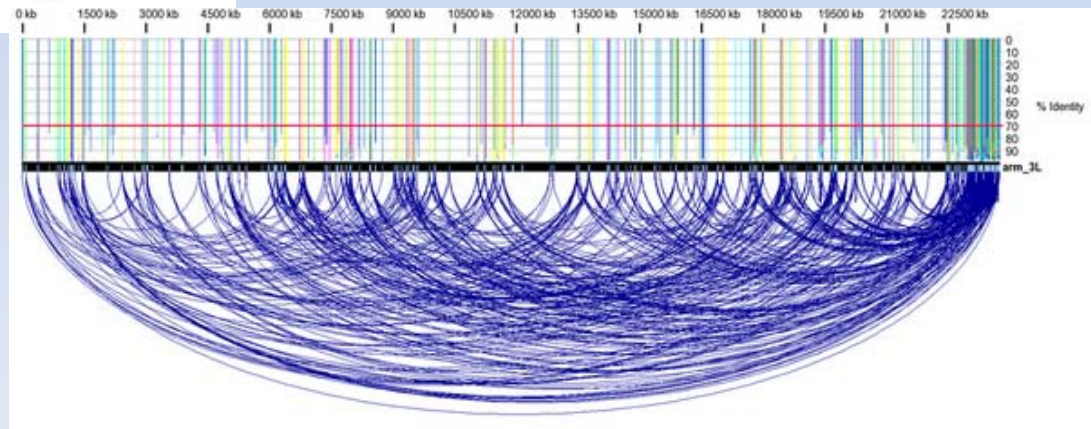
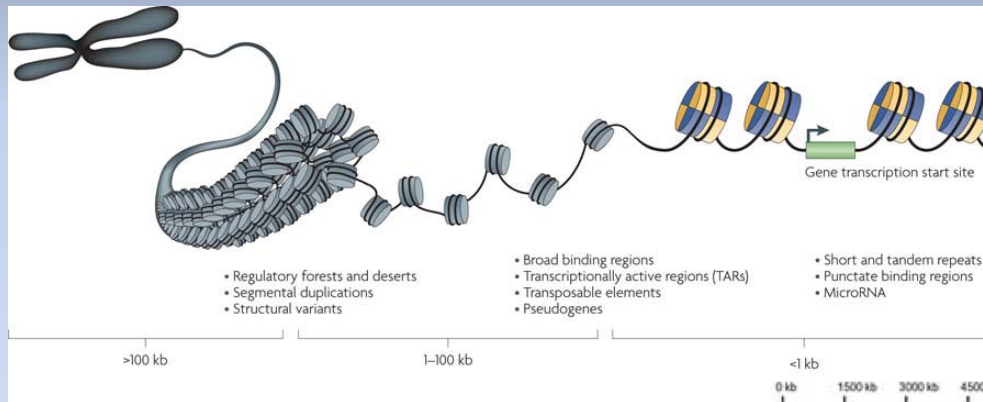
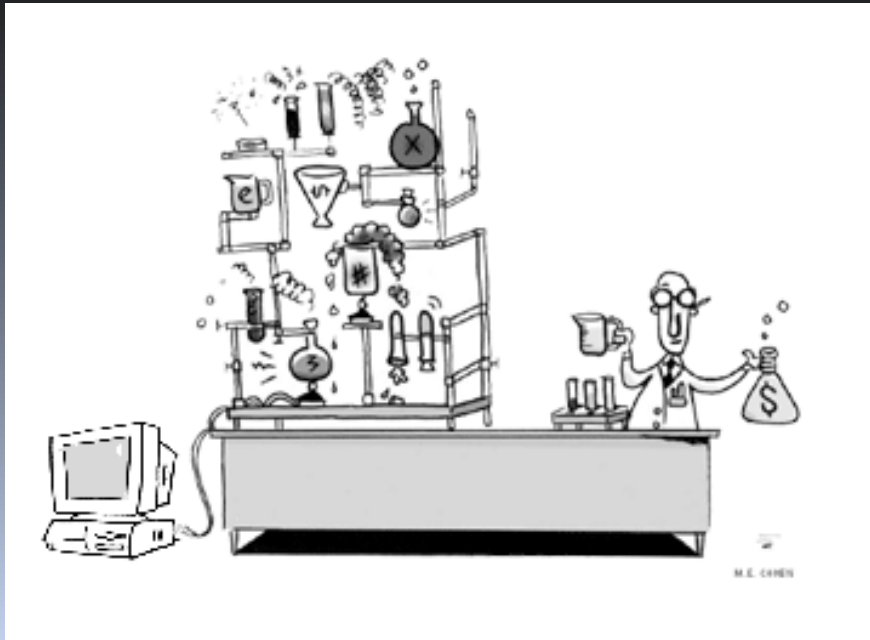


Лекция 1 "Повторяющиеся элементы



в геномах эукариот"





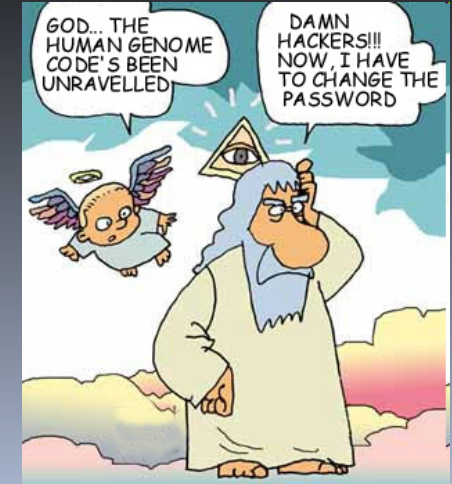
Высококвалифицированный
специалист

Б22 В2 Структурная организация генома эукариот. Классификация повторяющихся элементов генома.

Б23 В2 Мобильные элементы генома. Классификация и биологическая роль.

Б15 В2 Классификация генных мутаций. Роль мобильных генетических элементов в возникновении генных мутаций и хромосомных перестроек.

Б22 В3 Геномные проекты. Методика микроэкреев.



- **Геном - суммарная ДНК гаплоидного набора хромосом и каждого из внехромосомных генетических элементов, содержащаяся в отдельной клетке прокариотического и одноклеточного эукариотического организма или в отдельной клетке зародышевой линии многоклеточного эукариотического организма**

В норме у человека в соматических клетках в диплоидном наборе 46 хромосом: 44 аутосомные хромосомы и 2 половые. (X-хромосома и Y-хромосома – половые, мужской пол – пара XY, женский пол – пара XX). Геном человека содержит приблизительно 3 миллиарда п.н., по разным оценкам: 20000–25000 генов.

Только для 1.5% всего материала удалось выяснить функцию. В эти 1,5% входят гены, кодирующие белки, РНК гены (возможно псевдогены), регуляторные последовательности и интроны.

Геном эукариот = ядерная ДНК + митохондриальная ДНК + ДНК хлоропластов + ДНК других пластид



некоторые
простейшие



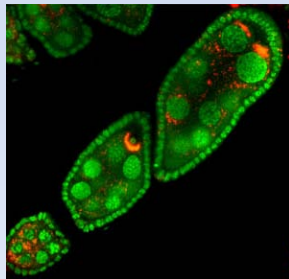
простейшие + животные
+ грибы + растения

растения

хромосомная ДНК

носители внехромосомной ДНК

внутриклеточные паразиты эукариот также являются носителями внехромосомной генетической информации

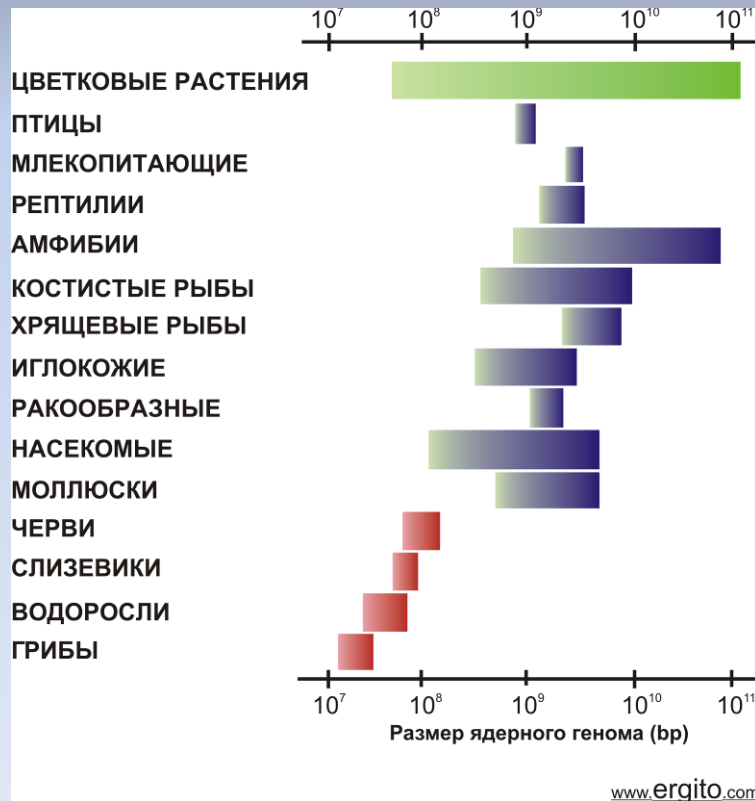


Wolbachia – бактерия-паразит, поражающая репродуктивные органы насекомых. Этот паразит вызывает феминизацию потомства (всё потомство - самки) и может инициировать партеногенез. Передается вертикально – от предка к потомкам.

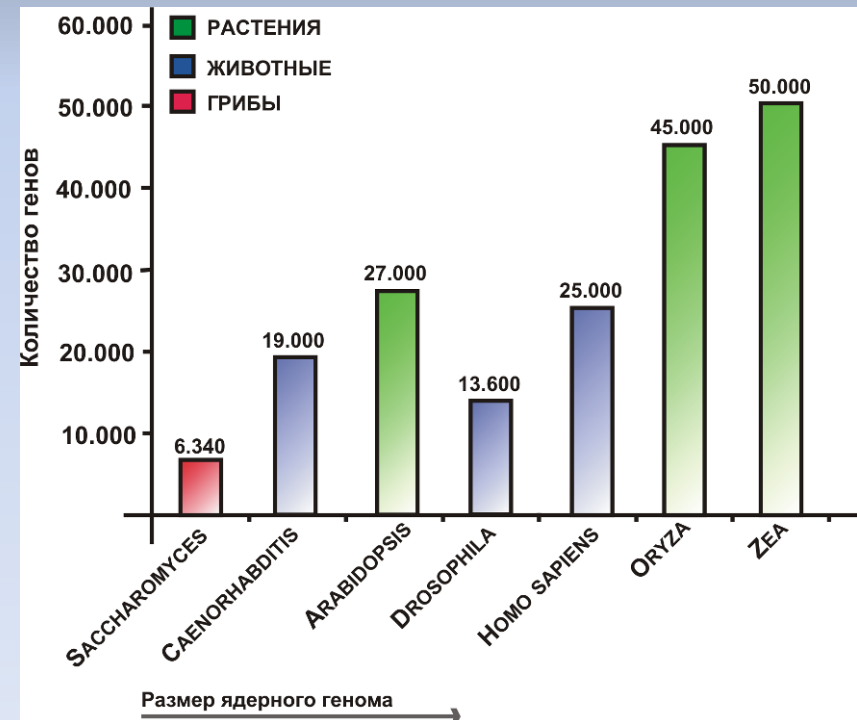
Геном эукариот = ядерная ДНК + митохондриальная ДНК + ДНК хлоропластов + ДНК других пластид



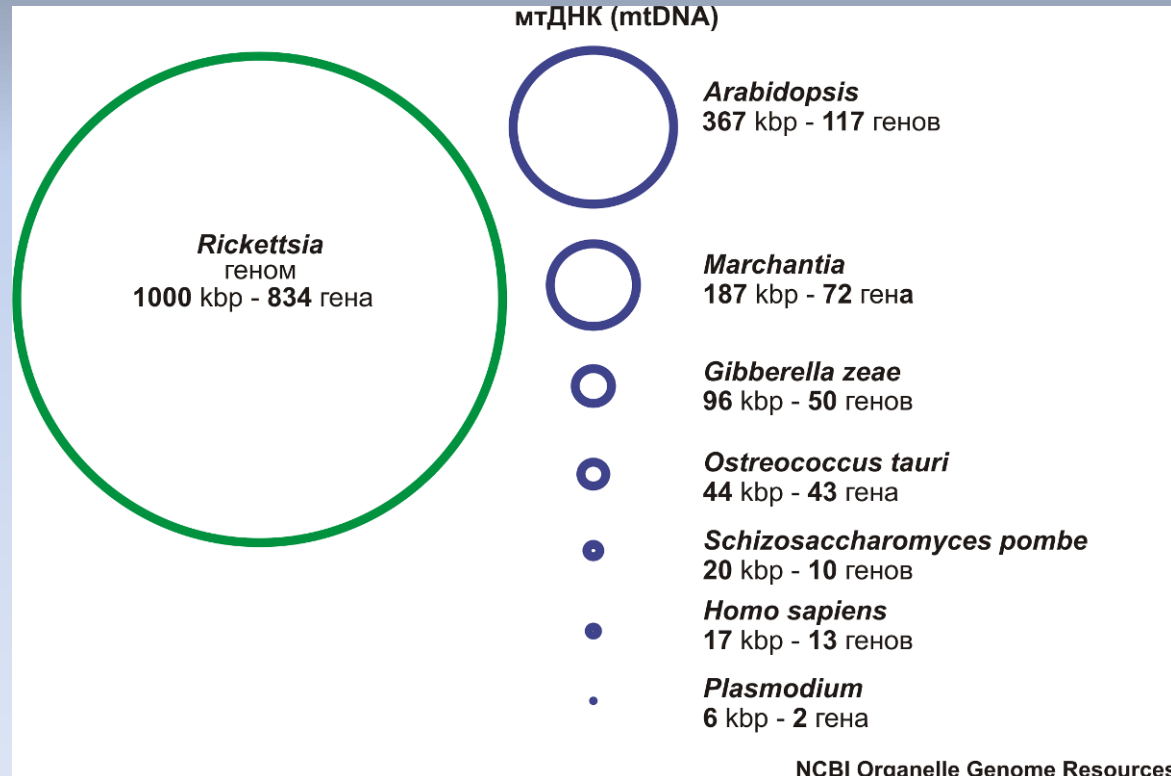
РАЗМЕР ядерного генома



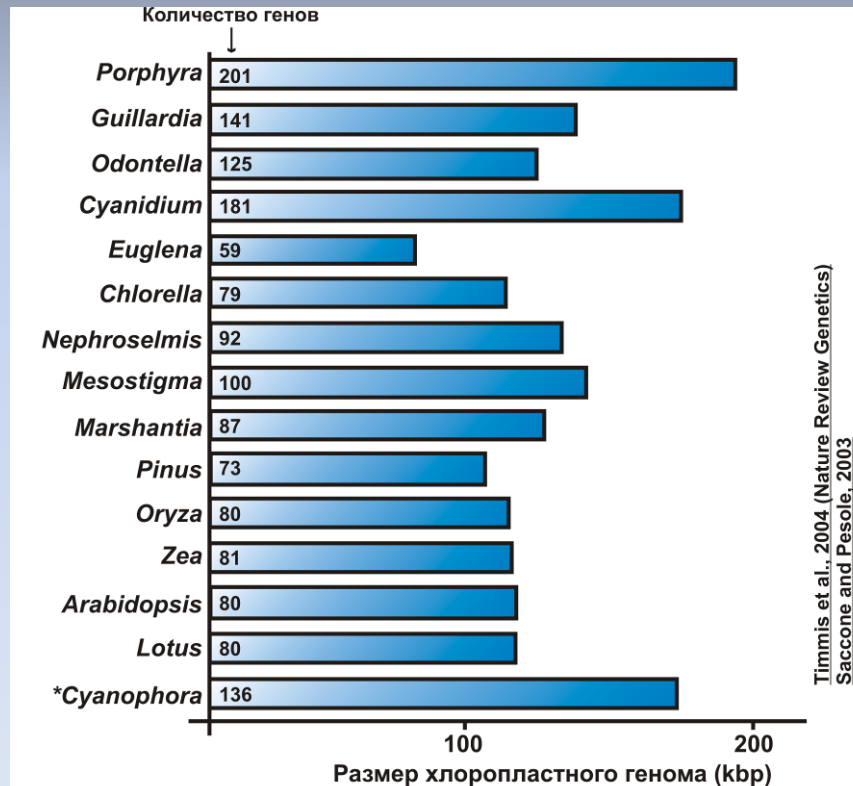
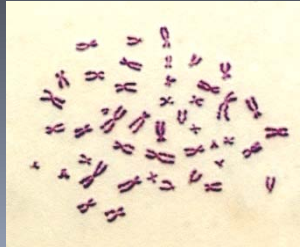
СОСТАВ ядерного генома



Геном эукариот = ядерная ДНК + МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ДНК + ДНК хлоропластов + ДНК других пластид



