

# Генетический анализ (признаков человека)

Ю. С. Аульченко

# Вопросы

- **15-1 Закономерности наследования, открытые Г. Менделем. Представление Г. Менделя о дискретной наследственности. Представление об аллелях и их взаимодействиях.** Анализирующее скрещивание.
- **11-1 Основные закономерности наследования. Цели и принципы генетического анализа. Методы генетического анализа.** Основы гибридологического и мутационного методов.
- **32-3 Особенности человека как объекта генетических исследований. Методы изучения генетики человека.**
- **13 -1 Цели и принципы генетического анализа. Генеалогический, популяционный и близнецовый методы.**
- **19-3 Проблемы медицинской генетики. Врожденные и наследственные болезни, их распространение в человеческих популяциях. Болезни с наследственной предрасположенностью.** Скрининг генных дефектов. Хромосомные и генные болезни.
- **20-3 Генетическая гетерогенность популяций. Методы изучения природных популяций.** Понятие о внутривидовом генетическом полиморфизме и генетическом грузе.
- **24-3 Понятие о структурной, функциональной и эволюционной геномике. Молекулярно-генетические методы картирования генома.**
- **21-1 Особенности наследования количественных признаков (полигенное наследование). Использование статистических методов при изучении количественных признаков.**

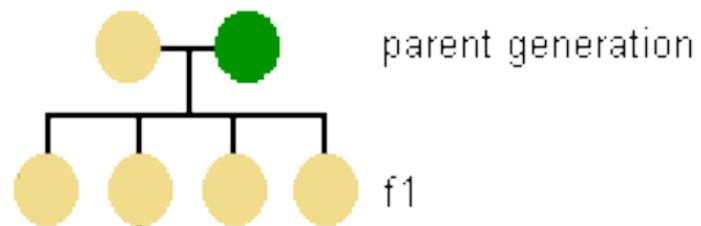
# План доклада

- Законы Менделя
- Генетический анализ (ГА)
- Основные этапы ГА признаков человека
  
- Картирование локусов с помощью полногеномного анализа ассоциации

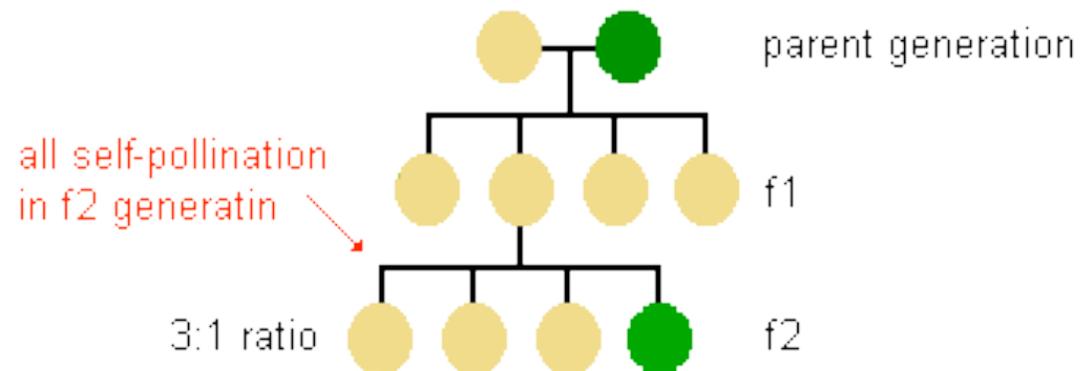
# Изученные признаки

- Форма семян
  - Цвет семян
  - Позиция цветка
  - Длина стебля
  - ... 7 признаков!
- 
- Протестировано около 28,000 горошков

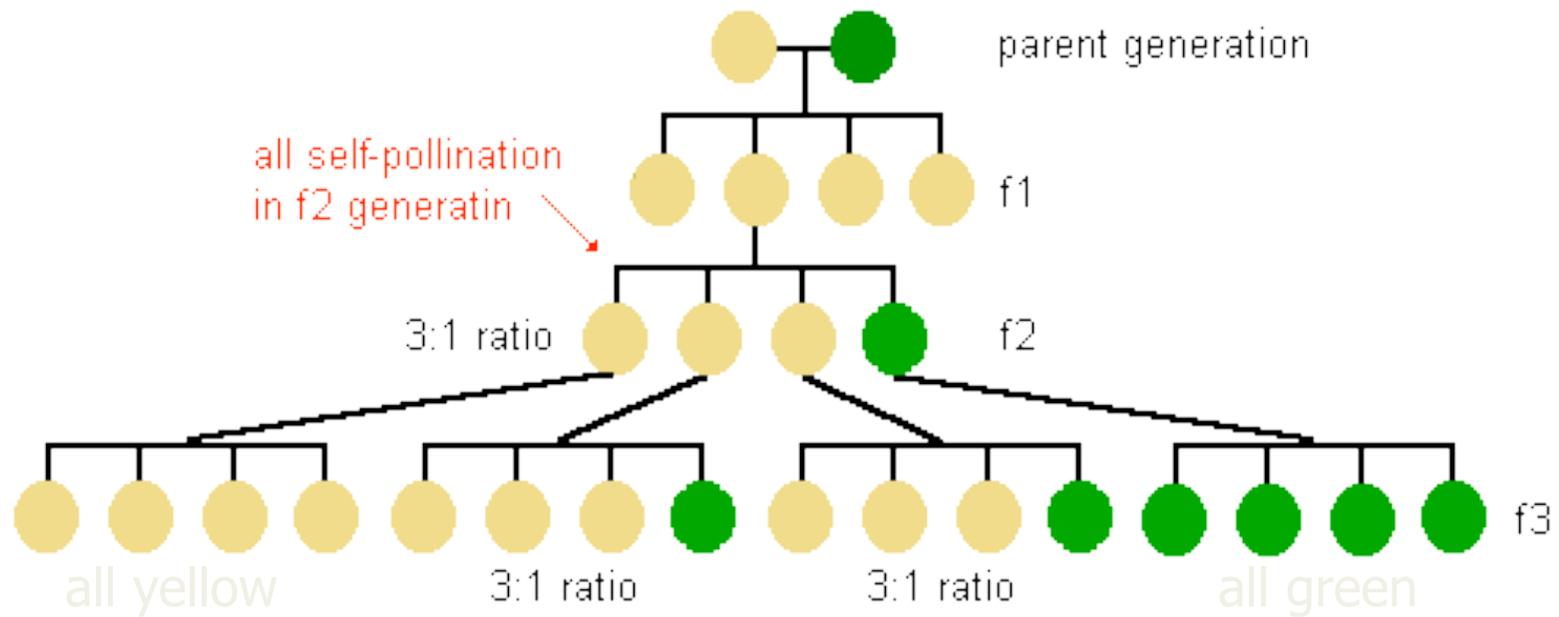
# Единообразие F<sub>1</sub>



# Расщепление в F<sub>2</sub>



# Расщепление F<sub>2</sub>



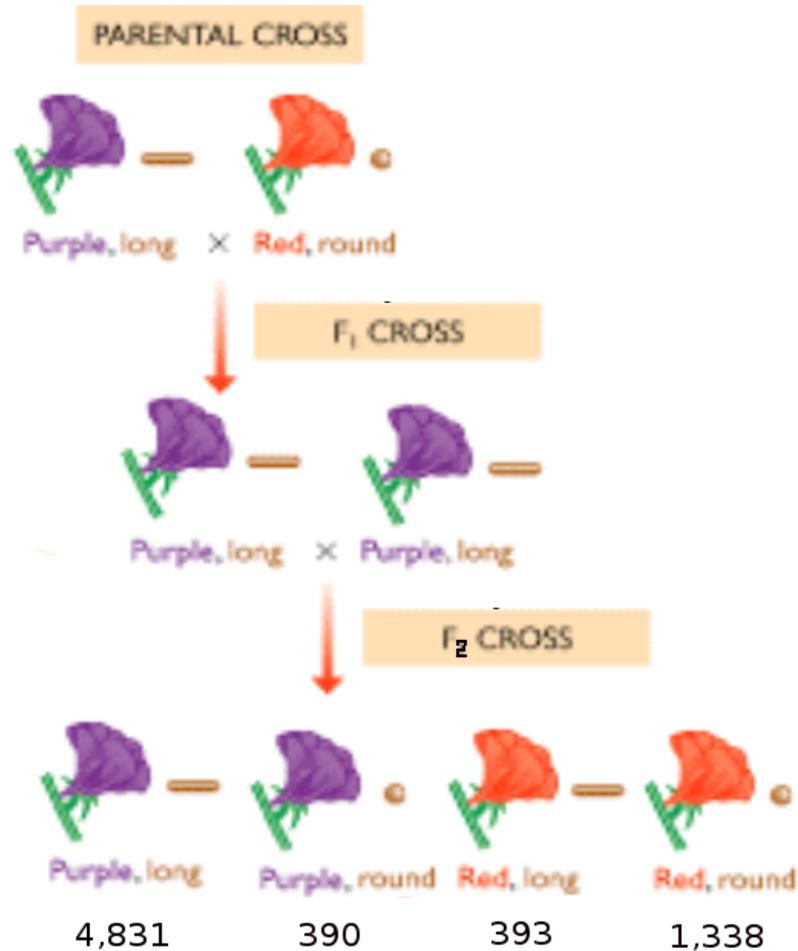
# Законы Менделя можно свести к набору постулатов

