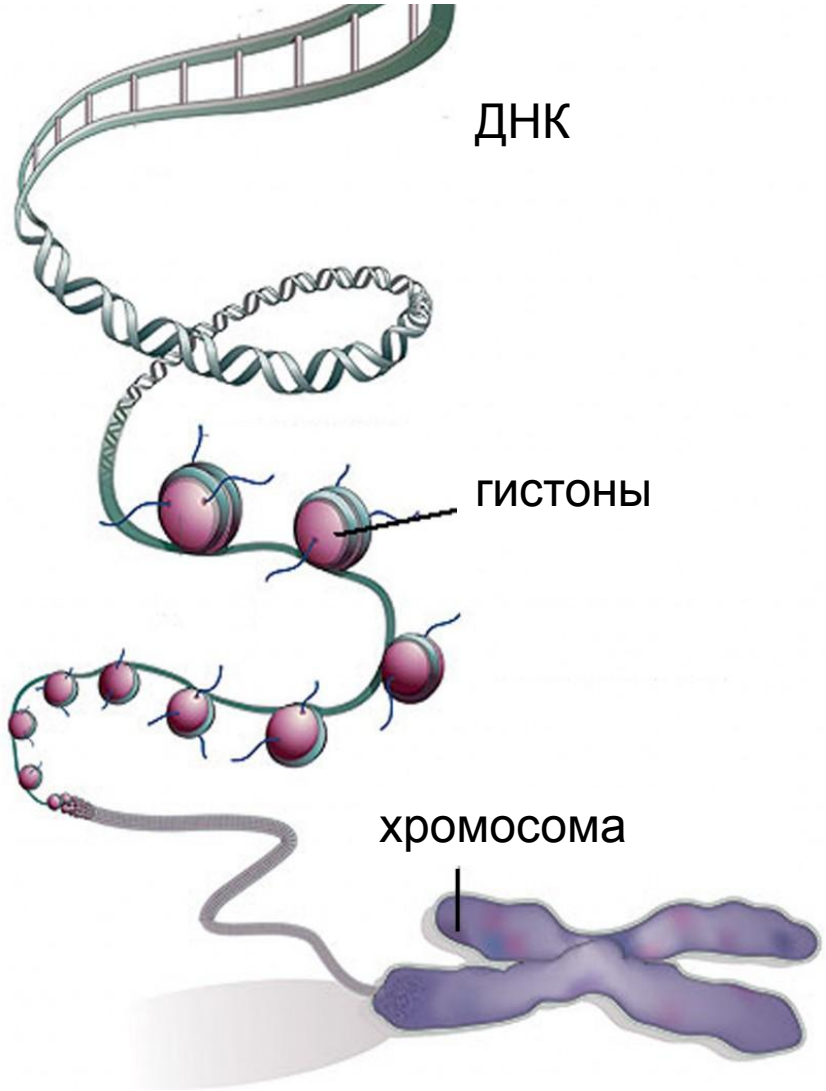
Лекция № 4

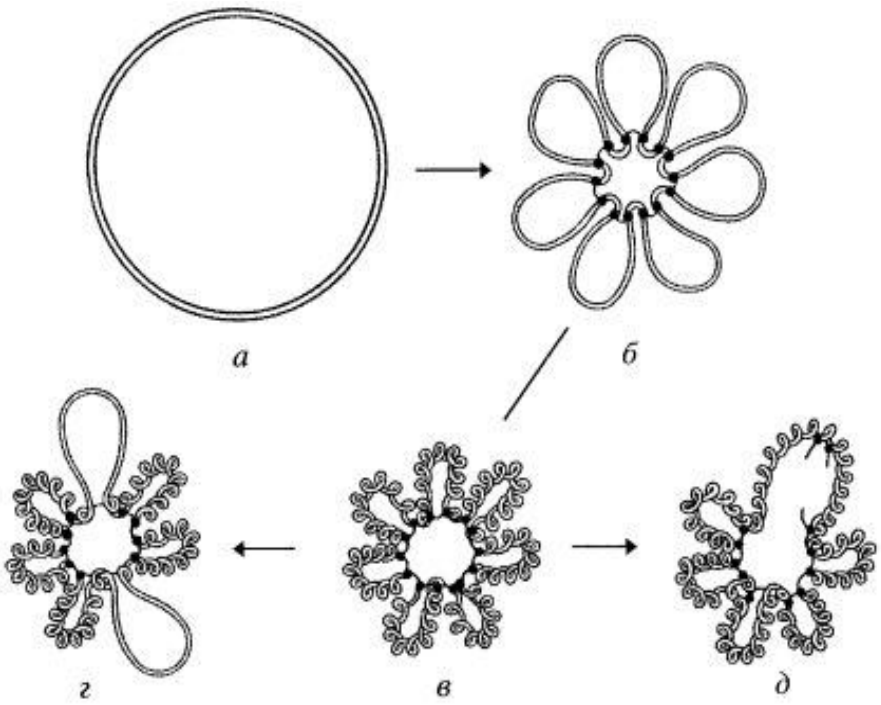
1. Хромосомы, хроматин
2. История и методы изучения кариотипа.
3. Хромосомные болезни.
4. Номенклатура хромосомных мутаций.
5. Карты хромосом

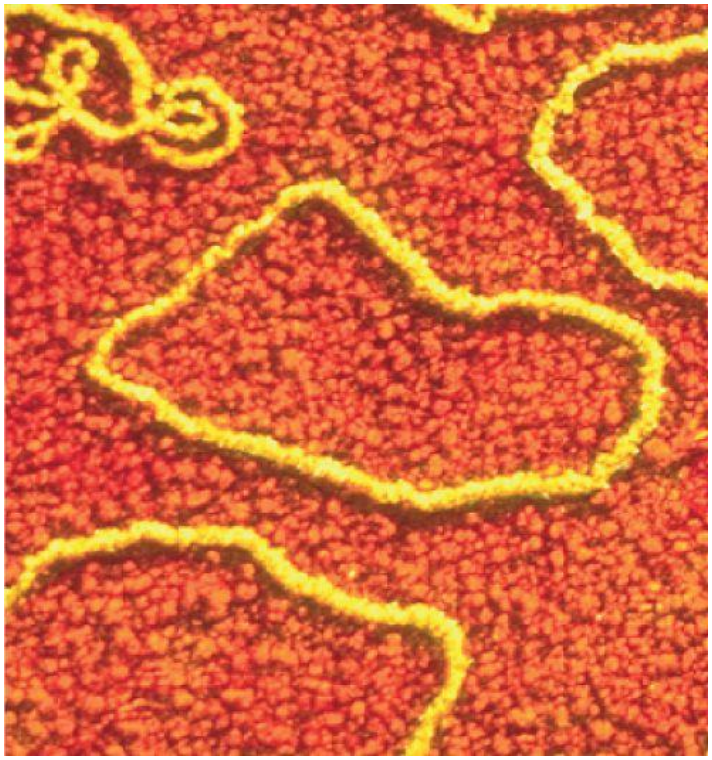
Строение хромосом эукариот



Хромосома (греч. – «окрашенное тело») – комплекс ДНК с белками (гистоновыми и негистоновыми)

ДНК бактерий тоже иногда называется бактериальной хромосомой. Она кольцевая и лишена гистонов.





Хромосома бактерий имеет небольшое количество белков

Хромосомная теория наследственности

- Гены лежат в хромосомах в линейном порядке
- Каждый ген занимает определенное место – локус
- Гены одной хромосомы образуют группу сцепления
- Сцепление нарушается при кроссинговере
- Частота кроссинговера зависит от расстояния между генами
- Набор хромосом (кариотип) каждого биологического вида уникален

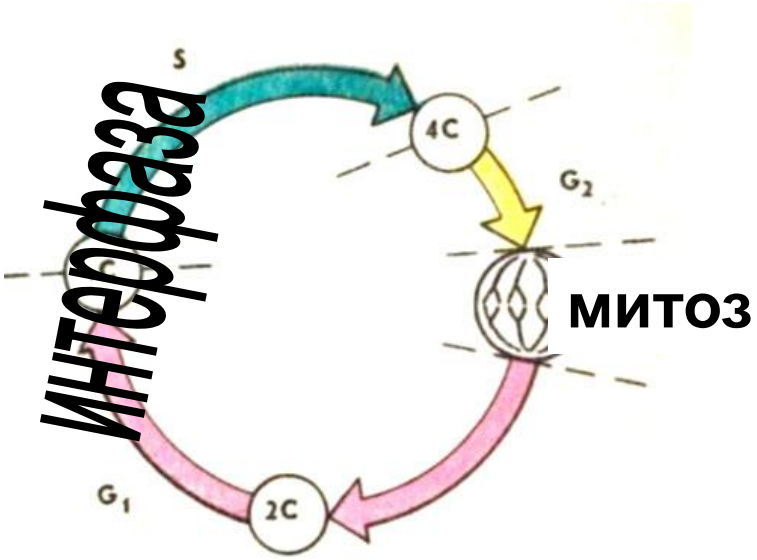
Томас Морган

- **Томас Хант Морган** (англ. *Thomas Hunt Morgan*, 25 сентября, 25 сентября 1866, 25 сентября 1866), Лексингтон, 25 сентября 1866), Лексингтон — 4 декабря, 25 сентября 1866), Лексингтон — 4 декабря 1945, 25 сентября 1866), Лексингтон — 4 декабря 1945, Пасадина, 25 сентября 1866), Лексингтон — 4 декабря 1945, Пасадина) — американский биолог, один из основоположников генетики, иностранный член-корреспондент РАН, 25 сентября 1866),

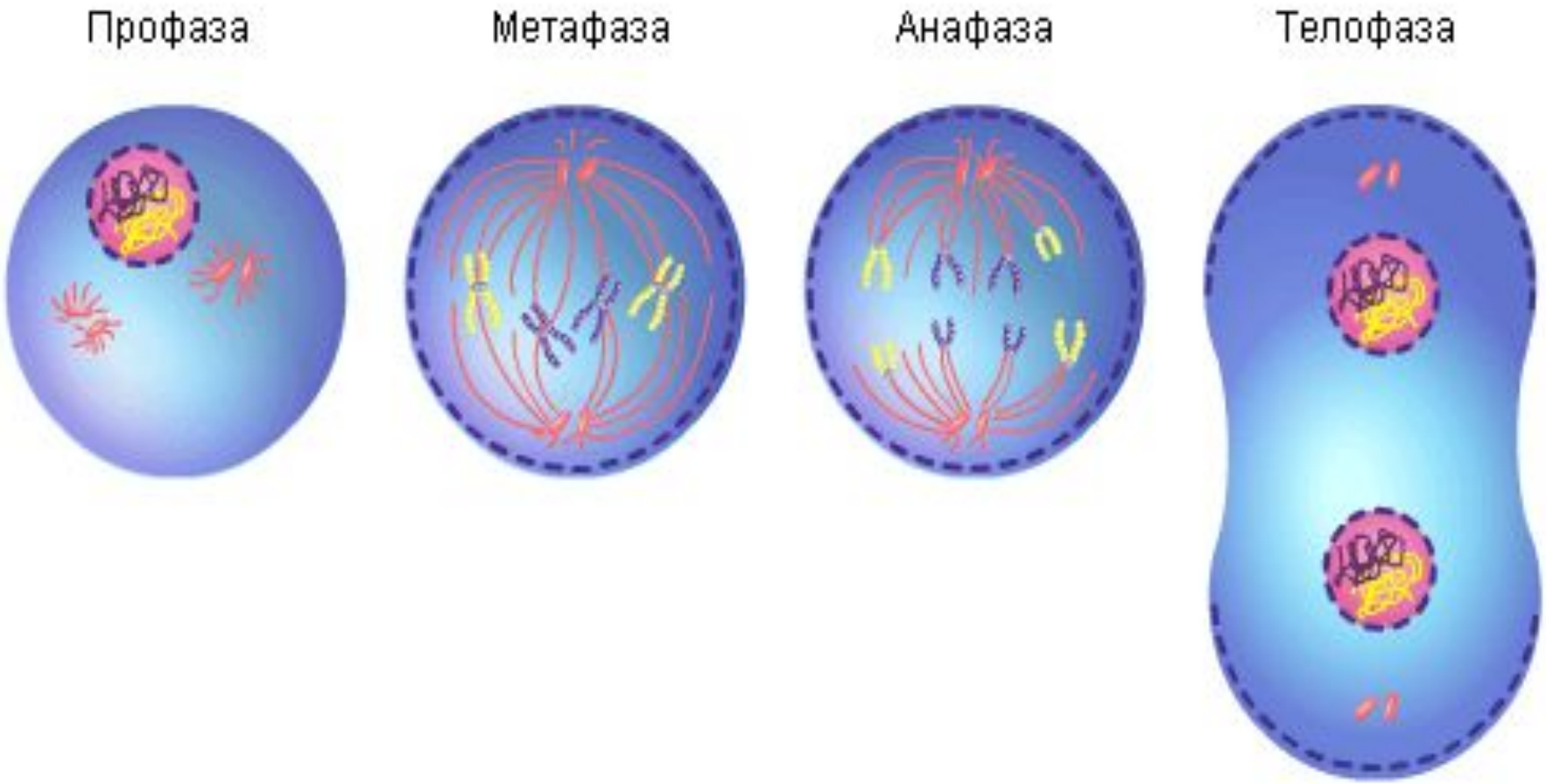
Хромосомы к клетке в зависимости от фазы клеточного цикла бывают:

Интерфазные, активные

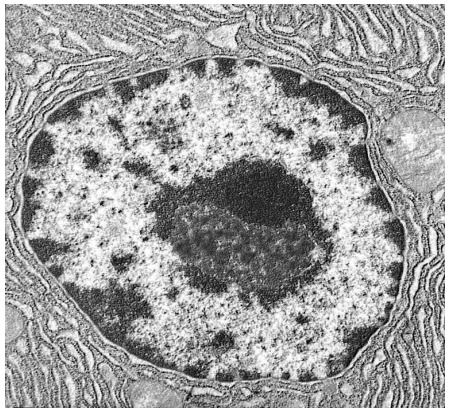
Митотические, неактивные



Фазы митоза

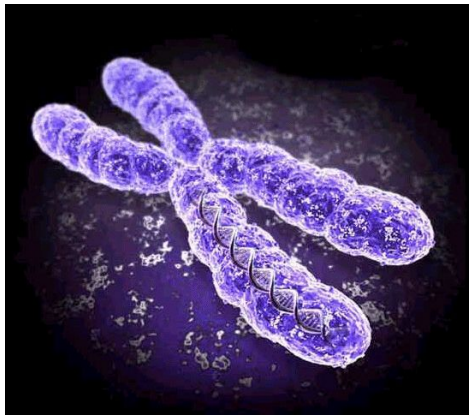


Интерфазные хромосомы – слабо упакованы и готовы к использованию (репликации, транскрипции и др.)



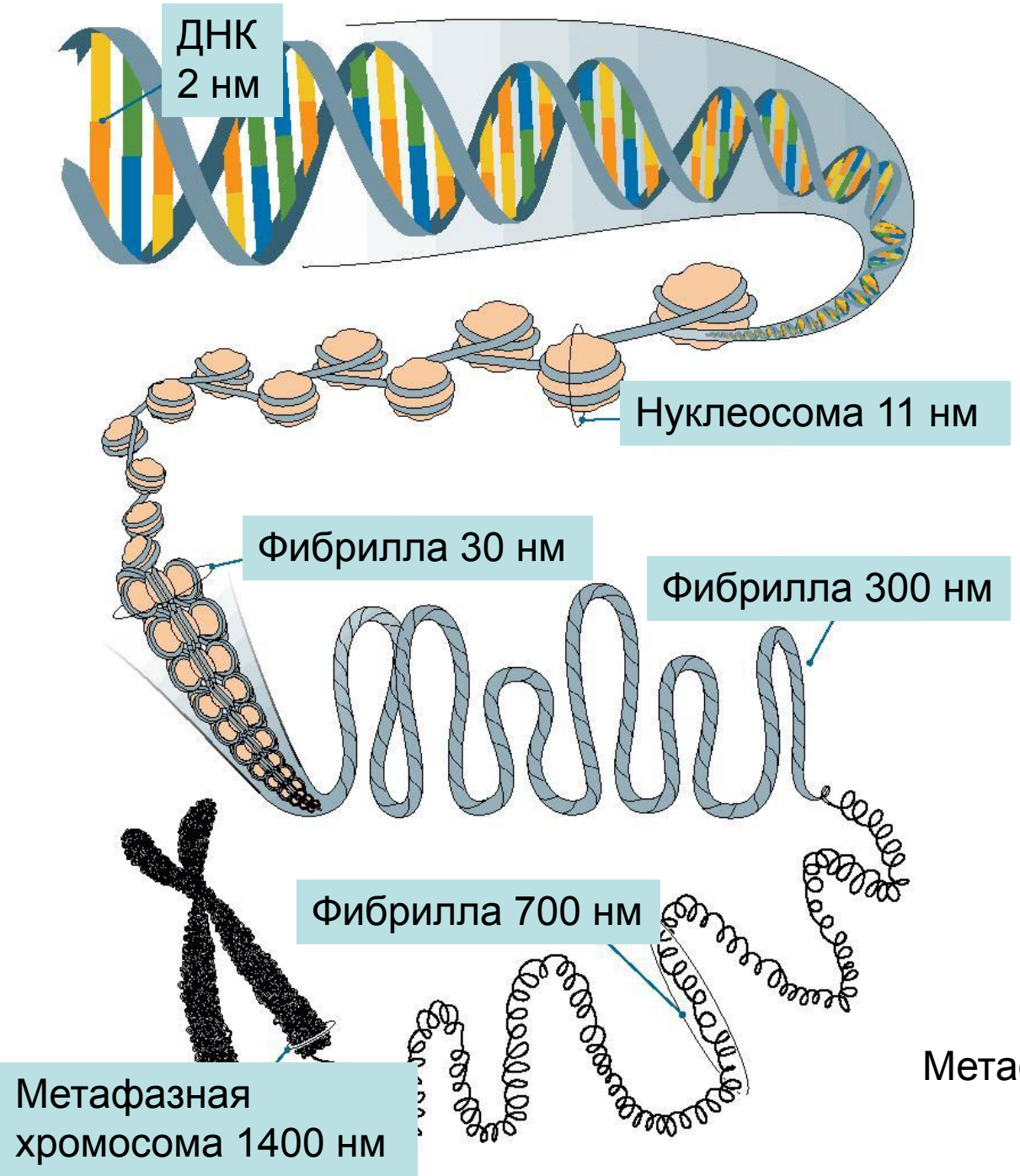
Вид интерфазного ядра под микроскопом. Хромосомы активна

Митотические хромосомы – подобны упакованным для переезда вещам



Метафазная хромосома видна в микроскоп и неактивна

Уровни организации эукариотической хромосомы



активная

неактивная

ДНК – 2 нм

Нуклеосома – 11 нм

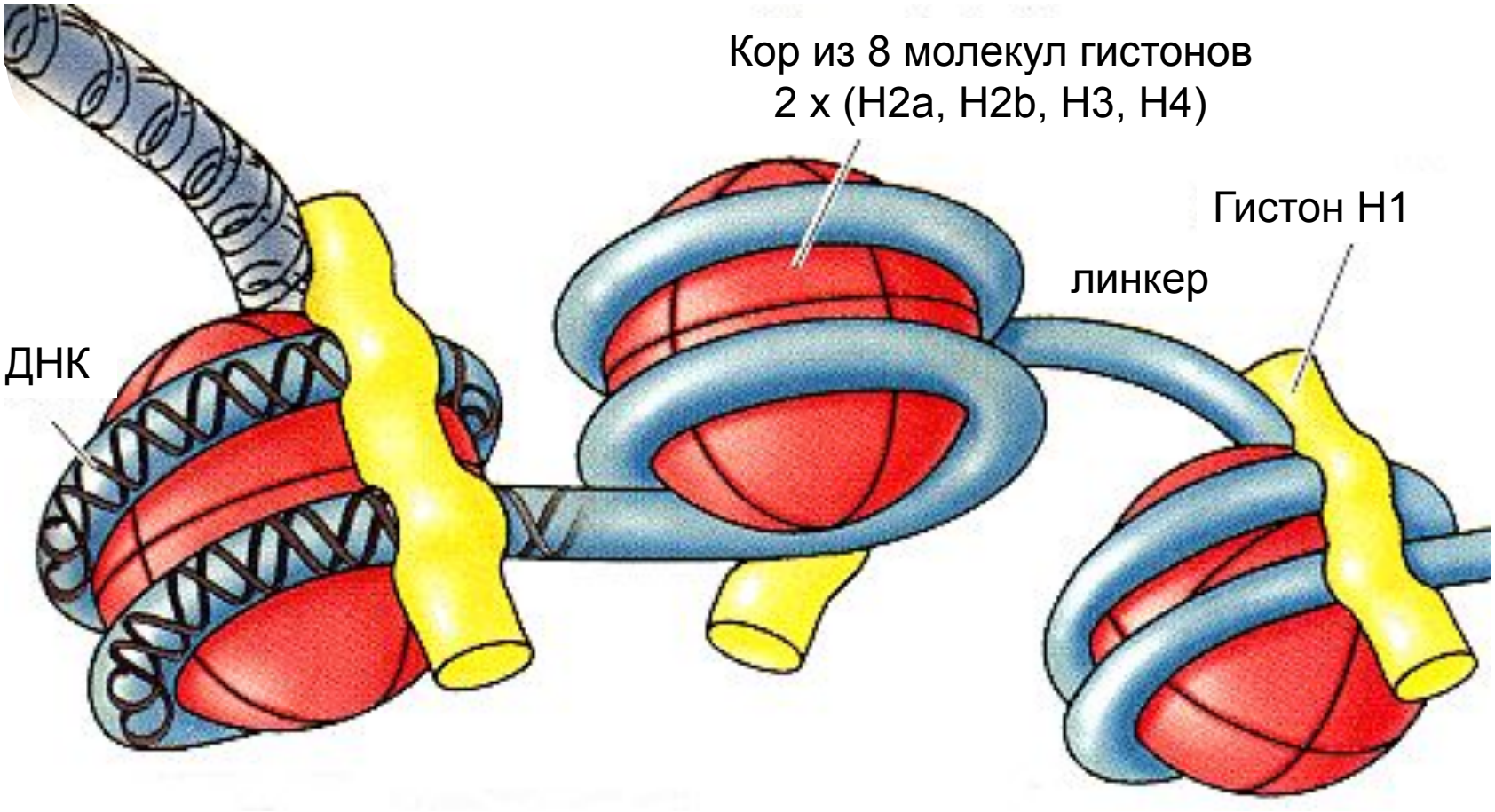
Фибрилла 30 нм

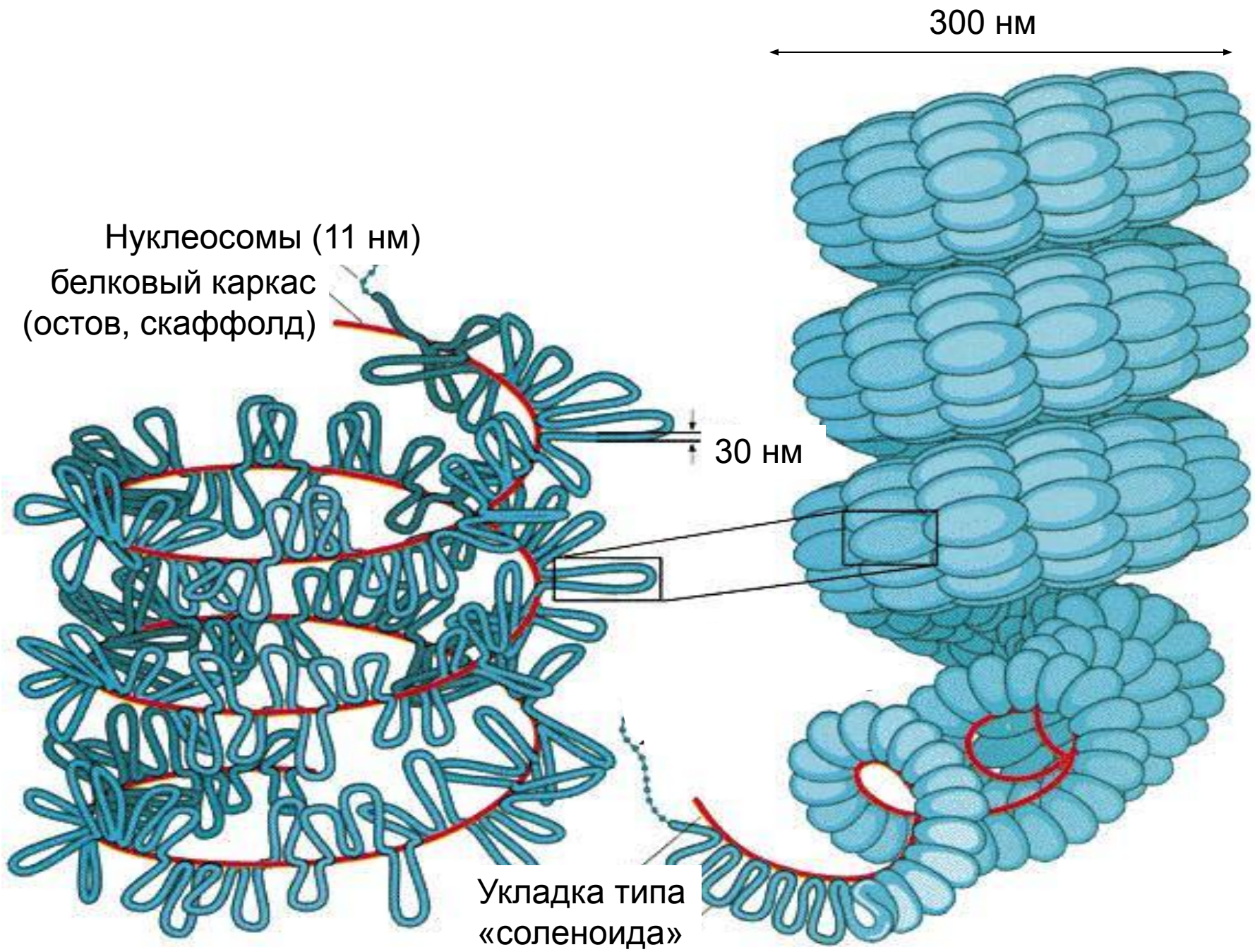
«соленоид» - 300 нм

Нить – 700 нм

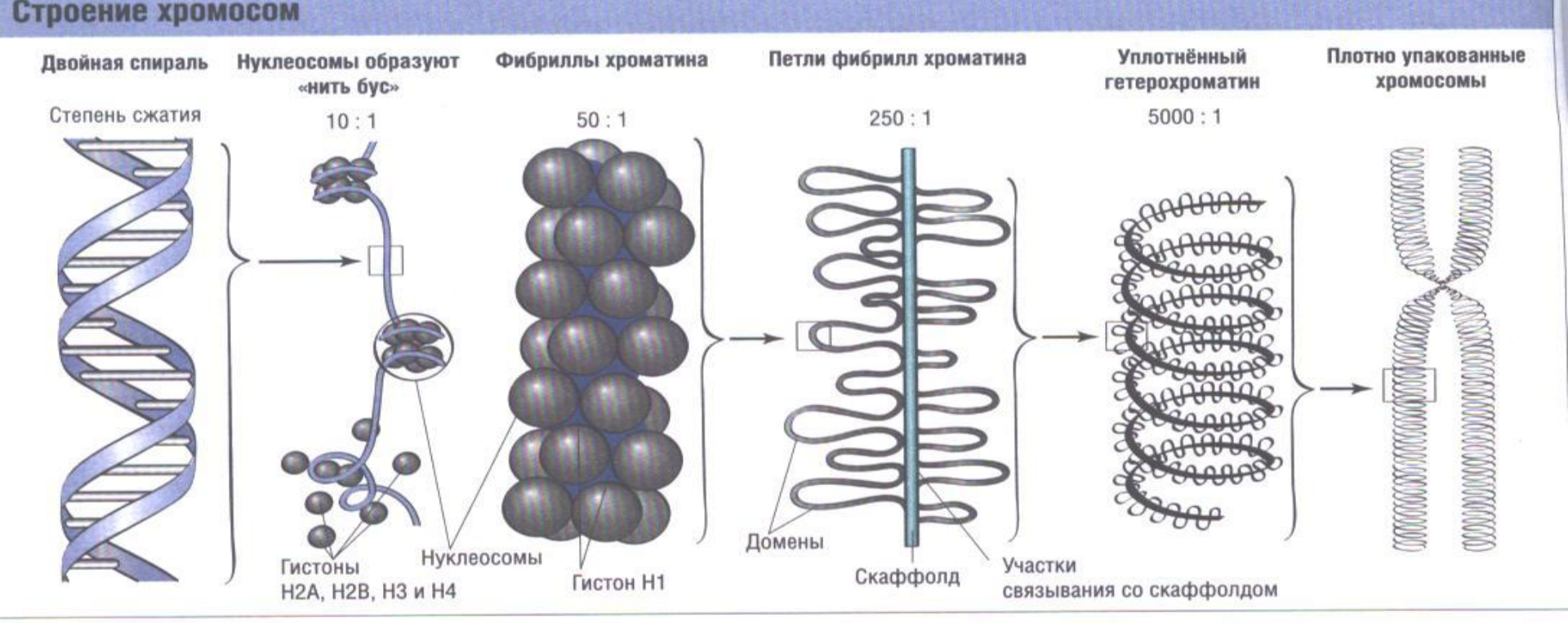
Метафазная хромосома – 1400 нм

Строение нуклеосомы

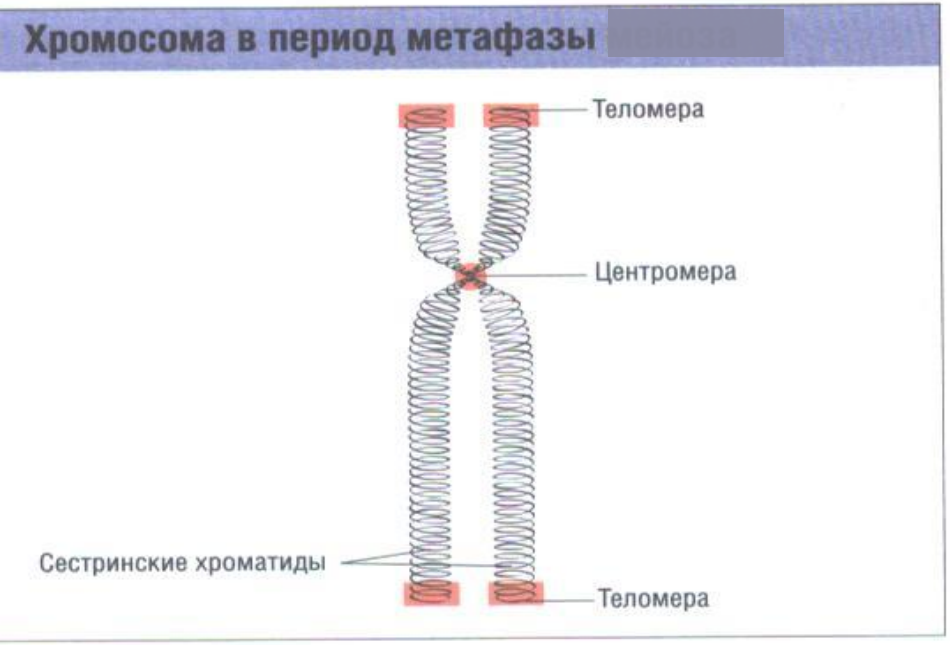



300 нм
Нуклеосомы (11 нм)
белковый каркас
(остов, скаффолд)
30 нм
Укладка типа
«соленоида»

