



# Тема лекции: «Человек как объект генетики. Методы изучения генетики человека».

**Хрущова Ольга Николаевна**

**Кафедра биологии ПФ**

**РНИМУ им. Н.И. Пирогова**

**Москва, 2017**

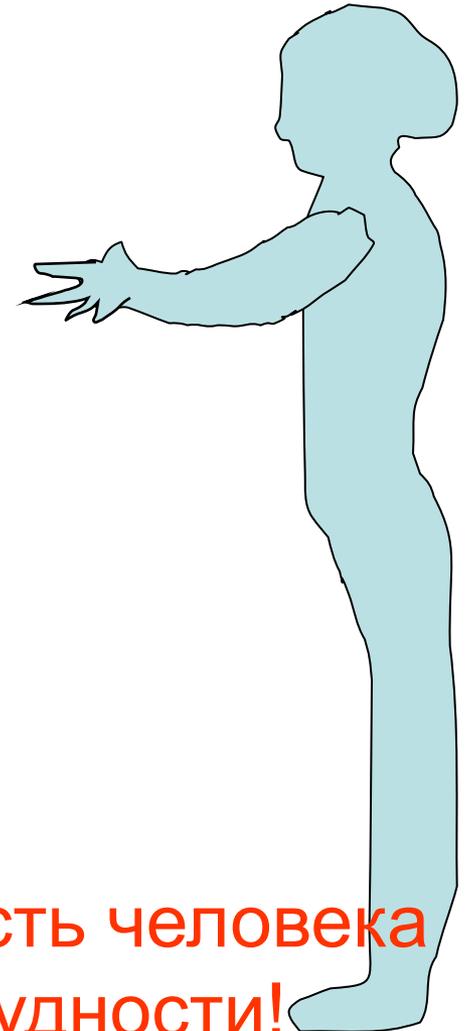
# План лекции:

1. Человек как объект генетики. Плюсы и минусы.
2. Генеалогический метод. Традиционные и нетрадиционные типы наследования.
3. Биохимический, популяционный, дерматоглифический методы.
4. Составление хромосомных карт. Генетика соматических клеток и ДНК диагностика.

# 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 человека в самом себе перевешивает все трудности!**



# Основные методы изучения генетики человека.

- **Цитогенетический** (см. лекцию о хромосомах.)
- **Близнецовый** (см. лекцию о фенотипе)
- Биохимический
- Генеалогический
- Популяционно-статистический
- Дерматоглифический
- Генетики соматических клеток
- ДНК диагностики

# Краткое напоминание задач близнецового и цитогенетического методов

**Близнецовый метод** изучает  
соотносительную роль генотипа и среды  
в развитии признака

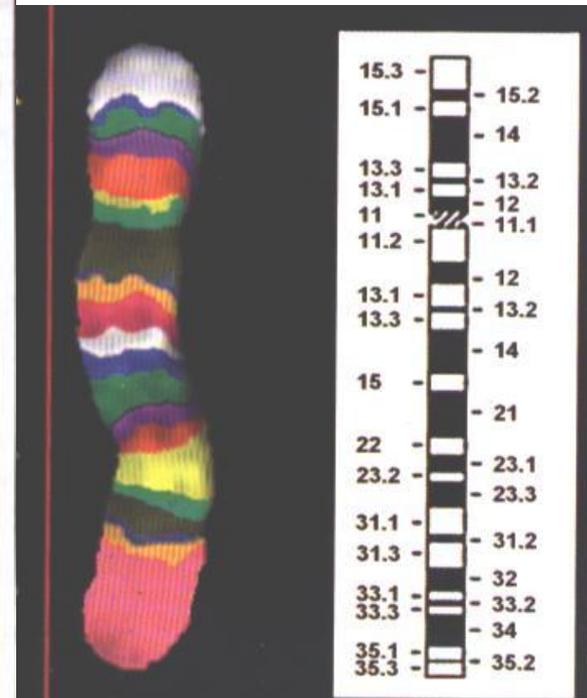
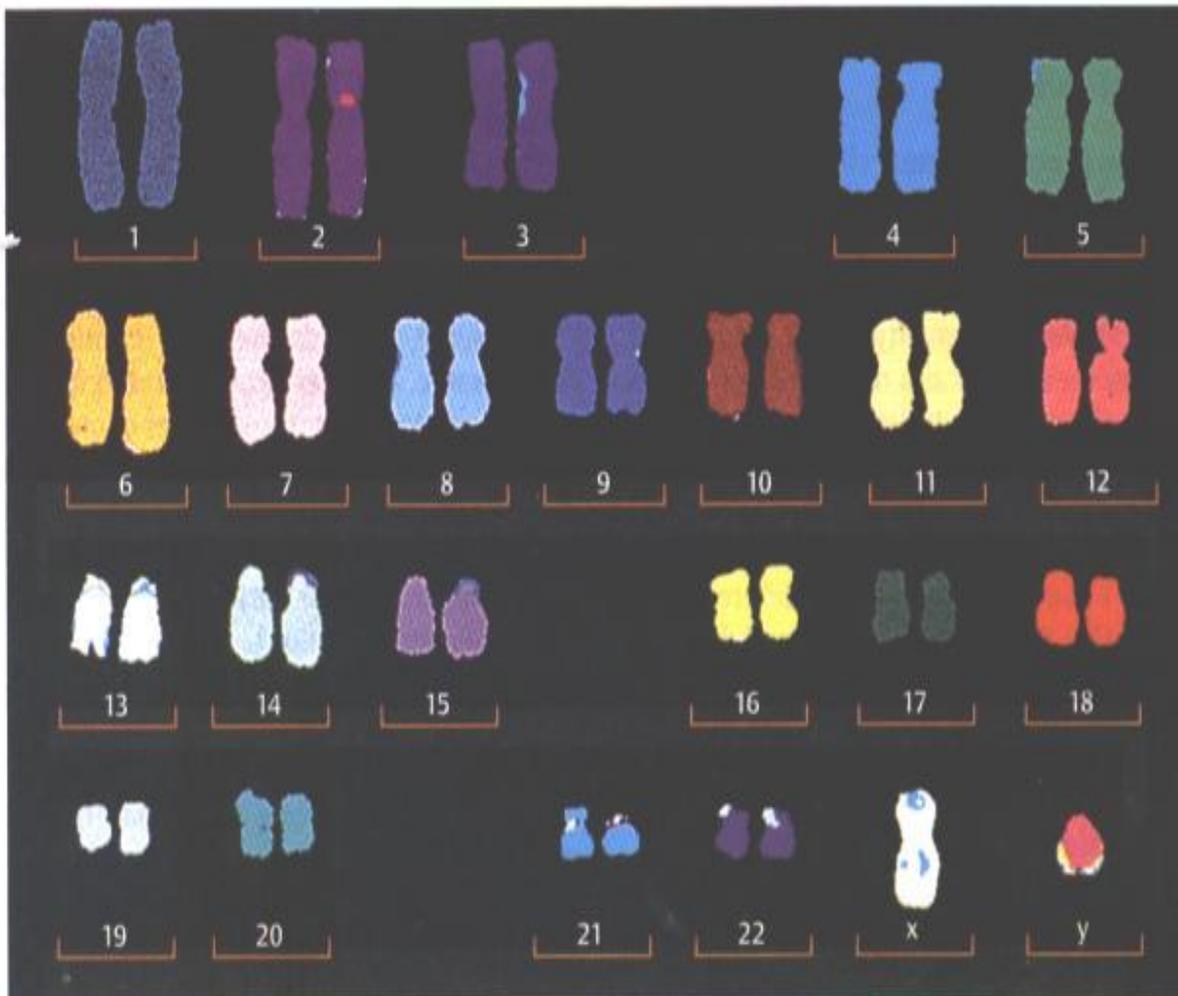
$$H = \frac{K_{\text{МБ(в\%\%)}} - K_{\text{ДБ(в \%\%)}}}{100\% - K_{\text{ДБ(в \%\%)}}}$$

H – показатель наследуемости признака (от 0 до 1)

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

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

# Цитогенетический метод изучает хромосомы и их патологию



Генеалогический метод – метод  
анализа родословных

# Генеалогический метод

Был предложен в 1883 г. Ф. Гальтоном.

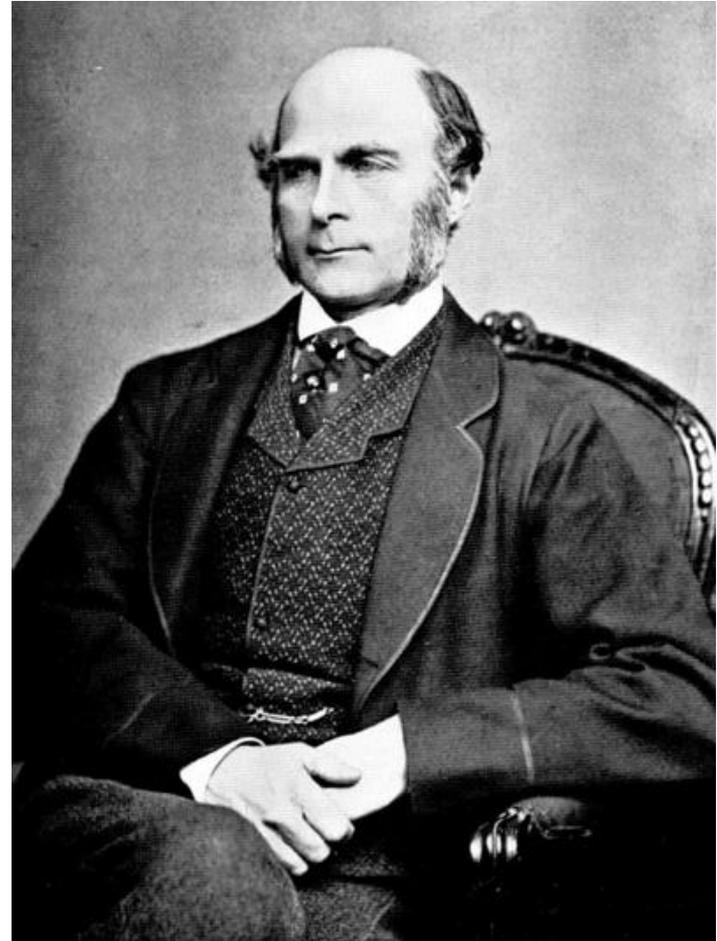
Метод позволяет установить:

- 1) является ли данный признак наследственным (по проявлению его у родственников);
- 2) тип и характер наследования (доминантный или рецессивный, аутосомный или сцепленный с полом);
- 3) зиготность лиц родословной (гомо- или гетерозиготы);
- 4) пенетрантность гена (частота его проявления);
- 5) вероятность рождения ребенка с наследственной патологией (генетический риск).

# Сэр Фрэнсис Гальтон (*Francis Galton*)

Кузен Ч.Дарвина

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



# Символы, используемые при составлении родословных

## Люди

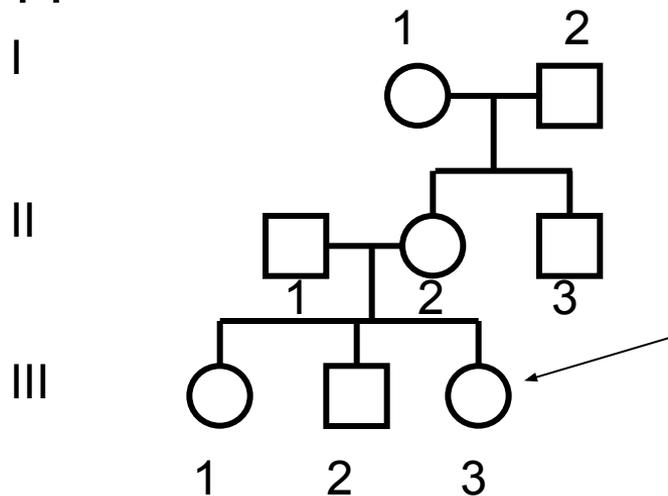
Здоровый мужчина		Больной мужчина		Гетерозиготные люди по аутосомным аллелям		Самостоятельное прерывание беременности		Female Male
Здоровая женщина		Больная женщина		Мужчина — носитель муковисцидоза		Женщина — носитель транслокации 14:21		45, XX, t(14:21)
Здоровое лицо неизвестного пола		Больной неизвестного пола		Мертворождённые дети		Терминация беременности (плод мужского пола)		Male
Пробанд мужчины		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 24/4/02
								20 weeks
	d. 1972							
	d. 4 months							

## 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 (однойяйцевые) близнецы		Разнояйцевые (дизиготные) близнецы	
Приёмные дети		Отказ от родительских прав		Донорство яйцеклетки		Донорство суррогатной яйцеклеткой	
Донорство спермы		Суррогатная мать					

# Обозначения для членов родословной и поколений семьи

- 1) Пробанд – лицо, с которого начинают исследование семьи (показывается стрелкой);
- 2) каждое поколение нумеруется римскими цифрами слева;
- 3) особи одного поколения располагаются на горизонтальной линии и нумеруются арабскими цифрами.

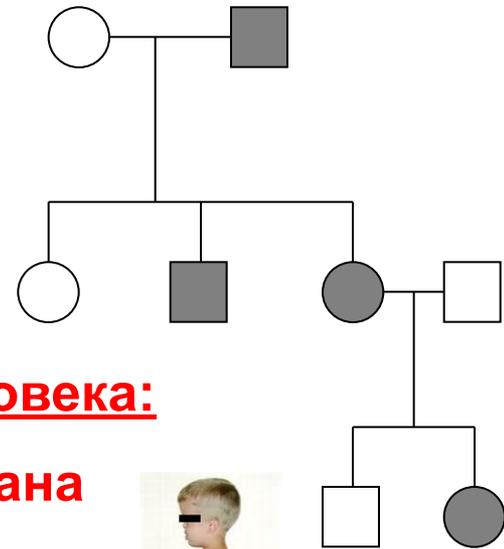


## Различают 5 основных типов моногенного наследования

- AD (аутосомно-доминантный)
- AR (аутосомно-рецессивный)
- XD (X-сцепленный доминантный)
- XR (X-сцепленный рецессивный)
- Y (Y-сцепленный, голландрический)

# 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**

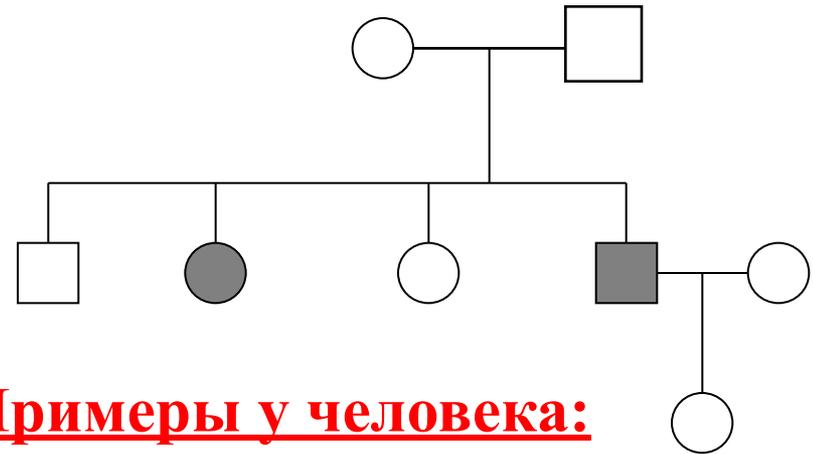
**Ахондроплазия**

**Поликистоз почек  
взрослых**



# Аутосомно-рецессивный (AR) тип наследования

1. Характерен пропуск поколений
2. Равно наследуют мужчины и женщины
3. «По горизонтали» - в одном поколении
4. Вероятность у детей 25%, если у родителей признак отсутствовал



