

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

---

ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России  
Международный центр репродуктивной медицины

---

И. Л. ПУППО

**МАЛЫЙ ПРАКТИКУМ ПО ЦИТОГЕНЕТИКЕ:  
ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА**

Учебно-методическое пособие

*Издание 2-е, переработанное и дополненное*

Санкт-Петербург  
Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»  
2022

УДК 575(07) + 616-71(07)

ББК Р 252.2я7

П88

**Пуппо И. Л.**

П88 Малый практикум по цитогенетике: изучение кариотипа человека. Переработанное и дополненное издание: учеб.-метод. пособие. 2-е изд. перераб. и доп. СПб.: Изд-во СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2022. 48 с.

ISBN 978-5-7629-2968-4

Содержит теоретические основы цитогенетики человека, задания и методические рекомендации по выполнению лабораторных работ по изучению кариотипа человека, изложенные в соответствии с требованиями Государственного образовательного стандарта.

Рекомендовано для слушателей курсов первичной переподготовки и повышения квалификации, клинических ординаторов, обучающихся по направлениям «Лабораторная генетика», «Клиническая лабораторная диагностика», начинающим цитогенетикам, преподавателям, аспирантам биологических и медицинских специальностей, а также для научных сотрудников, занимающихся изучением структурно-функциональной организации хромосом человека.

УДК 575(07) + 616-71(07)

ББК Р 252.2я7

Рецензенты: д-р биол. наук, проф., зав. кафедрой биологии Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова В. Ю. Кравцов; канд. биол. наук, доцент, зав. научно-исследовательской лабораторией генетической диагностики и биодозиметрии ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова» МЧС России Е. Г. Неронова.

Утверждено в качестве учебно-методического пособия на заседании  
учебно-методического совета ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова

ISBN 978-5-7629-2968-4

© СПбГЭТУ «ЛЭТИ», 2022

## ВВЕДЕНИЕ

Хромосомные болезни, связанные с геномными и хромосомными мутациями, составляют значительную долю в структуре врожденной и наследственной патологии человека. *Цитогенетика человека* – это раздел генетики, занимающийся изучением структуры и функций хромосом человека, а также аномалиями их числа и структуры. Бурное развитие цитогенетики человека получила в середине 50-х гг. XX в. после публикации Joe-Hin Tjio и Albert Levan в журнале “Hereditas” [1], в которой авторы определили общее число хромосом в соматических клетках человека. В этом же году Charles Ford и John Hamerton [2] подтвердили этот результат при анализе сперматогоний и сперматоцитов.

Систематизации накапливающихся сведений о кариотипе человека в норме и при патологии были посвящены несколько конференций и совещаний, на которых были сформулированы основные принципы описания хромосом человека (Денвер, 1960; Лондон, 1963; Чикаго, 1966; Париж, 1971) и создан постоянно действующий комитет по номенклатуре хромосом человека (Мехико, 1976). Первая официальная версия номенклатуры (International System for Human Cytogenetic Nomenclature – ISCN), в которой были систематизированы все понятия и термины, унифицированы записи результатов анализа кариотипа, изменений числа и структуры хромосом, была принята в 1978 г. Следующие версии ISCN (1985, 1995, 2005, 2009, 2013, 2016, 2020) содержали дополнения и уточнения, обусловленные внедрением новых методов анализа хромосом. Учитывая активное использование молекулярных техник в изучении кариотипа, в частности, секвенирования ДНК, а также тесное сотрудничество с Human Genome Variation Society, в версии ISCN 2016 г. комитетом было рекомендовано заменить в названии номенклатуры слово “Cytogenetic” для изучения аномалий хромосом на “Cytogenomic”.

Однако, несмотря на бурное развитие молекулярно-цитогенетических подходов в анализе кариотипа человека, исследование хромосомного набора клетки с помощью дифференциальных методов окрашивания по-прежнему является «золотым стандартом» в диагностике хромосомной патологии. Современное оборудование и программное обеспечение позволяют проводить автоматическое сканирование и кариотипирование метафазных пластинок, что существенно облегчает работу цитогенетика. Но следует помнить, что машинные механизмы не могут полностью заменить опытного цитогенетика и неизбежно будут ошибаться. Поэтому даже при их наличии в лаборатории необходим тщательный контроль со стороны квалифицированного специалиста.

В данном учебно-методическом пособии кратко приведены основные сведения о нормальном кариотипе человека, охарактеризованы маркерные бэнды на метафазных хромосомах человека, основные правила записи формул кариотипа и заключений по ним. Описана организация помещений в цитогенетической лаборатории и приведены протоколы приготовления и дифференциального окрашивания препаратов метафазных хромосом человека. В приложении представлены примеры формул кариотипов и заключений, микрофотография метафазной пластинки и ее кариограмма.

# 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА

## 1.1. Морфология и размеры метафазных хромосом человека

*Хромосомы* представляют собой комплекс ДНК и белков (гистоновых и негистоновых). Функциями хромосом являются хранение, воспроизведение и передача генетической информации при размножении клеток и организмов.

При классическом цитогенетическом исследовании анализ числа и структуры хромосом человека проводят на стадии метафазы митоза. На данном этапе клеточного цикла каждая метафазная хромосома состоит из двух сестринских *хроматид* (результат репликации молекулы ДНК в S-фазе), соединенных друг с другом в районе первичной перетяжки – *центромеры*. Центромера разделяет хромосому на два плеча: *короткое* – **p**, и *длинное* – **q** (рис. 1.1, а–в). Отношение длины короткого плеча к длине всей хромосомы, выраженное в процентах, называется *центромерным индексом*. Концевые участки хромосом называются *теломерами*.

В зависимости от расположения центромеры на хромосоме и величины центромерного индекса выделяют три морфологических типа метафазных хромосом человека (рис. 1.1, а–в).

1. Метacentрические хромосомы ( $p = q$ ): длина короткого плеча равна или примерно равна длине длинного плеча, а центромерный индекс составляет от 46 до 50 % (рис. 1.1, а).

2. Субметacentрические хромосомы ( $p < q$ ): длина короткого плеча меньше длины длинного плеча, а центромерный индекс составляет от 26 до 45 % (рис. 1.1, б).

3. Акроцентрические хромосомы ( $p \ll q$ ): длина короткого плеча значительно меньше длины длинного плеча, а центромерный индекс составляет от 15 до 30 %. Кроме того, у акроцентрических хромосом, за исключением Y-хромосомы, в коротком плече имеются спутничная нить (от англ. “stalk”, *stk*) и спутник (от англ. “satellite”, *s*) (рис. 1.1, в), представленные повторяющимися последовательностями молекулы ДНК.

Также хромосомы различаются по размерам, которые можно выразить абсолютной (в микрометрах) или относительной (в процентах) длиной. Для удобства обозначения размера хромосом при их описании пользуются такими определениями, как большие, средние и малые. Так, например, можно выделить большие и малые метacentрические хромосомы; большие, средние и малые субметacentрические хромосомы и т. д.

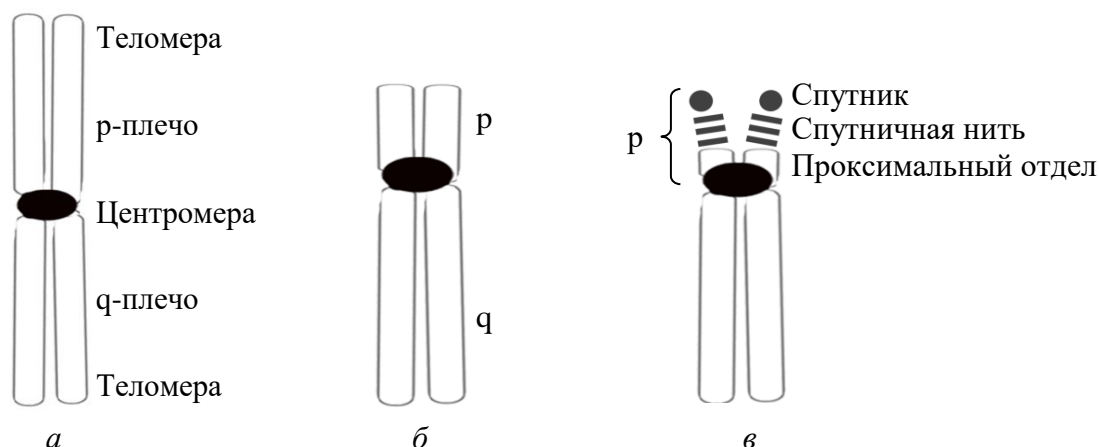


Рис. 1.1. Морфология метафазных хромосом человека

Ряд хромосом характеризуется наличием так называемых *вторичных перетяжек*. Так, вторичные перетяжки можно регулярно детектировать в прицентромерных районах длинных плеч хромосом 1, 9, 16, а также в дистальном отделе длинного плеча Y-хромосомы. Они образуются за счет неполной конденсации ДНК хромосом в этих районах. Спутничные нити также относят к вторичным перетяжкам. Вторичные перетяжки могут существенно изменять длину хромосом, а в ряде случаев – их морфологию (см. разд. 1.4).

## 1.2. Эухроматиновые и гетерохроматиновые районы хромосом

Организация хромосом в виде хроматина необходима для его упаковки в ядре. Выделяют два типа хроматина: *эухроматин* и *гетерохроматин*. По отношению к метафазным хромосомам эти термины используют, подразумевая различный структурно-функциональный статус тех или иных районов хромосом.

Так, эухроматиновые районы хромосом представляют собой области, обогащенные структурными генами. Они деконденсированы большую часть интерфазы. Последовательности ДНК эухроматина, как правило, начинают реплицироваться в ранней S-фазе клеточного цикла, с них происходит транскрипция. Эухроматиновые районы хромосом характеризуются специфическими эпигенетическими модификациями, такими как, например, гипометилированная ДНК, гиперацетилированные гистоны, вариант гистона H3.3.

Гетерохроматин в свою очередь подразделяется на *конститутивный* (постоянный, структурный) и *факультативный* (временный). Конститутивный гетерохроматин образован различными классами ДНК повторов и образует постоянные структурные элементы в гомологичных хромосомах. Преимущественно конститутивный гетерохроматин локализован в прицентромерных и теломерных районах хромосом. Наиболее вариабельные по размеру сегменты конститутивного гетерохроматина обнаруживаются в прицентромерных районах хромосом 1, 9, 16,

а также дистальном отделе длинного плеча Y-хромосомы. Конститутивный гетерохроматин в большинстве типов тканей (но не во всех!) остается конденсированным практически на протяжении всего клеточного цикла, реплицируется в поздней S-фазе и считается транскрипционно инертным. Характерными эпигенетическими модификациями конститутивного гетерохроматина считаются метилированное состояние последовательностей ДНК, которые его формируют, гипoaцетилирование гистонов, ассоциация с определенными негистоновыми белками, например, HP-1 (от англ. “heterochromatin protein 1”).

Факультативный гетерохроматин – это временно транскрипционно неактивный тип хроматина, который на определенных этапах онтогенеза или периодах жизни клетки может переходить в эухроматиновое состояние и переключаться в транскрипционно активный статус. Он содержит гены, присутствует в конкретном локусе одной из гомологичных хромосом или затрагивает целую хромосому. Реплицируется факультативный гетерохроматин во второй половине S-фазы, а характерным эпигенетическим признаком его является присутствие модифицированного белка гистона H2A, который называется *macroH2A*. Самым известным примером факультативного гетерохроматина является инактивированная X-хромосома (половой хроматин, или тельце Барра) в соматических клетках самок млекопитающих.

### 1.3. Кариотип человека

Международная номенклатура хромосом человека [3] предлагает следующее определение *кариотипа*: нормальный или аномальный, конституциональный или приобретенный хромосомный набор индивидуума, ткани или клеточной линии.

Полный состав хромосом обычной соматической клетки является диплоидным (обозначается как  $2n$ ). В диплоидном наборе каждая хромосома имеет аналогичную по размеру и структуре (т. е. содержит гены, отвечающие за одни и те же признаки) парную хромосому. Такие хромосомы называют *гомологичными*. Разные по размеру и структуре хромосомы называют *негомологичными*.

Диплоидный набор клеток человека состоит из 23 пар хромосом: 22 пар *аутосом*, т. е. хромосом, одинаковых у мужчин и женщин, и одной пары *половых хромосом*, или *гоносом*, по которым мужчины и женщины отличаются друг от друга. У женщин пара половых хромосом представлена XX, у мужчин – XY.

При анализе кариотипа все пары гомологичных аутосом располагают в порядке уменьшения длины и в зависимости от их морфологии по семи группам, которые обозначают заглавными буквами английского алфавита

(от А до G). Аутосомы, выстроенные в таком порядке, нумеруют арабскими цифрами от 1 до 22. В конце раскладки помещают половые хромосомы. Такое графическое представление кариотипа, которое помогает количественной и структурной характеристике каждой хромосомы, называется *кариограммой*. Пример кариограммы представлен на рис. 1.2. Ниже дана краткая характеристика каждой группы хромосом.

- Группа А (1–3): большие метацентрические хромосомы. Хромосома 2 по морфологии субметацентрическая.
- Группа В (4–5): большие субметацентрические хромосомы.
- Группа С (6–12): средние субметацентрические хромосомы. Самая многочисленная группа.
- Группа D (13–15): средние акроцентрические хромосомы.
- Группа Е (16–18): малые субметацентрические хромосомы. Хромосома 16 по морфологии более метацентрическая.

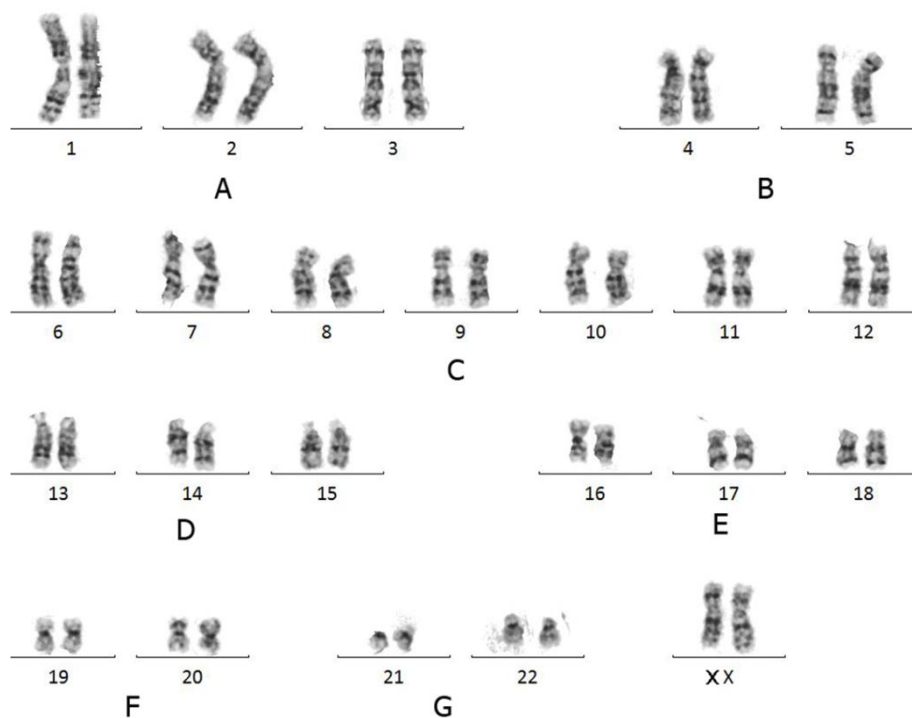


Рис. 1.2. Кариограмма нормального женского кариотипа человека

- Группа F (19–20): малые метацентрические хромосомы.
- Группа G (21–22): малые акроцентрические хромосомы.
- Половые хромосомы помещают в конце раскладки. X-хромосома по морфологии – средний субметацентрик; Y-хромосома – акроцентрическая, размеры q-плеча варьируют от хромосом группы G до D.



