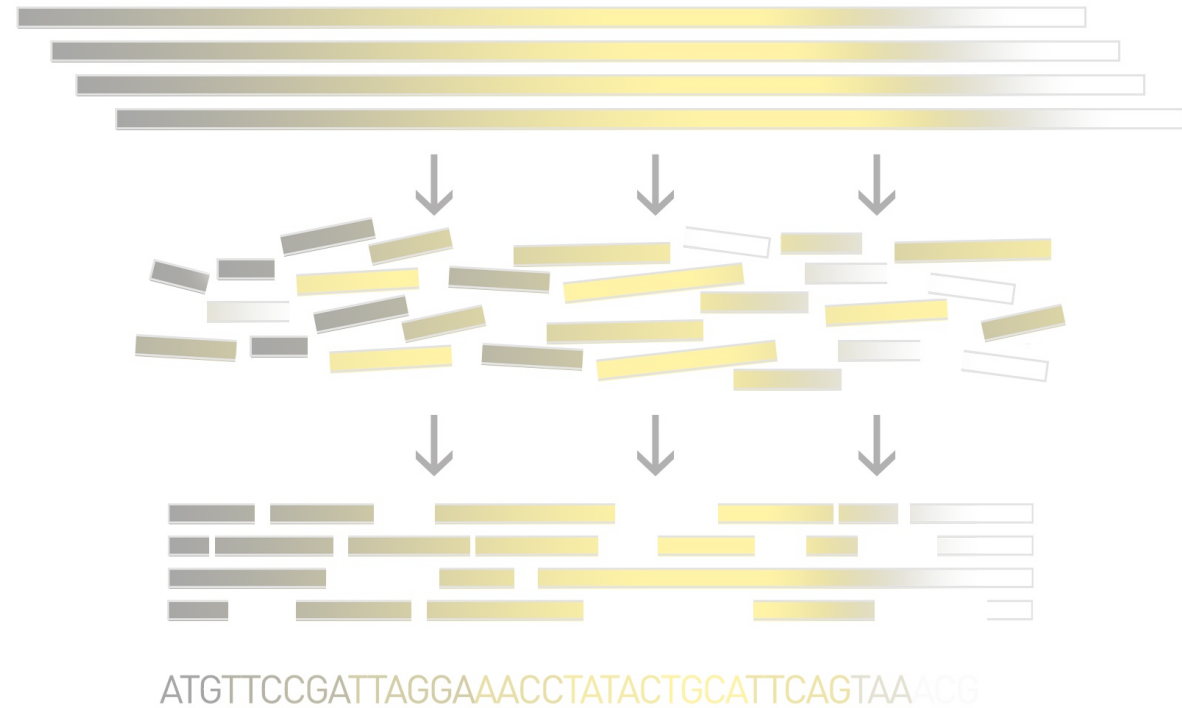


4-Дәріс



Геномдық реттілікті анықтау және құрастыру

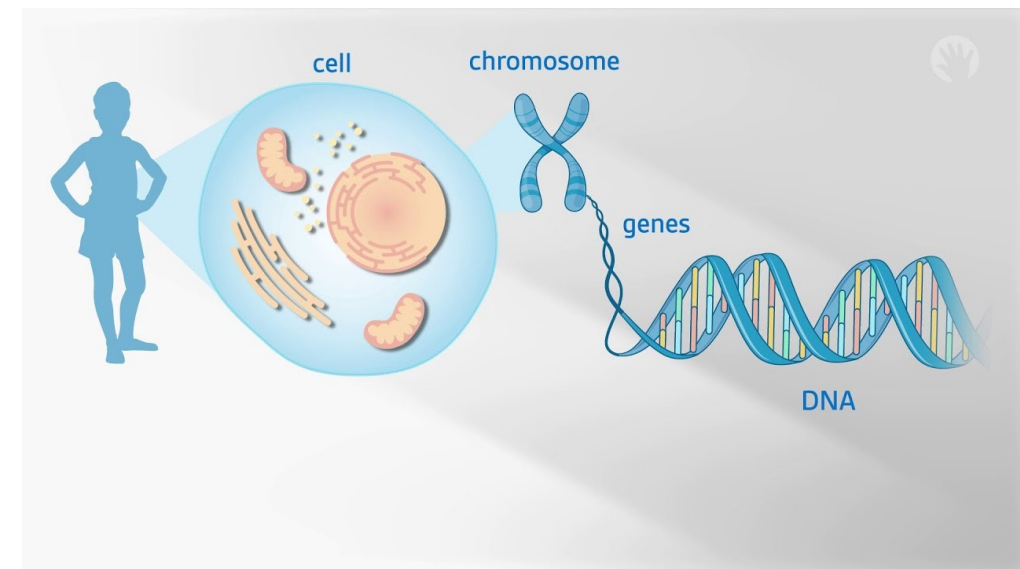
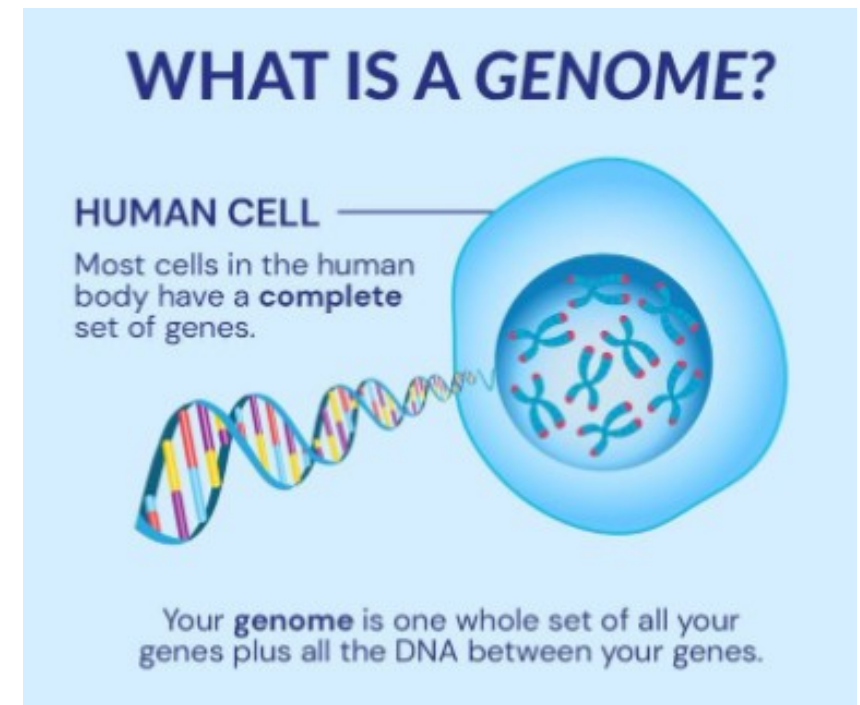
Кіріспе: Геномдық реттіліктің мәні

Геном дегеніміз не?

Геном – кез келген тірі организмнің жасушаларындағы барлық генетикалық ақпараттың жиынтығы.

Геном құрамына организмнің дамуы мен қызмет атқаруы үшін қажетті барлық гендер мен ДНҚ тізбектері кіреді. Әрбір организмнің геномы ерекше болып табылады және ол тұқым қуалау қасиеттерін анықтайды.

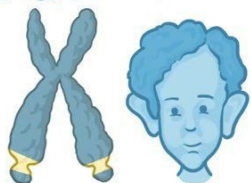
Геномның негізгі құрамдас бөлігі – ДНҚ (дезоксирибонуклеин қышқылы), ал кейбір вирустарда генетикалық ақпарат РНҚ (рибонуклеин қышқылы) түрінде де болуы мүмкін.



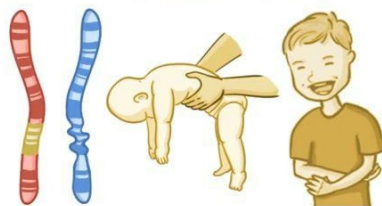
CASE STUDY
INTRODUCTION
FRAGILE X SYNDROME
IMPRINTING DISORDERS
PRADER-WILLI
ANGELMAN
CRI-DU-CHAT
WILLIAMS
SUMMARY
CASE REVIEW

