



# ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

каф. мед. биологии  
к.фарм.н., доц. Емец Т. И.  
[medbio@zsmu.zp.ua](mailto:medbio@zsmu.zp.ua)

Запорож  
ье  
2015

# ОСНОВЫ ГЕНЕТИКИ ЧЕЛОВЕКА. МЕТОДЫ ИЗУЧЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТИ.

## План:

1. Человек как объект генетических исследований. Методы изучения наследственности человека.
2. Генеалогический метод. Правила построения родословных. Генетический анализ родословных.
3. Близнецовый метод.
4. Биохимический метод.
5. Молекулярно-генетический метод.
6. Цитогенетический метод.
7. Популяционно-статистический метод.

# 1. Человек как объект генетических исследований. Методы изучения наследственности человека.

**Генетика человека** или **антропогенетика** – это наука, которая изучает закономерности наследственности и изменчивости у отдельного человека, популяции людей.

**Медицинская генетика** (раздел антропогенетики) изучает генетические закономерности возникновения и распространения наследственных болезней и вклад наследственности в возникновение наиболее тяжёлых ненаследственных патологий.

Исследования наследственности и изменчивости у человека связаны с *большими трудностями*:

- невозможно экспериментальное скрещивание;
- невозможно создать одинаковые условия для членов одной семьи, а тем более нескольких поколений;
- медленная смена поколений;
- малое число потомков в каждой семье;
- у человека сложный кариотип;
- большое количество групп сцепления;
- высокая пенетрантность и экспрессивность генов, что приводит к высокому полиморфизму признаков.

В современной клинической медицине, для решения различных генетических заданий используют такие методы:

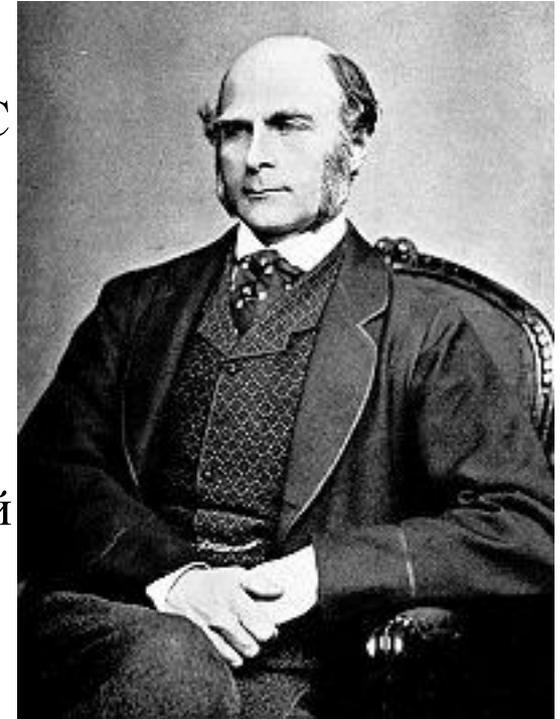
- Генеалогический
- Близнецовый
- Дерматоглифический
- Популяционно-статистический
- Биохимический
- Цитогенетический
- Генетика соматических клеток
- ДНК-анализ (молекулярно-генетический)
- Моделирования
- Постнатальной диагностики (определение генотипа в пренатальный период развития).

## 2. Генеалогический метод. Правила построения родословных. Генетический анализ родословных.

**Генеалогический.** Был предложен в 1865 году основоположником генетики человека Ф.Гальтоном. С помощью этого метода можно проследить какой-нибудь признак в ряду поколений, при этом указывая родственные связи между членами родословной. Генеалогия – это родословная человека.

