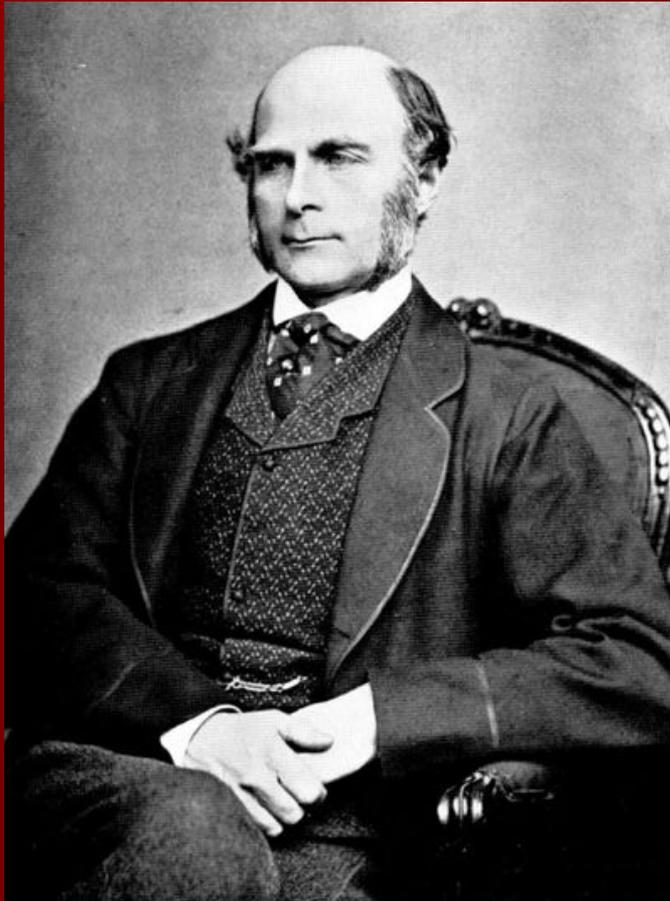


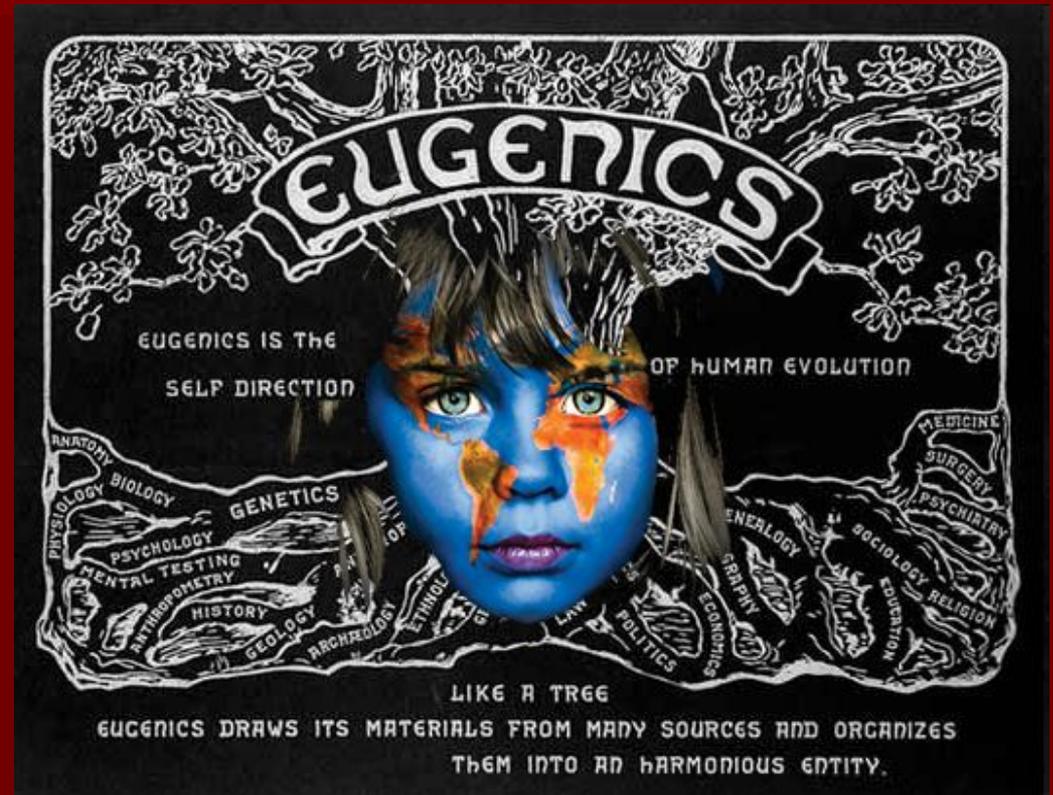


МЕТОДЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА

Генетика человека



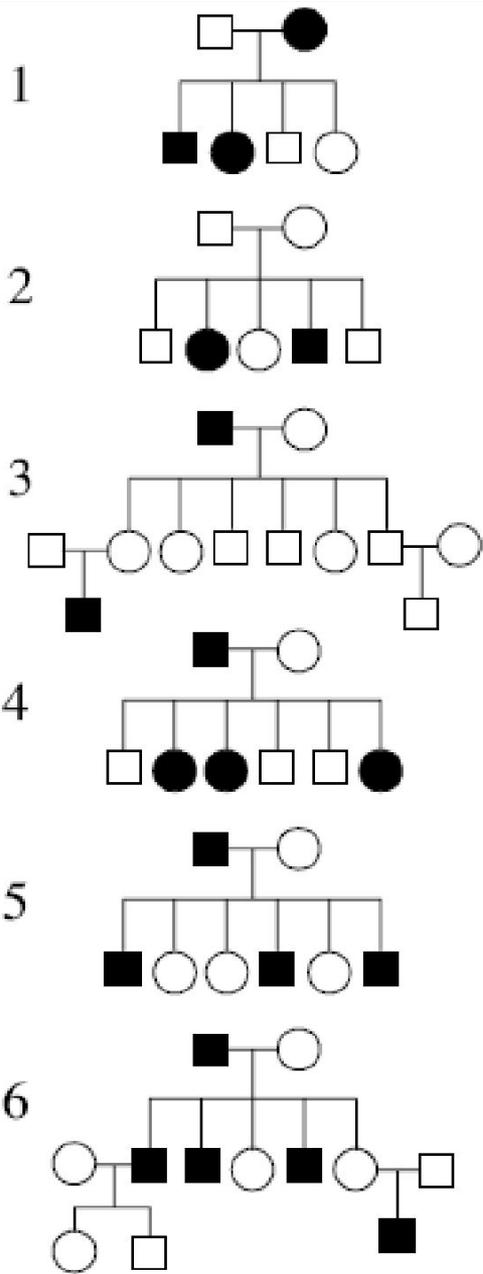
Френсис Гальтон
1822 - 1911



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



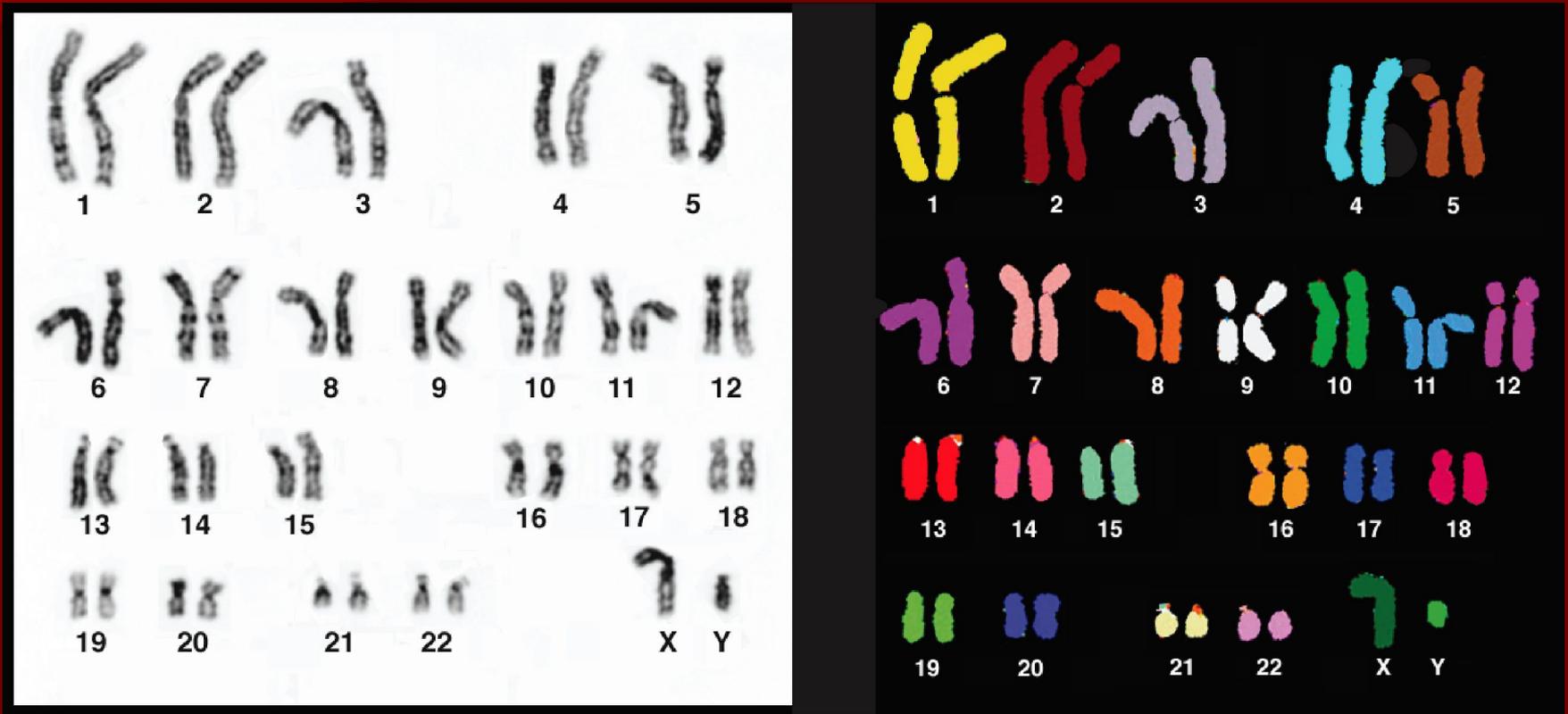
Чарльз V

Цитогенетический метод

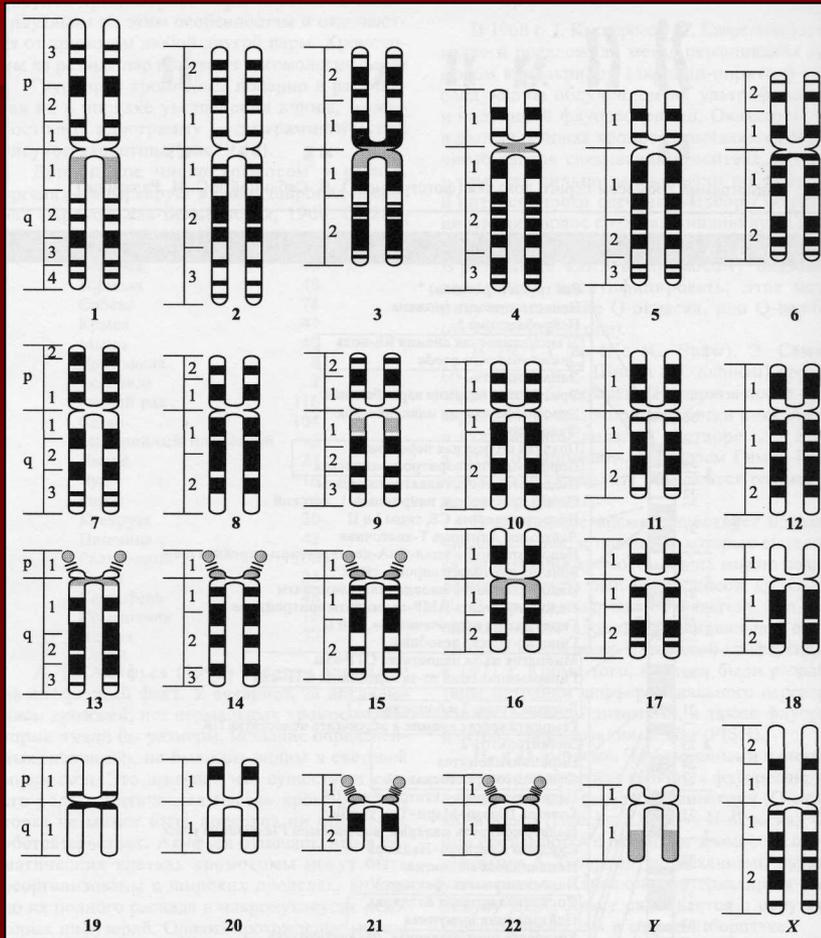
