

Dvynių genetiniai tyrimai

Veronika Everatt ir Elena Everatt

Vilniaus jėzuitų gimnazija

Darbas atliktas VU GMF Žmogaus genomo tyrimų centre

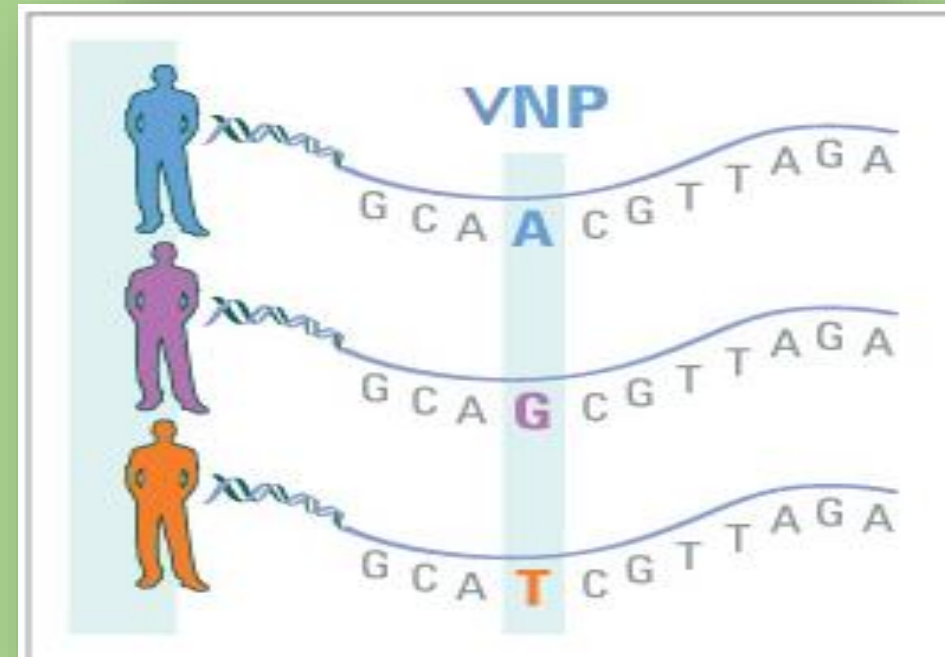
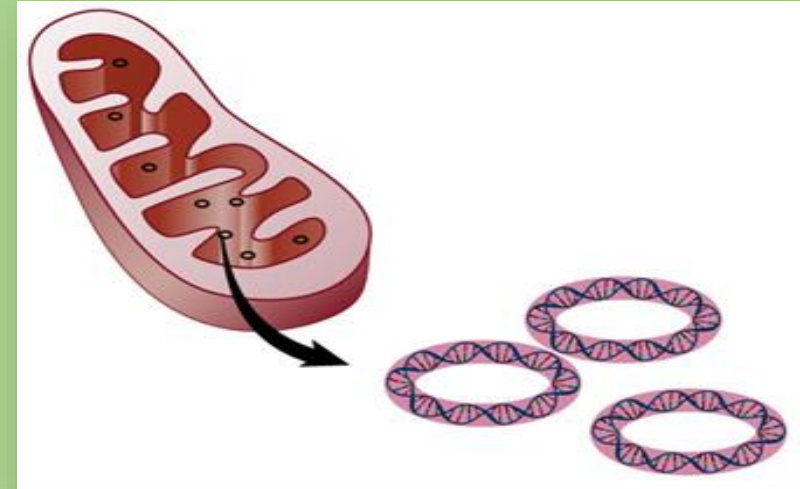
Darbo vadovės:

j. m. d. dokt. Kristina Daniūnaitė iš VU Gamtos mokslų
fakulteto (GMF)

mokytoja Ala Vaicekauskienė

Įvadas

- Mitochondrinė DNR
- Žmonės skirstomi į haplogrupes
- Vieno nukleotido polimorfizmai (VNP)



Tyrimo tikslas

- Palyginti dvynių ir ne dvynės sesers mtDNR pagal du konkrečius VNP ir nustatyti galimas haplogrupes. Ne dvynė sesuo naudojama kaip kontrolinė grupė.

