

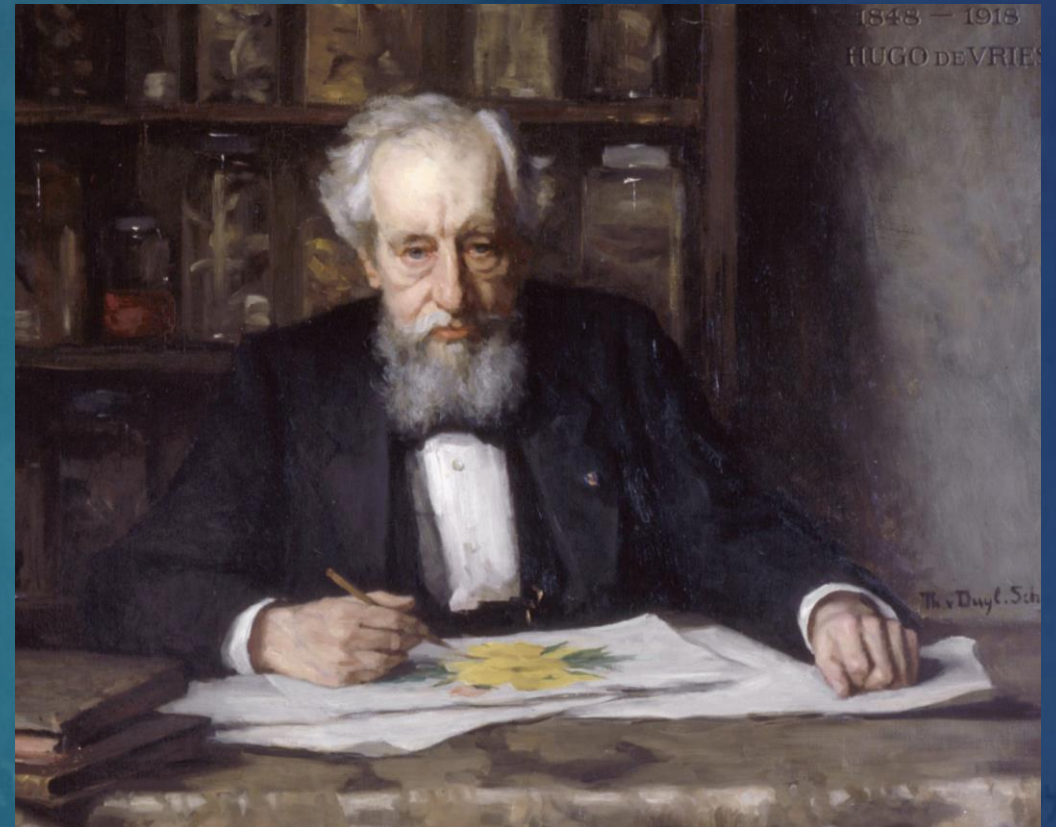
# Молекулярно-генетичні методи (ДНК-діагностика) – визначення та застосування в медицині

СТУДЕНТКА МЦ.М-004 БОРЩЕНКО В. Я.

НАУКОВИЙ КЕРІВНИК: ДОЦ. ОБУХОВА О. А.

Результатом будь-якого генетичного захворювання є мутація. Мутація – це стійка зміна геному. Нині відомо понад 1400 генів, які спричиняють хворобу. Для підтвердження або спростування мутації існує молекулярна діагностика, яка є досить молодим методом, адже її розвиток почався лише у 70х роках минулого століття.