Группы хромосом человека по размеру и положению центromеры:

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 E (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.

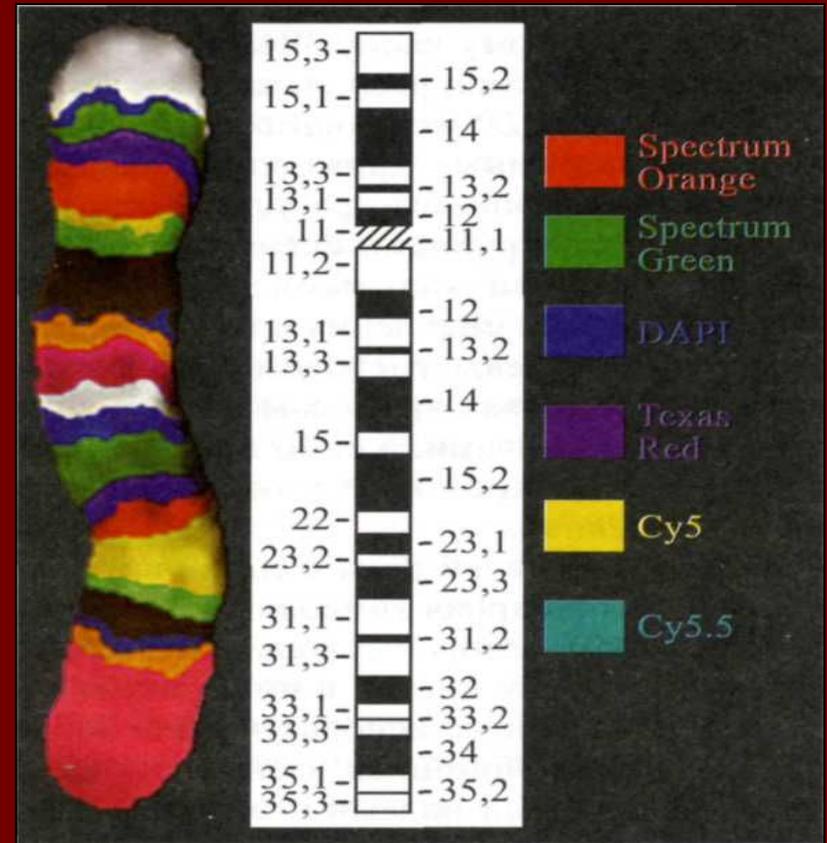
Кариотип человека



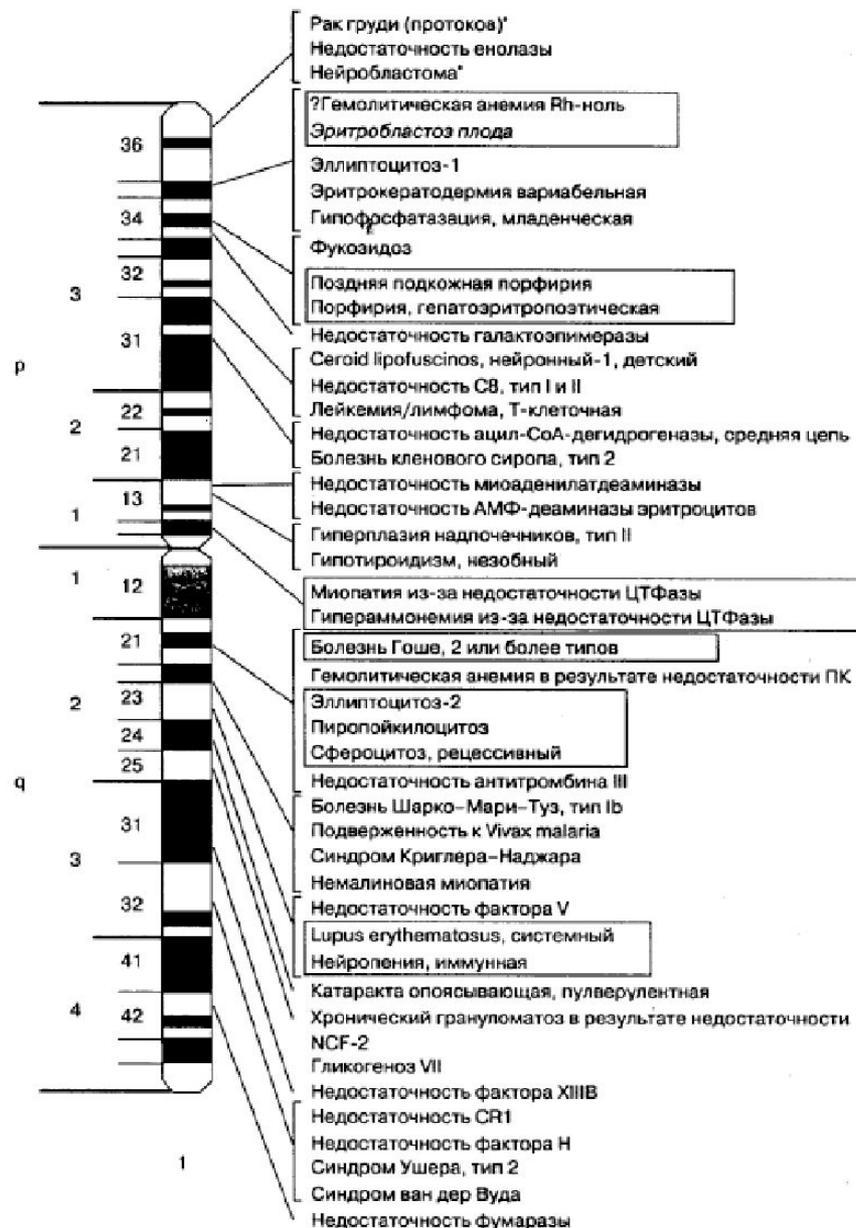
Цитогенетический метод



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

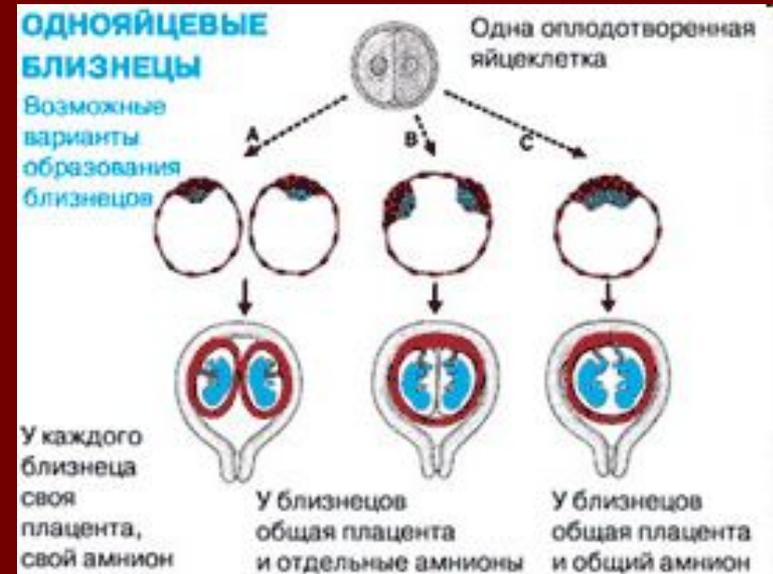
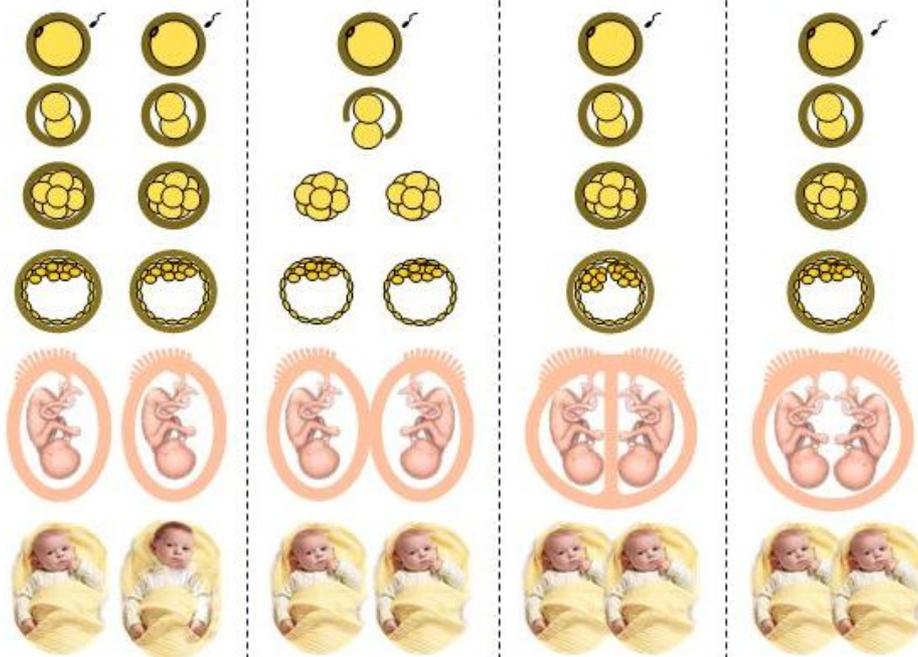
Близнецовый метод



