

Генетика человека

Лекция 7.

ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ ЦИТОГЕНЕТИКИ

Ловинская Анна Владимировна,

PhD, кафедра молекулярной
биологии и генетики

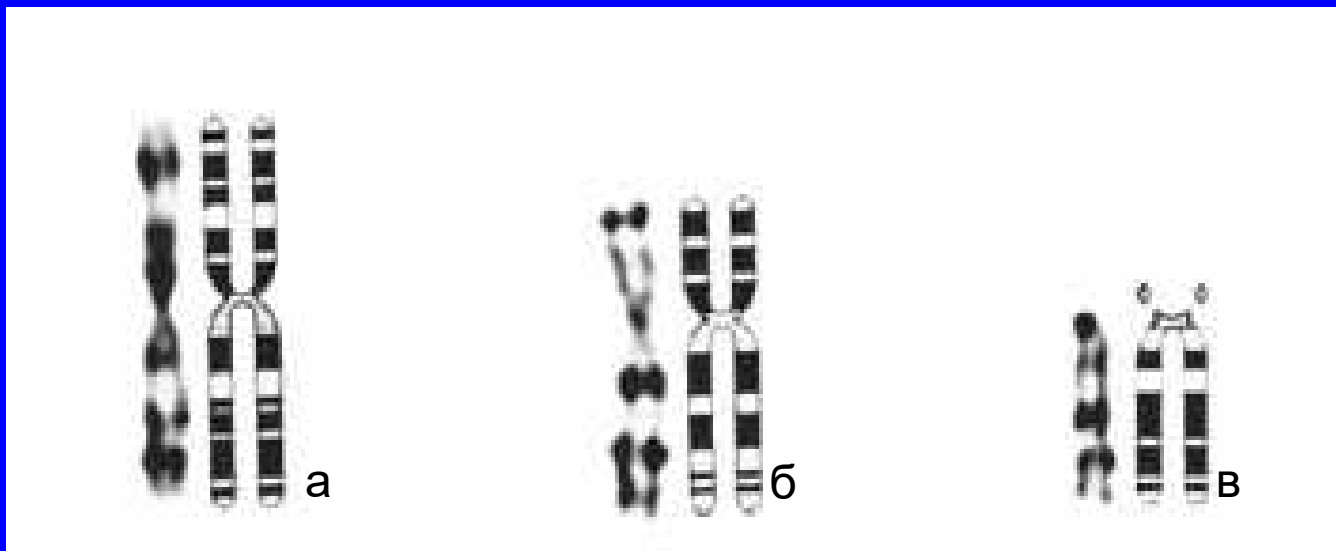
Денверовская классификация

В 1960 г. в Денвере была создана первая Международная система цитогенетической номенклатуры хромосом человека, обеспечившая международную стандартизацию исследований хромосом человека.

В основу **Денверской классификации** хромосом была положена их морфологическая характеристика: размер, форма и положение центromеры.

В соответствии с положением центromеры хромосомы принято делить на 3 группы:

- **метацентрические (а),**
- **субметацентрические (б),**
- **акроцентрические (в).**



Денверовская классификация

Согласно данной номенклатуре хромосомы нумеруются от 1 до 23 по мере убывания их длины: с 1 по 22 - аутосомы, а 23 пара - половые хромосомы, и разделены на 7 групп - от А до G:

Группа А (хромосомы 1-3) - большие метацентрические хромосомы.

Группа В (хромосомы 4 и 5) - большие субметацентрические хромосомы.

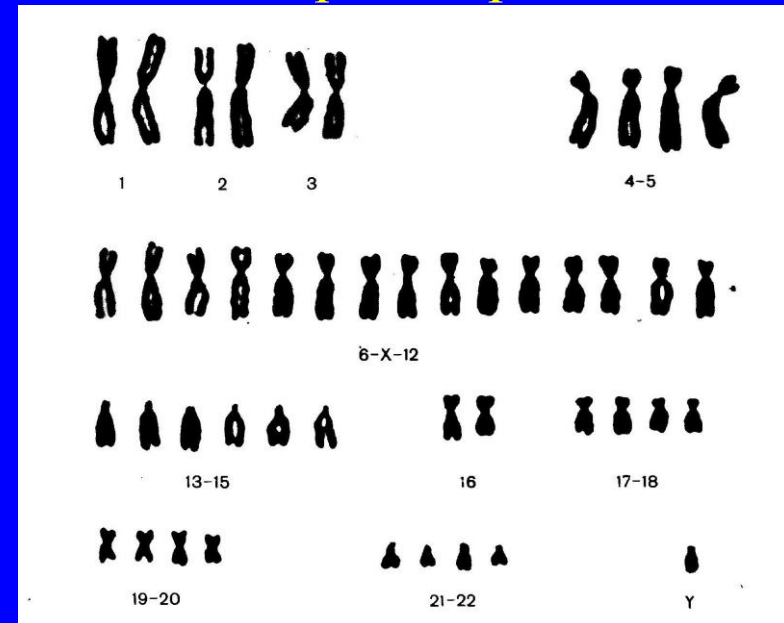
Группа С (хромосомы 6-12, X-хромосома) - среднего размера субметацентрические хромосомы

Группа D (хромосомы 13-15) - большие акроцентрические хромосомы.

Группа E (хромосомы 16-18) - короткие субметацентрические хромосомы.

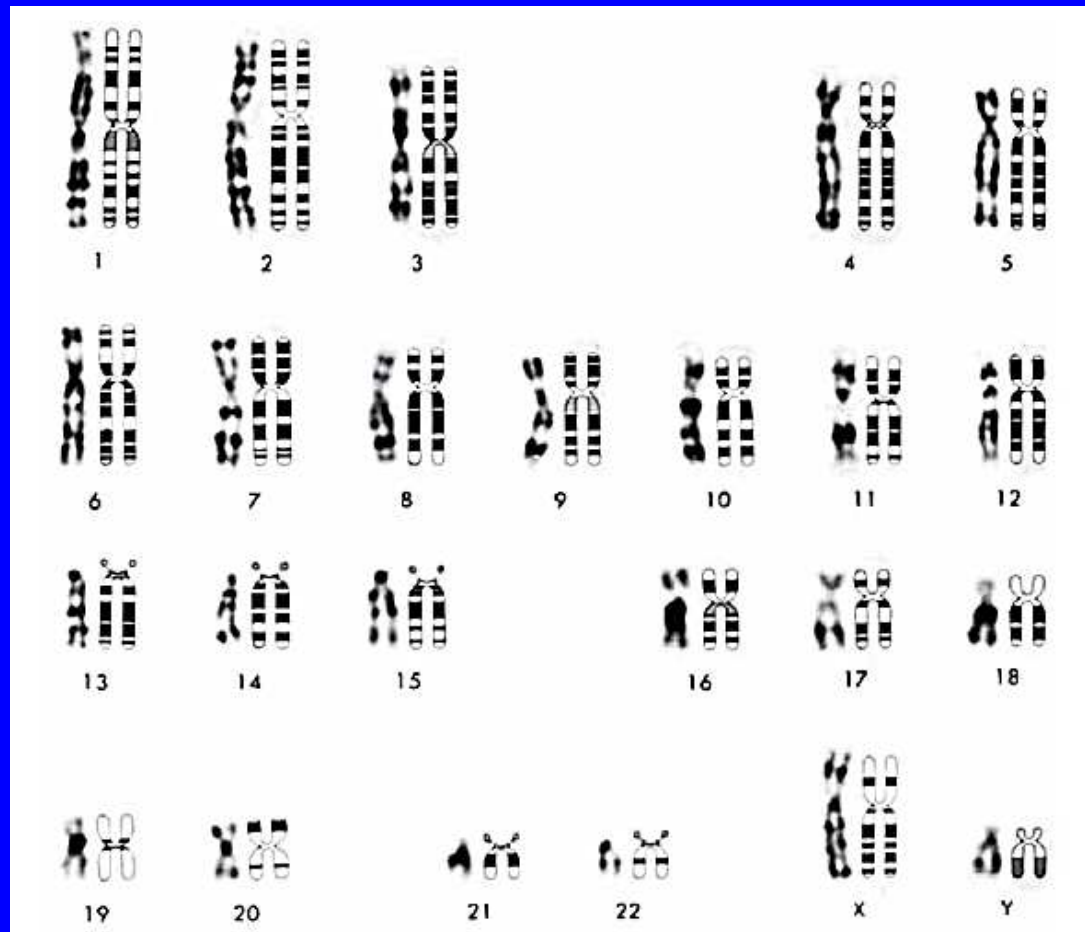
Группа F - (хромосомы 19 и 20) - маленькие метацентрические хромосомы.

