

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
Кафедра Молекулярной биологии и генетики

РЕФЕРАТ

По дисциплине «Методы и объекты генетического  
анализа»

Тема: Метод гибридизации соматических клеток.

Студент 301 группы \_\_\_\_\_ Головин Мирон Дмитриевич

Преподаватель \_\_\_\_ Замарин Антон Александрович

Волгоград

2021

Гибридизация соматических клеток — это метод, основанный на том, что соматические клетки животных способны к гибридизации, при которой образуются гибриды клеток, в ядрах которых содержится набор хромосом обеих сходных клеточных линий, т. е. гибриды являются полиплоидами. В процессе роста гибриды могут терять отдельные хромосомы. Для гибридов, полученных из скрещиваний соматических клеток человека с соматическими клетками млекопитающих, характерно то, что преимущественно теряются человеческие хромосомы. Следовательно, наблюдение одновременной потери той или иной хромосомы и признака указывают на локализацию гена, контролирующего признак в данной хромосоме. В исходных скрещиваниях можно использовать также клетки человека с частично удаленными из них хромосомами. Метод имеет ограничения, определяемые невозможностью экспрессии чужеродных генов в гибридах.

Тот факт, что соматические клетки несут в себе весь объем генетической информации, дает возможность изучать на них генетические закономерности всего организма.

Основу метода составляет культивирование отдельных соматических клеток человека и получение из них клонов, а так же их гибридизацию и селекцию.

Соматические клетки обладают рядом особенностей:

- быстро размножаются на питательных средах;
- легко клонируются и дают генетически однородное потомство;
- клоны могут сливаться и давать гибридное потомство;
- легко подвергаются селекции на специальных питательных средах;

- клетки человека хорошо и долго сохраняются при замораживании.

Соматические клетки человека получают из разных органов — кожи, костного мозга, крови, ткани эмбрионов. Однако чаще всего используют клетки соединительной ткани (фибробласты) и лимфоциты крови.

С помощью метода гибридизации соматических клеток:

- а) изучают метаболические процессы в клетке;
- б) выявляют локализацию генов в хромосомах;
- в) исследуют генные мутации;
- г) изучают мутагенную и канцерогенную активность химических веществ.

В 1960 г. было показано, что совместно культивируемые клетки различных линий могут сливаться, образуя гибриды, содержащие геномы обеих родительских форм. Первые такие гибриды были получены при слиянии клеток разных линий мышей. Наряду с внутривидовыми получены и межвидовые гибриды, например, между клетками человека и мыши, мыши и хомячка, мыши и курицы и др. Образование гибридных клеток происходит чаще, если в культуру добавлены некоторые вещества (например, полиэтиленгликоль) или инактивированный вирус Сендай.

При гибридизации соматических клеток двух разных линий образуются гетерокарионы — клетки, которые содержат оба родительских ядра. Затем в результате митоза и деления образуются две одноядерные клетки — синкарионы, имеющие хромосомы обоих родительских клеток.

В течение первых делений гибридной клетки, не ясно почему, происходит потеря хромосом одного из видов. Так, у гибридов мышь-хомячок элиминируются хромосомы мыши. Если присутствие продукта

изучаемого гена коррелирует с наличием определенной хромосомы в гибриде, то можно предположить, что этот ген локализован в данной хромосоме.

Потеря хромосом в гибридных клетках мышь — человек происходит случайно

Какая хромосома человека сохранится — предугадать невозможно. Через определенное число поколений в гибридной клетке сохранятся все хромосомы мыши и несколько (в среднем 7) хромосом человека. Однако некоторые клетки могут содержать одну-две пары хромосом, другие — 7, а некоторые — до 20 хромосом человека. Вместе с тем из всей популяции гибридных клеток можно отобрать стабильные клоны (клон — потомство одной клетки), содержащие конкретные человеческие хромосомы, и провести в них картирование генов.

Гибридные клетки человека и мыши имеют 43 пары хромосом: 23 от человека и 20 от мыши. В дальнейшем происходит элиминация хромосом того вида, клетки которого медленнее размножаются. При этом хромосомы мыши сохраняются, а хромосомы человека утрачиваются.

