

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

ТЕМА: МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЙ АНАЛИЗ.

Студентка 301гр. Салова Виктория Владимировна

Преподаватель Антон Александрович Замарин

ЦЕЛЬ:

- ✘ ознакомление с микросателлитным анализом.
- ✘ выявить, что является микросателлитными локусами, если разница между такими локусами и аллелями
- ✘ рассмотреть какими свойствами обладают микросателлитные аллели и их структуру.
- ✘ рассмотреть, в каких сферах применяется метод

1. ЧТО ЯВЛЯЕТСЯ МИКРОСАТЕЛЛИТАМИ?

- ✘ Микросателлиты/SSR – участок ДНК с определенной геномной локализацией, содержащий короткие tandemные повторы.
- ✘ В зависимости от длины повтора микросателлиты классифицируют на локусы с моно-, ди-, три-, тетра-, пента-, и гексануклеотидными повторами.

1. ЧТО ЯВЛЯЕТСЯ МИКРОСАТЕЛЛИТАМИ?

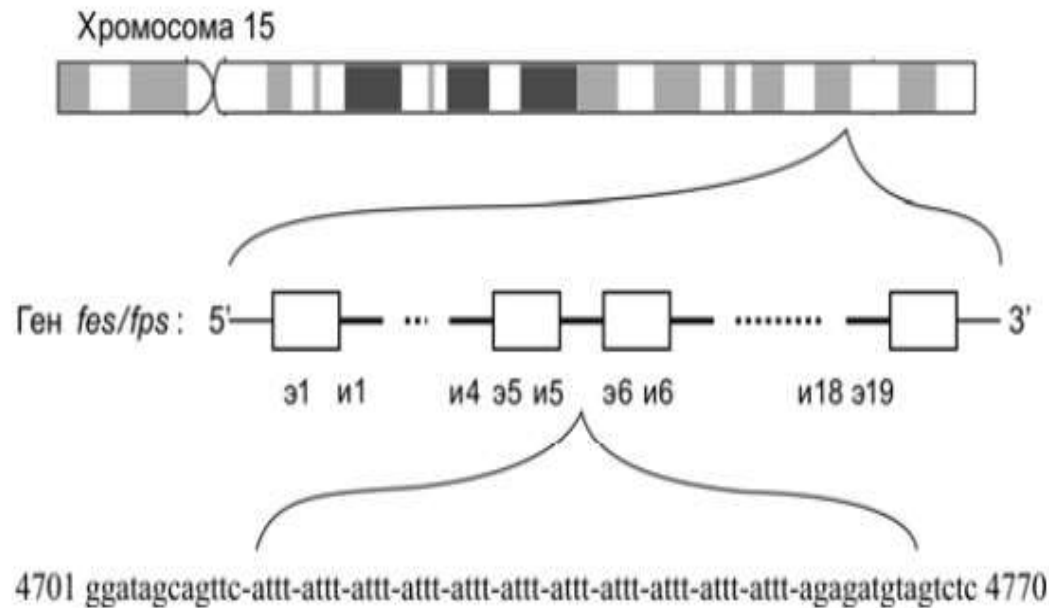


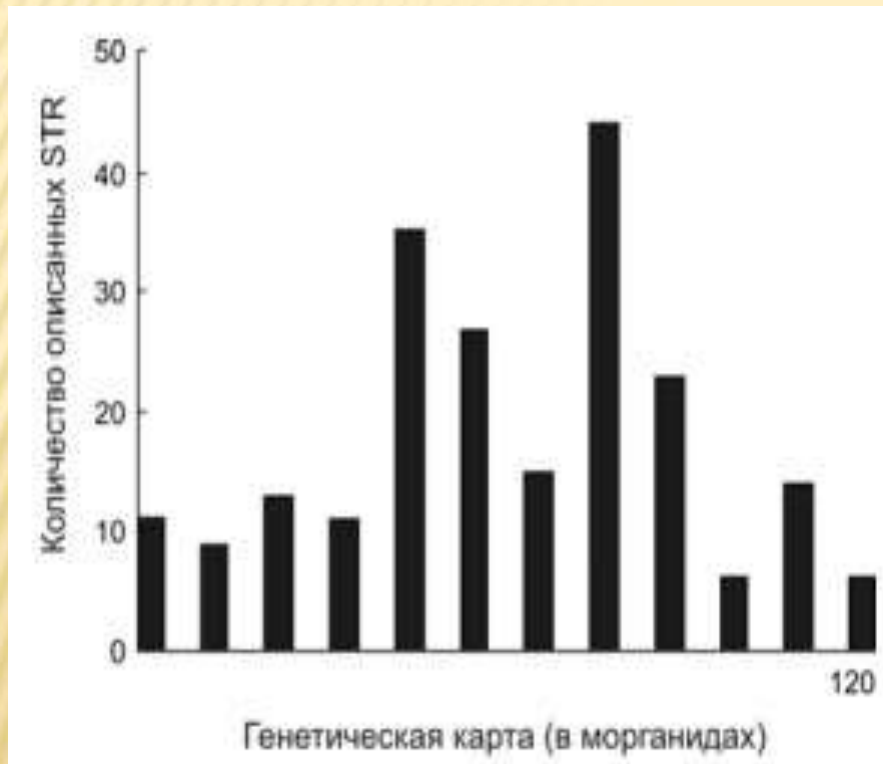
Рис. 2. Микросателлитный локус *FES/FPS*.

