

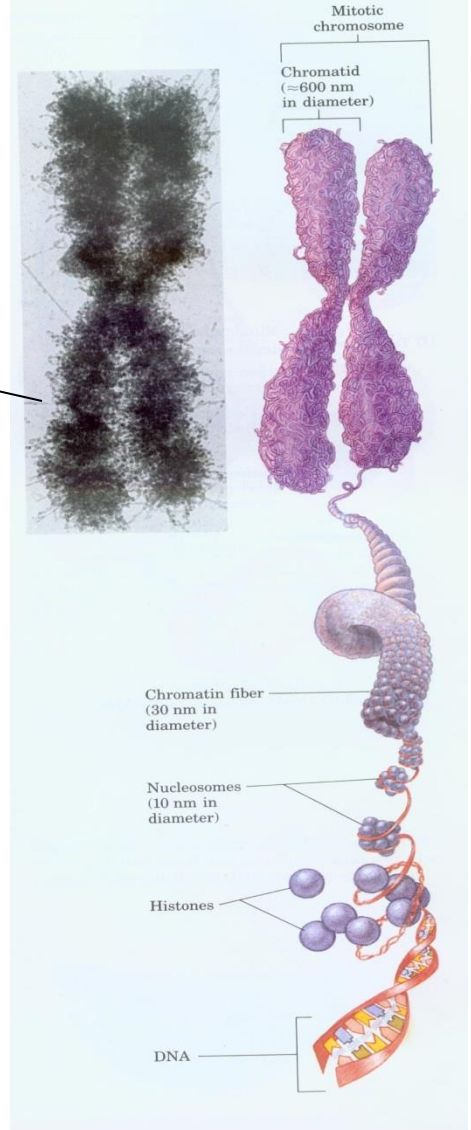
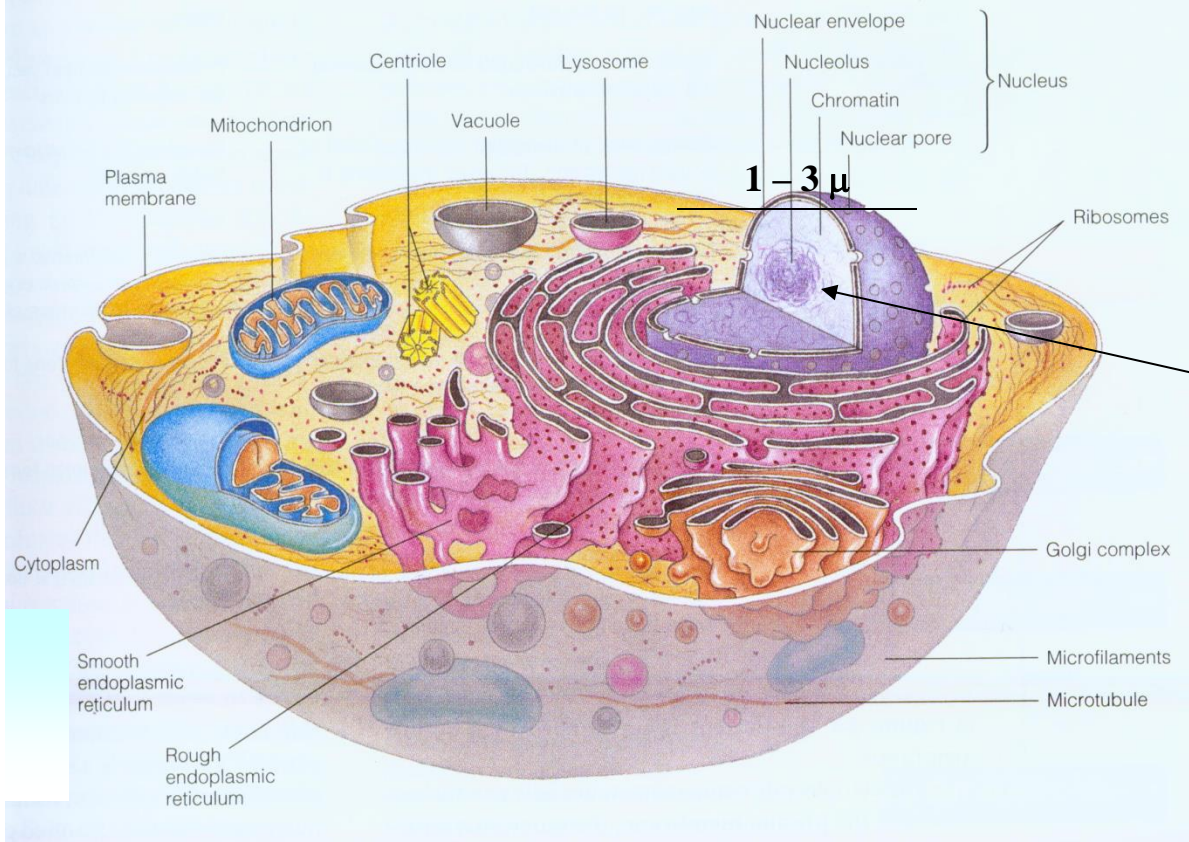
Bolezenski gen: od znanstvenih raziskav do kliničnih aplikacij

Radovan Komel

**Medicinski center za mol. biol., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana**

Tel.: +386 1 543 7662; Faks: +386 1 543 7641; e-naslov: radovan.komel@mf.uni-lj.si

**Ponovitev osnov: genom, bolezenski gen,
genetske bolezni, načini dedovanja**



10 – 30 μ
(5 – 100 μ)

Človeško telo: 10^{14} celic

Posamezna celica: 46 kromosomov – skupna dolžina 0,200 μ

Raztegnjena DNA najmanjšega kromosoma.: 30 mm

Raztegnjena DNA celice: 1,7 m

Vse telo: vsa DNA: 2×10^{13} km

Razdalja Zemlja-Sonce: $1,5 \times 10^8$ km

Obseg Zemlje: 4×10^4 km

PROJEKT ČLOVEŠKI GENOM

Pobuda: 1.1989 v ZDA US department of Energy (DOE)
National Institutes of Health (NIH)
National Science Foundation (NSF)
Howard Hughes Medical Institute (HHMI)

Sodelavci: preko 60 inštitucij v ZDA in po svetu, ki jih povezuje
Human Genome Organization (HUGO)

Trajanje projekta: 15-20 let (do l. 2005 - 2010)

Vrednost projekta: 3 - 5 milijard USD

Cilji projekta: - kartiranje človeškega genoma
- izdelava bank kloniranih prekrivajočih se velikih fragmentov DNA
- sekvenčna analiza človeškega genoma

Cilji v nadaljevanju,
po letu 2005 - 2010: funkcijska analiza človeškega genoma:

- opredelitev vloge posameznih genov oziroma njihovih proteinskih produktov;
- ugotavljanje mehanizmov uravnavanja izražanja genov;
- opredelitev vloge nekodirajočih delov genoma.

Projekt je že v samem začetku upošteval gospodarsko-družbeni pomen svojih raziskav in namensko sprožal etično-pravna vprašanja: za vsesplošno razpravo pred pojavom možnih tveganj in dilem...

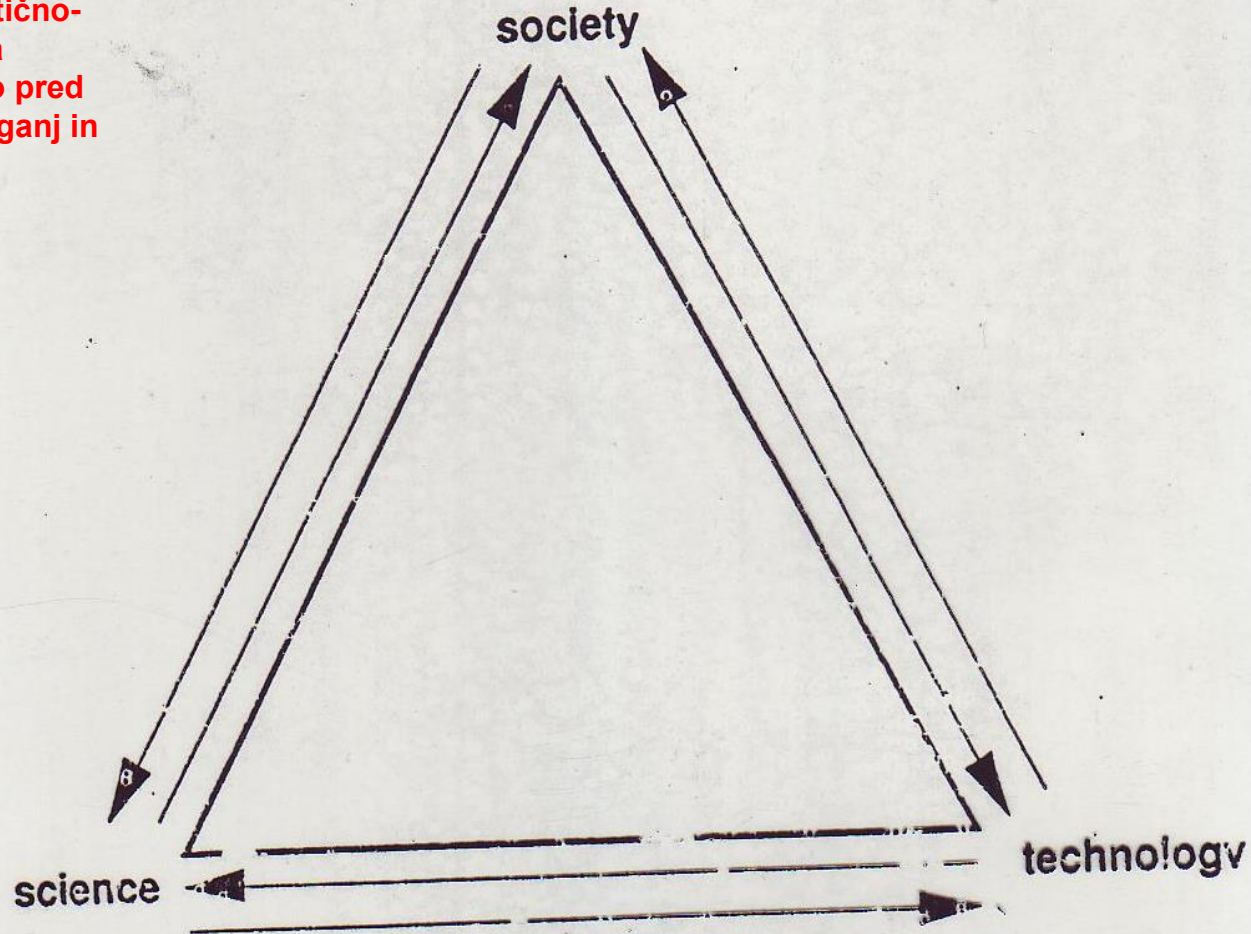
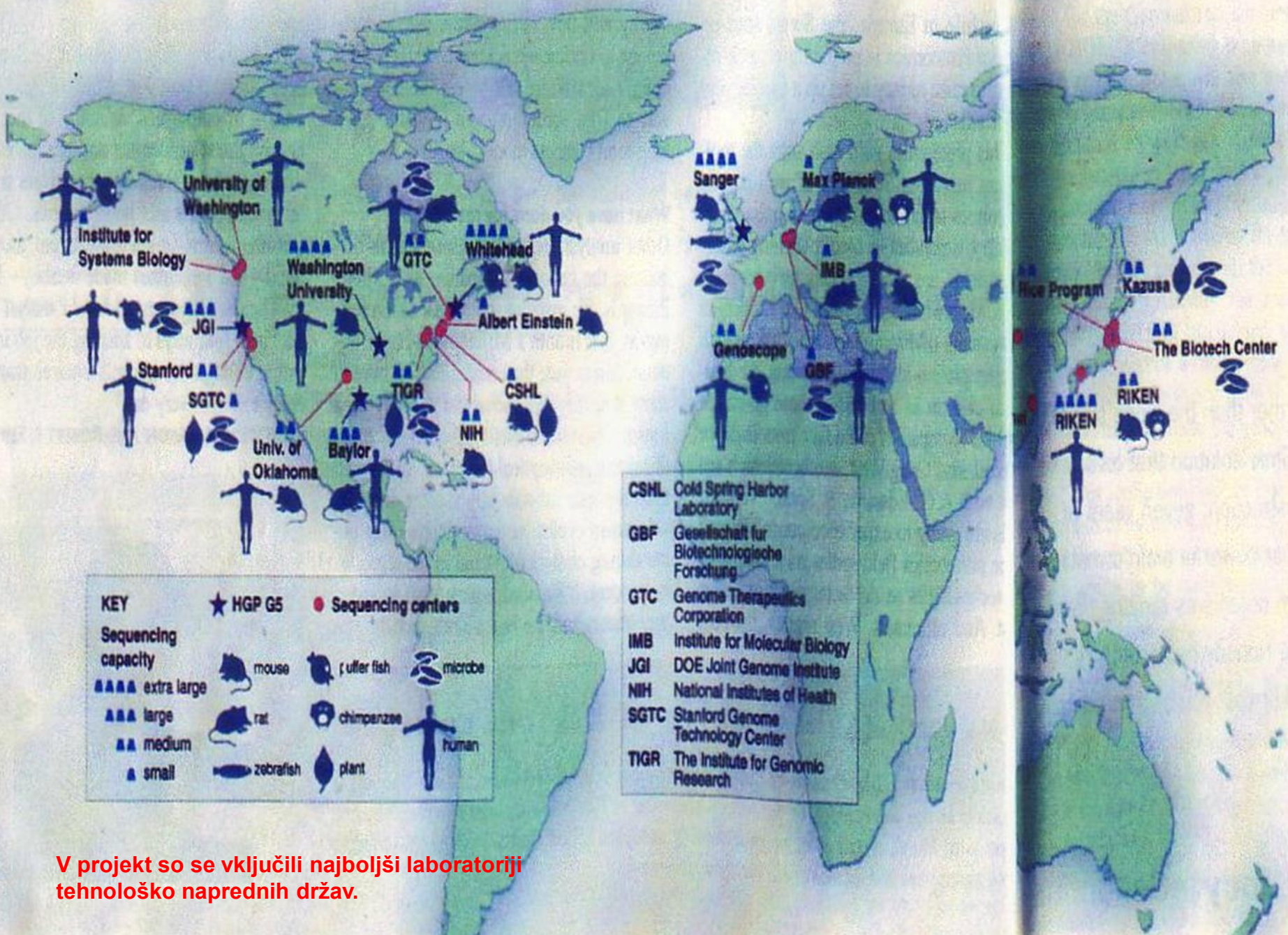
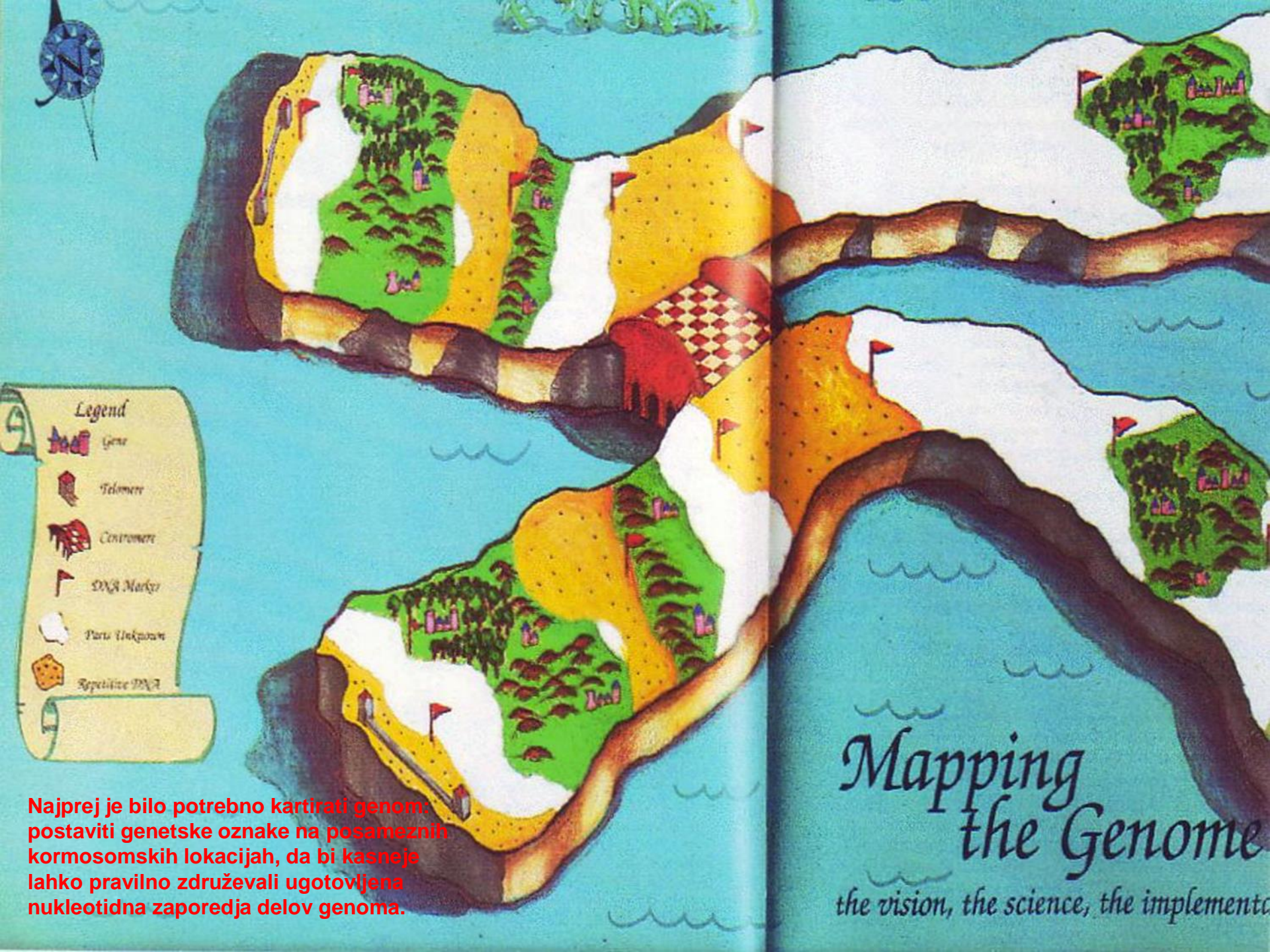


Figure A The interrelationships between science, technology, and society



V projekt so se vključili najboljši laboratoriji tehnološko naprednih držav.

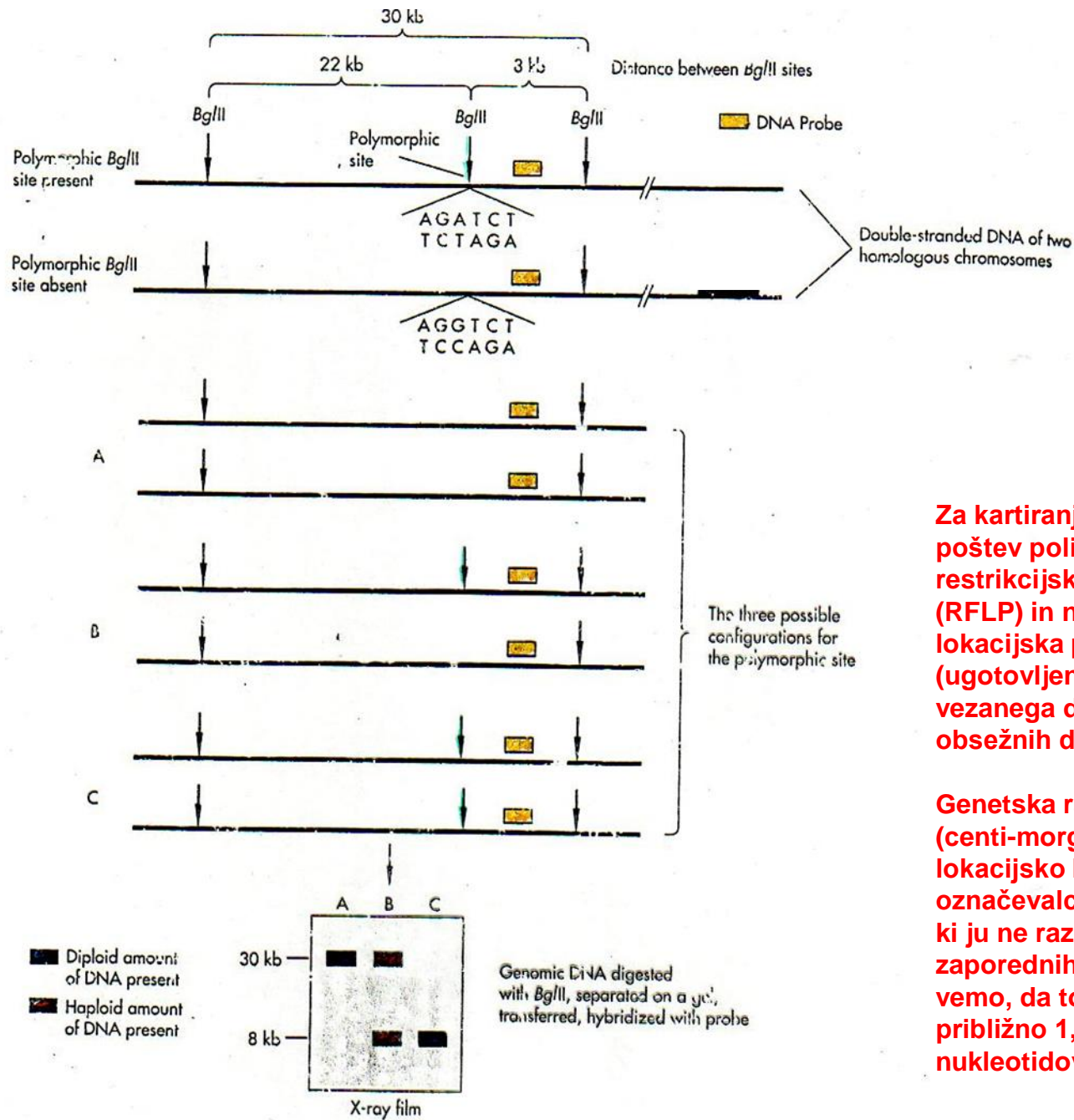


Legend

- Gene
- Telomere
- Centromere
- DNA Marker
- Paris Unknown
- Repetitive DNA

Najprej je bilo potrebno kartirati genom: postaviti genetske oznake na posameznih kromosomskih lokacijah, da bi kasneje lahko pravilno združevali ugotovljena nukleotidna zaporedja delov genoma.

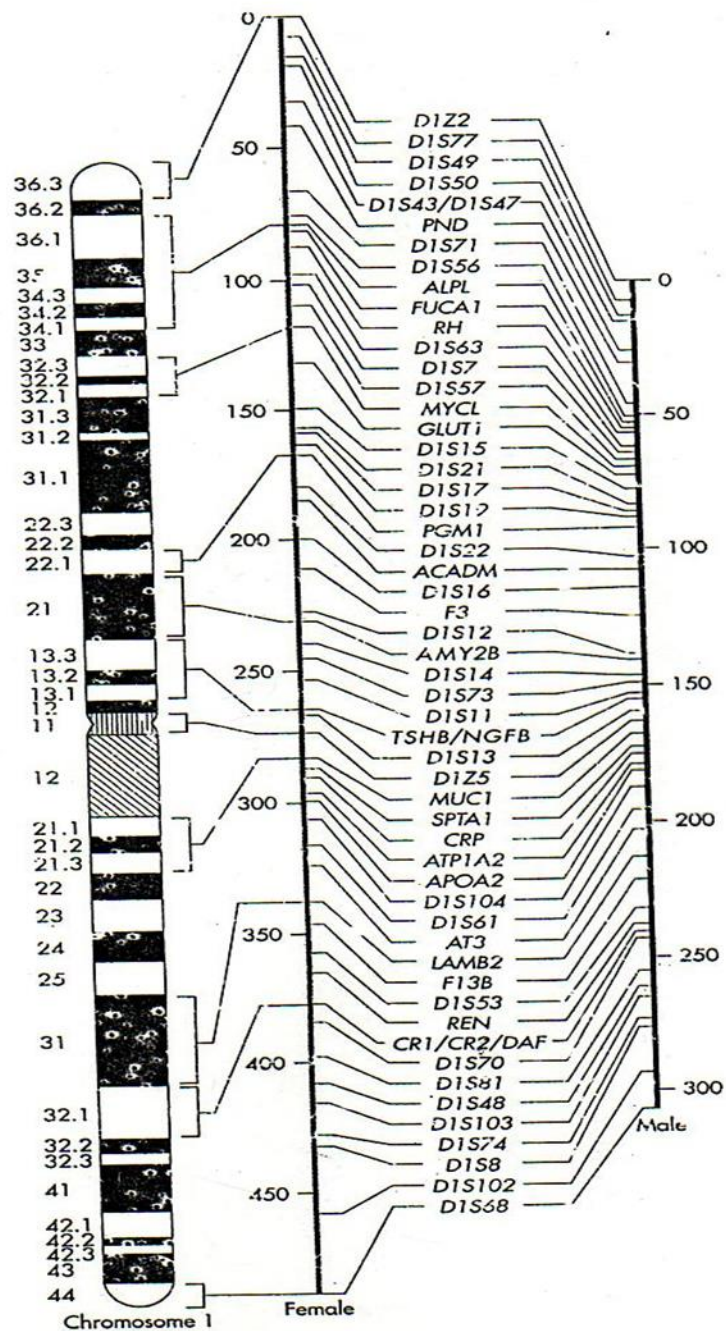
Mapping
the Genome
the vision, the science, the implementation

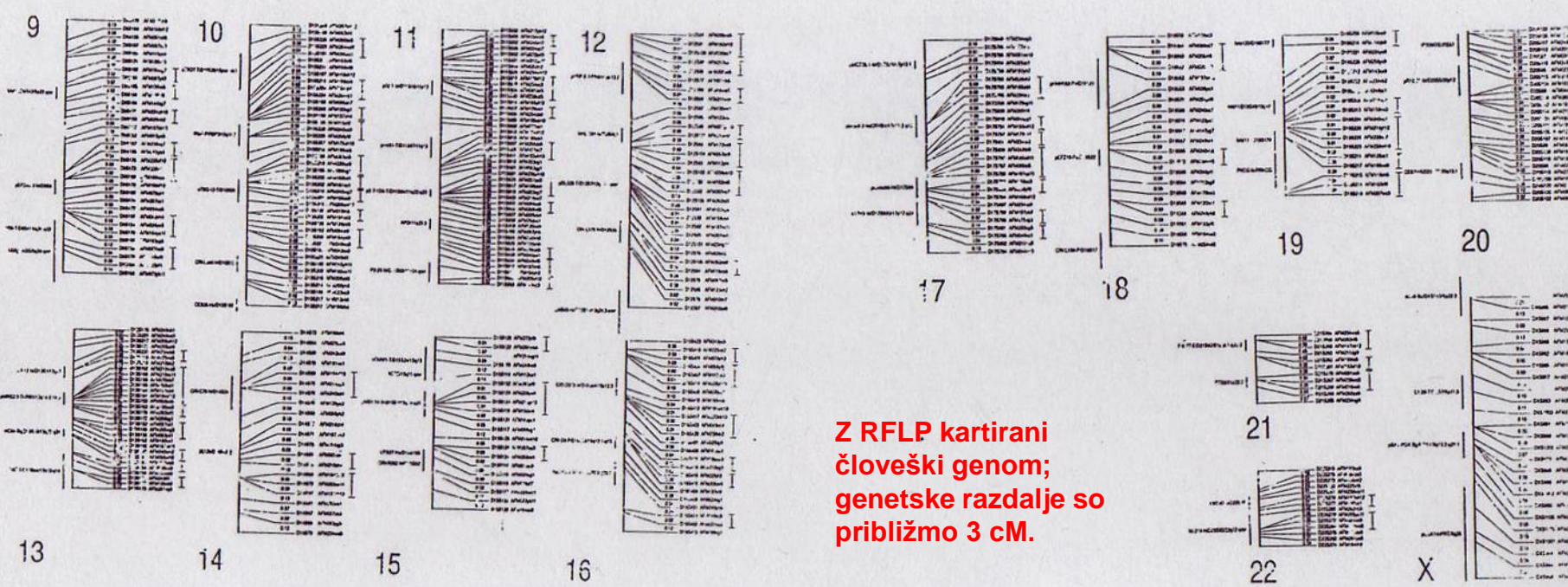
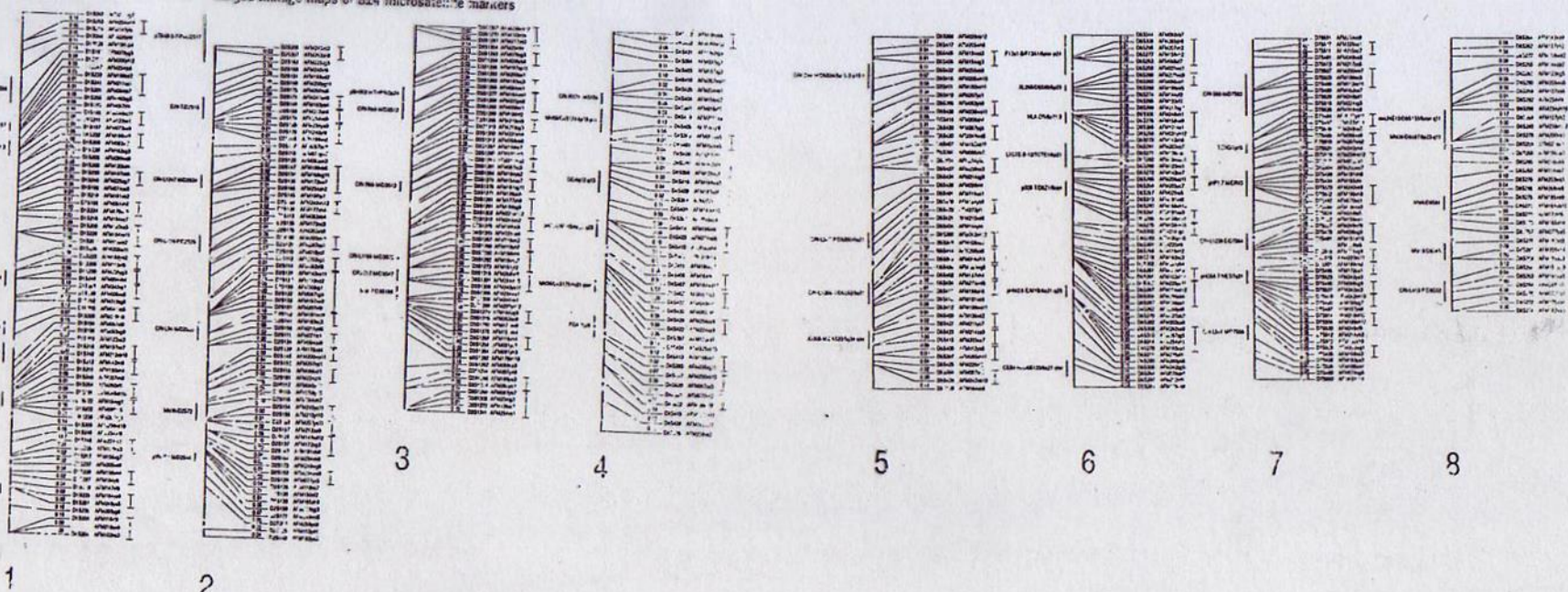


Za kartiranje so prišli v poštev polimorfizmi dolžin restrikcijskih fragmentov (RFLP) in njihova lokacijska povezanost (ugotovljena na osnovi vezanega dedovanja pri obsežnih družinah).

