



中国科学院教材建设专家委员会规划教材

全国高等医药院校规划教材

医学遗传学实验

第2版

◎ 主编 张开立 李 宏



科学出版社

中国科学院教材建设专家委员会规划教材
全国高等医药院校规划教材

医学遗传学实验教程

第2版

主 编 张开立 李 宏

副主编 刘 铭 刘晓宇 吴茉莉 956660

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

程晓馨 李 宏 刘 佳 刘 铭

刘晓颖 刘晓宇 马景昕 潘林鑫

孙 媛 孙 铮 王 茜 吴茉莉

许国雄 张开立 张凌云 张 朋

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

《医学遗传学实验教程》包括基本实验和综合实验两部分内容。上篇主要介绍遗传性状分析、细胞遗传学和分子遗传学实验,如:家系分析、淋巴细胞染色体制备与核型分析、聚合酶链反应(PCR)技术和限制性酶切等常用基本实验技术;下篇着重介绍如何应用基本实验技术解决实际科研问题。下篇收录了9个真实完整的科研课题,对每个课题的研究背景、立题依据、课题设计以及实验流程进行层层剖析。通过系统教学,不仅可以让学生掌握医学遗传学基本实验技术,而且还可以培养学生的科研思维、主动思考能力以及解决实际科研问题的能力。

本教程适合本科各专业医学生作为遗传学实验教材,同时也可以作为研究生等科研入门人员课题设计、了解科研流程的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

医学遗传学实验教程 / 张开立, 李宏主编. —2 版. —北京: 科学出版社, 2018.1

ISBN 978-7-03-056332-3

I. ①医… II. ①张… ②李… III. ①医学遗传学—实验—医学院校—教学参考资料 IV. ①R394-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 008882 号

责任编辑: 王 颖 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

石家庄众旺彩印有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2012 年 3 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 1 月第 二 版 印张: 11 1/2

2018 年 1 月第五次印刷 字数: 303 000

定价: 39.80 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

21 世纪生命科学研究日新月异，而遗传学作为生命科学的核心学科极大地推动了生命科学的飞速发展。医学遗传学新技术的不断涌现使基因编辑、表观干预等得以实现，许多遗传学研究成果已经越来越广泛地应用于遗传病临床诊断、基因治疗以及疾病预防。特别是基因组计划完成之后，我们站在一个新的制高点，开展新一轮的表观基因组计划、精准医疗计划等。因此，在医学遗传学的教学过程中，如何与时俱进，抓住这些新时代的信息与特点是摆在教学工作面前的一个问题。

本实验教材最主要的特色在于设置基本实验和综合实验两部分内容。基本实验部分由“常见人类遗传性状的分析与遗传咨询”“细胞遗传学相关的实验”和“分子遗传学相关的实验”三章组成；本教材收录的九个综合实验，均为参编者真实承担和完成的科研课题。通过综合实验了解科学研究过程，使学生不仅仅掌握基本实验原理和操作，还能够主动思考，锻炼科研思维，学习如何应用基础的实验原理与操作解决科研问题，从而使学生按研究思路去学习基础遗传学知识和实验。授人以鱼不如授人以渔——传授掌握知识和解决问题的方法，比传授知识本身更加重要。

参加本教材编写的各位专家来自国内多所大学，长期工作在医学遗传学教学和科研的第一线，具有较深的学术造诣和丰富的教学经验。其中刘铭、刘晓宇和吴茉莉等老师负责遗传学基本实验的编写，张开立、许国雄和刘晓颖等老师负责综合实验的设计。由于编写时间和专业水平有限，教材中难免会出现一些问题，希望各位同仁以及使用本教材的师生们给予批评指正。编写过程中得到科学出版社的支持与配合，不胜感激。

