ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ
ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

ԳԱՅԱՆԵ ԶԱԼԻՆՅԱՆ
ԱԼՎԱՐԴ ԿԻՐԱԿՈՍՅԱՆ

Մարդու ԳԵՆԵՏԻԿԱՅԻ մեթոդներ

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Գ. Զալինյան, Ա. Կիրակոսյան

Մարդու գենետիկայի մեթոդներ

ԵՐԵՎԱՆ
ԵՊՀ ՀՐԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
2014

ՀՏԴ 575(07)
ԳՄԴ 28.04 g7
Կ 530

Հրատարակության է երաշխավորել ԵՊՀ կենսաբանության ֆակուլտետի գիտական խորհուրդը

Գրախոս՝ կ.գ.դ., պրոֆեսոր Եպիսկոպոսյան Լ. Մ.
Խմբագիր՝ կ.գ.դ., դոցենտ Հովհաննիսյան Գ. Գ.

Գ. Զալինյան, Կիրակոսյան Ա.
Կ 530 Մարդու գենետիկայի մեթոդներ/ Ա. Կիրակոսյան, Գ. Զալինյան. -Եր.: ԵՊՀ հրատ., 2014, 120 էջ:

Ուսումնական ձեռնարկում հակիրճ ներկայացված են առարկայական ծրագրով նախատեսված և մարդու գենետիկայում կիրառվող հիմնական մեթոդները: Ներկայացված են լաբորատոր և գործնական աշխատանքներ, տոհմածառերի կազմման սկզբունքները, բերված են գենետիկական խնդիրներ, տրված են դրանց լուծման եղանակները:

Ուսումնական ձեռնարկը նախատեսված է բուհերում գենետիկա ուսումնասիրող ուսանողների, ավագ դպրոցի ուսուցիչների և գենետիկ մասնագետների համար:

ՀՏԴ 575(07)
ԳՄԴ 28.04 g7

ISBN 978-5-8084-1920-9

© ԵՊՀ հրատ., 2014
© Ա. Կիրակոսյան, Գ. Զալինյան, 2014

Ներածություն

Մարդու գենետիկայի բնագավառում ձեռքբերումները պայմանավորված են, ինչպես գենետիկական մեթոդների կատարելագործմամբ, այնպես էլ այդ մեթոդների արդյունավետության բարձրացմամբ և նոր մեթոդների մշակմամբ:

Մարդու գենետիկական ուսումնասիրության առանձնահատկություններն են՝ ուշ սեռահասունությունը, ընտանիքում ժառանգների քիչ քանակությունը, սերունդների համար կյանքի հավասար պայմանների ստեղծման անհնարինությունը, ժառանգական հատկանիշների արտահայտման և դրանց ճիշտ գրանցման բարդությունը յուրաքանչյուր ընտանիքում, մարդու սերնդափոխության տևական ժամանակահատվածը (մարդու մեկ սերնդի լիարժեք հասունացումը տևում է միջինը 30 տարի, հետևաբար, մասնագետը իր կյանքի ընթացքում ի վիճակի չէ դիտարկել ավելի քան մեկ-երկու սերունդ), կարիոտիպում քրոմոսոմների մեծ թիվը դժվարացնում է մարդու գենետիկական վերլուծության իրականացումը, սակայն ժամանակակից ԴՆԹ մեթոդների կիրառումը զգալիորեն նվազեցնում է այդ դժվարությունը:

Բացի այդ մարդու համար բնորոշ է գենոտիպի և ֆեոտիպի պոլիմորֆիզմի լայն սպեկտր, որը զգալի չափով պայմանավորված է տարբեր մուտացիաների բազմազանությամբ և արտաքին միջավայրի պայմանների ազդեցությամբ: Բազմաթիվ հատկանիշների և հիվանդությունների դրսևորումը մեծապես կախված է շրջակա միջավայրի պայմաններից: Հարկավոր է նշել, որ միջավայրի հասկացությունը մարդու համար ավելի լայն իմաստ ունի, քան կենդանիների կամ բույսերի համար: Սննդի, կլիմայի և այլ աբիոտիկ ու բիոտիկ գործոնների հետ մեկտեղ մարդու համար միջավայր են հանդիսանում նաև սոցիալական, քաղաքական, տնտեսական գործոնները, որոնք հետազոտողի ցանկությամբ չեն փոփոխվում:

Մարդու անատոմիայի և ֆիզիոլոգիայի վերաբերյալ կան բավականին սպառիչ տվյալներ:

Որպես գենետիկական հետազոտությունների օբյեկտ՝ մարդուն ու-

սումնասիրում են բոլոր մասնագիտությունների բժիշկները, ինչը նպաստում է տարբեր ժառանգական շեղումների բացահայտմանը:

Մարդու գենոմի ուսումնասիրությունները և մոլեկուլային գենետիկայի ձեռքբերումները նպաստել են մարդու գենետիկայի նոր ուղղությունների զարգացմանը: *Կլինիկական գենետիկան* ուսումնասիրում է մարդու գենետիկական տվյալների և նրա առողջական վիճակի կապը: *Էկոլոգիական գենետիկան* (էկոգենետիկան) ուսումնասիրում է մարդու ժառանգականության վրա էկոլոգիական գործոնների ազդեցությունը: *Գենետիկական թունաբանությունը* (թունագենետիկան) գնահատում և կանխատեսում է շրջակա միջավայրի թունանյութերի ազդեցության գենետիկական հետևանքները (առաջին հերթին մարդու համար): *Դեղաբանական գենետիկան* ուսումնասիրում է դեղամիջոցների նկատմամբ առանձին մարդկանց ռեակցիայի գենետիկորեն պայմանավորվածությունը և դեղանյութերի ազդեցությունը մարդու ժառանգական կառույցների վրա: *Սպորտային գենետիկան* ուսումնասիրում է մարդու օրգանիզմի ֆիզիկական զարգացման վրա ժառանգականության ազդեցությունը, ինչպես նաև սպորտով զբաղվող տարբեր մարդկանց օրգանիզմների ռեակցիայի տարբերությունները միևնույն սպորտաձևի և ֆիզիկական ծանրաբեռնվածության հանդեպ: *Դատական գենետիկան* դատական բժշկության բաժիններից մեկն է, այն կապված է գենետիկական մարկերների (նիշերի) կիրառմամբ հետաքննության ապացույցների ստացման հետ: *Էթնոգենետիկան* ուսումնասիրում է ազգերի գենետիկական տարբերությունները և ծագումնաբանությունը: *Հոգեգենետիկան* ուսումնասիրում է ժառանգականության և միջավայրի փոխազդեցությունը մարդու հոգեկան առանձնահատկությունների ձևավորման վրա: Գենոմիկայի զարգացմանը զուգահեռ գենետիկայի շատ ուղղություններ հետազոտություններ են վարում գենոմի մակարդակով, օրինակ՝ դեղաբանական գենետիկայից զատ զարգացել է նաև դեղաբանական գենոմիկան:

Մարդու գենետիկայի ասպարեզում ուսումնասիրություններն իրագործվում են մի շարք մեթոդների կիրառմամբ:

Պոպուլյացիոն-վիճակագրական մեթոդով ուսումնասիրվում է

մարդու պոպուլյացիայի գենետիկական կառուցվածքը, գեների նորմալ և հիվանդածին ալելների հաճախականությունը:

Տոհմաբանական մեթոդի միջոցով տարվում է տոհմածառերի վերլուծություն և հատկանիշի ժառանգման տիպի պարզում:

Երկվորյակային մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել գենետիկական և միջավայրի գործոնների դերը մարդու առանձին հատկանիշների կամ հիվանդությունների զարգացման համար:

Դերմատոգլիֆիկական մեթոդի կիրառմամբ ուսումնասիրվում է մարդու ափերի, մատների և ոտնաթաթերի մաշկային պատկերների առանձնահատկությունները:

Բջջագենետիկական մեթոդներով ուսումնասիրվում են մարդու քրոմոսոմները, տարվում է գեների քարտեզավորում: Բջջագենետիկայի ձեռքբերումները կիրառվում են մարդու քրոմոսոմային հիվանդություններն ախտորոշելու համար: 20-րդ դարի 90-ական թվականներից սկսած քրոմոսոմների ուսումնասիրությունները դարձել են առավել ինֆորմատիվ (տեղեկատվական) շնորհիվ մոլեկուլային բջջագենետիկայի ներդրման:

Կենսաքիմիական մեթոդներով ուսումնասիրվում են գենից հատկանիշ ժառանգական ինֆորմացիայի (տեղեկատվության) իրագործման ճանապարհները:

Մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդների միջոցով ուսումնասիրվում են ԴՆԹ-ի և ՌՆԹ-ի կառուցվածքն ու ֆունկցիան նորմայում և պաթոլոգիայի դեպքում:

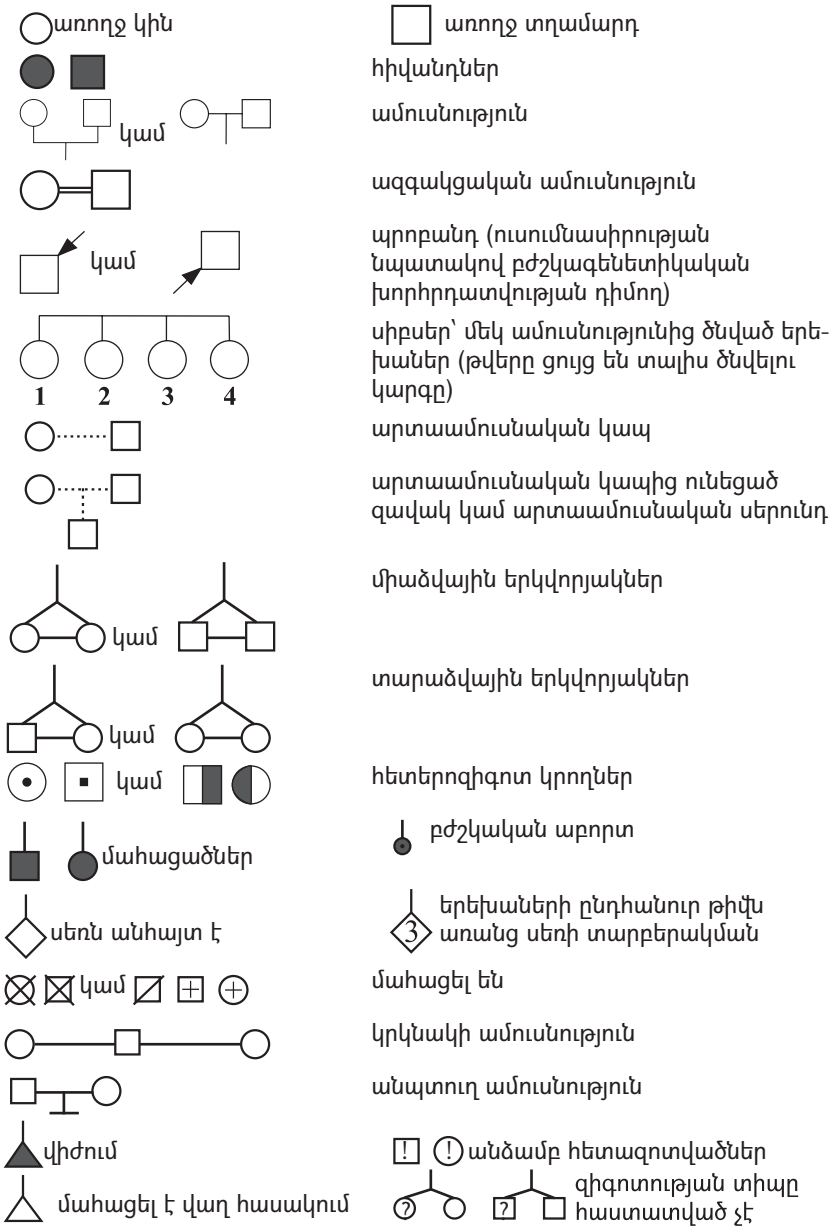
Իմունոլոգիական մեթոդները թույլ են տալիս ուսումնասիրել օրգանիզմի գենետիկորեն պայմանավորված իմունոլոգիական առանձնահատկությունները և դրանց տարբերությունները նորմայում և հիվանդության դեպքում:

1. Տոհմաբանական վերլուծություն

Տոհմաբանական մեթոդն առաջադրվել է անգլիացի գիտնական Ֆ. Գալտոնի կողմից 1865 թ.: Այդ մեթոդի իմաստը տոհմագրության (տոհմածառի) կազմումը և դրա հետագա վերլուծությունն է:

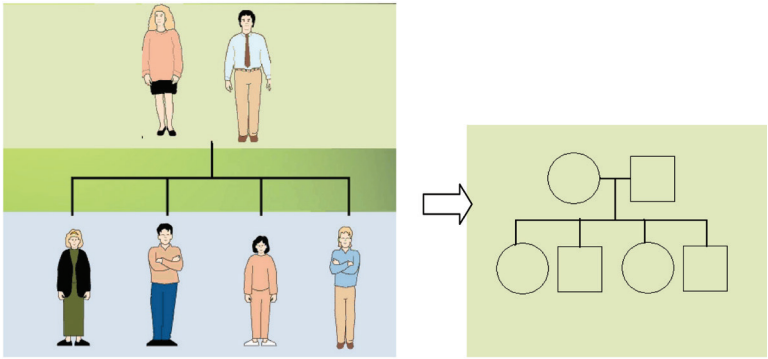
Տոհմաբանական մեթոդը թույլ է տալիս ի հայտ բերել հատկանիշների ժառանգական բնույթը և որոշել ժառանգման տիպը: Դրա հետ մեկտեղ մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել շղթայակցված ժառանգումը և գեների փոխներգործության տեսակը, բացահայտում է, ըստ մուտանտ գենի, հետերոզիգոտ անհատներին, պարզում է ընտանիքում հիվանդ երեխայի ծնվելու հավանականությունը: Սույն մեթոդը բժշկագենետիկական խորհրդատվության հիմք է ծառայում: Բաղկացած է երկու փուլերից՝ տոհմագրության կազմումից և նրա գենետիկական վերլուծությունից: Տոհմածառն անհատի ծագմանն առնչվող տեղեկությունների գրառումն է որոշակի համակարգով:

Տոհմագրություն կազմելու համար օգտագործում են տարբեր պայմանանշաններ: Նկար 1-ում բերված են տոհմածառ կազմելու համար օգտագործվող հիմնական պայմանական նշանները: Պրոբանդն անհատն է, որի համար կազմվում է տոհմածառը (որից սկսվում է տոհմածառի կազմումը տոհմաբանական վերլուծության նպատակով): Սիբսերը նույն ընտանիքում ծնված եղբայրներն ու քույրերն են: Կիսասիբսերը նույն հորից և տարբեր մայրերից ծնված կամ նույն մորից և տարբեր հայրերից ծնված երեխաներն են:



Նկ. 1 Տոհմածառ կազմելու համար օգտագործվող հիմնական պայմանանշանները

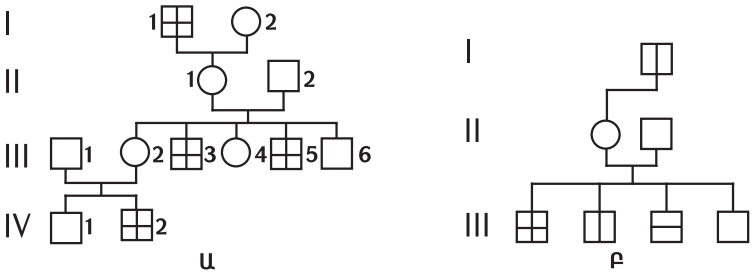
Բերենք օրինակ. Նկար 2-ում ընտանիքը բաղկացած է 6 անդամներից....



Ընտանիքի կազմը → տոհմածառը:

Նկ.2 Տոհմածառի կազման օրինակ

Երբ ընտանիքում միաժամանակ մի քանի ժառանգական արատներ են հանդիպում, վերոհիշյալ պայմանական նշանները կարելի է փոփոխել և լրացնել, օրինակ.



Նկ. 3. Ա- Երկու արատների շղթայակցված ժառանգման դեպք

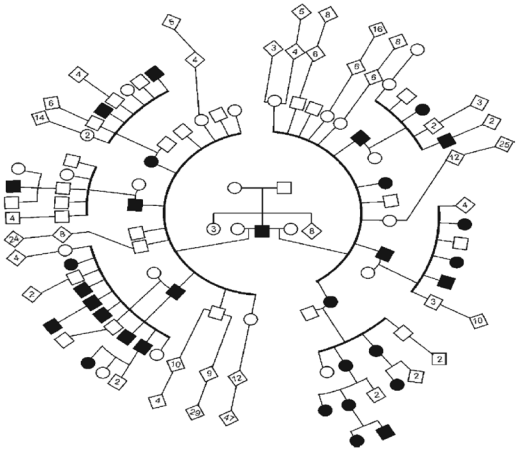
Բ- Հեմոֆիլիան և գունակուրությունը պայմանավորող գեների միջև տրամախաչման փաստի առկայություն: Ըստ կարմիր և կանաչ գույների՝ գունակուրությունը նշանակված է (—), հեմոֆիլիան՝ (|) և երկու արատների համատեղ առկայության դեպքը՝ (┼):

Ուղղահայաց դասավորված հռոմեական թվերով նշված են սերունդ-

ները (վերից վար), իսկ հորիզոնական (ձախից աջ) արաբական թվերով համարակալվում են մեկ սերնդի հետնորդները (նկար 3):

Տոհմածառ կազմելիս պետք է պահպանել հետևյալ կանոնները.

1.Գծապատկերում յուրաքանչյուր սերունդ պետք է ներկայացվի առանձին տողի վրա: Ընդարձակ տոհմածառերը ներկայացվում են շրջանաձև (նկար 4):



Նկ 4. Շրջանաձև տոհմածառ

2. Սերնդակիցները զբաղեցնում են մեկ հորիզոնական կամ աղեղ, սիբսերը դասավորվում են ծննդյան թվերով՝ ձախից աջ, ամենամեծից սկսած: Տոհմածառի բոլոր անդամները դասավորվում են ըստ սերունդների՝ շարքերով, սերունդները նշվում են տոհմածառի ձախ կողմում հռոմեական թվերով վերևից ներքև:

3. Եթե ծնողի մասին տեղեկությունները տվյալ հիվանդության ժառանգմանը չեն առնչվում, կարող են և չգրանցվել:

4. Եթե ընտանիքում առկա են մի քանի իրարից անկախ ժառանգական հիվանդություններ, նպատակահարմար է ընտրել մեկը:

5. Քանի որ որոշ հիվանդություններ ի հայտ են գալիս կյանքի տարբեր ժամանակահատվածներում, նշվում է ընտանիքի անդամների տարիքը:

6.Նշվում են տոհմածառի անձամբ հետազոտված անդամները:

Աուտոսոմային դոմինանտ հատկանիշների ժառանգումը

Աուտոսոմ-դոմինանտ ժառանգումը բնութագրվում է նրանով, որ մուտանտ գենը կապված է աուտոսոմի հետ և դրսևորվում է, ինչպես հոմոզիգոտ (AA), այնպես էլ հետերոզիգոտ (Aa) վիճակներում: Այդ պատճառով նկատելի են ժառանգման հետևյալ առանձնահատկությունները.

- արատների փոխանցում հիվանդ ծնողներից երեխաներին,
- երկու սեռն էլ հավասարաչափ ախտահարվում են,
- ընտանիքի առողջ անդամներն ունենում են առողջ սերունդ,
- հայրը և մայրը նույնությամբ մուտանտ գենը փոխանցում են աղջիկներին և տղաներին:

Հիվանդության կլինիկական դրսևորումները կարող են զգալիորեն տարբերվել՝ կախված գենի էքսպրեսիվությունից և պենետրանտությունից:

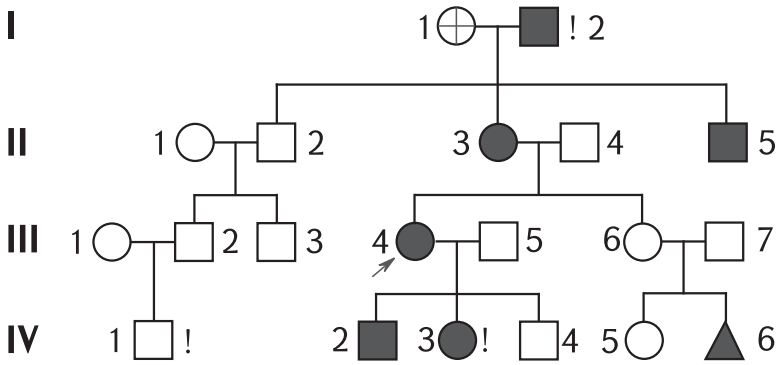
Էքսպրեսիվություն է կոչվում գենի արտահայտվածության աստիճանը (հիվանդության ծանրությունը): Գենի բարձր էքսպրեսիվության դեպքում զարգանում է հիվանդության ծանր, հաճախ մահվան ելքով ձևը, ցածրի դեպքում՝ արտաքնապես մարդն առողջ է: **Պենետրանտության** տակ հասկանում են մուտանտ գենի դրսևորման հաճախականությունն այն կրողների մեջ: Այն որոշվում է տվյալ հիվանդությունը կամ հատկանիշը ունեցող անձանց և սույն գենը կրողների ընդհանուր թվի հարաբերակցությամբ (տոկոսներով արտահայտված): Օրինակ՝ աթերոսկլերոզի պենետրանտությունը կազմում է 40%, Մարֆանի սինդրոմինը՝ 30%, ռետինոբլաստոմայինը՝ 80% և այլն:

Էքսպրեսիվությունը և պենետրանտությունը տատանվում են 0-100% սահմաններում և մեծապես կախված են շրջակա միջավայրի պայմաններից (նկար 5, նկար 6): Աուտոսոմ - դոմինանտ տիպով են ժառանգվում պոլիդակտիլիան (բազմամատություն), բլախիդակտիլիան (կարճամատություն), ախոնդրոպլազիան (թզուկություն), Մարֆանի սինդրոմը (սարդի մատներ) և այլ հիվանդություններ:

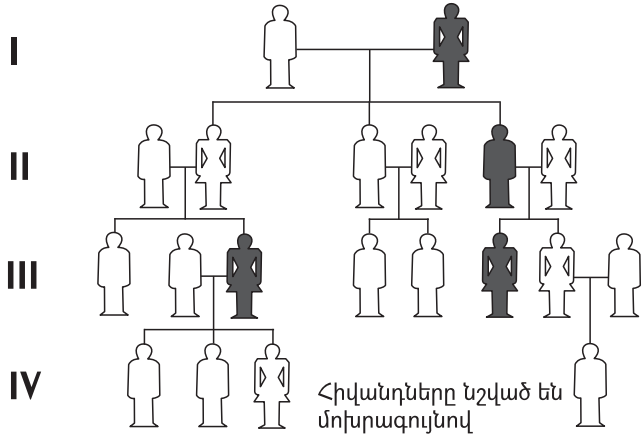
Ժառանգման դոմինանտ տիպի համաձայն, եթե ծնողներից մեկը հիվանդ է, ապա լրիվ պենետրանտության դեպքում հիվանդ երեխա

ծնվելու հավանականությունը 50% է: Երկու ծնողների հետերոզիգոտության դեպքում (Aa x Aa) հիվանդ երեխայի ծնվելու հավանականությունը կազմում է 75%: Աուտոսոմ դոմինանտ հիվանդությունների մեծ մասը հոմոզիգոտ ձևի մոտ ավելի ծանր են ընթանում, քան հետերոզիգոտների մոտ: Սակայն պրակտիկայում հաճախակի են այն դեպքերը, երբ դոմինանտ գեն կրողները ֆենոտիպորեն առողջ են մնում: Արդյունքում փոխվում է ժառանգման ձևը և երևան են գալիս սերունդների բացթողումներ:

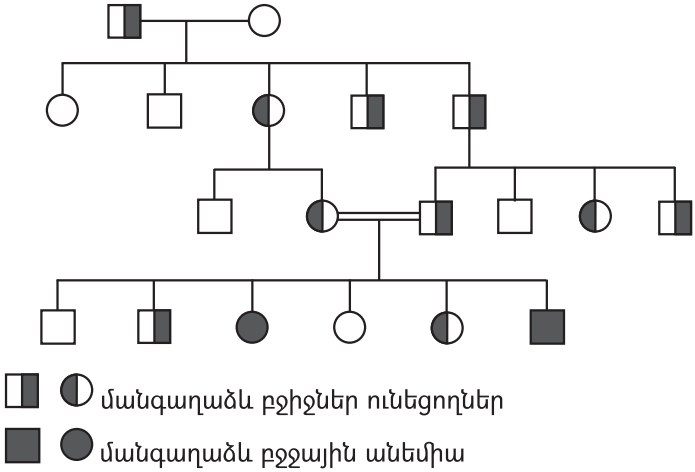
Առանց ֆենոտիպորեն արտահայտման դոմինանտ գենի կրելը կարելի է վերագրել ծնողներից որևէ մեկին, եթե նրա ժառանգների մեջ կան այդ նույն ձևի դոմինանտ արատներով հիվանդներ: Եթե առողջ ծնողները ունենում են հիվանդ երեխա և տոհմածառում կան այդ հիվանդության այլ դեպքեր, ապա ճիշտ կլինի ենթադրել, որ ծնողներից մեկի մոտ գոյություն ունի արատավոր գեն, որը չի դրսևորվել, բայց փոխանցվել է ժառանգին: Դոմինանտ գենը կարող է ունենալ էքսպրեսիվության տարբեր աստիճան, ինչը դժվարացնում է ժառանգման աուտոսոմ դոմինանտ տիպի հաստատումը: Դա կարելի է քննարկել Մարֆանի սինդրոմի (համախտանիշի) օրինակով: Կան այդ հիվանդության ծանր ձևեր՝ ոսկրային համակարգի դասական ախտահարումով (սկոլիոզ կամ կիֆոզ, կրծքավանդակի դեֆորմացում, բարձր հասակ), տեսողության (բյուրեղիկի երկկողմանի խախտում) և սիրտ-անոթային համակարգի (աորտայի լայնացում) արատներով: Նկատվում են նաև Մարֆանի սինդրոմի սղված ձևեր, որոնք չեն ախտորոշվում (մարմնի աստենիկ կառուցվածք, արախնոդակտիլիա, ոչ մեծ միոպիա): Հիվանդության թույլ արտահայտված կլինիկական ձևերը կարող են չնկատվել, այդ դեպքում տոհմածառը նույնպես կորցնում է իր դասական ձևը, տեղի է ունենում սերունդների բացթողում: Այդ պատճառով կարևոր է ընտանիքի բոլոր անդամների զննումը:



Նկ. 5 Բրախիդակտիլիայի ժառանգման տոհմածառ (յուրաքանչյուր սերունդ նշվում է մեկ տողով՝ I, II, III, IV)



Նկ. 6 Ոչ լրիվ պենետրանտությամբ աուտոսոմային դոմինանտ ժառանգման գծապատկեր



Նկ. 7 Ընտանիքի տոհմաբանական վերլուծությունը՝ ըստ մանգաղաձև բջջային անեմիայի (աուտոսոմային ոչ լրիվ դոմինանտ ժառանգում)

Աուտոսոմային ռեցեսիվ հատկանիշների ժառանգումը

Ժառանգման աուտոսոմային ռեցեսիվ տեսակի դեպքում մուտանտ գենն արտահայտվում է միայն հոմոզիգոտ վիճակում: Այդ պատճառով հետերոզիգոտ վիճակում նա կարող է գոյություն ունենալ մի շարք սերունդներում՝ ֆենոտիպորեն չարտահայտվելով:

Ժառանգման տվյալ տիպի դեպքում հիվանդությունը սերնդափոխությունում հազվադեպ է և ոչ բոլոր սերունդներում է հանդիպում: Տղաների ու աղջիկների մոտ հիվանդանալու հավանականությունը հավասար է: Հատկանիշը կարող է դրսևորվել առողջ, բայց մուտանտ գենի հետերոզիգոտ կրողներ հանդիսացող ծնողների սերունդների մոտ: Հնարավոր են նման ամուսնությունների մի քանի տարբերակներ.

