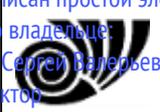


Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Таскаев Сергей Валерьевич
Должность: Ректор
Дата подписания: 17.09.2025 10:58:44
Уникальный программный ключ:
04c19ed8bfb98f3b6cb77a486b9a8788b8322323

 МИНОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИИ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Челябинский государственный университет» (ФГБОУ ВО «ЧелГУ»)	Фонд оценочных средств по дисциплине «Цитогенетика» по направлению подготовки 06.03.01 «Биология» ФГБОУ ВО «ЧелГУ»	стр. 1
---	--	--------

**Фонд оценочных средств
для промежуточной аттестации
по дисциплине (модулю)**

Цитогенетика

Направление подготовки (специальность)
06.03.01 Биология

Направленность (профиль)
Генетика

Присваиваемая квалификация
Бакалавр

Форма обучения
очная

Год (ы) набора: 2023

Челябинск, 2025 г.

1. ПАСПОРТ ФОНДА ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ

Направление подготовки: **06.03.01 Биология**

Направленность (профили): Генетика

Дисциплина: **Цитогенетика**

Семестры изучения: 7

Форма промежуточной аттестации: зачет

2. ПЕРЕЧЕНЬ ФОРМИРУЕМЫХ КОМПЕТЕНЦИЙ

2.1. Компетенции, закреплённые за дисциплиной

Изучение дисциплины «Цитогенетика» направлено на формирование следующих компетенций:

Коды компетенции (по ФГОС)	Содержание компетенций согласно ФГОС	Коды и содержание индикаторов	Перечень планируемых результатов обучения по дисциплине
1	2	3	4
УК-1	Способен осуществлять поиск, критический анализ и синтез информации, применять системный подход для решения поставленных задач	<p>УК-1.1. Выполняет поиск информации, определяет критерии системного анализа поставленных задач</p> <p>УК-1.2. Использует критический анализ, систематизацию и обобщение информации для решения поставленных задач</p>	<p>Знать: Для достижения индикатора УК-1.1. основные литературные источники по цитогенетике, включая интернет-ресурсы по изучаемым проблемам</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора УК-1.2. выполнять цитогенетическую запись результатов кариотипирования с использованием цитогенетических символов, уметь читать и записывать цитогенетические диагнозы.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора УК-1.1. навыком работы с учебной литературой, научными статьями, интернет-ресурсами; навыком работы с наглядными пособиями: атласом хромосом человека, учебными таблицами, схемами.</p>

ПК-2	Способен применять методы исследования генетического материала на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях	ПК-2.1 Обладает базовыми представлениями об основных методах генетики и селекции, генетики человека и животных.	<p>Знать: Для индикатора достижения ПК-2.1. строение, упаковку, основные структурные элементы хромосом прокариот, эукариот, регуляцию клеточного цикла; виды и причины хромосомных перестроек.</p> <p>Уметь: Для индикатора достижения ПК-2.3. проводить анализ препаратов хромосом в норме и при патологии.</p> <p>Владеть: Для индикатора достижения ПК-2.2. навыками записи кариотипа по цитогенетической номенклатуре; навыками работы в цитогенетической лаборатории.</p>
		ПК-2.2 Использует навыки планирования исследований, направленных на определение генотипа отдельного индивида и генофонда популяции в целом.	
		ПК-2.3 Применяет методы работы с современной аппаратурой и вычислительными средствами.	

3. СОДЕРЖАНИЕ ОЦЕНОЧНЫХ СРЕДСТВ ПО ДИСЦИПЛИНЕ

3.1 Виды оценочных средств

№ п/п	Код компетенции/планируемые результаты обучения	Контролируемые темы/разделы	Наименование оценочного средства для текущего контроля	Наименование оценочного средства на промежуточной аттестации № задания
1	<p>УК-1</p> <p>Знать: Для достижения индикатора УК-1.1. основные литературные источники по цитогенетике, включая интернет-ресурсы по изучаемым проблемам</p> <p>Уметь: Для достижения индикатора УК-1.2. выполнять цитогенетическую запись результатов кариотипирования с использованием цитогенетических символов, уметь читать и записывать цитогенетические диагнозы.</p> <p>Владеть: Для достижения индикатора УК-1.1. навыком работы с учебной литературой, научными статьями, интернет-ресурсами; навыком работы с наглядными пособиями: атласом хромосом человека, учебными таблицами, схемами.</p>	<p>1. Предмет и задачи цитогенетики. История науки.</p> <p>2. Строение хромосом.</p> <p>3. Номенклатура хромосом человека. Виды окраски хромосом.</p> <p>4. Цитогенетика хромосомных перестроек.</p> <p>5. Клеточный цикл и его регуляция.</p>	Устный опрос, реферативные сообщения, выполнение лабораторных работ	Вопросы к зачету 1-26
2	<p>ПК-2</p> <p>Знать: Для достижения индикатора ПК-2.1. строение, упаковку, основные структурные элементы хромосом прокариот, эукариот, регуляцию клеточного цикла; виды и причины</p>	<p>2. Строение хромосом.</p> <p>3. Номенклатура</p>	Устный опрос, реферативные сообщения,	Вопросы к зачету 3-17

<p>хромосомных перестроек. Уметь: Для достижения индикатора ПК-2.3. проводить анализ препаратов хромосом в норме и при патологии. Владеть: Для достижения индикатора ПК-2.2. навыками записи кариотипа по цитогенетической номенклатуре; навыками работы в цитогенетической лаборатории.</p>			
--	--	--	--

Примечание: типовые задания, критерии и показатели оценивания в рамках текущего контроля представлены в рабочей программе дисциплины (модуля). Полные комплекты оценочных средств и контрольно-измерительных материалов хранятся на кафедре.

3.2 Содержание оценочных средств

Вопросы к зачету «Цитогенетика»

1. Понятие о цитогенетике. Предмет, задачи.

Цитогенетика (от цито... и генетика), наука, изучающая закономерности наследственности во взаимосвязи со строением и функциями различных внутриклеточных структур.