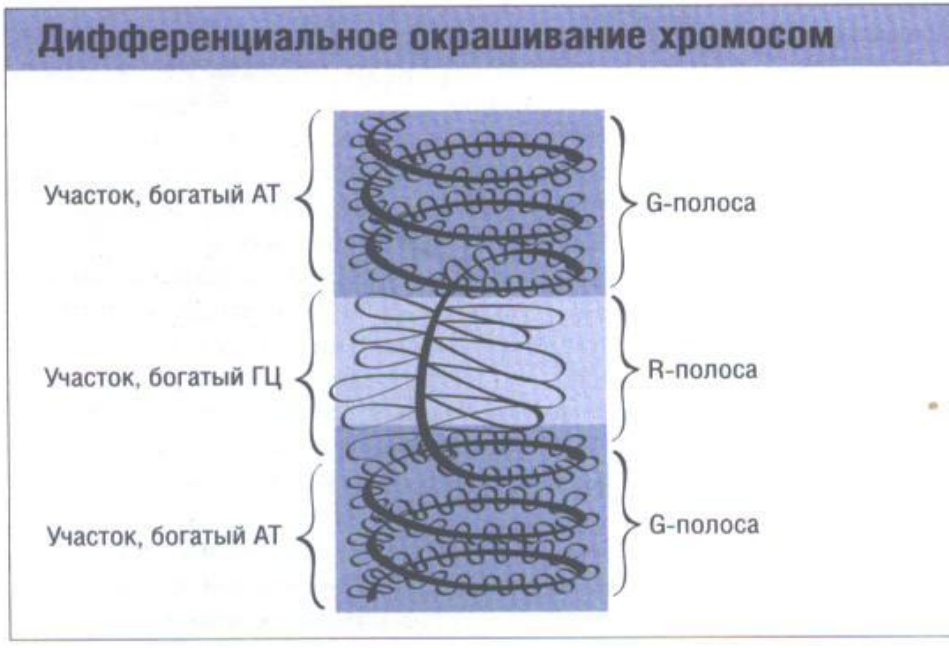
Строение хромосом



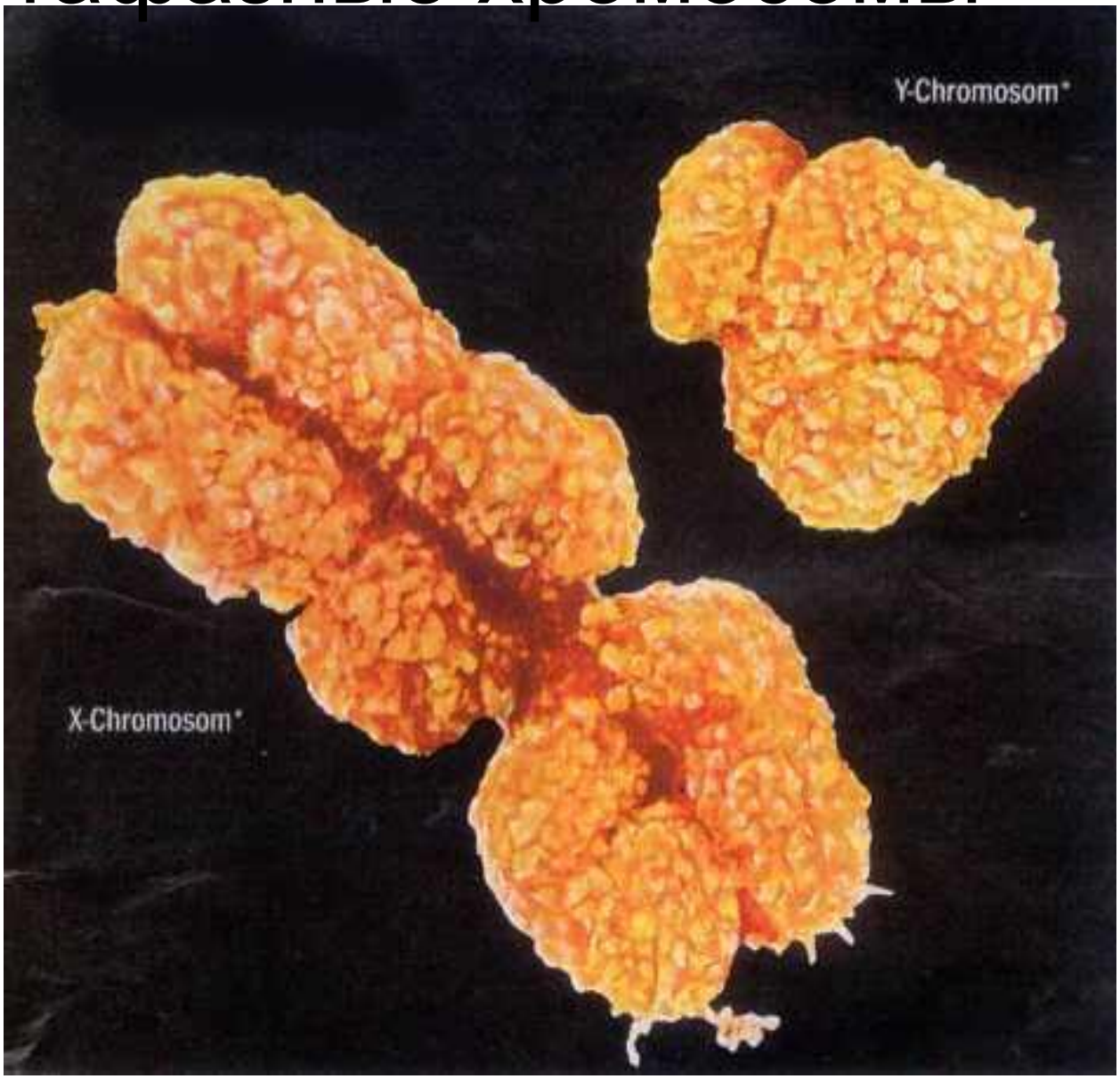
Хромосома в период метафазы



Дифференциальное окрашивание хромосом

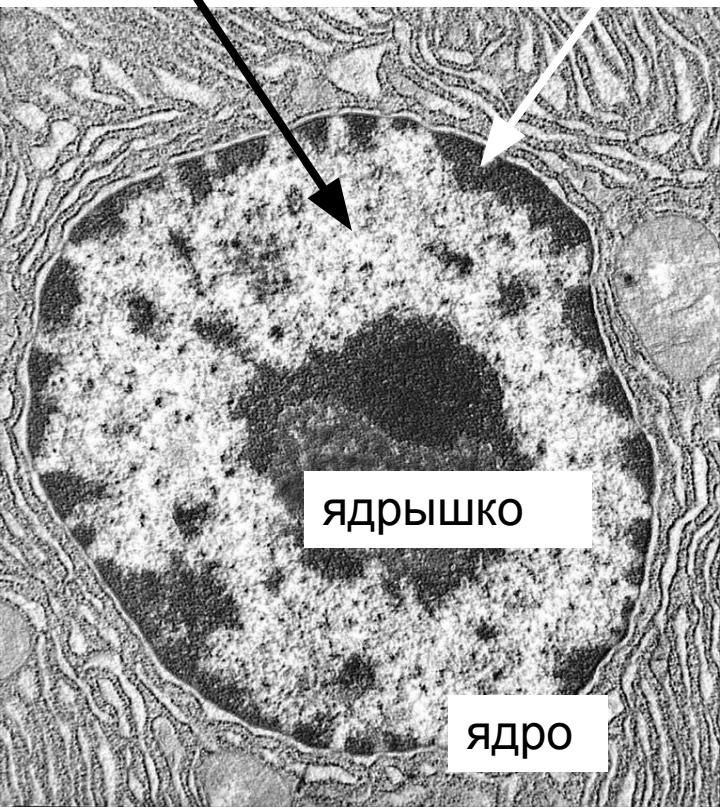


Метафазные хромосомы



Рассмотрим интерфазные хромосомы

Хроматин – комплекс ДНК и белков (гистонов и негистонов)



Хроматин

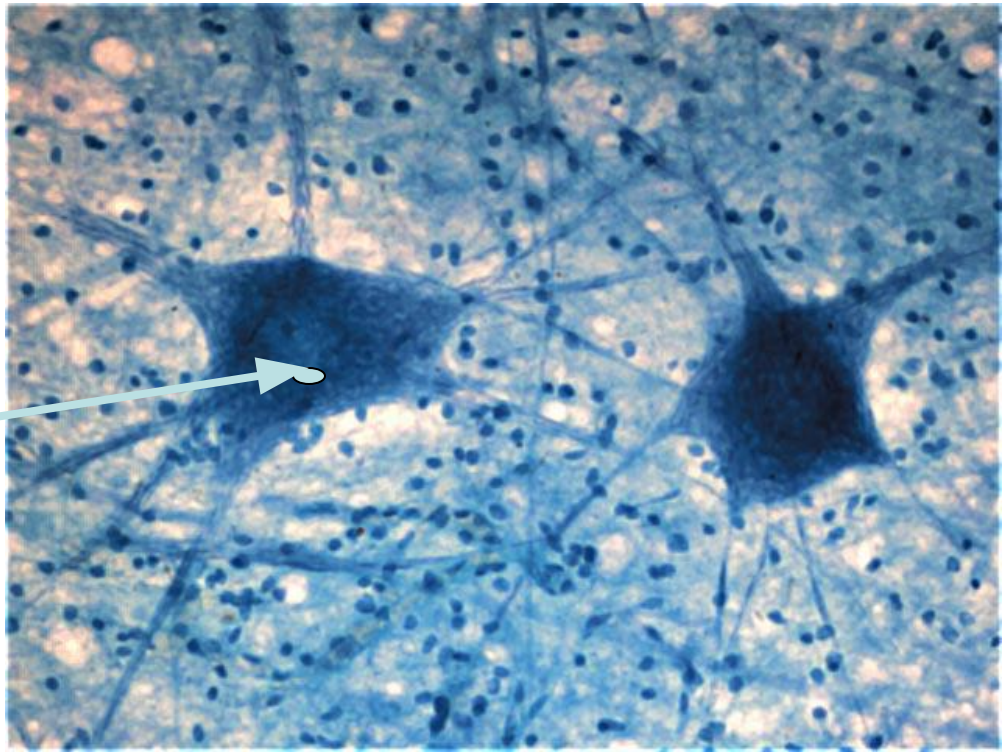
Эухроматин (слабо конденсированный, активный)

Гетерохроматин (сильно конденсированный, неактивный)

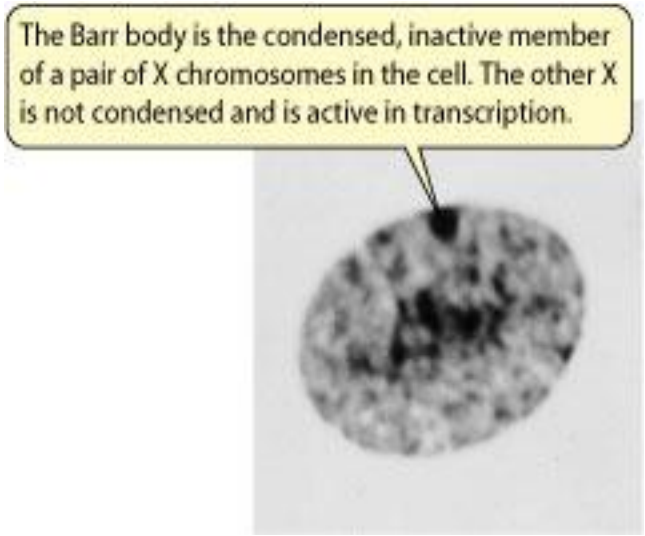
Факультативный (содержит гены, не активные в данной клетке в данное время)

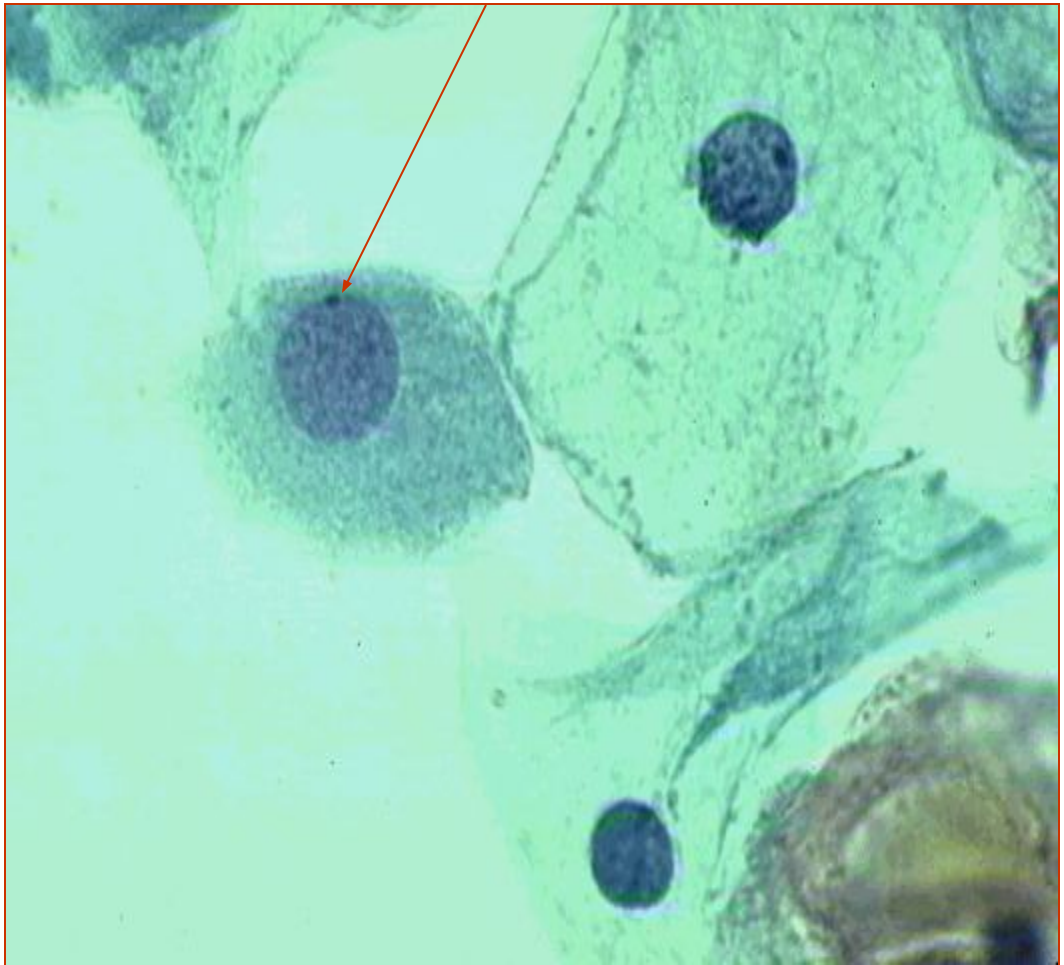
Конститутивный (структурный) (структурный) не содержит генов

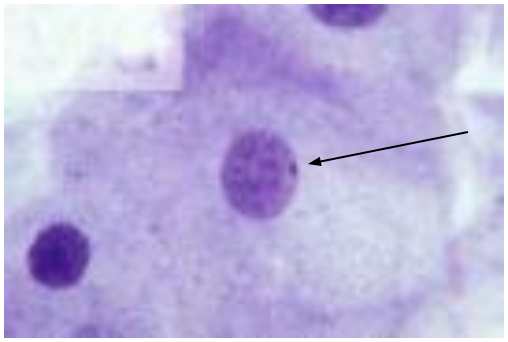
Канадский ученый Барр (1908 – 1995) и его студент Бертрам открыли в 1948 году в ядрах нервных клеток кошек структуру, названную тельце Барра, или Х-половой хроматин



Тельце Барра – пример факультативного гетерохроматина, можно видеть в соматических клетках женского организма млекопитающих



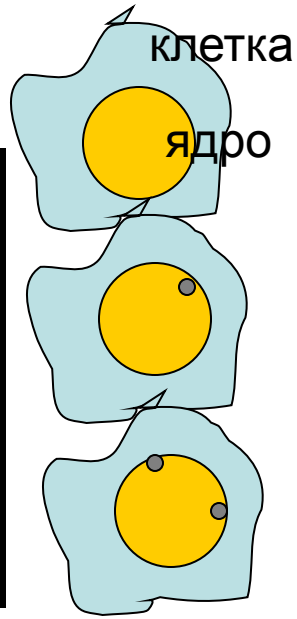




Исследование полового хроматина – тельца Барра

- У пациента берется соскоб эпителия ротовой полости
- Помещается на предметное стекло
- Окрашивается
- Рассматривается
- Дешевый экспресс метод определения числа Х хромосом:

ХО или ХУ	Нет тельца Барра
ХХ или ХХУ	1
ХХХ или ХХХУ	2
И так далее	



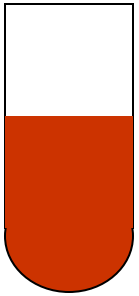
Ген, отвечающий за инактивацию Х-хромосомы, на ней же и лежит. Которая из Х-хромосом будет инактивирована, по-видимому, процесс случайный.

У черепаховых кошек ген черной и желтой окраски лежит в Х-хромосоме. Распределение пятен абсолютно непредсказуемо.

Теперь поговорим о митотических хромосомах

Изучение митотических хромосом – **цитогенетика**.

Этапы цитогенетического исследования



Кровь (или другой материал)

Отделение лейкоцитов

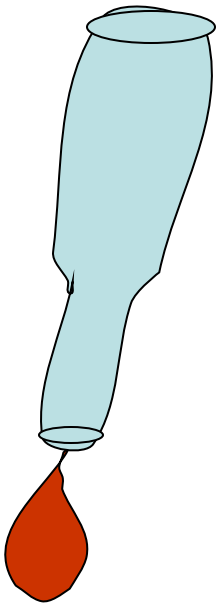
Добавление стимулятора митоза – **ФГА** (фитогемагглютинина)

72 часа

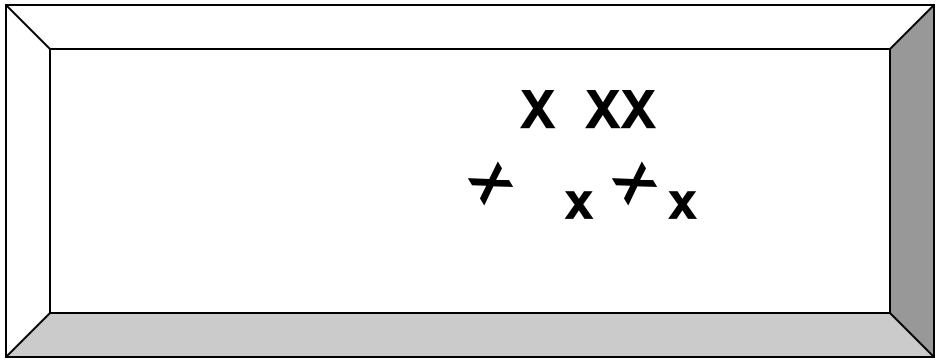
Добавление **колхицина** – блокатора микротрубочек

Деление лимфоцитов тормозится на стадии метафазы

Добавление **гипотонического раствора** – клетки разбухают



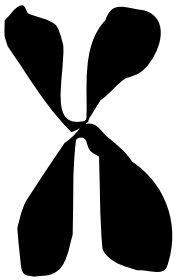
при раскапывании от удара о стекло хромосомы разлетаются в стороны – образуется метафазная пластинка

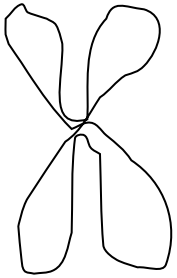


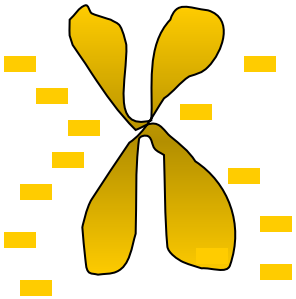
Затем препарат фиксируют и окрашивают

Виды окраски хромосом

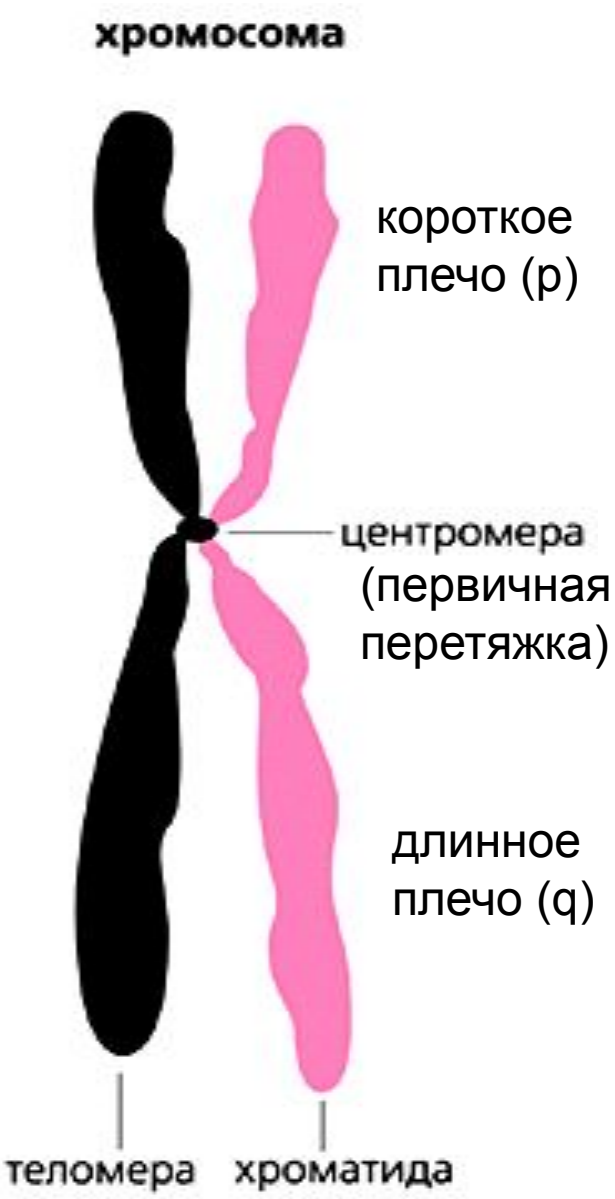
- Рутинная, появилась в 50-х годах XX века. (Денверская классификация поделила все хромосомы человека на 7 групп по размеру и форме)
- Дифференциальная, появилась в конце 60-х годов (G, R, Q и C методы). Парижская конференция закрепила за каждой хромосомой номер, ввела обозначения для мутаций.
- FISH - метод, был разработан в 90-х годах и дал еще больше возможностей для диагностики.

