

# Markery genetyczne

## – źródło informacji, ale czy wszelkiej...?

Czytając stare kryminały, podziwiamy sztukę logicznego myślenia ich bohaterów, czasem tylko wspartą badaniami daktyloskopowymi. Błyskotliwe rozumowanie, dostrzeganie pozornie nieistotnych związków i umiejętność wyciągania daleko, czasem pozornie zbyt daleko, idących wniosków budzi nasz szacunek. Czy dziś jest inaczej? Czy uroda opowieści o Sherlocku Holmesie, Pannie Marple czy Herkulesie Poirot opiera się na egzotyce czasu minionego? Przecież dziś wystarczy zbadać DNA, a właściwie może to pewnie zrobić maszyna, więc bez wysiłku w pięć minut wie się wszystko. Czy aby na pewno? O tym, co naprawdę może nam powiedzieć DNA oraz kiedy i jakie badania należy wykonać, mówi poniższy artykuł.

<red>

■ HANNA PANAGIOTOPOULOU, DANIJELA POPOVIĆ

Jeszcze przed odkryciem DNA starano się poznać naturę dziedziczenia cech. Od dawien dawna człowiek zdawał sobie sprawę, że nie jest to przypadkowe, przecież w końcu często jesteśmy podobni do rodziców, żeby nie wspomnieć o podobieństwie bliźniąt jednojajowych. Dostrzegano również, że w różnych miejscach naszego globu żyją różne organizmy, których cechy, zwykle odziedziczone po przodkach, często są związane z dostosowaniem do środowiska, w którym żyją. Hodowcy zwierząt, szczególnie koni, ale także rolnicy zdawali sobie sprawę z wartości reproduktorów. I choć to może zabrzmie dziwnie, człowiek nauczył się stosować prawa genetyki w praktyce na długo przed ich sformalizowaniem. Od strony naukowej ich badania były początkowo ograniczone do prostych testów dziedziczenia wykonanych przez Grzegorza Mendla jeszcze w XIX wieku. Dziś techniki analizy DNA

umożliwiają również precyzyjne określanie pokrewieństwa osobników czy ich zbiorów, np. gatunków, badanie struktury populacji, procesów, jakie w niej zachodzą, jej różnorodności, doboru naturalnego, a także analizę całych genomów. We wszystkich tych badaniach wykorzystuje się techniki analizy markerów genetycznych (molekularnych).

### Markery molekularne

Za markery molekularne uznaje się obszary genomu charakteryzujące się zmiennością (**polimorfizmem**) u różnych osobników tego samego lub różnych gatunków. Zmienność markera genetycznego w obrębie jednego gatunku informuje o różnorodności **allelicznej** danego *locus*. Z reguły wyróżnia się trzy rodzaje markerów molekularnych: białkowe – **allozymy**, bazujące na polimorfizmie długości, np. różnej liczbie charakterystycznych powtó-

rzeń, oraz na zmienności sekwencji nukleotydowej DNA. Markery można podzielić na neutralne ewolucyjnie i na podlegające selekcji. Pierwsze są zlokalizowane zazwyczaj w odcinkach niekodujących, czyli poza genami, drugie zaś na obszarach, których funkcja ma znaczenie dla szeroko rozumianego dostosowania organizmu do warunków siedliskowych.

W zależności od tego, co chce się zbadać, dobiera się odpowiednio zmienne (czułe) markery genetyczne (**Tabela 1**). Wstępem do badań zmienności wybranego markera genetycznego lub ich grupy jest izolacja białka (w przypadku badania allozymów) lub DNA z tkanki, którą dysponuje badacz. Może to być zarówno tkanka pobrana, zwykle praktycznie nieinwazyjnie od żyjącego osobnika, jak i materiał muzealny, kopalny lub innego pochodzenia. W przypadku DNA większość badań opiera się na technice PCR, za pomocą której amplifikuje się (namnaża) interesujące fragmenty genomu, a następnie poddaje się je analizie, np. przez elektroforezę w odpowiednim nośniku (agarozą, poliakrylamid, elektroforeza kapilarna).

