



Кафедра «Биология и биохимия»

# Реферат

**Тема: 6.3 Генетический полиморфизм -  
полиморфизм единичного нуклеотида (SNP)**

Выполнила: Атамуратова Н.А

Группа: В-СТОА-07-22

Принял: Жолдасов К.Т

# **План**

## **1. Введение**

## **2. Основная часть**

- a) Полиморфизм
- b) Генетический полиморфизмом
- c) Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов
- d) Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов электрофорезом
- e) Однонуклеотидный полиморфизм

## **3. Заключение**

## **4. Использованная литература**

**Введение**

Генетический полиморфизм лежит в основе патофизиологии заболеваний и может влиять на эффективность терапии. Последние исследования GWAS привлекли внимание многих пациентов к большой полиморфизму генов локуса 1p13 в процессах атерогенеза. Результаты исследования полиморфизма генов 1 хромосомы, значительно влияющие на плазменные уровни холестерина; Эти обнаруженные в пределах распространения и характерные гены включают CELSR2/PSRC1/SORT1 (rs646776 и rs599838).

Один из регуляторов, регулирующих особенности воздействия лекарственных препаратов, дает индивидуальный ответ на терапию, является фармакокинетической неоднородностью популяции. Частота встречаемости различных аллелей генов, характеризующихся структурным разнообразием полиморфизма, существенно варьирует в популяциях, неоднородность субпопуляции людей, основывается на объяснении позиций генотипирования различную степень эффективности статинов. Особый интерес вызывает обнаружение редких видов полиморфизма генов и эффективности лечения статинами. По наблюдениям, эффективность и переносимость статинов могут быть заражены генетическими факторами популяционной когорты. Имеются работы, посвященные высокой частоте встречаемости полиморфизма генов среди населения европейского, азиатского, африканского происхождения.

## **Полиморфизм**

Полиморфизм в языках программирования и теории типов — способность функции обрабатывать данные разных типов.

Существует несколько разновидностей полиморфизма. Две принципиально различных из них были описаны Кристофером Стрэчи в 1967 году: это параметрический полиморфизм<sup>[↔]</sup> и ad-hoc-полиморфизм<sup>[↔]</sup>, прочие формы являются их подвидами или сочетаниями. Параметрический полиморфизм является истинным, т.к. подразумевает исполнение *одного и того же* кода для всех допустимых типов аргументов, а ad-hoc-полиморфизм — мнимым, т.к. представляет собой обеспечение косметической однородности потенциально *разного* исполнимого кода для каждого конкретного типа аргумента. При этом существуют ситуации, где необходимо использование именно ad-hoc-полиморфизма, а не параметрического. Теория квалифицированных типов объединяет все виды полиморфизма в единую модель.

Широко распространено определение полиморфизма, приписываемое Бьёрну Страуструпу: «*один интерфейс (как перечень объявлений) — много реализаций (определений, связываемых с этими объявлениями)*», но под это определение подпадает лишь ad-hoc-полиморфизм (мнимый полиморфизм).

Впервые классификацию разновидностей полиморфизма осуществил Кристофер Стрэчи<sup>[en]</sup><sup>[↔]</sup>.

Если параметру функции сопоставлен ровно один тип, то такая функция называется мономорфной. Многие языки программирования предоставляют синтаксический механизм для назначения нескольким мономорфным функциям единого имени (идентификатора). В этом случае, в исходном коде становится возможным осуществлять вызов функции с фактическими параметрами разных типов, но в скомпилированном коде фактически происходит вызов *различных* функций (см. перегрузка процедур и функций). Стрэчи<sup>[en]</sup> назвал такую возможность «ad-hoc-полиморфизмом».

Если параметру функции сопоставлено более одного типа, то такая функция называется **полиморфной**. Разумеется, с каждым фактическим значением может быть связан лишь один тип, но полиморфная функция рассматривает параметры на основе внешних свойств, а не их собственной организации и содержания.

Стрэчи назвал такую возможность «параметрическим полиморфизмом».

В дальнейшем классификацию уточнил Лука Карделли<sup>[en]</sup>, выделив четыре разновидности полиморфизма:

- универсальный
  - параметрический
  - включения (или подтипов<sup>[en]</sup>)<sup>[⇒]</sup>
- ad-hoc
  - перегрузка
  - приведение типов

В некоторых работах параметрический, ad-hoc- и полиморфизм подтипов выделяются как три самостоятельных класса полиморфизма.