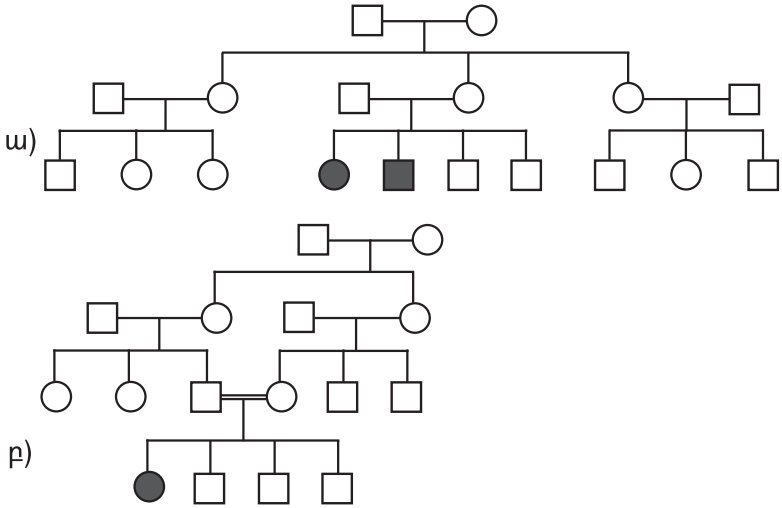
• aa մայր x aa հայր՝ այդպիսի ծնողների բոլոր երեխաները հիվանդ կլինեն (aa),

• Aa մայր x aa հայր՝ երեխաների 50%-ը կլինեն հիվանդ (aa գենոտիպ), իսկ 50%՝ ֆենոտիպորեն առողջ (Aa գենոտիպով), բայց արատավոր գենի հետերոզիգոտային կրողներ,

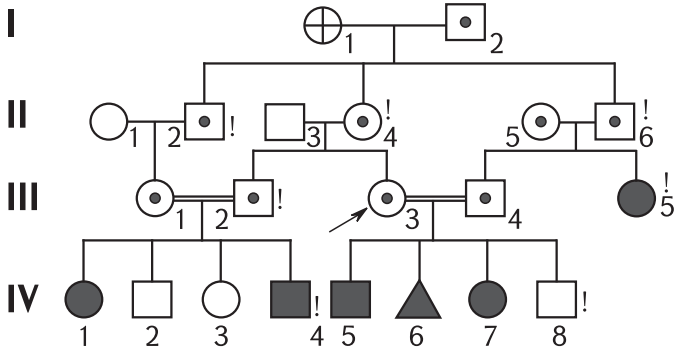
• Aa մայր x Aa հայր՝ երեխաների 25 % կլինեն հիվանդ (aa գենոտիպ), 75 %-ը՝ ֆենոտիպորեն առողջ (AA և Aa գենոտիպեր), բայց նրանց 50%-ը մուտանտ գենի կրողներ կլինեն (Aa գենոտիպ): Եթե հատկանիշը կրում է ծնողներից միայն մեկը, ապա այն երեխաների մի մասի մոտ կարող է ընդհանրապես չդրսևորվել (նկ. 8 ա, բ, նկ.9):

Հայտնի է, որ ժառանգական աուտոսոմ-ռեցեսիվ հիվանդությունների հանդիպման հավանականությունն ուղղակի կապվածության մեջ է գտնվում բնակչության մեջ մուտանտ գենի տարածվածությունից: Այդպիսի հիվանդությունների հաճախականությունը հազվադեպ մեծանում է մեկուսացված բնակախմբերում և արյունակից հարազատների միջև ամուսնությունների մեծ տոկոս ունեցող բնակչության մոտ: Այդպիսի ամուսնությունները բացասական են ազդում սերունդների վրա, դրա մասին է վկայում այն փաստը, որ ազգակցական ամուսնություններից ծնված երեխաների մտավոր հետամնացության հաճախականությունը չորս անգամ ավելի բարձր է, քան ոչ ազգակցական ամուսնություններից ծնված երեխաների մոտ:

Ժառանգական աուտոսոմ-ռեցեսիվ տիպի դեպքում (ինչպես նաև աուտոսոմ-դոմինանտի դեպքում) հնարավոր են հատկանիշի էքսպրեսիվության և պենետրանտության տարբեր աստիճաններ: Աուտոսոմ-ռեցեսիվ ժառանգման տիպով հիվանդություններից են նյութափոխանակության հիվանդությունների շատ տեսակներ՝ ֆենիլկետոնուրիան, գալակտոզեմիան, ալբինիզմը, մուկովիսցիդոզը և այլն: Հաստատված է, որ ռեցեսիվ հիվանդություններն ավելի հաճախ ախտորոշվում են մանկական հասակում:



Նկ. 8 ժառանգման աուտոսոմ-ռեցեսիվ տիպ



Նկ. 9 Ալբինիզմի ժառանգման տոհմածառ

Սեռի հետ շղթայակցված ժառանգումը

Մարդու սեռի հետ շղթայակցված հիվանդությունների ժառանգման դեպքում մուտանտ գենը գտնվում է X կամ Y քրոմոսոմում: Հայտնի է, որ կանայք ունեն երկու X սեռական քրոմոսոմներ, իսկ տղամարդիկ՝ մեկ X և մեկ Y սեռական քրոմոսոմ:

Կանանց մոտ մուտանտ գենը կարող է գտնվել երկու կամ միայն մեկ X-քրոմոսոմում, առաջին դեպքում, ըստ այդ գենի, օրգանիզմը հոմոզիգոտ է, երկրորդ դեպքում՝ հետերոզիգոտ: Տղամարդիկ լինելով հեմիզիգոտ՝ X-քրոմոսոմի առումով, X-քրոմոսոմը փոխանցում են միայն աղջիկներին: Տղամարդկանց X-քրոմոսոմում տեղայնացած ցանկացած գեն, լինի դա դոմինանտ կամ ռեցեսիվ, պարտադիր պետք է արտահայտվի: Դա X-ի հետ շղթայակցված ժառանգման գլխավոր առանձնահատկությունն է:

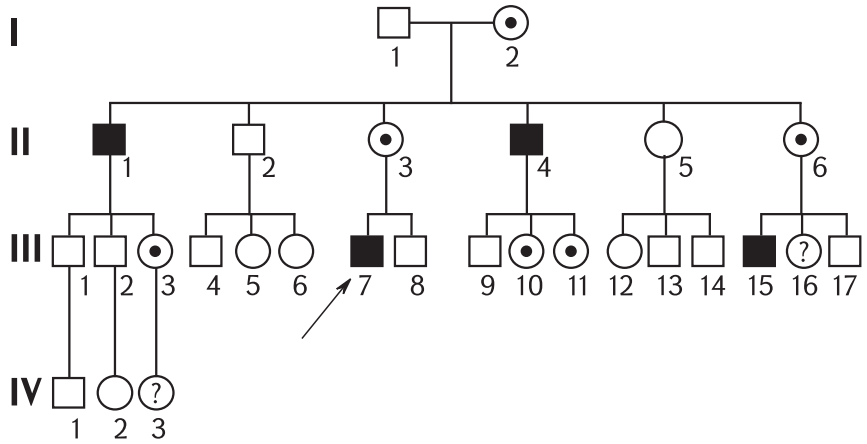
X-քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգման համար բնորոշ են հետևյալ առանձնահատկությունները՝

- Հիվանդությունը ավելի հաճախ արտահայտվում է տղամարդկանց մոտ:
- Առողջ ծնողները կարող են հիվանդ երեխա ունենալ (եթե մայրը, ըստ մուտանտ գենի, հետերոզիգոտ է):
- Հիվանդ տղամարդիկ չեն փոխանցում հիվանդությունը իրենց տղաներին, բայց նրանց դուստրերը հանդիսանում են հիվանդության հետերոզիգոտ կրողներ:
- Հիվանդ աղջիկներ կարող են ծնվել միայն այն ընտանիքներում, որտեղ հայրը հիվանդ է, իսկ մայրը, ըստ մուտանտ գենի, հետերոզիգոտ է:

Քննարկենք մի քանի օրինակներ, երբ X քրոմոսոմում տեղայնացված է ռեցեսիվ գեն: Եթե ամուսնանում են առողջ կինը և հիվանդ տղամարդը, ապա այդ ընտանիքում բոլոր երեխաները առողջ կլինեն, իսկ աղջիկները հորից կստանան մեկ X-քրոմոսոմ՝ մուտանտ գենով և կլինեն հետերոզիգոտ կրողներ, քանի որ նրանք մորից կստանան երկրորդ նորմալ X-քրոմոսոմը: Այն դեպքում, երբ ամուսնանում են առողջ տղամարդը և հիվանդության գեն կրող կինը, ապա հիվանդ տղայի ծնվելու հավանականությունը կկազմի բոլոր տղաների 50%-ը և բոլոր երեխաների՝ 25%-ը: Հիվանդ աղջիկների ծնվելու հավանականությունը շատ ցածր է և հնարավոր է միայն, եթե հայրը հիվանդ է, իսկ մայրը, ըստ մուտանտ գենի, հետերոզիգոտ է: Այդպիսի ընտանիքներում տղաների կեսը կլինի հիվանդ: Աղջիկների կեսը ևս հիվանդ կլինեն, իսկ մյուս կե-

սը՝ արատավոր գենի կրողներ:

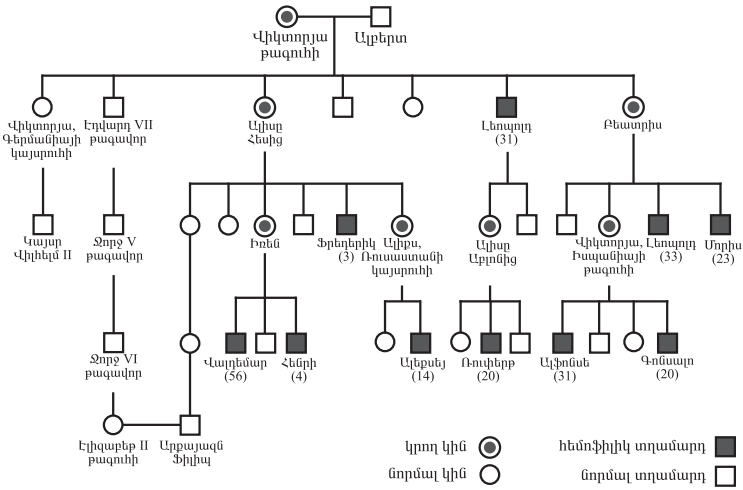
Ռեցեսիվ և սեռի հետ շղթայակցված ժառանգման դասական օրինակ կարող է ծառայել հեմոֆիլիան: Այս հիվանդները տառապում են արյան անմակարդելիությամբ: Դրա պատճառը արյան մեջ մակարդման գործոնների անբավարար քանակն է: Նկար 10-ում պատկերված է հեմոֆիլիայով հիվանդ ընտանիքի տոհմածառը: Տոհմածառի վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ հիվանդ են միայն տղաները (II-1, 4, III 7, 15):



Նկ. 10 X- շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգման տոհմածառ (հեմոֆիլիա)

Այստեղից կարելի է ենթադրել,որ հեմոֆիլիայի գենը շղթայակցված է սեռի հետ:

Հիվանդ երեխաներն ավելի հաճախ ծնվում են առողջ ծնողներից, հետևաբար հիվանդության գենը ռեցեսիվ է:

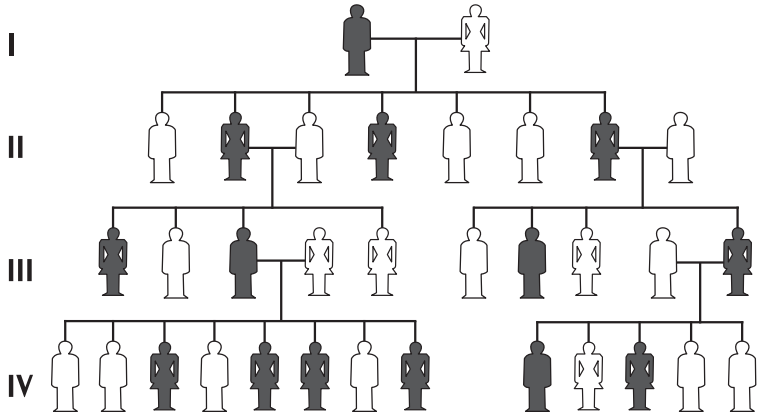


Նկ. 11 Եվրոպայում թագավորած ընտանիքների տոհմածառը, լուսաբանված է հեմոֆիլիայի ժառանգումը (հատկանիշը ռեցեսիվ է, X քրոմոսոմին շղթայակցված)

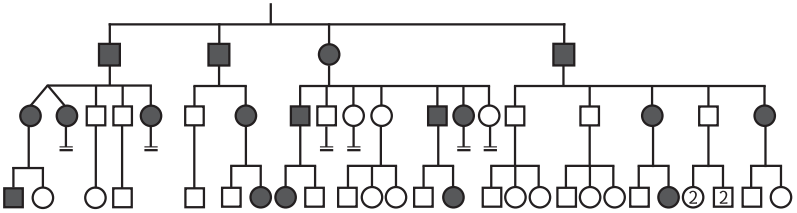
Հայտնի է, որ հեմոֆիլիան լայնորեն տարածված է Եվրոպայի արքայական ընտանիքներում: Անգլիայում Վիկտորյա թագուհին հեմոֆիլիայի գենի կրող էր: Նրա որդին ծնվեց հեմոֆիլիայով հիվանդ: Իր աղջիկների և թոռների միջոցով Վիկտորյա թագուհին հեմոֆիլիայի գենը փոխանցեց սերունդներին (նկ.11):

X քրոմոսոմում դոմինանտ գենի տեղայնացման դեպքում ժառանգման տեսակը կոչվում է X-շղթայակցված դոմինանտ: Նրան բնորոշ են հետևյալ հատկանիշները.

- դրսևորվում է և՛ իգական, և՛ արական սեռի մոտ,
- հիվանդությունն առկա է յուրաքանչյուր սերնդում,
- եթե հայրը հիվանդ է, ապա նրա բոլոր դուստրերը կլինեն հիվանդ, իսկ բոլոր որդիներն առողջ (կրիս-կրոս ժառանգում) (նկ.12-13),



Նկ. 12 Սեռին շղթայակցված ժառանգման պատկեր



Նկ. 13 Հիպոֆոսֆատիկ ռախիտով ընտանիքի տոհմաբանությունը (X-շղթայակցված ժառանգման տիպ)

• եթե մայրը հիվանդ է, ապա հիվանդ երեխայի ծնվելու հավանականությունն, անկախ սեռից, կկազմի 50 %,

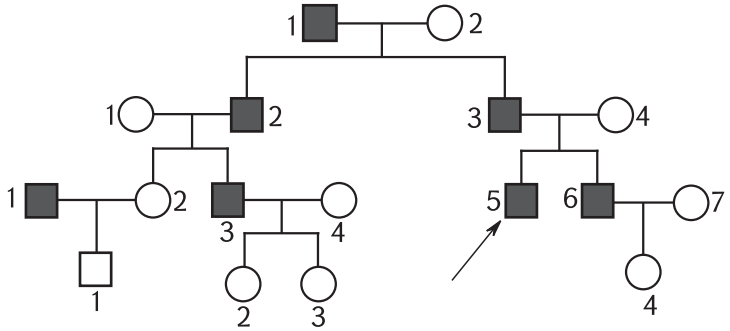
• երեխաները հիվանդ կլինեն միայն այն դեպքում, եթե հիվանդ է ծնողներից մեկը,

• առողջ ծնողները կունենան միայն առողջ երեխաներ:

X-քրոմոսոմին շղթայակցված դոմինանտ տիպով ժառանգվում են ֆոսֆատեմիան (ֆոսֆորի պակասությունը արյան մեջ), ատամների էմալի շագանակագույն գունավորումը և այլն:

Y քրոմոսոմին շղթայակցված ժառանգման դեպքում հատկանիշը հանդիպում է միայն արական սեռի ներկայացուցիչների մոտ: Հատկանիշը փոխանցվում է արական գծով՝ բոլոր տղաներին (լրիվ պենետ-

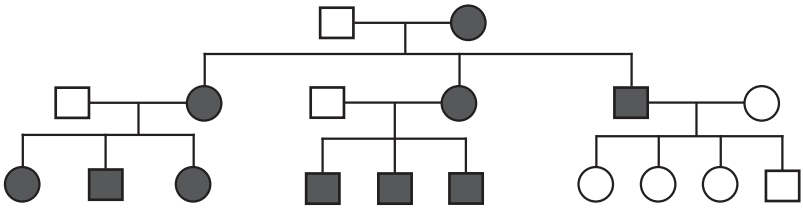
ռատության դեպքում), այն կոչվում է ժառանգման հոլանդրիկ տեսակ (հոլանդրիկ ժառանգում) (նկար 14, ա): Y-քրոմոսոմի հետ տղամարդիկ ժառանգում են այնպիսի հատկանիշներ, ինչպիսիք են՝ հիպերտրիխոզը (ականջների խեցու եզրերին մազերի առկայությունը), ոտքերի մատնե-րի միջև թաղանթների առկայությունը, ատամների ինտենսիվ աճը և այլն:



Նկ.14 ա.Y քրոմոսոմին շղթայակցված ժառանգման տոհմածառ

Ցիտոպլազմային ժառանգումը

Հատկանիշը (հիվանդությունը) երկու սեռերի մոտ հանդիպում է միևնույն հաճախականությամբ, հատկանիշը փոխանցվում է մորից: Հիվանդ մայրը փոխանցում է հատակնիշը կամ ամբողջ սերնդին, կամ միայն մի մասին: (Օրինակ նկ.14բ - ձևերից մեկը՝ ողնաշարի ոսկրերի ելուստների չսերտաճումը):



Նկ. 14 բ. Ցիտոպլազմային ժառանգման գծապատկեր

1.1. Մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդը տոհմաբանության մեջ

ԴՆԹ-ն սերնդեսերունդ ժառանգվում է ծնողներից երեխաներին, հետևաբար մարդկանց ԴՆԹ-ի նմանություններն ու տարբերությունները կվկայեն նրանց ազգակցության աստիճանի մասին: Տոհմաբանական ԴՆԹ ուսումնասիրություններն ընդգրկում են միտոքոնդրիումային ԴՆԹ-ի և Y քրոմոսոմի վերլուծությունը (վերջիններս մեյոզում չեն վերախմբավորվում): Միտոքոնդրիումային ԴՆԹ-ի ողջ գենետիկական տեղեկատվությունը փոխանցվում է մայրական գծով, իսկ Y քրոմոսոմինը՝ հայրական գծով: Միտոքոնդրիումների և Y քրոմոսոմի ԴՆԹ-ի տարբեր հատվածներում ընթացող մուտացիաներն ունեն տարբեր արագություններ: Y քրոմոսոմը կազմված է 50 միլիոն նուկլեոտիդներից և ընդամենը 27 գենից, Y քրոմոսոմի ԴՆԹ-ի մնացած մասը կազմում են նուկլեոտիդների չկոդավորող կրկնությունները: Օրինակ՝ 16 անգամ կրկնվում է նուկլեոտիդների ԹԱԳԱ քառյակը (թիմին-ադենին-գուանին-ադենին) կամ 11 անգամ՝ ԹԱԹ եռյակը (թիմին-ադենին-թիմին): Այս կրկնությունները կարող են ծառայել որպես գենետիկական մարկերներ (նշագրեր):

Տոհմաբանական ուսումնասիրությունների համար ընտրվել են ԴՆԹ-ի որոշակի տեղամասեր՝ SNP (single nucleotide polymorphism – ԴՆԹ-ում եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմ) և STRP (short tandem repeat polymorphism – 2-5 նուկլեոտիդային հիմքերի կրկնություններ): Այսպես՝ ԱԱԳՑՑԹԱ և ԱԱԳՑԹԹԱ SNP տեղամասերը տարբերվում են մեկ նուկլեոտիդով՝ Ց→Թ (նկար 15 ա), սա SNP-ի օրինակ է, վերջիններս դիտվում են հազվադեպ՝ 1 սերնդում $2,5*10^{-8}$ հաճախականությամբ (40 000 000 սերնդում 1 դեպք նույն կետում): STRP-մուտացիաներն ավելի հաճախ են ընթանում՝ 1 սերնդում $2,5*10^{-3}$ հաճախականությամբ (400 սերնդում 1 դեպք նույն կետում) (նկար 15 բ): Օրինակ՝ DYS 391 (DNA Y-chromosome Segment №391) կենսաբանական մարկերը կարող է կազմված լինել ԹՑԹԱ հաջորդականության 7-14 կրկնություններից, ներկայացված է մուտացիայի տարբերակ.

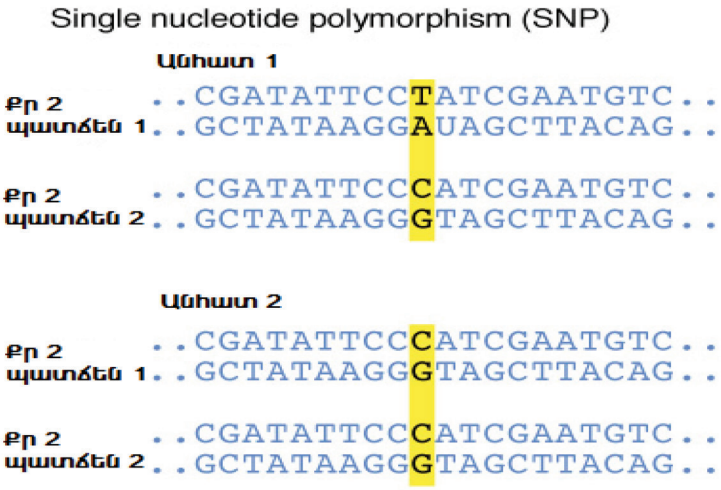
DYS 391 մարկեր

ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ -12 կրկնություն, գրառվում է՝ **DYS391=12:**

DYS 391 մարկեր

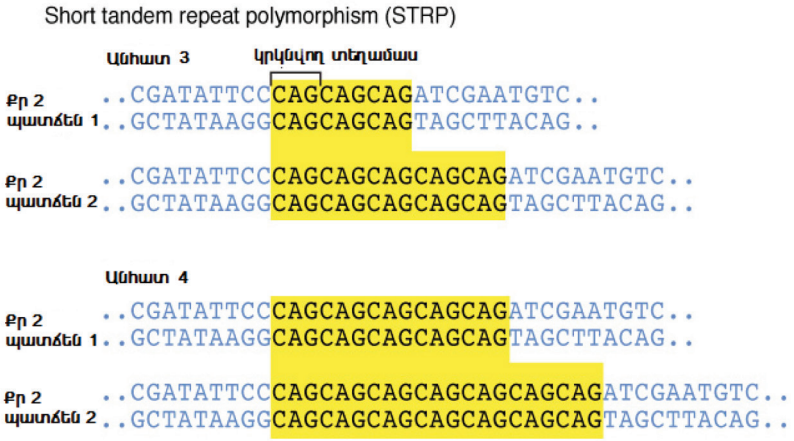
ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ ԹՑԹԱ -13 կրկնություն, գրառվում է՝ **DYS391=13:**

Այս մուտացիան (մեկ կրկնության ավելացումը կամ պակասումը) ընթանում է 15 սերունդը մեկ անգամ:



Նկ. 15 ա. Եզակի նուկլեոտիդային պոլիմորֆիզմ

Տոհմաբանական վերլուծության համար միաժամանակ օգտագործում են Y քրոմոսոմում առկա STR-ի 12, 25 կամ 50 մարկերների խումբը, ընդ որում, որքան մեծ է մարկերների թիվը, այնքան ճշգրիտ է ստացվում արդյունքը: Մեկ քրոմոսոմում շղթայակցված ալելների ամբողջությունը կոչվում է **հապլոտիպ** (STR-ի 12, 25 կամ 50 մարկերների խումբը): Պոպուլյացիայում առավել հաճախ հանդիպող հապլոտիպը կոչվում է **մոդալ հապլոտիպ**: Գենոֆոնդում կուտակված մուտացիաների վերլու-



Նկ. 15 բ. Կարճ նուկլեոտիդային կրկնությունների պոլիմորֆիզմ

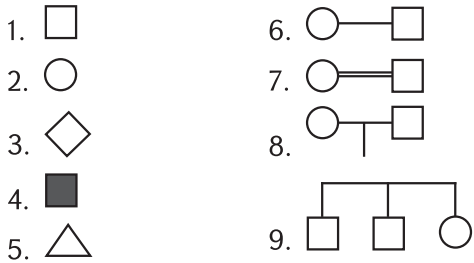
ծությունը թույլ է տալիս վերականգնել պոպուլյացիայի գենետիկական պատմությունը՝ գնահատել պոպուլյացիայի հասակը, միգրացիայի ճանապարհները կամ մեկուսացված խմբերի բաժանվելը: Նման հապլոտիպերի խումբը կոչվում է **հապլոխումբ**: Հապլոխումբը էվոլյուցիայի «ժամը ցույց տվող սլաքն է», իսկ հապլոտիպը՝ «որպեներ» ցույց տվողը:

Այսօր պատմության մեջ հայտնի շատ ընտանիքների մասին տեղեկությունները ճշտվում են ԴՆԹ-մարկերների օգնությամբ: Ավելին, մոլեկուլային տոհմնաբանության տվյալների բանկում յուրաքանչյուրը կարող է մուտքագրել իր հապլոտիպի մասին տեղեկությունները և համեմատել այն բազայում առկա այլ տվյալների հետ: Sorenson Molecular Genealogy Fundation հապլոտիպերի և տոհմաբանական տվյալների բազան հնարավորություն է ընձեռում պարզել բազայում առկա ավելի քան 50 000 հապլոտիպերից ըստ տվյալների ամենամոտ հապլոտիպեր ունեցող մարդկանց ազգանուններով և կառուցել տոհմածառը:

1.2. Գործնական աշխատանք

1. **Սովորողներին առաջարկվում է կազմել սեփական տոհմածառը:**
2. **Տոհմաբանական վերլուծության առաջադրանքներ**

1. Նկար 16-ում ներկայացված են մարդու տոհմածառում օգտագործվող պայմանական նշաններ: Որոշել, թե ո՞ր պայմանանշաններին են համապատասխանում 1-9 թվերը.



Նկ.16 Պայմանանշաններ

ա) կին, բ) հետազոտվող հատկանիշը կրող, գ) տղամարդ, դ) սեռն անհայտ է, ե) մահացել է վաղ հասակում, զ) երեխաներ, է) ամուսնություն, ը) ծնողներ, թ) ազգակցական ամուսնություն:

2.Փոքր սեղանատամների բացակայությունը ժառանգվում է որպես դոմինանտ աուտոսոմային հատկանիշ: Որոշել ընտանիքում այդ հատկանիշով երեխայի ծնվելու հավանականությունը, եթե ծնողներից մեկը չունի այդ արատը, իսկ մյուսը հետերոզիգոտ է՝ ըստ այդ գենի: Կազմել տոհմածառը:

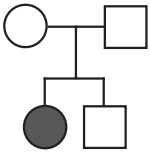
3. ա) Առողջ ծնողներն ունեցել են ֆենիլկետոնուրիայով հիվանդ երեխա: Որոշել ծնողների գենոտիպերը:

բ) Գտնել ֆենիլկետոնուրիայով հիվանդ երեխայի ծնվելու հավանականությունն ընտանիքում, որտեղ ծնողներից մեկն առողջ է, իսկ մյուսն ունի վերոհիշյալ ախտորոշումը: Կազմել տոհմածառը:

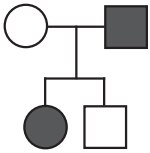
4.Ժառանգման յուրաքանչյուր տիպի համար աջ սյունակից ընտրել բնութագրերը.

1.	**աուտոսոմ-դոմինանտ ժառանգում**	ա)	տարբեր սեռերի մոտ հանդիպում է անհավասար հաճախականությամբ
2.	**աուտոսոմ-ռեցեսիվ ժառանգում**	բ)	ալելը դրսևորվում է միայն հոմոզիգոտների մոտ
3.	**X-քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգում**	գ)	տարբեր սեռերի մոտ հավասար հավանականությամբ է հանդիպում
4.	**X-քրոմոսոմին շղթայակցված դոմինանտ ժառանգում**	դ)	հատկանիշը հորից անցնում է միայն որդուն
5.	**Y-քրոմոսոմին շղթայակցված ժառանգում**	ե)	տղամարդու մոտ հատկանիշը դրսևորվում է, միայն հոմոզիգոտ վիճակում
		զ)	դալտոնիզմ
		է)	երկնագույն աչքեր
		ը)	կարճամատություն (բրախիդակտիլիա)
		թ)	արյան նորմալ մակարդելիություն
		ժ)	արական սեռի առանձնահատկությունները պայմանավորող գեներ
		ի)	ալբինիզմ
		լ)	կարճահասակություն (ախոնդրոպլազիա)
		խ)	հաբսբուրգյան շրթունք
		ծ)	հիվանդ ծնողներից փոխանցվում է երեխաներին
		կ)	ընտանիքի առողջ անդամներն ունենում են առողջ սերունդ
		հ)	♀Aa x ♂Aa երեխաների 25%-ը կլինեն հիվանդ
		ձ)	հիվանդությունն ավելի հաճախ հանդիպում է արական սեռի մոտ
		ղ)	առողջ ծնողներից կարող են ծնվել հիվանդ երեխաներ

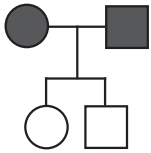
5. Որոշել աուտոսոմային հատկանիշի ժառանգման բնույթը (դոմինանտ թե ռեցեսիվ, նկար 17-19) և գրել տոհմի բոլոր անդամների գենոտիպերը:



Նկ. 17

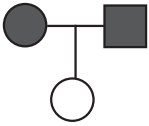


Նկ. 18

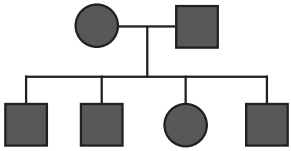


Նկ. 19

6.Նկ. 20–ում ժառանգվող հատկանիշը դոմինանտ է, թե ռեցեսիվ: Պարզել գենոտիպերը:

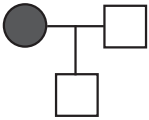


Նկ. 20

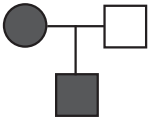


Նկ. 21

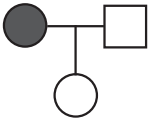
7. Հնարավոր եք համարում արդյոք, որ նկ.21-ում ներկայացված ժառանգվող հատկանիշը ռեցեսիվ է: Պարզել գենոտիպերը:



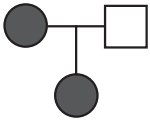
Նկ. 22



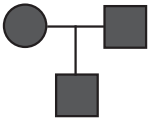
Նկ. 23



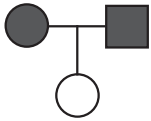
Նկ. 24



Նկ. 25

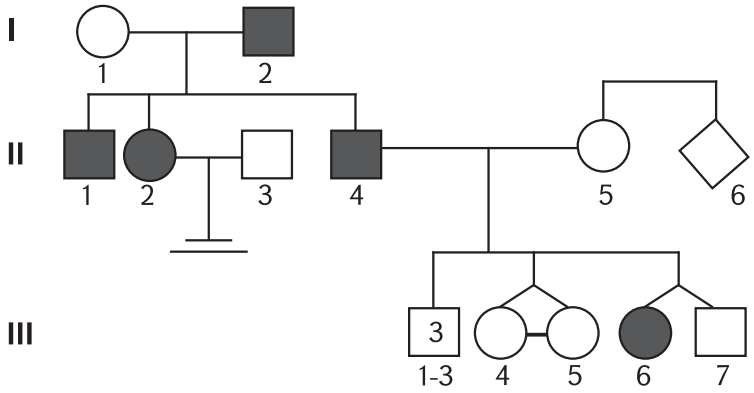


Նկ. 26



Նկ. 27

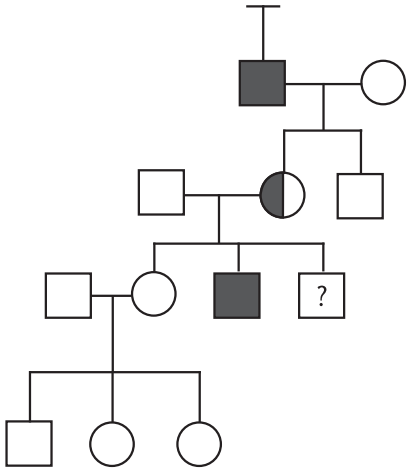
8. Քննարկել յուրաքանչյուր նկարը (նկար 22-27) և պատասխանել հետևյալ հարցին՝ կարո՞ղ է տվյալ տոհմածառը ներկայացնել X-քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգման տիպը: Պարզել գենոտիպերը:



Նկ.28

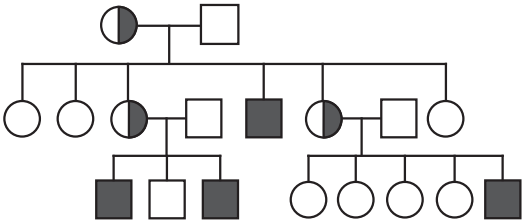
9. Ըստ նկար 28-ի գտնել, թե ընտանիքի ո՞ր անդամներն են միաձվային երկվորյակներ, տարաձվային երկվորյակներ, քանի՞ անդամ է նշված III սերնդում, որի՞ սեռը պարզված չէ, ո՞ր ընտանիքն է անպտուղ:

10.Ժառանգման ո՞ր տիպն է ներկայացված նկար 29-ում, հարցական նշանի տեղում գրել գենոտիպը:



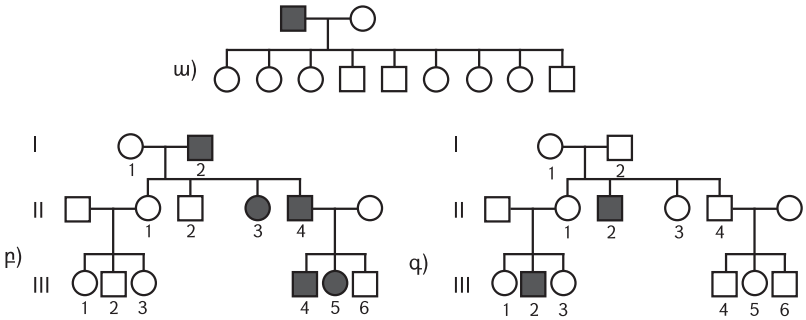
Նկ. 29

11. Ժառանգման ո՞ր տիպն է ներկայացված նկար 30-ում, որոշել գենոտիպերը:



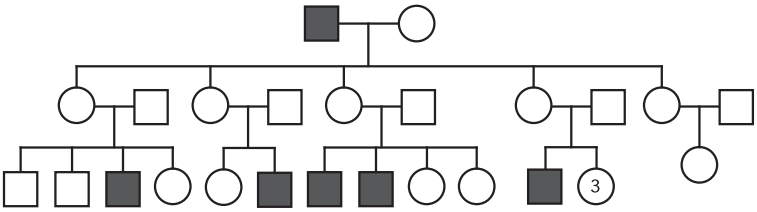
Նկ. 30

12. Ժառանգման ո՞ր տիպն է ներկայացված նկար 31-ում:

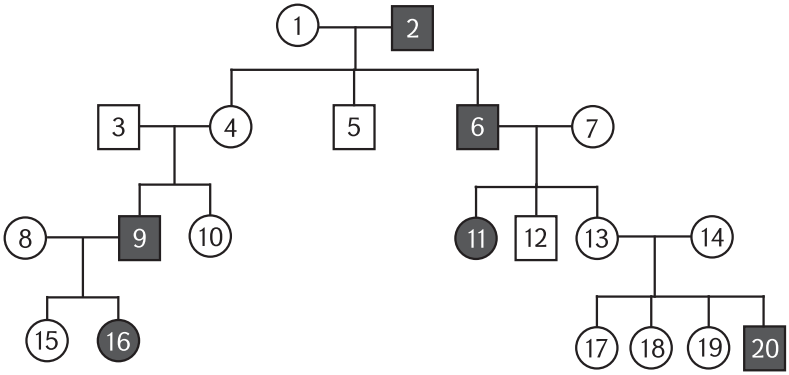


Նկ. 31

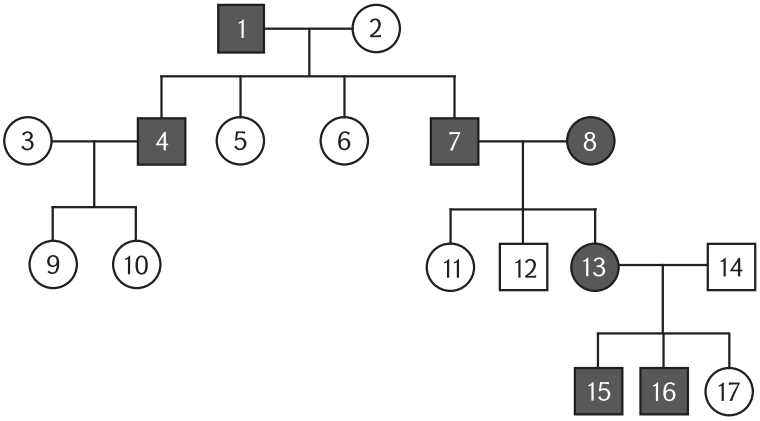
13. Ըստ նկար 32-ի՝ որոշել III սերնդի ո՞ր մասն են կազմում հիվանդները և ժառանգման ո՞ր տիպն է ներկայացված:



Նկ. 32



Նկ. 33 ա



Նկ. 33 բ

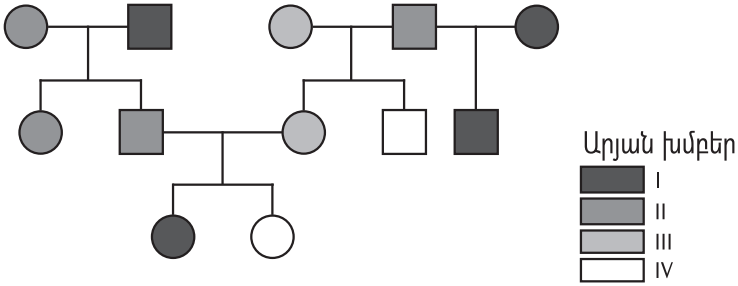
14.Զննեք նկար 33-ը և պատասխանեք այո կամ ոչ: Հիմնավորել պատասխանը:

1. Կարող է Ա տոհմածառը լինել աուտոսոմ ռեցեսիվ ժառանգման:
2. Կարող է Բ տոհմածառը լինել աուտոսոմ ռեցեսիվ ժառանգման:
3. Կարող է Ա տոհմածառը լինել աուտոսոմ դոմինանտ ժառանգման:
4. Կարող է Բ տոհմածառը լինել աուտոսոմ դոմինանտ ժառանգման:

5. Կարո՞ղ է Ա տոհմածառը ներկայացնել X-քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգումը:

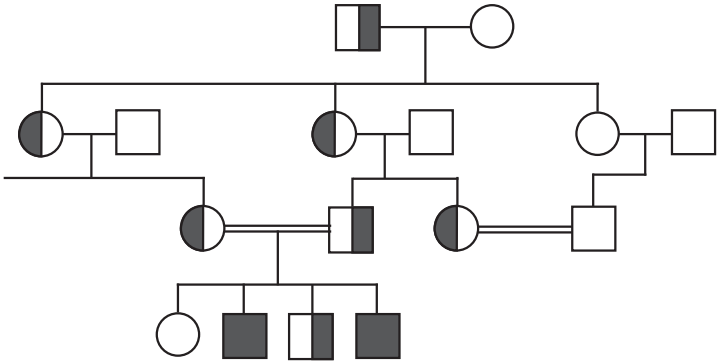
6. Կարո՞ղ է Բ տոհմածառը ներկայացնել X-քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ ժառանգումը:

15.Նկար 34-ում տարբեր գույներով նշված են արյան տարբեր խմբերը: Որոշել ընտանիքի անդամներից յուրաքանչյուրի գենոտիպը:



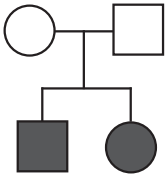
Նկ. 34

16.Որոշել նկար 35-ի տոհմածառի ժառանգման տիպը:



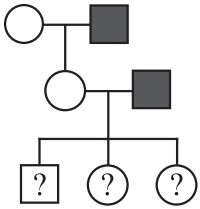
Նկ. 35

17. Ընտրել ճիշտ պատասխանը:



Նկ. 36

Ըստ նկար 36-ի՝ գտնել ընտանիքում առողջ երեխայի ծնվելու հավանականությունը.ա) 1/4, բ)1/2:

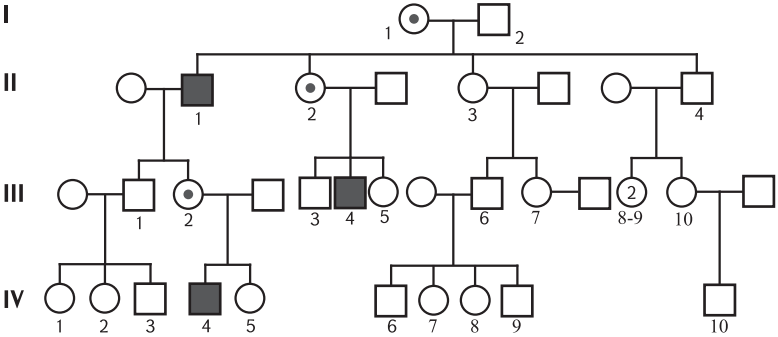


Նկ. 37

Ըստ նկար 37-ի՝ գտնել առողջ երեխայի ծնվելու հավանականությունը, ընտրել ճիշտ պատասխանը.

