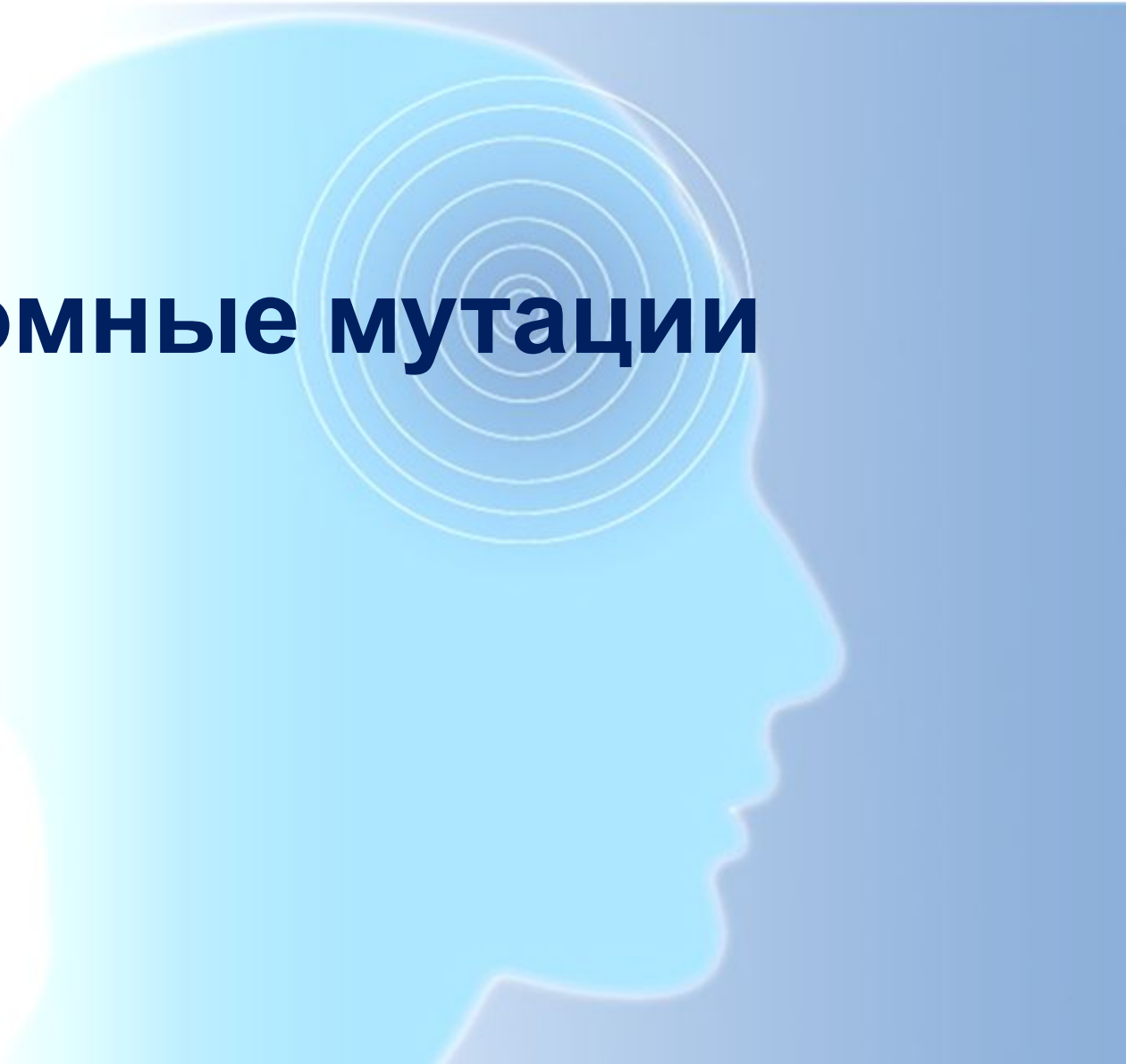
Геномные мутации



- **Геномные мутации** - мутации, которые приводят к добавлению либо утрате одной, нескольких хромосом или полного гаплоидного набора хромосом.

- **Геномные мутации:**

  - полиплоидия ;

  - анеуплоидия (гетероплоидия)

Геномные мутации

- **Полиплоидия – кратное (*гаплоидному- n*) увеличение числа хромосом - образование организмов или клеток, геном которых представлен более чем двумя -3n, 4n, 6n и т. д. наборами хромосом).**
- *Норма:*

  1n – гаплоидия (для половых клеток)

  2n – диплоидия (для соматических клеток)

- *Полиплоидия:*

  2n+ 1n - триплоидия

  2n+2n – тетраплоидия и т.д.

Аллополиплоид - имеются наборы хромосом, полученные при гибридизации от разных видов.

Аутополиплоид - увеличение числа наборов хромосом собственного генома, кратное n.

Полиплоидии- у животных и человека приводит к гибели плода

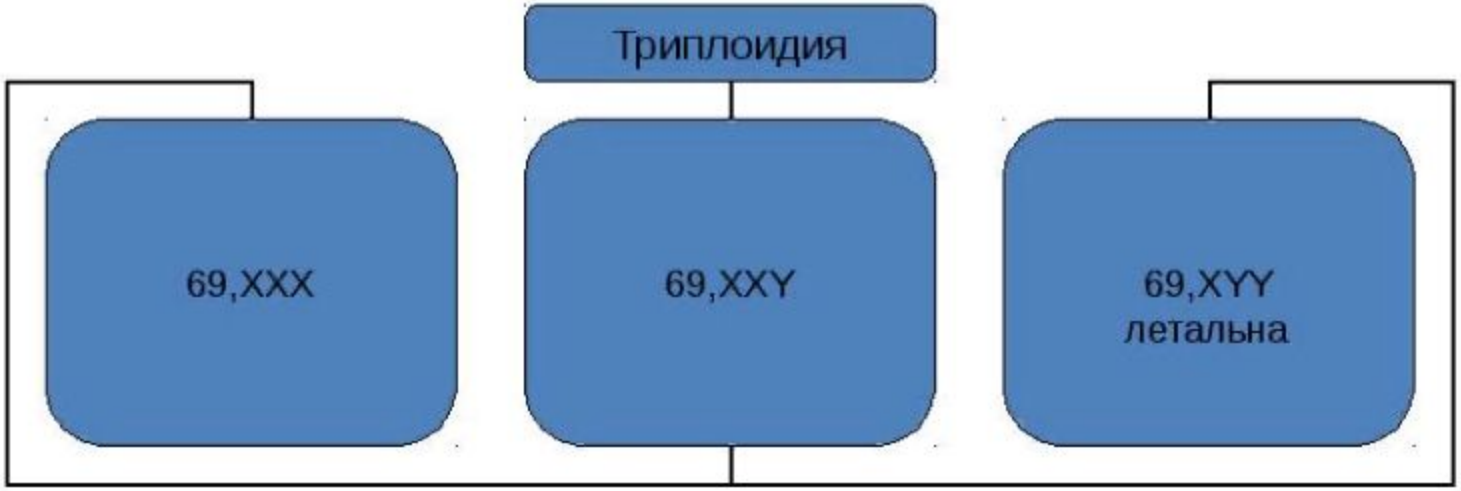
Примеры полиплоидии редки, однако известны как абортивные триплоидные зародыши, так и триплоидные новорождённые (срок их жизни при этом не превышает нескольких дней) и диплоидно-триплоидные мозаики.

Основные клинические проявления триплоидии

- небольшой вес
- широкий задний родничок с недоразвитыми затылочными и теменными костями черепа
- расщелина неба
- синдактилия 3 и 4 пальцев рук
- пороки сердца

Новорожденные с кариотипами 69,XXX (верхний ряд) и 69,XXY (нижний ряд)

Источник: Schinzel A. Catalogue of unbalanced chromosome aberrations in man: Second revised and expanded edition. – Walter de Gruyter: Berlin – New York. 2001. – 966 p.

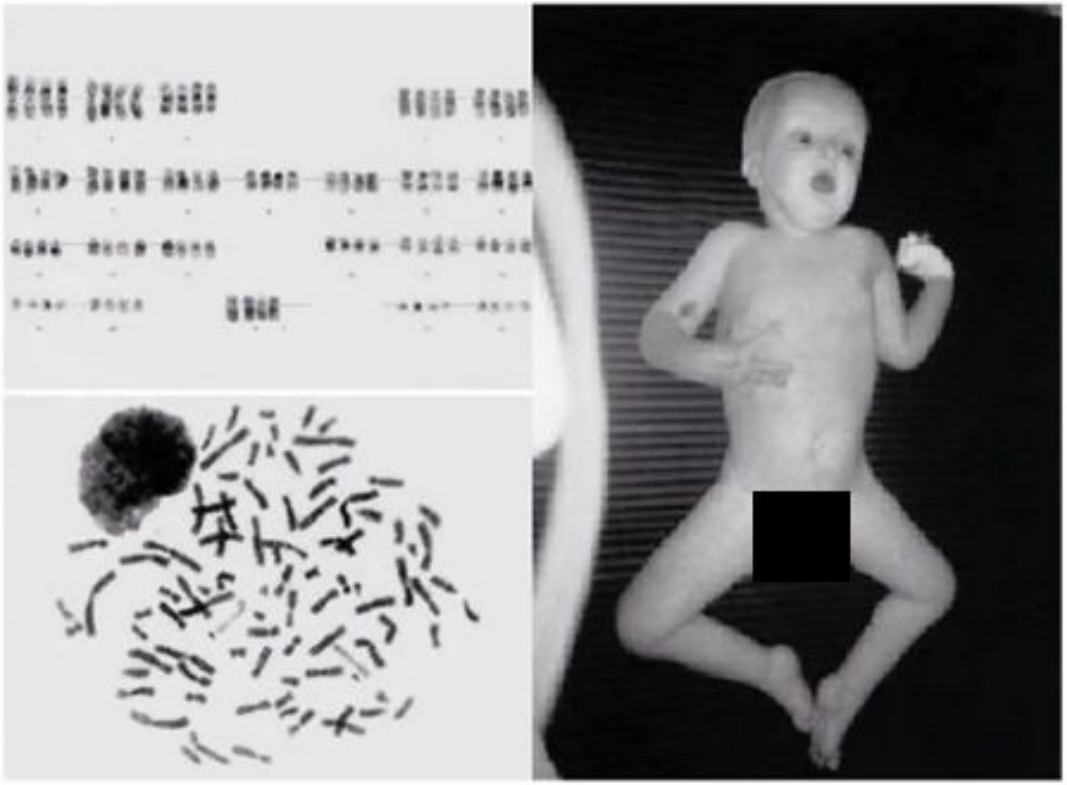


Механизмы формирования триплоидии

- диспермное оплодотворение 50-65%
- слияние диплоидной и гаплоидной гамет 20-35%
- эндорепликация одного из родительских геномов в диплоидной зиготе

Механизмы формирования тетраплоидии

- нарушение цитокинеза при дроблении бластомеров
- слияние двух диплоидных гамет
- оплодотворения яйцеклетки тремя гаплоидными сперматозоидами



Чистый вариант тетраплоидии у пациента в возрасте 26 месяцев

Источник: Guc-Scekic M., Milasin J., Stevanovic M., et al. Tetraploidy in a 26-month-old girl (cytogenetic and molecular studies) // Clin. Genet. 2002. V. 61. P. 62-65.

