

**ПРОЕКТ НА ТЕМУ:
«ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ
ЗАБОЛЕВАНИЙ»**

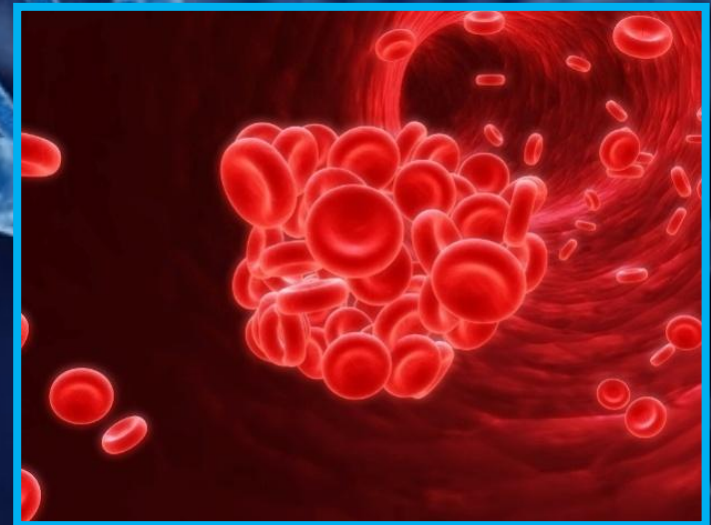
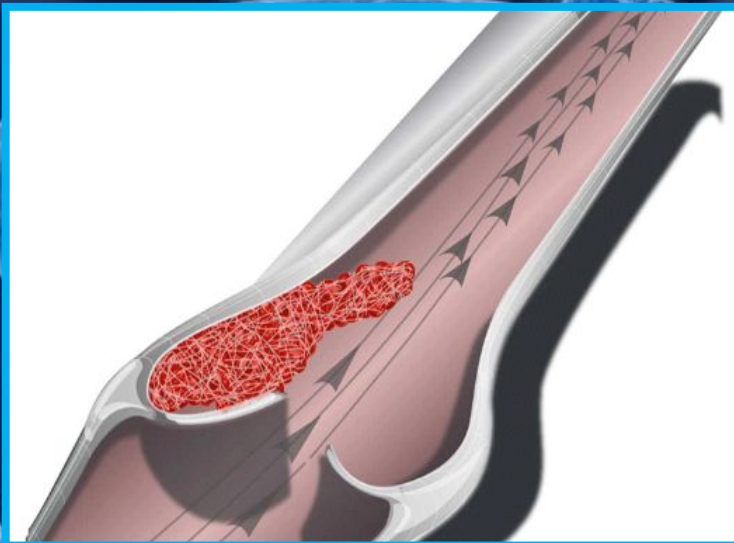
**«Молекулярно-генетические факторы
высокого риска развития тромбоза»**

Выполнили: 1 курс Веропаха Дарья, Лещенко Дарья, Медведева Анна
Руководитель: кандидат биологических наук, доцент Машкина Е.В.

ТРОМБОЗ

Это сосудистое заболевание, вызываемое ускоренным и избыточным свертыванием крови, сопровождающееся нарушением кровотока в просвете сосуда и, как следствие, трофическими нарушениями мягких тканей и внутренних органов.