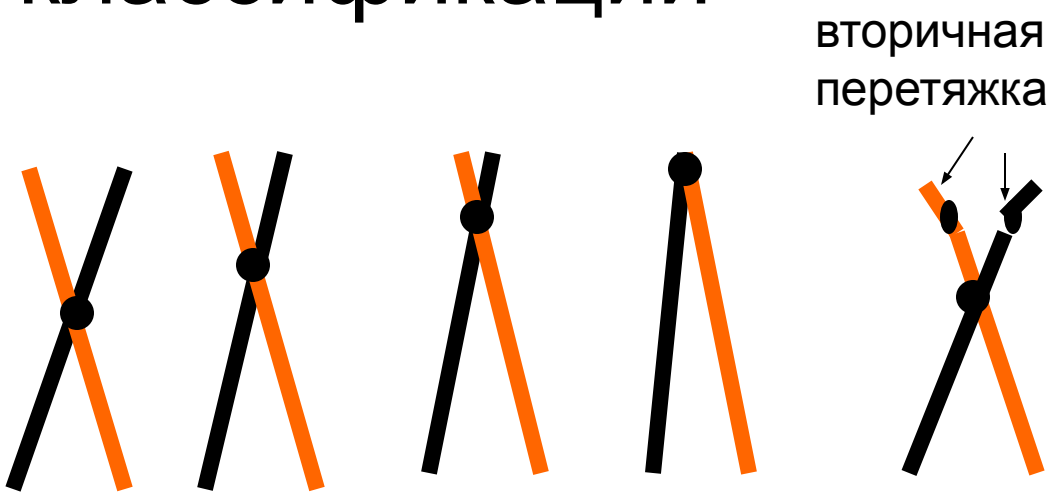






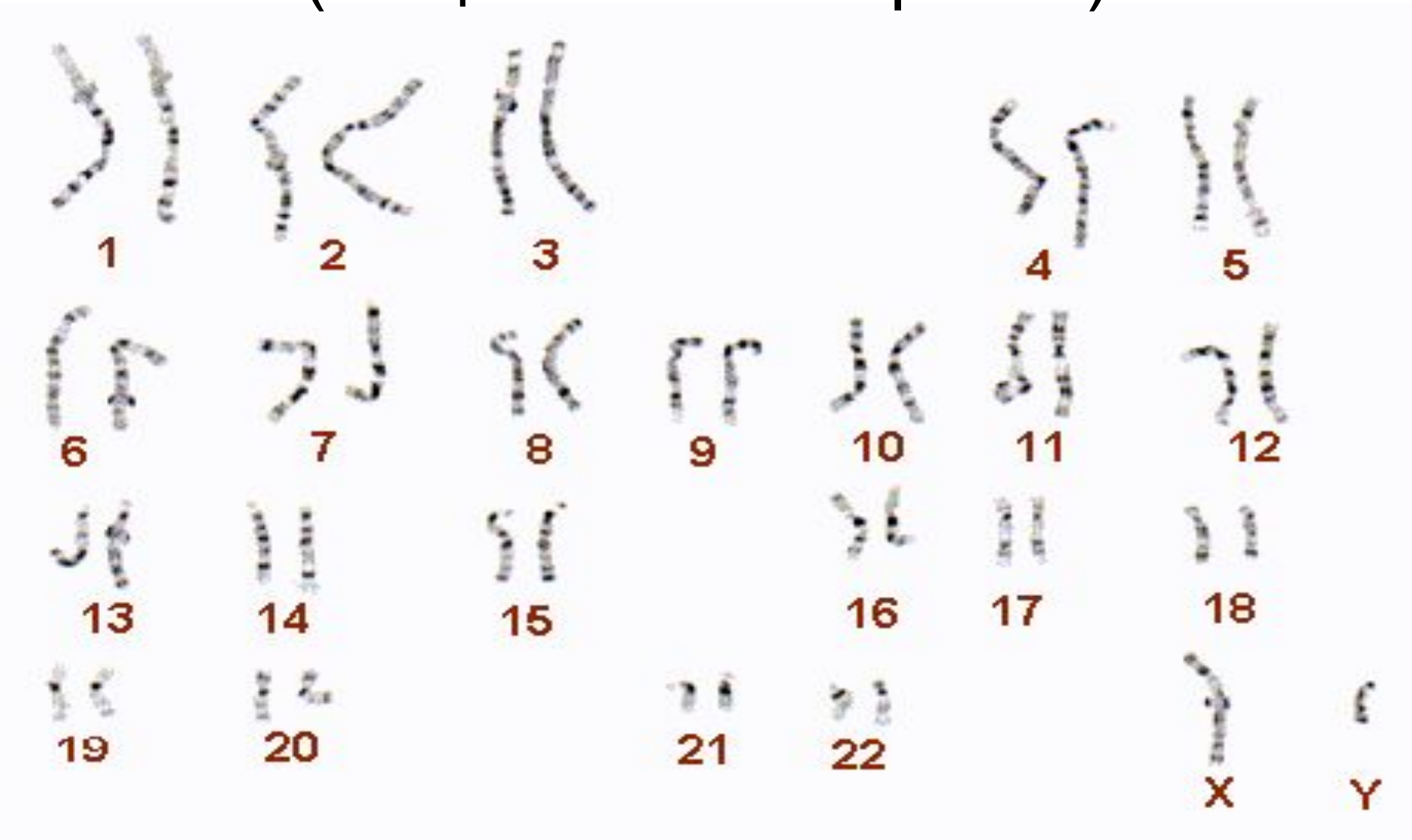
Виды метафазных хромосом согласно Денверской классификации



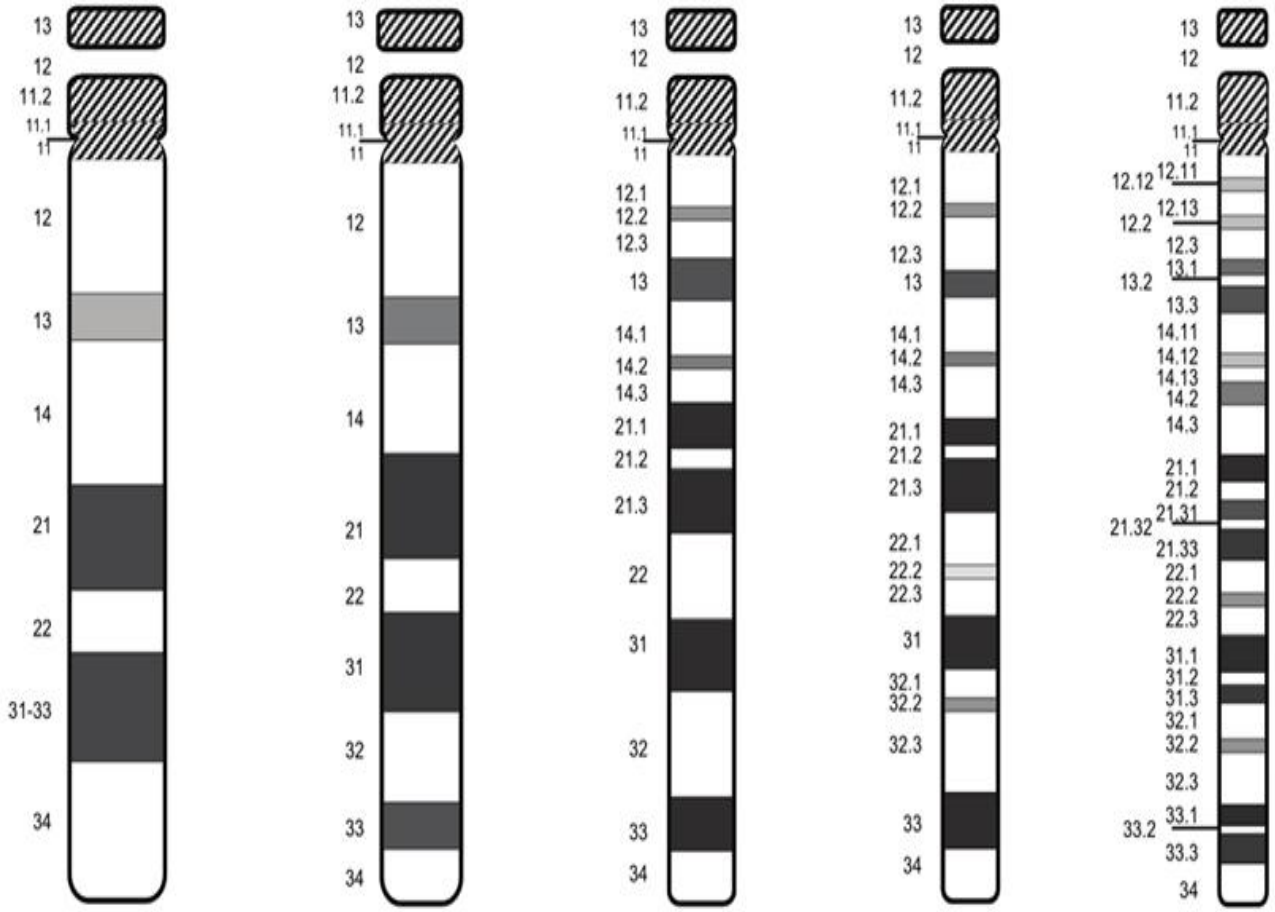


Метацентрическая, субметацентрическая, акроцентрическая, телоцентрическая, со спутником

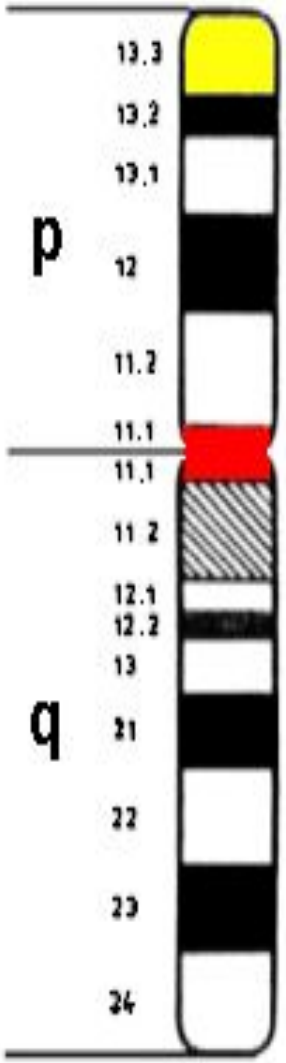
Парижская классификация основана на дифференциальной окраске (чаще всего G-окраска)



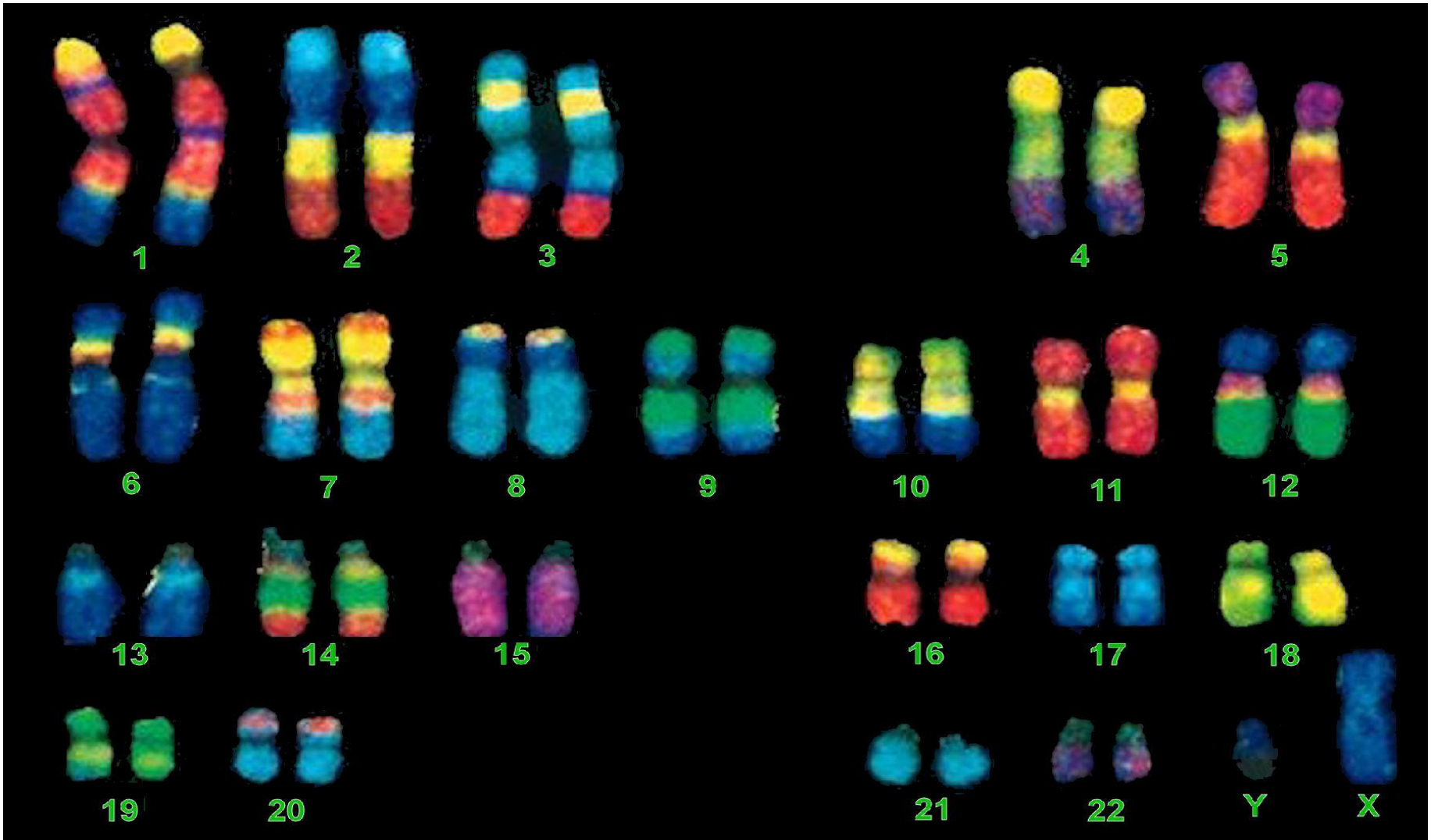
Плечи делят на районы (бенды) и суббенды



Chromosome 13 diagrams, ISCN 2009 - © Nicole Chia

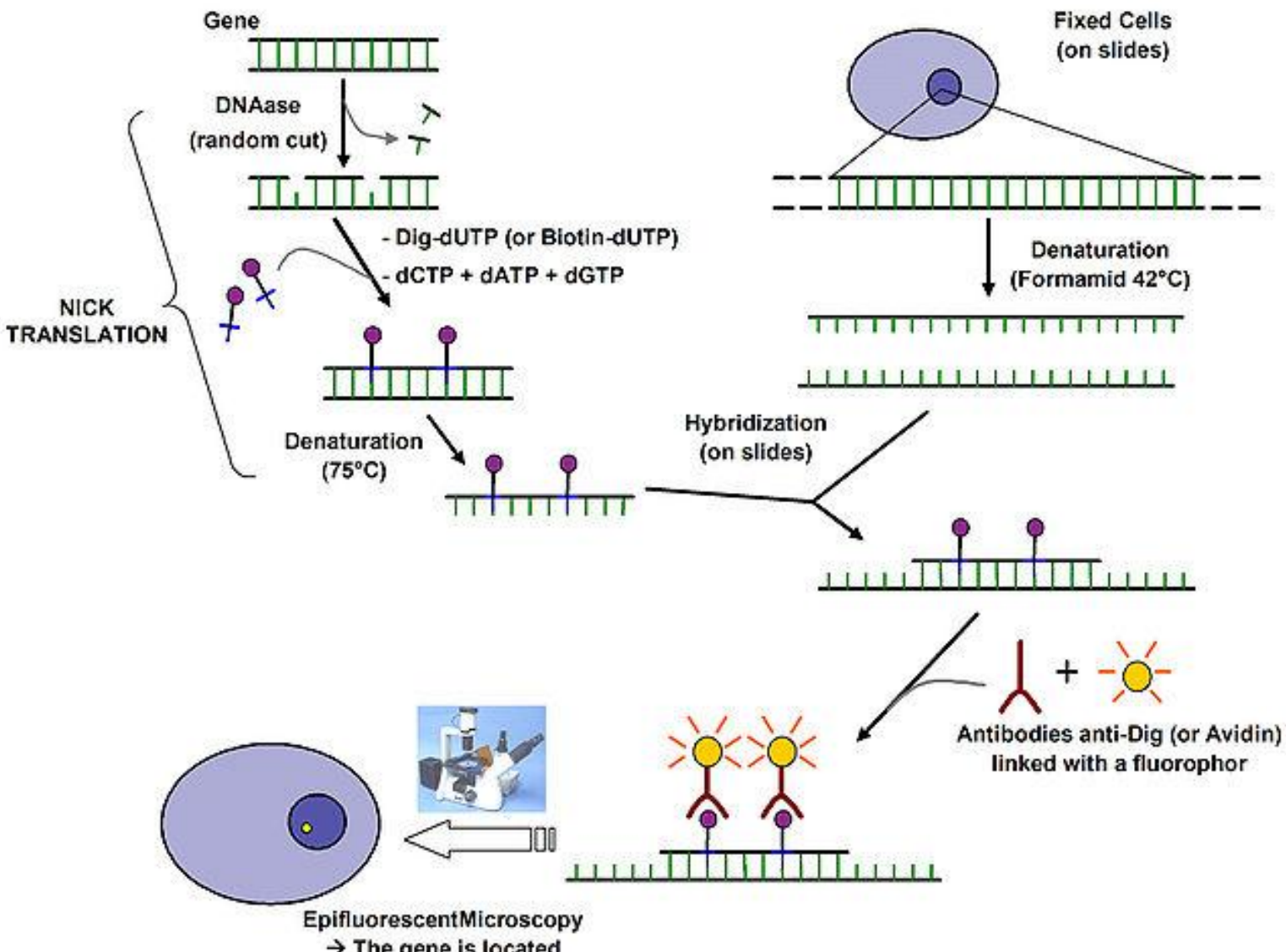


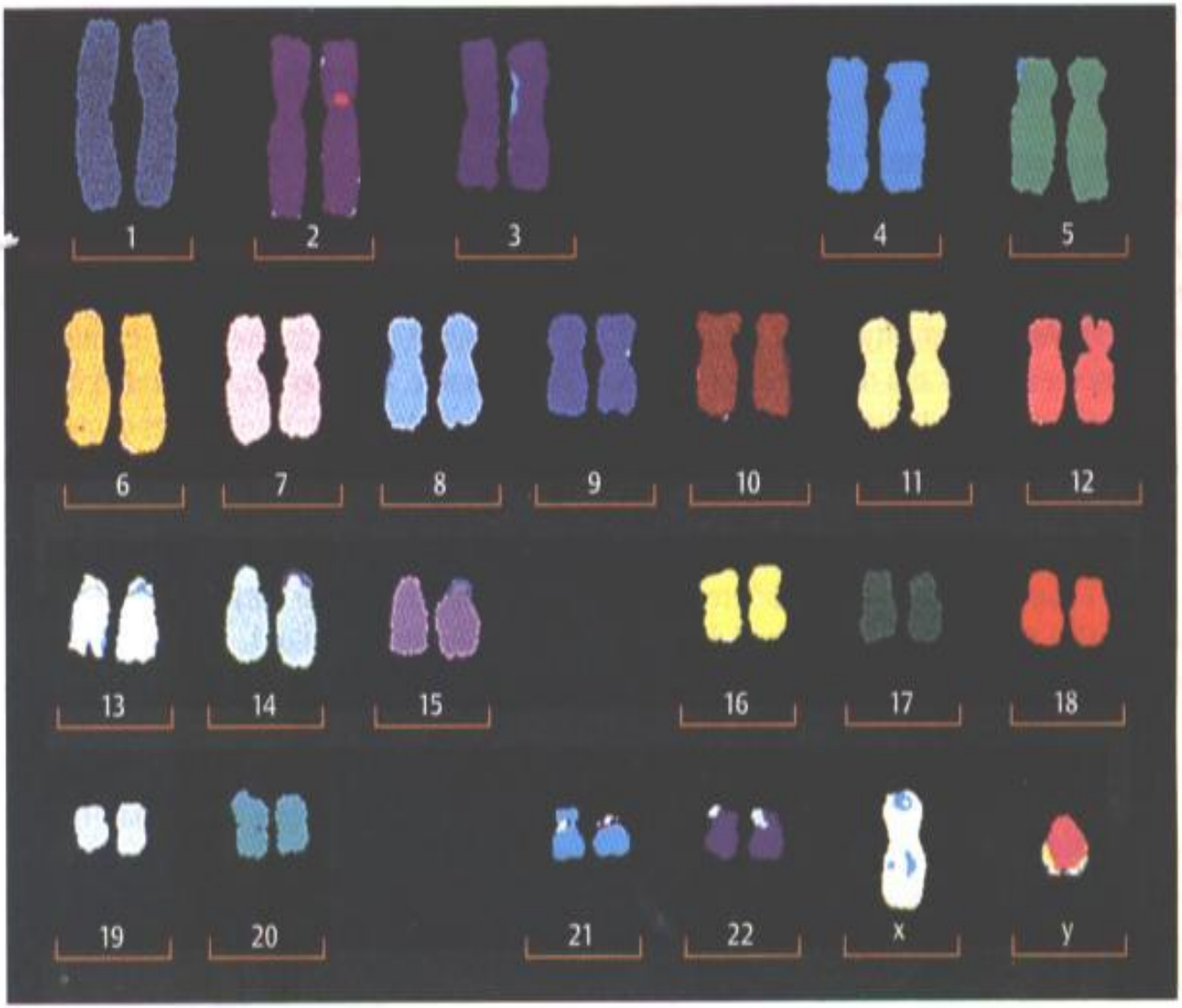
FISH -метод – Fluorescent in situ hybridization дал еще больше возможностей

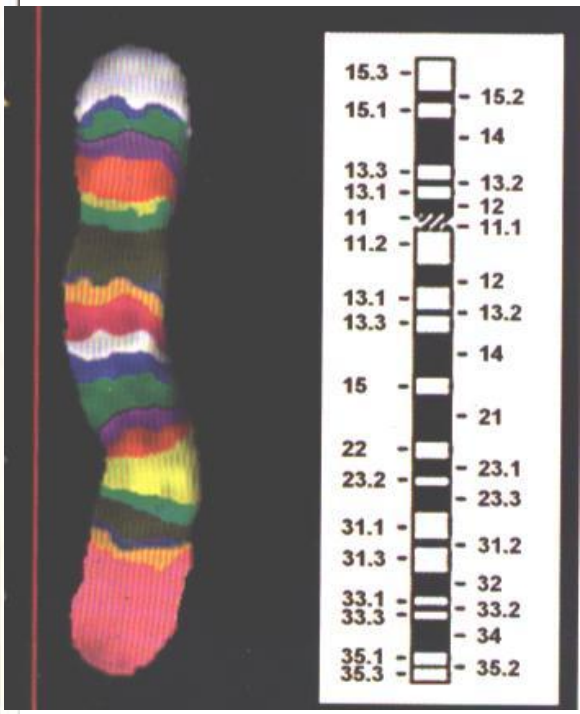


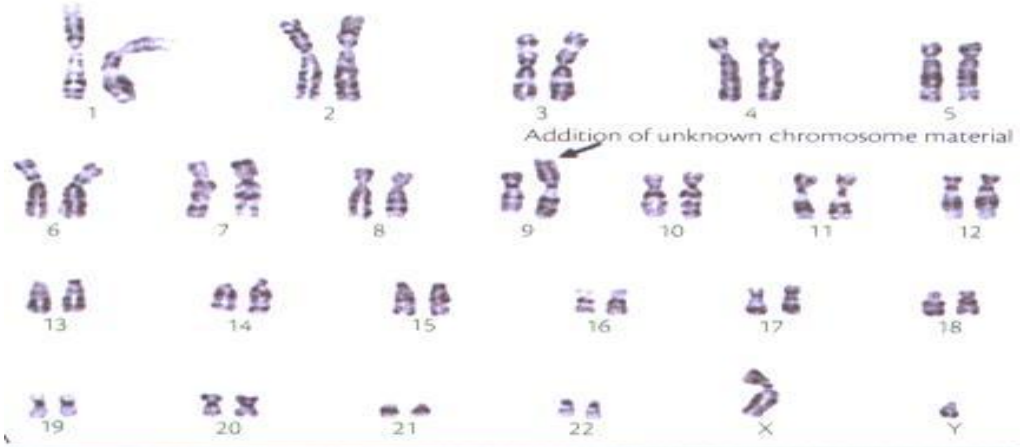
FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)

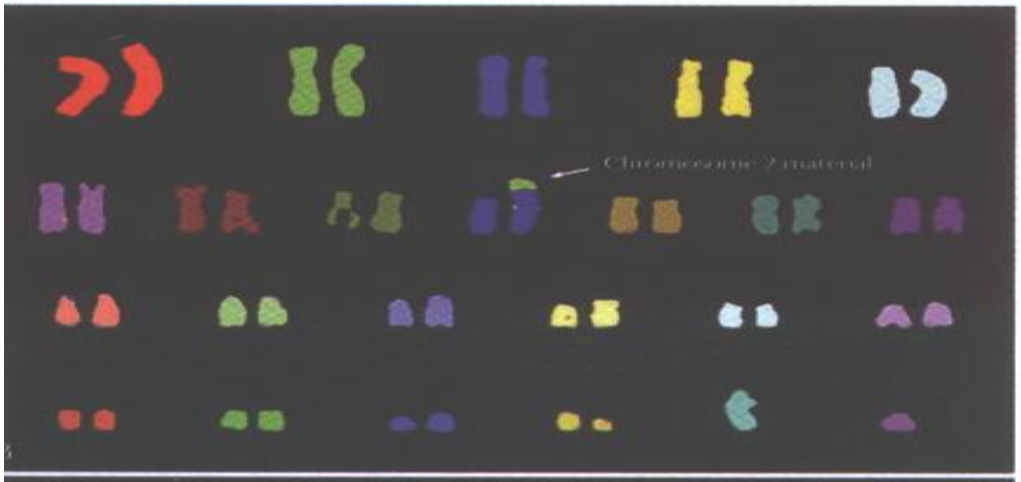
Не для зарисовки!

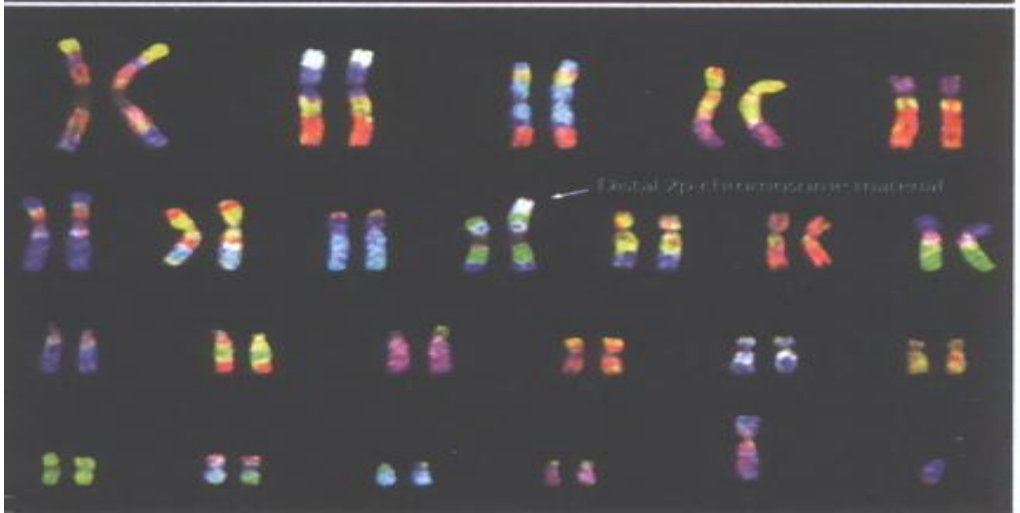



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
x
y


15.3
15.1
13.3
13.1
11
11.2
13.1
13.3
15
22
23.2
31.1
31.3
33.1
33.3
35.1
35.3
15.2
14
13.2
12
11.1
12
13.2
14
21
23.1
23.3
31.2
32
33.2
34
35.2







FISH-метод позволяет лучше распознавать хромосомные перестройки, чем одноцветная окраска

Исследование кариотипа (кариотипирование = цитогенетическое исследование позволяет диагностировать хромосомные и геномные мутации

- Хромосомные мутации – изменение строения хромосом.
- Геномные мутации – изменение числа хромосом

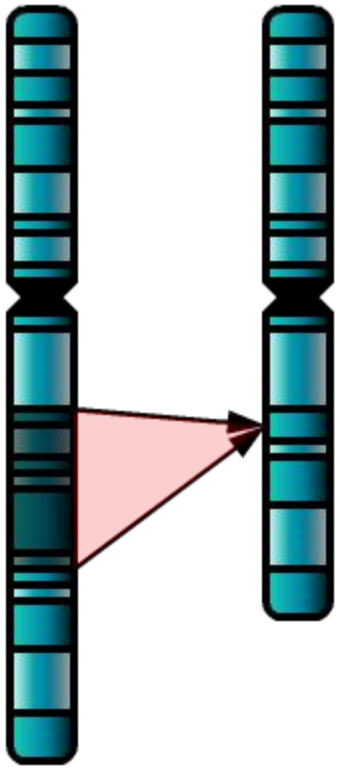
Хромосомные мутации

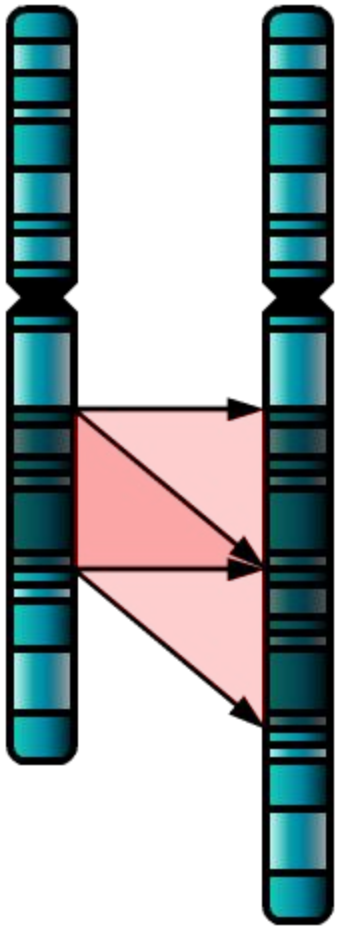
внутрихромосомные **межхромосомные**

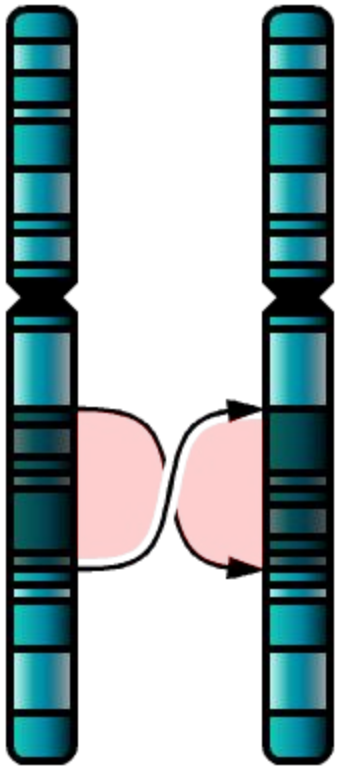
часто являются результатом нарушения кроссинговера – обмена участками между хромосомами, происходящего в профазе 1 мейоза

