

MAGDALENA KORYTKO, IZABELA ŁACZMAŃSKA

*Katedra i Zakład Genetyki  
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu  
Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław  
E-mail: pocztamagdy@op.pl  
izabela.laczmanska@umed.wroc.pl*

## SEKWENCJE MIKROSATELITARNE I ICH WYKORZYSTANIE W DIAGNOSTYCE MEDYCZNEJ

### WSTĘP

Genom jądrowy człowieka zbudowany jest z ponad trzech miliardów nukleotydów, a dwoje obcych ludzi różni się od siebie zaledwie 0,1% tego genomu, czyli około trzema milionami nukleotydów. Geny i sekwencje genopodobne (np. introny) stanowią około 40% ludzkiego genomu, a szacowana liczba genów (około 20 tysięcy), to zaledwie 2%. W rejonach sekwencji kodujących zmienność genetyczna jest ograniczona, ponieważ geny ulegające ekspresji poddawane są presji selekcyjnej w celu zachowania ich funkcji [wyjątek stanowi region chromosomowy, w którym zlokalizowane są antygeny zgodności tkankowej (ang. human leukocyte antigen, HLA)]. Pozostała część genomu człowieka (około 60%) składająca się z DNA międzygenowego zwykle nie podlega presji selekcyjnej, a zachodzące w niej zmiany są zazwyczaj zachowane i przekazywane następnemu pokoleniu (IHGSC 2001, VENTER i współaut. 2001, GONZAGA-JAUREGUI i współaut. 2012).

Około 18% DNA międzygenowego to sekwencje unikatowe lub występujące w genomie w jednej lub niewielu kopiach. Zdecydowaną jego większość, bo około 42%, stanowią sekwencje powtórzone umiarkowanie lub wielokrotnie. Występują one w genomie w wielu kopiach i charakteryzują się określoną długością, rodzajem oraz układem nukleotydów. Większość z nich nie koduje białek. Wśród sekwencji powtórzonych wyróżnić można (i) sekwencje rozproszone, w których elementy powtarzające się są oddzielone od

siebie innymi sekwencjami oraz (ii) sekwencje tandemowe, gdzie motywy powtarzające się są ułożone obok siebie (IHGSC 2001, VENTER i współaut. 2001, GONZAGA-JAUREGUI i współaut. 2012).

Sekwencje rozproszone powtarzające się (ang. interspersed repetitive sequences, IRS), stanowiące 32% ludzkiego genomu, można znaleźć w wielu miejscach w genomie. Najczęściej są to retrotranspozony, czyli fragmenty DNA, których transkrypty ulegają odwrotnej transkrypcji i w postaci DNA włączają się w genom w nowym miejscu. W zależności od długości sekwencje te dzielą się na dwie kategorie:

A. SINE (ang. short interspersed nuclear elements), sekwencje krótsze niż 500pz;

B. LINE (ang. long interspersed nuclear elements) sekwencje o długości 500pz i powyżej (BAERTSCH i współaut. 2008, GONZAGA-JAUREGUI i współaut. 2012).

Powtórzenia tandemowe, które stanowią w przybliżeniu 10% genomu, to zblokowane, seryjne powtórzenia krótkiej sekwencji nukleotydów. Na podstawie długości dzielą się na trzy typy (DUITAMA i współaut. 2014):

A. Sekwencje satelitarne: wysoce powtarzalne sekwencje DNA o długości od jednego do kilku tysięcy par zasad. Nazwa ich pochodzi od jednorodnej (satelitarnej) frakcji DNA obserwowanej podczas wirowania gradientowego. Najczęściej sekwencje te występują, jako długie zgrupowania w heterochromatynowych rejonach chromosomów,

w pobliżu centromerów i telomerów oraz na długim ramieniu chromosomu Y (CZARNY i współaut. 1995, ALTEMOSE i współaut. 2014).