Основной предмет исследований Ц. — хромосомы, их морфология, структурная и химическая организация, функции и поведение в делящихся и неделящихся клетках. Как пограничная наука Ц. использует методы генетики и цитологии и тесно связана с разделами этих наук — молекулярной генетикой, цитохимией, кариологией, кариосистематикой и др. Подразделяется на общую Ц., изучающую общие клеточные основы наследственности, и Ц. растений, животных, человека.

2. Основные этапы развития цитогенетики.

В истории развития медицинской цитогенетики можно выделить несколько этапов. Первые, самые ранние наблюдения хромосом человека начались с работ В. Флемминга (1880), когда в делящихся клетках роговицы глаза человека он обнаружил от 22 до 28 хроматиновых тел. Сам термин "хромосома", в дословном переводе означающий "окрашивающееся тельце", впервые был введен В. Вальдейером в 1888 году. В 1912 году Winiwarter впервые при исследовании семенников человека обнаружил 47 хромосом в метафазах сперматогоний, 23 аутосомные пары и непарную X-хромосому. Он предположил, что женский пол характеризуется кариотипом XX, а мужской -X0.

Следующий этап можно назвать "темной эрой" развития цитогенетики (Hsu, 1979). Он продлился с 1923 по 1952 гг. В 1923 году английский исследователь Painter при изучении тестикул трех душевнобольных установил, что диплоидное число хромосом у человека для обоих полов равно 48, а система половых хромосом у женщин представлена хромосомами XX и XY у мужчин. Следует отметить, что в этот период способы

получения препаратов хромосом были еще далеки от идеала, и поэтому ошибочное представление о количестве хромосом у человека держалось достаточно долго.

С 1952 года началась "гипотоническая эра" в развитии цитогенетики человека (Hsu, 1979; Therman, 1986). В 1952 году Hsu поместил клетки в гипотонический раствор и получил препараты с хорошим разбросом митотических хромосом. Используя этот важный методический прием, в 1956 году шведские ученые Tjio и Levan при изучении культур фибробластов легкого эмбрионов человека, а вскоре и англичане Ford и Hamerton при изучении сперматоцитостестискулярной ткани установили, что диплоидное число хромосом человека равно 46. Это открытие стимулировало бурное развитие цитогенетики человека в последующие годы.

С 1959 года начинается "трисомная эра" развития цитогенетики, когда Лежен с соавторами (Lejeune et al.) опубликовали первые результаты изучения фибробластов кожи от девяти детей с болезнью Дауна. Во всех клетках была обнаружена трисомия по 21 хромосоме. В этом же году Форд с соавторами (Ford et al.), а также Джекобе и Стронг (Jacobs, Strong) сообщили о цитогенетических находках при синдромах Шерешевского-Тернера и Клайнфельтера соответственно. В 1960 году Патау с соавторами (Patau et al.) и Эдварде с соавторами (Edwards et al.) описали две новые аутосомные трисомии, идентифицированные позднее как трисомии хромосом 13 и 18, а Ноуэлл (Nowell) и Хангерфорд (Hungerford) описали "филадельфийскую" хромосому при хроническом миелолейкозе, которая явилась исторически первой специфической хромосомной мутацией, обнаруженной при определенном типе рака.

3. Хромосомная организация наследственного вещества. Функции хромосом.

Хромосомный уровень организации наследственного материала характеризуется особенностями морфологии и функций хромосом. Роль хромосом в передаче наследственной информации была доказана благодаря: 1) открытию хромосомного определения пола; 2) установлению групп сцепления генов; 3) построению генетических и цитологических карт хромосом. Метафазная хромосома (спирализованный хроматин) состоит из 2-х хроматид. Форма определяется наличием первичной перетяжки — центромеры. Она разделяет хромосому на 2 плеча.

Расположение центромеры определяет основные формы хромосом: метацентрические (равноплечие), субметацентрические (неравноплечие), акроцентрические (резко неравноплечие) и телоцентрические (одноплечие). Степень спирализации хромосом неодинаковая. Участки хромосом со слабой спирализацией называют эухроматиновыми. Это зона высокой метаболической активности, где ДНК состоит из уникальных последовательностей. Зона с сильной спирализацией — гетерохроматиновый участок, обеспечивающий транскрипцию. Различают конститутивный гетерохроматин — генетически инертный, не содержащий генов и непереходящий в эухроматин, а также факультативный, который может переходить в активный эухроматин. Концевые отделы дистальных участков хромосом называют теломерами. Теломеры обеспечивают стабильность структуры хромосом и ограничивают число клеточных делений. Хромосомы обладают следующими свойствами (правилами хромосом): 1. Индивидуальность — негомологичные хромосомы различаются между собой. 2. Парность — гомологичные хромосомы образуют пары. 3. Постоянство числа — все соматические клетки организма имеют постоянное число хромосом, характерное для вида. 4. Непрерывность — репродукция хромосом и передача наследственной информации при делении клетки.

4. Хромосомы вирусов. Хромосомы прокариот. Хромосомы мезокариот.

У ДНК-содержащих вирусов, бактерий, сине-зелёных водорослей, а также в самореплицирующихся органеллах клеток у эукариотов, т.е. в пластидах, митохондриях и т.д. хромосома представляет собой голую двуспиральную молекулу ДНК. Молекула эта у некоторых форм линейна, но у большинства концы её соединены так, что она образует кольцо, которое закручено в шпильку, и хромосомасверхспирализована.

Репликация этих хромосом – молекул ДНК начинается с определённой точки и прогрессирует, пока не закончится репликация всей хромосомы. Длина молекул ДНК, служащих хромосомами вирусов, прокариотов и клеточных органелл, составляет от 0,4 до 1 мк у мелких вирусов и кинетопластов, 5-100 мк у других вирусов, пластид и митохондрий и достигает 1000-2000 мк у бактерий. У большинства РНК-содержащих вирусов хромосома представлена голой однонитевой молекулой РНК, которая подобно однонитевой ДНК превращается в заражённой клетке в репликативную двунитевую молекулу. Однако известны и вирусы с двунитевой молекулой РНК. У бактерий геном организован в компактное тело, называемое нуклеотидом.