Геномные мутации

- **Анеуплоидия (гетероплоидия) — изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору.**

  2n+/-k,где k не равно n.

  2n + 1- трисомия

  2n + 2 - тетрасомия

  2n – 1- моносомия

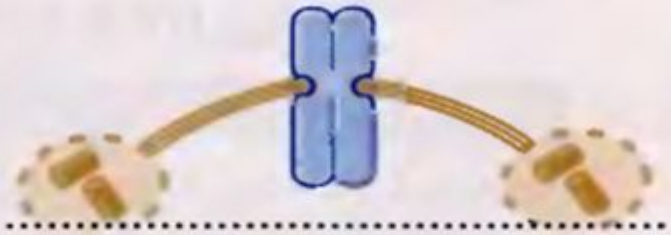
  2n – 2 - нулисомия

Анеуплоидии возникают при нарушениях расхождения хромосом

Типы прикрепления хромосом

ПРАВИЛЬНОЕ ПРИКРЕПЛЕНИЕ

Биориентированное



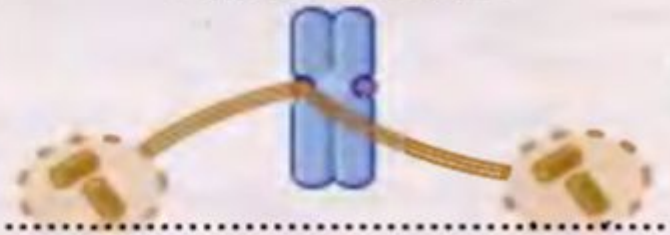
Каждый кинетохор прикреплен к разному полюсу

НЕПРАВИЛЬНОЕ ПРИКРЕПЛЕНИЕ

Синтелическое

Оба кинетохора прикреплены к одному полюсу

Мерателическое



Один кинетохор прикреплен к двум полюсам

Анеуплоидии

- Из всех вариантов анеуплоидий встречаются только:
  - трисомии по аутосомам,
  - полисомии по половым хромосомам (три-, тетра- и пентасомии),
  - из моносомий - только моносомия Х.

Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.

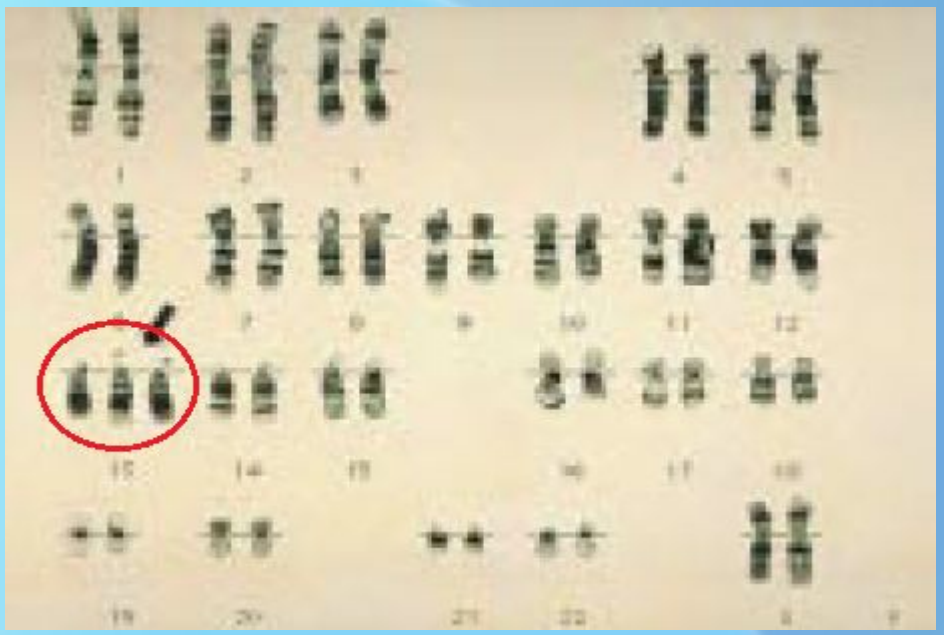
- **Синдром Дауна** — трисомия по 21-й хромосоме (21-я хромосома представлена тремя копиями).
- Кариотип: **47,XX,+21**

Примерное количество генов в хромосомах человека

Chromosome	Total number of gene loci
1	869
2	566
3	490
4	348
5	435
6	564
7	419
8	324
9	326
10	307
11	579
12	476
13	158
14	277
15	263
16	344
17	530
18	137
19	599
20	215
21	119
22	228
X	537
Y	46

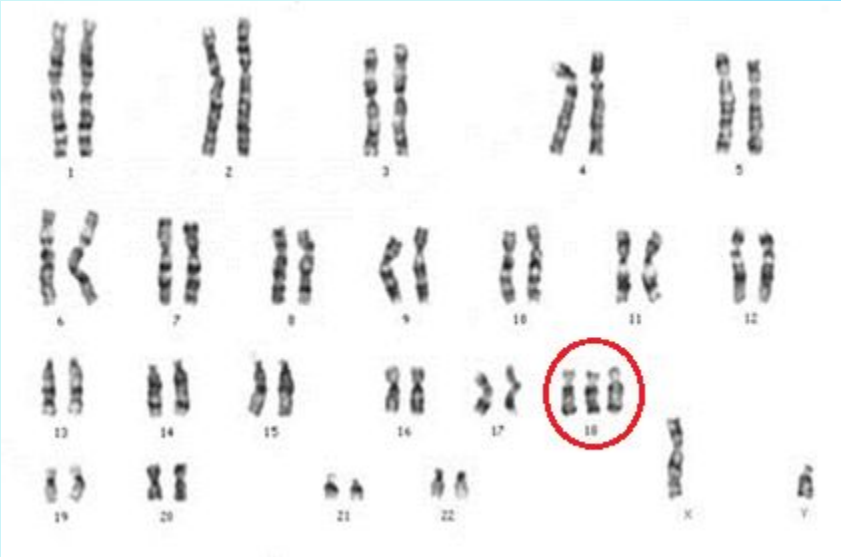
- Чем меньше генов в хромосоме, тем вероятнее, что плод с анеуплоидией доживет до рождения.
- Абсолютное большинство погибает на ранних сроках беременности.

Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.



- **Синдром Патау - трисомия 13** (47, XX, +13)

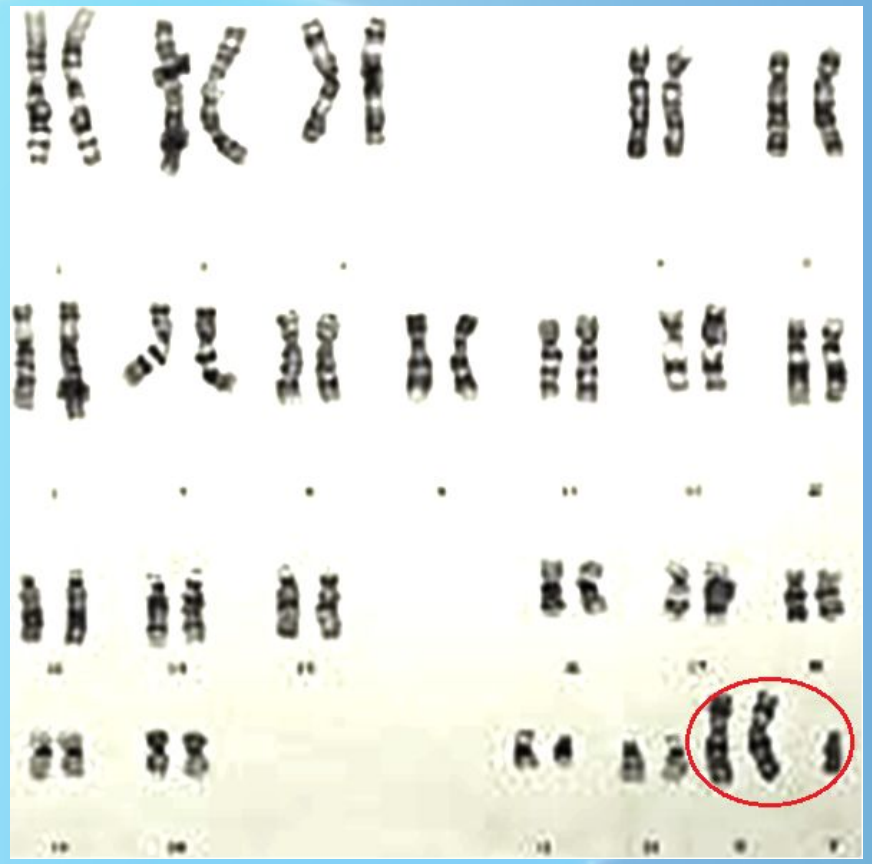
Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.



- **Синдром Эдвардса - трисомия 18** (47,ХУ, +18)

Примеры анеуплоидии у человека. Моносомии.