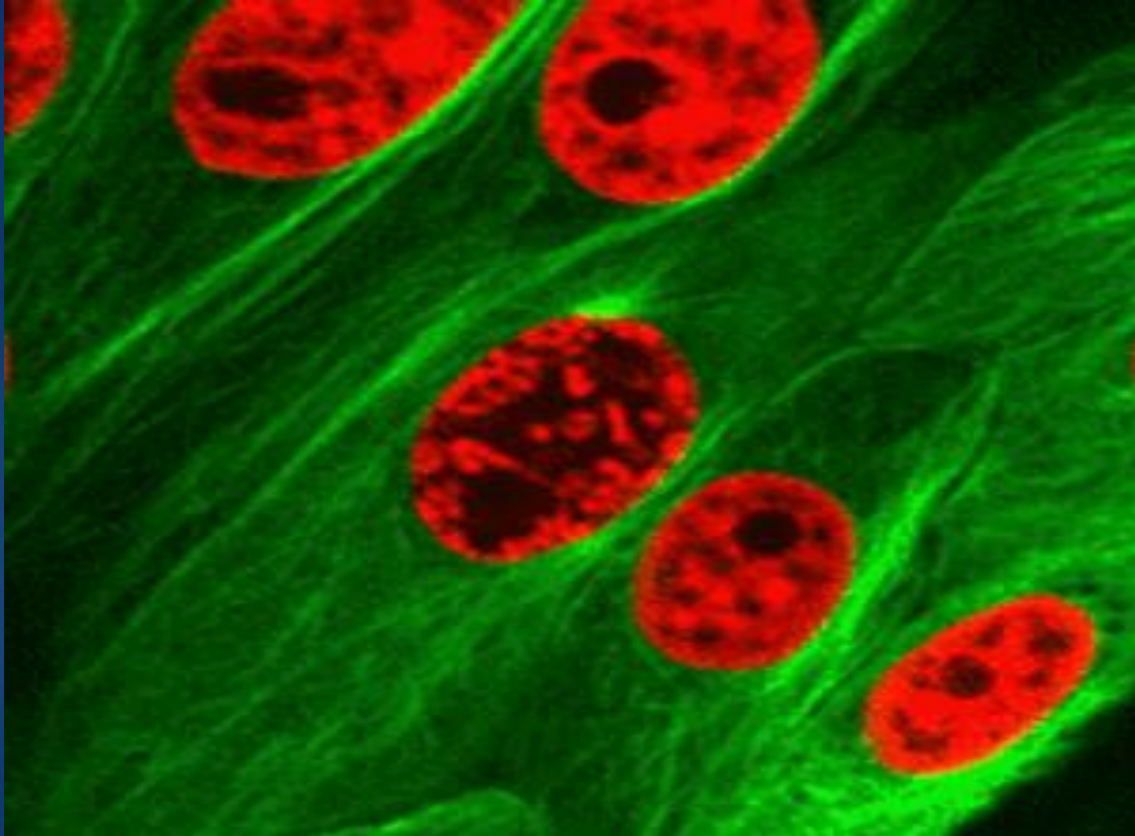
Термін «мутація» вперше запровадив Гуго де Фріз у 1901 році.



## До ДНК-діагностики відносяться методи:

- флуоресцентної гібридизації;
- ПЛР-дослідження;
- метод мікрочипування;
- цитогенетичний метод.





## Цитогенетичний метод

Цей метод по іншому називають методом хромосомного аналізу. Він допомагає визначати вид спадкового захворювання у вигляді каріотипічної формули.

Цитогенетичний метод застосовують:

- для вивчення процесу хромосомної мутації;
- для складання карти хромосом;
- для з'ясування кількості хромосом при певних генетичних захворюваннях;
- для вивчення хромосомного поліморфізму.



Для такого процесу використовують клітини, що швидко діляться – гемоцитобласти (**прямий метод** визначення кількості хромосом), або використовують інші клітини – лімфоцити, фібробласти (**непрямий метод**), для яких потрібно прискорити процес мітозу – непрямий аналіз.

Для цитогенетичного методу використовують такі речовини: фітогемаглютинін, колхіцин і гіпотонічний розчин КСІ



Діагностика:



Синдром Дауна 47XX+21



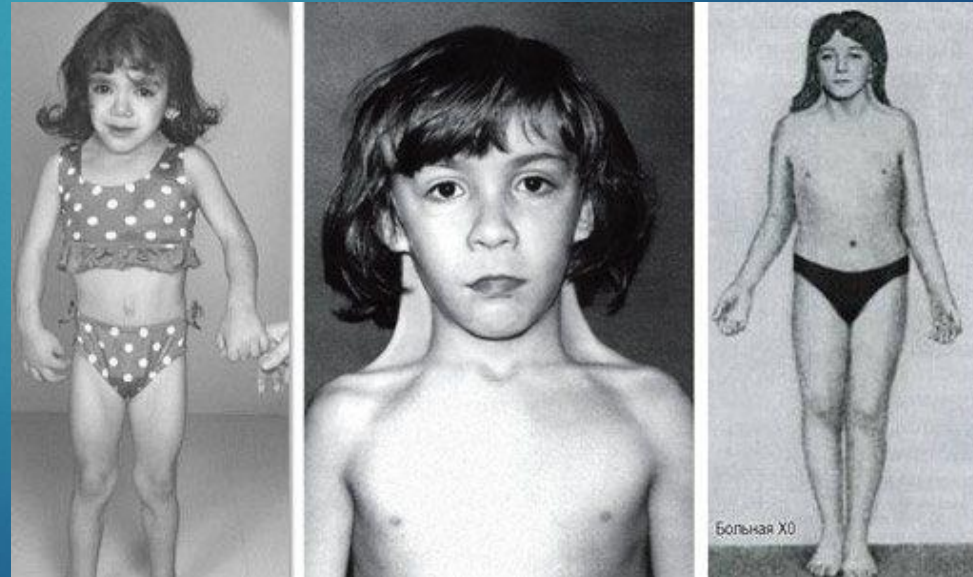
Синдром Едвардса 47XX+18



Синдром Патау 47XX+13



Синдром Клайнфельтера 46XXY

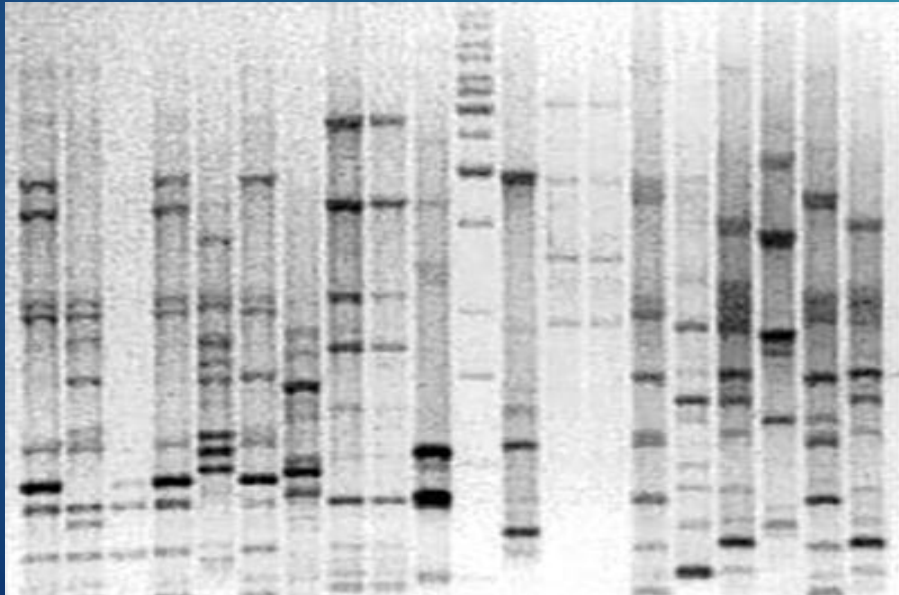


Синдром Шерешевського-Тернера 45X0

## ПЛР-метод

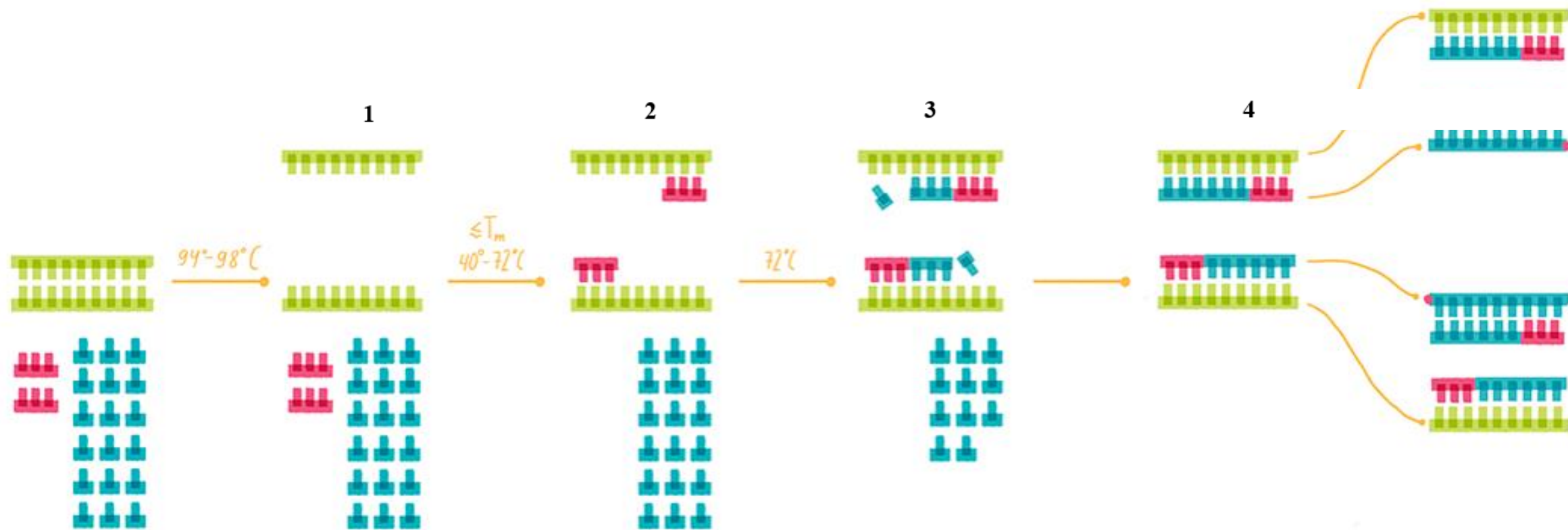
Полімеразно-ланцюгова реакція базується на ампліфікації ДНК. Автором методу є Керрі Мулліс.