Markery ewolucyjnie neutralne są z reguły o wiele bardziej zmienne, gdyż kumulują się w nich mutacje, dlatego bywają szczególnie przydatne w badaniach populacyjnych czy pokrewieństwa osobników jednego gatunku. Markery, które ewoluują wolniej (AM), więc charakteryzujące się mniejszą zmiennością, są używane raczej przy analizach osobników ewolucyjnie bardziej odległych, np. przy odtwarzaniu szlaków kolonizacji (**filogeografia**) i pokrewieństwa gatunków (**filogenetyka**).

Nasza znajomość markerów molekularnych jest dalece niekompletna, dlatego podlega szybkiemu rozwojowi, czego dowodem jest pojawienie się w ciągu ostatnich dwudziestu lat bardzo wielu zarówno markerów, jak i technik, którymi można je badać (**Tabela 1**). Co więcej, można zauważyć pewne trendy, modę na preferencyjne stosowanie przez naukowców okre-

ślonego markera. Zwykle jednak nie jest to jedynie kwestia upodobań, ale przede wszystkim użyteczności.

### □ **allozomy**

W latach 70. i 80. bardzo popularne było analizowanie zmienności allozymów. Obecnie praktycznie w ogóle nie są one wykorzystywane w badaniach. Allozomy to enzymy, które – choć kodowane przez allele tego samego genu (stąd nazwa allozym) – mogą nieznacznie różnić się sekwencją aminokwasów u osobników. Allozomy kodowane przez różne allele danego genu można rozróżnić poprzez rozdział elektroforetyczny w żelu, zwykle poliakryloamidowym. Na ich podstawie robiono pierwsze analizy różnorodności genetycznej populacji. Wadą stosowania analizy allozymów w badaniach populacyjnych jest ich stosunkowo mała zmienność, ponieważ są to markery podlegające selekcji. Z drugiej strony w połączeniu z analizami innych markerów mogą być bardzo cennym źródłem informacji w przypadku, gdy interesuje nas badanie adaptacji (przystosowania) populacji do lokalnych warunków środowiskowych.

### □ **mikrosatelitarny DNA**

Dużo bardziej polimorficznym markerem jest **mikrosatelitarny DNA** zbudowany z krótkich, wielokrotnie powtórzonych sekwencji (motywów). Często otaczają go sekwencje ewolucyjnie silnie konserwowane, co ma ogromne znaczenie w badaniach molekularnych, ponieważ umożliwiają one zaprojektowanie uniwersalnych (odpowiednich np. dla wszystkich osobników danego gatunku) starterów dla reakcji PCR. W *loci* mikrosatelitarnych często obserwuje się mutacje polegające na insercji (wstawieniu) lub delecji (wypadnięciu) fragmentu lub części całej jednostki powtarzającej się. Dlatego bada się zmienność długości tych markerów.

Z początku długość poszczególnych alleli odczytywano, porównując migrację otrzymanych w reakcji PCR fragmentów DNA

Tabela 1. Właściwości markerów molekularnych

	Allozymy	Minisatelite	Mikrosatelite	RFLP	RAPD	AFLP	SNP	OTL	Sekwencje DNA
Pracochłonność	**	*	**	*	*	**	***	***	*
Kosztochłonność	*	**	**	*	*	**	***	***	***
Powtarzalność	**	**	***	**	*	**	***	***	***
Informatywność	*	*	***	**	**	***	***	***	****
Badana cząsteczka	Białko Konformacja	DNA Długość	DNA Długość	DNA Długość	DNA	DNA Długość	DNA	DNA	DNA Sekwencja
Charakter markera	Kodominujący	Kodominujący	Kodominujący	Dominujący	Dominujący	Dominujący	Dominujący	Dominujący	Kodominujący/ Dominujący
<b>Zastosowanie w badaniach</b>									
Pokrewieństwa	*	*	***	***	*	**	***		*
Struktury populacji	*	*	***	**	*	***	***?		*
Hybrydyzacji	**	**	*	**	*	***	*		**
Mapy sprzężeń	*	*	*	*	*	***	**		*
Identyfikacji gatunku									
Filogenetyki									***
Selekcji								***	***

w czasie elektroforezy w żelach poliakryloamidowych. Wraz z pojawieniem się możliwości fluorescencyjnego znakowania starterów do reakcji PCR (a tym samym jej produktów) możliwa stała się półautomatyczna analiza, również przez zastosowanie elektroforezy kapilarnej. Pozwala to na określenie długości fragmentów DNA z dokładnością do jednego nukleotydu.