Признаки контролируются «аллелями». Каждый организм получает один аллель от одного родителя, а второй – от другого. **Аллели передаются потомству случайно и независимо (принцип сегрегации)**

- Аллели : **Y, G**
- **Y** доминирует над **G**
- Генотип : Фенотип
- **YY** : **Желтый**
- **YG or GY** : **Желтый**
- **GG** : **Зеленый**



# Bateson & Punnett (1905)



Expected under 9:3:3:1

- 3911 : 1303 : 1303 : 435

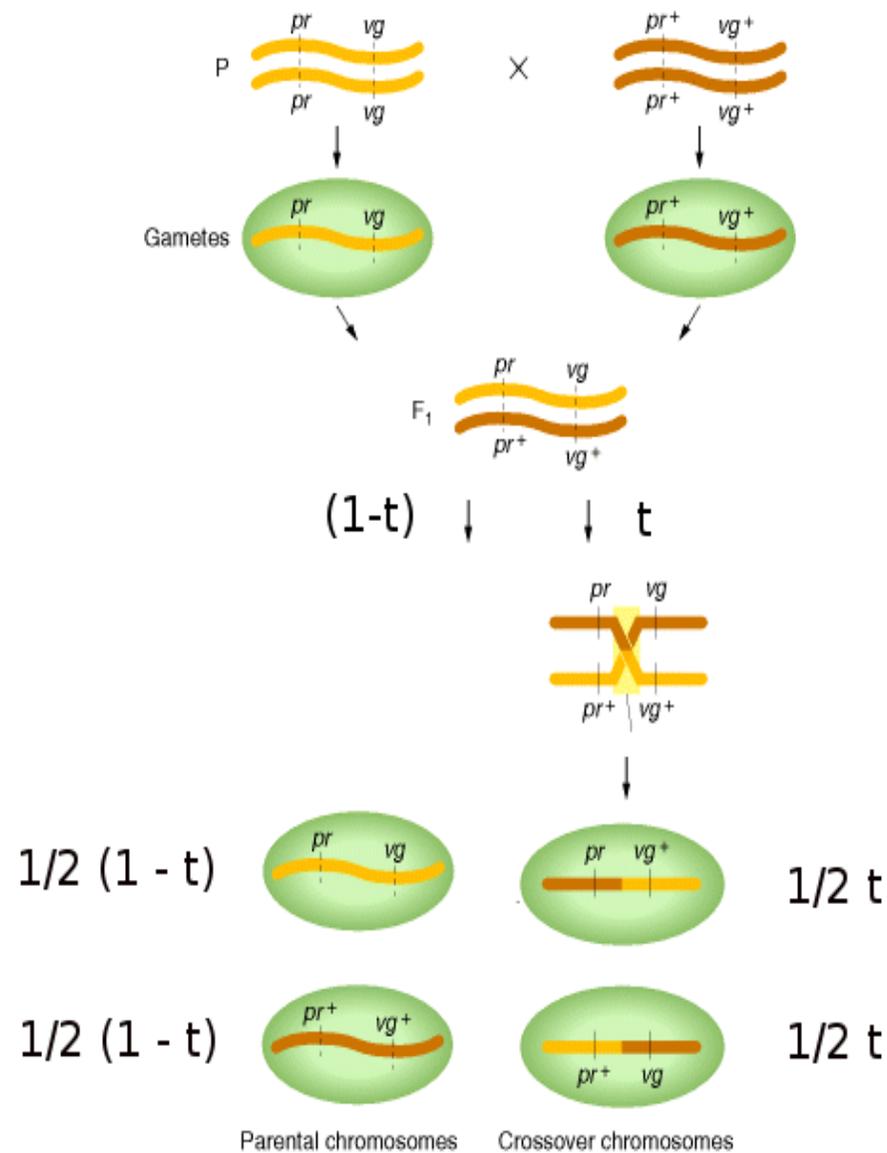
Observed is rather

- 11 : 1 : 1 : 3

Compared to expected

- More parental
- Less recombinant

# Морган: принцип рекомбинации



# План доклада

- Законы Менделя
- **Генетический анализ (ГА)**
- Основные этапы ГА признаков человека
  
- Картирование локусов с помощью полногеномного анализа ассоциации

# Цель генетического анализа

- Описание модели генетического контроля признака путем идентификации
  - генов, принимающих участие в контроле признака
  - их аллельных вариантов
  - взаимодействий между ними и средой
- Характеризация молекулярно-генетических механизмов контроля

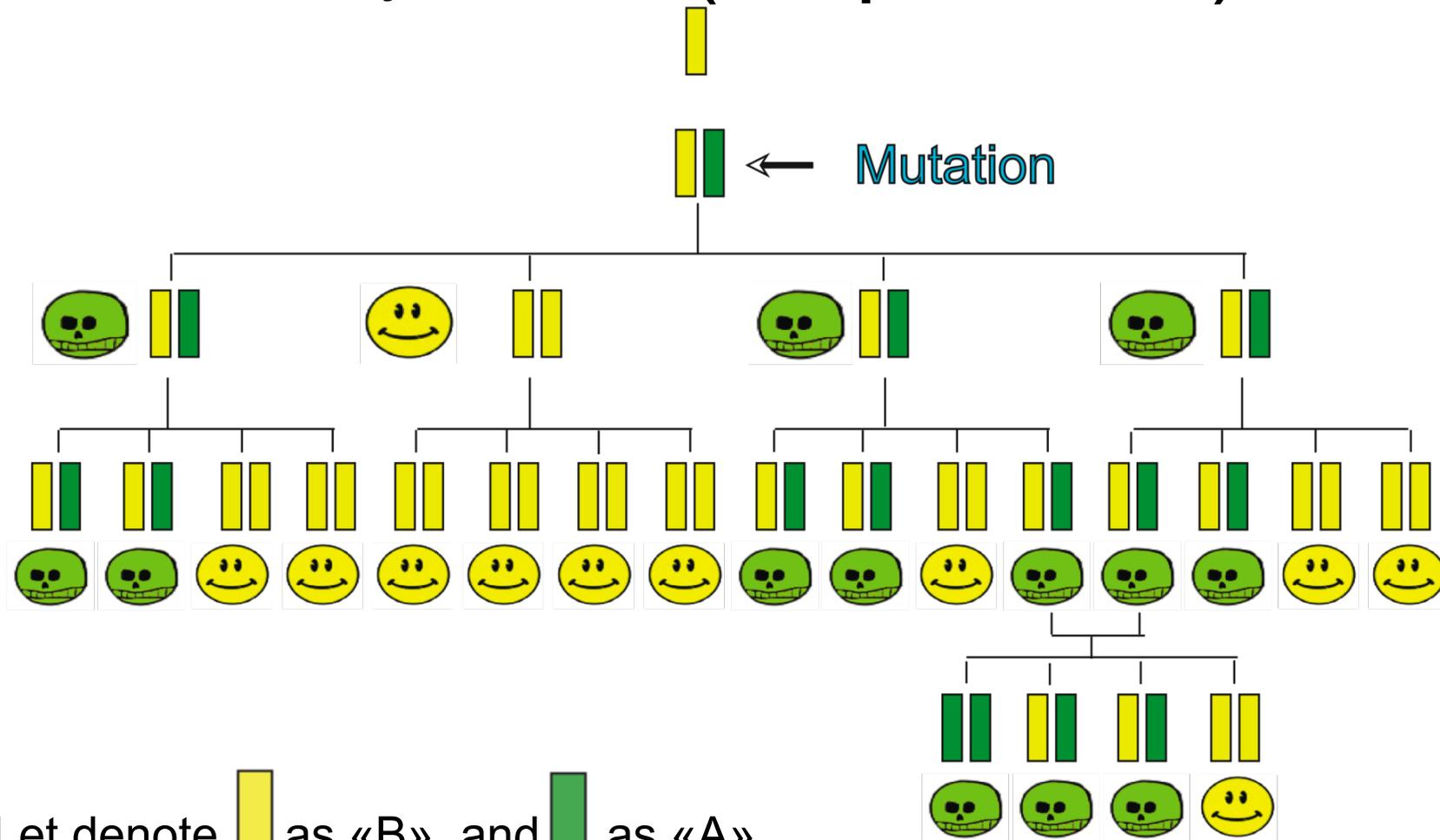
# Зачем искать гены и аллели?