张开立 李 宏

2017 年 10 月 9 日

目 录

上篇 基本实验

第一章 常见人类遗传性状的分析

与遗传咨询 1

实验 1-1 人类遗传病的家系分析与 讨论 1

实验 1-2 Bayes 法在遗传咨询中的 具体应用 4

实验 1-3 遗传度、杂合度、多态信息 量和吻合度测验 8

实验 1-4 遗传性疾病遗传方式的估计 10

实验 1-5 多基因遗传的人类皮肤纹理 分析 13

实验 1-6 人类 ABO 血型的检测和遗传 分析 19

实验 1-7 人类苯硫脲 (PTC) 尝味能力 的遗传分析 21

实验 1-8 人类常见单基因性状的鉴定 与群体遗传学分析 23

第二章 细胞遗传学相关的实验 27

实验 2-1 人类性染色质标本的制备与 观察 27

实验 2-2 外周血淋巴细胞培养与染色 体制备 29

实验 2-3 小鼠骨髓细胞染色体标本的 制备与观察 32

实验 2-4 染色体 G 显带技术 33

实验 2-5 核型分析 37

实验 2-6 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核 测定 39

实验 2-7 人类姐妹染色单体交换

(SCE) 标本的制备观察 (姐妹染色单体技术) 41

实验 2-8 荧光原位杂交 43

第三章 分子遗传学相关的实验 47

实验 3-1 真核生物组织及细胞基因组 DNA 提取 47

实验 3-2 组织及细胞中 RNA 的提取 48

实验 3-3 DNA 与 RNA 含量测定 50

实验 3-4 聚合酶链反应技术 (PCR) 体外扩增 DNA 片段 51

实验 3-5 反转录聚合酶链反应 (RT- PCR) 53

实验 3-6 实时定量 PCR (Real Time- PCR) 55

实验 3-7 DNA 序列测定 58

实验 3-8 质粒 DNA 提取 61

实验 3-9 限制性核酸内切酶对 DNA 进行酶切 65

实验 3-10 电泳分离酶切 DNA 片段 67

实验 3-11 DNA 片段的回收与纯化 69

实验 3-12 目的基因与载体片段的 连接 71

实验 3-13 感受态细胞的制备 74

实验 3-14 重组 DNA 的转化 76

实验 3-15 重组质粒的筛选 77

实验 3-16 核酸分子杂交技术 79

下篇 综合实验

第四章 基因多态性分析	87	第二节 特异性引物法检测胃癌细胞中	
第一节 概述	87	<i>S100A4</i> 基因剪切异构体	120
第二节 <i>CYP1A1</i> 基因多态性与胃癌易		第十一章 基因敲减在细胞功能研究中	
感性的相关性研究	87	的应用	124
第五章 PCR-SSCP 与基因点突变检测	93	第一节 概述	124
第一节 概述	93	第二节 用 siRNA 敲减卵巢癌细胞中	
第二节 PCR-SSCP 方法检测肿瘤细胞		的 <i>RPL10</i> 基因	125
<i>p53</i> 基因点突变	94	第三节 用 miRNA 敲减卵巢癌细胞中	
第六章 肿瘤细胞中基因印记状态的检测		的 <i>PNPO</i> 基因	128
方法	98	第十二章 克隆化基因在大肠杆菌中的	
第一节 概述	98	诱导表达及检测	132
第二节 胃癌组织中胰岛素样生长因		第一节 概述	132
子-2 基因印记缺失的检测	99	第二节 IPTG 诱导 Rb1 相关的 GST	
第七章 肿瘤组织中 <i>p16</i> 抑癌基因表达		融合蛋白的表达及检测	133
检测	103	附录一 SAGE 技术	140
第一节 概述	103	附录二 基因芯片技术	144
第二节 RT-PCR 方法检测胃癌组织中		附录三 RNAi 技术	149
<i>p16</i> 抑癌基因表达情况	104	附录四 MicroRNA 技术	153
第八章 肿瘤细胞中抑癌基因异常高甲		附录五 DNA 甲基化检测技术	157
基化检测与分析	109	第一节 概述	157
第一节 概述	109	第二节 DNA 甲基化的研究方法	158
第二节 胃癌细胞中抑癌基因 <i>p16</i> 启		附录六 生物信息学研究方法	161
动子区异常甲基化检测	110	第一节 生物信息学概述	161
第九章 去甲基化剂诱导基因表达研究	114	第二节 生物信息学的研究方法	162
第一节 概述	114	附录七 CRISPR/Cas9 基因编辑技术	164
第二节 5-aza-dC 诱导体外培养胃癌		附录八 亲子鉴定概述	171
细胞 <i>TIMP3</i> 基因表达检测	115	附录九 精准医学计划-人类基因组计划	
第十章 <i>S100A4</i> 基因剪接异构体的		的延续	174
检测	119	附录十 网络药理学研究方法	176
第一节 概述	119		

上篇 基本实验

第一章 常见人类遗传性状的分析与遗传咨询

实验 1-1 人类遗传病的家系分析与讨论

【实验目的】

1. 初步掌握人类遗传病系谱的分析方法，培养综合分析的能力。
2. 掌握单基因遗传病四种主要的传递方式及其特点。
3. 能识别和正确绘制单基因遗传病的系谱。
4. 熟悉常见遗传病的主要临床表现，为遗传病的诊断和咨询奠定基础。

【实验原理】

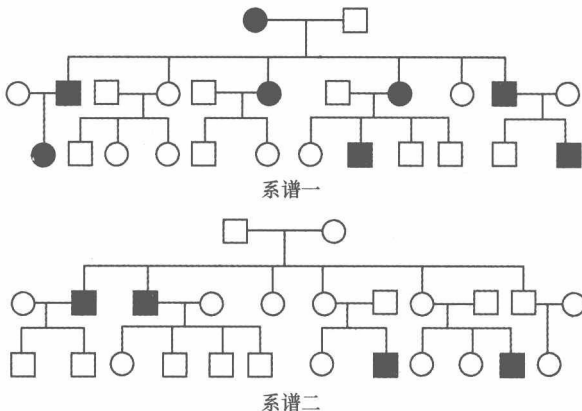
系谱分析 (pedigree analysis) 是了解、研究和诊断遗传病的一个常用方法。其基本过程是，从先证者入手，尽可能多地调查其亲属的某些性状和患病情况，对家族各成员出现的某种性状或遗传病的情况进行详细调查并分析，再以特定的符号和格式绘制成反映家系各成员之间的相互关系、出现的性状或发病情况的图解，即系谱。然后根据遗传的基本定律分析每一个成员的表现型和基因型，判断某种性状或遗传病属于何种遗传方式，是单基因遗传还是多基因遗传；如果是单基因遗传，进一步确认是常染色体显性、隐性遗传，还是性连锁遗传。

人类遗传性疾病往往需要通过家系调查和系谱分析，才能了解它的遗传方式及其规律，因此掌握系谱分析方法，对于遗传病的诊断、预防等有着重要的临床意义。

【实验内容与方法】

1. 教师简要介绍系谱分析法和注意事项。
2. 引导学生复习系谱中的常用符号、各种单基因遗传病的主要传递特点。
3. 运用遗传规律，针对以下各个系谱所提出的问题进行分析和讨论。

