

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ И РОЛЬ РФЛП В ИЗУЧЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВАРИАЦИЙ

Сайдкулова Наргиза Алижоновна, Адашуллаева Мафтуна Фарруховна

Магистр 1- курса СамГУ имени Шарофа Рашидова

**Аннотация:** В данной работе рассмотрены методы исследования полиморфизма генов и роль метода *Restriction Fragment Length Polymorphism* в изучении генетических вариаций. Полиморфизм генов является основой генетического разнообразия у человека и других организмов, что имеет фундаментальное значение для медицины, генетики, биотехнологии и эволюционной биологии. Особое внимание уделено истории создания и принципу работы метода *RFLP*, его применению для выявления полиморфизмов, построения генетических карт, изучения наследственных заболеваний и анализа биоразнообразия. Также описаны современные методы анализа полиморфизмов, включая ПЦР, секвенирование ДНК и гибридизационные ДНК-чипы, с указанием их преимуществ и ограничений. Отмечено, что несмотря на развитие высокопроизводительных технологий, метод *RFLP* сохраняет актуальность как надёжный инструмент фундаментальных исследований и верификации данных. Работа демонстрирует историческую и практическую значимость метода *RFLP* в изучении генетических вариаций и биоразнообразия.

**Ключевые слова:** полиморфизм генов, *RFLP*, рестрикционные ферменты, ДНК, генетические вариации, ПЦР, секвенирование, микрочипы, популяционная генетика, биоразнообразие.

Полиморфизм генов представляет собой наличие двух или более вариантов аллелей одного и того же гена в популяции и является ключевой основой генетического разнообразия у человека и других организмов. Изучение полиморфизмов имеет фундаментальное значение в медицине, генетике, биотехнологии и эволюционной биологии, так как позволяет выявлять генетическую предрасположенность к заболеваниям, прогнозировать эффективность терапии, изучать популяционные различия и анализировать адаптивные механизмы организмов [2].

Метод *RFLP* (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) был разработан в начале 1980-х годов как первый молекулярный инструмент для анализа генетических вариаций на уровне ДНК. Основоположниками метода считаются Алек Джейфрис (Alec Jeffreys) и его коллеги, которые в 1984 году продемонстрировали

возможность использования различий в рестрикционных сайтах для идентификации индивидуальных генетических маркеров и построения генетических карт. РFLP стал революционным методом, позволившим впервые выявлять полиморфизмы в генах человека и животных, а также использовать их в судебной генетике и исследовании наследственных заболеваний. Развитие метода ПЦР связано с работами Кэри Малис и Кэла Бэрри (Kary Mullis, 1983), которые предложили способ амплификации конкретных фрагментов ДНК, что сделало возможным быстрое и точное генотипирование отдельных локусов. В конце 1990-х и начале 2000-х годов широкое распространение получили высокопроизводительные методы секвенирования (NGS), позволившие одновременно анализировать тысячи полиморфизмов и выявлять ранее неизвестные варианты. Гибридизационные методы и ДНК-чипы (microarrays) были разработаны в 1990-х годах и активно использовались в популяционных и ассоциативных исследованиях, обеспечивая возможность параллельного анализа тысяч SNP [4].

Методы ПЦР позволяют выявлять однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), микроинделльции и структурные вариации. Аллель-специфическая ПЦР (AS-PCR) и ПЦР в реальном времени отличаются высокой чувствительностью, быстрой проведения эксперимента и возможностью работы с минимальным количеством ДНК. Ограничениями являются необходимость знания последовательности локуса и трудности при анализе больших или многолокусных фрагментов ДНК.

Секвенирование ДНК, включая классическое (Sanger) и высокопроизводительное Next-Generation Sequencing, NGS позволяет выявлять любые изменения последовательности, включая SNP, вставки, делеции и инверсии. Эти методы обеспечивают высокую точность и возможность анализа множества локусов одновременно, включая редкие и ранее неизвестные варианты. Основные ограничения связаны с высокой стоимостью, сложностью обработки больших данных и необходимостью специализированного оборудования и программного обеспечения. Гибридизационные методы, такие как ДНК-чипы (microarrays), позволяют параллельно исследовать тысячи SNP, что широко используется в популяционных и геном-ассоциативных исследованиях (GWAS). Они удобны для анализа больших выборок и выявления ассоциаций между генетическими маркерами и фенотипами, однако ограничены фиксированным набором маркеров и имеют низкую чувствительность к редким вариантам [1,2].