Genetska razdalja 1 cM (centi-morgan) pomeni lokacijsko bližino dveh označevalcev (npr. RFLP), ki ju ne razdvoji 100 zaporednih mejoz. Danes vemo, da to pomeni približno 1,5-2 miliona nukleotidov.

Človeški
kromosom 21,
kartiran z RFLP-
označevalci v
medsebojni
razdalji 7 cM.





**Z RFLP kartirani
človeški genom;
genetske razdalje so
približno 3 cM.**

Pri iskanju bolezenskih genov je bilo najprej potrebno poiskati njihove kromosome in kromosomske lokacije. V poštev je prišlo več pristopov, odvisno od znanja o iskanem genu oz. njegovem proteinu:

- ak. sekvenciranje poznane proteina in izdelava DNA-sonde za preiskavo cDNA knjižnice;
- preiskava kariotipa;
- somatski celični hibridi;
- reverzna genetika: genetska vezanost (vezano dedovanje) z genomskimi označevalci (RFPL-ji).

THE HUMAN GENOME PROJECT

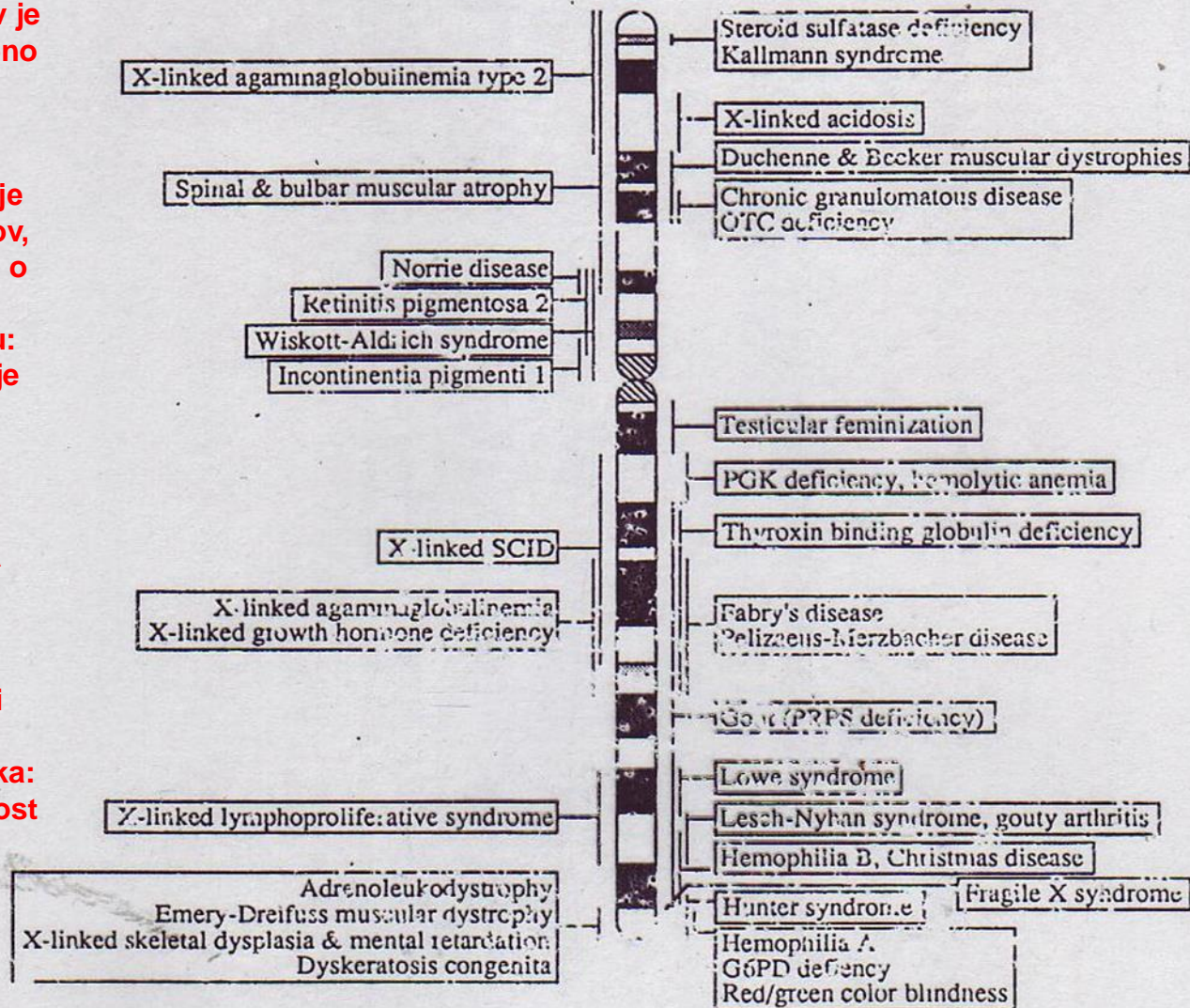
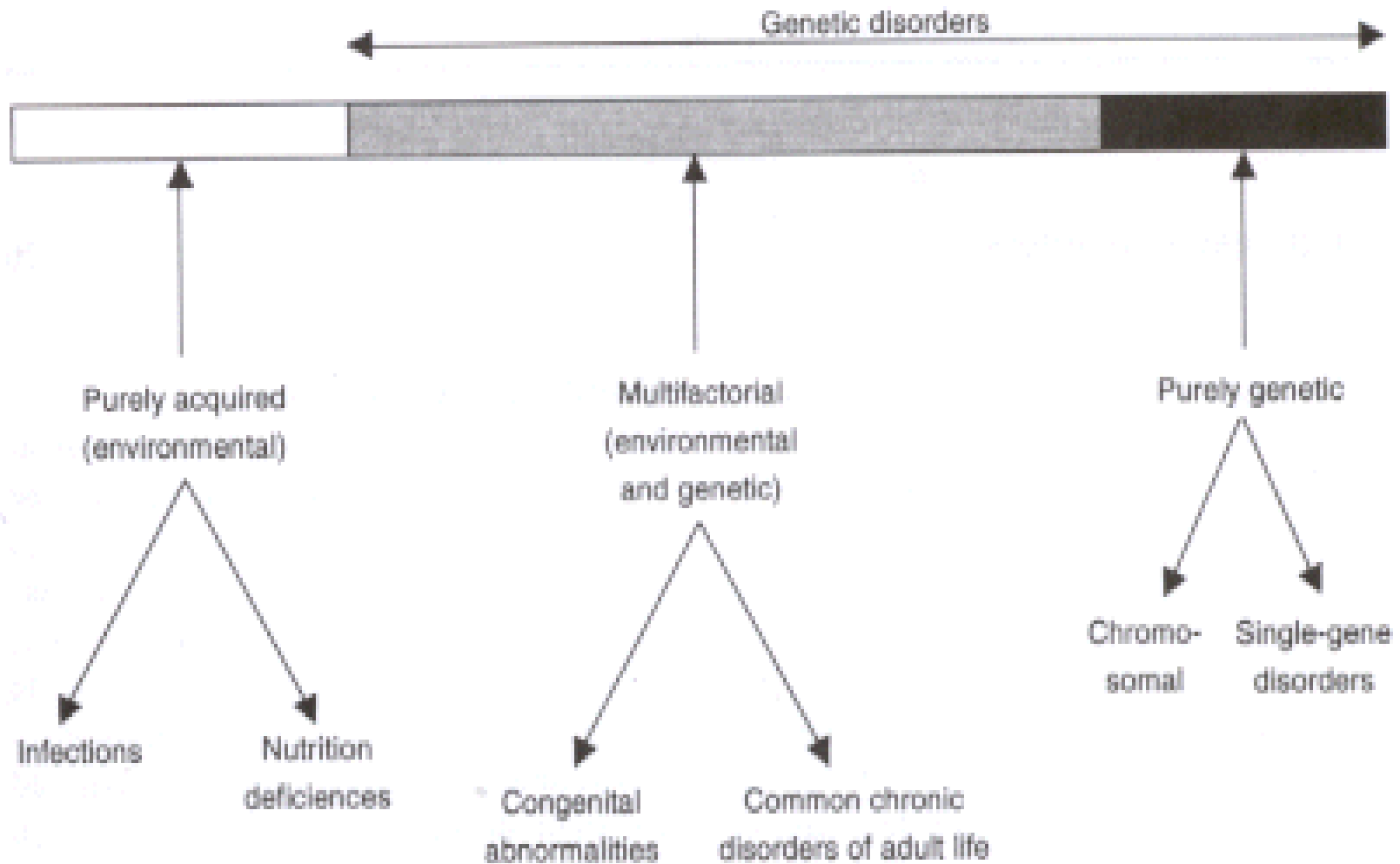
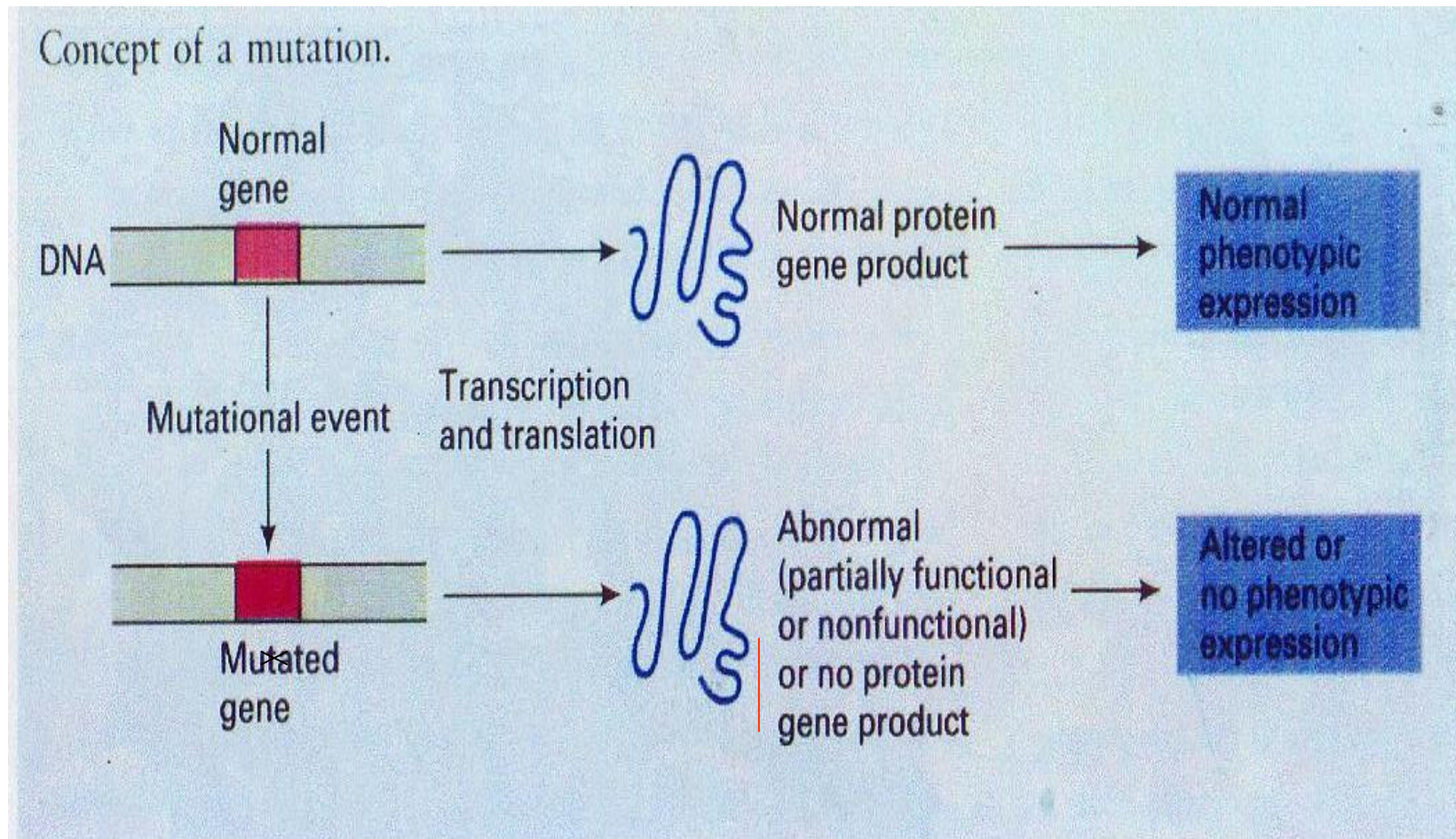


Fig. 1. A banded X chromosome is shown. To the right are indicated the map locations of disease genes which have been cloned to date. To the left are disease loci whose chromosomal location is known, but the gene remains uncloned. G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase; OTC, ornithine transcarbamylase; PGK, phosphoglycerate kinase; PRPS, phosphoribosylpyrophosphate synthetase; SCID, severe combined immunodeficiency.

Spectrum of diseases affecting humans



Koncept „bolezenskega gena“



Možne posledice genske okvare/nepравilnosti:

- odsotnost proteina
- premalo proteina
- preveč proteina
- preveč aktiven protein
- premalo aktiven protein
- neaktiven protein
- škodljiv protein

More common disorders

Disorder

Mutation

Chromosome

22q11.2 deletion syndrome

D

22q

Angelman syndrome

DCP

15

Canavan disease

17p

Coeliac disease

Charcot–Marie–Tooth disease

Color blindness

P

X

Cri du chat

D

5

Cystic fibrosis

P

7q

Down syndrome

C

21

Duchenne muscular dystrophy

D

Xp

Haemochromatosis

P

6

Haemophilia

P

X

Klinefelter's syndrome

C

X

Neurofibromatosis 1

7q/22q/?

Phenylketonuria

P

12q

Polycystic kidney disease

P

16 (PKD1) or 4 (PKD2)

Prader–Willi syndrome

DC

15

Sickle-cell disease

P

11p

Tay–Sachs disease

P

15

Turner syndrome

C

X

Genetsko pogojene bolezni so posledica raznovrstnih napak na katerem koli kromosomu.

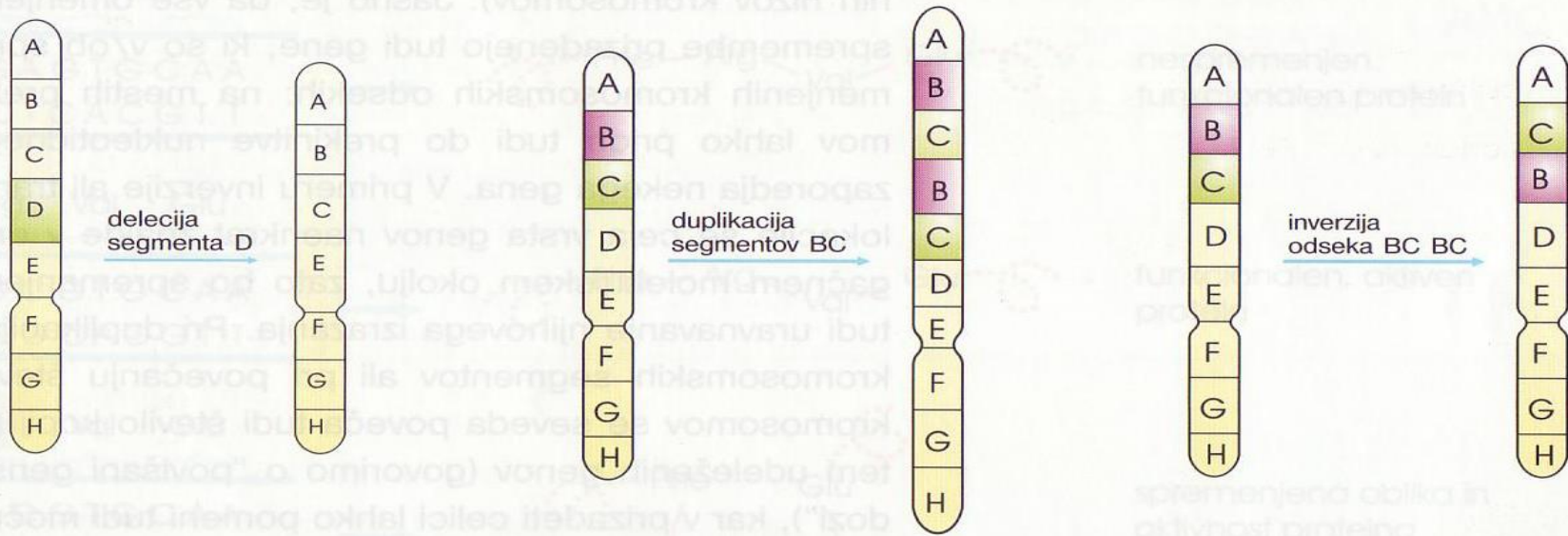
P - Point mutation, or any insertion/deletion inside one gene.
 D - Deletion of a gene or genes.
 C - Whole chromosome extra, missing, or both.
 T - Trinucleotide repeat disorders: gene is extended in length.

Genetic diseases

Genetic diseases are a large group of disorders resulting from major or minor alterations (mutations) in the genetic component of cells i.e. DNA located in the nucleus or the mitochondria.

These diseases can be grouped into:

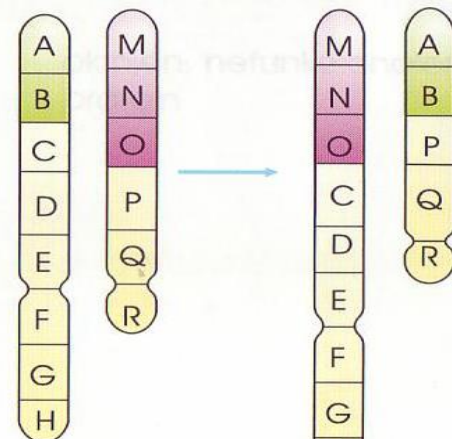
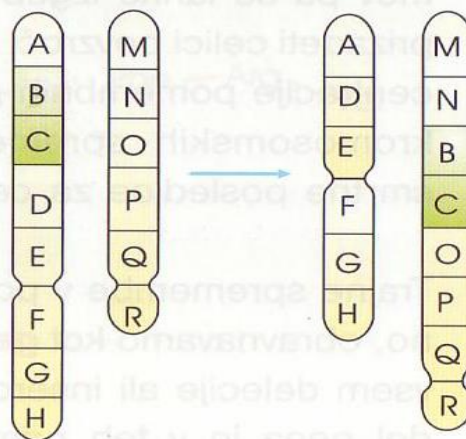
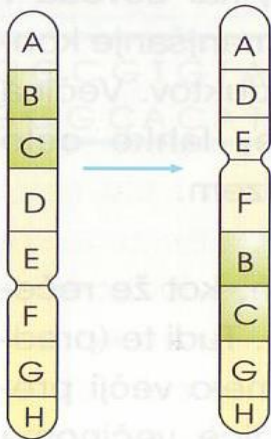
- chromosomal disorders**
- single-gene disorders**
- multifactorial disorders**
- mitochondrial disorders**



premestitev odseka BC z enega mesta na drugo v istem kromosomu

premestitev odseka BC v drugi kromosom (nerecipročna translokacija)

zamenjava odsekov med dvema kromosomoma (recipročna translokacija)



A

A

A

B

A

B

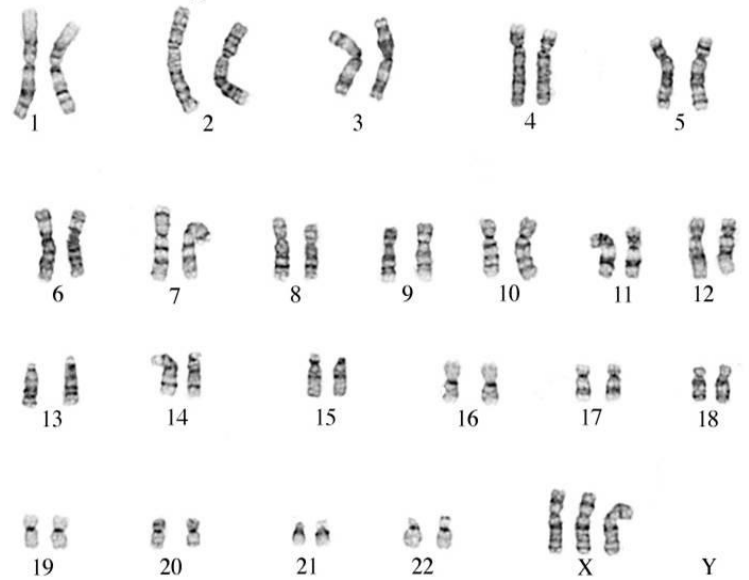
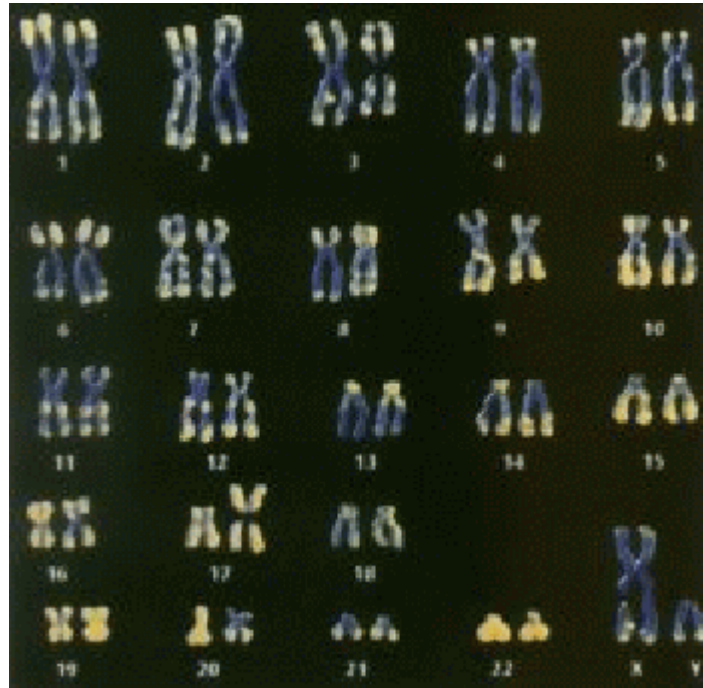
A

B

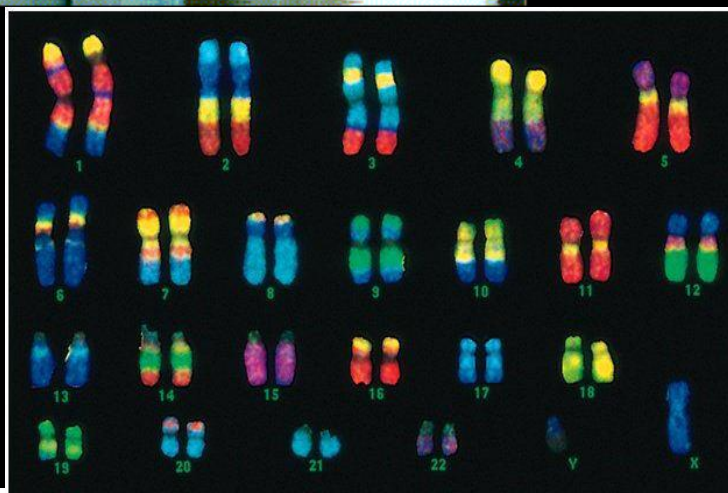
A

B

Kromosomske spremembe postavijo cele nize genov v drugačna okolja in razmere za izražanje. Na prelomih lahko pride do uničenja kakšnega gena, na združitvenih točkah pa do nastanka nenavadnega gena.