(1) 试指出下列各系谱中 (图 1-1) 所显示的“疾病”最可能的遗传方式是什么？写出其判断依据，并推断患者及其父母的基因型。



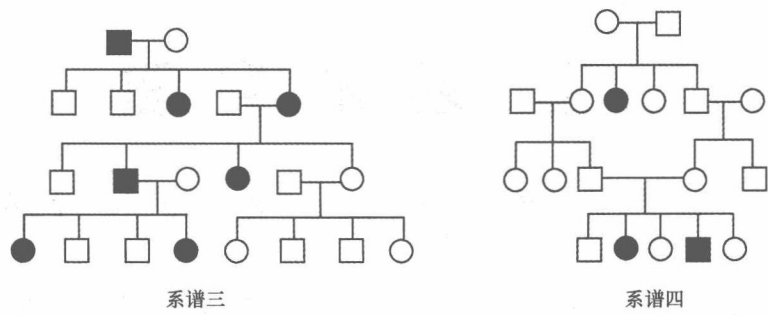


图 1-1 四例遗传病家系

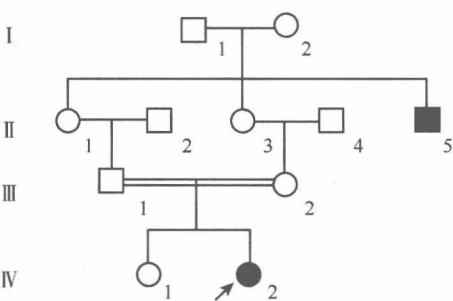


图 1-2 一例 PKU 家系

(2) 图 1-2 为一苯丙酮尿症 (PKU) 家系。哪些个体为 PKU 疾病致病基因的肯定携带者? IV-1 为致病基因携带者的概率是多少? 先证者的基因型是什么? 其同胞的发病风险有多大? 什么是近亲婚配, 近亲结婚对后代有何危害?

(3) 神经纤维瘤 (NF1) 是属于一种常染色体显性遗传病。一对夫妇的孩子患有严重的神经纤维瘤病。他的双亲表型都正常, 他们的家系中没有患有该种疾病的个体。试解释孩子发病的原因? 这对夫妇再次生育时, 后代的发病风险是多少? 该患儿的后代发病风险有多大?

(4) 请指出以下系谱 (图 1-3) 中所显示疾病的遗传方式? 并利用你所学过的遗传学知识来解释下列系谱中出现的各种遗传现象。

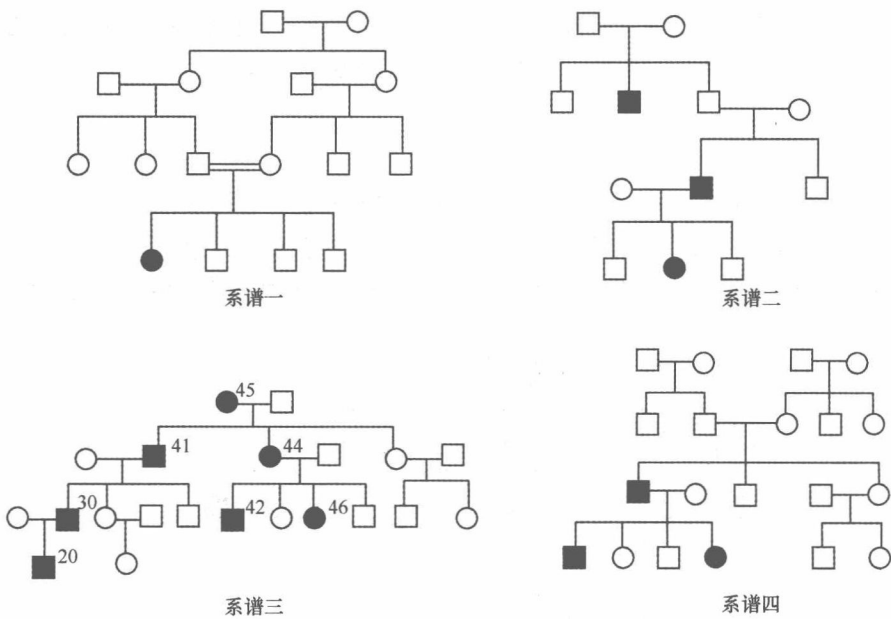


图 1-3 四例遗传病家系系谱

(5) Don 和他的姥爷 Barry 都是甲型血友病的患者。Diane 是 Don 的妻子, 她是 Don 的姨的女儿。Diane 和 Don 现有一个儿子 Edward 和两个女儿 Elise 和 Emily, 这三个孩子都是甲型血友病

的患者，他们还有一个小女儿 Enid 是正常人。请根据题意绘制系谱，为什么有两个女儿是患者？写出 Diane 和 Don 所有子女的基因型。现 Elise 和一个正常男性婚配，试问她的女儿或儿子为甲型血友病的可能性有多大？如果 Enid 和某正常男性婚配，他们的后代的发病风险有多大？

(6) 一个刚出生的男婴伴有很多的畸形，但尚未确认是哪种疾病。孩子的双亲不是近亲婚配，并且没有类似疾病的家族史。下列哪些条件可以解释此情况，哪些不能解释？为什么？①常染色体显性遗传伴有新突变；②常染色体显性遗传伴有不完全外显；③常染色体显性遗传伴有表现度的差异；④常染色体隐性遗传；⑤X 连锁隐性遗传；⑥母亲怀孕的敏感时期摄入了某些致畸性药物。

【注意事项与常见问题】

进行系谱分析应注意以下几项：

(1) 系谱的系统性、完整性和可靠性。完整的系谱应有三代以上有关患者及家庭的情况。有关成员要逐个查询，特别是关键不可遗漏，死亡者须查清死因，是否近亲婚配、有无死胎、流产史，并记录在系谱中。在家系调查过程中避免由于患儿或代诉人不合作或提供假情况，必要时应对患者亲属进行实验室检查和其他辅助检查使诊断更加可靠。

(2) 分析显性遗传病时，应注意对已知有延迟显性的年轻患者，由于外显不全而呈现隔代遗传现象进，不可误认为是隐性遗传。

(3) 新的基因突变。有些遗传家系中除先证者外，家庭成员中找不到其他的患者，因而很困难从系谱中判断其遗传方式，更不可因患者在家系中是“散发的”而定为常染色体隐性遗传。