B. Sekwencje minisatelitarne: krótsze sekwencje tandemowo powtórzone, znane również jako powtórzenia tandemowe o zmiennej liczbie powtórzeń (ang. variable number of tandem repeats, VNTR). Zbudowane są z elementów o długości 15-50pz. Całkowita długość powtórzeń ułożonych tandemowo wynosi od kilkuset par zasad do ponad 20 tysięcy. Duża zmienność między osobnikami pod względem całkowitej długości zestawów powtórzeń świadczy o tym, że miejsca (*loci*) minisatelitarne są wysoce polimorficzne. Zmienność ta jest rezultatem nieprawidłowego ułożenia się powtórzeń podczas parowania chromosomów i nierównego crossing-over, jak również „poślizgu” polimerazy DNA w trakcie replikacji. Powtórzenia minisatelitarne (VNTR) są rozproszone w całym genomie, ale widoczna jest tendencja do gromadzenia się ich w pobliżu końców chromosomów (JEFFREYS i współaut. 1985, CZARNY i współaut. 1995).

C. Sekwencje mikrosatelitarne: krótkie powtórzenia tandemowe inaczej zwane STR (ang. short tandem repeats); należą one do grupy powtórzeń tandemowych, różniących się liczbą występujących po sobie kilkunukleotydowych jednostek. Sekwencje mikrosatelitarne zawierają od 10 do 50 powtórzeń motywu o długości 2-12 pz, a ich długość całkowita wynosi 50-500 pz. Najpowszechniejsze sekwencje STR to powtórzenia dinukleotydowe, z czego połowę stanowią powtórzenia motywu „CA” lub powtórzenia mononukleotydowe. Międzyosobnicza zmienność STR jest związana z liczbą elementów powtórzonych zorganizowanych tandemowo. Zdarzają się także drobne różnice w sekwencji. Mikrosatelity mogą występować jako identyczne powtórzenia, np.  $(AGAT)_8$ , lub mogą być podzielone krótkimi kilkunukleotydowymi wstawkami zaburzającymi ciągłość powtarzającego się motywu, np.  $(AGC)_5TG-G(AGC)_7$ . Występują również mikrosatelity złożone jako szereg dwóch lub więcej typów motywów powtarzających się, np.  $(AT)_4(G-C)_7(AT)_5$ . Zdecydowaną większość sekwencji mikrosatelitarnych w genomie człowieka można zaliczyć do jednego z pięciu typów:  $(A)_n$ ,  $(AC)_n$ ,  $(AAN)_n$ ,  $(AAAN)_n$ ,  $(AG)_n$ , gdzie „N” oznacza dowolną zasadę inną niż adenina. Sekwencje mikrosatelitarne charakteryzują się wysokim polimorfizmem i występują równomiernie w genomie z częstością około 1 *locus* na 6-10 kpz, zarówno w genach, jak i między nimi. Źródłem zmienności w sekwencjach STR jest najprawdopodobniej „poślizg” polimerazy DNA podczas replika-

cji, prowadzący do wstawienia, albo rzadziej delekcji, przynajmniej jednej z powtórzonych jednostek oraz być może nierówny crossing-over (rekombinacja). Funkcja mikrosatelitów w DNA niekodującym, jeżeli w ogóle istnieje, jest nadal nieznana. Ze względu na to, że powstają one w wyniku błędu w procesie kopiowania genomu w czasie podziału komórki mogą być po prostu niechcianym skutkiem replikacji genomu (CZARNY i współaut. 1995, SUBRAMANIAN i współaut. 2003, ECKERT i HILE 2009, WILLEMS i współaut. 2014).