В отличие от прокариотов в хромосомах эукариотов молекулы ДНК имеют гигантские размеры, длина их может достигать нескольких сантиметров. У эукариотов хромосома состоит из множества репликонов, т.е. в хромосоме есть множество определённых точек, с которых начинается репликация ДНК. Обычно возле каждой такой точки инициации образуются две вилки репликации и синтез новой нити ДНК идёт в обе стороны до концов данного репликона. В эухроматиновых участках хромосом репликация всех репликонов происходит более или менее одновременно, гетерохроматиновые же участки реплицируются с опозданием. Длина репликона у эукариотов колеблется от 10 до 150 микронов, что соответствует приблизительно 20-300 тысячам пар нуклеотидов. В хромосоме бывает от 200-300 до более 1000 репликонов. В геноме дрозофилы насчитывается, по-видимому, свыше 1000 репликонов, в геноме человека их около 37000. Ядро мезокариот, называемое динокарион, содержит от 5 до 284 «хромосом» и характеризуется значительным содержанием ДНК (3—200 пг), по кинетическим параметрам напоминающее эукариотическое, но обогащённое 5- гидроксиметилурацилом (3—19 мол. %).

5. Хромосомы эукариот: строение, число, форма, размеры.

Хромосомы эукариот имеют сложное строение. Основу хромосомы составляет линейная (не замкнутая в кольцо) макромолекула дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) значительной длины (например, в молекулах ДНК хромосом человека насчитывается от 50 до 245 миллионов пар азотистых оснований). В растянутом виде длина хромосомы человека может достигать 5 см. Помимо нее, в состав хромосомы входят пять специализированных белков — Н1, Н2А, Н2В, Н3 и Н4 (так называемые гистоны) и ряд негистоновых белков. Последовательность аминокислот гистонов высококонсервативна и практически не различается в самых разных группах организмов.

6. Гистоновые белки: характеристика, фракционный, субфракционный состав.

Гистоны — обширный класс ядерных белков, выполняющих две основные функции: они участвуют в упаковке нитей ДНК в ядре и в эпигенетической регуляции таких ядерных процессов, как транскрипция, репликация и репарация. Существует пять различных типов гистонов Н1/Н5, Н2А, Н2В, Н3, Н4. Гистоны Н2А, Н2В, Н3, Н4, называемые коровыми гистонами (от англ. core — сердцевина), формируют нуклеосому, представляющую собой белковую глобулу, вокруг которой накручена нить ДНК. Гистон Н1/Н5, называемый линкерным гистоном (от англ. link — связь), связывается с внешней стороной нуклеосомы, фиксируя на ней нить ДНК. В хроматине гистоны составляют 25—40 %

сухого веса. Благодаря высокому содержанию лизина и аргинина гистоны проявляют сильно основные свойства. Гистоны непосредственно контактируют с ДНК и способны нейтрализовать отрицательный заряд фосфатных групп ДНК за счёт положительных зарядов аминокислотных остатков. Последовательность аминокислот в этих белках является консервативной и практически не различается в организмах различных таксонов. Гистоны присутствуют в ядрах эукариотических клеток; у бактерий гистонов нет, но они выявлены у архей группы Euryarchaea.

7. Упаковка ДНК: строение нуклеосомы. Взаимодействие гистонов между собой и с ДНК. Роль нуклеосом в генетических процессах.

Хромосомы эукариот — это спирализованный хроматин — комплекс ДНК и белков, где 40 % приходится на ДНК, 40 % — на гистоновые (основные) белки и почти 20 % — на негистоновые белки и немного РНК. Гистоны — хромосомные белки с высоким содержанием аргинина и лизина. Их 5 классов: H1, H2A, H2B, H3, H4. Гистоны стабилизируют структуру хромосомы и играют роль в регуляции активности генов.

Негистоновые (кислые) белки. В хромосомах их количество приблизительно вдвое меньше гистоновых. Существует более 100 видов негистоновых белков. Они разнообразны по молекулярному весу, структуре, видоспецифичны. Эти белки могут быть ответственны за репликацию, репарацию, транскрипцию, возможно, играют роль и в активации генов. К ним относят актин, миозин, тубулин, ферменты синтеза РНК и ДНК-полимеразы и др. Из 5 классов гистонов, 4 (H2A, H2B, H3, H4) образуют своеобразные шаровидные тельца — коры диаметром около 10 нм. В одну кору входит 8 молекул гистонов. Отрезок двуспиральной нити ДНК (около 140 нуклеотидных пар) образует вокруг нее почти 2 оборота. Кора, вместе с молекулой ДНК, образует уникальную повторяющуюся единицу организации наследственного материала эукариот — нуклеосому. Соседние нуклеосомы соединены друг с другом короткими линкерными отрезками ДНК (1-10 нм или 30–100 пар нуклеотидов), что формирует хроматиновую или нуклеосомную нить. К каждому такому отрезку присоединены молекулы гистона H1. Допускается, что вследствие взаимодействия H1 с нуклеосомами происходит конденсация хроматиновой нити ($d = 10$ нм), что формирует хроматиновую спираль ($d = 25$ нм).

8. Упаковка ДНК: наднуклеосомные уровни укладки. Роль негистоновых белков.

Таким образом, уровни упаковки ДНК следующие: 1) нуклеосомная нить; 2) супернуклеосомный — хроматиновая спираль; 3) хромонемный — уложенная петлями и спирализованная хроматиновая спираль. 4) хромосомный — 4-я степень спирализации ДНК. На этом уровне уложенная петлями хроматиновая спираль спирализуется еще раз и формирует хроматиду, которая является структурным элементом хромосомы. В интерфазном ядре хромосомы деконденсированы и представлены хроматином. Деспирализованный участок называется эухроматином (разрыхленный, волокнистый хроматин). Это необходимое условие для транскрипции. Во время покоя между делениями определенные участки хромосом и целые хромосомы остаются компактными.

Негистоновые (кислые) белки. В хромосомах их количество приблизительно вдвое меньше гистоновых. Существует более 100 видов негистоновых белков. Они разнообразны по молекулярному весу, структуре, видоспецифичны. Эти белки могут быть ответственны за репликацию, репарацию, транскрипцию, возможно, играют роль и в активации генов. К ним относят актин, миозин, тубулин, ферменты синтеза РНК и ДНК-полимеразы и др.

