

Лекция 1.

Человек как объект генетики.

Методы изучения генетики
человека

Особенности человека как объекта ГЕНЕТИКИ

Что создает **трудности?**:

- Нельзя скрещивать по желанию экспериментатора.
- Число потомков невелико
- Редкая смена поколений
- Много признаков
- Много хромосом

Однако большая заинтересованность
перевешивает все трудности

Основные методы изучения генетики человека

- Генеалогический
- Цитогенетический
- Биохимический
- Близнецовый
- Популяционно-статистический
- Дерматоглифический
- Генетики соматических клеток
- ДНК диагностики

Близнецовый метод



- Изучение развития признаков у близнецов
- Определение роли генотипа в наследовании признаков
- Оценка влияния воспитания и обучения на развитие человека

Близнецовый метод изучает
соотносительную роль генотипа и среды
путем сравнения близнецов

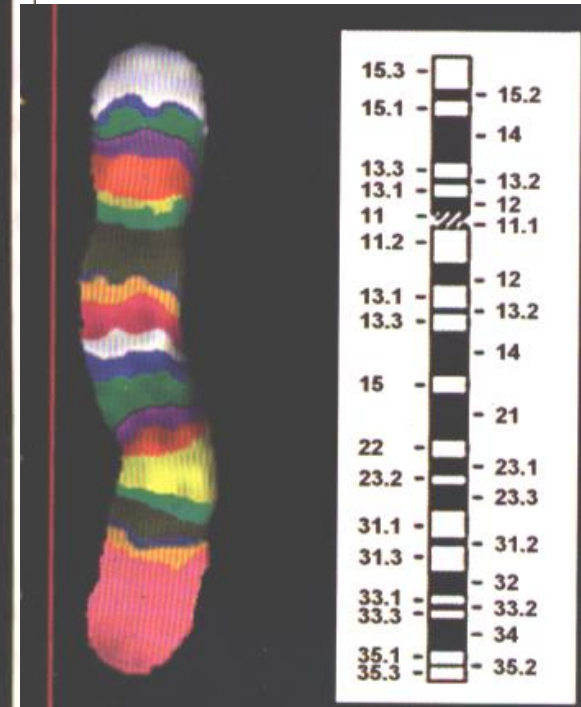
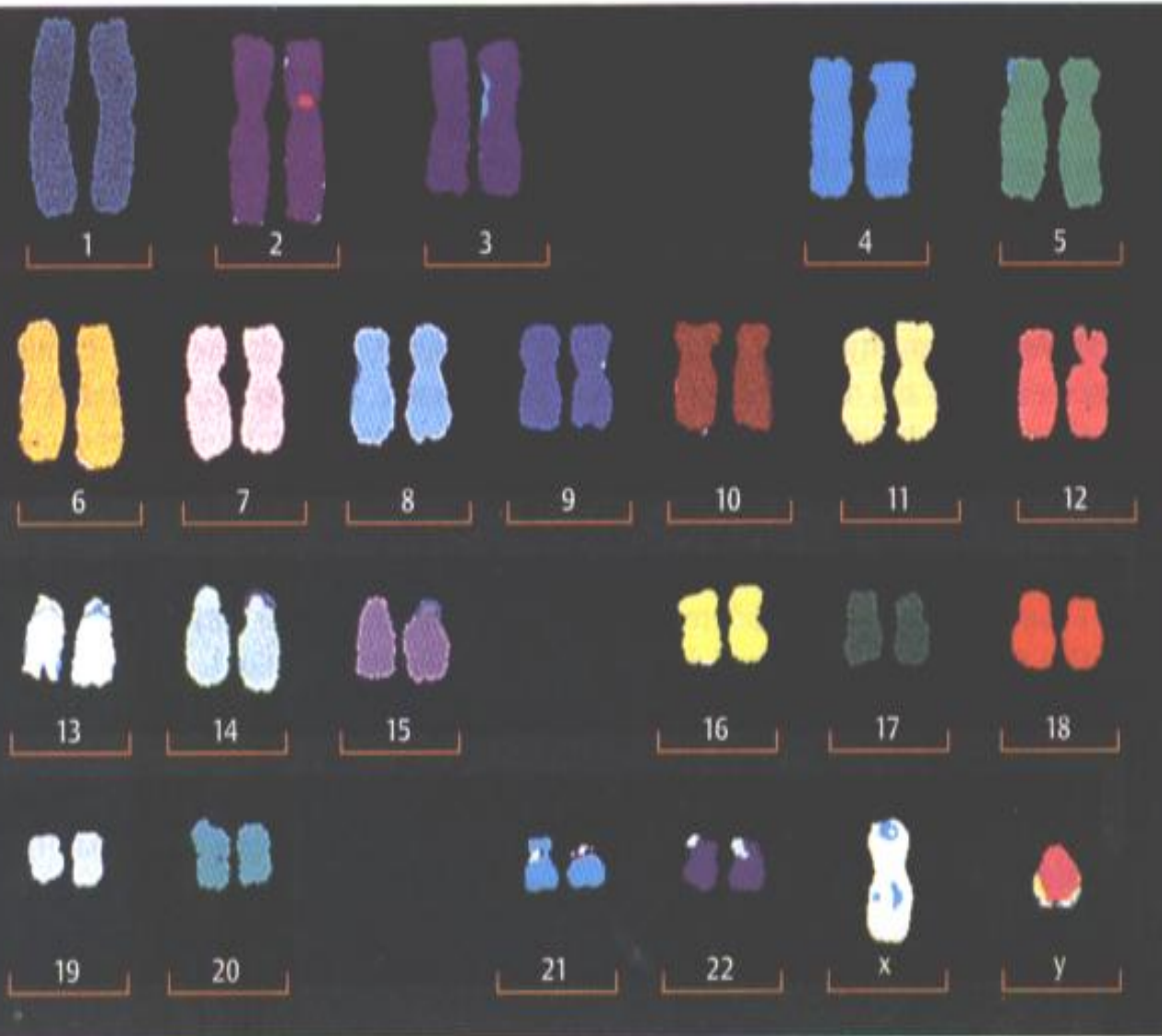
$$H = \frac{K_{\text{МБ}} - K_{\text{ДБ}}}{100\% - K_{\text{ДБ}}}$$

H – показатель наследуемости признака

$K_{\text{МБ}}$ – показатель конкордантности в % у монозиготных близнецов

$K_{\text{ДБ}}$ – показатель конкордантности в % у дизиготных близнецов

Цитогенетический метод изучает хромосомы



Цитогенетический метод

предложен в 1883 г. Ф. Гальтоном.

- Микроскопическое исследование структуры хромосом у здоровых и больных людей
- Диагностика ряда наследственных заболеваний, связанных с хромосомными изменениями

Генеалогический метод – метод анализа родословных

Генеалогический метод

Устанавливает признак

Не наследуемый

Наследуемый

Сцепленный с полом

Аутосомный

Доминантный

Рецессивный

Моногенность (полигенность) признака

Генеалогический метод

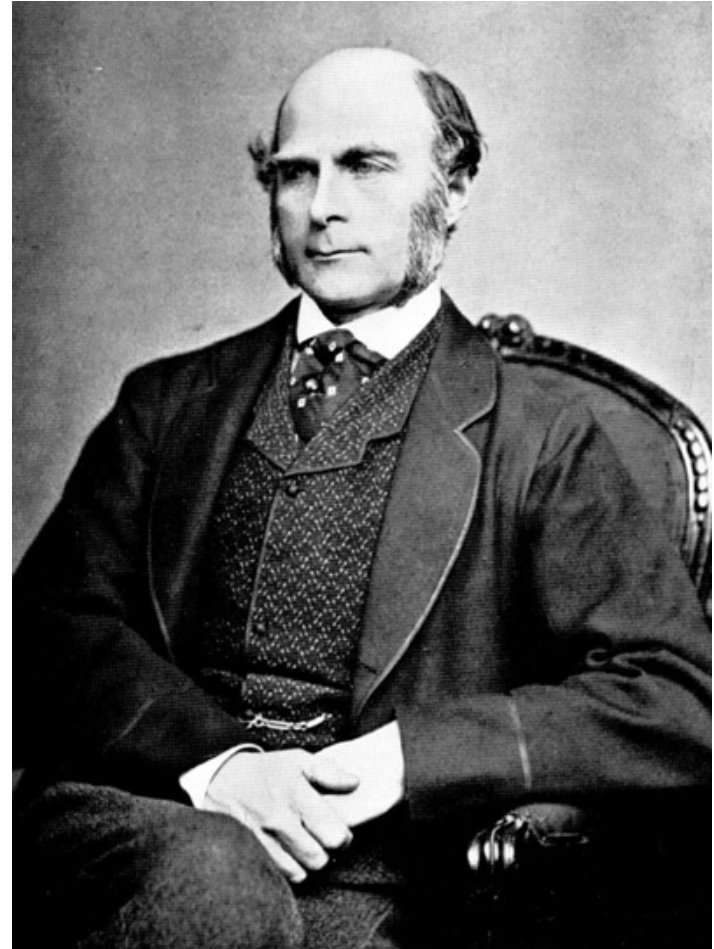
выявляет

- зиготность лиц родословной (гомо- или гетерозиготы);
- пенетрантность гена (частота его проявления);
- вероятность рождения ребенка с наследственной патологией (генетический риск).

Сэр Фрэнсис Гальтон (англ. Francis Galton; 16
февраля 1822 — 17 января 1911)

Кузен Ч.Дарвина

- Занимался вопросами наследственности, биометрией, дерматоглификой, статистикой и тестированием; первым начал изучение близнецов.
- Создал евгенику.