Функционирующие в гибридных клетках хромосомы синтезируют определенные белки. Фенотипически хромосомы мыши и человека отличаются. Нетрудно определить, какие хромосомы присутствуют в гибриде и выяснить, синтез каких белков связан с данными хромосомами человека. Обычно гибридные клетки теряют хромосомы целиком, поэтому, если какие-либо гены присутствуют или отсутствуют вместе, то они могут быть отнесены к одной хромосоме

Это позволяет картировать хромосомы человека. В ряде случаев для картирования используют хромосомные перестройки, что дает возможность установить локализацию генов в определенном участке хромосомы,

определить последовательность их расположения, т. е. построить карты хромосом человека.

В настоящее время выяснено, что в X-хромосоме локализовано 95 генов, в 1-й аутосоме — 24 гена. Ген, определяющий группы крови по системе АВО, расположен в 9-й хромосоме, группы крови по системе MN во 2-й хромосоме, а по системе резус- фактора (Rh) — в 1-й хромосоме.

Использование метода гибридизации соматических клеток дает возможность изучать механизмы первичного действия генов и их взаимодействия, что расширяет возможности точной диагностики наследственных болезней на биохимическом уровне.

Использование новых методов и подходов к картированию хромосом позволило обнаружить в геноме человека сверхизменчивые участки ДНК (минисателлиты), характерные для каждого человека. Одновременно были выделены последовательности ДНК, изменяющиеся с повышенной частотой. Они локализованы по всему геному и имеют разное число копий

Эта дисциплина изучает наследственность и изменчивость соматических клеток, используя культуру клеток различных тканей и органов.

**Методы:** 1. Простое культивирование 2. Гибридизация — слияние клеток разных типов например клетки человек — мышь постепенно теряют хромосомы; можно устанавливать группы сцепления по исчезающим признакам 3. Клонирование — получение потомства из 1 клетки, например гибридом.

Селекция — отбор клеток с заранее заданными свойствами.

Практическое значение метода соматической гибридизации для генетики в том, что с его использованием можно создавать новые гибриды

растений, которые не удастся получить половой гибридизацией. Благодаря этому методу удастся преодолевать межвидовые и даже межродовые барьеры.

Цитогенетический метод. Диагностика хромосомных нарушений человека. Значение для медицины. Основа метода — микроскопическое изучение хромосом человека. Цитогенетические исследования стали широко использоваться с начала 20-х гг. XX в. для изучения морфологии хромосом человека, подсчета хромосом, культивирования лейкоцитов для получения метафазных пластинок.

Развитие современной цитогенетики человека связано с именами цитологов Д.Тео и А.Левана. В 1956 г. они первыми установили, что у человека 46 (а не 48, как думали раньше) хромосом, что положило начало широкому изучению митотических и мейотических хромосом человека.

В 1959 г. французские ученые Д. Лежен, Р.Тюрпен и М. Готье установили хромосомную природу болезни Дауна. В последующие годы были описаны многие другие хромосомные синдромы, часто встречающиеся у человека. Цитогенетика стала важнейшим разделом практической медицины. В настоящее время цитогенетический метод применяется для диагностики хромосомных болезней, составления генетических карт хромосом, изучения мутационного процесса и других проблем генетики человека.

В 1960 г. в г. Денвере (США) была разработана первая Международная классификация хромосом человека. В ее основу легли размеры хромосом и положение первичной перетяжки — центромеры

Все хромосомы по форме разделены на метацентрические, субметацентрические и акроцентрические и подразделены на 7 групп, обозначенных латинскими буквами А, В, С, D, Е, F и G. Каждая пара

хромосом была наделена порядковым номером от 1 до 22, выделены отдельно и поименованы латинскими буквами — X и Y половые хромосомы

В 1971 г. на IV Пражской конференции генетиков в дополнении к Денверской классификации были представлены методы дифференциальной окраски хромосом, благодаря которым каждая хромосома приобретает свой неповторимый рисунок, что помогает точной идентификации.

