

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ**  
**Херсонський державний університет**

**Лановенко О.Г.**

# **ГЕНЕТИКА**

підручник у 2 частинах

## **ЧАСТИНА І** **ЗАКОНОМІРНОСТІ** **ТА МЕХАНІЗМИ СПАДКОВОСТІ**

**ХЕРСОН**  
**ФОП Вишемирський В.С.**  
**2019**

УДК 575 (075.8)

Л 22

*Обговорено на засіданні кафедри біології людини та імунології  
Протокол № 7 від 06.02.2017 р.*

*Розглянуто на засіданні науково-методичної ради факультету  
біології, географії і екології  
Протокол № 4а від 09.03. 2017 р.*

*Схвалено науково-методичною радою ХДУ  
Протокол № 4 від 19.04.2017 р.*

*Рекомендовано до друку Вченою радою ХДУ  
Протокол № 12 від 24.04. 2017 р.*

**Автор:**

**Лановенко О.Г.**, доцент кафедри біології людини та імунології факультету біології, географії і екології Херсонського державного університету

**Рецензенти:**

**Авраменко А.О.** – доктор медичних наук, професор кафедри олімпійського та професійного спорту Чорноморського національного університету імені Петра Могили

**Полещук С.В.** – кандидат біологічних наук, доцент кафедри корекційної освіти факультету природознавства, здоров'я людини та туризму Херсонського державного університету

**Л 22 Лановенко О.Г.** Генетика. Закономірності та механізми спадковості: підручник у 2 частинах / О.Г. Лановенко. – Ч. 1. – Херсон : Вид-во ФОП Вишемирський В.С., 2019. – 312 с.

ISBN 978–617–7573–70–7

Підручник підготовлений у відповідності до типової програми навчального курсу “Генетика з основами селекції” для біологічних спеціальностей вищих навчальних закладів. У першій частині підручнику викладені сучасні уявлення про носії та механізми спадковості: хімічна та структурна організація хромосом, властивості та функції нуклеїнових кислот, особливості структурно-функціональної організації геному прокариот, вірусів, еукаріот; механізми регуляції експресії генів. Наведені принципи генетичного аналізу спадкування ознак при внутрішньовидовій гібридизації. Розглянуті молекулярні механізми спадковості дозволять краще зрозуміти базові закономірності спадкування.

ISBN 978–617–7573–70–7

УДК 575 (075.8)

© Лановенко О.Г., 2019

© ФОП Вишемирський В.С., 2019

---

# ЗМІСТ

---

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ГЕНЕТИКИ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ НАУКИ .....	9
1.1. Предмет генетики та основні генетичні поняття .....	9
1.2. Методи генетики.....	17
1.3. Історія розвитку генетики .....	26
1.4. Розвиток генетики в Україні.....	51
1.5. Значення генетики для розвитку інших наук та практичне використання її досягнень.....	55
ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	57
РОЗДІЛ 2. ЦИТОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ НОСІЇ СПАДКОВОСТІ.....	58
2.1. Структурна та хімічна організація хромосом .....	60
2.1.1. Будова метафазної хромосоми.....	61
2.1.2. Теломери та теломераза. ....	63
2.1.3. Види хроматину. ....	67
2.1.4. Рівні компактизації хроматину.....	69
2.1.5. Політенні хромосоми та хромосоми типу «лампових щіток». ....	73
2.1.6. Димінуція хроматину. ....	76
2.1.7. Каріотип і його графічне зображення. ....	76
2.2. Нуклеїнові кислоти як носії генетичної інформації.....	79
2.3. Структура та функції нуклеїнових кислот .....	85
2.3.1. Первинна структура нуклеїнових кислот .....	86
2.3.2. Генетичний код і його властивості.....	89
2.3.3. Вторинна структура ДНК. Правило Чаргаффа. ....	92
2.3.4. Третинна структура ДНК. ....	96
2.3.5. Взаємодія ДНК із білками. ....	97
2.3.6. Клітинний цикл та його регуляція.....	100
2.3.7. Біологічні властивості ДНК.....	102
2.3.8. Метилювання ДНК. ....	103
2.3.9. Види РНК.....	105
2.3.10. Вторинна структура РНК.....	106
2.4. Особливості структури та функціонування геному вірусів, прокариот, еукаріот.....	107
2.4.1. Структурно-функціональна організація геному вірусів ....	109
2.4.2. Структура та функції геному прокариот.....	111
2.4.3. Структурно-функціональна організація геному еукаріот .	113
2.5. Класифікація та особливості функціонування генів .....	117
2.6. Регуляція активності генів прокариот.....	118

2.6.1. Типи регуляції експресії генів прокаріот.....	119
2.6.2. Негативна індукція. ....	120
2.6.3. Позитивна індукція. ....	122
2.6.4. Негативна та позитивна репресія. Атенюація. ....	123
2.7. Регуляція активності генів еукаріот .....	124
2.7.1. Передтранскрипційний контроль експресії генів.....	124
2.7.2. Транскрипційний контроль експресії генів.....	127
2.7.3. Посттранскрипційна регуляція. ....	129
2.7.4. Регуляція експресії гена на рівні трансляції. ....	130
2.7.5. Регуляція на посттрансляційному рівні. ....	130
2.7.6. Схема регуляції транскрипції в еукаріотичних клітинах. ....	130
ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	132
<b>РОЗДІЛ 3. АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ОЗНАК ПРИ ВНУТРІШНЬОВИДОВІЙ ГІБРИДИЗАЦІЇ.....</b>	<b>134</b>
3.1. Мета та задачі генетичного аналізу.....	134
3.2. Закони спадковості.....	134
3.3. Типи схрещувань .....	143
3.4. Правило чистоти гамет .....	144
3.5. Біохімічні механізми виникнення алелей генів .....	147
3.6. Визначення ймовірності появи потомства певного генотипу чи фенотипу .....	149
3.7. Умови, за яких успадкування ознак відбувається за законами Менделя .....	150
3.8. Причини відхилення від очікуваного розщеплення. Взаємодія алельних генів.....	151
3.8.1. Неповне домінування.....	151
3.8.2. Кодомінування .....	153
3.8.3. Наддомінування.....	153
3.8.4. Вибіркова смертність генотипу, спричинена дією летального гена. ....	155
3.8.5. Неповне проявлення функції гена за певних умов.....	155
3.8.6. Міжалельна комплементация. Множинний алелізм.....	157
3.8.7. Статистичні відхилення, спричинені малою вибіркою. ....	163
3.9. Особливості успадкування ознак при нерегулярних типах статевого розмноження .....	165
3.10. Успадкування ознак при взаємодії неалельних генів.....	168
3.10.1. Комплементарність.....	168
3.10.2. Епістаз і криптомерія. ....	174
3.10.3. Полімерія.....	180
3.10.4. Успадкування кількісних ознак. Трансгресія.....	182
3.10.5. Дія генів-модифікаторів. Гени-модифікатори.....	187
3.10.6. Ефект положення гена.....	187

3.10.7. Плейотропія.....	188
ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	191
РОЗДІЛ 4. ГЕНЕТИКА СТАТІ.....	193
4.1. Статеві хромосоми та їх еволюція.....	193
4.2. Типи та механізми визначення статі.....	196
4.2.1. Фенотипне визначення статі.....	197
4.2.2. Генетичні механізми визначення статі.....	199
4.2.3. Особливості визначення статі в різних видів організмів. ...	203
4.3. Особливості спадкування ознак, обумовлених статтю .....	206
4.3.1. Типи гоносомного спадкування.....	208
4.3.2. Особливості зчепленого зі статтю спадкування .....	209
4.3.3. Особливості спадкування ознак, не повністю зчеплених зі статтю .....	211
4.4. Теорії визначення статі .....	211
4.4.1. Балансова теорія визначення статі К. Бріджеса. ....	211
4.4.2. Фізіологічна теорія визначення статі Р. Гольдшмідта .....	214
4.5. Докази хромосомного визначення статі.....	215
4.6. Компенсація доз генів статевих хромосом.....	218
4.6.1. Компенсація доз генів у дрозофіли.....	218
4.6.2. Компенсація доз генів у птахів. ....	219
4.6.3. Компенсація доз генів у ссавців.....	220
4.7. Успадкування ознак при нерозходженні статевих хромосом ..	222
4.8. Диференціація статі в онтогенезі людини та причини її порушення.....	227
4.9. Перевизначення статі в онтогенезі різних видів організмів....	234
ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	236
РОЗДІЛ 5. ХРОМОСОМНА ТЕОРІЯ СПАДКОВОСТІ. ЗЧЕПЛЕНЕ СПАДКУВАННЯ ГЕНІВ .....	238
5.1. Особливості спадкування ознак при повному та неповному зчепленні генів. Основні положення хромосомної теорії спадковості .....	240
5.2. Типи кросинговеру .....	245
5.3. Цитологічні докази кросинговеру .....	246
5.4. Нерівний кросинговер.....	250
5.5. Мітотичний (соматичний) кросинговер .....	254
5.6. Сестринські хроматидні обміни .....	259
5.7. Фактори, що впливають на частоту кросинговеру .....	262
5.8. Генетичне картування .....	263
5.8.1. Одержання спонтанних або індукованих мутацій. ....	264
5.8.2. Тест мутацій на алелізм.....	264
5.8.3. Картування гена в групі зчеплення.....	264

5.8.4. Побудова кросоверних генетичних карт хромосом (класичний метод).....	267
5.8.5. Картування генів за допомогою хромосомних перебудов. .	272
5.8.6. Картування генів за допомогою методів клітинної біології. ....	273
5.8.7. Картування генів з використанням гібридизації <i>in situ</i> ....	274
5.9. Цитологічні карти хромосом та їх порівняння з генетичними картами.....	274
5.10. Статева рекомбінація в бактерій і її види. Картування бактеріальної хромосоми .....	278
5.10.1. Трансформація та котрансформація. ....	278
5.10.2. Використання трансдукції для картування генів. Трансдукція .....	281
5.10.3. Використання процесу кон'югації для генетичного картування .....	285
5.10.4. Метод злиття протопластів.....	291
ПИТАННЯ ДО САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	292
РОЗДІЛ 6. НЕХРОМОСОМНЕ СПАДКУВАННЯ .....	293
6.1. Пластидне спадкування .....	295
6.2. Мітохондріальне спадкування.....	298
6.2.1. Спадкування по материнській лінії. ....	300
6.2.2. Спадкування по батьківській лінії. ....	300
6.2.3. Захворювання людини, спричинені дефектами мтДНК ...	301
6.2.4. Використання поліморфізму мтДНК як молекулярного маркера .....	302
6.3. Цитоплазматична чоловіча стерильність.....	303
6.4. Власно цитоплазматичне спадкування .....	305
6.5. Спадкування позахромосомних генетичних елементів.....	308
ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ.....	310
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	311

---

## ВСТУП

---

Генетика – основа сучасної біології. Цей факт стає все більш очевидним по мірі диференціації і спеціалізації інших біологічних наук. Закони спадковості та мінливості універсальні для всіх організмів. Методи генетики широко використовуються в біологічних дослідженнях. Виявлена методами генетичного аналізу спадкова дискретність є відображенням молекулярної дискретності в організації клітин та організмів, тобто дискретності білків і нуклеїнових кислот. Тому сучасний підручник генетики має включати наукову інформацію зі суміжних дисциплін, особливо з молекулярної біології.

Генетика традиційно вважається одним з найважливіших компонентів біологічної підготовки студентів-педагогів. Ознайомлення студентів із методами класичного генетичного аналізу та сучасними цитогенетичними методами дозволить краще зрозуміти природу спадковості та шляхи її вивчення. Володіння термінологією з геноміки, транскриптоміки, протеоміки та системної біології дозволить постійно розширювати та поповнювати свої біологічні знання як за допомогою спеціальної наукової літератури, так і з ресурсів геномних баз даних, розміщених в мережі Інтернет. Знання викладених у підручнику основних методів генетичного аналізу може стати основою для формування інтересу до науково-дослідницької діяльності в таких галузях генетики, що стрімко розвиваються, як цитогенетика, молекулярна генетика, геноміка та інші.

Прикладне значення генетики стрімко зростає, що настійно вимагає якісного контенту генетичних знань. Будучи теоретичною основою біотехнології, біофармакології, медицини, селекції, генетика все більше входить в життя сучасної людини. Проблеми біоетики, використання стовбурових ембріональних клітин, генетично модифікованих організмів широко обговорюються в суспільстві та потребують глибокого їх розуміння. Сучасні методи селекції рослин і тварин на основі молекулярно-генетичних маркерів, геномна оцінка племінних якостей сільськогосподарських тварин все більше використовуються в розвинених країнах світу. Розвиток пренатальної діагностики, медико-генетичного консультування, індивідуальної терапії передбачає підвищення медико-біологічної грамотності населення, що нерозривно пов'язано з рівнем викладання

генетики в середній школі та якістю підготовки в цій області вчителів біології.

Пропонований підручник складається з двох частин. У першій частині наведені закономірності та механізми спадковості, її клітинні та молекулярні носії, принципи регуляції експресії прокариотичних і еукаріотичних генів. У другій частині викладені причини та механізми мінливості, молекулярні механізми мутагенезу, репарації ДНК, основи молекулярної генетики, генетики розвитку, генетики популяцій, імуно- та онкогенетики, медичної генетики.

Автор висловлює щирі вдячності рецензенту С.В. Полещук за низку корисних зауважень і пропозицій, більшість із яких було враховано при доопрацюванні підручника.



---

---

## РОЗДІЛ 1.

# ПРЕДМЕТ І МЕТОДИ ГЕНЕТИКИ. ІСТОРІЯ РОЗВИТКУ НАУКИ

---

### 1.1. Предмет генетики та основні генетичні поняття

Фундаментальними властивостями живої природи, які відрізняють її від неживої матерії, є здатність до розмноження та спадковість. Особини будь-якого виду народжують собі подібних і їхні нащадки більше схожі на своїх родичів, ніж на інших представників того ж виду. Під час запліднення від батьків нащадкам передається та в процесі онтогенезу реалізується спадкова інформація про специфіку будови клітин, тканин, органів, зовнішнього вигляду (фенотипу), про особливості фізіологічних і поведінкових функцій, про інші ознаки та властивості організму. При цьому кожний біологічний вид характеризується певним рівнем мінливості, і навіть брати і сестри ніколи не є точними копіями.

**Генетика** (грецьк. «genētikos» – породжувати) – наука про спадковість і її реалізацію під час розвитку, про закономірності спадкування генетично обумовлених ознак. Термін «генетика» введений в науку у 1906 році англійським генетиком *В.Бетсоном* (William Bateson) на Третій міжнародній конференції з гібридизації рослин (Лондон). Через універсальність генетичного коду спадково обумовлені процеси властиві всім формам життя: від вірусів до людини.

Закономірності процесів спадковості та мінливості є *предметом* вивчення генетики. Тому основними напрямками генетичних досліджень є вивчення механізмів: 1) *зберігання* спадкової інформації (дослідження клітинних структур, які відповідають за її збереження); 2) *передачі* генетичної інформації у низці поколінь; 3) *реалізації* спадкової інформації, результатом якої є формування властивостей та ознак організму; 4) *зміни* генетичної інформації протягом онтогенезу. Дослідження в цих напрямках відбуваються на різних рівнях організації живої матерії: молекулярному, клітинному, організменому, популяційному.

Нині генетика становить теоретичний фундамент сучасної біологічної науки та виступає авангардом її розвитку. Наукові генетичні відкриття сприяють розвитку таких сучасних

біологічних наук як біотехнологія, гена інженерія, молекулярна біологія. Важко переоцінити роль генетики в розвитку медицини, екології, аграрного виробництва, лісового господарства. Генетика є теоретичною основою селекції.

Генетика складається із загальних і спеціальних розділів. Загальні розділи присвячені вивченню матеріальних основ спадковості і мінливості: молекулярної будови нуклеїнових кислот – носіїв спадкової інформації; способу упаковки генетичного матеріалу в клітинах і його спадкової передачі в ряду поколінь; структури і функцій генів, типів успадкування, основних інформаційних процесів тощо. В спеціальних розділах генетики досліджуються особливості проявлення закономірностей спадковості та мінливості різних біологічних видів. Сучасна генетика розгалужена на генетику рослин, генетику тварин, генетику людини, генетику мікроорганізмів, цитогенетику, популяційну і математичну генетику, кожна з яких, у свою чергу, поділяється на низку більш вузьких галузей генетичних знань.

Предметом медичної генетики є вивчення механізмів формування спадкової патології людини, ролі генетичної складової в етіології і патогенезі захворювань. Розвиток цього напрямку досліджень став можливим завдяки відкриттям в області молекулярної генетики, що завершилися розшифровкою структури генома людини, ідентифікацією усіх його генів і визначенням молекулярної природи переважної більшості білків. Нині відбувається інтенсивне вивчення асоціації різних генів людини з моногенними і мультифакторіальними захворюваннями.

Однією з основних властивостей живих організмів є **спадковість** – здатність батьківського покоління передавати нащадкам основні ознаки будови, фізіологічні властивості, специфічний характер онтогенезу в певних умовах середовища. Зовнішнім проявом спадковості є морфо-функціональна подібність батьків і нащадків або особин, об'єднаних родинними зв'язками.

У вузькому розумінні цього поняття **спадковість** – властивість гена визначати специфічну будову білкової молекули та контролювати розвиток окремої ознаки та цілого організму. Спадковість забезпечує певну консервативність живої матерії завдяки наявності та відтворенню матеріальних носіїв спадковості – **генів** – ділянок молекули ДНК з різноманітною послідовністю нуклеотидів.

Розрізняють наступні **типи спадковості**:

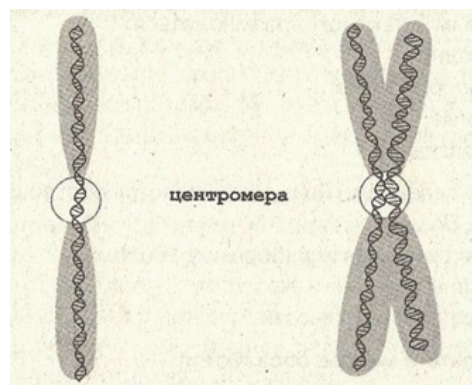
1. **Ядерна** – контролюється генами, локалізованими в хромосомах ядра;

**2. Неядерна, або цитоплазматична** – контроль успадкування ознак організму здійснюється елементами цитоплазми, що містять ДНК (пластидами, мітохондріями, власне цитоплазмою).

**3. Акаріотична спадковість** – виявлена у неядерних форм (вірусів, бактерій).

В еукаріотичних клітинах ланцюги ДНК формують конденсовані структури – **хромосоми** (грецьк. – забарвлене тіло). Речовиною хромосоми є **хроматин** – дезоксирибонуклеопротеїновий комплекс (ДНП), який перебуває в деконденсованій (в інтерфазі) або в конденсованій формі. Конденсація (ущільнення) хроматину відбувається в профазі мітозу (або мейозу), внаслідок чого хромосоми стають видимими в світловий мікроскоп. Зручно вивчати форму та розміри хромосом у метафазі, коли вони складаються з двох сестринських хроматид, подвоєних в S-періоді інтерфазі:

У районі розміщення центромери знаходиться **кінетохор** – білкова структура, локалізована на кожному боці кожної центромери в період ранньої профазі мітозу. Кінетохор полегшує полімеризацію димерів тубуліну, необхідну для утворення мікротрубочок мітотичного веретена поділу клітини.



Хромосоми містять гени – елементарні одиниці спадковості. **Ген** – структурно-функціональна одиниця генетичного матеріалу; фрагмент молекули ДНК (у деяких вірусів – РНК), що включає нуклеотидну послідовність, в якій закодована первинна структура поліпептиду або молекули транспортної чи рибосомної РНК. Обумовлюючи первинну структуру білка, ген визначає формування окремої ознаки організму або клітини.

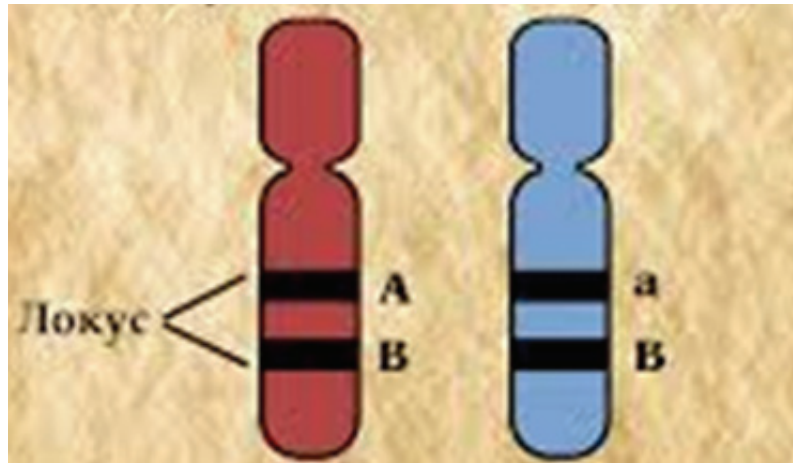
Розрізняють структурні та функціональні гени. **Структурні гени** – гени, що кодуєть синтез білків. Розташування нуклеотидних триплетів в структурних генах колінеарне послідовності амінокислот у поліпептидному ланцюзі, що кодується даним геном. **Функціональні гени** – гени, які контролюють і спрямовують діяльність структурних генів.

Місцезнаходження певного гена на хромосомі називається **локусом** (рис. 1.1).

У диплоїдних організмів, тобто в організмів, соматичні клітини яких мають парний набір хромосом різного походження (від матері та батька), гени представлені парою алелей. У випадку

присутності в однакових локусах пари гомологічних хромосом двох однакових алелей одного гена (або двох домінантних, або двох рецесивних), організм називають **гомозиготним** за цим геном; за наявності в однакових локусах гомологічних хромосом різних алелей гена (домінантного та рецесивного) – **гетерозиготним** (рис. 1.1).

Материнська хромосома      батьківська хромосома



**Рис. 1.1.** – Пара гомологічних хромосом різного батьківського походження з розміщеними на них алельними генами: А та а – алельні гени, особина гетерозиготна за геном А; В та В – алельні гени, особина гомозиготна за геном В

**Алелі**, або **алеломорфи** (грецьк.взаємні) – різні біохімічні форми гена, що знаходяться в однакових ділянках (локусах) гомологічних (тобто однакових за будовою) хромосом, одержаних від обох батьків. Алелі визначають альтернативні варіанти формування певної ознаки. Терміни «алель», «ген», «генотип», «фенотип» запропоновані у 1909 році датським біологом В.Йогансеном.

Теоретично кількість алелей кожного гена в популяціях є численною, але не всі вони пройшли еволюційний добір. У гетерозигот фенотипний прояв одного алеля (домінантного) може повністю пригнічувати прояв іншого алеля (рецесивного). Відповідно контрольовані ними ознаки називаються **домінантними** або **рецесивними**. Фенотипний прояв рецесивного гена спостерігається в організмів, гомозиготних за ним, або за відсутності в гена алельної пари (наприклад, гени статевих хромосом при ХУ-спадкуванні). У гетерозиготних організмів можливе і спільне – **кодомінантне** – фенотипне проявлення алелей.

Механізм передачі системи контролю за розвитком ознак організму – **спадкування** – може бути різноманітним. Наприклад,

при ядерній спадковості успадкування ознак може бути моногенним, ди- та полігеним; аутосомним або зчепленим зі статтю; кодомінантним.

Домінантність–рецесивність гена значною мірою залежить від генного оточення, тобто від генотипного середовища, в якому він знаходиться. Перенесення гена в інше місце хромосоми (зміна його генного оточення) призводить до втрати ним своїх властивостей, зокрема навіть такої властивості, виробленої у процесі тривалої еволюції, як домінантність. Це явище називають **ефектом положення гена**. При поверненні гена на своє місце в хромосому його домінантність відновлюється.

**Генотип** – сукупність генів диплоїдного набору хромосом даного організму, яка характеризує особину, а не вид. Зазвичай про генотип говорять в контексті певного гена. Генотип не завжди відповідає тому ж самому фенотипу. Деякі гени проявляються фенотипно тільки за певних умов. Крім того, певний фенотип, наприклад, забарвлення шерсті тварин, є результатом комплементарної взаємодії білкових продуктів декількох генів.

В організмі ген може контролювати формування ознаки – **фена** або формування декількох ознак (явище **плейотронії**). Більшість ознак організму формується в результаті взаємодії багатьох генів (явище **полігенії**).

Втрата гена або його зміна внаслідок мутації призводять до зміни ознаки, контрольованої ним. Навіть у межах спорідненої групи особин, що знаходяться в подібних умовах існування, прояв активності того ж гена може варіювати за ступенем вираженості. Ступінь проявлення ознаки, що контролюється геном, тобто його **експресивність**, залежить від особливостей впливу середовища. Отже, при формуванні ознак генотип виступає як цілісна система, що функціонує в суворій залежності від внутрішньоорганізмного та навколишнього середовища.

**Фенотип** – сукупність ознак і властивостей організму, які сформувалися на основі взаємодії генотипу та факторів середовища в процесі онтогенезу. Відображає генотип, якщо рецесивний алель певної ознаки знаходиться в гомозиготному стані. Фенотип змінюється в процесі розвитку особини. Термін «фенотип» запропонував датський вчений **Вільгельм Йогансен** у 1909 році, разом з концепцією генотипу, щоб розрізняти спадкову основу організму та те, що виходить в результаті її реалізації.

Здатність генотипу формувати в онтогенезі різні фенотипи залежно від впливу умов середовища, називають **нормою реакції генотипу**. Вона характеризує частку участі середовища в

реалізації ознаки. Чим ширше норма реакції, тим сильніше вплив середовища, тим меншим є вплив генотипу на формування ознак. Чим різноманітнішими є умови існування виду, тим ширша в нього норма реакції. Іноді фенотипи в різних умовах сильно відрізняються. Так, сосни в лісі високі й стрункі, а на відкритому просторі – розлогі. Форма листя жовтецю водяного залежить від того, у воді або на суходолі воно росте.

Послідовність нуклеотидів ДНК може змінюватись завдяки мутаціям, унаслідок чого виникають нові алелі. Якщо мутація відбувається в гені, новий алель обумовлює виникнення нової ознаки (*фену*), змінюючи таким чином фенотип організму. Але більшість ознак успадковується більш складно та контролюється багатьма генами, формуючись на основі взаємодії відповідних білків і ферментів. Вивчення спадкування таких ознак є предметом **геноміки**, розділами якої є структурна та функціональна геноміка. *Структурна геноміка* вивчає гени з відомою структурою для розуміння їх функції, визначає просторову будову максимальної кількості «ключових» білкових молекул і вплив їх будови на міжбілкову взаємодію. *Функціональна геноміка* вивчає особливості реалізації інформації, записаної в геномі, в напрямку «від гена до ознаки».

**Геном** – сукупність спадкового матеріалу клітин організму певного виду, що несе біологічну інформацію про його будову і життєдіяльність. Більшість геномів, в тому числі геном людини і геноми всіх інших клітинних форм життя, побудовані з ДНК, проте деякі віруси мають РНК-містки геноми.

Для еукаріот **геном** – це загальна кількість речовини ДНК в одинарному (гаплоїдному) наборі хромосом ядра соматичної клітини. Якщо говорять про розміри геному еукаріот, то мають на увазі саме це визначення геному, тобто розмір еукаріотичного геному вимірюють в парах нуклеотидів ДНК або пікограм ДНК на гаплоїдний геном. Наприклад, у людини (*Homo sapiens*) спадковий матеріал соматичної клітини представлений 23 парами хромосом (22 пари аутосом і пара статевих хромосом), що знаходяться в ядрі, а також клітина має безліч копій мітохондріальної ДНК. Двадцять дві аутосоми, дві статеві хромосоми (X та Y) та один тип мітохондріальної ДНК містять разом приблизно 3,1 млрд. пар азотистих основ.

Вимірювання розмірів геному організма проводиться в Дальтонах, парах нуклеотидів (п.н.) або в пікограмах (пг). Існують наступні співвідношення між цими біологічними одиницями вимірювання геному:  $1 \text{ пг} = 10^{-12} \text{ г} = 0,6 \cdot 10^{12} \text{ Дальтон (Да)} = 0,9 \cdot 10^9 \text{ п.н.}$

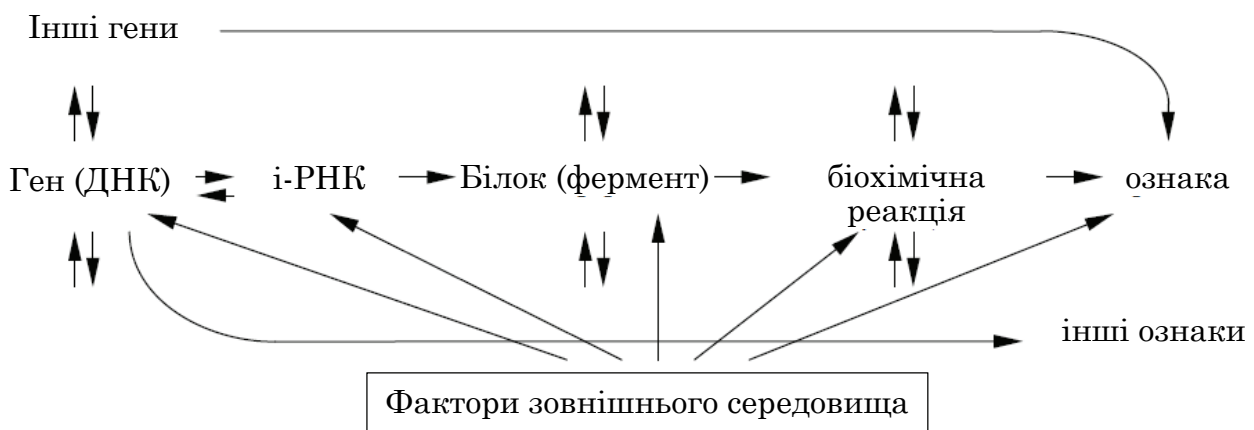
У геномі людини 3,1 млрд. п.н., отже, 3,5 пг ДНК. Тоді в диплоїдному наборі хромосом ядра клітини людини міститиметься близько 7 пг ДНК. Таким чином, загальна кількість речовини молекул ДНК в організмі людини складатиме  $7 \cdot 10^{12} \cdot 5 \cdot 10^{13} \text{ г} = 350 \text{ г}$ . Встановлено, що для відтворення інформації, яка міститься в молекулах ДНК тільки однієї клітини людини, на персональному комп'ютері найдрібнішим шрифтом, знадобилася б 1000 книг по 1000 сторінок у кожній! Але в деяких представників фауни (наприклад, в ящірки саламандри) і флори (наприклад, у лілії) загальна довжина макромолекул ДНК в одній клітині в тридцять разів більше, ніж у людини.

Геном складається з численної послідовності всього лише чотирьох різних хімічних компонентів. Це літери генетичного тексту, що утворюють код, який клітини вміють читати як «монтажну схему» і переводити в численні білки – з них будується будь-яка жива істота.

Під час виконання проекту «Геном людини» визначена послідовність ДНК всіх хромосом і мітохондріальної ДНК. Повне секвенування геному виявило, що людський геном містить лише 20-25 тисяч активних генів, тобто тільки 1,5% всього генетичного матеріалу кодує білки або функціональні РНК. Решту геному складає некодуюча ДНК. Поняття "геном" включає кодуючі та некодуючі послідовності нуклеотидів.

Структурно будову спадкового апарату клітини можна зобразити в вигляді наступної схеми: ДНК→ген→хромосома→геном.

Процес реалізації спадкової інформації можна представити в вигляді наступної схеми:



Спадкові ознаки можуть змінюватись не лише за рахунок змін в послідовності ДНК, але й за рахунок інших механізмів (наприклад, за рахунок метилювання цитозину, метилювання амінокислот гістонів тощо). Вивченням таких питань займається **епігенетика** – наука, що вивчає структури, які наділяють індивідуальністю кожну клітину і в сукупності утворюють її

епігеном. Останній відповідає за зберігання в клітині не тільки «монтажних схем» усіх можливих білків, але і «вказівки», які саме з них повинні бути реалізовані. Ці «вказівки» клітина під час поділу може передавати разом з генетичним «текстом» своїм дочірнім клітинам. Отже, епігенетика вивчає всю молекулярно-біологічну інформацію, яку клітини зберігають і передають своїм дочірнім клітинам, але яка не міститься в спадковому матеріалі.

**Епігеном** – це сукупність всіх епігенетичних маркерів, що обумовлюють експресію генів у клітині. Відомими епігенетичними механізмами є: метилювання ДНК; ремоделювання хроматину; регуляція на рівні РНК; зокрема, РНК-інтерференція; пріонізація білків; інактивація Х-хромосоми. Можливі й інші, поки не відомі механізми.

Епігеном визначає призначення клітини. Він повідомляє геному, як той повинен використовувати свій потенціал, і вирішує, який саме ген і в який момент активується, а який – ні. Він навіть програмує швидкість старіння клітини, її сприйнятливість до зовнішніх подразників, схильність до захворювань і тривалість функціонування.

Інструментами епігеному є так звані епігенетичні перемикачі, які цілеспрямовано приєднуються до певних ділянок геному і визначають, які саме гени клітина в принципі може використовувати, а які – ні. Таким чином, епігеном створює граматику, структурує текст життя. Це програмне забезпечення, софт, що допомагає клітинам правильно використовувати своє «залізо», тобто генетичний код. Якщо б кожна клітина стала б одночасно зчитувати всі свої гени та синтезувати все білки, «монтажні схеми» яких вона зберігає, запанував би хаос.

Індуковані в ранньому онтогенезі епігенетичні зміни можуть фіксуватися за механізмом імпринтингу (запам'ятовування) та змінювати хід онтогенезу. Отже, причиною еволюції, крім випадкових змін (*мутацій*), що відбираються природним добром, є спрямовані, адаптивні зміни (*епімутації*). Інформація про фенотип міститься не тільки в геномі, але і в епігеномі, який є пластичним і може, змінюючись під впливом певних середовищних стимулів, впливати на дію генів.

Для визначення ступеню спадкової обумовленості ознаки використовують коефіцієнт успадковуваності. **Успадковуваність** – частка загальної фенотипної мінливості в популяції, що припадає на спадкову мінливість (за певною кількісною чи якісною ознакою), оскільки відмінності між індивідуумами можуть бути обумовлені генетичними факторами та/або оточуючим



середовищем. Тому успадковуваність аналізує приблизне співвідношення впливу генетичних і негенетичних факторів на формування фенотипу в популяції.

Ступінь успадковуваності визначають кількісно за **коефіцієнтом успадковуваності ( $h^2$ )**. Останній визначає, яка частина загальної мінливості, що спостерігається, контролюється генотипною мінливістю:

$$h^2 = \sigma^2_G : \sigma^2_P = \sigma^2_G : \sigma^2_G + \sigma^2_E,$$

де  $\sigma^2_G$  – дисперсія, спричинена генотиповою мінливістю;

$\sigma^2_P$  – дисперсія, обумовлена фенотиповою мінливістю;

$\sigma^2_E$  – показник мінливості під впливом середовища.

Отже, загальна дисперсія  $\sigma^2_P$  може бути представлена в вигляді суми дисперсії, спричиненої відмінностями в генотипі ( $\sigma^2_G$ ), та дисперсії, спричиненої впливом середовища ( $\sigma^2_E$ ). Якщо  $h^2=1$ , фенотипна мінливість організмів у популяції обумовлена тільки спадковими, генетичними відмінностями; якщо  $h^2 = 0$ , фенотипні відмінності між організмами обумовлені лише змінами умов середовища.

Під впливом факторів середовища організми набувають нових ознак під час онтогенезу. Цю властивість живих організмів називають мінливістю.

**Мінливість** – процес формування відмінностей між особинами одного виду або між різними видами організмів за низкою ознак чи властивостей. Мінливість, разом із спадковістю та доборою, є основою еволюції всієї живої матерії. Розрізняють **якісну**, або **альтернативну мінливість**, коли особини популяції за певною ознакою групуються у відповідності з присутністю або відсутністю в них певної ознаки; і **кількісну**, або полігенну мінливість, при якій особини, що склали вибірку з популяції за певною ознакою, складають безперервний ряд її окремих значень, діапазон яких сильно залежить від умов зовнішнього середовища. Як кількісна, так і якісна мінливість організмів у залежності від того, чи супроводжується вона зміною спадкового апарату клітин, поділяється на **спадкову (генотипну)** і **неспадкову (модифікаційну)** її форми.

## 1.2. Методи генетики

Головним методом дослідження генотипу окремих особин, їхніх груп і генетичної структури популяцій, у тому числі ліній, штамів, сортів, порід є **генетичний аналіз**. Задача генетичного аналізу – визначення якісного та кількісного складу генотипу

організму або генетичної структури популяції. Генетичний аналіз дозволяє: встановити локалізацію гена; скласти генетичну карту хромосоми; ідентифікувати функції гена; встановити природу мутації; визначити, як контролюється ознака.

Об'єктами генетичного аналізу є всі організми, від вірусів до людини. Але під час експериментального дослідження спадковості або мінливості в якості моделі використовується певний організм – **модельний об'єкт**. Модельними стають організми, за якими вже накопичено багато наукових даних, які легко утримувати та розводити в лабораторних умовах, наприклад, бактерія – *кишкова паличка* *Escherichia coli*, *дріжджі* (*Saccharomyces cerevisiae*), пліснявий гриб *нейроспора* (*Neurospora crassa*), *арабідонсис* (*Arabidopsis thaliana*), *кукурудза* (*Zea mays*), *горох* (*Pisum sativum*), *дрозофіла* (*Drosophila melanogaster*), *миша* (*Mus musculus*). Використання модельних організмів базується на тому, що всі живі організми мають загальне походження, подібні механізми збереження та реалізації спадкової інформації, метаболізму тощо. Модельні об'єкти повинні відповідати певним вимогам: легко розмножуватися в лабораторії, мати короткий життєвий цикл, бути плодючими, їх утримання не повинно бути коштовним, умови життя та розмноження можуть легко контролюватися людиною. Перш ніж причислити об'єкт до модельних, необхідно впевнитися в тому, що він відтворює процеси, аналогічні тим, що відбуваються в інших організмах.

Велике значення для успішного проведення генетичного аналізу має різноманіття проявлень тієї ж ознаки в особин одного виду, тому створюються генетичні *колекції форм* і *банки генів*. Перехід від популяційного та організменого рівня аналізу (традиційні при вивченні генотипів тварин і рослин) до клітинного, хромосомного та молекулярного рівнів (сучасні методи клітинної біології) набагато прискорює роботу та дозволяє не тільки визначити локалізацію генів, але й описати їх структуру.

**Принципи генетичного аналізу** передбачають: висунення гіпотез, вибір матеріалу та методів, перевірку гіпотез під час експерименту. У залежності від результату дослідження гіпотеза приймається або відкидається. В останньому випадку висувається нова гіпотеза та здійснюється її перевірка. Для встановлення сутності явища (причинно-наслідкових зв'язків) необхідний експеримент, тобто відтворення явища в штучних умовах, при повторенні цих умов.

Найважливішим принципом генетичного аналізу є вивчення характеру спадкування окремих пар ознак. Для цього необхідно

визначити: 1) чи успадковується ознака? Для цього необхідно мати хоча б дві форми з альтернативним її проявленням; 2) загальну кількість генів, що контролюють ознаку (для цього необхідна велика колекція різноманітних форм); 3) яким чином взаємодіють альтернативні алелі генів при гібридизації? 4) якщо ознака контролюється декількома генами, визначити особливості їхньої взаємодії; 5) групу зчеплення та місцезнаходження генів; 6) структуру генів та закономірності їх експресії.

Методи генетичного аналізу численні, але головним є **гібридологічний аналіз**, або *метод схрещувань*. Засновником гібридологічного аналізу є Г. Мендель. Попередники Менделя (І.Г.Кельрейтер, Т.Найт, О.Сажре, Ш.Ноден, Ч.Дарвін) також описували явища одноманітності гібридів першого покоління та розщеплення ознак у гібридному потомстві, але їм не вдалося зрозуміти значущість цих явищ, оскільки ознаки не відтворювалися при повторних експериментах. Саме Г.Мендель заклав підґрунтя генетичного аналізу, сформулювавши необхідні умови його проведення: 1) перевірка гомозиготності ознаки протягом 2-3 поколінь (якщо вона не дає розщеплення, констатується гомозиготність вихідного матеріалу за цією ознакою); 2) вивчення розщеплення кожної пари ознак окремо; 3) кількісний облік розщеплення; 4) аналіз всього потомства гібридів (а не його частини, як це робили попередники Менделя). Дотримуючись цих правил, можна одержувати добре відтворювані результати, отже, вивчати закономірності спадкування ознак.

Нині генетика вмiло поєднує традиційні методи, що сформувалися з часів розвитку менделізму (гібридологічний аналіз), із сучасними методами цитогенетики, молекулярної біології, біохімії та інших наук. Найпоширенішими з них є наступні:

- 1) генеалогічний або метод аналізу родоводів;
- 2) близнюковий;
- 3) цитогенетичний;
- 4) біохімічний;
- 5) молекулярно-генетичний;
- 6) онтогенетичний;
- 7) популяційно-генетичний.

Вибір методів генетичного аналізу проводиться для об'єктів різних рівнів організації у залежності від завдань дослідження.

**1. Генеалогічний метод** (або *метод аналізу родоводів*) дозволяє вивчити спадково обумовлені ознаки людини за даними складеного родоводу та його аналізом. Вперше цей метод запропонований у 1865 році засновником генетики людини,

британським вченим *Френсісом Гальтоном* (двоюрідним братом Чарльза Дарвіна). Метод ґрунтується на відстежуванні спадкування хвороби (або ознаки) в родині із зазначенням типу родинних зв'язків між членами родоводу (*метод педигрі*). Генеалогічний метод широко використовується для вирішення як наукових, так і прикладних проблем:

- встановлення спадкової обумовленості ознаки;
- якщо ознака успадковується, визначення типу спадкування та пенетрантності гена;
- визначення інтенсивності мутаційного процесу;
- розшифровка механізмів взаємодії генів;
- встановлення зчепленого спадкування;
- проведення медико-генетичного консультування генних захворювань (*не хромосомних хвороб!*).

**2. Близнюковий метод** використовується в генетиці людини для оцінки ступеню впливу спадковості та середовища на розвиток будь-якої нормальної або патологічної ознаки (найчастіше психологічних характеристик людини: інтелекту, темпераменту, моторики, нейротицизму тощо). Це один із ранніх методів вивчення генетики людини, проте він не втратив свого значення донині. Близнюковий метод застосований Френсісом Гальтоном, який виділив дві групи близнюків: однайцеві (монозиготні) та двояйцеві (дизиготні).

Монозиготні близнюки завжди однієї статі та генетично ідентичні. Вони формуються на ранніх стадіях дробіння зиготи, коли з двох або більшої кількості (що буває рідко) бластомерів розвиваються повноцінні організми. Оскільки спадковий матеріал клітин монозиготних (МЗ) близнюків однаковий, то відмінності, що виникають між ними, залежать від впливу умов середовища на експресію генів генотипу.

Дизиготні близнюки народжуються частіше (2/3 загальної кількості двоен), вони розвиваються з двох одночасно дозрілих і запліднених різними сперматозоїдами яйцеклітин. Такі близнята можуть бути одностатевими та різностатевими, вони є схожими між собою не більше, ніж брати і сестри, народжені в різний час. З генетичної точки зору вони подібні як звичайні сібси, але у них більша спільність факторів середовища у внутрішньоутробному (пренатальному) та частково в постнатальному періодах.

Якщо досліджувана ознака виявляється в обох близнят однієї пари, їх називають *конкордантними*. Відсутність ознаки в одного з близнюків називається *дискордантністю*. Для з'ясування факту генетичної обумовленості ознаки та ступеню її мінливості в

залежності від середовища визначають ступінь подібності (конкордантності) та ступінь відмінності (дискордантності) МЗ близнюків. Для цього розраховують **коефіцієнт успадкованості ознаки (H)** за формулою:

$$H = \frac{\% \text{ подібності (конкордантності) МЗ} - \% \text{ подібності (конкордантності) ДЗ}}{100 - \% \text{ подібності (конкордантності) ДЗ близнюків}}$$

де МЗ – монозиготні (однойцеві) близнюки;

ДЗ – дизиготні (двойцеві) близнюки.

Якщо  $H = 1$ , це означає, що ознака повністю контролюється спадковістю; якщо  $H = 0$ , ознака визначається впливом середовища; при  $H = 0,5$  розвиток ознаки контролюється приблизно однаковим впливом спадковості та середовища.

Завдяки використанню близнюкового методу з'ясована спадкова обумовленість деяких захворювань людини: шизофренії, епілепсії, цукрового діабету. За допомогою близнюкового методу можна визначити: 1) співвідносну роль спадковості та середовища у формуванні фізіологічних і психологічних ознак і властивостей організму; 2) коефіцієнт успадкованості ознаки; 3) гетерогенність популяції щодо досліджуваних генів; 4) конкретні чинники, які посилюють або послаблюють вплив зовнішнього середовища на розвиток спадкових ознак; 5) роль середовища у зміні ступеню мінливості ознаки; 6) кореляцію окремих ознак і функцій організму.

**3. Цитогенетичний метод** використовують як сполучення цитологічного методу з генеалогічним, що дозволяє встановити зв'язок фенотипного ефекту з певним типом хромосомних змін. Якщо ж такої можливості немає та носії хромосомних аномалій є безплідними, цей метод більш коректно називати *цитологічним*. Цитогенетичний метод є цінним для встановлення статевої належності людини, для діагностики хромосомних захворювань. Він дозволяє виявляти значні аномалії хромосом, що виникають як у статевих, так і в соматичних клітинах. Завдяки розробці методів культивування *in vitro* та диференційного забарвлення хромосом під час мітозу та в інтерфазних клітинах можна отримати цінну інформацію про каріотип людини.

**Каріотипування** (цитогенетичне дослідження) – це аналіз каріотипу клітин людини, що діляться в культурі, шляхом мікроскопічного дослідження забарвлених хромосом. Каріотипування успішно використовується в медичній генетиці і в практиці медико-генетичного консультування для:

1) визначення причин вроджених дефектів або діагностики хромосомного захворювання дитини;

2) виявлення числових і структурних аномалій хромосом у дорослої людини та з'ясування того, як це впливає на її здоров'я і може вплинути на здоров'я її майбутніх нащадків;

3) з'ясування, чи є дефект хромосоми причиною безпліддя жінки або причиною викидня (оскільки ранні мимовільні викидні в 40-80% випадків спричинені хромосомними аномаліями);

4) з'ясування, чи присутні аномальні хромосоми у плода;

5) з'ясування, чи саме хромосомні проблеми є причиною внутрішньоутробної загибелі плоду;

6) допомоги у виборі відповідного лікування деяких видів пухлин;

7) визначення статі людини за наявністю статевого хроматину (якщо визначення статі новонародженої дитини утруднено).

Цитогенетичний аналіз використовується також для встановлення філогенетичних зв'язків між групами рослин або тварин; вивчення еволюції каріотипів; побудови карт хромосом; при клонуванні рослин і тварин; використання хромосомних порушень в якості теста на пошкоджуючу дію фізичних, хімічних і біологічних факторів при вивченні інтенсивності мутаційного процесу; при дослідженні нормального хромосомного поліморфізму людських популяцій.

**4. Біохімічний метод** антропогенетики (генетики людини) використовуються для діагностики захворювань обміну речовин, причиною яких є зміна активності певних ферментів. За допомогою біохімічних методів діагностовано близько 500 генних захворювань, які є наслідком фенотипного проявлення мутантних генів. Біохімічні методи відрізняються значною трудомісткістю, вимагають спеціального обладнання і тому не можуть широко використовуватися для масових популяційних досліджень з метою раннього виявлення хворих із спадковою патологією обміну.

Біохімічний метод є основним у діагностиці багатьох моногенних захворювань, причиною яких є порушення обміну речовин. Об'єктами біохімічної діагностики є біологічні рідини: кров, сеча, амніотична рідина тощо. За допомогою даного методу можна визначити активність ферментів або вміст деяких продуктів метаболізму в біологічних рідинах. Широке використання знайшов біохімічний метод у пренатальній діагностиці вроджених вад розвитку. Біохімічні методи включають визначення рівня альфа-фетопротеїна, хоріонічного гонадотропіна в сироватці крові вагітної жінки. Ці методи є просіюючими для виявлення вроджених вад розвитку. Наприклад, при дефектах невральної трубки підвищується рівень альфа-фетопротеїну в крові.

Практично в усіх випадках біохімічна діагностика включає 2 рівні: первинний і уточнюючий. Метою первинного рівня діагностики є виключення здорових індивідів з подальшого обстеження. Для цього використовують два види програм діагностики: *масові* та *селективні*.

*Масові просіючі програми* використовують для виявлення в новонароджених дітей таких захворювань, як фенілкетонурія, вроджений гіпотериоз, муковисцидоз, галактоземія. Такі програми також використовуються для виявлення захворювань, поширених у певних групах населення. Наприклад, в США організована просіюча біохімічна програма з виявлення гетерозиготних носіїв ідіотії Тей-Сакса (вона найчастіше зустрічається серед євреїв-ашкеназі).

На Кипрі та в Італії організовано біохімічне дослідження гетерозиготних носіїв таласемії. Програма складається з двох етапів. На першому етапі серед великої кількості обстежених виявляють хворих, які мають певне спадкове відхилення від норми в обміні речовин. Така програма називається просіючою, або *скринінг-програмою*. Для цього етапу зазвичай використовується невелика кількість простих, доступних методик (експрес-методів). Другий етап проводиться з метою уточнення (підтвердження діагнозу або відхилення при хибно-позитивній реакції на першому етапі). Для цього використовуються точні хроматографічні методи визначення ферментів, амінокислот тощо. Застосовують також мікробіологічні тести, засновані на тому, що деякі штами бактерій можуть рости тільки на середовищах, які містять певні амінокислоти або вуглеводи.

*Селективні діагностичні програми* передбачають перевірку біохімічних аномалій обміну в пацієнтів з підозрою на генні спадкові хвороби. У селективних програмах можуть використовуватися прості якісні реакції (наприклад, тест з хлоридом заліза для виявлення фенілкетонурії або тест з динитрофенілгідрозинном для виявлення кетокислот у сечі). Наприклад, за допомогою тонкошарової хроматографії сечі та крові можна діагностувати спадкові порушення обміну амінокислот і мукополісахаридів. За допомогою електрофорезу гемоглобінів діагностується вся група гемоглобінопатій.

**5. Молекулярно-генетичні методи** використовуються для вивчення та виявлення генних варіантів у структурі ДНК. Для кожної ділянки ДНК, що досліджується, гена чи алеля застосовуються певні молекулярно-генетичні методи. В основі кожного з них лежать маніпуляції з РНК та ДНК. Всі ці методи

відрізняються складністю, без лабораторних умов проводитися не можуть, персонал повинен бути висококваліфікованим. Проводиться ця робота в декілька етапів.

Перший етап – отримання ДНК з будь-якого біологічного зразка: краплина крові, лейкоцити, культура фібробластів, слизова оболонка (зіскоб), волосяні цибулини. Виділена ДНК довго зберігається при заморожуванні. Другий етап – накопичення потрібних фрагментів ДНК (ампліфікація ДНК) за допомогою полімеразної ланцюгової реакції *in vitro*. В результаті обраний фрагмент ДНК клонується за допомогою ланцюгової реакції в десятки тисяч копій. Третій етап – рестрикція (розрізання) розмноженого фрагменту ДНК за допомогою рестриктаз із подальшим розміщенням рестриктів на поліакриламідному або агарозному гелі. Використання цього молекулярно-генетичного методу дозволяє кожному фрагменту ДНК зайняти в гелі певне положення. Після цього гель обробляється бромідом етидію, здатним зв'язуватися з ДНК, проводиться опромінення ультрафіолетом, після чого можна спостерігати ділянки світіння та за місцем зв'язування рестрикту з міченим ДНК-зондом ідентифікувати досліджуваній ген. Молекулярно-генетичні методи діагностики різноманітні та численні, однак перші два етапи характерні для всіх методів.

Методи ДНК-діагностики в медицині використовуються:

- 1) для діагностики моногенних і мультифакторіальних спадкових захворювань;
- 2) для пренатальної діагностики моногенних захворювань або статі плода (у випадках Х – зчепленого спадкування);
- 3) у судовій медицині для ідентифікації особи (геномна дактилоскопія) та встановлення родинних зв'язків;
- 4) для діагностики інфекційних захворювань;
- 5) для діагностики онкологічних захворювань;
- 6) для виявлення гетерозиготних і гомозиготних носіїв мутації.

Знаходження мутантних генів у гомозиготному чи гетерозиготному станах відповідно при рецесивних або домінантних захворюваннях є безперечним підтвердженням діагнозу. Перевага ДНК-діагностики у порівнянні із іншими методами молекулярної генетики людини в тому, що цей метод дозволяє виявити та дослідити саме першопричину захворювання (ген, його локалізацію, тип ушкоджень). Цей метод дозволяє виявити навіть мінімальні порушення первинної структури ДНК (в тому числі одонуклеотидні заміни), які неможливо дослідити іншими методами. ДНК-діагностика є малоінвазивною процедурою



(достатньо 1-2 мл крові, букального епітелію, або декількох клітин матеріалу плоду, взятого в першому триместрі вагітності).

**6. Онтогенетичний метод** поширений у генетиці людини та базується на вивченні особливостей проявлення ознаки або захворювання в процесі онтогенезу.

Більшість ознак формується в пренатальному періоді. У різні періоди розвитку організму відбувається зміна активності генів, причому може спостерігатися як «включення» і «виключення» генів, так і «посилення» та «послаблення» їхньої дії. У постнатальний період, наприклад, відбувається включення генів, що визначають розвиток вторинних статевих ознак, спадкових захворювань (цукрового діабету, короткозорості, міопатії Дюшена та інших). У похилому віці відбувається виключення багатьох генів: репресується активність генів, що обумовлюють продукування меланіну (як наслідок відбувається посивіння волосся), не синтезується еластаза (з'являються зморшки), пригнічується продукування гама-глобулінів (підвищується схильність до бактеріальних інфекцій). З віком рецесивні гени здатні впливати на розвиток тієї чи іншої ознаки. У випадку гетерозиготності за фенілкетонурією в людини змінюються психічні функції.

У процесі онтогенезу формується також конституція людини. Нині лікарі почали все більше звертати увагу на конституційні хвороби. З'ясовано, що люди астеничної тілобудови більш схильні до розвитку туберкульозу легень. У людей з надмірною вагою найчастіше спостерігається атеросклероз і гіпертонічна хвороба.

**7. Популяційно-генетичний метод** дозволяє дослідити поширеність окремих генів або хромосомних аномалій у популяціях. Метод базується на використанні елементів математичної і варіаційної статистики. Для аналізу генетичної структури популяції необхідно обстежити велику за розмірами вибірку, котра має бути *репрезентативною* – об'єктивно відображати всю генеральну сукупність, тобто всю популяцію в цілому. У вибірці встановлюють розподілення організмів за відповідними чітко визначеними фенотипними класами, відмінності між якими спадково обумовлені. Потім, виходячи з визначених фенотипних частот, встановлюють генні частоти. На основі знання генних частот можна описати генетичну структуру популяції, що аналізується, за формулою Харді-Вайнберга, вивчити напрямок та інтенсивність дії факторів її еволюції. Розподілення генних частот у популяції має важливе значення для оцінки наслідків родинних шлюбів, для з'ясування структури та динаміки генофонду популяції.

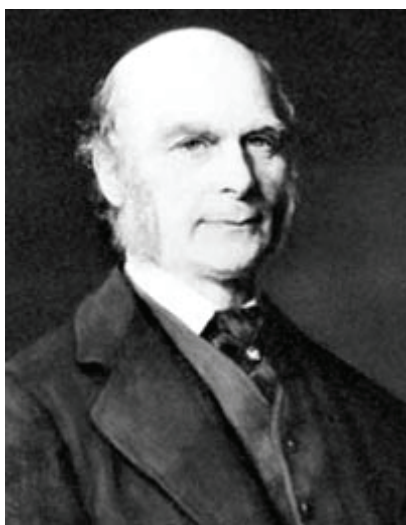
### 1.3. Історія розвитку генетики

**Доменделевський період розвитку уявлень про спадковість.** Фактично з давнини до початку ХХ століття гіпотези про механізми спадковості не мали наукового підґрунтя та базувалися лише на аналізі спостережень. На той час існували дві теорії – *прямого і непрямого спадкування ознак*.

Ще в V столітті до н.е. грецький філософ і лікар *Гіппократ* висунув першу гіпотезу про механізми спадковості – теорію прямого спадкування ознак, за якою статеві задатки матері та батька (яйцеклітини та сперматозоїди) формуються з клітин всіх органів, тому ознаки батьків передаються нащадкам. При цьому здорові органи передають нащадкам здоровий репродуктивний спадковий матеріал, а нездорові – аномальний. Ідеї Гіппократа набагато пізніше (у кінці ХVIII – на початку ХІХ століття) були використані автором теорії еволюції *Ж.-Б. Ламарком* для побудови теорії передачі потомству нових, набутих протягом життя ознак.

За теорією непрямого спадкування (*Аристотель*, IV століття до н.е.), статеві задатки обох статей, які приймають участь у заплідненні, формуються не на основі відповідних органів, а з поживних речовин, необхідних для функціонування цих органів.

На підґрунті ідей Гіппократа виникла *теорія пангенезису* Ч. Дарвіна, сформульована ним у 1868 році. Тоді, в середині ХІХ століття, вважалося, що спадковість пов'язана з кров'ю (звідси слова – кровне родство, чистокровний). *Ч. Дарвін* вважав, що в клітинах крові знаходяться частки спадковості – *гемули*.



**Френсіс Гальтон**  
(1822-1911 рр.)

Циркулюючи з плином крові в судинній системі організму, вони досягають статевих клітин. Після запліднення, під час онтогенезу гемули перетворюються в клітини, з яких вони виникли, з усіма особливостями, набутими протягом життя батьків. Пізніше англійський лікар *Ф.Гальтон* (F. Galton) спростував цю теорію: переливання крові від чорних кролів білим і гібридизація останніх між собою у трьох поколіннях не супроводжувалася зміною забарвлення шерсті у тварин, що свідчить про те, що в крові кролів гемул не було.

В якості альтернативи теорії пангенезису німецький зоолог *А.Вейсман* у 80-х роках ХІХ століття запропонував власну гіпотезу

спадковості, за якою в будь-якого організму існують два типи клітин: диплоїдні клітини тіла – соматичні та статеві клітини, де міститься особлива спадкова субстанція – “зародкова плазма”, яка є безсмертною та здійснює зв’язок між поколіннями шляхом передачі спадкових ознак і властивостей батьківських організмів нащадкам. Пізніше він припустив, що гени в якості спадкових факторів знаходяться в хромосомах.

Існування простих типів спадкування ознак у різних біологічних видів відмічено ще задовго до виникнення наукової генетики. У XVIII-XIX століттях дослідники-практики рослинництва О. Сажре та Ш. Ноден (Франція), А.Гершнер (Німеччина), Т.Найт (Англія) звернули увагу на переважання ознак одного з батьків у гібридного потомства. У 1750 році французький лікар *П.Мопертюї* описав характер успадкування домінантної аутосомної ознаки – шестипалості (полідактилії), причому його аналіз розщеплення за цією ознакою багато в чому випереджав відкриття Менделя.

Генетика людини як наука виникла завдяки працям *Ф. Гальтона*. Більшість вчених вважають його, поряд з Г. Менделем, одним із засновників наукової генетики. Гальтон першим запропонував спадковість людини розглядати як предмет вивчення, став засновником генеалогічного, близнюкового, дерматогліфічного, дактилоскопічного, статистичного методів антропогенетики. Гальтон вперше сформував положення, що для розвитку психічних особливостей людини визначальне значення мають умови соціального середовища та спадкові фактори. У 1889 році Ф. Гальтон сформулював один із законів успадкування (*закон регресії*): “Кожне відхилення батьків від норми або середньої величини передається потомству, але лише в частковому вигляді. Деяка частина ухилення при цьому успадковується (регресія), інша частина зникає”.

Ф. Гальтон є засновником методів дактилоскопії (розділ криміналістики, що вивчає будову шкірних візерунків долонних поверхонь нігтьових фаланг пальців) і дерматогліфіки (вивчення деталей рельєфу шкіри долонь і стопи), запропонував використовувати метод ідентифікації людини за його відбитками пальців, який з успіхом почав застосовуватися англійською поліцією для розпізнавання злочинців та їхніх жертв. Досліджуючи спадкування кількісних ознак людини, Гальтон визначив, що такі ознаки як інтелект, зріст і маса тіла контролюється багатьма генами (полігенно). Ф. Гальтон вивчав успадкування розумових здібностей, обдарованості, таланту; він

вважав, що спеціальними генетичними методами можна покращити людські властивості та створив особливий напрям генетики – *евгенику*. Це вчення було покликане боротися з явищами виродження в людському генофонді.

Британський вчений *Дж. Адамс* (Adams) справедливо названий сучасними дослідниками "забутим засновником медичної генетики". У 1814 році опублікована його праця "Філософський трактат про спадкові властивості людської раси", яка стала першим довідником генетичного консультування, складеним на основі експериментальних досліджень. У трактаті сформульовані наступні фундаментальні висновки:

1) шлюби між родичами підвищують частоту сімейних (тобто рецесивних) захворювань;

2) спадкові (домінантні) хвороби не завжди виявляються відразу після народження, але можуть розвинутиися в будь-якому віці;

3) зовнішні фактори сприяють реалізації спадкової схильності в захворювання;

4) спадкові хвороби можна лікувати, якщо усунути шкідливі фактори;

5) існує внутрісімейна кореляція віку настання спадкових захворювань;

6) спадкові хвороби гетерогенні, тобто мають різне фенотипне вираження;

7) не всі вроджені захворювання є спадковими, частина з них пов'язана з внутрішньоутробним ураженням плоду (наприклад, при сифілісі);

8) підвищена частота спадкових захворювань в ізольованих популяціях може бути спричинена близькородинними шлюбами.

Значний внесок у розвиток уявлень про спадковість вніс німецький ботанік *В. Кельрейтер* (1733-1806), який поєднував проведення міжвидових схрещувань рослин з аналізом їх пилку за допомогою мікроскопу. Кельрейтер описав більш потужній розвиток гібридів першого покоління (гетерозис), хоча і не міг його пояснити; вперше застосував схему аналізуючого схрещування та спостерігав появу форм із ознакою одного з батьків, пилком якого був запліднений гібрид. Недоліком експериментів В. Кельрейтера було те, що він досліджував у гібридів одночасно велику кількість ознак, а також проводив зазвичай міжвидові схрещування, тому не зміг встановити закономірності спадкування ознак у потомстві. Незважаючи на це, роботи В. Кельрейтера вважаються «фундаментом» класичної генетики.

У 1799 р. британський ботанік *Т. Найт* (1759-1838) на основі дослідів над рослинними гібридами гороху описав явище домінування ознаки. Ч. Дарвін розвинув ці висновки в вигляді «закону Найта-Дарвіна». Однак, так само як і В. Кельрейтер, Т. Найт не звернув уваги на характер розщеплення ознак у потомстві.

Французький дослідник *О. Сажре* на відміну від попередників (В. Кельрейтера, Т. Найта та ін.), які не пішли далі загальних спостережень і описів своїх дослідів, першим встановив стабільність успадкування окремих ознак. Тому саме він вважається першим «свідомим попередником» Г. Менделя.

Основи сучасних уявлень про механізми спадковості були закладені тільки у середині ХІХ століття. Фактично всіх зазначених вище дослідників слід вважати попередниками *Г. Менделя* – засновника наукової генетики.

Історію генетики умовно поділяють на три етапи:

1. **Етап класичної генетики** – створення теорії дискретної спадковості (менделізм) та хромосомної теорії спадковості (роботи Моргана та його школи), поглиблення принципів класичної генетики та перегляд низки її положень, дослідження мутаційної мінливості, докази складної будови гена та генетичної ролі молекул ДНК як матеріальної основи спадковості.

2. **Етап вивчення властивостей ДНК** (1944-1970 рр.)

3. **Етап розвитку геноміки** (з 1977 року по нинішній час) – дослідження молекулярних основ будови та функціонування геномів різних видів організмів, в тому числі людини, інтенсивні дослідження в галузі генетичної інженерії.

Охарактеризуємо кожний із цих етапів.

**Етап класичної генетики (1865 – 1941 рр.).** Засновником генетики як науки визнаний **Грегор Мендель**, який зміг чітко та методично грамотно провести сплановане експериментальне дослідження з гібридизації рослин (див. Розділ 3). На початку проведення дослідження Мендель зрозумів, що рослини для успішного проведення гібридизації мають належати до одного біологічного виду, чітко відрізнятися альтернативними (контрастними) ознаками, які передаються в спадок; батьківські та



**Грегор Мендель**  
(Mendel)  
(1822 – 1884)

гібридні форми мають бути захищені від запилення іншим сортом. Схрещуючи різні сорти гороху, що відрізняються однією чи декількома контрастними ознаками та враховуючи кількісні розподілення цих ознак у потомстві, Мендель довів, що в статевих клітинах існують *фактори спадковості*, кожний з яких контролює формування певної ознаки організму.

Спадкові фактори не змішуються у нащадків з покоління в покоління, не розчиняються, як вважали Ч. Дарвін і Ф. Гальтон, інші дослідники до Менделя, а поводять себе як самостійні дискретні одиниці. Про результати своїх дослідів Г. Мендель доповів на засіданні наукового товариства в місті Брно (Чехія). Його робота під назвою "*Досліди над рослинними гібридами*" була опублікована в 1866 році і залишилася майже непоміченою.

Сформульовані закономірності спадкування пізніше отримали назву *закони Менделя*. За життя автора ці роботи були маловідомі, сприймалися досить критично. Результати досліджень нічної красуні, суперечили, на перший погляд, висновкам Менделя, чим досить охоче користувалися критики.

Лише через 35 років, у 1900 році, після відкриття існування хромосом та після детального вивчення процесів мітозу, мейозу, запліднення, незалежно один від одного дослідники *Гуго де Фриз* (Нідерланди), *Карл Корренс* (Німеччина) та *Ерих Чермак* (Австрія) встановили ті ж самі закономірності незалежного спадкування і кількісні співвідношення розщеплення ознак у потомства, що й Мендель. Вчені підкреслили пріоритет Г. Менделя у відкритті основних законів спадковості.



*Вільям Бетсон*  
(1861-1926)

У 1906 році британський біолог *В. Бетсон* запропонував назвати науку про спадковість і мінливість *генетикою*.

Центральним і фундаментальним поняттям генетики є поняття про ген. Вже на початку ХХ століття постало питання, що таке ген і де він знаходиться в клітині. У 1903 році німецький біолог *Т. Бовері* та студент Колумбійського університету *У. Сеттон* незалежно один від одного, порівнюючи поведінку хромосом під час мейозу та запліднення з характером розщеплення спадкових факторів за законами Менделя, припустили, що останні мають знаходитися в хромосомах. У 1909 році датський біолог *В. Йогансен*

(1857–1927) назвав *генами* відкриті Менделем фактори спадковості та ввів в науку терміни «*генотип*» і «*фенотип*».

У 1869 році швейцарський біохімік **Ф. Мішер** із сперми лосося виділив фосформістку речовину з клітинних ядер, яку він назвав *нуклеїном* (дезоксирибонуклеїнова кислота).

У 1906 році англійські генетики **В. Бетсон** і **Р. Пеннет**, досліджуючи спадкування ознак у запашного горошку, відкрили явище зчепленого спадкування; англійський генетик **Л. Донкастер** – явище зчепленого зі статтю спадкування в дослідах з метеликом агрузовою пяденицею.

Наступним етапом у розвитку теорії гена було створення хромосомної теорії спадковості завдяки результатам дослідів з дрозофілою, проведених американськими генетиками **Т.Х. Морганом** та його учнями: **А. Стертевантом**, **К. Бріджесом**, **Г. Меллером**. У 1911 році американським генетиком **Т.Х. Морганом** і його співробітниками було доведено, що хромосома складається з генів, послідовно розташованих по всій її довжині. Кожний ген займає своє певне місце (локус) на хромосомі. Морган встановив також закономірності спадкування ознак, зчеплених із статтю (*Нобелівська премія 1933 року з фізіології і медицини за експериментальне обґрунтування хромосомної теорії спадковості*).

У 1913 році **А. Стертевант** складає першу генетичну карту хромосоми, на якій



**Томас Хант  
Морган  
(1866-1945)**



**Альфред Генрі  
Стертевант  
(1891-1970)**



**Кальвін Бріджес  
(1890-1967)**



**Герман Меллер  
(1889-1938)**

показане розміщення та відносні відстані між окремими генами; згодом такі карти були встановлені також для інших генетично вивчених об'єктів.

У 1900 році **Карл Ландштейнер** відкрив існування системи груп крові АВО і тим самим започаткував вивчення спадкування поліморфних (різноманітних) ознак у людини. Групи крові системи АВО є першою дискретною ознакою людини, яка нині розглядається як приклад спадкового поліморфізму. У 1913 р. описаний поліморфізм здатності людини відчувати смак фенілтіосечовини. Пізніше виявлені й інші приклади спадкового поліморфізму, що стало можливим завдяки використанню електрофорезу білків.

У 20-х–30-х роках минулого століття **Р. Фішер** і **Дж. Холдейн** (Велика Британія), **С. Райт** (США), **Р. Дальберг** (Швеція), **Л. Хогбен** і **Ф. Бернштейн** (Німеччина) зробили значний внесок у розвиток теоретичної генетики та еволюції, у розробку популяційно-статистичних методів антропогенетики. Вони запропонували методи статистичного аналізу закономірностей успадкування, розщеплення ознак і визначення частоти мутацій. У 1918 році опублікована наукова стаття Фішера "*On the correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance*" ознаменувала собою початок створення синтетичної теорії еволюції.

Людина виявилася першим об'єктом біохімічної генетики. Лондонський лікар **А. Гаррод**, вивчаючи клінічні проявлення алкаптонурії, вперше виявив взаємозв'язок генів і ферментів і, спостерігаючи патологічні випадки, описав у хворих вроджені порушення обміну речовин.



**Микола Іванович  
Вавилов  
(1887-1943)**

У 1922 році радянський вчений **М. І. Вавілов** сформулював *закон гомологічних рядів у спадковій мінливості організмів*, в якій відкрив паралелізм у мінливості близьких за походженням таксонів рослин, за яким можна стверджувати про генетичну близькість цих груп.

Будучи організатором і учасником ботаніко-агрономічних експедицій, що охопили більшість континентів (окрім Австралії і Антарктиди), М.І.Вавілов виявив древні осередки формоутворення культурних рослин, створив вчення про



світові центри походження культурних рослин, обґрунтував вчення про імунітет рослин, зробив істотний внесок в розробку вчення про біологічний вид. Під керівництвом Вавилова була створена найбільша в світі колекція насіння культурних видів. М.І.Вавілов створив основи системи державних випробувань сортів польових культур, сформулював принципи діяльності головного наукового центру країни з аграрних наук, створив мережу наукових установ у цій галузі.

М.І. Вавілов загинув під час сталінських репресій. На підставі сфабрикованих звинувачень був заарештований в 1940 році, в 1941 році – засуджений до розстрілу; вирок згодом був замінений 20-річним терміном ув'язнення. Помер у в'язниці. У 1955 році помертньо реабілітований.

У 1925 році **Г. А. Надсон, Г. С. Філіпов** у досліджах з пліснявим грибом мукором довели можливість штучного одержання мутацій під дією іонізуючого опромінення. У 1927 році можливість індукції мутацій шляхом рентгенівського опромінення показана **Г. Меллером** (Нобелівська премія з фізіології та медицини, 1946 р.).

У 1926 році радянський вчений **С. С. Четвериков** опублікував статтю «Про деякі моменти еволюційного процесу з точки зору сучасної генетики», яка стала підґрунтям популяційної генетики, синтезу генетики та теорії еволюції.

У 30-х роках ХХ століття голандський ботанік і генетик **Гуго де Фріз** розробив мутаційну теорію мінливості. Радянський вчений **М. К. Кольцов** висунув ідею матричного синтезу, яка пізніше стала основою молекулярної біології.

У 1928 році англійський генетик і лікар **Фредерик Гриффіт** відкрив явище трансформації у бактерій.

У 1929-1930 роках радянські генетики **А.С. Серебровський** і **М.П. Дубінін** вперше продемонстрували складну природу гена.

У 30-40-і роки минулого століття американський цитогенетик **Барбара МакКлінток** (*McClintock*) розробила метод візуалізації хромосом клітин кукурудзи і, застосувавши мікроскопічний аналіз, зробила безліч фундаментальних відкриттів у цитогенетиці: відкрила рекомбінацію спадкової інформації в результаті кросинговеру під час мейозу;



**Барбара  
МакКлінток  
(McClintock)  
(1902-1992)**

склала першу генетичну карту кукурудзи на основі визначення фізичних властивостей ділянок хромосом; показала роль теломер і центромер – ділянок хромосом, задіяних у збереженні генетичної інформації; розробила теорію, що пояснює репресію та експресію генетичної інформації під час її передачі в низці поколінь (на прикладі кукурудзи).

У 1951 році МакКлінток відкрила існування *транспозонів* (мігруючих по геному генетичних елементів). Її роботи отримали визнання тільки в 1960-1970-х роках, коли був вивчений механізм регуляції генів, відкритий самою МакКлінток у 1940-і роки. У 1983 році МакКлінток була удостоєна Нобелівської премії з фізіології і медицини з формулюванням «За відкриття мобільних генетичних елементів».

На відміну від інших країн, де генетика як наука стрімко розвивалася, в колишньому СРСР із середини 1930-х до першої половини 1960-х років минулого століття будь-які наукові генетичні дослідження за вказівкою І. Сталіна були заборонені. Під час так званого великого терору, започаткованого І. Сталіним, більшість співробітників апарату ЦК ВКП(б), які займалися генетикою, та відомих генетиків були заарештовані, більшість із них розстріляні або загинули в тюрмах (в тому числі М.І. Вавілов). У 1948 році на серпневій сесії ВАСГНІЛ засновник псевдонаукової мічуринської агробіології **Т. Д. Лисенко** оголосив наукові досягнення західних вчених-генетиків лженаукою, зв'язавши їх з пропагандою еugenіки та расизму. Лисенко скористався науковою некомпетентністю партійного керівництва, «пообіцявши партії» швидке створення нових високопродуктивних сортів зерна (зокрема, «гіллястої пшениці»). Період гонінь на генетику в СРСР, що отримав назву **лисєнківщина**, тривав аж до зняття М. С. Хрущова з посади генерального секретаря ЦК КПРС в 1964 році.

У 1935 році **М. В. Тимофєєв-Ресовський, К. Г. Циммер, М. Дельбрюк** експериментально визначили розміри гена, створили першу біофізичну модель його структури та запропонували можливі способи його зміни. Ними дано трактування гена з позицій квантової механіки та створений фундамент для відкриття структури ДНК.

У 1941 році американці **Дж. Бідл** і **Е. Татум** встановили, що в генах закодована інформація про структуру білків, сформулювали теорію «один ген – один фермент». Дж. Бідл дослідив природу і функції генів, встановив здатність бактерій з'єднувати чужорідні генетичні субстанції з власними. *За ці відкриття Дж. Бідл спільно з Е. Тейтумом і Дж. Ледербергом*

удостоєні у 1958 році Нобелівської премії з фізіології і медицини «за дослідження з генетики мікроорганізмів».

У 1943 році **І.А. Рапопорт, Ш. Ауербах, Дж.Р. Робсон** вперше показали можливість індукції мутацій хімічними речовинами.

У 1944 році в результаті робіт із трансформації у бактерій американські біологи **О. Ейвери (O.Avery), С. МакЛеод (C.McLeod), М. МакКарті (M.McCarty)** встановили, що трансформуючим агентом у пневмококів є ДНК, отже, цей компонент хромосом є носієм спадкової інформації. Пізніше, в 1952 році в експериментах американських генетиків **Альфреда Херші і Марти Чейз** показано, що інфекційним елементом вірусів служить їх нуклеїнова кислота. У цьому ж 1952 році американський генетик і біохімік **Джошуа Леденберг** відкрив у сальмонели явище трансдукції, тобто перенесення вірусами генів клітини-хазяїна, чим ще раз довів роль ДНК у спадковості.

**Етап вивчення властивостей ДНК** розпочинається з 50-тих років ХХ століття завдяки колективним зусиллям вчених різних галузей природничих наук: біофізиків, біохіміків, математиків, мікробіологів, генетиків. Результатом такого синтезу знань стало відкриття моделі вторинної структури ДНК американськими біологами та біофізиками **Джеймсом Уотсоном і Френсисом Кріком**. Використовуючи правила Чаргаффа та рентгенограми **Розалінди Франклін і Моріса Уїлкінса**, Уотсон і Крік побудували двоспіральну модель ДНК. Результати роботи опубліковані 30 травня 1953 року в журналі *Nature*. Ця модель пояснювала всі відомі факти про молекулярну структуру ДНК, пропонувала матричний принцип її відтворення (реплікації), відкрила шлях до розуміння численних фундаментальних механізмів генетичних процесів. У 1962 році, спільно з **М. Х. Ф. Уїлкінсом, Уотсону та Кріку** присуджена Нобелівська премія з фізіології і медицини «за відкриття, що стосуються молекулярної структури нуклеїнових кислот і їх значення для передачі інформації в живих системах». Саме ці відкриття сучасні вчені вважають датою народження **молекулярної біології**.

З кінця 50-х – початку 60-х років минулого століття відбувається стрімкий розвиток генетики та молекулярної біології. Потік відкриттів у цих напрямках є вражаючим, тому коротко наведемо лише деякі з них.

У 1958 році **Ф. Крік** сформулював принцип передачі спадкової інформації в напрямку ДНК→РНК→білок, який одержав назву «**центральна догма молекулярної біології**». У цьому ж році

експеримент, проведений американськими молекулярними біологами **Метью Мезельсоном** та **Франкліном Сталем** показав, що подвоєння ДНК носить напівконсервативний характер. Наступним успіхом була розшифровка генетичного коду. Питання про те, як чотири різних нуклеотиди в складі ДНК можуть кодувати 20 амінокислот поліпептиду, вперше в 1954 році поставив фізик-теоретик **Г. Гамов**, а експериментально вирішили це питання в 1961 році біохіміки **М. Ніренберг**, **Р. Холлі**, **Г. Хорана**, **Ф. Крік**, **С. Бреннер**.

У 1961 році французькі мікробіологи та генетики **Франсуа Жакоб** і **Жак Моно** відкрили оперонний принцип організації генів прокариот і регуляції генної активності в бактерій. У 1965 р. *Нобелівська премія з фізіології і медицини присуджена А. М. Львову, Ф. Жакобу, Ж. Моно за відкриття генетичного контролю синтезу ферментів і вірусів.*

У 1964 році американець **Говард Тьомін** на прикладі РНК-містких вірусів показав, що центральна догма Уотсона не завжди вірна.

У 1970 році під час вивчення бактерії *Haemophilus influenzae* виявлені ферменти рестриктази, які дозволяють вирізати та вбудовувати ділянки молекул ДНК.

У 1969 році в США **Г. Корана** зі співробітниками синтезували хімічним шляхом перший ген. Продовжуючи вивчати будову гена, в 1977 році **П. Робертс** та **Ф. Шарп** встановили, що гени аденовірусів (пізніше з'ясувалося, що і в еукаріот) мають мозаїчну екзон–інтронну структуру (тобто складаються з кодуєчих (екзони) та некодуєчих (інтрони) нуклеотидних послідовностей) і відкрили явище сплайсингу (*Нобелівська премія по фізіології і медицині в 1993 р.*). У тому ж році **Дж. Уебер**, **У. Джелінек**, **Дж. Дарнел** відкрили альтернативний сплайсинг.

**Етап розвитку геноміки.** Нова революція в генетиці відбулася в середині 70-х років минулого століття та започаткувала новий, сучасний етап розвитку генетики – розвиток геноміки. На цьому етапі нові відкриття були побудовані на синтезі молекулярної і біохімічної генетики, генетики бактеріофагів, бактерій і плазмід, дріжджів, ссавців і дрозофіли. Використовуючи знання про організацію спадкового апарату різних модельних об'єктів, вдалося розробити технології маніпуляцій з генами – **технології генної інженерії**.

У 1974 році британські генетики **К. Маррей** і **Н. Маррей**, маніпулюючи рестрикційними сайтами фага лямбда (фага  $\lambda$ ), створили хромосому, здатну включати в себе чужорідну ДНК. Надалі

фаг  $\lambda$  став використовуватися в якості вектора для клонування чужорідної ДНК, що дозволило переносити гени та фрагменти ДНК з одного виду організмів в інший (горизонтальне перенесення генетичної інформації) та клонувати (розмножувати) їх.

У 1975 році британський молекулярний біолог **Едвін Саузерн** описав метод перенесення фрагментів ДНК з агарозного гелю на нітроцелюлозний фільтр, який надалі гібридизував з радіоактивним ДНК-зондом і виявляв гібриди за допомогою методу авторадіографії. Цей метод одержав назву *Саузерн-блот гібридизація*; він дозволяє визначати наявність в геномі певної фракції ДНК, картувати місцезнаходження гена та інсерцій (вставок) чужорідної ДНК, знаходити точки розривів при хромосомних перебудовах, клонувати гени.

У 1977 році британські біохіміки **У. Гілберт, А. Максам, Ф. Сенгер** відкрили швидкі методи визначення (секвенування) довгих нуклеотидних послідовностей ДНК. У 1980 році **У. Гілберт, Ф. Сенгер** спільно з **П. Бергом** отримали Нобелівську премію з хімії «за істотний внесок у встановлення первинної структури ДНК; за фундаментальні дослідження біохімічних властивостей нуклеїнових кислот, в тому числі рекомбінантних ДНК».

У 1977 році встановлено, що структурні гени хромосом еукаріот мають перервчасту мозаїчну структуру, тобто складаються з кодуючих (екзони) та некодуючих (інтрони) нуклеотидних послідовностей.

У 1978 році дослідницькою групою американського молекулярного біолога **Тома Маніатіса** створені перші *геномні бібліотеки* – набори фрагментів ДНК, вбудовані в певний вектор (фаг чи плазмід), які разом представляють геном конкретного виду рослин або тварин.

У кінці 70-х років минулого століття завершилася історія відкриття мобільних генетичних елементів – обов'язкових, непостійно локалізованих компонентів будь-якого геному. Вище нами зазначено, що в кінці 40-х років **Б.МакКлінток** відкрила систему мобільних елементів *Ac-Ds* (асоціаторів – дисоціаторів) в кукурудзи та закономірності їх пересування по геному. У 1976 році ДНК мобільних елементів дрозофіли виділена та клонована групами **Г.П. Георгієва** та **В. Гвоздьова** в СРСР та **Д. Хогнеса** в США. Одержані відомості про мобільні елементи геному, розуміння механізмів їх рухливості стали основою для створення методу трансформації в еукаріот.

У 1980 році **Д. Бішоп** і **Р. Вармус** повідомили, що онкоген ретровірусу являє собою не справжній вірусний, а клітинний ген, який вірус «підхопив» колись давно в ході реплікації в клітинах і

зберігає в зміненому мутаціями вигляді. Було також показано, що його попередник, клітинний протоонкоген, у здоровій клітині відіграє найважливішу роль – керує її ростом та поділом. У 1989 р. обидва вчених отримали Нобелівську премію з фізіології і медицини за «відкриття клітинної природи ретровірусних онкогенів».

У 1985 році американський біохімік **Кері Мюлліс** запропонував новий метод клонування фрагментів ДНК – метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), який дозволяє синтезувати необхідні фрагменти ДНК і багаторазово збільшувати кількість їх копій (Нобелівська премія з хімії 1993 р.). Ця технологія отримала широке поширення. Вона дозволяє з незначних кількостей ДНК одержувати кількості, необхідні для біохімічного аналізу. Метод широко використовується не тільки в молекулярній біології, але й у криміналістиці, етнографії. Наприклад, використовуючи малі кількості ДНК, що містяться в кістках викопних решток прадавніх людей, за допомогою ПЛР напрацьовані кількості ДНК, за якими зроблені цікаві висновки про еволюцію та шляхи міграції наших прадавніх предків. Використання методу ПЛР у криміналістиці дозволяє розкрити злочини на основі аналізу ДНК. У цьому ж, 1985 році британський генетик **Алек Джеффріс** розробив техніку ДНК-дактилоскопії, яка нині використовується в усьому світі при проведенні судової експертизи, а також при вирішенні питань батьківства та при іміграційних суперечках.

У 1984 році **У. МакГінніс** відкрив гомеотичні (Нох) регуляторні гени, відповідальні за побудову загального плану тіла тварин.

У 1987 році створені перші дріжджові штучні хромосоми – YAC (Yeast Artificial Chromosomes), які використовують в якості векторів для клонування великих фрагментів геному.

У кінці ХХ століття молекулярні технології розвивалися настільки інтенсивно, що були створені передумови для планомірного вивчення структури геномів різних видів, включаючи людину. Однією з найбільш значимих цілей цих проектів є визначення повної нуклеотидної послідовності геномних ДНК. Таким чином, народилася нова наука – **геноміка**. Нині розшифрована нуклеотидна послідовність геномної ДНК багатьох сотень видів мікроорганізмів, більшість з яких є хвороботворними. У результаті ідентифікуються не тільки всі гени цих мікроорганізмів, але і визначені амінокислотні послідовності кодованих ними білків.

У 1989 році **Френсісом Коллінзом** і **Лан-Че Цуй** вперше секвенований ген людини (визначена його нуклеотидна

послідовність). Ген кодує білок CFTR; зміни в послідовності нуклеотидів у межах цього гена призводять до розвитку пухлин.

У 1995 році вперше повністю секвенований геном організму невірусної природи – бактерії *Haemophilus influenzae*.

У 1996 році вперше повністю секвенований геном еукаріотичного організму – пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

У 1998 році вперше повністю секвенований геном багатоклітинного еукаріотичного організму – нематою *C.elegans*.

У 1990 році розпочався та в 2003 році завершився проект «Геном людини», створений Національною організацією охорони здоров'я США. Ініціатором і керівником проекту став лауреат Нобелівської премії **Джеймс Уотсон**. У міжнародний консорціум увійшли генетики США, Китаю, Великої Британії, Франції, Німеччини, Японії. Об'єднала ці проекти Міжнародна організація з вивчення геному людини (Human Genome Organization, скорочено HUGO). Головна мета проекту – визначити послідовність нуклеотидів, що складають ДНК, і ідентифікувати 20-25 тисяч генів у людському геномі. Цей проект називають найбільшим міжнародним співробітництвом, який коли-небудь проводився в біології. У 2000 році два конкуруючих колективи – «Celera Genomics» і міжнародний консорціум HUGO, об'єднавши свої дані, офіційно оголосили про те, що їх спільними зусиллями в цілому завершена розшифровка геному людини, створений його чорновий варіант.

Аналіз людського геному проводили наступним чином. Геном був розділений на невеликі ділянки, довжиною приблизно 150 000 пар нуклеотидів. Така система відома як «ієрархічний метод дробовика», тому що спочатку геном розбивається на ділянки різного розміру, положення яких в хромосомі має бути заздалегідь відоме. Ці ділянки потім вбудовували в вектор – штучну бактеріальну хромосому (BAC). Такі вектори створені на основі бактеріальних хромосом, змінених методами генної інженерії. Вектори, що містять гени людини, надалі можна вставляти в бактерії, де вони копіюються бактеріальними механізмами реплікації. Кожну з ділянок геному потім секвенували окремо методом «дробовика»; надалі всі отримані послідовності збирали разом у вигляді комп'ютерного тексту.

Одержана інформація про геном людини допоможе пошуку причин виникнення раку, хвороби Альцгеймера, і, ймовірно, в майбутньому може привести до значних успіхів в їх лікуванні. На основі одержаної інформації розробляються прості способи проведення генетичних тестів, які можуть показати схильність людини до різних захворювань, включаючи рак молочної залози,

порушення згортання крові, кістозний фіброз, захворювання печінки і багатьох інших.

У 1997 році Нобелівська премія з фізіології і медицини присуджена американському лікарю **Стенлі Прузинеру** за внесок у вивчення хвороботворного агента білкової природи – пріону, що викликає губчасту енцефалопатію, або «коров'ячий сказ» у великої рогатої худоби.

У 1997 році британський ембріолог **Я. Вільмут** зі співробітниками одержав клон (соматичну копію) першого представника ссавців – вівцю Доллі.

У 1998 році визначена повна нуклеотидна послідовність першого організму – нематоди *Caenorhabditis elegans*. У нематоди *C. elegans* виявлений механізм РНК–інтерференції (процесу пригнічення експресії гена на стадії транскрипції, трансляції, деаденілування або деградації мРНК за допомогою малих молекул РНК).

У 2001 році Нобелівська премія з фізіології і медицини присуджена американським вченим **Л. Хартвеллу, Т. Ханту, П. Нерсу** за відкриття ключових регуляторів клітинного циклу.

У 2002 році повністю розшифрований геном миші. У цьому ж році Нобелівська премія з фізіології і медицини присуджена **С. Бреннеру, Р. Хорвиту, Дж. Салстону** за відкриття в області генетичного регулювання розвитку органів і запрограмованої клітинної смерті.

У 2010 році в американському Інституті **Крейга Вентера** зібраний повністю штучний геном бактерії на основі відомого мінімального набору природних генів: *Mycoplasma mycoides* JCVI-syn1.0.

У 2015 році американськими науковцями створені ДНК, які знаходяться в штучному варіанті в складі бактерії *Escherichia coli*. В такі молекули ДНК додані до чотирьох букв генетичного алфавіту (А, С, Т і G) ще дві – Х і Y:

Розширена ДНК  
6 нуклеотидів,  
3 пари основ

розширена РНК  
6 нуклеотидів





Розробка геномних проектів супроводжувалась інтенсивним розвитком багатьох галузей науки і техніки. Так, потужний імпульс для свого розвитку отримала **біоінформатика**. Був створений новий математичний апарат для зберігання та обробки величезних масивів інформації; сконструйовані системи суперкомп'ютерів, що володіють значною потужністю; написані тисячі програм, що дозволяють у лічені хвилини проводити порівняльний аналіз різних блоків інформації, щодня вводити в комп'ютерні бази нові дані, отримані в різних лабораторіях світу, і адаптувати нову інформацію до тієї, яка була накопичена раніше. Одночасно були розроблені системи для ефективної ізоляції різних елементів геному і автоматичного секвенування. На цій базі були створені потужні роботи, що значно прискорюють секвенування і роблять його менш дорогим.

У 2017 році датським вченим вперше вдалося довести, що гени стійкості і гени антибіотиків подібні. Наприклад, мікроорганізми роду *Actinobacteria* виробляють як антибіотики, так і речовини, здатні їх нейтралізувати. Хвороботворні бактерії здатні «красти» у актинобактерій гени, що відповідають за стійкість, і поширювати їх по популяції. Хоча зупинити горизонтальне перенесення генів не вдається, виявлений механізм дозволить знайти нові засоби боротьби з супербактеріями.

У 2017 році проведена низка досліджень в області генетики старіння, які можуть стати ключем до вирішення проблеми. Виявлено, що довгожителі рідше хворіють віковими захворюваннями, а їх теломери довші. В інших дослідженнях показано, що мутація рецептора гормону росту підвищує тривалість життя у чоловіків, а рівень інтелекту генетично пов'язаний з повільним старінням. Китайські вчені виявили ген довгожителів в черв'яків.

Генетик Джон Крейг Вентер побудував «генетичний принтер», який замість чорнила заповнюється азотистими основами і може друкувати ДНК живих організмів. Поки мова йде про найбільш примітивних істот, таких як віруси, наприклад, вірус грипу, і бактерії, а також про окремі ділянки геномів іРНК.

