



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КАФЕДРА ОБЩЕЙ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ РАЗРАБОТКИ

**Для самостоятельной подготовки студентов института клинической
медицины, института стоматологии, института педиатрии, института
профилактической медицины и института социально-гуманитарного и
цифрового развития медицины**

**ТЕМА: ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ И
НАСЛЕДСТВЕННОЕ РАЗНООБРАЗИЕ. ВИДЫ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ. ИЗУЧЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ.**

Составители: Ю.В. Мякишева – д.м.н., профессор
Д.С. Громова – старший преподаватель

Самара, 2024

Методические разработки предназначены для самостоятельной работы обучающихся на практических занятиях, а также для внеаудиторной работы для подготовки к занятиям и экзамену по дисциплине «Биология».

Методические разработки составлены в соответствие с рабочими программами дисциплин, а также согласно требованиям Федеральных государственных образовательных стандартов.

ТЕМА: Генетический полиморфизм и наследственное разнообразие. Виды генетических полиморфизмов. Изучение генетических полиморфизмов

Актуальность темы. Наличие в популяции разных вариантов одного гена (аллелей) является генетическим полиморфизмом (при этом частота встречаемости в популяции должна быть не менее 1%). В настоящее время доказано, что около 30% генов, кодирующих белки, полиморфны. Структура и активность белков как продуктов генов могут зависеть от варианта аллеля. В настоящее время существенную роль в патогенезе многофакторных, полигенных заболеваний отводят генетическому полиморфизму. Весомым вкладом в развитие персонифицированной медицины является создание генетического паспорта. Методика позволяет не только определить наследственные болезни, но и предрасположенность к развитию некоторых многофакторных и онкологических заболеваний. При создании генетического паспорта, возможно предсказание возраста развития заболеваний и планирование профилактических мероприятий. Генетический паспорт позволяет определить национальное происхождение и этнический состав генов (дрейф генов), предрасположенность к определенным видам спорта, способности к науке и искусству, личные качества, особенности реакции на лекарственные средства, привычки, усвоение витаминов и микроэлементов, а также пищевые пристрастия и особенности метаболизма. Вся эта информация позволяет сделать жизнь человека более качественной и осознанной.

Цель занятия: изучить виды, особенности генетических полиморфизмов у человека и их роль в развитии разнообразных патологий.

Формируемые компетенции. В процессе изучения темы у обучающихся формируются следующие универсальные, общепрофессиональные и профессиональные компетенции:

- УК-8: Способен создавать и поддерживать в повседневной жизни и профессиональной деятельности безопасные условия жизнедеятельности для сохранения природной среды, обеспечения устойчивого развития общества, в том числе при угрозе и возникновении чрезвычайных ситуаций и военных конфликтов
- ОПК-2: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-2: Способен выявлять и оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека, моделировать патологические состояния *in vivo* и *in vitro* при проведении биомедицинских исследований
- ОПК-4: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике, формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ОПК-5: Способен оценивать морфофункциональные, физиологические состояния и патологические процессы в организме человека для решения

профессиональных задач

- ОПК-8: Способен использовать основные физико-химические, математические и естественно-научные понятия и методы при решении профессиональных задач
- ПК-13: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения
- ПК-19: Оценка морфофункциональных, физиологических состояний, физических, патологических процессов и генетических факторов в организме человека, управление живым организмом как сложной системой для решения профессиональных задач
- ПК-20: Способен проводить и осуществлять контроль эффективности мероприятий по профилактике инфекционных и неинфекционных заболеваний у населения (детей), формированию здорового образа жизни и санитарно-гигиеническому просвещению населения

Студент должен **знать**:

- понятие полиморфизма
- виды полиморфизмов
- характеристику каждого вида полиморфизмов
- методы изучения полиморфизмов
- принципы составления генетического паспорта
- роль полиморфизмов для развития патологии

Студент должен **уметь**:

- определять роль полиморфизмов для развития заболеваний
- решать ситуационные задачи по определению типа полиморфизмов
- работать со специальной литературой по биологии

Студент должен **владеть**:

- навыками научно-исследовательской работы
- владеть техникой изготовления слайдов по концептуальным вопросам генетики человека

ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

Генетический полиморфизм или генетическое разнообразие – разная вариация генов (poly – много, morpho – форма). Полиморфными рассматриваются такие гены, представленные в популяции в нескольких разновидностях – аллелях, что обеспечивает разнообразие признаков в пределах одного вида или популяции. Лocus называется полиморфным, если в популяции существуют два или более аллеля этого локуса. Наличием полиморфизма генов объясняются нарушения структуры и свойств тех белков, которые вырабатываются в организме, т.е. изменения в протеоме.

