхицином, определили, что у человека имеется 46 хромосом или 23 пары. Колхицин задерживает деление клеток на стадии метафазы, когда хромосомы в наибольшей степени конденсированы и потому удобны для распознавания. Оказалось, что у мужчин и женщин имеются 22 пары хромосом одинаковые по форме и размеру, их называли *аутосомами*. Оставшуюся 23-ю пару хромосом, которые различаются по форме и размеру, называли *гоносомами* или *половыми хромосомами*. Половые хромосомы женщин представлены двумя гомологичными X-хромосомами, а у мужчин одна половая хромосома такая же, как у женщин, — X, а вторая, негомологичная ей — Y. Таким образом, нормальный кариотип женщины записывается как 46, XX, а мужчины — 46, XY. Именно половые хромосомы определяют пол будущего потомства еще в момент оплодотворения. Причем вероятность рождения мальчика или девочки составляет 50 % и зависит от того, какой сперматозоид, с X- или Y-хромосомой, оплодотворит яйцеклетку.

В 1961 г. французская исследовательница М. Лайон выдвинула гипотезу о том, что у особей женского пола одна из X-хромосом инактивируется. Процесс

инактивации X-хромосомы был назван *лайонизацией*. Оказалось, что в разных клетках случайной инактивации могут подвергаться X-хромосомы отцовского или материнского происхождения. По этой причине женщины, гетерозиготные по генам, сцепленным с X-хромосомой ($X^A X^a$), являются естественными мозаиками, поскольку в разных клетках их тела работает либо доминантный аллель (A), либо рецессивный (a). При анализе женского кариотипа инактивированная X-хромосома выглядит как хорошо окрашенная компактная глыбка хроматина, расположенная под ядерной оболочкой. Такую структуру называют *половым хроматином* или *тельцем Барра*. Его обнаружение является самым простым способом цитогенетического определения половой принадлежности. Инактивация X-хромосомы достигается путем ее суперспирализации, которая приводит к невозможности транскрипции генов и выключает последние. В X-хромосоме идентифицировано более 1500 генов, в то время как в Y-хромосоме выявлено примерно 100 функционально активных генов. Образование тельца Барра приводит к уравниванию дозы работающих генов у мужчин и женщин — к эффекту *дозовой компенсации*.

В начале 1970-х гг. были разработаны методы дифференциального окрашивания хромосом с использованием красителя Гимза (G-, R-, C-, Q-методы). При этом на хромосомах выявляется характерная поперечная исчерченность, так называемые диски, или *бэнды*, расположение которых специфично для каждой пары хромосом. Для лучшей идентификации хромосомы распределяют по группам для получения *кариограммы*. На рис. 2.5 изображен женский кариотип и его кариограмма.

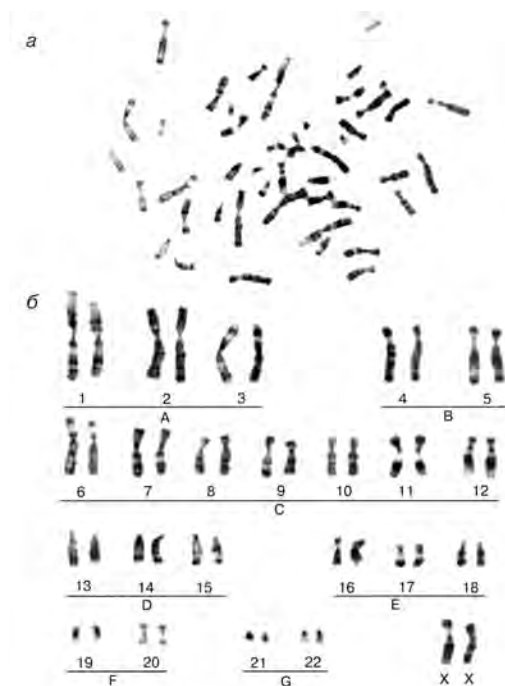


Рис. 2.5. Женский кариотип (а) и его кариограмма (б): цифрами указаны номера хромосом, горизонтальными линиями показаны группы хромосом — А, В, С, D, E, F, G