DNR išskyrimas

- Paėmėme burnos gleivinės ląstelių
- Įdėjome lizės buferio
- Įpylėme proteinazės K
- DNR išgryninome, naudodamos filtrines kolonėles



Polimerazės grandininė reakcija (PGR)

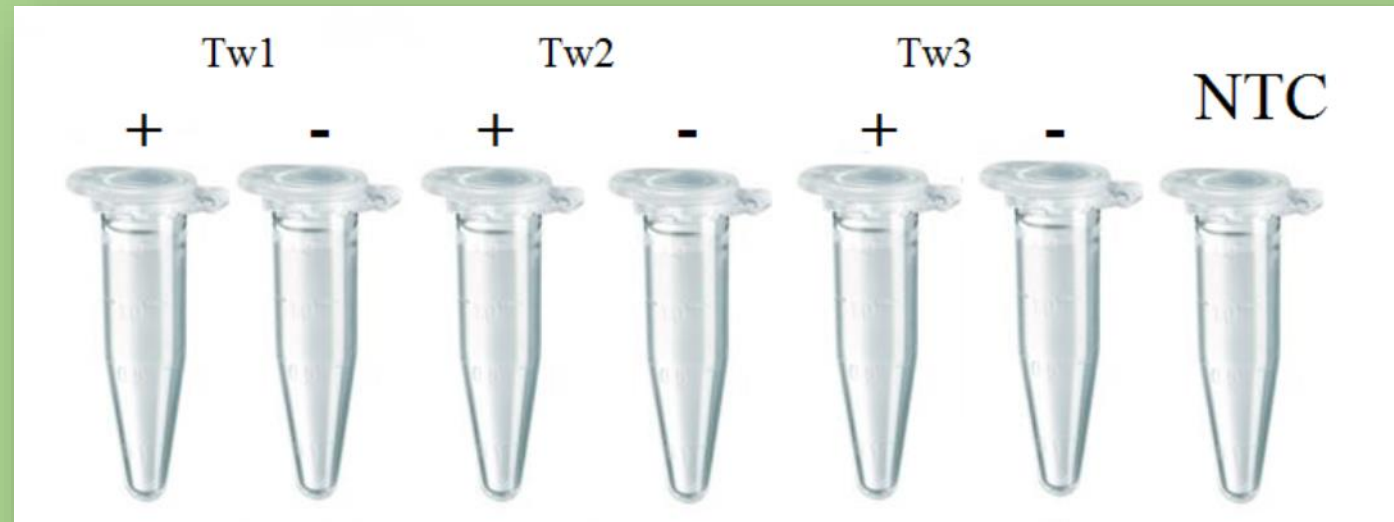
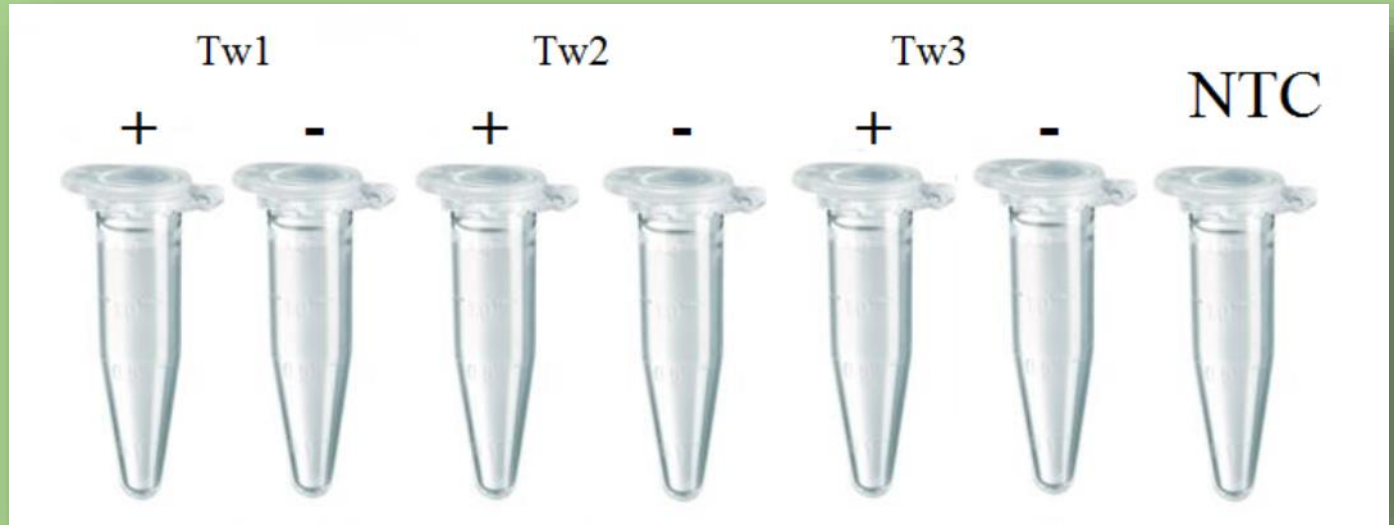
- Paruošėme 4 mėgintuvėlius:
Tw1, Tw2, Tw3 ir kontrolinį
mėgintuvėlį be DNR
- Mėgintuvėlius įdėjome į
termociklerį 35 ciklams



