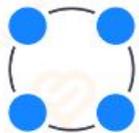


Прохождение курса «Биотехнологии: генная инженерия» – источник дополнительных баллов



Certificate with Distinction



BIOINFORMATICS
INSTITUTE



stepic.org

Дмитрий Карпов

has successfully completed

with final score

Биотехнологии: генная инженерия

100%

Александр Ткаченко



<https://stepic.org/course/Биотехнологии-генная-инженерия-94>

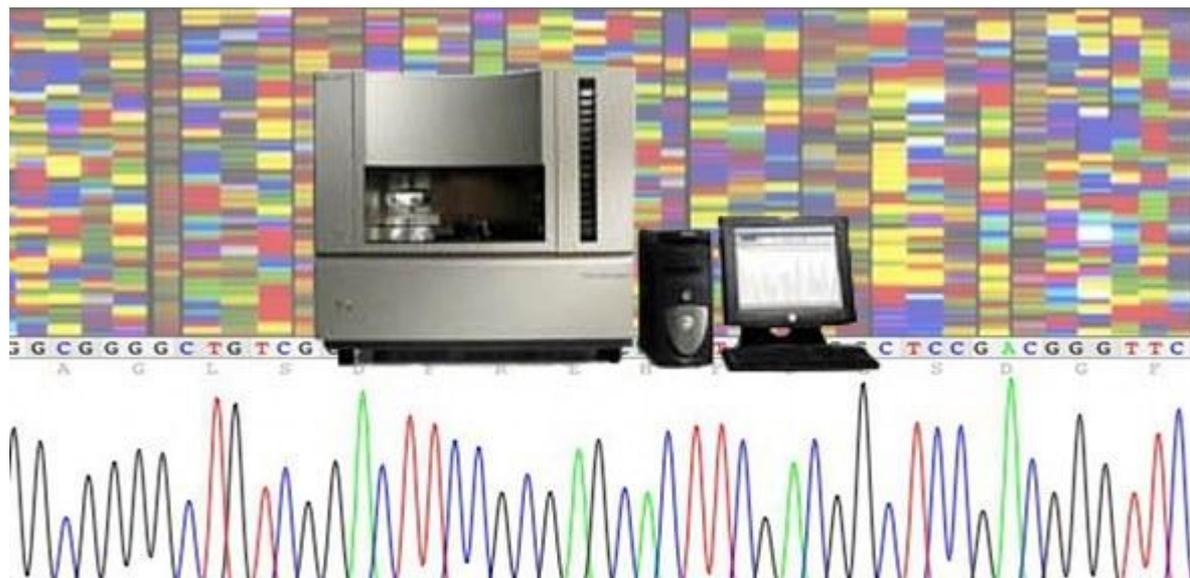
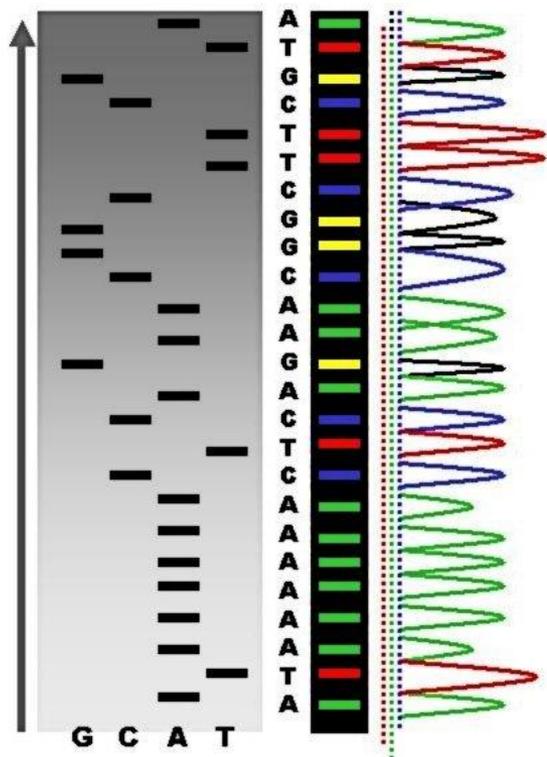
<https://stepic.org/certificate/2c8bebabc613027ab5f3ca0314dc1c27e276137d.pdf>

