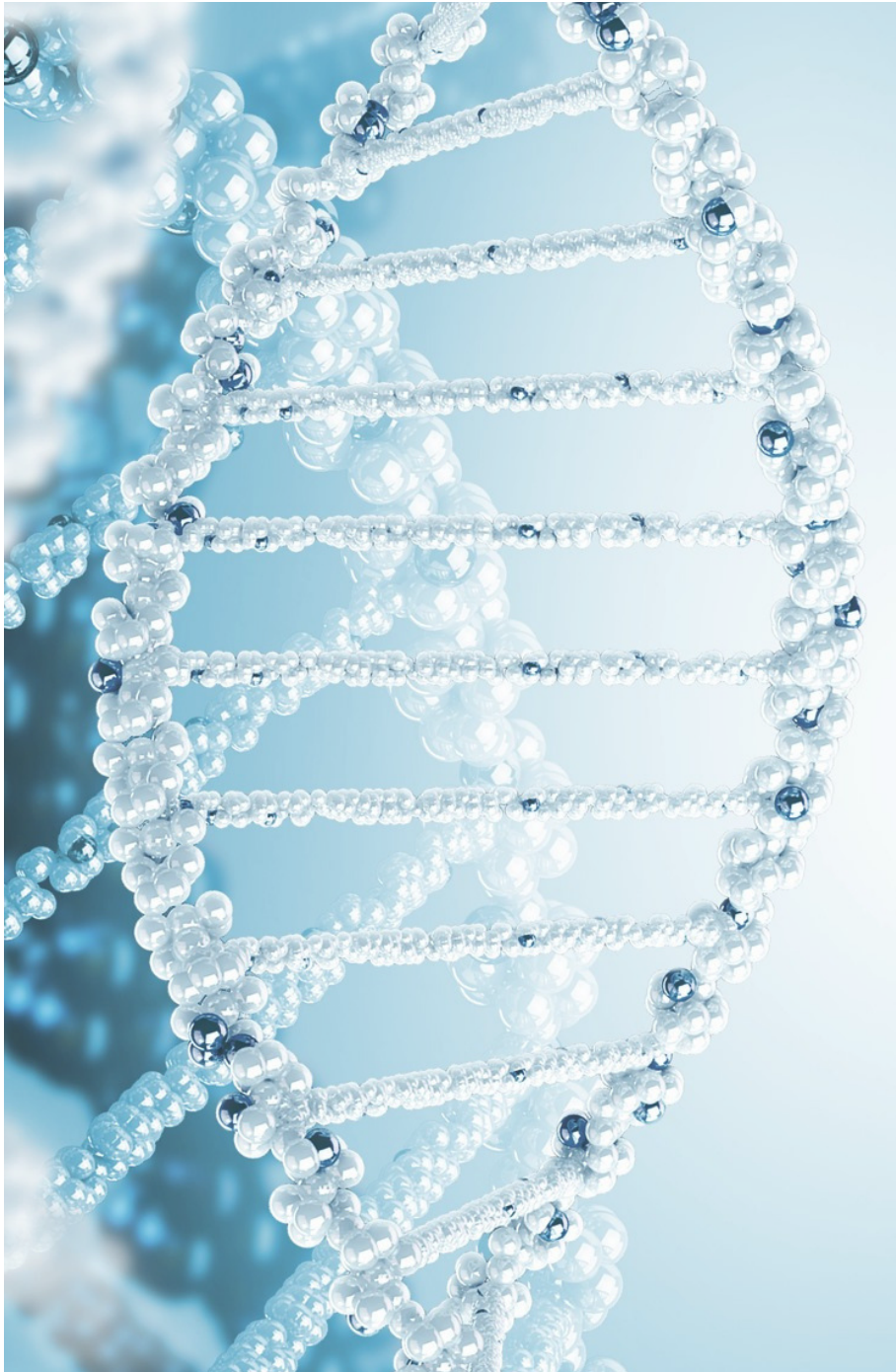


A newborn baby wearing a white hat and holding a brown stuffed animal. The baby is lying on a white, textured surface. The text is overlaid on the left side of the image.