Группа G - (хромосомы 21 и 22, Y-хромосома) - малые акроцентрические хромосомы



Парижская классификация (1971)

В 1971 году в Париже на IV международном конгрессе по генетике человека была согласована единая система идентификации хромосом человека, учитывавшая дифференцировку хромосом по длине (Парижская конференция (1971 г.): Стандартизация в цитогенетике человека).



Парижская классификация (1971)

Центромера «cen» делит хромосому на короткое плечо «p» (от франц. «petit») и длинное плечо или «q» («queue»).

Для наглядности центромера состоит из двух частей:

- p10 - часть центромеры, лежащая между ее серединой и первой полосой на коротком плече
- q10 - часть центромеры, лежащая между ее серединой и первой полосой на длинном плече.

Обозначения p10 и q10 позволяют нам точно описать природу и организацию центромер в изохромосомах, транслокации целого плеча и Робертсоновские транслокации.

Каждое плечо заканчивается теломерой (терминальный конец) - (“ter,” в зависимости где располагается обозначается - “pter” или “qter”)

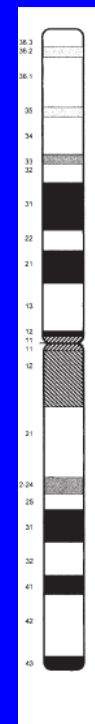
Парижская классификация (1971)

Каждая хромосома набора человека при дифференциальной окраске характеризуется уникальным для нее сочетанием темно окрашенных сегментов или полос, чередующихся с неокрашенными участками или светлыми сегментами.

В пределах короткого (p) и длинного (q) плеча каждой хромосомы выделяют ряд четко идентифицируемых областей или **регионов**, которые нумеруются арабскими цифрами начиная от центромеры к теломерному участку хромосомы.

Каждая область хромосомы включает определенное число **сегментов (band)**, нумерация которых (второй арабской цифрой) также идет в направлении от центромерного к теломерному участку.

Таким образом, обозначение хромосомного сегмента 1q31 означает хромосому №1, длинное плечо, 3 регион и 1 сегмент.



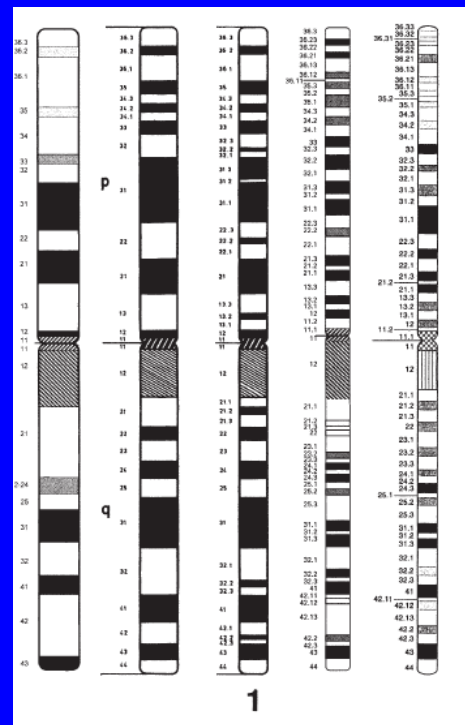
Парижская классификация (1981)

Разработка методов получения хромосом высокого разрешения потребовало дополнения цитогенетической номенклатуры новыми принципами анализа таких хромосом.

В 1980 г. в Париже было достигнуто международное соглашение, которое было опубликовано под названием "Международная система цитогенетической номенклатуры хромосом человека - сегментация хромосом высокого разрешения" или ISCN (1981).

Если сегмент в пределах какой-либо хромосомы подразделяется на отдельные **субсегменты (subband)**, то после номера сегмента ставится точка, после которой указывается номер субсегмента.

Например, если оригинальный сегмент 1 p31 подразделяется на 3 разных субсегмента, то они обозначаются как 1p31.1, 1p31.2 и 1p31.3. Дополнительное деление субсегментов на другие сегменты, например субсегмента 1 p31.1, соответственно обозначается как 1p31.11, 1p31.12 и т.д.



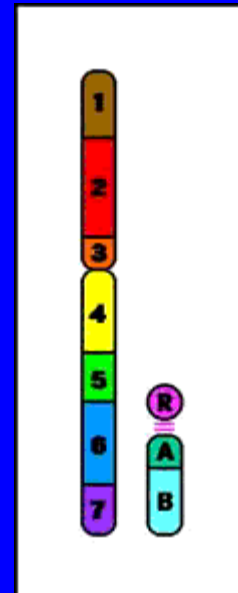
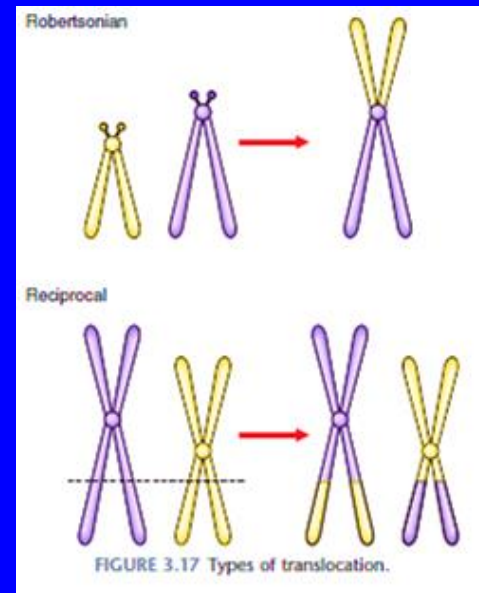
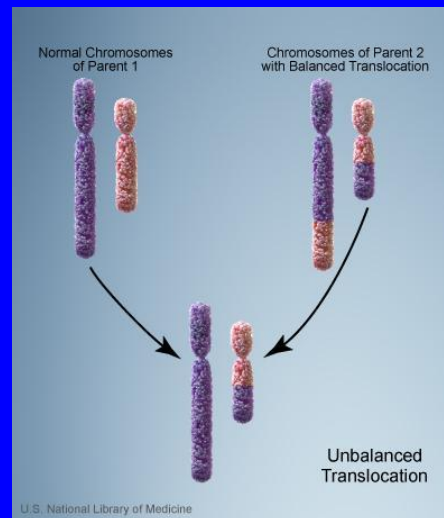
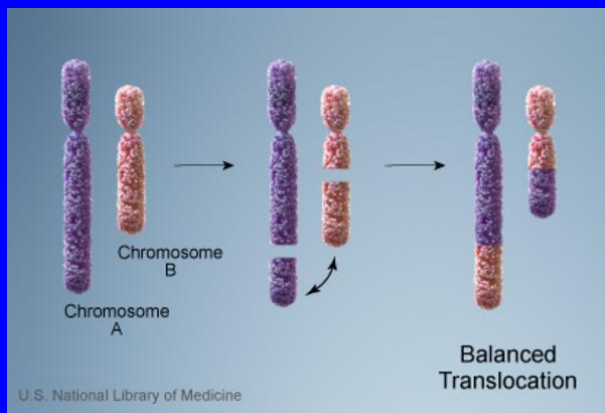
Хромосомные мутации

