

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.

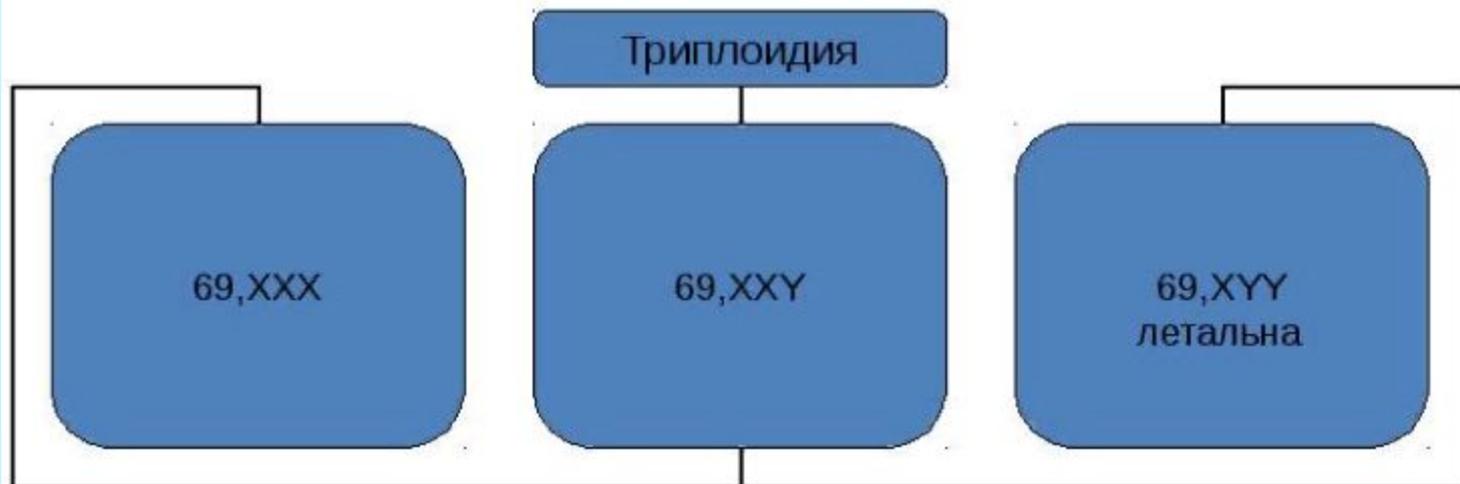
Основные клинические проявления триплоидии

- 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.



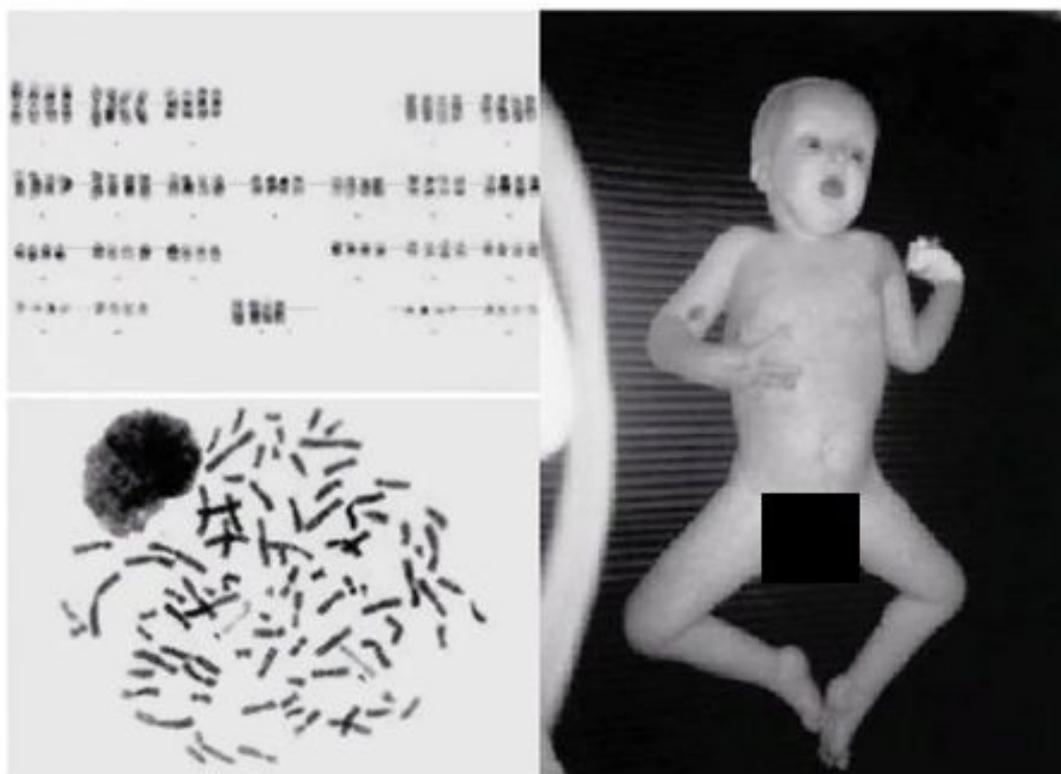
Механизмы формирования триплоидии

- 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: Guo-Soekio M, Milasik 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.

$2n \pm k$, где k не равно n .

$2n + 1$ - трисомия

$2n + 2$ - тетрасомия

$2n - 1$ - моносомия

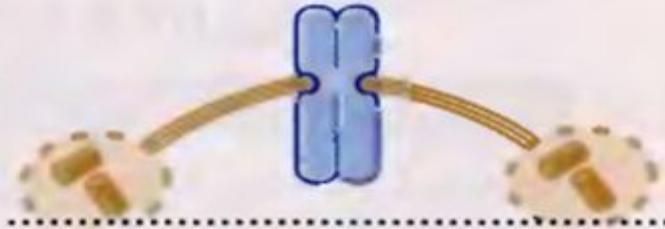
$2n - 2$ - нулисомия

Анеуплоидии возникают при нарушениях расхождения хромосом

Типы прикрепления хромосом

ПРАВИЛЬНОЕ ПРИКРЕПЛЕНИЕ

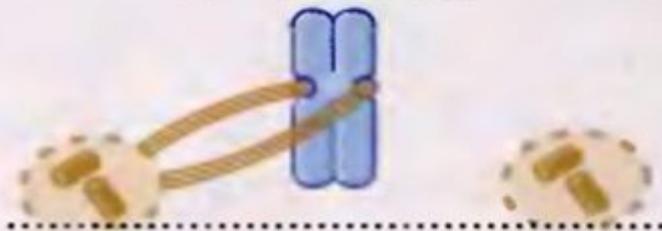
Биориентированное



Каждый кинетохор
прикреплен к разному полюсу

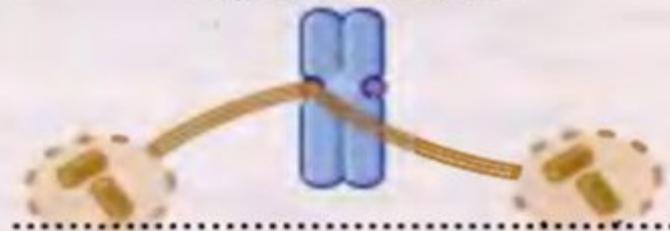
НЕПРАВИЛЬНОЕ ПРИКРЕПЛЕНИЕ

Синтелическое



Оба кинетохора
прикреплены к одному полюсу

Меротелическое



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 X.

Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.

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

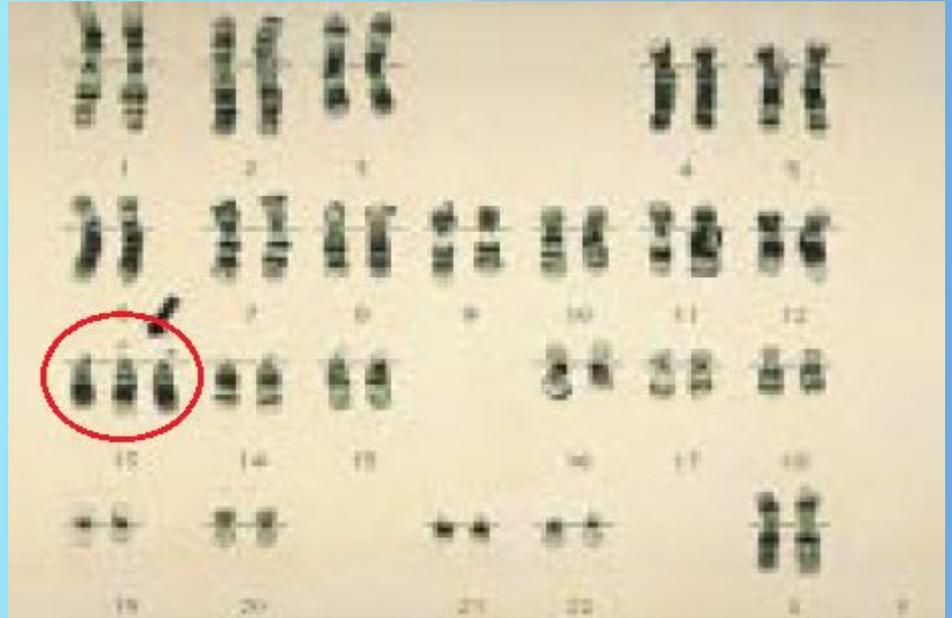


Примерное количество генов в хромосомах человека

| 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 |

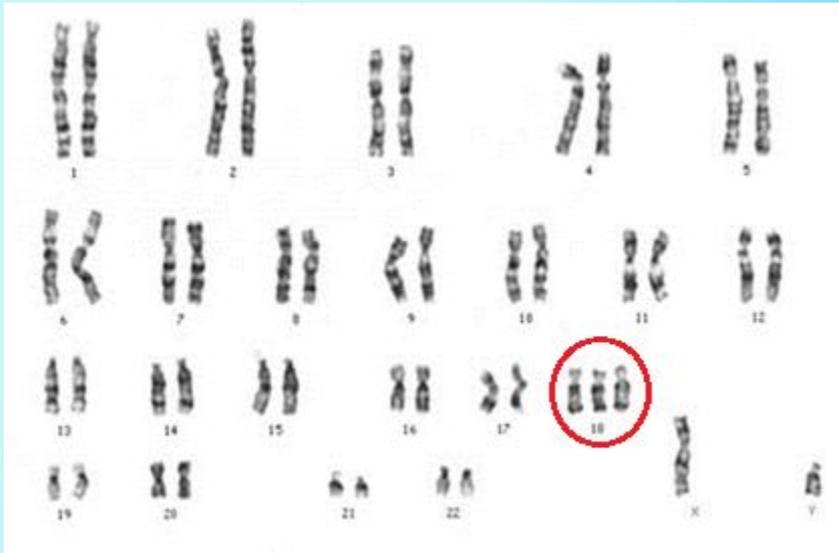
- Чем меньше генов в хромосоме, тем вероятнее, что плод с анеуплоидией доживет до рождения.
- Абсолютное большинство погибает на ранних сроках беременности.

Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.