Наводимо хронологію головних подій, які сприяли стрімкому розвитку генетики:

<i>Рік</i>	<i>Автор відкриття</i>	<i>Сутність відкриття</i>
1865	Г. Мендель	Відкрив фактори спадковості та запропонував гібридологічний метод
1868	швейцарський біохімік Ф. Мішер	виділив зі сперми лосося фосфорвмісну речовину, що міститься в клітинних ядрах, – нуклеїн (дезоксирибонуклеїнова кислота)

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
1875	Ф. Гальтон	Запропонував метод близнюків у генетиці людини для вивчення співвідносного впливу на організм спадковості та середовища
1900	Г. де Фріз, К. Коренс, Е. Чермак	Формальне народження генетики як науки, перевідкриття законів спадковості Г. Менделя
1902	В. Саттон, Т. Бовері	створення хромосомної теорії спадковості
1905	У. Бетсон	ввів у науку термін «генетика»
1909	В. Йогансен	ввів у науку термін «генотип»
1910	Т.Х.Морган	Нобелівська премія 1933 р. з фізіології і медицини за експериментальне обґрунтування хромосомної теорії спадковості. Встановлені також закономірності спадкування ознак, зчеплених зі статтю
1920	Г. Вінклер	запропонований термін «геном»
1922	М.І. Вавілов	закон гомологічних рядів спадкової мінливості (відкрив паралелізм мінливості споріднених груп рослин, що дозволяє передбачити в певного виду ще не відкриті, але можливі ознаки)
1925	Г.А.Надсон, Г.С. Філіпов, Г. Мюллер	радіаційні методи індукції мутацій
1926	С.С. Четвериков	створив основи популяційної генетики та синтез генетики і теорії еволюції
1927	Г. Мюллер	довів мутаційний ефект рентгенівських променів (Нобелівська премія, 1946 р.)
1927	М.К.Кольцов	ідея матричного синтезу ДНК
1928	Ф. Гріффіт	явище трансформації у бактерій
1929- 1930	О.С. Серебровський, М.П. Дубінін	уявлення про тонку структуру гена, складну природу його організації
1931	Б. МакКлінток	продемонструвала існування кросинговеру
1934	Б.Л. Астауров	одержання в шовкопряда потомства від незапліднених яєць
1935	М.В.Тимофеев- Ресовський, К.Г. Циммер, М. Дельбрюк	експериментальне визначення розмірів гена

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
1940	Дж. Бідл, Е. Татум	теорія «один ген – один фермент» (Нобелівська премія, 1958 р.)
1943	І. О. Рапопорт, Ш. Ауербах, Дж. Г. Робонс	вперше показали індукцію мутацій хімічними речовинами
1944	О. Евері, К. Маклеод, М. Маккарті	Початок «ери ДНК». Встановили в дослідах з трансформації у бактерій, що «речовиною гена» служить ДНК
1944	М. Дельбрюк, С. Лурія, А. Херші	Нобелівська премія 1969 року за відкриття циклу репродукції вірусів і розвиток генетики бактерій і вірусів. Запропонували використовувати кишечну паличку та її фаги в якості модельних об'єктів для генетичних досліджень
1944	Л.А. Зільбер	Вірусно-генетична теорія раку
1946	Г.Дж.Меллер	Нобелівська премія за відкриття радіаційного мутагенезу
1950	Е. Чаргафф	правило Чаргаффа
1950	Б. МакКлінток	існування транспозонів – рухливих генетичних елементів
1951	Р. Франклін, М. Уілкінсон	Одержали першу рентгенограму молекули ДНК
25 квітн я 1953	Френсіс Крік, Джеймс Уотсон	створили структурну модель ДНК у формі подвійної спіралі. Разом з М.Х.Ф.Уілкінсом – Нобелівська премія (1962 р.)
1956	Ю.Тіо, А. Леван	диплоїдний набір хромосом людини дорівнює 46
1956	А. Корнберг	Відкриття ДНК-полімерази I. Разом з С.Очоа – Нобелівська премія (1959 р.) за дослідження механізму біосинтезу РНК і ДНК
1958	М. Мезельсон, Ф. Сталь	напівконсервативний механізм реплікації ДНК
1960	С. Б. Вейс, Дж. Гурвіц, А. Стивенс	Відкриття РНК-полімерази
1961	М. У. Ніренберг, Р. У. Холлі, Х. Г. Корана	Нобелівська премія 1968 року «за розшифровку генетичного коду та його функціонування в синтезі білків»

<i><b>Рік</b></i>	<i><b>Автор відкриття</b></i>	<i><b>Сутність відкриття</b></i>
1961	Ф. Жакоб, Ж. Моно	існування структурних і регуляторних генів
1965	А. Львов, Ф. Жакоб, Ж. Моно	Нобелівська премія за відкриття генетичної регуляції синтеза ферментів і вірусів
1962	Дж. Гердон	перше клонування тваринного організму (жаби)
1965	Р.Б. Хесин	Показав, що регуляція синтезу білка здійснюється шляхом включення та виключення транскрипції генів
1966	Б. Вейс, С. Рихардсон	Відкриття фермента ДНК-лігази
1969	Х.Г. Корана	Хімічний синтез гена
1970	Г. Темін, Д. Балтимор	Відкриття зворотної транскриптази (Нобелівська премія, 1975 р.)
1970	Д. Натанс, Х. Сміт, В. Арбер	Виділена перша рестриктаза (Нобелівська премія, 1978 р.)
1972	Пол Берг	Одержані перші рекомбінантні ДНК (Нобелівська премія з хімії, П.Берг, Г.Бойер, 1980 р.)
1973	С. Коен, Г. Бойер	Розробка стратегії перенесення генів у бактеріальну клітину
1974	С. Мілстайн, Г. Келер	технологія одержання моноклональних антитіл
1974	Р. Д. Корнберг	Описує структуру хроматину (нуклеосоми)
1975	С. Тонегава	Відкриття перегруповань генів імуноглобулінів при утворенні клітин імунної системи (Нобелівська премія, 1987 р.)
1975	Р.Дульбекко, Х.Темин	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття взаємодії між онкогенними вірусами та генетичним матеріалом клітини
1975	Е.Саузерн	Метод перенесення фрагментів ДНК на нітроцелюлозний фільтр (Саузерн-блот гібридизація)
1976	Д. Хогнесс (США), Г. П. Георгієв, В. Гвоздьов	Відкриття у тварин (на прикладі дрозофіли) «стрибаючих» мобільних генів
1976	Д. М. Бішоп, Г.Е. Вармус	Довели, що вірусний онкоген є клітинним геном, який вірус «підхопив»

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
		під час реплікації у клітинах; у здоровій клітині попередник онкогену – клітинний протоонкоген – керує її ростом і поділом (Нобелівська премія, 1989 р. за фундаментальне дослідження канцерогенних генів пухлини)
1977	У. Гілберт, А. Максам; Ф. Сенгер	Швидкі методи визначення (секвенування) довгих нуклеотидних послідовностей ДНК
1977	К. Ітакура	Хімічний синтез гену соматостатина людини та штучний синтез гормону соматостатина в клітинах кишкової палички <i>E. coli</i>
1977	П. Шарп, Р. Робертс	гени аденовірусів (пізніше з'ясовано, що й еукаріот) мають мозаїчну екзон–інтронну структуру; відкрито явище сплайсингу (Нобелівська премія з фізіології і медицини, 1993 р.)
1978	В. Арбер, Д. Натанс, Х. Сміт	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття рестрикційних ферментів і їх використання в молекулярній генетиці
1978	Компанія Genentech	Розробка технології перенесення еукаріотичного гена інсуліну в бактеріальну клітину, де синтезований білок проінсулін
1980	У. Гільберт, Ф. Сенгер, П. Берг	Нобелівська премія з хімії (1980 р.) «за встановлення первинної структури ДНК і фундаментальні дослідження біохімічних властивостей нуклеїнових кислот, у тому числі рекомбінантних ДНК»
1980	Дж. Гердон	одержана перша трансгенна миша шляхом введення в пронуклеус заплідненого одноклітинного ембріону гена тимідинкінази вірусу простого герпесу, Показано, що трансген активний в усіх соматичних клітинах миші
1981	Незалежні дослідницькі групи	Відкриття людських онкогенів

<i>Рік</i>	<i>Автор відкриття</i>	<i>Сутність відкриття</i>
1981		визначена повна нуклеотидна послідовність мітохондріальної ДНК людини
1982		Показано, що РНК може проявляти каталітичні властивості, подібно білку
1983		Відкрита гомологія фактору росту PDGF із відомим онкобілком, що кодується онкогеном SIS; показано, що різні онкогени кооперуються під час пухлинної трансформації клітин
1983	Б. МакКлінток	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття транспозуючих генетичних систем
1984	У. МакГінніс	Відкриття гомеопатичних (Нох) регуляторних генів, що контролюють загальний план будови тіла тварин
1984	А. Джефферіс	метод геномної дактилоскопії
1985	К. Мюлліс	відкриття ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції) – найчутливішого методу детектування ДНК (Нобелівська премія з хімії, 1993 р.)
1986		клонування гена RB – першого протионкогена – супресора пухлин
1987		створені перші дріжджові штучні хромосоми – YAC (Yeast Artificial Chromosomes), що використовуються як вектори для клонування великих фрагментів геномів
1987	Е. Ісіно (Японія)	Відкритий перший локус CRISPR бактерії кишкової палички. CRISPR – короткі паліндромні повтори, регулярно розташовані групами – особливі локуси бактерій і архей із прямих повторюваних послідовностей нуклеотидів, розділених унікальними послідовностями (спейсерами). Спейсери запозичуються з чужорідних генетичних елементів, з якими стикалася клітина (бактеріофагів, плазмід). РНК, яка транскрибується з локусів CRISPR, спільно з асоційованими білками Cas забезпечують адаптивний імунітет за рахунок

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
		комплементарного зв'язування РНК з нуклеїновими кислотами чужорідних елементів і подальшого руйнування їх білками Cas. Втім, нині є чимало свідчень участі CRISPR в процесах, не пов'язаних з імунітетом. Використання методик CRISPR-Cas для спрямованого редагування геномів є перспективним напрямком в сучасній генній інженерії
1988	Джеймс Уотсон	створений проект «Геном людини» Національного інституту здоров'я США
1989	Т. Чех, С. Альтман	Нобелівська премія з хімії за відкриття каталітичних властивостей деяких природних РНК (рибозимів)
1990	університети та науково-дослідницькі центри США, Канади, Великої Британії та інших країн	Розпочався проект «Людський геном» ( <i>The Human Genome Project</i> )
1990	В. Андерсон	перше успішне лікування методом генної терапії пацієнтки, хворої на спадковий імунodefіцит
1992	Е. Кребс, Е. Фишер	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття зворотного фосфорильовання білків як важливого регулюючого механізму метаболізму клітин
1993	Р. Робертс, Ф. Шарп	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття (незалежно один від одного) перервчастої структури гена
1994		У торгові центри США надходить перший генномодифікований продукт – томат під торговою маркою «Flavr Savr»
1994	А. Гілман, М. Родбелл	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття G-білків і їх ролі в передачі сигналу в клітині
1995	Компанія «Celera Genomics»	Визначена повна послідовність геному бактерії <i>Haemophilus influenzae</i> (1 830 137 п. н.) Становлення геноміки як галузі генетики

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
1996	Я. Вілмут	Вперше клонований організм ссавців – вівця Доллі з використанням ДНК дорослої тварини (клітин молочної залози)
1997		визначена послідовність нуклеотидів геномів кишкової палички ( <i>E.coli</i> ) та дріжджів ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )
1997	С. Прузинер	Нобелівська премія з фізіології і медицини за внесок у вивчення хвороботворного агента білкової природи – пріона, що спричинює губчасту енцефалопатію (коров'ячий сказ)
1998		визначена повна нуклеотидна послідовність ДНК нематоди <i>Caenorhabditis elegans</i> та відкритий механізм РНК-інтерференції у <i>C. elegans</i>
2000		Одержаний організм-клон свині
2000	«Celera Genomics» та міжнародний консорціум HUGO	Завершена розшифровка геному людини, створена робоча чорнетка його структури
2001	Л. Хартвел, Т. Хант, П. Нерс	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття ключових регуляторів клітинного циклу
2002		Розшифрований геном миші
2002	Китайські вчені	Розшифрований геном рису
2002	С. Бреннер, Р. Хорвітц, Дж. Салстон	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття в області генетичного регулювання розвитку органів і запрограмованої клітинної смерті (апоптозу)
2003	«Celera Genomics» та міжнародний консорціум HUGO	Майже повністю секвенований геном людини (це необхідно для розробки ліків і встановлення плану будови людського організму)
2005	«Celera Genomics» та міжнародний консорціум HUGO	Секвеновано 99,9% ДНК людини
2006	К. Мелло, Е. Файер	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття РНК-інтерференції – ефекта пригнічення активності певних генів



<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
2007	М. Капеччі, М. Еванс, О. Смітіс	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття принципів введення специфічних генних модифікацій у мишей з використанням ембріональних стовбурових клітин
2007	Крейг Вентер	Створений перший екземпляр штучного геному
2008		Вперше одержаний штучно синтезований геном бактеріальної клітини
2008		Доведено, що африканці мають найбільш різноманітну ДНК і найменшу кількість генетичних мутацій, що підтверджує теорію походження <i>Homo sapiens</i> з Африки
2008	О. Сімомура, М. Чалфі, Р. Тсьєн	Нобелівська премія з хімії за відкриття та використання зеленого флуоресцентного білка (GFP)
2009	Німецькі генетики Інституту Макса Планка	Первинна розшифровка повного геному неандертальця
2009	Співробітники французького Інституту Кюрі	Розроблена молекулярна «приманка», що симулює пошкодження ДНК і змушує ракові клітини вбивати себе
2009		Створення штучної ДНК
2009	Групи вчених США і Канади	Розробка безпечної методики перетворення клітин шкіри в стовбурові клітини, яка дозволяє не використовувати віруси при зміні функції клітини
2009	Е.Блекберн, К.Грейдер, Джек Шостак	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття фермента теломерази та механізму захисту хромосом теломерами
2010	Інститут Крейга Вентера	Створений перший організм із штучним геномом на основі відомого мінімального набору природних генів – бактерії <i>Mycoplasma mycoides</i> JCVI-syn1.0
2010	Р. Дж. Едвардс	Нобелівська премія з фізіології і медицини за розробку технології екстракорпорального запліднення (штучного запліднення <i>in vitro</i> )

<b>Рік</b>	<b>Автор відкриття</b>	<b>Сутність відкриття</b>
2011	Вчені Швеції	Встановлена група білків, заблокувавши продукцію яких можна змінити роботу мітохондрій, тим самим збільшити тривалість життя клітини, гальмуючи процеси старіння
2012	Д. Ботштейн	метод вивчення спадкових захворювань людини за допомогою поліморфізмі ДНК
2012	Дж. Гердон, С. Яманака	Нобелівська премія з фізіології і медицини за технологію одержання стовбурових клітин із диференційованих клітин (використані клітини сполучної тканини миші). Відкрита можливість штучного одержання будь-якого органу, доведена зворотність спеціалізації клітин
2012		Розроблені нові методи маніпулювання генетичним матеріалом під час генно-інженерних робіт, що ґрунтуються на використанні систем CRISPR-Cas, і використовуються для цілеспрямованого редагування геномів як прокариот, так і еукаріот (хоча останні не мають власних систем CRISPR-Cas, але з'ясовано, що штучно введені в еукаріотичну клітину елементи системи CRISPR-Cas бактеріального походження здатні функціонувати в ній). Простота, ефективність, економічність методів, що використовують систему CRISPR-Cas9, вивели їх на перше місце серед методів спрямованого редагування геному, а також зв'язування з ДНК
2015		створена ДНК, яка знаходяться в штучному варіанті в складі бактерії <i>Escherichia coli</i> . В такі молекули ДНК додані до чотирьох букв генетичного алфавіту (А, С, Т і G) ще дві – Х і Y
2017	Дж. Холл, М. Росбаш, М. Янг	Нобелівська премія з фізіології і медицини за відкриття молекулярних механізмів регуляції циркадних біоритмів
2017		Досягнута стабільність штучного мікроорганізму з додатковими парами азотистих основ Х та Y протягом 60

<i>Рік</i>	<i>Автор відкриття</i>	<i>Сутність відкриття</i>
		покоління, що дозволить надавати мікроорганізмам нових властивостей
2017		Використання CRISPR-Cas та інших технологій генетичного редагування в генній терапії спадкових захворювань. Введення хворим на лімфому імунних клітин після їх генного редагування CRISPR-Cas дозволяє досягнути високого процента ремісії

Сучасна генетика нині проходить якісно новий етап свого розвитку, пов'язаний з вивченням молекулярних основ будови та функціонування генів і геномів, проблем генетичної інженерії та її використання в медицині, біологічної промисловості, сільському господарстві та інших напрямках науки і практики. Головними, *невирішеними питаннями генетики є:*

1) з'ясування механізмів диференційної активації генів, тобто того, яким чином в різних клітинах і на різних стадіях розвитку організму включаються різні гени;

2) з'ясування структури геному, тобто будови хромосом у вищих тварин і людини, організації генетичних локусів, кількості і ролі окремих генів;

3) визначення причин і механізму гетерозису;

4) вивчення механізмів перетворення інформації гена, записаної на ДНК, у структуру білка (це питання не з'ясоване повністю), особливостей взаємодії ДНК і білків хромосом.

5) проблема старіння: різні теорії старіння наводять різні причини того, чому воно відбувається. Точна причина старіння поки невідома.

6) проблема походження статевого розмноження: як виникло і розвивалося статеве розмноження? Які селективні переваги сприяли розвитку статевого розмноження?

На вирішення цих та інших питань спрямований розвиток генетики в майбутньому.

## 1.4. Розвиток генетики в Україні

Розвиток генетики в Україні нерозривно пов'язаний з такими видатними особистостями, як Г.А. Левитський, Ф.Г.Добжанський, С.М. Гершензон та інші. Учень і послідовник С.Г. Навашина, випускник Київського університету **Григорій Андрійович Левитський** (1878-1942) починав свою наукову діяльність як

дослідник еволюції рослин. Вивчаючи мікроскопічну будову рослинних клітин, описав і виявив мітохондрії. Досліджуючи будову хромосом, розробив декілька методів забарвлення хромосом і мітохондрій. Г.А. Левитський вперше у світі виявив значні перебудови в структурі хромосом під час дії рентгенівського випромінювання, а також визначив, що хромосоми мають двоплечу будову.

Вивчаючи генетичні механізми процесів видоутворення в рослин, Левитський показав, що еволюційно близькі види мають подібний набір хромосом. Разом з Л. Делоне Г.А. Левитський вважається автором терміна «каріотип», хоча на відміну від Делоне вкладав у цей термін його сучасне розуміння.



**Ф.Г. Добржанський  
(1900-1975)**

Тривалий час у колишньому СРСР замовчувалося ім'я іншого видатного генетика, професора Колумбійського університету **Феодосія Григоровича Добржанського**, визначного українського та американського генетика та зоолога, який започаткував створення сучасної синтетичної теорії еволюції.

У період переслідувань і фізичного знищення генетиків випускника Київського університету Ф. Добржанського вважали “менделістом-морганістом” та зрадником Батьківщини, оскільки в 1927 році він виїхав в США. У 1937 році опублікована одна з головних його робіт

– книга «Генетика та походження видів» (англ. *Genetics and the Origin of Species*), яка стала однією з найвизначніших праць у галузі синтетичної теорії еволюції.

Використовуючи експериментально одержану транслокацію в дрозофіли, Добржанський довів лінійне розміщення генів у хромосомі та побудував першу цитологічну карту третьої хромосоми. У серії фундаментальних публікацій він описав генетичні причини стерильності деяких гібридів, виявив генетичну природу транслокацій, та механізми еволюції деяких видів, визначивши провідну роль природного добору. Наукова спадщина вченого величезна, тому прикро, що в колишньому СРСР він не знайшов необхідних умов для праці.

Іншим видатним українським генетиком є **Андрій Опанасович Сапегін** – один із організаторів Одеської селекційної

станції (тепер Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннезнавства та сортовивчення Української академії аграрних наук) і Одеського сільськогосподарського інституту, в яких працював у 1912–1933 роках. Намагався протистояти Т. Д. Лисенку, в 1931 році був заарештований за звинуваченням у шкідництві, але невдози був звільнений.



**A.O. Sapogin**  
(1883-1946)

Автор понад 80 наукових праць із питань флористики, цитології, генетики, селекції сільськогосподарських рослин.

A.O. Sapogin озробив теорію органогенезу, застосував метод варіаційної статистики для визначення точності дослідів, створив низку відомих сортів озимої пшениці (Кооператорка, Земка, Степнячка), сорт ярої пшениці Одеська 4, Ячмінь 32.

У 30-х-40-х роках минулого століття в Україні, як і в усьому СРСР, під час знищення науки генетики було репресовано багатьох вітчизняних вчених-генетиків. У той час як вчені приводили наукові аргументи на користь своїх теорій, їх противники, на чолі яких стояв **Трохим Денисович Лисенко**, використовували в суперечці образи та політичні звинувачення. Лисенко говорив, що не може бути особливої речовини спадковості: спадковість має весь організм; що гени – це вигадка генетиків, адже їх ніхто не бачив. Він говорив, що вчені-практики не можуть чекати тисячу років, поки відбудеться потрібна їм мутація, тому треба виховувати рослини і тварин; в результаті виховання їх спадковість швидко зміниться в потрібну сторону. Ці твердження не підкріплювалися ніякими науковими даними. Основні звинувачення проти генетиків носили політичний характер. Генетика оголошувалася буржуазною реакційною наукою, їй протиставлялася так звана передова *мічурінська біологія* (в назві використовувалося ім'я на той час померлого чудового селекціонера І.В.Мичуріна). Генетиків, які цитували в своїх працях зарубіжних вчених, звинувачували в низькопоклонстві перед іноземщиною; закони Менделя презирливо називали "гороховими законами". Прихильники Лисенко знущалися над роботами на дрозоділі; вони говорили, що працювати треба на коровах і вівцях. Робота на дрозоділі – це трата народних грошей і шкідництво. Що стосується генетики людини, то прихильники Лисенка стверджували, що громадяни соціалістичної країни не

можуть мати спадкових хвороб, а розмови про гени людини – це основа расизму і фашизму.

Друга світова війна на певний час припинила переслідування генетиків, але після її закінчення вони відновилися. Лисенко вирішив добити своїх супротивників, і він міг це зробити, оскільки користувався підтримкою Сталіна. У 1948 р відбулася сесія Всесоюзної академії сільськогосподарських наук ім. В.І.Леніна (ВАСГНІЛ), на якій Лисенко виступив з доповіддю "Про становище в біологічній науці". У доповіді генетика зазнала розгромної критики. Генетики, які були присутні на сесії, намагалися заперечувати проти тих чи інших тверджень доповіді; їх змушували виходити на трибуну та викладати свою точку зору. Але в кінці сесії Лисенко повідомив, що його доповідь була схвалена Сталіним. Вийшло, що ті генетики, які критикували доповідь, виступили проти поглядів Сталіна.

Драматичні долі генетиків і обстановка в науці після 1948 р яскраво описана в романі В. Д. Дудінцева "Білі одежі". Прекрасна книга, в якій було показано, як через заздрощі, прагнення до влади та благополуччя наукова мафія на чолі з Лисенком сприяла загибелі багатьох видатних вчених і надовго загальмувала розвиток генетики в колишньому СРСР.



**С.М. Гершензон**  
(1906-1998)

Значний внесок у розвиток української генетики в довоєнні роки та в період її відродження на початку 70-х років минулого століття вніс **Сергій Михайлович Гершензон**.

На основі серії дослідів з плодовою мушкою дрозоділою майже відразу ж після повернення з евакуації Сергій Гершензон (в співавторстві з М. Тарнавським і П. Сітько) публікує свою революційну статтю про мутагенну дію ДНК на дрозоділу. І тим не менше Нобелівську премію за це відкриття декількома роками пізніше вручають його

більш досвідченому закордонному колезі Герману Меллеру (США). Крім хімічного мутагенезу, С. Гершензон виявив феномен «стрибаючих генів» і зворотної транскрипції. Набагато раніше американця Хейнца Френкель-Конрата він зібрав з білків і нуклеїнових кислот живий вірус, хоча рівень технічного забезпечення української біології відставав на той момент від заокеанського рівня на багато років. Однак Стокгольм не помічав

досягнень радянських вчених, тому була причина – гоніння на генетику в СРСР в сорокові-п'ятдесяті роки. У 1975 році Нобелівською премією відзначається робота американців Говарда Теміна і Девіда Балтімора, які незалежно повторили відкриття Гершензона (синтез вірусної ДНК на матриці РНК – *зворотна транскрипція*). Слід зазначити, що Девід Балтімор в листі Сергію Гершензону щиро вибачився перед ним, оскільки не був знайомий з його більш ранніми роботами.

Основні праці С.М. Гершензона присвячені дослідженням у галузі популяційної та молекулярної генетики, механізмів спадкової мінливості в природних популяціях.

Нині провідна роль у розвитку вітчизняної генетики належить науково-дослідним інститутам та установам Національної Академії наук, Української Академії аграрних наук, учбовим і науковим закладам Міністерства освіти та науки України. В авангарді сучасної української генетики знаходяться такі відомі вчені, як С.Б. Арбузова, І.Р. Барилляк, Г.Д. Бердишев, Ю.Ю. Глеба, В.В. Кириченко, В.А. Кунах, М.В. Кучук, В.В. Моргун, Ю.М. Сиволап.

## **1.5. Значення генетики для розвитку інших наук та практичне використання її досягнень**

Місце генетики серед інших біологічних наук визначає предмет її дослідження – спадковість і мінливість – властивості, універсальні для всіх живих організмів.

Генетика є теоретичною основою *селекції*. Створення нових сортів рослин, порід тварин, штамів мікроорганізмів базується на використанні різних систем схрещувань, гібридологічного аналізу, спонтанних та індукованих мутантних форм тощо. Результатом селекційної роботи багатьох науково-дослідних установ і селекційних станцій є створення стійких до полягання короткостеблових сортів злакових культур, високоврожайних гетерозисних міжлінійних гібридів кукурудзи та сорго, поліплоїдних сортів жита та цукрового буряка, високопродуктивних сортів і гібридів овочевих і кормових культур. Методи генетики активно використовуються в рибництві, лісництві. Селекція на основі генетики кількісних ознак використовується для підвищення м'ясної та молочної продуктивності великої рогатої худоби, для підвищення врожайності та кормових якостей рослин.

Використання досягнень мутаційної селекції дозволило створити штами-продуценти антибіотиків, вітамінів, амінокислот, інших біологічно активних речовин для мікробіологічної промисловості.

Новітні методи *генної інженерії* використовуються для створення штамів бактерій і дріжджів, здатних синтезувати гормони росту тварин і людини, інтерферон та інсулін, антиген вірусу гепатиту та інших вірусів для боротьби з інфекційними захворюваннями. Стрімко розвивається клітинна та генна інженерія вищих рослин, що дозволяє переносити гени з одного рослинного геному до іншого. Гібридизація соматичних клітин рослин дозволяє об'єднувати геноми видів, які ніколи не схрещувалися в природі. Наприклад, методом соматичної гібридизації одержані гібриди картоплі та томату, різних видів декоративних рослин тощо.

Широко використовуються методи генетики і в *медицині*. Розвиток генетики людини призвів до розуміння того, що, крім інфекційних, існує значна кількість (близько 2 500) спадкових захворювань. Генетична гетерогенність людських популяцій обумовлює наявність цілої низки аномалій обміну речовин, психофізіологічних та морфофізіологічних порушень, спричинених генними мутаціями та хромосомними абераціями. Рання діагностика спадкових захворювань до народження дитини (пренатальна діагностика) або виявлення гетерозиготного носійства генних і хромосомних аномалій дозволяє уникнути важких наслідків шляхом планування сім'ї. Важлива роль при цьому відводиться медико-генетичному консультуванню населення. Використання методів генотерапії, які активно розробляються нині, дозволить замінювати або виправляти порушений у результаті мутації генний матеріал клітин. Нині вчені-генетики намагаються розробити генетичні методи боротьби з раком, а також шукають способи не тільки попереджати генетичні захворювання, але і успішно лікувати їх.

За останні десятиліття стрімкого розвитку набула *екологічна генетика*. Забруднення навколишнього середовища мутагенами, 90% яких є канцерогенами, зумовлює необхідність визначення мутагенної активності різноманітних фізичних і хімічних агентів, які використовуються людиною. Поширення в оточуючому середовищі мутагенів підвищує ймовірність виникнення вроджених вад розвитку та спадкових захворювань. Для виявлення мутагенної активності чинників середовища генетиками створюються спеціальні тест-системи: штами



мікроорганізмів, культури дрозоділи, лінії мишей, культури клітин тварин і людини. Прогнозування та попередження можливого негативного впливу забруднюючих речовин неможливо без знання екології і генетики, особливо генетики популяцій, яка вивчає ці процеси в умовах природного обміну генами між численними особинами. Збереження генофонду популяцій рослин, тварин, мікроорганізмів є важливою задачею нинішнього та майбутніх поколінь.

Генетичні дослідження рослин, тварин, мікроорганізмів широко поширені в зоології, ботаниці, мікробіології. Можливість одержання спадково обумовлених відмінностей у поведінці піддослідних тварин використовується під час досліджень з фізіології вищої нервової діяльності. Вирішення проблем біохімії здійснюється за допомогою мутантів із зміненим метаболізмом (із певними блоками біосинтезу) або зміни регуляції метаболітичних шляхів.

За визнанням багатьох сучасних біологів, генетика за останні роки стала базисом всієї біологічної науки, оскільки дає можливість розглядати різноманітність життєвих форм і природних процесів як єдине ціле.

## **ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ**

1. Що є предметом вивчення генетики?
2. Поясніть сутність генетичних термінів: ген, алель, гомозигота, гетерозигота, генотип, фенотип, локус, хромосома, геном, епігеном.
3. Чим відрізняються поняття «спадковість», «успадкування», «успадкуваність»?
4. Наведіть і коротко охарактеризуйте методи генетики.
5. Назвіть історичні етапи розвитку генетики.
6. Які події ознаменували розвиток геноміки?
7. Яке значення генетики для селекції, біотехнології, генної інженерії, медицини, екології?

---

## РОЗДІЛ 2.

# ЦИТОЛОГІЧНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНІ НОСІЇ СПАДКОВОСТІ

---

Основою реалізації генетичної інформації в організмі є події, що відбуваються на клітинному та молекулярному рівнях.

Розрізняють два типи структурно-функціональної організації клітин: *прокаріотичний*, властивий для нижчих організмів (бактерій, ціанобактерій) та *еукаріотичний*, характерний для вищих організмів. Між цими типами існують відмінності за наявністю та складом органел (знаком «+» відмічена наявність в клітині певної органели, знаком «-» її відсутність):

<i>Органели</i>	<i>прокаріоти</i>	<i>еукаріоти</i>
плазматична мембрана	+	+
ядерна мембрана	-	+
мітохондрії	-	+
ендоплазматичний ретикулум	-	+
апарат Гольджі	-	+
рибосоми	+	+
клітинна стінка	містить амінокислоти та мурамову кислоту	у рослин складається з целюлози, у тварин – відсутня
вакуолі	-	+ (рослини)
лізосоми	-	+
хромосоми	<i>нуклеоїд</i> , складається з ДНК, зв'язаної із білком (гістони відсутні)	складаються з ДНК і гістонів
апарат фотосинтезу	мембрани тилакоїдів	+ (вищі рослини) – (тварини)

Основними принципами функціонування клітини будь-якого організму є:

1. *Принцип біохімічної єдності*: до складу всіх клітин входять ті ж самі сполуки (вода, білки, вуглеводи, мінеральні солі) приблизно в тих самих кількостях.

2. *Принцип біохімічної універсальності*: однотипна будова мембранних структур клітин (фосфоліпіди); наявність у клітинах сполук, що містять атоми шестьох елементів-органогенів (С, О, N,

P, S, H); вилучення та генерація енергії внаслідок фосфорилуючого окиснення на рівні субстрату та електронно-транспортного ланцюга з утворенням АТФ; метаболітичні цикли, які поєднують процеси асиміляції і дисиміляції унаслідок узгодженої взаємодії анаболітичних і катаболітичних реакцій; наявність ферментів, необхідних для метаболітичних перетворень сполук; регуляція процесів життєдіяльності за подібними молекулярними механізмами.

3. *Принцип біохімічної мінливості*: відмінності в оперонній організації геному про- та еукаріот; відмінності в асоціації ДНК про- та еукаріот з білками (в прокариот ДНК не з'єднана з гістонами); генетична інформація в про- та еукаріот зберігається в ДНК, тоді як у вірусів і фагів – як в молекулах ДНК, так і в РНК; передача генетичної інформації у про- та еукаріот відбувається в напрямку ДНК→матрична РНК→білок, у ретровірусів – у зворотньому напрямку (РНК→ДНК); відмінності в кодуванні окремих амінокислот і зміна змісту окремих кодонів; особливості в перебігу реакцій матричного синтезу (реплікації, транскрипції, трансляції) у клітинах вірусів, фагів, про- та еукаріот.

4. *Принцип відповідності структури її функціям*: структурна організація білків і нуклеїнових кислот забезпечує виконання ними життєво важливих функцій збереження, передачі та реалізації спадкової інформації і, відповідно, прояв функціональних і морфологічних ознак організму. *Приклади*: будова молекули АТФ зумовлює її здатність акумулювати, передавати та трансформувати енергію; біологічна активність ферментів визначається лише їх нативною структурою та здатність каталізувати метаболітичні процеси в клітині; молекула білка глобіну в складі гемоглобіну складається з двох альфа- та двох бета-ланцюгів амінокислот (по 141 и 146 амінокислот відповідно); в кожний ланцюг глобіну вбудована молекула гема, що містить атом заліза, який зв'язує кисень, забезпечуючи тим самим транспортну та дихальну функції.

5. *Принцип комплементарності* лежить в основі формування структурної організації біополімерів, надмолекулярних комплексів і систем, що входять до складу живих організмів. Комплементарність – це просторова та стерична відповідність однієї молекули іншій або частини молекули – іншій. *Приклади*: комплементарність азотистих основ пуринів і пиримідинів у вторинній структурі ДНК, відповідність функціональних груп активних центрів ферментів під час їх взаємодії із субстратами, асоціація субодиниць рибосом під час

трансляції, формування вищих рівнів структурної організації білків у вигляді ізологічної і гетерологічної взаємодії.

Генетична інформація в вигляді певної послідовності нуклеотидів молекули ДНК забезпечує синтез фермента, що каталізує хід відповідної біохімічної реакції, продуктом якої є поява ознаки:

*Ген (ДНК) → мРНК → білок (фермент) → біохімічна реакція → ознака*

Спадкова інформація в еукаріотичній клітині зосереджена переважно в хромосомах ядра, що містять нуклеїнові кислоти, до складу яких входять гени. Послідовно розглянемо особливості будови цих структур.

## 2.1. Структурна та хімічна організація хромосом

*Хромосоми* (грецьк. *хрома* – колір, *сома* – тіло) – нуклеопротейні фібрили в ядрі еукаріотичної клітини, в яких зосереджена основна частина спадкової інформації. Функцією хромосом є зберігання, реалізація та передача спадкової інформації наступним поколінням клітин.

Хромосоми описані *Е. Страсбургером* під час дослідження мітозу в рослин у 1875-1879 роках та *В.Флемінгом* у 1879 році – у тварин. У 1888 році німецький біолог *В.Вальдейер* ввів термін «хромосома». А Вейсман припустив, що спадкова інформація зосереджена в хромосомах, а довели це Т.Морган, К.Бріджес, Г.Мелер, А.Стертевант, які в середині 30-х років минулого століття завершили розробку хромосомної теорії спадковості.

Основною речовиною хромосоми є *хроматин* (грецьк. *хрома* – колір, забарвлення; *ин* – подібний) – комплекс ДНК, РНК, білків (нуклеогістон) (*див. розділ 1.1*). Термін «хроматин» запропонував німецький біолог, гістолог і засновник цитогенетики *Вальтер Флемінг* у 1880 році для описання забарвлених специфічними барвниками клітинних структур. Флемінг помітив, що вміст хроматину корелює з вмістом хромосом. Набір всіх хромосом ядра клітини – *каріотип* – є видоспецифічною ознакою.

Здійснення хромосоною певних функцій приурочене до фаз і періодів мітотичного циклу та супроводжується зміною її морфології. Розрізняють *мітотичну* та *інтерфазну* форми структурної організації хромосом, як взаємно переходять одна в одну під час мітотичного циклу. Реорганізація нуклеогістону з утворенням більш компактної структури називається *спіралізацією* (конденсацією); зворотний процес – *деспіралізацією* (деконденсацією). У клітині, що не ділиться, інтерфазні хромосоми не помітні, знайдені лише глибоки і гранули хроматину, оскільки

хромосоми частково або повністю деконденсуються. Чим більше хроматин стає дифузним, тим інтенсивнішими є процеси синтезу. Перед самим поділом (мітотичним або мейотичним) спостерігається конденсація (спіралізація) хроматину, хромосоми стають добре помітними в світловий мікроскоп.

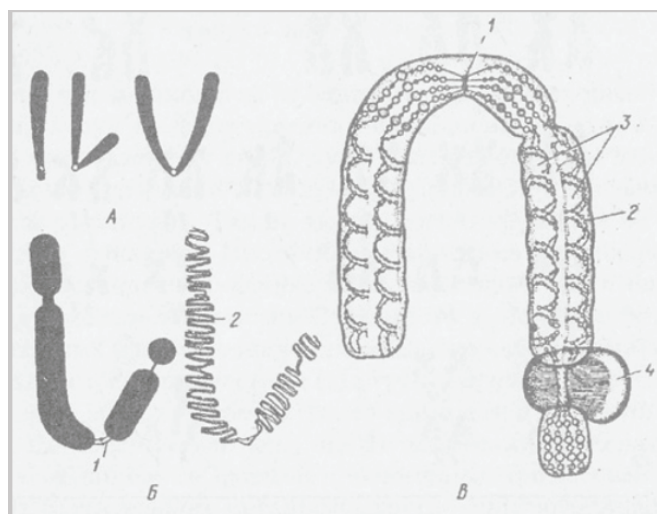
Спочатку термін «хромосома» був запропонований для позначення структур, що виявляються в клітині еукаріот, але в останні десятиліття все частіше говорять про бактеріальні або вірусні хромосоми. Хромосоми еукаріот – це лінійні ДНК-місткі структури в ядрі (мають різну морфологію в мітозі та інтерфазі), та кільцеві ДНК-місткі структури мітохондрій і пластид. Хромосоми прокариот – це кільцеві ДНК-місткі структури нуклеоїду, плазмід. Хромосома вірусів – це молекула ДНК або РНК, вкрита капсидом.

**2.1.1. Будова метафазної хромосоми.** У хромосомі розрізняють *первинну перетинку* (центромеру), яка поділяє хромосому на *два плеча*. *Центромера* – ділянка всередині хромосоми, що характеризується специфічною нуклеотидною послідовністю і структурою. Центромера відіграє важливу роль в процесі поділу клітинного ядра, у контролі експресії генів. Зазвичай термін «центромера» використовується тільки щодо клітин еукаріот, хоча бактерії та археї також мають подібні до центромер структури. Центромера бере участь в з'єднанні сестринських хроматид, формуванні кінетохора, кон'югації гомологічних хромосом і залучена в контроль експресії генів. Саме в області центромери сполучені сестринські хроматиди в профазі і метафазі мітозу (гомологічні хромосоми в профазі та метафазі першого поділу мейозу). У більшості еукаріот центромери не містять визначеної послідовності ДНК. Зазвичай вона складається з великої кількості повторів ДНК (наприклад, сателітної ДНК), в якій послідовність нуклеотидів, що повторюються, схожа, але не ідентична. У визначенні місцеположення центромери у більшості організмів значну роль відіграють епігенетичні фактори. Дочірні хромосоми утворюють центромери в тих самих місцях, що і материнська хромосома, незалежно від характеру послідовності, розташованої в центромерній ділянці. На центромері відбувається формування *кінетохору* (грецьк. *kinesis* – рух, *phoros* – той, що несе) – механічного центру хромосоми; місця, до якого прикріплюються нитки веретена поділу у метафазі та анафазі мітозу і мейозу.

Кінетохор складається з білків, зв'язаних з центромерою, які формують точку прикріплення для мікротрубочок веретена поділу в анафазі та телофазі мітозу і мейозу. Кінетохор визначає динаміку хромосом у мітозі і мейозі, розміщення їх відносно

екватора веретена; разом із дією ниток веретена обумовлює розходження хромосом до різних полюсів в анафазі. Порушення нормального функціонування центромери спричинюють порушення взаємного розташування хромосом в ядрі під час поділу, отже, порушення процесу сегрегації хромосом (розподілу їх між дочірніми клітинами), що призводить до анеуплоїдії, зокрема, трисомії за 21-ою хромосомою (синдром Дауна).

У метафазі мітозу хромосоми поздовжньо поділені на дві частини – *хроматиди*, кожна з яких ще поділена поздовжньо на дві *напівхроматиди*. До складу напівхроматид входять *хромонеми* – нуклеопротейдні структури, що складаються з мікрофібрил, помітних лише в світовий мікроскоп, на яких розміщені *хромомери* – товсті, інтенсивно забарвлені, щільно спаралізовані ділянки хромонем, які чергуються із міжхромомерними нитками. Найчіткіше вони виявляються на стадії лептотени профазі I мейозу. Пара напівхроматид складає *хроматиду*, а пара хроматид – *хромосому*. Після розходження в анафазі мітозу та анафазі II мейозу хроматиди вихідної хромосоми стають самостійними сестринськими хромосомами, а напівхроматиди – хроматидами сестринських хромосом (*рис. 2.1*).



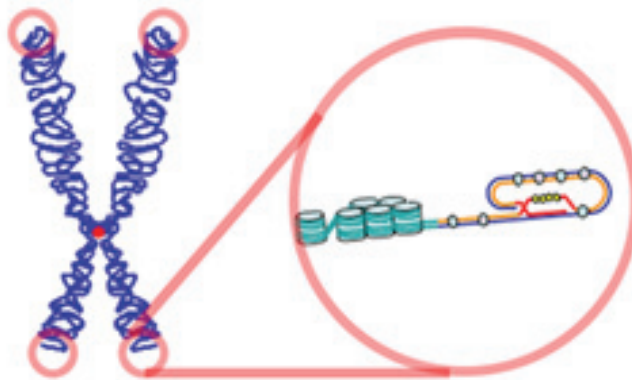
**Рис. 2.1.** – Будова метафазних хромосом: А – морфологічна будова хромосоми (зліва направо: телоцентрична, акроцентрична, метацентрична); Б – будова хромосоми зі супутником (1 – центромера, 2 – хромонеми); В – тонка будова метафазної хромосоми: 1 – центромера, або первинна перетинка, де розміщений кинетохор – місце приєднання ниток веретена поділу; 2 – хромомери; 3 – хроматиди; 4 – ядерце. Зверніть увагу, що в прицентромірній та теломірній (на кінцях хромосоми) областях розміщений гетерохроматин, у серединній частині плечей – спіралізований еухроматин. Нижче ядерця знаходиться супутник

Необхідними функціональними елементами хромосоми еукаріот є *центромера, теломери, точки ініціації реплікації*. Місця початку реплікації (сайти ініціації) і теломери дозволяють молекулі ДНК ефективно самокопіюватися; в ділянці розміщення центромери сестринські молекули ДНК (хроматиди) прикріплюються до мітотичного веретена поділу, що забезпечує їх точне розподілення по дочірніх клітинах у мітозі.

**2.1.2. Теломери та теломераза.** На кінцях хромосом знаходяться структури, які *Г.Меллер* у 1932 році запропонував назвати *теломерами*. Ще у 1927 році Меллер відкрив можливість одержання мутацій при опроміненні клітин дрозофіли рентгенівськими променями. При цьому мутації можуть бути точковими або супроводжуватися хромосомними перебудовами в результаті розривів під дією випромінювання та наступного поєднання фрагментів у новому порядку. Досліджуючи закономірності утворення хромосомних перебудов, *Г.Меллер* прийшов до висновку, що штучно утворені кінці фрагментів хромосом завжди поєднуються з такими ж фрагментами, але ніколи не з'єднуються з кінцевими фрагментами нормальних хромосом (кінцеві фрагменти після опромінення ніколи не опиняються на внутрішніх ділянках хромосом). Кінці хромосом біполярні, тобто з'єднуються з іншими фрагментами кожним із двох своїх кінців.

*Б.МакКлінток* у 1941 році на основі одержаних результатів з індукції хромосомних перебудов у кукурудзи дійшла до подібних висновків. Крім того, вона висловила припущення, що пасивність теломер в об'єднанні з іншими ділянками попереджає склеювання хромосом кінець в кінець, що сприяє збереженню їх індивідуальності та видового каріотипу в цілому. Отже, теломери допомагають правильному поєднанню ділянок хромосом у процесі репарації ДНК і зберігають їх індивідуальну цілісність.

*Теломера* (від грец. *télos* – «кінець» и *méros* – «частина») – ділянка ДНК, що складається із великої кількості нуклеотидних повторів, розташована на кінці лінійної хромосоми, не здатна до з'єднання з іншими хромосомами (або їх фрагментами) та виконує захисну функцію (**рис. 2.2**). Кінець хромосоми, позбавлений центроміри, опиняється «ненасиченим», «липким» і легко приєднує фрагменти інших хромосом або з'єднується з подібними ділянками. Якби не специфічна структура теломер, кінці хромосоми розпізнавалися би клітиною, як дволанцюговий розрив ДНК і включалися механізми ДНК-репарації (негомологічне поєднання кінців), що спричинило би хромосомні перебудови або апоптоз при неможливості репарації.



**Рис. 2.2.** – Схема розміщення теломер на хромосомі

Теломерна ДНК потрапила в поле зору біологів зовсім недавно. Першими об'єктами дослідження були одноклітинні найпростіші – війкова інфузорія (тетрахімена), яка містить декілька десятків тисяч дуже дрібних хромосом і, відповідно, безліч теломер в одній клітині (у вищих еукаріот – менше 100 теломер на клітину). Яке ж було здивування вчених, коли вони виявили, що теломерна ДНК людини відрізняється від такої у інфузорії всього лише однією літерою і утворює блоки. Більше того, виявилось, що з ТTAGGG – блоків побудовані теломери ссавців, рептилій, амфібій, птахів і риб, оскільки в теломерній ДНК не закодовано ніяких білків (вона не містить гени). Отже, такі повтори є консервативними послідовностями. Наприклад, повтори всіх хребетних складаються з шести нуклеотидів ТTAGGG, водоростей – ТТТTAGGG, грибів (нейроспора) – ТTAGGG, повтори всіх комах – ТTAGG, повтори більшості рослин – ТТTAGGG, найпростіших – ТТТТGGGG; кількість таких посторів десятки тисяч. В усіх організмів теломери виконують універсальні функції, наведені нижче.

Дуже важливою характеристикою теломерної ДНК є їхня довжина: в людини вона коливається від 2 до 20 тисяч пар основ, деяких видів мишей може досягати сотень тисяч пар нуклеотидів. Наприклад, у новонародженої людини довжина теломер може досягати 10 тисяч пар основ. Вчені з університету Кардіффа встановили, що критична довжина людської теломери, за якою хромосоми починають з'єднуватися одна з одною, становить 12,8 теломерних повторів. Поблизу теломер є специфічні білки, що забезпечують їх роботу та побудову. Для функціонування кожна лінійна ДНК повинна мати дві теломери, по одній на кожному кінці хромосоми. У прокаріот теломерів немає – їх ДНК замкнута в кільце.

Теломери щільно упаковані (гетерохроматин) і малодоступні для ферментів (теломерази, метилази, ендонуклеази та ін.).



Функції теломер:

1. *Механічні*: а) з'єднання кінців сестринських хроматид після S-фази, б) фіксація хромосом до ядерної мембрани, що забезпечує кон'югацію гомологів.

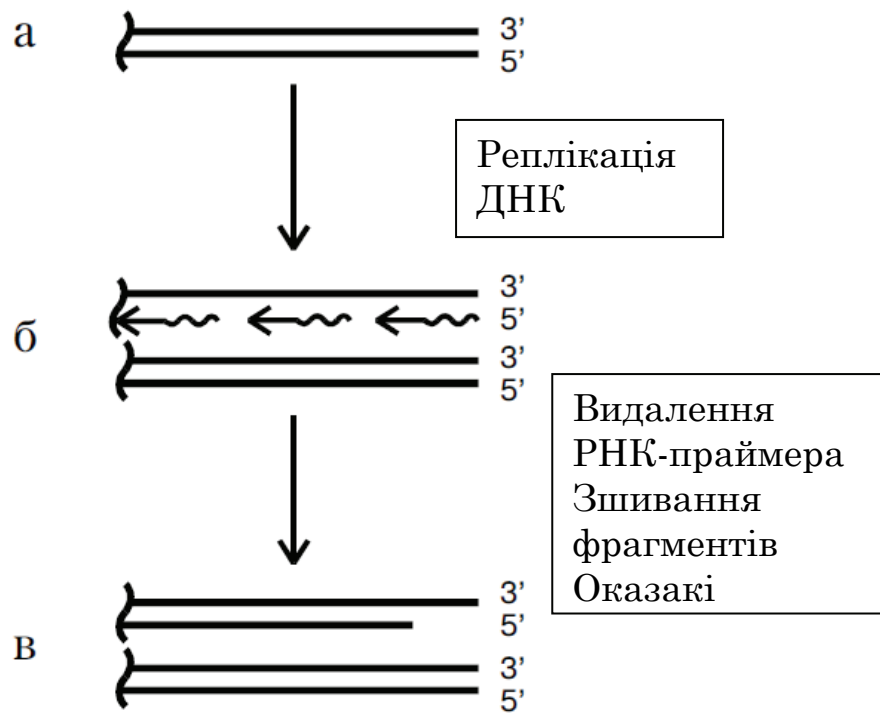
2. *Стабілізаційні*: а) запобігання недореплікації генетично значущих відділів ДНК (теломери не транскрибуються), б) стабілізація решток розірваних хромосом. Наприклад, у хворих на  $\alpha$  – таласемію в генах  $\alpha$  – глобіну відбуваються розриви хромосоми 16 і до ушкодженого кінця додаються теломерні повтори (TTAGGG).

3. *Вплив на експресію генів*. Активність генів, розташованих поруч з теломерами, знижена. Це прояв *сайленсінгу* – транскрипційного мовчання.

4. *«Рахункова функція»*. Теломери виступають в якості біологічного часового пристрою, який відраховує кількість поділів клітини. Кожний поділ клітини вкорочує теломери на 50-65 пар нуклеотидів (п.н.); їхня довжина в клітинах ембріона людини становить 10-15 тисяч п.н.

Теломери більшості еукаріот складаються із лінійної хромосомної ДНК із короткими тандемними повторами. У теломерних хромосомних ділянках ДНК разом із білками, що специфічно зв'язуються з теломерними ДНК-повторами, утворює нуклеопротеїдний комплекс – *конститутивний* (структурний) теломерний *гетерохроматин*. Група білків формує навколо теломери *шелтерін комплекс* (англ. *shelterin*). У людини shelterin комплекс складається з шести різних білків: TRF1, TRF2, RAP1, TIN2, TPP1 та POT1.

Під час кожного циклу реплікації процес подвоєння відстаючого ланцюгу ДНК починається з синтезу коротких РНК-праймерів, або затравок (*на рис. 2.3б показані хвилястими лініями*), з 3'-кінця яких синтезуються короткі відрізки ДНК (фрагменти Оказакі) (*пряма лінія зі стрілкою, рис.2.3б*). Останні з них синтезуються, використовуючи в якості праймерів 3'-кінці фрагментів Оказакі. Надалі РНК видаляються, їхнє місце заповнюють відсинтезовані фрагменти Оказакі (*пряма лінія на рис. 2.3б*). Для крайнього фрагмента немає праймера, що пов'язано із нездатністю ДНК-полімерази III будувати новий ланцюг знову, а лише приєднувати нуклеотиди до готового ланцюга – праймера або затравки з вільною 3'-гідроксильною групою. Тому знов синтезований запізнілий ланцюг вкорочуються на довжину РНК-праймера (*рис.2.3в*).



**Рис. 2.3.** – Схема недореплікації кінцевої частини молекули ДНК

У результаті, після кожного циклу реплікації молекула ДНК має становитися коротшою: один із чотирьох ланцюгів вкорочується на 8-12 пар нуклеотидів. Якщо клітина не має спеціальних механізмів, які компенсують втрату нуклеотидів із кожного кінця нитки ДНК, хромосома почне скорочуватися: спочатку мають зникнути теломерні райони, потім найближчі до них гени і т.д., що врешті-решт спричинить загибель клітини. Цей феномен називається *кінцева недореплікація* – один із найважливіших чинників біологічного старіння. Перші дослідники цього процесу – *Джеймс Ватсон* і *Олексій Оловніков* – назвали його «проблемою реплікації кінців». Першим на проблему «кінцевої недореплікації ДНК» звернув увагу *О.М. Оловніков* у 1971 році. Він висловив гіпотезу про те, що втрата кінцевих нуклеотидних послідовностей ДНК внаслідок їх недореплікації веде до старіння клітини. Передбачалося, що процес укорочення теломер є тим годинниковим механізмом, який визначає реплікативний потенціал «смертної» клітини, і коли довжина теломер стає загрозливо короткою, цей механізм запобігає подальшому поділу клітини (*ліміт Хейфліка*). *О.М. Оловніков* припустив також, що в нестаріючих клітинах (до них, крім ракових, відносяться зародкові, стовбурові, генеративні клітини) повинна існувати спеціалізована ферментативна система, яка контролює і підтримує довжину теломерної ДНК. Пізніше його припущення підтвердилось відкриттям ферменту теломерази.

Нині запропонована *епігенетична теорія старіння*, яка припускає, що ерозія теломер прискорюється у десятки і сотні разів унаслідок рекомбінацій в їхній ДНК, спричинених функціонуванням клітинних систем репарації (відновлення структури) ДНК. Активність даних систем ініціюється пошкодженням ДНК, обумовлених насамперед мобільними елементами геному, які стають активними з віком, що і зумовлює старіння як біологічний феномен. У 90-х роках ХХ сторіччя було з'ясовано, що під час розвитку деяких пухлин збільшена активність теломерази, теломери не вкорочуються, клітини не досягають межі Хейфліка, в них не відбувається апоптоз і розвивається пухлина.

*Теломераза* за допомогою власної РНК-матриці добудовує теломерні повтори і подовжує теломери. В більшості диференційованих клітин теломераза заблокована, але зберігає активність у стовбурових, статевих і ракових клітинах. За відкриття механізмів захисту хромосом від кінцевої недореплікації за допомогою теломер і теломерази в 2009 році Нобелівську премію з фізіології і медицини одержали американка австралійського походження *Елізабет Блекберн* (Elizabeth Blackburn), американці *Керол Грейдер* (Carol Greider) і *Джек Шостак* (Jack Szostack).

**2.1.3. Види хроматину.** За хімічним складом хромосоми є *дезоксирибонуклеопротеїдами* (ДНП), які складаються з ДНК (30-45% загальної маси хроматину) та білків, переважно гістонів (30-50%), негістонових (кислих) білків та РНК (0,2-0,5%). Комплекс ДНК з основним білком – гістоном складає близько 90% речовини хромосоми. До складу хромосоми входять також ліпіди, мінеральні речовини (іони  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$ ). У хромосомах присутній також фермент *ДНК-полімераза*, необхідний для реплікації ДНК. Вміст ДНК у розрахунку на гаплоїдний набір хромосом є постійним для клітин усіх тканин даного біологічного виду.

*Гістони* – невеликі за молекулярною масою білки зі значною часткою позитивно заряджених амінокислот – лізину та аргініну. Позитивний заряд допомагає гістонам міцно зв'язуватися з ДНК, зарядженою негативно незалежно від нуклеотидної послідовності.

Хроматин може знаходитися в складі хромосоми в вигляді еухроматину та гетерохроматину (структурного або факультативного).

*Еухроматин* (основна частина хроматину мітотичних хромосом) може змінювати ступінь своєї компактизації у залежності від функціональної активності під час поділу клітини (*рис. 2.1*). В інтерфазних ядрах це слабо забарвлені нитчасті

структури. В області еухроматину локалізована більша частина функціональних генів. Еухроматин відрізняється від гетерохроматину здатністю до інтенсивного синтезу рибонуклеїнової кислоти (РНК) та більшим вмістом негістонових білків. У ньому, крім ДНП, є рибонуклеопротеїдні частки (РНП-гранули) діаметром 200-500 нм, необхідні для завершення дозрівання РНК і перенесення її в цитоплазму.

*Гетерохроматин* – конденсований (спіралізований) стан хроматину, який утворює ділянки інтенсивного забарвлення на метафазних хромосомах. Гетерохроматинові компактні ділянки хромосом у профазі з'являються раніше інших частин мітотичних хромосом, у телофазі не деконденсуються, переходячи в інтерфазне ядро в вигляді інтенсивно забарвлених щільних структур – *хромоцентрів*. Особливістю гетерохроматину є транскрипційна інертність ДНК, що входить до його складу.

Розрізняють структурний і факультативний гетерохроматин.

*Структурний (конститутивний) гетерохроматин* відрізняється спіралізованим станом, що зберігається протягом усього клітинного циклу. Він займає постійні ділянки, подібні в гомологічних хромосомах. Такі ділянки хромосоми пізно реплікуються, не транскрибуються, збагачені переважно некодуючими елементами: високо повторюваними послідовностями нуклеотидів і мобільними генетичними елементами. Зазвичай це фрагменти, прилеглі до області центромери, а також розташовані на кінцях (теломерах) хромосом. Такий вид гетерохроматину не містить генів, а в тих генах, які потрапляють у місця його локалізації у результаті хромосомних перебудов, транскрипція припиняється. Усі клітини одного виду організмів упаковують у конститутивний хроматин ті ж самі ділянки ДНК (наприклад, у людини хромосома 1, хромосома 9, хромосома 16 та хромосома Y містять значні області конститутивного гетерохроматину). Крім них, постійно конденсованими є ділянки, що входять до складу плечей хромосом – *вставковий (інтеркалярний) гетерохроматин*, представлений в ядрах у вигляді хромоцентрів. Частина конститутивного хроматину може бути неоднаковою в різних організмів, його функціональне значення до кінця не з'ясоване. Припускають, що такий хроматин виконує низку важливих функцій: забезпечення парування гомологів у мейозі, структуризація інтерфазного ядра, регуляторні функції.

*Факультативний гетерохроматин* – це тимчасово неактивний хроматин, здатний активуватися в певні періоди життя клітини або на певних етапах онтогенезу; утворюється при

спіралізації однієї з двох гомологічних хромосом. Типовий приклад – генетично неактивна X-хромосома соматичних клітин жіночих особин ссавців і людини (тільки статевого хроматину або тільки Барра). Функціональна роль факультативної гетерохроматизації полягає в компенсації (зниженні) дози певних генів у клітині.

У кожній хромосомі існує свій порядок розташування еухроматинових і гетерохроматинових ділянок, що використовується для ідентифікації окремих хромосом в цитогенетичних дослідженнях.

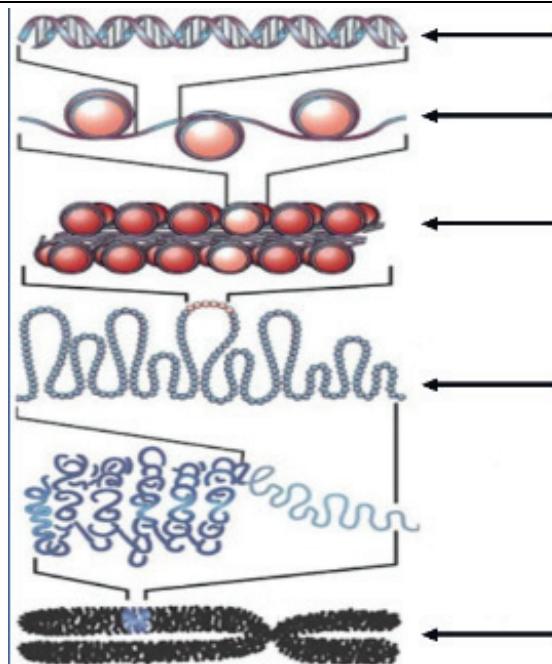
Факторами, які в значній мірі визначають структуру і функції хроматину, є модифікації його компонентів – *ацетилювання гістонів* (веде до деспіралізації і активації хроматину) і *метилування ДНК* (веде до конденсації та інактивації хроматину). Отже, характерними рисами активного хроматину є гіперацетилювання гістонів і відсутність 5-метилцитозину, а неактивного – гіперметилування цитозину та деацетилювання гістонів.

**2.1.4. Рівні компактизації хроматину.** Від ступеню скручування нитчастих структур хромосоми залежить її довжина. На різних ділянках хромосоми спіралізація, компактність її основних елементів є неоднаковою, з цим пов'язана й різна інтенсивність забарвлення окремих її ділянок.

Якщо підсумувати довжину всіх хромосом у клітині вищих еукаріот, то виявиться, що вона містить ДНК довжиною близько 2 м. Отже, ця ДНК має бути максимально конденсована приблизно в 10 000 разів, щоб поміститися в клітинному ядрі. Тому хроматин має декілька рівнів компактизації: перший рівень – *нуклеосомний* (11-13 нм), другий – *нуклеомерний*, у результаті якого утворюється соленоїд (30 нм), третій – *петельно-доменний*, або *хромомерний* (300 нм), четвертий – *хроматидний* (700 нм) (**рис. 2.4**). Біспіраль ДНК діаметром 1,5 нанометрів (нм) у результаті скручування та приєднання білка перетворюється в нуклеогістоновий комплекс з нуклеосомною структурою.

*Нуклеосома* – білкова глобула (октаедр), що містить по 2 молекули 4-х гістонів H2A, H2b, H3, H4, навкруги яких знаходиться подвійна спіраль ДНК. Така структура забезпечує компактизацію ДНК приблизно в 6-7 разів.

Гістоновий октаедр утворюється наступним чином. Гістони H3, взаємодіючи з гістонами H4, утворюють димер H3-H4. Надалі цей димер за допомогою гістона H3 взаємодіє з іншим димером H3-H4, утворюючи H3-H4-тетрамер. Далі гістони H2A взаємодіють з гістонами H2b, утворюючи димер H2A-H2b. Надалі H2A-H2b приєднується до тетрамера H3-H4.

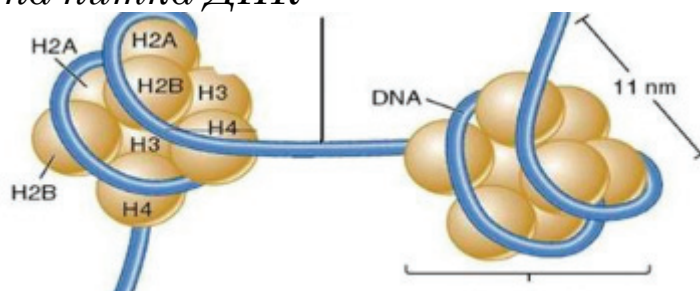


**Рис. 2.4.** – Послідовність компактизації хроматину (згори донизу): 1 – вихідна подвійна спіраль ДНК (вторинна структура); 2 – нуклеосома; 3 – соленоїд; 4 – петельний домен; 5 – хроматида

Оскільки гістоновий октомер заряджений позитивно, а ДНК – негативно (за рахунок залишків фосфорної кислоти), внаслідок дії електростатичних сил 1,75 витків нитки ДНК щільно намотується на гістоновий октаедр; така структура називається *міні-нуклеосомою*. Якщо до міні-нуклеосоми прикріпиться гістон Н1, тоді кількість витків ДНК збільшиться до 2-2,5 (повноцінна нуклеосома).

Отже, ядра тілець утворені 8-ма молекулами гістонів чотирьох різних типів – Н2А, Н2В, Н3, Н4. Вони служать основою, на яку «накручені» фрагменти ДНК завдовжки 146 пар нуклеотидів:

*Лінкерна нитка ДНК*



*Нуклеосома: гістоновий октомер (кор) + ділянка ДНК 146 п.н.*

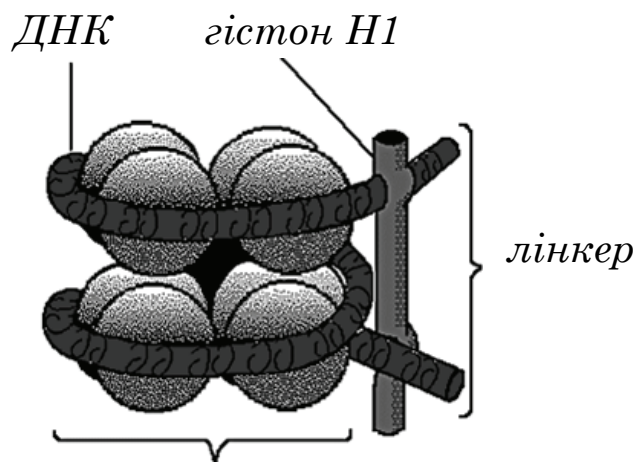
Функціональне значення нуклеосом поки не зрозуміле. Транскрипційні фрагменти ДНК, що кодують рРНК, не мають нуклеосомної структури. При транскрипції інших генів їхня нуклеосомна структура втрачається. Під час реплікації

нуклеосоми не розпадаються, а переходять на одну з дочірніх ниток випадковим чином. Недостатні октомери синтезуються заново. Закручування ДНК навколо нуклеосоми зменшує її довжину в сім разів.

Компактизація і декомпактизація хроматину на рівні нуклеонеми (нуклеосомної нитки) регулюється гістоном Н1.

Другий рівень компактизації ДНК – соленоїдний (супернуклеосомний) – формування хроматинової фібрили діаметром 30 нм через взаємодію нуклеосом між собою завдяки гістону Н1.

Найбільший серед усіх гістонів – гістон Н1 – зв'язується з ДНК на ділянці між нуклеосомами та «зшиває» її витки:

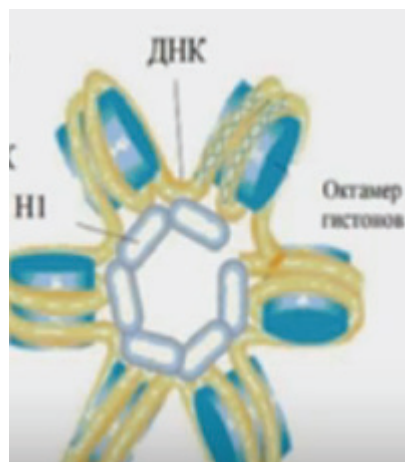


*Кор із 8 гістовових молекул  
(серцевина нуклеосоми)*

Молекули гістону Н1 кріпляться до нитки ДНК у міжнуклеосомних ділянках. Гістон Н1 зв'язується з лінкерною ДНК між нуклеосомними корами та згортає хроматинову фібрилу в спіраль з шагом в 8 нуклеосом (вид згори):



Нуклеосомний  
тяж формує  
ліворуч закручену спіраль



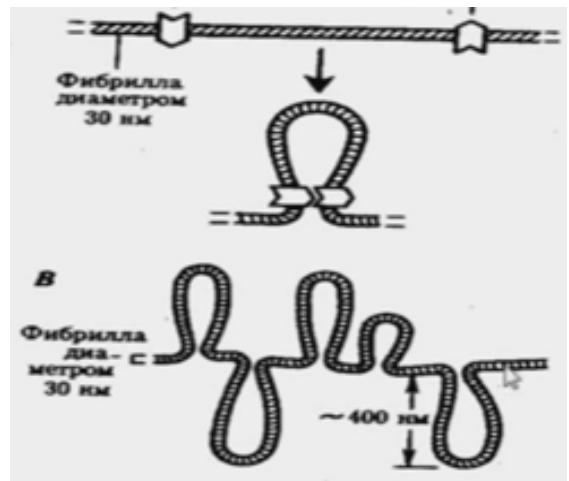
Октамер гістонів

Ланцюжок нуклеосом з дволанцюговою молекулою ДНК, яка обвиває і з'єднує їх, утворює спіраль вищого порядку – *соленоїд* – діаметром 30 нм. При цьому довжина ДНК скорочується приблизно в 50 разів. На такому рівні спіралізації суттєво знижується здатність ДНК зв'язуватися з білками, що приймають участь у транскрипції, що призводить до зменшення генетичної активності упакованих у фібрилу 30 нм ділянок.

Якщо на нуклеосомному рівні організації хроматин – це «ниточка намиста», то соленоїд, або хроматинова фібрила – це «ниточка намиста», укладена в спіраль.

Близько 20% всіх білків хроматину складають негістонові білки, саме вони мають найбільше значення для більш високих рівнів компактизації хроматину.

Третій рівень компактизації – *петельно-домений* – забезпечується згортанням соленоїдної фібрили з утворенням петель різної довжини. При цьому відбувається взаємодія фібрили довжиною 30 нм з негістоновими білками. Відстань між негістоновими білками складає від 20 000 до 80 000 пар основ. Далі негістонові білки взаємодіють один з одним за принципом «ключ-замок» та утворюють петлі діаметром 300-400 нм.



Помітні на препаратах клітинного ядра кулі діаметром 100 нм (хромомери) мають петельну розеткоподібну структуру. Довжина ДНК скорочується приблизно в 600-700 разів. Така структура хроматину є типовою для *інтерфазної хромосоми*.

Четвертий рівень – *хроматидний* – досягається за рахунок подальшої компактизації хромомерів і спостерігається в клітинах, що діляться. В них хромосоми настільки щільні, що стають помітними в світловий мікроскоп як окремі утворення (хроматиди) діаметром 600-700 нм (*рис. 2.2*). На препаратах мітотичних хромосом помітна спіраль, утворена нитчастою хроматиновою структурою товщиною близько 200 нм – *хромонемою*. Витки хромонеми утворюють хроматиду товщиною приблизно 500 нм, що забезпечує вкорочення ДНК у  $10^4$  разів.

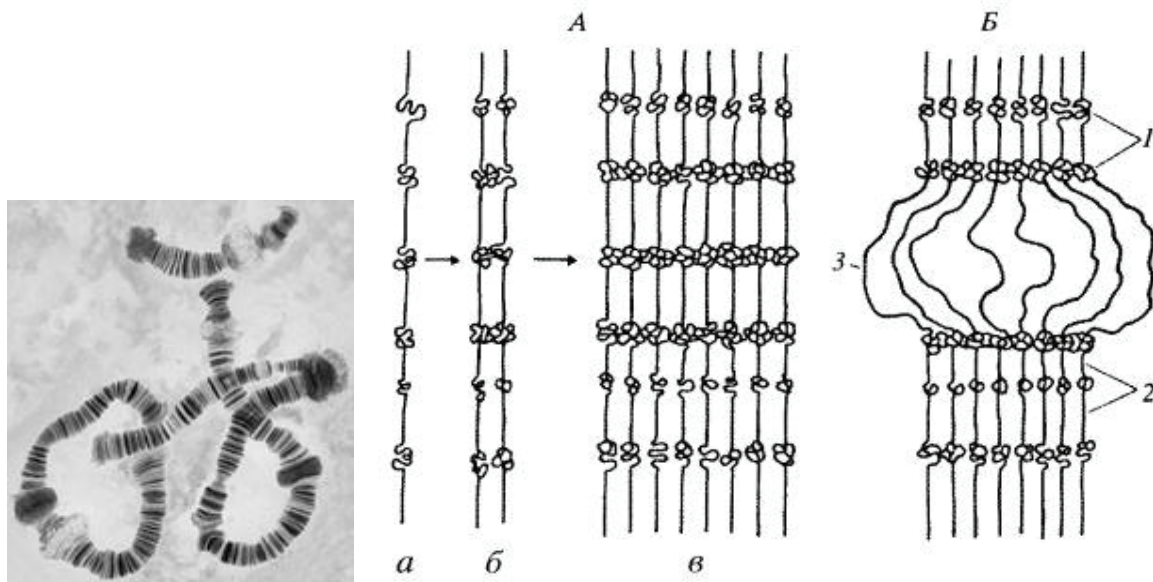
Завдяки спіралізації досягається щільна упаковка спадкового матеріалу, що є важливим під час переміщень хромосом у процесі мітотичного поділу. Про щільність упаковки ДНК в хромосомі свідчать наступні цифри. Ядро соматичної диплоїдної клітини



людини містить близько 6 пг ( $10^{-9}$  мг) ДНК, що відповідає нитці нуклеогістону довжиною майже 2 м. Сукупна ж довжина всіх хромосом клітини людини в метафазі мітозу дорівнює 150 мкм. Кількість клітин в організмі людини становить  $10^{14}$  або 100 тріліонів. Біспіраль з 100 г ДНК людини, якщо її витягнути в одну нитку, покриє відстань  $2,5 \cdot 10^{10}$  км, що більше ніж в 100 разів перевищує відстань від Землі до Сонця.

**2.1.5. Політенні хромосоми та хромосоми типу «лампових щіток».** Крім звичайних хромосом у деяких клітинах (наприклад, мальпігієвих судинах імаго або слинних залоз личинок двокрилих комах) знайдені гігантські політенні хромосоми, утворені в результаті ендомітозу.

*Політенні хромосоми* – гігантські інтерфазні хромосоми, що виникають в деяких типах спеціалізованих клітин як наслідок двох процесів: багаторазової реплікації ДНК, що не супроводжується поділом клітини, та бічної кон'югації хроматид (**рис.2.5**).



**Рис. 2.5.** – Політенні хромосоми та схема їх будови (А) та пуфа (Б): 1 – хромомери; 2 – хромонеми; 3 – пуф (транскрипційно активна ділянка)

Вперше політенні хромосоми описані французьким зоологом *Е. Бальбіані* в 1881 році в клітинах слинних залоз комара-дзвінця (представника роду *Chironomus* з сімейства хірономіди (*Chironomidae*). Клітини, в яких є такі хромосоми, втрачають здатність до поділу, стають диференційованими та активно секретуючими, тобто *політенізація хромосом є способом збільшення кількості копій генів для інтенсивного синтезу певного білкового продукту*. Політенні хромосоми спостерігають в ядрах клітин кишечника личинок двокрилих комах, в мальпігієвих

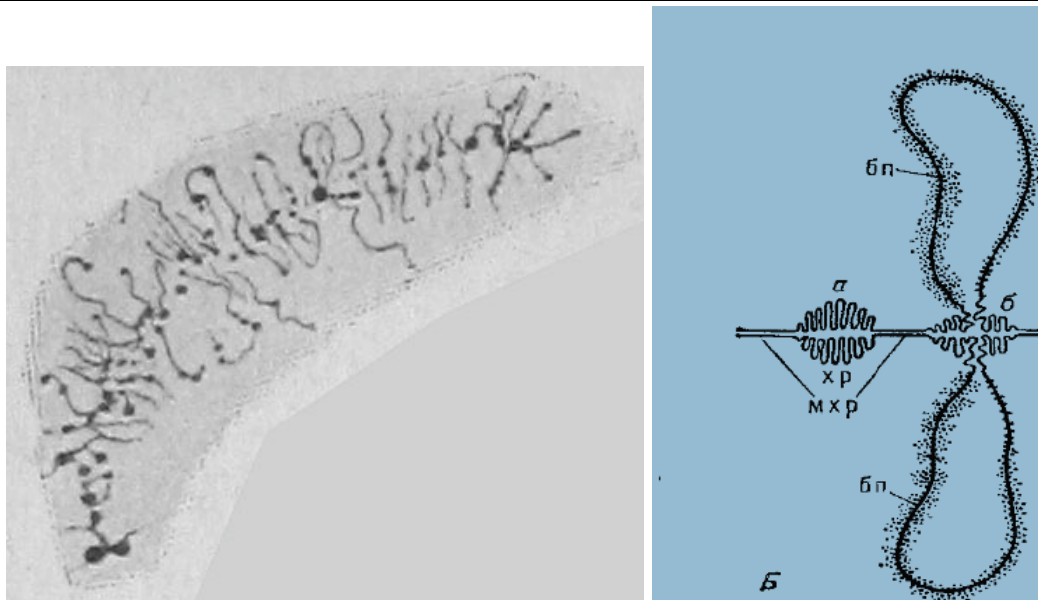
судинах; в деяких рослин – в ядрах синергід; в інфузорій при формуванні макронуклеуса. Принциповою відмінністю політенних хромосом є те, що вони інтерфазні, тоді як всі інші хромосоми можна спостерігати тільки під час мітотичного або мейотичного поділу.

Класичним прикладом політенії є гігантські хромосоми в клітинах слинних залоз личинок *Drosophila melanogaster*. Оскільки реплікація ДНК в цих клітинах не супроводжується їх поділом, відбувається накопичення знов синтезованих ниток ДНК, щільно з'єднаних між собою по всій довжині. В слинних залозах відбувається соматичний синапсис гомологічних хромосом, тобто кон'югують між собою не тільки сестринські хроматиди, але і гомологічні хромосоми кожної пари. Тому в клітинах слинних залоз міститься гаплоїдна кількість хромосом.

У політенних хромосомах процес транскрипції супроводжується формуванням *пуфів* – характерних потовщень певних дисків, що утворюються в результаті локальної декомпактизації в них ДНК. Великі пуфи називаються *кільцями Бальбіані* (іноді терміни «пуф» і «кільця Бальбіані» вживають як синонімічні). Утворення пуфів характерне для стадії личинки. Формування та зникнення пуфів регулюється внутрішнім середовищем організму відповідно до стадії розвитку. Одним з найважливіших регуляторів утворення пуфів у комах є стероїдні гормони, зокрема, гормон линьки екдизон. Виявлений вплив білків, синтезованих більш ранніми пуфами, на розвиток більш пізніх пуфів. Велика кількість копій генів багаторазово підсилює генну експресію, що, в свою чергу, збільшує продукування необхідних білків. Отже, утворення пуфів є яскравим прикладом *диференційованої транскрипції*.

У 1935 році *К.Бріджес* детально вивчив структуру політенних хромосом слинних залоз дрозофіли та склав першу цитологічну карту, позначивши положення та пронумерувавши всі темні ділянки – диски. У наступні десятиліття інші дослідники нанесли на цю карту дані про локалізацію конкретних структурних генів, мобільних елементів геному, повторюваних послідовностей ДНК і різних структурно-функціональних одиниць хромосом. Така карта хромосом одержала назву *цитогенетичної карти*.

Іншим відомим прикладом диференційованої транскрипції є формування *хромосом типу лампових щіток*, вперше виявлених *Вальтером Флемінгом* в 1882 році. Така форма хромосом характерна для зростаючих ооцитів більшості тварин, за винятком ссавців, при цьому хромосоми мають центральну вісь і бокові вирости (*рис. 2.6*).



**Рис. 2.6.** – Хромосоми типу лампових щіток. Б – неактивна (а) та функціонуюча (б) хромери. Остання утворює бічні петлі (б.п.); м.х.р. – міжхромерні ділянки хромосоми

Хромосоми типу лампових щіток (за формою нагадують щітки для чищення скла газових ламп) представляють собою біваленти, що утворюються під час тривалої стадії діплотени профазі I мейозу після кон'югації гомологічних хромосом, коли пара сестринських хроматид утримується разом у місцях хіазм під час активної транскрипції ДНК.

Це сильно деконденсовані напівбіваленти, що складаються з двох сестринських хроматид. Найдокладніше описана організація хромосом типу лампових щіток у хвостатих і безхвостих амфібій, одомашнених видів птахів і деяких видів комах.

Хромосоми типу лампових щіток амфібій і птахів можуть бути ізольовані з ядра ооцита за допомогою мікрохірургічних маніпуляцій. Такі хромосоми продукують величезну кількість РНК, що синтезується на латеральних петлях. Кожна латеральна петля завжди містить ту ж саму послідовність ДНК і залишається в витягнутому стані протягом усього періоду росту ооцита, аж до початку конденсації хромосом.

Завдяки гігантським розмірам і вираженій хромерно-петельній організації хромосоми типу лампових щіток протягом багатьох десятиліть служать зручною моделлю для вивчення організації хромосом, роботи генетичного апарату та регуляції експресії генів під час профазі I мейозу. Крім того, хромосоми цього типу широко використовуються для картування послідовностей ДНК; вивчення феномена транскрипції тандемних повторів ДНК, що не кодують білки; аналізу розподілу хіазм тощо.

**2.1.6. Димінуція хроматину.** В аскарид, циклопів, міксин, інфузорій, деяких представників двокрилих комах, веслоногих ракоподібних під час ембріогенезу відбувається запрограмована втрата частини генетичного матеріалу соматичних клітин – *димінуція хроматину* (від лат. Diminutio – зменшення). Механізми димінуції у різних організмів відрізняються, але об'єднує їх те, що втрачається в основному повторювана та некодуюча ДНК, і відбувається цей процес тільки в зачатках соматичних тканин. Наприклад, у деяких інфузорій під час реорганізації вегетативного ядра (макронуклеуса) втрачається значна частина генетичного матеріалу, наявного в генеративному ядрі (мікронуклеусі) – аналогу клітин зародкової лінії багатоклітинних тварин. На 8-клітинній стадії дроблення зиготи димінуція відбувається тільки в 7-ми з них (що започатковують соматичні клітини), восьма клітина, що дає початок зародковій лінії, залишається із звичайною гаплоїдною кількістю хромосом.

Явище димінуції хроматину відкрито й описано за допомогою цитологічних методів в аскарид у 1887 році німецьким біологом *Теодором Бовері*. Під час другого поділу дробіння в одній із клітин аскариди *Parascarus univalens* потовщені кінці хромосом відділяються від середньої частини та, не маючи центромер, залишаються біля екватора клітини та дегенерують. У результаті втрачається суттєва частина хромосом. Клітина, що пройшла димінуцію, дає початок клону клітин із значно вкороченими хромосомами. В другій дочірній клітині димінуція не відбувається; вона дає початок двом новим клітинам: одна з них знову проходить димінуцію, інша – ні. Врешті-решт в ембріону, що складається з 32 клітин, тільки дві мають повний набір ДНК хромосом (з них надалі формуються клітини зародкового шляху). Решта (30 клітин) дає початок соматичним клітинам. Після видалення кінцевих гетерохроматинових фрагментів хромосом на них формуються нові теломери (TTAGGC).

**2.1.7. Каріотип і його графічне зображення.** Кожному виду організмів властивий певний каріотип, який є своєрідним «паспортом» виду (*рис.2.7*).

*Каріотип* – кількісний та якісний склад хромосом диплоїдного набору соматичних клітин даного біологічного виду (*видовий каріотип*), даного організму (*індивідуальний каріотип*) або лінії (клону) клітин, що характеризується числом хромосом, їх розмірами; формою, кількістю і величиною вторинних перетинок, розподілом гетеро- та еухроматина.



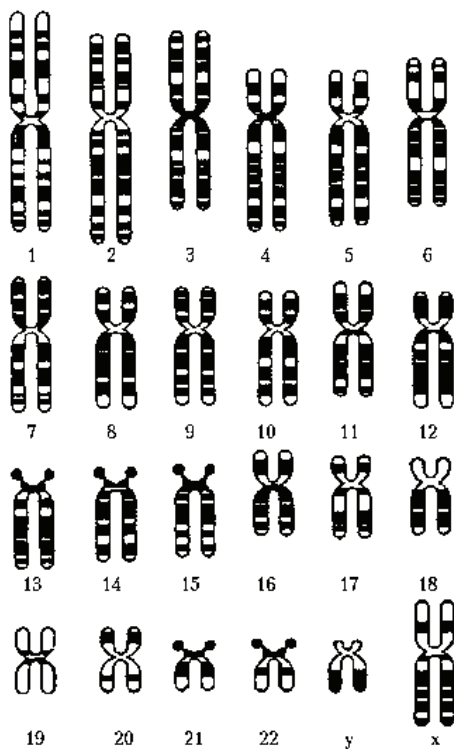
**Рис. 2.7.** – Каріотиби організмів різних видів організмів: I – скерди; II – дрозофіли; III – людини

Каріотип людини в нормі включає 46 хромосом, з них 22 пари аутомом та 2 статеві хромосоми, як встановили у 1956 році шведські вчені *Д.Тійо* та *А. Леван*.

Важливою ознакою каріотипу є наявність пар гомологічних хромосом. Обидва гомологи в пар мають однаковий генетичний зміст, розмір, розміщення центромер, рисунок хромомерів. Пари гомологів індивідуальні за своїми особливостями та відрізняються від хромосом будь-якої іншої пари. Хромосоми різних пар називають не гомологічними.

Оскільки зовнішній вигляд хромосом суттєво змінюється протягом клітинного циклу (протягом інтерфази хромосоми локалізовані в ядрі, деспіралізовані та важкодоступні для спостереження), для визначення каріотипу використовуються клітини на стадії метафази мітозу – *метафазні пластинки* – скопичення хромосом у площині, перпендикулярній вісі поділу (екваторіальній площині) перед початком анафазного розходження. Після фіксації препарати метафазних хромосом забарвлюють і фотографують; із мікрофотографій формують так званий *систематизований каріотип* – нумерований набір пар гомологічних хромосом; зображення хромосом при цьому орієнтується вертикально короткими плечами догори, їхня нумерація відбувається в порядку зменшення розмірів. Надалі виділяють групи подібних хромосом і позначають їх буквами латинської абетки. Статеві хромосоми розташовують у кінці каріотипу. Групуючи хромосоми попарно та розміщуючи їх в

порядку зменшення довжини, будують *ідіограму* (каріограму) – графічне зображення хромосом каріотипу (*рис.2.8*).



**Рис. 2.8.** – Ідіограма хромосом людини

*Ідіограма* (каріограма) – це графічне зображення каріотипу; систематизований набір хромосом однієї клітини з розміщенням їх у порядку зменшення розмірів. Складання каріограм, як і самий термін, запропонований цитологом *С.Г. Навашиним*. Нині для ідентифікації хромосом використовують *кількісний морфометричний аналіз*, за допомогою якого проводять вимірювання довжини хромосом у мікрометрах а також визначають співвідношення довжини короткого плеча та довжини всієї хромосоми – *центромірний індекс*.

Каріотип і ідіограма дозволяють морфологічно визначити кожен хромосом, але часто не вдається одержати чітку характеристику окремих хромосом для їх ідентифікації. Таку можливість надають методи диференційного забарвлення хромосом.

Методи диференційного забарвлення мають важливе практичне значення. Вони дозволяють ідентифікувати індивідуальні хромосоми та їх фрагменти навіть у філогенетично близьких видів, слідкувати за їх еволюційними змінами, за трансформацією під впливом екологічних факторів. Завдяки розробці цих методів збільшилася вирішальна здатність цитогенетичного методу. Нині медичні генетики безпомилково ідентифікують навіть незначні структурні зміни хромосом, що має важливе значення для

діагностики хромосомних захворювань людини методом *каріотипування*, спричинених як грубими порушеннями каріотипів (зміна кількості хромосом), так і порушенням хромосомної структури або чисельністю клітинних каріотипів в організмі (мозаїцизмом). Каріотипування – це метод мікроскопічного дослідження каріотипу (структури та кількості хромосом).

## 2.2. Нуклеїнові кислоти як носії генетичної інформації

Дезоксирибонуклеїнова кислота відкрита в 1869 році молодим швейцарським лікарем *Фрідріхом Мішером*, який працював тоді в Німеччині. Він вирішив вивчити хімічний склад клітин тварин, а в якості матеріалу вибрав лейкоцити. Ці захисні клітини, що поїдають мікробів, містяться в гної, і Мішер заручився співпрацею колег з місцевої хірургічної лікарні. Йому стали привозити кошики з гнійними пов'язками, знятими з ран. Мішер випробував різні способи відмивання лейкоцитів з марлі бинтів і став виділяти білки з відмитих клітин. У процесі роботи він зрозумів, що, крім білків, у лейкоцитах присутня якась невідома сполука. Речовина випадала в осад у вигляді білих пластівців або ниток при підкисленні розчину і знову розчинялася при його підлуженні. Розглядаючи препарат лейкоцитів під мікроскопом, дослідник виявив, що після відмивання лейкоцитів з бинтів розведеною соляною кислотою від них залишалися тільки ядра. Тому Мішер зробив висновок: невідома сполука міститься в ядрах клітин, яку він назвав «нуклеїном» (від латинської: *nucleus* – ядро). Пізніше, коли Мішер визначив, що ця речовина має кислотні властивості, вона отримала назву «нуклеїнова кислота».

Тривалий час ДНК вважалася запасником фосфору в організмі. До 20-х років ХХ століття вважали, що саме білок виконує функцію носія спадковості, тому що молекула ДНК здавалася занадто простою для зберігання спадкової інформації. Ця роль відводилася набагато більш різноманітним білкам. Достатньо згадати М. К. Кольцова, котрий у 1927 році наголосив про наявність у клітинах «гігантських спадкових молекул» і так званого «матричного синтезу», але білкового! Він вважав, що ген уявляє собою гігантську білкову молекулу, на якій, як на матриці, «відбивається» інша білкова молекула.

Суттєву роль у в'ясненні ролі нуклеїнових кислот у спадковості відіграли досліді *Ф.Гріффіта* (1928), який відкрив у пневмококків (*Streptococcus pneumoniae*) явище *трансформації*.

Відомі декілька типів пневмококів, що розрізняються за виглядом і розміром колоній, наявністю або відсутністю щільної полісахаридної капсули, яка захищає їх від фагоцитозу. Під час росту на поживному середовищі пневмококи, оточені капсулою, утворюють великі гладкі колонії. Такі пневмококи, віднесені до *типу S* (від англ. smooth – гладенький), є збудником пневмонії у людини і деяких тварин, зокрема, мишей. Приблизно одна з 10<sup>7</sup> клітин пневмококів може спонтанно перетворитися (мутувати) в форму, позбавлену полісахаридної капсули. Безкапсульні пневмококи непатогенні, оскільки швидко знищуються фагоцитами в організмі інфікованої тварини або людини. На поверхні поживного середовища такі бактерії, віднесені до *типу R* (від англ. rough – шорсткий), утворюють дрібні шорсткі колонії, які легко відрізнити від гладких колоній, утворених пневмококами типу *S*. Пневмококи, крім того, розрізняються за типом поверхневих антигенів, який визначається особливостями капсульного ліпополісахариду (наприклад, тип III<sub>S</sub>, II<sub>R</sub> та ін.), що служить ще однією важливою успадкованою ознакою.

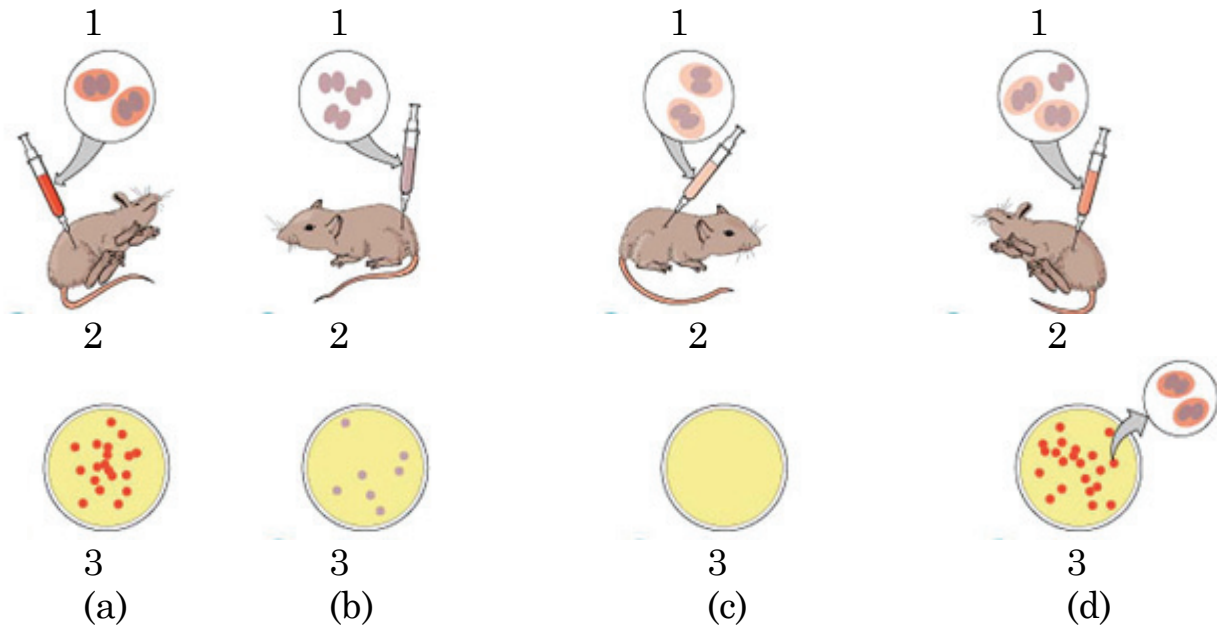
Введення мишам вбитих нагріванням пневмококів типу III<sub>S</sub> або живих пневмококів типу II<sub>R</sub> не спричинило загибелі тварин (*рис.2.9*).

Експерименти Гріффіта виявили існування певної «трансформуючої основи», яка перетворює клітини пневмококів типу II<sub>R</sub> в клітини типу III<sub>S</sub>. Однак самі по собі ці експерименти не виявили хімічної природи речовини, що забезпечує стійке, спадковане перетворення бактерій одного типу в інший.

У 1928 р. *О. Ейвері* прочитав статтю *Ф. Гріффіта* і доручив своїм співробітникам перевірити результати роботи британця. Результати були абсолютно точними. Більш того, трансформацію пневмококів можна було здійснювати навіть в пробірці, що відразу ж полегшило вивчення цього молекулярного явища. А в тому, що це було молекулярне явище, *О. Ейвері* не сумнівався. Разом із *М. Маккарті* і *К. Маклеодом* вони довели, що за трансформацію відповідальна «кислота дезоксирибозного типу», про що вони і написали в статті, опублікованій 4 лютого 1944 р. Стало зрозумілим, що носієм спадкової інформації є ДНК. Для доказу того, що ДНК дійсно є трансформуючою основою в дослідах Гріффіта, препарати ДНК із пневмококів типу III<sub>S</sub> ділили на порції, кожену з яких обробляли дезоксирибонуклеазою (ДНК-азою), рибонуклеазою та протеазою – ферментами, які руйнують відповідно ДНК, РНК або білки, а потім застосовували їх для зараження мишей і трансформації клітин типу II<sub>R</sub> в тип III<sub>S</sub>.



Виявилося, що тільки обробка ДНК-азою повністю видаляла трансформуючу активність препаратів ДНК. По мірі очищення ДНК від домішок білка частота трансформації збільшувалася. Обидві групи фактів є доказом того, що генетична інформація, що кодує капсульний полісахарид і його антигенну специфічність у пневмококів, знаходиться в ДНК.



**Рис. 2.9.** – Дослід Гріффіта з трансформації у пневмококів:

- а) 1 – живі капсульні бактерії вірулентні;  
 2 – миші гинуть;  
 3 – із загиблих мишей виділені капсульні бактерії.
- б) 1 – живі некапсульні бактерії авірулентні;  
 2 – миші живі та здорові;  
 3 – із живих мишей виділені безкапсульні бактерії.
- в) 1 – вбиті нагріванням некапсульні бактерії авірулентні;  
 2 – миші живі та здорові;  
 3 – живих бактерій не знайдено.
- г) 1 – суміш вбитих нагріванням капсульних і живих некапсульних бактерій **вірулентна!**  
 2 – миші загинули;  
 3 – із загиблих мишей виділені капсульні бактерії.

*Трансформація* – спрямоване перенесення генетичної інформації від донорних клітин у клітини-реципієнти за допомогою ізольованої ДНК.

Відомі два типи бактеріальної трансформації: *природна*, наприклад, у *Bacillus subtilis*, та *індукована*, коли бактеріальну клітину спеціально переводять у стан компетентності, тобто здатності пропускати чужорідну ДНК. У популяції бактерій лише певна їх

частина здатна включати із середовища молекули ДНК. Стан клітин, при якому це можливо, називають станом *компетентності*.

Процес трансформації відбувається в декілька стадій:

1. Перехід реципієнтних клітин у стан компетентності. У стані компетентності бактерія-реципієнт виробляє особливий низькомолекулярний білок-антиген на поверхні клітин (*фактор компетентності*), що активує синтез аутолізину, ендонуклеази I, ДНК-зв'язуючого білка. Аутолізин частково руйнує клітинну стінку, що дозволяє ДНК проникнути в клітину, а також знижує стійкість бактерій до осмотичного шоку. При наявності фактора компетентності в клітині знижується загальна інтенсивність метаболізму, клітинна стінка стає більш пористою, змінюється склад цитоплазматичної мембрани.

2. Контакт ДНК із поверхнею реципієнтної клітини. Умовами, необхідними для приєднання ДНК до компетентних клітин, є розміри (не менше  $1,5-3 \times 10^5$  Дальтон і наявність дволанцюгової інтактною молекули ДНК).

3. Проникнення ДНК у клітину. Молекула ДНК незворотно адсорбується на поверхні клітинної стінки в ділянках локалізації факторів компетентності, після чого один із ланцюгів ДНК поступово деградує, інший проникає в реципієнтну клітину.

4. З'єднання трансформованої ДНК з гомологічною ділянкою хромосоми реципієнта та рекомбінація між ними з утворенням гетеродуплекса. В результаті подвійного кросинговеру між однітковою донорною ДНК і двонитковою ДНК реципієнта відбувається рекомбінаційний обмін. Такі гібридні райони ДНК називають *гетеродуплексами*.

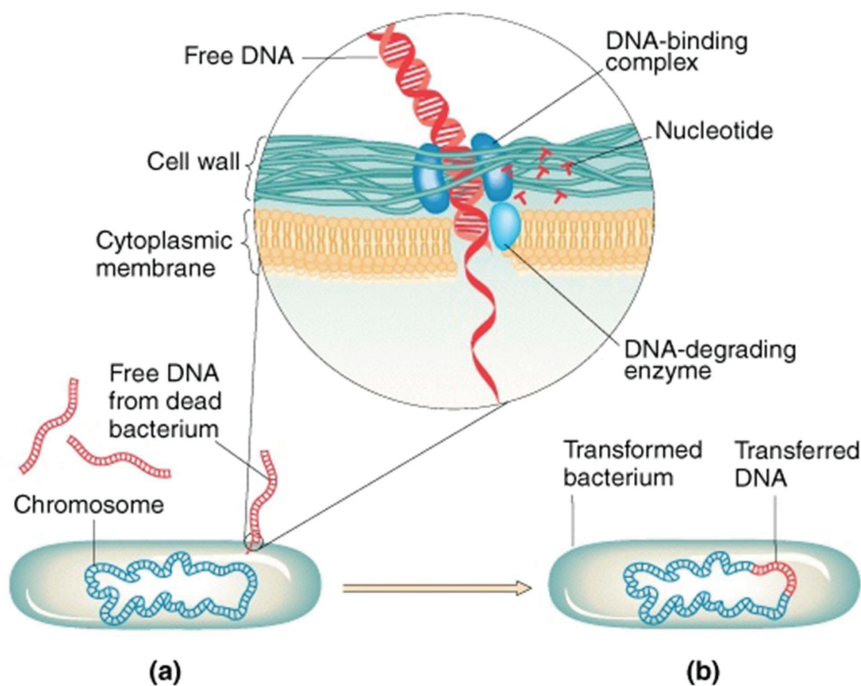
5. Вже після одного циклу реплікації хромосоми реципієнтної клітини утворюються два типи клітин: вихідні та трансформовані, що несуть двониткову ділянку ДНК донора.

Стадії проникнення чужорідної ДНК під час трансформації представлені на **рис.2.10**.

Інший прямий доказ ролі ДНК як носія спадкової інформації одержаний при вивченні розмноження *бактеріофага T2*, що інфікує кишкову паличку *Escherichia coli* під час трансдукції.

*Трансдукція* (от лат. *transductio* – переміщення) – процес перенесення бактеріальної ДНК з однієї клітини в іншу бактеріофагом. Фаги здатні до реалізації двох шляхів розвитку в бактеріальній клітині: 1) *літичний* – після потрапляння в бактерію ДНК фага відразу ж починається його реплікація, синтез білків і складання готових фагових часток, після чого відбувається лізис клітини. Фаги, що розвиваються тільки за таким сценарієм,

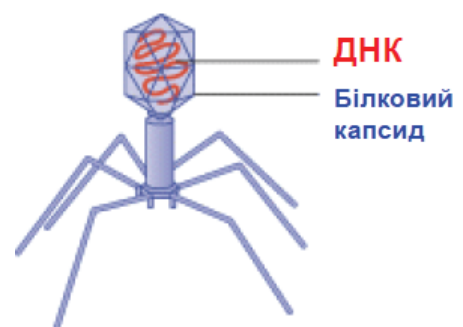
називають *вірулентними*; 2) *лізогенний* – ДНК фага, що потрапила в бактеріальну клітину, вбудовується в її хромосому чи існує в ній як плазміда, реплікуючись при кожному поділі клітини. Бактеріофаги, здатні вбудовуватися в хромосому бактерії і залишатися там в неактивному стані, називаються *лізогенізуючими бактеріофагами*, а саме явище – *лізогенія* (фаг  $\lambda$ ,  $\mu$ ). Система реплікації у цьому випадку пригнічена репресорами, що синтезуються фагами. При зниженні концентрації репресора профаг індукується і переходить до літичного шляху розвитку. Бактеріофаги, що реалізують подібну стратегію, називаються *помірними*. Для деяких з них стадія профага є обов'язковою, інші в деяких випадках здатні відразу розвиватися за літичним шляхом.



**Рис. 2.10.** – Процес проникнення ДНК донорних бактеріальних клітин у клітини-реципієнти

Для вивчення процесу трансдукції та доказів ролі ДНК у спадковості в якості об'єкта генетичних досліджень був використаний один з вірусів бактерій – бактеріофаг T2, що складається лише з білкової оболонки-капсиду та упакованої в нього молекули ДНК (виявлено методом електронної мікроскопії). Через 20 хвилин після інфікування при  $37^{\circ}\text{C}$  клітина бактерії лізується, при цьому біля 100 дочірніх часток фага виходять назовні.

Експеримент був спланований таким чином, щоб з'ясувати, що саме – білок чи ДНК – є носієм спадкової інформації.



Американці *Альфред Херші* і *Марта Чейз* (лауреати Нобелівської премії з фізіології і медицини 1969 року «за відкриття, що стосуються механізму реплікації і генетичної структури вірусів») експериментували з двома групами бактерій: одну групу вирощували на середовищі, що містить радіоактивний ізотоп фосфору  $P^{32}$  у складі фосфат-іону, іншу – в середовищі з радіоактивною сіркою ( $S^{35}$ ) у складі сульфат-іону. Бактеріофаги, додані в середовище з бактеріями і розмножені в них, поглинали ці радіоактивні ізотопи (вони служили маркерами), при побудові своїх ДНК і білків. Фосфор міститься в ДНК, але відсутній у білках, а сірка, навпаки, міститься в білках (точніше, у складі двох амінокислот: цистеїну та метіоніну), але її немає в ДНК. Таким чином, одні бактеріофаги містили мічені сіркою білки, а інші – мічену фосфором ДНК.

Після виділення радіоактивно мічених бактеріофагів їх додавали до культури свіжих (які не містять ізотопів) бактерій і дозволяли бактеріофагам інфікувати ці бактерії. Після цього середовище з бактеріями піддавали енергійному струшуванню у спеціальному змішувачі (було показано, що при цьому оболонки фага відокремлюються від поверхні бактеріальних клітин), а потім інфікованих бактерій відокремлювали від середовища.

Якщо до бактерій додавалися мічені фосфором-32 бактеріофаги, виявилось, що радіоактивна мітка перебувала в бактеріальних клітинах. Коли до бактерій додавалися бактеріофаги, мічені сіркою-35, то мітка була виявлена у фракції середовища з білковими оболонками, але її не було в бактеріальних клітинах. Отже матеріалом, яким інфікувалися бактерії, є ДНК. Оскільки всередині інфікованих бактерій формуються повні вірусні частки, що містять білки вірусу, наведене дослідження визнане одним з вирішальних доказів того, що генетична інформація (інформація про структуру білків) міститься в ДНК.

Нині трансдукція використовується:

- 1) для перенесення генів в інші клітини;
- 2) для картування бактеріальних генів;
- 3) для одержання делецій у хромосомах бактерій.

Значна більшість організмів містить ДНК в якості генетичного матеріалу. Лише деякі віруси, наприклад, вірус тютюнової мозаїки (ВТМ) складаються з рибонуклеїнової кислоти (РНК) і білкового капсиду. Генетична роль РНК у ВТМ доведена в експериментах *Г.Френкель-Конрата*, *А.Гірера* у кінці 50-х років ХХ століття. Кожна частка ВТМ містить поодинокий ланцюг РНК

довжиною 6400 нуклеотидів. Капсид ВТМ складається приблизно з 2130 ідентичних субодиниць, в кожній з яких міститься 158 амінокислотних залишків. Якщо відокремити білковий капсид від РНК ВТМ, то РНК втрачає здатність інфікувати рослинні клітини (на 99,9%). При реконструюванні вірусних часток (змішуванні РНК і білка ВТМ) вони знов стають інфікуючими. Ці особливості ВТМ і були використані в досліджах.

Реконструйовані вірусні частки були одержані з РНК стандартного штаму та білка іншого штаму НР. Обидва штами розрізнялися амінокислотним складом білка оболонки віруса: на відміну від штаму НР стандартний штаб не містив гістидину та метіоніну. Після інфікування рослин із клітин виділяли вірусні частки-нащадки, причому вони за амінокислотним складом білка капсиду та іншими ознаками завжди відповідали тому штаму ВТМ, від якого брали РНК. Таким чином була показана роль РНК як носія генетичної інформації у віруса тютюнової мозаїки.

### 2.3. Структура та функції нуклеїнових кислот

Усі живі організми є носіями двох типів нуклеїнових кислот (НК): рибонуклеїнових (РНК) і дезоксирибонуклеїнової (ДНК). *Нуклеїнові кислоти* – біополімерні (складаються з повторюваних одиниць) хімічні речовини клітин і неклітинних організмів, які забезпечують зберігання, передачу та реалізацію спадкової інформації. Наприклад, *кодуючі послідовності ДНК і матрична РНК* містять інформацію про структуру білкових молекул; *регуляторні послідовності ДНК і сигнальні послідовності РНК* керують синтезом білкових молекул; *рибосомна РНК (рРНК), транспортна РНК (тРНК), мала ядра ДНК (мяДНК), мала інтерферуюча РНК* виконують самостійні функції, пов'язані з передачею спадкової інформації. Нуклеїнові кислоти належать до макромолекулярних сполук, розмір молекул яких коливається в широких межах. Так, молекулярна маса тРНК складає близько  $2,5 \cdot 10^4$ , тоді як молекулярна маса ДНК досягає колосальних величин –  $10^6$ – $10^9$  а.о.м. (атомна одиниця маси) ( $1 \text{ а.о.м.} = 1 \text{ Да}$  (Дальтон) =  $1,67 \cdot 10^{-24} \text{ г}$ ). Одиницями вимірювання протяжності дволанцюгової ДНК є: 1) Кілобаза (Кб) = 1 000 п.н.; 2) Мегабаза (Мб) =  $10^6$  п.н.; 3) Гігабаза (Gb) =  $10^9$  п.н. (п.н. – пара нуклеотидів). Але довжина ДНК визначається за довжиною одного ланцюга.

*ДНК* зазвичай локалізована в ядрі клітин еукаріот або в ядерній зоні клітин прокаріот. Усі види *РНК* – матрична, транспортна, рибосомна – синтезуються за участю ядерного геному

еукаріотичних клітин, через пори ядерної мембрани надходять в цитоплазму, де на шорсткій поверхні ендоплазматичного ретикулуму за їх участю відбувається біосинтез білка.