Транслокации

Транслокация (t) - передаче генетического материала от одной хромосомы к другой.

Реципрокная транслокация (rec) включает разрыв по крайней мере двух хромосом с обменом фрагментами. Общая частота – 1:500.

Робертсоновская транслокация (rob) - хромосомная перестройка, при которой происходит слияние двух акроцентрических хромосом с образованием одной метацентрической или субметацентрической хромосомы. Общая частота робертсоновских транслокаций $\approx 1:1000$, причем наиболее распространенным – rob(13q14q).

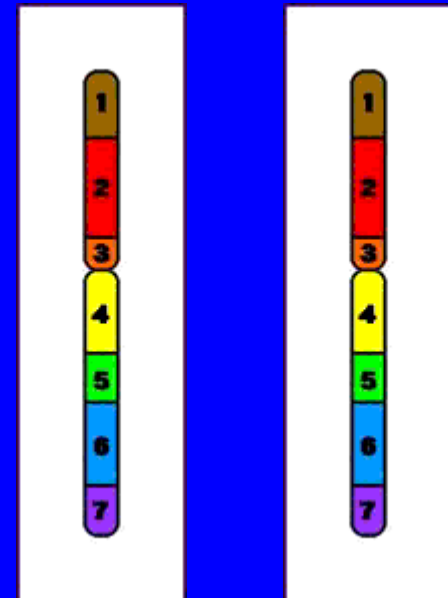
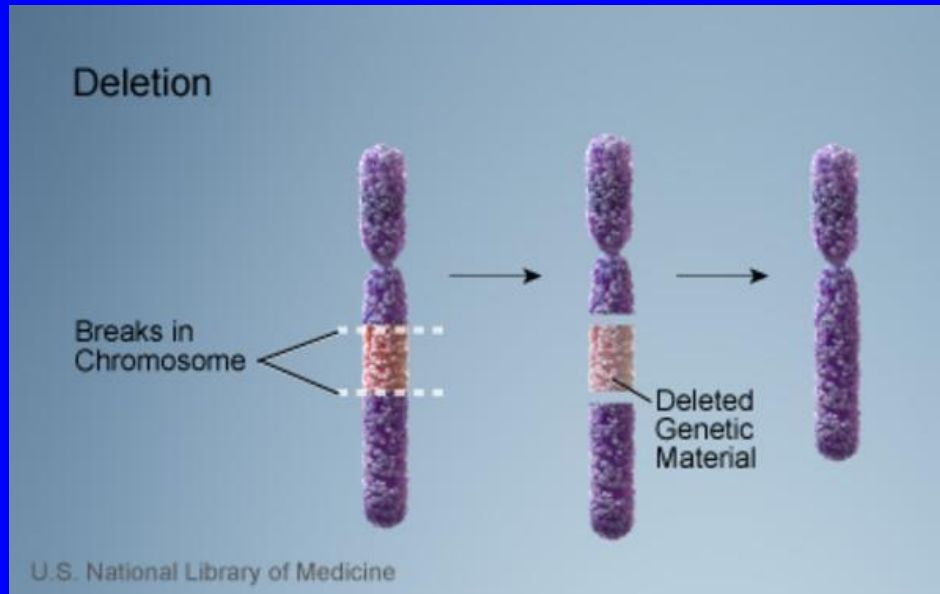


Делеции

Делеция (del) включает потерю части хромосомы и приводит к моносомии для этого сегмента хромосомы. Очень большая делеция обычно несовместима с выживаемостью.

«Большие» хромосомные делеции можно визуализировать под световым микроскопом (синдромы кошачьего крика, Вольфа-Хиршхорна)

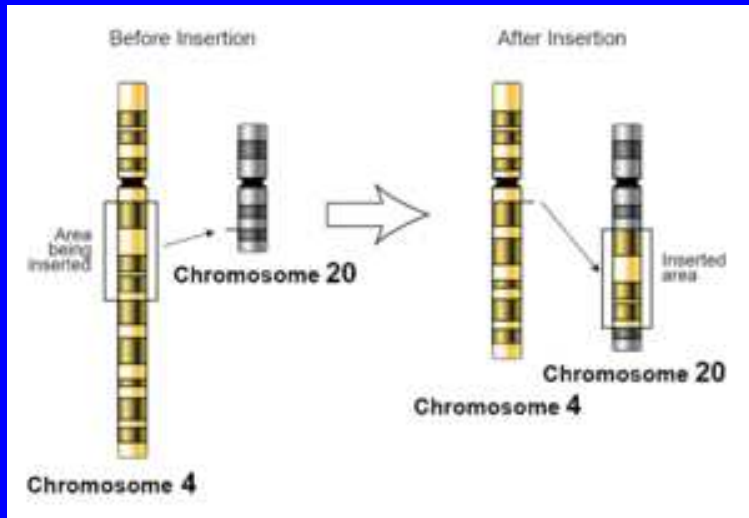
Субмикроскопические микроделеции были идентифицированы с помощью анализа прометафазных хромосом с FISH (синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана)



Инсерции

Инсерция (ins) происходит, когда сегмент одной хромосомы вставляется в другую хромосому.