*Для составления родословной:*

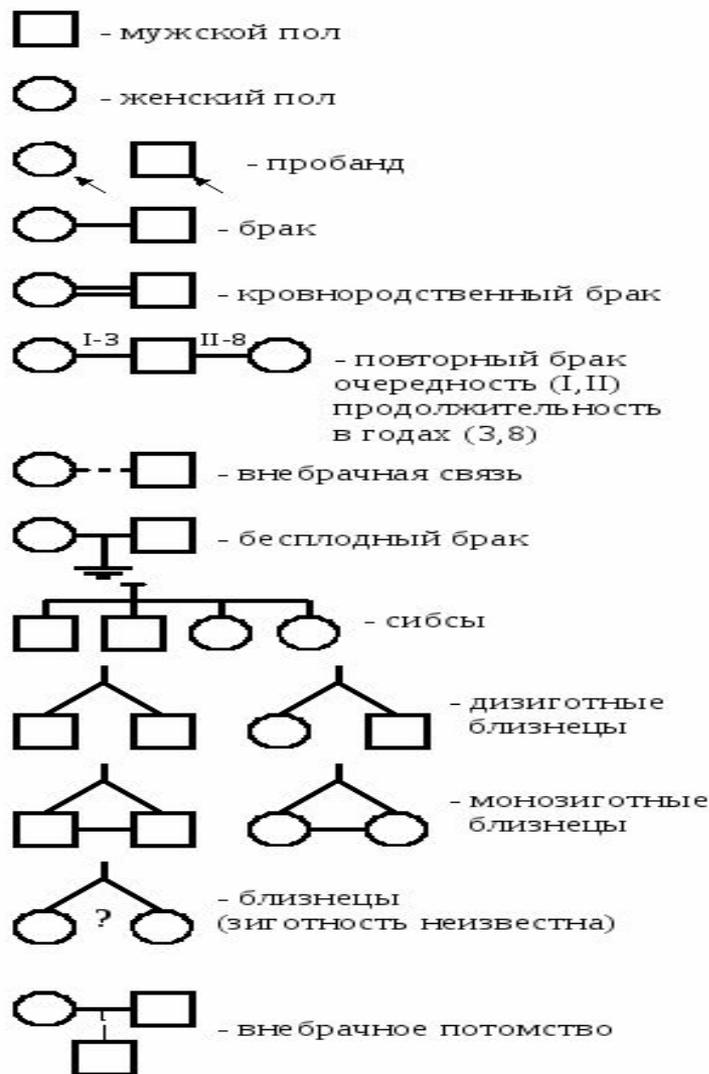
- Делают короткие записи о каждом члене родословной с точным указанием его родства по отношению к пробанду. Для этого используют и архивные данные.



***Пробанд*** – это лицо, для которого составляется родословная. Его братья и сёстры – ***сибсы***, двоюродные братья и сёстры – ***полусибсы***.

- Проводят медицинское обследование всех членов родословной.
- Делают ***графическое изображение*** родословной. Для составления родословной приняты стандартные символы.

# Стандартные символы, которые используются при составлении родословной:



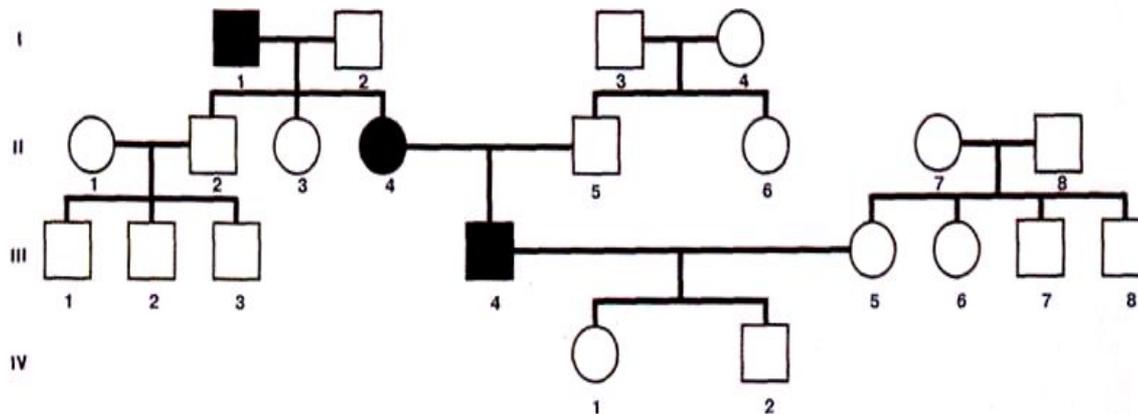
После составления родословной, начинается второй этап – *генеалогический анализ*.

