

Семинарское занятие 1
Методы хромосомной инженерии.
Решение задач: мутации в генах и синтез белков.

Цель занятия: Ознакомление с методами хромосомной инженерии.

Хромосомная инженерия описывает технологии, ориентированные на манипулирование с хромосомами, включая создание искусственных хромосом (мини-хромосом) растений и млекопитающих, с целью изменения наследования генетических признаков. В широком понимании хромосомная инженерия – это манипулирование с помощью различных методов с целыми наборами хромосом, индивидуальными хромосомами или сегментами хромосом с целью выполнения научных исследований или улучшения признаков культурных растений. Из этого определения следует, что задачи хромосомной инженерии включают:

1. Кратное увеличение и уменьшение исходного набора хромосом, что соответствует получению полиплоидов и гаплоидов.

2. Изменение числа хромосом в сторону их уменьшения или увеличения (получение анеуплоидов).

3. Межсортовое и чужеродное замещение индивидуальных хромосом у культурных растений.

4. Встраивание сегментов чужеродных хромосом в хромосомы культурных видов растений и манипулирование этими сегментами.

Согласно работам Э. Сирса, понятие хромосомная инженерия представляется более специализированным. Это технологии, оптимизирующие: а) направленный перенос чужеродных хромосом и б) индуцированный перенос сегментов хромосом в геном культурных растений от других видов с целью улучшения признаков культурных растений.

Полиплоиды - это живые организмы, имеющие увеличенное число хромосом по сравнению с гаплоидами. Как естественные, так искусственные полиплоиды образуются двумя путями:

1) увеличением собственного набора хромосом от $2n$ до $3n$, $4n$, $8n$ и т.д. Такие организмы называются автоплоидами;

2) увеличением набора хромосом, полученных от двух различных видов, - так называемые аллоплоиды.

Проведенные до сих пор исследования показали, что обработка точек роста растений колхицином ($C_{22}H_{25}O_6$) и некоторыми другими химическими веществами приводит к удвоению числа хромосом в соматических клетках. Колхицин препятствует формированию нитей ахроматинового веретена в митозе, вследствие чего хромосомы располагаются не в экваториальной плоскости, а по всей клетке. После деления центромер происходит разделение хромосом, но они не могут разойтись к полюсам и остаются в одной клетке. Такая клетка имеет

удвоенный набор хромосом ($4n$) вместо диплоидного ($2n$) и при дальнейшем митотическом делении дает дочерние клетки с числом хромосом $4n$.

При индуцировании полиплоидов у разных видов достигают разного успеха, но лучшие результаты получены:

- у видов с меньшим, а не большим числом хромосом;
- у аллогамных, а не автогамных растений;
- у видов, используемых на зеленую массу, в сравнении с видами, главную хозяйственную ценность которых представляют семена.

Хромосомная инженерия. Замещение (замены) отдельных хромосом у растений или добавления новых. У диплоидного организма имеются пары гомологичных хромосом (дисомик). Если в паре хромосом остается 1 → моносомик. $2+3$ → трисомик, нет → одной пары гомологичных хромосом нуллисомик. Такие манипуляции с хромосомами дают возможность заменять одну или обе гомологичные хромосомы, одного сорта (вида) на ту же пару хромосом, но из другого сорта (близкородственного вида). Полученные таким путем формы называются замещенными линиями. Другой методический прием состоит во введении (внедрении) в геном дополнительной пары хромосом другого вида растений, которые определяют развитие признака, отсутствующего у первого вида → дополненные линии.

Контрольные вопросы:

1. Хромосомная инженерия: цель и задачи.
2. Методы хромосомной инженерии.
3. Полиплоиды, индуцирование полиплоидов.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы: Қазақ ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.]- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.

Семинарское занятие 2

Хромосомные аномалии. Мутации в хромосомах: количественная и структурная изменчивость.

Цель занятия – ознакомление студентов с хромосомными аномалиями.

