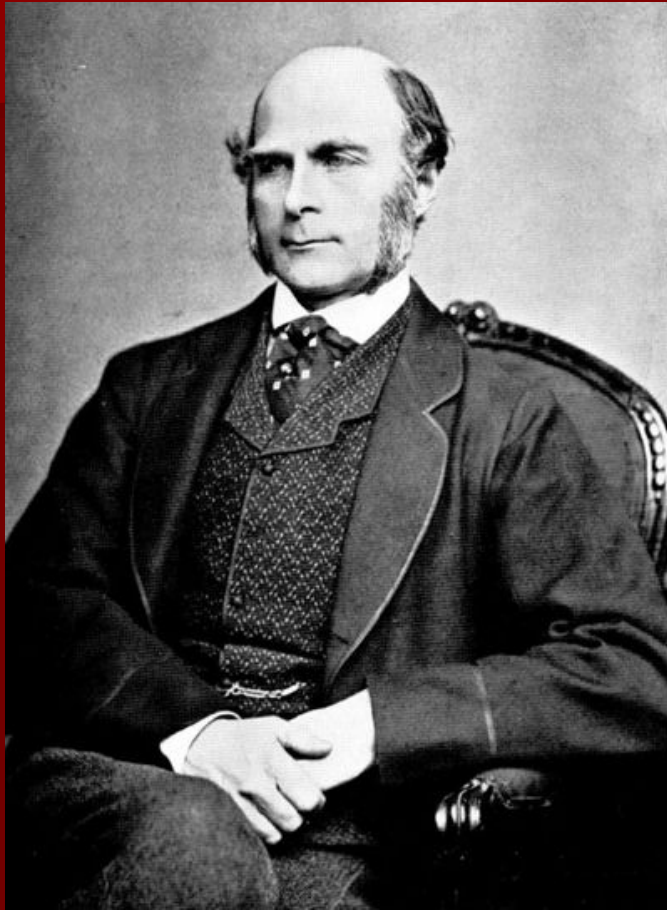




# МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

# Генетика человека



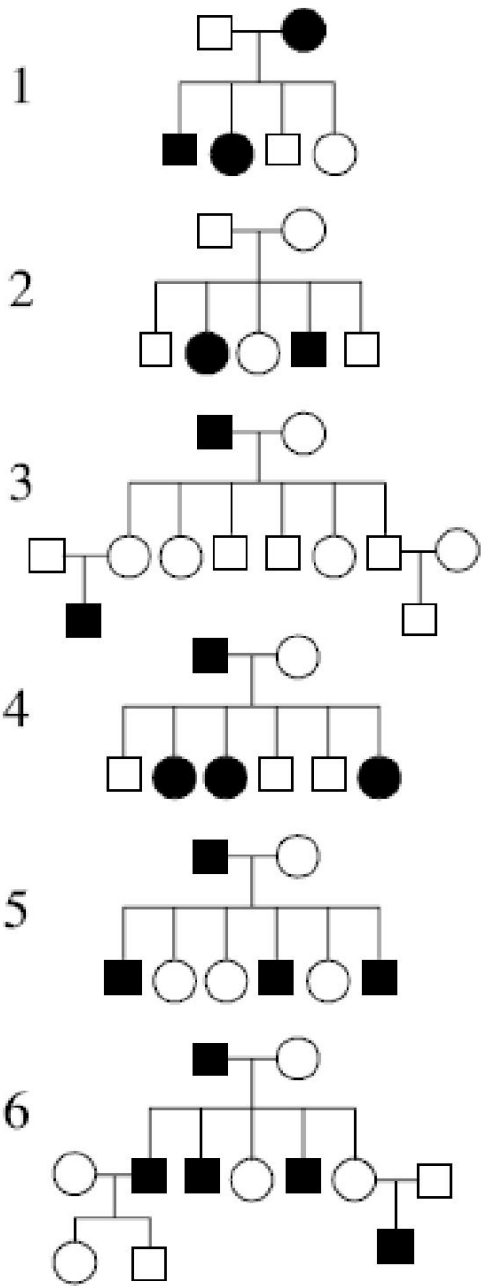
Френсис Гальтон  
1822 - 1911



# Генеалогический метод



Система обозначений при составлении родословных



Родословные различных типов наследования признаков у человека

1 – аутосомно-доминантный

2 – аутосомно-рецессивный

3 – сцепленный с полом рецессивный

4 – сцепленный с полом доминантный

5 – голандрический

6 – зависимый от пола (аутосомный)



# Наследование гемофилии в царских домах Европы



# Габсбургская губа



Леопольд IX



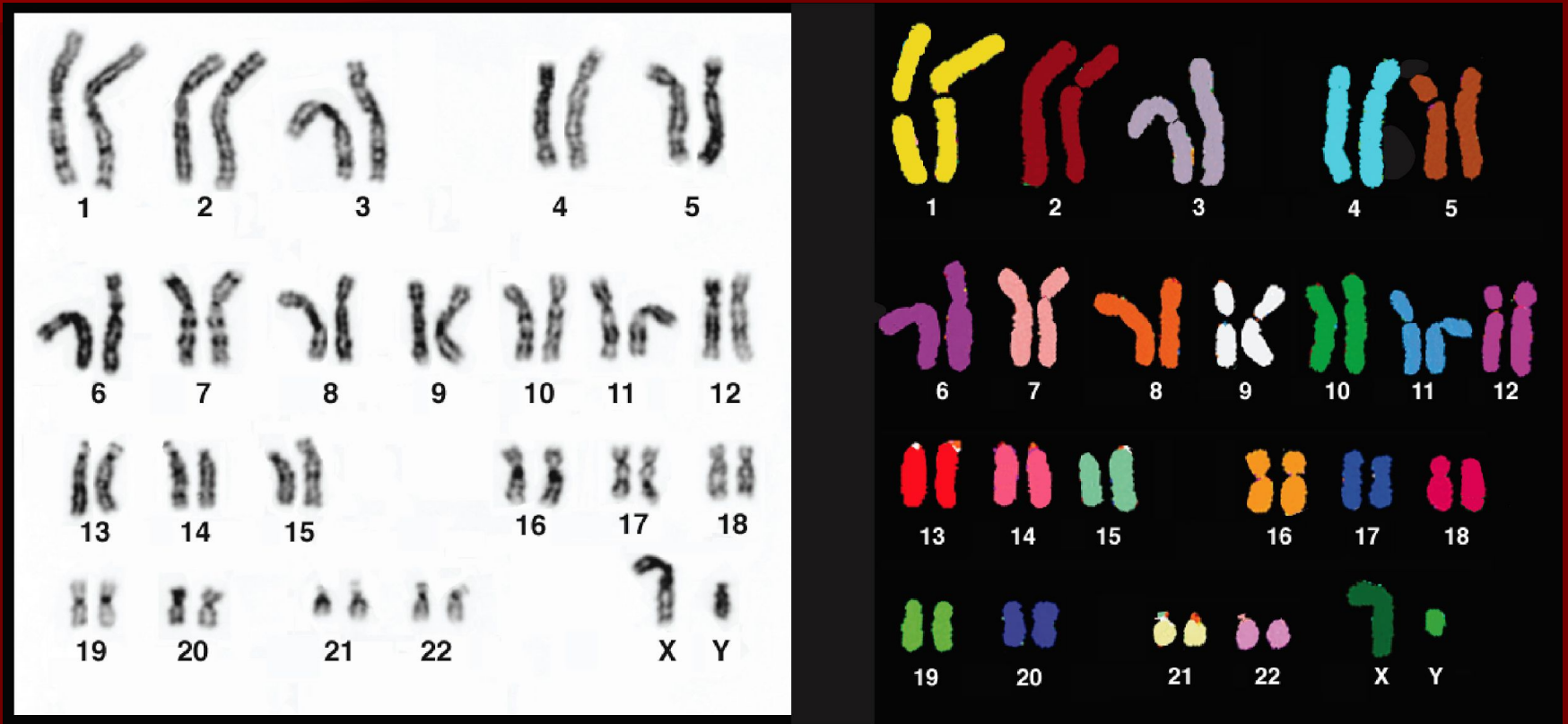
Чарльз V

# Цитогенетический метод

Группы хромосом человека по размеру и положению центромеры:

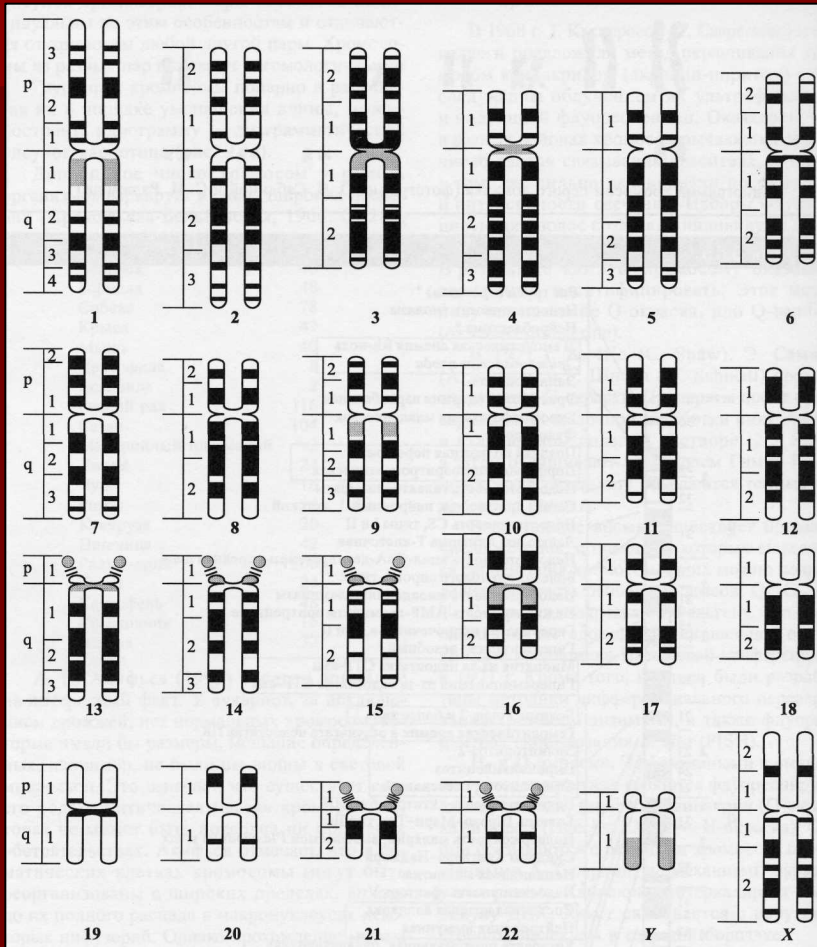
1. Группа А (1 – 3) – большие метацентрические и субметацентрические хромосомы.
2. Группа В (4, 5) – большие субметацентрические хромосомы.
3. Группа С (6 – 12) – субметацентрические хромосомы среднего размера.
4. Группа D (13 – 15) – акроцентрические хромосомы.
5. Группа Е (16 – 18) – короткие метацентрические и субметацентрические хромосомы.
6. Группа F (19, 20) – короткие субметацентрические хромосомы.
7. Группа G (21, 22) – короткие акроцентрические хромосомы.
8. X – хромосома.
9. Y – хромосома.