## Примеры у человека:

**Фенилкетонурия**

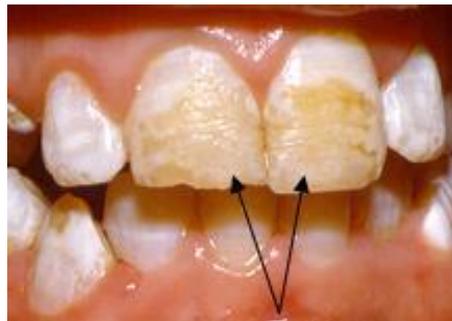
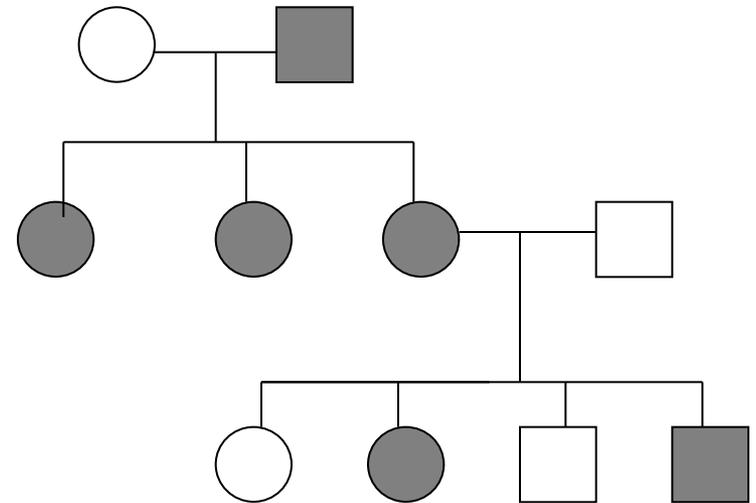
**Муковисцидоз**

**Адрено-генитальный синдром**



# 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.



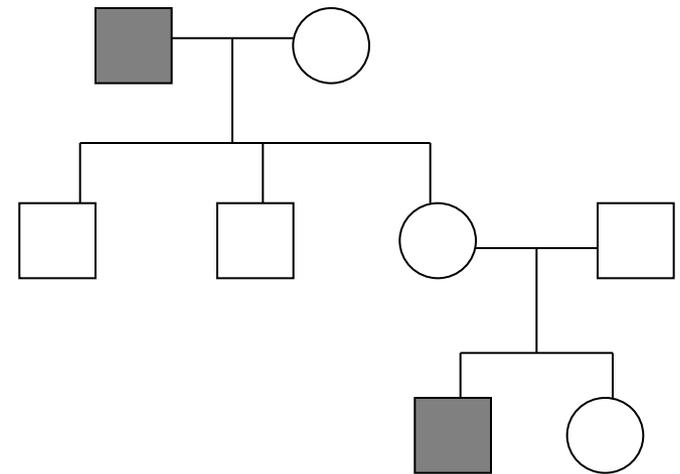
Примеры у человека:

**Рахит, резистентный к витамину Д**

**Коричневая эмаль зубов**

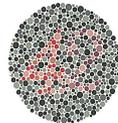
# X-сцепленный рецессивный тип наследования (XR)

- Характерен пропуск поколений (женщин-носительниц)
- У мужчин проявляется значительно чаще, чем у женщин



## Примеры у человека:

Гемофилия



Дальтонизм

Мышечная дистрофия Дюшенна

Ангидротическая эктодермальная дисплазия

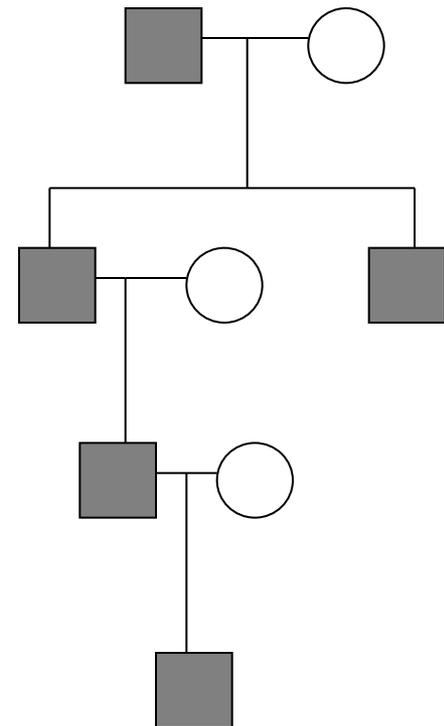
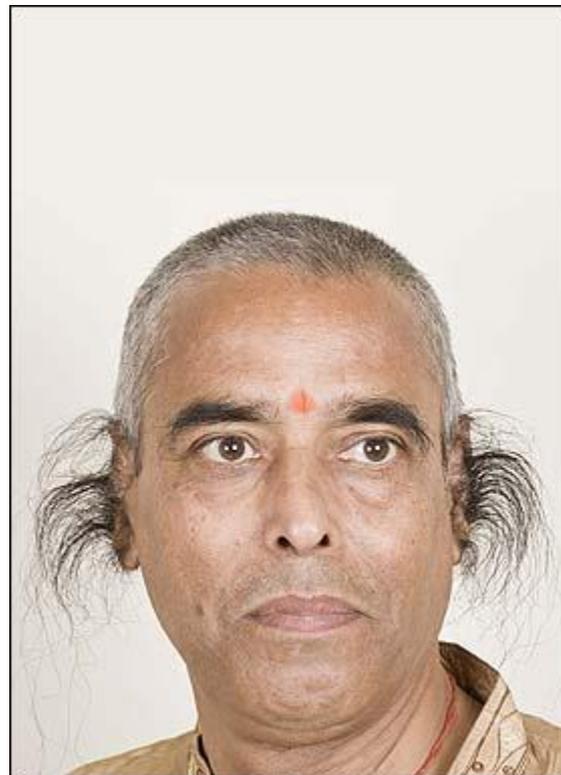


# Голандрический тип (Y) наследования

Передается по  
мужской линии  
без пропуска  
поколений

Пример у  
человека:

**Гипертрихоз  
ушной  
раковины**

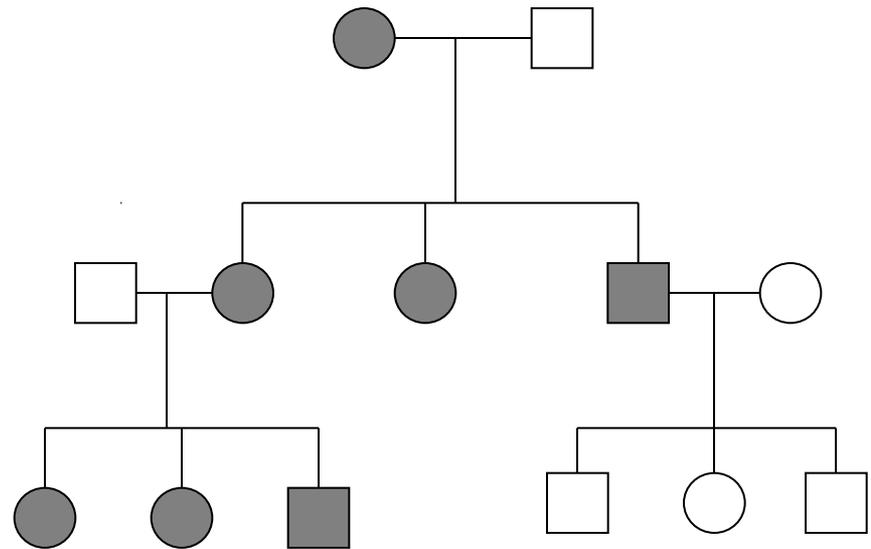


# Нетрадиционные типы наследования

1. Цитоплазматическое наследование.
2. Геномный импринтинг.
3. Феномен антиципации (Болезни экспансии нуклеотидных повторов).

# 1. Цитоплазматическое наследование

- Мутации в геноме **МИТОХОНДРИЙ**
- У растений также гены **хлоропластов.**

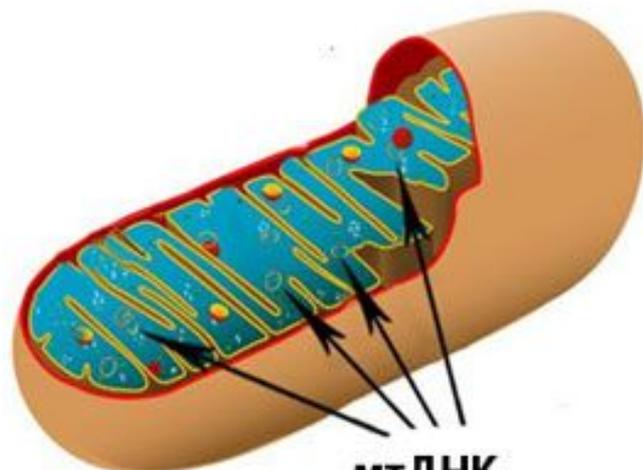


**Передается по материнской линии**

# Пестролистность – пример цитоплазматического наследования у растений



# Митохондрия



**мтДНК**  
каждая митохондрия имеет  
много копий мтДНК

Количество митохондрий в клетках сильно варьирует: от 1—2 тыс. в клетках печени до 200 тыс. в зрелых яйцеклетках. В каждой митохондрии может содержаться от 1 до 50 циклических молекул ДНК.

# Митохондриальная ДНК человека

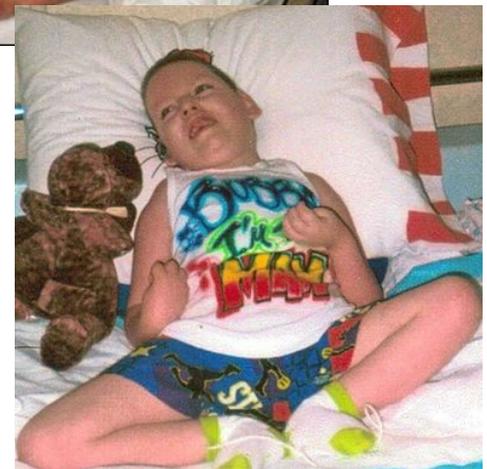


# Митохондриальные болезни у человека

## пример: митохондриальная миопатия →

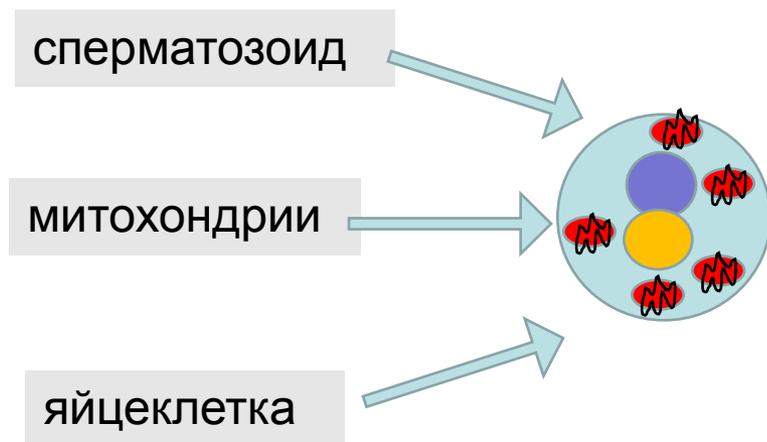
Помимо относительно распространённой митохондриальной миопатии, встречаются:

- митохондриальный сахарный диабет,
- сопровождающийся глухотой наследственная оптическая нейропатия Лебера
- синдром Вольфа-Паркинсона-Уайта
- митохондриальная нейрогастроинтестинальная энцефалопатия
- **синдром Лея или Ли (Leigh)** - подострая некротизирующая энцефаломиопатия
- энцефалопатия с изменениями белого вещества головного мозга



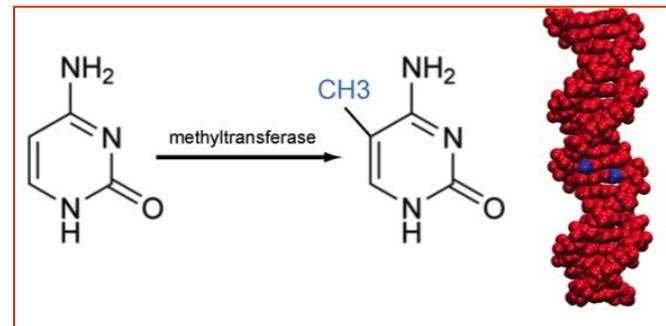
# Появился на свет первый в мире ребенок с генетическим материалом трех родителей.

Операцию по искусственному оплодотворению провели специалисты Нью-Йоркской клиники New Hope Fertility Center. К их помощи прибегла семейная пара, в которой женщина страдает редким заболеванием - синдромом Лея, поражающего центральную нервную систему. Его гены передаются как часть митохондриальной ДНК потомству. Недуг уже стал причиной смерти двух детей женщины и одного выкидыша.



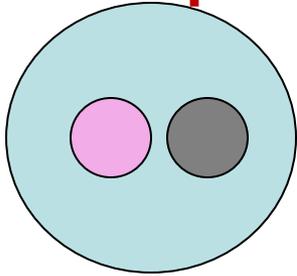
## 2. Геномный импринтинг

- **Геномный импринтинг** (т.е. запечатление) это особый вид регуляции активности генов. Аллель экспрессируется в зависимости от происхождения – отцовского или материнского.
- Термин предложен в 1960 году по аналогии с утенком – кого первого увидит, того и запомнит как маму.
  - Механизм – метилирование ДНК

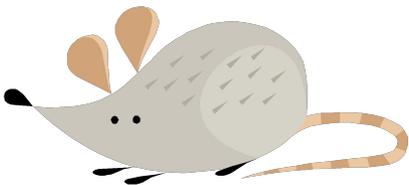


# Геномный импринтинг и развитие плаценты у мыши

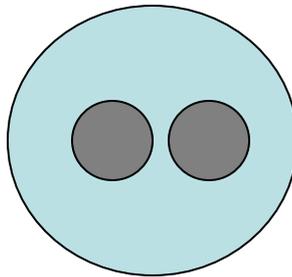
## В экспериментах на мышах



Зигота имеет 2  
пронуклеуса –  
папин и мамин



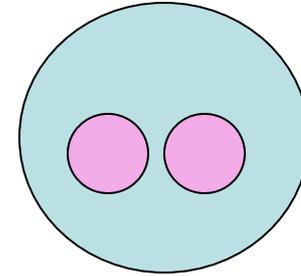
Нормальная мышь



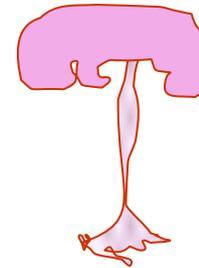
Если оба  
папиных



Плацента огромная,  
зародыш неразвит



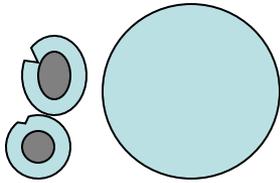
Если оба  
маминых



Зародыш сформирован,  
плацента недоразвита

# у человека

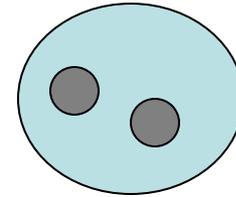
- У человека аналогично:



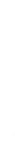
Если 2 сперматозоида оплодотворяют яйцеклетку без ядра



Истинный пузырный занос



Если же начнет развиваться диплоидная яйцеклетка



Эмбриональная тератома без плаценты

# «Война полов» - причина импринтинга?

Вот как звучит эволюционный императив млекопитающего самца, если преобразовать его в человеческие термины:

*Эта беременная самка несет мои гены в виде плода. Возможно, мне никогда больше не доведется спариться с ней. Я хочу, чтобы мой плод стал как можно больше, потому что тогда у него будет максимум шансов передать мои гены дальше.*

У самки млекопитающего эволюционный императив совершенно иной:

*Я хочу, чтобы этот плод выжил и передал мои гены дальше. Но я не хочу, чтобы для этого он истощил меня до такой степени, что я стану неспособна к воспроизводству. Я хочу иметь не только этот единственный шанс передать дальше свои гены.*

Отцовские хромосомы запускают развитие плаценты и тем самым обеспечивают максимальное питание плода; материнские хромосомы действуют в противоположном направлении. В условиях нормальной беременности создается уравновешенная патовая ситуация.