(4) 显性与隐性概念的相对性。同一遗传病可采用的观察指标不同而得出不同的遗传方式，从而导致发病风险的错误估计。遗传方式不同，对后代复发风险估计也应不同。

常见问题：临床上，遗传系谱上的统计人数相对较少，所以根据男女患病人数的差异进行判断并不可靠，可通过系谱分析并结合群体统计做出最终判断。

【作业与思考题】

1. 汇报所有判断的结果，并简单回答以上病例出现的问题。
2. 总结单基因遗传病的传递方式有哪些？各有什么特点？如何鉴别？
3. 学生独自分析下列 4 个病例，并解答所有问题。

病例 1: Duchenne 肌营养不良为一种 X 连锁隐性遗传病 (XR)，一男性患者的母亲为杂合子，但也有临床症状出现，试分析其原因。

病例 2: 一对表型正常的夫妇生出了 1 个 I 型先天聋哑的女儿，此聋哑女儿长大后与一个 I 型先天聋哑男子结婚并生育了 1 个表型正常的儿子，请解释此现象。

病例 3: 现有一个家庭，父亲为短指症患者，母亲表型正常，儿子患有白化病，如果再次生育，会出现什么情况？

病例 4: 一维生素 D 缺乏性佝偻病 (属于 XD) 女性患者，其父亲正常，她现已和一正常男性结婚，婚后已生育一个患有维生素 D 缺乏性佝偻病的儿子，欲生第二胎，并来进行遗传咨询。请帮助解答以下的问题：①欲生第二胎，生出患病子女的可能性有多大？②你对他们有何忠告？

4. 系谱分析应注意哪些事项？在遗传病的诊断中有何作用？

(刘 铭)

实验 1-2 Bayes 法在遗传咨询中的具体应用

【实验目的】

1. 掌握遗传病再发风险的估计方法。
2. 掌握 Bayes 法在遗传咨询中的具体应用。

【实验原理】

遗传咨询 (genetic counselling) 是应用遗传学和临床医学的基本原理和技术, 由咨询医师和咨询对象 (遗传病患者本人或其家属) 就某种遗传病在家庭中的发生情况、再发风险、诊断和防治上所面临的问题, 进行一系列的交谈和讨论, 使患者或其家属对该遗传病有全面的了解, 选择最适当的决策。遗传咨询是可分为婚前咨询、出生前咨询、再发风险咨询等。其目的是确定遗传病患者和携带者, 并对其后代患病的危险率进行预测, 以便商谈应采取的预防措施, 减少遗传病患儿的出生, 降低遗传病的发病率, 提高人群遗传素质和人口质量。

遗传病的复发风险是指家庭中有遗传病患者时, 其有亲缘关系的亲属再患同样疾病的可能性。在预测单基因遗传病的发病风险时, 根据家系咨询所提供的信息, 如果不考虑患者家系中的实际遗传情况, 而仅按孟德尔遗传规律加以估计, 所获得的再发风险概率, 往往是不够准确的, 尤其是那些亲代的基因型不能确定的个体。1963 年, Bayes 提出一种确认两种相斥事件相对概率的理论。当将这一理论应用于遗传咨询时, 它不仅考虑该病的遗传规律和基因型, 而且还考虑到该患者家系中的具体发病情况, 如已出生正常子女数、个体年龄、疾病的外显率等。因此, 应用 Bayes 定理更能准确推算出单基因遗传病的发病风险或再发风险, 临床上, 已在遗传咨询中普遍应用这一计算方法。

应用 Bayes 定理进行逆概率运算时常用的几个概念:

(1) 前概率 (prior probability): 根据孟德尔分离定律推算的某个成员具有某种基因型的概率。提示一个个体是携带者的可能性 (概率) 是多少, 不是携带者的可能性 (概率) 是多少。

(2) 条件概率 (conditional probability): 在某种假设条件下出现的实际情况的概率。包括在不规则显性遗传病中, 由于不完全外显而未患病个体的概率; 延迟显性遗传病中, 未达到发病年龄的个体的概率; 隐性遗传病中, 携带者已生出一定数量正常子女的概率。

(3) 联合概率 (joint probability): 某一种基因型前提下前概率与条件概率所说明的两个事件同时出现的概率, 即前概率与条件概率之乘积。

(4) 后概率 (posterior): 某一假设条件 (每一基因型) 下的联合概率除以所有假设条件下的联合概率之和, 即联合概率的相对概率。

Bayes 定理在遗传咨询中的应用, 主要是在双亲之一或双方的基因型未知的情况下, 即应用 Bayes 定理, 分别以前概率和条件概率计算出联合概率和后概率, 得出所要知道的后概率, 从而计算出未发病后代或以后出生子女的再发风险。利用 Bayes 定理所计算出的概率, 比只用一般单基因遗传规律得出的概率更准确, 更接近实际。

【实验内容与方法】

1. 简要介绍 Bayes 法和具体的计算程序。
2. 组织学生讨论、分析各种需要应用 Bayes 法进行再发风险计算的病例。
3. 运用遗传的基本规律和 Bayes 法, 对下列病例进行分析计算, 估计某些个体将来产生遗传病后代的发病风险。

(1) 常染色体显性遗传病发病风险估计

1) 外显不完全：视网膜母细胞瘤的遗传方式属于常染色体显性遗传，此外显率为 70%，一位女性的表型正常，她的母亲患有此病，现在她与一名正常男性婚配所生子女的患病风险如何？如图 1-4 所示。

如果按照孟德尔遗传的基本规律来计算，该女性携带致病基因而未发病的概率为 1/2，她后代的患病风险为 1/4，即 25%。

如果按照 Bayes 法计算，则首先计算该女性是杂合子 (Aa) 而未发病的概率。如表 1-1 所示，先计算前概率，她的基因型为 Aa 或 aa 的概率各为 1/2，即 0.5。再计算条件概率，已知该病的外显率为 70%，她的基因型为 Aa 而未受累的概率为 1-70%，即 0.3；而她的基因型为 aa 且表型正常的概率为 100%，即 1。依次求出的联合概率分别为 0.15 和 0.5；后概率分别为 0.23 和 0.77。因此，该女性是杂合子而未受累的概率为 0.23，再求她的子女的患病风险，即 $0.23 \times 0.5 \times 0.7 = 8.05\%$ 。对比这两种不同的计算方式，Bayes 法计算求得的后代发病风险远低于按遗传规律计算的患病风险。