Хромосомные аномалии - наследственные заболевания, обусловленные изменением числа или структуры хромосом. Наиболее часто из них встречается трисомия 21-й хромосомы - синдром Дауна. Это врожденное заболевание диагностируется у 1 из 700 младенцев. Такие дети отстают в умственном развитии, имеют специфические внешние признаки, характерные черты лица и подвержены системным заболеваниям больше, нежели здоровые дети. Второй по распространенности аномалией является трисомия 13-й и 18-й хромосом – эти отклонения намного серьезней синдрома Дауна, и очень часто такие дети не выживают. Дети, рожденные с трисомией 13 – синдром Патау и трисомией 18 - синдром Эдвардса страдают серьезными физическими и умственными отклонениями. Каждый ребенок имеет выраженный внешний дефект развития, и живут они не больше года. Встречаются также аномалии половых хромосом – синдром Тернера, трисомия по X-хромосоме, синдром Клайнфельтера и дисомия по Y- хромосоме. Всего изучено и описано более 300 хромосомных синдромов.

Почему возникают хромосомные аномалии? Это - своеобразная биологическая плата за разнообразие вида. Хромосомные аномалии обычно возникают в результате ошибок при делении половых клеток во время мейоза или митоза. Если мейоз не происходит должным образом, то яйцеклетка или сперматозоид могут оказаться со слишком большим или, наоборот, недостаточным количеством хромосом. После оплодотворения, ребенок может затем иметь дополнительную хромосому (так называемая *трисомия*), или отсутствующую хромосому (*моносомия*).

Анеуплоидия. При анеуплоидии происходит изменение числа хромосом в кариотипе, при котором общее число хромосом не кратно гаплоидному хромосомному набору n . В случае утраты одной хромосомы из пары гомологичных хромосом мутантов называют *моносомиками*, В случае одной дополнительной хромосомы мутантов с тремя гомологичными хромосомами называют *трисомиками*, в случае утраты одной пары гомологов — *нуллисомиками*.

Контрольные вопросы:

1. Анеуплоидия.
2. Дисомии, моносомии, трисомии, нуллисомии.
3. Автоплоиды. Аллоплоиды.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы:

Қазак ун-ті, 2006.- 237, [1] с.

2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).

3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.

4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.]- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.

Семинарское занятие 3

Центромерные и теломерные участки хромосом.

Строение центромеры и теломеры. Повторенные последовательности ДНК. Сателлитная ДНК, копии генов.

Цель занятия: Изучение строения хромосом, функций хромосом и видами хромосом.

Что такое хромосомы, сегодня известно почти каждому. Эти ядерные органеллы, в которых локализуются все гены, и составляют кариотип данного вида. Под микроскопом хромосомы выглядят как однородные, вытянутые темные палочкообразные структуры. Однако есть два свойства, характерные для хромосом всех видов. Первое - наличие обязательного сжатия (или перетяжки), расположенного или посередине, или смещенного к одному из концов хромосомы, получившего название –центромерал. Второе - присутствие на каждом конце хромосомы специализированной структуры - теломеры (рис.1). Различные гены, расположенные вдоль плеч (частей хромосомы от центромеры до физического конца) хромосом, вместе с регуляторными последовательностями ДНК ответственны за выполнение разнообразных функций. Это и обеспечивает уникальность генетической информации, закодированной в каждом плече каждой отдельной хромосомы.

Центромерные и теломерные районы занимают особое положение, ибо выполняют крайне важные, но одни и те же функции в хромосомах всех видов эукариот. Многочисленные исследования пока не дали ясного ответа на вопрос, какие молекулярные структуры ответственны за выполнение этих функций и как они их осуществляют, но очевидный прогресс в этом направлении в последние годы достигнут.

