



Хромосомы

Практически вся история развития биологии проходит под знаком огромного интереса к человеку как биологическому объекту. В большинстве случаев после разработки новых методов они сразу находили применение в исследованиях, посвященных изучению человека. В этом отношении цитогенетика до 1956 г. представляла редкое исключение. Первые описания хромосом датированы еще 70-ми годами XIX в. Хромосомы были обнаружены в виде окрашиваемых структур, образующихся при клеточном делении. Их первые описания, представленные в литературе, были сделаны Страсбургером и Флемингом. Вскоре после этого было замечено, что при слиянии гамет число хромосом удваивается, а в ходе клеточного деления они расщепляются продольно и расходятся в дочерние клетки. Уже в 1882 г. Флеминг пришел к выводу о постоянстве числа хромосом в клетках одного вида. Годом спустя Ру, наблюдая за их особенностями, высказал предположение об участии этих образований в передаче наследственных признаков.

Дальнейшее развитие этой идеи Вейсманом, опиравшимся на полученные к тому времени данные об организации и поведении хромосом, легло в основу хромосомной теории наследственности. На этом этапе развития биологии изучение морфологии и поведения хромосом явно опережало развитие генетики как науки. Годом рождения последней считают 1866 г., когда Грегор Мендель опубликовал главный труд своей жизни. К сожалению, он не был достойно оценен современниками, и законы наследственности были открыты заново де Фризом, Корренсом и Чермаком только в 1900 г.

Имея такую многолетнюю фору, цитологи оказались хорошо подготовленными к моменту принятия научным сообществом основных законов передачи наследственной информации.



Им потребовались лишь один-два года для проведения необходимых исследований и наглядной демонстрации соответствия поведения хромосом ожидаемому от гипотетических частиц наследственности. Учитывая очевидное различие в числе генов и хромосом, Саттон в 1903 г. дал структурно-морфологическое объяснение феномену сцепления генов, ранее открытому Корренсом. Описание непарной хромосомы и ее правильная идентификация как половой хромосомы показала значение последней в определении пола. Это обеспечило материальную базу для объяснения феномена сцепления генов с полом, открытого в 1906 г.

Прогресс в исследованиях и анализе полученных в те годы результатов поражает и сегодня. Уже в 1904 г. в гипотезе Саттона-Бовери достаточно полно и точно была определена связь хромосом с элементами наследственности. Вероятно, именно представление этой гипотезы можно считать той точкой в развитии биологии, начиная с которой изучение хромосом неразрывно связано с генетическими исследованиями, а цитогенетика стала отдельной, самостоятельной областью биологии.

В последующие годы успешное развитие цитогенетики было во многом обусловлено удачным выбором объектов исследования, в число которых человек, к сожалению, не входил. Многочисленные работы проводили на поличенных хромосомах плодовой мушки **Drosophila melanogaster**, которая к тому времени уже стала одним из излюбленных объектов исследований генетиков. Активному изучению подверглись мейотические хромосомы амфибий. Несмотря на большой интерес к хромосомам млекопитающих, исследования в этой области в течение длительного времени были менее интенсивными и успешными, что связано с отсутствием полноценных методов анализа.

Путь, пройденный цитогенетикой млекопитающих к настоящему времени, условно можно разделить на четыре этапа.



- Первый этап был посвящен главным образом поиску адекватных подходов к разработке соответствующих методик для исследования морфологии хромосом. Значительный вклад в развитие цитогенетики на этом этапе внесли такие выдающиеся отечественные исследователи, как П.И. Живаго, А.Г. Андрес и М.С. Навашин,

- Началом второго этапа заслуженно считают 1956 г. — год опубликования работ, в которых были впервые представлены метафазные хромосомы человека. Это позволило правильно подсчитать их число и дать детальное описание их морфологии. Оно оказалось равно 46, а не 48, как полагали ранее. Это исследование было выполнено в Институте генетики г.Лунда (Швеция). Joe-Hin Tjio и Albert Levan провели его на клетках культуры, полученной из эмбриональной печени человека, благодаря усовершенствованию метода приготовления препаратов метафазных хромосом. Следует отметить, что работы в этом направлении со сходными результатами выполняли и ранее. В 1954 г. Eva и Yngve Melander, также работавшие в Институте генетики г. Лунда, определили число хромосом человека как 46.

Joe-Hin Tjio и Albert Levan упоминают эти результаты в своей знаменитой статье. Eva и Yngve Melander работали с давленными препаратами ткани эмбриональной печени, и полученные ими результаты были недостаточно убедительными. Фотография метафазной пластинки с 46 хромосомами человека, представленная в качестве решающего аргумента в вопросе о числе хромосом человека, была сделана Joe-Hin Tjio 22 декабря 1955 г. в 2 ч ночи по местному времени. В те годы днем Институт генетики был активно функционирующим учебным институтом. Исследовательскую работу начинали вечером и часто заканчивали поздно ночью. Эту фотографию с пометкой в нижнем левом углу **«Human cell with 46 chromosomes observed 1955 on December 22nd at 2.00 am»** Joe-Hin Tjio разослал своим друзьям и коллегам по всему миру. Сегодня в память об этом



факте у главного входа в институт висит мемориальная доска. Статья, подготовленная Joe-Hin Tjio и Альбертом Леваном, была представлена в журнал «**Hereditas**» **26 января 1956 г.** и опубликована в апрельском номере этого журнала. Высокое качество препаратов и фотографий, анализ 265 метафаз, из которых лишь в четырех число хромосом отличалось от 46, устранили всякие сомнения в том, что более 30 лет число хромосом человека, определенное как 48, было ошибочным. В том же году Чарльз Е. Форд и Джон Л. Хамертон подтвердили полученный их коллегами результат. Этот этап развития цитогенетики характеризуется интенсивными исследованиями морфологии митотических и мейотических хромосом млекопитающих и началом работ.

