

Genetikai betegségek diagnosztizálása



Genetikai betegségek szintjei

Genom

Kromoszóma

Gén



Genomszintű:

Génszegénység v. géngazdagság.

Triszómia pl.: *Down kór (21)*

Patan szindróma (13)

Edwards szindróma (18)

Monoszómia: nagyon ritka pl.:

Turner szindróma (nemi, X0)

Detektálása: Kariotipizálás

Kromoszóma szintű

Kiegyensúlyozott

Kiegyensúlyozatlan

Intersticiális deléció

Terminális deléció

Reciprok transzlokáció

Centrikus fúzió

Inverzió

Inszerció

Kromoszóma szintű

Kiegyensúlyozott: Génvesztés nélküli átrendeződés. Okozhat leukémiát, hiperaktivitást, tumort,...

Kiegyensúlyozatlan: Génvesztéssel járó átrendeződés. Lethális v. súlyos fenotípusos elváltozások.

- *Gyűrű kromoszóma:* szomatikus és mentális retardáció
- *Monogénes:* autoszómán v. szex kromoszómán.
 - Autoszómális: Struktur gén, receptor gén mutáció
 - Enzim, hemoglobin génjét érintő mutáció, pl.:
- *Sarlósejtes anémia* (hordozók védettek a maláriával szemben)
- *Cisztikus fibrózis* (védettség kolerával szemben)

Gén szintű

- In frame
- Frame shift

1. Addíció
2. Deléció
3. Kicserélődés

- Nonsense: stop kodon
- Missense: más aminosav
- Sense: ugyanaz az aminosav

1. Intronon
2. Exonon

- Trinukleotid repeat mutáció: $(CGG)_n \rightarrow$ *Fragilis X* : nőben sokszorozódik
 $(CAG)_n \rightarrow$ *Huntington chorea* : férfiban
 $(CTG)_n \rightarrow$ *Miotómiás izomdisztrófia* : csírvonalban

Restrikciós térkép

Génszintű

DNS szakasz emésztése
gélelektroforézissel

Több különböző restrikciós enzimmel
megismételve részletes és a DNS
szakaszra jellemző kép.

Specifikus kémiai hasítás

Bázisszekvencia meghatározás. Kétféle módszer:
Maxam-Gilbert és Sanger.

Két különböző specificitású restrikciós
endonukleáz

DNS-lánc 3' végét ^{32}P -vel jelölik

Két láncot hődenaturációval szétválasztják

Részleges hasítás

Poliakrilamid-gélelektroforézis

Autoradiográfiás helymeghatározás

Megszakított enzimatisus szintézis

Bázisszekvencia meghatározására.

Egyszálú DNS- lánchoz komplementert szintetizálunk, és az alapján határozzuk meg az eredeti lánc szekvenciáját.

Szintézis megszakítása: didezoxi-ribonukleotidokkal

Új lánc 5' végét radioaktív foszfáttal jelölik

Feltételek megválasztása → beépülés statisztikai valószínűség szerint

Gélelektroforézis

Radioaktívan jelzett próbák

Hődenaturáció

Komplementer, radioaktívan jelzett nukleinsav szekvencia az elegyhez.

Ha hibridizáció → keresett szekvencia jelen van.

Southern- és Northern-blot

Kromoszómaséta

Gének kromoszómán való elhelyezkedése

Alapja: génkönyvtár készítése során egymást valamelyest átfedő DNS darabok keletkeznek és épülnek be a vektorba. Az átfedések révén igen hosszú, összefüggő DNS-szakaszok klónozhatók és analizálhatók.

DNS-chip

Automatizált szekvenciameghatározás.

Cellákra osztott lemez

Cellákhoz szintetikusán előállított oligonukleotidokat kötnek.

Vizsgálandó nukleotid egyszálúvá tétele és jelölése.

Jelölés alapja: biotin és avidin affinitása.

DNS-chipet a mintaanyagba merítik.

Hibridizáció

Mosás

Műszeres leolvasás, értékeli.

Készítette: Szeitz Anita
Gruiz Katalin Biotechnológia c. tárgyához

