

Занятие 23

Тема: Локализация генов на хромосомах. Методы картирования хромосом. Генетические и цитологические карты хромосом

Цель занятия: изучить принципы генетического картирования у эукариот, методы построения генетических и цитологических карт хромосом.

Вопросы, рассматриваемые на занятии:

1. Определение групп сцепления генов у дрозофилы и человека.
2. Генетические карты хромосом. Определение расстояния между генами на хромосоме по частоте рекомбинации.
3. Цитологические карты хромосом и их сопоставление с генетическими картами.
4. Использование метода гибридизации *in situ* для локализации генов на картах хромосом.
5. Метод гибридизации соматических клеток человека и грызунов для построения цитологических карт.

Формируемые понятия: генетический анализ, генетические карты хромосом, цитологические карты хромосом, метод гибридизации *in situ*, метод гибридизации соматических клеток.

Ученые, работавшие (работающие) в данном направлении:
А. Стёрвант, Т. Морган, Дж. Холдейн, В. Арбер, Х. Смит, Д. Натанс.

Некоторые аспекты темы:

Генетический анализ ставит своей задачей детальное изучение генов организмов: последовательности нуклеотидов в их ДНК, структуры генов и регуляцию их экспрессии в онтогенезе. Сведения о локализации гена в конкретной хромосоме (группе сцепления) и о его генетическом окружении также чрезвычайно важны, их получают, проводя картирование генов на хромосомах. Для построения генетических карт хромосом необходимо определить частоту кроссинговера между генами, которая и является мерилем расстояния между ними. Зная частоту рекомбинации между тремя генами, их можно расположить, пользуясь правилом аддитивности, в линейной последовательности. Генетическое расстояние, при котором кроссинговер происходит с частотой 1 %, является единицей измерения генетической карты и называется морганидой или сантиморганом (сМ).

Принцип построения генетической карты хромосом демонстрируют следующие задачи.

1. В таблице приведены результаты анализирующего скрещивания тригетерозиготы $AaBbCc$, полученной от гомозиготных родителей $AABBCC$ и $aabvcc$. Определите расстояния между генами A , B и C , локализованными в одной хромосоме.

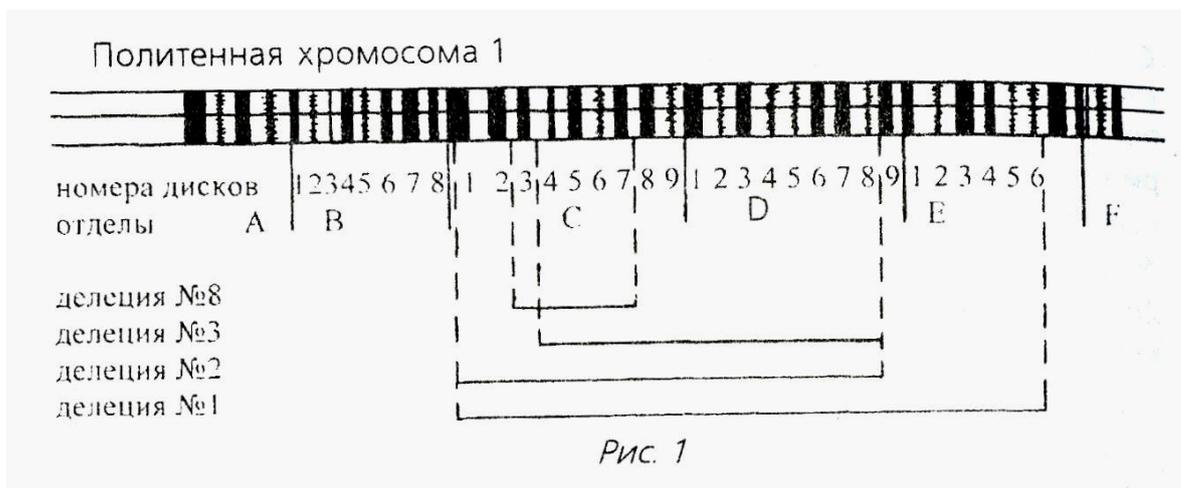
2. В одной из групп сцепления у кукурузы расположены гены s -полосатых листьев, a - устойчивости к кобылкам, m - мужской стерильности, P - окраски стержня початка. Ген a дает 11 % кроссоверных гамет с геном m , 14 % — с геном P и 13 % — с геном 5. В свою очередь, ген m с геном P дает 3 % кроссинговера, а с геном s - 24%. Постройте карту хромосомы и определите место положения каждого

гена.

№ п/п	Вид обмена	Типы гамет	Фенотипы	Количество особей	% некроссоверов и кроссоверов
1	-	<i>ABC авс</i>	<i>ABC/авс авс/авс</i>	280 280	56
2	Одинарный, между генами <i>A</i> и <i>B</i>	<i>Авс аВС</i>	<i>Авс/авс аВС/авс</i>	130 130	26
3	Одинарный, между генами <i>B</i> и <i>C</i>	<i>АВс авС</i>	<i>АВс/авс авС/авс</i>	70 70	14
4	Двойной	<i>АвС авс</i>	<i>АвС/авс авс/авс</i>	20 20	4

Цитологические карты хромосом можно построить для объектов, имеющих хорошо различимую в световой микроскоп продельную дифференцировку хромосом (по хромомерам у кукурузы, дискам и междисковым участкам политенных хромосом у двукрылых, полоскам дифференциально окрашенных хромосом у человека). Для сопоставления цитологических и генетических карт политенных хромосом дрозофилы применяют цитологический и гибридологический анализ мутантов с различными перестройками хромосом.