Trinukleotydowe sekwencje mikrosatelitarne, znajdujące się w obrębie genu lub w jego pobliżu, mimo niekodującego charakteru mogą mieć wpływ na fenotyp. Jeśli liczba powtórzonych jednostek przekracza pewną wartość, mogą one wywoływać choroby. W przypadku, gdy sekwencja o prawidłowej (choć zmiennej w pewnych granicach) długości ulegnie wydłużeniu (ekspansji) ponad wartość progową może mieć ona negatywny wpływ bezpośrednio na gen (ekspansja powtórzeń w sekwencji kodującej), powodując powstanie toksycznego białka. Jeśli sekwencja ulegająca namnożeniu zlokalizowana jest w regionie 5' nieulegającym translacji (5'UTR) może osłabić lub zahamować transkrypcję. Ekspansja powtórzeń w regionie 3'UTR może zaś prowadzić do powstania nieprawidłowego mRNA, wchodzącego w interakcje z białkami jądrowymi i zaburzającego składanie eksonów. Ekspansje trinukleotydów zaliczane są do mutacji dynamicznych, powodujących genetyczne choroby neurodegeneracyjne i neuromięśniowe takie jak np. zespół krucho X i płasawica Huntingtona (KOZŁOWSKI i współaut. 2010, ALMEIDA i współaut. 2013, SAWAYA i współaut. 2013).

## WYKORZYSTANIE STR W MEDYCYNIE

Sekwencje STR są coraz szerzej wykorzystywane w diagnostyce molekularnej jako ważne narzędzie diagnostyczne. Powodem tego jest duża i równomierna częstość ich występowania w genomie, wysoki polimorfizm oraz małe rozmiary alleli STR, zwykle 100-300pz (BUTLER 2005).

W związku z dużą częstością występowania w genomie sekwencji dwunukleotydowych  $(CA)_n$  są one najczęściej wykorzystywane jako markery genetyczne. Jednakże w analizach molekularnych szerzej stosowane są sekwencje tri- i tetranukleotydowe, które posiadają w porównaniu do sekwencji dinukleotydowych dwie ważne zalety: większą różnicę w rozdziale elektroforetycznym, a zatem łatwiejszą identyfikację poszczególnych alleli, oraz mniejsze prawdopodobieństwo powstawania artefaktów wywołanych błędami

podczas replikacji. Ich przydatność ograniczona jest jednak z powodu mniejszej częstości występowania w genomie (CZARNY i współaut. 1995).

Obecność sekwencji mikrosatelitarnych w bezpośredniej bliskości sekwencji kodujących, w intronach oraz regionach, które nie ulegają translacji, umożliwia ich wykorzystanie do lokalizacji znanych genów na mapie genetycznej. Dzięki zastosowaniu markerów STR można oszacować ryzyko wystąpienia takich chorób jak niektóre dziedziczne formy cukrzycy, dystrofia mięśniowa, pewne dziedziczne formy nowotworów i wiele innych (ALTSZULER i współaut. 2008). Ważnym zastosowaniem markerów mikrosatelitarnych jest ich wykorzystanie w sporządzaniu map genetycznych o dużej rozdzielczości (służących do mapowania genów w diagnostyce wielu chorób dziedzicznych) oraz w analizie sprzężeń. Precyzyjne mapy genetyczne (mapy sprzężeń) zawierają dużą liczbę markerów równomiernie pokrywających chromosomy. Mają one za zadanie ułatwić poszukiwanie określonych genów. W 1992 r. francuscy naukowcy opracowali mapę sprzężeń genetycznych wykorzystując wyłącznie markery mikrosatelitarne o motywie powtarzającym się  $(CA)_n$ . Był to przełom w programie zmapowania genomu człowieka. W 1994 r., w ramach Projektu Poznania Genomu Człowieka, opublikowano mapę wszystkich ludzkich chromosomów o dużej rozdzielczości. Do konstrukcji tej mapy użyto między innymi markerów STR: powtórzeń  $(CA)_n$ , jak również tri- i tetranukleotydowych sekwencji powtórzonych. W oparciu o takie mapy opracowano gotowe zestawy do mapowania genetycznego. Umożliwiają one odnalezienie wielu nieznanymi wcześniej genów odpowiedzialnych za choroby jednogenowe, ale również biorących udział w powstawaniu chorób wielogenowych (EDWARDS i współaut. 1991, OLSON 1993, THE UTAH MARKER DEVELOPMENT GROUP 1995, PAYSEUR i NACHMAN 2000).