#### 1.4. Полиморфизм – нормальная изменчивость кариотипа человека

*Полиморфизм* – нормальная изменчивость хромосом набора, которая заключается в различиях между гомологичными хромосомами (гетероморфизм) по отдельным сегментам, районам и даже целым плечам. Поскольку в русле современной молекулярной биологии термин «полиморфизм» более применим по отношению к гену, то в цитогенетике его принято дополнять термином «*вариант*» (хромосомы) или «*гетероморфизм*» (гомологичных хромосом). К вариантам хромосом относят такие изменения, которые сохраняются в процессе онтогенеза, стабильно наследуются при митотическом делении клетки и передаются как простой менделевский признак от родителей к детям, не оказывая влияния на фенотип.

К наиболее часто встречающимся вариантам хромосом относят размер и расположение сегментов прицентромерного гетерохроматина на хромосомах 1, 3, 4, 9, 13–15, 16, 19, 21, 22, а также гетерохроматинового сегмента в дистальном отделе длинного плеча Y-хромосомы. Для всех указанных хромосом возможна высокая степень вариабельности: от полного отсутствия сегмента до сравнительно большого его размера. По расположению гетерохроматиновый сегмент может локализоваться сразу под центромерой длинного плеча, целиком на коротком плече (инверсия, при этом может меняться морфология хромосомы) и одновременно на обоих плечах (частичная инверсия гетерохроматинового сегмента из длинного в короткое плечо). В широких пределах варьируют по размеру прицентромерного гетерохроматина, а также по числу спутничных нитей и спутников акроцентрические хромосомы групп D и G.

Существуют своеобразные реперные бэнды, на которые ориентируются при определении полиморфного варианта. Для районов конститутивного гетерохроматина, расположенных в прицентромерных районах хромосом 1, 9, 16 и в дистальном отделе длинного плеча Y-хромосомы, нормальным вариантом считается размер гетерохроматинового сегмента в пределах от половины до целого короткого плеча хромосомы 16 (16p), анализируемой на той же самой метафазной пластинке. Если указанные районы меньше, чем половина длины 16p, то такой вариант обозначают как «qh–». Если больше, то такой вариант обозначают «qh+».

Нормальным вариантом размера коротких плеч акроцентрических хромосом считается длина, равная половине длины короткого плеча хромосомы 18 (18p) и/или длине короткого плеча хромосомы 17 (17p). Вариант «p–» – если размер коротких плеч акроцентрических хромосом меньше половины длины 18p. Вариант

«p+» – если размер коротких плеч акроцентрических хромосом больше длины 17p. Примеры обозначения полиморфных вариантов приведены в гл. 2.

К вариантам хромосом также относят так называемые ломкие, или фрагильные сайты на хромосомах. Они выглядят как неокрашивающийся промежуток, варьирующий по ширине, в формирование которого вовлечены одна или обе хроматиды. Внешне они могут быть схожи со спутничными нитями и спутниками, характерными для акроцентрических хромосом, однако фрагильные сайты не выявляются с помощью Ag-NOR окрашивания (от англ. “NOR – nucleolus organizer regions” – ядрышкообразующие районы), которое специфично для детекции спутничных нитей акроцентриков, и не содержат материал бэнда p12 акроцентрических хромосом (в основном это кластеры рибосомальных генов). Фрагильные сайты как варианты хромосом возникают всегда строго в одном и том же месте (локусе) на хромосоме как в родительском, так и в дочернем кариотипах; наследуются как простой менделевский признак (по типу доминирования или ко-доминирования). Полиморфные фрагильные сайты могут появляться в результате соответствующих обработок и быть связанными с образованием ацентрических фрагментов, трехлучевых фигур и делетированных участков. Важно помнить, что к фрагильным сайтам как вариантам хромосом, кроме перечисленных выше условий, будут относиться такие сайты, которые никак не проявляются на фенотипе их носителя! Не следует их путать с ломкими сайтами на хромосомах, связанными с наследственными заболеваниями, такими как, например, синдром умственной отсталости с ломкой X-хромосомой (OMIM: 300624). При определенных условиях культивирования лимфоцитов крови таких пациентов характерной цитогенетической картиной будет являться появление ломкого сайта в длинном плече X-хромосомы (локус Xq27.3).

Следует отметить, что для детекции и/или подтверждения полиморфных вариантов на хромосомах необходимо применять несколько методов дифференциального (избирательного) окрашивания.

Выделяют также цитогенетически определяемые вариации числа копий (от англ. “cytogenetic visible copy number variations”), представленные эухроматиновыми вариантами и несбалансированными хромосомными перестройками без фенотипического проявления. Они могут присутствовать более чем у одного индивидуума в одной семье или более чем в нескольких поколениях одной семьи без клинических и фенотипических проявлений. Отсутствие клинического и фенотипического проявления связывают с природой таких районов: как правило, это АТ-богатые области на хромосомах, содержащие псевдогены или гены с неполной пенетрантностью или уменьшенной

экспрессивностью. Такие варианты хромосом могут быть представлены частичной делецией или дупликацией хромосомного материала, производными (дериватными) хромосомами, инсерциями.

## 1.5. Кариотипирование

*Кариотипирование* – определение числа и анализ структуры митотических хромосом с использованием дифференциальных методов окрашивания, позволяющих идентифицировать все хромосомы набора.

### 1.5.1. Методы окрашивания препаратов метафазных хромосом

Для анализа кариотипа препараты метафазных хромосом необходимо покрасить. Методы *рутинного (сплошного)* окрашивания хромосом исторически первые, они позволяют покрасить все хромосомы набора равномерно и целиком вдоль хроматид. С помощью рутинного окрашивания можно оценить морфологию и размер, подсчитать число, а также с большей или меньшей точностью определить групповую принадлежность для гомологичных пар хромосом в случае отсутствия изменений в их структуре. Однако рутинное окрашивание хромосом не позволяет оценить внутреннюю структуру каждой хромосомы (или изменения этой структуры). В настоящее время рутинное окрашивание препаратов хромосом не применяется для исследования конституционального кариотипа. Его желательно использовать только для ознакомления с морфологией и размером метафазных хромосом человека на самых первых этапах обучения.

*Дифференциальные* методы окрашивания хромосом позволяют выявить неоднородность распределения генетического материала вдоль плеч хромосом – эухроматиновые и гетерохроматиновые районы. Их суть состоит в том, что хромосомы, предварительно обработанные различными веществами, начинают связывать красители дифференцированно по длине и выглядят как бы полосатыми. Рисунок расположения полос (их называют *сегментами*, или *бэндами*, от англ. “band”), ширина и интенсивность их окраски оказываются специфическими для каждой пары хромосом. Благодаря этому можно отличить одну пару гомологичных хромосом от другой. По характеру получаемой картины исчерченности (*бэндинга*) хромосом и по названию красителя, использованного для получения бэндинга, методы дифференциального окрашивания принято разделять на несколько групп.

1. G-бэндинг (краситель Гимза, от англ. “Giemsa”, отсюда и название): после предобработки препаратов протеолитическими ферментами (главным образом

трипсином) препараты окрашивают красителем Гимза. Получается набор темных (G-положительных) и светлых (G-отрицательных) бэндов вдоль плеч хромосом.

2. При Q-бэндинге (акрихин, от англ. “Quinacrine”) окраска препаратов хромосом происходит с помощью нуклеотид-специфических флуоресцентных красителей (например, акрихин, Hoechst 33258, DAPI). Хромосомы окрашиваются в яркие (Q-положительные) и тусклые (Q-отрицательные) сегменты.

По количеству, величине и расположению бэндов вдоль хроматид рисунок G-окраски в целом аналогичен рисунку Q-окраски: темно-окрашивающиеся G-положительные бэнды соответствуют ярко флуоресцирующим Q-положительным бэндам. И наоборот, светлые G-отрицательные бэнды соответствуют тусклым Q-отрицательным бэндам. Совпадение G- и Q-бэндов особенно хорошо заметно при инвертировании цветов на изображении метафазной пластинки, окрашенной по одному из этих методов. Так, например, инвертируя Q-бэндинг с яркими и тусклыми сегментами на хромосомах, получаем черно-белое изображение, соответствующее G-бэндингу, и наоборот.

3. При R-бэндинге (от англ. “Reverse”) набор полос получается обратный G- и Q-бэндингу (рис. 1.3). Для получения R-бэндинга могут быть использованы как флуоресцентные (например, акридиновый оранжевый, хромомицин А3), так и нефлуоресцентные (Гимза) красители.

4. Избирательные методы окрашивания позволяют дифференциально окрасить определенные районы на всех хромосомах набора, на определенных хромосомах или на препаратах хромосом из некоторых типов тканей. Они применяются в качестве дополнительных методов окрашивания при детекции полиморфных вариантов хромосом или уточнения кариотипа.

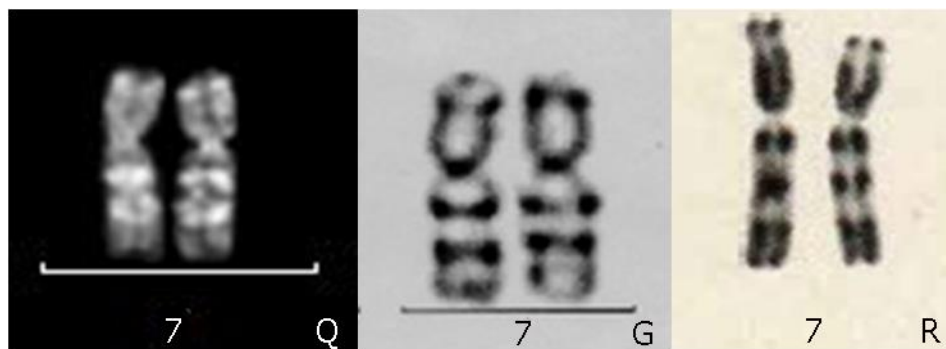


Рис. 1.3. Сравнение бэндов при G-, Q- и R-окраске на примере хромосомы 7

Согласно международной номенклатуре хромосом для обозначения методов окрашивания применяется трехбуквенная система. Первая буква в названии метода означает основной метод бэндинга (G, Q или R); вторая

буква – вариант предварительной обработки препарата хромосом или визуализации; третья – название красителя. Так, наиболее часто в цитогенетических лабораториях всего мира используется GTG-метод дифференциального окрашивания метафазных хромосом. При этом методе получается G-бэндинг (первая буква **G**TG) после предобработки препаратов трипсином (**G****T**G) и окраски красителем Гимзой (**G****T****G**).

Детально методики дифференциального и избирательного окрашивания препаратов метафазных хромосом описаны в соответствующих литературных источниках [4]–[7]. В рамках данного практикума будет дан протокол G-бэндинга (гл. 3), используемый на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова.

### 1.5.2. Принцип нумерации бэндов вдоль плеч хромосом

Бэнды, которые получают при дифференциальных методах окрашивания, строго специфичны для каждой пары гомологичных хромосом. Количество бэндов (разрешение анализа) зависит от степени конденсации хромосомы. Для любой хромосомы можно составить *идиограмму* – схематическое изображение всех бэндов, видимых на хромосоме. Так, на рис. 1.4 представлены идиограммы с различным уровнем разрешения для хромосомы 18.

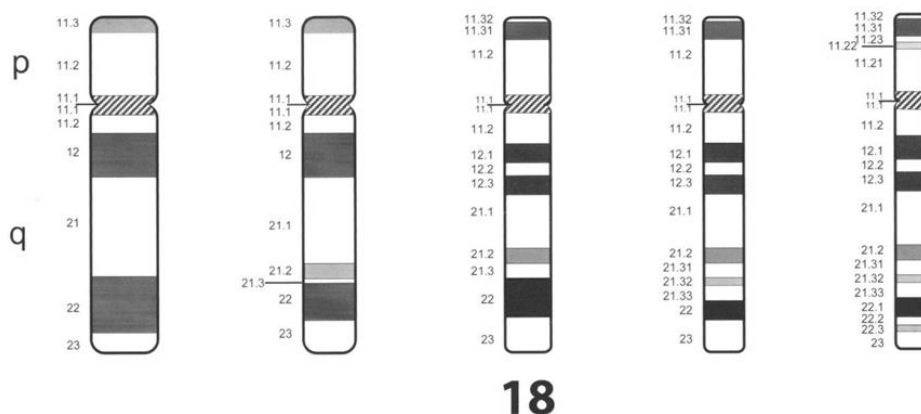


Рис. 1.4. Идиограмма хромосомы 18 с уровнем разрешения 300, 400, 550, 700 и 850 бэндов на гаплоидный геном [3]

Бэнды на идиограммах обозначаются арабскими цифрами по возрастанию от центромеры к теломере, отдельно для каждого плеча (рис. 1.4). Центромерный участок обозначается как p10 или q10 (на идиограммах не отмечается). Самые заметные и четкие светлые или темные сегменты являются *маркерными бэндами* (или морфологическими маркерами, от англ. “landmarks”). К маркерным бэндам также относятся центромера и теломеры. Участок плеча хромосомы между

двумя ближайшими морфологическими маркерами называется *районом*. Районы нумеруются аналогично бэндам (рис. 1.4). Принцип обозначения бэндов на хромосоме следующий: сначала указывается хромосома, затем плечо хромосомы, район и бэнд. Например, запись 18q21 означает длинное плечо хромосомы 18, район два, первый бэнд (рис. 1.4).

При анализе хромосом с высоким разрешением часть бэндов разбивается на суббэнды (субсегменты). Суббэнды нумеруются по общему для бэндов и районов принципу: от центромеры к теломере, отдельно для каждого плеча. Номер субсегмента записывается после точки. Например: 18q21.1; 18q21.2; 18q21.3. При дальнейшем делении суббэндов дополнительных знаков пунктуации не вводят, разделение происходит не более чем до трех знаков, например: 18q21.33 (рис. 1.4).