- Гены
  - Больше знать о биологии признака: предоставляет информацию о метаболических путях вовлеченных в патогенез заболевания  
Это знание позвол(яе)(и)т разрабатывать новые биомаркеры и лекарственные средства
- Аллели локуса
  - Идентификация людей с высоким риском развития заболевания, возможно использование для индивидуальной медицины.

# Человек как объект генетического анализа

- Невозможность использования экспериментального гибринологического метода; необходимость работать с ретроспективным материалом, набранным из популяции
- Геном популяций человека полиморфен: два человека различаются по  $3 \times 10^6$  оснований
- Однако много параллелей
  - Близнецы  $\approx$  клонирование
  - Смешанные (admixed) популяции  $\approx$  F2, гибридный сток
  - Инбредные популяции
  - ...

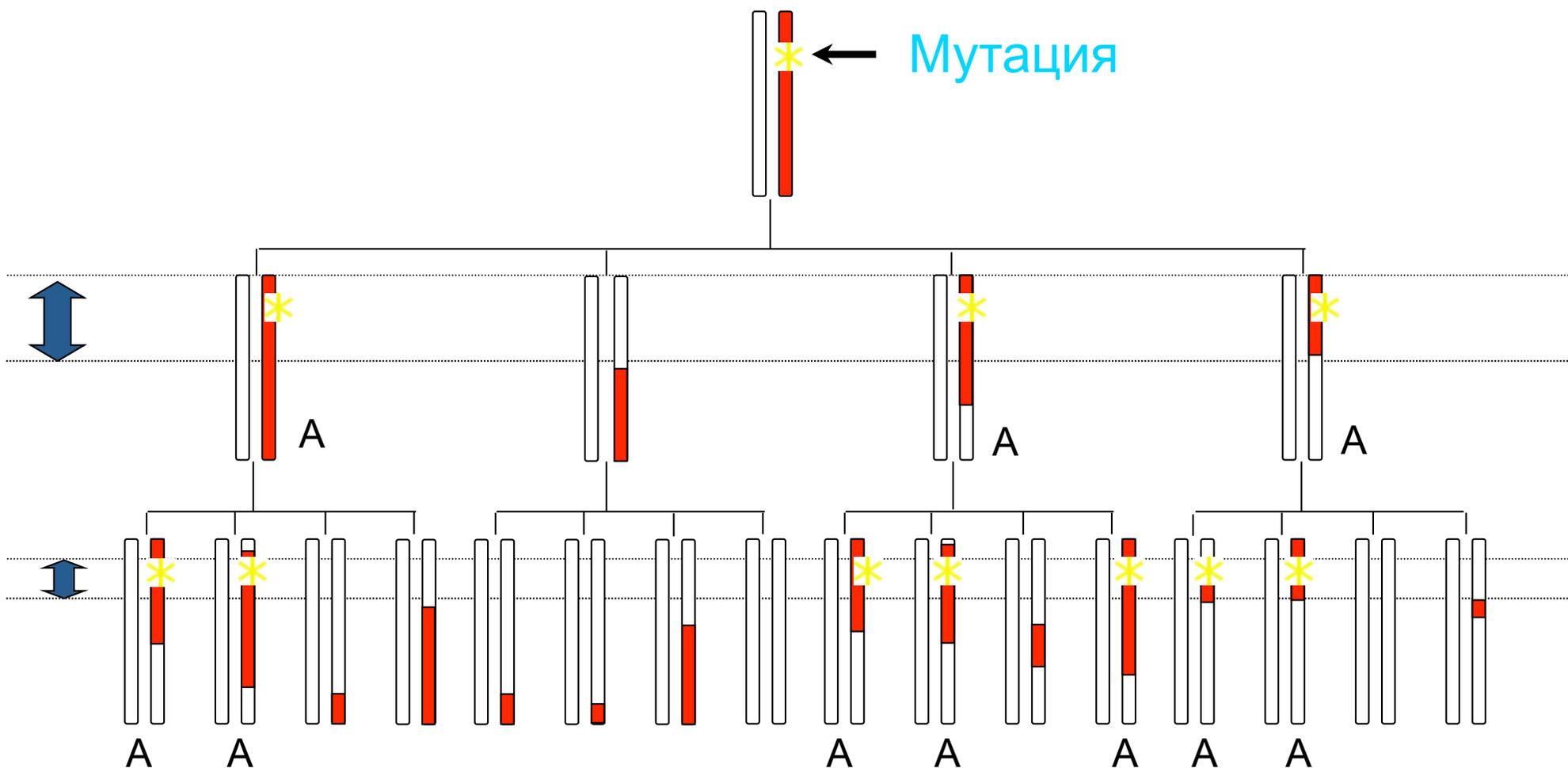
# Распространение мутации в популяции (сегрегация)



Let denote  as «B», and  as «A»

Three genotypes possible in the population: AA, AB, BB

# Совместная сегрегация и рекомбинация



# План доклада

- Законы Менделя
- Генетический анализ (ГА)
- **Основные этапы ГА признаков человека**
- Картирование локусов с помощью полногеномного анализа ассоциации

# Генетический анализ

- Присутствует ли генетическая компонента в контроле признака (наследуется ли признак)?
- Как наследуется признак (просто или сложно)?
- Какие локусы отвечают за наследование признака? Какова модель взаимодействий?
- *Каков функциональный механизм действия локуса? Какие ГЕНЫ участвуют в контроле признака? (функциональная геномика)*

# Наследуется ли признак?

- Если признак контролируется генетически, тогда чем более сходны геномы, тем более сходны признаки
- Сходство геномов  $\approx$  родство. Генетически контролируемый признак должен быть более сходным у MZ близнецов, чем у DZ, чем у полусибов, чем у двоюродных...
- Это предположение можно тестировать статистическими методами
- Степень сходства между родственниками можно характеризовать разными показателями: коэффициент наследуемости, относительный риск у родственников, ...