Analiza sprzężeń poprzez określanie markerów genetycznych współdziedziczających się z genem odpowiedzialnym za chorobę genetyczną pozwala zlokalizować ten gen w danym obszarze chromosomu. Badanie odpowiednich, polimorficznych markerów leżących w pobliżu genu odpowiedzialnego za określone zaburzenie daje możliwość śledzenia przekazywania zmutowanego allelu w kolejnych pokoleniach nawet, jeśli podłoże molekularne choroby jest nieznanne (tzw. diagnostyka pośrednia). Analiza próbek DNA, pobranych zarówno od chorych, jak i zdrowych członków rodziny umożliwia oszacowanie częstości, z jaką segregują się specyficzne markery z allelem chorobowym. Częstość ta jest miarą odległości badanego markera od miejsca

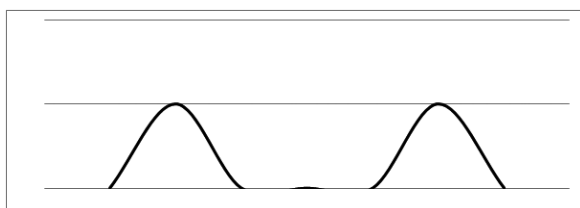
(locus) z mutacją. Metodą tą można szybko i jednoznacznie zidentyfikować nosicieli zmutowanego genu, np. w rodzinie z rodzinną polipowatością jelita grubego (KELEHER 1993, PAYSEUR i współaut. 2008, PLAWSKI i współaut. 2013).

Aby marker był przydatny do mapowania genów powinien być polimorficzny i często występować w genomie. Powinien być również silnie sprzężony z badanym genem, czyli wspólnie z nim przenoszony, mimo zachodzącego podczas mejozy crossing-over. Wszystkie te kryteria spełniają markery STR, dodatkowo są łatwe do badania techniką PCR. Mapy genetyczne oraz metodę analizy sprzężeń genetycznych wykorzystano do lokalizacji wielu genów m.in. *BRCA1* i *BRCA2* (ang. breast cancer 1, 2), odpowiedzialnych za większość przypadków dziedzicznych nowotworów sutka (ALBERTSEN i współaut. 1994, BROWN 2012).

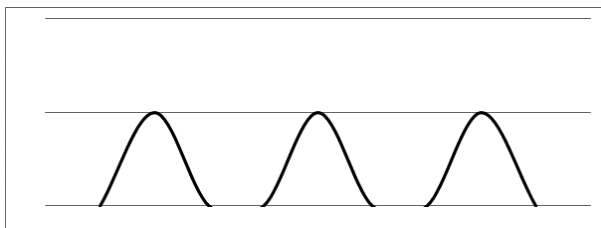
Zmienność w regionach STR znajduje zastosowanie przy odróżnianiu profili DNA. Przy istniejących setkach rodzajów STR, im więcej STR zostanie przeanalizowanych, tym mniejsza jest szansa, że DNA dwóch różnych osobników wykaże identyczny lub bardzo podobny profil (taki sam zestaw tych sekwencji STR) (BUTLER 2006, 2012). Najszybszym sposobem oznaczania długości STR jest reakcja PCR (ang. Polymerase Chain Reaction, reakcja łańcuchowa polimerazy). Do reakcji wykorzystuje się znakowane fluorescencyjnie startery oligonukleotydowe, a różne fragmenty DNA z sekwencjami STR namnażane są jednocześnie w jednej probówce (PCR multiplexowy), co umożliwia skrócenie czasu badania, obniżenie kosztów i uproszczenie procedury. Rozdział elektroforetyczny produktów PCR odbywa się za pomocą elektroforezy kapilarnej i pozwala na precyzyjne rozdzielenie i detekcję fragmentów DNA różniących się nawet o 1 parę nukleotydów (BUTLER 2005, MADJUNKOVA i współaut. 2012).