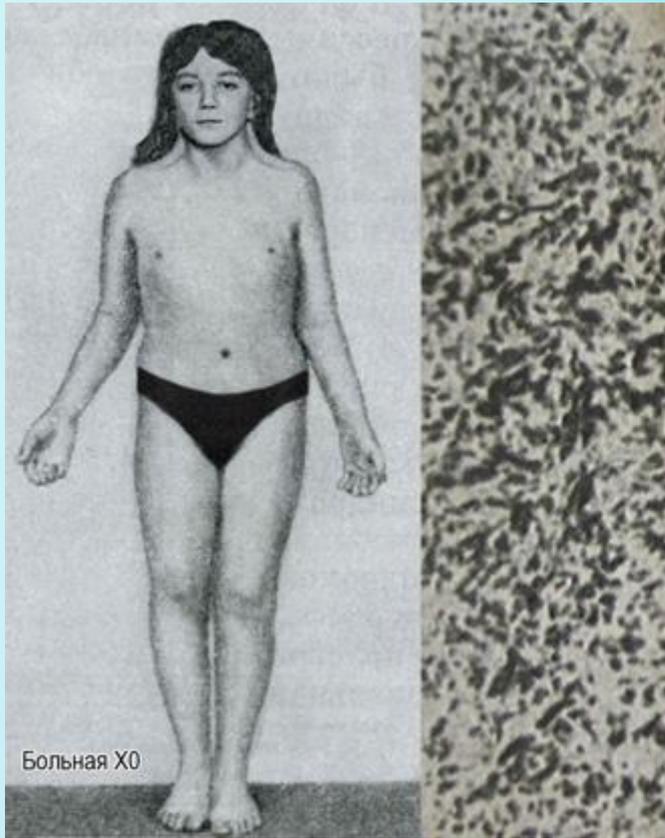
- **Синдром Патау - трисомия 13 (47, XX, +13)**

Примеры анеуплоидии у человека. Трисомии.

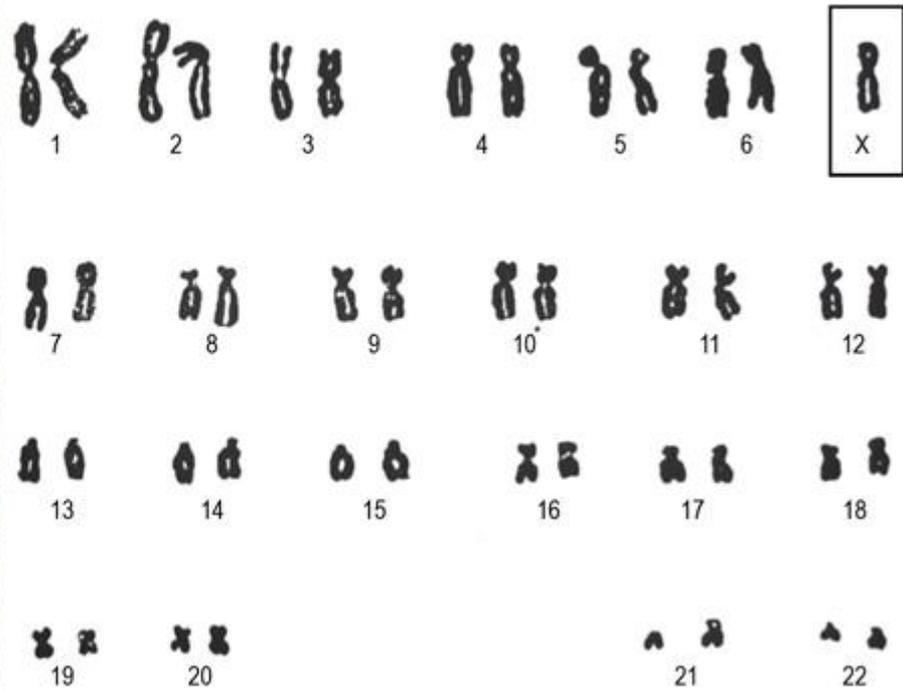


- Синдром Эдвардса - трисомия 18 (47,XY, +18)

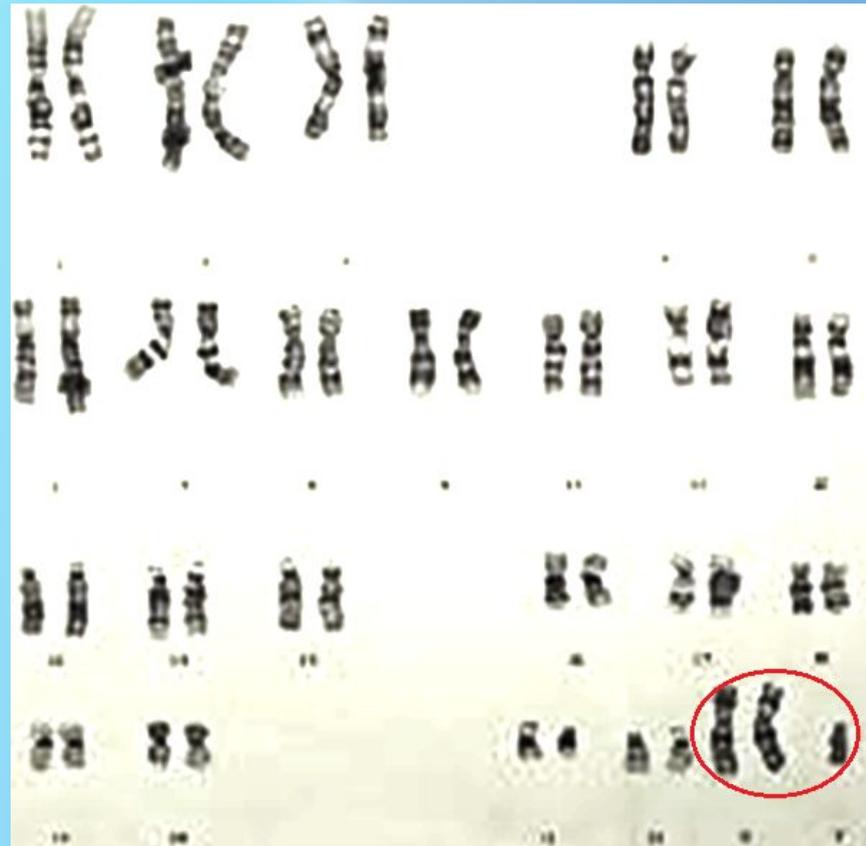
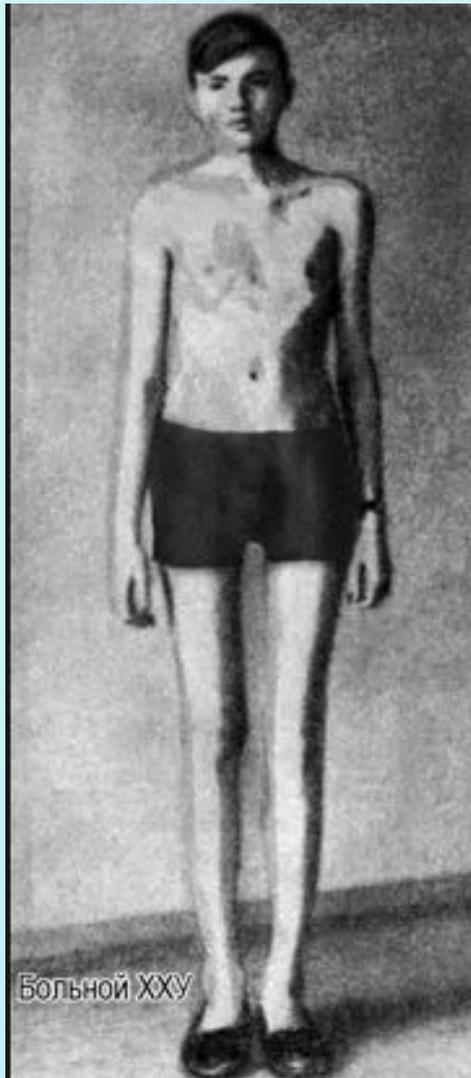
Примеры анеуплоидии у человека. Моносомии.



Синдром Шерешевского-Тернера, 45 / X0



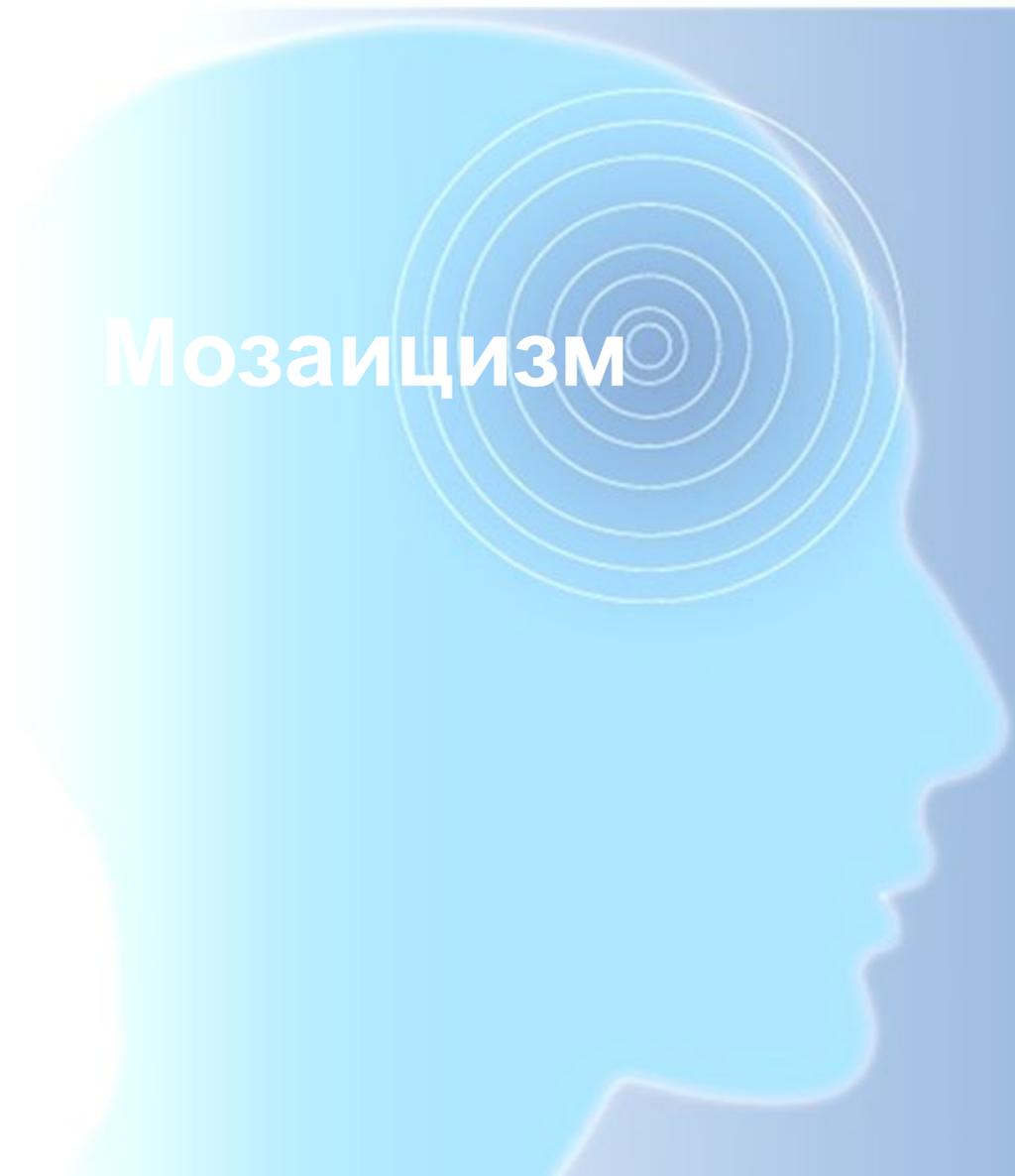
Синдром Клайнфелтера - более одной X при наличии Y.



