

NATUREN KASTAR TÄRNING

*Protokoll och sammanfattning av en
simulering av genscreening*



ANALYS AV HUMANT DNA

Analys av humant DNA används inom sjukvård, till exempel för diagnos av ärftliga sjukdomar.

Vissa genetiska sjukdomar beror på ändringar i hela eller stora delar av en kromosom, som till exempel Downs syndrom. Vissa sjukdomar orsakas av ändringar i mer än en gen, och i gener som är kända för att interagera, till exempel Alzheimers sjukdom. Men en minoritet orsakas av ändringar i DNA-sekvens hos bara en gen, ett sådant exempel är Cystisk fibros. Det kan bero på addition av en eller flera baser (insertion), borttagande av en eller flera baser (deletion), eller som för Cystisk fibros där det har skett ett utbyte av en bas till en annan på en eller flera positioner i genen (substitution). Resultatet av den förändrade DNA-sekvensen (den ändrade genotypen) kan bli ett protein som inte längre fungerar på samma sätt. Det kan förstöra någon aspekt på kroppens normala funktioner som i sin tur leder till fysiskt uttryck av en genetisk sjukdom (den ändrade fenotypen).

Varje individ har 23 par av kromosomer, den ena halvan av ett par ärvs från modern och den andra från fadern. Individer har därför alltid två kopior av så gott som alla gener. Hur ärftlighet sker av en sjukdom baserad på en gen påverkas av om genen är dominant eller recessiv. Dominanta sjukdomar uppstår hos individen om en eller båda kopiorna av genen är ändrad. För recessiva sjukdomar så måste båda genkopiorna vara ändrade. På vilken kromosom som genen finns påverkar också hur ärftlighet sker. Den blir könsberoende om genen finns på könskromosomerna, dvs X eller Y. Om den ändrade genen finns på X-kromosomen behövs bara en kopia av genen för att en man ska uttrycka sjukdomen oavsett om den är dominant eller recessiv. Om genen finns på ett av de andra 22 paren av kromosomer (autosomer) så ärvs sjukdomen på det vanliga dominant/recessiva sättet.

Analys av genetiska sjukdomar kan antingen vara direkt eller indirekt. Indirekta tester analyserar inte genen själv, utan någon aspekt av genens funktion. Vanligtvis betyder det att man mäter frånvaro, minskade nivåer eller förändrad funktion hos proteinet som produceras av den ändrade genen, till exempel vilken typ av hemoglobin som produceras vid Sickle cell-anemi.

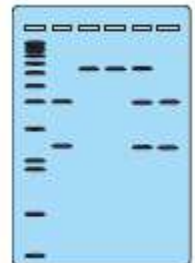
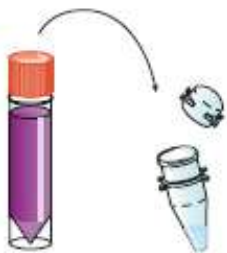
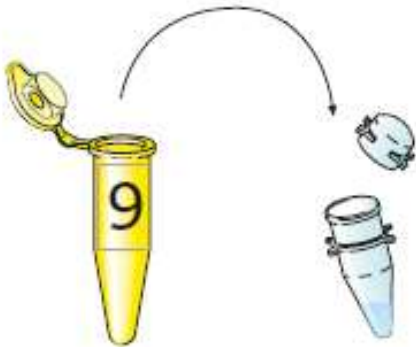
Direkta tester analyserar förändringar i gensekvensen. Detta har blivit mycket enklare med hjälp av *Polymerase Chain Reaction*, PCR. Med PCR-tekniken så kopieras DNA miljoner gånger och isoleras för att därefter sekvenseras.

I denna laboration så kommer du att undersöka hur en fiktiv enskild gen som ger upphov till ett förändrat tillstånd ärvs genom tre generationer i en familj. Genom att använda molekylära metoder så kommer du att bestämma genotypen för varje enskild familjemedlem, och utifrån det kan du dra slutsatser om individens fenotyp baserat på din kunskap om hur gener ärvs.



METOD

1. Prover har tagits från varje familjemedlem. DNA extraheras från celler och genen ifråga kopierades miljontals gånger med PCR-tekniken. Det ger tillräckligt med DNA för analys.
2. För över 20 μ l för varje DNA-prov till ett märkt provrör som innehåller torkat restriktionsenzym (*Bam*HI). Enzymet klipper DNA vid en specifik sekvens, dvs det restriktionsställe som finns på förändrat DNA i den recessiva allelen.
3. Blanda DNA och enzymlösningen noggrant och inkubera i ett vattenbad i minst 30 minuter vid 37°C. Om den förändrade genen finns i DNA-provet kommer den recessiva allelen att klippas i två mindre delar medan den dominanta allelen inte klippas.
4. Tillsätt 2 μ l av laddningsfärg till varje prov och blanda noggrant. Laddningsfärgen hjälper till att synliggöra proverna och gör det lättare att ladda DNA-proverna i elektroforesgelen.
5. Gjut en elektroforesgel och ladda varje prov i en separat brunn. Spänning läggs på till dess att laddningsfärgen har rört sig till ändan av gelen vilket indikerar att de olika DNA-fragmenten har separerats från varandra.
6. Färga gelen med Azur A i 4 minuter för att synliggöra DNA. DNA-fragmenten kommer att synas som enskilda band av olika storlekar.
7. Notera antal och position av DNA-banden för varje prov. Tolknigen av antal band indikerar vilken allel som bärs av varje familjemedlem och utgör därför genotypen. Från det kan fenotypen bestämmas.





RESULTAT OCH TOLKNING

För in antal DNA-band som du har detekterat för varje familjemedlem med hjälp av restriktionsenzymet och gelelektroforesen i tabellen nedan. Ange genotypen för varje familjemedlem i familjeträdet för att se hur genen ärvs. Slutligen, arbeta fram vilken fenotyp varje familjemedlem har och för in i tabellen.

Person	Band	Fenotyp
1 Elizabeth		
2 Vic		
3 Dorte		
4 Wilbert		
5 John		
6 Stephania		
7 Laurence		
8 Caroline		
9 Paul		
10 Horst		
11 Ute		
12 Cecily		

Person	Band	Fenotyp
13 Gerard		
14 Catherine		
15 Jill		
16 Fred		
17 Angela		
18 Ognian		
19 David		
20 Lisbet		
21 Maria		
22 Jan		
23 Liesbeth		
24 John		