12 Oct 2015

Лекция 3 Методы чтения нуклеиновых кислот. Секвенирование геномов древних людей

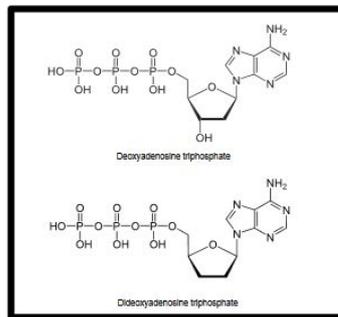
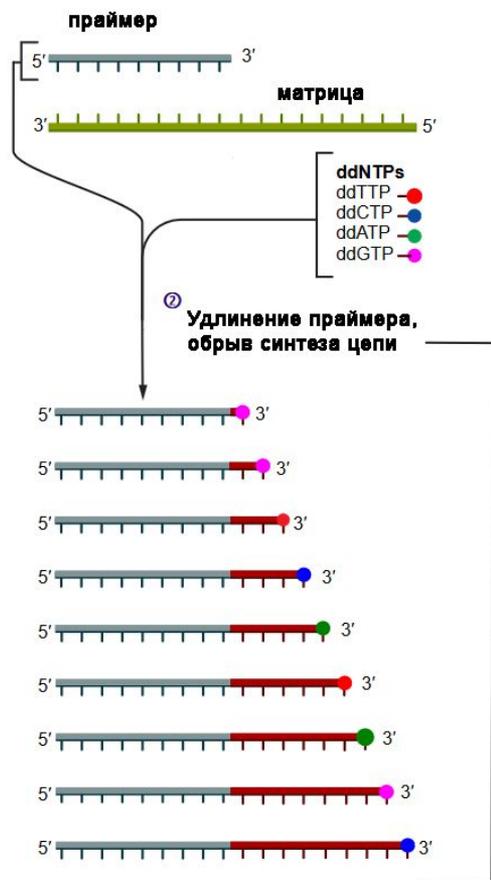
- Методы чтения последовательностей нуклеиновых кислот
 - Секвенирование геномов древних людей
-