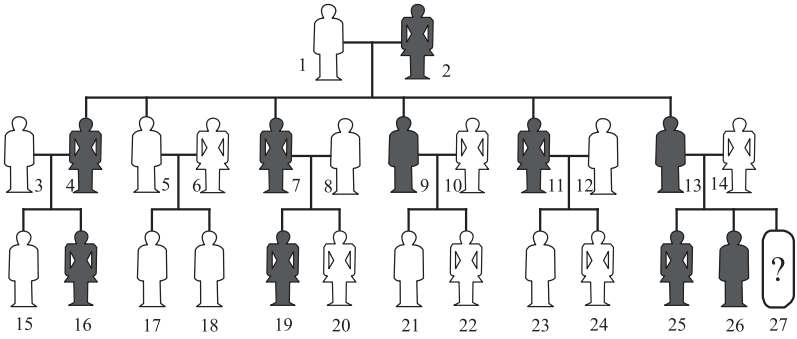
ա) 1/4, բ) 1/2, գ) 0, դ)1:

18. Ընտրել ճիշտ պատասխանը: Ներկայացված տոհմածառում (նկար 38) ժառանգումը ա) շղթայակցված է սեռին բ)աուտոսոմ դոմինանտ է գ)աուտոսոմ ռեցեսիվ է:



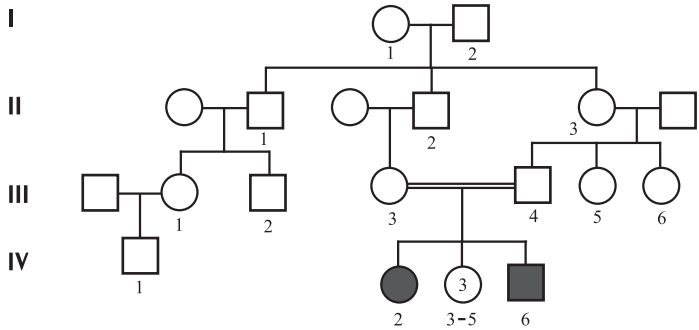
Նկ. 38

19.Գտնել ընտանիքի 27 համարի անդամի հնարավոր գենոտիպը (նկար 39):

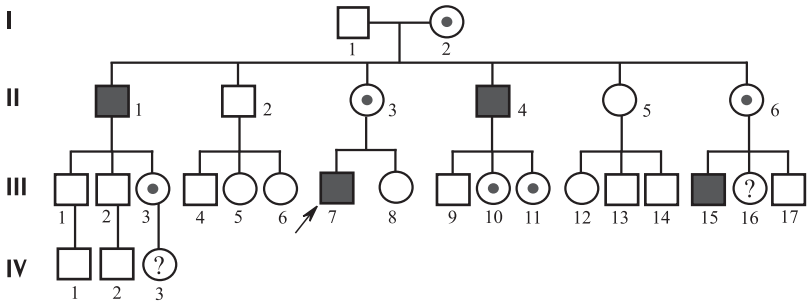


Նկ. 39

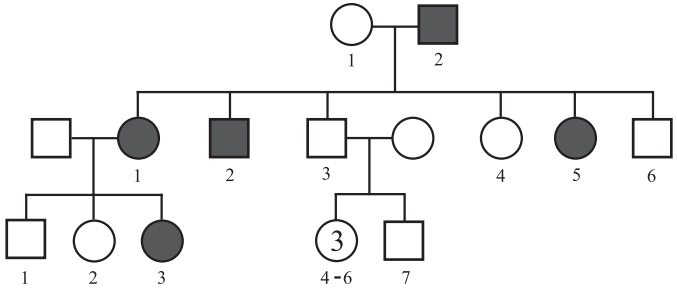
20.Համարակալեք նկարները, եթե հայտնի է, որ I –ը աուտոսոմային դոմինանտ տիպով ժառանգումն է, II-ը աուտոսոմային ռեցեսիվ տիպով ժառանգումն է, III-ը՝ սեռին շղթայակցված:



Նկ.40

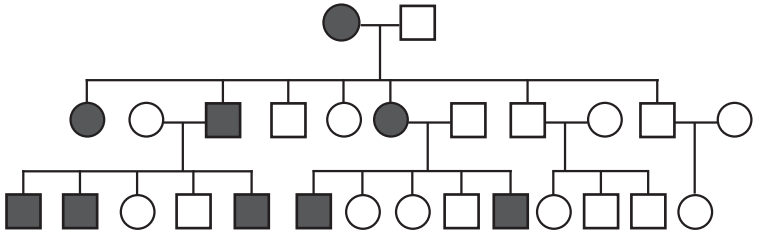


Նկ. 41

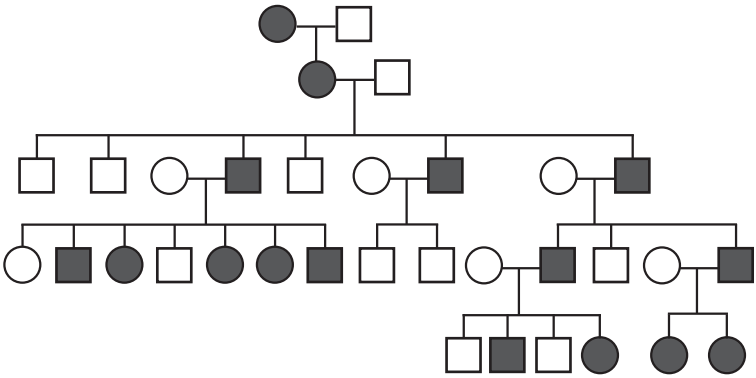


Նկ. 42

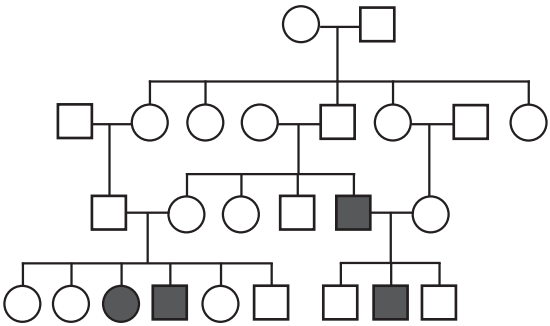
21.Ըստ տրված տոհմածառերի՝ որոշել հատկանիշի ժառանգման տիպը, հնարավորության դեպքում նշել նաև գենոտիպերը (նկար 43):



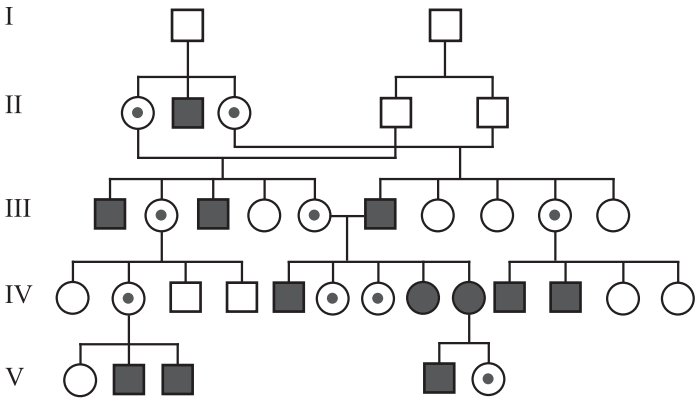
ա)



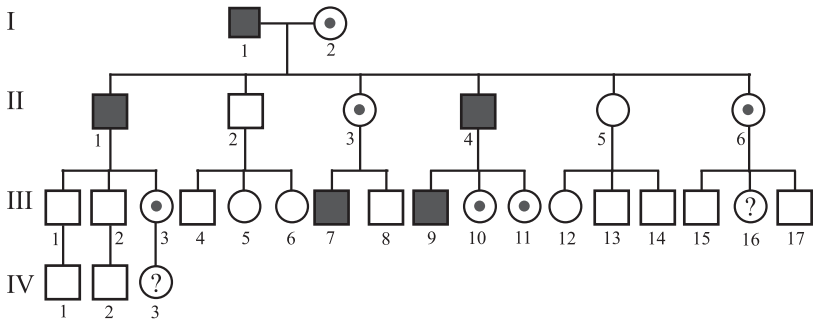
p)



q)



r)



ե)

Նկ. 43

22. Պրոբանդը հիվանդ է հավկուրությամբ: Հիվանդ են նաև նրա երկու եղբայրները: Պրոբանդի հայրական կողմում հավկուրությամբ հիվանդներ չեն գրանցվել: Պրոբանդի մայրը հիվանդ է: Մոր երկու քույրերն ու երկու եղբայրներն առողջ են: Նրանք ունեն միայն առողջ երեխաներ: Մայրական գծով հիվանդ է եղել տատը և առողջ՝ պապը: Տատի քույրը հիվանդ է, իսկ եղբայրը՝ առողջ, տատի հայրը (նախապապը) հավկուրությամբ է տառապել: Նախապապի քույրն ու եղբայրը հիվանդ են եղել: Նախանախապապը հիվանդ էր, նրա եղբայրը, որն ուներ հիվանդ աղջիկ և երկու հիվանդ տղաներ, նույնպես հիվանդ էր: Պրոբանդի կինը, նրա ծնողներն ու հարազատներն առողջ են:

Որոշել հիվանդ երեխաներ ծնվելու հավանականությունը պրոբանդի ընտանիքում:

23. Պրոբանդը ճակատի վրա սպիտակ մազափունջ ունեցող երիտասարդ է: Պրոբանդի հայրական գծում շեղումներ չեն նկատվել: Պրոբանդի մայրը սպիտակ մազափունջ ունի: Վերջինս երեք քույր ունի: Քույրերից երկուսը սպիտակ մազափնջով են, մեկը՝ ոչ: Պրոբանդի մորաքույրերից մեկը ունի սպիտակ մազափնջով տղա և մի աղջիկ առանց սպիտակ մազափնջի: Մորաքույրերից երկրորդի տղան ու աղջիկը սպիտակ մազափնջով են, իսկ մյուս աղջիկը՝ առանց սպիտակ մազափնջի:

Մորաքույրերից երրորդը չունի սպիտակ մազափունջ, նրա երկու տղաներն ու աղջիկը ևս չունեն սպիտակ մազափունջ: Հայտնի է, որ նախապապը և նախանախապապը ևս ունեցել են սպիտակ մազափունջ:

Որոշել ճակատային սպիտակ մազափունջ ունենալու հավանականությունը երեխաների մոտ այն դեպքում, եթե պրոբանդը ամուսնանա սպիտակ մազափունջ ունեցող զարմուհու հետ:

24. Նորապսակները նորմալ տիրապետում են աջ ձեռքին (աջլիկ են): Կնոջ երկու քույրերն էլ աջլիկ էին, իսկ երեք եղբայրները՝ ձախլիկ: Կնոջ մայրը աջլիկ է, հայրը՝ ձախլիկ: Հոր մեկ քույրն ու մեկ եղբայրը ձախլիկ են, իսկ մյուս եղբայրն ու մյուս երկու քույրերը՝ աջլիկ: Հայրական գծով պապը աջլիկ է, տատիկը՝ ձախլիկ: Կնոջ մայրն ունի մեկ քույր ու երկու եղբայր, բոլորն էլ աջլիկ են: Ամուսնու մայրն աջլիկ է, հայրը՝ ձախլիկ: Մայրական գծով տատիկներն ու պապիկները, ինչպես նաև ամուսնու հայրական գծով տատիկներն ու պապիկները ազատ տիրապետում էին աջ ձեռքին:

Որոշել այս ընտանիքում ձախլիկ երեխա ծնվելու հավանականությունը:

25. Պրոբանդն առողջ կին է, ունի երկու առողջ և երկու ալկապտոնուրեայով հիվանդ եղբայրներ: Պրոբանդի մայրը առողջ է և ունի երկու առողջ եղբայրներ: Պրոբանդի հայրը հիվանդ է ալկապտոնուրեայով և իր կնոջ ազգականն է: Նա ունի առողջ եղբայր և առողջ քույր: Հայրական գծով տատիկը հիվանդ էր և ամուսնացել էր իր առողջ զարմիկի հետ: Պրոբանդի մայրական գծով տատն ու պապը առողջ են, պապի մայրն ու հայրն էլ առողջ են, ընդ որում, պապի մայրը պրոբանդի հայրական պապի հարազատ քույրն է:

Որոշել ալկապտոնուրեայով հիվանդների ծնվելու հավանականությունը պրոբանդի ընտանիքում, եթե նա ամուսնանա առողջ տղամարդու հետ, որի մայրը ալկապտոնուրեայով հիվանդ էր:

26. Պրոբանդն առողջ կին է, ունի հինգ քույր, որոնցից երկուսը

միածվային երկվորյակներ են, երկուսը՝ տարածվային երկվորյակներ: Բոլոր քույրերը ձեռքի վրա ունեն վեց մատ: Պրոբանդի մայրը նորմալ է, հայրը՝ վեց մատանի: Մայրական կողմից բոլոր նախնիները նորմալ են եղել: Հոր երկու եղբայրներն ու չորս քույրերը հնգամատ են: Հայրական տատը վեց մատանի է: Նա ունեցել է երկու քույր՝ վեց մատանի և հնգամատ քույր: Հայրական պապը և նրա բոլոր ազգականները հնգամատ են:

Որոշել պրոբանդի ընտանիքում բազմամատ երեխա ծնվելու հավանականությունն այն դեպքում, երբ նա ամուսնանա նորմալ տղամարդու հետ:

27. Աոերբախը (1969 թ.) բերում է բազմամատության հետևյալ տոհմագրությունը: Երկու բազմամատ քույրեր Մարգարիտն ու Մերին ամուսնացան նորմալ տղամարդկանց հետ: Մարգարիտի ընտանիքում կային հինգ երեխաներ՝ Անդրանիկը, Սուսաննան, Դավիթը բազմամատ էին, Էմման ու Ռուբենը՝ հնգամատ: Մերիի ընտանիքում միակ աղջիկը՝ Ջեմման ուներ ձեռքի նորմալ կառուցվածք: Անդրանիկի առաջին ամուսնությունից (նորմալ կնոջ հետ) ծնվեց բազմամատ Սառան, նորմալ կնոջ հետ երկրորդ ամուսնությունից նա ունեցավ վեց երեխա՝ մեկ աղջիկ և երկու տղա նորմալ հնգամատ և երկու աղջիկն ու մեկ տղան՝ բազմամատ: Էմման ամուսնացավ նորմալ տղամարդու հետ: Նրանք ունեցան երկու տղա և չորս աղջիկ՝ բոլորը հնգամատ: Դավիթն ամուսնացավ նորմալ կնոջ հետ: Նրանց միակ որդին՝ Արամը, բազմամատ էր: Ռուբենն ամուսնացավ իր մորաքրոջ աղջկա՝ Ջեմմայի հետ: Նրանց երկու աղջիկներն ու երեք տղաները հնգամատ էին:

Որոշել բազմամատ երեխաների ծնվելու հավանականությունն հետևյալ դեպքերում.

1. Անդրանիկի նորմալ աղջկա և Ռուբենի տղաներից մեկի ամուսնության դեպքում:

2. Սառայի և Դավիթի որդու ամուսնության դեպքում:

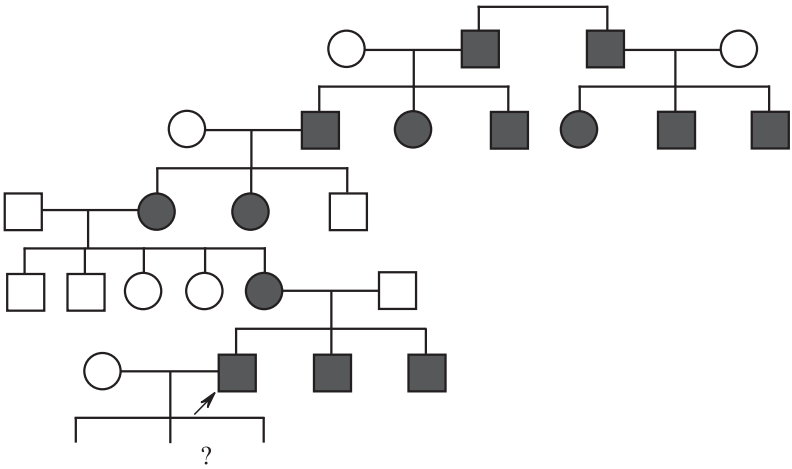
(Խնդրում օգտագործված անունները փոփոխված են):

28. Ուսումնասիրվողն առողջ կին է: Նրա քույրը ևս առողջ է, իսկ երկու եղբայրները դալտոնիզմով հիվանդ են: Ուսումնասիրվողի մայրն ու հայրը առողջ են: Ուսումնասիրվողի մոր չորս քույրերն առողջ են, առողջ են նաև նրանց ամուսինները: Ուսումնասիրվողի մոր կողմից զարմիկների մասին հայտնի է հետևյալը՝ մի ընտանիքում կա մեկ հիվանդ եղբայր և երկու առողջ քույր, մյուս երկու ընտանիքներում կան մեկական հիվանդ եղբայր և մեկական առողջ քույր, չորրորդ ընտանիքում՝ մեկ առողջ քույր: Ուսումնասիրվողի մոր կողմից տատիկը առողջ է, իսկ պապը՝ դալտոնիկ: Ուսումնասիրվողի հայրական կողմում դալտոնիկներ չեն եղել:

Որոշել ուսումնասիրվողի համար դալտոնիզմով հիվանդ երեխաների ծնվելու հավանականությունն այն դեպքում, եթե նա ամուսնանա առողջ տղամարդու հետ:

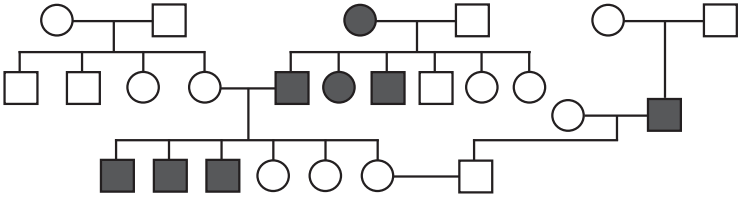
Առաջադրված խնդիրների լուծումներ

22.



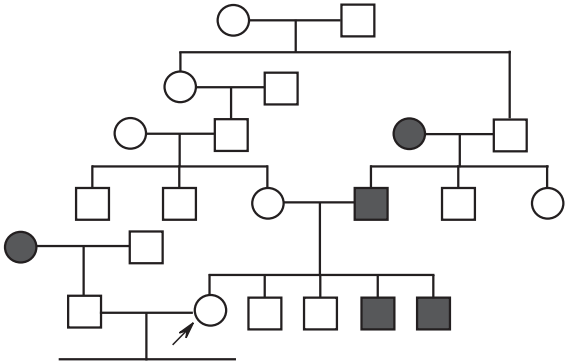
Նկ. 44

24.



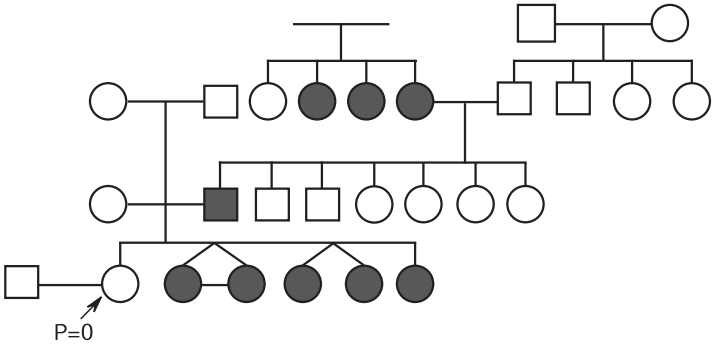
Նկ. 45

25.



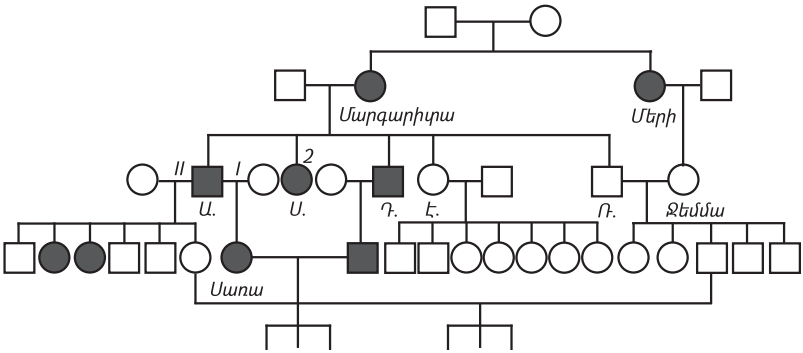
Նկ. 46

26.



Նկ. 47

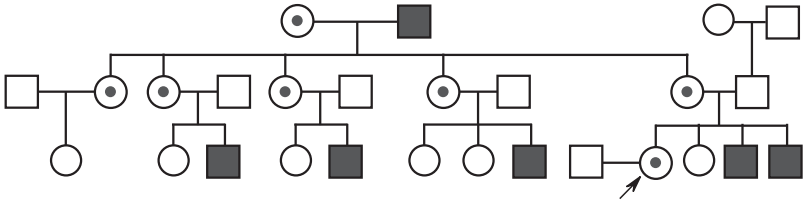
27.



Նկ. 48

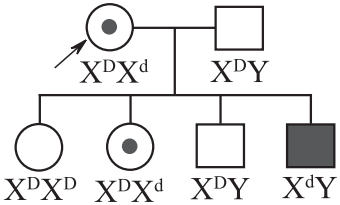
28.

Լուծում՝ կազմենք տոհմածառը

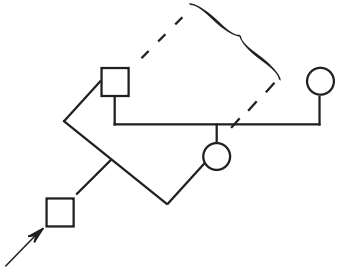


Նկ. 49

Հիվանդանում են միայն տղամարդիկ, հետևաբար գենը շղթայակցված է սեռին: Ուսումնասիրվողն առողջ է, հետևաբար նրա երկրորդ X քրոմոսոմը կրում է նորմալ տեսողության գենը, որը նա ստացել է հորից, քանի որ հայրական կողմում դալտոնիզմի գենը կրողներ չեն եղել: Ուսումնասիրվողի մայրը կրել է դալտոնիզմի գենը: Ուսումնասիրվողի առողջ տղամարդու հետ ամուսնանալու դեպքում հիվանդ կարող են ծնվել միայն տղաները 1/4 հավանականությամբ:



Նկ. 50



Նկ. 51 Հոր և աղջկա ամուսնություն

Նշանակումը	Ամուսնության տեսակը	Ինբրիդինգի գործակիցը
	մորեղբայր(հորեղբայր)-քրոջ (եղբոր) աղջիկ	1/8
	զարմիկներ	1/16
	ազգական սիբսեր	1/32
	ազգական մորեղբայր (հորեղբայր)-քրոջ (եղբոր) աղջիկ	1/32
	ազգական սիբսեր	1/64

Նկ.52. Արյունակցական ամուսնությունների տեսակները

2. Դերմատոգլիֆիկական վերլուծություն

Դերմատոգլիֆիկան (հուն. derma –մաշկ և glipho –դրոշմել, պատկեր) ուսումնասիրում է մարդու ափերի, մատների և ոտնաթաթերի մաշկային պատկերների առանձնահատկությունները: Մաշկային պատկերները այնքան առանձնահատուկ և անկրկնելի են որքան մարդու ԴՆԹ-ն: Արդեն մեկ հարյուրամյակ է, որ մատնահետքերն ուսումնասիրվում են հանցագործներին բացահայտելու համար:

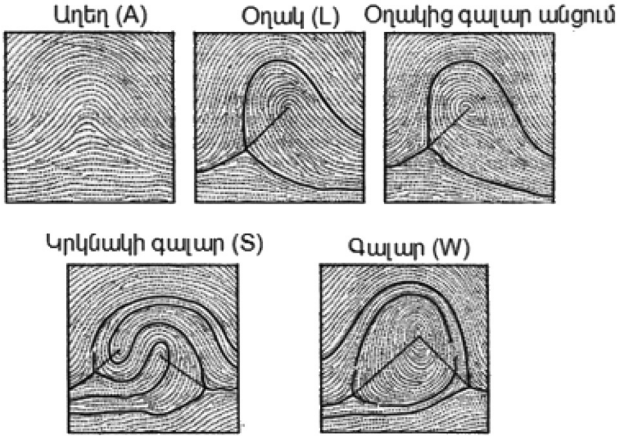
Դերմատոգլիֆիկայի հիմնադիրն է անգլիացի Ֆրենսիս Գալտոնը (Չարլզ Դարվինի հորեղբորորդին), որի մեթոդը հիմնված էր մատնահետքերի առանձնահատկությունների վրա: Ի տարբերություն ձեռքի գծերի մատնահետքերը չեն փոխվում: Ըստ որոշ ուսումնասիրությունների՝ մատնանախշերն առաջանում են պտղի մոտ երրորդ - հինգերորդ ամիսների ընթացքում և մնում են անփոփոխ ողջ կյանքի ընթացքում: Նախշերի առանձնահատկությունները պոլիգենային հատկանիշներ են և ժառանգվում են ծնողներից, դրանք ևս ենթակա են մուտացվելու կյանքի առաջին չորս ամիսների ընթացքում: Դերմատոգլիֆիկան ստորաբաժանվում է մատնատպության (դակտիլասկոպիա – ուսումնասիրում է մատնահետքերը), պալմասկոպիայի (ուսումնասիրում է ափերի նախշերը) և պլատնոսկոպիայի (ուսումնասիրում է ոտնաթաթերի նախշերի առանձնահատկությունները):

Մատնատպություն

Պարզվում է, որ մատնահետքերը շատ բան կարող են ասել մարդու բնավորության և նրա նյարդային համակարգի առանձնահատկությունների մասին: Մատնահետքերի վերլուծության շնորհիվ հնարավոր է պարզել՝

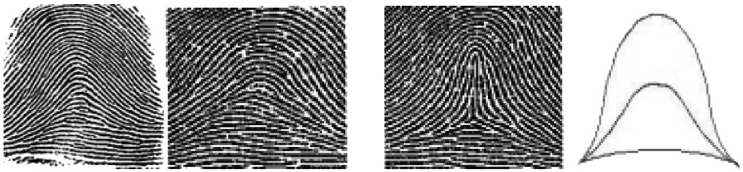
- *ապագա սերնդի ժառանգական հիվանդությունների հավանականությունը,*
- *զարգացման հնարավոր շեղումները,*
- *տարբեր գենային մուտացիաները,*
- *գենդերային անոմալիաները,*
- *քրոմոսոմային հիվանդությունները:*

Մատների վրա առհասարակ կարելի է պարզորոշել տարբեր նախշեր, սակայն, տարբերում են մատնանախշերի 3 տիպեր (Գալտոնը դրանք բնորոշել է՝ գալար (завиток, W- whorl), օղակ (петля, L- loop) և աղեղ (дуга, A - arch)) (նկար 53): Այժմ տարբերում են աղեղ, օղակ (ուլնար և ռադիալ), իրական գալար և բարդ նախշեր:

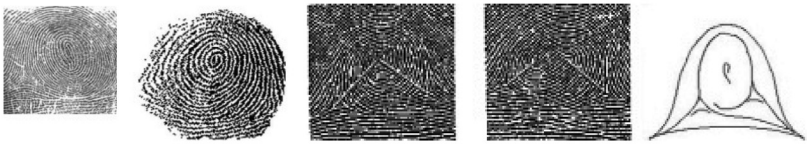


ա) Օղակները լինում են ուլնար՝ ուղղված դեպի ճկույթը (u) և ռադիալ՝ ուղղված դեպի բթամատը (r):

