

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Медико-биологический факультет

Кафедра Молекулярной биологии и генетики

РЕФЕРАТ

по дисциплине «Методы и объекты генетического анализа»

Тема:

«Нарушение нормальной конъюгации гомологичных хромосом и
негомологичное спаривание.»

Студентка гр. 301 _____ Ржевская А.Э.

Преподаватель _____ Замарин А.А.

Волгоград – 2021

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение.	3
2. Конъюгация.	4
3. Кроссинговер.	6
4. Нарушение нормальной конъюгации гомологичных хромосом и негомологичное спаривание.	7
4.1 Опыты на дрозофилах.	8
4.2 Полученные данные.	10
4.3 Объяснение полученных результатов.	12
5. Заключение.	14
6. Список литературных источников.	15

1. Введение.

Основой для изучения влияния разных событий в мейозе (конъюгации, кроссинговера и расхождения хромосом) являются эксперименты, в которых обнаруживаются систематические нарушения расщеплений, сопровождающиеся увеличением стерильности, появлением анеуплоидов и т. п.

Систематическое отклонение в расщеплении заключается в увеличении или уменьшения числа наблюдаемых фенотипических (генетических) классов в модельных расщеплениях и/или в наличии статистически значимых отклонений в соотношении фенотипических (генетических) классов по сравнению с теоретически ожидаемым.

2. Конъюгация.

КОНЬЮГАЦИЯ (от лат. conjugatio – соединение)- это

- форма полового процесса, при котором не происходит образования специальных половых клеток (гамет).

У водорослей (некоторые зелёные и диатомовые) и низших грибов – слияние содержимого двух внешне сходных безжгутиковых клеток.

У инфузории – временное соединение двух особей (сторонами, где находится ротовое отверстие), при котором они обмениваются частично или полностью генеративными ядрами – микронуклеусами и цитоплазмой. В результате К. меняется генотип и физиологич. состояние особей.

У бактерий при конъюгации 2 бактериальные клетки соединяются временным цитоплазматическим мостиком, через который происходит однонаправленный перенос генетического материала (отрезка нити ДНК) от одной бактериальной клетки (донора) к другой (реципиенту).

- Конъюгация хромосом – попарное временное сближение гомологичных хромосом в процессе редукционного клеточного деления (мейоза), во время которого между ними может произойти обмен участками – кроссинговер. После конъюгации хромосомы расходятся.

Процесс конъюгации у бактерий обнаружили Дж. Ледерберг и Э. Татум в 1946 г. Они провели следующий эксперимент. Были отобраны два ауксотрофных мутантных штамма *E. coli* K-12: не способный синтезировать метионин и биотин штамм Met⁻ Bio⁻ и не способный синтезировать треонин и лейцин штамм Thr⁻ Leu⁻. Оба штамма в течение ночи выращивали вместе на полноценной среде. Затем смешанную культуру центрифугировали, отмывали от полноценной среды и высевали на минимальную питательную среду. На минимальной питательной среде без метионина, биотина, треонина и лейцина появились прототрофные колонии Met⁺ Bio⁺ Thr⁺ Leu⁺ с частотой около

1 на каждые 10^7 клеток. Дополнительные опыты показали, что ни трансформации, ни трансдукции в данном случае не происходило. Из этого следовало, что образование рекомбинант-ных геномов происходило в результате контакта родительских клеток. Вскоре были получены микрофотографии конъюгирующ-их бактерий кишечной палочки, которые свидетельствовали о том, что между бактериями при конъюгации образуется цито-плазматический мостик.

3. Кроссинговер.

Кроссинговер (от англ. crossing over — пересечение) — процесс обмена участками гомологичных хромосом во время конъюгации в профазе первого деления мейоза, которое происходит, например, при образовании гамет или спор. Помимо мейотического, описан также митотический кроссинговер.

