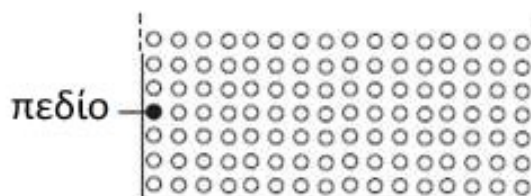


Μικροσυστοιχίες DNA

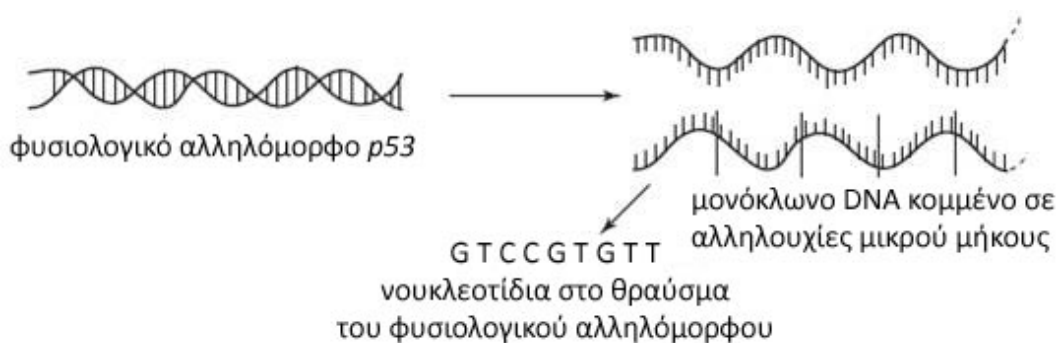
Η τεχνολογία μικροσυστοιχιών DNA, επιτρέπει την εξέταση του DNA για την ανίχνευση σημειακών μεταλλάξεων. Μια μικροσυστοιχία DNA κατασκευάζεται από γυαλί και μπορεί να περιέχει χιλιάδες πεδία. Κάθε τέτοιο πεδίο μοιάζει με ένα μικροσκοπικό δοχείο εντός του οποίου μπορούν να πραγματοποιηθούν διάφορες αντιδράσεις. Το παρακάτω σχήμα δείχνει μια μικροσυστοιχία DNA.



Η τεχνολογία μικροσυστοιχιών DNA έχει χρησιμοποιηθεί στη μελέτη του αυτοσωμικού ογκοκατασταλτικού γονιδίου *p53*, γιατί μια μετάλλαξη του παραπάνω γονιδίου είναι παρούσα στο 60% περίπου όλων των τύπων καρκίνου.

Η θέση της μετάλλαξης του γονιδίου *p53* του ασθενούς Χ, που πάσχει από καρκίνο του στήθους, μπορεί να προσδιοριστεί επακριβώς με την εξής διαδικασία:

Βήμα 1 Δημιουργία μονόκλωνων αλληλουχιών νουκλεοτιδίων μικρού μήκους από το απομονωμένο φυσιολογικό αλληλόμορφο *p53*.

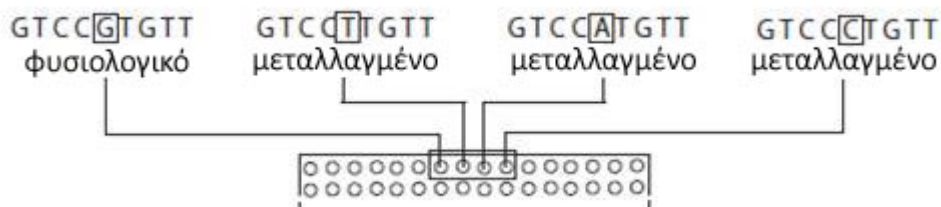


1. Να περιγράψετε τις διαδικασίες που θα ακολουθηθούν προκειμένου να προκύψουν μονόκλωνα θραύσματα DNA.