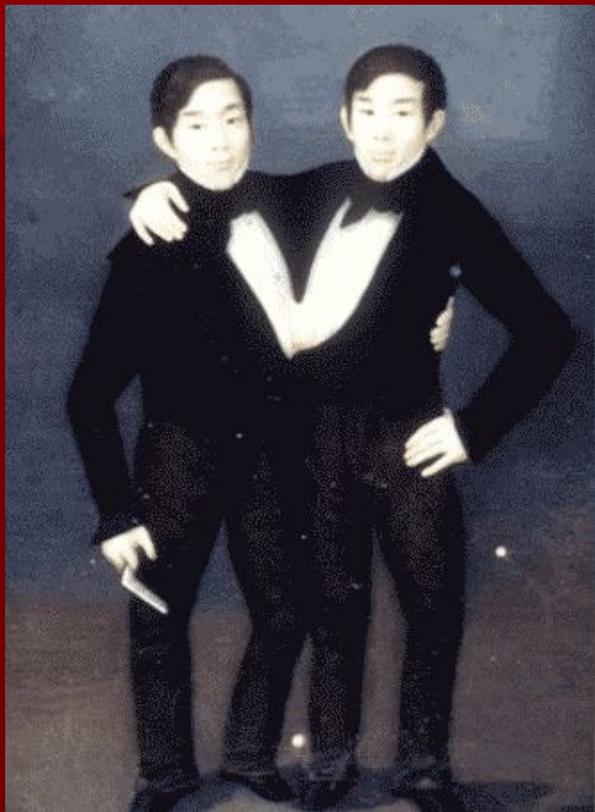
Хван Сеул (Hwang Seul), Хван Сеол (Hwang Seol), Хван Сол (Hwang Sol) и Хван Мил (Hwang Mil) появились на свет в январе 1989 года в больнице города Инчхон, расположенного к западу от Сеула

Монозиготные и дизиготные близнецы

ФОРМИРОВАНИЕ БЛИЗНЕЦОВ



Сиамские близнецы



Чанг и Энг, Сиам
(Таиланд), 1811

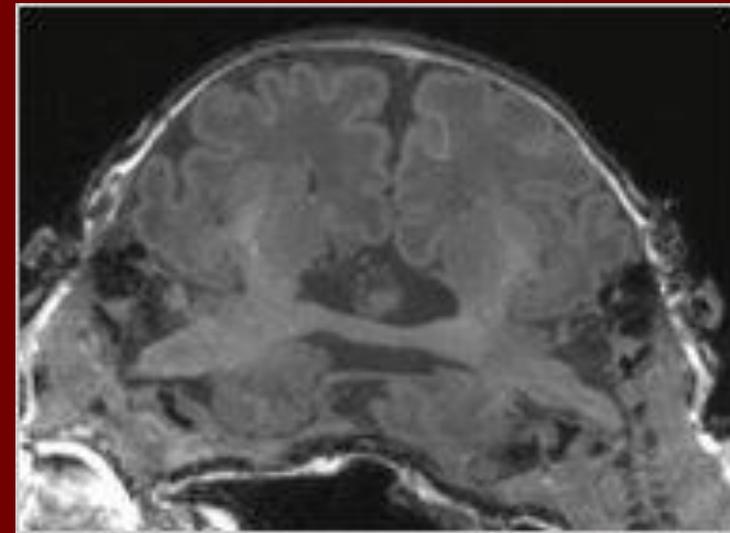


Маша и Даша
Кривошляповы, СССР,
1950



Абигейл и Бриттани
Хенсел, США, 1990

Сиамские близнецы



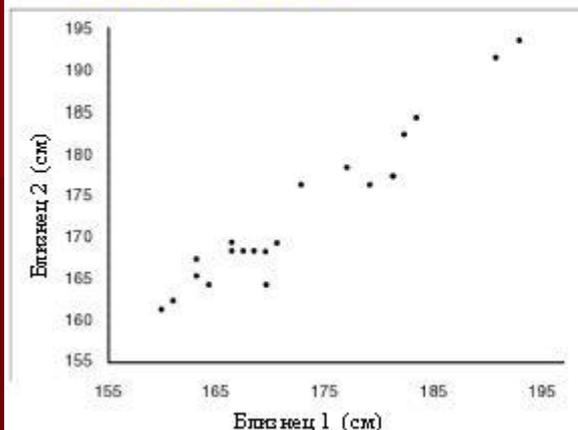
Криста и Татьяна Хоган, Канада, 2006

| 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 |

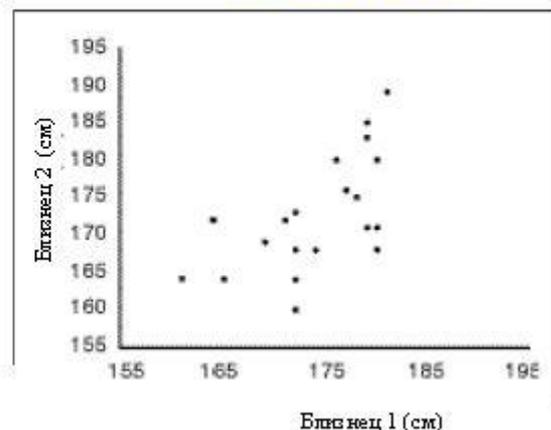
Конкордантность признаков у близнецов

Рост в парах близнецов

Монозиготные

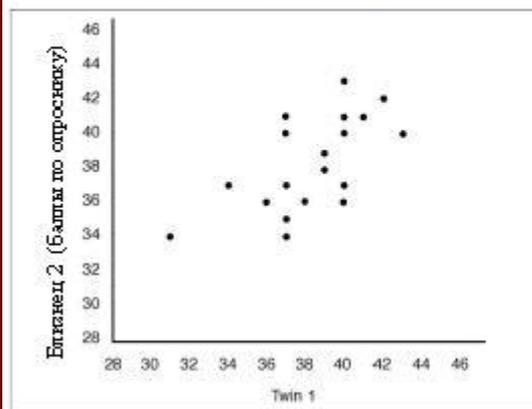


Дизиготные



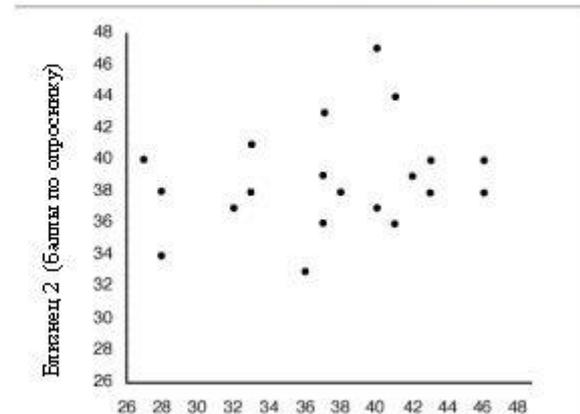
Стремление к новизне в парах близнецов

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.

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

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

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

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

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

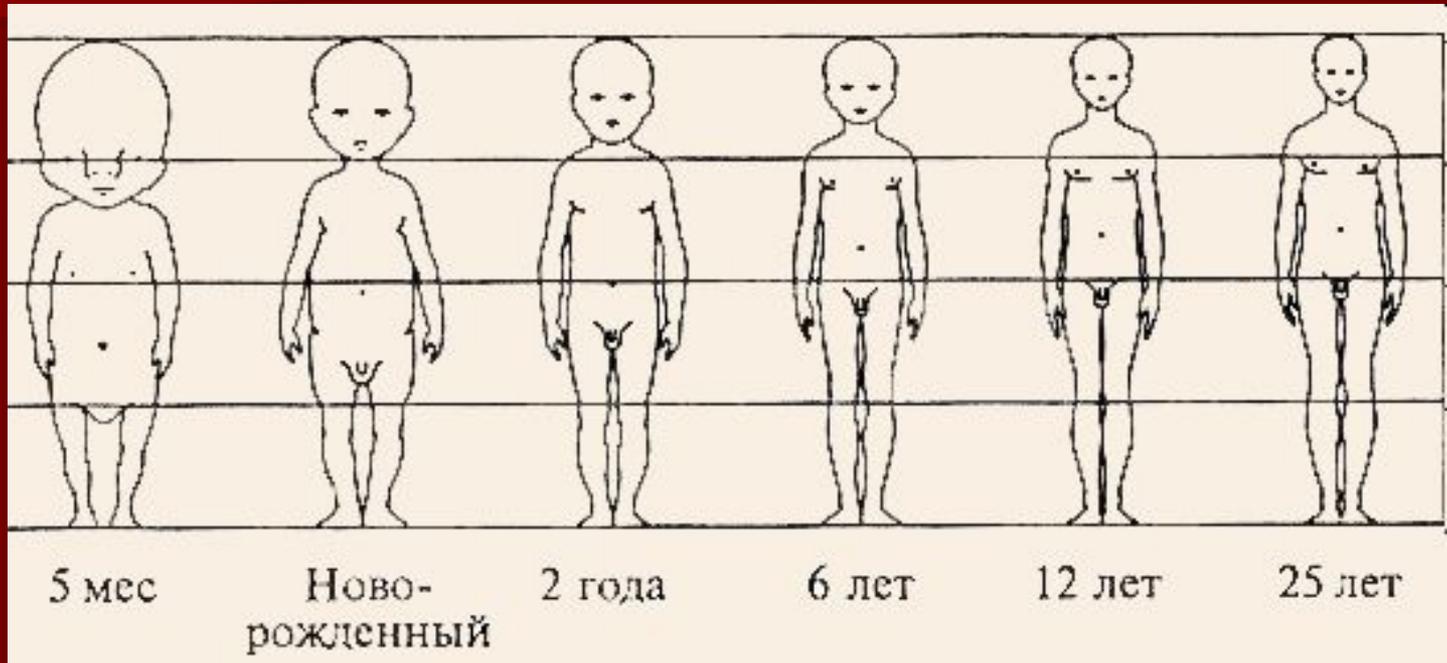
$$\text{Скарлатина } \frac{H}{C} = \frac{53 - 16}{16} = 2,31$$

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

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

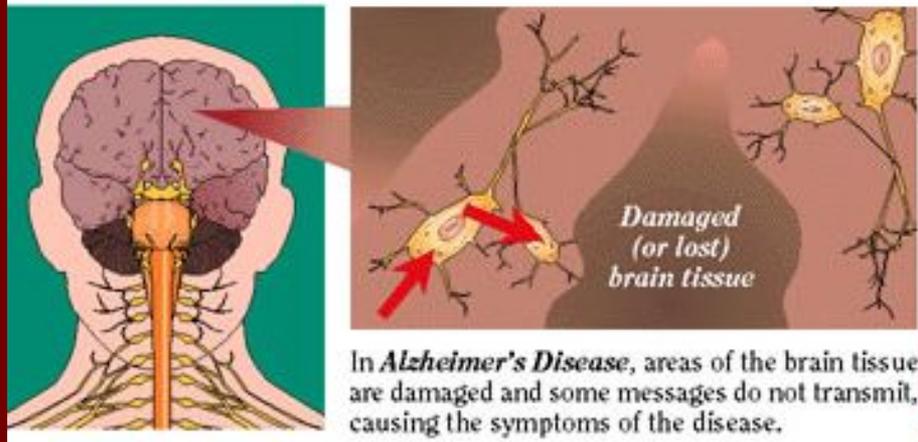
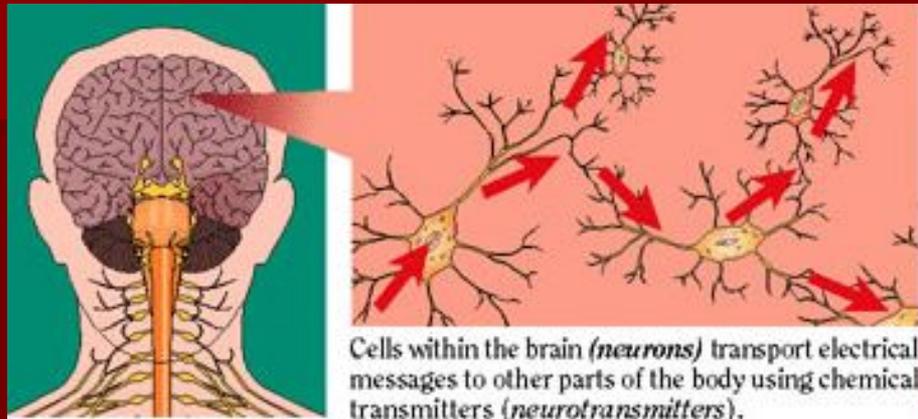
$$E = 100 - h$$