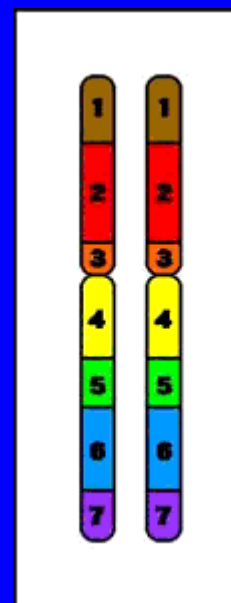
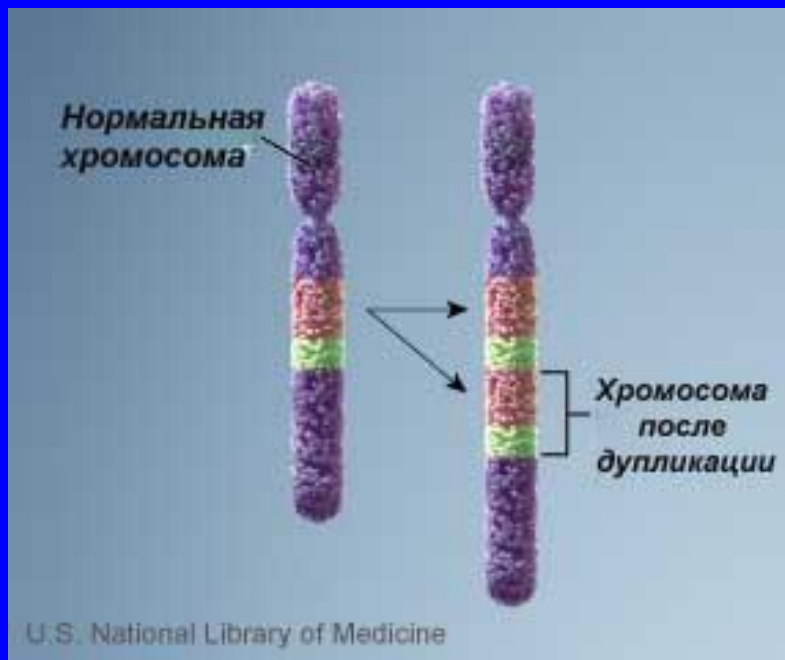
Носители сбалансированной инсерции реорганизовываются с 50% риском образования несбалансированных гамет, - случайная сегрегация хромосом при мейозе будет приводить к 50% гамет, унаследовавших либо делецию, либо инсерцию, но не то и другое вместе.



Дупликация

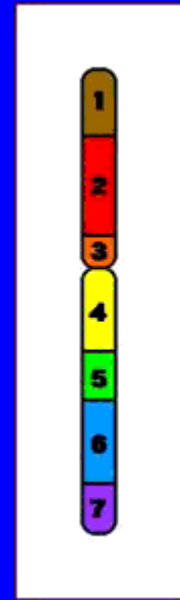
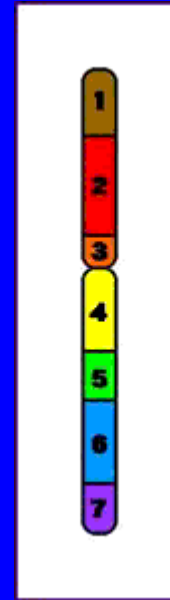
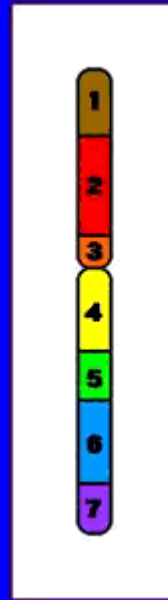
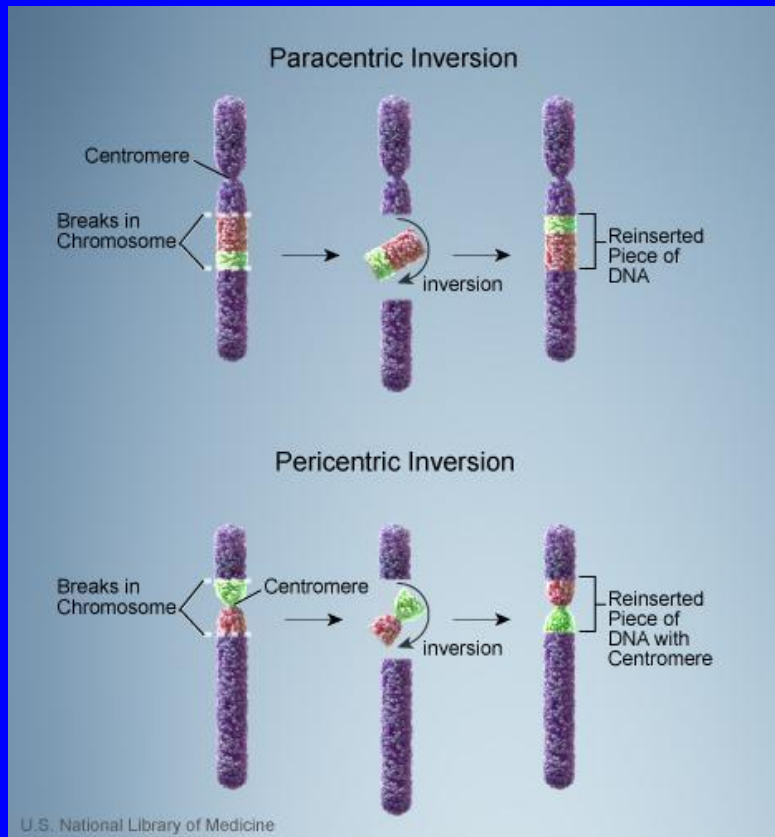
При дупликации (dup) участок хромосомы оказывается удвоенным. Может произойти в результате неравного кроссинговера, ошибки при гомологичной рекомбинации.

Дупликации могут происходить в пределах одной и той же хромосомы или возникать в результате переноса копии участка хромосомы на другую хромосому (транспозиции). Повторы, возникшие в одной хромосоме, могут располагаться в виде прямых или инвертированных тандемных повторов.



