Мутационная изменчивость.

1. Понятие о мутации. Классификация мутаций.
2. Хромосомные мутации.
3. Геномные мутации.
4. Генные мутации.
5. Индуцированные мутагенез.
6. Проблема экологической генетики. Генетические последствия загрязнения окружающей среды.

1. Термин **мутация** впервые был предложена одним из основоположников генетики – голландским ботаником *Гуго де Фризом* (1901 - 1903) в своем классическом труде «Мутационная изменчивость теория». Он несколько лет изучал явление наследственной изменчивости у растений энотеры. Гигантская энотера отличалась от обыкновенной энотеры, который имел 1 стебель, на ней листочки и на верхушке цветки, множеством стеблей, листочки и крупными цветками на конце каждого стебля. Де Фриз не знал причины появления гигантской энотеры, а только через 30 лет генетики нашли, что это связано с увеличением наборов хромосом в клетках энотеры.

Он сформулировал теорию мутации. Некоторые положения изложены ниже:

1. Мутации возникают внезапно, без всяких переходов, скачкообразно.
2. Новые формы устойчиво предаются по наследству.
3. Мутации являются качественными изменениями.
4. Мутации идут в разных направлениях: они могут быть полезными и вредными.
5. Одни и те же мутации могут возникнуть повторно.
6. Вероятность обнаружения мутаций зависит от числа исследуемых особей

Современная формулировка. **Мутациями** называют наследственные изменения признака, органа или свойства, обусловленные изменениями наследственных структур.

Процесс образования мутаций называется **мутагенезом**, а факторы, вызывающие мутации, **мутагенами.** Мутации первоначально воздействуют на генетический материал особи, вследствие чего может измениться фенотип.

- **По причинам**, вызывавшим мутации их подразделяют на спонтанные и индуцированные.

Спонтанные (самопроизвольные) мутации происходят под действием естественных мутагенных фактов внешней среды без вмешательства человека.

Индуцированные мутации – результат направленного воздействия определенных мутагенных факторов (это могут быть различные виды излучений, температура, влажность и др.)

- **По месту возникновения** мутаций их делят на генеративные и соматические.

Генеративные мутации происходят в половых клетках, передаются по наследству при половом размножении.

Соматические мутации происходят в соматических клетках, проявляются у самой особи и передаются по наследству только при вегетативном размножении (черенкования, отпочкование).

- **По исходу для организма** мутации бывают:

1. отрицательные (летальные и полулетальные)
2. нейтральные
3. положительные (они возникают редко, но имеют большое значение для прогрессивной эволюции).

- **По применениям генетического материала мутации делят на (генотип):**

1. хромосомные
2. геномные
3. генные мутации

Ядерные и цитоплазматические мутации

- Ядерные мутации – геномные, хромосомные, точечные.
- Цитоплазмотические мутации – связанные с мутациями неядерных генов находящихся в митохондриальной ДНК и ДНК пластид – хлоропластов.

Организмы, которые подверглись мутациями, называют **мутантами.**

2. Хромосомные мутации (аберрации). Они связаны с изменениями структуры хромосом, вследствие их разрывов и перестроек. Они могут быть внутрихромосомными и межхромосомными

- **Внутрихромосомным** относят:

1. **Нехватки:**

1.1 Делеция это выпадение среднего участка хромосомы в результате поломки.

1.2. Дефишенси – это выпадение концевого участка хромосомы

У человека с нехватками связан ряд наследственных заболеваний: тяжелая форма лейкемии (21-я хромосома), синдром кошачьего крика у новорожденных (5-я хромосома) и др.

Дефишенси короткого плеча 5-ой (5р-) хромосомы у человека приводит к развитию синдрома кошачьего крика. 1:45 000 рождаются дети у родителей обычного возраста. Наибольшим характерным является специфический плач (кошачье мяуканье, умственное и физическое

недоразвитие, микроцефалия расположенные, иногда деформированные уши, лунообразное лицо, антимонголодный разрез глаз, косоглазие и гипотония мышц) Только 14% больных переживают возраст 10 лет.