МОЛЕКУЛЯРНО- ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД

Вороная Ю.М 1мед 1группа



МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

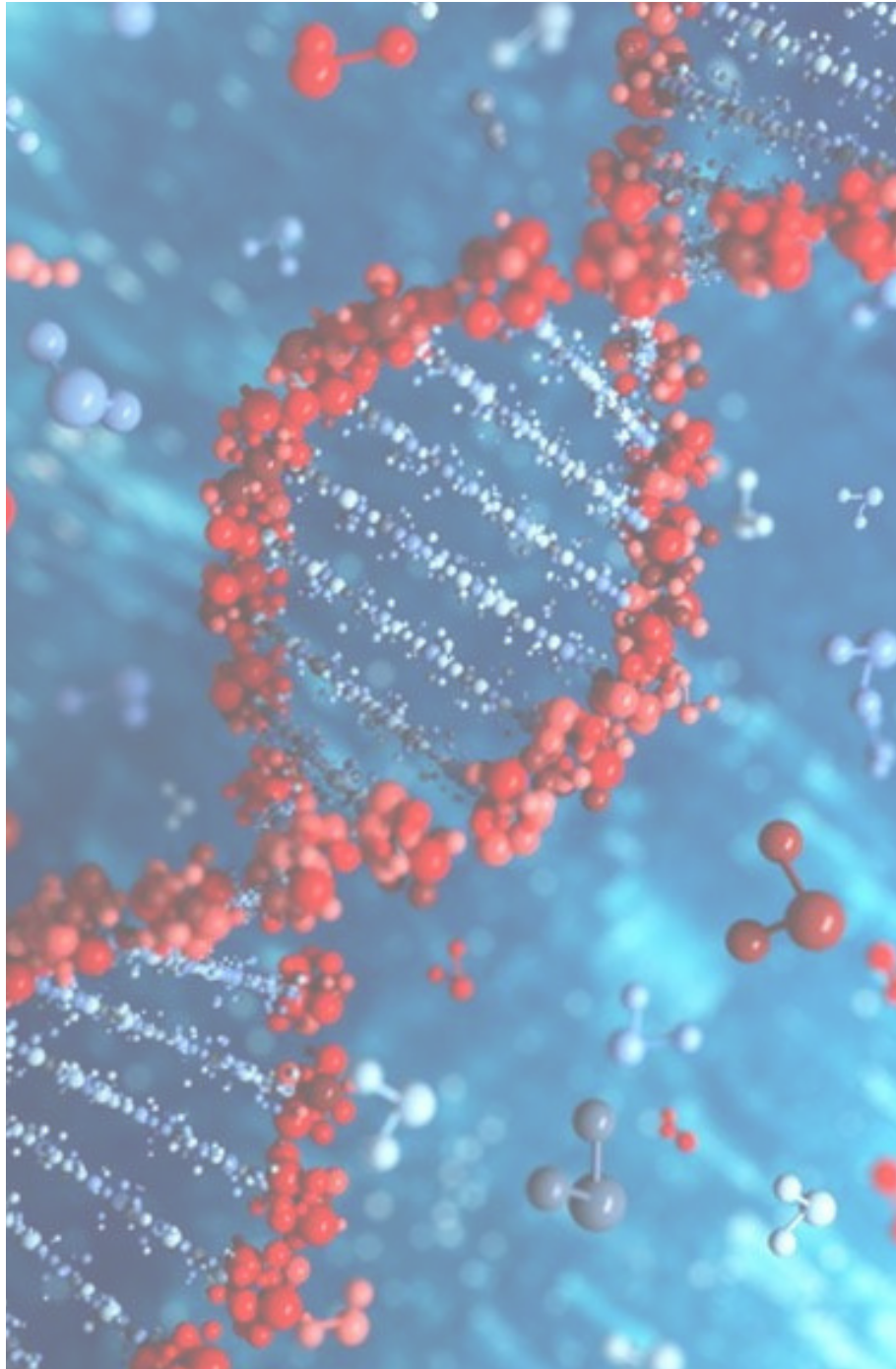
Большая и разнообразная группа методов, предназначенная для выявления вариаций (повреждений) в структуре участка ДНК (аллеля, гена, региона хромосомы) вплоть до расшифровки первичной последовательности оснований. В основе этих методов лежат генно-инженерные манипуляции с ДНК и РНК.

ПРЕИМУЩЕСТВА МЕТОДА

Исходным этапом всех молекулярно-генетических методов является получение образцов ДНК. Источником геномной ДНК могут быть любые ядродержащие клетки. На практике чаще используют лейкоциты, хорион, амниотические клетки, культуры фибробластов.