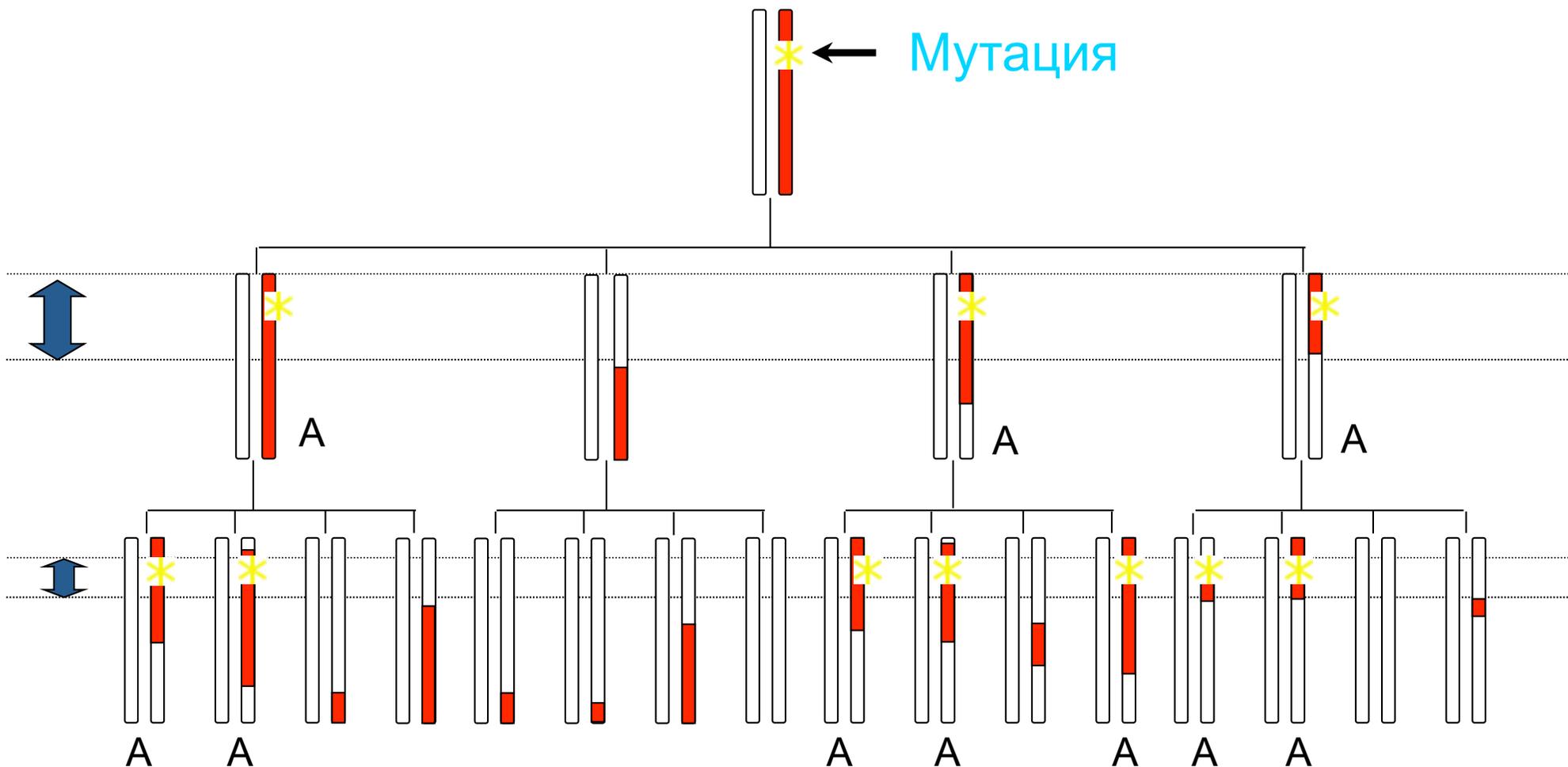
# Как наследуется признак?

- Просто (совместимо с моногенной моделью) или сложно (все остальное)
- (Комплексный) сегрегационный анализ
- По большому счету, вопрос поставлен некорректно. Для многих «сложных» признаков существуют моногенные, семейные формы
  - Рак груди (BRCA1, BRCA2)
  - Болезнь Альцгеймера (APP, PSEN, ...)
  - Диабет (MODY)
  - ...

# Генетическое картирование

- Какие локусы отвечают за наследование признака?
- Для того, что бы ответить на этот вопрос, требуется промаркировать геном

# Совместная сегрегация



# Маркирование генома

- Родство и пол (1910+)
- Биохимические маркеры (1950+)
- 100-1000 микросателлитов (1990e)
- 100-1000 **тысяч** SNP (2000e)
- Ресиквенирование геномов (2010+)

# План доклада

- Законы Менделя
- Генетический анализ (ГА)
- Основные этапы ГА признаков человека
  
- **Картирование локусов с помощью полногеномного анализа ассоциации**

# План доклада 2

- Полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА)
  - Возрастная дегенерация желтого пятна
  - Уровени липидов крови
- Обсуждение и выводы

# Число публикаций, упоминающих ПГАА



# Анализ генетической ассоциации

Группа пациентов



Генотипирование



Контрольная группа



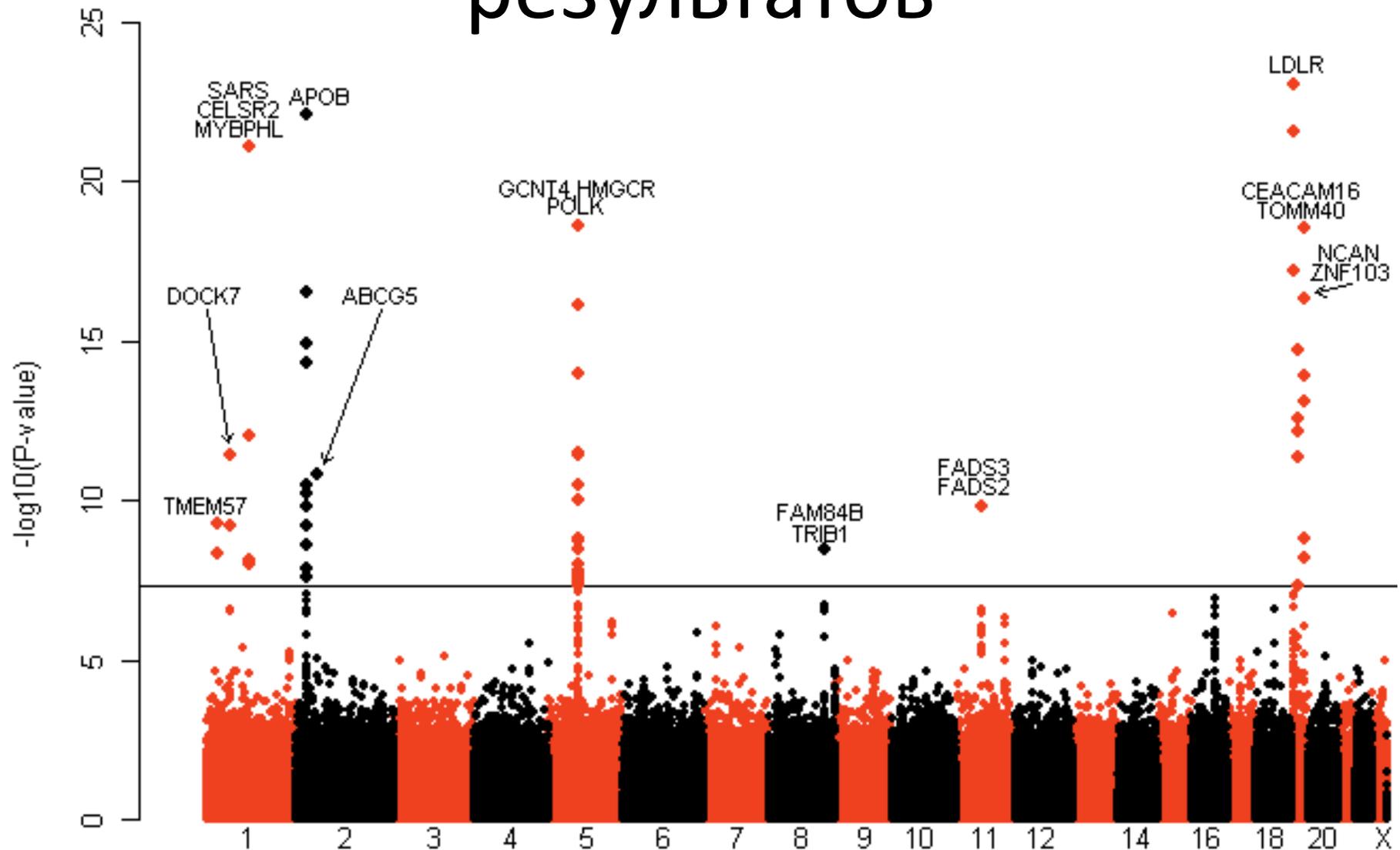
Генотипирование



	A	B
Cases	5	5
control	1	9

$P(\text{A in cases}) = 50\%$   
 $P(\text{A in controls}) = 10\%$   
 $P\text{-value} = 0.14$

# Пример представления результатов



# План доклада 2

- Полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА)
  - **Возрастная дегенерация желтого пятна**
  - Уровени липидов крови
- Обсуждение и выводы
- Перспективы

