

# Использование генетических маркеров в медицинской генетике

- Выполнила:  
студентка 4 курса ИНБИО  
38БиБ136  
Нечаева Ж.И.
- Проверила:  
к.б.н. Жигилева О.Н

# Общее понятие:

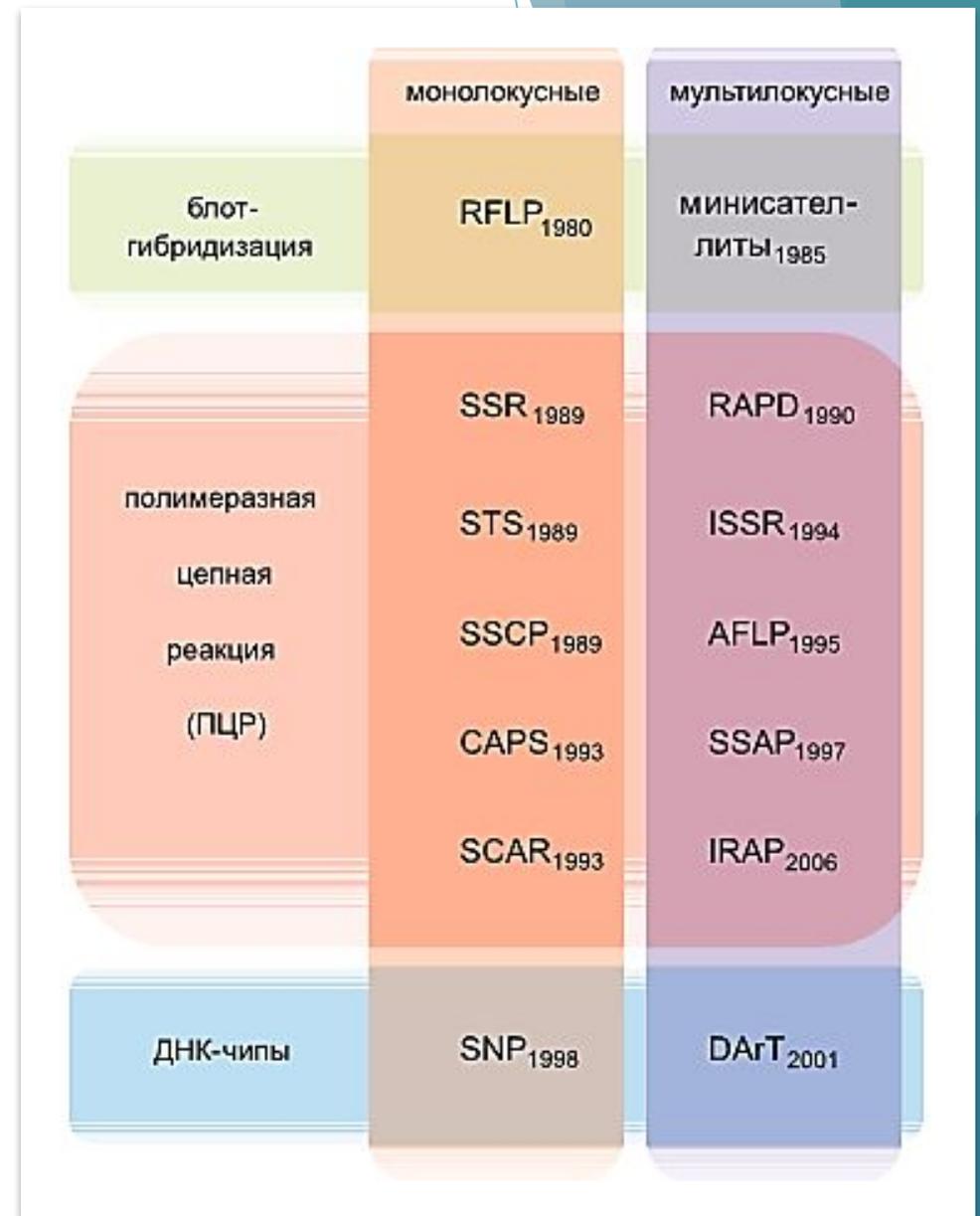
- ▶ Молекулярные маркеры (ДНК-маркеры) – это генетические маркеры, анализируемые на уровне ДНК.
- ▶ ДНК-маркеры являются третьим поколением генетических маркеров. Им предшествовали белковые маркеры, а еще ранее - классические морфологические генетические маркеры.
- ▶ Среди молекулярных маркеров различают маркеры с известной локализацией (в определенной хромосоме или участке хромосомы, или вблизи конкретного гена) и маркеры, о локализации которых ничего не известно (как правило, это мультилокусные маркеры).
- ▶ Молекулярные маркеры с неизвестной локализацией нельзя использовать для маркирования определенного гена или хромосомы, зато их успешно применяют в филогенетических исследованиях, для паспортизации сортов растений и пород животных.