Внутрихромосомные перестройки

- Делеция
- Дупликация
- Инверсия
- Кольцевая хромосомам
- Изохромосома

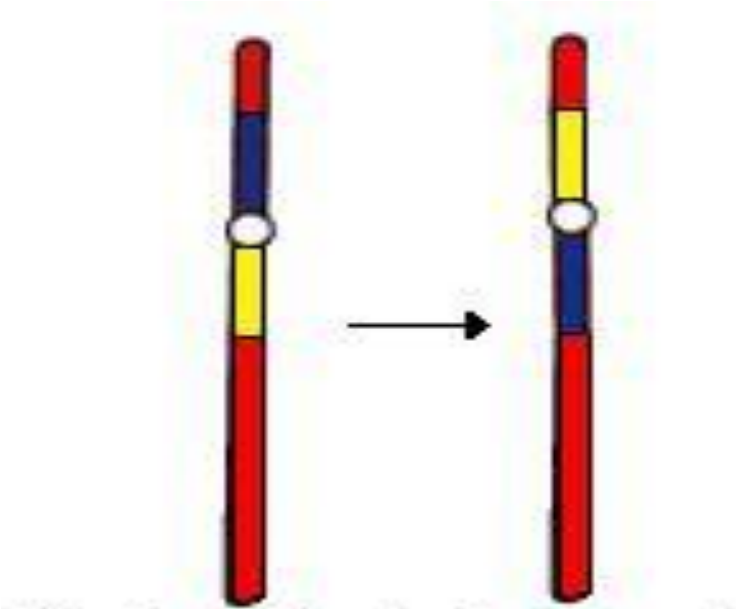




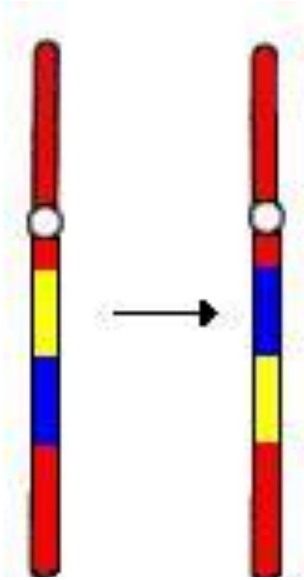


Делеция(del) **Дупликация(dup)** **Инверсия(inv)**

Варианты инверсий

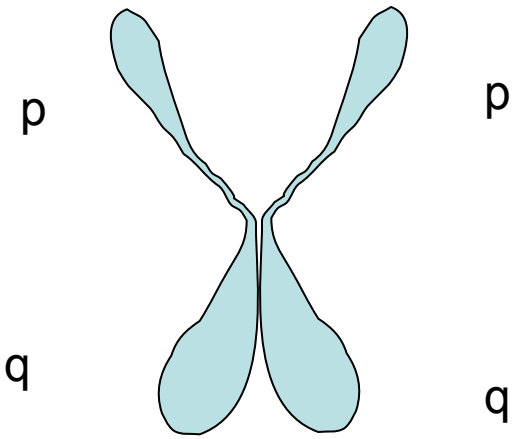


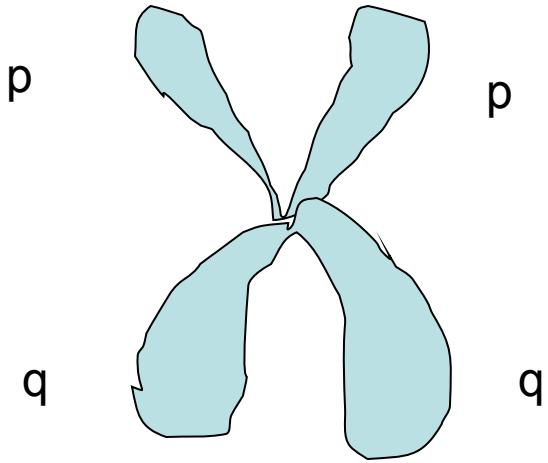
перицентрическая



парацентрическая

Возникновение **изохромосомы** (i) при неправильном разделении хроматид

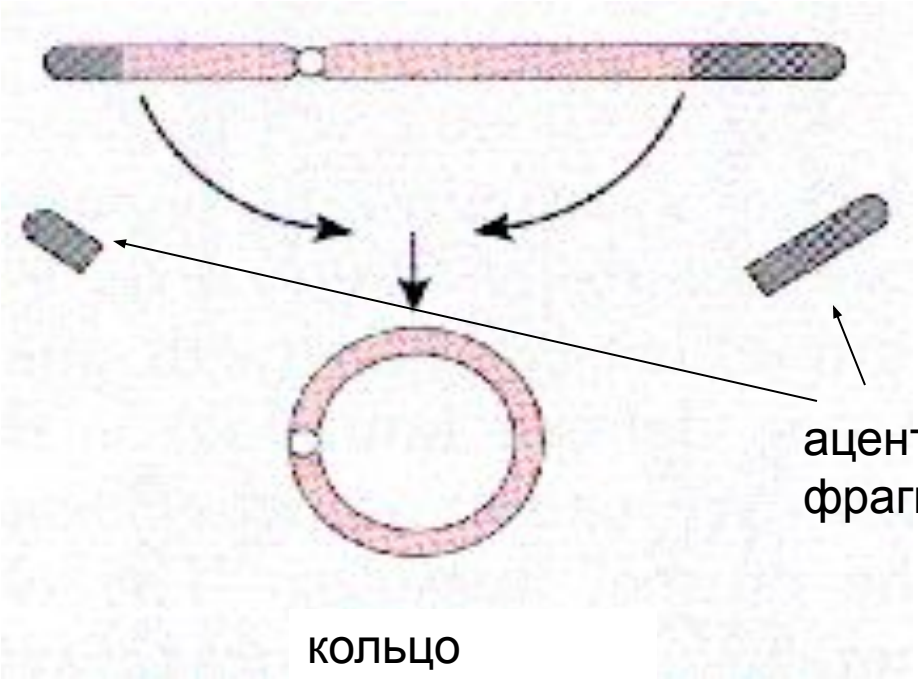




Нормальное расхождение в анафазе

Изохромосомы

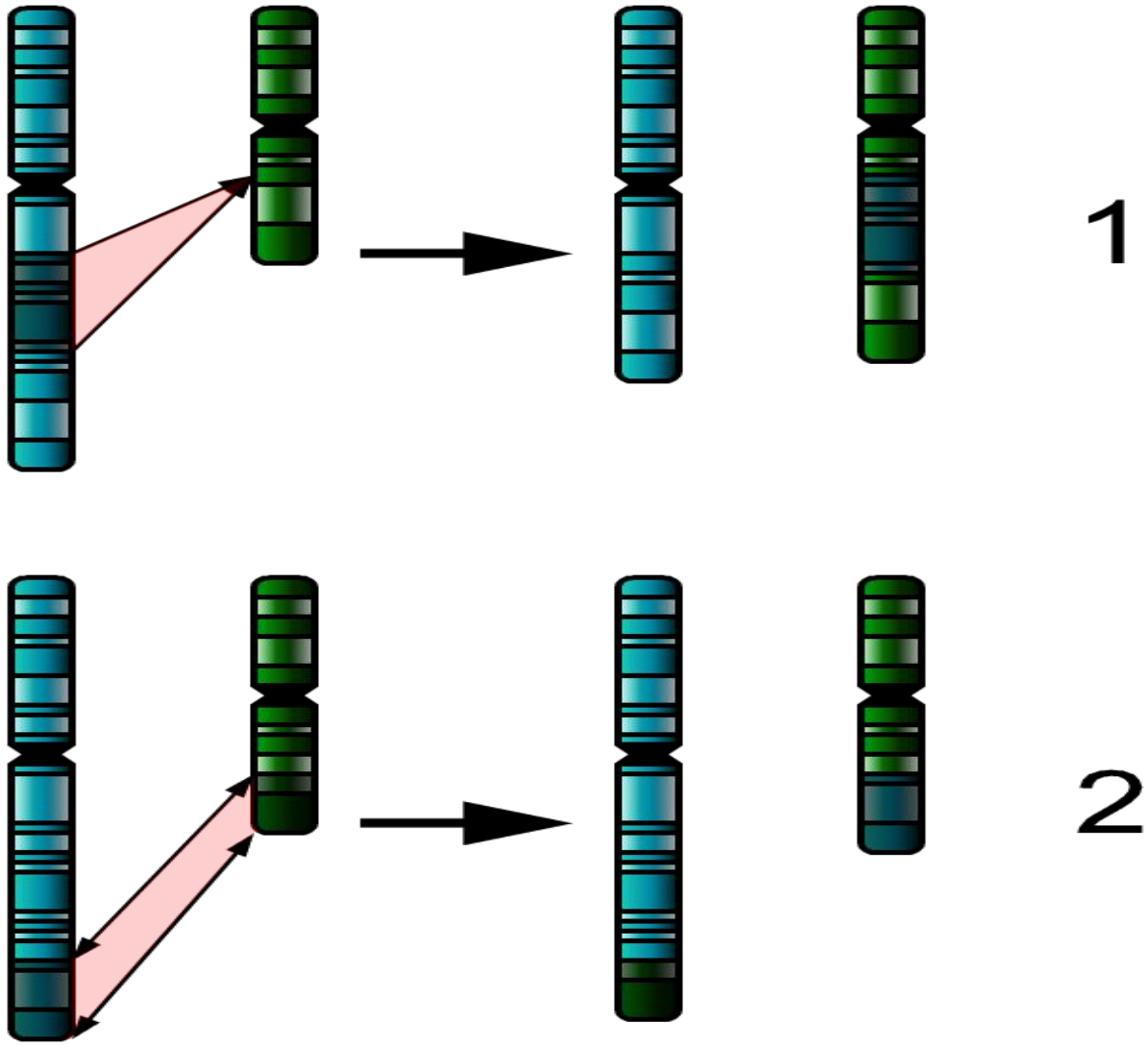
Образование кольцевой хромосомы (r)



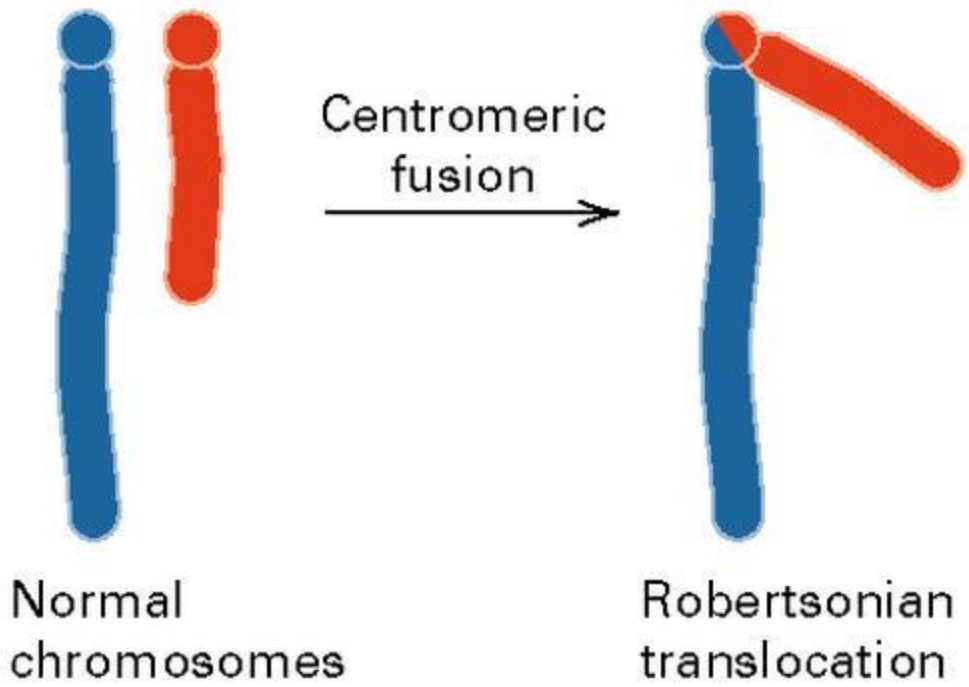
Межхромосомные перестройки - транслокации

- Взаимные
- Невзаимные
- Робертсоновские

Транслокация (t):1 – невзаимная (инсерция), 2 – взаимная (реципрокная)

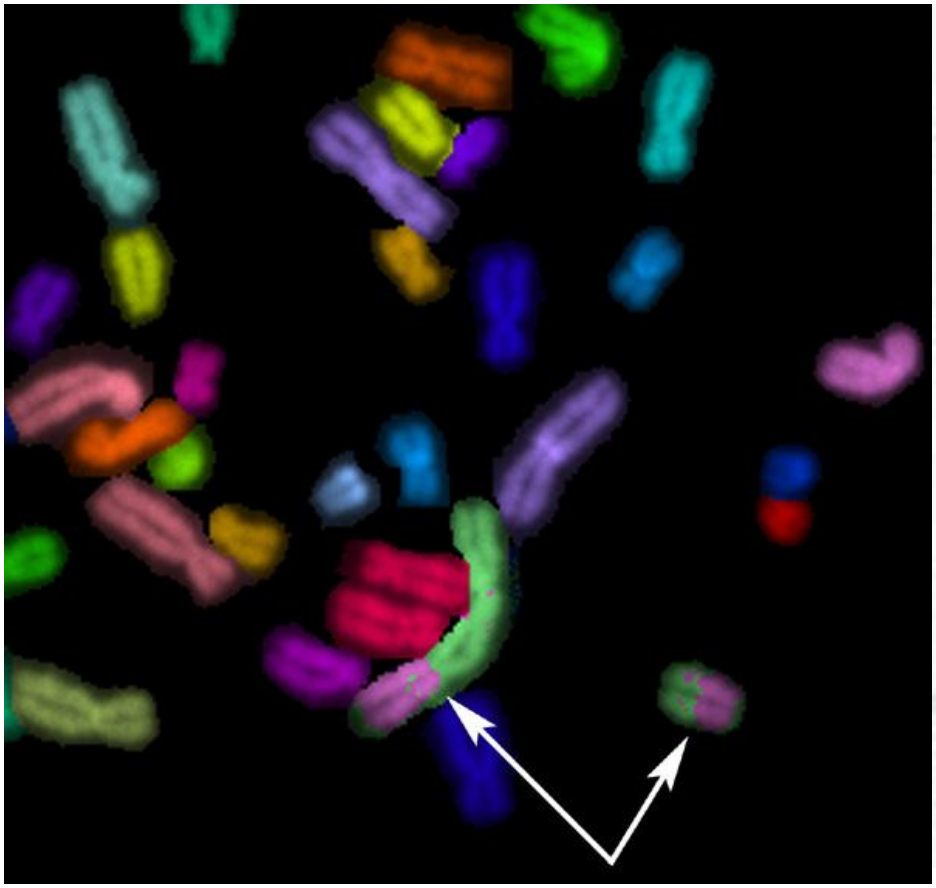


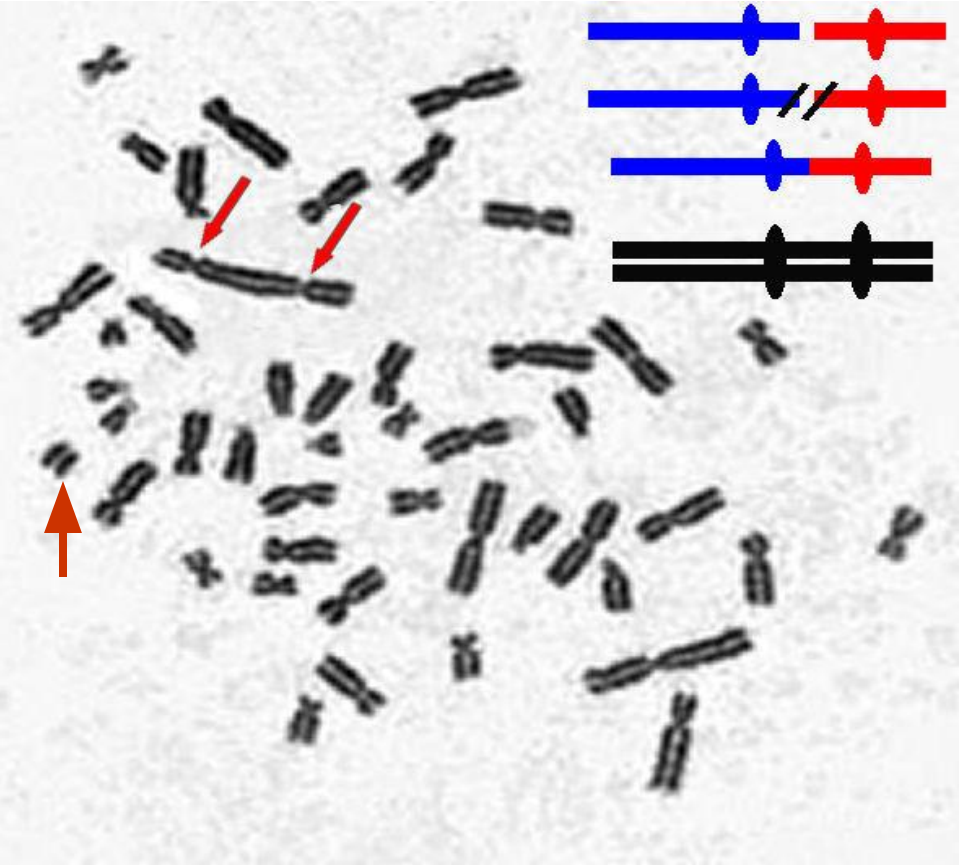
Робертсоновская транслокация (rob) (центрическое слияние)



Между разными акроцентриками – у человека 13,14,15,21,22

В результате транслокаций могут возникать **дицентрические** (dic) хромосомы и парные **ацентрические** фрагменты





Номенклатура хромосомных мутаций.

Не для заучивания!!!

- **del** Делеция, например 46,XX,del(5p) — женщина с делецией короткого плеча хромосомы 5
- **dup** Дупликация, например 46,XY,dup(ll)(ql2) — мужской кариотип с дупликацией сегмента ql2 хромосомы 11
- **fra** Ломкий сайт
- **i** Изохромосома, например 46,X,i(Xq) — женский кариотип, одна из хромосом X представлена изохромосомой по длинному плечу
- **inv** Инверсия, например 46,XY,inv(10)(pl3ql2) — мужской кариотип, перицентрическая инверсия с точками разрыва p13 и ql2
- **rob** Робертсоновская транслокация, например, 45,XX,rob (14q21q) — женщина со сбалансированной робертсоновской транслокацией длинных плеч хромосом 14 и 21, или 46,XX,-14,
- **r** Кольцевая хромосома, например 46,XX, г(16) — женщина с кольцевой хромосомой 16
- **t** Транслокация, например 46,XX, t(2;4)(q21;q21) — женщина с реципрокной трансплантацией, включающей длинное плечо хромосомы 2, начиная с сегмента 2q21, и длинное плечо хромосомы 4, начиная с сегмента 4q21

Кроме того, хромосомные мутации бывают:

- Спонтанные/индуцированные
- Соматические /генеративные
- Вредные/полезные/нейтральные

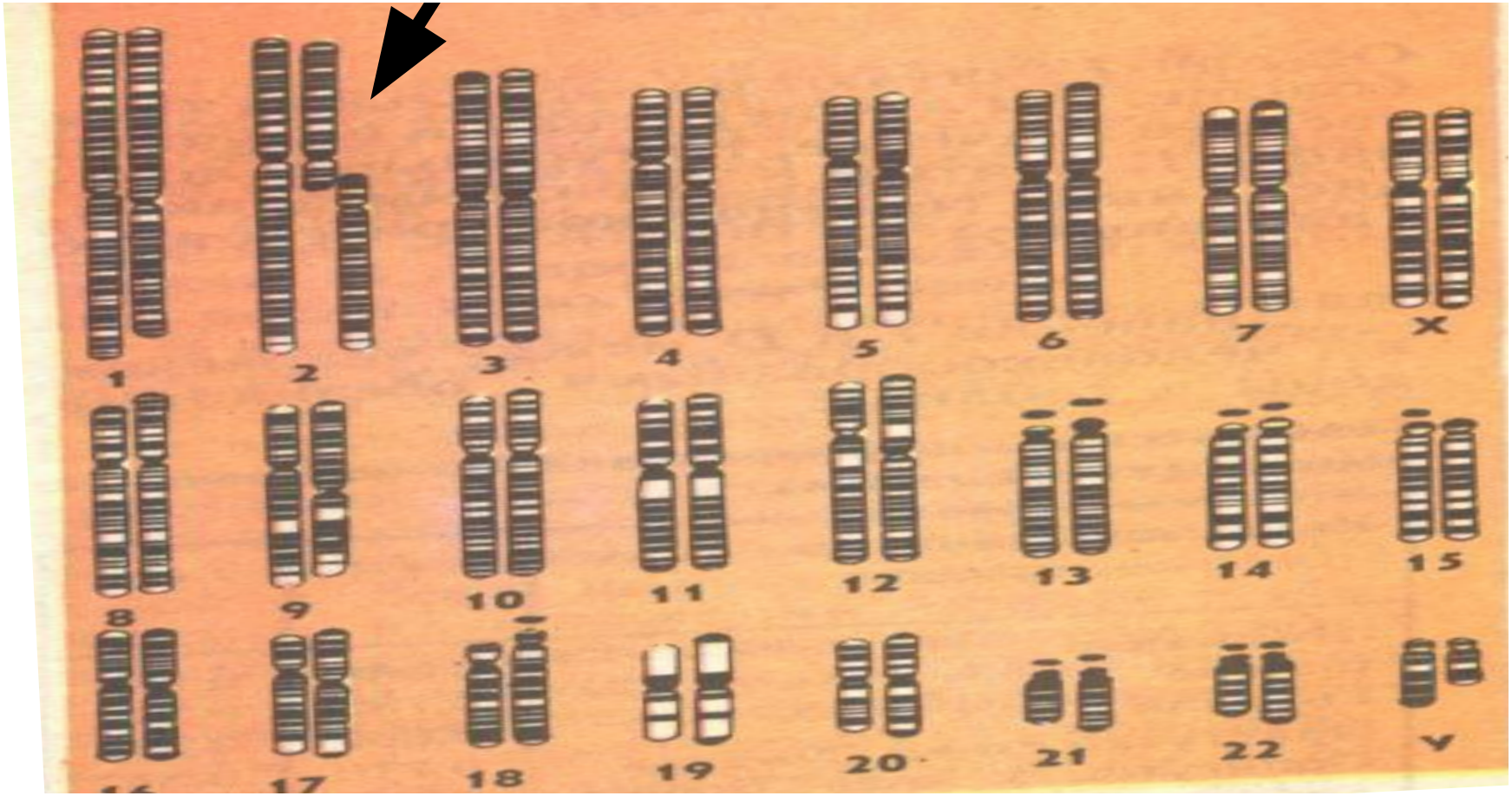
С клинической точки зрения хромосомные мутации удобнее делить на

- Сбалансированные (нет потери или добавления генов)
- Например,
- инверсия,
- реципрокная транслокация

- Несбалансированные (гены теряются или добавляются)
- Например,
- делеция
- дупликация

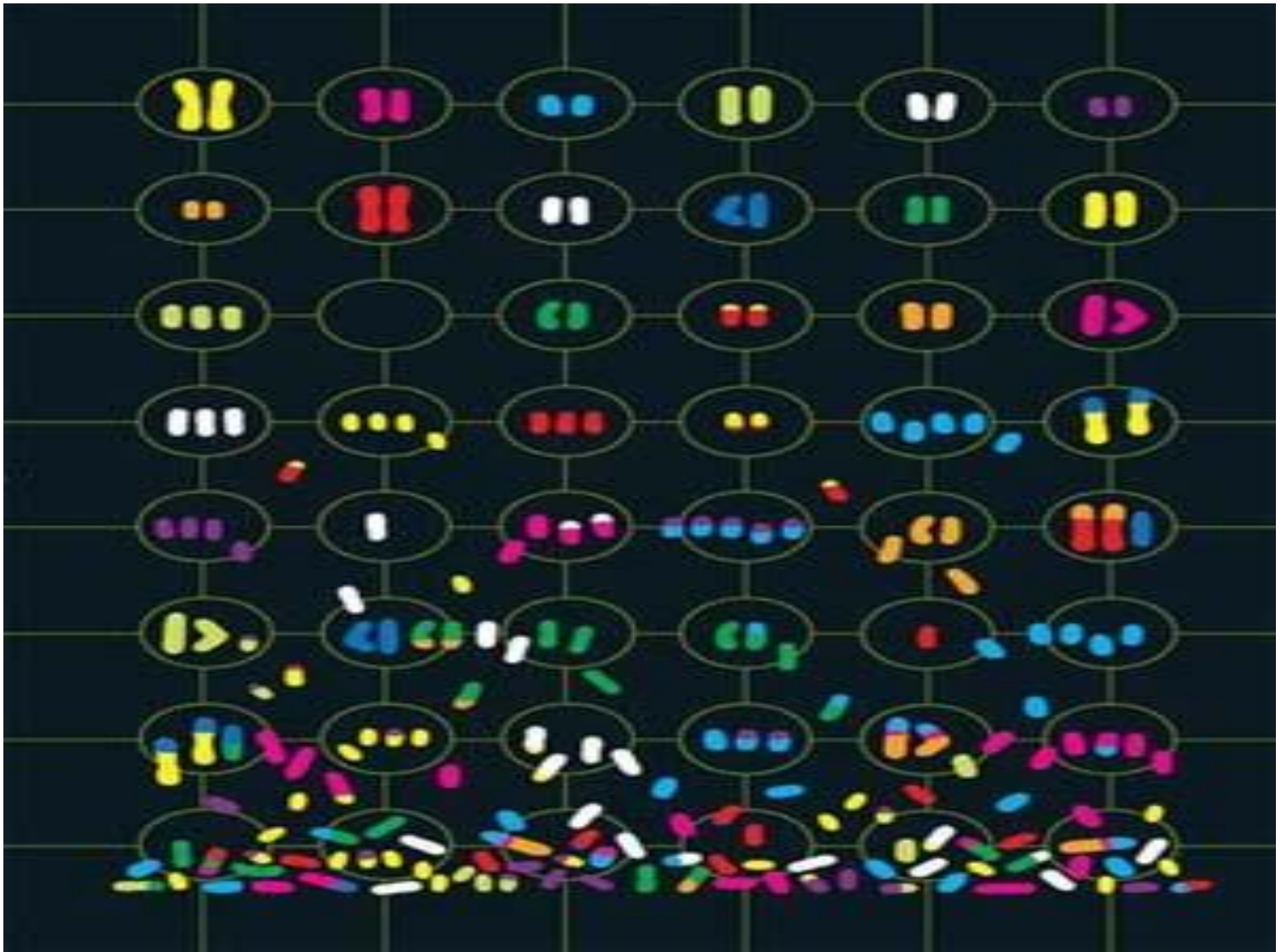
Значение хромосомных мутаций

- Материал для эволюции, способствует появлению новых видов
- Патология у человека



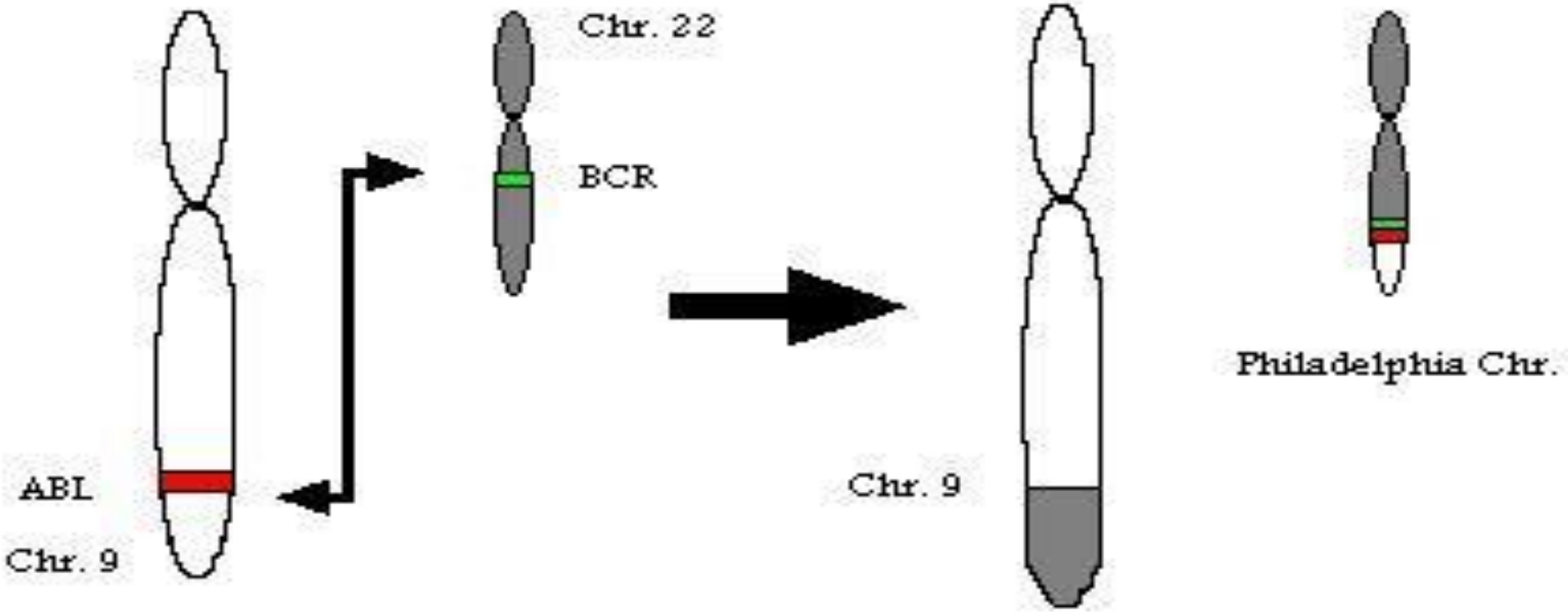
Сравнение хромосомных наборов человека (слева) и шимпанзе (справа). Видно, что наша хромосома 2 – результат Робертсоновской транслокации у нашего общего предка.