Символы, используемые при составлении родословных

Люди

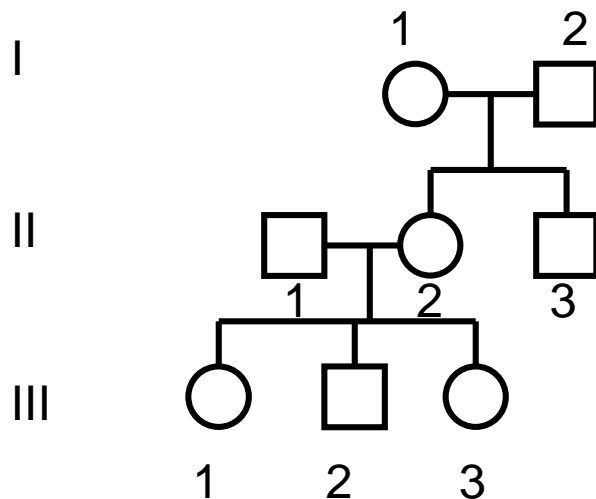
Здоровый мужчина		Больной мужчина		Гетерозиготные люди по аутосомным аллелям		Самостоятельное прерывание беременности		Female		Male
Здоровая женщина		Больная женщина		Мужчина — носитель муковисцидоза		Женщина — носитель транслокации 14:21		45, XX, t(14:21)		
Здоровое лицо неизвестного пола		Больной неизвестного пола		Мертворождённые дети		Терминация беременности (плод мужского пола)		Male		
Пробанд мужчина		Консультируемая женщина		Два здоровых сына		Три больные дочери				
Умершие люди		Женщина — носитель рецессивного заболевания, сцепленного с X-хромосомой		Большое количество человек (количество неизвестно)		Беременность (период)		LMP		20 weeks
								24/4/02		
								24 weeks		

Отношения

Брак или длительный союз		Внебрачные или случайные связи		Здоровые родители со здоровыми сыном и дочерью		Бездетный брак	
Развод		Дочь, рождённая в результате случайной связи		Бесплодный брак (причина)		Близнецы (неизвестно одно- или разнояйцевые)	
Близкородственные браки		Биологические родители неизвестны		Монозиготные (однойцевые) близнецы		Разнояйцевые (дизиготные) близнецы	
Приёмные дети		Отказ от родительских прав		Донорство яйцеклетки		Донорство суррогатной яйцеклеткой	
Донорство спермы		Суррогатная мать					

Этапы генеалогического метода

- 1) родословную начинают строить с пробанда - лица, с которого начинается исследование семьи.
- 2) каждое поколение нумеруется римскими цифрами слева;
- 3) особи одного поколения располагаются на горизонтальной линии и нумеруются арабскими цифрами.



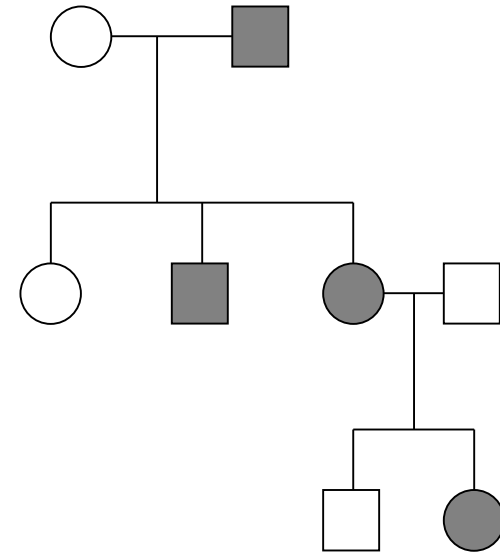
Различают 6 основных типов наследования

- AD
- AR
- XD
- XR
- Y
- Митохондриальное
(цитоплазматическое)

Аутосомно-доминантный тип (AD)

наследования характеризуется
следующими признаками:

- 1) болеют в равной степени мужчины и женщины;
- 2) больные есть в каждом поколении – наследование «по вертикали».
- 3) вероятность наследования 100% (если хотя бы один родитель гомозиготен), 75% (если оба родителя гетерозиготны) и 50% (если один родитель гетерозиготен).



Примеры у человека:

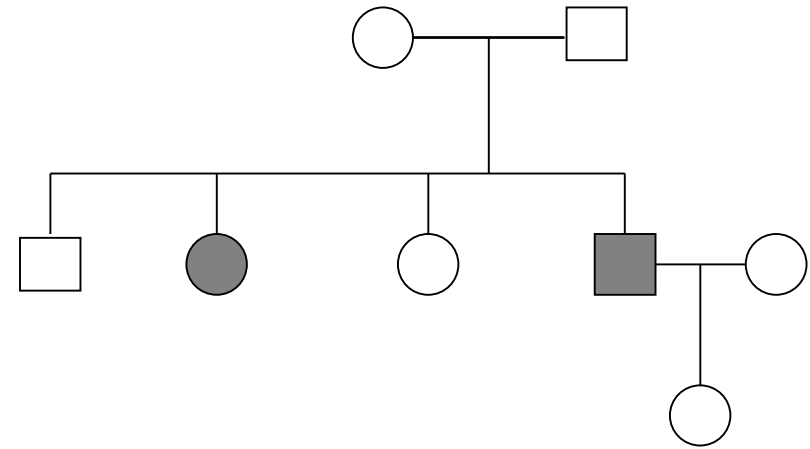
Синдром Марфана

Ахондроплазия

Гиперхолестеринемия

Аутосомно-рецессивный (AR) тип наследования

1. Характерен пропуск поколений
2. Страдают равно мужчины и женщины
3. «По горизонтали»
4. Вероятность у детей 25%, если у родителей признак не проявился



Примеры у человека:

Фенилкетонурия

Муковисцидоз

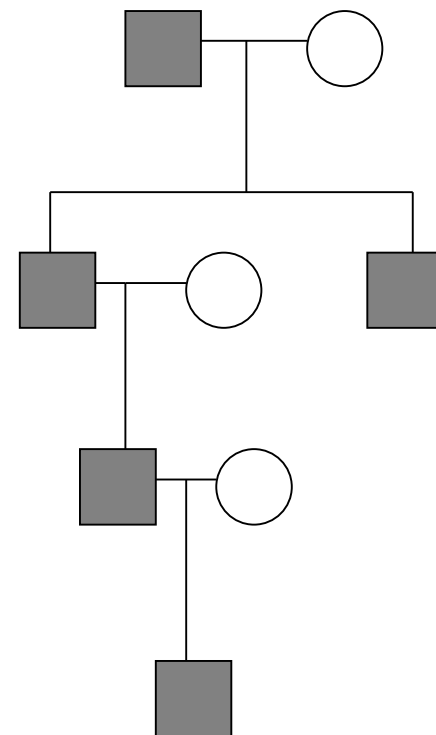
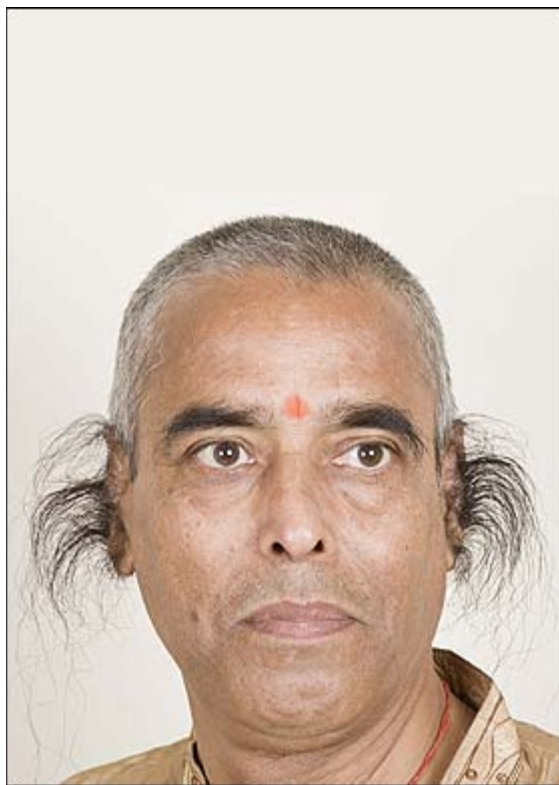
Адрено-генитальный синдром

Голандрический тип (Y) наследования

Передается по
мужской линии
без пропуска
поколений

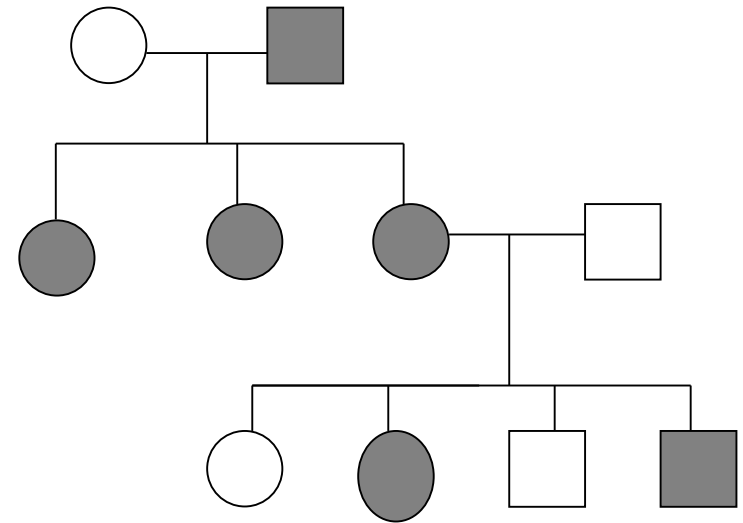
Пример у
человека:

Гипертрихоз
ушной
раковины



X-сцепленный доминантный (XD)

- Без пропуска поколений – по вертикали
- Женщины поражены в 2 раза чаще
- От отца передается всем дочерям; от матери 50% сыновей и дочерей.