Онтогенетический метод

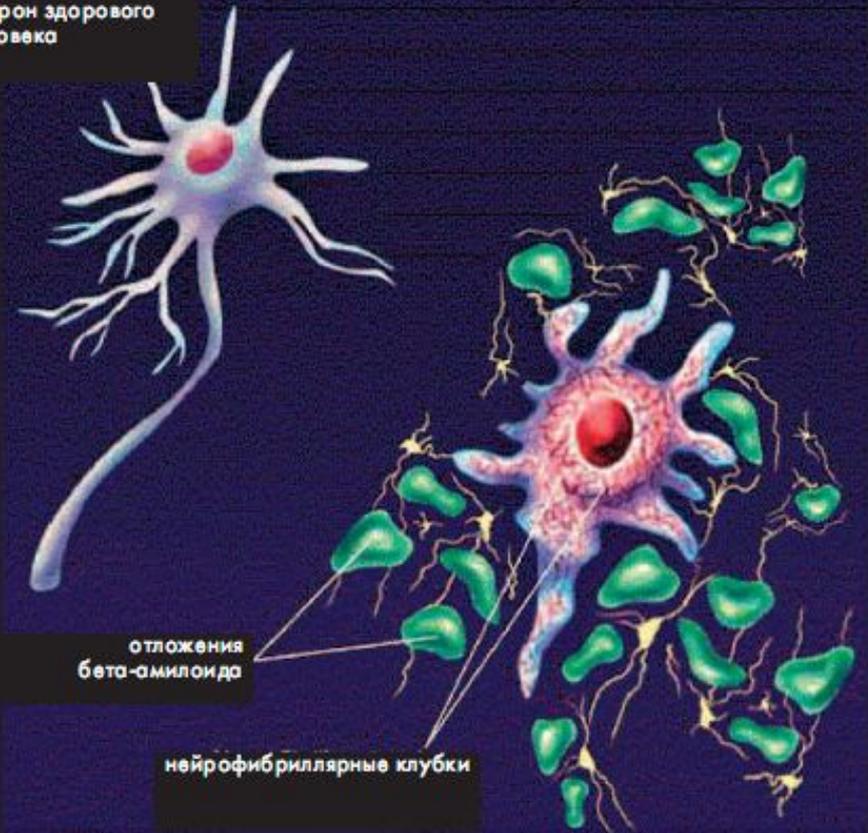


Изменение пропорций тела в ходе онтогенеза

Болезнь Альцгеймера

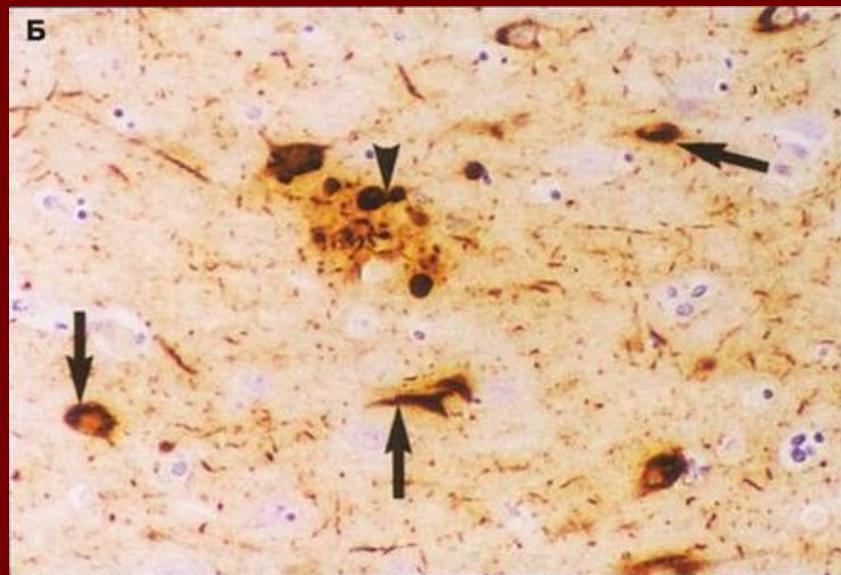
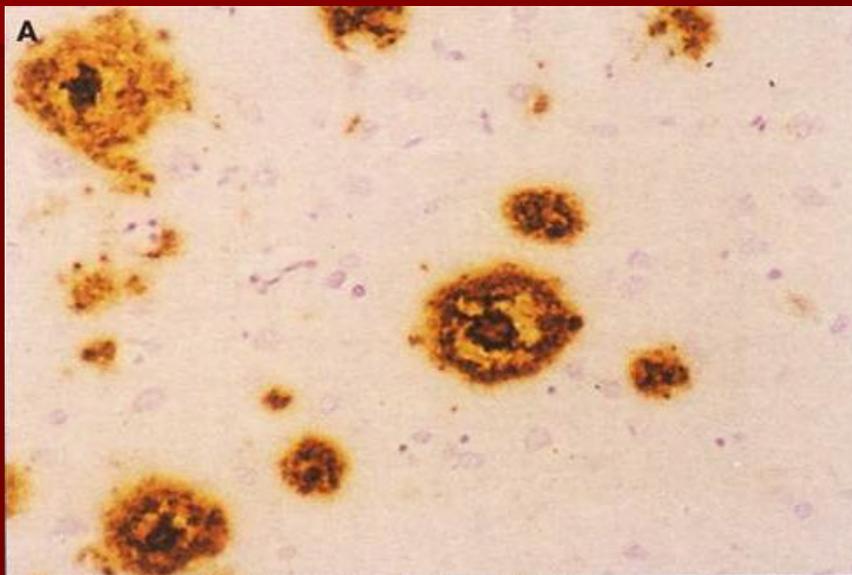


нейрон здорового человека



Нейрон здорового человека и пациента с болезнью Альцгеймера

Патоморфология при болезни Альцгеймера



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

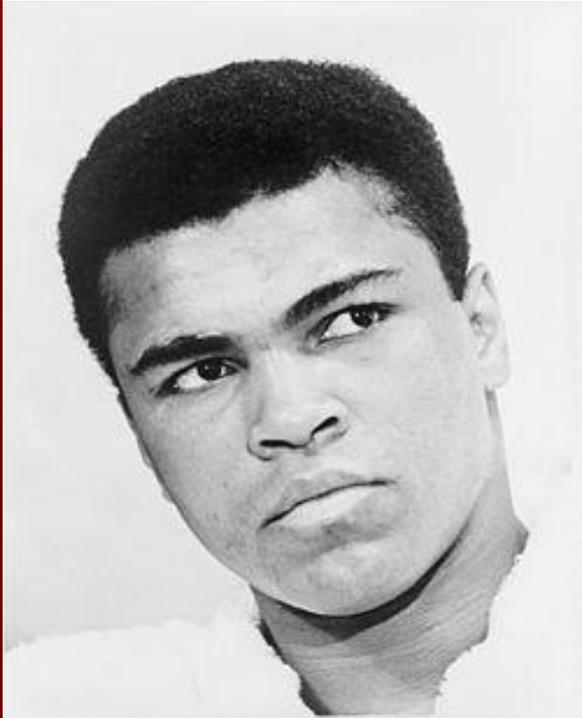
Болезнь Альцгеймера



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

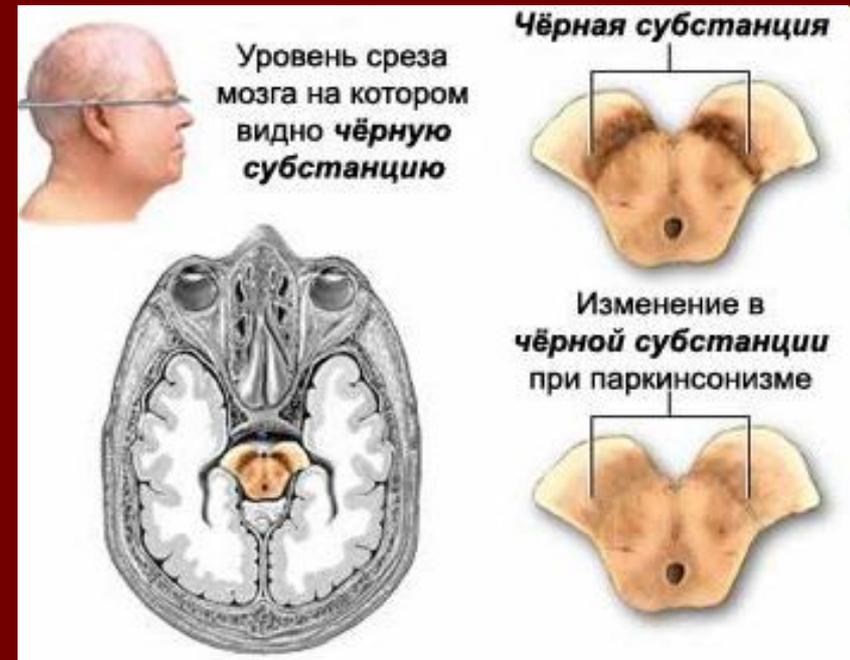
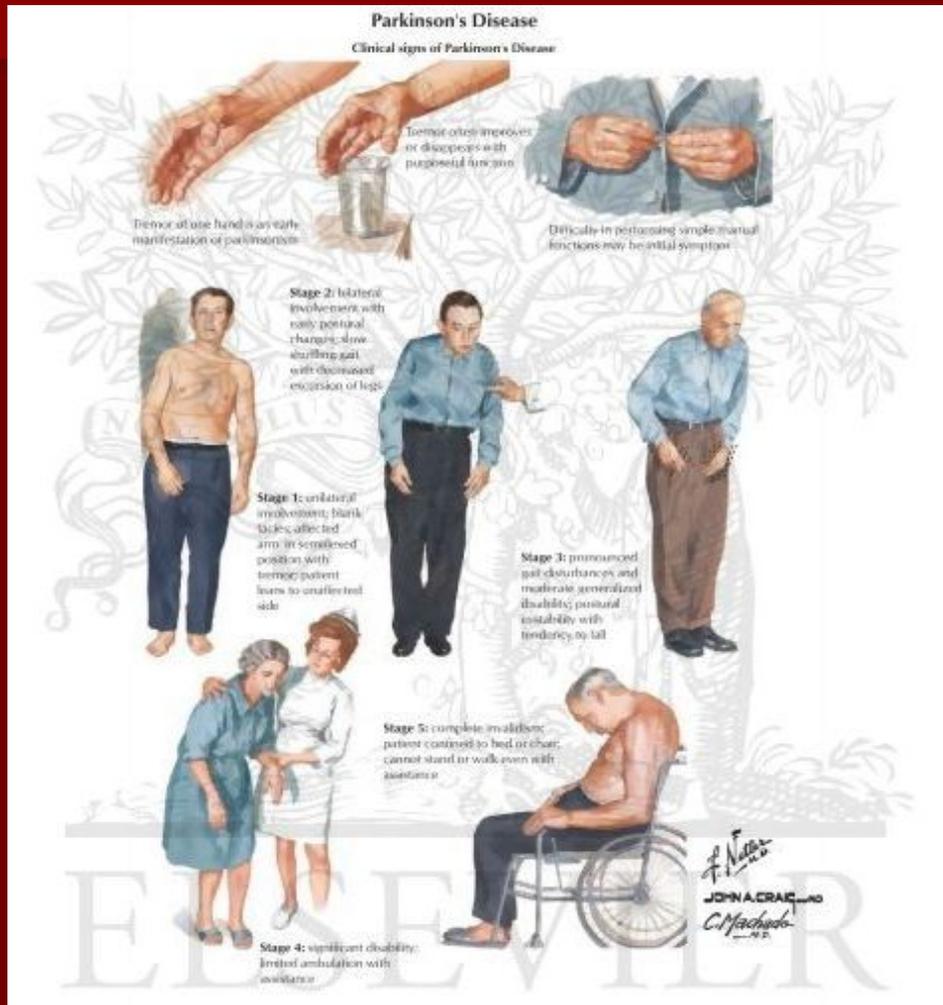