Молекули нуклеїнових кислот складаються з атомів азоту (15–16 %), фосфору (8–10 %), вуглецю, кисню і водню. З метою ідентифікації компонентів, що входять до складу НК, і їхнього кількісного визначення ДНК і РНК піддають ферментному або, найчастіше, кислотному гідролізу, у результаті чого виявляють пуринові (у молекулі пурину шестичленне кільце піримідину і п'ятичленний гетероцикл імідазолу знаходяться в конденсованому стані, утворюючи біциклічне похідне) (аденін і гуанін) і піримідинові (тимін, цитозин і урацил) азотисті основи, моноцукри – пентози (рибозу і дезоксирибозу) та фосфорну кислоту. При ферментному гідролізі НК утворюються продукти, що складаються із залишків азотистих основ, рибозного чи дезоксирибозного компонентів та фосфорної кислоти.

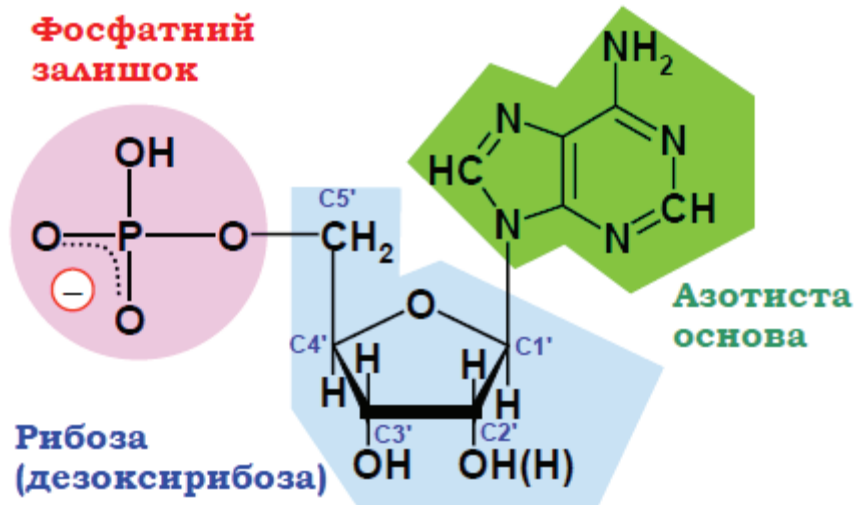
Крім названих похідних пурину і піримідину, в гідролізатах НК міститься декілька десятків інших основ (1-метиладенін, 1-метилгуанін, N2-диметилгуанін, N6-диметиладенін, N7-метилгуанін, 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин, 4-тіоурацил, дегідроурацил та ін.), які через малу кількість отримали назву екзотичних, або мінорних компонентів. Припускають, що їхня біологічна роль – захист НК від руйнівної дії ферментів. Особливо багато мінорних основ у складі тРНК (близько 60).

**2.3.1. Первинна структура нуклеїнових кислот** – це послідовність розміщення нуклеотидів (фосфорних ефірів нуклеозидів) у полінуклеотидному ланцюзі ДНК або РНК. В утворенні первинної структури НК беруть участь: *глікозидний зв'язок*, що з'єднує азотисті основи з пентозою, *ефірний зв'язок* між рибозою чи дезоксирибозою і фосфорною кислотою, *фосфодіефірний зв'язок* між нуклеотидами. Усі ці зв'язки ковалентні, досить міцно стабілізують первинну структуру.

Сполуки, що складаються із залишків тієї чи іншої азотистої основи, пентозного (рибозного чи дезоксирибозного) компонента і фосфорної кислоти, називаються *нуклеотидами*. Вони є мономерними одиницями олігонуклеотидів і полінуклеотидних структур НК (*рис. 2.11*).

Фосфорилування ОН-групи при 5'-атомі пентози в нуклеозиді призводить до утворення нуклеотиду. Таким чином, нуклеотид є нуклеозидмонофосфатом (NMP). Наприклад, нуклеотид, зображений на *рис. 2.5*, є *аденозинмонофосфатом (AMP)*. Будівним матеріалом для синтезу полімерних нуклеїнових кислот

є нуклеозидтрифосфати, до складу яких входять ще два фосфатні залишки, послідовно приєднані до 5'-фосфату; під час реакцій синтезу вони відщеплюються.



**Рис. 2.11.** – Хімічна будова нуклеотиду (аденозинмонофосфат) (за Сиволоб А.В та ін., 2008)

Відщеплення від нуклеотида фосфорної кислоти супроводжується утворенням відповідного *нуклеозиду*. Продукти фосфорилювання нуклеозидів, зокрема нуклеозидтрифосфати, використовуються під час біосинтезу ДНК і РНК.

Отже, мономерними ланками нуклеїнових кислот є залишки мононуклеотидів – фосфорних ефірів нуклеозидів. Кожний з нуклеозидів є залишком пентози та азотистої основи, похідної *пуринів* (А, G) або *піримідинів* (С, Т, U) залежно від типу азотистої основи (аденозин, гуанозин, цитидин, тимідин, уридин) і називається також *рибо-* чи *дезоксирибонуклеозидом* (залежно від типу пентози). Рибонуклеозиди входять до складу РНК, дезоксирибонуклеозиди – до складу ДНК. Інша хімічна різниця між ДНК і РНК стосується складу піримідинових азотистих основ: замість тиміну (Т), що міститься в ДНК, до складу РНК входить урацил (U). У кільцях гетероциклічних органічних сполук (азотистих основ) містяться карбон і азот, а всі зв'язки мають характер частково подвійних. До певних атомів кільця приєднані екзоциклічні групи – аміногрупа чи атом оксигену. За міжнародною системою загальне позначення для всіх азотистих основ – N. Загальноприйняте позначення пуринів – R, піримідинів – Y.

Відмінність будови рибози та дезоксирибози (заміна у другого вуглецевого атома рибози ОН-групи на Н) сприяє зміцненню зв'язку між другим і третім атомами карбону та створює сприятливі умови для компактного укладання молекули ДНК.

Атоми вуглецю пентози мають цифрові позначення зі штрихом (C'), щоб можна було відрізнити їх від вуглецевих атомів, що входять до складу пуринових чи піримідинових гетероциклів. До 3'-атома карбону завжди приєднана ОН-група. Пентоза, у складі якої ОН-група знаходиться також при 2'-атомі, називається *рибозою*. Пентоза іншого типу – *дезоксирибоза* – відрізняється лише заміною ОН-групи на атом гідрогену.

Нуклеозиди та нуклеотиди одержують назви за їхніми азотистими основами. Якщо вуглеводний компонент нуклеозиду представлений дезоксирибозою, то перед назвою відповідного нуклеотида ставиться префікс *дезокси-*. Наприклад, дезокси-гуанозин-5-трифосфат (д-ГТФ). Номенклатура нуклеотидів, нуклеозидів і азотистих основ представлена в таблиці:

Азотисті основи	нуклеозиди	Нуклеотиди		
		Повна назва	Скорочена назва	
			вітчизняна	міжнародна
Аденін	аденозин	Аденілова кислота (аденозинмонофосфат)	АМФ (А)	AMP (A)
Гуанін	гуанозин	Гуанілова кислота (гуанозинмонофосфат)	ГМФ (Г)	GMP (G)
Цитозин	цитидин	Цитидилова кислота (цитидинмонофосфат)	ЦМФ (Ц)	CMP (C)
Тимін	тимідин	Тимідилова кислота (тимідинмонофосфат)	ТМФ (Т)	TMP (T)
Урацил	уридин	Уридилова кислота (уридинмонофосфат)	УМФ (У)	UMP (U)

До нуклеотидів, що мають циклічну будову, відносять аденозинмонофосфати (цАМФ чи сАМР), гуанозинмонофосфати (цГМФ чи сGMP) і цитозинмонофосфати (цЦМФ чи сСМР). Циклічні АМФ і ГМФ утворюються з відповідних нуклеозидтрифосфатів під дією ферментів аденілатциклази і гуанілатциклази. Біологічне значення цАМФ полягає в його контролі за активністю ферментів (вторинний медіатор); роль первинного регулятора виконує адреналін, що активує аденілатциклазу. Механізм дії цГМФ і цАМФ подібний, однак при дії на той самий фермент цГМФ чинить протилежний ефект, тобто є інгібітором ферментів. Даних про біологічну активність цЦМФ поки що замало.

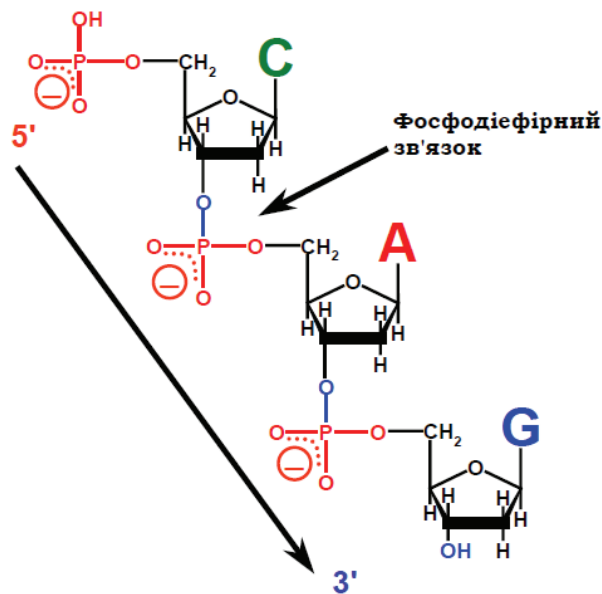
Залишки нуклеотидів-мономерів у нуклеїнових кислотах з'єднані між собою фосфодіефірними зв'язками, які здійснюються між 3' – вуглецевим атомом одного нуклеозидного залишку та 5' –



вуглецевим атомом іншого. Тому такий зв'язок між двома сусідніми нуклеотидами називають *3'-5'-фосфодіефірним*.

Полінуклеотидні ланцюги нуклеїнових кислот полярні: на одному кінці завжди знаходиться вільна або заміщена група 3'ОН, на протилежному – фосфорильована або дефосфорильована група 5'ОН.

Полінуклеотидний ланцюг має напрямок зчитування генетичної інформації: на одному його кінці знаходиться 5'-фосфат (5'-кінець), на іншому – 3'-ОН-група (3'-кінець). Послідовності нуклеотидів прийнято записувати в напрямку 5'→3', у тому ж напрямку відбувається синтез усіх нуклеїнових кислот – *реакція матричного синтезу (рис.2.12)*.



**Рис. 2.12.** – Полінуклеотидний ланцюг ДНК (за Сиволоб А.В та ін., 2008)

Генетична інформація записана в молекулі ДНК саме у вигляді послідовності нуклеотидів за допомогою генетичного коду. Остов полінуклеотидного ланцюгу утворюють фосфатні залишки (кожен із яких має негативний заряд за фізіологічних умов) і пентози, що чергуються – *цукрофосфатний остов*. Від цього остова відходять азотисті основи як бокові залишки (*рис. 2.8*).

У клітині міжнуклеотидні зв'язки в ДНК і РНК руйнуються ферментами *нуклеазами*. В середині молекули розривають фосфодіефірні зв'язки *ендонуклеази*, починаючи з кінця молекули – *екзонуклеази*.

**2.3.2. Генетичний код і його властивості.** *Генетичний код* – це система триплетів нуклеотидів, які визначають амінокислотну послідовність первинної структури білкової молекули.

Молекулярні дослідження генетичного коду виявили його основні властивості:

1. *Універсальність* – генетичний код здійснює свою функцію однаково в організмах різного рівня складності – від вірусів до людини. На цьому базуються методи генної інженерії. Але нині відкрита низка виключень.

Перший випадок відхилення від стандартного генетичного коду був відкритий в 1979 році при дослідженні генів мітохондрій людини. З того часу було знайдено декілька подібних варіантів, включаючи різноманітні альтернативні мітохондріальні коди. У бактерій і архей триплети GUG та UUG часто використовуються як стартові кодони.

У мітохондріальному геномі ссавців кодон AUA, який кодує ізолейцин в ядерних генах, використовується для шифрування метіоніну; UGA не є стоп-кодоном, а кодує триптофан. Навпаки, кодони AGA і AGG – це стоп-кодони замість кодування аргініну. Генетичний код дріжджів також дещо відрізняється від мітохондріального коду.

Незважаючи на ці винятки, у всіх живих організмів генетичний код має загальні риси: кодони складаються з трьох нуклеотидів, де два перших є визначальними; кодони транслюються тРНК і рибосомами в послідовність амінокислот. Універсальність коду підтверджується численними експериментами, в тому числі із застосуванням рекомбінантних ДНК, в результаті чого бактеріальні гени успішно транскрибуються і транслюються в еукаріотичному геномі і навпаки.

2. *Триплетність* – кожна амінокислота кодується послідовністю із трьох нуклеотидів – триплетом або *кодоном* (серед 64 кодонів 61 – змістовний і 3 незмістовні – UAA, UGA та UAG (не кодують жодної амінокислоти, це стоп-кодони закінчення процесу транскрипції)).

3. *Виродженість (надлишковість)* – всі амінокислоти (за виключення метіоніну та триптофану) мають більше одного кодона. Майже всі амінокислоти визначаються двома, трьома або більшою кількістю кодонів. Три амінокислоти (серин, аргінін і лейцин) кодуються шістьма різними кодонами кожний. Кодон AUG кодує метіонін; він є ініціюючим, тому кожна мРНК має цей кодон на початку транскрипції, який пізніше він видаляється з ланцюга РНК. Виродженість коду має ще особливість в тому, що значимість нуклеотидів у кодоні неоднакова. Найбільше смислове навантаження несуть перші два нуклеотиди, третій може варіювати. Цю особливість у вигляді гіпотези сформулював ще Ф.Крік (Crick, 1966).

4. Код має лінійний порядок зчитування та характеризується колінеарністю, тобто співпаданням порядку розміщення кодонів у мРНК з порядком розміщення амінокислот у поліпептидному ланцюгу, що кодується нею.

5. Код не має роздільних знаків між триплетами.

6. Код безперервний – спадкова інформація зчитується безперервно.

7. Код не перекривається – сусідні триплети не мають загальних азотистих основ; той самий нуклеотид не може входити одночасно до складу двох або більшої кількості триплетів (виключення: у вірусів, у мітохондріях, у бактерій є декількох генів, що перекриваються; вони кодують декілька білків, які зчитуються із зсувом рамки зчитування). Рамка зчитування – один із трьох можливих способів зчитування генетичної інформації у вигляді низки триплетів, коли кожна наступна амінокислота кодується трьома наступними нуклеотидами). Зсув рамки зчитування відбувається наступним чином:



8. Однозначність (специфічність) – певний кодон відповідає лише одній амінокислоті (виключення: кодон UGA у *Euplotes crassus* кодує дві амінокислоти – цистеїн та селеноцистеїн).

9. Односпрямованість – зчитування спадкової інформації відбувається лише в одному напрямку – 5'–3' (фосфодіефірний зв'язок між фосфатними групами спрямований від 5'-положення атома карбону дезоксирибози одного нуклеотиду до 3'-кінця атома карбону наступного нуклеотиду одного поліпептидного ланцюга ДНК або РНК).

10. Кількість кодонів для кожної амінокислоти (крім аргініну) корелює з частотою її зустрічальності в білках.

11. Частота використання різних кодонів для включення певної амінокислоти в поліпептидний ланцюг може бути видоспецифічною. Триплети, що кодують ту ж саму амінокислоту, називають синонімічними.

*Кодони для кожної амінокислоти та стоп-кодони:*

<b>Ala/A</b>	GCU, GCC, GCA, GCG	<b>Leu/L</b>	UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG
<b>Arg/R</b>	CGU, CGC, CGA, CGG,	<b>Lys/K</b>	AAA, AAG AGA, AGG
<b>Asn/N</b>	AAU, AAC	<b>Met/M</b>	AUG
<b>Asp/D</b>	GAU, GAC	<b>Phe/F</b>	UUU, UUC
<b>Cys/C</b>	UGU, UGC	<b>Pro/P</b>	CCU, CCC, CCA, CCG
<b>Gln/Q</b>	CAA, CAG	<b>Ser/S</b>	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
<b>Glu/E</b>	GAA, GAG	<b>Thr/T</b>	ACU, ACC, ACA, ACG
<b>Gly/G</b>	GGU, GGC, GGA, GGG	<b>Trp/W</b>	UGG
<b>His/H</b>	CAU, CAC	<b>Tyr/Y</b>	UAU, UAC
<b>Ile/I</b>	AUU, AUC, AUA	<b>Val/V</b>	GUU, GUC, GUA, GUG
<b>START</b>	AUG	<b>STOP</b>	UAG, UGA, UAA

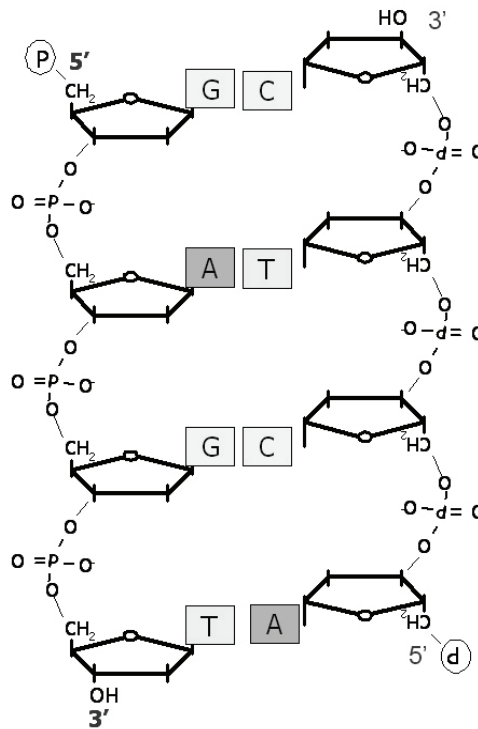
**2.3.3. Вторинна структура ДНК. Правило Чаргаффа.**

До 50-х років ХХ століття будова ДНК і спосіб передачі спадкової інформації залишалися невідомими. Було лише доведено, що ДНК складається із декількох ланцюгів, які, в свою чергу, складаються з нуклеотидів. Але ніхто не знав точно, скільки цих ланцюгів і яким чином вони сполучені.

Структура подвійної спіралі ДНК запропонована *Ф. Кріком* і *Дж. Уотсоном* у 1953 році на основі рентгеноструктурних даних, отриманих *Морісом Вілкінсом* і *Розаліндою Франклін*, і правил *Чаргаффа*. Пізніше запропонована Уотсоном і Кріком модель будови ДНК була підтверджена, а їх робота відмічена *Нобелівською премією з фізіології і медицини 1962 року (див. Розділ 1)*.

В усіх живих істот, окрім деяких вірусів, молекула ДНК має спіральну вторинну структуру, в якій азотисті основи знаходяться всередині, а цукрофосфатний остов – ззовні. Подвійна спіраль ДНК утворюється з двох взаємно комплементарних антипаралельних дезоксирибонуклеотидних ланцюгів, закручених відносно один одного, та загальної вісі в праву спіраль. У ланцюзі нуклеотиди пов'язані шляхом утворення 5'-3' цукрофосфатного ковалентного зв'язку. При цьому комплементарні ланцюги спрямовані в протилежних напрямках: одна в напрямку 5' → 3', інша – 3' → 5' (антипаралельні) (*рис.2.13*).

Антипаралельна структура ДНК означає, що якщо один кінець полінуклеотидного ланцюга закінчується гідроксильною групою ОН, пов'язаною з третім атомом вуглецю дезоксирибози (3' – кінець), то другий полінуклеотидний ланцюг повинен закінчуватися трифосфатом, зв'язаним з 5-тим атомом вуглецю дезоксирибози (5' – кінець).



**Рис. 2.13.** – Вторинна структура молекули ДНК

У формуванні вторинної структури ДНК беруть участь наступні типи взаємодій: 1) *водневі зв'язки* між комплементарними азотистими основами (дві – між аденином і тиміном, три – між гуаніном і цитозином); 2) *стекинг-взаємодії* – гідрофобні зв'язки, що виникають при розташуванні ароматичних молекул, що нагадує розташування монет у стопці; спостерігаються в послідовних парах основ ДНК, РНК і білках; 3) *електростатичні взаємодії*; 4) *Ван-дер-Ваальсові взаємодії*.

**Правило Чаргаффа.** У будь-якій молекулі ДНК:

1) кількість аденіну дорівнює кількості тиміну, а кількість гуаніну – кількості цитозину:  $A = T$ ,  $G = C$ ;

2) кількість пуринів дорівнює кількості піримідинів:  $A + G = T + C$ ;

3) кількість азотистих основ з шістьма аміногрупами дорівнює кількості азотистих основ з шістьма кетогрупами:  $A + C = G + T$ ;

4) співвідношення АТ- і GC-пар можуть бути різними в різних районах хромосом. Наприклад, у ссавців у G<sup>+</sup> – районах превалюють АТ-пари, а в R<sup>+</sup>- районах – GC-пари\*.

5) видова специфічність ДНК виражається співвідношенням  $\frac{G + C}{A + T}$ , тобто *коефіцієнтом нуклеотидної (видової) специфічності*.

\*Диференційне G-забарвлення (G-бендінг) дозволяє виявити поздовжню забарвленість мітотичних хромосом. G<sup>+</sup>-райони відповідають

більш компактизованим, менш насиченим генами ділянкам хромосом, які містять більшу кількість АТ-пар; тут знаходяться тканинспецифічні та стадійно специфічні гени, транскрипція яких триває не у всіх клітинах. У цьому полягає біологічне значення блокової організації хромосом – гени, які однаково потрібні у всіх клітинах, знаходяться в більш деконденсованих ділянках хромосом, де ДНК більш доступна для ферментів транскрипції. АТ-багаті G<sup>+</sup>-райони зв'язують більшу кількість барвника, що призводить до їх більш інтенсивної флуоресценції. Використання цього методу дозволяє ідентифікувати статеву Y-хромосому навіть в інтерфазі, оскільки значна її частина складається з АТ-насиченого гетерохроматина, який при зв'язуванні з флуорохромами дає діамантове світіння. R-метод диференційного забарвлення шляхом теплової денатурації є протилежним G-бендінгу та дозволяє виявити GC-пари нуклеотидів. R<sup>+</sup>-райони реплікуються в першій половині фази S клітинного циклу, а G<sup>+</sup>-райони – в другій).

Останнє положення правила Чаргаффа започаткувало розвиток нової галузі біології – *геносистематики*, яка для побудови системи органічного світу використовує порівняльний аналіз складу та структури нуклеїнових кислот\*. Деякі приклади варіювання коефіцієнту нуклеотидної специфічності в різних видів організмів наведені в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

**Вміст азотистих основ у ДНК різних біологічних об'єктів**

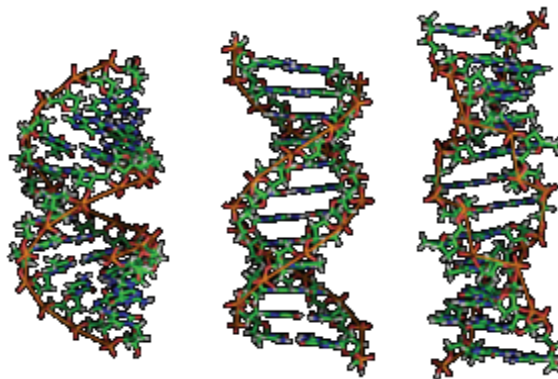
Об'єкт	Нуклеотидний склад молекул ДНК, %				Коефіцієнт нуклеотидної (видової) специфічності
	Т	А	Г	С	
<b>Тварини:</b>					
Людина	30,9	19,9	19,8	29,4	1,52
Курка	28,8	20,5	21,5	29,2	1,38
Сарана	29,3	20,5	20,7	29,3	1,41
<b>Рослини,гриби:</b>					
Зерна пшениці	27,3	22,7	22,8	27,1	1,19
Дріжджі	31,3	18,7	17,1	32,9	1,79
<b>Бактерії:</b>					
E.coli	24,7	26,0	25,7	23,6	0,93
Clostridium perfringens	36,9	14,0	12,8	36,3	2,70
<b>Бактеріофаги:</b>					
Т 7	26,0	24,0	24,0	26,0	1,08
λ (лямбда)	21,3	28,6	27,2	22,9	0,79

\**Геносистематика* – розділ молекулярної генетики, який вивчає нуклеотидні послідовності фрагментів ДНК, генотипи, створені в процесі еволюції, і на цій основі виявляє спорідненість організмів *Геноміка*

досліджує і порівнює цілі геноми ядер чи органелл клітин, в тому числі і для філогенетики. Геноміка за своєю сутністю тотожна геносистематиці. Відмінність полягає лише в підході до вивчення геномів організмів. Визначити порядок розташування генів у хромосомах можна тільки із застосуванням новітніх молекулярно-біологічних методів.

Ширина подвійної спіралі в її найпоширенішій В-формі становить від 22 до 24 Å, або 2,2 – 2,4 нм, а довжина кожного нуклеотида 3,3 Å (0,33 нм). Довжина всієї молекули залежить від виду організму, та може складати від десятків мікрон у деяких вірусів до кількох метрів (в одній хромосомі) у деяких рослин. Відстань між сусідніми азотистими основами складає 0,34 нм. Крім того, кожна наступна пара азотистих основ повернена відносно попередньої на 36°. Таким чином, через десять нуклеотидів спіраль здійснює один оберт. Два глікозидні зв'язки, якими з'єднуються азотисті основи з дезоксирибозою, лежать не прямо навпроти, в результаті чого цукрофосфатний остов формує велику та малу борозенки на поверхні молекули. Білки, наприклад, фактори транскрипції, які приєднуються до певних послідовностей в дволанцюговій ДНК, зазвичай взаємодіють з краями основ у великій борозенці, де вони доступніші.

У залежності від зовнішніх умов параметри подвійної спіралі ДНК можуть змінюватися, іноді істотно. Молекула ДНК може існувати в декількох можливих конформаціях. Нині ідентифіковані та описані такі її форми: А-ДНК, В-ДНК, С-ДНК, D-ДНК, E-ДНК, H-ДНК, L-ДНК, P-ДНК і Z-ДНК. Проте тільки А-, В- і Z- форми ДНК спостерігаються в природних біологічних системах у залежності від концентрації іонів і нуклеотидного складу (*рис. 2.14*). Правоспіральні ДНК з випадковою нуклеотидною послідовністю розрізняються двома формами – А і В; головна відмінність між ними – конформація дезоксирибози. Нативна ДНК більшості клітин знаходиться в В-формі.



**Рис. 2.14.** – Альтернативні форми подвійної спіралі ДНК (зліва направо: А, В, Z – форми)

Конформація, яку приймає ДНК, залежить від послідовності ДНК, величини та напрямку суперскрученості, хімічних модифікації основ і концентрації хімічних речовин у розчині, перш за все концентрацій іонів металів і поліамінів. Альтернативні конформації подвійної спіралі відрізняються своєю геометрією та розмірами.

A-форма ДНК поширена зазвичай у зневоднених зразках ДНК, у гібридних комплексах ДНК-РНК, у складі ферментної ДНК живих клітин. Сегменти ДНК із хімічно зміненими (метильованими) основами можуть потерпати більших конформаційних змін і приймають Z-форму. При цьому ланцюги закручуються в ліву подвійну спіраль, на відміну від правої спіралі B-форми. Такі структури можуть розпізнаватися специфічними Z-ДНК зв'язуючими білками та залучатися до регуляції транскрипції.

Вторинна структура нуклеїнових кислот утворюється за рахунок виникнення водневих і гідрофобних зв'язків між азотистими основами, тобто слабких взаємодій. Тому, як і в білків, у нуклеїнових кислот можлива денатурація при помірних впливах. *Денатурація (плавлення) ДНК* відбувається при нагріванні розчину до 70-100°C, а також у сильноокислому або в лужному середовищах, або в розчині сечовини. Під час руйнування водневих і гідрофобних зв'язків ланцюги розходяться і приймають конформацію неупорядкованого клубка. Температура денатурації залежить від складу ДНК: чим більше в ДНК нуклеотидних пар GC, тим вище температура денатурації, оскільки витрати енергії на розрив трьох водневих зв'язків є більшими.

Ренатурація є зворотним процесом; відновлення дволанцюгової структури ДНК відбувається навіть при повному розходженні ланцюгів. Процес воз'єднання двох ланцюгів ДНК – *ренатурація (відпал)*, відбувається при зниженні температури або рН розчину. Здатність двох окремих комплементарних ланцюгів нуклеїнової кислоти воз'єднуватися з утворенням вихідної структури є ключовим моментом для проведення певних досліджень *in vitro*, для виділення, порівняння та ідентифікації нуклеїнових кислот. Унікальна здатність нуклеїнової кислоти утворювати подвійну спіраль шляхом асоціації поодиноких комплементарних ланцюгів використовується в генетичних та генно-інженерних дослідженнях.

**2.3.4. Третинна структура ДНК.** Для вивчення третинної структури ДНК необхідно мати її в інтактному (неушкодженому) вигляді. Довжина двоспіральної молекули ДНК хромосоми



людини в видовженому стані мала досягти 8 см; насправді її довжина 5 нм. Таке надзвичайно ощадливе упакування досягається за рахунок суперспіралізації вторинної структури. Ступінь суперспіралізації (наявність додаткових супервитків чи суперспіралей) встановлюється за зміною константи седиментації. Суперспіралі часто утворюються в кільцевих молекулах ДНК. Так, хромосома *E.coli* являє собою єдине замкнуте кільце.

Кільцеві молекули ДНК часто виявляються в мітохондріях, деяких вірусах, ядрах еукаріот; вони закручуються самі на себе, утворюючи суперспіральні молекули із супервитками, що призводить до утворення правозакрученої структури. Це явище називається *негативною суперспіралізацією*. У результаті на кожен супервиток припадає 20–25 витків подвійної спіралі. Виділені ферменти ДНК-топоізомерази (ДНК-гірази), що каталізують процес суперспіралізації. Факт перебування ДНК у стані суперспіралізації підтверджений за допомогою методу електронної мікроскопії. Процес суперспіралізації ДНК в еукаріот проходить за участю гістонових білків, серед яких залежно від вмісту лізину й аргініну розрізняють п'ять основних класів. Полікатионна природа гістонів забезпечує їхню взаємодію з поліаніонним пентозофосфатним каркасом і поряд з водневими зв'язками стабілізує структуру ДНК еукаріот. У ДНК мітохондрій, хлоропластів і прокаріотичних клітин фактором, що стабілізує структуру цих поліаніонних макромолекул, є неорганічні катіони (не білок).

Суперспіралізовану молекулу ДНК можна перевести у відкриту (релаксовану) кільцеву форму, розірвавши один чи обидва ланцюги подвійної спіралі за допомогою короткочасної обробки її ферментом. Релаксована форма молекули, що утворюється, седиментує повільніше. Суперспіральність впливає на в'язкість розчинів ДНК і на електрофоретичну рухливість макромолекул.

Перехід суперспіральної ДНК у відкриту кільцеву молекулу є необхідним етапом процесу реплікації. Оскільки водневі зв'язки нековалентні, вони легко розриваються і відновлюються. Ланцюжки подвійної спіралі можуть розходитися як замок-зміяка під дією ферментів (гелікази) або при високій температурі.

**2.3.5. Взаємодія ДНК із білками.** Всі функції ДНК залежать від її взаємодії з білками. Взаємодії можуть бути як неспецифічними (коли білок приєднується до будь-якої молекули ДНК) або залежати від наявності специфічної послідовності. Ферменти також можуть взаємодіяти з ДНК. Найважливіші з них

– полімерази, що «переписують» генетичну інформацію в вигляді послідовності азотистих основ ДНК на РНК (транскрипція), або при синтезі нового ланцюга ДНК (реплікація).

У клітинах ДНК не перебуває у вільному вигляді, вона зв'язана з структурними білками, утворюючи компактну структуру – хроматин. В еукаріот та багатьох архей хроматин утворюється за допомогою невеликих лужних білків-гістонів. У решти архей та бактерій ДНК менш щільно упакована за допомогою ряду інших білків, хоча серед них і виявлені білки, гомологічні гістонам.

Зв'язки між гістонами і ДНК не залежать від конкретної послідовності нуклеотидів ДНК та утворюються за рахунок іонних зв'язків лужних амінокислот гістонів і кислотних залишків цукрофосфатного остову ДНК. Хімічні модифікації цих амінокислот включають метилювання, фосфорилування і ацетилювання. Ці хімічні модифікації змінюють силу взаємодії між ДНК і гістонами, впливаючи на доступність специфічних послідовностей нуклеотидів для факторів транскрипції і змінюючи швидкість транскрипції. Нуклеосоми повинні бути від'єднані від молекули ДНК для проходження транскрипції та реплікації. У тих генів, які мають високий рівень транскрипції, їхні регуляторні ділянки на початку гена (промотори) мають вільну від нуклеосом ділянку *NFR* (англ. *nucleosome-free region*).

Особливою групою білків, що приєднуються до ДНК є білки, що зв'язуються з одноланцюговою ДНК і стабілізують її і запобігають формуванню стебел-петель або деградації ДНК нуклеазами. Водночас інші білки розпізнають специфічні послідовності нуклеотидів і приєднуються до них. Найбільш вивчена група таких білків – різні класи *факторів транскрипції*, тобто білків, що регулюють транскрипцію. Кожен з цих білків розпознає свою послідовність у промоторі та активує або пригнічує транскрипцію гену. Це відбувається при асоціації факторів транскрипції з РНК-полімеразою безпосередньо або через білки-посередники. Полімераза асоціює спочатку з білками, а потім починає транскрипцію. В інших випадках фактори транскрипції можуть приєднуватися до ферментів, які модифікують гістони, що знаходяться на промоторах, змінюючи доступність ДНК для полімераза.

Оскільки специфічні послідовності зустрічаються в багатьох місцях геному, зміни в активності одного типу факторів транскрипції можуть змінити активність тисяч генів. Активність цих білків часто регулюється у відповідь на зміни в навколишньому середовищі або під час розвитку організму і

диференціації клітин. Специфічність взаємодії ДНК із факторами транскрипції забезпечується численними контактами між азотистими основами та амінокислотами, більшість із яких відбувається в головній борозенці, де основи доступніші.

Ферментами, що модифікують ДНК, є топоізомерази, гелікази, нуклеази, лігази, полімерази.

*Топоізомерази* – ферменти, які мають як нуклеазну, так і лігазну активності. Ці білки змінюють ступінь суперскрученості ДНК. Деякі з цих ферментів розрізають подвійну спіраль ДНК і дозволяють обертатися одному з ланцюгів, тим самим зменшуючи рівень суперскрученості, після чого фермент закриває розрив. Інші ферменти можуть розрізати один з ланцюгів і проводити другий ланцюжок через розрив, а потім зшивати (лігувати) розрив в першому ланцюгу. Топоізомерази беруть участь в процесах реплікації і транскрипції.

*Гелікази* – білки, що належать до «молекулярних моторів». Вони використовують хімічну енергію нуклеозидтрифосфатів, найчастіше АТФ, для розриву водневих зв'язків між основами, розкручуючи подвійну спіраль на окремі ланцюги. Ці ферменти важливі для процесів, де білкам необхідний доступ до азотистих основ ДНК.

*Нуклеази* – ферменти, здатні розрізати і відновлювати цілісність ланцюгів ДНК під час рекомбінації і репарації (**див. 2.3.1**). Нуклеази, які використовуються в молекулярній біології і генетичній інженерії, входять до класу рестриктаз, які розрізають ДНК по специфічним послідовностям. У природі ці ферменти захищають бактерії від зараження бактеріофагами, розрізаючи ДНК фага під час інфікування бактерії. Власна ДНК бактерії захищена від рестриктаз за допомогою метилювання. У цьому випадку нуклеази є частиною рестрикційно-модифікаційної системи клітини.

*ДНК-лігази* зшивають цукрофосфатні остови молекул ДНК, використовуючи енергію АТФ. Вони особливо важливі для процесу реплікації ланцюга, що запізнюється, з'єднуючи між собою фрагменти Окадзакі. Крім того, вони приймають участь у репарації ДНК і гомологічній рекомбінації. У лабораторних дослідженнях лігази широко використовуються в клонуванні і фінгерпринтингу.

*Полімерази* синтезують ланцюги полінуклеотидів з нуклеозидтрифосфатів. Вони додають нуклеотиди до 3'-гідроксильної групи попереднього нуклеотиду в ланцюгу ДНК, тому всі полімерази працюють у напрямі 5'→3'. В активному центрі

цих ферментів субстрат (нуклеозидтрифосфат) сполучається з комплементарною основою у складі одноланцюгового полінуклеотидного ланцюга-матриці.

У залежності від матриці, яку використовує полімераза, та від продукту, який вона синтезує, полімерази поділяються на декілька типів: ДНК-залежна ДНК-полімераза, РНК-залежна ДНК-полімераза, ДНК-залежна РНК-полімераза.

У процесі реплікації *ДНК-залежна ДНК-полімераза* синтезує копію початкової послідовності ДНК. У цьому процесі дуже важлива точність, оскільки помилки полімеризації призведуть до мутацій, тому більшість полімераз мають здатність до «редагування» – виправлення помилок. Полімераза дізнається про помилки в синтезі за відсутністю спаровування між неправильними нуклеотидами. Після визначення відсутності спаровування активується 3'→5'-екзонуклеазна активність полімерази й неправильна основа вилучається. У більшості організмів ДНК-полімерази працюють у вигляді великого комплексу, який в бактерій називається *реплісомою*. Остання містить численні додаткові субодиниці, наприклад, гелікази.

*РНК-залежні ДНК-полімерази* (зворотні транскриптази) – спеціалізований тип полімераз, які копіюють послідовність РНК на матриці ДНК. До цього класу ферментів належить вірусна зворотна транскриптаза, яка використовується ретровірусами при інфекції клітин, а також теломераза, необхідна для реплікації теломер, та фермент зворотньої транскриптази деяких транспозонів. Теломераза є РНК-білковим комплексом, що містить власну матричну РНК, яка й використовується для зворотної транскрипції.

Транскрипція здійснюється *ДНК-залежною РНК-полімеразою*, яка копіює послідовність ДНК одного ланцюга на мРНК. На початку транскрипції гену РНК-полімераза приєднується до послідовності на початку гена (промотору) і розплітає спіраль ДНК. Потім вона копіює послідовність нуклеотидів на матричну РНК доти, доки не дійде до ділянки ДНК в кінці гена (термінатора), де вона зупиняється і від'єднується від ДНК.

**2.3.6. Клітинний цикл та його регуляція.** Перш ніж зробити поділ, клітина повинна з високою точністю скопіювати свій геном, синтезувати безліч високо- і низькомолекулярних сполук. Сукупність подій, що забезпечують поділ еукаріотичних клітин, називають *клітинним циклом*. Тривалість клітинного циклу залежить від типу клітин, що діляться. У дорослої людини вона може коливатися приблизно від 8 годин і більше, а для деяких типів клітин – до року і більше.

Всі фази клітинного циклу (G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub>, M) можуть відрізнятися за тривалістю, особливо це стосується фази G<sub>1</sub>, тривалість якої може дорівнювати практично нулю або ця фаза може бути настільки тривалою, що може здаватися, ніби клітини взагалі припинили поділ. У цьому випадку говорять, що клітини знаходяться у стані спокою (фаза G<sub>0</sub>). Так, нейрони дорослої людини не діляться взагалі. Клітини епітелію кишечника діляться протягом всього життя людини, але навіть у цих швидкопроліферуючих клітин підготовка до поділу займає 24 години. Клітини легенів, нирок, печінки у дорослому організмі починають ділитися лише у відповідь на ушкодження органів.

Зовнішні сигнали можуть стимулювати або інгібувати проходження клітини через цей цикл. Проліферативні сигнали дуже різноманітні, вони залежать від типу клітини, стадії розвитку та інших факторів. Такими сигналами можуть бути фактори росту, інтерлейкіни, гормони, здатні підтримувати або індукувати проліферацію певних типів клітин. Сигнальні молекули зв'язуються зі специфічними мембранними рецепторами, активують внутрішньоклітинні шляхи передачі сигналів від рецептора до ядра і, таким чином, індукують транскрипцію певних генів. Одними з перших активуються гени, що кодують білки цикліни. Білки названі *циклінами*, оскільки їхня концентрація в клітині періодично змінюється під час проходження клітиною різних фаз клітинного циклу. Всі цикліни поділяються на 2 підродини: G<sub>1</sub>-цикліни (D, E) та мітотичні цикліни (A і B):

Циклін	Кіназа	Функція
D, E	CDK4, CDK6	Регулює перехід клітини з G <sub>1</sub> -фази в S-фазу
A	CDK2	Активує синтез ДНК на початковій стадії S-фази
B	CDK1	Регулює перехід клітини з G <sub>2</sub> -фази в M-фазу

Будь-який із циклінів представлений групою поліморфних білків, наприклад циклін D представлений формами D1, D2, D3. У кожного типу циклінів є гомологічна ділянка із 100 амінокислотних залишків – "цикліновий бокс", що контролює зв'язування з циклінзалежною кіназою (*від англ. CDK – cyclin-dependent kinases*). У клітинах еукаріот існує приблизно вісім різних CDK (CDK1-8), які активуються різними циклінами.

Циклінзалежні кінази, зв'язуючи циклін, переходять в активну форму і можуть фосфорилувати специфічні білки, наприклад фактори транскрипції, білки-інгібітори факторів транскрипції, які

регулюють синтез ферментів, що забезпечують реплікацію. Синтез кожного цикліну починається при підготовці до відповідної фази клітинного циклу, його концентрація в клітині підвищується, а після закінчення фази різко падає до нуля. Комплекси циклінів і CDK, що завершили свою роботу, зв'язуються специфічними білками, що інгібують їх активність, і потім піддаються руйнуванню.

**2.3.7. Біологічні властивості ДНК** визначаються здатністю до самокопіювання (реплікації), рекомбінації, репарації.

Під час *реплікації* з початкового, материнського, ланцюга молекули ДНК утворюються дві її копії, які успадковуються дочірніми клітинами при поділі. Клітини, що утворилися таким чином, є генетично ідентичними. Необхідна для клітинної життєдіяльності генетична інформація зчитується під час експресії генів у процесі транскрипції (синтезу молекул РНК на матриці ДНК) та реалізується при трансляції (синтезу білків на матриці РНК).

Подвійна спіраль ДНК зазвичай не взаємодіє з іншими сегментами ДНК, а в клітинах еукаріот різні хромосоми просторово розділені в ядрі. Проте в певні періоди клітинного циклу (мейоз або репарація) гомологічні хромосоми можуть обмінюватися нуклеотидними послідовностями. У процесі *рекомбінації* дві спіралі ДНК розриваються, після чого безперервність спіралей відновлюється. Гомологічна рекомбінація дозволяє хромосомам обмінюватися генетичною інформацією, в результаті чого утворюються нові комбінації генів, що забезпечує комбінативну мінливість – матеріал для природного добору та швидку еволюцію нових білків. У процесі негомологічної рекомбінації (негомологічного з'єднання кінців), що виникає в результаті зовнішніх пошкоджень, дві спіралі ДНК розриваються, після чого неперервність спіралей відновлюється в процесі репарації клітиною дволанцюгових розривів ДНК, але не обов'язково в правильному порядку. Тому обмін ділянками негомологічних хромосом може привести до транслокацій або делецій. Найпоширеніша форма рекомбінації – *гомологічна рекомбінація* – коли рекомбінація виникає між гомологічними хромосомами. Іноді в якості гомологічних ділянок виступають транспозони. Реакція гомологічної рекомбінації каталізується ферментами рекомбіназами.

*Пошкодження ДНК* спричинюють окислюючі й алкілюючі речовини, а також високоенергетична електромагнітна радіація – ультрафіолетове та рентгенівське випромінювання. Тип пошкодження ДНК залежить від типу мутагена. Наприклад, ультрафіолет пошкоджує ДНК шляхом появи в ній димерів тиміну, які утворюються при формуванні ковалентних зв'язків між

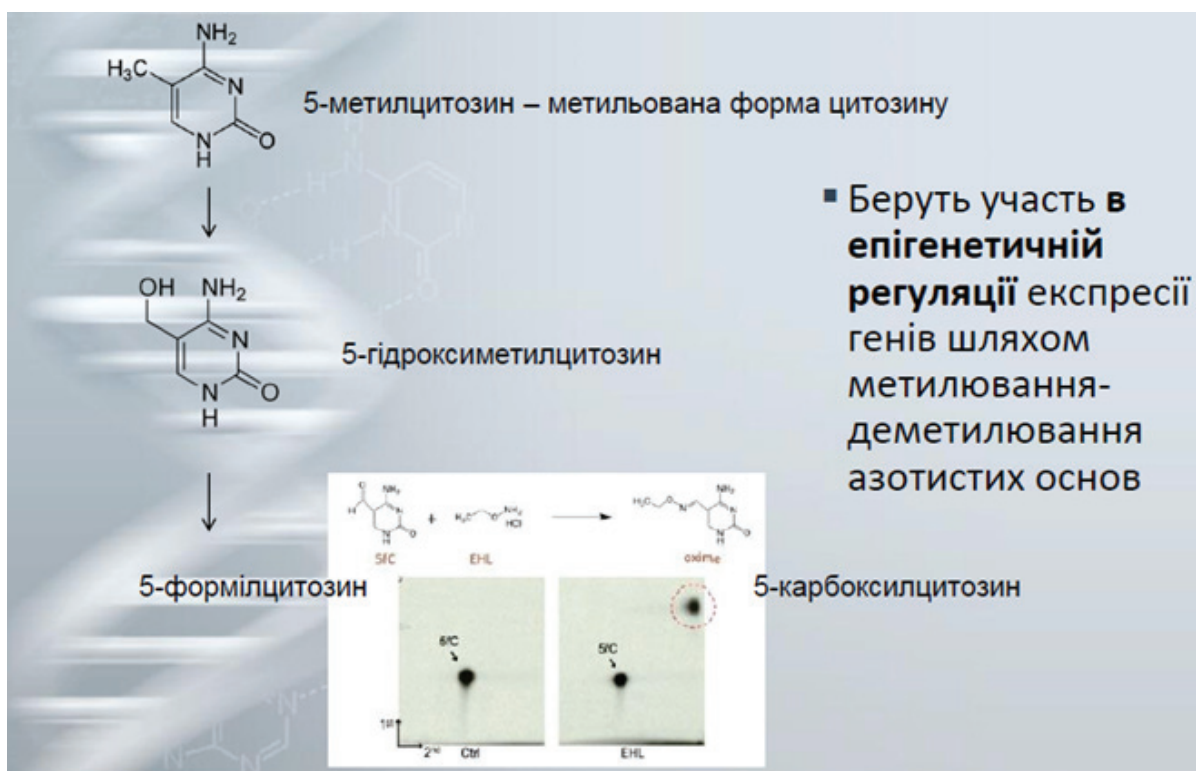
сусідніми основами. Активні форми кисню, такі, як «вільні» радикали або перекис водню, призводять до декількох типів пошкодження ДНК, включаючи модифікації основ, особливо гуанозину, а також дволанцюгові розриви в ДНК. За деякими оцінками, в кожній клітині людини близько 500 азотистих основ пошкоджуються окислюючими сполуками щодня. Серед різних типів пошкоджень найнебезпечнішими є дволанцюгові розриви, тому що вони важко репаруються та здатні призводити до втрат ділянок хромосом (делецій) і транслокацій.

Молекули мутагенів вставляються (інтеркалюються) між двома сусідніми парами основ. Більшість цих сполук, наприклад, бромистий етидид і талідомід мають ароматичну структуру. Для того, щоб ароматична сполука могла вміститися між азотистими основами, останні повинні розійтися, розплітаючи й порушуючи структуру подвійної спіралі. Такі зміни в структурі ДНК перешкоджають транскрипції і реплікації, викликаючи мутації. Тому інтеркалюючі речовини часто є канцерогенами. Найвідоміші з яких – бензопірен, акридини, афлатоксини, бромистий етидид. Незважаючи на ці негативні властивості внаслідок своєї здатності пригнічувати транскрипцію і реплікацію ДНК, деякі речовини, що інтеркалюють до ДНК, використовуються в хіміотерапії для пригнічення швидкого росту ракових клітин.

Прокаріоти і ядерні організми мають системи виправлення пошкоджень молекули ДНК. У залежності від типу пошкоджень репаруються дволанцюгові чи одноланцюгові розриви ДНК, або вилучається некомплементарний нуклеотид одного ланцюга та замінюється комплементарним (більш детально механізми репарації ДНК розглянуті в частині 2 підручника).

**2.3.8. Метилування ДНК.** Полярні групи азотистих основ нуклеїнових кислот здатні утворювати водневі зв'язки з білками та комплементарними азотистими основами в біс-спіральной структурі ДНК. У зв'язку з цим ДНК і РНК є реакційно здатними сполуками. Порівняно легко проходять реакції метилування азотистих основ, завдяки чому уявлення про ДНК як ланцюг із чотирьма видами нуклеотидів варто вважати спрощеним. Метильовані азотисті основи здатні гідроксилуватися з утворенням їх оксиметильних похідних. Метилування відбувається після синтезу полінуклеотиду. Процеси метилування та гідроксилування метильних похідних мають біологічний сенс: метилування захищає ДНК від впливу ферментів при надходженні в клітину вірусів. Крім того, метильовані азотисті основи є маркерами деяких специфічних ділянок генетичних копій.

**Метилування ДНК** – це модифікація молекули ДНК без зміни її нуклеотидної послідовності, що можна розглядати як частину епігенетичної складової геному; полягає в приєднанні метильної групи до цитозину в складі CpG-динуклеотиду в позиції С5 цитозинового кільця. Метилування ДНК широко поширене у прокариот і в еукаріот, їхніх вірусів. Функціональне значення метилування – захист від експресії чужорідних послідовностей, регуляція реплікації, специфічна регуляція транскрипції генів; є одним з механізмів довготривалої епігенетичної регуляції експресії генів еукаріот (**рис. 2.15**). Метилування ДНК виявлене в всіх клітинах еукаріот, проте його середній рівень відрізняється в різних організмів. Так, у нематоди *Caenorhabditis elegans* метилування цитозину майже не спостерігається, а в хребетних виявлений високий його рівень – до 1%. Рівень метилування цитозину впливає на експресію генів: ділянки гетерохроматину (ділянки, де відсутній або низький рівень транскрипції) корелюють із високим рівнем їх метилування. Незважаючи на свою біологічну роль, 5-метилцитозин може спонтанно дезамінуватися, перетворюючись на тимін, тому метильований цитозин є джерелом підвищеної частоти мутацій.



**Рис. 2.15.** – Метильовані форми цитозину

Крім контролю експресії генів та контролю клітинного циклу, бактерії використовують метилування аденіну і цитозину для захисту проти патогенів у складі рестрикційно-модифікаційної системи.



**2.3.9. Види РНК.** Послідовність нуклеотидів «кодує» інформацію про різні типи РНК: *кодуючі*, матричні (мРНК) та *некодуючі*: рибосомні (рРНК), транспортні (т-РНК), каталітичні та інші. Всі ці типи РНК синтезуються на основі ДНК у процесі транскрипції. Їхня роль у біосинтезі білків та інших процесах життєдіяльності клітини різна. Матрична РНК містить інформацію про послідовність амінокислот поліпептидного ланцюгу, рибосомальні РНК входять до складу рибосом (складних нуклеопротеїнових комплексів, основна функція яких – збірка білка з окремих амінокислот на основі мРНК), транспортні РНК доставляють амінокислоти до місця збірки білків – в активний центр рибосоми, що рухається по мРНК. Проте синтезуються також некодуючі РНК, які можуть виконувати різноманітні регуляторні функції.

Молекула рибонуклеїнової кислоти – це одноланцюговий полінуклеотид. Відрізняється від ДНК наявністю цукру – рибози та заміною азотистої основи тиміну на урацил. РНК не формує подвійні спіралі, однак комплементарне спарювання може відбуватися всередині і між молекулами РНК. Вміст РНК в клітині в декілька разів більше, ніж ДНК.

За допомогою штучно синтезованої РНК можна розшифрувати кодони ДНК. Якщо кодон складається з однакових нуклеотидів, то на основі подібних гомополімерів можна синтезувати тільки відповідні гомополімери:

UUU UUU UUU (поліурацил) → поліфенілаланін

AAA AAA AAA (поліаденін) → полілізин.

Якщо ж полімер – гомолог мРНК – складається з декількох різних нуклеотидів, розшифровка ускладнюється. Для розшифровки кодонів перш за все треба знати точне співвідношення нуклеотидів у полімері, наприклад, А:U = 3:2, С:G = 1:4. Знаючи відносну частоту різних нуклеотидів, можна розрахувати імовірність того чи іншого триплету в цій штучно синтезованій мРНК. Наприклад, співвідношення U та C в мРНК дорівнює 2:1. Отже, імовірність утворення триплету UUC дорівнює  $\frac{2}{3} \times \frac{2}{3} \times \frac{1}{3} = \frac{4}{27}$ . Така ж сама вірогідність утворення й двох інших триплетів, що містять 2U + 1C (UCU, CUU). Отже, ймовірність утворення всіх можливих триплетів у реакційній суміші, що містить 2U + 1C, дорівнює:

2U1C            UUC             $(\frac{2}{3} \times \frac{2}{3} \times \frac{1}{3}) \times 3 = \frac{4}{27} \times 3 = \frac{12}{27}$   
                   UCU  
                   CUU

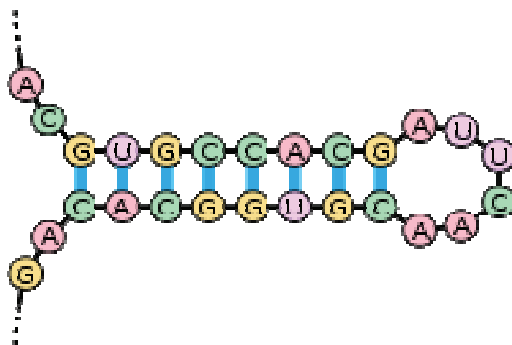
Порівняння відносної частоти триплетів різного складу з частотою амінокислот, що включаються в полімер під контролем цього полінуклеотиду, дозволяє розшифрувати триплети за співпадінням їх частот.

Розрізняють наступні види РНК:

Види РНК	Розмір (у нуклеотидах)
мРНК (матрична, або інформаційна)	100 – 100 000
тРНК (транспортна)	70-90
рРНК (рибосомна)	Декілька дискретних класів від 100 до 500 00
гяРНК (гетерогенна ядерна)	попередник мРНК
мяРНК (мала ядерна)	Бере участь у перетворенні гяРНК у мРНК
мала ядерцева РНК	Бере участь у формуванні рибосом

Наявність вільних ОН-груп біля другого вуглецевого атома рибозного залишку РНК значною мірою визначає конформацію полімерних макромолекул.

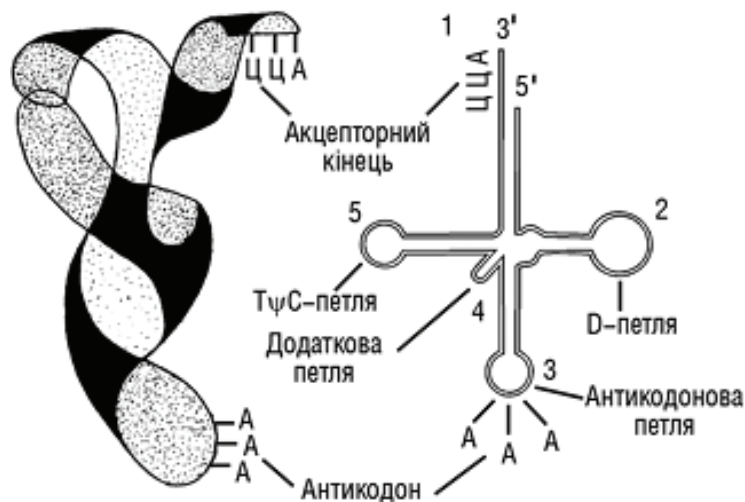
**2.3.10. Вторинна структура РНК.** Молекули РНК, на відміну від ДНК, побудовані з одного полінуклеотидного ланцюга. Однак у цьому ланцюзі існують комплементарні один одному ділянки, які можуть взаємодіяти, утворюючи подвійні спіралі. Якщо за певною послідовністю нуклеотидів слідує комплементарна послідовність, то полінуклеотид ланцюга може скластися та утворити антипаралельну дволанцюгову структуру – *шпильку* із спарених основ, що утворюють двоспіральну ділянку – *стебло*, часто з петлею із неспарених основ. При цьому з'єднуються нуклеотидні пари А\*\*U і G\*\*\*С. Такі спіралізовані ділянки зазвичай містять невелику кількість нуклеотидних пар, в межах двох-трьох десятків, і чергуються з неспіралізованими ділянками (*рис. 2.16*).



**Рис. 2.16.** – Вторинна структура РНК

Одноланцюгові рибонуклеїнові кислоти (інформаційна, рибосомна і транспортна) при фізіологічних значеннях рН, іонної сили і температури мають велику кількість комплементарних ділянок (шпильок), що визначають стійкість їхньої структури. Плоска структура нативних молекул тРНК, що нагадує за формою листок конюшини, за рахунок укладання різних частин перетворюється в компактну структуру. В деяких фагів молекула ДНК побудована з однієї спіралі, але є віруси, в яких РНК складається з двох ланцюгів і за структурою нагадує ДНК.

Характерну вторинну структуру мають тРНК (*рис. 2.17*).



**Рис. 2.17.** – Вторинна структура тРНК

Молекули тРНК містять чотири спіралізовані ділянки і три (іноді чотири) одноланцюгові петлі. При зображенні такої структури на площині виходить фігура, яка називається «листочком конюшини».

Усі декілька десятків різних тРНК клітини мають загальний план просторової структури, але розрізняються в деталях.

## 2.4. Особливості структури та функціонування геному вірусів, прокариот, еукаріот

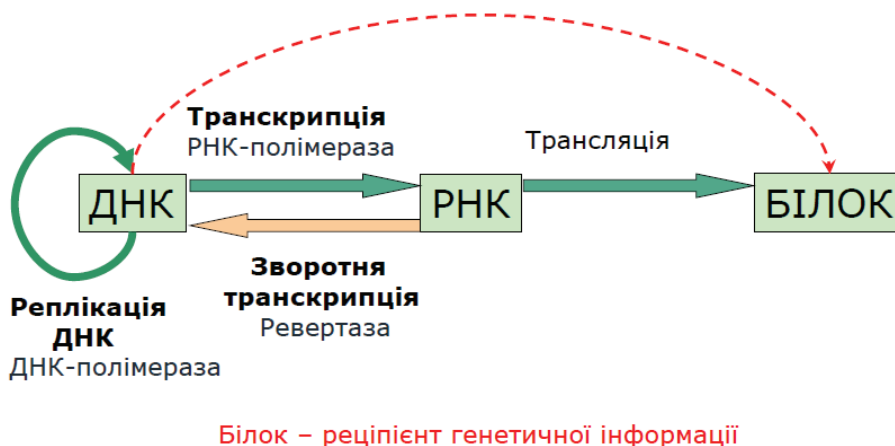
**Геном** – повна генетична система клітини, яка визначає характер онтогенетичного розвитку організму та спадкову передачу його структурних і функціональних ознак із покоління в покоління. Поняття «геном» використовують стосовно таксономічної групи, виду, окремої особини, клітини, мікроорганізму або вірусу.

Існує також інше визначення терміну «геном»: **геном** – це сукупність генів гаплоїдного набору хромосом певного виду організмів. Якщо мова йде про розміри геному еукаріот, то

розуміють саме таке визначення, зокрема розмір еукаріотичного геному вимірюють у парах нуклеотидів ДНК або пікограмах ДНК на гаплоїдний геном. Наприклад, у людини (*Homo sapiens*) двадцять дві аутосоми, дві статеві хромосоми (X і Y), один тип мітохондріальної ДНК містять разом приблизно 3,1 млрд. пар нуклеотидів.

Ознаки будь-якого організму обумовлені різноманітністю та кількістю білків і РНК. Реалізація генетичної інформації, закодованої в молекулі ДНК, починається з переписування послідовності нуклеотидів певної ділянки ДНК (*гена*) в послідовність нуклеотидів молекули РНК. Цей процес називається **транскрипцією**. Надалі ця молекула РНК або бере участь у синтезі певного білка (**трансляція**), або сама виконує певні фізіологічні функції.

У 1958 р. **Френсіс Крік** сформулював **центральну догму молекулярної біології**: спадкова інформація завжди передається від нуклеїнових кислот до білків, цей процес односпрямований (**рис. 2.18**).



**Рис. 2.18.** – Напрямок передачі спадкової інформації у клітині (центральна догма молекулярної біології)

Перехід генетичної інформації послідовно від ДНК до РНК і потім від РНК до білка є універсальним для всіх без виключення клітинних організмів; він лежить в основі біосинтезу макромолекул. Реплікації геному відповідає інформаційний перехід ДНК → ДНК. У природі трапляються також переходи РНК → РНК и РНК → ДНК (зворотня транскрипція, наприклад, у деяких вірусів), а також зміна конформації білків, що передається від молекули до молекули.

Геноми живих організмів – від вірусів до тварин – розрізняються за розмірами на шість порядків: від декількох тисяч до декількох мільярдів пар основ. Процес еволюції і

диференцировки окремих видів супроводжувався накопиченням змін у структурі геному. У межах одного біологічного виду головні параметри геному є постійними, а внутрішньовидова різноманітність забезпечується за рахунок мутаційної мінливості, тобто випадіння, вставки, заміни нуклеотидів на порівняно невеликих ділянках ДНК. Найчастіше такі зміни відбуваються в елементах геному, що не експресуються (інтрони, псевдогени, міжгенні спейсерні ділянки ДНК тощо).

За співвідношенням розміру генома та кількості генів усі геноми діляться на два чітко виділених класи:

1. Невеликі компактні геноми (не більше 10 млн. пар основ) із суворою відповідністю їх розмірів та кількості генів у них. Такі геноми мають усі *віруси та прокаріоти*, в яких між генами існують дуже короткі ділянки переважно з регуляторних елементів (10-15% довжини геному). Окрім вірусів і прокаріот, до цього класу можуть бути віднесені геноми більшості одноклітинних еукаріот, хоча їхні геноми демонструють меншу залежність між розміром геному та кількістю генів; розмір їх геному може досягати 20 млн. пар основ.

2. Великі геноми розміром більше 100 млн. пар основ, в яких відсутній чіткий взаємозв'язок розміру геному та кількістю генів у ньому. До цього класу відносять великі геноми багатоклітинних еукаріот і деяких одноклітинних еукаріот. На відміну від геномів першої групи, більшість нуклеотидів у геномах цього класу не кодують ані білків, ані РНК.

**2.4.1. Структурно-функціональна організація геному вірусів** має наступні особливості:

1. Генетичний матеріал вірусів представлений або ДНК, або РНК. Відповідно, віруси поділяють на ДНК-місткі та РНК-місткі. Більшість вірусів є РНК-місткими.

2. Вірусні геноми незалежно від типу нуклеїнової кислоти можуть бути або одноланцюговими, або дволанцюговими. Геном вірусів деяких родин (наприклад, *Hepadnaviridae*) частково одноланцюговий і частково дволанцюговий. Віруси рослин найчастіше містять одноланцюгову РНК, а бактеріофаги – дволанцюгові ДНК.

3. У лінійних дволанцюгових ДНК існують «липкі кінці» (одноланцюгові та комплементарні). Завдяки ним фаги здатні існувати як у лінійній, так і в кільцевій формах (наприклад, фаг  $\lambda$ ). ДНК може бути лінійною або кільцевою, РНК – тільки лінійною.

4. Віруси не мають власних систем реплікації, транскрипції, трансляції – для цих процесів вони використовують матеріали, енергію, ферменти клітини-хазяїна, модифікуючи їх на свій лад.

5. Інфікуючі частини ретровірусів мають один ланцюг РНК, який проникає в клітину хазяїна, де за рахунок зворотної транскрипції РНК-залежною ДНК-полімеразою (ревертазою) синтезується копія геному вірусу, здатна вбудовуватися в хромосому хазяїна. Наприклад, ретровірус – вірус СНІД, віріон, окрім власного геному має ревертазу та суміш молекул тРНК попереднього хазяїна, одна з яких служить затравкою в полімеразній реакції. На геномній РНК синтезується шляхом зворотної транскрипції ДНК-копія вірусного геному: спочатку один ланцюг, потім – інший з утворенням дволанцюгової кільцевої ДНК, яка вбудовується в геном хазяїна. Експресія генів (розвиток СНІД) пов'язана з транскрипцією вірусної ДНК РНК-полімеразою клітини-хазяїна.

6. Геном вірусу включає: а) *структурні гени*, що кодують білки декількох груп: структурні білки, ферменти, білки-регулятори. Такі гени складають приблизно 95 % вірусної ДНК; б) *регуляторні послідовності*, що не кодують білки: промотори, оператори, термінатори; в) інші некодуючі ділянки (сайти), в тому числі: *ділянка attP*, яка забезпечує інтеграцію вірусної хромосоми в хромосому клітини-хазяїна; *ділянка cos* – липкі кінцеві ділянки лінійних вірусних хромосом, що забезпечують замикання лінійної хромосоми в кільце.

7. Гени, що кодують рРНК і тРНК, у геномі вірусів зазвичай відсутні (крім геному великого фага Т4, де існують гени, що кодують декілька тРНК).

8. Економічність геному: вся РНК або ДНК вірусу зайнята кодуючими (структурними) генами; розміри геномів вірусів визначаються ємністю капсида віріона. Геном вірусів відрізняється високою щільністю упаковки інформації. Наприклад, у фага φX174 в межах одного гена може знаходитися ще один ген. Зокрема, ген *B* знаходиться в межах гена *A*, а ген *E* – в межах гена *D*.

9. Ступінь економічності вірусних геномів збільшується за рахунок перекривання рамок зчитування: той самий фрагмент нуклеїнової кислоти містить інформацію про первинну структуру двох або більшої кількості поліпептидів. (*Рамка зчитування* – один з трьох можливих способів зчитування генетичної інформації у вигляді низки триплетів). Тому з одного структурного гена можуть транскрибуватися декілька видів мРНК.

10. Еукаріотичні віруси мають наступні особливості: 1) інтронно-екзонна структура генів; 2) модифікація білків після синтезу поліпротеїнів: весь геном транскрибується в вигляді однієї

молекули мРНК, яка служить матрицею для синтезу поліпротеїна – одного гігантського інертного білка, і тільки потім відбувається розщеплення поліпротеїна на білки, що виконують певні функції; 3) перекривання генів (мавпячий вірус SV 40, вірус грипу).

11. У дрібних вірусів транскрипція їхніх малочисельних генів здійснюється одночасно. У складноорганізованих вірусів гени згруповані в блоки – **оперони**. Такі групи генів функціонують як одне ціле та мають загальну систему регуляції.

12. Оперони вірусів функціонують на різних стадіях дозрівання вірусних часток. До та після проникнення фага в клітину спочатку функціонують відповідно *надранні* та *ранні гени*, що кодують ферменти, необхідні для проникнення в клітину та реплікації ДНК віруса, пригнічення синтезу ДНК клітини-хазяїна. Пізніше транскрибуються *пізні гени*, що відповідають за синтез білків капсиду, збірку віріонів і їх вивільнення із зараженої клітини. Продукти діяльності ранніх генів блокують функцію надранніх, але включають пізні гени вірусу. Така часова регуляція функцій різних ділянок геному вірусів називається *каскадною регуляцією роботи генів*.

#### 2.4.2. Структура та функції геному прокариот.

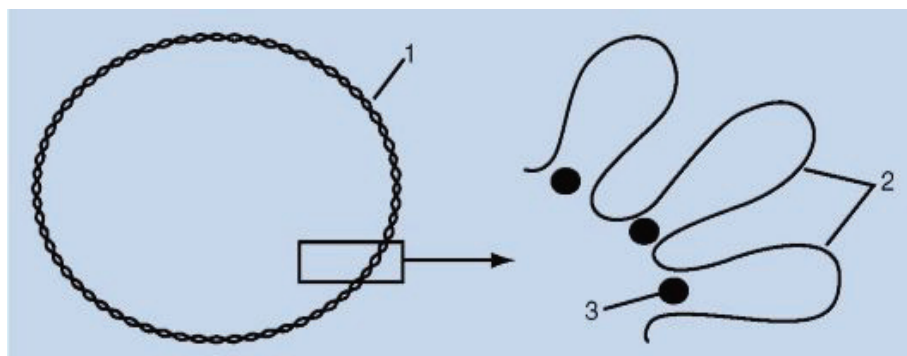
Особливостями структурно-функціональної організації геному прокариот є:

1. Відсутність чітко оформленого ядра, замість нього в клітинах різних видів присутні різні за формою та величиною структури – **нуклеоїди**, що складаються з хромосомної ДНК (приблизно 60%), мРНК і білків, зв'язаних із ДНК (гістони відсутні). Білки регулюють експресію генів бактеріального геному. До складу нуклеоїду входять також структурні білки, які сприяють компактизації ДНК, тобто несуть функцію, подібну функції гістонів в еукаріотичних клітинах.

2. Прокариоти не мають хромосом у повному сенсі цього слова. У більшості з них існує тільки одна макромолекула ДНК, замкнена в кільце (*рис. 2.19*).

Окрім хромосоми, в клітинах більшості видів бактерій знаходяться *плазмід* – замкнені в кільце молекули ДНК, здатні до незалежної реплікації, які містять незначну, в порівнянні з бактеріальною хромосомою, кількість генів. Склад плазмід може бути мінливим, бактерії можуть обмінюватися плазмідами під час парасексуального процесу. Плазмід містять гени, необов'язкові для клітини-хазяїна, або гени, необхідні для певних умов існування (наприклад, R-плазмід містять гени стійкості до хімічних сполук; інші плазмід містять гени, що визначають

патогенність бактерій, або здатність бактерій використовувати незвичні джерела вуглецю (нафталін, нафтопродукти).



**Рис. 2.19.** – Укладка ДНК у нуклеоїді прокариотів: 1 – кільцева молекула ДНК; 2 – укладка ДНК у вигляді петель; 3 – білки, що зв'язують петлі ДНК

3. У хромосому бактеріальних клітин можуть короткочасно включатися ДНК деяких фагів і плазмід. Такі ДНК-місткі структури, які можуть самостійно існувати поза хромосоною, але за певних умов включатися в хромосому бактерії, називаються *епісомами*.

4. У деяких бактерій, які відносяться до різних філогенетичних груп, виявлена лінійна будова як хромосоми, так і плазмід. Наприклад, геном спірохети *Borrelia burgdorferi*, яка спричинює хворобу Лайма, складається з лінійної хромосоми та декількох плазмід, частина з котрих має також лінійну будову.

5. Геноми більшості прокариот маленькі та компактні, гени щільно упаковані, між ними знаходиться мінімальна кількість регуляторної ДНК. Геноми майже всіх еубактерій і архей містять від  $10^6$  до  $10^7$  пар нуклеотидів і кодують 1000-4000 генів.

6. *Надлишковість геному*: більша його частина не несе генетичної інформації про первинну структуру білків, а виконує переважно регуляторну функцію.

7. Кожний структурний або регуляторний ген має *унікальну послідовність нуклеотидів* і не повторюється в геномі. Лише деякі гени бактерій (гени рРНК, тРНК), маючи в геномі копії, утворюють кластери (групи). Вони розміщені тандемно (поруч один з одним), відносяться до одного оперону, транскрибуються як одне ціле.

8. Більшість структурних генів прокариот організовані в групи, що спільно транскрибуються – *оперони*, які мають загальну систему регуляції і функціонують як одне ціле. Оперон об'єднує гени функціонально споріднених білків-ферментів, що каталізують послідовні реакції синтезу або розщеплення певного продукту (синтез амінокислот – анаболітні оперони, використання цукрів в



якості енергетичних субстратів – катаболітні оперони). Група генів одного оперону транскрибується в одну єдину мРНК, яка послідовно транслюється з рибосомами з утворенням кожного білка.

9. Бактеріальна хромосома має один сайт ініціації реплікації, є одним *репліконом*.

**2.4.3. Структурно-функціональна організація геному еукаріот** має наступні особливості:

1. Практично вся генетична інформація в еукаріот міститься в лінійно організованих хромосомах, які знаходяться в клітинному ядрі. Внутрішньоклітинні органели – мітохондрії, хлоропласти – мають свій власний видоспецифічний набір генетичного матеріалу в вигляді кільцевих та (або) лінійних плазмідоподібних дволанцюгових молекул ДНК, що автономно реплікуються. Отже, геноми мітохондрій і пластид організовані як прокариотичні (теорія ендосимбіозу).

2. Геном еукаріот – *полірепліконна структура*, має декілька сайтів ініціації реплікації і репліконів (реплікон – ділянка НК, яка реплікується з однієї точки початку реплікації).

3. Геноми деяких видів організмів (нематоди, амфібії, більшість видів покритонасінних рослин) мають поліплоїдну природу.

4. У геномах еукаріот наявні складні локуси, що мають великі розміри та містять декілька генів, які іноді перекриваються (наприклад, складні локуси *Drosophila melanogaster*, що регулюють формоутворюючі процеси в онтогенезі мухи). У кожному такому локусі знаходиться *гомеобокс* з 180 пар нуклеотидів, на 80% однакових за нуклеотидним складом; вони взаємодіють із тими ж самими регуляторами, але по-різному.

5. Близько 5% від загальної ДНК складають *екзони* (ділянки гена, які кодують білки), 25% – *інтрони* (ділянки гена, що транскрибуються, але потім видаляються під час сплайсингу), 70% – *спейсери* – ділянки ДНК між генами, що не транскрибуються (ті, що беруть участь у компактизації ДНК; ті, що забезпечують укладку хроматина в інтерфазному ядрі, в тому числі ті, що прикріплюють ДНК до ядерної оболонки зсередини); центромери – ділянки, до яких прикріплюються нитки веретена поділу; теломери – кінцеві ділянки хромосом, що виконують роль буфера проти кінцевої недореплікації; регулюючі послідовності: *промотори, оператори, енхансери, термінатори*.

6. Велика кількість ДНК і генів.

7. У хромосомах існує дуже складна система контролю активності генів у часі і в просторі, пов'язана з диференціацією клітин і тканин в онтогенезі організму.

8. Кількість ДНК в хромосомах збільшується з ускладненням організації організмів.

9. *Мозаїчність структури генів* – наявність в них кодуючих (екзонів) і некодуючих послідовностей нуклеотидів (інтронів). Екзони включають не тільки ті послідовності, що кодують ділянки поліпептидів, але й послідовності нуклеотидів, що містяться в зрілих РНК, але не транскрибуються.

10. *Надлишковість геному* – наявність численних повторів значущих і незначущих послідовностей нуклеотидів. Так, геном людини містить кількість нуклеотидних пар, достатню для утворення більше 2 мільйонів структурних генів, але фактично «працюючими» є лише 20-25 тисяч.

11. У геномі наявні повтори нуклеотидів *високої частоти* (25% геному), *середньочастотні повтори* (30% всієї ДНК), *унікальні послідовності* (45% геному). Багаторазово повторювані послідовності нуклеотидів є копіями унікальних послідовностей (у прокариот – немає). Копії групуються декількома десятками або сотнями та утворюють блоки, які локалізуються в певному місці хромосоми. Повтори реплікуються, але, як правило, не транскрибуються. Вони відіграють роль: 1) регуляторів генної активності; 2) захисного механізму від точкових мутацій; 3) збереження та передачі спадкової інформації; 4) є механізмом еволюції.

12. Повтори нуклеотидів *високої частоти* – короткі та прості за первинною будовою послідовності, представлені *сателітною ДНК*, що входить до складу гетерохроматину центромер, теломер і супутників; вони не несуть генетичної інформації і не транскрибуються.

13. Послідовності геному, що не кодують білок, за винятком промоторів, які безпосередньо передують відкритим рамкам зчитування, розглядалися як «сміттева ДНК» (англ. junk DNA). Проте зараз накопичується дедалі більше даних, що суперечать цій ідеї, й свідчать про різноманітні корисні функції таких послідовностей. *Теломери і центромери* містять малу кількість генів, але вони важливі для функціонування і стабільності хромосом. *Псевдогени* (копії генів, інактивовані в результаті мутацій) можуть служити початковим матеріалом для дуплікації і подальшої дивергенції генів. *Інтрони* є джерелом різноманітності білків в організмі, оскільки можуть використовуватися як «лінії розрізу і склеювання» при альтернативному сплайсингу. *Малі ядерні ДНК* здатні кодувати допоміжні клітинні РНК.

14. До складу *середньочастотних (помірних) повторів* відносяться гени, що кодують рРНК, тРНК, гістони. Повтори цих

генів визначаються кількісними критеріями: більше генів – більше продукта, тобто їхнє функціонування забезпечує клітину необхідною кількістю рРНК, тРНК. Середньочастотні повтори складаються із значущих та незначущих послідовностей ДНК, які мають різну протяжність і частоту повторів. *Значущі повтори генів* згруповані в блоки або кластери в прицентромерних гетерохроматинових ділянках хромосом. Окремі повтори розділені *спейсерами*. До *незначущих* відносяться: а) *сигнальні послідовності*, що забезпечують регуляцію функцій геному; вони розсіяні по всьому геному та входять до складу промоторів, термінаторів, інших регуляторних елементів, які специфічно розпізнаються відповідними білками; б) *зворотні повтори – паліндроми* – сприяють розпізнаванню ферментами та регуляторами промоторів і термінаторів. Регуляторні послідовності не кодують білки, але, взаємодіючи з білками-регуляторами, можуть впливати на експресію генів.

15. *Унікальні послідовності* нуклеотидів представлені в геномі поодинокими або малочисельними копіями; до них відносяться структурні та регуляторні гени. Більше половини гаплоїдного набору геному еукаріот складають *унікальні гени*, представлені поодинокі. У людини таких унікальних генів – 64%, у дрозофили – 70%. Унікальні послідовності еукаріот, на відміну від генів прокариот, мають мозаїчну будову та складаються з екзонів та інтронів.

16. Наявність мігруючих генетичних елементів – *транспозонів*. 30% генів мігрують по хромосомам, не маючи постійної локалізації. Мобільні гени складають приблизно 5% всього геному.

17. Наявність регуляторних елементів, що регулюють транскрипцію: а) декілька *промоторів* – три види, на кожний з яких «сідає» специфічна полімераза: РНК-полімераза I транскрибує рибосомні гени, РНК-полімераза II – структурні гени білків, РНК-полімераза III – гени, що кодують невеликі РНК. Промотори РНК-полімерази I і РНК-полімерази II знаходяться перед ділянкою ініціації транскрипції, промотор РНК-полімерази III – у межах структурного гена; б) *модулятори: енхансери* – нуклеотидні послідовності, які після зв'язування з ними факторів транскрипції стимулюють транскрипцію з основних промоторів гена або групи генів, діють незалежно від свого положення відносно кодуєчої частини гена та стану початкової точки синтезу РНК; *сайленсери* – послідовності ДНК, з якими зв'язуються білки-репресори (фактори транскрипції), що призводить до зниження або

до повного пригнічення синтезу РНК ферментом ДНК-залежною РНК-полімеразою; в) *термінатори* – специфічні послідовності, що припиняють і трансляцію, і транскрипцію.

18. На відміну від прокариот, в еукариот оперони переважно відсутні, тобто кожний еукариотичний структурний ген має свій власний набір регуляторних елементів. Суттєву роль в регуляції транскрипції в еукариот, окрім взаємодії між ДНК і білками, відіграють також білок-білкові взаємодії.

19. Незважаючи на індивідуальний набір регуляторних елементів структурних генів еукариот, кожний з них має промоторну ділянку (*TATA-бокс*, або *бокс Хогнеса*) з восьми нуклеотидів; послідовність *ССААТ* (*САТ-бокс*); ділянку з динуклеотидів *GC*, що повторюється (*GC-бокс*). Ці елементи знаходяться на відстані 25, 75 та 90 п.н. від сайту ініціації відповідно.

20. В еукариот поширена *узгоджена регуляція активності генів*, просторово відокремлених або тих, що знаходяться навіть у різних хромосомах. Прикладом є припинення транскрипції усіх генів при сперматогенезі у тварин (гени, що знаходяться в ядрі сперматозоїда, стають неактивними). Групове виключення генів однієї з X-хромосом спостерігається також в онтогенезі самок під час імплантації жіночого ембріону в стінку матки з подальшим утворенням тільця Барра (статевого хроматину). Гени обох X-хромосом є активними лише на ранніх стадіях ембріогенезу, коли вирішується питання, за яким шляхом відбуватиметься розвиток – чоловічим чи жіночим. Подальший розвиток первинних і вторинних статевих ознак регулюється статевими гормонами.

21. В еукариот існують два типи теломірних нуклеотидних послідовностей, які є важливими для підтримання стабільності та цілісності хромосом і консервативними в ході еволюції: 1) *теломірні послідовності ДНК із короткими тандемними повторами* (наприклад, понад 50 повторів *GGGGTT* у в'їчастого організму *Tetrahymena*; у людини подібна *GGGATT*-послідовність також повторюється багато разів); 2) *теломерно-асоційовані послідовності* виявлені по сусідству з теломерою та всередині її; функція їх поки невідома.

Слід також пам'ятати, що:

1. Не всі гени кодують білки. Кінцевими продуктами деяких генів є молекули РНК.

2. Не всіма біохімічними реакціями в клітині керують білки. У деяких реакціях роль каталізатора виконують молекули РНК.

3. Не всі білки кодуються одним геном. У побудові деяких білків беруть участь декілька генів. І навпаки, один ген може

кодувати декілька білків при використанні механізму альтернативного сплайсингу мРНК.

4. Не всі фрагменти ДНК є частинами генів. Є випадкові або повторювані послідовності нуклеотидів, які ніколи не беруть участь в процесі біосинтезу білків. Такі ділянки ДНК називаються *безглуздими* або *егоїстичними*.

## 2.5. Класифікація та особливості функціонування генів

**Ген** – ділянка молекули ДНК, що містять цілісну інформацію про послідовність амінокислот у молекулі поліпептиду або про послідовність нуклеотидів у функціональній молекулі РНК. Ці та інші функціональні молекули визначають розвиток, ріст та функціонування організму. Гени (точніше, алелі генів) визначають спадкові ознаки організмів, які передаються від батьків нащадкам при розмноженні. Серед деяких організмів, переважно одноклітинних, відбувається горизонтальне перенесення генів, не пов'язане з розмноженням.

Усі гени *за функціями* поділяють на **структурні та функціональні (регуляторні)**. *Структурні гени* кодують ферменти, гістони, структурні білки, а також послідовність нуклеотидів усіх видів РНК. *Функціональні гени* кодують білки, які регулюють (посилюють або послаблюють) дію структурних генів (*гени-модулятори*) або регулюють роботу структурних генів (*промотори, оператори*).

В еукаріот розрізняють **ядерні** та **мітохондріальні** гени. *Ядерні гени*, в свою чергу, поділяють на білок-кодуючі та РНК-кодуючі гени. До *білок-кодуючих* генів відносять три їх групи:

1) *гени «домашнього господарства»* (housekeeping genes) функціонують в усіх клітинах і кодують обов'язкові для клітини гістонові білки, тРНК, рРНК;

2) *тканиноспецифічні гени*, що функціонують у клітинах однієї тканини (наприклад, гени, що контролюють синтез міозину в м'язовій тканині, гени синтезу гормонів білкової природи тощо);

3) *гени, специфічні для одного типу клітин*, експресуються в клітинах певної тканини та на певному етапі онтогенезу (наприклад, гени гемоглобіну в недозрілих еритроцитах в ранньому ембріогенезі).

Увнаслідок рівного розподілення генетичного матеріалу між дочірніми клітинами в мітозі генотип соматичних клітин є однаковим, але клітини різних тканин і органів одного організму

відрізняються за будовою та функціями внаслідок того, що в різних клітинах активні різні блоки генів.

Гени функціонують протягом онтогенезу не постійно. Наприклад, гени, що контролюють синтез пігменту меланіну в волоссі людини, в похилому віці втрачають активність, тому волосся сивіє. Гени, що забезпечують синтез статевих гормонів, починають інтенсивно функціонувати з настанням періоду статевого дозрівання; їх функція значно знижується під час старіння організму.

Головний механізм диференцировки клітин – блокування та деблокування транскриптонів (одиниць транскрипції) у клітинах на певних етапах розвитку організму. Наприклад, механізм диференцировки стовбурових клітин можна представити таким чином. Недиференційовані клітини мають різний хімічний склад цитоплазми, тобто різні індуктори, здатні включати в роботу різні блоки генів – *транскриптони*, що призводить до синтезу різних ферментів. Різні ферменти каталізують різні біохімічні реакції. Таким чином у різних клітинах відбувається синтез різних типів та тканиноспецифічних білків, внаслідок чого утворюються різні типи клітин, тобто поступово хімічна різноманітність цитоплазми клітин переходить у морфологічні відмінності.

## 2.6. Регуляція активності генів прокариот

Експресія генів регулюється за допомогою цілої низки механізмів. Деякі з таких механізмів, що діють в бактеріальних системах, вивчені досить добре, але про те, як діють регуляторні механізми в клітинах еукаріот, відомо небагато.

Здійснюючи контроль за тим, яким генам експресуватися, а яким ні, а також регулюючи рівень експресії різних генів, клітини пристосовують свій фенотип до певних умов зовнішнього та внутрішнього середовища. Часто гени експресуються послідовно: активація одного гена викликає експресію іншого або декількох генів, призводячи, в кінцевому рахунку, до каскаду подій. Деякі гени або їх родинні групи експресуються координовано, тобто відповідають на регуляторний сигнал одночасно і, як правило, в однаковій мірі. Ймовірно, найбільш досконалі регуляторні системи – ті, які дозволяють *плюрипотентним* стовбуровим клітинам (мітотично активні клітини, в результаті поділу яких відбувається заміщення загиблих клітин) диференціюватися з утворенням клітин різного типу в процесі розвитку еукаріотичного організму.

Фенотипні ознаки клітин різних типів, а також тієї ж клітини в різних умовах залежать від кількості та властивостей

продукованих ними структурних, каталітичних і регуляторних білків. Регулюватися може будь-який один або декілька окремих етапів зчитування генетичної інформації під час біосинтезу білка.

### **2.6.1. Типи регуляції експресії генів прокариот.**

Бактеріям необхідно вміти швидко реагувати на зміни в оточуючому середовищі. Їхня живучість залежить від здатності переключати метаболізм з одного субстрату на інший, оскільки надходження поживних речовин може постійно змінюватися.

Бактерія не синтезує ферментів певного метаболітичного шляху за відсутності відповідного субстрату, але здатна в будь-який момент розпочати їх синтез за його наявності. Для здійснення такого реагування гени бактерій об'єднані в оперони, знаходяться під загальним контролем та кодують ферменти, необхідні для певного шляху біосинтезу.

Розрізняють *індуцибельні оперони*, регулятором яких є вихідний продукт (субстрат), що стимулює реакції свого метаболізму, та *репресибельні оперони*, регулятором яких є кінцевий продукт (корепресор), який гальмує реакції свого синтезу.

До складу індукцибельних оперонів входять: 1) структурні гени, що кодують ферменти; 2) промотор – ділянка ДНК, до якої приєднується РНК-полімераза; 3) оператор – ділянка молекули ДНК, яка є місцем зв'язування з білком-репресором; 4) індуктор – метаболіт (наприклад, лактоза), який зв'язується із білком-репресором і переводить його в неактивну форму, тим самим індукуючи синтез ферментів, здатних його розкласти. Синтез білка-репресора контролюється геном-регулятором. Білок-репресор має спорідненість до оператора та метаболіта.

Швидке збільшення активності фермента за рахунок його синтезу під дією субстрата, називається *індукцією*, а зменшення його активності також під дією субстрата – *репресією*. Механізм репресії використовуються клітиною для виключення синтезу вже існуючих у поживному середовищі сполук, надлишок яких може пригнічувати її життєдіяльність. Наприклад, амінокислота триптофан синтезується за участю фермента триптофансинтетази. Якщо в середовищі, на якому вирощуються бактерії, присутній триптофан, синтез ферменту терміново припиняється. Фактор, що спричинює репресію (в нашому випадку – триптофан) називається *корепресором*.

Оскільки продукти регуляторних генів вільно дифундують і знаходять необхідні мишені для активації, такий тип взаємодії генів називають *транс-регуляцією*. Транс-діючий білок може регулювати ген-мишень позитивно (якщо в результаті взаємодії відбувається його «включення»), або негативно (якщо ген

«виключається»). Білок-регулятор зв'язується з цис-регулюючою послідовністю гена-регулятора, розміщеною зазвичай поруч (але не завжди) з геном-мішенню.

У свою чергу негативною та позитивною можуть бути як індукція, так і репресія. У разі *негативної індукції* індуктор (наприклад, лактоза) заважає регуляторному білку-репресору зв'язуватися з оператором (так «працює» лактозний оперон кишкової палички). Індукція є однією з форм негативної регуляції і називається так тому, що транскрипція може відбуватися тільки після видалення білка-репресора. Оскільки послідовності оператора та промотора часто перекриваються, зв'язування репресорів зі своїми операторами обмежує доступ РНК-полімерази до промотора, пригнічуючи тим самим ініціацію транскрипції.

При *негативній репресії* регуляторний білок набуває властивостей репресора тільки після взаємодії з корепресором. Таким корепресором у триптофановому опероні є накопичений в клітині триптофан, взаємодія якого з регуляторним білком призводить до стримування транскрипції.

Отже, типами регуляції активності генів є: негативна та позитивна індукція, негативна та позитивна репресія, одночасний контроль транскрипції багатьох оперонів. Охарактеризуємо ці процеси більш детально.

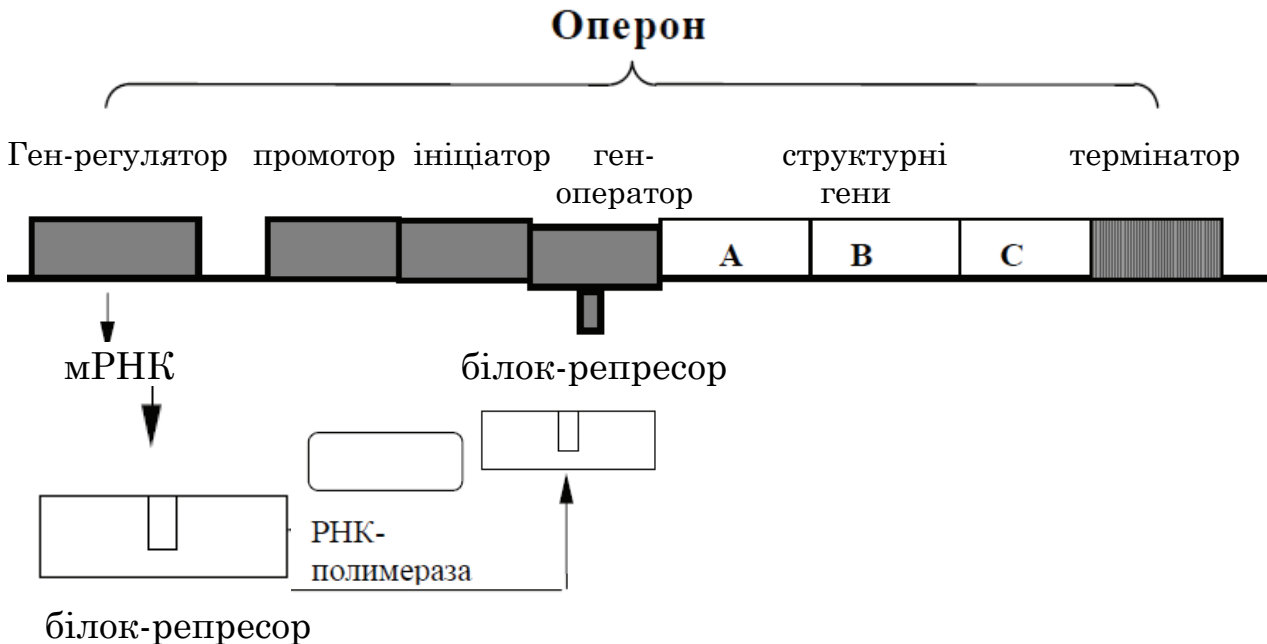
**2.6.2. Негативна індукція.** Сучасна теорія регуляції експресії генів у прокариот запропонована французькими вченими *Ф.Жакобом і Ж.Моно* в 1961 році на прикладі лактозного оперону *E.coli*. Вчені досліджували біосинтез ферментів, що метаболізують лактозу:  $\beta$ -галактозидази,  $\beta$ -галактозидпермеази,  $\beta$ -галактозид-трансацетилази. Виявлено, що при культивуванні *E.coli* на глюкозі вміст ферментів, що метаболізують лактозу, мінімальний, але при заміні глюкози на лактозу відбувається значне посилення синтезу ферментів, що розщеплюють лактозу на глюкозу і галактозу та забезпечують подальший метаболізм останніх.

Група структурних генів, керована одним *геном-оператором*, що кодують ферменти одного метаболітичного шляху, складає *оперон*. До складу оперону входить також невелика ділянка ДНК – *промотор* з ініціатором – місце початкового прикріплення РНК-полімерази, яка каталізує реакцію ДНК-залежного синтезу матричної РНК (мРНК). *Ген-оператор* “вмикає” та “вимикає” структурні гени під час зчитування інформації. Закінчується оперон *геном-термінатором*.

Ген-регулятор, що знаходиться на деякій відстані від оперону, постійно активний і на основі його інформації синтезується



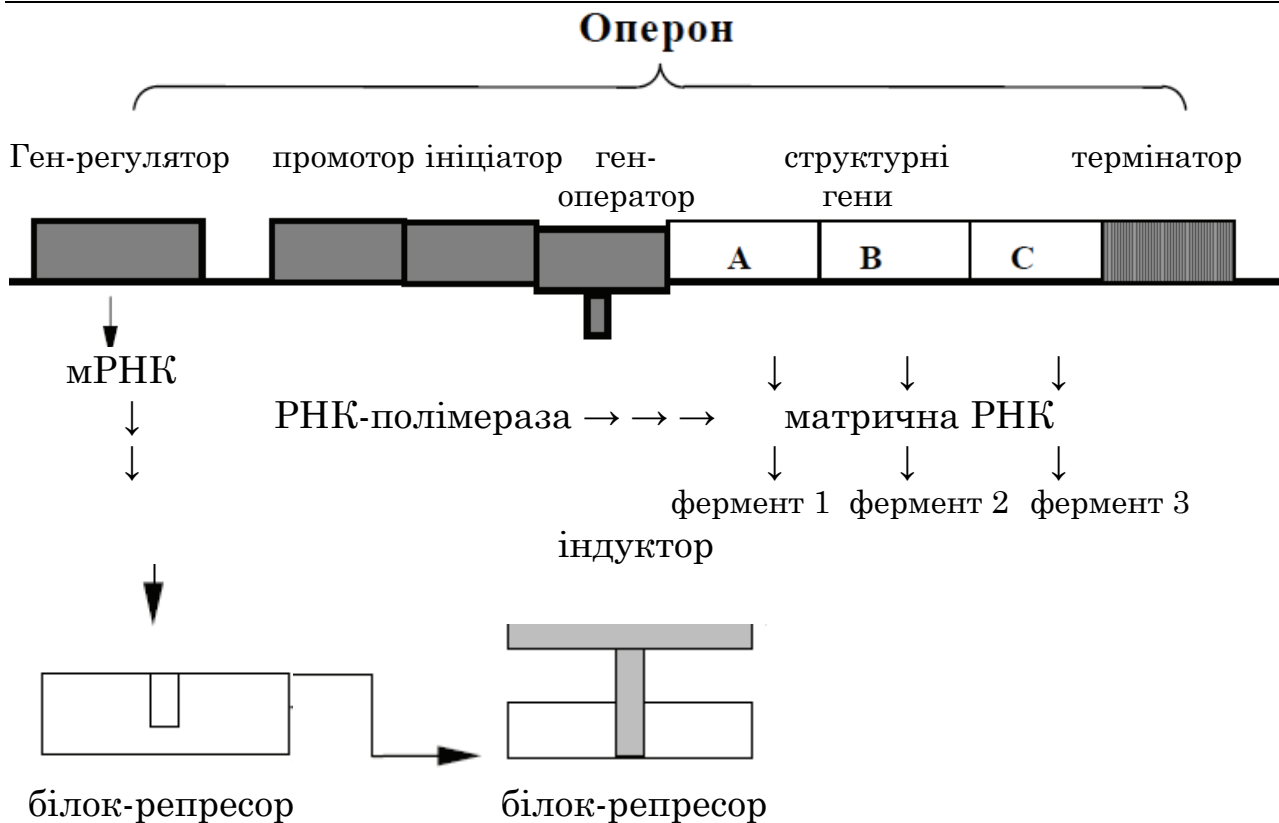
особливий *білок-репресор*. Останній здатний блокувати ген-оператор, вступаючи з ним у хімічний зв'язок і припиняти зчитування інформації зі структурних генів, тобто припиняти роботу оперону (оперон “не працює”); середовище має достатню кількість глюкози (*рис. 2.20*). Активації оперону не відбудеться, якщо постачальником вуглецю та енергії в середовищі служить тільки глюкоза.



**Рис. 2.20.** – Схема регуляції транскрипції у прокаріот (оперон “не працює”)

При зниженні в середовищі рівня глюкози та надходженні в клітину індуктора (лактози), він хімічно зв'язується з білком-репресором, змінюючи його конформацію та вивільняючи ген-оператор (алостеричний ефект) (*рис. 2.21*).

РНК-полімераза розриває зв'язки між двома ланцюгами ДНК оперону, починаючи з промотора та за принципом комплементарності інформація (чергування нуклеотидів) зі структурних генів переписується на одну молекулу матричної РНК (мРНК). Всі три гени транскрибуються на одну поліцістронну мРНК за рахунок перекривання рамок зчитування (*цистрон* – одиниця біохімічної функції гена; один цистрон кодує один поліпептидний ланцюг). Синтезована мРНК надходить в рибосоми, де послідовно транслюються відповідні ферменти (галактозидаза, галактозидпермеаза та трансцетилаза), які приймають участь у розкладанні лактози. В цьому випадку лактоза виконує функцію індуктора синтезу ферментів, які каталізують її власний обмін.



**Рис. 2.21.** – Схема регуляції транскрипції у прокариот (оперон “працює”)

Коли останні молекули індуктора зруйновані, вивільняється білок-репресор, який знову блокує ген-оператор – робота гена припиняється. Ген стане активним лише при наявності індуктора. Причому для кожного оперону існує свій специфічний індуктор. Наприклад, для лактозного оперону індуктором є лактоза, для фруктозного – фруктоза тощо.

Наведений вище приклад регуляції лактозного оперону (лас-оперону) є найбільш вивченим способом регуляції транскрипції у бактерій і називається *негативна індукція*. Основною перевагою оперонної організації генів у мікроорганізмів є координація регуляції активності: всі гени експресуються чи не експресуються разом. Матрична РНК транслюється завжди з 5'-кінця. Це пояснює, чому індукція завжди обумовлює появу в клітині β-галактозидази, β-галактозид-пермеази та тільки потім β-галактозид-трансцетилази. А факт трансляції єдиної мРНК пояснює, чому відносні кількості всіх трьох ферментів залишаються однаковими незалежно від умов індукції.

**2.6.3. Позитивна індукція.** Якщо клітини кишкової палички культивують у середовищі, що містить суміш лактози та глюкози в якості єдиного джерела енергії, то в першу чергу використовується глюкоза. У разі нестачі в живильному середовищі

глюкози відбувається накопичення *циклічного аденозинмонофосфату* (сАМР) та триває ще один варіант індукції *lac*-оперона – *позитивна індукція*, заснована на використанні білка-активатора катаболітичних генів *SAR*. При цьому білок-регулятор не заперечує, а активує транскрипцію. Для експресії *lac*-оперона, як і інших індукцибельних оперонів, що здійснюють контроль синтезу ферментів, які беруть участь у метаболізмі цукрів, необхідно не тільки зняти репресію оперону, але і отримати певний сигнал. Таким сигналом служить комплекс *циклічного аденозинмонофосфату* (сАМР) з *білком-активатором катаболізму* (*SAR*, від англ. Catabolite activator protein), який зв'язується зі специфічною послідовністю, що знаходиться на самому початку *lac*-промотора. Приєднання комплексу *SAR*-сАМР зі специфічною послідовністю на початку промотора призводить до посилення транскрипції *lac*-оперону майже в 50 разів.