GENETIC DISORDER

* FRAGILE X SYNDROME



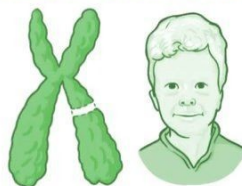
* IMPRINTING DISORDERS



* CRI-DU-CHAT SYNDROME



* WILLIAMS SYNDROME



Геномның реттілігін анықтаудың маңызы

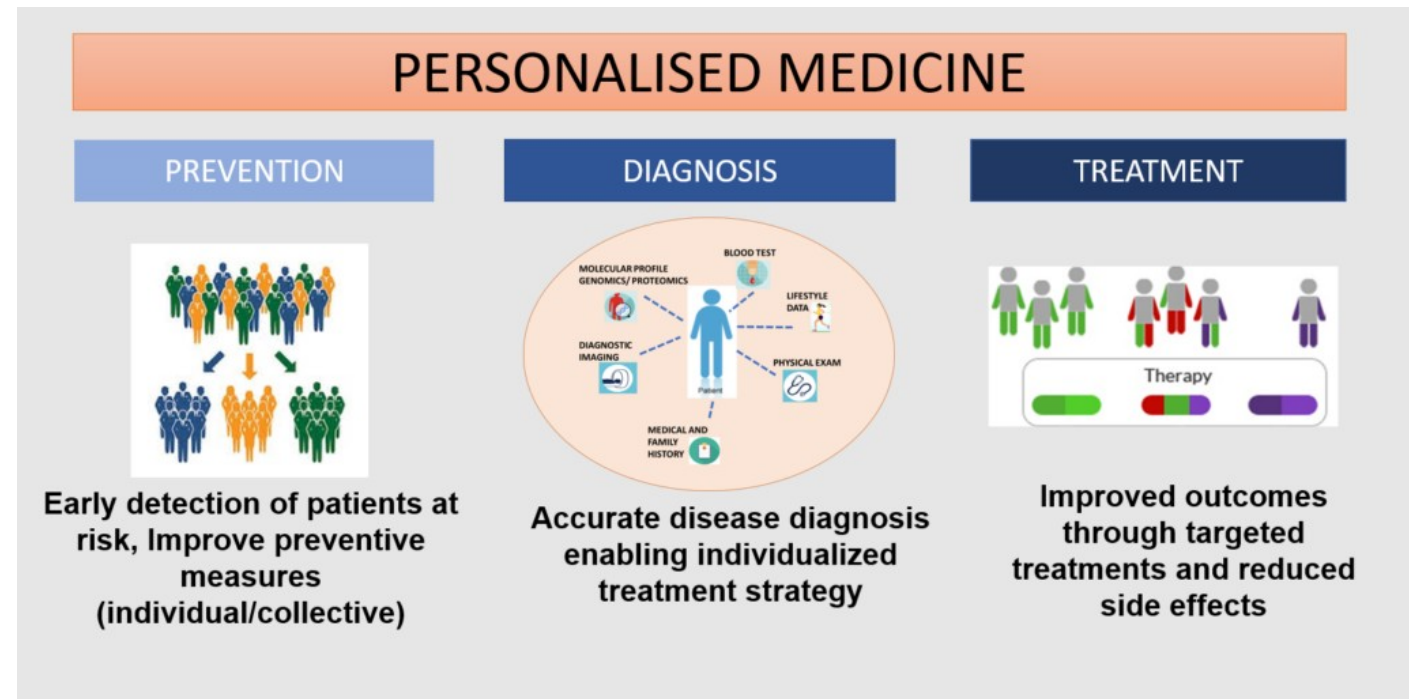
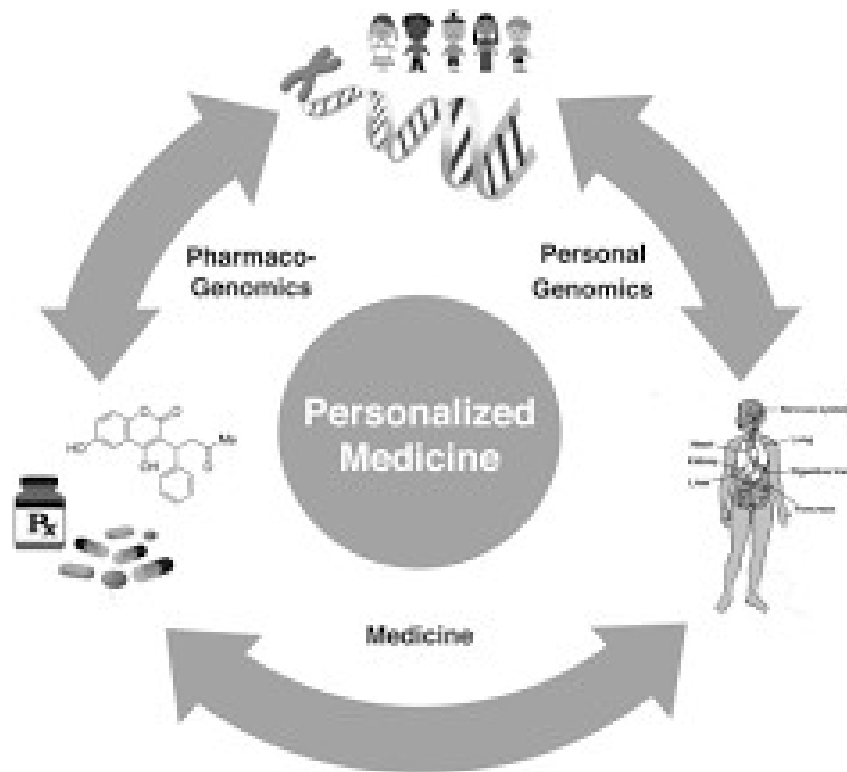
Геномдық реттілікті анықтау – белгілі бір организмнің барлық ДНҚ тізбегін оқып, оны дұрыс ретпен орналастыру процесі. Бұл процесс көптеген салаларда маңызды рөл атқарады:

Генетикалық ауруларды зерттеу

Адам геномының реттілігін анықтау арқылы ғалымдар генетикалық мутацияларды табуға және оларды аурулармен байланыстыруға мүмкіндік алады. Бұл, мысалы, тұқым қуалайтын ауруларды диагностикалау мен емдеу үшін маңызды.