9. Центромера и кинетохор: строение, формы у различных организмов, молекулярная структура.

Кинетохор — белковая структура на хромосоме, к которой крепятся волокна веретена деления во время деления клетки. Кинетохоры играют важнейшую роль при сегрегации хромосом для последующего разделения родительской клетки на две дочерние.^[1]

Кинетохоры формируются на центромерах хромосом у эукариотов. Кинетохоры подразделяют на две области — внутреннюю, крепко связанную с центромерной ДНК, и внешнюю, взаимодействующую с микротрубочками веретена деления.

В начале митоза быстро растущие и тут же распадающиеся микротрубочки активно «ощупывают» цитоплазму клетки в поисках кинетохор.^[1] Связки микротрубочек, крепящиеся к единичному кинетохору, называют «К-пучками» (англ. *K-bundles*). Сходом эволюции и усложнением организмов, число микротрубочек, закрепляющихся к единичному кинетохору, по-видимому, возрастало: у дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* к кинетохору крепится одна микротрубочка, у *Schizosaccharomyces pombe* — от двух до четырёх, у мушки *Drosophila melanogaster* от четырёх до шести, у млекопитающих — от 20 и более.^[2]

Структурно кинетохоры состоят из множества белков, их набор различен у разных видов, но многие из них гомологичны. Основными белками, входящими в состав кинетохора являются белки, связывающие его с хроматидой, и белки, участвующие в переносе хроматиды по микротрубочкам веретена деления.

Центромера — участок хромосомы, который связывает сестринские хроматиды, играет важную роль в процессе деления клеточного ядра и участвует в контроле экспрессии генов. Характеризуется специфической последовательностью нуклеотидов и структурой. Центромера принимает участие в соединении сестринских хроматид, формировании кинетохора, конъюгации гомологичных хромосом и вовлечена в контроль экспрессии генов.

Именно в области центромеры соединены сестринские хроматиды в профазе и метафазе митоза и гомологичные хромосомы в профазе и метафазе первого деления мейоза. На центромерах же происходит формирование кинетохоров: белки, связывающиеся с центромерой, формируют точку прикрепления для микротрубочек веретена деления в анафазе и телофазе митоза и мейоза.

10. Теломеры: функции, строение у различных организмов.

Концевые отделы дистальных участков хромосом называют теломерами. Теломеры обеспечивают стабильность структуры хромосом и ограничивают число клеточных делений.

У большинства эукариот теломеры состоят из специализированной линейной хромосомной ДНК, состоящей из коротких tandemных повторов. В теломерных участках хромосом ДНК вместе со специфически связывающимися с теломерными ДНК-повторами белками образует нуклеопротеидный комплекс — конститутивный (структурный) теломерный гетерохроматин.

Теломерные повторы — весьма консервативные последовательности, например повторы всех позвоночных состоят из шести нуклеотидов TTAGGG, повторы всех насекомых — TTAGG, повторы большинства растений — TTTAGGG.

11. Номенклатура хромосом человека: Денверская классификация. Номенклатура, применяющаяся для дифференциально окрашенных хромосом. Измерение длины хромосом.

Номенклатура хромосом человека основана на международной системе стандартизации,

которая позволяет обозначить нормальный или патологический кариотипы с использованием специальных символов и знаков, отражающих число хромосом и тип нарушения - недостаток, избыток или перераспределение хромосомного материала.

Денверская классификация хромосом, которая помимо размеров хромосом, учитывает их форму, положение центромеры и наличие вторичных перетяжек и спутников. 23 пары хромосом человека разбили на 7 групп от А до G. Важным параметром является центромерный индекс (ЦИ), который отражает отношение (в %) длины короткого плеча к длине всей хромосомы.

В основе Парижской классификации хромосом человека (1971 г.) лежат методы специальной дифференциальной их окраски, при которой каждой хромосоме выявляется характерный только для нее порядок чередования поперечных светлых и темных сегментов.

Хромосомная идиограмма (ISCN) — схематическое изображение, показывающее размер хромосомы и её полосатость. Полосы проявляются при окрашивании химическим раствором и видны в микроскоп — используются для описания местоположения генов на каждой хромосоме.

12. Дифференциальная окраска: Q, G, R.

Около четверти века назад в практику хромосомного анализа стали широко входить методы дифференциального окрашивания хромосом. Впервые метод был предложен Касперссоном, который показал, что при обработке препаратов митотических хромосом с помощью флуорохрома акрихиниприта во флуоресцентном микроскопе видны поперечные светящиеся полосы (бэнды), расположение которых характерно для каждой хромосомы. Этот прием цитологического анализа в сочетании с генетическими наблюдениями уже в настоящее время позволил начать составление хромосомных карт человека, то есть находить места расположения генов на определенных участках хромосом. Молекулярные механизмы такой специфической окраски до сих пор еще не ясны, многие исследователи способность отдельных участков хромосом к окрашиванию связывают с их химическими различиями и неравномерной конденсацией разных участков по длине хромосомы.

Q-окраска (флуоресцентная с использованием флуорохромов). Большинство флуорохромов имитирует зеленое, а иногда оранжевое и даже красное свечение. Для исследования хромосом в этих случаях применяют мощные рутинно-кварцевые лампы. Из флуорохромов чаще всего используют производные акридина (акрихин и акрихиниприт). Рисунок каждой хромосомы, окрашенной Q-методом, специфичен по числу, размерам и положению по-разному светящихся сегментов, что и обеспечивает идентификацию всех хромосом. Q-окраска является индикатором хроматина с повышенным содержанием АТ-пар оснований, поскольку они интенсивнее флуоресцируют в соответствующих участках хромосомы.

G-окраска. Методики, с помощью которых получают G-окраску хромосом, разнообразны. Общим для всех них является:

Во-первых, определенная предварительная обработка препаратов хромосом перед окрашиванием; чаще всего применяется предварительная обработка трипсином.

Во-вторых, использование для окрашивания нефлуоресцирующих основных красителей (азуры, метиленовый синий);

По числу, величине и расположению выявляющихся сегментов рисунок G-окраски аналогичен рисунку при Q-окраске. На G-окрашенных хромосомах наблюдаются изменения рисунка линейной дифференцированности хромосом, связанные со степенью митотической конденсации хромосомы.