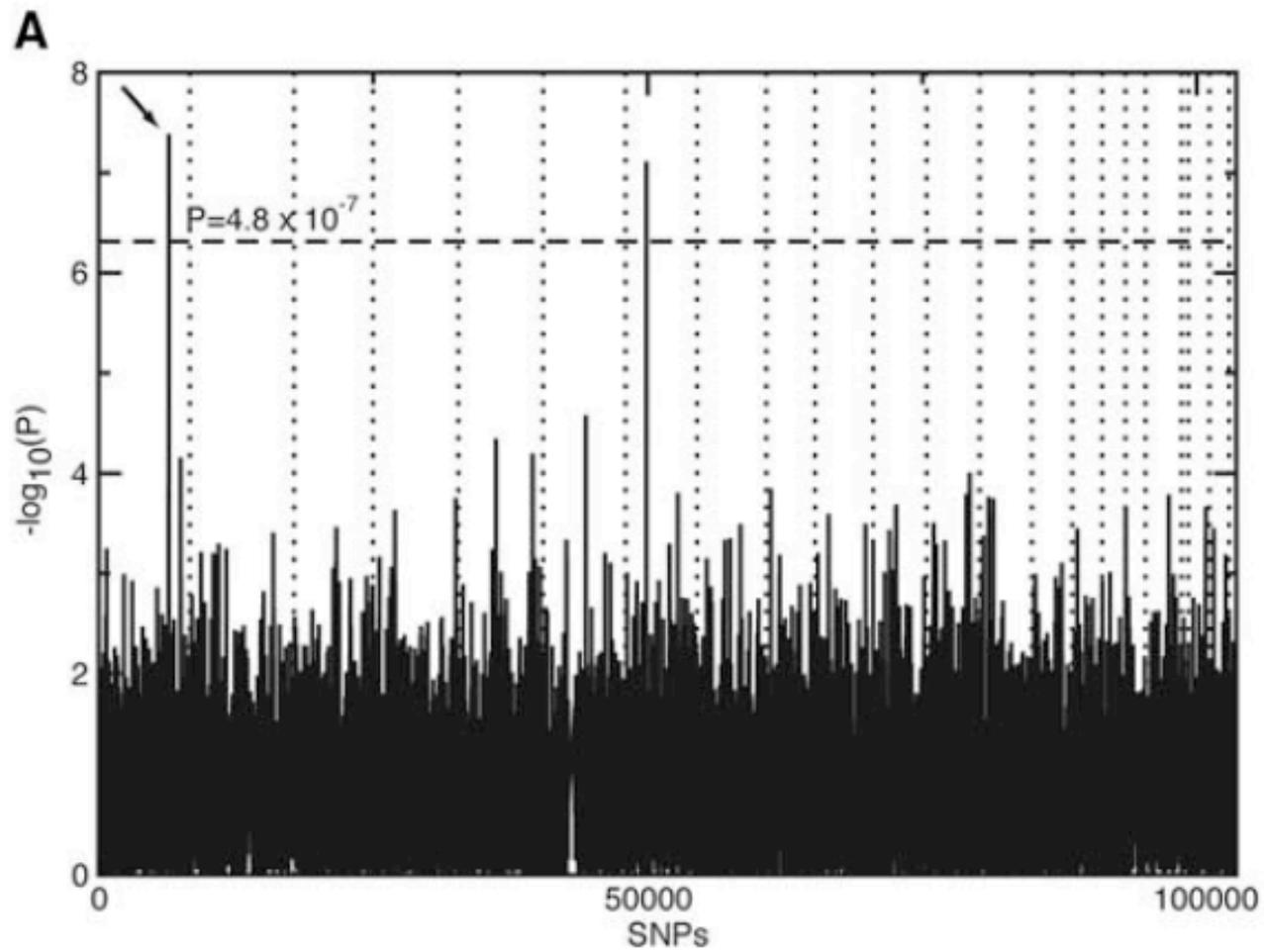
# Complement Factor H Polymorphism in Age-Related Macular Degeneration

Robert J. Klein,<sup>1</sup> Caroline Zeiss,<sup>2\*</sup> Emily Y. Chew,<sup>3\*</sup>  
Jen-Yue Tsai,<sup>4\*</sup> Richard S. Sackler,<sup>1</sup> Chad Haynes,<sup>1</sup>  
Alice K. Henning,<sup>5</sup> John Paul SanGiovanni,<sup>3</sup> Shrikant M. Mane,<sup>6</sup>  
Susan T. Mayne,<sup>7</sup> Michael B. Bracken,<sup>7</sup> Frederick L. Ferris,<sup>3</sup>  
Jurg Ott,<sup>1</sup> Colin Barnstable,<sup>2</sup> Josephine Hoh<sup>7†</sup>

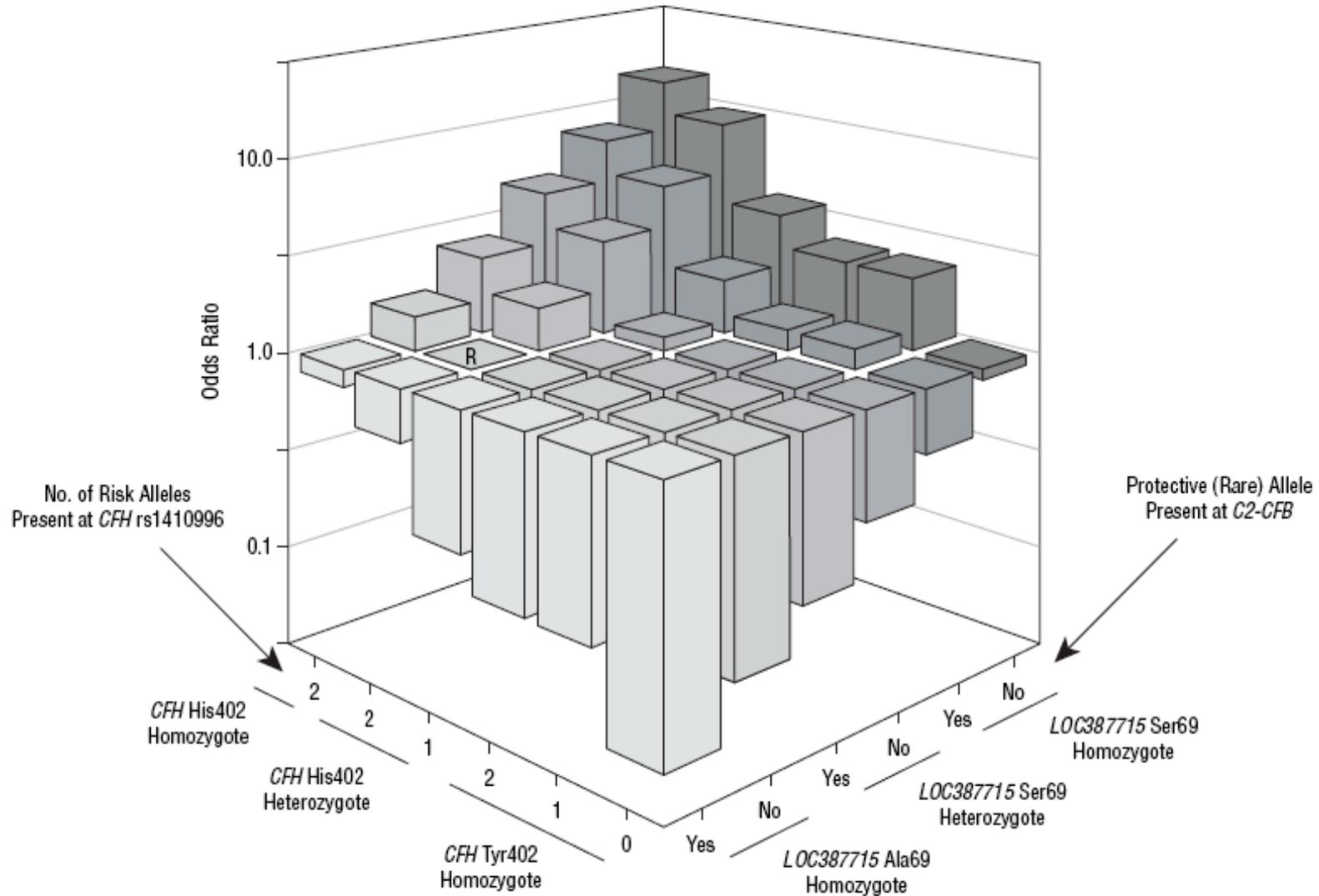
www.sciencemag.org SCIENCE VOL 308 15 APRIL 2005

- Возрастная дегенерация желтого пятна (ВДЖП)
- Выборка 96 больных и 50 контрольных особей
- Генотипирование 100,000 маркеров