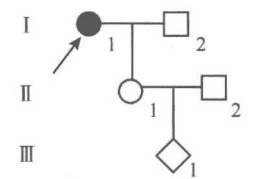


图 1-4 一个视网膜母细胞瘤的家系

表 1-1 该女性为杂合子且未受累的概率

	Aa	aa
前概率	0.5	0.5
条件概率	$1 - 0.7 = 0.3$	1
联合概率	$0.5 \times 0.3 = 0.15$	$0.5 \times 1 = 0.5$
后概率	$0.15 / (0.15 + 0.5) = 0.23$	$0.5 / (0.15 + 0.5) = 0.77$

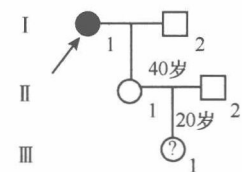


图 1-5 一个 Huntington 舞蹈病家系

2) 延迟显性：Huntington 舞蹈病 (HD) 是一种晚发型的 AD 遗传病，其发病率受年龄的制约，40 岁时表达率为 70%；20 岁时表达率为 10%。现就下图 (图 1-5) 中一个 HD 家系，说明按 Bayes 法定理计算 III₁ 发病风险的计算程序。

如按遗传规律计算 II₁ 为杂合子的概率为 1/2，III₁ 为杂合子且将来发病的风险为 1/4，即 25%；如按 Bayes 法计算，应先计算 II₁ 为杂合子 (Aa) 而未发病的概率 (表 1-2)。II₁ 是杂合子和不是杂合子 (基因型为 aa) 的前概率各为 1/2，即 0.5。该家系中 II₁ 已 40 岁但尚未发病。HD 杂合子 (Aa) 在 40 岁时的外显率为 70%，因此，II₁ 是杂合子且 40 岁未发病的条件概率为 1-70%，即 30%；II₁ 不是杂合子，40 岁未发病的条件概率为 100/100，即 1。依次求出的联合概率分别为 3/20 和 10/20；后概率分别为 3/13 和 10/13。

表 1-2 II₁ 是 (Aa) 或是 (aa) 杂合子的概率

	Aa	aa
前概率	0.5	0.5
条件概率	$1 - 70\% = 30\%$	1
联合概率	$1/2 \times 3/10 = 3/20$	10/20
后概率	3/13	10/13

然后，再计算 III₁ 是杂合子而未发病的概率 (表 1-3)。III₁ 是杂合子的前概率是 $1/2 \times 3/13 = 3/26$ ，III₁ 不是杂合子的前概率是 23/26。由于本病在 20 岁时外显率为 10%，若 III₁ 是杂合子，20 岁未发病的概率是 1-10%，即 90%；若 III₁ 不是杂合子，20 岁未发病的概率为 100%。依次求出的联合概率分别为 270/2600 和 2300/2600，后概率分别为 $270/2570 = 0.105$ 和 $2300/2570 = 0.895$ 。

表 1-3 图中Ⅲ₁是或不是杂合子的概率

	Aa	aa
前概率	3/26	23/26
条件概率	90/100	100/100
联合概率	270/2600	2300/2600
后概率	270/2570 = 0.105	2300/2570 = 0.895

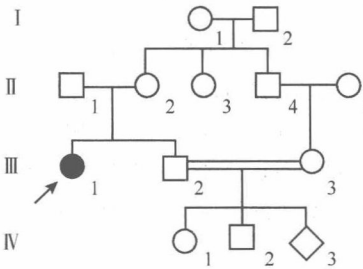


图 1-6 一个先天性聋哑家系

因此，在此家系中，Ⅲ₁ 将来的发病风险，如按遗传规律计算为 1/4，即 0.25；若按 Bayes 法计算则仅为 0.105，两者相差悬殊，即 Bayes 定理推算的发病风险为准确可靠。

(2) 常染色体隐性遗传病发病风险估计：现以先天性聋哑为例，说明 Bayes 定理在常染色体隐性遗传病中的应用。先天性聋哑是一种常染色体隐性遗传病。在一个先天性聋哑的家系中，如图 1-6 所示。Ⅲ₁ 是一个先天性聋哑患者。她的同胞弟弟与他的表妹婚后生有一男一女，均不聋哑，现前来咨询，问再生第三个孩子 (Ⅳ₃)，患有先天聋哑的风险如何？

根据家系资料分析可知，只有当Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子时，子代才可能得病。故应先计算出Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子的概率。Ⅲ₂ 的姐姐 (Ⅲ₁) 患有本病，故可推测Ⅲ₂ 和Ⅲ₁ 的父母都是杂合子为携带者，Ⅲ₂ 为表型正常的杂合子的概率是 2/3。由于Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 是近亲婚配，Ⅱ₂ 和Ⅱ₄ 为一级亲属，Ⅱ₄ 是杂合子的概率为 1/2，Ⅲ₃ 为杂合子的概率为 1/2×1/2 = 1/4。Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 可能有三种婚配类型：即Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 都为杂合子 (Aa)；Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 都为纯合子 (AA)；Ⅲ₂ 为纯合子，Ⅲ₃ 为杂合子或者Ⅲ₂ 为杂合子，Ⅲ₃ 纯合子。后两种婚配类型不可能出生的患儿，可把它们合并在一起。只有第一种婚配类型才可能生出患儿。因此，只要计算出Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 在已生出两个正常孩子的条件下，均为杂合子的概率，就能得出第三胎的再发危险率。

Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子的前概率等于这两个独立事件的乘积，即 2/3×1/4 = 1/6 (表 1-4)。Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为纯合子或其中一个是纯合子，另一个是杂合子的前概率应为 1-1/6 = 5/6。如Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子，出生一个表型正常子代的概率是 3/4，出生两个表型正常子代的概率应为 3/4×3/4 = 9/16，此即为条件概率。而另外两种婚配类型出生正常孩子的条件概率 1×1 = 1 然后分别算出他们的联合概率和后概率，最后得到Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子的后概率分别为 3/11，因此他们第三胎的再发风险是 3/11×1/4 = 3/44。

表 1-4 Ⅲ₂ 和Ⅲ₃ 均为杂合子的概率

	Ⅲ ₂ 和Ⅲ ₃ 均为 Aa	Ⅲ ₂ 和Ⅲ ₃ 均为 AA；或一个为 AA 另一个为 Aa
前概率	2/3×1/4 = 1/6	1 - 1/6 = 5/6
条件概率	3/4×3/4 = 9/16	1
联合概率	1/6×9/16 = 3/32 = 3/96	5/6×1 = 5/6 = 30/96
后概率	3/11	10/11

(3) X 连锁隐性遗传病发病风险的估计：甲型血友病为一种 X 连锁隐性遗传病，以男性发病为主，患儿的母亲为携带者。现以图 1-7 的一个甲型血友病家系为例，利用 Bayes 定理计算Ⅳ₁ 将来发病风险如何。

如按遗传基本规律计算，Ⅱ₄、Ⅲ₈ 都已发病，表明这一家系中，致病基因不是新突变产生，而是从致病基因携带者 I₁ 传来，即 I₁ 为肯定携带者，因此，Ⅱ₂ 是携带者的概率为 1/2，Ⅲ₅ 是携带者的概率为 1/4，Ⅳ₁ 发病的风险则是 1/8。

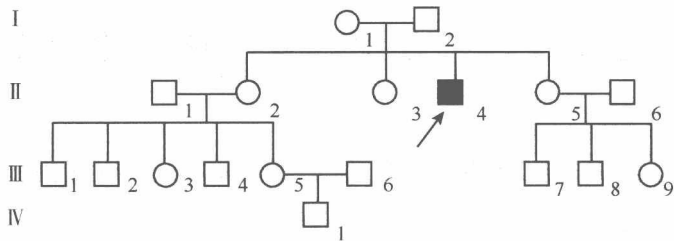


图 1-7 一个甲型血友病家系

如按 Bayes 定理计算，则结果有所不同。首先计算 II_2 是携带者的概率（表 1-5）。从系谱中寻找参考信息时可见， II_2 已生出 III_1 、 III_2 、 III_4 三个无病的儿子，这就是一个重要信息，在考虑其生育的情况下，因此，如果 II_2 是携带者，她连生三个儿子都无病的概率是 $1/2 \times 1/2 \times 1/2 = 1/8$ ，如果 II_2 不是携带者，她连生三个儿子都无病的概率是 $1 (8/8)$ ，将它们的前概率与条件概率相乘，即得出各自的联合概率，分别为 $1/16$ 和 $8/16$ 。将两项的联合概率之和作为分母，将每项联合概率作为分子，即可得出各自的后概率，分别为 $1/9$ 和 $8/9$ 。由此表明， II_2 是携带者的概率不是 $1/2$ ，而是降低为 $1/9$ ；相反， II_2 不是携带者的概率也不是 $1/2$ ，而增高到 $8/9$ 。 II_2 正常的儿子越多，她是杂合子的可能性就越小。

表 1-5 图 1-7 中 II_2 是 ($X^A X^a$) 或不是 ($X^A X^A$) 携带者的概率

	$X^A X^a$	$X^A X^A$
前概率	$1/2$	$1/2$
条件概率	$1/8$	$8/8$
联合概率	$1/16$	$8/16$
后概率	$(1/16) \div (9/16) = 1/9$	$(8/16) \div (9/16) = 8/9$

然后，再计算 III_5 是携带者概率。由于 II_2 是携带者的后概率为 $1/9$ ，因此 III_5 的概率将为 $1/9 \times 1/2 = 1/18$ ，从而可以估计 IV_1 的将来发病风险为 $1/18 \times 1/2 = 1/36$ 。

这表明按遗传规律计算和按 Bayes 法计算的 IV_1 的发病风险，相互有较大的差异，由于 Bayes 定理考虑到了全面信息，所以其计算的结果更能反映家系子女发病的真实情况，预测的发病风险更为准确、可靠。

【注意事项与常见问题】

- 1. 应用 Bayes 法进行遗传咨询时，应熟练地运用孟德尔定律，熟悉各种遗传方式在不同组合下亲代与子代的关系，并具有分析推理能力，善于思考各种情况下的因果关系。
- 2. Bayes 逆概率定理常可用于：①根据正常子女数估计亲代是隐性致病基因携带者的概率。
- ②根据个体的年龄估计延迟显性病的发病可能。③根据外显率估计后代患 AD 病的风险。

【作业与思考题】

- 1. 一种常染色体显性遗传病的外显率为 60%，一个人的祖母患此病，他的父亲未患此病，他本人将来患此病的风险如何？试按 Bayes 法计算。
- 2. 一位妇女是白化病的患者，她与一表兄结婚，婚后有两个正常子女，问他们再生子女患病的可能性有多大？
- 3. 什么情况下适用逆概率定律计算后代发病风险？应用的前提是什么？