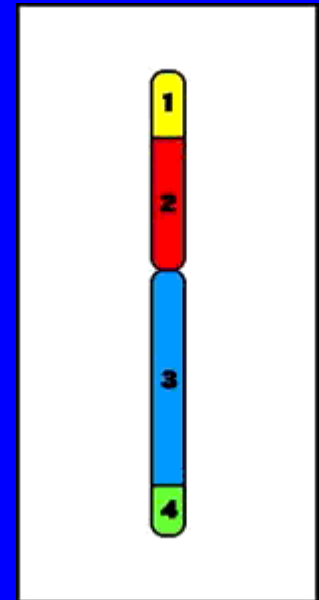
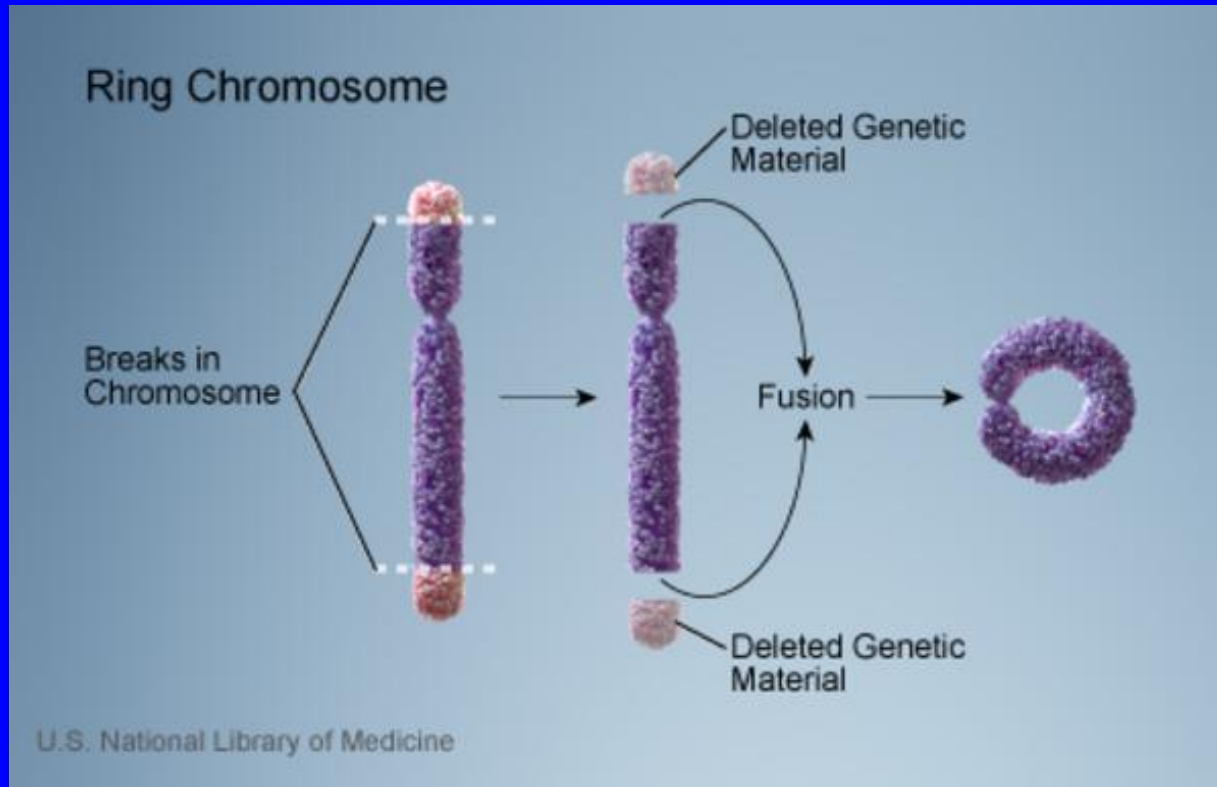
Инверсии

Инверсия (inv) - это перестройка с двумя разрывами, включающая одну хромосому, в которой сегмент перевернут по положению. Если сегмент инверсии включает центромеру, это называется перичесентрической инверсией. Если он затрагивает только одно плечо хромосомы, это называется парацентрической инверсией.



Кольцевые хромосомы

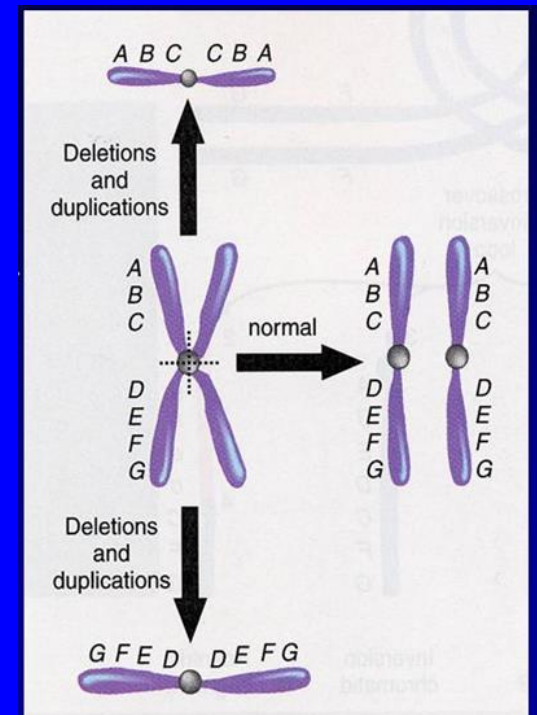
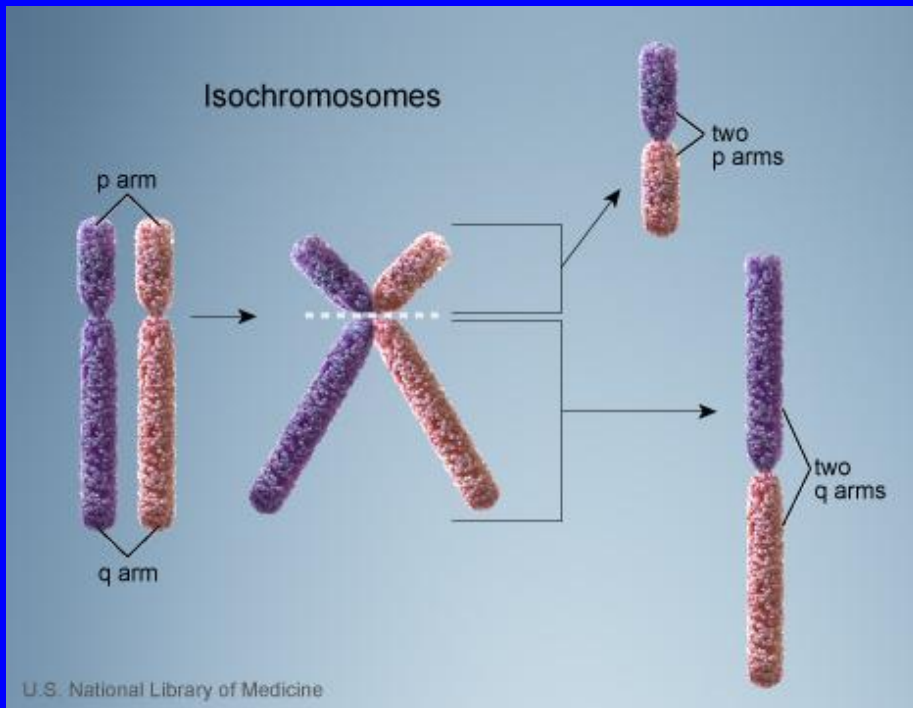
Кольцевая хромосома (r) образуется когда разрыв происходит на каждом плече хромосомы, оставляя два «липких» конца, которые объединяются в кольцо. Два дистальных хромосомных фрагмента теряются, поэтому, если вовлеченная хромосома является аутосомой, последствия обычно серьезны.



Изохромосома

Изохромосома (i) – хромосома с двумя идентичными плечами.

Наиболее часто встречающаяся изохромосома, состоящая из двух длинных плеч X-хромосомы. Это составляет до 15% всех случаев синдрома Тернера.



