

Методы изучения наследственности человека



Особенности человека как объекта генетических исследований



- Наследственность человека подчиняется тем же биологическим закономерностям, что и наследственность всех живых существ
- В силу целого ряда причин наследственность человека трудно поддается изучению:
 1. Относительно одинакова продолжительность жизни исследователя и объекта его изучения, поэтому исследователь может наблюдать только 3-4 поколения
 2. Относительно поздно наступающая половая зрелость
 3. Сравнительно малое число потомков
 4. Большое число хромосом и сравнительно большое число генов
 5. Гибридологический анализ, применяемый при изучении наследственности растений и животных, - абсолютно неприменим человеку по этическим принципам и исследователи могут наблюдать лишь случайно полученные результаты
 6. Множество компенсирующих систем, невозможность полностью уравнивать условия жизни людей осложняет изучение влияния наследственности на фенотипические свойства и признаки человека.

Генеалогический метод



- Это метод изучения родословных
- Метод включает 2 последовательных этапа:
 - составление родословной и её графическое изображение
 - генетический анализ полученных данных
- Задачами метода является:
 - установление наследственного характера признака
 - определение типа наследования признака или заболевания
 - изучение явления сцепленного наследования генов и картирование хромосом
 - анализ механизмов взаимодействия генов
 - изучение мутационного процесса
 - определение степени пенетрантности аллелей
- Метод лежит в основе медико – генетического консультирования
- **Составление родословной** – сбор сведений о семье – начинается с человека обратившегося к врачу-генетику (с пробанда)
- Чаще родословная составляется с целью анализа наследования одного признака
- При составлении родословной используются символы

Анализ родословной



- Анализ родословной включает в себя следующие этапы:
 - установление является ли данный признак наследственным. Если признак в родословной встречается несколько раз в разных поколениях, то можно предположить, что этот признак имеет наследственную природу
 - определение типа наследования признака, для чего обращают внимание на следующие моменты:
 1. встречается ли изучаемый признак во всех поколениях
 2. многие ли члены семьи обладают признаком
 3. одинакова ли его частота у лиц обоих полов
 4. лицам какого пола передаётся признак от больного отца и больной матери
 5. у лиц какого пола он встречается чаще
 6. есть ли в родословной семье, где у обоих больных родителей рождались здоровые дети
 7. есть ли в родословной семье, где у обоих больных родителей рождались больные дети
 8. Какая часть потомства имеет наследуемый признак в семьях, где болен один из родителей

Близнецовый метод



- Близнецовый метод представляет собой исследование генетических особенностей на близнецах
- Основная задача его – **определение соотносительной роли наследственности и среды в развитии признака**
- Метод позволяет определить пенетрантность аллелей и оценивать действие на организм некоторых внешних факторов (лечебных препаратов, воспитания, обучения и т. д.)
- Близнецовый метод включает в себя следующие этапы:
 - подбор близнецовых пар
 - определение зиготности близнецов
 - сопоставление группы моно- и дизиготных близнецов по изучаемому признаку. При этом определяется коэффициент парной конкордантности.

$$K_{\text{п}} = \frac{C}{C+D}, \quad \text{где } C\text{-число конкордантных пар}$$

D- число дисконкордантных пар

Для объективности суждения о роли наследственности в развитии признака используют критерий Н

КпМБ – КпДБ

$$H = \frac{\text{КпМБ} - \text{КпДБ}}{100 - \text{КпДБ}}$$



- При значениях H , приближающихся к нулю (**0 – 0,3**), считают, что признак развивается под действием факторов внешней среды, например, травмы.
- При значениях H , приближающихся к единице (**0,7 – 1,0**), признак развивается под действием генетических факторов. Это **наследственно обусловленные** признаки (гемофилия, шизофрения...)
- Средние значения H (**от 0,3 до 0,7**), свидетельствуют о том, что признак развивается под действием факторов внешней среды на фоне генетической предрасположенности. Это заболевания с **наследственной предрасположенностью** (туберкулёз, ревматизм...)

Понимание природы болезней с наследственной предрасположенностью позволяет выявлять главные гены предрасположенности к конкретным заболеваниям и оценить значимость продуктов подобных генов, например холестерина, иммуноглобулина E, фактора VIII свёртывания крови и др. На основе этого разрабатываются и внедряются новые методы профилактики и лечения онкологических, аллергических и др. Заболеваний.

Близнецовый метод широко применяется в клинической фармакологии для оценки действия новых лекарственных препаратов и схем лечения.

Цитогенетический метод



- Метод представляет собой изучение отдельных хромосом и кариотипа в целом
- Он используется для диагностики хромосомных болезней

Метод включает в себя 4 этапа:

- 1. Получение большого количества делящихся клеток.** Это достигается культивированием клеточного материала (лейкоцитов крови, клеток опухолей, клеток зародыша...) в присутствии фитогемагглютинина - вещества, стимулирующего клетки у ускоренной пролиферации
- 2. Получение препаратов метафазных пластинок** с отдельно лежащими хромосомами. В культуру клеток вводят **колхицин**, ахроматиновые нити веретена деления разрушаются, клетки задерживаются на стадии метафазы митоза. После обработки препарата гипотоническим раствором, хромосомы распределяются по всей цитоплазме.
- 3. Окраска хромосом.** Хромосомы окрашиваются в фиолетовый цвет красителем Гимзы. Особые модификации окраски позволяют идентифицировать все хромосомы кариотипа, благодаря выявлению светлых и более тёмных участков



4. Изучение количества и структуры хромосом в кариотипе.