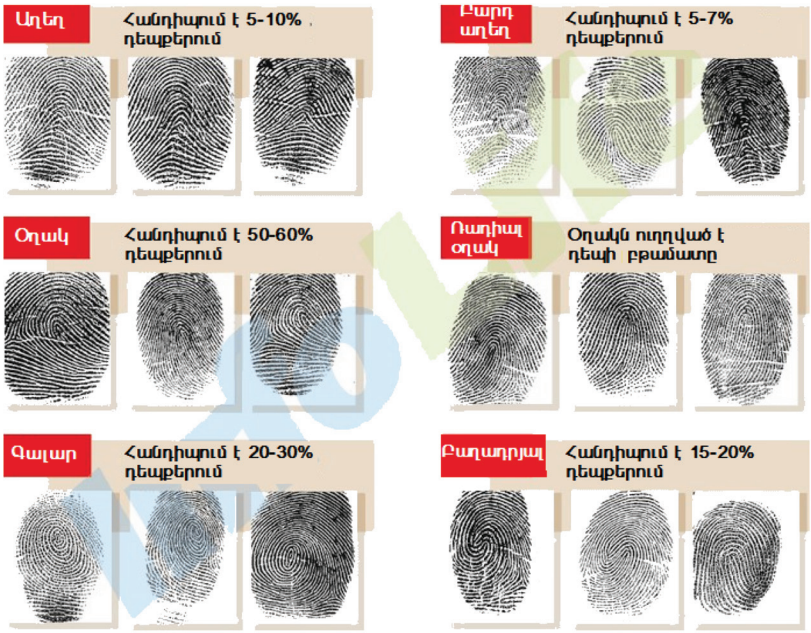
բ) Աղեղները լինում են պարզ և բաղադրյալ:



գ) Գալարները լինում են սիմետրիկ, պարուրաձև և բարդ գալարներ (կրկնակի հանգույց):



դ)



Նկ.53 Մատնանախշերի հիմնական տիպերը

Գենետիկական ուսումնասիրություններում հաճախ օգտագործում են TRC (total ridge count) – ընդհանուր կատարային հաշիվը: Կատարային հաշիվը դելտայից մինչև նախշի կենտրոն ընկած կատարների թիվն է: Վերջինս պարզելու համար մատիտով դելտան և նախշի կենտրոնը միացնող ճառագայթ են կառուցում, այնուհետև հաշվում են այդ ճառագայթը հատող կատարների թիվը (չեն հաշվում ոչ դելտայի կետը,

ոչ նախշի կենտրոնի գիծը):

Հաշվարկվում է յուրաքանչյուր մատի կատարային թիվը և յուրաքանչյուր ձեռքի հինգ մատի համար գումարային կատարային թիվը: Հաշվարկվում է նաև երկու ձեռքի ընդհանուր կատարային հաշիվը: Պարզվել է հետևյալ օրինաչափությունը, որքան շատ են մատների վրա աղեղներն, այնքան փոքր է TRC-ի ցուցանիշը: Բարդ նախշերի դեպքում հաշվում են մատի այն կողմի կատարային թիվը, որտեղ կատարների թիվը շատ է (երբեմն թույլատրվում է կատարները հաշվել 2 կողմից): Կատարային հաշիվը տարբեր մարդկանց և տարբեր մատների համար կազմում է 0-300 (10 մատի համար): Կատարային հաշիվը կապված չէ սեռի հետ, սակայն սեռական քրոմոսոմները ազդում են այդ հատկանիշի վրա (X քրոմոսոմը ավելի ուժեղ է ազդում, աղ. 1):

Զանգվածային ուսումնասիրությունների դեպքում իրար տակ գրվում են նախշերի պայմանանշանները և կատարային թվի ցուցանիշները յուրաքանչյուր մատի համար առանձին, սկսած բութ մատից, աջից նշվում է յուրաքանչյուր ձեռքի համար ստացված գումարային թիվը:

$$L_9^u + W_{5\text{-}11} + L_{10}^u + L_7^r + A_0,\ TRC=37$$
$$W_{10\text{-}5} + A_0 + L_{4\text{-}8}^r + L_{12}^u + W_4,\ TRC=34:$$

Էթնիկական խմբերը տարբերվում են տարբեր տիպերի նախշերի հաճախականությամբ և կատարային հաշվով: Տարբեր երկրներում անցկացված բազմաթիվ հետազոտությունների արդյունքում պարզ է դարձել հետևյալը. **աղեղները** հանդիպում են շատ հազվադեպ՝ 5-10%, **օղակները** հանդիպում են մարդկանց մեծամասնության մոտ՝ 60-65%, **գալարները** հանդիպում են ավելի հազվադեպ՝ 30% հաճախականությամբ:

Մատնահետքերի նախշերը բնութագրող մեծություններն են՝

1. Ֆուրուգատի ինդեքս (Furugata) W/L *100%,
2. Դանկմեյերի ինդեքս (Dankmeiyer) A/W *100%,
3. Պոլլի ինդեքս (Poll) A/L *100%,
4. Վոլոտցկու դելտային ինդեքս

$$\frac{L+2W}{A+L+W} * 10 = DL_{10}$$

Հաստատված է, որ բարձր կատարային թիվ ունեցող ծնողների երեխաների մոտ ևս այդ ցուցանիշը բարձր է (Приходченко, Шкурат, 1997):

Կատարային թվի բազմագենային ժառանգման հիպոթեզը առաջարկվել է 1931թ. Բոննեի կողմից: Այժմ ընդունվում է մատնանախշերի տիպերի ժառանգման պոլիգենային հիպոթեզը (Գուսևա Ի.Ս., 1974): Համաձայն այս տեսության՝ ժառանգման ամենաբարձր աստիճանը նկատվում է օղակների– 95,2%, գալարների– 84,1% և աղեղների- 38,9% համար:

Հաստատված է նաև սեռական քրոմոսոմներում տեղադրված գենների մոդիֆիկացնող ազդեցությունը: X քրոմոսոմների թվի ավելացման հետ ավելանում է աղեղների քանակը և իջնում է ընդհանուր կատարային հաշիվը (աղյուսակ 1): L ընտանիքի գենները մաքսիմալ էքսպրեսիվություն ունեն մինիմալ թվով սեռական քրոմոսոմներ ունեցող մարդկանց մոտ (Շերեշևսու-Թերների սինդրոմ):

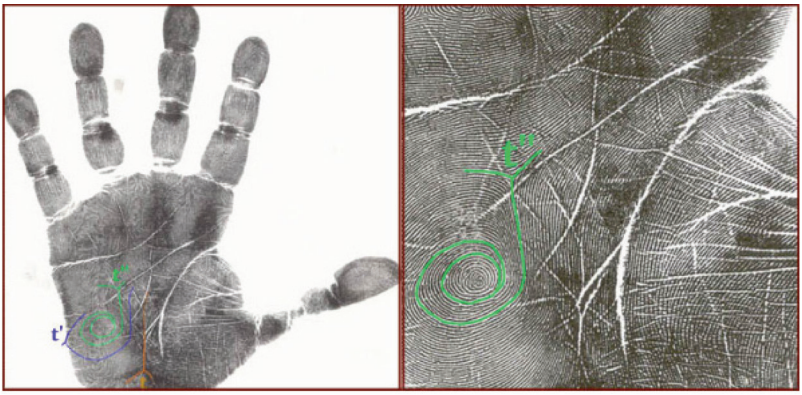
Աղյուսակ 1

Կատարային հաշիվը և սեռական քրոմոսոմների թիվը

X և Y քրոմոսոմների թիվը	**Ընդհանուր կատարային հաշիվը**
XO	178,0
XY	145,0
XYY	133,0
XX	127,2
XXY	114,8
XXYY	106,1
XXXY	93,0
XXXXYY	73,0
XXXX	110,0
XXXXY	49,9

Ինչ է հայտնի մեզ մատնանախշի և հոգեբանական առանձնահատկության կապի մասին:

Դերմատոգլիֆիկայում կա մի շատ կարևոր օրինաչափություն. ինչքան ավելի բարդ է պատկերն, այդքան ավելի բարդ է նյարդային համակարգը և ինչքան ավելի պարզ է պատկերը, ապա մարդու մոտ այդքան ավելի զարգացած է ֆիզիկական բաղկացուցիչը՝ բնազդային բնորոշումը: Խոլերիկի մատնանախշերի 50%-ից շատ գալարներն են, մնացած մասը օղակներ են, սանգվինիկի մատնանախշերի մեջ գերակայում են օղակները՝ 50%-ից ավել, մնացածը գալարներն են: Ֆլեգմատիկի մատնանախշերի մեծ մասը օղակներ են, մելանխոլիկն ունի գոնե մեկ աղեղ (ընդ որում որքան շատ են աղեղները, այնքան ցածր է աշխատունակությունը):



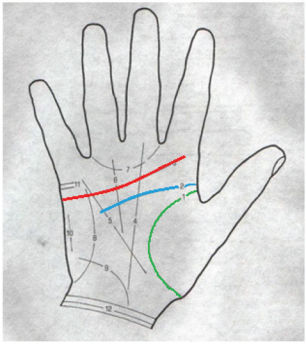
Նկ. 54 Գալար լուսնի թմբի վրա

Լուսնի թմբի վրա գտնվող գալարը շատ հազվադեպ հանդիպող նշաններից մեկն է: Այս նշանը հանդիպում է նորմալ (առողջ) մարդկանց մոտ՝ 1%, սակայն Դաունի հիվանդությամբ տառապող մարդկանց մոտ այն կազմում է 10.2%, իսկ փսիխոզ ունեցող երեխաների մոտ 90%: Աուտիզմով տառապող մարդկանց շրջանում անցկացված հետազոտությունները ցույց են տվել հետևյալ արդյունքները. **25 աուտիստ տղամարդկանցից 2-ի մոտ հայտնաբերվել է գալար Լուսնի թմբի վրա:**

Պալմոսկոպյա՝ ափերի նախշերի վերլուծություն

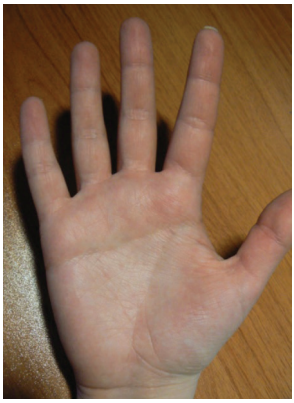
Ափանախշերի մեջ առանձնանում են 3 հիմնական գծեր (նկար 55 ա), բ)):

ա)



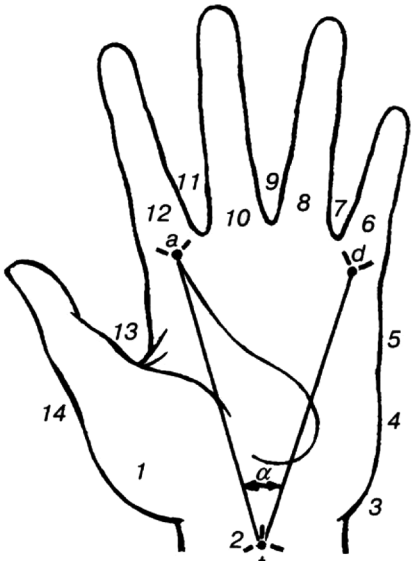
բ)

Նկ. 55 Ափանախշերի հիմնական գծերը

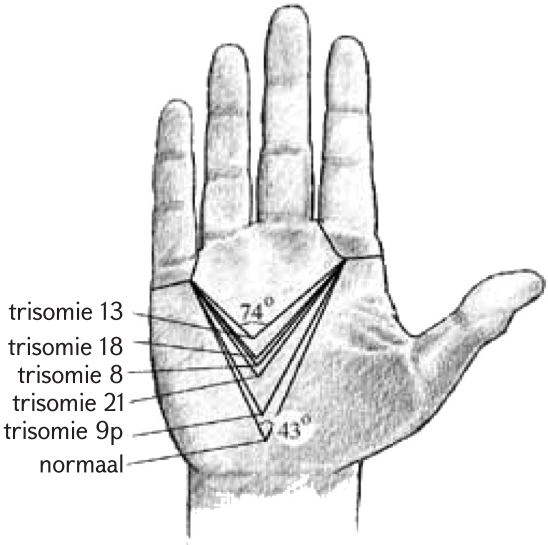


Նկ. 56 Կապիկի գիծ (հաճախ հանդիպում է Դաունի համախտանիշի և այլ արատների դեպքում, հանդիպում է նաև նորմալ մարդկանց միայն մեկ ձեռքի վրա)

Ափանախշերով կարելի է ախտորոշել որոշ ժառանգական հիվանդություններ: Այսպես, դերմատոգլիֆիկայի միջոցով պարզվեց, որ շաքարախտի «մանկական» և «հասուն» ձևերը տարբեր հիվանդություններ են: Պարզվել է նաև, որ շատ դեպքերում, դերմատոգլիֆիկայի փոփոխությունները նույնն են ծնողների և երեխաների մոտ:

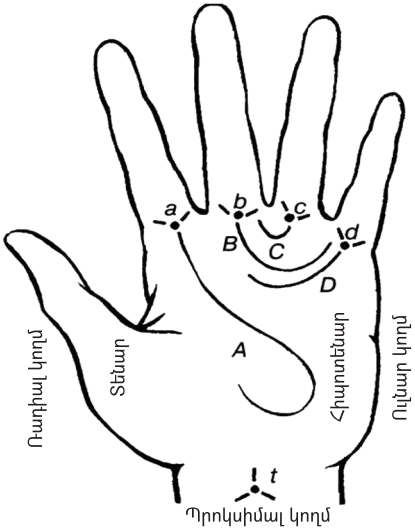


Նկ. 57 Գլխավոր ափային գծերը



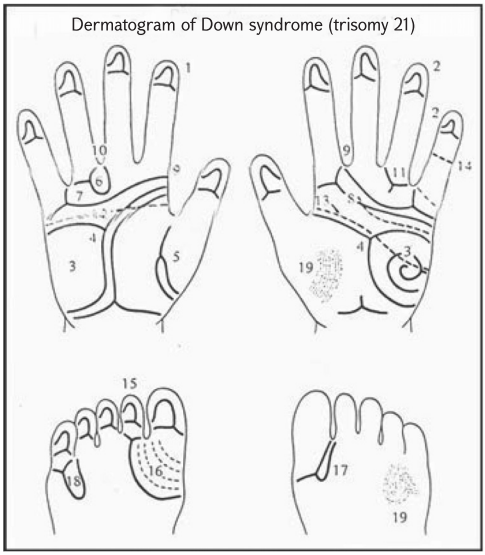
Նկ.58 Ափային բնութագիր

Գլխավոր ափային գծերը եռաշառավիղ (трирадиус) գտնվում են համապատասխանաբար երկրորդից-հինգերորդ մատների տակ՝ a, b, c, d (նկար 57): Ափի հիմքի մոտ կա մեկ դիստալ առանցքային եռաշառավիղ՝ t: atd անկյան մեծությունն ափային բնութագրերից ամենակարևորներից մեկն է, նորմայում այն չպետք է գերազանցի 57°-ը (նորման **41 - 57°**) (նկար 58):



Նկ. 59 Ափային նկարագրեր

Դաունի համախտանիշով հիվանդների (տրիսոմիա 21) ափի վերոհիշյալ անկյունը կազմում է 81-89° և ափային երկու զուգահեռ գծերը միացած են իրար, կա ուլնար օղակ երկրորդ մատի և ռադիալ՝ ձեռքի չորրորդ և հինգերորդ մատների վրա (նկար 60), նախշերն ավելի հաճախանում են հիպոտենարի վրա, դիտվում է ընդհանուր կատարային թվի նվազում:



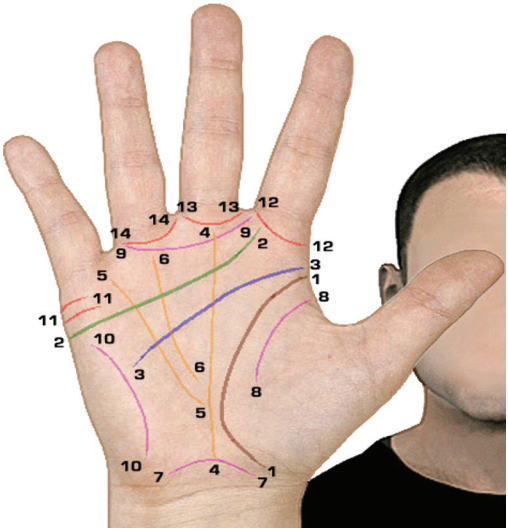
Նկ. 60 Դաունի համաախտանիշով հիվանդների ափանախշերը և մատնանախշերը

Պատաոի սինդրոմի դեպքում (տրիսոմիա 13) atd անկյունը կազմում է 102°, ձեռքի չորրորդ և հինգերորդ մատների վրա դիտվում են ռադիալ օղակներ, ձեռքերի և ոտքերի մատների վրա գերակշռում են աղեղները, նախշերն ավելանում են հիպոտենարի վրա և այլն:

Կլայնֆելտերի սինդրոմի դեպքում (XXY) atd անկյունը փոքր է 40°-ից, մատնանախշերից գերակշռում են աղեղները, կատարային հաշիվը փոքր է, նախշերն ավելանում են հիպոտենարի վրա:

Շերեշևսկու-Թերների սինդրոմի դեպքում (XO) atd անկյունը կազմում է 66°, մատնանախշերից ավելանում է գալարների տեսակարար կշիռը և նվազում է աղեղների տեսակարար կշիռը, նախշերն ավելանում են հիպոտենարի վրա, տենարում նախշերի հաճախականությունը նվազում է:

Ափային դաշտերը ափը կազմող պայմանական տեղամասեր են (նկար 61):



Նկ. 61 Ափային դաշտեր (ափը կազմող պայմանական տեղամասեր)

2.1. Լաբորատոր աշխատանք

Աշխատանքի նպատակը – մատնատպության վերլուծության անցկացում:

Ուսումնասիրության օբյեկտը – մարդը:

Նյութը և սարքավորումները.

1. լուսանկարչական գլանիվ,
2. 20 x 20սմ^2 մակերեսով ապակի,
3. պարալոն,
4. տպագրական ներկ (կամ որևէ փոխարինիչ),
5. թուղթ,
6. ձեռքի խոշորացույց (10 սմ-ից ավել տրամագծով):

ա)

բ)

Նկ.62 ա) Մատնանախշերը գրանցող սարք,
բ) մատնանախշերի ուսումնասիրություն

Աշխատանքի ընթացքը - ապակու վրա ներկ լցնել և այն լուսանկարչական գլանիկով հարթեցնել՝ հավասարաչափ շերտ ստանալու համար: Ուսումնասիրվողի մատները հերթով սեղմել ապակուն, այնուհետև դնել թղթի վրա (որի տակ դրված է պարալոն): Մատը դրվում է դրսային կողմի վրա և պտտվում է ընդհուպ մինչև ներսի կողմը, այնպես որ ողջ մատի բարձիկի մակերեսը տպվի: Մատը պետք է զգուշորեն հանել, այնպես որ թուղթը չտեղաշարժվի և նկարը չաղավաղվի (նկար 62 ա, բ): Թղթի վրա նշում են ազգանունը, սեռը և տարիքը: Այնուհետև աջ և ձախ ձեռքերի բոլոր մատների համար հաջորդաբար ստանում են մատնաթմբերի նկարները: Հաշվարկվում է TRC (total ridge count) – ընդհանուր կատարային հաշիվը (կատարային հաշիվը դելտայից մինչև նախշի կենտրոն ընկած կատարների թիվն է, այն ստանալու համար կառուցում են դելտան նախշի կենտրոնին միացնող ճառագայթ և հաշվում այդ ճառագայթը հատող կատարների թիվը): Տվյալները գրանցվում են աղյուսակում (աղյուսակ 2):

Աղյուսակ 2

Մատները	I	II	III	IV	V	Ընդամենը
Աջ ձեռք						
Ձախ ձեռք						

3. Երկվորյակային մեթոդ

Երկվորյակային մեթոդն առաջին անգամ առաջարկվել է Ֆ. Գալտոնի կողմից 1875թ.: Երկվորյակային մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել գենետիկական (ժառանգական) և միջավայրի (կլիմա, սնունդ, կրթություն, դաստիարակություն) գործոնների ազդեցությունը մարդու առանձին հատկանիշների կամ հիվանդությունների զարգացման վրա:

Երկվորյակային մեթոդի կիրառման դեպքում համեմատություն է կատարվում՝

- մոնոզիգոտ (միաձվային) և երկզիգոտ (երկձվային կամ տարաձվային) երկվորյակների միջև,
- մոնոզիգոտ զույգերում,
- երկվորյակների ընտրված խմբի և ընդհանուր պոպուլյացիայի միջև:

Մոնոզիգոտ (ՄԶ) երկվորյակները գոյանում են երկու (և ավելի) մասերի բաժանված մեկ զիգոտից: Գենետիկական տեսակետից նրանք նույնանման են, այսինքն ունեն միանման գենոտիպ: Մոնոզիգոտ երկվորյակները միշտ նույն սեռի են լինում:

Դիզիգոտ (ԴԶ) երկվորյակները զարգանում են այն դեպքում, երբ միաժամանակ երկու ձվաբջիջ բեղմնավորվում են երկու սպերմատոզոիդով: Բնական է, որ երկզիգոտ երկվորյակներն ունեն տարբեր գենոտիպեր: Նրանք նման են միմյանց ոչ ավելի քան քույրերը և եղբայրները, քանի որ ունեն մոտ 50% նույնանման գեներ:

Երկվորյակների ծնունդների հավանականությունը կազմում է մոտ 1%, որոնցից 1/3-ը մոնոզիգոտ երկվորյակներն են: Հայտնի է, որ մոնոզիգոտ երկվորյակների ծնունդների թիվը տարբեր պոպուլյացիաներում մոտ է, այն դեպքում, որ դիզիգոտների համար այդ թվերը զգալիորեն տարբերվում են: Օրինակ, ԱՄՆ-ում դիզիգոտ երկվորյակներ ավելի հաճախ ծնվում են սևամորթների, քան սպիտակամորթների մոտ: Եվրոպայում դիզիգոտ երկվորյակները կազմում են ութ՝ 1000 ծնունդների դեպքում: Երկվորյակների ծնունդների ամենացածր հաճախականությունը բնորոշ է մոնղոլոիդ պոպուլացիաներին: Նշվում է, որ երկվոր-

յակների բնածին արատների հաճախականությունը, որպես կանոն, ավելի բարձր է, քան առանձին միանձնյա ծնվածներինը:

Համարվում է, որ բազմապտղությունը գենետիկական հիմքեր ունի: Սակայն դա ճիշտ է միայն դիզիգոտ երկվորյակների համար: Երկվորյակների ծննդյան վրա ազդող գործոնները ներկայումս քիչ են ուսումնասիրված: Կան ապացույցներ այն մասին, որ դիզիգոտ երկվորյակների ծնվելու հավանականությունն ավելանում է մոր տարիքի մեծանալու, ինչպես նաև ծնունդների հաջորդականության ավելացման հետ: Մոր տարիքի ազդեցությունը կարելի է բացատրել գոնադոտրոպինի մակարդակի բարձրացմամբ, ինչը բերում է բազմաօվուլյացիայի հաճախականության ավելացմանը:

Երկվորյակային մեթոդն իր մեջ ներառում է երկվորյակների զիգոտության ախտորոշումը: Այժմ օգտագործվում են զիգոտության որոշման հետևյալ մեթոդները.

•Պոլիսիմպտոմային մեթոդ՝ երկվորյակների համեմատությունն է արտաքին հատկանիշներով: Չնայած ակնհայտ հարմարությանը, մեթոդը որոշ չափով սուբյեկտիվ է և կարող է բերել սխալների:

•Իմունոգենետիկական մեթոդ- ավելի բարդ մեթոդ է, հիմնված է արյան խմբերի անալիզի, արյան շիճուկի սպիտակուցների, լեյկոցիտար հակագեների, ֆենիլթիոկարբամիդի նկատմամբ զգայունության և այլ անալիզների վրա: Եթե երկվորյակներից յուրաքանչյուրի այդ հատկանիշները չեն տարբերվում, այդ երկվորյակներին համարում են մոնոզիգոտ:

• Դերմատոգլիֆիկայի մեթոդն ուսումնասիրում է մատների, ձեռքերի ափերի, ոտնաթաթերի պապիլյար նախշերը: Այդ հատկանիշները խիստ անհատական են, չեն փոփոխվում մարդու կյանքի ընթացքում և օգտագործվում են անձի ինքնությունը որոշելու համար: Դերմատոգլիֆիկ ցուցանիշների նմանությունը մոնոզիգոտ երկվորյակների մոտ ավելի բարձր է համեմատած դիզիգոտների հետ:

• Մոնոզիգոտ երկվորյակների մեթոդն ըստ ուսումնասիրվող հատկանիշի, ներառում է նաև, մոնո- և դիզիգոտային երկվորյակների խմբերի համադրումը:

Եթե որևէ մի հատկանիշ առկա է մեկ զույգի երկու երկվորյակների մոտ, ապա այդ զույգը կոչվում է կոնկորդանտային, իսկ եթե երկվորյակներից միայն մեկի մոտ է առկա, ապա երկվորյակների զույգը կոչվում է դիսկորդանտային (կոնկորդանտություն-նմանության աստիճան, դիսկորդանտություն-տարբերության աստիճան):

Մոնո և դիզիգոտային երկվորյակների համադրման ընթացքում զույգային կոնկորդանտության գործակիցը (Kn) (աղյուսակ 4) արտահայտվում է միավորի մասնաբաժնով կամ տոկոսներով և հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով.

$$Kn = \frac{C}{C + D} \quad ,$$

որտեղ C-ն կոնկորդանտ զույգերի քանակն է, D-ն դիսկորդանտ զույգերի քանակն է:

Մոնո- և դիզիգոտային երկվորյակների մոտ զույգերի կոնկորդանտության համեմատությունը թույլ է տալիս եզրակացություն անել այս կամ այն հատկանիշի կամ հիվանդության զարգացման համար ժառանգականության և միջավայրի դերի մասին: Ընդ որում, ելնում են այն ենթադրությունից, որ եթե կոնկորդանտության աստիճանը մոտավորապես նույնն է մոնոզիգոտների և դիզիգոտների մոտ, համարվում է, որ հատկանիշի ձևավորումը մեծապես պայմանավորված է միջավայրի գործոններով:

Եթե ուսումնասիրվող հատկանիշի զարգացմանը մասնակցում են և՛ գենետիկական, և՛ միջավայրի գործոնները, ապա մոնոզիգոտ երկվորյակների մոտ դիտվում են որոշակի ներզույգային տարբերություններ: Այդ դեպքում մոնո և դիզիգոտային երկվորյակների միջև կոնկորդանտության աստիճանի տարբերությունները կնվազեն:

Այս կամ այն հատկանիշի զարգացման գործում ժառանգականության և միջավայրի դերի քանակական գնահատականի համար օգտագործվում են ժառանգման գործակիցը, որը հաշվարկվում է հետևյալ բանաձևով.

$$H = \frac{\text{Kn ՄԶ} - Kn\,\text{ԴԶ}}{100 - \text{Kn ԴԶ}},$$

որտեղ H-ժառանգման գործակիցն է, Kn-ն զույգային կոնկորդանտության գործակիցը մոնոզիգոտ (ՄԶ) և դիզիգոտ (ԴԶ) երկվորյակների խմբերում:

H-ի արժեքներից դատելով՝ կարելի է որոշել հատկանիշի զարգացման համար գենետիկական և միջավայրի գործոնների ազդեցության աստիճանը: Օրինակ, եթե H-ի արժեքը մոտ է 0-ի, ուրեմն հատկանիշի զարգացումը պայմանավորված է միայն արտաքին միջավայրի գործոններով:

Աղյուսակ 3

Մոնոզիգոտ (ՄԶ) և դիզիգոտ (ԴԶ) երկվորյակների որոշ հատկանիշների և հիվանդությունների կոնկորդանտության օրինակներ, %

Հատկանիշներ	**ՄԶ**	**ԴԶ**
Աչքերի, մազերի գույնը	99.5	28.0
Շրթունքների, ականջների ձևը	100.0	65.0
Պապիլյար գծերը	92.0	40.0
Մանիակալ դեպրեսիվ պսիխոզ	73.1	15.2
Շիզոֆրենիա	67.0	12.1
Էպիլեպսիա	60.8 (37.2)	12.3 (1.8)
Շաքարախտ	84.0 (58.0)	37.0 (20.0)
Տուբերկուլյոզ	66.7	23.0
Ռևմատիզմ	47.3	17.3
Միջին ականջի բորբոքում	30.1	9.8
Ծուռթաթություն	45.5	18.2
Ազդրի բնածին հոդախախտ	41.4	2.8
Կարմրուկ	97.4	35.7
Ջրծաղիկ	97.7	92.0
Քութեշ	56.4	11.2

H-ի 1-ից մինչև 0,7 արժեքների դեպքում հատկանիշի և հիվանդության զարգացման գործում գերակշռող են ժառանգական գործոնները, իսկ H-ի 0,4 - 0,7-ի արժեքների սահմաններում հատկանիշը զարգանում է արտաքին միջավայրի գործոնների ազդեցության տակ՝ գենետիկական հակվածության առկայության դեպքում (աղյուսակ 5):

Բերենք մի քանի օրինակներ: Ինչպես արդեն նշվել է, մարդու արյան խմբերը ամբողջովին պայմանավորված են գենոտիպով և չեն փոխվում միջավայրի ազդեցությամբ: Ժառանգման գործակիցը հավասար է 100%-ի: Որոշ ձևաբանական հատկանիշներով (քթի, հոնքերի, շրթունքների, ականջների ձևով, աչքերի, մազերի, մաշկի գույնով) մոնոզիգոտ երկվորյակները կոնկորդանտ են 97-100%-ով, իսկ դիզիգոտ երկվորյակները՝ կախված հատկանիշից՝ 20-70%-ով: ՄԶ-ի կոնկորդանտությունը շիզոֆրենիայով հիվանդացածների մոտ 70% է, իսկ ԴԶ-ի մոտ՝ 13%:

$$H = \frac{(70-13)}{(100-13)} = 0.65 \text{ կամ } 65\ \%:$$

Տվյալ դեպքում գերակշռում են գենետիկական գործոնները, բայց զգալի դեր են խաղում նաև միջավայրի պայմանները:

Երկվորյակային մեթոդի օգնությամբ է որոշվում գենոտիպի և միջավայրի նշանակությունը մեծաթիվ ինֆեկցիոն հիվանդությունների պաթոգենեզում: Այսպես, կարմրուկով հիվանդանալու դեպքում առաջատար նշանակություն ունեն ինֆեկցիոն գործոնները, իսկ թոքախտային ինֆեկցիայի դեպքում զգալի ներգործություն ունի գենոտիպը: Երկվորյակների հետ կատարվող հետազոտությունները կօգնեն պատասխանել այնպիսի հարցերին, ինչպիսիք են մարդու կյանքի տևողության վրա ժառանգական և միջավայրային գործոնների ազդեցությունը, օժտվածության զարգացումը, դեղորայքային պրեպարատների նկատմամբ զգայունությունը և այլն: Ներկայումս մարդու գենետիկայում երկվորյակային մեթոդը կիրառվում է գենետիկական վերլուծության այլ մեթոդների հետ զուգակցված:

Աղյուսակ 4

Երկվորյակային մեթոդով պարզված մարդու որոշ հատկանիշների ժառանգումը

Հատկանիշ	Ժառանգման գործակիցը
Մարմնի կառուցվածք	0.81
Հասակը նստած վիճակում	0.76
Քաշը	0.78
Գլխային գործակից	0.75
Մենտալ հասակը՝ ըստ Բինեի	0.65
IQ-ն՝ ըստ Բինեի	0.68
IQ-ն՝ ըստ Օտիսի	0.80
Վերբալ հատկություններ	0.68
Թվաբանական ընդունակություններ	0.12
Բնական գիտությունների նկատմամբ ընդունակություններ	0.34
Ընդունակություններ պատմության և գրականության նկատմամբ	0.45
Ուղղագրական ընդունակություններ	0.53
Ոտքով թակելու արագությունը	0.50

3.1. Գործնական աշխատանք

Առաջադրանք 1. Լուծել խնդիրները.