Використовується спеціальний апарат – ампліфікатор термоциклер, а для візуалізації продукту – електрофорез ДНК у поліакриламідному гелі.



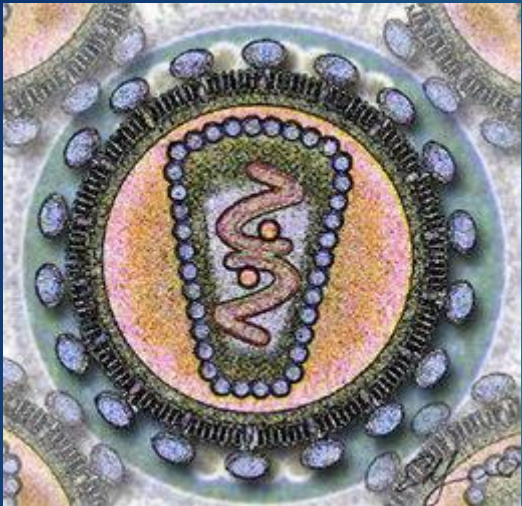
Для того, щоб відбулася дана реакція потрібні спеціальні «інгредієнти» – ДНК для реплікації, ТАQ-полімераза, праймери, суміш вільних нуклеотидів.

ПЛР-метод триває не більше 10 хвилин.