Иоанн Павел
II



Ясир Арафат

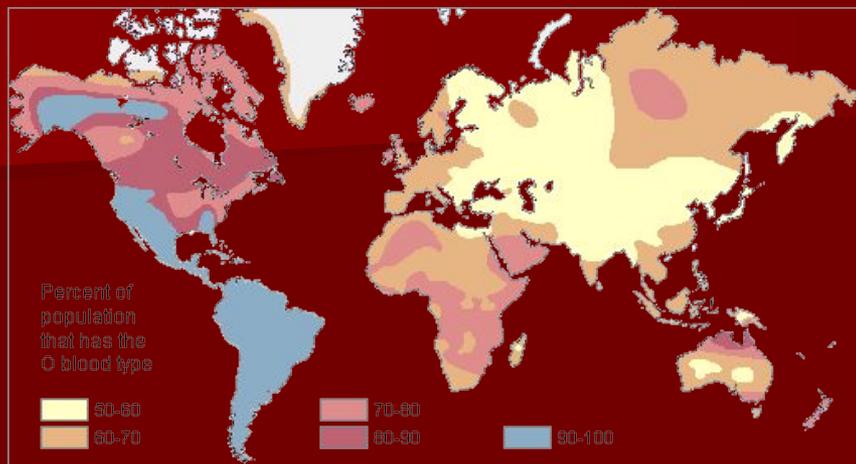
Болезнь Паркинсона



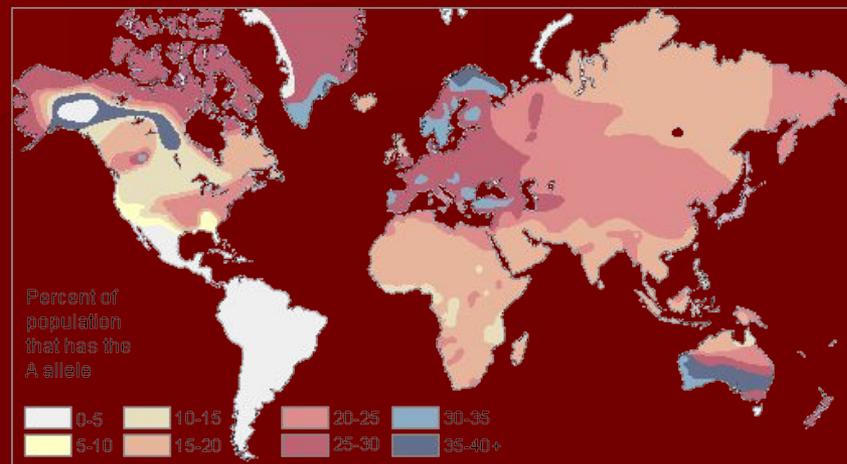
Популяционный метод

| 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 |

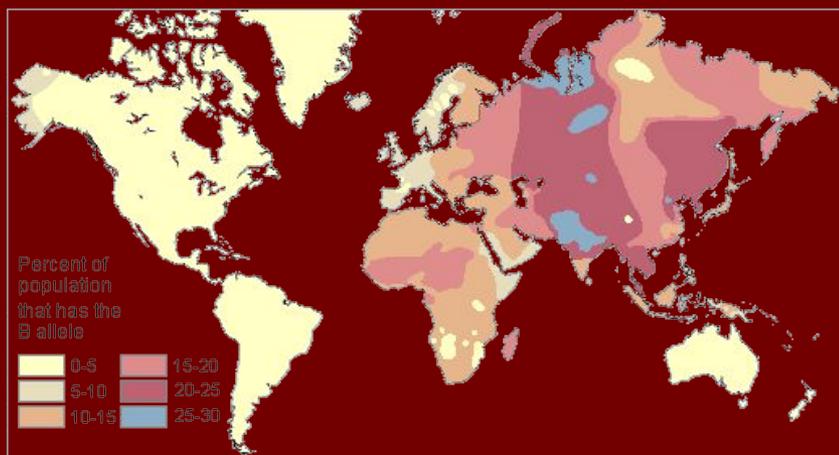
Система групп крови АВ0



Частота аллели i^0

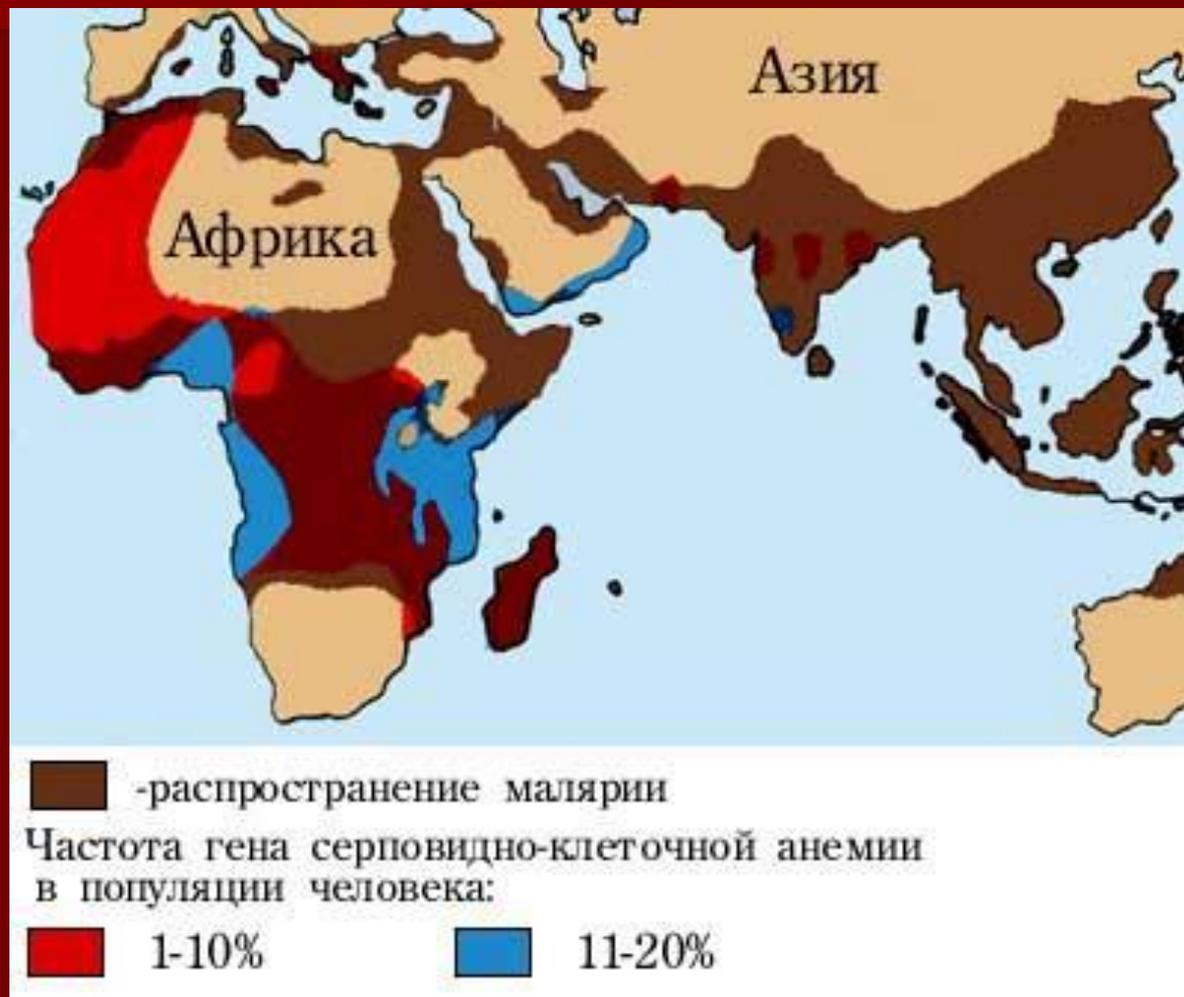


Частота аллели I^A



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.