производят микроскопирование препаратов, фотографируют метафазные пластинки с удачно расположенными хромосомами, классифицируют хромосомы по группам, пересчитывают, изучают структуру отдельных пар хромосом и ставят цитогенетический диагноз.

Цитогенетический метод позволяет выявить только хромосомные и геномные мутации.

Цитогенетический метод изучает также половой хроматин

Молекулярно – генетические методы



Молекулярно-генетические методы предназначены для выявления особенностей в структуре ДНК

- В основе анализа ДНК лежат две её характеристики:
- Последовательность составляющих ДНК нуклеотидов имеет индивидуальные особенности и каждого человека, кроме однояйцевых близнецов
- У каждого человека во всех соматических клетках структура ДНК совершенно одинакова

ДНК может быть выделена из любого типа клеток организма, содержащих ядра. Чаще всего для получения образцов ДНК используют лейкоциты периферической крови и клетки ворсин хориона.

ДНК И РНК генное зондирование (гибризационный анализ)

Регистрация последовательностей до 30 пар нуклеотидов осуществляется с помощью синтезированных с радиоактивным мечением участков ДНК, называемых **зондами**.

Зонды гибридизуют с изучаемыми образцами ДНК

ДНК И РНК генное зондирование (гибридизационный анализ)



- Если известна первичная структура нормального и мутантного аллелей искомого гена, то для обнаружения повреждения электрофореграмму экспонируют с зондом, комплементарным нормальному или мутантному гену
- Зонд по принципу комплементарности специфически соединится с нормальным, либо с мутантным геном и патология выявится путём обнаружения радиоактивных импульсов на рентгеновской плёнке после отмывания образца
- Зонд останется на образце только в случае его соответствия гену в ДНК исследуемого
- С помощью ДНК генного зондирования проводится диагностика наследственных болезней, например талассемий, фенилкетонурии и др.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)



- Метод имитирует естественную репликацию ДНК
- Он позволяет обнаружить и многократно копировать с помощью ДНК – полимеразы определённый фрагмент ДНК:
 - Первый этап состоит в денатурации искомой нуклеиновой кислоты, достиганием повышения температуры до 70 – 80 градусов С. После чего нуклеиновая кислота присутствует в растворе в виде отдельных цепей
 - На втором этапе к определённому участку каждой из противоположных цепей присоединяются **праймеры** – короткие комплементарные олигонуклеотиды. Для осуществления этого присоединения температура понижается до 37-40 С
 - На третьем этапе происходит синтез новых цепей (амплификация нуклеиновой кислоты) пр участии фермента ДНК-полимеразы. Этап протекает при высокой температуре.
 - Специальный прибор позволяет быстро менять температуру реагирующей смеси
 - В результате получается концентрация фрагмента в миллионы раз выше исходной
 - В дальнейшем продукт ПЦР подвергается электрофорезу и анализу
 - ПУР используется в дородовой диагностике (исследуются ворсины хориона)

Биохимические методы



- При биохимической диагностике оценивается фенотип организма на молекулярном уровне.
- Биохимическим методам принадлежит ведущая роль в диагностике многих моногенных болезней.
- При биохимической диагностике исследуются биологические жидкости: моча, пот, плазма и сыворотка крови, эритроциты, лейкоциты, лимфоциты.
- В биохимической диагностике наследственных болезней используются электрофорез, хроматография, спектроскопия и современные технологии – жидкостная хроматография, магнитно-резонансная спектрометрия, бомбардировка быстрыми нейтронами.
- Существуют массовые просеивающие программы диагностики среди новорожденных фенилкетонурии, врожденного гипотиреоза, врожденной гирерплазии надпочечников, муковисцедоза, галактоземии.
- Селективные диагностические программы предусматривают проверку биохимических аномалий обмена (моча, кровь) у пациентов, у которых подозревают генные наследственные болезни.

Популяционно-статистический метод



- Этот метод представляет собой изучение распространения наследственных признаков и контролирующих их генов в больших группах населения при помощи методов вариационной статистики
- Объектом изучения данного метода является популяция человека
- Популяция – это группа людей, занимающих одну территорию в течение многих поколений и свободно вступающих в брак.
- Популяции отграничены друг от друга географическими, этническими, религиозными и социальными барьерами.
- Каждая популяция характеризуется определённым генофондом (или аллелефондом)
- Популяционно-статистический метод применяется:
 - Для определения частоты встречаемости аллелей в популяции (в том числе мутантных аллелей наследственных заболеваний)
 - Для изучения мутационного процесса.
 - Для определения роли наследственности и среды в возникновении разнообразия признаков человека (нормальных и патологических)



- В основе популяционно – статистического метода лежит закон Харди – Вайнберга, или закон генетической стабильности популяций.
- Смысл закона заключается в том, что при определённых условиях соотношение частот аллелей генов , сложившееся в генофонде популяции, сохраняется неизменным в ряду поколений.