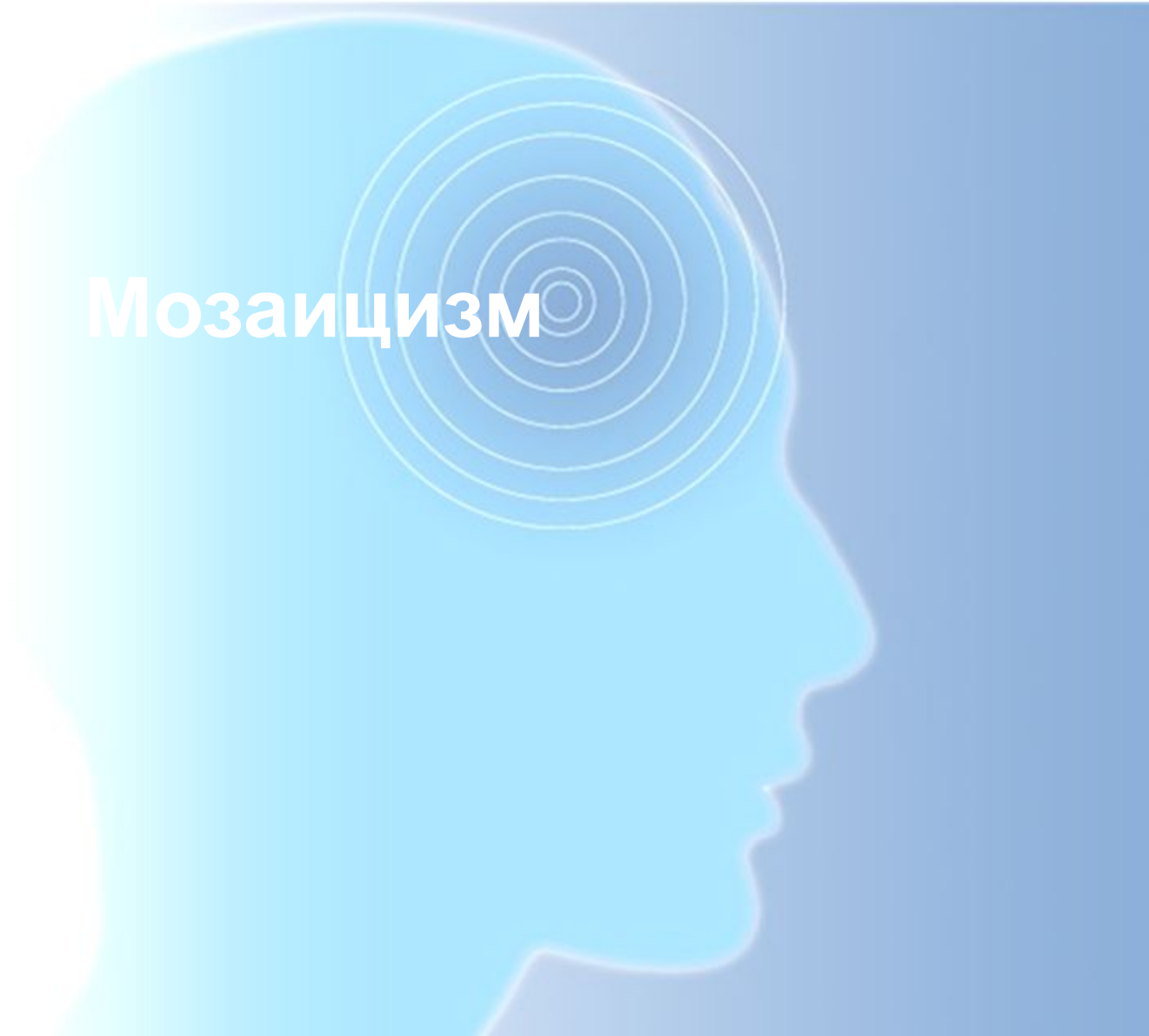
Синдром Клайнфелтера - более одной Х при наличии У.



Цитогенетические варианты:
- дисомия – 47, XXY
- трисомия – 48, XXXY
- тетрасомия – 49, XXXXY

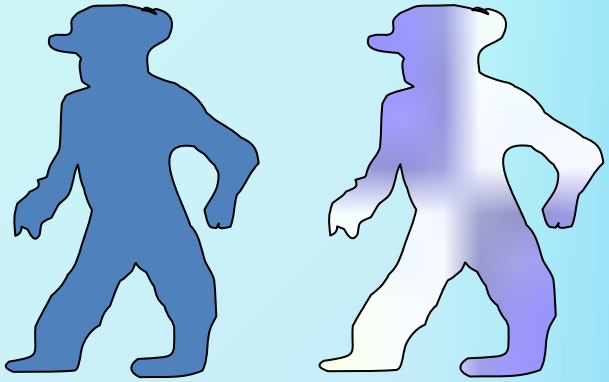
Анеуплоидии по половым хромосомам не приводят к тяжелым нарушениям развития благодаря способности Х хромосомы образовывать тельце Барра

Мозаицизм



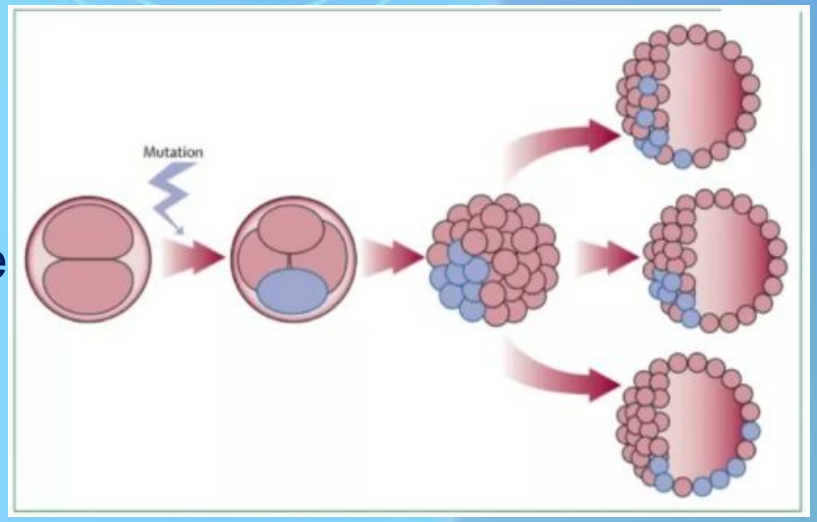
Мозаицизм

- **Мутация в мейозе** дает нарушение во всех клетках потомка (**генеративная мутация**).



- **Мутация в митозе** дает нарушение только в потомстве данной клетки (**соматическая мутация**).

Многоклеточный организм, в структуре которого присутствуют генетически разнородные популяции клеток, произошедшие из общей зиготы, называется мозаик.