3. **Дупликация** удвоения одного и того же участка следовательно увеличивается и доза вещества за который он отвечает.

Например, удвоение у дрозофилы гена *Bar*, вызывающего редукцию числа глазных фасеток, приводит к дальнейшему уменьшению их количества.

Пример, муха дрозофила (табл.) глаза удвоение гена привело к сужению глаз (волосковидные глаза), утроение гена приводит иногда к слепоте.

Дупликации легко выявляются цитологически по нарушению структурного рисунка гигантских хромосом, а генетически их можно выявить по отсутствию рецессивного фенотипа при скрещивании.

4. **Инверсия –** отрыв среднего участка хромосомы, поворот его на 180° и прикрепление к месту отрыва. При этом наблюдается нарушение порядка расположения генов. При этом затрудняется конъюгация гомологических хромосом, что может служить причиной нарушение при распределении генетического материала между дочерними клетками.

5. **Фрагментации** когда хромосома делится на много фрагментов, что может привести к летальному исходу.

- К **межхромосомным** относят **транслокации.** это перестройки, которые происходят между негомологическими хромосомами. У особей также нарушается конъюгация хромосом, что проводит к образованию нежизнеспособных половых клеток. Например, у человека объединение соседних хромосом 16/18, 17/18 вызывает синдром Патау встречается с частотой 1:6 000. Недоразвитие различных отделов ЦНС, низкий скошенный лоб, суженные глазные щели, расстояние между которыми уменьшено, запавшее переносье, широкое основание нос, микрофтальмия, помутнение роговицы. Наиболее типичным является двустороннее расщелина верхней губы («заячья губа») и неба («волчья пасть»). Аномалия опорно-двигательного аппарата, полидактилия, синдактилия. У 80% нарушения ССС и т.д. живут недолго, 95% умирают до года, более трех лет живут единицы. Все выжившие дети с синдромом Патау – глубокие идиоты.

Почти у 40 пород КРС обнаружена так называемая **робертсовская транслокация.** Она связана с перемещением и слиянием 1 (первой) крупной хромосомы 1 и 29 по счету (1/29). От этого количество хромосом меняется, нарушается гаметогенез и животное становится бесплодным.

3. Геномные мутации (или числовые) связаны с изменением числа хромосом. Они возникают в результате нарушений митоза и мейоза Различают:

А. **Гаплоидия** – это организмы с одинарным числом хромосом, т.е. в соматических клетках содержится гаплоидный набор хромосом как в

половых клетках. Гаплоиды возникает спонтанно, они бесплодны, но могут размножаться партеногенетически.

Б. **Эуплоидия** – это мутации, в результате которой возникают организмы в клетках, которых содержится более двух наборов хромосом. При этом различают:

- **Автополиплоидию** – это процесс возникновения организмов в клетках которых содержится более двух гаплоидных наборов хромосом, присущих данному виду, причем увеличение происходит на кратное число (одно и тоже). Встречается у растений.

Например, пшеница n = 7 4n = 28 (твердая)
2n = 17 5n = 35
3n = 21 6n = 42 (мягкая) и т.д.

При таком увеличении числа хромосом происходит увеличение ядра и цитоплазмы. Они более крупные более зимостойкие, устойчивы к полеганию. Используют в районе полярного круга.

Сейчас более часто используют автоплоиды, для увеличения урожайности. Чем выше плоидность, тем более снижена воспроизводительная способность (при нечетном числе чаще).

- **Аллоплоидия** – это организмы, в кариотипе которых содержатся двойные наборы хромосом разных видов, полученные в результате их скрещивания гибриды пшенично – ржаные. Значительно выше урожайность Тритикале (свойства и пшеницы и ржи).

В. **Гетероплоидия** (анеуплоидия) – некратное гаплоидному увеличение или уменьшение числа хромосом (2 n$\pm$1, 2 n$\pm$2 и т.д.).