Termocikleris

Restrikcinė analizė

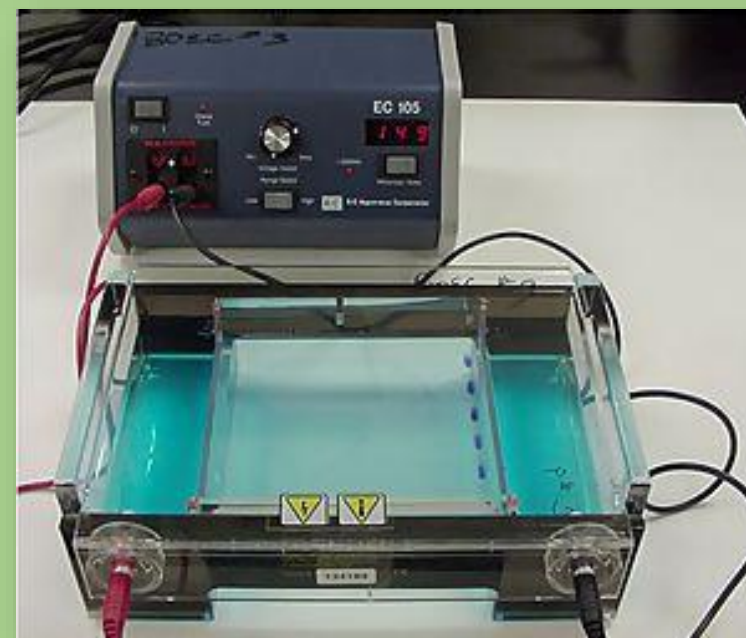
- Paruošėme mėgintuvėlius fermento **Sau96I** kerpamos vietos tyrimui.
- Paruošėme mėginius fermento **Hinfl** kerpamos vietos tyrimui.