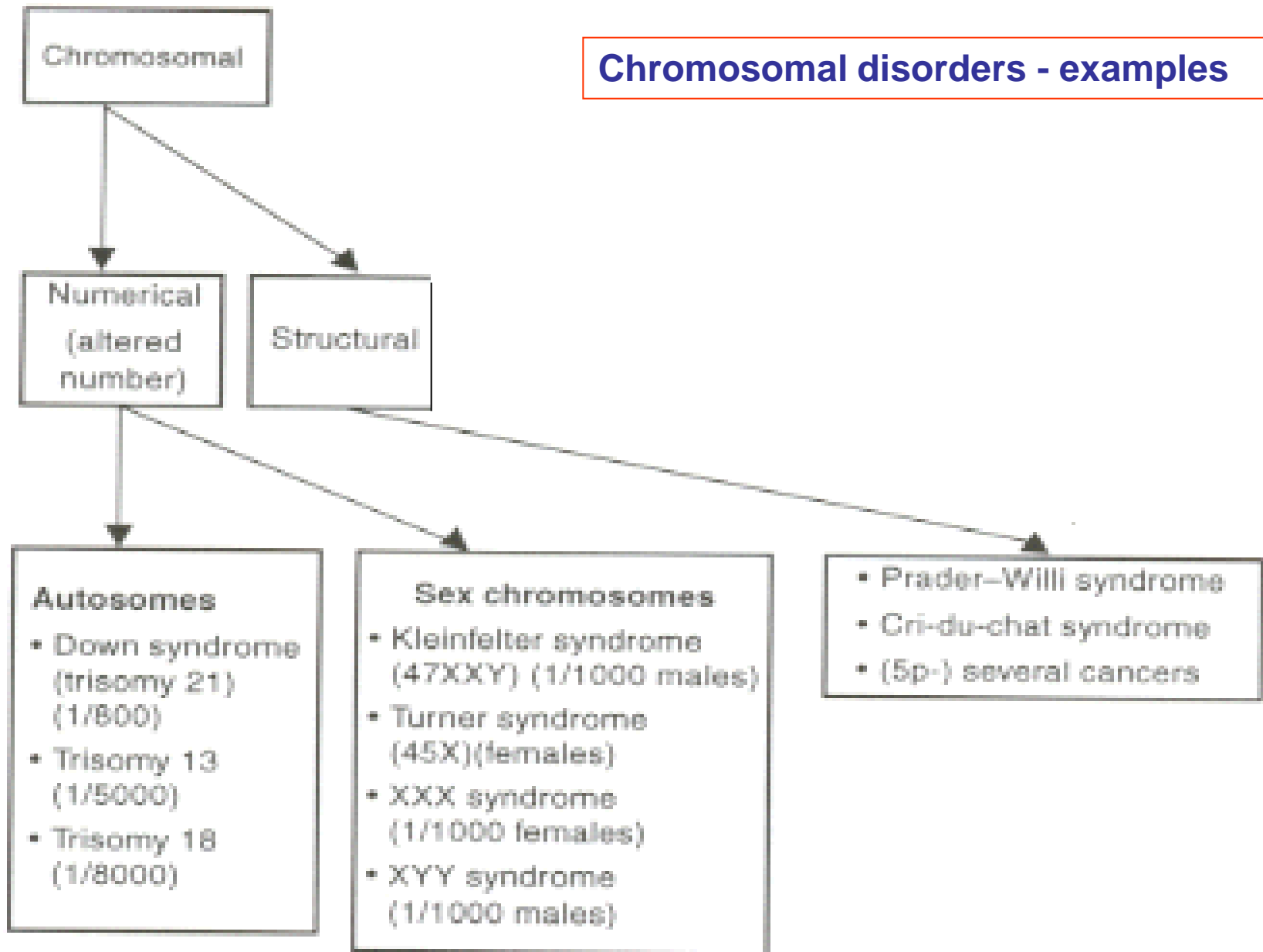


Kariogram: trisomija kromosoma X



FISH – označevanje kromosomov in njihovih specifičnih delov s fluorokromi..

Chromosomal disorders - examples



Single genetic disorders

A single gene disorder is the result of a single mutated gene.

There are estimated to be over 4,000 human diseases caused by single gene defects.

Disorder Prevalence (approximate)

Autosomal dominant

Familial hypercholesterolemia	1 in 500
Polycystic kidney disease	1 in 1,250
Neurofibromatosis Type I	1 in 2,500
Hereditary spherocytosis	1 in 5,000
Marfan syndrome	1 in 4,000
Huntington's disease	1 in 15,000

Autosomal recessive

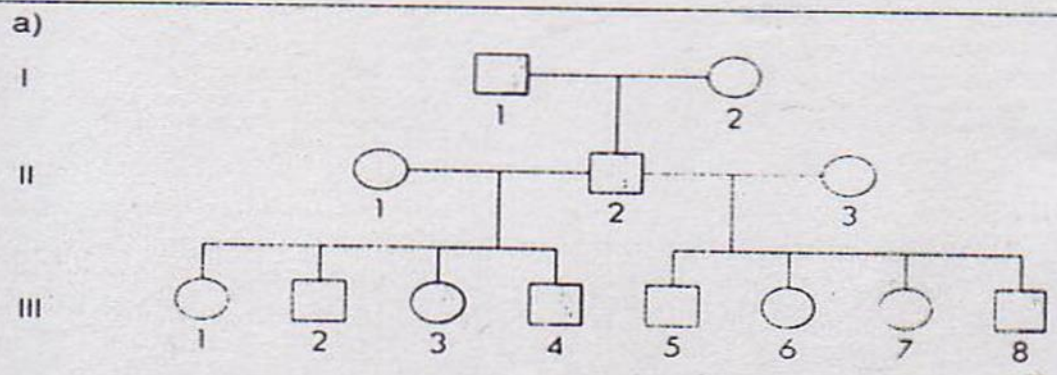
Sickle cell anemia	1 in 625 (African)
Cystic fibrosis	1 in 2,000 (Caucasians)
Lysosomal Acid Lipase (LAL) Deficiency	1 in 40,000
Tay-Sachs disease	1 in 3,000 (American Jews)
Phenylketonuria	1 in 12,000
Mucopolysaccharidoses	1 in 25,000
Glycogen storage diseases	1 in 50,000
Galactosemia	1 in 57,000

X-linked

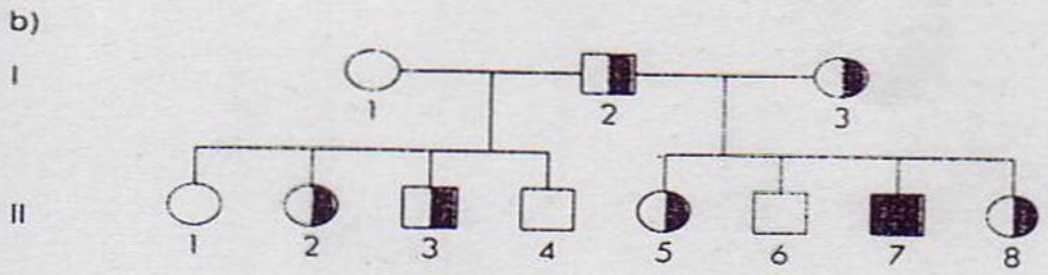
Duchenne muscular dystrophy	1 in 7,000
Hemophilia	1 in 10,000

Values are for liveborn infants.

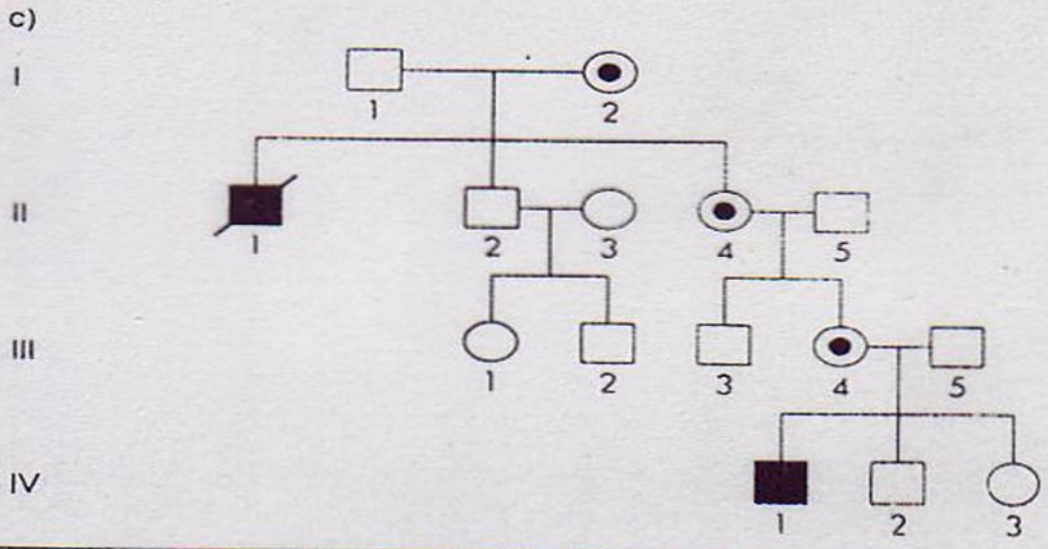
(a): Družinsko drevo pri avtosomno dominantni dedni bolezni. Sin II/2 očeta, heterozigotnega bolnika I/1, ima otroke z dvema genotipsko zdravima ženskama (II/1 in II/3). Prikazana je verjetnost prenosa bolezni na potomce, ki je v obeh primerih 50-odstotna.



(b): Družinsko drevo pri avtosomno recesivni dedni bolezni. S kvadratkami so označeni moški, s krogci pa ženski družinski člani. S polzapolnjenimi simboli so označeni heterozigotni prenašalci, s polnimi simboli pa homozigotni bolniki. Prikazani sta obe možnosti (I): poroka heterozigotnega prenašalca 2 z genotipsko normalno žensko 1 oziroma s prenašalko 3.



(c): Družinsko drevo pri X-vezani bolezni. Verjetnost, da bo otrok od heterozigotne matere podedoval mutiran X-alel, je 50-odstotna. Na sliki je prikazano, kako lahko bolezen "preskoči" celo generacijo (III) in se pojavi šele v naslednji (IV/1). Gre za hudo obliko bolezni, saj je bolni sin iz druge generacije (II/1) umrl, še preden je lahko imel svojo družino.



Vzorci dedovanja pri enostavnih (enogenskih) boleznih.

Single gene disorders - examples

Autosomal

Sex-linked

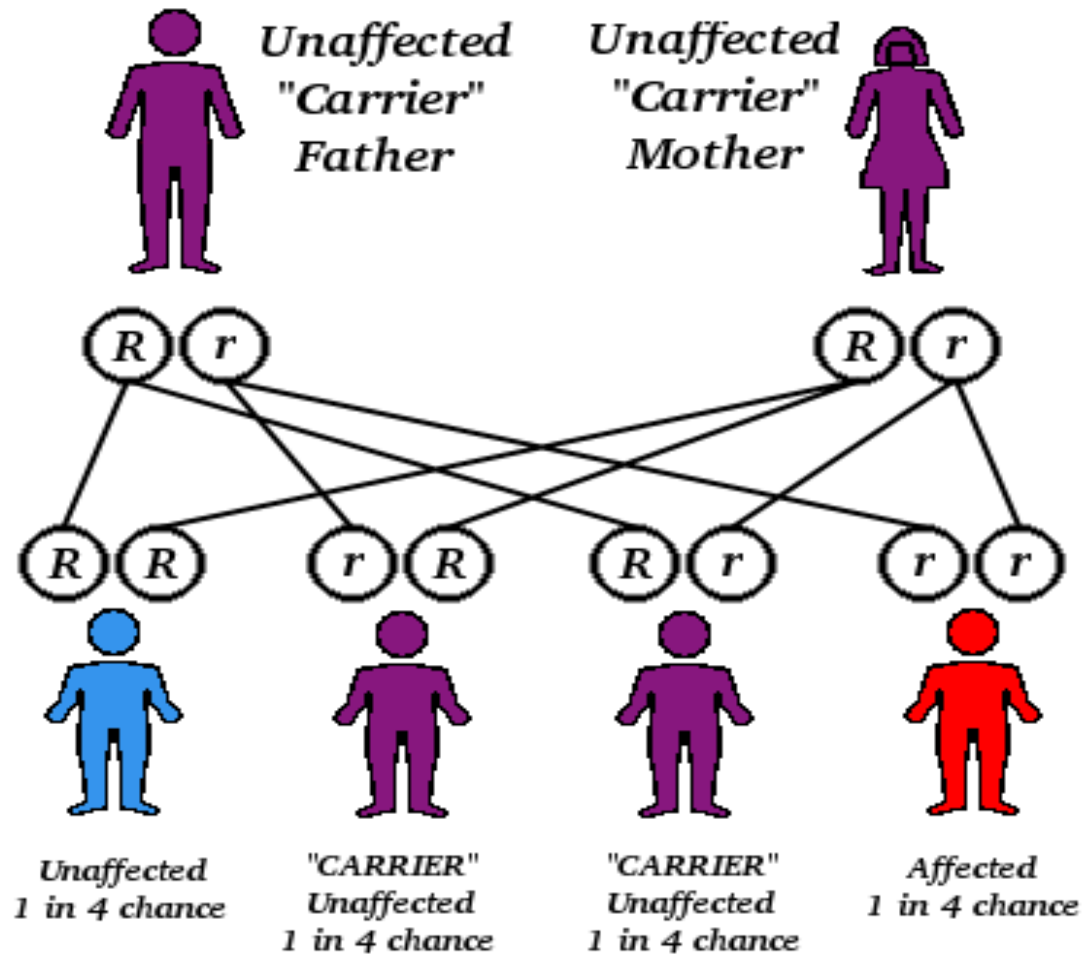
Recessive

- Sickle-cell haemoglobin (Rare-1/400)
- α -thalassaemia (Rare-1/3)
- β -thalassaemia (Rare-1/4)
- α_1 -antitrypsin deficiency (1/3000-1/120 000)
- Adenosine deaminase deficiency (Rare)
- Cystic fibrosis (1/2000 Caucasians)
- Phenylketonuria (1/5000-1/200 000)

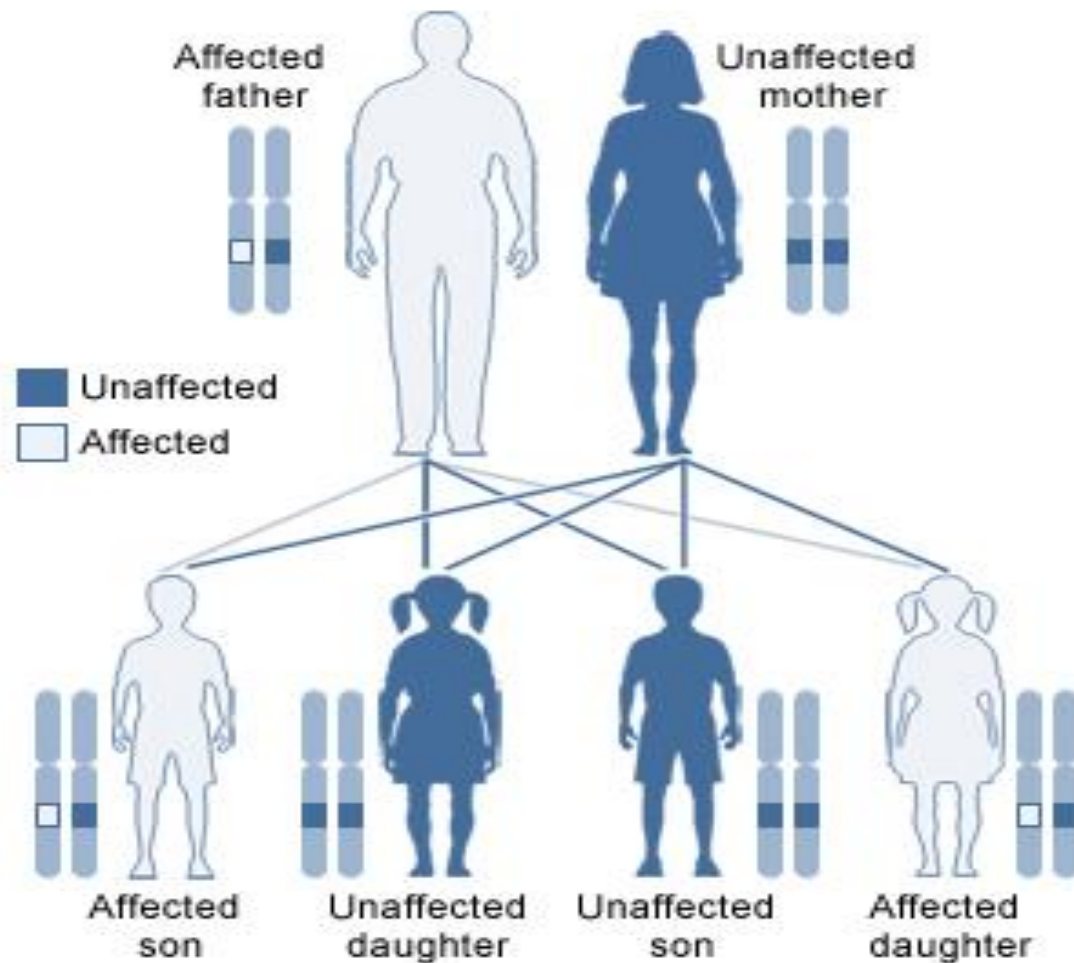
Dominant

- Familial hypercholesterolaemia (1/500 heterozygous)
- Huntington disease (4-8/100 000)
- Myotonic dystrophy (1/1000-1/10 000)
- Neurofibromatosis (1/3000-1/5000)
- Osteogenesis imperfecta (1/15000)

Autosomal recessive

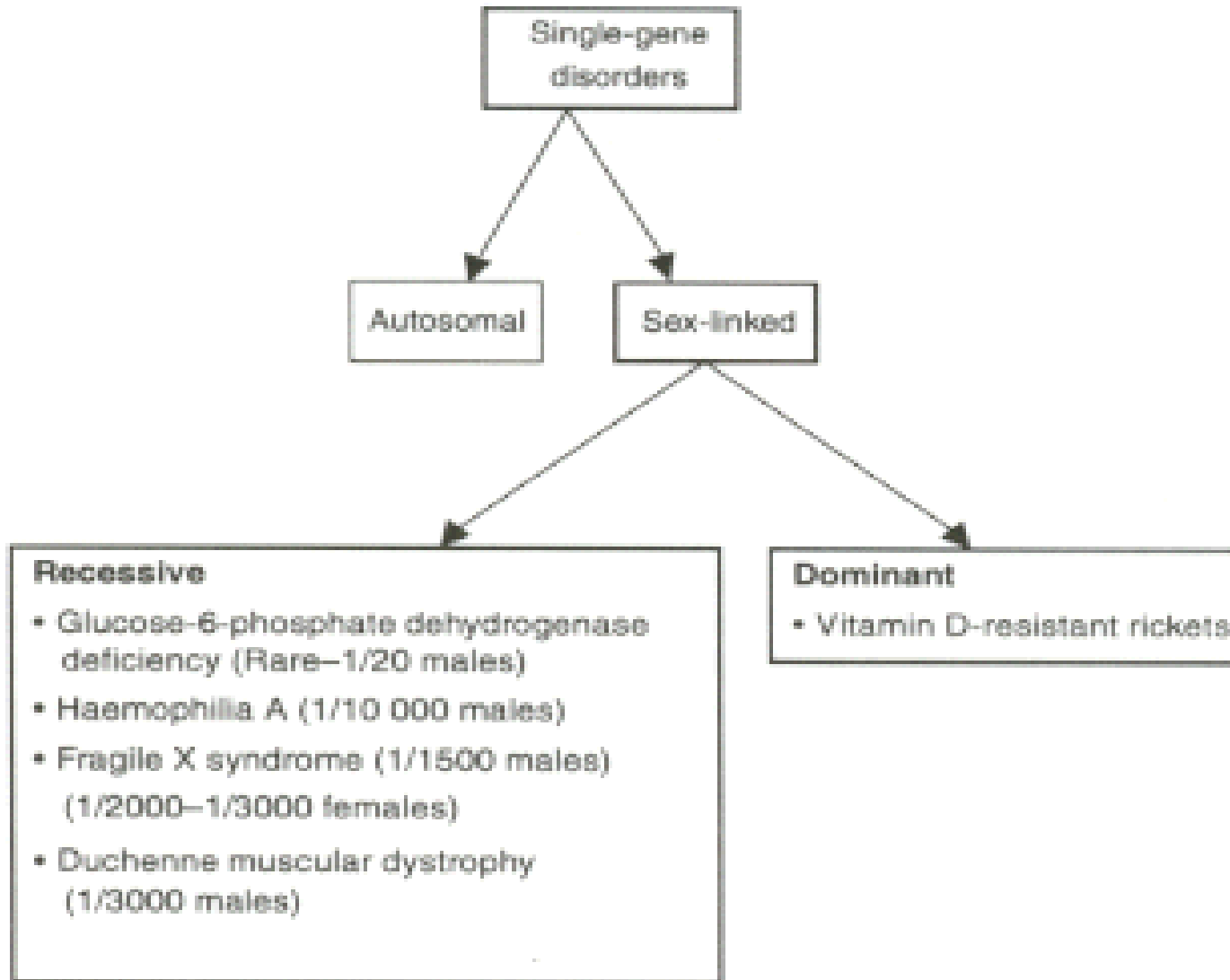


Autosomal dominant

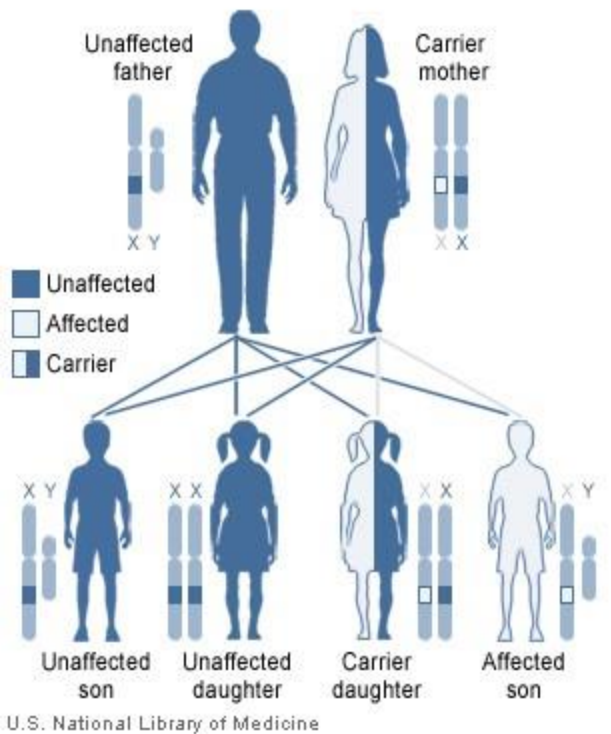


U.S. National Library of Medicine

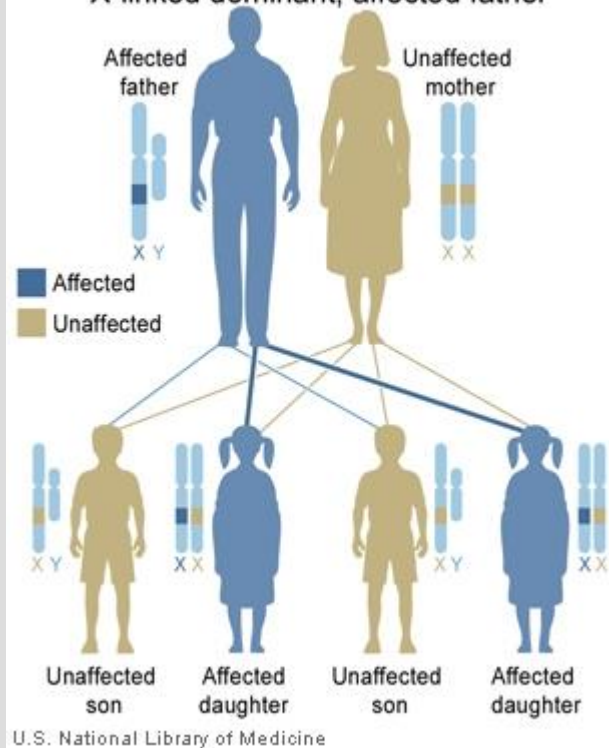
Sex-linked disorders - examples



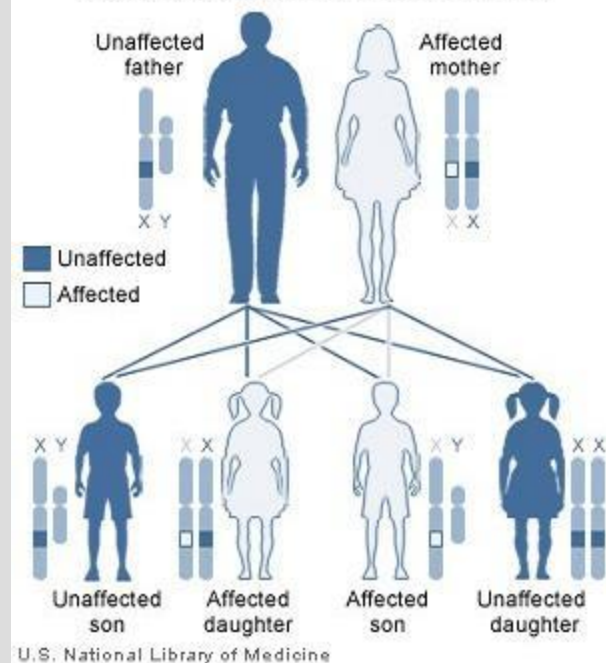
X-linked recessive, carrier mother



X-linked dominant, affected father



X-linked dominant, affected mother



Chromosomal

Single-gene
disorders

Mitochondrial

**Mitochondrial genetic disorders -
some examples**

- Lebers hereditary optic neuropathy
- Kearns–Sayre
- Myoclonus epilepsy with ragged red fibres

Multifactorial and polygenic (complex) disorders

They are likely associated with the effects of multiple genes in combination with lifestyle and environmental factors.

Although complex disorders often cluster in families, they do not have a clear-cut pattern of inheritance.

This makes it difficult to determine a person's risk of inheriting or passing on these disorders.