Двойственность смысла термина «ad hoc» (с одной стороны — «спонтанный, непродуманный, сделанный по случаю», с другой — «специальный, устроенный конкретно для данной цели или данного случая») долгие годы была заслуженной. Стрэчи выбрал этот термин, руководствуясь первым значением, подчёркивая, что при ad-hoc-полиморфизме нет единого систематичного способа вывести тип результата из типа аргументов, и хотя возможно построение определённого набора правил для сужения спектра его поиска, но эти правила по своей природе являются спонтанными как по содержанию, так и по контексту применения.

Действительно, ad-hoc-полиморфизм не является истинным полиморфизмом. Перегрузка функций даёт не «значение, имеющее множество типов», а «символ, имеющий множество типов», *но значения, идентифицируемые этим символом, имеют разные (потенциально несовместимые) типы. Аналогично, приведение типов не является истинным полиморфизмом: кажется, будто оператор принимает значения множества типов, но значения должны быть преобразованы к некоторому представлению до того, как он сможет их использовать, так что на самом деле оператор работает лишь над одним типом (то есть имеет один тип). Более того, тип возвращаемого значения здесь не зависит от типа входного параметра, как в случае параметрического полиморфизма.*

Тем не менее, определение специальных реализаций функций для разных типов в некоторых случаях является необходимостью, а не случайностью. Классическими примерами служат реализация арифметических операций (физически различная для целых и чисел с плавающей запятой) и равенства типов, которые на протяжении десятилетий не имели общепринятой универсальной формализации. Решением стали классы типов<sup>[⇒]</sup>, представляющие собой механизм явного дискретного перечисления допустимых значений переменных типа для статической диспетчеризации в слое типов. Они сводят воедино две разновидности полиморфизма, разделённые Стрэчи, «делая *ad-hoc-полиморфизм менее ad hoc*» (игра на двойственности смысла). Дальнейшее обобщение классов типов привело к построению теории квалифицированных типов, единообразно формализующей самые экзотичные системы типов, включая расширяемые записи<sup>[⇒]</sup> и подтипы.

В отличие от перегрузки и приведения типов, полиморфизм подтипов<sup>[en][⇒]</sup> является истинным полиморфизмом: объектами подтипа можно манипулировать единообразно, как если бы они принадлежали к своим супертипам (но сказанное не верно для языков, реализующих «полиморфизм при наследовании» посредством приведения типов и перегрузки функций, как в случае C++). Наиболее чистым является параметрический полиморфизм<sup>[⇒]</sup>: один и тот же объект или функция может единообразно использоваться в разных контекстах типизации без изменений, приведений типов или любых других проверок времени исполнения или преобразований. Однако, для этого требуется некое единообразное представление данных (например, посредством указателей).

### **Генетический полиморфизмом**

Под генетическим полиморфизмом понимается состояние длительного разнообразия генотипов, когда частота даже наиболее редко встречающихся генотипов в популяциях превышают 1%. Генетический полиморфизм поддерживается за счет мутаций и рекомбинаций генетического материала. Как показывают

многочисленные исследования, генетический полиморфизм широко распространен. Так, по теоретическим расчетам в потомстве от скрещивания двух особей, различающихся лишь по десяти локусам, каждый из которых представлен 4 возможными аллелями, окажется около 10 млрд. особей с различными генотипами.

Полиморфными принято называть гены, которые представлены в популяции несколькими разновидностями – аллелями, что обуславливает разнообразие признаков внутри вида. Различия между аллелями одного и того же гена, как правило, заключаются в незначительных вариациях его "генетического" кода. Большинство известных полиморфизмов выражаются либо в заменах одного нуклеотида, либо в изменении числа повторяющихся фрагментов ДНК. Полиморфизмы нуклеотидных последовательностей обнаружены во всех структурных элементах генома: экзонах, интронах, регуляторных участках и т. д. Тем не менее, вариации, затрагивающие кодирующие фрагменты генов и отражающиеся на аминокислотной последовательности их продуктов, встречаются относительно редко и не имеют отношения к анализируемой конкретной проблеме, для которой в первую очередь важны возможные последствия полиморфизма интронов и 5'-концевых некодирующих последовательностей. Анализ данного феномена в существенной степени зависит от того, насколько переменны собственные функции белка, кодируемого различными аллелями, что справедливо и в отношении ферментов образования и метаболизма стероидных гормонов.

Бурному развитию исследования генет. полиморфизма (с 2005 г. постгеномная эра) способствовало определение полной нуклеотидной последовательности генома человека. К настоящему моменту в открытых базах данных есть информация о нескольких миллионах SNP в геноме человека, лишь небольшая часть из которых (примерно 1%) расположены в транскрибируемых регионах и могут оказывать влияние на структуру и функцию продукта, кодируемого данным геном.