Сателлитная ДНК (англ. Satellite DNA) — характерный компонент эукариотического генома, состоящий из тандемно организованных повторов нуклеотидных последовательностей. Сателлитная ДНК не кодирует белки и локализована в конститутивном гетерохроматине хромосом. Сателлитная

ДНК характерна для теломерных и центромерных областей хромосом. Изначально термином «сателлитная ДНК» обозначали ту часть эукариотического генома, которая отделялась при градиентном ультрацентрифугировании и, следовательно, по плотности и по содержанию пар АТ/ГЦ должна была отличаться от основной массы ДНК. Этот термин является техническим обозначением физико-химических свойств означенных фракций, а не отражением их биологических свойств. В дальнейшем выяснилось, что гены рибосомной РНК, митохондриальные и хлоропластные ДНК могут образовывать отдельные сателлитоподобные пики в градиенте. С другой стороны, «истинные» сателлиты с ГЦ-составом, идентичным с основной ДНК, невозможно отделить от основной массы ДНК, и они обнаруживаются как «скрытые» сателлиты. Следует четко разграничить термины «сателлитная ДНК» и минисателлитные и микросателлитные ДНК. Основное различие между ними заключается, во-первых, в том, что мини- и микросателлиты, в отличие от сателлитной ДНК, обнаруживаются в эухроматине, а во-вторых, число копий повторов в мини- и микросателлитах намного меньше по сравнению с сателлитной ДНК. Общим для всех трёх компонентов является наличие тандемно расположенных повторов, а префиксы «мини-» и «микро-» отражают различия в длине повторяющихся единиц. Длина повторяющейся единицы минисателлитных ДНК составляет 10—100 пар нуклеотидов, а микросателлитных — менее 10 пар. Длина повторяющегося мотива сателлитной ДНК не имеет каких-либо ограничений. Она варьирует от 2 до нескольких сотен пар.

Контрольные вопросы:

1. Строение и функции хромосом.
2. Центромерные и теломерные участки хромосом.
3. Строение центромеры и теломеры.
4. Повторенные последовательности ДНК.
5. Сателлитная ДНК, копии генов.

Литература:

5. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы: Қазақ ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
6. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
7. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
8. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-

Семинарское занятие 4

Количественные изменения хромосом: аутополиплоидия, аллополиплоидия.

Цель занятия: ознакомление с количественными изменениями хромосом.

Как известно, все организмы одного биологического вида, несмотря на их возможные различия, имеют одинаковые геномы — характерную видовую совокупность постоянного числа хромосом гаплоидного набора. В то же время могут происходить геномные мутации, связанные с изменением (увеличением или уменьшением) числа хромосом клеточного ядра. Под полиплоидией в широком смысле слова понимают изменение числа хромосом вообще.

Увеличение числа хромосом за счет генома одного биологического вида называют аутополиплоидией, а если изменение числа хромосом происходит при межвидовой гибридизации в результате кратной суммы основных чисел геномов скрещиваемых видов, то ее называют аллополиплоидией (от греческого аллос — другой). При некратном изменении числа хромосом в ядре по отношению к основному их числу в геноме называют анеуплоидией.

Увеличение числа хромосом в ядре приводит к увеличению объема клеток и до оптимального уровня ploидности увеличивается размер растений и его органов. Лучше реагируют на удвоение числа хромосом виды, у которых небольшое число хромосом (например, рожь), а для некоторых видов (сахарная свекла, арбуз) оптимальным уровнем ploидности является триплоидный уровень. Но триплоиды стерильны, чем затрудняется их семеноводство.

При скрещивании двух разных видов или родов обычно получается бесплодное потомство, поскольку у них вследствие неродственных геномов конъюгация хромосом нормально проходить не может, и образуются нежизнеспособные гаметы. Следует обратить внимание на работы Г. Д. Карпеченко по отдаленной гибридизации, которые раскрыли механизм восстановления плодовитости межродовых гибридов путем удвоения (полиплоидизации) их хромосомного комплекса.

Анеуплоидные организмы происходят от гамет с измененным количеством хромосом. Среди таких анеуплоидных организмов могут быть: тетрасомики, у которых одна из хромосом генома представлена четыре раза и организм имеет на две хромосомы больше по сравнению с диплоидом — $2n1^{*}+2$, трисомики — $2n1^{*}+1$, моносомики — $2n1^{*}-1$, нуллисомики — $2n1^{*}-2$, тогда как нормальный дисомик имеет $2n$. (*- номер гомологичной пары)

хромосом соответствующего кариотипа). Следует заметить, что лишняя хромосома в какой-то гомологичной паре кариотипа менее отрицательно сказывается на организм, чем ее недостаток. Растения нуллисомики, выживают в крайне редких случаях. Все анеуплоиды характеризуются частичной или полной стерильностью.