Complex disorders are also difficult to study and treat because the specific factors that cause most of these disorders have not yet been identified.

asthma

cancers

cleft palate

heart disease

inflammatory bowel disease

mood disorder

obesity

refractive error

infertility

autoimmune diseases (e.g. multiple sclerosis)

ciliopathies

diabetes

hypertension

mental retardation

Multifactorial genetic disorders – examples

```
graph TD; A[Multifactorial genetic disorders – examples] --> B[Congenital malformation]; A --> C[Adult-onset diseases];
```

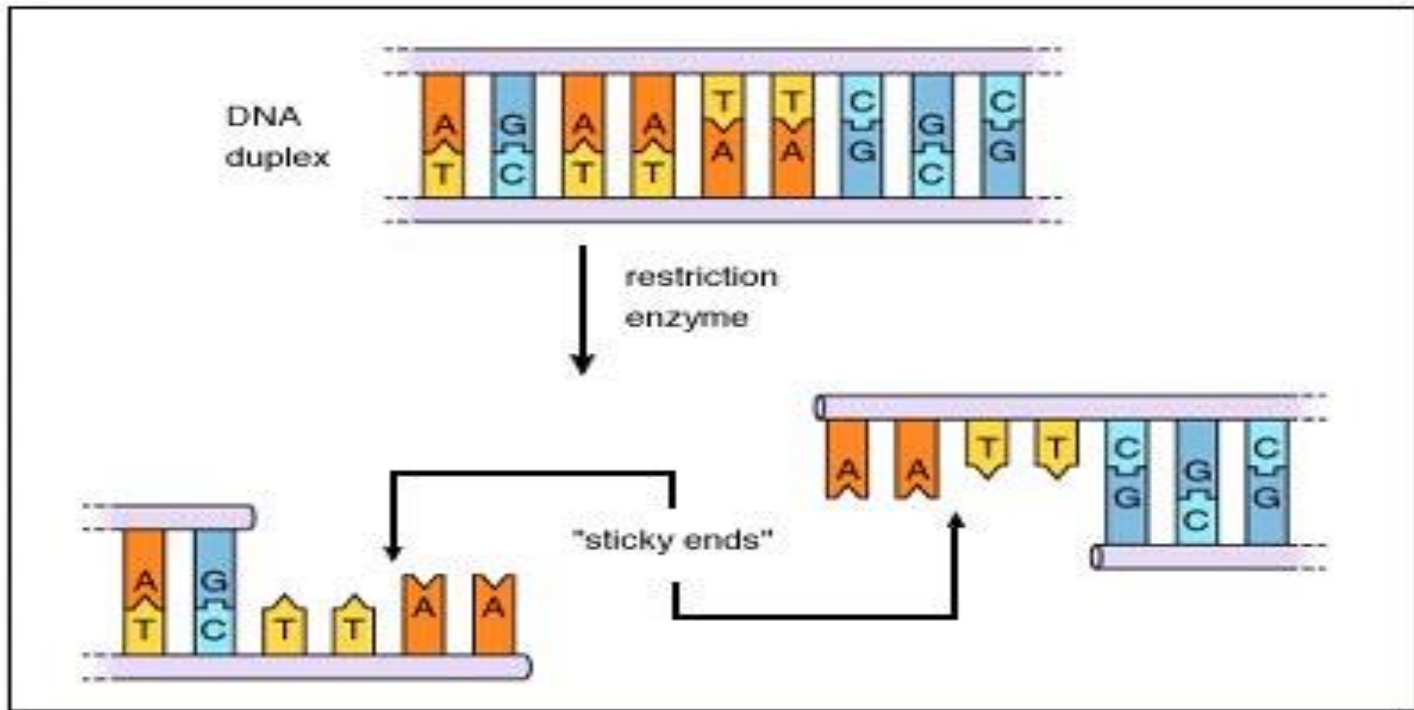
Congenital malformation

- Cleft lip/palate
- Congenital dislocation of the hip
- Congenital heart defect
- Neural tube defect
- Pyloric stenosis

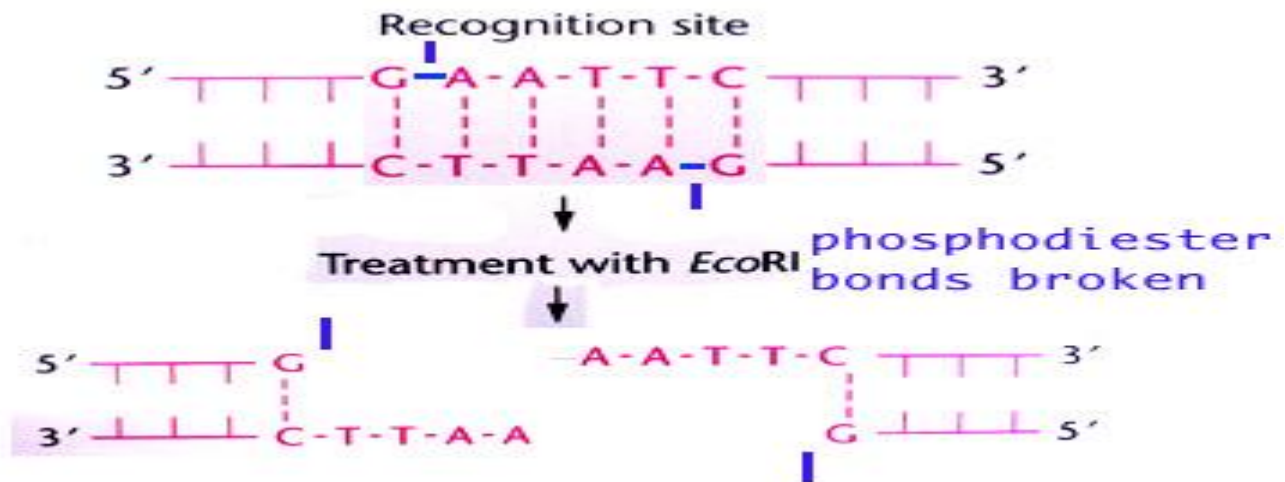
Adult-onset diseases

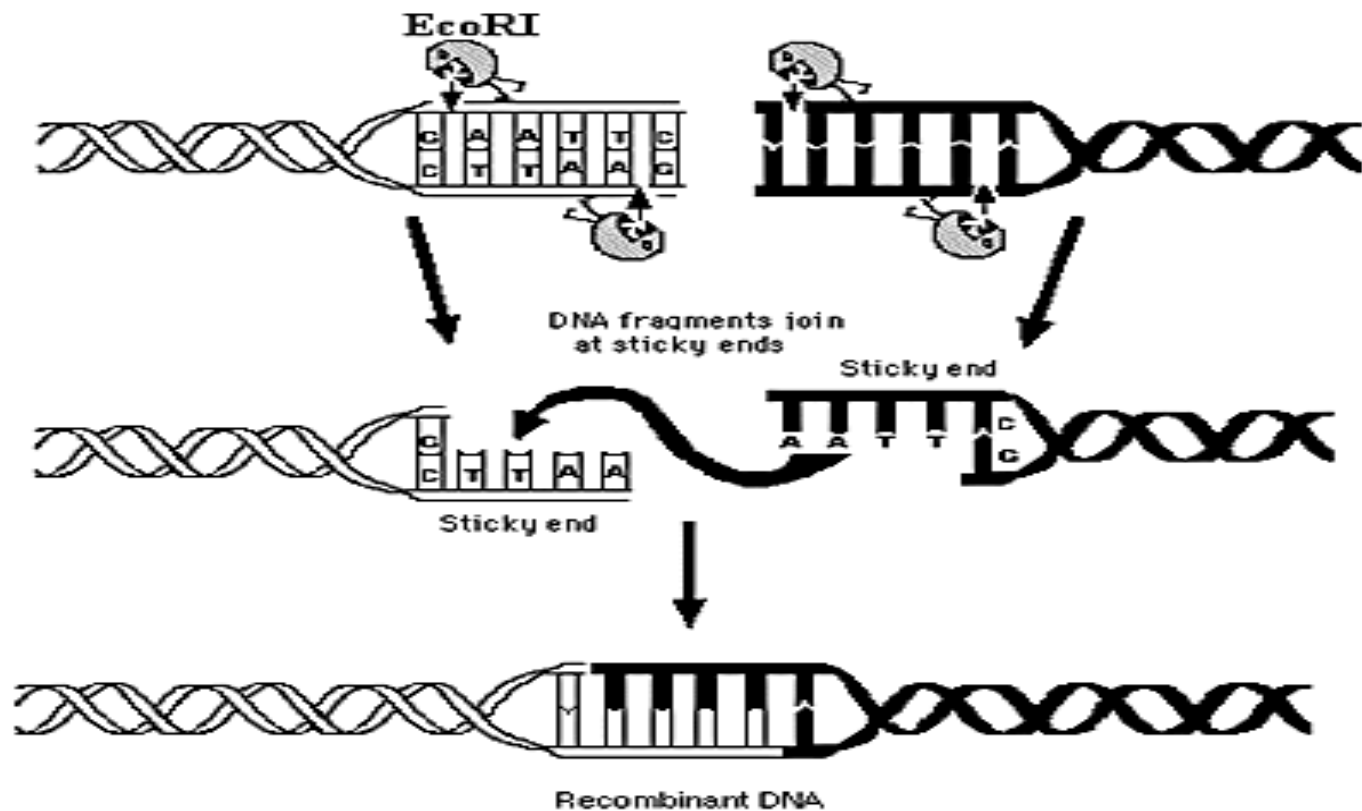
- Diabetes mellitus
- Hypertension
- Obesity
- Epilepsy
- Glaucoma
- Ischaemic heart disease
- Manic depression
- Schizophrenia

**Osnovne tehnike genetske preiskave:
ponovitev osnov**



Razcep DNA z
restrikcijskimi
encimi –
fragmentiranje
DNA.

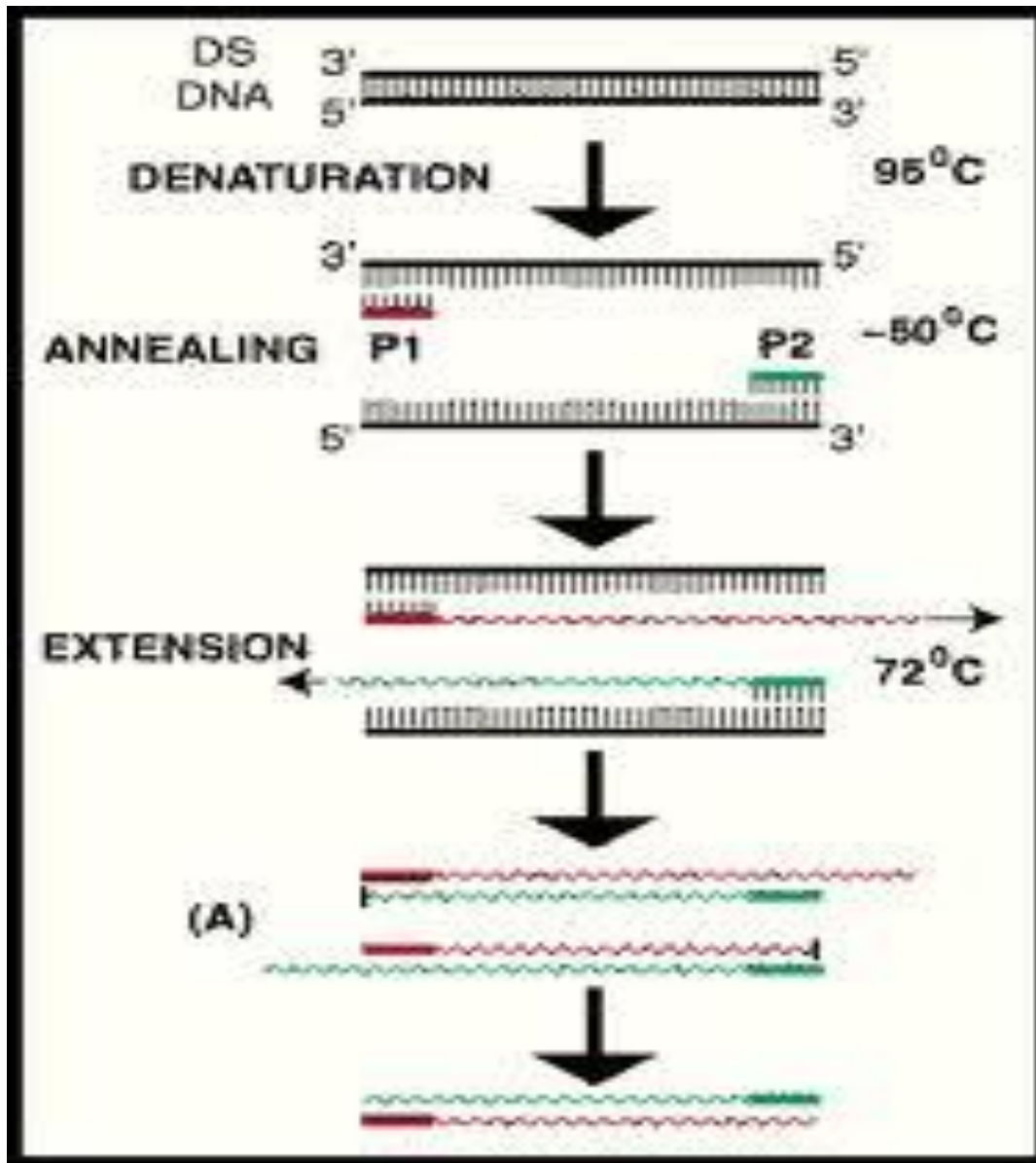




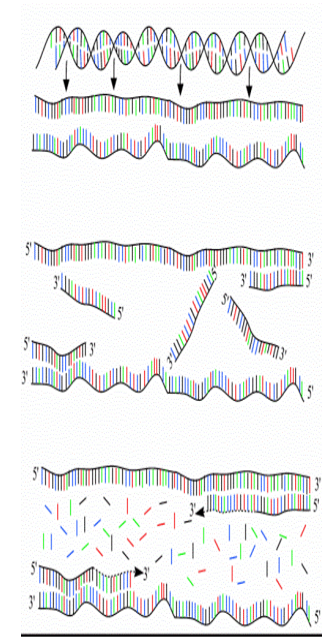
<http://www.accessexcellence.org/AB/GG/restriction.html>

Restriction Enzyme Action of EcoRI

Združevanje fragmentov DNA iz različnih lokacij ali različnega porekla – rekombiniranje DNA.

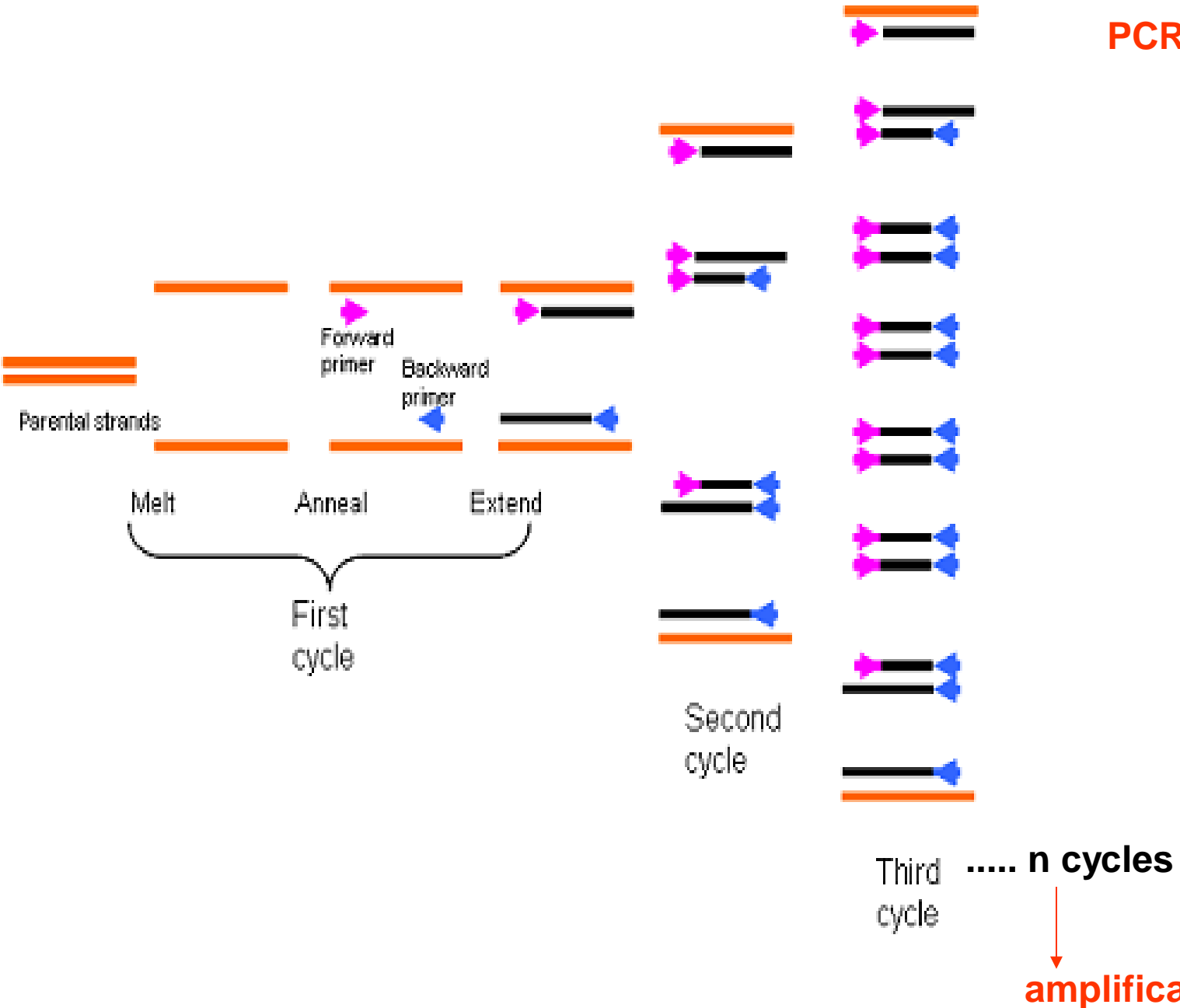


Polymerase Chain Reaction, PCR

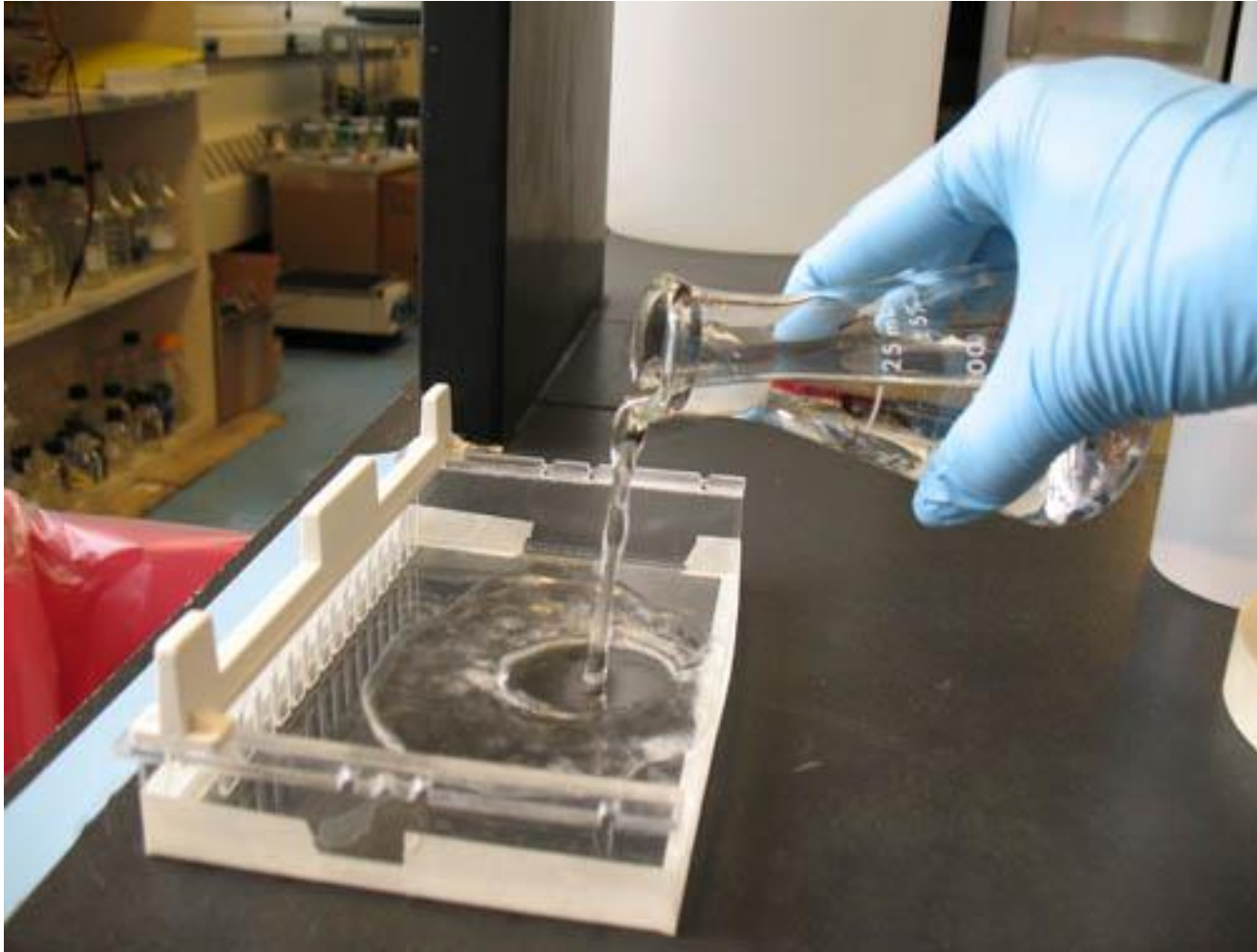


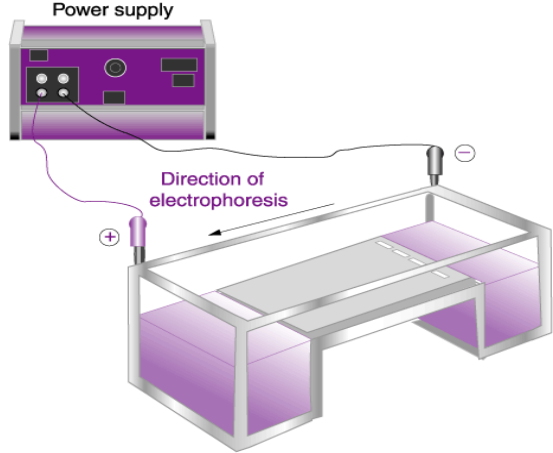
Ustvarjanje specifičnih fragmentov DNA z verižno reakcijo s polimerazo (PCR).

PCR



Preparation of an electrophoretic gel

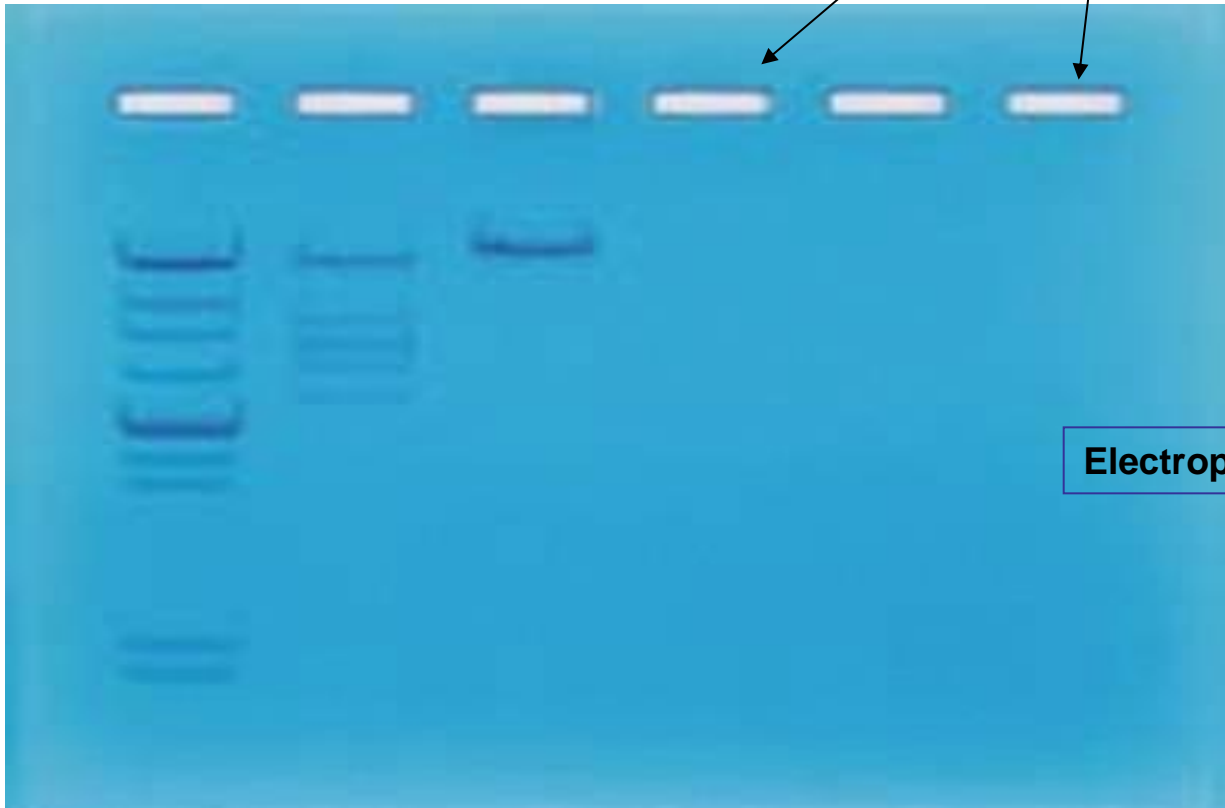




-



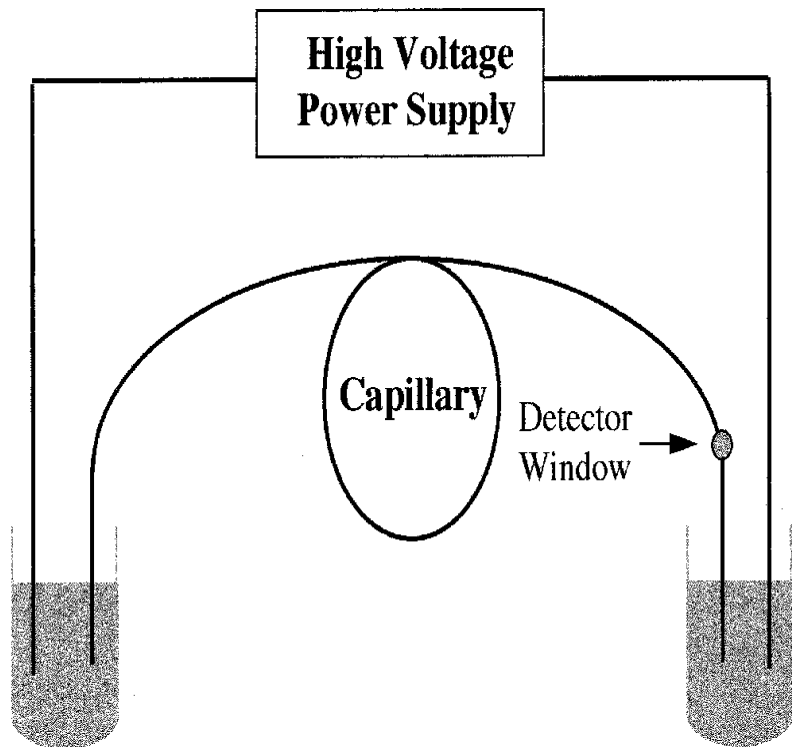
+



“pockets”

Electrophoretic gel

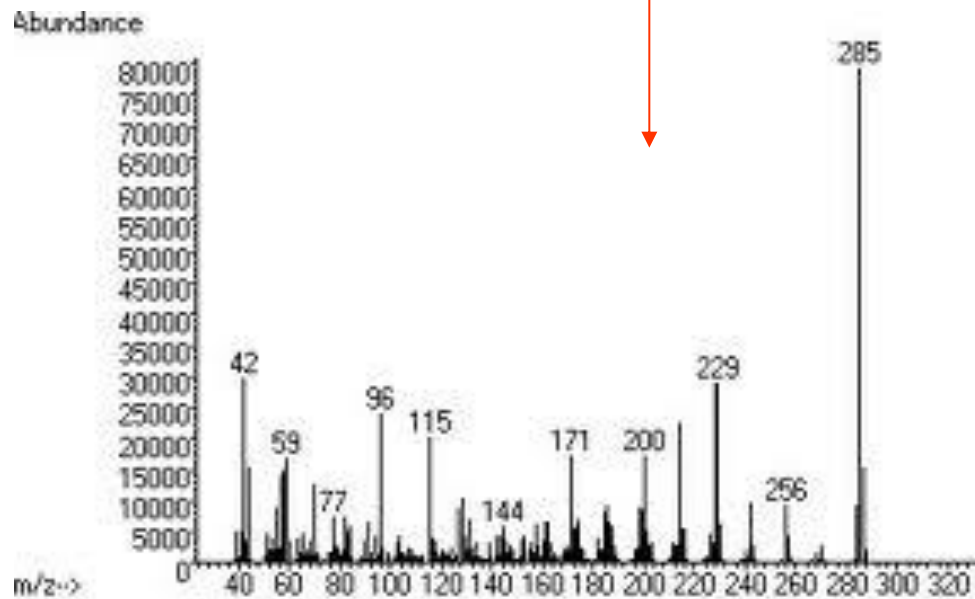
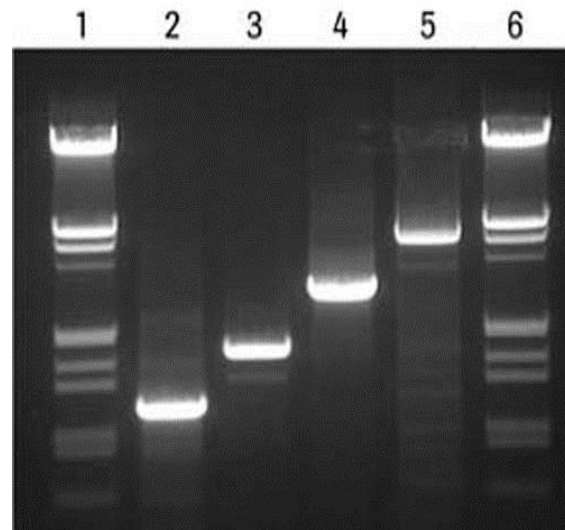
Separation of DNA fragments by gel electrophoresis

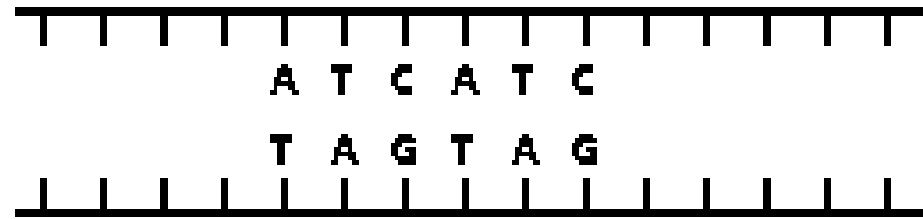
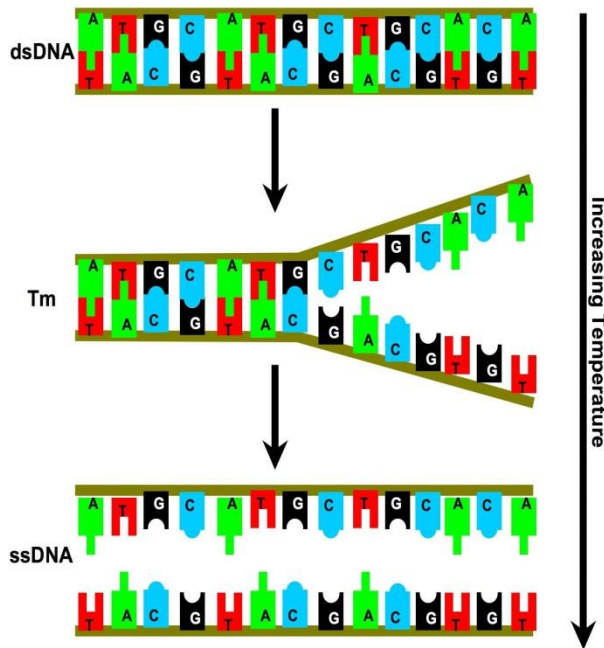


Capillary electrophoresis

Ločljivost: 1 bp

Primerjava rezultata (elektroferogramov) klasične agarozne elektroforeze in kapilarne elektroforeze.