Как правило, кариотипирование проводят при разрешении 300...400 бэндов на гаплоидный геном – при подозрении на численные аномалии и крупные структурные перестройки; 550 бэндов – при обследовании пациентов с задержкой психомоторного развития, врожденными пороками, микроаномалиями развития, а также супружеских пар с привычным невынашиванием беременности. В некоторых случаях требуется более высокое разрешение (например, для детекции микродупликаций или микроделений), которое достигается с помощью использования специальных вариантов дифференциального окрашивания или варьирования условий культивирования клеток. Заключение о кариотипе составляют, анализируя не менее 11 метафазных пластинок.

#### Оценка качества дифференциального окрашивания препаратов хромосом

Уровень разрешения	Референтные бэнды
Около 400 бэндов	Определяются три бэнда в середине длинного плеча хромосомы 5: 5q14, 5q21 и 5q23. Видны два четких бэнда в коротких плечах хромосом 8 и 9: 8p12 и 8p22; 9p21 и 9p23
Около 550 бэндов	Хорошо определяются 7q33 и 7q35. Определяются три бэнда в коротком плече хромосомы 11: 11p12, 11p14 и 11p15.4. Видны четыре четких бэнда на хромосоме 18: 18q12.1, 18q12.3, 18q21.2 и 18q22. Может окраситься 22q13.2

При этом, чтобы визуально оценить качество окрашивания, достаточно определить так называемые *референтные бэнды*. Характеристика таких бэндов и соответствующий им уровень разрешения приведен в таблице. В упрощенной оценке используют подсчет числа G-положительных бэндов на хромосомах 1 и 2 с последующим их умножением на 6.

### **Вопросы и задания**

1. Описать морфологию метафазных хромосом человека.
2. Чем различаются эухроматиновые и гетерохроматиновые районы хромосом?
3. Дать характеристику кариотипа человека.
4. Рассказать о полиморфизме хромосом человека.
5. Написать, используя принципы обозначения бэндов по плечам хромосом: короткое плечо хромосомы 5, район 1, бэнд 4.
6. Какой уровень разрешения используют в цитогенетической диагностике при подозрении на численные изменения в кариотипе?
7. Какой уровень разрешения используют при цитогенетической диагностике пациентов с умственной отсталостью, микроаномалиями развития и повторными репродуктивными потерями?

## **2. ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА**

### **2.1. Правила записи формул кариотипа и заключения при кариотипировании**

В этой главе будут рассмотрены основные правила международной номенклатуры хромосом, которые используются при записи формул конституционального кариотипа в краткой форме и которые понадобятся при проведении лабораторных занятий. С развернутой системой записи формул кариотипа можно ознакомиться в специальной литературе [3].

В целом формула любого кариотипа должна отражать: запись общего числа хромосом и набора половых хромосом, сведения об аномалии числа или структуры хромосом.

#### ***2.1.1. Правило записи формул нормального кариотипа***

При записи формулы нормального кариотипа сначала указывается общее число хромосом, затем через запятую – состав половых хромосом. Никаких пробелов не ставится. Например, формула нормального женского кариотипа будет записываться следующим образом: 46,XX; формула нормального мужского кариотипа: 46,XY

#### ***2.1.2. Правила записи формул нормального полиморфизма***

В случае записи формулы кариотипа с полиморфными вариантами пользуются общим принципом: сначала указывают общее число хромосом, затем через запятую – состав половых хромосом и через запятую – вариант хромосомы

(в качестве комментария см. разд. 2.2). При этом для обозначения полиморфных вариантов используют следующие символы: **h**<sup>1</sup> – сегмент гетерохроматина; **stk** – спутничная нить (бэнд p12 акроцентрических хромосом); **s** – спутник (бэнд p13 акроцентрических хромосом); **cen** – центромерный район; «+» или «–» – увеличение или уменьшение, например, длины h или размера s; **fra**<sup>2</sup> – фрагильный сайт; **phqh** – частичная инверсия прицентромерного гетерохроматинового сегмента.

Например, формулу женского кариотипа с увеличенным гетерохроматиновым сегментом в длинном плече хромосомы 9 следует записать так: 46,XX,9qh+

Если в кариотипе присутствуют полиморфные варианты разных аутосом, они указываются через запятую в порядке увеличения номера аутосомы (половая хромосома Y имеет приоритет). Например, формула мужского кариотипа с увеличенным гетерохроматиновым сегментом на длинном плече хромосом Y и 9 и с увеличенными спутниками на коротком плече хромосомы 14 будет записываться так: 46,X,Yqh+,9qh+,14ps+

Полиморфные варианты одной хромосомы перечисляются без запятой. Например, формула женского кариотипа с увеличенным сегментом центромерного гетерохроматина, длинными спутничными нитями и увеличенными спутниками на коротком плече хромосомы 15 будет записываться так: 46,XX,15cenh+pstk+ps+

### ***2.1.3. Порядок записи формулы кариотипа: геномные мутации***

Полиплоидии и анеуплоидии записываются по общему правилу: сначала указывается общее число хромосом, затем через запятую – состав половых хромосом. В случае анеуплоидий добавочную аутосому обозначают знаком «+» и соответствующим номером. Утрату целой аутосомы обозначают знаком «–» и соответствующим номером аутосомы.

Если анеуплоидия затрагивает половые хромосомы, то при записи формул конституционального кариотипа состав половых хромосом перечисляется после запятой, отделяющей сведения об общем числе хромосом. Например, кариотип с одной X-хромосомой (синдром Шерешевского–Тернера): 45,X; кариотип с двумя X-хромосомами и одной Y-хромосомой (синдром Клайнфельтера): 47,XXY

---

<sup>1</sup> Здесь и далее символы выделены жирным шрифтом для удобства восприятия материала, при записи формул кариотипа символ пишется обычным шрифтом.

<sup>2</sup> Обозначение фрагильных сайтов, связанных с развитием наследственных заболеваний, аналогично обозначению их полиморфных вариантов – fra.



#### **2.1.4. Порядок записи формулы кариотипа: хромосомные мутации**

1. **Реципрокная транслокация** представляет собой взаимный обмен фрагментами между двумя и более негомологичными хромосомами и обозначается символом **t**. Аутосомы, вовлеченные в транслокацию, указываются по возрастанию в скобках после символа (половые хромосомы имеют приоритет).

Между хромосомами ставится разделительный знак – точка с запятой, далее во вторых скобках указывают плечи и точки разрыва на хромосомах, вовлеченных в транслокацию. Определение точек разрыва происходит путем сравнения идиограмм соответствующих хромосом и разрешения хромосом (числа бэндов) на метафазных пластинках. Например, 46,XY,t(2;15)(q31;q26): реципрокная транслокация между хромосомами 2 и 15; точка разрыва на хромосоме 2 находится в q31, участок хромосомы 2q31→2qter транслоцирован на хромосому 15 на бэнд, проксимальнее 15q26. Точка разрыва на хромосоме 15 находится в q26, участок хромосомы 15q26→qter транслоцирован на хромосому 2 на бэнд, проксимальнее 2q31. В случае наследования сбалансированной транслокации (либо любой другой перестройки) потомком от одного из родителей в конце формулы кариотипа используют символы **mat** (материнское наследование) или **pat** (отцовское наследование). Символ **dn** используют для обозначения перестроек возникших de novo.

2. **Робертсоновская транслокация** представляет собой центрическое слияние двух негомологичных или (реже) гомологичных акроцентрических хромосом и обозначается символом **rob** или **der**. Эти символы равнозначны, однако номенклатура хромосом рекомендует использовать символ **der**. Акроцентрические хромосомы, вовлеченные в образование Робертсоновской транслокации, указываются по возрастанию в скобках после символа и отделяются друг от друга точкой с запятой. Далее во вторых скобках указывают точки разрыва на хромосомах, для Робертсоновских транслокаций – это q10 (центромерный район, если не установлено точно). Например, 45,XY,der(14;21)(q10;q10)

Не следует забывать, что при Робертсоновских транслокациях общее число хромосом в кариотипе уменьшается на одну, поскольку из двух акроцентрических хромосом образуется одна. Исключением являются случаи трисомий по хромосоме, вовлеченной в образование Робертсоновской транслокации. При этом общее число хромосом будет равным 46, а дополнительный нормальный

гомолог акроцентрика, участвующего в образовании Робертсоновской транслокации, будет указываться со знаком «+». Например, в кариотипе имеется Робертсоновская транслокация между хромосомами 14 и 21; одна нормальная (по строению) хромосома 14 и две нормальные хромосомы 21: 46,XX,der(14;21)(q10;q10),+21. Однако, следует заметить, что если в кариотипе имеется транслокация между хромосомами 14 и 21, одна нормальная хромосома 21 и две нормальные хромосомы 14, то формула кариотипа, согласно ISCN, будет записываться так: 46,XX,+14,der(14;21)(q10;q10)

3. **Несбалансированные (нереципрокные) транслокации**, которые образуются при наследовании перестроенных хромосом от носителей реципрокных транслокаций, обозначаются символами **der** и **t**. После указания общего числа хромосом и состава половых хромосом через запятую указывается символ **der** и в скобках – дериватная хромосома. Далее ставится символ **t** и расшифровывается транслокация, в результате которой произошло наследование производной хромосомы. Например, 46,XX,der(10)t(10;13)(p15.3;q21.33)dmат. То есть в кариотипе имеется две нормальные хромосомы 13 и одна нормальная хромосома 10; вторая хромосома 10 – дериватная, имеет длинное плечо, короткое плечо от центромеры (p10) до бэнда 10p15.3 и транслоцированную часть хромосомы 13 от бэнда 13q21.33 до теломеры длинного плеча. В кариотипе частичная трисомия по хромосоме 13 (по участку 13q21.33→13qter) и частичная моносомия по участку короткого плеча хромосомы 10 (10p15.3→10pter). Символ **dmат** показывает, что одна производная хромосома (а не обе хромосомы, участвующие в транслокации) унаследована от матери – носительницы сбалансированной транслокации между хромосомами 10 и 13: 46,XX,t(10;13)(p15.3;q21.33)

4. **Инсерции (инсерционная транслокация)** – перемещение фрагмента одной хромосомы внутрь другой (реже встречается внутривнутрихромосомная инсерция), обозначаются символом **ins**. Хромосома-реципиент, принимающая сегмент, указывается первой, хромосома-донор, теряющая материал, – второй. Например, 46,XY,ins(5;2)(p14;q22q32) – сегмент хромосомы 2 между 2q22 и 2q32 инсертирован, т. е. вставлен в хромосому 5, точка разрыва на хромосоме 5 – бэнд 5p14.

5. **Делеции** представляют собой утрату части хромосомы. Символ **del** используется для обозначения как интерстициальных (внутренних), так и терминальных (концевых) делеций. Например, в кариотипе имеется терминальная делеция на хромосоме 5 с точкой разрыва в бэнде q13: 46,XX,del(5)(q13). Хромосома с делецией состоит из целого короткого плеча (5p) и части длинного плеча, лежащего между центромерой и бэндом 5q13.

6. **Дупликация** – удвоение части хромосомы, которое происходит в пределах хромосомы, обозначается символом **dup**. Ориентация дупликаций (инвертированная или прямая) обозначается порядком бэндов от pter к qter. Например, 46,XX,dup(1)(p34p31) – прямая дупликация сегмента между бэндами 1p34 и 1p31; 46,XX,dup(1)(p31p34) – инвертированная дупликация части хромосомы между бэндами 1p34 и 1p31.

7. **Инверсия** – переворот фрагмента хромосомы на 180 градусов, обозначается символом **inv**. Инверсия может происходить в пределах одного плеча хромосомы (парацентрическая) или затрагивать сегменты обоих плеч (periцентрическая). Парацентрическая или periцентрическая инверсия следует из записи формулы кариотипа. При инверсиях бэнды перечисляются от pter к qter (как они следуют в своем «привычном», неинвертированном направлении). Например, формула кариотипа с парацентрической инверсией хромосомы 3: 46,XX,inv(3)(q21q26.2), при этом, следуя правилу перечисления бэндов, для q-плеча более проксимальный бэнд указывается первым. Для p-плеча первым будет указываться более терминальный бэнд. Например, инверсия хромосомы 2: 46,XX,inv(2)(p23p13). В случае periцентрических инверсий бэнд в коротком плече указывается первым. Например, 46,XY,inv(3)(p13q21)

8. **Изохромосома** – метацентрическая хромосома с генетически идентичными плечами, обозначается символом **i**. Точки разрыва обозначаются как p10 или q10 в зависимости от морфологии изохромосомы. Например, изохромосома по длинному плечу хромосомы 18: 46,XX,i(18)(q10); изохромосома по длинному плечу X-хромосомы: 46,X,i(X)(q10)

9. **Кольцевые хромосомы** представляют собой одиночные (реже двойные) замкнутые кольца с одной или двумя центромерами и образованными одной или несколькими хромосомами, обозначаются символом **r**. Точки разрыва и воссоединения (если они точно не определены) указывают по теломерным бэндам. Например, формула кариотипа с кольцевой хромосомой 8: 46,XX,r(8)(p22q24.2). Если кольцевая хромосома образована акроцентрической хромосомой и точки разрыва и воссоединения точно не определены, то их допускается не обозначать. Например, кольцевая хромосома 13 в кариотипе: 46,XX,r(13). Если в кариотипе присутствует анеуплоидия совместно с кольцевой хромосомой, то кольцевая хромосома указывается в соответствии с номером хромосомы, от которой она произошла: 48,XX,+1,r(7),+19. Если происхождение кольцевой хромосомы неизвестно, то она указывается последней, но перед маркерными хромосомами: 48,XX,+r,+mar

10. **Маркерными хромосомами** принято называть аномальные, неидентифицируемые с помощью методов дифференциального окрашивания хромосомы, которые (в общем) по размерам равны или не превышают размеры хромосомы 20 на одной и той же метафазной пластинке. Обозначаются символом **mar**. Например, 47,XX,+mar

Следует еще раз обратить внимание на то, что если хромосомная мутация произошла внутри одной хромосомы (инверсия, дупликация, делеция, кольцевая хромосома), то при расшифровке точек разрыва по плечам хромосом разделительные знаки не ставятся.

Примеры записей формул кариотипов с геномными и хромосомными мутациями представлены в Приложении 2.

### **2.1.5. Порядок записи формулы кариотипа: случаи мозаицизма и химеризма**

1. Присутствие более чем одной клеточной линии – **мозаицизм** – обозначается знаком / (косая черта) или символом **mos**. Причем клеточная линия с мутацией указывается первой. В квадратных скобках записывается число проанализированных метафазных пластинок. Например, 45,X[12]/46,XX[10] – мозаичная форма моносомии X-хромосомы.