Точечные нуклеотидные полиморфизмы (SNP-Single Nucleotide Polimorphisms), а также другие мутации ДНК (делеции, инсерции) могут быть ассоциированы с развитием мультифакториальных заболеваний, таких как сахарный диабет 1 и 2 типов, сердечно-

сосудистые, бронхо-легочные, онкологические и другие заболевания. Зная о наличии определенного перечня полиморфизмов у пациента, можно предупредить развитие заболевания или скорректировать лечение уже проявившейся патологии.

Генотипирование позволяет повысить безопасность лечения, подобрать дозу препарата и избежать нежелательных побочных эффектов.

### **Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов**

Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ, Restriction fragment length polymorphism, RFLP) — это способ исследования геномной ДНК, путем разрезания ДНК с помощью эндонуклеаз рестрикции и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (рестриктов) путем гель-электрофореза (ДНК электрофореза).

Метод заключается в подборе рестриктазы (фермент, расщепляющий ДНК вблизи строго характерной для него последовательности нуклеотидов), которая узнавала бы последовательность с одним аллелем и не узнавала бы с другим. Две молекулы ДНК будут разрезаны на фрагменты одинаковой длины, если молекулы идентичны. Но если в одной молекуле есть сайт рестрикции, а в другой нет, то фрагменты будут различной длины. Если в одной молекуле будет больше пар оснований до сайта рестрикции, чем в другой, то фрагменты также будут различными и т. д.

На практике это означает, что, разрезая эндонуклеазами рестрикции часть генома двух индивидуумов одного вида, можно получить фрагменты различной длины, в зависимости от строения проверяемой части генома индивидуума. Это также значит, что при сравнении гомологичных районов обеих хромосом пары можно получить фрагменты различной длины. Такая картина наблюдается, если в хромосоме есть делеция, или где-нибудь между сайтами



рестрикции существует инсерция — мутация, убирающая сам сайт рестрикции, а также если аллели генов различны между сайтами рестрикции.

В результате после амплификации, рестрикции и электрофореза на геле наблюдаются полосы разных длин, комбинации которых соответствуют различным генотипам. При использовании данного исследования получают различные результаты от различных образцов, и при помощи данного метода можно идентифицировать некоторые различия в последовательности нуклеотидов ДНК, в случае, когда они располагаются в сайте рестрикции. В виду того, что технологии секвенирования ДНК могут охарактеризовать ДНК очень точно, ПДРФ был разработан как первый и дешевый метод для массового применения.

Таким образом, метод включает в себя следующие этапы:

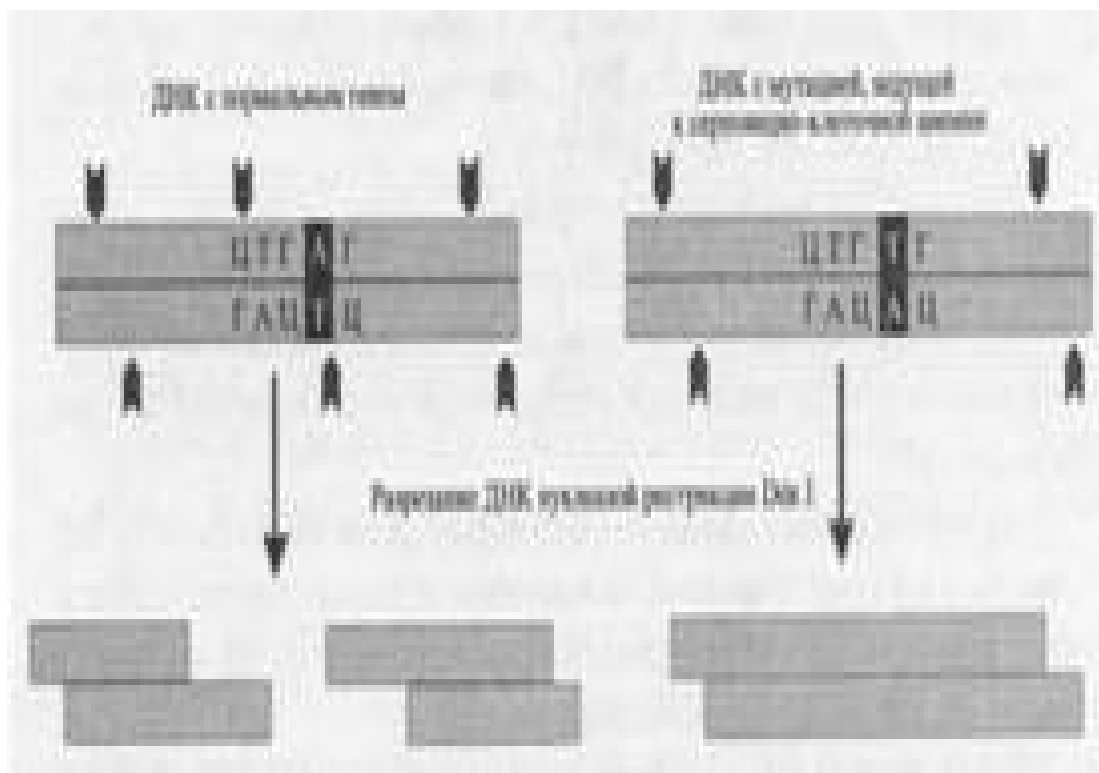
- выделение геномной ДНК,
- ее рестрикцию специфической эндонуклеазой,
- электрофоретическое разделение образующихся фрагментов ДНК
- идентификацию фрагментов ДНК, содержащих полиморфный сайт рестрикции, путем блот-гибридизации по Саузерну.