Мемориальная доска у входа в Институт генетики г. Лунда посвященных изучению структурно-функциональной организации хромосомы. В это же время были проведены первые исследования репликации хромосом и их отдельных районов, разработаны методы введения в ДНК хромосом радиоактивных предшественников, а также методы радиографии хромосомных препаратов. Были описаны первые примеры хромосомных нарушений у человека, показано значение изменений хромосомного баланса и возник такой раздел науки, как **медицинская цитогенетика**.

Начало следующего этапа (конец 60-х-начало 70-х годов) было обусловлено созданием методов идентификации хромосом и их отдельных районов. Дифференциальное окрашивание хромосом принципиально изменило ситуацию не только в цитогенетике, но и в генетике человека в целом.

Немного раньше разработки методов дифференциального окрашивания хромосом были получены первые гибриды соматических клеток, а затем и клоны клеток, содержащих наряду с полным набором хромосом мыши отдельные хромосомы человека.



Описание хромосомного состава линий гибридных клеток и определение присутствующих в них генов человека положило начало картированию его генома.

Развитие лазерной микротехники в 70-х годах позволило приступить к изучению принципов организации хромосом человека в интерфазном ядре не на модельных объектах, а в прямых экспериментах. В первых исследованиях для индукции микроповреждений хромосом в интерфазе использовали микролуч лазера. Изучение изменений проводили спустя несколько часов, анализируя метафазные хромосомы. Полученные результаты привели к формированию представлений о существовании внутри интерфазного ядра территорий, занятых материалом отдельных хромосом.

В дальнейшем при изучении принципов пространственной организации хромосом в интерфазном ядре успешно использовали гибриды соматических клеток, но настоящий прорыв в этой области стал возможен лишь благодаря огромным успехам в развитии молекулярной биологии и микроскопической техники в конце XX и начале XXI в.

Четвертый этап характеризуется широким внедрением в практику хромосомного анализа молекулярно-цитогенетических методов. Во многом его успешное развитие оказалось обусловлено разнообразным использованием гибридизации нуклеиновых кислот. В настоящее время можно выделить три основных направления в развитии современной цитогенетики.

Визуализация и распознавание в составе хромосомы конкретных последовательностей ДНК, РНК и белков. Имеющийся спектр ДНК-проб, используемых для флуоресцентной гибридизации *in situ*, поразительно широк. Он варьирует от небольших, размером несколько десятков пар оснований, фрагментов ДНК до ДНК-проб, содержащих в своем составе ДНК всего генома человека.



В первые годы гибридизацию нуклеиновых кислот *in situ* использовали главным образом для анализа распределения в хромосомах млекопитающих различных повторенных последовательностей, а затем для определения локализации конкретных генов и уникальных анонимных последовательностей ДНК. В настоящее время она превратилась в мощный инструмент анализа хромосомных аномалий и определения гомологии хромосомных районов у близкородственных и давно дивергировавших видов.

Следует отметить, что во многом такой прогресс оказался возможен лишь благодаря созданию систем цифровой регистрации микроизображений и их компьютерной обработки.

Пространственная организация хромосомы и клеточного ядра.

Быстрое развитие лазерной сканирующей микроскопии и фантастические успехи генной инженерии определили начало нового этапа изучения хромосомы — исследования трехмерной и прижизненной организации хромосомы, анализа архитектоники всего интерфазного ядра, пространственного взаимодействия хромосомных районов и макромолекулярных комплексов. Изыскания, проводимые в этом направлении, варьируют от одновременной визуализации в ядре всех хромосом человека до наблюдения за организацией и локализацией индивидуальных локусов в ядре живой клетки.

Развитие технологии биочипов и высокопроизводительных методов секвенирования легли в основу анализа хромосомных аномалий человека с помощью детального анализа геномной ДНК пациента. Таким образом, обнаружение хромосомных нарушений стало возможным в отсутствие препаратов хромосом пациента.

Секвенирование генома человека и дальнейшие работы в этом направлении, включающие исследования по проекту, предполагающему



секвенирование 100 тыс. персональных геномов, создало уникальную ситуацию: целый ряд задач уже не требует использования модельных объектов, так как хромосомы человека превратились в один из наиболее удобных объектов исследования. Принципиально, а часто и технически, стало возможным получение любой информации, касающейся организации практически любого хромосомного района или целой хромосомы у конкретного человека. Это поставило вопрос об определении нормы и патологии в составе и организации хромосомы. Вариабельность качественного и количественного состава повторенных последовательностей ДНК С-положительных районов хромосом, районов, которые остаются несеквенированными до настоящего времени, требует разработки принципиально новых подходов к их изучению. Уже показано огромное значение для формирования фенотипа вариабельности по числу копий определенных последовательностей ДНК. Загадочным остается значение различий по локализации и размерам кластеров дублицированных последовательностей. Несмотря на многочисленные исследования метилирования ДНК и модификации гистонов, мы и в этой области находимся лишь в начале пути. Стремительный рост знаний позволяет детализировать и расширять представления о структурно-функциональной организации хромосом, но с еще большей скоростью он вскрывает новые проблемы, ставит новые вопросы и открывает новые направления исследований.

Сегодня цитогенетика человека — не только область биологии, в которой исследователи заняты решением фундаментальных проблем структурно-функциональной организации генома человека и принимают непосредственное участие в разработке и использовании новых методов анализа в диагностических целях. Она служит неотъемлемым элементом современной медицины, без которого уже невозможно представить пре- и постнатальную диагностику и диагностику онкологических заболеваний.