Если в кариотипе присутствует несколько аномальных клеточных линий, то первой указывается преобладающая, и далее по уменьшению, последней записывается линия с нормальным кариотипом (вне зависимости от числа клеток с нормальным кариотипом). Например, 45,X[12]/47,XXX[6]/46,XX[3] или 46,X,i(X)(q10)[25]/45,X[15]/46,XX[10]

Однако, если число клеток со структурной и числовой хромосомной аномалией совпадает, то числовая указывается первой: 45,X[25]/46,X,i(X)(q10)[25]

Если кариотип представлен мозаичной формой анеуплоидий негомологичных хромосом с одинаковым числом клеток, они перечисляются в порядке возрастания номера аутосомы (половые хромосомы имеют приоритет). Например, 47,XX,+8[25]/47,XX,+21[25] или 47,XXX[25]/47,XX,+21[25]

2. **Химеризм** (обозначается символом **chi**) характеризуется наличием в организме двух (реже более) линий клеток, несущих геномы разных зигот, преобладающая клеточная линия в формуле указывается первой. Например, **chi** 46,XX[16]/46,XY[6]. При химеризме после трансплантации костного мозга

клетки реципиента указываются первыми вне зависимости от их числа, клеточные линии донора и реципиента отделяются знаком // (две косые черты). Например, 46,XX[3]//46,XY[20]

При использовании символа **mos** или **chi** перед числом хромосом и символом ставят пробел. Например, mos 45,X[10]/46,XX[12]

## 2.2. Заключение при кариотипировании

Что касается записи заключения, т. е. исчерпывающего описания результата хромосомного исследования и обнаруженных аномалий, можно ориентироваться на практические рекомендации по обеспечению качества и надежности пренатальных и постнатальных цитогенетических исследований, подготовленных рабочей группой Российского общества медицинских генетиков [8] и основанных на Европейских стандартах для цитогенетических и молекулярно-цитогенетических исследований конститутивных и приобретенных хромосомных аномалий [9].

Формулировки заключений могут варьировать в каждой конкретной лаборатории. Согласно рекомендациям, заключение по проанализированному кариотипу должно быть написано в форме, доступной и понятной не цитогенетику, а врачу, направившему пациента на исследование. Заключение должно включать в себя данные о том, нормальный или аномальный кариотип, сбалансированный или несбалансированный. При обнаружении дисбаланса следует его описать (моносомия, трисомия, делеция и т. д.) и написать название синдрома или болезни (если имеется), связанного с обнаруженной мутацией (как правило, название дается в скобках). При необходимости после заключения дать рекомендации для медико-генетического консультирования и/или кариотипирования ближайших родственников.

Не рекомендуется указывать в заключении полиморфные варианты, такие как увеличенный или уменьшенный размер прицентромерного гетерохроматина или гетерохроматинового сегмента в дистальном отделе длинного плеча Y-хромосомы, число и размер спутников или спутничных нитей акроцентрических хромосом, перичентрические инверсии гетерохроматинового сегмента, чтобы не вводить в заблуждение неспециалистов. Их следует отмечать только в лабораторных журналах. Исключением являются случаи кариотипирования доноров половых клеток и клеток костного мозга или случаи, когда подобная информация необходима для различения двух и более клеточных линий при

химеризме и/или трансплантации, а также при экстремальных вариантах, идентификация которых потребовала дополнительных методов исследования. При этом необходимо указать их клиническую нейтральность.

Примеры заключений к кариотипам, написанные с учетом рекомендаций и ISCN, представлены в Приложении 2.

### **2.3. Описание референтных бэндов на хромосомах человека**

При анализе дифференциально окрашенных хромосом удобно пользоваться специальными атласами. Так, много десятилетий настольной книгой всех начинающих (и не только!) цитогенетиков является атлас «Хромосомы человека» [10]. «Атлас хромосом постоянных клеточных линий человека и животных» С. Е. Мамаевой [11] будет интересен для исследователей, работающих в области цитогенетики и онкоцитогенетики, а также для специалистов, чья работа связана с использованием клеточных линий млекопитающих. “Human chromosome atlas: introduction to diagnostics of structural aberrations” С. Behrend et al. [12] иллюстрирует частные случаи кариотипов с различными хромосомными перестройками.

В этом разделе будут описаны основные сегменты на хромосомах, полученные с помощью G-бэндинга при уровне разрешения 400...550 бэндов на гаплоидный геном, которые изучают все начинающие цитогенетики. В описании приводится неформальный сленг, помогающий при заучивании бэндов на хромосомах. Примеры таких схематично изображенных хромосом представлены вместе с их словесным описанием и микрофотографией. Следует всегда помнить, что *анализ любой метафазной пластинки начинают с подсчета общего числа хромосом (!)* – это помогает сориентироваться в наличии или отсутствии изменений в численном наборе хромосом.

#### **2.3.1. Хромосомы группы A – большие метацентрические хромосомы**

*Хромосома 1* (рис. 2.1): короткое плечо имеет светлый концевой район (как светлые «ушки»), различают как минимум два темных бэнда выше центромеры. Сразу под центромерой на длинном плече – темный полиморфный по размеру и (реже) положению бэнд прицентромерного гетерохроматина (ПЦГХ), сразу под ним – светлый бэнд и три (хорошо заметных) или четыре темных бэнда (последний – самый дистальный на q), два средних из которых более интенсивные, бэнд 1q31 – наиболее интенсивно окрашивающийся.

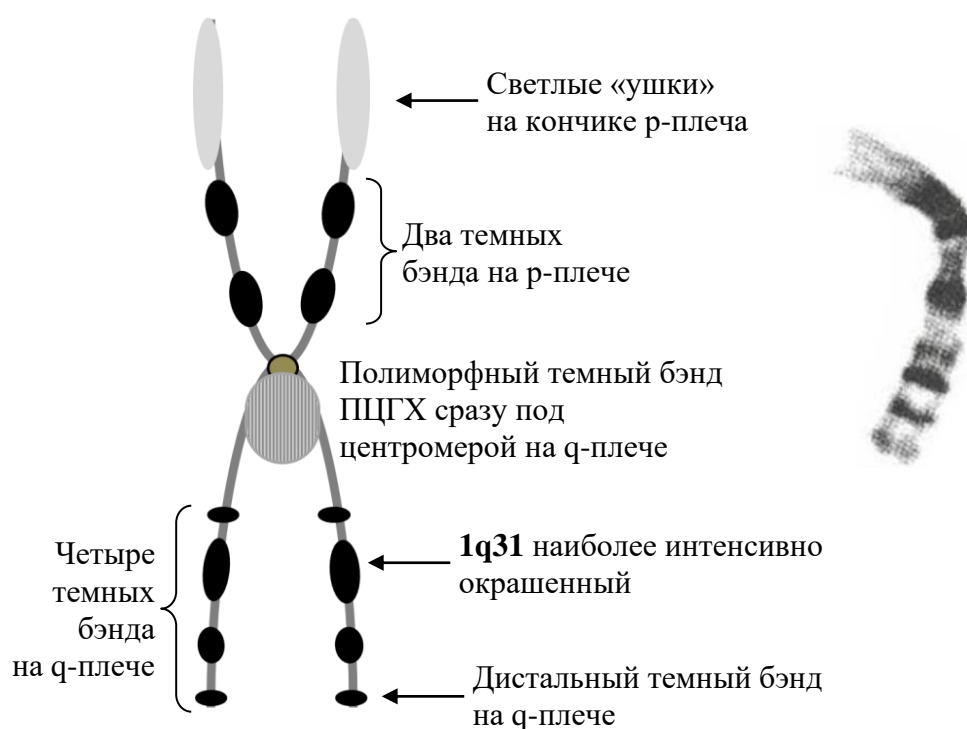


Рис. 2.1. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 1

*Хромосома 2* (рис. 2.2): почти такая же по размерам, как хромосома 1, субметацентрик. На коротком плече – четыре темных бэнда, они могут «сливаться» и определяться как два крупных. На длинном плече – от четырех и более темных бэндов (в зависимости от разрешения).

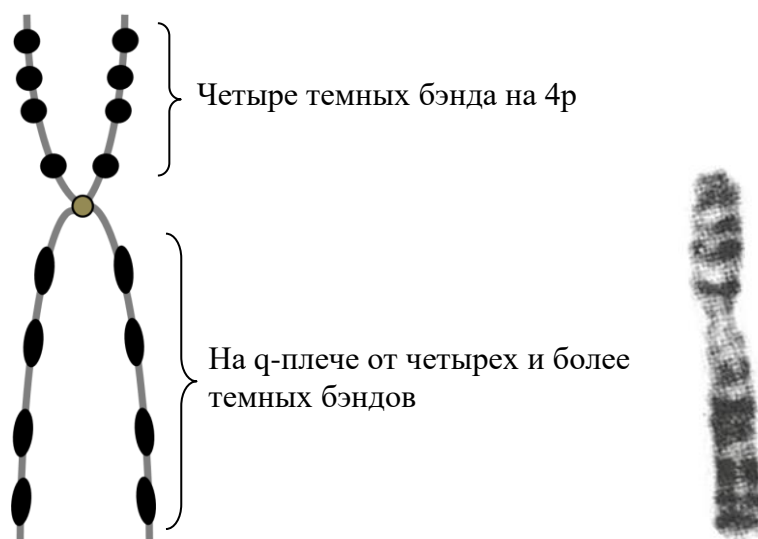


Рис. 2.2. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 2

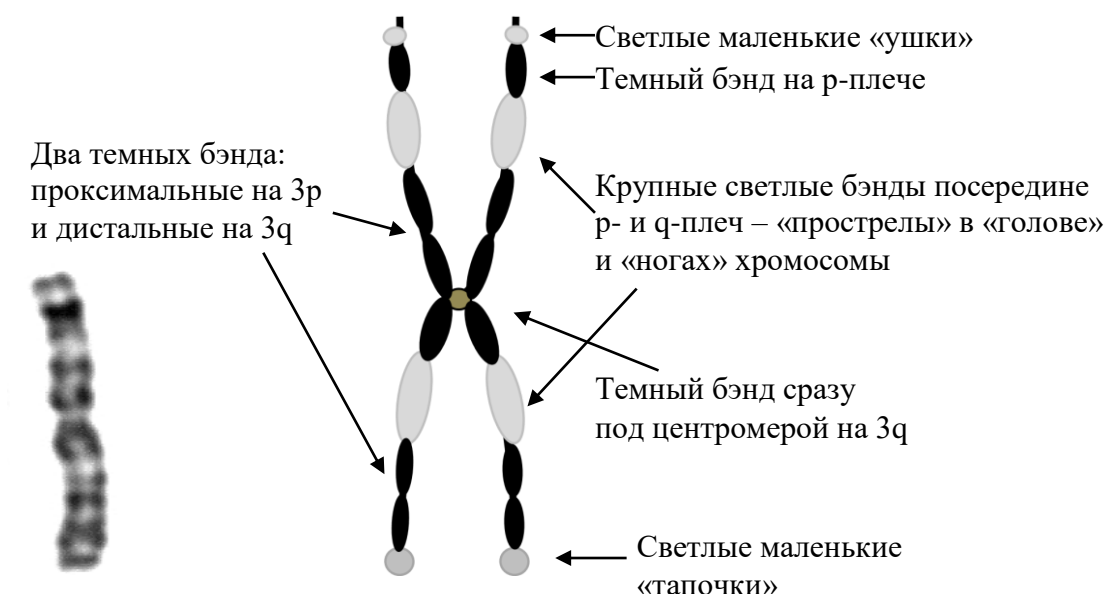


Рис. 2.3. Схематичное изображение (справа) и микрофотография (слева) хромосомы 3

**Хромосома 3** (рис. 2.3): в середине или практически в середине короткого и длинного плеч – крупные светлые бэнды. Светлые теломерные бэнды – на обоих плечах. Темный бэнд – сразу под центромой на длинном плече (может быть различим как двойной). Темные области, состоящие из двух близко расположенных темных бэндов (сливаются и видны как один крупный), – проксимальные на коротком плече и дистальные на длинном плече.

### 2.3.2. Хромосомы группы В – большие субметацентрические хромосомы

**Хромосома 4** (рис. 2.4): короткое плечо с тонким темным бэндом, который иногда может быть различен как двойной. Длинное плечо с четко различимыми четырьмя темными бэндами. Первый темный бэнд – сразу под центромой.

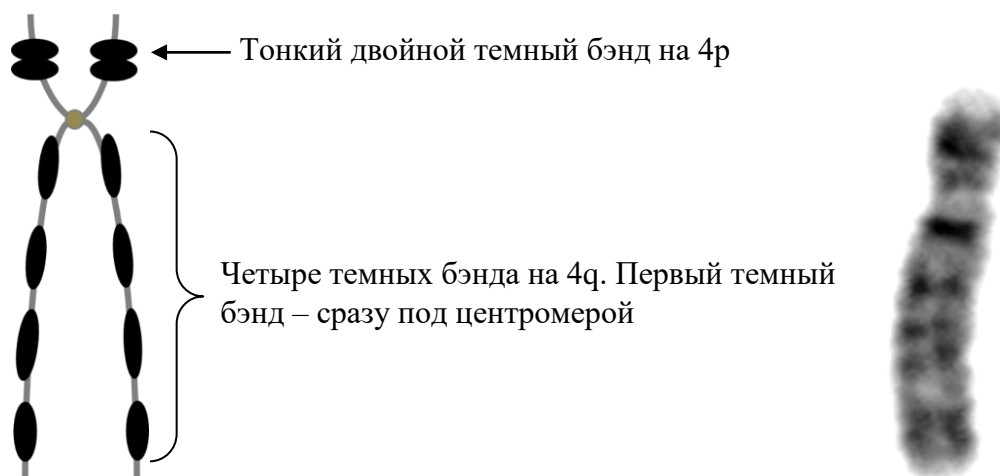


Рис. 2.4. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 4



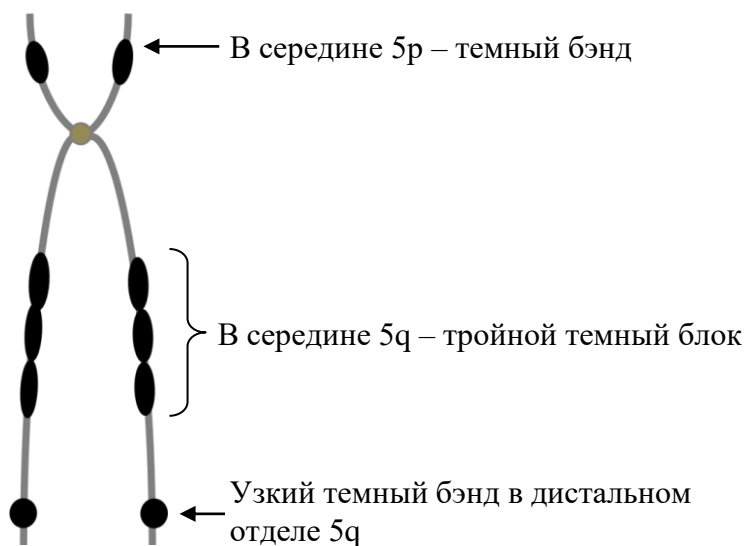


Рис. 2.5. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 5

**Хромосома 5** (рис. 2.5): короткое плечо с одиночным темным бэндом посередине. Посередине длинного плеча – три темных, близко расположенных бэнда сливаются в один, образуя большой темный блок. Узкий темный бэнд – в дистальном отделе длинного плеча.