# Результаты



# Относительный риск ВДЖП как функция генотипов 3-х локусов



# План доклада 2

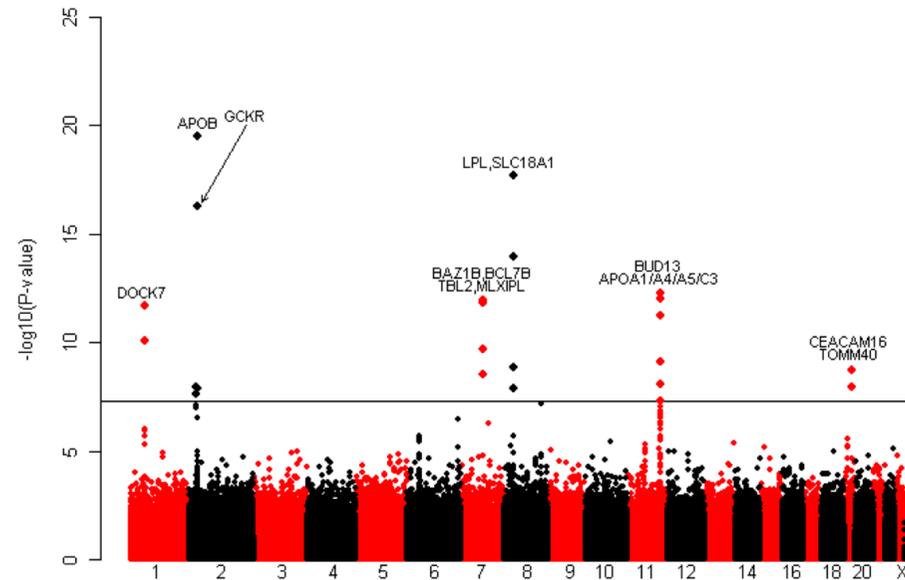
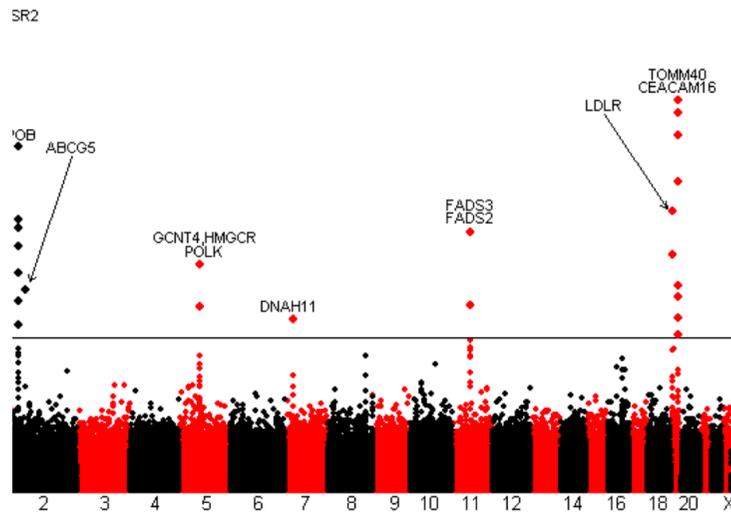
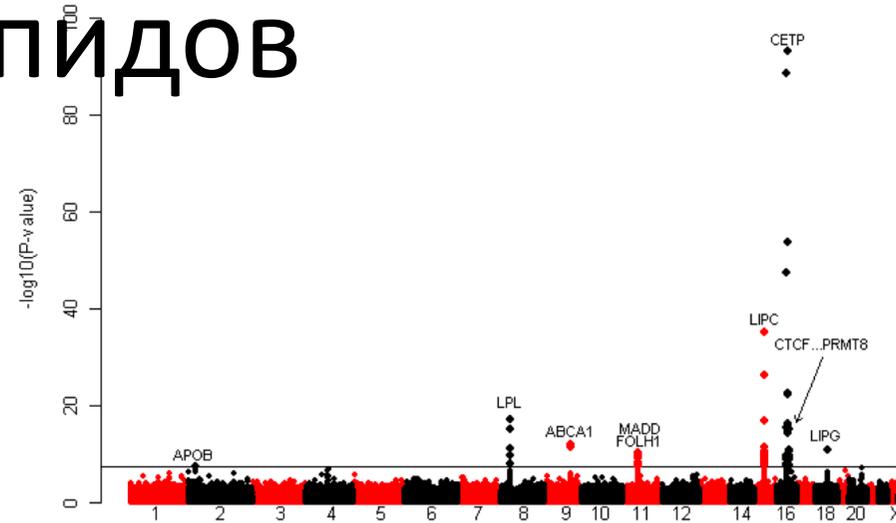
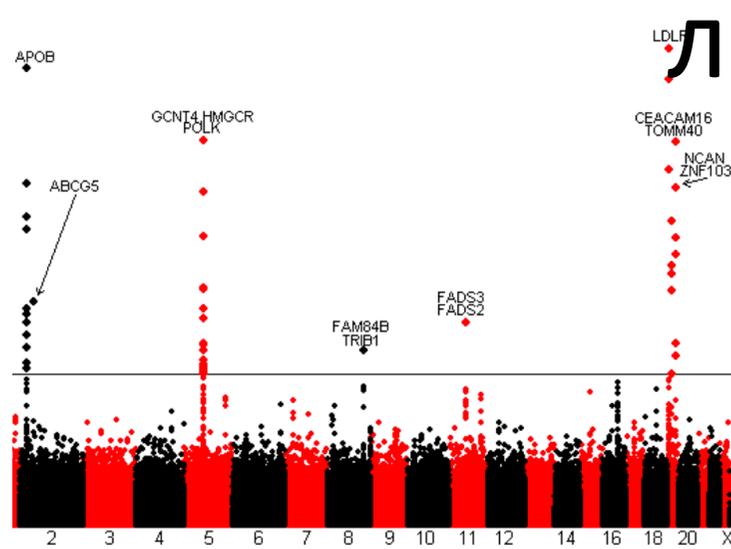
- Полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА)
  - Возрастная дегенерация желтого пятна
  - **Уровени липидов крови**
- Обсуждение и выводы
- Перспективы

# ПГАА липидов крови

- Исследование в рамках консорциума ENGAGE (European Network for Genomics And Genetic Epidemiology)
- Материал
  - Холестерин, липопротеины высокой (ЛПВП) и низкой плотности (ЛПНП), триглицериды
  - Анализ 16 популяционных выборок (включая ГИП)
  - ПГАА с использованием более 300,000 SNP
  - Большой объем данных (~20,000)

# Результаты ПГАА уровней

## ЛИПИДОВ



# Результаты ПГАА уровней ЛИПИДОВ

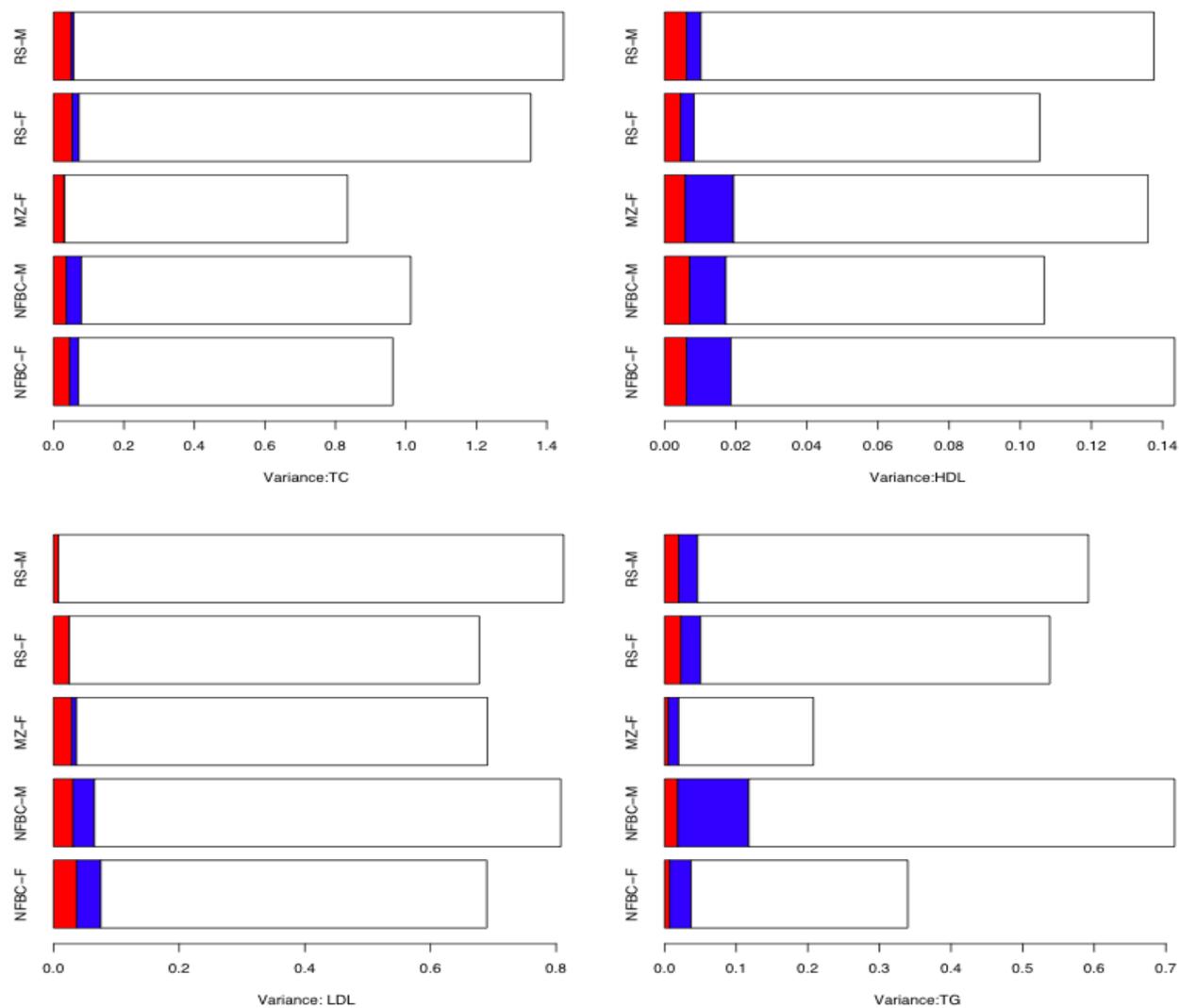
Локус	Хром	Поз, Mb	Ген-кандидат
<i>FADS1/2/3</i>	11	61.35	<i>FADS1/2/3</i> . Десатуразы жирных кислот
<i>ABCG5/8</i>	2	43.98	<i>ABCG5/8</i> . Ситостеролемия
<i>TMEM57</i>	1	25.51	<i>LDLRAP1</i> . Гиперхолестеринемия
<i>MADD-FOLH1</i>	11	48.48	<i>LXRA</i> . Рецептор X печени
<i>CTCF-PRMT8</i>	16	66.46	<i>LCAT</i> . Синдром «рыбьего глаза»
<i>DNAH11</i>	7	21.39	Нет явного кандидата