R-окраска. Рисунок при R-окраске противоположен рисунку при G-окраске. Ключевым моментом выполнения R-окраски является нагревание препаратов хромосом при высокой температуре (78-90°C). Окрашивание препаратов можно проводить как смесью окрасителей Романовского-Гимзы, так и акридиновым оранжевым.

13. Дифференциальная окраска: C, NOR, T. Механизм дифференциального окрашивания.

Около четверти века назад в практику хромосомного анализа стали широко входить методы дифференциального окрашивания хромосом. Впервые метод был предложен Касперссоном, который показал, что при обработке препаратов митотических хромосом с помощью флуорохрома акрихиниприта во флуоресцентном микроскопе видны поперечные светящиеся полосы (бэнды), расположение которых характерно для каждой хромосомы. Этот прием цитологического анализа в сочетании с генетическими наблюдениями уже в настоящее время позволил начать составление хромосомных карт человека, то есть находить места расположения генов на определенных участках хромосом. Молекулярные механизмы такой специфической окраски до сих пор еще не ясны, многие исследователи способность отдельных участков хромосом к окрашиванию связывают с их химическими различиями и неравномерной конденсацией разных участков по длине хромосомы.

C-окраска (от англ. Constitutive heterochromatin – конститутивный гетерохроматин) выявляется в виде переменных по величине темноокрашенных сегментов конститутивного гетерохроматина в прицентромерных районах хромосом, в то время как эухроматиновые участки хромосом прокрашиваются очень бледно. Методы получения C-окраски могут варьировать, но важным условием является предварительная обработка препаратов щелочью с последующей двухчасовой инкубацией препарата в двукратном стандартном солевом растворе при 65 °C. В качестве щелочных растворов обычно применяют гидрат окиси бария или натрия.

NOR-окраска (от англ. Nucleolar Organizer Region – Ядрышко-Образующие Районы – ЯОР) или Ag-окраска (серебрение) – применяется для выявления ядрышкообразующих районов, расположенных в коротких плечах (сегмент q12 – спутничная нить) всех 5 пар акроцентрических хромосом человека (13, 14, 15, 21 и 22), с помощью окрашивания солями серебра.

T-окраска (от англ. Telomere – теломера) – применяется для выявления теломерных районов хромосом в коротких и длинных плечах.

14. Флуоресцентная *in situ* гибридизация: методика, типы зондов.

В цитогенетике млекопитающих последние годы ознаменованы стремительным развитием новых методов исследований, в основе которых лежит флуоресцентная *in situ* гибридизация нуклеиновых кислот.

Типы ДНК-зондов и область их применения:

1. Центромероспецифичные ДНК-зонды. Это клонированные в составе какого-либо вектора (например, бактериальной плазмиды) фрагменты ДНК, содержащие высокоповторяющиеся последовательности нуклеотидов в центромерном или прицентромерном гетерохроматине, но обладающие полной или относительной специфичностью к центромерным районам определенных хромосом. При полной специфичности таких ДНК-зондов они связываются с центромерным районом только одной хромосомы, а относительно специфические ДНК-зонды связываются с центромерными районами двух или более хромосом. Применяются для анализа числовых нарушений хромосом в метафазных и интерфазных клетках, исследования происхождения

маркерных хромосом, анализа хромосомного мозаицизма, определения пола плода.

2. Теломерные ДНК-зонды. Это клонированные фрагменты ДНК, содержащие последовательности нуклеотидов, специфичные к теломерным районам определенных хромосом. Применяются для анализа структурных нарушений хромосом (особенно скрытых микроделений) в терминальных районах короткого или длинного плеча конкретной хромосомы.

3. Хромосомоспецифичные ДНК-библиотеки. Это совокупность уникальных последовательностей ДНК, покрывающих всю длину определенной хромосомы. Такие ДНК-зонды, полностью окрашивающие индивидуальную хромосому после проведения процедуры гибридизации и детекции, получили название "painting"-пробы. Применяются для идентификации целых хромосом или их фрагментов в исследуемых метафазных пластинках, при исследовании происхождения сложных транслокаций, дупликаций, инсерций и маркерных хромосом.

4. Уникальные ДНК-зонды. Это клонированные уникальные последовательности ДНК, строго специфичные для определенных районов хромосом или отдельных генов. Применяются для исследования синдромов, связанных с микроструктурными перестройками хромосом и для целей картирования генов.

15. Флуоресцентная *in situ* гибридизация: модификации метода (CISS, PRINS, мультицветная FISH, сравнительная геномная гибридизация, RXFISH, Fiber- FISH). Модификации FISH-метода:

1. Супрессионная гибридизация *in situ* (англ. - Chromosomal In Situ Supression - CISS). Принцип CISS-анализа заключается в использовании для гибридизации меченых репортерной молекулой (например биотином) набор хромосомоспецифических ДНК-проб, маркирующих всю длину анализируемой хромосомы, вместе с избытком немеченой

2. высокоповторяющейся конкурирующей ДНК. Диспергированные повторяющиеся последовательности, локализованные в ДНК-пробах, быстро гибридизуются с конкурирующей ДНК (супрессируются), в то время как уникальные последовательности остаются одонитчатыми и поэтому не теряют способности гибридизоваться в дальнейшем с соответствующей хромосомой. Эти меченные уникальные последовательности ДНК детектируются на хромосомах с помощью конъюгированных с флюорохромом молекул. Область применения соответствует области использования "painting"-проб.

3. Синтез ДНК *in situ* с помощью олигонуклеотидных праймеров (англ. - Oligonucleotide Primed In Situ DNA Synthesis - PRINS). Метод заключается в амплификации ДНК *in vitro* непосредственно на цитологических препаратах с использованием олигонуклеотидных праймеров, фланкирующих исследуемый фрагмент ДНК. Эта технология позволяет проводить быструю идентификацию хромосом на цитологических препаратах за счет амплификации высококопийных хромосомоспецифичных семейств повторяющихся последовательностей ДНК с использованием флуоресцентно меченых нуклеотидов. Современные модификации PRINS-анализа дают возможность идентифицировать и уникальные гены.