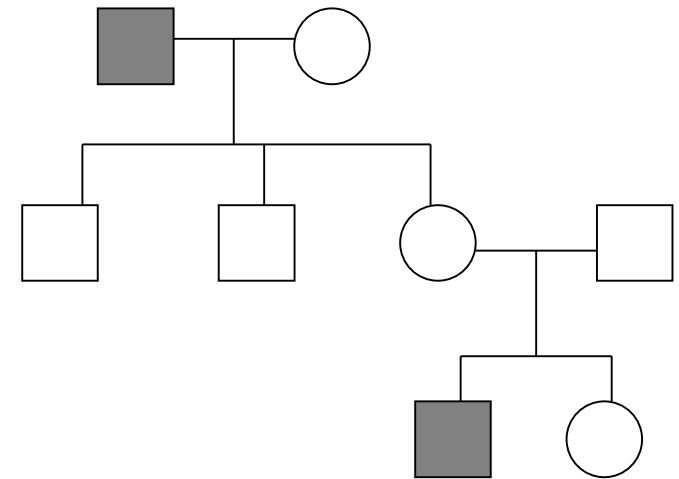
Примеры у человека:

Рахит, резистентный к витамину Д

Коричневая эмаль зубов

X-сцепленный рецессивный (XR)

- Передается от деда через мать-носительницу к внуку
- У мужчин проявляется значительно чаще, чем у женщин



Примеры у человека:

Гемофилия

Дальтонизм

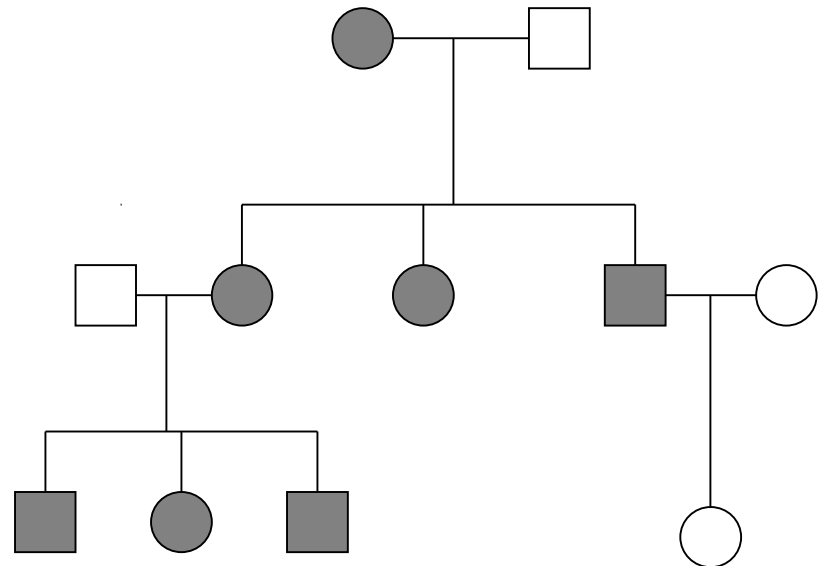
Мышечная дистрофия

Эктодермальная дисплазия



Митохондриальное (цитоплазматическое) наследование

- Передается по материнской линии
- **пример:**
митохондриальная миопатия



У растений также гены **хлоропластов**.

Гаплотип

Гаплотип (сокр. от «гаплоидный генотип») — совокупность аллелей на локусах одной хромосомы, обычно наследуемых вместе.

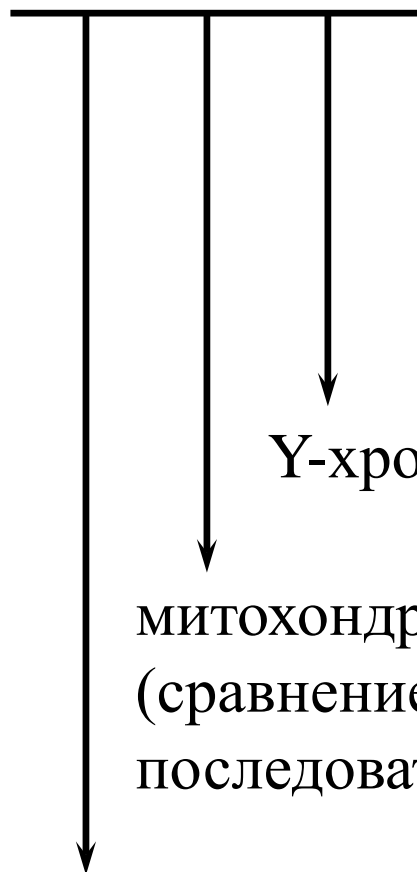
Если **при кроссинговере** комбинация аллелей меняется (что происходит очень редко), говорят о возникновении нового гаплотипа.

Исследуется число одинаковых коротких tandemных повторов (STR, short tandem repeats)

Гаплогруппа

Гаплогруппа — группа схожих гаплотипов, имеющих

общего предка, у которого произошла мутация, унаследованная всеми потомками (обычно — однонуклеотидный полиморфизм).



У-хромосомные – отцовская родовая линия

митохондриальные – материнская родовая линия
(сравнение по Стандартной кембриджской последовательности)

центромерные – соматическое родовое наследование

Дерматоглифический метод

(предложен Гальтоном)

Метод помогает в диагностике наследственных синдромов

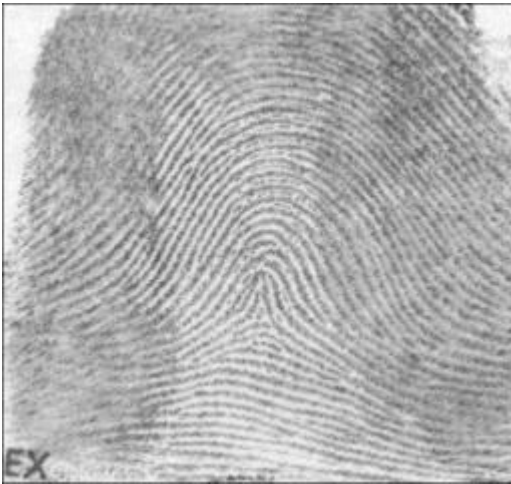
Дерматоглифический метод

- Изучает особенности гребешковой кожи и основные сгибательные линии ладоней и подошв



Три основных вида пальцевых узоров

дуга



петля



завиток



Варианты сгибательных складок



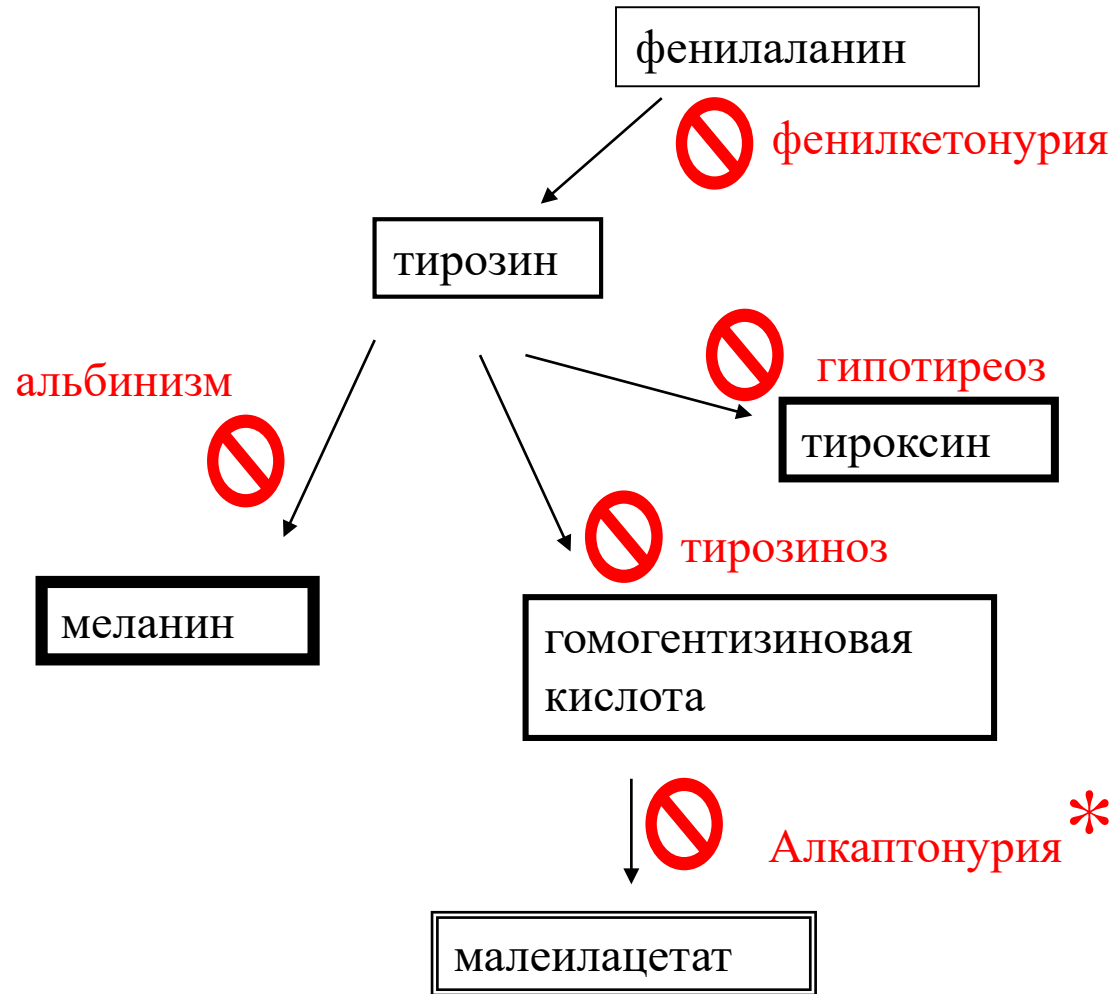
Особенности дерматоглифики при некоторых синдромах

- Синдром Эдвардса – дуги на всех пальцах
- Синдром Дауна – одна сгибательная складка
- Синдром Тернера – все завитки на пальцах
- Синдром Рубинштейна-Тэйби – сложный узор на тенаре

Биохимический метод

- Используется для изучения ферментопатий – мутаций, нарушающих работу ферментов.
- В крови и моче больных выявляются определенные химические соединения.