Цель: установление генетических закономерностей.

Определяют:

- 1) наследственный ли признак;
- 2) если признак наследственный, то определяют тип наследования: доминантный, рецессивный, аутосомный, сцепленный с полом;
- 3) определяют зиготность пробанда, группы сцепления, пенетрантность и экспрессивность гена.

Всё это необходимо, чтобы сделать *расчёт риска* проявления патологии у потомков, выяснить, от кого и когда эта патология пришла.



Пример родословной семьи, где наследуется катаракта: больные – члены семьи I-1, II-4, III-4.

Если признак одинаково часто встречается у мужчин и женщин, то ген расположен в *аутосомах*.

***Аутосомно-доминантный признак (A):***

- встречается в каждом поколении;
- у больных родителей (Aa) могут быть здоровые дети (aa);
- у здоровых родителей (aa) не может быть больных детей (A).

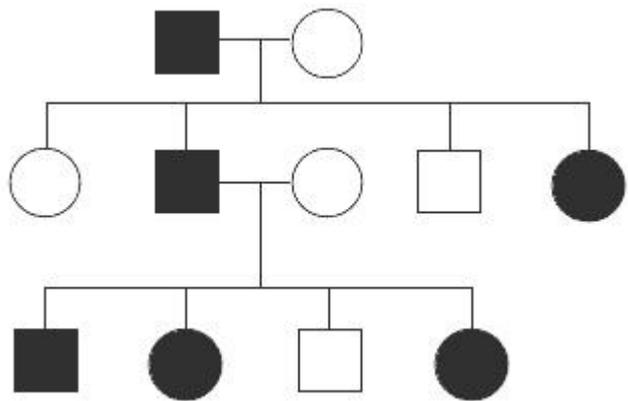
***Аутосомно-рецессивный признак (a):***

- встречается редко (иногда в одном поколении);
- у больных родителей (aa) не может быть здоровых детей (A);
- у здоровых родителей (Aa) могут быть больные дети (aa).

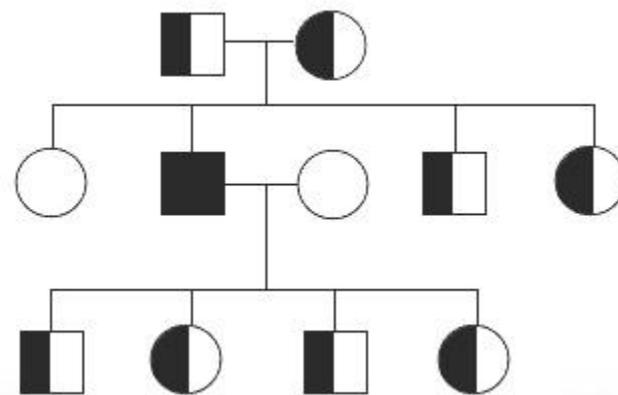
Если признак передаётся от отца к сыну из поколения в поколение, то ген этого признака расположен в *Y-хромосоме*.

Если признак чаще встречается у женщин и передаётся от больного отца всем дочерям, то это *X-доминантное наследование*.