1. Վերլուծել աղյուսակի տվյալները և գնահատել ժառանգականության և միջավայրի դերը նշված հիվանդությունների համար: Հաշվել ժառանգելիության գործակիցը (H) և միջավայրի ազդեցությունը (աղյուսակ 5)(E):

Աղյուսակ 5

Հիվանդությունը	Կոնկորդանտությունը, %	
	ՄԶ	ԴԶ
շաքարախտ	84	37
Էնդեմիկ զոբ	71	70
ռախիտ	88	22
էկզեմա	28,6	8
բարորակ ուռուցք	20	12,7

2. Վերլուծել աղյուսակի տվյալները և գնահատել ժառանգականության և միջավայրի դերը նշված հիվանդությունների համար: Հաշվել ժառանգելիության գործակիցը (H) և միջավայրի ազդեցությունը (աղյուսակ 6) (E):

Աղյուսակ 6

Հիվանդությունը	Կոնկորդանտությունը, %	
	ՄԶ	ԴԶ
կարմրուկ	97,4	95,7
կապույտ հազ	97,1	92,0
քութեշ	54,6	47,1
դիֆտերիա	50,0	37,7
անգինա	51,1	39,7
թոքերի բորբոքում	32,3	18,2
պոլիոմելիտ	35,7	6,1
պալարախտ	32,8	20,6
ռևմատիզմ	26,0	10,5
ինֆեկցիոն հեպատիտ	45,5	18,2
խոզուկ	82,0	74,0

4. Պոպուլյացիոն (տեղախմբային) վիճակագրական մեթոդ

Գենետիկայում պոպուլյացիա նշանակում է որոշակի արեալ (տարածություն) զբաղեցնող, ընդհանուր գենոֆոնդ ունեցող ու ազատորեն խաչասերվող առանձնյակների ամբողջությունը (գենոֆոնդը՝ տվյալ պոպուլյացիայի գեների ամբողջականությունն է): Պոպուլյացիոն գենետիկան ուսումնասիրում է պոպուլյացիաների գենետիկական կառուցվածքը, նրանց գենոֆոնդը, գենետիկական կառուցվածքի կայունությունը և փոփոխությունը պայմանավորող գործոնները:

Բժշկական գենետիկայում պոպուլյացիոն վիճակագրական մեթոդը կիրառվում է բնակչության ժառանգական հիվանդությունների, տարբեր պոպուլյացիաների նորմալ և պաթոլոգիական գեների, գենոտիպերի ուսումնասիրման համար:

Պոպուլյացիոն վիճակագրական մեթոդը թույլ է տալիս ուսումնասիրել.

- պոպուլյացիայում գեների և ժառանգական հիվանդությունների հաճախականությունը,
- մուտացիոն գործընթացները,
- ժառանգական հակվածությամբ հիվանդությունների առաջացման մեջ ժառանգականության և միջավայրի դերը,
- մի շարք հատկանիշների ֆենոտիպիկ պոլիմորֆիզմի ձևավորման մեջ ժառանգական և միջավայրային գործոնների դերը:

Պոպուլյացիոն վիճակագրական մեթոդի կիրառումը ներառում է պոպուլյացիայի ճիշտ ընտրություն, նյութի հավաքում և ստացված արդյունքների վիճակագրական վերլուծություն: Մեթոդի հիմքում ընկած է 1908 թ. անգլիացի մաթեմատիկոս Ջ. Հարդիի և գերմանացի բժիշկ Վ. Վայնբերգի կողմից իդեալական պոպուլյացիայի համար սահմանված օրինաչափությունը, որն անվանում են Հարդի-Վայնբերգի օրենք:

Իդեալական պոպուլյացիայի համար բնորոշ են հետևյալ առանձնահատկությունները. մեծ թվակազմը, ազատ խաչասերումը (պանմիքսիան), ընտրության և մուտացիոն գործընթացների բացակայությունը,

պոպուլյացիայից դուրս և դեպի ներս ուղղված միգրացիաների բացառումը: Հարդի-Վայնբերգի օրենքի համաձայն՝ իդեալական պոպուլյացիայում դոմինանտ հոմոզիգոտների (AA), հետերոզիգոտների (Aa) և ռեցեսիվ հոմոզիգոտների (aa) հարաբերակցությունը սերնդեսերունդ մնում է նույնը: Ազգակցական ամուսնությունները, մուտացիաները, գեների դրեյֆը, ընտրությունը, միգրացիաները առաջացնում են պոպուլյացիայում գենոտիպերի քանակների հարաբերակցության խախտում:

Տարբեր գենոտիպերի և ֆենոտիպերի քանակության հարաբերակցությունը պանմիկտիկ պոպուլյացիաներում որոշվում է Նյուտոնի բինոմի բանաձևով.

$$(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2;$$
$$(p+q) = 1,$$

որտեղ **p**-ն **A** դոմինանտ ալելի հաճախականությունն է, **q**-ն՝ **a** ռեցեսիվ ալելի հաճախականությունը, $\mathbf{p^2}$ - **AA** գենոտիպի (դոմինանտ ալելով հոմոզիգոտների) հաճախականությունը, $\mathbf{q^2}$ - **aa** գենոտիպի (ռեցեսիվ ալելով հոմոզիգոտների) հաճախականությունը:

Առաջին սերնդի ֆենոտիպեր	Դոմինանտ	x	Դոմինանտ
Առաջին սերնդի գենոտիպեր	Aa	x	Aa

Գամետներ	A (p)	a (q)
A (p)	AA (p^2)	Aa (pq)
a (q)	Aa (pq)	aa (q^2)

Պատահական բեղմնավորում			
Երկրորդ սերնդի գենոտիպեր	AA (p^2)	2Aa (2pq)	aa (q^2)
Երկրորդ սերնդի ֆենոտիպեր	Դոմինանտ հոմոզիգոտ	Դոմինանտ հետերոզիգոտ	Ռեցեսիվ հոմոզիգոտ

Նկ. 63 Պեննետի ցանց

Հարդի-Վայնբերգի բանաձևը կարելի է հեշտությամբ ստանալ Պեն-նետի ցանցի օգնությամբ (նկար 63):

Քանի որ գամետներից յուրաքանչյուրը կրում է ալելներից միայն մեկը՝ **A**-ն կամ **a**-ն, ուստի նրանց հաճախականությունների գումարը հավասար կլինի մեկի՝

$$p + q = 1:$$

Այդ դեպքում գենոտիպերի հաճախականությունը կլինի.

$$(pA + qa)^2 = p^2\,AA + 2pq\,Aa + q^2\,aa = 1:$$

Եթե պոպուլյացիայում տվյալ գենի երեք ալելները ներկայացված են **p, q և r** հաճախականությամբ, ապա գենոտիպերի հաճախականությունը կլինի.

$$(p + q + r)^2 = p^2 + q^2 + r^2 + 2pq + 2pr + 2qr = 1:$$

Համաձայն Հարդի-Վայնբերգի օրենքի՝ (AA) դոմինանտ հոմոզիգոտների հաճախականությունը հավասար է դոմինանտ ալելի հանդիպման քառակուսուն, (Aa) հետերոզիգոտների հաճախականությունը՝ դոմինանտ և ռեցեսիվ ալելների հանդիպման կրկնակի արտադրյալին, (aa) ռեցեսիվ հոմոզիգոտների հաճախականությունը հավասար է ռեցեսիվ ալելի հանդիպման քառակուսուն: Այսպիսով, պոպուլյացիոն վիճակագրական մեթոդը հնարավորություն է տալիս որոշել պոպուլյացիայի գենետիկական կառուցվածքը:

Գենների դրեյֆը արտահատվում է ալելների հաճախականության պատահական փոփոխություններով: Մարդու պոպուլյացիաներում որպես գենների դրեյֆի օրինակ կարելի է նշել «ցեղի նահապետի (հիմնադրի) էֆեկտը»: Այն դիտվում է, երբ պոպուլյացիայի կառուցվածքը ձևավորվում է սահմանափակ ընտանիքների ալելներից: Այդպիսի պոպուլյացիաներում հաճախ նկատվում է պատահական դրեյֆի հետևանքով պահպանված անոմալ գենների մեծ հաճախականություն: Եվրոպայում և Ճապոնիայում ռեզուս բացասական արյամբ մարդկանց տարբեր հաճախականությամբ (համապատասխանաբար 14% և 1%) հանդիպման, ինչպես նաև երկրագնդի բնակչության տարբեր խմբերի մոտ ժառանգական հիվանդությունների անհամաչափ տարածման պատճառը կա-

րող է գեների դրեյֆը լինել: Օրինակ, Շվեդիայի որոշ պոպուլյացիաներում լայնորեն տարածված է պատանեկան ամավրոտիկ ապուշության գենը, Հարավային Աֆրիկայում՝ պորֆիրիայի գենը, Շվեյցարիայում՝ ժառանգական խլության գենը և այլն:

Այսպիսով, գեների դրեյֆը մի կողմից հանգեցնում է պոպուլյացիայի ներսում գենետիկական բազմազանության նվազմանը, մյուս կողմից՝ պոպուլյացիաների միջև տարբերությունների մեծացմանը և հատկանիշների տարամիտմանը: Վերջինս իր հերթին կարող է տեսակառաջացման հիմք ծառայել:

Մոտ ազգականների միջև ամուսնությունները (**ինբրիդինգը**) զգալիորեն ազդում են պոպուլյացիայի կազմի վրա: Շատ երկրներում այդպիսի ամուսնությունները արգելված են՝ ժառանգական արատներով երեխաների ծնվելու մեծ հավանականության պատճառով: Ունենալով ընդհանուր ծագում, ազգականները կարող են միևնույն ռեցեսիվ պաթոլոգիկ գենի կրողը լինել, և երկու առողջ հետերոզիգոտների ամուսնության դեպքում հիվանդ երեխաների ծնվելու հավանականությունը մեծանում է:

Նոր գեներ կարող են մուտք գործել պոպուլյացիա **միգրացիայի (գեների հոսքի)** արդյունքում, երբ առանձնյակները մի պոպուլյացիայից անցնում են մյուսը և խաչասերվում են տվյալ պոպուլյացիայի ներկայացուցիչների հետ: Իրական պոպուլյացիաները հազվադեպ են լրիվ մեկուսացված լինում: Միգրացիան բերում է հիմնական պոպուլյացիաներում և ներգաղթողների մեջ ալելների հաճախականության փոփոխման: Լոկալ (տեղային) պոպուլյացիաներում ալելների հաճախականությունը կարող է փոփոխվել, եթե հնաբնակների և նորեկների ալելների ելքային հաճախականությունները տարբեր են:

ԱՄՆ-ում սպիտակամորթների և սևամորթների խառն ամուսնություններից ծնված սերունդը համարվում է սևամորթ բնակչություն: Ֆ. Այալայի և Ջ. Կայգերի տվյալների (1988) համաձայն՝ սպիտակամորթ բնակչության ռեզուս-գործոնը կարգավորող ալելի հաճախականությունը կազմում է 0,028: Այն աֆրիկյան ցեղերում, որոնցից առաջացել է ժամանակակից սևամորթ բնակչությունը, այդ ալելի հաճախականու-

թյունը կազմում է 0,630: Ժամանակակից սևամորթների նախնիները Աֆրիկայից դուրս են բերվել 300 տարի (մոտ 10 սերունդ) առաջ: Ժամանակակից սևամորթ բնակչության մոտ այդ ալելի հաճախականությունը կազմում է 0,446: Այսպիսով, սպիտակ բնակչությունից գեների հոսքը դեպի սևամորթները կազմել է 3,6%՝ մեկ սերնդի ընթացքում: Տասը սերունդից հետո աֆրիկյան նախնիների գեների չափաբաժինը կազմում է ԱՄՆ-ի ժամանակակից սևամորթ բնակչության գեների 0,694-ը: Գեների մոտ 30%-ը ամերիկյան սևամորթները ժառանգել են սպիտակ բնակչությունից: Ակնհայտ է, գեների հոսքը սպիտակամորթ և սևամորթ բնակչության միջև զգալի է եղել:

Պոպուլյացիաների գենետիկական կառուցվածքի վրա ազդում են նաև **մուտացիոն գործընթացը** և **ընտրությունը**: Որպես էվոլյուցիայի գործոն՝ մուտացիաներն ապահովում են նոր ալելների հոսքը դեպի պոպուլյացիա: Գենոտիպի փոփոխման տեսակետից մուտացիաները լինում են գենային, քրոմոսոմային և գենոմային: Գենային մուտացիաները կարող են լինել ուղղակի (A>a) և հակադարձ (a>A): Ուղղակի մուտացիաների առաջացման հաճախականությունն ավելի բարձր է, քան հակադարձ մուտացիաներինը: Նույն գեները կարող են բազմաթիվ անգամ մուտացիայի ենթարկվել: Բացի դրանից, միևնույն գենը կարող է փոփոխվել մի քանի ալելային վիճակների, առաջացնելով բազմակի ալելների շարք: Հեմոֆիլիա, ռետինոբլաստոմա, պիգմենտային քսերոդերմա և այլ ծանր հիվանդություններ առաջացնող մուտացիաների հաճախականության ուսումնասիրությունը հիմք է տալիս ասելու, որ առանձին գեների պաթոլոգիական մուտացիաների առաջացման հաճախականությունը մեկ սերնդի ընթացքում կազմում է 1-2 100 հազար գամետի համար: Հաշվի առնելով մարդու գեների ընդհանուր (25000-ին մոտ) քանակը՝ մուտացիաների գումարային քանակը փոքր թիվ չի կազմում: Մուտացիաների հաճախականությունը կարող է մեծանալ օրգանիզմի վրա որոշ ֆիզիկական և քիմիական մուտագենների ազդեցության դեպքում:

Մուտագեն հատկություններով կարող են օժտված լինել արդյունաբերական թույները, ինսեկտիցիդները, հերբիցիդները, սննդային հա-

վելանյութերը և դեղորայքը: Մուտագեն ազդեցություն ունեն նաև կանցերոգեն (քաղցկեղածին) նյութերի մեծ մասը: Բացի դրանից, որոշ կենսաբանական գործոններ, օրինակ՝ վիրուսներ, կենդանի վակցիններ, նուկլեինաթթուներ կարող են ունենալ մուտագեն հատկություններ: Հզոր մուտագեններ են նաև ճառագայթների տարբեր տեսակները (ռենտգենյան և գամմա ճառագայթներ, նեյտրոններ և այլն):

Պոպուլյացիայի գենետիկական կառուցվածքը խաթարող գործոններից է նաև **բնական ընտրությունը**, որն առաջացնում է գենոֆոնդի ուղղորդված փոփոխություն՝ պոպուլյացիային ավելի քիչ հարմարված անձանց դուրս մղելու կամ նրանց պտղաբերությունը նվազեցնելու ճանապարհով: Այդ երևույթը կարելի է ուսումնասիրել դոմինանտ պաթոլոգիայի՝ ախոնդրոպլազայի (թզուկության) օրինակով: Այդ հիվանդությունը լավ ուսումնասիրված է Դանիայի պոպուլյացիաներում: Հիվանդներն ունեն ցածր կենսունակություն և մահանում են մանուկ հասակում, այսինքն՝ բնական ընտրության ճանապարհով հեռացվում են պոպուլյացիայից: Ողջ մնացած թզուկները հազվադեպ են ամուսնանում և քիչ երեխաներ են ունենում: Վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ ախոնդրոպլազայի գեների մոտ 20%-ը չի փոխանցվում ծնողներից զավակներին, իսկ այդ գեների 80%-ը դուրս են բերվում պոպուլյացիաներից: Այստեղից կարելի է հետևություն անել, որ ախոնդրոպլազան մեծ ազդեցություն չունի պոպուլյացիայի կառուցվածքի վրա:

Մուտանտ գենոտիպերի մեծամասնությունն ունեն ցածր սելեկցիոն արժեք և ընտրության առարկա են դառնում: Վ. Մակյուսիկի տվյալներով (1968)՝ մուտանտների ընդհանուր թվի 15%-ը մահանում են նախքան ծնվելը, 3%-ը մահանում են՝ չհասնելով սեռական հասունության, 20%-ը՝ մինչ ամուսնությունը, իսկ 10%-ի մոտ ամուսնությունն անպտուղ է:

Սակայն մի շարք դեպքերում պաթոլոգիական գենը հետերոզիգոտ վիճակում կարող է ավելացնել անձի կենսունակությունը: Դա կարելի է դիտել մանգաղաձև անեմիայի օրինակի վրա: Այդ հիվանդությունը տարածված է Աֆրիկայի և Ասիայի երկրներում: HbS ալելով հոմոզիգոտ մարդիկ կրում են HbS ալելով պայմանավորված հեմոգլոբինի մուտանտ ձևը: HbSHbS հոմոզիգոտները մահանում են՝ չհասնելով սեռական հա-

սունության: HbAHbS հետերոզիգոտները ավելի կայուն են մալարիայի նկատմամբ, քան նորմալ HbAHbA և HbSHbS հոմոզիգոտները: Այդ պատճառով հիվանդության տարածման շրջաններում հետերոզիգոտներն ընտրության առավելություն ունեն: Այն շրջաններում, որտեղ մալարիա չի եղել, HbAHbA հոմոզիգոտներն ունեն հետերոզիգոտներին հավասար հարմարվողականություն: Այդ դեպքում ընտրությունն ուղղված է ռեցեսիվ հոմոզիգոտների դեմ: Գոյության պայմաններին հարմարվելու «գինը» գենետիկական բեռն է, այսինքն՝ պոպուլյացիաներում վնասակար մուտացիաների կուտակումը:

Միևնույն հատկանիշը նույն գենն ունեցող որոշ օրգանիզմներում կարող է դրսևորվել, մյուսներում՝ բացակայել: Գենի ֆենոտիպային դրսևորման քանակական ցուցանիշը կոչվում է **պենետրանտություն**: Պենետրանտությունը բնորոշում է ֆենոտիպում տվյալ գենը դրսևորող առանձնյակների տոկոսը առանձնյակների այն ընդհանուր թվի նկատմամբ, որոնց մոտ այդ գենը կարող էր դրսևորվել (եթե հաշվի է առնվում ռեցեսիվ գենը, ապա հոմոզիգոտներում, իսկ եթե դոմինանտը՝ ապա դոմինանտ հոմոզիգոտներում և հետերոզիգոտներում): Եթե գենը դրսևորվում է բոլոր առանձնյակների մոտ, ապա այն ունի 100% պենետրանտություն (կամ լրիվ պենետրանտություն), մնացած դեպքերում խոսում են ոչ լրիվ պենետրանտության մասին: Օրինակ՝ մարդու որոշ ժառանգական հիվանդություններ զարգանում են արատավոր գենը կրող առանձնյակների միայն մի մասի մոտ: Գենի ոչ լրիվ պենետրանտությունը պայմանավորված է գեների գործունեության մոլեկուլային մակարդակից մինչև ամբողջական օրգանիզմի հատկությունների ձևավորումը ընթացող պրոցեսների բազմաստիճանությամբ և բարդությամբ:

4.1. Գործնական աշխատանք

Աշխատանքի նպատակը պոպուլյացիայում որևէ ալելը կրող տարբեր գենոտիպերով մարդկանց քանակական հարաբերության և տարբեր ալելների հանդիպման հավանականության պարզումն է:

Առաջադրանք 1. Մոդելավորել ազատ խաչասերվող պոպուլյացիա և գնահատել նրա գենետիկական կառուցվածքը և մի քանի սերունդների ընթացքում գենետիկական հավասարակշռությունը:

Պայմանականորեն գամետները ներկայացվում են ստվարաթղթե շրջանների տեսքով: Մուգ գույնի շրջանը նշանակում է A դոմինանտ ալելը, սպիտակը՝ a ռեցեսիվ ալելը: Յուրաքանչյուր ենթախումբ ստանում է երկուական պարկ, որոնցում կա 100-ական «գամետ», մեկում՝ «ձվաբջիջները», մյուսում՝ «սպերմատոզոիդները»: Այսպես օրինակ՝ A – 30 շրջան, իսկ a – 70 շրջան, ընդամենը՝ 100 շրջան յուրաքանչյուր պարկում: Պանմիքսիան նմանակելու նպատակով առաջին ուսանողը պատահականության սկզբունքով հանում է մեկական շրջան «ձվաբջիջների» պարկից, երկրորդ ուսանողը պատահականության սկզբունքով հանում է մեկական շրջան «սպերմատոզոիդների» պարկից, երրորդ ուսանողը գրանցում է գենոտիպերի ստացված համադրությունները աղյուսակ 7-ում:

Աղյուսակ 7

Գենոտիպերի և ալելների թիվը մոդելային պոպուլյացիայում

Սերունդը	**Գենոտիպերի թիվը**			**Ընդամենը**	χ^2	**Ալելների հաճախականությունը**	
	AA	**Aa**	**aa**			**pA**	**qa**
I տարբերակ S=0 F_1 F_2 F_3							
$\bar{X}$							

II տարբերակ S=-1→aa F_1 F_2 F_3 F_4 F_5 F_6							

Մոդելավորման երկրորդ տարբերակում աշխատանքը հարկավոր է շարունակել մինչև գենոտիպերի թվի կրկնվելը, որը կվկայի պոպուլյացիայում նոր գենետիկական հավասարակշռության մասին: Այնուհետև հաշվվում է գործնականորեն ստացված և տեսականորեն սպասվող տվյալների համապատասխանության ցուցանիշը՝ χ^2- ին: Օգտվում ենք Պեննետի ցանցից: p^2AA 0,09 - ն համապատասանում է 100-ից 9-ը AA գենոտիպի, pqAa 0,42 –ը՝ 100-ից 42-ը Aa գենոտիպի և q^2aa 0,49-ը՝ 100 -ից 49-ը aa գենոտիպի ստացվելու հետ:

♀ \ ♂	pA 0,3	qa 0,7
pA 0,3	p^2AA 0,09	pqAa 0,21
qa 0,7	pqAa0,21	q^2aa 0,49

Այնուհետև կազմում են աղյուսակ χ^2 հաշվելու համար (ասյուսակ 8):

Աղյուսակ 8

	Գենոտիպերի թիվը			
	AA	Aa	aa	Ընդ.
Ընդունենք գործնականում ստացվածը	12	36	52	100
Տեսականորեն սպասվողը	9	42	49	100
Շեղումը (d)	+3	-6	+3	
d^2	9	36	9	

$\chi^2_{գործն.} = \Sigma d^2/q = 9:9+36:42+9:49=1 + 0,85 + 0,18 = 2,03$; n' =2 և P =0,05 դեպքում: Քանի որ $\chi^2_{գործն.} < \chi^2$ աղյուսակային 5,99 արժեքից, հետևում է, որ տվյալները հավաստի չեն տարբերվում: Հետևաբար ազատ խաչասերվող պոպուլյացիայում պահպանվում է ալելների սկզբնական (pA – 0,3 և qa – 0,7) հաճախականությունը:

Խնդիրների լուծման օրինակներ

Խնդիր №1. Թեյ-Սաքսի հիվանդությունը պայմանավորված է աուտոսոմային ռեցեսիվ ալելով: Այս հիվանդության բնորոշ հատկանիշներն են մտավոր հետամնացությունը և կուրությունը: Հիվանդները մահանում են չորս տարեկանում: Նորածինների մոտ հիվանդների հաճախությունը կազմում է 10×10^{-6} : Ելնելով Հարդի-Վայնբերգի բանաձևից հաշվել ալելների և հետերոզիգոտների հաճախությունը:

Լուծում. Դոմինանտ A ալելի հաճախականությունը նշանակենք p տառով, a ալելինը՝ q տառով: Նորածինների մոտ նշված հիվանդության հաճախությունը կլինի q^2: Հետևաբար $q=\sqrt{10^{-5}}$ =0,003, A դոմինանտ գենի հաճախականությունը կլինի A=1-0,003=0,997, իսկ հետերոզիգոտների հաճախականությունը հավասար կլինի 2pq=2 x 0,003 x 0,997=0,006:

Խնդիր №2. Ակատալազիան ռեցեսիվ գենով պայմանավորված հիվանդություն է, առաջին անգամ հայտնաբերվել է Ճապոնիայում: Ըստ այդ գենի՝ հետերոզիգոտ առանձնյակների մոտ նկատվում է արյան մեջ կատալազա ֆերմենտի քանակի նվազում: Հիրոսիմա և Նագասակի քաղաքների բնակչության 0,09%-ը հետերոզիգոտ է, ըստ այդ գենի, իսկ Ճապոնիայի մնացած բնակչության՝ 1,4%-ը: Ելնելով Հարդի-Վայնբերգի օրենքից հաշվել ռեցեսիվ ալելի հաճախականությունը 1) Հիրոսիմա և Նագասակի քաղաքներում, 2) Ճապոնիայի մնացած բնակչության մոտ:

Լուծում. Հիրոսիմա և Նագասակի քաղաքներում 2pq=0,0009, սակայն p=1-q, որտեղից $2pq=2q(1-q)=2q - 2q^2=0,0009$: Ստացանք քառակուսի հավասարում. $2q^2-2q+0,0009=0$, այն լուծելով ստանում ենք

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} = \frac{2 \pm \sqrt{4 - 0{,}0072}}{4} = \frac{2 \pm 1{,}9982}{4}$$

գտանք, որ q=0,00045, p=0,99955:

Խնդիրը կարելի է լուծել նաև այլ ճանապարհով: Քանի որ 2 pq-ն շատ փոքր է, փոքր է նաև q-ն, իսկ p-ն մոտ է մեկին, հետևաբար 2q≈2pq≈0,0009, իսկ q≈0,00045: Ճապոնիայի մնացած բնակչության մոտ 2pq=0,014; 2q≈0,014; որտեղից q≈0,007, p≈0,993:

Առաջադրանք 2. Լուծել հետևյալ խնդիրները

1. ԱՄՆ-ի բնակչության 70%-ը զգում է ֆենիլթիոկարբամիդի (ՖԹԿ) դառը համը: Դրանք կոչվում են «զգացողներ», մյուս 30%-ը «չզգացողներ» են: «Զգացողների» միջև բոլոր ամուսնությունների դեպքում սերունդը ստացվում է «չզգացող»: Այս հատկանիշը պայմանավորված է սեռին չշղթայակցված զույգ գեներով, որոնցից մեկը լրիվ դոմինանտ է և ցուցաբերում է պենետրանտություն (առանձնյակը կարող է կրել գենը, սակայն այն ֆենոտիպորեն կարող է չդրսևորվել: Դիցուք՝ հատկանիշն ունի 70% պենետրանտություն, սա նշանակում է, որ գենը կրողների 70% -ի մոտ է հանդես գալիս):

ա) Այս երկու գեներից ո՞րն է դոմինանտ:

բ) «Զգացողների» և «չզգացողների» միջև ամուսնությունների ո՞ր մասը չի կարող տալ «չզգացող» սերունդ:

գ) «Զգացողները» և «չզգացողները» ո՞ր մասն են կազմում երկու «զգացողների» և երկու «չզգացողների» ամուսնությունների դեպքում:

2. Արյան MN խմբերը ժառանգվում են ABO համակարգի խմբերից անկախ: Մեզանից յուրաքանչյուրն ունի A, AB, B կամ O խմբի արյուն: Միևնույն ժամանակ M, N կամ MN խմբերից մեկը: ԱՄՆ-ի սպիտակամաշկ բնակչության 29,16%-ը ունի M խմբի արյուն, 49,58% -ը՝ MN, 21,26%-ը՝ N: Ստուգենք այն վարկածը, որ արյան այս խմբերը պայմա-

նավորված են թերի դոմինանտ զույգ (M և N) գեներով:

3. Ֆենիլկետոնուրեան կապված է ֆենիլալանինը թիրոզինի վերածող ֆերմենտի պակասի հետ: Հիվանդի արյան մեջ կուտակվում են ֆենիլալանին և ֆենիլպիրոխաղողաթթու, որի հետևանքով առաջանում է մտավոր թերզարգացում: ԱՄՆ-ի բնակչության մոտ ֆենիլկետոնուրեայի գենը (q) հանդիպում է 0.005, իսկ նորմալ գենը (p)՝ 0.995 հաճախականությամբ: Հարյուրից մեկ անհատը հետերոզիգոտ է՝ 2pq=2 x 0.005 x 0.995=0.01: Որոշել հետերոզիգոտ ծնողներից իրար հետևից 3 առողջ կամ 3 հիվանդ երեխաներ ծնվելու հավանականությունը:

4. Ինչ տեղի կունենա Հարդի Վայնբերգի օրենքին ենթարկվող պոպուլյացիայի հետ 10 սերունդ հետո, եթե նրանում գենոտիպերի սկզբնական հարաբերությունը կազմում է 0,2AA : 0,4Aa : 0,4aa:

5. Պոպուլյացիայում դալտոնիզմը (գունակուրությունը) տղամարդկանց մոտ հանդիպում է 0,08 հաճախականությամբ: Այս արատը պայմանավորված է սեռի հետ շղթայակցված ռեցեսիվ ալելով: Որքա՞ն է կազմում կանանց մոտ բոլոր երեք գենոտիպերի հանդիպման հաճախականությունը:

6. Պոպուլյացիաներից մեկում, ըստ աուտոսոմ լոկուսի, առկա է 3 գենոտիպ հետևյալ հարաբերությամբ՝ 9/16 AA : 6/16 Aa : 1/16 aa: Արդյո՞ք տվյալ պոպուլյացիան գտնվում է գենետիկական հավասարակշռության վիճակում:

7. Ենթադրենք A→a մուտացիայի հաճախականությունը կազմում է 10^{-6}, ընդ որում, հակադարձ մուտացիաները բացակայում են: Ինչպիսին կլինի A ալելի հաճախականությունը 10, 1000, 100 000 սերունդ հետո:

8. Մարդու պոպուլյացիայում, ըստ տվյալ լոկուսի, կան երեք գենոտիպեր: 510 մարդուց կազմված խմբում գենոտիպերը հանդիպում են

հետևյալ քանակությամբ՝

գենոտիպ	1/1	1/2	2/2
թիվ	34	391	85

1 և 2 թվերով նշված են երկու տիպերի ալելները: Պարզել ալելների հաճախականությունները:

9. A լոկուսում ուղղակի մուտացիաներն ընթանում են 2×10^{-5}, իսկ հակադարձ մուտացիաները՝ 3×10^{-7} հաճախականությամբ: Որքա՞ն են կազմում պոպուլյացիայում A և a ալելների սպասվող հաճախականությունները հավասարակշռության պայմաններում, եթե բացակայում են մյուս գործընթացները:

10. ABO համակարգի արյան խմբերի հաճախականությունները պոպուլյացիայում կազմում են՝ A=45%, B=13%, AB=6%, O=36%: Պարզել արյան խմբերը որոշող գենի ալելների հաճախականությունները:

11. Պոդագրան (հոդատապը) առաջանում է միզաթթվի փոխանակության խախտման հետևանքով, որի արդյունքում օրգանիզմում մեծանում է միզաթթվի խտությունը: Այն պայմանավորված է դոմինանտ աուտոսոմ գենով: Տղամարդկանց մոտ նրա պենետրանտությունը հավասար է 20%, կանանց մոտ՝ 0%:

1. Ի՞նչպիսին է հետերոզիգոտ ծնողների երեխաների պոդագրայով հիվանդանալու հավանականությունը:

2. Ի՞նչպիսին է պոդագրայով հիվանդանալու հավանականությունն ընտանիքում, որտեղ ծնողներից մեկը հետերոզիգոտ է, իսկ մյուսը նորմալ է ըստ ուսումնասիրվող հատկանիշի:

12. Շվեդ գենետիկների տվյալներով շիզոֆրենիայի որոշ ձևեր ժառանգվում են որպես աուտոսոմ դոմինանտ հատկանիշ: Ընդ որում՝ հոմոզիգոտների մոտ պենետրանտությունը կազմում է 100%, իսկ հետերոզիգոտների մոտ՝ 20%:

1. Որոշել ընտանիքում երեխաների հիվանդանալու հավանականությունը, որտեղ ամուսիններից մեկը հետերոզիգոտ է, իսկ մյուսը նորմալ ըստ ուսումնասիրվող հատկանիշի:

2. Որոշել ընտանիքում երեխաների հիվանդանալու հավանականությունը, որտեղ ծնողները հետերոզիգոտ են:

13. Ցանցաթաղանթի անգիոմատոզը (աչքի և գլխուղեղի համակարգային հիվանդությունների մի մաս, որն արտահայտվում է ցանցաթաղանթի նորագոյացմամբ, անոթների կտրուկ լայնացմամբ, նյարդային տարրերի դեգեներացիայով) ժառանգվում է որպես դոմինանտ աուտոսոմ հատկանիշ՝ 50% պենետրանտությամբ:

Որոշել հիվանդ երեխաների ծնվելու հավանականությունն ընտանիքում, որտեղ ծնողները հետերոզիգոտ են ըստ այդ հատկանիշի:

14. Գանգա-դիմային դիսոստոզը (կմախքային անոմալիաների խումբ) ժառանգվում է որպես աուտոսոմ դոմինանտ հատկանիշ՝ 50% պենետրանտությամբ:

Որոշել ընտանիքում երեխաների հիվանդանալու հավանականությունը, որտեղ ամուսիններից մեկը հետերոզիգոտ է, իսկ մյուսը նորմալ ըստ ուսումնասիրվող հատկանիշի:

15. Արախնոդակտիլիան (կամ Մարֆանի սինդրոմը) բնութագրվում է տարբեր անոմալիաների համատեղությամբ՝ կմախքի, աչքի և ներքին օրգանների: Այս հիվանդությունը ժառանգվում է որպես աուտոսոմ դոմինանտ հատկանիշ՝ 30% պենետրանտությամբ: Ձախլիկությունը ժառանգվում է որպես աուտոսոմ ռեցեսիվ հատկանիշ՝ լրիվ պենետրանտությամբ:

Որոշել երկու արատների համատեղ դրսևորվելու հավանականությունը երեխաների մոտ, երբ երկու ծնողներն էլ հետերոզիգոտ են ըստ այդ հատկանիշների:

16. Օտոսկլերոզը (խլություն, որը պայմանավորված է միջին ականջի

լսողական ոսկրիկներով) ժառանգվում է որպես աուտոսոմ դոմինանտ հատկանիշ՝ 30% պենետրանտությամբ: Վերին կողային կտրիչների բացակայությունը ժառանգվում է որպես X քրոմոսոմին շղթայակցված ռեցեսիվ հատկանիշ լրիվ պենետրանտությամբ:

Որոշել երկու արատներով երեխաների ծնվելու հավանականությունն ընտանիքում, որտեղ, ըստ նշված երկու հատկանիշների, մայրը հետերոզիգոտ է, իսկ հայրը նորմալ է:

17. Աչքի խաժ գույնը պայմանավորված է աուտոսոմ գենով և դոմինանտ է երկնագույնի նկատմամբ: Ռետինոբլաստոման (աչքի ցանցաթաղանթի նյարդերի չարորակ ուռուցք) պայմանավորված է մեկ այլ դոմինանտ աուտոսոմ գենով և նրա պենետրանտությունը կազմում է 60%:

1.Ի՞նչպիսին է հետերոզիգոտ հիվանդ ծնողներից երկնագույն աչքերով երեխա ծնվելու հավանականությունը:

2. Ի՞նչպիսին է հետերոզիգոտ առողջ ծնողներից խաժ աչքերով երեխա ծնվելու հավանականությունը:

18. Վան դեր Խևեի սինդրոմը (ներառում է երեք հիմնական հատկանիշ՝ ոսկրերի փխրունություն, երկնագույն սկլերա և խլություն) ժառանգվում է որպես աուտոսոմ դոմինանտ պլեյոտրոպ գեն: Հատկանիշների պենետրանտությունը փոփոխական է՝ ըստ երկնագույն սկլերի-100%, ոսկրերի փխրունությամբ-63%, խլությամբ-60%:

1.Երկնագույն սկլերի կրողը, որը նորմալ է մյուս հատկանիշներով, ամուսնանում է նորմալ, առողջ ընտանիքից սերվող կնոջ հետ:

Որոշել երեխաների մոտ ոսկրերի փխրունությամբ ծնվելու հավանականությունը, եթե ամուսնու ծնողներից մեկը կրում է այդ սինդրոմը:

2.Ամուսնանում են երկնագույն սկլերա կրող երկու անհատներ, որոնք նորմալ են մյուս երկու հատկանիշներով: Որոշել երեխաների մոտ խլության դրսևորվելու հավանականությունը:

19. Ըստ աղյուսակի տվյալների՝ պարզել պոպուլյացիաներում գենոտիպերի հաճախականությունը:

Պոպուլյացիա	Գենի հաճախականությունը		
	I^A	I^B	I^0 (i)
Ուտահնդիկներ	0,013	0,0	0,987
Էսկիմոսներ	0,333	0,027	0,640
Վրացիներ	0,198	0,038	0,764
Հնդիկներ	0,206	0,254	0,540

20. Ըստ աղյուսակի տվյալների՝ պարզել պոպուլյացիաներում գենոտիպերին համապատասխան ալելների հաճախականությունը:

Պոպուլյացիա	Ըստ AB0 համակարգի՝ արյան խմբերի հաճախականության %-ը			
	0	A	B	AB
Նավախո հնդիկներ	77,7	22,3	0	0
Պոլինեզիացիներ	36,5	60,8	2,2	0,5
Գերմանացիներ	36,5	42,5	14,5	6,5
Եգիպտացիներ	27,3	38,5	25,5	8,7

Առաջադրված խնդիրների լուծումներ

3. Լուծում.