Dla każdego z badanych miejsc w genomie stosuje się kilka różnych markerów STR, ponieważ niektóre z nich mogą być nieinformatywne ze względu na posiadanie takiej samej liczby powtórzeń tandemowych w danym locus na obu chromosomach (homozygotyczność) (DEVYSER AB 2013).

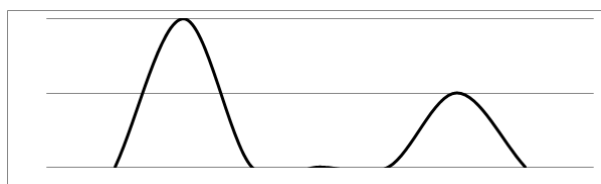
Interpretacja danych i oznaczanie alleli jest w dużej mierze oparte na analizie komputerowej. W wyniku takiej analizy tworzony jest wykres, tzw. elektroforogram, zawierający różnokolorowe sygnały, tzw. piki. Każdy z takich pików sygnalizuje obecność określonego fragmentu DNA o danej długości, a jego kolor wynika z długości światła emitowanego przez barwnik fluorescencyjny związany z jednym z pary starterów, które posłużyły do uzyskania tego fragmentu w re-



Rys. 1. Poziom fluorescencji markerów mikrosatelitarnych dla disomii. Marker heterozygotyczny (dwa piki w stosunku 1:1).



Ryc. 2. Poziom fluorescencji markerów mikrosatelitarnych dla trisomii. Marker trisomiczny (trzy piki w stosunku 1:1:1).



Ryc. 3. Poziom fluorescencji markerów mikrosatelitarnych dla trisomii. Marker trisomiczny (dwa piki w stosunku 2:1).

akcji PCR. Położenie każdego z pików określone jest przez współrzędną na osi x odpowiadającą długości danego fragmentu DNA. Współrzędna na osi y określa intensywność fluorescencji. Analizując wielkość fragmentów (liczbę powtórzeń) można określić pochodzenie danego chromosomu (porównując profil badanej osoby z profilem jej rodziców lub innych krewnych, a także ze spornym profilem uzyskanym z innego źródła) (BUTLER 2005, DEVYSER AB 2013).

Obecnie analiza STR jest szeroko stosowaną procedurą genotypowania w medycynie sądowej, najczęściej w badaniach identyfikacyjnych oraz w dochodzeniu spornego ojcostwa (ROEWER 2013).

Innym zastosowaniem STR jest analiza nie tylko liczby, ale i intensywności sygnałów, co pozwala na określenie liczby każdego z analizowanych chromosomów (OGILVIE i współaut. 2005).

W diagnostyce genetycznej sekwencje STR wykorzystywane są np. w metodzie umożliwiającej szybką (nawet do 24h) iden-

tyfikację nieprawidłowej liczby chromosomów (aneuploidii chromosomowych). Dostępne na rynku zestawy diagnostyczne pozwalają przy użyciu QF-PCR (ang. Quantitative Fluorescent-PCR, ilościowa, fluorescencyjna-PCR) na wykrycie aneuploidii chromosomów: 13, 18, 21, X i Y w badaniach prenatalnych oraz dodatkowo chromosomów 15, 16 i 22 w badaniu materiału po poronieniu (BOCIAN i współaut. 2011, MADJUNKOVA i współaut. 2012).