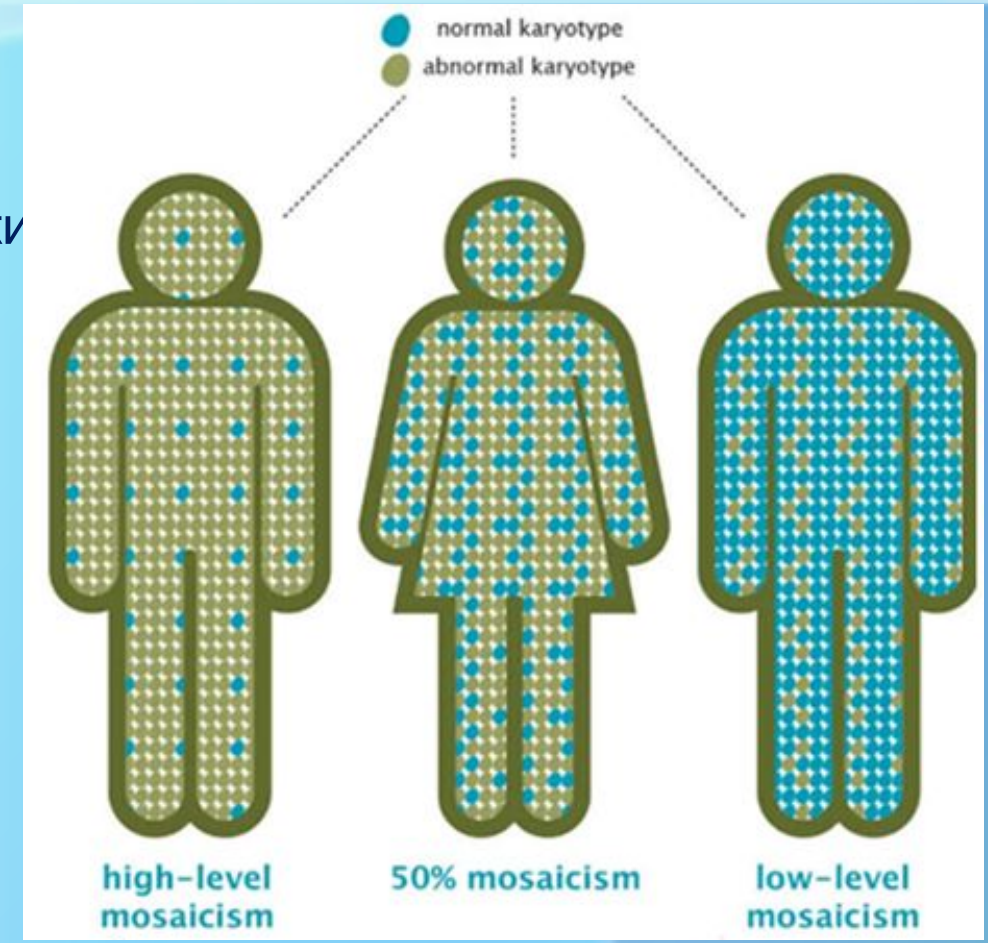


Мозаицизм

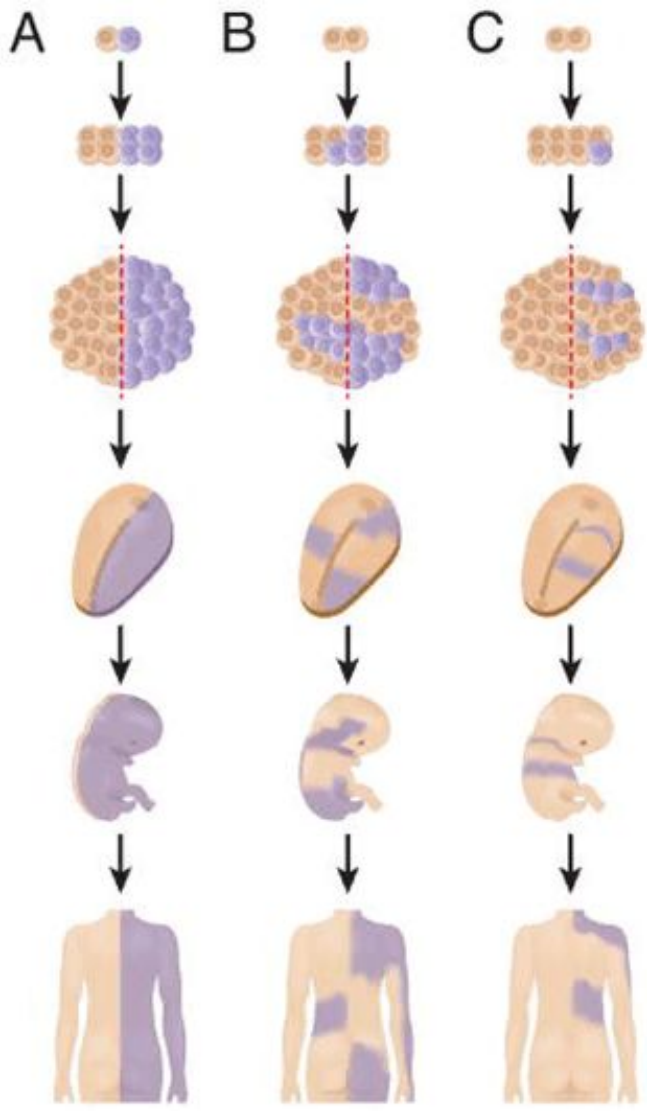
Большая часть мутаций - 3-4 сутки эмбрионального развития.

Примеры записи мозаичных кариотипов:

- *47,ХУ,+21(90%) / 46,ХУ (10%)*
- 47,ХУ,+21(50%) / 46,ХУ (50%)
- 47,ХУ,+21(10%) / 46,ХУ (90%)



Период возникновения постзиготической мутации влияет на распределение мутантных клеток в организме.



A.

Мутации, возникающие во время первого митоза, приводят к поражению примерно половины клеток.

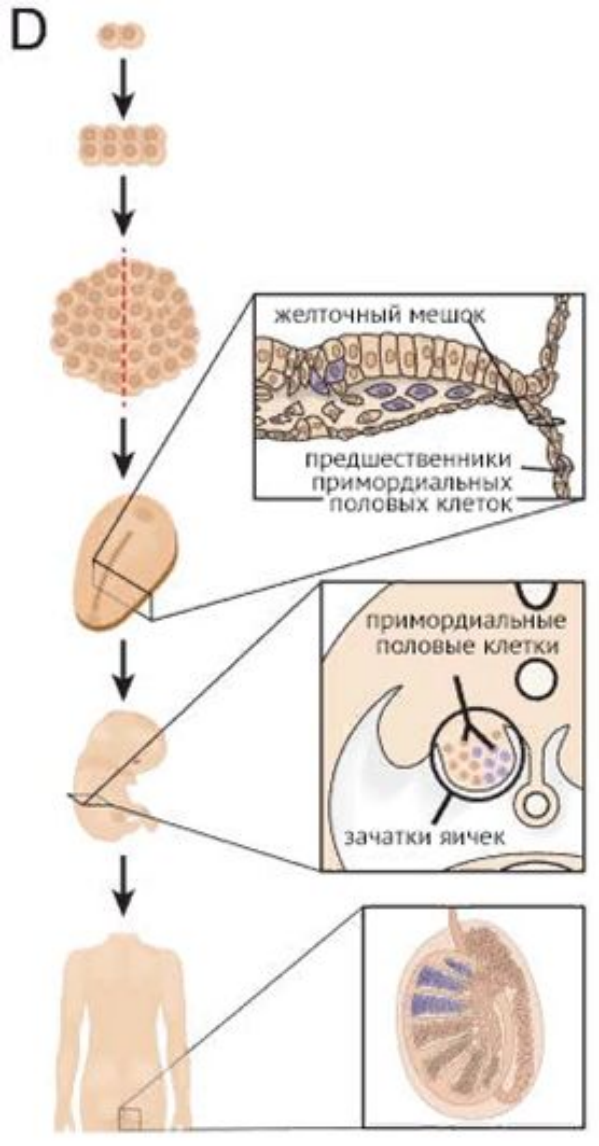
B.

Мутации, возникающие до определения лево-право висцеральной асимметрии, могут затрагивать обе стороны индивидуума.

C.

Мутации, возникающие после дифференциации правой и левой половин организма, могут быть ограничены только одной стороной индивидуума.

Период возникновения постзиготической мутации влияет на распределение мутантных клеток в организме.



D.

Мутации, возникающие после дифференцировки первичных половых клеток, будут отсутствовать в соматических тканях.

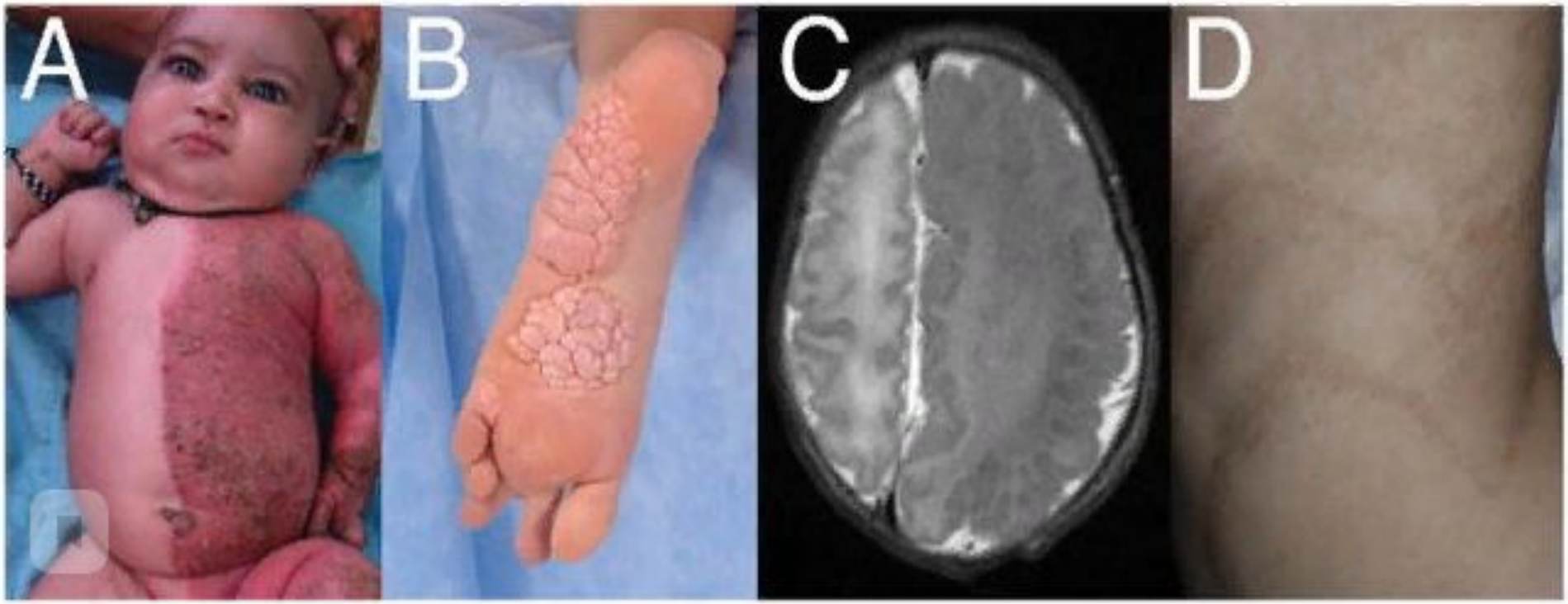
Молекулярные исследования для выявления такого гонадного мозаицизма должны включать непосредственное изучение зародышевых клеток

Период возникновения постзиготической мутации влияет на распределение мутантных клеток в организме.

- Если мозаицизм встречается только в популяции клеток зародышевой линии, индивидуум не будет иметь фенотипических проявлений, но его потомки унаследуют данный признак.

- Если мозаицизм встречается только в популяции соматических клеток, фенотипический эффект будет зависеть от размера популяции мозаичных клеток и сроков возникновения мутаций. Такой признак не будет передан потомству.

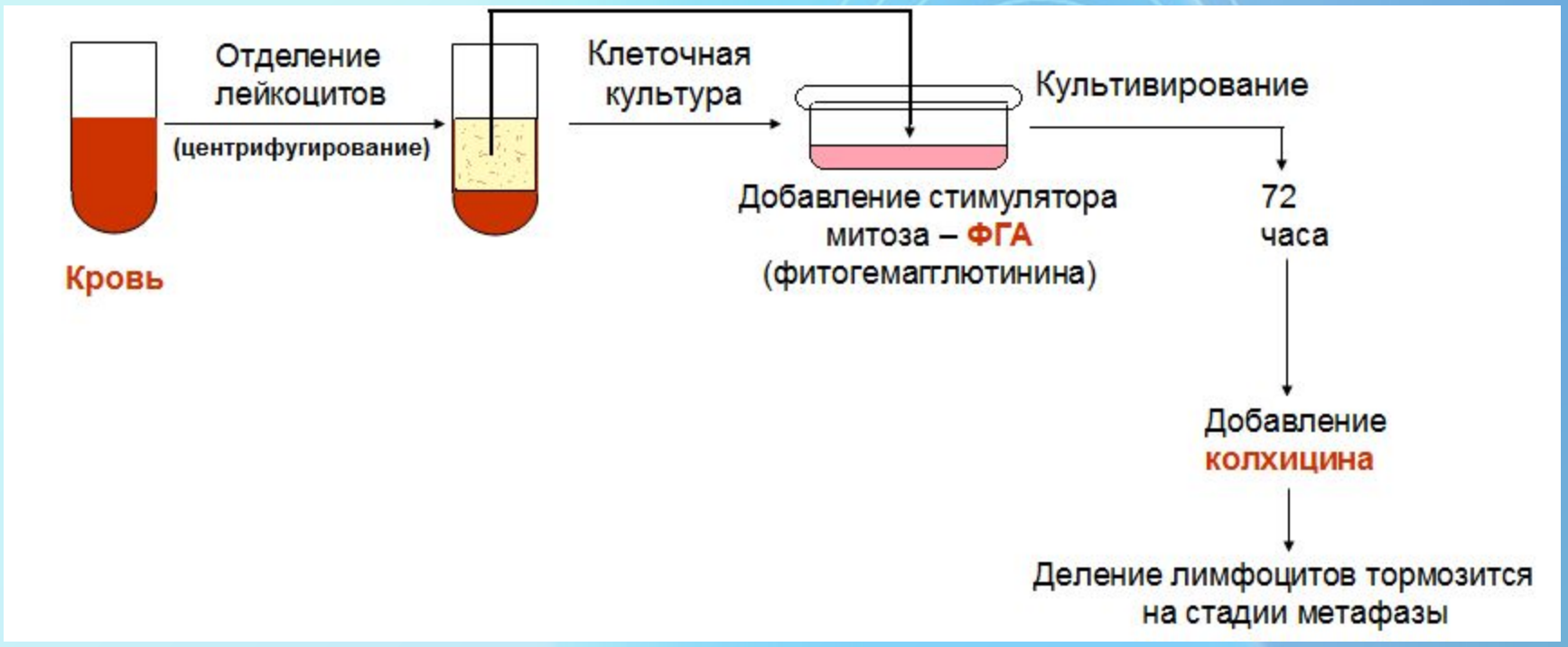
Фенотипические проявления мозаичных мутаций.