# Кариотип человека

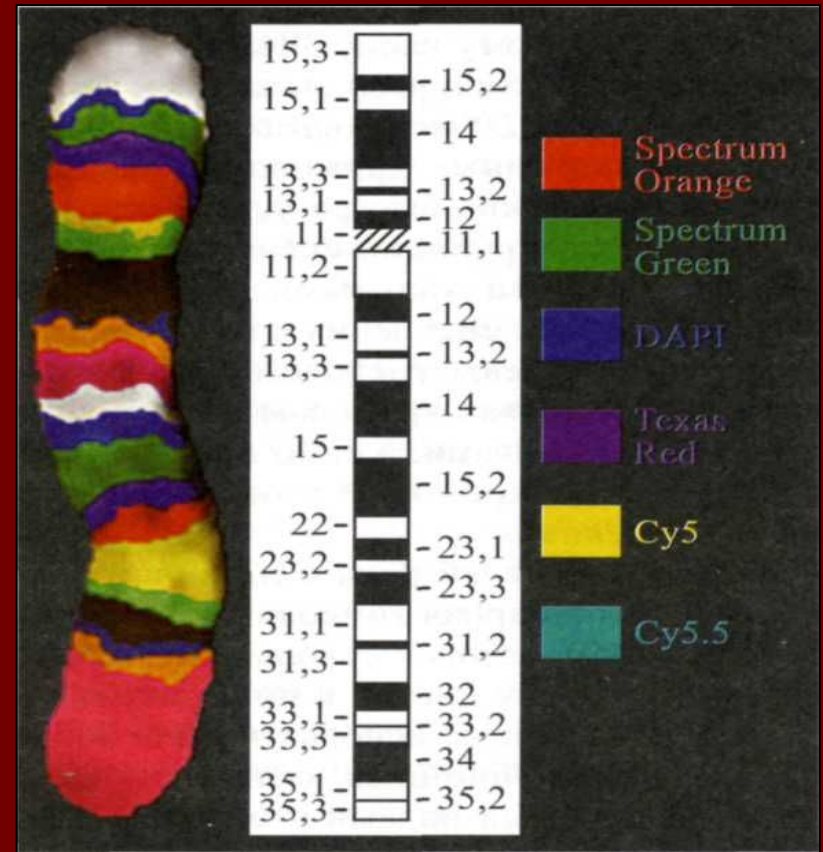




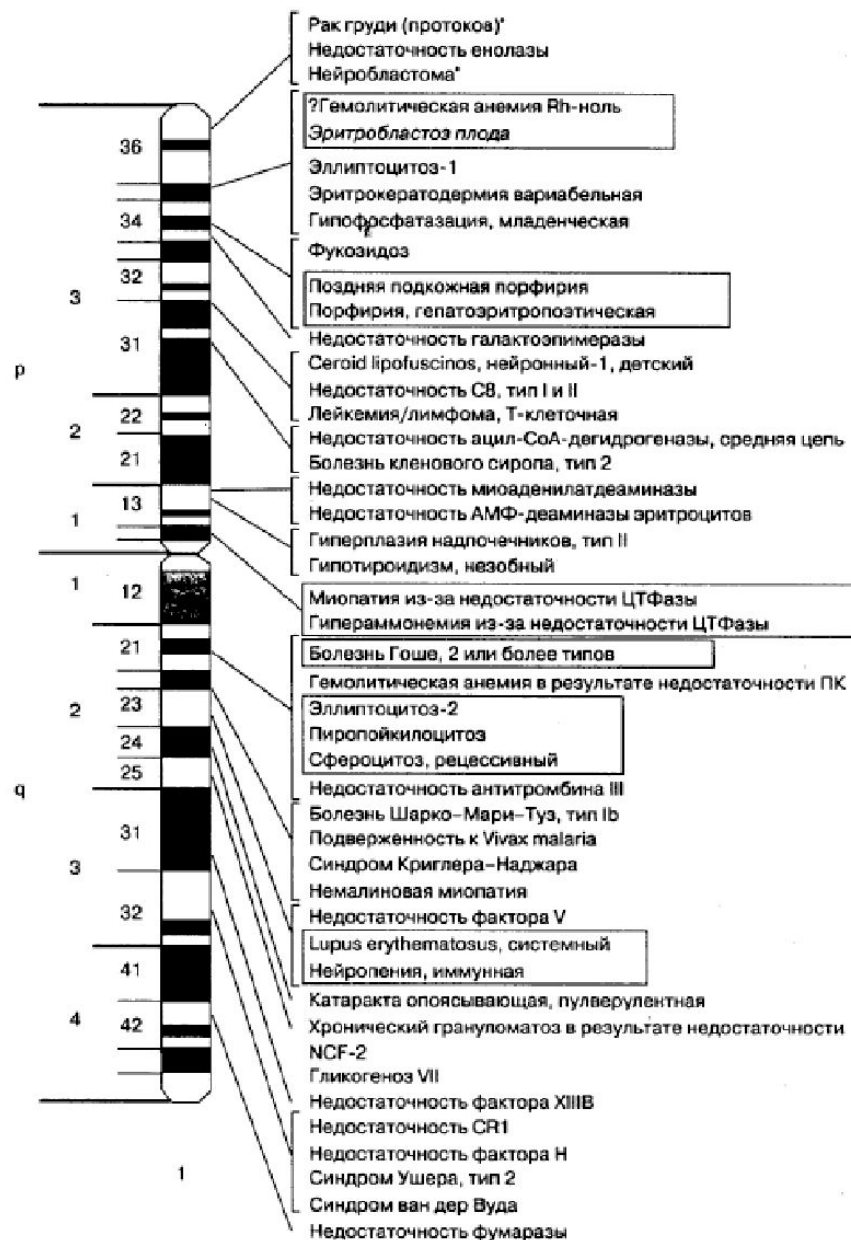
# Цитогенетический метод



G-окраска



Многоцветная FISH



## Гены заболеваний, картированные в первой хромосоме человека

# Близнецовый метод



Людовик XIV



Мэри-Кейт и Эшли Фуллер Олсен

# Близнецовый метод



Сестры Дионн, Канада, Онтарио,  
1934



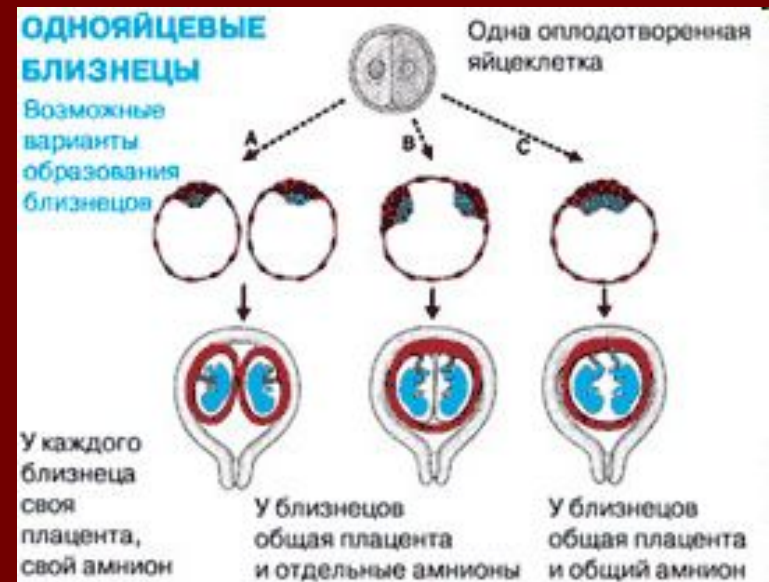
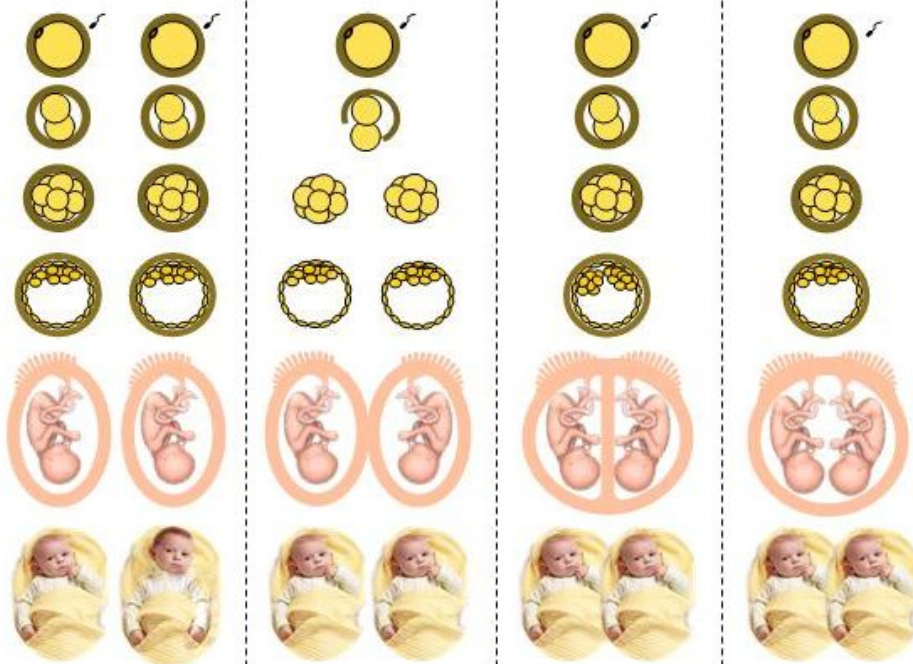
# Близнецовый метод



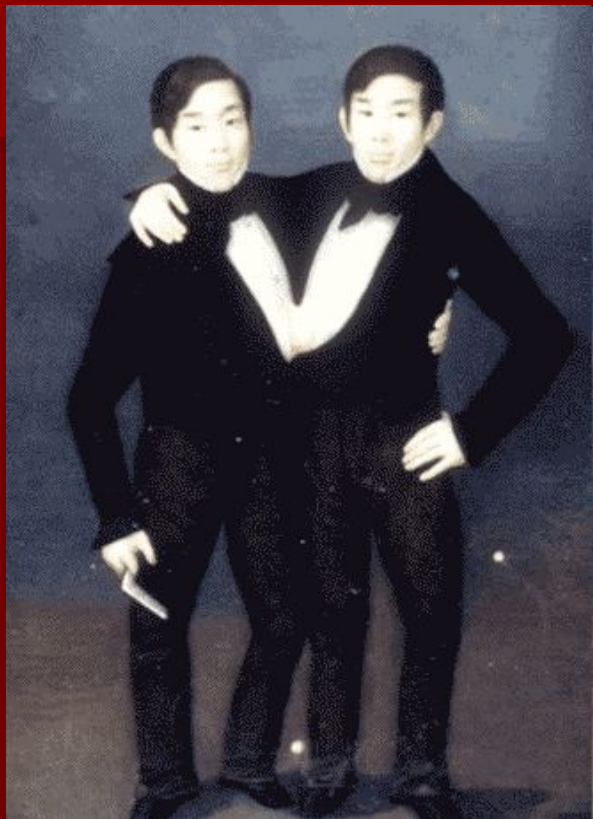
Хван Сеул (Hwang Seul), Хван Сеол (Hwang Seol), Хван Сол (Hwang Sol) и Хван Мил (Hwang Mil) появились на свет в январе 1989 года в больнице города Инчхон, расположенного к западу от Сеула

# Монозиготные и дизиготные близнецы

## ФОРМИРОВАНИЕ БЛИЗНЕЦОВ



# Сиамские близнецы



Чанг и Энг, Сиам  
(Таиланд), 1811



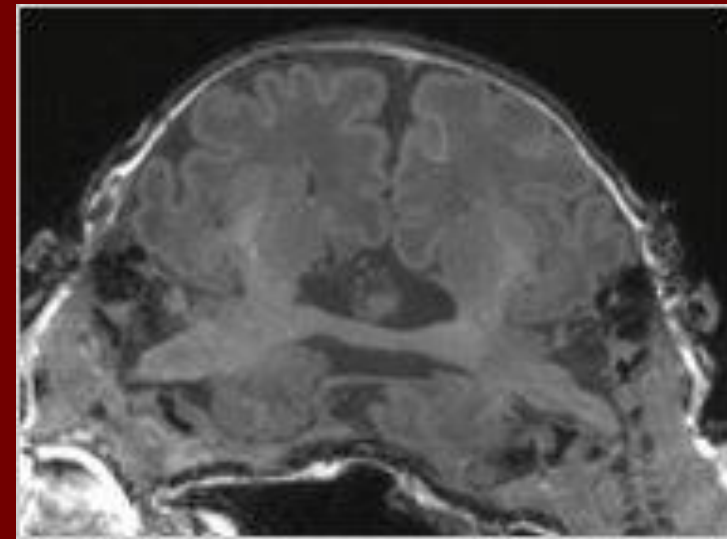
Маша и Даша  
Кривошляповы, СССР,  
1950