Локус *FES/FPS*, состоящий из серии тетра核леотидных повторов АТТТ, содержится в интроне с-протоонкогена *fes/fps*. На рисунке дана нуклеотидная последовательность между позициями 4701 и 4770, где располагаются повторы АТТТ (полная длина гена *fes/fps* превышает 12 тыс. пар нуклеотидов). Данный *FES/FPS*-аллель имеет 11 повторов.

1.1. СВОЙСТВА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ.

- ✗ 1. В очень большом количестве рассеяны по геному;
- ✗ 2. В основном локализованы в некодирующих регионах генома. Они могут служить кодирующими или регуляторными элементами.
- ✗ 3. Характерна быстрая эволюция. Скорость спонтанного мутирования микросателлитных локусов составляет около $10^2 - 10^4$ на локус за поколение
- ✗ 4. Обладают менделевским кодоминантным наследованием.
- ✗ 5. Микросателлиты одинаковы у близких видов, что позволяет использовать одни и те же праймеры.
- ✗ 6. Для анализа микросателлитов требуется очень малое количество крови или какой-либо ткани организма.
- ✗ 7. Возможен автоматизированный анализ микросателлитов.

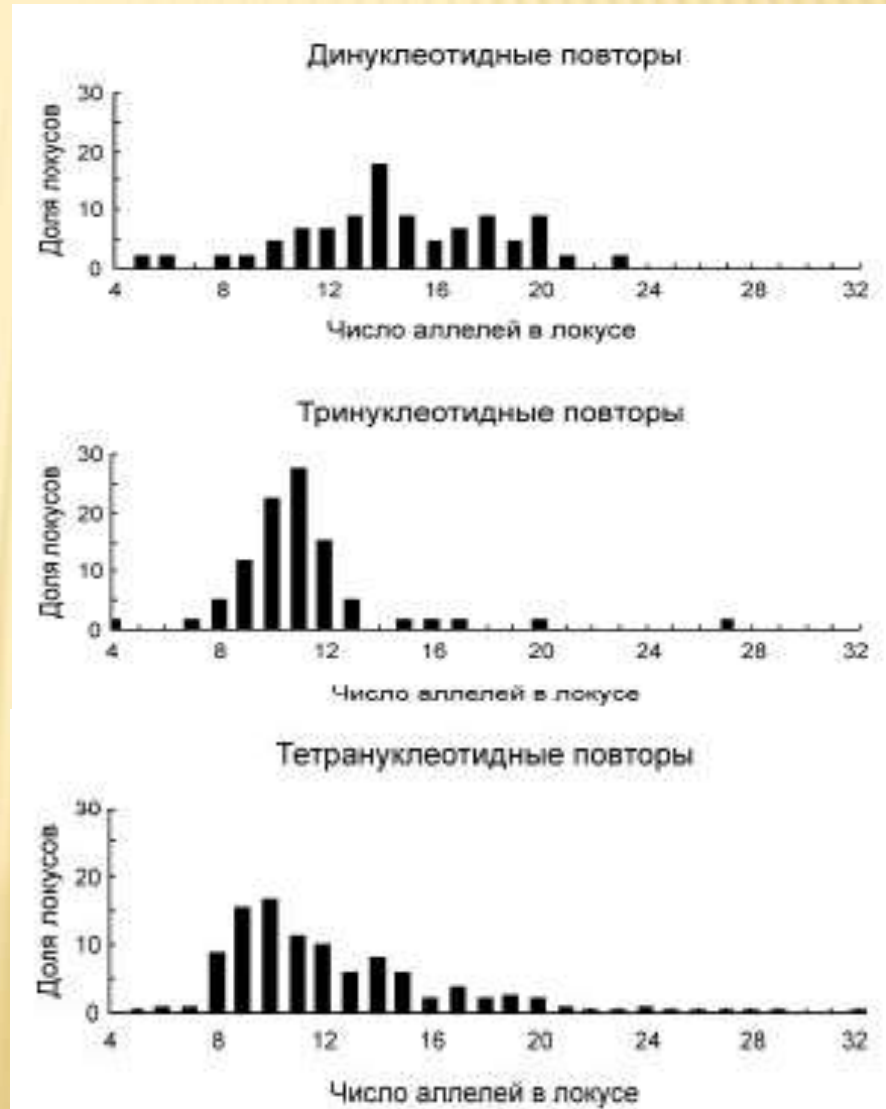
2. МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ АМЛИ И ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА.



- ✘ Распределение охарактеризованных микросателлитных локусов по хромосоме 15 человека; из него видно, что микросателлиты встречаются во всех сегментах хромосомы.

2. МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ АЛЛЕЛИ И ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЕ В ГЕНОМЕ ЧЕЛОВЕКА.