# Интенсивность импринтинга варьирует от ткани к ткани

- У мыши найдено около 100 импринтинговых генов.
- У человека вдвое меньше.
- Особенно активно импринтинговые гены экспрессируются в плаценте.
- И в мозге.
- Нарушения импринтинга лежат в основе ряда наследственных синдромов

# Синдромы Прадера-Вилли и Ангельмана

Если происходит делеция определенного района 15 хромосомы (q11.2-q13) или возникает однородительская дисомия, то проявления будут различны, если

- отсутствует материнская хромосома, активна **отцовская** – **синдром Ангельмана**
- если отцовская отсутствует, активна **материнская** – **синдром Прадера-Вилли**

## Синдром Прадера-Вилли (слева) и Ангельмана (справа)

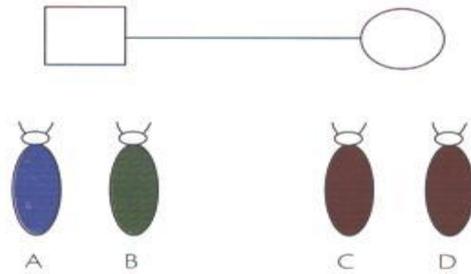


Ожирение, умственная отсталость, гипогонадизм, мышечная гипотония

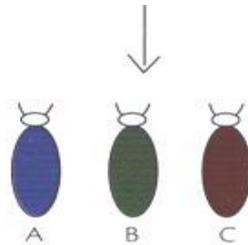


«Синдром счастливой куклы»- нарушения речи, гиперактивность, нарушения сна и моторики с произвольными движениями рук и ног. Кроме этого отмечаются особое поведение, которое характеризуется произвольными эпизодами смеха и улыбок в неподходящее время

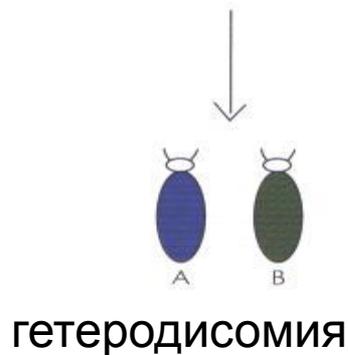
# Возникновение однородительской дисомии (в данном случае – от отца)



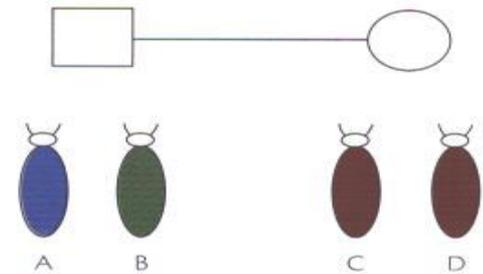
Нерасхождение в анафазе 1 мейоза



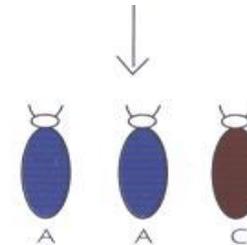
Трисомия в зиготе  
Потеря хромосомы C



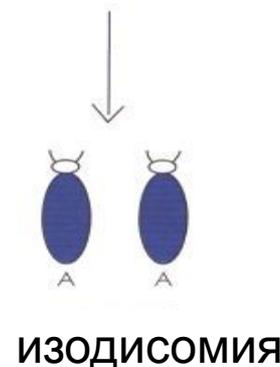
или



Нерасхождение в анафазе 2 мейоза



Остается 2 хромосомы, но от одного родителя



# Синдром Беквита-Видеманна

- При синдроме Беквита-Видеманна и отцовский и материнский аллели гена включаются одновременно, тогда как **в норме – экспрессируется только отцовская копия.**
- Для этого синдрома характерен чрезмерный рост тканей. Наблюдается большой язык, пупочная грыжа, малый признак – насечки на ушной мочке.



### 3. Болезни экспансии тринуклеотидных повторов

Особый вид генных мутаций, открытый в 1991 году, для которого характерно:

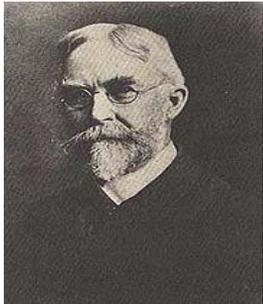
- Повторы нуклеотидов нарастают из поколения в поколение (**экспансия**) при прохождении через мейоз (возможно, из-за неточного обмена участками при кроссинговере)
- Рост числа повторов приводит к более раннему и более тяжелому проявлению болезни (**антиципация**)
- Имеет значение родительское происхождения аллеля (импринтинг)
- Сейчас известно около 20 таких болезней, в основном затрагивающих нервную систему

# Экспансия нуклеотидных повторов

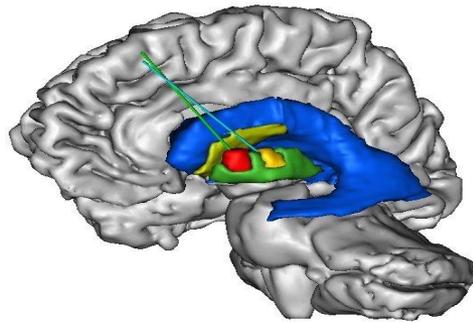


- **В кодирующей части гена** – всегда повтор трех нуклеотидов, иначе – сдвиг рамки считывания
- **Пример – хорейя Гентингтона (4p16.3)**
- Повтор **ЦАГ** – до 35 повторов – здоровые; от 36 до 121 – больные.
- Рост повторов происходит в отцовском мейозе
- **В некодирующей части гена** – может быть повтор разного числа нуклеотидов
- **Пример – синдром Мартина-Белл, или ломкой Х хромосомы ( Xq 27.3)**
- Повтор **ЦГГ** – от 6 до 53 – норма, от 54 до 229 – премутация, свыше 230 – полная мутация
- Рост повторов происходит в материнском мейозе

# Хорея Гентингтона



George Huntington



Хорея Гентингтона ( MIM 143100 ), АД - одно из самых тяжелых прогрессирующих наследственных заболеваний головного мозга. Хорея (chorea; от греческого слова "choreia" - пляска) - форма гиперкинеза, характеризуется непроизвольными, быстрыми, нерегулируемыми движениями, возникающими в различных мышечных группах. Его распространенность составляет около 1:10000. Отличительные признаки - хорея и расстройства поведения. Заболевание начинается в районе 40 лет.

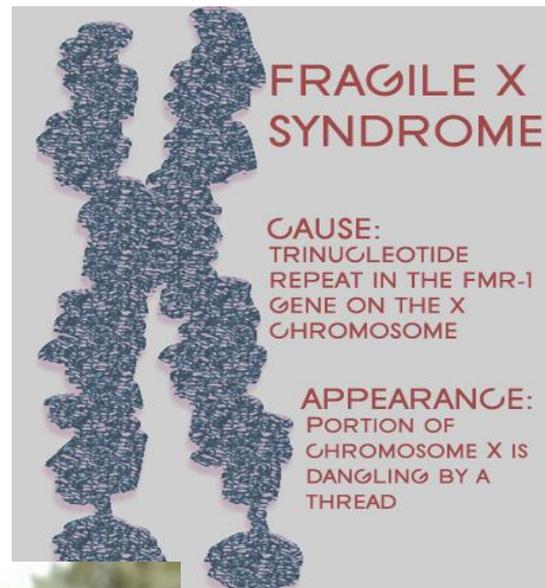


## Синдром Мартина – Белл (синдром ломкой X-хромосомы)

- Впервые в 1934 г. J. Martin и J. Bell была описана семья, где умственная отсталость наследовалась по сцепленному с полом типу. В этой английской семье было 11 мужчин с олигофренией и 2 женщины с лёгкой степенью умственной отсталости.
- в 1969 году H.Lubs, проводя цитогенетическое обследование выявил вторичную перетяжку на длинном плече X-хромосомы в области 27-28.
- Частота распространения — 1:1000-1:2000 новорожденных мальчиков.

# Синдром Мартина -Белл

- Признаки: большая голова с высоким и широким лбом, длинное лицо с увеличенным подбородком
- Главным симптомом синдрома является интеллектуальное недоразвитие и своеобразная речь. Также могут быть нарушения поведения в виде агрессивности, двигательной расторможенности.
- Кроме вышеописанного у таких детей могут быть признаки раннего детского аутизма.



# Дерматоглифический метод

(тоже предложен Гальтоном)

Метод помогает в диагностике наследственных синдромов

Не путать с генной  
дактилоскопией!

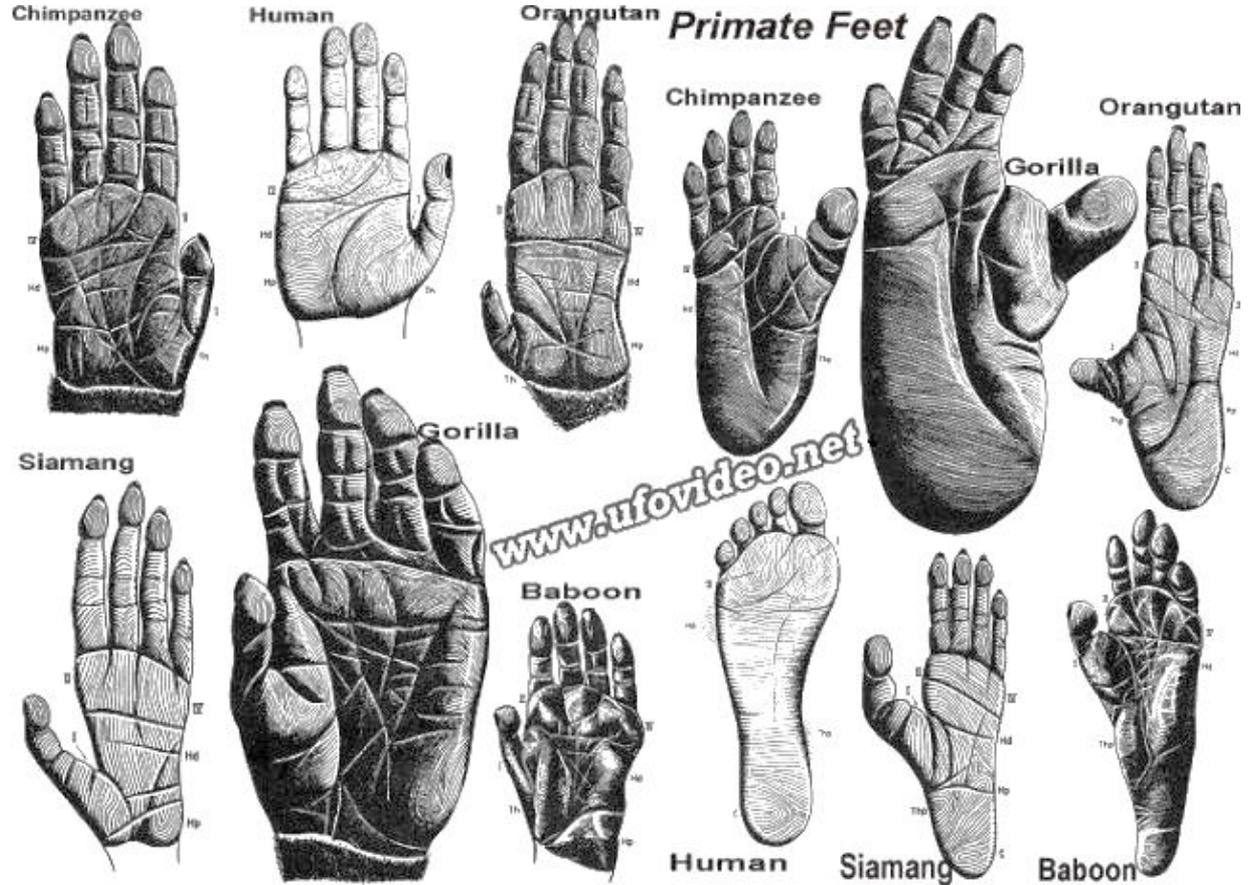
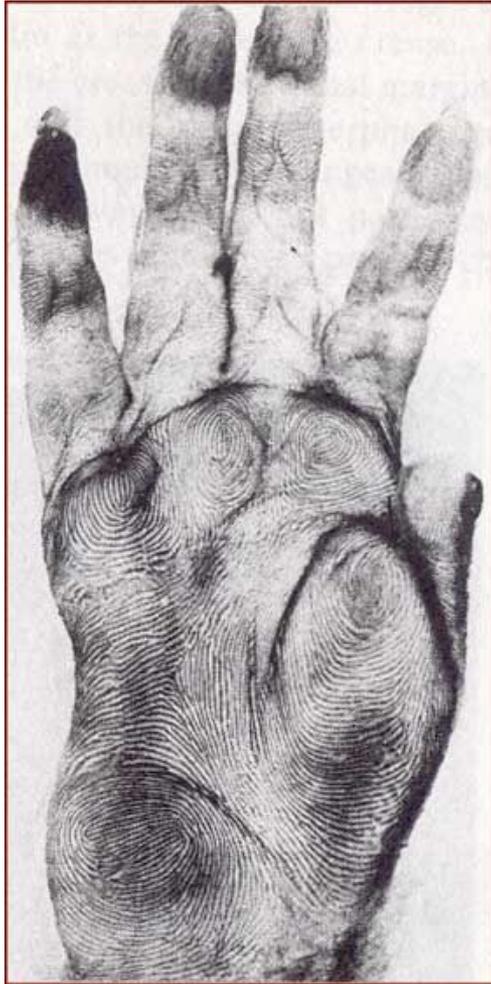
Также следует отличать  
дерматоглифику от  
хиромантии, которая относится  
к псевдонаукам.

# Дерматоглифический метод

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



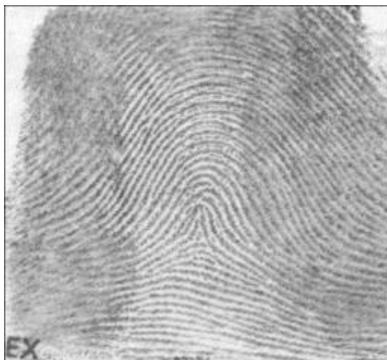
## Гребневая кожа характерна для всех приматов.



Отличия от человека – более сложные узоры на тенаре и гипотенаре, чем на пальцах.