Примеры ферментопатий



* Первое описанное наследственное нарушение обмена веществ (Арчибальд Гаррод в начале XX века)

и так далее

Online Mendelian Inheritance in Man®

База данных о генных локусах, фенотипах (включая наследственные заболевания), развиваемая в Университете Джо на Хопкинса (США).

Каждой статье в классификации OMIM присваивается уникальный шестизначный номер, первая цифра которого указывает на способ наследования.

- 1 – (100000 – ...) – аутосомнодоминантный тип наследования.
- 2 – (200000 – ...) – аутосомнорецессивное наследование
- 3 – (300000 – ...) – локусы и фенотипы, связанные с X хромосомой.
- 4 – (400000 – ...) – локусы и фенотипы, связанные с Y хромосомой.
- 5 – (500000 – ...) – локусы и фенотипы, связанные с митохондриальным (цитоплазматическим) наследованием.
- 6 – (600000 – ...) — аутосомное наследование.

Аллели (аллельные варианты) гена обозначаются шестизначным номером основной статьи (статья гена), за которым следует четырёхзначный номер, обозначающий данный аллель. Например, аллельные варианты (мутации) локуса, кодирующего образование фактора IX свёртывания крови (приводящие к гемофилии В), имеют обозначения от 306900.0001 до 306900.0101 (306900 — обозначение самого локуса).

Звёздочка (*) перед номером локуса или фенотипа означает, что способ наследования для данного локуса или фенотипа доказан (по мнению авторов и редакторов). Отсутствие звёздочки означает, что способ наследования окончательно не установлен. Символ # перед статьёй означает, что данный фенотип может быть вызван мутацией каким либо из двух (названных) или более генов.

Рассмотрим подробнее обмен
фенилаланина и развитие
фенилкетонурии (АР)
ОМIM 261600 и 261630

Фенилкетонурия



классическая тип I

Описана А. Folling, 1934

98%

AR,

12q23.2;

ген *PAN*

фенилаланингидроксилазы

(фенилаланин-4-монооксигеназы)

> 600 мутаций

Лечится диетой

Экспериментальная терапия

- заместительная фенилаланинлиазой (PAL) — растительный фермент, превращающий фенилаланин в безвредные метаболиты,
- генотерапия на основе введения в организм вирусного вектора, содержащего ген фенилаланингидроксилазы.

Описана, J. Smith, 1974

атипичная — тип II

~ 2%

AR,

4p15.3;

ген *QDPR*

синтеза

кофактора

фенилаланингидроксилазы —

тетрагидробиоптерина

Не лечится диетой

L-DOPA с карбидофой,

5- окситриптофан

Фенилкетонурия



атипичная – тип III

Описана, I. Smith, 1974

< 1%

AR

q22.3-23.3

ген *PTPS*

б- пирувоилтетрагидроптеринсинтазы
синтезирующей тетрагидробиоптерин из
дигидронеоптерин трифосфата

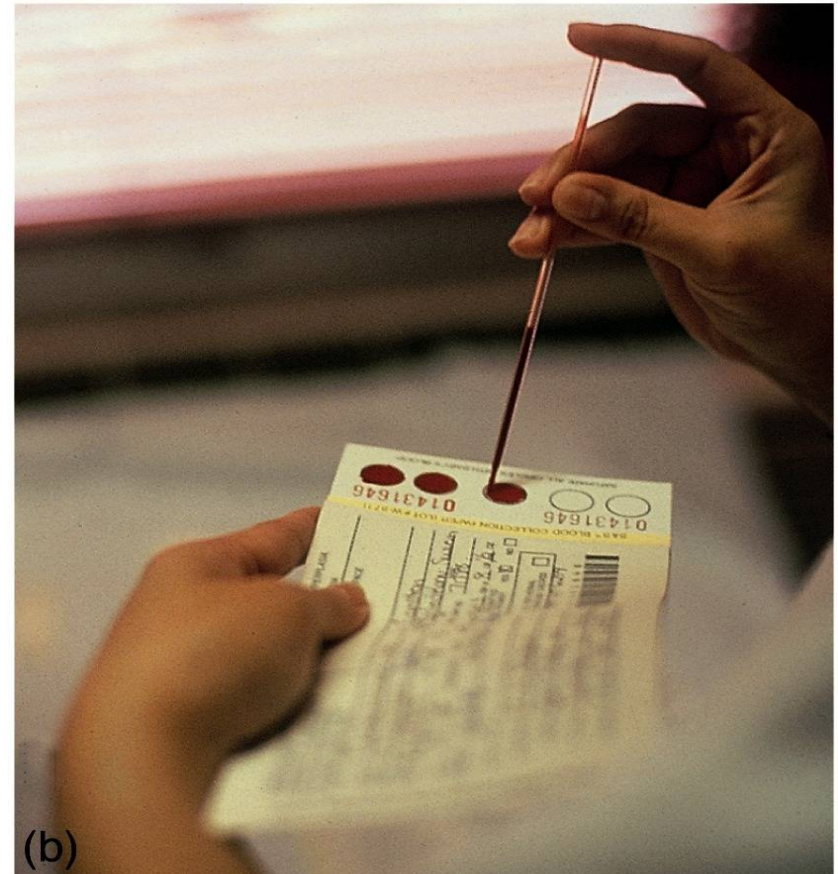
Не лечится диетой

Причиной всех форм являются тандемные повторы, либо
полиморфизм длины рестрикционных фрагментов

Дети с рождения должны соблюдать специальную диету с ограничением по фенилаланину



Неонатальный скрининг – «просеивание» всех младенцев на наличие биохимических дефектов



В настоящее время детей тестируют на выявление:
фенилкетонурии,
муковисцидоза,
врожденного гипотиреоза, адреногенитального
синдрома и галактоземии

При выборе заболеваний для неонатального скрининга, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, учитывались такие факторы, как тяжесть проявления заболеваний, частота распространения данных заболеваний, а также простота и достоверность применяемых методов диагностики, наличие доступных и эффективных средств лечения.

Популяционно-статистический метод генетики

- Изучает и сравнивает популяции людей.
- Основан на законе Харди-Вайнберга

Закон генетической стабильности популяций

- Сформулирован в 1908 году независимо английским математиком **Г. Харди** и немецким врачом **В. Вайнбергом**.
- **Закон** утверждает, что если численность панмиктической (свободно скрещивающейся) популяции велика, в ней отсутствуют мутации, миграция и отбор (по изучаемому гену), то **частоты генотипов AA , Aa и aa в популяции остаются одинаковыми из поколения в поколение:**

$$p^2(AA) : 2pq (Aa) : q^2(aa),$$

где A и a — аллели аутосомного гена,

p — частота аллеля

A , q — частота аллеля a .



Годфри Харолд ХАРДИ
(**Godfrey Harold Hardy**), 1877–1947

Английский математик, родился в Кранли, графство Суррей. Изучал математику в Кембриджском и Оксфордском университете. Пожалуй, самую большую известность Харди принесли совместные работы с индийским математиком-самоучкой Сриниваса Рамануджаном (1887–1920), который работал клерком в Мадрасе. В 1913 году Рамануджан посылает Харди список доказанных им теорем. Признав гениальность юного клерка, Харди пригласил его в Кембридж, и в течение нескольких лет, предшествовавших безвременной смерти Рамануджана, они опубликовали серию блестящих совместных работ.



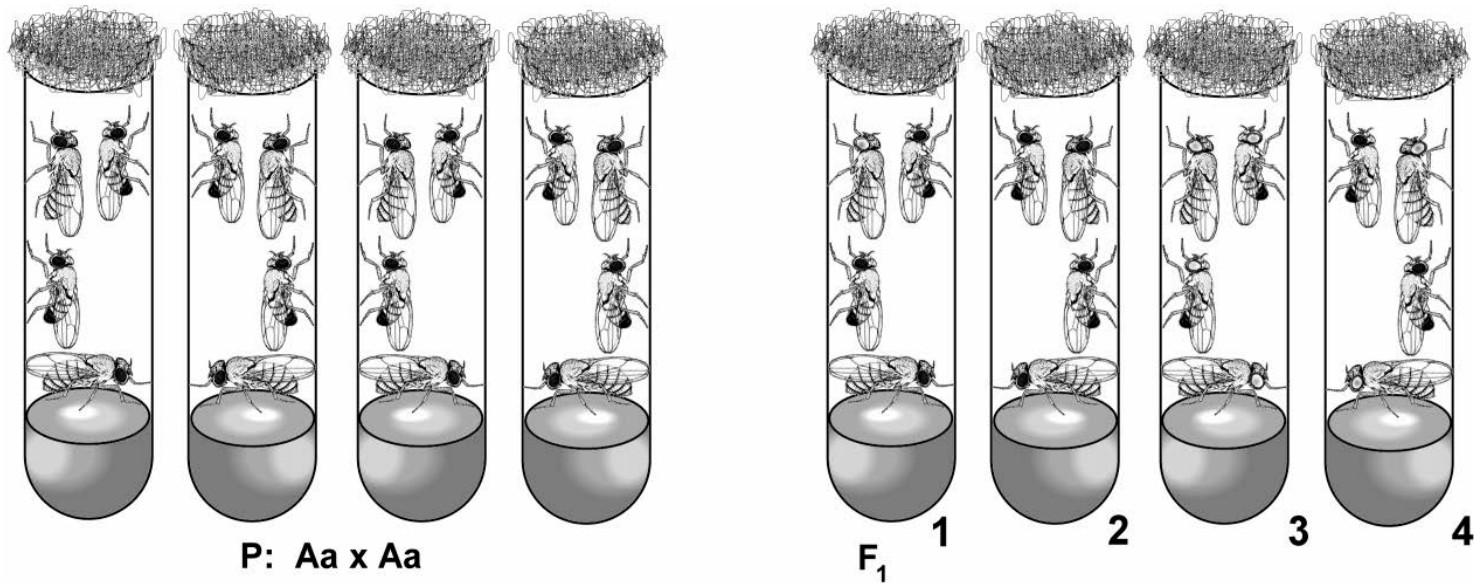
Вильгельм ВАЙНБЕРГ
(**Wilhelm Weinberg**), 1862–1937

Немецкий врач, имевший большую частную практику в Штутгарте. По воспоминаниям современников, помог появиться на свет 3500 младенцам, в том числе по крайней мере 120 парам близнецов. На основании собственных наблюдений над рождением близнецов и переоткрытых генетических законов Менделя пришёл к выводу, что предрасположенность к рождению двойцевых (неидентичных) близнецов передаётся по наследству.