4. Мультицветная FISH. Это технология окрашивания в одной метафазе разных участков хромосом или нескольких пар гомологичных хромосом разными цветами. Заключается в одновременном использовании в рамках одной реакции гибридизации *in situ* нескольких ДНК-зондов, меченных разными репортерными молекулами или нуклеотидами, конъюгированными с разными флюорохромами. В последние годы новые технологии позволяют окрашивать каждую из 23 пар хромосом в индивидуальный цвет. Наиболее часто для мечения используют всего 5 флюорохромов (Cy5, DEAC, FITC).

Spectrum Orange, Texas Red) или их комбинации друг с другом.

16. Гетерохроматин. Виды. Формирование в онтогенезе. Молекулярная организация. Конъюгация. Репликация.

ДНК способна связываться с различными белками, образуя структуру называемую хроматином. Хроматин подразделяется на два функциональных состояния: эухроматин и гетерохроматин. Гетерохроматин разделяется на конститутивный - существующий постоянно в течении всего клеточного цикла и факультативный, образующийся в определенные моменты времени в определенных местах. К отличительным свойствам гетерохроматина относят: конденсированное состояние в интерфазе, транскрипционно неактивное состояние, поздняя репликация в S-фазе клеточного цикла ... Так же к особенностям гетерохроматина можно отнести недорепликацию в полиплоидных хромосомах у дрозофилы. Эухроматин обогащен следующими модификациями: ацетилирование H3 и H4, метилирование H4K20, H4K9 и H3K27. Для гетерохроматина характерно метилирование H3K9, но эта модификация встречается также и в эухроматине, особенно в ORF.

Факультативный гетерохроматин

Обычно факультативные гетерохроматиновые участки присутствуют только в одной из гомологичных хромосом. Типичным примером факультативного гетерохроматина является неактивная половая хромосома при гомогаметном кариотипе, к примеру, неактивная X-хромосома у женских особей млекопитающих, деактивирующаяся в конденсированное гетерохроматиновое состояние; такая гетерохроматиновая X-хромосома наблюдается в интерфазе как тельце Барра. Кроме этого, при гаметогенезе и на ранних стадиях эмбриогенеза обе X-хромосомы являются эухроматиновыми транскрипционно активными.

Конститутивный гетерохроматин

Конститутивный (структурный) гетерохроматин содержится в обеих гомологичных хромосомах и локализован преимущественно в экспонированных участках — центромере, теломерах, ядрышковом организаторе. ДНК конститутивного гетерохроматина является преимущественно сателлитной ДНК, состоящей из tandemных повторов (к примеру, HS1 (Human Satellite 1), HS2, HS3, альфа-сателлит и прочие сателлиты человека). В интерфазном ядре конститутивный гетерохроматин образует хромоцентры с внутренней стороны ядерной мембраны, и кроме этого в районах ядрышковых организаторов. Проблема функциональной роли структурного гетерохроматина в эукариотической клетке остается открытым.

17. Генетическое содержание гетерохроматиновых районов. Функции гетерохроматина. Роль в эволюции.

Хроматин встречается в двух разновидностях: эухроматин и гетерохроматин. Первоначально эти две формы различались цитологически по тому, насколько интенсивно они окрашивались - эухроматин менее интенсивно, а гетерохроматин интенсивно окрашивается, что указывает на более плотную упаковку. Гетерохроматин обычно локализован на периферии ядра. Несмотря на эту раннюю дихотомию, недавние данные как у животных, так и у растений показали, что существует более двух различных состояний гетерохроматина, и на самом деле он может существовать в четырех или пяти «состояниях», каждое из которых отмечено различными комбинациями эпигенетических меток.

Гетерохроматин в основном состоит из генетически неактивных сателлитных

последовательностей, и многие гены в той или иной степени репрессированы, хотя некоторые вообще не могут экспрессироваться в эухроматине. И центромеры, и теломеры гетерохроматичны, как и тело Барра второй инактивированной X-хромосомы женщин.

Гетерохроматин связан с несколькими функциями, от регуляции генов до защиты целостности хромосом; некоторые из этих ролей можно отнести к плотной упаковке ДНК, которая делает ее менее доступной для белковых факторов, которые обычно связывают ДНК или связанные с ней факторы. Например, оголенные концы двухцепочечной ДНК обычно интерпретируются клеткой как поврежденная или вирусная ДНК, запускающая остановку клеточного цикла, репарацию ДНК или разрушение фрагмента, например, эндонуклеазами в бактериях.

Некоторые участки хроматина очень плотно упакованы волокнами, состояние которых сравнимо с состоянием хромосомы при митозе. Гетерохроматин обычно наследуется клонально; когда клетка делится, две дочерние клетки обычно содержат гетерохроматин в одних и тех же областях ДНК, что приводит к эпигенетическому наследованию.

Вариации заставляют гетерохроматин вторгаться в соседние гены или отступать от генов на крайних участках доменов. Транскрибируемый материал может быть подавлен путем размещения (в cis) на этих граничных доменах. Это приводит к повышению уровней экспрессии, которые варьируются от клетки к клетке, что может быть продемонстрировано изменчивостью эффекта положения.

18. Механизмы возникновения хромосомных перестроек. Повреждения ДНК различными мутагенами. Понятие о потенциальном повреждении.

Хромосомные перестройки (хромосомные мутации, или хромосомные аберрации) — тип мутаций, которые изменяют структуру хромосом. Классифицируют следующие виды хромосомных перестроек: делеции (утрата участка хромосомы), инверсии (изменение порядка генов участка хромосомы на обратный), дупликации (повторение участка хромосомы), транслокации (перенос участка хромосомы на другую), а также дицентрические и кольцевые хромосомы. Известны также изохромосомы, несущие два одинаковых плеча. Если перестройка изменяет структуру одной хромосомы, то такую перестройку называют внутривхромосомной (инверсии, делеции, дупликации, кольцевые хромосомы), если же двух разных, то межхромосомной (дупликации, транслокации, дицентрические хромосомы). Хромосомные перестройки подразделяют также на сбалансированные и несбалансированные. Сбалансированные перестройки (инверсии, реципрокные транслокации) не приводят к потере или добавлению генетического материала при формировании, поэтому их носители, как правило, фенотипически нормальны. Несбалансированные перестройки (делеции и дупликации) меняют соотношение генов, и, как правило, их носительство сопряжено с существенными отклонениями от нормы.