Методы прочтения последовательностей нуклеиновых кислот



Секвенирование ДНК по Сэнгеру

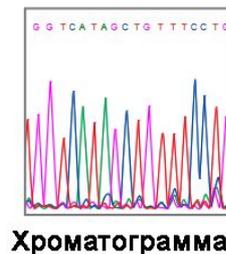
① Реакционная смесь



③ Разделение фрагментов ДНК капиллярным электрофорезом



④ Детекция флуорофоров, компьютерный анализ сигнала



Высокопроизводительное секвенирование

Очистка нуклеиновых кислот

Подготовка библиотеки фрагментов нуклеиновых кислот

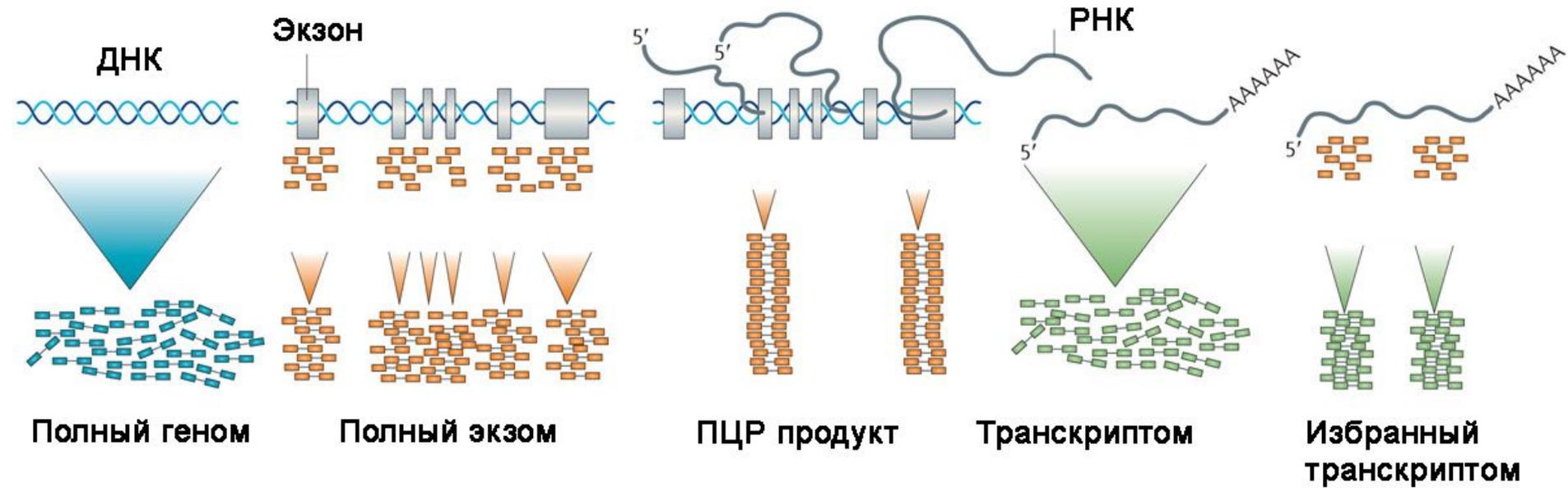
Секвенирование

Анализ данных

Задачи решаемые высоко-производительным секвенированием

- Определение последовательности всех хромосом организмов – **секвенирование генома**
 - Определение последовательности геномов сообщества организмов – **секвенирование метагенома**
 - Определение последовательности всех кодирующих областей генов - **секвенирование экзома**
 - Определение последовательностей всех транскриптов (мРНК, некодирующих РНК и т.д.) - **секвенирование транскриптома**
 - Выявление мутаций в раковых геномах конкретных людей □ **персонализированная медицина**
 - Определение дифференциально экспрессированных генов в масштабе транскриптома
-

Виды секвенируемых нуклеиновых кислот



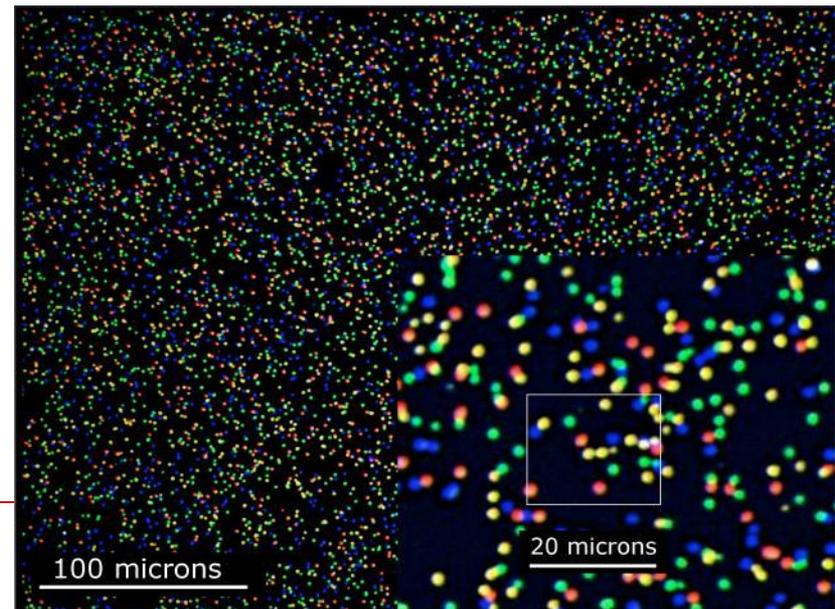
Создание библиотек для секвенирования общие технологические шаги