Фенотипические различия.

Фенотип при полной и мозаичной форме синдрома Дауна.

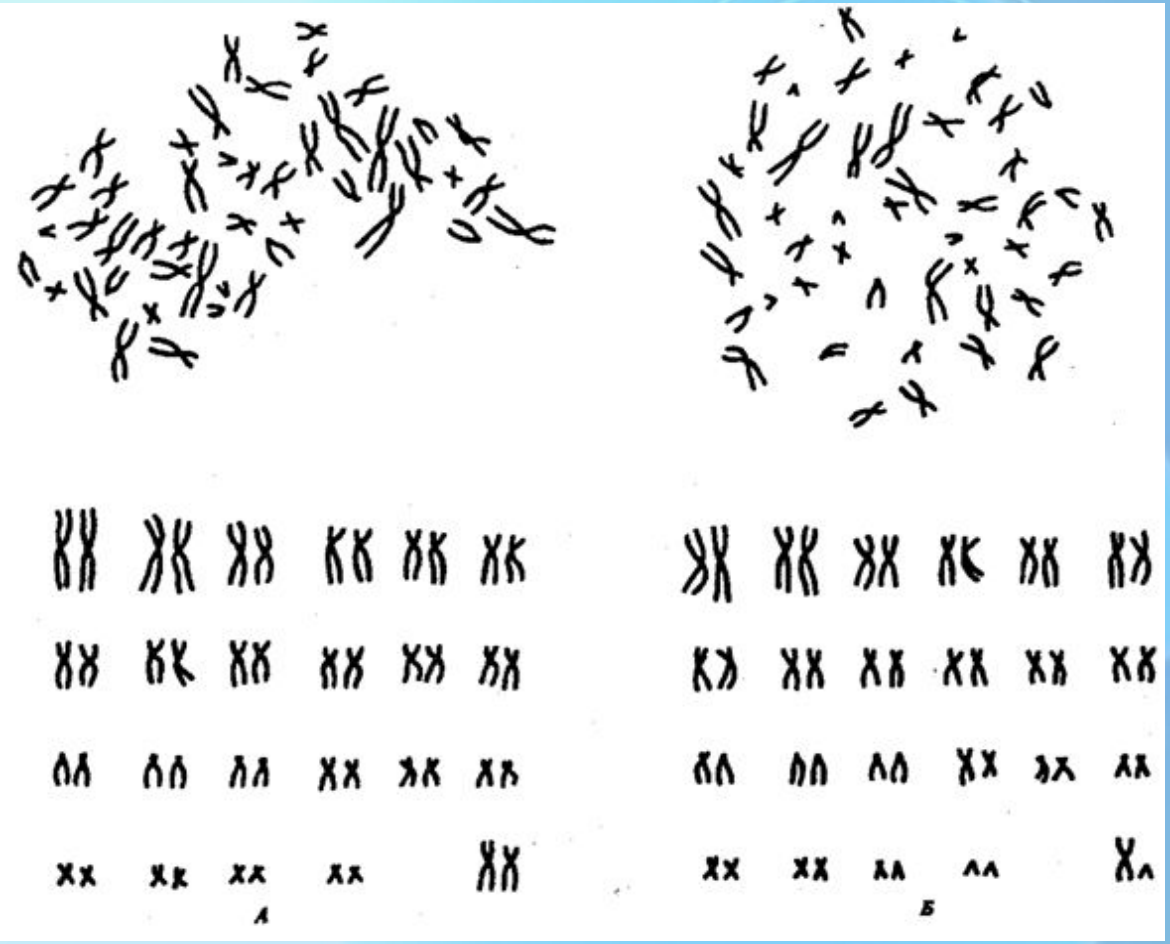
Метафазный анализ



Метафазный анализ

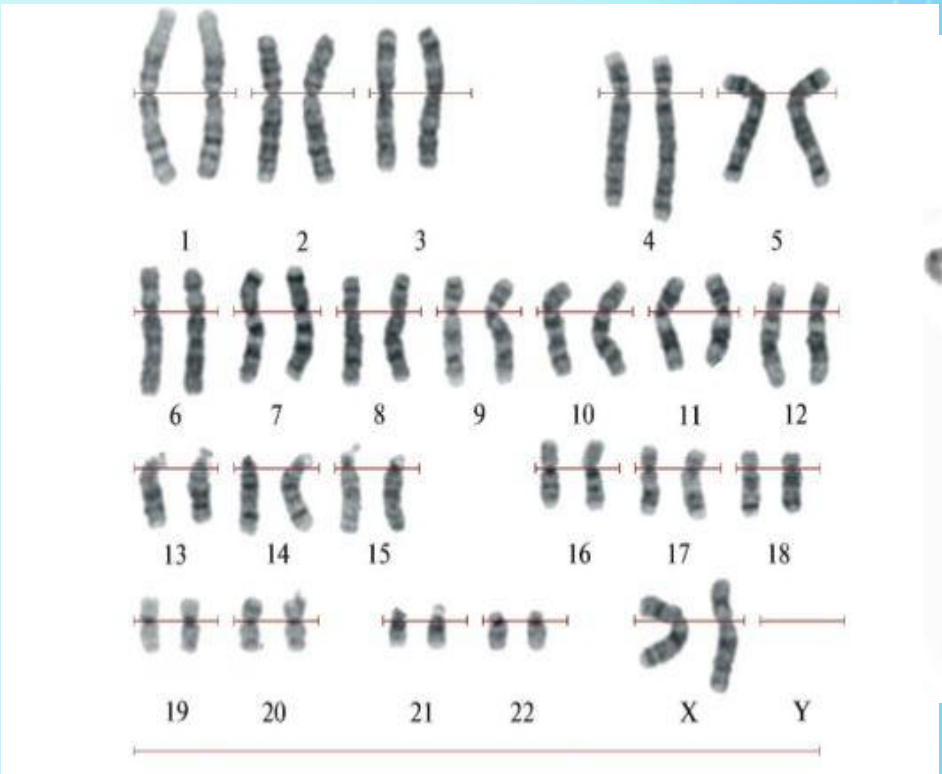
Окраска хромосом.
Рутинная окраска.

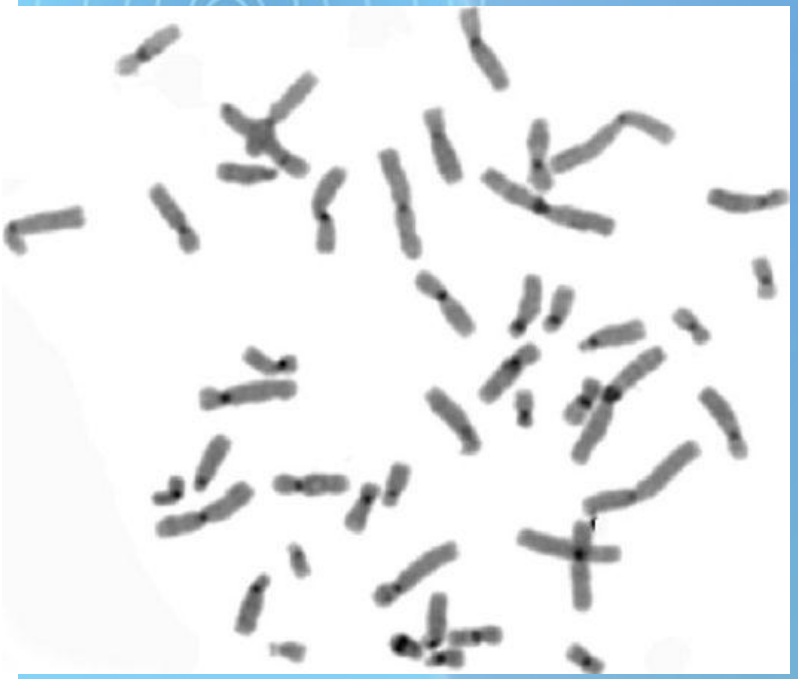
- Рутинная окраска, появилась в 50-х годах XX века.



Окраска хромосом.
Дифференциальное окрашивание.

- Дифференциальная, появилась в конце 60-х годов (G, R, Q и C методы).Парижская конференция закрепила за каждой хромосомой номер, ввела обозначения для мутаций.





Классификация хромосом основанная на дифференциальной окраске (G-окраска).

