

Медицинада ДНҚ- диагностика әдісін қолдану

Орындаған:Аскар А.Х
1-005 топ жалпы медицина
Тексерген: Абдиева А.А.

Қарағанды
2018

Жоспар:

- Кіріспе**
- Молекулалық-генетикалық әдіс
- ДНК диагностикасының түрлері
- ДНК диагностикалық әдістері
- FISH-диагностика әдісі
- Полимеразды тізбекті реакция
- ПТР этаптары
- ДНК реттелуі
- Корытынды**

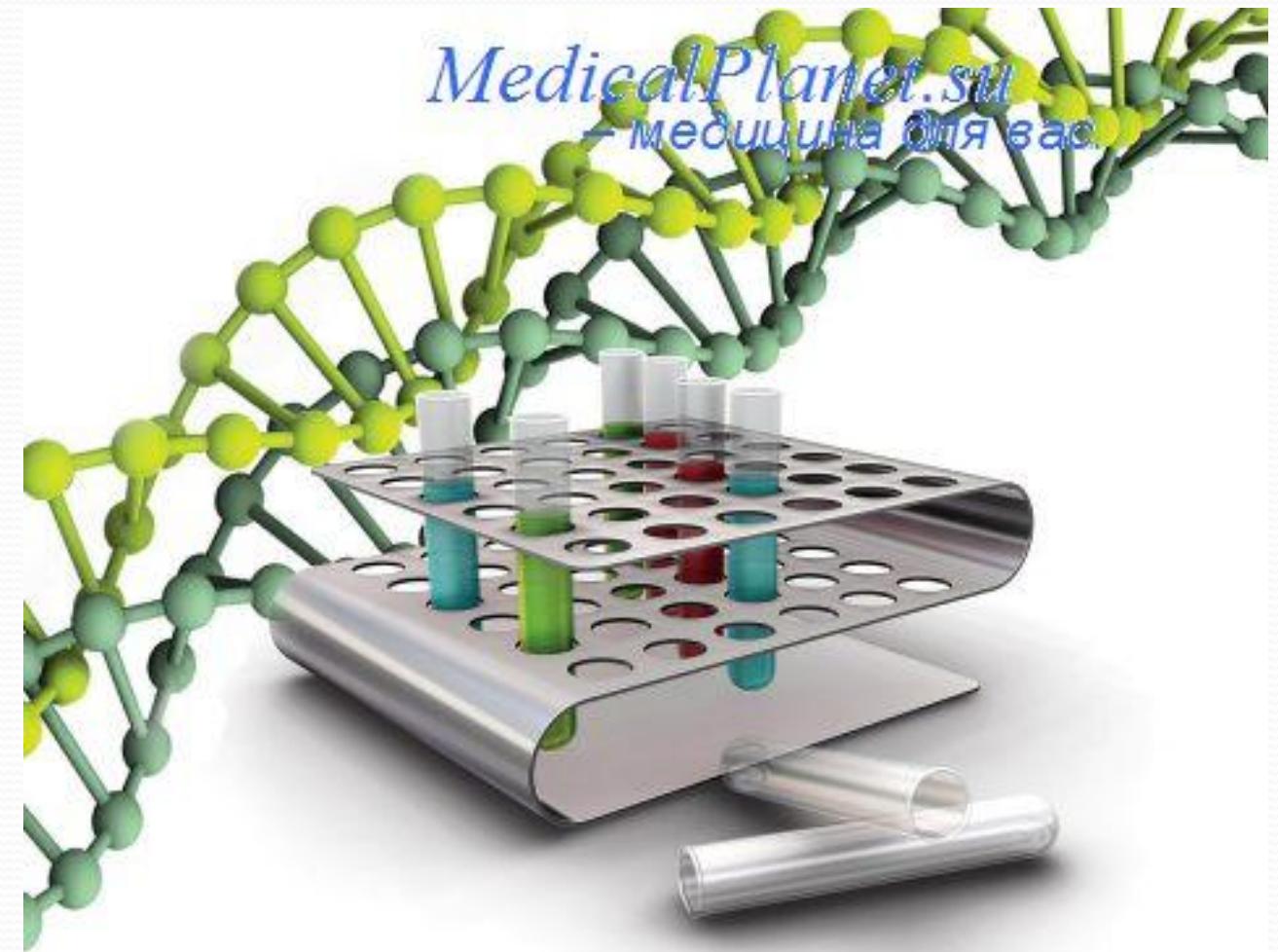
- Пайдаланылған әдебиеттер тізімі

Kipіспе:

Қазіргі әлем - бұл адамдар күнделікті жаңа нәрсе тауып, әлі үйренбеген нәрсені үйренуге тырысады, бүгінгі күні емделмейтін деп есептейтін ауруларды емдеуге тырысады. Ал енді адамдар адам ағзасының ең кішкентай бөлшектерін алуға және оқуға қабілетті болған кезде көптеген ауыр ауруларды зерттеу, болжau және күресу мүмкін болады. Бүгінде тұқымқуалайтын аурулар кең таралған. Мысалға, қазіргі кезде 100 туғаннан 3-4 бала әртүрлі туда біткен ауытқуларға ие және әрбір сау адам 5-7 тұқымқуалайтын патологияны сақтай алады. Тұқым қуалайтын аурулардың проблемасы бүгінгі күнгі әлемге қарағанда бұрынғыдан да маңызды, сондықтан онымен белсенді түрде күресу қажет. Шешім ретінде қазір ықтимал аурулар туралы білуге және олармен алдын-ала күресуге мүмкіндік беретін ДНК-диагностиканың әдістері бар.