Возможность проведения молекулярно-генетического анализа с небольшим количеством легкодоступного биологического материала является методическим преимуществом методов данной группы.

Выделенная ДНК одинаково пригодна для проведения различных исследований и может долго сохраняться в замороженном виде. Во многих случаях для успешной диагностики болезни достаточно исследовать небольшой фрагмент генома. Выделение таких фрагментов стало возможным благодаря открытию ферментов — рестриктаз, которые разрезают молекулу ДНК на фрагменты в строго определенных местах.



КЛАССИФИКАЦИЯ

1. Прямая ДНК-диагностика моногенных наследственных болезней – предметом анализа являются мутации гена.
2. Косвенная – применяется в тех случаях, когда нуклеотидная последовательность гена еще не известна, но имеется представление о положении гена на генетической карте и сводится к анализу полиморфных генетических маркеров у больных и здоровых членов семьи

В ДНК-диагностике в настоящее время используются разнообразные прямые методы. Наиболее просто обнаруживаются мутации, изменяющие длину амплифицированных фрагментов ДНК, которые выявляются при электрофоретическом анализе. Для выявления точковых мутаций, небольших делеций и инверсий в исследуемых генах используют методы, при помощи которых можно проанализировать уникальную последовательность ДНК. Примером может служить метод секвенирования — определение нуклеотидной последовательности ДНК. Любые типы мутаций могут быть обнаружены путем прямого секвенирования мутантной ДНК. Для некоторых генов, имеющих небольшие размеры, этот метод с успехом применяется как основной метод сканирования мутаций. Главное преимущество прямых методов диагностики — почти 100 % эффективность.

Косвенная ДНК–диагностика сводится к анализу полиморфных генетических маркеров у больных и здоровых членов семьи. Маркеры должны быть расположены в том хромосомном регионе, где и ген болезни. Такими маркерами могут быть участки ДНК, существующие в популяции в нескольких аллельных вариантах. Отличия могут быть по составу нуклеотидов, по числу динуклеотидных повторов. На основе вариабельности маркерных участков ДНК можно дифференцировать материнское или отцовское происхождение конкретного варианта маркера, сцепленного с геном болезни. Благодаря анализу полиморфных генетических маркеров можно определить и проследить в поколениях хромосому, несущую патологический ген. Технические приемы в косвенной диагностике те же, что и в прямой диагностике (получение ДНК, электрофорез и другие). Главный недостаток косвенных методов диагностики — обязательное предварительное изучение генотипа как минимум одного пораженного родственника.

ЧТО ПОЗВОЛЯЮТ
ВЫЯВИТЬ МЕТОДЫ
МОЛЕКУЛЯРНОЙ
ГЕНЕТИКИ?



СЕРПОВИДНО- КЛЕТОЧНАЯ АНЕМИЯ


С помощью данного метода возможно идентифицировать мутации в гене.

Примером выявления мутантного гена является диагностика серповидно-клеточной анемии в эмбриональном периоде. Фрагменты ДНК, полученные при действии рестриктаз у здорового и больного, сравниваются с помощью метода гибридизации по Саузерну, при этом в качестве зонда используется радиоактивно меченая ДНК гена Р-глобина