### 2.3.3. Хромосомы группы C – средние субметацентрические хромосомы

**Хромосома 6** (рис. 2.6): короткое плечо с четко определяемым большим светлым бэндом посередине. Образуется светлый квадрат. В районе центромеры короткого плеча – маленький темный бэнд, образуется как бы «улыбочка». На длинном плече – несколько темных бэндов (как правило, определяется 4), первый темный бэнд – сразу под центромерой.

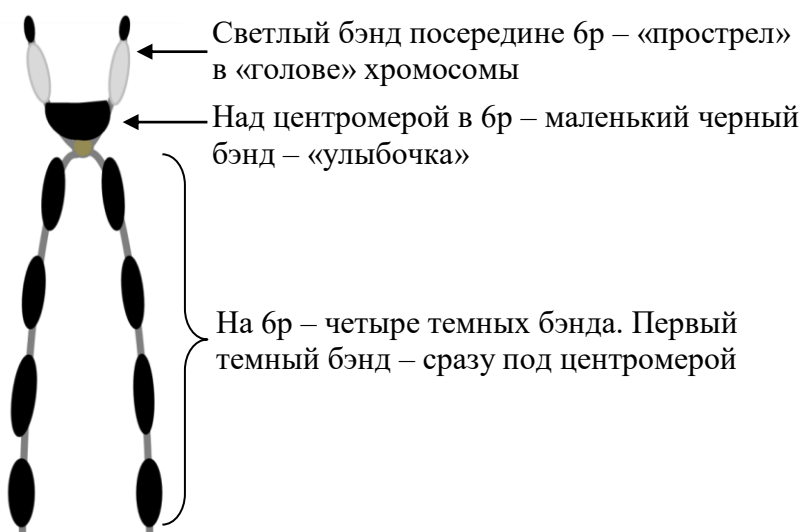


Рис. 2.6. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 6

*Хромосома 7* (рис. 2.7): на коротком плече – четкий темный бэнд на кончике («темные глазки»). На длинном плече – два четких темных бэнда, образуется квадрат из бэндов, на конце плеча – менее интенсивный темный бэнд (при разрешении 550 бэндов будет различаться как два близко лежащих тонких темных бэнда). Хромосома как будто одета в тельняшку.

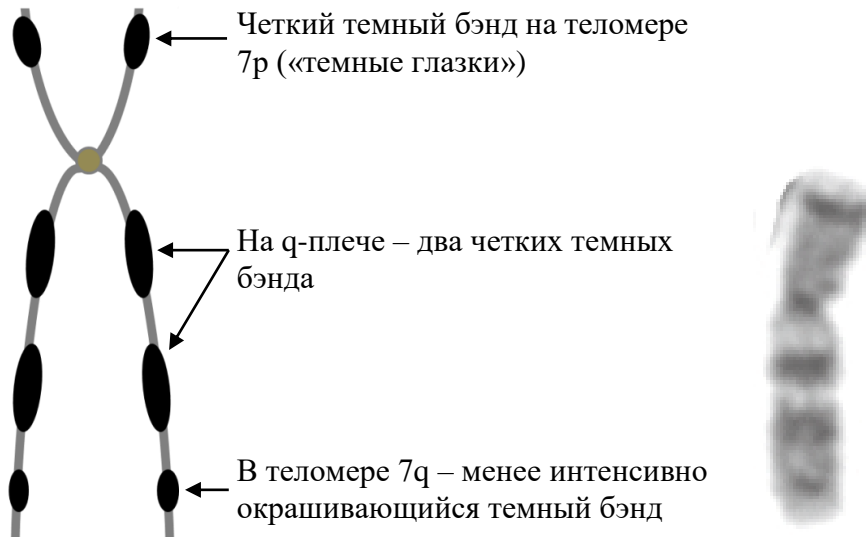


Рис. 2.7. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 7

*Хромосома 8* (рис. 2.8): на коротком плече – два темных бэнда: один более проксимальный, другой более дистальный. На длинном плече – два темных бэнда, причем дистальный темный бэнд характеризуется более интенсивным окрашиванием.

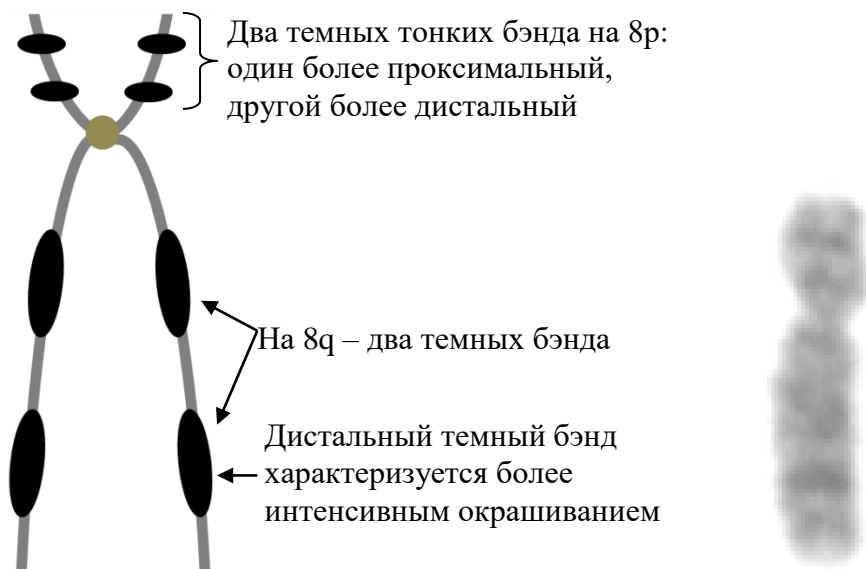


Рис. 2.8. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 8

*Хромосома 9* (рис. 2.9): на коротком плече – широкий темный бэнд (два близко лежащих друг к другу). Сразу под центромерой на длинном плече – светлая область, которая может варьировать по длине (достигая длины короткого плеча) и положению. На длинном плече – два одинаковых по интенсивности окрашивания темных бэнда со светлым бэндом между ними. Эти три бэнда (два темных и один светлый между ними) примерно равны по размеру.

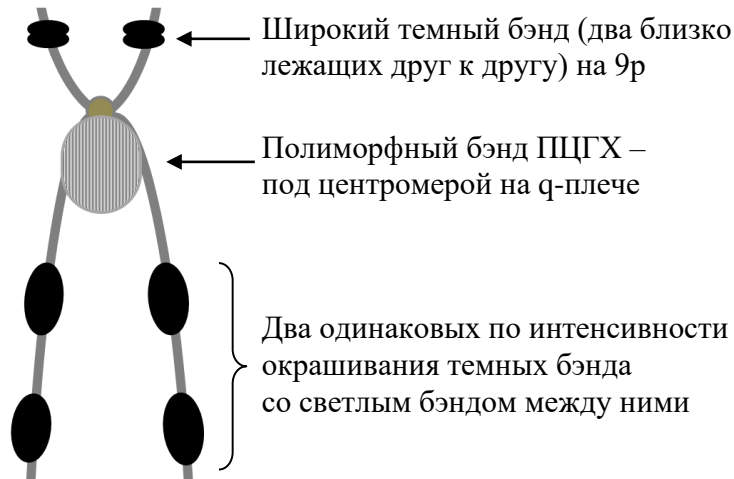


Рис. 2.9. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 9

*Хромосома 10* (рис. 2.10): в середине короткого плеча – темный бэнд. На длинном плече – три темных, хорошо различимых бэнда. Первый темный бэнд наиболее интенсивно окрашивается и располагается сразу под центромерой.

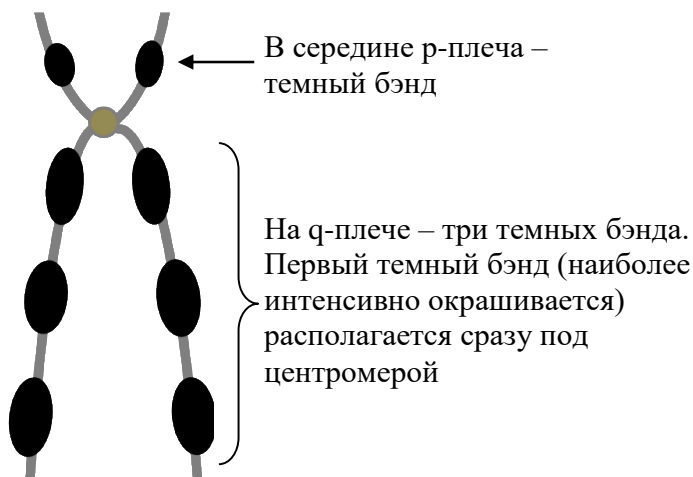


Рис. 2.10. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 10

*Хромосома 11* (рис. 2.11): теломера короткого плеча светлая. На коротком плече – один (реже определяются как два) интенсивно окрашенный темный бэнд. На длинном плече, сразу под центромерой – большой светлый бэнд, за которым следует темный бэнд, который иногда различается как два темных бэнда, дистальная область длинного плеча – светлая.

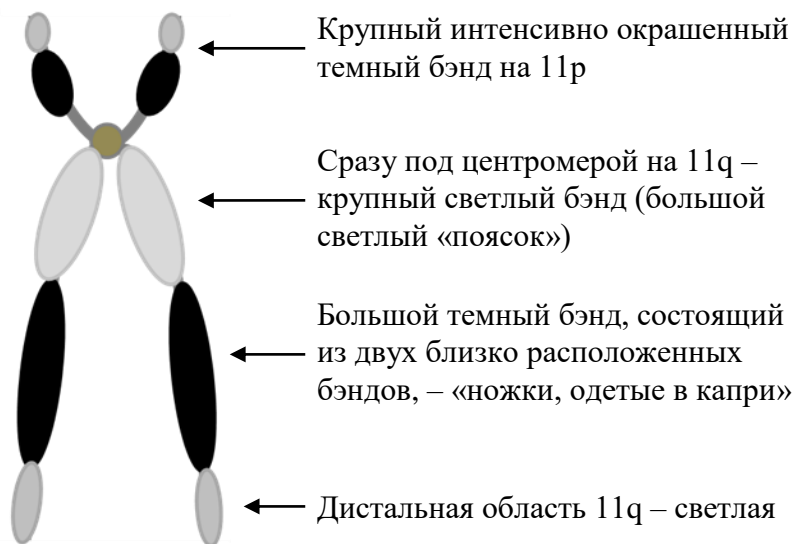


Рис. 2.11. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 11

*Хромосома 12<sup>3</sup>* (рис. 2.12): в середине короткого плеча — один темный бэнд. Но в отличие от хромосомы 11 не так интенсивно окрашенный. Центромерная область темная. На длинном плече под центромерой — светлый бэнд, однако в отличие от 11q он тоньше. За светлым бэндом следует большая темная область (более вытянутая по размерам по сравнению с 11q), которая состоит из трех, близко расположенных бэндов. Могут определяться как один более крупный и один меньший. Дистальная область длинного плеча светлая.

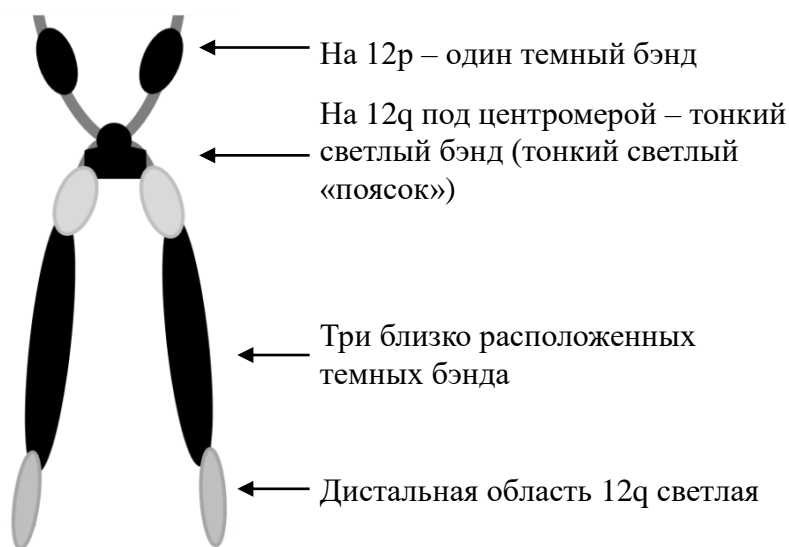


Рис. 2.12. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 12

<sup>3</sup> Хромосомы 11 и 12 довольно похожи друг на друга по расположению бэндов вдоль плеч. Их в шутку называют «барышней» (хромосома 12, так как она более вытянутая, «статная») и «крестьянкой» (хромосома 11 более сжатая, «приземистая»).

#### 2.3.4. Хромосомы группы D – средние акроцентрические хромосомы

*Хромосома 13* (рис. 2.13): на коротком плече имеются спутничные нити и спутники (могут быть неразличимы на цитогенетических препаратах). На длинном плече, сразу под центромерой, – тонкий темный бэнд 13q13 (может быть не заметен, в зависимости от конденсации хромосомы). Ближе к дистальному концу – тройной темный бэнд (темные «гольфйки» на «ножках» хромосомы). Размер длинного плеча хромосомы 13 длиннее, чем у хромосом 14 и 15.

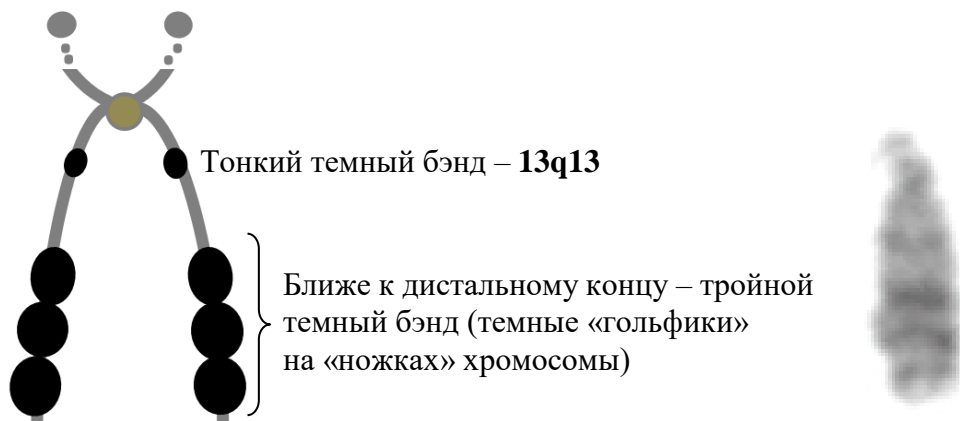


Рис. 2.13. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 13

*Хромосома 14* (рис. 2.14): на коротком плече имеются спутничные нити и спутники (могут быть неразличимы на цитогенетических препаратах). На длинном плече, под центромерой, – темный бэнд и на дистальном конце – темный бэнд. Самая дистальная часть длинного плеча светлая.