Probes



This probe will not bind, having no similarity to the complementary strand.



This probe will not bind as it is not perfectly complementary to the target sequence.



This probe will bind to the target sequence. It is complementary to the genomic target and is identical to the sequence of the complementary strand.

DNA hybridization
and labeling
the probe

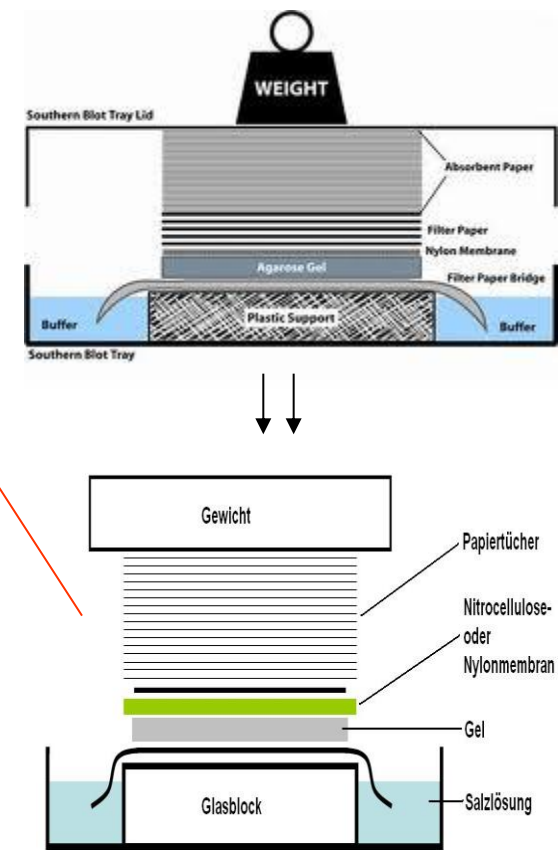
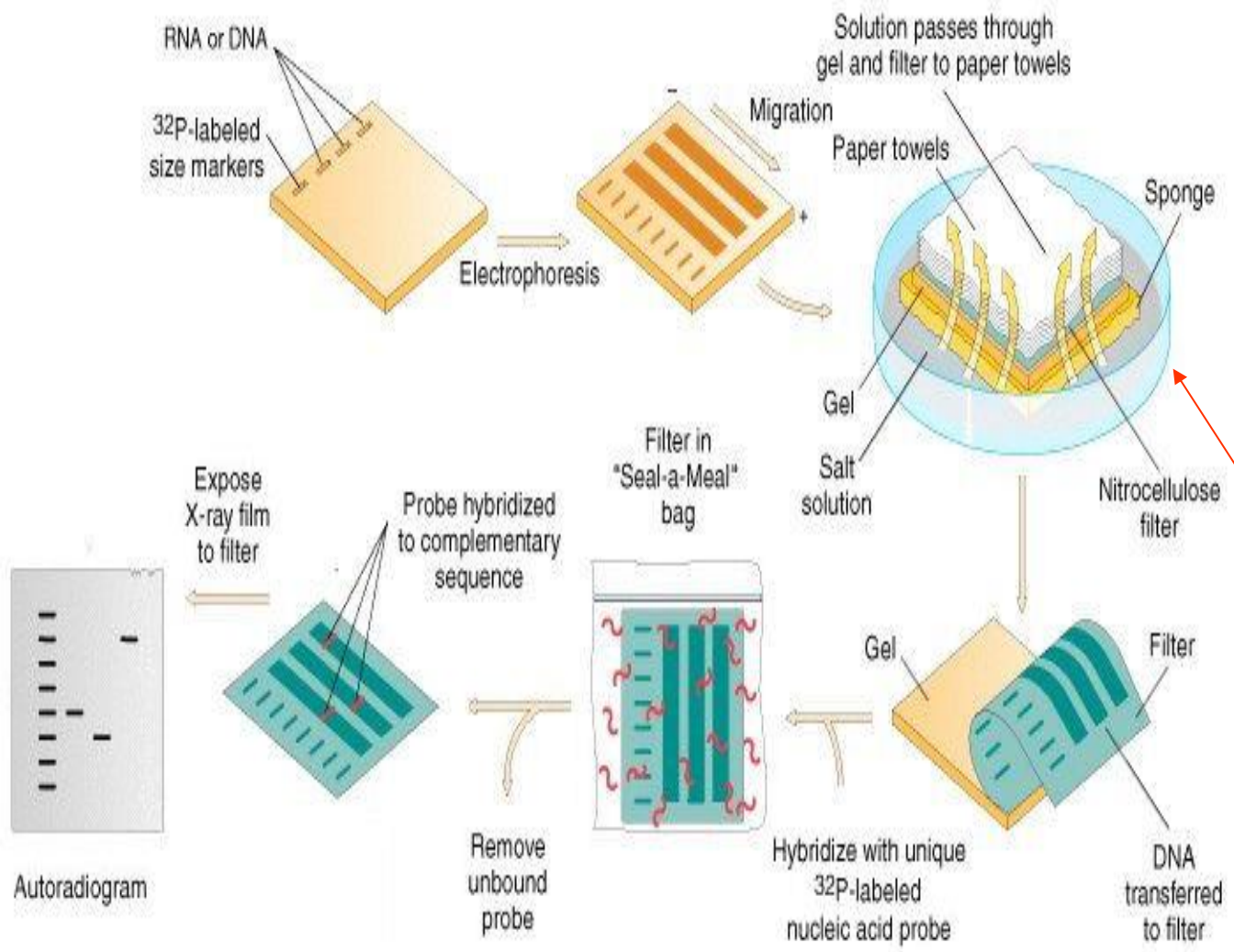


Complementary DNA base pairs

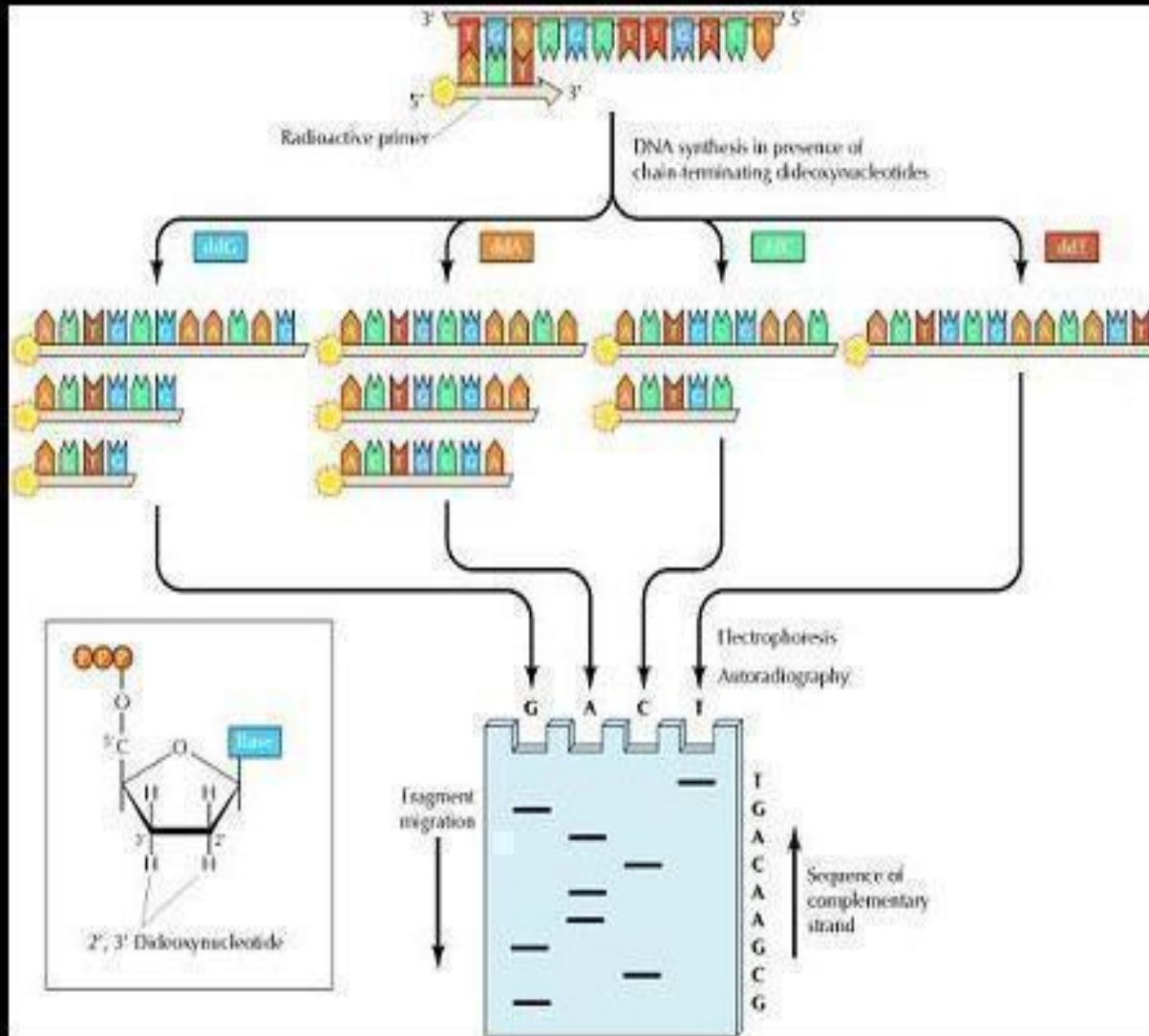
A (adenosine) pairs with **T** (thymidine)

G (guanosine) pairs with **C** (cytidine)

Southern blotting

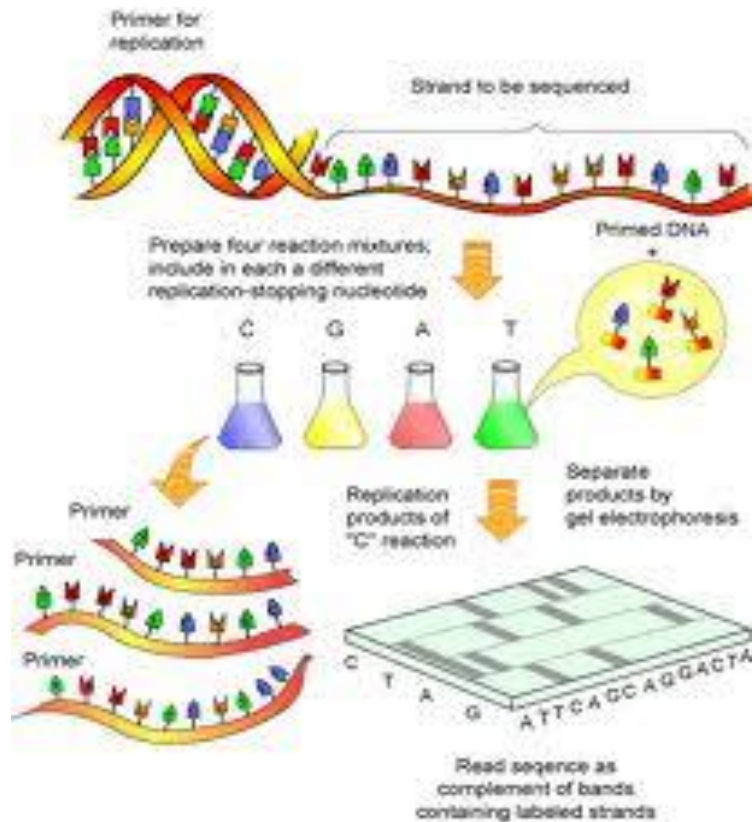


DNA sequencing

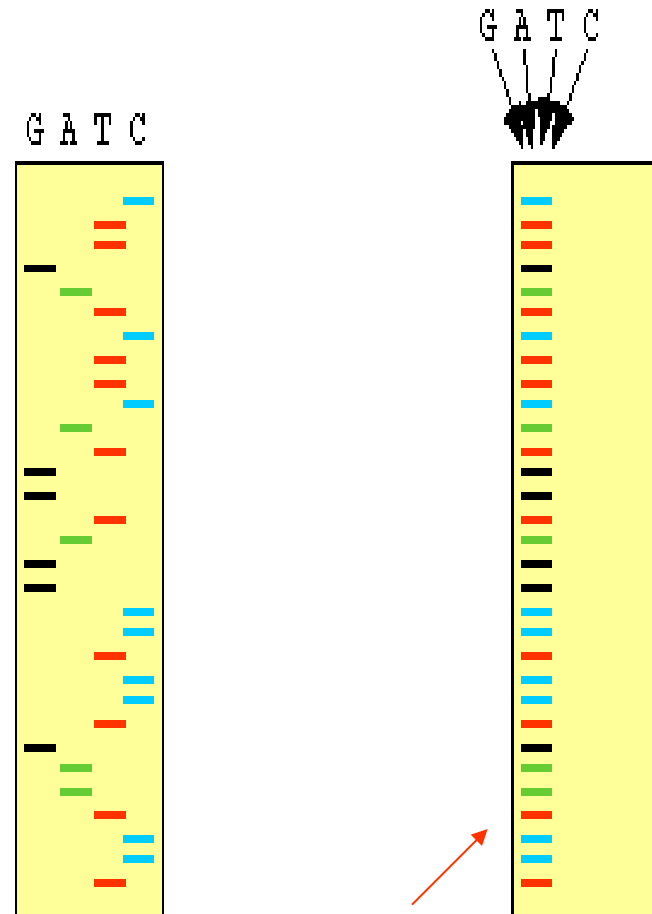
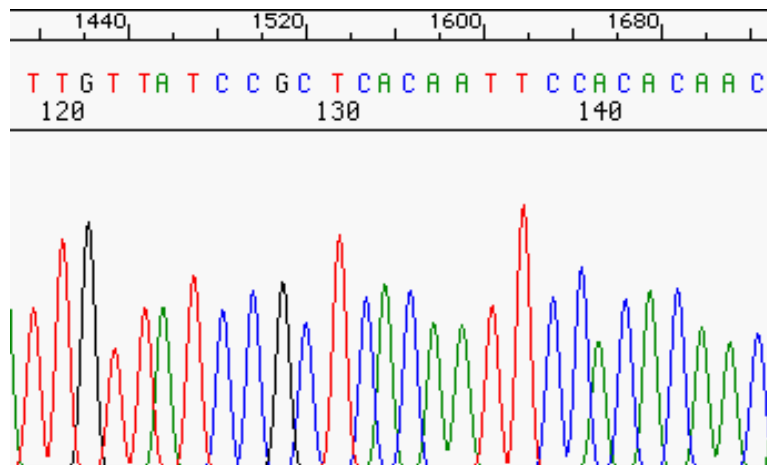


S kloniranjem ali PCR moramo proizvesti dovolj veliko število matric (molekul preiskovane DNA), da z inhibitorji sinteze komplementarne verige DNA (ddNTP-ji) zasedemo vse možnosti njihovih vezavnih mest.

Polikarilamidna gelska elektroforeza ima ločljivost 1 bp.



Sodobnejši pristopi sekvenciranja DNA temeljijo na diferencialnem označevanju in izvedbi v enotnem kompartmentu. Na sliki je primer fluorescenčnega označevanja štirih ddNTP z različnimi barvili in enotno ločevanje s kapilarno elektroforezo.

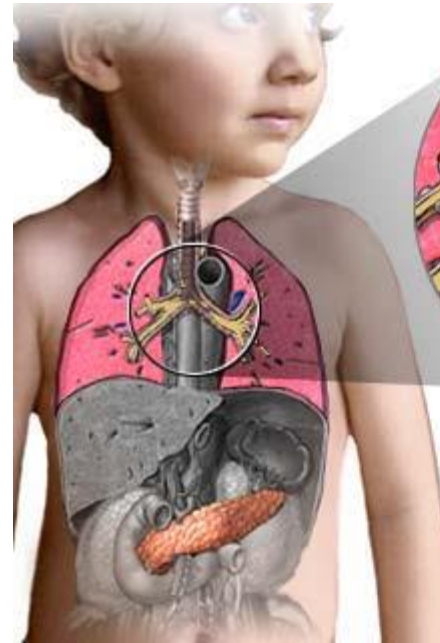
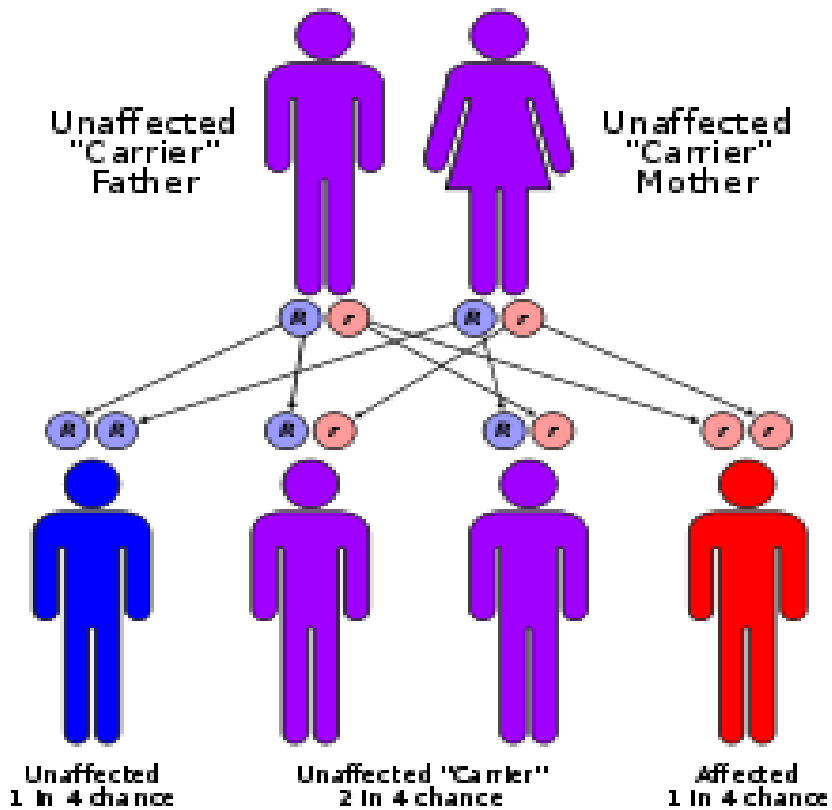


Here's what the products would look like in separate gel lanes.

Here's what the products would look like in a single gel lanes.

**Bolezenski gen:
od znanstvenih raziskav do kliničnih aplikacij**

Primer: cistična fibroza



Cystic fibrosis is a hereditary disorder characterized by lung congestion and infection and malabsorption of nutrients by the pancreas

ADAM.

Cystic fibrosis



Lokalizacija bolezenskega gena:

Kromosomske nepravilnosti – mikroskopski pregled.

Povezanost bolezni s spolom.

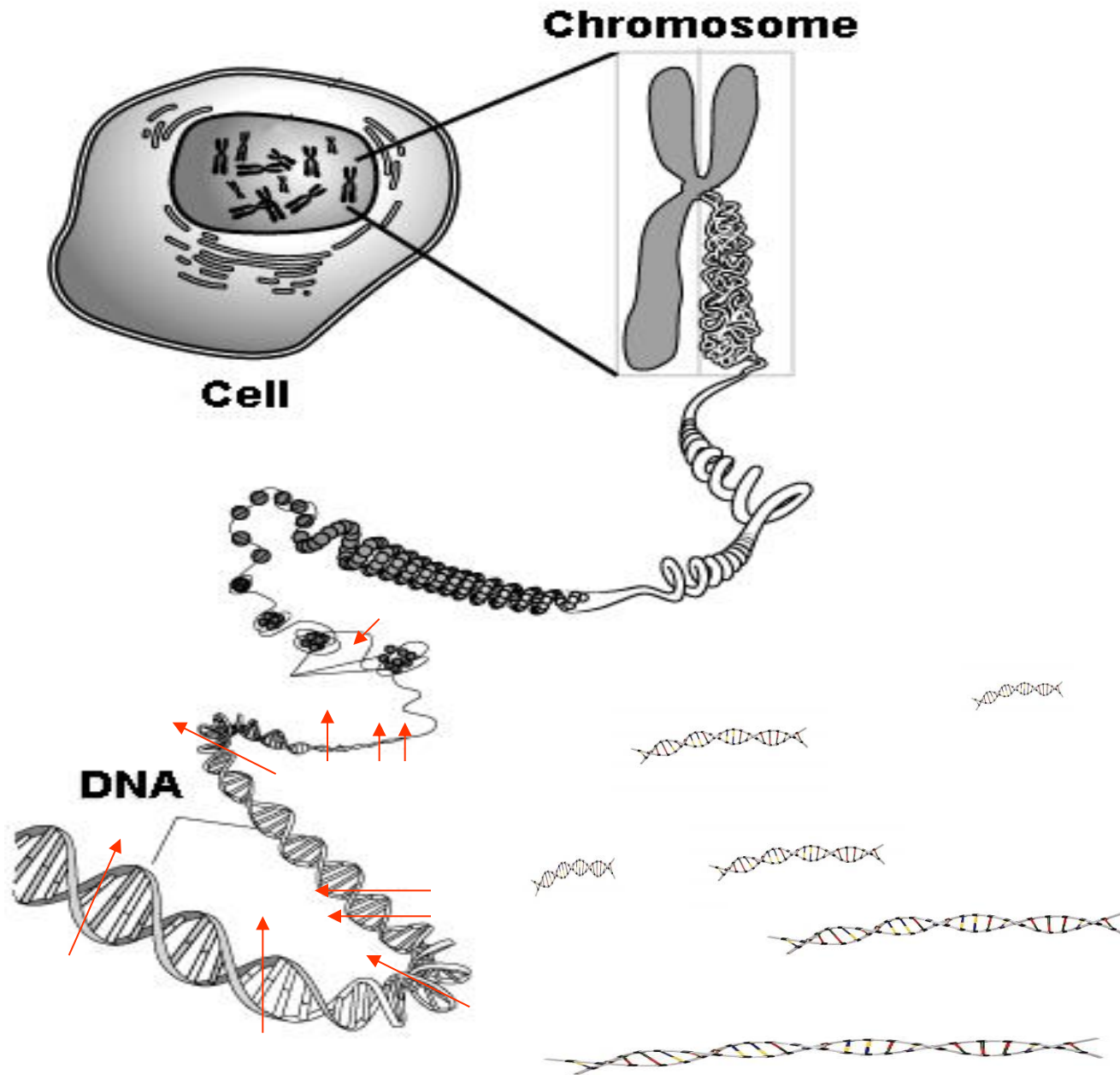
Somatski celični hibridi – oblikovanje stabilnih celičnih linij z določenim številom človeških kromosomov – opazovanje fenotipskih značilnosti celičnih linij.

Reverzna genetika – povezanost informativnih RFLP s fenotipom bolezni = bližina (še) nepoznanega gena.

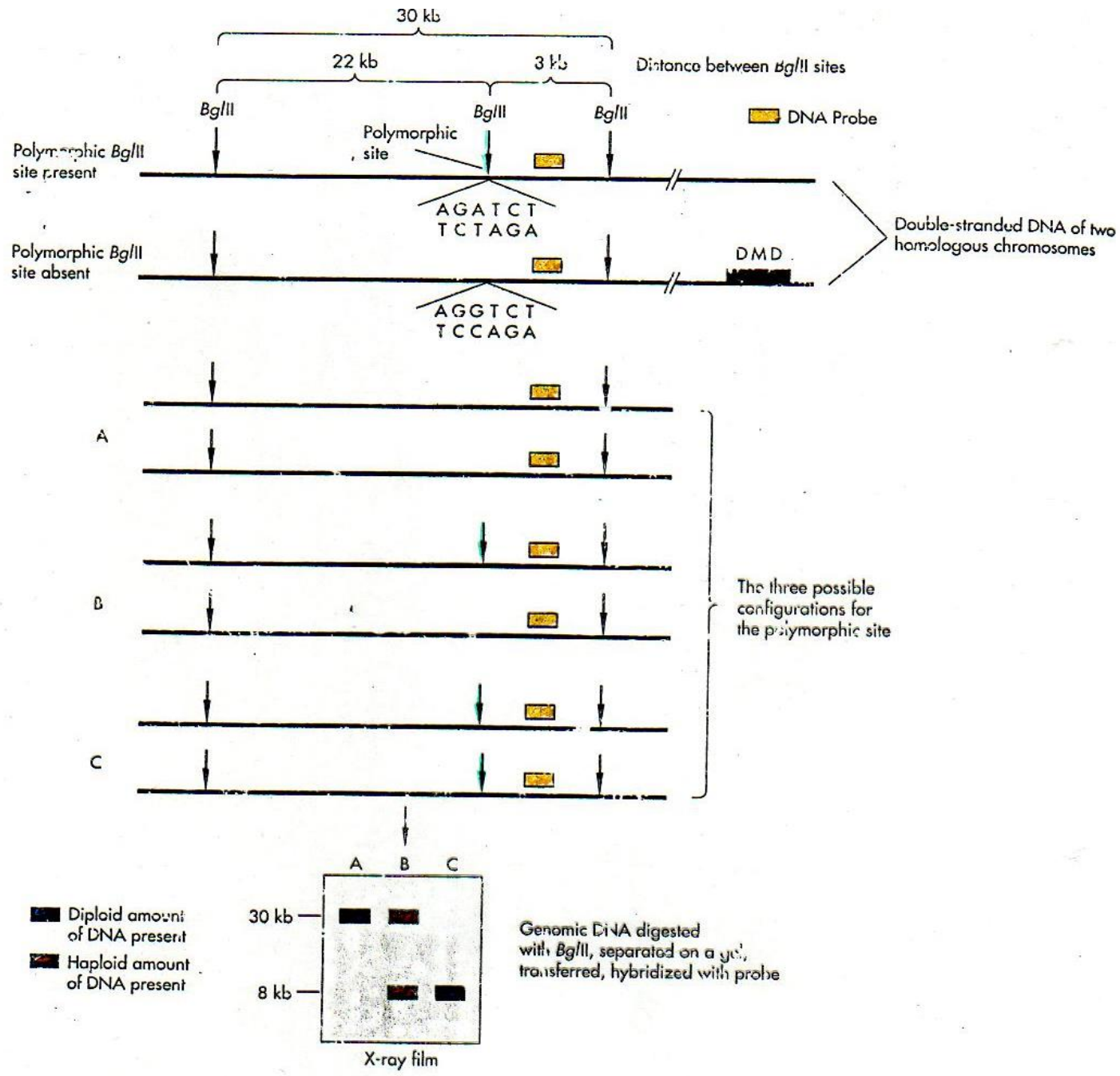
Sprehod po kromosomu.