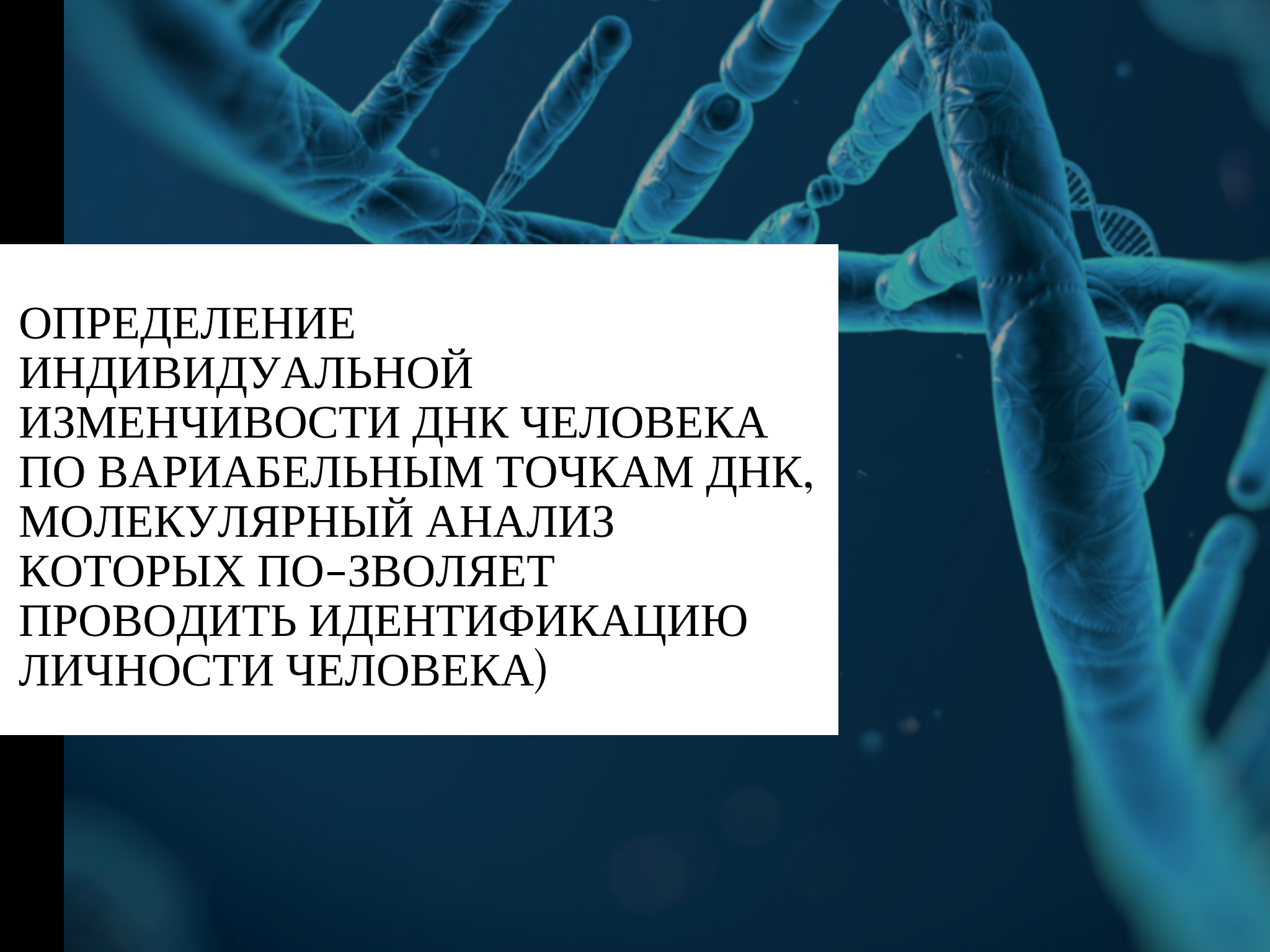
РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА

- Диагностика моногенного наследственного заболевания путем определения нуклеотидной последовательности генов (гемофилия, гемоглобинопатия) и выявления мутантных генов (фенилкетонурия, муковисцидоз)



A newborn baby is being held in a person's hands. The baby is wearing a light blue knit hat and is wrapped in a white blanket. The person holding the baby is wearing a light-colored, textured sweater. The background is a soft, out-of-focus grey. A white rectangular text box is overlaid on the left side of the image.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО
АНАЛИЗА
ПОЛИМОРФИЗМА
ДНК РОДИТЕЛЕЙ И
ДЕТЕЙ;



ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ИНДИВИДУАЛЬНОЙ
ИЗМЕНЧИВОСТИ ДНК ЧЕЛОВЕКА
ПО ВАРИАБЕЛЬНЫМ ТОЧКАМ ДНК,
МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ
КОТОРЫХ ПО-ЗВОЛЯЕТ
ПРОВОДИТЬ ИДЕНТИФИКАЦИЮ
ЛИЧНОСТИ ЧЕЛОВЕКА)



ВЫДЕЛЕНИЕ И СИНТЕЗ ГЕНОВ

Выделение, синтез и клонирование генов является одним из этапов генной инженерии:

а) Выделение генов: получение определенных фрагментов ДНК с помощью рестриктаз

б) Синтез генов:

1) Химический синтез — синтез определенных последовательностей нуклеотидов, соответствующих данному гену

2) Ферментативный синтез — с помощью фермента обратной транскриптазы (ревертазы) на матрице мРНК синтезируют комплементарную ДНК.



THANK YOU
FOR YOUR
ATTENTION.