## Три основных вида пальцевых узоров

дуга

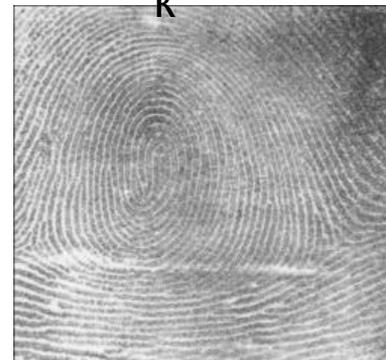


петля



завито

к



**Дактилоскопия** – область криминалистики - также изучает отпечатки пальцев, но обращает большее внимание на мелкие индивидуальные особенности

## 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

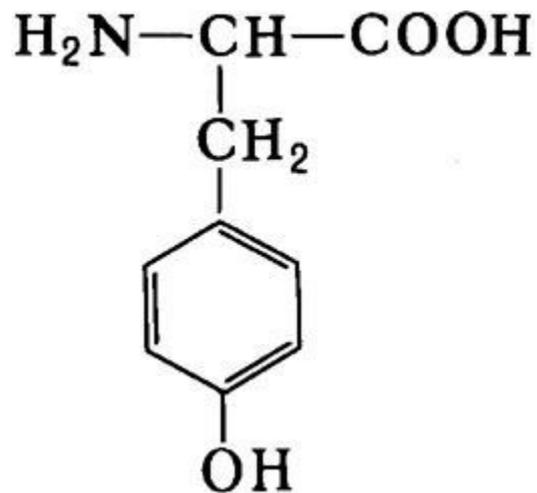
- Используется для изучения ферментопатий – мутаций, нарушающих работу ферментов.
- В крови и моче больных выявляются определенные химические соединения.

# Примеры ферментопатий



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

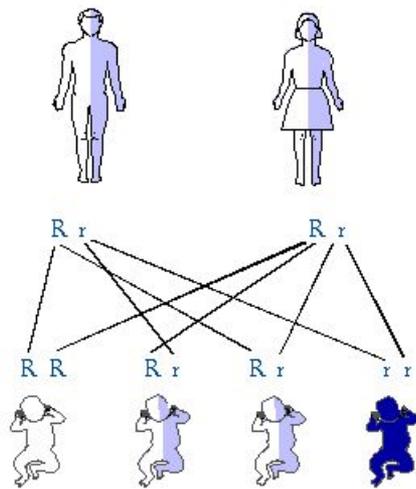
# Рассмотрим обмен фенилаланина и развитие **фенилкетонурии (АР)**



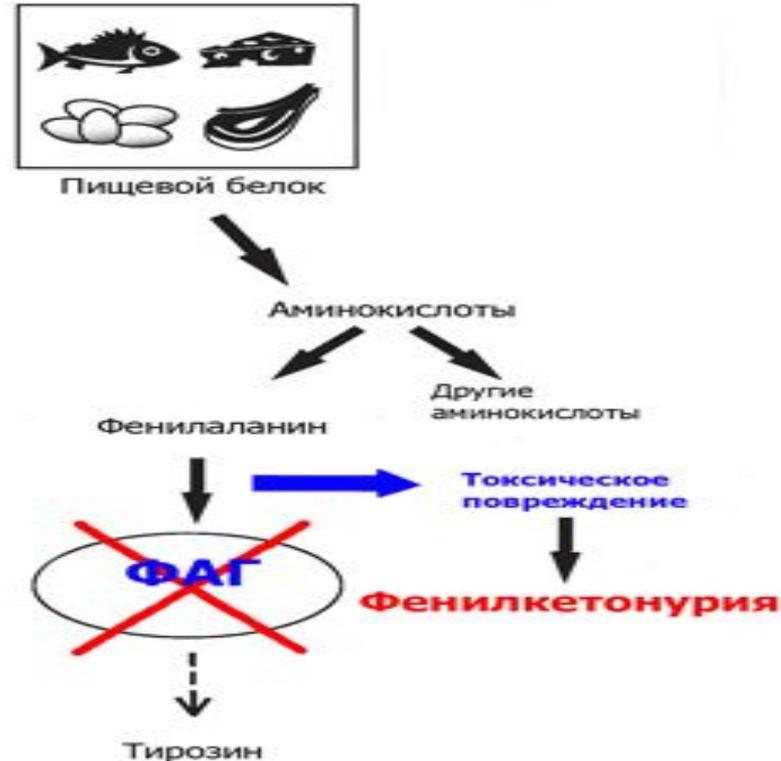
В большинстве случаев (классическая форма) заболевание связано с резким снижением или полным отсутствием активности печёночного фермента фенилаланин-β-гидроксилазы (фенилаланин-4-монооксигеназы), который в норме катализирует превращение фенилаланина в тирозин.

До 1 % случаев фенилкетонурии представлено атипичными формами, связанными с мутациями в других генах.

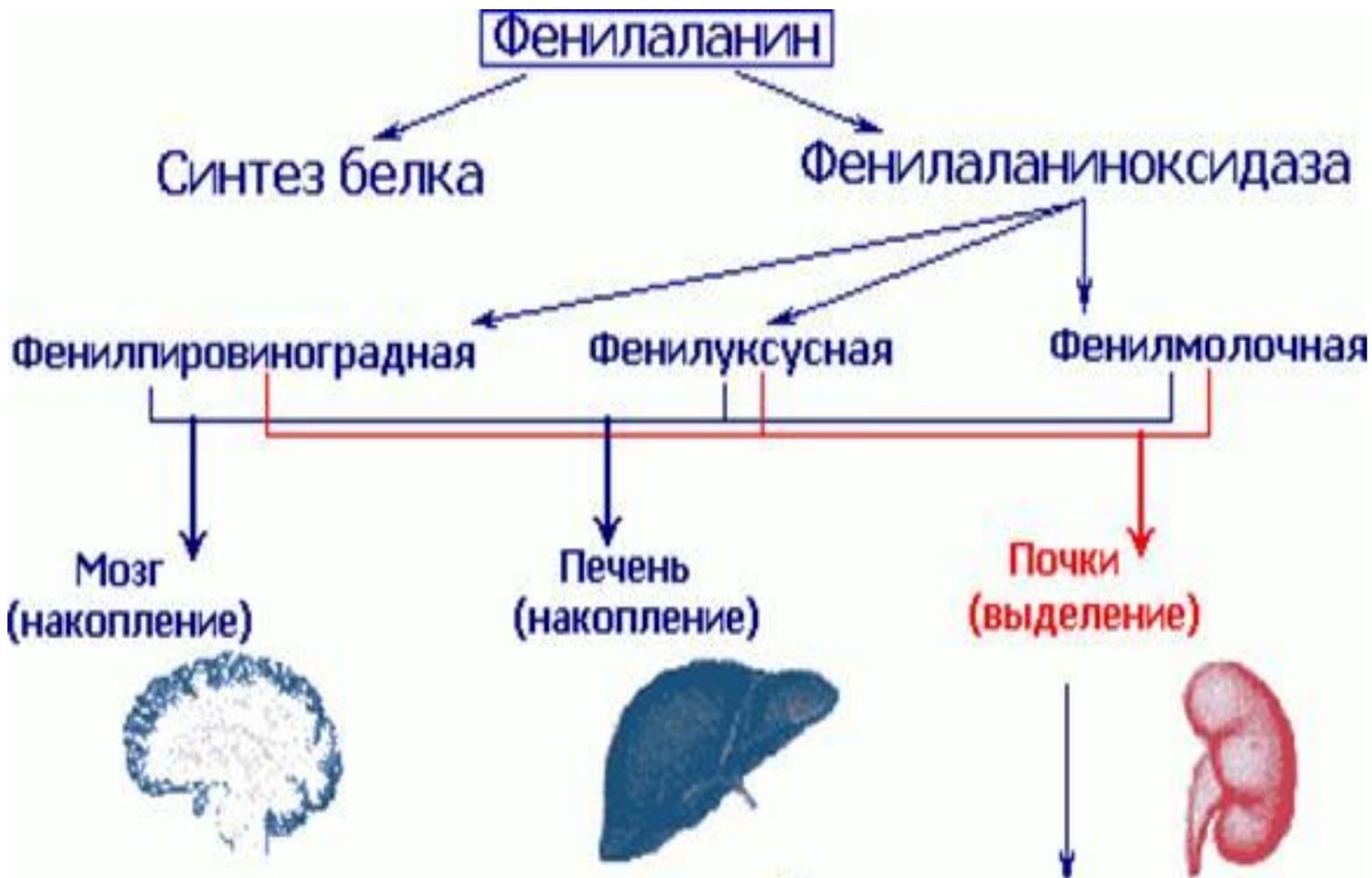
# При **фенилкетонурии** (ФКУ) нарушено превращение фенилаланина в тирозин (классическая форма)



Аутосомно-рецессивное наследование ФКУ



# Схема превращений фенилаланина



Фенилкетоновые тела

# Распространенность ФКУ

Страна	Встречаемость заболевания
Китай	1 на 18 000
Финляндия	менее 1 на 100 000
Ирландия	1 на 4500
Япония	1 на 120 000
Корея	1 на 41 000
Норвегия	1 на 13 000
Турция	1 на 2 600
Индия	1 на 18 300
США	1 на 15 000

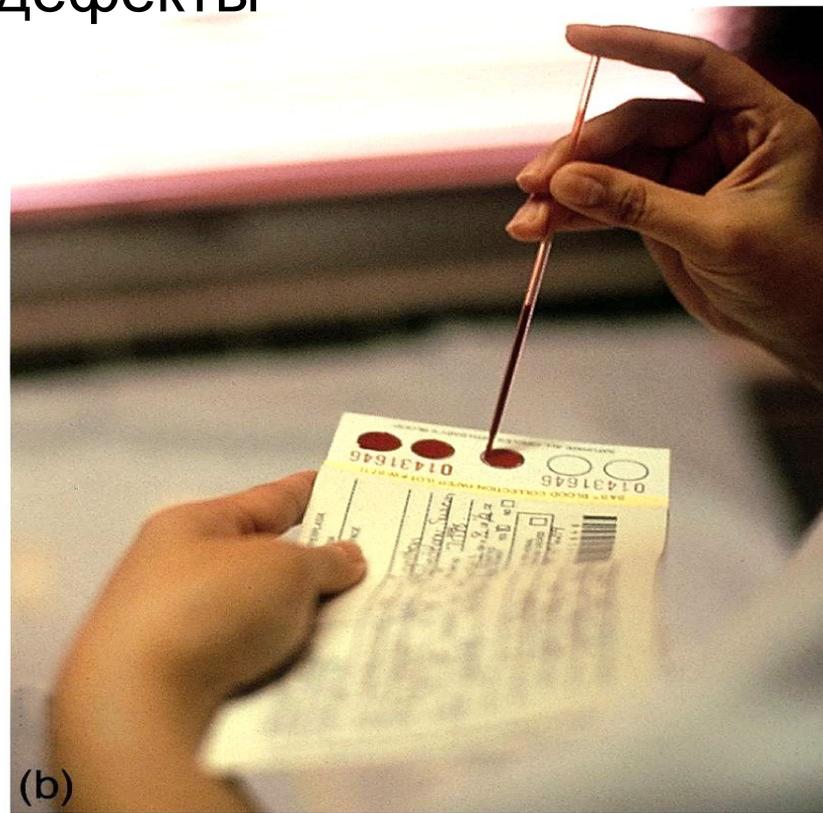
В исследовании 1987 года в Словакии среди отдельных цыганских популяций были обнаружены сверхвысокие уровни фенилкетонурии из-за инбридинга: 1 случай на 40 рождений. В г. Москве частота ФКУ оценивается как 1:7 000 новорожденных. В Африке 1:170 000

Дети с рождения должны соблюдать диету с ограничением по фенилаланину



# Ферментопатии выявляют при помощи неонатального скрининга

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



В настоящее время детей тестируют на

**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



# Частота некоторых аутосомно-рецессивных заболеваний в европейской популяции

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

# Популяции отличаются по частоте встречаемости генных мутаций

Наследственные болезни, характерные для этнических групп

Этническая группа	Заболевание
Амиши старого обряда (Пенсильвания)	Хондроктодермальная дисплазия; синдром Эллиса–Ван-Кревельда; хрящево-волосяная гипоплазия
Куна (Сан Биас), индейцы (Панама)	Альбинизм
Индейцы Хопи (Аризона)	Альбинизм
Индейцы Пима (юго-запад США)	Сахарный диабет типа 2
Финны	Врождённая хлоридная диарея; аспартилглюкозаминурия; врождённый нефротический синдром; нанизм мулибрея
Эскимосы Юпик	Врождённая гиперплазия надпочечников
Африканеры (Южная Африка)	Пёстрая порфирия; СГ; липоидный протеиноз; хорей Гентингтона; рубцевание ткани
Евреи ашкенази	Болезнь Тея–Сакса; болезнь Гоше; вегетативная дистония; болезнь Канавана
Караимы	Болезнь Верднига–Гофмана

# Закон генетической стабильности популяций

- Сформулирован в 1908 году независимо английским математиком **Г. Харди** и немецким врачом **В. Вайнбергом**.
  - **Закон** утверждает, что в **идеальной популяции 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  **$a$** .

Идеальная (менделевская) популяция  $\Leftrightarrow$  Эволюционирующая популяция

- **Идеальная популяция:**
- **численность велика**
- наблюдается **панмиксия** (свободное скрещивание)
- **отсутствуют мутации,**
- **отсутствуют миграция** особей
- отсутствует **естественный отбор** (по изучаемому гену)

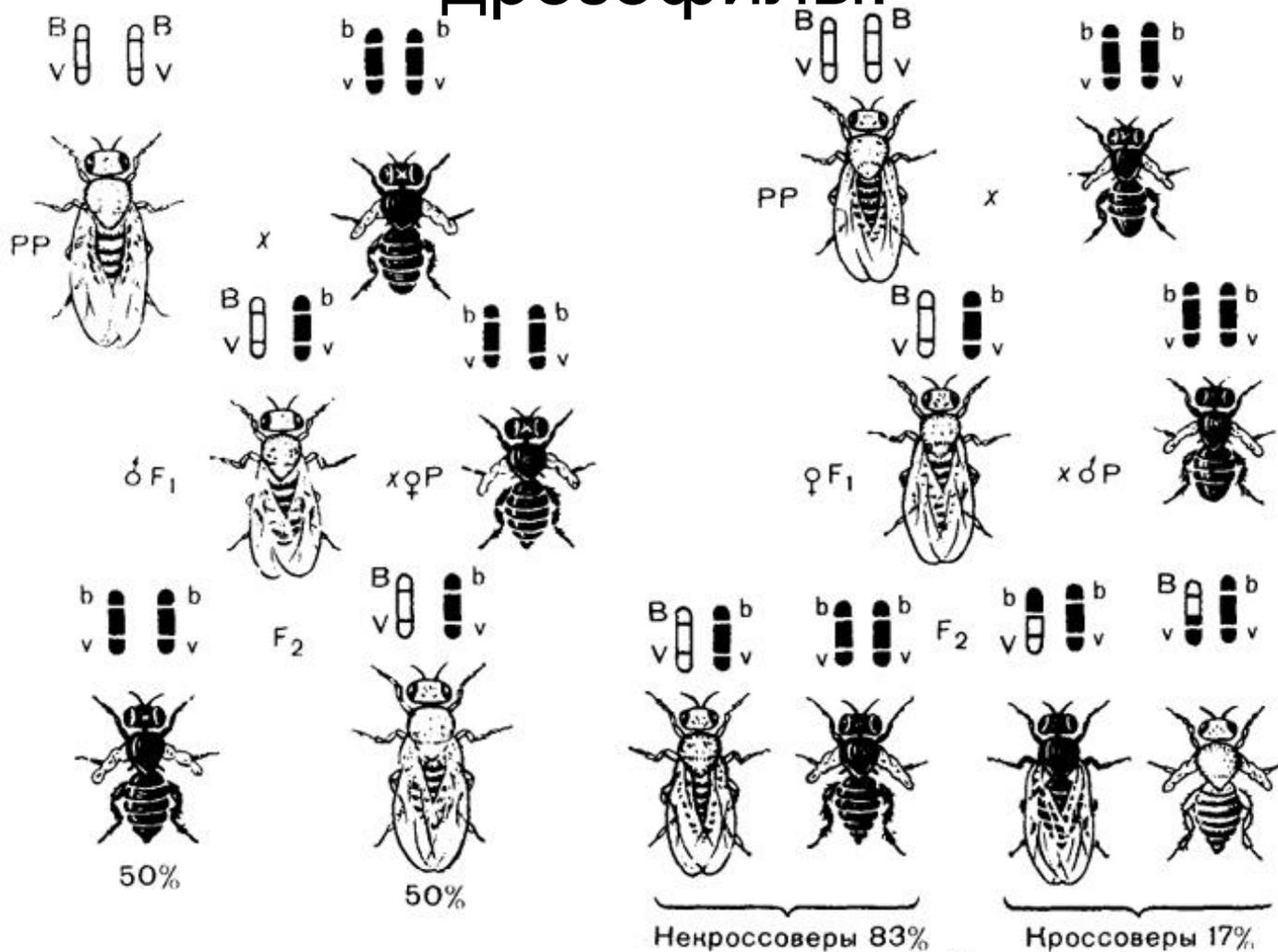
- Отклонения от равновесия Харди-Вайнберга свидетельствует о действии на популяцию **эволюционных факторов:**
- **естественного отбора**
- **мутаций**
- **дрейфа генов**
- **миграций**
- **изоляция**