Комплекс *SAR*-сАМР є позитивним сигналом при регуляції експресії інших оперонів, зокрема тих, що кодують ферменти розщеплення вуглеводів (галактозний і арабінозний оперони), а також роботу оперонів, що кодують ферменти, які забезпечують деградацію амінокислот, пуринів і піримідинів. Комплекс *SAR*-сАМФ діє як позитивний регулятор, оскільки його присутність необхідна для забезпечення експресії *Lac*-генів. Таким чином, *Lac*-оперон є об'єктом як позитивної, так і негативної регуляції.

#### **2.6.4. Негативна та позитивна репресія. Атенюація.**

При *негативній репресії* регуляторний білок набуває властивостей репресора тільки після взаємодії з корепресором. Таким корепресором у триптофановому опероні є накопичений в клітині *триптофан*. У разі надлишку триптофана в середовищі ця амінокислота-корепресор зв'язується з білком-репресором, який, в свою чергу, набуває спорідненості до гена-оператора та «замикає» його – синтез ферментів припиняється. Отже, якщо в середовищі є триптофан, клітина перестає синтезувати весь набір ферментів, необхідний для синтезу цієї амінокислоти. Така регуляція називається *репресією кінцевим продуктом*. За відсутності триптофана регуляторний білок-репресор не має спорідненості до оператора та не блокує синтез ферментів, що здійснюють синтез триптофана.

*Позитивна репресія* відбувається, якщо білок-регулятор, який зазвичай активує роботу оперону, може інактивуватися ефектором. Отже, існує *метаболітичний принцип регуляції* активності оперона: спорідненість білка-репресора до оператора контролюється метаболітами ланцюга реакцій, ферменти якого кодуються цим опероном.

Існує також регуляція активності триптофанового оперону на рівні трансляції. Це явище називається *атенюація* – інший механізм регуляції триптофанового оперону (trp-оперону). Цей спосіб регуляції можливий тому, що в прокариот, позбавлених ядра, процеси транскрипції і трансляції не розділені в часі та просторі, як в еукаріот, тому йдуть одночасно: поки РНК-полімераза синтезує мРНК, синтезована ділянка цієї мРНК транслюється рибосоною. У зв'язку з цим процес трансляції може безпосередньо впливати на транскрипцію оперона. Після оператора в триптофановому опероні розташована послідовність довжиною 162 п.н. – послідовність, яка кодує лідерний пептид. Він отримав таку назву, оскільки з поліцистронної мРНК триптофанового оперону цей пептид синтезується першим. До складу лідерної послідовності входить особлива послідовність нуклеотидів – *атенюатор*, яка, впливаючи на структуру мРНК, здатна викликати передчасну термінацію транскрипції.

## 2.7. Регуляція активності генів еукаріот

Еукаріоти мають більш складну організацію, ніж прокариоти. Наприклад, в організмі людини налічується понад 200 різних типів клітин і 100 тисяч білків.

Регуляція експресії геному еукаріот здійснюється на декількох рівнях:

- на рівні структурної організації геному (передтранскрипційний контроль);
- на рівні транскрипції (транскрипційна та посттранскрипційна регуляція). Регулюватися може сам процес транскрипції, процес дозрівання мРНК (процесинг), процес транспорту та деградації мРНК;
- на рівні трансляції – через фосфорилювання / дефосфорилювання білкових факторів трансляції;
- на посттрансляційному рівні – через регуляцію процесів формування білкової молекули, її транспорту, активності і деградації.

**2.7.1. Передтранскрипційний контроль експресії генів** забезпечується структурною та хімічною модифікацією геному, зміною кількості функціонуючих генів, генетичними рекомбінаціями.

*Структурна та хімічна модифікація геному* обумовлена різним ступенем упаковки хроматину, хімічною модифікацією білків хроматину, метилуванням ДНК.

а) *роль упаковки хроматину*. В ядрах диференційованих клітин хроматин упакований таким чином, що лише невелика кількість генів (до 1%) доступна для транскрипції. У ділянках гетерохроматину ДНК упакована дуже щільно та недоступна для транскрипції, тоді як в ділянках еухроматину ДНК доступна для РНК-полімерази. У клітинах різних тканин в області еухроматину знаходяться та експресуються різні гени.

б) *хімічна модифікація білків хроматину*. Гістонові та негістонові білки, що утворюють міцні комплекси з ДНК, перешкоджають участі ДНК в процесах реплікації або транскрипції. Ковалентна модифікація (ацетилювання, фосфорилування, метилування, глікозилування та АДФ-рибозилування) змінює заряд, інші властивості ядерних білків і може зменшити або збільшити їх взаємодію з ДНК. Наприклад, приєднання залишків оцтової кислоти до аміногруп лізину (ацетилювання) в гістонах зменшує позитивний заряд цих білків, завдяки чому гістони від'єднуються від ДНК, а на звільнених від гістонів ділянках може відбуватися транскрипція. Тому ацетилювання гістонів посилює швидкість транскрипції.

в) *метилування ДНК* (див. розділ 2.3.5). ДНК-метилтрансферази переносять метильну групу від S-аденозилметіонину на цитозин з утворенням 5-метилцитозина. При цьому метилується близько 5% залишків цитозину ДНК в області CpG-острівців (послідовностей від 500 до 2000 нуклеотидів з високим вмістом гуаніну і цитозину). Ці острівці локалізуються в регуляторних елементах гена – промоторах. Метилування призводить до тимчасової інактивації гена та блокування його транскрипції. Однак кінцевий біологічний результат метилування визначається функцією гена. Якщо метилується ген білка-активатора, то це призводить до гальмування певної функції клітини. Якщо метилується ген білка-репресора, то це посилює певну функцію. Наприклад, метилування гена-супресора пухлинного росту (білка p53) сприяє розвитку пухлин. Метилування – оборотний процес і разом з ним існує процес деметилування. Однак, метилування деяких генів є незворотнім, зокрема генів, що функціонують під час ембріогенезу та надалі інактивуються.

*Зміна кількості функціонуючих генів* обумовлена ампліфікацією генетичного матеріалу або, навпаки, його втратою.

а) *ампліфікація* – це процес збільшення копій відповідних генів. Молекулярною основою ампліфікації є багаторазова стрімка реплікація одного гена або його фрагмента. Ампліфіковані ділянки можуть розташовуватися в хромосомі один за одним (тандемно) або

утворювати позахромосомні фрагменти ДНК (подвійні мініхромосоми). До ампліфікації здатні гени металотіонеїну (білка, що зв'язує іони важких металів), дигідрофолатредуктази, багатьох інших білків. При надходженні в організм іонів важких металів або метотрексату (інгібітора дигідрофолатредуктази) відбувається посилення синтезу цих білків. Явище ампліфікації лежить в основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Для проведення ПЛР використовують РНК-праймери (послідовності нуклеотидів, комплементарні тим ділянкам ДНК, які досліджуються). Надалі ДНК-полімераза реплікує лише ті ділянки ДНК, які відповідають праймеру. Із застосуванням ПЛР нині проводять діагностику вірусних та бактеріальних інфекцій, оскільки ПЛР дає можливість виявити ДНК і РНК збудників в організмі хазяїна. Метод ПЛР є основним у виявленні мутацій і генетичного поліморфізму, встановлення батьківства, етнічної належності.

б) *втрата генетичного матеріалу*. Це рідкісний спосіб регуляції, який, наприклад, проявляється втратою ядра при дозріванні еритроцитів або втратою частини генетичного матеріалу при дозріванні лімфоцитів.

*Генетичні рекомбінації* – це обмін фрагментами ДНК між різними генами або об'єднання генів з різних біологічних джерел. Механізм рекомбінації включає розрізання реципієнтної ДНК і включення сторонніх фрагментів (транспозонів) з іншої хромосоми або іншого локусу тієї ж хромосоми.

Транспозон – це послідовність ДНК, здатна переміщатися всередині геному. Транспозони належать до мобільних елементів геному (до яких відносять плазміди та інсерційні елементи). Розрізняють ДНК-транспозони і ретротранспозони. Перенесення і вставка ДНК транспозонів каталізується ферментом транспозазою (код ферменту присутній в самому транспозоні). Ретротранспозони переміщуються по геному шляхом зворотної транскрипції з їхньої РНК (як ретровіруси). Здатність транспозонів вбудовуватися в молекули інших ДНК визначається наявністю на їх кінцях особливих фрагментів – інсерційних нуклеотидних послідовностей.

В еукаріот генетичні рекомбінації також забезпечуються механізмом кросинговеру (обмін ідентичними ділянками між гомологічними хромосомами під час мейозу), який є необхідним елементом формування статевих клітин. Саме рекомбінація батьківських хромосом при утворенні гамет – головний фактор комбінативної мінливості. Процеси переміщення окремих генів або груп генів в інше місце геному відбуваються в В-лімфоцитах, гени яких кодують утворення імуноглобулінів.

Існує декілька типів імуноглобулінів (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE), які відрізняються за типом важких і легких ланцюгів. У кожному білковому ланцюзі імуноглобуліну існують константні та варіабельні ділянки (відповідно, з постійним або мінливим складом амінокислот). Легкі ланцюги експресуються генами трьох родин, а важкі ланцюги – чотирьох родин. Кожна родина нараховує десятки і сотні генів. Завдяки рекомбінації генів, що належать до родин легких і важких ланцюгів, стає можливим утворення величезної кількості (до 108) варіантів генів і, відповідно, стільки ж варіантів імуноглобулінів з різною антигенною специфічністю.

**2.7.2. Транскрипційний контроль експресії генів.** Гени еукаріот мають більш складну будову, ніж гени прокаріот. Регуляторна частина гена еукаріот включає цис-регуляторні елементи (промотор, який межує з відкритою рамкою зчитування гена) і транс-регуляторні елементи (енхансери, сайленсери, атенюатори, інсулятори), розташовані далеко від кодуєчої частини гена (на відстані мільйонів пар нуклеотидів). Білки, що зв'язуються з цис- і транс-регуляторними елементами ДНК, називаються *транс-діючими факторами* (транс-дія означає взаємодію між різними молекулами, а цис-дія – внутрішньо-молекулярні взаємодії).

а) В еукаріот промотори відрізняються специфічністю до різних РНК-полімераз (у прокаріот тільки одна РНК-полімераза). Це означає, що з промоторами генів, які кодують транспортні РНК, пов'язується лише РНК-полімераза III, а з промоторами генів, які кодують мРНК – лише РНК-полімераза II. Детально промотори описані раніше.

б) До складу генів еукаріот входить значна кількість регуляторних елементів. Для генів, що експресуються конститутивно (тобто з постійною регулярністю), характерна лише наявність ділянок для зв'язування загальних факторів транскрипції. Для генів, інтенсивність експресії яких змінюється, існують ділянки, що зв'язують регуляторні білки (специфічні фактори транскрипції, репресори).

До активуючих елементів геному належать: *енхансери* (підсилювачі транскрипції) – ділянки ДНК, які містять декілька десятків пар нуклеотидів і розташовані на значній відстані від регульованого ними гена, перебуваючи попереду або позаду промотора, або в складі інтронів. Зв'язування з енхансером відповідних регуляторних білків підсилює в десятки і сотні разів процес транскрипції. Серед таких регуляторних послідовностей виділяють *елементи відповіді*, тобто енхансери, загальні для

групи генів. Завдяки, цьому один гормон, зв'язавшись з одним регуляторним білком, може активувати декілька генів.

*Сайленсери* – регуляторні послідовності, які після зв'язування з певними білками не підсилюють, а навпаки, блокують транскрипцію генів.

*Атенюатори* – регуляторні нуклеотидні послідовності, які послаблюють транскрипцію. Вони забезпечують так зване генетичне мовчання, або *сайленсинг*. Завдяки сайленсингу організм може вимикати з роботи ті гени, які йому на цьому етапі не потрібні. Це явище має місце під час диференціації клітин.

*Інсулятори* – регуляторні елементи ДНК, які відповідають за блокування взаємодії між енхансером і промотором. Дія інсулятора забезпечується приєднанням до нього спеціальних інсуляторних білків. Потреба в інсуляторі виникає тоді, коли активується енхансер, загальний для групи генів, а активація одного гена з цієї групи є небажаною. Тоді інсулятор блокує транскрипцію цього гена.

в) *регуляторні білки* – це білки, які взаємодіють з регуляторними елементами геному (промоторами, енхансером, сайленсером і т.д.). Таких білків налічується сотні, якщо не тисячі. До них належать загальні і специфічні фактори транскрипції, коактиватори та корепресори транскрипції, охарактеризовані раніше. Принциповою особливістю будови цих білків є наявність ДНК-зв'язуючого домену, який відповідає за їх з'єднання із специфічними ділянками ДНК, доменів, які активують транскрипцію за рахунок взаємодії з білками основного ініціаторного комплексу, факторами транскрипції, коактиваторами, РНК-полімеразою, а також доменів, що зв'язують ліганди. Завдяки приєднанню лігандів відбувається активація регуляторних білків. Розрізняють ліганди – індуктори транскрипції (глюкокортикоїди, статеві гормони, ретиноева кислота, гормони щитоподібної залози) та ліганди-репресори, якими є найчастіше кінцеві продукти метаболічних шляхів.

*Корегулятори транскрипції* – численна група білків, які взаємодіють з факторами транскрипції і активують (коактиватори) або пригнічують (корепресори) транскрипцію певних генів. Однак вплив цих білків може стосуватися не тільки етапів ініціації, елонгації та термінації транскрипції, але навіть і сплайсингу РНК. При цьому самі коактиватори або корепресори з ДНК безпосередньо не взаємодіють. Механізм дії частини корегуляторів полягає в тому, що вони модифікують гістонові білки, збільшуючи або зменшуючи доступність ДНК для транскрипції. Частина коактиваторів має ацетилтрансферазну, а частина корепресорів –



деацетилазну активність. Приєднання ацетильних груп до аміногруп гістонів веде до зменшення позитивного заряду цих білків і звільнення негативно зарядженої молекули ДНК, яка стає доступною для транскрипції. При деацетилюванні позитивний заряд гістонів підвищується, посилюється зв'язок гістонів з ДНК і зменшується доступність останньої для зчитування. Лігандами коактиваторів транскрипції служать ядерні рецептори різних гормонів, зокрема рецептори андрогенів, глюкокортикоїдів.

**2.7.3. Посттранскрипційна регуляція.** Регуляція експресії генів може відбуватися і після синтезу молекули мРНК, зокрема під час дозрівання (процесингу) мРНК-попередника. Основними способами такої регуляції є *альтернативний сплайсинг, РНК-інтерференція, зміни швидкості деградації РНК.*

*Альтернативний сплайсинг* – це вирізання екзонів і їх об'єднання в різних комбінаціях. Тому одна пре-мРНК може давати декілька різних мРНК. Один ген може кодувати не один білок, а декілька. Наприклад, у всіх клітинах є ген кальцитоніну, але в щитовидній залозі він експресується в вигляді гормону кальцитоніну, а в гіпофізі – нейропептидів CGRP. Альтернативний сплайсинг широко представлений у геномі людини, тому протеом людини містить набагато більшу кількість білків, ніж протеом інших організмів.

*РНК-інтерференція* – це гальмування експресії гена на стадії трансляції або транскрипції через дію малих РНК. Вони вимикають роботу тих генів, послідовності яких відповідають ланцюгу молекули малої РНК.

*Деградація мРНК.* Час життя еукаріотичних мРНК складає від декількох годин до декількох днів, а прокариотичних – кілька хвилин. Тривалість життя мРНК є важливим механізмом регуляції синтезу білків. Руйнування мРНК в еукаріот здійснюється 3'-РНК-азами (прокариот – 5'-РНК-азами). Матрична РНК еукаріот починає руйнуватися з некодуючого поліаденилатного фрагмента. Цей фрагмент подібно теломерній послідовності ДНК служить буферною зоною, яка захищає кодуєчу частину мРНК від руйнування. У проміжку часу між завершенням трансляції мРНК однією рибосомою і початком трансляції наступної мРНК 3'-РНК-аза встигає відщепити від її полі (А) фрагмента 10-15 нуклеотидів. Коли в цьому фрагменті залишається близько 50 нуклеотидів (критична довжина), швидко настає повний гідроліз мРНК. Кратність трансляції мРНК зазвичай не перевищує 10-15 разів. Різниця в тривалості життя різних мРНК пояснюється як різною довжиною полі- (А)-фрагментів, так і тим, що в короткочасно

існуючих мРНК між кодуючою частиною і поліаденилатним фрагментом знаходяться АУ-багаті елементи. Наявність послідовностей, збагачених аденіном і урацілом, різко підсилює деградацію полі (А)-фрагментів.

Переважна кількість мРНК після їх утворення (транскрипції) піддаються різноманітним посттранскрипційним модифікаціям, без яких трансляція мРНК неможлива. Ацетилювання цитидину (рибонуклеозиду, тобто залишку рибози, сполученого з цитозином) в мРНК, яке здійснює ацетилтрансфераза NAT10, сприяє її ефективній трансляції як *in vitro*, так і *in vivo*. Більш того, ацетилювання підвищує і стабільність мРНК. Таким чином, епітранскриптом (сукупність посттранскрипційних модифікацій клітинних РНК) може відігравати важливу роль в регуляції експресії генів.

#### **2.7.4. Регуляція експресії гена на рівні трансляції.**

Основним механізмом контролю за процесом трансляції є фосфорилування факторів трансляції. Так, фактор ініціації трансляції eIF2 при фосфорилуванні втрачає, а при дефосфорилуванні – набуває активності. В свою чергу процеси фосфорилування/дефосфорилування каталізуються протеїнкіназами/протеїнофосфатазами, активність яких контролюється циклічними нуклеотидами, гормонами та іншими регуляторами.

До ще одного способу регуляції належить блокування трансляції білками-репресорами, в якості яких часто виступає сам продукт трансляції. Таким чином, надлишкові кількості синтезованого білка надалі гальмують процес свого синтезу.

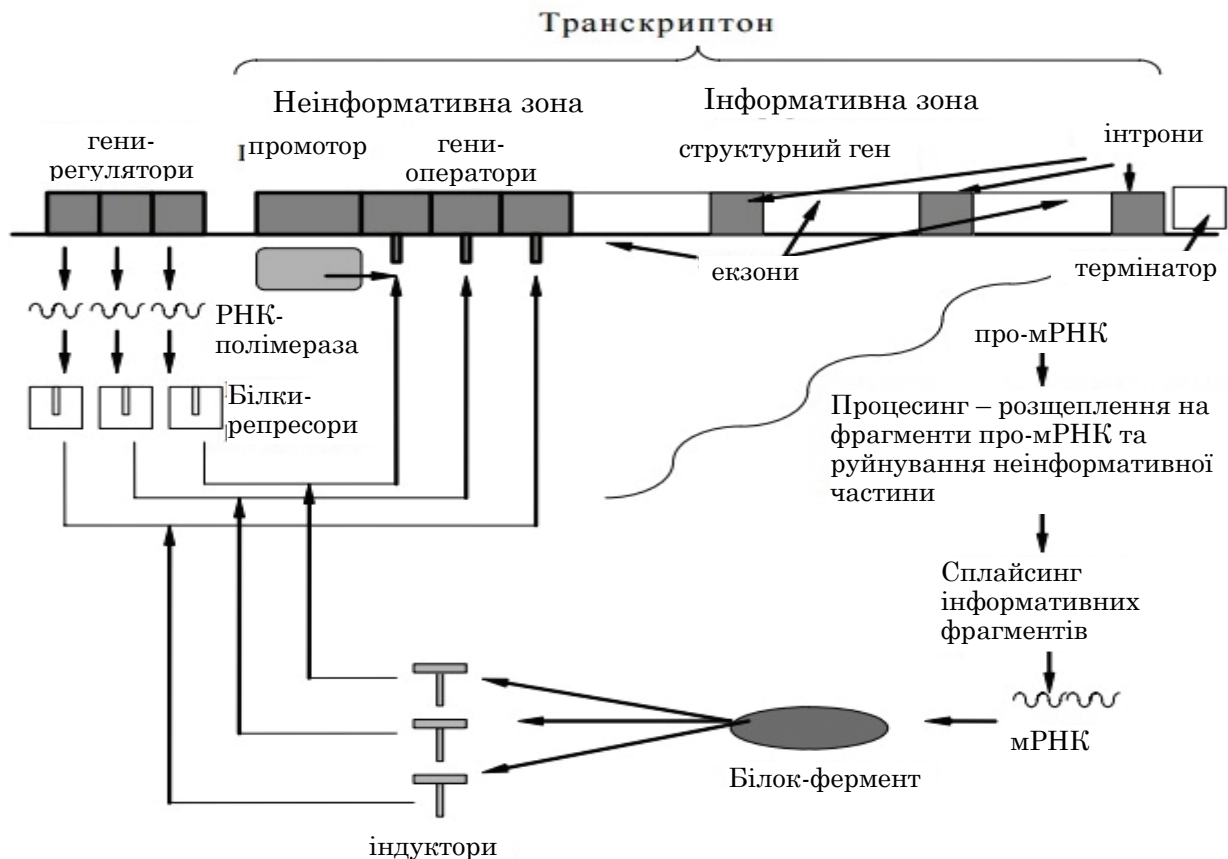
#### **2.7.5. Регуляція на посттрансляційному рівні.**

Посттрансляційна регуляція пов'язана з регуляцією транспорту, дозрівання та активності білків – продуктів генів. Активність білків регулюється на рівні *фолдингу посттрансляційної модифікації* (фосфорилування / дефосфорилування та інші реакції), процесів деградації білків убіквітиновою системою тощо.

Нещодавно було відкрито явище сплайсингу білків (подібно сплайсингу пре-мРНК). В процесі сплайсингу білків відбувається вирізання з внутрішньої частини синтезованого поліпептидного ланцюга короткої амінокислотної послідовності (інтерна) з наступним зшиванням зовнішніх N- і C-частин (екстернів). Цей процес відбувається автокаталітично за участю гідроксигруп серину.

**2.7.6. Схема регуляції транскрипції в еукаріотичних клітинах.** В еукаріот оперони не виявлені. Схема регуляції транскрипції в еукаріот розроблена радянським біохіміком Г.П.Георгієвим у 1972 році. Принцип регуляції (зворотній зв'язок) зберігається, але механізми його більш складні. Одиниця

транскрипції в еукаріот називається *транскриптомом*. Він складається з неінформативної (акцепторної) та інформативної (структурної) зон. *Неінформативна зона* починається з регуляторних елементів – промотора з ініціатором, далі знаходиться група генів-операторів, за якими розміщена інформативна зона. *Інформативна зона* утворена структурним геном, розділеним на *екзони* (кодуючі нуклеотидні послідовності) та *інтрони* (некодуючі нуклеотидні послідовності). Закінчується транскриптом *термінатором* (рис.2.22).



**Рис. 2.22.** – Схема регуляції транскрипції в еукаріот

Роботу транскриптона регулюють декілька генів-регуляторів, які містять інформацію для синтезу декількох білків-репресорів. *Індукторами* в клітинах еукаріот є складні молекули (наприклад, гормони), для розщеплення яких необхідні декілька ферментів (багатоступенева реакція).

Коли індуктори звільняють гени-оператори від білків-репресорів, РНК-полімераза розриває водневі зв'язки між двома ланцюгами ДНК транскриптому і на ньому синтезується велика молекула мРНК-попередника (про-мРНК). Надалі в ядрі клітини відбувається *процесинг* – ферментативне руйнування інтронів та розрізання ендонуклеазами рестрикції (рекстриктазами)

інформативної частини на фрагменти, що відповідають ексонам. Молекула зрілої матричної РНК формується завдяки *сплайсингу* (з'єднанню) екзонів ферментами *лігазами*. Така молекула мРНК є *моноцистронною* та відповідає послідовностям екзонів структурного гена. Надалі мРНК крізь пори ядерної оболонки виходить з ядра, надходить в рибосоми, розміщені на шорсткій поверхні ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР), де й відбувається синтез фермента, необхідного для розщеплення індукторів.

У геномі еукаріот *унікальні послідовності* нуклеотидів (ті, що не повторюються, входять до складу структурних генів і містять інформацію про первинну структуру поліпептидів) складають від 15 до 98% всього геному (у людини – 56%). Але більше половини цієї кількості ДНК є неактивною. Наявність неінформативних ділянок – інтронів – у геномі еукаріот забезпечує певну мінливість спадкової інформації.

Крім того, в геномах еукаріот містяться послідовності нуклеотидів, які багаторазово повторюються (десятки, сотні, навіть мільйони разів). *Повтори* виконують різноманітні функції: є промоторами, регулюють реплікацію молекул ДНК, беруть участь у кросингвері, відділяють екзони від інтронів тощо.

Життєдіяльність організму забезпечується в основному функціональною активністю унікальних генів, яка, в свою чергу, залежить від стану внутрішнього середовища організму (наприклад, гормонального фону) та впливу умов оточуючого середовища.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Як відбувається процес реалізації генетичної інформації?
2. Опишіть будову та властивості молекули ДНК.
3. Вкажіть відмінності в будові молекул РНК і ДНК.
4. Що служить доказом ролі нуклеїнових кислот як носіїв спадкової інформації?
5. Чи завжди ДНК у клітині реплікується напівконсервативним шляхом?
6. Які ферменти, крім полімерази та лігази, приймають участь у реплікації ДНК?
7. Яка роль ферментів рестрикції-модифікації?
8. У чому сутність негативної індукції? Катаболічної репресії?
9. Як організований геном прокариот? Еукаріот?
10. Що таке генетична трансформація? Чи можлива трансформація у вищих еукаріот?

11. Що таке трансдукція?
12. Як у клітині закодована спадкова інформація?
13. Що таке генетичний код? Наведіть його властивості.
14. Що таке цистрон?
15. Що таке оперон? Які функції гена-оператора?
16. Що таке репресор і як діє ген-регулятор?
17. Які особливості регуляції диференціальної активності генів еукаріот?
18. Які особливості регуляції активності оперонів прокаріот?
19. Які існують типи регуляції активності генів?
20. Що таке атенюація?
21. Сформулюйте правило Чаргаффа. Що таке коефіцієнт нуклеотидної (видової) специфічності?
22. В яких організмів РНК виконує роль носія генетичного матеріалу? Як це було доведено?
23. Яка функція гістона H1?
24. Які елементи необхідні для забезпечення стабільності хромосом?
25. Розв'яжіть задачу: вміст гуаніну в дволанцюговій ДНК складає 28%. Визначити процентний вміст всіх нуклеотидів.
26. Складіть висновок про будову нуклеїнових кислот – ДНК чи РНК, дволанцюгова чи одноланцюгова:

Молекула	A%	G%	T%	C%	U%
1.	33	17	33	17	0
2.	33	33	17	17	0
3.	26	24	0	24	26
4.	21	40	21	18	0
5.	15	40	0	30	15
6.	30	20	15	20	15

---

## РОЗДІЛ 3.

# АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ОЗНАК ПРИ ВНУТРІШНЬОВИДОВІЙ ГІБРИДИЗАЦІЇ

---

### 3.1. Мета та задачі генетичного аналізу

*Генетичний аналіз* – система дослідів, спостережень і розрахунків, які дозволяють визначити наявність зв'язку між окремою ознакою організму та геном (або генами), що її контролюють. За допомогою генетичного аналізу досліджується якісний і кількісний склад генотипу, проводиться аналіз його структури та функціонування.

Методи генетичного аналізу різноманітні, але перш за все вони включають систему схрещувань. Схрещування позначають знаком  $\times$ . У схемі схрещування на першому місці знаходиться генотип жіночої статі, який позначають символом  $\text{♀}$  (дзеркало Венери), на другому – генотип чоловічої статі, який позначають символом  $\text{♂}$  (спис і щит Марса). Батьківські форми, вибрані для схрещування, позначають літерою **P** (лат. *parento* – батьки). Гібридне покоління позначають літерою **F** (лат. *Filii* – діти) з цифровим індексом, який відповідає порядковому номеру гібридного покоління. Домінантну ознаку Г. Мендель запропонував позначати великою літерою, а рецесивну – тією ж літерою, тільки маленькою.

Під час генетичного аналізу визначають:

- 1) чи успадковується ознака, чи має вона контрастні форми;
- 2) кількість генів, що контролюють формування цієї ознаки;
- 3) наявність взаємодії між генами;
- 4) групу зчеплення (місце локалізації гена в певній хромосомі) та його картування;
- 5) характеристику гена.

Нині генетичний аналіз включає використання сучасних методів клонування гена, визначення послідовності нуклеотидів ДНК, з'ясування екзонно-інтронної структури гена, особливостей його експресії в онтогенезі.

### 3.2. Закони спадковості

Засновником вчення про спадковість є австрійський біолог і ботанік *Грегор Йоганн Мендель* (1822-1884). Відкриття ним

закономірностей успадкування моногенних ознак (ці закономірності відомі як закони Менделя) стало першим кроком на шляху до сучасної генетики.

Йоганн Мендель з дитинства займався садівництвом і плодівництвом. Здібності, проявлені ним у школі, дали йому змогу стати вчителем природознавства. Однак через неможливість продовження освіти внаслідок скрутного матеріального становища батьків він змушений був стати ченцем католицького монастиря в м. Брюнн (нині Брно, Чехія) і взяв ім'я Грегор. Не будучи професійним ученим, Г. Мендель активно цікавився проблемами біології, і, зокрема, творами Ч. Дарвіна. Свої дослідження він почав після повернення з Відня, де здобув освіту в університеті в якості вільного слухача (1851-1853) не тільки біологічних дисциплін (ентомології, палеонтології, ботаніки, фізіології рослин), але й фізики, хімії та математики. Ще в університеті йому спала думка про те, що мінливість організмів зумовлена комбінацією окремих спадкових одиниць, які передаються майбутнім поколінням через статеві клітини. Тому він поставив за мету довести це експериментально та почав проводити свої дослідження за заздалегідь підготовленим планом. На відміну від попередників, які досліджували явище спадковості, намагаючись враховувати одночасно декілька ознак, Мендель у кожному досліді аналізував успадкування лише двох або небагатьох з них, за якими відрізнялися батьки.

Величезна різноманітність сортів, легкість проведення схрещування, численність потомства привели Менделя до вибору головного об'єкта досліджень – самозапильного виду гороху садового (*Pisum sativum*) та продуманого підбору батьківських форм із контрастними (альтернативними) ознаками. Ним були відібрані сорти, що відрізнялися сімома парами ознак: 1) форма насіння (гладка, зморшкувата); 2) забарвлення сім'ядолей (жовте, зелене); 3) забарвлення насінної шкірки (сіра, біла); 4) розміщення квіток на пагоні (пазушні, верхівкові); 5) забарвлення квіток (червоне, біле); 6) ріст рослин (високорослі, карликові); 7) форма зрілих бобів (випуклі, з перехватами).

Впевнившись протягом дворічних циклів самозапилення в постійності проявлення цих контрастних ознак у кожному поколінні підібраних сортів (чистих ліній), Г. Мендель схрестив рослини, що відрізнялися окремими парами ознак, тобто здійснив внутрішньовидове схрещування. Природно, що рослини, залучені в схрещування, окрім ознак, що вивчалися, відрізнялися ще й іншими ознаками, але дослідник на них не звертав увагу. Техніка гібридизації наступна: в зелених бутонах материнської форми

пінцетом вилучені ще недозрілі пиляки для того, щоб уникнути самозапилення. На кастровані таким чином бутони одягнені пергаментні ізолятори для того, щоб не відбулося неконтрольованого запилення. Через 1-2 дні кастровані квітки запилені пилком батьківської форми. З таких квіток формуються боби з гібридним насінням  $F_1$ . Наступні гібридні покоління Мендель одержував завдяки природному самозапиленню.

Схрещування, в якому батьки відрізняються однією парою контрастних ознак, називається **моногібридним**; схрещування за участю батьків, що відрізняються двома парами ознак – **дигібридним** і т.д.

Особливість методу дослідження Менделя – точний кількісний і якісний підрахунок усіх нащадків за кожною ознакою окремо в кожному досліді, що й дозволило встановити кількісний характер розщеплення та сформулювати закони спадковості.

Успіх дослідів Менделя пояснюється тим, що ознаки, які ним вивчалися, контролювалися **не зчепленими генами**, тобто генами, розміщеними в різних парах хромосом, що суттєво полегшувало інтерпретацію результатів дослідження. Мендель використовував 22 сорти гороху, які мали чіткі відміни за однією або кількома з 7 ознак, які проявлялися в усіх поколіннях. Ним розроблена схема схрещування, так звана «менделівська схема» (гомозиготні батьківські пари та самозапилення гібридів  $F_1$  для отримання  $F_2$ ), проведене реципрокне (зворотне) схрещування для підтвердження однаковості нащадків першого покоління; розроблена схема аналізуючого схрещування. Це дозволило Г. Менделю встановити закономірності розщеплення ознак у потомстві незалежно від характеру аналізованої пари контрастних ознак (наприклад, жовті – зелені насінини, забарвлені та незабарвлені квітки тощо). Точно встановивши числові співвідношення в розщепленні ознак у потомстві, Менделю вдалося розшифрувати основу цього явища.

В основі **гібридологічного аналізу**, запропонованого Г. Менделем, лежить **метод схрещування**. Дослідник уявляв «речовину спадковості» як сукупність численних незалежних і постійних спадкових факторів, які передаються від одного покоління до іншого, можуть перегруповуватися та створювати так звану комбінативну мінливість. Він виявив, що властивості гібридів за ознакою, що аналізується, не є проміжними між батьківськими формами, а в більшості випадків відповідними одному з батьків. У гібридів  $F_1$  спостерігалася лише одна з двох альтернативних ознак – ефект повного домінування. Аналогічні



результати були отримані Г. Менделем за всіма іншими ознаками. Ознаку, що проявилася в першому гібридному поколінні, Мендель назвав **домінантною**. Описане явище одержало назву першого закону Менделя – **закону домінування** або **закону одноманітності гібридів першого покоління**:

*при схрещуванні батьківських гомозиготних форм, які відрізняються парю альтернативних ознак, гібриди першого покоління однакові за генотипом і фенотипом, причому на характер домінування напрямок схрещування не впливає:*

*пряме схрещування:*

P: ♀ гладкі насінини (AA) × ♂ зморшкуваті насінини (aa)

F<sub>1</sub>: всі гладкі насінини (Aa)

*зворотне схрещування:*

P': ♀ зморшкуваті насінини (aa) × ♂ гладкі насінини (AA)

F<sub>1</sub>: всі гладкі насінини (Aa)

У другому гібридному поколінні, одержаному в результаті самозапилення гібридних рослин F<sub>1</sub>, спостерігалось розщеплення потомства за ознакою, що аналізувалася:  $\frac{3}{4}$  рослин були з домінантною ознакою (одержано всього 5474 рослини з гладкими насінинами),  $\frac{1}{4}$  – з рецесивною (1850 рослин із зморшкуватими насінинами). Приблизно таке ж саме співвідношення розщеплення спостерігалось для всіх інших пар ознак, що аналізувалися.

У чому причини такого розщеплення? Мендель припустив, що гібриди утворюють по два типи статевих клітин: 50% з фактором спадковості, одержаним від матері (наприклад, A) та 50% – зі спадковим фактором, одержаним від батька (наприклад, a). При заплідненні з рівною ймовірністю утворюються зиготи різних типів. Г. Мендель зробив висновок, що ознака одного з батьків в F<sub>1</sub> не зникає, а знаходиться в гібриді в прихованому стані. Враховуючи це, Мендель назвав приховану ознаку **рецесивною**.

Висновок про розподіл спадкових факторів між гаметами при їх утворенні дозволив зрозуміти сутність розщеплення ознак у потомстві та сформулювати Менделем другий закон – **закон розщеплення**:

*при схрещуванні гібридних особин, що перехресно запліднюються (запилюються), або при їх самозапиленні (самозаплідненні), в другому гібридному поколінні спостерігається розщеплення на домінантні та рецесивні ознаки (на гомозиготні та гетерозиготні форми):*

P (F<sub>1</sub>): ♀ Aa × ♂ Aa

G♀: A; a      G♂: A; a

F<sub>2</sub>:  $\frac{1}{4}$  AA:  $\frac{2}{4}$  Aa :  $\frac{1}{4}$  aa або за фенотипом:  $\frac{3}{4}$  A- :  $\frac{1}{4}$  aa

Результат сполучення між собою різних типів гамет можна також зобразити алгебраїчно. Так, схрещування ( $Aa \times Aa$ ) можна представити в вигляді сполучення двох класів гамет від кожного з батьків:  $(A + a) \times (A + a) = 1AA + 2Aa + 1aa$ .

Треба враховувати, що при аналізі потомства гібридів фактичне розщеплення, одержане в досліді, не завжди відповідає очікуваному. При малій кількості нащадків фактичні співвідношення класів розщеплення можуть сильно ухилятися від очікуваних. Але за теорією ймовірностей, чим чисельнішим є фактичний гібридний матеріал, тим точніше співвідношення розщеплення в потомстві гібридів за генотипом і фенотипом відповідають теоретично розрахованим значенням.

Отримавши розщеплення в другому поколінні, Г. Мендель вирішив розкрити сутність цього процесу. Він проростив насіння  $F_2$ , провів самозапилення пророслих рослин та отримав потомство  $F_3$ . Результати схрещувань були наступними: у разі схрещування рослин із зморшкуватим насінням все потомство виявилось однаковим. При самозапиленні рослин з гладким насінням  $F_3$  потомство поділилося на 2 групи – перша група при самозапиленні давала тільки гладкі насінини, друга – знову давала розщеплення 3 : 1 (рис. 3.1).

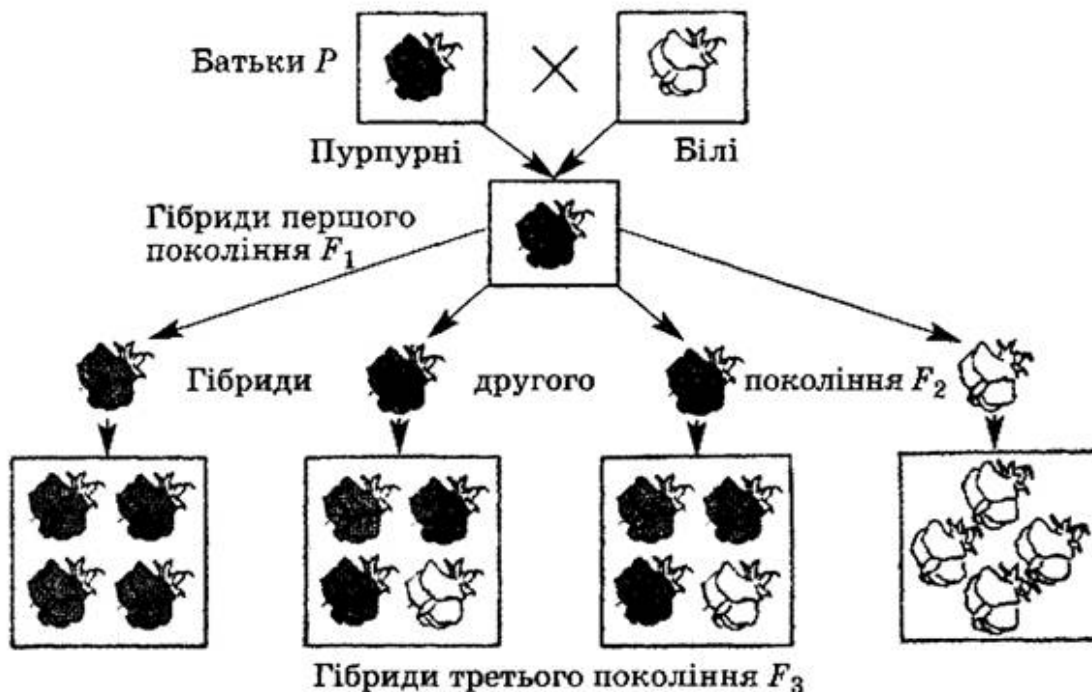
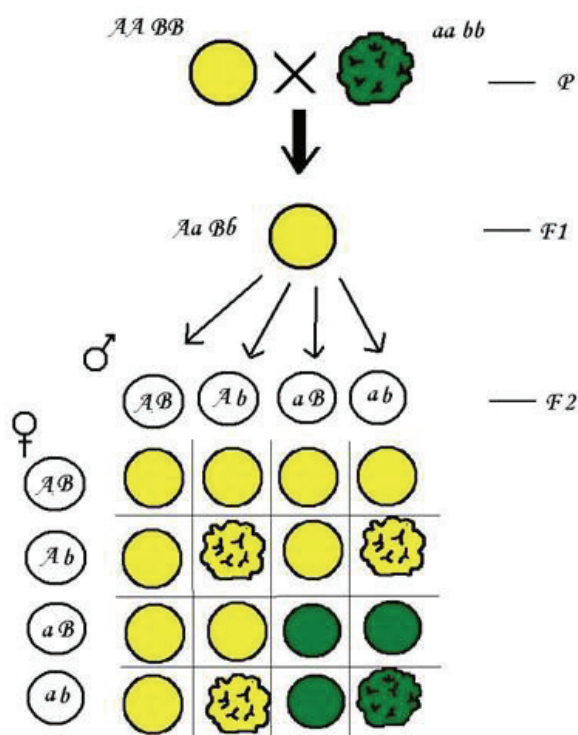


Рис. 3.1. – Розщеплення в гібридних поколіннях при моногенному спадкуванні

Для спадкового задатку домінантного типу Мендель запропонував позначення А, а рецесивного – а. У 1909 році задатки були названі англійським генетиком У. Бетсоном *генами*.

Організми, що схрещуються, зазвичай відрізняються багатьма ознаками. Г. Мендель, проаналізувавши спадкування двох і більше ознак, встановив, що кожна з них успадковується незалежно одна від одної. Він здійснив гібридизацію гомозиготних рослин гороху, які відрізнялися за двома парами альтернативних ознак: насінини жовті гладкі та насінини зелені зморшкуваті. Згідно з теорією ймовірності, можливість суміщення двох ознак в одному організмі має відповідати добутку ймовірностей появи кожного з них окремо. Якщо за забарвленням насіння при моногібридному схрещуванні в  $F_2$  спостерігається розщеплення  $\frac{3}{4}$  жовтих,  $\frac{1}{4}$  зелених, то при дигібридному схрещуванні в другому поколінні має бути  $\frac{9}{16}$  жовтих гладких,  $\frac{3}{16}$  жовтих зморшкуватих,  $\frac{3}{16}$  зелених гладких,  $\frac{1}{16}$  зелених зморшкуватих, оскільки визначається добуток розщеплення за кожною парою ознак окремо:  $(\frac{3}{4} A- : \frac{1}{4} aa) \times (\frac{3}{4} B- : \frac{1}{4} bb) = \frac{9}{16} A-B- : \frac{3}{16} A-bb : \frac{3}{16} aaB- : \frac{1}{16} aabb$  (рис. 3.2).



**Рис. 3.2.** – Розщеплення ознак у потомстві  $F_2$  при дигібридному схрещуванні

Дійсно, немов би підтверджуючи правило домінування та закон одноманітності гібридів першого покоління, в досліді Менделя все потомство  $F_1$  складалося з рослин з гладкими та жовтими насінинами. Після самозапилення гібридів  $F_1$  в другому поколінні серед 556 насінин 315 були жовтими гладкими, 101 насінина – жовта зморшкувата, 108 насінин – зеленими гладкими, 32 – зеленими зморшкуватими.

Якщо проаналізувати чисельні співвідношення потомства за кожною парою альтернативних ознак окремо, то виявляється наступна закономірність: у разі забарвлення насіння (жовті-зелені) в сумі виходить 416 жовтих (315+101) і 140 зелених (108+32), і співвідношення між цими ознаками буде приблизно 3:1. Подібні обчислення можна зробити за іншою парою альтернативних ознак (гладкі-зморшкуваті насінини): 423 гладких (315+108) і 133 зморшкуватих (101+32). У цьому випадку розщеплення також буде 3 : 1. Таким чином, формулу розщеплення за фенотипом  $F_2$ : 9 : 3 : 3 : 1 можна представити у вигляді  $(3:1) \times (3:1) = (3+1)^2$ . Отже, при дигібридному схрещуванні (AaBb × AaBb) ми маємо справу з поєднанням двох окремих незалежних один від одного моногібридних схрещувань:  $9/16 A-B- + 3/16 aaB- + 3/16 A-bb + 1/16 aabb = (3/4 A- + 1/4 aa) \times (3/4 B- + 1/4 bb)$ .

На основі виявлених закономірностей Г. Мендель сформулював наступний закон спадковості – **закон незалежного розподілення ознак (незалежного комбінування генів)**:

*при схрещуванні гібридів  $F_1$ , які відрізняються двома або більшою кількістю пар ознак, кожна пара ознак піддається розщепленню незалежно одна від одної, у результаті чого в потомстві  $F_2$  виникають нові комбінації ознак, які не зустрічалися в батьків:*

$F_1$ : AaBb × AaBb

гладкі жовті

G♀: Ab; AB; aB; ab

G♂: Ab; AB; aB; ab

$F_2$ : 9 A-B- : 3 aaB- :

3 A-bb: 1 aabb

круглі зморщкуваті

круглі зморшкуваті

жовті жовті

зелені зелені

Легко помітити, що отриманий з використанням алгебраїчних формул характер розщеплення за генотипом і фенотипом узгоджується з реальними співвідношеннями, отриманими Р. Менделем в  $F_2$  при дигібридному схрещуванні:

Серед 16 можливих генотипних класів, які утворюють 9 генотипів, на кожний припадає  $556:16 = 34,75$  рослин; тоді частка кожного фенотипного класу складатиме: жовтих гладких –  $315 : 34,75 = 9,06$ ; жовтих зморшкуватих –  $101 : 34,75 = 2,906 (\approx 3)$ ; зелених гладких –  $108 : 34,75 = 3,1$ ; зелених зморшкуватих –  $32 : 34,75 = 0,92 (\approx 1)$ , або 9:3:3:1.

Використовуючи 3-й закон Г. Менделя, можна записати формулу рівного імовірного розподілу алелей між гаметами наступним чином:  $(A : a) \times (B : b) = AB : Ab : aB : ab$ .

Перевірка цього припущення була проведена самим Менделем з використанням **аналізуючого схрещування** ( $AaBb \times aabb$ ), в якому співвідношення фенотипових класів має відображати співвідношення типів гамет у гібридів  $F_1$ :

$$F_1: AaBb \times aabb$$

$$F_2: \frac{1}{4} AaBb : \frac{1}{4} Aabb : \frac{1}{4} aaBb : \frac{1}{4} aabb$$

Дійсно, в одному з дослідів в аналізуючому схрещуванні ним були отримані наступні співвідношення насінин у рослин: 31 круглі жовті ( $AaBb$ ), 26 круглі зелені ( $Aabb$ ), 27 зморшкуваті жовті ( $aaBb$ ), 26 зелені зморшкуваті ( $aabb$ ).

Пізніше, в 1903 році цитолог Сеттон пояснив механізм розщеплення контрастних ознак розходженням гомологічних хромосом в анафазі I мейозу, оскільки кожна хромосома містить лише один алель певного гена, а всього їх в даному локусі (ділянці) хромосоми диплоїдного організму може бути не більше двох. Незалежне розходження негомологічних хромосом у мейозі є одним із механізмів виникнення **комбінативної мінливості**, яка має велике значення для еволюції та селекції.

Надалі Г. Мендель провів експеримент, в якому для схрещування були взяті батьківські форми, що відрізнялися за трьома парами альтернативних ознак:

забарвлення насіння – жовта та зелена;

форма насіння – гладка і зморшкувата;

забарвлення насінної шкірки – сіро-чорна і біла.

У результаті ним було отримано вісім різних фенотипних класів потомства:

$$P: AABbCC \times aabbcc$$

$$G_{\text{♀}}: ABC; \quad G_{\text{♂}}: abc$$

$$F_1: AaBbCc \times AaBbCc$$

$$F_2: 27A-B-C- : 9A-B-cc : 9A-ввC- : 9aaB-C- : 3A-ввcc : 3aaB-cc : 3aаввC- : 1aаввcc$$

Таке розщеплення за фенотипом можна одержати, якщо знайти добуток розщеплення за кожною ознакою окремо:  $(3A - + 1aa) \times (3B- + 1вв) (3C- + 1cc)$ , або за генотипом:  $(1AA + 2Aa + 1aa) (1BB + 2Bb + 1вв) (1CC + 2Cc + 1cc)$ .

Співвідношення фенотипів у другому поколінні тригібридного схрещування можна визначити також методом «гіллястої діаграми», що базується на законах ймовірності, встановлених при моно – та дигібридному схрещуванні (**рис. 3.3**).

Число можливих комбінацій гамет і кількість класів розщеплення за фенотипом і генотипом можна визначити, не вдаючись до складання сітки Пеннета. Користуючись простими формулами, можна визначити число типів гамет у гібридів  $F_1$ ,

кількість генотипних і фенотипних класів, кількість можливих комбінацій гамет при одержанні нащадків  $F_2$  для будь-якого схрещування (моногібридного, дигібридного або полігібридного):

кількість можливих типів гамет дорівнює  $2^n$

кількість генотипних класів в  $F_2$  дорівнює  $3^n$

кількість фенотипних класів в  $F_2$  дорівнює  $2^n$

кількість гомозиготних класів дорівнює  $2^n$

кількість можливих комбінацій гамет дорівнює  $4^n$ ,

де  $n$  – кількість пар альтернативних ознак, за якими розрізняються вихідні форми.

A (a)	B (b)	C (c)	Загальне співвідношення
$\frac{3}{4} A-$	$\frac{3}{4} B-$	$\frac{3}{4} C-$	$\rightarrow (\frac{3}{4})(\frac{3}{4})(\frac{3}{4}) A-B-C- = 27/64 A-B-C-$
		$\frac{1}{4} c$	$\rightarrow (\frac{3}{4})(\frac{3}{4})(\frac{1}{4}) A-B-c = 9/64 A-B-c$
	$\frac{1}{4} b$	$\frac{3}{4} C-$	$\rightarrow (\frac{3}{4})(\frac{1}{4})(\frac{3}{4}) A-bC- = 9/64 A-bC-$
		$\frac{1}{4} c$	$\rightarrow (\frac{3}{4})(\frac{1}{4})(\frac{1}{4}) A-bc = 3/64 A-bc$
$\frac{1}{4} a$	$\frac{3}{4} B-$	$\frac{3}{4} C-$	$\rightarrow (\frac{1}{4})(\frac{3}{4})(\frac{3}{4}) aB-C- = 9/64 aB-C-$
		$\frac{1}{4} c$	$\rightarrow (\frac{1}{4})(\frac{3}{4})(\frac{1}{4}) aB-c = 3/64 aB-c$
	$\frac{1}{4} b$	$\frac{3}{4} C-$	$\rightarrow (\frac{1}{4})(\frac{1}{4})(\frac{3}{4}) abC- = 9/64 abC-$
		$\frac{1}{4} c$	$\rightarrow (\frac{1}{4})(\frac{1}{4})(\frac{1}{4}) abc = 1/64 abc$

**Рис. 3.3.** – Співвідношення фенотипів у другому поколінні тригібридного схрещування ААВВСС х ааbbcc

Експерименти, проведені Г. Менделем у період з 1856 по 1863 р., відрізняються глибиною та логічністю, чіткою продуманістю та обґрунтованістю висновків. Результати робіт з садовим горохом були представлені Г. Менделем на початку 1865 р. на засіданні Товариства природознавців, опубліковані в 1866 р. у праці «Досліди над рослинними гібридами». Сформульовані вище закони Менделя правильніше вважати законами спадкування. На основі результатів його робіт базуються наступні закони та принципи спадковості:

- 1) принцип матеріальності спадковості;
- 2) закон дискретної (генної) спадкової детермінації ознак;
- 3) закон відносної постійності (консервативності) гена;
- 4) закон алельного стану гена.

Своїми дослідженнями Мендель встановив одне з принципово важливих для біології положень, а саме: ознаки (властивості) організму успадковуються окремо і при схрещуванні не зникають

в поколіннях, а зберігаються. Це відкриття стало чудовим підкріпленням вчення Ч. Дарвіна та його теорії про походження видів шляхом природного добору. Воно дозволило пояснити механізм, за допомогою якого пристосувальні ознаки (властивості) організмів не поглинаються схрещуванням, а зберігаються і можуть накопичуватися в поколіннях під дією природного добору.

### 3.3. Типи схрещувань

Припущення Менделя про утворення гібридом  $F_1$  двох типів гамет у рівному їх співвідношенні підтверджено за допомогою **аналізуючого схрещування**, яке є обов'язковим елементом системи гібридологічного аналізу – схрещування гібрида  $F_1$  з рецесивною батьківською формою. Потомство від такого схрещування позначають  $F_a$ :

P:	фенотип:	сіра × чорний
	генотип:	$Aa \times aa$
	$G_{\text{♀}}$ :	$A; a$
	$G_{\text{♂}}$ :	$a; a$
	генотип $F_a$ :	$Aa; Aa; aa; aa$
	фенотип:	$\frac{1}{2}$ сірі : $\frac{1}{2}$ чорні

В  $F_a$  розщеплення за генотипом і фенотипом співпадають. Це схрещування дозволяє аналізувати генотип гібрида. Якщо від такого схрещування все потомство має один фенотип, то це означає, що батьківська особина, генотип якої аналізується, є гомозиготною; якщо ж відбувається розщеплення, то вона є гетерозиготною.

Тип схрещування, коли гібридне потомство одноразово чи багаторазово схрещують з однією з батьківських форм, називають **зворотним схрещуванням**, або **беккросом**. У природних умовах повторні схрещування спонтанних гібридів з однією з батьківських форм називаються **інтрогресивною гібридизацією**. В практиці селекційної роботи беккроси називають повторними схрещуваннями; вони використовуються, якщо необхідно посилити в гібриді ознаку одного з батьків. Цей тип схрещування широко застосовується також у тих випадках, коли в цінних за комплексом ознак сортів є дефект, який бажано усунути. Тоді новий сорт став би більш досконалим, розширилися б можливості його практичного використання. При зворотних схрещуваннях той сорт, від якого хочуть взяти основний комплекс ознак, береться при першому схрещуванні зазвичай в якості материнського, а при повторних схрещуваннях він використовується в якості батьківського. Мінливість гібридного потомства при зворотних схрещуваннях зростає. Селекційна мета досягається порівняно швидко.

**Насичуючі та конвергентні схрещування** – це повторні зворотні схрещування. Такі типи схрещувань часто застосовуються при виведенні сортів, стійких до хвороб. При *насихуючих схрещуваннях* ознаки та властивості одного з батьків майже повністю витісняються в гібридів, за винятком небагатьох генів. Щоб уникнути цього небажаного ефекту, розроблена система конвергентних схрещувань. При *конвергентних схрещуваннях* після отримання  $F_1$  подальшу гібридизацію проводять в двох напрямках. В одному випадку гібриди повторно схрещують з материнським сортом, а в другому – з батьківським. У результаті отримують дві зближені лінії. Їх схрещують між собою, а серед гібридного потомства проводять добір. Після зворотних схрещувань і зближення ліній гібридне потомство виявляє менш складний характер розщеплення. Внаслідок цього серед потомства легше знайти бажану комбінацію ознак.

Під час *ступінчастих схрещувань* отриманий від простого схрещування гібрид повторно схрещується не з батьківською формою, а з третім сортом або видом рослин, потім з четвертим і т.д. Таким чином, в цих схрещуваннях беруть участь декілька батьківських форм, які послідовно включаються в гібридизацію. У результаті таких схрещувань створюється гібридний матеріал, який включає спадкові властивості декількох сортів або видів рослин.

**Реципрокні схрещування** – два експериментальних схрещування, що характеризуються прямо протилежним поєднанням статі та досліджуваної ознаки. В одному з них самця, що має певну домінують ознаку, схрещують з рецесивною самкою, у другому – самку з домінують ознакою гібридизують із рецесивним самцем. Такий тип схрещування використовується для виявлення зчеплених зі статтю ознак, для вивчення не хромосомного спадкування, а також дозволяє визначити, від якого з батьків передаються потомству цитоплазматичні спадкові чинники. Для проведення реципрокного схрещування батьківські форми мають бути чистими лініями.

### 3.4. Правило чистоти гамет

За результатами досліджень Мендель запропонував модель спадковості. По-перше, ознаки не передаються безпосередньо від батьків нащадкам, діти успадковують певні дискретні частки, які несуть інформацію про конкретні ознаки. Пізніше ці частки спадковості Мендель назвав «факторами», а в сучасній генетиці вони називаються *генами*. По-друге, кожна особина має по дві



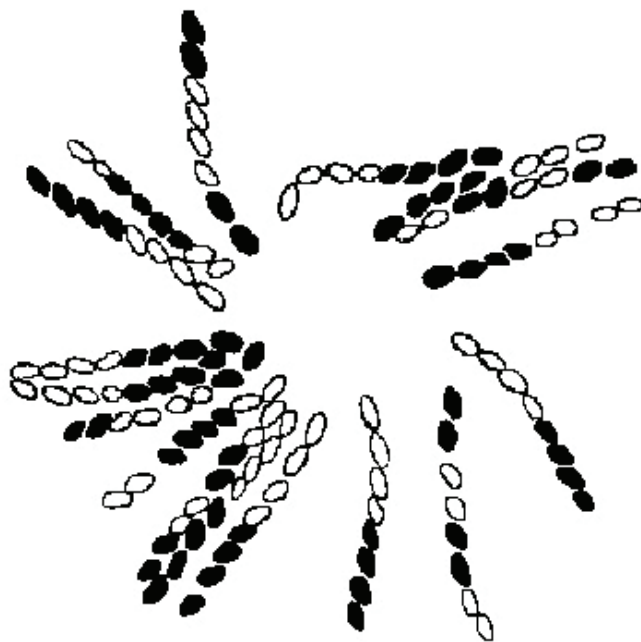
копії кожного типу цих факторів спадковості. Вони можуть бути однаковими або відрізнятись. Біохімічні варіанти будови гена, які визначають різні зовнішні проявлення однієї ознаки (фенотипу), згідно із сучасною термінологією називаються **алелями**. Організми, які несуть два однакові алелі певного гена, називають **гомозиготними** за цим геном, ті, що несуть різні алелі, – **гетерозиготними**. Два алелі одного гену в кожній особини не впливають один на одного, вони не можуть зливатися між собою чи модифікувати один одного, через що залишаються, як висловлювався Мендель, «незабрудненими». Під час утворення статевих клітин (гамет) кожна із них отримує тільки одну із двох наявних у соматичних клітинах «чисту» копію кожного гену. Причому розподіл відбувається порівну: 50% гамет організму, гетерозиготного за певним геном, несуть один алель, а 50% – інший.

Слід зазначити, що Г. Мендель не пов'язував спадкові фактори та процес їх розподілу при утворенні гамет із конкретними матеріальними структурами клітини. Наступні відкриття в області генетики показали, що в менделівській гіпотезі «чистоти гамет» було передбачене існування елементарних дискретних одиниць спадковості та механізм мейозу. Пізніше факт розходження алелей у гетерозигот  $Aa$  в різні гамети (тобто утворення 50 % гамет з алелем  $A$  і 50 % гамет з алелем  $a$ ) отримав експериментальне підтвердження в різних організмів, для яких є можливим провести аналіз успадкування ознак на рівні гаплофази.

Відомо, у більшості нижчих грибів, мохів, деяких одноклітинних водоростей тривалість життя зиготи (диплоїдна фаза) дуже мала, а найтривалішою в життєвому циклі є гаплоїдна фаза. Ця особливість нижчих організмів і дозволяє найбільш успішно застосовувати до них **тетрадний аналіз** – варіант методу гібридологічного аналізу, який дозволяє вивчати результати мейозу окремих клітин, наприклад, аскоміцетів. Після запліднення і утворення зиготи в аскоміцетів відразу ж починається мейоз, у результаті чого утворюються чотири аскоспори, тобто спори, що знаходяться в одній сумці – аску. Розташування спор в аску може бути різним: або лінійним – по вісі ділення (в нейроспори) (**рис.3.4**), або секторальним (у дріжджів).

Наведемо приклад тетрадного аналізу успадкування забарвлення нейроспори, клітини якої дають червоні та білі колонії. Ці альтернативні ознаки визначаються однією алельною парою гена забарвлення  $A$ . При злитті гаплоїдних гамет утворюється диплоїдна зигота  $F_1$ , яка незабаром вступає в мейоз. У результаті в

одному аску в ряд розміщується тетрада гаплоїдних спор. Розрізавши аск і вийнявши кожну спору окремо, переносять їх на субстрат, де кожна з чотирьох гаплоїдних клітин починає ділитися мітозом, при цьому утворюються чотири колонії, дві з яких червоного, дві – білого кольору. тобто розщеплення точно відповідає співвідношенню  $1A:1a$  (рис.3.4). Оскільки гаплоїдні спори представляють собою по суті гамети, то розщеплення в тетрадах відповідає гаметичному. За частотою появи різних типів тетрад судять про наявність або про відсутність зчеплення між генами та центромерами. При наявності такого зчеплення можна розрахувати відстань між генами або між генами та центромерами.



**Рис. 3.4.** – Лінійний порядок розташування спор в асках нейроспори густої (*Neurospora crassa*)

Ту ж саму картину розщеплення можна простежити і для будь-якої іншої пари ознак, контрольованих однією парою алелей, наприклад для властивості дріжджів зброджувати цукри. Вся сучасна генетика мікроорганізмів базується значною мірою на основі тетрадного аналізу. Цей аналіз доводить, що розщеплення ознак при моногібридному схрещуванні є результатом мейотичного розподілення генів по гаметах.

При вивченні мікрогаметогенезу рослин встановлено, що в результаті двох мейотичних поділів материнської клітини пилку утворюється клітинна тетрада з чотирьох мікроспор. Якщо ці чотири мікроспори утворилися дійсно з однієї клітини з генотипом  $Aa$ , то в тетраді мікроспор має спостерігатися розщеплення за даним геном у співвідношенні  $2A: 2a$ . Але в покритонасінних склад

тетради врахувати неможливо, оскільки зрілі пилкові зерна (мікроспори) з однієї тетради втрачаються при дозріванні пиляка. Але в кукурудзи є пара алелей ( $W$  і  $w$ ) гена, який визначає відповідно крохмалистий та воскоподібний типи ендосперму та одночасно крохмалистий та воскоподібний типи пилкових зерен. Домінантний алель  $W$  контролює утворення крохмалю в пилковому зерні, а його алеломорф  $w$  – утворення еритродекстрину. На відміну від крохмалю еритродекстрин забарвлюється йодом не в синій, а в червоний колір. Після обробки пилку гетерозиготних рослин ( $Ww$ ) йодом половина пилкових зерен забарвлюється в синій, половина – в червоний колір, їх можна підрахувати. Розщеплення відповідає теоретично очікуваному (1:1).

У 1902 р. У. Бетсон на основі результатів досліджень, отриманих Г. Менделем, сформулював **правило чистоти гамет**: у гетерозиготному стані спадкові фактори не змішуються, не зливаються між собою, а при утворенні гамет в кожен надходить лише один алель кожного фактора, тобто вони розходяться в гамети «чистими». Чистота гамет забезпечує розщеплення та проявлення будь-якої ознаки батьківської особини при збереженні рецесивного алеля в гетерозиготі та його перехід у гомозиготний стан при певному схрещуванні.

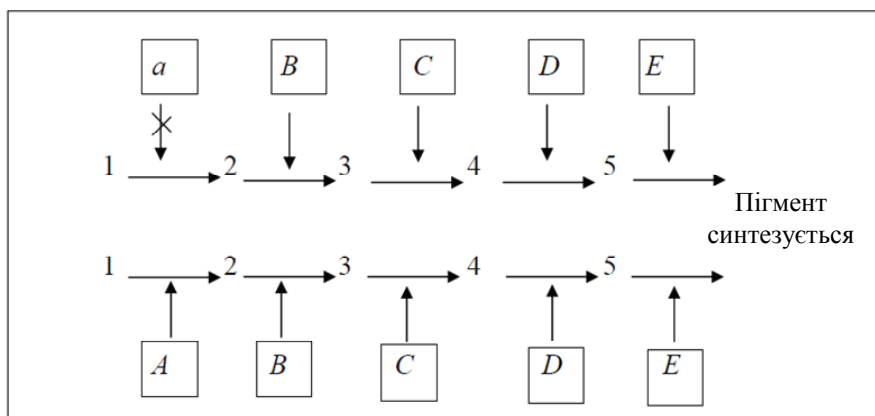
### 3.5. Біохімічні механізми виникнення алелей генів

Який біохімічний механізм лежить в основі виникнення домінантного чи рецесивного алеля певного гена? Нині для деяких ознак встановлена природа рецесивних мутацій. Наприклад, відмінності за формою насіння спричинені тим, що в зморшкуватих насінинах відсутній амілопектин, який не синтезується у мутантних форм внаслідок відсутності відповідного ферменту. За сучасними даними, інактивація гена, що контролює синтез цього ферменту, пов'язана з вбудовуванням у його склад мігруючого генетичного елемента (транспозону). Аналогічно відмінності у забарвленні квіток пов'язані з мутацією в одному з генів, що контролює синтез антоціанового пігменту.

Розглянемо приклад із забарвленням квіток у садового горошку. Червоно-фіолетове забарвлення квіток обумовлено синтезом пігменту антоціану. Ця сполука ароматичної природи, схема синтезу якої представлена на **рис. 3.5**.

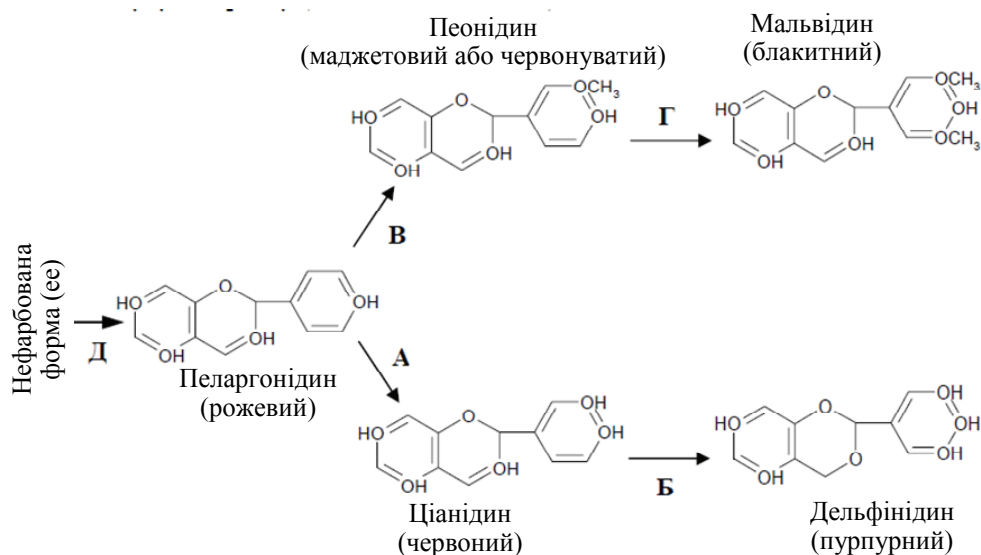
У клітинах із домінантним генотипом за даною ознакою (ознака дикого типу) всі етапи біосинтезу пігменту працюють нормально, пігмент, що синтезується, забарвлює квітки в

пурпурний колір. Рецесивна мутація одного з генів (А, В, С, D або Е) повністю блокує відповідний біосинтетичний шлях. Якщо рослина є рецесивною гомозиготою, то обидва шляхи заблоковані. Оскільки сполука 1 є незабарвленим попередником пігменту, квітки білі. Якщо ж рослина є гетерозиготою, один біосинтетичний шлях не працює (мутація рецесивна), але пігмент синтезується за рахунок іншого шляху, в результаті чого домінантна ознака проявляється – квітки забарвлені.



**Рис. 3. 5.** – Схема синтезу антоціанового пігменту в клітинах квіток садового гороху (цифрами вказані проміжні продукти шляху синтезу пігменту, латинськими буквами – гени, що кодують синтез відповідних ферментів. Попередник пігменту – сполука 1 не дає забарвлення)

Колір антоціанових пігментів залежить від наявності певних угруповань у складі молекули фенольного кільця, що визначають ступінь його окислення (**рис. 3.6**).



**Рис. 3.6.** – Шляхи синтезу антоціанових пігментів

Це, в свою чергу, пов'язано з мутаціями в відповідних генах, які спричинюють блокування ферментів, що здійснюють певну окислювальну реакцію. Наприклад, дельфінідин (пурпурного

кольору) у позиціях 3, 4 і 5 містить три ОН-групи. Мутантні форми пігменту, які мають меншу кількість ОН-груп, проявляють інше забарвлення, наприклад, ціанідин (дві ОН-групи в позиціях 3 і 4) забарвлює в червоний, а пеларгонідин (одна ОН-група в позиції 4) – в рожевий колір. Наявність двох СН<sub>3</sub>-груп дає блакитне забарвлення (пігмент мальвідин).

### 3.6. Визначення ймовірності появи потомства певного генотипу чи фенотипу

У генетичному аналізі, виходячи з того, що гамети, які несуть алель (А) і алель (а) у гетерозиготного батька, утворюються рівноймовірно (з частотою  $\frac{1}{2}$ ), користуючись правилом множення ймовірностей, можна встановити ймовірність появи того чи іншого генотипного класу. Правило множення ймовірностей свідчить, що ймовірність спільного здійснення двох або більшої кількості незалежних одна від одної подій дорівнює добутку ймовірностей кожного з окремо взятих подій. Наприклад, необхідно визначити ймовірність появи дітей-альбіносів у гетерозиготних за цим геном батьків, якщо в сім'ї планується мати трьох дітей. За законом розщеплення, ймовірність народження дитини-альбіноса (аа) у двох гетерозиготних батьків (Аа × Аа) дорівнюватиме  $\frac{1}{4}$ . Оскільки в сім'ї передбачається мати трьох дітей, то ймовірність того, що всі з них виявляться альбіносами, дорівнює:  $\frac{1}{4}$  (аа) ×  $\frac{1}{4}$  (аа) ×  $\frac{1}{4}$  (аа) =  $\frac{1}{64}$ .

Ускладнимо завдання і розрахуємо, яка ймовірність народження в такій сім'ї першого альбіноса і потім двох нормальних дітей:  $\frac{1}{4}$  (аа) ×  $\frac{3}{4}$  (А-) ×  $\frac{3}{4}$  (А-) =  $\frac{9}{64}$ .

Ймовірність появи другої дитини альбіноса, а першої і третьої нормальної також дорівнюватиме  $\frac{9}{64}$ . Для того щоб визначити, яка ймовірність народження в цій сім'ї альбіноса (будь-якого по рахунку) і двох здорових дітей, додаємо ймовірності за кожним випадком:  $\frac{9}{64} + \frac{9}{64} + \frac{9}{64} = \frac{27}{64}$ . Правило додавання ймовірностей свідчить, що ймовірність двох незалежних подій дорівнює сумі ймовірностей кожного з них.

Якщо ми хочемо знати ймовірність народження альбіносів і нормальних дітей у сім'ї, де планують мати п'ятеро дітей, розрахунок стає більш складним. У цьому випадку використовують формулу біноміального розподілу:  $(a + b)^n$ , де а – ймовірність появи альбіноса; b – ймовірність появи нормальної дитини; n – можлива кількість дітей.

Формула біноміального розподілу буде мати вигляд:

$$(a + b)^5 = a^5 + 5a^4 b + 10a^3 b^2 + 10a^2 b^3 + 5ab^4 + b^5.$$

У нашому випадку ймовірність появи альбіноса (а) дорівнює  $\frac{1}{4}$ , b (ймовірність появи нормальних дітей) дорівнює  $\frac{3}{4}$ . Перший член формули ( $a^5$ ) позначає ймовірність появи всіх п'яти альбіносів, другий член ( $5a^4 b$ ) – ймовірність події, коли четверо дітей-альбіносів і один нормальний, третій член ( $10a^3 b^2$ ) – ймовірність події, коли троє дітей альбіноси та двоє нормальних і т.д. Підставляючи числові значення для кожного члена, можна визначити ймовірність тієї чи іншої події. Наприклад, ймовірність того, що двоє дітей будуть альбіносами, а троє будуть нормальними, дорівнює:  $10a^2 b^3 = 10(\frac{1}{4})^2 (\frac{3}{4})^3 = 270/1024 = 0,26$ .

### 3.7. Умови, за яких успадкування ознак відбувається за законами Менделя

Менделівські закономірності спадкування ознак є універсальними для різних видів рослин і тварин, що підтвердили в своїх дослідках у 1900 р. незалежно один від одного *Гуго де Фриз* у Голандії (на енотері), *Карл Корренс* у Німеччині (на кукурудзі), *Еріх Чермак* в Австрії (на гороху). Встановлені Менделем закономірності розщеплення проявляються за наступних умов:

- 1) рівна ймовірність утворення гамет всіх типів під час мейозу;
- 2) однакова життєздатність гамет;
- 3) відсутність вибіркості запліднення;
- 4) однакова життєздатність зигот;
- 5) гени, що контролюють ознаки, локалізуються в різних хромосомах;
- 6) спостерігається повна домінантність;
- 7) гени є алельними, тобто знаходяться в однакових локусах гомологічних хромосом;
- 8) досліди проводяться на великій вибірці;
- 9) функція генів проявляється повністю, тобто спостерігається повна пенетрантність та експресивність гена;
- 10) продукти активності неалельних генів (білки, ферменти, пігменти) не взаємодіють між собою біохімічно.

Порушення того чи іншого критерію викликає відхилення від очікуваного розщеплення за фенотипом у гібридів  $F_2$ , які можна розділити на дві групи:

- 1) відхилення в співвідношенні фенотипних класів, що спостерігаються за незалежного спадкування генів (розщеплення за генотипом не змінюється);
- 2) відхилення, що пояснюються особливостями спадкування окремих генів (зчеплених зі статтю, зчеплених в одній хромосомі, цитоплазматичних).

У першому випадку причиною невідповідності фактичного кількісного співвідношення фенотипних класів  $F_2$  менделівським теоретично очікуваним статистичним їх співвідношенням є взаємодія продуктів експресії алельних і неалельних генів (в обох випадках розщеплення в  $F_2$  за генотипом відповідає менделівському, змінюється лише розщеплення за фенотипом).

### 3.8. Причини відхилення від очікуваного розщеплення. Взаємодія алельних генів

Найчастіше причинами порушень статистичних закономірностей менделівського розщеплення ознак при *моногенному* спадкуванні є:

- неповне домінування;
- кодомінування;
- наддомінування;
- вибіркова смертність генотипу, спричинена дією летального домінантного чи рецесивного гена (зазвичай у гомозиготному стані);
- неповна пенетрантність або експресивність гена;
- міжалельна комплементация, спричинена явищем множинного алелізму;
- статистичні відхилення, спричинені малою вибіркою.

Порушення хоча б однієї із цих умов спричиняють закономірні відхилення від очікуваного розщеплення в потомстві гібридів.

**3.8.1. Неповне домінування.** За неповного домінування ознаки (проміжного спадкуванні) в першому гібридному поколінні виявляється проміжна ознака, не характерна для батьків. Класичним прикладом неповного домінування є поява у лівового зіву (*Antirrhinum majus*) і нічної красуні (*Mirabilis jalapa*) в потомстві  $F_1$  рослин з рожевими квітками при схрещуванні батьківських форм з червоними і білими квітками. Вперше це явище описав *К. Корренс*. В  $F_1$  квітки у всіх рослин були проміжного рожевого забарвлення, а в  $F_2$  спостерігалось менделівське розщеплення ознак, але з тією лише різницею, що розщеплення за генотипом і фенотипом було однаковим –  $1 : 2 : 1$ :

$P$ : ♀  $AA \times \text{♂ } aa$

червоні білі

$F_1$ : ♀  $Aa \times \text{♂ } Aa$

рожеві рожеві

$G_{\text{♀}}$ :  $A; a$       $G_{\text{♂}}$ :  $A; a$

$F_2$ :  $\frac{1}{4} AA : \frac{2}{4} Aa : \frac{1}{4} aa$

за фенотипом:  $\frac{1}{4} A- : \frac{2}{4} A- : \frac{1}{4} aa$

червоні рожеві білі

У чому причина появи таких фенотипів? Відомо, що забарвлення квіток деяких видів рослин залежить від наявності в їхніх клітинах антоціанового пігменту, а інтенсивність забарвлення – від його концентрації. Синтез пігменту здійснюється в декілька етапів, один з яких (контрольований геном *A*) у даних рослин є лімітуючим – активність ферменту лімітує кількість синтезованого пігменту. При наявності мутації у даному гені в гомозиготному стані пігмент не синтезується і забарвлення квіток біле. У гетерозиготному стані *Aa* активність ферменту недостатня, щоб забезпечити нормальне забарвлення квіток, у результаті чого вони стають рожевими.

Прикладом неповного домінування у тварин є спадкування забарвлення (масті) великої рогатої худоби. У корів існує три масті: руда (її називають червоною з генотипом *AA*), чала (суміш рудого та білого забарвлення *Aa*) і біла (*aa*). При схрещуванні рудих корів з білими в  $F_1$  все потомство має чалу масть – результат неповного домінування.

В інших видів тварин явище неповного домінування досить поширене. Наприклад, при схрещуванні темних норок (*AA*) з білими (*aa*) в  $F_1$  з'являються білі норки з чорним хрестом на спині (кохінурові), які є гетерозиготами *Aa* з неповним домінуванням. Так само успадковується забарвлення шерсті у морських свинок. Неповне домінування описано і в курей. При схрещуванні чорних (*AA*) і білих (*aa*) курей в першому поколінні всі кури виявляються блакитними (*Aa*) (андалузські кури), а в другому спостерігається розщеплення 1 : 2 : 1.

Явище неповного домінування поширене і в популяціях людини. Відомим прикладом є захворювання серпоподібно-клітинна анемія. Наявність мутації в *Hb*-гені може призвести до формування трьох генотипів, кожен з яких має свій фенотип:

$Hb^A Hb^A$  – людина повністю здорова. Еритроцити нормальної форми (вогнуто-круглі).

$Hb^A Hb^S$  – вираженої анемії немає. Еритроцити серпоподібної форми тільки при низькій концентрації кисню.

$Hb^S Hb^S$  – анемія з летальним результатом. Еритроцити серпоподібної форми.

Алель  $Hb^A$  є домінантним, проте щодо форми еритроцитів алелі  $Hb^A$  і  $Hb^S$  проявляють неповне домінування.

Ще одним прикладом неповного домінування у людей є проявлення патологічних ознак при сімейній формі гіперхолестеринемії. Причиною захворювання є порушення транспорту холестерину в клітини, де він використовується як



компонент клітинних мембран, а також для синтезу жовчних кислот і стероїдних гормонів. Транспорт холестерину всередину клітини здійснюється за допомогою ліпопротеїнів низької щільності (ЛПНЩ). Захворювання спричинене дефектом гена, який кодує синтез ЛПНЩ-рецептора на поверхні клітин. У гетерозигот рецептори відсутні, і холестерин з крові у таких людей видалається недостатньо. З віком (після 35 років) його концентрація в крові зростає, що спричинює виникнення серцево-судинних захворювань. У домінантних гомозигот рівень холестерину в крові перевищує норму більш ніж у 6 разів вже у ранньому віці, що веде до раннього (юнацького) атеросклерозу і ранньої смертності (до 20 років). Оскільки при гіперхолестеринемії у домінантних гомозигот спостерігається різке посилення проявлення ознак хвороби, ніж у гетерозигот, це захворювання служить прикладом неповного домінування.

**3.8.2. Кодомінування** – проявлення у гетерозиготному стані ознаки, що контролюється обома домінантними алелями. Наприклад, кожний з алельних генів кодує певний білок, а у гетерозиготного організму синтезуються вони обидва. У таких випадках шляхом біохімічного дослідження можна встановити гетерозиготність без проведення аналізуючого схрещування. За типом кодомінування у людини успадковується четверта група крові: алелі  $I^A$  та  $I^B$  при сполученні їх в зиготі визначають проявлення нової ознаки – групи крові  $AB$  (IV). Визначення груп крові має велике значення не тільки для медицини, але і для судово-слідчої практики.

**3.8.3. Наддомінування.** При моногібридному схрещуванні може спостерігатися *наддомінування*, коли гетерозигота має переваги в життєздатності, плодючості, адаптованості в порівнянні з обома гомозиготами (домінантною та рецесивною), що виражається формулою  $AA < Aa > aa$ ; при множинному алелізмі –  $A_1 A_1 < A_1 A_2 > A_2 A_2$ . В основі цього явища лежить більш високий рівень розвитку ознаки (фенотипу) у гетерозигот порівняно з гомозиготними комбінаціями алелей  $AA$  або  $aa$ . Явище наддомінування може спостерігатися у гібридів першого покоління при схрещуванні вихідних гомозиготних батьківських форм певного генотипу, а також на популяційному рівні, коли гетерозиготи мають переваги у відповідних умовах середовища (таке явище носить назву *гетерозиготної адаптивної норми*).

Із наддомінуванням пов'язане явище *гетерозису*, тобто посилення корисних ознак у гетерозиготного організму. Причини гетерозису сьогодні остаточно ще не встановлені. Найчастіше в

основі цього явища лежить поєднання в гібридах вихідних батьківських генотипів вигідної для потомства комбінації генів. Прикладом гетерозисних гібридів є подвійні міжлінійні гібриди кукурудзи. Ще в 1910 р. було запропоновано використовувати насіння гетерозисних гібридів ( $F_1$ ) в комерційних цілях. Гібридне насінництво використовується нині при вирощуванні багатьох сільськогосподарських культур, включаючи овочеві – огірки, томати, горох. У тваринництві поширені товарні гібриди бройлерних курчат, гібридів свиней, рогатої худоби.

При *адаптивній формі гетерозису* в популяціях йде добір на підвищення пристосованості гібридних форм до умов середовища, їх конкурентоспроможності в боротьбі за існування. При цьому спостерігається постійне виникнення гомозиготних форм, а гетерозиготні форми одержують чисельну перевагу. Відомим прикладом такого явища служить поширення мутантного гена  $Hb^s$ , що спричинює серпоподібноклітинну анемію. Люди, гомозиготні за мутантним  $Hb^s$ -геном (генотип  $Hb^sHb^s$ ), мають аномальний тип гемоглобіну (еритроцити деформуються і стають серпоподібної форми), що призводить до «крихкості» еритроцитів та їх руйнування, підвищення в'язкості крові, зменшення швидкості кровообігу, закупорки дрібних капілярів, що є причиною високої смертності в дитячому та юнацькому віці.

Незважаючи на те, що еритроцити людей, гетерозиготних по  $Hb$ -гену, містять обидва типи гемоглобіну –  $Hb^A$  і  $Hb^S$ , вони є цілком здоровими та не мають явних патологічних симптомів. Тільки при значних фізичних навантаженнях або при зниженні концентрації кисню в повітрі їхні еритроцити набувають характерної серпоподібної форми, в результаті чого виникають симптоми, характерні для серпоподібноклітинної анемії; при цьому може виникнути гемолітичний криз або тромбоз капілярів.

Ареалом поширення  $Hb^AHb^S$ -гетерозигот є екваторіальна Африка та Середземноморський регіон, де до 40% людей є носіями алеля серпоподібноклітинної анемії. Це пов'язано з тим, що в районах поширеності тропічної малярії, якими є вищезазначені регіони, еритроцити гетерозигот є стійкими до малярійного плазмодію *Plasmodium falciparum*. Оскільки малярія є ендемічним захворюванням у зазначених районах, ймовірність зараження людей з нормальним гемоглобіном  $Hb^AHb^A$ , що проживають на даних територіях, є досить високою, що значно підвищує рівень їх смертності. Явище наддомінування в разі серповидно клітинної анемії можна відобразити формулою:  $Hb^S Hb^S < Hb^AHb^S > Hb^AHb^A$ .

Інший приклад наддомінування – забарвлення метеликів березового п'ядуна *Biston betularia*. Це класичний приклад *індустріального меланізму*. Відомо, що до XIX століття в природі переважаючим було світле забарвлення метеликів. Викиди сажі та диму призвели до відмирання лишайників і потемніння стовбурів дерев, і, як наслідок, в природі чисельно стали переважати метелики темного кольору, оскільки темний колір тіла став захисним забарвленням від ворогів – птахів, які ними харчуються (на темних стовбурах дерев такі темні метелики були непомітними). Забарвлення п'ядунів визначається трьома алелями: одним рецесивним і двома домінантними. Тому, використовуючи формулу:  $n(n+1):2$ , де  $n$  – кількість алелей, можна визначити, що в даному випадку можливим є формування шести генотипів, п'ять з яких матимуть домінантні алелі. Явище *індустріального меланізму* пов'язано із зникненням в популяції рецесивних гомозигот і переважанням домінантних гетерозигот із більш темним захисним забарвленням.

**3.8.4. Вибіркова смертність генотипу, спричинена дією летального гена.** У період становлення генетики були описані випадки, коли при схрещуванні особин з однаковим фенотипом постійно відбувалося розщеплення у співвідношенні  $2:1$ . Нині відомі випадки такого розщеплення при схрещуванні жовтих мишей, платинових лисиць, сріблясто-соболіних норок, коротконогих курей, лінійних (луска тільки на боковій лінії) коропів, сірих каракулевих овець, людей, хворих на ахондроплазію (карлики з нормальними за розмірами головою і тулубом). Можна припустити, що в цьому випадку домінантний алель у гомозиготному стані є летальним. Дійсно, деякі гени у гомозиготному стані викликають загибель зиготи, тому відповідний клас особин в  $F_2$  не з'являється, хоча генотипи в  $F_2$  утворюються із звичайною ймовірністю ( $1AA:2Aa:1aa$ ). Гомозиготні організми за деякими (як рецесивними, так і домінантними) генами опиняються нежиттєздатними. Наприклад, домінантний алель сірого забарвлення шерсті каракульських овець у гомозиготному стані викликає загибель ягнят унаслідок недорозвинення травної системи. У людини аналогічно успадковується домінантний ген брахідактилії (короткопалості): ознака проявляється при гетерозиготності індивіда, у гомозигот цей ген призводить до загибелі зародків на ранніх етапах розвитку.

**3.8.5. Неповне проявлення функції гена за певних умов** зустрічається досить часто і може обумовлюватися неповною пенетрантністю або неповною експресивністю гена, що контролює

ознаку. Обидва поняття – пенетрантність та експресивність – були введені у 1925 році радянським популяційним генетиком *М.В. Тимофєєвим-Ресовським* для визначення варіюючого проявлення гена, яке супроводжується появою нових фенотипних класів залежно від умов навколишнього або генотипного середовища.

Та ж сама мутантна ознака може проявлятися в одних і не проявлятися в інших особин спорідненої групи. Здатність певного гена проявляти себе фенотипно називається **пенетрантністю**. Пенетрантність визначається за відсотком особин в популяції, що мають мутантний фенотип. При *повній пенетрантності* (100%) мутантний ген проявляє свою дію в кожній особині популяції. За *неповної пенетрантності* (менше 100%) ознака проявляється не у всіх особин відповідного генотипу. Наприклад, пенетрантність 75% означає, що тільки в 75% особин, які мають в генотипі цей алель, проявляється його фенотипний ефект. Ознакою з неповною пенетрантністю є полідактилія (надмірна кількість пальців): особи, що несуть ген полідактилії у гетерозиготному стані, виявляють цю аномалію менше, ніж в половині випадків. Ген білого забарвлення кішок *W* є повністю пенетрантним щодо забарвлення (100%) і не повністю пенетрантним щодо супутніх білому забарвленню ознак блакитноокості (близько 70%) і глухоти (близько 40%). Ступінь пенетрантності може сильно змінюватися під впливом умов середовища.

Часто особини, що мають однаковий генотип стосовно певної спадково обумовленої ознаки, дуже сильно розрізняються за її експресивністю, тобто за ступенем проявлення цієї ознаки. Той самий ген у різних особин в залежності від впливу генів-модифікаторів і зовнішнього середовища може проявити себе фенотипно по-різному.

**Експресивність алеля** – ступінь його фенотипного проявлення в певного організму залежно від його взаємодії із зовнішніми умовами та генотипним середовищем (дії інших генів). На відміну від пенетрантності, яка вказує, у якої частини особин у популяції проявляється певна ознака, експресивність відноситься до мінливості ознаки в особин, в яких вона проявляється. Наприклад, у примули рожеве забарвлення квітки (*A*-) спостерігається тільки при температурі 15-20°C. Якщо температуру підняти до 30-35°C, з бутонів розквітають білі квітки. Разом з тим навіть при 30°C проявлення забарвлення може варіювати. Така картина відмінностей у проявленні ознаки залежно від умов середовища називається експресивністю. Це явище передбачає різну ступінь проявлення варіюючої ознаки в організмів, однакових за генотипом. Експресивність виражають кількісно.

Фенотипна експресія аномального генотипу може модифікуватися ефектами старіння, іншими генетичними локусами або факторами навколишнього середовища. У медицині відмінності в експресії генів можуть часто призводити до труднощів в інтерпретації діагнозу та родоvodu. Існують два різних механізми, які можуть пояснити відмінності в експресії: знижена пенетрантність і варіабельна експресивність. Навіть в межах одного родоvodu деякі хворі однієї родини вражені сильно, інші – мають незначні симптоми захворювання. Експресивність і пенетрантність ознаки залежать від особливостей генотипу, дози гена (кількості його копій у геномі), положення гена (місця його розташування на хромосомі).

**3.8.6. Міжалельна комплементація. Множинний алелізм.** Елементарною одиницею спадковості, що визначає будь-яку ознаку організму, є ген – певна ділянка молекули ДНК (послідовність нуклеотидів), що визначає синтез одного поліпептиду, або молекули тРНК чи рРНК. Ген може знаходитися в двох альтернативних станах – алель дикого типу та мутантний алель. Вставка, випадіння, заміна того чи іншого нуклеотиду спричинює мутації у межах даного гена. Отже, в гені може бути стільки мутацій, скільки в ньому міститься нуклеотидів і, відповідно, стільки ж може бути алельних станів того ж самого гена.

Для деяких генів з'ясовано, що кожний їхній алельний стан може проявитися новою ознакою. **Множинний алелізм** – різне фенотипне проявлення алелей того ж самого гена. Це явище демонструє множинність станів гена, які проявляються різноманітними ознаками. Якщо домінантний алель позначити  $A$ , рецесивний –  $a$ , то множинні алелі цього гена позначаються:  $A_1, A_2, A_3, A_4$  або  $a_1, a_2, a_3, a_4$  і т. д. Серію множинних алелей одного гена можна розташувати в ряд, в якому кожний член серії є домінантним по відношенню до наступного, але рецесивний відносно попереднього:  $A > A_1 > A_2 > A_3 > A_4 > a_1 > a_2 > a_3 > a_4$  і т. д.

Цей ряд (серія) множинних алелей вказує на відносний характер їх домінування і залежність їх проявлення від конкретних умов генотипного середовища.

Іноді для позначення гена або локусу використовуються курсивні букви, алелі позначаються індексом, який розташовують праворуч угорі. Наприклад, буква (с) може позначати ген забарвлення хутра кроля. Домінантний алель або алель дикого типу позначається символом  $s^+$ , інші алелі – символами  $s^{ch}, s^a$  і т. д. Часто позначення  $s^+$  скорочують до знака «+». Оскільки диплоїдний організм містить тільки два алелі з можливої безлічі

алелей, їх поєднання в зиготі може бути різним. Зигота, що має два алелі того ж самого гена із серії множинних алелей, називається **компаундом**.

Характерною особливістю більшості компаундів є те, що домінантну ознаку проявлятиме лише той алель, який знаходиться в домінуючому положенні відносно іншого алеля, а фенотип компаунда буде «проміжний» щодо домінантного та рецесивного фенотипу. Наприклад, для компаунда  $A_1A_2$  домінантною є ознака, що контролюється алелем  $A_1$ , а рецесивним, відповідно,  $A_2$ . Дикий тип ( $A$ ) в даному випадку проявлятися не буде. Таким чином, формування в компаундах проміжної ознаки і відсутність повернення до дикого типу є *характерною рисою спадкування множинних алелей*.

Відома велика кількість прикладів множинного алелізму. Три алелі одного гена визначають успадкування груп крові системи  $ABO$ , відкритих Карлом Ландштейнером у 1900 році. У системі груп крові  $ABO$  на поверхні еритроцитів формуються два антигени під контролем генних алелів ( $I^A$  та  $I^B$ ) та існує третій алель, що не контролює синтез антигена. Але у кожної людини у диплоїдному генотипі можливе існування лише двох алелей цієї серії. Два антигени  $ABO$  є **ізоантигенами**, вони виявлені в більшості людей в еритроцитах, нормальних і пухлинних клітинах інших тканин, у мітохондріях і мікросомах, у біологічних рідинах організму – слині, шлунковому соку, молоці. Антигени  $A$  і  $B$  виявляють захисну дію на слизову оболонку шлунка та 12-палої кишки. Тому у людей з групою  $O$ , у котрих немає типового антигену, часто розвивається виразкова хвороба шлунка і 12-палої кишки.

Групи крові, що містять антиген  $A$ , є неоднорідними. У цій групі розрізняють три підгрупи –  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ . Кожний з генів, що контролює ці антигени, може займати той самий локус хромосоми. Алель  $A_1 > A_2 > A_3$ . Антиген  $A_3$  зустрічається дуже рідко,  $A_1$  складає  $\frac{3}{4}$ ,  $A_2$  –  $\frac{1}{4}$  всієї популяції.

Вважають, що еволюційно найдавнішою є група крові  $AB$  (нині не існує). Аглютиногени (антигени) виникли еволюційно раніше, ніж аглютиніни (антитіла  $\alpha$  та  $\beta$ ). Пізніше, в результаті мутації виникла група крові  $O$ . Найдавніша група крові ( $AB$ ) зникла у ході еволюції. Нинішня група  $AB$  походить від людей з генотипами  $A$  і  $B$ .

У системі  $ABO$  є чотири групи крові:  $O$ ,  $A$ ,  $B$ ,  $AB$ . Вони визначаються трьома алелями:  $I^A$ ,  $I^B$ ,  $i^o$ . Алелі  $I^A$  та  $I^B$  є домінантними відносно алеля  $i^o$ , але кодомінантними у відношенні один до одного:

Генотип	Фенотип (група крові)
$I^A I^A, I^A i^o$	A
$I^B I^B, I^B i^o$	B
$I^A I^B$	AB
$i^o i^o$	O

При переливанні крові необхідно знати групи крові донора та реципієнта, щоб запобігти аглютинації (склеювання) еритроцитів донорської крові у кровотоку реципієнта. При взаємодії антигену з антитілами відбувається **аглютинація** – злипання еритроцитів, що призводить до закупорки судин і смерті людини. Якщо у геномі існують алелі  $I^A$  та  $I^B$ , тоді синтезуються антигени A та B, при цьому в організмі не утворюються антитіла  $\alpha$  та  $\beta$ . Якщо алелі A або B відсутні, тоді виникають антитіла  $\alpha$  проти A та  $\beta$  проти антигену B.

Прикладом множинного алелізму в людини є також спадкування резус-фактора (*Rh-фактора*) – антигену, що міститься на поверхні еритроцитів людини і мавпи макака-резус. Цей білок присутній в крові у 85% всіх європейців і в 99% монголоїдів. Резус-фактор є генетично обумовленою ознакою з домінантним успадкуванням. При переливанні резус-негативним людям резус-позитивної крові можливі ускладнення (шок, гемолітична хвороба тощо), обумовлені утворенням антитіл до резус-фактору. Синтез Rh-антигену контролюється геном R, для якого нині відомі більше 10 алельних станів:  $R_1, R_2, R_0, R_z, r, r_1, r_{11}$  та інші.

У разі вагітності, якщо матір резус-негативна, а батько є гомозиготним резус-позитивним, дитина завжди отримує Rh+. У цьому випадку ризик **резус-конфлікту** дуже високий. У разі гетерозиготності батька ймовірність передачі плоду негативного або позитивного Rh рівновелика. На восьмому тижні розвитку плода відбувається кровотворення, в процесі якого червоні кров'яні тільця з великою часткою ймовірності можуть потрапити в кровообіг матері. При цьому спрацьовує захист імунної системи матері, оскільки антиген плода вважається чужорідним. Тому організм резус-негативної вагітної (Rh-Rh-) виробляє антирезусні антитіла проти дитини, що обумовлює резус-конфлікт матері і плоду. Ризик імунологічного конфлікту під час виношування плоду досить невеликий і складає лише 0,8%, але він є дуже небезпечним.

Найчастіше при першій вагітності кількість антитіл у крові матері недостатня для того, щоб викликати загибель плода внаслідок аглютинації його еритроцитів (еритробластоз плоду); дитина народжується нормальною. Небезпека цього явища збільшується при повторній вагітності, коли в організмі резус-негативної матері кількість антитіл проти резус-фактора плоду

зростає, вони потрапляють в організм дитини з кров'ю матері. Антигени, що виробляються організмом матері, виявивши чужорідне антитіло з несумісним резус-фактором, проникають в кров'яний потік плоду через гематоплацентарний бар'єр і руйнують процес кровотворення дитини, пригнічуючи утворення червоних кров'яних тілець, що спричинює вкрай небезпечний стан для плода, загрозливий для життя майбутньої дитини, який характеризується ацидозом, гіпоксією, анемією. В дитячому організмі накопичується надмірна кількість рідини, відбувається порушення розвитку практично всіх систем і органів. Якщо заходи не будуть проведені вчасно, існує серйозна загроза викидня, внутрішньоутробної смерті плода, мертвонародження, народження дитини з гемолітичним захворюванням, яке продовжуватиме прогресувати у зв'язку з накопиченням в організмі малюка антирезусних антитіл. Також це може викликати патології розвитку, які виражаються у надмірному збільшенні внутрішніх органів, головного мозку, серця, токсичному ураженні ЦНС.

Цікавим прикладом множинного алелізму є наявність понад 1500 алельних станів **генів гістосумісності HLA** (*Human Lymphocyte Antigens*), що контролюють синтез людських лейкоцитарних антигенів, які знаходяться на поверхні клітин. Система **HLA** (головний комплекс гістосумісності людини) здійснює генетичний контроль взаємодії всіх імунокомпетентних клітин організму, розпізнавання своїх і чужорідних (у тому числі змінених власних) клітин, запуск і реалізацію імунної відповіді і в цілому забезпечує виживання людини як виду в умовах екзогенної та ендогенної агресії. Антигени HLA, що кодуються генами локусів A, B, C, називають антигенами класу I; ті, що кодуються генами локусу D (сублокуси DR, DP, DQ і DW) – антигенами класу II; C2, C4, FВ – класу III. Антигени HLA I класу знаходяться на поверхні практично всіх клітин організму, тоді як антигени II класу існують переважно на клітинах імунної системи, макрофагах, епітеліальних клітинах. З 1500 HLA-алелей 900 відносяться до I класу, 600 – до II класу. Користаючись формулою  $n(n + 1) : 2$ , де  $n$  – кількість алелей, можна розрахувати, що можлива кількість генотипів тільки для HLA-B гена буде відповідати 465. Аналогічні розрахунки можна зробити і для інших HLA-генів. У популяції людей є всілякі поєднання генотипів за всіма алелями HLA-генів. Відомо, що HLA-гени відіграють найважливішу роль в тканинній несумісності та є причиною багатьох аутоімунних захворювань, таких як юнацький інсуліновий діабет (D/DR2, D/DR3 і D/DR4



алелі), системна червона волчанка (D/DR3), множинний склероз (D/DR2), ревматоїдний артрит (D/DR4 і D/DR5) та інші.