Zwykle dla badacza szczególnie interesujące są *loci* wysoce polimorficzne, tzn. mające wiele alleli u danego gatunku. Diploidalny osobnik posiada jednak zwykle tylko dwa allele danego *locus*. Oczywiście wyjątek stanowią u samców allele znajdujące się na heterochromosomie, jeśli w przypadku danego gatunku takowe występują (np. u człowieka chromosomy X i Y). Jeżeli są identyczne, osobnik jest dla tego *locus* homozygotą, a jeśli są różne – heterozygotą.

Warunkiem, jaki muszą spełniać badane *loci* mikrosatelitarne, jest niezależne dziedziczenie ich alleli, co w praktyce oznacza, że nie mogą być one położone (sprzężone) blisko siebie. Zwykle analizuje się od kilku do kilkunastu *loci*. Dzięki temu ilość informacji, którą uzyskuje się dla jednego osobnika, jest bardzo duża, co umożliwia analizę pokrewieństwa, identyfikację poszczególnych osobników oraz migrantów w populacji. *Loci* mikrosatelitarne są też markerami powszechnie używanymi w kryminalistyce. Mikrosatelity zdobyły ogromną popularność w latach 90. w analizach genetycznych i praktycznie zdominowały w pewnym momencie badania populacyjne. Pozwalają one również badać poziom wsobności grupy organizmów, podział na **subpopulacje**, efekty zjawiska przejścia populacji przez tzw. szyjkę od butelki (ang. *bottleneck*) czy **efektywną wielkość populacji**. Miarą różnorodności populacji, czyli jej dobrej kondycji, jest bogata pula genowa (wiele alleli poszczególnych genów) oraz wysoki poziom heterozygotyczności. Niestety markery mikrosatelitarne nie są dobrym markerem do badań filogenetycznych, gdyż są tak zmienne, że możliwe jest wystąpienie tzw. **homoplazji**, co

w tym przypadku z reguły oznacza przypadkową zbieżność ich długości.

Kilkanaście lat temu na dość krótko popularność w badaniach populacyjnych zdobyły **minisatelity**. Mają one podobny charakter do mikrosatelitów. Powtórzenia motywów są w przypadku tych markerów znacznie dłuższe, stąd nieco inaczej się je bada. Zwykle pierwszym etapem analizy jest cięcie DNA badanego organizmu **enzymami restrykcyjnymi** rozpoznającymi konkretne sekwencje w genomie. Następnie otrzymane w wyniku trawienia fragmenty są rozdzielane w żelu, przenoszone metodą Southerna na odpowiedni filtr i **hybrydyzowane** ze znakowanymi radioaktywnie fragmentami DNA (**sondami**), złożonymi właśnie z powtórzeń, które zawierają minisatelity. Dzięki temu można je obserwować, po przeprowadzeniu autoradiografii, na kliszy rentgenowskiej (autoradiogram). Marker ten został jednak zarzucony w badaniach populacyjnych ze względu na skomplikowany wzór hybrydyzacji z sondami, co bardzo utrudnia odczyt oraz – jak się okazało – nielosowe rozmieszczenie *loci* minisatelitarnych w genomie.

### □ sekwencje polimorficzne

Trzecim rodzajem markerów są polimorfizmy sekwencji. Jest wiele technik ich badania. Dające najwięcej informacji, ale jednocześnie najdroższe jest **sekwencjonowanie**. W internetowej bazie GenBank (NCBI) dostępnych jest bardzo wiele do tej pory ustalonych sekwencji nukleotydowych. Dzięki temu można względnie łatwo zaprojektować startery pozwalające amplifikować żądany fragment określonego DNA. W przypadku gdy nie mamy informacji o interesującym organizmie, przy projektowaniu starterów do PCR wykorzystuje się konserwatywne sekwencje znajdujące się w homologicznych obszarach genomów najbliższych spokrewnionych gatunków. Powszechnie używa się sekwencji genomu mitochondrialnego, w szczególności **pętli D (tzw. region kontrolny)**. Jest to obszar niekodujący, który praktycz-

nie nie podlega doborowi naturalnemu, w związku z czym jest wysoce zmienny. Mitochondrialny DNA nie podlega rekombinacji oraz u ssaków jest dziedziczony po kądzieli. Marker ten wykorzystuje się w badaniach wewnątrzgatunkowych, np. filogeograficznych. Do badań filogenetycznych używa się mniej polimorficznych markerów, takich jak sekwencje nukleotydowe genu kodującego cytochrom *b* albo genów kodujących RNA rybosomalny (zarówno mitochondrialny, jak i jądrowy).