# Генетика соматических клеток и составление хромосомных карт

## Основные методы составления генетических (хромосомных) карт

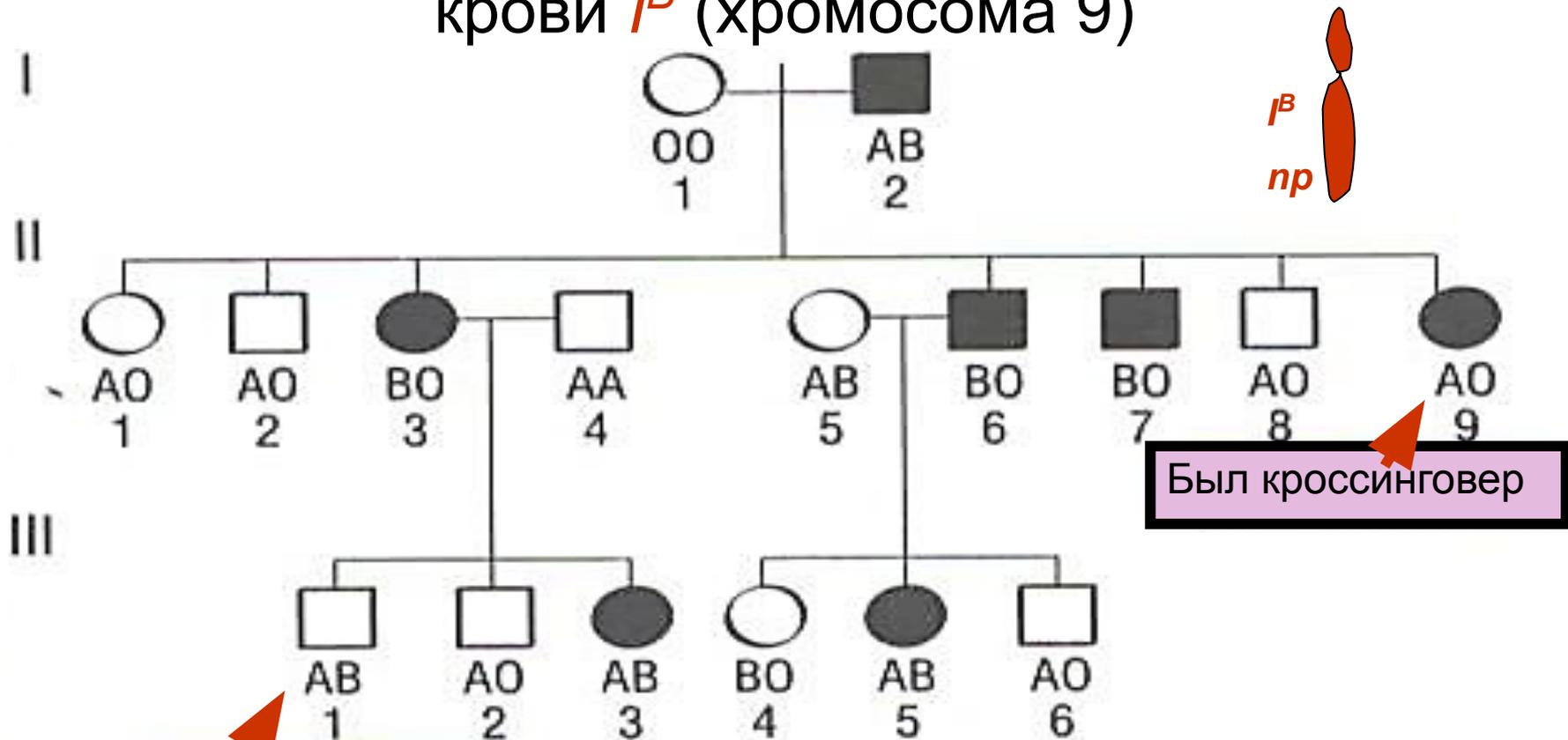
- На основе скрещиваний - **не у человека!** (гибридологический метод) - % кроссоверных потомков – морганида (сентиморган)
- На основе родословных
- Методами генетики соматических клеток
- Методом ДНК зондов (фрагментов ДНК с известной последовательностью)
- Методами секвенирование генома

# Опыты Моргана по сцеплению у дрозофилы.



а б  
**Расстояние генов В и V – 17 морганид**

# Родословная, показывающая сцепление у человека гена синдрома «ногтей-надколенника» *np* с группой крови *I<sup>B</sup>* (хромосома 9)



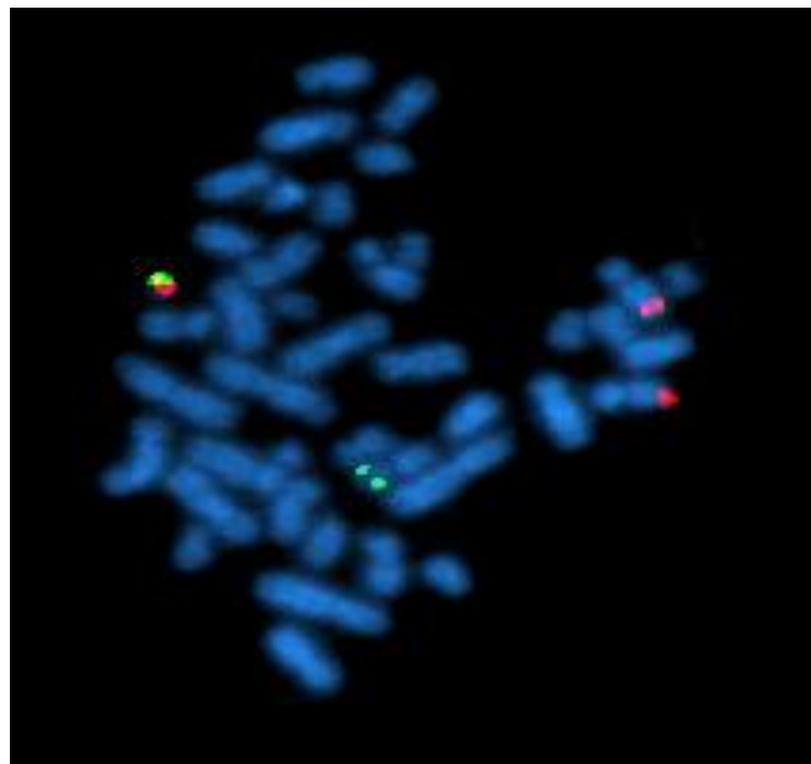
Был кроссинговер

По частоте кроссинговера определили расстояние между этими генами в хромосоме - 1,5%, т.е. 1,5 М

# Картирование FISH-методом с ДНК зондом

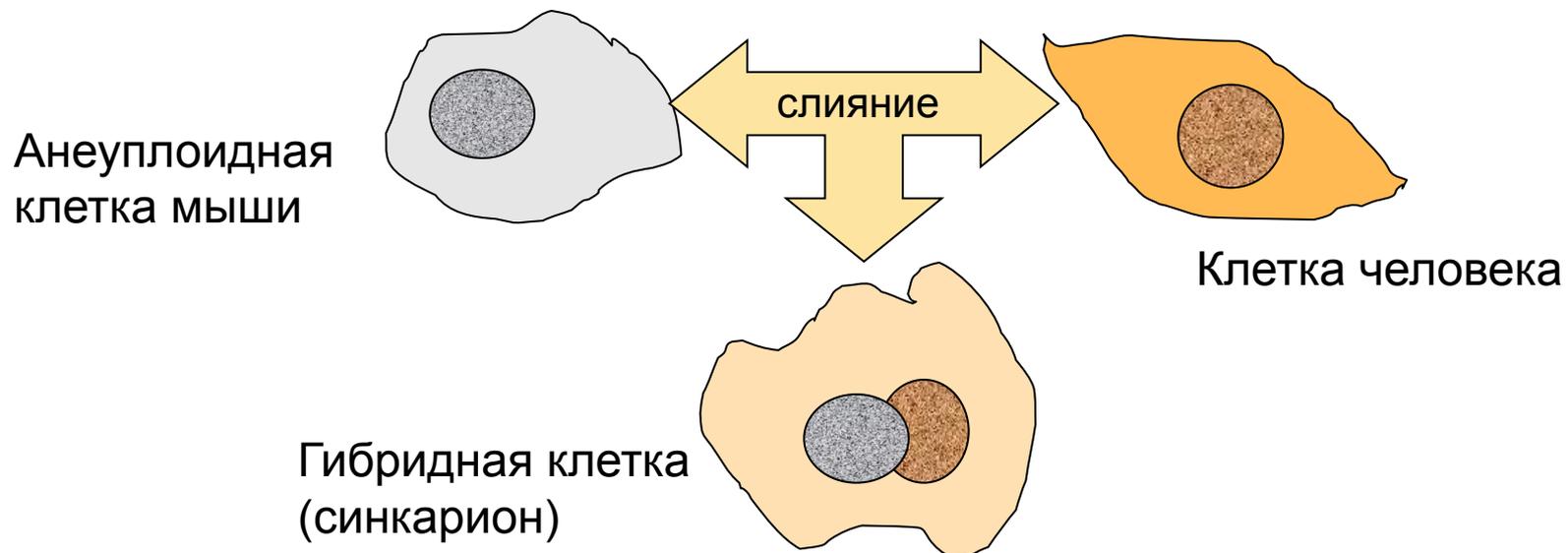


Метафазные хромосомы с метками



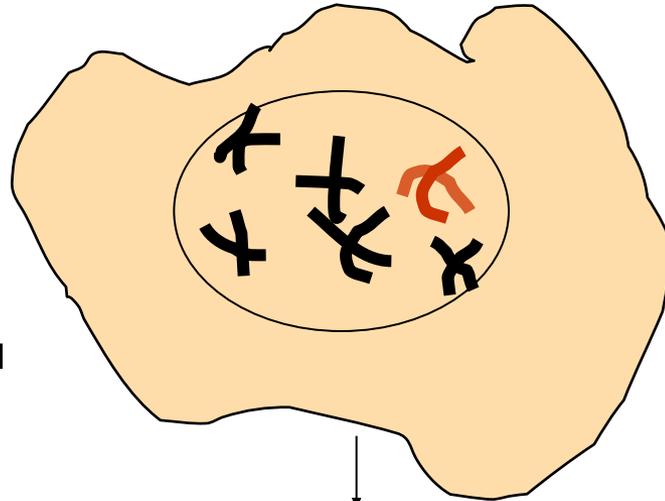
# Метод генетики соматических клеток

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

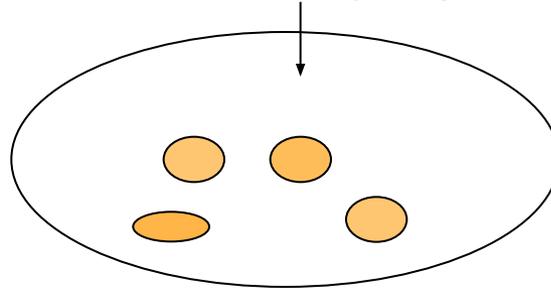


# Это один из методов картирования генов

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



Посев на селективную среду, выжить на которой могут только клетки, имеющие определенный человеческий ген (например, ген A)



Клетки выжили, значит ген A лежит в хромосоме 17

# Методы работы с ДНК

# Некоторые термины, описывающие методы анализа ДНК

**ДНК-зонд** - фрагмент ДНК, меченный тем или иным образом и комплементарный определенной нуклеотидной последовательности.

**Полимеразная цепная реакция, ПЦР** – метод получения большого числа копий участка ДНК

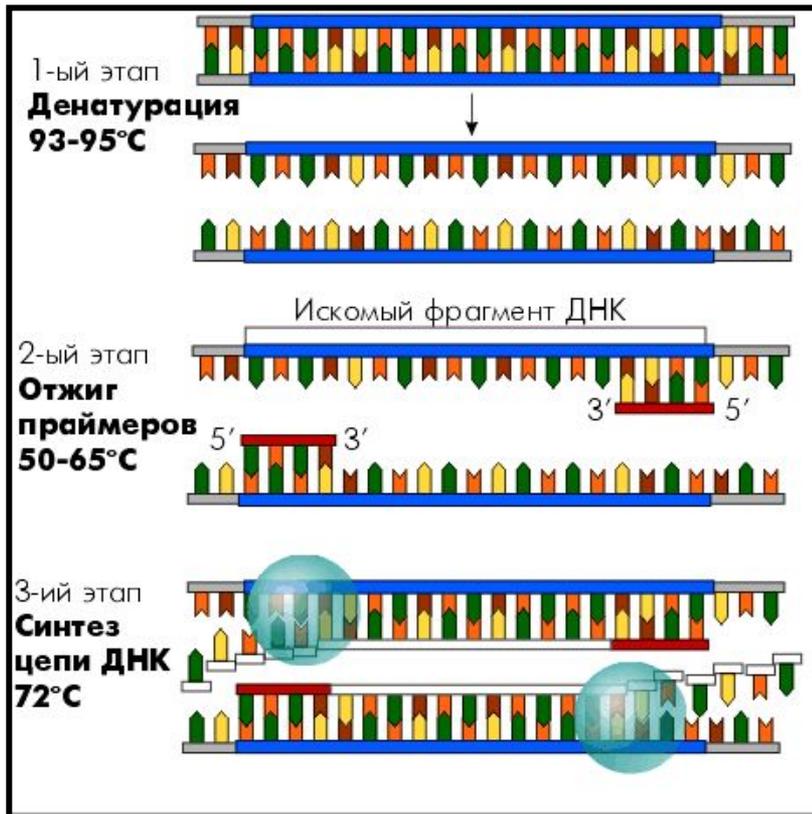
**Генная дактилоскопия** – выявление мелких вариаций в строении ДНК

**Секвенирование** – определение последовательности участка ДНК

**Клонирование** – выделение гена и его размножение в составе хромосомы бактерии, фага или плазмиды



Один цикл ПЦР длится 3 – 5 минут, число циклов обычно 23 – 30. В итоге исходное количество ДНК увеличивается в 1 000 000 и более раз.