Ще одним прикладом множинного алелізму у тварин є колір очей у дрозоді, контрольований геном  $W$ . Описано понад 15 різних алельних станів даного гена, кожному з яких властиве своє фенотипне проявлення:  $W$  – темно-червоний колір очей (дикий тип);  $w^i$  – слонової кістки;  $w^{bf}$  – рудий;  $w^p$  – кольору перлів;  $w^{ec}$  – сірий;  $w^{by}$  – темно-жовтий;  $w^e$  – еозиновий;  $w^h$  – медовий;  $w^{bl}$  – кольору крові;  $w^a$  – абрикосовий;  $w^{co}$  – кораловий;  $w^{ch}$  – вишневий;  $w^m$  – плямистий;  $w^l$  – світло-жовтий;  $w$  – білий. За ступенем домінування алелі утворюють серію множинних алелей, наприклад:  $W > w^{ch} > w^e > w^a > w$ , де  $W$  домінує над усіма іншими, алель  $w$  є рецесивним.

У кролів є серія алелей гена, що контролює забарвлення хутра. Алель  $c^+$  (агуті) домінуючий по відношенню до трьох інших –  $c^{ch}$  (шиншила),  $c^h$  – гімалайський),  $c^a$  (альбінос). За ступенем домінування алелі гена ( $c$ ) розташовуються один відносно одного в наступній послідовності:  $c^+ > c^{ch} > c^h > c^a$ . Ген  $c^+$  (агуті) контролює забарвлення темного кольору хутра з окремими включеннями жовтого відтінку в межах кожного волоска. Алель  $c^{ch}$  у гомозиготному стані обумовлює забарвлення типу шиншила (біля основи волосини колір відсутній, колір шерсті палевий). У гетерозиготному стані ( $c^{ch}c^h$ ,  $c^{ch}c^a$ ) алель  $c^{ch}$  проявляється як більш світле шиншилове забарвлення. Алель  $c^{ch}$  контролює гімалайське забарвлення, яке залежить від температури тіла – на кінцівках, вухах, кінчику носа, де температура тіла нижче – шерсть забарвлена в темний колір, у більш теплих місцях – біла. Кролики генотипу  $c^{ch}c^h$  або  $c^{ch}c^a$  є гімалайськими. В гомозиготному стані рецесивний алель  $c^a$  дає біле забарвлення шерсті.

Множинний алелізм спостерігають і в деяких видів рослин. У низки видів існують спеціальні генетичні механізми несумісності, що запобігають самозаплідненню. Наприклад, у рослин, що перехресно запилюються, існують серії множинних алелей самотерильності ( $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$  і т.д.). Якщо в геномі мікроспори присутній той самий алель, як і в геномі тканини приймочки, мікроспора не проросте, отже, гомозиготні особини (наприклад,  $S_1S_1$ ) не з'являються. Це явище визначає вибірковість запліднення та змінює теоретично очікуване розщеплення в наступному поколінні. Отже, еволюційна система самотерильності виникла для запобігання самозапиленню однодомних рослин. Як наслідок, більшого поширення в природі отримало перехресне запилення. Несумісність алелей встановлена більш ніж у 10 000 видів покритонасінних, а також великої кількості видів голонасінних, папоротей, грибів.

Явище множинного алелізму збільшує комбінативну мінливість організмів і постачає матеріал для природного добору. Якщо ген представлений одним алелем  $A$ , то і генотип за цим алелем може бути лише один –  $AA$ . Якщо алелей два,  $A_1$  та  $A_2$ , то можливі три генотипи: два гомозиготних,  $A_1A_1$  та  $A_2A_2$ , і один гетерозиготний:  $A_1A_2$ . Кількість генотипів у випадку множинного алелізму залежить від кількості алелей даного гена. У загальному випадку, при існуванні в популяції  $n$ -ної кількості алелей можлива наявність  $\frac{n(n+1)}{2}$  генотипів і  $\frac{n(n-1)}{2}$  гетерозигот (**табл. 3.1**):

Таблиця 3.1

**Кількість можливих генотипів при  $n$ -ній кількості алелей**

Кількість алелей	Кількість генотипів	Кількість типів гомозигот	Кількість типів гетерозигот
1	1	1	0
2	3	2	1
3	6	3	3
4	10	4	6
5	15	5	10
N	$n(n+1):2$	N	$n(n-1):2$

Отже, множинні алелі виникають у результаті багаторазового мутування того ж самого локусу в хромосомі. Окрім основних (домінантного та рецесивного) алелей гена з'являються проміжні, котрі по відношенню до доміантного поведуть себе як рецесивні, а по відношенню до рецесивного – як доміантні алелі того ж самого гена. Взаємодія продуктів активації множинних алелей фенотипно проявляється у вигляді міжалельної комплементациї.

**Міжалельна комплементация** спостерігається у компаундів ( $a_1 a_2$ ,  $a_2 a_3$ , і т.д.), якщо продуктом мутантного гена ( $a$ ) слугує поліпептид, який є субодиноцею білка – гомомультимера. Об'єднання у компаунд двох рецесивних алельних генів, кожний з яких кодує мутантний поліпептидний ланцюг, призводить до відтворення ознаки дикого типу: з двох типів частково ушкоджених субодиноць збирається білок з майже нормальною функцією. Це можливо, коли рецесивні алелі того ж самого гена кодують поліпептиди з ушкодженнями різних доменів (певних функціональних ділянок) у молекулах. Якщо збірка четвертинного білка у компаунда здійснюється із таких субодиноць, здатних компенсувати функціональну активність одна одної, ферментативна активність цього білка буде відновлена. Тому схрещування двох фенотипно однакових мутантів призводить до утворення гібридів  $F_1$  дикого типу:  $a_1a_1 \times a_2a_2 = a_1a_2$ . Міжалельна

комплементація дуже нагадує результат комплементарної взаємодії генів, однак в останньому випадку взаємодіють продукти функціонування неалельних генів.

**3.8.7. Статистичні відхилення, спричинені малою вибіркою.** Відомо, що розщеплення при схрещуваннях мають імовірнісний характер, тому практично завжди в дослідах спостерігаються відхилення від теоретично очікуваного їх значення. Ці відхилення є випадковими та в значній мірі залежать від величини вибірки. Крім того, відхилення можуть бути наслідком порушення будь-якої з умов менделівського спадкування (загибель гамет або зигот певного генотипу, зчеплення генів тощо). Тому під час генетичного аналізу спадкування для розуміння причини відхилення від теоретично очікуваних кількісних співвідношень класів спочатку необхідно оцінити їх величину та значущість. З цією метою найчастіше використовують **метод  $\chi^2$** . Сутність методу полягає в зіставленні теоретично розрахованого розщеплення на основі нульової гіпотези ( $H_0$ ) з даними досліду за всіма класами розщеплення за формулою:

$$\chi^2 = \sum \frac{(p - q)^2}{q};$$

де  $p$  – фактична кількість особин певного фенотипного класу;  
 $q$  – теоретично розрахована кількість особин цього класу за законами менделівського спадкування,  $\Sigma$  – сума показників усіх класів.

Результати досліду ( $p$ ) та теоретичне очікування ( $q$ ) заносяться в таблицю. Надалі визначають величину відхилення ( $p - q$ ), яку возводять в квадрат  $(p - q)^2$  для унеможливлення появи негативних значень. Квадрат відхилення ділять на теоретично очікувану для кожного фенотипного класу величину  $(p - q)^2 : q$ . Сума цих величин є показником  $\chi^2$ . Після цього за таблицею Фішера з урахуванням ступенів свободи визначають імовірність випадковості відхилення.

*Кількість ступенів свободи* розраховується за формулою:

$$n' = n - 1,$$

де  $n$  – кількість фенотипних класів у гібридному потомстві.

Значення  $\chi^2$ , наведені в таблиці, вказують межі, в яких дослідні результати відповідають теоретично очікуваним. При повній відповідності дослідних і теоретичних даних  $\chi^2$  дорівнює 0. Якщо  $\chi^2 \neq 0$ , то різниці величин, що порівнюються, є випадковими (нульова гіпотеза). Ймовірність, яка вказана у таблиці – це ймовірність цієї нульової гіпотези. Допустимою межею імовірності в статистиці прийнято вважати величину 0,05. Наприклад,

ймовірність 0,05 говорить: якщо порівнювані величини відрізняються випадково, то табличне значення  $\chi^2$  виявляється тільки в 5 випадках зі 100. У статистиці прийнято вважати, що події, які відбуваються з ймовірністю 0,05 і менше, практично не зустрічаються. Нульова гіпотеза відкидається, якщо значення  $\chi^2$  є більшим за те, що наведено в стовбці  $p = 0,05$  при відповідній кількості ступенів свободи.

**Таблиця значень  $\chi^2$  при різних ступенях свободи (за Фішером, із скороченням):**

Кількість ступенів свободи ( $n^{\circ}$ )	Імовірність випадковості відхилення, $p$	
	$p = 0,05$	$p = 0,01$
1	3,841	6,635
2	5,991	9,210
3	7,815	11,341
4	9,488	13,277
5	11,070	15,086
6	12,592	16,812
7	14,067	18,475

Отже, якщо розраховані значення  $\chi^2$  *перевищують* табличні при відповідних ступенях свободи, це означає, що відхилення фактично одержаних значень від теоретично очікуваних не є випадковим, воно не може бути пояснено причинами статистичного характеру. Якщо розраховане значення  $\chi^2$  менше табличного, відмінності між теоретично розрахованими і фактично одержаними результатами експерименту вважають випадковими, в межах допустимої похибки.

**Приклад.** У 1905 році Бетсон вирішив перевірити справедливність законів Менделя і повторив досліди із схрещування гомозиготних рослин з жовтими й зеленими насінинами. В  $F_1$  усі насінини були із жовтим забарвленням сім'ядолей, а в  $F_2$  при самозапиленні рослин, що вирости з гібридного насіння, одержано 3903 насінини із зеленими та 11902 з жовтими сім'ядолями. Чи підтвердив дослід Бетсона справедливність закону розщеплення? Довести це, використовуючи метод  $\chi^2$ . Для цього складаємо таблицю за класами розщеплення на основі дослідних цифрових даних:

$F_2$ :	Кількість насінин		
	жовтих	зелених	всього
Фактичне розщеплення ( $p$ )	11902	3903	15805
Теоретичне розщеплення ( $q$ )	11854	3951	15805
$p-q$	48	-48	-
$(p-q)^2$	2304	2304	-

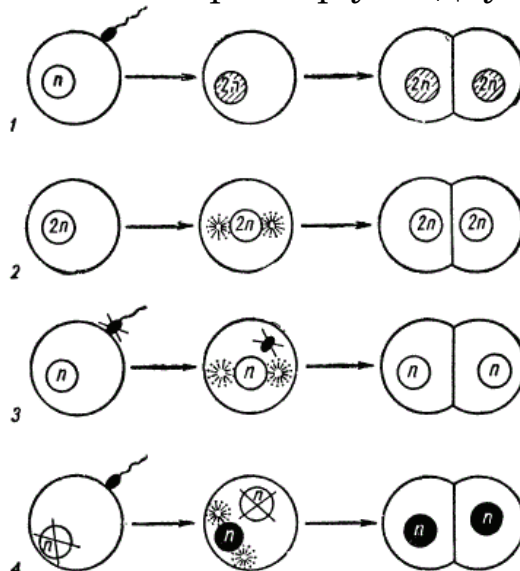
$$\chi^2 = \sum \frac{(p-q)^2}{q} = 2304 : 11\,854 + 2304 : 3951 = 0,19 + 0,58 = 0,77$$

Кількість ступенів свободи  $n' = n - 1 = 2 - 1 = 1$ . Знаходимо в таблиці Фішера гранично допустиме значення  $\chi^2$  при 5%-му рівні ймовірності; воно дорівнює 3,841.  $\chi^2 = 0,77 < \chi^2_{\text{табл.}} = 3,841$  (при  $p < 0,05$ ).

Отже, дослід Бетсона підтвердив справедливість закону розщеплення ( $\chi^2 = 0,77 < 3,841$ ). Таким чином, метод  $\chi^2$  дозволяє встановити відповідність дослідних та теоретично очікуваних результатів за кожним класом та за розщепленням у цілому. Слід пам'ятати, що цей метод не використовується для значень, виражених у відносних числах та в процентах, а також для вибірок з кількістю особин менше 5 у будь-яких теоретичних класах. На основі використання критерію  $\chi^2$  відкидають помилкові гіпотези, якщо відхилення є значущим (тобто коли відсутня відповідність між значеннями дослідних та теоретично розрахованих величин).

### 3.9. Особливості спадкування ознак при нерегулярних типах статевого розмноження

При статевому розмноженні розвиток організмів відбувається із зигот, що виникають при злитті статевих клітин. Порушення нормального статевого процесу або наявність нерегулярних типів статевого розмноження (партеногенезу, андрогенезу, гіногенезу) в життєвому циклі змінюють характер успадкування (*рис. 3.7*).



**Рис. 3.7.** – Типи нерегулярного статевого розмноження: 1 – нормальне запліднення; 2 – партеногенез; 3 – гіногенез; 4 – андрогенез

У природі багато видів розмножуються партеногенетично – нижчі ракоподібні, бджоли, ящірки, деякі риби; серед рослин –

малина, манжетки та ін. Вперше відомості про спадкування ознак при партеногенезі в нечуйвітру (*Hieracium*) були отримані Г. Менделем. Він виявив, що у *Hieracium* спостерігається спадкування ознак, протилежне тому, що виявлялося в гороху: в першому поколінні не було одноманітності гібридів, а в  $F_2$  не відбувалося розщеплення. Мендель не зміг пояснити цих явищ, оскільки він не знав, що в роді *Hieracium* поширена апогамія (партеногенез).

Розрізняють *партеногенез амейотичний* та *мейотичний*. Останній, в свою чергу, поділяється на *гаплоїдний* (з подальшим подвоєнням кількості хромосом у соматичних клітинах) та *диплоїдний* (диплоїдизація відбувається в результаті блоку другого поділу мейозу).

**Амейотичний партеногенез** триває без мейозу, всі нащадки, що розвиваються з диплоїдної клітини (гомо- або гетерозиготної) однакові, такі ж, як матір, розщеплення в потомстві не відбувається. Отже, спадкування ознак у цьому випадку виключно материнське з повним повторенням генотипу, тому в природі з'являються одностатеві жіночі клони тварин (*телітокія*). Коефіцієнт розмноження в клонах дуже високий, кожна самка залишає потомство, що є вигідним, тому цей спосіб розмноження закріпився в еволюції. У природі поширені також триплоїдні клони (наприклад, у ящірок). Амейотичний партеногенез описаний у дощових черв'яках, деяких видів жуків, метеликів, риб, земноводних, ящірок.

При **мейотичному гаплоїдному партеногенезі** у видів з гапло-диплоїдним визначенням статі (бджоли, оси, їздці, мурахи та ін.) самки розвиваються з запліднених, а більшість самців – з незапліднених яєць, причому гаплоїдність зберігається тільки в клітинах зародкового шляху, в соматичних клітинах кількість хромосом подвоюється. Мейоз у самців відсутній – з одного сперматогонію утворюється один сперматозоїд. Відомі виключні випадки походження самців бджіл із запліднених яєць. Такі самці диплоїдні, але, оскільки в сперматогенезі мейоз не відбувається, то і сперматозоїди, що утворилися, є диплоїдними. В їхньому потомстві самки триплоїдні. Розщеплення немає, навіть якщо самець був гетерозиготним.

Оскільки партеногенетичний розвиток здійснюється після мейозу, гетерозиготний материнський організм утворює два сорти гамет ( $A$  і  $a$ ) з однаковою ймовірністю, розщеплення залежить від співвідношення гаплоїдних життєздатних особин з різним генотипом. Співвідношення статей при партеногенетичному розвитку зазвичай відрізняється від співвідношення 1:1 (у потомстві переважають самки), що пов'язано з більшою загибеллю незапліднених гаплоїдних яєць, з яких розвиваються самці. Так, у

сім'ї бджіл кількість самок (робочих бджіл) в сотні разів більше, ніж самців-трутнів. Це служить причиною порушення нормального розщеплення в гібридному потомстві. Наприклад, при схрещуванні гомозиготної коричневоокої (домінантна ознака) самки (генотип AA) з рецесивним білооким самцем (aa)\* (\*після вторинного подвоєння хромосом у соматичних клітинах) в F<sub>1</sub> самки (Aa) і самці (AA)\* коричневоокої; в F<sub>2</sub> відбувається розщеплення: усі самки коричневоокої (AA і Aa), а партеногенетичні самці двох типів – коричневоокої (AA)\* і білоокої (aa)\* у співвідношенні 1:1. Оскільки самок в потомстві в сотні разів більше, ніж самців, то в розщепленні будуть переважати коричневоокої особини, тобто спостерігається значне відхилення від нормального розщеплення в F<sub>2</sub> (3:1). У шовковичного шовкопряда співвідношення статей і характер розщеплення серед спонтанного партеногенетичного потомства залежить від стадії розвитку личинки та імаго.

**Мейотичний диплоїдний партеногенез з блоком II поділу** зустрічається в деяких видів риб, дрозодфіли, птахів. Утворюються особини однієї статі: у дрозодфіли – самки, у птахів – самці. Це пов'язано з механізмом визначення статі за допомогою статевих хромосом: у дрозодфіл гомогаметна стать жіноча, у птахів – чоловіча. В індичок відібраних ліній самки відкладають до 50% партеногенетичних яєць, з яких вилупляються тільки самці. Це вказує на те, що в самок – гетерогаметна стать – після мейозу відбувається диплоїдизація хромосом у результаті блокади другого поділу мейозу, а зиготи YY є нежиттєздатними.

Партеногенез у рослин – *аноміксис* – може бути, як і в тварин, амеіотичним і мейотичним, але часто супроводжується псевдогамією, тобто один із сперміїв гине та в заплідненні не приймає участь, а другий зливається з центральним ядром зародкового мішка з утворенням ендосперму.

**Гіногенез** дуже схожий на партеногенез з блоком другого поділу мейозу, він відрізняється лише тим, що стимулом для розвитку служить сперма самців будь-якого виду. У природі він зустрічається в риб, земноводних і плазунів. Нащадки є також однієї статі – жіночі клони. Розмноження можливе лише в присутності самців інших видів, оскільки для розвитку яйцеклітини необхідний стимул, котрим є сперма самців будь-якого виду.

**Андрогенез** – розвиток яйцеклітини з чоловічим ядром, внесеним в неї спермієм в процесі запліднення. У природі зазвичай не зустрічається. Андрогенез одержаний експериментально в тутового шовкопряда, паразитичної оси, тютюну, кукурудзи, бавовника. Наприклад, у шовкопряда під час опромінення або під

дією сильного нагрівання ядро яйцеклітини інактивується внаслідок більшої чутливості останнього порівняно з цитоплазмою. В яйцеклітину проникають два спермії (поліспермія) і при злитті двох чоловічих пронуклеусів відтворюється диплоїдність. З таких яєць формуються лише самці (гомогаметна стать). За фенотипом вони можуть бути схожими з батьком або відрізнятися від нього. Якщо самець має генотип Аа, то він формує два типи сперматозоїдів: А та а. Отже, можлива поява домінантних за фенотипом, схожих на батька форм, але не тільки Аа, але й гомозиготних (АА) або з рецесивним фенотипом (аа), тобто не схожих на батька. У всіх випадках повного андрогенезу як рослин, так і тварин андрогенні нащадки виявляються подібними з батьківським видом, що вказує на провідне значення клітинного ядра в спадковості.

### 3.10. Успадкування ознак при взаємодії неалельних генів

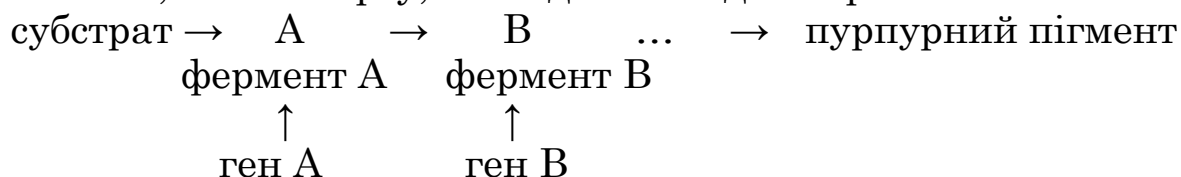
Випадки, коли одна ознака контролюється двома алелями одного генного локусу, порівняно рідкісні. Більшість ознак організмів контролюється взаємодією декількох генів, що знаходяться в різних локусах хромосом і формують *генний комплекс*. Отже, генотип диплоїдного організму є складною системою взаємодії продуктів активності неалельних генів.

Найпростішими прикладами взаємодії неалельних генів є випадки, коли ознака контролюється двома парами алелей, що знаходяться в різних, не гомологічних хромосомах. Слід зазначити, що в усіх варіантах такої взаємодії змінюється лише розщеплення за фенотипом в  $F_2$ , розщеплення за генотипом відповідає менделівським закономірностям успадкування. Типами такої взаємодії є комплементарність, епістаз, полімерія, плейотропія, дія генів-модифікаторів.

**3.10.1. Комплементарність** – спільна дія самостійно менделюючих генів на проявлення певної ознаки. При цьому кожний з комплементарних генів окремо не впливає на формування нової ознаки; лише поєднання їх в одному генотипі (в гомо- або в гетерозиготному стані) зумовлює її розвиток. Формула розщеплення за фенотипом при комплементарній дії двох генів завжди є модифікацією менделівської формули розщеплення за фенотипом при дигібридному схрещуванні (9:3:3:1) та має наступні варіанти: 9:7; 9:3:3:1; 9:3:4; 9:6:1. Цей тип успадкування ознак досить поширений у природі та має суттєве значення при вивченні мутаційної і комбінативної мінливості.



При комплементарній дії домінантних алелей двох генів, які не мають самостійного проявлення, розщеплення за фенотипом в  $F_2$  складатиме **9:7**. Наприклад, при схрещуванні двох білоkwіткових форм духмяного горошку всі гібридні рослини мають пурпурні kwітки, а в наступному поколінні від їх схрещування відбувається розщеплення в співвідношенні 9/16 пурпурних: 7/16 білих kwіток, що відповідає результатам диалельного схрещування. Подібне розщеплення є наслідком того, що синтез пігменту – складний процес, який має низку проміжних стадій. Кожний етап цього процесу контролюється певним ферментом, синтез якого, в свою чергу, знаходяться під контролем гена:



Мутація того чи іншого гена блокує синтез необхідного ферменту, тому пігмент не утворюється. Але при гібридизації двох форм, в яких мутація відбулася в різних генах, у гібрида можуть синтезуватися всі необхідні ферменти, в результаті чого утворюватиметься пурпурний пігмент:

$P: aaBB \times Aabb$

білоkwіткові рослини

$F_1: AaBb \times AaBb$

пурпурноkwіткові

$F_2: 9/16 A-B-; 3/16 aaB-; 3/16 A-bb; 1/16 aabb$

пурпурноkwіткові білоkwіткові білоkwіткові білоkwіткові

Отже, розщеплення за фенотипом складає 9/16 пурпурноkwіткових : 7/16 білоkwіткових. Рослини потомства  $F_2$ , в яких заблокований синтез одного або обох ферментів внаслідок рецесивних генних мутацій, мають білі kwітки. За подібним принципом успадковується вміст ціаніду в рослин конюшини, утворення коричневого пігменту в шовкопрядів, пурпурне і біле забарвлення зерна в кукурудзи та інші ознаки.

Інший приклад комплементарності – спадкова форма глухоти. Для того, щоб людина мала нормальний слух, необхідна злагоджена діяльність декількох пар генів. Нормальний слух розвивається тільки в тому випадку, якщо кожен з цих генів має хоча б один домінантний алель в диплоїдному наборі хромосом (A-B-). Якщо хоча б одна пара алелей у генотипі представлена рецесивною гомозиготою, людина буде глухою (aaB- або A-bb). У потомстві двох людей з нормальним слухом (A-B-) можуть народжуватися діти з нормальним слухом (9/16 A-B-), так і глухі (3/16 A- bb + 3/16 aaB- + 1/16 aa bb).

Інший різновид комплементарної взаємодії неалельних генів – **новоутворення (кооперація)**. Розщеплення в  $F_2$  за фенотипом при цьому повністю відповідає менделівському співвідношенню **9:3:3:1**, оскільки кожний із чотирьох класів ( $A-B-$ ;  $A-bb$ ,  $aaB-$ ;  $aabb$ ) має свій фенотип, але в цьому потомстві з'являються нові ознаки, що не спостерігалися в батьків.

Наприклад, гібридизація курей із трояндоподібним гребінцем (порода віандот) і курей із горохоподібним гребенем (європейські кури) призводить до появи в  $F_1$  птахів із новою формою гребеня – горіхоподібною, характерною для малайської породи (**рис. 3.8**).

P:



трояндоподібний гребінь  
AAbb



горохоподібний гребінь  
aaBB

×



F<sub>1</sub>:



горіхоподібний гребінь  
AaBb

×

F<sub>2</sub>:



леггорн (листокоподібний) малайська (горіхоподібний) європейська (горохоподібний) віандот (трояндоподібний)

Aabb

A-B-

aaB-

A-bb

1/16 :

9/16 :

3/16 :

3/16

**Рис. 3.8.** – Успадкування форми гребеня в курей

У даному випадку кожний із домінантних алелей комплементарних генів характеризується власним фенотипним ефектом, а взаємодія між ними призводить до новоутворення, тобто появи нової ознаки.

Низка подібних прикладів успадкування відома і в інших тварин і рослин. Наприклад, у дрозоді рецесивний алель гена *scarlet* (*st*) у гомозиготному стані визначає яскраво-червоне забарвлення очей, а рецесивний алель іншого гена – *brown* (*bw*) – коричневе забарвлення очей. У результаті гібридизації цих форм гібриди  $F_1$  мають очі темно-червоного кольору (дикого типу). Гомозигота за рецесивними алелями цих генів є білоокою. При схрещуванні мух дикого типу потомства  $F_1$  в другому гібридному поколінні спостерігається розщеплення на чотири фенотипних класи за ознакою забарвлення очей: 9/16 темно-червоних: 3/16 яскраво-червоних: 3/16 коричневих: 1/16 білих. Таке розщеплення свідчить про контроль ознаки двома комплементарними генами із самостійною дією.

Природа взаємодії генів у цьому випадку більш зрозуміла, ніж у разі спадкування форми гребінця в курей. Нормальне темно-червоне забарвлення очей у мух забезпечується в основному трьома видами пігментів: червоним, коричневим, жовтим. У гомозиготному стані рецесивний ген (*st*) блокує утворення коричневого пігменту, внаслідок чого формуються яскраво-червоні очі (*scarlet*); інший рецесивний ген (*bw*) в гомозиготному стані блокує одночасне утворення червоного та жовтого пігментів, тому формуються коричневі очі (*brown*). У генотипі гібридів  $F_1$  об'єднуються домінантні алелі обох генів, тому синтезуються всі пігменти, які надають в сукупності темно-червоне забарвлення очей. Білоокі мухи, що з'являються в  $F_2$ , є результатом одночасного блокування синтезу всіх трьох пігментів.

Розщеплення в  $F_2$  за фенотипом у співвідношенні **9:3:4** при комплементарності відбуватиметься, якщо домінантний алель одного з двох комплементарних генів (*A*) діє самостійно, інший ген (*B*) є активним лише в присутності першого. Подібний характер розщеплення ознак відмічений для хлорофільних мутантів ячменю. Рослини ячменю дикого типу зелені, а мутантні форми можуть бути білими або жовтими. Нормальний процес утворення хлорофілу вимагає присутності двох домінантних генів (*A* і *B*). Мутація в кожному з них може призводити до порушення утворення хлорофілу: рослини з генотипом *A-bb* є жовтими («*xantha*»-фенотип), а з генотипом *aaB-* – білими («*albina*»-фенотип). Рослини *aabb* також будуть білими. При схрещуванні

$AAbb \times aaBB$  в  $F_1$  всі рослини зелені (генотип  $AaBb$ ), а в  $F_2$  розщеплення відбувається в співвідношенні 9/16 зелених: 3/16 жовтих: 4/16 білих рослин.

Розщеплення в  $F_2$  за фенотипом у співвідношенні **9:6:1** відбуватиметься, якщо комплементарні неалельні гени (кожний окремо) контролюють появу тієї ж самої ознаки, їхня взаємодія – появу іншої ознаки, а в дигомозигот за рецесивними алелями цих генів формується третя ознака. Наприклад, при гібридизації рослин гарбуза із сферичною формою плоду різних сортів усі рослини  $F_1$  мають нову, дископодібну форму плода. В  $F_2$  відбувається розщеплення на три фенотипні класи: 9/16 з дископодібною; 6/16 – сферичною; 1/16 – подовженою формою плоду:

$P: AAbb \times aaBB$

сферичні сферичні

$F_1: AaBb \times AaBb$

дископодібні дископодібні

$F_2: 9/16 A-B-; 3/16 A-bb; 3/16 aaB-; 1/16 aabb$

9/16 дископодібні

6/16 сферичні

1/16 подовжені

Поясненням цього феномену є те, що кожний із домінантних комплементарних генів різних сортів гарбуза контролює розвиток плодів сферичної форми, взаємодія продуктів їх активності призводить до появи дископодібних плодів, об'єднання в одному генотипі рецесивних алелей цих генів призводить до формування нової ознаки (подовжена форма плоду) (**рис. 3.9**).



**Рис. 3.9.** – Успадкування форми плоду в гарбуза

Для того, щоб з'ясувати, чи є дві мутації алельними (тобто такими, що виникли в тому ж самому гені) або неалельними (виникли в різних генах або навіть у різних хромосомах і

порушують різні етапи формування даної ознаки), проводять **тест на комплементарність**. Розглянемо приклад з успадкуванням забарвлення очей у дрозофіли, що контролюється алелями зчепленого зі статтю локусу  $W$  (*white*). Червоно-коричневе забарвлення очей, властиве дикому типу ( $W^+$ ), а також біле ( $w$ ), абрикосове ( $w^a$ ), еозинове ( $w^e$ ), вишневе ( $w^{ch}$ ) можуть розглядатися як вираження різного ступеню кількісної зміни того ж самого процесу – певного етапу синтезу пігменту очей. Доказом алельності вказаних мутацій є відсутність комплементарності (тобто відсутність домінантної ознаки дикого типу) в гетерозиготних самок (самці не можуть бути гетерозиготними за генами X-хромосоми). Гетерозиготні самки з генотипом  $W^+w$  та  $W^+w^a$  мають червоно-коричневі очі, оскільки алель  $W^+$  домінантний. Гетерозиготи  $w^aw$  мають світло-абрикосове забарвлення очей, отже, алелі  $w^a$  і  $w$  діють аддитивно. Тому можна зробити висновок, що лінії дрозофіли з білими та абрикосовими очима є дефектними за тим самим метаболітичним шляхом, внаслідок чого ознака дикого типу (червоно-коричневе забарвлення очей) у таких гетерозигот не відновлюється, мутантними є алелі того ж самого гена (див. Розділ 3.8.6).

Інші результати спостерігаються при гібридизації мутантів, в яких забарвлення очей контролюється генами різних негомологічних хромосом. Наприклад, всі самки, одержані від схрещування ліній *white* (X-хромосома) та *scarlet* (III-тя хромосома), мають червоно-коричневі очі (дикий тип). Генотип таких самок  $W^+w st^+st$ . Отже, ці мутації є комплементарними. У даному випадку кожна самка одержує від білоокого батька нормальну III-тю хромосому, яка містить домінантний ген  $st^+$ , а від червоноокої матері – нормальну X-хромосому з геном  $W^+$ .

За допомогою подібного тесту на комплементарність виявляється й функціональна незалежність генів, що знаходяться в різних локусах однієї хромосоми. Ген коричневого забарвлення очей дрозофіли ( $bw$ ), що обумовлює відсутність червоного пігменту, властивого дикому типу, та ген кіноварного забарвлення очей ( $cn$ ), що обумовлює відсутність коричневого компоненту, локалізовані в II-ій хромосомі на відстані 43% кросинговеру. У гетерозиготи  $cn^+bw/cnbw^+$  очі червоно-коричневі (дикого типу), що свідчить про те, що обидві мутації порушують різні процеси синтезу пігменту очей, тобто мутації торкнулися різних комплементарних генів.

Біохімічний механізм взаємодії алелей генів  $cn$  і  $bw$  наступний: забарвлення очей у дрозофіли обумовлене синтезом двох пігментів – червоного та бурого. Рецесивний алель  $bw$  у

гомозиготному стані припиняє синтез червоного пігменту, тому очі бурого кольору. Рецесивний алель *sn* у гомозиготному стані блокує синтез бурого пігменту, внаслідок чого в очах мух міститься лише червоний пігмент. Коли в складі дигетерозиготи опиняються домінантні алелі обох генів, синтезуються обидва пігменти в результаті комплементарної взаємодії домінантних алелей.

Отже, комплементарна взаємодія генів призводить до розвитку ознак, властивих диким предкам даних видів. У предків домашніх тварин і рослин домінантні гени комплементарної дії підтримувалися природним добором разом в одному генотипі (наприклад, червоне забарвлення очей, дископодібна форма гарбуза, сіре забарвлення шерсті гризунів і т.д.). При одомашнюванні та проведенні селекції за допомогою схрещувань і добору комплементарні гени «розійшлися» в різні генотипи: генотип *AaBb* розкладений селекціонерами на генотипи *AAbb* і *aaBB*. Тому при схрещуванні організмів із такими генотипами спостерігається повернення до ознак диких предків. Комплементарний тип взаємодії генів ілюструє один із шляхів виникнення комбінативної мінливості та пов'язаний із гетерозисом.

### 3.10.2. Епістаз і криптомерія.

**Епістаз** – взаємодія генів, при якому активність одного гена знаходиться під впливом іншого гена (генів), неалельного йому. Ген, що пригнічує фенотипічні прояви іншого, називається *епістатичним*; ген, чия активність змінена або пригнічена, називається *гіпостатичним*. Пригнічення домінантним алелем епістатичного гена дії алелей гіпостатичного гена, називається *домінантним епістазом* ( $A > B$ ); пригнічення рецесивним алелем епістатичного гена (у гомозиготному стані) дії алелей гіпостатичного гена – *рецесивним епістазом* ( $aa > B-$ , або  $aa > bb$ ). При домінантному епістазі співвідношення фенотипів при розщепленні в  $F_2$  становить  $12:3:1$  та  $13:3$ , при рецесивному епістазі –  $9:3:4$ ; такі співвідношення є модифікаціями менделівського розщеплення при дигібридному схрещуванні  $9:3:3:1$ . Гени-супресори відомі у тварин (ссавців, птахів, комах) і рослин. Зазвичай домінантні алелі цих генів позначаються *I* або *Su*; рецесивні – *i* або *su* (англ. *inhibitor* або *supressor*).

Епістатична взаємодія генів за своїм характером протилежна комплементарній, але дуже схожа на явище повного домінування з тією лише різницею, що в останньому випадку домінантний алель пригнічує прояв свого рецесивного алеломорфу. При епістазі ж алель одного гена пригнічує проявлення алеля іншої неалельної алеломорфної пари.

Епістатична система генів виявлена в курей. Деякі їхні породи мають біле оперення (білий леггорн, білий плімутрок, віандот), інші ж породи мають забарвлене оперення (австралорп, нью-гемпшир, смугастий плімутрок та інші). Біле оперення різних порід курей контролюється декількома різними генами. Наприклад, домінантне біле забарвлення визначається генами *ССII* (білі леггорни), а рецесивне біле – *ссii* (білі віандоти). Ген *C* контролює наявність попередника пігменту (хромогену), тобто забарвленість пера птиці, його алель *c* – відсутність хромогену (відсутність забарвлення пера). Ген *I* є інгібітором дії гена *C*, його алеломорф (*i*) не пригнічує його дію. У присутності навіть однієї дози гена *I* в генотипі птиці дія генів забарвлення не проявиться. Тому при схрещуванні білих леггорнів (*ССII*) з білими віандотами (*ссii*) гібриди  $F_1$  білі (*CcIi*). При схрещуванні між собою гібридів  $F_1$  у другому поколінні має місце розщеплення за забарвленням у співвідношенні 13 білих: 3 забарвлених:

$P: CСII \times cсii$

білі білі

$F_1: CcIi \times CcIi$

білі білі

$F_2: 9 C-I- : 3 cсI- : 3 C-ii$

13/16 білі 3/16 забарвлені

Отже, розщеплення в співвідношенні **13:3** за фенотипом в  $F_2$  при домінантному епістазі спостерігається, коли ознака формується лише за наявності домінантного алеля гена, який її контролює (в нашому прикладі гена *C*), і гена-інгібітора в рецесивному стані (*ii*). При цьому рецесивний алель гена *C*, дія якого пригнічується, має той самий фенотипний ефект, що й домінантний інгібітор *I* ( $I = c$ ).

Розщеплення **12:3:1** за фенотипом в  $F_2$  при домінантному епістазі спостерігається, якщо  $I > A$ , причому обидва ці гени контролюють розвиток різних ознак. Наприклад, гібридизація цибулі з червоними та білими цибулинами дає в  $F_1$  рослини лише з білими цибулинами, а в  $F_2$  спостерігається розщеплення в співвідношенні 12/16 рослин із білими, 3/16 – з червоними, 1/16 – з жовтими цибулинами. Таке розщеплення можливе, якщо ген *A* контролює формування цибулин червоного кольору, його алеломорф *a* – жовтих цибулин; ген *I* є геном-інгібітором, а при наявності в генотипі його алеломорфа (*i*) цибулини забарвлені:

$P: AAii \times aaII$

червоні білі

$F_1: AaIi \times AaIi$

білі білі

$F_2$ : 9/16 *A-I* : 3/16 *ccI* : 3/16 *C-ii* : 1/16 *ccii*  
 12/16 білі                      3/16 червоні                      1/16 жовті

Таким чином форми, в генотипі яких був присутній ген-інгібітор, опинялися білими (домінантний інгібітор *I* пригнічує прояв обох алелей гена *C*). Слід відмітити, що гетерозиготи за геном *I* мають слабке забарвлення навколо шийки цибулини, тоді як гомозиготні форми *II* зовсім білі.

Такий самий тип успадкування встановлений для забарвлення плодів гарбуза. У гарбуза є три види забарвлення плодів: біле, жовте, зелене. Домінантний алель гена *A* контролює жовте забарвлення гарбуза, рецесивний алель – зелене. Інший ген проявляє епістатичну дію – пригнічує утворення пігменту як жовтого, так і зеленого забарвлення. Рецесивний алель епістатичного гена не впливає на проявлення забарвлення плодів гарбуза. При схрещуванні рослин з білими (*AAII*) та зеленими (*aa ii*) плодами, все потомство  $F_1$  біле, а в  $F_2$  розщеплення ознак відповідатиме співвідношенню 12/16 білих: 3/16 жовтих: 1/16 зелених плодів.

У наведеному прикладі ген-пригнічувач не визначає сам яку-небудь якісну ознаку або синтетичний процес, а лише пригнічує дію інших генів. Деяко інший механізм домінантного епістазу відомий стосовно забарвлення зерна вівса. У цьому випадку ген-пригнічувач виконує дві функції – забезпечує проявлення певної ознаки та одночасно має епістатичну дію на інший ген. У цієї культури встановлені домінантні гени, що визначають чорне (*A*) і сіре (*B*) забарвлення зерна. Крім того, ген *A* проявляє епістатичну дію по відношенню до гена *B*. При схрещуванні батьківських форм із чорним насінням (*AABB*) і білонасінних форм (*aabb*) в  $F_1$  все потомство з чорним насінням (*AaBb*), оскільки ген *A* пригнічує прояв гена *B*. Розщеплення в  $F_2$  за фенотипом спостерігатиметься в співвідношенні 12:3:1:

$P$ : *AABB* × *aabb*  
 чорні      білі  
 $F_1$ : *AaBb* × *AaBb*  
 чорні      насінини  
 $F_2$  : 9 *A-B-* : 3 *A-bb* : 3 *aaB-* : 1 *aabb*  
 чорні      чорні      сірі              білі

Всього 12/16 чорнонасінних: 3/16 із сірими: 1/16 – з білими насінинами.

Ще одним прикладом домінантного епістазу є взаємодія генів, що визначають забарвлення шерсті в коней. Ген *B* у домінантному стані контролює формування вороної масті, а в рецесивному –



рудої. Ген *C* у доміантному стані визначає сіру масть (викликає ранне посивіння коней). Крім того, ген *C* проявляє епістатичну дію відносно гена *B* незалежно від того, чи перебуває останній у доміантному або рецесивному стані. В результаті дії гена-пригнічувача *C* масть коней незалежно від алельного стану гена *B* стає сірою. Тому від схрещування сірих коней генотипу *BBCC* з рудими (*bbcc*) в  $F_1$  народжується сіре потомство (*BbCc*). При схрещуванні коней сірої масті між собою в  $F_2$  спостерігається розщеплення 12 : 3 : 1:

$P: BBCC \times bbcc$

сірі      руді

$F_1: BbCc \times BbCc$

сірі      сірі

$F_2: 9 B- C- : 3 bbC- : 3 B-cc : 1 bbcc$

сірі      сірі      вороні      руді

12/16 сірих : 3/16 вороних : 1/16 рудих.

**При рецесивному епістазі** ген-інгібітор рецесивний. Будучи в гомозиготному стані, рецесивний алель-інгібітор одного гена не дає можливості фенотипно проявитися будь-яким алелям іншого гена (доміантного та рецесивного):  $ii > B$ ;  $ii > bb$ . При цьому, як і в випадку комплементарної генної взаємодії, співвідношення фенотипів у другому гібридному поколінні складатиме **9:3:4**.

Наприклад, при гібридизації рослин цибулі з червоними (А) та білими цибулинами певного сорту в рослин  $F_1$  всі цибулини червоні, а в  $F_2$  спостерігається розщеплення в співвідношенні 9/16 червоних; 3/16 жовтих, 4/16 білих цибулин. У цьому випадку рецесивний алель *c* (*colorless* – безбарвний) визначає в гомозиготному стані формування білих цибулин, а доміантний алель *C* – забарвлених. Цей випадок цікавий з точки зору практичного використання. Відомо, що забарвлені цибулини стійкі до плямистості завдяки наявності певних речовин, присутніх у забарвлених цибулинах. Рецесивні білі рослини генотипу *ssaa*, позбавлені пігменту, вразливі до хвороби, тоді як білі форми *ssA-* стійкі до неї.

Ще одним прикладом рецесивного епістазу є забарвлення шерсті в собак породи лабрадор. Пігментація шерсті забезпечується геном *B*, який у доміантному стані дає чорну масть, а в рецесивному (*b*) – коричневу. Ген *E* в доміантному стані не впливає на проявлення забарвлення, але будучи в рецесивному стані (*ee*) пригнічує синтез пігменту як чорного, так і коричневого. Такі собаки народжуються білими:

P:  $BBEE \times bbee$

чорні білі

F<sub>1</sub>:  $BbEe \times BbEe$

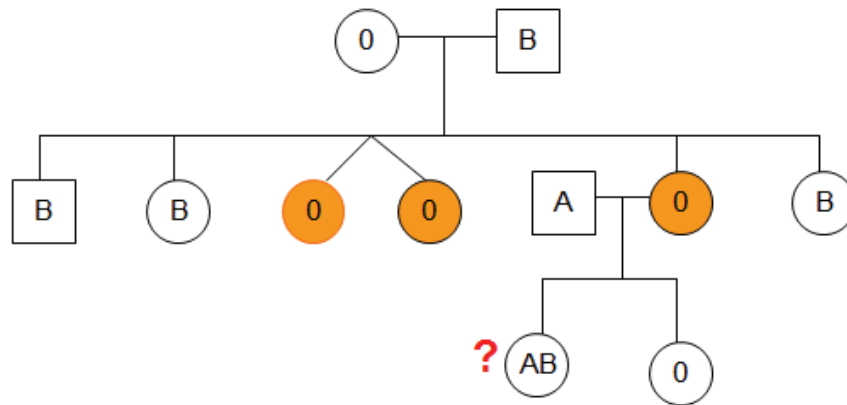
чорні чорні

F<sub>2</sub>:  $9/16 B-E- : 3/16 bbE- : 3/16 B-ee : 1/16 bbee$

чорні коричневі білі білі

9 чорні : 3 коричневі : 4 білі

Цікавим прикладом рецесивного епістазу є так званий **бомбейський феномен**. Сутність його в тому, що в місті Бомбей (Індія) в родині, де батько мав *B* групу крові, а матір – групу *O*, народилася дівчинка з групою крові *O*, що є зрозумілим. Але, коли дівчинка піросла та вийшла заміж за чоловіка з групою крові *A*, у подружжя народилося дві дівчинки – перша з групою крові *AB*, друга – з групою *O* (рис. 3.10).



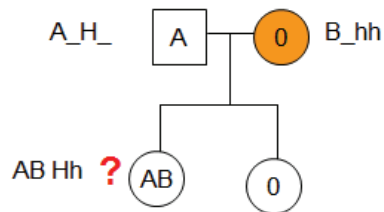
**Рис. 3.10.** – Родовід родини (приклад рецесивного епістазу – «Бомбейський феномен»)

Народження дівчинки з групою крові *AB* від матері з групою *O* викликало явне непорозуміння. Але в літературі описано ще декілька подібних випадків. За повідомленням відомого дослідника в галузі антропогенетики МакК'юсика, деякі генетики пояснюють це явище рідкісним рецесивним епістатичним геном, здатним пригнічувати дію генів груп крові *A* та *B*. Встановлено, що це явище обумовлене рецесивною мутацією в гені *H*, не гомологічному локусам *A* і *B*, яка в гомозиготному стані спричинює в процесі синтезу *A*- або *B*-антигенів утворення дефектної *H*-речовини, з якою фермент глікозилтрансфераза взаємодіяти не може, отже, нормальні антигени не утворюються (рис. 3.11).

Природа *H*-речовини нині ще не досліджена повністю. Антигени *A* і *B* присутні лише в осіб з генотипом *HH* або *Hh*. Коли обидва батьки мають генотип  $I^A I^B Hh$ , у нащадків можливими є групи крові в наступному співвідношенні:  $3A : 6AB : 3B : 4O$ .

~~B~~ \_ hh  $\Rightarrow$  фенотип групи крові 0

Ген-супресор *h* в гомозиготному стані пригнічує дію алеля *B*



**Рис. 3.11.** – Механізм проявлення «бомбейського феномену» (пояснення в тексті)

У деяких випадках окремі гени не проявляють своєї дії, якщо не взаємодіють з іншими неалельними генами. Такий тип взаємодії називається **криптомерією**, а ген, присутність якого в генотипі необхідна для проявлення ознаки – **геном-проявителем**. Наприклад, у льону (*Linum usitatissimum* L.) алель гена *A* визначає забарвлений вінчик квітки, його алеломорф *a* – незабарвлений вінчик; домінуючий алель іншого гена *B* – блакитний колір квітки; його алеломорф *b* – рожевий. У результаті гібридизації рожевих форм із білими в  $F_1$  всі рослини льону з блакитними квітками, а в другому гібридному поколінні спостерігається розщеплення за фенотипом: 9/16 рослин із блакитними квітками; 3/16 – з рожевими; 4/16 – з білими:

$P: AA_{vv} \times aaBB$

рожеві білі

$F_1: AaBv \times AaBv$

блакитні блакитні

$F_2: 9/16 A - B - ; 3/16 A - vv; 3/16 aaB - ; 1/16 aavv$

блакитні рожеві 4/16 білі

У гризунів (кролів, білок, морських свинок, мишей та ін.) забарвлення дикого типу – агуті залежить від дії двох генів: гена *C*, що визначає розвиток цієї ознаки, та гена, що відповідає за розподілення пігменту по довжині волосся (*A* – зональне розподілення пігменту; *a* – рівномірний розподіл). При схрещуванні чорних мишей з білими (альбіносами) всі тварини першого гібридного покоління мають забарвлення шерсті агуті, а в  $F_2$  спостерігається розщеплення в співвідношенні 9/16 – агуті, 3/16 – чорні, 4/16 – білі:

$P: aaCC \times AA_{cc}$

чорні білі

$F_1: AaCc \times AaCc$

агуті

$F_2: 9/16 A-C- (агуті); 3/16 aaC- (чорні); 3/16 A-cc + 1/16 aacc (білі)$

На перший погляд, наведений приклад з успадкуванням забарвлення шерсті в мишей може розглядатися як звичайне комплементарне спадкування. Для визначення того, до якого типу спадкування належить той чи інший випадок, необхідно визначати біохімічну основу даної ознаки. Незнання цієї біохімічної основи призводить до ситуації, коли той самий випадок може бути віднесений до різного типу взаємодії генів.

**3.10.3. Полімерія.** Низка ознак і властивостей організму може контролюватися декількома генами з однаковим фенотипним ефектом. При цьому спостерігатиметься посилення ознаки із збільшенням кількості їх алелей у генотипі – *кумулятивний ефект*. Множинні гени з однаковою дією (полігени) здатні визначати спадково обумовлені якісні (альтернативні) або кількісні ознаки (темп росту, маса, яйценосність курей, жирність молока, кількість білку в ендоспермі, швидкість перебігу біохімічних реакцій, вміст вітамінів у рослинах тощо).

*Полімерія* – тип взаємодії неалельних генів, які сумарно (аддитивно) впливають на розвиток однієї ознаки. Такі гени називають *полімерними* або *множинними*. Для того, щоб підкреслити однаковість дії різних генів на проявлення однієї, тієї ж самої ознаки, їх позначають однаковими літерами, додаючи лише різні цифри:  $A_1, A_2, A_3$  і т.д.

Розрізняють кумулятивну та не кумулятивну полімерію.

При *кумулятивній полімерії* ступінь вираження ознаки залежить від кількості домінуючих алелей в генотипі. Існування полігенів виявлено шведським генетиком *Г. Нильсоном-Еле* в 1908 році при вивченні забарвлення зерна пшениці. Вчений з'ясував, що полігени успадковуються за менделівськими законами спадковості, але вплив їх на фенотип, розщеплення в  $F_2$  відрізняється від менделівського розщеплення.

Г. Нильсон-Еле провів гібридизацію ліній (тобто гомозиготних форм) пшениці, які відрізнялися забарвленням зерна: темно-червоних та білозерних. Все насіння рослин першого гібридного покоління було червоним, а в  $F_2$  спостерігалось розщеплення в співвідношенні 15/16 забарвлених насінин: 1/16 незабарвлених:

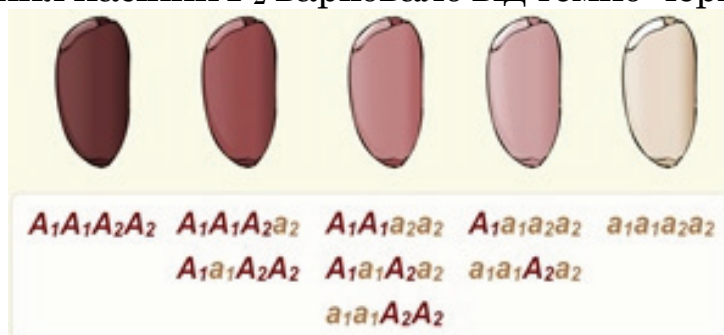
$P: A_1A_1A_2A_2 \quad \times \quad a_1a_1a_2a_2$   
темно-червоні  білі

$F_1: A_1a_1A_2a_2 \quad \times \quad A_1a_1A_2a_2$   
червоні  червоні

$F_2: 1/16 A_1A_1A_2A_2: 2/16 A_1a_1A_2A_2: 2/16 A_1A_1A_2a_2: 4/16 A_1a_1A_2a_2: 1/16 A_1A_1a_2a_2:$   
1/16 темно-червоні:  4/16 червоні  6/16 рожеві

$1/16 a_1a_1A_2A_2: 2/16 A_1a_1a_2a_2: 2/16 a_1a_1A_2a_2: 1/16 a_1a_1a_2a_2$   
 4/16 блідо-рожеві  1/16 білі

Забарвлення насінин  $F_2$  варіювало від темно-червоного до білого:



Генетичний аналіз розщеплення ознак в  $F_3$  та наступних поколіннях показав, що рослини, які виростили з білих зерен, та рослини, які виростили з темно-червоних зерен, надалі не дають розщеплення ознак, тобто є константними за цими ознаками. Із зерен з проміжним забарвленням зерна (червоні, рожеві, блідо-рожеві), розвивалися рослини, які надалі в наступних поколіннях дають розщеплення за забарвленням зерна.

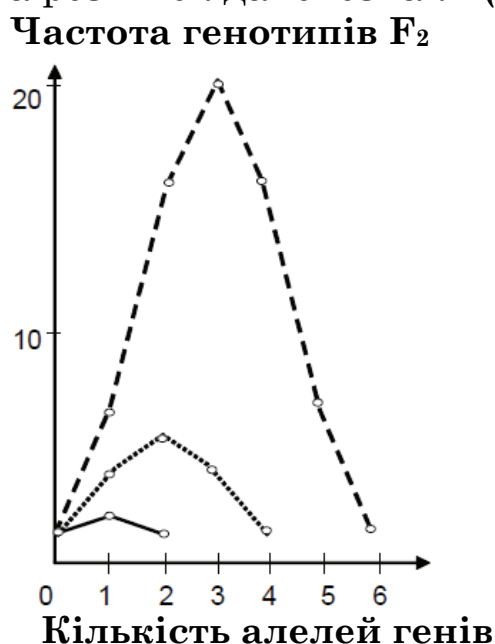
Темно-червоне забарвлення зерна у пшениці спостерігається в рослин, в генотипі яких дві пари домінантних алельних генів у гомозиготному стані  $A_1A_1A_2A_2$ . Рецесивна гомозигота за цими генами  $a_1a_1a_2a_2$  обумовлює біле забарвлення зерна. При гібридизації цих форм одержані рослини з рожевими зернами (генотип  $A_1a_1A_2a_2$ ), які при самозапиленні в  $F_2$  дали розщеплення в співвідношенні 1/16 темно-червоних ( $A_1A_1A_2A_2$ ): 4/16 червоних ( $2/16 A_1a_1A_2A_2 + 2/16 A_1A_1A_2a_2$ ): 6/16 рожевих ( $4/16 A_1a_1A_2a_2 + 1/16 A_1A_1a_2a_2 + 1/16 a_1a_1A_2A_2$ ) : 4/16 блідо-рожевих ( $2/16 A_1a_1a_2a_2 + 2/16 a_1a_1A_2a_2$ ) : 1/16 білих ( $a_1a_1a_2a_2$ ). Отже, при накопиченні домінантних полімерних алелей в генотипі їх дія посилюється, тобто такі гени мають кумулятивний ефект.

При визначенні ознаки трьома парами полімерних генів співвідношення фенотипів  $F_2$  складатиме 63:1. причому серед 63 фенотипів, у генотипі яких є від 1 до 6 домінантних алелей генів  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$ , градація в інтенсивності проявлення ознаки буде більш плавною, ніж при дії двох пар полімерних генів. При цьому частоти генотипів з різною кількістю домінантних алелей розподілятимуться наступним чином:  $1+6+15+20+15+6+1=64$  (крива нормального розподілення). Чим більша кількість домінантних алелей контролює ознаку, тим більшою є амплітуда її мінливості.

При **некумулятивній полімерії** характер проявлення ознаки не залежить від кількості домінантних алелей в генотипі. Наприклад, при гібридизації рослин грициків звичайних (*Capsella bursa-pastoris* L.) з трикутними та овальними стручками в  $F_1$  всі рослини – з трикутними стручками (рис. 3.12).



Між якісними та кількісними ознаками неможливо провести межу. Наприклад, ознака забарвлення очей у дрозоділи на морфологічному рівні виглядає як якісна (наявність-відсутність забарвлення), а на біохімічному – як кількісна, оскільки титри пігментів у різних особин можуть плавно змінюватися. При схрещуванні форм, які відрізняються кількісними ознаками, в  $F_1$  зазвичай не спостерігається домінування ознаки одного з батьків, а в  $F_2$  немає чіткого розщеплення на невелику кількість фенотипних класів. Пов'язано це з тим, що кількісні ознаки відрізняються від якісних сумарною дією великої кількості пар алелей, як це спостерігається при полімерії. При цьому кількість фенотипних класів збільшується із збільшенням кількості пар генів, що впливають на розвиток даної ознаки (*рис. 3.13*).



**Рис. 3.13.** – Криві нормального розподілення (Гаусові криві) частот генотипів в  $F_2$  за моногібридного (нижня крива), дигібридного (середня крива), тригібридного схрещування (верхня крива)

При спадкуванні кількісної ознаки потомство гібрида утворює безперервний варіаційний ряд за фенотипом. Отже, мінливість кількісної ознаки на відміну від альтернативної оцінюється амплітудою її варіювання; остання спадково визначена та має пристосувальне значення в онтогенезі.

Як визначити, скільки гетерозиготних локусів контролюють різні варіанти ознаки, за якими відрізняються батьки? Кількість таких локусів полімерних генів можна встановити за кількістю рецесивних нащадків:  $1/16$  – розщеплення відбувається за двома

локусами;  $1/64$  – за трьома;  $1/256$  – за чотирма;  $1/1024$  – за п'ятьма і т.д., тобто в загальному випадку вона дорівнює  $(1/4)^n$ .

Успадкування кількісних ознак відбувається за законами Менделя: чим більше пар алелей впливає на формування ознаки, тим більшим є варіювання за даною ознакою. Гібриди  $F_1$  за кількісними ознаками займають проміжне положення між батьківськими формами, в  $F_2$  відбувається варіювання ознаки від найменшого значення однієї батьківської форми до найбільшого значення іншого батька. В  $F_2$  кількість генотипів  $3^n$ , але фенотипів менше, оскільки вони залежать тільки від кількості домінантних алелей у генотипі. Наприклад, якщо ознака контролюється двома парами алелей, в  $F_2$  буде  $3^2 = 9$  генотипів. Але форми  $A_1a_1A_2a_2$ ,  $A_1A_1a_2a_2$ ,  $a_1a_1A_2A_2$  мають однаковий фенотип, оскільки включають по дві домінанти. Це стосується форм з однією й трьома домінантами. В даному прикладі генетичних значень п'ять:  $4A$ ,  $3A$ ,  $2A$ ,  $1A$ ,  $0A$ , тобто  $2n + 1$ .

Розподілення потомства відповідає біноміальній кривій, а частота особин певного генетичного значення дорівнює добутку частоти попереднього члена на його генетичне значення, поділене на кількість попередніх членів:

*кількість домінантних алелей у генотипі:*  $4A$     $3A$     $2A$     $1A$     $0A$   
*частота генотипів:*  $1/16$     $4/16$     $6/16$     $4/16$     $1/16$

Крім генетичних властивостей організму існує низка зовнішніх по відношенню до нього впливів, які можуть нівелювати спадкові відмінності та ще більше сприяти безперервному характеру мінливості кількісних ознак.

Загальна фенотипна мінливість  $\sigma^2_p$  складається із двох факторів: генотипної мінливості  $\sigma^2_G$  та мінливості під впливом оточуючого середовища  $\sigma^2_E$ :

$$\sigma^2_p = \sigma^2_G + \sigma^2_E.$$

Значення  $\sigma^2_G$  знаходяться наступним чином. Мінливість в  $F_1$  визначається лише умовами середовища, оскільки особини в  $F_1$  за генотипом є однорідними, тобто  $\sigma^2_{F1} = \sigma^2_E$ ; мінливість  $F_2$  визначається двома факторами:  $\sigma^2_{F2} = \sigma^2_G + \sigma^2_E$ .

$$\text{Тоді } \sigma^2_G = \sigma^2_{F2} - \sigma^2_E = \sigma^2_{F2} - \sigma^2_{F1}.$$

Величину  $\sigma^2_E$  у тварин знаходять за допомогою метода ідентичних однойцевих близнюків, оскільки всі відмінності між ними зумовлені зміною умов середовища:  $\sigma^2_p = \sigma^2_E$ .

У генетиці існують два поняття, важливі для розуміння відносин між генотипом і фенотипом, – «*норма реакції*» та «*діапазон реакції*». Ці поняття близькі, проте між ними існують досить значні відмінності.



**Нормою (діапазоном) реакції** даного генотипу називається система, що описує безліч фенотипів, існування яких потенційно можливе в тому разі, якщо даний генотип буде перебувати у взаємодії із різними середовищами. Поняття і норми, і діапазону реакції припускає, що кожний генотип асоціюється з певною характерною для нього низкою фенотипів, що формуються в різних середовищах.

Відмінності в поняттях норми і діапазону реакції полягають у наступному. Розглянемо гіпотетичний приклад, що стосується ознаки, яка відображає певні специфічні здібності людини. Людина є біосоціальною істотою, на інтелектуальний розвиток якої суттєво впливає середовище, в якому дитина розвивається та росте. Припустимо, чотири генотипи одночасно існують у різних типах середовищ, які відрізняються один від одного за рівнем різноманітності та насиченості. У збідненому середовищі діапазон фенотипних значень відносно малий, і чотири генотипи проявляються в фенотипах, які мало відрізняються один від одного. Діапазон фенотипних значень істотно зростає в типовому середовищі і досягає максимуму в середовищі збагаченому. Різниця між значеннями даного генотипу в збідненому та збагаченому середовищах називається **діапазоном реакції цього генотипу**. Отже, фенотип – це реалізація генотипу в певних умовах середовища. Тому процес формування ознаки слід завжди розглядати в контексті взаємодії генотипу організму з умовами оточуючого середовища, які на нього впливають.

За часів Ч. Дарвіна всю спостережувану мінливість поділяли на спадкову та не спадкову. Нині такий поділ є правильним лише в загальних рисах. Генетичні дослідження показали, що неспадкових ознак немає та бути не може: всі ознаки і властивості організму в тій чи іншій мірі спадково обумовлені. У процесі розмноження від покоління до покоління передаються не ознаки, а код спадкової інформації, що визначає лише можливість розвитку майбутніх ознак у певному діапазоні. Успадковується не ознака, а норма реакції особини, що розвивається, на дію зовнішнього середовища. При цьому спадкова реалізація кожної ознаки або властивості визначається не одним, а, як правило, багатьма генами (принцип полімерної дії генів); з іншого боку, будь-який ген впливає не на один, а на більшість ознак (принцип плейотропної дії гена). Межі характерної для даного генотипу норми реакції можуть бути виражені, таким чином, лише сукупністю фенотипів, що сформувалися на основі цього генотипу при всіх можливих умовах середовища. Наприклад, у результаті

аналізу спадкування ознак продуктивності курей (*Callus domestica*), таких як несучість і маса яйця, було показано, що у більшості порід (популяцій) курей генотипна складова (успадкованість) несучості невелика (12-30%), успадкованість маси яйця значна (60-74%). Тому добір в напрямку збільшення несучості зазвичай не є ефективним, тоді як добір на підвищену масу яйця відразу ж дає позитивні результати.

Таким чином, характер спадкування кількісних ознак має наступні особливості:

- безперервне варіювання ступеню проявлення ознаки в залежності від дози домінуючих генів, що зменшує відмінності між класами розщеплення;

- кількісні ознаки піддаються впливу середовища. Мінливість таких ознак під дією факторів зовнішнього середовища називається **паратипічною**.

Ознака в гібридному потомстві може бути виражена сильніше або слабше, ніж у батьків, що є наслідком відповідно позитивної або негативної трансгресії. **Трансгресія** – явище посилення (**позитивна трансгресія**) або послаблення (**негативна трансгресія**) проявлення будь-якої спадково обумовленої ознаки в потомстві в порівнянні з батьківськими особинами. Спостерігається в тих випадках, коли кількісний прояв певної ознаки пов'язаний з функціонуванням двох і більшої кількості полімерних генів.

Явище трансгресії використовують в селекційній роботі для одержання нових сортів перш за все видів рослин, що самозапильються. Використання трансгресії обмежується тим, що її імовірність знижується із збільшенням кількості генів, що контролюють ознаку.

Трансгресія спостерігається, коли в батьківських форм домінуючі гени, що контролюють ознаку, знаходяться в різних локусах:

$$\begin{array}{l}
 P: A_1A_1a_2a_2 \quad \times \quad a_1a_1A_2A_2 \\
 F_1: A_1a_1A_2a_2 \quad \times \quad A_1a_1A_2a_2 \\
 F_2: A_1A_1A_2A_2 : A_1a_1A_2A_2 : A_1A_1A_2a_2: 4/16 A_1a_1A_2a_2 + 1/16 A_1A_1a_2a_2 + 1/16 a_1a_1A_2A_2: \\
 \quad 5/16 - \text{форми з позитивною} \quad 6/16 - \text{форми, подібні до батьків} \\
 \quad \text{трансгресією}
 \end{array}$$

$$\begin{array}{l}
 A_1a_1a_2a_2 + a_1a_1A_2a_2 : a_1a_1a_2a_2 \\
 5/16 - \text{форми з негативною трансгресією}
 \end{array}$$

У наведеному вище прикладі в особин з кількістю домінуючих алелей більшою, ніж у батьків (4А, 3А), ознака буде виражена сильніше. Так само можна пояснити, чому в батьків середнього зросту можуть бути діти високого та низького зросту. Якщо форми з 4А ( $A_1A_1A_2A_2$ ) гомозиготні та константні, то форми з

ЗА гетерозиготні, в потомстві вони даватимуть розщеплення. Це стосується і форм з негативною трансгресією.

Ознака в потомстві може бути виражена сильніше або слабше, ніж у батьків, внаслідок її різного ступеня вираження (експресивності). Варіювання генотипного проявлення гена можливе при зміні умов середовища, що відбувається при реалізації багатьох ознак у всіх організмів. Спадковість визначає спектр можливих станів даної ознаки – його **норму реакції**, але виникненню варіантів цієї норми сприяє взаємодія генотипу та середовища. Наприклад, мутація *bar* («смугоподібні» очі) спричинює редукцію передніх і задніх фасеток очей у дрозоділи, в результаті чого око має лише вертикальну смужку фасеток. Ступінь проявлення цієї мутації строго залежить від температури: чим нижче температура, при якій розвивалися личинки мутантних дрозоділ, тим більшою є кількість фасеток ока. Проявлення мутації залежить перш за все від того генетичного середовища, в якому опиняється мутантний алель.

**3.10.5. Дія генів-модифікаторів. Гени-модифікатори** – гени, які впливають на ступінь проявлення ознак (кількісних або якісних), що контролюються іншими неалельними генами. Наприклад, ген *D* контролює інтенсивність пігментації, мишей, кішок та інших тварин. У домінантному стані (генотип *DD* або *Dd*) цей ген дозволяє проявлятися забарвленню, тоді як в рецесивному стані (генотип *dd*) навіть за наявності домінантних генів, що визначають синтез пігменту (генотип *CC* або *Cc*), спостерігатиметься ефект «розчинення» забарвлення (наприклад, поява молочно-білого забарвлення мишей).

Отже, гени-модифікатори – гени, що посилюють або послаблюють чіткість фенотипних проявів інших неалельних генів. У генів-модифікаторів самостійна функція відсутня. Ці гени впливають на характер проявлення кількісних ознак – врожайності, маси організму, лінійних та об'ємних розмірів, концентрації білків, жирів та вуглеводів у клітинному соку тощо.

**3.10.6. Ефект положення гена.** Активність гена може залежати від зміни місця його локалізації у хромосомі. Так, зміна домінантності гена може відбутися внаслідок зміни розміщення сусідніх генів. **Ефект положення** – взаємний вплив генів однієї хромосоми, що займають в ній найближчі локуси.

Класичним прикладом ефекту положення є спадкування домінантного гена *Bar*, розміщеного в X-хромосомі, який спричинює утворення смугоподібних очей у дрозоділи замість округлих. Гомозиготна самка *Bar* з двома генами *Bar* має більш

вузькі очі, ніж самець, єдина X-хромосома якого має один ген *Var*. Вивчення хромосом слинних залоз показало, що ген *Var* виникає в результаті подвоєння невеликої ділянки хромосоми, що містить чотири диски. В потомстві таких гомозиготних самок можуть виникати хромосоми, що містять три гени *Var*. Такі хромосоми забезпечують появу ознаки ультра-*Var* (очі більш вузькі, ніж у гомозиготних самок). Гетерозиготна самка ультра-*Var* з однією нормальною хромосомою та однією хромосомою ультра-*Var* має стільки ж ділянок *Var*, скільки гомозиготна мутантна самка, але в гетерозиготи очі значно менше, ніж у гомозиготи.

Ефект положення може бути наслідком структурних перебудов хромосом; за характером проявлення він може бути домінантним, рецесивним, летальним, змінювати проявлення кількісних ознак, діяти як модифікатор домінантності та пенетрантності інших генів. Перенесення гена в гетерохроматинові ділянки хромосом часто супроводжується послабленням або припиненням його експресії, і, навпаки, деякі гени після перенесення зберігають свою активність і в гетерохроматиновому оточенні. Пригнічення експресії таких транслоційованих генів може бути повним при стабільному ефекті положення і варіювати в залежності від типу соматичних клітин, в яких знаходиться хромосома з транслокаціями. Оскільки в останньому випадку в організмі утворюються клони соматичних клітин, які з різною ефективністю експресують транслоційовані гени (аж до повного пригнічення їх транскрипції), такий ефект положення називають *ефектом положення мозаїчного типу PEV* (*PEV – position effect variegation*).

Для пояснення ефекту положення гена висунуті дві гіпотези: 1) *кінетична*, яка пояснює це явище порушенням локальної взаємодії між генами та генними продуктами; 2) *структурна*, що розглядає це явище як результат фізичної зміни локусу на хромосомі, що призводить до зміни структури нуклеопротеїду.

Підтвердження існування ефекту положення отримано з розвитком методів *трансгенозу* – введення чужорідних рекомбінантних генів в геном клітин зародкової лінії вищих організмів.

**3.10.7. Плейотронія.** За Менделем, конкретний ген визначає розвиток однієї певної ознаки. Але відомі гени, які впливають не тільки на ознаки, що контролюються ними, але здатні впливати на розвиток інших ознак. Такий ген спричинює прояв своєї специфічної ознаки (основний ефект) і пов'язаних з ним інших ознак (вторинний ефект). Залежність формування декількох ознак від одного гена називається *плейотронією*, а ген,

що має множинну фенотипну дію, називається *плейотропним геном* (гр. *pleios* – повний, *tropos* – спосіб).

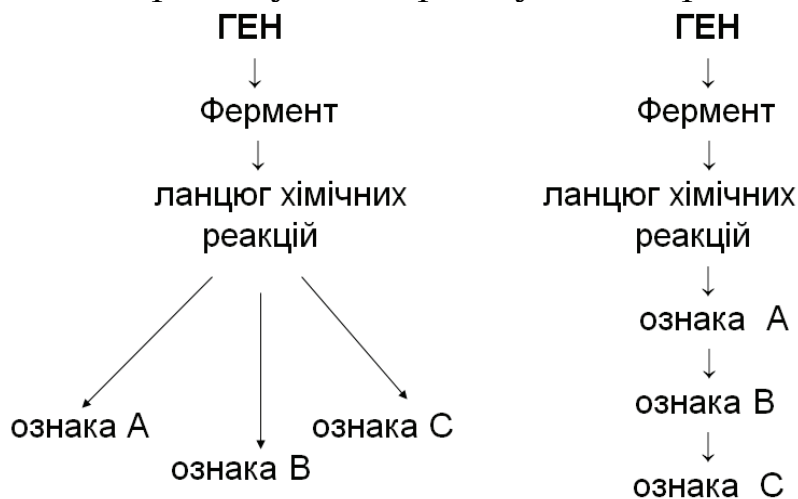
*Плейотропія* – явище множинної дії гена, його здатність впливати одночасно на проявлення декількох ознак організму. Таким чином, нова мутація в гені може вплинути на деякі або всі пов'язані з цим геном ознаки. Цей ефект може викликати проблеми при селективному доборі, коли при доборі за однією з ознак лідирує один алель, а при доборі за іншими ознаками – інший алель цього ж гена.

Мутація одного гена призводить до порушення обміну на певному етапі метаболізму, але оскільки метаболічні шляхи у клітині є багатоетапними та взаємопов'язаними, ця ланка порушеного обміну неминуче відобразатиметься на наступних етапах, отже, на проявленні деяких інших ознак.

Летальна дія гена – один із різновидів плейотропії. Ген, що визначає будь-яку ознаку, може впливати також на життєздатність організму. Приклад летальної дії гена – успадкування платиного забарвлення шерсті в лисиць. До 30-х років ХХ століття в природі не було платинових лисиць, а були тільки сріблясті. Цей ген з'явився лише в результаті мутації. Платинове хутро увійшло в моду і стало дуже дорогим, тому перед селекціонерами постало завдання вивести породу (тобто чисту лінію) платинових лисиць. Генетичний аналіз успадкування ознаки дозволив встановити, що ген платиновості є домінантним. Для отримання чистої лінії схрещували платинових лисиць, з яких, за законом Г. Менделя, одна чверть повинна бути гомозиготною за домінантним алелем. Але при подальшому схрещуванні платинових лисиць у потомстві все одно з'являлися сріблясті цуценята, що свідчило про батьківську гетерозиготність. Розщеплення за фенотипом в  $F_2$  при моногібридному схрещуванні відбувалося в співвідношенні  $2/3 A- : 1/3 aa$  (а не  $3/4 A- : 1/4 aa$ , як передбачено менделівським законом розщеплення). Сумніватися у правильності закону розщеплення Г. Менделя було недоречно, тому стали шукати інші причини. Виявилося, що у платинових лисиць в посліді було 3-4 лисеня, тоді як норма – 4-5. З цього був зроблений висновок, що домінантні гомозиготи гинуть у період ембріонального розвитку, тому виведення чистої лінії виявилось неможливим. Ген, що спричинює припинення розвитку в ембріональний період і смерть організму, називається *летальним*. Домінантна мутація, що викликає у людини вкорочення пальців (брахідактилія), в гомозиготному стані призводить до загибелі ембріона на ранніх стадіях розвитку.

Крім летальних генів існують сублетальні, які викликають вроджені захворювання, що ведуть до смерті в дитинстві до настання статевої зрілості, хоча є й винятки. Прикладом домінантного сублетального гена є ген, що визначає захворювання ретинобластому, при якому в ранньому дитинстві розвивається ракова пухлина ока. Раніше це захворювання завжди призводило до смерті, нині проводять операції, які рятують людину, але це призводить до сліпоти на один або обидва ока.

Розрізняють первинну та вторинну плейотропію (*рис.3.14*).



**Рис. 3.14.** – Схема первинної (ліворуч) і вторинної (праворуч) плейотропії

При **первинній плейотропії** ген одночасно проявляє множинну дію. Наприклад, *синдром Марфана* обумовлений дією одного гена. Цей синдром проявляється наступними ознаками: високий зріст за рахунок довгих кінцівок, тонкі пальці (арахнодактилія), підвивих кришталика, вади серця, високий рівень катехоламінів у крові. Дія рецесивного гена іншого захворювання людини – *фенілкетонурії* – спричинює підвищений вміст фенілаланіну в крові, зниження розумового розвитку, зміни розміру голови, кольору волосся. У Пакистані деякі люди не мають потових залоз на окремих ділянках тіла, що корелює з відсутністю зубів.

При **вторинній плейотропії** наявне одне первинне фенотипне проявлення гена, яке обумовлює появу вторинних ознак. Наприклад, аномальний гемоглобін S в гетерозиготному стані первинно проявляється в вигляді серпоподібноклітинної анемії, яка призводить до вторинних фенотипних проявів у вигляді стійкості до малярії, анемії, ураження серця і мозку. Мутація нормального алеля веде до зміни молекулярної структури гемоглобіну, при цьому еритроцити втрачають здатність транспорту кисню і набувають серповидну форму замість округлої.

Отже, в даному випадку наявна ієрархія причин множинного ефекту мутантного гена: змінений мутантний алель → аномальний гемоглобін → обумовлена зміненим гемоглобіном аномальна серпоподібність еритроцитів → злипання та руйнування еритроцитів → органічні дефекти та анемія.

Плейотропна дія генів добре досліджена при вивченні спадкування карликовості мишей. При схрещуванні фенотипно нормальних мишей у потомстві  $F_1$  миші виявилися карликовими, з чого був зроблений висновок, що карликовість зумовлена рецесивним геном. Рецесивні гомозиготи припиняли свій ріст на другий тиждень після народження, були нездатними до розмноження, внутрішні органи (особливо залози внутрішньої секреції) мали змінену форму. Миші були менш рухливі і погано переносили перепади температур. Ген карликовості визначав аномальний розвиток гіпофізу, який, у свою чергу, визначав ранню зупинку росту (зміну пропорцій тіла); аномальний розвиток статевих залоз (що супроводжувалося стерильністю); аномальний розвиток щитовидної залози, що спричинювало знижений обмін речовин (тому карликові миші були більш чутливі до холоду, але більш стійкі до голоду). Цей ланцюжок представляє послідовну зміну ознак при дефекті лише одного гена.

Отже, будь-який організм представляє собою складну систему, в якій різні процеси знаходяться у взаємозв'язку. Порушення навіть одного з них може призвести до серйозних порушень в обміні речовин та зміни багатьох морфо-фізіологічних характеристик. При цьому той самий ген може мати різний вплив на проявлення ознак: посилювати (гені-модифікатори) або послаблювати (гені-інгібітори) дію основного гена, що контролює певну ознаку. Вплив гена на проявлення ознак або властивостей організму тим більший, чим раніше проявляється його активність в ембріогенезі.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Який метод використовував Г.Мендель у дослідах із вивчення спадковості?
2. Які закони спадковості встановив Г.Мендель?
3. Чи завжди спадкування ознак підкоряється законам Менделя?
4. Якщо одержані результати досліду відрізняються від теоретично очікуваних, як можна встановити, що одержане відхилення випадкове?

5. У чому сутність множинного алелізму? Чи змінюється співвідношення фенотипів у гібридному потомстві при множинному алелізмі?
6. Чи впливають фактори середовища на проявлення генотипу?
7. Чи може відновлюватися дикий фенотип у мутантних форм?
8. Навести причини відхилень від очікуваного розщеплення при взаємодії алельних генів.
9. Яке схрещування називається аналізуючим і чому?
10. В яких випадках гібриди  $F_1$  відрізняються від обох батьківських форм?
11. Що показує тест на комплементарність?
12. Що таке епістаз і криптомерія?
13. Що таке полімерія? Трансгресія? Як успадковуються полімерні гени?
14. Чи змінюється дія гена в залежності від його місця його локалізації у хромосомі? Що таке ефект положення гена?
15. Що означає полігенність ознаки? Які приклади можуть проілюструвати цей факт? Як успадковуються кількісні ознаки?
16. Чи може один ген впливати одночасно на появу декількох ознак організму?
17. Які особливості спадкування ознак при нерегулярних типах статевого розмноження?



---

## РОЗДІЛ 4.

# ГЕНЕТИКА СТАТІ

---

### 4.1. Статеві хромосоми та їх еволюція

Статеве розмноження властиве всім організмам, за виключенням тих, котрі вторинно втратили статевий процес. За рахунок статевого розмноження під контролем природного добору вид накопичує найвигідніші сполучення генів, формуючи генофонд.

**Стать** – комплекс морфологічних, фізіологічних, біохімічних, поведінкових ознак і властивостей організму, які забезпечують його участь у відтворенні потомства та передачу спадкової інформації наступному поколінню за рахунок утворення гамет. Біологічну стать визначають: 1) *генетична стать*, що контролюється генами статевих хромосом; 2) *наявність гонад*; 3) *наявність гормонів гонад*; 4) *соматичні ознаки* (будова статевих органів, розвиток первинних і вторинних статевих ознак).

Ознаки статі є первинними та вторинними. *Первинні статеві ознаки* визначаються функціонуванням зовнішніх і внутрішніх статевих органів, які приймають безпосередню участь у процесах відтворення, тобто в гаметогенезі та заплідненні. Вони закладаються в ембріогенезі та до моменту народження організму вже сформовані. *Вторинні статеві ознаки* залежать від первинних статевих ознак; вони не приймають безпосередньої участі в репродукції, але сприяють приваблюванню осіб протилежної статі. Вторинні статеві ознаки розвиваються під впливом статевих гормонів і з'являються в організмі у період статевого дозрівання. До таких ознак належать: у людини – особливості розвитку кістково-м'язової системи, ступінь розвитку підшкірної жирової клітковини та волосяного покриву, тембр голосу та особливості поведінки; в тварин – особливі пахучі залози, спів і забарвлення оперення птахів. Відмінності особин чоловічої та жіночої статей – *статевий диморфізм* – обумовлені морфологічними, біохімічними, фізіологічними, цитологічними, поведінковими особливостями.

Стать спадково обумовлена та в більшості організмів визначається поєднанням статевих хромосом, що відбувається в зиготі під час запліднення. На відміну від аутосом статеві хромосоми є *гетероморфними*, що визначає цілу низку особливостей успадкування ознак, які контролюються генами цих

хромосом, та є причиною відхилень від менделівських закономірностей спадкування.

У всіх тварин і дводомних рослин існує приблизно рівна кількість організмів чоловічої і жіночої статі, тобто співвідношення статей дорівнює 1:1. Таке співвідношення нагадує розщеплення при моногібридному аналізуючому схрещуванні, коли одна з батьківських форм є гетерозиготою ( $Aa$ ), інша – гомозиготою за рецесивними алелями ( $aa$ ), що свідчить про те, що одна із статей є гетерогаметною (дає два різні типи гамет за статевими хромосомами), інша – гомогаметною (продукує один тип гамет). Це розщеплення за статтю в співвідношенні 1:1 виявив ще Г. Мендель і порівняв його із результатами аналізуючого схрещування:  $F_1: Aa \times aa; F_2: 1 Aa : 1aa$ . Тому стать вважають менделюючою ознакою.

При порівнянні каріотипу статевих і соматичних клітин тварин встановлено, що самці та самки розрізняються за набором **статевих хромосом (гоносом)**. Статеві хромосоми, морфологічно однакові в особин обох статей і парні в однієї статі, називаються **X-хромосомами**. Непарна статева хромосома в каріотипі однієї статі, відсутня в каріотипі іншої статі, називається **Y-хромосомою**. Хромосоми, за якими чоловіча та жіноча стать не відрізняються, називаються **аутосомами**. Стать, яка має в каріотипі дві однакові статеві хромосоми, називається **гомогаметною**; стать, в якій статеві хромосоми різні, – **гетерогаметною (рис. 4.1)**.

Статеві хромосоми відрізняються від аутосом поведінкою в профазі I мейозу: рідко утворюють біваленти та сильно спіралізуються. Тому вони зазвичай не формують тетрад, хоча в деяких тварин і рослин під час профазі I частково кон'югують, що вказує на наявність у них ідентичних ділянок з однаковими генами. У зв'язку з особливою поведінкою в профазі I мейозу та неповною гомологічністю обидві статеві хромосоми, на відміну від аутосом, названі **гетерохромосомами**.

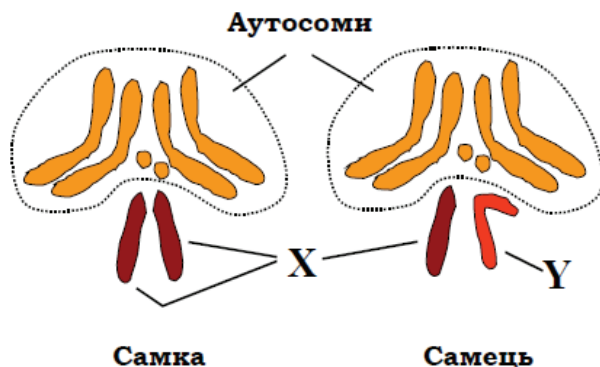


Рис. 4.1. – Каріотип самки та самця дрозофіли (*Drosophila melanogaster*)

На відміну від X-хромосоми, Y-хромосома гетерогаметної статі майже не містить генів, тобто є спадково інертною. Тому гени X-хромосоми, за деяким виключенням, не мають своїх алельних пар в Y-хромосомі та проявляються фенотипно. Такі організми, в хромосомному наборі яких є дві різні статеві хромосоми, або тільки одна з пари гомологічних аутосом, або тільки одна статеві хромосома, називається *гемізіготними*. Отже, така особина за генами статевих хромосом є ані гомозиготою, ані гетерозиготою.

Статеві хромосоми можуть бути подібними або відрізнятися тільки невеликою ділянкою (гомоморфність), але в більшості випадків вони є гетероморфними. В останньому випадку одна зі статевих хромосом – велика і багата генами (X або Z), інша містить малу кількість генів, протяжні гетерохроматинові ділянки та має маленький розмір (Y або W). Гетероморфні статеві хромосоми не здатні до кон'югації і рекомбінації в мейозі, за винятком невеликих районів, названих *псевдоаутосомними*.

Загальноприйнятою думкою щодо еволюції статевих хромосом у групі амніот (ссавців, птахів, змій) є те, що вони виникли незалежно з різних аутосомних пар предкових рептилій, визначення статі яких залежало від температури середовища. При цьому в ссавців розвинулася XY-система визначення статі, а у змій і птахів незалежно – ZW-система.

Порівняльне вивчення статевих хромосом у групі ссавців дозволило вказати на ще один механізм, що вплинув на морфологію статевих хромосом. У 1995 році професор *Дженні Грейвс (Jenny Marshall Graves)* з Австралійського національного університету висловила гіпотезу, що протогоносоми були маленькими і збільшувалися за рахунок декількох циклів додавання фрагментів різних аутосом з подальшою деградацією цих фрагментів на Y-хромосомі. Відповідно до цієї гіпотези псевдоаутосомні регіони, які зберігають здатність до синапсису в профазі I мейозу, є останніми, доданими до гоносоми фрагментами.

За сучасними уявленнями, статеві хромосоми виникли з пари гомологічних аутосом. У ссавців одна хромосома з вихідної аутосомної пари – нинішня Y-хромосома – мутувала в гені *SOX3*, в результаті чого він перетворився в ген *SRY*. Після цієї мутації ділянка прото-Y-хромосоми, що містить *SRY*, піддалася внутрішньохромосомній перебудові – *хромосомній інверсії*. Це призвело до пригнічення рекомбінації на цій ділянці. Через відсутність партнера для рекомбінації Y-хромосома стала накопичувати мутації, і з часом дегенерувала.

Ділянки Х- та Y-хромосом, що зберегли гомологічність (псевдоаутосомні ділянки на теломерах, що складають близько 5% довжини хромосоми), є результатом більш пізнього перенесення генетичного матеріалу з однієї аутосоми на гоносоми. Це реліктові ділянки давньої гомології між Х- і Y-хромосомами. Основна частина Y-хромосоми, яка не піддається рекомбінації, називається *NR<sub>Y</sub>* (англ. *Non-recombining region of Y chromosome*). Ця частина Y-хромосоми дозволяє за допомогою оцінки однонуклеотидного поліморфізму визначити прямих предків по батьківській лінії. Хоча ген *SR<sub>Y</sub>* є головним геном, що визначає розвиток за чоловічим типом, для розвитку яєчок необхідна дія численних генів.

Вважають, що в ході еволюції внаслідок відсутності кросинговеру між гомологічними ділянками людська Y-хромосома втратила майже 90% своїх початкових генів і цей процес надалі триває, її ризик мутування є в п'ять разів вищий, ніж в інших ділянках ДНК. Вчені вважають, що теоретично люди можуть розмножуватися без Y-хромосоми, оскільки з часом Y-хромосома в людей може зникнути під час подальших еволюційних змін.

Таким чином, порівняльний аналіз статевих хромосом у різних таксонах дозволяє виділити їх основні ознаки: *гетероморфність*, яка виявляється як морфологічно, так і на генетичному рівні; *гетерохроматизація* Y(W)-хромосоми, яка є причиною її генетичної інертності; *наявність псевдоаутосомних районів і району заборони рекомбінації*, де містяться стать-детермінуючі алелі; *компенсація дози* X(Z)-хромосоми. Послідовність еволюційних подій із відокремлення Y(W)-хромосоми включає наступні етапи: пара аутосом → поява стать-детермінуючих алелей → поява району пригнічення рекомбінації → розширення межі району заборони рекомбінації → дегенерація Y (W) – хромосоми.

## 4.2. Типи та механізми визначення статі

У процесі еволюції у більшості різностатевих організмів сформувався механізм детермінації (визначення) статі, який забезпечує утворення рівної кількості самців і самок, що є необхідним для нормального самовідтворення виду. **Визначення статі** – формування особин певної статі в залежності від комбінацій генетичних факторів, локалізованих у хромосомах (*генетичне визначення статі*) або від умов зовнішнього та внутрішнього середовища, в яких формуються гамети та зиготи (*фенотипне визначення статі*).

Визначення статі, або детермінація статі – біологічний процес, під час якого розвиваються статеві характеристики організму. Більшість видів організмів мають дві статі. Іноді зустрічаються також гермафродити, що поєднують ознаки обох статей. Деякі види мають лише одну стать і являють собою самок, що розмножуються без запліднення шляхом партеногенезу, під час якого з'являються також виключно самки. Статеве розмноження та статевий диморфізм широко поширені в різних таксономічних групах. Для механізмів визначення статі характерна велика їх різноманітність, що свідчить про неодноразовість і незалежність виникнення статі в різних таксонах.

**4.2.1. Фенотипне визначення статі.** Фенотипне визначення статі може відбуватися на різних стадіях процесу розмноження та залежно від цього може бути прогамним, епігамним, сингамним, еусингамним. У першому випадку стать визначається до запліднення, у другому – після запліднення, в третьому – в момент запліднення, в четвертому – залежить від запліднення чи не запліднення яєць.

У коловерток, попелиць, кільчастих червів спостерігається *прогамне визначення статі* ще в період дозрівання яйцеклітини до її запліднення. Самки відкладають незапліднені яйця двох сортів: великі, багаті на цитоплазму, диплоїдні, що партеногенетично (без запліднення) розвиваються в самок, та дрібні, відносно бідні нею, гаплоїдні (при зміні харчового режиму). Із гаплоїдних незапліднених яєць розвиваються гаплоїдні самці, що продукують гаплоїдні гамети. Якщо дрібні гаплоїдні яйця будуть запліднені гаплоїдним самцем, то вони продовжать ріст, покриються товстою оболонкою, перезимують і навесні розвинуться в звичайну диплоїдну самку. Таким чином, стать особини, що розвивається з диплоїдного яйця, визначається ще на стадії формування яйцеклітини (на цьому етапі закладається її диплоїдність), а стать особини, що розвивається з дрібного гаплоїдного яйця, залежить від того, буде воно запліднене чи ні. Фактори, що диференціюють яйцеклітини за розмірами, поки що не відомі.

*Епігамним* називається визначення статі після запліднення, в процесі розвитку особини. Прикладом є морський кільчастий черв *бонелія*, в якого дуже дрібні самці живуть в матці набагато більших за розмірами самок. Нестатєва вільно плаваюча личинка бонелії при попаданні на хоботок самки розвивається в самця під впливом виділеної цим хоботком хімічної речовини – бонеліну. Надалі самець мігрує в статеві органи самки, де відбувається запліднення. Якщо ж личинка не зустрічає самку, то осідає на дно моря та перетворюється на особину жіночої статі. Самці і самки

*Bonellia viridis* мають однаковий генотип, але добре виражений статевий диморфізм – самці паразитують у статевих протоках самки, виконуючи свою єдину функцію – запліднення яйцеклітин.

До епігамного типу належить також *залежне від температури визначення статі*. У плазунів (крокодилів, черепах) стать визначається температурою, за якої відбувається формування зародка в яйці, заритому в піску. Зазвичай при низьких температурах (нижче 27 °C) з яєць вилуплюються особини однієї статі, при високих (вище 30 °C) – іншої, і тільки в невеликому проміжному інтервалі – особини обох статей. Так, у черепах при низьких температурах з'являються тільки самці, в ящірок – тільки самки. Температурна залежність статі обумовлена синтезом в організмі різних ферментів. Види, визначення статі яких залежить від температури, не мають гена *SRY*, але мають інші гени, наприклад, *DAX1*, *DMRT1* і *SOX9*, які експресуються або не експресуються в залежності від температури.

У рідкісних випадках епігамне визначення статі зустрічається в дводомних рослин. Так, у японської аризми рослини, що виростили з великих бульб, формують жіночі квітки. З маленьких бульб розвиваються рослини з чоловічими квітками.

У більшості організмів стать визначається в момент запліднення – *сингамний тип* – та обумовлена присутністю в каріотипі статевих хромосом. При цьому гомогаметна стать продукує гамети зі статевими хромосомами одного типу (зазвичай X-місткі гамети), гетерогаметна стать продукує гамети двох типів: з X та Y хромосомами. Гетерогаметність однієї статі та гомогаметність іншої у кожного виду тварин забезпечує рівну кількість нащадків обох статей у співвідношенні  $\frac{1}{2} \text{♀ XX} : \frac{1}{2} \text{♂ XY}$ .

*Еусингамний тип* характеризується визначенням статі в залежності від запліднення або не запліднення яйцеклітини. Наприклад, у перетинчастокрилих (ос, бджіл, їздців, мурашок), які не мають статевих хромосом, належність до певної статі залежить від хромосомного набору клітин (диплоїдного чи гаплоїдного). Із запліднених диплоїдних яєць розвиваються робочі бджоли та матки (жіноча стать), з незапліднених гаплоїдних – трутні (самці).

Нещодавно китайські вчені відкрили фактор, що впливає на формування каст у родині медоносною бджолою (*Apis mellifera*). Вони показали, що мікро-РНК рослин, яка міститься в раціоні личинок, пригнічує роботу певного гена бджолої матки, і личинки стають робочими. Відомо, що конкретний шлях розвитку бджіл не визначений генетично, а залежить від багатьох факторів, в тому числі раціону личинок. При харчуванні маточним молочком –

виділенням залоз бджіл-годувальниць – личинка стає маткою, тоді як вживання в їжу перги (пилку, змішаного з медом) робить з неї робочу бджолу. Попередні дослідження окремих компонентів раціону бджолиних личинок не пояснювали джерела значних відмінностей у будові та фізіології робочих бджіл і маток. Китайські вчені вирішили перевірити вплив мікро-РНК на розвиток бджіл, оскільки було відомо, що, потрапляючи з їжею в організм, ця нуклеїнова кислота може накопичуватися в тканинах і впливати на роботу генів, що визначають розвиток.

Методами молекулярної біології вчені виділили РНК з чотирьох джерел живлення личинок – маточного молочка, меду, перги та пилку. Якісне порівняння РНК з генетичним матеріалом бджіл і капусти (рослини, на якій годувалися комахи), показало, що в маточному молочку та в меді міститься більше РНК бджолиного походження. Отже, майбутні матки мають тваринний раціон. У їжі майбутніх робочих бджіл – перги та пилку, – навпаки, більше РНК рослинного походження, з капусти.

Надалі з цього матеріалу були виділені малі РНК і зовсім короткі шматочки цієї нуклеїнової кислоти – мікро-РНК. Ці фрагменти в концентраціях, відповідних концентраціям у пилку, додавали в живильне середовище, куди висаджували личинок. Для порівняння використовували середовище без додавання РНК. Експеримент показав, що рослинна РНК накопичується в тканинах личинок і призводить до збільшення часу їх розвитку, зниження довжини тіла і ваги, а також зменшення яєчників. Відсутність цієї речовини в маточному молочку сприяє розвитку бджолиних маток. Ці спостереження уточнили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), показавши, що в раціоні майбутніх робочих бджіл 15 типів мікро-РНК зустрічалися найчастіше. Одна з таких мікро-РНК – *miR162a* – зв'язувалася з геном *atTOP*, одним з 96 можливих генів-мішеней для виділених мікро-РНК, і знижувала його роботу на 72%. Таким чином, вчені показали механізм впливу рослинної мікро-РНК на роботу гена личинки, що розвивається, та на її майбутню «долю» в складі сім'ї.

#### **4.2.2. Генетичні механізми визначення статі.**

Генетична детермінація статі – найбільш поширений спосіб визначення статі у тварин і рослин; стать при цьому може визначатися серією алелей одного або декількох аутосомних генів або наявністю статевих хромосом з генами-диференціаторами статі.

Розрізняють внутрішньоклітинний і міжклітинний механізми генетичного контролю над розвитком статевих ознак. *Внутрішньоклітинне визначення статі* властиве комахам. В

їхніх клітинах відсутні статеві гормони та гени-диференціатори статі, отже, стать визначається тільки генетичною конституцією клітини. Ссавцям і птахам властивий *міжклітинний тип визначення статі*, при якому в клітинах наявні статеві гормони та гени, що контролюють їх синтез. При цьому гени-диференціатори керують реалізацією однієї з двох потенцій організму (чоловічої або жіночої).

Основним фактором, що визначає статеву належність організму, є генетичний, обумовлений або спадкуванням окремих генів (наприклад, у дріжджів), або наявністю статевих хромосом (у людини, тварин і рослин), або плоідністю організмів (наприклад, у бджіл). Надалі, в процесі онтогенезу стать може коректуватися гормонами або факторами зовнішнього середовища. Суттєву роль в цьому процесі відіграють фізіологічні та середовищні фактори, статеве виховання. Механізмами, що контролюють стать, є: генний, хромосомний, мультихромосомний, геномний (гаплодиплоїдний).

Генний механізм визначення статі. Відомим прикладом функціонування генного механізму визначення статі є переключення типів спарювання у пекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*. У більшості штамів дріжджів вегетативні клітини, що утворюють бруньки, є гаплоїдними, а при статевому процесі утворюється зигота, яка надалі вступає в мейоз. У геномі дріжджів є гени *a* та *α*, котрі знаходяться в різних локусах однієї хромосоми та є неактивними. Один із цих генів подвоюється та надсилає свою копію в третій локус, де ген включається та починає визначати стать. Подібні механізми діють і в базидіоміцетів, в яких кількість типів спарювання досягає декількох тисяч внаслідок існування численних генів і алелей, що контролюють цей процес.

Хромосомний механізм визначення статі. У кінці ХІХ століття при вивченні деяких видів комах було виявлено, що хромосомні набори самців і самок розрізняються. Надалі роботами школи *Т. Моргана*, а також американського цитолога *Е. Вільсона* було сформульовано положення про те, що найважливіша роль у генетичної детермінації статі належить хромосомному апарату клітин. Як було зазначено вище, найбільш поширений тип визначення статі – *сингамний*, при якому стать детермінована з моменту запліднення. Як з'ясувалося надалі, механізм цього феномену базується на різних поєднаннях статевих хромосом. Залежно від кількості та складу статевих хромосом у рослин і тварин виділяють три основних типи хромосомного визначення статі, названих за тими видами організмів, в яких даний тип був вперше описаний:



1) *XY-mun*, або *Ligaeus-mun* (вперше виявлений у водяного клопа *Ligaeus turckus*). Гомогаметна стаття (XX) – жіноча, гетерогаметна (XY) – чоловіча (♀ XX : ♂ XY). Характерна для більшості ссавців (у тому числі людини), риби, двокрилих комах, дводомних рослин.

2) *XO-mun*, або *Protenor-mun* (вперше виявлений в іншого виду водяного клопа *Protenor beifragi*). Гомогаметна стаття має дві X-хромосоми, гетерогаметна – одну (♀ XX : ♂ XO), розщеплення за статтю в співвідношенні 1XX: 1XO. Цей тип характерний для деяких ссавців (кенгуру), більшості прямокрилих комах, багатьох клопів, жуків, павуків, багатоніжок, термітів і нематод, деяких ракоподібних.

3) *ZW-mun*, або *Abraaxas-mun* – менш поширений тип хромосомного визначення статі, при якому гетерогаметність властива жіночим особинам, а гомогаметність – чоловічим (♀ ZW; ♂ ZZ). Спочатку він був відкритий у метелика агрусового п'ядака (*Abraaxas grossulariata*), потім описаний у птахів, змії, тутового та непарного шовкопрядів, деяких видів риби, аксолотля, земноводних, більшості видів метеликів. У разі жіночої гетерогаметності кожному з однакових статевих хромосом особин чоловічої статі позначають буквою Z, статеву хромосому, притаманну тільки самкам – буквою W. Коли ZW-види, наприклад, *комодський варан* (*Varanus komodoensis*), розмножуються партеногенетично, народжуються тільки самці внаслідок подвоєння в гаплоїдних яйцях статевих хромосом – ZZ або WW, причому з ZZ розвиваються самці, WW нежиттєздатні і не розвиваються.