Жеке медицина

Әр адамның геномы ерекше болғандықтан, дәрі-дәрмектер мен емдеу әдістерін жеке геномдық ерекшеліктерге бейімдеу мүмкіндігі туады. Бұл медицинадағы персонализацияланған немесе "жеке медицина" тұжырымдамасының негізі.



Эволюциялық зерттеулер

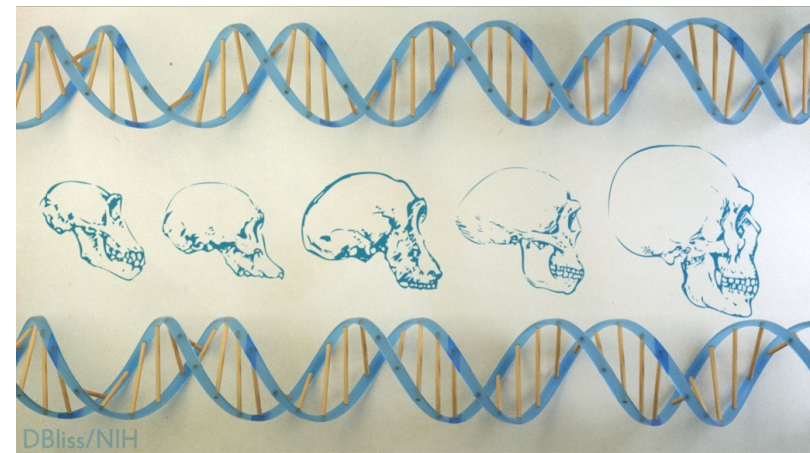
Геномдық реттіліктерді салыстыру арқылы ғалымдар әртүрлі организмдердің эволюциялық байланыстарын анықтай алады, сонымен қатар эволюция барысындағы өзгерістерді зерттейді.

Ауыл шаруашылығы және биотехнология

Геномдық реттілікті анықтау өсімдіктер мен жануарлардың селекциясын жетілдіруге, сонымен қатар биотехнологиялық процестерді дамытуға ықпал етеді. Генетикалық модификация мен өсімдік селекциясында қолданылатын технологиялар геномды зерттеуден басталады.

Микроорганизмдерді зерттеу және биоинженерия

Бактериялар мен вирустардың геномдық реттілігін білу олардың биологиялық қасиеттерін зерттеп, оларды биотехнологиялық және медициналық мақсаттарда қолдануға мүмкіндік береді. Мысалы, геномды өңдеу арқылы антибиотиктер немесе вакциналар жасауға болады.



Геномдық секвенирлеу әдістері

Sanger әдісі

Sanger секвенирлеу әдісі – ДНҚ реттілігін анықтаудың алғашқыларының бірі және классикалық әдіс болып табылады. Ол 1977 жылы Фредерик Сенгер ұсынған және ұзақ уақыт бойы негізгі секвенирлеу әдісі ретінде қолданылды.

Негізгі қағидасы: Sanger әдісі арнайы маркерлермен белгіленген дидезоксинуклеотидтерді (ddNTP) пайдаланады. Олар ДНҚ синтезін тоқтатып, әр түрлі ұзындықтағы фрагменттерді түзеді. Осы фрагменттерді гель-электрофорез арқылы бөліп, олардың реттілігін анықтайды.

Артықшылықтары:

- Жоғары дәлдікте жұмыс істейді.
- Қысқа ДНҚ фрагменттерін секвенирлеуде жақсы қолданылады.

Кемшіліктері:

- Ұзақ және қымбат процесс.
- Бір уақытта тек қысқа фрагменттерді секвенирлеуге мүмкіндік береді.
- Геномның үлкен көлемдерін секвенирлеу үшін тиімсіз.

Келесі буын секвенирлеу (Next-Generation Sequencing, NGS)

NGS әдістері соңғы жылдарда кеңінен таралып, геномдық зерттеулердің дамуын айтарлықтай жеделдетті. Бұл технология жоғары өткізу қабілетіне ие және ДНҚ-ның үлкен бөліктерін тез секвенирлеуге мүмкіндік береді.

Негізгі қағидасы: NGS ДНҚ молекулаларын ұсақ фрагменттерге бөліп, оларды параллель секвенирлеу процесіне жібереді. Әрбір фрагменттің реттілігі бір уақытта анықталады, ал алынған деректер кейін арнайы бағдарламалар арқылы геномға құрастырылады.