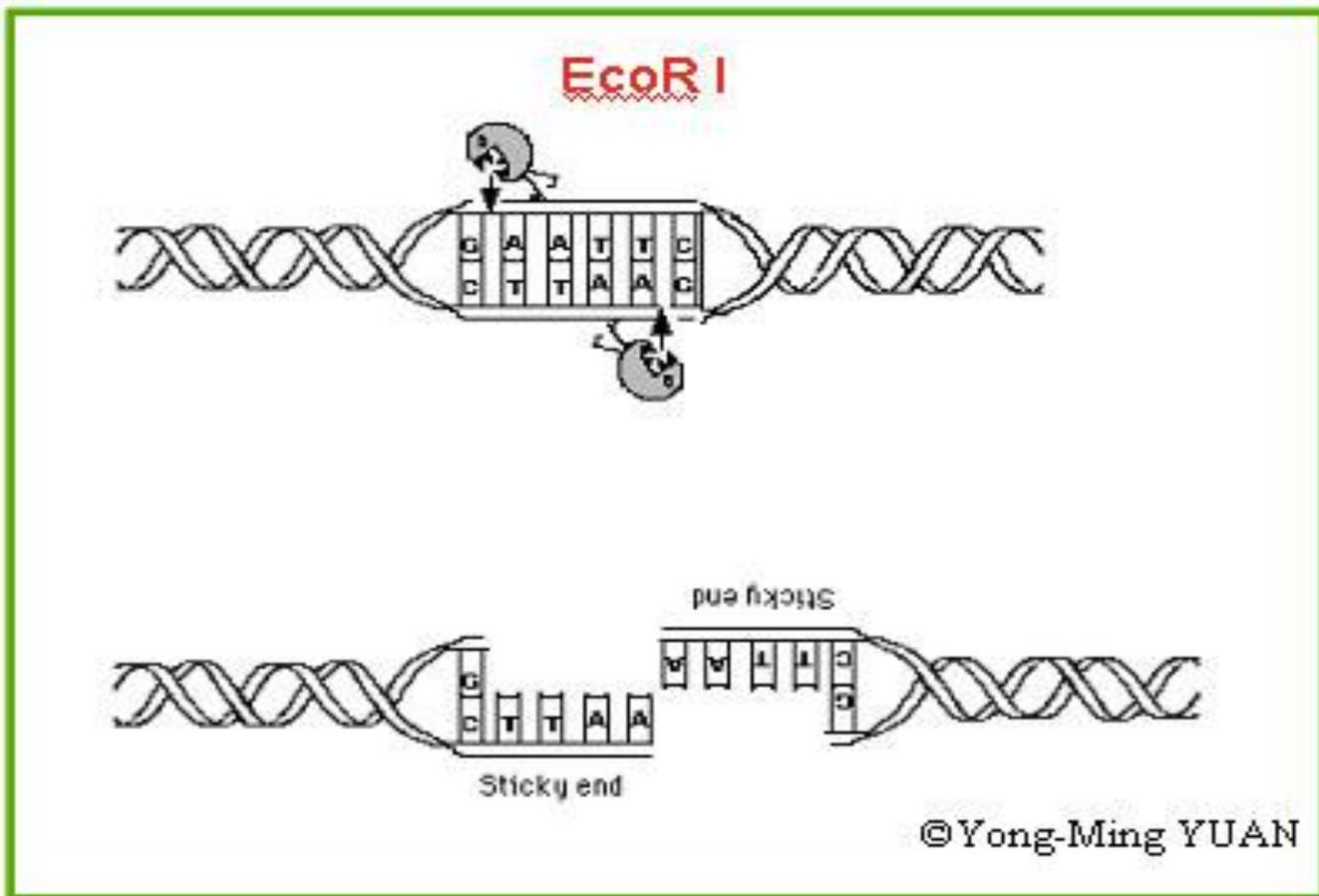


Аппарат для проведения ПЦР

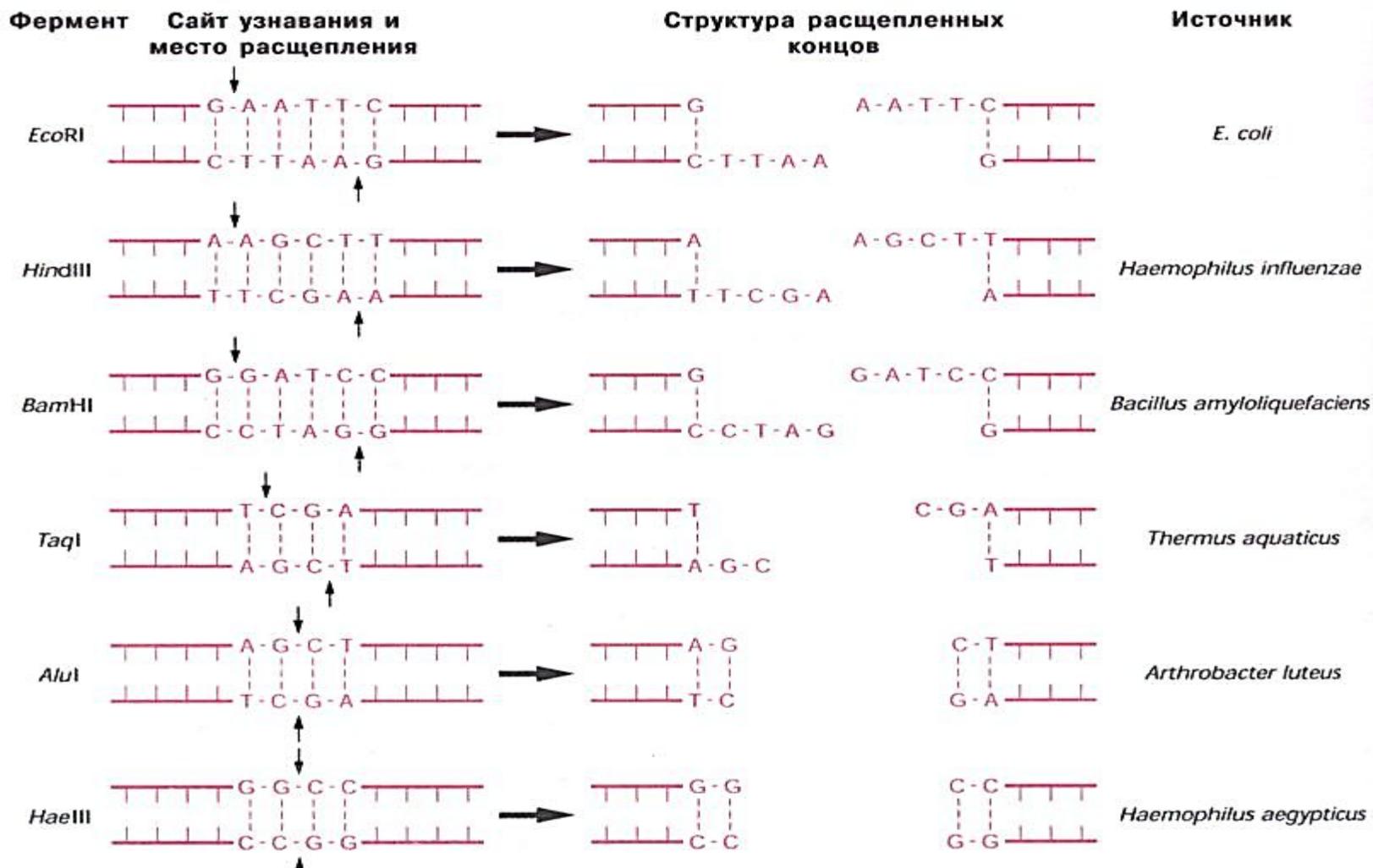


# Рестрикционный анализ ДНК

Анализ с участием рестриктаз.  
Рестриктаза разрезает ДНК в  
определенных местах – сайтах рестрикции



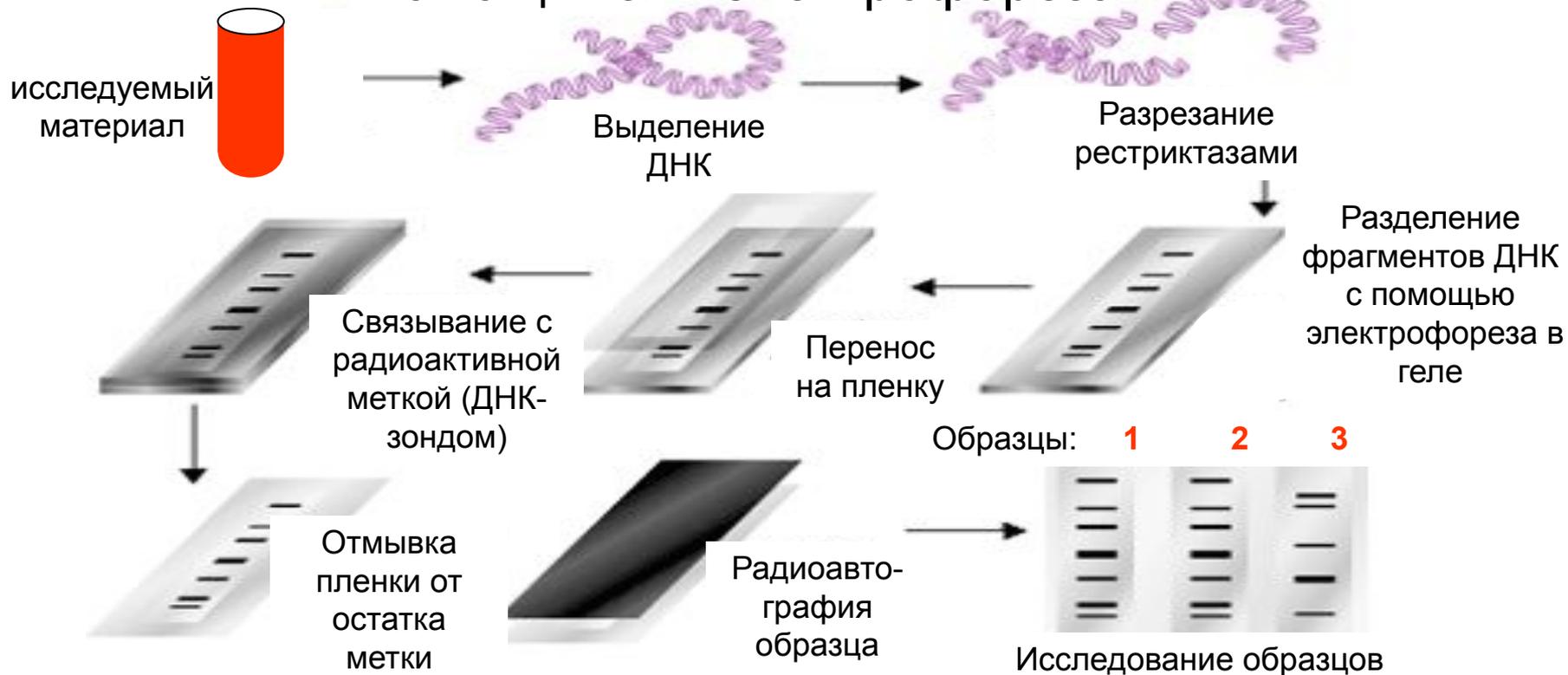
# Рестриктазы – ферменты, разрезающие ДНК в определенных местах (сайтах)





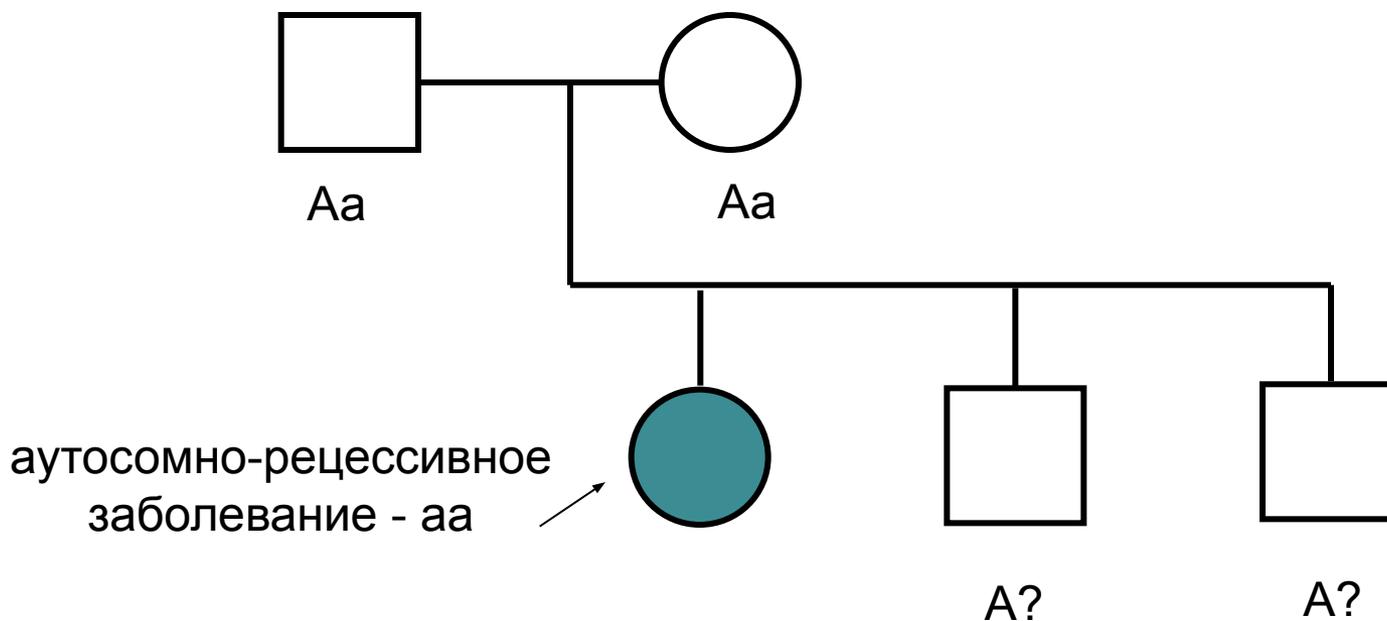
# Полиморфизм длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) —

это способ исследования ДНК, путем разрезания ее **эндонуклеазами рестрикции** и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) при помощи гель-электрофореза