- ✗ Число аллелей в аутомомных микросателлитных локусах с ди-, три- и тетрануклеотидными повторами, обнаруженных в выборке более чем 1 тыс. человек из 52 этнических групп основных регионов мира. Видно, что подавляющее число локусов имеют 8 и более аллелей. Локусы с динуклеотидными повторами в среднем более вариабельны, чем локусы с более длинными мотивами.



2.1. Выявление микросателлитных фрагментов

Микросателлитный анализ- изучение tandemных повторов ДНК

Объект исследования:

- ✘ Повторяющиеся последовательности генома (ди-, три-, тетрануклеотидные)

Преимущества:

- ✘ Простота и доступность метода ПЦР
- ✘ Высокая гетерозиготность (выше 80%)
- ✘ Высокий полиморфизм (более чем два аллеля)
- ✘ Необходимость использования для диагностики нескольких маркеров
- ✘ Правильное расположение маркеров в районе наименьшего перекрытия всех делеций
- ✘ Расположение маркеров рядом (или внутри) главного гена-кандидата

Сложность:

- ✘ Тщательная научная разработка системы маркеров до создания из нее диагностической системы маркеров

2.1. ВЫЯВЛЕНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ФРАГМЕНТОВ

- ✘ Анализ индивидуальных микросателлитных локусов осуществляют с помощью ПЦР-амплификации, используя праймеры, комплементарные уникальным последовательностям (доменам), которыми фланкирован каждый микросателлитный локус. Далее электрофорезом в полиакриламидном геле определяют «размер» его аллелей, сравнивая с набором стандартных фрагментов ДНК известной длины.

2.1. ВЫЯВЛЕНИЕ МИКРОСАТЕЛИТНЫХ ФРАГМЕНТОВ

- ✘ При создании SSR-маркеров праймеры подбираются таким образом, чтобы они были высокоспецифичными и в идеале имели один сайт связывания в геноме исследуемого вида, т. е. были монолокусными. В случае, когда геном является полиплоидным, количество сайтов связывания может увеличиваться. Маркер, соответственно, будет полилокусным. Для большего удобства в работе праймеры подбирают с учетом того, чтобы размер SSR-аллелей находился в пределах около 100-300 п. н.
- ✘ Местоположение SSR-маркеров в геноме уточняется с помощью генетического картирования.

3. ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА.

- ✘ Данный метод анализа имеет широкое применение в различных сферах. Он используется в различных генетических исследованиях. Имеет широкое применение при оценке генетического разнообразия сельскохозяйственных видов растений и животных, в судебно-медицинской экспертизе, а также в медицине.

3.1. ПРИМЕНЕНИЕ В СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЕ.

- ✘ Генотипирование проводят по двум или даже трем парам праймеров. Делают это потому, что не исключена мутация в районе праймера, ассоциированная с определенным аллелем, при этом амплификация этого аллеля невозможна – он ведет себя как необнаруживаемый «нуль-аллель».

3.2. Применение в медицине.

- ✘ Микросателлиты редко встречаются внутри генов, но если все-таки это происходит, то в результате чаще всего возникает заболевание. Увеличение числа повторяющихся элементов микросателлитов, локализованных в ЭКЗОНАХ, в нетранслируемых или регуляторных участках генов, может быть причиной развития некоторых заболеваний у человека. К числу таких заболеваний относятся: болезнь Хантингтона, спинально-бульбарная амиотрофия Кеннеди, спиноцеребеллярная атаксия, синдром ломкой X-хромосомы, атаксия Фридрейха, миотоническая дистрофия 1-го и 2-го типов.

4. ПРИЧИНА ОТСУТСТВИЯ НОМЕНКЛАТУРЫ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ.

- ✘ Название STR локуса может быть связано с тем геном, в котором он находится (например, FES/FPS)
- ✘ может отражать хромосомную локализацию и определенный номер (например, D11S1986 в хромосоме 11 и DYS392 в Y-хромосоме).
- ✘ может быть разным обозначение повтора (например, АТТТ или ТТТА, а исходя из нуклеотидной последовательности комплементарной цепи – еще и как АААТ или ТААА)

5. СЛОЖНОСТЬ СТРУКТУРЫ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ.

- ✘ Структура микросателлитных аллелей может быть разной сложности и иметь вариации как по участку с повторами, так и во фланкирующих последовательностях.
- ✘ Большинство аллелей с простыми повторами $[AATG]_n$, но некоторые его аллели имеют более сложную структуру, как, например, $[AATG]_5ATG [AATG]_3$ или $[AATG]_6ATG[AATG]_4$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- ✘ Ознакомились с микросателлитным анализом.
- ✘ Выявили, что является микросателлитными локусы являются особыми маркерами ДНК, обладающими более тонкой структурой, по сравнению с аллозимными.
- ✘ Микросателлитными локусы или аллели обладают сложной структурой, не имеют единой номенклатуры.
- ✘ Данный метод анализа имеет широкое применение в различных сферах. Его применяют в сельском хозяйстве, эволюционной и популяционной генетике, а также в судебно-медицинской экспертизе и медицине.