1. **Трисомия** 2n+1 – три гомологичекие хромосомы в кариотипе, например сидром Дауна (трисомия по 21 хромосоме) 1:900, чаще у пожилых родителей; синдром Патау (трисомия по 13 хромосом) 1:6000; синдром Эдвардса (трисомия по 18 хромосом) 1:7000. Чаще у девочек, 60% детей умирают до 3 месяцев, до года 1:10.

2. **Моносомия** 2n-1 – в наборе одна из пары гомологических хромосом, например синдром Тернера – Шерешевского. Моносомие по первых крупным парам хромосом являются для человека летальными мутациями.

3. **Нулесомия** 2n-2 – отсутствие пары хромосом (летальная мутация).

Хромосомные и геномные мутации обнаруживаются цитогенетическими методами. Хромосомные мутации всегда проявляются фенотипически.

4. Генные (точковые) мутации, связаны с изменениями структуры гена (молекулы ДНК). Генные мутации в большинстве случаев проявляются фенотипически и являются причиной нарушений обмена веществ (либо качественное изменение белковых молекул, т. е наличие у больных аномальных белков мутации структурных генов; либо количественное

изменения повышение или снижены) содержания белка – мутации функциональных генов (т.е нарушение регуляции работы генов)

Все генные мутации выявляются биохимическими методами, и методами рекомбинантной ДНК.

Существует несколько видов точковых мутаций

Точечные мутации

1. Миссенс-мутация
2. Мутация сдвига рамки считывания
3. Нонсенс-мутация
4. Синонимическая сеймсенс-мутация.

Или по другому:

1) Замена пар нуклеотидов в молекулы ДНК
2) Выпадение пар
3) Добавление и поворот участка гена на 180'.

Например, **норма** А Т Г Ц Ц Г Т А Г
Т А Ц Г Г Ц А Т Ц
А У Г Ц Ц Г У А Г
мет] про] терминатор

1. **Замена** затрагивает только 1 АМК А А Г Ц Ц Г Т А Г
Т Т Ц Г Г Ц А Т Ц
А А Г Ц Ц Г У А Г
лиз] про] терминатор

Значение: виды гемоглобина

A про – глю – глю – лиз — А – норма
S про – вал – глю – лиз — S свойства меняются, плохо
C про – лиз – глю – лиз — C переносят O_2 и углекислоту.
G про – глю – гли – лиз — G Изменение форма овальная

форма эритроцитов серновидино-клеточная анемия, что приводит к малокровию.

Полиморфные системы белков. Замена одной молекулы АМК приводит к различным вариантам мутации типа замены приводит к замене одной АМК в белковой молекуле.

2. **Выпадение** (минус – мутация) приводит к кардинальному применению АМК-ного состава, тоже самое добавления.

А Г Ц Ц Г Т А Г
Т Ц Г Г Ц А Т Ц
А Г Ц Ц Г У А Г
У Ц Г Г Ц А У Ц

Мутации типа выпадения или добавления пар нуклеотидов, что приводит к сдвигу считывания генетической информации, в результате чего образуется белковой молекулы с иным составом АМК, после мутационного участка.

Иногда выпадает целый блок

α_{s1} 2 – варианта они отличаются числом

A = 163 АМК

B = 163 + 13

3. **Добавление** одной пары нуклеотидов также ведет к изменению порядка чередования аминокислот в полипептидной цепи.

5. Индуцированный мутагенез.

Раньше считали, что мутации возникают только под действием внутренних факторов (внутренней среды организма), имеющих место при синтезе ДНК, репродукции хромосом, делении клеток. Впервые индуцированные мутации были получены в 1925 году Г.А. Надсоном и Г.С. Филипповым на дрожжевых грибах, вызванных воздействием лучами радия.

Индуцированный мутагенез позволяет наиболее полно выявить возможности генотипа, создать генетические коллекции с учетом всех возможных изменений органов, признаков и свойств, а также позволяет создавать генетические карты хромосом.