W przypadku gdy niewiele wiadomo o genomie interesującego nas gatunku, a ograniczone są finanse i czas, bardzo dobrymi technikami okazały się przesiewowe metody badania genomu, które również wykrywają polimorfizmy sekwencji. Jedną z najwcześniej zastosowanych była technika **RFLP** (ang. *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Metoda ta polega na cięciu DNA enzymami restrykcyjnymi. Powstające fragmenty mogą mieć różną długość u różnych osobników tego samego lub różnych gatunków.

Wielkość uzyskanych fragmentów charakteryzuje się przez elektroforetyczny rozdział strawionego, genomowego DNA w żelu agarozowym lub poliakrylamidowym, przenoszenie na odpowiednie filtry metodą Southerna i hybrydyzację ze specyficznymi dla badanych obszarów genomu sondami molekularnymi. W konsekwencji otrzymuje się charakterystyczny dla osobnika wzór prążków zwany molekularnym odciskiem palca (ang. *DNA fingerprint*). Wadą tej techniki jest jej pracochłonność oraz konieczność posiadania dużej ilości dobrej jakości DNA. Charakter otrzymanej informacji, w przeciwieństwie do wyżej opisanych badań mikrosatelitów, pozwala jedynie na stwierdzenie obecności miejsca restrykcyjnego. Tym samym uzyskana informacja jest zero-jedynkowa (hybrydyzacja wykrywa fragment o określonej długości lub nie). Znane są warianty tej metody, np. PCR-RFLP, czyli amplifikacja PCR konkretnego fragmentu, a następnie jego cięcie enzymami restrykcyjnymi. W tym

przypadku stosowanie metody Southerna i hybrydyzacji nie jest konieczne.

Innym przesiewowym sposobem badania genomu jest **RAPD** (ang. *Randomly Amplified Polymorphic DNAs*). Jest to technika obecnie bardzo rzadko stosowana z powodu małej powtarzalności uzyskiwanych wyników. Polega ona na amplifikacji fragmentów genomu za pomocą bardzo krótkich starterów, w łagodnych warunkach ich przyłączania do jednoniciowej matrycy, dzięki czemu może powstać bardzo dużo różnych fragmentów DNA. Są one wizualizowane przez elektroforezę w żelu i barwienie, np. bromkiem etydyny. Kombinacją wyżej opisanych technik jest coraz bardziej zyskująca na znaczeniu technika **AFLP** (ang. *Amplified Fragment Length Polymorphism*). Uważa się, że daje ona powtarzalne wyniki, pomimo to poleca się powtórzną analizę co najmniej 10% wszystkich prób.

DNA cięty jest dwoma enzymami restrykcyjnymi. Następnie otrzymane fragmenty są ligowane (łączone) z oligonukleotydami (**adapterami**). Potem przeprowadza się dwuetapową reakcję PCR (odpowiednio preamplifikacja i amplifikacja właściwa), dzięki czemu tylko część fragmentów zostaje powielona. Dawniej otrzymane, powielone fragmenty DNA analizowano przez elektroforezę w żelu, w którym uwidaczniano je, barwiąc bromkiem etydyny. Powstałe kompleksy oglądano i rejestrowano elektrofor etogramy w świetle UV.