Діагностика:



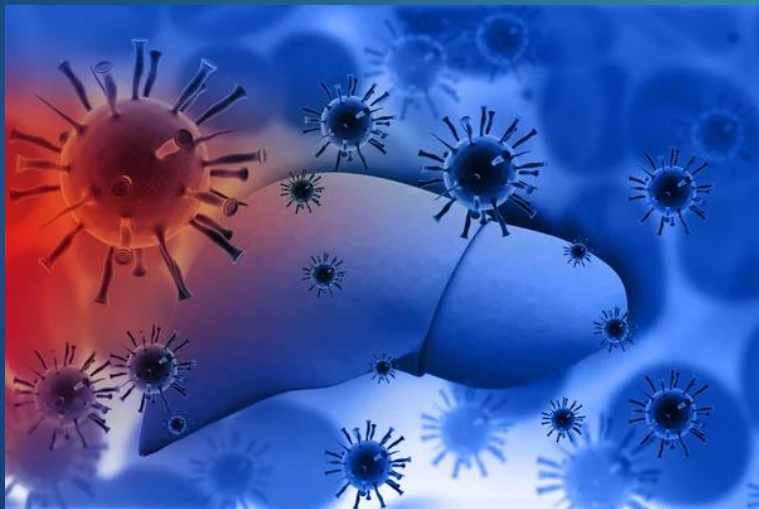
**ВІЛ**



**Герпес**



**Кандидоз**



**Гепатитів**



**Туберкульоз**



**Мононуклеоз**

## Флуоресцентна гібридизація



### Синдром Гентінгтона

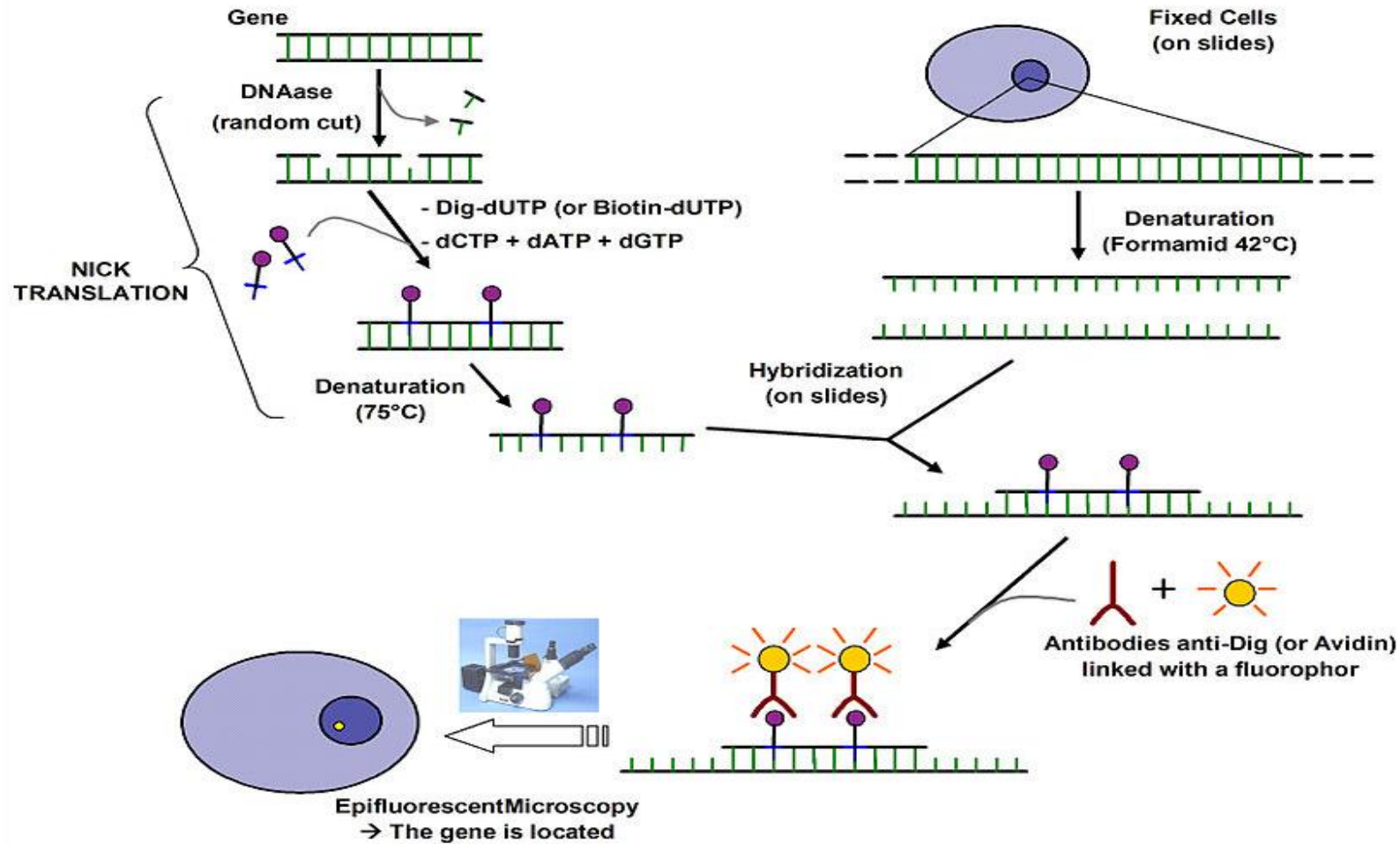
Використання такого методу допомагає визначити хромосомні аномалії (делеція – синдром котячого крику, дуплікація – синдром Гентінгтона). Флуоресцентна гібридизація часто застосовується у допологовій діагностиці та онкології.

