

# • Методы молекулярного маркирования

• **Молекулярные маркеры** - фрагменты ДНК, которые могут быть использованы в качестве генетических различий при идентификации особей или их генов, так же как в судебной практике используют отпечатки пальцев для идентификации индивидуумов.

• Возможность использования молекулярных маркеров основана на том, что у **отдельных особей даже одного вида** существует определенная генетическая изменчивость, иными словами, **многие последовательности ДНК являются полиморфными, т. е. отличаются у индивидуумов.**

• Методы молекулярного маркирования как раз и используют эту генетическую изменчивость для идентификации особей и их генов

# Генетические маркеры

```
graph TD; A[Генетические маркеры] --> B[Классический генетический маркер]; A --> C[Белковый маркер]; A --> D[Молекулярный маркер]; B --> E[Соответствует гену, аллели которого имеют четко выраженные отличия на уровне фенотипа]; C --> F[Соответствует гену, аллели которого имеют отличия (разную молекулярную массу) на уровне белкового продукта]; D --> G[Соответствует гену или некодирующему участку генома, разные варианты (аллели) которого отличаются на уровне ДНК];
```

**Классический генетический маркер**

**Соответствует гену, аллели которого имеют четко выраженные отличия на уровне фенотипа**

**Белковый маркер**

**Соответствует гену, аллели которого имеют отличия (разную молекулярную массу) на уровне белкового продукта**

**Молекулярный маркер**

**Соответствует гену или некодирующему участку генома, разные варианты (аллели) которого отличаются на уровне ДНК**

# Отличия на уровне ДНК (полиморфизм ДНК) выявляются

```
graph TD; A[Отличия на уровне ДНК (полиморфизм ДНК) выявляются] --> B[С помощью гибридизации с известными нуклеотидными последовательностями]; A --> C[При секвенировании нуклеотидной последовательности]; A --> D[При сравнении длины фрагментов, полученных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР)]; A --> E[В результате обработки ДНК эндонуклеазами рестрикции];
```

С помощью гибридизации с известными нуклеотидными последовательностями

При секвенировании нуклеотидной последовательности

При сравнении длины фрагментов, полученных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР)

В результате обработки ДНК эндонуклеазами рестрикции

- **МЕТОДЫ СЕЛЕКЦИИ, ОСНОВАННЫЕ НА ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДНК-МАРКЕРОВ**

- Методы селекции, в которых применяются ДНК-маркеры, разделяют на две основные группы:

- -ОПМ

- -Геномная селекция.

- **Метод ОПМ** - использование ДНК-маркеров, тесно сцепленных с целевым геном, вместо или вместе с фенотипическим анализом.

- **Метод ОПМ** хорошо зарекомендовал себя при беккроссной и линейной селекции, а также при создании пирамид генов.

- **Геномная селекция (genomic selection).**

- Метод современной селекции растений и животных, позволяющий при использовании равномерно распределенных по геному ДНК-маркеров проводить отбор по генотипу в отсутствие данных о генах, влияющих на признак.

- Беккроссная селекция на основе ОПМ (marker-assisted backcrossing) – метод селекции, при котором:
  - - в процессе последовательных возвратных скрещиваний передаются 1–2 целевых гена от сорта-донора сорту-реципиенту
  - - происходит восстановление генотипа сорта-реципиента в оставшейся части генома;
- При этом отбор растений для каждого последующего скрещивания осуществляется с помощью ДНК-маркеров.

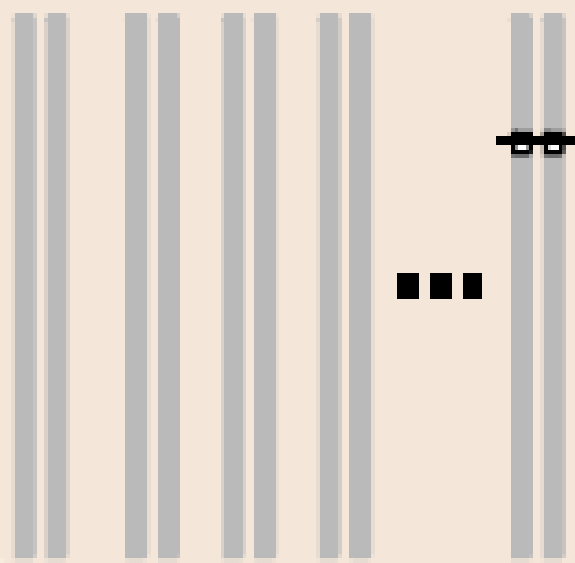
- Линейная селекция на основе ОПМ с однократным генотипированием (single large scale marker-assisted selection – SLSMAS) – метод селекции, отличающийся от традиционного метода линейной селекции тем, что в одном из ранних поколений с помощью маркеров проводится отбор растений для дальнейшей селекции
- Это позволяет сразу исключить нежелательные генотипы по некоторым признакам и тем самым существенно сократить объем последующих работ.