Различные участки хромосом имеют неоднородную окраску. Более светлые районы хромосом называются *эухроматином*, а темные — *гетерохроматином*. Большие блоки гетерохроматина локализованы в области центромеры. В частности, в Y-хромосоме представлено большое число гетерохроматиновых блоков. Хотя функции гетерохроматина до конца не ясны, предполагают, что он играет важную роль в поддержании структурной целостности хромосом и в их правильном расхождении в процессе деления клетки. Большая роль в изучении структуры и функций гетерохроматиновых и эухроматиновых районов хромосом принадлежит нашей выдающейся соотечественнице А. А. Прокофьевой-Бельговской.

Методы дифференциального окрашивания хромосом позволяют идентифицировать не только каждую хромосому, но и отдельные районы хромосом, последовательно пронумерованные от центромеры к теломере, а также сегменты внутри районов. Например, запись Хр21.2 означает короткое плечо X-хромосомы, район 21, сегмент 2. Эта запись очень удобна для определения принадлежности генов или других элементов генома к определенным хромосомным локусам. Таким образом, были созданы методические основы для изучения особенностей кариотипа у разных видов организмов, определения его индивидуальной изменчивости и аномалий при определенных патологических состояниях.

2.3. Митоз

Митоз — это не прямое деление клетки с образованием фигур деления, при котором из одной диплоидной материнской клетки образуются две дочерние диплоидные клетки, идентичные материнской. В митозе можно выделить несколько стадий, или фаз, соответствующих фигурам деления, которые наблюдаются в световой микроскоп (рис. 2.6).

Профаза. Происходит исчезновение ядерной мембраны, конденсация или уплотнение хромосом за счет их спирализации, миграция центриолей к противоположным полюсам, приводящая к поляризации клетки, и формирование *веретена деления*, состоящего из микротрубочек.

Метафаза. Нити микротрубочек веретена деления плюс-концом прикрепляются к хромосомам в районе центромеры (кинетохора) и сталкивают хромосомы в плоскость экватора. Минус-конец микротрубочек фокусируется в районе полюса веретена деления. При этом хромосомы располагаются на экваторе клетки перпендикулярно оси веретена деления и образуют метафазную пластинку. Хромосомы удерживаются на экваторе натяжением нитей веретена деления. Метафазные хромосомы имеют петельное строение и максимально спирализованы, поэтому они отчетливо видны в световой микроскоп. Фактически хромосома уменьшается в размере в 10^5 раз, для того чтобы предотвратить спутывание или разрыв молекулы ДНК при дальнейшем делении. Отметим еще раз, что в метафазе каждая хромосома представлена двумя сестринскими хроматидами, а каждая хроматида образована одной молекулой ДНК в комплексе с белками.

Анафаза. Происходит расщепление центромер, при этом хроматиды разделяются и становятся самостоятельными хромосомами, которые начинают двигаться к противоположным полюсам клетки по нитям веретена деления.

Телофаза. Происходит деспирализация хромосом, исчезает веретено деления, формируется ядерная мембрана, восстанавливается ядрышко и происходит разделение цитоплазмы.