Гаплоиды — организмы с гаплоидным числом хромосом — п. Гаплоиды развиваются из одной клетки с генотипом гаметы, минуя оплодотворение: из яйцеклетки синергиды, антиподы, пыльцевого зерна или. Гаплоиды, как правило, имеют пониженную жизнеспособность и полную или почти полную стерильность. В генетике и селекции растений гаплоидии придается очень большое значение, поскольку этим путем можно быстро (за 2—3 года) получить гомозиготные диплоидные линии (удвоив число хромосом у гаплоидных растений).

Контрольные вопросы:

1. Понятие о полиплоидии и полиплоидных рядах.
2. Автополиплоиды, методы их получения, использование в селекции.
3. Аллополиплоиды и их роль в селекции.
4. Значение работ Г. Д. Карпеченко по отдаленной гибридизации и восстановлению плодовитости межродовых гибридов.
5. Анеуплоиды и их использование в генетике и селекции.
6. Заболевания человека, вызванные анеуплоидией.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы:Қазақ ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.]- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.
5. <http://cortexmed.ru/articles/spetsializatsiya-tsentra/khromosomnye-narusheniya/>

Семинарское занятие 5

Количественные изменения хромосом. Дупликации, транслокации, делеции и инверсии. Решение задач.

Цель занятия: ознакомление с хромосомными перестройками.

Хромосомные перестройки: транслокации — обменные перестройки

между негомологичными хромосомами; *делеции* — потери участка хромосомы. Например, синдром кошачьего крика связан с делецией короткого плеча 5-й хромосомы. Признаком его служит необычный плач детей, напоминающий мяуканье или крик кошки. Это связано с патологией гортани или голосовых связок. Наиболее типичным, помимо «кошачьего крика», является умственное и физическое недоразвитие, микроцефалия (аномально уменьшенная голова); *инверсии* — повороты участка хромосомы на 180 градусов; *дупликации* — удвоения участка хромосомы.

Изохромосомия — хромосомы с повторяющимся генетическим материалом в обоих плечах. Возникновение кольцевых хромосом — соединение двух концевых делеций в обоих плечах хромосомы.

Контрольные вопросы:

1. Хромосомные нарушения.
2. Хромосомные перестройки.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы: Қазақ ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.].- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.
5. <http://cortexmed.ru/articles/spetsializatsiya-tsentra/khromosomnye-narusheniya/>

Семинарское занятие 6

Перспективы хромосомного конструирования.

Цель занятия: ознакомление студентов с перспективами хромосомного конструирования.

Изменчивость - способность организмов приобретать новые признаки. Изменения фенотипа могут быть связаны либо с влиянием среды на экспрессию генов, либо с изменениями самого генетического материала. В зависимости от этого различают ненаследственную (модификационную) изменчивость и наследственную (генетическую) изменчивость. Изменения происходят как в ядерной, так и в хлоропластной и митохондриальной ДНК, встречаются растения-регенеранты с крупными перестройками генома и с точковыми мутациями.

Ненаследственная (модификационная) изменчивость: затрагивает только фенотип (генотип не изменяется); не передается по наследству; носит приспособительный характер к условиям среды.

В основе модификационной изменчивости лежит то обстоятельство, что наследуется не сам признак, а лишь способность к его развитию. В зависимости от условий среды признак может проявляться в различной степени. Границы варьирования (изменчивости) признака называют нормой реакции. Норма реакции зависит от генов, а условия среды определяют какой вариант в пределах этой нормы реакции реализуется в данном случае.

Наследственная (генотипическая) изменчивость: затрагивает генотип; передается по наследству; носит случайный характер.