Геном эукариот = ядерная ДНК + митохондриальная ДНК + ДНК хлоропластов

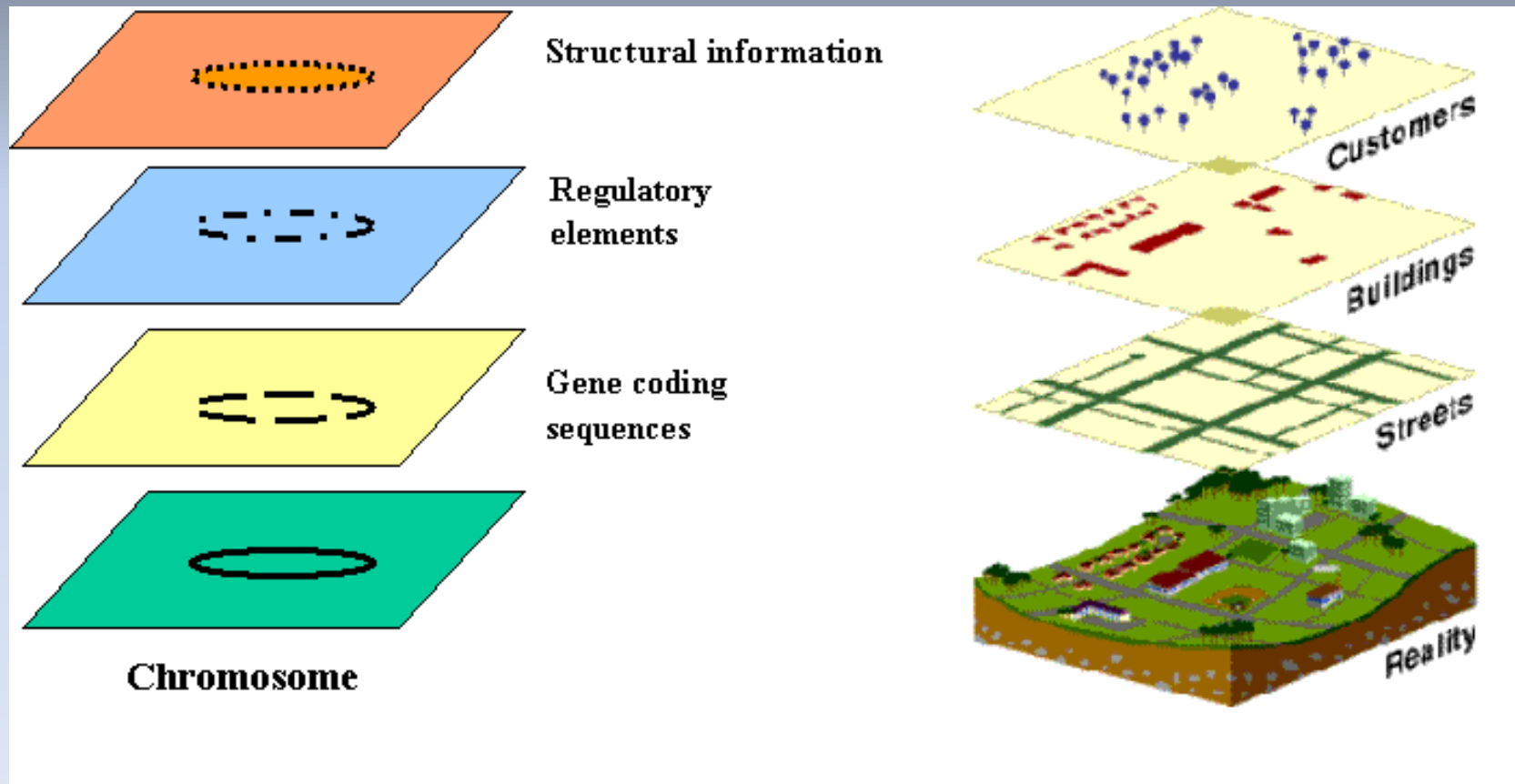


* самый примитивный фотосинтезирующий эукариотический организм

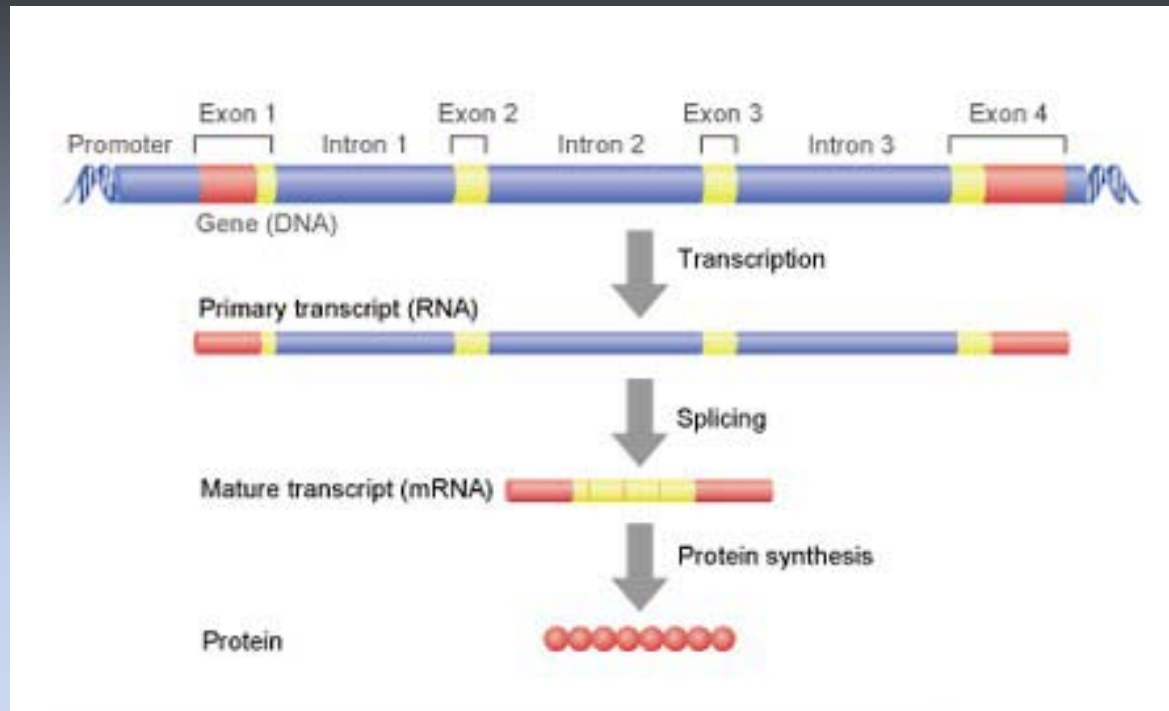
Геном эукариот - ядерный геном

Состав:

- кодирующие последовательности,
- значительная фракция регуляторных последовательностей,
- повторенные последовательности,
- последовательности, которые, как считают, отвечают за структурную целостность хромосом.

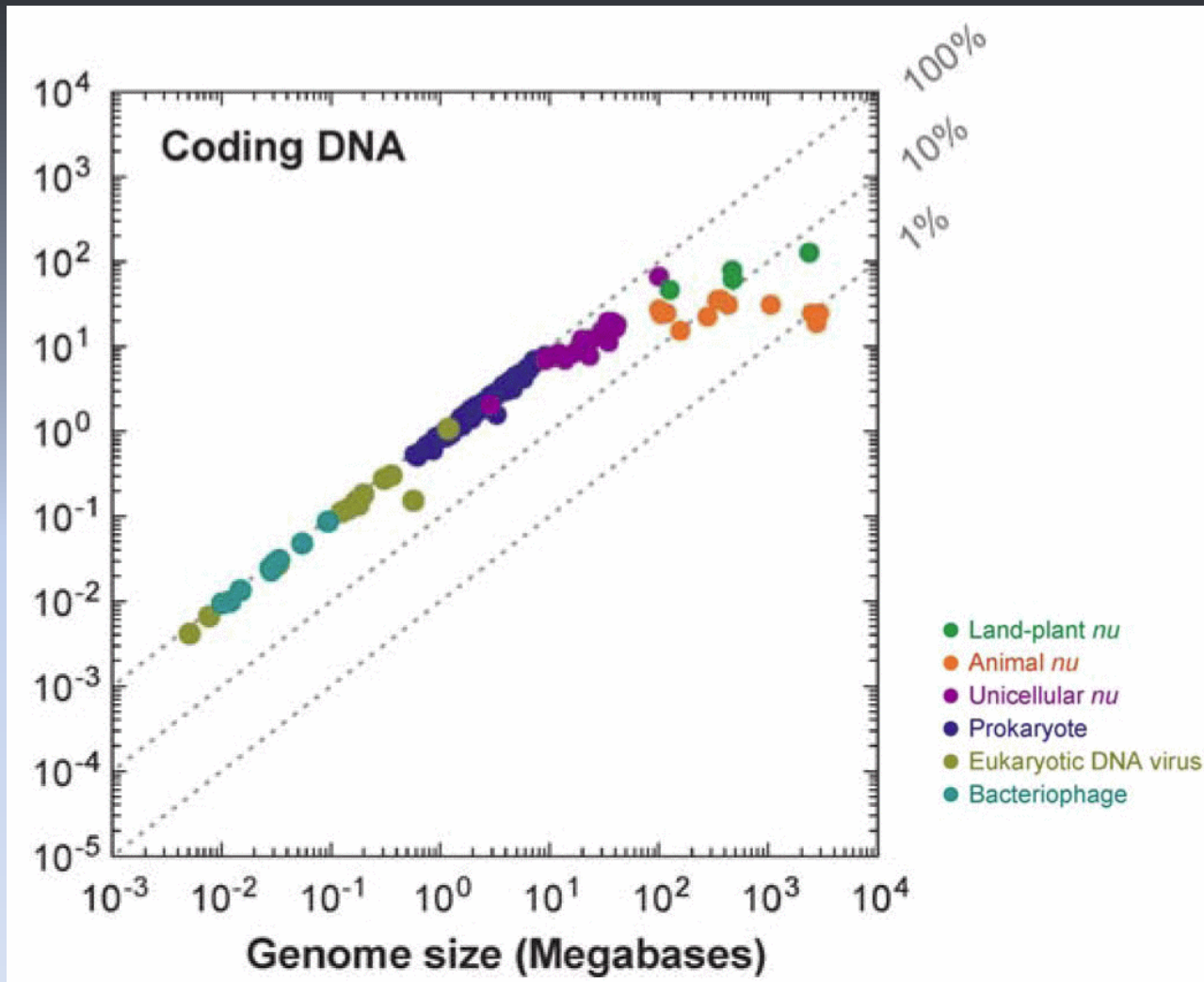


Кодирующие последовательности



Структура и функционирование эукариотического гена

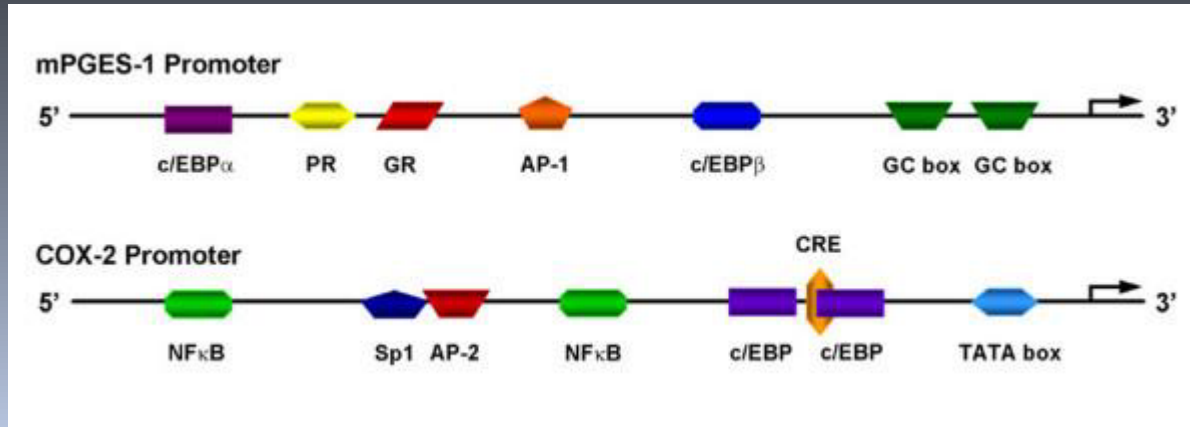
Кодирующие последовательности



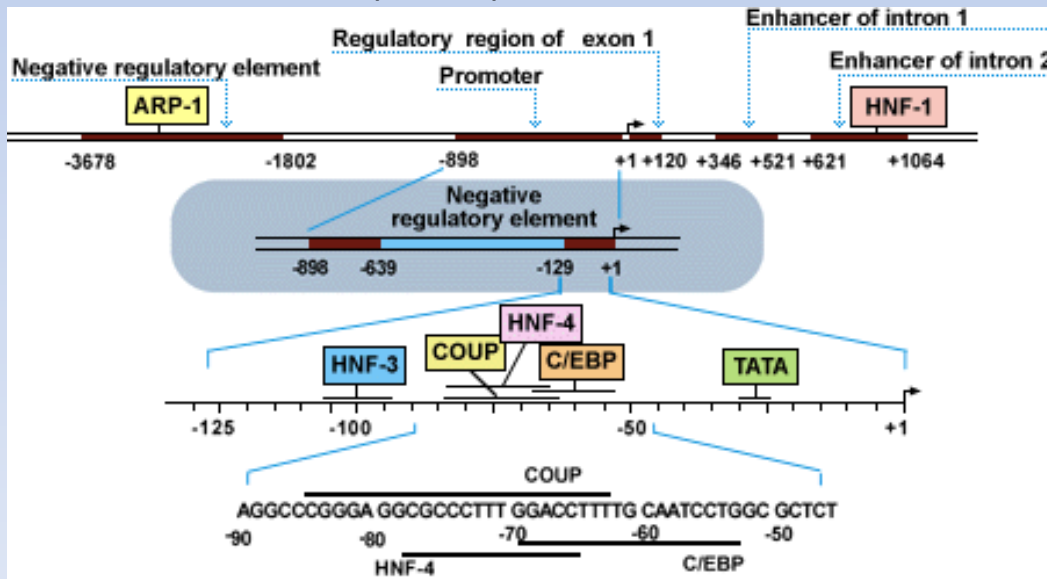
Соотношение кодирующих последовательностей и размеров геномов различных организмов

Регуляторные последовательности

Многие регуляторные участки эукариот содержат множество сайтов связывания факторов транскрипции и имеют очень сложную организацию.



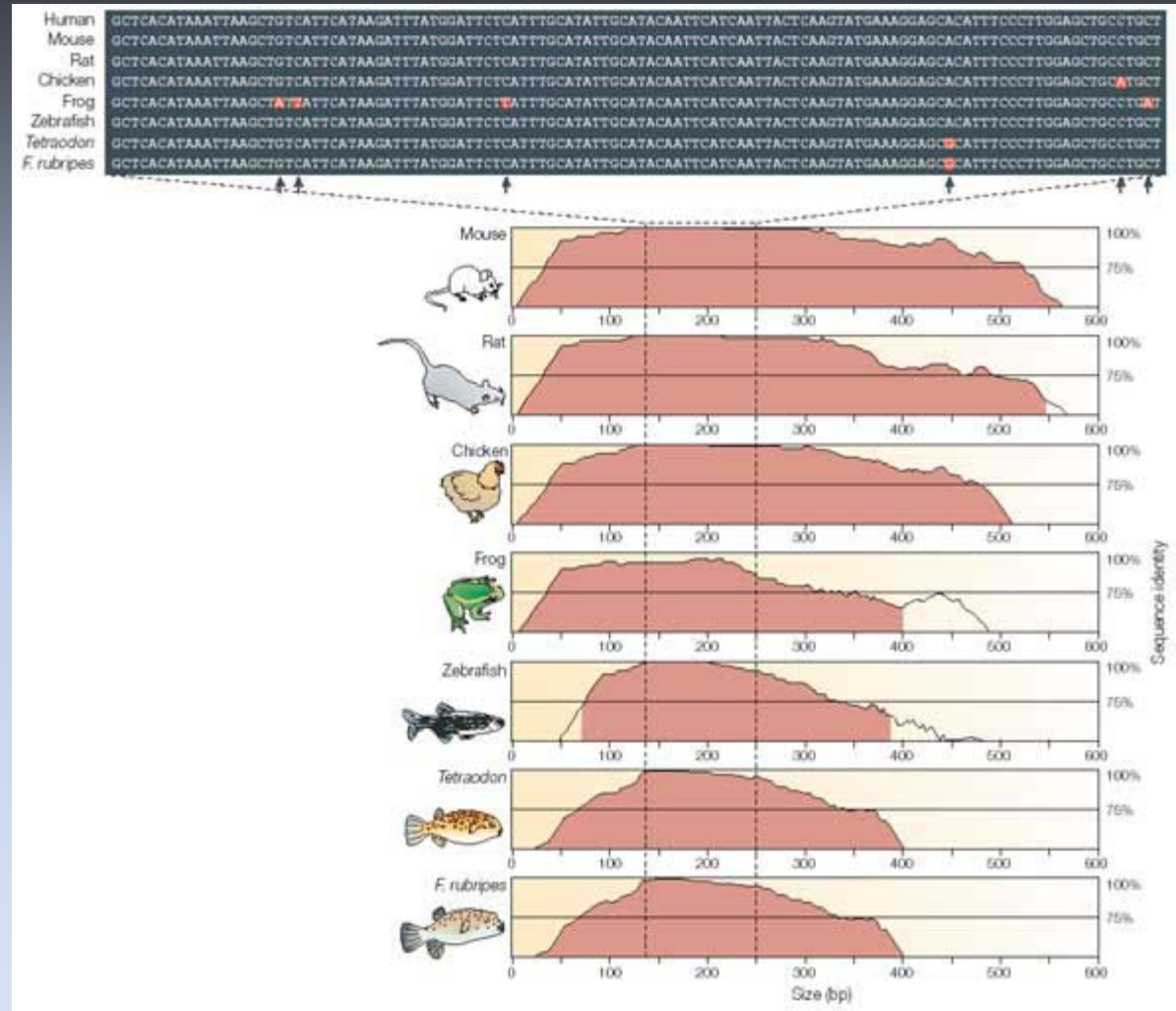
Организация регуляторных участков: промотор с CG боксом и промотор с TATA боксом.



Сложная организация регуляторных участков: энхансеры и сайленсеры.

Регуляторные последовательности

Некоторые регуляторные участки эукариот весьма консервативны.

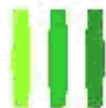
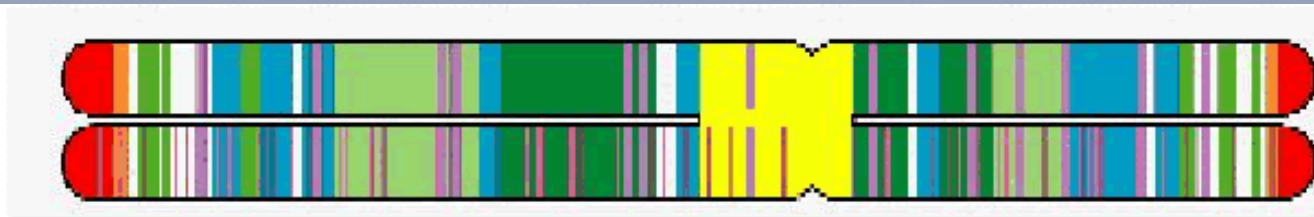


Вариабельность одного из энхасеров, регулирующих экспрессию генов развития позвоночных.

Повторенные последовательности

Значительную фракцию эукариотических геномов занимают повторенные последовательности.

Тандемные повторы, включая кластеры генов
Мобильные элементы
Псевдогены



Intercalary tandem repeats



Centromere associated tandem repeat



Telomeric and sub-Telomeric repeats



Dispersed tandem repeats



Dispersed retroelements

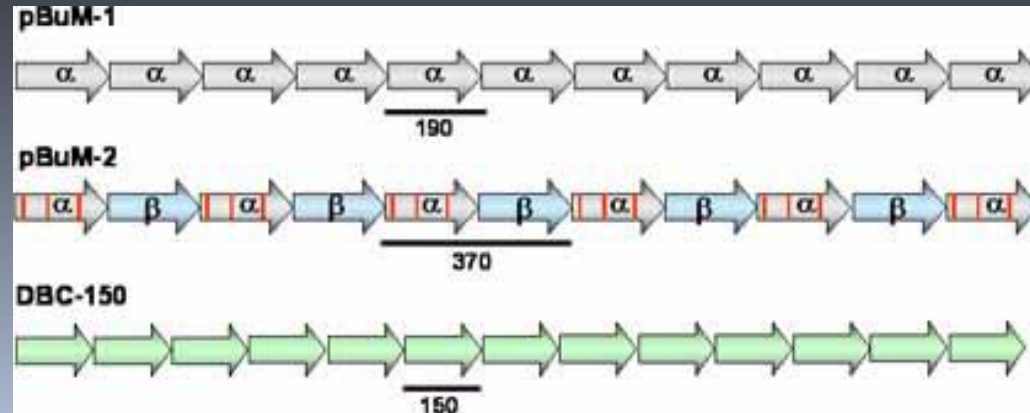


Single and low-copy sequences Including genes

Распределение различных повторов в хромосоме.

Тандемы – сателлиты

Сателлиты – многократно повторенные короткие последовательности ДНК.



Сателлиты *Drosophila melanogaster*.

Тандемные повторы с длиной периода **от 2 до ~ 6** называют **микросателлиты**

...**ttt**atttatttatttatttatttattt
tttatttatttatttatttatttattt
tattta...

...**ccaccat**caccaccaccaccatcac
catcaccaccaccatcaccatcactac
caccaccaccaccaccaccatcacta
сса...

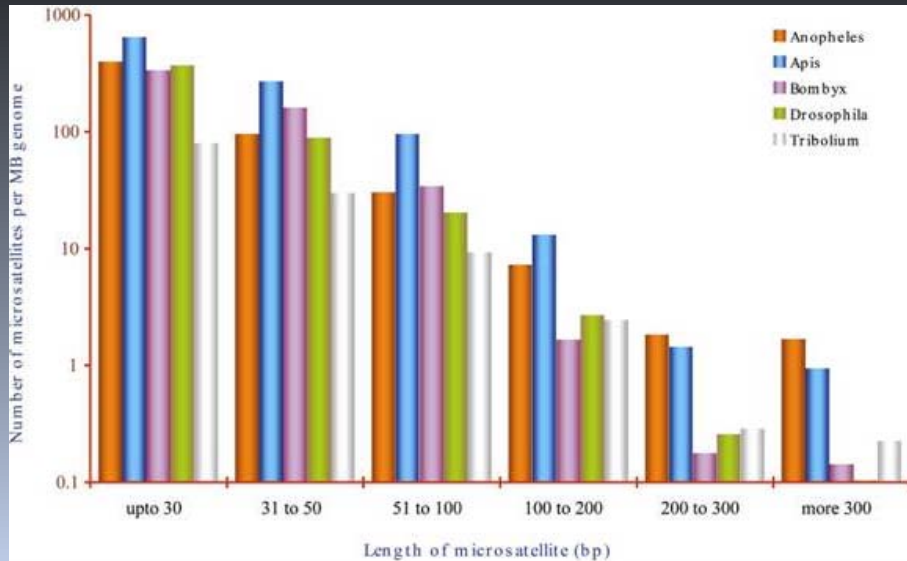
Тандемные повторы с длиной периода **от 6 до ~ 100** называют **минисателлиты**

ggcaggggggcagggg
gcaggggggcaggggg
caggggggc...