Zastosowanie do PCR, jako starterów, oligonukleotydów znakowanych fluorescencyjnie pozwala analizować produkty reakcji PCR za pomocą systemów półautomatycznych, podobnie jak w przypadku mikrosatelitów. Zwykle otrzymuje się chromatogram przedstawiający rozdział wielu fragmentów DNA o różnych długościach, charakterystyczny dla badanego osobnika (*fingerprinting*). Większość fragmentów jest identyczna dla wszystkich bądź większości przedstawicieli danego gatunku. Te jednak, które są polimorficzne, umożliwiają

badania populacyjne. Problem stanowią fragmenty o identycznej długości, ale różnych sekwencjach nukleotydowych, które z natury są różnymi formami tego samego genomu lub różnych jego obszarów (rzadka przypadkowa zgodność długości), a których powyższą metodą nie można rozróżnić. Niestety w ten sposób bardzo dużo informacji o różnicach między badanymi genomami nie podlega analizie. Ponieważ pojedyncze *locus* w AFLP nie jest aż tak zmienne jak mikrosatelitarne, uważa się, że 10 *loci* AFLP pod względem informacyjnym odpowiada 1 *locus* mikrosatelitarne. AFLP można uznać za technikę bardzo czułą, ponieważ teoretycznie możliwe jest użycie łącznie 256 kombinacji starterów ( $16 \times 16$ ), z których każda para generuje średnio do 50 fragmentów, w tym 5–10 polimorficznych. Metoda ta wydaje się bardzo dobra nie tylko w badaniach populacyjnych, ale również gdy określa się przynależność gatunkową badanego osobnika, bada się hybrydyzację międzygatunkową oraz tworzy **mapy sprzężeń genomu**. Nie nadaje się jednak do badań pokrewieństwa. Nie jest ona równie często używana we wszystkich grupach organizmów. Najchętniej stosuje się ją w botanice, gdzie od dawna wykorzystywano RFLP i RAPD. W przypadku zwierząt, które mają lepiej poznane genomy, najczęściej stosuje się sekwencjonowanie oraz analizę mikrosatelitarnego DNA i SNPs (ang. *Single Nucleotide Polymorphism*).

**Analiza SNPs** staje się coraz popularniejsza, choć ich izolacja i identyfikacja jest kosztowna, ponieważ potrzeba wiele (kilkadziesiąt) takich markerów, by można było wykonać analizy populacyjne. SNP to pojedyncze, dziedziczone, polimorficzne miejsca w genomie. Mogą one podlegać selekcji, gdy leżą w pobliżu lub są zlokalizowane w podlegającym selekcji genie (praktycznie, w zależności od warunków, każdy taki jest). Występowanie SNP najłatwiej można ustalić, stosując np. SSCP, DGGE, hybrydyzację z sondami oligonukleotydowymi, PCR czy nawet AFLP. Zawsze jed-

nak końcową procedurą jest sekwencjonowanie pozwalające na ustalenie sekwencji nukleotydowej fragmentu genomu, w którym wykryto jednonukleotydowy polimorfizm. Jeśli znane są sekwencje SNPs, konstruuje się odpowiednie startery wiążące się z badanym DNA tak, że ich 3'koniec umiejscawia się bezpośrednio przed polimorfizmami. Następnie w reakcji wydłużania startera dołączany jest tylko jeden komplementarny i odpowiednio fluorescencyjnie wyznakowany dideoksynukleotyd. Pozwala to na zidentyfikowanie produktów reakcji, a więc również polimorfizmów po przeprowadzeniu rozdzielania elektroforetycznego. W zależności od tego, jaki fluorescencyjnie wyznakowany dideoksynukleotyd został dołączony, identyfikuje się dany allel SNPs. Technika ta nazywana jest SnapShot. Pojedynczy SNP jest jednak mało informatywny i konieczne jest użycie wielu *loci* SNPs, by móc przeprowadzić analizy genetyczne, co jest dosyć kosztowne i wymaga dobrej znajomości genomu badanego gatunku.

Powyżej opisane markery molekularne były wykorzystywane głównie do badań procesów demograficznych bądź w taksonomii. W ostatnich latach coraz większą popularnością cieszą się też tzw. **QTL** (ang. *Quantitative Trait Locus*), szczególnie w połączeniu z badaniami markerów ewolucyjnie neutralnych, takich jak mikrosatelity. QTL to nazwa nadana markerom podlegającym presji doboru naturalnego, czyli umiejscowionym w odcinkach kodujących genomu. Należą do nich SNP, ale tylko jeśli nie dziedziczą się losowo, lecz są sprzężone z genami, które kodują konkretne cechy. Cechy te poddane są różnej presji selekcyjnej w zależności od warunków środowiska. Innym przykładem QTL są omawiane wyżej allozymy oraz geny **MHC** (ang. *Major Histocompatibility Complex*). Te ostatnie są odpowiedzialne za odporność na patogeny, również pasożyty. Poddane są **doborowi stabilizującemu**, co oznacza, że utrzymywana jest ich duża różnorodność, ale w pewnym zakresie, gdyż niektóre allele są w danych warunkach bar-