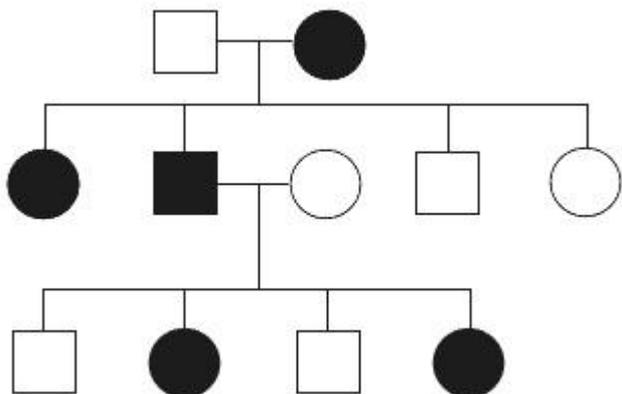
Если признак чаще встречается у мужчин и передаётся от больного деда через мать-носительницу



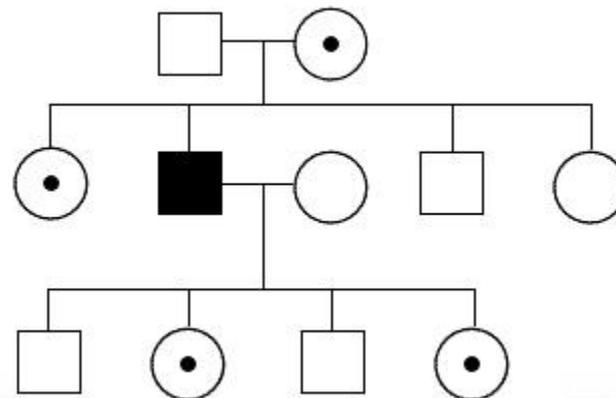
Родословная при аутосомно-доминантном типе наследования.



Родословная при аутосомно-рецессивном типе наследования.



X-сцепленное доминантное наследование.



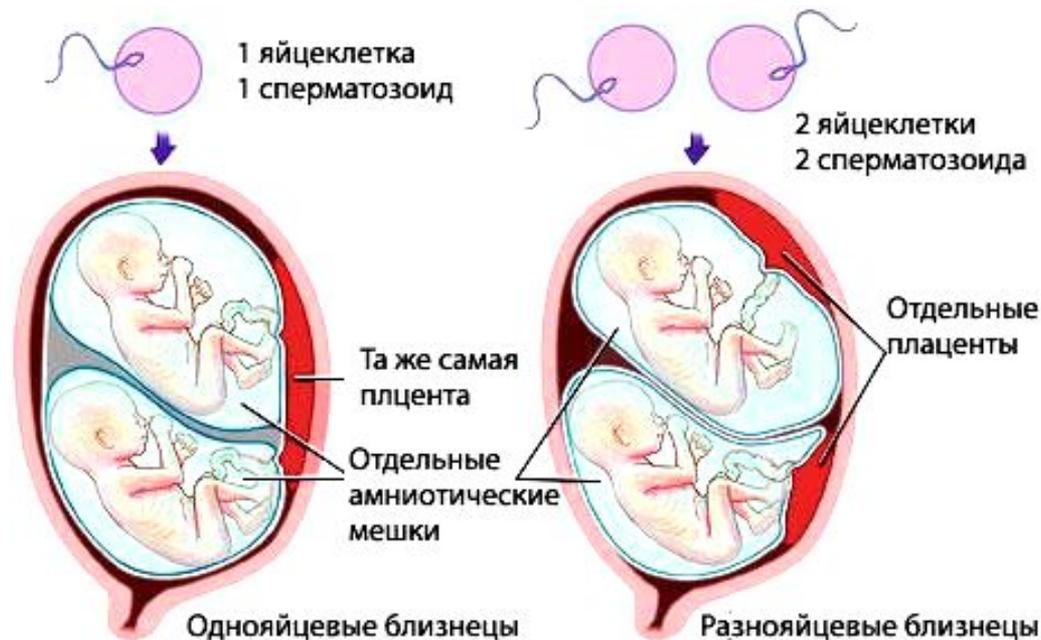
X-сцепленное рецессивное наследование.

### 3. Близнецовый метод. Определение влияния генотипа и окружающей среды в проявлении патологических признаков человека.