Хромосомные перестройки играют роль в эволюционном процессе и видообразовании, в нарушении фертильности, в онкологических и врожденных наследственных заболеваниях человека.

19. Виды обменных перестроек. Рекомбинационный механизм возникновения перестроек.

Обменные аберрации очень разнообразны. В их основе лежит обмен участками хромосом (или хроматид) между разными хромосомами (межхромосомный обмен) или внутри одной хромосомы (внутрихромосомный обмен) при перераспределении генетического материала. Обменные перестройки бывают двух типов: симметричные и асимметричные. Асимметричные обмены приводят к образованию полицентрических хромосом и

ацентрических фрагментов. При симметричных же обменах происходит соединение ацентрических фрагментов с центрическими, в результате чего хромосомы, вовлеченные в обменную аберрацию, остаются моноцентрическими.

Внутрихромосомные обмены могут происходить как внутри одного (внутриплечевой обмен), так и между обоими плечами хромосомы (межплечевой обмен). Кроме того, обмены могут быть простыми и сложными, когда в процесс вовлечены несколько хромосом. В результате могут образоваться необычные и достаточно сложные конфигурации хромосом. Любой обмен (симметричный и асимметричный, межхромосомный и внутрихромосомный) может быть полным (реципрокным) или неполным (нереципрокным). При полном обмене происходит соединение всех поврежденных участков, а при неполном обмене часть из них может остаться с открытым поврежденным участком.

20. Типы хромосомных перестроек: нехватки, транслокации.

Делеции - хромосомные перестройки, при которых происходит потеря участка хромосомы. Делеция может быть следствием разрыва хромосомы или результатом неравного кроссинговера. По положению утерянного участка хромосомы делеции классифицируют на внутренние (интерстициальные) и концевые (терминальные).

Транслокация — тип хромосомных мутаций, при которых происходит перенос участка хромосомы на негомологичную хромосому. Отдельно выделяют реципрокные транслокации, при которых происходит взаимный обмен участками между хромосомами, и Робертсоновские транслокации, или центрические слияния, при которых происходит слияние акроцентрических хромосом с полной или частичной утратой материала коротких плеч.

Транслокации, также как и другие хромосомные перестройки, играют роль в видообразовании, в снижении фертильности, в онкологических и врожденных наследственных заболеваниях. Различные транслокации в соматических клетках приводят к развитию лимфом, сарком, лейкозов.

21. Типы хромосомных перестроек: дубликации, инверсии.

Дубликация — разновидность хромосомных перестроек, при которой участок хромосомы оказывается удвоенным. Может произойти в результате неравного кроссинговера, ошибки при гомологичной рекомбинации, ретротранспозиции.

Инверсия — хромосомная перестройка, при которой происходит поворот участка хромосомы на 180°. Инверсии являются сбалансированными внутрихромосомными перестройками. Различают парацентрические (инвертированный фрагмент лежит по одну сторону от центромеры) и перичцентрические (центромера находится внутри инвертированного фрагмента) инверсии. Инверсии играют роль в эволюционном процессе, видообразовании и в нарушениях фертильности.

22. Типы хромосомных перестроек: тандемные соединения хромосом, разделение хромосом.

Тандемные дубликации появляются в половых клетках при мейозе в результате неравного кроссинговера (в этом случае второй гомолог несет делецию) или в соматических клетках в результате неаллельной гомологичной рекомбинации при репарации двунитевого разрыва ДНК. В процессе кроссинговера у гетерозиготы при конъюгации хромосомы с тандемной дубликацией и нормальной хромосомы, как и при делеции, формируется компенсационная петля.

23. Фазы клеточного цикла. Экзогенные регуляторы.

Весь клеточный цикл состоит из 4 этапов: пресинтетического (G1), синтетического (S), постсинтетического (G2) и собственно митоза (M). Кроме того, существует так называемый G0-период, характеризующий состояние покоя клетки. В G1-периоде клетки имеют диплоидное содержание ДНК на одно ядро. В этот период начинается рост клетки, главным образом, за счет накопления клеточных белков, что обусловлено увеличением количества РНК на клетку. Кроме того, начинается подготовка к синтезу ДНК. В следующем S-периоде происходит удвоение количества ДНК и соответственно удваивается число хромосом. Постсинтетическая G2 фаза называется также премитотической. В этой фазе происходит активный синтез мРНК (матричная РНК). Вслед за этой стадией следует собственно деление клетки надвое или митоз.

Деление всех эукариотических клеток связано с конденсацией удвоенных (реплицированных) хромосом. В результате деления эти хромосомы переносятся в дочерние клетки. Такой тип деления эукариотических клеток - митоз (от греч. *mitos* - нити) - является единственным полноценным способом увеличения числа клеток. Процесс митотического деления подразделяют на несколько этапов: профазы, прометафазы, метафазы, анафазы, телофазы.

Регуляторные факторы, контролирующие размножение клеток можно условно разделить на две группы: внеклеточные (или экзогенные) или внутриклеточные (или эндогенные). Экзогенные факторы находятся в микроокружении клетки и взаимодействуют с поверхностью клетки. Факторы, которые синтезируются самой клеткой и действуют внутри нее, относятся к эндогенным факторам. Такое подразделение весьма условно, поскольку некоторые факторы, будучи эндогенными по отношению к продуцирующей их клетке, могут выходить из нее и действовать как экзогенные регуляторы на другие клетки. У многоклеточных организмов регуляция пролиферации различных типов клеток происходит вследствие действия не одного какого-либо ростового фактора, а их совокупности. Кроме того, некоторые ростовые факторы, будучи стимуляторами для одних типов клеток, ведут себя как ингибиторы по отношению к другим. Классические ростовые факторы представляют собой полипептиды с молекулярной массой 7-70 кДа. К настоящему моменту известно более сотни таких ростовых факторов. Однако здесь будут рассмотрены только некоторые из них.

24. Контроль клеточного цикла. Гены клеточного цикла.