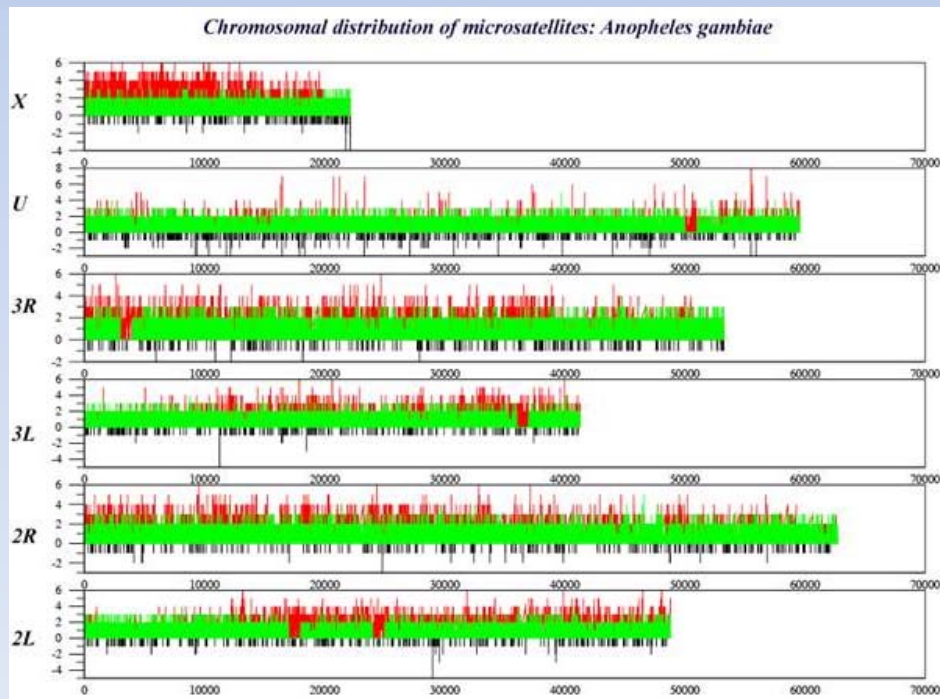
...gggaaggtgatggggaaggatgat
gggaaggatgatggggaaggatgat
ggtaaggatgatggagaaggatgat

Сателлиты не встречаются у прокариот, однако очень широко распространены у эукариот. Паттерн и набор сателлитов может сильно варьировать даже при сравнении индивидуумов одного вида.

Тандемы - сателлиты



Количество микросателлитов различной длины варьирует для разных организмов.

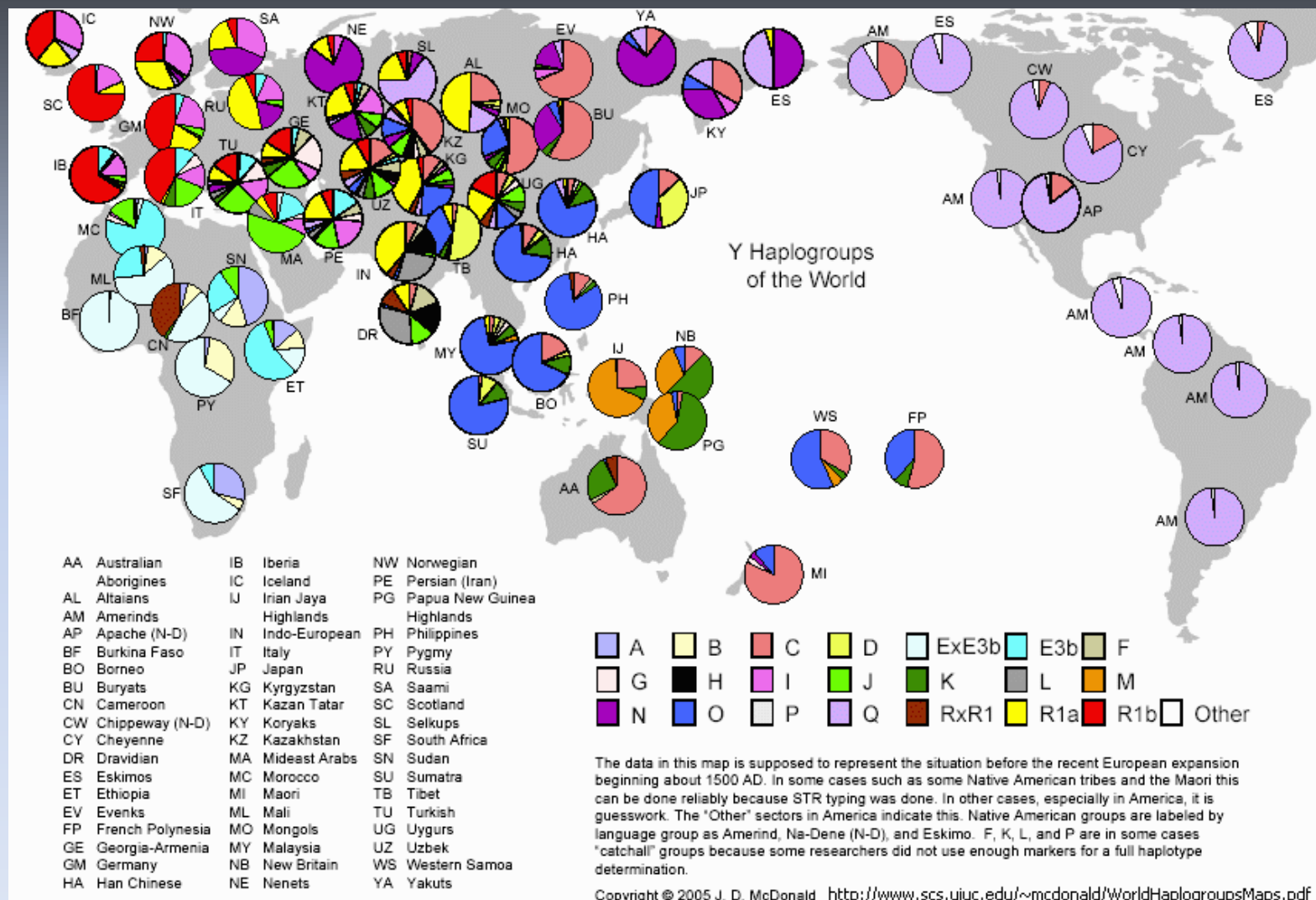


Распределение микросателлитов (красный цвет), предсказанных генов (зеленый цвет) и повторенных последовательностей (мобильных элементов и псевдогенов – черный цвет).

Лекция 1 "Повторяющиеся элементы в геномах эукариот"

Тандемы – микросателлитная изменчивость

Микросателлиты используются в качестве маркеров для популяционного анализа, а также в криминалистике и установлении отцовства (генетическая генеалогия).

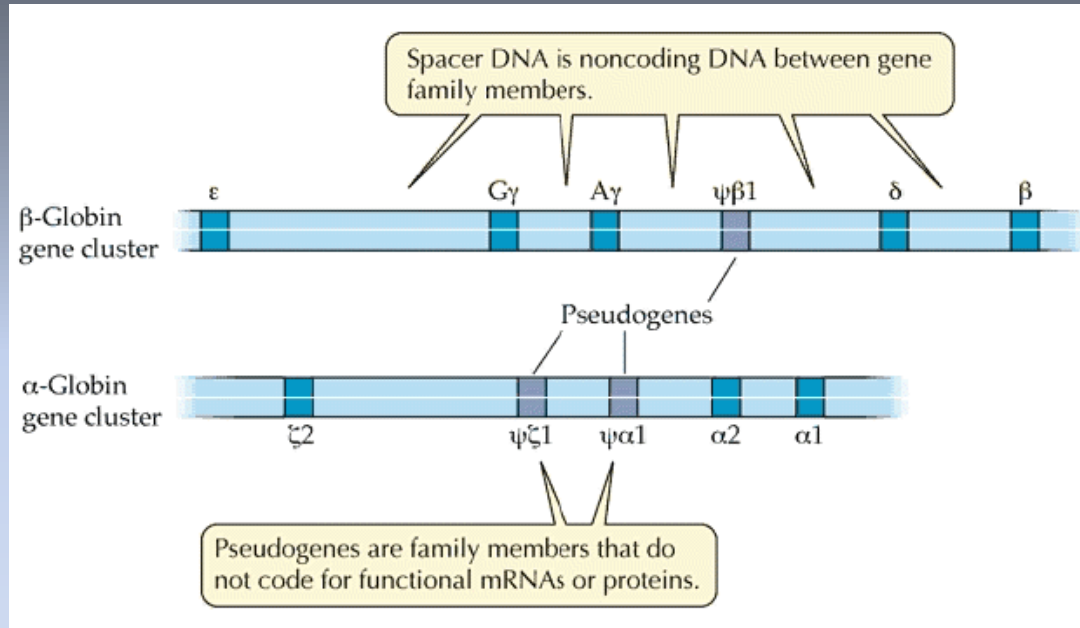


Распространение различных гаплотипов Y хромосомы на основе STR (short tandem repeat) анализа.

Лекция 1 "Повторяющиеся элементы в геномах эукариот"

Тандемы – кластеры генов

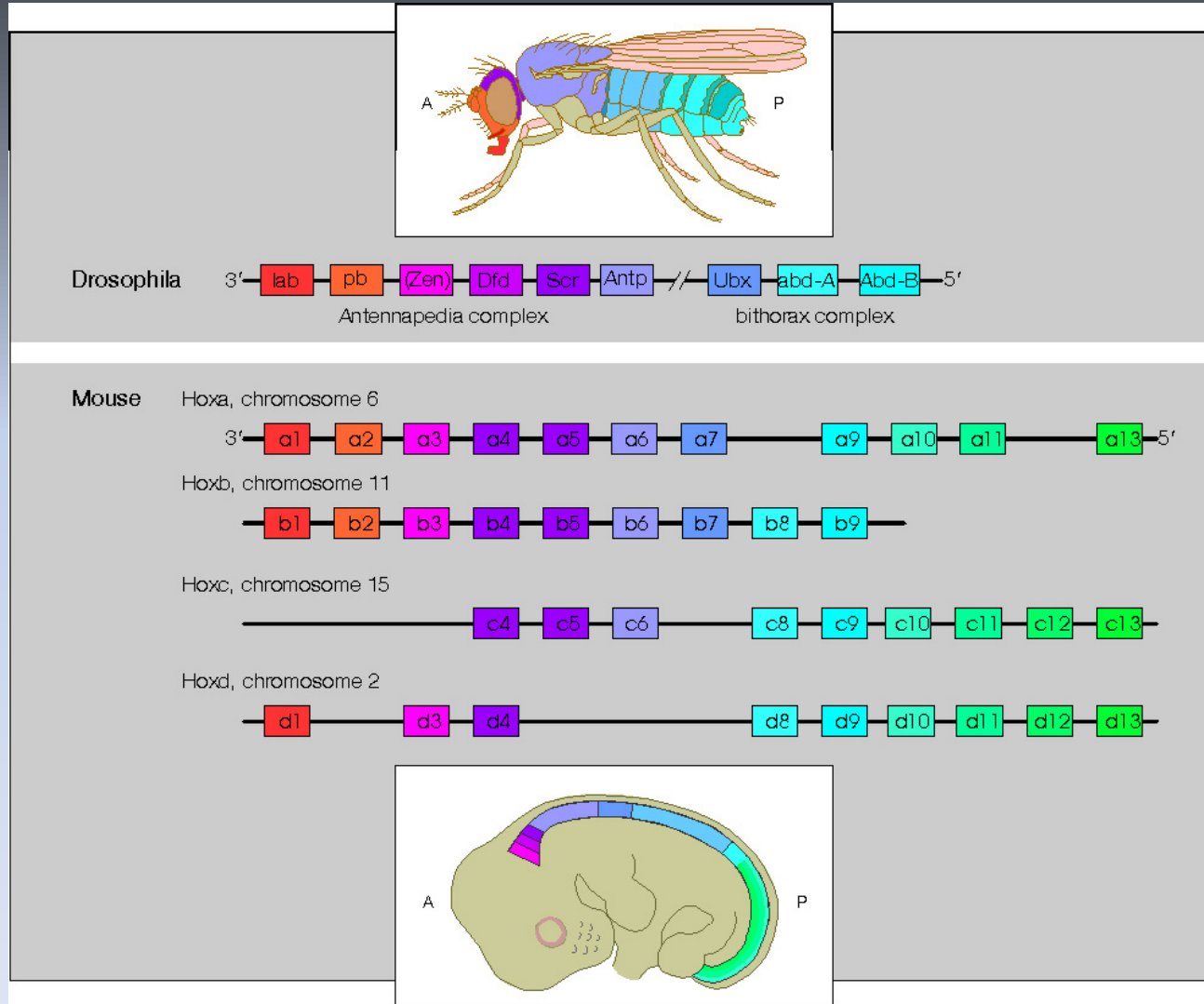
У эукариот гены, контролирующие последовательные биохимические реакции или даже одну и ту же реакцию расположены в различных участках генома. В тоже время, известны примеры кластерной организации генов. Например, гены, кодирующие различные гемоглобины человека.



Кластеры глобиновых генов в хромосомах 11 и 16 человека

Тандемы – кластеры генов

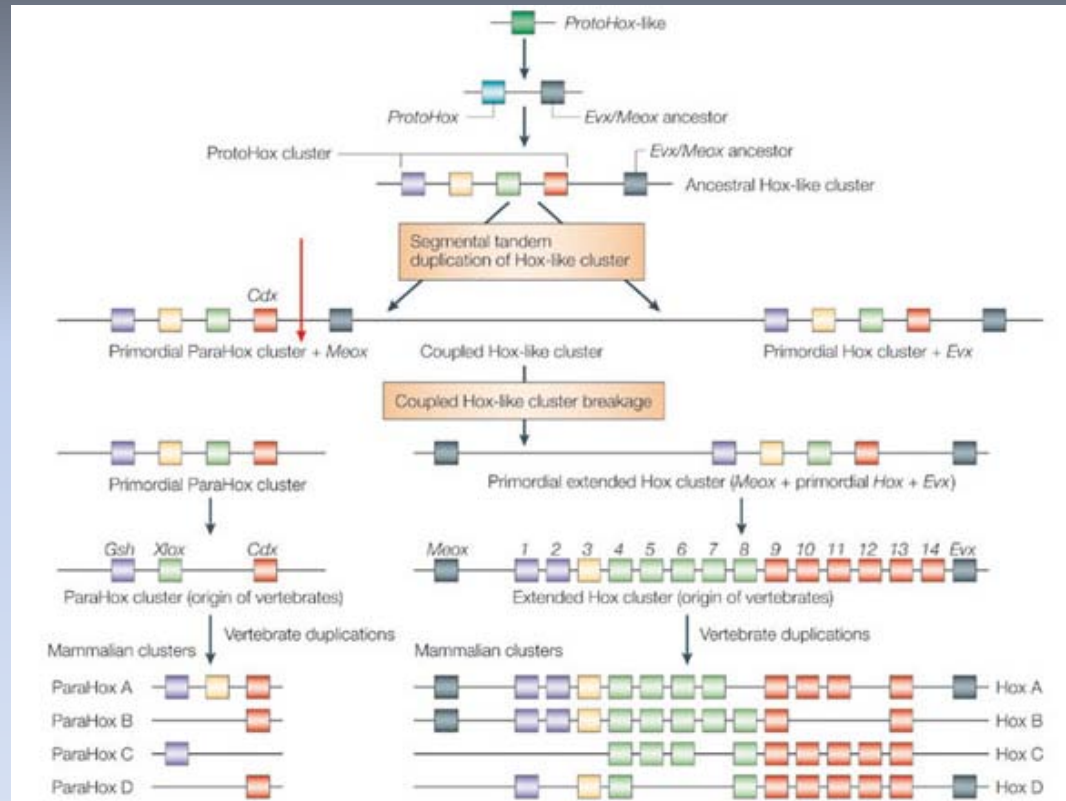
Самый известный и активно изучаемый кластер генов – Нох кластер или кластер Нох-генов, отвечающих за дифференцировку основных частей тела у двухсторонне симметричных животных



Нох-кластер плодовой мушки и мыши. Считается, что дифференцировка частей тела проходит в том же порядке, в котором располагаются гены в Нох кластере.

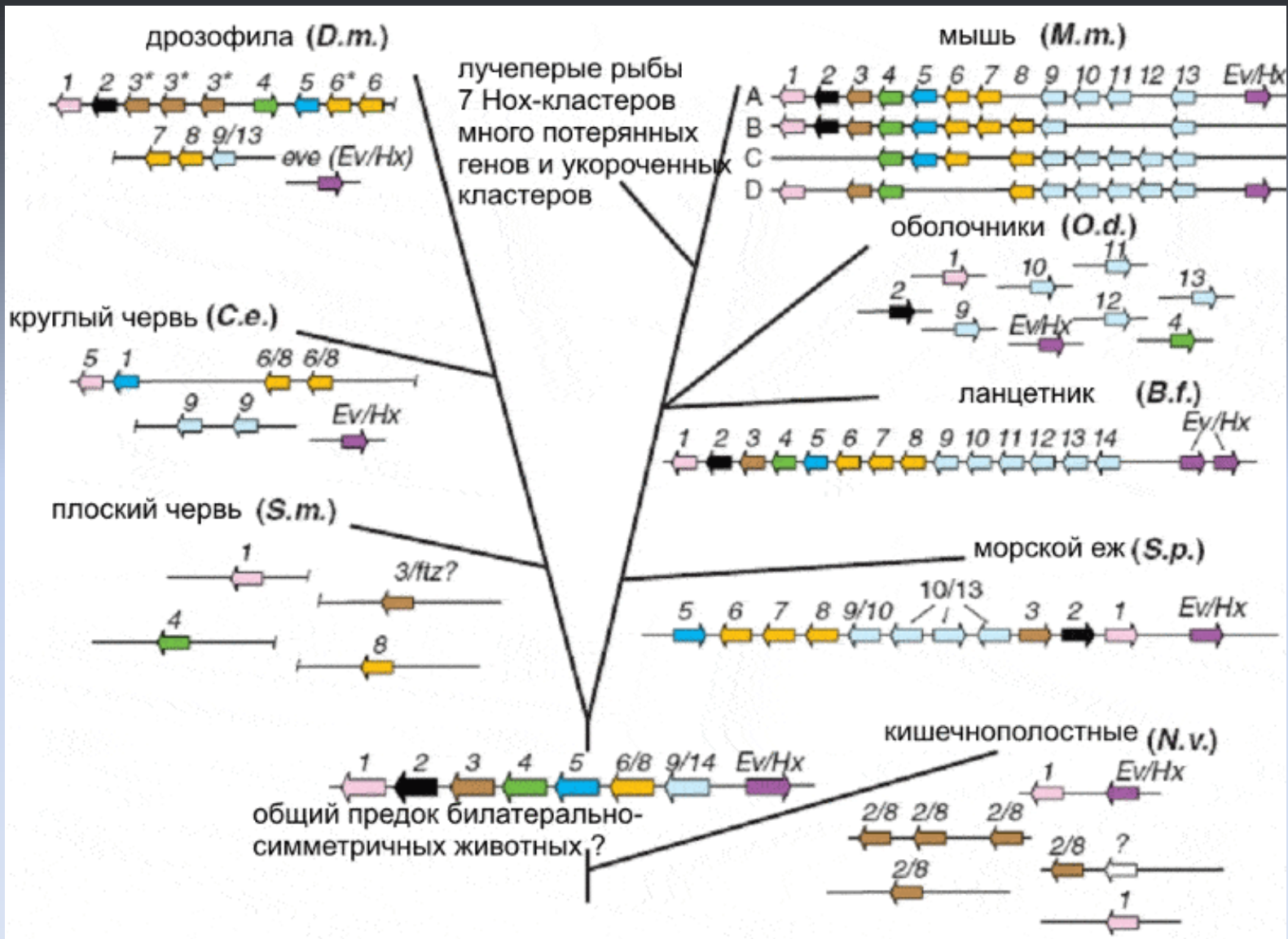
Тандемы – кластеры генов

Кластеры генов возникают в результате дупликаций исходных генов и последующих мутационных процессов, включая рекомбинации – как гомологичные, так и нехомологичные. В процессе эволюции кластеры генов преобразуются в семейства генов.