Генетический полиморфизм может быть обусловлен заменой нуклеотидов, дупликацией, вставками, выпадениями, нуклеотидными повторами. Генетический полиморфизм может носить количественный или качественный

характер. Некоторые из полиморфизмов встречаются довольно часто, другие очень редко.

Количественный полиморфизм представлен факультативными элементами, на долю которых приходится более 50% всего генома. Это микро- и минисателлитная ДНК, образующая tandemные повторы (STR — Short Tandem Repeats), ретротранспозоны, повторы большей протяженности с вариабельной по нуклеотидному составу внутренней структурой — VNTR (Variable Number Tandem Repeats). Наконец, в последние годы благодаря новым методам ДНК-анализа (сравнительная геномная гибридизация, полногеномный скрининг ассоциаций) в геноме человека показано наличие полиморфизма по большим фрагментам ДНК (1-50 МгБ). Так называемое Варьирующее число копий (Copy Number Variation — CNV).

Качественный полиморфизм представлен преимущественно однонуклеотидными заменами (ОНЗ) — single nucleotide polymorphism (SNP). Это самый частый ГП встречается примерно через каждые 300–400 п. о. Соответственно, общее число SNP во всем геноме человека оценивается величиной порядка $10\text{--}13 \times 10^6$. Геномы разных людей по этому ГП обнаруживают удивительное сходство (99,9%).

Решающая роль в изучении генетических полиморфизмов принадлежит международному проекту по картированию гаплоидного генома человека — получению его Гаплоидной карты — HarMap. Цель проекта — составить генетическую карту распределения однонуклеотидных замен (SNP) в гаплоидном наборе всех 23 хромосом человека. Суть проекта в том, что при анализе распределения уже известных SNP у индивидуумов нескольких поколений, соседние или близко расположенные в ДНК одной хромосомы SNP наследуются блоками. Такой блок SNP представляет собой гаплотип — набор аллелей нескольких локусов, расположенных на одной хромосоме (отсюда и название проекта HarMap). При этом каждый из картированных SNP выступает как самостоятельный молекулярный маркер. По сцеплению таких SNP-маркеров с исследованным признаком (болезнью, симптомом) определяются наиболее вероятные места локализации генов кандидатов, мутации (полиморфизмы) которых ассоциированы с тем или иным мультифакториальным заболеванием. Обычно для картирования выбирают 5 или 6 SNP, тесно сцепленных с уже известным менделирующим признаком. Хорошо охарактеризованные ОНЗ с частотой редких аллелей не менее 5% получили название маркерных SNP (tagSNP). Благодаря HarMap, которая включает SNP не только уже известных генов, но и SNP еще не идентифицированных генов, ученые получили в руки мощный универсальный навигатор, необходимый для углубленного анализа генома каждого индивидуума, для быстрого и эффективного картирования генов, аллельные варианты которых предрасполагают к различным мультифакториальным заболеваниям.

Предполагается, что около половина всех SNP (5 млн) приходится на смысловую (экспрессирующуюся) часть генома. Именно эти замены нередко представляют собой аллельные варианты генов, ассоциированных с различными мультифакторными заболеваниями. На сегодняшний день хорошо известно, что

полиморфизм характерен практически для всех генов человека. Установлено, что он имеет выраженную этническую и популяционную специфику. Полиморфизмы, затрагивающие смысловые части генов, нередко приводят к замене аминокислот и к появлению белков с новыми функциональными свойствами. Особенно существенное влияние на экспрессионную активность генов могут иметь замены или повторы нуклеотидов в регуляторных (промоторных) областях генов.

Изменения функции при генетическом полиморфизме могут быть:

- выгодными для организма,
- нейтральными или слабо отрицательными,
- отрицательными,
- выгодными в определенной среде и отрицательными – в другой.