$p=3/4$ իսկ $q=1/4$, $(p+q)^3 = p^3 + 2p^2q + 2pq^2 + q^3$

p^3 - 3 առողջ երեխա

$2p^2q$ -2 առողջ 1 հիվանդ

$2pq^2$ -1 առողջ 2 հիվանդ

q^3 -3 հիվանդ

4. Լուծում. Ինցուխտի ժամանակ մեկ ալելային գենի տարբերության դեպքում հետերոզիգոտ անհատների թիվը որոշում ենք

$\left(\frac{1}{2}\right)^n$, իսկ հոմոզիգոտներինը՝ $1 - \left(\frac{1}{2}\right)^n$ բանաձևով, որտեղ n-ը ինցուխտացված սերունդների թիվն է: Մեր օրինակում հոմոզիգոտ բույ-

սերի թիվը կլինի ունեցած բույսերի 15/16-ը, իսկ հետերոզիգոտ՝ 1/16-ը:

10. Լուծում՝

$$(pJ^A+qJ^B+rJ^0)^2=1$$

0(I) - 36%, A(II) - 45%, B(III) - 13%, AB(IV) - 6%

$p(I^A) = \sqrt{(A+0)} - \sqrt{0}$;

$q(I^B) = \sqrt{(B+0)} - \sqrt{0}$;; $r(I^0) = \sqrt{0}$, որտեղ A – A (II) արյան խմբի հանդիպման հաճախականությունն է, 0 – 0(I) արյան խմբի հանդիպման հաճախականությունն է, B – B(III) արյան խմբի հանդիպման հաճախականությունն է.

$r(I^0) = \sqrt{0{,}36} = 0{,}6$,

$p(I^A) = \sqrt{0{,}45+0{,}36} - \sqrt{0{,}36} = 0{,}9 - 0{,}6 = 0{,}3$;

$q(I^B) = \sqrt{0{,}13+0{,}36} - \sqrt{0{,}36} = 0{,}7 - 0{,}6 = 0{,}1$ ստուգում՝ $pI^A+qI^B+rI^0=1$ (0,6+0,3+0,1=1):

11. Պատ.՝ 1) 3/40, 2)1/20:

5. Բջջագենետիկական մեթոդ

Բջջագենետիկական մեթոդի հիմքում ընկած է մարդու քրոմոսոմների մանրադիտակային ուսումնասիրությունը:

Մարդու քրոմոսոմներին նվիրված բջջագենետիկական հետազոտությունները սկսվեցին Արնոլդի (1879 թ.) և Վ. Ֆլեմինգի (1880 թ.) աշխատանքներից, երբ նրանք հայտնաբերեցին 22-28 քրոմատինային մարմնիկներ: Քրոմոսոմ հասկացությունը առաջին անգամ առաջարկվել է Վ. Վալդեյերի կողմից 1888 թվականին: Այնուհետև Տ. Բովերին և Ու. Սեթտոնը 1902-1907 թթ. եկան այն եզրահանգման, որ բջջում քրոմոսոմները հանդիսանում են ժառանգական տեղեկատվության կրողներ: 1923 թ. Պեյնտերը եկավ այն եզրակացության, որ մարդու բջիջները պարունակում են 48 քրոմոսոմ: Այդ կարծիքը ընդունեցին նաև ուրիշ հետազոտողներ և երեսուն տարիների ընթացքում բջջագենետիկների մեծամասնությունը համարում էր, որ մարդու քրոմոսոմների դիպլոիդ քանակը 48 է: Հետագայում քրոմոսոմների ուսումնասիրության մեթոդի կատարելագործումը թույլ տվեց ստանալ ավելի ստույգ տեղեկություններ նրանց թվաքանակի մասին: Հատկապես դրան նպաստեցին բջիջների մշակման երկու եղանակներ.

1. Բջիջների կուլտուրայի մշակումը ալկալոիդ կոլխիցինով, վերջինս նպաստում է մետաֆազի փուլում բաժանվող բջիջների կուտակմանը:

2. Բջիջների մշակումը աղերի թույլ լուծույթներով (հիպոտոնիկ լուծույթ), վերջինիս հետևանքով քրոմոսոմներն ազատ բաշխվում են լուծույթում:

1956 թ-ին շվեդ գիտնականներ Դ. Թիոյի և Ա. Լևանի շնորհիվ սկսվեց բջջագենետիկայի բուռն զարգացումը: Նրանք հայտնաբերեցին մարդու սաղմի թոքային հյուսվածքի ֆիբրոբլաստների կուլտուրայում իրական քրոմոսոմների թվաքանակը, որը հավասար էր 46-ի: Հետագայում անգլիացիներ Ս. Ֆորդը և Դ. Համերտոնը հաստատեցին Թիոյի և Լևանի ստացած արդյունքները: Ըստ էության՝ այդ հայտնագործությունը սկիզբ դրեց կլինիկական բջջագենետիկայի նոր փուլի զարգացմանը:

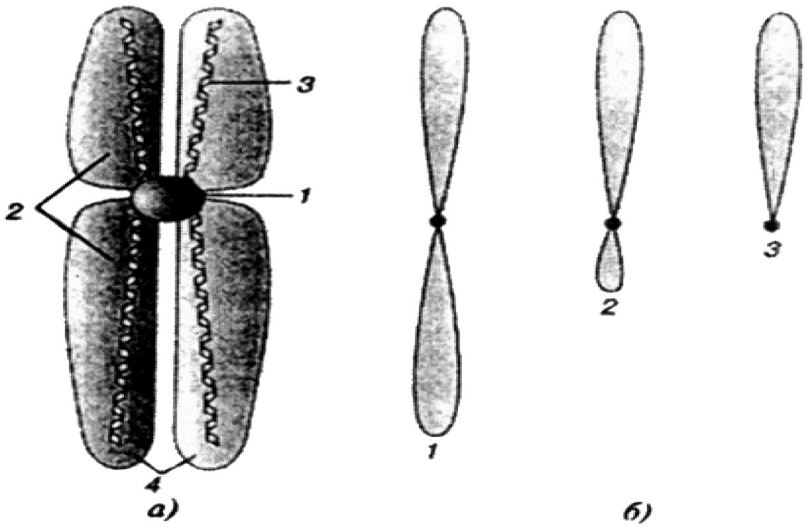
Մարդու քրոմոսոմների թվաքանակը (կարիոտիպը) նորմայում կազմում է 46XX (կին) և 46XY (տղամարդ): Մարդու կարիոտիպը քրոմոսոմային հավաքի մորֆոլոգիական առանձնահատկությունների ամբողջություն է, որը բնորոշ է սոմատիկ բջիջներին: Այն բնորոշվում է քրոմոսոմների ընդհանուր թվաքանակով, ձևով և չափերով: Քսաներկու քրոմոսոմները նույնն են տղամարդկանց և կանանց համար և կոչվում են աուտոսոմներ: Սեռական քրոմոսոմները կանանց մոտ ներկայացված են XX քրոմոսոմներով, իսկ տղամարդկանց մոտ մեկ X և մեկ Y քրոմոսոմներով:

1960 թվականին Դենվերում (ԱՄՆ) մշակվել էր մարդու քրոմոսոմների առաջին միջազգային դասակարգումը: Առաջարկվել էր քրոմոսոմների զույգերը համարակալել մեկից մինչև քսաներեքը: Դասակարգման հիմքում ընկած էին քրոմոսոմների հարաբերական չափերը և առաջնային սեղմվածքի՝ ցենտրոմերի դիրքը: Բոլոր քրոմոսոմները բաժանվեցին յոթ խմբերի, որոնք նշվում են լատինական տառերով A- ից մինչև G: Ցենտրոմերի դիրքից կախված քրոմոսոմները բաժանվում են երեք խմբի.

ա) Անհավասարաուս (սուբմետակենտրոն), երբ ցենտրոմերը գտնվում է քրոմոսոմի կենտրոնից հեռու:

բ) Հավասարաուս (մետակենտրոն), ցենտրոմերը տեղադրված է քրոմոսոմի կենտրոնում, ինչի հետևանքով քրոմոսոմի ուսերը հավասար են:

գ) Խիստ անհավասարաուս (ակրոկենտրոն), ցենտրոմերը գտնվում է ուսերից մեկի եզրին, որի հետևանքով երկրորդ ուսը գրեթե չի հայտնաբերվում (նկար 64):



Նկ.64 Մարդու քրոմոսոմների դասակարգումը՝ ըստ ձևի.

a) Մարդու քրոմոսոմի կառուցվածք՝ 1-ցենտրոմեր, 2- ուսեր, 3-ԴՆԹ-ի պարույր 4-քրոմատիդներ:

b) Մարդու քրոմոսոմներն՝ ըստ ցենտրոմերի տեղադրման՝ 1- մետակենտրոն, 2 –սուբմետակենտրոն, 3 –ակրոկենտրոն:

Մարդու քրոմոսոմների դասակարգումը

Դիտարկենք քրոմոսոմներն ավելի մանրակրկիտ՝ ըստ Դենվերյան դասակարգման:

A խումբը պարունակում է երեք զույգ քրոմոսոմներ՝ 1-3:

1-ինը մարդու ամենամեծ մետակենտրոն քրոմոսոմն է: Ուսի ցենտրոմերին հարող հատվածում հաճախ հայտնաբերվում է երկրորդական սեղմվածք, որը մի շարք դեպքերում բերում է ուսի երկարացմանը: 2-րդ քրոմոսոմը ամենամեծ սուբմետակենտրոն քրոմոսոմն է: 3-րդ քրոմոսոմը նույնպես խոշոր մետակենտրոն է, սակայն նրա երկարությունը 20%-ով ավելի պակաս է 1-ին քրոմոսոմից, այնպես որ նրան հեշտությամբ կարելի է նույնականացնել:

B խումբը միավորում է 4-րդ և 5-րդ քրոմոսոմները: Դրանք մեծ սուբմետակենտրոն քրոմոսոմներ են, որոնք բոլորովին չեն տարբերվում միմյանցից առանց դիֆերենցիալ ներկման:

C խումբը ներառում է 6-12 քրոմոսոմները: Դրանք միջին չափի սուբմետակենտրոն քրոմոսոմներ են: X-քրոմոսոմը տեղադրվում է այս խմբում և միատարր ներկման ժամանակ նրան անհնար է տարբերել այդ խմբի մյուս քրոմոսոմներից: 9-րդ քրոմոսոմը հաճախ ունի երկրորդական սեղմվածք երկար ուսի կենտրոնամետ մասում: 11 և 12-րդ քրոմոսոմները բացահայտում են շատ նմանատիպ սեգմենտավորման պատկերներ, որն, ըստ երևույթի, վկայում է նրանց ընդհանուր ծագման մասին: Սակայն 11-րդ քրոմոսոմը իր ձևով ավելի մոտ է մետակենտրոն քրոմոսոմներին, քան 12-րդը: Ի տարբերություն այս խմբի քրոմոսոմներին X-քրոմոսոմը զգալիորեն տատանվում է իր երկարությամբ: Այն ավելի նման է C-խմբի ամենաերկար քրոմոսոմներին:

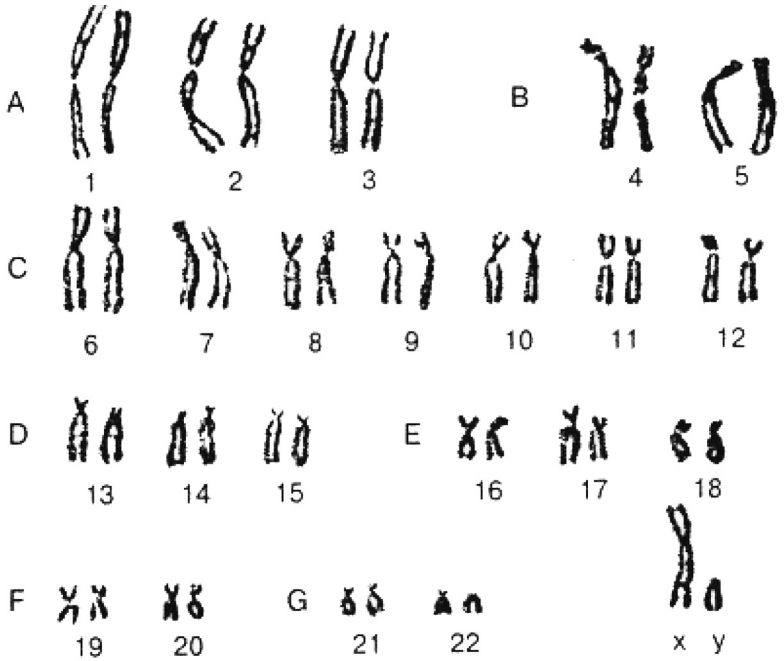
D-խմբի քրոմոսոմներն են 13-15-ը: Դրանք ակրոկենտրոն քրոմոսոմներ են: Բոլոր երեք քրոմոսոմներն էլ ունեն արբանյակներ: Այս քրոմոսոմների կարճ ուսերը բացահայտում են զգալի միջքրոմոսոմային տարակերպություն: Արբանյակները երբեմն կարող են բացակայել, իսկ երբեմն լինել բավական խոշոր: Կարող են դիտվել նաև տանդեմային (կրկնակի) արբանյակներ:

E-խմբի քրոմոսոմները 16-18-րդն են: Դրանք համեմատաբար կարճ քրոմոսոմներ են: 16-րդ քրոմոսոմը մետակենտրոն է, որի երկարությունը միջինում կազմում է առաջին քրոմոսոմի երկարության մեկ երրորդը: Այն դրսևորում է զգալի տարակերպություն: 10%-ի դեպքում երկար ուսում հայտնաբերվում է երկրորդական սեղմվածք:

F-խմբի քրոմոսոմներն են 19-ը և 20-ը: Դրանք փոքր մետակենտրոն քրոմոսոմներ են: Միատարր ներկման պայմաններում նրանք չեն տարբերվում միմյանցից, սակայն դիֆերենցիալ ներկման պայմաններում՝ խիստ տարբեր են:

G-խմբի քրոմոսոմներն են 21-ը և 22-ը: Դրանք փոքր ակրոկենտրոն քրոմոսոմներ են: Կարճ ուսերի տարակերպությունը նույնքան նշանակալի է, որքան D-խմբի քրոմոսոմների մոտ: Y-քրոմոսոմը պատկանում է այդ խմբին: Y-քրոմոսոմը ավելի մեծ է չափերով, քան G-խմբի քրոմոսոմները: Y-քրոմոսոմի երկար ուսի քրոմատիդները, որպես օրենք տեղադրված են մեկը մյուսին զուգահեռ: Դրանով այն տարբերվում է այդ խմբի այլ քրոմոսոմներից, որոնց մոտ երկար ուսերի քրոմատիդները հաճախ առաջացնում են լայն անկյուն: Ցենտրոմերը երևում է ոչ այդքան պարզ, իսկ արբանյակները Y-քրոմոսոմի մոտ բացակայում են: Երկար ուսի չափը բավականաչափ փոփոխական է (նկար 65):

Ժամանակակից տվյալների հիման վրա, քրոմոսոմների չափերի մասին կարելի է կարծիք կազմել ԴՆԹ-ի պարունակությամբ՝ նուկլեոտիդային զույգերի /նզ/ քանակով, ինչպես ամբողջական քրոմոսոմի համար, այնպես էլ առանձին, յուրաքանչյուր ուսի համար: Օրինակ՝ ամենափոքր՝ 21-րդ քրոմոսոմն իր մեջ է պարունակում մոտ 50 մլն. նզ, իսկ ամենամեծը՝ առաջին քրոմոսոմը, պարունակում է մոտ 250 մլն.նզ:



Նկ. 65 Մարդու քրոմոսոմների հավաք

5.1. Քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկում

Քրոմոսոմների հստակ նույնականացումը հնարավոր դարձավ միայն XX դարի 60-ական թվականների վերջին և 70-ականների սկզբում: Երեք խումբ գիտնականներ՝ Տ. Կասպերսոնը և համահեղինակները (Շվեդիա), Բ. Դատրիլեուքսը և Ժ. Լեժենը (Ֆրանսիա), Ա. Զախարովը և Ն. Եգոլինան (ՍՍՀՄ), առաջարկեցին մարդու քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկման մեթոդները: Դրանք են՝ G- (Գիմզա), Q-(Ակրիխին), R (reverse հետադարձ), C- (կառուցվածքային հետերոքրոմատին) մեթոդները և նաև քրոմատիդների դիֆերենցիալ ներկման մեթոդը բրոմդեզոքսիուրիդինի (ԲԴՈՒ) կիրառմամբ, որը թիմինի նմանակն է: Այս մեթոդները թույլ են տալիս նույնականացնել քրոմոսոմների սեգմենտների զանազան տեսակներ, իսկ քրոմատիդների դիֆերենցիալ ներկման մեթոդը թույլ է տալիս բացահայտել քույր քրոմատիդային փոխանակումները (ՔՔՓ): Քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկման մեթոդները հիմնված են աղային լուծույթների ազդեցության վրա, որոնք ունեն հստակ սահմանված pH և հիմնական ներկանյութերով (ակրիխին, ակրիխին-իպրիդ) հետագա ներկման որոշակի ջերմաստիճանային ռեժիմ: Քրոմատիդների դիֆերենցիալ ներկման մեթոդը հիմնված է քրոմոսոմի հատվածի ԲԴՈՒ–ն ներառելու ընդունակության վրա, որը կարող է փոփոխել իր խտացումը և գունավորումը: Դիֆերենցիալ ներկման ժամանակ բացահայտվող քրոմոսոմի սեգմենտների հաջորդականությունը (մուգ և բաց շերտերը) հաստատուն է, որը թույլ տվեց 1971թ. Փարիզում կայացած միջազգային գիտական կոնֆերանսում առաջարկել մարդու քրոմոսոմների հապլոիդ հավաքի իդիոգրամման: Առաջնահերթ նույնականացված էին մոտ 320 սեգմենտներ:

Քրոմոսոմի ուսերը նշեցին լատիներեն տառերով՝ p-petite՝ կարճ, q-queue՝ երկար: Ուսերը բաժանվեցին հատվածների, որոնց սահմանները մշտականորեն դիտվող հստակ մորֆոլոգիական նիշերն էին, իսկ հատվածները բաժանվեցին սեգմենտների, որոնք տարբերվում էին գունավորման աստիճանով:

Սեգմենտները և հատվածները համարակալվում են արաբական

թվերով յուրաքանչյուր ուսի համար առանձին, սկսած քրոմոսոմի ցենտրոմերից դեպի թելոմեր:

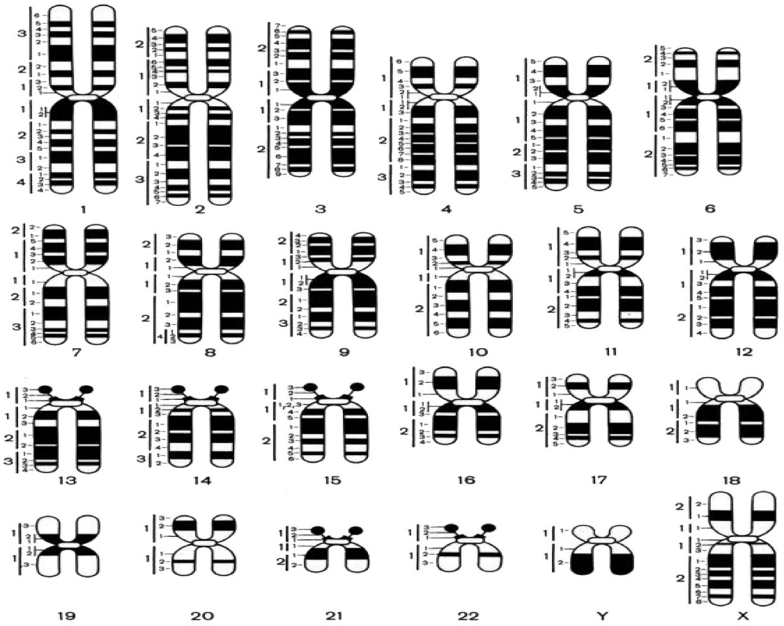
Քրոմոսոմների միատարր ներկումն ապահովում է դրանց խմբակային նույնականացումը: Այն օգտագործվում է միջավայրի ախտոտիչներով մակածված քրոմոսոմային խախտումների մակարդակը որոշելու նպատակով: Այդ ներկման շնորհիվ հայտնաբերվել էին բազմաթիվ ժառանգական հիվանդություններ նաև քրոմոսոմային շեղումներ (աբերացիաներ), որոնք բերում են ինքնաբուխ վիժումների, զարգացման բնածին արատների և այլն:

Քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկումը Q-մեթոդի կիրառմամբ սկզբնական շրջանում կատարվում էր ակրիխին-իպրիտ ֆլուորիսցենտ ալկիլացնող նյութի օգնությամբ: Այդ մեթոդի ազդեցությունը հիմնված է մետաֆազային քրոմոսոմների դիֆերենցիալ կերպով ֆլյուորոքրոմները կապելու ընդունակության վրա: Ակրիխինով ներկումից հետո, սեգմենտները ձեռք են բերում վառ ֆլուորեսցենտող լուսավորում: Յուրաքանչյուր քրոմոսոմ ունի իր յուրահատուկ պատկերը ֆլուորեսցենտող սեգմենտների թվով, չափերով և դիրքով, ինչն էլ թույլ է տալիս բացահայտել բոլոր քրոմոսոմները: Այդ մեթոդը նաև թույլ է տալիս հայտնաբերել AT-զույգերի ավելցուկային քանակով քրոմատինը, քանի որ նրանք ավելի ակտիվ են ենթարկվում ֆլուորեսցենցիայի: Q-մեթոդը հնարավորություն է տալիս բացահայտել Y-քրոմոսոմը նույնիսկ ինտերֆազային կորիզներում, շնորհիվ նրա վառ լուսավորմանը:

G-ներկման ժամանակ օգտագործում են Գիմզա ներկը: Նախօրոք պատրաստուկները տեղադրում են աղային լուծույթում, որից հետո մշակում են պրոթեազով: Դրա հետևանքով քրոմոսոմները ձեռք են բերում սեգմենտավորված տեսք՝ բաց և մուգ հատվածների հաջորդականությունների շնորհիվ: Ենթադրվում է, որ ներկված սեգմենտներն իրենցից ներկայացնում են ԴՆԹ-ի կրկնվող հաջորդականություններով հետերոքրոմատինային հատվածներ, իսկ չներկվածները՝ ԴՆԹ-ի կոդավորող հաջորդականություններ պարունակող սեգմենտները էուքրոմատինային հատվածներն են: Գիմզայի կիրառմամբ դիֆերենցիալ ներկման տարատեսակներ են R- և C- ներկումները: Գիմզայով ներկված պատ-

ռաստուկների ինկուբացիոն պայմանների որոշ փոփոխությունների շնորհիվ, R- ներկման ներքո գունավորված և չգունավորված սեգմենտների բաշխումը ստացվում է հետադարձ՝ G- ներկման համեմատ:

C-ներկման ժամանակ բացահայտվում են կառուցվածքային կամ ֆակուլտատիվ հետերոքրոմատինի հատվածները: Մարդու քրոմոսոմներում այդ հատվածները տեղադրված են ցենտրոմերին հարող հատվածներում, իսկ Y –քրոմոսոմում՝ երկար ուսի դիստալ մասում: Առավել խոշոր C- քրոմատինի կուտակումներ են պարունակվում 1,9,16-րդ քրոմոսոմների երկրորդական սեղմվածքների շրջաններում և Y –քրոմոսոմում: Ամենափոքր ցենտրոմերային կուտակումները բնորոշ են Y- քրոմոսոմի և 2-րդ աուտոսոմի համար (նկար 66):



Նկ. 66 Քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկման սխեմատիկ պատկերը

5.2. Մետաֆազային քրոմոսոմների վերլուծության մեթոդը

Քրոմոսոմների վերլուծության մեթոդը առաջարկվել է 1960 թվականին Ռ. Մուրհեդի կողմից, որի հիմքում ընկած է մետաֆազային թիթեղների ստացումը: Դ. Հանգերֆորդը 1965 թվականին կատարելագործեց այդ մեթոդը, որը հաջողությամբ օգտագործվում է տարբեր հետազոտողների կողմից: Մարդու արյան բջիջների կուլտիվացման ընթացքում տեղի է ունենում լեյկոցիտների բոլոր ձևերի քայքայում, բացառությամբ փոքր լիմֆոցիտների: Դա է պատճառը, որ, ըստ էության, միտոտիկ քրոմոսոմների վերլուծության ժամանակ մենք գործ ունենք լիմֆոցիտների կուլտուրայի հետ: Լիմֆոցիտների կուլտուրայի առավելություններն են նյութի հասանելիությունը, բջջային պոպուլյացիայի համեմատաբար սինխրոնությունը, ինքնածին (սպոնտան) մուտացիաների ցածր մակարդակը, կուլտիվացիայի մեթոդի կատարելագործումը և քրոմոսոմների մորֆոլոգիայի վերաբերյալ սպառիչ տեղեկությունները:

Քրոմոսոմների և դրանց խախտումների ուսումնասիրությունը հնարավոր է անցկացնել նաև մաշկի ֆիբրոբլաստների կուլտուրայում, ոսկրածուծի բջիջներում և այլն:

Մարդու քրոմոսոմների պատրաստուկները ստանալու համար արյան բջիջները աճեցնում են հատուկ սննդային միջավայրում՝ RPMI 1640, ավելացնում են l L-գլուտամին, խոշոր եղջերավոր անասունի կամ հորթի սաղմնային շիճուկ, հակաբիոտիկ նյութ և ֆիտոհեմագլյուտինին (PHA), որը լոբազգիներից ստացած թուրմ է: Փորձանոթները տեղադրում են թերմոստատում՝ 37 աստիճան ջերմության պայմաններում: Փորձի նպատակներից ելնելով բջիջների կուլտուրան աճեցնում են 56, 72 կամ 96 ժամվա ընթացքում: Կուլտիվացիայի ավարտից մոտ 1,5 ժամ առաջ բջիջները մշակում են միտոստատիկ նյութով, որը կանգնեցնում է բջիջների բաժանումը (կոլխիցին կամ կոլցեմիդ): Հետագա քայլերը հետևյալն են՝ թույլ աղերով մշակումը, կամ հիպոտոնիկ լուծույթի կիրառումը, որը նպաստում է թաղանթի քայքայմանը և քրոմոսոմների ներթափանցմանը բջջապլազմա: Դրանից հետո կիրառում են Կառնոայի

ֆիքսատորը: Բջիջների սուսպենզիան կաթեցնում են առարկայակիր ապակու վրա և հետագայում կատարում գունավորում (նկար 67):

Նկ. 67 Մարդու մետաֆազային քրոմոսոմների հավաքը

5.3. Լաբորատոր աշխատանք

Մարդու արյան բջիջների կուլտիվացում և մետաֆազային քրոմոսոմների պատրաստուկների ստացում:

Քրոմոսոմների վերլուծության համար առավելագույն քանակով միտոզներ ստանալու նպատակով՝

1 մլ արյունը կուլտիվացնել 8,5 մլ RPMI 1640 միջավայրում, ավելացնել 100 մկլ L-գլուտամին, հորթի սաղմնային շիճուկ –FCBS-1,5մլ, 100 մկլ պենիցիլինի լուծույթ և 100 մկլ PHA:

Խառնուրդը ինկուբացնել թերմոստատում 72 ժամ 37°C պայմաններում:

Բջիջների կուլտիվացիայի ավարտից 1,5 ժամ առաջ նրանց մշակել 0,1 մկլ կոլցեմիդով:

Կոլցեմիդի ազդեցությունը ավարտվելուց հետո բջիջները ցենտրիֆուգել 5 րոպե 1500պտ\րոպե արագությամբ, որից հետո զգուշորեն հեռացնել միջավայրը: Թողնել 2 մլ խառնուրդ:

Ավելացնել մոտ 8 մլ հիպոտոնիկ լուծույթ, և 10-15 րոպե պահել թերմոստատում:

Ցենտրիֆուգելուց հետո անհրաժեշտ է զգուշորեն հեռացնել վերնստվածքային հեղուկը մինչև 1-2 մլ, խառնել:

Ավելացնել ֆիքսատորը, որը մեթանոլի և սառցե քացախաթթվի խառնուրդ է (3 : 1) (օգտագործվում է միայն թարմ պատրաստած վիճակում):

Այնուհետև ցենտրիֆուգել 5 րոպե 1500պտ\րոպե արագությամբ, զգուշորեն հեռացնել վերնստվածքային հեղուկը մինչև 1-2 մլ:

Նորից ավելացնել ֆիքսատորը մինչև 10 մլ, խառնել, ցենտրիֆուգել, հեռացնել ավելցուկային հեղուկը:

Այս գործողությունը կրկնել ևս երկու անգամ: Բջջային խառնուրդը թողնել սառնարանում 24 ժամ:

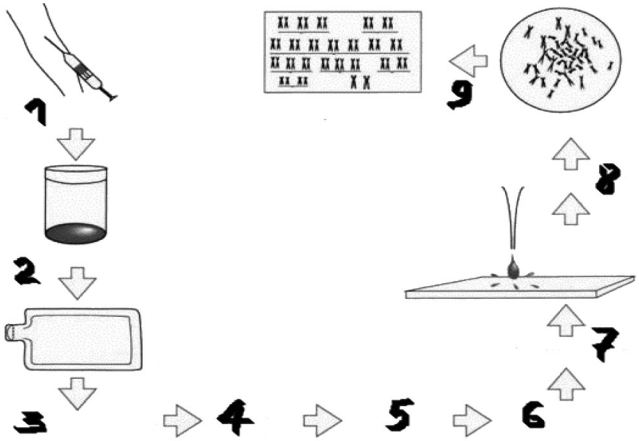
Կատարել բջջային սուսպենզիայի ցենտրիֆուգում 5 րոպե 1500պտ\ րոպե արագությամբ:

Զգուշորեն հեռացնել վերնստվածքային հեղուկը մինչև 0,5-0,6 մլ:

Նստվածքը զգուշորեն խառնել և կաթեցնել ճարպազրկած մաքուր առարկայակիր ապակիների վրա:

Պատրաստուկները թողնել չորանալու, հետո կատարել ներկումը:

Քրոմոսոմների վերլուծությունը անց են կացնում մետաֆազային թիթեղների վրա լավ ներկված և տարածված քրոմոսոմների դիտարկմամբ: Մետաֆազային թիթեղները պետք է չպարունակեն մեծ քանակով քրոմոսոմների վերադրում և նրանց պարուրման մակարդակը պետք է լինի այնպիսին, որ ակրոկենտրոն քրոմոսոմները ներկայանան որպես ստույգ արտահայտված կառույցներ: Տեխնիկական գործողությունների հետևանքով հնարավոր է թիթեղներում քրոմոսոմների կորուստ և ավելացում: Այդ պատճառով քրոմոսոմային աբերացիաների հաշվառման ժամանակ սովորաբար վերլուծվում են բջիջներ, որոնցում քրոմոսոմների քանակը կազմում է 44-47: Առավել պարզ քրոմոսոմների ներկման մեթոդ է Գիմզայով ներկումը, որը թույլ է տալիս որոշել քրոմոսոմների թվաքանակը, բացահայտել գենոմային մուտացիաները և անէուպլոիդիաները (նկար 68):



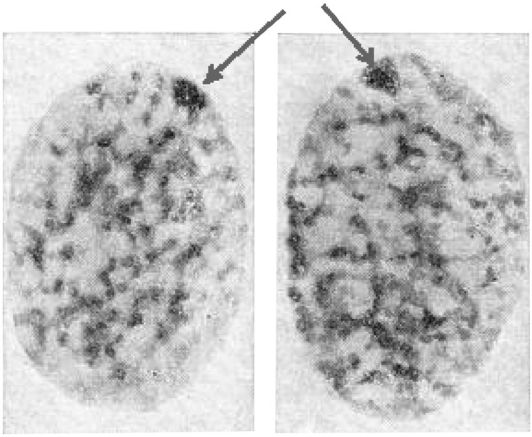
Նկ.68 Քրոմոսոմների կուլտիվացման սխեմատիկ պատկերը
1-մարդու երակային արյան վերցնելը, 2- սննդարար խառնուրդի պատրաստում, 3 – բջիջների կուլտիվացում թերմոստատում, 4 – կոլցեմիդի ներմուծում, 5 –հիպոտոնիկ լուծույթով մշակում, 6 – Կառնոայի ֆիքսատորով մշակում, 7 –պատրաստուկների ստացում, 8 –ներկում, 9 –քրոմոսոմների դիտարկում:

5.4. Սեռական քրոմատինի որոշման մեթոդ

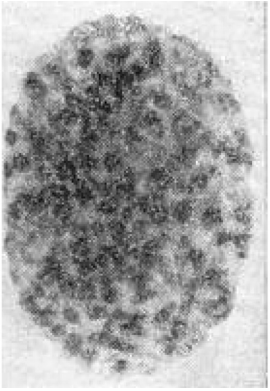
Սեռական քրոմատինը բջջային կորիզների հատուկ ներկվող մարմնիկներ են, հանդիպում են մարդու և այլ կաթնասունների իգական սեռի մոտ: Տեղադրված են կորիզաթաղանթի մոտ, սովորաբար օվալ կամ եռանկյունաձև է, 0,7-1,5մկմ չափսերով (նկար 69): Սեռական քրոմատինն առաջանում է X քրոմոսոմներից մեկից և կարող է դիտվել ցանկացած հյուսվածքում:

Կաթնասունների իգական սեռի ներկայացուցիչների մոտ մեկ X քրոմոսոմը տրանսկրիպցիոն լռակյաց է (ճնշված) չափաբաժնի փոխհատուցմանը հասնելու նպատակով XX կանանց և XY տղամարդկանց միջև: Այս գործընթացը, որը հայտնի է որպես X-ապաակտիվացում, տեղի է ունենում վաղ զարգացման փուլում, այնպիսի եղանակով, որ օրգանիզմի յուրաքանչյուր բջջում մեկ X քրոմոսոմը կհանդիսանա որպես լռակյաց: Երբ տեղի է ունենում X-ապաակտիվացումը, ապաակտիվացված X քրոմոսոմը նշվում է յուրահատուկ էպիգենետիկ առանձնահատկություններով, որոնցով այն տարբերվում է ակտիվ X քրոմոսոմից և աուտոսոմներից: Այդ փոփոխությունները տեղի են ունենում հաջորդաբար տրանսկրիպցիոն ակտիվ վիճակից դեպի ապաակտիվ անցնելու ընթացքում, և մեկ անգամ հաստատվելով՝ գործում են ռեզեռվային տրանսկրիպցիոնալ լռակյացությունը պահպանելու միտումով: Այս տեսանկյունից մենք հետազոտում ենք բացառիկ էպիգենետիկ հատկանիշներ, որոնք բնորոշում են ապաակտիվ X-քրոմոսոմը, բացահայտում են գործոնները, որոնց միջոցով այդ նշանները հաստատվում,պահպանվում և քննարկվում են, թե ինչպես է յուրաքանչյուրը նպաստում ապաակտիվ X քրոմոսոմը լռակյաց դառնալու գործընթացում:

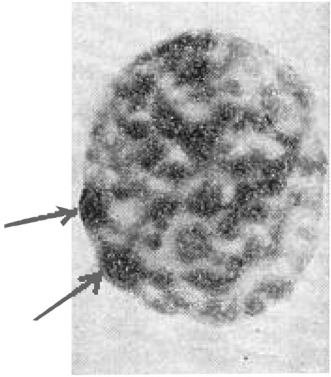
Սեռական քրոմատինը առավել հարմար է ուսումնասիրել բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի էպիթելային բջիջներում:



Նկ. 69 Սեռական քրոմատինով կորիզներ (առողջ կնոջ բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի)



Նկ. 70. Առանց սեռական քրոմատինի կորիզներ (առողջ տղամարդու բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի քսուկ)



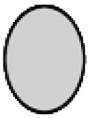
Նկ.71. Կրկնակի սեռական քրոմատինով կորիզներ (ըստ X քրոմոսոմի տրիսոմիկ կնոջ բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի քսուկ)

Սեռական քրոմատինն օգտագործում են սեռի բջջաբանական պարզման համար, քրոմոսոմային հիվանդությունների պարզման նպատակով (Շերեշևսկու-Թերների սինդրոմի համար բնորոշ է սեռական քրոմատինի բացակայությունը (նկար 70), Կլայնֆելտերի սինդրոմի

դեպքում տղամարդկանց մոտ առկա է սեռական քրոմատինը, ըստ X քրոմոսոմի տրիսոմիկ կանանց մոտ հայտնաբերվում է երկու սեռական քրոմատին (նկար 71)) և այլ դեպքերում (աղյուսակ 10):

Աղյուսակ 10

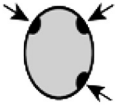
Բարրի մարմնիկների առկայությունը մարդու սոմատիկ բջիջների կորիզներում



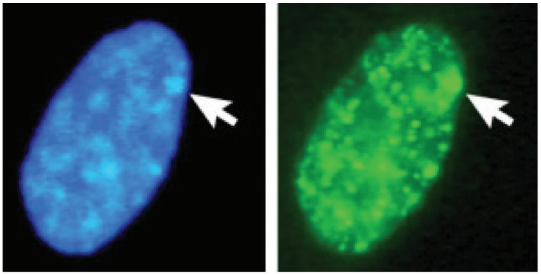
Առողջ տղամարդ (XY) կամ Շերեշևսկու-Տերների սինդրոմով կին (XO)

Առողջ կին (XX) կամ Կլայնֆելտերի սինդրոմով (XXY) տղամարդ

Տրիսոմիկ կին (XXX) կամ Կլայնֆելտերի սինդրոմով (XXXY) տղամարդ



Պոլիսոմիկ կին(XXXX) կամ Կլայնֆելտերի սինդրոմով (XXXXY) տղամարդ



Նկ.72. Լուսարձակող ներկով ներկված կնոջ ֆիբրոբլաստի կորիզ: Սլաքով ցույց է տրված սեռական քրոմատինը (Բարրի մարմնիկը)

5.5. Լաբորատոր աշխատանք

Աշխատանքի նպատակը – սեռական քրոմատինի որոշումը:

Ուսումնասիրության օբյեկտը – մարդու բջիջներ:

Նյութը և սարքավորումները.

1.մետաղական մածկաթիակ,

2. առարկայական ապակի,

3. ծածկապակի,

4. 1%-անոց ացետոարսեին,

5. ֆիլտրի թուղթ:

Փայտյա կամ մետաղական մածկաթիակով ստանալ բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բջիջների քսուկ:

Քսուկը տեղադրել առարկայական ապակու վրա:

15-20 րոպե պահել ֆիքսատորի մեջ (3 մաս մեթիլ կամ էթիլ սպիրտ, 1 մաս սառցաքացախաթթու):

Ներկել 1%-անոց ացետոարսեինով (թարմ ֆիլտրացված):

Պրեպարատը ծածկել ծածկապակիով, վրայից տեղադրել ֆիլտրի թուղթ: Ձեռքի բութ մատով մի քանի վայրկյան թեթևակի սեղմել ծածկապակին:

Ներկի մնացորդները հեռացնել:

Պատրաստուկը ուսումնասիրվում է լուսային մանրադիտակով, իմմերսիոն սիստեմով (x 1200-1500): Սեռական քրոմատինը մուգ գույնով ներկված մարմնիկ է, մոտ 1 մկմ է, ավելի հաճախ կորիզային մեմբրանի տակ է տեղադրված:

Քանի որ սեռական քրոմատինը՝ Բարրի մարմնիկը, հայտնաբերվում է կանանց կորիզների մոտ 30 – 40 %, ապա ուսումնասիրված կորիզների ընդհանուր թիվը պետք է լինի 100:

Ացետոարսեինը պատրաստվում է հետևյալ մեթոդիկայով՝

1գ սինթետիկ արսեինը լուծել 45 մլ սառցաքացախաթթվի մեջ:

Լուծույթը հասցնել եռման, սառեցնել և ֆիլտրել:

Ստացված լուծույթին ավելացնել 55 մաս թորած ջուր:

Կատարել կրկնակի եռացում, սառեցում և ֆիլտրացում:

5.6. Քույր քրոմատիդային փոխանակումների հաշվառման մեթոդը

1972 թ. ռուս գիտնականներ Ա. Զախարովը և Ն. Եգոլինան առաջարկեցին քույր քրոմատիդային փոխանակումների հաշվառման մեթոդը՝ ՔՔՓ: Քույր քրոմատիդային փոխանակումները բացահայտում են երկրորդ բաժանման մետաֆազներում, երբ պրոլիֆերացվող բջիջներին ավելացնում են մոդիֆիկացված նուկլեոզիդներ, որոնք ընդունակ են ռեպլիկացիայի ընթացքում ներկառուցվել ԴՆԹ-ի կազմում: Նման նուկլեոզիդներ որպես օրենք կիրառվում է թիմինի համակերպ՝ 5–բրոմդեզօքսիուրիդինը: Նոր առաջացած քրոմատիդը, ներառելով թիմինի համակերպը, ներկվում է թույլ, իսկ մյուս քրոմատիդը (նախկինը) գունավորվում է սովորաբար նման ինտենսիվ կերպով (նկար 73):

5.7. Լաբորատոր աշխատանք - քույր քրոմատիդային փոխանակությունների ուսումնասիրություն

Արյան լիմֆոցիտների կուլտուրան ստացվում է վերը նկարագրված ձևով: Կուլտիվացման 28-րդ ժամին ներմուծել ԲԴՈԽ-ն:

Պատրաստուկները տեղադրել ցերեկային լույսի լամպերի տակ, որոշակի տարածության վրա 15 ժամով:

Պատրաստուկները տեղադրել Սերենսենի բուֆերային լուծույթի մեջ (Na ցիտրատ, NaCl, թորած ջրի խարնուրդ):

Այդ խառնուրդի մեջ տեղադրված պատրաստուկները 90 ր-ով պահել շոգեբաղնիքում 65°C ն ջերմության պայմաններում:

Որպեսզի ներկը լավ կլանվի, պատրաստուկները տեղադրել հաջորդաբար 70 և 96% սպիրտի լուծույթների մեջ:

Ներկել 15 րոպեի ընթացքում 5% Գիմզայի լուծույթում:

Ներկելուց հետո, մանրադիտակի տակ կարելի է տեսնել քրոմոսոմներ, որոնց քրոմատիդները ներկված են բաց և մուգ գույներով, իսկ այն հատվածներում, որտեղ տեղի են ունեցել քույր քրոմատիդների փոխա-

նակություններ, դիտվում է մուգ և բաց հատվածների հաջորդականություն:

Նկ. 73 Բրոմդեզոքսիուրիդինով մշակված քրոմոսոմների քրոմատիդների տարբեր գունավորում

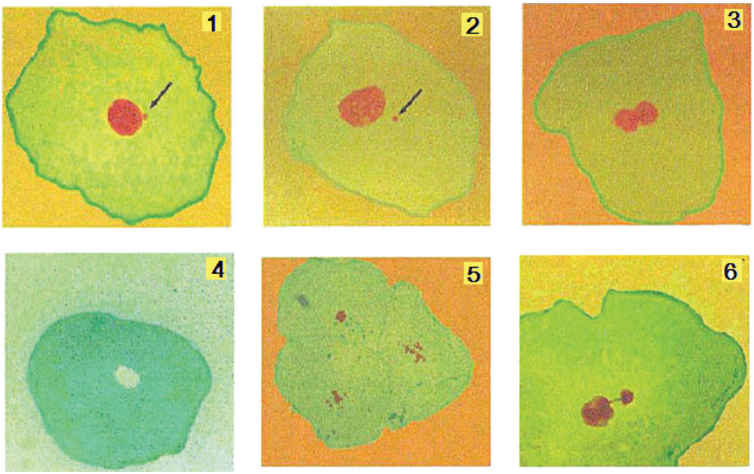
5.8. Միկրոկորիզային թեստ

1973 թ. Հեդլը և Շմիդը իրարից անկախ առաջարկեցին միկրոկորիզային թեստ, որը հիմնված էր ոսկրածուծի բջիջներում միկրոկորիզների հաշվառման վրա: Հետագայում թեստը կիրառվեց տարբեր բջիջներում (լիմֆոցիտներում, լյարդի բջիջներում, մազերի ֆոլիկուլներում, բերանի խոռոչի բջիջներում և այլն): Միկրոկորիզային թեստը իր պարզության և արագ վերլուծության շնորհիվ դարձավ քիմիական միացությունների բջջագենետիկական ակտիվության սկրինինգի մեթոդ:

Միկրոկորիզները առաջանում են քրոմոսոմների հատվածներից, որոնք զրկված են ցենտրոմերներից և բացառվում են բջջային կորիզներից բջիջների բաժանման ժամանակ: Նրանք ներկայացնում են ացենտրիկ հատվածներ: Միկրոկորիզները կարող են նաև ձևավորվել ամբողջական քրոմոսոմներից, որոնք հետ են մնացել միտոզի անաֆազի փուլում: Այսպիսով, միկրոկորիզների հաշվառման տվյալները արտացոլում են հետազոտվող միացության կլաստոգեն և անէուգեն ազդեցության արդյունքները: Միկրոկորիզները քրոմատինային կլորավուն մարմնիկ-

ներ են, որոնք տեղադրվում են անմիջապես կորիզի հարևանությամբ: Գոյություն ունեն նաև տարբեր կորիզային անոմալիաներ՝ բինուկլեատներ, երբ մեկ բջջում առկա են երկու կորիզներ, կարիոռեքսիս՝ երբ կորիզը ներկայացված է առանձին սեգմենտավորված հատվածներով, պիկնոզ՝ երբ կորիզը ներկայացված է խիստ խտացված քրոմատինով և բավականաչափ փոքր է, կարիոլիզիս՝ երբ առկա է միայն կորիզային թաղանթը, «կոտրած ձվի» ֆենոմեն, երբ առկա է փոքր կորիզ, որը կամուրջով կապված է բջիջի հիմնական կորիզի հետ (նկար 74):

Միկրոկորիզային թեստը թույլ է տալիս գնահատել հետազոտվող



Նկ. 74 Մարդու բջիջներում բացահայտված կորիզային անոմալիաների տեսակներ. 1,2-միկրոկորիզի առկայություն, 3-բինուկլեատ (կրկնակի կորիզ), 4-կարիոլիզիս, 5-կարիոռեքսիս, 6-«կոտրած ձվի» ֆենոմեն

գործոնների բջջագենետիկական ազդեցությունը ինտերֆազային բջիջներում: Այն կիրառվում է մարդու վրա ներգործող քիմիական և ֆիզիկական գործոնների գենաթունության գնահատման նպատակով, *in vivo* և *in vitro* պայմաններում, ինչպես նաև ինքնաբուխ (սպոնտան) քրոմոսոմային խաթարումների բացահայտման համար:

Հայտնի է միկրոկորիզների ձևավորման մի քանի մեխանիզմներ: Դրանք կարող են ձևավորվել ԴՆԹ-ի երկշղթա խզումների կամ նրա

սինթեզի արգելակման արդյունքում: Սխալ ընթացող ռեպարացիայի ժամանակ, երբ քրոմոսոմային խզումները բերում են դիցենտրիկ և ացենտրիկ հատվածների առաջացման, բջջի հետագա բաժանման ընթացքում դուստր կորիզների միջև ի հաշիվ դիցենտրիկ հատվածների ձևավորվում են միջկորիզային կամուրջներ (դիտվում է որպես քրոմոսոմային խաթարումների մարկեր), իսկ ացենտրիկ հատվածները ձևավորվում են որպես միկրոկորիզներ: Միկրոկորիզները կարող են առաջանալ նաև քրոմոսոմների ոչ ճիշտ տարամիտման արդյունքում, օրինակ, բջջային ցիկլը վերահսկող գեների թերի աշխատանքի շնորհիվ:

Միկրոկորիզների ձևավորման մեխանիզմներից է նաև ամպլիֆիկացիայի սխալ ընթացքը, երբ ամպլիֆիկացված ԴՆԹ-ն լոկալիզացվում և հետագայում հեռացվում է բջջային ցիկլի S փուլում:

Այսպիսով, միկրոկորիզները քրոմոսոմների վնասվածքների կամ կորուստների կենսամարկերներ են: Միջկորիզային կամուրջները ԴՆԹ-ի սխալ ռեպարացիայի չափորոշիչ են, իսկ կորիզային բողբոջները՝ ամպլիֆիկացված ԴՆԹ-ի հեռացման (էլիմինացիայի) գործոն: Գոյություն ունեն միկրոկորիզներով բջիջների հետագա ճակատագրի տարբեր զարգացումներ: Ենթադրվում է, որ միկրոկորիզներով բջիջներն ապոպտոզի ճանապարհով կարող են վերանալ, կարող են վերադառնալ հիմնական կորիզ կամ դուրս մղվել բջջից:

Միկրոկորիզների և դրանց մեջ պարունակվող քրոմոսոմների չափերի միջև չկա ուղիղ կապ: Փոքր միկրոկորիզը կարող է պարունակել ինչպես մեծ քրոմոսոմի հատված, այնպես էլ ամբողջական քրոմոսոմ, կամ տարբեր քրոմոսոմների մի քանի հատվածներ: Հաստատված է ուղիղ կապ քրոմոսոմների խաթարումների թվի ավելացման, միտոզի ակտիվության և միկրոկորիզների առաջացման միջև: Հայտնի է նաև, որ միկրոկորիզների սպոնտան մակարդակը բարձրանում է տարիքի հետ կապված, նաև որ այն ավելի բարձր է կանանց, քան տղամարդկանց մոտ: Տարիքից կախված, բարձրանում է ամբողջական քրոմոսոմներ՝ հիմնականում X և Y քրոմոսոմներ, պարունակող միկրոկորիզների մակարդակը:

5.9. Բջջակինեզի ճնշմամբ միկրոկորիզային թեստ (cytokinesis-block micronucleus cytome assay)

Այս թեստը մշակվել է 20-րդ դարի 80-ական թվականներին: Քանի որ միկրոկորիզներն առաջանում են միայն բաժանվող բջիջներում, ապա միկրոկորիզային թեստի այս տարբերակը թույլ է տալիս տարբերել բաժանվող բջիջները չբաժանվողներից, ավելին՝ տարբերակել այն բջիջները, որոնք անցել են մեկ բջջային բաժանում: Բջջակինետիկական ուղեփակումն իրականացվում է ցիտոխալազին B-ի օգնությամբ, որը հանդիսանում է ակտինի պոլիմերիզացիայի արգելակիչ: Այն միկրոֆիլամենտար օղակի ձևավորման համար անհրաժեշտ գործոն է: Այդ օղակը բջջի բաժանման ժամանակ կրճատում է դուստր բջիջների միջև գտնվող բջջապլազման: Բջիջների մշակումը ցիտոխալազին B-ով բերում է երկկորիզային, իսկ հետագայում նաև բազմակորիզային բջիջների առաջացման:

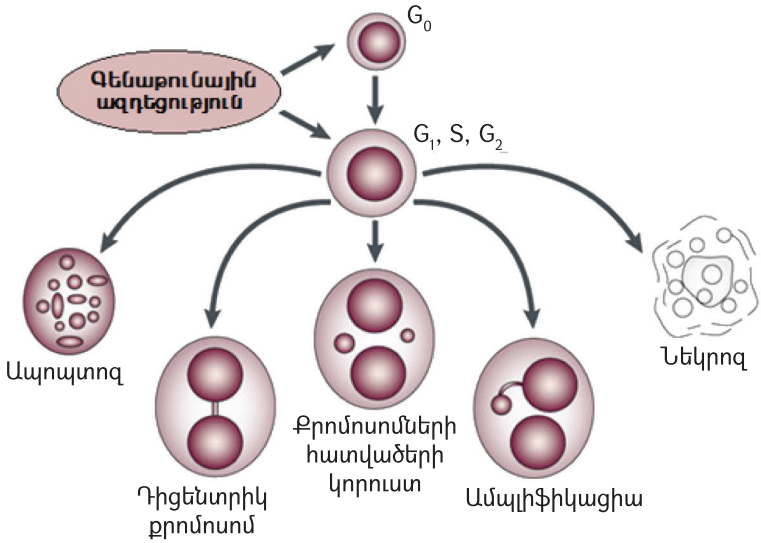
Ցիտոխալազին B-ի ազդեցության հետևանքով միտոզի ընթացքում ձևավորվում են երկկորիզային բջիջներ, որոնք ավարտել են կարիոկինեզը, սակայն չեն ենթարկվել բջջակինեզի:

Դա հնարավորություն է տալիս ամրագրել գենետիկական վնասվածքները բջիջների առաջին սերնդում: Ենթադրվում է, որ միակորիզային բջիջները արտացոլում են քրոմոսոմային կամ գենոմային մուտացիաների մակարդակը, որոնք առաջացել և կուտակվել են *in vivo,* իսկ միկրոկորիզներ կրող երկկորիզային բջիջները արտահայտում են վնասվածքների գումարային մակարդակը, որը կուտակվել է կուլտիվացումից առաջ և ձևավորվել առաջին միտոզի ժամանակ՝ *in vitro* պայմաններում:

Միկրոկորիզային թեստը թույլ է տալիս գնահատել քրոմոսոմների խզվածքները (կլաստոգեն էֆեկտ) և քրոմոսոմների կորուստը (անէուգեն էֆեկտ): Անէուգեններն առաջացնում են քրոմոսոմների կորուստ՝ գլխավորապես բաժանման իլիկի վրա ազդելու ճանապարհով: Ըստ այդմ՝ միկրոկորիզները կարող են ներառել ամբողջական քրոմոսոմներ, որոնց կարելի է բացահայտել ԴՆԹ ցենտրոմերային նմուշների կիրառմամբ:

Կլաստոգենները փոխազդում են ԴՆԹ-ի հետ և առաջացնում երկթելանի խզումներ, հետագայում բերելով ացենտրիկ հատվածների առաջացման:

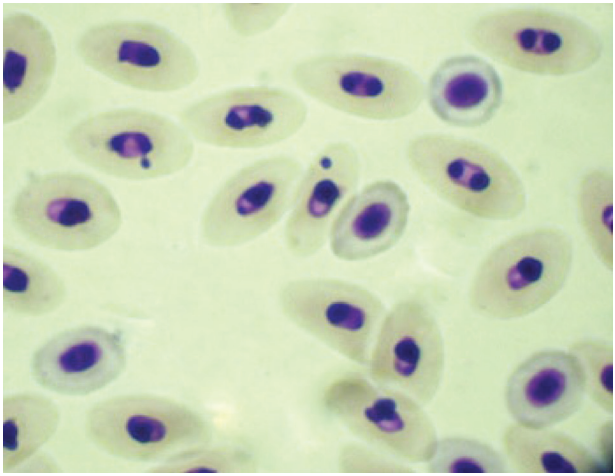
Միկրոկորիզային մեթոդը ինտերֆազային բջիջներում թույլ է տալիս հաշվառել ոչ միայն միկրոկորիզների հաճախականությունը՝ որպես բջջագենետիկական ազդեցության հիմնական ցուցանիշի, այլև կորիզային փոփոխությունների տարբեր տեսակներ, որոնք բնորոշում են հյուսվածքի պրոլիֆերատիվ ակտիվությունը և բջիջների վախճանի պրոցեսը՝ նեկրոզ կամ ապոպտոզ: Միկրոկորիզային թեստի կիրառմամբ կարելի է գնահատել նաև նուկլեոպլազմատիկ կամուրջները, կորիզային բողբոջները (նկար 75):



Նկ. 75 Ցիտոկինետիկ ուղեփակմամբ միկրոկորիզային թեստի կիրառմամբ վնասված բջիջների գնահատում

Բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բջիջներում միկրոկորիզների ուսումնասիրության մեթոդն առաջարկվել է 1982 թվականին Ստիխի և գործընկերների կողմից: Այն մեծ կիրառություն ունի տարբեր հետազոտություններում, որոնք կոչված են in vivo պայմաններում մարդկանց

վրա անբարենպաստ գործոնների ազդեցությունը գնահատելու և տարբեր հիվանդությունների դեպքում միկրոկորիզների մակարդակը պարզելու համար (նկար 76):



Նկ. 76 Մարդու բջիջներում միկրոկորիզների առկայությունը

5.10. Լաբորատոր աշխատանք - բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բջիջներում միկրոկորիզների գնահատում

Հետազոտվող անձի հետ անց է կացվում հարցում: Հարցաթերթիկում գրանցվում են տվյալներ տարիքի վերաբերյալ, վնասակար սովորությունների մասին՝ ծխելու, ալկոհոլի օգտագործման, վերջին օրերի ընթացքում դեղամիջոցներ օգտագործելու, քիմիական նյութերի հետ շփման մասին.

- մինչև քսուկի վերցնելը բերանի խոռոչը ողողել,
- փայտյա մածկաթիակի օգնությամբ այտի ներսի կողմից քսուկ վերցնել,
- քսուկը հավասարաչափ տարածել առարկայակիր ապակու մակերեսով,

- ստացված պատրաստուկը ֆիքսել Կառնոայի ֆիքսատորի օգնությամբ (սպիրտ – քացախաթթվի լուծույթի խառնուրդ 3 : 1 հարաբերակցությամբ),
- չորացնել բացօդյա, 24 ժամվա ընթացքում,
- ֆիքսված քսուկները տեղադրել 1N HCL-ի մեջ 20-30 րոպեով 27°C ջերմաստիճանում,
- պատրաստուկները տեղադրել Շիֆի լուծույթի մեջ 90 րոպեով,
- անցկացնել պատրաստուկների մի շարք լվացումներ՝ թարմ պատրաստված նատրիում սուլֆիդի լուծույթով և թորած ջրով,
- 1-2 րոպեի ընթացքում ներկել «Fast green»-ով:

Միկրոկորիզների հետազոտումը էքսֆոլիատիվ բջիջներում անցկացվում է միայն այն դաշտում, որտեղ բջիջները տեղադրված են մեկ շերտով: Միկրոկորիզները հաշվում են այն դեպքում, երբ նրանք գտնվում են բջջի բջջապլազմայի մեջ կորիզի հետ նույն տեսանելի օպտիկական դաշտում: Պետք է հաշվի առնել միկրոկորիզի գույնը, ձևը և քրոմատինի կառուցվածքը բջիջի կորիզի հետ համեմատած:

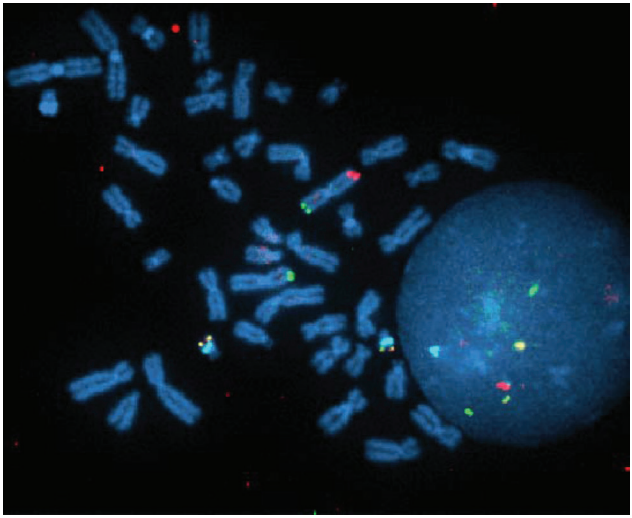
5.11. FISH (Ֆլոորեսցենտային in situ հիբրիդացում) մեթոդը

Մոլեկուլային բջջագենետիկայի հաջողությունները թույլ տվեցին մշակել քրոմոսոմների ուսումնասիրման in situ ֆլոորեսցենտային հիբրիդիզացիայի մեթոդը (FISH), որը գրեթե անսահմանափակ է դարձնում քրոմոսոմային շեղումների ախտորոշումը:

Վերջին տարիներին ստեղծվեցին քրոմոսոմների ԴՆԹ-ի հիբրիդացման նոր մեթոդներ և հնարավոր դարձավ հիբրիդացումը իրականացնել անմիջականորեն քրոմոսոմների անալիզի համար նախատեսված պատրաստուկների վրա: Դրա շնորհիվ կարելի է հայտնաբերել ԴՆԹ-ի կոնկրետ հաջորդականությունները անմիջականորեն մանրադիտակի տակ: FISH մեթոդի կիրառման համար անհրաժեշտ է ունենալ նիշակիր բնափոխված ԴՆԹ-ի հատվածներ, որոնք պարունակում են

նախապես հայտնի նուկլեոտիդների հաջորդականություն՝ այսպես կոչ-ված զոնդ: Վերլուծվող ԴՆԹ-ն ենթարկվում է բնափոխման՝ ջերմաս-տիճանի ազդեցությամբ, որի արդյունքում այն ներկայացված է լինում մեկթել պարույրի տեսքով: Զոնդը տեղադրվում է մութ պայմաններում նախապես մշակված (բնափոխում անցած) պատրաստուկի վրա: Հե-տազոտվող ԴՆԹ-ի մեկթել հաջորդականությունները զոնդի հաջորդա-կանություններին կոմպլեմենտար լինելու դեպքում միանում են միմյանց՝ այսինքն հիբրիդացվում են: Չկապակցված զոնդը լվացվում է և հեռաց-վում, այնուհետև անցկացվում է հիբրիդացված զոնդի որոշումը:

FISH մեթոդը լայն տարածում ստացավ բազմաթիվ հետազոտու-թյունների ժամանակ 1970 թվականից հետո: Մեծ առաջընթաց էր հա-մարվում այն փաստը, որ ռադիոակտիվ նիշերի փոխարեն առաջարկ-վեց ֆլոորեսցենտային նիշերի օգտագործումը: Սակայն որոշակի հե-տազոտությունների ժամանակ, երբ անհրաժեշտ է որոշել ԴՆԹ-ի կարճ հաջորդականություններ՝ ֆլոորեսցենտ նիշը բավականին դժվար է հայտնաբերվում և կրկին կիրառում են ռադիոակտիվ նիշեր (նկար 77):



Նկ. 77 Մարդու մետաֆազային և ինտերֆազային քրոմոսոմներում FISH մեթոդի կիրառմամբ ստացված թելոմերային հատվածների ուսումնասիրություն DAPI գունավորմամբ

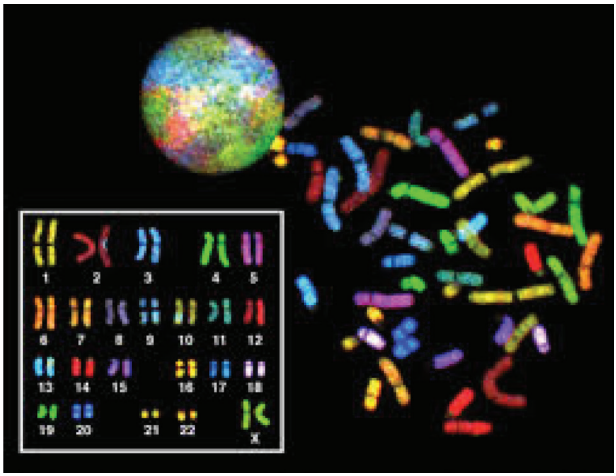
Ներկայումս ստեղծվել են քրոմոսոմների պատկերների վերլուծման համակարգչային հնարավորություններ: Զոնդի հետ քրոմոսոմների հատվածների հիբրիդացման արդյունքում ֆլորեսցենտային մանրադիտակի տակ կարելի է դիտել գունավորված ամբողջական քրոմոսոմներ կամ որոշակի ԴՆԹ-ի հատվածներ:

Մեթոդը հնարավորություն է տալիս բացահայտել ԴՆԹ-ի հաջորդականություններն անմիջապես քրոմոսոմի վրա, գնահատել քրոմոսոմների կառուցվածքային և քանակական փոփոխությունները: Օգտագործելով տարբեր քրոմոսոմների ԴՆԹ-ի հաջորդականությունների տարբերությունները՝ գիտնականները կարողացան քրոմոսոմները ներկել տարբեր գույներով:

FISH մեթոդը կիրառում են հետևյալ նպատակներով.