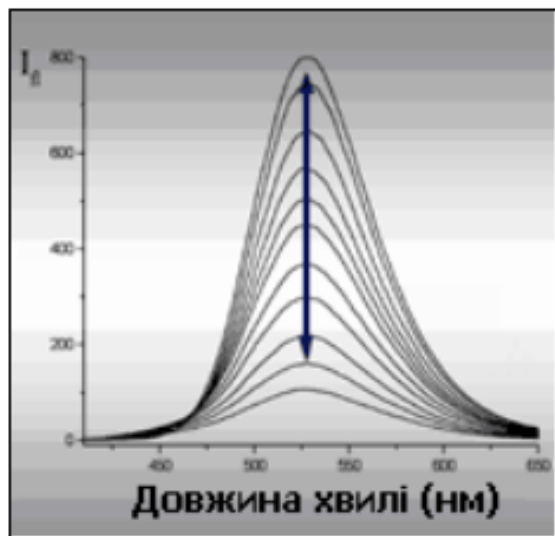
Такий метод допомагає визначити положення гену, що здатний викликати пухлини. Зазвичай цей метод використовують патологоанатоми, яким потрібна більша клітинна інформація.



### Синдром котячого крику 46ХУ

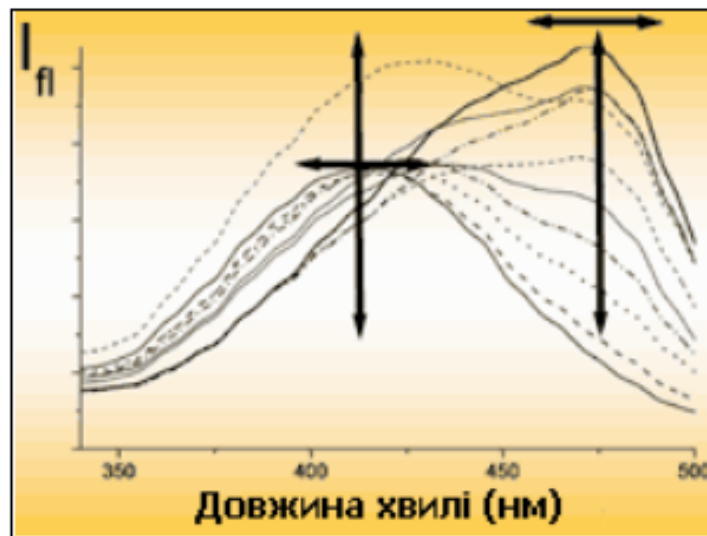
# FISH (Fluorescent In Situ Hybridization)