Группа	Число пар	Номер	Размер	Форма
A	3	1, 2, 3	Крупные	1, 3 — метацентрические, 2 — субметацентрические
B	2	4, 5	Крупные	Субметацентрические
C	7	6, 7, 8, 9, 10, 11, 12	Средние	Субметацентрические
D	3	13, 14, 15	Средние	Акроцентрические, спутничные (вторичная перетяжка в коротком плече)
E	3	16, 17, 18	Мелкие	Субметацентрические
F	2	19, 20	Мелкие	Метацентрические
G	2	21, 22	Мелкие	Акроцентрические, спутничные (вторичная перетяжка в коротком плече)

Практическое задание N 1.

Заполнить рабочую тетрадь.

Рабочая тетрадь к лабораторной работе N 5.

Тема. Анализ кариотипа.

Цель: Изучить типы хромосомных мутаций.

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по теме.

1. **Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций или учебной литературы.**

2. **Заполнить терминологический словарь:**

Хромосома	
Кариотип	
Центромера	
Теломера	
Хромосомные мутации	
Геномные мутации	
Кариотипирование	
Мозаицизм	
Лайонизация Х-хромосомы	
Маркерная хромосома	
FISH	

3. **Распределение хромосом кариотипа человека по группам в соответствии с Денверской классификацией.**

Заполнить таблицу.

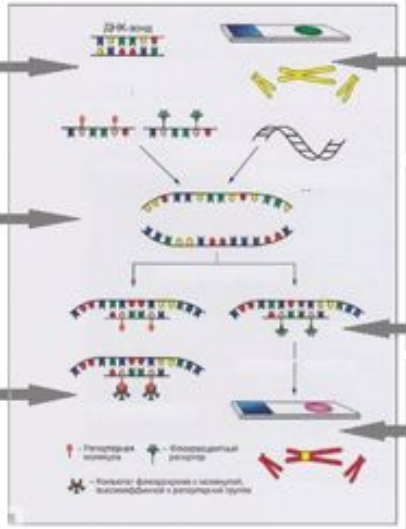
Группа	Число пар	Номер	Морфологический тип хромосом
A			
B			
C			
D			
E			
F			
G			

4. **Стандартное цитогенетическое исследование (метафазный анализ).**

На схеме указать основные этапы культивирования лимфоцитов периферической крови при стандартном кариотипировании.

5. Молекулярно-цитогенетическое исследование. FISH-метод.

На схеме указать основные этапы реакции флюоресцентной in situ гибридизации (FISH).

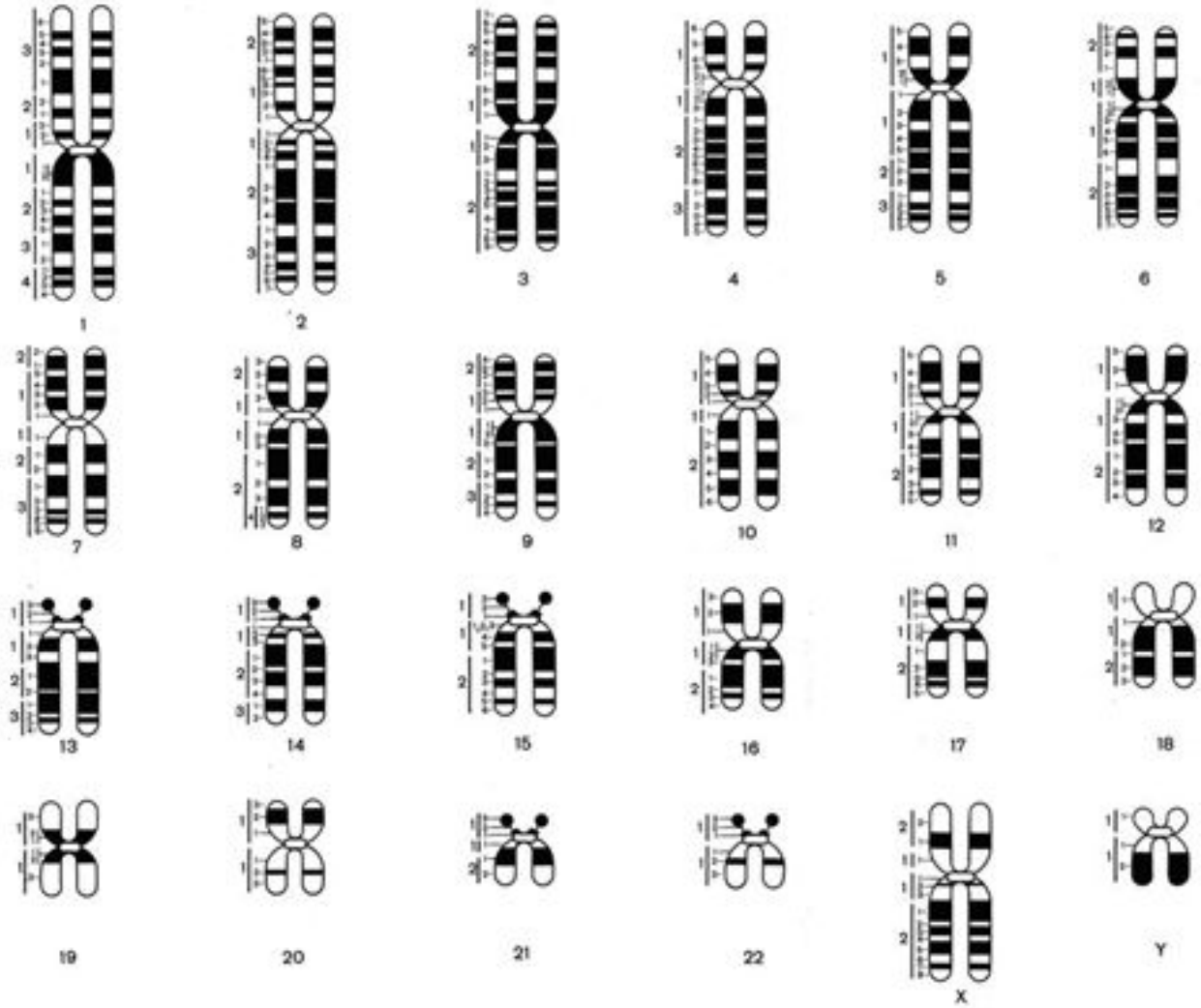


6. Определить тип геномных мутаций.

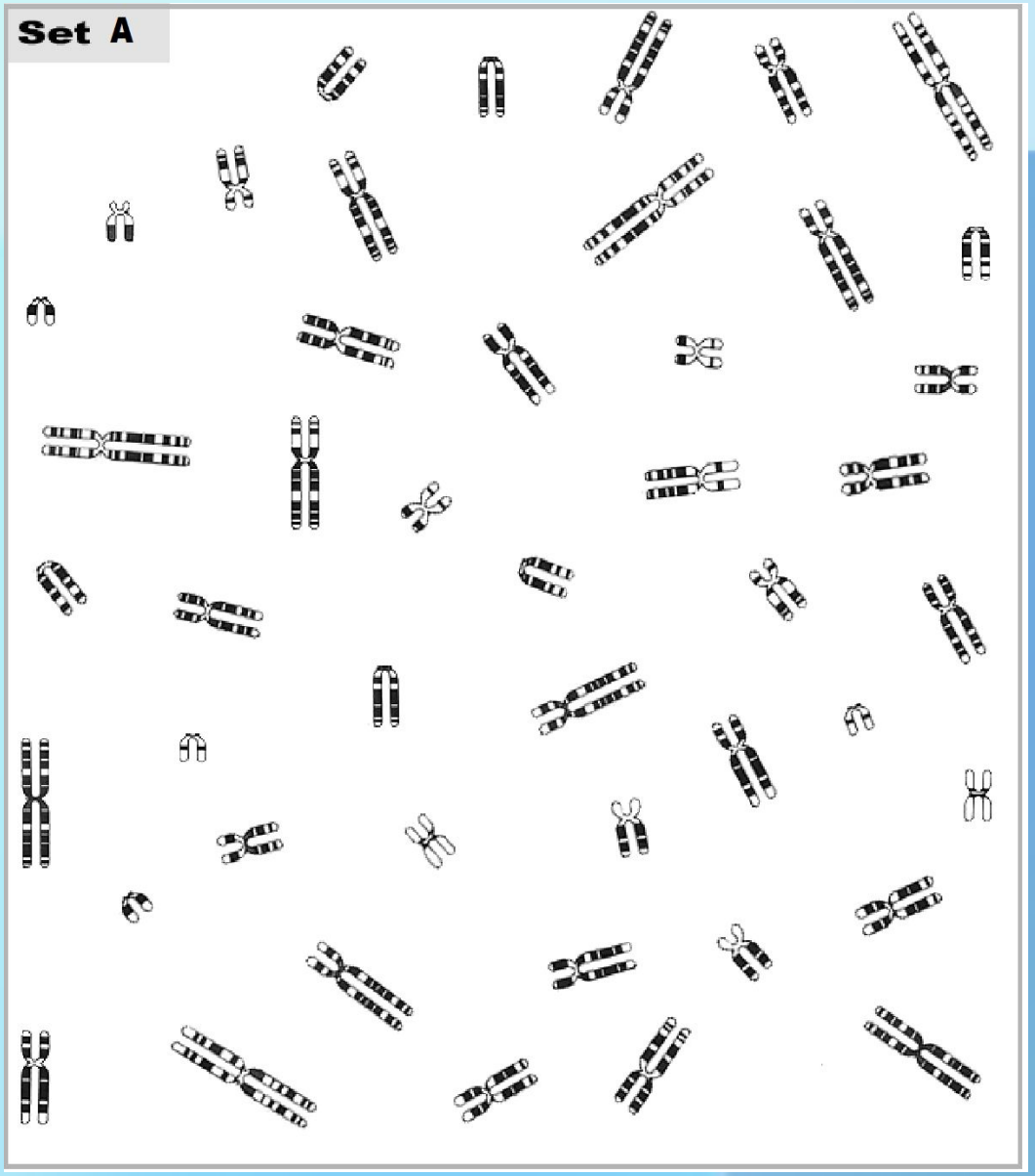
	3n	
	4n	
	(2n-2)	
	(2n-1)	
	(2n+1)	
	(2N+2)	

Практическое задание № 2
Метафазный анализ

Бланк 1.
Нормальный кариотип человека



Бланк «Метафазы»