Молекулярлы-генетикалық әдіс

- Организмдердің өзгергіштік және тұқым қуалау қасиеттерінің молекулалық негізін зерттейді. Организмнің тұқым қуалау ақпаратының қолдануы мен оны жазылу әдісін талдау, гендік инженерия әдістерін зерттеу болып табылады.



ДНҚ-иагностикасының түрлері

● Тікелей

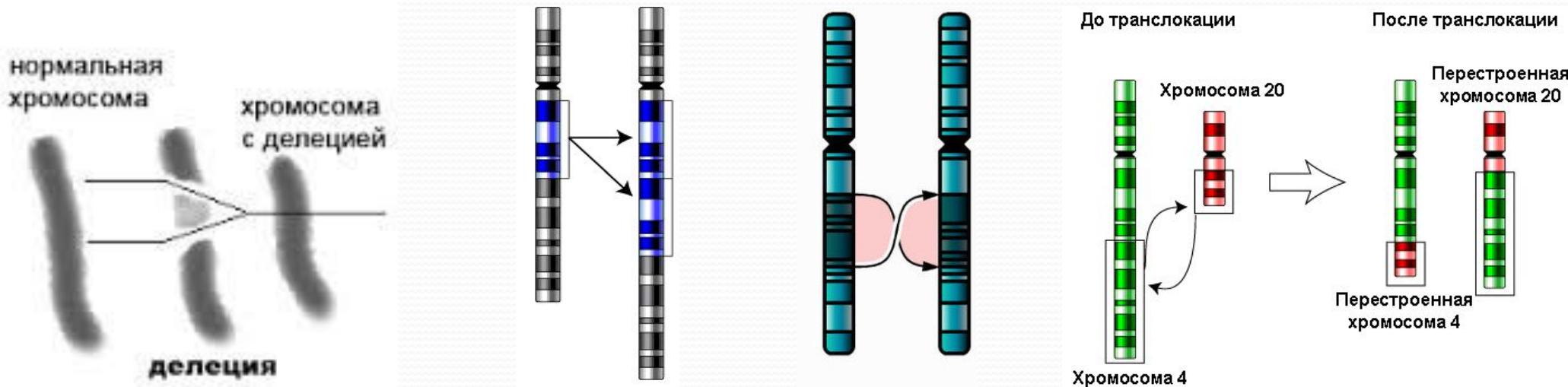
Аурудың тікелей себебі болып табылатын мутацияны анықтау Тікелей диагнозда клондалған геннің мутациясы анықталады. Тікелей әдістер әртүрлі дәлдікпен ерекшеленеді, бұл шамамен 100% Фенилкетонурия, мистикалық фиброз, Хантингтон хореясы және басқалары сияқты ауруларға арналған.

● Жанама

● Залалданған генді тасымалдайтын хромосоманы отбасылық талдауда анықтау ДНҚ диагностикасының жанама әдістері генетикалық тұқымдық ауруларда геннің клондалған емес немесе ауру әртүрлі гендердегі зақыммен бірге жүретін жағдайларда немесе геннің молекулалық ұйымы тікелей әдістерді қолдануға мүмкіндік бермейтін жағдайларда қолданылады. Жанама диагноздың дәлдігі тікелей диагноздан әлдеқайда аз.