Артықшылықтары:

- Жоғары жылдамдық – үлкен көлемді деректерді қысқа мерзімде секвенирлеу мүмкіндігі.
- Бір уақытта көптеген үлгілермен жұмыс істеу.
- Бірнеше түрлі анализдер жасауға болады (мысалы, РНҚ секвенирлеу, экзом секвенирлеу және т.б.).

Кемшіліктері:

- Қымбат құрал-жабдықтар мен арнайы талдау бағдарламалары қажет.
- Кейде қысқа фрагменттер арасында құрастыруда қиындықтар туындайды.
- **Қолданылатын платформалар:** Illumina, Ion Torrent, Roche 454.

Үшінші буын секвенирлеу (PacBio, Oxford Nanopore)

Үшінші буын секвенирлеу (3GS) әдістері соңғы технологиялар қатарына жатады және олар ДНҚ молекулаларын нақты уақыт режимінде ұзын фрагменттер түрінде секвенирлеуге мүмкіндік береді.

PacBio (Pacific Biosciences) секвенирлеу:

- Бұл әдіс бір молекуладан секвенирлеу технологиясын қолданады (SMRT – Single Molecule Real-Time sequencing).
- ДНҚ молекулаларын синтездеу процесі тікелей бақыланып, сол мезетте реттілік анықталады.

Oxford Nanopore секвенирлеу:

- Бұл технологияда ДНҚ молекулалары нанопоралар арқылы өткізілгенде, олардың әрбір негізі электр сигналы түрінде тіркеледі, нәтижесінде реттілік анықталады.

Артықшылықтары:

- ДНҚ молекулаларының ұзын фрагменттерін секвенирлеуге мүмкіндік береді.
- Талдау жылдамдығы жоғары және портативті секвенсорларды қолдануға болады (мысалы, Oxford Nanopore MinION).

Кемшіліктері:

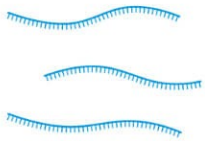
- Қателік деңгейі салыстырмалы түрде жоғары.
- Кейбір платформалар мен секвенсорлар әлі толық жетілмеген.

Үшінші буын секвенирлеу технологияларының болашағы:

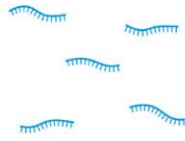
Үшінші буын секвенирлеу технологиялары геномдық зерттеулерде үлкен жаңалықтар алып келуде, себебі олар ұзын фрагменттерді тез әрі нақты секвенирлеуге мүмкіндік береді. Сонымен қатар, портативті секвенсорлар (мысалы, Oxford Nanopore) шұғыл жағдайларда немесе зертханадан тыс ортада ДНҚ секвенирлеуді жүзеге асыруға мүмкіндік береді.

RNA Sequencing

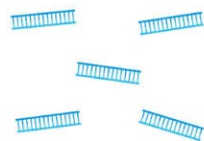
① Isolate RNA from samples



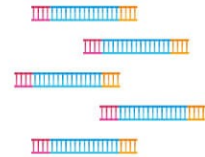
② Fragment RNA into short segments



③ Convert RNA fragments into cDNA



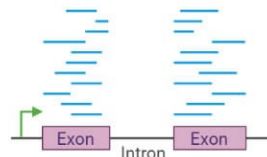
④ Ligate sequencing adapters and amplify



⑤ Perform NGS sequencing



⑥ Map sequencing reads to the transcriptome/genome



Секвенирлеу процесінің негізгі кезеңдері

Геномдық секвенирлеу бірнеше негізгі кезеңдерден тұрады, әр кезең генетикалық ақпаратты тиімді және дәл анықтау үшін маңызды.

1. ДНҚ үлгісін дайындау

Секвенирлеудің алғашқы және маңызды кезеңі – зерттелетін биологиялық материалдан ДНҚ үлгісін дұрыс дайындау.

Қадамдар:

- **ДНҚ оқшаулау (экстракция):**
Биологиялық үлгіден (адамның қанынан, өсімдіктерден, микроорганизмдерден және т.б.) ДНҚ-ны бөліп алу үшін арнайы реагенттер мен ферменттер қолданылады. Бұл кезеңде жоғары сапалы және таза ДНҚ үлгісі қажет, себебі қоспалар немесе бұзылған ДНҚ нәтижелердің қателіктеріне әкелуі мүмкін.
- **ДНҚ-ның мөлшерін және сапасын бағалау:**
ДНҚ үлгісінің концентрациясын және сапасын анықтау үшін спектрофотометрия немесе флуориметрия әдістері қолданылады. Сонымен қатар, гель-электрофорез арқылы үлгінің ұзындығы мен бүтіндігі тексеріледі.
- **Кітапхана дайындау (DNA library preparation):**
Бұл кезеңде ДНҚ молекулалары фрагменттеледі (кесек фрагменттерге бөлінеді) және арнайы адаптерлер жалғанады. Бұл адаптерлер үлгіні секвенирлеу машинасына байлап, әр фрагментті дұрыс оқуға мүмкіндік береді.