Цитогенетические варианты:

- дисомия – 47, XXУ
- трисомия – 48, XXXУ
- тетрасомия – 49, XXXXУ

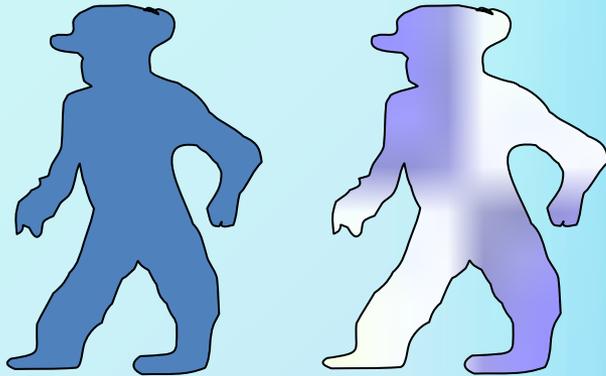
Анеуплоидии по половым
хромосомам не приводят к
тяжелым нарушениям развития
благодаря способности X
хромосомы образовывать
тельце Барра



Мозаицизм

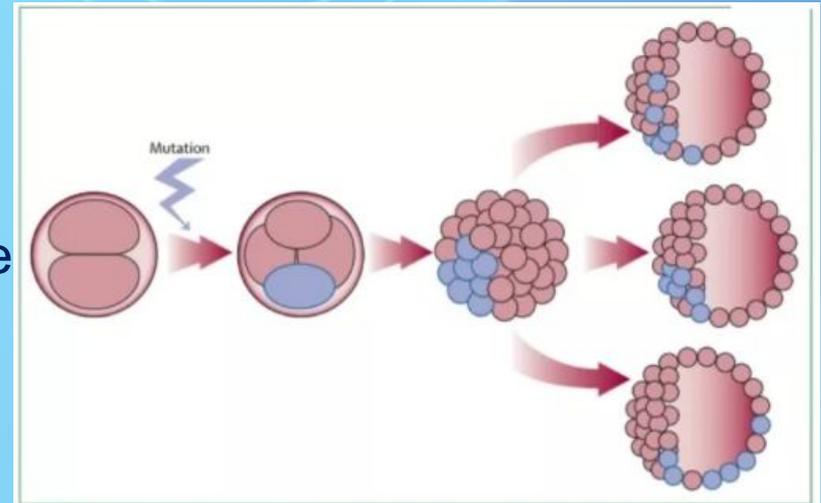
Мозаицизм

- **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**.*

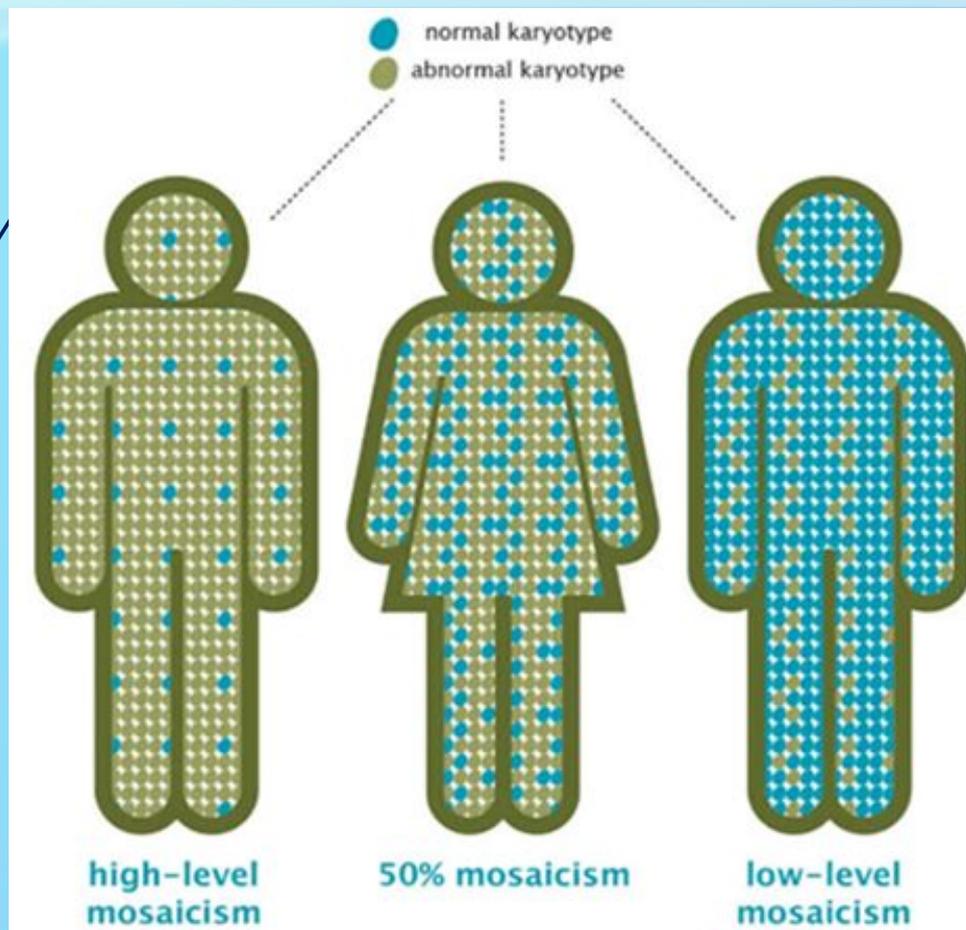


Мозаицизм

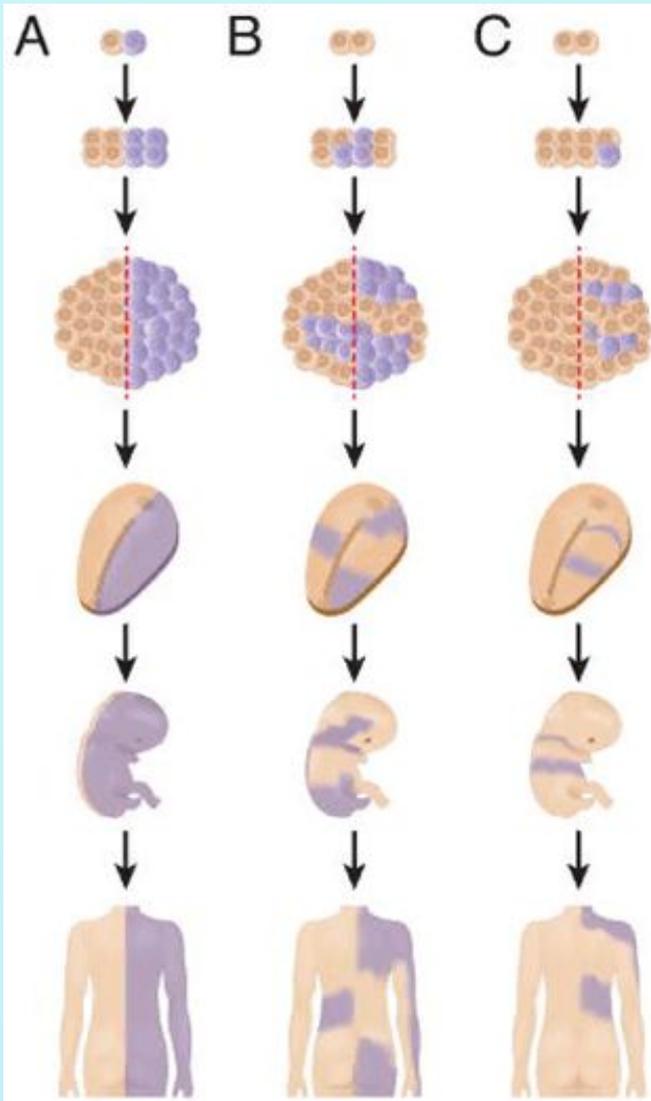
Большая часть мутаций - 3-4 сутки эмбрионального развития.

Примеры записи мозаичных кариотипов:

- $47,XY,+21(90%) / 46,XY (10%)$
- $47,XY,+21(50%) / 46,XY (50%)$
- $47,XY,+21(10%) / 46,XY (90%)$



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



A.

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

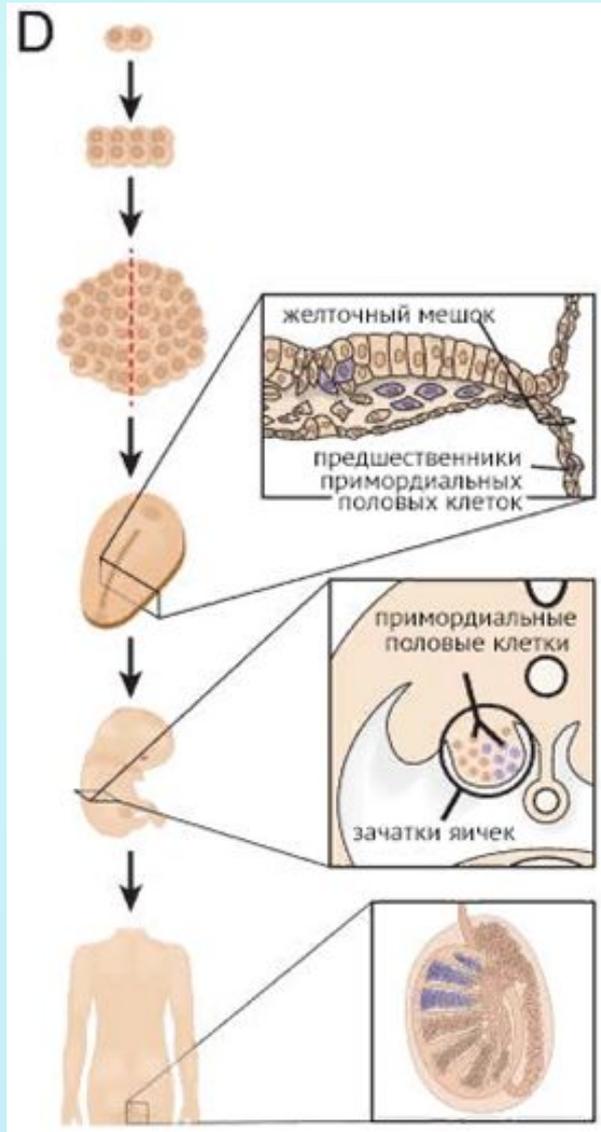
B.

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.