Предполагаемая эволюция Нох-кластера

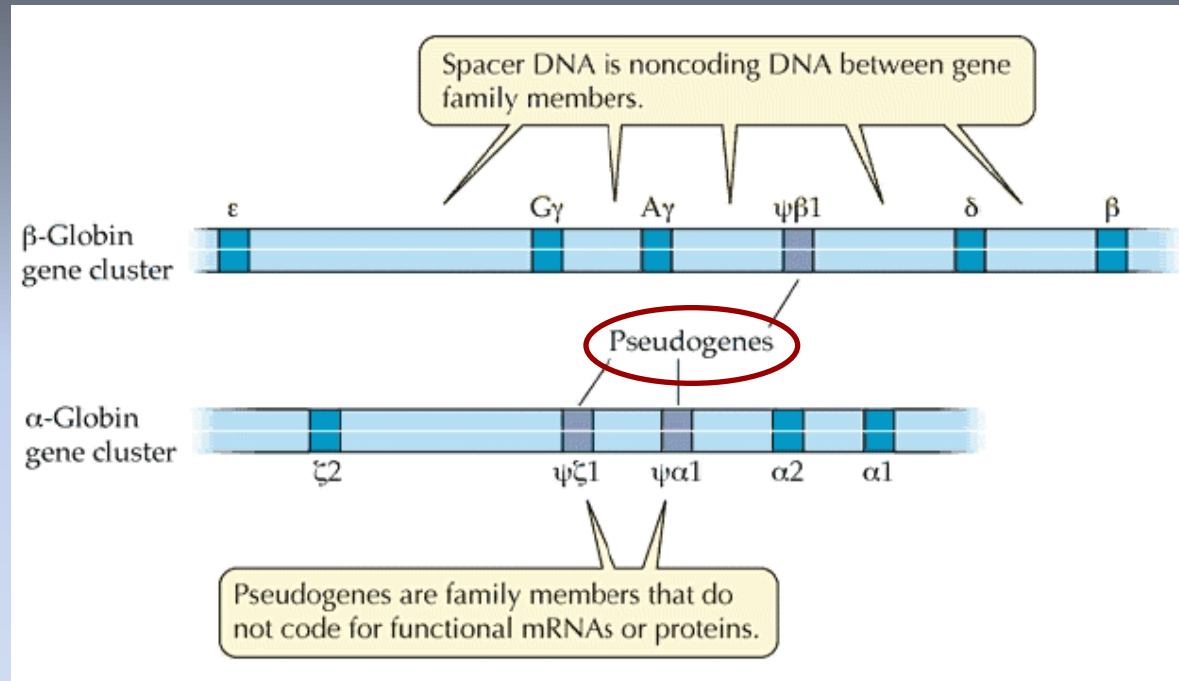
Тандемы - кластеры генов



Общая схема эволюции животных и их Нох-генов.

Псевдогены

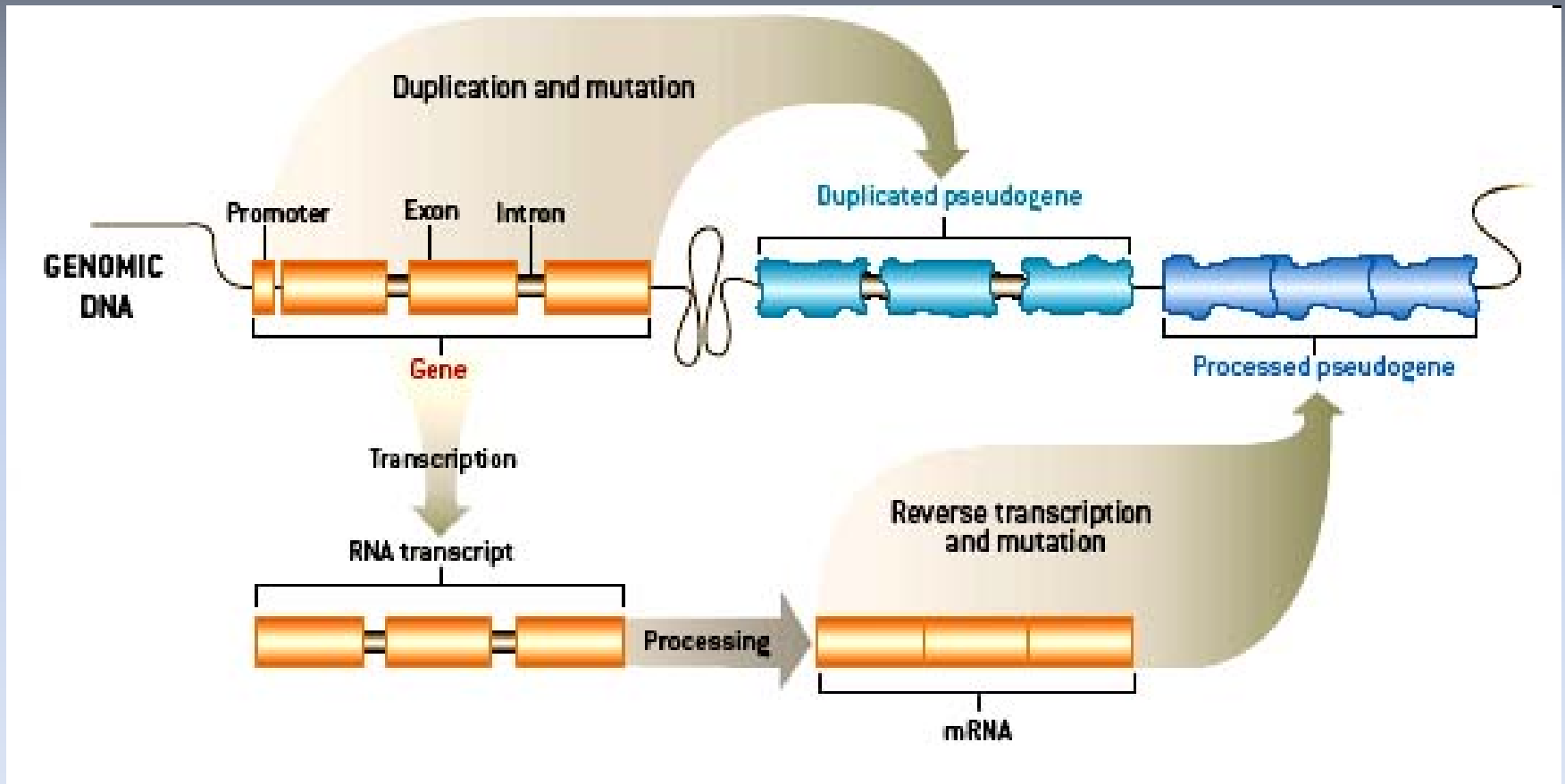
Псевдогены – последовательности, сходные с обычными структурными генами, но, как правило, не экспрессирующиеся с образованием функционально активных полипептидов.



Псевдогены в составе кластера глобиновых генов.

Псевдогены

Один из основных механизмов образования псевдогенов – интеграция в геном копий ДНК, комплементарных зрелой молекуле мРНК, возникающих в результате ее обратной транскрипции, т.е. образование процессированных псевдогенов. Также псевдогены могут образовываться вследствие дупликаций генов с последующей инактивацией копий мутациями.



Два пути возникновения псевдогенов.

Б23 В2 Мобильные элементы

Мобильные элементы – последовательности ДНК, способные менять свою локализацию в геноме. Выделяют два обширных класса мобильных элементов на основе различий механизмов перемещения и структурной организации.

Ретротранспозоны – мобильные элементы, использующие процесс обратной транскрипции.

ДНК-транспозоны – мобильные элементы, перемещающиеся в виде ДНК копий с использованием нескольких отличных друг от друга механизмов.

В геномах эукариот встречаются оба класса мобильных элементов, у прокариот обнаружены только ДНК-транспозоны.

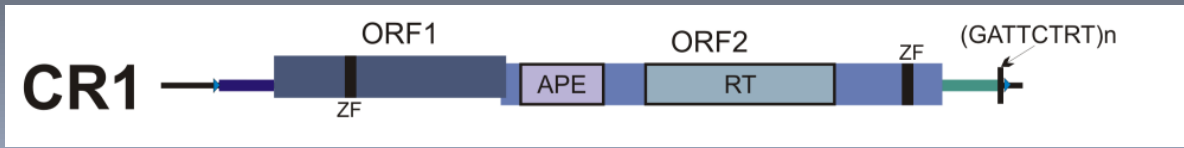
Classes of interspersed repeat in the human genome				Length	Copy number	Fraction of genome
LINES	Autonomous			6–8 kb	850,000	21%
SINEs	Non-autonomous			100–300 bp	1,500,000	13%
Retrovirus-like elements	Autonomous			6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous			1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous			2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous			80–3,000 bp		

В геноме человека представлены non-LTR ретротранспозоны, LTR ретротранспозоны, эндогенные ретровирусы, ДНК транспозоны. В общей сложности около 45% генома.

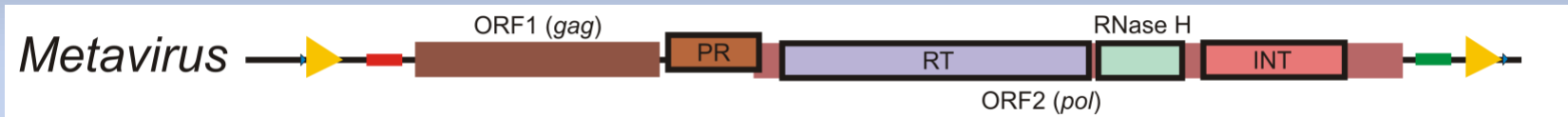
Мобильные элементы - Ретротранспозоны

Среди ретротранспозонов выделяют три подкласса:

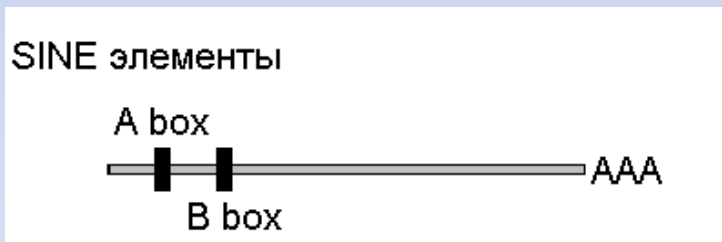
- non-LTR ретротранспозоны



-LTR ретротранспозоны

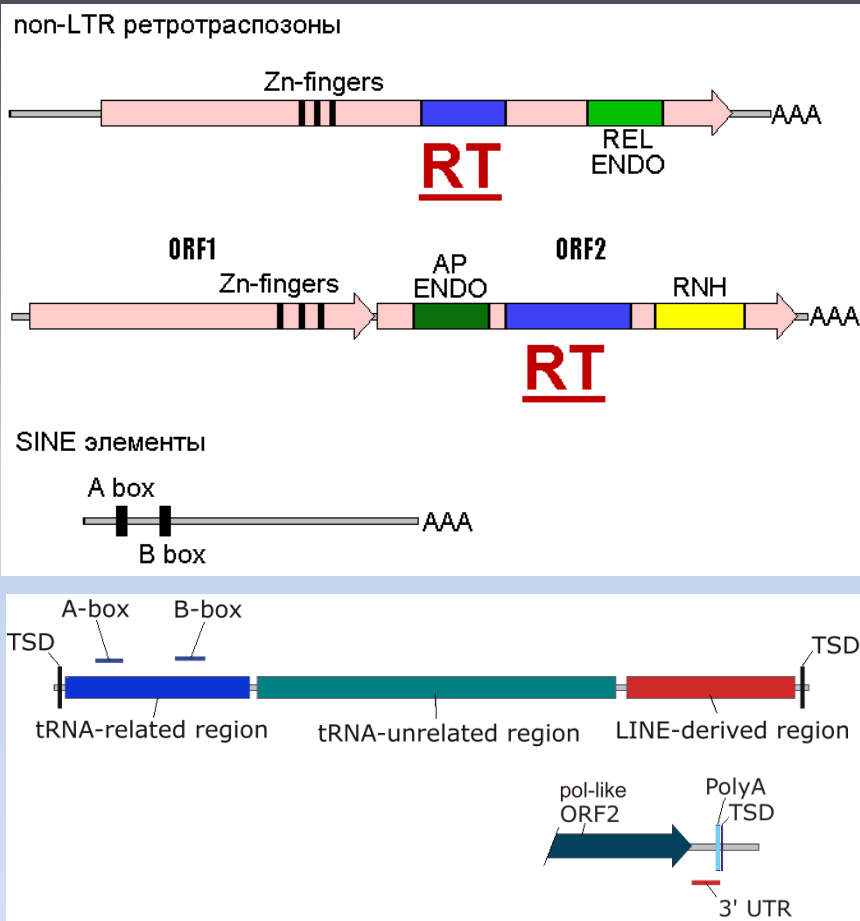


- и SINE (short interspersed elements) элементы



Представители различных подклассов ретротранспозонов отличаются не только структурной организацией, но и механизмом перемещения.

Мобильные элементы – Ретротранспозоны - non-LTR ретротранспозоны (ретропозоны)



Ретропозоны, в отличие от LTR ретротранспозонов, которые будут рассмотрены ниже, не несут на концах длинных прямых повторов.

Среди ретропозонов выделяют:
non-LTR ретротранспозоны и SINE элементы.

Non-LTR ретротранспозоны имеют одну или две открытые рамки считывания (ORF) – обязательно присутствие последовательности, кодирующей обратную транскриптазу. На 3' конце элемента располагается polyA последовательность. Есть дополнительно кодируемые ферментативные домены – эндонуклеазы и рибонуклеаза H.

SINE элементы не несут последовательностей, кодирующих какой-либо белок, однако, в их структуре можно выделить следующие части: pol III промотор – чаще всего похож на tRNA pol III промотор; коровая или центральная часть; polyA последовательность на 3' конце, которая имеет высокую гомологию с 3' polyA последовательностями non-LTR ретротранспозонов из того же генома.

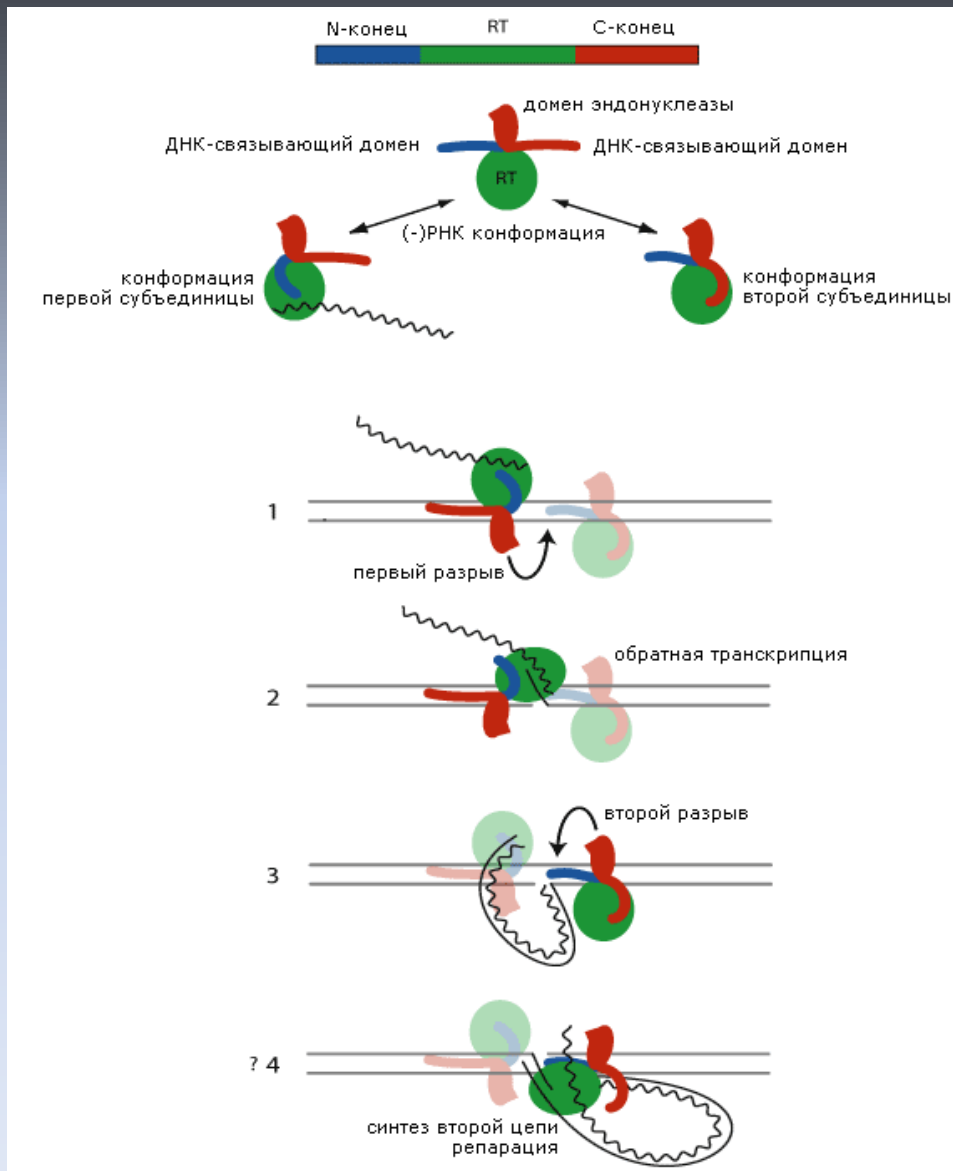
Замечание #1:

SINE элементы, зачастую, являются видо- или родо-специфичными, это навело на мысль об образовании SINE элементов de novo. Однако, механизм этого процесса до сих пор неизвестен.

Замечание #2:

Все вышесказанное относится к полноразмерным копиям non-LTR ретротранспозонов, однако, большинство копий в геноме, чаще всего, нарушены и могут не иметь многие из перечисленных характеристик.

Мобильные элементы – Ретротранспозоны - non-LTR ретротранспозоны



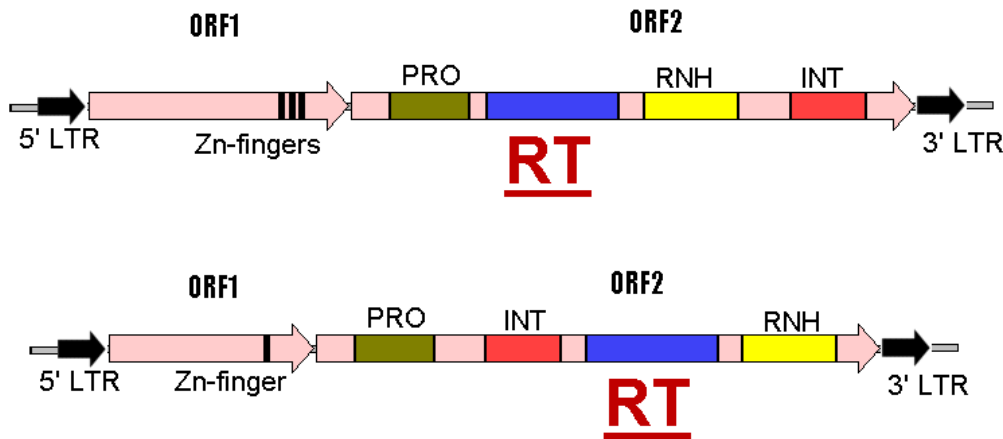
Non-LTR ретротранспозоны используют праймер опосредованный механизм синтеза новой копии элемента (TPRT – target-primed reverse transcription).

Синтез кДНК начинается только после образования разрыва ДНК в месте встраивания новой копии – 3' конец геномной ДНК используется в качестве затравки для начала синтеза первой цепи кДНК.

Все процессы синтеза новой копии non-LTR ретротранспозонов осуществляются в ядре - в месте встройки будущей копии элемента.

Мобильные элементы – Ретротранспозоны - LTR

ретротранспозоны



Замечание #1:

Количеством рамок, разнообразие структуры LTR ретротранспозонов не ограничивается. По структуре второй рамки, которая кодирует большинство ферментов, необходимых для ретротранспозиции, LTR ретротранспозоны могут быть четко разделены на несколько групп.

Замечание #2:

Одна из групп LTR ретротранспозонов, как считается на сегодняшний день, дала начало ретровирусам, к которым относятся, например, вирус иммунодефицита человека (HIV). Об этом будет рассказано далее...