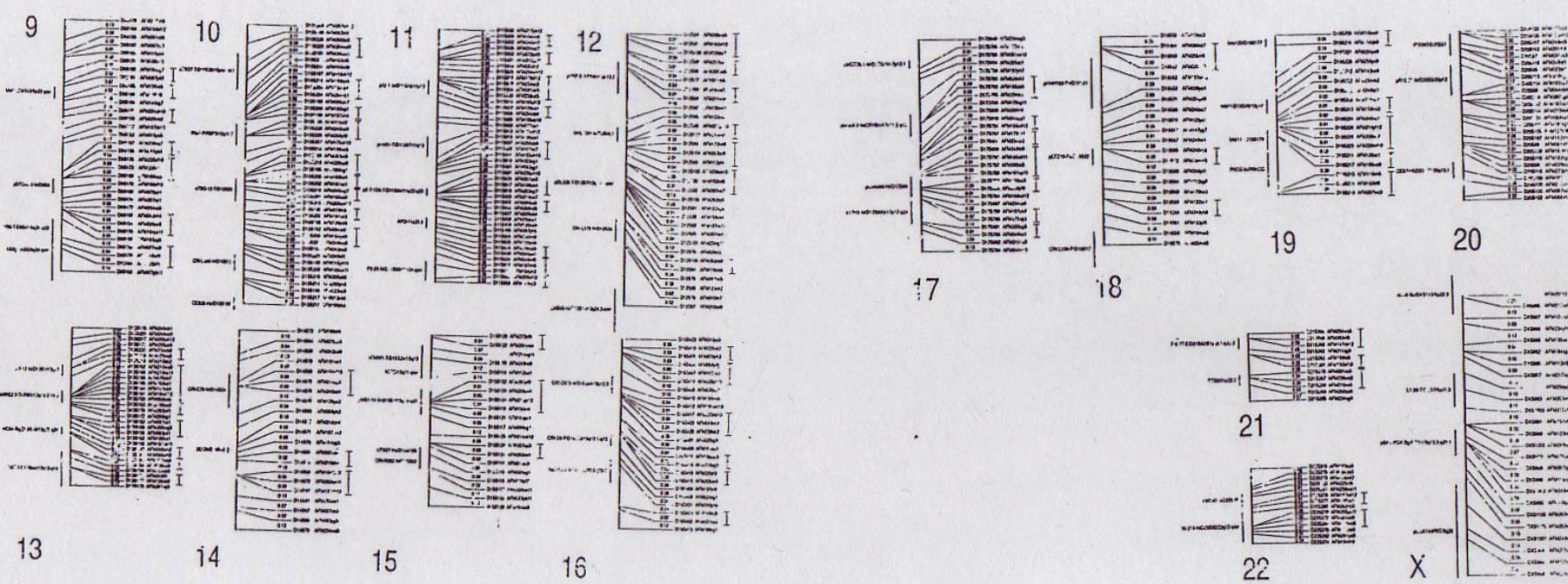
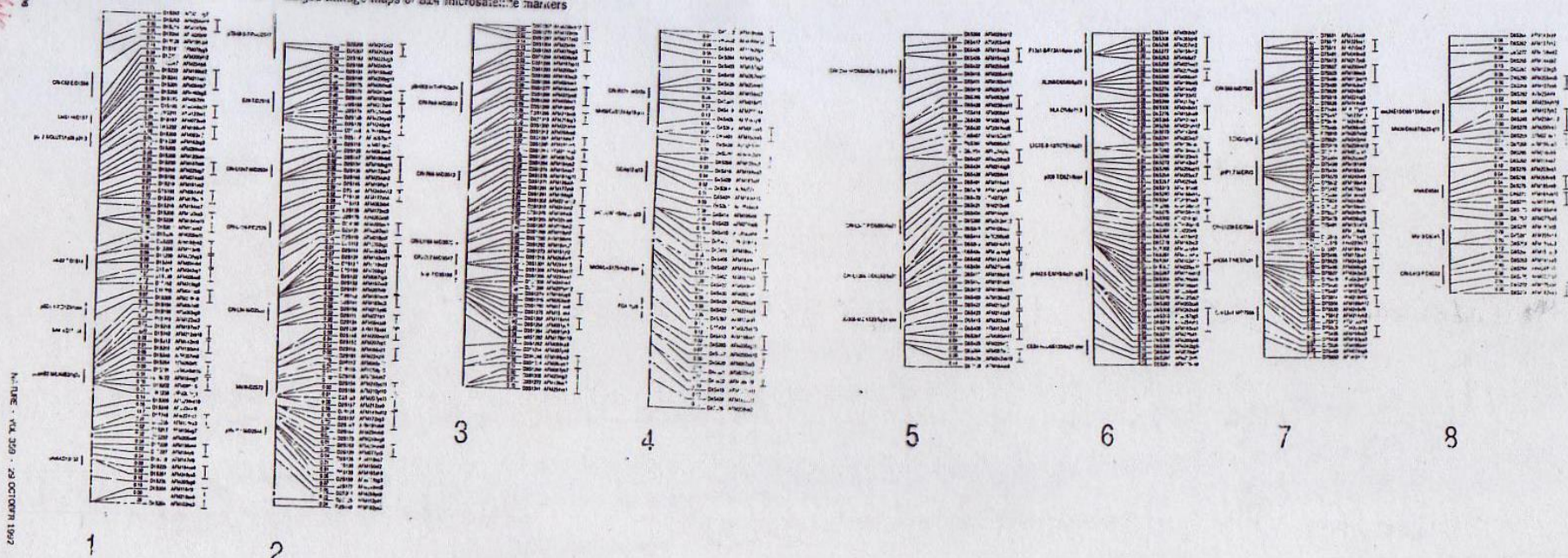
Restrikcija kromosoma z restriksijskim encimom.

Restrikcija vse genomske DNA bi dala 500.000 – 1 milijon različnih fragmentov DNA. Ko to razvijemo z elektroforezo, na elektroferogramu vidimo "meglico", ker so fragmenti tesno skupaj.

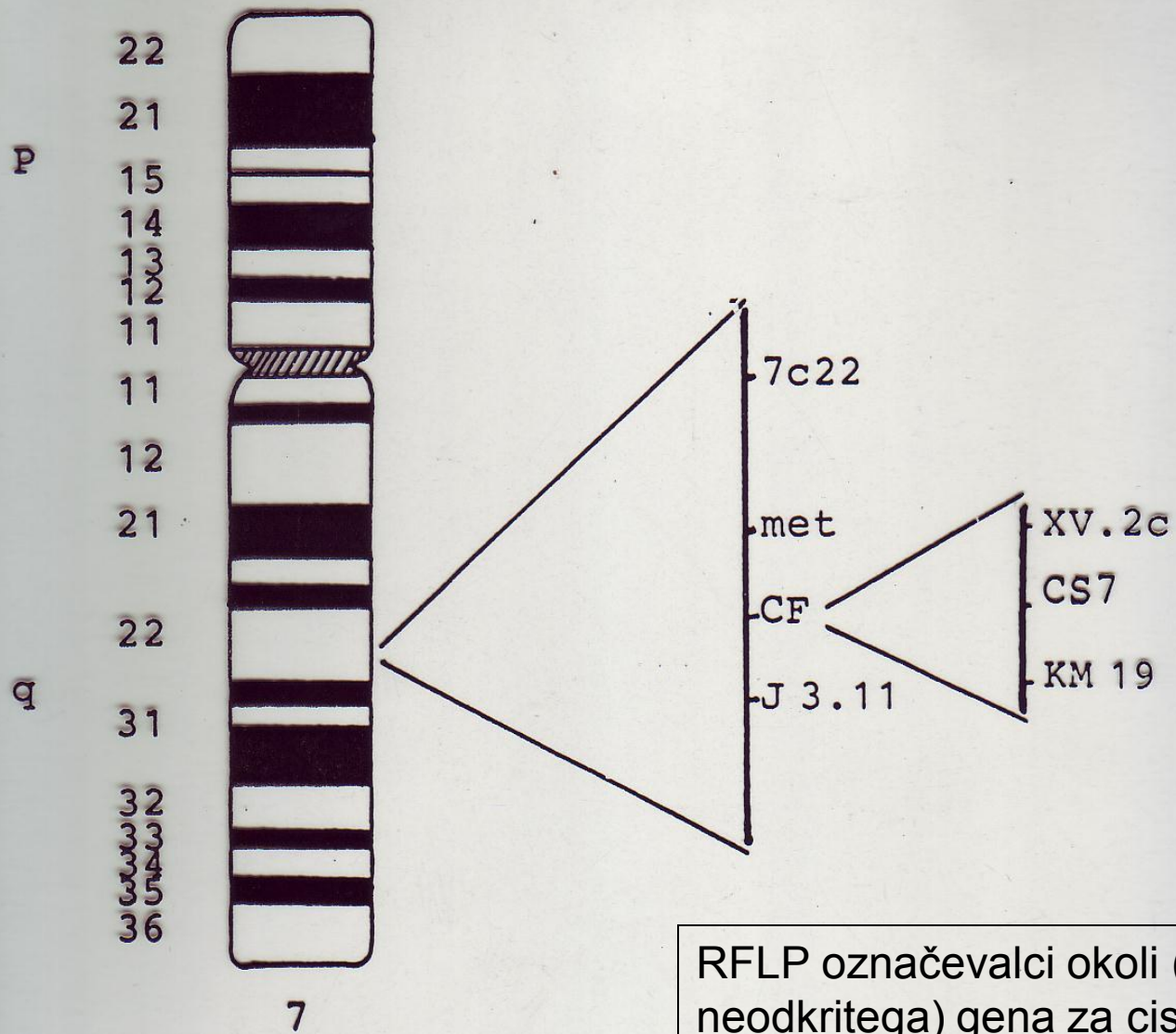


Če po restrikciji vzporedno elektroforezno razvijemo (ločimo) fragmente DNA različnih oseb, lahko ponekod opazimo polimorfizem dolžine restrikcijskega fragmenta, odvisno od tega, ali ima oseba na tem lokusu restrikcijsko mesto ali ne (homozigotnost) oz. ga ima samo na enem alelu (heterozigotnost).

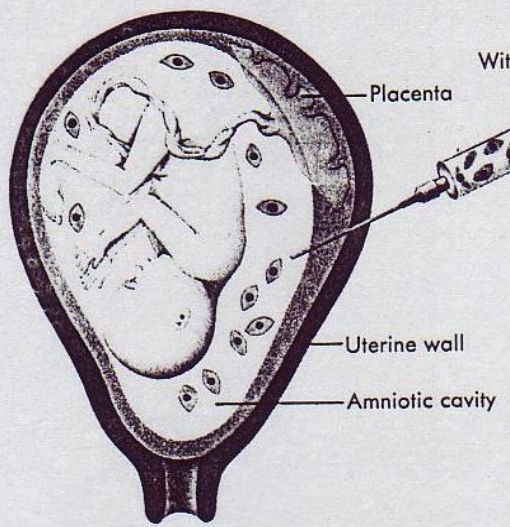




Z RFLP kartiran človeški genom – med RFLP označevalci so 5-7 cM razdalje.

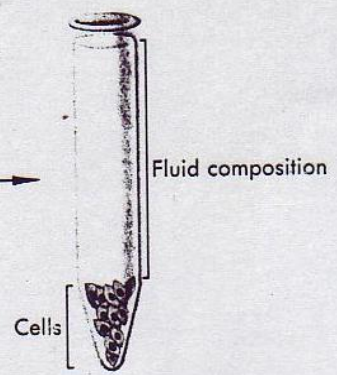


RFLP označevalci okoli (pred l. 1990 še neodkrita) gena za cistično fibrozo (CF).



Withdraw fluid
Syringe

Centrifuge



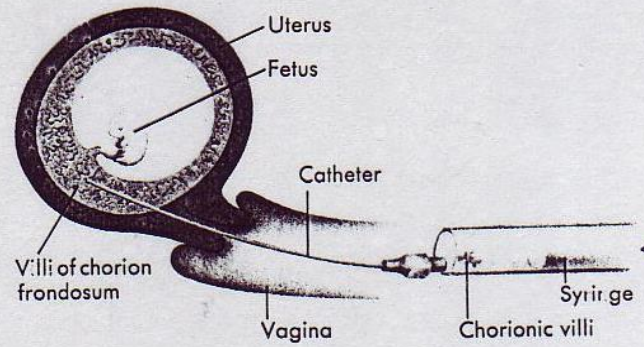
Fluid composition

Cells

Culture
Direct sex determination; biochemical and enzymatic studies



Cells for biochemical, DNA, and chromosomal studies



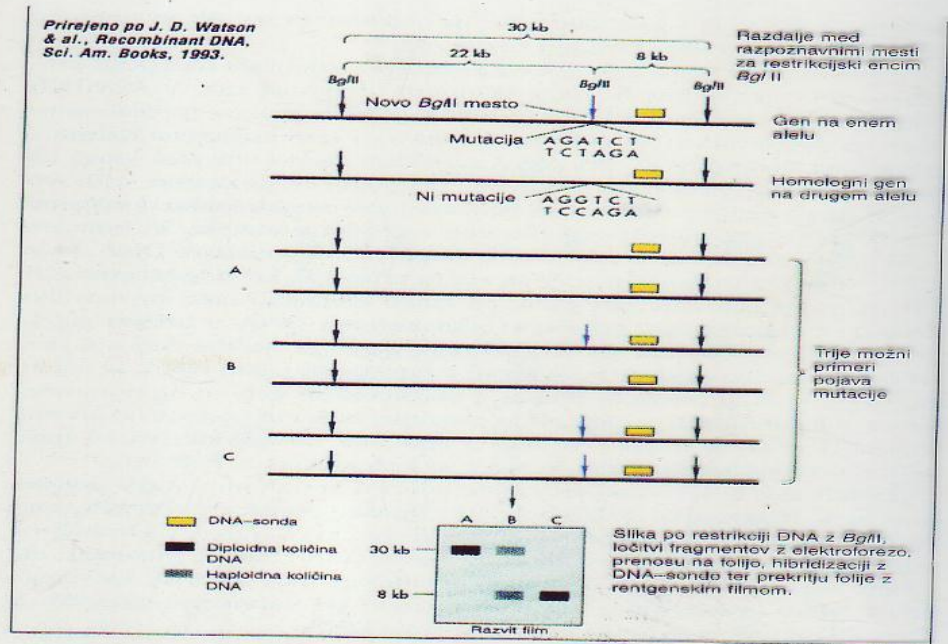
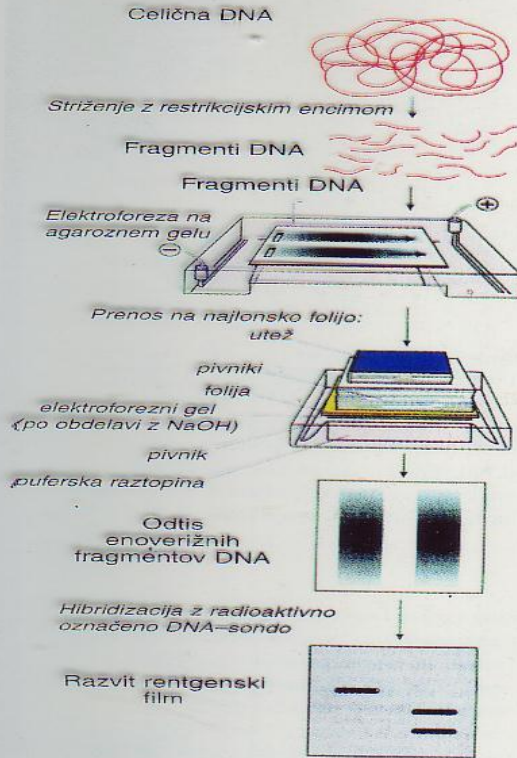
Isolate cells for culture

Isolate DNA directly from villi

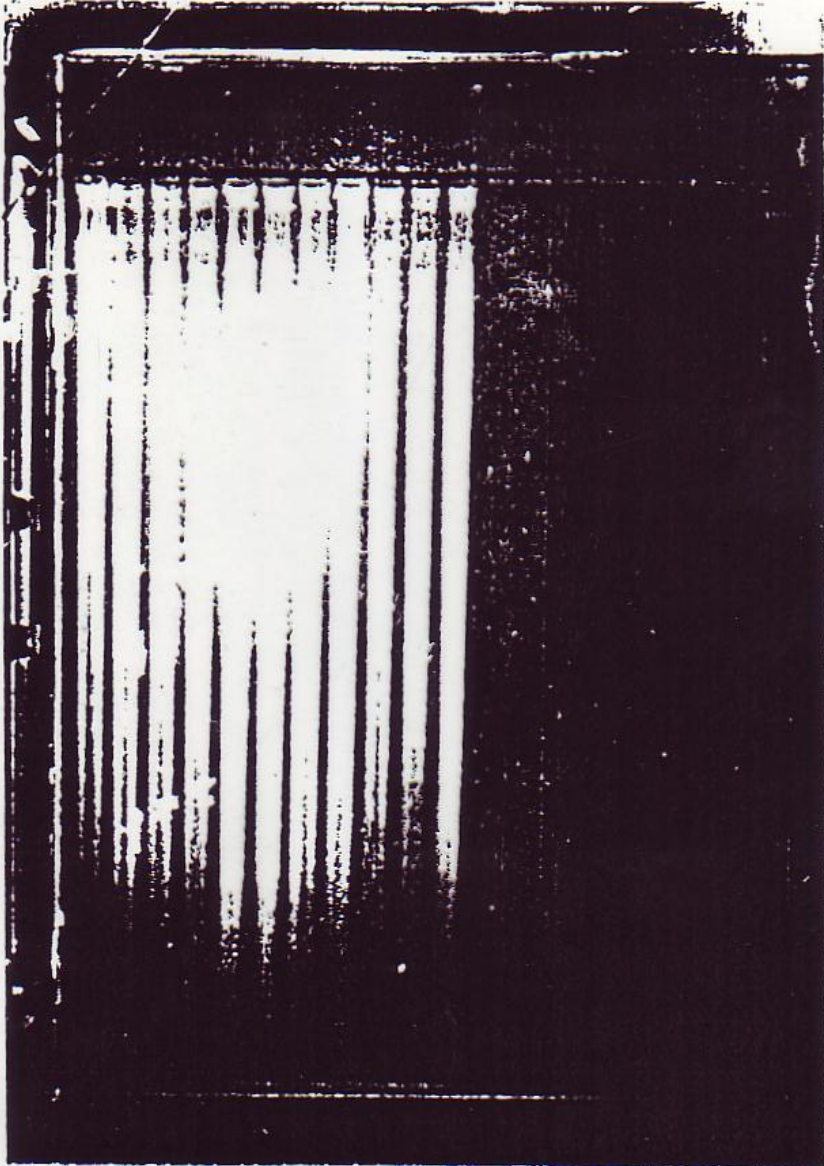
Odvzem tkiva za ekstrakciju DNA pri predrojtveni diagnostiki (dve možnosti):

- horionske resice;
- celice amnijske tekočine.

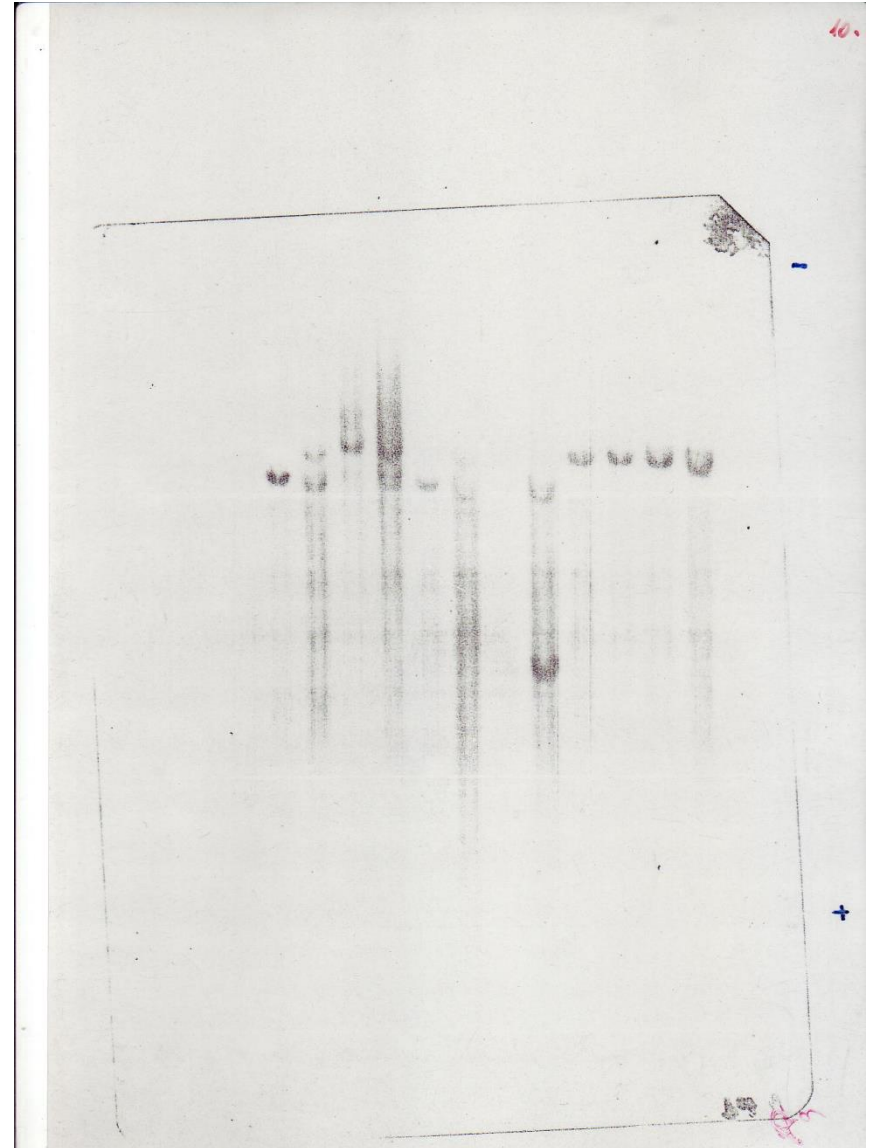
Posredna diagnostika s prenosom Southern:
 uporaba DNA sonde za ugotavljanje RFPL, ki
 je genetsko povezan s fenotipom bolezni
 (torej je v bližini bolezenskega gena).



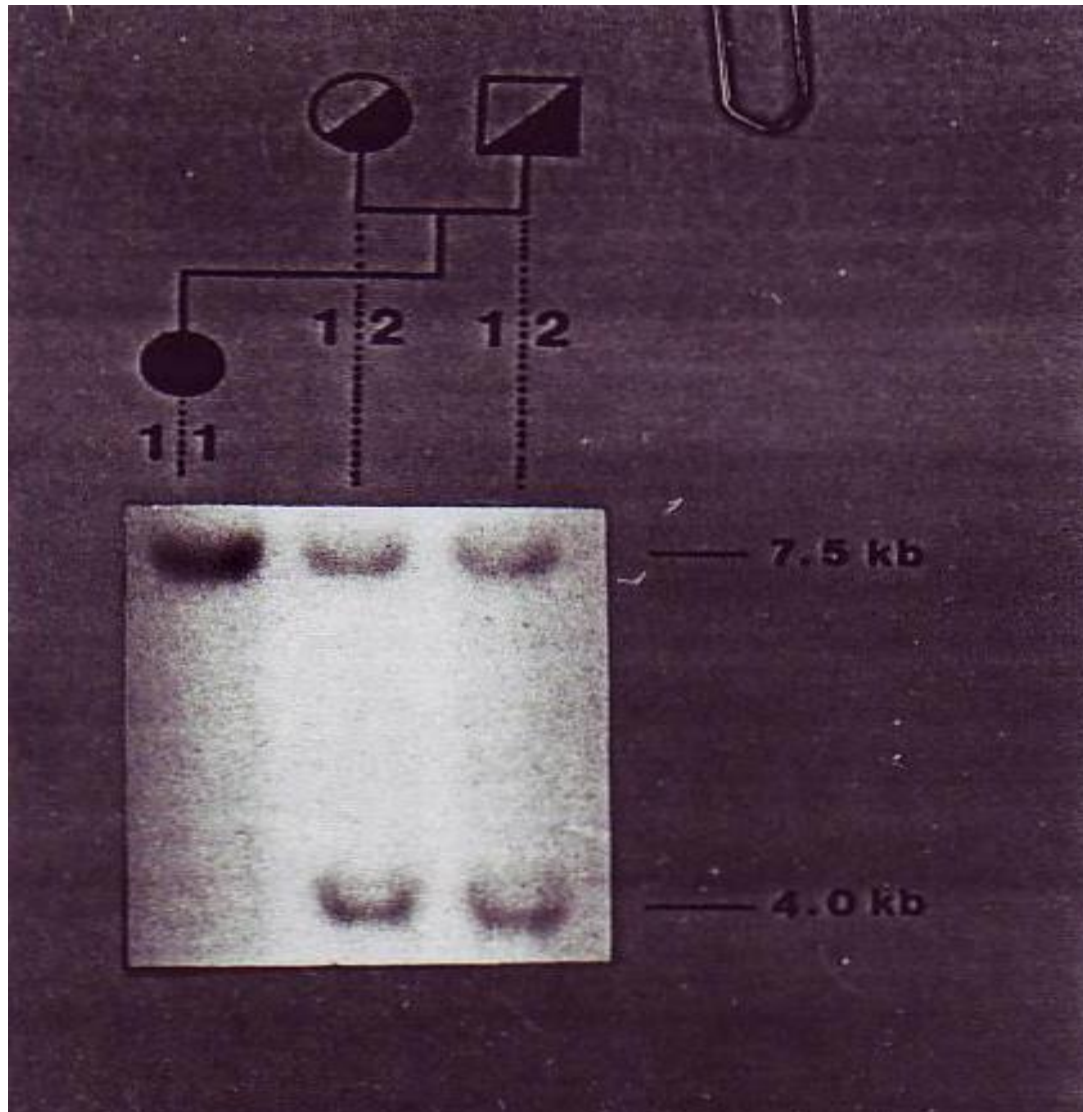
**Elektroferogram (agarozni gel) s fragmentirano
genomsko DNA (restriksijski fragmenti); okoli 1
milijon različnih fragmentov DNA pri posamezniku.**



Autoradiogram elektroferograma po analizi Southern.



Predstavitve rezultata analize Souhern: genotipizacija CF družine z izbranim označevalcem RFLP.



Starša sta heterozigota (prenašalca mutiranega alela), otrok je bolnik (homozigot za mutirani alel).

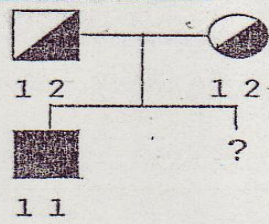
Primer RFLP genotipizacije obsežnejše družine.



44

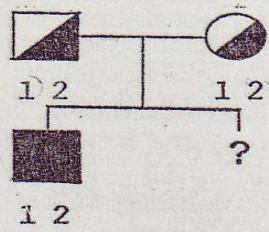
Posamezen RFLP označevalec je za posamezno družino lahko informativen, delno informativen ali neinformativen. Pogoji za informativnost je: starša heterozigota, obstoječi oboleli otrok homozigot. Na tej osnovi nato lahko s tem označevalcem lahko pristopimo k posredni predrojstveni diagnostiki pri tej družini.