Анализ разнообразия ПДРФ является важным инструментом в картировании генома, локализации генов, ответственных за генетические заболевания, определения риска заболевания, получения генетических отпечатков и определения родства.

Так, например, полиморфизм длин рестриционных фрагментов наследуются по законам Менделя и представляются незаменимыми при определении генов наследственных болезней, например болезни Хантингтона (генетическое заболевание нервной системы, характеризующееся постепенным началом обычно в возрасте 30-50 лет и сочетанием прогрессирующего хореического гиперкинеза и психических расстройств). Ученые исследуют популяции с высокой частотой заболевания болезнью на наличие ПДРФ, наследуемого страдающими от болезни людьми, но не встречающегося у здоровых людей. Это хороший индикатор того,

что полиморфизм длин рестрикционных фрагментов расположен около гена болезни.

Также в редких случаях, которые очень удобны для проведения диагностики, мутировавший ген изменяет непосредственно ПДРФ. Например, при серповидно-клеточной **анемии** отсутствует сайт рестрикции (короткая последовательность нуклеотидов в молекуле ДНК, которая распознаётся ферментом эндонуклеазой рестрикции-модификации (рестриктазой)) в гене больных людей, но он есть в гене людей здоровых (рис. 1). В результате у нормальных клеток два фрагмента в ПДРФ, а у клеток больных людей — только один.



Благодаря простоте и надёжности метод получил широкое распространение и до сих пор популярен, хотя и имеет некоторые ограничения – во-первых, он позволяет детектировать только SNPs, расположенные в сайтах рестрикции, а во-вторых, годится лишь для детекции уже известных мутаций.

## Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов электрофорезом

Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов электрофорезом (allele-specific PCR) и сюда же можно отнести Аллель-специфичная амплификация с детекцией результатов амплификатором в реальном времени (allele-specific real-time PCR) Объединяет в себе множество подходов, но основная идея заключается в том, что полимераза с разной эффективностью обрабатывает полностью спаренный и неспаренный нуклеотид на 3'-конце праймера. Аллельные варианты различаются за счёт того, что 3' концевой нуклеотид одного из праймеров гибридизуется непосредственно с позицией SNP. Степень дискриминации мисматчей (спаривание несоответствующих друг другу (mismatch) оснований ДНК) можно повысить вводя дополнительный, неспаренный нуклеотид во второй или третьей позиции с 3' конца этого же праймера. Ещё один способ повышения специфичности - проведение в той же пробирке конкурирующей ПЦР реакции. К сожалению, хуже всего различаются мисматчи типа G:T, которые соответствуют наиболее часто встречающемуся типу SNPs - транзициям (это мутация замены оснований, когда одно пуриновое основание замещается на другое пуриновое основание (аденин на гуанин или наоборот), либо пиримидиновое основание на другое пиримидиновое основание (тимин на цитозин или наоборот) C $\rightleftharpoons$ T (G $\rightleftharpoons$ A).

## Однонуклеотидный полиморфизм

Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП; англ. *Single Nucleotide Polymorphism, SNP*, произносится как *снуп*) — отличия последовательности ДНК размером в один нуклеотид (А, Т, G или С) в геноме (или в другой сравниваемой последовательности) представителей одного вида или между гомологичными участками гомологичных хромосом. Применяется в качестве генетических мάρкеров для изучения неравновесного сцепления локусов и полногеномного поиска ассоциаций (*GWAS*).

Если две последовательности ДНК — *AAGCCTA* и *AAGCTTA* — отличаются на один нуклеотид, в таком случае говорят о существовании двух аллелей: *C* и *T*. Однонуклеотидные полиморфизмы (*SNPs*) возникают в результате точечных мутаций.