Отклонения от равновесия Харди-Вайнберга свидетельствует о действии на популяцию одного или нескольких факторов:

- Отбора
- Мутаций
- **Дрейфа генов** (ненаправленное изменение частот аллельных вариантов генов в популяции, обусловленное случайными статистическими причинами)
- **Миграций**
- **Изоляции**

Опыт Сьюэла Райта был прост: в пробирки с кормом он посадил по две самки и по два самца мух дрозофил, **гетерозиготных** по гену А (генотип Аа). Концентрация нормального (А) и мутационного (а) аллелей составила 50 %. Через несколько поколений оказалось, что в некоторых популяциях **все особи стали гомозиготными по мутантному аллелю (aa)**, в других популяциях он **был вовсе утрачен (AA)**, **часть популяций содержала как нормальный, так и мутантный аллель**. Несмотря на снижение жизнеспособности мутантных особей и, следовательно, **ВОПРОТИВ ЕСТЕСТВЕННОМУ ОТБОРУ**, в некоторых популяциях мутантный аллель полностью вытеснил нормальный. Это и есть результат случайного процесса — *дрейфа генов*.



В маленьких популяциях частота мутантного аллеля меняется быстро и случайным образом

Частота некоторых аутосомно-рецессивных заболеваний в европейской популяции

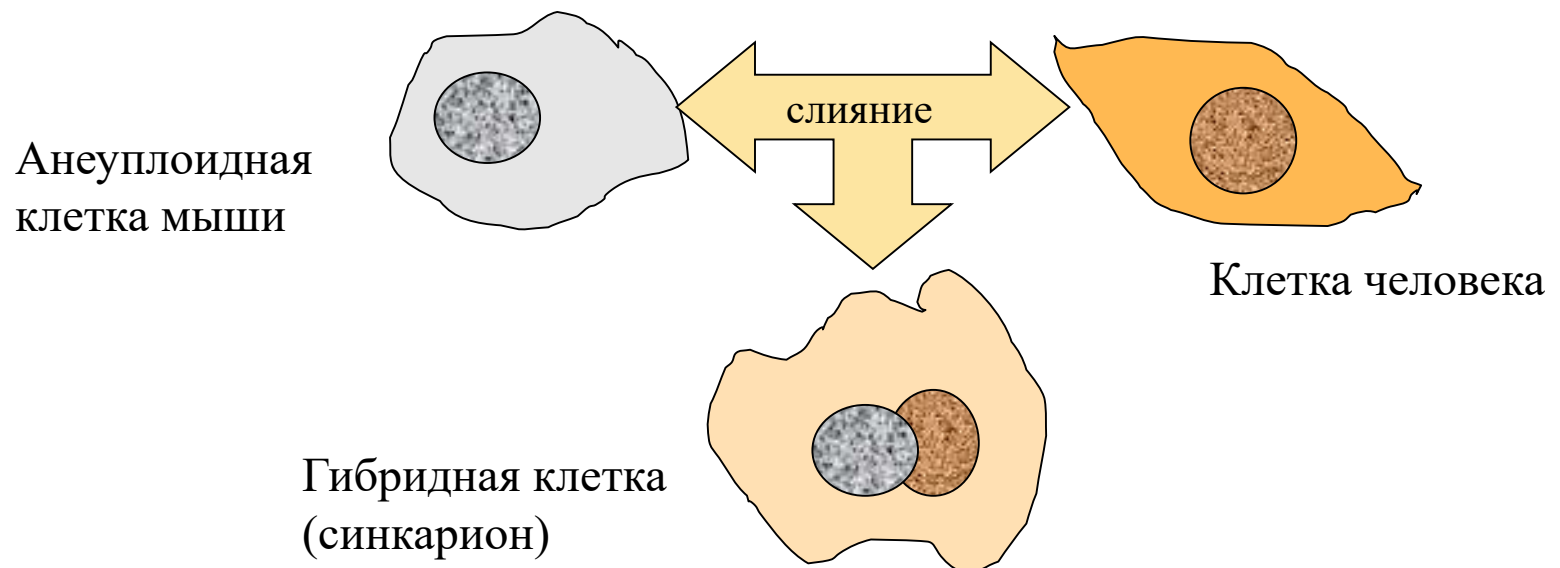
Заболевание	больные	носители
фенилкетонурия	1:10 000 В Японии 1:230 000	1:50
муковисцидоз	1:2000	1:22
гемохроматоз	1:400	1:10

Популяции отличаются по частоте встречаемости мутаций генов

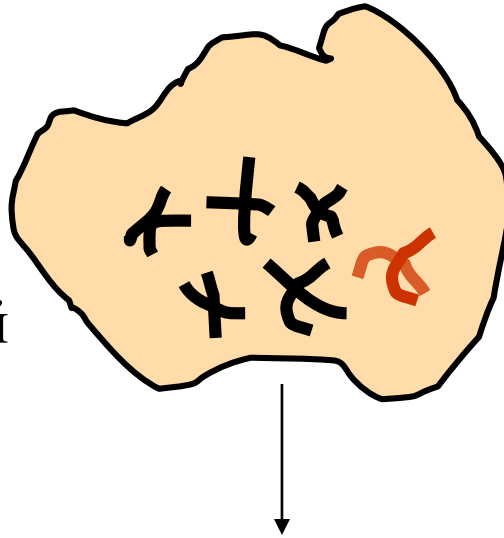
Этническая группа	Заболевание
Амиши старого обряда (Пенсильвания)	Хондроэктодермальная дисплазия; синдром Эллиса-Ван-Кревельда; хрящево-волосая гипоплазия
Куна (Сан Биас), Индейцы (Панама)	Альбинизм Альбинизм
Индейцы Хопи (Аризона)	Сахарный диабет типа 2
Индейцы Пима (юго-запад США) Финны	Врождённая хлоридная диарея; аспартилглюкозаминурия; врождённый нефротический синдром; нанизм мулибрея
Эскимосы Юпик	Врождённая гиперплазия надпочечников
Африканеры (Южная Африка)	Пёстрая порфирия; СГ; липоидный протеиноз; хорея Гентингтона; рубцевание ткани
Евреи ашкенази	Болезнь Тея-Сакса; болезнь Гоше; вегетативная дистония; болезнь Канавана
Караимы острова Рукьян (Япония)	Болезнь Всрднига-Гофмана
Критяне, сардинцы	Атрофия мышц спинного мозга р-Талассемия

Метод генетики соматических клеток

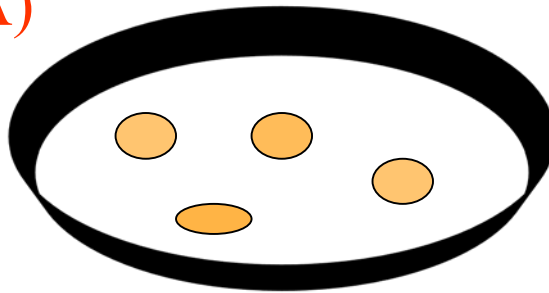
- Клетки выращивают в культуре.
- Этим методом удалось картировать гены человека.
- Метод своеобразен:



В ходе клеточных делений в гибридной клетке утрачиваются все хромосомы человека, кроме одной (например, № 17)



Посев на селективную среду, выжить на которой можно только, если есть определенный человеческий ген (например, ген А)