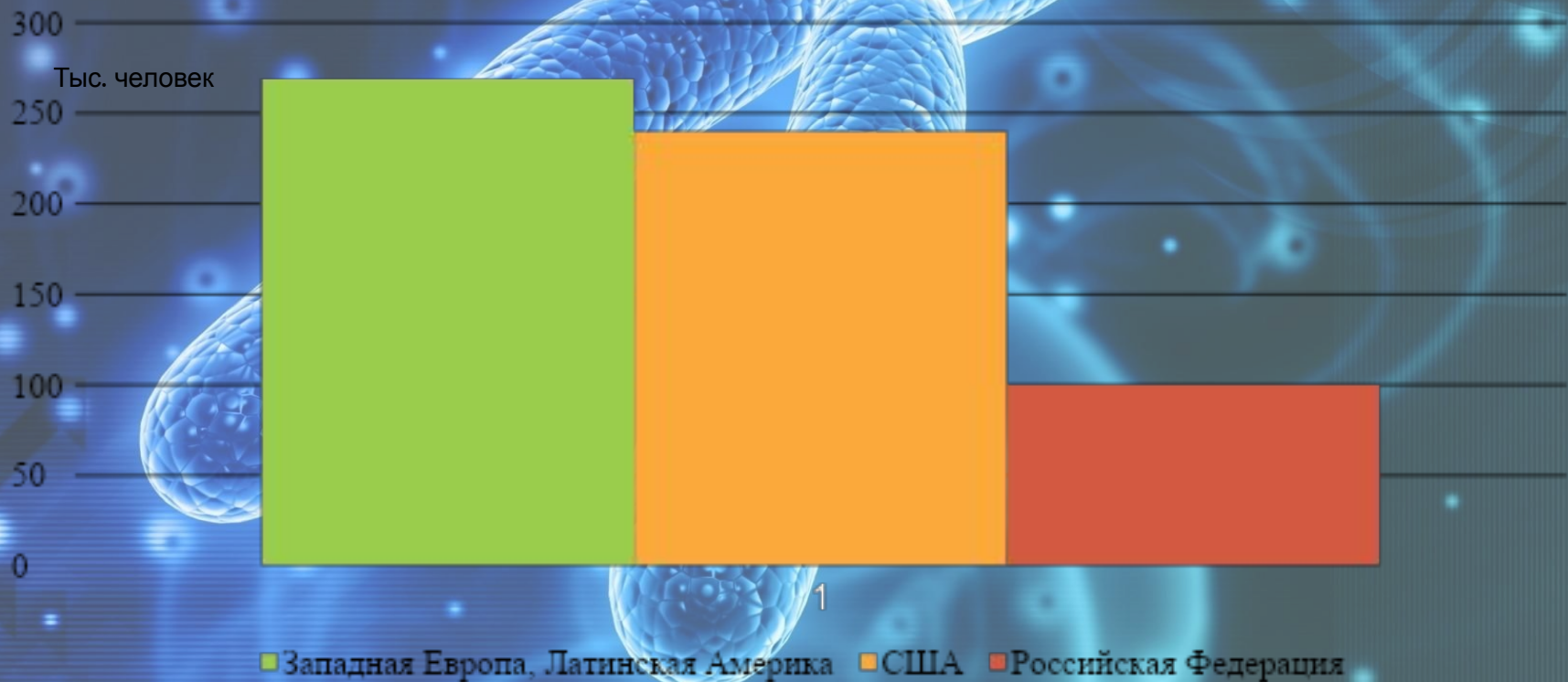
Локализацией тромбоза являются глубокие магистральные вены нижних и верхних конечностей, на долю которых приходится примерно 70% всех случаев заболевания, однако возникновение тромба возможно в любом артериальном или венозном сосуде как крупного, так и мелкого калибра.



АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ:

Венозные тромбозы и легочная эмболия являются важной проблемой современной медицины, значение которой в практике врачей различных специальностей трудно переоценить.

Распространённость заболевания



ФАКТОРЫ РИСКА РАЗВИТИЯ ТРОМБОЗА



Травма



Хирургическое вмешательство



Пожилой возраст



Беременность



Постельный режим



Генетическая предрасположенность

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

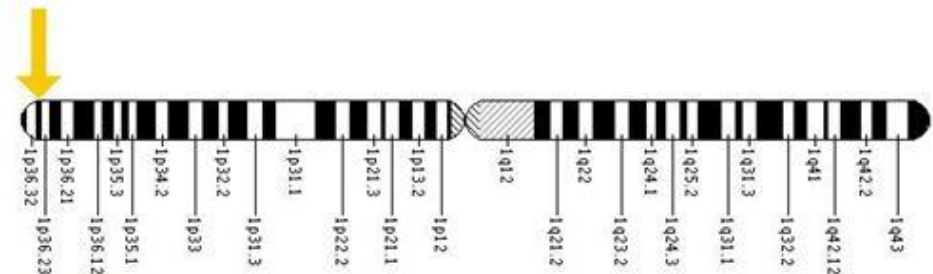
1. Исследовать основные генетические факторы развития тромбоза
2. Освоить методы молекулярно-генетической диагностики наследственной предрасположенности.

НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ ГЕННЫЕ МАРКЕРЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЙ

Метилентетрагидрофолатредуктаза (MTHFR)

является ключевым звеном фолатного цикла и катализирует реакцию превращения гомоцистеина в метионин. Замена цитозина на тимин в 677 положении приводит к снижению функциональной активности фермента до 35% от среднего значения, что является причиной повышенного уровня гомоцистеина крови.

Ген MTHFR
локализован
на хромосоме
1p36.3



The MTHFR gene is located on the short (p) arm of chromosome 1 at position 36.3.

More precisely, the MTHFR gene is located from base pair 11,769,246 to base pair 11,788,568 on chromosome 1.

НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ ГЕННЫЕ МАРКЕРЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЙ

Фактор Лейдена (FV)

происходит замена аргинина на глутамин в позиции 506 в белковой цепи, являющейся продуктом гена V фактора свертывания крови. Мутация приводит к устойчивости фактора к одному из главных физиологических антикоагулянтов – активированному протеину С.

Впервые была выявлена и описана группой ученых, работавших в городе Лейден (Нидерланды) в 1993 г.

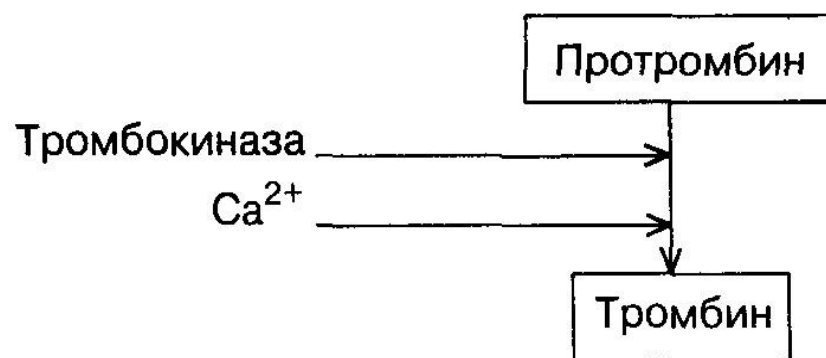
**Локализация
гена на
хромосоме –
1q24.2**

НАИБОЛЕЕ РАСПРОСТРАНЕННЫЕ ГЕННЫЕ МАРКЕРЫ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ТРОМБОФИЛИЙ

Протромбин (F2)

ген F2 кодирует белок протромбин, который является одним из главных факторов системы свертывания. Замена гуанина на аденин в позиции 20210 приводит к повышению в 1,5-2 раза количества химически нормального протромбина.

Локализация
гена на
хромосоме -
11p11.2



ВЫДЕЛЕНИЕ ДНК

1. В 2 эппендорфа налить по 300 мкл лизирующего раствора, 20 мкл. сорбента, 100 мкл. слюны, тщательно перемешать на вортексе.
2. Поставить в твердотельный термостат при 65 °С на 5 минут. Ещё раз размешать на вортексе и оставить на 2 минуты при комнатной температуре.
3. Отцентрифугировать при 10000об/мин. на 30 секунд , отобрать супернатант дозатором наконечника.
4. Промыть остальное 1мл. отмывочного раствора, ресуспензировать осадок на вортексе. Вновь отцентрифугировать при 10000об/мин. на 30 секунд, снова удалить супернатант.
5. Поставить в термостат с открытой крышкой на 7 минут при 65 °С, добавить 100мкл. ТАЕ-буфера для растворения ДНК и ресуспензировать осадок на вортексе, после вновь поставить в термостат на 5 минут с закрытыми крышками.
6. Перемешать на вортексе, центрифугировать при 12000об/мин. на 1 минуту, перенести супернатант в чистые эппендорфы.