Βήμα 2 Προσεκτικός έλεγχος κάθε θραύσματος DNA για κάθε νουκλεοτίδιο. Παρακάτω περιγράφονται οι δοκιμασίες που πρέπει να ακολουθηθούν για το πρώτο θραύσμα του αλληλόμορφου.

Υποθέστε ότι θέλουμε να διαπιστώσουμε αν έχει συμβεί γονιδιακή μετάλλαξη στο πέμπτο νουκλεοτίδιο (G) της αλληλουχίας του εξεταζόμενου θραύσματος του φυσιολογικού αλληλόμορφου. Για το σκοπό αυτό, συντίθενται εργαστηριακά αλληλουχίες του εξεταζόμενου θραύσματος που να περιλαμβάνουν κάθε πιθανή μετάλλαξη της πέμπτης βάσης. Καθεμιά από τις τεχνητές αλληλουχίες τοποθετείται σε διαφο-

ρετικό πεδίο της μικροσυστοιχίας, όπως φαίνεται στην εικόνα:



Βήμα 3 Προσθήκη δύο διαλυμάτων σε κάθε πεδίο της μικροσυστοιχίας:

- **Διάλυμα I.** Συμπληρωματική αλυσίδα του φυσιολογικού αλληλόμορφου, ιχνηθετημένη με πράσινη φθορίζουσα χρωστική.
- **Διάλυμα II.** Συμπληρωματική αλυσίδα από το DNA του ασθενούς, ιχνηθετημένη με κόκκινη φθορίζουσα χρωστική.

Βήμα 4 Υβριδοποίηση των νουκλεϊκών οξέων και ξέπλυμα της μικροσυστοιχίας για την απομάκρυνση της πλεονάζουσας χρωστικής.

2. Με ποια αλληλουχία των τεσσάρων πεδίων της παραπάνω μικροσυστοιχίας θα υβριδοποιηθεί η αλυσίδα του αλληλόμορφου με την πράσινη χρωστική; Τι χρώμα θα έχει το υβριδικό μόριο;

Βήμα 5 Εξέταση των πεδίων κάτω από υπεριώδη ακτινοβολία για την παρατήρηση των χρωμάτων κάθε πεδίου και ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

3. Η υπεριώδης ακτινοβολία, αν και χρησιμοποιείται επωφελώς στη συγκεκριμένη τεχνική, μπορεί να ευθύνεται για μερικές δυσάρεστες καταστάσεις στον άνθρωπο. Εξηγήστε χρησιμοποιώντας χαρακτηριστικό παράδειγμα.

Ακολουθούν τα αποτελέσματα της μεθόδου για τον ασθενή Χ.

GTCC[G]TGT φυσιολογικό	GTCC[T]TGT μεταλλαγμένο	GTCC[A]TGT μεταλλαγμένο	GTCC[C]TGT μεταλλαγμένο	
↓	↓	↓	↓	
Παρατηρούμενο χρώμα μετά από υβριδοποίηση και έκπλυση	Πράσινο	Κανένα χρώμα (μαύρο)	Κόκκινο	Κανένα χρώμα (μαύρο)

4. Πώς λειτουργεί καθεμιά από τις δύο φθορίζουσες χρωστικές που χρησιμοποιήθηκαν;

5. Ποια μετάλλαξη ευθύνεται για την απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου *p53*;

Η κόρη του ασθενούς Χ εξετάσθηκε επίσης για την πιθανότητα ανίχνευσης της συγκεκριμένης σημειακής μετάλλαξης στο πρώτο θραύσμα του αλληλόμορφου.

6. Θα περιμένατε το αποτέλεσμα της εξέτασής της να είναι πράσινο, κόκκινο ή μαύρο; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

7. Είναι από μόνη της αρκετή η συγκεκριμένη σημειακή μετάλλαξη για να δικαιολογήσει την εμφάνιση καρκίνου στην κόρη του ασθενούς Χ; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.