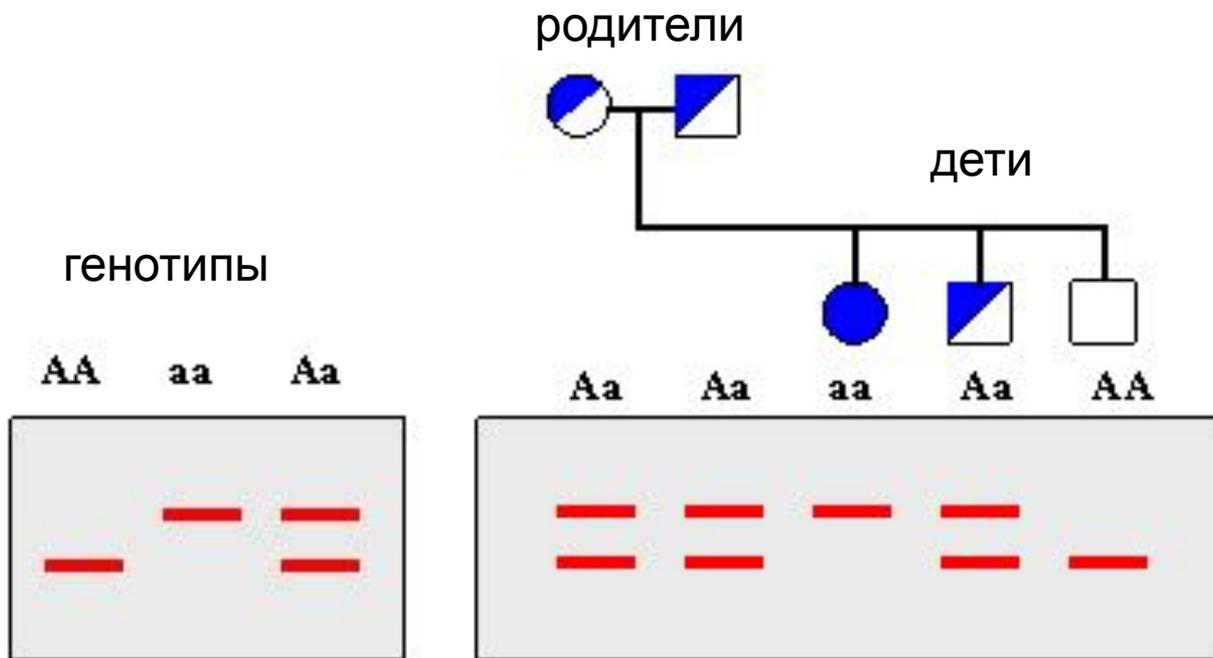


# Определение носительства при помощи ПДРФ

Допустим, есть семья:



Мутация (а) затрагивает сайт рестрикции:  
аа, Аа и АА дают разные полосы при  
электрофорезе

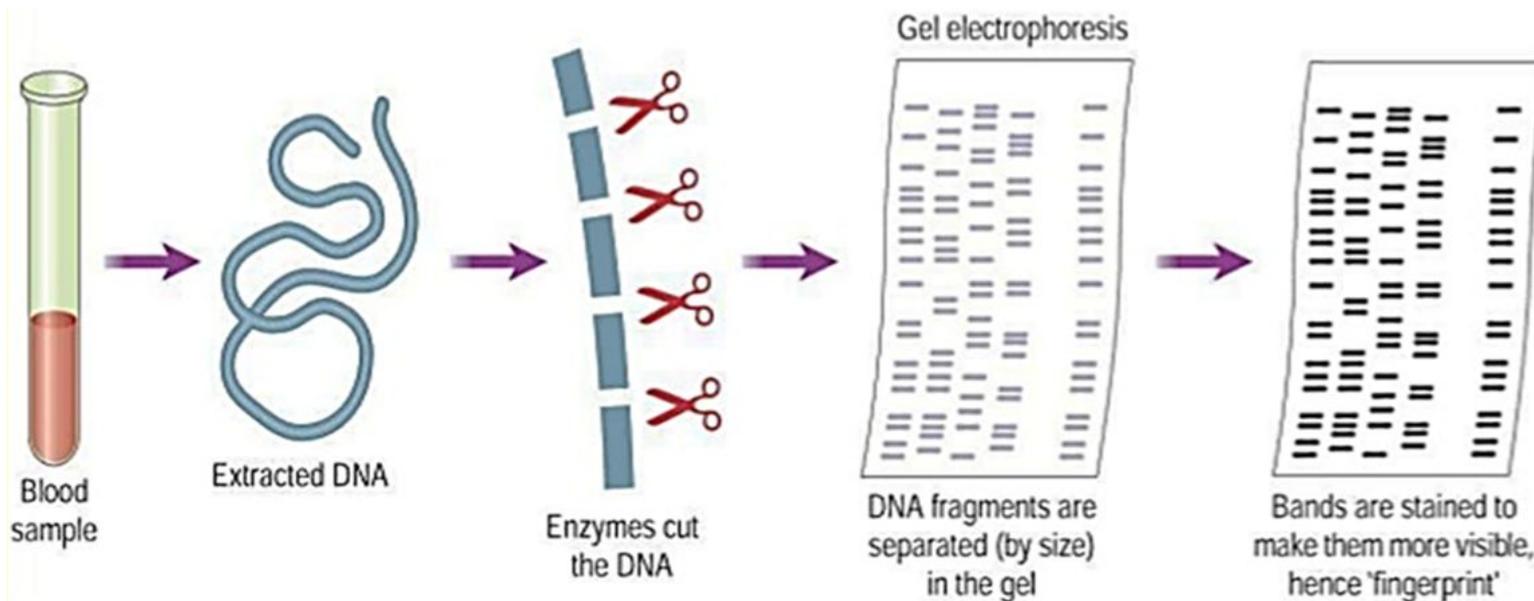


Можно определить генотип каждого члена семьи

Генная дактилоскопия =  
ДНК профилирование

Одним из вариантов ПДРФ-анализа является **анализ полиморфизма переменного числа tandemных повторов** - VNTR (variable number of tandem repeats), а иначе – профилирование ДНК

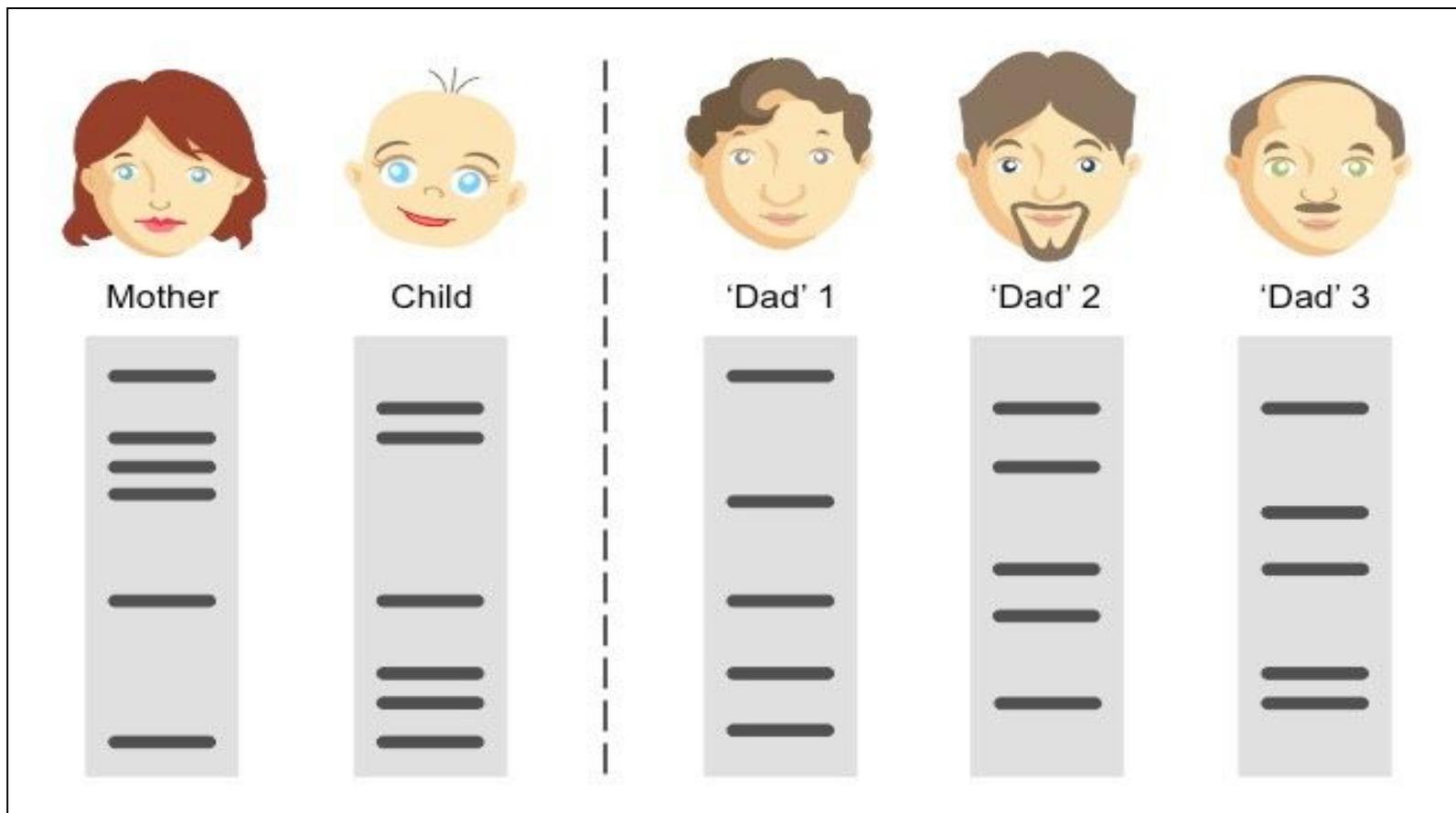
**Тандемные повторы** в центромерных и теломерных районах хромосом - сателлитная ДНК часто имеют разное число копий. Причем VNTR-аллельные варианты имеют кодоминантный характер наследования.



Анализ получил громкое название «генная дактилоскопия» за его роль в криминалистической экспертизе.



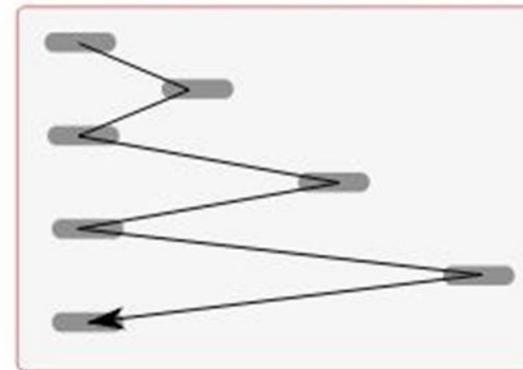
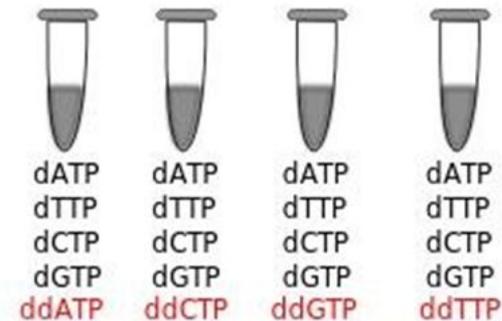
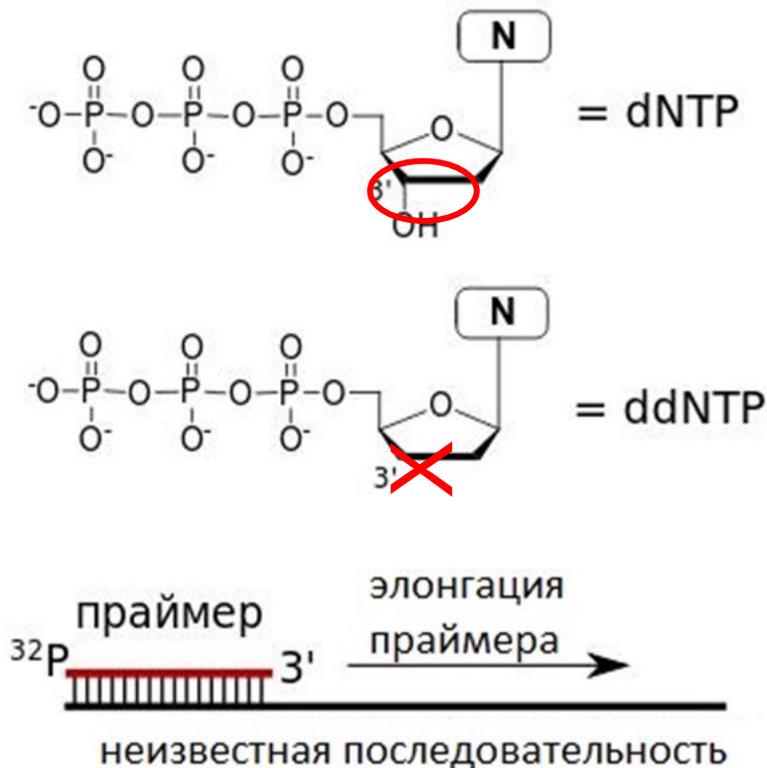
При установлении отцовства важно помнить, что ребенок получает по одной копии VNTR от каждого родителя



# Секвенирование ДНК

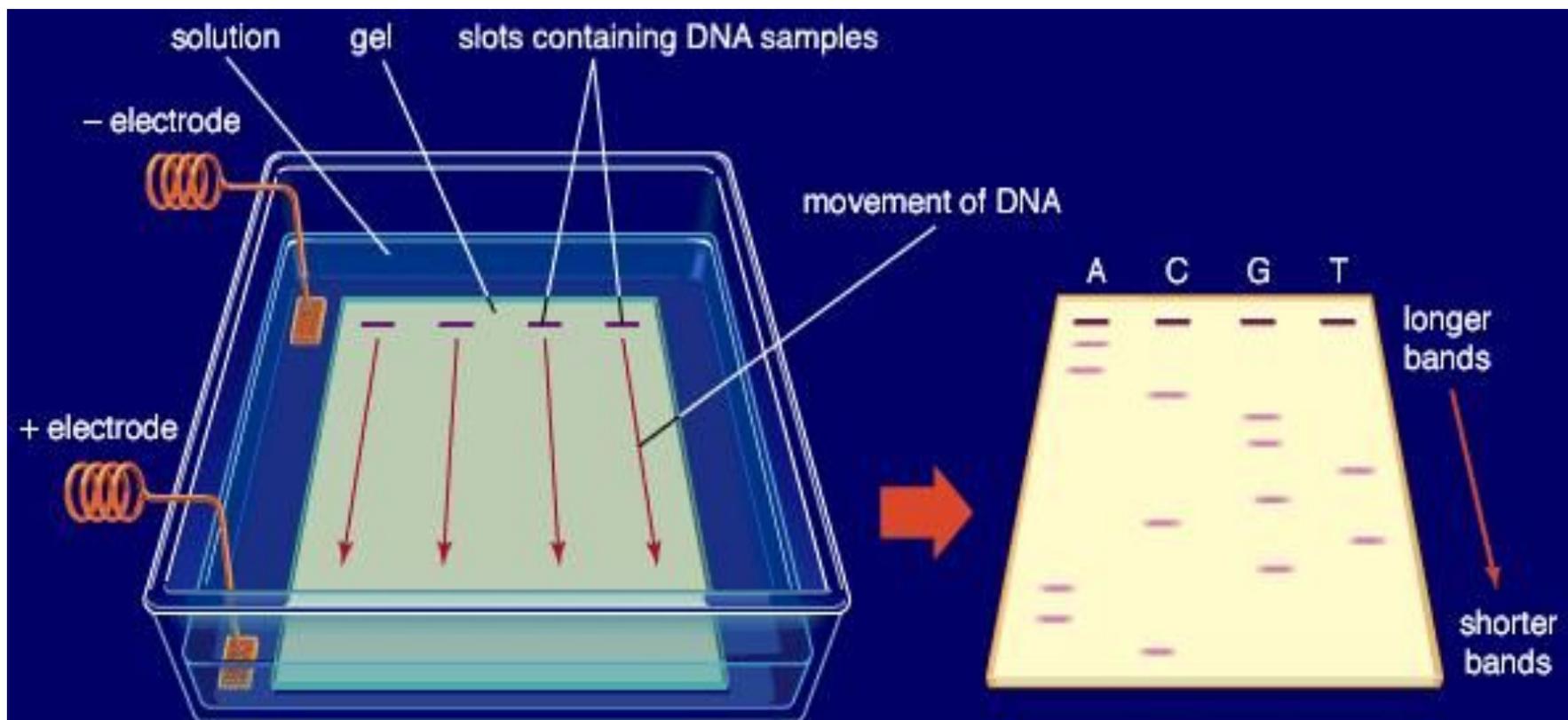


**Метод Сэнгера, или метод «обрыва цепи»**, был разработан в **1977** году. Используют ДНК-праймер длиной 17—20 звеньев для инициации синтеза цепи, комплементарной матрице – исследуемому участку ДНК. Раствор распределяют по четырём пробиркам, в каждой из которых находятся четыре дезоксинуклеотида, dATP, dCTP, dGTP и dTTP (один из них — меченный радиоактивным изотопом) и **один из четырёх** 2',3'-дидезоксинуклеотидов (ddATP, ddTTP, ddGTP или ddCTP), на которых рост цепи ДНК останавливается.