Абигейл и Бриттани  
Хенсел, США, 1990



# Сиамские близнецы



Криста и Татьяна Хоган, Канада, 2006

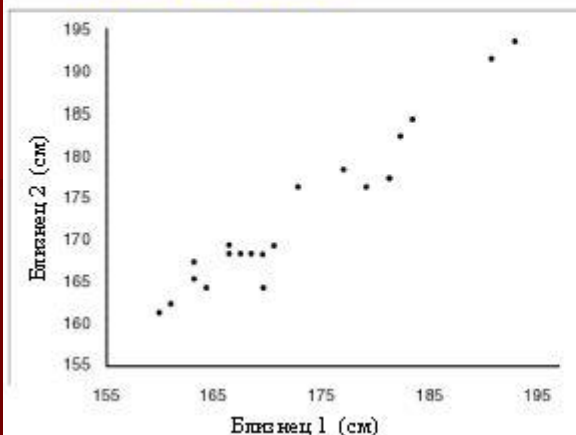


Признаки	% конкордантности	
	У однойцевых близнецов	У разнояцевых близнецов
Нормальное развитие		
Группы крови	100	64
Форма бровей	100	51
Цвет глаз	99,5	28
Цвет волос	97	23
Папиллярные линии кистей рук	92	40
Патология		
Косолапость	23	2
Грыжа спинного мозга	77	33
Синдром Дауна	89	7
Рахит	88	22
Паралитический полиомиелит	36	6
Корь	95	87
Скарлатина	84	47
Дифтерит	50	38
Рак	16	14
Эпилепсия	67	3
Слабоумие	91	53
Шизофрения	80	13
Маниакально-депрессивный психоз	77	19

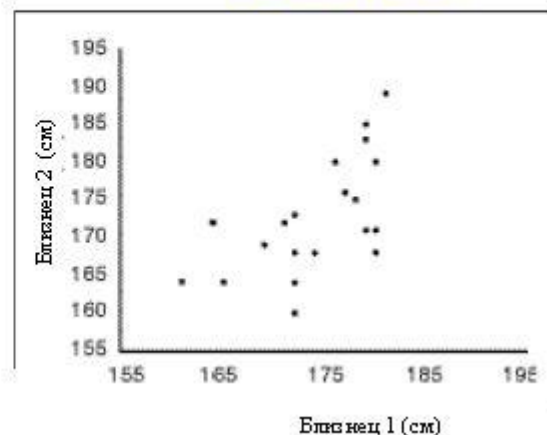
## Конкордантность признаков у близнецов

## Рост в парах близнецов

### Монозиготные

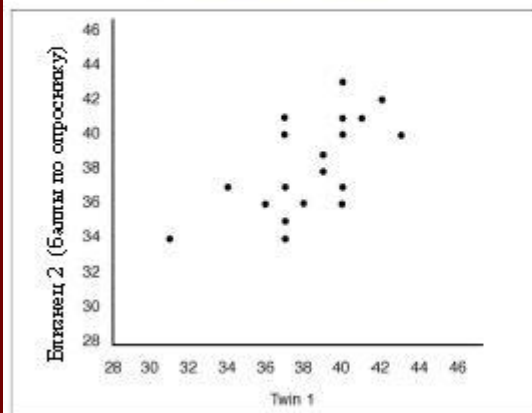


### Дизиготные



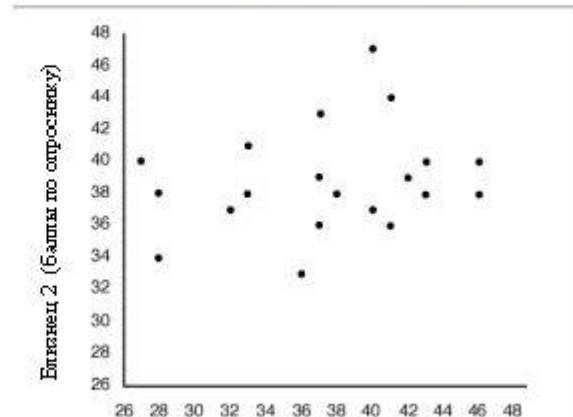
## Стремление к новизне в парах близнецов

### Монозиготные



Близнец 1 (Баллы по опроснику)

### Дизиготные



Близнец 1 (Баллы по опроснику)

# Соотношение наследственности и среды

$$\frac{H}{C} = \frac{(100-b) - (100-a)}{100-a},$$

где **H** - значение наследственности, **C** - значение среды.

**a** - % конкордантности у однояйцевых близнецов,

**b** - % конкордантности у разнойцевых близнецов одинакового пола.

$$\text{Косолапость } \frac{H}{C} = \frac{98 - 77}{77} = 0,27$$

$$\text{Грыжа спинного мозга } \frac{H}{C} = \frac{67 - 23}{23} = 1,91$$

$$\text{Синдром Дауна } \frac{H}{C} = \frac{93 - 11}{11} = 7,45$$

$$\text{Дифтерит } \frac{H}{C} = \frac{62 - 50}{50} = 0,24$$

$$\text{Корь } \frac{H}{C} = \frac{13 - 5}{5} = 1,60$$

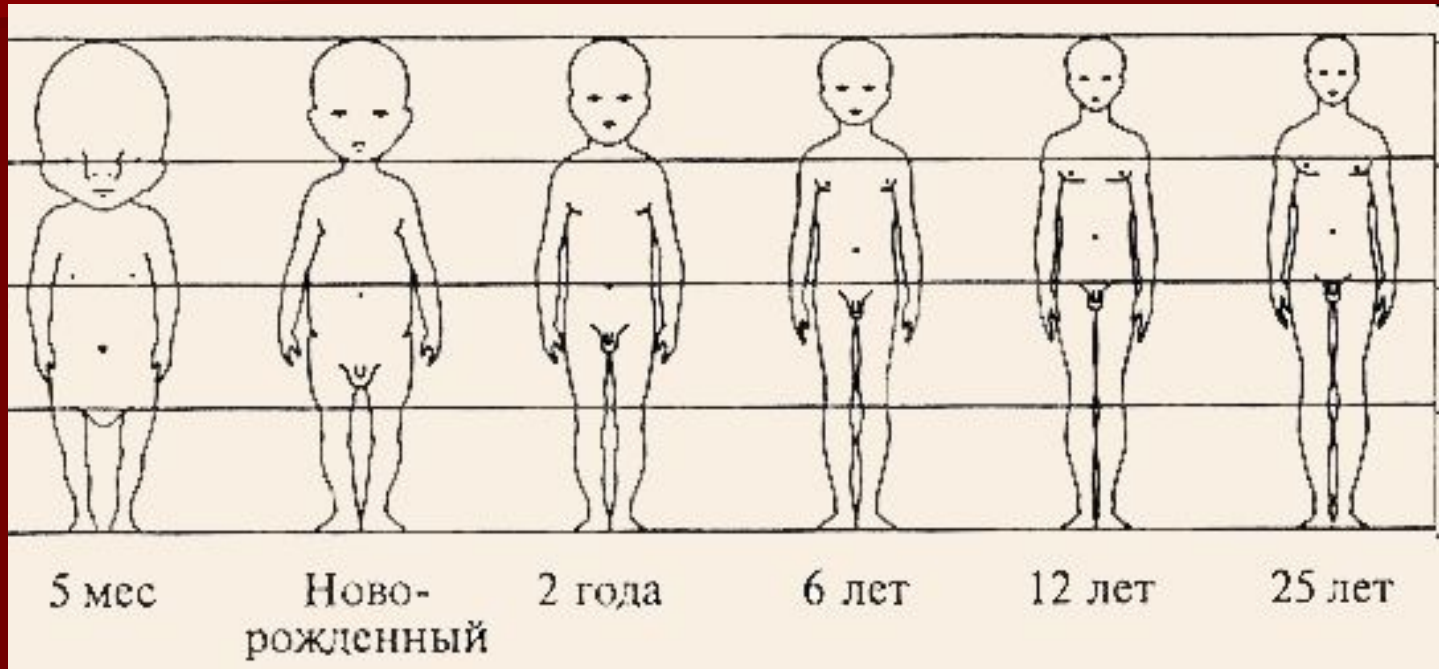
$$\text{Скарлатина } \frac{H}{C} = \frac{53 - 16}{16} = 2,31$$

Степень количественной оценки влияния наследственности (**h**) и среды (**E**) оценивается по **формуле Хольцингера**:

$$h = ((a - b) / (100 - b)) \times 100$$

$$E = 100 - h$$

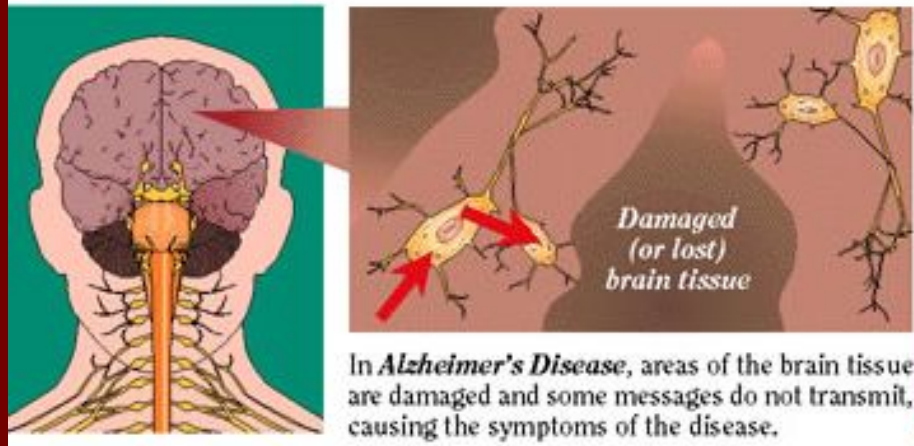
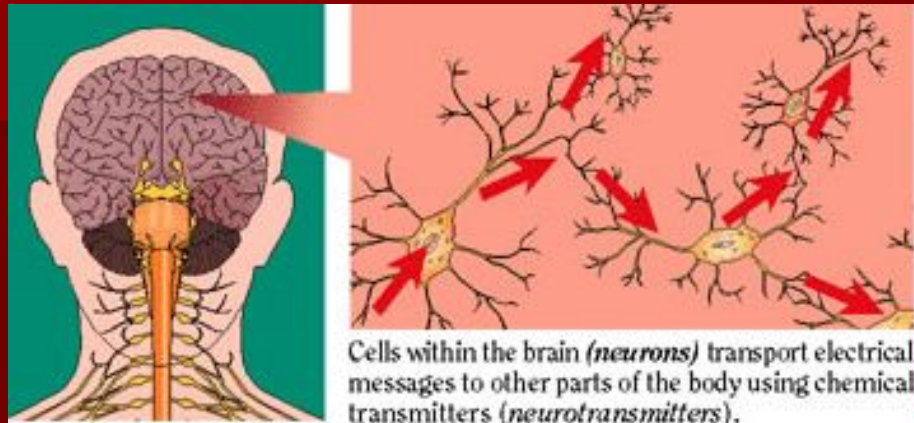
# Онтогенетический метод



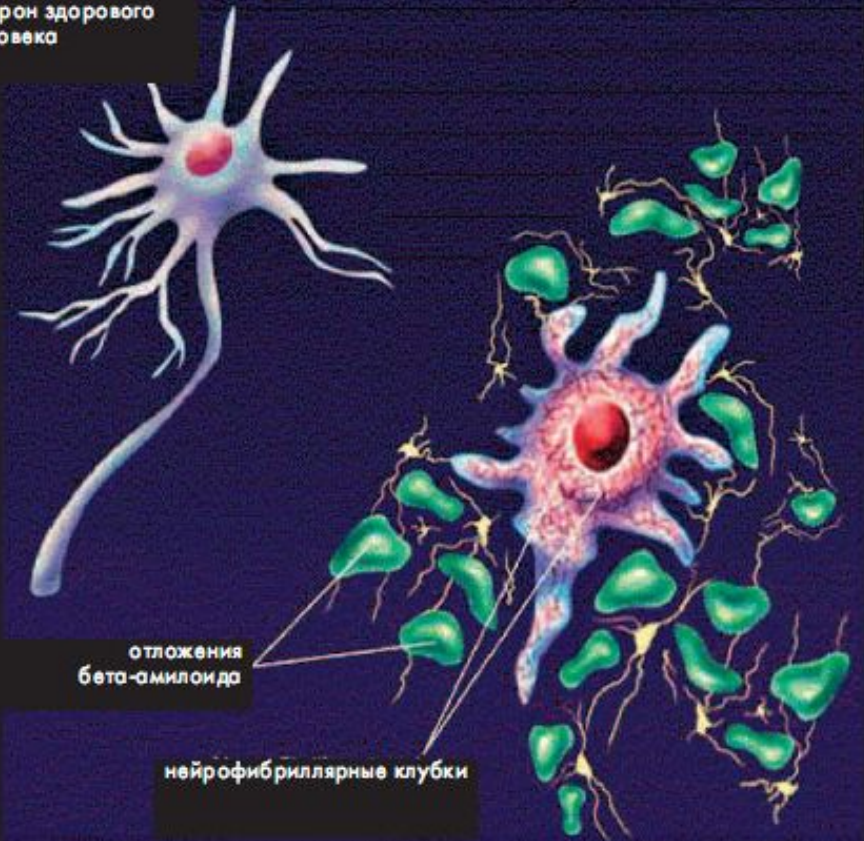
Изменение пропорций тела в ходе онтогенеза