- **Близнецовый** – один из наиболее ранних методов изучения генетики человека. Близнецовый метод исследования был предложен в 1876 р. Ф. Гальтоном. Он выделил среди близнецов две группы: однояйцовые (монозиготные) и дваияйцовые (дизиготные).
- Близнецовый метод используется в генетике человека для того, чтобы оценить:
  - степень влияния наследственности и среды на развитие какого-нибудь нормального или патологического признака;
  - пенетрантность и экспрессивность гена;
  - эффективность использования лекарств;
  - эффективность методов обучения и воспитания;коэффициент IQ.

## Этапы близнецового метода:

- для наблюдения подбирают пары близнецов одного пола;
- определяют зиготность близнецов:
  - *МЗ* – развиваются из одной зиготы, имеют 100% одинаковый генотип (одинаковую группу крови, пол, рисунки кожи и т. д.), 100% приживаемость трансплантанта;
  - *ДЗ* – развиваются из разных зигот и похожи как родные братья и сёстры.
- определяют % сходства в группах моно- и дизиготных близнецов.



Для оценки роли наследственности в развитии того или иного признака делают расчёты по формуле Хольцингера:

$$H = \frac{\% \text{ схождения МЗ}}{100 \%} - \frac{\% \text{ схождения ДЗ}}{\% \text{ схождения ДЗ}}$$

где H – коэффициент наследственности,  
МЗ – однояйцовые близнецы,  
ДЗ – двуяйцовые близнецы.

При  $H = 0,7-1$  признак наследственный;  
при  $H = 0-0,3$  основное влияние оказывает среда;  
при  $H = 0,4-0,6$  наследственность и среда одинаково влияют на формирование признака (**мультифакториальный**).

#### 4. Биохимический метод.

- Биохимический метод основан А.Гарродом в 1902 году.

Этот метод позволяет изучить фенотипический эффект гена при изменении структуры ферментативного белка. Изменение последовательности или количества нуклеотидов в гене приводит к нарушению кода ДНК, а значит и к нарушению структуры белковых молекул. Следствием этого является снижение активности фермента или его отсутствие, накопление необычных продуктов обмена, что и приводит к патологии.



Биохимическим методом диагностируют болезни обмена веществ, устанавливают гетерозиготность родителей. С помощью биохимических методов открыто около 5000 молекулярных болезней. В последние годы в разных странах разрабатываются и используются для массовых исследований специальные программы.

## Биохимический метод

- **Первый этап – скрининг-программа** (англ. screening – просеивание). Для этого этапа обычно используется небольшое количество простых, доступных методик (экспресс-методов): химических или микробиологических. Так выделяют группу риска.
- **На втором этапе** проводится уточнение (подтверждение диагноза или отклонение при ложно-положительной реакции на первом этапе). Для этого используются точные хроматографические, масс-спектрометрические и др. методы определения ферментов, аминокислот и т. п.

## 5. Молекулярно-генетический метод.

**Молекулярно-генетический метод (ДНК-анализ)** – это определение последовательности нуклеотидов в ДНК, которое позволяет установить истинную причину болезни.

При этом методе:

- клонируют ДНК и получают большое число фрагментов (их можно использовать для проведения анализа или получения активных функциональных белков, которые можно использовать при лечении генных болезней).
- для определения локализации генной мутации используют отдельные фрагменты ДНК – ДНК-зонды (последовательность нуклеотидов известна). Проводят гибридизацию ДНК-зондов здорового человека и обследуемого. Если ДНК обследуемого в норме, то гибридизация будет полной. Если есть изменения, то тогда методом электрофореза определяют нарушения в структуре ДНК. В последнее время чаще используют FISH-анализ - специально окрашенные зонды ДНК.

Метод позволяет изучить дефект гена, хромосом и следить за эффективностью терапии; устанавливать генетическое родство, совместимость тканей.