Процесс образования мутаций называется **мутагенезом**, а факторы, вызывающие мутации, - **мутагенами.** Индуцированные мутации – результат направленного воздействия определенных мутагенных факторов.

Мутагенные факторы подразделяют не :

1. **Физические** – различные виды излучений, температура, влажность и др.

Основные механизмы их действия:

1. Нарушение структуры генов и хромосом;

2.Образование свободных радикалов, которые вступают в химическое взаимодействие с ДНК;

3. Разрывы нитей ахроматинового веретена деления;

4. образование димеров.

2. К **химическим** мутагенам относятся:

А. природные органические и неорганические вещества (нитриты, нейриты, алкалоиды, гормоны, ферменты и др.);

Б. продукты промышленной переработки природных соединений – угля, нефти;

В. синтетические вещества (пестициды, инсектициды, пищевые консерванты, лекарственные вещества);

Г. метаболиты организма человека.

Механизмы их действия:

1. дезаминирование

2. алкилирование

3. замены азотистых оснований их аналогами

4. ингибиция синтеза предшественников нуклеоиновых кислот.

3. К **биологическим мутагенам** относятся:

А. вирусы (краснухи, кори, гриппа)

Б. невирусные паразитарные агенты (микоплазмы, бактерии, риккетсии, простейшие гельминты)

Механизмы их действия:

1. вирусы встраивают своего ДНК В ДНК клеток хозяина;

2. продукт жизнедеятельности паразитов - возбудителей болезней действуют как химические мутагены.

По исходу для организма мутации бывают:

Отрицательные – летальные (несовместимые с жизнью) и полулетальные (снижающие жизнеспособность организма).

Нейтральные (не влияющие на процессы жизнедеятельности).

Положительные (повышающие жизнеспособность).

6. Последние десятилетия характеризуются интенсификацией производственных процессов в промышленном и сельском хозяйстве. В результате этого в окружающей среде – воздухе, почве, воде – накапливаются огромные количества веществ, часть из которых обладает мутагенной и тератогенной активностью. Среди них особое значение имеют химические мутагены – ДДТ, гексахлорбензол и другие пестициды из класса хлорированных углеводородов, которые способны накапливаться в живых организмах. В районах интенсивного сельского хозяйства источником мутагенов являются нитраты.

Перевод животноводства на промышленные технологии в нашей стране сопровождался концентрацией поголовья животных на ограниченных территориях ферм и комплексов, что вызывает повышение концентрации микрофлоры, в том числе возбудителей различных болезней.

Вирусы, непосредственно внедряясь своим генетическим аппаратом в геном клеток животных или через свои биологические субстраты, обладающие антигенными свойствами, могут стать сильным фактором индуцированного мутагенеза. Для профилактики и лечения бактериальных и вирусных инфекций, инвазий используют инактивированные, а также живые вакцины, сыворотки, широкий арсенал синтезированных фармакологических средств, что, безусловно, дает положительный эффект. Однако следует оценивать и побочные результаты ветеринарной терапии, что может проявляться в повышении частоты нарушений хромосом и ДНК в половых и соматических клетках самих животных, изменениях программы развития их эмбрионов.'

Вместо повышения жизнеспособности из-за такого рода мутаций будут происходить ослабление резистентности, снижение продуктивности животных и т. д.

Особенно серьезную опасность представляют химические загрязнения среды разведения животных. Если всего три десятилетия назад основным удобрением полей был перегнивший навоз, то сейчас в основном используют химические удобрения. Это приводит к концентрации в кормах нитритов и

нитратов, вредное действие которых на организм известно. Второй фактор – борьба с вредителями полей, садов и огородов. Она основана также на применении химических соединений – пестицидов, которые обладают очень сильными мутагенными свойствами. Отмечается, что большинство пестицидов устойчивы к химическому и биологическому разложению и имеют высокий уровень токсичности. Перечень вредных химических веществ, с которыми контактируют животные, огромен.