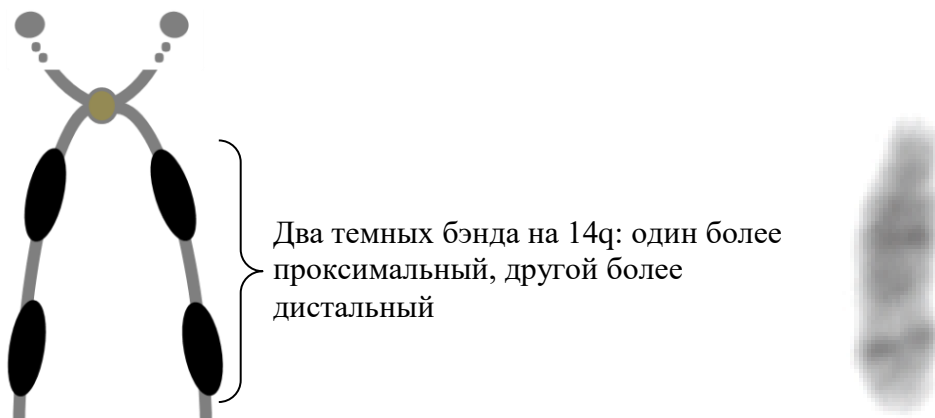


Рис. 2.14. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 14



Рис. 2.15. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 15

*Хромосома 15* (рис. 2.15): на коротком плече имеются спутничные нити и спутники (могут быть неразличимы на цитогенетических препаратах). В середине длинного плеча – темный бэнд.

### 2.3.5. Хромосомы группы E – средние субметацентрические хромосомы

*Хромосома 16* (рис. 2.16): метацентрическая хромосома (или субметацентрическая, в зависимости от длины полиморфного бэнда ПЦГХ). В коротком плече есть два тонких темных бэнда (не всегда окрашиваются). Короткое плечо, как правило, окрашивается светлым. На длинном плече, сразу под центромерой, – хорошо окрашивающийся полиморфный темный сегмент ПЦГХ. Далее на длинном плече – менее (по интенсивности) окрашивающиеся два темных бэнда, последний – дистальный на q.

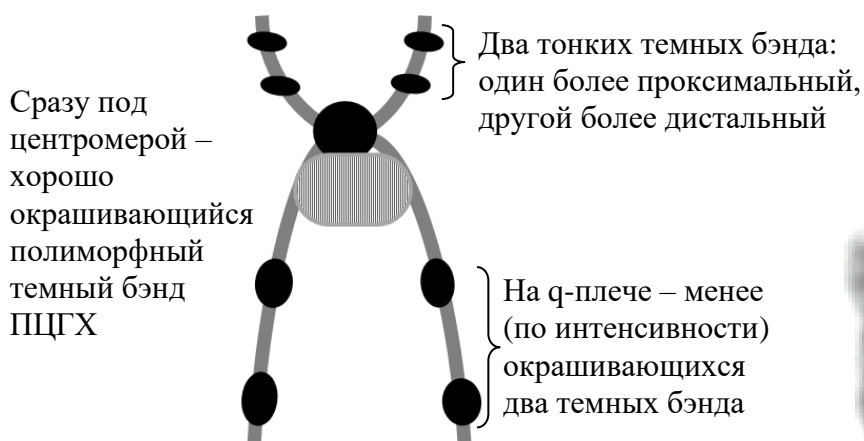


Рис. 2.16. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 16

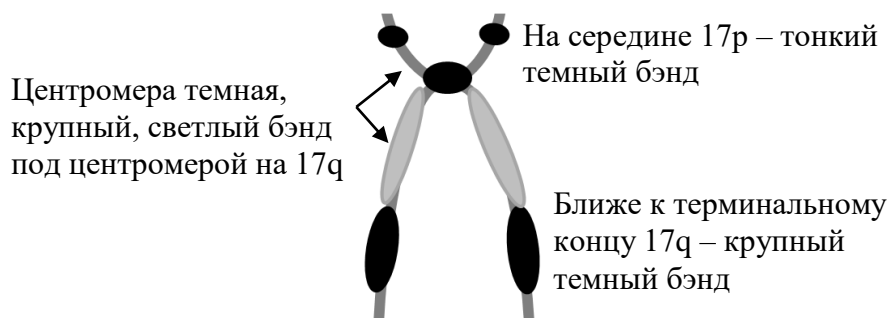


Рис. 2.17. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 17

**Хромосома 17** (рис. 2.17): на коротком плече – тонкий темный бэнд (не всегда определяется), 17p меньше по размерам, чем 16p. Центромера темная, сразу за ней следует крупный, хорошо различимый светлый бэнд, который занимает большую часть длинного плеча. Ближе к терминальному концу 17q – один крупный темный бэнд, состоящий из двух близко расположенных темных бэндов.

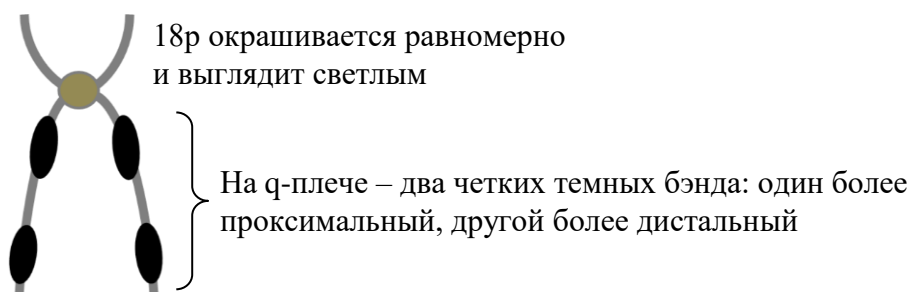


Рис. 2.18. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 18

**Хромосома 18** (рис. 2.18): короткое плечо часто окрашивается равномерно и выглядит светлым. На длинном плече – два четких темных бэнда: один более проксимальный, другой более дистальный (при разрешении 550 бэндов каждый будет определяться как два близко расположенных друг к другу). Между этими двумя темными бэндами – четко определяемый светлый бэнд.

### 2.3.6. Хромосомы группы F – малые метацентрические хромосомы

**Хромосома 19** (рис. 2.19): центромерная и прицентромерные области короткого и длинного плеч темные, сами плечи светлые. Размеры и положение темноокрашивающегося полиморфного ПЦГХ варьируют.

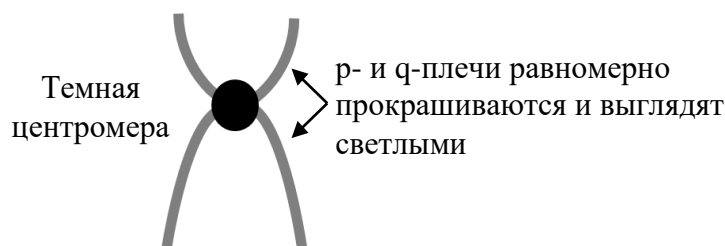


Рис. 2.19. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 19

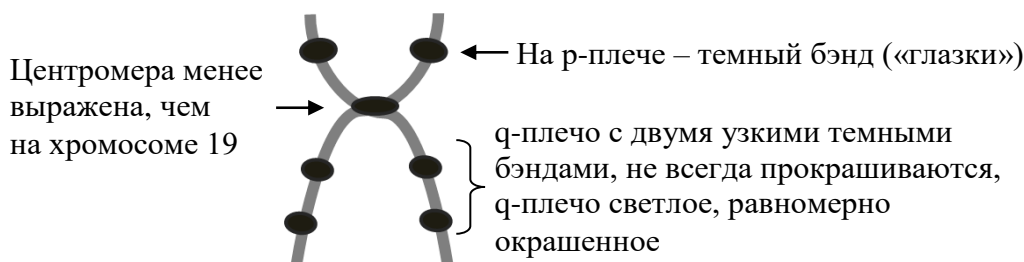


Рис. 2.20. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 20

*Хромосома 20* (рис. 2.20): в коротком плече есть темный бэнд (как «глазки» при окрашивании). Центромера менее выражена, чем у хромосомы 19. Длинное плечо, как правило, светлое, равномерно окрашенное, реже можно детектировать два очень узких, менее интенсивно окрашивающихся темных бэнда.

### 2.3.7. Хромосомы группы G – малые акроцентрические хромосомы

*Хромосома 21* (рис. 2.21): на коротком плече имеются спутничные нити и спутники (могут быть неразличимы на цитогенетических препаратах). На длинном плече – интенсивно окрашивающийся темный бэнд, занимает область, проксимальную к центромере, постепенно затухая (по окраске) к дистальному концу.

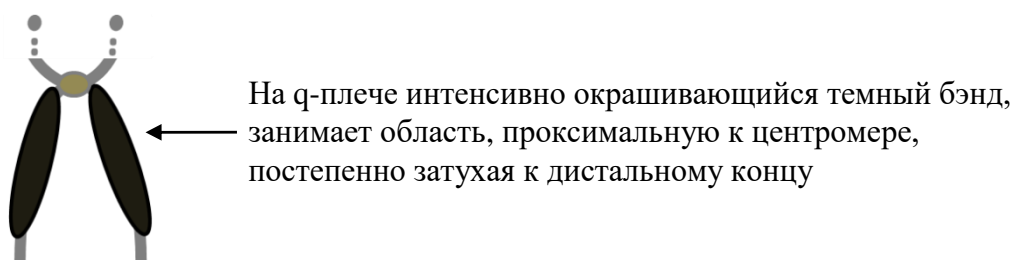


Рис. 2.21. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 21

*Хромосома 22* (рис. 2.22): на коротком плече имеются спутничные нити и спутники (могут быть неразличимы на цитогенетических препаратах). Центромера темная. В середине длинного плеча – узкий, менее интенсивно (чем центромера) окрашивающийся темный бэнд – 22q12. В целом длинное плечо окрашивается светлым.

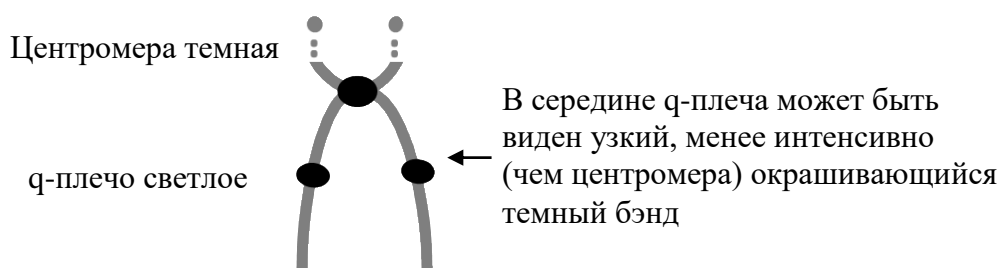


Рис. 2.22. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) хромосомы 22



### 2.3.8. Половые хромосомы

Х-хромосома (рис. 2.23) – средняя субметацентрическая хромосома. Размеры Х-хромосомы почти такие же, как у хромосомы 6, но короткое плечо длиннее, а длинное – короче. Центромерная область и прицентромерные районы обоих плеч светлые. В середине короткого плеча хорошо определяемый четко окрашивающийся темный бэнд. На длинном плече – проксимальный темный бэнд, расположенный на таком же расстоянии от центромеры, как и темный бэнд на коротком плече. Далее на длинном плече – менее интенсивно окрашенные темные бэнды, расположенные ближе к дистальному концу плеча. Четко окрашиваются, как правило, два бэнда, реже три бэнда.

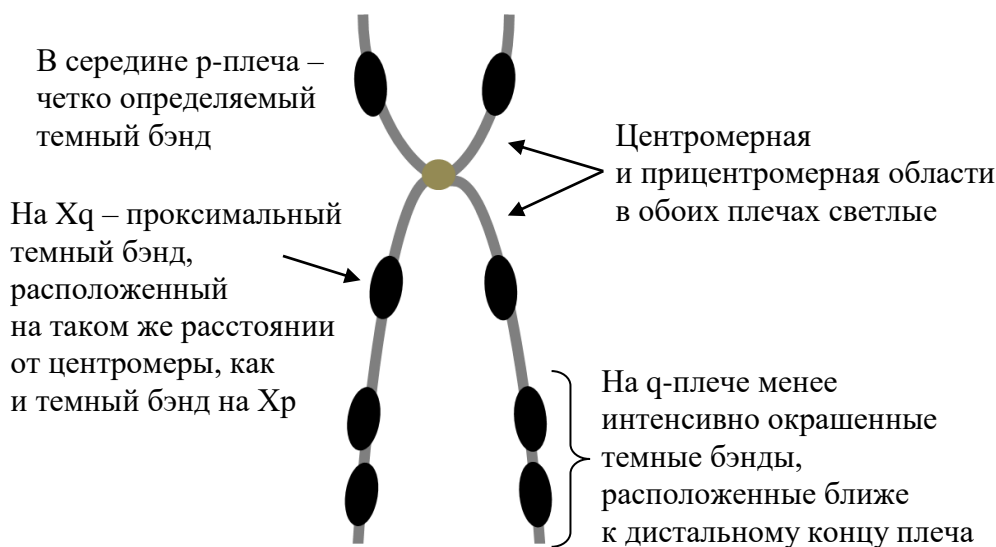


Рис. 2.23. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) Х-хромосомы

Y-хромосома (рис. 2.24) по морфологии – акроцентрик, спутники и спутничные нити отсутствуют, в дистальном отделе длинного плеча – большой темный сегмент (вариабельный по размерам конститутивный гетерохроматин). Может окрашиваться темный бэнд Yq11.22, расположенный сразу под центромерой длинного плеча. Хроматиды длинного плеча расположены, как правило, параллельно друг другу (как рукава пиджака на вешалке).

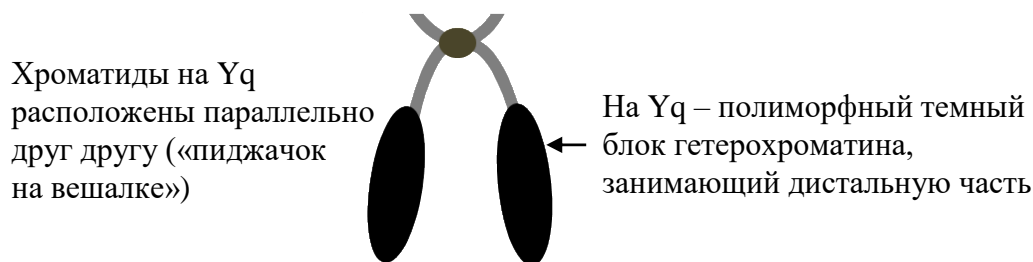


Рис. 2.24. Схематичное изображение (слева) и микрофотография (справа) Y-хромосомы

## Задания

1. Схематично зарисовать основные бэнды на хромосомах. Помнить, что хромосомы различаются как по морфологии (метацентрические, субметацентрические, аacroцентрические), так и по размерам (большие, средние, малые)!