# Болезнь Альцгеймера

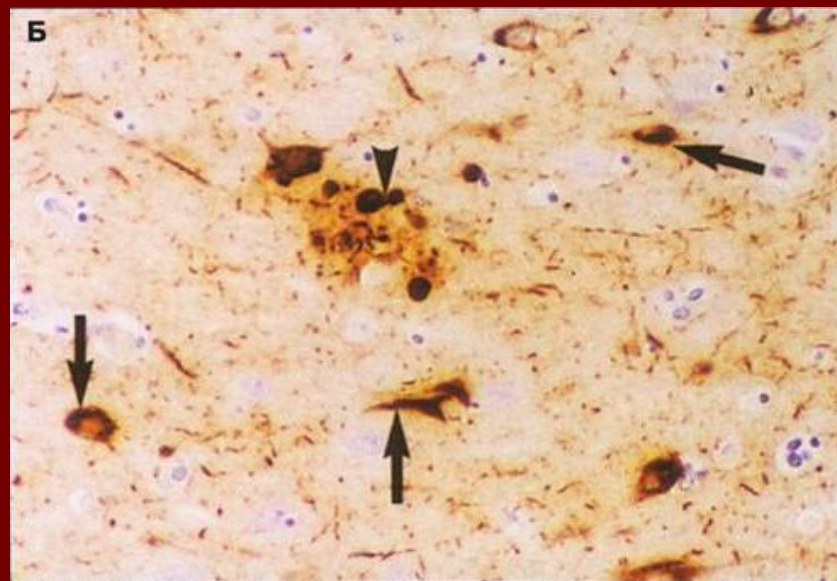
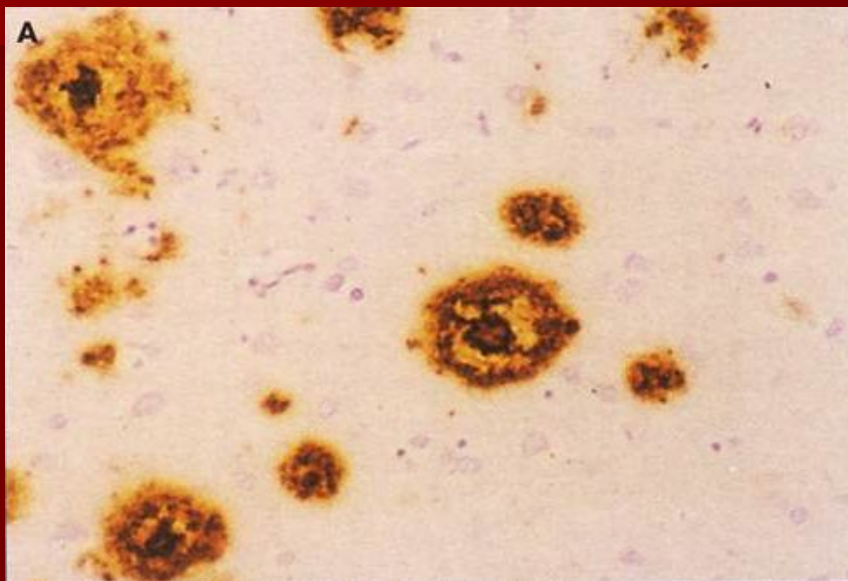


нейрон здорового человека



Нейрон здорового человека и пациента с болезнью Альцгеймера

# Патоморфология при болезни Альцгеймера



А. Сенильные бляшки, содержащие А $\beta$ -амилоид, – образования округлой формы коричневого цвета, локализующиеся в коре головного мозга.  
Б. Внутриклеточные нейрофибрилярные сплетения (указаны длинными стрелками), представляющие собой отложения тау-протеина. Гибель нейронов (короткая стрелка).



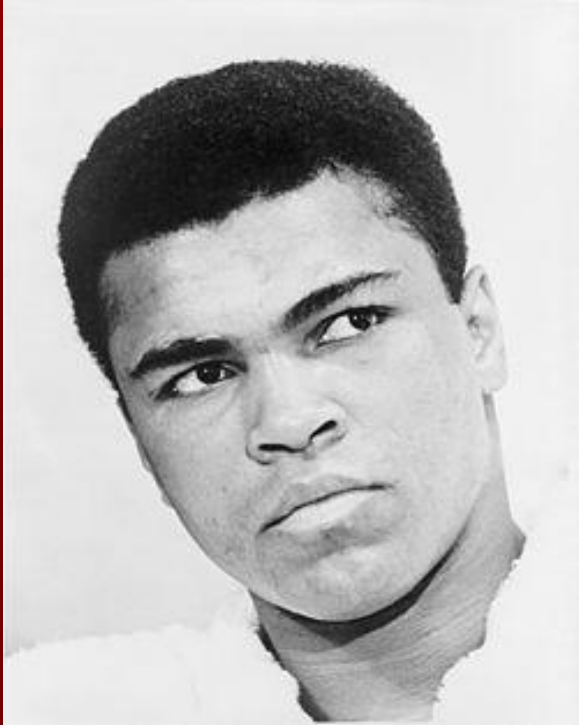
# Болезнь Альцгеймера



I understand that all information reviewed in my case file will be kept strictly confidential and that an advocate from the Arc of San Diego will be present throughout the review.

<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>4-29-99</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>8-11-00</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>05-04-2001</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>01/19/03</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>02/05/03</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>Yungard Fella</u>	Date: <u>02/15/04</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMA-FELLA</u>	Date: <u>02/15/05</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMA-FELLA</u>	Date: <u>02/15/06</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMA-FELLA</u>	Date: <u>05/17/07</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMA-FELLA</u>	Date: <u>05/15/08</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMA-FELLA</u>	Date: <u>11/18/08</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		<u>30 Day Review</u>
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRMLLA</u>	Date: <u>05-18-09</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		<u>Annual Review</u>
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>ITLLM</u>	Date: <u>6/8/2010</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input checked="" type="checkbox"/> Consumer	<u>IRI</u>	Date: <u>5/16/2011</u>
<input type="checkbox"/> Conservator		
<input type="checkbox"/> Consumer		Date:
<input type="checkbox"/> Conservator		

# Болезнь Паркинсона



Мохаммед Али



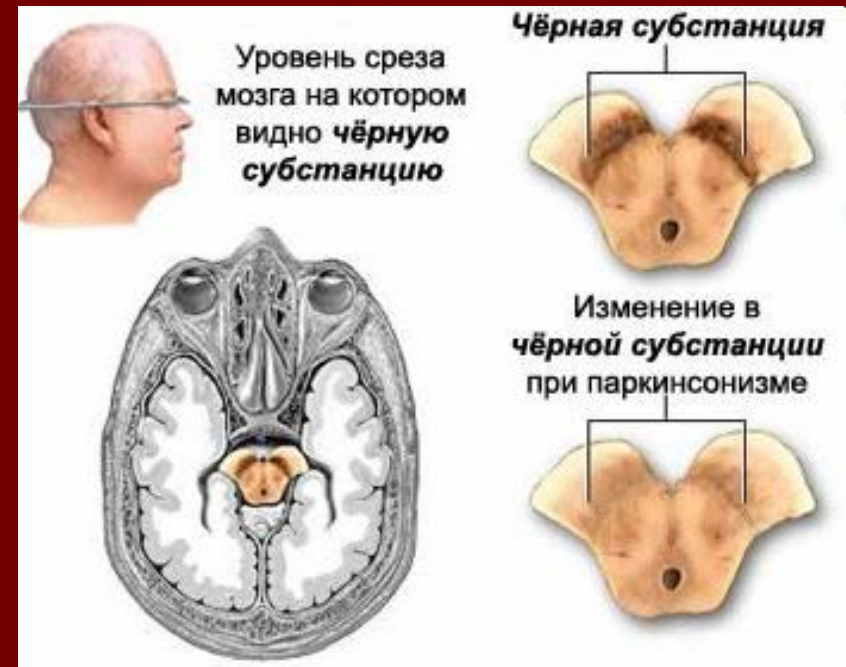
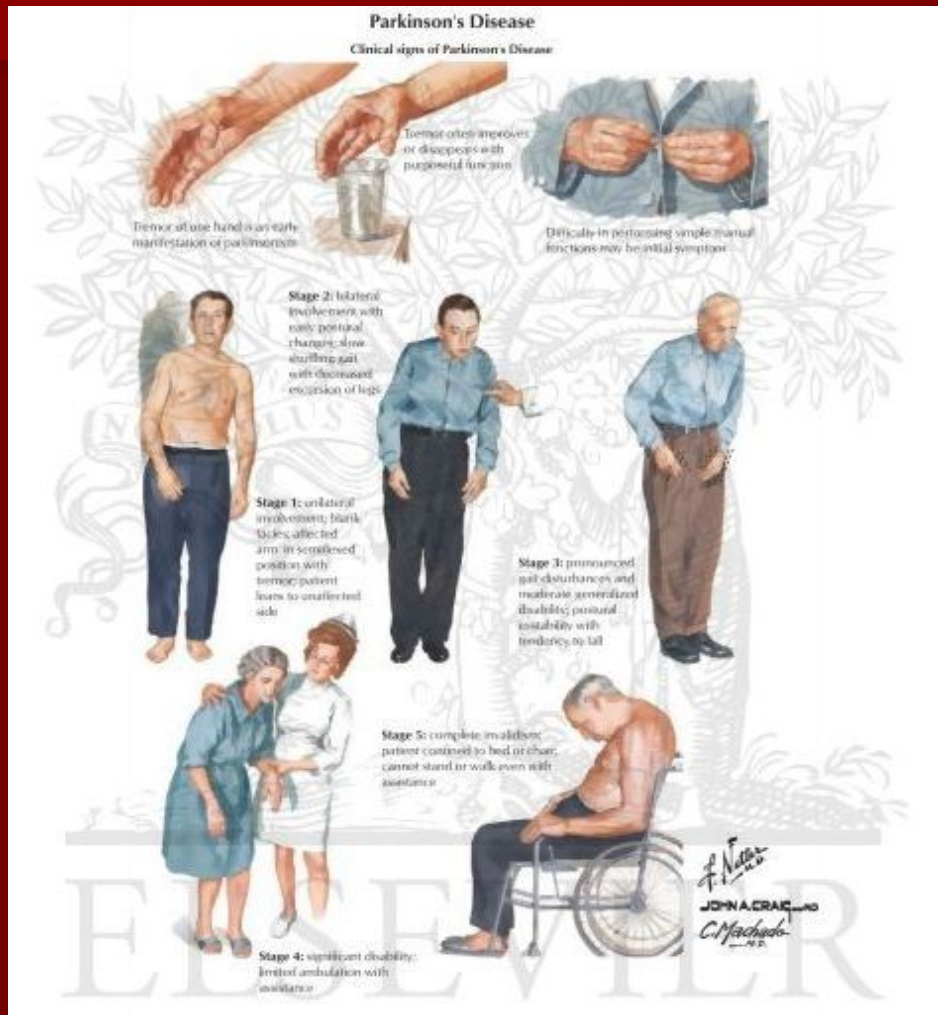
Иоанн Павел  
II