# Результаты ПГАА уровней ЛИПИДОВ

Локус	Хром	Поз, Mb	Ген-кандидат
<i>FADS1/2/3</i>	11	61.35	<i>FADS1/2/3</i> . Десатуразы жирных кислот
<i>MADD-FOLH1</i>	11	48.48	<i>LXRA</i> . Рецептор X печени
<i>TMEM57</i>	11	21.51	<i>TMEM57</i> . Трансмембранный белок
<i>STCF-PMRT8</i>	16	66.46	<i>LCMT1</i> . Синдром «рыбьего глаза»

- Для пяти локусов (***FADS1/2/3***, ***ABCH5/8***, ***MADD-FOLH1***, ***TMEM57***, ***STCF-PMRT8***), ассоциация была подтверждена в независимых исследованиях

# Предсказание уровней липидов

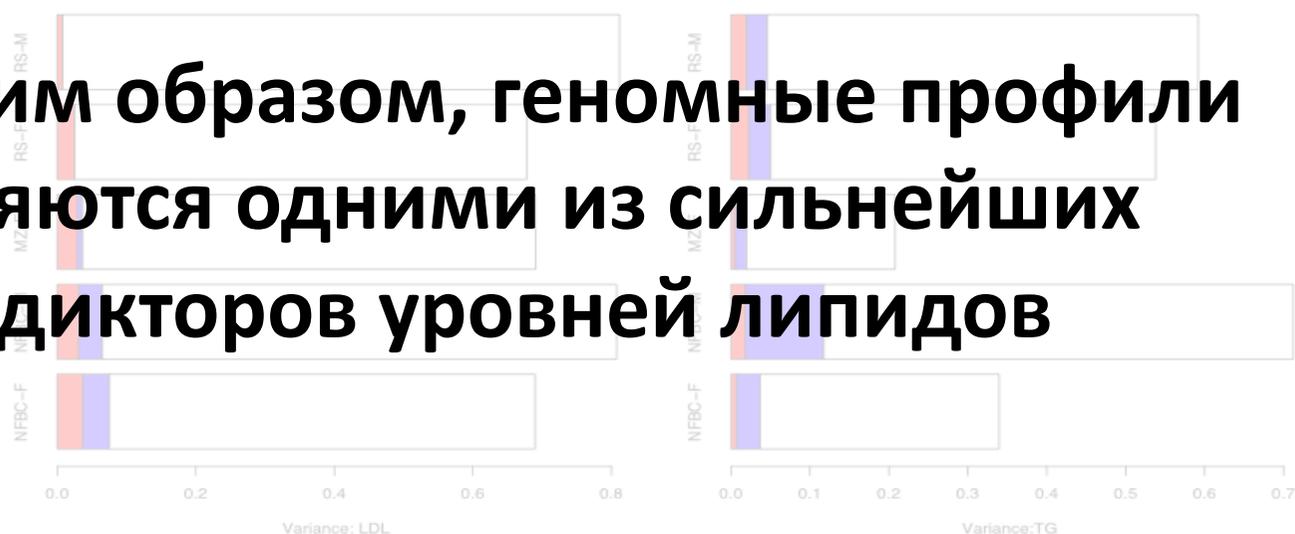


# Предсказание уровней липидов

- Индекс массы тела объясняет 0-14% дисперсии признака
- Геномный профиль: 1-7% остаточной дисперсии



- Таким образом, геномные профили являются одними из сильнейших предикторов уровней липидов



# План доклада 2

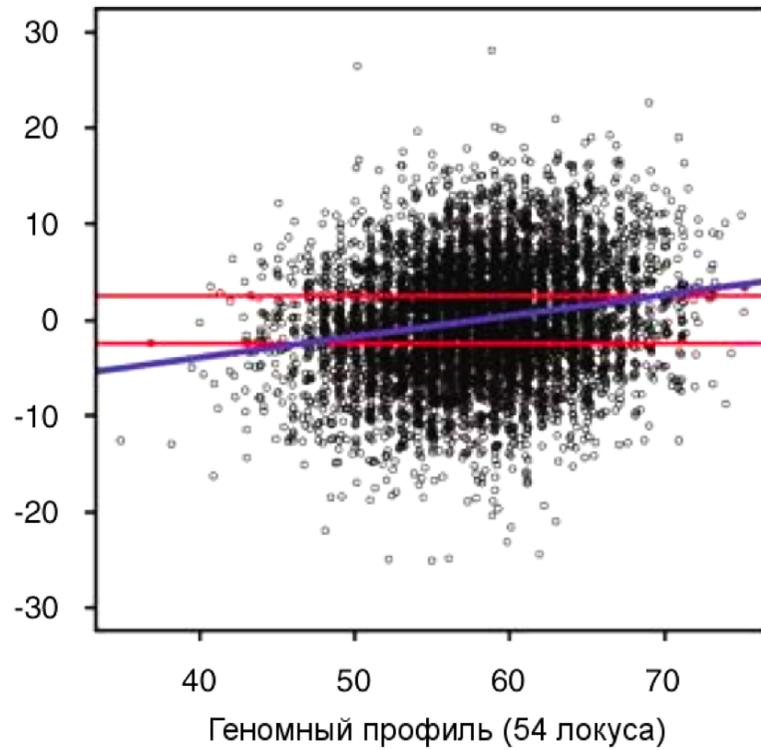
- Полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА)
  - Возрастная дегенерация желтого пятна
  - Уровени липидов крови
- **Обсуждение и выводы**
- Перспективы