Genetyczne markery STR mogą różnić się wielkością pomiędzy chromosomami i probantami, zależnie od liczby powtórzeń obecnych w każdym allelu. DNA amplifikowane od zdrowych probantów, którzy są heterozygotami dla specyficznego markera STR powinno wykazać dwa sygnały różnej długości, odpowiadające dwóm allelom z podobnymi wysokościami piku, natomiast dla homozygot, gdzie pacjent ma dwa allele tej samej długości obserwuje się jeden pik (Ryc. 1). Obecność dodatkowej kopii chromosomu (trisomii) związane jest z obecnością trzech pików (Ryc. 2) o podobnej wielkości albo tylko dwóch pików (Ryc. 3), z których jeden będzie miał wielkość około dwa razy większą niż drugi. Stosunki liczbowe wysokości pików oraz zakresy ich normy są określone matematycznie dla każdej metody diagnostycznej. W przypadku monosomii (braku jednego chromosomu z pary) wszystkie markery STR występują w jednej kopii (OGILVIE i współaut. 2005, DEVYSER AB 2013).

Z powodu losowego występowania homozygotyczności STR do badania jednego chromosomu wykorzystuje się kilka (zwykle 5-6) różnych zlokalizowanych w jego obrębie sekwencji STR. Wynik może zostać uznany za informatywny, jeśli trisomia/monosomia dotyczy co najmniej dwóch z badanych markerów, przy nieinformatywnych pozostałych markerach dla danego chromosomu (OGILVIE i współaut. 2005, DEVYSER AB 2013).

## PODSUMOWANIE

Za wyjątkiem bliźniąt monozygotycznych identycznych genetycznie, istnienie dwóch osób, które miałyby dokładnie taką samą kombinację alleli mikrosatelitarnych jest wysoce nieprawdopodobne. Analiza dużej liczby sekwencji mikrosatelitarnych pozwala ustalić unikatowy profil genetyczny dla każdego człowieka. Ustalenie profili DNA jest znanym narzędziem w dochodzeniach sądowych, natomiast w diagnostyce genetycznej umożliwia konstruowanie map genetycznych i określenie ryzyka wystąpienia choroby w rodzinie czy też nosicielstwa patologicznego genu. Mikrosatelity pozwalają także na określanie liczby krytycznych dla pacjenta fragmentów DNA, co ma zastosowanie w diagnostyce

aberracji liczbowych wybranych chromosomów w diagnostyce prenatalnej.

#### Streszczenie

Sekuencje mikrosatelitarne są to proste, tandemowe powtórzenia, zbudowane z jednego do sześciu nukleotydów, przy czym najczęściej identyfikowane mikrosatelity to sekuencje o dwunukleotydowym motywie powtórzeń (CA)<sub>n</sub>. Mikrosatelity występują w sekuencjach kodujących i w niekodujących fragmentach genów, jak i w obszarach pozagenowych i dziedziczone są zgodnie z prawami Mendla. W genomie człowieka sekuencje te pojawiają się średnio co sześć tysięcy par zasad. Ich duża zmienność polega na różnej liczbie powtórzeń motywu podstawowego w określonym miejscu (*locus*). Ze względu na wysoki stopień polimorfizmu, równomierne i częste rozmieszczenie w genomie są one doskonałymi markerami genetycznymi. Wykorzystywane są w konstruowaniu map genetycznych, kryminalistyce oraz analizie pokrewieństwa między osobnikami. W diagnostyce genetycznej polimorfizm sekuencji mikrosatelitarnych jest wykorzystywany głównie w tzw. diagnostyce pośredniej, w której analizuje się markery sprzężone z genem odpowiedzialnym za określoną jednostkę chorobową. Mikrosatelitarny DNA znalazł również zastosowanie w cytogenetyce molekularnej umożliwiając szybką diagnostykę najczęstszych aneuploidii w badaniach prenatalnych.