Ясир Арафат



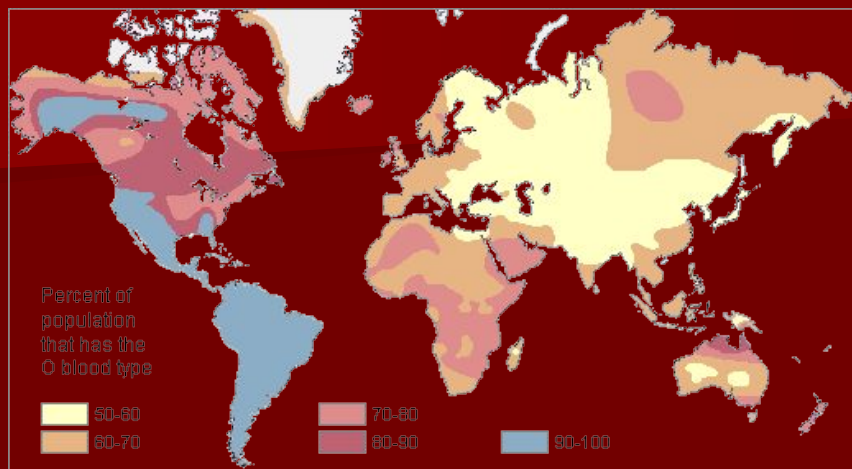
# Болезнь Паркинсона



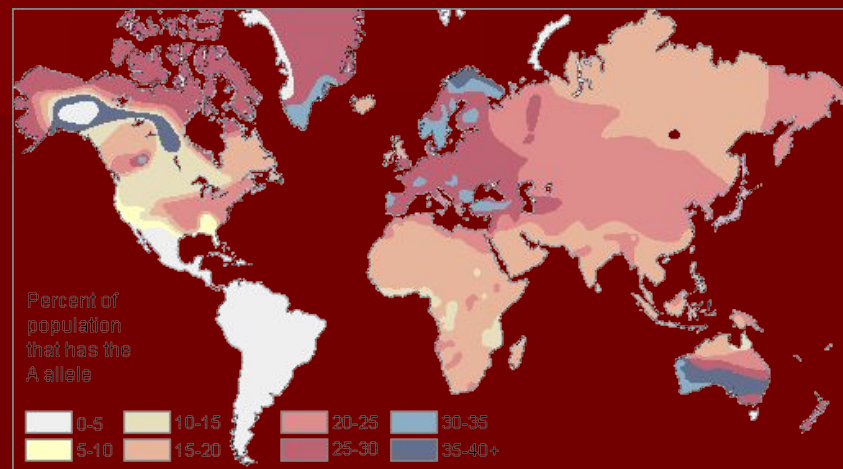
# Популяционный метод

Популяция	Частоты групп крови, %			
	O	A	B	AB
Индейцы	98,5	1,5	0	0
Аборигены Австралии	48,1	51,9	0	0
Эскимосы	41,1	53,8	3,5	1,4
Англичане	47,9	42,4	8,3	1,4
Немцы	36,5	42,5	14,5	6,5
Итальянцы	45,9	33,4	17,3	3,4
Китайцы	34,2	30,8	27,7	7,3
Египтяне	32,6	35,5	24,4	7,5
Японцы	30,1	38,4	21,9	9,7
Французы	41,6	47,0	8,0	3,3
Поляки	33,1	39,3	19,0	8,5
Русские	33,3	37,4	22,8	6,5
Индийцы	29,2	26,8	34,0	10,0

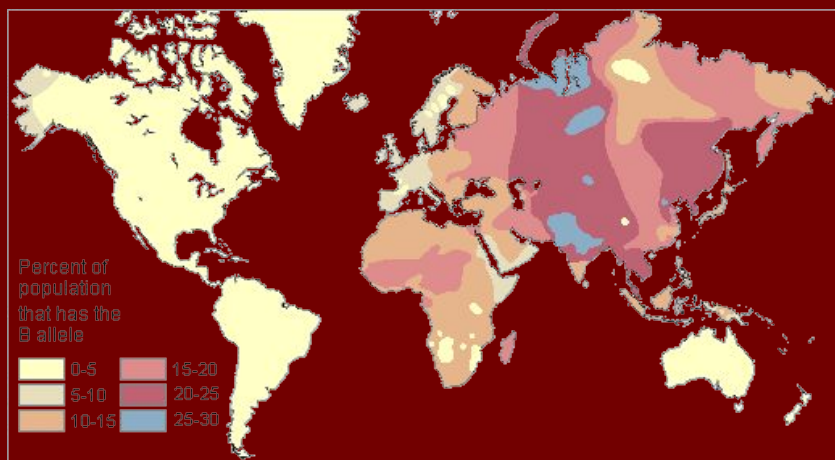
# Система групп крови АВ0



Частота аллели  $i^0$

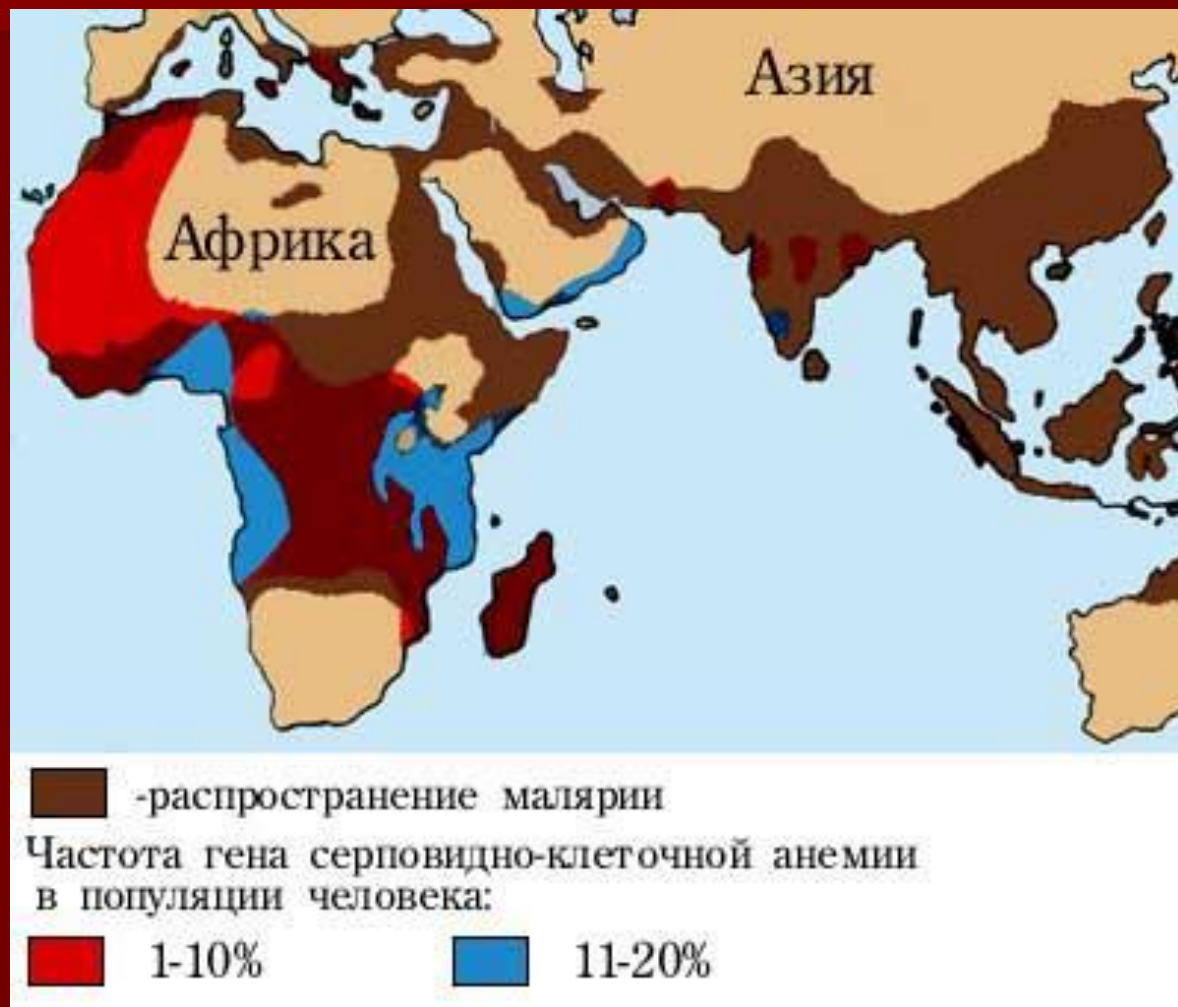


Частота аллели  $I^A$



Частота аллели  $I^B$

# Частота гена серповидно-клеточной анемии



# Биохимические методы

Направлены на выявление биохимического фенотипа организма.

Уровни, на которых оценивается фенотип: от первичного продукта гена до конечных метаболитов в крови, моче или поте.

Цель первичной диагностики: выявление здоровых людей и отбор пациентов для последующего уточнения диагноза. Программы первичной диагностики могут быть массовыми или селективными. Используются простые качественные реакции или более точные методы (хроматография, электрофорез).



# Биохимические методы

## Методы подтверждающей диагностики.

Класс болезней	Методы подтверждения диагноза
Аминоацидопатии	Количественное определение аминокислот крови, мочи, спинномозговой жидкости, ДНК-диагностика.
Органические ацидурии	Количественное определение органических кислот плазмы, мочи.
Болезни углеводного обмена	Количественное определение моно- и дисахаридов и их метаболитов в крови, моче. Энзимодиагностика. ДНК-диагностика.
Митохондриальные болезни	Нагрузочные тесты (глюкозная кривая). Энзимодиагностика комплекса дыхательной цепи. ДНК-диагностика.
Болезни нарушения митохондриального бета-окисления жирных кислот	Количественное определение карнитина, его эфиров, жирных кислот. Энзимодиагностика. ДНК-диагностика.
Пероксисомные болезни	Количественное определение очень длинноцепочечных жирных кислот. ДНК-диагностика.
Лизосомные болезни	Энзимодиагностика. ДНК-диагностика.
Нарушение обмена пуринов и пиримидинов	Количественное определение пуринов, пиримидинов, мочевой кислоты. ДНК-диагностика.
Болезни холестерина обмена	Количественное определение холестерина и его производных в крови.
Болезни нейротрансмиттерного обмена	Количественное определение катехоламинов, аминокислот (кровь, моча, спинномозговая жидкость).

# Молекулярно-генетические методы

Получение образцов ДНК (РНК) – первый этап всех методов. Он включает выделение всей геномной ДНК из клеток или накопление определенных фрагментов, которые предполагается анализировать, с помощью ПЦР.

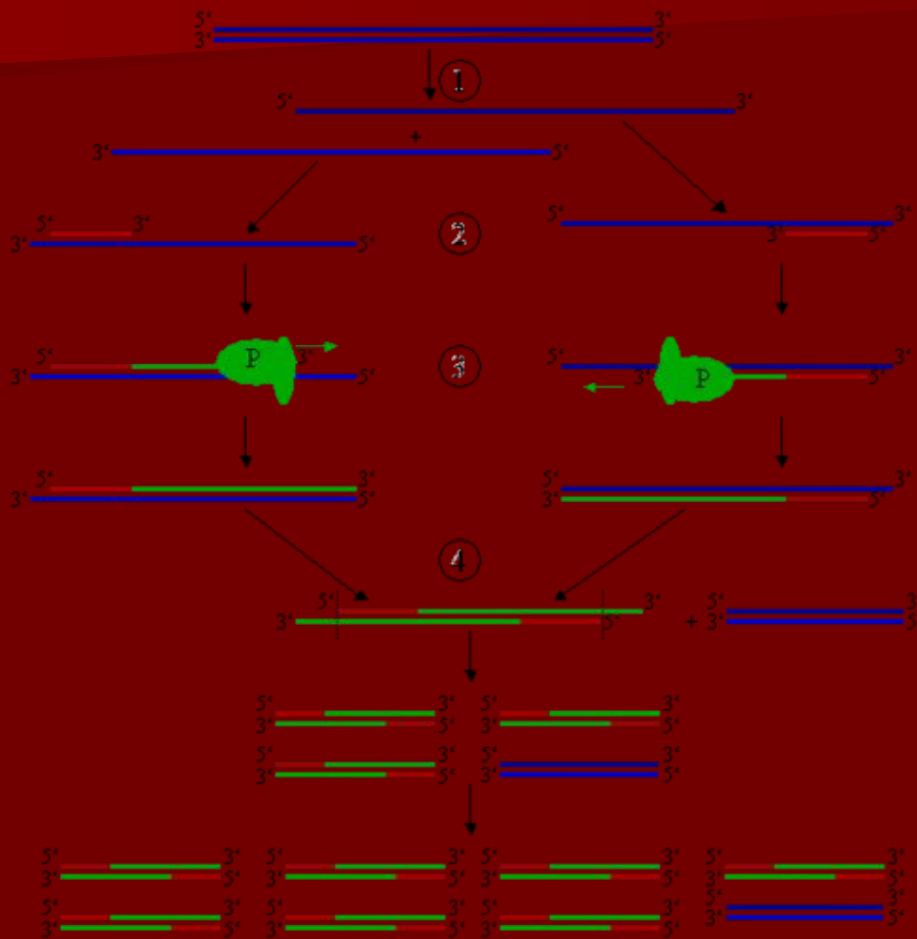
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – метод амплификации ДНК *in vitro*.

Рестрикция ДНК на фрагменты осуществляется ферментами рестриктазами.