Ймовірно, вихідним для метеликів механізмом визначення статі був механізм ZO (самка) / ZZ (самець). Потім шляхом хромосомних перебудов виникла система визначення статі ZW (самка) / ZZ (самець), характерна для 98% видів метеликів. У тутового шовкопряда (система ZW/ZZ) виявлений ген *Fem* в W-хромосомі, що відповідає за розвиток жіночої статі.

4) *ZO-mun*. Гетерогаметна стаття (ZO) – жіноча, гомогаметна (ZZ) – чоловіча (♀ ZO; ♂ ZZ). У цьому випадку половина гамет самок несе Z-хромосому, а в інших гаметах статеву хромосому відсутня. Такий тип характерний для деяких видів метеликів (молі), ящірок, жаб.

Гетерогаметність чоловічої статі (типи XX-XY і XX – XO) поширена значно ширше, ніж гетерогаметність жіночої статі (типи ZW-ZZ і ZO-ZZ). У деяких систематичних груп (комахи, риби, земноводні, квіткові рослини) зустрічаються як види з чоловічою гетерогаметністю, так і види з жіночою гетерогаметністю.

Мультихромосомний механізм визначення статі. У 2004 році вчені з Австралійського національного університету в м. Канберрі виявили, що качконіс (*Ornithorhynchus anatinus*) має 10 статевих хромосом, а не дві (XY), як у більшості ссавців. Відповідно, комбінація XXXXXXXXXXX дає самку, а XYXYXYXYXY – самця. На всіх X- і Y-хромосомах качконосу є гомологічні псевдоаутосомні райони, завдяки яким ці хромосоми самців кон'югують під час профазі I мейозу. Наслідком такої кон'югації є зв'язування всіх статевих хромосом у єдиний комплекс, а при подальшому мейотичному поділі відбувається їх впорядкована *сегрегація* (розходження до полюсів клітини). Тому в самців утворюються сперматозоїди з наборами статевих хромосом XXXXX або YYYYY. Коли сперматозоїд XXXXX запліднює яйцеклітину, народжуються качконоси жіночої статі, якщо сперматозоїд YYYYY – качконіс чоловічої статі.

Хоча качконіс має XY-систему, його статеві хромосоми не виявляють гомологів серед статевих хромосом плацентарних (*Eutheria*). У той же час гомолог статевих хромосом плацентарних локалізований на 6-й аутосомі качконоса. Це означає, що статеві хромосоми плацентарних були аутосомами в той час, коли однопрохідні відділилися від звірів (*Theria*) (сумчастих і плацентарних). Геномні дослідження показали, що п'ять статевих X-хромосом качконосу мають ділянки, гомологічні Z-хромосомі птахів. Для нього характерна неповна дозова компенсація, нещодавно описана у птахів. Механізм визначення статі качконоса схожий з таким у його предків-рептилій. Куряча Z-хромосома також є спорідненою X-хромосомі качконоса.

Геномний (гаплодиплоїдний) механізм визначення статі. Сутність гаплодиплоїдності полягає в тому, що генотипи самців і самок розрізняються на геномному, а не на хромосомному рівні: гаплоїдний організм розвивається в самця, а диплоїдний – в самку (див. 4.1.1). Незапліднені яйця розвиваються в гаплоїдних самців. Диплоїдні особини, що розвиваються із запліднених яєць зазвичай є самками, але можуть бути і стерильними самцями. У самців не може бути батьків і синів. Якщо бджолина матка злучається з одним трутнем, її дочки мають  $\frac{3}{4}$  загальних генів, а не  $\frac{1}{2}$ , як в XY- і ZW-системах. Більшість самок перетинчастокрилих можуть вибрати стать своїх нащадків, зберігаючи отриману сперму в сперматеці і випускаючи або не випускаючи її в яйцепровід. Це дозволяє їм створювати більше робочих особин залежно від стану колонії.

У перелічених вище випадках існуючі відмінності в організації і фізіології особин різних статей розвиваються на фоні

ідентичних у самців і самок наборів генів, розміщених у більшій частині аутосом, і порівняно невеликій їх кількості в складі статевих хромосом.

Але в деяких видів зовсім немає системи визначення статі. Такі тварини, як дощовий черв'як і деякі равлики, є гермафродитами. Невелика кількість видів риб, рептилій і комах розмножуються партеногенезом і всі вони є самками. Існують рептилії, наприклад, звичайний удав (*Boa constrictor*) і комодський варан, які можуть розмножуватися статевим шляхом, якщо є можливість спаровування, та партеногенезом в іншому випадку. У звичайного удава партеногенетичне потомство може бути як самками, так і самцями. В деяких членистоногих стать може визначатися інфекцією (бактерією *Wolbachia*), здатною змінювати стать зараженої тварини. Деякі види цілком складаються з особин ZZ, стать визначає присутність *Wolbachia*.

**4.2.3. Особливості визначення статі в різних видів організмів.** Визначення статі в рослин. Німецький біолог Карл Корренс у 1906 році при схрещуванні дводомної і однодомної бріонії вперше довів, що дводомні рослини є гетеро- та гомогаметними: чоловіча рослина бріонії дводомної виявилася гетерогаметною (XY), жіноча – гомогаметною (XX). Гетероморфні статеві хромосоми знайдені лише в 50 видів покритонасінних дводомних рослин.

Виділяють два типи сингамного визначення статі в дводомних:

1) *Y-хромосомний* (XX+2A – жіноча стать, XY+2A – чоловіча). До таких видів відносяться: дрьома біла; спаржа; конопля посівна; хміль звичайний; шпинат; види роду Верба; види роду Тополя. У хмелю японського та двох видів шавлю чоловіча форма має генотип ХУУ. У поліплоїдних видів суниці жіноча стать гетерогаметна (XY), чоловіча – гомогаметна (XX). Виключення становить визначення статі в діоскорей: ♀XX, ♂XO.

2) *балансова детермінація*: стать визначається балансом (співвідношенням) у каріотипі кількості X-хромосом і кількості гаплоїдних наборів аутосом, тобто статевим індексом (X:A), при цьому Y-хромосома генетично інертна. Наприклад, у шавлії кислій величина статевого індексу в жіночих рослин дорівнює  $\geq 1$ , чоловічих –  $\leq 0,5$ , проміжних форм – більше 0,5, але менше 1. У багатьох дводомних рослин спеціальних статевих хромосом немає, всі хромосоми чоловічої і жіночої статі морфологічно однакові, а стать визначається наявністю певних генів в аутосомах.

В *однодомних рослин* із роздільностатевими квітками (кукурудза, рицина, огірок, диня) гетероморфні статеві хромосоми

не виявлені, але встановлені головні гени, що впливають на проявлення статі квітки. Наприклад, у кукурудзи такими генами є *sk* (*silkless*) – запобігає утворенню жіночих квіток у волоті, *ts* (*tassel seed*) – навпаки, контролює цей процес. Усі квітки потенційно гермафродитні, тому механізм визначення статі включає репресію розвитку жіночої частини в тичинкових квітках і чоловічої – в маточках. Крім того, існує гормональний механізм контролю статі: формування статевих ознак квітки визначається зміною вмісту фітогормонів (цитокінінів і гіберелінів), які впливають на експресію генів, що контролюють визначення статі квітки.

Нині вважають, що дводомні рослини виникли від однодомних і рослин із гермафродитними квітками. Свідченням цього є те, що, наприклад, у деяких дводомних рослин, що мають предків з гермафродитними квітками, в одностатевих квітках є рудименти статевих органів протилежної статі. Системи статевих хромосом у рослин також виникали декілька разів протягом еволюції квіткових рослин, коли виникло безліч генів, що визначають стать, у тому числі фактори чоловічої і жіночої стерильності, причому ці гени можуть бути локалізовані не тільки в ядрі, але і в цитоплазмі (наприклад, у кукурудзи відомо явище цитоплазматичної чоловічої стерильності).

Зчеплене зі статтю спадкування і статеві хромосоми рослин дивно схожі на такі у тварин, тільки відмінності між статевими хромосомами у рослин виражені не так чітко, як у тварин.

У переважній більшості випадків гетерозиготними є чоловічі особини, або, якщо між статевими хромосомами є помітні відмінності, гетерогаметними (приблизно у половини видів рослин існує поділ статей), за винятком суниці (*Fragaria*). Чоловічий генотип у разі гетерогаметної чоловічої статі повинен містити домінуючий супресор жіночої фертильності *SuF*. Якщо гомозиготи за *SuF* є життєздатними, при самозапиленні спостерігатиметься розщеплення 3: 1 (чоловічі особини: жіночі особини), в іншому випадку розщеплення буде 2: 1.

Так само, як і у тварин, у рослин хромосоми X і Y нездатні до рекомбінації, що запобігає рекомбінації між статевими локусами, оскільки рекомбінація може призвести до появи дефектних, навіть повністю стерильних, особин.

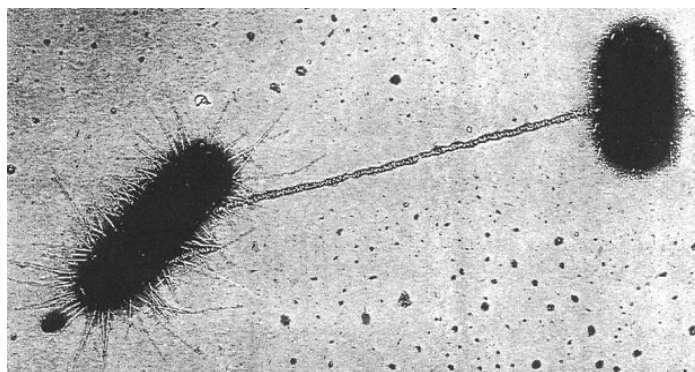
На відміну від більшості тварин, генетичне визначення статі у рослин може в значній мірі змінюватися під дією різних факторів зовнішнього середовища.

Помічено, що певні фактори викликають фемінізацію (жіночу сексуалізацію) або маскулінізацію (чоловічу сексуалізацію).

Особливо сильна дія фемінізуючих факторів у дводольних (зниження температури середовища, наявність сполук азоту в ґрунті, короткохвильове світло, висока вологість). Рівень фітогормонів в рослині визначається не тільки дією зовнішнього середовища, а й корелятивними взаємозв'язками між органами рослини, тому видалення тих чи інших органів також впливає на формування статі. Наприклад, видалення коренів у конопель і шпинату сприяло збільшенню кількості чоловічих рослин, а видалення листя – жіночих особин. Дія фітогормонів на визначення статі в рослин полягає в тому, що цитокініни, які утворюються в коренях, пересуваючись в апекс, включають програму, що обумовлює прояв жіночої статі (маточкові квітки), тоді як гібереліни, що утворюються в листі, включають програму, пов'язану з маскулінізацією (тичинкові квітки).

Процес формування статі у рослин підлягає більшим коливанням в процесі онтогенезу, ніж у тварин. Під дією різних факторів може відбуватися навіть повне перевизначення статі, що пов'язано з регуляторними процесами, зумовленими дією умов зовнішнього середовища, та внутрішніми змінами метаболічного характеру.

Визначення статі в бактерій. У бактерії кишкової палички (*Escherichia coli*) окремі клітини поділяються на чоловічі (фенотип  $F^+$ ) і жіночі (фенотип  $F^-$ ).  $F^+$ -штами мають  $F$ -плазмиду (*статевий фактор*), який забезпечує кон'югацію клітин  $F^+$  та  $F^-$  з наступним обміном генетичною інформацією ( $F^+$  є донором генетичної інформації,  $F^-$  реципієнтом). Бактеріальні клітини з  $F$ -плазмидою (тобто чоловічі клітини) мають дещо змінений фенотип: на їх поверхні є особливі вирости – *статеві пілі* (ворсинки), необхідні для утримання клітин разом під час кон'югації і в перенесенні плазмиди з однієї клітини в іншу:



Крім того, на статевих пілях адсорбуються деякі бактеріофаги, тому разом зі статевою плазмидою клітина отримує і стійкість до них. При кон'югації реципієнт отримує тільки один ланцюг

плазмід, який згодом і донор, і реципієнт добудовують до подвійного ланцюга.

Визначення статі в одноклітинних еукаріот. В якості прикладу розглянемо визначення статі в дріжджів. Статевий процес у них відбувається в результаті злиття двох гаплоїдних клітин різного статевого типу. Розрізняють гетероталічні штами (складаються з клітин одного типу) та гомоталічні (клітин різних статевих типів). У гомоталічних штамів клітини при мітозі здатні змінювати стать. Наприклад, у деяких пивних дріжджів стать «+» або «-» визначається наявністю на хромосомі між генами, що контролюють стать, ділянки ДНК, яка виконує роль перемикача. За однією орієнтацією перемикача відносно напрямку транскрипції транскрибується один ген контролю статі, за іншого – інший, тому клітина відповідно має той чи інший статевий тип (знак).

Визначення статі в комах. Комахи не мають статевих хромосом. Належність особин до тієї чи іншої статі залежить від кількості хромосомних наборів: у бджіл, ос, мурашок, їздців, інших перетинчастокрилих самки диплоїдні, самці гаплоїдні. Протягом онтогенезу в клітинах тіла самців відновлюється диплоїдний набір хромосом шляхом самоподвоєння, отже, всі гени в соматичних клітинах трупнів знаходяться в диплоїдному гомозиготному стані. Таке явище називається *гаплодиплоїдією*. Гаплоїдний набір хромосом зберігається лише в клітинах зачаткових шляхів, де внаслідок відсутності мейозу мітотично формуються гаплоїдні гамети.

Визначення статі в ссавців. При визначенні статі в ссавців Y-хромосома відіграє провідну роль. Наявність у клітинах тіла статевих хромосом XX і XY призводять до формування відповідно жіночої і чоловічої статей. Але за відсутності Y-хромосоми із зиготи формується особина жіночої статі за будь-якої кількості X-хромосом.

У людини особа XO розвивається за жіночим типом, хоча має низку фізіологічних відхилень від норми (*синдром Шерешевського-Тернера*). При наявності трьох і навіть чотирьох X-хромосом, але в присутності Y-хромосоми формується чоловічий тип, який має низку фізіологічних відхилень від норми (*синдром Клайнфельтера*).

### **4.3. Особливості спадкування ознак, обумовлених статтю**

До обумовлених статтю соматичних ознак відносять ознаки, обмежені статтю, залежні від статі та зчеплені зі статтю.

Розвиток *обмежених статтю ознак* контролюється генами, розташованими в аутосомах чи статевих хромосомах обох статей,

але фенотипно проявляються вони тільки в особин певної статі. Наприклад, гени несучості яєць є в курей і півнів, але проявляються лише в курей. Аналогічно успадковуються гени молочності великої рогатої худоби, лактації (утворення молока в молочних залозах), деякі захворювання людини. Наприклад, ген подагри проявляється тільки в чоловіків, пенетрантність гена становить 20%, а в жінок подагра практично не зустрічається, що обумовлене впливом відповідних статевих гормонів.

Розвиток *залежних від статі ознак* обумовлений генами, розташованими в аутосомах та/або в статевих хромосомах обох статей, але ступінь і частота їх проявлення (експресивність і пенетрантність) різна в особин різної статі, що особливо помітно в гетерозигот. Той самий алель може бути домінантним в одній статі (чоловічій) та рецесивним – в іншій (жіночій) статі. Зміна домінантності гена обумовлена впливом статевих гормонів. Наприклад, раннє облісіння у чоловіків спостерігається при генотипі  $HH$  та  $Hh$ , у жінок – тільки при генотипі  $HH$ . Якщо в родині батько має генотип  $HH$  (лисий), а матір –  $hh$  (норма), то діти будуть мати генотип  $Hh$ , причому сини матимуть ознаки раннього облісіння, а дочки – з нормальними волоссям. Отже, для облісіння чоловікам достатньо мати один домінантний алель цього гена в генотипі, а жінкам – бути гомозиготними за домінантним алелем, що буває дуже рідко. Раніше вченими виявлений ген облісіння, який передається по материнській лінії і знаходиться в  $X$ -хромосомі, яку чоловік отримує від матері. Нині відразу дві групи вчених виявили інший ген облісіння, здатний передаватися по чоловічій лінії, від батька до сина; він розташований в 20-ій хромосомі і збільшує ймовірність облісіння у чоловіків у сім разів. Якщо ж чоловік має обидва гени, в  $X$ -хромосомі і в 20-ій аутосомі, то ймовірність облісіння збільшується в 14 разів, підраховали вчені.

У людини до ознак, що контролюються статтю, належить і тип співочого голосу (бас, баритон, тенор у чоловіків; сопрано, меццо-сопрано, контральто – у жінок). Ці ознаки також контролюються статевими гормонами.

Інший приклад успадкування залежних від статі ознак: у великої рогатої худоби розвиток рогів визначається домінантним алелем, їх відсутність – рецесивним алелем гена. Домінує цей ген лише в самців, у самок він є рецесивним. Тому гетерозиготні самці рогаті, гетерозиготні самки – комолі (безрогі). Лише в гомозиготному стані домінантний і рецесивний алелі цього гена проявляються однаково в особин обох статей.

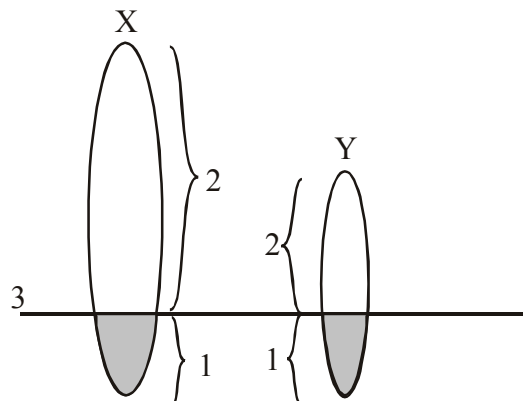
Рання діагностика статі дуже важлива в різних галузях виробництва: птахівництві, шовківництві. При вирощуванні курей на м'ясо доцільніше залишати півнів, на яйця – курочок. У шовківництві більше волокна дають кокони самців шовковичного шовкопряда. Використовуючи генетичні маркери (наявність оперення на ногах курей, забарвлення оперення курей, забарвлення грени тутового шовкопряда), фахівці проводять бракування небажаної статі.

За Г. Менделем, якщо гени містяться в аутосомах, результати розщеплення ознак у гібрида не залежать від напрямку схрещування (тобто від якої батьківської статі нащадок одержує домінантний чи рецесивний алель). Ознаки, розвиток яких обумовлений генами, розташованими в статевих хромосомах, називаються *ознаками, зчепленими зі статтю (гоносомне спадкування)*. У цьому випадку результати прямого та зворотного схрещувань не співпадатимуть.

**4.3.1. Типи гоносомного спадкування.** Розрізняють наступні типи гоносомного спадкування: повне зчеплення зі статтю, неповне зчеплення зі статтю, голандричне спадкування.

За повного зчеплення зі статтю ген, що кодує досліджувану ознаку, міститься тільки в одній із гетероморфних статевих хромосом (X або Y) і не має алельних копій в іншій статевій хромосомі. Такі ознаки, розвиток яких детермінують гени, розташовані в негомологічній ділянці X-хромосоми, називаються X-зчепленими або *гологенічними*. У людини таких ознак відкрито близько двохсот (наприклад, кольоровий зір і дальтонізм, нормальне згортання крові та гемофілія, нормальний ріст зубів і їхня повна відсутність, нормальний розвиток потових залоз і їхня атрофія та інші).

Інша група генів міститься в обох гетерохромосомах, за рахунок кросинговеру змінює свій локус і послідовно в поколіннях переходить з X-хромосоми в Y-хромосому або навпаки. Такі гени називаються *частково або неповно зчепленими зі статтю (рис. 4.2)*.



**Рис. 4.2.** – Спрощена схема статевих хромосом людини



**Умовні позначення:** 1 – гомологічні ділянки X- і Y-хромосом (містять рецесивні гени, що контролюють розвиток загальної кольорової сліпоти, пігментної ксеродерми, розщеплення губи та піднебіння, синдрому Альпорта та інші **ознаки, частково зчеплені зі статтю**);

2(X) – негомологічна ділянка X-хромосоми (містить крім генів, що визначають жіночу стать) рецесивні гени гемофілії і різних форм кольорової сліпоти, відсутності потових залоз, нецукрового діабету, облісіння, деяких форм м'язової дистрофії; домінантні гени, що обумовлюють коричневий колір емалі зубів, вітамін-D-стійкий рахіт, інші **X-зчеплені ознаки**; 2(Y) – негомологічна ділянка Y-хромосоми (містить крім генів, що визначають чоловічу стать) гени, що контролюють розвиток перетинок між пальцями та волохаті вуха, іхтіоз, інші **Y-зчеплені, або голандричні ознаки**

**Голандричні** або Y-зчеплені ознаки контролюються генами, розташованими в негомологічній ділянці Y-хромосоми (рис. 4.2). Вони проявляються фенотипно тільки в чоловіків. Такі гени контролюють, наприклад, розвиток іхтіозу, перетинок між пальцями на ногах; ріст волосся в зовнішніх слухових проходах, на вушних раковинах, на середніх фалангах пальців рук.

#### 4.3.2. Особливості зчепленого зі статтю спадкування

Вперше спадкування зчеплених зі статтю ознак досліджено американським генетиком Томасом Хантом Морганом на плодовій мушці *Drosophila melanogaster* – модельному генетичному об'єкті, який відіграв надзвичайно велику роль у розвитку генетики. Актуальність дрозофіли як зручного модельного об'єкта генетичних досліджень зберігається донині.

Т. Морган із співробітниками провели два типи схрещування дрозофіл: в одному з них самки були червоноокими (дикий фенотип, контролюється геном  $w^+$ ), а самець – білоокий (відповідно –  $w$ ), а в іншому схрещуванні самці були червоноокими ( $w^+$ ), а самки – білоокими ( $w$ ). Такі схрещування називають **реципрокними**, тобто проведеними в протилежних напрямках (рис. 4.3).

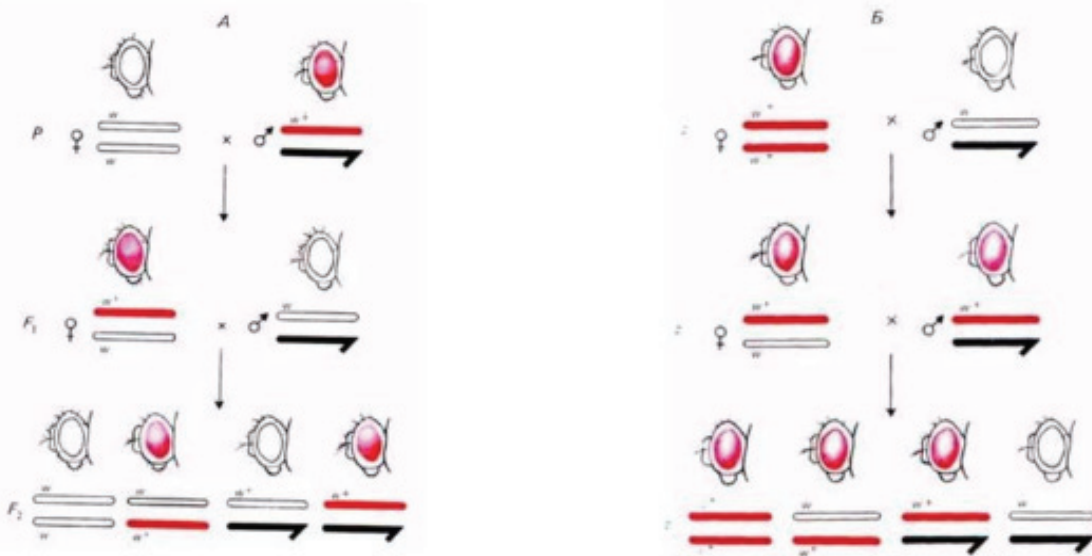
За схрещування білооких самок із червоноокими самцями:

$$P: \text{♀ } w^+ w^+ \times \text{♂ } wY$$

$$F_1: \text{♀ } w^+ w \times \text{♂ } w^+Y$$

$$F_2: \text{♀ } w^+ w^+; w^+ w; \text{♂ } w^+Y; wY$$

всі самці та самки  $F_1$  були червоноокими ( $w^+ w$  та  $w^+Y$ ). У другому гібридному поколінні всі самки червоноокі, а самці – червоноокі та білоокі в рівному співвідношенні (1:1). Менделівське розщеплення за фенотипом (3:1) спостерігається, якщо не враховувати стать особин. Але відбувається розщеплення за статтю: самки мають один фенотип, самці – два різних фенотипи.



**Рис. 4.3.** – Результати реципрокних схрещувань при визначенні характеру спадкування забарвлення очей у дрозофіли

У реципрокному схрещуванні, коли самка, гомозиготна за геном *white* (білі очі), схрещується з червонооким самцем, розщеплення спостерігається вже в першому гібридному поколінні в співвідношенні  $\frac{1}{2}$  червонооких і  $\frac{1}{2}$  білооких:

$$P: \text{♀ } w w \times \text{♂ } w^+ Y$$

$$F_1: \text{♀ } w^+ w \times \text{♂ } w Y$$

$$F_2: \text{♀ } w^+ w; w w \quad \text{♂ } w^+ Y; w Y$$

Білоокими опиняються тільки самці, а самки є червоноокими. Таке спадкування, коли в  $F_1$  ознаки батьків передаються нащадкам протилежної статі, називається *кріс-крос успадкуванням* (хрест-навхрест). Отже, якщо нащадки чоловічої статі матимуть ознаку, характерну для жіночої статі батьківського покоління, можна стверджувати, що відповідний ген локалізований в X-хромосомі.

В  $F_2$  самки та самці червоноокі та білоокі в рівних співвідношеннях.

Т.Морган прийшов до висновку, що ген, який контролює колір очей у дрозофіли, зчеплений зі статтю, тобто розміщений у X-хромосомі. Оскільки наведені результати схрещування повністю корелюють із поведінкою статевих хромосом у мейозі, описаний експеримент став одним із ключових доказів ролі хромосом у спадковості.

Характерні особливості зчепленого зі статтю спадкування, описані для дрозофіли та людини, відкриті також у птахів, метеликів, деяких риб, тобто в організмів, які мають дві

морфологічно різні статеві хромосоми в каріотипі. У цих організмів гемізіготними за зчепленими зі статтю ознаками є самки ( $ZW$ ), які передають такі ознаки лише синам, тоді як від самців ( $ZZ$ ) зчеплені зі статтю ознаки переходять і до синів, і до дочок.

#### 4.3.3. Особливості спадкування ознак, не повністю зчеплених зі статтю

При неповному зчепленні зі статтю алелі гена знаходяться в обох гетерохромосомах (в гомологічних плечах). У рецесивному гомозиготному стані такий ген проявляється як у матері, так і в батька. При схрещуванні рецесивних і домінантних гомозигот через одне покоління спостерігається поява аналогічних гомозигот тієї ж статі:

$$P: X^a X^a \times X^A Y^A$$

$$F_1: X^A X^a \times X^a Y^A$$

$$F_2: X^a X^a; X^A X^a; X^A Y^A; X^a Y^A$$

Отже, якщо рецесивні алелі X-зчепленого гена містяться в гомологічних ділянках статевих хромосом і контролюють розвиток спадкового захворювання, то ця хвороба може знову проявитись через покоління лише в онучок. У людини такі захворювання, як рак шкіри (пігментна ксеродерма), загальна кольорова сліпота, успадковуються саме за такою схемою.

## 4.4. Теорії визначення статі

**4.4.1. Балансова теорія визначення статі К. Бріджеса.** У 1921 році співробітник Т.Моргана Кельвін Бріджес, цитологічно аналізуючи хромосомні набори дрозофіл, знайшов декілька триплоїдних самок, у каріотипі яких містилися три набори аутосом і три статеві хромосоми –  $3A + XXX$ . При схрещуванні таких самок з нормальними, диплоїдними самцями ( $2A + XY$ ) одержано потомство:

$$P: 3A + 3X \times 2A + XY$$

$$G_{\text{♀}}: 2A + 2X \quad G_{\text{♂}}: A + X$$

$$A + X \quad A + Y$$

$$A + 2X$$

$$2A + X$$

$$F_1: 3A + 3X (3X:3A = 1) (\text{♀}) \quad 3A + 2XY (2X:3A = 0,67) (\text{інтерсекс})$$

$$2A + 2X (2X:2A = 1) (\text{♀}) \quad 2A + XY (1X:2A = 0,5) (\text{♂})$$

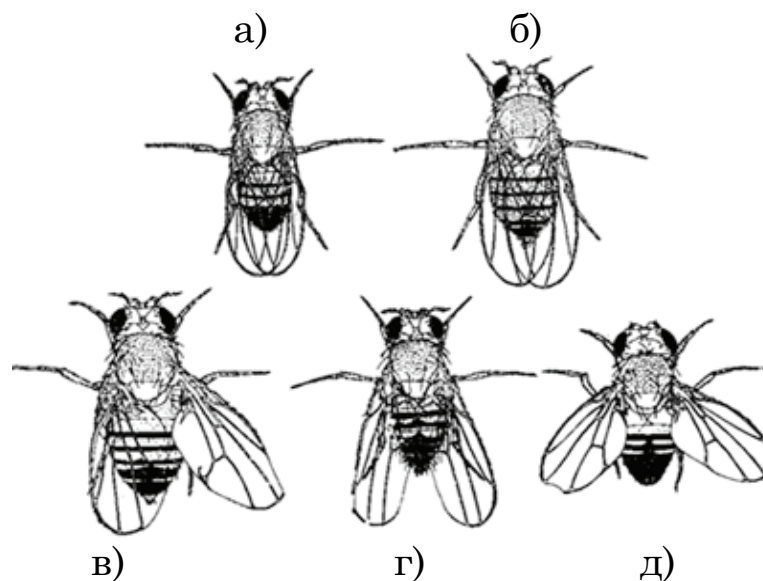
$$2A + 3X (3X:2A > 1) (\text{надсамка}) \quad 2A + 2XY (2X:2A = 1) (\text{♀})$$

$$3A + 2X (2X:3A = 0,67) (\text{інтерсекс}) \quad 3A + XY (1X:3A = 0,33 < 0,5) (\text{надсамець})$$

Все потомство налічувало 8 класів самців і самок. Каріотип особин з жіночими статевими ознаками мав наступні варіанти:  $3X + 3A$  (триплоїдна самка),  $2X + 2A$  (диплоїдна самка),  $2XY + 2A$

(диплоїдна самка). Отже, наявність чоловічої Y-хромосоми не впливала на нормальний розвиток самки.

Співвідношення кількості статевих X-хромосом до гаплоїдної кількості аутосом – *статевий індекс* – у всіх трьох випадках формування жіночої особини дорівнював одиниці ( $3X:3A=1$ ;  $2X:2A=1$ ). Особини з хромосомною конституцією  $XU:2A$  (за статевим індексом  $1X:2A = 0,5$ ) були нормальними самцями. Незвичними опинилися особини  $2X + 3A$ ;  $2XU + 3A$ , в яких статевий індекс знаходився в значеннях, проміжних між 0,5 та 1. Такі особини були *інтерсексами*, тобто мали як жіночі, так і чоловічі статеві ознаки (*рис. 4.4*).



**Рис. 4.4.** – Потомство від схрещування триплоїдної самки та диплоїдного самця дрозофіли: а) самка; б) самець; в) інтерсекс; г) надсамка; д) надсамець

Із зиготи, в якій кількість наборів аутосом збільшена до трьох за наявності однієї X-хромосоми ( $XU+3A = 0,33 < 0,5$ ), формувалася «надсамець» – організм із гіпертрофованими ознаками самця, але стерильний, з низькою життєздатністю. Збільшення кількості X-хромосом при диплоїдному аутосомному наборі ( $3X:2A = 1,5 > 1$ ) призводила до формування «надсамки» з аномально розвиненими яєчниками та іншими порушеннями статевих ознак. Такі особини також швидко гинули.

К. Бріджес прийшов до висновку, що в дрозофіли Y-хромосома не відіграє ніякої ролі при визначенні статі; стать визначається лише співвідношенням (балансом) кількості X-хромосом і аутосом у клітинах тіла.

Яким чином такий баланс кількості X-хромосом і аутосом може впливати на розвиток статі дрозофіли? Проведені нещодавно

експерименти довели, що кількісне співвідношення цих хромосом фіксуються геном *Sxl* на ранніх стадіях ембріогенезу. Цей ген, у свою чергу, контролює три різних напрямки диференціювання статі: формування статевих ознак соматичних клітин і клітин зародкового шляху, а також компенсацію дози генів. Як це відбувається?

На початкових стадіях формування статі в ембріонів діють гени X-хромосоми *sis-a* та *sis-b*, а також аутомсомний ген *da*. Білкові продукти цих генів формують комплексну молекулу білка. Білок гена *da* надходить в яйцеклітину з материнського організму, його кількість завжди дорівнює подвійній дозі, оскільки він зчитується з генів двох материнських аутомсом. Кількість білків генів *sis-a* та *sis-b* залежить від того, скільки X-хромосом у клітинах ембріону – дві чи одна. Якщо в клітинах ембріону жіночої статі дві X-хромосоми, з них зчитуються продукти генів *sis-a* та *sis-b* у подвійній дозі. У самців лише одна X-хромосома, яка на ранніх стадіях розвитку продукує лише одну дозу білкових продуктів цих генів. Тому комплекс білків *sis-da* має співвідношення складових компонентів 1:2 у самців і 1:1 – у самок. Ці білки надходять на регуляторну зону ключового гена *Sxl*, що визначає стать. Ця зона містить дві ділянки, що стимулюють транскрипцію РНК із даного гена: ранній і пізній промотори. Тільки тоді, коли комплексний білок *sis-da* містить дві дози гена *sis*, він може активувати початок транскрипції із раннього промотора. Це відбувається в ранньому ембріогенезі на стадії бластодерми.

Пізніше транскрипція може розпочатися і з пізнього промотору, як в організмів XX/AA та X/AA. Але результати включення транскрипції кожного з цих промоторів будуть різними. У самців ( $X:A=0,5$ ) при активації пізнього промотора зчитується третій екзон, що містить велику кількість кодонів UGA, після кожного з яких трансляція зупиняється, внаслідок цього нормально функціонуючий білок відсутній. Тому ген *tra*, розміщений далі в цьому генному каскаді, також функціонує неправильно, знов даючи коротку нефункціональну молекулу білка (трансляцію блокує кодон UAG у другому екзоні). Хоча білок іншого гена *tra-2* присутній в обох статей, він не формується до нормального стану за відсутності функціонального продукту гена *tra*. Тоді за відсутності нормальних продуктів генів *tra* та *tra-2* формується особливий, «самцевий» білок *dsx<sup>M</sup>*, зчитаний з певного набору екзонів. Цей білок репресує розвиток ознак жіночої статі. В результаті порушень у роботі каскаду цих генів розвиток ембріону спрямовується в бік формування ознак самця.

У самок ( $X:A=1$ ) транскрипт гена *Sxl* не містить екзону №3 зі стоп-кодоном, унаслідок чого формується повноцінний білок *Sxl*, який взаємодіє з геном *tra*, котрий, взаємодіючи з білком гена *tra2*, регулює створення специфічної для самок РНК *dsxF*. Наявність специфічного для самок білкового продукту *dsxF* сприяє залученню в даний каскад гена *ix*. Білки генів *dsxF* та *ix* інактивують більшість генів, що призводять до формування самців, у результаті чого формується самка. За такою ж схемою формуються й соматичні статеві ознаки.

Контролюючими сигналами, що визначають стать у тварин, є: в дріжджів (*Saccharomyces cerevisiae*) – транскрипція *HO*-гена, в аскариди (*Caenorhabditis elegans*) та дрозофіли (*Drosophila melanogaster*) – співвідношення *X*-хромосом і аутосом, у крокодилів (*Alligator mississippiensis*) – температура зовнішнього середовища, у ссавців (*Mammalia*) – *Y*-хромосома.

**4.4.2. Фізіологічна теорія визначення статі**  
**Р. Гольдшмідт** базується на дослідженні інтерсексів, одержаних шляхом реципрокного схрещування різних географічних рас непарного шовкопряда (*Limantria dispar*). За цих схрещувань не відбуваються зміни в співвідношенні статевих хромосом і наборів аутосом – інтерсекс є диплоїдним за всіма хромосомами. Для схрещування *Гольдшмідт* обрав дві географічні раси непарного шовкопряда – європейську та японську, що розрізняються за статевою потенцією: європейська раса була віднесена за цією ознакою до «слабкої», а японська – до «сильної». Виявилось, що в тому випадку, коли самки європейської раси схрещуються з самцями японської, в  $F_1$  розвивається інтерсексуальність жіночого типу.

Інтерсексуальність в цьому випадку пояснюється балансом двох потенцій: жіночої, яка визначається *W*-хромосомою, і чоловічої, яка визначається *Z*-хромосомою. *Z*-хромосома непарного шовкопряда, на відміну від дрозофіли, містить гени, що визначають чоловічу стать, а гени жіночої статі локалізуються в *W*-хромосомі. В європейської раси «жіноча» тенденція *W*-хромосоми «сильніше» чоловічої тенденції *Z*-хромосоми, внаслідок чого при розмноженні всередині раси особина *ZW* постійно розвивається в самку, а *ZZ* – в самця. Те ж саме спостерігається і в японської раси, яка дає нормальне співвідношення статей без інтерсексів. *Z*-хромосома японської раси має сильніший чоловічий фактор, а *W* – жіночий (у порівнянні з *Z*- і *W*-хромосомами європейської раси). Тому в дочок  $F_1$  від цього схрещування чоловічий фактор *Z*-хромосоми японської раси здатний частково пригнічувати жіночий

фактор Y-хромосоми європейської раси та викликати інтерсексуальність. У другому поколінні половина дочок виявляється інтерсексами, оскільки вони мають таке ж саме співвідношення спадкових факторів.

Фізіологічна теорія свідчить, що організми є генетично бісексуальними, тобто в їх генотипі є гени, що відповідають за розвиток кожної із двох статевих потенцій. Формування статі конкретного організму залежить від співвідношення цих генів і їх дії в певних умовах внутрішнього та зовнішнього середовища. Отже, ця гіпотеза визначення статі може бути названа *гіпотезою генного балансу*.

Генетично обумовлена бісексуальність виявлена і в інших тварин і рослин. Наприклад, стать у дводомної рослини дрюми також визначається наявністю X- і Y-хромосом, але жіночі рослини, позбавлені Y-хромосоми, мають чоловічі потенції: при ураженні жіночих рослин сажкою в квітках розвиваються тичинки, тобто квітки стають морфологічно гермафродитними.

#### 4.5. Докази хромосомного визначення статі

Чіткі докази взаємозв'язку між хромосомами та визначенням статі одержані при застосуванні *тетрадного аналізу*. В клітинах печінкового моху *Sphaerocarpos* виявлені статеві X- та Y-хромосоми, які чітко розрізняються морфологічно. Встановлено, що з чотирьох спор, які утворюються в результаті мейозу з однієї материнської клітини, дві з них дають жіночі гаплоїдні рослини з X-хромосомою та дві – чоловічі рослини з Y-хромосомою. Диплоїдна рослина з XY-набором статевих хромосом є дводомною.

Ще одним доказом хромосомного визначення статі є *гінандроморфізм* – рідкісна аномалія розвитку організму, що виникає внаслідок втрати однієї з X-хромосом під час дробіння зиготи. У дрозофіли, непарного шовкопряда, курей і співочих птахів у цьому випадку з'являються особини, одна половина тіла яких має ознаки жіночої статі, а інша – чоловічої (*рис. 4.5*).



**Рис. 4.5.** – Білатеральний гінандроморф у *Drosophila melanogaster*

Розрізняють декілька видів гінандроморфів: 1) *білатеральні* (поздовжня права половина тіла має ознаки жіночої статі, ліва – чоловічої); 2) *передньо-задні* (передня частина тіла несе ознаки однієї статі, а задня – іншої); 3) *мозаїчні* («чоловічі» ділянки тіла перемежуються із жіночими).

Якщо екватор мітотичного поділу розміщений по лінії симетрії від головної до хвостової частини ембріону, такий гінандроморфізм називається *білатеральним*. Тому ліва частина тіла мухи складається з клітин, які мають одну X-хромосому, що відповідає генотипу самця. Ця частина тіла має вкорочене крило та біле око внаслідок гемізіготності за зчепленими зі статтю генами. Права частина тіла дрозофіли має дві X-хромосоми в клітинах та розвивається за жіночим типом; унаслідок гетерозиготності зчеплених із статтю генів вона має червоне око та крило нормальної довжини (гени забарвлення очей і довжини крил знаходяться в одній хромосомі). Білатеральний гінандроморфізм спостерігається і в інших видів тварин (**рис. 4.6**).



**Рис. 4.6.** – Фенотип особин-гінандроморфів

Якщо екватор мітотичного поділу лежить по лінії симетрії від передньої до задньої частини ембріону, такий тип особини-гінандроморфа називають *передньо-заднім*.

Якщо подібний розподіл X-хромосом відбувається під час другого мітотичного поділу дробіння зиготи, то ознаки чоловічої статі матимуть ділянку, що становить чверть тіла жіночої особини. Чим пізніше в ембріональному розвитку відбуватиметься втрата однієї з X-хромосом у соматичній клітині, що ділиться, тим меншим виявиться ділянка чоловічої тканини. Гінандроморфи, що з'являються в результаті такого дробіння зиготи, належать до



мозаїчного типу; виявити їх можна за мозаїчним проявленням рецесивних маркерів, які перебувають у гомогаметної статі в гетерозиготному стані.

Розрізняють гінандроморфізм монозиготний і дизиготний.

Причиною монозиготного гінандроморфізму є те, що одна з X-хромосом зиготи, з якої розвивається самка (хромосомний набір  $2A + XX$ ) відстає в анафазі мітозу під час утворення двох бластомерів і надалі втрачається. У даному випадку (рис. 4.5) зигота є гетерозиготною за генами білоокості (*white*) та вкорочених крил (*vg*) –  $X^{wvg}/X^{w+vg+}$ . Оскільки в комах відсутня гормональна регуляція, здатна моделювати такі явища, кожна клітина дає нащадків своєї статі.

Якщо в яйцеклітині утворюються два жіночих пронуклеуси, кожен з яких містить одну X-хромосому та гаплоїдний набір аутосом, то в умовах поліспермії можуть розвинутиися дизиготні гінандроморфи. Один жіночий пронуклеус запліднюється X-містким сперматозоїдом, інший – Y-містким. У результаті половина клітин матиме набір статевих хромосом XX, інша половина – XY, що й призводить до розвитку гінандроморфів. Співробітниками Т.Моргана експериментально одержані такі самки дрозофіли, які розвинулися з яєць при поліспермії. Іноді в самок шовкопряда утворюються яйцеклітини з двома ядрами (з Z- і W-хромосомами), поліспермне запліднення яких сперматозоїдами з Z-хромосомою також призводить до дизиготного гінандроморфізму.

У чому відмінності гінандроморфів від інтерсексів? Від гінандроморфів інтерсекси відрізняються тим, що в них відсутні різні, визначені статтю сектори клітин. В інтерсексів до певного моменту розвитку зберігається генетично визначена стать, але потім розвиток продовжується в напрямку протилежної статі. Тому, на відміну від нормальних особин, в інтерсексів первинні та вторинні статеві ознаки носять проміжний характер, утворюючи безперервний ряд переходів від нормального самця до нормальної самки. Наприклад, у непарного шовкопряда *Lymantria dispar* схрещування різних географічних рас (європейських з японськими) призводить до появи проміжних між самцями та самками форм, тобто до проявлення інтерсексуальності. У гермафродитів ознаки чоловічої і жіночої статі та відповідні статеві органи поєднуються в одному організмі.

## 4.6. Компенсація доз генів статевих хромосом

*Дозова компенсація генів* – це сукупність різних епігенетичних механізмів, що дозволяють урівняти експресію зчеплених зі статтю генів самців і самок тих видів, в яких визначення статі контролюється статевими хромосомами.

У багатьох видів статеві хромосоми значно відрізняються за величиною та кількістю генів: Y-хромосома менша, має великий гетерохроматиновий район і Y-специфічні нуклеотидні послідовності. Все це в багато разів знижує кількість генів Y-хромосоми в порівнянні з хромосомою X, що служить причиною гемізіготності та практично блокує кросинговер між ними. Кросинговер би знищив ті відмінності між гоносомами, які обумовлюють хромосомний механізм визначення статі.

У самців гени X-хромосоми представлені в одній дозі, а в самок – у подвійній. Тому в самок кількість продуктів генів статевих хромосом мала бути вдвічі більшою, ніж у самців, але так не відбувається, оскільки існують механізми компенсації доз цих генів. Для врівноважування інтенсивності функціонування X-хромосомних генів природа задіяла наступні механізми: в дрозофіли додатково активується єдина X-хромосома самця до рівня двох X-хромосом самки; в ссавців, навпаки, інактивується одна X-хромосома, внаслідок чого рівень експресії генів у самок зменшується до рівня експресії генів єдиної X-хромосоми самця.

**4.6.1. Компенсація доз генів у дрозофіли.** Механізм дозової компенсації генів дрозофіли вивчений при аналізі функціонування політенних хромосом слинних залоз її личинок. У самців єдина політенна X-хромосома повинна бути наполовину тонша, ніж пара аутосом або пара X-хромосом самки. Але на цитологічних препаратах така хромосома тонша тільки на 25% і є більш розрихленою, ніж решта хромосом та X-хромосома самки. Відомо, що розрихленість структури хромосом пов'язана з активною транскрипцією РНК. Виявилось, що в єдиній політенній X-хромосомі самця кількість негістонових білків приблизно в 1,5 рази більша, ніж в одній X-хромосомі самки. Отже, розрихленість структури та збагаченість негістоновими білками є структурною основою для забезпечення дозової компенсації генів у дрозофіли. Дійсно, інтенсивність транскрипції в одній X-хромосомі самця виявилася вдвічі більшою, ніж в одній X-хромосомі самки.

Механізм, що контролює формування розрихленої структури єдиної X-хромосоми самця, наступний. Транскрипційна активність X-хромосоми обумовлена синтезом чотирьох білків *MSL*, які

створюють комплекс і зв'язуються із сотнями ділянок X-хромосоми самця, забезпечуючи дифузність її структури. Причому для нормального функціонування всього комплексу необхідна присутність кожного з цих білків. Нещодавно виявлено, що антитіла, вироблені на білки *MSL* дрозофіли, здатні зв'язуватися з X-хромосомами самців інших видів двокрилих комах. Це свідчить про те, що всі білки, задіяні в дозовій компенсації генів, є високо консервативними, а сам механізм дозової компенсації виник давно.

Дозова компенсація в дрозофіли контролюється тим самим геном *Sxl*, що здійснює загальний контроль за розвитком статі. Нормальний білок гена *Sxl* запобігає дозовій компенсації генів у самок, не дозволяючи білкам *MSL* розміститися на їхніх X-хромосомах. У випадку мутації гена *Sxl*, білки *MSL* виявляються в X-хромосомах самок, порушуючи тим самим механізм дозової компенсації.

У самок співвідношення кількості X-хромосом до кількості гаплоїдних наборів аутосом (статевий індекс) дорівнює 1, тому ген *Sxl* “включений” і пригнічує трансляцію мРНК гена *msl-2* внаслідок видалення в 5'-нетранскрипційному районі невеликого інтрону в самця (в транскрипті самки він зберігається). Отже, білок гена *Sxl* безпосередньо контролює альтернативний сплайсинг цього інтрону. Тому продукт гена *msl-2* не надходить в ядро. За його відсутності інші білки *msl* не здатні асоціювати з X-хромосомами, ацетильовані форми гістонів не накопичуються, тому X-хромосома самки не стає надактивною при транскрипції, як це відбувається в самців.

У самців, в яких статевий індекс дорівнює 0,5, ген *Sxl* “виключений”. Тому за відсутності білка *Sxl* ген *msl-2* активується повністю, весь набір білків *MSL* зв'язується з X-хромосомою самця. В результаті відбувається ацетилювання гістонів *H4* із наступною зміною структури хроматину та гіперактивацією транскрипції. Таким чином, у дрозофіли одна X-хромосома самця забезпечує синтез такої ж кількості генних продуктів, як обидві функціонально активні X-хромосоми самки.

**4.6.2. Компенсація доз генів у птахів.** У системі *ZW* птахів *Z*-хромосома є великою за розмірами, тому гомогаметні самці (*ZZ*) змушені інактивувати частину генетичного матеріалу для врівноважування експресії генів самок (*ZW*), які несуть маленьку *W*-хромосому. У півнів замість гетерохроматизації всієї хромосоми, як це відбувається в ядрах клітин людини, відбувається селективне пригнічення (сайленсинг) тільки деяких генів на одній *Z*-хромосомі.

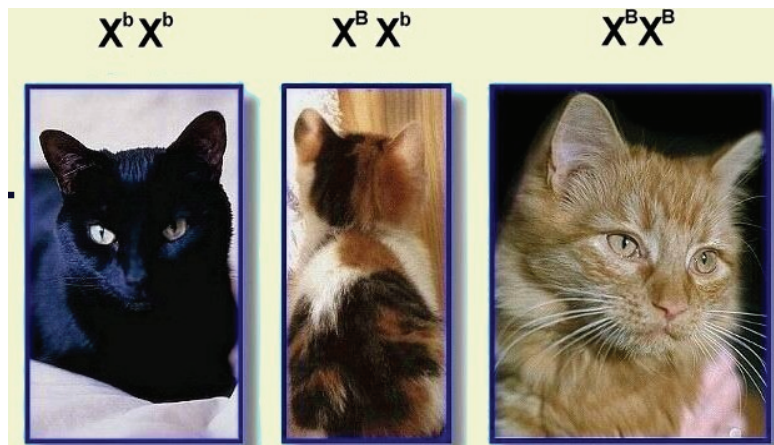
**4.6.3. Компенсація доз генів у ссавців.** У людини та ссавців компенсація дози генів, локалізованих у гетероморфних хромосомах, досягається майже повною генетичною інактивацією однієї з X-хромосом. Інактивація цієї хромосоми відсутня лише в клітинах зародкових шляхів. Інактивація відбувається за типом гетерохроматизації: X-хромосома перетворюється в щільно конденсоване тільце подібно справжньому гетерохроматину та розміщується на периферії ядра, утворюючи *тільце Барра* (див. Розділ 2.1).

У 1949 році британські дослідники *Мюррей Барр* і *Еварт Бертрам* виявили компактні, інтенсивно забарвлені грудки хромосомного матеріалу в інтерфазних ядрах нейронів кішок. Вони назвали ці структури *статевим хроматином*. Пізніше ці структури названі *тільцями Барра*. Тільце знаходиться під оболонкою ядра, містить ДНК і РНК, знаходиться в нервовій, епітеліальній тканинах, гладеньких м'язах, в органах (печінка, серце, шкіра, залози) хребетних. Згодом у 1959 році японський дослідник *Сусуму Оно* припустив, що *тільце Барра* формується з однієї X-хромосоми в кожній соматичній клітині самок ссавців. У 1961 році британська дослідниця *Мері Лайон* довела, що дозова компенсація генів X-хромосоми ссавців здійснюється внаслідок інактивації однієї з двох батьківських статевих хромосом у кожній соматичній клітині самки. Процес інактивації X-хромосом у самок ссавців названий *лайонізацією*. Цей процес відбувається в ранньому ембріогенезі, в момент імплантації ембріону в стінку матки. Інактивована X-хромосома гетерохроматизована та транскрипційно неактивна протягом всього клітинного циклу; вона реплікується в кінці S-періоду інтерфази пізніше аутосом і активної X-хромосоми. Таким чином, дози функціонуючих генів стають однаковими в самців і в самок.

Вибір активної і неактивної X-хромосоми відбувається майже завжди випадково, тому жіночий організм, гетерозиготний за X-зчепленими генами, є мозаїчним: 50% клітин з нормальним фенотипом, 50% – з мутантним. Наочним прикладом інактивації X-хромосоми є пістряве ("черепашове") забарвлення шерсті в кішок (**рис. 4.7**). Алелі гена, що визначають чорне та руде забарвлення шерсті, містяться в X-хромосомі. Забарвлення конкретної ділянки шерсті визначається тим, який з алелей гена є активним на цій ділянці.

За допомогою генетичного картування вдалося встановити місце локалізації центру інактивації на карті мітотичних хромосом людини та миші. У цьому центрі знаходиться ген *Xist* (X-

*inactivated-specific transcript*), який має декілька особливостей: його транскрипція відбувається тільки з неактивної X-хромосоми самки; РНК цього гена немає в самців та особин XO; РНК цього гена не знаходять ані в цитоплазмі, ані в рибосомах. Ці особливості свідчать про те, що даний ген не кодує білок і його РНК не транслюється. Разом з тим РНК гена *Xist* легко виявляється в тільці Барра. Процесинг цього транскрипту нагадує процесинг мРНК і також включає етапи сплайсингу (в тому числі альтернативного), але він залишається в ядрі і не транслюється.



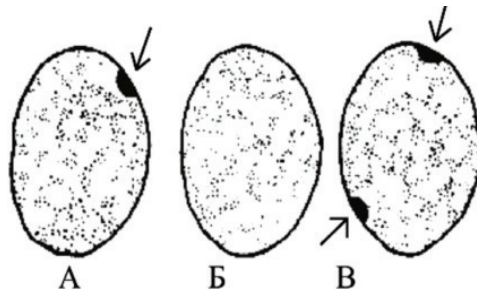
**Рис. 4.7.** – Забарвлення шерсті в кішок

Ген *Xist* знайдений у багатьох ссавців. За сучасними уявленнями, РНК *Xist* взаємодіє локально з хроматином, що призводить до компактизації цієї хромосоми та її зв'язуванню з ядерною оболонкою, внаслідок чого з однієї X-хромосоми самки ссавців формується компактне утворення – статевий хроматин. При цьому відбувається інактивація всіх генів в цій статевій хромосомі та врівноважується кількість генних доз X-хромосом в обох статей.

Визначення наявності тільця Барра використовують для з'ясування статевої належності особи, зокрема кількості X-хромосом, а також для антенатальної (внутрішньоутробної) діагностики хромосомних хвороб. Статевий хроматин виявляють тільки в тому випадку, якщо в генетичному матеріалі клітини є як мінімум дві X-хромосоми, тому соматичні клітини чоловіків у нормі його не містять (**рис. 4.8**).

Найчастіше для виявлення статевого хроматину використовують багатошаровий плоский епітелій, наприклад, буккальний (слизова внутрішньої поверхні щоки). Тільце Барра може бути прикріплено до ядерця або до ядерної оболонки, може вільно розміщуватися в каріоплазмі або представляти собою відросток ядра у клітинах крові («барабанні палички» нейтрофілів). Взятий шпателем зіскоб зі слизової оболонки щоки

поміщають на предметне скельце, забарвлюють ацеторсеїном та аналізують під мікроскопом 100 світлозабарвлених клітинних ядер, підраховуючи, скільки з них містить статевий хроматин. У нормі він зустрічається в середньому в 30–40% ядер у жінок и не знаходиться в чоловіків.



**Рис. 4.8.** – Тільце Барра або статевий хроматин: А – ядро клітини жінки (44+XX); Б – ядро клітини чоловіка (44 + XY); В – ядро клітини індивідуума з трьома X-хромосомами (44 + XXY)

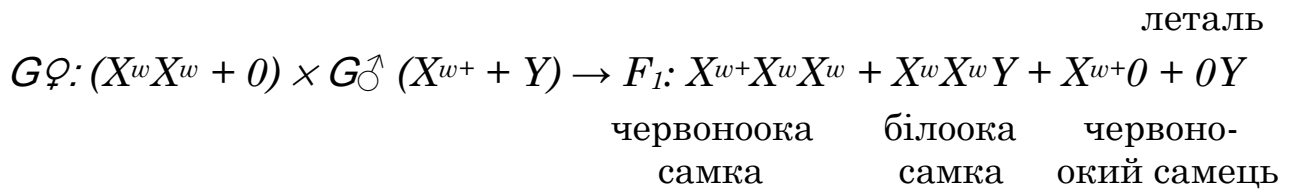
При наявності патології можуть змінюватися розміри тілець статевого хроматину, а також їх кількість у кожному окремому ядрі та в середньому на 100 ядер. Статевий хроматин вивчають при цитологічному визначенні статі (наприклад, при гермафродитизмі); для виявлення хромосомних хвороб; при низці патологічних процесів, особливо злоякісних (зокрема, для вирішення питання про вид гормональної терапії при раку молочної залози); для характеристики дії фармакологічних засобів (наприклад, кортикостероїдів – за зміною ними кількості клітин, що містять статевий хроматин) тощо.

#### 4.7. Успадкування ознак при нерозходженні статевих хромосом

**Особливості спадкування ознак при нерозходженні статевих хромосом у дрозофіли.** Під час дослідів К. Бріджес звернув увагу на рідкісне порушення схеми кріс-крос успадкування при схрещуванні білоокої самки з червоноокиим самцем. Зазвичай в F<sub>1</sub> народжувалися білоокі самці та червоноокі самки, але з низькою частотою (0,001-0,1% або 1: 2 000 мух) траплялися білоокі самки та червоноокі самці, що є відхиленням від схеми кріс-крос успадкування.

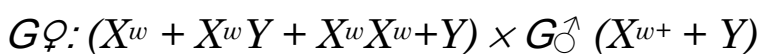
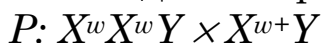
К. Бріджес висловив припущення, що така аномалія пов'язана з порушенням розходження X-хромосом у мейозі. Відомо, що з однієї клітини, яка вступає в мейотичні поділи під час овогенезу, формується лише одна яйцеклітина. Три інші клітини перетворюються в майже позбавлені цитоплазми оотида та

незабаром після початку дробіння зиготи дегенерують, отже, вони не беруть участі в формуванні зародка. Під час нерозходження обидві X-хромосоми можуть надійти як в яйцеклітину, так і в ооциду:

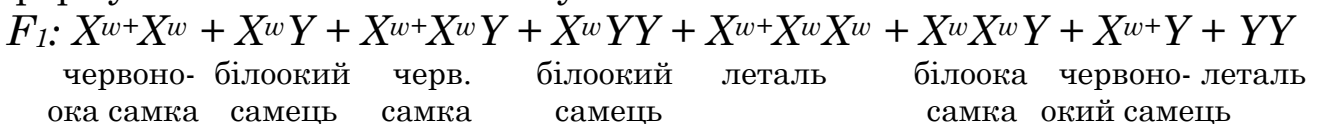


К. Бріджес пояснив одержані варіанти спадкування генів і підтвердив ці пояснення за допомогою цитологічного методу. Якщо білоока самка продукує яйця з двома X-хромосомами, які потім запліднюються Y-місткими сперматозоїдами, то в дрозофіли, незважаючи на присутність Y-хромосоми (XXY) із таких зигот розвиваються самки (білоокі, як матері). Яйцеклітина, позбавлена X-хромосоми, може бути запліднена X<sup>+</sup>-містким сперматозоїдом, тоді, завдяки присутності в генотипі зиготи лише однієї X-хромосоми, з таких яєць з'являються самці з червоними очима (як їхній батько). Яйцеклітина з двома X-хромосомами може запліднюватися спермієм із X-хромосомою, при цьому потомство складається з червонооких самок (X<sup>+</sup>XX) із зниженою життєздатністю. І, врешті-решт, запліднення яйцеклітини, позбавленої X-хромосоми, Y-містким сперматозоїдом призводить до утворення генотипу Y0, носій якого гине. Зазначене нерозходження статевих хромосом, яке вперше трапляється в мейозі, називають *первинним нерозходженням хромосом*. На основі цього явища Бріджес зробив висновок, що Y-хромосома дрозофіли не визначає стать: комбінація статевих хромосом XXY в зиготі дає нормальних плодючих самок.

При наступному схрещуванні самок XXY з нормальними червоноокими самцями Бріджес знову знайшов серед потомства 4% білооких самок і 4% червонооких самців, решту склали червоноокі самки та білоокі самці. Появу таких особин Бріджес пояснив *вторинним нерозходженням X-хромосом* у мейозі, оскільки самки з генотипом XXY, взяті для схрещування, виникли внаслідок первинного нерозходження хромосом. Самка з генотипом XXY дає чотири типи гамет і при заплідненні таких яєць сперматозоїдами нормального червоноокого самця X<sup>+</sup>Y:



формується потомство з наступними генотипами:



Вторинне нерозходження хромосом може досягати 100% за умов хімічного поєднання статевих хромосом. У цьому випадку обидві зчеплені X-хромосоми надходять в одну гамету. Тоді ознака, що контролюється генами таких подвійних хромосом, передається тільки по материнській лінії. Л.В. Морган схрещувала самку дрозофіли з жовтим тілом (мутація *yellow*) і самця з сірим тілом. У потомстві всі нащадки чоловічої статі були сірими, як батько, а нащадки жіночої статі – жовті, як матір. Але при нормально триваючому мейозі жовті самки та сірі самці давали потомство за типом «кріс-крос»: дочки були сірими, сини – жовтими. За результатами цитологічного дослідження гамет виключної жовтотілої самки ( $X^yX^yY$ ) Л.В. Морган з'ясувала, що дві X-хромосоми самки з'єднані в проксимальній частині та мають загальну центромеру, тому поводяться, як одна хромосома. Такі дві зчеплені хромосоми при редукційному поділі весь час відходять разом і потрапляють або в оотиду, або в яйцеклітину. Гомозиготна лінія, що несе зчеплені X-хромосоми та мутацію гена *yellow* в них, названа *double yellow* (подвійна жовта). Цією лінією користуються під час проведення спеціальних схрещувань для знаходження видимих спадкових змін у статевій хромосомі самця.

Успадкування ознак при нерозходженні статевих хромосом у людини. Порухнення розходження статевих хромосом можливі під час мітозу чи мейозу. У разі порушення розходження статевих хромосом під час мітозу вміст їх у різних клітинах може бути різним (мозаїцизм). У людини можливі різні випадки мозаїцизму:  $XX/XXX$ ,  $X^Y/XX^Y$ ,  $X^0/XXX$ ,  $X^0/XX^Y$  та ін. Ступінь клінічного проявлення залежить від кількості мозаїчних клітин – чим їх більше, тим значнішим є проявлення захворювання.

Випадки нерозходження X-хромосом у людини під час мейозу призводять до тяжких спадкових аномалій – *хромосомних хвороб статі (синдромів)*. Причому яйцеклітини з аномальним набором хромосом зазвичай є життєздатними, сперматозоїди – стерильними. Фертильними є тільки сперматозоїди з  $A + X$  та  $A + Y$  наборами хромосом ( $A$  – гаплоїдний набір аутосом). Нижче наведені типи хромосомних синдромів людини, що виникають внаслідок нерозходження X-хромосом, та їх діагностичні ознаки.

Частота нерозходження статевих хромосом у жінок збільшується з віком: до 20 років вона складає 0,04% ; у 30-34 роки – 0,11%; у 40-44 роки – 1,24%; у 45 років – 3,2%. Приблизно така сама картина спостерігається стосовно нерозходження 21-шої пари аутосом в анафазі I мейозу при овогенезі – трисомія 21 (синдром Дауна).



### Типи хромосомних аномалій, що виникають при нерозходженні статевих хромосом

Процес мейозу в жінок	Статеві хромосоми			Каріотип за статевими хромосомами:	
	яйце-клітин	сперматозоїдів		жінки	чоловіка
Нормальне розходження X-хромосом в анафазі I мейозу	X	X	Y	46, XX (норма)	46, XY (норма)
Нерозходження X-хромосом в овогенезі	XX та O	X	Y	47, XXX (трисомія X)	YO – зигота гине в ембріогенезі
Нерозходження статевих хромосом під час сперматогенезу (80% випадків синдрому Тернера)	X	O	XY	45, XO (моносомія X; синдром Тернера)	47, XXU (синдром Клайнфельтера)

*Синдром трисомії X.* Частота поширеності 1:1000. Каріотип 47,XXX. Більшість дівчинок і жінок із трисомією X виявлені серед пацієнтів психіатричних лікарень. Ядра соматичних клітин містять два тільця Барра. Клінічні ознаки є поліморфними, в частини пацієнтів із трисомією X взагалі відсутні будь-які відхилення у фізичному чи психічному розвитку. Але в 75% випадків відмічена незначна розумова відсталість, дратівливість, швидко деградують. Підвищений ризик захворювання шизофренією. Можуть мати високий зріст. Порушена функція яєчників, переважно безплідні, але іноді можуть мати дітей. Описано також багато випадків полісомії-X: тетрасомія (XXXX) і пентасомія (XXXXX) із відповідним збільшенням кількості тілець статевого хроматину. Чим більше в генотипі міститься X-хромосом, тим важчими є порушення функцій головного мозку.

*Моносомія X (синдром Шерешевського-Тернера).* Частота народження 1: 2000-1: 3000. Каріотип 45, XO. У 55% дівчаток із цим синдромом виявляється каріотип 45, XO, у 25% – зміна структури однієї з X-хромосом. У 15% випадків виявляється мозаїчність у вигляді двох або більше клітинних ліній, одна з яких має каріотип 45, XO, інша представлена каріотипами 46, XX або 46, XY. Третя клітинна лінія найчастіше представлена каріотипом 45, XO, 46, XX, 47, XXX. Фенотип жіночий (рис. 4.9).

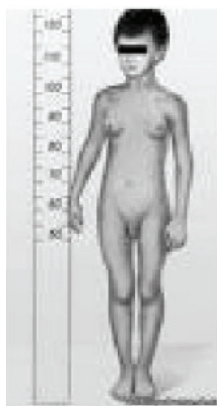


**Рис. 4.9.** – Особа жіночої статі із синдромом Шерешевського-Тернера

Ядра соматичних клітин не мають тільця Барра. Немовля при народженні має недостатню вагу та зріст. Ріст дорослих осіб – 135-145 см. У сім років виявляються соматичні ознаки: коротка шия, шкірна складка від потилиці до плеча (*рис. 4.9*), низьке розміщення вушних раковин і лінії волосся на потилиці, змінені суглоби пальців рук і ніг, у 25% вроджені вади серця та аномалії роботи нирок. Тип тілобудови – чоловічий. Рано старіють. Різко виражений статевий інфантилізм, недорозвинені яєчники, відсутні вторинні статеві ознаки; такі хворі є безплідними. При даному синдромі інтелект страждає рідко.

*Синдром Клайнфельтера.* Частота народження 1:850-1 000 серед новонароджених хлопчиків (*рис. 4.10*). У 80% випадків виявляються каріотипи 47,XXY; 48,XXXУ; у 20% – мозаїцизм, за яким одна з клітинних ліній має каріотип 47, XXY.

Повторний ризик для синдрому Клайнфельтера не перевищує загальнопопуляційні показники і становить 1 випадок на 2000 живонароджених дітей. Фенотип чоловічий. Ядра соматичних клітин містять тільце Барра. Високий зріст. Жіночий тип тілобудови.



**Рис. 4.10.** – Особи чоловічої статі із хворобою Клайнфельтера

Гінекомастія (збільшені молочні залози). Слабко розвинений волосяний покрив. Недорозвинені яєчка, відсутній процес сперматогенезу (особи безплідні), але статеві рефлексії наявні. Іноді інтелект нормальний, частіше – затримка розумового розвитку. У хворих послаблені процеси гальмування, вони легко навіюються. Рано старіють внаслідок дефіциту гормонів. Чим більшою в генотипі є кількість Х-хромосом, тим більше страждає інтелект.

Отже, порушення нормального сполучення статевих хромосом відбуваються внаслідок порушень під час мітозу або мейозу, внаслідок чого, наприклад, у дрозофіл формуються *гінандроморфи*, у стьожкових червів – *справжні гермафродити* (статеві залози продукують і чоловічі, і жіночі гамети), у людини – *хромосомні захворювання*. Під час онтогенезу визначення статі може відбуватися в момент запліднення (хромосомні механізми), а також контролюватися внутрішніми (гормони) та/або зовнішніми факторами. У людини та вищих тварин велику роль у розвитку статевої поведінки відіграє статеве виховання.

#### 4.8. Диференціація статі в онтогенезі людини та причини її порушення

Визначення та диференціацію статі можна представити як естафету, яку хромосомний механізм передає недиференційованим гонадам, що розвиваються в чоловічі або жіночі статеві органи.

У ссавців хромосомна стать, обумовлена наявністю або відсутністю Y-хромосоми, визначає диференціацію бісексуальної ембріональної гонади, яка контролює фенотипну стать організму. Такий механізм визначення статі називають *генетичним* і протиставляють механізмам, що базуються на контролюючій ролі зовнішнього середовища або на співвідношенні кількості статевих хромосом і аутосом.

Фізіологічною основою механізму визначення статі з наступною її диференціацією є біпотенціальність та статева індиферентність ембріональних гонад. Вони складаються із зовнішнього шару тканини – *кортексу* (cortex), з якого розвивається внутрішні жіночі статеві органи, та внутрішнього шару – *медули* (medulla), з якого розвивається чоловіча тканина. У таких протогонадах одночасно присутні *Мюлерова протока* і *Вольфів канал* – зачатки статевих шляхів відповідно самок і самців. Формування цих закладок первинних гонад забезпечується X-хромосою і тому йде тотожно в осіб обох статей

до п'ятого тижня ембріонального розвитку. Причому *НУ*-рецептори є на поверхні клітин гонад обох типів. Описані вище процеси наводять на висновок, що основним планом природи було зробити жінку, і що додавання *Y*-хромосоми в каріотипі призводить до її варіації – чоловіка.

У людини *формування закладок статевої залози*, зовнішніх і внутрішніх статевих органів відбувається до 4-го тижня ембріогенезу. Первинні зародкові клітини формуються на 3-му тижні ембріогенезу в ектодермі жовточного мішка. Пізніше під впливом хемотаксису вони мігрують у статеву складку, де приймають участь в утворенні недиференційованої гонади, яка надалі розвивається в яєчники або сім'яники.

*Диференціювання закладок* у статеві залози та статеві органи в ембріону та плоду відбувається з 4 по 12 тижні внутрішньоутробного розвитку та на цьому етапі повністю залежить від другої статевої хромосоми. Якщо це буде *X*-хромосома, первинні статеві клітини розвиваються в оогонії, вся статеві система розвивається за жіночим типом. Розвиток первинних статевих закладок за чоловічим типом визначається наявністю в хромосомному наборі *Y*-хромосоми. первинні статеві клітини диференціюються в сперматогонії, утворюються сім'яники та зовнішні статеві органи.

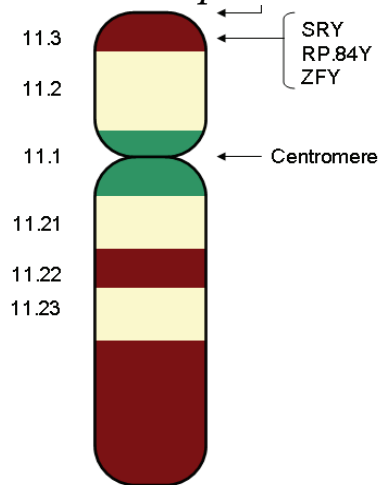
У людини *Y*-хромосома містить більш ніж 59 мільйонів пар нуклеотидів (майже 2% всього геному), які входять до складу більше 86 генів, що кодують 23 білка. Раніше вважалося, що чоловічий фенотип визначається всією чоловічою *Y*-хромосомою. Але в 1990 році був відкритий *ген SRY* (англ. *Sex determining Region Y gene*), локалізований в *Y*-хромосомі. За його відсутності генотип *XY* має жіночий фенотип.

Ген *SRY* не містить інтронів, його єдиний екзон складається з 897 пар нуклеотидів. Консервативний домен (*HMG-бокс*) кодує білковий фактор розвитку сім'яників *TDF* (англ. *Testis-determining factor*) розміром 80 залишків амінокислот. У людини ген *SRY* локалізований на короткому плечі *Y*-хромосоми, в області *Yp11.3* (рис. 4.11).

Активність гена *SRY* відмічена перед початком періоду диференціювання прогонади в яєчко та на цій стадії не залежить від присутності статевих клітин. Мутації гена *SRY* можуть призвести до появи жіночого організму з генотипом *XY* (*синдром Свайера*). Захворювання розвивається внаслідок активності локусу *TDF*, який визначає стать і розвиток сім'яників. Унаслідок такої активності клітини, що мають перетворитися в статеві залози, не

розвиваються, не виділяються статеві гормони: ані жіночі, ані чоловічі.

*псевдоаутосомний район Y-хромосоми*



**Рис. 4.11.** – Y-хромосома людини з місцем локалізації *SRY*-гена

Коли на організм не впливають ті чи інші гормони, плід вибирає жіночий напрямок розвитку. Тому людина зі статевими хромосомами XY або з фрагментами Y-хромосоми розвивається за жіночим типом. Транслокація частини Y-хромосоми з геном *SRY* на X-хромосому в результаті кросинговеру між X- і Y-хромосомами в процесі мейозу, внаслідок чого одна або обидві X-хромосоми містять нормальний чоловічий ген *SRY*, призводить до появи чоловічого організму з генотипом XX (*синдром де Ля Шапеля*).

Первинна детермінація чоловічої статі починається з появи в протогонадах спеціалізованих клітинних ліній – *клітин Сертолі*, в яких синтезується під контролем *SRY*-гена регуляторний білок – *НУ-антиген*, який спрямовує розвиток первинних гонад за чоловічим типом. Ген *НУ*-антигена знаходиться в 6-тій аутосомі обох статей. Але білок цього гена синтезується тільки при наявності Y-хромосоми. *НУ*-антиген властивий всім ссавцям чоловічої статі, включаючи людину, і знаходиться на поверхні всіх клітин, що мають Y-хромосому. Але тільки клітини протогонад мають *НУ*-рецептори, які зв'язують цей антиген. Отже, єдиною функцією *НУ*-антигена є диференціювання гонад.

Домен, що кодується *HMG*-боксом *SRY*-гена, специфічно зв'язується з ДНК і призводить до її згинання, яке може механічно передаватися на значну відстань і відігравати важливу роль в регуляції транскрипції, реплікації і рекомбінації. Область ДНК, в якій локалізується *SRY*, містить два гени, що кодують ключові ферменти диференціювання первинної гонади: *ген ароматази P450*, яка контролює конверсію тестостерону в естрадіол, та

фактора, що пригнічує розвиток проток Мюллера, який викликає зворотній їх розвиток і сприяє диференціюванню яєчок. Продукт гена *SRY* бере участь у процесах статевого диференціювання в тісній взаємодії із ще одним геном, названим геном *Z*, функція якого в нормі полягає в пригніченні специфічних чоловічих генів. У разі нормального чоловічого генотипу (46,XY) ген *SRY* кодує білок, що пригнічує ген *Z*, при цьому активуються специфічні чоловічі гени.

У нормі *X*-хромосома містить *ген-репресор Z* (ген тестикулярної фемінізації *Tfm*), який пригнічує специфічний чоловічий ген і створює умови для розвитку гонад за жіночим типом. Нормальний алель цього гена визначає синтез білкового рецептора для андрогенів, які синтезуються в обох статей.

У людини формування ембріональних тестикул з мозкової речовини первинної гонади відбувається з 6-го тижня після зачаття. Цей процес контролюється білком *НУ-антигеном*, який індукуює експресію каскаду генів, що відповідають за утворення антимюлерівської субстанції і тестостерону. У жінок антимюлерівська субстанція не синтезується, тому з кортексу розвиваються фаллопієві труби та матка.

У плоду чоловічої статі під дією *НУ-антигена* клітини зачаткових гонад починають продукувати тестостерон і антимюллерів гормон, що відповідає за пригнічення розвитку мюллерової протоки – зачатка майбутніх фаллопієвих труб і матки. При цьому швидше розвивається медулярна тканина, яка пригнічує діяльність кортикального шару, в результаті чого первинні гонади перетворюються на сім'яники. Розвиток яєчок в чоловічому організмі супроводжується продукуванням ними андрогенів, під впливом яких зникають парамезонефричні протоки. Хоча ген *SRY* є головним геном, що визначає чоловічу потенцію, для розвитку яєчок необхідна дія багатьох генів. На мембранах клітин зачатка геніталій наявні специфічні рецептори тестостерону, під дією яких формуються зовнішні чоловічі статеві органи. Отже, наступний етап естафети продовжують гормони, що визначають процес статевої диференціації плоду та його анатомічний розвиток. Гормони виділяються не тільки ендокринними залозами, а й кортикальним і медулярним шарами статевого зачатка, а в подальшому – і статевими залозами. Ці речовини відрізняються за часом їх продукування та за характером своєї дії.

У жінок клітини *Сертолі* виділяють естроген, що направляє розвиток тіла за жіночим шляхом розвитку. У жіночої статі

прискорюється розвиток кортикального шару, внаслідок чого пригнічується формування медулярного шару протогонад; останні перетворюються в яєчники. Відповідно до цих перетворень статевих зачатків диференціюються і статеві шляхи.

Таким чином, диференціювання внутрішніх та зовнішніх статевих органів з вольфових та мюлерових протоків пов'язане з продукуванням гормонів яєчниками або сім'яниками. Якщо гонада сформована за чоловічим типом, синтезуються андрогени, в результаті чого із вольфових протоків утворюються сім'яні протоки, сім'яні пухирці, клітини Сертолі; синтезується антимюллерів фактор. Якщо утворюються яєчники, то виробляються естрогени, під дією яких з мюллерових протоків формуються маткові труби, матка, верхня третина піхви, формується також антивольфов фактор, що призводить до редукції вольфових протоків.

Подальша диференціація статі, особливо розвиток вторинних статевих ознак, також йде під впливом гормонів. Якщо у самця ссавця видалити сім'яники, тобто каструвати його до настання статевої зрілості, то доросла тварина набуває деяких ознак жіночої статі – стає фемінізованою. Класичними дослідженнями М. М. Завадовського ще в 20-х роках минулого століття показано, що кастрація самок птахів навіть у дорослому стані призводить до розвитку ознак протилежної статі. Кастровані курочки перетворюються зовнішньо в півнів. Цей процес може бути оборотним.

Отже, головним діючим початком у диференціації статі є гени, що контролюють рівень гормональної секреції чоловічого або жіночого напрямків розвитку. Переважання генів, що визначають чоловічу стать, в загальному балансі призводить до підвищення активності чоловічих гормонів і до диференціації чоловічої статі, зворотне співвідношення генів – до розвитку жіночої статі. Якщо ці гормони синтезуються в потрібний час і в потрібній послідовності, то відбувається нормальне формування чоловічого та жіночого організму. Фізикальні (морфофізіологічні) детермінанти статі є загальними для людини та більшості тварин.

У людини розрізняють первинне, вторинне, третинне співвідношення статей.

*Первинне співвідношення статей* формується в момент зачаття: на 100 жіночих зигот припадає 140-150 чоловічих зигот. Поясненням цього є те, що Y-місткі сперматозоїди більш рухливі, негативно заряджені (яйцеклітини – з позитивним зарядом), мають позитивний хемотаксис на речовини, що виділяються яйцеклітиною, тому частіше запліднюють яйцеклітину. *Вторинне*

*співвідношення статей* формується при народженні та складає 100♀: 106♂. Таке співвідношення можна пояснити більшою життєздатністю жіночих зигот, гемізиготністю чоловічих зигот (у них проявляються всі рецесивні гени) та чужорідністю (за білками) для материнського організму чоловічої зиготи. Вторинне співвідношення статей може залежати від низки факторів: 1) від віку матері (під час вагітності): у віці 18-20 років – співвідношення на 100♀: 120♂, у віці 32-40 років – на 100♀: 90♂; 2) перша вагітність частіше закінчується народженням хлопчика; 3) при токсикозах вагітності та при стресових впливах частіше народжуються дівчинки. *Третинне співвідношення статей* формується в постнатальний період та є різним у різному віці людини: у віці 20 років – на 100♀: 100♂; у віці 50 років – на 100♀: 85♂; у віці 80 років – на 100♀: 50♂. Таке співвідношення статей можна пояснити більшою життєздатністю жіночого організму та більшою смертністю чоловіків у постнатальний період (від захворювань, важкої фізичної праці, шкідливих звичок).

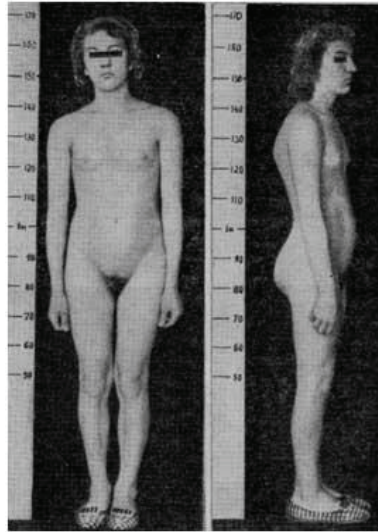
Соціально-психологічні детермінанти визначають вибір статевого партнера. У більшості випадків це протилежна стать (*гетеросексуалізм*), рідко *гомосексуалізм* (однакова стать). У людини значною є роль соціально-психологічних детермінант в явищах транссексуалізму та трансвестизму. *Транссексуалізм* – стійке усвідомлення своєї належності до протилежної статі, незважаючи на правильне формування гонад і вторинних статевих ознак. *Трансвестизм* – статєва збоченість, при якій досягається статєве збудження та задоволення при переодяганні в одєжу протилежної статі.

Відхилення в роботі статєвої системи на етапі диференціяції і функціонування гонад може спричинювати порушення розвитку чоловічого фенотипу в організмі з каріотипом 46, XY, внаслідок чого формується *чоловічий псевдогермафродитизм, або синдром тестиккулярної фемінізації (синдром Моріса)*. У людей із синдромом Моріса генотип чоловічий, фенотип – жіночий (*рис. 4.12*). Справжній гермафродитизм у людини зустрічається дуже рідко.

При синдромі Моріса в ембріогенезі відбувається закладка сім'яників, які починають продукувати чоловічі статєві гормони. Андрогени продукуються в нормальних кількостях, але на поверхні клітин-мішеней статєвих органів, що розвиваються, відсутній білок-рецептор (рецесивна мутація), який забезпечує чутливість таких клітин до тестостерону. Тому клітини-мішені стають нечутливими до дії цих гормонів і відбувається



перетворення тестостерону в естроген. Внаслідок цього розвиток за чоловічим типом припиняється, вторинні статеві ознаки формуються за жіночим типом.



**Рис. 4.12.** – Особа із синдромом Моріса

У дитячому віці синдром можна виявити, якщо при запахових грижах формуються сім'яники. У дорослих осіб ріст і пропорції тіла типово жіночі, оволосіння жіночого типу, розвинені молочні залози, наявна аменорея, зовнішні жіночі статеві органи розвинені нормально, незважаючи на каріотип 46, XY та неопущені в мошонку яєчка.

Інший варіант відхилення в роботі статевої системи – неповний розвиток жіночого фенотипу в організмі з каріотипом 46, XX – *жіночий несправжній гермафродитизм*, або **адреногенітальний синдром** (генотип жіночий, а фенотип – чоловічий) (*рис. 4.13*).



**Рис. 4.13.** – Пацієнтка з адреногенітальним синдромом: низький зріст (146 см), чоловіча зовнішність, низький голос, виражена мускулатура, широка грудна клітка, неповна лисина, чоловічий тип оволосіння (гірсутизм)

*Адреногенітальний синдром* спричинений аутосомно-рецесивною мутацією *CYP21-B*-гена, що спричинює недостатнє продукування ферментів синтезу кортикостероїдів (кортизолу та альдостерону) наднирниками. Зниження секреції кортикостероїдів паралельно посилює синтез андрогенів, виникають помітні ознаки їх впливу на чутливі тканини та органи. Більше 90% всіх випадків синдрому обумовлено дефіцитом 21-гідроксилази – фермента, що впливає на синтез кортизолу. Основними симптомами адреногенітального синдрому є: відносно великі розміри статевого органа в дитячому віці; підвищена пігментація шкірних покривів, низький зріст (не завжди); стійке підвищення рівня артеріального тиску; безпліддя.

У тварин переважання в онтогенезі гормональної секреції то однієї, то іншої статі призводить до розвитку інтерсексуальних форм. За даними Р. Гольдшмідта, в інтерсексів є критичні моменти гормональної активності, які визначають «поворот» в розвитку статі даної особини. Гормони хребетних впливають не тільки на розвиток вторинних статевих ознак, але і на гонади. Андрогени спричинюють *маскулінізацію яєчників* – появу в них чоловічих статевих клітин, а естрогени – *фемінізацію сім'яників* – появу в них жіночих статевих клітин.

Вивчення дії гормонів на диференціацію статі та її перевизначення в онтогенезі є дуже важливою проблемою генетики, ембріології, ендокринології.

#### **4.9. Перевизначення статі в онтогенезі різних видів організмів**

Найкращим доказом спадкової бісексуальності організмів є зміна статі в онтогенезі в природних або штучних умовах. Розглянемо особливості неспадкової, онтогенетичної зміни (перевизначення) статі.

У людини та ссавців під час розвитку різностатевих близнюків гормональне перевизначення статі в ембріогенезі ускладнене тим, що диференціація статі настає раніше, ніж починається продукування відповідних гормонів. Однак є випадки, коли зміна статі в тварин відбувається в ембріогенезі. Наприклад, у великої рогатої худоби іноді народжуються одностатеві двійні (два бичка або дві телички) та різностатеві (бичок і теличка). У разі одностатевих близнят вони народжуються нормальними. Коли двійні є різностатевими, то бички розвиваються нормально, а телички часто виявляються інтерсексами: зовнішні геніталії

жіночого типу, внутрішні статеві органи – чоловічого типу. Такі тварини називаються **фримартинами**; вони завжди безплідні. Подібні зміни викликані тим, що сім'яники чоловічого ембріону раніше починають виділяти чоловічі гормони в кров, що й спричинює зміну напрямку статевого розвитку жіночого ембріону.

Зазвичай для ілюстрації перевизначення статі в природних умовах наводять декілька класичних прикладів, наприклад, визначення статі у морського хробака *Bonellia viridis*. Вільно плаваючі личинки цього хробака розвиваються в самок. Якщо личинка прикріплюється до хоботка самки або поселяється поблизу неї, то вона розвивається в самця. Личинка, яка почала диференціюватися в самця, будучи відділена від самки, змінює напрямок диференціації статі в жіночу сторону, і з неї розвивається інтерсекс. У генетичному відношенні стать тут також детермінована, але з рівною початковою статевою потенцією. У даному випадку вирішальним моментом у визначенні статі є контакт з жіночою особиною.

Перевизначення статі можна спостерігати в атлантичного оселедця. Оселедці живуть невеликими зграями, в кожній з яких є один самець і декілька самок. Якщо самець гине, то через деякий час найбільша самка перетворюється в самця. Таким чином, біологічною основою перевизначення статі є початкова генетична бісексуальність організмів. Це пояснює можливість зміни статі в процесі онтогенезу.

В останні роки все більше привертає увагу дослідників експериментальне перевизначення статі. Шляхом впливу різними гормональними препаратами в тварин вдається отримати повне перетворення статі аж до здатності формування зміненими особинами статевих клітин протилежної статі. Такі результати отримані у тритона (*Pleurodeles waltlii*), деяких жаб (*Xenopus laevis*), риб (*Oryzias latipes*), птахів і інших видів. Коротко зупинимося на двох прикладах.

Перевизначення чоловічої статі в жіночу у курей має певний практичний зиск. У 1956 році з'явилося повідомлення про те, що обробка естрогенами курячих яєць в інкубації викликає повне перетворення чоловічої статі в жіночу. При цьому перетворені в курочок півники зберігають ознаки самки в подальшому розвитку. Пізніше була проведена перевірка можливості такого перевизначення з генетичним маркуванням статевих хромосом. Досліди В. Б. Савватеева показали, що обробка жіночим статевим гормоном *діетілстілбестролом* запліднених яєць до інкубації дійсно перетворює чоловічу стать на жіночу, але тільки на

ембріональній стадії. При подальшому розвитку генотип перемагав і в таких курчат спостерігалася повна реверсія до чоловічої статі.

Один із чудових прикладів повного перевизначення статі в онтогенезі отриманий на акваріумних рибках в дослідженні *Т. Ямамото* в 1953 році. У багатьох видів акваріумних рибок гетерогаметною статтю (XY) є чоловіча. У досліді були взяті білі і червоні медаки (*Oryzias latipes*), в яких домінуючий ген червоного забарвлення *R* знаходиться в Y-хромосомі, а його рецесивний алель *r* – в X-хромосомі. Отже, білі самки мають генотип  $X^rX^r$ , а червоні самці –  $X^rY^R$ . У цьому випадку самці завжди будуть червоними, оскільки в Y-хромосомі знаходиться домінуючий ген *R*, якщо не відбудеться кросинговер між гомологічними ділянками X- і Y-хромосоми, що іноді має місце. Попередньо автор перевіряв успадкування цієї ознаки в декількох поколіннях. Схрещування особин з генотипами  $X^rX^r$  та  $X^rY^R$  незмінно давало білих самок і червоних самців.

Мальки до диференціювання статевого зачатку були розділені на дві групи, що утримувалися до 8 місяців на двох різних дієтах:

- нормальне годування,
- з добавкою жіночого статевого гормону (естрону або стилбестролу).

У результаті виявилось, що все червоні рибки другої групи, генотипно визначені як самці  $X^rY^R$ , за фенотипом виявилися самками з нормальними яєчниками і жіночими вторинними статевими ознаками, які були здатні схрещуватися з нормальними червоними самцями. Схрещування таких самок з нормальними самцями  $X^rY^R$  х  $X^rY^R$  давало розщеплення за статтю в співвідношенні не 1: 1, а  $1\text{♀} (X^rX^r): 2\text{♂} (2X^rY^R)$ .

Цей приклад яскраво демонструє генетичну бісексуальність організмів, можливість штучного регулювання співвідношення статей та зміни статі в онтогенезі.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Чому народжується приблизно однакова кількість особин чоловічої і жіночої статей?
2. Чи існує стать у рослин?
3. Які ознаки називаються зчепленими зі статтю? У чому особливість їх успадкування?
4. Як успадковуються ознаки при нестатевому розмноженні?

5. У чому сутність балансової теорії визначення статі?
6. Що таке статевий хроматин? Як і коли він утворюється?
7. Що таке гінандроморфи?
8. Чи можливо штучно змінити стать у потомства?
9. Які існують методи ранньої діагностики статі?
10. Які ознаки називаються обмеженими статтю та залежними від статі?
11. Які особливості визначення статі в різних видів організмів?
12. Як відбувається спадкування ознак при нерозходженні статевих хромосом?
13. Як відбувається диференціація статі в онтогенезі людини? Наведіть причини її порушення.
14. Що таке дозова компенсація генів? Який її біологічний сенс?
15. Чим відрізняється спадкування ознак, повністю зчеплених зі статтю, від успадкування ознак, неповністю зчеплених зі статтю?
16. Яка стать буде в дрозофіли та людини з набором статевих хромосом ХУУ? Чому?

## РОЗДІЛ 5.

# ХРОМОСОМНА ТЕОРІЯ СПАДКОВОСТІ. ЗЧЕПЛЕНЕ СПАДКУВАННЯ ГЕНІВ

У 1902-1903 роках американським цитологом *У. Сеттоном* і німецьким ембріологом *Т. Бовері* незалежно на основі проведених експериментів виявлений паралелізм у поведінці генів і хромосом, що послужило обґрунтуванням хромосомної гіпотези, і надалі – хромосомної теорії спадковості:

<i>Генний контроль розвитку ознаки</i>	<i>Хромосомний контроль розвитку ознаки</i>
1. Кожну ознаку в організмі контролює два алелі гена, один з яких організм одержує від матері, інший – від батька	1. Ядра соматичних клітин містять пари гомологічних хромосом, одна з яких успадковується від матері, інша – від батька
2. Гамета диплоїдного організму завжди містить один алель гена з двох його алельних пар	2. У результаті мейозу в гамету надходить тільки одна з двох гомологічних хромосом
3. Алелі генів негомологічних хромосом успадковуються незалежно один від одного	3. Кожна хромосома негомологічних пар потрапляє в гамети незалежно, рівноймовірно, в комбінації з іншими хромосомами

Оскільки будь-який організм характеризується комплексом різноманітних ознак, чисельність яких значно перевищує кількість хромосом каріотипу, можна припустити, що кожна хромосома містить численні спадкові фактори, що й було доведено пізніше.

У 1906 р. *У. Бетсон* і *Р. Пеннет* вивчали спадкування забарвлення квітки (*P* – пурпурне, *p* – червоне) та форми пилкових зерен (*L* – подовжена, *l* – кругла) в запашного горошку (*Lathyrus odoratus*). При схрещуванні рослин пурпурно-квіткових з видовженим пилком (*PPLL*) та рослин червоноквіткових з круглим пилком (*ppll*) : *P:PPLL* × *ppll* всі рослини  $F_1$  були пурпурноквіткові з видовженим пилком (*PpLl*). У результаті самозапилення гібридів  $F_1$ : *PpLl* × *PpLl* одержали потомство  $F_2$  з наступним співвідношенням фенотипних класів:

Фенотипи	Фактичне розщеплення в F <sub>2</sub> :		Очікуване розщеплення в F <sub>2</sub> :	
	в частках	абс. кількість/ %	в частках	абс. кількість/ %
<i>P-L-</i>	35	4831 (69,5%)	9	3909 (56,25%)
<i>P-ll</i>	3	390 (5,6%)	3	1303 (18,75%)
<i>pp L-</i>	3	390 (5,6%)	3	1303 (18,75%)
<i>ppll</i>	10	1338 (19,3%)	1	434 (6,25%)

У потомстві одержані всі чотири фенотипні класи, але їх співвідношення не відповідало менделівському (9:3:3:1). Судячи по розщепленню в F<sub>2</sub>, батьківські сполучення алелей (*PL* і *pl*) частіше надходили в гамети, тоді як їхні комбінації (*Pl* і *pL*) – значно рідше. Отже, алелі розходяться в гамети не випадково. Таке явище обумовлено зчепленим успадкуванням генів, яке є однією з причин відхилення від менделівських закономірностей успадкування в гібридному потомстві.

Спільне спадкування генів однієї хромосоми, що обмежує вільне їх комбінування, називають **зчепленим успадкуванням**. Якщо зчеплені гени *A* і *B* розташовані в одній парі гомологічних хромосом, генотип дигетерозиготної особини *AaBb* записують так: *AB/ab*.

Як виявити зчеплене спадкування генів та відрізнити його від незалежного менделівського? Такий тип успадкування можна виявити за результатами аналізуючого схрещування, за зміною структури та співвідношення гамет у дигібридного потомства.

Якщо досліджувані гени в дигетерозиготи F<sub>1</sub> містяться в різних хромосомах (незалежне спадкування), в F<sub>a</sub> наявні чотири фенотипні класи в рівному співвідношенні:

$$F_1: AaBb \times aabb$$

$$F_a: \frac{1}{4} AaBb; \frac{1}{4} aaBb; \frac{1}{4} Aabb; \frac{1}{4} aabb.$$

Якщо ж алелі *A* та *B* містяться в одній хромосомі, тобто є повністю зчепленими, а їхні рецесивні алеломорфи – в гомологічній хромосомі, то в результаті аналізуючого схрещування дигетерозиготи (F<sub>1</sub>: *ABab* × *abab*) в потомстві спостерігатиметься лише два фенотипних класи в рівному співвідношенні, причому з такими ж самими ознаками, як і в батьків:

$$F_a: \frac{1}{2} AB/ab; \frac{1}{2} abab.$$

Це означає, що зчеплені гени *A* і *B* успадковуються в потомстві як пара спільних алельних генів, кросинговер між ними відсутній, тому утворюються лише два типи гамет у рівному співвідношенні.

## 5.1. Особливості спадкування ознак при повному та неповному зчепленні генів. Основні положення хромосомної теорії спадковості

Одержані У. Бетсоном і Р. Пеннетом результати стали передумовою для проведення подальших досліджень особливостей зчепленого спадкування генів американським генетиком *Т. Морганом* і його співробітниками – *А. Стертевантом*, *Г. Меллером*, *К. Бріджесом*, які стали основними доказами хромосомної теорії спадковості. Дослідники вважали, що в разі контролю ознак неалельними генами однієї хромосоми вони успадковуються спільно, отже, відповідні ним ознаки успадковуватимуться групами. Перевірка цієї гіпотези проведена *Т. Морганом* і співробітниками з використанням модельного генетичного об'єкта – плодової мухи дрозофіли (*Drosophila melanogaster*). Перевагами дрозофіли як модельного генетичного об'єкта є: 1) висока плодючість – від однієї пари мух можна одержати від 50 до 200 нащадків; 2) нетривалий цикл розвитку (період від відкладання яєць до імаго триває 10-12 діб; 3) тривалість життя мухи в лабораторних умовах – 3-4 тижні; 4) мала кількість хромосом ( $2n=8$ ); 5) велика кількість генів із контролем добре помітних ознак; 6) простота розведення – для розмноження мух у штучних умовах необхідне поживне середовище, яке не потребує особливих витрат; 7) чіткий розподіл за статтю (статевий диморфізм): самки крупніше за самців, у них черевце менше та темніше.

Згодом у процесі розведення дрозофіли в штучних умовах виявлені численні генні мутації, що дозволило *Т. Моргану* в 1909-1911 роках розпочати дослідження закономірностей успадкування відповідних генів і місця їх локалізації. У результаті гібридизації ліній мух з двома парами ознак – із сірим тілом ( $b^+$ ), нормальними крилами ( $vg^+$ ) та чорним тілом ( $b - black$ ) і зачатковими, тобто недорозвиненими крилами ( $vg - vestigial$ ) – все гібридне потомство  $F_1$  було з сірим тілом і нормальними крилами ( $b^+vg^+ / bvg$ ):

$$P: b^+vg^+ / b^+vg^+ \times bvg / bvg$$

$$F_1: b^+vg^+ / bvg$$

Для визначення кількості та структури гамет, утворених дигетерозиготою, Морган провів аналізуючі реципрокні схрещування: рецесивної гомозиготної самки з дигетерозиготним самцем (схрещування 1) та дигетерозиготної самки з рецесивним гомозиготним самцем (схрещування 2).



У потомстві від аналізуючого схрещування 1 ( $F_1: \text{♀} b^+vg^+/bvg \times \text{♂} b^+vg^+/bvg$ ) замість очікуваного співвідношення фенотипних класів 1:1:1:1, яке б спостерігалось при незалежному спадкуванні генів, Т. Морганом одержано два фенотипних класи, однакові з батьківськими:  $F_a: b^+vg^+/bvg; bvg/bvg$ . Таке розщеплення свідчить про те, що самець продукує лише два типи гамет ( $b^+vg^+$  та  $bvg$ ) замість чотирьох можливих ( $b^+vg^+; bvg; bvg^+$  та  $b^+vg$ ). За результатами схрещування 1 Морган зробив висновок, що алелі генів  $b$  і  $vg$  поводять себе як абсолютно зчеплені між собою, містяться в одній хромосомі та під час мейозу потрапляють в різні гамети у відповідності з розходженням гомологічних хромосом в анафазі I. Отже, гени, що обумовлюють сіре забарвлення тіла ( $b^+$ ) та нормальних крил ( $vg^+$ ), містяться в одній гомологічній хромосомі, а гени чорного забарвлення тіла ( $b$ ) та зачаткових крил ( $vg$ ) – в іншій. Кількісне співвідношення фенотипних класів при цьому імітує розщеплення при моногібридному схрещуванні, з тією лише різницею, що спостерігається спільне спадкування двох пар ознак. Таке спадкування генів називається *повним зчепленням*. **Повне зчеплення генів** – різновид зчепленого спадкування, при якому гени ознак, що аналізуються, розміщені близько один до одного так, що кросинговер між ними стає неможливим.