Сокращения, используемые при описании хромосом и их аномалий

Сокращения	Значение	Пример	Состояние
		46,XX	нормальный женский кариотип
		46,XY	нормальный мужской кариотип
cen	центромера		
p	короткое плечо хромосомы		
q	длинное плечо хромосомы		
del	делеция	46,XX,del(5p)	женщина с синдромом «кошачьего крика» вследствие делеции части короткого плеча одной хромосомы 5
der	производная хромосома (дериват)	der(1)	транслоцированная хромосома, производная от 1 хромосомы и содержащая ее центромеру
dic	дицентрическая хромосома	dic(X;Y)	транслокационная хромосома, содержащая центромеры как X, так и Y-хромосом
dup	дупликация		
fra	ломкий участок	46,Y,fra(X)(q27.3)	мужчина с ломкой X-хромосомой

Сокращения, используемые при описании хромосом и их аномалий

Сокращения	Значение	Пример	Состояние
i	изохромосома	46,X,i(X)(q10)	женщина с изохромосомой длинного плеча X-хромосомы
ins	инсерция		
inv	инверсия	inv(3)(p25q21)	перичентрическая инверсия хромосомы 3
mar	маркерная хромосома	47,XX,+mar	женщина с дополнительной неопознанной хромосомой
mat	материнское происхождение	47,XY,+der(1)mat	мужчина с дополнительной хромосомой der(1), унаследованной от матери
pat	отцовское происхождение		
r	кольцевая хромосома	46,X,r(X)	женщина с кольцевой хромосомой X
rob	Робертсоновская транслокация	rob(13;21)(q10;q10)	разрыв и воссоединение произошли в районе полос 13q10 и 21q10 в околоцентромерных областях хромосом 13 и 21

Сокращения, используемые при описании хромосом и их аномалий

Сокращения	Значение	Пример	Состояние
recr	реципрокная транслокация		
t	транслокация	46,XX,t(2;8)(q22;p21)	женщина со сбалансированной транслокацией между хромосомой 2 и хромосомой 8, с разрывами в 2q22 и 8p21
ter	терминальный участок или теломера	46,X,del(X)(pter→q21:)	женщина с частичной дистальной делецией хромосомы X, ограниченной Xq21 (номенклатура показывает присутствующую часть хромосомы)
+	избыток	47,XX,+21	женщина с трисомией 21
-	убыль	45,XX,-22	женщина с моносомией 22
/	мозаицизм	46,XX/47,XX,+8	женщина с двумя популяциями клеток, одна с нормальным кариотипом и вторая с трисомией 8

Цитогенетические методы

Методы дифференциального окрашивания хромосом

Методы окрашивания исчерченности хромосом позволяют точно идентифицировать отдельные пары хромосом и характеризовать структурные аномалии.

- G-окраска;
- Q-окраска;
- R-окраска.

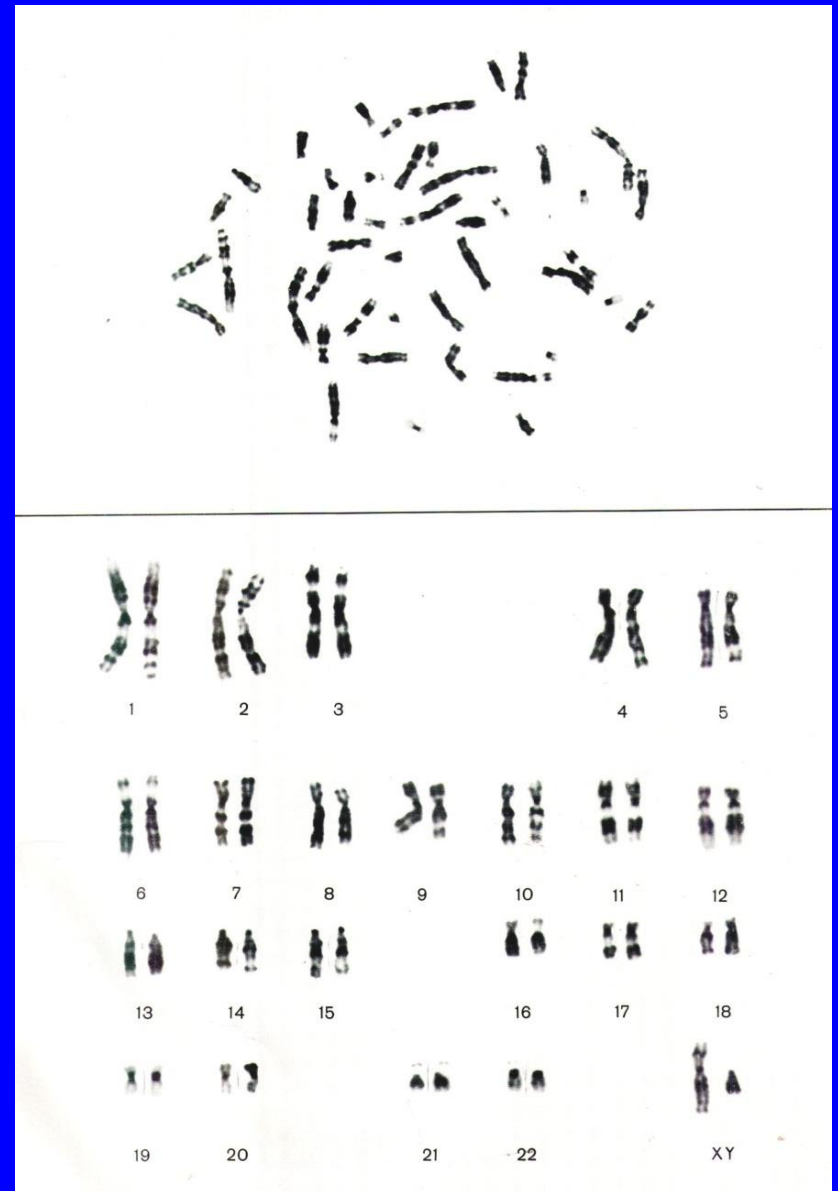
Методы окрашивания избирательных участков хромосом используются в особых обстоятельствах, когда на конкретную информацию невозможно ответить с помощью обычного метода группирования.

- C-окраска;
- T-окраска;
- Cd-окраска;
- NOR-окраска;
- Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

G-окраска (окрашивание Гимзой)

G-окраска - это наиболее широко используемый стандартный метод окрашивания. GTG-окраска (G-окраска, полученные с использованием трипсина и Гимзы) - один из нескольких методов G-окраски.

При данном окрашивании хромосомы состоят из светлых и темных полос, что позволяет точно идентифицировать каждую хромосому. Темные полосы представляют собой богатые А-Т, поздно реплицирующиеся, гетерохроматические области хромосом, тогда как светлые полосы - богатые G-C, ранние реплицирующиеся эухроматические области.



R-окраска (Обратное окрашивание)

Методы R-окраски создают узор полос, противоположный или обратный узору G-полос.

Существуют флуоресцентные и нефлуоресцентные методы. Богатые C-G, эухроматические области окрашиваются темным или флуоресцирующим светом ярко, тогда как богатые A-T гетерохроматические области окрашиваются слабо или тускло флуоресцируют.