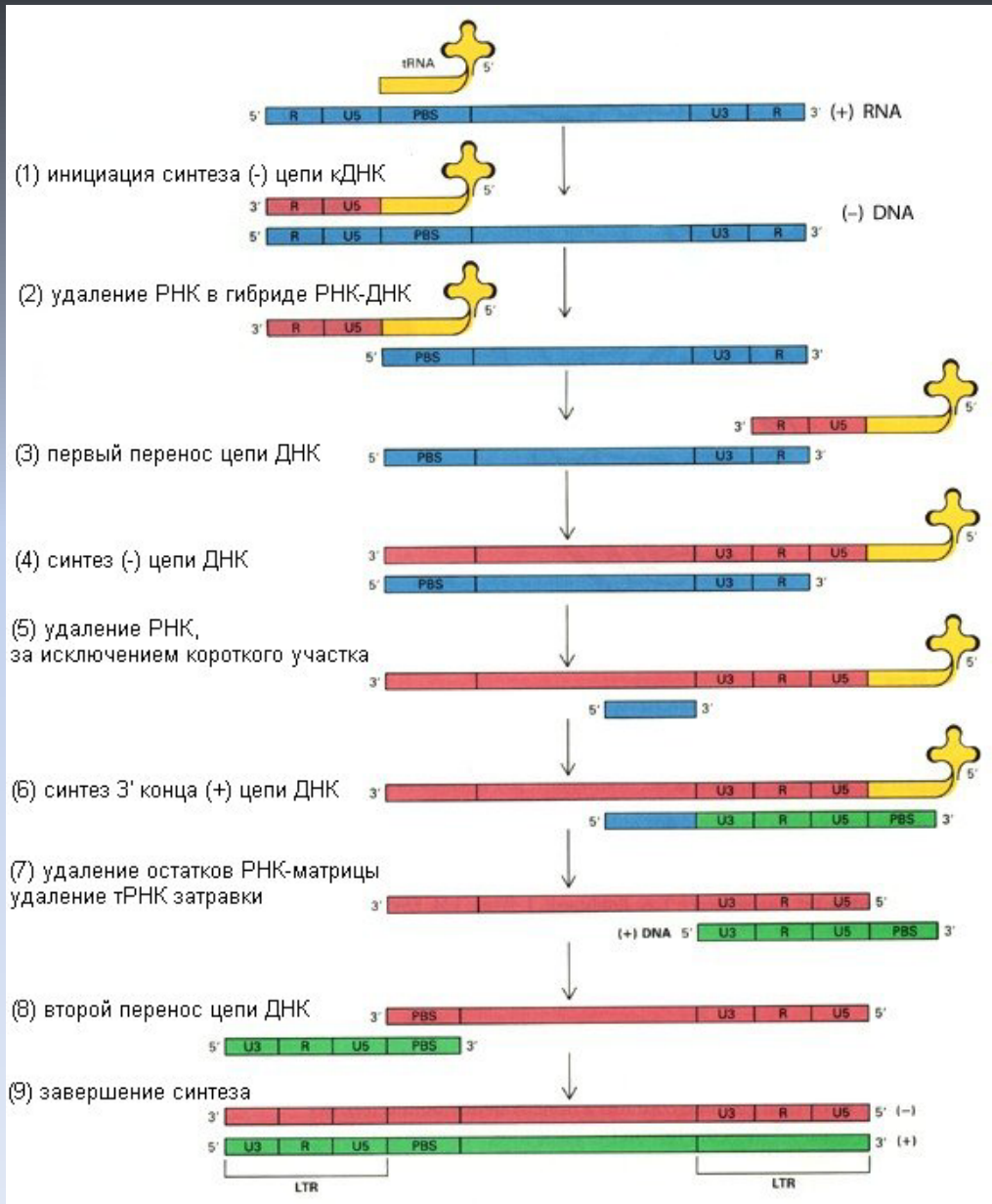
Замечание #3:

Как и в случае с non-LTR ретротранспозонами, большая часть копий LTR ретротранспозонов в геноме может быть нарушена.

По своей структуре LTR ретротранспозоны гораздо более разнообразны, чем ретропозоны. общей чертой всех LTR ретротранспозонов является наличие длинных концевых повторов (LTRs). Длинные концевые повторы несут регуляторные последовательности, в первую очередь – внутренний промотор (5' LTR), а также сигнал полиаденилирования (3' LTR).

Количество открытых рамок считывания может варьировать от одной до трех, причем, первая из них кодирует ДНК-связывающий белок, вторая – необходимые для ретротранспозиции ферменты, третья – так называемый белок оболочки (envelope), в результате, LTR ретротранспозон может обладать инфекционной способностью, как ретровирусы. Известны случаи наличия дополнительных рамок и/или антисенс-рамок, кодирующих ферменты, которые не необходимы для ретротранспозиции.

Мобильные элементы – Ретротранспозоны - LTR ретротранспозоны



LTR ретротранспозоны используют механизм синтеза новой копии сходный с образованием новых копий кДНК ретровирусов.

В качестве затравки LTR ретротранспозоны используют тРНК. Все процессы синтеза новой копии LTR ретротранспозона осуществляются в цитоплазме, а к месту встраивания доставляется уже синтезированная кДНК копия элемента.

Мобильные элементы - ДНК-транспозоны



Замечание #1:

Именно ДНК транспозоны были первыми мобильными элементами, обнаруженными у эукариот.

Первооткрывательница Барбара МакКлинток получила в 1983 году Нобелевскую премию

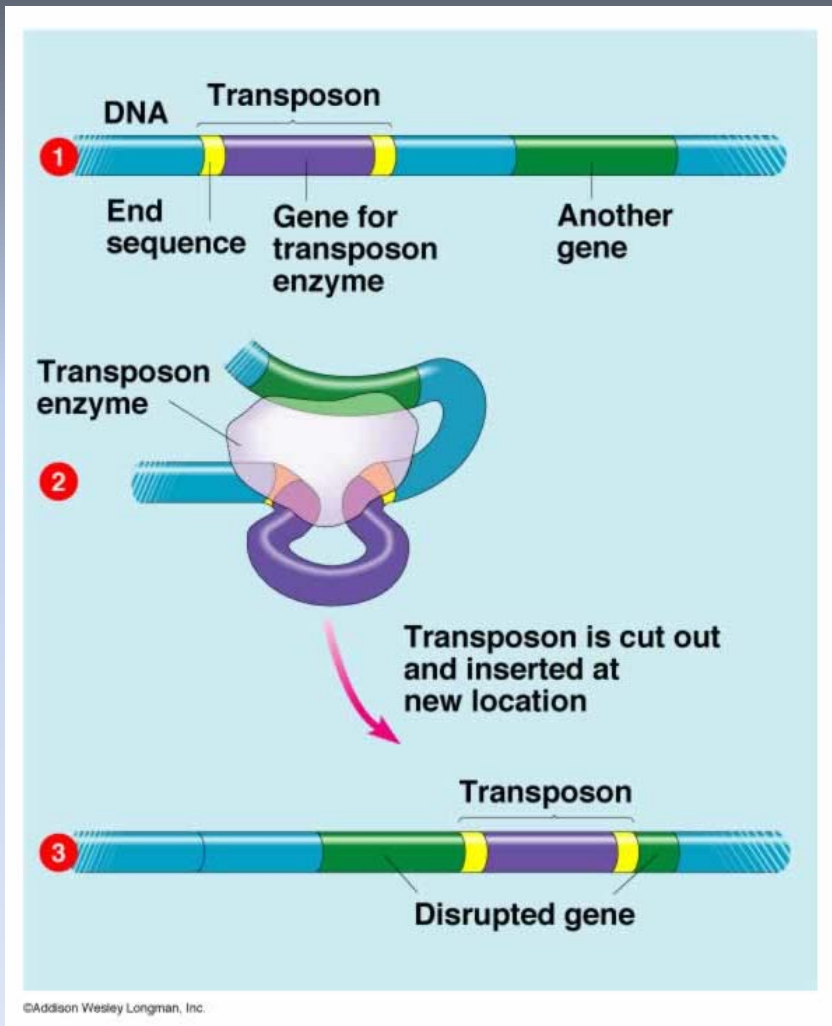
ДНК транспозоны характеризуются наличием инвертированных фланкирующих повторов и присутствием одной открытой рамки считывания, кодирующей транспозазу, ключевой фермент процесса транспозиции по механизму вырезания-встраивания.

Многие из ДНК транспозонов могут нести дополнительные открытые рамки или даже гены, которые захватываются из генома хозяина и не играют никакой роли в механизме транспозиции.

Значительную фракцию МЕ в геноме могут составлять нарушенные копии ДНК транспозонов, которые относятся к неавтономным ДНК транспозонам. Для своей транспозиции эти нарушенные МЕ могут использовать транспозазу, кодируемую автономным ДНК транспозоном.

Мобильные элементы - ДНК-транспозоны

Основной механизм перемещения ДНК-транспозонов – вырезание/встраивание (cut-and-paste).



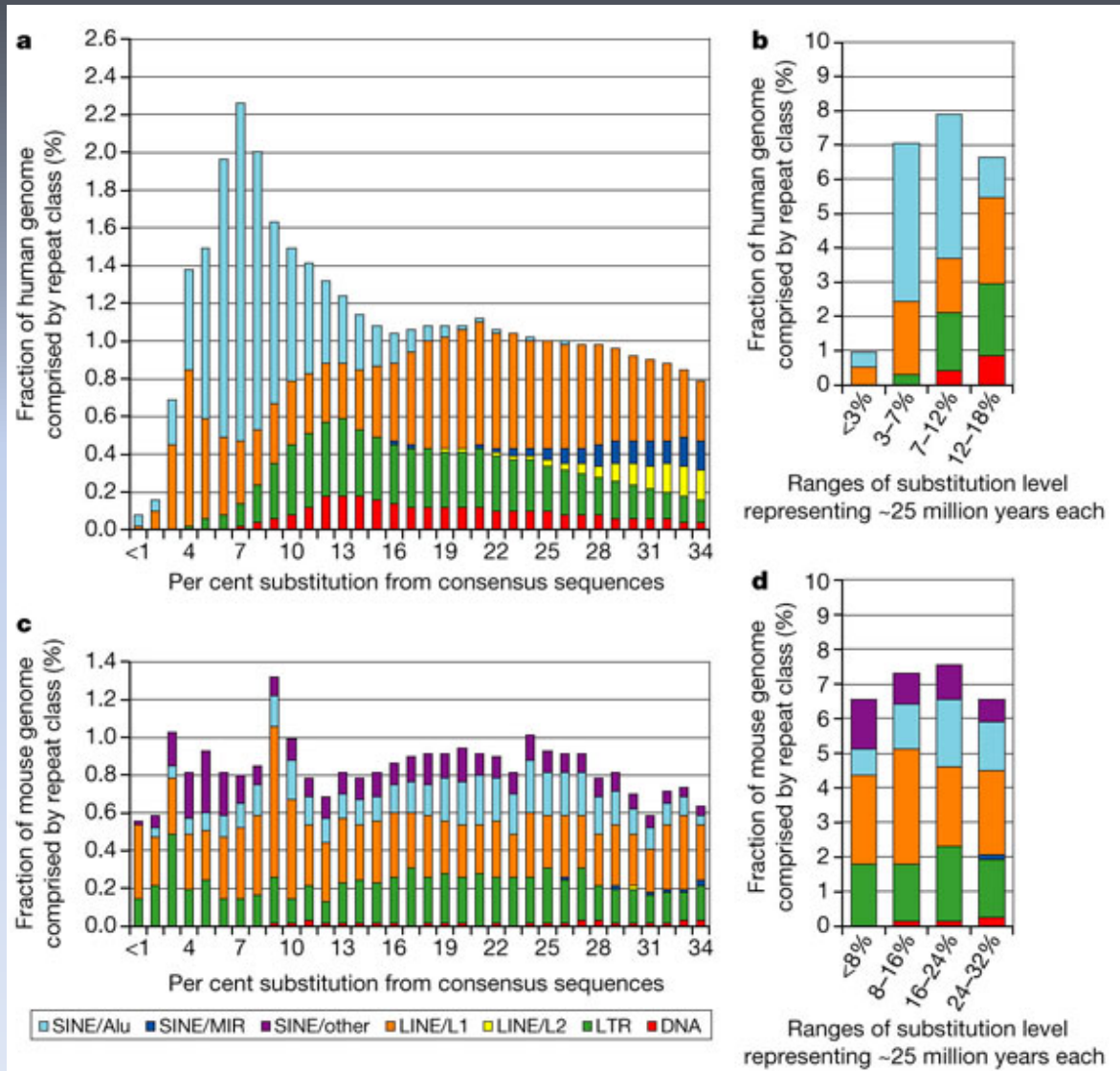
ДНК-транспозоны найдены как в геномах эукариот, так и прокариот.

Замечание №1

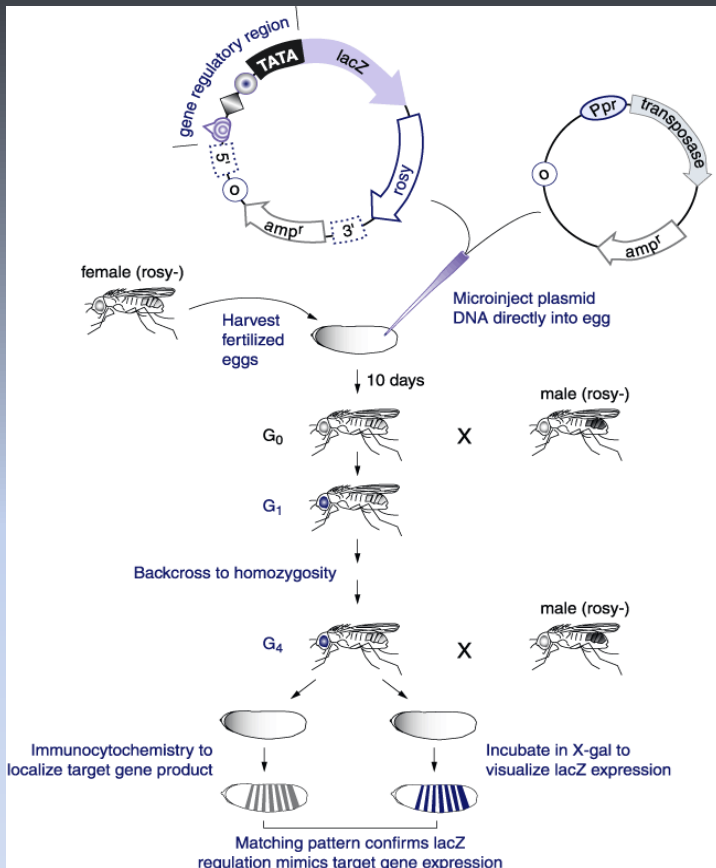
Ранее считали, что ДНК-транспозоны эукариот делятся по механизму перемещения на два класса: размножающиеся с помощью нерепликативной транспозиции (по механизму «вырезание-встраивание») и репликативной транспозиции. Однако в последние годы благодаря секвенированию геномов многих организмов были открыты *in silico* два новых класса ДНК-транспозонов эукариот: **Helitrons** и **Polintons**. Helitrons перемещаются с помощью полурепликативной транспозиции по принципу катящегося кольца, подобно плазмидам и некоторым вирусам. Polintons, или самосинтезирующиеся транспозоны, при размножении используют свою собственную ДНК-полимеразу, праймером для которой служит белок, и считаются в настоящее время самыми сложными ДНК-транспозонами эукариот.

Мобильные элементы

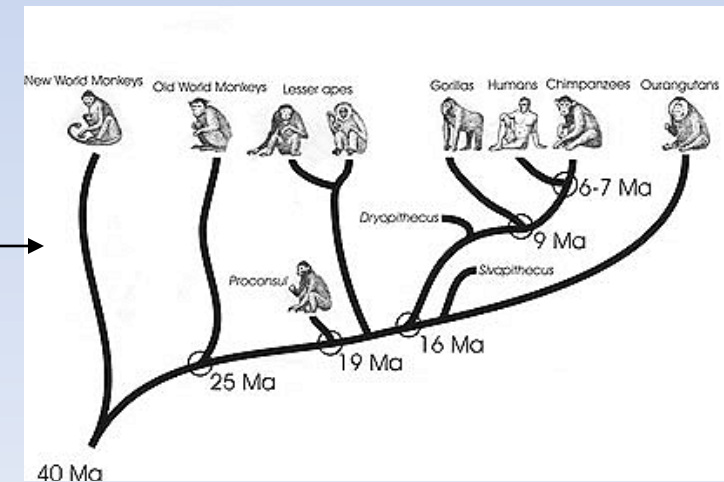
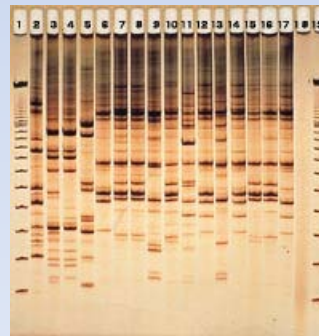
Состав и количество мобильных элементов сильно варьирует не только между различными таксонами, но и между близкородственными видами и даже между представителями одного и того же вида.



Мобильные элементы - практическое применение



МЕ могут использоваться как филогенетические маркеры, для построения эволюционных деревьев.



МЕ используются для получения трансгенных организмов.

МЕ используются для обнаружения и извлечения из генома новых генов, так называемый insertional mutagenesis – особенно активно применяется на растениях.

Все больше появляется информации о применении МЕ при генной терапии для лечения заболеваний.

Мобильные элементы - роль

Первоначально предполагалось, что МЕ являются так называемой “эгоистичной ДНК” (selfish DNA). Однако, по мере накопления данных о взаимодействии МЕ и генома хозяина, эта точка зрения претерпевает изменения.

На сегодняшний день, данные о влиянии МЕ на геном хозяина остаются разрозненными.

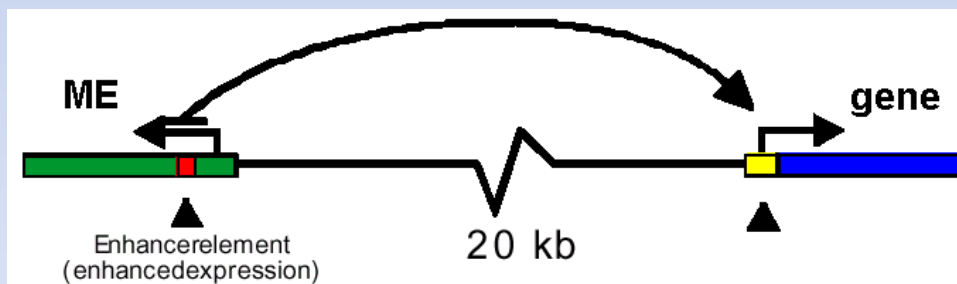
Интересный факт: увеличение размера генома неразрывно связано с увеличением количества МЕ.