2. Тізбекті секвенирлеу және деректерді алу

Секвенирлеу әдісіне байланысты, ДНҚ-ның реттілігі әртүрлі технологиялармен анықталады. Мысалы, Sanger секвенирлеуінде реттілік дидезоксинуклеотидтердің көмегімен флуоресценттік сигнал арқылы анықталса, келесі буын секвенирлеуде (NGS) үлгілер автоматтандырылған процестермен параллельді түрде секвенирленеді.

Қадамдар:

- **Секвенирлеу реакциясы:**

Үлгі дайын болғаннан кейін секвенирлеу процесі басталады. Әрбір секвенирлеу әдісінде бұл процесс әртүрлі технологиялар арқылы жүзеге асады:

- Sanger әдісінде дидезоксинуклеотидтер синтезді тоқтатып, реттілікті көрсетеді.
- NGS технологиясында флуоресцентті сигналдар немесе ионды токтар тіркеліп, нуклеотидтер анықталады.
- Үшінші буын секвенирлеуде (мысалы, PacBio немесе Oxford Nanopore) бір молекулалы ДНҚ ұзын фрагменттер түрінде секвенирленеді.

- **Деректерді тіркеу:**

Секвенирлеу барысында алынған сигналдар әрбір нуклеотидті белгілеп, оларды автоматтандырылған жүйе оқиды. Осы кезеңде үлкен көлемді деректер пайда болады, себебі әрбір ДНҚ молекуласының фрагменті өз реттілігін көрсетеді.

3. Деректерді талдау және жинақтау

Секвенирлеу нәтижесінде алынған деректер молекулалық деңгейде реттілік ретінде тіркеледі, бірақ олар әлі де компьютерлік талдау мен қайта құрастыруды қажет етеді.

Қадамдар:

- **Деректерді сапалы тексеру:**

Деректерді алғашқы өңдеу процесінде сапасы төмен секвенирлерді сүзгіден өткізу маңызды. Мысалы, қателік коэффициенті жоғары немесе сапасыз сигналдар өңдеу барысында алынып тасталады.

- **Фрагменттерді құрастыру (Assembly):**

Секвенирлеу нәтижесінде ДНҚ-ның көп фрагменттері алынады. Осы фрагменттерді біріктіру арқылы толық геномды немесе генді қайта құрастырады. Бұл процесс екі жолмен жүзеге асырылады:

- **De novo құрастыру:** Егер секвенирленген организмнің реттілігі бұрын-соңды белгілі болмаса, алгоритмдер әр фрагментті бір-бірімен салыстырып, геномды өздігінен құрастырады.
- **Reference-based құрастыру:** Егер белгілі бір организмнің геномдық реттілігі белгілі болса, жаңа үлгіні осы эталондық реттілікпен салыстыра отырып құрастырады.

- **Деректерді талдау:**

Құрастырылған геномдық деректер одан әрі биоинформатикалық талдаудан өтеді. Бұл кезеңде алынған реттілік гендер, мутациялар немесе басқа маңызды аймақтар бойынша сараланады. Атап айтқанда, мутациялар мен вариациялар зерттеліп, олардың функциялары мен биологиялық маңыздылығы анықталады.

- **Деректерді интерпретациялау:**

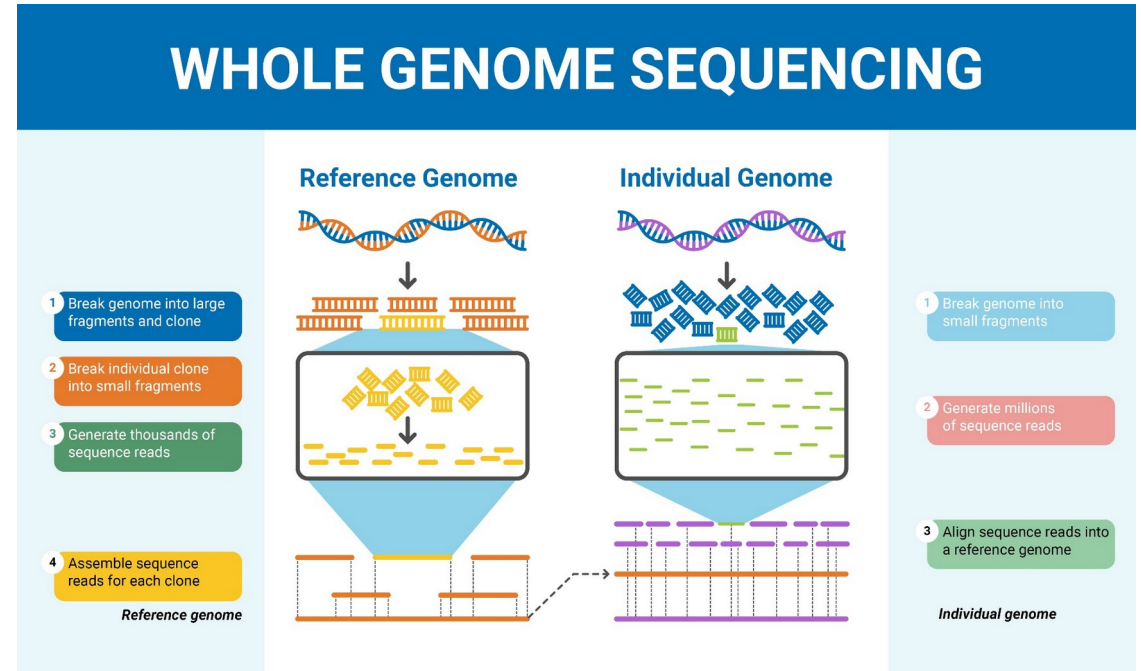
Соңғы кезеңде алынған реттілік нәтижелері биологиялық және медициналық контексте түсіндіріледі. Бұл зерттеу нәтижелерін нақты аурулармен байланыстыруға, жаңа дәрі-дәрмектерді табуға немесе эволюциялық зерттеулерде қолдануға мүмкіндік береді.