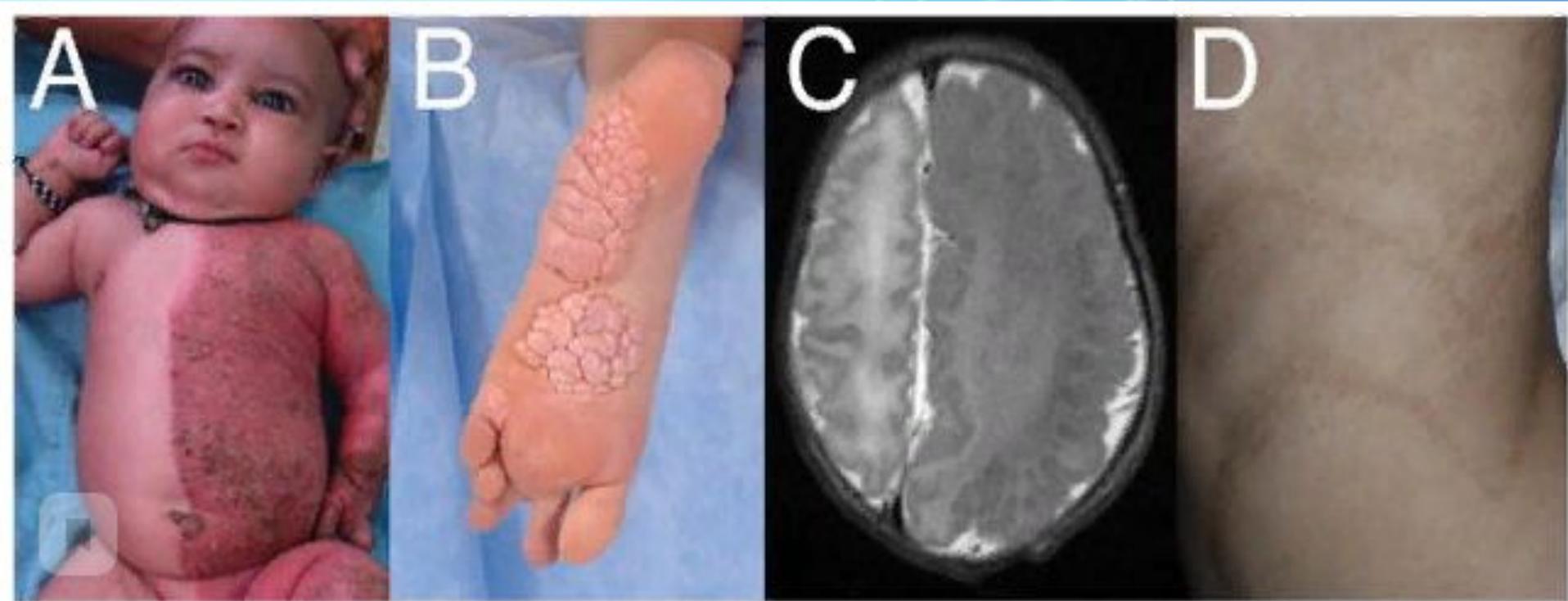
Мутации, возникающие после дифференцировки первичных половых клеток, будут отсутствовать в соматических тканях.

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.

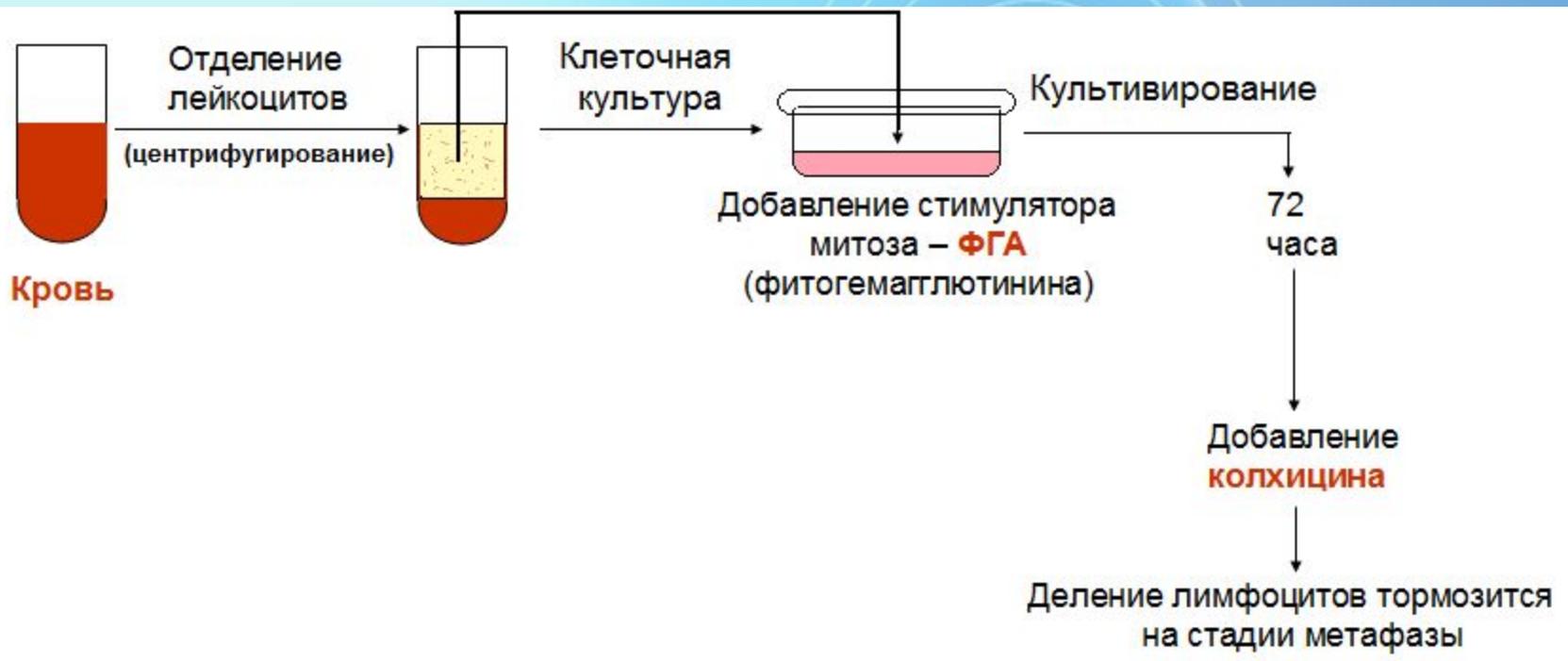


Фенотипические различия.

Фенотип при полной и мозаичной форме синдрома Дауна.



Метафазный анализ



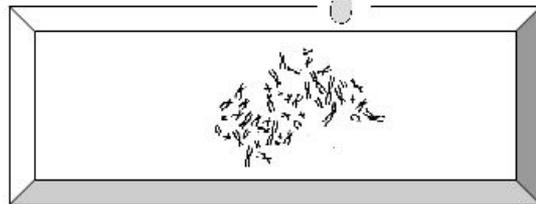
Метафазный анализ

Добавление гипотонического раствора КСl

Фиксация клеток
(спирт-уксусная кислота)

Раскапывание

при раскапывании от удара о стекло хромосомы разлетаются в стороны – образуется метафазная пластинка



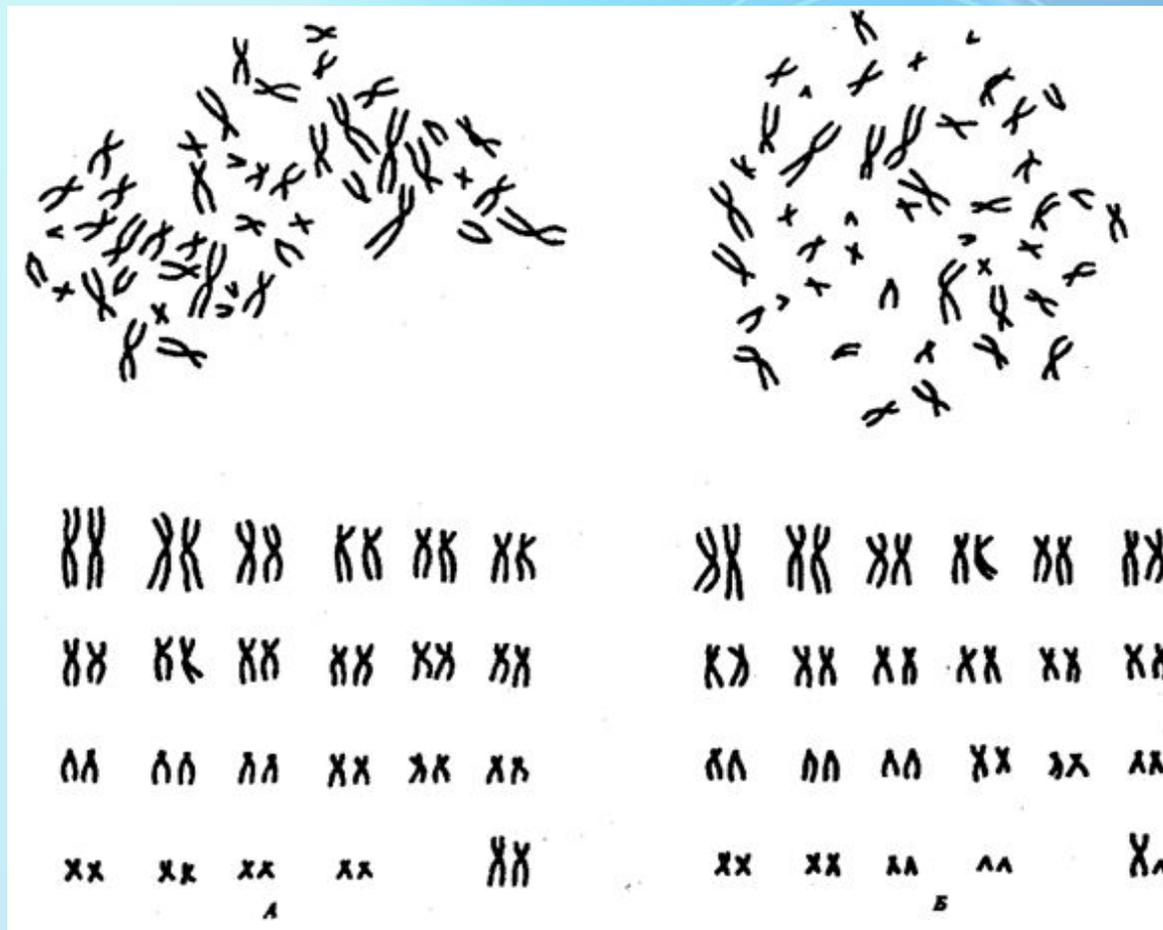
Затем препарат фиксируют и окрашивают

Микроскопическое исследование



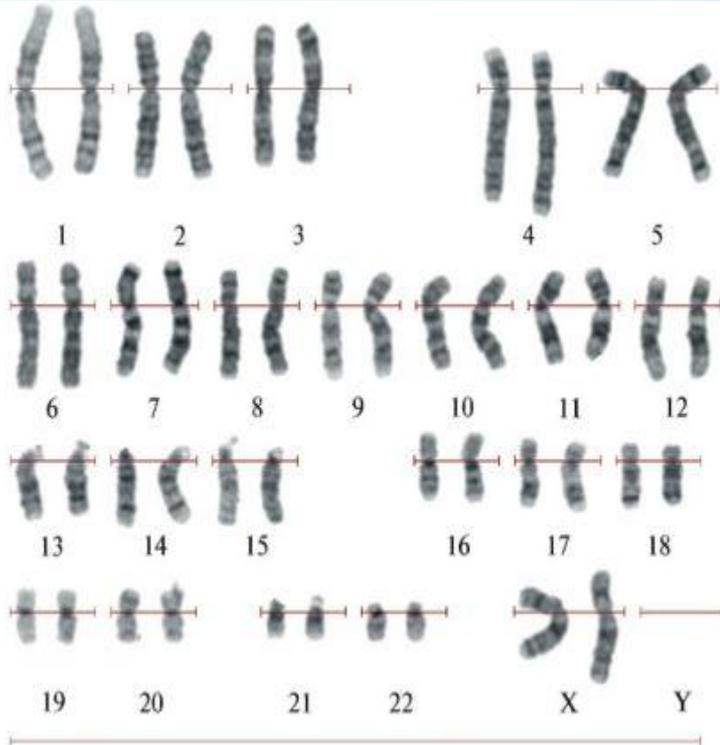
Окраска хромосом. Рутинная окраска.