Технология секвенирования на примере платформы Illumina

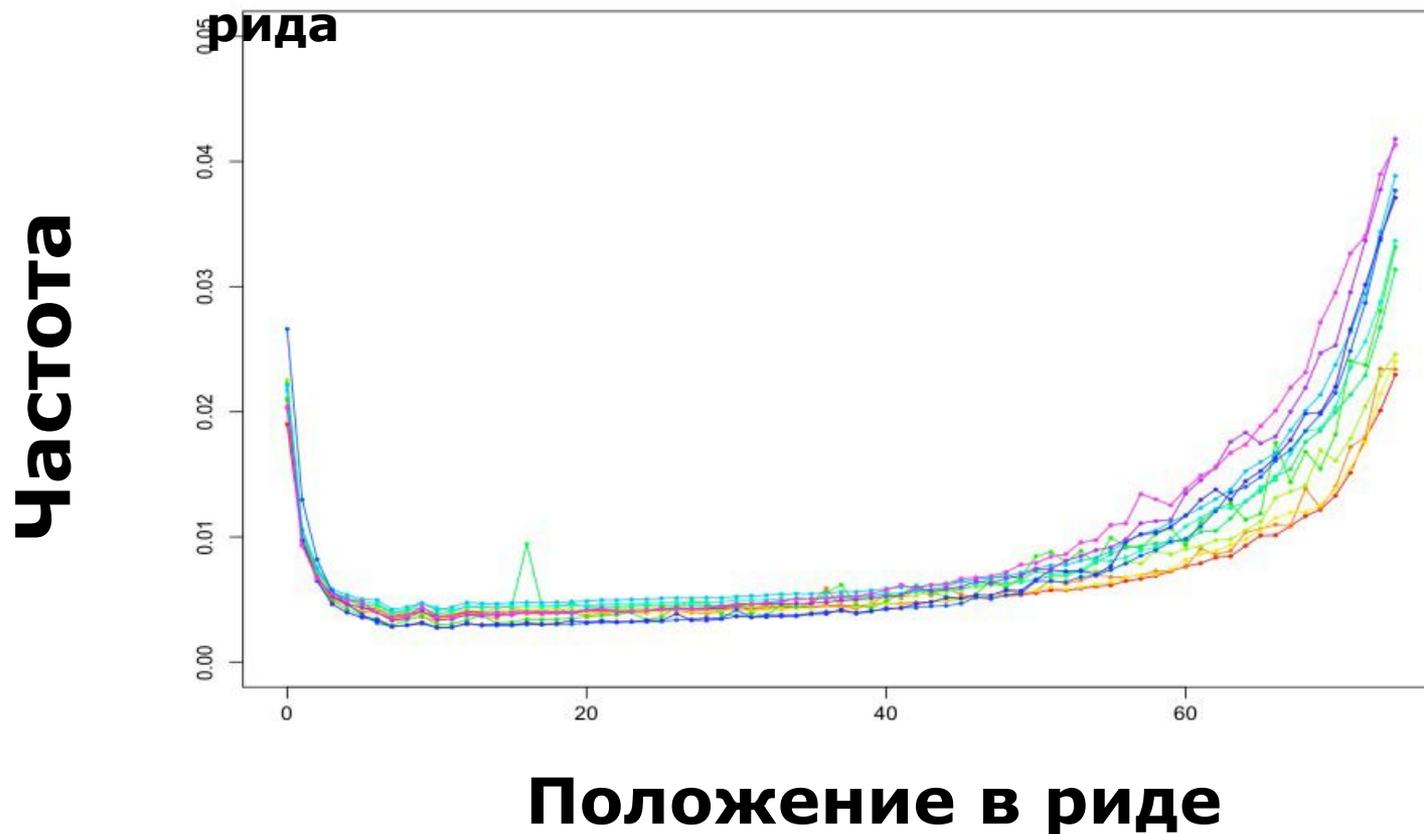
Генерация **кластеров** –
молекулярных колоний.
Служат для усиления
сигнала.

Собственно секвенирование
путем синтеза
комплементарной цепи.
Происходит включение
флуоресцентно меченных
нуклеотидов (у каждого свой
цвет). Сигнал детектируется
высокочувствительной
камерой.



Серьезный недостаток высоко-производительного секвенирования : по концам ридов накапливаются ошибки чтения из-за неполноты химических реакций

Распределение частоты ошибок по длине



Анализ данных секвенирования

- Очистка данных:
 - Удаление последовательностей адапторов
 - Удаление ненадежно прочитанных концов ридов
 - Удаление слишком коротких ридов
 - Контроль качества ридов.
 - Картирование ридов на референсную последовательность или сборка последовательностей *de novo*.
 - Статистический анализ.
-

Археогенетика

- Область исследований молекулярной генетики, в которой методы популяционной генетики применяются к изучению истории человечества.
 - Термин предложен британским археологом Колином Ренфрю
 - Ключевой метод: анализ ДНК, полученной из археологических останков (древней ДНК, англ. *aDNA*);
-

Сложности секвенирования древней ДНК

- Высокая степень фрагментации (50 нт)
 - Высокая степень конверсии оснований:
 - C □ U (дезаминирование цитозина с превращением в урацил)
 - 5mC □ T (дезаминирование 5-метил цитозина с превращением в тимин)
 - A □ Xyp (дезаминирование аденина в гипоксантин)
 - Алкилирование оснований
 - Поперечные сшивки оснований
 - Вставки митохондриальной или пластидной ДНК
 - Большая доля примесей ДНК микроорганизмов
-

Секвенированные геномы древних людей: неандерталец

Ветви развития неандертальцев и современных людей разошлись 500 тыс лет назад.