Полиморфизм бывает:

- генный;
- хромосомный;
- переходный;
- сбалансированный.

Генетический полиморфизм наблюдается, когда ген представлен более чем одним аллелем.

Классическим примером полиморфизма генов являются 4 группы крови.

Хромосомный полиморфизм – между особями имеются различия по отдельным хромосомам. Это результат хромосомных аббераций, есть различия в гетерохроматиновых участках.

Переходный (адаптационный) полиморфизм – замещение в популяции одного старого аллеля новым, который более полезен в данных условиях. У человека есть ген гаптоглобина - Hр1f, Hр 2fs (гаптоглобин - белок плазмы крови, с высокой аффинностью, связывающий гемоглобин и высвобождающийся из эритроцитов, тем самым ингибирующий его окислительную активность). Старый аллель - Hр1f, новый - Hр2fs. Hр обуславливает слипание эритроцитов в острую фазу заболеваний.

Сбалансированный (гетерозиготный) полиморфизм – возникает, если отбор благоприятствует гетерозиготам в сравнении с рецессивными и доминантными гомозиготами.

При определенных условиях некоторые генетические полиморфизмы могут либо предрасполагать, либо препятствовать проявлению различных заболеваний. Различают следующие основные виды генетического полиморфизма.

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП) – отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом индивида. ОНП возникают в результате точечных мутаций и особенно важны для молекулярной диагностики болезней. Широкий спектр заболеваний – рак, инфекционные, аутоиммунные заболевания, серповидно клеточная анемия и другие связываются с однонуклеотидным полиморфизмом (рис. 1).

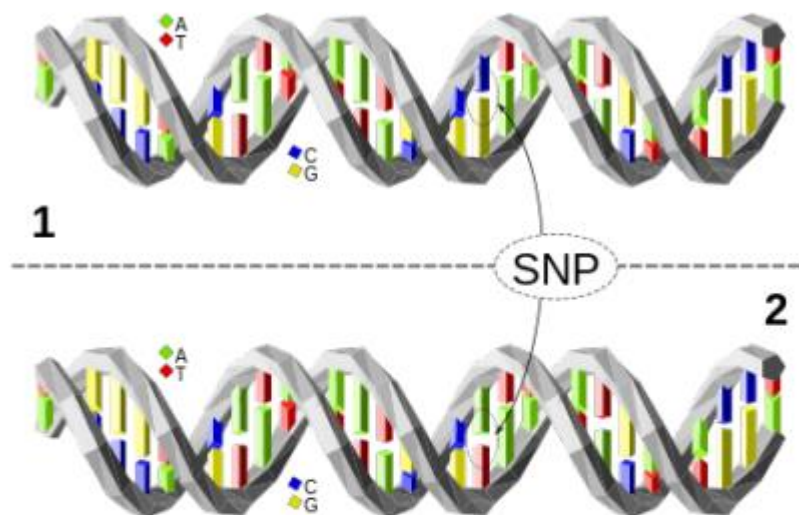


Рисунок 1. Полиморфизм единичного нуклеотида. Однонуклеотидный полиморфизм – отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме. Если две последовательности ДНК– AAGCCTA и AAGCTTA – отличаются на один нуклеотид, это свидетельствует о существовании двух аллелей: С и Т.

Для выявления генетического полиморфизма используется секвенирование ДНК – определение последовательности нуклеотидов в полинуклеотидной цепи. При полногеномном секвенировании секвенируется вся молекула ДНК, состоящая у человека из 3 млрд 200 млн нуклеотидов. Для решения столь грандиозной задачи созданы методы непрямого секвенирования (методы секвенирования нового поколения). При частичном секвенировании определяется нуклеотидная последовательность выбранных локусов ДНК. В последовательности нуклеотидов ДНК записана вся информация о свойствах организма, передаваемая от родителей потомству, в том числе информация о предрасположенности к тем или иным заболеваниям. Поэтому секвенирование находит применение в клинической лабораторной диагностике. В настоящее время наиболее распространенным методом секвенирования при поиске полиморфизмов является пиросеквенирование (рис. 2).