1. FULLY INFORMATIVE

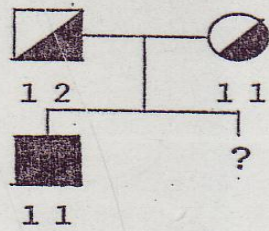


1 1 = CF
 1 2 = CARRIER
 2 2 = UNAFFECTED

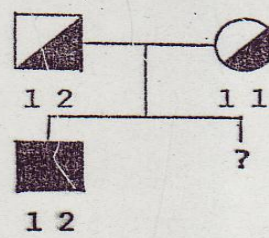
2. PARTIALLY INFORMATIVE



1 2 = 50% CF
 50% UNAFFECTED
 1 1 = CARRIER
 2 2 = CARRIER

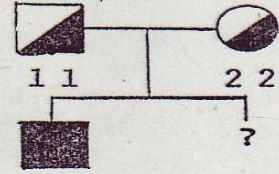


1 1 = 50% CF
 50% CARRIER
 1 2 = 50% CARRIER
 50% UNAFFECTED



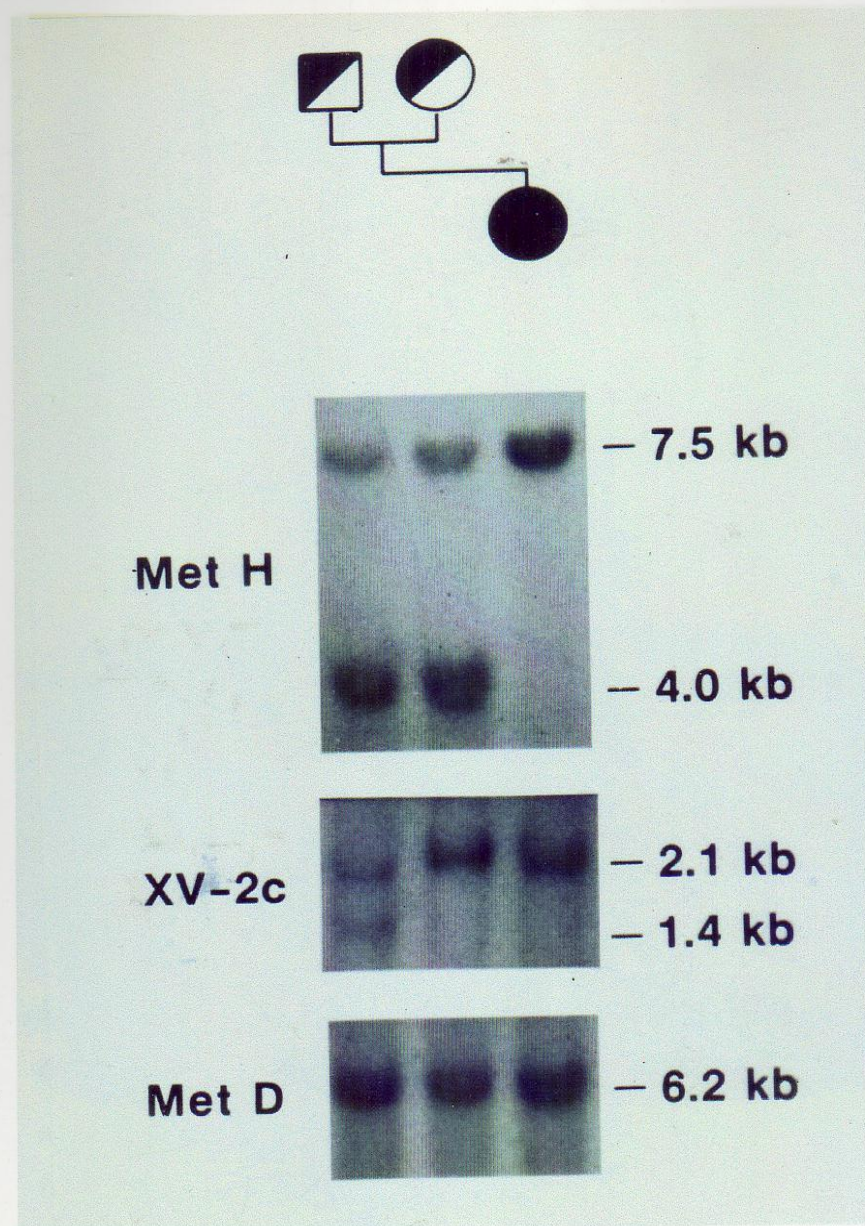
1 1 = 50% CARRIER
 50% UNAFFECTED
 1 2 = 50% CARRIER
 50% CF

3. UNINFORMATIVE



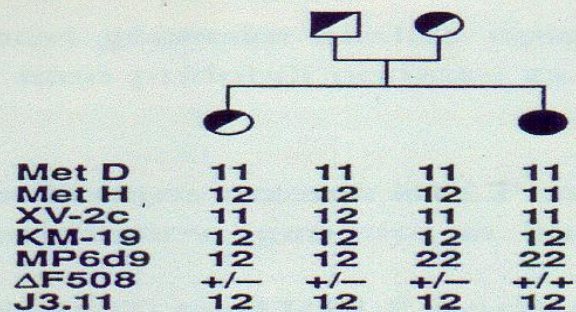
1 2 = 25% CF
 50% CARRIER
 25% UNAFFECTED

**Genotipizacija
CF-družine
pred
predrojstveno
diagnostiko:
iskanje
informativnega
označevalca
RFLP.
Označevalec
Met H je
informativen,
ostala dva pa
ne.**

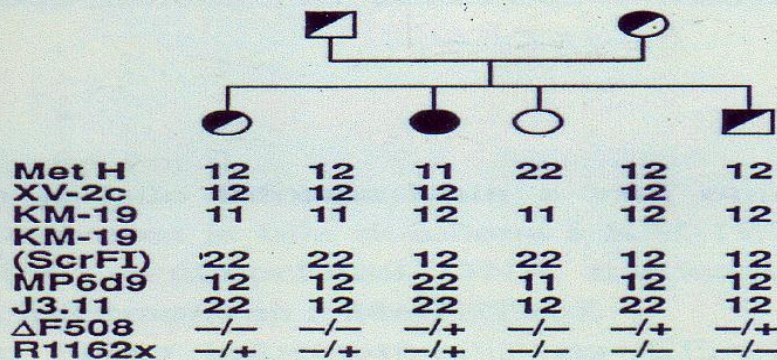


Uporaba več RFLP označevalcev je varnejša pri posredni predrojstveni diagnostiki.

CF-14

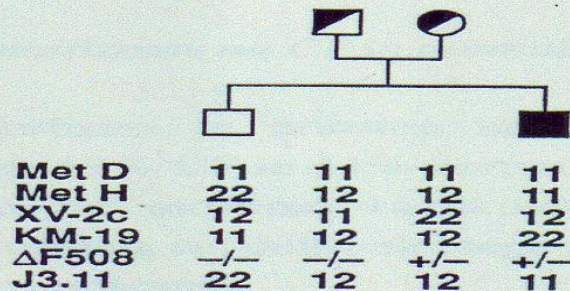


CF-20

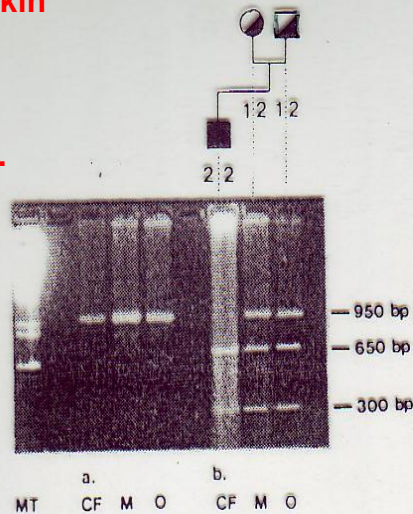


Specifična kombinacija bialelnosti označevalcev (haplotip) je uporabno orodje pri genski diagnostiki.

CF-28



S PCR pomnoženi fragment DNA, ki vsebuje RFPL pri treh družinskih članih (levo); elektroferogram po restrikciji (razcep na mestu RFLP) (desno).



Uvedba PCR je zelo olajšala posredno diagnostiko CF (potreba po manjši količini biološkega materiala, bistveno hitrejša izvedba, natančnost pri interpretaciji).

Na sliki je primerjava elektroferogramov po genski analizi s PCR (levo) in po analizi Southern (desno).

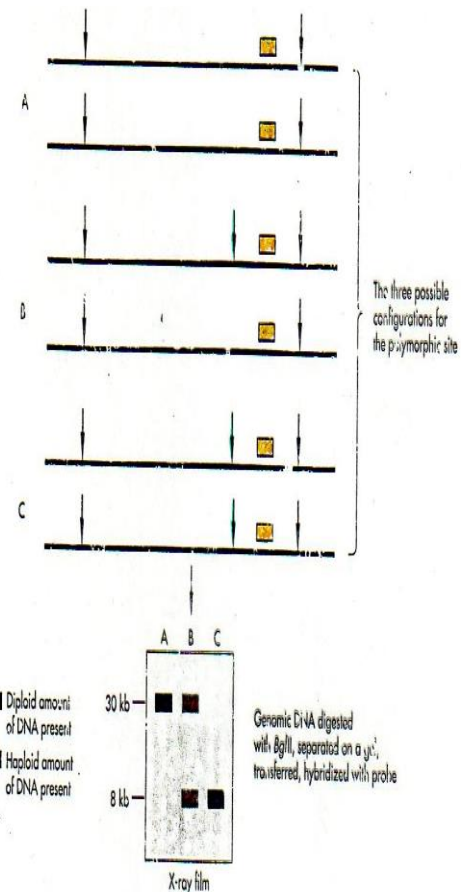
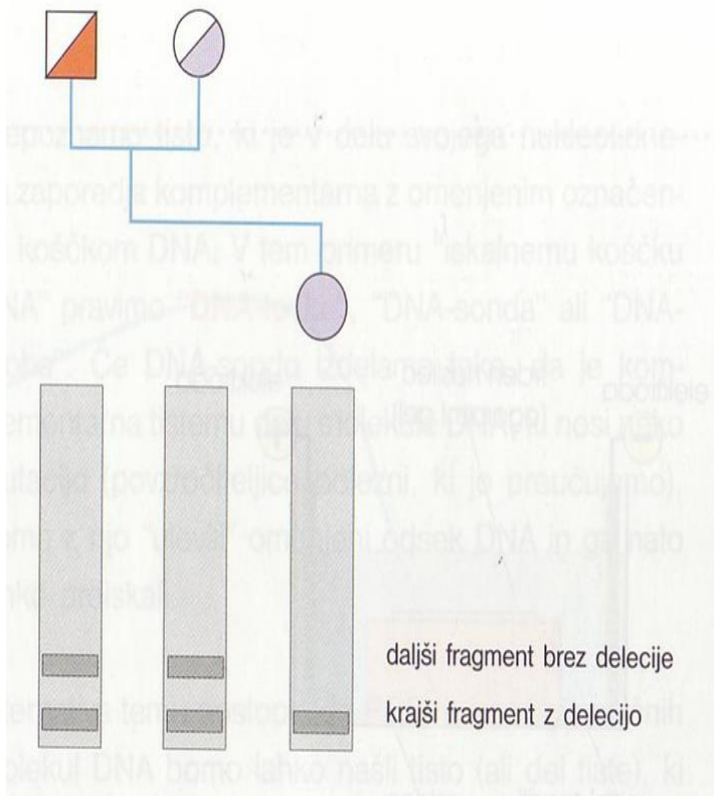


Fig.2. a) Amplification of genomic DNA of CF family between KM-19 oligonucleotide primers with PCR method
b) Restriction digestion of amplified DNA with Pst I revealed the polymorphism of the family

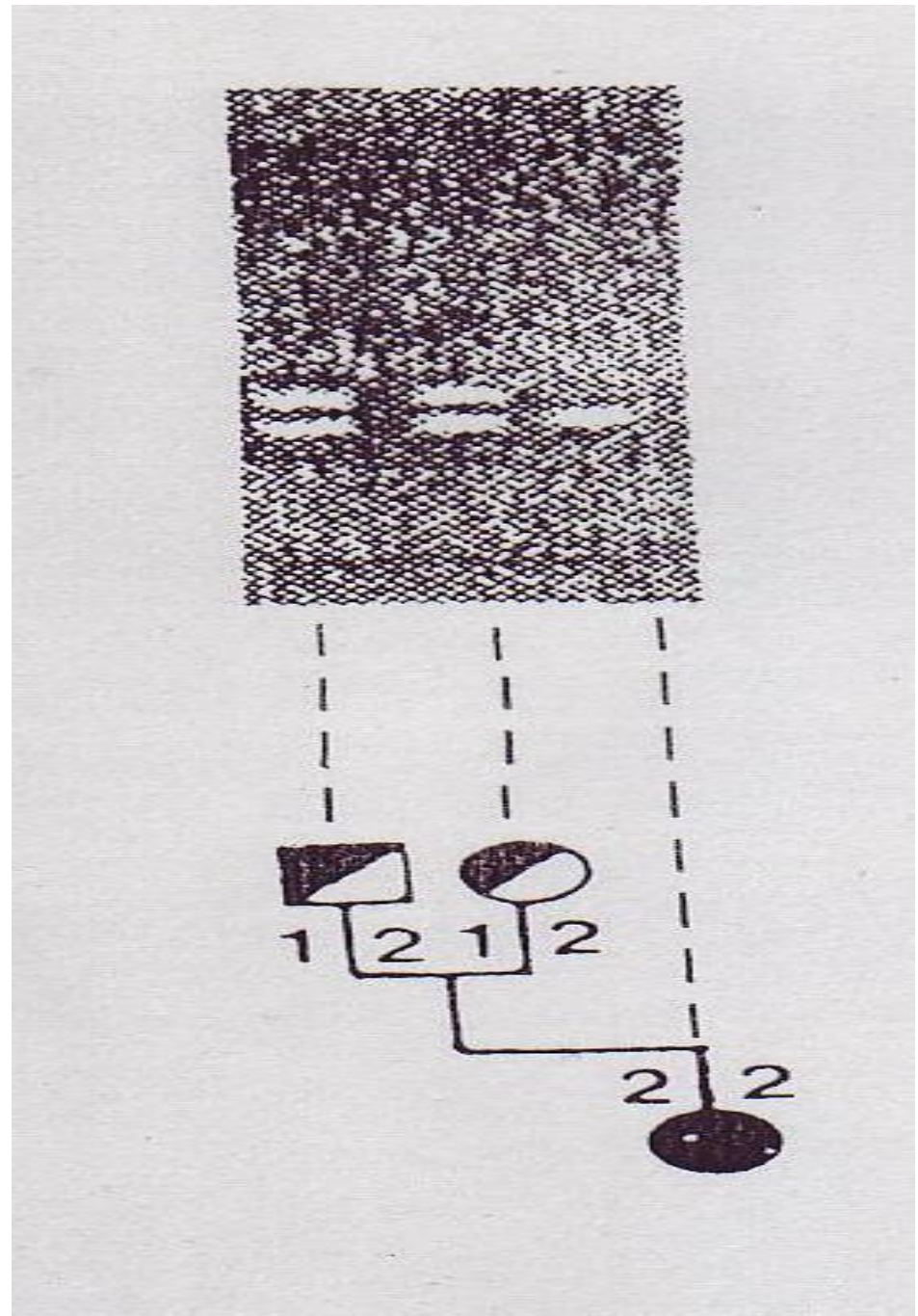
a = father
b = mother
c = CF child

Genomic DNA digested with BglII, separated on a gel, transferred, hybridized with probe

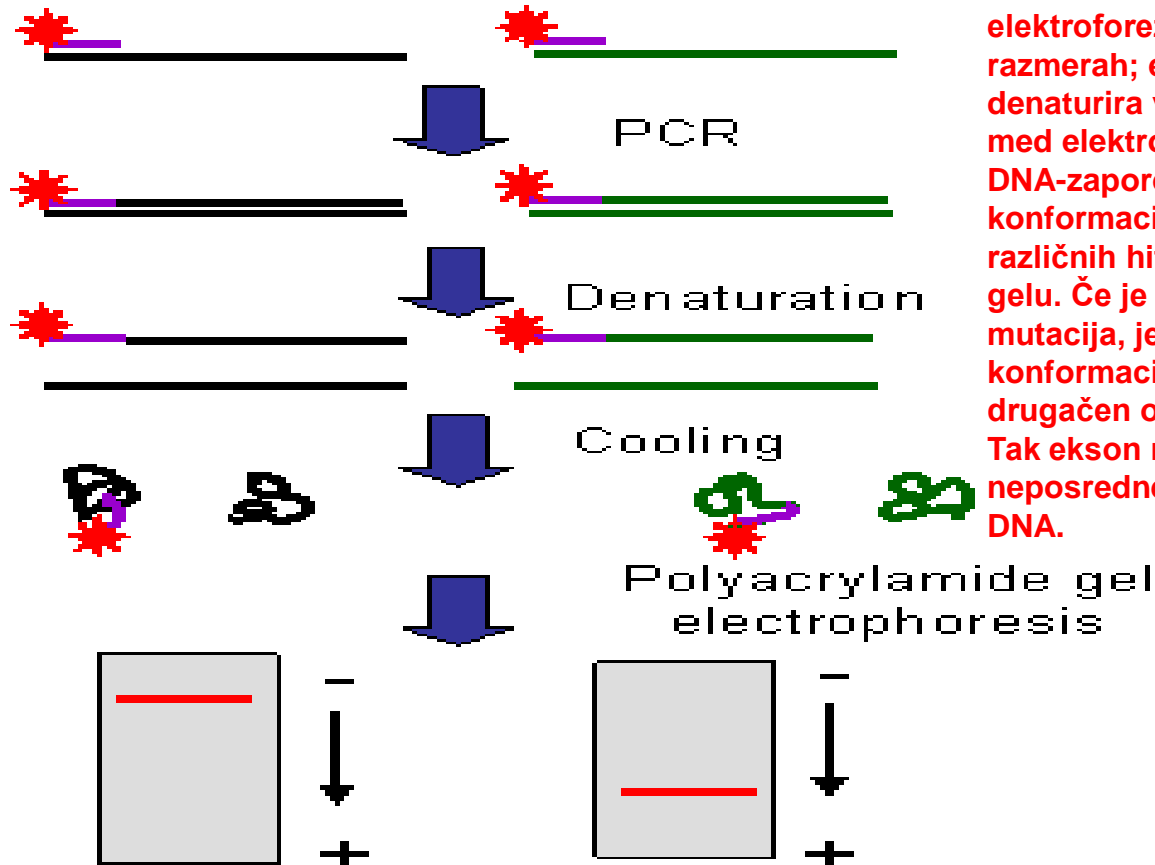
X-ray film



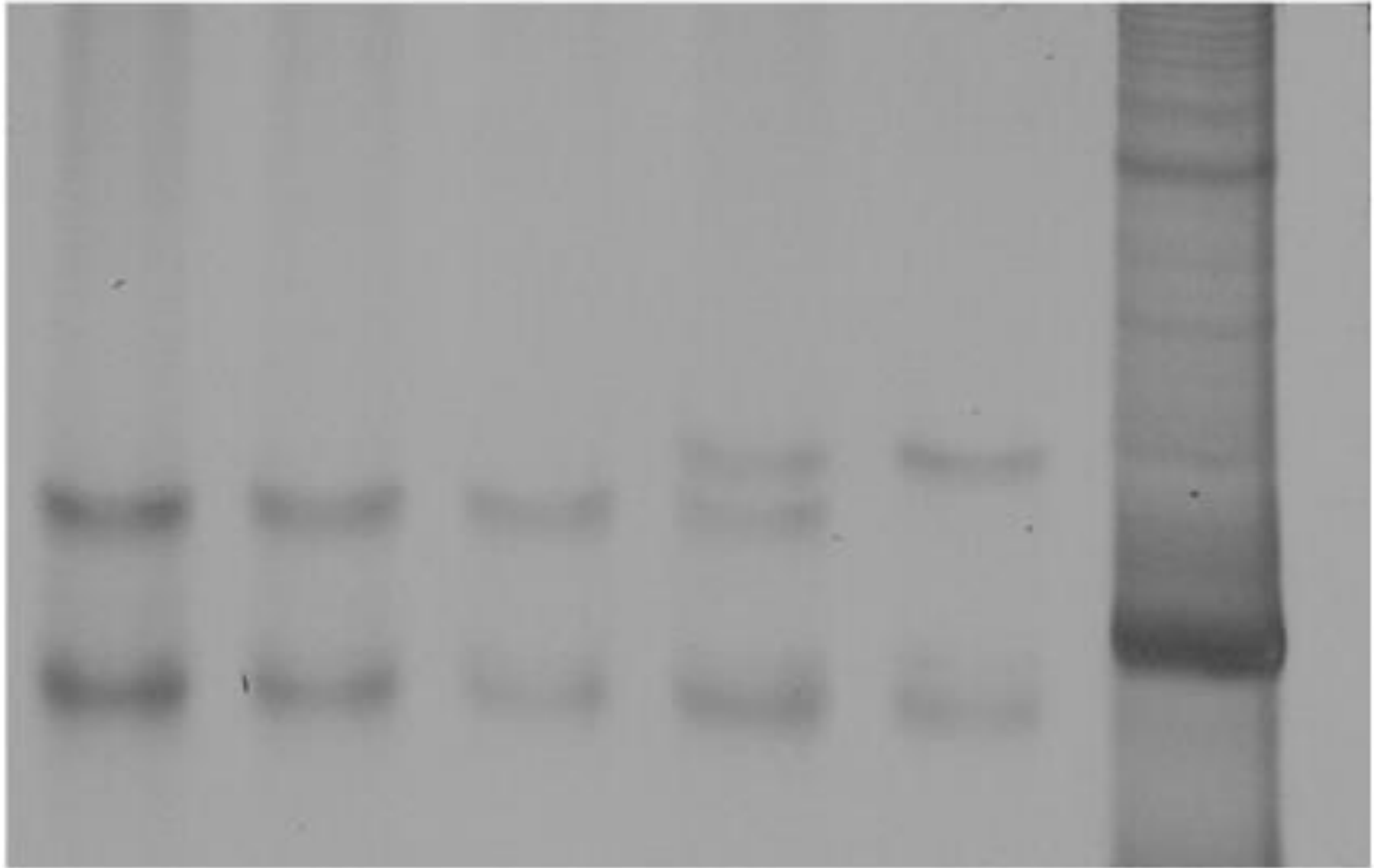
Po odkritju CF-gena (CFTR) je bila omogočena neposredna diagnostika CF. Slika prikazuje elektroferogram po PCR pomnožitvi fragmenta, ki v primeru bolezni vsebuje delecijo treh nukleotidov (znana mutacija, imenovana deltaF503). Polikarilamidni gel z ločljivostjo 1 bp zlahka razkrije delecijo.



Mutation screening: SSCP analysis

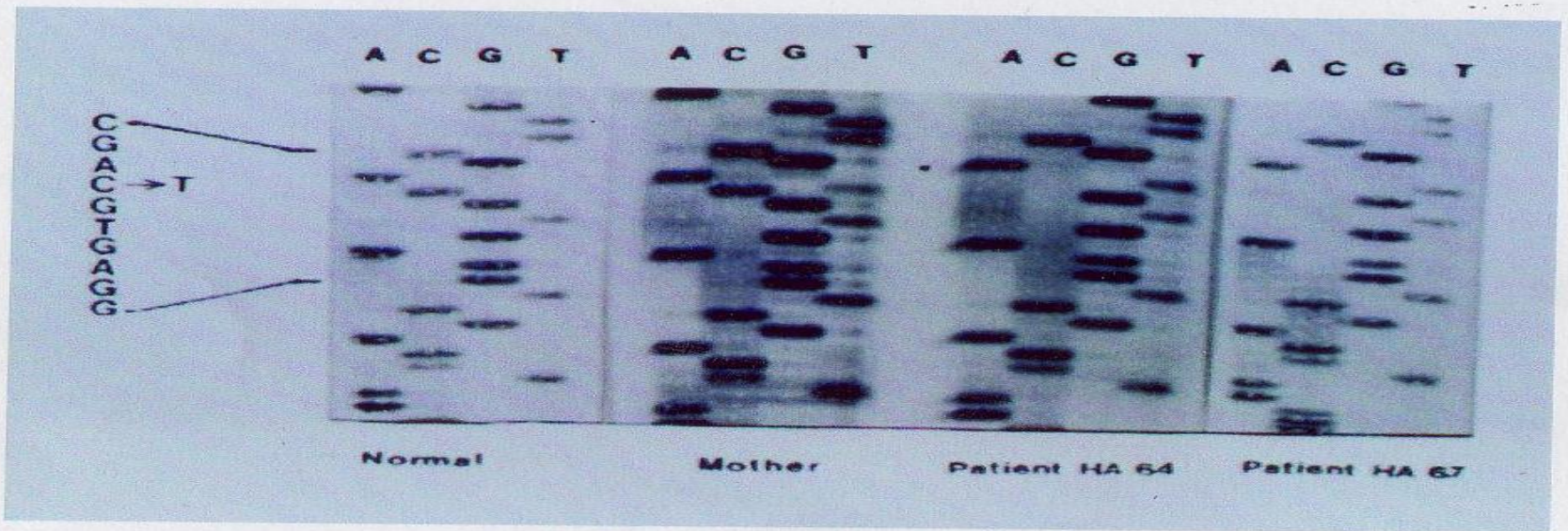
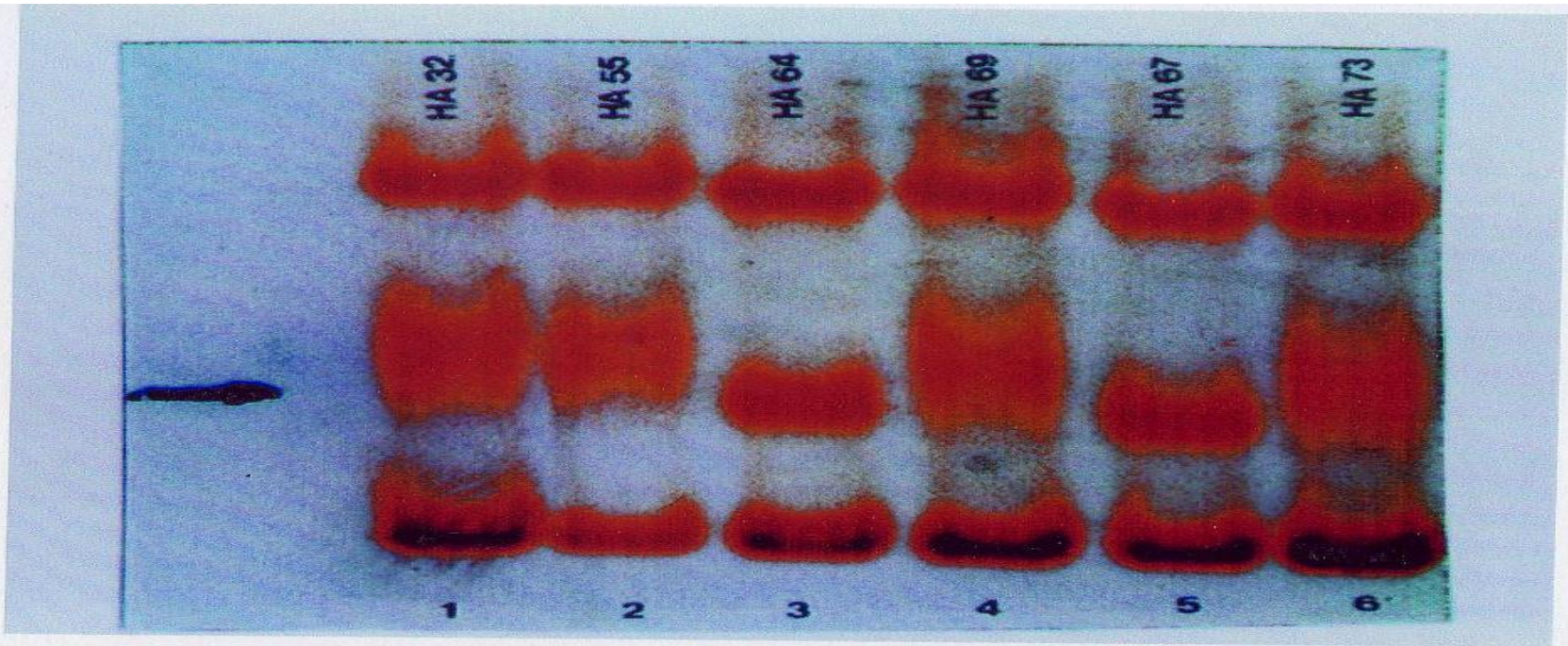


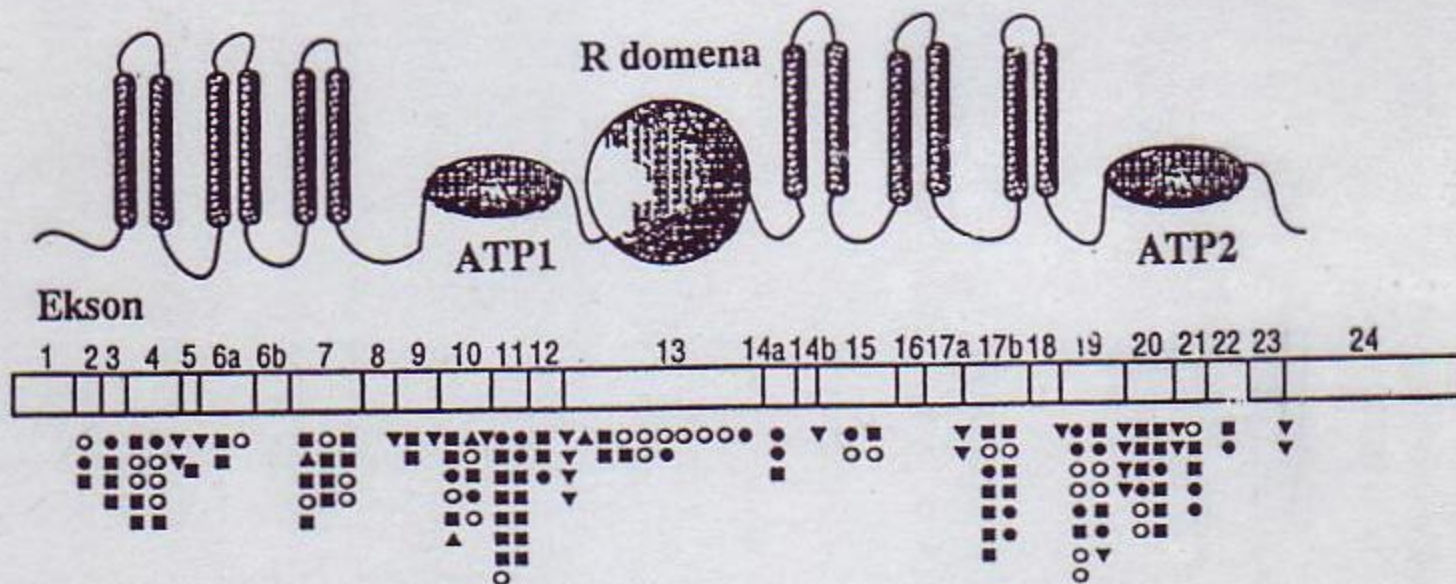
V primeru, da CF mutacija pri družini še ni bila razkrita, lokacijo najprej poiščemo z ustrezno molekularno-biološko metodo, npr. z analizo SSCP (polimorfizem enoverižnih fragmentov DNA): s PCR pomnožimo eksone CF gena in nato vsakega podvržemo gelski elektroforezi pri denaturirajočih razmerah; eksonski PCR fragment denaturira v enojni verigi DNA, ki med elektroforezo zavzame od DNA-zaporedja odvisni konformaciji, kar se odrazi v različnih hitrostih potovanja po gelu. Če je v eksonu navzoča mutacija, je zaradi drugačne konformacije vzorec potovanja drugačen od normalnega. Tak ekson nato podvržemo neposrednemu sekvenciranju DNA.