Твердотельный термостат



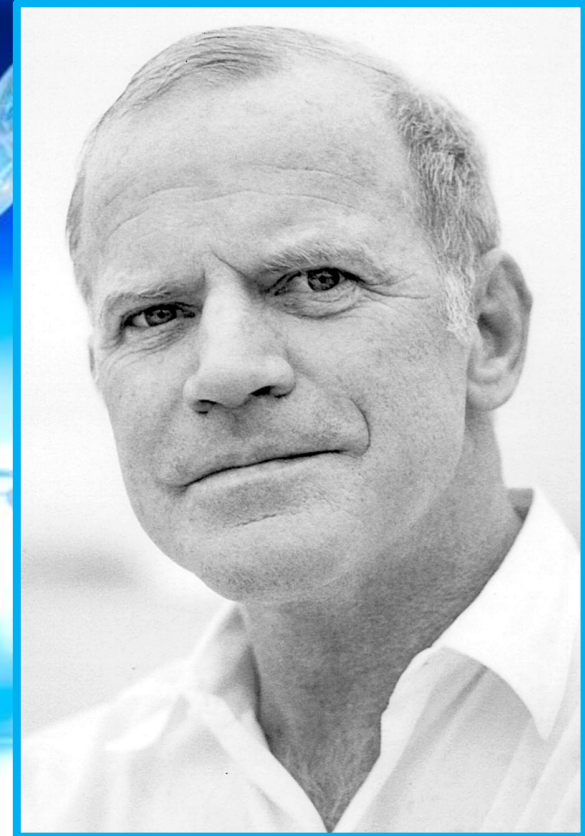
Вортекс Microspin
до 2000 об/мин



Центрифуга MiniSpin до 12000
об/мин

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ

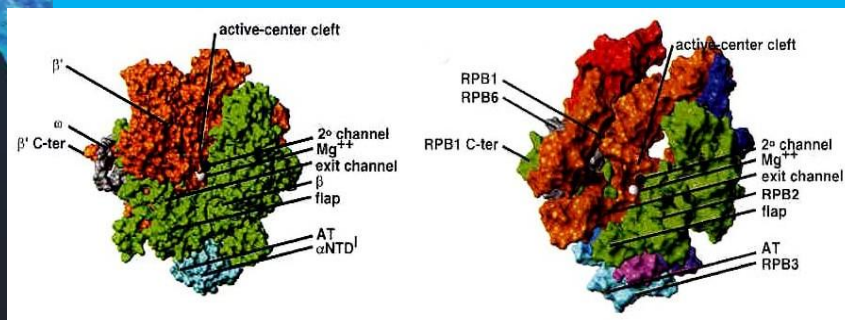
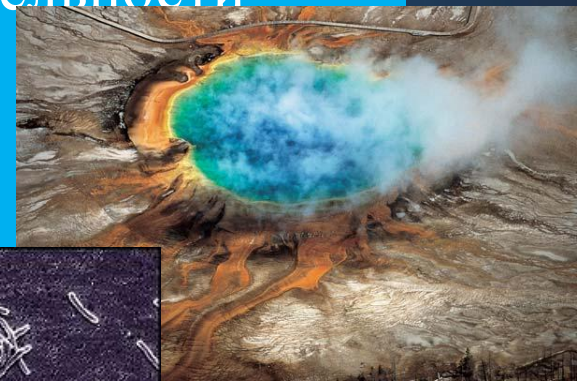
Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — экспериментальный метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (ДНК) в биологическом материале. ПЦР была открыта в начале 1970-х гг. норвежским ученым К. Клеппе. Вновь ПЦР была открыта в 1983 г. К. Мюллисом.



Кери Мюллис

ПРЕДПОСЫЛКИ ПОЯВЛЕНИЯ ПЦР

- использование ДНК-полимеразы, выделенной из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*, обитающей в трубопроводах горячей воды.
- расшифровка нуклеотидной последовательности геномов ряда микроорганизмов.



ДНК-полимераза, выделенная из термофильной бактерии *Thermus aquaticus*

Thermus aquaticus

ПРОВЕДЕНИЕ ПЦР

- Подготовить реагенты. В пустой эппендорф налить 17,5 мкл разбавителя;
- Добавить 2,5 мкл. реакционной смеси ;
- Осадить на вортексе Таq-полимеразу, добавить 0.2 мкл;
- Всё перемешать на вортексе. Добавить 1 каплю минерального масла;
- Отобрать 5мкл. готовой ДНК. Коротко осадить на вортексе;
- Поставить в амплификатор;

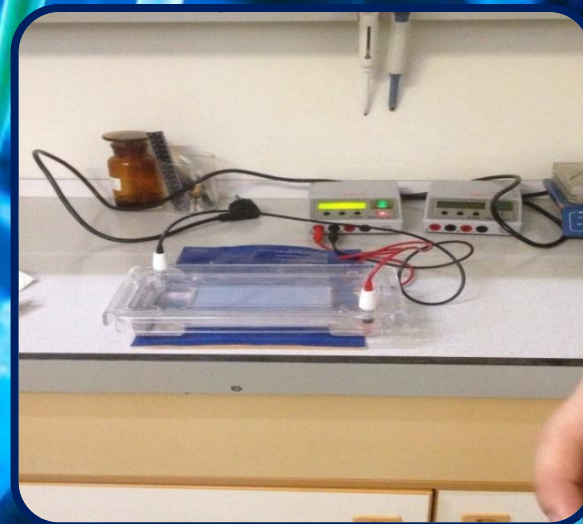


Вортекс Microspin

ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

Электрофорез фрагментов ДНК — разделение фрагментов по молекулярной массе и электрическому заряду в агарозном геле. Каждый фрагмент имеет определенные размеры и занимает в геле определенное место в виде дискретной полосы.

Впервые был применен профессорами Московского университета П. И. Страховым и Ф. Ф. Рейссом в 1809 году.