* Перемещаясь, МЕ изменяют структуру генома хозяина

Известно, что:

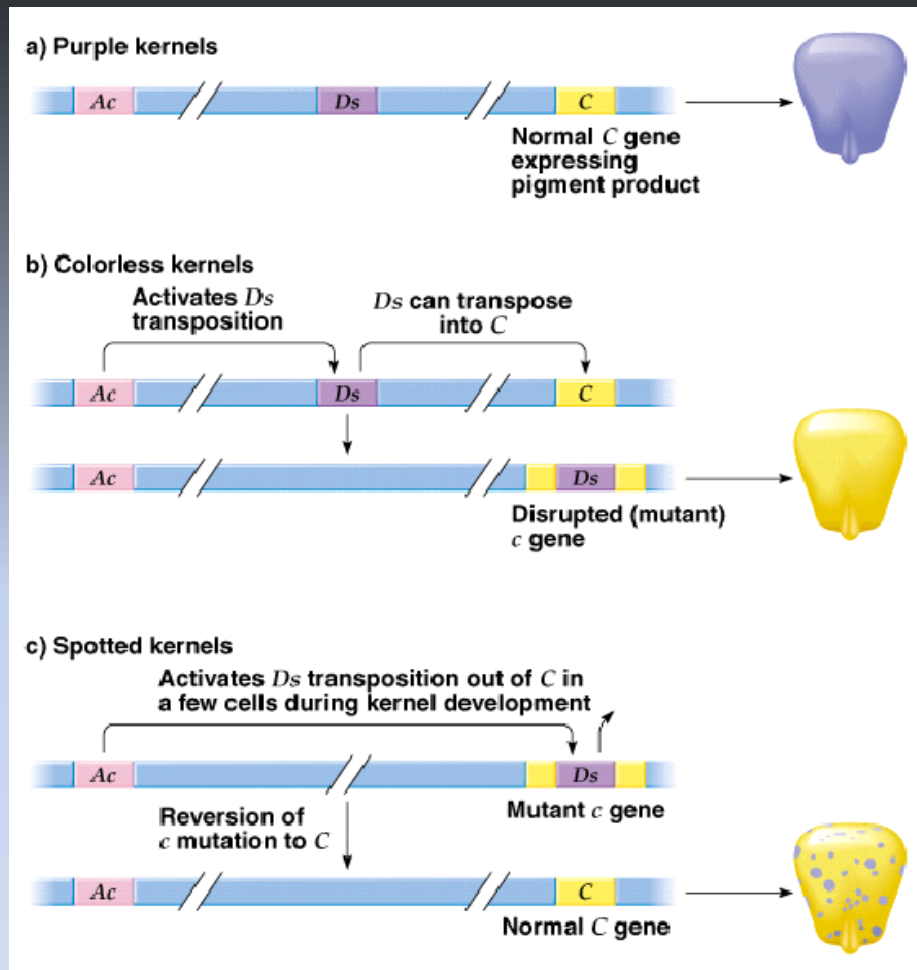
* Внутренние регуляторные части МЕ могут выступать как регуляторы экспрессии для близлежащих генов



* МЕ могут участвовать в образовании теломер

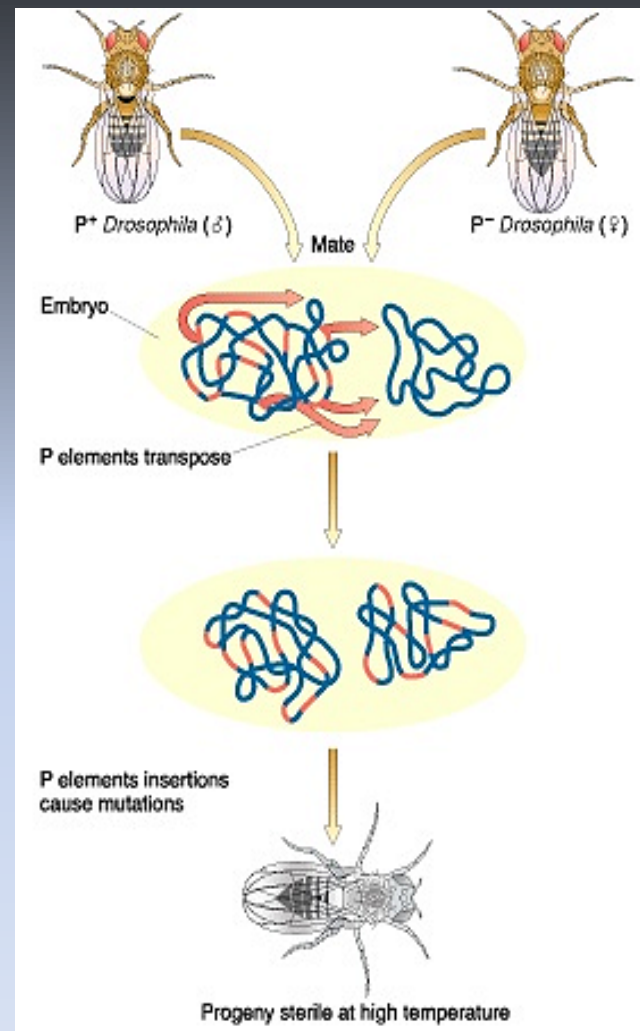
* И многое другое...

Мобильные элементы - роль



ДНК транспозоны были обнаружены Барбарой МакКлинток в 40-е годы XX века, когда она изучала изменчивость окраски зерен кукурузы.

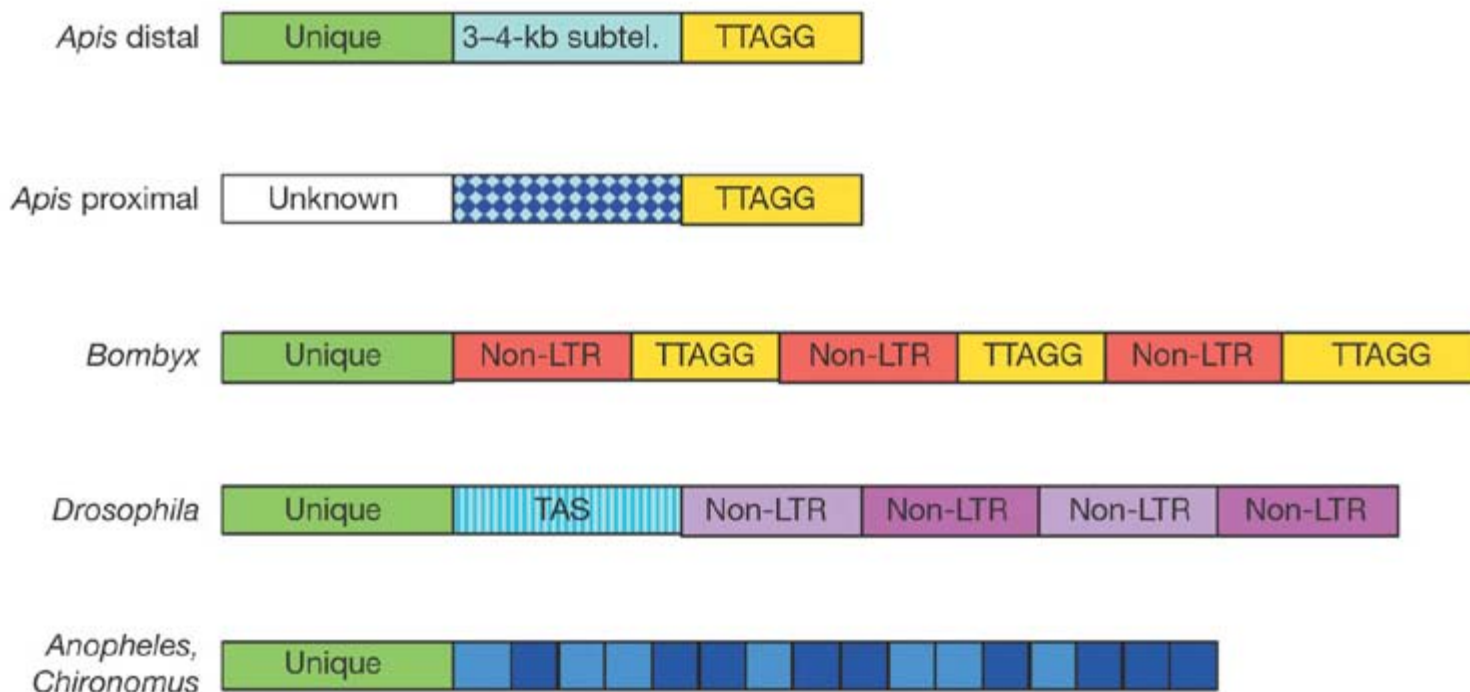
Гибридный дисгенез у *Drosophila*



0,27% всех заболеваний человека связано с перемещением мобильных элементов.

Мобильные элементы - роль

Наиболее известный пример участия мобильных элементов в функционировании генома – сохранение теломер у *Drosophila melanogaster*.

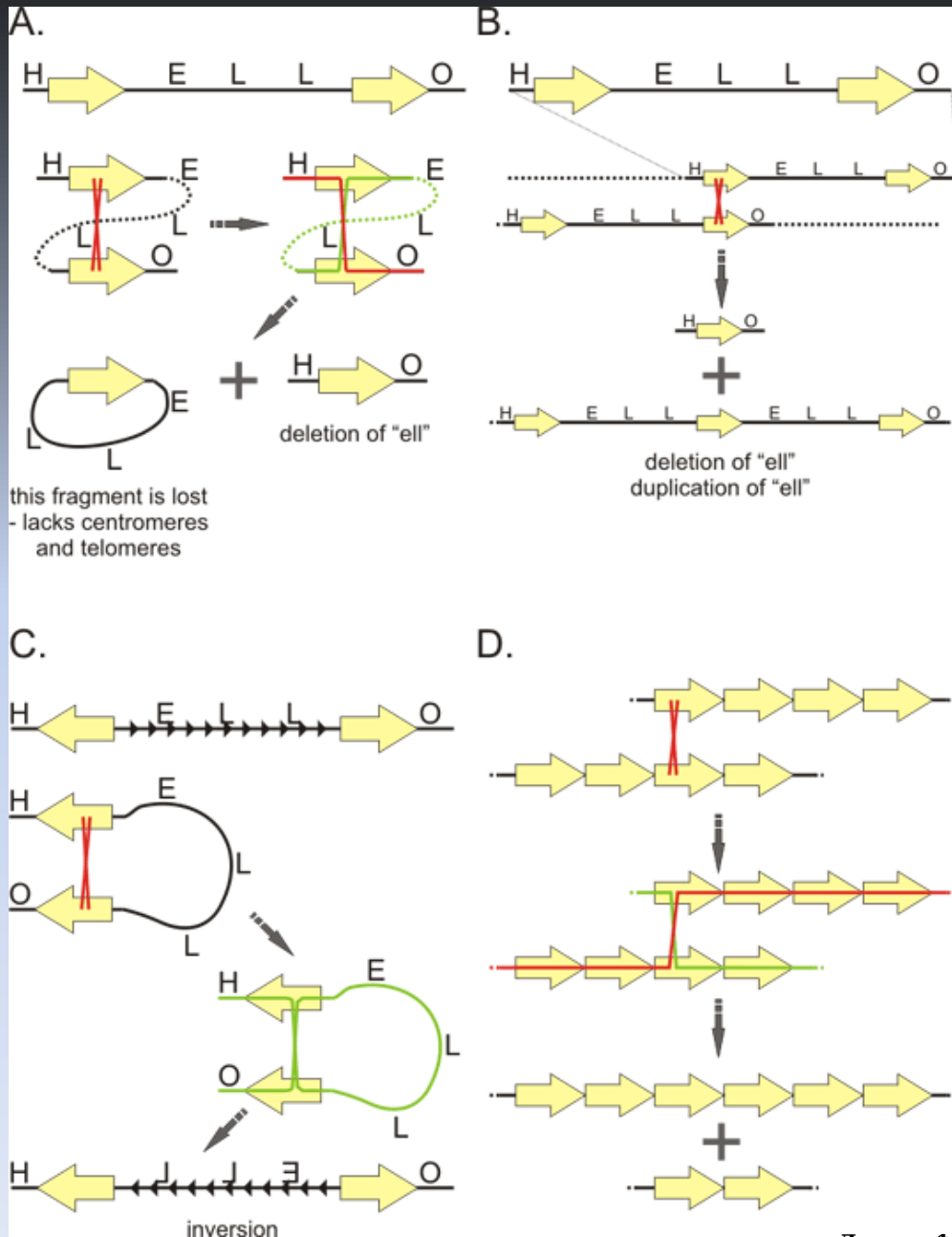


Организация теломер у различных насекомых. Теломеры *Drosophila* образованы двумя non-LTR ретротранспозонами, а у *Bombyx* в сохранении теломер участвуют как теломераза, так и non-LTR ретротранспозоны.

Замечание №1

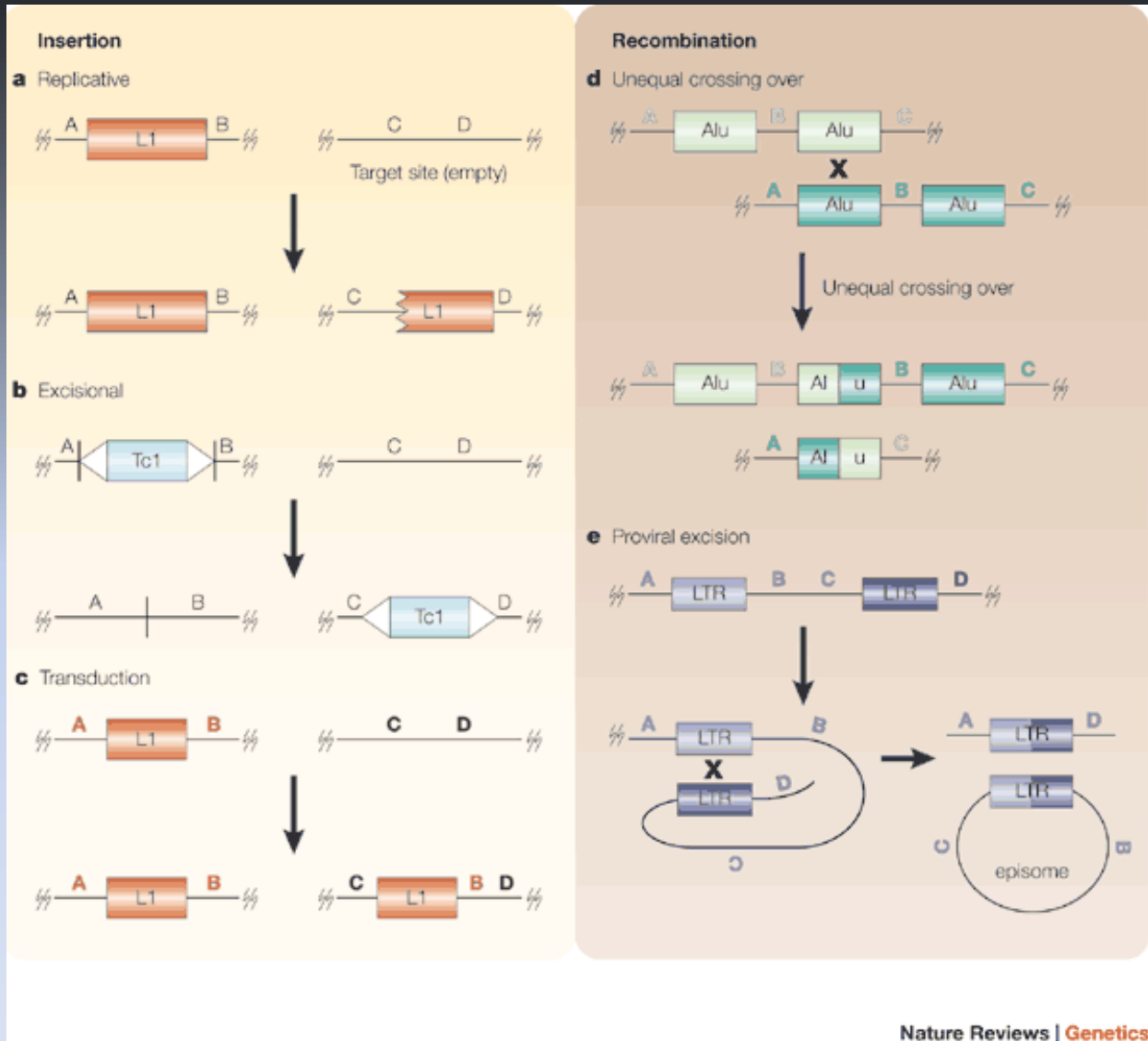
Теломераза – фермент необходимый для формирования теломер, показано, что теломераза филогенетически связана с ретротранспозонами;

Б15 В2 Мобильные элементы - роль



Различные варианты хромосомных перестроек в результате рекомбинаций между повторами, в частности – мобильными элементами.

Мобильные элементы - роль



Мобильные элементы могут играть существенную роль в организации и эволюции генома

Генные мутации. Механизмы генных мутаций.

Генные мутации выражаются в изменении структуры отдельных участков ДНК

Делеции — утрата сегмента ДНК размером от одного нуклеотида до гена.

Дупликации — удвоение или повторное дублирование сегмента ДНК от одного нуклеотида до целых генов.

Инверсии — поворот на 180° сегмента ДНК размером от двух нуклеотидов до фрагмента, включающего несколько генов.

Инсерции — вставка фрагментов ДНК размером от одного нуклеотида до целого гена.

Трансверсии — замена пуринового основания на пиримидиновое или наоборот в одном из кодонов.

Транзиции — замена одного пуринового основания на другое пуриновое или одного пиримидинового на другое в структуре кодона.

Структура ДНК и белка до мутаций			
ДНК	А Т Г	Г Г Ц	А Т Ц
мРНК	Т А Ц	Ц Ц Г	Т А Г
белок	метионин	глицин	изолейцин

Мутации и их последствия			
вставка пары А – Т		потеря пары Ц – Г	
ДНК	А Т Г	А Г Г	Ц А Т
мРНК	Т А Ц	Т Ц Ц	Г Т А
белок	метионин	аргинин	гистидин

Генные мутации. Механизмы генных мутаций.

По последствиям **генных мутаций** их классифицируют на нейтральные, регуляторные и динамические, а также на миссенс- и нонсенс-мутации.

Нейтральная мутация (молчащая мутация) — мутация не имеет фенотипического выражения (например, в результате вырожденности генетического кода).

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-TAA-5'	3'-GAA-5'
Кодон мРНК	5'-AUU-3'	5'-CUU-3'
Аминокислота	-Иле-	-Лей-

Нонсенс-мутация — замена нуклеотида в кодирующей части гена — приводит к образованию кодона-терминатора (стоп-кодона) и прекращению трансляции.

Регуляторная мутация — мутация в 5'- или 3'-нетранслируемых областях гена, такая мутация нарушает экспрессию гена.

Динамические мутации — мутации, обусловленные увеличением числа три-нуклеотидных повторов в функционально значимых частях гена. Такие мутации могут привести к торможению или блокаде транскрипции, приобретению белковыми молекулами свойств, нарушающих их нормальный метаболизм.

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-GGT-5'	3'-GGA-5'
Кодон мРНК	5'-CCA-3'	5'-CCU-3'
Аминокислота	-Про-	-Про-

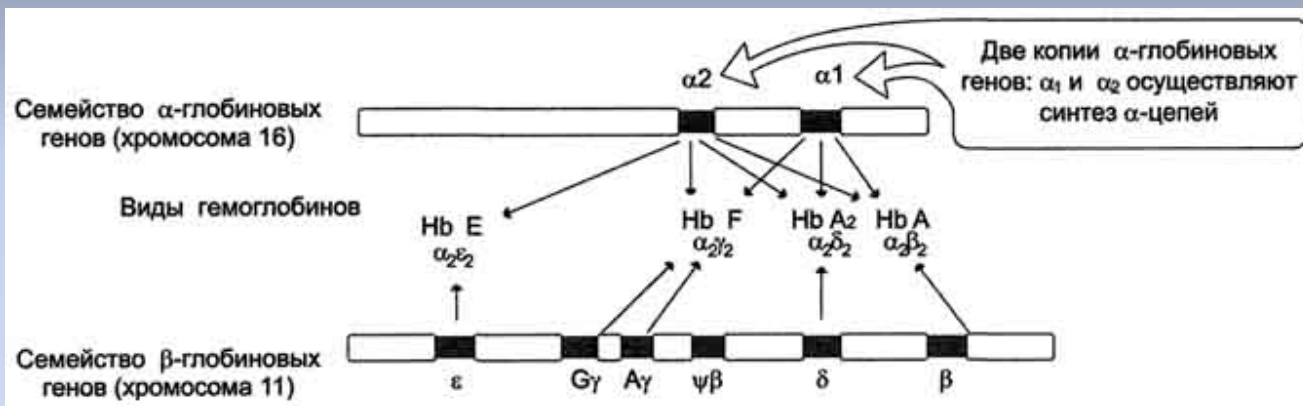
Миссенс-мутация — замена нуклеотида в кодирующей части гена — приводит к замене аминокислоты в полипептиде.

	Триплет "дикого" типа	Изменённый триплет
Матрица ДНК	3'-GTC-5'	3'-ATC-5'
Кодон мРНК	5'-CAG-3'	5'-UAG-3'
Аминокислота	-Глн-	Стоп-кодон

Генные мутации - примеры

Серповидноклеточная анемия — наследственное заболевание, как правило, приводящее детей и подростков к смерти.

В состав молекулы гемоглобина человека входят две α -цепи (α -цепь закодирована в 16-ой хромосоме) и две β -цепи (β -цепь закодирована в 11-ой хромосоме). В состав β -цепи входит 146 аминокислотных остатков, при этом в нормальной β -цепи шестым аминокислотным остатком является глутаминовая кислота. С участием нормальной β -цепи образуется нормальный гемоглобин — HbA. В нетранскрибируемой нити участка ДНК, кодирующего β -цепь, глутаминовая кислота закодирована триплетом ГАА. Если же в результате мутации в ДНК произойдет замена триплета ГАА на триплет ГТА, то на месте глутаминовой кислоты в молекуле гемоглобина в соответствии с генетическим кодом появится валин. В итоге вместо гемоглобина HbA появится новый гемоглобин — HbS.