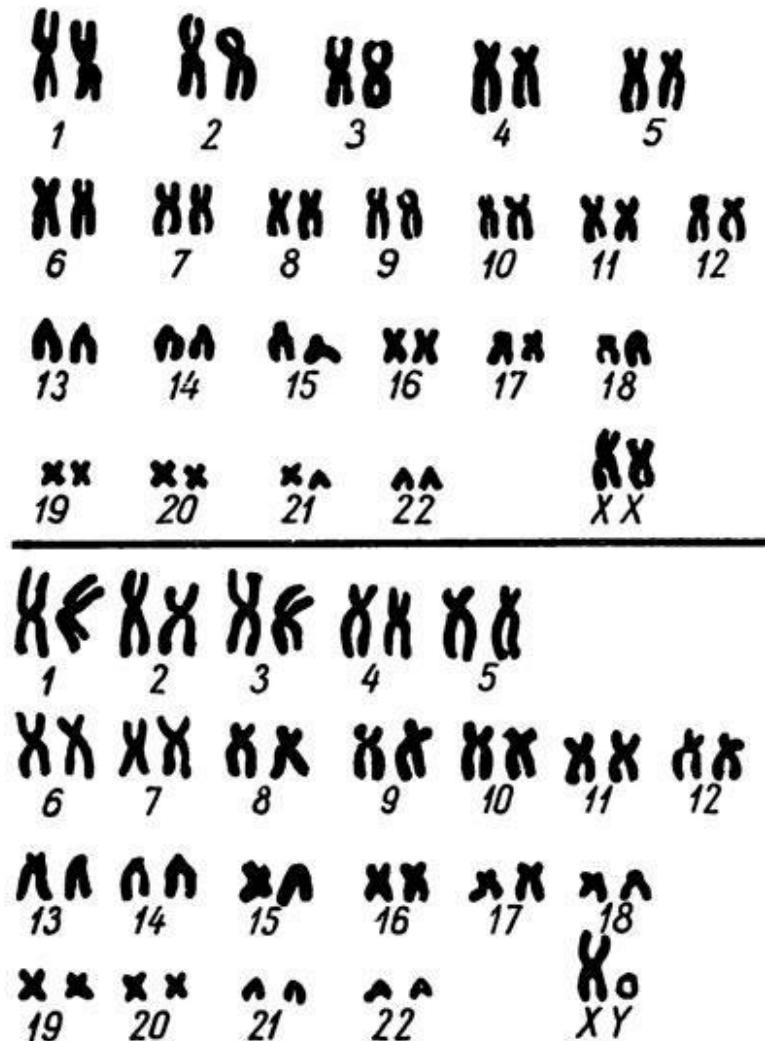
ДНҚ-диагностикасының әдістері

ДНҚ тізбегін диагностикалау кезінде әртүрлі ауытқулар анықталуы мүмкін және олардың әрқайсысын зерттеу үшін түрлі зерттеу әдістері пайдаланылады. Хромосомалық зақымдардың негізгі түрлері - бұл жою, қайталану, инверсия және транслокация. Оларды зерттеу үшін цитогенетикалық (кариотиптік) немесе молекулалық цитогенетикалық (индукциялық будандастырудың флуоресценциясы, салыстырмалы геномдық будандастыру) әдістері пайдаланылады. Кейінгі ДНҚ тізбегі бар ПТР нүктелік мутацияны анықтау үшін қолданылады.



Цитогенетикалық әдіс

Бұл әдіс арқылы сіз жасушаның мұра материалын зерттей аласыз: жалпы хромосомдар жиынтығы (кариотиптеу) немесе X хромосомаларының болуы және саны (жиныстық хроматиннің анықтамасы - бұл жиныстық хроматиннің немесе Баррдың денелерінің санылауы). Зерттеу женіл микроскоптың көмегімен жүргізіледі. Пренатальді диагнозбен, бұл әдіс ең жиі кездесетін хромосомалық ауруларды анықтауда мүмкіндік береді (Down синдромы, Patau синдромы, Эдвардс синдромы, Klinefelter синдромы, Orbeli синдромы және т.б.)