Электрофорез фрагментов ДНК обеспечивает их разделение при распределении на поверхности агарозного или полиакриламидного геля.

Визуализация и идентификация фрагментов ДНК в геле.

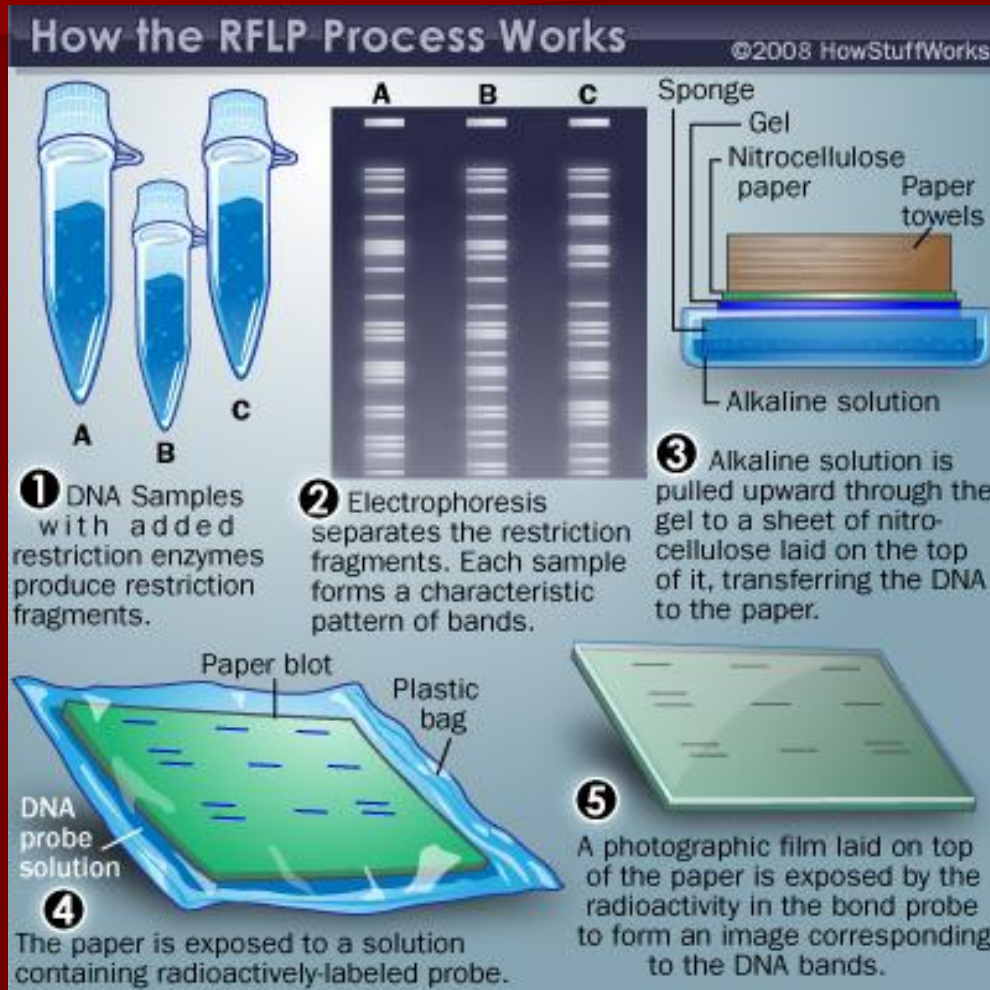
# Полимеразная цепная реакция



Схематическое изображение первого цикла ПЦР.

1. Денатурация ДНК при 94—96°C.
2. Отжиг праймеров при 68°С.
3. Элонгация при 72°С (P=полимераза).
4. Закончен первый цикл. Две получившиеся ДНК-цепи служат матрицей для следующего цикла, поэтому количество матричной ДНК в ходе каждого цикла удваивается.

# ПДРФ (RFLP, полиморфизм длины рестрикционных фрагментов)

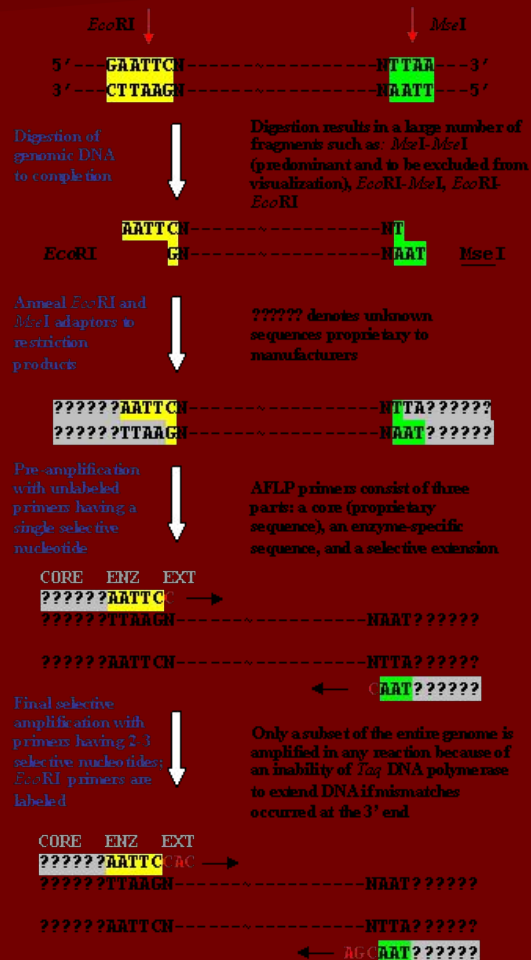


Исторически один из самых первых методов генотипирования. Суть заключается в подборе рестриктазы (фермент, расщепляющий ДНК вблизи строго характерной для него последовательности нуклеотидов), которая узнавала бы последовательность с одним аллелем и не узнавала бы с другим. В результате после амплификации, рестрикции и электрофореза на геле наблюдаются полосы разных длин, комбинации которых соответствуют различным генотипам.



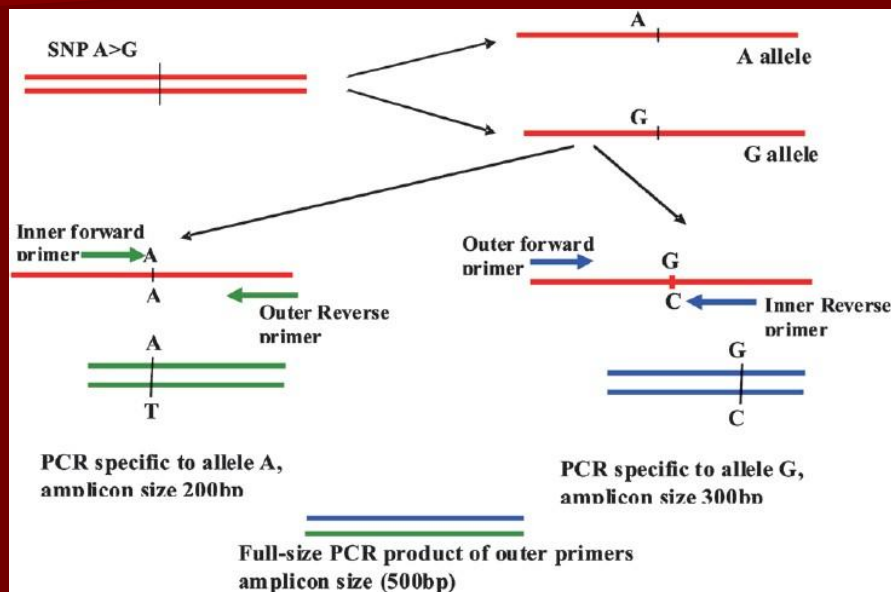
# ПДАФ (AFLP, полиморфизм длины амплификационных фрагментов)

## AFLP procedure



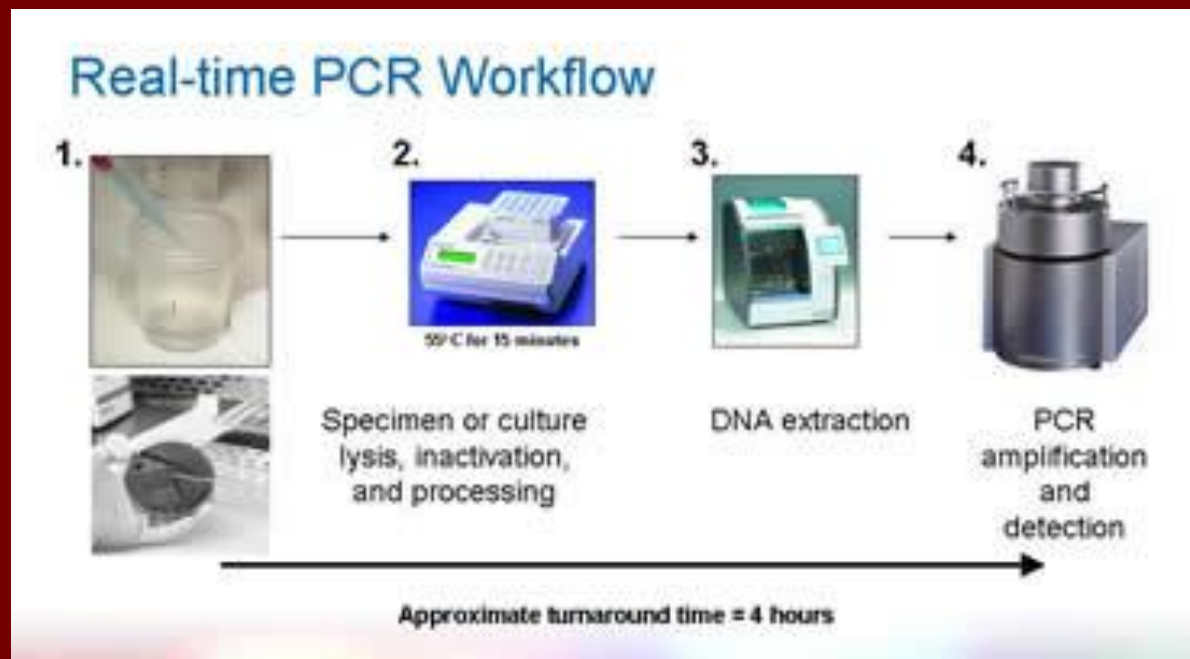
Аналогичен RFLP, но применяется для повторов и полиморфизмов типа insertion/deletion. Достоинства и недостатки те же. Широко используется в наборах для идентификации личности.

# Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов электрофорезом (allele-specific PCR)



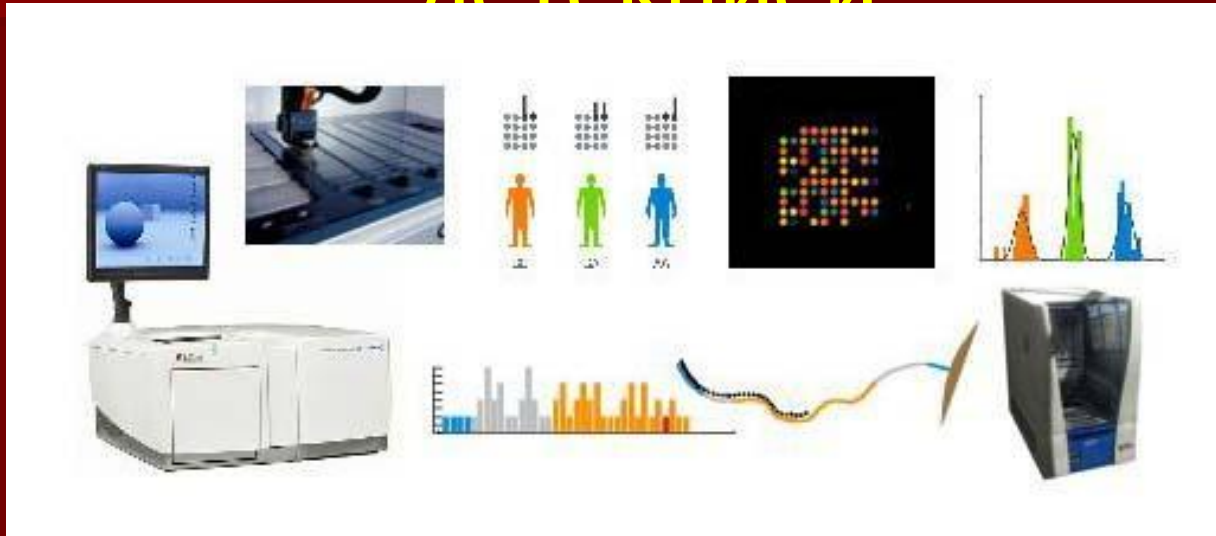
Объединяет в себе множество подходов, но основная идея всех методов основана на том, что полимеразы с разной эффективностью обрабатывают полностью спаренный и неспаренный нуклеотид на 3'-конце праймера. Современная аллель-специфичная ПЦР целиком базируется на Штоффель-фрагменте Taq-полимеразы (укороченный вариант Taq-полимеразы с отсутствующей 5' → 3' экзонуклеазной активностью или аналоги), который крайне чувствителен к неспаренным нуклеотидам и достаточно избирательно амплифицирует только с полностью комплементарными праймерами.

# Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов амплификатором в реальном времени (allele-specific real-time PCR, RT-ARMS PCR)



Преимуществом использования амплификатора в реальном времени является отсутствие этапа электрофореза и снижение вероятности контаминации, а также уменьшение времени анализа.

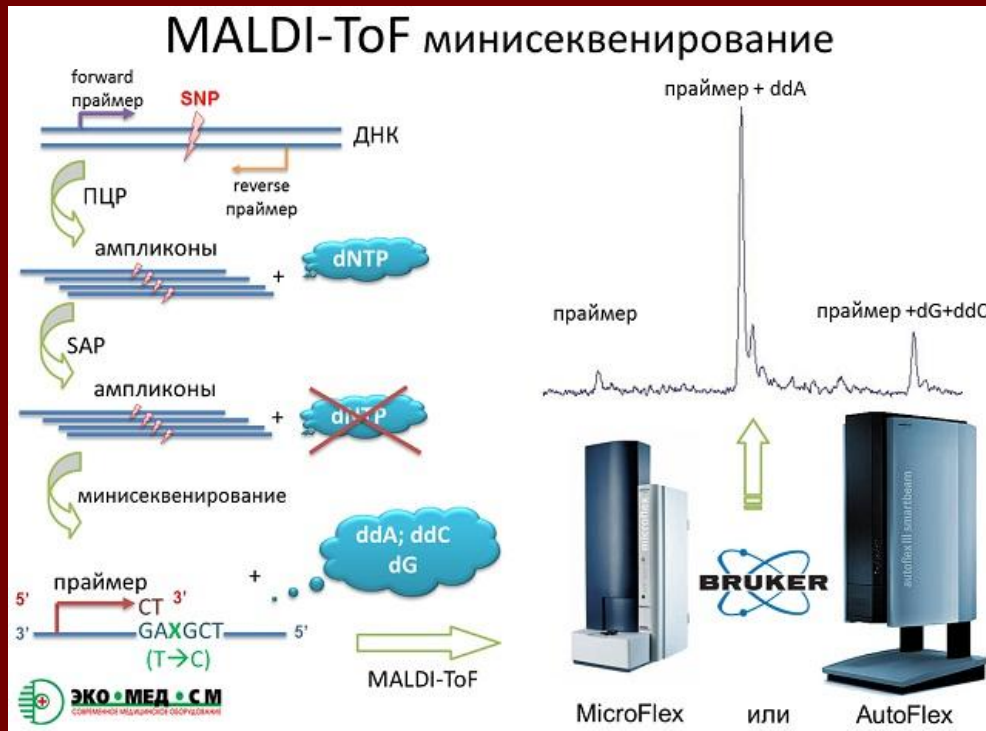
# Алель-специфичные зонды (allele-specific hybridization), наборы ABI TaqMan, наборы с FLASH- детекцией



Основаны на способности полимеразы разрушать встречающиеся комплементарные олигонуклеотидные зонды ( $5' \rightarrow 3'$  экзонуклеазная активность). Зонд содержит флуоресцентный краситель на  $5'$ -конце и тушитель флуоресценции на  $3'$ -конце. Полностью комплементарный зонд (один аллель) расщепляется полимеразой, краситель высвобождается и сигнал флуоресценции, соответствующий этому аллелю, растет. Дуплекс с зондом с одним неспаренным нуклеотидом (второй аллель) имеет меньшую температуру плавления и не разрушается, а отщепляется полимеразой целиком. По отношению уровней флуоресценции от обоих зондов судят о наличии в пробе одного или другого аллеля.

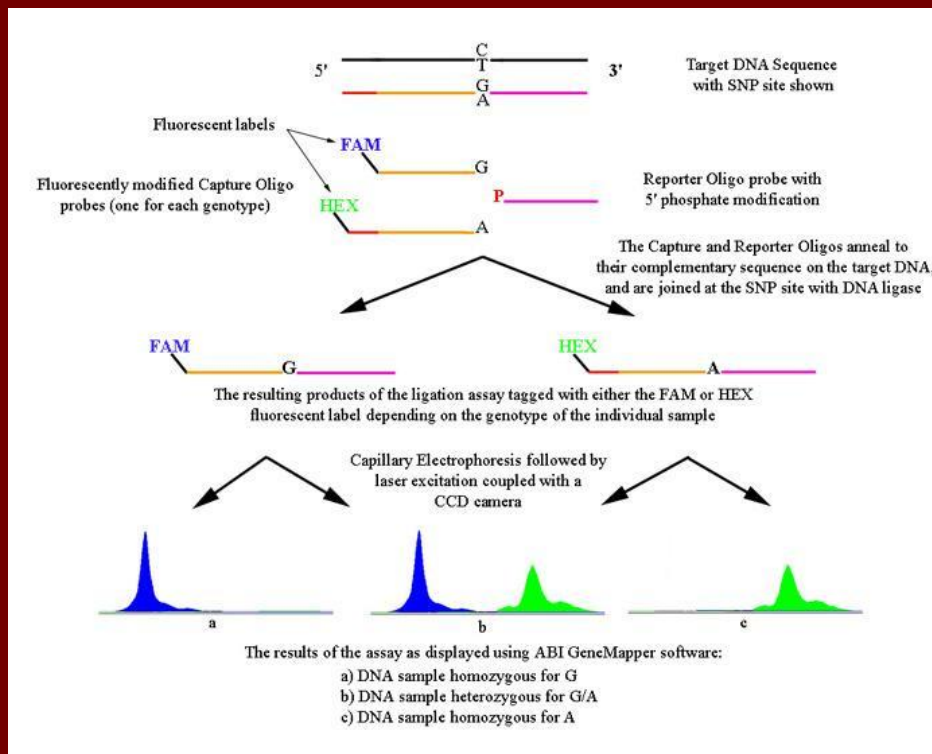


# Элонгация праймера (single-base primer extension, SBE), наборы ABI SNaPShot, MassARRAY iPLEX, минисеквенирование на биочипах



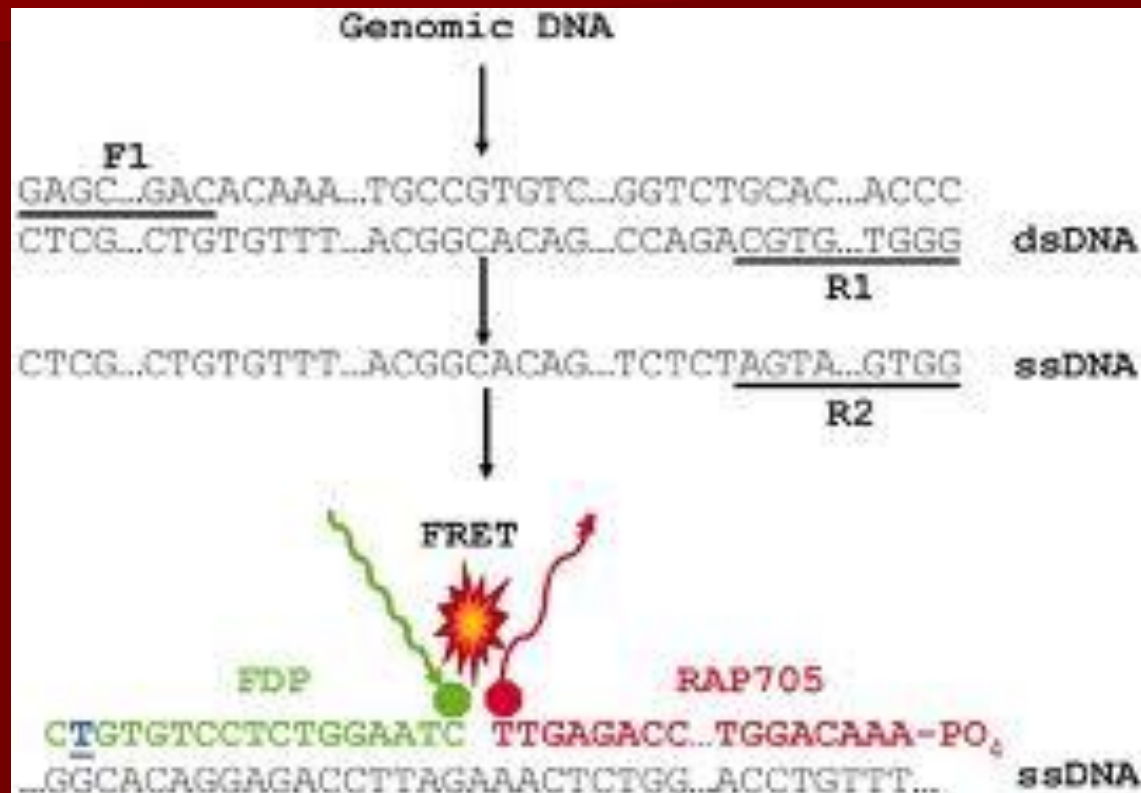
Основан на присоединении дидезоксинуклеотида, комплементарного позиции SNP, к 3`-концу праймера и последующей детекции продукта присоединения различными методами – капиллярным электрофорезом (SNaPShot), масс-спектрометрией (MassARRAY), ДНК-микрочипами.

# Лигирование олигонуклеотидных зондов (oligonucleotide ligation assay), наборы ABI SNPLex



Специфические ДНК-последовательности исследуют путем использования их в качестве матрицы для ковалентного связывания двух пар олигонуклеотидных зондов. ДНК-зонды для лигирования подбирают так, чтобы они были полностью комплементарны нормальному фрагменту ДНК в области локализации мутации. Обычно в один из зондов вводят флуоресцентную метку, а другой метят биотином. После гибридизации синтезированные олигонуклеотидные последовательности сшивают ДНК-лигазами. При наличии мутации в тестируемой молекуле ДНК на конце одного из зондов образуется сайт некомплементарного спаривания, непосредственно примыкающий к месту лигирования. Метод включает несколько последовательных циклов гибридизации, лигирования и денатурации. В дальнейшем проводят электрофоретический/капиллярный анализ меченых одонитевых фрагментов ДНК.