Однонуклеотидный полиморфизм (наряду с полиморфизмом длин рестриционных фрагментов (*RFLP*) и ПДАФ (*AFLP*)) широко используют в качестве молекулярно-генетических меток (маркеров), например, для построения кладограмм молекулярно-генетической систематики на основе дивергенции (расхождения) гомологичных участков ДНК в филогенезе. В данной области наиболее часто используются спейсеры генов рибосомальной РНК. Ввиду того, что мутации в данных спейсерах не сказываются на структуре конечных продуктов гена (теоретически они не влияют на жизнеспособность), в первом приближении постулируется прямая зависимость между степенью полиморфизма и филогенетическим расстоянием между организмами.

Единой номенклатуры для *SNPs* нет: часто существуют несколько различных вариантов названия для одного конкретно выбранного *SNP*, к какому-то согласию в этом вопросе прийти пока не удастся. Один из подходов — писать *SNPs* с префиксом, точкой и знаком «больше, чем», показывающим нуклеотид или аминокислоту дикого типа и измененную (например, *c.76A>T*)

Однонуклеотидный полиморфизм встречается в пределах кодирующих последовательностей генов, в некодирующих участках или в участках между генами. *SNPs*, встречающиеся в кодирующих участках, могут не менять аминокислотную последовательность белка из-за вырожденности генетического кода.

Однонуклеотидные полиморфизмы кодирующих участков бывают двух типов: синонимические и несинонимические.

Синонимические *SNPs* оставляют аминокислотную последовательность белка без изменения, тогда как несинонимические *SNPs* изменяют её.

Несинонимические *SNPs* можно разделить на замены типа *missense* и *nonsense*. Однонуклеотидный полиморфизм, встречающийся в некодирующих участках гена, возможно, влияет

на генетический сплайсинг, деградацию мРНК, связывание транскрипционных факторов.

## **Заключение**

Таким образом, анализ литературных источников показал, что носительство полиморфных аллелей генов, кодирующих белков-транспортеров лекарственных средств, может иметь существенное значение фармакокинетических параметров лекарственных препаратов гиполипидемической терапии и индивидуальный ответ на лечение. Определение генотипов по полиморфному маркеру позволяет определить эффективность и переносимость статинов у пациентов с ИБС и может быть использовано для персонализированного наблюдения за назначением статинов и выбор их режима дозирования на основе генотипа пациента, что позволяет определить тактику ведения пациентов и повысить эффективность и безопасность проводимой терапии.

Прозрачность исследования. Исследование не использовалось спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за пищевую версию рукописи в печати.

Декларация финансовых и других открытых акционерных обществ. Авторы лично участвовали в исследованиях, разработках и разработках рукописи; окончательная версия рукописи была одобрена авторами. Авторы не получают гонорар за исследование.

## Использованная литература

- *Christopher Strachey*. Fundamental Concepts in Programming Languages (англ.). — 1967. Архивировано 12 августа 2017 года.
- *Jean-Yves Girard*. Une Extension de l'Interpretation de Gödel à l'Analyse, et son Application à l'Élimination des Coupures dans l'Analyse et la Théorie des Types (фр.) // Proceedings of the Second Scandinavian Logic Symposium. — Amsterdam, 1971. — P. 63—92. — doi:10.1016/S0049-237X(08)70843-7.
- *Jean-Yves Girard*. Interprétation fonctionnelle et élimination des coupures de l'arithmétique d'ordre supérieur (фр.). — Université Paris 7, 1972.
- *John C. Reynolds*. Towards a Theory of Type Structure // Lecture Notes in Computer Science. — Paris: Colloque sur la programmation, 1974. — Т. 19. — С. 408—425. — doi:10.1007/3-540-06859-7\_148.
- *Luca Cardelli*<sup>[en]</sup>, *Peter Wegner*. On Understanding Types, Data Abstraction, and Polymorphism // ACM Computing Surveys. — New York, USA: ACM, 1985. — Т. 17, вып. 4. — С. 471—523. — ISSN 0360-0300. — doi:10.1145/6041.6042.
- . Пасанен, М.К. Глобальный анализ генетической изменчивости SLC01B1 / М.К. Пасанен, П.Дж. Неувонен, М. Ниemi // Фармакогеномика. — 2008. — Вып. 9, № 1. — С. 19—33.
- 2. Полногеномное ассоциативное исследование варианта риска ишемической болезни сердца / JY Lee, BS Lee, DJ Shin [et al.] // J. Hum. Жене. — 2013. — Вып. 58, № 3. — С. 120—126.