Клетки выжили, значит ген А лежит в хромосоме 17

Это один из методов картирования генов

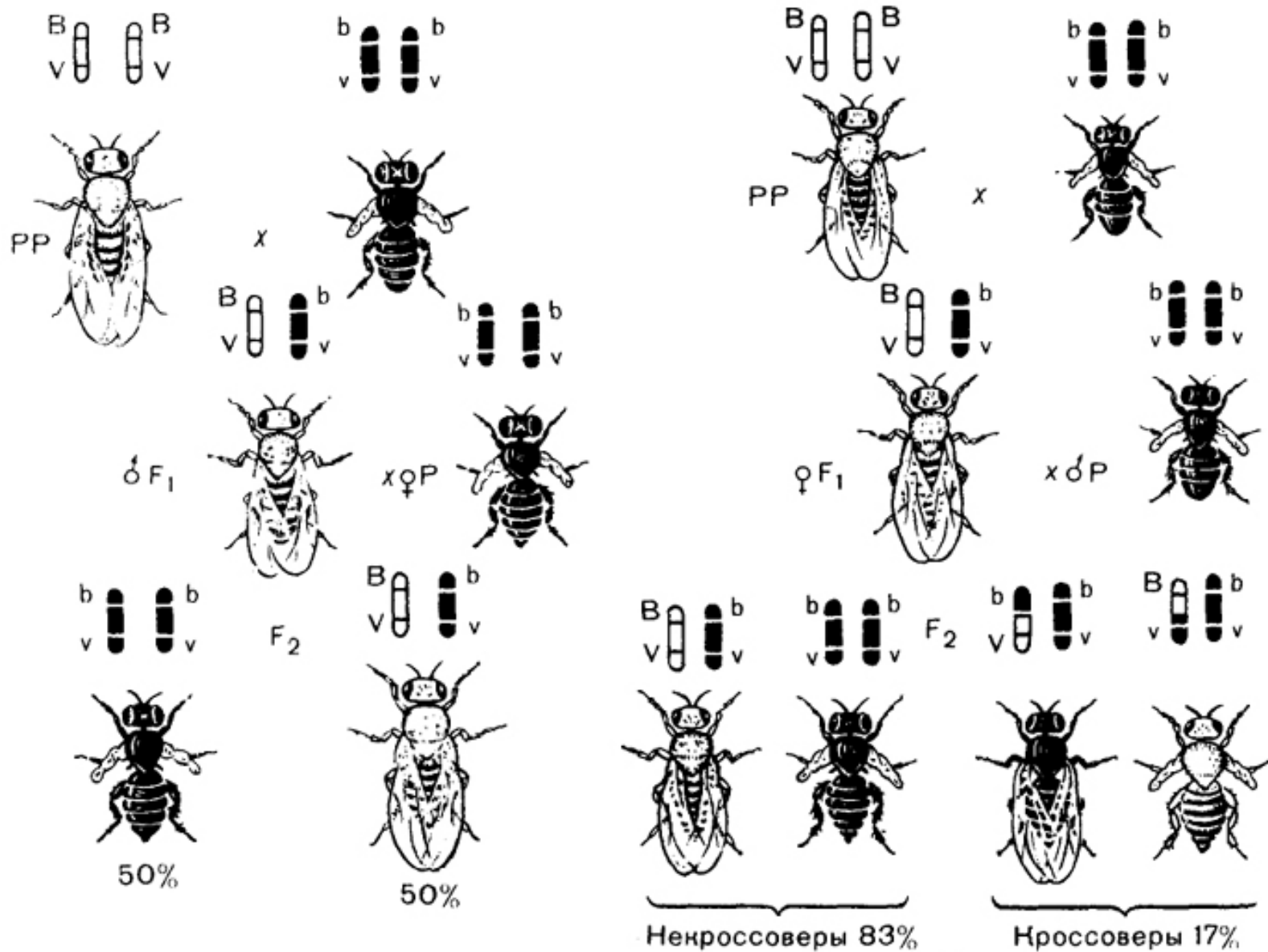
Основные методы составления генетических (хромосомных) карт

- На основе скрещиваний – **не у человека!** (гибридологический метод) – % кроссоверных потомков – морганида (сентиморган)
- На основе родословных
- Методами генетики соматических клеток
- Методом ДНК зондов (фрагментов ДНК с известной последовательностью)
- Методами секвенирование генома

Морганида – относительное (генетическое) расстояние между генами, определяемое частотой кроссинговера. Одна М. соответствует частоте кроссинговера в 1%.

Генетическое расстояние, выражаемое в М., приближённо отражает реальное физическое расстояние между генами, но число пар нуклеотидов, приходящихся на 1 М., может быть различным.

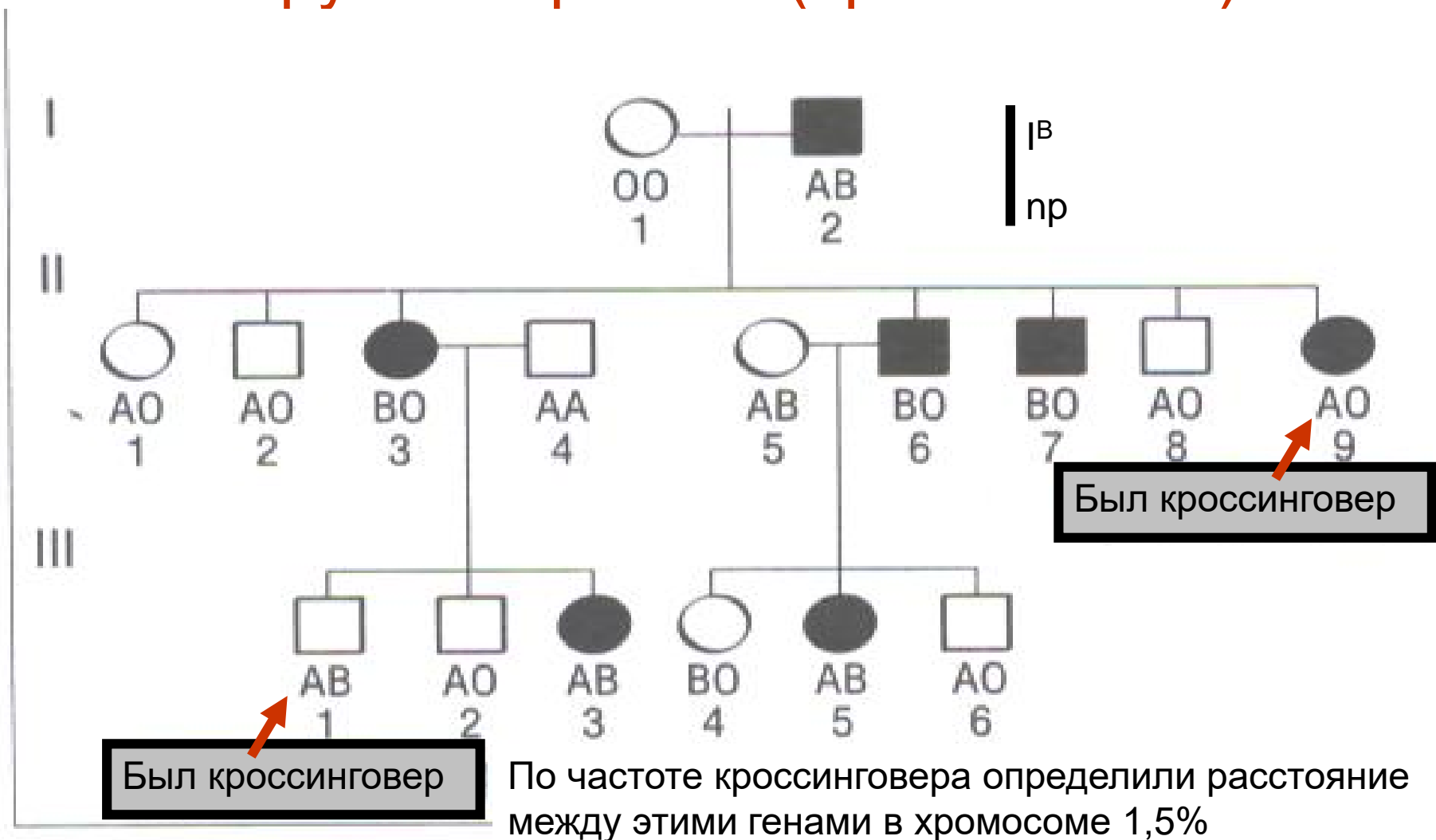
Опыты Моргана по сцеплению у дрозофилы. Расстояние генов В и V – 17 морганид



Правило Моргана

Гены, локализованные в одной хромосоме, наследуются, сцеплено, причем сила сцепления зависит от расстояния между генами.

Родословная, показывающая сцепление гена синдрома «ногтей-надколенника» *np* с группой крови В (хромосома 9)

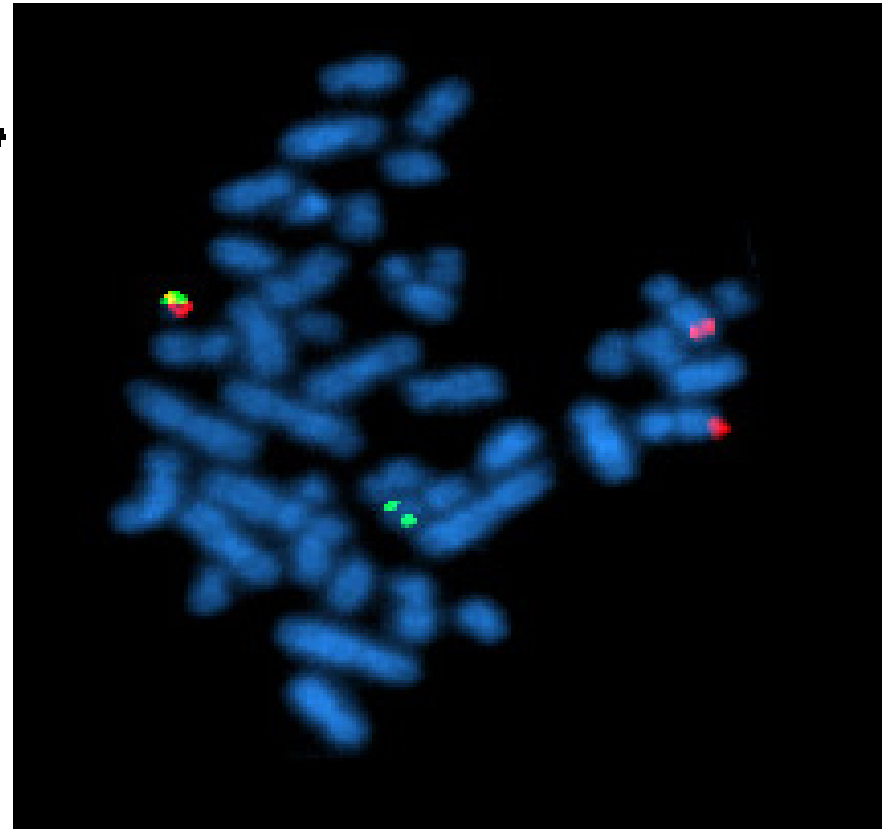
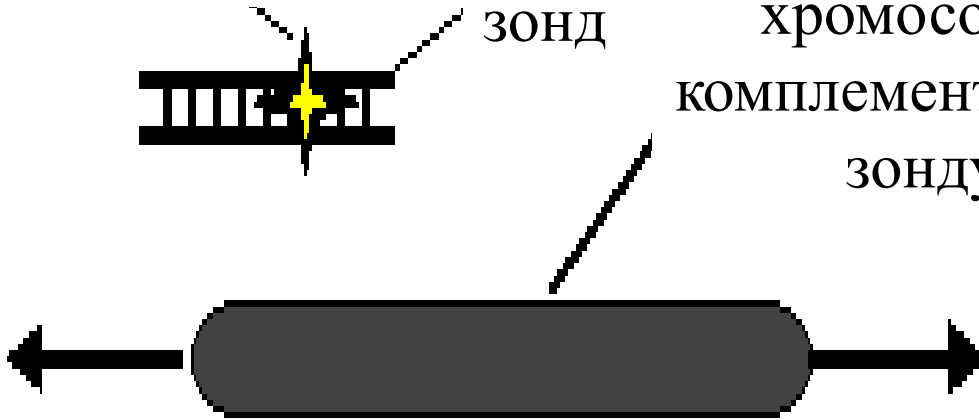