dziej korzystne i podlegają pozytywnemu doborowi naturalnemu. QTL są doskonałym uzupełnieniem analiz wykonywanych na markerach neutralnych, ponieważ pozwalają wykryć podziały w populacjach, związane z adaptacją do środowiska, których z zasady nie wykrywa się podczas badania sekwencji mikrosatelitarnych. Jest to niezwykle istotne w **genetyce zachowawczej**, w której w przypadku restytucji gatunku bardzo dba się, by nie doszło do wymieszania populacji przystosowanych do różnych warunków środowiska. Wynikiem krzyżowania się osobników z różnych populacji jest często ich gorsze dostosowanie, co jest równie niekorzystne jak skutki wsobnego kojarzenia.

Do analizy zmienności wszystkich wyżej opisanych markerów dostępnych jest szereg programów statystycznych. Programy te są w większości dopasowane nie tylko do rodzaju markera, ale także do problemu badawczego. Dobrym markerem stosowanym w przypadku, gdy mamy wątpliwości dotyczące swobodnego przepływu genów pomiędzy osobnikami albo w badaniach wieloojcostwa, są mikrosatelity. Po odczytaniu chromatogramów otrzymujemy tabelę z zapisanymi długościami poszczególnych alleli. Te zaś poddajemy analizie statystycznej. W przypadku gdy pomiędzy populacjami przepływ genów jest bardzo ograniczony, otrzymujemy jasny podział na dwie grupy. Z kolei test na wieloojcostwo nie tylko podaje nam liczbę ojców danego miotu, ale także pozwala wytypować najbardziej prawdopodobne ich **genotypy** (oczywiście niezbędna jest dość duża próba potomstwa, by móc podać pełne genotypy ojców).

W przypadku analiz na wyższym szczeblu taksonomicznym, np. gdy rozróżniamy gatunki, bardziej przydatnym markerem może się okazać sekwencja nukleotydowa **pętli D**. Jeśli sekwencje nukleotydowe tego obszaru u badanych osobników są identyczne lub bardzo podobne, to otrzymujemy informację, że należą one do jednego gatunku, choć mogą się bardzo różnić **fenotypowo**.

Badanie sekwencji nukleotydowej pętli D sprawdza się również przy identyfikacji prób antycznych lub w kryminalistyce. Właśnie badając sekwencje nukleotydowe pętli D mtDNA wyizolowanego ze szczątków kostnych wydobytych ze wspólnej mogiły, udało się zidentyfikować te, które należały do członków rodziny ostatniego cara Rosji.

Ilość informacji, jaką możemy uzyskać poprzez badanie markerów molekularnych jest ogromna. Niezbędna jest jednak dobra znajomość natury badanych markerów oraz wiedza dotycząca zarówno technik laboratoryjnych, jak i metod statystycznych. W przypadku badań z zakresu genetyki ekologicznej wymagana jest również solidna znajomość ekologii gatunku, który badamy. Niemożliwe jest prawidłowe zinterpretowanie otrzymanych wyników bez informacji dotyczących biologii, rozmieszczenia i historii gatunku. Stąd jest to bardzo kompleksowa dziedzina wiedzy i niezrządkiem, by móc rozwiązać problem ekologiczny, wymagana jest współpraca kilku specjalistów z różnych dziedzin.

## SŁOWNICZEK

**Adaptor** – zsyntetyzowany fragment DNA, który zawiera sekwencję rozpoznawaną przez enzym restrykcyjny oraz komplementarną do starterów.

**Allel** – jeden z wariantów sekwencji danego *locus*.

**Chromatogram** – przedstawienie graficzne, na którym są umieszczone maksima emisji wyznakowanych fluorescencyjnie oligonukleotydów w zależności od czasu ich rozdziału.

**Dobór stabilizujący** – dobór polegający na eliminacji skrajnych fenotypów, w tym wypadku zbyt dużej lub za małej liczby alleli, np. MHC.