Геномдық реттілікті құрастыру

Реттілікті құрастыру дегеніміз не?

Геномдық реттілікті құрастыру (Genome Assembly) – секвенирленген ДНҚ фрагменттерінен (read) бастапқы геномды қайта құрастыру процесі. Секвенирлеу кезінде ДНҚ-ны ұсақ фрагменттерге бөледі, себебі секвенирлеу технологиялары толық геномды бір ретте секвенирлей алмайды. Осылайша, секвенирленген қысқа фрагменттер (секвенс оқылымдары) қайта құрастырылып, тұтас геном немесе гендік реттіліктерді жасау үшін біріктіріледі.

Бұл процесс әр түрлі алгоритмдерді және компьютерлік құралдарды қажет етеді, себебі көптеген фрагменттерді бір-бірімен дұрыс ретте байланыстыру – күрделі міндет.



De novo құрастыру vs. reference-based құрастыру

De novo құрастыру:

- De novo құрастыру – геномды ешқандай эталондық (reference) геномға сүйенбей, тек секвенирленген оқылымдар негізінде жинау процесі. Бұл әдіс бұрын секвенирленбеген немесе толық зерттелмеген жаңа организмдердің геномдарын жинақтағанда қолданылады.

Артықшылықтары:

- Белгілі бір эталондық геном қажет емес, сондықтан жаңа немесе бірегей организмдер үшін қолданылады.
- Құрастыру кезінде секвенирленген оқылымдардың толық деректеріне сүйенеді, бұл жаңа генетикалық элементтерді табуға мүмкіндік береді.

Кемшіліктері:

- Процесс күрделі және есептеу қуатын көп талап етеді.
- Құрастыру кезінде қателіктер туындауы мүмкін, әсіресе қайталанатын ДНҚ аймақтары көп болса.

Геномдық реттілікті анықтау мен құрастыруда кездесетін қиындықтар

Геномдық секвенирлеу және реттілікті құрастыру – күрделі және көп қырлы процесс, онда көптеген техникалық және аналитикалық қиындықтар кездеседі. Ең жиі кездесетін мәселелердің қатарына таза емес үлгілер, қысқа секвендер, және компьютерлік талдау қиындықтары жатады.

1. Таза емес үлгілер, қысқа секвендер

Таза емес үлгілер:

- **Ластаушы агенттер:** Биологиялық үлгілерде ластаушы агенттер (басқа организмдердің ДНҚ-сы, РНҚ-сы, белоктар немесе басқа химиялық қоспалар) болуы мүмкін. Бұл секвенирлеу процесінде дұрыс емес нәтижелерге немесе қателіктерге алып келеді. Ластанған ДНҚ-ның болуы алынған деректердің сапасын төмендетіп, реттілікті дұрыс құрастыруға кедергі жасайды.
- **Үлгіні дұрыс сақтау және дайындау:** ДНҚ-ны сақтаудағы немесе дайындаудағы қателіктер оның сапасына әсер етеді. Мысалы, ұзақ сақтау кезінде ДНҚ фрагменттелуі мүмкін немесе қоршаған ортаның әсерінен бұзылуы ықтимал.
- **Қысқа секвендер (short reads):**
 - Көптеген келесі буын секвенирлеу (NGS) технологиялары қысқа секвенирленген оқылымдар (қысқа секвендер) береді, әдетте ұзындығы 50-300 базалық жұп (bp) аралығында. Қысқа секвендер геномның ұзақ қайталанатын аймақтарын немесе күрделі құрылымдарын дұрыс құрастыра алмайды.
 - **Қайталанатын аймақтар:** Геномда қайталанатын нуклеотидтік тізбектердің болуы қиындық туғызады, себебі қысқа секвендер олардың қай жерде орналасқанын анықтай алмайды. Бұл құрастыру кезінде қателіктерге және геномдық картаның дұрыс болмауына әкеледі.
 - **ДНҚ фрагменттерінің қысқалығы:** Ұзын ДНҚ тізбегін қысқа секвендермен құрастыру кезінде, кейде тізбектер арасындағы байланыс үзілгендей болып көрінеді. Бұл ұзын қайталанатын аймақтар мен күрделі геномдық құрылымдарды дұрыс құрастыруға кедергі келтіреді.