Замечание №1

В малярийных зонах тропической Африки аномальный ген S, который в гомозиготном состоянии (1-1,5%) приводит к смерти людей, в гетерозиготных особях (~ 20%) влияет положительно на жизнеспособность, вызывая устойчивость к малярии.

Этот пример не одинок, в ряде случаев особи, гетерозиготные по рецессивным мутациям, по фенотипу нормальны, но обладают повышенной жизнеспособностью. Учение о генетическом грузе показывает, что каждая популяция за свою приспособленность (адаптацию) к окружающей среде "платит" определенным числом преждевременных смертей и наследственных болезней у части своих особей. Повышенная жизнеспособность гетерозигот при летальности или пониженной жизнеспособности гомозиготных особей называется **балансирующим полиморфизмом**.

Б22 В3 Геномные проекты

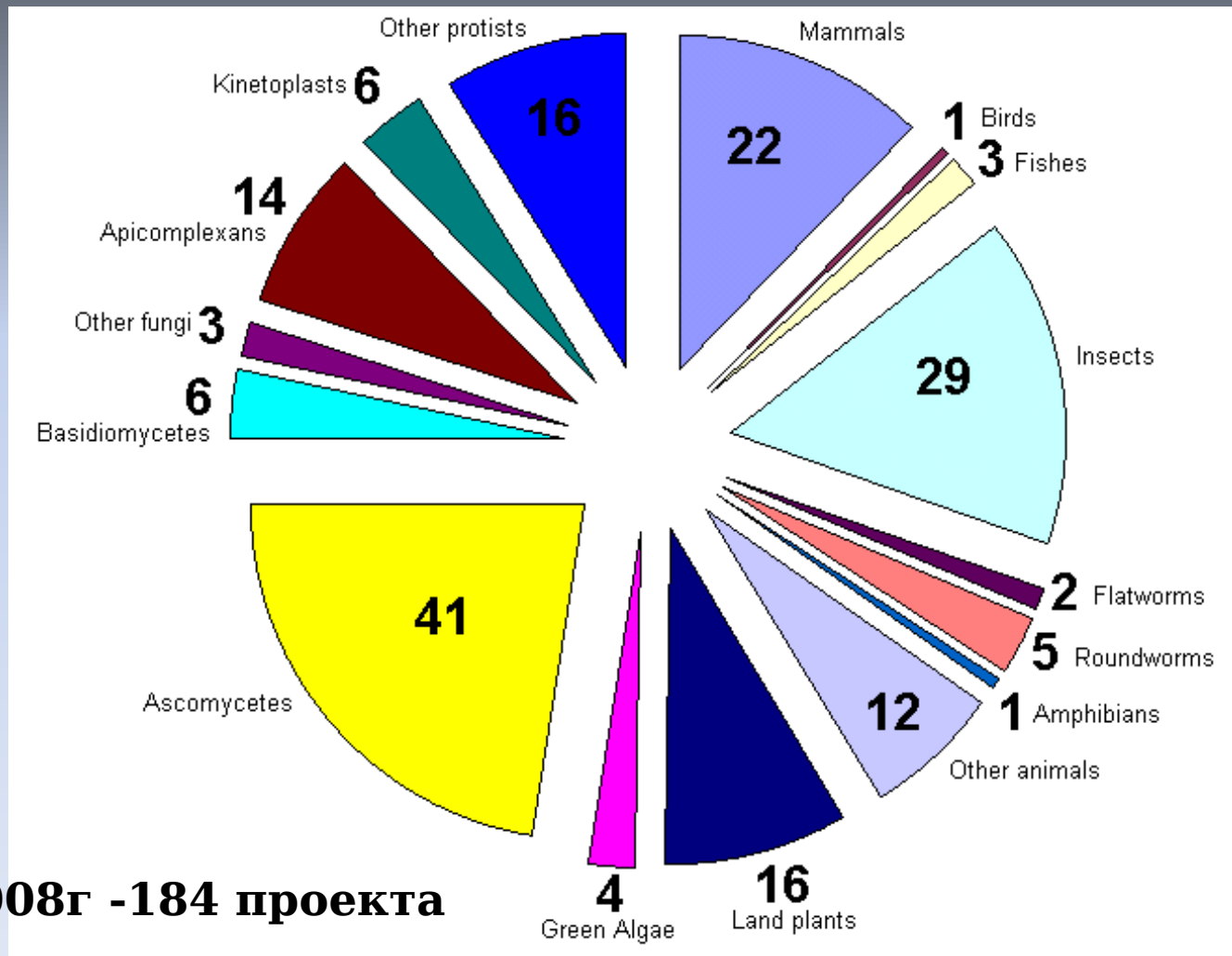


На сегодняшний день в базе NCBI зафиксировано **3413 проекта** по установлению полной последовательности геномов эукариотических организмов, большинство из которых находятся в процессе реализации.

2568 – бактерий

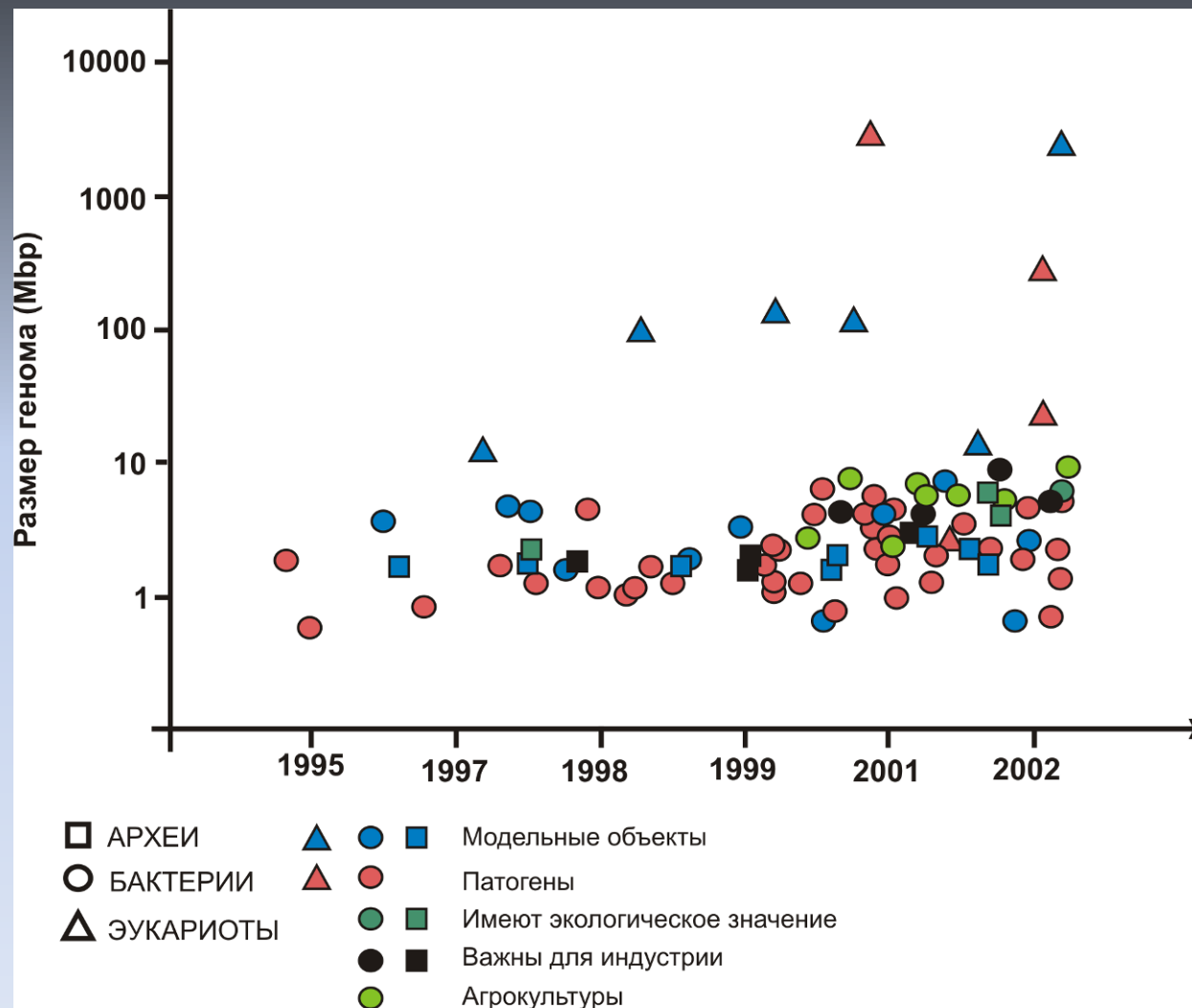
171 – архей

1000 полных геномов прокариот!



Геномные проекты

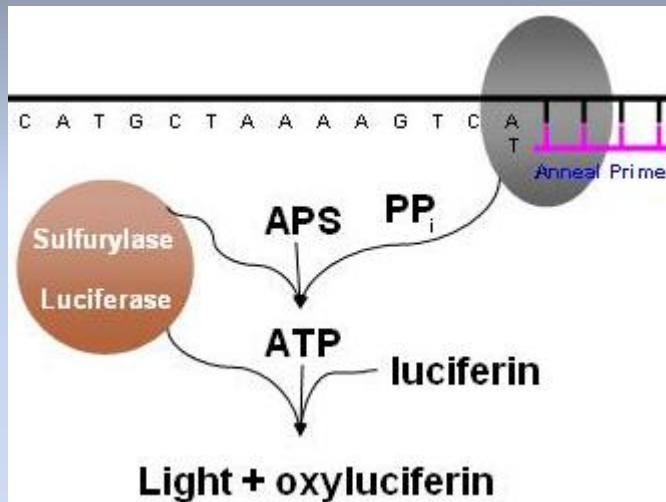
ГЕНОМНЫЕ ПРОЕКТЫ: 1995-2003



Janssen et al. 2003 (Genome Biology)

Геномные проекты - секвенирование

- Метод Сенгера - основан на электрофоретическом разделении терминированных фрагментов ДНК в полиакриламидном геле.
- Пиросеквенирование (2000 год — в США учреждена компания «454 Life Sciences»)

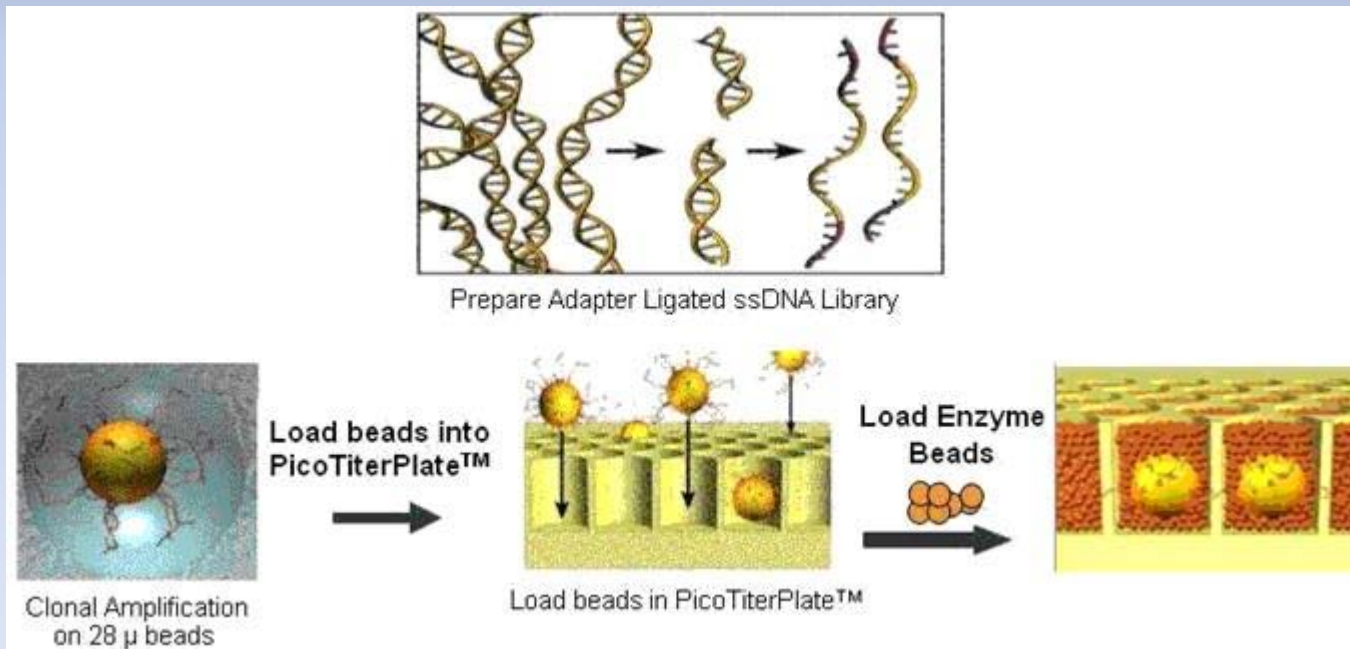


Принцип метода довольно прост и основан на (+/-)-секвенировании, предложенном ещё в 60-х годах. При последовательном добавлении к ДНК-полимеразному комплексу дезоксинуклеозидтрифосфатов их включение в синтезируемую нить зависит от нуклеотидной последовательности матрицы. Полимеразный синтез ДНК сопровождается выделением пирофосфата. Этот пирофосфат в присутствии сульфуриказы и аденозинфосфосульфата преобразуется в АТФ и запускает окисление люциферина люциферазой, сопровождающееся биолюминесценцией. Люминесценция регистрируется фотоумножителем или цифровой камерой.

Геномные проекты - секвенирование

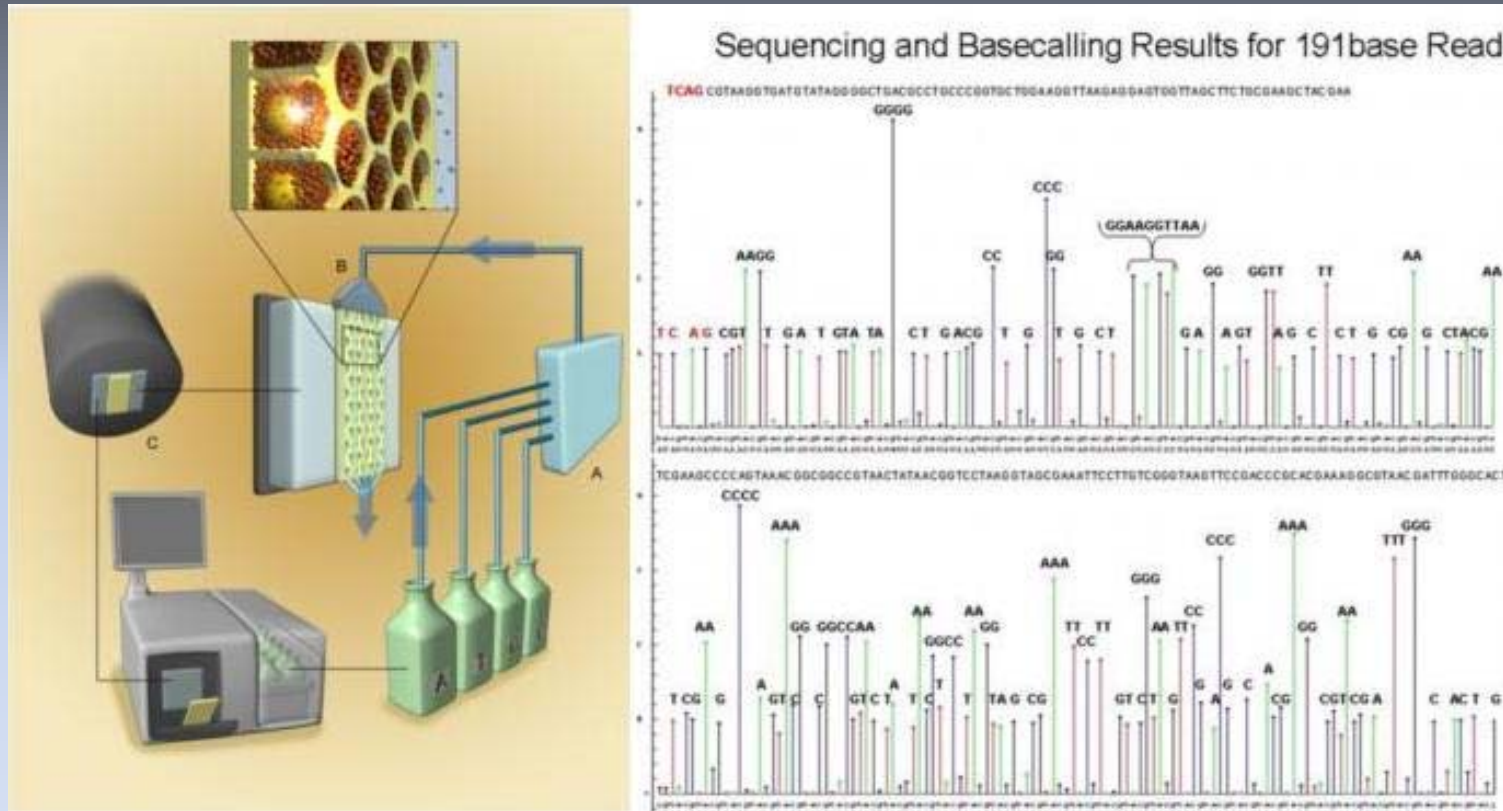
Использование эмульсионной ПЦР для одновременной параллельной подготовки сотен тысяч препаратов ДНК к секвенированию. Такая пробоподготовка состоит из следующих этапов:

- ультразвуковая фрагментация (небулизация) анализируемой ДНК;
- пришивка адапторов и денатурация ДНК;
- получение эмульсии, содержащей в микрокаплях единичные фрагменты ДНК и полистирольные шарики с пришитым праймером;
- проведение эмульсионной ПЦР (emPCR);
- отмывка микрошариков от реагентов и удаление не связанных с шариками нитей ДНК;
- загрузка шариков в лунки проточной камеры;
- загрузка лунок микрошариками с иммобилизованными ферментами.