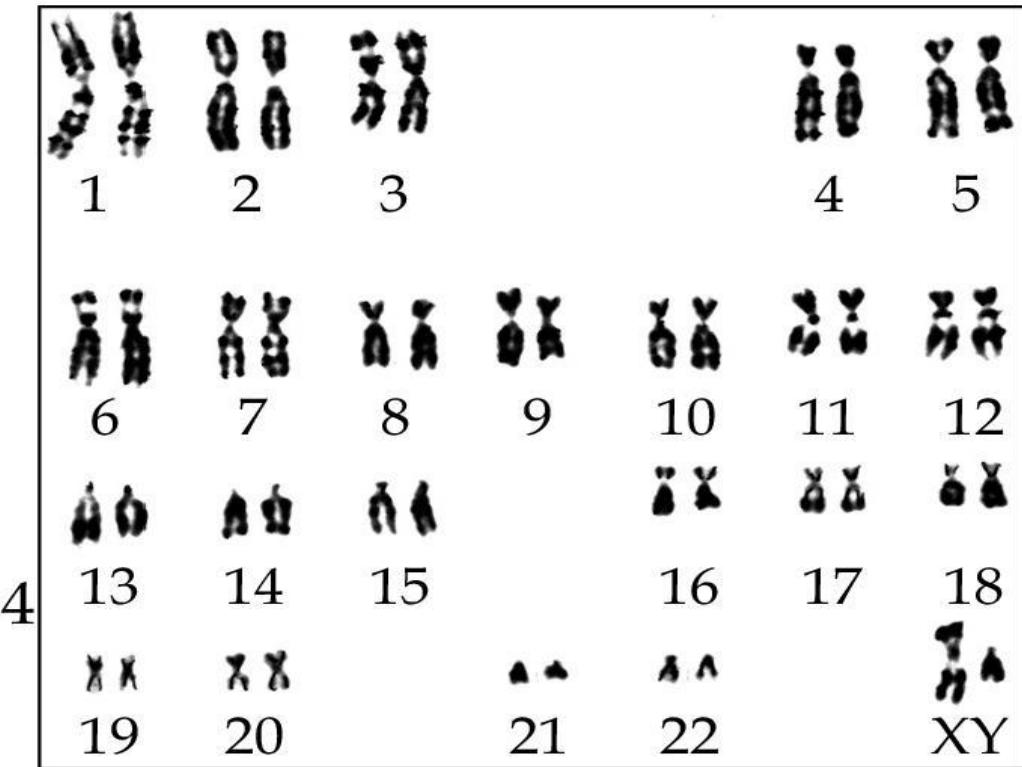
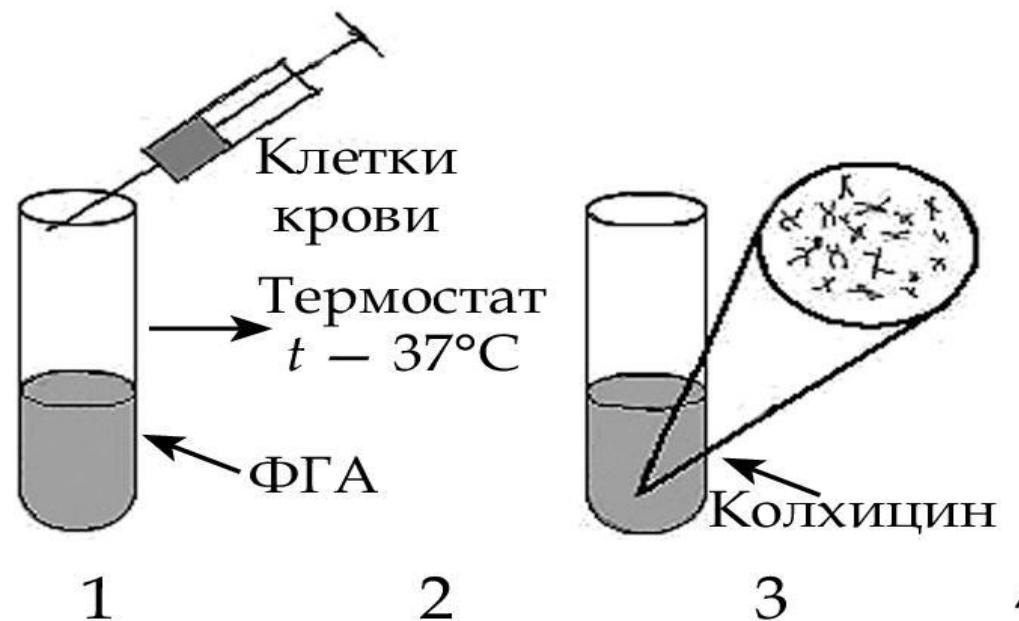
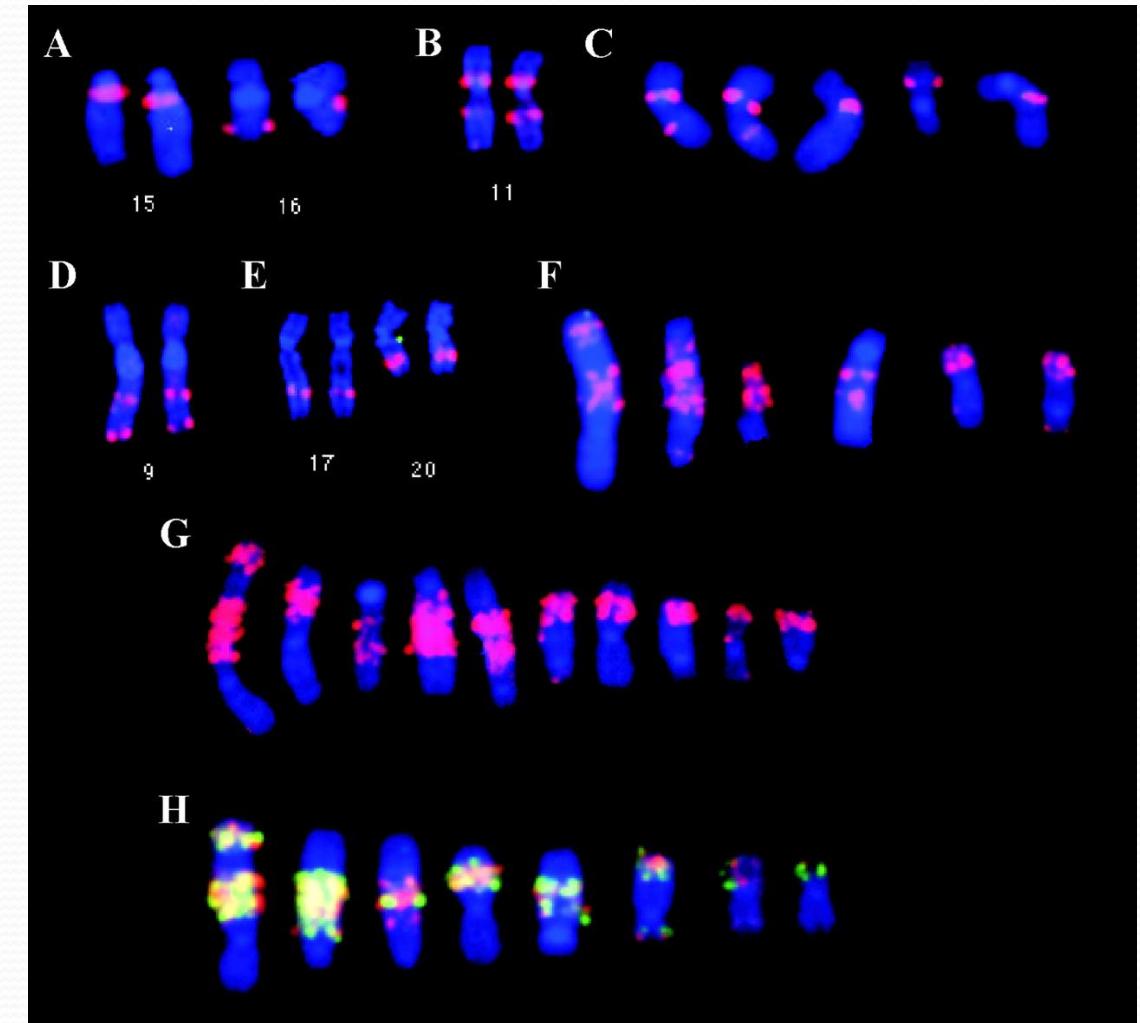