Пример 3. При картировании сцепленного с полом гена *w* (окраска глаз) дрозофилы с белоглазыми самцами скрещивали красноглазых самок, гетерозиготных по делеции *Notch*, которая также локализована в X –хромосоме, определяет вырезку на крыле и оказывает рецессивный летальный эффект. Использовали набор делеций разной протяженности (рис.1). В потомстве от скрещивания самок с делециями № 1, № 2 или № 8 появлялись белоглазые самки, при скрещивании самки с делецией № 3 их не было. Укажите участок хромосомы, в котором локализован ген *w*.



Для локализации генов в хромосомах человека используют молекулярно-генетические методы (гибридизация *in situ*, блот-гибридизация по Саузерну). Это возможно, если ген клонирован и известна его нуклеотидная последовательность или если с помощью реакции обратной транскрипции получают кДНК гена. Успешным оказался способ локализации генов в хромосомах с помощью гибридации соматических клеток человека и грызунов с последующим биохимическим и цитологическим анализом клонов. После гибридации в клетках гибридов

человек/мышь происходит утрата части хромосом человека. Разные гибридные клоны поэтому могут содержать различный набор хромосом человека. Культивируя такие клоны, изучают их свойства, например: активность некоторых ферментов, устойчивость к токсическим соединениям и т. п. Сопоставляя данные кариотипирования и биохимического анализа, можно локализовать гены в конкретных хромосомах, как в приводимом примере.

4. На основании характеристики трех гибридных клонов, приведенной в таблице, определите, в каких хромосомах человека локализованы гены, контролируемые активностью четырех ферментов — *a*, *b*, *c*, *d*

		КЛОНЫ		
		I	II	III
ФЕРМЕНТЫ	<i>a</i>	+	+	+
	<i>b</i>	+	+	+
	<i>c</i>	-	-	
	<i>d</i>	+	+	+
ХРОМОСОМЫ ЧЕЛОВЕКА	2	+	+	-
	3	+	+	+
	4	+		+
	10	-	+	-
	12	-	-	+

Другой способ локализации генов основан на получении гибридных клонов после мутагенеза хромосом человека для индукции в них перестроек разного типа. Если получить набор клонов, содержащих, например, X-хромосому человека с различными делециями, и провести анализ этих клонов на активность ряда ферментов, можно локализовать гены этих ферментов в определенных участках хромосомы, например:

5. В таблице приведены данные о наличии (+) или отсутствии (-) активности трех ферментов (*a*, *b*, *c*) в клетках гибридных клонов № 1-4, содержащих разные по строению длинные плечи X-хромосомы человека, окрашенные дифференциально. В каких сегментах хромосомы находятся гены, кодирующие ферменты?

КЛОНЫ		1	2	3	4
X-хромосома					
ФЕРМЕНТЫ:	<i>a</i>	+	+	+	-
	<i>b</i>	+	+	-	-
	<i>c</i>	+	-	-	-

Ограничения рассмотренных методов очевидны. Они позволяют локализовать только гены, проявляющие активность при культивировании клеток и поэтому легко селективируемые. В настоящее время основной метод картирования генов человека - анализ их сцепления с маркерными участками ДНК (например, повторами в геноме), обнаруженными в ходе выполнения программы «Геном человека» на каждой из хромосом человека. Расстояния между маркерами установлены по частоте их рекомбинации, которую можно определить на основе анализа родословных человека.

Самостоятельная работа.

Задача 1. Гены C, D, L, M, N находятся соответственно на 17,2; 18,9; 30,1; 35; 39,8 сМ генетической карты. С какой частотой происходит кроссинговер между генами M и D ?

Задача 2. Ген B находится между генами A и C , от гена A на расстоянии 3 морганид, от C — 10 морганид. По результатам анализирующего скрещивания дигетерозиготы $AaCc$ частота кроссинговера между генами A и C равна 12 %. Чем это объяснить? Какие генотипы будут иметь особи, возникающие от двойного кроссинговера у тригетерозиготы $ABc \backslash \backslash aBc$? Или у гетерозиготы $AbC \backslash \backslash aBc$?

Задача 3. Постройте фрагмент генетической карты, если по результатам скрещиваний установлены следующие частоты кроссинговера между парами генов: A и B - 3 %, A и C - 4 %, A и K - 6 %, A и M - 8 %, B и C - 1 %, B и K - 9 %, B и M - 5 %, K и M - 14 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жимулев И.Ф. Общая и молекулярная генетика. — Новосибирск: Сиб. унив. Изд-во, 2003.
2. Генетика. Под ред. Иванова В.И. Учебник для вузов. - М.: Академкнига, 2006. - 638 с.: ил.
3. Инге-Вечтомов С.П. Генетика с основами селекции. — М.: Высш.шк., 1989.
4. Алиханян С.И. и др. Общая генетика. — М.: Высш. шк., 1987.
5. Айала Ф.Дж., Кайгер Дж. Современная генетика. — М.: Мир, 1987.
6. Орлова Н.Н. Генетический анализ. - М.: Изд-во МГУ, 1991.