## 6. Цитогенетический метод.

**Цитогенетический метод.** Основан на микроскопическом исследовании структуры и количества хромосом.

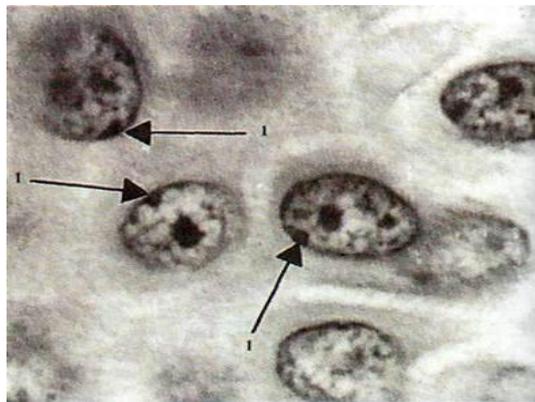
**Цитогенетический метод позволяет:**

- Изучить кариотип организма;
- Изучить типы и причины возникновения хромосомных мутаций;
- Диагностировать хромосомные болезни;
- Определить генетический пол организма при фенотипическом нарушении.

**Цитогенетический метод включает:**

- метод метафазной пластинки.
  - метод полового хроматина;
- 1) Метод определения ***полового хроматина*** используют для изучения числа половых хромосом в интерфазных ядрах. Это косвенное определение числа хромосом.

В 1949 г. М. Барр и Ч. Бэртрам в ядрах нейронов кошки обнаружили небольшое ярко окрашенное тельце. Позже учёные доказали, что оно содержится только в ядрах клеток самок. У самцов его нет. Это тельце назвали *тельце Барра*. Подобные тельца были обнаружены у организмов с половыми хромосомами XX.



Половой хроматин (тельца Барра).  
Показано стрелкой.

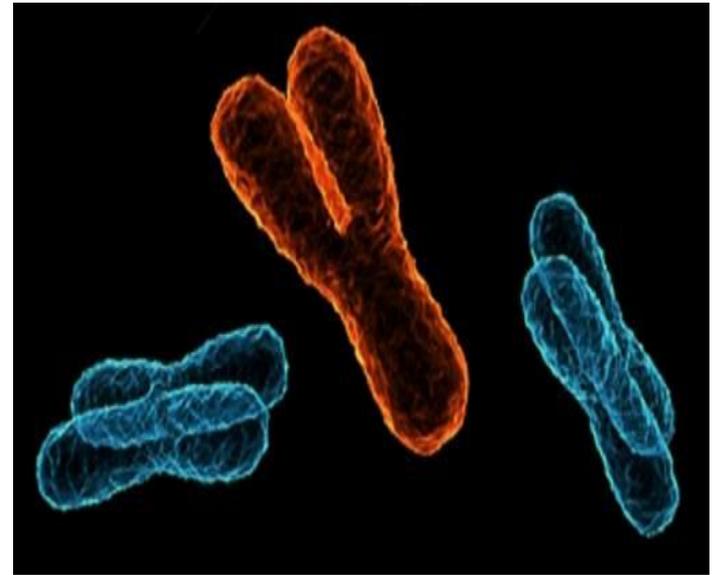
*Тельце Барра (половой хроматин)* – это спирализованная X-хромосома, которая инактивируется в эмбриогенезе до развития половых желез. В норме у женщин в 20-60 % клеток в ядре содержится одно тельце полового хроматина. Количество глыбок полового хроматина всегда на одну меньше числа X-хромосом. Чаще всего половой хроматин определяют в эпителиальных клетках слизистой оболочки щеки (буккальный соскоб), а также в нейтрофилах в виде выроста ядра (барабанной палочки).

Определение полового хроматина используют для диагностики болезней, вызванных нарушением числа X-хромосом, экспресс-диагностики пола даже по остаткам ткани. Например: у женщины с кариотипом 45,X0 (синдром Шерешевского-Тернера, моносомия-X) и в норме у мужчин XY ядра клеток не содержат полового хроматина. При синдроме трисомии-X у женщины образуется две глыбки, у мужчины с кариотипом 47 (XXY) – одна глыбка хроматина, с кариотипом 48, XXXY – две.



