

МЕТОДЫ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН ДНК

Плотникова М.Ю., Горбачева Т.М.

Воронежский Государственный Университет,
РФ, 394000, Воронеж, Университетская площадь, 1, 89155891384, j.mariia@rambler.ru

Рассмотрены 2 метода генотипирования SNP: метод allele-specific PCR: real-time PCR based on SYBR-Green fluorescence, метод TaqMan Real-Time PCR.

Измерение количества ДНК в пробе ведут по детектированию флуоресцентного сигнала определенных химических реагентов.

Получены результаты аллель-специфичной амплификации real-time с детекцией SYBR Green нормальной и опухолевой ткани почки. Анализы с использованием связывающего красителя SYBR Green менее специфичны, чем обычный ПЦР-анализ с помощью агарозного геля, поскольку специфичность реакции полностью определяется праймерами. С помощью метода ПЦР в реальном времени проводят диагностику рака.

Метод АС-ПЦР в реальном времени с детекцией TaqMan зондами основан на 5' - 3' экзонуклеазной активности ДНК Taq-полимеразы, способной разрушить зонд с меткой после его гибридизации с комплементарной ДНК-мишенью. Если у зонда отсутствует дополнение в виде ампликона, зонд остается целым, тогда детектируется низкая флуоресценция. При возникновении комплементарной мишени в результате ПЦР, зонд соединяется с ней во время очередной фазы отжига проводимой реакции. Данный реактив считается самым популярным для проведения количественного ПЦР-анализа, основанного на активности Taq-полимеразы. Таким образом, АС-анализ позволяет провести точную идентификацию конкретной последовательности ДНК и различать индивидуумов, несущих нормальную последовательность ДНК в гомологичных хромосомах, мутантную последовательность как в гомологичных хромосомах, так и в одной хромосоме при нормальной последовательности в другом гомологе. Главное преимущество использования зондов - обеспечиваемая ими специфичность и чувствительность, а основной недостаток - высокая стоимость.

Для оценки практической эффективности рассмотренных методов целесообразно сравнить чувствительность методов АС ПЦР с детекцией SYBR Green и АС ПЦР real-time с детекцией Taqman зондами.