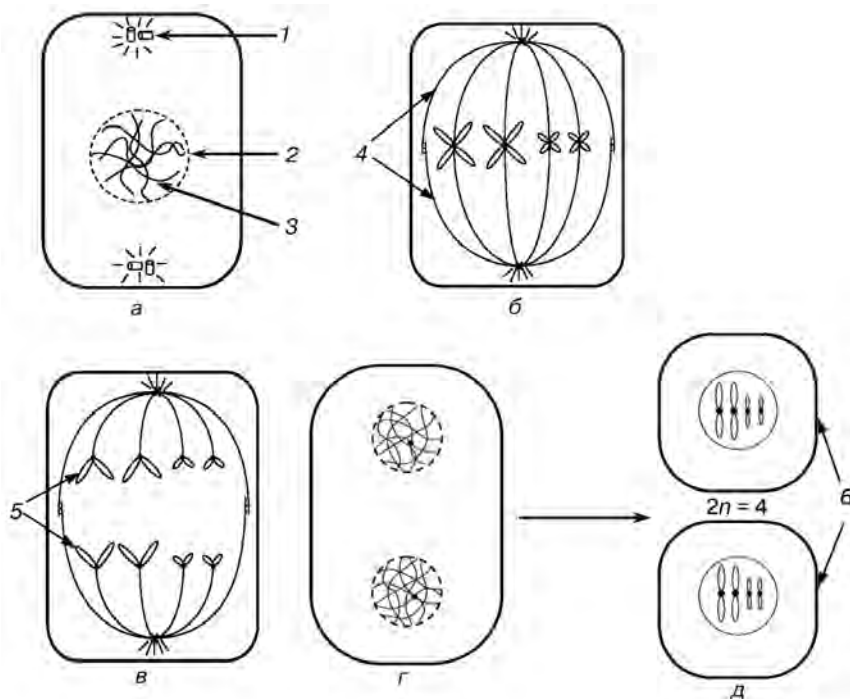


Рис. 2.6. Основные стадии митоза:

а — профаза; б — метафаза; в — анафаза; г — телофаза; д — цитокinesis; 1 — клеточный полюс; 2 — ядерная оболочка; 3 — хроматин; 4 — веретено деления; 5 — хромосомы; 6 — две дочерние клетки

Биологическое значение митоза состоит в том, что он обеспечивает равномерное распределение генетической информации между двумя дочерними клетками. Благодаря митозу происходит рост и развитие организмов, бесполое размножение и регенерация органов и тканей.

2.4. Мейоз

Мейоз — клеточное деление, приводящее к уменьшению числа хромосом и к образованию дочерних гаплоидных клеток. Мейоз включает два последовательных деления: *мейоз I*, или *редукционное деление*, при котором число хромосом уменьшается в два раза, и *мейоз II*, или *эквационное деление*, при котором число хромосом сохраняется (рис. 2.7). Путем мейоза образуются половые клетки, имеющие гаплоидный набор хромосом.

Деление мейоза I начинается с длительной **профазы**, в которой между гомологичными хромосомами происходит *конъюгация*, или *синapsис*. Они соединяются и перекручиваются друг с другом по всей длине, образуя *бивалент* (рис. 2.8). Затем обычно происходит обмен участками гомологичных хромосом между несестринскими хроматидами, то есть *кроссинговер*, или *гомологичная рекомбинация*, результатом которой является видимая в световой микроскоп крестообразная структура — *хиазма* (рис. 2.9). Хиазмы формируются случайно, и их число в среднем зависит от длины хромосомы: чем длиннее хромосома, тем бо-

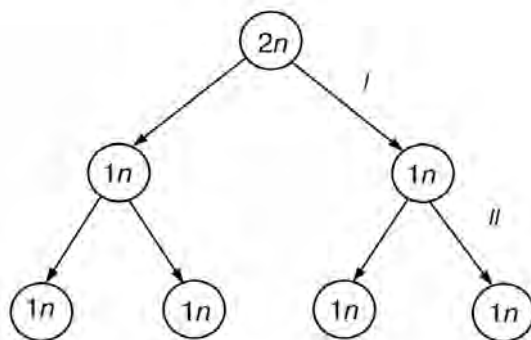


Рис. 2.7. Деления мейоза:
 n — гаплоидное число хромосом; I — редукционное деление;
 II — эквационное деление



Рис. 2.8. Пара гомологичных хромосом в профазе мейоза I, или бивалент

льше хиазм. В результате кроссинговера между генами А и В образуются кроссоверные хромосомы с сочетаниями аллелей Ab и aB , которых нет в исходных родительских хромосомах (рис. 2.10).

Метафаза I. Биваленты, состоящие из гомологов, сталкиваются нитями веретена деления в плоскость экватора, при этом центромеры гомологов случайно ориентируются в сторону одного из полюсов клетки (рис. 2.11).