2. Отметить карандашом гомологичные хромосомы на метафазной пластинке (Приложение 1), написать формулу кариотипа и заключение. Сравнить полученные результаты с ответом (Приложения 3, 4).

## 3. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ ПО АНАЛИЗУ КАРИОТИПА

### 3.1. Организация цитогенетической лаборатории

Для организации практического занятия по изучению кариотипа человека необходимо наличие следующих лабораторных помещений:

а) *культуральный бокс*, который представляет собой небольшое помещение площадью примерно 10 м<sup>2</sup> и более, наличие окон необязательно. В культуральном боксе размещают ламинарный шкаф для работы с культурой крови; небольшой холодильник с морозильной камерой для хранения реактивов, которые понадобятся для постановки культуры клеток; шкаф для хранения лабораторного пластика, суховоздушный термостат или инкубатор, ультрафиолетовую лампу и/или обеззараживатель воздуха;

б) *лаборантская комната* представляет собой помещение с приточно-вытяжной вентиляцией, желательно наличие окон. Площадь помещения может варьировать от 15 м<sup>2</sup> и более. В лаборантскую комнату помещают вытяжной шкаф, раковину, рабочий стол, холодильник с морозильной камерой, шкаф для хранения лабораторного пластика и посуды, шкаф с полками для хранения планшетов с препаратами хромосом, центрифугу с охлаждением;

в) *микроскопная комната* представляет собой небольшое помещение, возможно затемнение на окнах, особенно, если планируется работать с флуоресцентными красителями, например, с Q-бэндингом. В этой комнате должен стоять специальный стол с антивибрационными элементами или платформой, с установленными на нем микроскопом, камерой и компьютером с программным обеспечением, шкаф для хранения лабораторных журналов. В идеале в микроскопной комнате для каждого обучающегося организуется одно рабочее место.

Желательное число обучающихся при проведении лабораторных занятий в помещениях, подобных описанным, не должно превышать 4–5 человек.

### **3.2. Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов периферической крови**

#### ***День первый***

*Расходные материалы:* дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл, до 10 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пробирки центрифужные на 15 мл; перманентный маркер; ножницы, пинцет, вакутейнеры с гепарином, перчатки медицинские.

*Реактивы:* среда RPMI-1640 с L-глутамином; сыворотка эмбриональная телячья, антибиотик гентамицин в концентрации 40 мг/мл (или пенициллин 100 ед/мл + канамицин 100 мкг/мл); фитогемагглютинин (ФГА) в концентрации 1 мг/мл; 70 %-ный этиловый спирт.

#### *Методика:*

1. Все манипуляции проводить в перчатках. Подготовить культуральный бокс: поверхность ламинарного шкафа протереть 70%-ным этиловым спиртом либо другой обеззараживающей смесью. Поместить расходный материал (кроме вакуумных пробирок с гепарином) в ламинарный шкаф. Включить УФ-свет в ламинарном шкафу. Включить УФ-лампу в помещении. Обработку УФ проводить в течение 20...30 мин.

2. В процедурном кабинете в стерильных условиях в вакутейнер с гепарином забрать 3...5 мл крови из периферической вены.

3. Выключить УФ в ламинарном шкафу и помещении. В ламинарном шкафу включить поток воздуха, расположить реактивы.

4. На каждый образец крови приготовить по две центрифужные пробирки на 15 мл. Каждую пробирку замаркировать следующим образом: номер пробирки, дата, фамилия и инициалы образца, лабораторный индекс образца (если имеется).

5. В каждую центрифужную пробирку добавить: среды RPMI-1640 с L-глутамином 4,5 мл; сыворотки эмбриональной телячьей 0,5 мл; антибиотик 3...5 мкл; ФГА 60...100 мкл. В последнюю очередь добавить 0,3...0,5 мл гепаринизированной крови.

6. Пробирку плотно закрыть крышкой, несколько раз осторожно перемешать содержимое пробирки для лучшего смешивания компонентов культуральной среды.

7. Пробирки в штативе поставить культивировать в термостат при +37 °C на 72 часа.

*Примечания:* 1. В связи с особенностями методики (необходимость культивирования в течение 72 часов) первый практический день (так же как и диагностический) лучше проводить в первой половине понедельника, вторника или пятницы. Необходимо особо подчеркнуть, что кровь должна быть собрана *только в вакутейнеры с гепарином (!)*. Другие антикоагулянты (такие как, например, цитрат натрия, ЭДТА) не подходят для приготовления препаратов хромосом.

2. При постановке культуры крови в диагностических целях материал в лабораторию поступает с направлением от врача, в котором кроме данных о пациенте (ФИО, возраст) указываются показания для кариотипирования, клинический диагноз и контактные данные врача.

3. Центрифужные пробирки можно заменить стерильными культуральными флаконами с необработанной поверхностью для суспензионных культур. При этом следует помнить, что после истечения времени культивирования суспензию клеток необходимо переместить в конические центрифужные пробирки для дальнейшей работы.

4. Если среда RPMI-1640 не содержит L-глутамин, его можно заменить сухим, стерильным L-глутамином, добавляя его на кончике стерильной иглы в каждую пробирку или во флакон с порцией среды, в объеме, приготовленном для полного израсходования в день постановки культуры. Следует помнить, что при использовании среды в течение нескольких месяцев L-глутамин постепенно начинает разлагаться, поэтому желательно его добавление в указанном количестве в каждую пробирку, даже если он изначально содержался в среде.

5. Вместо RPMI-1640 можно использовать среду RPMI-1640(t), в которую добавлены аланил-глутамин и тимидин. Эта среда, кроме всего прочего, может позволить получить более «растянутые» по размерам хромосомы на препаратах.

6. Концентрация ФГА подбирается исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого ФГА фирмы ПАНЭКО, используемый на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Концентрация и фирма – производитель стимулятора клеточного деления могут отличаться в каждой конкретной лаборатории. Также рекомендуется дублировать митогены, и кроме ФГА использовать конкавалин А, покивид и др.

### ***День второй***

*Расходные материалы:* дозаторы на 5 мл, 1 мл, до 200 мкл; наконечники для дозаторов; штатив для дозаторов; пинцет; стекла предметные с матовой полосой; стакан лабораторный на 100 мл; банка для реактивов с винтовой пластмассовой

крышкой на 100 и 250 мл; штатив-рельсы без делителей для предметных стекол; спиртовка; спички или зажигалка; парафильм; карандаш графитовый.

*Реактивы:* колхицин (колцемид) в концентрации 1 мг/мл, ледяная уксусная кислота, метанол или 95...96 %-ный (абсолютный) этиловый спирт, соль хлорид калия (KCl), вода дистиллированная.

*Методика:*

1. После 72 часов культивирования в каждую пробирку добавить по 60...100 мкл колхицина. Осторожно перемешать содержимое флакона и оставить в термостате при +37 °C на 40...50 мин.

2. Далее все манипуляции проводятся в лаборантской комнате. Приготовить гипотонический раствор: 0,55 %-ный KCl (550 мг KCl растворить в 100 мл дистиллированной воды); фиксатор: смесь спирта и уксусной кислоты в соотношении 3:1 (например, к 60 мл абсолютного этилового спирта или метанола добавить 20 мл ледяной уксусной кислоты). Поставить фиксатор охлаждаться на +4 °C. В чистый лабораторный стаканчик объемом 100 мл налить примерно 80 мл дистиллированной воды и поставить в стаканчик с водой предметные стекла из расчета два-три стекла на одну пробирку. Стаканчик со стеклами закрыть парафильмом и поставить в холодильник на +4 °C охлаждаться.

3. По окончании времени колхицинизации клетки осадить центрифугированием при 1000...1200 об/мин (RPM) 10 мин.

4. Супернатант (надосадочную жидкость) удалить пипеткой, оставляя 0,3–0,5 мл над осадком. Осадок разбить энергичным встряхиванием.

5. Струйно добавить 5 мл гипотонического раствора (0,55 %-ный KCl), перемешать и инкубировать 15...20 мин при комнатной температуре.

6. Префиксация: по окончании времени гипотонической обработки в каждую пробирку добавить по 0,5 мл холодного фиксатора, аккуратно перемешать и сразу же осадить центрифугированием (10 мин, 1000...1200 RPM).

7. Повторить п. 4.

8. В каждую пробирку добавить по 5 мл холодного фиксатора. Хорошо перемешать. Фиксацию проводить при +4 °C в течение 20...30 мин. Провести две-три смены фиксатора, каждый раз осаждая клетки центрифугированием и повторяя п. 4.

9. После последней фиксации клетки осадить, удалить супернатант, оставить примерно 0,3...0,5 мл супернатанта, осадок разбить пипетированием.

10. Поставить пробирки охлаждаться на 10...15 мин при +4 °C.

11. Подготовить штатив-рельсы, достать суспензию клеток и стакан с предметными стеклами из холодильника, пипетированием повторно разбить осадок, с помощью дозатора отобрать 30...80 мкл суспензии.

12. Пинцетом достать предметное стекло из стаканчика с водой, излишки воды аккуратно удалить, опустив кончик стекла на фильтровальную бумагу, остатки капель воды раскатать по всей поверхности стекла, покачивая его. Нанести суспензию клеток с высоты на поверхность мокрого охлажденного стекла, прижечь фиксатор над пламенем спиртовки.

13. С помощью графитового карандаша подписать предметные стекла: дата приготовления препарата, фамилию и инициалы образца, лабораторный индекс (если имеется), номер пробирки, номер препарата. Оставить препараты подсыхать в вертикальном положении.

14. В микроскопной комнате оценить качество препаратов хромосом с помощью микроскопа с фазовым контрастом: количество метафазных пластинок на стекле, цельность метафазных пластинок, отсутствие или небольшое число взаимных наложений хромосом, степень конденсации хромосом, обособленность метафазных пластинок друг от друга.

15. По завершении работы в каждую пробирку добавить по 3...5 мл фиксатора и поставить на хранение на +4 или на -20 °С.

*Примечания:* 1. Гипотонический раствор и фиксатор готовятся в день использования и не хранятся!

2. Концентрация колхицина (колцемида) подбирается, исходя из рекомендаций фирмы-производителя. В методике указана концентрация стокового раствора и объем добавляемого колхицина фирмы «ПАНЭКО», используемого на лабораторных занятиях на кафедре Лабораторной медицины и генетики НМИЦ им. В. А. Алмазова. Стоковая концентрация, добавляемый объем и фирма – производитель данного реактива может отличаться в каждой конкретной лаборатории.

3. Гипотоническую обработку можно проводить в термостате при температуре +37 °С.

4. Префиксацию можно проводить фиксатором комнатной температуры. Вторую и последующие фиксации можно проводить при температуре -20 °С.

5. Важно, чтобы все манипуляции из п. 12 методики выполнялись как можно быстрее, чтобы предотвратить скопление жидкости в центре стекла и достичь хорошего разброса клеток по всей его поверхности.

6. Качество препаратов метафазных хромосом зависит от многих условий: температуры и влажности воздуха в комнате, качества ледяной уксусной кислоты, температуры предметного стекла, времени испарения фиксатора со стекла и т. д. Более подробно влияние внешних условий на процесс распыления хромосом на поверхности стекла и способов их устранения можно прочитать в специальной литературе [13]. Например, при наличии цитоплазмы на метафазных пластинках, которая приводит к скученности хромосом, для улучшения качества препаратов можно увеличить соотношение уксусной кислоты в фиксаторе (добавив лишний этап фиксации для смены стандартного фиксатора) или капнуть несколько капель уксусной кислоты на предметное стекло перед распылением. Допускается распылять суспензию на поверхность мокрых охлажденных стекол, размещенных на штатив-рельсы над горячим водяным паром. Следует помнить, что в этих случаях высота нанесения суспензии клеток на стекло будет небольшой, а этап прижигания следует исключить.

7. В случае необходимости приготовления дополнительных препаратов после хранения суспензий нужно освежить фиксатор и производить распыление суспензии (п. 12 методики).

### **3.3. Метод GTG-дифференциальной окраски препаратов хромосом**

#### ***Растворы***

*Фосфатный буфер Соренсена* (pH 6,8) – состоит из двух растворов:

- раствор 1 – натрий фосфорнокислый: взвесить 23,8 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  или 11,8 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , довести дистиллированной водой до 1000 мл;
- раствор 2 – калий фосфорнокислый: взвесить 9,1 г  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , довести дистиллированной водой до 1000 мл.

Перед употреблением смешать раствор 1 и раствор 2 в соотношении 1:1.

*Рабочий раствор трипсина*: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 0,05...0,025 %-ный раствор трипсина на буфере Соренса (pH 6,8). Для этого навеску 50...20 мг сухого трипсина растворить в буфере Соренса.

*Раствор Гимзы*: в емкости Коплина или Хеллендаля приготовить 5 %-ный раствор Гимзы на буфере Соренса.

#### ***Методика***

Свежеприготовленные препараты состарить. Для этого их выдерживают при температуре +37 °C в течение нескольких суток либо при 45...55 °C несколько часов или ночь.

1. Препараты опустить в рабочий раствор трипсина подогретого до +37 °С. Время обработки и процентность трипсина подбирается эмпирически. Стандартно начинают от 10 с, увеличивая в случае необходимости.

2. Ополоснуть стекла в дистиллированной воде.

3. Окрашивать в 5 %-ном растворе Гимзы в течение 10...20 мин. Время окрашивания подбирать эмпирически.

4. Стекла высушить. Анализировать в проходящем свете.

*Примечания:* 1. Рабочие растворы трипсина и Гимзы готовить в день окрашивания и не хранить.

2. Буфер Соренса для приготовления рабочего раствора трипсина можно заменить раствором Версена.

3. Рабочие растворы трипсина и Гимзы можно наносить на поверхность предметных стекол, расположенных на штативе-рельсах для окрашивания.

4. Можно проводить одновременную обработку стекол трипсином и окрашивание Гимзой. Для этого смешать 50 мл 5 %-го раствора Гимзы на буфере Соренса и 0,1...0,3 мл 0,25 %-го раствора трипсина. Опустить препарат или нанести на предметное стекло раствор Гимзы с трипсином. Оптимальное время и температуру окрашивания (при комнатной температуре или при +37 °С) подбирать эмпирически.

### **Задания**

1. Приготовить препараты метафазных хромосом из лимфоцитов периферической крови.

2. Покрасить получившиеся препараты согласно методике дифференциального окрашивания (GTG).