Основные сведения о морфологии хромосом человека получены при изучении их в метафазах митоза и профазе-метафазе мейоза. При этом важно, чтобы количество делящихся клеток, было достаточно высоко. Важнейшие цитогенетические работы выполнены на лимфоцитах периферической крови, поскольку культивирование лимфоцитов в течение 2-3 суток в присутствии фитогемагглютинина позволяет получить множество метафазных пластинок для хромосомного анализа.

Цитогенетическому анализу подвергают однослойные метафазные пластинки с раздельно лежащими хромосомами

Для этого делящиеся клетки обрабатывают колхицином и некоторыми другими химическими веществами (гипотоническим раствором солей, метанол-уксусным фиксатором и др.).

Важным этапом цитогенетического анализа является окраска полученных препаратов. Ее проводят простыми, дифференциальными и флюоресцентными методами.

Простая окраска обеспечивает групповую идентификацию хромосом. Используется она для количественного учета хромосомных аномалий при определении мутагенности среды (действия радиации, химических мутагенов и др.). С помощью этого типа окраски были открыты многие хромосомные болезни, а также хромосомные aberrации), вызывающие

самопроизвольные аборты, врожденные пороки развития, канцерогенез и т.п.

В 70-е гг. XX в. в медицинской практике начали применяться методы дифференциального окрашивания, выявляющие структурную разнородность хромосом по длине, что выражается в виде чередования светлых и темных полос (эу- и гетерохроматических районов). Отмечается, что протяженность и рисунок полос специфичны для каждой хромосомы.

Успехи молекулярной цитогенетики человека позволяют разрабатывать новые методы изучения хромосом. Так, следует отметить метод флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), который дает возможность исследовать широкий круг вопросов : от локализации гена до расшифровки сложных перестроек между несколькими хромосомами. Метод FISH может применяться и для диагностики анеуплоидий в интерфазных ядрах

Таким образом, соединение цитогенетических и молекулярно-генетических методов в генетике человека делает почти неограниченными возможности диагностики хромосомных аномалий

Применяется для изучения кариотипа человека. **Метод включает:** 1. *Экспресс* — диагностику X — и Y — хроматина — исследование полового X — хроматина в ядрах клеток слизистой оболочки или в других клетках. В норме у женщин — 1 тельце Барра, у мужчин — нету. Половой Y — хроматин определяется путем специального окрашивания и просмотра в люминесцентном микроскопе. 2. *Кариотипирование* — определение количества и строения хромосом с целью диагностики хромосомных болезней.



Список использованных источников:

1. <https://studfile.net/preview/6161094/page:4/>
2. [https://studme.org/353163/agropromyshlennost/somaticheskaya\\_gibridizat\\_siya](https://studme.org/353163/agropromyshlennost/somaticheskaya_gibridizat_siya)
3. <https://www.kaznu.kz/content/files/pages/folder1177/%D0%A2%D1%83%D1%80%D0%B0%D1%88%D0%B5%D0%B2%D0%B0%20%D0%A1.%D0%9A.%20-1.pdf>
4. <https://ru-ecology.info/page/00053169200791803850005000009924/#:~:text=%D0%A2%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D1%8B-%D0%93%D0%B8%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%B4%D0%B8%D0%B7%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F%20%D1%81%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85%20%D0%BA%D0%BB%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%BA%20%E2%80%94%D1%8D%D1%82%D0%BE%20%D0%BC%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4%2C%20%D0%BE%D1%81%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B9%20%D0%BD%D0%B0%20%D1%82%D0%BE%D0%BC%2C%20%D1%87%D1%82%D0%BE,%D0%B3%D0%B8%D0%B1%D1%80%D0%B8%D0%B4%D1%8B%20%D1%8F%D0%B2%D0%BB%D1%8F%D1%8E%D1%82%D1%81%D1%8F%20%D0%BF%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BF%D0%BB%D0%BE%D0%B8%D0%B4%D0%B0%D0%BC%D0%B8>
5. <https://poznayka.org/s28553t1.html>