Назначение регуляторных механизмов клеточного цикла состоит не в регуляции прохождения клеточного цикла как такового, а в том, чтобы обеспечить, в конечном счете, безошибочность распределения наследственного материала в процессе репродукции клеток. В основе регуляции размножения клеток лежит смена состояний активной пролиферации и пролиферативного органа. Регуляторные факторы, контролирующие размножение клеток можно условно разделить на две группы: внеклеточные (или экзогенные) или внутриклеточные (или эндогенные). Экзогенные факторы находятся в микроокружении клетки и взаимодействуют с поверхностью клетки. Факторы, которые синтезируются самой клеткой и действуют внутри нее, относятся к эндогенным факторам. Такое подразделение весьма условно, поскольку некоторые факторы, будучи эндогенными по отношению к продуцирующей их клетке, могут выходить из нее и действовать как экзогенные регуляторы на другие клетки. Если регуляторные факторы взаимодействуют с теми же клетками, которые их продуцируют, то такой тип контроля называется аутокринным. При паракринном контроле синтез регуляторов осуществляется другими клетками. Ген p53 опухоль-супрессирующий ген p53 - фактор транскрипции. Он регулирует экспрессию более 10 белков, ответственных за активацию различных супрессорных систем. Среди них индукторы апоптоза, регуляторы

клеточного цикла, секретируемые ингибиторы роста. Остановка клеточного цикла при повреждениях ДНК в G1 обеспечивается ингибированием cyclin-Cdk, в G2 - инактивацией комплекса cyclin B-Cdk1.

25. Циклины, циклинзависимые киназы.

Циклины — семейство белков-активаторов циклин-зависимых протеинкиназ —ключевых ферментов, участвующих в регуляции клеточного цикла эукариот. Циклины получили своё название в связи с тем, что их внутриклеточная концентрация периодически изменяется по мере прохождения клеток через клеточный цикл, достигая максимума на его определенных стадиях.

Каталитическая субъединица циклин-зависимой протеинкиназы частично активируется в результате взаимодействия с молекулой циклина, которая образует регуляторную субъединицу фермента. Образование этого гетеродимера становится возможным после достижения циклином критической концентрации. В ответ на уменьшение концентрации циклина происходит инактивация фермента. Для полной активации циклин-зависимой протеинкиназы должно произойти специфическое фосфорилирование и дефосфорилирование определенных аминокислотных остатков в полипептидных цепях этого комплекса. Одним из ферментов, осуществляющих подобные реакции, является киназа САК (САК — CDK activating kinase).

26. Точки контроля клеточного цикла. Ингибиторы клеточного цикла.

Контрольные точки клеточного цикла

1. Точка выхода из G1-фазы, называемая

Старт - у млекопитающих и точкой рестрикции

у дрожжей. После перехода через точку рестрикции R в конце G1 наступление S становится необратимым, т.е. запускаются процессы ведущие к следующему делению клетки.

2. Точка S – проверка точности репликации.

3. Точка G2/M-перехода – проверка завершения репликации.

4. Переход от метафазы к анафазе митоза.

4. ПОРЯДОК ПРОВЕДЕНИЯ И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ ПРОМЕЖУТОЧНОЙ АТТЕСТАЦИИ

4.1. Порядок проведения промежуточной аттестации

Промежуточная аттестация проводится в форме зачета. Промежуточная аттестация может быть выставлена по итогам текущей успеваемости при следующих условиях:

- выполнение всех заданий текущей аттестации с оценкой не ниже 4 баллов;
- посещение не менее чем 80% всех занятий.

Для студентов, невыполнивших хотя бы одно из условий промежуточная аттестация проводится в форме устного зачета по билетам. Билет содержит два теоретических вопроса.

4.2. Критерии оценивания промежуточной аттестации по видам оценочных средств

4.2.1. Критерий оценивания теоретического вопроса

Студент получает оценку «**зачтено**», если он владеет основными понятиями цитогенетики, представлениями о месте цитогенетики в системе генетической науки, знает основные методы цитогенетических исследований, способность планировать практическую деятельность в области цитогенетики.

Студент получает оценку «**не зачтено**», если он продемонстрировал незнание основных понятий цитогенетики, не владеет представлениями о месте цитогенетики в системе генетической науки, не знает основные методы цитогенетических исследований, не способность планировать практическую деятельность в области цитогенетики.

4.3. Результаты промежуточной аттестации и уровни сформированности компетенций

При подведении итогов учитываются результаты текущей аттестации.

Особенности проведения процедуры оценивания результатов обучения инвалидов и лиц с ограниченными возможностями здоровья обозначены в рабочей программе дисциплины (модуля).

«1 уровень» - ознакомление (иметь общее представление, узнавать);

«2 уровень» - понимание учебного материала, излагаемого в учебнике, методической разработке или преподавателем;

«3 уровень» - умение логично, последовательно, достаточно полно и точно излагать изученный материал;

«4 уровень» - творчески использовать полученные знания.

Для удовлетворительной (положительной) оценки знаний требуется минимум 3-й уровень усвоения учебного материала.

Требования (критериальные показатели) к уровню освоения дисциплины

Результат зачета	Требования к знаниям
Зачтено	Студент владеет основными понятиями цитогенетики, представлениями о месте цитогенетики в системе генетической науки, знает основные методы цитогенетических исследований, способность планировать практическую деятельность в области цитогенетики.
Не зачтено	Студент продемонстрировал незнание основных понятий цитогенетики, не владеет представлениями о месте цитогенетики в системе генетической науки, не знает основные методы цитогенетических исследований, не способность планировать практическую деятельность в области цитогенетики.

**06.03.01 Биология, направленность Генетика, ФОС РПД
Цитогенетика , форма обучения очная**

Проректор по учебной работе утверждено 24.02.2025 А.А. Саламатов

Ученым советом биологического факультета

Протокол заседания № 6 от 21.02.2025

Председатель Ученого совета

биологического факультета согласовано Д.С. Сташкевич

Заседанием кафедры радиационной биологии

Протокол заседания № 7 от 21.02.2025

Заведующий кафедрой согласовано А.В. Аклеев

Автор (составитель) Е.А. Стяжкина

**Структура рабочей программы соответствует приказу ректора ФГБОУ ВО
«ЧелГУ» от «13» апреля 2021 г. № 247-1**