Использование молекулярно-генетических маркеров для решения следующих задач:



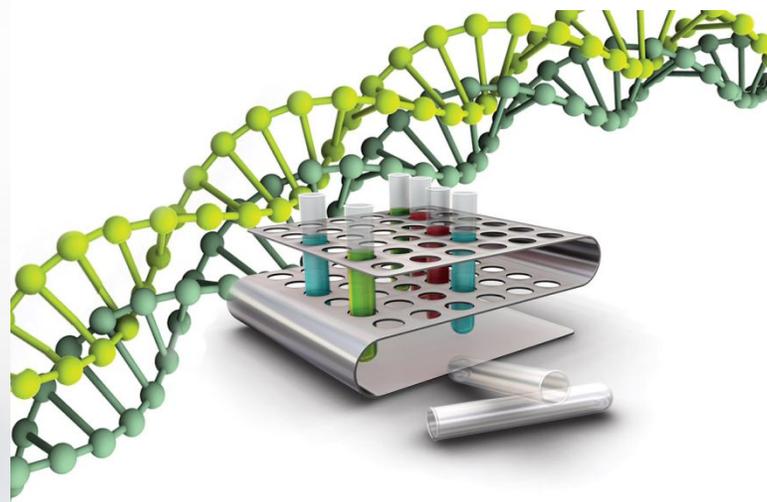
- Генетики
- Селекции
- Сохранения биоразнообразия
- Картирования хромосом
- Племенного дела
- Механизмов эволюции

- ▶ **AFLP** – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов.
- ▶ **CAPS** – расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности.
- ▶ **DArT** – ДНКчип технология для изучения разнообразия.
- ▶ **IRAP** – полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами.
- ▶ **ISSR** – межмикросателлитные последовательности.
- ▶ **RAPD** – случайно амплифицированная полиморфная ДНК.
- ▶ **RFLP** – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов.
- ▶ **SCAR** – амплифицированная область, охарактеризованная нуклеотидной последовательностью.
- ▶ **SNP** – однонуклеотидный полиморфизм.
- ▶ **SSAP** – полиморфизм сиквенсспецифичной амплификации.
- ▶ **SSCP** – полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК.
- ▶ **SSR** – простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты).
- ▶ **STS** – сайт/локус, маркированный нуклеотидной последовательностью.



# Молекулярно-генетические методы диагностики наследственных заболеваний:

- ▶ Наиболее адекватные методы, обеспечивающие точную диагностику моногенных заболеваний, основаны на исследовании ДНК в районе определенных генов.
- ▶ Предметом ДНК-диагностики может быть как исследование гена с целью выявления мутаций (прямой подход ДНК-диагностики), так и анализ сегрегации заболевания в определенной семье с полиморфными участками ДНК (маркерными локусами), тесно сцепленными с поврежденным геном (косвенный подход ДНК-диагностики).
- ▶ Прямая и косвенная ДНК-диагностика основана на методах, позволяющих идентифицировать небольшой, но строго определенный фрагмент ДНК человека. Обычно для этого используют блот-гибридизацию либо амплификацию с последующим анализом полученных образцов ДНК при помощи электрофореза в агарозном или полиакриламидном гелях или радиоавтографии.



▶ **Прямые методы ДНК-диагностики** используются в тех случаях, когда известен ген, ответственный за возникновение наследственного заболевания и основные типы его патологических мутаций.

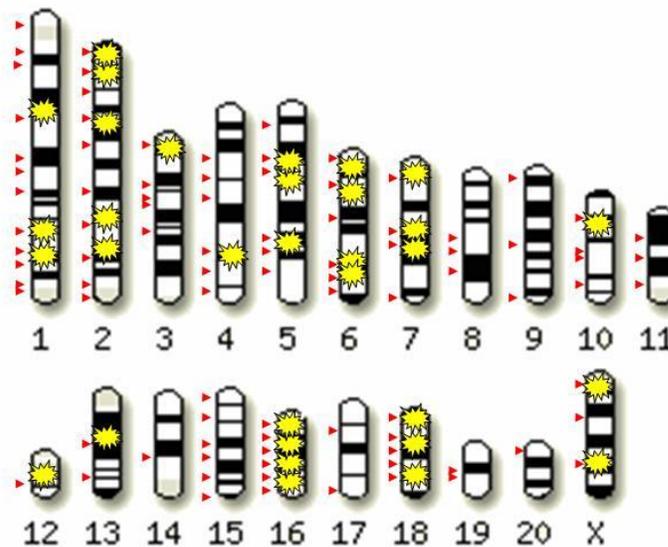
- ▶ Главное преимущество прямого метода - это высокая, практически 100%, точность диагностики и отсутствие необходимости ДНК-анализа всех членов ядерной семьи. А также возможность выявления гетерозиготного носительства патологических мутаций у родителей умершего больного и его родственников, что особенно актуально для аутосомно-рецессивных заболеваний.
- ▶ Основной недостаток прямых методов состоит в том, что для их применения требуется знание точной локализации патологического гена в геноме и спектра его мутаций. Также стоит отметить их неполную информативность, что связано с наличием широкого спектра патологических мутаций в одном и том же гене, обуславливающих развитие наследственного заболевания.