Наследственная изменчивость бывает комбинативная и мутационная.
https://www.sfedu.ru/lib1/chem/020101/m2_b_020101.htm

Генетические отклонения наследуются и часто представляют собой проявление уже существующих изменений в клетках экспланта, хотя возможно и возникновение новых мутаций.

Получение гаплоидов in vitro с последующим удвоением хромосом значительно ускоряет получение полностью гомозиготных линий в одном поколении и увеличивает точность и эффективность процесса отбора в селекции растений. Это позволяет: обнаруживать генные взаимодействия, оценку генетической дисперсии и генов количественных признаков и производить генетические манипуляции, а также облегчает исследования в области генетической трансформации и мутагенеза.

Технология удвоенных гаплоидов (дигаплоидов) имеет потенциал для существенного ускорения селекции растений, в связи с тем, что гомозиготные линии доступны для отбора в гибридах первого поколения (F1). Интеграция технологии гаплоидии вместе с другими имеющимися биотехнологическими инструментами, такие как маркерная селекция (MAS), индуцированного мутагенеза и генно-инженерные технологии могут значительно ускорить селекцию сельскохозяйственных культур.

Биотехнологический аспект хромосомной инженерии, используемой для увеличения генетического разнообразия культурных растений, направлен на оптимизацию переноса чужеродного генетического материала в геном культурных растений на основе интрогрессивной гибридизации. В перспективе в качестве векторов для переноса в клетки растений отдельных генов и их комплексов рассматриваются искусственные хромосомы (мини-хромосомы).

Контрольные вопросы:

1. Перспективы хромосомного конструирования.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы: Казак ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.]- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.

Семинарское занятие 7

Современные методы картирования генов, создание геномных библиотек. Метод «прогулки по хромосоме».

Цель занятия – ознакомление студентов с современными методами картирования генов, создания геномных библиотек и методом «прогулки по хромосоме».

Генетическая карта — схема взаимного расположения структурных генов, регуляторных элементов и генетических маркеров, а также относительных расстояний между ними на хромосоме (группе сцепления). Метод построения генетических карт называется генетическим картированием.

Помимо генетических, существуют и другие карты хромосом:

Цитогенетическая карта — пространственное представление порядка взаимного расположения структурных элементов хромосом (например, их дифференциально окрашенных участков на идеограммах) или локусов гибридизации меченых ДНК-зондов (см. Флуоресцентная гибридизация *in situ*).

Физическая карта — представление порядка следования физических маркеров (фрагментов молекулы ДНК), расстояние между которыми

определяется в парах нуклеотидов (п. н.).

Рестрикционная карта — вид физической карты, на которой указан порядок следования и расстояния между сайтами расщепления ДНК-рестриктазами (обычно участок узнавания рестриктазы размером 4—6 п. н.). Маркерами этой карты являются рестрикционные фрагменты (сайты рестрикции).

Конечной целью изучения генома данного организма является интеграция его генетических, цитогенетических и физических карт, а также их привязка к полной геномной последовательности [Chroma — цвет, окраска и soma — тело] — метод анализа протяженных нуклеотидных последовательностей вокруг секвенированных участков генома с использованием «блуждающих» праймеров (см. ... На первом этапе проводят скрининг библиотеки генов с помощью маркерной ДНК, сцепленной с определенным геном.