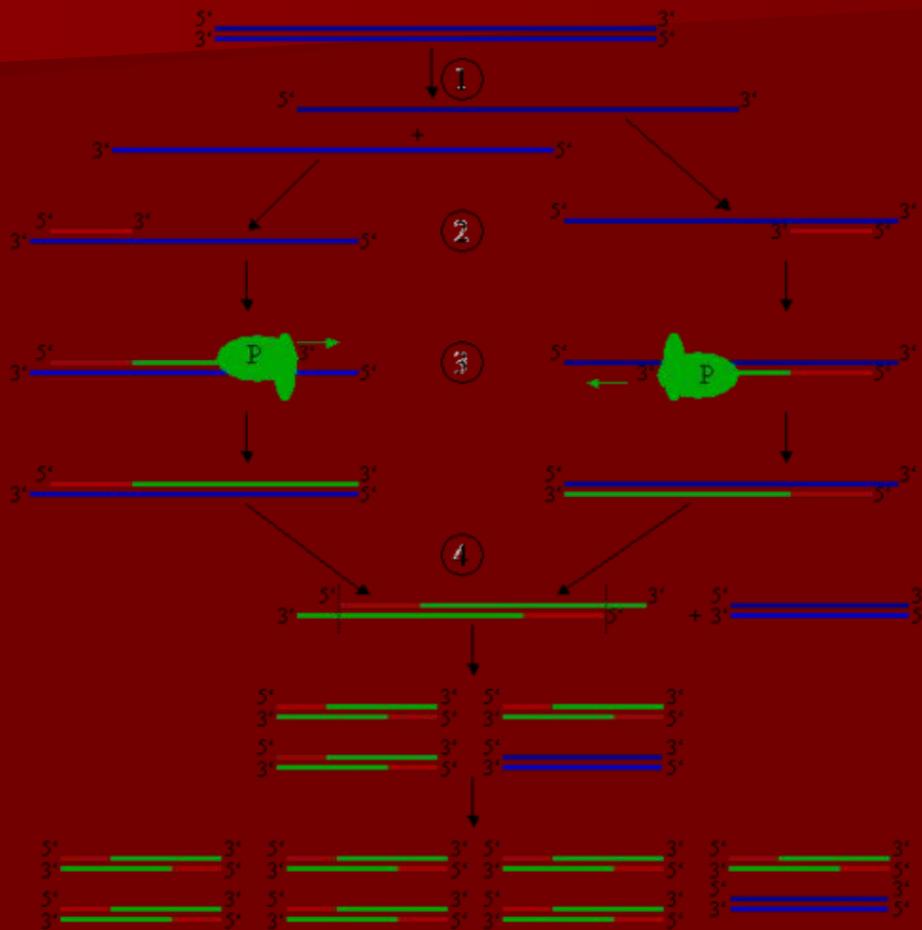
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) – метод амплификации ДНК *in vitro*.

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.

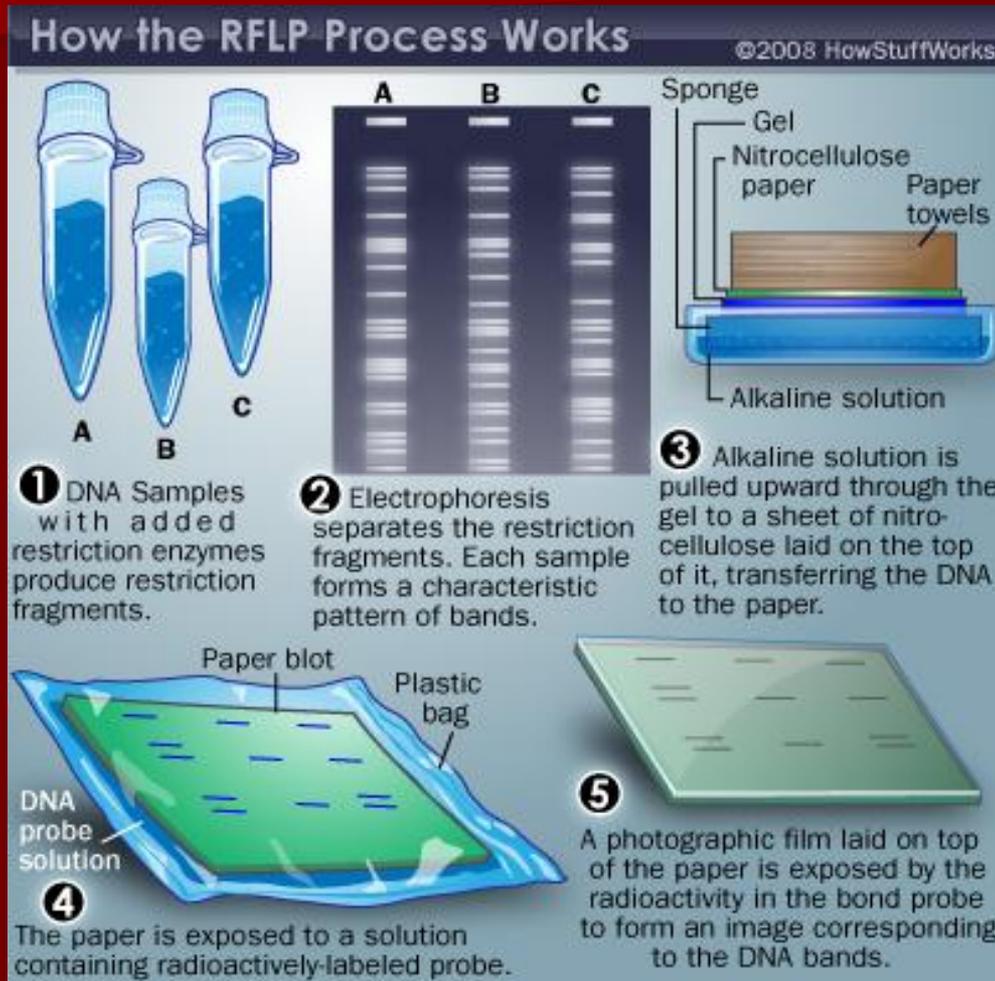
Полимеразная цепная реакция



Схематическое изображение первого цикла ПЦР.

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

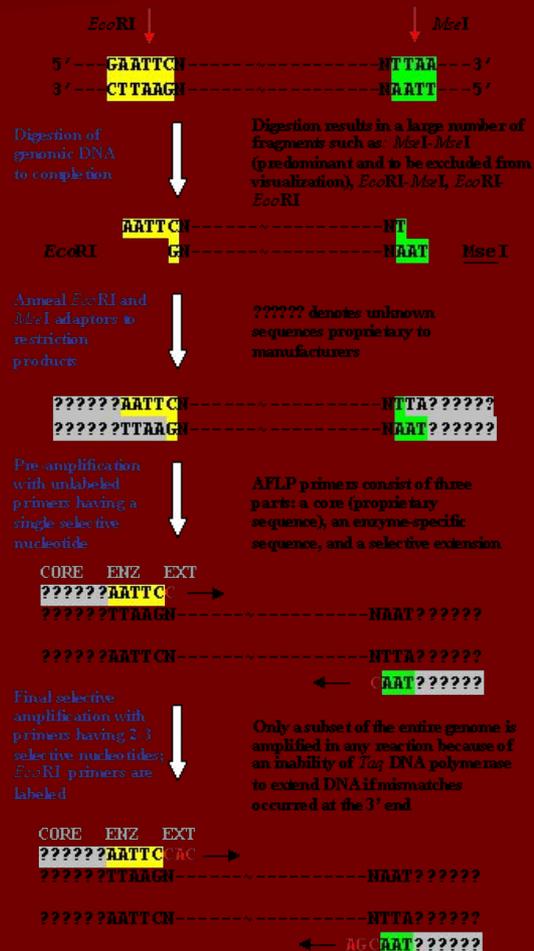
ПДРФ (RFLP, полиморфизм длины рестрикционных фрагментов)



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.

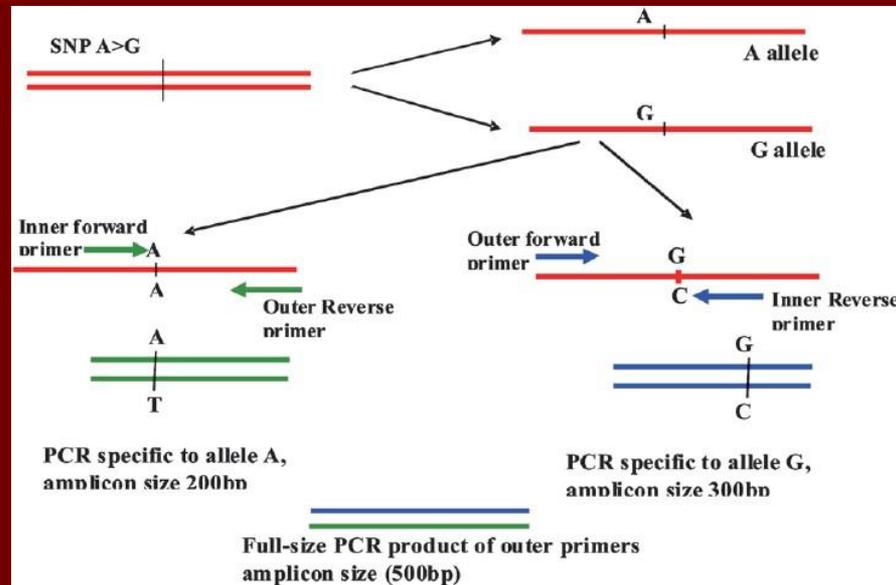
ПДАФ (AFLP, полиморфизм длины амплификационных фрагментов)

AFLP procedure



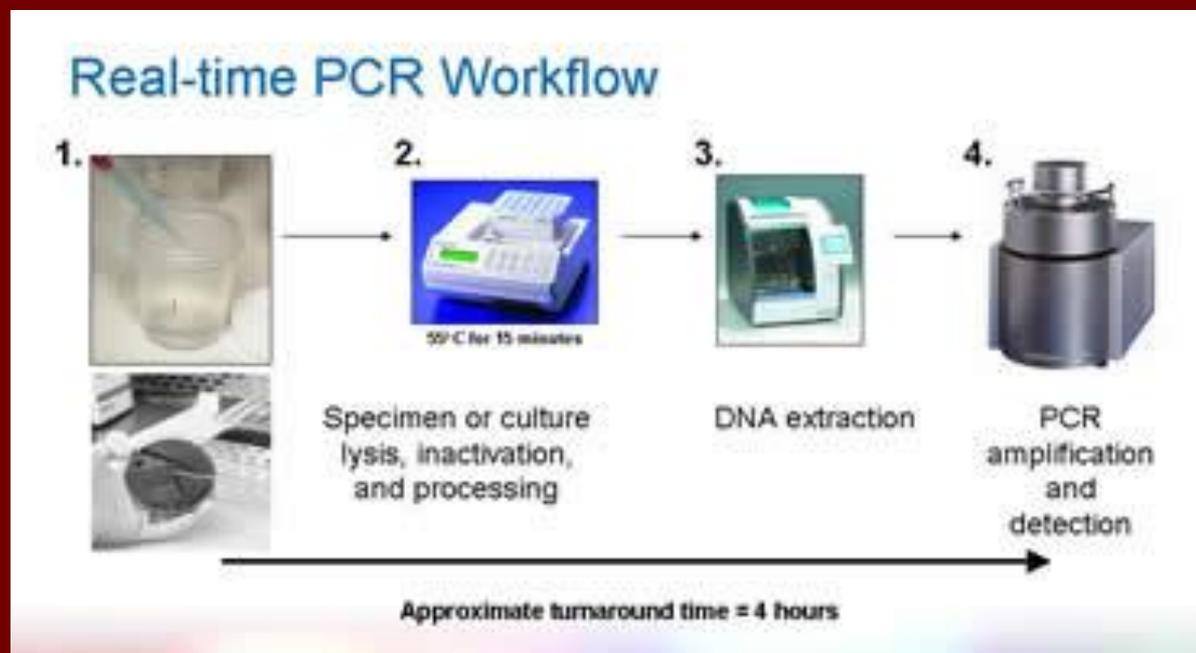
Аналогичен RFLP, но применяется для повторов и полиморфизмов типа insertion/deletion. Достоинства и недостатки те же. Широко используется в наборах для идентификации личности.