2. Компьютерлік талдау қиындықтары

Геномдық реттілікті құрастыру – тек қана зертханалық жұмыс емес, сонымен қатар үлкен көлемдегі деректерді өңдеу мен талдауды қажет ететін есептеу процесі. Бұл кезеңде бірнеше қиындықтар туындауы мүмкін:

Үлкен деректер көлемі:

Қазіргі секвенирлеу әдістері өте үлкен деректер көлемін өндіреді. Миллиондаған немесе миллиардтаған секвенирленген фрагменттерді жинау және талдау үшін қуатты есептеуіш ресурстар қажет. Үлкен деректерді сақтау, өңдеу, және талдау көп уақыт пен есептеу қуатын талап етеді, әсіресе үлкен геномдарды құрастырғанда (мысалы, адам геномы).

• Деректер сапасын бақылау:

Әрбір секвенирленген фрагменттің сапасын бақылау және сапасыз деректерді сүзу маңызды процесс болып табылады. Төмен сапалы секвендер немесе қателіктер (мысалы, қате оқылған нуклеотидтер) құрастырылған геномның дәлдігіне әсер етеді. Осыған байланысты сапа тексеру кезеңі ұзақ уақыт алады және көп есептеу ресурстарын қажет етеді.

• Құрастыру алгоритмдерінің тиімділігі:

Қазіргі кездегі ең танымал құрастыру алгоритмдері (мысалы, De Bruijn графы негізіндегі әдістер) күрделі геномдық құрылымдар мен қайталанатын аймақтарды өңдеуде қиындықтар туғызады. Әсіресе, үлкен көлемді геномдық реттіліктермен жұмыс істегенде, алгоритмдер кейбір аймақтарды дұрыс құрастыра алмауы мүмкін.

• Қателіктердің жинақталуы:

Секвенирленген фрагменттерді құрастыру кезінде кейбір қателіктер жинақталып, құрастырудың сапасын төмендетеді. Мысалы, қайталанатын реттіліктерде немесе ұзын құрылымдарда қателіктердің жинақталуы нәтижесінде геномның толық картасы дұрыс құрастырылмай қалуы мүмкін.

• Геномның күрделілігі:

Кейбір геномдар өте күрделі құрылымдарға ие. Мысалы, жоғары мөлшерде қайталанатын элементтер, полиплоидты геномдар, немесе хромосомалардың күрделі қайта құрастырулары бар организмдерде секвенирленген фрагменттерді жинақтау қиынға соғады. Осындай күрделі геномдарды құрастыру үшін жетілдірілген алгоритмдер мен модельдер қажет.

Қорытынды

Геномдық реттілікті анықтау және құрастыру – биология мен медицинадағы заманауи ғылыми зерттеулердің ең маңызды бағыттарының бірі. Бұл әдіс адамзатқа генетикалық ақпаратты толыққанды түсінуге және оны әртүрлі салаларда қолдануға мүмкіндік беріп отыр. Геномдық секвенирлеу арқылы аурулардың генетикалық негіздерін зерттеп, жеке медицина саласында үлкен жетістіктерге қол жеткізуге болады. Сонымен қатар, ауыл шаруашылығы, микробиология, биоинженерия сияқты салаларда геномды зерттеу арқылы өнімділікті арттыруға, қоршаған ортаға зиян келтірмейтін шешімдер табуға жағдай жасалады.

Геномдық реттілікті анықтау процесі жаңа технологиялармен дамып, жетілдірілуде, бұл өз кезегінде генетикалық ақпаратты жылдам әрі дәл анықтауға жол ашты. Болашақта бұл бағыт генетикалық ауруларды емдеуде, экологиялық мәселелерді шешуде, сондай-ақ биотехнологиядағы инновациялық жетістіктерде маңызды рөл атқаратын болады. Геномдық зерттеулердің жаңа кезеңдері, соның ішінде эпигенетика, жеке геномика және генетикалық инженерия – ғылым мен технологияның дамуын одан әрі жетілдіріп, адамзаттың денсаулығы мен әл-ауқатын жақсартуға елеулі үлес қосады.