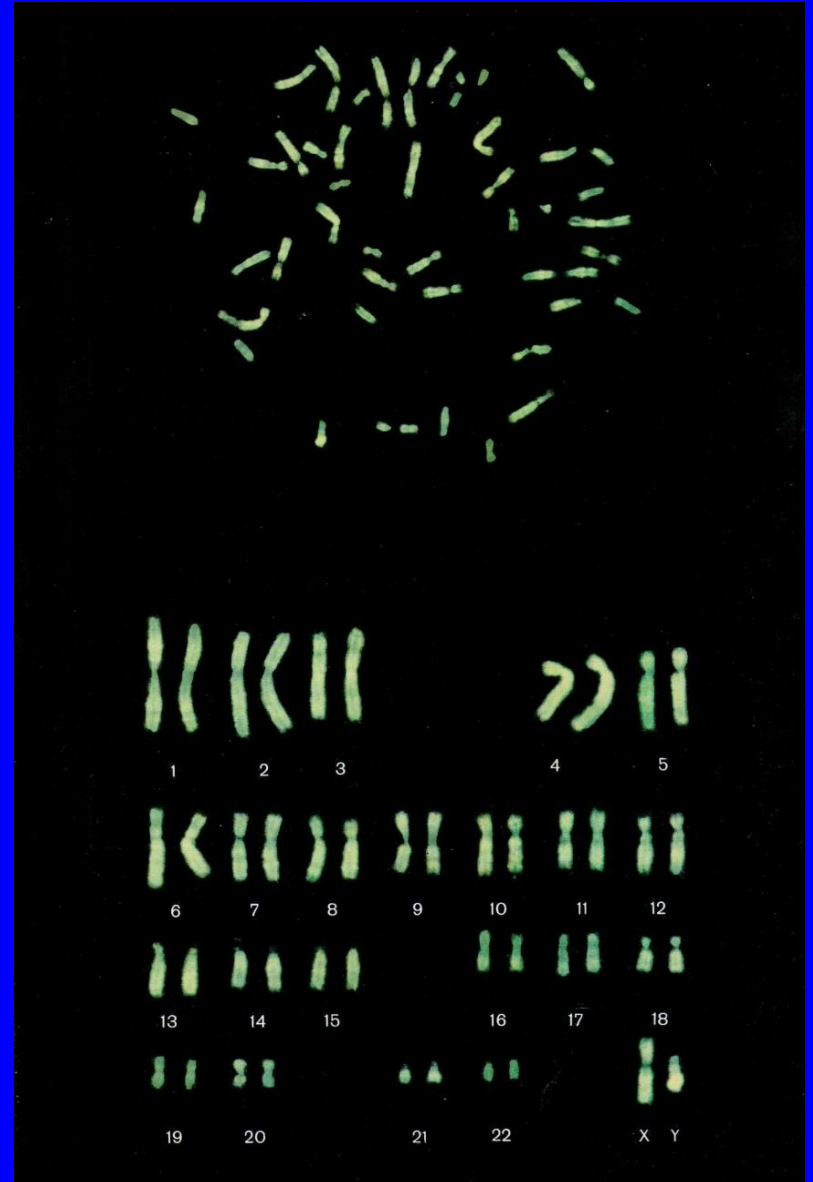
R-окраска - полезный метод для оценки теломер.



Q-окраска (окрашивание хиinakрином)

Q-окраска - это флуоресцентный метод. Определенные флуорохромы, такие как дигидрохлорид хиinakрина, связываются с ДНК и создают отчетливые полосы яркой и тусклой флуоресценции. Ярко флуоресцирующие области богаты А-Т.

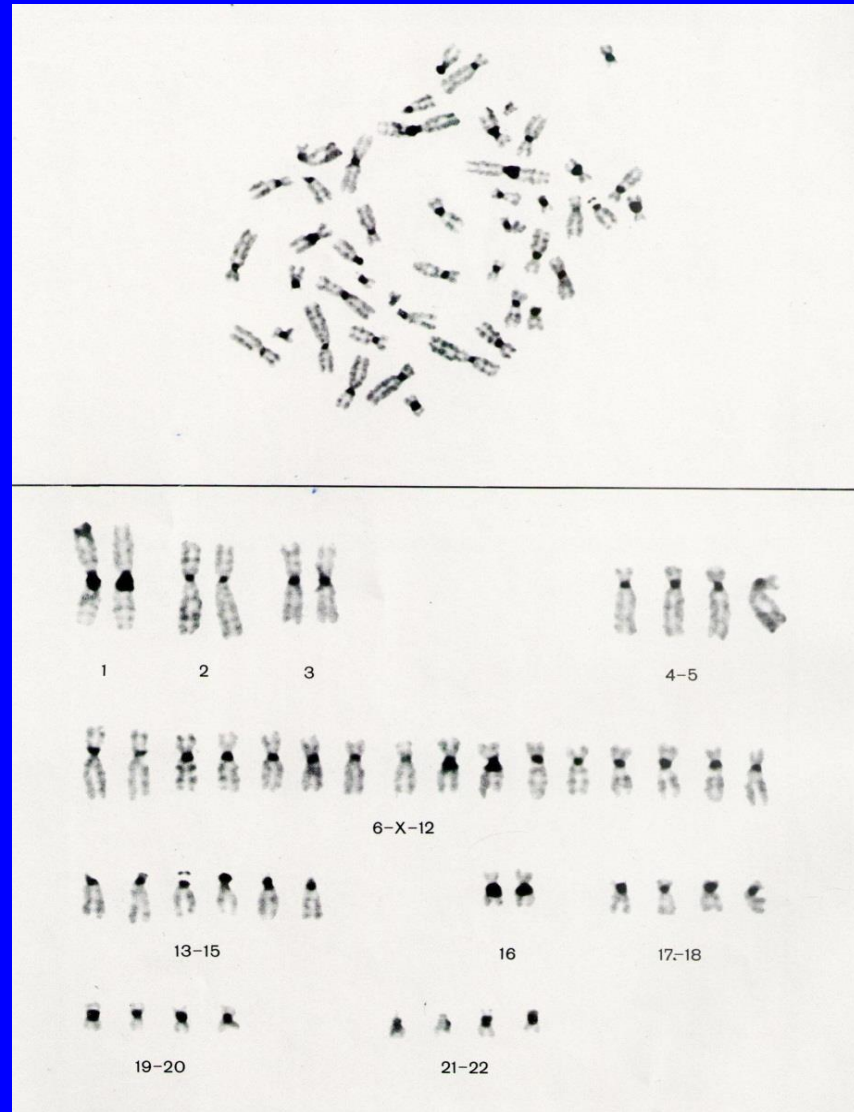
Шаблон Q-полос похож на шаблон G-полос с некоторыми заметными исключениями. В частности, ярко флуоресцируют большие полиморфные перицентромерные области хромосом 1 и 16 и длинное плечо Y.



C-окраска (окрашивание конститутивного хроматина)

Методы C-окраски выборочно окрашивают конститутивный гетерохроматин вокруг центромер, области унаследованных полиморфизмов, присутствующих на хромосомах 1, 9 и 16, и дистальное длинное плечо Y-хромосомы.

C-бэндинг полезен для определения наличия дицентрических и псевдодицентрических хромосом, а также для изучения маркерных хромосом и полиморфных вариантов.



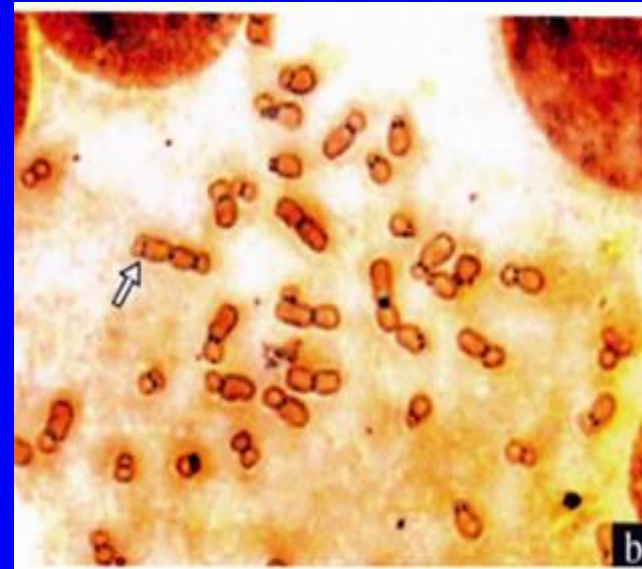
T-окраска (окрашивание теломер)

T-окраска является модификацией R-окраски, в результате которой окрашиваются только теломеры хромосом.