В этой связи важное значение имеет экологический мониторинг среды разведения животных, предусматривающий определение характера и уровня химических веществ в почве, воде, кормах и теле животных. Необходимо создание экологических карт хозяйств и регионов, на которые наносится соответствующая информация.

Авария на Чернобыльской АЭС привела к радиоактивному загрязнению огромных территорий РФ, Украины и Белоруссии. Возникла глобальная проблема оценки генетических последствий этой катастрофы на различные биологические объекты, в том числе сельскохозяйственных животных.

Например анализ хромосом у коров швицкой породы в совхозе «Труд» Клинцовского района Брянской области. Хозяйство относится к зоне сильного загрязнения окружающей среды радионуклидами. В исследованных метафазах обнаружено 38,94 % аберраций. Соотношение разных типов аберраций было следующим:

Аберрации хромосомного типа, %	63,96
В том числе парные фрагменты	31,54
ацентрические кольца	9,90
кольцевые хромоеомы	19,81
дицентрические хромосомы	2,71
Аберрации хроматидного типа, %	36,04
В том числе одиночные фрагменты	7,25
межхромосомные обмены	23,42
межхроматидные обмены	5,37

Радионуклиды, как отмечено выше, сами по себе являются мощным фактором индукции мутаций, прежде всего повреждая целостность хромосом и вызывая аберрации.

Но оказалось, что они при взаимодействии с химическими мутагенами способны усугублять ситуацию. Во НИИ ветеринарной генетики и селекции (НИИВГиС) проводятся комплексные исследования по эколого-ветеринарной генетике. Это раздел ветеринарной генетики, изучающий влияние различных экологических факторов на наследственность животных, устойчивость к заболеваниям, сопряженную эволюцию микро- и макроорганизмов, генетическую обусловленность накапливать или выводить

из организма вредные вещества, генетически детерминированные реакции животных на лекарственные препараты и т. д. Одна из задач эколого-ветеринарной генетики – селекция животных на устойчивость к вредным физическим, химическим и биологическим факторам. Сотрудники НИИВГиС установили негативное влияние радиации и химических загрязняющих веществ на хромосомную нестабильность, иммунный ответ к некоторым антигенам, гормональный статус и накопление химических элементов в тканях крупного рогатого скота. Проводится цитогенетический, иммуногенетический, иммунологический, химический и биохимический мониторинги популяций сельскохозяйственных животных в экологически чистых и загрязненных районах Западной Сибири.

Неблагоприятная экологическая среда, характеризующаяся возрастанием уровня ионизирующей радиации, интенсивным ультрафиолетовым излучением и особенно действием токсических химических соединений, которыми сейчас в ряде регионов перенасыщены воздух, вода, почва и растения, повышенная контактность животных с ретровирусами приводят к снижению уровня иммунитета и увеличению нестабильности генетического аппарата животных. Это может проявляться в форме образования мобильных генетических элементов, способных к трансформации в вирусы иммунодефицита – СПИДа у человека и аналогичные им у животных.

Ученые подчеркивают, что проблема СПИДа (и родственных ему заболеваний, вызываемых ретровирусами – автономными генами, которые во многом сходны с вирусом иммунодефицита у человека) – это совершенно новая биологическая ситуация, с которой начинается широкое распространение приобретенной генетической патологии. При этом резкое ухудшение экологической ситуации можно считать ведущей причиной того, что именно во второй половине XX в. стали выходить из-под контроля процессы образования подвижных генов.

Методы эколого-генетического мониторинга в животноводстве. Увеличение частоты ранее известных или появление новых мутаций в последующих поколениях животных – показатель возрастающего действия мутагенов среды. В условиях конкретной экологической среды разведения животных важное значение имеет определение мутагенной активности как отдельных факторов, так и всего их комплекса. Здесь речь может идти о генетической активности лекарственных препаратов, применении нетрадиционных кормовых добавок, гормональных обработок животных. Главное внимание, очевидно, должно уделяться анализу влияния на стабильность генома того или иного уровня загрязнения окружающей среды.