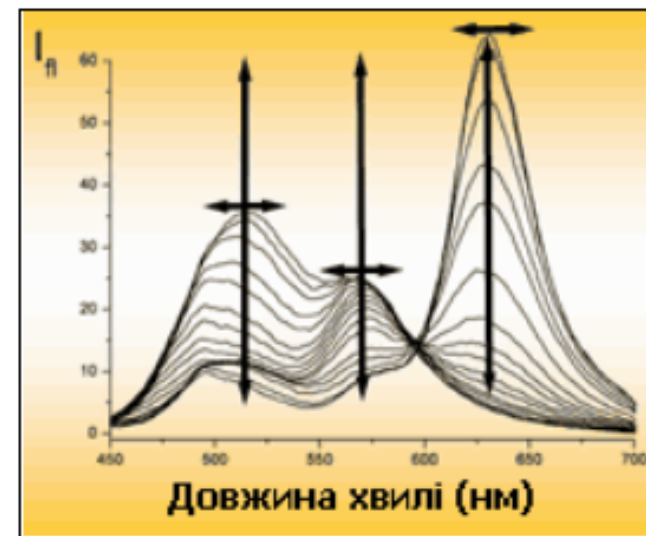
### Одноканальний зонд

несе корисну інформацію у  
зміні лише одного  
параметра емісії



### Спектр емісії

**Багатоканальний (мультипараметричний) зонд** інформує про  
своє оточення шляхом зміни кількох (до десяти) параметрів  
флуоресценції