Рис. 56. Последовательность действий для получения кариотипа человека:

1. Помещение лимфоцитов (лейкоцитов) в среду с фитогемагглютинином (ФГА).
2. Культивирование клеток (митотические деления клеток).
3. Остановка митоза на стадии метафазы путем введения в среду колхицина.
4. Обработка гипотоническим раствором, изготовление микропрепараторов, получение микрофотографий метафазных пластинок (кариотипов).
5. Составление индивидуального хромосомного комплекса (кариограммы)

Fluorescence in situ Hybridization (FISH)

Классикалық FISH талдау әдісі синалған хромосоманың участкесі бар нуклеотидті композициядан белгілі ДНҚ үлгісінің гибридтілігіне және кейіннен гибридтеу нәтижесін күтілетін жерде белгі-флуоресцентті сигнал арқылы анықтауға негізделген. ДНҚ зондасы (ДНҚ-зонды) ретінде, пациенттің хромосомалық ДНҚ-ның (мақсатты) талданған дәйектілігін толықтыратын салыстырмалы түрде кішкентай ДНҚ бөліктері қызмет етуі мүмкін.



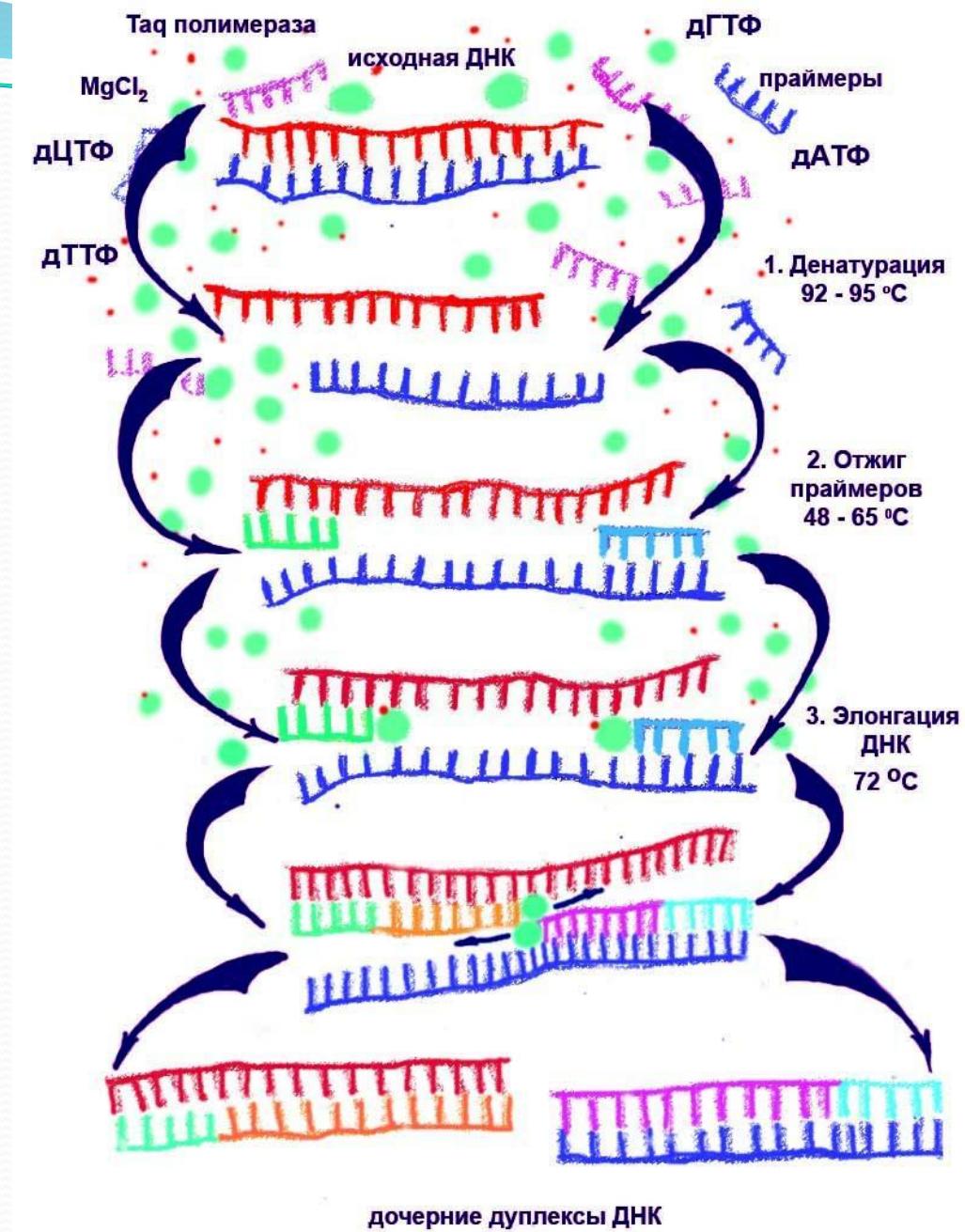
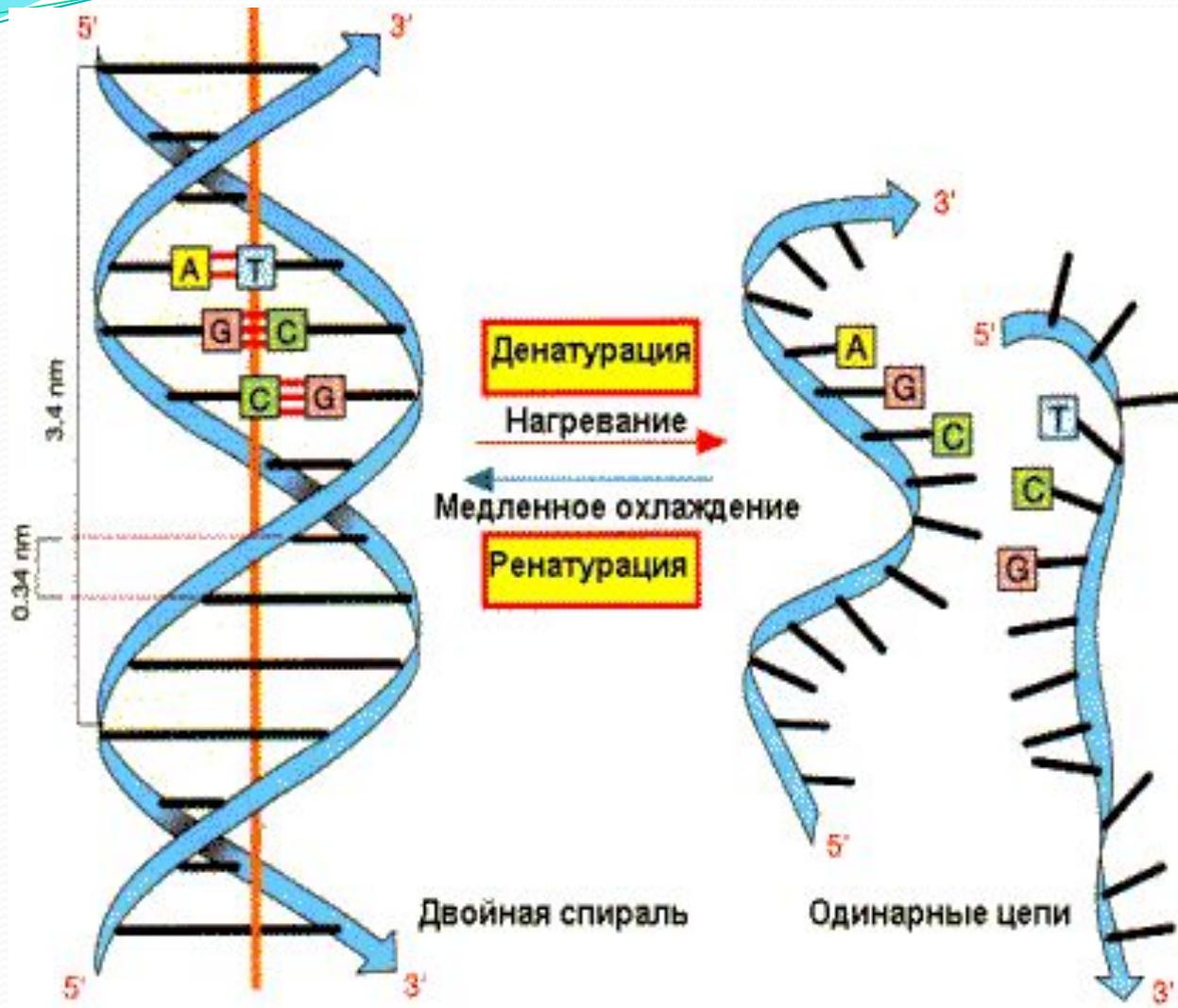
Полимерлі тізбекті реакция

Полимеразды тізбекті реакция (ПТР) - биологиялық материалда (үлгімен) кейбір нуклеин қышқылдарының фрагменттерінің (ДНҚ / РНҚ) шағын концентрациясының айтарлықтай өсуіне қол жеткізуге мүмкіндік беретін молекулалық биологияның тәжірибелік әдісі.