- Գենների քարտեզավորման համար, ինչը կիրառություն ունեցավ «Մարդու գենոմ» ծրագրի շրջանակներում:
- Քրոմոսոմների կառուցվաքծային և քանակական փոփոխություններով ուղեկցվող տարբեր հիվանդությունների ախտորոշման համար:

Ներկայումս հիմնադրվել է տարբեր հիվանդությունների ախտորոշման համար նախատեսված զոնդերի կոմերցիոն արտադրություն: Ժամանակակից տեխնոլոգիաների կիրառման շնորհիվ հնարավոր է միաժամանակ օգտագործել մի քանի տասնյակ ԴՆԹ-զոնդեր: Բազմագույն FISH տարատեսակը (multicolor, multifluor կամ multiflex FISH) իր մեջ ներառում է մի քանի ֆլորոքրոմների միակցություն, որոնց ազդանշանները առանձին գրանցվում են ֆիլտրերի կոմպլեկտների հաջորդական փոփոխմամբ: Գոյություն ունեն հատուկ համակարգչային ծրագրեր, որոնք, կարդալով գունային պատկերը, փոխում են այն և ստեղծում այսպես կոչված «կեղծ գույներ»: Արդյունքում ինչպես միագույն, այնպես էլ տարբեր գույներով ներկված հատվածները նոր գունավորում են ստանում (նկար 78):



Նկ. 78 Բազմագույն FISH տարատեսակով ներկված մարդու քրոմոսոմներ

5.12. Լաբորատոր աշխատանք՝ FISH վերլուծության համար նմուշների պատրաստում

Նմուշների մշակում

Նախապես կուլտիվացված բջիջների սուսպենսզիան (կախույթը) ֆիքսվում և կաթեցվում է (մոտ 100 մկլ) ծածկապակիների վրա մետաֆազային թիթեղներում կամ ինտերֆազային կորիզներում համապատասխան խաթարում(ներ)ը FISH վերլուծությանը ենթարկելու համար:

1. Պատրաստել պեպսինի լուծույթ՝ 100 մլ թորած ջուր, 500 մկլ HCl (0.2Ն), 100 մկլ պեպսինի լուծույթ (10%): Գործընթացն իրականացվում է ջրային բաղնիքում՝ 37°C պայմաններում:

2. Լվանալ PBS-ով (ֆոսֆատային բուֆեր):

3. Կատարել հետֆիքսացիա ֆորմալդեհիդի լուծույթով՝ PBS + MgCl2 + ֆորմալդեհիդ (40%-ոց): 100 մկլ ֆորմալդեհիդի լուծույթը մանր կաթիլներով տարածել ծածկապակու վրա և ծածկել նմուշներով:

4. Հեռացնել ծածկապակիները և նմուշները լվանալ PBS-ով:

5. Նմուշները ենթարկել դեհիդրատացիայի էթանոլի տարբեր տոկոսային պարունակությամբ լուծույթներով՝ 70%, 85% և 96%:

6. Դեհիդրատացիայից հետո կաթեցնել զոնդը (որոշված քանակով), ծածկել ծածկապակիով, սոսնձել ռետինե սոսնձով և դնել դենատուրացիայի 73-75°C:

7. Նմուշները դրվում են խոնավ խցիկի մեջ և պահվում թերմոստատում 37°C 24 ժամ:

Նմուշների լվացում, II օր

1. Թերմոստատից հանելուց հետո նմուշները լվացվում են 1x SSC-ի լուծույթում, ջրային բաղնիքում՝ 65°C:

2. Նմուշները լվացվում են 4x SSC+Tween լուծույթում սենյակային ջերմաստիճանում:

3. Նմուշները լվացվում են PBS-ով:

4. Նմուշները ենթարկում են դեհիդրատացիայի էթանոլի տարբեր տոկոսային պարունակությամբ լուծույթներով՝ 70%, 85% և 96%:

5. Չորացվում են մութ պայմաններում:

6. Նմուշների վրա կաթեցվում է 40մկլ DAPI և պահվում է -20°C պայմաններում:

7. Ֆլոորեսցենտային մանրադիտակի տակ դիտվում են քրոմոսոմների այն հատվածները, որոնք գունավորվել էին զոնդի հետ հիբրիդացման արդյունքում:

6. Մոլեկուլային - գենետիկական մեթոդներ

Մոլեկուլային – գենետիկական մեթոդները մեծ և բազմազան մեթոդների խումբ են, որոնք հիմնված են նուկլեինաթթուների վերլուծության վրա՝ առաջին հերթին ԴՆԹ-ի մոլեկուլների: Դրանք կիրառվում են ԴՆԹ-ի հատվածի կառուցվածքում (ալելում, գենում, քրոմոսոմի հատվածում փոփոխությունների բացահայտման նպատակով, ընդհուպ մինչև հիմքերի առաջնային հաջորդականության վերծանումը: Այսպիսով, մոլեկուլային – գենետիկական մեթոդների հիմնական նպատակն է մուտացիաների ախտորոշումը, ժառանգական հիվանդությունն-

րի առաջացման պատճառների բացահայտումը, ինչպես նաև մուտացիաների հետերոզիգոտ և հոմոզիգոտ կրողների հայտնաբերումը: Ըստ էության՝ մոլեկուլային կամ ԴՆԹ ախտորոշումը ժառանգական հիվանդությունների հայտնաբերման առավել օբեկտիվ մեթոդ է:

Ցանկացած մոլեկուլային-գենետիկական հետազոտությունների առաջնային փուլ է հանդիսանում նուկլեինաթթուների անջատումը հյուսվածքի նմուշից: Մարդու ԴՆԹ-ն կարելի է անջատել կորիզ պարունակող ցանկացած բջջից: Մարդու գենոմային ԴՆԹ-ն առավել հաճախ անջատում են լեյկոցիտներից: Հետագա քայլերը հետևյալն են՝ նախ առանձնացնում են կորիզները, պրոտեոլիտիկ եղանակով քայքայում են սպիտակուցները: Այնուհետև անջատում են ԴՆԹ-ի բարձրամոլեկուլային և ցածրամոլեկուլային ֆրակցիաները: Ավելի ժամանակակից են ԴՆԹ-ի անջատման սորբենտային մեթոդները: Նախնական փուլում բջիջները դետերգենտների օգնությամբ ենթարկում են լիզիսի, որից հետո խառնուրդին ավելացնում են սիլիկագել, որի վրա նստում է ԴՆԹ-ն: Այնուհետև սիլիկագելը լվացվում է, որից հետո լվացվում է նաև ԴՆԹ-ն:

ԴՆԹ-ի նմուշները կրկնապատկում են մոլեկուլային կլոնավորմամբ կամ պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի միջոցով:

Մոլեկուլային կլոնավորումը (գենային ինժեներիան, ռեկոմբինանտ ԴՆԹ-ի տեխնոլոգիաները) մեթոդների ամբողջություն է, որը թույլ է տալիս իրագործել ԴՆԹ-ի փոխանցումը մեկ օրգանիզմից մյուսը, ընտրել ռեկոմբինանտ ԴՆԹ-ն կրող բջիջները և ստանալ այդ բջիջներում սինթեզվող յուրահատուկ սպիտակուցներ:

Պոլիմերազային շղթայական ռեակցիան ԴՆԹ-ի ամպլիֆիկացիայի մեթոդ է, որի օգնությամբ մի քանի ժամվա ընթացքում հնարավոր է ստանալ մեծ քանակով հետազոտվող ԴՆԹ-ի պատճեններ: Մեթոդը առաջարկվել է ամերիկյան գիտնական Քերի Մյուլիսի կողմից 1985 թվականին: Մեթոդի էությունը կայանում է հետազոտվող գենոմային ԴՆԹ-ի կաղապարի հիման վրա գենի փոքր հատվածի կամ ԴՆԹ-ի այլ հատվածի ընտրողական պատճենահանման մեջ: Այդ հետազոտվող հատվածում ենթադրվում է մուտացիայի առկայություն: ՊՇՌ մեթոդը կիրառելու համար անհրաժեշտ է ստեղծել երկու պրայմերներ ԴՆԹ-ի

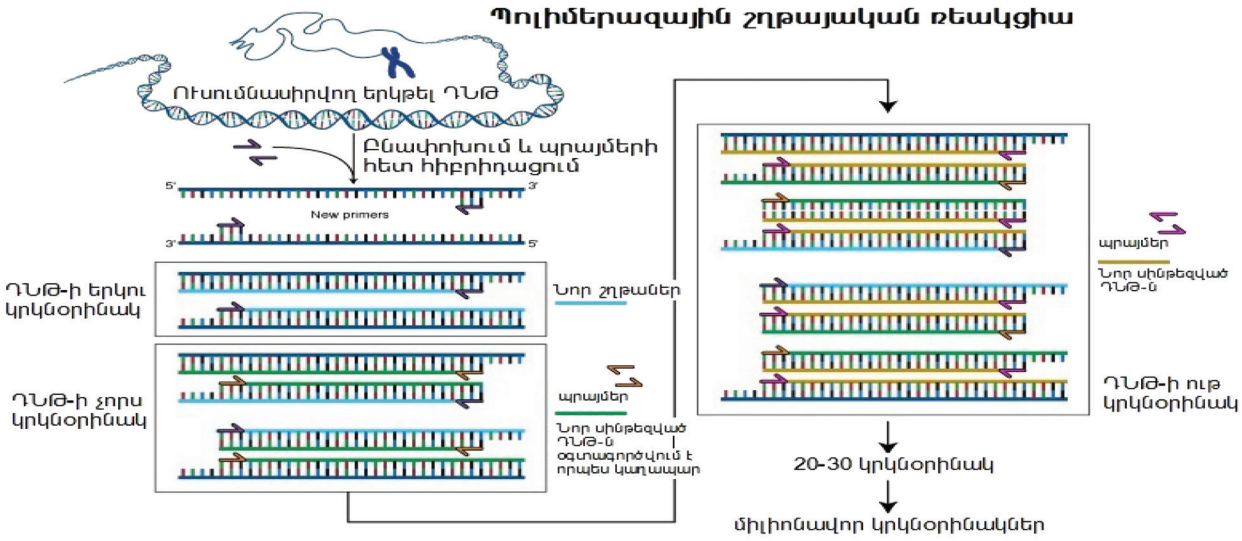
թիրախ հատվածի ծայրամասային հաջորդականությունները իմանալով: Պրայմերներն օլիգոնուկլեոտիդային հաջորդականություններ են: Պրայմերները բնափոխված ԴՆԹ-ին ավելացնելուց հետո կապվում են կոմպլեմենտար հաջորդականությունների հետ, որով թիրախ հատվածը սահմանափակվում է: Ազատ նուկլեոտիդների և ջերմակայուն ԴՆԹ–պոլիմերազայի արկայությամբ տեղի է ունենում թիրախին կոմպլեմենտար ԴՆԹ-հատվածի սինթեզը: ԴՆԹ-ի նոր սինթեզված հատվածները կաղապար են նման հատվածների հետագա սինթեզի համար: Առաջին փուլում կաղապարային ԴՆԹ-ն վերածում են մեկթել կառույցի՝ լուծույթը տաքացնելով ավելի քան 95°C մի քանի րոպեների ընթացքում: Հետո հաջորդում են երեք կարճաժամկետ գործողություններ, որոնց տևողությունը կազմում է մի քանի տասնյակ վարկյաններ.

1. Հետազոտվող ԴՆԹ-ն պրայմերների հետ համատեղ ենթարկվում է հիբրիդիզացիայի, որը ընթանում է մինչև 30-50°C լուծույթի սառեցմամբ:

2. ԴՆԹ-ի սինթեզ, սկսած պրայմերից, որը իրականացվում է լուծույթի ջերմաստիճանի բարձրացմամբ 55°C մինչև 70°C, ինչն առավել արդյունավետ է ջերմակայուն ԴՆԹ–պոլիմերազի գործունեության համար:

3. Սինթեզված ԴՆԹ-ի բնափոխում, որն իրականանում է մինչև 90°C լուծույթի ջերմաստիճանի բարձրացմամբ:

Հետագայում բոլոր քայլերը կրկնվում են սկսած 1 կետից: Այսպիսով, յուրաքանչյուր փուլում ջերմաստիճանի փոփոխմամբ ընթանում է պրայմերներով սահմանափակված ԴՆԹ-ի հատվածների կրկնապատկում (մինչև միլիոն պատճեններ): ՊՇՌ–մեթոդը լայն կիրառում ունի ժառանգական հիվանդությունների և վարակների մոլեկուլային ախտորոշման, ինչպես նաև դատական բժշկության, գենոմային մատնատպության և մոլեկուլային մարդաբանության ասպարեզում:



Նկ.79 Պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայի ընթացք

ԴՆԹ-ի հատվածների էլեկտրաֆորեզը ապահովում է դրանց բաժանումը ագարոզի կամ պոլիակրիլամիդային հելի մեջ և կիրառվում է մասնավորապես ՊՇՌ-ի արդյունքները տեսանելի դարձնելու համար: Հելի վրա տեղադրված ԴՆԹ-նմուշը հոսանքի ազդեցությամբ սկսում է տեղաշարժվել <-> բևեռից դեպի <+>, ըստ որում, ընթացքի արագությունը կապված է ԴՆԹ-ի հատվածի մեծությունից: Արդյունքում տեղի է ունենում երկարությամբ տարբերվող ԴՆԹ-ի նմուշների բաժանումը հելի մեջ: Ինչքան կարճ է ԴՆԹ-ն, այնքան ավելի արագ է շարժվում և մեծ տարածություն է անցնում ավելի երկար մոլեկուլների համեմատ: Էթիդիում բրոմիդով գունավորելուց հետո ԴՆԹ-ն ուլտրամանուշակագույն լամպի տակ լուսարձակվում է կարմիր գույնով:

ԴՆԹ-էլեկտրաֆորեզի միջոցով առավել պարզ են ախտորոշվում դելեցիաները և ինսերցիաները, քանի որ դրանք փոխում են ԴՆԹ-ի ամպլիֆիկացված հատվածի երկարությունը, հետևաբար նաև շարժունակությունը: Այդպիսի մուտացիաների ախտորոշման համար բավական է կատարել ՊՇՌ-ն յուրահատուկ պրայմերների և էլեկտրոֆորեզի կիրառմամբ, որից հետո համադրել ԴՆԹ-ի ամպլիֆիկացված հատվածը նորմայում և հիվանդի մոտ: Ավելի երկարատարած ներգենային դելեցիաների ախտորոշման համար հարմար մեթոդ է մուլտիպլեքս ՊՇՌ-ն, որն ընթանում է էլեկտրաֆորեզի միջոցով ԴՆԹ-ի ամպլիֆիկացված հատվածների հետագա բաժանմամբ: Միաժամանակ ամպլիֆիկացվում են մի քանի ներգենային հատվածներ՝ հիմնականում էկզոններ, ընդ որում, պրայմերներն ընտրվում են այնպես, որ այդ հատվածները տարբերվեն երկարությամբ և էլեկտրաֆորետիկ շարժունակությամբ:

Հիմքերի փոխանակումը չի փոխում հատվածների երկարությունը, հետևաբար դրանց որոշման համար կարելի է օգտագործել **ռեկստրիկցիոն հատվածների երկարության պոլիմորֆիզմի մեթոդը և սեկվենավորումը**: Նուկլեոտիդների փոխանակումների զգալի թիվը բերում է ԴՆԹ-ի հաջորդականություններում տարբեր ռեստրիկտազների համար նոր սայտերի առաջացմանը: Արդյունքում ԴՆԹ-ի նորմալ և նուկլեոտիդի փոխարինմամբ հատվածները կտրվում են միևնույն ռեկստրիկտազով երկարությամբ տարբերվող հատվածների: Էլեկտրաֆորե-

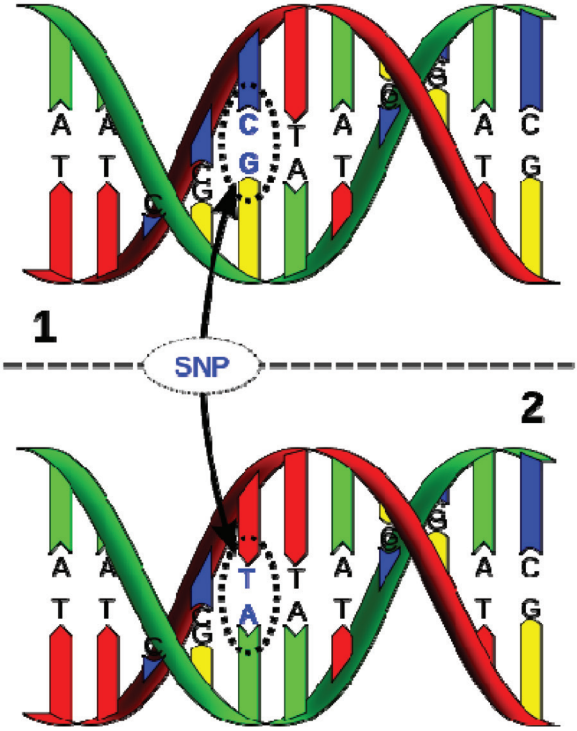
զի կիրառմամբ տարբեր երկարությամբ հատվածները հեշտությամբ հնարավոր է բացահայտել: ԴՆԹ-ի սեկվենավորմամբ որոշում են նուկլեոտիդային հաջորդականությունները: Այս մեթոդը օգտագործվում է մարդու գենոմի ուսումնասիրության նպատակով նորմայում և հիվանդությունների ժամանակ: Սեկվենավորմամբ որոշում են գեների ալելային տարբերակները նաև գենային մուտացիաների տարբեր տեսակները: «Մարդու գենոմ» ծրագրի արդյունք հանդիսացավ մարդու գենոմի նուկլեոտիդային հաջորդականությունների բացահայտումը, ինչն իրականացվել էր ԴՆԹ-ի սեկվենավորման մեթոդների կիրառմամբ:

Մշակվել են **միկրոչիպային տեխնոլոգիաներ**, որոնց օգնությամբ հնարավոր է անցկացնել տասնյակ և հարյուրավոր մուտացիաների միաժամանակ տեստավորում: ԴՆԹ օլիգոնուկլեոտիդային զոնդերը չնչին քանակով տեղադրվում է ամուր կրողների՝ չիպերի վրա, որից հետո անցկացվում է ԴՆԹ-ի հետազոտվող նմուշների հետ դրանց հիբրիդացումը: Միկրոչիպերի նանոտեխնոլոգիաների կիրառմամբ զանգվածային հետազոտություններ տարվում են տարբեր հիվանդների մոտ: Նման գենետիկական նիշերի միաժամանակ թեստավորումը հիվանդների խմբում և ստուգիչում թույլ է տալիս արդյունավետ կերպով առանձնացնել հիվանդության հետ կապված պոլիմորֆիզմները:

Ներկայումս մոլեկուլային-գենետիկական ավանդական մեթոդները զիջում են **ամբողջ գենոմի էքսպրեսիայի և սկանավորման** հետազոտություններին: Լիարժեք գենոմային սկանավորման իրականացումը հնարավոր դարձավ վերջին տասնամյակներում մի շարք բացահայտումների և տեխնոլոգիական նորամուծությունների շնորհիվ: Մարդու անհատական գենոմների սեկվենավորման ընթացքում հայտնաբերվել է հսկայական տարատեսակություն եզակի նուկլեոտիդների պոլիմորֆիզմի վերաբերյալ – SNPs (նկար 80): Մշակվել են նոր սերնդի բարձր տեխնոլոգիական մեթոդներ՝ GWAS (Genome-Wide Association Scan), որոնք թույլ են տալիս միաժամանակ նույնակայացնել մինչև միլիոն SNPs:

Միկրոչիպերի նանոտեխնոլոգիաների կիրառմամբ զանգվածային հետազոտություններ տարվում են տարբեր հիվանդների մոտ: Նման

գենետիկական նիշերի միաժամանակ տեստավորումը հիվանդների խմբում և ստուգիչում թույլ է տալիս արդյունավետ կերպով առանձնացնել հիվանդության հետ կապված պոլիմորֆիզմները:



Նկ. 80 Եզակի նուկլեոտիդների պոլիմորֆիզմ:

Գրականություն

1. **Եդոյան Ռ. Հ.** «Գենետիկա սելեկցիայի հիմունքներով», Երևան «Իրավունք», 2011, 274 էջ:
2. **Կիրակոսյան Ա. Գ.** Գենետիկայի խնդիրների ժողովածու, Երևան, «Զանգակ», 2010, 176 էջ:
3. **Հարությունյան Ռ. Մ.,** Քոչար Ն. «Հայ ժողովրդի մարդաբանություն և էկոլոգիական գենետիկա», Երևան, 1996, 233 էջ:
4. **Հովհաննիսյան Գ. Գ., Գևորգյան Ա. Լ.** «Մարդու մոլեկուլային բջջագենետիկա», Երևան, ԵՊՀ հրատարակչություն, 2007, 54 էջ:
5. **Айала Ф.** «Введение в популяционню и эволюционную генетику» М., 1984, с. 60-64.
6. **Бочков Н. П.** Клиническая генетика. -Москва, ГЭОТАР-МЕД, 2001, 448 с.
7. **Горбунова Н. В.** Генетика человека с основами медицинской генетики. Москва, издательский центр «Академия», 2012. - 240с.
8. **Жимулев И. Ф.** Общая и молекулярная генетика. – Новосибирск : Сибирское университетское издательство, 2003, 479с.
9. **Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешев Н. П.** Хромосомы человека: Атлас. – Москва.: Медицина, 1982, 263с.
10. **Ильинских Н. И., Новицкий В. В., Ванчугова Н. Н., Ильинских И. Н.** Микроядерный тест и цитогенетическая стабильность. – Томск :Изд-во Том. Ун-та,1992,272с.
11. **Инге-Вечтомов С. Г.** Генетика с основами селекции, Учебник для студдентов высших учебных заведений, 2-е издание, ИЗДАТЕЛЬСТВО Н-Л, Санкт-Петербург, 2010.
12. **Кондратьева В. М, Максимюк Н. Н.** Методы изучения генетики человека.- *Учебно-методическое пособие,* Великий Новгород, 2010, 60с.
13. **Мутовин Г. Р.,** Основы клинической генетики.- Москва, «Высшая школа», 2001, 234с.
14. **Нерсесян А. К.** Микроядерный тест в эксфолиативных клетках человека как метод изучения действия мутагенов /канцерогенов. Цитология и генетика. Киев,1996. Т.30, N 5, 91-96 с.
15. **Рахманин Ю. А.,Сычева Л. П.** Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях. – Москва, 2007, 316 с.
16. **Топорнина Н. А., Столинская Н. С.** Генетика человека.- Москва, Владос, 2001, 96с.

17. **Фогель Ф.,**Мотульски А. Генетика человека. – Москва,1990.-Т. 1-3.
18. **Швецов А. Г.,** Основы генетики.- Великий Новгород, 1988, 55с.
19. **Шевченко В. А., Топорнина Н. А., Стволинская Н. С.** ,,Генетика человека,, учебник для вузов, Москва, Владос, 2004, 240с.
20. **Шкурат Т. П., Асланян М. М. и соавторы.** Генетика человека. Электронный учебник, Москва.
21. Cohen HR[1], Royce-Tolland ME, Worringer KA, Panning B. Chromatin modifications on the inactive X chromosome. Prog Mol Subcell Biol. 2005;38:91-122.
22. Titenko-Holland N. Moore L. E. Smith M. T. Measurement and characterization of micronuclei in exfoliated human cells by fluorescence in situ hybridization with a centromeric probe // Mutat. Res. -1994. -312, N 1.-P. 39-50.

Համացանցային էջեր

- www.snpedia.com
- www.hapmap.org
- www.ensembl.org
- www.1000genomes.org
- www.pharmakbg.org
- www.ncbi.org
- www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/genomes-maps/
- www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/genetics-medicine/
- www.biospsma.spb.ru/SZGMU_SITE/M_Genetics/Cytogenetic_method_for_the_study_of_human_heredity.html
- www.medkursor.ru/biblioteka/nerve31/degener/4858.html

Բովանդակություն

Ներածություն 3
1. Տոհմաբանական վերլուծություն 6
1.1. Մոլեկուլային-գենետիկական մեթոդը տոհմաբանության մեջ 21
1.2. Գործնական աշխատանք 24
2.Դերմատոգլիֆիկական վերլուծություն 43
2.1. Լաբորատոր աշխատանք 53
3. Երկվորյակային մեթոդ 55
3.1. Գործնական աշխատանք 61
4. Պոպուլյացիոն (տեղախմբային) վիճակագրական մեթոդ 62
4.1. Գործնական աշխատանք 69
5. Բջջագենետիկական մեթոդ 79
5.1. Քրոմոսոմների դիֆերենցիալ ներկում 85
5.2. Մետաֆազային քրոմոսոմների վերլուծության մեթոդ 88
5.3. Լաբորատոր աշխատանք 90
5.4. Սեռական քրոմատինի որոշման մեթոդ 92
5.5. Լաբորատոր աշխատանք 95
5.6. Քույր քրոմատիդային փոխանակումների հաշվառման մեթոդը 96
5.7. Լաբորատոր աշխատանք - քույր քրոմատիդային փոխանակությունների ուսումնասիրություն 96
5.8. Միկրոկորիզային տեստ 97
5.9. Բջջակինեզի ճնշմամբ միկրոկորիզային թեստ 100
5.10. Լաբորատոր աշխատանք - բերանի խոռոչի լորձաթաղանթի բջիջներում միկրոկորիզների գնահատում 102
5.11. FISH (ֆլոորեսցենտ in situ հիբրիդացման) մեթոդը 103
5.12. Լաբորատոր աշխատանք՝ FISH վերլուծության համար նմուշների պատրաստում 106
6. Մոլեկուլային - գենետիկական մեթոդներ 107
Գրականություն 114

ԵՐԵՎԱՆԻ ՊԵՏԱԿԱՆ ՀԱՄԱԼՍԱՐԱՆ

Գ. Զալինյան, Ա. Կիրակոսյան

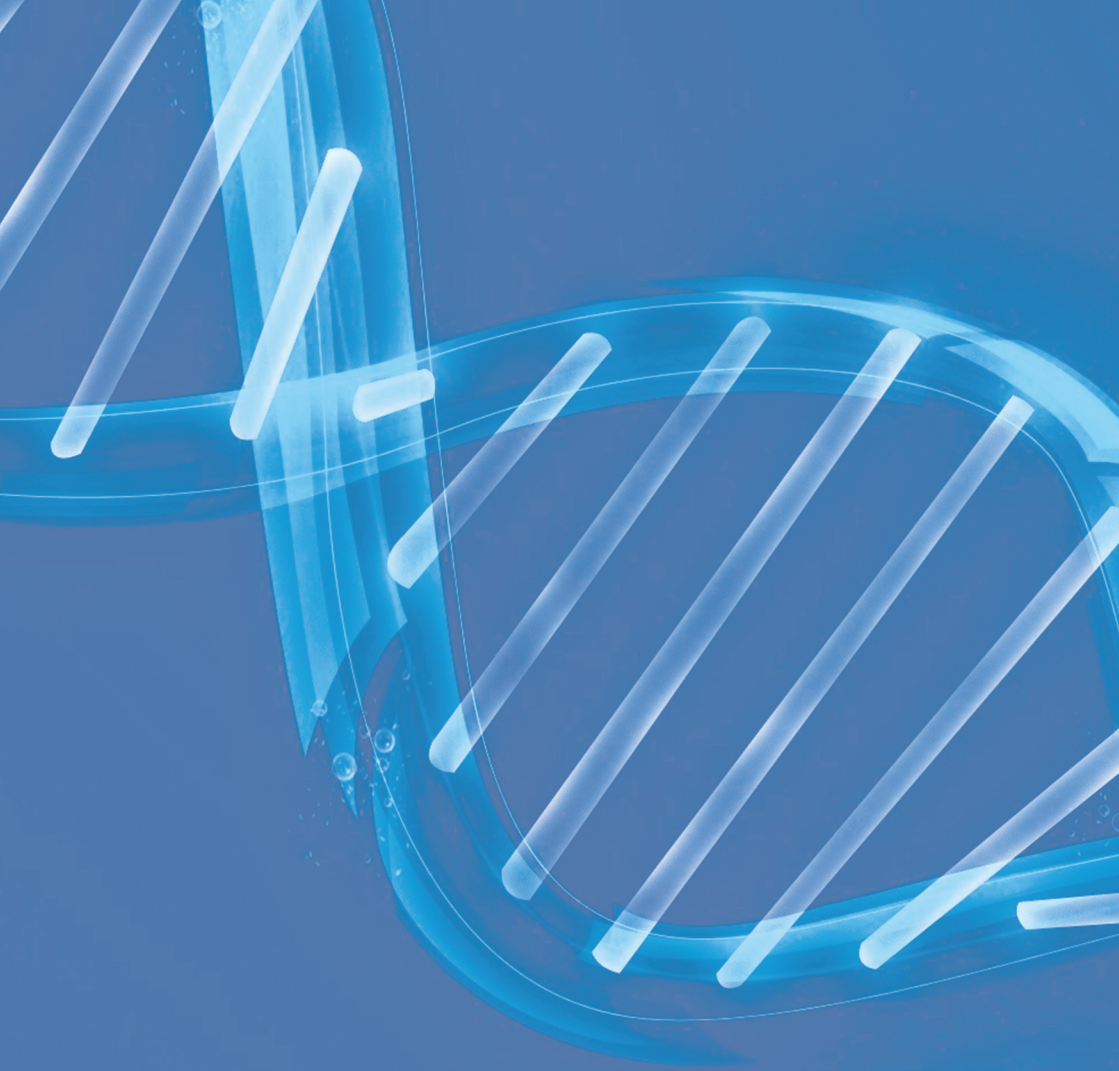
Մարդու գենետիկայի մեթոդներ

Համակարգչային ձևավորող՝ Կ. Չալաբյան
Կազմի ձևավորող՝ Ա. Պատվականյան
Հրատ. խմբագիր՝ Լ. Հովհաննիսյան

Չափսը՝ 60x84 1/16: Տպ. մամուլը՝ 7.5:
Տպաքանակը՝ 100 օրինակ:

ԵՊՀ հրատարակչություն

ք. Երևան, 0025, Ալեք Մանուկյան 1



ՏՊԱՏԱՐԱԿՉՈՒԹՅՈՒՆ
ԵՐԵՎԱՆ 2014