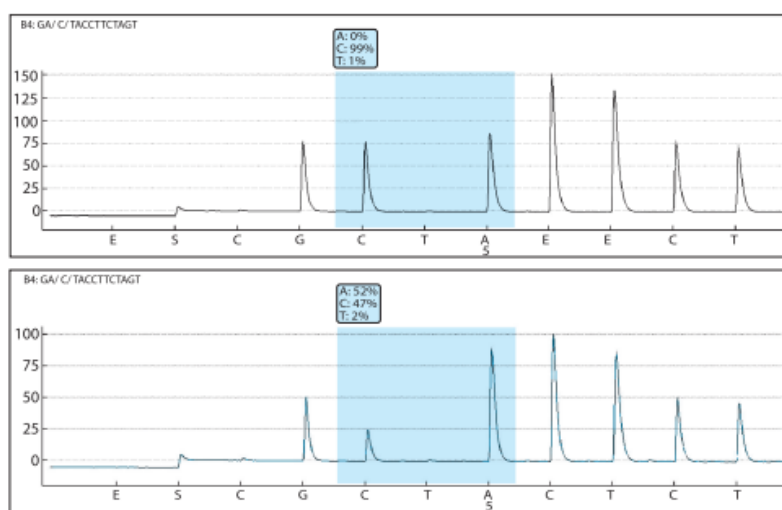


Рисунок 2. Пример детекции полиморфизма 2677G>T/A гена ABCB1 (rs2032582): верхний рисунок дикий генотип GG, нижний - гетерозигота GT

Для выявления однонуклеотидных полиморфизмов генома используют методы, основанные на ПЦР. К наиболее распространённым методам можно отнести анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов, аллель-специфическую ПЦР, различные варианты ПЦР в реальном времени, гибридизацию с использованием ДНК-микрочипов, масс-спектрометрический анализ.

Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (ПДРФ) – способ исследования ДНК путем ее разрезания эндонуклеазами и определения размеров образующихся фрагментов (рестриктов) с помощью гель-электрофореза. Анализ разнообразия образующихся рестриктов является важным инструментом в картировании генома, локализации генов, ответственных за генетические заболевания, определения риска заболевания, получения генетических отпечатков и определения родства, судебно-криминалистической экспертизе. Последнее направление получило название ДНК-дактилоскопия.

Короткие tandemные повторы – варьирующие участки (локусы) в ядерной и митохондриальной ДНК, состоящие из tandemно повторяющихся мономеров длиной меньше 9 пар оснований (рис. 3), являются широко распространёнными молекулярными маркерами в генетических и геномных исследованиях. Увеличение числа повторяющихся элементов микросателлитов в экзонах или в регуляторных генах связано с развитием неврологических заболеваний.