3. С помощью микроскопа и специализированного программного обеспечения получить изображения метафазных пластинок и проанализировать кариотип.

4. Написать формулу проанализированного кариотипа и заключение к нему.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tjio J.-H., Levan A. The chromosome number of man // *Hereditas*. 1956. Vol. 42. P. 1–6.
2. Ford C., Hamerton J. The chromosomes of man // *Acta genet*. 1956. Vol. 6. P. 264–266.
3. McGowan-Jordan J., Ottawa (Eds.): An International System of Human Cytogenomic Nomenclature // *Cytogenet Genome Res*. 2020. 170 p.
4. Баранов В. С., Кузнецова Т. В. Цитогенетика эмбрионального развития человека. СПб.: Изд-во «Н–Л», 2007. 439 с.
5. Цитогенетические методы / Медицинские лабораторные технологии: руководство по клинической лабораторной диагностике: 2 т. Т. 2. / Т. В. Кузнецова, Ю. А. Логинова, О. Г. Чиряева и др.; под ред. А. И. Карпищенко. 3-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. С. 623–657.
6. Рубцов Н. Б. Методы работы с хромосомами млекопитающих: учеб. пособие. Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. ун-та, 2006. 152 с.
7. Сайфитдинова А. Ф. Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов: учебно-метод. пособие. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2011. 72 с.
8. Практические рекомендации по обеспечению качества и надежности цитогенетических исследований / Т. В. Кузнецова, Н. В. Шилова, М. Г. Творогова и др. // *Медицинская генетика*. 2019. № 18 (5) С. 3–27.
9. European guidelines for constitutional cytogenomic analysis / M. Silva, N. de Leeuw, K. Mann, et al. // *European J. of Human Genetics*. 2019. № 27. P. 1–16.
10. Хромосомы человека. Атлас / А. Ф. Захаров, В. А. Бенюш, Н. П. Кулешов, Л. И. Барановская. М.: Медицина. 1982. 264 с.
11. Мамаева С. Е. Атлас хромосом постоянных клеточных линий человека и животных. М.: Научный Мир, 2002. 236 с.
12. Human chromosome atlas: introduction to diagnostics of structural aberrations / C. Behrend, J. K. Hagh, P. Mehdipour et al. Switzerland: Springer International Publishing, 2017. 207 p.
13. Рубцов Н. Б. Хромосомы млекопитающих: методы цитогенетического анализа: учеб. пособие. Ч. 1. Новосибирск: Изд-во Новосиб. гос. ун-та, 2004. 108 с.

## СПИСОК ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Ворсанова С. Г., Юров Ю. Б., Чернышов В. Н. Медицинская цитогенетика: учеб. пособие. М.: Медпрактика-М, 2006. 300 с.

Наследственные болезни: национальное руководство / под ред. Е. К. Гинтера, В. П. Пузырева. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 464 с.: ил.

Разин С. В., Быстрицкий А. А. Хроматин: упакованный геном. 4-е изд. М.: БИНОМ, 2015. URL: [https://molpit.org/files/1257\\_Razin2015.pdf](https://molpit.org/files/1257_Razin2015.pdf) (дата обращения: 14.09.2021).

Gardner R. J. McK., Amor D. J. Chromosome abnormalities and genetic counseling. 5th edition. Oxford University Press, 2018. 715 p.

Harper P. First years of human chromosomes: the beginnings of human cytogenetics. New York: Scion Publishing Ltd, 2006. 182 p.

Liehr T. Benign and pathological chromosomal imbalances microscopic and submicroscopic copy number variations (CNVs) in genetics and counseling. Elsevier Inc, 2014. 209 p.

Liehr T. Cytogenetically visible copy number variations (CG-CNVs) in banding and molecular cytogenetics of human; about heteromorphisms and euchromatic variants // Molecular cytogenetisc. 2016. Vol. 9 (5). P. 1–7.

Tseng C. C. Human chromosome analysis // Tested studies for laboratory teaching. Proc. of the 16th Workshop/Conf. of the association for biology laboratory education (ABLE). 1995. Vol. 16. P. 33–56 p.

Wyandt H. E., Tonk V. S. Human chromosome variation: heteromorphism and polymorphism. Springer, 2011. 215 p.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### 1. Метафазная пластинка из культуры крови (окрашено GTG)



Формула кариотипа: \_\_\_\_\_

Заключение: \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

---

---

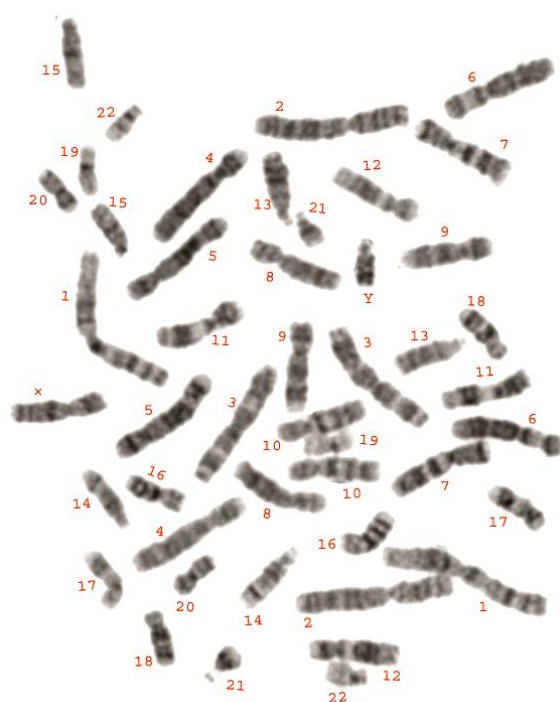
## 2. Примеры формул кариотипов с геномными и хромосомными мутациями и заключений к ним

Формула кариотипа	Заключение*
<i>Формулы кариотипов с геномными мутациями</i>	
69,XXX	Кариотип аномальный, триплоидный, с тремя X-хромосомами
69,XXY	Кариотип аномальный, триплоидный, две X-хромосомы и одна Y-хромосома
92,XXXX	Кариотип аномальный, тетраплоидный, четыре X-хромосомы
47,XY,+21	Кариотип мужской аномальный, трисомия хромосомы 21 (соответствует синдрому Дауна)
45,XY,-12	Кариотип аномальный, моносомия хромосомы 12
<i>Формулы кариотипов с межхромосомными перестройками</i>	
46,XY,t(5;15)(q22;q26)	Кариотип мужской аномальный сбалансированный, реципрокная транслокация между хромосомами 5 и 15
46,Y,t(X;2)(q28;p11.2)	Кариотип мужской аномальный, сбалансированный, реципрокная транслокация между хромосомами X и 2
46,t(X;Y)(q22;q11.2)	Кариотип мужской аномальный сбалансированный, реципрокная транслокация между X- и Y-хромосомами
45,XX,der(13;21)(q10;q10)	Кариотип женский аномальный сбалансированный, Робертсоновская транслокация между хромосомами 13 и 21
46,XY,t(8;10)(p23;p13)inh	Кариотип мужской аномальный сбалансированный, реципрокная транслокация между хромосомами 8 и 10, унаследована, родительское происхождение неизвестно
46,XX,der(8)t(8;10)(p23;p13)dpat	Аномальный кариотип, обнаружена хромосомная патология: частичная моносомия по короткому плечу хромосомы 8 и частичная трисомия по короткому плечу хромосомы 10 в результате несбалансированной транслокации между хромосомами 8 и 10, унаследованной от отца
46,XX,ins(4;9)(p15.2;q13q22)	Кариотип женский аномальный сбалансированный, инсерция между хромосомами 4 и 9
<i>Формулы кариотипов с внутрихромосомными перестройками</i>	
46,Y,del(X)(p21)	Кариотип мужской аномальный несбалансированный, терминальная делеция сегмента короткого плеча X-хромосомы
46,XX,del(5)(q13q33)	Кариотип женский аномальный несбалансированный, интерстициальная делеция сегмента длинного плеча хромосомы 5
46,XX,del(4)(q?)	Кариотип женский аномальный несбалансированный, делеция с неизвестными точками разрыва в длинном плече хромосомы 4
<i>Формулы кариотипов с внутрихромосомными перестройками</i>	
46,X,dup(X)(q22q13)	Кариотип женский аномальный несбалансированный, инвертированная дупликация сегмента длинного плеча X-хромосомы
46,XY,inv(7)(q11.2q36)	Кариотип мужской аномальный сбалансированный, парацентрическая инверсия в длинном плече хромосомы 7

Формула кариотипа	Заключение
46,XY,inv(1)(p36.1q42.1)	Кариотип мужской аномальный сбалансированный, перичентрическая инверсия хромосомы 1
46,X,i(X)(q10)	Кариотип женский аномальный несбалансированный, обнаружена структурная перестройка X-хромосомы: изохромосома по длинному плечу
48,XY,+mar1,+mar2	Кариотип мужской аномальный, обнаружены сверхчисленные маркерные хромосомы
<i>Формулы кариотипов, сочетающие геномные и/или хромосомные мутации</i>	
47,XX,+10,inv(10)(p13q22)	Кариотип аномальный, обнаружены аномалии хромосомы 10: трисомия и перичентрическая инверсия. <i>Примечание для читателей:</i> если в кариотипе присутствует одновременно числовая и структурная мутации гомологичных хромосом, то числовая указывается первой
47,Y,t(X;13)(q27;q12), dup(1)(q21q32),inv(1)(p31q41), inv(10)(p13q22),+21	Обнаружены множественные хромосомные аномалии: реципрокная транслокация между хромосомами X и 13, дупликация сегментов в длинном плече одного из гомологов и перичентрическая инверсия другого гомолога хромосомы 1, инверсия в коротком плече хромосомы 10 и трисомия хромосомы 21. <i>Примечание для читателей:</i> аномалии половых хромосом (сначала для X, затем для Y) указываются первыми, после чего следуют аномалии аутосом в порядке возрастания номера аутосомы и независимо от того, являются ли они числовыми или структурными. Структурные аномалии указываются в алфавитном порядке, символ «_» (нижнее подчеркивание) означает, что аномалии произошли на разных гомологичных хромосомах
47,XX,t(12;16)(q13;p11.2),+mar	Кариотип аномальный, обнаружены хромосомные аномалии: реципрокная транслокация между хромосомами 12 и 16 и дополнительная маркерная хромосома
49,XX,+8,del(20)(p12),+r,+mar	Кариотип аномальный, обнаружены хромосомные аномалии: трисомия хромосомы 8, терминальная делеция в коротком плече хромосомы 20, добавочные кольцевая и маркерная хромосомы

*Примечание:* следует еще раз подчеркнуть, что приведенные формулировки заключений не являются абсолютными и основаны на собственном опыте автора, а также информации Практических рекомендаций [8] и номенклатуры хромосом человека [3].

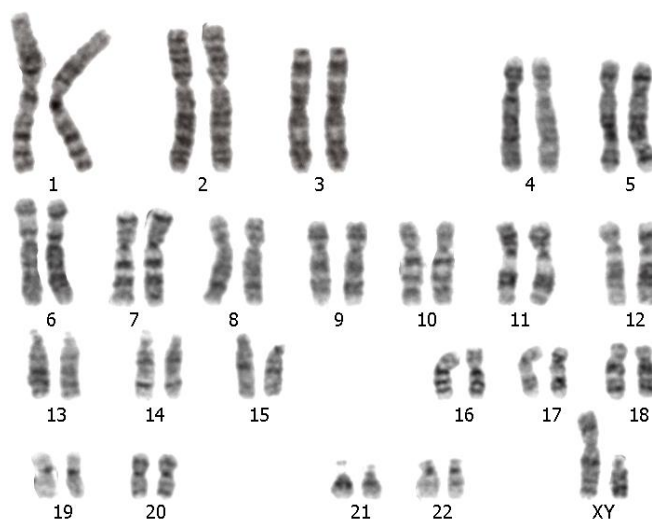
### 3. Метафазная пластинка из культуры крови и ее кариограмма (окрашено GTG)



Формула кариотипа: 46,XY

Заключение: кариотип нормальный мужской.

### 4. Кариограмма метафазной пластинки (окрашено GTG)



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение .....	3
1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА.....	5
1.1. Морфология и размеры метафазных хромосом человека.....	5
1.2. Эухроматиновые и гетерохроматиновые районы хромосом.....	6
1.3. Картиотип человека .....	7
1.4. Полиморфизм – нормальная изменчивость картиотипа человека.....	9
1.5. Картиотипирование .....	11
1.5.1. Методы окрашивания препаратов метафазных хромосом.....	11
1.5.2. Принцип нумерации бэндв вдовль плеч хромосом.....	13
Вопросы и задания .....	15
2. ИЗУЧЕНИЕ КАРИОТИПА ЧЕЛОВЕКА.....	15
2.1. Правила записи формул картиотипа и заключения при картиотипировании .....	15
2.1.1. Правило записи формул нормального картиотипа .....	15
2.1.2. Правила записи формул нормального полиморфизма.....	15
2.1.3. Порядок записи формулы картиотипа: геномные мутации .....	16
2.1.4. Порядок записи формулы картиотипа: хромосомные мутации.....	17
2.1.5. Порядок записи формулы картиотипа: случай мозаицизма и химеризма .....	20
2.2. Заключение при картиотипировании.....	21
2.3. Описание референтных бэндв на хромосомах человека.....	22
2.3.1. Хромосомы группы А – большие метацентрические хромосомы.....	22
2.3.2. Хромосомы группы В – большие субметацентрические хромосомы.....	24
2.3.3. Хромосомы группы С – средние субметацентрические хромосомы.....	25
2.3.4. Хромосомы группы D – средние acroцентрические хромосомы.....	29
2.3.5. Хромосомы группы E – средние субметацентрические хромосомы.....	30

2.3.6. Хромосомы группы F – малые	
метацентрические хромосомы.....	31
2.3.7. Хромосомы группы G – малые	
acroцентрические хромосомы.....	32
2.3.8. Половые хромосомы.....	33
Задания .....	34
3. ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ ПО АНАЛИЗУ КАРИОТИПА .....	34
3.1. Организация цитогенетической лаборатории .....	34
3.2. Приготовление препаратов хромосом из лимфоцитов	
периферической крови .....	35
3.3. Метод GTG-дифференциальной окраски препаратов хромосом .....	39
Задания .....	40
Список литературы .....	41
Приложения .....	43

Пуппо Ирина Леонидовна

**Малый практикум по цитогенетике:  
изучение кариотипа человека**

*Изд. 2-е, перераб. и доп.*

Учебно-методическое пособие

Редактор Е. А. Ушакова

---

Подписано в печать 17.02.22. Формат 60×84 1/16.  
Бумага офсетная. Печать цифровая. Печ. л. 3,0.  
Гарнитура «Times New Roman». Тираж 100 экз. Заказ .

---

Издательство СПбГЭТУ «ЛЭТИ»  
197022, С.-Петербург, ул. Проф. Попова, 5-Ф