- **Создание пирамид генов (marker-assisted pyramiding)** – метод селекции, при котором с помощью ДНК-маркеров **ведется отбор одновременно по нескольким генам, определяющим схожие признаки**

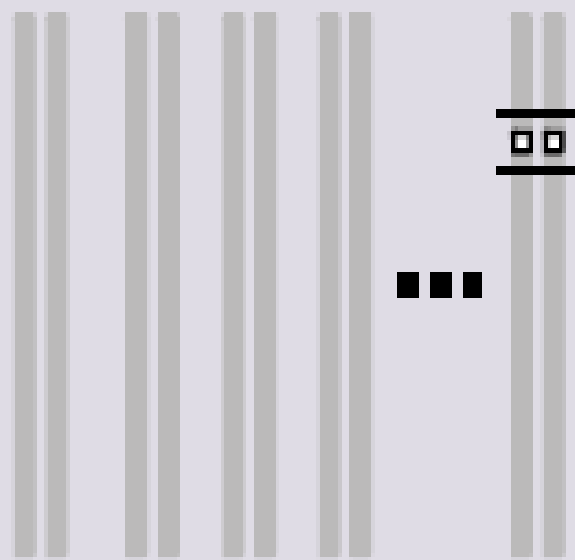
- В таких случаях отбор по фенотипу затруднен

- 

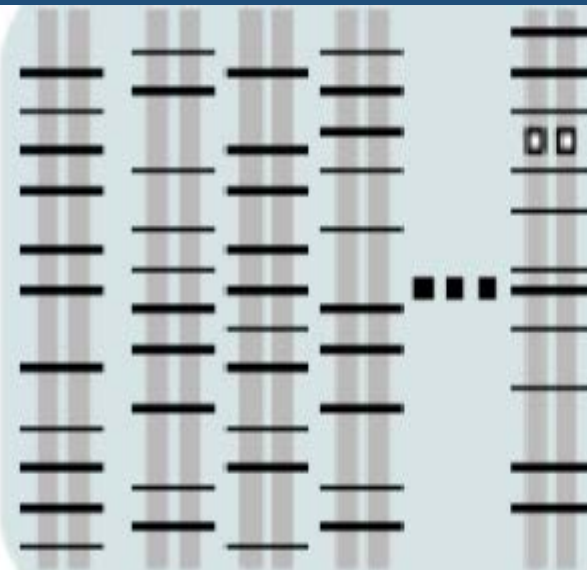




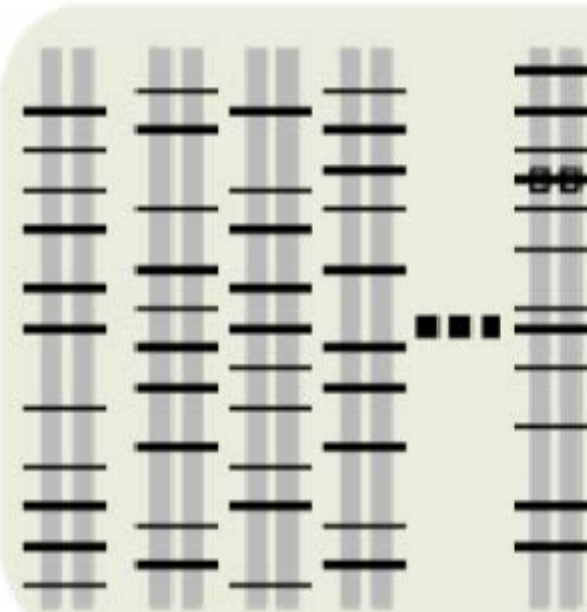
Отбор  
по внутригенному  
маркеру  
(foreground selection)



Отбор по маркерам,  
тесно сцепленным  
с геном  
(recombinant selection)



Отбор  
по генетическому фону  
(background selection)



Отбор  
по внутригенному  
маркеру  
и по генетическому фону  
(foreground +  
background selection)