В настоящее время рекомендуется использовать следующие тесты генетической активности веществ: 1) генные мутации; 2) хромосомные аберрации; 3) обмены между сестринскими хроматидами; 4) микроядерный тест и др.

Для оценки частоты новых и старых возникших ранее (генетический груз) мутаций рекомендуется использовать цитогенетический метод, анализ мономорфных систем белков, учитывать частоту врожденных аномалий, спонтанных абортов и мертворождений, соотношение полов в потомстве животных. Образование хромосомной аберрации или необычного типа белка, которых не было у родственных животных, служит доказательством вновь образовавшейся мутации.

Анализ частоты сестринских хроматидных обменов в лимфоцитах крови дает возможность установить наличие генетической активности при воздействии на организм того или иного химического агента. Этот метод в 1972 г. предложили А. Ф. Захаров и Н. А. Еголина. Сущность его состоит в том, что в культивируемые in vitro лимфоциты, стимулированные для прохождения митозов фитогемагглютинином, вводят аналог тимидина 5-бромдезокси-уридин (БДУ). В зависимости от времени его добавки в среду (первый или второй клеточный цикл) он включается в одну или обе сестринские хроматиды. При соответствующей обработке препаратов и использовании красителя Гимзы под микроскопом можно видеть хромосомы с одной окрашенной (БДУ включился) и с другой неокрашенной хроматидами. В отдельных хромосомах наблюдают дифференциальную окраску хроматид – чередование темных и светлых участков. Это значит, что произошли изменения, т. е. обмены между сестринскими хроматидами (СХО). Высокая частота СХО свидетельствует о мутагенном действии изучаемого вещества, с которым контактировали клетки крови.

Этот метод дополняют анализом частоты разрывов хромосом, других аберраций, полученных от тех же животных, но лучше при сплошной окраске.

В последнее время предложен еще один чувствительный метод выявления мутагенности факторов среды – так называемый микроядерный тест. Дело в том, что дополнительные маленькие ядра (микроядра) на окрашенных мазках крови образуются за счет целых хромосом или их фрагментов, которые при делении не включаются в основное ядро из-за повреждений. Наблюдается возрастание числа микроядер в эритроцитах млекопитающих при воздействии мутагенов. Для этих же целей адекватные результаты может дать анализ частоты нерасхождений хромосом в клетках костного мозга на стадии анафазы.

Возрастание частоты злокачественных новообразований, в том числе и лейкозов у человека и животных, ученые обоснованно связывают с загрязнением окружающей среды. Установлено, что многие мутагены одновременно являются и канцерогенами – факторами, ведущими к злокачественной трансформации клеток. Следовательно, распространение в среде разведения животных генетически активных агентов может приводить не только к повышению частоты мутаций, но и к возрастанию частоты злокачественных новообразований.

Эта проблема в ветеринарии – одна из актуальных и очень непроста для решения. Исследования ученых показали существование РНК-содержащих или ретровирусов, способных при инфекции встраиваться в геном клеток животных и нарушать их генетическую программу. С другой стороны, в нормальных клетках млекопитающих признано существование участков ДНК, сходных по строению с РНК ретровирусов. Это так называемые протоонкогены, принимающие участие в контроле клеточного цикла. Последние, как полагают ученые, превращаются в онкогены, что приводит к нарушению их экспрессии и развитию ракового процесса. Толчком этого события могут быть вирусные инфекции, действие на организм физических и химических мутагенов.

Генетическая резистентность организмов при этом имеет значение. Одни животные остаются только инфицированными ретровирусами, что обнаруживают по реакции иммунодиффузии или с помощью ДНК-зондирования, у других вскоре развивается лейкоз или другая форма рака. Для выявления устойчивости животных к лейкозам важное значение имеет оценка стабильности генома. Одними из таких критериев могут быть частота полиплоидии, разрывов хромосом, изменчивость хромоцентров. По данным ученых, последний показатель у крупного рогатого скота, пред-расположенного к лейкозу, достоверно отличается от нормы.