Set A

Результат цитогенетического исследования

1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	

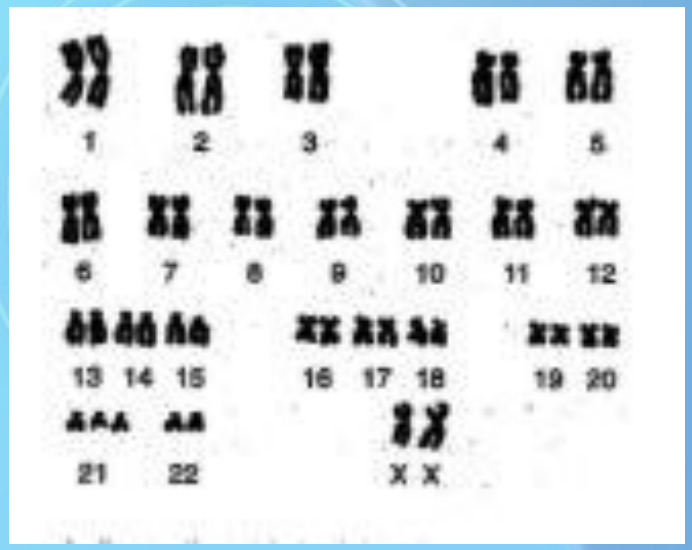
Результат

Кариотип: _____

Выявленные нарушения: _____

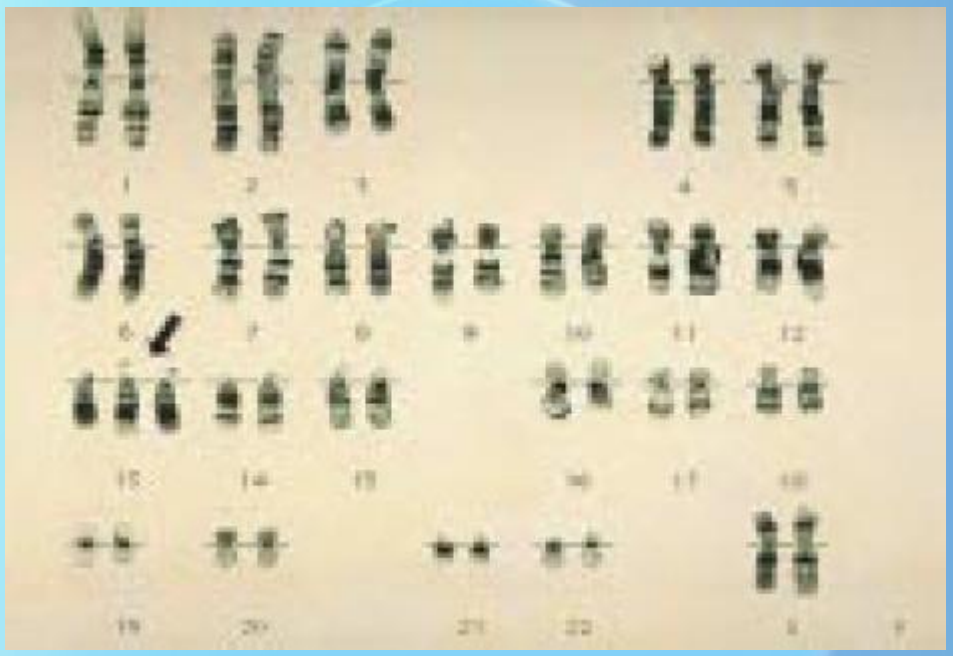
Заключение: _____

Трисомии. Синдром Дауна. Трисомия 21



- 47, XX, +21

Трисомии. Синдром Патау. Трисомия 13



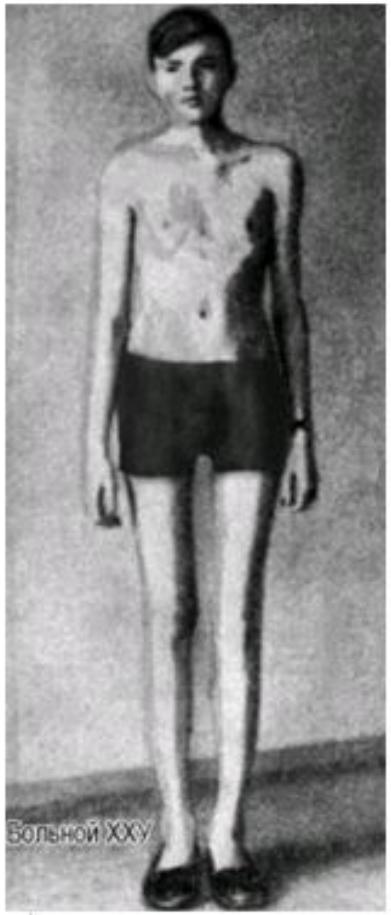
- 47, XX, +13

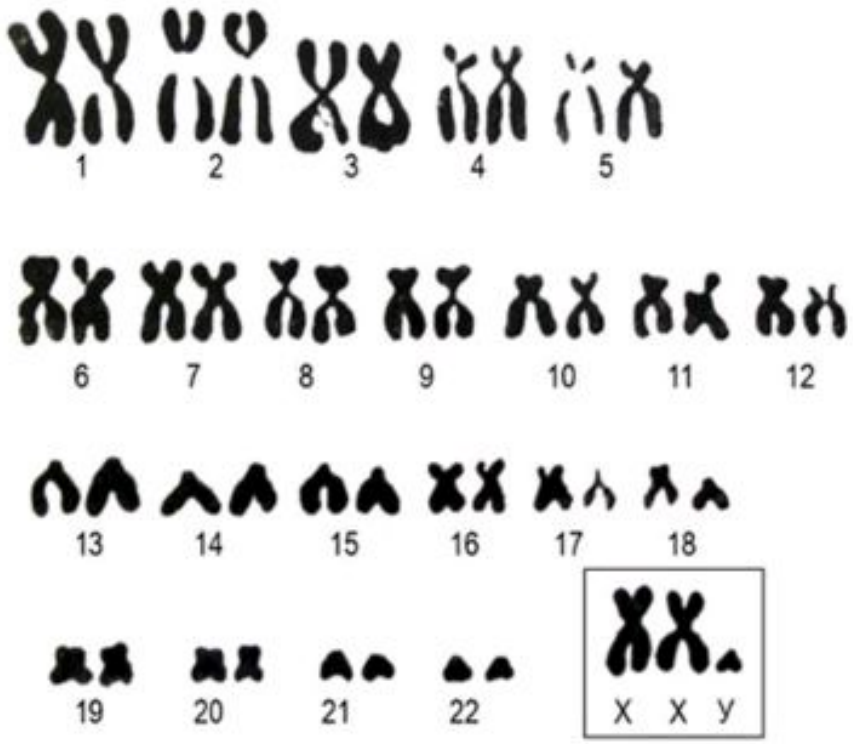
Трисомии. Синдром Эдвардса. Трисомия 18

- 47,Xy, +18

Моносомии. Синдром Шерешевского-Тернера

Синдром Клайнфельтера
(более одной Х при наличии У)





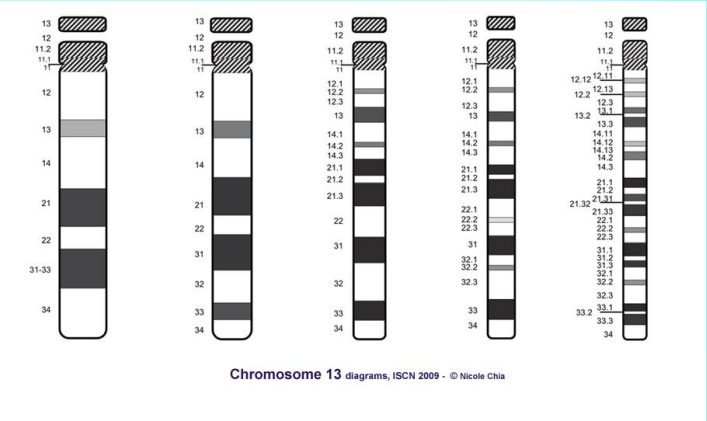
Практическое задание N 3.

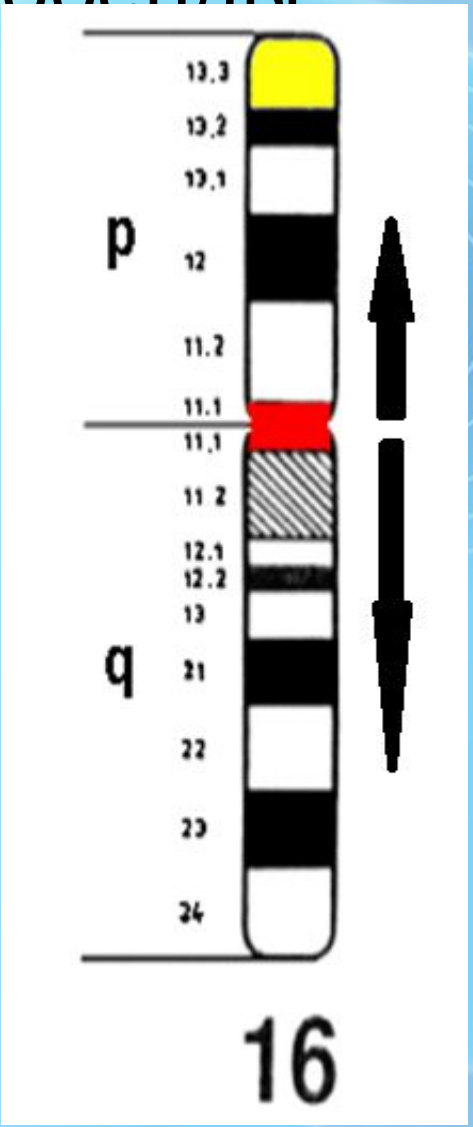
Номенклатура аберраций хромосом.