# Выводы

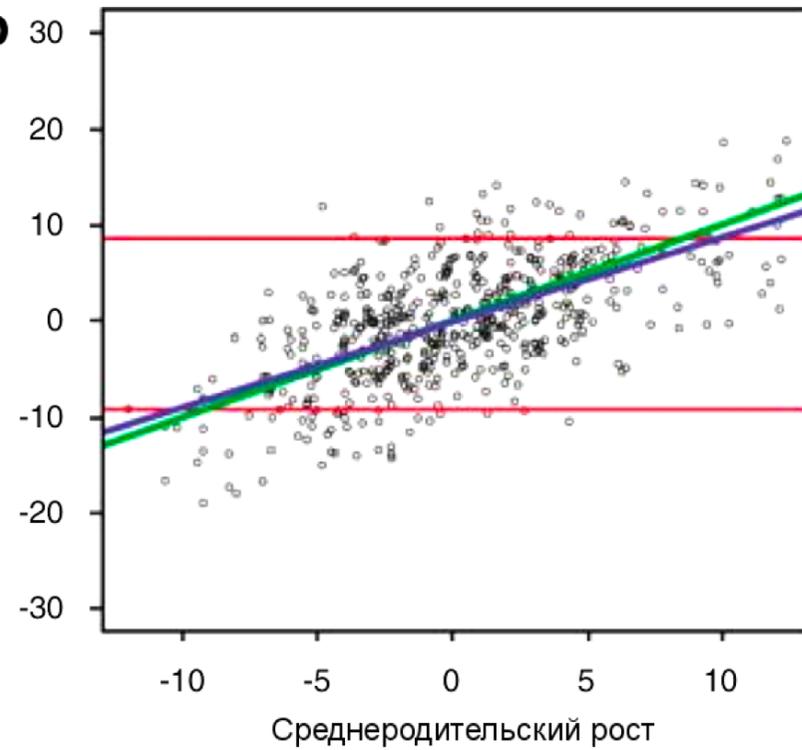
- ПГАА является мощным и воспроизводимым методом картирования локусов сложных признаков. Результаты ПГАА позволяют построить прогностическую модель. (ГДЕ?!)
- Ни один метод (ПГАА, ресиквенирование,...) не даст однозначный ответ на вопрос о контроле произвольного признака. Биология >> Технология картирования.
- Лocus ≠ Ген. ПГАА/ресиквенирование ≠ Биология. Недостающее звено от локуса к гену. Функциональные исследования.

# Предсказание роста

**a**  
Значения роста, скорректированные  
на пол и возраст, см



**b**



# Предсказание роста



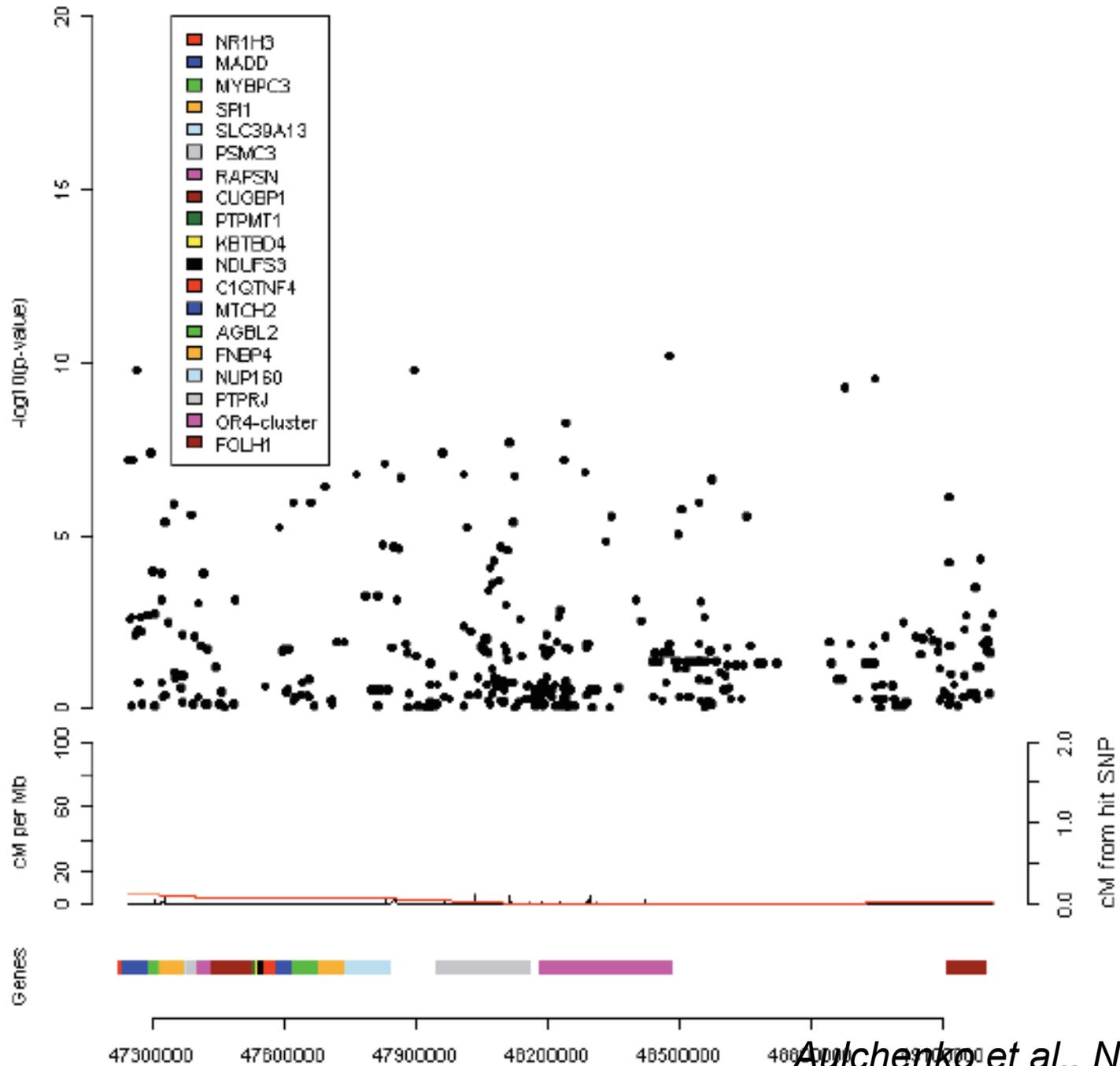
# Выводы

- ПГАА является реально работающим методом картирования локусов сложных признаков. Предсказание работает.
- Ни один метод (ПГАА, ресиквенирование,...) сам по себе как правило не дает однозначный ответ на вопрос о контроле произвольного признака.
- Лocus ≠ Ген. ПГАА/ресиквенирование ≠ Биология. Недостающее звено от локуса к гену. Функциональные исследования.

# Результаты ПГАА уровней ЛИПИДОВ

Локус	Хром	Поз, Mb	Ген-кандидат
<i>FADS1/2/3</i>	11	61.35	<i>FADS1/2/3</i> . Десатуразы жирных кислот
<i>ABCG5/8</i>	2	43.98	<i>ABCG5/8</i> . Ситостеролемия
<i>TMEM57</i>	1	25.51	<i>LDLRAP1</i> . Гиперхолестеринемия
<i>MADD-FOLH1</i>	11	48.48	<i>LXRA</i> . Рецептор X печени
<i>CTCF-PRMT8</i>	16	66.46	<i>LCAT</i> . Синдром «рыбьего глаза»
<i>DNAH11</i>	7	21.39	Нет явного кандидата

MADD-FOLH1 for HDL



Aulchenko et al., Nat Gen, 2009

# Выводы

- ПГАА является реально работающим методом картирования локусов сложных признаков. Предсказание работает.
- Ни один метод (ПГАА, ресиквенирование,...) сам по себе не даст ответы на вопрос о контроле произвольного признака. There is no 'magic bullet'. Биология >> Технология картирования.
- **Локус ≠ Ген. Недостающее звено от локуса к гену. Функциональные исследования. (оцените масштаб!)**

# Вопросы

- **15-1 Закономерности наследования, открытые Г. Менделем. Представление Г. Менделя о дискретной наследственности. Представление об аллелях и их взаимодействиях.** Анализирующее скрещивание.
- **11-1 Основные закономерности наследования. Цели и принципы генетического анализа. Методы генетического анализа.** Основы гибридологического и мутационного методов.
- **32-3 Особенности человека как объекта генетических исследований. Методы изучения генетики человека.**
- **13 -1 Цели и принципы генетического анализа. Генеалогический, популяционный и близнецовый методы.**
- **19-3 Проблемы медицинской генетики. Врожденные и наследственные болезни, их распространение в человеческих популяциях. Болезни с наследственной предрасположенностью.** Скрининг генных дефектов. Хромосомные и генные болезни.
- **20-3 Генетическая гетерогенность популяций. Методы изучения природных популяций.** Понятие о внутривидовом генетическом полиморфизме и генетическом грузе.
- **24-3 Понятие о структурной, функциональной и эволюционной геномике. Молекулярно-генетические методы картирования генома.**
- **21-1 Особенности наследования количественных признаков (полигенное наследование).** Использование статистических методов при изучении количественных признаков.