（刘 铭）

实验 1-3 遗传度、杂合度、多态信息量和吻合度测验

【实验目的】

掌握遗传度、杂合度、多态信息量和吻合度测验的计算方法和实际应用。

【实验内容与方法】

1. 遗传度的计算 在多基因遗传病中，易患性的高低受遗传基础和环境因素的双重影响，其中遗传因素所起作用的大小称为遗传度，亦称为遗传率 (heritability)，一般用百分率 (%) 来表示。在遗传率高的疾病中，遗传率可高达 70%~80%，表明遗传基础在决定易患性变异和发病上有重要作用，环境因素的作用较小；在遗传率低的疾病中，遗传率可仅为 30%~40%，表明在决定易患性变异和发病上，环境因素有重要作用，遗传因素的作用不显著。遗传度的计算是从一般群体和患者亲属易患性分布的对比中求得的。常用的遗传度的计算是应用 Falconer 公式，该公式是根据先证者亲属的发病率与遗传度有关而建立的。

$$h^2 = \frac{b}{r}, \quad b = \frac{X_g - X_r}{a_g}, \quad V_b = \left(\frac{1}{a_g}\right)^2 W_r = \left(\frac{1}{a_g}\right)^2 \left(\frac{1-q_r}{a_r^2 A_r}\right)$$

$$S_{h^2} = \frac{\sqrt{V_b}}{r}, \quad t = \frac{h^2}{S_{h^2}}$$

$$h^2 \text{ 的加权平均值} = \frac{\frac{h_1^2}{S_1^2} + \frac{h_2^2}{S_2^2} + \frac{h_3^2}{S_3^2} + \dots + \frac{h_n^2}{S_n^2}}{\frac{1}{S_1^2} + \frac{1}{S_2^2} + \frac{1}{S_3^2} + \dots + \frac{1}{S_n^2}}$$

$$S_{h^2} \text{ 的加权平均值} = \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{S_1^2} + \frac{1}{S_2^2} + \frac{1}{S_3^2} + \dots + \frac{1}{S_n^2}}}$$

式中各种符号的含义为：

b	亲属易患性对先证者易患性的回归系数
R	亲属系数
X_g	一般群体易患性平均值与阈值之间的标准差数
X_r	先证者亲属易患性平均值与阈值之间的标准差数
a_g	一般群体易患性平均值与一般群体中患者易患性平均值之间的标准差数
a_r	先证者亲属易患性平均值与先证者亲属中患者易患性平均值之间的标准差数
q_g	一般群体发病率
q_r	先证者亲属发病率
A_r	先证者亲属中的病例数
V_b	b 的方差
S_{h^2}	h^2 的标准误
$h_1^2, h_2^2, h_3^2, \dots, h_n^2$	分别为各级亲属的遗传度
$S_1, S_2, S_3, \dots, S_n$	分别为各级亲属遗传度的标准误
X_g, X_r 和 a_g, a_r	均可由一般群体发病率和先证者亲属发病率查 Falconer 表得到

实例分析：对先天性房间隔缺损的调查发现，该病的群体发病率为 0.1%，在先证者的一级亲属 1777 人中，有 35 人患该病，二级亲属 4746 人中，有 16 人患该病，三级亲属 4220 人中，有 8

人患该病, 请根据上述数据, 按所给公式估算先天性房间隔缺损的遗传度, 并将结果填入表 1-6 内。

表 1-6 先天性髋关节脱位的遗传度估算

	A_r	N	$q(\%)$	X	A	B	V_b	$S_{h^2}(\%)$	$h^2(\%)$	T	P
一般群体											
一级亲属											
二级亲属											
三级亲属											
加权均值											

2. 杂合度和多态信息量的计算 杂合度 (heterozygosity) 是群体在某一基因座位上遗传变异程度的一个测度, 即在种群中指特定基因座上杂合个体的比率。由该座位所有杂合子在群体中所占的频率来表示。如果某个等位基因具有很高的的频率而其他等位基因的频率都接近于零, 则群体的杂合度将很低, 因为绝大多数的个体将是同一等位基因的纯合体。如果同一座位的所有等位基因都具有相同的基因频率, 则该座位上群体的杂合度达到最大。群体遗传学上某基因座位上的杂合度常用以下公式来表示:

$$h = 1 - \sum p_i^2$$

式中, h 代表杂合度; p_i 代表第 i 个等位基因的频率。

多态信息量 (polymorphism information content, PIC) 是指在连锁分析中一个遗传标记多态性可提供的信息量的度量。它是一个亲本为杂合子, 另一亲本为不同基因型的概率。位于常染色体上的标志基因, 其 PIC 值的估计公式已由 Botstein 推导出, 为:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

式中, p_i 代表第 i 个等位基因的频率; p_j 代表第 j 个等位基因的频率; n 代表该位点的等位基因数。位点的 PIC 取决于该位点的各等位片断的数目和各自的频率。PIC 小于或等于该位点的杂合度。在 X 连锁的多态性标记的 PIC 等于杂合度。

多态信息量 (PIC) 与杂合度是两个不同的概念, 前者指拟用作连锁分析的双亲 (至少而且通常是一个亲代为目的基因与标志基因都处于杂合状态的双杂合子) 组合的婚配导致子代中标志基因 (现更多应用标志序列) 多态性的信息量, 而后者指处于 Hardy-Weinberg 平衡的整个群体或整个亚群体某座位等位基因 (或复等位基因) 的杂合形成的多态性。两者应用也不同, PIC 用于家系连锁分析, 作基因定位或产前诊断的辅助工具; 而杂合度则用于群体遗传学上隔离效应、近亲婚配效应、突变和迁移诸方面的研究。

实例计算: 从某汉族人群随机抽取 171 人组成样本, 对位于第 8 号染色体的 N-乙酰化转移酶 2 (N-acetyltransferase 2, NAT2) 位点进行基因分型, 结果见表 1-7。请按所给公式计算该人群 NAT2 位点的杂合度 (heterozygosity, h) 和多态信息容量 (polymorphic information content, PIC)。

表 1-7 某人群 NAT2 位点的等位基因频率

等位基因	等位基因数	基因频率	等位基因	等位基因数	基因频率	等位基因	等位基因数	基因频率
F ₁	138		S ₃	15		S ₈	14	
S _{1a}	1		S ₄	23		S ₉	11	
S _{1b}	14		S ₅	1		S ₁₀	3	
S _{1c}	2		S ₆	2		S ₁₁	19	
S ₂	43		S ₇	41		S ₁₂	15	