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



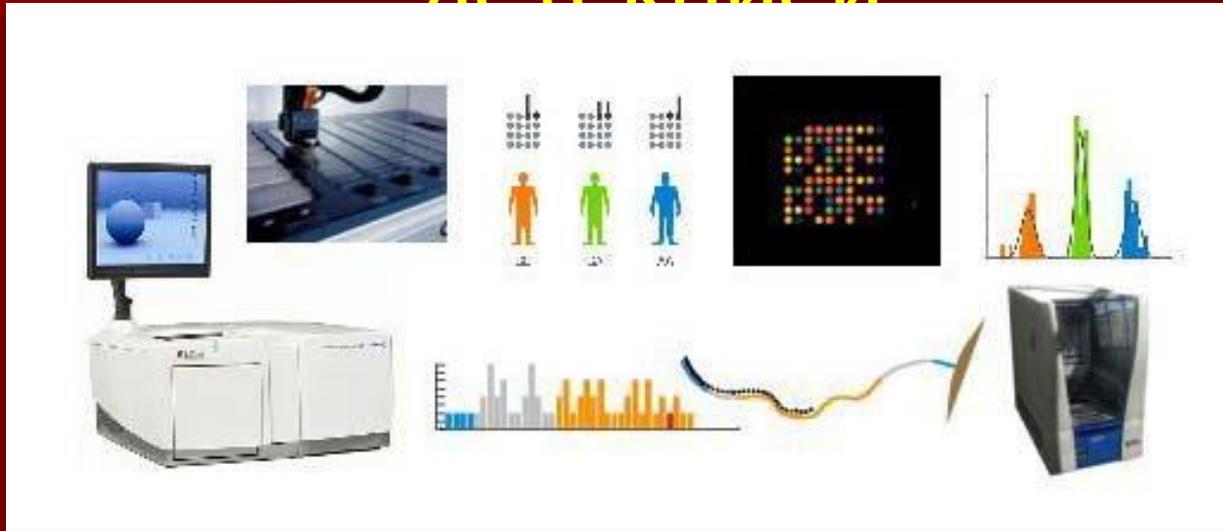
Объединяет в себе множество подходов, но основная идея всех методов основана на том, что полимеразы с разной эффективностью обрабатывают полностью спаренный и неспаренный нуклеотид на 3'-конце праймера. Современная аллель-специфичная ПЦР целиком базируется на Штоффель-фрагменте Taq-полимеразы (укороченный 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)



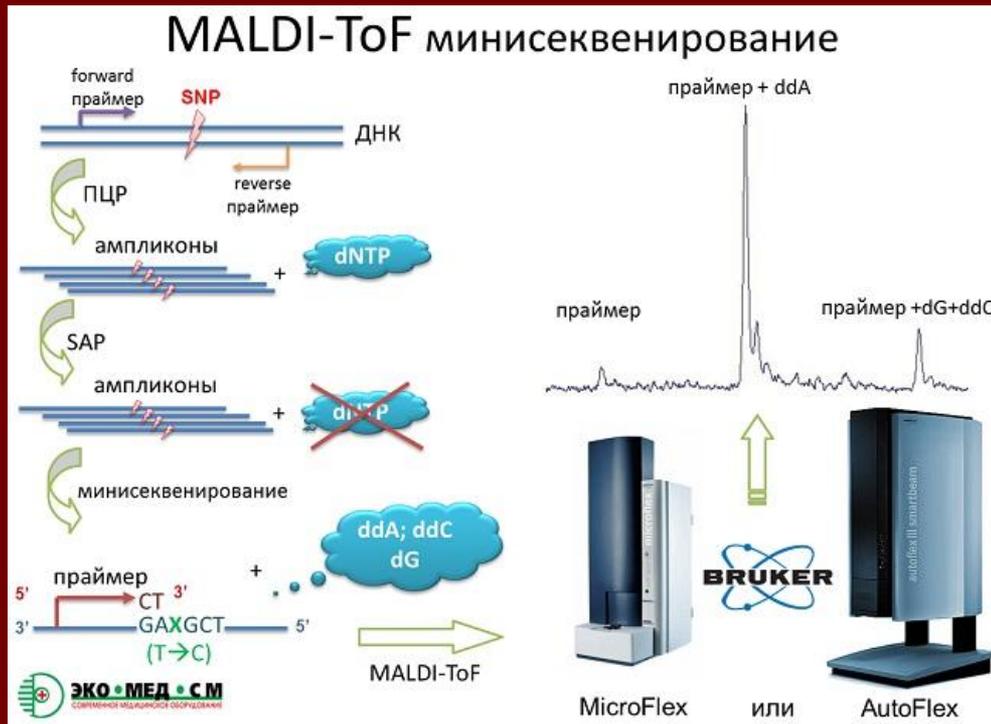
Преимуществом использования амплификатора в реальном времени является отсутствие этапа электрофореза и снижение вероятности контаминации, а также уменьшение времени анализа.

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



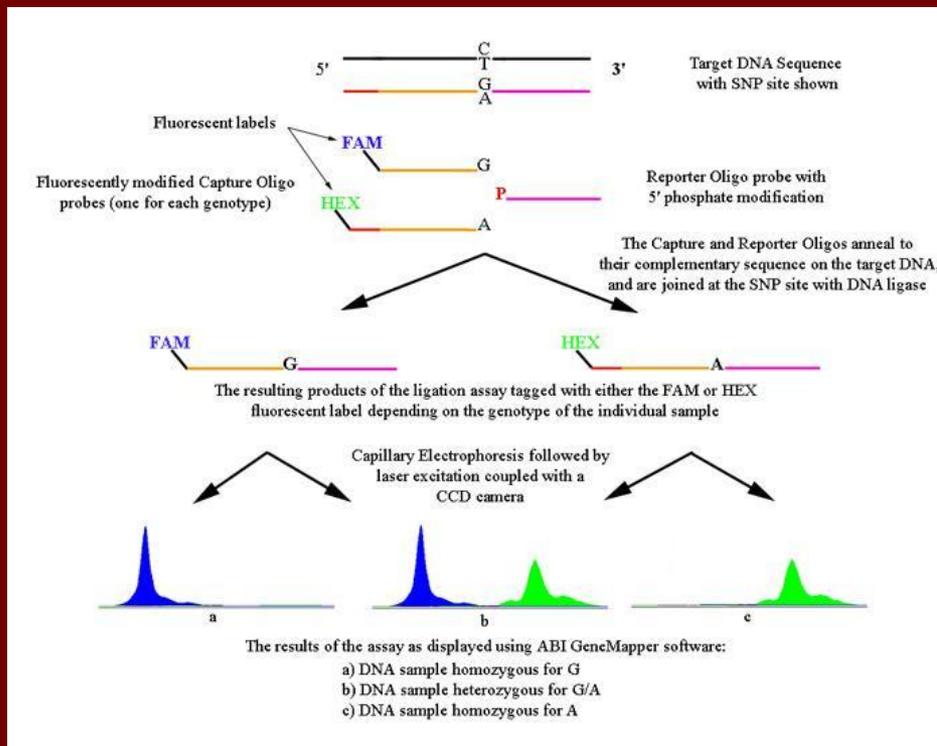
Основаны на способности полимеразы разрушать встречающиеся комплементарные олигонуклеотидные зонды ($5' \rightarrow 3'$ экзонуклеазная активность). Зонд содержит флуоресцентный краситель на $5'$ -конце и тушитель флуоресценции на $3'$ -конце. Полностью комплементарный зонд (один аллель) расщепляется 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



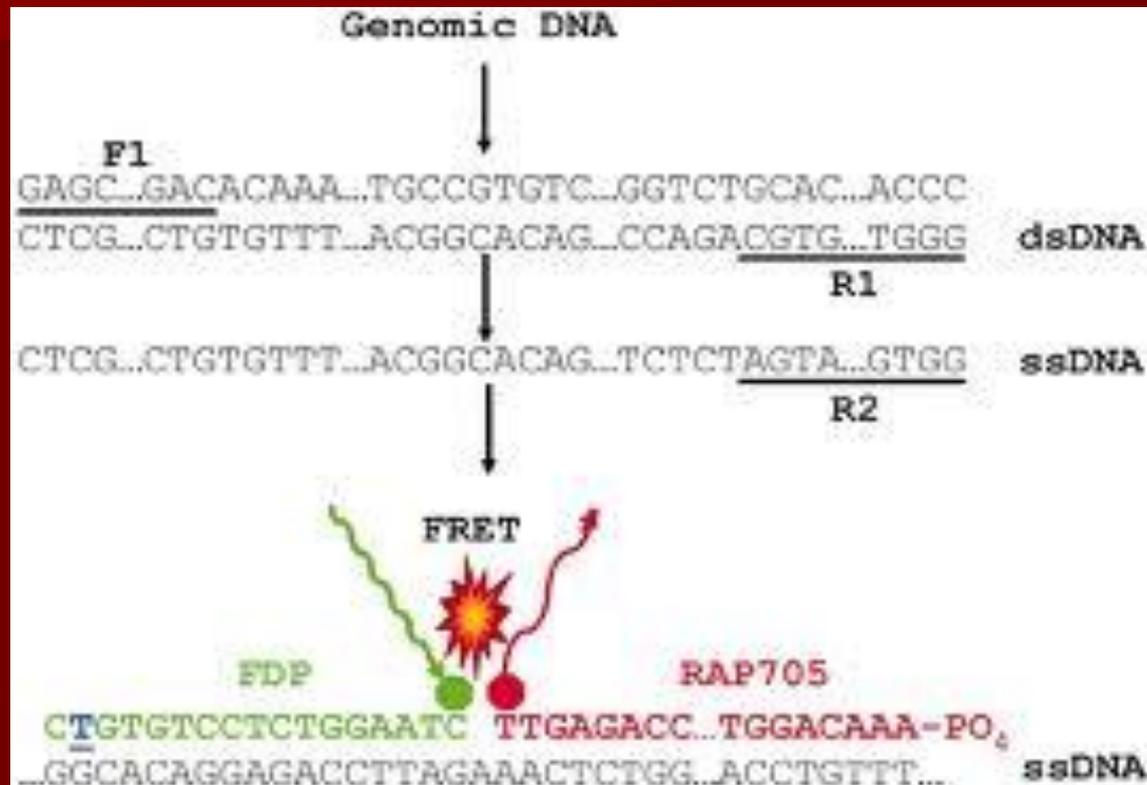
Основан на присоединении дидезоксинуклеотида, комплементарного позиции SNP, к 3`-концу праймера и последующей детекции продукта присоединения различными методами – капиллярным электрофорезом (SNaPShot), масс-спектрометрией (MassARRAY), ДНК-микрочипами.