При лейкозах выявляются множественные хромосомные перестройки

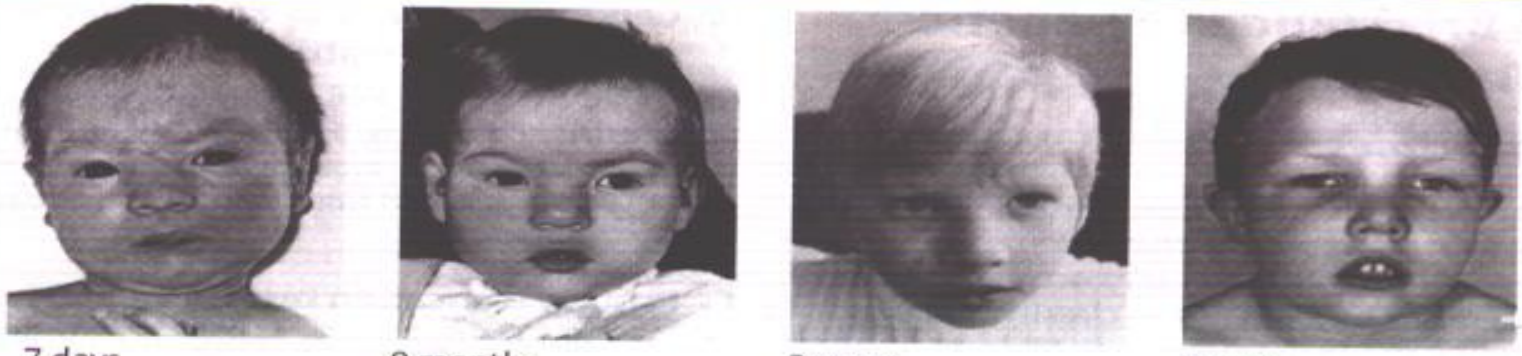


Самый известный пример: **Филадельфийская хромосома – транслокация между 22 и 9** хромосомами – пример соматической мутации ведущей к развитию хронического миелобластного лейкоза

t(9;22)(q34.1;q11.2)

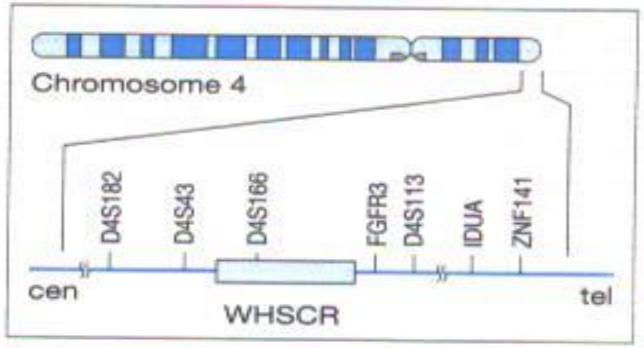


Различные случаи делеций



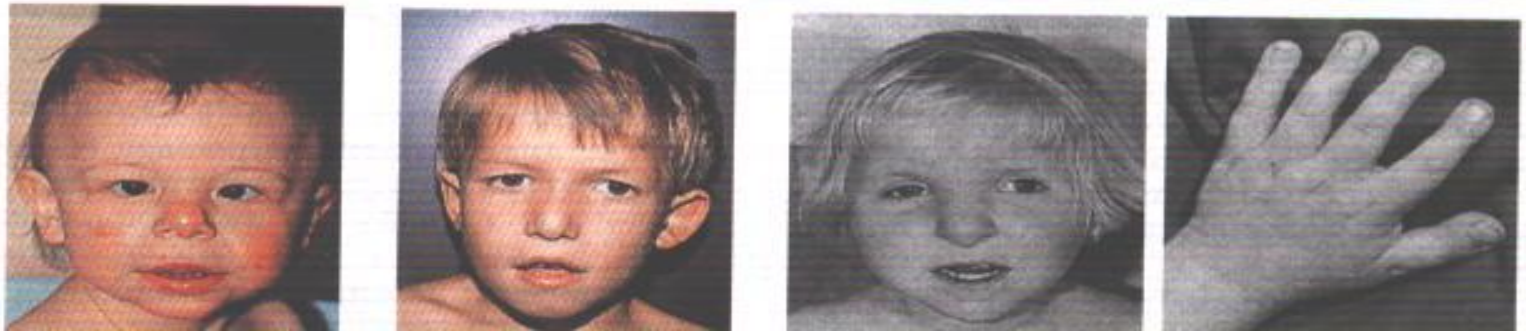
7 days 9 months 3 years 6 years

A. Deletion 5p–: Cri-du-chat syndrome -- Синдром кошачьего крика

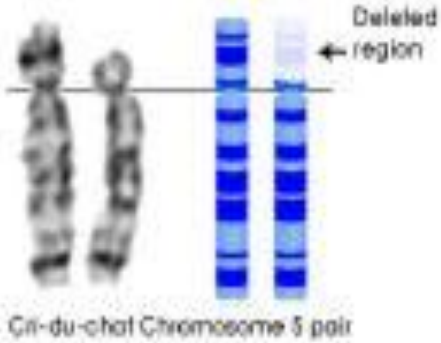


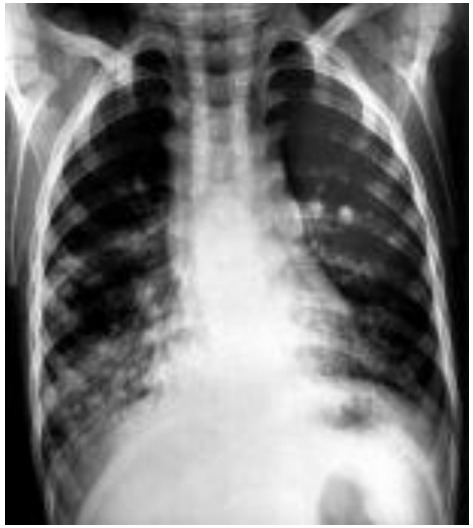
1. Age: 1 1/4 years **2.** Age: 4 years **3.** Scheme of physical map of 4p16

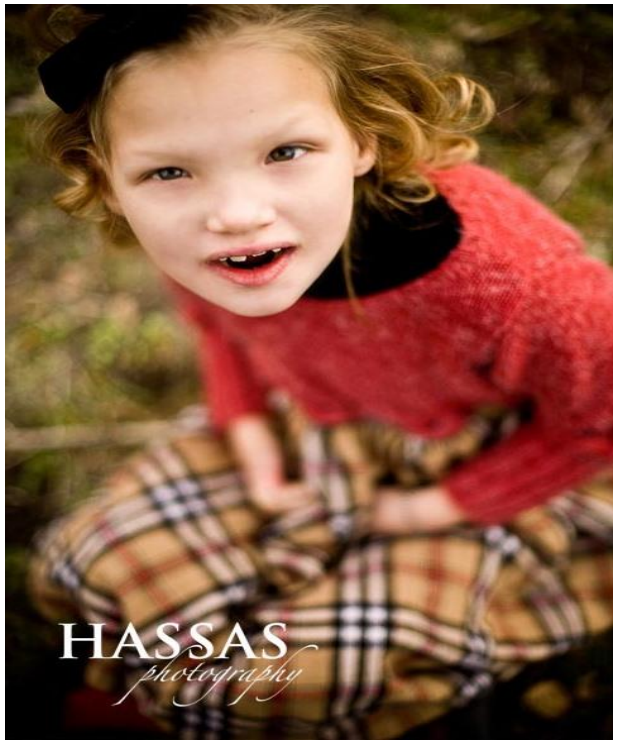
B. Deletion 4p–: Wolf–Hirschhorn syndrome -- Синдром Вольфа-Хиршхорна



Делеция короткого плеча хромосомы 5 – синдром кошачьего крика, cri du chat





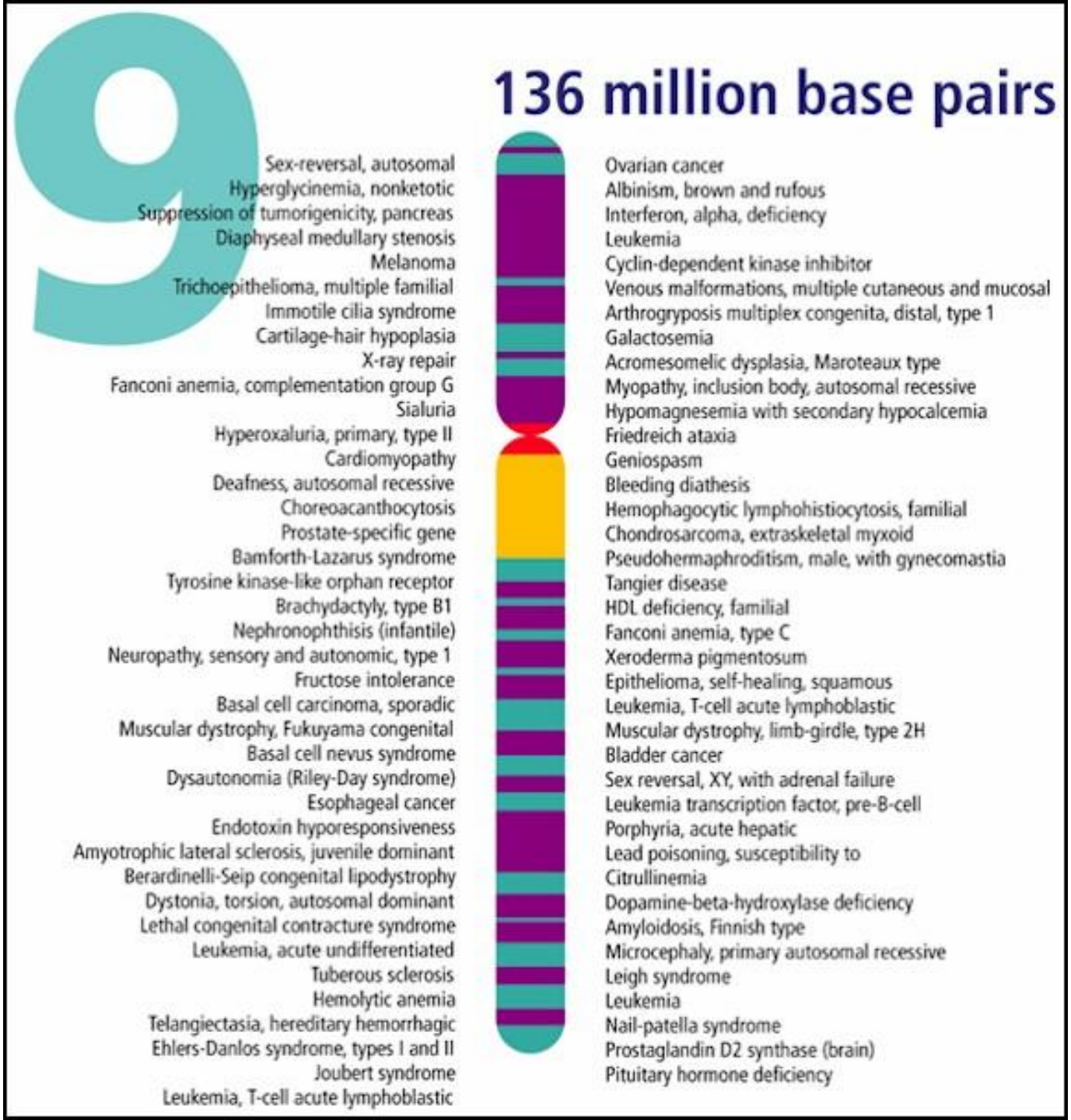


Хромосомные карты

- **Генетические** – где лежит какой ген
- **Цитологические** – по окраске
- **Физические** – основаны на точном расстоянии в базах, кило-, мега- и гига базах
- **Рестрикционные** – вид физической карты, на которой указаны расстояния между соседними сайтами расщепления ДНК определенной рестриктазой (разрезающим ферментом)
- Карты часто бывают комбинированные

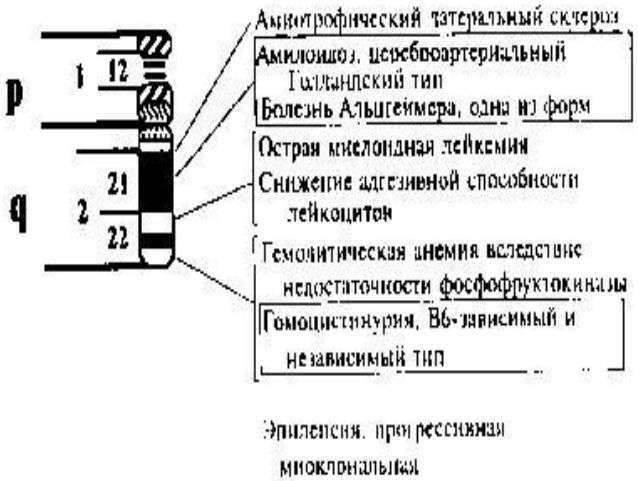
- **1 сМ (сентиморган = морганида)** – единица расстояния между генами, при которой вероятность кроссинговера равна 1%, (соответствует примерно 1 мегабазе)
- Гаплоидный геном человека составляет примерно 3 300 000 000 баз, т.е. 3300 сМ

Карта хромосомы 9



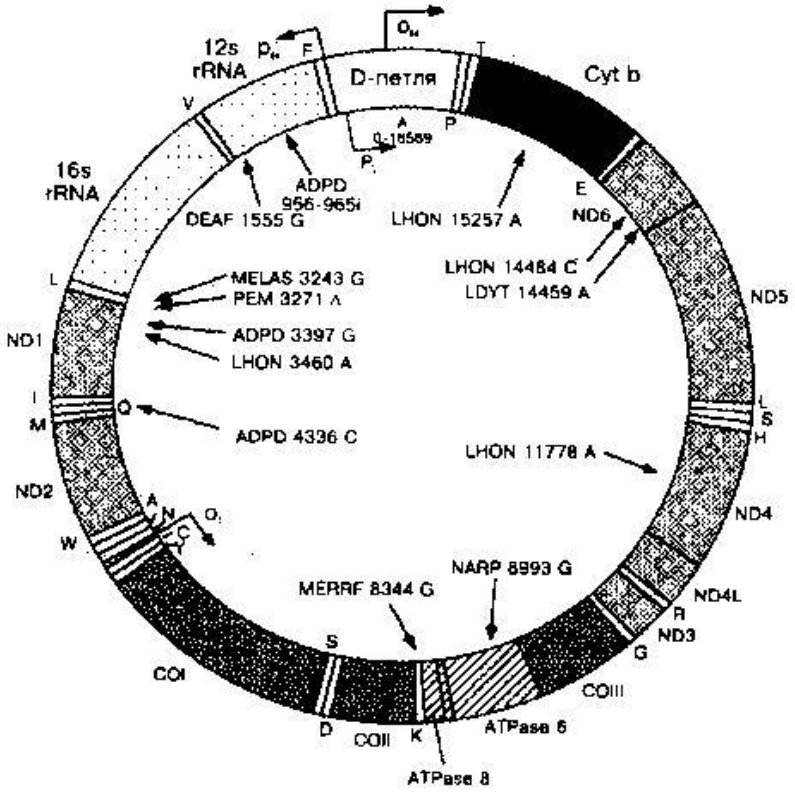
Карта хромосомы 21 и митохондриального генома

Хромосома 21



21q11.2	Миелопролиферативный синдром, транзиторный
21q22.3	Глухота, аутосомно-рецессивная 8
21q22.3	Синдром Дауна, критический регион

Митохондриальный геном (М-хромосома)



ADPD - Болезнь Альцгеймера/болезнь Паркинсона
DEAF - Нейросенсорная потеря слуха
LHON - Наследственная нейроофтальмолатия Лебера
LDYT - LHON и дистония
MELAS - Митохондриальная миопатия, энцефалопатия, молочнокислый ацидоз и приступы судорог
MERRF - Миоклональная эпилепсия в сочетании с необычно красными мышечными волокнами
NARP - Нейропатия, атаксия и пигментный ретинит
PEM - Летальная прогрессирующая энцефаломиопатия

Последовательности, распознаваемые разными рестриктазами

- EcoRI
- Г|ААТТЦ
- ЦТТАА|Г

- SmaI
- ЦЦЦ|ГГГ
- ГГГ|ЦЦЦ

ДНК разрезают рестриктазами и подвергают электрофорезу.

Рестрикционная карта - вид физической карты, на которой указаны расстояния между соседними сайтами расщепления ДНК определенной рестриктазой.

Не для заучивания!!!

Методы создания хромосомных карт

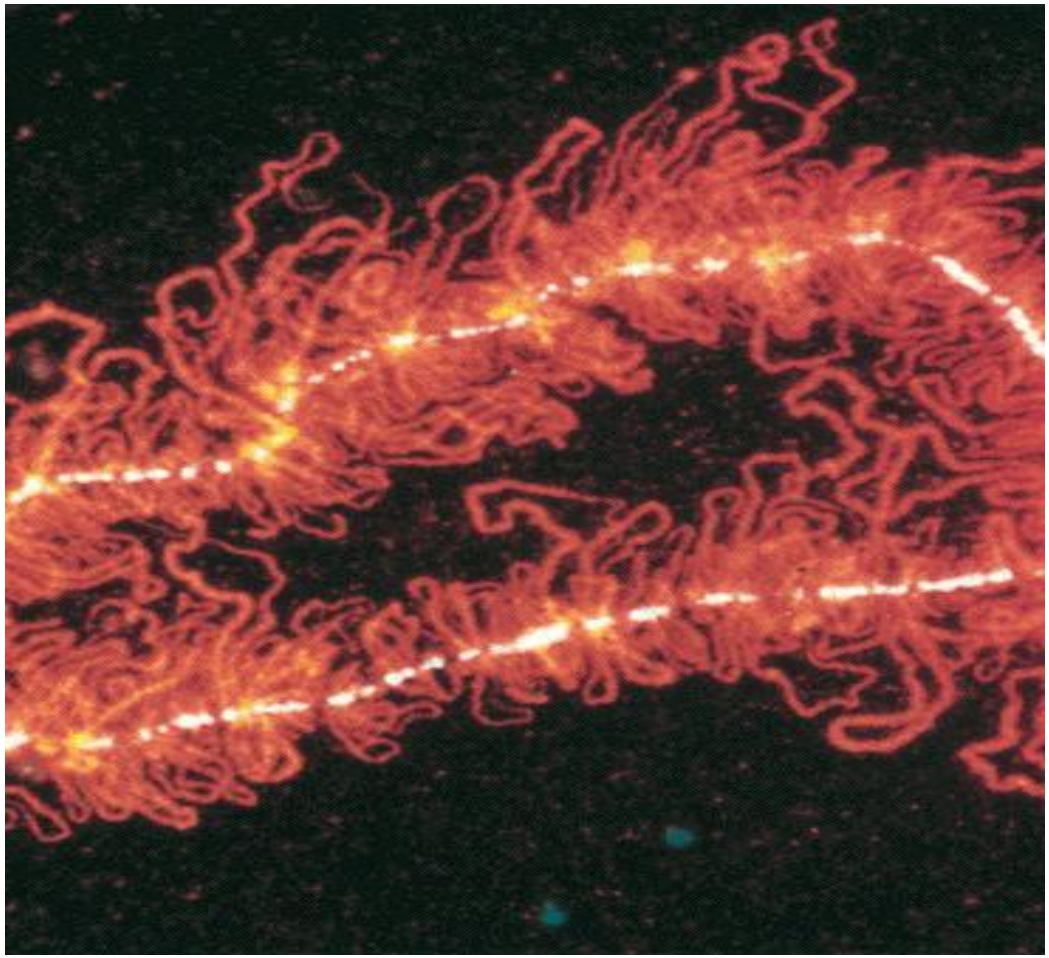
- Гибридологический (по результатам скрещиваний. Т.Морган)
- Анализ родословных (генеалогический)
- Генетики соматических клеток*
- ДНК-зондов*

- Будет обсуждаться позже

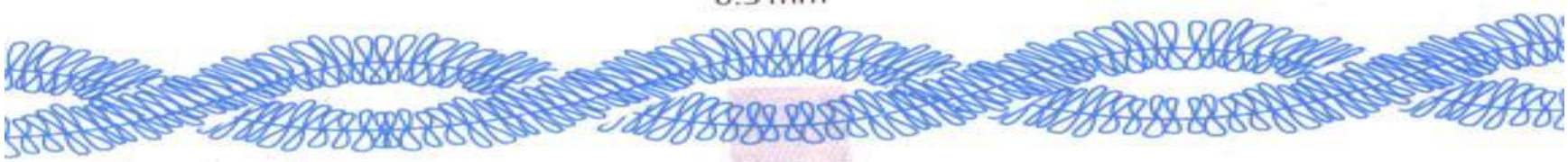
Необычные виды хромосом

- «ламповые щетки» (найдены в овоцитах амфибий)
- политенные хромосомы (в слюнных железах личинок двукрылых)

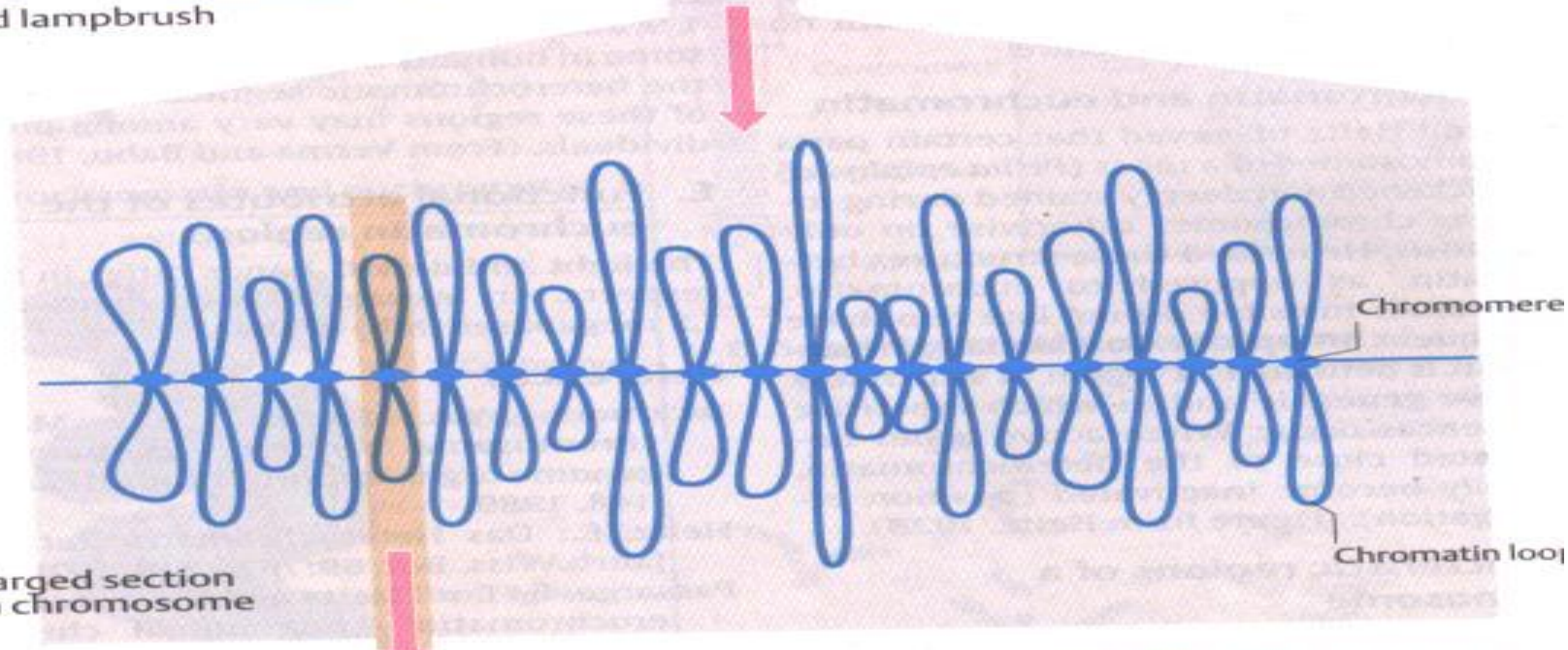
Хромосомы типа ламповых щеток



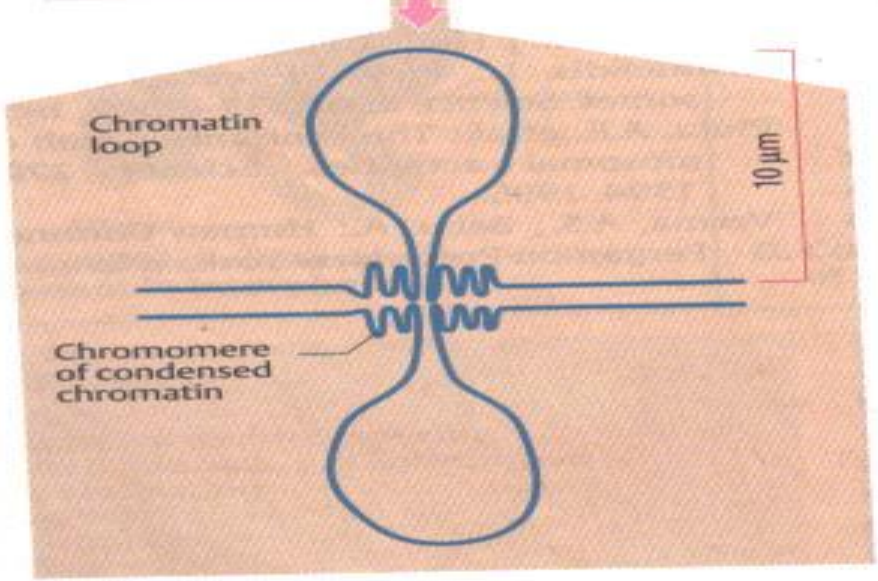
В них активны гены, обеспечивающие образование желтка для развития зародыша