Современная номенклатура хромосомных мутаций.

p	- короткое плечо хромосомы	cen	- центромера
q	- длинное плечо хромосомы	chr	- хромосома
(+)	- увеличение длины плеча	dn	вновь возникшая хромосомная аномалия (de novo)
(-)	- уменьшение длины плеча	dic	- дицентрик
i	- изохромосома	fra	- ломкий участок (фрагильный)
r	- кольцевая хромосома	mar	- маркерная хромосома
del	- делеция	mos	- мозаик
dup	- дупликация	s	- спутник
ins	- инсерция (вставка)	stk	- спутничная нить
inv	- инверсия	tel	- теломера
(p+q-) или (p-q+)	- перицентрическая инверсия	h	- конституциональный гетерохроматин
t	- транслокация	qter	- конец длинного плеча
rcpt	- реципрокная транслокация	add	дополнительный материал неизвестного происхожд-я
robt	Робертсоновская транслокация	pat	- отцовское происхождение
pter	- конец короткого плеча	mat	- материнское происхождение
ter	терминальный или концевой участок	x	множественные копии перестроенных хромосом
::	- разрыв и соединение	:	- разрыв (без соединения)

Плечи (p-короткое плечо, q –длинное плечо) делят на районы (бенды) и суббенды





- **Нумерация бендов ведется от центромеры (показано стрелками). Короткое плечо вверх от центромеры, длинное – вниз.**

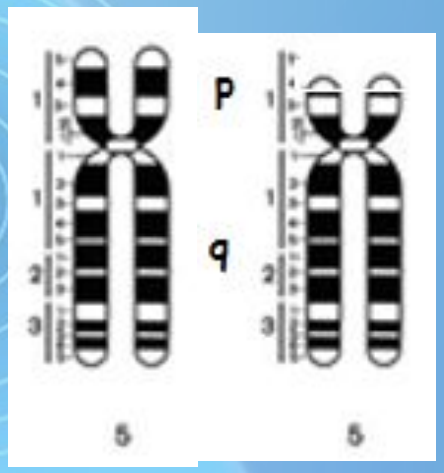
- **Разрешающая способность дифференциальной окраски (количество полос (бэндов)) зависит от степени конденсации хроматина – чем меньше конденсация, тем больше полос визуализируется.**

Номенклатура аберраций хромосом или … как записывается результат хромосомного анализа

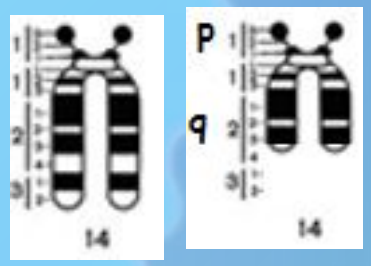
del (deletion) – делеция

Например:

- **46,XX,del (5p)** — женщина 46 хромосомами, с делецией короткого плеча хромосомы 5



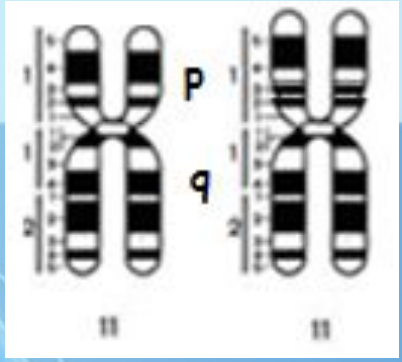
- **46,XX,del(14)(q23)** – женщина с 46 хромосомами, делецией сегмента 23 длинного плеча 14 хромосомы



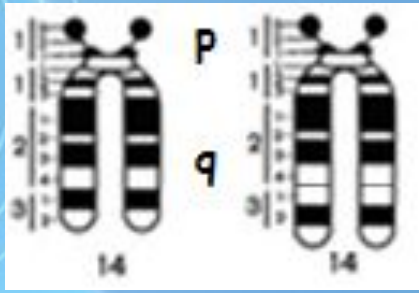
dup (duplication) - дупликация

Например:

- **46,XY,dup(11)(ql2)** — мужчина с 46 хромосомами, с дупликацией сегмента ql2 хромосомы 11



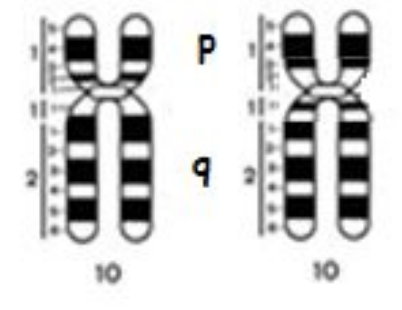
- **46,XY,dup(14)(q22q25)** – мужчина с 46 хромосомами, с дупликацией длинного плеча 14 хромосомы, включающей с 22 по 25 сегменты.



inv (Inversion) - инверсия

Например:

- **46,XY,inv(10)(pl3ql2)** — мужской кариотип, перицентрическая инверсия 10 хромосомы с точками разрыва p13 и ql2



t (translocation) - транслокация

rcp (reciprocal translocation) – реципрокная транслокация

Например:

- **46,XX, t(2;4)(q21;q21)** — женщина с реципрокной транслокацией, включающей длинное плечо хромосомы 2, начиная с сегмента 2q21, и длинное плечо хромосомы 4, начиная с сегмента 4q21.

rob (Robertsonian translocation) – Робертсоновская транслокация

Например:

- **45,XX,rob (14q21q)** — женщина со сбалансированной робертсоновской транслокацией длинных плеч хромосом 14 и 21, или 46,XX,-14,

i или iso (Isochromosome) - изохромосома

Например:

- **46,X,i(Xq)** — женский кариотип, одна из хромосом X представлена изохромосомой по длинному плечу

r (ring chromosome) – кольцевая хромосома

Например:

- 46,XX, г(16) — женщина с кольцевой хромосомой 16

- 46,XX,r(7)(p22q36)

- Female with 46 chromosomes with a 7 chromosome ring. The end of the short arm (p22) has fused to the end of the long arm (q36) forming a circle or 'ring

fra - ломкий сайт

Например: **46, XX, (fra-X)**

Номенклатура аберраций хромосом или … как записывается результат хромосомного анализа

Анеуплоидии

- **полная трисомия/моносомия** (во всех клетках).

Пример:

- **47,XY, +13** – мужской кариотип с 47 хромосомами, трисомия по 13 хромосоме (синдром Патау);
- **47, XX, +21** – женсеий кариотип с 47 хромосомами, трисомия по 21 хромосоме (синдром Дауна)

- **мозаичная форма**

Пример: 50% 46,XX: 25%47,XXX :25%45,X0

Рабочая тетрадь к лабораторной работе N 4.

Тема. Анализ кариотипа.

Цель: Изучить типы хромосомных мутаций.

Задания для самостоятельной внеаудиторной работы студентов по теме.

1. Ознакомиться с теоретическим материалом по теме занятия с использованием конспектов лекций или учебной литературы.

2. Заполнить терминологический словарь:

Хромосома	
Кариотип	
Центромера	
Теломеры	
Хромосомные мутации	
Геномные мутации	
Кариосистематика	
Мозаицизм	
Дейбиосомия Х-хромосомы	
Дицентрик хромосомы	
Маркерная хромосомы	
FISH	

3. Распределение хромосом кариотипа человека по группам в соответствии с Денверской классификацией.
Заполнить таблицу.

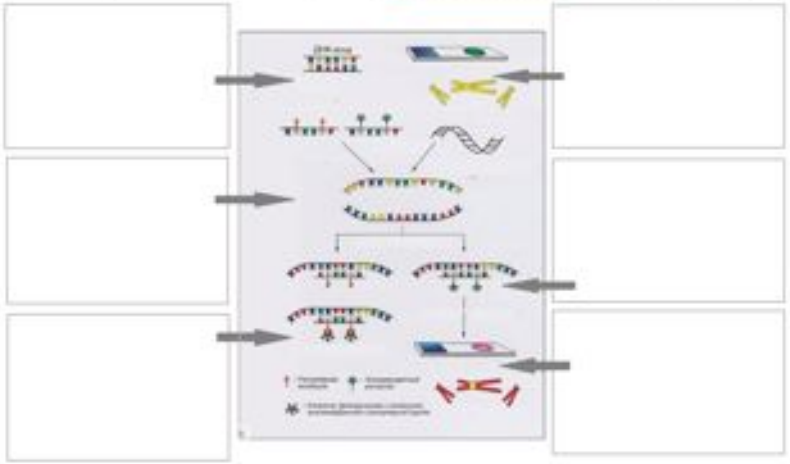
Группа	Число пар	Номер	Морфологический тип хромосом
A			
B			
C			
D			
E			
F			
G			

4. Стандартное цитогенетическое исследование (метафазный анализ).

На схеме указать основные этапы культивирования лимфоцитов периферической крови при стандартном кариотипировании.

5. Молекулярно-цитогенетическое исследование. FISH-метод.

На схеме указать основные этапы реакции флюоресцентной in situ гибридизации (FISH).



6. Определить тип геномных мутаций.

	3n	
	4n	
	(2n-2)	
	(2n-1)	
	(2n+1)	
	(2N+2)	

Работа 7. Определить тип хромосомных мутаций, дать определения.

	Структурные изменения хромосом	Тип хромосомной аберрации (мутации)
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		

Работа 8.

1). Изучить современную номенклатуру хромосомных мутаций.

p		ins	
q		dir	
(+)		de	
(-)		ds	
i		fra	
r		mar	
del		mos	
dup		s	
inv		ab	
inv		bal	
(p+q-) или (p-q+)		h	
t		qter	
cent		add	
cent		ant	
qter		cen	
ter		x	
:: :		der	

2). Используя номенклатуру хромосомных мутаций расшифровать запись кариотипа:

46,XX,del (5p)	
46,XY,dup(11)(q12)	
46,XY,inv(10)(p13q12)	
46,X i(Xq)	
45,XX,rob (14q21q)	
46, XX, (fra-X)	
47,XY, +13	
50%46,XX 25%47,XXX :25%45,XO	
46,XX,r(7)(p22q36)	

3). Используя номенклатуру хромосомных мутаций сделать запись кариотипа:

Женщина с 46 хромосомами, делецией сегмента 23 длинного плеча 14 хромосомы	
Мужчина с 46 хромосомами, с дуплицацией длинного плеча 14 хромосомы, включающей с 22 по 25 сегменты	
Женщина с реципрокной транслокацией, включающей длинное плечо хромосомы 2, начиная с сегмента 2q21, и длинное плечо хромосомы 4, начиная с сегмента 4q21.	
Женщина с кольцевой хромосомой 16	
Женщина с 47 хромосомами, трисомия по 21 хромосоме (синдром Дауна)	