#### LITERATURA

- ALBERTSEN H., PLAETKE R., BALLARD L., FUJIMOTO E., CONNOLLY J., LAWRENCE E., RODRIGUEZ P., ROBERTSON M., BEADLEY P., MILNER B., FURMAN D., MARKS A., SARGENT R., CARTWRIGHT P., MATSUNAMI N., WHITE R., 1994. *Genetic mapping of the BRCA1 region on chromosome 17q21*. Am. J. Hum. Genet. 54, 516-525.
- ALMEIDA B., FERNANDES S., ABREU I. A., MACEDO-RIBEIRO S., 2013. *Trinucleotide repeats: a structural perspective*. Front Neurol. 4, 76.
- ALTEMOSE N., MIGA K. H., MAGGIORI M., WILLARD H. F., 2014. *Genomic characterization of large heterochromatic gaps in the human genome assembly*. PLoS Comput. Biol. 10, e1003628.
- ALTSHULER D., DALY M. J., LANDER E. S., 2008. *Genetic mapping in human disease*. Science 322, 881-888.
- BAERTSCH R., DIEKHANS M., KENT W. J., HAUSSLER D., BROSIUS J., 2008. *Retrocopy contributions to the evolution of the human genome*. BMC Genom. 9, 466.
- BOCIAN E., KASPRZYCKA J., JAKUBÓW-DURSKA K., ŁUSZCZEK A., BERNACIAK J., 2011. *Przydatność metody MLPA do szybkiej prenatalnej identyfikacji aneuploidii. Wyniki 409 badań diagnostycznych*. Ginekol. Pol. 82, 680-684.
- BROWN T. A., 2012. *Mapowanie genomów*. [W:] *Genomy*. KRUCZYŃSKA K., ZIENKIEWICZ I. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 63-101.
- BUTLER J., 2005. *A primer on DNA profiling using STR markers*. [cstl.nist.gov/biotech/strbase](http://cstl.nist.gov/biotech/strbase). www.
- BUTLER J. M., 2006. *genetics and genomics of core short tandem repeat loci used in human identity testing*. J. Foren. Sci. 51, 253-265.
- BUTLER J. M., 2012. *Biology and genetics of new autosomal STR loci useful for forensic DNA analysis*. Foren. Sci. Rev. 24, 15.
- CZARNY M., KWIATKOWSKA J., SŁOMSKA M., SIEMIENIAKO B., SŁOMSKI R., 1995. *Możliwości badawcze polimorficznych loci DNA człowieka i ich wykorzystanie w badaniach medyczno-sądowych*. Arch. Med. Sąd. Krym. 45, 257-267.
- DEVYSER AB, 2013. *Guide to QF-PCR data analysis and results interpretation*. [www.devysers.com](http://www.devysers.com).
- DUITAMA J., ZABLOTSKAYA A., GEMAYEL R., JANSEN A., BELET S., VERMEESCH J. R., VERSTREPEN K. J., FROYEN G., 2014. *Large-scale analysis of tandem repeat variability in the human genome*. Nucl. Acids Res. 42, 5728-5741.
- ECKERT K. A., HILE S. E., 2009. *Every microsatellite is different: intrinsic DNA features dictate mutagenesis of common microsatellites present in the human genome*. Mol. Carcinog. 48, 379-388.
- EDWARDS A., CIVITELLO A., HAMMOND H. A., CASKEY C. T., 1991. *DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats*. Am. J. Hum. Genet. 49, 746-756.
- GONZAGA-JAUREGUI C., LUPSKI J. R., GIBBS R. A., 2012. *Human genome sequencing in health and disease*. Ann. Rev. Med. 63, 35-61.
- IHGSC (INTERNATIONAL HUMAN GENOME SEQUENCING CONSORTIUM), 2001. *Initial sequencing and analysis of the human genome*. Nature 409, 860-921.
- JEFFREYS A. J., WILSON V., THEIN S.W., 1985. *Hypervariable "minisatellite" region in human DNA*. Nature 314, 67-73.
- KELEHER C., 1993. *Translating the genetic library: the goals, methods and applications of the human genome project*. Bull. Med. Libr. Assoc. 81, 274-277.
- KOZŁOWSKI P., SOB CZAK K., KRZYŹOSIAK W. J., 2010. *Trinucleotide repeats: triggers for genomic disorders?* Genome Med. 2, 29.
- MADJUNKOVA S., SUKAROVA-STEFANOVSKA E., KOČHEVA S., MALEVA I., NOVESKI P., KIPRIJANOVSKA S., STANKOVA K., DIMCEV P., MADJUNKOV M., PLASESKA-KARANFILSKA D., 2012. *Rapid and non invasive prenatal diagnosis*. Balkan J. Med. Genet. 15, 39-43.
- OGLIVIE C. M., DONAGHUE C., FOX S. P., DOCHERTY Z., MANN K., 2005. *Rapid prenatal diagnosis of aneuploidy using quantitative fluorescence-PCR (QF-PCR)*. J. Histochem. Cytochem. 53, 285-288.
- OLSON M. V., 1993. *The human genome project*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 4338-4344.
- PAYSEUR B. A., NACHMAN M. W., 2000. *Microsatellite variation and recombination rate in the human genome*. Genetics 156, 1285-1298.
- PAYSEUR B. A., PLACE M., WEBER J. L., 2008. *Linkage disequilibrium between STRPs and SNPs across the human genome*. Am. J. Hum. Genet. 82, 1039-1050.
- PLAWSKI A., BANASIEWICZ T., BORUN P., KUBASZEWSKI L., KROKOWICZ P., SKRZYPCZAK-ZIELINSKA M., LUBINSKI J., 2013. *Familial adenomatous polyposis of the colon*. Hered. Cancer Clin. Pract. 11, 15.
- ROEWER L., 2013. *DNA fingerprinting in forensics: past, present future*. Investig. Genet. 4, 22.
- SAWAYA S., BAGSHAW A., BUSCHIAZZO E., KUMAR P., CHOWDHURY S., BLACK M. A., GEMMELL N., 2013. *Microsatellite tandem repeats are abundant in human promoters and are associated with regulatory elements*. PLoS One. 8, e54710.
- SUBRAMANIAN S., MADGULA V. M., GEORGE R., KUMAR S., PANDIT M. W., SING L., 2003. *SSRD: simple sequence repeats database of human genome*. Comp. Funct. Genom. 4, 342-345.
- THE UTAH MARKER DEVELOPMENT GROUP, 1995. *A Collection of ordered tetranucleotide-repeat*