Paired lampbrush



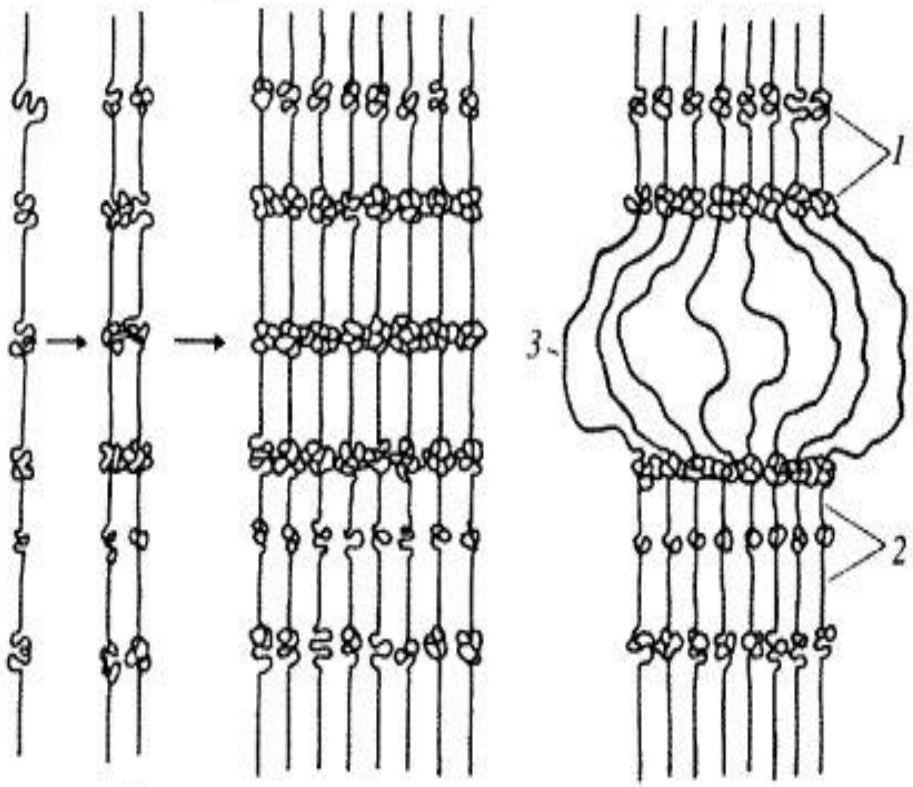
2. Enlarged section of a chromosome



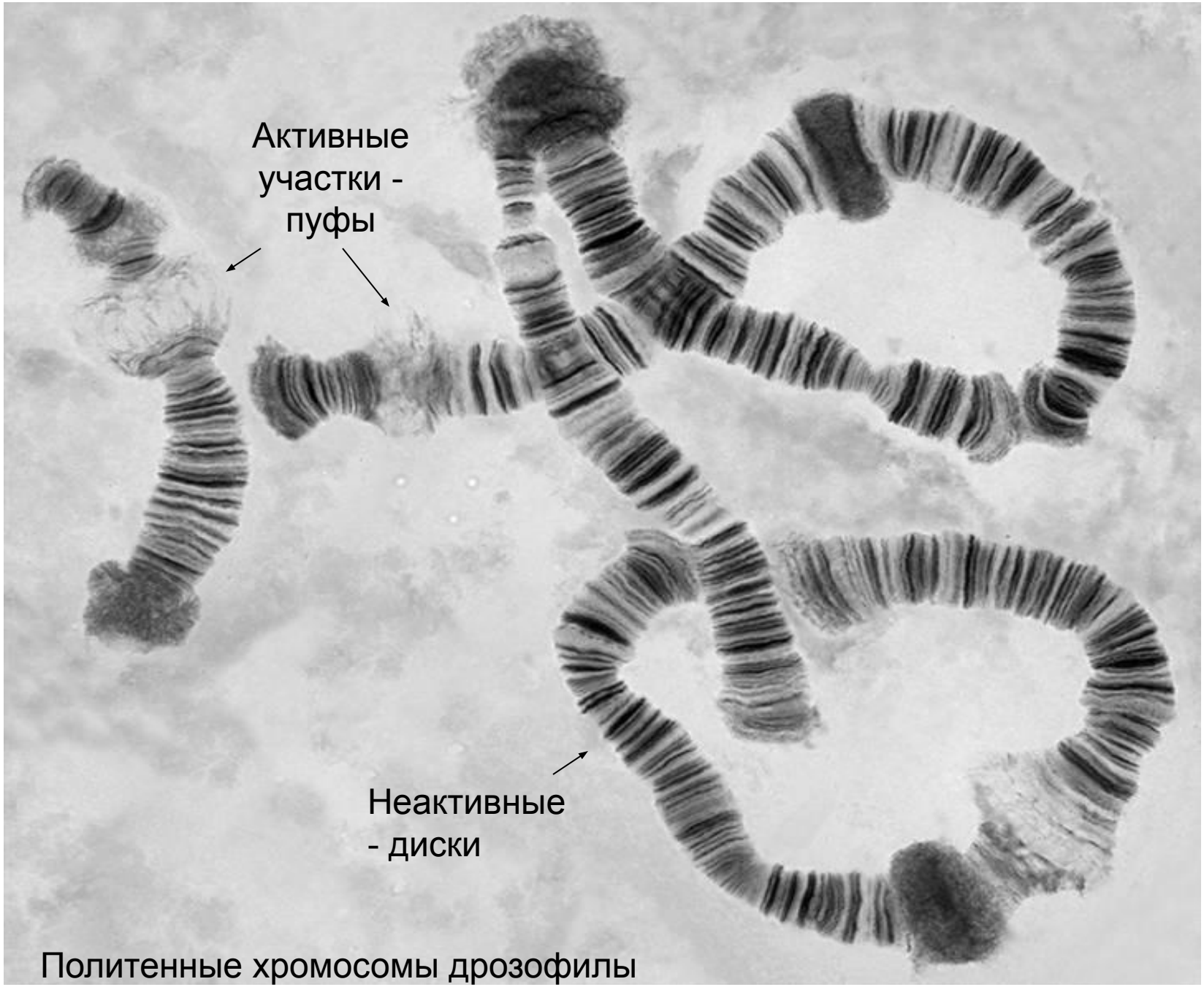
4. Photograph of a

Политенные (многонитчатые) хромосомы

- Репликация ДНК не сопровождается делением клетки, что приводит к накоплению вновь построенных нитей *ДНК*.
- Большое количество копий генов на политенных хромосомах позоляет синтезировать больше нужных личинке белков.



1 — диски; *2* — междисковые участки; *3* — пуф, образовавшийся за счет деконденсации хроматина диска



Политенные хромосомы дрозофилы

Конец.

Спасибо за внимание!

Геномные мутации

- Полиплоидии kn
- k = 1 - гаплоидия
- k = 2 – норма
- k = 3 - триплоидия
- k = 4 - тетраплоидия
- и так далее

- Анеуплоидии (гетероплоидии)

2n+/-k,где к не равно n.

2n + 1- трисомия

2n + 2 - тетрасомия

2n – 1- моносомия

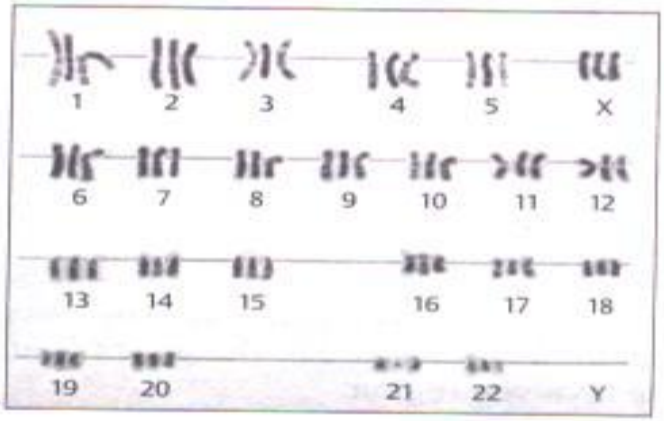
2n – 2 - нулисомия

Triploidy

- Most frequent chromosomal aberration (15%) in fetuses following spontaneous abortion
- Severe growth retardation, early lethality
- Occasional liveborn infant with severe malformation
- Dispermia a frequent cause

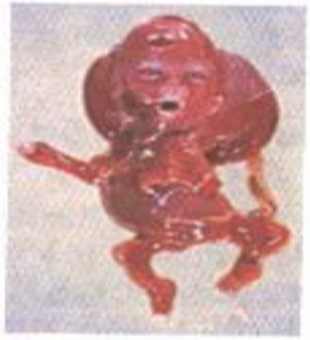
1.

2.

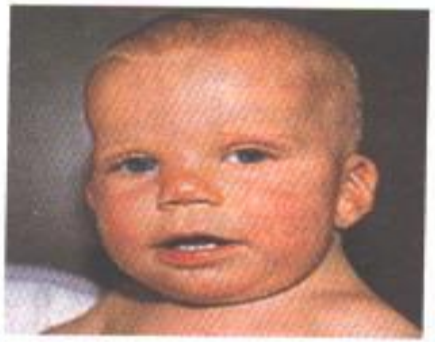


3.

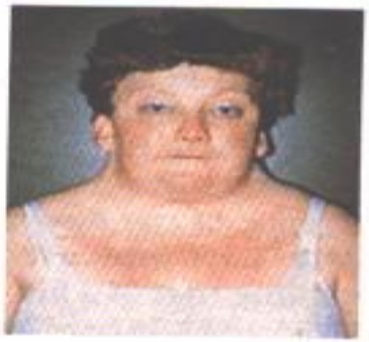
A. Triploidy



1.

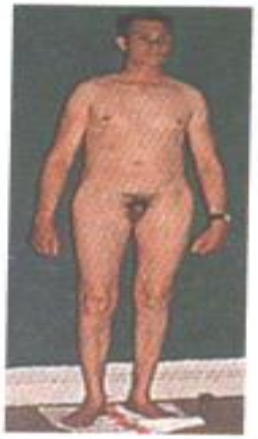


2.



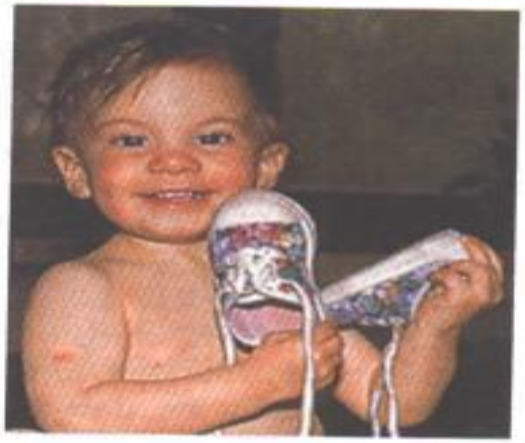
3.

B. Monosomy X (Turner syndrome; 45, XO)



1. XXY

2. XYY



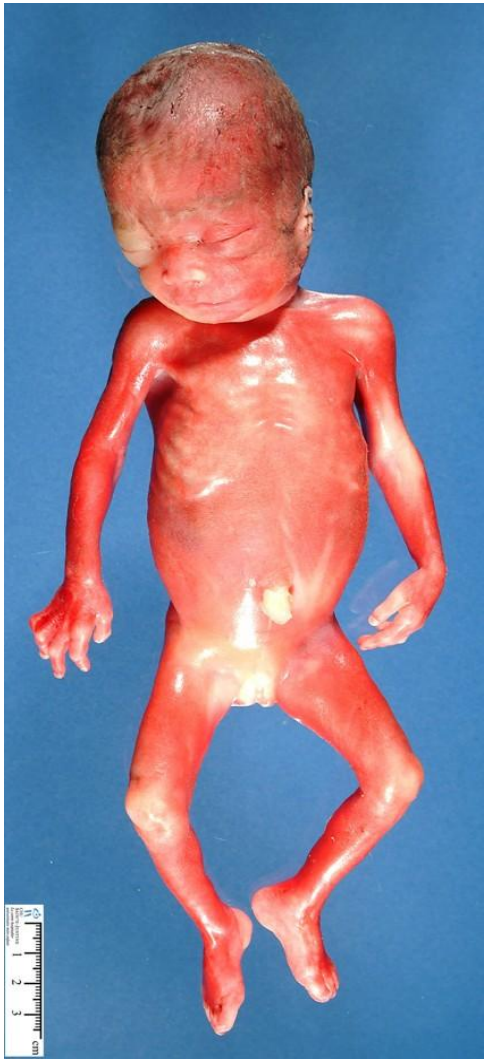
3. XXX

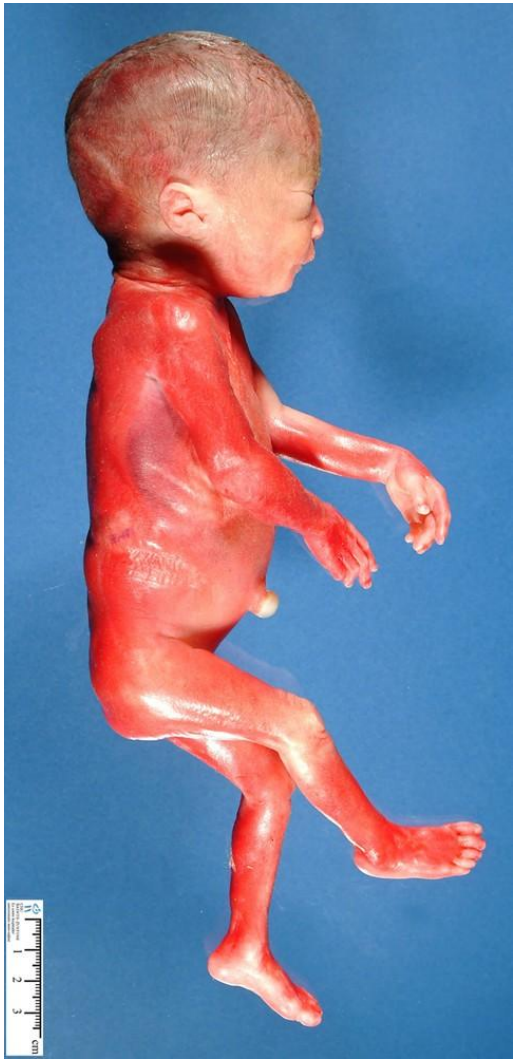
C. Additional X or Y chromosome

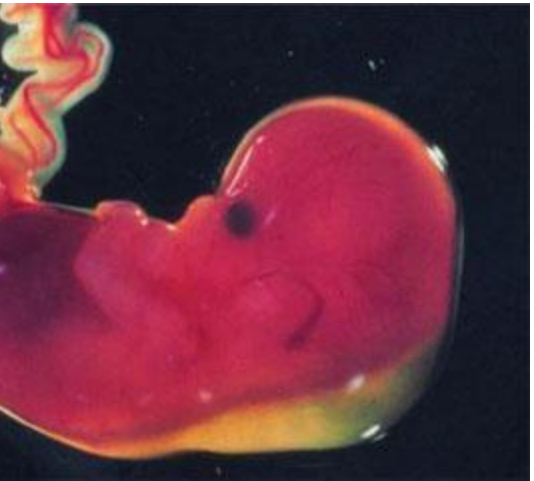
Полиплоидия

- у растений приводит к увеличению размеров всех частей тела

У животных и человека приводит к гибели плода



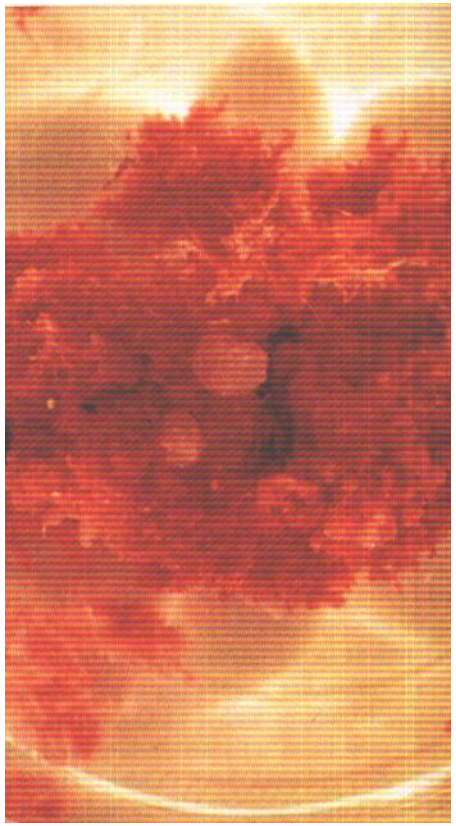




При триплоидии (3n) характер нарушения зависит от того, чьих хромосомных набора 2, а чьих один

2 от матери + 1 от отца – плод выглядит нормально, но плацента недоразвита

2 набора от отца + 1 от матери – маленький плод, но очень большая плацента



Пузырный занос

Анеуплоидии – изменение количества отдельных хромосом

- Чем меньше генов в хромосоме, тем вероятнее, что плод с анеуплоидией доживет до рождения.
- Абсолютное большинство погибает на ранних сроках беременности.

Примерное количество генов в хромосомах человека

Chromosome	Total number of gene loci
1	869
2	566
3	490
4	348
5	435
6	564
7	419
8	324
9	326
10	307
11	579
12	476
13	158
14	277
15	263
16	344
17	530
18	137
19	599
20	215
21	119
22	228
X	537
Y	46

Reproduced with permission from NCBI GenBank® OMIM Statistics. November 2004.

Анеуплоидии возникают при нарушениях расхождения хромосом

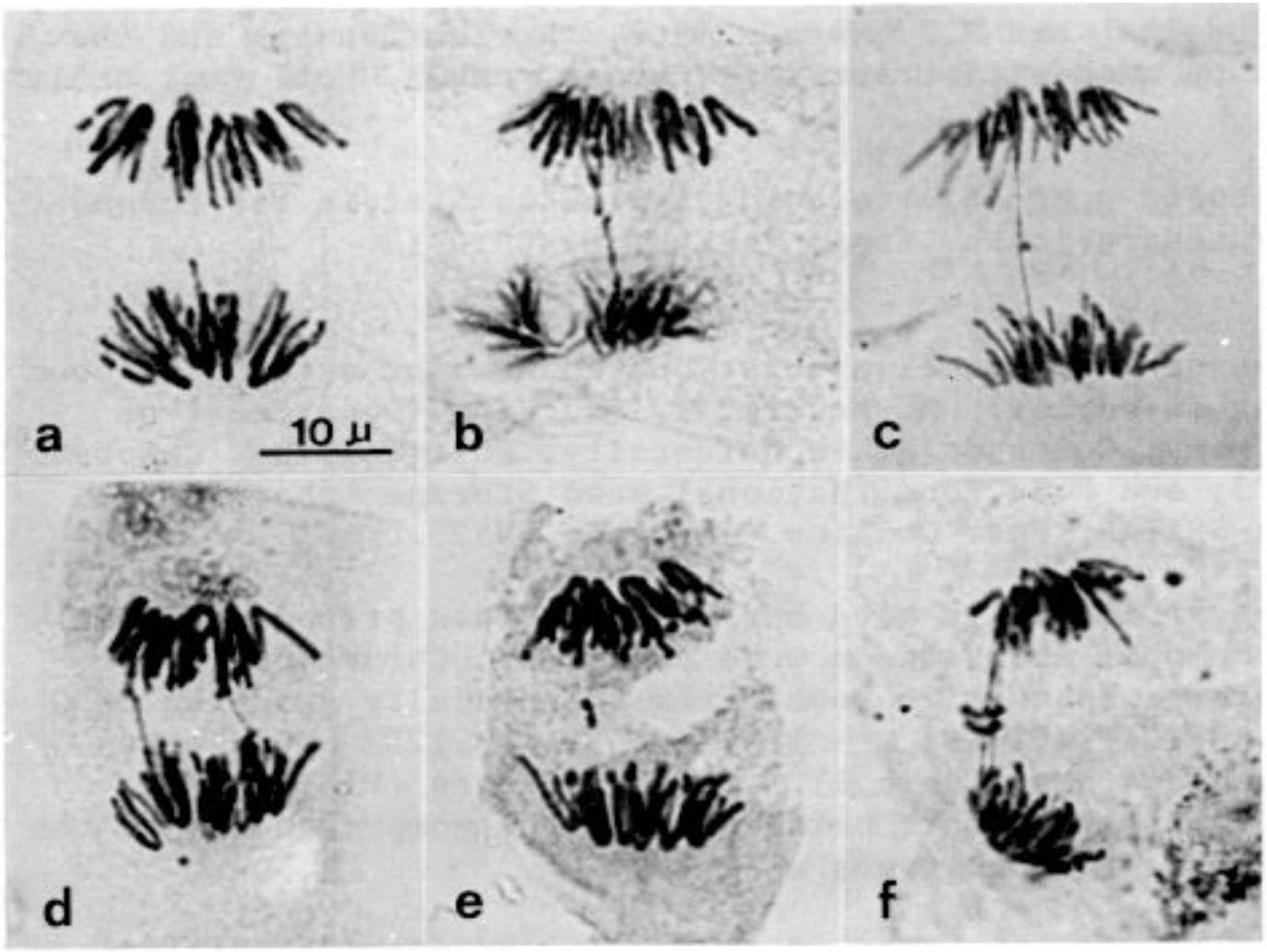
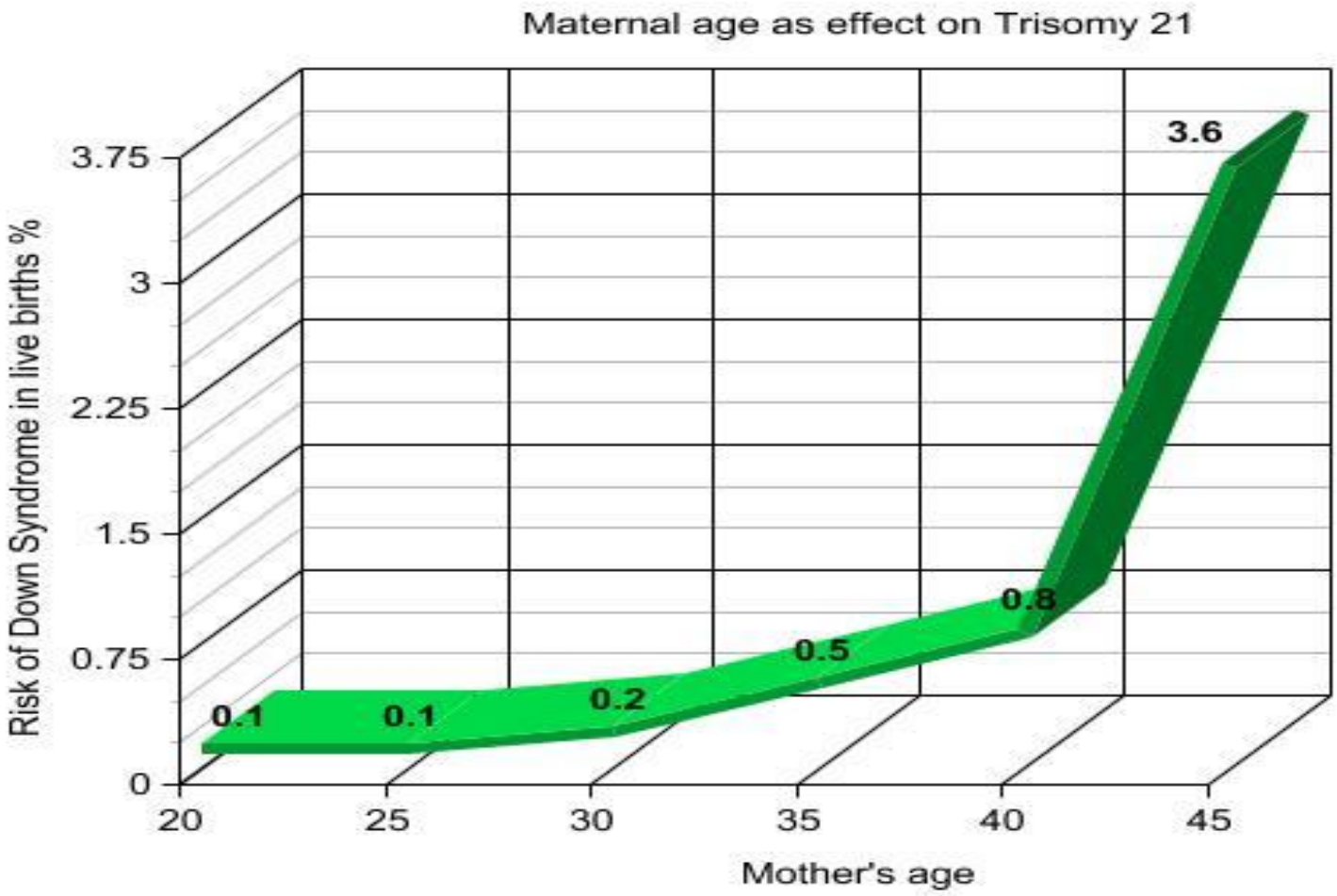


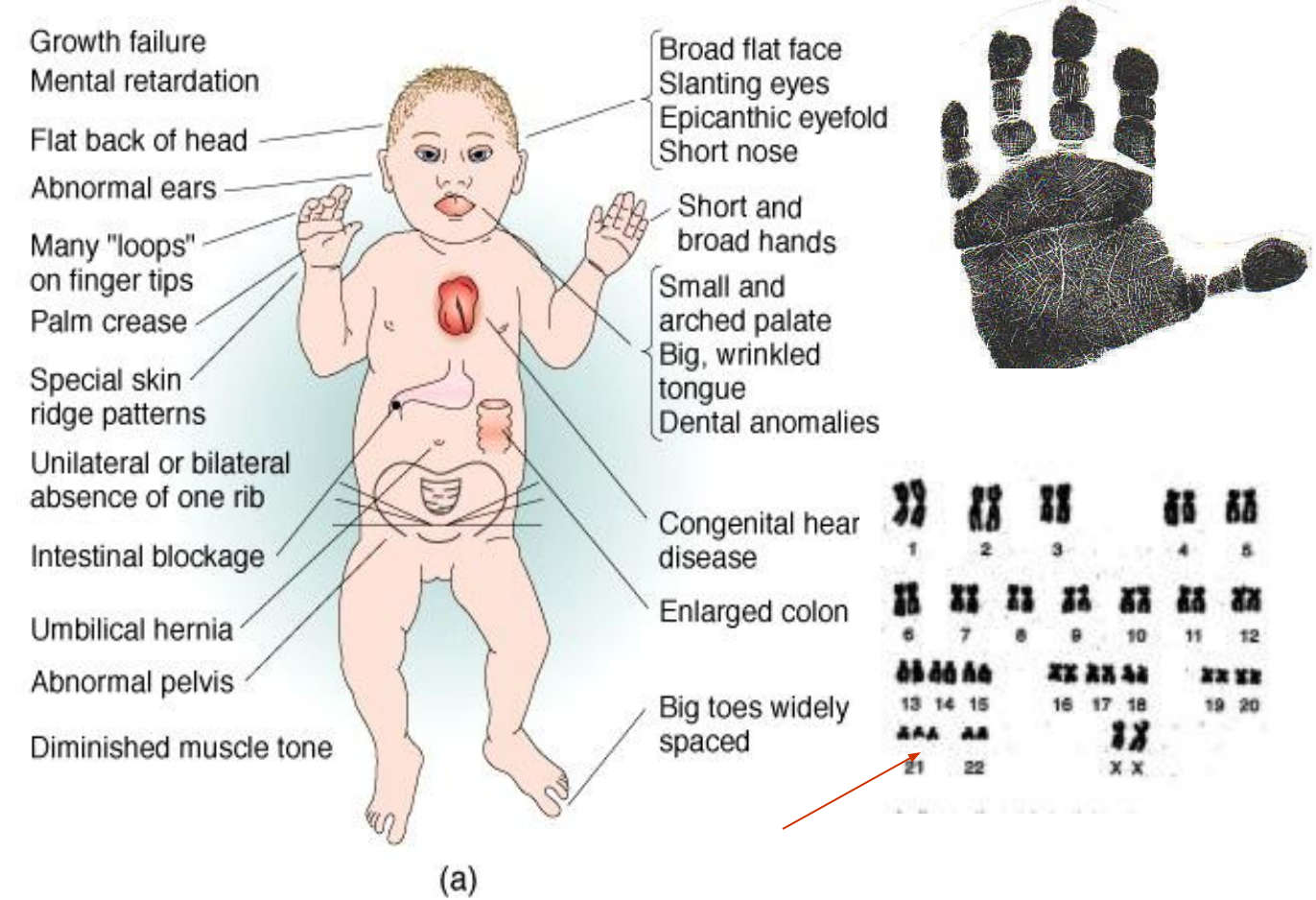
Figure 1. Chromosomal aberrations induced by artificial seed aging; a) normal; b, c) single bridge; d) double bridge; e) single fragment; f) double bridge and double fragment.