**Efekt szyjki od butelki** (ang. *bottleneck*) – gwałtowne zmniejszenie się liczebności populacji. Konsekwencją może być również znaczna utrata różnorodności genetycznej.

**Efektywna wielkość populacji** – część populacji efektywnie uczestnicząca w wy-

mianie genów. Jeśli w przypadku badanej populacji miało miejsce zjawisko przejścia przez szybką butelkę, może być znacznie zmniejszona jej liczebność, nawet pomimo późniejszej reprodukcji. Dzieje się tak na skutek dużo wolniejszego wzrostu jej różnorodności genetycznej (poprzez mutacje bądź migracje) niż przyrostu demograficznego.

**Enzymy restrykcyjne** – endonukleazy restrykcyjne rozpoznające i tnące określone, zawsze takie same dla danego enzymu, sekwencje nukleotydowe DNA.

**Fenotyp** – zespół cech organizmu obserwowanych bezpośrednio lub nieinwazyjnie za pomocą przyrządów.

**Filogenetyka** – nauka zajmująca się pokrewieństwem gatunków oraz ewolucją organizmów.

**Filogeografia** – nauka zajmująca się geograficznym rozmieszczeniem populacji, ich genetycznym podobieństwem, historią i kierunkami kolonizacji.

**Genetyka zachowawcza** – dziedzina wiedzy zajmująca się badaniem genetycznej różnorodności i kondycji gatunków zagrożonych wymarciem.

**Genotyp** – zespół alleli danego osobnika.

**Haplotyp** – zestaw polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP), dziedziczonych w sposób sprzężony ze sobą.

**Heterozygotyczność** – wskaźnik określający częstość heterozygot w populacji.

**Homoplazja** – pojawienie się identycznych sekwencji w wyniku niezależnych mutacyjnych.

**Hybrydyzacja** – połączenie się dwóch komplementarnych odcinków DNA.

**Locus** – miejsce w genomie, gen lub konkretna sekwencja nukleotydowa DNA.

**Mapa sprzężeń genomu** – określa, jak są położone względem siebie geny lub *loci*. Im bliżej siebie są położone, tym większa szansa, że będą dziedziczyły się w sposób sprzężony ze sobą.

**Marker dominujący** – marker, w którym występują allele dominujący (1) i recesywny (0). Allel recesywny nie ulega amplifikacji, więc nie jest widoczny podczas analizy.

**Marker kodominujący** – marker, którego wszystkie allele ulegają amplifikacji i możliwe jest odróżnienie homozygot od heterozygot.

**Pętla D** – region kontrolny, miejsce inicjacji replikacji i transkrypcji genomu mitochondrialnego. Nie podlega selekcji. Jest markerem ewolucyjnie neutralnym.

**Sonda** – fragment DNA zawierający znakowane radioaktywnie nukleotydy. Dzięki komplementarności sondy do interesujących sekwencji DNA możliwa jest ich identyfikacja.

**Subpopulacje** – odrębne genetycznie grupy osobników w populacji.

**Żel poliakryloamidowy** – żel utworzony przez polimeryzację monomerów akrylamidu. Silnie toksyczny. Pozwala na dużo lepszy rozdział małych fragmentów DNA niż żel agarozowy.

mgr **HANNA PANAGIOTOPOULOU**

Instytut Genetyki i Biotechnologii, UW

dr **DANIELA POPOWIC**

Interdyscyplinarne Centrum Modelowania Matematycznego i Komputerowego, UW

### PIŚMIENNICTWO

- P. Moran, *Current conservation genetics: building an ecological approach to the synthesis of molecular and quantitative genetic methods*, „Ecology of Freshwater Fish” 2002, nr 11, s. 30•55.
- C. Schlötterer, *The evolution of molecular markers – just a matter of fashion?*, „Nature Reviews Genetics” 2004, nr 5, s. 63•69.
- P. Sunnucks, *Efficient genetic markers for population biology*, „Trends in Ecology & Evolution” 2000, nr 15, tom 5, s. 199•203.
- D. X. Zhang i G. M. Hewitt, *Nuclear DNA analysis in genetic studies of populations: practice, problems and prospects*, „Molecular Ecology” 2003, nr 12, s. 563•584.