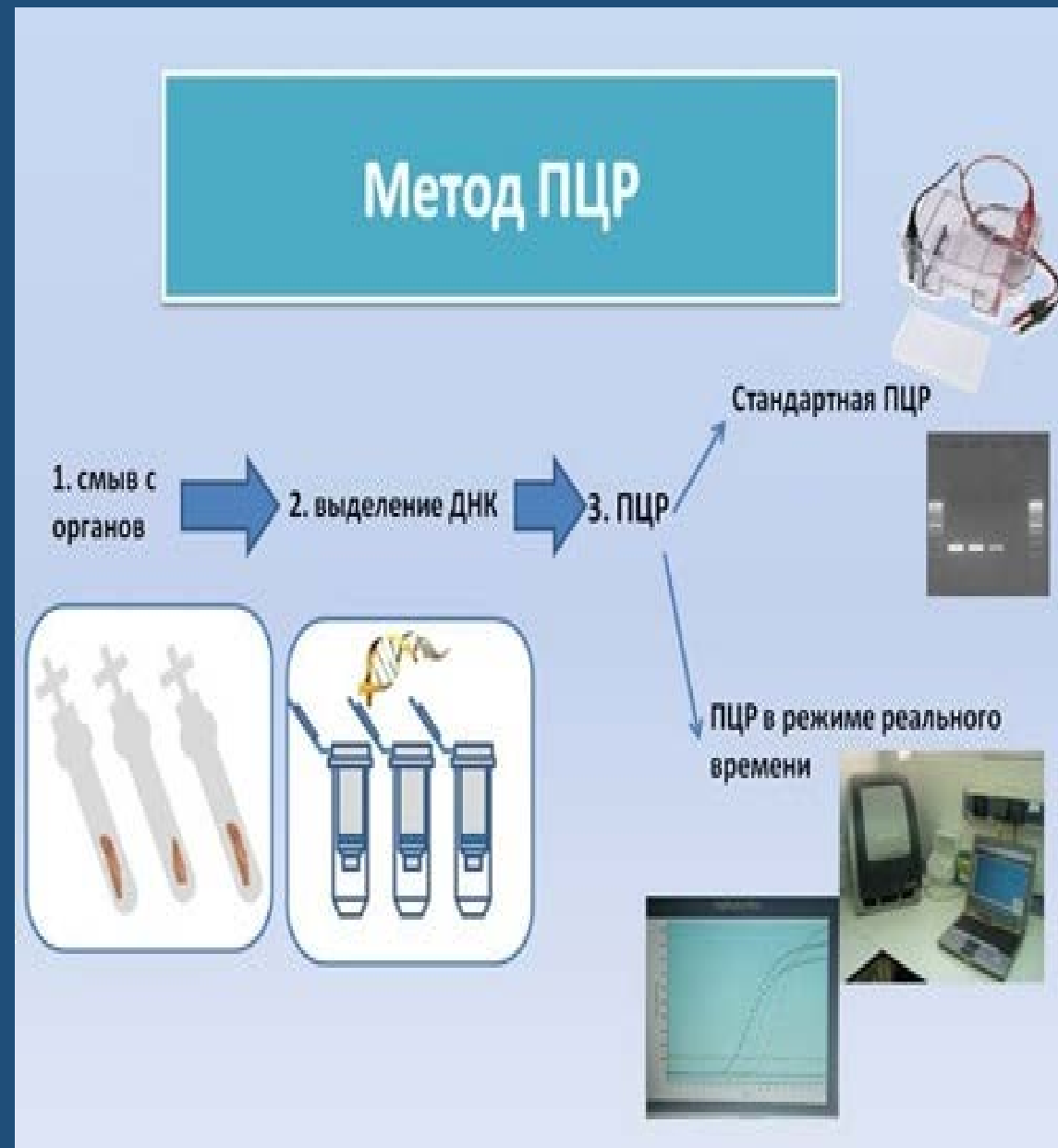
# Метод ПЦР (полимеразной цепной реакции)

**Полимеразная цепная реакция.**

На стадии денатурации цепи ДНК разъединяются, на следующем этапе (отжиг) к ним

**присоединяются праймеры**, а далее полимераза начинает свою работу — **синтез новых цепей ДНК (элонгация)**.

И такой цикл повторяется многократно.





**ПЦР**

**Денатурация  
90°C**

**Отжиг  
+Праймеры + 55°C**

**Полимеризация  
70–75°C**

**После 3-го цикла амплификации -  
двухнитевые фрагменты ДНК,  
равные по длине расстоянию  
между двумя праймерами**

## Полимеразная цепная реакция