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



Окраска хромосом. Дифференциальное окрашивание.

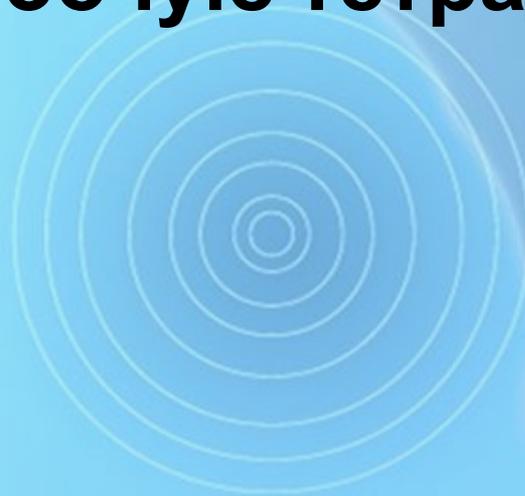
- **Дифференциальная**, появилась в конце 60-х годов (G, R, Q и C методы). Парижская конференция закрепила за каждой хромосомой номер, ввела обозначения для мутаций.



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 X-хромосомы | |
| Маркерная хромосома | |
| FISH | |

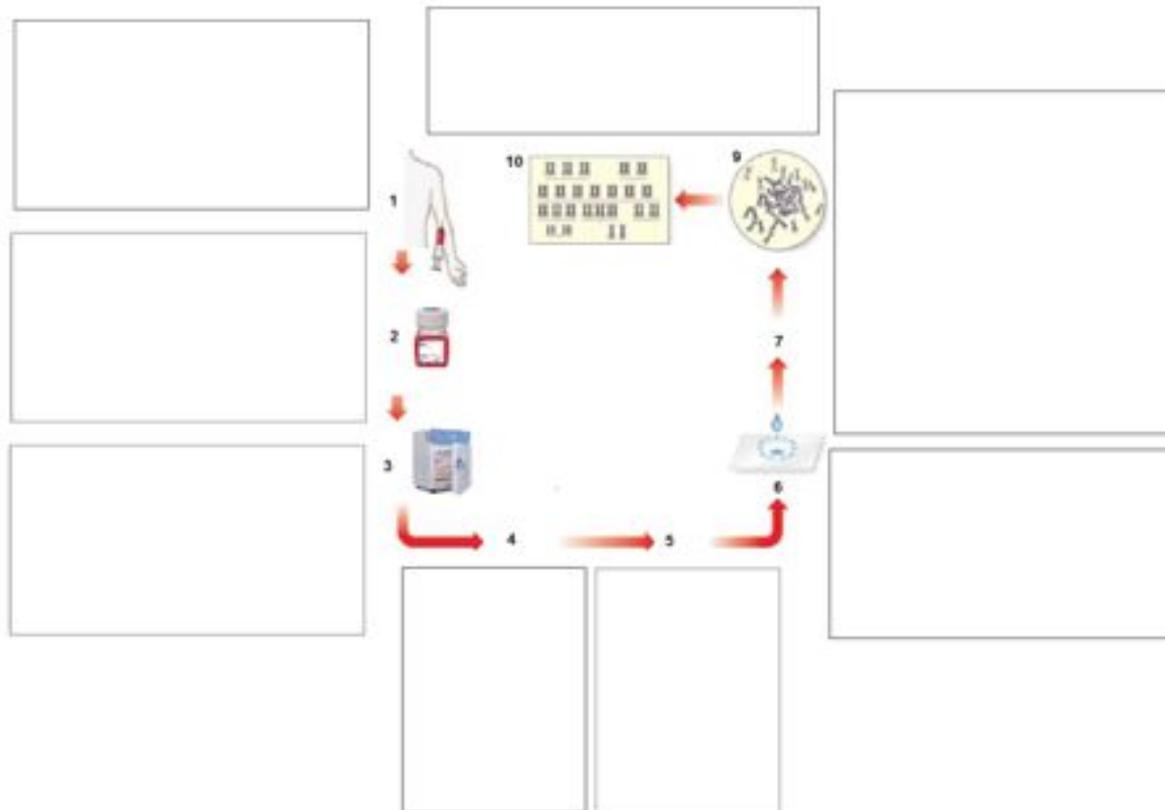
3. Распределение хромосом кариотипа человека по группам в соответствии с Денверской классификацией.

Заполнить таблицу.

| Группа | Число пар | Номер | Морфологический тип хромосом |
|--------|-----------|-------|------------------------------|
| А | | | |
| В | | | |
| С | | | |
| Д | | | |
| Е | | | |
| F | | | |
| G | | | |

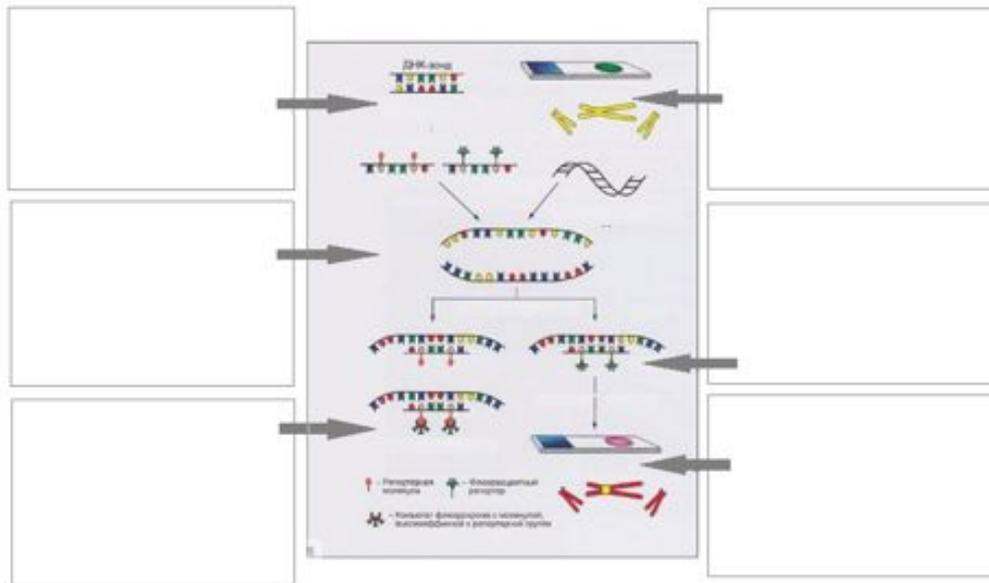
4. Стандартное цитогенетическое исследование (метафазный анализ).

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).

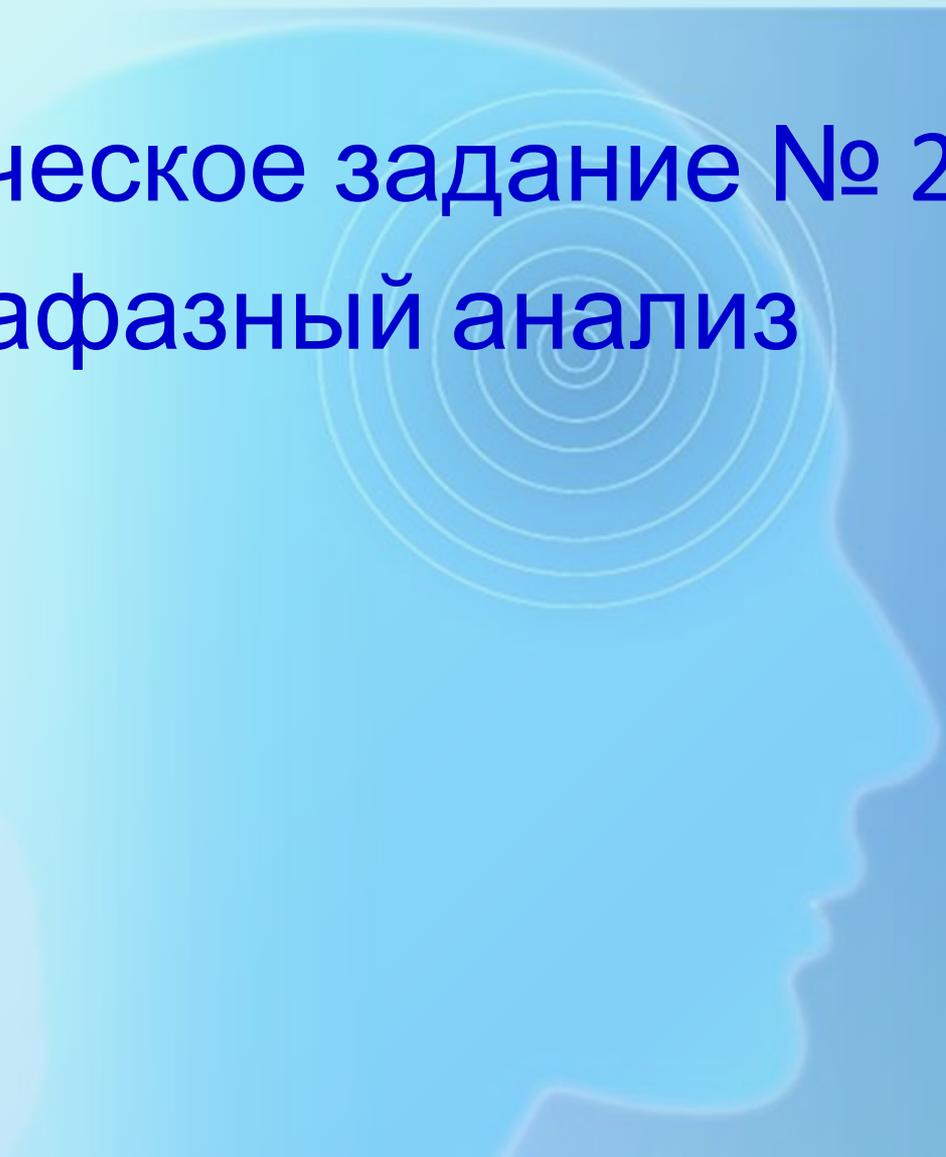


6. Определить тип геномных мутаций.