Связь между числом X-хромосом (I), количеством телец Барра в клетках слизистой оболочки ротовой полости (II), и “барабанных палочек” в ядрах лейкоцитов (III).

**У-хроматин** (синоним F-тельце) – это частица, которая при окрашивании ядра флюорисцентными красителями интенсивно светится и отличается от других хромосом. Для определения У-полового хроматина мазки слизистой щеки мужчины или клетки волосяной луковицы и др. окрашивают акрихином и рассматривают в люминесцентный микроскоп. Количество У-телец равно количеству У-хромосом в кариотипе.



- 2) Метод *метафазной пластинки (кариотипирования)* позволяет изучить число и структуру хромосом. Он используется для диагностики множества наследственных болезней, изучения хромосомных аномалий в клетках.

**Метод состоит из следующих этапов:**

### *Получение хромосом*

- Для того чтобы приготовить метафазную пластинку чаще всего берут клетки периферической крови (лимфоциты). Фракцию лимфоцитов получают в результате центрифугирования крови. Затем для стимуляции митоза добавляют фитогемагглютинин (питательная среда), а чтобы остановить митоз – колхицин (разрушает нити веретена деления). После этого клетки обрабатывают гипотоническим раствором. Клеточные мембраны разрываются, и хромосомы свободно лежат на некотором расстоянии друг от друга (метафазные пластинки). Культуру фиксируют и готовят препараты.

## Окрашивание хромосом

- Препарат окрашивают красителями в зависимости от задач исследования:
  - общее – для подсчёта числа хромосом;
  - дифференциальное: R, G – для определения гомологичных хромосом, Q, C – для определения aberrаций, происхождения хромосом.
- Накрывают покровным стеклом, рассматривают под микроскопом (или делают микрофотографии).

## Анализ хромосом

- Изучают хромосомы: длину, форму, расположение центромеры и др.
- Составляют кариограмму.

**Кариограмма** – это расположение по порядку каждой пары хромосом по величине: от большей к меньшей, отдельно выносят половые хромосомы.

## 7. Популяционно-статистический метод.

**Популяционно-статистический метод.** Изучают генетическую структуру популяции в одном или нескольких поколениях.

**Популяционно-статистический метод позволяет рассчитать:**

- частоту проявления в популяции доминантных и рецессивных генов и различные генотипы по этим аллелям (генетическую структуру популяций);
- выяснить распространение в популяции наследственных болезней. Это важно для профилактической и социальной медицины.
- изучить скорость мутационного процесса и его причины (роль факторов внешней среды в возникновении и распространении мутаций).

Чтобы рассчитать генетическую структуру популяции применяют закон генетического равновесия *Харди-Вайнберга*. Он позволяет установить соотношение генов и генотипов в идеальной популяции.

**Идеальная популяция характеризуется:**

- большим числом особей (для человека более 4500);
- панмиксией (свободное скрещивание);
- отсутствием мутаций;
- отсутствием естественного отбора;
- отсутствием миграций гена.

Математически закон Харди-Вайнберга можно изобразить формулой:

$$p(A) + q(a) = 1(100\%),$$

где  $p$  и  $q$  – частоты проявления аллелей  $A$  и  $a$  соответствующего гена. Если преобразовать эту формулу, то можно рассчитать частоту людей с различным генотипом:

$$p^2(AA) + 2pq(Aa) + q^2(aa) = 1(100\%)$$

Это необходимо для разработки мер профилактики наследственных болезней.

**Популяционная генетика установила, что есть гены:**

- **универсальные**, которые имеют повсеместное распространение (дальтонизм встречается у 7% мужчин и у 0,5% женщин).
- **локальные**, которые распространены в определённых районах (талассемия, серповидно-клеточная анемия).