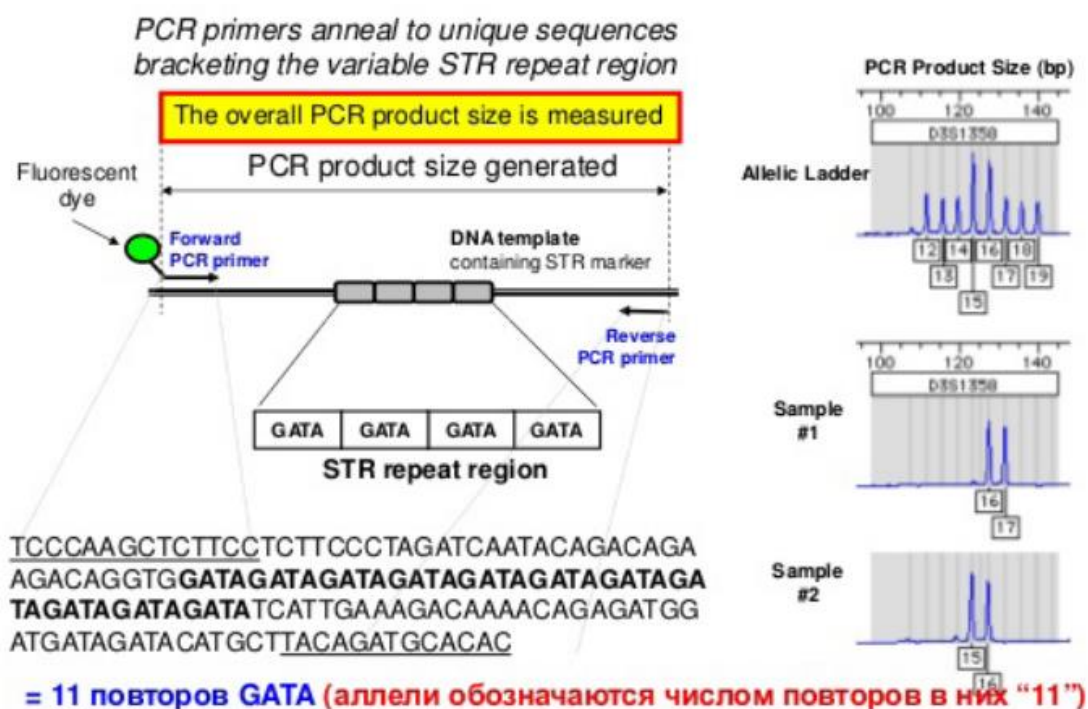


Рис. 3. Короткие tandemные повторы. Короткие tandemные повторы или микросателлиты – варьирующие участки (локусы) в ядерной и митохондриальной ДНК, состоящие из tandemно повторяющихся мономеров длиной меньше 9 пар оснований, широко распространённые молекулярные маркеры в генетических и геномных исследованиях.

Одним из приложений детекции генетических полиморфизмов являются фармакогенетические исследования - изучение генетических факторов, обуславливающих индивидуальные фармакологические реакции различных лекарственных препаратов или их сочетаний. Описаны клинические проявления полиморфизмов в генах, вовлечённых в процессы транспорта и метаболизма лекарственных препаратов, а также в генах, кодирующих молекулы-мишени, влияющие на эффективность и безопасность применения многих лекарственных средств. Выявление данных полиморфизмов позволяет прогнозировать ответ организма на лекарственное средство.

Большинство социально значимых болезней, таких как ишемическая болезнь сердца, онкологические заболевания, сахарный диабет 2 типа, возникают под влиянием наследственных и средовых факторов. В качестве наследственных факторов можно рассматривать полиморфизмы в генах, продукты которых вовлечены в физиологические процессы, или полиморфизмы, для которых в популяционных исследованиях показана ассоциация с тем или иным заболеванием.

Сочетания различных генов, обеспечивающих метаболические процессы в норме или вовлечённых в развитие конкретной комплексной патологии, получили название «генных сетей». В каждой из таких сетей выделяют главные (центральные) гены, и дополнительные (вспомогательные) гены, так называемые гены-модификаторы. Дальнейшее развитие концепция генных сетей получила в

исследованиях функциональных генетических модулей мультифакториальных заболеваний.

Поиск генов-кандидатов мультифакториальных заболеваний осуществлялся двумя способами — анализ ассоциаций и анализ сцепления. Основой метода ассоциаций является поиск молекулярных маркеров, тесно сцепленных с мультифакториальным заболеванием. Для этого, исходя из патофизиологии заболевания, сравнивают частоту аллелей предполагаемого гена-кандидата у больных и в группе контроля. Такой путь, весьма длительный и дорогостоящий, не гарантирует, что выявленные аллельные различия являются главными в патогенезе заболевания.

Метод сцепления основывается исключительно на позиционном картировании локуса и не требует наличия предварительной гипотезы о патофизиологии болезни. Метод эффективен при анализе семей с несколькими больными sibсами и при наличии обширных родословных. Он направлен на обнаружение у пациентов блока молекулярных маркеров, которые передаются от родителей больным потомкам, но не передаются здоровым. Более продвинутом и широко используемым в настоящее время является метод полногеномного анализа ассоциаций (Genome Wide Association Studies — GWAS). Он основан на использовании программы NapMap в сочетании с техникой биочипов высокого разрешения. Принципом метода GWAS является сканирование сотен тысяч маркеров, расположенных на всех хромосомах человека.