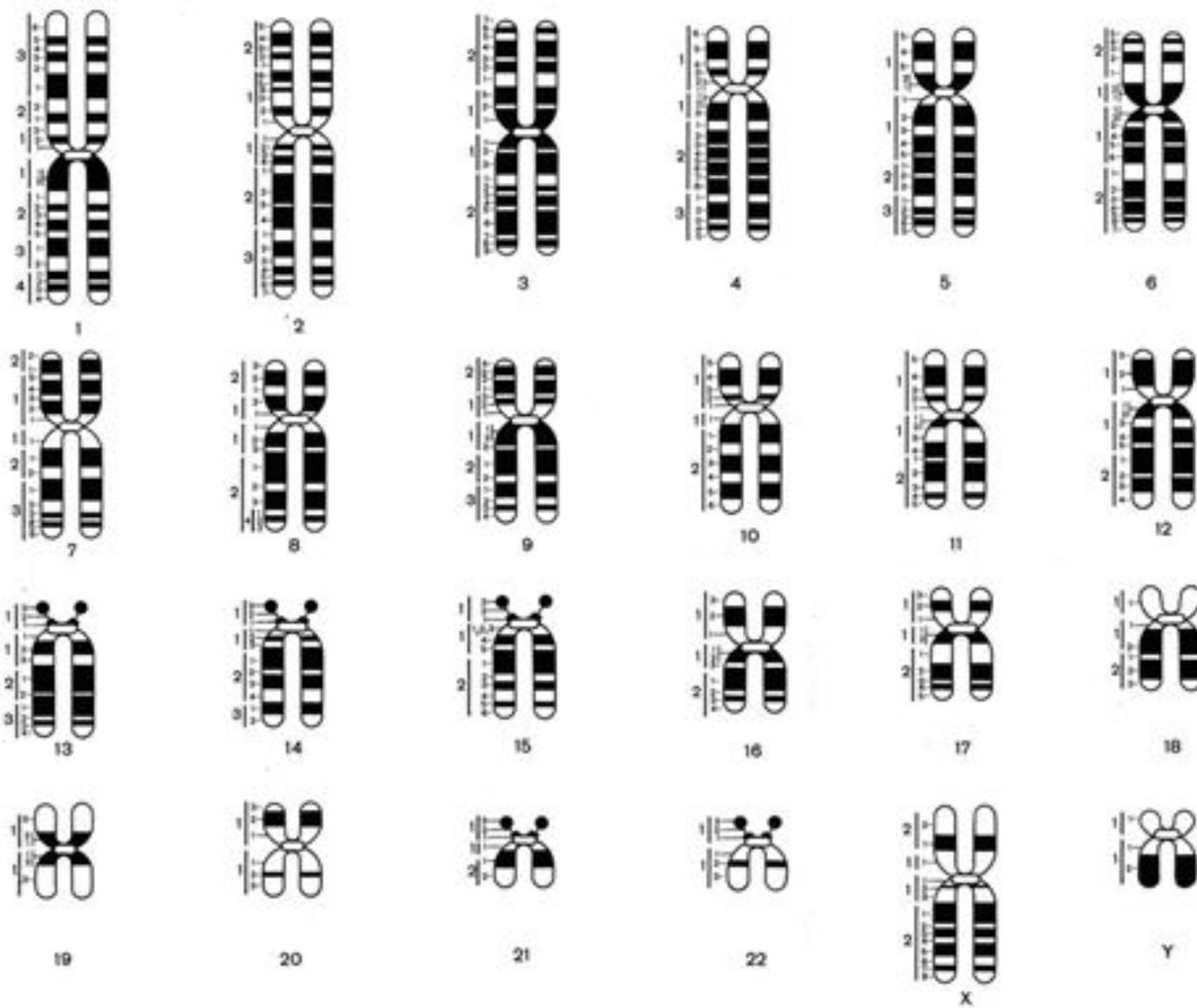
| | | |
|--|----------|--|
| | $3n$ | |
| | $4n$ | |
| | $(2n-2)$ | |
| | $(2n-1)$ | |
| | $(2n+1)$ | |
| | $(2N+2)$ | |