Есть связь между частотой анеуплоидии и возрастом матери



American Family Physician: Aug 15, 2000

Синдром Дауна-трисомия 21



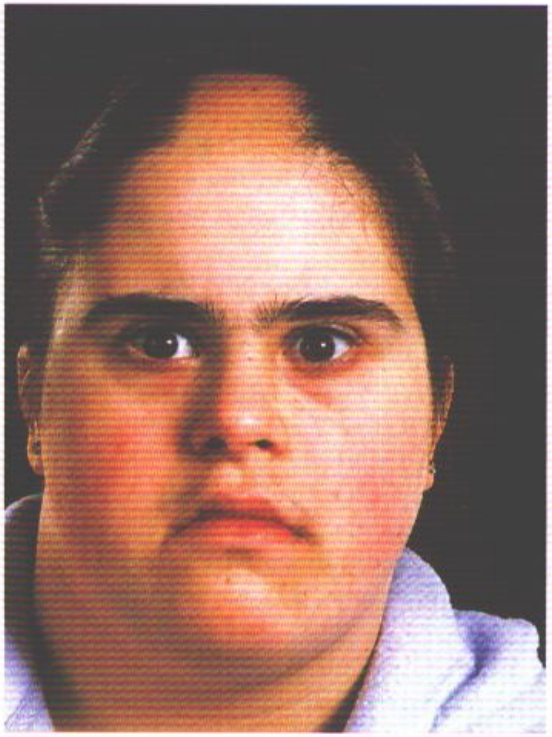


Fig. 3.1 Facial view of a young adult with Down syndrome.

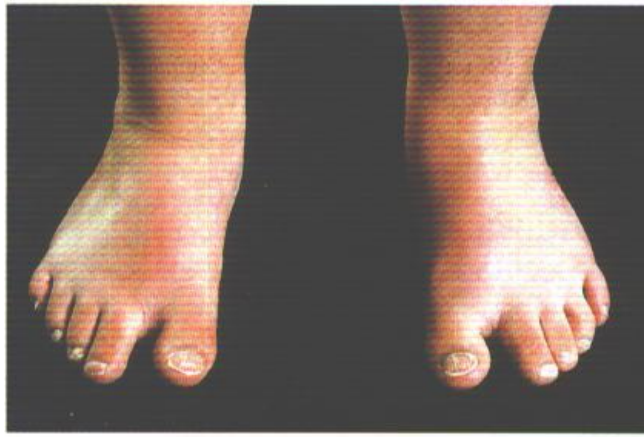
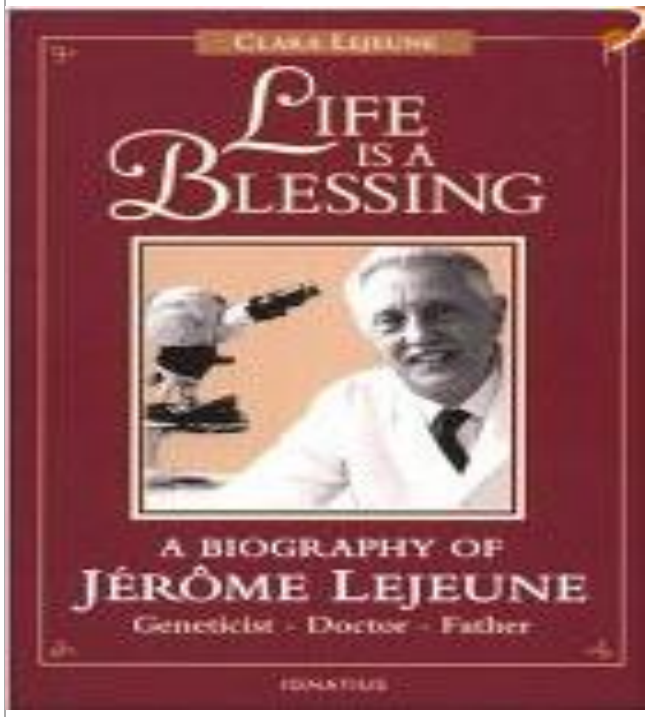


Fig. 3.2 View of the feet in an adult with Down syndrome show

Жером Лежен

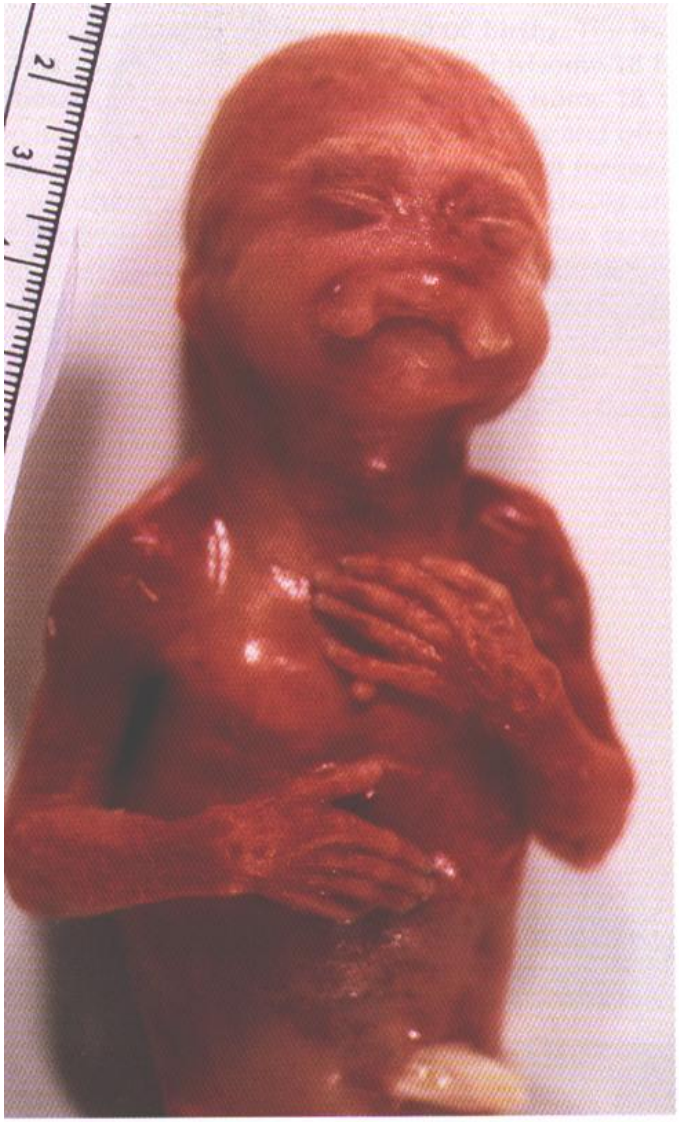
Объяснил синдром Дауна как хромосомную аномалию.
Впервые описал синдром кошачьего крика — иногда его называют «синдромом Лежена».

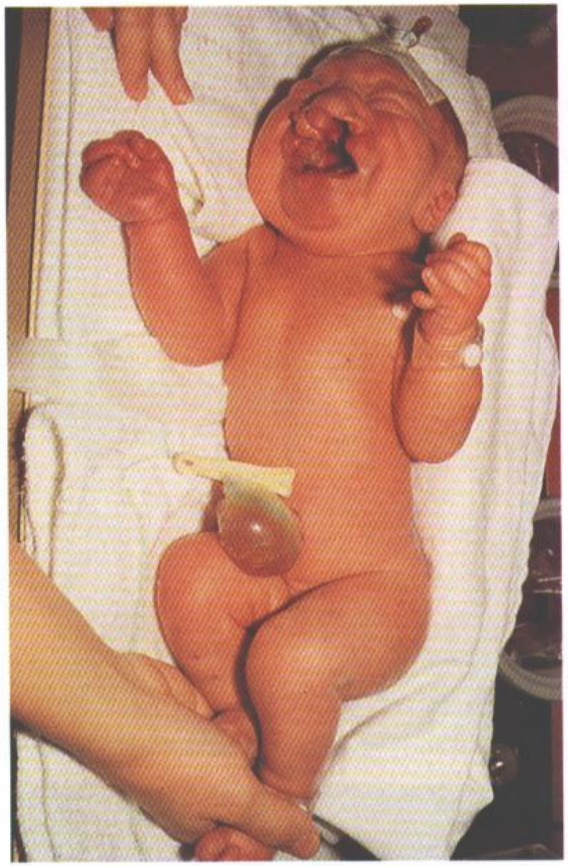
Жером Лежен	
фр. Jérôme Jean Louis Marie Lejeune	



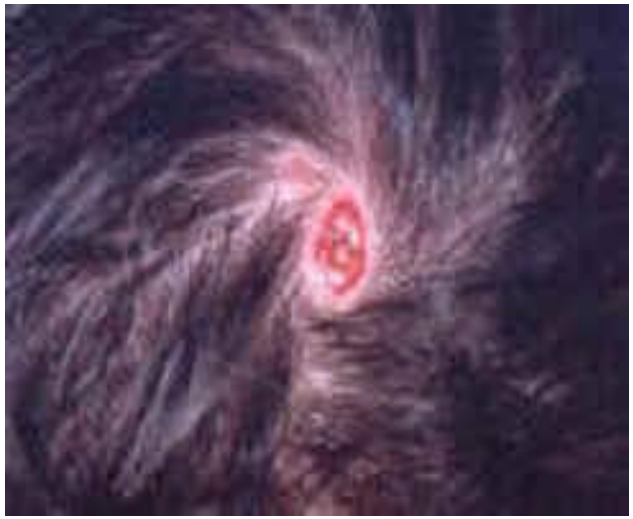
французский детский врач, генетик	
Дата рождения:	26 июня 1926
Место рождения:	пригород Парижа под названием Монтруж
Дата смерти:	3 апреля 1994
Место смерти:	Париж