Картирование FISH-методом

Флуоресцентная
метка

ДНК-
зонд

Участок
хромосомы,
комплементарный
зонду



Метафазные хромосомы с
меткой

ДНК диагностика выявляет генные мутации

- подтверждающая, при подозрении на болезнь
 - пресимптоматическая, до проявления болезни
 - носительства, для выявления гетерозиготных носителей
 - пренатальная - дородовая.
-
- Принципиально различают **прямую** и **косвенную** ДНК диагностику моногенных наследственных болезней.

Прямая, когда ген и его мутации хорошо известны


Косвенная – по тесно сцепленному маркеру – рядом лежащему участку ДНК

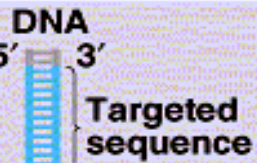
Некоторые термины, использующиеся при анализе ДНК

- **Клонирование** – выделение гена и его размножение в составе хромосомы бактерии, фага или плазмиды
- **Секвенирование** – определение последовательности участка ДНК
- **Полимеразная цепная реакция, ПЦР** – метод получения большого числа копий участка ДНК
- **Генная дактилоскопия** – выявление мелких вариаций в строении ДНК

STARTING MATERIALS

DNA polymerase

Primers: 

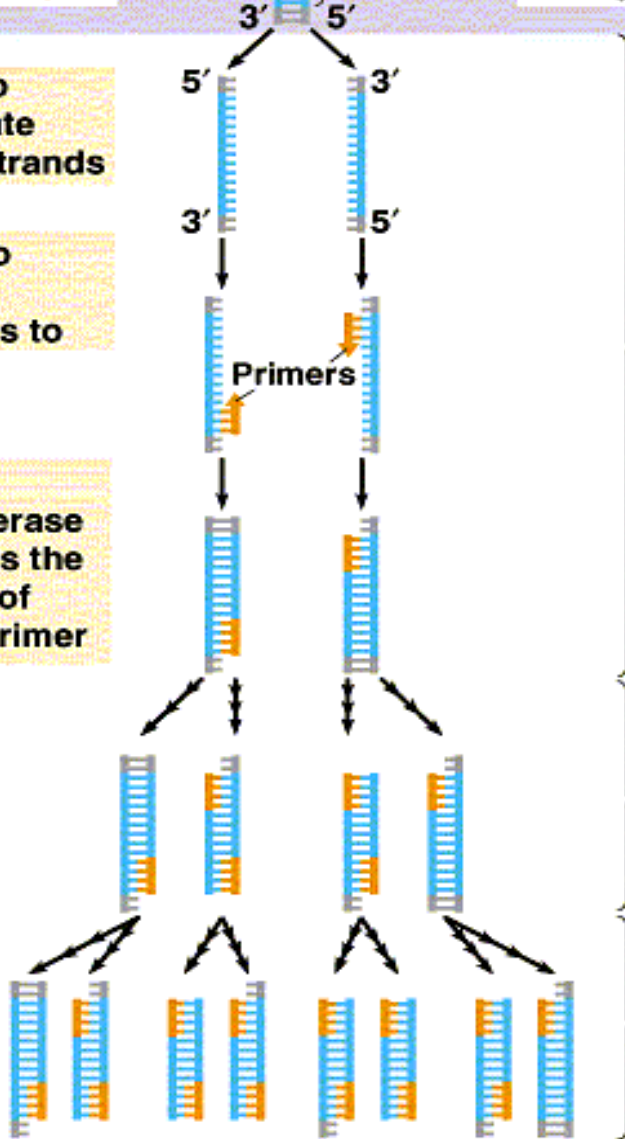


Nucleotides:
dATP
dCTP
dGTP
dTTP

1 Heat to separate DNA strands

2 Cool to allow primers to

3 DNA polymerase extends the 3' end of each primer

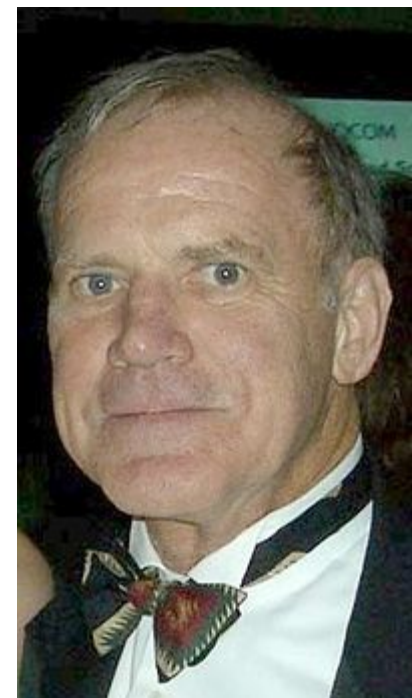


ПЦР
1983 год Кэри Мюллис

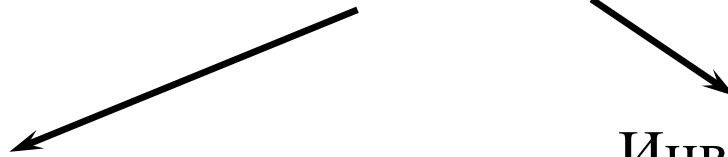
CYCLE 1
yields
2
molecules

CYCLE 2
yields
4
molecules

CYCLE 3
yields
8
molecules



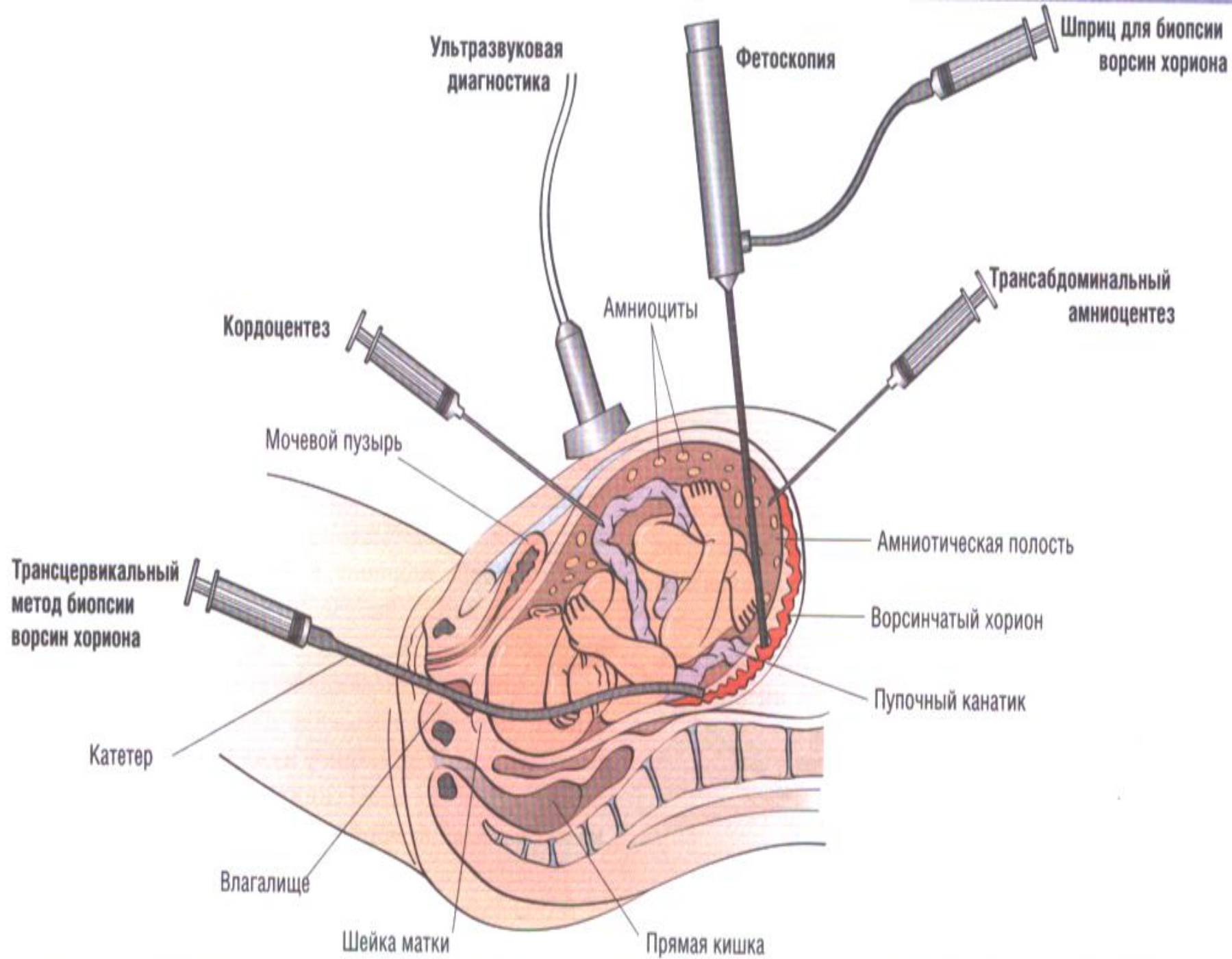
Пренатальная (дородовая) диагностика



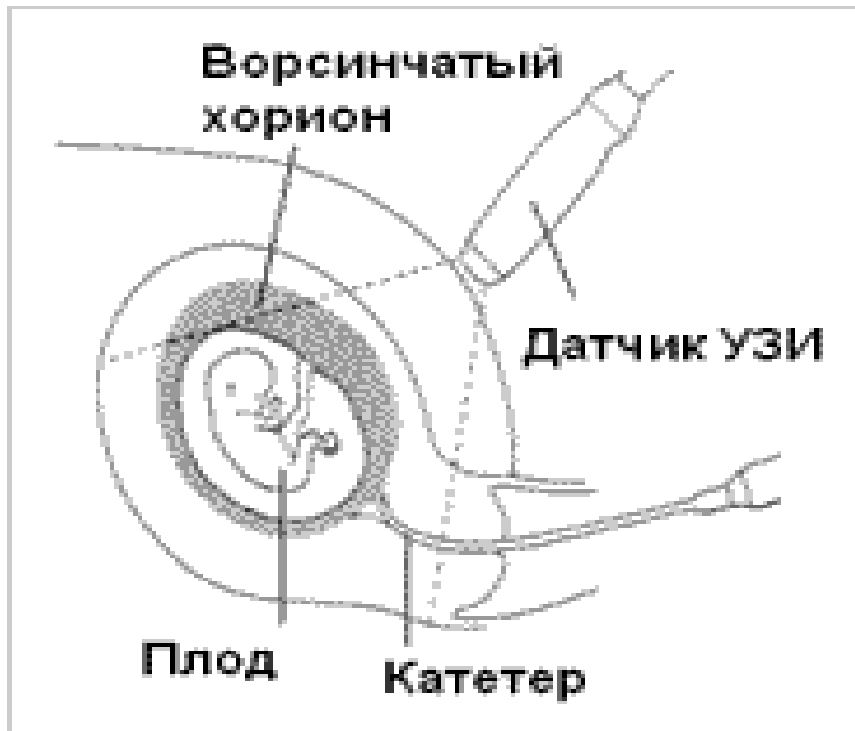
Инвазивная

Неинвазивная –