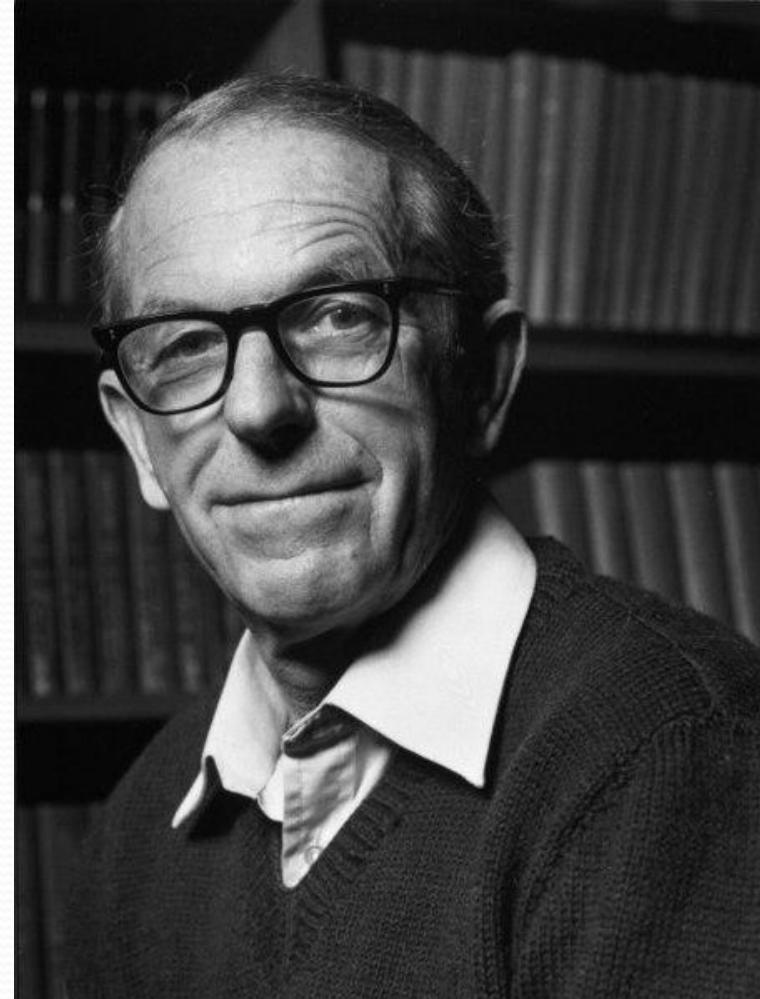
ПЦР сатылары

- Денатурация - ДНҚ-ны қос талшықты формасынан бірқалыпты нысанға ауыстыру, егер жоғары температуралардың әсерінен қосымша қосалқы базалық жұптар арасындағы сутегі байланыстары
- Күйіп кету - праймерлерді бір жақты ДНҚ мақсатына қосу. Примерлар таңдалған фрагментті шектеп, ДНҚ-ның қарама-қарсылығын толықтыратын етіп таңдалады. Күйіп кету Chargaff's complementarity ережесіне сәйкес жүзеге асырылады.
- Ұзарту (синтез) - пракер синтезінен кейін Так полимеразы ДНҚ-ның екінші шоғырлануын примердің 3 'аяғынан аяқтайды