Чем больше расстояние между генами в хромосомах, тем выше вероятность перекреста и больше количество гамет, образованных в результате рекомбинации генов. Частота кроссинговера пропорциональна расстоянию, на котором находятся гены друг от друга. Основное биологическое значение кроссинговера — в увеличении комбинативной изменчивости, которая дает материал для естественного отбора. Если говорить о количестве, то расстояние между генами коррелирует с частотой, с которой появляются кроссинговерные организмы. В примере выше этот показатель равен 17%. Это расстояние описывает силу сцепления и обозначается процентами рекомбинации кроссинговера или морганидами.

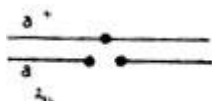
Чем ближе друг к другу находятся гены, тем реже между ними происходит кроссинговер, поэтому на основе частот кроссинговера можно судить о взаимном расположении генов и расстоянии между ними, то есть картировать гены. Кроссинговер был описан в 1911 году американским генетиком Томасом Хантом Морганом и его студентом и сотрудником Альфредом Стёртевантом у плодовой мушки *Drosophila melanogaster*. В 1913 году Стёртевант начал составление генетических карт на основании частот кроссинговера. В 1933 году Морган стал лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине «За открытия, связанные с ролью хромосом в наследственности».

4. Нарушение нормальной конъюгации гомологичных хромосом и негомологичное спаривание.

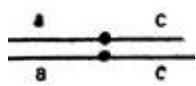
До недавнего времени считалось, что расхождение хромосом определяется кроссинговером, обусловленным конъюгацией гомологов. Для выяснения связи между процессами конъюгации, кроссинговера и расхождения хромосом Чадовым и сотрудниками были проведены исследования, показавшие, что частичный асинапсис (асинапсис - отсутствие конъюгации хромосом в мейозе, приводящее к беспорядочному распределению хромосом между гаметам с возможным отклонением их числа в каждой гамете от нормы) гомологов приводит к спариванию и нерасхождению негомологичных хромосом, что свидетельствует о независимости расхождения хромосом от кроссинговера. Эти заключения сделаны на основе гибридологического анализа без цитологических наблюдений.

4.1 Опыты на дрозофилах.

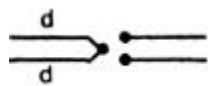
В опытах использовали самок дрозофилы, имевших нормальную метацентрическую хромосому 2 и два акроцентрика, каждый из которых содержал одно из структурно-нормальных плеч второй аутосомы - левое - F(2L) или правое - F(2R), центромеру 2 и участок прицентромерного гетерохроматина противоположного плеча (линия МАК-2) (рис. III. 1). Поскольку спариваться могут только две хромосомы, наличие трех центромер приводит к асинапсу прицентромерной области правого или левого акроцентрика. Было показано, что асинапсис прицентромерного района вызывает нерасхождение метацентрика с одним из акроцентриков (или двух акроцентриков) и образование анеуплоидных гамет. Для оценки частоты возникновения анеуплоидных гамет у самок МАК-2, маркированных рецессивной мутацией *a* по левому



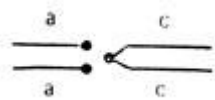
acrocentric (genotype $\frac{a^+}{a}$), их скрещивали с самцами четырех генотипов: 1 - с нормальной второй хромосомой, маркированной мутацией *a* в левом и *c* - в правом плече



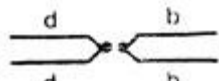
(genotype $\frac{a}{a} \frac{c}{c}$); 2-с моноцентрической хромосомой, у которой левое плечо второй хромосомы представлено дважды (так называемая компаунд-хромосома - C(2L) на маркирована рецессивной мутацией *d* и двумя правыми плечами второй хромосомы - F(2R).