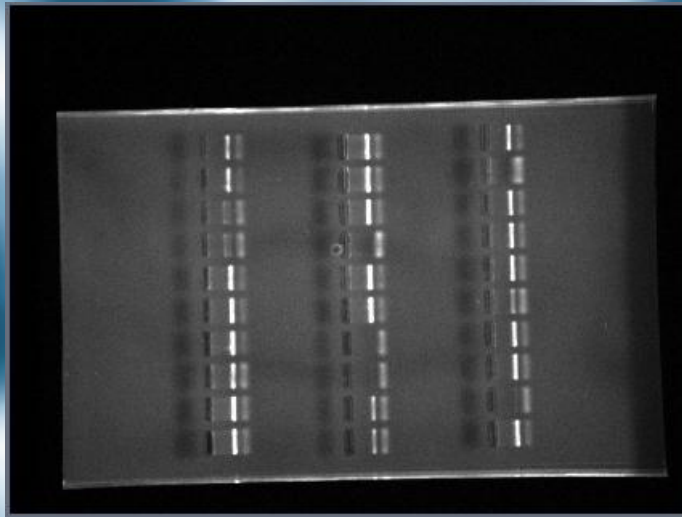


ПРОВЕДЕНИЕ ЭЛЕКТРОФОРЕЗА

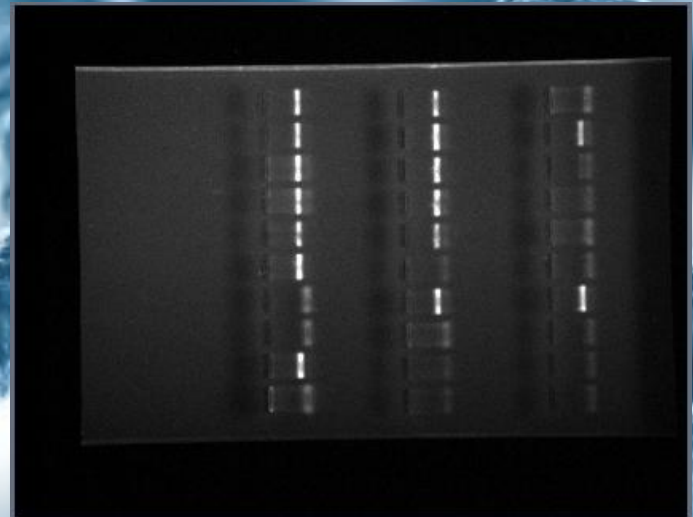
- Варим 3% агарозу . Ставим в колбе в микроволновую печь для размешивания и разогревания;
- Затем после растворения до однородной массы ставим на магнитную мешалку, чтобы она вновь не застыла;
- Готовим заливочный столик. Добавляем в колбу 10 мкл. бромистого этидия;
- Готовим камеру для электрофореза;
- Разводим буфер;
- В заливочный столик наливаем агарозу ;
- Вставляем гребенки в пазы, зубчики ставим в агарозу ровно, чтоб после застывания агарозы образовались лунки;
- Аккуратно вытаскиваем гребёнки из застывшей агарозы. В образовавшиеся лунки наливаем готовый раствор с ДНК;
- Оставляем на 20 минут, затем ставим в трансиллюминатор под УФ;
- Анализируем получившиеся снимки .



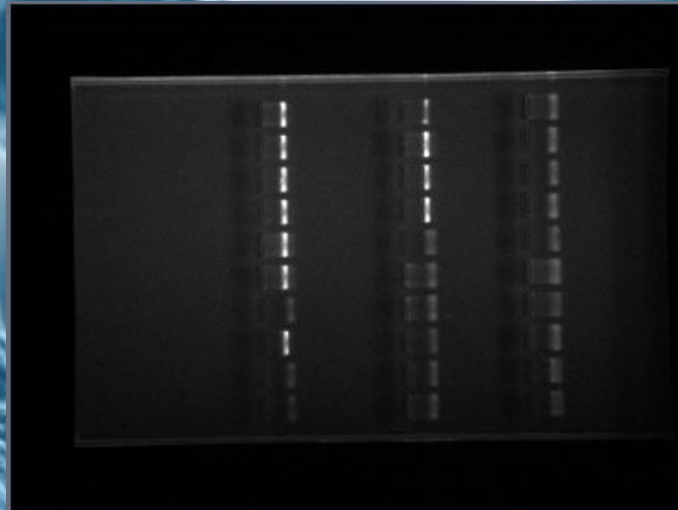
РЕЗУЛЬТАТЫ



Ген MTHFR



Ген F2



Ген FV

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Освоили некоторые методы молекулярно-генетической диагностики наследственной предрасположенности
2. Научились описывать полученные результаты.

A glowing blue DNA double helix structure is the central focus of the image. The helix is rendered with a translucent, glowing effect, showing the characteristic twisted ladder shape. The background is dark, making the blue DNA stand out prominently. The text is overlaid on the central part of the DNA structure.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!