Практическое задание № 2

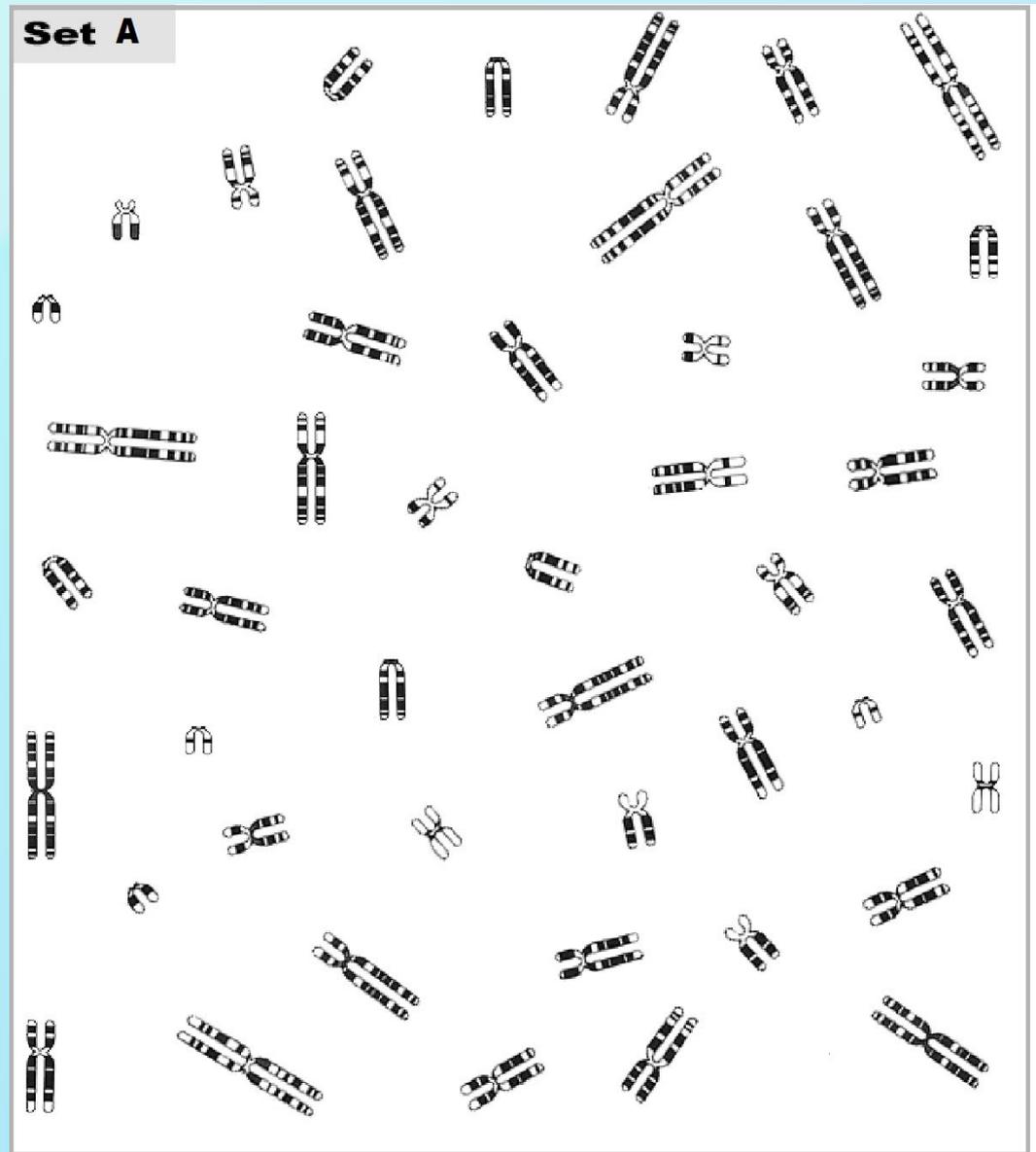
Метафазный анализ



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 | |

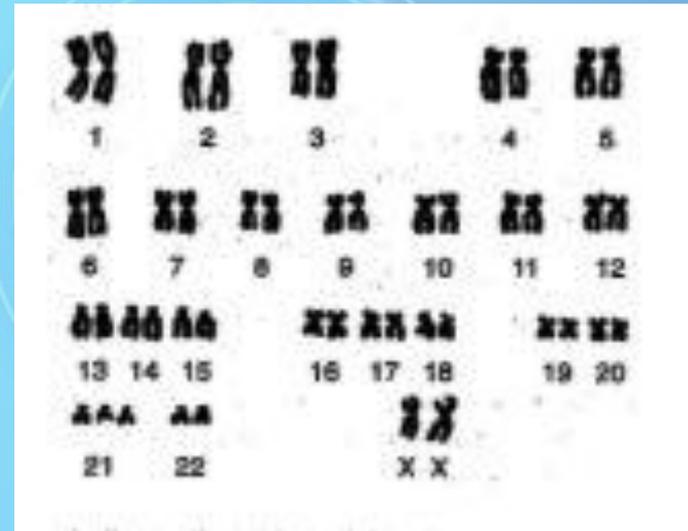
Результат

Кариотип: _____

Выявленные нарушения: _____

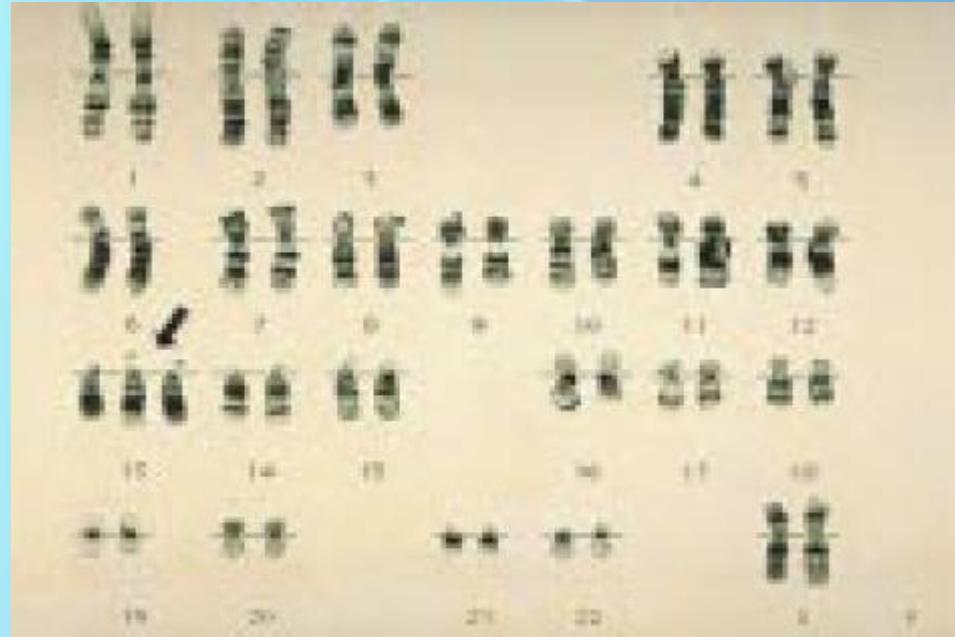
Заключение: _____

Трисомии. Синдром Дауна. Трисомия 21



- 47, XX, +21

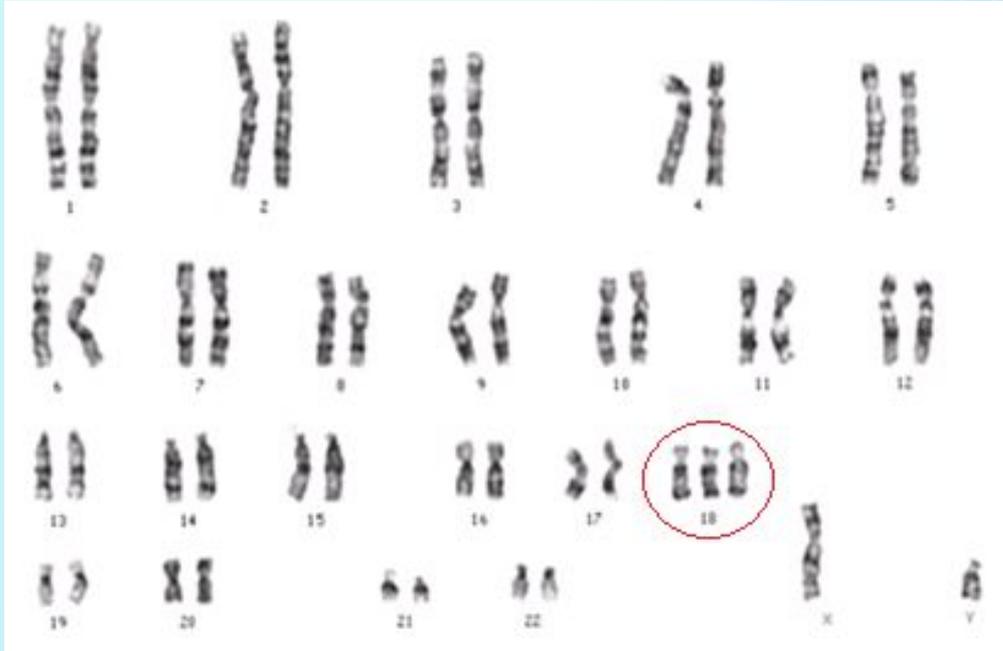
Трисомии. Синдром Патау. Трисомия 13



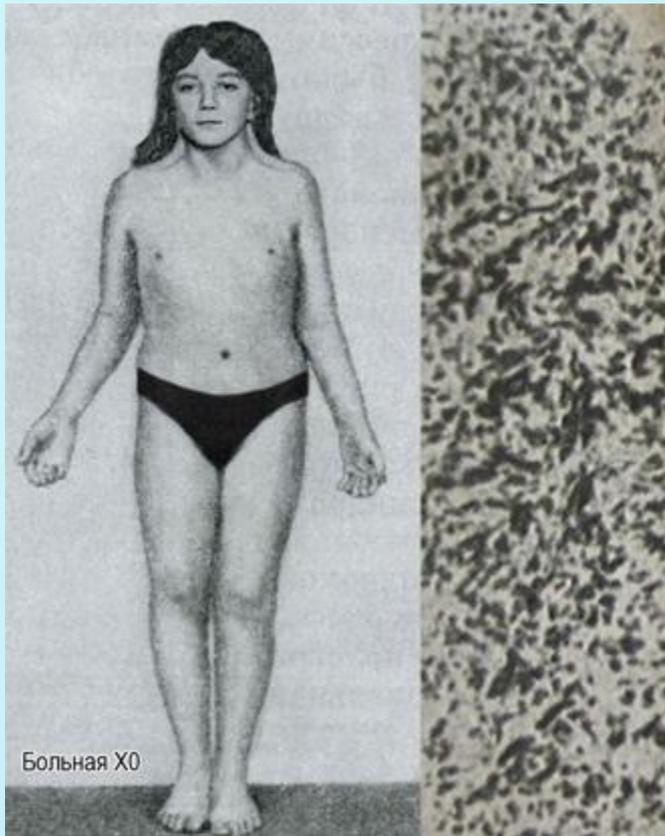
- 47, XX, +13

Трисомии. Синдром Эдвардса. Трисомия 18

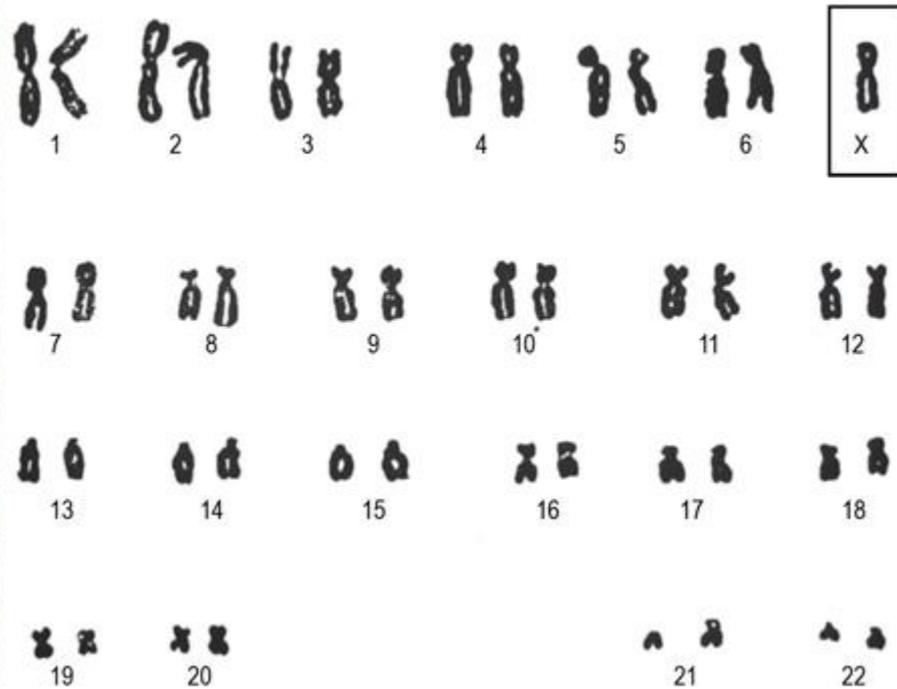
- 47,Ху, +18



Моносомии. Синдром Шерешевского-Тернера



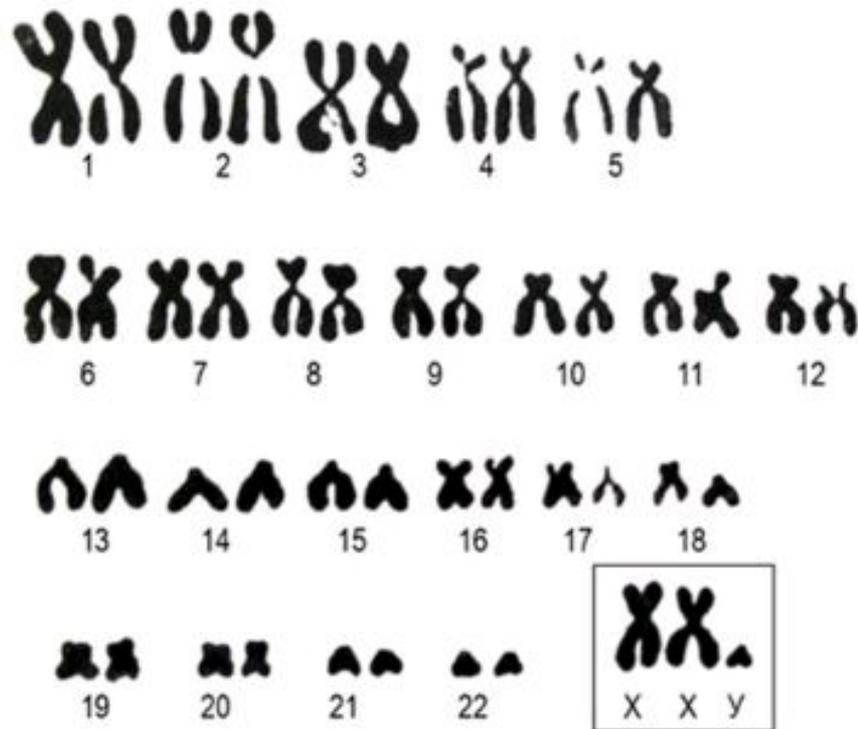
Синдром Шерешевского-Тернера, 45 / XO



Синдром Клайнфельтера (более одной X при наличии Y)

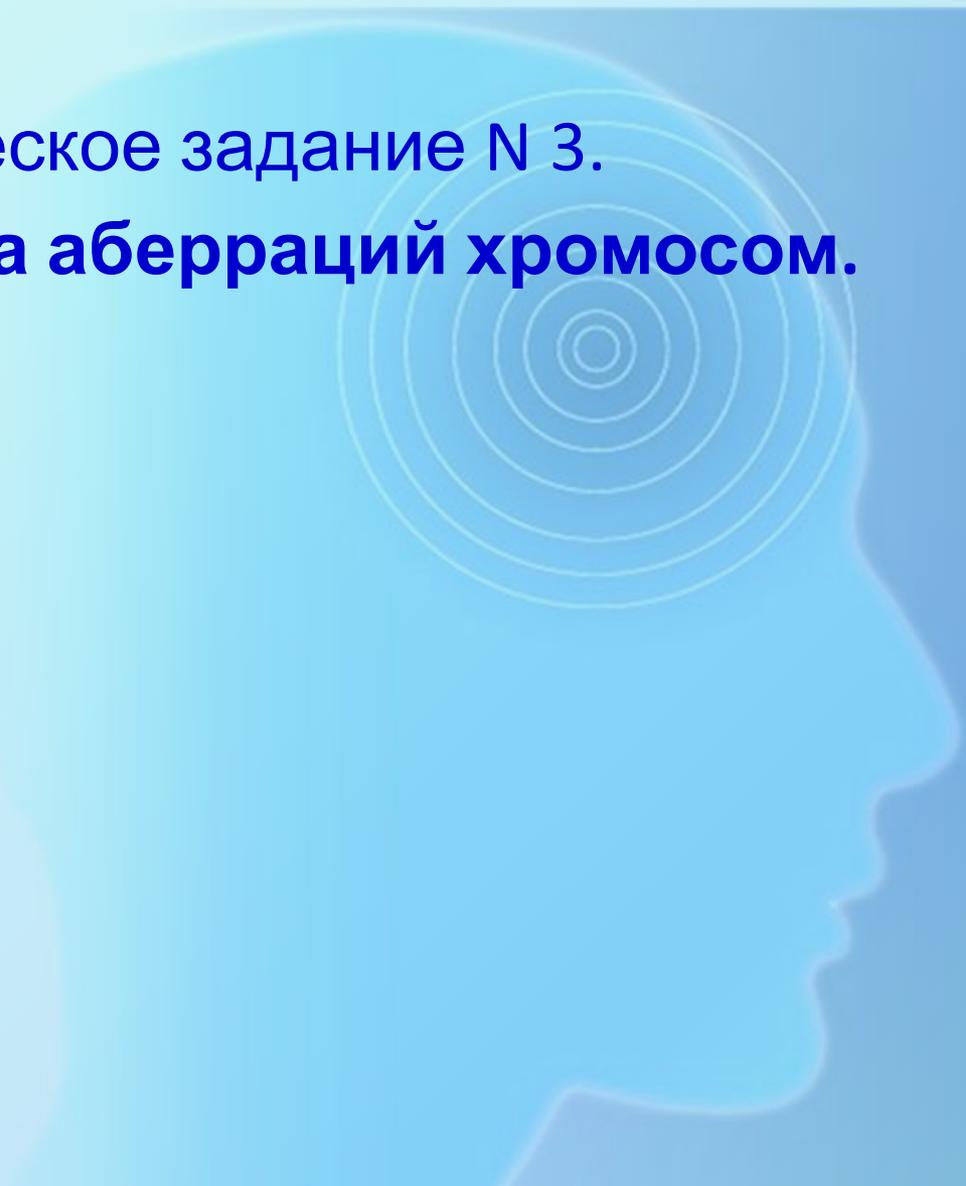


Синдром Клайнфельтера, 47 / XXУ





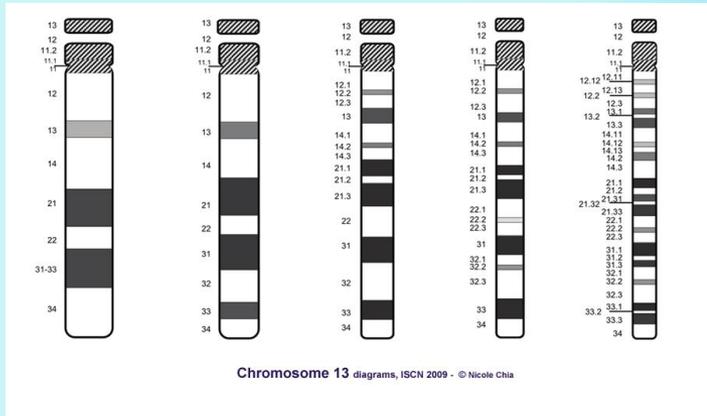
Практическое задание N 3.
Номенклатура aberrаций хромосом.