ДНҚ реттелуі

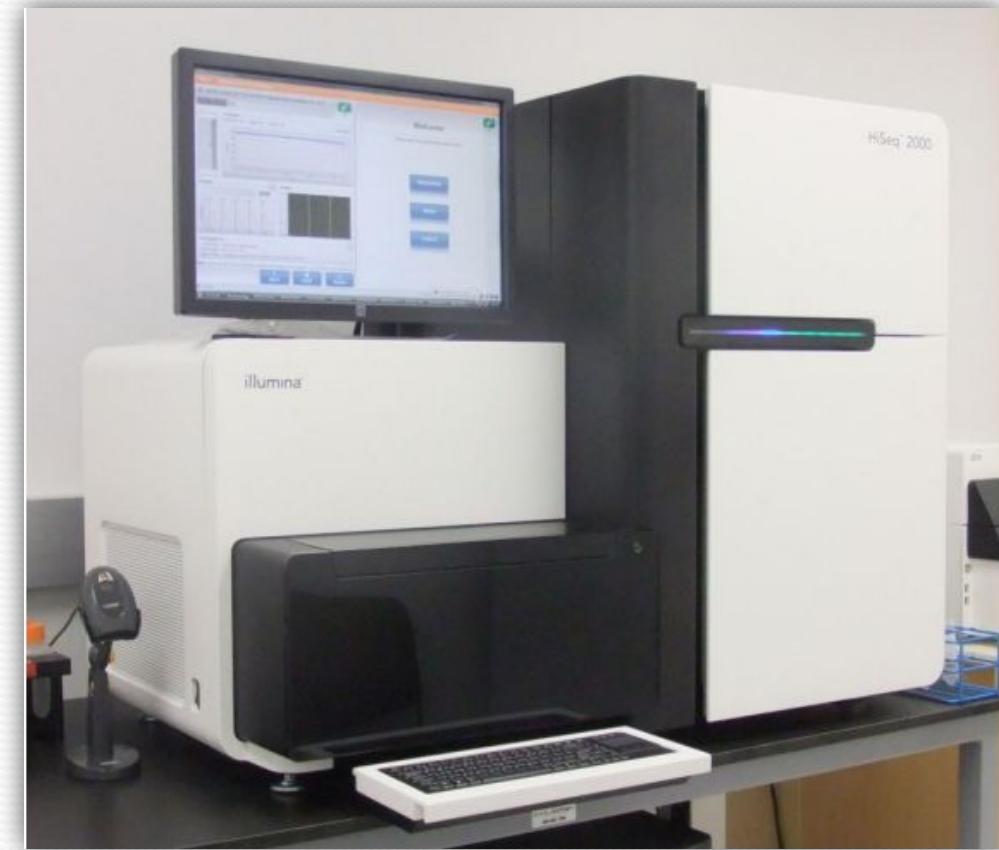
Дәл қазір ДНҚ диагностикасының «алтын стандарты» дәстүрлі «жүйелеу» болып қала береді. Бұл әдіс қағидаты 1970-ші жылдардың соңында F. Sanger әзірледі және модификацияланған нуклеотидтерді - дииодоксинуклеотидті фосфосфаттарды (ddNTP) немесе терминаторларды қолдануды қамтиды. Нуклеотидтің дәйектілігін талдауға арналған ең таралған әдіс капиллярлы генетикалық анализаторларды пайдалану арқылы дәйектеледі



Фредерик Сэнгер

Жаңа ұрпақты іріктеу(NGS)

- Өзінің қысқа мерзімді тарихына қарамастан, жаңа ұрпақтың дәйектілігі медициналық генетиканың күшті құралы ретінде өзін көрсетіп, көптеген сирек ауруларды дамытуға қатысатын гендерді табуға мүмкіндік берді. Атап айтқанда, соңғы бірнеше жылда массивтік параллельді секвенирования көмегімен көптеген синдромдардың генетикалық себептері (Кабуки, Миллер, Фаулер, Сезенбреннер және т.б.) табылған.



Прибор для полногеномного секвенирования HiSeq2000 фирмы Illumina

Корытынды

Бұгінгі күні технология ДНҚ-диагностикалық әдістердің қолданумен көптеген ауруларды анықтауға мүмкіндік береді. Бұған мүмкіндік беретін бірнеше әдіс бар. Жыл сайын адамзат ағзасындағы аурудың өте жылдам кезеңдерде болуын анықтауға немесе аурудың алдын-алу мүмкіндігін болжауға жақындей түседі. Бұгінде ғалымдар ауруды анықтауға арналған әдістер мен жабдықтарға ие, бірақ диагностика мен емдеуге жұмсалған уақыт пен ақшалар әлі де үлкен. Дегенмен, егер сіз сол бағытта дамыған болсаңыз, таяу болашақта әрбір адам тұқым қуалаушылық және басқа ауруларға және оның келесі үрпактарына қандай қауіп төндіретінін анықтауға болатын әдістерді пайдалана алады.

Пайдаланылған әдебиеттер

- «Медицинская биология и генетика» Учебное пособие для студентов медицинских вузов под редакцией Куандыкова Е.У.- Алматы 2004 г
- «Традиционные методы ДНК-диагностики генных мутаций» В.В. Стрельников, Н.И. Пирогова, 2016г.
http://genschool.ru/wa-data/public/site/1.5_Tradits_metody_StrelnikovVV.pdf
- «Применение молекулярных технологий нового поколения в медицинской генетике», Е.Н.Суспицын, А.П.Соколенко, 2013г
https://gpma.ru/structure/chair/med_gen/prim_moltech.pdf
- Методы молекулярно-генетической диагностики сегодня. Никоненко Т. А., 2008г.<http://www.ramld.ru/articles/files/nikonenkoLM9.pdf>
- Fluorescence in situ hybridisation (FISH). Unique, 2013г.
<http://www.rarechromo.org/information/Other/FISH%20FTNW.pdf>
- http://yamedik.org/?p=61&c=biologiya/bio_gen_myt