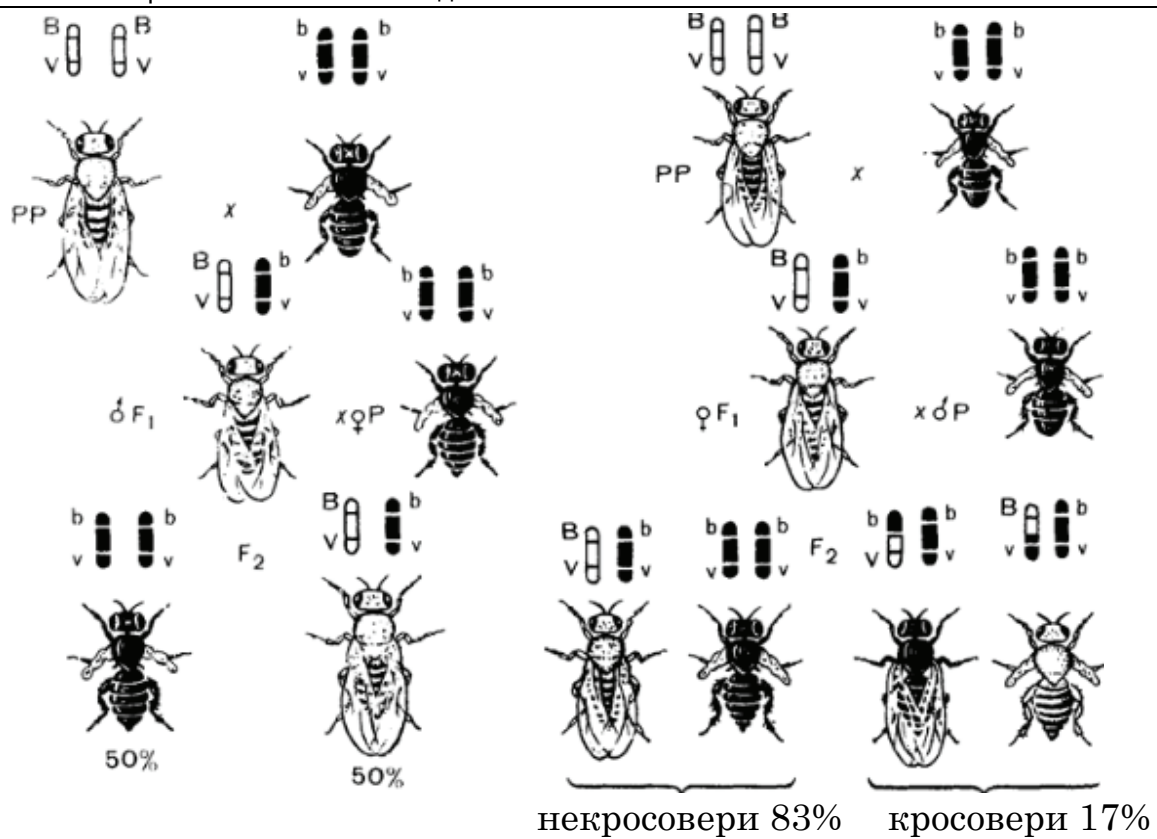
Пізніше було доведено, що в самців дрозофіли процес кросинговеру під час утворення гамет повністю пригнічений, синаптонемальний комплекс не утворюється, відсутній обмін генетичним матеріалом між хромосомами. Це відкриття має велике значення для експериментальних робіт із дрозофілою, коли необхідно виключити ймовірність кросинговеру в одного з батьків.

Результати реципрокного аналізуючого схрещування 2, проведеного Т. Морганом, суттєво відрізнялися від результатів схрещування 1:

$$F_1: \text{♀} b^+vg^+/bvg \times \text{♂} bvg/bvg$$

$$n(F_2): 41,5\% b^+vg^+/bvg; 41,5\% bvg/bvg; 8,5\% b^+vg/bvg; 8,5\% bvg^+/bvg$$

Серед чотирьох фенотипних класів  $F_2$  чисельно переважали особини із сполученням ознак батьків (41,5% мух із сірим тілом і нормальними крилами; 41,5% мух з чорним тілом і зачатковими крилами), лише невелика частина мух мала нові комбінації ознак – 8,5% чорних з нормальними крилами та 8,5% сірих із зачатковими крилами (*рис. 5.1*). Таке розщеплення в  $F_2$  спостерігається при неповному зчепленні генів.



**Рис. 5.1.** – Результати реципрокного аналізуючого схрещування, проведеного Т. Морганом (пояснення в тексті)

**Неповне зчеплення генів** – різновид зчепленого спадкування, при якому гени ознак, що аналізуються, розміщені на деякій відстані один від одного, тому можливий кросинговер між ними.

У зиготені профазі I мейозу гомологічні хромосоми (одна з яких несе гени  $b^+$  і  $vg^+$ , а інша –  $b$  і  $vg$ ), кон'югують, у пахітені відбувається їх перехрест, розрив і обмін ділянками несестринських хроматид – *кросинговер* (від англ. *crossing-over* – перехрест). Тому дигетерозиготна самка  $b^+vg^+/bvg$  формує чотири типи гамет:  $b^+vg^+$  і  $bvg$  (некросоверні гамети, в яких порядок розміщення алелей у хромосомах не змінився) та  $b^+vg$  і  $bvg^+$  (кросоверні гамети, містять нові комбінації алелей). Злиття чотирьох типів гамет самки з одним типом гамет самця ( $bvg$ ) під час запліднення обумовлює формування чотирьох фенотипних класів (як при вільному комбінуванні генів). Але, оскільки кросинговер відбувається в мейозі не завжди, тому в вибірці, що аналізується, кількісне співвідношення гамет кросоверного типу є меншим, ніж некросоверних, отже, розщеплення ознак, яке спостерігається в потомстві аналізуючого схрещування, не відповідає менделівському.

Наведені результати доводять, що під час гаметогенезу відбувся обмін фрагментами хромосом. Гібридні особини потомства

аналізуючого схрещування з такими ж сполученнями ознак, як і в батьків (наприклад,  $b^+vg^+/bvg$  та  $bvg/bvg$ ), називаються *нерекомбінантами* (некросоверами). Гібридні особини, що мають інше сполучення ознак, ніж у батьків (наприклад,  $bvg^+/bvg$  та  $b^+vg/bvg$ ), називаються *рекомбінантами* (кросоверами).

У 1909 році бельгійський цитолог *Франс Янсенс*, досліджуючи перший поділ мейозу в калифорнійської саламандри *Batrachoseps attenuatus*, спостерігав обмін ділянками між гомологічними хромосомами, реєструючи при цьому наявність хіазм (явище хіазмотипії) (*рис. 5.2*).



**Рис. 5.2.** – Хіазми в диплотенному біваленті хромосом ооциту саламандри (вказані стрілками)

На основі своїх спостережень *Янсенс* запропонував теорію взаємообміну хромосом, названу ним *теорією хіазмотипії*. За цією теорією, в профазі I мейозу кон'югують гомологічні хромосоми материнського та батьківського походження, кожна з яких складається з двох хроматид. При цьому хромосоми перекручуються навколо одна одної, рвуться та знов з'єднуються в точці перехреста (хіазми) таким чином, що в двох хроматидах з чотирьох реципрокно об'єднуються сегменти материнського та батьківського походження.

За припущенням *К. Бріджеса*, ученика Моргана, кросинговер триває за принципом «розрив – з'єднання». У результаті кросинговеру виникають якісно нові хромосоми, що містять ділянки (гени) як материнської, так і батьківської хромосом. Отже, кросинговер є одним із джерел комбінативної мінливості організмів.

Т.Морган запропонував відстань між генами оцінювати за частотою кросинговеру (в %) за формулою:

$$rf A|B = N_1 : N_2 \times 100\%;$$

де  $rf A|B$  (англ. recombination frequency) – частота рекомбінації між генами А і В;  $N_1$  – сумарна кількість особин кросоверних класів;  $N_2$  – загальна кількість особин у вибірці.

Для позначення частоти кросинговеру (його ймовірності) пізніше запропонована мірна одиниця – *сантиморган* (сМ):  $1 \text{ сМ} = 1\%$  кросинговеру. Частота (%) перехреста між двома генами, розміщеними на хромосомі поруч, пропорційна відстані між ними: чим ближче один від одного гени, тим меншою є ймовірність їх рекомбінації. По мірі збільшення відстані між генами збільшується ймовірність того, що кросинговер «розведе» їх по двом різним за походженням гомологічним хромосомам. Таким чином, кількість кросоверних гамет залежатиме від частоти кросинговеру.

Значення частоти кросинговеру між двома генами, виявлене в досліді, не може перевищувати 50%, оскільки ця частота відповідає незалежному та випадковому розподіленню генів і хромосом по гаметах.

Після перевірки всіх генів на можливість зчепленого спадкування можна встановити їх *групу зчеплення*, тобто встановити, в якій саме хромосомі вони знаходяться. Оскільки гомологічні хромосоми мають однаковий набір генів, *кількість груп зчеплення дорівнює кількості пар хромосом у клітинах або їх гаплоїдній кількості*. Наприклад, у людини в осіб жіночої статі налічується 23 групи зчеплення, чоловічої – 24, оскільки статеві хромосоми чоловіка (XY) не повністю гомологічні одна одній.

У результаті проведених експериментів, що тривали протягом 1911-1915 років, група Т. Моргана довела існування явища зчепленого спадкування генів та сформулювала висновки, опубліковані в 1915 році в книзі «*Механізм менделівської спадковості*».

Основними *положеннями хромосомної теорії спадковості*, сформульованими Т.Морганом, є:

- гени знаходяться в хромосомах і розміщені в хромосомі в певній лінійній послідовності;
- різні хромосоми містять неоднакову кількість генів. Набір генів кожної з негомологічних хромосом унікальний;
- алелі генів займають однакові локуси в гомологічних хромосомах;
- гени однієї хромосоми створюють *групу зчеплення*, тобто успадковуються спільно, завдяки чому відбувається спільне спадкування деяких ознак;
- кількість груп зчеплення дорівнює гаплоїдному набору хромосом даного виду (в гомогаметної статі) або більше на одиницю (в гетерогаметної статі) та є постійною величиною для кожного виду організмів;
- зчеплення порушується в результаті кросинговеру, частота якого прямо пропорційна відстані між генами в хромосомі.

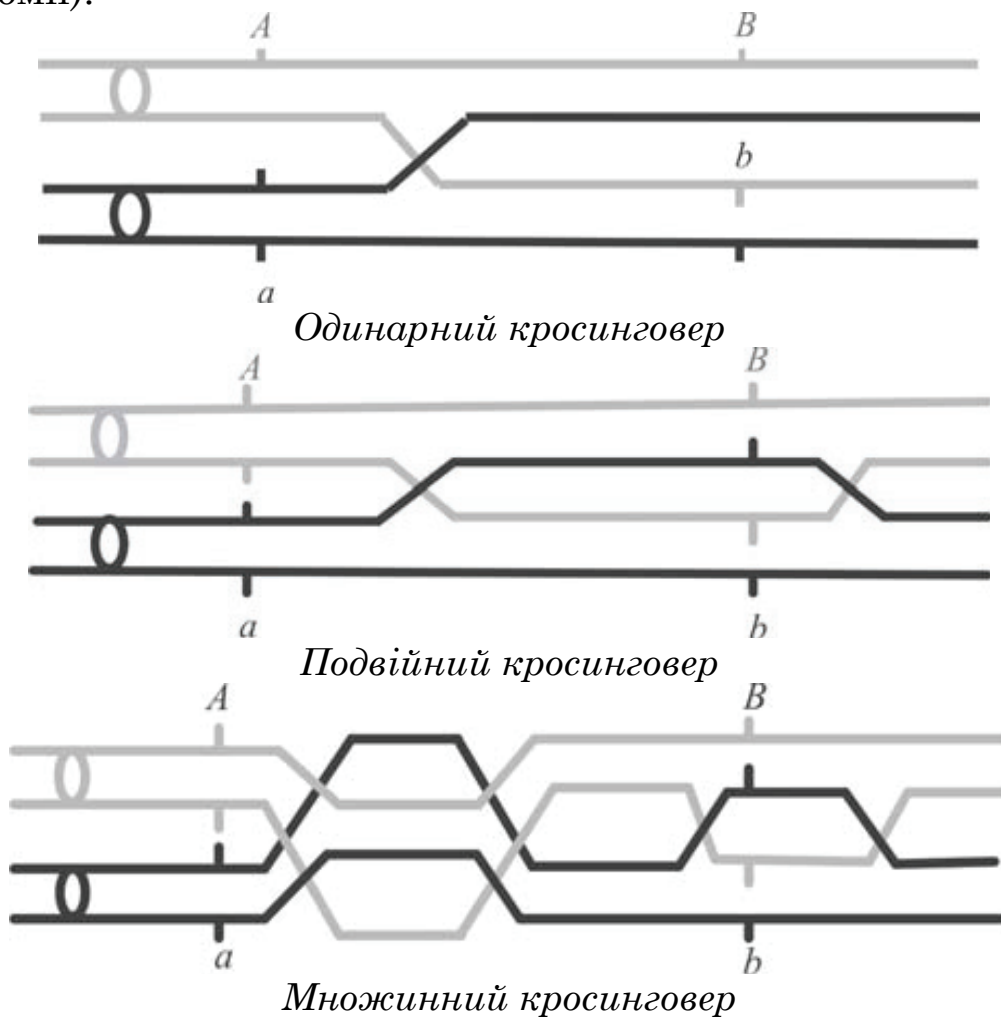
У 1933 році Т. Моргану за відкриття ролі хромосом у спадковості присуджена Нобелівська премія з фізіології і медицини.

## 5.2. Типи кросинговеру

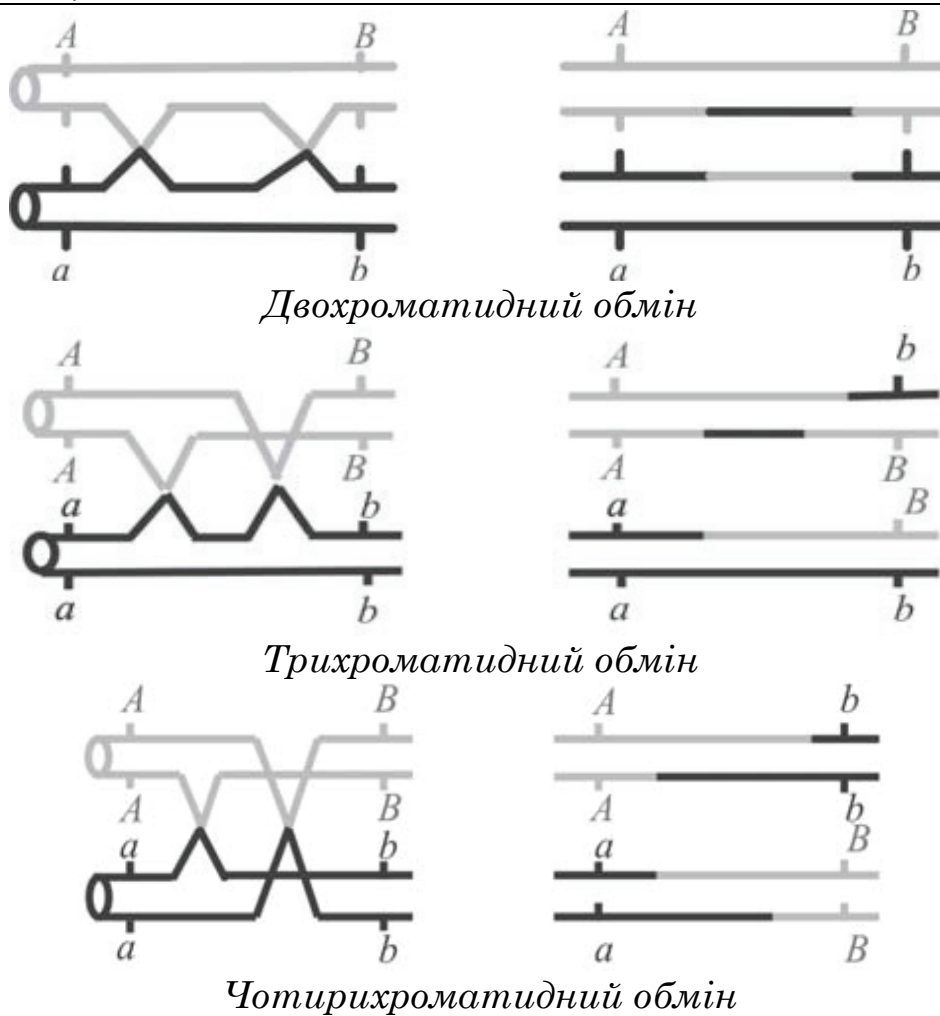
Розрізняють наступні типи кросинговеру:

1) в залежності від типу клітин, де відбувається перехрест хромосом – *мейотичний* (триває в профазі I мейозу при утворенні статевих клітин) та *мітотичний* (під час поділу соматичних клітин, переважно ембріональних; призводить до мозаїчності в проявленні ознак);

2) в залежності від кількості утворених хіазм і розривів хромосом з наступною перекомбінацією генів – *одинарний*, *подвійний*, *множинний* (в останньому випадку перехрести між хроматидами відбуваються одночасно в декількох місцях хромосоми):



У залежності від кількості хроматид, що приймають участь в кросинговері, розрізняють *дво-*, *три-* та *чотирихроматидні* обміни:



Генетична рекомбінація призводить до виникнення нових, раніше не існуючих комбінацій генів і, відповідно, ознак, що контролюються ними. Тим самим збільшується спадкова (комбінативна) мінливість організмів, що забезпечує кращу їх адаптацію до мінливих умов середовища. Використовуючи гібридизацію та штучний добір, людина створює штучним шляхом нові, необхідні варіанти комбінацій генів для одержання нових сортів рослин, порід тварин, штамів мікроорганізмів.

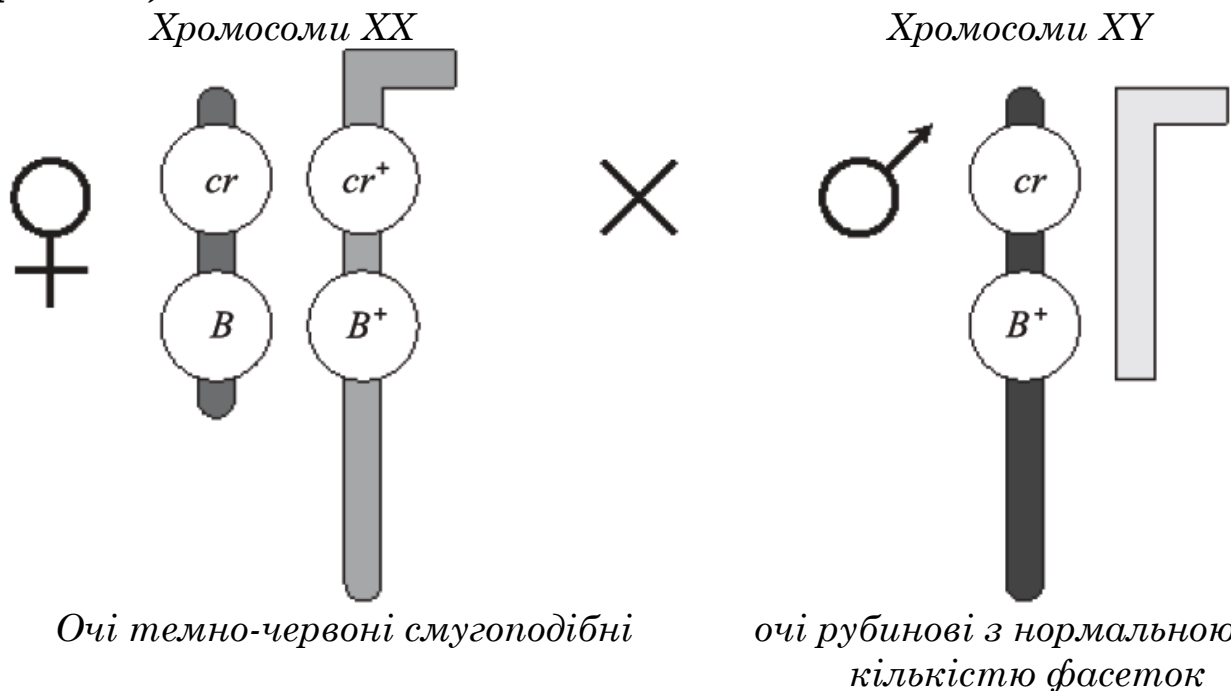
### 5.3. Цитологічні докази кросинговеру

Паралелізм подій, що відбуваються генетично та цитологічно при кросинговері, продемонстрований експериментально в 1931 році на двох модельних об'єктах: *К. Штерном* на дрозофілі та *Г. Крейтоном* і *Б. МакКлінток* на кукурудзі.

Для своїх дослідів *К. Штерн* використав лінію самок дрозофіл із морфологічними відмінностями статевих хромосом, що забезпечує їх ідентифікацію на цитологічному рівні: на одну з X-хромосом внаслідок транслокації перенесений невеликий фрагмент Y-хромосоми, що надало їй специфічну Г-подібну форму, яка легко

виявляється під мікроскопом. Друга X-хромосома самки була коротша за нормальну внаслідок делеції (втрати ділянки хромосоми); втрачена частина була перенесена на іншу, IV хромосому. Прикріплена частина в складі IV хромосоми не втрачалася під час мейозу, що забезпечувало життєздатність таких особин.

Мутантні самки мали дві морфологічно різні X-хромосоми та були гетерозиготними за двома генами *carnation* (*cr*) і *Bar* (*B*), які контролювали наступні пари ознак: домінантна ознака темно-червоні очі (*cr*<sup>+</sup>) – рецесивна ознака рубінові очі (*cr*); смугоподібні очі (*B*) (домінантна мутація) – нормальні очі (*B*<sup>+</sup>) (рецесивна ознака дикого типу). Г-подібна X-хромосома містила домінантний алель *cr*<sup>+</sup> і рецесивний алель *B*<sup>+</sup>, вкорочена X-хромосома – мутантний домінантний алель *B* та рецесивний алель *cr*. Такі самки схрещені із самцями з нормальною X-хромосомою, де містилися рецесивні алелі *cr* і *B*<sup>+</sup>, тобто було проведено аналізуюче схрещування (рис. 5.3).

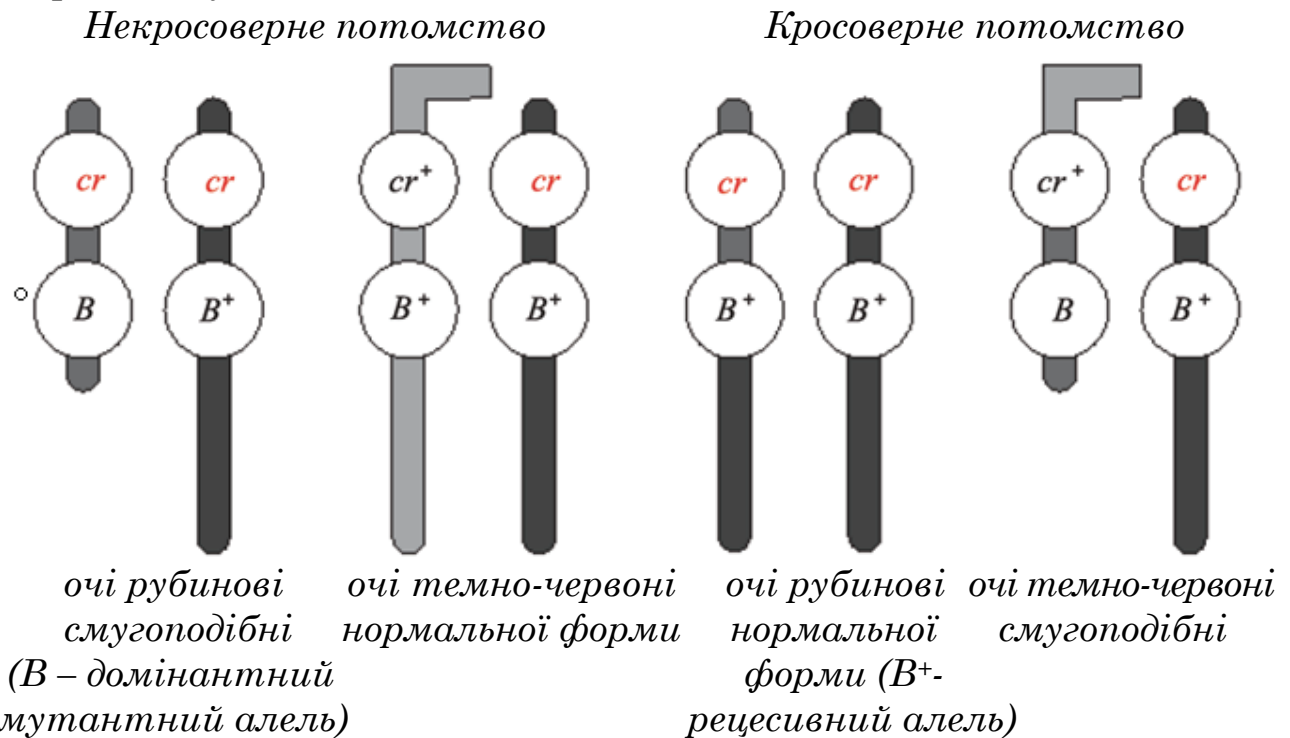


**Рис. 5.3.** – Схема схрещування дигетерозиготної мутантної самки дрозофіли з гемізіготним рецесивним самцем, проведеного К. Штерном

У результаті цього схрещування одержані самки чотирьох типів (рис. 5.4).

Два типи самок *некросоверні*, із рубіновими очима смугоподібної форми (*crB/crB*<sup>+</sup>) та з темно-червоними очима, нормальною кількістю фасеток (*cr*<sup>+</sup>*B*<sup>+</sup>/*crB*<sup>+</sup>) та два типи *кросоверні*, з новими комбінаціями ознак: очі рубінового кольору, з нормальною кількістю фасеток (*crB*<sup>+</sup>/*crB*<sup>+</sup>) та очі темно-червоні

(дикого типу) смугоподібної форми ( $cr^+B/crB^+$ ). Одна з X-хромосом кросоверного потомства разом із перекомбінацією генів ( $crB^+$  та  $cr^+B$ ), при цитологічному дослідженні виявилася подовженою, інша X-хромосома (Г-подібна) вкоротилася. Аналізували лише жіноче потомство, щоб не переплутати метацентричну Г-подібну X-хромосому з Y-хромосомою. Від батька самки одержали нормальну X-хромосому з генами  $crB^+$ .



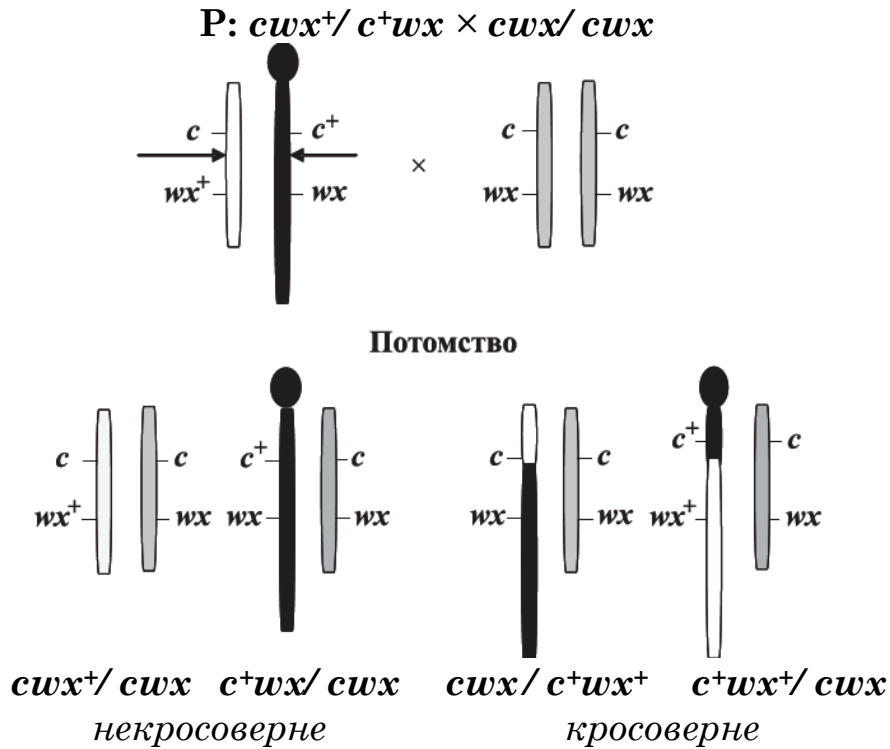
**Рис. 5.4.** – Розщеплення в потомстві аналізуючого схрещування дигетерозиготної мутантної самки з рецесивним самцем (дослід К. Штерна)

Цитологічний аналіз хромосом потомства аналізуючого схрещування (374 препаратів самок) показав, що в X-хромосомі самок кросоверних класів відбулися структурні перебудови в результаті одинарного кросинговеру між генами  $cr$  і  $B$  в одній гомологічній хромосомі та  $cr^+$  і  $B^+$  – в іншій, що призвело до зміни їх структури. Частота появи кросоверних самок із перебудованими X-хромосомами була невеликою: 5 з 374 перевірених, що відображає частоту кросинговеру.

У тому ж 1931 році *Х. Крейтон* і *Б. МакКлінток* на іншому модельному генетичному об'єкті – кукурудзі – одержали ще один цитологічний доказ кросинговеру. Вони отримали лінію кукурудзи, в якій хромосоми IX пари виявилися цитологічно різними (гетероморфними). Одна хромосома була нормальною та містила гени  $c$  (незабарвлений ендосперм – рецесивна ознака) і  $wx^+$  (крохмалистий ендосперм – домінуюча ознака); інша



хромосома несла потовщення одного плеча, інше плече було видовжене. Ця хромосома містила гени  $c^+$  (забарвлений ендосперм – домінантна ознака) та  $wx$  (воскоподібний ендосперм – рецесивна ознака) (рис. 5.5). Такі дигетерозиготні рослини зі структурними перебудовами однієї з 9-ої пари хромосом схрещували з рецесивними гомозиготами для визначення структури та кількості утворених в мейозі гамет.



**Рис. 5.5.** – Схема дослідів Х. Крейтона та Б. МакКлінток (пояснення в тексті)

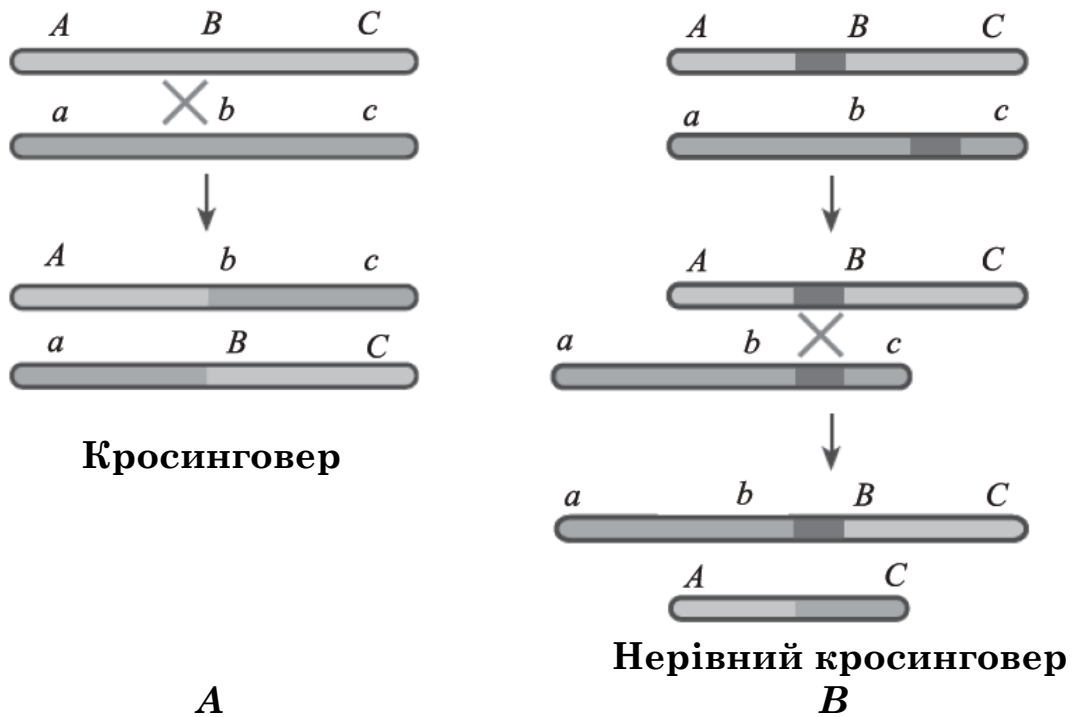
У результаті проведення цитологічного аналізу потомства та зіставлення одержаних даних із характером спадкування ознак виявлено, що зерна з перекомбінацією ознак (кросовери) при цитологічному дослідженні їх клітин містили хромосому IX з ділянками, де відбувся обмін: або хромосому нормальної довжини з потовщенням, або видовжену хромосому без потовщення. Отже, структурні перебудови хромосом завжди супроводжувалися відповідними перекомбінаціями ознак.

Таким чином, за допомогою цитологічного аналізу К. Штерн на дрозофілі та Х. Крейтон і Б. МакКлінток на кукурудзі довели, що гени містяться в хромосомах; між гомологічними хромосомами в мейозі може відбуватися кросинговер – фізичний обмін ділянками.

## 5.4. Нерівний кросинговер

Зазвичай під час кросинговеру відбувається обмін рівними ділянками несестринських хроматид із однаковою кількістю генів у строго ідентичних тотожних місцях. У рідкісних випадках розриви відбуваються асиметрично, *хроматиди обмінюються нерівними ділянками*. Таке явище називається **нерівним кросинговером**. У результаті обміну ділянками зі зміщенням точки розриву хроматид одна з гомологічних хромосом одержує подвійну копію ділянки (тандемну дуплікацію), інша – відповідно вкорочується за рахунок втрати ділянки (делеції) (*рис. 5.6*).

Явище нерівного кросинговеру вперше дослідив А. Стертевант у 1925 році, аналізуючи спадкування гена *Var (V)*, що контролює ознаку смугоподібні очі мутантної лінії дрозофіли.

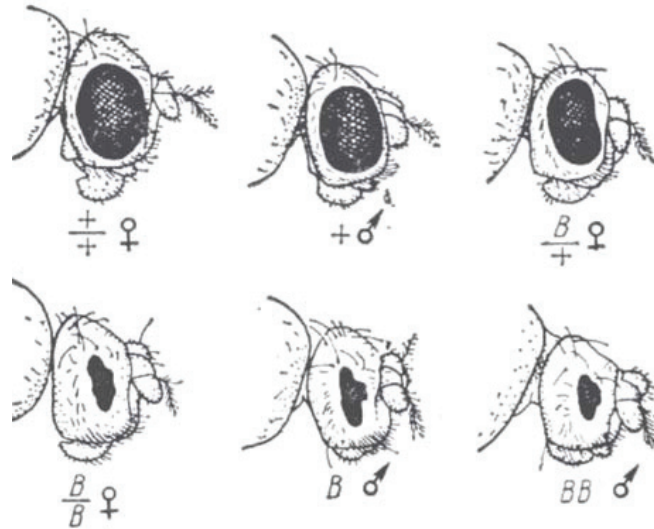


**Рис. 5.6.** – Схема кросинговеру: А – рівний кросинговер (норма); В – нерівний кросинговер, що супроводжується утворенням хромосом із перебудовами – дуплікацією, тобто подвоєнням ділянки (на рис. гена В) в одній хромосомі та делецією, тобто втратою ділянки на іншій хромосомі

У гетерозиготи мутантний алель **V** домінує над алелем дикого типу **V<sup>+</sup>**, який контролює утворення нормальної кількості (800) очних фасеток, але домінування є неповним, оскільки при наявності цієї мутації в гетерозиготі її проявлення менш виражене.

У мутантних особин **V/V<sup>+</sup>** фасеток близько 350, у гомозигот за домінантним мутантним геном **V/V** кількість фасеток знижено до

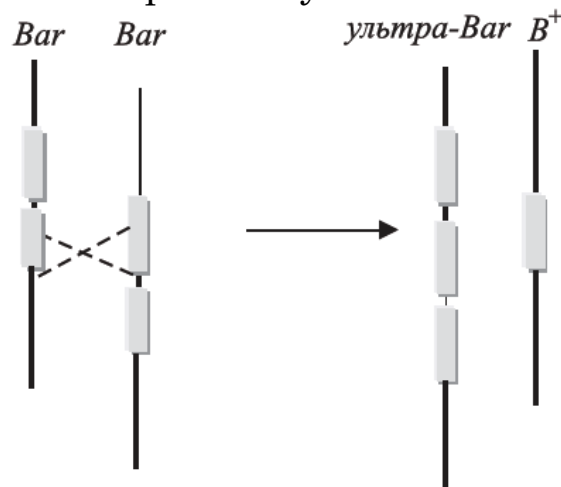
70; в мутанта «подвійний *Var* (*BB*)» кількість фасеток різна в гомота гетерозигот: у гетерозигот  $BB/B^+$  – 50, в гомозигот  $BB/BB$  – 25 (рис. 5.7).



**Рис. 5.7.** – Фенотипи дрозозфіли, що відповідають різним генотипам за локусом *Var*

А. Стертевант припустив, що фенотипний прояв гена *B* спричинений не зміною структури самого гена, а зміною кількості або дози його алелей внаслідок нерівного кросинговеру. В гемізіготних самців і гомозиготних самок ця мутація призводить до сильної редукції ока, в гетерозиготних самок очі менше зменшені в розмірах.

Можливий механізм виникнення мух ультра-*Var* представлений на рис. 5.8. Якщо фенотип *Var* виникає в результаті подвоєння локусу гена *B*, то це повинно призвести до появи більш вираженого фенотипу.



**Рис. 5.8.** – Схема нерівного кросинговеру, що призводить до виникнення мух ультра-*Var* при схрещуванні мутантних форм  $BB$  x  $BB$

Тому при схрещуванні гомозиготних за локусом *Var* мух (В/В) з низькою частотою (приблизно 1:1600) трапляються мухи з нормальними очима та мухи з більш сильно вираженою редуцією числа фасеток – ультра-*Var*.

Доказ того, що утворення мутантних особин ультра-*Var* є результатом нерівного кросинговеру, одержаний А. Стертевантом при проведенні тригібридного схрещування. Ділянки ліворуч і праворуч від локусу *Var* X-хромосоми були марковані мутаціями генів, що знаходилися на дуже близькій відстані один від одного: *f* (*forked* – вільчасті щетинки) та *fu* (*fused* – злиті прожилки крил). Знаходження на генетичній карті X-хромосоми локусу *f* відповідало 56,7 сМ, локусу *V* – 57 сМ, локусу *fu* – 59,5 сМ (принцип побудови генетичних карт хромосом буде розглянуто пізніше). Отже, аналізувалася ділянка розміром приблизно 3сМ (59,5 – 56,7 = 2,8 сМ).

Гомозиготну за локусом *Var* самку (але гетерозиготну за локусами *f* і *fu*) схрещували з рецесивним за цими трьома генами самцем, що дозволило аналізувати кросоверні події за всіма трьома генами: ♀  $f^+Var fu^+ / f Var fu$  × ♂  $f Var^+ fu$

У результаті схрещування одержані наступні нащадки:

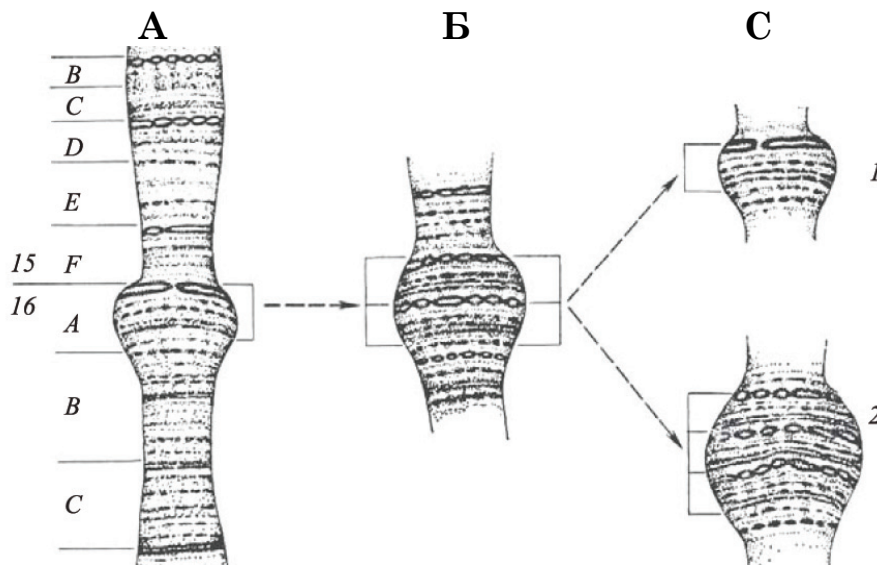
- 1) некросоверні самки:  $f^+Var fu^+ / f Var^+ fu$  ;  $f Var fu / f Var^+ fu$
- 2) кросоверні самці:  $f Var fu^+$ ;  $f^+Var fu$ ;  $f^+Var fu^+$ ;  $f Var fu$
- 3) рідко з'являлися самці «подвійний *Var*:  $f Var Var fu^+$  та  $f^+Var Var fu$
- 4) мухи з нормальними очима:  $f Var^+fu^+$  та  $f^+ Var^+ fu$

За результатами цього схрещування проаналізовано приблизно 20 тисяч нащадків (самок і самців), з яких більшість опинилася некросоверними внаслідок того, що відстань між цими генами була надто малою. При аналізі невеликої фракції кросоверного потомства виявилось, що серед нього практично всі особини утворилися в результаті поодинокого кросинговеру на першій ділянці – *f-Var* або на другій – *Var – fu*. Але в досить рідкісних випадках виявлялися мухи з очима ультра-*Var* і мухи дикого типу *V*<sup>+</sup>. Обидва ці класи несли разом з перекомбінацією за локусом *Var* нові сполучення ознак:  $f^+ fu$  та  $ffu^+$ . Той факт, що утворення мух ультра-*Var* (та *V*<sup>+</sup>) супроводжувалося перекомбінацією близько розміщених маркерів *f* та *fu* (або *f*<sup>+</sup> та *fu*<sup>+</sup>) свідчить про те, що такі мухи є продуктами нерівного кросинговеру між дупліційованими ділянками X-хромосоми. А. Стертевант припустив, що поява ділянок *VB* або *V*<sup>+</sup> пов'язана із зміною дози гена за рахунок обміну нерівними ділянками гомологічних хромосом. Під час утворення кросоверних гамет відбувається

збільшення дози однієї частини локусу  $B - f^+ Bar Bar fu$  та втрата частини локусу  $B$  у кросоверів  $f Bar^+ fu^+$ .

Цитологічний аналіз політенних хромосом, виділених із слинних залоз мутантних мух  $Bar$  і ультра- $Bar$ , проведений незалежно один від одного Г. Меллером, А. Прокоф'євою-Бельговською, К. Бриджерсом, підтвердив відповідне подвоєння та потроєння кількості дисків у сегменті  $16A$  (що відповідає знаходженню локусу  $Bar$  на цитологічній карті  $X$ -хромосоми) у порівнянні з диким типом  $B^+$ , де він був представлений єдиною копією (рис. 5.9).

В області, що відповідає локалізації гена  $Bar$  на препаратах політенних хромосом, відмічено збільшення кількості дисків, пропорційне дозі гена. Таким чином, внаслідок нерівного кросинговеру ділянка однієї із гомологічних хромосом може подвоїтися чи потроїтися, а в іншій гомологічній хромосомі при цьому втрачається фрагмент. Аналогічне подвоєння ділянки хромосоми спостерігалось і в кукурудзи.



**Рис. 5.9.** – Будова політенних хромосом дрозофіли: **А** – в мух дикого типу ( $B^+$ ); **Б** – у лінії  $Bar$ ; **С** – у мух, одержаних в результаті схрещування  $Bar \times Bar$  – дикого типу  $B^+$  (**1**) та ультра- $Bar$  (**2**)

Прикладом спадкових захворювань людини, спричинених нерівним кросинговером внаслідок наявності в геномі прямих повторів в області рекомбінуючих генів, є деякі форми таласемії, дальтонізму, нейропатичного захворювання Шарко-Марі-Туса та ін. При таласемії відбувається зниження кількості копій альфа- та бета-глобінових генів внаслідок нерівного кросинговеру, що змінює структуру гемоглобіну та його форму. При дальтонізмі втрата окремих генів або виникнення гібридного гена внаслідок злиття

“червоного” та “зеленого” опсинових генів, що кодують зорові пігменти, в рекомбінантній хромосомі веде до кольорової сліпоті. Причиною захворювання Шарко-Марі-Туса є неправильне спарювання гомологічних хромосом за кінцевими повторами та наступний нерівний кросинговер, що призводить або до подвоєння, або до зникнення ділянки хромосоми, що містить ген *RMP22* (рис. 5.10).



**Рис. 5.10.** – Клінічні симптоми хвороби Шарко-Марі-Туса

Це призводить до виникнення аутосомно-домінантного захворювання, симптомами якого є слабкість та атрофія м'язів кінцівок, відсутність сухожильних рефлексів, зниження швидкості проведення нервових імпульсів.

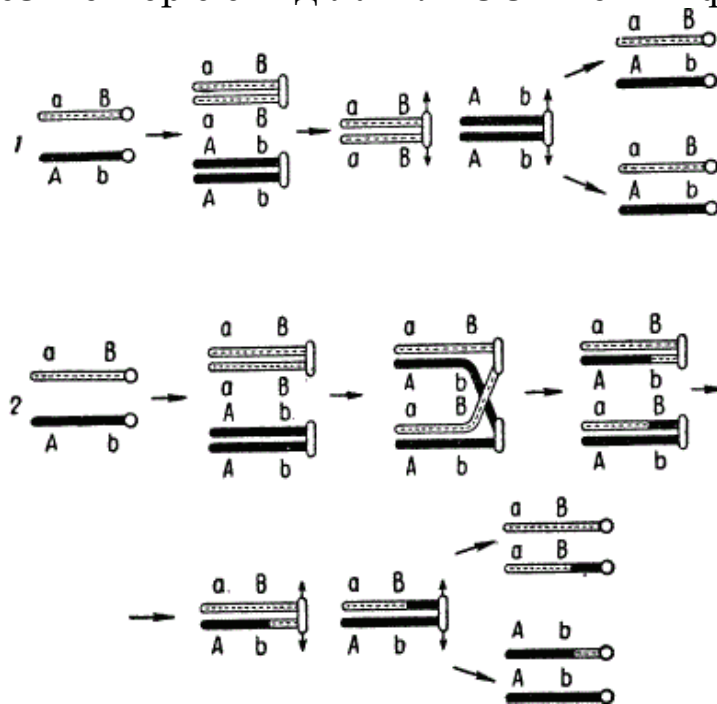
## 5.5. Мітотичний (соматичний) кросинговер

Найчастіше обміни ділянками хромосом відбуваються під час мейозу. Але в рідкісних випадках кросинговер може відбуватися під час мітотичного поділу в соматичних клітинах. Такий кросинговер називається *мітотичним (соматичним)*.

Гомологічні хромосоми кон'югують в інтерфазі та входять в мітотичний поділ спареними. Соматичний кросинговер може бути виявлений лише тоді, якщо він здійснюється на стадії чотирьох хроматид (рис.5.11).

Для проявлення мітотичного кросинговеру необхідні такі умови: 1) організм має бути гетерозиготним за ознаками, що аналізуються; 2) у кросинговері задіяні дві хроматиди з чотирьох; 3) наявний одинарний кросинговер; 4) обмін відбувається між несестринськими хроматидами; 5) місце перехресту на хроматидах має знаходитися між досліджуваним геном і центромерою; 6) в анафазі мітотичного поділу випадково обидві гомологічні

хромосоми що несуть гени, наприклад,  $aB$  повинні відійти до одного полюсу,  $Ab$  – до іншого. Відмінною рисою мітотичного кросинговеру є мозаїчність проявлення ознак, оскільки він призводить до перекомбінації генів у певній соматичній клітині (відповідних ознак у дочірніх клітинах), які надалі під час наступних мітозів створюють ділянки із зміненим фенотипом.



**Рис. 5.11.** – Схема соматичного кросинговеру: 1 – поведінка двох гомологічних хромосом під час мітозу за відсутності соматичного кросинговеру (генотипи обох клітин, що утворилися, однакові –  $Ab aB$ ); 2 – поведінка двох гомологічних хромосом при наявності соматичного кросинговеру (генотипи обох клітин, що утворилися під час поділу, різні ( $Ab aB$  і  $aB Ab$ ))

Мітотичний кросинговер відкритий американським і німецьким зоологом, генетиком *Куртом Штерном* при дослідженні самок дрозофіл, гетерозиготних за рецесивними мутаціями двох локусів Х-хромосоми – *yellow* ( $y$ ) (жовте тіло) та *singed* ( $sn$ ) (опалені щетинки). Одна хромосома містила в двох локусах алелі  $y^+sn$ , інша –  $ysn^+$ .

Дигетерозиготи з генотипом  $y^+sn/ysn^+$  мали дикий фенотип за обома ознаками, але іноді на тілі деяких мух з'являлися подвійні плями. У таких плям одна половина була жовта з нормальними щетинками (домінантна ознака), інша – нормального сірого кольору (домінантна ознака), але з опаленими щетинками (*рис. 5.12*). Такі плями вперше помічені ще в 1925 році, але тільки в 1936 році К. Штерн пояснив їх появу мітотичним кросинговером між двома несестринськими хроматидами на стадії чотирьох

хроматид. Такі плями утворюються, якщо місце обміну знаходиться між геном *sn* і центромерою та якщо в анафазі того ж мітотичного циклу випадково обидві хромосоми *ysn*<sup>+</sup> відійдуть до одного полюсу, а обидві хромосоми *y*<sup>+</sup>*sn* – до іншого.



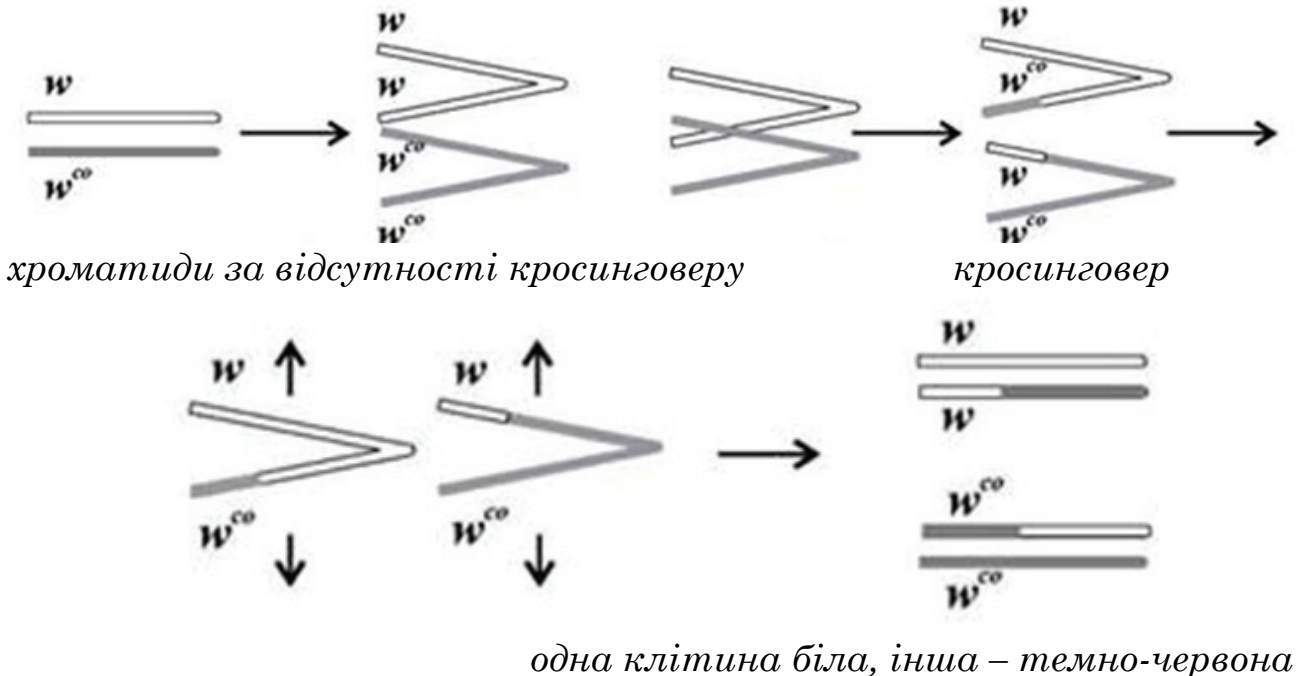
**Рис. 5.12.** – Мозаїчні ділянки на тілі дрозозфіли. На правій половині тіла помітні дві ділянки: з жовтим забарвленням і нормальними щетинками та з нормальним забарвленням, опаленими щетинками (в центрі)

Дві клітини, що виникли внаслідок мітозу, при наступних поділах дадуть два ряди тканинних плям, приблизно рівних за розмірами та рецесивних за фенотипом, оскільки гени *y* та *sn* опиняться в гомозиготному стані. На сірому тілі мухи з нормальними щетинками (генотип *y*<sup>+</sup>*sn*/*ysn*<sup>+</sup>) з'явиться одна пляма жовта з нормальними щетинками (*ysn*<sup>+</sup>/*ysn*<sup>+</sup>), інша – сіра з опаленими щетинками (генотип *y*<sup>+</sup>*sn* /*y*<sup>+</sup>*sn*). Розмір таких плям залежатиме від того, скільки разів клітини з кросоверними хромосомами ділитимуться надалі до завершення формування імагінальної тканини. Якщо ж перехрест відбуватиметься між генами *y* і *sn*, то з'являться поодинокі жовті плями. Але оскільки гени *y* і *sn* розміщені близько один до одного в хромосомі, то обмін між ними є рідкісним явищем, отже, поодинокі плями траплятимуться також рідко.

Наведемо ще один приклад обміну між генами під час соматичного кросинговеру. У самки дрозозфіли, гетерозиготної за двома алелями гена *white* (*w* – білі очі, *w*<sup>co</sup> – коралові), очі рожевого кольору. Під час мітозу на стадії чотирьох хроматид, якщо в цей час клітини піддаються впливу рентгенівського опромінення, може відбутися обмін фрагментами двох несестринських хроматид. Внаслідок цього в одну з дочірніх клітин надійдуть хромосоми з алелем *w*, в іншу – *w*<sup>co</sup>, при цьому



виникнуть дві клітини, генотипи яких відрізнятимуться. На загальному рожевому фоні кольору очей, характерного для гетерозигот  $w w^{co}$ , з'явиться одна клітина біла та одна – темно-червона. Дві клітини, що виникли мітозом, в подальших поділах дадуть два види плям, приблизно рівних за розмірами та проявлятимуть дві різних рецесивних ознаки (рис. 5.13).



**Рис. 5.13.** – Схема мітотичного кросинговеру (за Жимульовим І.Ф., 2007)

Отже, мітотична рекомбінація може відбуватися в будь-якому локусі, але її результат помітний лише тоді, коли особина гетерозиготна за цими локусами.

Фенотип дочірньої клітини залежатиме від того, як розійдуться хромосоми за метафазною пластинкою. Якщо дві рекомбінантні хроматиди з різними алелями встануть на екваторі клітини навпроти одна одній, то дочірня клітина буде гетерозиготною та з нормальним фенотипом, незважаючи на рекомбінацію (оскільки рекомбінантні ділянки немов би взаємно компенсують одна одну). Якщо ж навпроти рекомбінантної хроматиди стане нормальна, то клітина буде гомозиготною за рекомбінантним локусом. Результатом цього буде поява подвійної плями, де в одних клітин буде проявлятися гомозиготний рецесивний фенотип, а в інших – гомозиготний домінуючий (дикий) фенотип. Якщо такі дочірні клітини розмножуватимуться, подвійні плями збільшуватимуться в розмірах, призводячи до появи нових фенотипів.

Мітотичний кросинговер може тривати протягом інтерфази як наслідок репарації шляхом гомологічного обміну двониткових ушкоджень ДНК. Мітотичний кросинговер спостерігали в *D. melanogaster*, в деяких грибів, що розмножуються нестатевим шляхом, в соматичних клітинах людини та миші. В останньому випадку мітотична рекомбінація може призводити до появи клітин, що експресують рецесивні проонкогенні мутації, збільшуючи ймовірність розвитку рака. Крім того, клітина може стати гомозиготним мутантом за геном-супресором пухлинного росту, що призведе до того ж результату. Наприклад, синдром Блума в людини спричинений мутацією *RecQ-хелікази*, задіяної у реплікації та репарації ДНК. У мишей ця мутація веде до підвищення частоти мітотичної рекомбінації, що в свою чергу підвищує частоту розвитку пухлин.

Причиною виникнення онкологічного захворювання очей у людини – ретинобластоми – є мутація або кросинговер, що відбуваються в одному з ретинобластів (клітин ембріональної тканини, які надалі формують ретину – сітківку ока). У результаті мітотичного кросинговеру в гетерозиготного за геном ретинобластоми (**Rr**) ембріону з ретинобласту виникають дві клітини з генотипами **RR** і **rr**. Рецесивний генотип клітин забезпечує розвиток пухлини одного ока. Пухлини, що виникають внаслідок мітотичного кросинговеру, складають 75% випадків ретинобластоми.

Але мітотичний кросинговер матиме й позитивний ефект для організму, якщо домінантні алелі в гомозиготному стані більш функціональні, ніж в гетерозиготному. Соматичний кросинговер може відбуватися як в статевих хромосомах, так і в аутосомах незалежно від статі особини.

Рекомбінація соматичного типу може відбуватися також під час розвитку статевих клітин у зоні розмноження статевих гонад, тобто в оогоніях і сперматогоніях – **гоніальний кросинговер**; він здійснюється в зародкових клітинах до вступу їх у профазу I мейозу, коли гонії мають ще диплоїдну кількість хромосом. Гоніальний кросинговер триває в профазі мітозу так само, як і в звичайній соматичній клітині. Якщо рекомбінація відбуватиметься під час перших поділів клітин зачаткового шляху, то при малій відстані між генами (або геном і центромірою) виявляється високий процент кросоверних особин однакового походження у потомстві одного самця або однієї самки.

Оскільки мітотичний кросинговер індукується факторами, що вносять розриви в ДНК, його можна використовувати як тест-

систему для виявлення мутагенної активності речовин. Крім того, мітотичний кросинговер використовують для побудови генетичних карт хромосом. Генетичні карти будують, використовуючи в якості відстані між локусами частоту появи секторів на тілі гетерозиготи, в яких той чи інший ген переходить в гомозиготний стан. Ця частота служить мірою відстані від центроміри до гена.

## 5.6. Сестринські хроматидні обміни

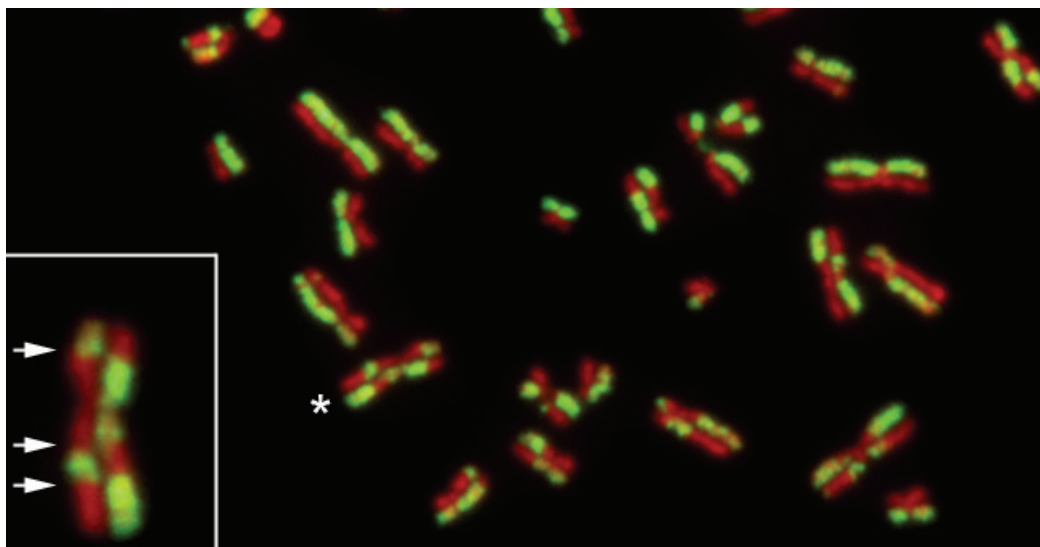
Під час мітотичного або мейотичного поділу клітин можливий обмін не тільки між хроматидами гомологічних хромосом, але й між сестринськими хроматидами тієї ж хромосоми – **сестринські хроматидні обміни (СХО)**. Процес обміну відбувається під час S-фази клітинного циклу шляхом гомологічної рекомбінації між сестринськими хроматидами. Генетична інформація при цьому залишається незмінною, тому СХО фенотипно не виявляються.

Принцип методу виявлення СХО полягає у впливі на клітини таким чином, щоб дві сестринські хроматиди відрізнялися одна від одної. Вперше сестринські хроматидні обміни виявив американський генетик *Д. Г. Тейлор (J. Herbert Taylor)* у 1958 році в апікальних клітинах кореня лілійної рослини *Bellevalia romana*. В якості модифікованого аналога тимідина він використав тимідин, радіоактивно мічений тритієм. Під час реплікації в ДНК включався мічений  $H^3$  – тимідин. Тривалість інкубації клітин була підібрана таким чином, щоб за цей час мічені  $H^3$  – тимідиллові нуклеотиди вбудовувалися лише в знов синтезований ланцюг ДНК протягом однієї S-фази. Тому міченим виявився тільки один ланцюг ДНК в кожній хроматиді, інший ланцюг залишався неміченим. Якщо потім такі клітини культивувати в поживному середовищі, вони вступають у наступний мітотичний цикл, їх ДНК подвоюється, тому одна з хроматид буде напівміченою, інша – не міченою. При візуалізації таких хромосом шляхом обробки препарату фоточутливою емульсією фіксуються обміни між сестринськими хроматидами.

Нині сестринські хроматидні обміни виявляють в метафазі другого поділу після додавання до проліферуючих клітин модифікованих нуклеозидів, здатних після фосфорилування вбудовуватися в ДНК під час реплікації, із подальшим забарвленням препаратів. В якості таких нуклеозидів використовують зазвичай аналоги тимідину: 5-бромдезоксиуридин (БДУ) або 5-етинилдезоксиуридин. БДУ присутні в середовищі *in vitro* протягом двох клітинних циклів. Хроматиди, що включили

БДУ в обидві субдиниці, виглядають на забарвлених препаратах більш світлими, ніж хроматиди, що включили його в одну субдиницю або які не включили взагалі. Даний підхід був запропонований О.Захаровим і Н.Єголіною (1972) і є основою всіх сучасних методів виявлення СХО. У результаті одержують хромосоми, в яких тимидин в одній хроматиді заміщений бромдезоксидуридином в обох ланцюгах ДНК, а в сестринській хроматиді – тільки в одному з ланцюгів. Після цього препарат метафазних хромосом, отриманий з таких клітин, фарбують фотосенсибілізуєчим флуоресцентним барвником, опромінують ультрафіолетовим світлом, внаслідок чого відбувається фотодеградація ДНК. Хроматиди, в якій тимидин заміщений в обох ланцюгах ДНК, стає нездатною зв'язувати барвник Гімза та залишається світлою, а хроматиди, в якій бромдезоксидуридин присутній тільки в одному ланцюзі ДНК, здатна фарбуватися як звичайний хроматин і стає темнішою при фарбуванні. Таке забарвлення називають *диференційним забарвленням сестринських хроматид*, яке ще іноді називають **арлекіновим забарвленням** (за схожістю з костюмом Арлекіна) (*рис. 5.14*).

За наявності СХО світлі та темні ділянки хроматид окремих хромосом чергуються (*рис. 5.15*). За кількістю таких ділянок визначають частоту СХО. Сестринські хроматидні обміни відбуваються спонтанно, їх середня частота в лімфоцитах людини в нормі складає 3-4 на клітину. Підвищення частоти СХО відбувається при впливі факторів, що спричинюють реплікативний стрес, поперечні зшивки ДНК або блокування реплікативної вилки.



**Рис. 5.14.** – Сестринські хроматидні обміни в ембріональних стовбурових клітинах людини

До таких факторів, що індукують пошкодження ДНК, належать віруси, рентгенівське та ультрафіолетове опромінення, деякі хімічні речовини. Феномен обміну ділянками між сестринськими хроматидами однієї хромосоми привернув увагу дослідників мутагенних чинників навколишнього середовища своєю високою чутливістю.



**Рис. 5.15.** – Схематичне зображення сестринського хроматичного обміну

Так, вивчення рівнів індукції СХО і хромосомних мутацій (аберацій) при дії п'яťох мутагенних агентів на лімфоцити людини *in vitro* і на клітини кісткового мозку мишей *in vivo* показало, що ефективність індукції СХО *in vitro* суттєво перевищує ефективність одержання аберацій хромосом. Природа СХО до цього часу залишається не з'ясованою і цій проблемі присвячено багато робіт. Основне питання полягає в тому, чим слід вважати сестринські хроматидні обміни: прямим генетичним ефектом або наслідком певних типів ушкоджень ДНК. У зв'язку з цим зрозумілий інтерес дослідників до з'ясування взаємозв'язку між СХО, мутагенезом і ушкодженнями ДНК. Оскільки ймовірність обмінів підвищується під впливом опромінення, за їх частотою можна визначити інтенсивність цього процесу на різних ділянках хромосоми.

Підвищена частота сестринських хроматидних обмінів виявлена в клітинах хворих на синдром Блума. Це рідкісне аутосомно-рецесивне захворювання, для якого характерні низький зріст хворих, схильність до онкологічних захворювань внаслідок імунодефіциту, висока чутливість шкіри до ультрафіолетового опромінення. Клітини хворих на синдром Блума демонструють сильну геномну нестабільність, зокрема, часту гомологічну рекомбінацію. Причиною цього захворювання є дефіцит у клітинах хворих ферменту ДНК-хелікази, який безпосередньо приймає участь у процесі реплікації ДНК.

## 5.7. Фактори, що впливають на частоту кросинговеру

Кросинговер є складним регулярним генетичним процесом, який контролюється багатьма генами як безпосередньо, так і через функціональний стан клітин під час мейозу чи мітозу, а також через вплив факторів зовнішнього середовища.

Найважливішими факторами, що впливають на частоту кросинговеру, є:

1. **Структура хроматину** – розподілення гетерохроматинових і еухроматинових районів: в місцях локалізації конститутивного гетерохроматину (в прицентромерних і теломерних районах хромосом) частота кросинговеру знижена. Тому відстань між генами в цих ділянках, визначена за частотою кросинговеру, може не відповідати дійсній.

2. **Спіралізація хромосоми** зменшує цитологічну відстань між генами та перешкоджає синапсису гомологічних районів та обміну. Зниження частоти кросинговеру саме в прицентромерній гетерохроматиновій ділянці пов'язують з високим рівнем її спіралізації.

3. **Гомо- та гетерогаметність статі.** Гетерогаметність видів ссавців, птахів, риб, комах, а також рослин не впливає на перехрест хромосом: хіази та обмін здійснюється в мейозі в обох статей. Але в гетерогаметних самців дрозофіли і в самок тутового шовкопряда мейотичний кросинговер відсутній як в статевих хромосомах, так і в аутосомах. У таких особин або повністю відсутній синапсис і утворення хіазм у профазі I мейозу, або ці процеси відбуваються в ранньому гаметогенезі, на стадії утворення сперматогоніїв чи оогоніїв (гоніальний кросинговер). У гомогаметної статі цих видів (самок дрозофіли та самок тутового шовкопряда) обмін відбувається нормально. При цьому частота мітотичного кросинговеру в особин обох статей є однаковою, що вказує на наявність різних механізмів генетичного контролю рекомбінації в статевих і соматичних клітинах організму.

4. **Структура хромосом:** із віддаленням від центромери частота обміну збільшується, а на кінцях хромосоми знову зменшується. Центромера ділиться зазвичай поздовжньо, вдовж вісі хромосоми, але іноді може ділитися поперечно, утворюючи дві функціонуючі ізохромосоми. Хромосомні перебудови знижують частоту обміну.

5. Частота кросинговеру залежить від **віку організму**, наприклад, у дрозодіфи максимальна частота кросинговеру спостерігається в перші 10 днів життя, в наступні 10 днів – її зниження, а після трьох тижнів відбувається новий підйом частоти рекомбінації. Крім того, від віку організму залежить явище нерозходження хромосом.

6. **Функціональний стан організму** впливає на хід різних стадій мейозу, оскільки ступінь спіралізації хромосом, швидкість перебігу стадій профазі I може залежати від фізіологічного стану клітин.

7. **Генотип**. У генотипі різних видів виявлені гени, здатні збільшувати або зменшувати частоту кросинговеру. В якості пригнічувачів рекомбінації виступають також хромосомні перебудови (інверсії, транслокації), оскільки вони заважають нормальній кон'югації хромосом в зиготені. У дрозодіфи, наприклад, виявлений інтрахромосомний ефект перебудов, що впливають на частоту кросинговеру: якщо в інвертованій хромосомі частота обміну знижується, то в іншій не гомологічній, структурно нормальній хромосомі частота кросинговеру збільшується.

8. **Екзогенними факторами**, що підвищують частоту кросинговеру, спричинюючи розриви в ДНК, є: температура, іонізуючі випромінювання (гамма-опромінення, рентгенівські промені), короткохвильове ультрафіолетове світло, концентрація солей, хімічні мутагени, деякі ліки, гормони. За частотою різних типів рекомбінацій (мейотичний та мітотичний кросинговер, сестринські хроматидні обміни) оцінюють мутагенну дію ліків, канцерогенів, тератогенів, антибіотиків та інших речовин.

## 5.8. Генетичне картування

Найважливішою частиною генетичного аналізу є картування генів. При цьому спочатку визначають їх належність до певної групи зчеплення, потім – місце локалізації у хромосомі. Послідовність проведення такого аналізу в дрозодіфи включає наступні етапи:

1. Одержання спонтанних або індукованих мутацій.
2. Тест одержаних мутацій на алелізм.
3. Картування гена в групі зчеплення.
4. Побудова кросоверних карт генів.
5. Картування генів за допомогою хромосомних перебудов.
6. Картування генів за допомогою методів клітинної біології.

## 7. Картування генів з використанням гібридизації *in situ*.

Якщо ДНК гена виділена, за допомогою методу гібридизації *in situ* визначають місце його локалізації на хромосомі. Картування генів організмів, особливості спадкування ознак яких вивчені недостатньо, проводять за допомогою методів клітинної біології.

Розглянемо послідовні етапи генетичного картування.

**5.8.1. Одержання спонтанних або індукованих мутацій.** Спонтанні мутації виявляють в результаті обстеження диких популяцій певного біологічного виду. Якщо відома тільки група зчеплення, в якій локалізується ген, то одержують нові мутації в межах цієї хромосоми. Якщо відомо, в якій хромосомі міститься певний ген і місце його локалізації, використовують спеціальні схеми схрещувань, спрямовані на «насичення» мутаціями цієї ділянки хромосоми. Нині мутації у дрозофіли індукують за допомогою мобільного елемента геному (*P-елементу*), що дозволяє виділити та клонувати ДНК необхідного гена.

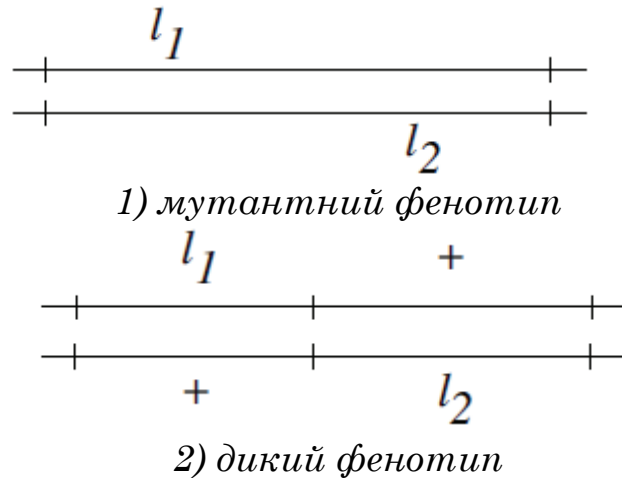
**5.8.2. Тест мутацій на алелізм.** Для визначення того, скільки та які гени зачіпають одержані мутації, останні перевіряють у гетерозиготному стані в усіх парних сполученнях. Для цього використовують множинні алелі, що виникають у результаті багаторазового мутування того ж самого локусу в хромосомі (див. Розділ 3.8.6). Окрім основних (домінантного та рецесивного) алелей гена в результаті його мутування з'являються проміжні алелі, котрі по відношенню до доміантного поведуть себе як рецесивні, а по відношенню до рецесивного – як доміантні. Згідно функціональному критерію на алелізм, запропонованому Т. Морганом, якщо в гібрида (компаунда) спостерігається мутантний фенотип, це означає, що обидві мутації зачіпають той самий ген. Якщо в потомстві від схрещування мутантних особин одержують гібрид дикого типу, це свідчить про те, що мутації виникли в різних неалельних генах (рис. 5.16).

**5.8.3. Картування гена в групі зчеплення.** При визначенні локалізації гена в статевих хромосомах встановлюють, як передається ознака від батьків потомству. Якщо ознака передається від батька всім синам, то зрозуміло, що даний ген знаходиться в Y-хромосомі. Характер спадкування X-зчеплених генів має наступні особливості: 1) різні результати розщеплення в реципрокних схрещуваннях; 2) навність кріс-крос успадкування.

Для визначення локалізації гена в аутосомі використовують тесторні лінії. При використанні методу одномоментного схрещування особину, що аналізується, схрещують з лінією-тестором, в якій всі хромосоми марковані. При цьому ген, що



аналізується, обов'язково опиниться зчепленим з певним маркером. При використанні іншого методу особину, що аналізується, послідовно схрещують із лініями-тесторами, маркованими тільки за однією або декількома хромосомами.



**Рис. 5.16.** – Функціональний тест на алелізм: 1) компаунд (цис-положення мутантних алелей гена); 2) дигетерозигота (трансположення мутантних алелей гена, які при комплементарній взаємодії з неалельним геном (+) формують дикий фенотип. (Дикий фенотип – найпоширеніший у природній популяції фенотип; в селекції мікроорганізмів – штам, виділений безпосередньо з природного субстрату). Термін використовується для позначення продукту «нормального» алеля, на протипагу нестандартному продукту «мутантного» алеля.

Розрізняють картування гена за допомогою рецесивних і домінантних маркерів.

При визначенні локалізації гена за допомогою рецесивних маркерів в якості лінії-тестора беруть лінію дрозофіли, в якій марковані всі хромосоми, крім статевої: мутація *black* (чорне тіло) локалізована в другій хромосомі, мутація *pink* (рожеві очі) – в третій хромосомі та мутація *bent* (вигнуті крила) – в четвертій хромосомі. Якщо в реципрокних схрещуваннях в  $F_1$  та  $F_2$  одержані різні результати, то мутація, яка картується, знаходиться в X-хромосомі, якщо результати схрещування однакові – в аутосомі. Далі аналізують розщеплення в  $F_1$  та  $F_2$  за окремими парами ознак для того, щоб впевнитися, що ознака, яка аналізується, дійсно контролюється рецесивним алелем і дає розщеплення 3:1. Якщо наша ознака та ознака лінії-тестора контролюється генами різних груп зчеплення, розщеплення в  $F_2$  відповідає 9:3:3:1.

Якщо гени знаходяться в одній хромосомі, то при аналізі однієї пари ознак розщеплення в F<sub>2</sub> складатиме 1:2:1:0, оскільки в цьому випадку гени знаходяться в транс-положенні, наприклад, ab<sup>+</sup>/ a<sup>+</sup>b або a<sup>+</sup> b/ ab<sup>+</sup>. Таке розщеплення вказує на те, що ген (a), який аналізується, локалізований в тій парі хромосом, в котрій знаходиться ген (b), що дав розщеплення 1:2:1:0.

При визначенні локалізації гена за допомогою домінантних маркерів використовують домінантні маркерні гени, які в гомозиготному стані призводять до летальності їх носіїв. Метод запропонований К. Бридджерсом. До таких генів наприклад, відносять ген **S** (*star* – зоряні очі), що міститься в другій аутосомі, та ген **D** (*Dichaete* – розчепірені крила). Хромосоми 4 та X при цьому не мітяться. Якщо реципрокні схрещування дають однакові результати, то ген, що аналізується, знаходиться в аутосомі. Надалі з'ясовують, в якій саме аутосомі. Для цього проводять наступні схрещування:

♀♀ S D × ♂♂ 2 3 4 (мутація **a** локалізована в 2,3 або 4 групі зчеплення)  
           s d           2 3 4

серед одержаних нащадків: S D;   s d;   S d;   s D;  
                                   2 3 4   2 3 4   2 3 4   2 3 4

відбирають лише самців з ознаками S і D (тому що в самців кросинговер у хромосомах не відбувається). Надалі проводять аналізуюче схрещування таких самців з самками, що несуть мутацію в одній з хромосом 2,3 або 4:

♂S D × ♀ 2 3 4 (мутація **a** локалізована в 2,3 або 4 групі зчеплення)  
   2 3 4    2 3 4

У результаті утворюватиметься наступне потомство:

♀ \ ♂	<u>S D</u>	<u>S D 4</u>	<u>S 3</u>	<u>S 3 4</u>	<u>2 D</u>	<u>2 D 4</u>	<u>2 3</u>	<u>2 3 4</u>
<u>2 3 4</u>	<u>S D</u>	<u>S D 4</u>	<u>S 3</u>	<u>S 3 4</u>	<u>2 D</u>	<u>2 D 4</u>	<u>2 3</u>	<u>2 3 4</u>
	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>	<u>2 3 4</u>

Потім аналізують одержане потомство. Якщо мутація **a** локалізована в хромосомі 2, вона проявиться в мух разом з ознакою розчепірених крил **D**, у мух без маркерних ознак, не проявиться в мух разом з ознаками зоряних очей **S** і розчепірених крил **D**, або тільки з ознакою **S**.

Якщо мутація **a** локалізована в хромосомі 3, вона проявиться в мух з ознакою **S** і в мух без маркерних ознак і не проявиться у мух із подвійними **S** і **D** ознаками, а також із ознакою **D**.

Якщо мутація **a** локалізована в хромосомі 4, вона проявиться в половини мух з ознаками **S** і **D**, у половини мух з ознакою **D**, у половини мух з ознакою **S**, у половини мух без маркерних ознак.

#### **5.8.4. Побудова кросоверних генетичних карт хромосом (класичний метод)**

Вперше можливість побудови генетичних карт хромосом експериментально показали в 1913-1915 роках *Т. Морган* і *А. Стертевант*, використовуючи явище зчеплення генів. Першим організмом, для якого одержана генетична карта, стала дрозофіла. Надалі генетичне картування здійснено для інших видів організмів: тварин, рослин, грибів, бактерій, вірусів. Першою домашньою твариною, для якої була побудована генетична карта, стала курка. картування генів людини проведено іншими способами внаслідок неможливості спрямованого підбору подружніх пар із завчасно визначеними ознаками.

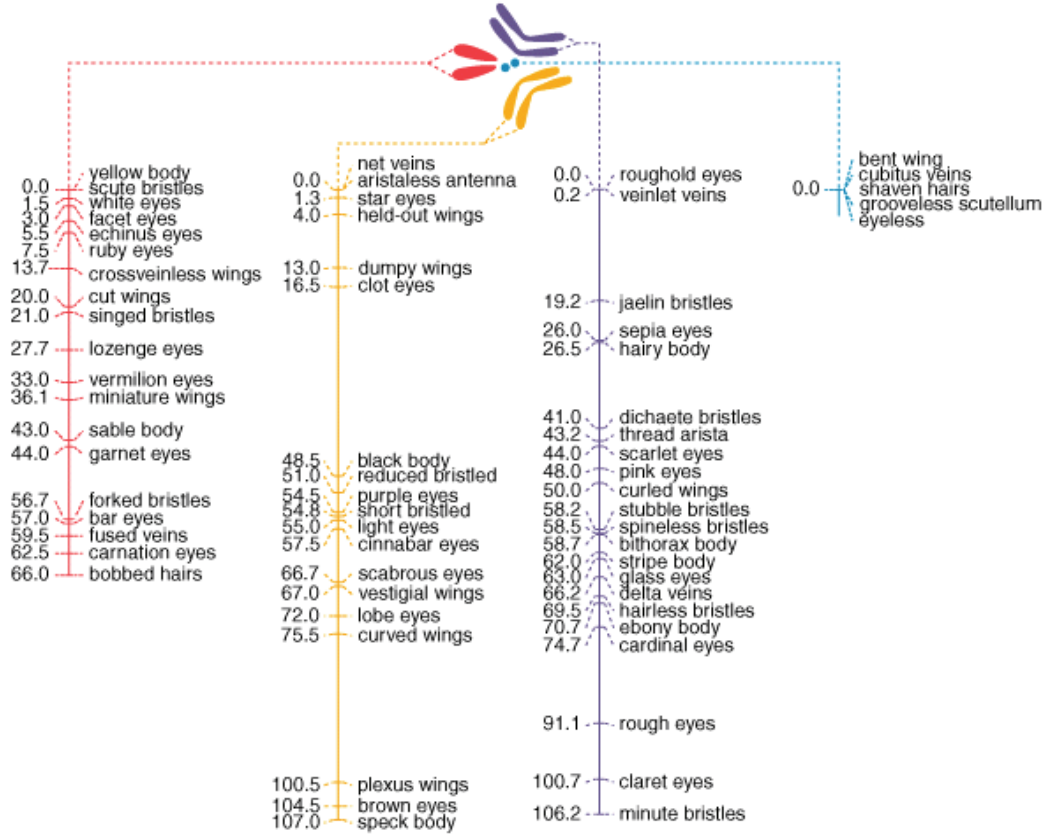
*Генетична карта* – схема взаємного розміщення структурних генів, регуляторних елементів і генетичних маркерів із позначенням відносних відстаней між ними на хромосомі (групі зчеплення). Генетична карта будується для кожної групи зчеплення (пари гомологічних хромосом). Метод побудови генетичних карт називається *генетичним картуванням*.

Наявність генетичних карт хромосом дозволяє використовувати біологічний об'єкт не тільки для проведення експериментальних робіт у наукових цілях, але й правильно планувати дослідження, спрямовані на одержання організмів з необхідними корисними для людини сполученнями ознак для селекційної роботи. Наприклад, створення високопродуктивних штамів мікроорганізмів, здатних синтезувати необхідні ферменти та гормони з використанням методів генної інженерії, базується на створенні генетичних карт цих організмів. У медицині знання місця локалізації гена в хромосомі дозволяє діагностувати важкі спадкові захворювання людини, розробляти методи генної терапії. Порівняння генетичних карт різних видів дає уявлення про хід еволюційних змін в їхньому геномі.

*На першому етапі* визначають належність гена до тієї чи іншої групи зчеплення. Для цього необхідні маркерні гени для кожної хромосоми, оскільки картування мутації ґрунтується на аналізі її зчеплення з маркером. Якщо мутація, що нас цікавить, успадковується незалежно від маркерів цієї хромосоми, складається висновок про її належність до іншої групи зчеплення. Схрещування проводяться доти, поки не вдається виявити зчеплене спадкування мутації, яка аналізується, з маркерними мутаціями певної хромосоми.

*На другому етапі* визначають положення гена на хромосомі шляхом підрахунку відстані між даним геном і відомим маркером.

Проводять аналізуюче схрещування, в потомстві якого виявляють кросоверні та некросоверні особини. За частотою кросоверних особин визначають відстань між генами (вона пропорційна частоті кросинговеру). Складають генетичні карти тільки для видів, для яких виявлена велика кількість мутантних генів (*рис. 5.17*).



**Рис. 5.17.** – Генетична карта хромосом дрозофіли

Групи зчеплення нумерують послідовно, в порядку їх виявлення; на них вказують місце розміщення центромери, нульову точку, від якої відліковуються відстані в сантиморганах до мутантних генів, повні або скорочені назви цих генів.

Розглянемо принципи *класичного методу* побудови генетичних карт хромосом на конкретному прикладі. Припустимо, необхідно картувати мутацію *yellow (y)*, яка визначає жовтий колір тіла дрозофіли (*рис. 5.17*). Для визначення локалізації цього гена лінію «жовте тіло» схрещують з тесторною, що несе як мінімум два маркерних гени: *cut wings (ct)* – вирізка на крилах та *vermillion eyes (v)* – червоні очі. Такий метод побудови ділянки генетичної карти для трьох генів називається *методом триангуляції*.

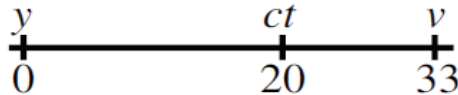
Одержану лінію схрещують з нормальною за всіма трьома генами лінією. Надалі проводять аналізуюче схрещування одержаної тригетерозиготи з рецесивним самцем:

$$F_1: \text{♀ } y^+ct^+v^+/yctv \times \text{♂ } yctv \ yctv$$



загальна відстань між генами  $y$  і  $v$  складатиме 33 сМ. Подвоєння проценту подвійних кросоверів необхідне, оскільки кожний подвійний кросинговер виникає внаслідок двох незалежних розривів хроматид в двох точках.

Таким чином, одержане значення відстані між генами  $y$  і  $v$  дорівнює сумі відстаней між генами  $y-ct$  та  $ct-v$  ( $20\% + 13\% = 33\%$ ). Ген  $y$  знаходиться в положенні 0 на X-хромосомі, ген  $ct$  – праворуч на 20 одиниць кросинговеру, а ген  $v$  – праворуч гена  $ct$  на 13 сМ, що дозволяє шляхом додавання відстаней знайти положення гена  $v$  :



Провівши дослід, представлений нами в якості прикладу, А. Стертевант визначив, що відстань між двома генами ( $rf$ ) дорівнює сумі відстаней між ними та будь-яким іншим геном тієї ж групи зчеплення (**закон адитивності**):

$$rf_{ac} = rf_{ab} + rf_{bc}$$

Частота появи рекомбінантів в аналізуючому схрещуванні ( $rf$ ) і частота власно кросинговеру співпадають лише в тому випадку, якщо обидві складові  $rf_{ab}$  і  $rf_{bc}$  ледь перевищують 10сМ. На більш протяжних ділянках хромосом експериментально одержане значення  $rf_{ac}$  опиняється завжди менше “теоретично очікуваного”  $rf_{ab} + rf_{bc}$ .

Використовуючи закон адитивності, відстань  $rf_{ah}$  у випадку значної відстані між генами  $a$  та  $h$  можна визначити двома способами: 1) вимірюючи її у відповідному схрещуванні ( $a \times h$ ); 2) додаючи значення частоти рекомбінантів  $rf$ , що визначаються на невеликих відстанях між генами  $a$  та  $h$  за наявності проміжних маркерів  $b, c, d...g$ . Зрозуміло, що, якщо гени  $a$  та  $h$  знаходяться на кінцях хромосоми, при такому додаванні навіть невеликих відстаней одержимо значення загальної довжини карти в сотні сантиморганів. Наприклад, кожна з хромосом має різну довжину: X-хромосома (група 1) – 72 сМ, аутосома 2 – 108 сМ, аутосома 3 – 106 сМ, Y-хромосома (група 4) – 3сМ (разом – 289 сМ). При побудові кожної із чотирьох груп зчеплення дрозофіли додаються експериментально визначені генетичні відстані між двома сусідніми генами. Але частота рекомбінації між зчепленими генами не може перевищувати 50% (значення частоти рекомбінантів  $\geq 50\%$  свідчить про незалежне спадкування генів).

Відхилення від закону адитивності на великих відстанях між генами Стертевант пояснив наявністю подвійних кросинговерів: другий кросинговер між генами  $y$  і  $v$  ліквідує наслідки першого, при цьому рекомбінанти за генами  $y$  і  $v$  не виявляються, хоча

рекомбінація відбулася. Таке явище називають *інтерференцією* – пригнічення кросинговеру на тих ділянках хромосоми, які знаходяться поруч із місцем обміну. Явище відкрито *Г. Меллером* у 1916 році.

Отже, на протяжних ділянках хромосоми ймовірність рекомбінації не є мірою генетичної відстані між генами.

У наведеному вище прикладі з генами *y*, *ct*, *v*, гени *y* та *ct* відділені відстанню 20 сМ, а *ct* і *v* – 13 сМ. Якщо обміни на ділянках *y-ct* та *ct-v* відбуваються як випадкові незалежні події, ймовірність подвійного кросинговеру між генами *y* та *v* дорівнюватиме добутку ймовірностей обмінів на ділянках *y – ct* та *ct – v*, тобто  $20\% \times 13\% = 2,6\%$ . Але в досліді одержано лише 191 особина (2%). Таке зниження фактично одержаного проценту подвійних обмінів у порівнянні з теоретично очікуваним значенням спричинене інтерференцією.

Величину інтерференції *Г.Меллер* запропонував вимірювати співвідношенням фактичної кількості подвійних обмінів у досліді до теоретично розрахованої їх кількості за відсутності інтерференції. Він назвав цей показник *коінциденцією, тобто величиною співпаданя (С)*:

$C = \frac{\text{фактична частота подвійного кросинговеру}}{\text{теоретично розрахована частота подвійного кросинговеру}}$

У нашому прикладі  $C = 2,0 : 2,6 = 0,77$  або 77%. На невеликій відстані, де один ген впливає на інший, величина співпаданя буде менше одиниці. Коефіцієнт коінциденції може дорівнювати 0 (наприклад, у дрозофіл за частотою подвійних кросинговерів між ділянками, віддаленими одна від одної менше ніж на 10 одиниць рекомбінації). Якщо коефіцієнт коінциденції менше одиниці ( $C < 1$ ), то *інтерференція позитивна*: кросинговер в одній ділянці хромосоми пригнічує інший обмін в найближчих ділянках хромосоми. Якщо ж  $C > 1$ , то *інтерференція негативна*, тобто один обмін немов би стимулює додаткові обміни на сусідніх ділянках хромосоми, внаслідок чого відбувається збільшення ймовірності подвійного кросинговеру між двома поруч розміщеними сайтами вище очікуваної ймовірності (трапляється дуже рідко).

За коефіцієнтом коінциденції можна розрахувати величину інтерференції (*I*):

$I = 1 - C$ . У нашому прикладі  $I = 1 - 0,77 = 0,23$ .

Для одержання даних про співвідношення між одиницею кросинговеру та кількістю нуклеотидів ДНК значення розміру геному ділять на загальну довжину кросоверної карти (*табл. 5.1*).

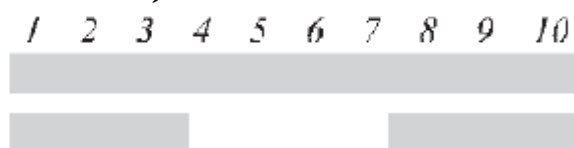
**Співвідношення кросоверних і молекулярних карт  
(Lewin, 1994, с. 128)**

Види організмів	Розмір геному (пар нуклеотидів)	Кількість кросоверних одиниць у геномі	Розмір кросоверної одиниці (пар нуклеотидів)
Фаг Т4	$1,6 \times 10^5$	800	200
Кишкова паличка	$4,2 \times 10^6$	1 750	2 400
Дріжджі	$2,0 \times 10^7$	4 200	5 000
Гриби	$2,7 \times 10^7$	1 000	27 000
Нематоди	$8,0 \times 10^7$	320	250 000
Дрозофіла	$1,4 \times 10^8$	280	500 000
Миша	$3,0 \times 10^9$	1 700	1 800 000
Людина (жінка)	$3,3 \times 10^9$	4 782	1 200 000
Людина (чоловік)	$3,3 \times 10^9$	2 809	700 000

За даними *табл.5.1*, частота генетичної рекомбінації у прокариот і нижчих еукариот є значно вищою, ніж у вищих еукариот (окрім людини). Наприклад, дріжджі мають кросоверну карту розміром 4 200 одиниць, тоді як нематода та дрозофіла – відповідно 320 та 280. Як наслідок, кількість нуклеотидів на одиницю карти в прокариот значно нижча, ніж в еукариот.

Таким чином, при картуванні генів із використанням частот рекомбінації необхідно враховувати два протилежні явища: 1) подвійні обміни скорочують відстань між генами; 2) інтерференція запобігає множинним обмінам, імовірність яких збільшується із збільшенням відстані між генами. За даними Г.Меллера, на значних відстанях між генами (близько 35 сМ) інтерференція зникає. Тому точні дані про частоту рекомбінації одержують на порівняно коротких відстанях – не більше 10 сМ.

**5.8.5. Картування генів за допомогою хромосомних перебудов.** Мутації краще картувати, використовуючи декілька делецій (втрата ділянки хромосоми) і дуплікацій (подвоєння ділянки). Наприклад, для картування гена за допомогою делецій одержують гетерозиготи за серією мутацій в одній хромосомі та делеції в іншій (*рис. 5.18*).



**Рис. 5.18.** – Генетичне картування делецій



Якщо гени 1, 2, 3, 8, 9, 10 можуть вступати в кросинговер з хромосомою, а гени 4, 5, 6, 7 – не можуть, це означає, що останні знаходяться в межах делеції. При цьому точки розриву хромосоми при делеції знаходяться між генами 3 і 4 ліворуч та 7 і 8 – праворуч. Аналогічно за допомогою кросинговеру можливо взаємно картувати серію генів і делецій, що перекриваються, та на основі цього вивести порядок розміщення і генів, і делецій.

За допомогою хромосомних мутацій іншого типу – транслокацій – визначають групу зчеплення генів. Інсерційні транслокації виникають у результаті утворення трьох розривів, перенесення хромосомного сегмента однієї хромосоми в іншу та вбудовування в неї. У результаті розщеплення в наступних поколіннях виникає делеція в одній хромосомі та дуплікація в іншій, за якими проводять визначення групи зчеплення.

**5.8.6. Картування генів за допомогою методів клітинної біології.** Починаючи з 60-х років минулого століття, для картування генів використовують метод одержання гібридних клітин у культурі (*in vitro*). Цей метод є одним з найпопулярніших методів віднесення генетичного маркера (функціонально активного гена) до конкретної групи зчеплення. Сутністю методу є гібридизація (злиття один з одним) протопластів соматичних клітин різних біологічних видів організмів, один з яких – досліджуваний. Спочатку в якості індуктора використовували вірус Сендай, додавання якого в культуру збільшувало частоту злиття протопластів різних клітин з 0,0001 до 5-10%. Надалі з цією ж метою стали використовувати поліетиленгліколь, після обробки яким злиті протопласти спостерігали через 2-5 годин. У соматичну гібридизацію залучають клітини видів, ферменти яких (біохімічні маркери) суттєво відрізняються.

Після утворення соматичних гібридів відбувається вирівнювання мітотичного циклу, обидва ядра діляться одночасно. У таких міжвидових гібридів соматичних клітин в процесі культивування відбувається втрата хромосом переважно одного з біологічних видів, яка носить випадковий характер. У результаті утворені клони клітин містять хромосоми, що залишилися, в різних поєднаннях. Продивляючи панель – серію клонів клітин, експериментатор відбирає клітини, які мають всі хромосоми одного виду та тільки одну хромосому іншого, досліджуваного, виду. Аналіз клонів, що містять різні набори хромосом досліджуваного виду, дозволяє визначити, з якою з цих залишених хромосом асоційована експресія досліджуваного маркера, і, отже, локалізувати ген на конкретній хромосомі. Визначають активність

біохімічного маркера (ферменту) або його електрофоретичну рухливість. Якщо ці характеристики відповідають тим, котрі були у виду-донора хромосоми, це означає, що ген, який кодує фермент, міститься в тій єдиній хромосомі, яка залишилася в гібридній клітині від виду-донора.

Обмеженням використання цього методу є те, що картувати можна тільки біохімічно обумовлені ознаки.

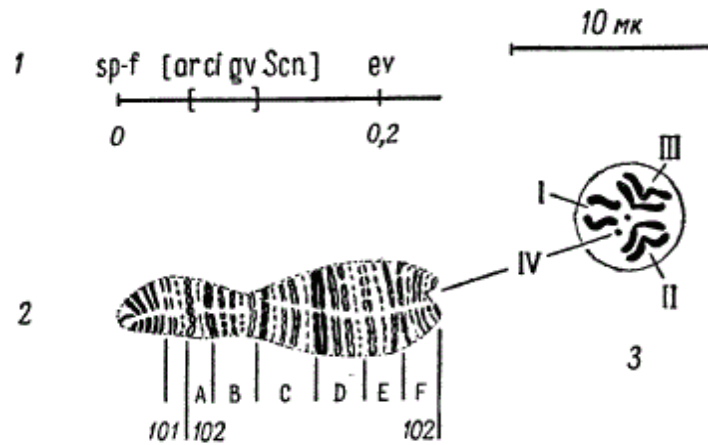
**5.8.7. Картування генів з використанням гібридизації *in situ*.** До фізичних методів картування відноситься метод гібридизації *in situ* (тобто гібридизації саме в тому місці, де воно відбувається). У тому випадку, коли нам відома послідовність ДНК у локусі, який нас цікавить, цю послідовність можна використовувати для гібридизації з хромосомами *in situ*, і місце гібридизації буде однозначно вказувати на локалізацію локусу в певному районі певної хромосоми.

Зазвичай гібридизації *in situ* передуює виділення мРНК з будь-якого органу або тканини для характеристики функціональної диференціальної активності генів у відповідному органі. На основі цих мРНК за допомогою зворотної транскриптази отримують кДНК. Такі кДНК представляють собою екзони тих генів, які проявляють активність в досліджуваному органі. Ці кДНК можна використовувати як основу для створення ДНК-зондів. Їх можна мітити флуоресцентними барвниками, застосовувати для флуоресцентної гібридизації з препаратами прометафазних хромосом, оброблених відповідним чином, для того, щоб домогтися денатурації ниток ДНК (*FISH-аналіз*). У цьому випадку ДНК-зонд гібридизується з комплементарною послідовністю на хромосомі, і за флуоресцентним світінням виявляється і локалізується ген, з якого транскрибувалася мРНК, що послужила вихідною ланкою всього аналізу.

## **5.9. Цитологічні карти хромосом та їх порівняння з генетичними картами**

Після встановлення груп зчеплення генів і складання генетичних карт хромосом на основі врахування кросинговеру між генами виникла необхідність складання цитологічних карт з метою їх зіставлення з генетичними. Це було здійснено спочатку на мітотичних, а потім на гігантських хромосомах.

**Цитологічна карта** – схематичне зображення хромосом із зазначенням місць фактичного розміщення окремих генів, визначених цитологічним методом (*рис. 5.19*).



**Рис. 5.19.** – 1 – генетична карта з відповідними локусами (sp-f – speck, ar – abdomen rotatum, ct – cubitus interruptus, Scn – scutenick, ey – eyeless); 2 – цитологічна карта (A – F – послідовні ділянки); 3 – метафазна пластинка соматичної клітини (порівняти розміри IV хромосоми із слинних залоз і метафазної пластинки, масштаб однаковий)

Кожне місце розміщення гена (локус) на генетичній карті хромосом організму, встановлене за частотою кросинговеру, прив'язане до певної, реально існуючої ділянки хромосоми, що служить одним із основних доказів хромосомної теорії спадковості.

Складання цитологічних карт є зручним для об'єктів, у яких чітко помітне поздовжнє диференціювання хромосом за хромомерною будовою, наприклад, у кукурудзи (в пахітені профазі I). Дуже зручні гігантські хромосоми дрозофіли, де добре помітні диски гетерохроматину та міждисккові ділянки еухроматину. Для кожної лінії дрозофіл характерний свій набір дисків. Сталість їх числа та лінійного розташування вперше відзначені в 30-х роках минулого століття, коли дослідники зрозуміли, що диски утворюють цитологічну карту хромосом. У результаті хромосомних перебудов (делецій, інверсій або дуплікацій) відбувається зміна лінійного порядку дисків. *К. Бриджес* першим усвідомив, що лінійний порядок дисків відповідає лінійному розташуванню генів у хромосомі.