Существуют флуоресцентные и нефлуоресцентные техники T-окраски

Cd-окраска (окрашивание центромер/кинетохора)

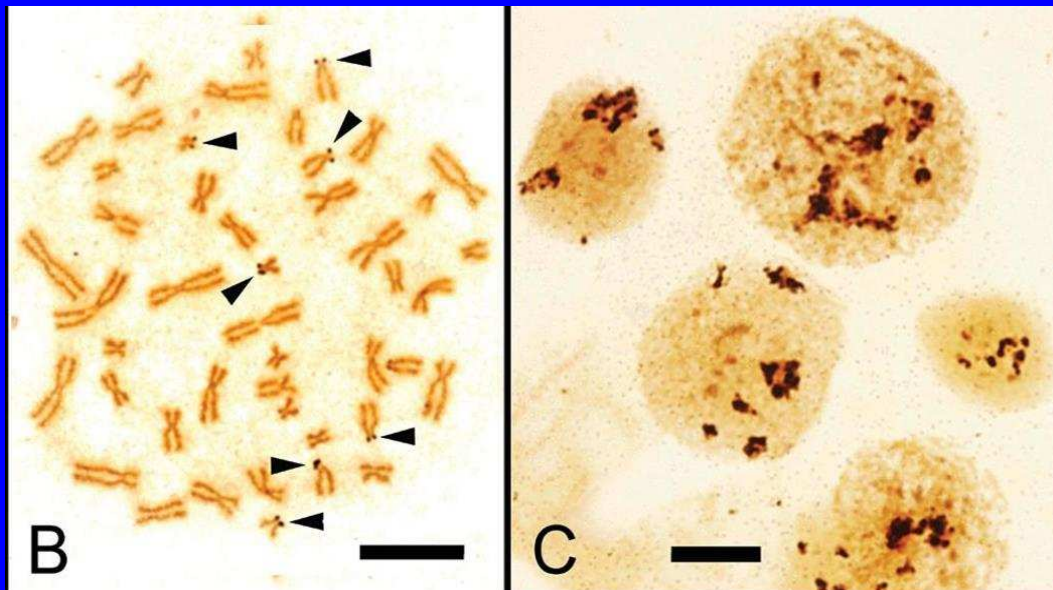
Этот метод окрашивает точно кинетохоры или связанный с ними хроматин на каждой центромере, по одной на каждой хроматиде. Только активные или функциональные центромеры будут окрашиваться Cd-окрашиванием. Cd-окрашивание может быть использовано для дифференциации функциональных центромер от нефункциональных и для изучения Робертсоновских транслокаций, кольцевых хромосом и маркерных хромосом.



NOR-окраска или Ag-окраска (окрашивание районов ядрышковых организаторов)

Этот метод выборочно окрашивает ядрышко-образующие районы (ЯОР), расположенные на акроцентрических хромосомах. Эти области содержат гены рибосомальной РНК и могут быть окрашены нитратом серебра. Теоретически на клетку приходится 10 ЯОР, по 1 на каждую акроцентрическую хромосому.

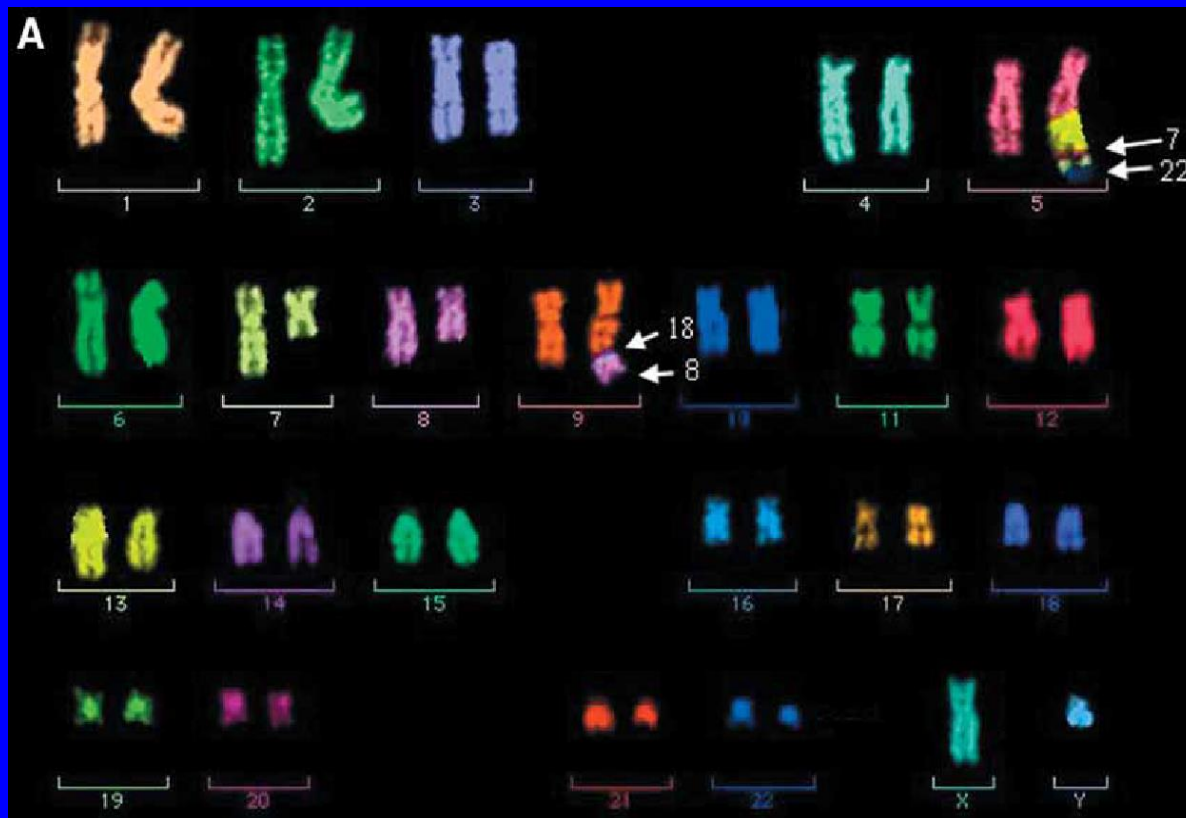
Окрашивание NOR полезно для идентификации маркерных хромосом и перестроек или полиморфизмов с участием акроцентрических хромосом.



Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

FISH-метод - это молекулярно-цитогенетический метод с использованием флуоресцентных зондов, которые связываются только с теми частями хромосомы, которые обладают высокой степенью комплементарности последовательностей.

Он используется для обнаружения и локализации наличия или отсутствия определенных последовательностей ДНК на хромосомах.



Спасибо за внимание!