3. 基因的吻合度测验 医学遗传学研究中，常常将一组观察获得的数据与一组基于原假设下获得的预期值相比较，根据这两组数据间的差异是否显著，来判断原假设是否正确。当预期值与观察值间的差异既不是非常相似，也不是明显不同时，我们用 χ^2 检验来检测一个原假设的真伪，通常把出现观察值与预期值之间的误差限的概率小于 5% 来拒绝原假设。其中的 P 值根据求得的 χ^2 值经查 χ^2 分布表得出。通常 $P > 0.05$ 就认为可以接受原假设，即认为观察值与预期值之间无显著差异。

检测 106 例健康汉族人的 *NAT2* 基因型，发现基因型 F_1/F_1 为 24 例， F_1/S 为 52 例， S/S 为 30 例，根据该检测结果，就 *NAT2* 基因而言，基因频率估计的可靠性和样本的代表性如何（表 1-8）？

等位基因 F_1 的频率 $p =$ _____；等位基因 S 的频率 $q =$ _____。

表 1-8 *NAT2* 基因的吻合度测验

基因型	期望频率	期望数	观察数	χ^2
F_1/F_1				
F_1/S				
S/S				
合计				

$$\chi^2 = \sum \frac{(\text{期望数} - \text{观察数})^2}{\text{期望数}}$$

自由度 $df =$ 基因型类型的自由度 - 等位基因数的自由度
= (基因型数 - 1) - (等位基因数 - 1)

【作业与思考题】

1. 将上述各计算结果写成实验报告交老师。
2. 有人在某地区进行克汀病调查，发现患者的 1217 名一级亲属中，49 人发病，发病率为 0.04，而对照者的 45076 名一级亲属中，有 263 人发病，发病率为 0.0058。试计算克汀病的遗传率。

(刘 铭)

实验 1-4 遗传性疾病遗传方式的估计

【实验目的】

掌握疾病遗传方式的估计方法：分离分析法及其应用。

【实验内容与方法】

分离分析 (segregation analysis) 是指通过系谱图分析，疑为单基因遗传病时，可以分离分析检验实际观察的子代同胞分离比与某特定遗传方式所决定的理论分离比是否存在显著性差异，来判断所研究疾病是否符合假定的遗传方式。如观察值同理论值相一致，即对该病遗传方式的假设成立。分离比是指患者在同胞总数中的比值。

1. 常染色体显性遗传方式的检验：Roberts-Pembry 法 采用完全确认方法，根据单一发病父亲或母亲确认家系资料，确认不依赖于家中子女是否发病。当假设某致病基因的频率很低时，可认为患病亲代的基因型为杂合子。所以，该确认方法是将具有某种婚配类型、其中一方发病的夫妻作为随机确认对象，再通过其子女的表现型推断他们的基因型分布。同时假设该致病基因的表达不依

赖于年龄和环境等因素而呈完全外显。然后根据 χ^2 检验的结果判断所研究疾病是否按常染色体显性方式遗传。

$$\chi^2 = \frac{(|A-N|-1)^2}{A+N}, \quad df=1$$

式中， A 代表患病子女总数； N 代表正常子女总数。

例如，在某群体中调查软骨发育不全症的家庭共 80 户，父或母之一为患者，另一方正常。调查后发现在 112 名子女中有 52 人患有该症，分离比为 0.46 (52/112)，与常染色体显性遗传的分离比 (0.5) 极为接近。试按 Roberts-Pembry 法检验该症在家系中的传递是否符合常染色体显性遗传方式。

2. 常染色体隐性遗传方式的检验：Li-Mantel-Gart 法 调查常染色体显性遗传病时，指示病例不易遗漏。若调查的是一隐性遗传病，势必漏掉一大批其双亲是该病的携带者而子代同胞中无病例的各小家系。因此对于常染色体隐性遗传病则采用不完全截断确认方式，并且需要只有 1 个同胞发病的家系数数据，由于诊断和收集病例的效果低，故它的偏倚更大。因此在作为分离比调查时，尤其是隐性遗传病需要纠正。Li-Mantel-Gart 法又称单病例法，精确度较高，而且计算方法比较简单，但要确定单病例的同胞组并计算其数，用于完全确认。其计算公式为：

$$P = \frac{R-J}{T-J}, \quad SE_P = \sqrt{\frac{(R-J)(T-R)}{(T-J)^3}}$$

式中， P 代表分离比，即同胞中患者所占的比例； SE_P 代表分离比的标准误； T 代表同胞总数； R 代表同胞中患者总数； J 代表同胞中只有 1 例患者的家系数。

白化病为常染色体隐性遗传病，对于该病我们假定它在同胞组中的分离比约为 3 : 1，在对某地区白化病 I 型的调查结果如表 1-9，试按 Li-Mantel-Gart 法检验肝癌在家系中的传递是否符合常染色体隐性遗传方式。

表 1-9 白化病患者按同胞组（包括先证者）的分布

每个家系的同胞数	家系数	同胞总数	同胞中患者总数	同胞中只有 1 例患者的家系数
1	24	24	24	24
2	60	120	66	54
3	107	321	132	83
4	148	592	181	121
5	142	710	219	93
6	111	666	147	86
7	53	371	77	37
8	36	288	60	24
9	13	117	19	8
10	7	70	8	6
11	2	22	5	1
合计	703	3301 (T)	938 (R)	537 (J)

3. 应用 Penrose 法判断疾病的遗传方式 不同性别先证者的同胞发病率(s)与群体发病率(q)之比称为相对频率，将观察相对频率与不同遗传方式的期望相对频率进行比较，判断所研究疾病的遗传方式是常染色体显性遗传、常染色体隐性遗传，还是多基因遗传。