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)

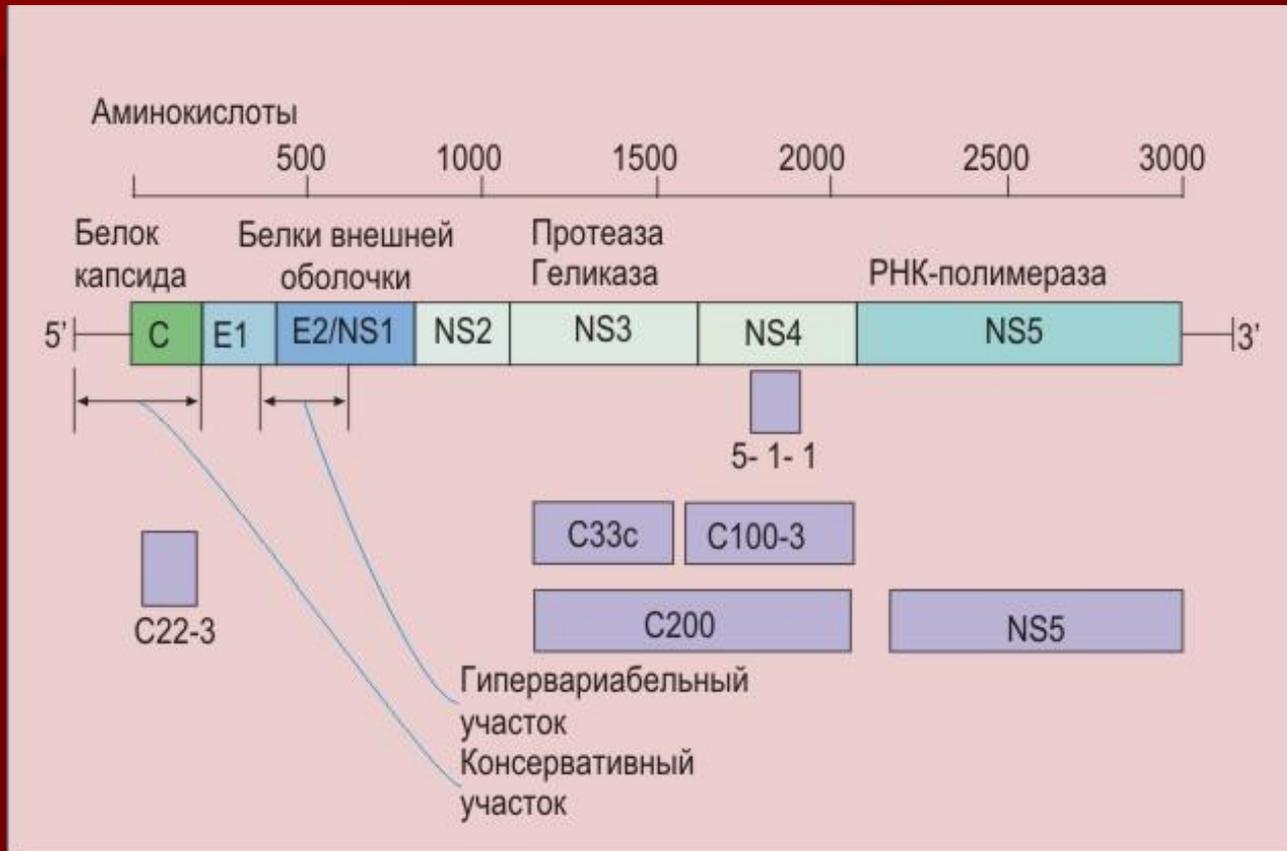


Основан на тримолекулярном взаимодействии ДНК и двух зондов в области нуклеотидной замены и различий в кривых плавления.

ДНК-диагностика



ДНК-типирование микроорганизмов

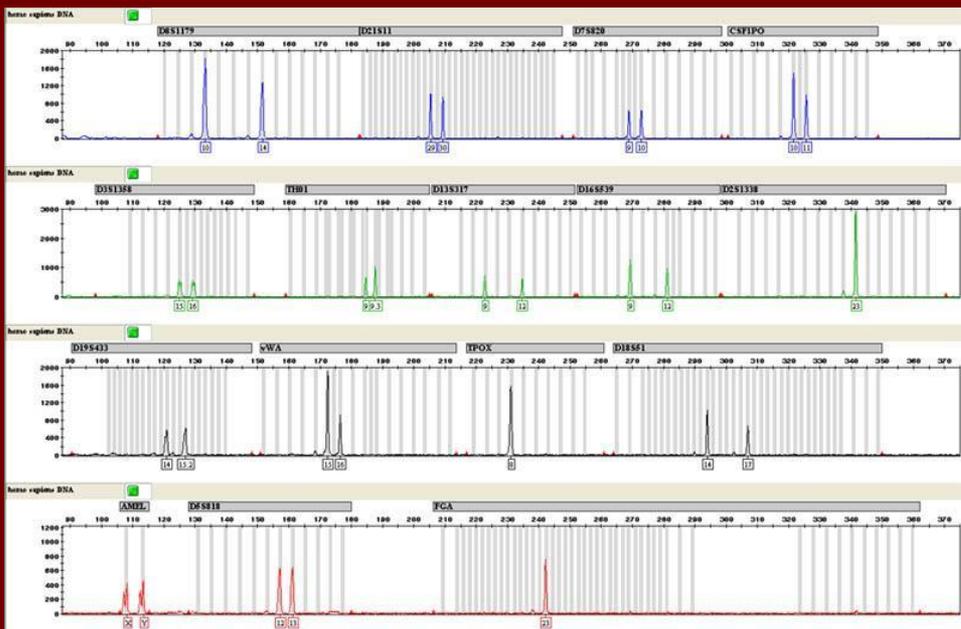


Знание источника различных штаммов патогенных микроорганизмов, вызывающих различные инфекции, позволило бы выработать эффективные меры защиты.

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**

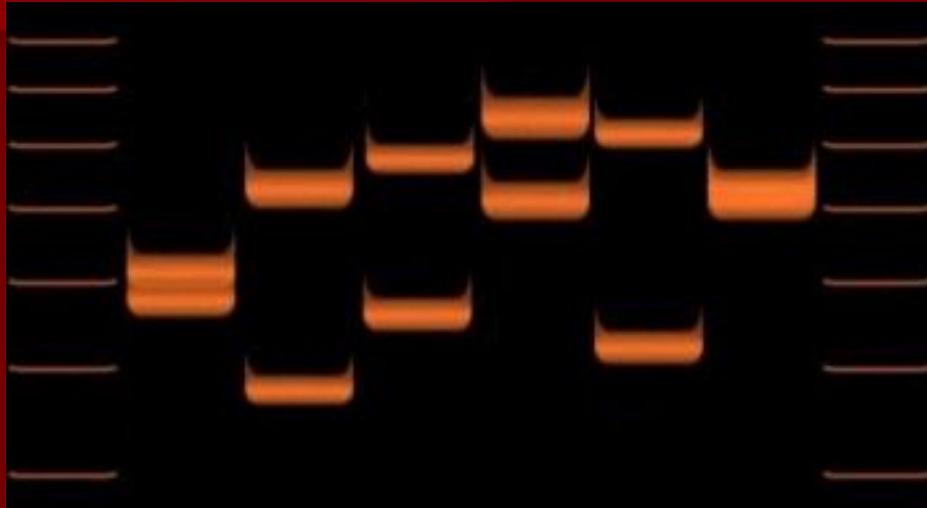
**Болезнь Вильсона-Коновалова (His3559Glu) —
нет**

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

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

Гемохроматоз (Cys282 гена HLA) - нет

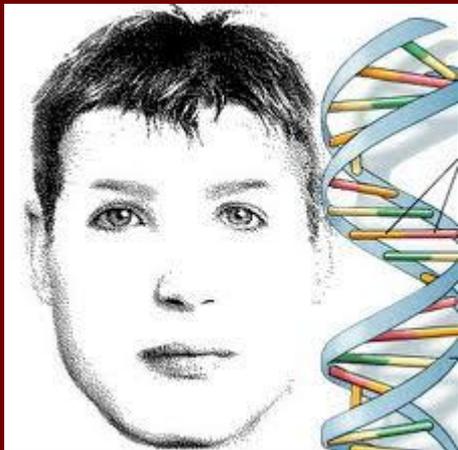
Генная дактилоскопия



Вариации тандемного повтора длин аллелей 6 индивидуумов

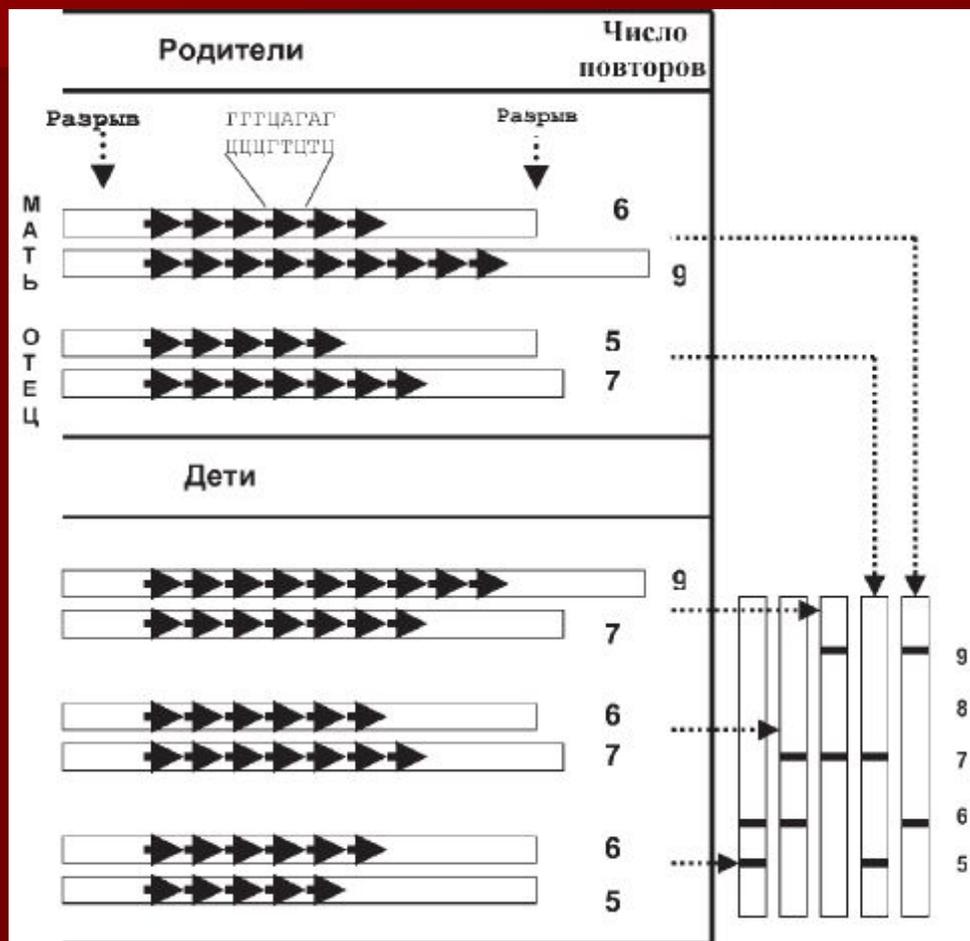
Процесс ДНК-дактилоскопии начинается с подготовки образца ДНК индивидуума (обычно называемого «контрольным образцом»). Контрольный образец затем анализируется для создания ДНК-профиля человека, используя ПЦР-анализ. ДНК-профиль затем можно сравнить с другим образцом, чтобы определить, есть ли генетическое 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 (GGCAAGAG) у родителей и детей, справа внизу — результат анализа длин микросателлитов, осуществленный с помощью электрофореза и гибридизации: все дети рождены этими родителями.