Genotype $\frac{d}{d}$ - C(2L), *d*; F(2R); 3 - с компаунд-хромосомой по правому плечу, маркированному мутацией *c*, и двумя левыми плечами с

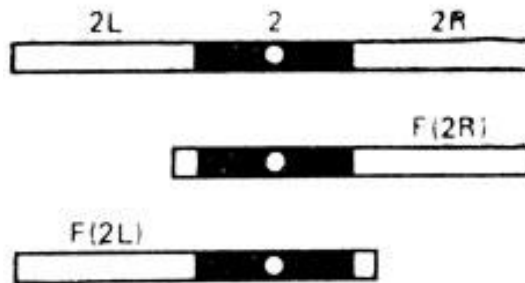


genom *a* - genotype $\frac{a}{a} \frac{c}{c}$ - F(2L), *a* \ C(2R), *c* \ 4 - с двумя компаунд-хромосомами - левой с геном *d* и правой с геном *b* -



генотип $d; C(2R), b$. В каждом скрещивании анализировали расщепление по соответствующему маркеру: в 1-ом - по а, во 2-м - по d, в 3-м - по с и в 4-ом - по b.

Рис. 1. Структура линии МАК-2 у дрозофилы. Черным цветом обозначен прицентроммерный гетерохроматин. Левое плечо F (2L) терминировано теломерным участком 2L, а правое - F (2R) - теломерным участком 2R. В гетерозиготе - 2/F (2L); F (2R) - центромера с окружающим ее гетерохроматином представлена трижды:



4.2 Полученные данные.

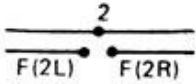
Очевидно, что и у самок МАК-2 и у самцов второй, третьей и четвертой линий вследствие особенностей их генетической структуры могут образовываться гаметы, анеуплоидные по второй хромосоме, большинство из которых оказываются зиготическими летальями. Лишь часть из них жизнеспособны, их можно выявить по маркерам - b, c, d и по частоте их выщепления определить частоту нерасхождения хромосом у самок МАК-2.

Таблица 1. Теоретически ожидаемые классы, возникающие с участием эу- и анеуплоидных гамет, в потомстве самок МАК-2 при скрещивании их с самцами четырех разных генотипов:

Генотип самцов		1	2	3	4		
		$\frac{a \quad c}{a \quad c}$	$\frac{d}{d}$	$\frac{a \quad c}{a \quad c}$	$\frac{d \quad b}{d \quad b}$		
гаметы		эуплоидные	анеуплоидные				эуплоидные
♀ ♀	♂ ♂	$\frac{a \quad c}{a \quad c}$	$\frac{d}{d}$	$\frac{c}{c}$ $\frac{a}{a}$	$\frac{d}{d}$	$\frac{b}{b}$ $\frac{b}{b}$	0
эуплоидные	$\frac{a^+}{a^+}$	$\frac{a}{a^+}$ (a ⁺)					
	$\frac{a}{a}$	$\frac{a}{a}$ (a)					
	$\frac{d^+}{d^+}$		$\frac{d^+}{d^+}$ (d ⁺)				
	$\frac{d}{d}$		$\frac{d}{d}$ (d)				
	$\frac{c^+}{c^+}$			$\frac{c^+}{c^+}$ (c ⁺)			
	$\frac{c}{c}$			$\frac{c}{c}$ (c)			
	$\frac{b^+}{a \quad b^+}$					$\frac{b^+}{b^+}$ (b ⁺)	
	0					$\frac{a}{a}$ $\frac{b}{b}$ (b)	

Частоту оценивали по отношению числа эу- и анеуплоидных гамет разного типа к общему числу яиц, отложенных самкой в данном скрещивании. Оказалось, что общая частота жизнеспособных гамет у самок МАК-2 составляла примерно 90%, из них - 66,1% эуплоидных и 24,2%-анеуплоидных. Анеуплоидных потомков практически не было - они погибали, не достигая стадии имаго; часть яйцеклеток отмирала из-за дистрофических явлений .