УЗИ, кровь матери

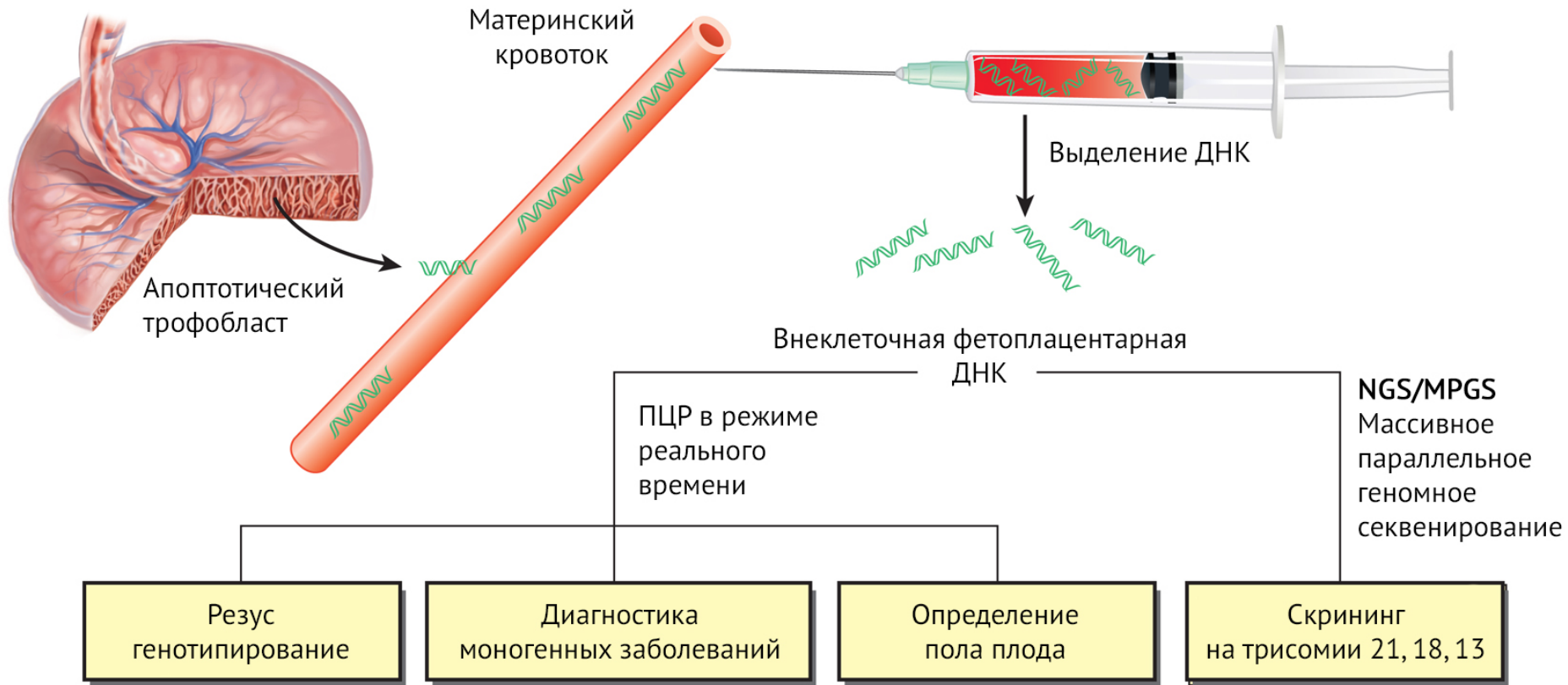
- Использует для исследования ткани плода или зародышевых оболочек
- Использует цитогенетические, биохимические, ДНК методы
- Различают:
- Предимплантационную диагностику;
- Биопсию хориона (взятие ворсин хориона);
- Кордоцентез (взятие пуповинной крови);
- Амниоцентез (взятие околоплодной жидкости);
- Плацентацентез (ткани плаценты);
- Биопсию тканей плода (например, кожи)



Биопсия хориона на 8 – 10 неделе беременности



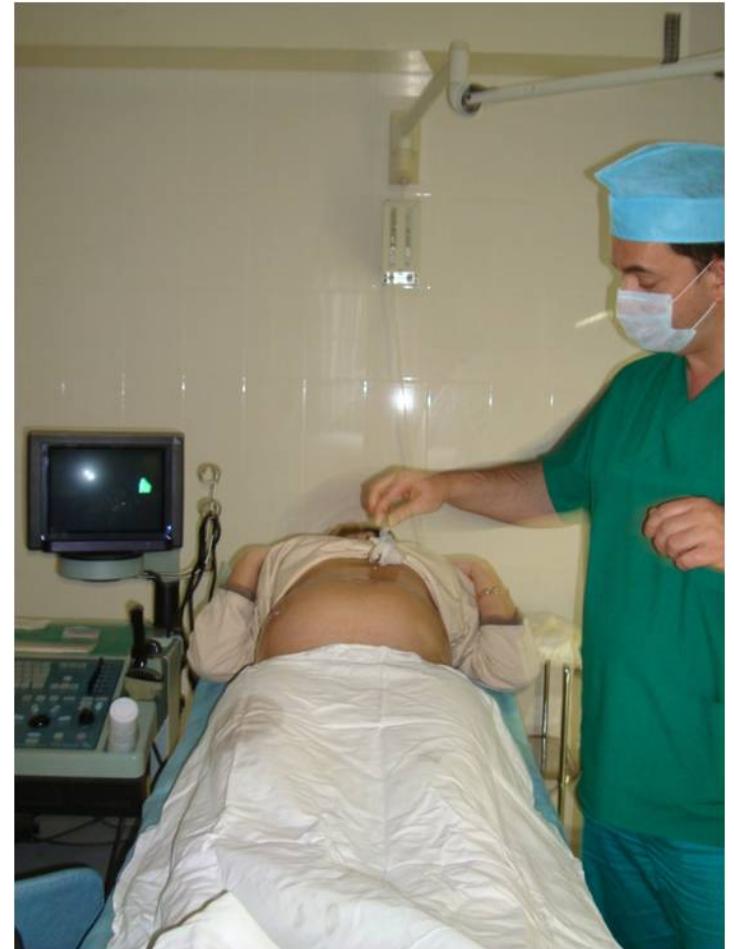
Фетоплацентарная ДНК



Source: F. Gary Cunningham, Kenneth J. Leveno, Steven L. Bloom, Catherine Y. Spong, Jodi S. Dashe, Barbara L. Hoffman, Brian M. Casey, Jeanne S. Sheffield: *Williams Obstetrics*, 25th Edition
Copyright © McGraw-Hill Education. All rights reserved.

Постоянное обновление ворсинчатого трофобласта вытесняет апоптотический материал в материнскую циркуляцию с выделением бесклеточной фетоплацентарной ДНК (3% от общей бесклеточной циркулирующей ДНК на ранних сроках беременности, увеличивается до 6% на поздних сроках беременности). Фетоплацентарная внеклеточная ДНК отличается от материнской, тем что имеет значительно меньшие размеры – около 200 пар нуклеотидов [Vossaert L., Wang Q., Salman R., et al. Reliable detection of subchromosomal deletions and duplications using cell-based noninvasive prenatal testing. *Prenat Diagn.* 2018;38(13):1069–1078.]

Ультразвуковое исследование



Предимплантационная диагностика

При экстракорпоральном оплодотворении берутся бластомеры на стадии морулы и изучаются до имплантации зародыша