Метод RFLP основан на различиях длины фрагментов ДНК после расщепления рестрикционными ферментами. Полиморфизмы, создающие или уничтожающие сайты узнавания ферментов, приводят к появлению фрагментов различной длины,

выявляемых методом электрофореза и гибридизации с меченым зондом. Этапы метода включают выделение ДНК, расщепление рестрикционными ферментами, разделение фрагментов методом электрофореза, гибридизацию с радиоактивными или флуоресцентными зондами и анализ длины фрагментов для определения полиморфизма. Преимущества РФЛП заключаются в высокой точности идентификации известных полиморфизмов, возможности анализа крупных фрагментов ДНК и надежности результатов. Основные ограничения трудоёмкость, необходимость маркировки и зависимость от известных сайтов рестрикции.

РФЛП сыграл ключевую роль в фундаментальной молекулярной генетике, позволив впервые идентифицировать генетические маркеры, построить карты генома человека и животных, изучить популяционное разнообразие и эволюционные процессы. Метод активно использовался в исследовании наследственных заболеваний, таких как муковисцидоз и серповидноклеточная анемия, в популяционных и сравнительных исследованиях различных видов, а также для анализа родословных и выявления генетических связей между индивидуумами или породами [2].

Метод РФЛП оказался незаменимым инструментом в изучении биоразнообразия [1,3]. Он позволяет анализировать генетическую структуру популяций растений и животных, выявлять уровни генетической изменчивости и оценивать распределение аллелей в естественных и управляемых экосистемах. РРФЛП активно применяется для оценки генетического разнообразия редких и охраняемых видов, выявления адаптивных полиморфизмов, влияющих на выживаемость и приспособленность к среде, анализа генетической структуры популяций, включая биогеографические различия, выявления миграционных и историко-эволюционных процессов, влияющих на распределение генетических вариаций, мониторинга популяций в программах сохранения биоразнообразия. Благодаря своей точности и возможности анализа крупных фрагментов ДНК, РРФЛП позволяет выявлять как нейтральные, так и функционально значимые полиморфизмы, что делает его ценным инструментом для фундаментальных исследований биоразнообразия и экологии.

Каждый метод исследования полиморфизмов имеет свои преимущества и ограничения. РРФЛП обеспечивает высокую точность для известных полиморфизмов и подходит для анализа крупных фрагментов ДНК, но ограничен по масштабируемости и скорости. ПЦР отличается быстрой, чувствительностью и удобством работы с малыми объемами ДНК, однако менее эффективна для многократного анализа. NGS-технологии обеспечивают максимальную

информативность, позволяя одновременно исследовать тысячи полиморфизмов, включая редкие и ранее неизвестные варианты, но требуют значительных ресурсов и опыта для интерпретации данных. Гибридизационные чиповые технологии удобны для популяционных и ассоциативных исследований, но ограничены фиксированным набором SNP [2].

Методы исследования полиморфизма генов охватывают широкий спектр технологий от классического РФЛП до современных высокопроизводительных подходов. Метод РФЛП исторически сыграл ключевую роль в развитии молекулярной генетики, заложив основы для выявления маркеров заболеваний, построения генетических карт, анализа родословных и изучения биоразнообразия. Сегодня РФЛП остаётся ценным инструментом для верификации данных, анализа консервативных регионов генома, фундаментальных и образовательных исследований. Выбор метода зависит от целей исследования, требуемой точности, масштаба анализа и доступного оборудования. Несмотря на развитие современных технологий, РФЛП сохраняет своё значение как надёжный, информативный и исторически фундаментальный метод изучения генетических вариаций и биоразнообразия [2,4].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Akhlaghi M., Razavi M., Hosseini A. Molecular differentiation of bovine sarcocysts // Parasitol. Res. - 2016. - Vol. 115, No. 7. - P. 2721-2728. - DOI: 10.1007/s00436-016-5020-7. - PMID: 27021183.
2. Bimal D. M., Theophilus R., Rapley R. PCR mutation detection protocols. Preface // Methods Mol. Biol. - 2011. - Vol. 688. - P. v. - DOI: 10.1007/978-1-60761-947-5.
3. Losi C. G., Ferrari S., Sossi E., Villa R., Ferrari M. An alternative method to isoenzyme profile for cell line identification and interspecies cross-contaminations: cytochrome b PCR-RFLP analysis // In Vitro Cell Dev. Biol. Anim. - 2008. - Vol. 44, No. 8-9. - P. 321-329. - DOI: 10.1007/s11626-008-9125-x. - PMID: 18594933.
4. Panchariya D. C., Dutta P., Ananya, Mishra A., Chawade A., Nayee N., Azam S., Gandham R. K., Majumdar S., Kushwaha S. K. Genetic marker: a genome mapping tool to decode genetic diversity of livestock animals // Front. Genet. - 2024. - Vol. 15. - Article 1463474. - DOI: 10.3389/fgene.2024.1463474. - PMID: 39483851.