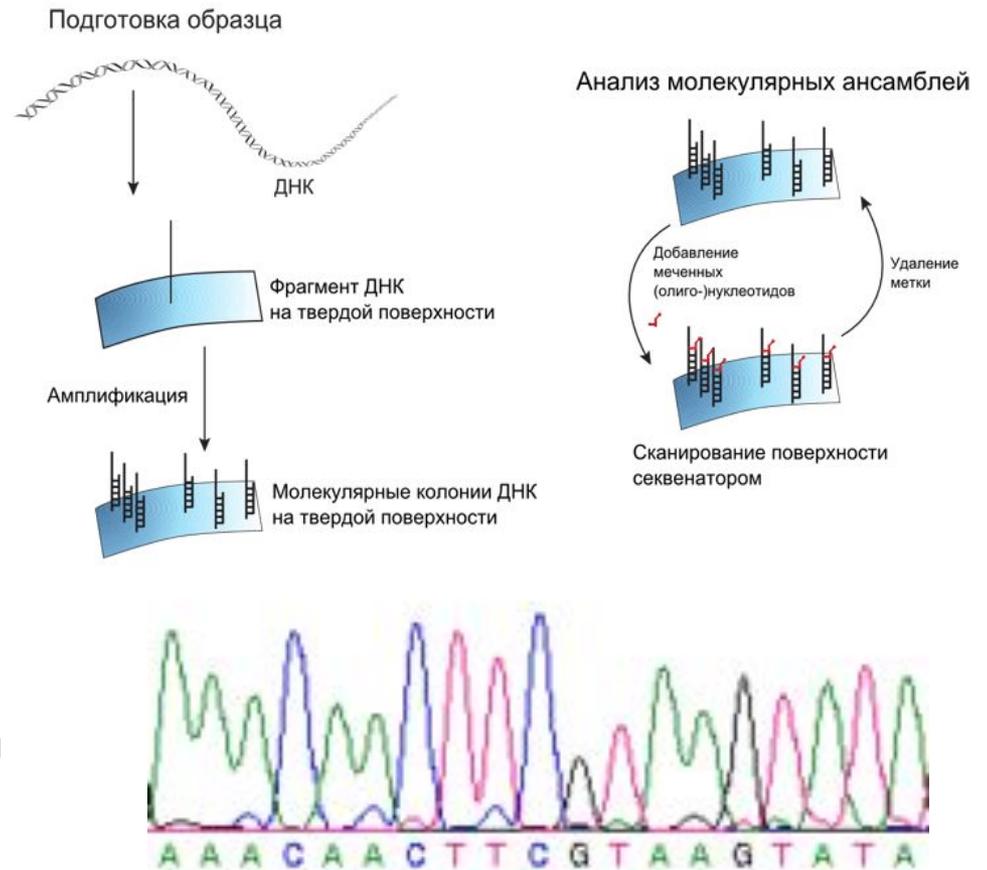
секвенирующий гель-электрофорез

В результате в каждой из четырёх пробирок при участии ДНК-полимеразы образуется уникальный набор **олигонуклеотидов разной длины**, включающих праймерную последовательность. Далее в пробирки добавляют формамид для расхождения цепей и проводят электрофорез в полиакриламидном геле на четырёх дорожках. Проводят радиоавтографию, которая позволяет «прочитать» нуклеотидную последовательность секвенируемого сегмента ДНК.

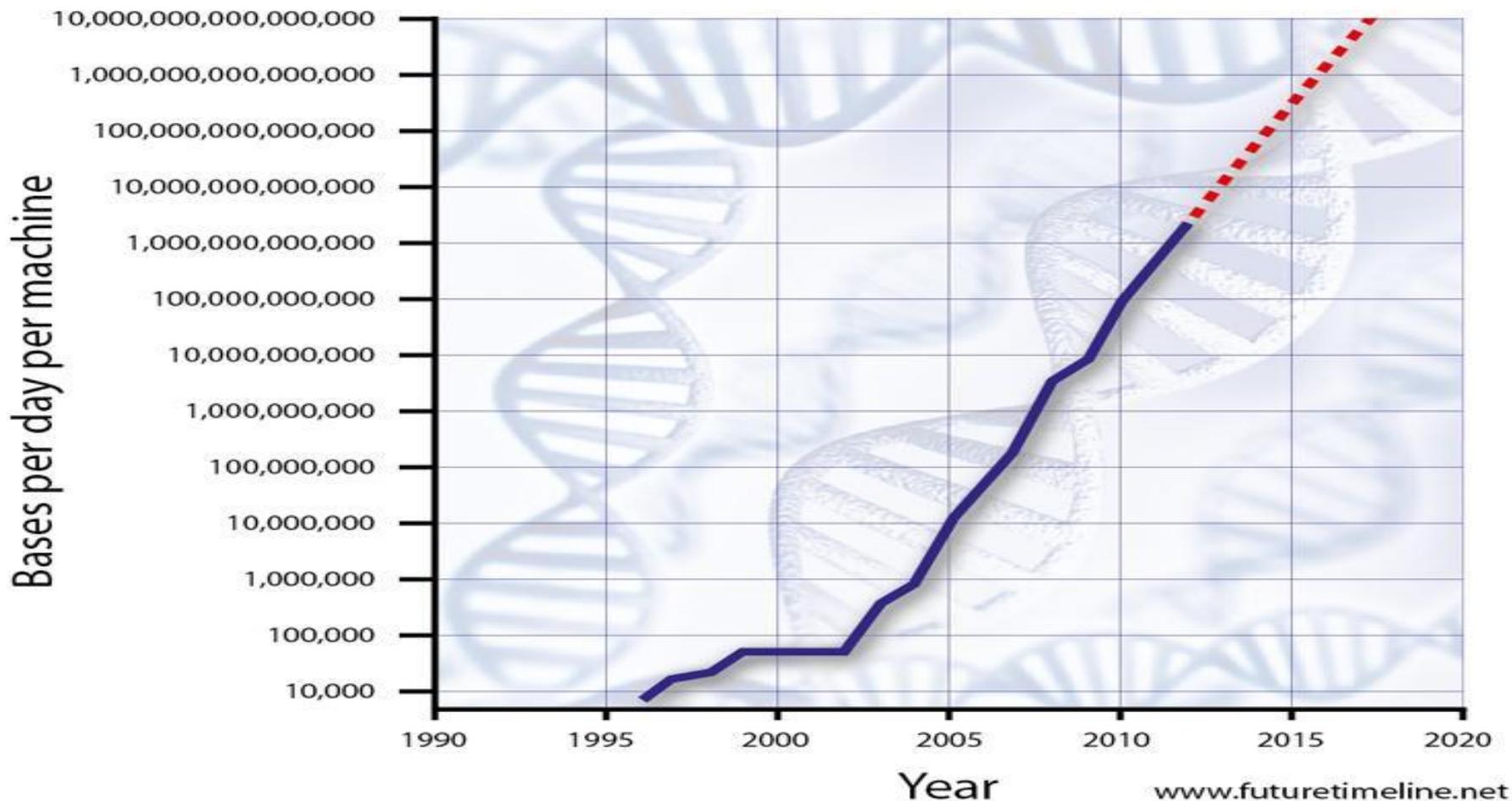


# На сегодняшний день секвенирование ДНК по Сэнгеру полностью автоматизировано и проводится на специальных приборах, секвенаторах.

Использование **дидезоксинуклеотидов с флуоресцентными метками** с разными длинами волн испускания позволяет проводить реакцию в одной пробирке. Реакционную смесь разделяют капиллярным электрофорезом в растворе, фрагменты ДНК, выходящие из капиллярной колонки регистрируются детектором флуоресценции. Результаты анализируют с помощью компьютера и представляют в виде последовательности разноцветных пиков, соответствующих четырём нуклеотидам. Секвенаторы такого типа могут «прочитать» за раз последовательности длиной 500—1000 нуклеотидов. **Секвенирование нового поколения** позволяют анализировать до сотен мегабаз и гигабаз нуклеотидных последовательностей за один рабочий цикл.



# Секвенирование генома – определение нуклеотидных последовательностей всей ДНК

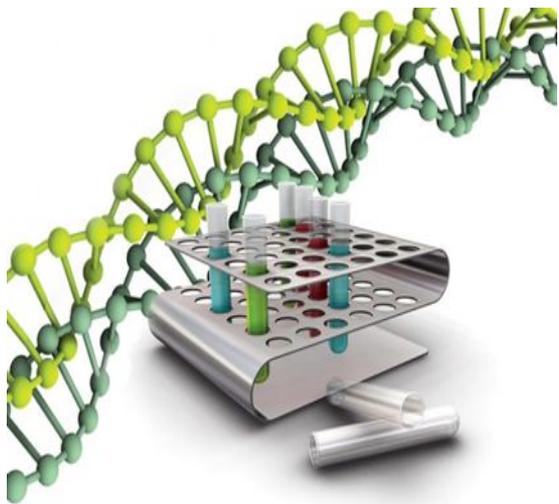


# Всех секвенируют?

На конференции BioGenomics2017 объявили о новом масштабном проекте. Смитсоновская инициатива по геномике биоразнообразия и китайская компания Beijing Genomics Institute (BGI) намерены **секвенировать геномы всех видов живых организмов Земли.**

- Организаторы предполагают, что на начальном этапе будут детально секвенированы по одному геному из каждого семейства **эукариотических организмов** (их насчитывается около 9000).
- Затем будут получены менее подробные последовательности геномов для одного вида из каждого рода эукариот (всего около 150 – 200 тысяч родов).
- И, наконец, надо будет получить хоть с какой-то степенью подробности геномы для оставшихся 1,5 миллионов видов.
- Организаторы считают, что работа потребует финансирования примерно в том же объеме, что и проект «Геном человека», на который было выделено 2,7 млрд. долларов, около 4,8 млрд. в переводе на нынешний курс. Работа, по их мнению, **может быть завершена за десять лет.**

# ДНК-диагностика наследственных болезней



- наиболее адекватная и точная  
диагностика

В OMIM описано около 5 тысяч  
фенотипов

Для более 3000 из них известен  
молекулярный дефект.

-диагностика возможна, даже  
если неизвестен ген,  
ответственный за заболевание.

# ДНК диагностика выявляет генные мутации

ДНК диагностика бывает:



**Прямая**, когда ген и его мутации хорошо известны. Точность почти 100%. Используются для таких заболеваний, как фенилкетонурия (мутация R408W), муковисцидоз - (наиболее частая мутация delF508), хорея Гентингтона (экспансия тринуклеотидных повторов-СТG-повторы) и др.

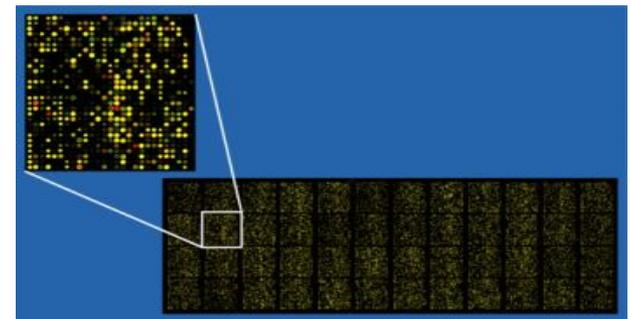
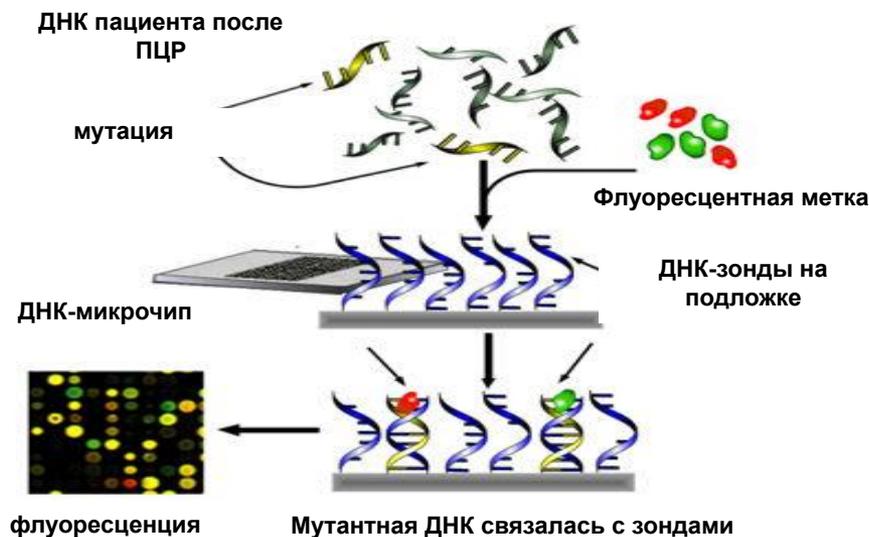
**Косвенная** – ищут сцепленный маркер – рядом лежащий участок ДНК. Ген при этом может быть не изучен недостаточно. При использовании косвенных методов ДНК-диагностики требуется семейный анализ как можно большего числа родственников (в первую очередь родители—дети), чтобы проследить путь передачи маркеров потомству. Это повышает информативность выбранного маркера.

# ДНК-микрочипы и генетический скрининг

Микрочип состоит из сотен тысяч микроскопических ячеек, в которых закреплены зонды из однонитевой ДНК (примерно 20 нуклеотидов) к **нормальным и мутантным аллелям** разных генов

ДНК пациента после ПЦР метят флуоресцентно и наносят на микрочип. Флуоресцентный рисунок анализирует сканер

**Позволяет выявлять одновременно множество мутаций разных генов**



**ДНК-зонд**— фрагмент ДНК, меченный тем или иным образом и использующийся для гибридизации со специфическим участком молекулы ДНК.

# Перспективы

В 2011 году, стартовал проект «Вариом человека», который ставит задачей изучение генетического разнообразия людей. Планируется собрать обширную базу данных (и обеспечить обмен ими) об изменчивости генов для 1 млн случаев генетических заболеваний.



THE HUMAN VARIOME PROJECT

The global initiative to collect and curate  
all human genetic variation affecting human health

<http://www.humanvariomeproject.org/>



<http://www.hgvs.org/>

Спасение!