Геномные проекты - секвенирование

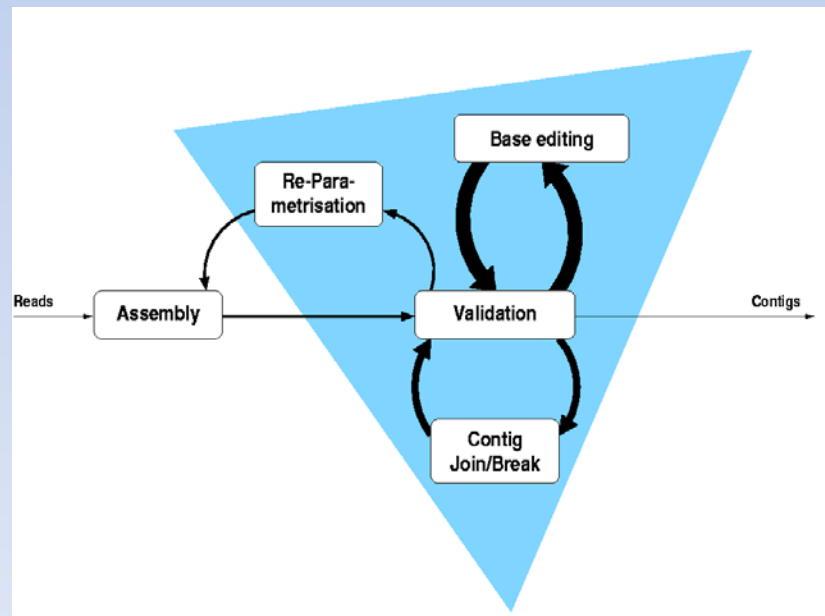
Пиросеквенатор "454 Life Sciences" состоит из комплекта бутылей с реагентами, управляемого компьютером многоканального насоса, проточной ячейки и чувствительной цифровой фотокамеры



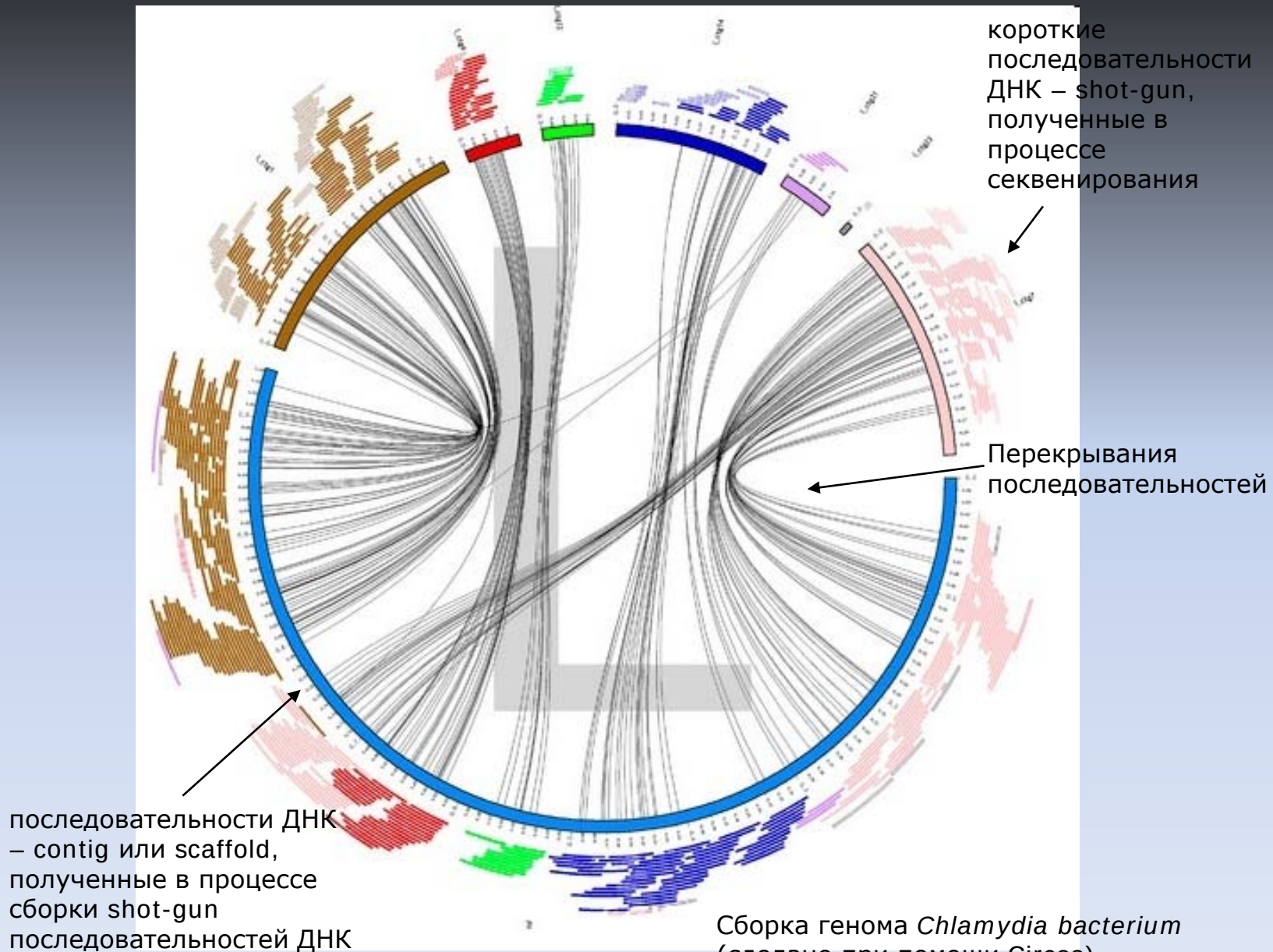
Проблема: При пропуске реагентов через проточную ячейку регистрируются люминесцентные сигналы, излучаемые сотнями тысяч микролунок. На димерных, тримерных и тетрамерных нуклеотидных повторах интенсивность сигналов пропорционально увеличивается. В то же время надёжно дифференцировать гомогенные тетрамеры и пентамеры уже практически невозможно, что затрудняет секвенирование последовательностей с протяжёнными нуклеотидными повторами.

Биоинформатические методы – анализ геномов

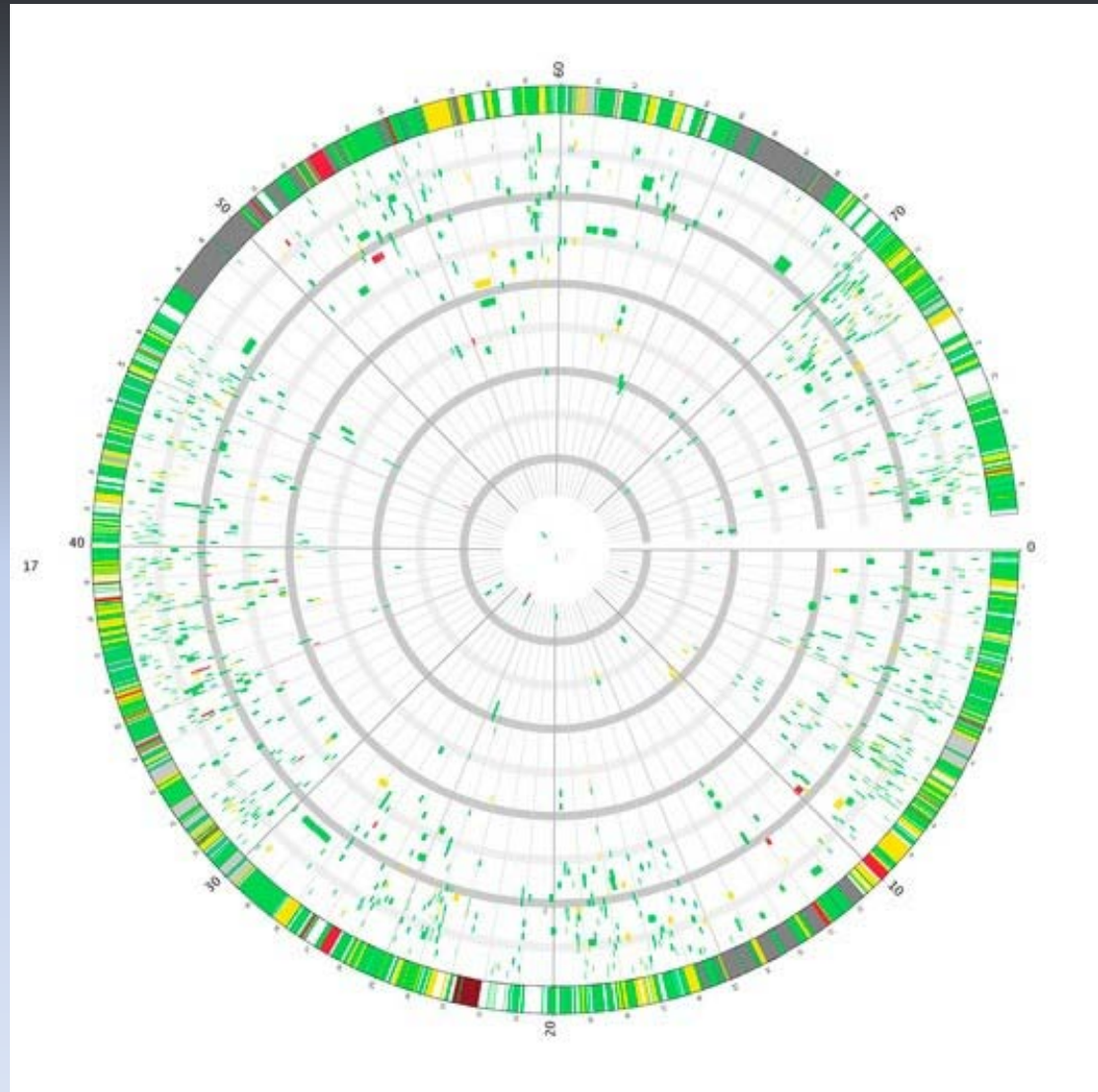
После получения пула геномных последовательностей необходимо провести сборку и аннотирование. Для сборки генома и первоначального аннотирования используются имеющиеся экспериментальные и исходные данные.



Биоинформатические методы – сборка геномов



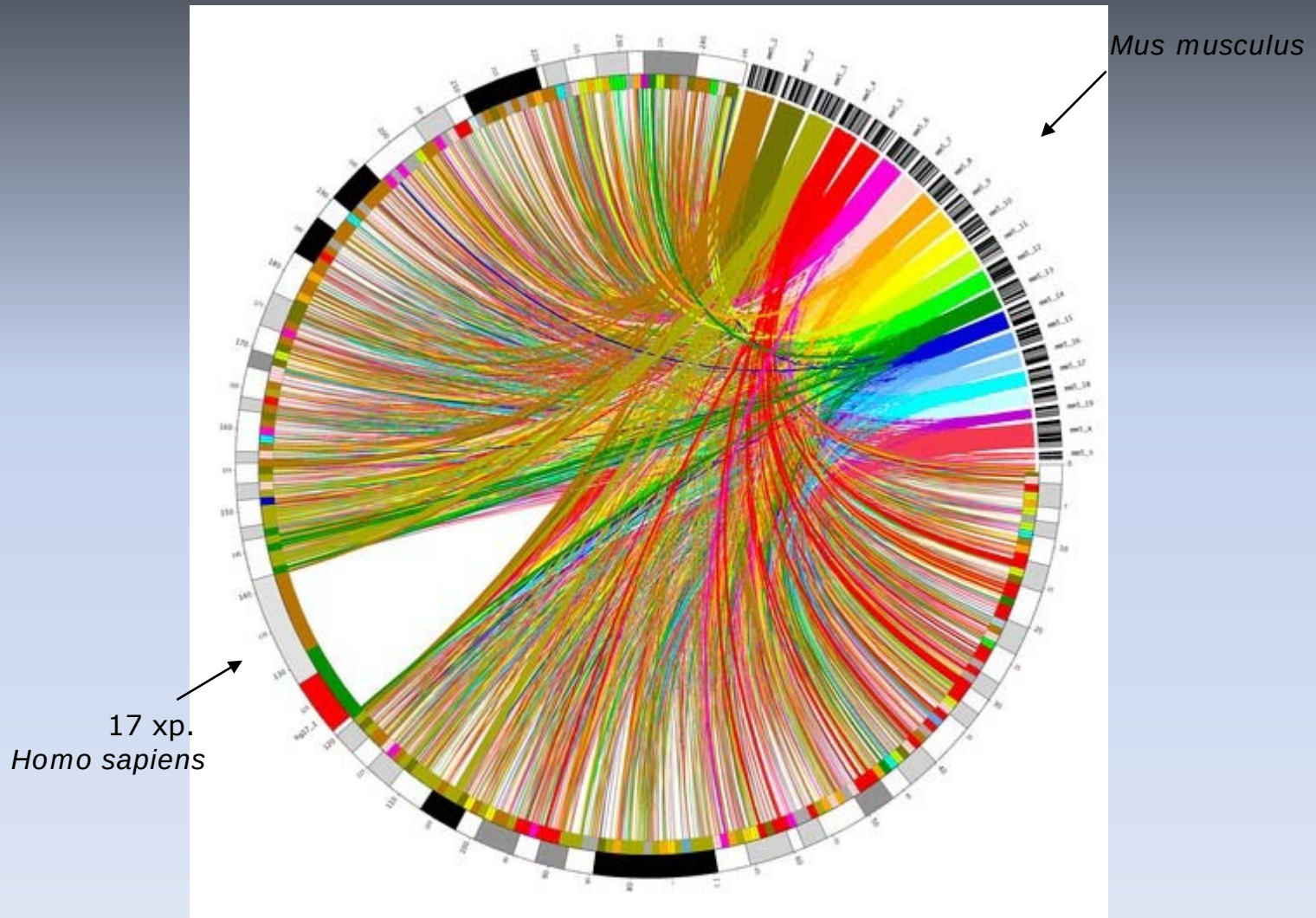
Биоинформатические методы – аннотирование геномов



Анализ геномов – 17 хромосома человека, зеленым показаны предсказанные гены, желтым – повторенные последовательности, красным – гены, нарушения которых могут вызывать рак, серым – некодирующие последовательности (сделано при помощи Circos)

Биоинформатические методы – сравнительный анализ геномов

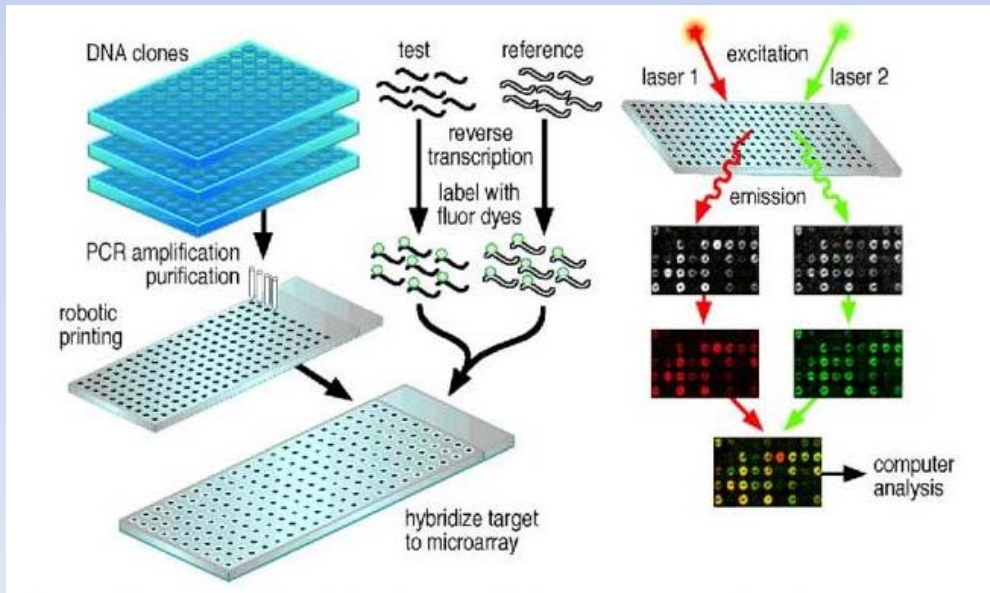
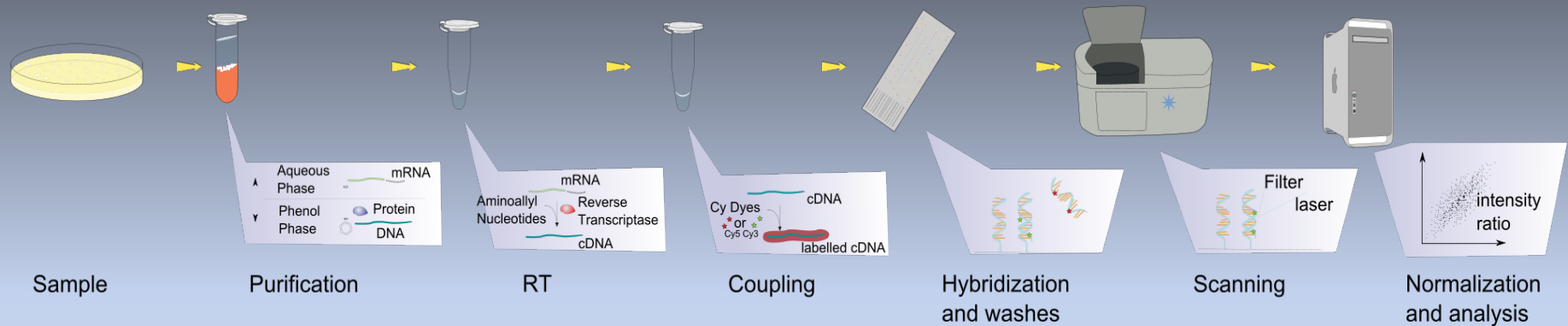
Сравнительный анализ геномов – сравнение геномных последовательностей различных организмов, поиск гомологов, реконструкция возможных эволюционных событий.

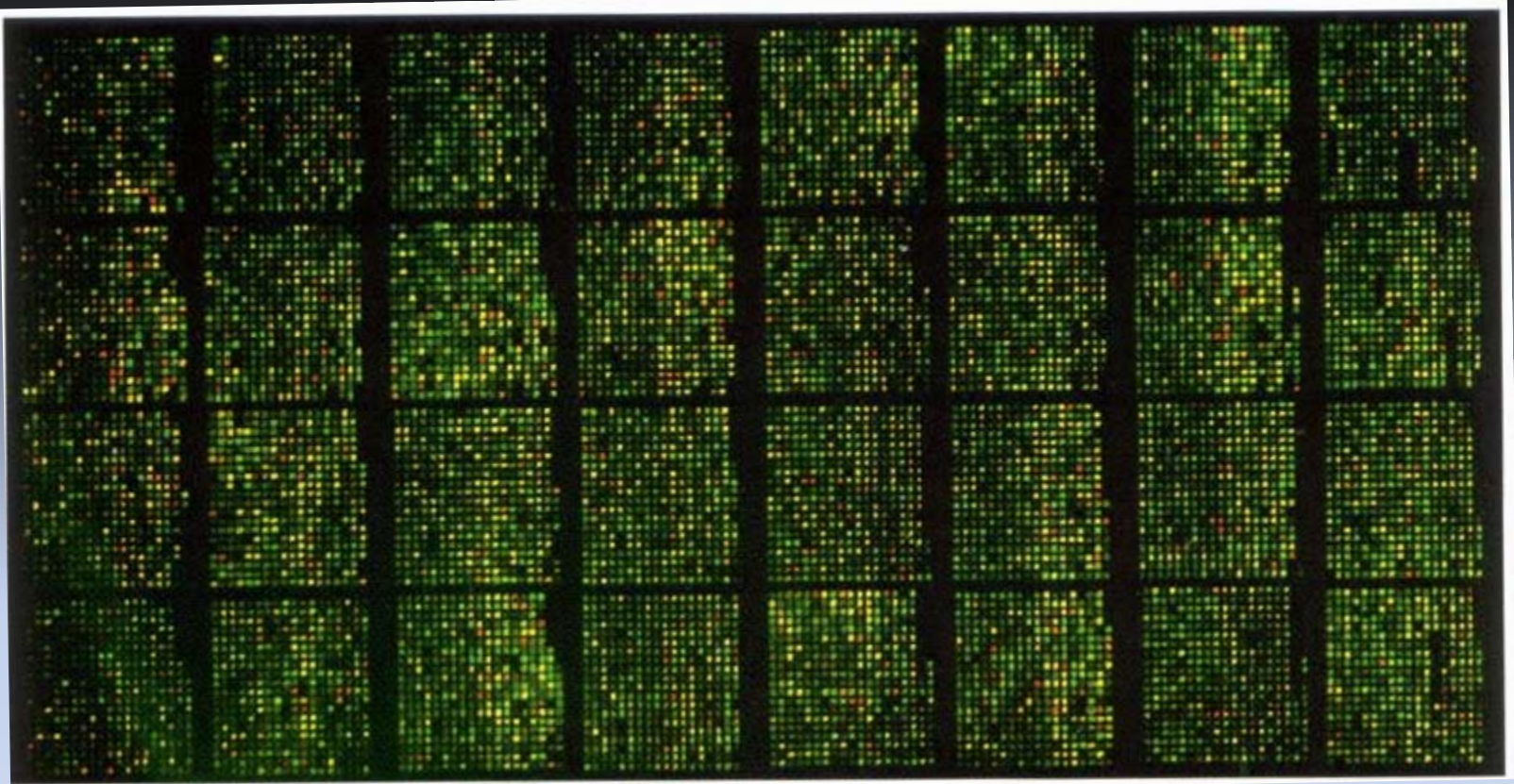


Сравнительный анализ гомологов хромосомы 17 человека и хромосом мыши (сделано при помощи Circos)

Геномные проекты (EST библиотеки)- Microarray technology

Сравнение экспрессии генов в разных тканях (здоровых и раковых; на разных стадиях развития; и т.д.) позволяет выявлять различия в экспрессии тех или иных генов, проследить изменения профиля экспрессии генов на разных стадиях развития, выявить возможные мишени для дальнейшей разработки лекарств





Результат анализа экспрессии генов в растениях, выросших в темноте и на свету, с помощью микроэкрэна. Флуоресцентные зонды были приготовлены из РНК этиолированных растений (метка — Cy3) и РНК зеленых листьев (метка — Cy5). Зонды смешали и сгибридизовали с кДНК-микрочипом, состоящим из 11500 элементов. После гибридизации чип просканировали, поочередно используя фильтры для двух флуорофоров. Приведенная фотография — результат наложения сканов. Красные точки соответствуют генам, экспрессия которых индуцируется светом, зеленые — генам, экспрессия которых светом подавляется.

Синтетические геномы

Современные познания в области функционирования геномов позволяют создавать минимальные 'синтетические' геномы с заданными параметрами и возможными функциями.