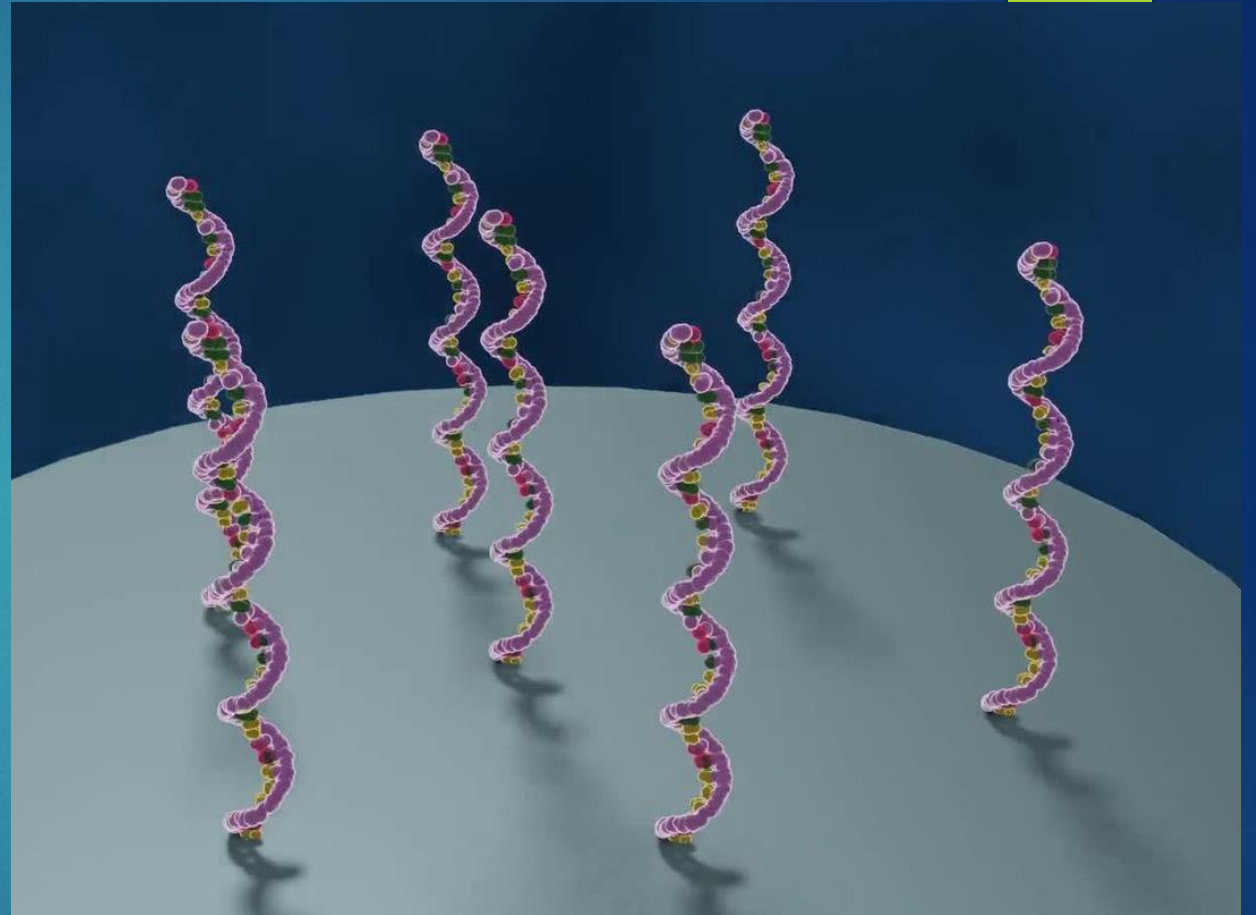


### Спектр збудження емісії

## Мікрочипування

Є методом, у якому використовується ДНК-мікрочіп (мікроареї), що є великою кількістю нуклеотидів, які ковалентно приєднані до твердої основи і позначені флуорохромами (зондами). Використовується для дослідження одонуклеотидних мутації.

Є три типи ДНК-чипів, що відрізняються лише матеріалом, на якому кріпляться нуклеотиди, і методом з'єднання самих нуклеотидів до основи (хімічний, використовується електричний струм).



Codon	Amino acid	Type of mutation
<b>GAA</b> → <b>Glu</b>		Silent mutation
<b>GAG</b> → <b>Glu</b>		
<b>GAA</b> → <b>Glu</b>		Nonsense mutation
<b>UAA</b> → <b>Stop</b>		
<b>GAA</b> → <b>Glu</b>		Missense mutation
<b>GAC</b> → <b>Asp</b>		

Мікрочіпування є методом, який використовується при дослідженні однонуклеотидних мутацій. До них відносяться точкові мутації (пурин/пурин, піримідин/піримідин, трансверсія).

Причиною точкових мутацій може бути мутована азотиста основа (5-бromo-2-дезоксиуридин).



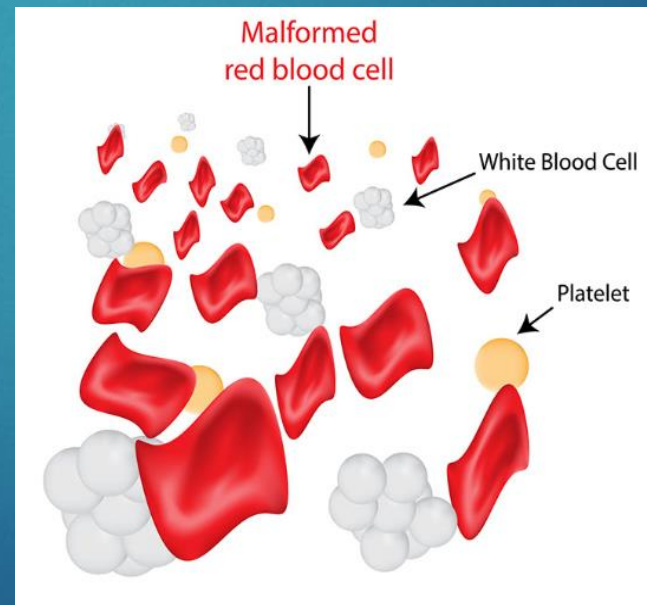
**Рак грудної залози**

ДНК-чіпи використовують для:

- ідентифікації геномних мутацій;
- визначення ефективної антибіотикотерапії при вірусних і бактеріальних захворюваннях;
- ідентифікації захворювання (м'язова дистрофія Дюшена, бета таласемія, муковісцидоз, рак грудної залози).



**М'язова дистрофія Дюшена**



**Бета таласемія**



**Муковісцидоз**

## **Висновок**

ДНК-діагностика, не зважаючи на те, що є досить молодою наукою, є методом, який забезпечує абсолютний результат і допомагає попередити або підтвердити багато генетичних хвороб. Є остаточною відповіддю на питання про носійство мутацій, можливості їх передачі та підтвердження доцільності методу лікування.





Дякую за увагу