- markers from the human genome. *Am. J. Hum. Genet.* 57, 619-628.
- VENTER J. C., ADAMS M. D., MYERS E. W. i współaut., 2001. *The sequence of the human genome.* *Science* 291, 1304-1351.
- WILLEMS T., GYMREK M., HIGHNAM G., THE 1000 GENOMES PROJECT CONSORTIUM, MITTELMAN D., ERLICH Y., 2014. *The landscape of human STR variation.* *Genome Res.* 24, 1894-1904.

**KOSMOS Vol. 65, 1, 11–16, 2016**

MICROSATELLITES AND THEIR APPLICATION IN DIAGNOSTICS

MAGDALENA KORYTKO, IZABELA ŁACZMAŃSKA

*Genetics Department, Wrocław Medical University, Marcinkowskiego 1, 50-368 Wrocław,  
e-mail: pocztaomagdy@op.pl, izabela.laczmanska@umed.wroc.pl*

Summary

Microsatellite sequences or Short Tandem Repeats (STR) are simple, tandem (consecutive) repeats consisting of two to six nucleotides. Most often identified microsatellites are sequences with two-nucleotide repetition motif (CAn). Microsatellites occur in coding sequences, within non-coding gene fragments, as well as in outside gene areas, and are inherited according to Mendel's laws. In human genome these sequences occur at a frequency of one per six thousand base pairs. Their vast diversity consists of a various number of base motif repetitions in a given locus. Because of their high degree of polymorphism, regular and frequent occurrence in the genome, they make excellent genetic markers. They are used in the construction of genetic maps, forensics and in the analysis of relations between individuals. In molecular diagnostics the STR polymorphism is applied mainly in the so-called indirect diagnostics where STR markers connected with the gene responsible for a given disease are analyzed. Microsatellite DNA is also used in molecular cytogenetics making a rapid diagnosis of the most common aneuploidies in prenatal testing possible.