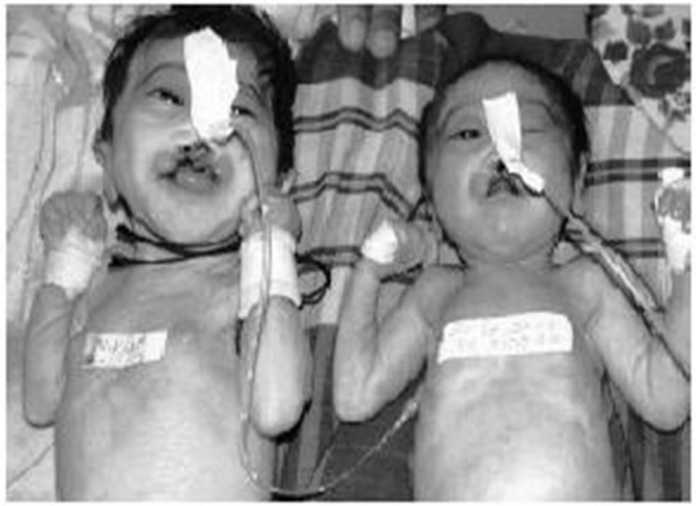
Синдром Патау, трисомия 13

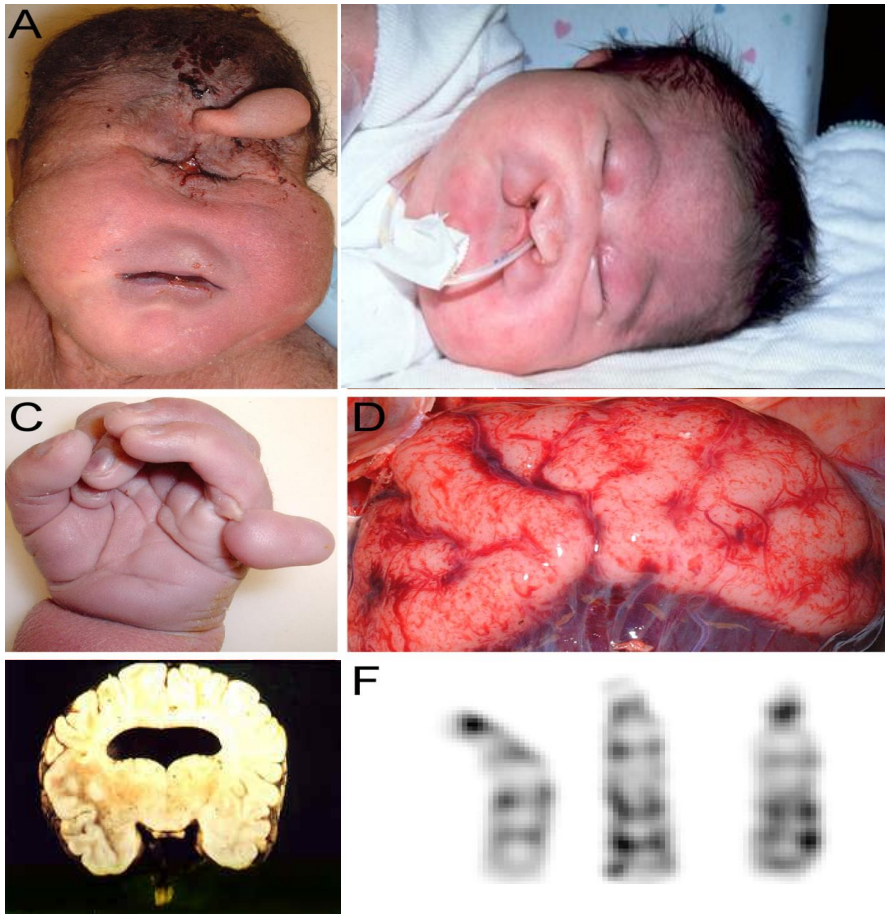




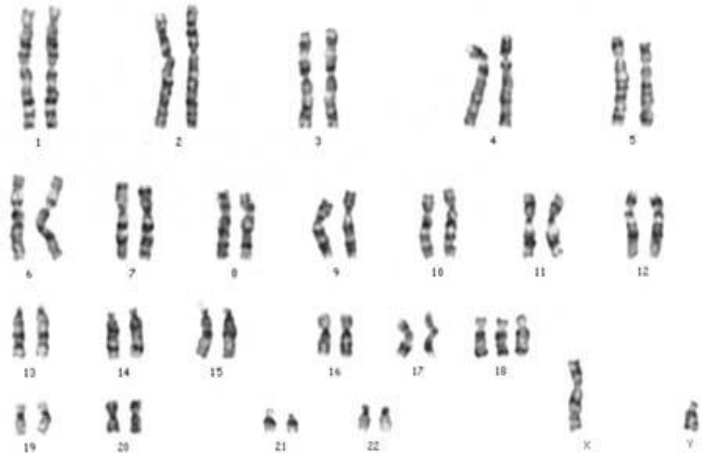
Трисомия 13 – синдром Патау

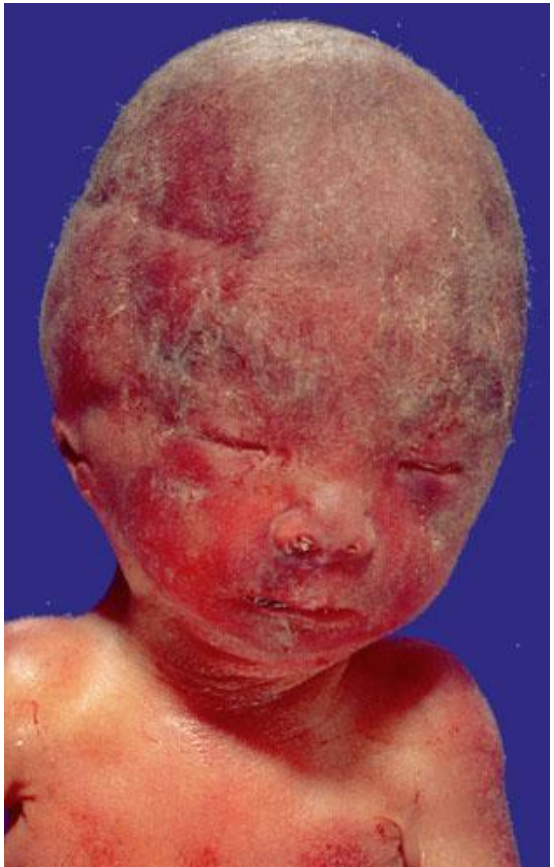


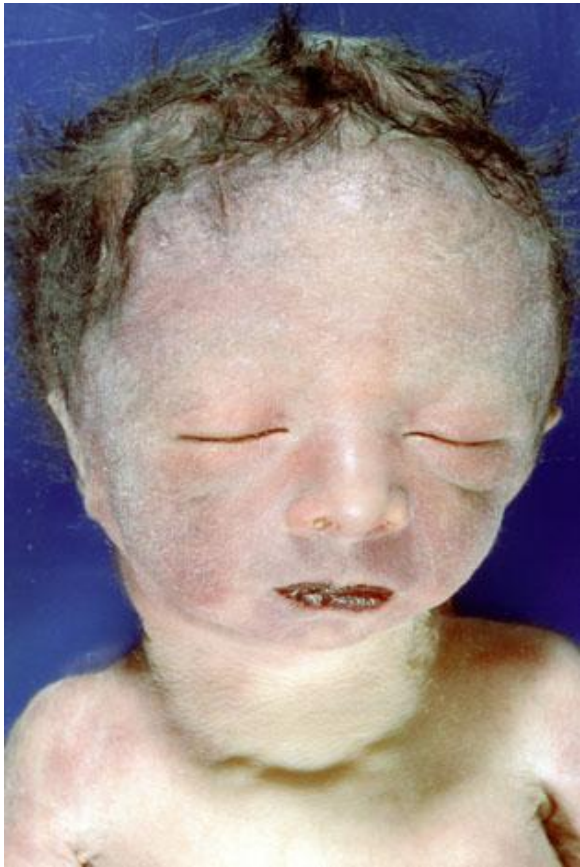




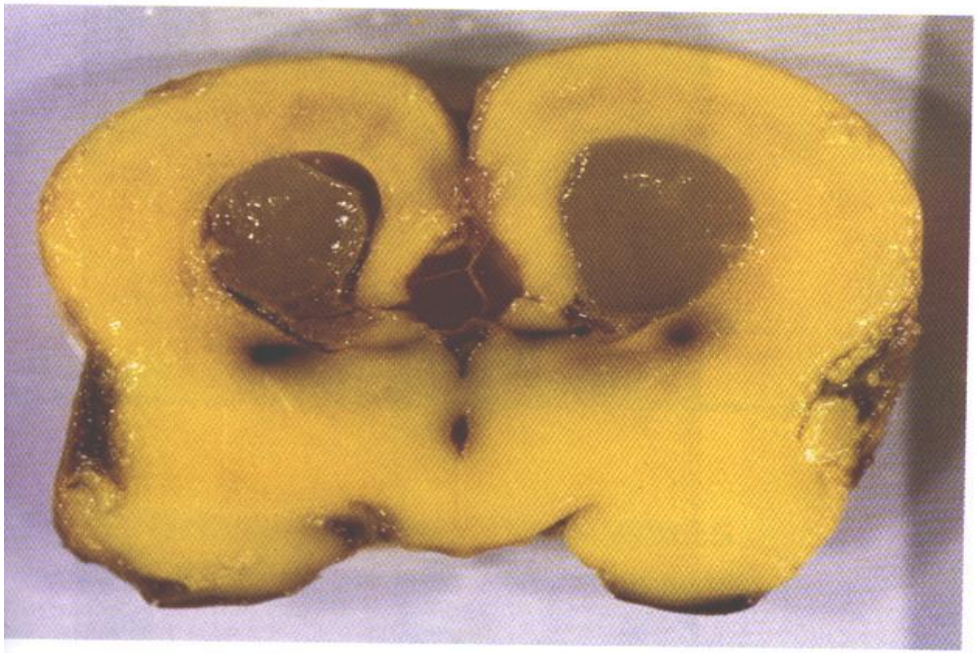
Трисомия 18 – синдром Эдвардса

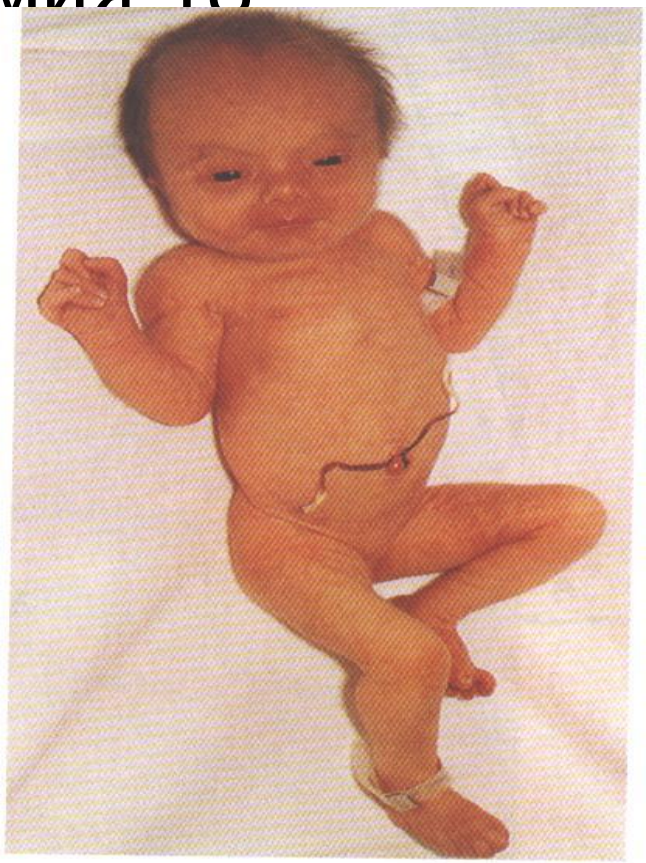


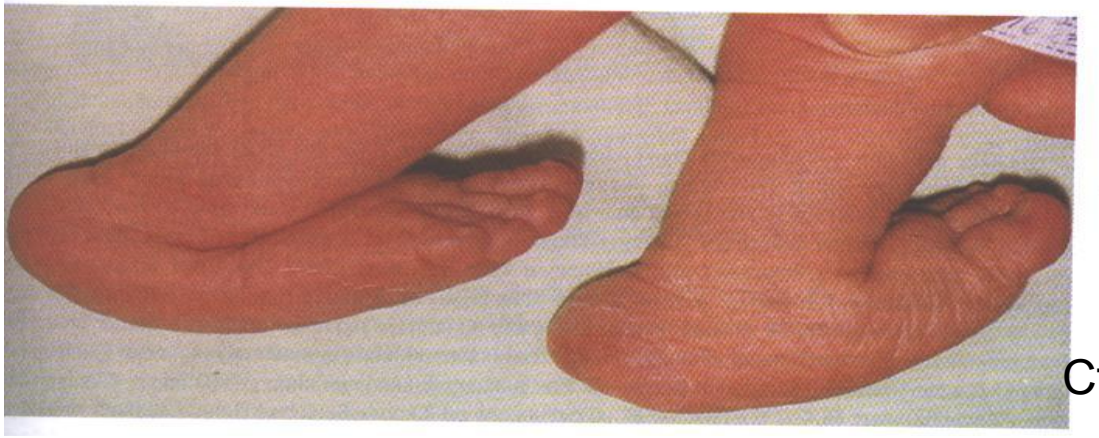




Синдром Эдвардса, трисомия 18

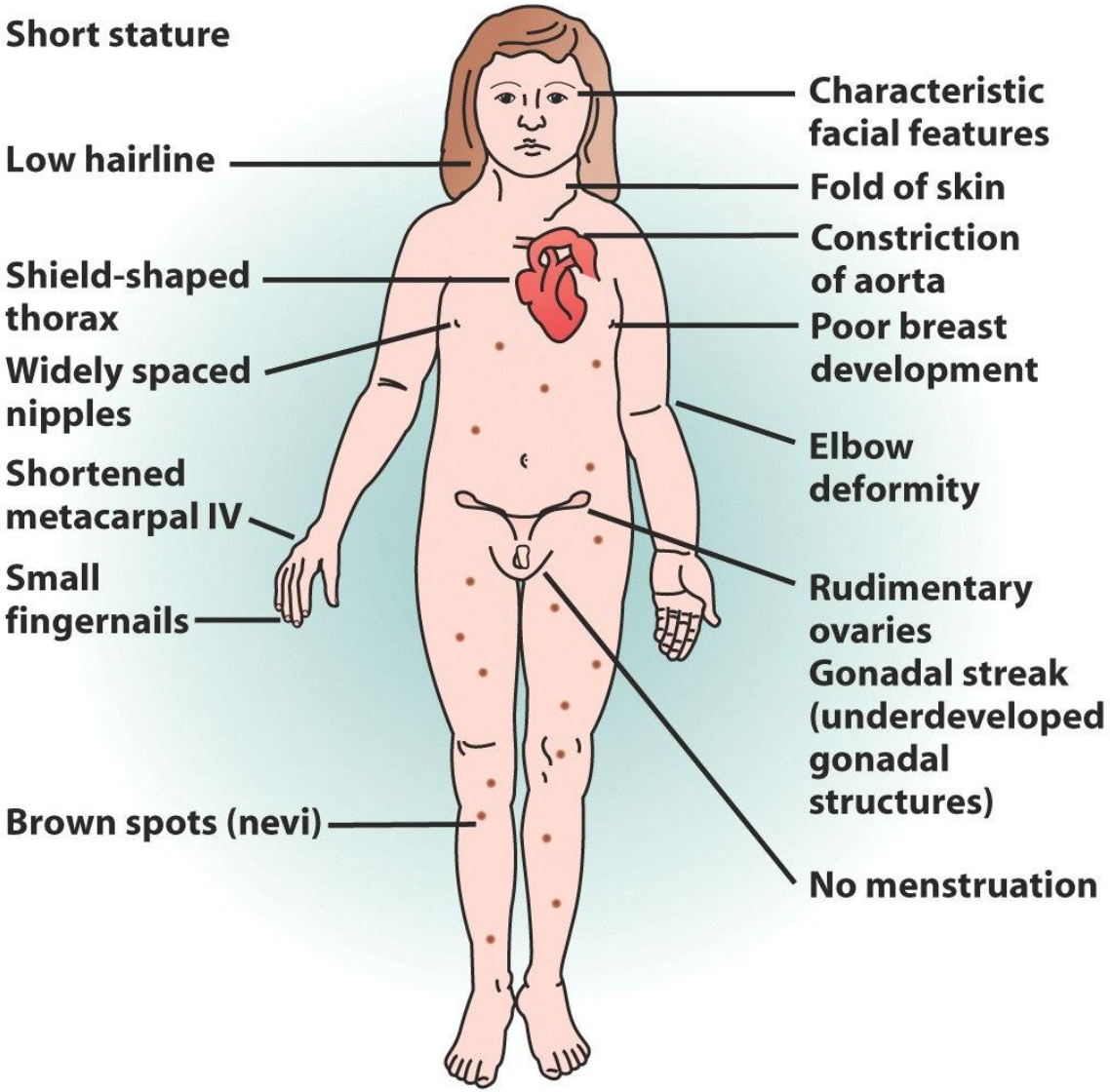


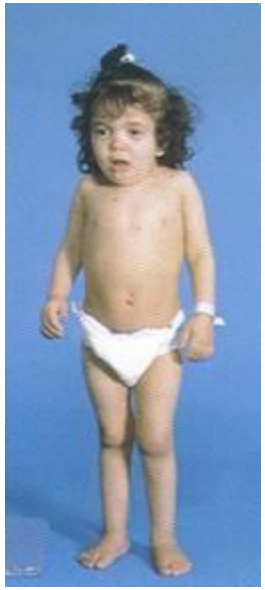




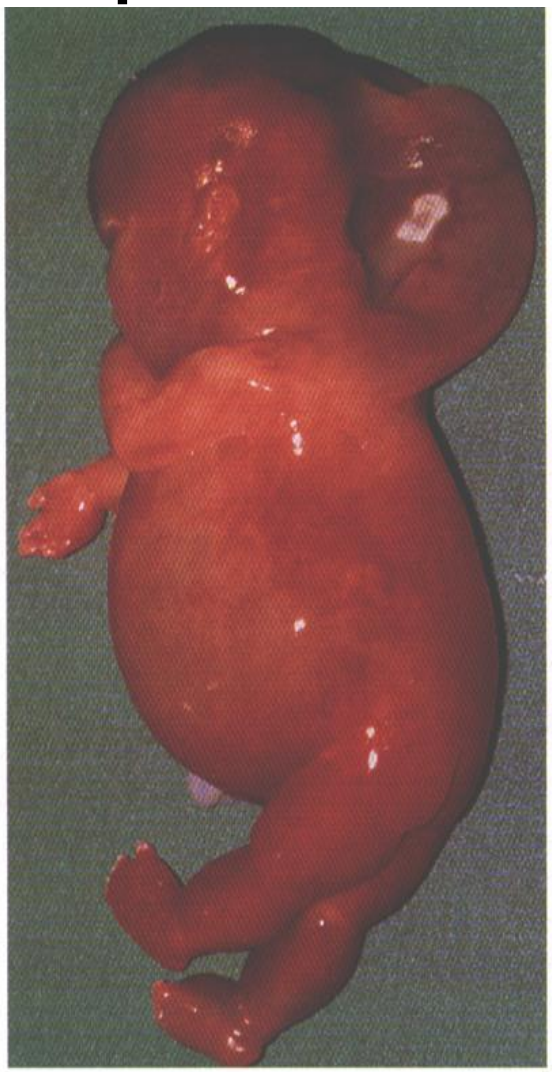
Стопа-качалка

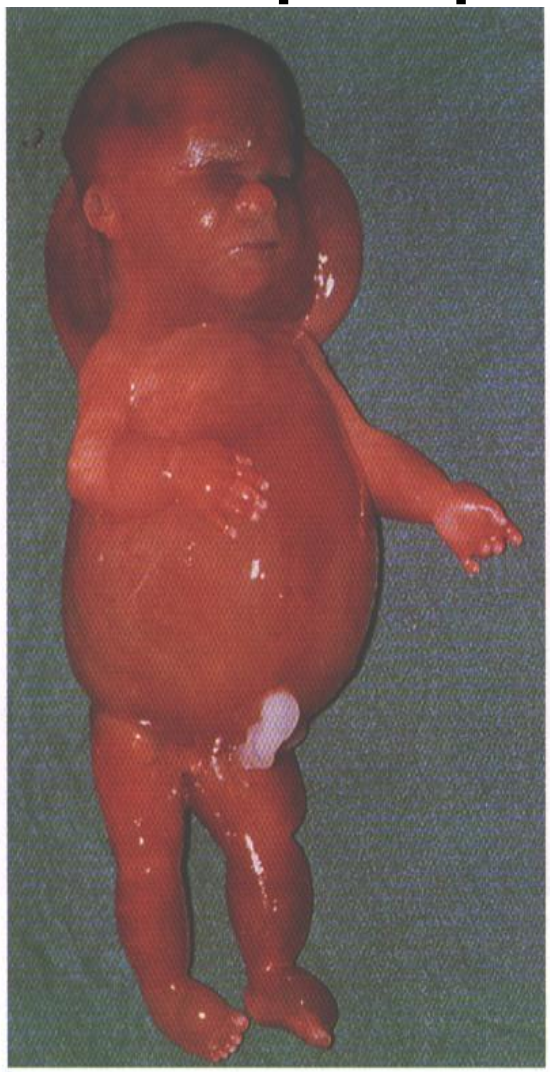
Синдром Шерешевского-Тернера, 45,XO



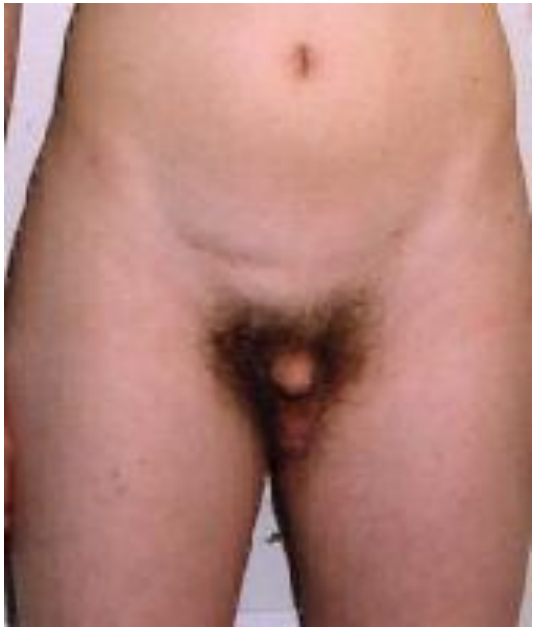


Плод с синдромом Шерешевского-Тёрнера

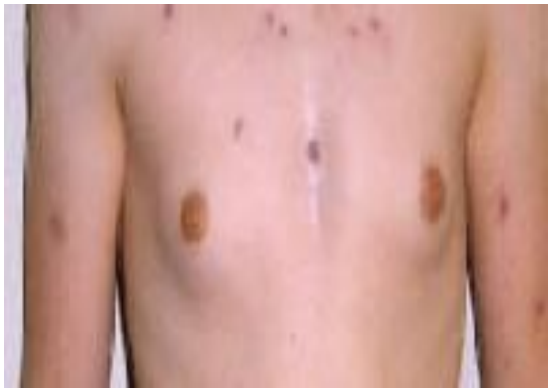




Синдром Клайнфелтера (более одной Х при наличии У)



Женский тип оволосения и гинекомастия



Анеуплоидии по половым хромосомам не приводят к тяжелым нарушениям развития благодаря способности Х хромосомы образовывать тельце Барра

Как записывается хромосомный диагноз

Примеры некоторых обозначения хромосомных перестроек - не для заучивания!

add = Addition material of unknown origin
del = Deletion
der = Derivative Chromosome
dic Dicentric
dup = Duplication
ins = Insertion
inv = Inversion
i или iso = Isochromosome
r = Ring chromosome
rcp = Reciprocal translocation
rob = Robertsonian translocation
t = translocation

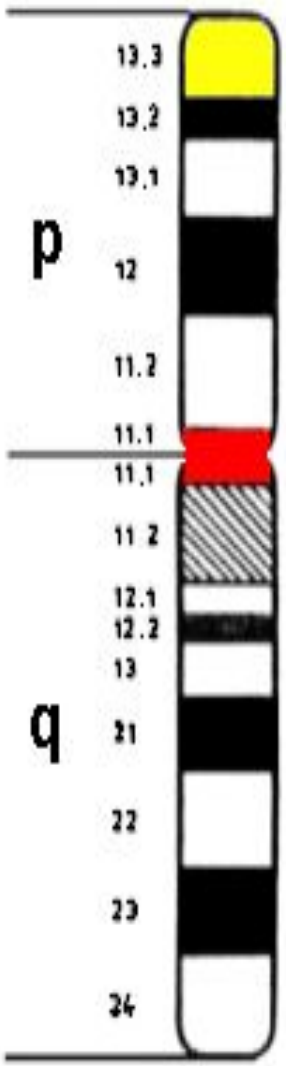
Примеры записи хромосомного диагноза

- **46,XX**
  46,XY
- **46,XX,del(14)(q23)**
- Female with 46 chromosomes with a deletion of chromosome 14 on the long arm (q) at band 23.
- **46,XY,dup(14)(q22q25)**
- Male with 46 chromosomes with a duplication of chromosome 14 on the long arm (q) involving bands 22 to 25.
- **46,XX,r(7)(p22q36)**
- Female with 46 chromosomes with a 7 chromosome ring. The end of the short arm (p22) has fused to the end of the long arm (q36) forming a circle or 'ring'
- **47,XY,+21**
- Male with 47 instead of 46 chromosomes and the extra chromosome is a 21. (Down Syndrome)

Хромосомные карты

- Генетические – где лежит какой ген
- Цитологические – по окраске
- Физические – основаны на точном расстоянии в базах, кило-, мега- и гига базах
- Рестрикционные – по местам рестрикции – разрезания специальными ферментами

- 1 сМ (сентиморган = морганида – единица расстояния между генами, при которой вероятность кроссинговера 1%, соответствует примерно 1 мегабазе
- Гаплоидный геном человека составляет примерно 3 300 000 000, т.е. 3300 сМ



16

Последовательности, распознаваемые разными рестриктазами

- EcoRI
- Г|ААТТЦ
- ЦТТАА|Г

- SmaI
- ЦЦЦ|ГГГ
- ГГГ|ЦЦЦ

Методы создания хромосомных карт

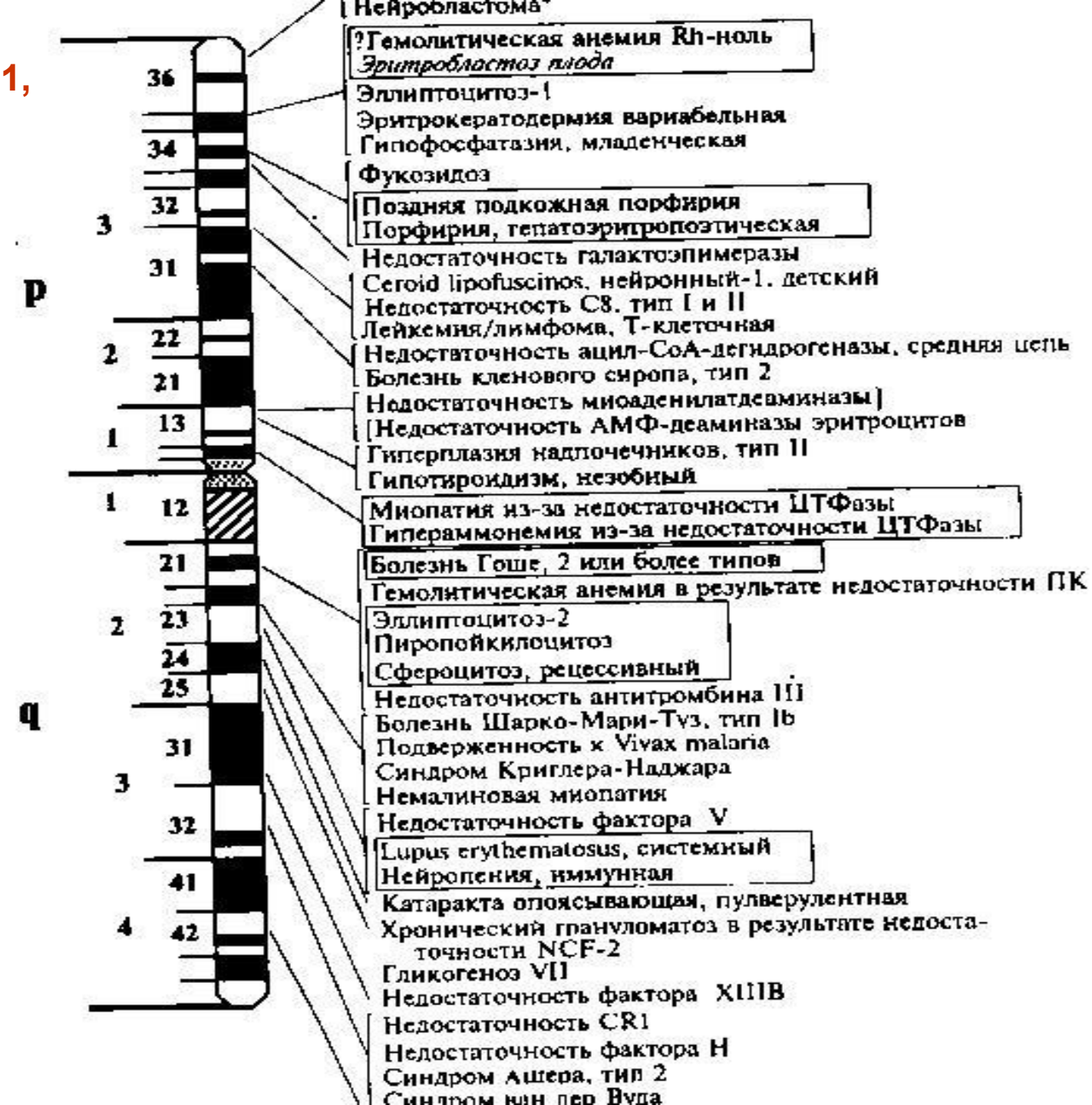
- Гибридологический
- Анализ родословных (генеалогический)
- Генетики соматических клеток
- ДНК-зондов

(но об этом поговорим потом)

Примеры карт хромосом человека

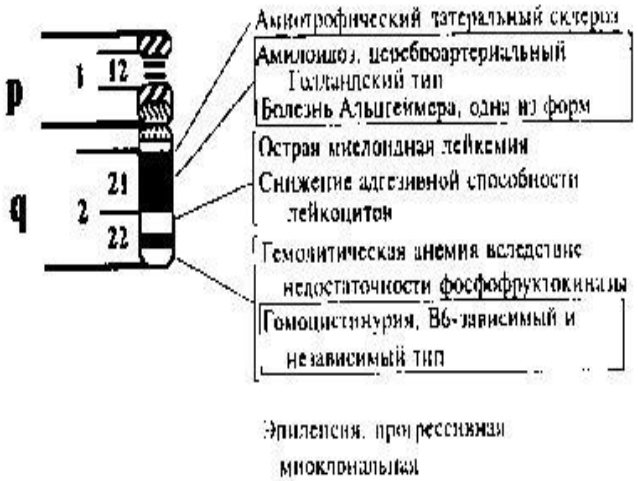
- Не для запоминания и зарисовки!

Карта хромосомы 1, самой большой



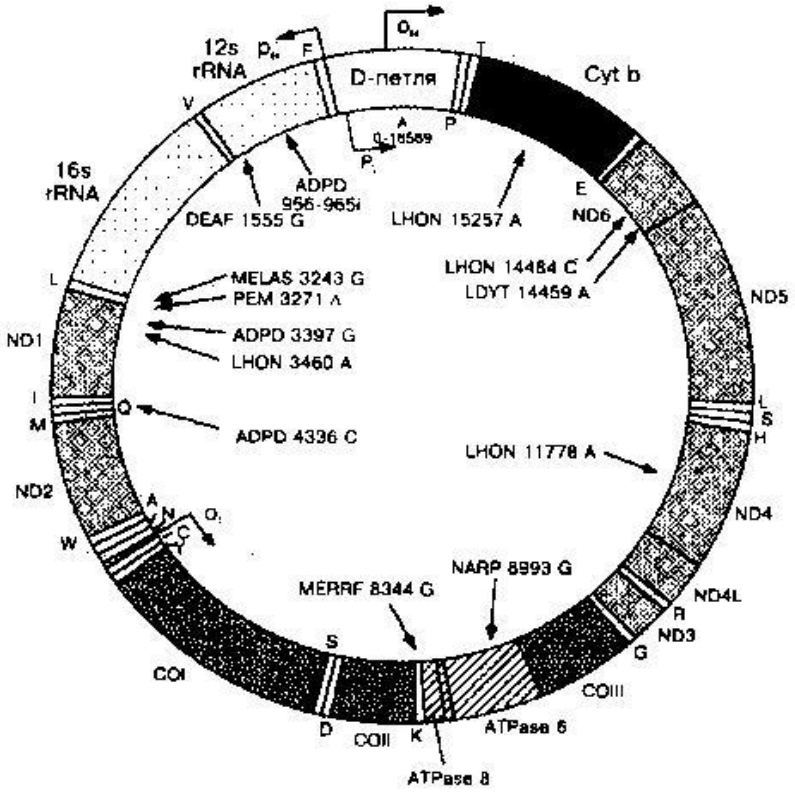
Карта хромосомы 21 и митохондриального генома

Хромосома 21



21q11.2	Миелопролиферативный синдром, транзиторный
21q22.3	Глухота, аутосомно-рецессивная 8
21q22.3	Синдром Дауна, критический регион

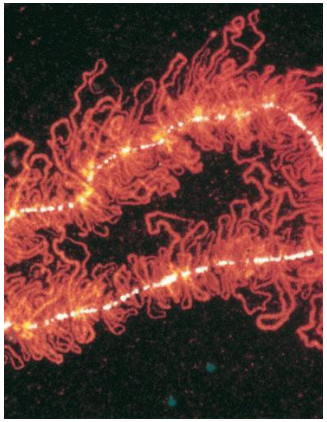
Митохондриальный геном (М-хромосома)

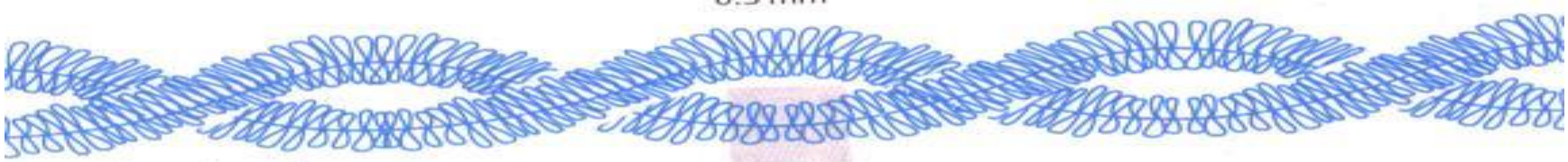


ADPD - Болезнь Альцгеймера/болезнь Паркинсона
DEAF - Нейросенсорная потеря слуха
LHON - Наследственная нейроофтальмолатия Лебера
LDYT - LHON и дистония
MELAS - Митохондриальная миопатия, энцефалопатия, молочнокислый ацидоз и приступы судорог
MERRF - Миоклональная эпилепсия в сочетании с необычно красными мышечными волокнами
NARP - Нейропатия, атаксия и пигментный ретинит
PEM - Летальная прогрессирующая энцефаломиопатия

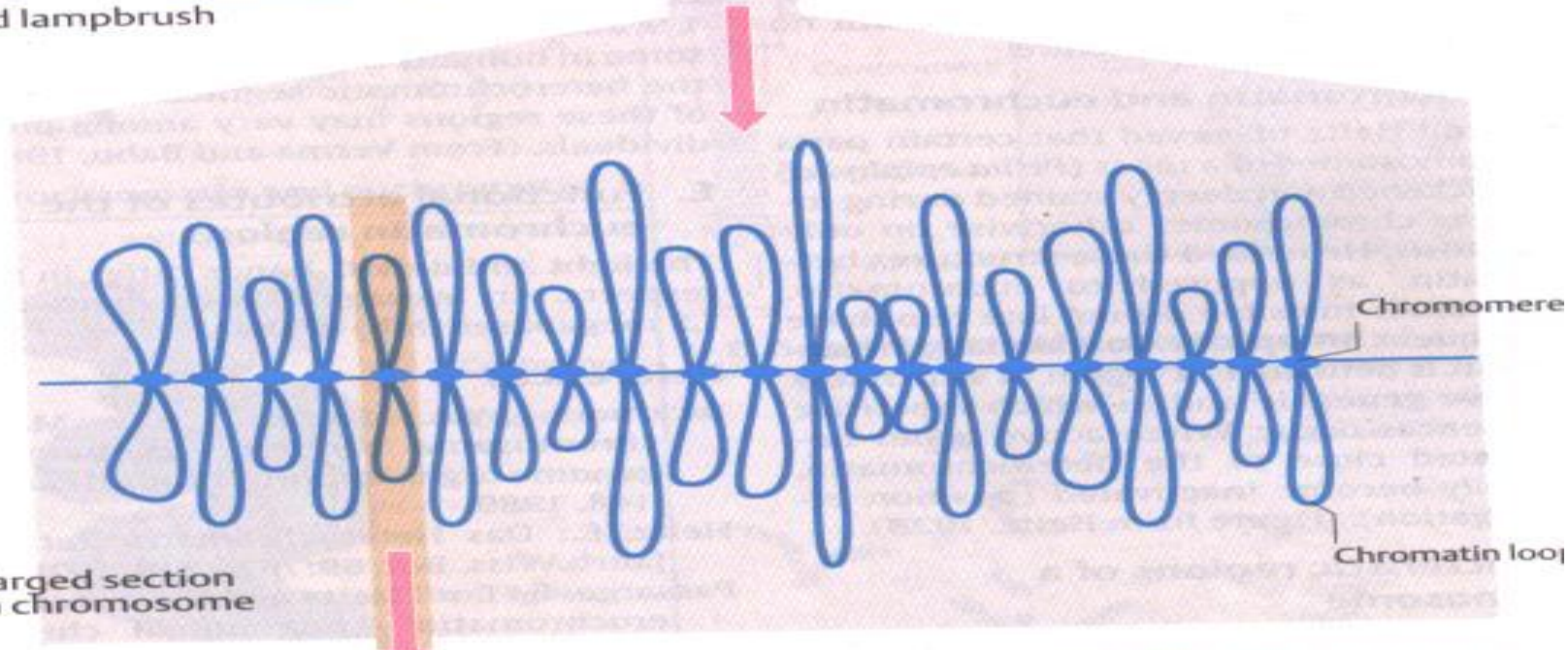
Необычные виды хромосом

- «ламповые щетки» (найдены в овоцитах амфибий)
- политенные хромосомы (в слюнных железах личинок двукрылых)

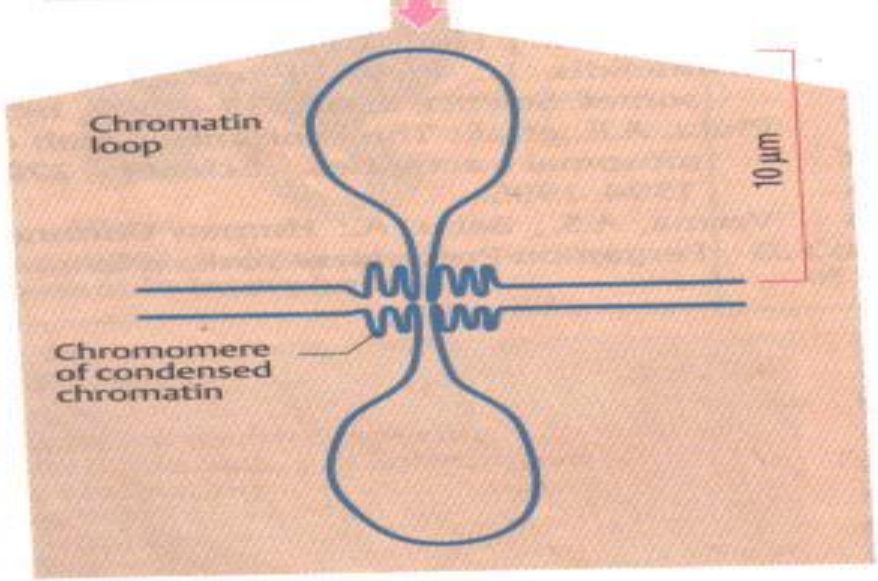




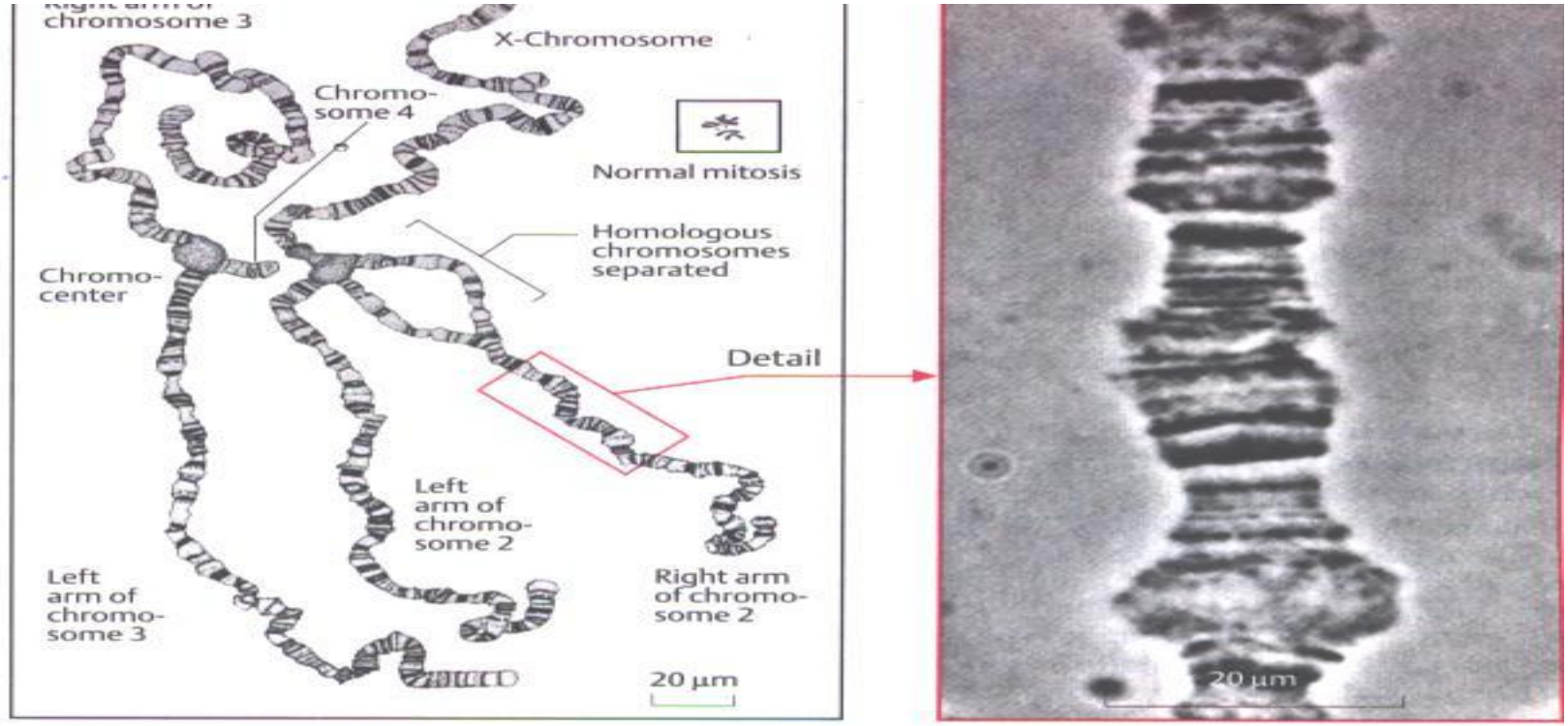
Paired lampbrush



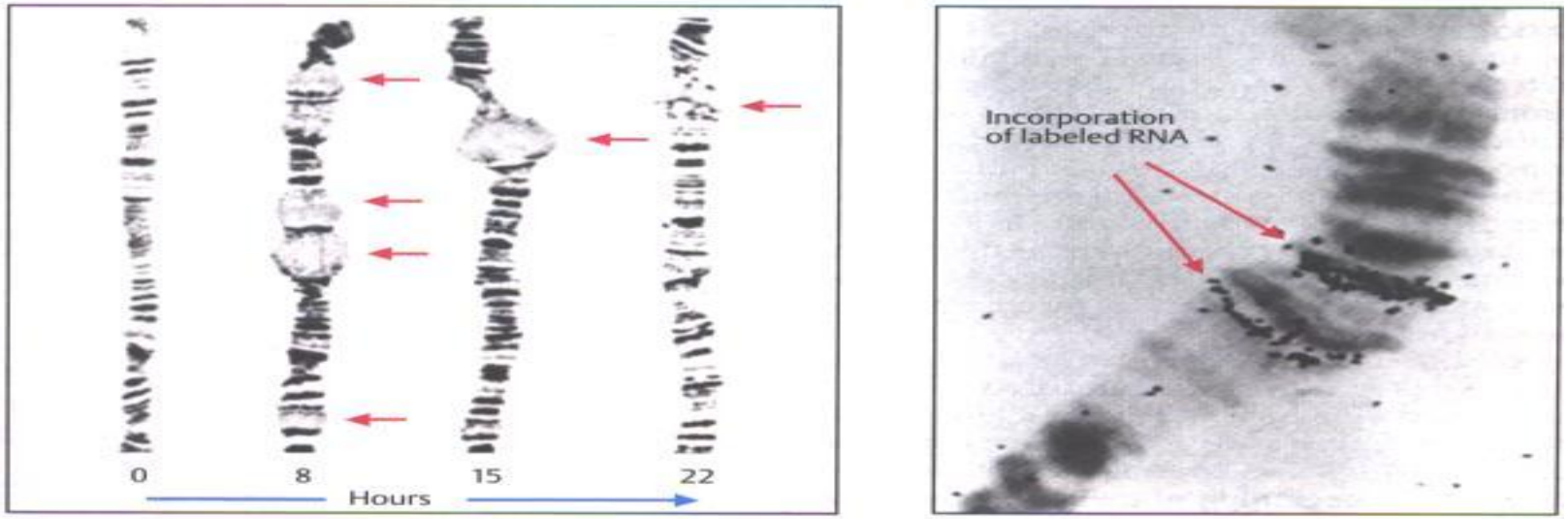
2. Enlarged section of a chromosome



4. Photograph of a



A. Polytene chromosomes in salivary glands of *Drosophila* larvae



Конец.
Спасибо за внимание!