▶ **Косвенные методы ДНК-диагностики** применяют в том случае, если ген, повреждение в котором приводит к заболеванию, не идентифицирован, а лишь локализован на определенной хромосоме, или когда методы прямой ДНК-диагностики не дают результата.

▶ Косвенные методы ДНК-диагностики основаны на анализе сегрегации в семье аллелей полиморфных маркеров, находящихся в том же хромосомном регионе или тесно сцепленных с локусом заболевания.

- ▶ Преимущества: Эти методы не требуют знания структуры гена и спектра мутаций в нем. Необходимо только иметь сведения о его локализации.
- ▶ Недостатки: Косвенных методов заключаются в их не 100%-ной точности. Действительно, возможная ошибка обусловлена вероятными рекомбинациями между изучаемым полиморфным локусом и повреждением в гене, а величина этой ошибки определяется двумя факторами: генетическим расстоянием между полиморфным локусом и мутацией, приводящей к заболеванию, и генетическим размером самого гена. Эти методы ДНК-диагностики могут быть применены только для монолокусных заболеваний и неэффективны для моногенных полилокусных болезней.

- ▶ Полиморфные ДНК-маркеры, используемые для косвенной ДНК-диагностики, представляют собой точковые замены, делеции/инсерции, повторы, полиморфизм которых обусловлен различным количеством элементов в блоке.
- ▶ Наиболее удобными для косвенной ДНК-диагностики признаны микросателлитные (мономер до 5 п.н.) и минисателлитные (мономер повтора состоит из 5—60 п.н.) полиморфные маркеры, широко распространенные в геноме человека.
- ▶ Для абсолютного большинства известных в настоящее время полиморфных сайтов такого типа был строго показан менделевский характер наследования. Наиболее типичными среди микросателлитов являются динуклеотидные повторы, а самым распространенным из них - «СА»-повтор.
  - ▶ Показано, что кластеры «СА»-повторов встречаются в геноме в среднем каждые 30 тысяч нуклеотидных пар. Во многих кластерах присутствует от 10 до 30 динуклеотидных повторов и типичное количество аллелей составляет 4-8, что обеспечивает высокую информативность маркера.



# Онкомаркеры в лабораторной диагностике:

- ▶ Тестирование молекулярно-генетических онкомаркеров предполагает определение дефектов структуры ДНК протоонкогенов и антионкогенов и их функциональной активности с использованием возможностей лабораторных технологий, основанных на полимеразной цепной реакции (ПЦР-анализ).
- ▶ Состояние данных о биологической роли тех или иных онкогенов и антионкогенов в предрасположенности к возникновению трансформированных клеток, формированию раковой клетки, ее прогрессии, реакции на терапию и, соответственно, прогноза терапевтического воздействия позволяют выделить в клинической практике следующие направления ДНК-диагностики:
  - ▶ Лабораторная ДНК-диагностика наследственных форм рака.
  - ▶ Лабораторная ДНК-диагностика спорадических форм рака с определением эффективных методов терапевтического воздействия и прогноза развития заболевания.
  - ▶ Лабораторная ДНК-диагностика микрометастазов.
  - ▶ Лабораторная ДНК-диагностика предрасположенности к возникновению рака.