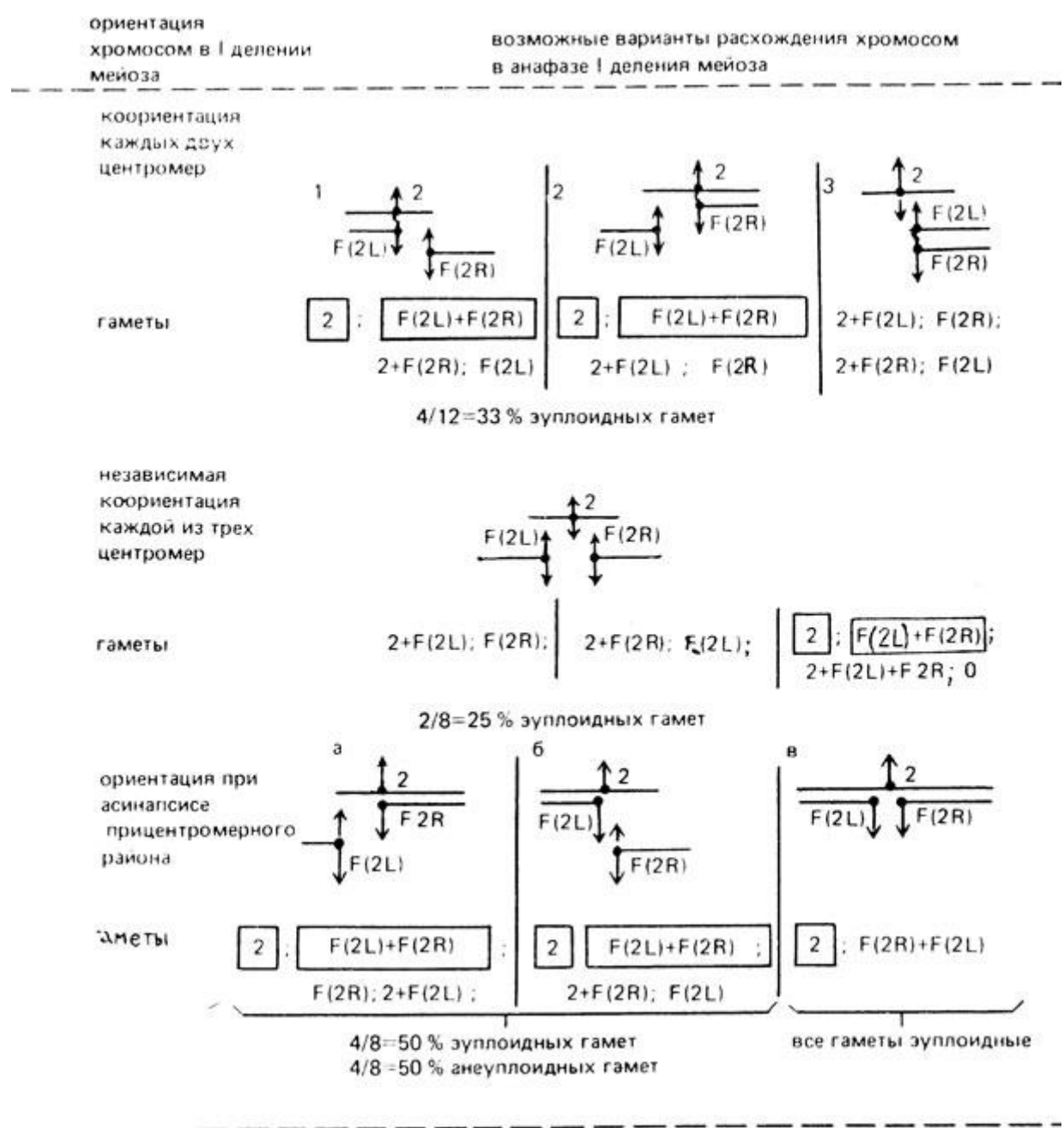
Таблица 2. Соотношение фенотипов по маркерам a, b, c и d, генотипы гамет самок МАК-2 и их частоты в скрещиваниях с самцами 1-, 2-, 3- и 4-ой линий

Генотип самки	Гаметы самки	№ линий	Частота, % гамет	Соотношение фенотипов		Σ
				доминантных	рецессивных	
	эуплоидные 2 и F (2L); F (2R)	1	66,2±4,0	523a+	525a	1048
	анеуплоидные 2/F (2L) и F (2R)	2	14,6±9,8	90d+	124d	214
	2/F (2R) и F (2L)	3	9,4±3,1	77c+	62c	139
	2/F (2L); F (2R) и 0	4	0,2±0,4	0b+	1b	1

4.3 Объяснение полученных результатов.