Анафаза I. Гомологичные хромосомы отталкиваются друг от друга и начинают двигаться к противоположным полюсам. При этом расщепления центромеры не происходит и сестринские хроматиды остаются соединенными в области центромеры. Однако хроматиды одной хромосомы могут быть уже неидентичны

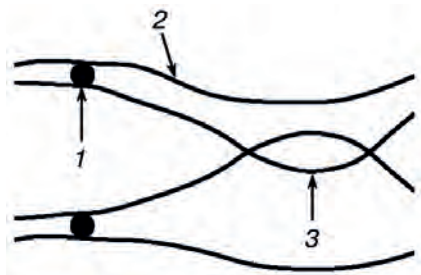


Рис. 2.9. Хиазма:
 1 — центромера; 2 — хроматида; 3 — хиазма

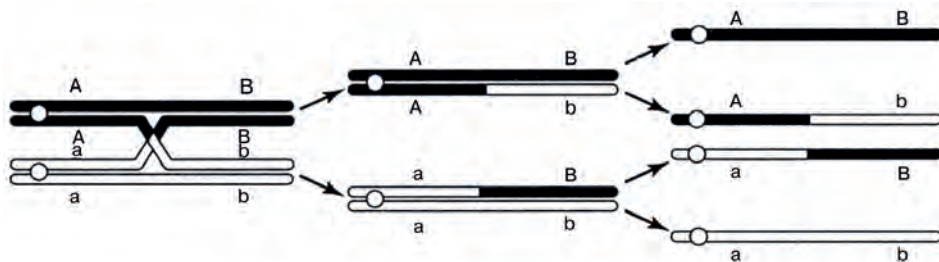


Рис. 2.10. Кроссинговер, или гомологичная рекомбинация

друг другу вследствие произошедшего кроссинговера. Таким образом, в процессе мейоза I из одной диплоидной клетки образуются две гаплоидные. Промежуток между первым и вторым делениями мейоза называется *интеркинезом*, в нем не происходит репликации ДНК.

Второе деление мейоза протекает так же, как митоз (см. выше). В **профазе II** восстанавливается веретено деления, в **метафазе II** хромосомы располагаются в экваториальной плоскости. В **анафазе II** происходит расщепление центромер и половинки хромосом — сестринские хроматиды — двигаются к противоположным полюсам. Таким образом, клетки, образующиеся после второго деления мейоза, также имеют гаплоидный набор хромосом, причем каждая хромосома

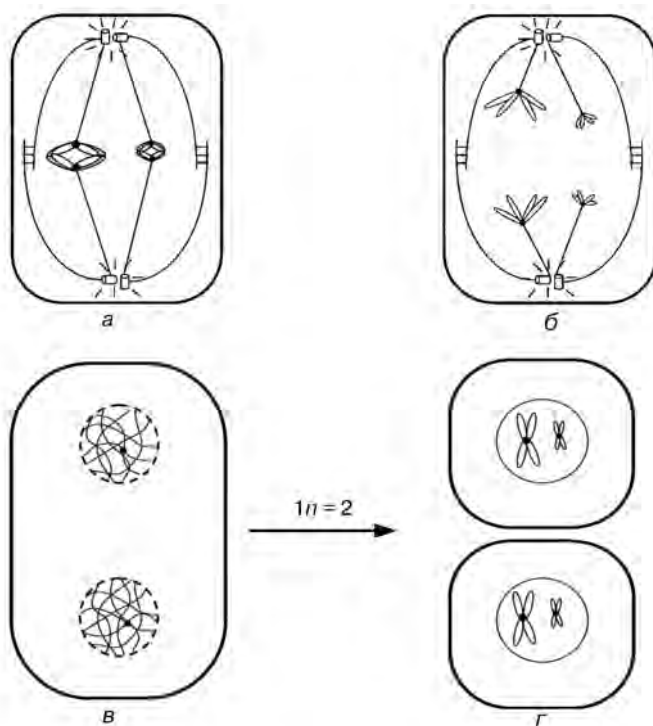


Рис. 2.11. Мейоз I, или редукционное деление:

а — метафаза I; б — анафаза I; в — телофаза I; г — цитокинез ($1n = 2$)