Метод побудови цитологічних карт базується на використанні хромосомних перебудов в якості маркерів. При опроміненні або дії інших мутагенів в хромосомах часто спостерігаються втрати (делеції) або вставки (дуплікації) невеликих фрагментів, які можна порівняти за величиною з одним або декількома локусами. Для побудови цитологічної карти замічають, яка ділянка випадає при зникненні певної ознаки. Випадіння ділянки (делеція) може відбуватися з кінця або з середини хромосоми при збереженні

центромери. Гомозиготний за доміантними алелями організм *ABCDE* схрещують з організмом, який має нормальні хромосоми за рецесивними алелями *abcde*. Якщо в хромосомі з доміантними генами відбулася делеція (втрата окремих генів), наприклад *DE*, то при такому гемізиготному стані за даним геном буде проявлятися рецесивний алель, оскільки доміантний алель втрачений делецією (у гетерозиготи *ABC/abcde* будуть проявлятися рецесивні ознаки *de*). На цьому принципі заснований **метод делецій, що перекриваються**, який використовується при побудові цитологічних карт. Такий метод використав *С. Бензер* при внутрішньогенному картуванні мутацій у фага Т4.

Межі делецій уточнюють за порушенням кон'югації і зміни малюнка хромосом. За проявленням або не проявленням рецесивного алеля в гетерозигот за делецією встановлюють, чи захоплює дана делеція досліджуваний ген. Таким чином, зіставляючи дані про перекриття делецій і про їх вплив на експресію рецесивного алеля, локалізують ген на фізичній хромосомі.

Окрім делецій використовують інші структурні перебудови хромосом: *інверсії* (внаслідок перевертання хромосоми на  $180^\circ$  та вбудовування в ту ж саму хромосому змінюється порядок розміщення генів і фрагмент стає неактивним – «мовчазним»); *транслокації*, ефект проявлення яких той самий, що й при делеціях; *дуплікації* (наприклад, виникнення мутації *Var* – подвоєння ділянки хромосоми, при якій мутація стає помітною). Особливо чітко це можна продемонструвати на політенних хромосомах. При транслокаціях (перенесенні фрагменту однієї хромосоми на іншу, наприклад, з X – на Y-хромосому), визначають цитологічно точку розриву та спостерігають зміну характеру спадкування гена, який надалі локалізують на цитологічній карті.

Побудову цитологічних карт здійснюють також за чергуванням гетерохроматину та еухроматину в добре помітних у світловий мікроскоп політенних хромосомах. При фарбуванні барвниками політенних хромосом, які в тисячу разів перевищують за розмірами мітотичні хромосоми, на препаратах виявляються темно-пофарбовані диски і світлі ділянки – міждиски. При цьому кожна хромосома має свій індивідуальний малюнок чергування різних дисків (товстих, тонких, пунктирних) і міждисків, що дозволяє відрізнити одну хромосому від іншої і різні ділянки однієї хромосоми. На політенних хромосомах можна чітко визначати кінці делецій.

Для вирішення питання, наскільки відстань між генами за частотами кросинговеру відповідає справжнім відстаням на хромосомі, використовують делеції. При цьому генетичними методами визначають відстань між точками розривів. Вимірювання довжини вкороченої та нормальної хромосоми дозволяє визначити фізичну довжину втраченого фрагменту. Зручно здійснювати такі вимірювання на гігантських політенних хромосомах слинних залоз дрософіли, оскільки вони великі за розмірами та мають характерні рисунки дисків.

Картування метафазних хромосом та їхня ідентифікація стали можливими завдяки розробкам методів диференційного забарвлення хромосом за допомогою барвників. У 1968 році *Т.Касперсон* із співробітниками встановили, що хромосоми після забарвлення хіноліном диференційно флуоресцують, показуючи чергування смуг. Така ж сама посмугованість виявляється при забарвленні за Гімзою. Ці методи виявили в хромосомах три основні категорії смуг: Q-смуги, помітні в флуоресцентний мікроскоп після забарвлення хромосом хіноліном; G-смуги, помітні при забарвленні за Гімзою; R-смуги, що виявляються після забарвлення в умовах денатурації температурою.

Одержання смуг на метафазних хромосомах називається **методом бендингу**. Рисунки, що виявляються на кожній хромосомі, дозволяють впізнавати не тільки будь-яку хромосому, але й її окремі частини; встановлювати, які ділянки хромосом приймають участь у транслокаціях і локалізувати гени в окремих смугах. На основі цього методу вивчені сотні транслокацій, для яких місця розривів хромосом точно локалізувалися на карті, одержаної за допомогою бендингу. Для точної локалізації генів на хромосомі підбиралася серія транслокацій, що відрізнялися мінімальними ділянками, порівняння яких дозволило встановити наявність або відсутність даного гена. Транслокаційна методика дозволила локалізувати в хромосомах більше 100 генів.

Роботи із складання генетичних і цитологічних карт хромосом були розпочаті *Ф.П.Добржанським*. Маркуючи хромосому різними генами та знаючи місце їх розташування на генетичній карті, можна за місцем розриву поблизу відомого гена визначити відносну відстань між генами в цій хромосомі. Таким методом Ф. Добржанському вдалося скласти перші цитологічні карти хромосом і зіставити їх з генетичними. У результаті порівняльного вивчення таких карт був підтверджений принцип лінійного розташування генів і встановлено, що послідовність розташування генів на цитологічній карті точно відповідає їх послідовності на

генетичній карті, складеної за даними кросинговеру. Але в той же час виявилось, що відносні відстані між генами на цих картах не збігаються по всій довжині хромосоми. Так, на генетичній карті в центрі хромосоми гени розташовані більш скупчено, ніж на цитологічній. Це показує, що одиниця перехреста – величина непостійна, вона змінюється по довжині хромосоми. Таким чином, величина перехреста залежить від місця розташування ділянки хромосоми; особливо сильно вона змінюється при віддаленні цієї ділянки від центромери.

## **5.10. Статева рекомбінація в бактерій і її види. Картування бактеріальної хромосоми**

Бактерії – прокаріотичні мікроорганізми, генетичний апарат яких в основному представлений єдиною кільцевою молекулою ДНК, яка утворює складну структуру з численних суперспіралізованих петель, які утримуються в компактному стані за допомогою молекул РНК і білків. Така скручена хромосома, яка називається *ядерним тільцем*, або *нуклеїдом*, зв'язана з мембраною клітини, що є необхідною умовою для початку реплікації і сегрегації дочірніх хромосом в процесі її поділу. Крім хромосоми, генетичний матеріал у бактерій може бути представлений також епісомними елементами – профагами та плазмідами. Специфічними процесами, що ведуть до рекомбінації у прокаріот, є: 1) трансформація, 2) трансдукція, 3) кон'югація, 4) злиття протопластів. Послідовно охарактеризуємо ці процеси.

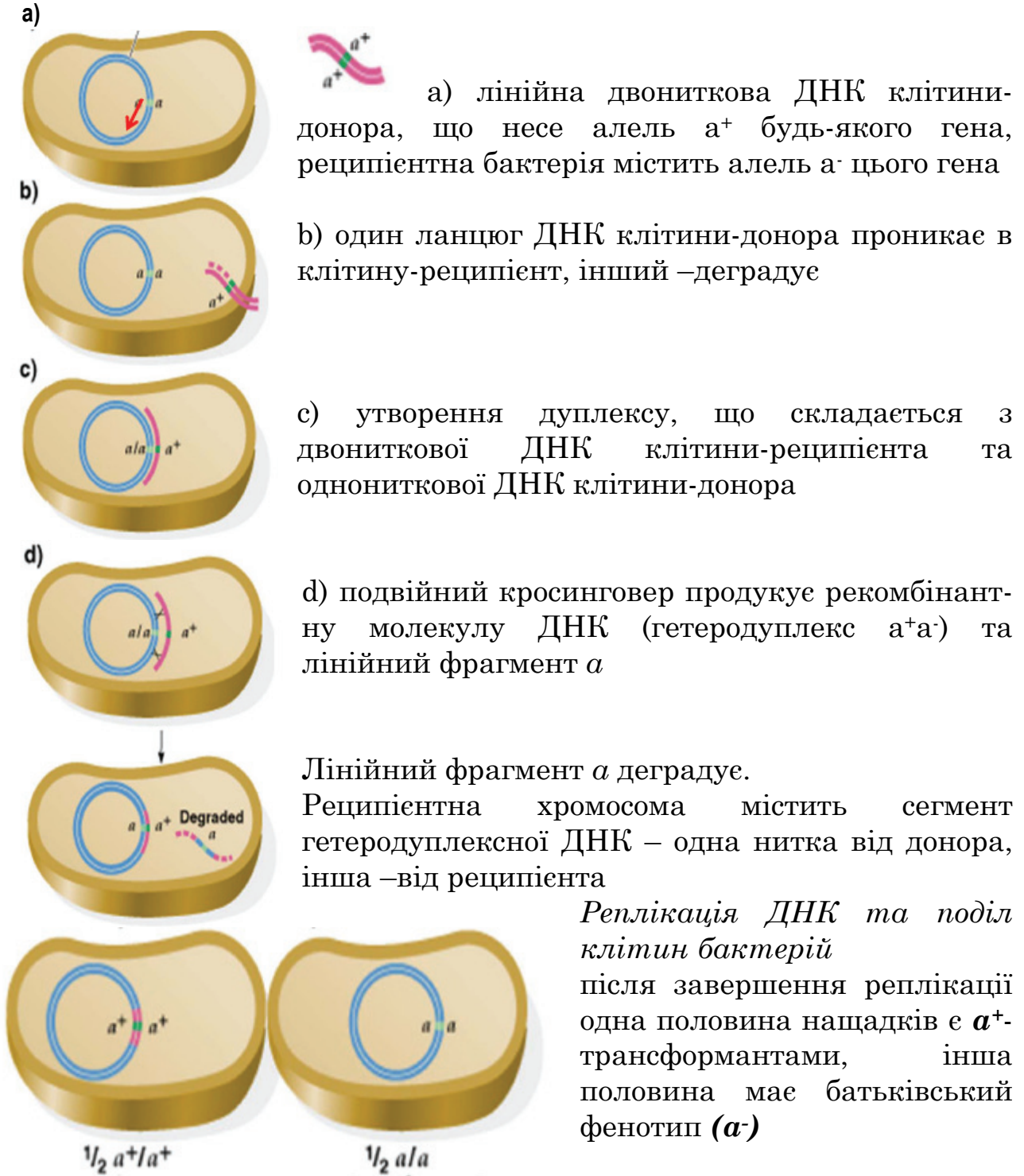
### **5.10.1. Трансформація та контрансформація.**

*Трансформація* – процес поглинання клітиною організму-реципієнта вільної молекули ДНК клітини організму-донора та введення її у власний геном, що призводить до появи в такій клітині нових спадкових ознак, характерних для організму-донора. Інколи трансформацією називають будь-які процеси горизонтального перенесення генів, у тому числі трансдукцію, кон'югацію тощо (*див. Розділ 2.2*).

Через генетичну рекомбінацію частина молекули ДНК реципієнта здатна обмінюватися генетичною інформацією з частиною хромосомної ДНК донора. Тому трансформацію використовують в експериментах для визначення порядку розміщення генів, відстані між ними в молекулі ДНК, для побудови генетичних карт хромосом.

ДНК, що вивільняється в навколишнє середовище під час лізису старіючих культур бактерій, у природних умовах має

трансформуючу здатність. Це означає, що трансформація є однією з природних способів обміну генетичним матеріалом у бактерій. Перші стадії трансформації – приєднання ДНК до клітинної оболонки, її поглинання та деградація одного ланцюга – здійснюються з рівною ефективністю незалежно від її гомології з ДНК реципієнта (**рис.5.20**).



Трансформант      нетрансформант

**Рис. 5.20.** – Механізм трансформації у бактерій

Рекомбінація під час трансформації відбувається шляхом заміщення ділянки одного з двох ланцюгів реципієнтного дуплекса на гомологічний одноланцюговий фрагмент ДНК донора. При цьому утворюється тимчасовий дуплекс ДНК, в якому надалі здійснюється видалення некомплементарних азотистих основ. У результаті такої корекції молекулярні гетерозиготи перетворюються в гомозиготи, на основі яких формуються чисті клони трансформантів.

Передача через ДНК декількох ознак спостерігається лише в тому випадку, якщо культура бактерії-донора є генетично близькою до клітин бактерії-реципієнта. При цьому фрагменти ДНК, що вбудовуються, мають високий ступінь гомології з будь-якими ділянками бактеріальної хромосоми, тому можлива заміна цих ділянок.

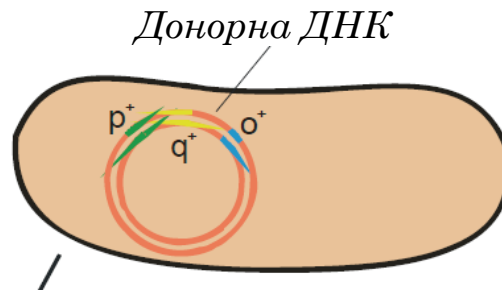
З дуже низькою частотою може відбуватися трансформація між різними видами бактерій, що дозволяє встановити ступінь спорідненості між ними. Отже, ефективність трансформації залежить від еволюційної відстані між донором і реципієнтом. За допомогою трансформуючої ДНК можуть передаватися такі ознаки, як утворення капсули, синтез необхідних клітині речовин, ферментативна активність, стійкість до отруйних речовин, антибіотиків.

Трансформація використовується для складання генетичних карт хромосоми бактерій. Оскільки під час цього процесу в хромосому реципієнта вбудовується порівняно невелика ділянка ДНК, то ймовірність локалізації двох генів у тому ж самому фрагменті дуже мала, оскільки вони знаходяться на значній відстані один від одного. Одночасна трансформація двома незалежними фрагментами, що містять ці два гени, практично неможлива. Тому частота взаємної трансформації двох генетичних маркерів служить показником їх зчеплення між собою та близького розміщення відносно один одного.

Картування бактеріальної хромосоми здійснюють за допомогою **котрансформації**, тобто визначення частоти спільного спадкування двох генів. Наприклад, необхідно визначити, чи є гени *A* і *B* зчепленими. Частота гена *A* в результаті трансформації становить  $2 \times 10^{-3}$ , гена *B* –  $4 \times 10^{-2}$ . Частота котрансформації генів *A* і *B* виявилася рівною  $9,5 \times 10^{-4}$ . За законом імовірності, частота спільного спадкування генів *A* і *B* дорівнює добутку окремих частот їх рекомбінації:  $(2 \times 10^{-3}) \times (4 \times 10^{-2}) = 8 \times 10^{-5}$ , тобто нижче, ніж одержано при котрансформації генів *A* і *B* ( $9,5 \times 10^{-4}$ ). Отже, гени *A* і *B* зчеплені.



Для визначення взаємного розміщення генів відносно один одного використовується трьохфакторне схрещування за генами  $p$ ,  $q$ ,  $o$ :



Спочатку виділяють ДНК із популяції донорних бактерій. Надалі ДНК розрізається на фрагменти рестриктазами. Фрагменти ДНК донорної бактерії трансформуються в реципієнтну ДНК. Після трансформації одержують клони бактерій з наступними генотипами:

$p^+$	$q$	$o$
$p^+$	$q^+$	$o$
$p$	$q^+$	$o^+$
$p$	$q$	$o^+$

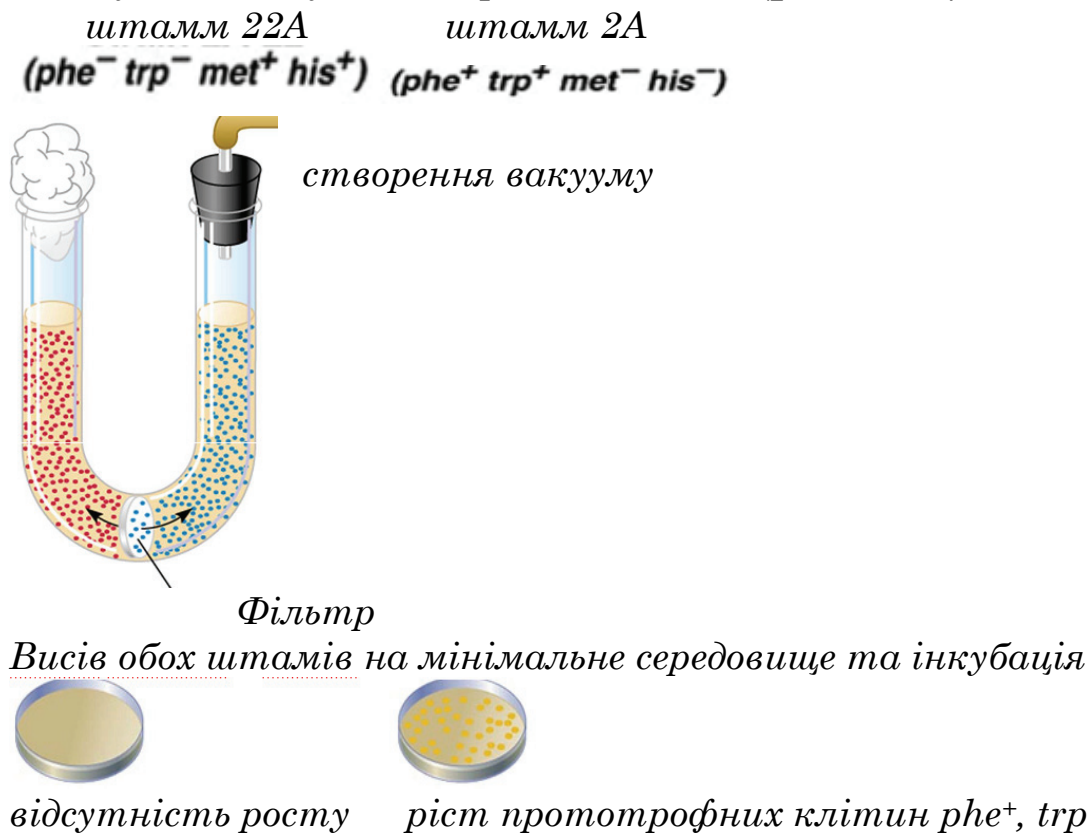
Припустимо, що ДНК клітини-донора несе алелі дикого типу ( $p^+$  та  $o^+$ ) та один мутантний алель  $q$ , а ДНК клітини-реципієнта – два мутантних алелі ( $p$  і  $o$ ) та один дикого типу ( $q^+$ ). Маркер, за яким відбувається добір трансформантів, називають *селективним*. Відомо, що частота котрансформації пропорційна генетичній відстані між селективним і неселективним маркерами. Наприклад, якщо при аналізі 100 трансформантів, відібраних за маркером  $p^+$ , одержано шість рекомбінантних клонів з генотипом  $p^+q$  та п'ятдесят рекомбінантних клонів із генотипом  $p^+o^+$ , то частота котрансформації маркерів  $p^+$  і  $q$  складатиме 6%,  $p^+$  і  $o^+$  – 50%. Отже, маркер  $o^+$  знаходиться ближче до маркеру  $p^+$ , ніж маркер  $q$ . Для підтвердження цього висновку слід провести трансформацію, при якій селективним маркером буде алель  $o^+$ . У цьому випадку серед 100 трансформантів, відібраних за маркером  $o^+$  на носійство неселективних маркерів, генотип  $o^+q$  матимуть 10 клонів, а генотип  $o^+p^+$  – 40 клонів. Отже, маркер  $o^+$  знаходиться ближче до маркера  $p^+$ , ніж до маркера  $q$ . Таким чином, дійсне взаємне розташування всіх трьох генів наступне:

$p - o - q$ , причому відстань між генами  $p - o$  менше, ніж між генами  $o - q$ .

**5.10.2. Використання трансдукції для картування генів.** *Трансдукція* (від лат. *transductio* –переміщення)– процес перенесення фрагменту бактеріальної ДНК з однієї клітини в іншу

бактеріофагом (див. Розділ 2.2). Цей спосіб обміну генетичною інформацією між бактеріальними клітинами відкритий у 1952 році американцями *Нортоном Зиндером* і *Джошуа Ледербергом*.

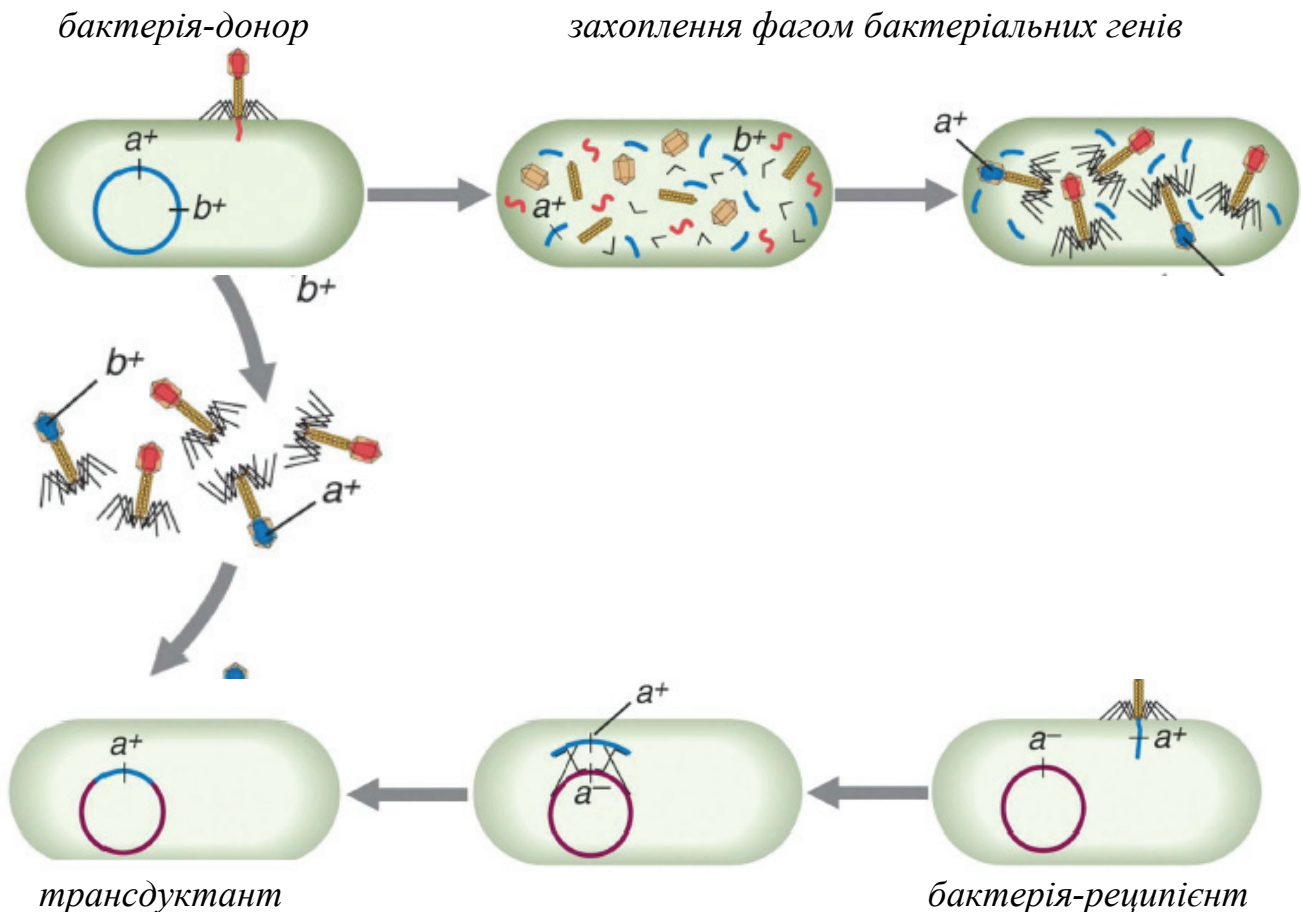
В експериментах Дж. Ледерберга U-подібна трубка в нижній частині була розділена посередині бактеріальним фільтром. В одну половину цієї трубки поміщені тифозні бактерії *штама 22A*, в іншу половину – бактерії *штама 2A* (рис. 5.21).



**Рис. 5.21.** – Схема дослідів, що демонструє явище трансдукції у *Salmonella typhimurium* (22A – штам бактерій, не здатних синтезувати триптофан (**trp**), 2A – штам бактерій, нездатних синтезувати гістидин (**his**))

При цьому крізь фільтр проходила лише рідина, а бактеріальні клітини затримувались фільтром. Штам 22A був носієм мутації, що блокувала синтез триптофану (**trp**), а штам 2A – мутації, що блокувала синтез гістидину (**his**). Після інкубації у трубці разом з бактеріофагом обидва штами висіяні на поживне мінімальне середовище без триптофану в чашки Петрі. При висіві бактеріальних клітин штаму 22A на середовище без триптофану одержана невелика кількість колоній (рис. 5.21, праворуч). Отже, деякі клітини набули здатність синтезувати триптофан і давали колонії на середовищі без цієї амінокислоти, тобто стали прототрофними. Агентом, що проходив крізь фільтр, і переносником гена триптофану опинився бактеріофаг.

Розрізняють три типи трансдукції: загальну (неспецифічну), обмежену (специфічну) та абортивну. За **неспецифічної трансдукції** після індукції профага в клітину бактерії фрагменти бактеріальної донорної ДНК випадково включаються в бактеріофаг разом з його ДНК або навіть замість неї. При цьому бактерія-донор через фаг передає бактерії-реципієнту лише окремий фрагмент ДНК, довжина якого складає лише 1/50-1/100 від довжини всієї бактеріальної хромосоми (**рис. 5.22**).



**Рис. 5.22.** – Схема неспецифічної трансдукції

За допомогою загальної (неспецифічної) трансдукції можна переносити будь-які гени бактерій. Спочатку бактеріофагом заражають клітини бактерій – донорів бактеріальних генів. Хромосома бактеріофага, який здійснює загальну трансдукцію, після проникнення всередину клітини не здатна вбудуватися в геном бактерій. При розмноженні всередині заражених клітин фаги індують деградацію бактеріальної хромосоми під дією власних літичних ферментів, захоплюють окремі гени бактерій, залучаючи їх до складу власної хромосоми та, таким чином, стають носіями бактеріальних генів. Після цього бактеріофаги можуть передавати ці гени в нові бактеріальні клітини, які за допомогою

рекомбінації вбудовують їх в свою хромосому. Так утворюються *трансдуктанти* (рис. 5.22).

Висока частота перенесення невеликих ділянок бактеріальної хромосоми дозволяє використовувати трансдукцію для картування генів. Знаходження трансдуктантів за двома та більшою кількістю генетичних маркерів вказує на зчеплення цих генів; за частотою такої котрансдукції визначають порядок розміщення маркерів на генетичній карті. Два зчеплених гени показуватимуть високу частоту котрансдукції, яка розраховується за формулою:

$$\text{Частота котрансдукції} = \frac{\text{кількість котрансдуктантів}}{\text{загальна кількість трансдуктантів}}$$

Наприклад, якщо маркери  $a^+$  та  $b^+$ , а також  $b^+$  та  $c^+$  попарно котрансдукуються, при цьому  $a^+$  та  $c^+$  не котрансдукуються, то ці гени розміщені в порядку  $a - b - c$ .

Знаючи частоту контрансдукції, можна визначити фізичну відстань між генами бактеріальної хромосоми за формулою:

$$x = [1 - (d/L)]^3,$$

де  $x$  – частота котрансдукції;

$d$  – відстань між генами (тис. пар нуклеотидів);

$L$  – розмір фагового геному (тис. п.н.).

Якщо відстань між двома генами відповідає розміру фагового геному, тоді  $d/L \rightarrow 1$ ;  $1 - (d/L) \rightarrow 0$ , частота котрансдукції  $\rightarrow 0$ .

**При обмеженій (специфічній) трансдукції** відбувається рекомбінація між фаговою та бактеріальною ДНК, тому фагові трансдукуючі частки завжди містять ДНК обох типів. Така трансдукція здійснюється лише помірними бактеріофагами, здатними вбудовуватися в геном бактеріальної клітини та переходити в стан профага, а потім при виключенні з хромосоми захоплювати ділянку хромосоми донора. Причому фаг переносить бактеріальні гени, що знаходяться в безпосередній близькості від місця його вбудовування в хромосому бактерій. Надалі внесені гени вбудовуються в хромосому нового хазяїна в ділянках гомології за допомогою рекомбінації. Прикладом бактеріофага, що здійснює специфічну трансдукцію, є бактеріофаг  $\lambda$ .

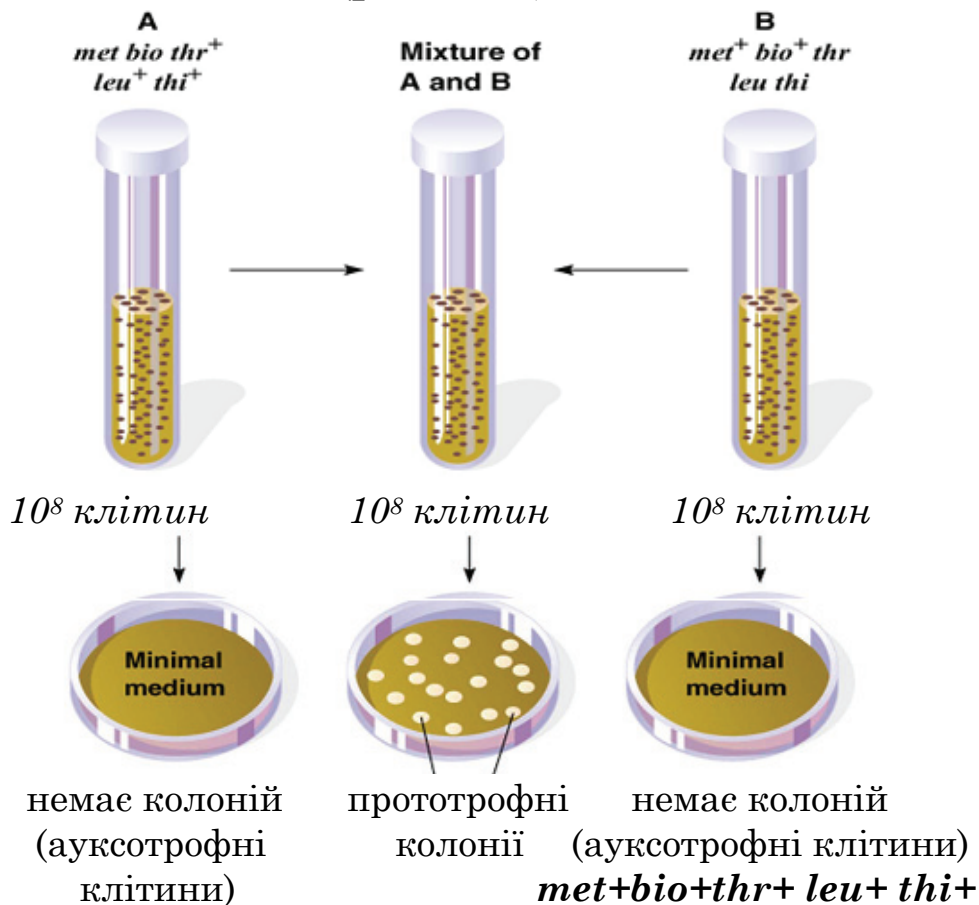
У ряді випадків фрагмент ДНК фага-донора не вбудовується в хромосому реципієнта, не реплікується, але зберігається в бактеріальній клітині та транскрибується в її цитоплазмі. Це явище носить назву **абортивна трансдукція**.

Трансдукція використовується: 1) для перенесення генів в інші клітини; 2) для картування бактеріальних генів; 3) для одержання делецій у хромосомах бактерій; 4) для конструювання штамів бактерій.

### 5.10.3. Використання процесу кон'югації для генетичного картування

**Кон'югація** (від лат. *conjugatio* – з'єднання) – односпрямоване перенесення частини генетичного матеріалу плазмід або бактеріальної хромосоми під час безпосереднього контакту двох бактеріальних клітин.

Існування кон'югації у бактерій було показано в 1946 році *Джошуа Ледербергом* і *Едвардом Татумом* на прикладі кишкової палички *Escherichia coli*. Дослідники змішали два штами кишкової палички, ауксотрофні за різними речовинами. *Ауксотрофи* – це мікроорганізми, що втратили в результаті мутації здатність до самостійного синтезу певної амінокислоти та утворення відповідних ферментів, тому вони ростуть тільки на середовищі, в який доданий цей метаболіт. Штам А росте на мінімальному середовищі тільки в тому випадку, якщо таке середовище доповнене метіоніном і біотином; штам В буде рости на мінімальному середовищі, якщо воно буде доповнене треоніном, лейцином і тіаміном. Отже, ці ауксотрофні мутанти можна позначити так: *штам А: met-bio-thr<sup>+</sup> leu<sup>+</sup> thi<sup>+</sup>*; *штам В: met<sup>+</sup> bio<sup>+</sup> thr<sup>-</sup> leu<sup>-</sup> thi<sup>-</sup>* – (рис. 5.23).



**Рис. 5.23.** – Експеримент Дж. Ледерберга, Е. Татума, що демонструє рекомбінацію в *E. coli* (пояснення в тексті)

*Мінімальним є поживне бактеріологічне середовище, що містить мінеральні солі, джерела карбону та нітрогену, але не містить відповідних ростових факторів (у даному випадку – перелічених вище амінокислот для кожного штаму). Жоден із двох штамів не зміг рости на мінімальному середовищі.*

Але на середовищі, куди висівали суміш двох штамів, вирости колонії з частотою 1 на кожні 10 000 000 клітин ( $1 \times 10^{-7}$ ). Результат цього дослідження показав, що певна форма рекомбінації мала місце між генами двох штамів для одержання прототрофів, здатних синтезувати всі амінокислоти на мінімальному середовищі, із нормальним фенотипом. За генотипом ці клітини могли бути лише ***met+ bio+ thr+ leu+ thi+***. Появу цих колоній не можна пояснити трансформацією чи трансдукцією, оскільки гібридні клітини не виявлені при наявності бактеріального фільтра, що відділяв суспензії двох вихідних штамів. Отже, для появи рекомбінантів необхідний безпосередній контакт між бактеріальними клітинами. Такий висновок зроблений на основі лише генетичних дослідів. Але пізніше за допомогою електронного мікроскопу одержані фотографії бактерій під час кон'югації, з'єднаних статевим містком – *пілем*.

Вивчення низки штамів *E. coli* виявили наявність в неї «статевої диференціації». Схрещування бактерій штамів  $F^- \times F^-$  не мають результату, а  $F^+ \times F^+$  іноді дають рекомбінацію. У потомстві  $F^+$  ніколи не виявляються рекомбінанти, тоді як від клітин  $F^-$  одержують рекомбінанти з ознаками обох батьків. Таким чином, під час кон'югації відбувається односпрямована передача генетичного матеріалу від клітин  $F^+$  у клітину  $F^-$  за допомогою фактора фертильності  $F$  (він завжди відсутній в  $F^-$  клітинах).

Кон'югація має велике значення в природі, оскільки сприяє обміну корисними ознаками за відсутності справжнього статевого процесу. Порівняно з усіма відомими процесами горизонтального перенесення генів кон'югація дозволяє передавати найбільшу кількість генетичної інформації.

Під час кон'югації відбувається контакт між двома клітинами, хромосома донора передається в реципієнтну клітину. Потім ділянка донорської хромосоми (дуже рідко вся хромосома) рекомбінує з гомологічною ділянкою хромосоми реципієнтної клітини. Реципієнтні клітини, в які надійшла ділянка ДНК донора, називаються ***транскон'югантами***.

Здатність передавати хромосому бактеріями-донорами в реципієнтні бактерії забезпечується наявністю в їхніх клітинах плазмиди – кільцевої молекули ДНК, яка називається *F-фактором*

(статевим фактором). F-фактор визначає статеву належність клітин-донорів, які умовно називаються «чоловічими» F<sup>+</sup> клітинами, а F<sup>-</sup> клітини – «жіночими». Статевий фактор контролює утворення на поверхні бактеріальної клітини особливих виростів – *F-пілей* або *статевих ворсинок*, які забезпечують контакт між клітинами та беруть участь в утворенні кон'югуючих пар і в перенесенні хромосоми плазмід.

Статевий фактор містить точку «*origin*» (*O* або *oriT*), в якій ініціюється початок його перенесення в реципієнтну F<sup>-</sup> клітину. Для цього необхідний надріз нуклеазами в одній нитці ДНК в точці *oriT*. Під час кон'югації у реципієнтну клітину передається тільки одна нитка ДНК статевого фактора, інша – реплікується для відновлення двониткової структури. В реципієнтній клітині одноститкова ДНК клітини-донора згодом також подвоюється. Після перенесення F-фактора з клітини-донора в реципієнтну клітину обидві клітини стають F<sup>+</sup>.

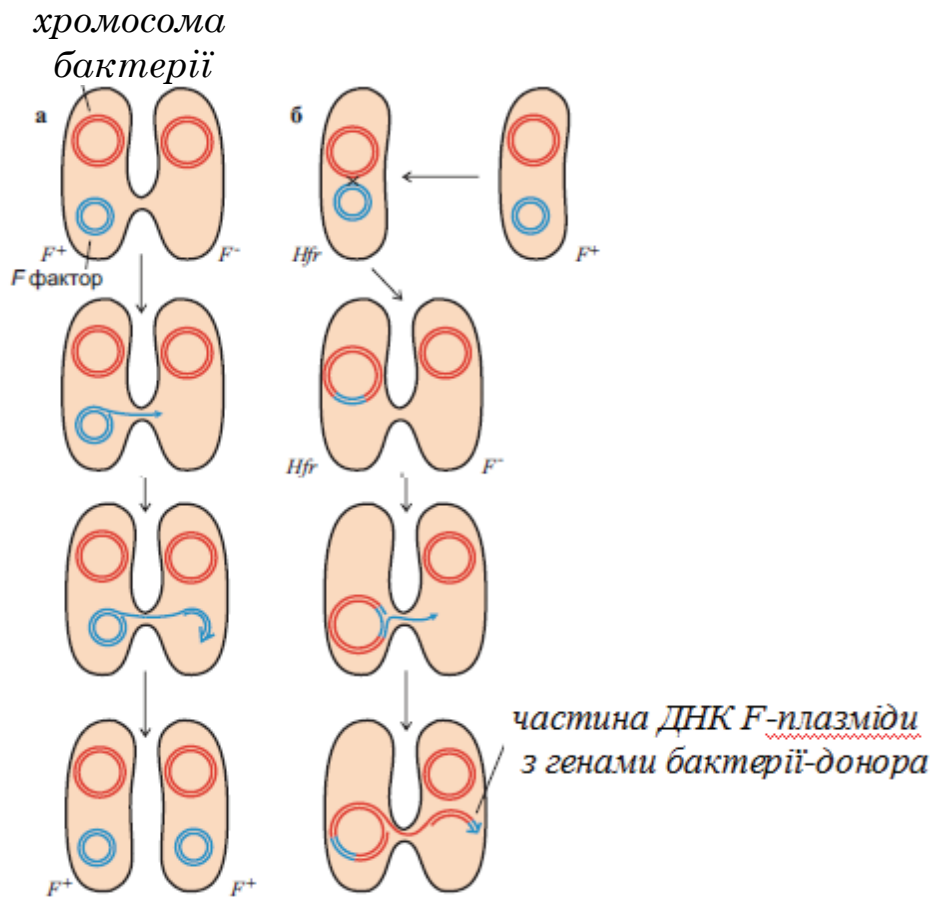
F-фактор є великою плазмідною довжиною близько 100 т.п.н. Плазмід реплікується в клітині автономно від хромосом та містить гени, що контролюють, крім утворення пілей, перенесення її від однієї клітини до іншої, а також різні етапи кон'югації.

У «чоловічій» F<sup>+</sup> клітині F-фактор може знаходитися в двох станах: в *автономному*, коли він реплікується незалежно від хромосоми (F<sup>+</sup> – *штам*) і в *інтегрованому*, коли він приєднується до хромосомної ДНК і реплікується в її складі (таке утворення називається *епісомом*). Схема передачі F-плазмід при вільному та інтегрованому стані представлена на **рис. 5.24**.

Отже, результат схрещування F<sup>+</sup> × F<sup>-</sup> вказує на те, що фактор фертильності (F) передається з високою частотою незалежно від інших генів.

Статевий фактор (F-плазмід) може з низькою частотою інтегруватися в бактеріальну хромосому в тій клітині, де він знаходиться (**рис. 5.25**). На хромосомі є декілька точок його інтеграції у відповідності з розташуванням ділянок гомології на хромосомі бактерій і на F-факторі, що забезпечуються IS-елементами. Інтегрований стан статевого фактора стабільний. При цьому утворюються *клітини Hfr* (англ. *High frequency recombination*) ще одного, третього, статевого типу в культурі F<sup>+</sup>, що визначає високу частоту рекомбінації. При їх кон'югації з клітинами F<sup>-</sup> F-плазмід дуже рідко передається реципієнту. Проте клітина-реципієнт отримує значну частку (а в деяких випадках – і цілий геном) генів клітини *Hfr*, що підвищує частоту появи рекомбінантів і робить *Hfr* високоефективним донором. Схрещування F<sup>-</sup> × *Hfr* дають найбільший процент

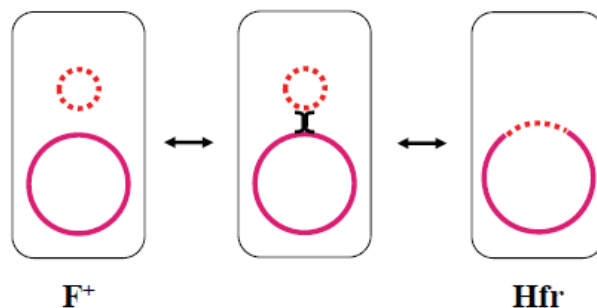
рекомбінантів – 1 на 10 вихідних клітин, тоді як схрещування  $F^+ \times F^-$  – 1 на  $10^4$  вихідних клітин.



**Рис. 5.24.** – Передача генетичного матеріалу під час кон'югації в *E.coli*:

а – передача F-фактора від клітини-донора до клітини-реципієнта в схрещуванні  $F^+ \times F^-$ ;

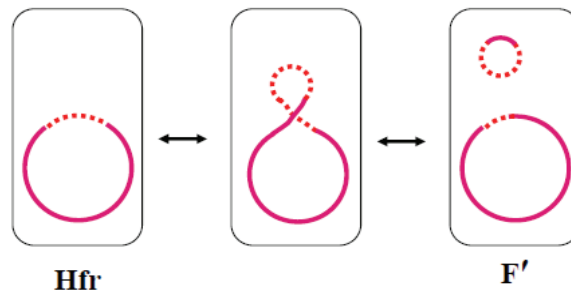
б – утворення лінії *Hfr* у результаті інтеграції F-фактора та передачі бактеріальних генів від донорних до реципієнтних клітин під час схрещування  $Hfr \times F^-$ .



**Рис. 5.25.** – Утворення *Hfr* – стану (High frequency recombination) клітини-донора



В інтегрованому стані F-фактор набуває здатності тягнути за собою хромосому донора в реципієнтну клітину (**рис.5.26**).



**Рис. 5.26.** – Утворення F'-фактору на основі бактеріальної хромосоми

Однак при кон'югації в реципієнтну клітину передається не весь F-фактор цілком, а лише маленька його частина, що включає точку *oriT* (початок перенесення). Генетичний аналіз показав, що в лінії *Hfr* фактор фертильності передається зчеплено з іншими генами та займає певний локус в бактеріальній хромосомі.

Інтегрована плазміда може виключатися з бактеріальної хромосоми, знову даючи клітини типу F<sup>+</sup>. Але в деяких випадках подібне вирізання відбувається з помилкою, внаслідок чого F-фактор може захоплювати із собою найближчі від нього хромосомні гени або один ген, утворюючи F'-фактор (F-прим), який може переносити бактеріальні гени незалежно від хромосоми, але разом з F-плазмідною. Це явище називається *сексдукцією*. При схрещуванні F'-фактор передається в реципієнтні клітини, переносючи з собою хромосомні гени, що входять до його складу. Таким чином, F – фактор, присутній у клітині, веде себе подвійно: як автономна цитоплазматична одиниця (в клітинах F<sup>+</sup>) або як локус хромосоми (в клітинах *Hfr*).

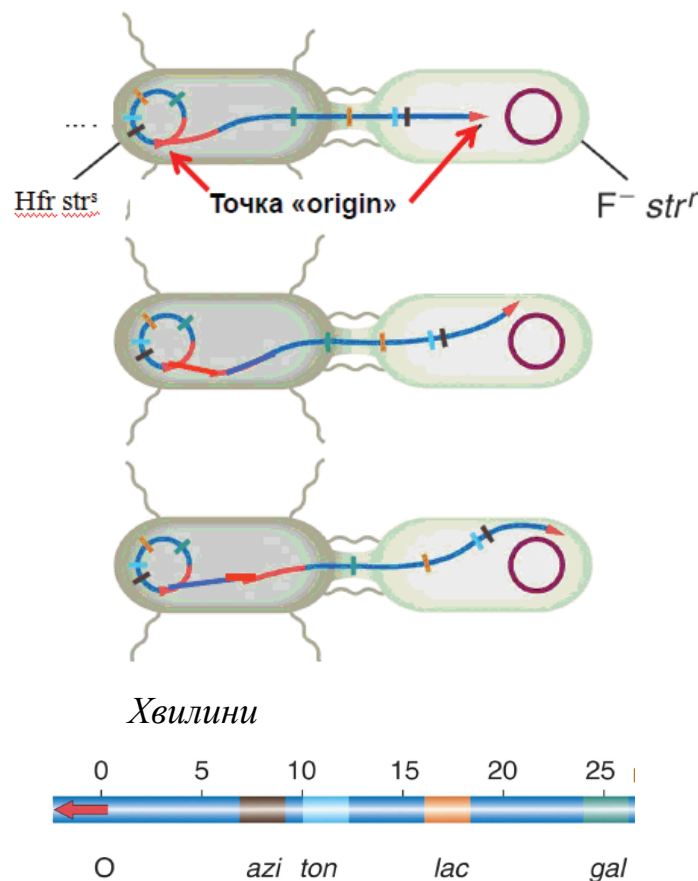
Описані вище процеси призводять до рекомбінації генетичного матеріалу у прокариот, що може підвищувати, наприклад, їх стійкість до антибіотиків і призводити до появи нових фенотипних властивостей у клітин, якщо раніше вони їх не мали.

Процес кон'югації використовують для генетичного картування. Рекомбінаційне картування проводять наступним чином. Схрещують колонії протягом однієї години. У спеціальному апараті (блендері) різко струшують культури клітин, що вступили в кон'югацію, для їх відокремлення. Оскільки генетичний матеріал переноситься від донора до реципієнта в строго спрямованій лінійній послідовності, то в залежності від тривалості часу від кон'югації до струшування в F<sup>-</sup> клітину може бути перенесена різна за довжиною частина хромосоми *Hfr*, яка надалі

рекомбінує з гомологічною ділянкою  $F^-$ . За одну хвилину зазвичай переноситься 1% від довжини бактеріальної хромосоми ( $\approx 40$  т.п.н.).

Для картування за часом входження генів хромосоми донорської клітини в реципієнтну клітину використовується схрещування з перериванням кон'югації після певних проміжків часу, наприклад, 3, 5, 4, 8 ..... ..20 хв і т.д. Надалі кон'югаційну суміш висівають на агаризоване середовище з селектуємим фактором, який дозволяє відбирати тільки рекомбінантні клони. Рекомбінанти при кон'югації одержують за рахунок обміну донорного фрагменту та гомологічного фрагменту реципієнта в результаті подвійного кросинговеру. Через різні проміжки часу після початку схрещування пари, що кон'югують, розділяють і висівають на селективне середовище для визначення того, які гени перенесені з  $Hfr$  в  $F^-$ .

Для рекомбінаційного трьохфакторного картування використовують схрещування прототрофного донорного штаму (здатний синтезувати все необхідні речовини на мінімальному середовищі) з поліауксотрофним реципієнтним штамом (рис.5.27).



**Рис. 5.27.** – Схема рекомбінації при схрещуванні  $HfrH\ str^S \times F^-$  ( $thr\ leu\ pro\ lac\ gal\ str^R\ his\ azi^S\ ton^S$ ) та побудована ділянка генетичної карти

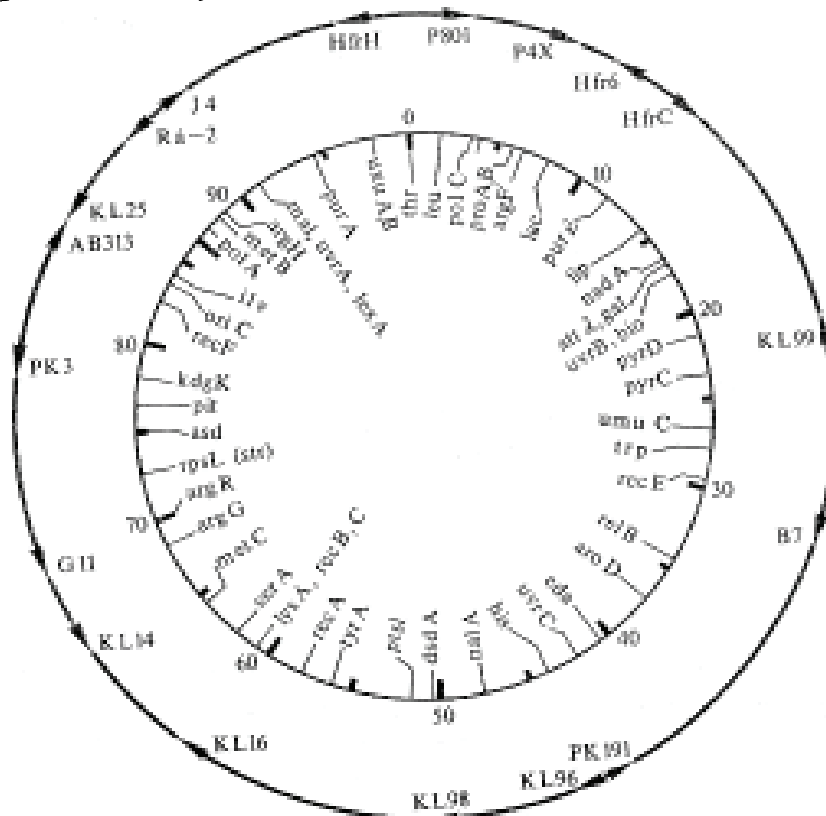
Донор: *HfrH str<sup>S</sup>*

Реципієнт: *F-* (*thr leu pro lac gal str<sup>R</sup> his azi<sup>S</sup> ton<sup>S</sup>*)

Селектуєчий маркер: *str<sup>R</sup>*

При схрещуванні бактерій *HfrH* і *F*-клітин рекомбінанти з'являються з частотою 1 рекомбінантна клітина на 10 вихідних клітин. Надалі проводять рекомбінацийний аналіз за трьома точками (трехфакторний аналіз) і на основі правила адитивності будують генетичну карту (**рис. 5.28**).

На **рис. 5.28** показано розміщення деяких генів у *E.coli*. За точку відліку прийнятий початок перенесення маркеру *thr<sup>+</sup>* під час схрещування *Hfr* × *F*-. Одиницею карти служить кількість ДНК, що передається *Hfr*-клітиною за одну хвилину. Цифрами над внутрішнім колом позначений масштаб карти в хвилинах відносно точки 0, в якій розміщені три гени, що утворюють оперон біосинтезу треоніну. Всього на карті показано розміщення близько 50 генів. Стрілками вказаний напрямок перенесення частин хромосоми різними *Hfr*-штамами.



**Рис. 5.28.** – Неповна генетична карта кільцевої хромосоми *E.coli*

**5.10.4. Метод злиття протопластів** бактерій як спосіб генетичного обміну використовують у тих випадках, коли в бактерій не знайдено власних систем обміну генетичною інформацією та вони не схрещуються між собою. Часто цей метод виявляється більш ефективним, ніж інші способи обміну.

Наприклад, внаслідок злиття протопластів актиноміцетів рекомбінанти виникають у 1000 разів частіше, ніж під час кон'югації.

## ПИТАННЯ ДО САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Ким і коли був знайдений зв'язок між генами та хромосомами?
2. Яке розщеплення за фенотипом очікується, якщо два гени знаходяться в різних не гомологічних хромосомах? За допомогою якого типу схрещування можливо це визначити?
3. Що таке група зчеплення?
4. Які ознаки називаються зчепленими? Як вони успадковуються?
5. Яке розщеплення за фенотипом очікується, якщо два гени знаходяться в одній хромосомі за умови повного їх зчеплення? Неповного зчеплення? За допомогою якого типу схрещування можливо це визначити?
6. Як визначити силу зчеплення генів?
7. Що таке нерівний і мітотичний кросинговер?
8. Які факти, одержані при вивченні зчеплення та кросинговеру між генами, підтверджують хромосомну теорію спадковості?
9. Що таке множинний кросинговер?
10. Як складаються генетичні карти хромосом?
11. Що таке цитологічні карти хромосом і як вони складаються?
12. Що таке інтерференція? Коінциденція?
13. Які фактори впливають на частоту кросинговеру?
14. Чим відрізняються генетичні карти хромосом від цитологічних?
15. Які існують види статевої рекомбінації у бактерій?
16. Як здійснюється картування бактеріальної хромосоми?
17. Що таке сестринські хроматидні обміни? Чим спричинена підвищена частота їх виникнення?
18. Чим відрізняються прототрофні штами бактерій від ауксотрофних?
19. У чому сутність хромосомної теорії спадковості?
20. Як розрахувати розщеплення при схрещуванні дигетерозигот при зчепленні генів?

---

## РОЗДІЛ 6.

### НЕХРОМОСОМНЕ СПАДКУВАННЯ

---

Разом із фактами, що підтверджують хромосомну теорію спадковості, в процесі розвитку генетики як науки накопичувалися факти про спадкування, що не відповідає встановленим закономірностям: передача ознаки тільки по материнській лінії; відхилення від кількісних співвідношень розщеплення, не обумовлене взаємодією генів або їх зчепленням. Такі випадки можна пояснити локалізацією спадкових чинників у цитоплазмі.

Деякі ознаки (забарвлення плодів, квіток і листя, висока активність клітинного дихання та ін.) можуть успадковуватись без участі ядерного апарату. Це явище можливе завдяки тому, що пластиди та мітохондрії мають свою автономну кільцеву молекулу ДНК і здатні ділитися (реплікуватися) порівняно автономно.

**Нехромосомне спадкування** – спадкування генів, локалізованих поза ядром. Часто цей тип успадкування також називають **цитоплазматичним**, розуміючи під цим успадкування генів, розташованих не тільки в самій цитоплазмі, але і в органелах клітини, які мають власну ДНК (пластидах, мітохондріях), а також чужорідних генетичних елементів (наприклад, вірусів). Тому цитоплазматичне спадкування слід відрізнити від **власне цитоплазматичного спадкування**, при якому спадкові ознаки детермінуються не органелами, а самою цитоплазмою. Оскільки спадкова інформація передається по материнській лінії через цитоплазму яйцеклітини, таку спадковість називають також **материнською спадковістю**.

Ядерна та цитоплазматична спадковість співіснують. Пластиди, як і мітохондрії мають свої рибосоми та автономні кільцеві ДНК (несуть інформацію про власні білки, мРНК, тРНК). Відмінність ядерного геному від геному пластид і мітохондрій у клітинах еукаріот пояснює теорія ендосимбіозу. В результаті вивчення послідовності азотистих основ мітохондріальної ДНК отримані переконливі аргументи на користь того, що мітохондрії – це нащадки аеробних бактерій, які оселилися колись в предковій еукаріотичній клітині і «навчилися» жити в ній в якості симбіонтів. Вважають, що хлоропласти походять від фотосинтезуючих бактерій (ціанобактерій), які мешкали раніше в гетеротрофних клітинах протистів, перетворивши їх в автотрофні водорості. При цьому зовнішня мембрана пластид відповідає плазматичній

мембрані хазяйської клітини, міжмембранний простір – зовнішньому середовищу, внутрішня мембрана пластид – мембрані ціанобактерії, а строма пластид – цитоплазмі ціанобактерії.

Гени органел цитоплазми називають *плазмогенами*, а сукупність неядерних (позахромосомних) чинників спадковості, зосереджених в цитоплазмі клітини, – *плазмоном*.

Цитоплазматичну спадковість можна виявити шляхом порівняння результатів реципрокних схрещувань. У більшості організмів чоловічі гамети практично позбавлені цитоплазми, основна маса якої вноситься в зиготу яйцеклітиною. Тому відмінності, що спостерігаються в потомстві реципрокних схрещувань, визначаються лише цитоплазмою, оскільки потомство в обох випадках є однаковим щодо хромосомного набору, за виключенням зчепленого спадкування генів.

Різні результати реципрокних схрещувань краще виявляються в міжвидових і міжродових (віддалених) гібридів, оскільки цитоплазма таких форм відрізняється в більшому ступені, ніж у форм одного виду.

При генетичному аналізі цитоплазматичного спадкування крім реципрокних, використовують також насичуючі (або поглинальні), тобто повторні схрещування гібрида з батьківською формою, яка не передає ознаку, для того, щоб наситити генотип генами батька, точніше, ядерний генотип зробити ідентичним батьківському. Якщо при цьому материнська ознака, що вивчається, зберігається з покоління в покоління, роблять висновок, що вона контролюється материнською цитоплазмою.

Для того, щоб відрізнити різні типи нехромосомного спадкування від хромосомного (ядерного), використовують наступні критерії:

1) реципрокні схрещування дають різні результати, при цьому спадкування в обох напрямках схрещування одностороннє (материнське);

2) збереження ознаки при насичуючих схрещуваннях (бекросях) із заміною всіх хромосом жіночого організму на всі хромосоми чоловічого організму;

3) відсутність розщеплення або, при його наявності, відсутність закономірних кількісних співвідношень розщеплення;

4) відсутність зчеплення з будь-яким ядерним геном;

5) наявність зв'язку між успадкуванням окремих ознак і перенесенням у клітину певних цитоплазматичних генів;

6) у разі ізогамії відсутність розщеплення в схрещуванні при гаметичному аналізі (наприклад, в тетрадах), але наявність постзиготичного розщеплення в мітозах.

7) підвищена чутливість ДНК клітинних органел або плазмід до деяких агентів.

## 6.1. Пластидне спадкування

Спадковий матеріал пластид вищих рослин – **пластом** або **пластидом** – представлений багатокопійною кільцевою дволанцюговою ДНК (плДНК) розміром від 75 до 280 тис.п.н., що кодує близько 100 білків. У кооперації із генами ядра (геномом) пластом забезпечує реплікацію власної ДНК, а також процеси транскрипції і трансляції. Пластиди мають рибосоми прокаріотичного типу з коефіцієнтом седиментації 70S (з меншою кількістю білків, в порівнянні з еукаріотичними рибосомами).

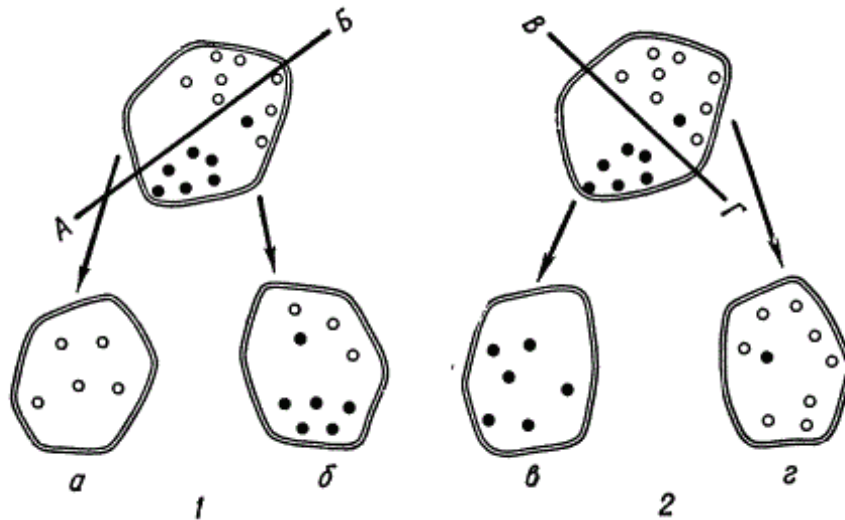
Характер спадкування ознак, що контролюються генами пластид, визначається їх поведінкою при поділі клітини та залежить від їхньої кількості (в більшості випадків вони численні та репродукуються незалежно від ядра).

Пластидне (хлоропластне) спадкування виявлено в різних видів рослин: нічної красуні, лев'ячого зіва, зніту, білої герані та ін. У них, поряд з формами, що мають зелене листя, існують ряболисті форми, з чергуванням пластид, здатних (хлоропласти) і нездатних (лейкопласти) до синтезу хлорофілу.

Успадкування пістрявості листя на початку ХХ століття вивчали *К.Корренс* (1908) у нічної красуні та *Е.Бауер* (1909) у герані.

У герані (*Pelargonium zonale*) відомі ряболисті рослини, які мають в епідермальному та субепідермальному шарах точок росту групи клітин з пластидами, не здатними до утворення хлорофілу, тоді як в центральних шарах клітини містяться нормальні пластиди. Внаслідок цього іноді на рослині утворюються чисто зелені або зовсім білі гілки. Насіння, одержані з білих гілок, дають нежиттєздатні сіянці. При запиленні квіток ряболистих рослин пилком квіток зелених рослин і при реципрокному схрещуванні результати різні. У першому випадку (ряболисті х зелені) 30 % гібридних рослин ряболисті, 70% – зелені, білі гинуть. При реципрокному схрещуванні (зелені х ряболисті) в потомстві 70% рослин ряболисті та 30% зелені. Це приклад **успадкування за батьківським типом**. Спадкування рябого забарвлення листя обумовлене передачею і розподілом під час мітозу двох типів

пластид – зелених і незабарвлених. Результати обох схрещувань показують, що передача пластид здійснюється через яйцеклітини. Розвиток білих або зелених частин рослин з зиготи, що містить пластиди обох типів, визначається швидкістю і способом відтворення цих різних пластид і їх розподілом під час мітозу. Клітини, що отримали при такому розподілі тільки зелені пластиди, дають далі зелені ділянки тканин, а клітини, які отримали тільки незабарвлені пластиди, – білі ділянки. Якщо під час поділу клітинна оболонка пройде по лінії АВ, то утворюються дві клітини, які дадуть дві ділянки: білу *a* та строкату *б*; при поділі по лінії ВГ – зелені і строкаті (*в*, *г*) (**рис. 6.1**). При цьому межа між білими і зеленими зонами тканин рослини не різка, бо деякі клітини містять обидва типи пластид. Такий тип спадкування пістрявості листя, як у *Pelargonium zonale*, відомий також у жита, лев'ячого зіва, кукурудзи, примули.



**Рис. 6.1.** – Схема випадкового розподілення білих і зелених пластид під час мітотичного поділу клітини: 1 – утворення двох клітин, з яких одна (*a*) дає білу ділянку, інша – пістряву; 2 – утворення двох клітин, з яких одна (*в*) дає зелену ділянку, інша (*г*) – пістряву

К. Корренс описав інший тип спадкування пістрявості листя. Об'єктом його робіт була нічна красуня *Mirabilis jalapa*. Серед *Mirabilis* є рослини, які мають зелені, білі та ряболисті гілки, причому межа між зеленою і білою зонами на відміну від герані завжди різка. Це пояснюється тим, що в кожній клітині *Mirabilis* знаходяться пластиди тільки одного типу – або зелені, або незабарвлені. Тому розподіл пластид під час мітотичного поділу, яким можна пояснити пістрявість листя герані, в даному випадку



не може мати місця. Корренс запилював квітки білих, зелених і ряболистих гілок пилком від квіток всіх трьох типів (рис. 6.2).

При запиленні квіток материнської рослини із зеленим листям пилком зеленої, пістрявої або білої форм потомство  $F_1$  завжди із зеленим листям. При запиленні квіток рослини з пістрявим листям пилком зеленої форми в  $F_1$  утворюються три групи рослин: безхлорофільні, з пістрявим листям і зелені рослини (що залежить від того, який тип пластид надійшов в яйцеклітину), а в реципрокному схрещуванні всі рослини зелені. Отже те, які хлоропласти передає батьківська форма нащадкам, не відіграє ніякої ролі у визначенні фенотипу потомства; останній залежатиме від типу пластид материнської рослини. Це приклад **материнського типу спадкування**. Для нього характерна контрастна відмінність між результатами реципрокних схрещувань. Якщо квітки безхлорофільного пагону запилювати пилком зеленої рослини, то в  $F_1$  з'являться тільки безхлорофільні форми, які згодом гинуть унаслідок нездатності до фотосинтезу. При реципрокному схрещуванні в  $F_1$  всі рослини зелені.



**Рис. 6.2.** – Успадкування плямистості в нічної красуні (*Mirabilis jalapa*). В якості материнської форми взяті рослини: 1 – із зеленим листям; 2 – ряболисте; 3 – біле.

Наведені вище результати схрещувань можна пояснити тим, що при реципрокній гібридизації у рослин яйцеклітина та спермій

привносить в зиготу різну кількість цитоплазми. При цьому пластиди передаються тільки від материнської форми (в нічної красуні) або рідко від батьківської форми чи від обох батьків (у кепрея) або переважно від батьківської форми (в герані). Цим і пояснюються відмінності результатів при реципрокних схрещуваннях.

Пластиди – органели клітини, що самовідтворюються. На відміну від хромосом ядра, при розподілі між дочірніми клітинами вони не підкоряються строгим законам мітозу і мейозу. Апарат, що керує розподілом пластид, нині невідомий. Вважається, що пластиди потрапляють в дочірні клітини випадково при розподілі цитоплазми завдяки тому, що містяться в клітині в безлічі екземплярів (до декількох сотень). Якщо в цитоплазмі, як це показано для ряболистих рослин, є нормальні хлоропласти, що містять хлорофіл, і дефектні (позбавлені хлорофілу), то при мітозі до деяких клітин можуть потрапити тільки нормальні, а в деякі – тільки дефектні пластиди. Більша частина клітин отримує обидва типи пластид. Цим і пояснюється поява забарвлених і незабарвлених ділянок тканини у ряболистих рослин і складні картини розщеплення, що спостерігаються часом при реципрокних схрещуваннях.

Цитоплазматична спадковість характерна не тільки для рослин, але й для тварин і мікроорганізмів.

## 6.2. Мітохондріальне спадкування

Мітохондрії, як і хлоропласти, містять власний геном, представлений кільцевою молекулою ДНК – *хондріомом*, та власний апарат реплікації, транскрипції, трансляції. У більшості багатоклітинних організмів мітохондріальна ДНК (мтДНК) успадковується по материнській лінії. Це пов'язано, по-перше, з тим, що яйцеклітина містить у багато разів більше мітохондрій, ніж сперматозоїд (не більше десяти, а в людини – одна спірально скручена мітохондрія), і, по-друге, після запліднення мітохондрії сперматозоїда деградує під впливом убіквітину (білка-мітки, яка призводить до руйнування батьківських мітохондрій в зиготі). Проте, для деяких тварин описано спадкування мітохондрій за чоловічим типом, наприклад, у мідій, деяких комах; окремі випадки відомі і для ссавців. Хондріом різних організмів включає гени для всіх тРНК і рибосомних РНК, необхідних для мітохондріального білкового синтезу, а також для білків, задіяних в циклі Кребса, β-окисленні жирних кислот, і, особливо, окисного

фосфорилування. Однак більшість білків, що функціонують в мітохондріях, закодовані в ядерному геномі, синтезуються на рибосомах і потім транспортуються в мітохондрії.

Популярна гіпотеза про походження хондріому від ендосимбіотичних бактерій доведена тільки для рослин. Гени хондріому грибів і тварин зазвичай настільки ж далекі за своєю структурою від гомологічних генів бактерій, як і від генів ядерного геному еукаріот. Гени хондріому грибів, а також рослин часто мають мозаїчну інтрон-екзонну структуру, характерну для ядерних генів еукаріот. Генетичний код хондріому відрізняється від універсального генетичного коду. Так, один з кодонів (UGA) універсального генетичного коду визначає закінчення білкового синтезу, а в генетичному коді хондріому низки організмів цей триплет кодує амінокислоту триптофан. Хондріоми тварин, рослин, грибів відрізняються один від одного різними відхиленнями від універсального коду та компонуванням генів\*.

\*Нині переважає точка зору, згідно з якою мітохондрії мають монофілетичне походження, тобто були придбані предками еукаріот лише одного разу. У більшості вивчених організмів мітохондрії містять тільки кільцеві молекули ДНК, але в деяких рослин одночасно присутні і кільцеві, і лінійні молекули, а в деяких протистів (наприклад, інфузорій) є тільки лінійні молекули. Мітохондрії ссавців зазвичай містять від двох до десяти ідентичних копій кільцевих молекул ДНК. У рослин кожна мітохондрія містить декілька молекул ДНК різного розміру, здатних до рекомбінації. У бактерій стійкість до багатьох факторів середовища детермінується плазмідами. Передача їх при кон'югації або в культуральному середовищі від однієї клітини до іншої (горизонтальне спадкування) і здатність до автономного розмноження визначають характер передачі ознак, що контролюються цими структурами.

Мітохондріальна спадковість обумовлена генами мітохондрій еукаріотичних клітин. Це явище спостерігав *Б. Ефруссі* в 1948 році при роботі з дріжджами – *S. cerevisiae*. Поява дріжджів, що дають карликові колонії, було пов'язане з порушенням дихальної функції клітин унаслідок слабкої активності низки ферментів (цитохромоксидаз та ін.). При схрещуванні карликових колоній із нормальними, а потім знов із карликами в низці поколінь усі клітини були нормальними. Це пов'язано з тим, що мітохондрії представлені в клітині великою кількістю та при схрещуванні в гібридній зиготі відбувається змішування різних мітохондрій. Але й тієї кількості нормальних органел, внесених нормальною

клітиною, достатньо, щоб забезпечити дихання клітин і нормальний ріст (нормальні мітохондрії репродукуються швидше). Штучне їх введення в клітини з дихальною недостатністю призводить до того, що клітина стає нормальною. Це доводить правильність припущення, що ДНК мітохондрій є носієм гена дихальної недостатності.

Локалізація гена проводиться зазвичай методами, не пов'язаними з гібридологічним аналізом. При цьому використовують методи ін'єкцій мітохондрій чи інших органел. Так були визначені мітохондріальні гени, що контролюють ознаки повільного росту та дихальної недостатності нейроспори. Молекулярні методи дозволяють аналізувати ДНК мітохондрій (у дріжджів таким чином були проаналізовані мутанти-карлики).

**6.2.1. Спадкування по материнській лінії.** Оскільки мітохондріальна ДНК не є консервативною та має високу швидкість мутування, вона є хорошим об'єктом для вивчення філогенії (еволюційного споріднення) живих організмів. Для цього визначають послідовність мітохондріальної ДНК у різних видів і порівнюють їх за допомогою спеціальних комп'ютерних програм, надалі отримують еволюційне древо для вивчених видів. Зокрема, дослідження мітохондріальних ДНК собак дозволило простежити походження собак від диких вовків. Дослідження мітохондріальної ДНК в популяціях людини дозволило виявити генотип «мітохондріальної Єви», гіпотетичної прародительки всіх жінок, що живуть нині. Крім того, вивчення мітохондріального геному – основний інструмент при ідентифікації організму та таксону, до якого він належить. Можливість ідентифікації пов'язана з існуючими в мітохондріальному геномі груповими і навіть індивідуальними відмінностями. Послідовність ділянки субодиниці гена І цитохром С-оксидази, кодованого в мітохондріальній ДНК, широко використовується в проєктах, пов'язаних з *ДНК-баркуванням тварин* – визначенням належності організму до того чи іншого таксону на основі коротких маркерів його ДНК.

**6.2.2. Спадкування по батьківській лінії.** Для деяких видів показана передача мітохондріальної ДНК по чоловічій лінії, наприклад, у мідій. Спадкування мітохондрій по батьківській лінії також описано для деяких комах, наприклад, для дрозофіли, медоносних бджіл і цикад. Існують також дані про мітохондріальне спадкування по чоловічій лінії у ссавців. Описані випадки такого наслідування для мишей, при цьому мітохондрії, отримані від самця, згодом відторгаються. Таке явище показано для овець та

клонованої великої рогатої худоби. Також описаний єдиний випадок спадкування по батьківській лінії, пов'язаний з безпліддям у чоловіків.

### **6.2.3. Захворювання людини, спричинені дефектами мтДНК**

Хоча мітохондріальна ДНК пов'язана з білками, їх захисна роль менш виражена, ніж у випадку ядерної ДНК. Мутації в ДНК мітохондрій можуть викликати спадкові захворювання, що передаються по материнській лінії. Існують дані, які вказують на можливий внесок мутацій мітохондріальної ДНК в процес старіння та розвиток вікової патології. У людини мітохондріальна ДНК зазвичай присутня в кількості 100-10000 копій на клітину (сперматозоїди і яйцеклітини є винятком). З множинністю мітохондріальних геномів пов'язані особливості прояву мітохондріальних захворювань – пізній їх початок і дуже мінливі симптоми. Незважаючи на прогрес у галузі вивчення причин таких захворювань, вони залишаються невиліковними донині. До найбільш поширених із них належать спадкова оптична нейропатія Лебера, синдром Кернса-Сейра, гетероплазмія.

*Оптична нейропатія Лебера* проявляється в людей середнього віку та супроводжується повною або частковою сліпотою внаслідок дегенерації зорового нерва. Люди із схильністю до цієї хвороби зазвичай мають нормальний зір від народження, але в період життя між 8 та 60 роками настає сліпота внаслідок загибелі зорового нерва. Причиною цього є місенс-мутація в одному з 18 мітохондріальних генів, що кодують білки ферментних комплексів, які забезпечують ланцюг передачі електронів під час окислювального фосфорилування.

*Синдром Кернса-Сейра* спричинений делеціями (втратами) різних ділянок мтДНК. Кожна делеція видаляє один або декілька генів тРНК, необхідних для синтезу мітохондріального білка, що врешті-решт призводить до енцефаломіопатії – захворювання мозку.

*Гетероплазмія* проявляється наявністю в клітинах хворих індивідумів суміші нормальних і мутантних мітохондрій. Характерно, що пропорції двох типів мітохондрій варіюють від тканини до тканини та від особи до особи навіть в межах одного родоходу. Ступінь важкості захворювання корелює з відносною кількістю мутантних мітохондрій. Жінка із помірним проявленням гетероплазмії може народити дітей із варіюванням ступеню захворювання від сильного до повної його відсутності. Поширеність гетероплазмії у популяціях людини може досягати 10-20%.

### **6.2.4. Використання поліморфізму мтДНК як молекулярного маркера**

Відмінністю хондріому від ядерного геному є те, що мтДНК успадковуються строго по материнській лінії за відсутності рекомбінації. Можливий внесок батьківської мтДНК у наступне покоління блокується на молекулярному рівні, тому зигота має лише один набір мтДНК цитоплазми яйцеклітини. Отже, мітохондріальний геном еволюціонує шляхом накопичення мутацій. Іншою унікальною особливістю мтДНК є висока швидкість заміни нуклеотидів у процесі еволюції. Для мтДНК ссавців запропонована оцінка швидкості накопичення нуклеотидних заміни –  $10^{-8}$  на сайт за рік або 0,01 заміни на пару нуклеотидів за 1 млн. років при швидкості мутування  $4 \times 10^{-4}$  на сайт за покоління. Висока швидкість мутування використовується для аналізу генетичних подій, що відбулися нещодавно, а передача мітохондрій по материнській лінії є гарантією того, що всі зміни послідовності нуклеотидів спричинені мутуванням, а не кросинговером.

Після картування у 1981 році в Кембриджі мітохондріального геному європейця для вивчення поліморфізму в популяціях людини стали широко використовувати метод порівняльного картування за довжиною фрагментів рестрикції ДНК (ПДРФ-аналіз, тобто аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів). Поліморфізм виявляють під час зіставлення індивідуальної мтДНК із еталонною за виникненням або втратою сайту рестрикції (розрізання) певної ділянки ДНК, що стає очевидним після електрофорезу продуктів рестрикції в агарозному гелі. Кожна така подія (втрата або поява сайту розрізання нуклеазами) еквівалентна одній заміні нуклеотиду.

Поліморфізм за рестрикційними фрагментами та послідовностями нуклеотидів представлений тісно зчепленими гапloidними наборами мутацій – *гаплотипами* (гапloidними типами). Тісно зчеплені гаплотипи утворюють *гаплогрупу*. Такі види поліморфізму дозволяють ідентифікувати осіб, виявляти родинні зв'язки між людьми по материнській лінії, що використовується в криміналістиці та антропології.

У 1987 році вчені Каліфорнійського університету, проаналізувавши мтДНК 147 жителів Африки, Австралії, Нової Гвінеї, зіставили одержані дані з поліморфізму рестрикційних фрагментів і побудували еволюційні «дерева». Вони виявили континентальну специфічність гаплотипів мтДНК: сайт рестрикції HpaI3592 (заміна цитозину на тимін), який маркує предкову

мтДНК для гаплогрупи L, був присутнім у 96% пігмеїв, 93% бушменів та 71% банту-мовних жителів Африки, але жодного разу не траплявся в Європі чи Азії. Встановлено, що приблизно 90% всіх типів мтДНК, виявлених у популяціях європейців, належить всього сімом гаплогрупам. Крім того, в основі «дерева» була загальна предкова форма – «мітохондіальна Єва»; це означає, що всі сучасні жінки походять від невеликої групи прадавніх жінок. З урахуванням швидкості мутування мтДНК встановлено, що загальний предок жив приблизно 200 тис. років тому в Африці. Таке твердження базується на тому, що африканська популяція сильніше піддалася дивергенції, отже, довго знаходилася в місцевості, де виникла. На основі визначення ступеню варіювання в неафриканських популяціях встановлено, що популяції-засновники покинули Африку більше 100 тис. років тому. Вік єдиної мтДНК, предкової до всіх трьох рас людини, складає близько 143 тис. років.

Результати секвенування ділянки гіперваріабельного сегменту мтДНК, виділеної із кісткових залишків європейського неандертальця, показали, що між предками сучасних людей і неандертальцями схрещування не відбувалося. Виявлено, що послідовність нуклеотидів неандертальця відрізнялася від послідовностей сучасного європейця 27 точковими замінами, тоді як у вибірці з різних популяцій сучасних людей попарні відмінності на цій ділянці склали не більше восьми замін. За даними аналізу дивергенції нуклеотидних послідовностей, вік неандертальця датований 555-690 тис. років тому. Характер варіювання послідовностей нуклеотидів у мтДНК неандертальця вказує, що ця ДНК не могла бути попередницею мтДНК предка сучасної людини. Припускають, що предки сучасних людей, які мігрували з Африки, витіснили неандертальців, що населяли тоді Азію та Європу.

### **6.3. Цитоплазматична чоловіча стерильність**

Одним із яскравих прикладів цитоплазматичної спадковості вважають цитоплазматичну чоловічу стерильність, виявлену в багатьох видів рослин: кукурудзи, цибулі, льону, буряка.

**Цитоплазматична чоловіча стерильність (ЦЧС)** – це спадкування ознак по материнському типу через цитоплазму, що обмежують або зводять нанівець фертильність чоловічих рослин (наприклад, внаслідок утворення дефектного пилку або повної його відсутності, морфологічних особливостей квітки тощо).

Розглянемо це явище на прикладі кукурудзи. Кукурудза – однодомна рослина, жіночі квітки якої зібрані в качан, а чоловічі – в волоть. У волоті трапляються недорозвинені пиляки із стерильним пилком. Поява такого пилку спричинена особливостями цитоплазми цих клітин. Запилення рослин із ЦЧС пилком інших рослин дає потомство також із стерильним пилком. Отже, ознака чоловічої стерильності передається по материнській лінії. Навіть якщо всі 10 пар хромосом стерильної за пилком рослини заміщені хромосомами рослин із нормальним пилком, чоловіча стерильність зберігається.

Цитоплазму, що обумовлює стерильність, позначають ЦИТ<sup>S</sup>, а нормальну цитоплазму – ЦИТ<sup>N</sup>. Генетичний аналіз показав, що генотип рослини також впливає на стерильність пилку. Цитоплазма з плазмогенами стерильності обумовлює стерильність пилку тільки у випадку гомозиготності рослин за рецесивним алелем (ЦИТ<sup>S</sup>rfrf) домінантного ядерного гена *Rf*, який відновлює фертильність. При ЦИТ<sup>S</sup>RfRf або ЦИТ<sup>S</sup>Rfrf рослини мають нормальний фертильний пилкок. Якщо цитоплазма вільна від плазмогенів стерильності, при будь-якому стані гена *Rf* рослини також нормально фертильні. Ген *Rf* не змінює структуру ЦИТ<sup>S</sup>, а лише заважає проявленню її дії. Порівняльний рестрикційний аналіз ДНК мітохондрій рослин кукурудзи з ЦЧС та ДНК мітохондрій фертильних ліній показав наявність відмінностей між ними. Отже, стерильна цитоплазма ЦИТ<sup>S</sup> визначається властивістю ДНК мітохондрій і в присутності ядерного гена *Rf* у клітині перестає визначати чоловічу стерильність – рослина стає фертильною.

Явище ЦЧС і відновлення фертильності пилку використовується в сучасній селекційній практиці для одержання гетерозисних подвійних міжлінійних гібридів кукурудзи. Для запобігання самозапиленню в деяких рослин доводилося обламувати чоловічі волоті для того, щоб материнські форми були винятково жіночими. Тому рослини ЦИТ<sup>S</sup>rfrf є вирішенням цієї проблеми, оскільки вони нездатні до самозапліднення.

Фертильні лінії і сорти, що зберігають при схрещуванні зі стерильною формою стерильність у потомства, називаються «закріплювачами стерильності», а лінії і сорти, що відновлюють плодючість потомства рослин із ЦЧС, – «відновлювачами» фертильності.

Для одержання подвійних міжлінійних гібридів кукурудзи спочатку створюють стерильні лінії *A* і *C* (ЦИТ<sup>S</sup>rfrf), лінію-закріплювач фертильності *B* (ЦИТ<sup>N</sup>rfrf) та лінію-відновлювач



фертильності  $D$  (ЦИТ<sup>N</sup>RfRf). Запилення ліній кукурудзи із формами цитоплазматичної чоловічої стерильності різного (за  $Rf$ ) генотипу призводить до наступних результатів:

*P*: схрещування ліній:

$$\begin{array}{l}
 A \text{ (ЦИТ}^S\text{rf rf)} \times B \text{ (ЦИТ}^N\text{rf rf)} \rightarrow F_1: \text{ЦИТ}^S\text{rf rf (закріплення стерильності)} \\
 C \text{ (ЦИТ}^S\text{rf rf)} \times D \text{ (ЦИТ}^N\text{RfRf)} \rightarrow F_1: \text{ЦИТ}^S\text{Rf rf (відновлення фертильності)} \\
 F_1: \quad \quad \quad (A \times B) \quad \quad \quad \times \quad \quad \quad (C \times D) \\
 F_1: \quad \quad \quad \text{ЦИТ}^S\text{rf rf} \quad \quad \quad \times \quad \quad \quad \text{ЦИТ}^S\text{Rf rf} \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \text{ЦЧС} \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{відновлювач фертильності} \\
 F_2: \text{ подвійний гібрид} \quad \quad \quad (A \times B) \times (C \times D) \\
 \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \quad \text{ЦИТ}^S\text{Rf rf (відновлення фертильності)}
 \end{array}$$

На проявлення стерильності суттєво впливають умови зовнішнього середовища: температура, вологість повітря та ґрунту, тривалість дня. Гібриди кукурудзи з різним типом ЦЧС (молдавським чи техаським) мають різну чутливість до факторів середовища. У рослин із молдавським типом ЦЧС волоті формують пиляки, які не розкриваються, пилок в них нежиттєздатний. У рослин із техаським типом ЦЧС пиляки сильно редуковані та не розкриваються, проявлення стерильності менше піддається впливу умов середовища. В селекції використовують два типи ЦЧС.

Генетичний аналіз цитоплазматичного спадкування ускладнюється тим, що часто ознаки детермінуються то ядерними генами, то генами мітохондрій, то обома одночасно. Відомі випадки, коли експресія ядерного гена контролюється цитоплазматичним вірусом або мітохондріальними генами. Іноді ядерні гени взаємодіють із мітохондріальними при проявленні ознаки.

## 6.4. Власно цитоплазматичне спадкування

У деяких випадках цитоплазма сама може детермінувати спадкові ознаки, проте таке успадкування нестійке і зникає протягом одного або декількох поколінь. Найвідомішим прикладом *власне цитоплазматичного спадкування* є спадкування форми черепашки ставковика *Limnaea* (**рис.6.3**).

Вона може бути закрученою праворуч ( $D$ , домінантний алель) або закрученою ліворуч ( $d$ , рецесивний алель). При цьому сам генотип молюска ніякого впливу на форму черепашки не має. Ознака визначається властивостями материнського організму, зокрема цитоплазмою яйцеклітини, яка й обумовлює напрямок закручування (ці властивості цитоплазми визначаються геном  $D$ ). При цьому при генотипі материнського організму  $dd$  черепашка всіх нащадків буде закрученою ліворуч, а при генотипі  $Dd$  або  $DD$  – праворуч.

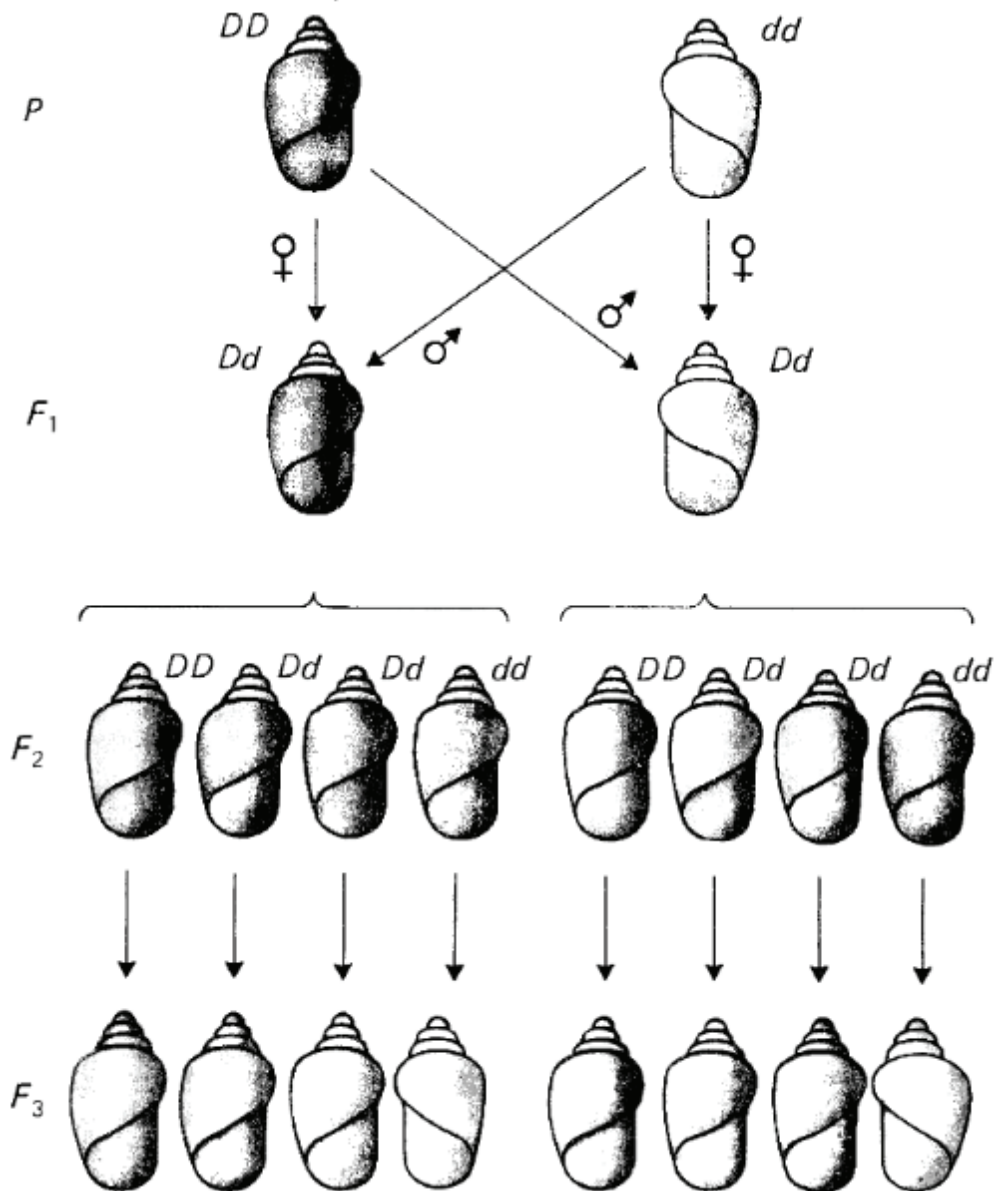


**Рис. 6.3.** – Два типи ставковиків із черепашкою закрученою праворуч і ліворуч

Реципрокні схрещування:  $DD \times dd$  і  $dd \times DD$  дають в  $F_1$  різний результат: гібриди успадковують ознаку матері (**рис. 6.4**).

У першому схрещуванні вони все «праві», а в другому – все «ліві». Завдяки тому, що *Limnaea* – гермафродитні тварини, у них можливо самозапліднення. В  $F_2$  від обох схрещувань все нащадки мають закручену праворуч черепашку. Тільки в  $F_3$ , також отриманому шляхом самозапліднення, в кожному з вихідних реципрокних схрещувань розщеплення «правих» і «лівих» черепашок було 3:1. На рис. 6.4 видно, що проявлення цієї ознаки немов би відстає на покоління від формули розщеплення за фенотипом. Вирішальну роль в такому відставанні відіграє генотип материнського організму, що контролює насамперед властивості цитоплазми яйцеклітини, від якої залежить напрямок закручування черепашки. Ця ознака формується в ранньому ембріогенезі напрямком веретена другого дробіння. Таке явище називається *предетермінація цитоплазми генотипом матері* або *материнський ефект*.

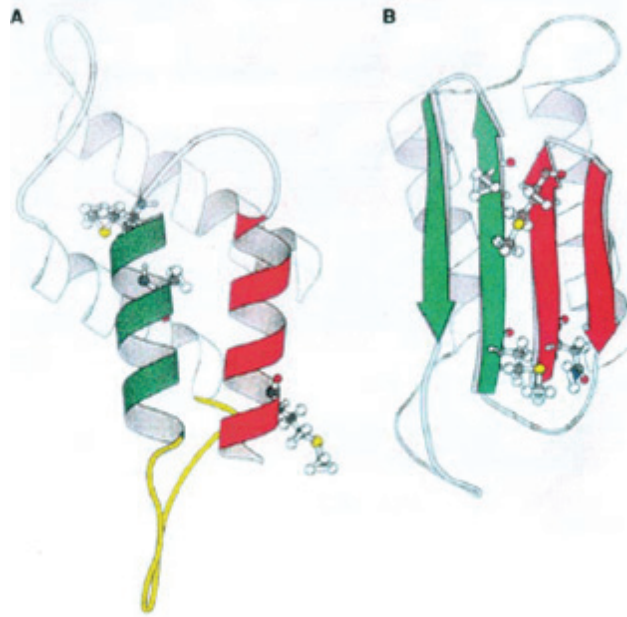
Ще одним випадком проявлення власно цитоплазматичного спадкування є цитодукція. **Цитодукція** – це незалежне перенесення цитоплазматичних спадкових факторів при паруванні клітин дріжджів. При цьому спостерігається, хоч і короткочасно, стадія гетерокаріону, коли в клітині зі змішаною цитоплазмою співіснують одночасно два гаплоїдні ядра батьків. У 99% зигот ядра згодом зливаються, але в 1% зигот каріогамії не відбувається, і вони відбруньковують гаплоїдні клітини зі змішаною цитоплазмою та ядром того чи іншого батька. Такі клітини, що відгалужуються, називають **цитодуктантами**.



**Рис. 6.4.** – Спадкування напрямку закручування черепашки в ставковика (за С.Г.Інге-Вечтомовим, 1989)

Застосовуючи цитодукцію, доводять цитоплазматичну локалізацію дволанцюгової РНК – вірусоподібного детермінанта вбиваючої активності, виявленого в деяких штамів дріжджів-сахароміцетів. Такі дріжджі при спільному вирощуванні вбивають клітини чутливих штамів.

Пріонний механізм спадкування є яскравим прикладом власно цитоплазматичної спадковості. **Пріони** – інфекційні агенти білкової природи, які спричиняють смертельні нейродегенеративні захворювання в тварин і людини. Це неправильно згорнуті молекули пріонного білка, здатні до «розмноження», перетворюючи нормальні молекули в подібні до себе (рис. 6.6).



**Рис. 6.6.** – Схема конформаційної зміни клітинного пріонного білка: А – молекула клітинного пріонного білка PrP<sup>C</sup>; В – молекула інфекційного пріонного білка PrP<sup>Sc</sup>

Відкриття білкових інфекційних агентів в кінці ХХ століття лише на перший погляд похитнуло центральну догму молекулярної біології: потік інформації в живих організмах може відбуватися між нуклеїновими кислотами та від нуклеїнових кислот до білків, але не може проходити від білків до нуклеїнових кислот. Насправді ж пріони не здатні до самостійної реплікації. Пріонний білок може існувати щонайменше в двох конформаціях: інфекційної і нормальної; їх первинна структура однакова. Потрапляючи в організм, інфекційний білок укладає знову синтезовані гомологічні білки в просторі за своїм планом і подобою. В цьому і проявляється їх інфекційний початок.

У ссавців пріони не передаються у спадок, але в грибів – дріжджів-сахароміцетів і *Podospora anserina* існує явище пріонної (білкової) спадковості.

## 6.5. Спадкування позахромосомних генетичних елементів

У клітині, крім ядра, мітохондрій і пластид, можуть бути присутніми і необов'язкові для неї генетичні елементи – плазмідні, вірусоподібні частки, ендосимбіонти (бактерії або одноклітинні водорості, наприклад, хлорела). Якщо їх присутність супроводжується відмінностями фенотипу порівняно із звичайною клітиною або організмом, то під час гібридологічного аналізу

можна простежити спадкування цих відмінностей, отже, спадкування самого генетичного елемента. В якості прикладу можна навести взаємодію інфузорій *Paramecium* і специфічних генетичних агентів – *капа-часток*. Інфузорії, заражені капа-частками, фенотипно відрізняються від звичайних особин. Наприклад, у *Paramecium aurelia* існують лінії-вбивці, що виділяють токсин парамецин, нешкідливий для них самих, але смертельний для інших інфузорій. У цитоплазмі парамецій-вбивць виявлені капа-частинки – бактерії *Caudobacter taeniospiralis* (їх можна культивувати на штучному середовищі, поза клітин інфузорій) (**рис.6.5**).



**Рис. 6.5.** – Капа-частка парамецій; містить ДНК, РНК, білки, ліпіди, електрон-транспортну систему з цитохромами, подібну бактеріальним. Частина вбиває парамецій, які не містять подібну частку. Фото свідчить, що це бактерія. Здатність вбивати інших парамецій пов'язана з утворенням токсину. При наявності ендосимбіонта в клітинах парамецій він стає стійким до токсину

Зазвичай капа-частинки не передаються під час кон'югації, оскільки при цьому відбувається обмін ядрами, а не цитоплазмою. Однак при затримці кон'югації, коли може передаватися і цитоплазма, капа-частинки здатні переходити до чутливих партнерів. Встановлено, що збереження капа-часток у цитоплазмі та стійкість до парамецину залежить від домінантного стану трьох ядерних генів.

Поява деяких ознак або, навпаки, пригнічення їх проявлення може бути пов'язані з присутністю в клітині вірусів, транспозонів (генетичних елементів, здатних змінювати свою локалізацію в геномі), епісом (у разі бактеріальної клітини) та інших екстрахромосомних генетичних елементів. Незалежно від їх природи такі елементи завжди передаються від батьківських клітин дочірнім.

## ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ

1. Які існують докази цитоплазматичної спадковості?
2. Яке біологічне значення цитоплазматичної спадковості?
3. Що таке нехромосомне спадкування?
4. Визначте поняття «плазмон», «плазмогени», «хондріом», «пластидом».
5. Наведіть критерії не хромосомного спадкування.
6. Порівняйте властивості гетерозиготного та гетероплазматичного стану. В чому подібність і відмінність?
7. Що таке цитоплазматична чоловіча стерильність? Наведіть практичне використання цього явища.
8. У рослин чоловіча стерильність може бути обумовлена ядерними генами, цитоплазматичними органелами, взаємодією ядра та цитоплазми. Наведіть схеми спадкування цих ознак у всіх трьох випадках.
9. Дві географічні раси рослин одного виду є плідними тільки в одному з реципрокних схрещувань. Які можливі причини цього явища?
10. Що таке власно цитоплазматичне спадкування? Наведіть приклади.
11. Охарактеризуйте позахромосомні генетичні елементи цитоплазми. Яка їх роль у перенесенні генетичної інформації?
12. Чим відрізняється власно цитоплазматичне спадкування від цитоплазматичного?
13. Які захворювання людини спричинені дефектами мтДНК?
14. Наведіть напрямки практичного використання поліморфізму мтДНК як молекулярного маркера.

---

## СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

---

1. Сиволоб, А.В. Генетика : підручник / А.В. Сиволоб, С.Р. Рушковський, С.С. Кир'яченко та ін.; за ред. А.В.Сиволоба. – К. : Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", 2008. – 320 с.
2. Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции: учебник для студентов высших учебных заведений. СПб: Издательство Н-Л, 2010. – 720 с.
3. Гуттман Б., Гриффитс Э., Сузуки Д., Куллис Т. Генетика. М.: ФАИР-ПРЕСС, 2004. – 448 с.
4. Жимулёв И.Ф. Общая и молекулярная генетика. – Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2003. – 478с.; 2006. – 479с.
5. Клаг У., Каммингс М. Основы генетики. М.: Техносфера, 2007. – 896с.
6. Алиханян С.И., Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика: Учебник для студентов биологических специальностей университетов. – М.: Высшая школа, 1985. – 448с.
7. Новиков Ю.М. Генетика: решение и оформление задач, основные термины, понятия и законы: Учебное пособие. – Томск: Издательство Томского университета, 2006. – 260с.
8. Глазер В.М., Ким А.И., Орлова Н.Н., Удина И.Г., Алтухов Ю.П. Задачи по современной генетике: Учебное пособие. – М.: КДУ, 2005. – 224 с.

*Наукове видання*

**Лановенко О.Г.**

# **ГЕНЕТИКА**

підручник у 2 частинах

## **ЧАСТИНА І ЗАКОНОМІРНОСТІ ТА МЕХАНІЗМИ СПАДКОВОСТІ**

**ISBN 978–617–7573–70–7**

Підписано до друку 08.02.2019. Формат 60х 84/16. Папір офсетний  
Наклад 300 примірників. Гарнітура Century Schoolbook.  
Друк ризографія. Ум. друк. арк. 18,19. Обл.-вид. арк. 19,56.  
Замовлення №1060.

Книжкове видавництво ФОП Вишемирський В.С.  
Свідоцтво про внесення до державного реєстру суб'єктів видавничої  
справи: серія ХС № 48 і  
видано Управлінням у справах преси та інформації  
73000, Україна, м. Херсон, вул. Соборна, 2.  
Тел. (050) 133-10-13, (050) 514-67-88  
e-mail: printvvs@gmail.com