Karpymas vyko 15 min 37 °C temperatūroje

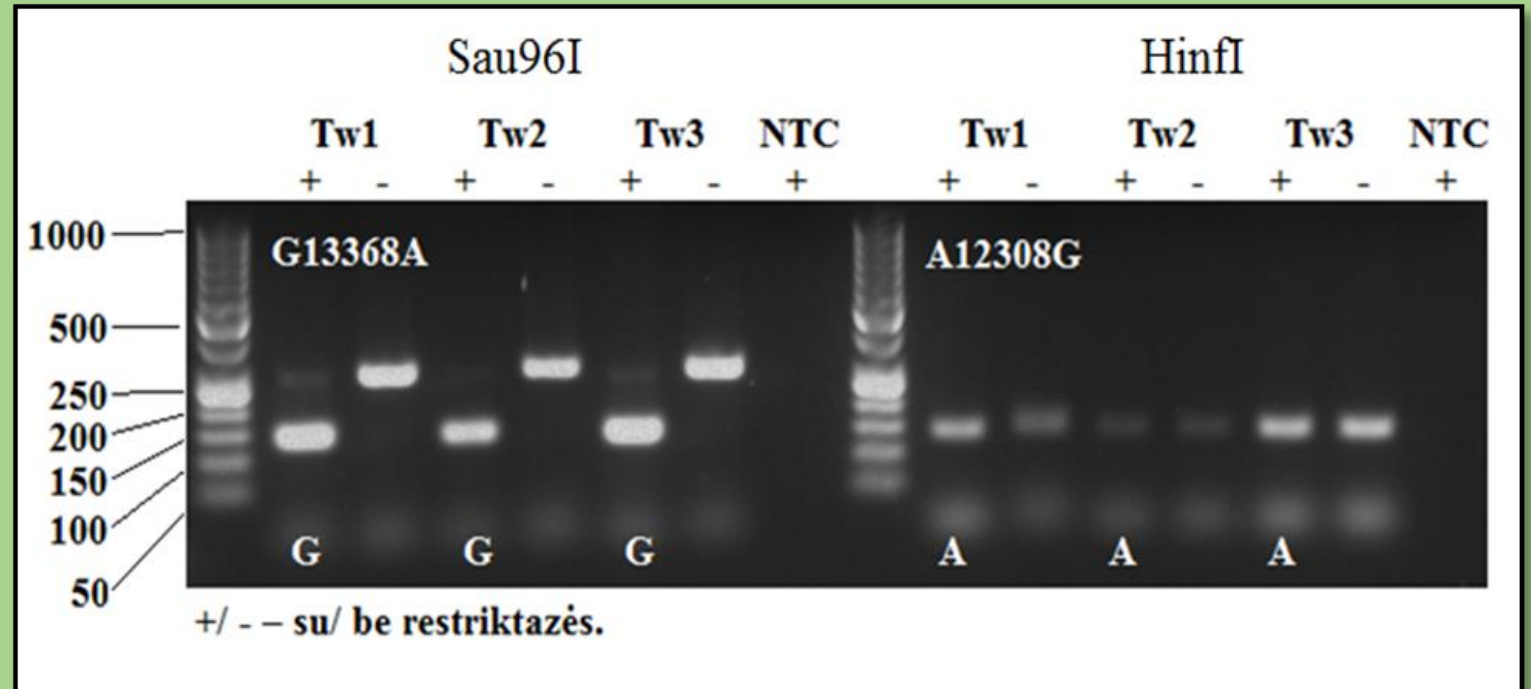
Elektroforezē gelyje

- Po reakcijas su restrikcijas endonukleazēm, gautus mēģinius pipete suleidome i gelj.
- Atlikta elektroforezē.



Rezultatai ir jų analizė

- Rezultatai po kirpimo fermentu **Sau96I**
- Rezultatai po kirpimo fermentu **Hinfl**



1 pav. Dviejų VNP tyrimo (G13368A ir A12308G) rezultatų analizė agarozės gelyje. Tw1-3 – tiriamieji mėginiai, NTC – taršos kontrolė. Kairėje nurodytas DNR ilgio žymens fragmentų ilgis (bazių poromis).

| Vieno nukleotido polimorfizmas (VNP) | Restriktazė | Deoksiribonukleotidas (kirpta/ nekirpta) |
|--------------------------------------|---------------|--|
| G13368A | Sau96I | G/ A |
| A12308G | Hinfl | G/ A |

1lentelė. VNP nustatymui mtDNR taikytos restriktazės ir rezultatų interpretavimas.

Haplogrupių nustatymas

- Nepriklausome K, T, ir U haplogrupėms.
- Priklausome H, I, J, V, W arba X.

| VNP | Haplogroup | | | | | | | | |
|---------|------------|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | H | I | J | K | T | U | V | W | X |
| G1719A | G | A | G | G | G | G | G | G | A |
| G4580A | G | G | G | G | G | G | A | G | G |
| C7028T | C | T | T | T | T | T | T | T | T |
| G9055A | G | G | G | A | G | G | G | G | G |
| A12308G | A | A | A | G | A | G | A | A | A |
| G13368A | G | G | G | G | A | G | G | G | G |
| G13708A | G | G | A | G | G | G | G | G | G |
| G16391A | G | A | G | G | G | G | G | G | G |

Išvados

- Mitochondrinėje DNR pagal du ištirtus VNP skirtumų tarp mūsų neradome.
- Remiantis atliktu mtDNR dviejų VNP tyrimu, galima teigti, kad priklausome vienai iš 6 haplogrupių (H, I, J, V, W arba X).

Tolimesni uždaviniai

- Genetiškai nustatyti Rh (rezus) faktorių
- Genetiškai įvertinti laktozės netoleravimo tikimybę
- Ištirti mažųjų reguliacinių RNR raišką
- Įvertinti kiekybinius DNR metilinimo skirtumus

Literatūra

1. Pardinas AF et al. Introducing human population biology through an easy laboratory exercise on mitochondrial DNA. Biochem Mol Biol Educ 2010; 38(2).
2. Thermo Fisher Scientific.
<http://www.thermoscientific.com> [internetinė svetainė]