Тип опухоли	ДНК-онкомаркер	Источник биоматериала
Меланома	Ген $\beta$ -1-4-N-ацетилгалактозамилтрансферазы*	Кровь, лимфоузлы, костный мозг
Нейробластома	Ген тирозингидроксилазы	Кровь, костный мозг
Рак молочной железы (РМЖ)	1. Ген цитокератина 19 2. Ген эпидермального фактора роста (экспрессирован в 50% случаев РМЖ) 3. Ген раковомбрионального антигена (экспрессирован в 60% случаев РМЖ) 4. Ген маммаглобина (тканеспецифичен)	1. Кровь, костный мозг 2. Кровь, лимфоузлы, костный мозг 3. Лимфоузлы, костный мозг 4. Лимфоузлы, костный мозг
Опухоли желудка, кишечника	Ген цитокератина 20	Кровь, лимфоузлы, костный мозг
Рак простаты	Ген простата-специфического антигена	Кровь, лимфоузлы, костный мозг
Саркома Юинга	Выявляются химерные гены: FLI1/EWS - t(11;22)(q24;q12)** ERG/EWS% - t(21;22)(q24;q12)	Кровь, лимфоузлы, костный мозг
Рабдомиосаркома	PAX3/FKHR - t(2;13)(q35;q14) PAX7/FKHR - t(1;13)(q36;q14)	Кровь, лимфоузлы, костный мозг
Липосаркома	FUS/CHOP - t(12;16)(q13;q11)	Кровь

# ДНК-экспертиза определении отцовства и генетического родства:



- ▶ Комбинация из ДНК-маркеров представляет генетический профиль человека. Чем больше разных маркеров рассматриваются при анализе, тем точнее полученный генетический профиль, но вместе с этим вырастает и стоимость исследования. В большинстве лабораторий используют минимум 16 коротких отрезков цепочки для создания генетического профиля при каждом определении отцовства, а также при тестировании семейного родства, установлении личности и др.
- ▶ При определении отцовства генетические профили сравниваются для того, чтобы увидеть, имеются ли в профиле ребенка участки, соответствующие участкам отца.
- ▶ Также вычисляется индекс отцовства (ИО) для каждого генетического маркера - статистическая величина, которая показывает степень совпадения отдельных участков сравниваемых образцов.

Локус	Индекс отцовства	Мать	Ребенок	Предполагаемый отец
D8S1179	10.30	13, 14	14, 16	13, 16
TH01	2.32	7, 9.3	8, 9.3	7, 8
CSF1PO	17.75	10, 11	7, 10	7



# Общие представления о генетических маркерах, ассоциированных с физическими качествами человека:

- ▶ Первые попытки использовать генетические методы в спорте были предприняты в 1968 году на Олимпиаде в Мехико.
- ▶ Группы маркеров:
  - ▶ Комплекс морфологических признаков.
  - ▶ Группы крови.
  - ▶ Дерматоглифы.
  - ▶ Состав и распределение мышечных волокон.
  - ▶ Гормональный профиль.



- ▶ Главным преимуществом нашего ДНК тестирования является выявление наследственной предрасположенности человека к двигательной деятельности. Что дает высокую информативность при оценке потенциала развития физических качеств и возможность осуществления ранней диагностики. К отличительным свойствам такой диагностики также следует отнести возможность определения наследственной предрасположенности к развитию профессиональных патологий – факторов, лимитирующих физическую работоспособность человека и ухудшающих его качество жизни.

Ген	Локализация	Полиморфизм	Маркер выносливости
<i>ACE</i>	17q23.3	Alu I/D	I
<i>ADRA2A</i>	10q24-q26	6.7/6.3 kb	6.7-kb
<i>ADRB2</i>	5q31-q32	Gly16Arg (rs1042713)	16Arg
<i>AMPD1</i>	1p13	Gln12Ter (rs17602729)	Gln12
<i>BDKRB2</i>	14q32.1-q32.2	+9/-9	-9
<i>EPAS1 (HIF2A)</i>	2p21-p16	rs1867785 A/G rs11689011 C/T	rs1867785 G rs11689011 T
<i>EPOR</i>	19p13.3-p13.2	(GGAA) <i>n</i> повторы	185-bp
<i>GNB3</i>	12p13	C825T (Ser275Ser rs5443)	825T
<i>HFE</i>	6p21.3	His63Asp (rs1799945)	63Asp
<i>HIF1A</i>	14q21-q24	Pro582Ser (rs11549465)	Pro582
<i>KCNJ11</i> мтДНК	11p15.1 мтДНК	Glu23Lys (rs5219 C/T) Митохондриальные гаплогруппы	Glu23 Благоприятные: H и L0 Неблагоприятные: K, J2, T и L3*

# Спасибо за внимание!

*«Сигналями мы называем удобные для менделистических наблюдений альтернативные гены с более или менее известной локализацией, которые, не оказывая воздействия на изучаемый трансгрессирующий признак и влияя достаточно определенным образом, облегчают генетический анализ этого признака, позволяя следить за наследованием того участка хромосомы, в котором эти сигналы расположены» (с) А.С. Серебровский, 1970.*

Список литературы: Баранов В.С.. Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В. С. Баранова. — СПб. 2009