Прогулка по хромосоме (chromosome walking). «Прогулка» по хромосоме (chromosome walking) [греч. chroma — цвет, окраска и soma — тело] — метод анализа протяженных нуклеотидных последовательностей вокруг секвенированных участков генома с использованием «блуждающих» праймеров (см. Праймер-опосредованная прогулка), который заключается в последовательном отборе клонов, содержащих частично перекрывающиеся фрагменты ДНК из определенного района генома. На первом этапе проводят скрининг библиотеки генов с помощью маркерной ДНК, сцепленной с определенным геном. После нахождения положительных клонов последние сами служат зондами для изоляции других клонов, содержащих перекрывающиеся нуклеотидные последовательности ДНК. Т. обр., каждый раз отобранный фрагмент используется в качестве скринирующего ДНК-зонда для последующего поиска. В результате получают набор клонированных фрагментов ДНК, полностью перекрывающих область поиска гена. Группа подобных клонов носит название «контигов» (см. Контиг). С помощью физического картирования инсерционных ДНК в разных клонах удается точно установить степень перекрывания между соседними фрагментами и соответственно упорядочить положение клонов в контигах. В результате «П.»п.х. с помощью перекрывающихся нуклеотидных последовательностей анализируются неизвестные протяженные участки генома, прилегающие друг к другу. Одним из вариантов метода «П.»п.х. является метод «прыжков по хромосоме» (см. Прыжки по хромосоме). Метод «П.»п.х. был предложен В. Бендером, П. Спирером и Д. Хогнессом в 1979 г.

Любой сегмент локуса *w*, полученный в таком клоне, может быть использован для выделения всего локуса с помощью метода прогулка по хромосоме, который представляет собой усовершенствованный вариант рестрикционного картирования. Он основан на использовании перекрывающихся фрагментов, полученных в результате разрывов генома в одной и той же области. Прогулка по хромосоме . Метод гибридизации полезно использовать, например, для анализа очень протяженного гена. При этом с помощью подходящего зонда из геномной библиотеки ДНК

извлекается первоначально какая-то часть такого гена. Нуклеотидная последовательность этой части гена будет, как правило, длиннее зонда, и ее концы будут перекрываться с другими фрагментами данного гена в этой библиотеке, т. е. будут по крайней мере частично гибридизоваться с ними. Свободные концы этих фрагментов будут гибридизоваться со следующими и т.д., пока весь структурный ген не будет полностью идентифицирован.

Прогулка по хромосоме (chromosome walking or genome w. or overlap hybridization) — метод (техника) выделения для секвенирования (см.) клонов из геномной библиотеки (см.), содержащей фрагменты рестрикции (см.) с перекрывающимися последовательностями. С помощью этого метода можно изолировать ген (обычно последовательность) с неизвестной функцией, для которого нет зонда (см.), но он локализован близко к ранее идентифицированному и клонированному гену. Такой ген используется в качестве зонда для скрининга геномной библиотеки. В результате гибридизации (см.) выделяются перекрывающиеся клоны, содержащие известные соседние последовательности. Затем эти клоны применяются для изоляции др. клонов с прилежащими к ним последовательностями, а выделенные клоны — в качестве зондов для идентификации новых перекрывающихся последовательностей. Многократное повторение этих приемов (прогулки по хромосоме) позволяет в конечном счете изолировать клон, содержащий искомую последовательность (ген). Одним из вариантов указанного метода является метод «прыжков по хромосоме».

Контрольные вопросы:

1. Современные методы картирования генов.
2. Создание геномных библиотек.
3. Метод «прогулки по хромосоме».
4. Типы карт хромосом.
5. Картирование генов. Генетическая карта.

Литература:

1. Шулембаева, К.К. Хромосомная инженерия : учеб. пособие / Алматы: Қазақ ун-ті, 2006.- 237, [1] с.
2. Генетика: учеб. пособие для студентов вузов / [А. А. Жученко и др.]; под ред. А. А. Жученко.- М.: КолосС, 2006.- 479, [1] с.- (Учеб. и учеб. пособия для студентов вузов).
3. Генетические методы в селекции растений / [В.К.Шумный, В.М.Чекуров, К.К.Сидорова и др.]; Отв.ред.В.К.Шумный, К.К.Сидорова; РАН, СО, Ин-т цитологии и генетики.- М.: Наука, 1992.- 291, [5]с.
4. Современное состояние проблем и достижений в области генетики и селекции: материалы междунар. науч. конф., 26-27 марта 2003 г. / М-во образования и науки РК, Ин-т общей генетики и цитологии, КазНУ им. аль-Фараби, Биол. фак.; [Редкол.: Р. И. Берсимбаев (отв. ред.) и др.]- Алматы: КазНУ, 2003.- 199 с.