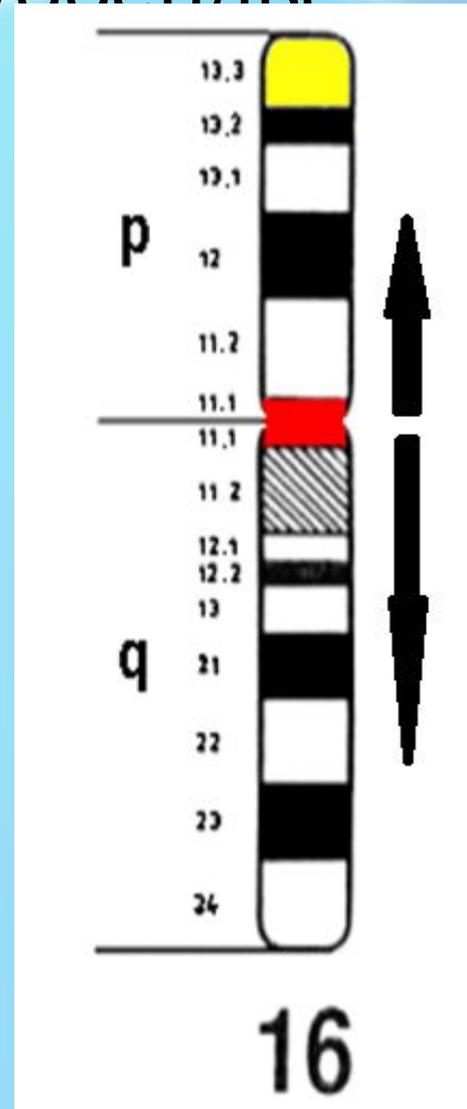
Современная номенклатура хромосомных мутаций.

| | | | |
|-------------------|-----------------------------------|------|--|
| 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 происхождения |
| 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 (р-короткое плечо, q –длинное плечо) делят на районы (бенды) и суббенды



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



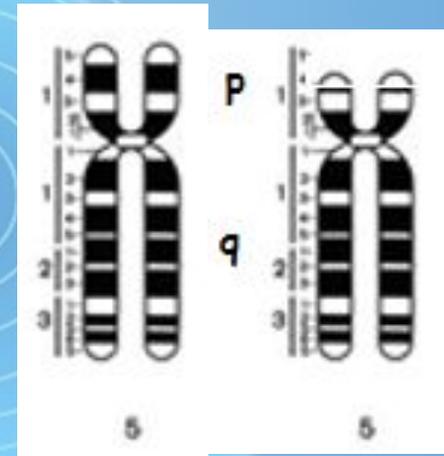
- Нумерация бендов ведется от центromеры (показано стрелками). Короткое плечо вверх от центromеры, длинное – вниз.

Номенклатура aberrаций хромосом или ... как записывается результат хромосомного анализа

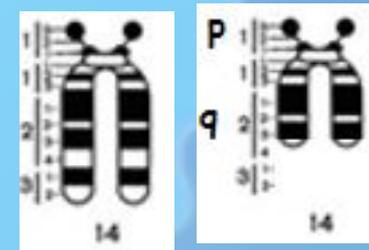
del (deletion) – делеция

Например:

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



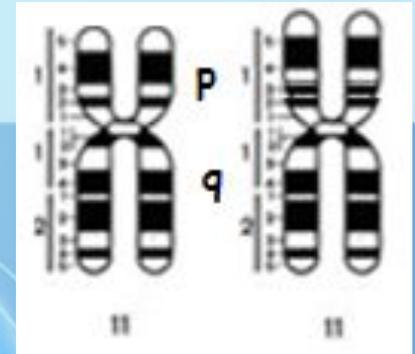
- **46,XX,del(14)(q23)** – женщина с 46 хромосомами, делецией сегмента 23 длинного плеча 14 хромосомы



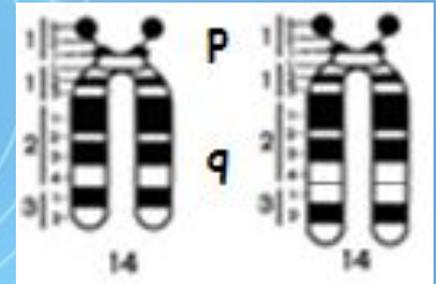
dup (duplication) - дупликация

Например:

- **46,XY,dup(11)(q12)** — мужчина с 46 хромосомами, с дупликацией сегмента q12 хромосомы 11



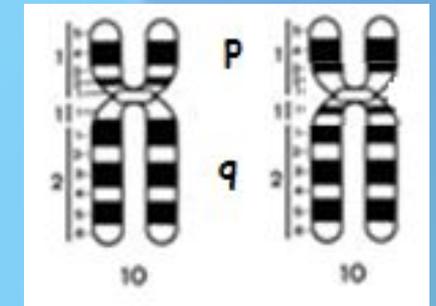
- **46,XY,dup(14)(q22q25)** – мужчина с 46 хромосомами, с дупликацией длинного плеча 14 хромосомы, включающей с 22 по 25 сегменты.



inv (Inversion) - инверсия

Например:

- **46,XY,inv(10)(p13q12)** — мужской кариотип, перичесентрическая инверсия 10 хромосомы с точками разрыва p13 и q12



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 aberrаций 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** – женский 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:

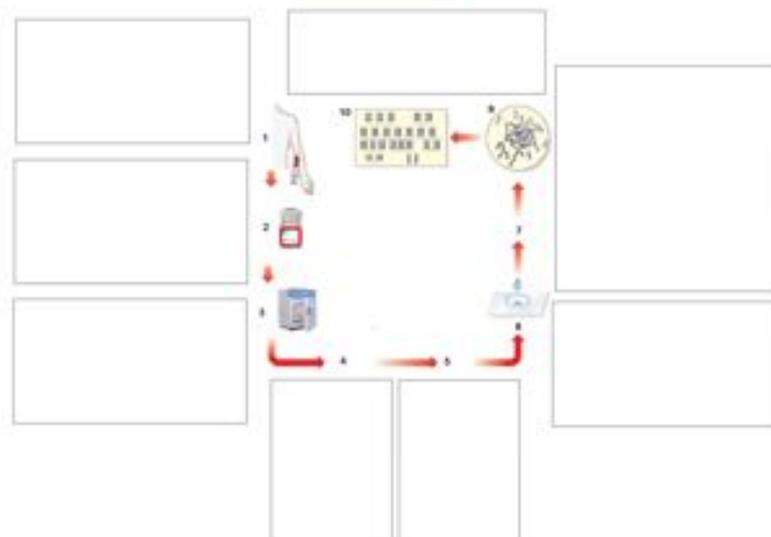
| | |
|---------------------------------|--|
| Хромосома | |
| Кариотип | |
| <u>Центромера</u> | |
| <u>Теломера</u> | |
| Хромосомные мутации | |
| Геномные мутации | |
| <u>Бессполночные</u> | |
| <u>Митозомы</u> | |
| <u>Формирование X-хромосомы</u> | |
| <u>Дериватив хромосомы</u> | |
| Маркерная хромосома | |
| FSH | |

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 | | | |

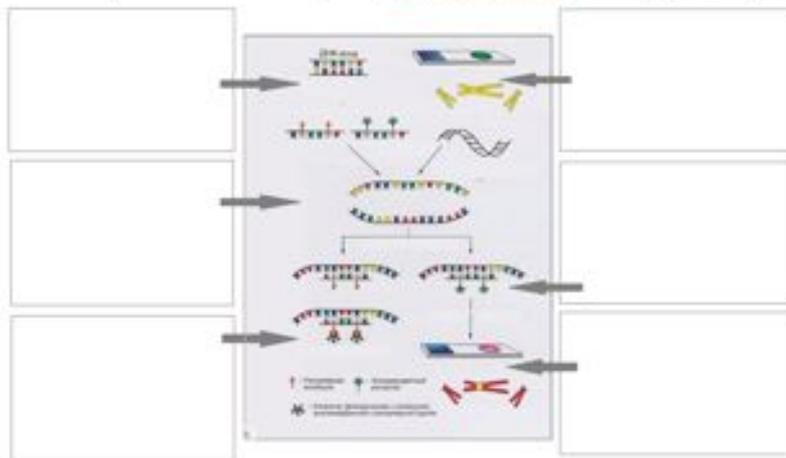
4. Стандартное цитогенетическое исследование (метафазный анализ).

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



5. Молекулярно-цитогенетическое исследование. FISH-метод.

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



6. Определить тип геномных мутаций.

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

Работа 2. Определить тип хромосомных мутаций, дать определения.

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

Работа 8.

1). Изучить современную номенклатуру хромосомных мутаций.

| | | | |
|-----------------|--|------|--|
| p | | p10 | |
| q | | q11 | |
| (+) | | q10 | |
| (-) | | q15 | |
| i | | 1q1 | |
| r | | 10q1 | |
| del | | 10q1 | |
| del | | x | |
| 101 | | 101 | |
| 101 | | 101 | |
| (p-q) или (p-q) | | h | |
| t | | q101 | |
| 1011 | | 1011 | |
| 1011 | | 101 | |
| 1011 | | 1011 | |
| 101 | | x | |
| :: | | 101 | |
| : | | | |

2). Используя номенклатуру хромосомных мутаций расшифровать запись кариотипа:

| | |
|-----------------------------------|--|
| 46,XX,del(5p) | |
| 46,XY,dup(11)(q12) | |
| 46,XY,inv(10)(p13q12) | |
| 46,X,(5q) | |
| 45,XX,rob(14q21q) | |
| 46,XX,(5q-X) | |
| 47,XY,+13 | |
| 50%46,XX 25%47,XXX 25%45,X0 | |
| 46,XX,(7)(p12q36) | |

3). Используя номенклатуру хромосомных мутаций сделать запись кариотипа:

| | |
|--|--|
| Женщина с 46 хромосомами, делецией сегмента 23 длинного плеча 14 хромосомы | |
| Мужчина с 46 хромосомами, с дупликацией длинного плеча 14 хромосомы, включающей с 22 по 25 сегменты | |
| Женщина с реципрокной 10q11q10 , 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, 10q11q10 по 21 хромосоме (олндром Дженн) | |