

## 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.

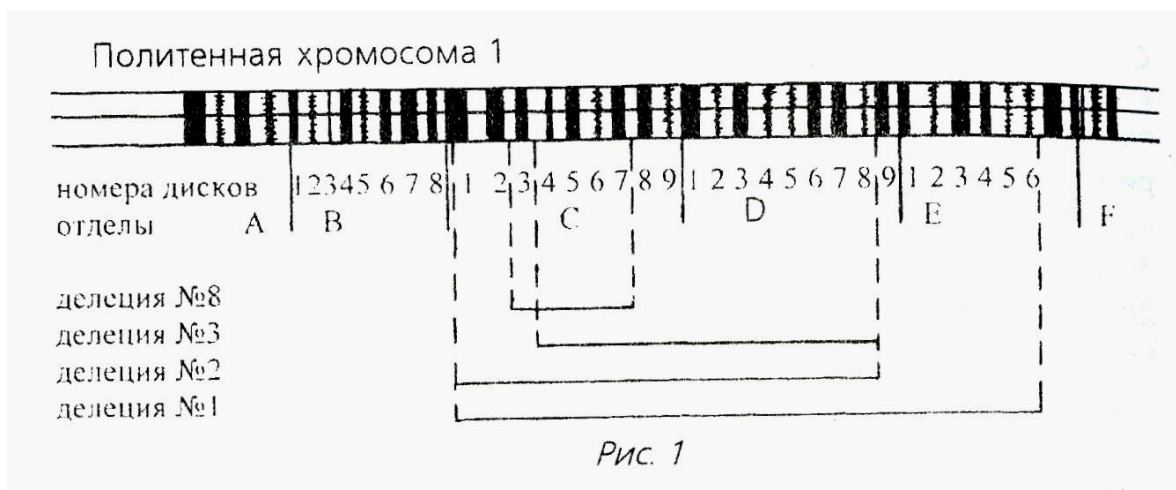
2. В одной из групп сцепления у кукурузы расположены гены  $s$  -полосатых листьев,  $a$  - устойчивости к кобылкам,  $m$  - мужской стерильности,  $P$  - окраски стержня початка. Ген  $a$  дает 11 % кроссоверных гамет с геном  $m$ , 14 % — с геном  $P$  и 13 % — с геном 5. В свою очередь, ген  $m$  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, контролирующие активность 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 СП Генетика с основами селекции. — М.: Высш.шк., 1989.
4. Алиханян СИ. 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.