# Гибридизация олигонуклеотидных зондов (Hyb Probes)



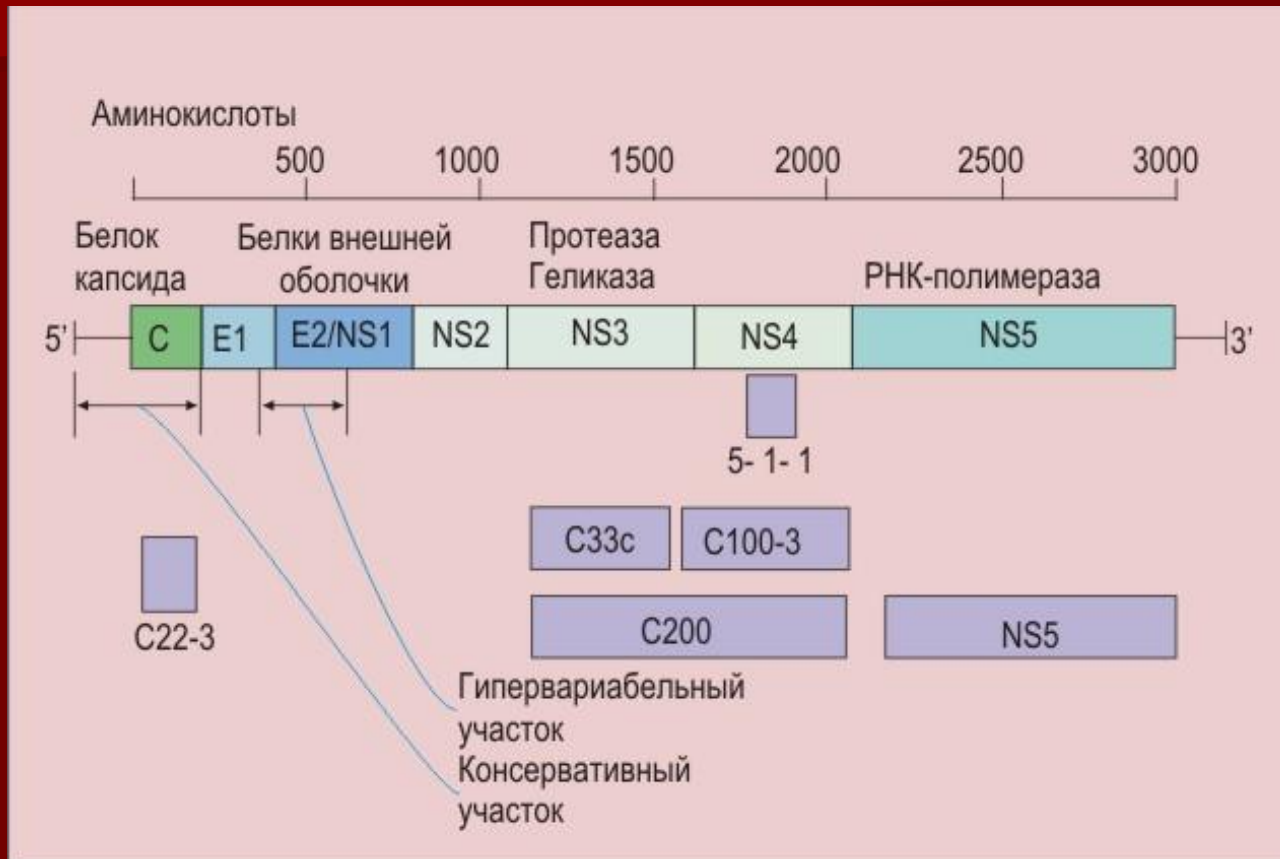
Основан на тримолекулярном взаимодействии ДНК и двух зондов в области нуклеотидной замены и различий в кривых плавления.

# ДНК-диагностика





# ДНК-типирование микроорганизмов

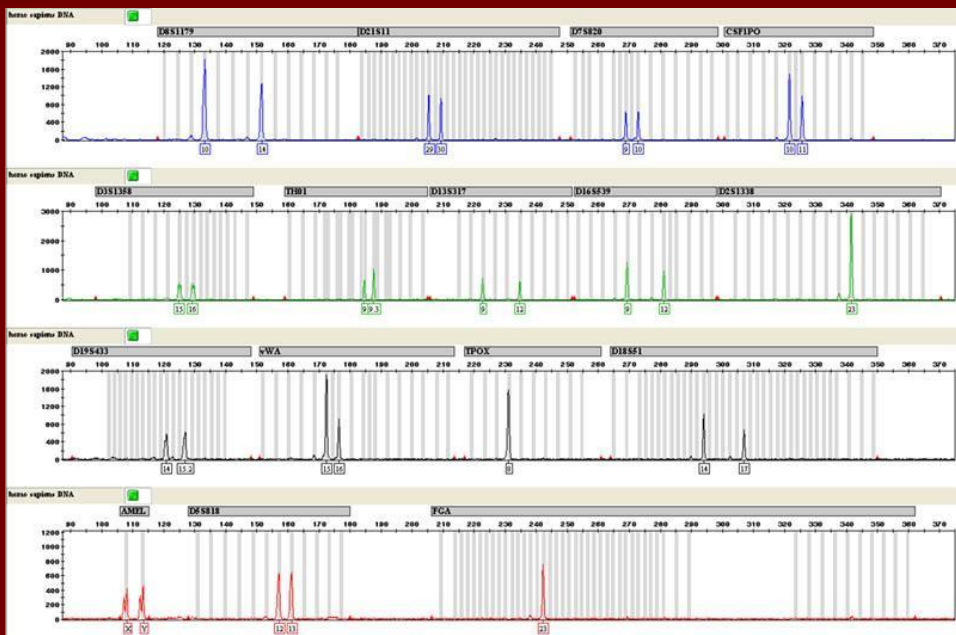


Знание источника различных штаммов патогенных микроорганизмов, вызывающих различные инфекции, позволило бы выработать эффективные меры защиты.

Геном вируса гепатита С

# Идентификация личности

ДНК-дактилоскопия или генетическая дактилоскопия — метод, используемый для идентификации лиц на основе уникальности последовательностей ДНК индивидуума. В 1987 впервые была проведена идентификация личности по анализу ДНК. Это стало возможным благодаря открытию Алека Джеффриса в 1984, связанному с обнаружением у генов человека структурного полиморфизма определенных тандемов, которые образуют «картину», специфичную для молекулы ДНК конкретного человека. Последовательности ДНК конкретного человека составляют его ДНК-профиль или генетический паспорт, который можно использовать для идентификации личности.



Генетический профиль

# Генетический паспорт

**Фамилия: Иванов**

**Имя: Иван**

**Отчество: Иванович**

**Год рождения: 1931**

**Домашний адрес:**

**г.Уфа, ул. 50 лет СССР, 34-18.**

**Выдан:**

**21 сентября 2001 г.**

**Отделом Геномики Института  
биохимии и генетики УНЦ РАН**

**Результаты цитогенетического  
обследования:**

**Кариотип: 2n=46XY**

**Число хромосомных aberrаций: 3%**

**Одиночные фрагменты – 2%**

**Парные фрагменты – 1%**

**Крупные делеции: — нет**

**Транслокации: — нет**

**Обмены - нет**

**Результаты молекулярно-генетического  
обследования:**

**ДНК-анализ моногенных наследственных  
заболеваний:**

**Мышечная дистрофия Дюшенна (делеции): —  
нет**

**Фенилкетонурия (R408W, R252W, R252P,  
R261Q) — норма/R408W**

**Муковисцидоз (delF508, R334W,  
CFTRdel2,3-21kb, 394delTT) — нет**

**Гемофилия А (инверсия 22 интрона) — нет**

**Миотоническая дистрофия (CTG-повторы) —  
нет**

**Адреногенитальный синдром (делеции 3  
экзона) — нет**

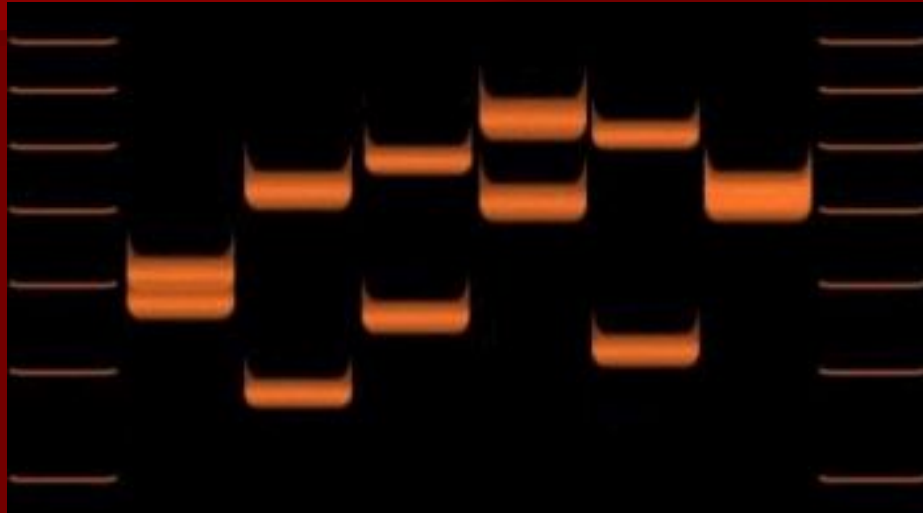
**Болезнь Вильсона-Коновалова (His3559Glu) —  
нет**

**Хорея Гентингтона (CAG-повторы, CCG-  
повторы) — нет**

**Врожденная глухота (35delG гена GIB2) –  
норма/ 35delG**

**Гемохроматоз (Cys282 гена HLA) - нет**

# Генная дактилоскопия



Вариации тандемного повтора длин аллелей 6 индивидуумов

Процесс ДНК-дактилоскопии начинается с подготовки образца ДНК индивидуума (обычно называемого «контрольным образцом»). Контрольный образец затем анализируется для создания ДНК-профиля человека, используя ПЦР-анализ. ДНК-профиль затем можно сравнить с другим образцом, чтобы определить, есть ли генетическое сходство.

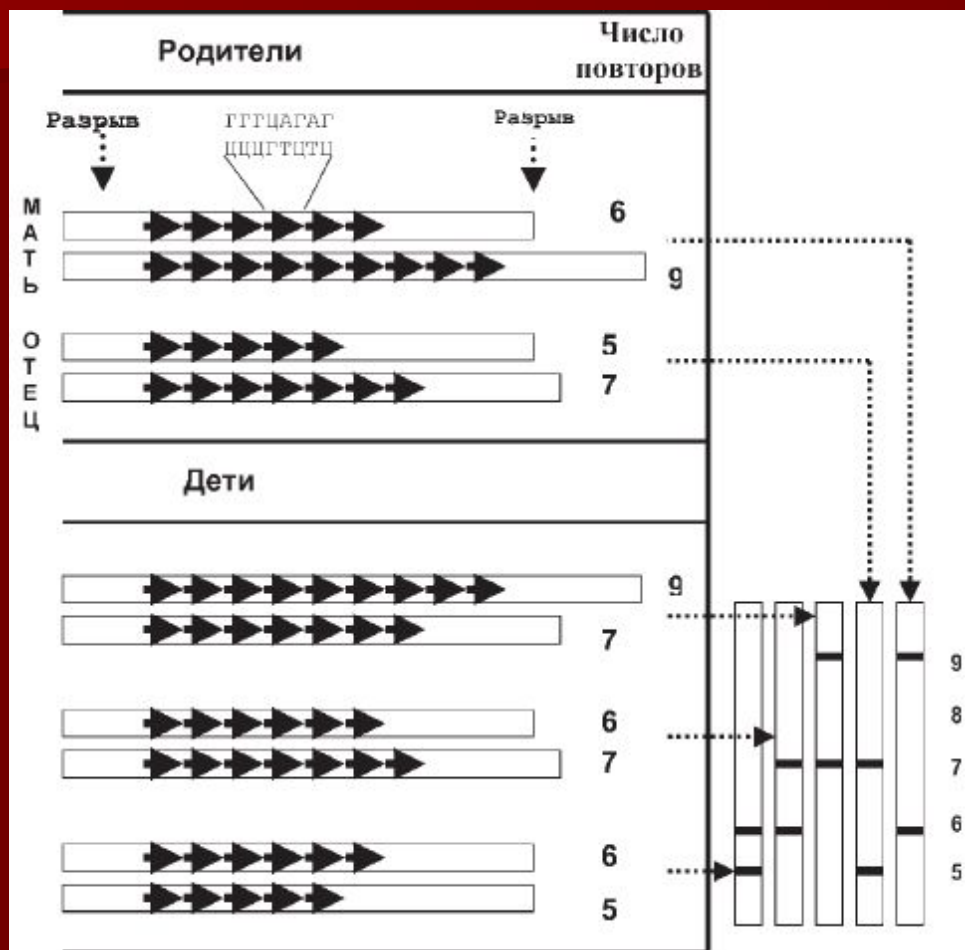
# Базы данных ДНК-профилей



Метод ДНК-анализа применяется в экспертно-криминалистической практике. Самый большой банк данных ДНК в мире — Национальная база Великобритании, которая учреждена в 1995 и содержит 2,7 млн. проб. В ней хранится информация о ДНК не только осуждённых, но и подозреваемых. По данным британских криминалистов, еженедельно раскрывается до 2 тысяч преступлений, по которым с места происшествия изымался генетический материал. С 1998 обсуждается вопрос о введении генной паспортизации всего населения. В базе данных Исландии содержатся генотипы всего населения страны (около 300 тысяч человек). В России в 2008 Госдума приняла Закон «О государственной геномной регистрации в РФ». По этому закону в ближайшее время будет создана федеральная база данных ДНК, содержащая информацию об осуждённых за тяжкие и особо тяжкие преступления.



# Генная дактилоскопия



Молекулярный документ, отражающий длины микросателлита, однозначно свидетельствующий о родственных отношениях отца и матери с их детьми. Слева — строение кластеров одного из микросателлитов (GGCAGGAG) у родителей и детей, справа внизу — результат анализа длин микросателлитов, осуществленный с помощью электрофореза и гибридизации: все дети рождены этими родителями.