Геном неандертальцев и современных людей отличается на 0,16%

Геномы жителей Евразии содержат $2,5 \pm 0,6\%$ неандертальских генов

Неандертальцы не могли усваивать лактозу

У Неандертальцев не было аутизма, шизофрении и альцгеймера

Многие физиологические отличия неандертальца от современного человека связаны с различиями в эпигенетическом контроле генов

Чистокровные *Homo sapiens* живут в южной части южной Африки



Внешний вид неандертальца

Гены, отличающие современного человека от неандертальца

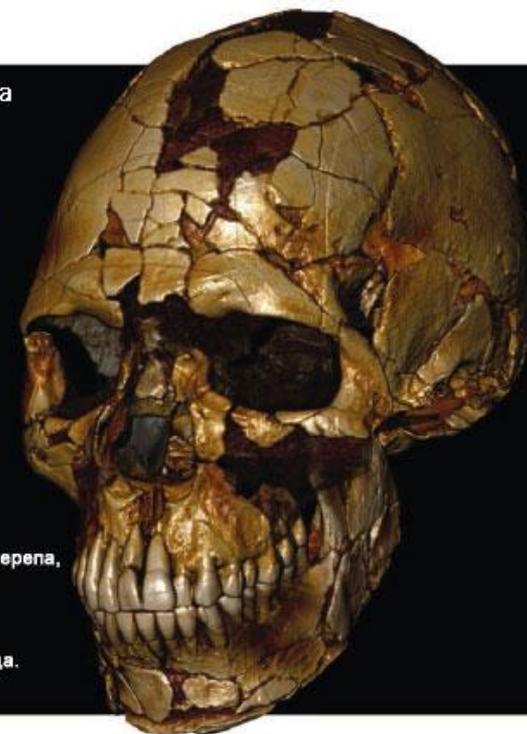


Некоторые гены, отличающие современного человека от неандертальца

Ген

Функция

<u><i>RPTN</i></u>	Кодирует белок репетин, экспрессирующийся в коже, потовых железах, сосочках языка, волосяных сумках
<u><i>TRPM1</i></u>	Кодирует меластатин, белок, участвующий в формировании пигментации кожи
<u><i>THADA</i></u>	Связан с диабетом второго типа; вероятно, важен в энергетическом обмене.
<u><i>DYRK1A</i></u>	Связан с участками, ответственными за возникновение синдрома Дауна.
<u><i>NRG3</i></u>	Мутации в этом гене сопутствуют шизофрении
<u><i>CADPS2 AUTS2</i></u>	Мутации в этом гене ассоциированы с аутизмом
<u><i>RUNX2 (CBRA1)</i></u>	Мутации вызывают задержку формирования костей черепа, деформацию ключиц и грудной клетки, неправильное развитие зубов.
<u><i>SPAG17</i></u>	Определяет параметры биения жгутика сперматозоида.

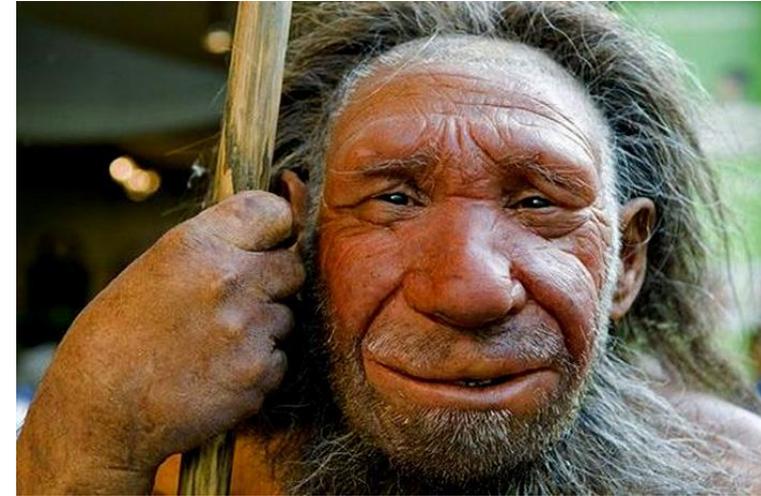


Секвенированные геномы древних людей: денисовский человек

Человек, живший в Денисовой пещере на Алтае.

Отличается как от современных людей, так и от неандертальцев. Ближе к неандертальцу, расхождение в эволюции началось около 640 тысяч лет назад.

Геномы меланезийцев (Новая Гвинея) вдобавок к неандертальским имеют $4,8 \pm 0,5\%$ денисовских генов



Реконструкция внешнего вида денисовского человека

Денисова пещера

Реконструкция происхождения *Homo sapiens* по последовательности митохондриальной ДНК