Были рассмотрены 3 варианта возможных расхождений хромосом 2 у самок МАК-2 при разных типах их ориентации в мейозе и определен теоретически ожидаемый процент эу- и анеуплоидных гамет:

Рис 2. Ожидаемые типы гамет и их соотношение при разных вариантах ориентации хромосом 2 у самок МАК-2. В рамках - эуплоидные гаметы. Стрелки показывают направление к полюсам



При рассмотрении этих вариантов становится очевидным, что частота эуплоидных гамет, полученная в опыте (66,2%), не может быть объяснена коориентацией двух центромер или независимой коориентацией каждой из трех центромер, так как в этих случаях ожидается возникновение 33% или 25% эуплоидных гамет соответственно.

Следовательно, в основе возникновения эуплоидных гамет у самок МАК-2 лежит асинапсис прицентромерного района, приводящий к образованию либо равных количеств эу- и анеуплоидных гамет, либо только эуплоидных гамет (рис. 2, а, б, в). Исходя из этого, можно определить частоту эуплоидных гамет у самок МАК-2 по доле анеуплоидных гамет. Если бы мейоз у них проходил только по типу а и б (рис.2), то доля эуплоидных гамет была бы такая же, как и анеуплоидных, т. е. 24,2%. В опыте она -66,2%, тогда 42% (66,2-24,2) эуплоидных гамет возникает при расхождении по варианту В.

5 Заключение

Асинапсис прицентромерного района ведет к нерасхождению хромосом и отбору на уровне гамет: анеуплоидные гаметы лишь частично принимают участие в оплодотворении. Было установлено также, что у самок МАК-2 асинапсис прицентромерного района второй хромосомы часто приводит к конъюгации любого из акроцентриков - F(2L) или F(2R) - с негомологичными хромосомами, в частности с X-хромосомой, причем негомологичное спаривание является основной причиной нерасхождения X-хромосом и нарушения расщепления по генам, локализованным в X-хромосоме. Это было показано при скрещивании самок МАК-2, у которых X-хромосома содержала инверсию и была маркирована рецессивной аллелью гена yellow -y- (желтое тело) и доминантной аллелью гена Bar -B- (полосковидные глаза). Самцы имели серое тело и круглые глаза (дикий тип). В норме в F₁ такого скрещивания ожидается появление самок с серой окраской тела и глазами, более узкими, чем у нормальных мух, и самцов - желтых с узкими глазами. Появление исключительных самок - с желтым телом и

узкими глазами с генотипом $\frac{yB}{yB}$, и исключительных самцов - серых с нормальными глазами с генотипом $\frac{y^+B^+}{y^+B^+}$ свидетельствовало о нерасхождении X-хромосом. Частота нерасхождения в этих опытах составляла 15% .

Таким образом, изучение сегрегации хромосом у структурно измененных самок МАК-2 послужило основой для выяснения одного из возможных механизмов нерасхождения хромосом, приводящего к нарушению нормального менделевского наследования

6. Список литературы.

<https://slovaronline.com/browse/f57ce21a-01c4-3430-9c..>

<http://genetiku.ru/books/item/f00/s00/z0000016/st023.shtml>

https://studopedia.ru/2_92004_kon-yugatsiya.html

<https://zaochnik.com/spravochnik/biologija/genetika/k..>

<https://ru.wikipedia.org/wiki/Кроссинговер>