Typical gel showing SSCP analysis of a point mutation

From left to right: lanes 1-3 are homozygous for the wild-type, lane 4 is heterozygous for the mutant, lane 5 is homozygous for the mutant and lane 6 is DNA marker.





Slika 37. Spekter mutacij, ki povzročajo cistično fibrozo. (▲) delecije kodona; (■) točkovne mutacije, ki povzročijo spremembo aminokislina; (●) točkovne mutacije, ki povzročijo nastanek STOP kodona; (○) mutacije, ki spremenijo bralni okvir; (▼) mutacije na meji med eksonom in intronom.

Ker je v CF-genu možno veliko število različnih mutacij, ki so vzrok za bolezen, v okviru mednarodnega konzorcija preučujemo njihov vpliv na fenotip bolezni. To je lahko v pomoč pri dobrem genetskem svetovanju.

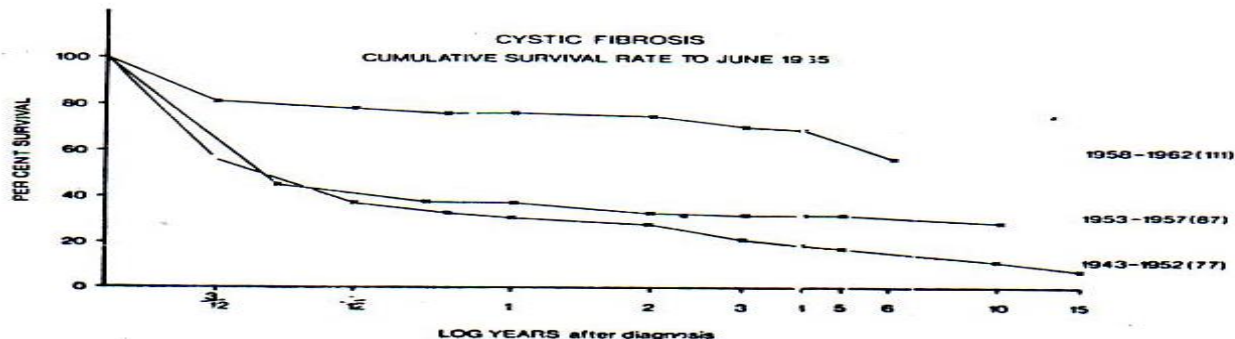


Figure 27. Cumulative survival rates from 1943 to 1962, of CF patients attending the Royal Children's Hospital, Melbourne, Australia. Graphs (logarithmic scale) constructed by CM Anderson (1967) and reproduced with permission

To je sicer že precej stara slika, vendar vseeno kaže, kako napredek v medicini lahko izboljša dobo preživetja pri bolezni kot je CF.

V tem pogledu so klinična, neonatalna in predrojstvena genska diagnostika vsekakor zelo pomembne, saj omogočajo natančno prepoznavo in opredelitev bolezni in nato izbor najprimernejših paliativnih ukrepov (v primeru CF fizioterapija, antibiotična terapija...).

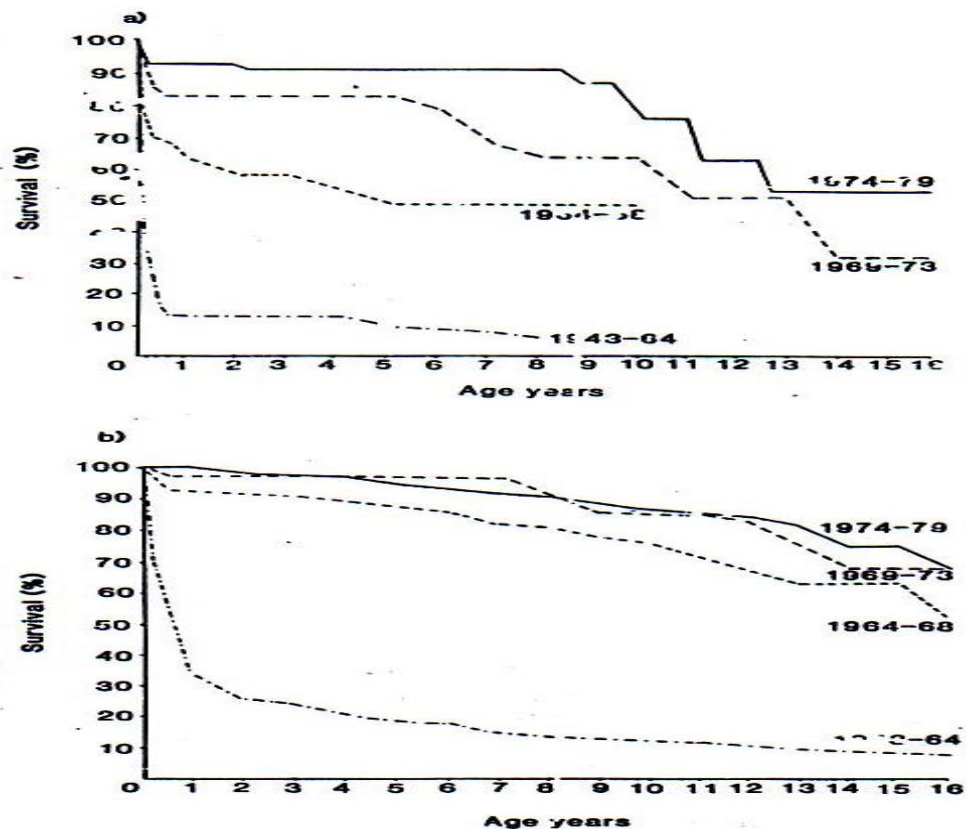
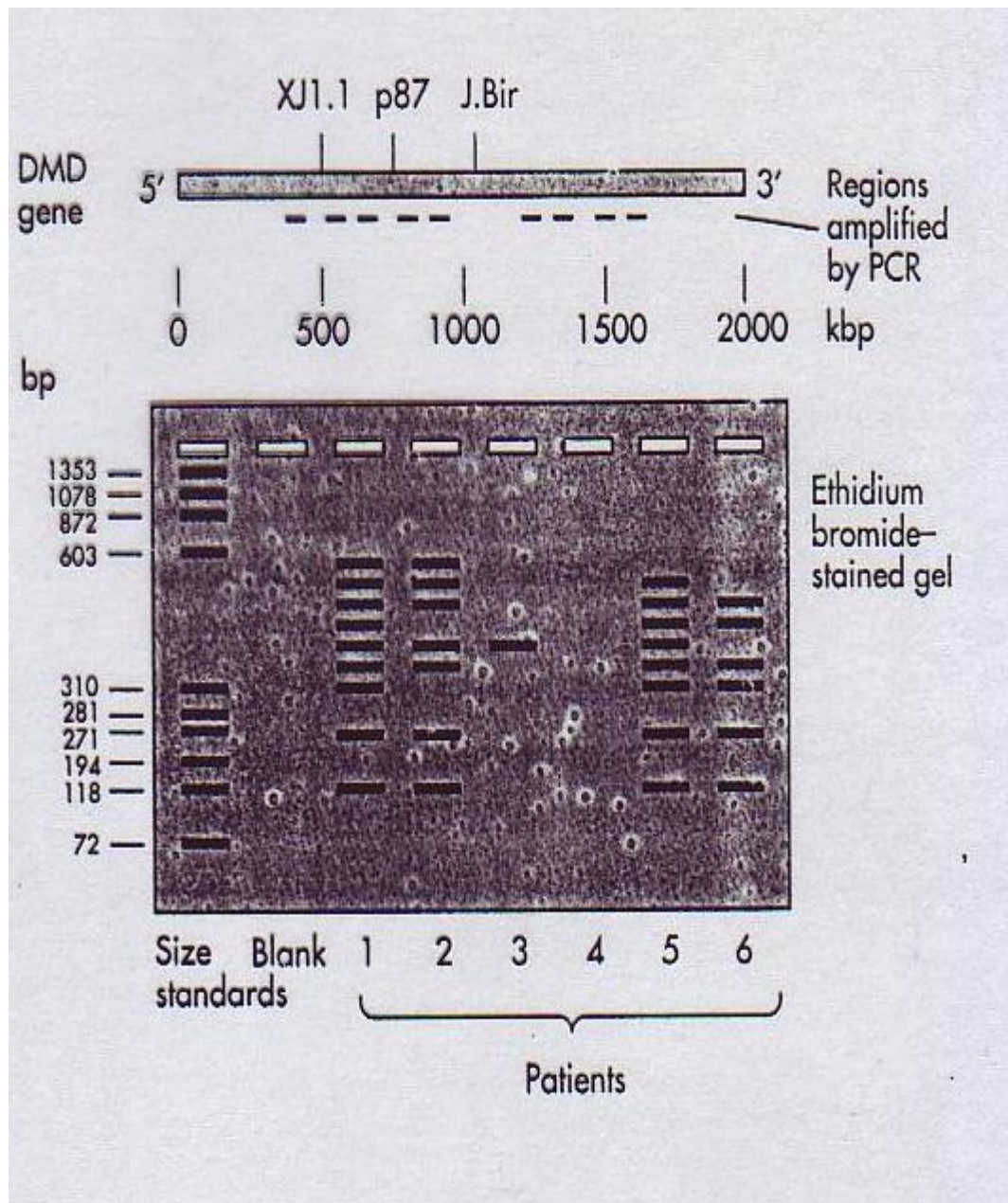


Figure 28 (a) and (b). Survival curves of children with cystic fibrosis, entered at birth: (a) meconium ileus patients, (b) non-meconium ileus patients. Reproduced from Wilmott et al, *Arch Dis Childh* 1987; 38: 835-836, with permission

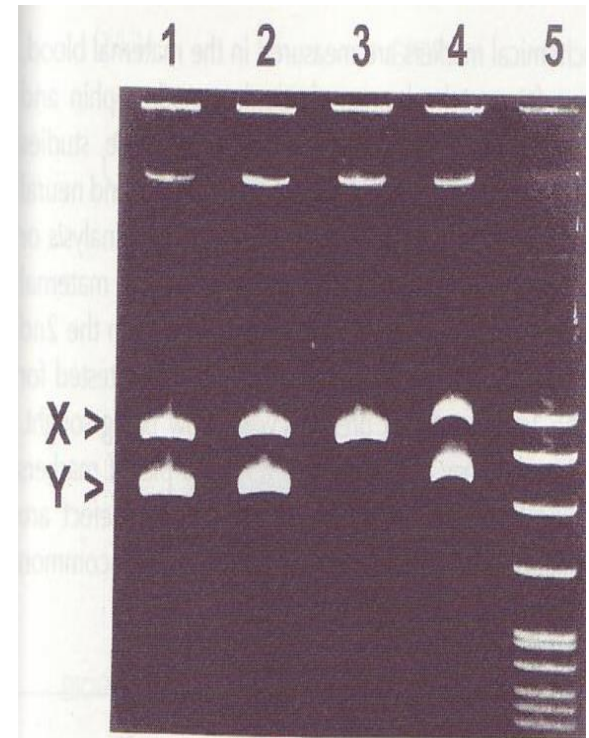
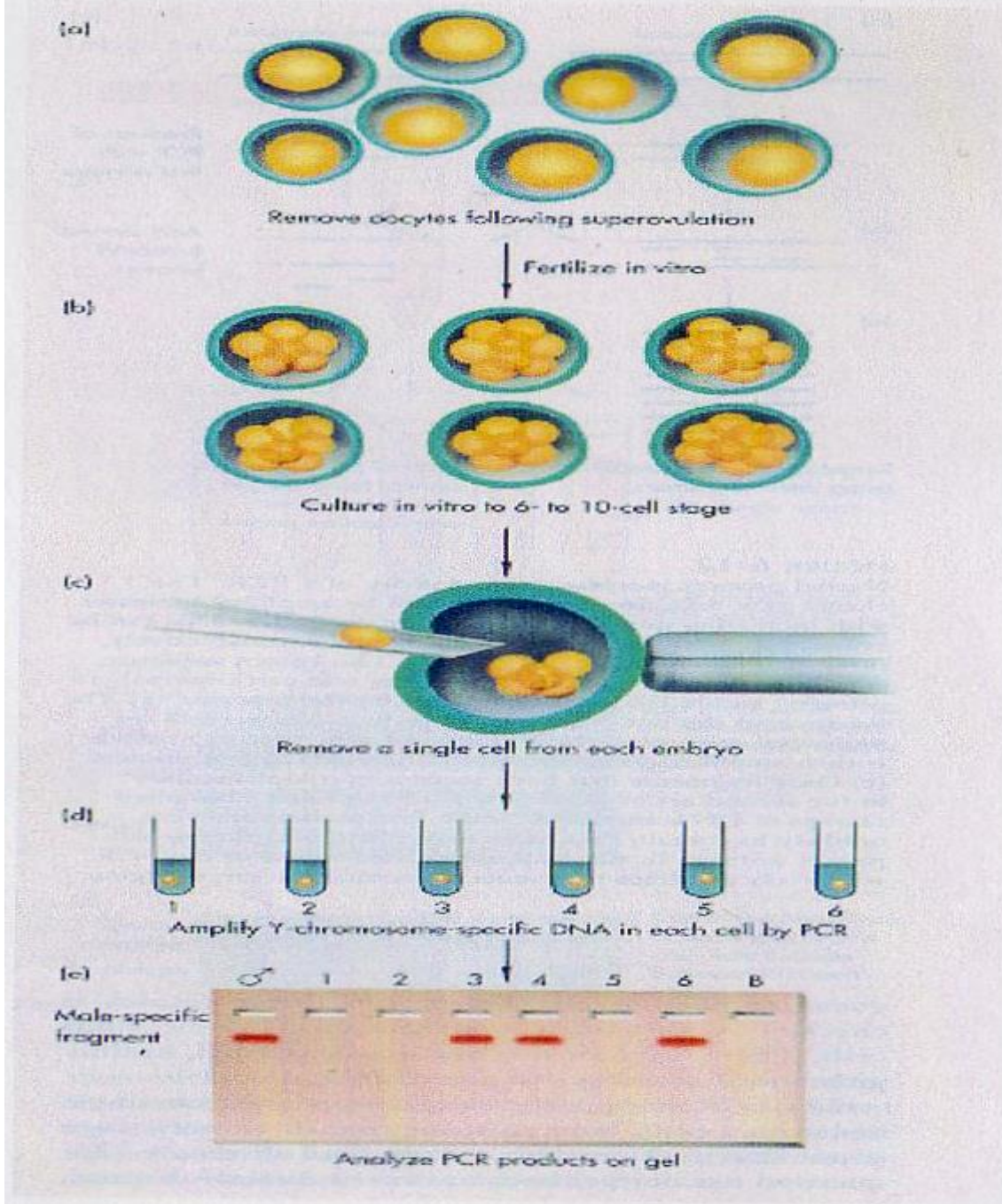
Drugi primeri uporabe genske tehnologije v medicini

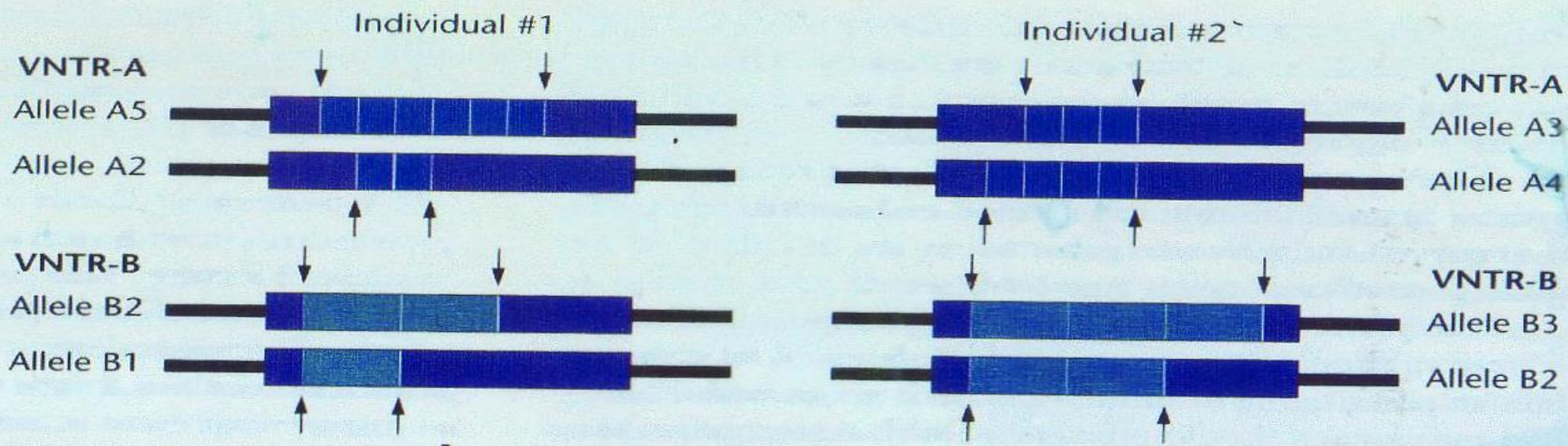
Neposredna diagnostika Duchennove mišične distrofije s pomnoževanjem (PCR) odsekov velikega distrofinskega gena. Bolezen povzročajo manjše ali večje delecije tega gena, kar z multipleksnim pristopom PCR lahko neposredno opazimo.



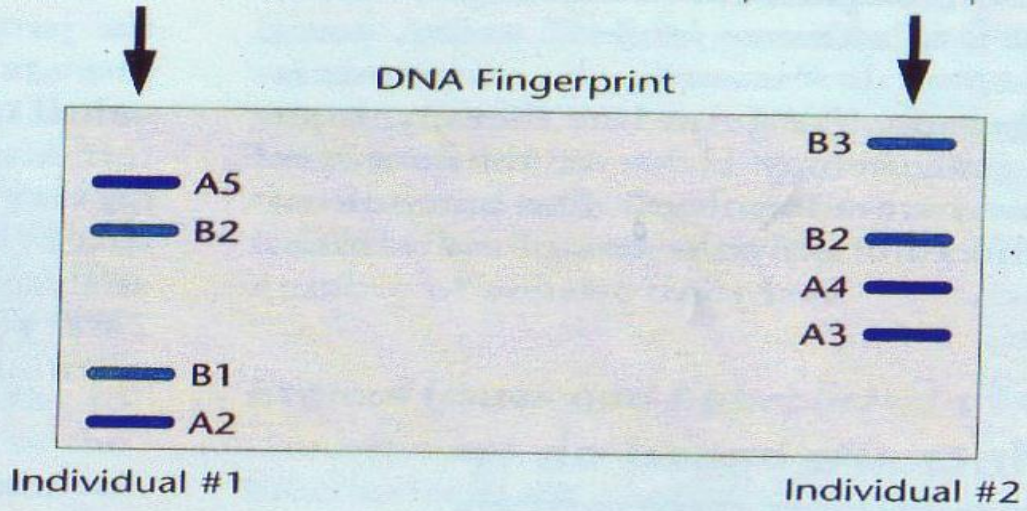
In vitro fertilization & Sex testing

Določevanje spola zarodka pri oploditvi z biomedicinsko pomočjo pride v poštev pri družinah s tveganjem za X-vezano bolezen.





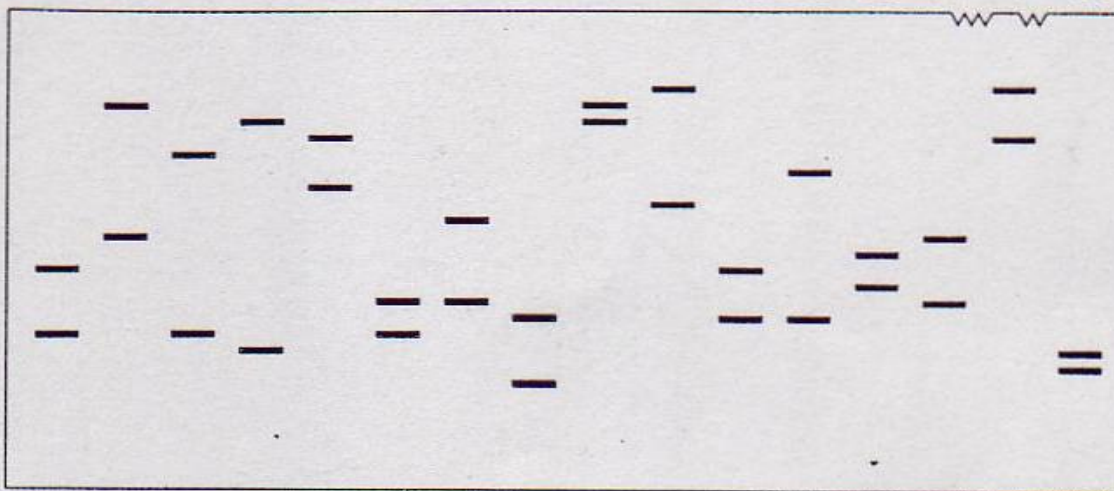
Variabilnost mikrosatelitov in tudi minisatelitov (na tej sliki) lahko uporabimo za genetsko razlikovanje med osebami.



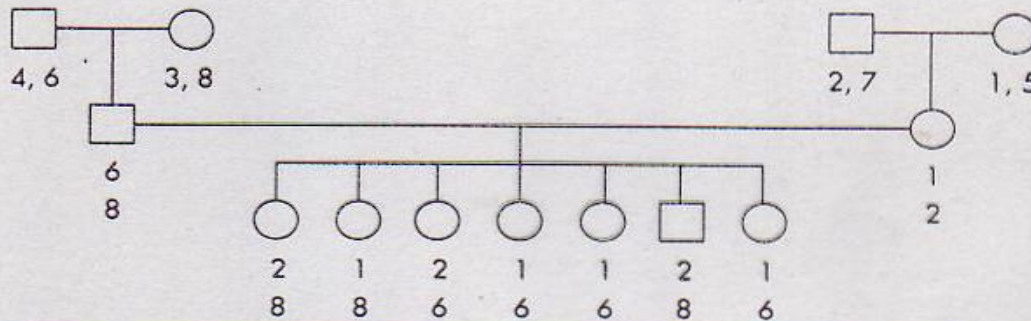
(a) Allele 1 12 2 5 3 4 14 9 14 2 1 12 6 11 10 1 17
 Allele 2 16 10 16 17 7 16 14 19 3 8 15 15 13 14 4 18

Number of repeats in each fragment

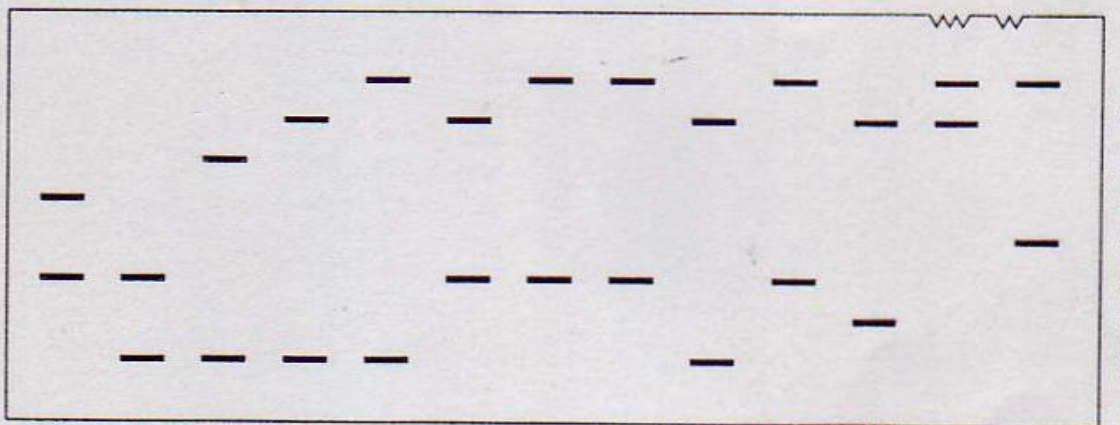
Interindividualna in alena variabilnost mikrosatelitskega označevalca.



(b)



Mikrosatelitski označevalec pri določanju sorodstvenih povezav.



1
2
3
4
5
6
7
8