В настоящее время во многих диагностических центрах России широко применяются молекулярные методы с целью диагностики генных болезней, пренатальной диагностики генных и хромосомных болезней, выявления гетерозиготного носительства патологических мутаций в семьях высокого риска, для досимптоматической диагностики болезней с поздней манифестацией и с целью идентификации личности (геномная дактилоскопия). Постепенно набирает силу и генетическое тестирование в рамках предиктивной медицины. Генетический паспорт представляет собой индивидуальную базу -данных, отражающую уникальные генетические особенности каждого человека, его предрасположенность к тем или иным наследственным, мультифакторным и другим заболеваниям. Генетическая карта в полном варианте должна включать результаты исследования не только генов предрасположенности, но и бессимптомного носительства мутаций генов наиболее частых наследственных болезней (гемофилии, муковисцидоза, фенилкетонурии и др.). В настоящее время практическое применение находят только некоторые составляющие генетического паспорта (тестирование гетерозиготного носительства, геномная дактилоскопия, кариотипирование). Реже и только в семьях высокого риска проводится тестирование наследственной предрасположенности к бронхиальной астме, диабету или остеопорозу. Более продвинутой на пути клинического внедрения является генетическая карта репродуктивного здоровья. Карта рекомендована к применению в Центре планирования семьи, а также в дородовых и других отделениях института. Помимо анализа кариотипа и тестирования на носительство мутаций тяжелых наследственных заболеваний у супругов, планирующих ребенка, важное прогностическое значение имеет

исследование женщины по генным панелям заболеваний, осложняющих беременность, развитие плода, роды и послеродовой период (гестозы, привычное невынашивание, варикозная болезнь, фето-плацентарная недостаточность).

Согласно рекомендациям ВОЗ, генетическое тестирование должно проводиться с учетом добровольного, сознательного согласия тестируемого, то есть по достижении им совершеннолетия. Формально это означает, что важная генетическая информация может стать доступной сравнительно поздно, когда ее польза для обследуемого и его близких родственников уже в значительной мере утрачена. Во всяком случае, в семьях с высоким риском диабета 1-го типа, бронхиальной астмы, синдрома внезапной смерти, нарушений сердечной проводимости и ритма, метаболического синдрома и ожирения, а также при ряде других нозологий вполне оправдано упреждающее генетическое тестирование уже в раннем возрасте. Естественно, что проводиться оно может только с согласия родителей, по направлению врача-педиатра и после консультации семьи врачом-генетиком, компетентным в вопросах предиктивной медицины. Данный медицинский документ может оказать существенную помощь при проведении экспертизы состояния здоровья, а также оценки потенциального риска развития ряда мультифакториальных заболеваний у членов семьи высокого риска.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ПРОВЕРКИ

1. Перенести в тетрадь и заполнить следующую таблицу

Полиморфизм	Варьирующий элемент	Изменения в геноме	Патогенность изменений
Однонуклеотидный			
Полиморфизм длинных и коротких последовательностей			
Инсерционно-делеционный полиморфизм			
Полиморфизм числа копий			

ЛИТЕРАТУРА ДЛЯ ПОДГОТОВКИ

1. Биология : учебник для студентов вузов / МЗ РФ, ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; под ред. Н. В. Чебышева. - Москва : МИА, 2016. - 635 с.ил. - ISBN 978-5-9986-0229-0.
2. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 725 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4568-6.
3. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2018. - 553 с.ил. - ISBN 978-5-9704-4569-3.

4. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 2 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3565-6.
5. Биология : учебник : в 2 т.. Т. 1 / В. Н. Ярыгин, В. В. Глинкина, И. Н. Волков [и др.] ; под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-3564-9.
6. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 2 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 553 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5308-7.
7. Биология : учебник : в 2 томах: Т. 1 / под редакцией В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2020. - 725 с. : ил. - ISBN 978-5-9704-5307-0.
8. Практикум по биологии: учебно-методическое пособие / Ю.В. Мякишева, Р.А. Щепеткова, Д.С. Громова, А.Ф. Павлов, И.С. Павлов, Ю.А. Халитова ; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России. - Самара: ИД «Би Групп», 2023. - 100 с.
9. Биология. Т. 1.: учебник: в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 736 с. - ISBN 978-5-9704-7494-5. - Текст: электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474945.html>
10. Биология. Т. 2. : учебник : в 2 т. / под ред. В. Н. Ярыгина. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 560 с. - ISBN 978-5-9704-7495-2. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970474952.html>