

Využití DNA analyzátoru CEQ 8000 pro analýzu mutací v klinické diagnostice

Soňa Peková

CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Možnosti identifikace genových mutací pomocí DNA analyzátoru CEQ 8000:

- **Přímé sekvenování amplifikované oblasti**
(hledání nových mutací, detekce mnohočetných mutací vyskytujících se v rámci sekvenovaného amplikonu)
- **SNP analýza** (detekce definovaných bodových mutací)
- **Jiné metody** (fragmentační analýza pro prohledávání velkých genomových úseků)



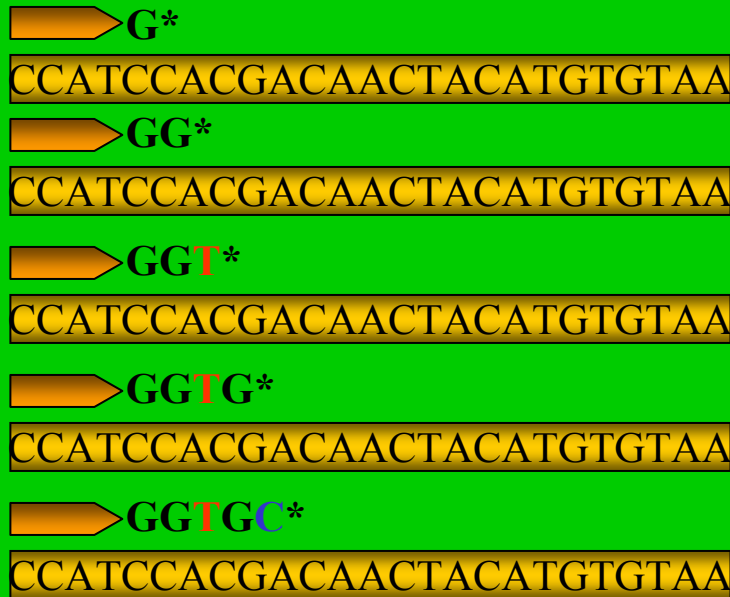
CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Sekvenační analýza

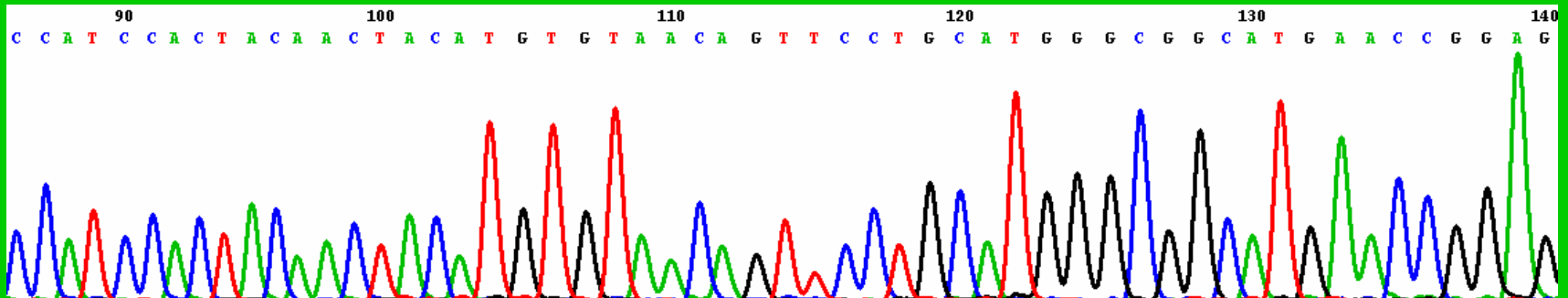


CGATTCTGACAATGeneticATAGCTC

Princip sekvenační analýzy

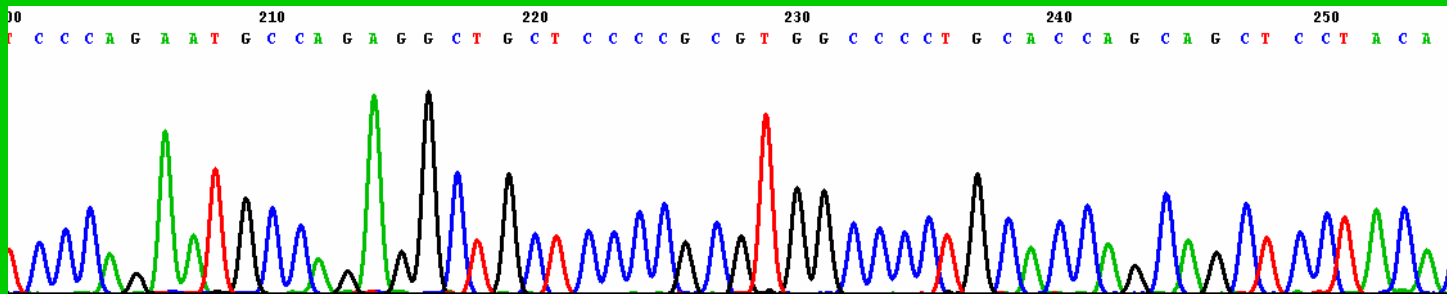
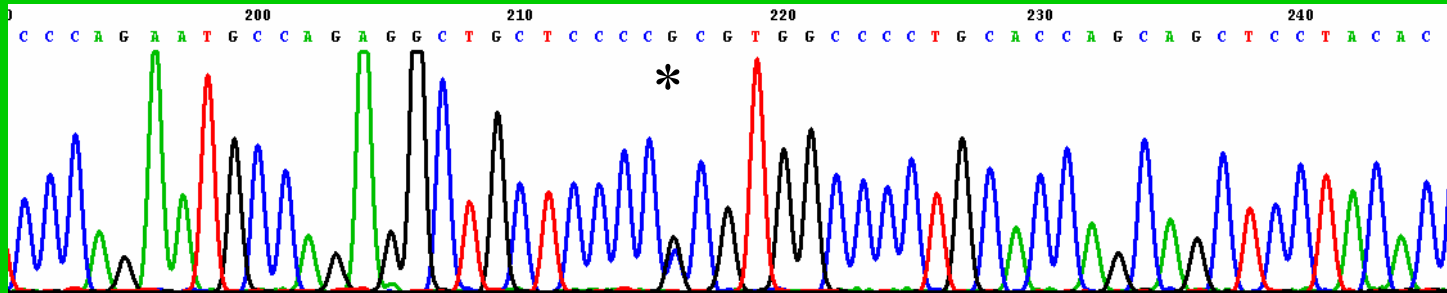


směs značených a
neznačených nukleotidů



CGATTCTGACAATGeneticATAGCTC

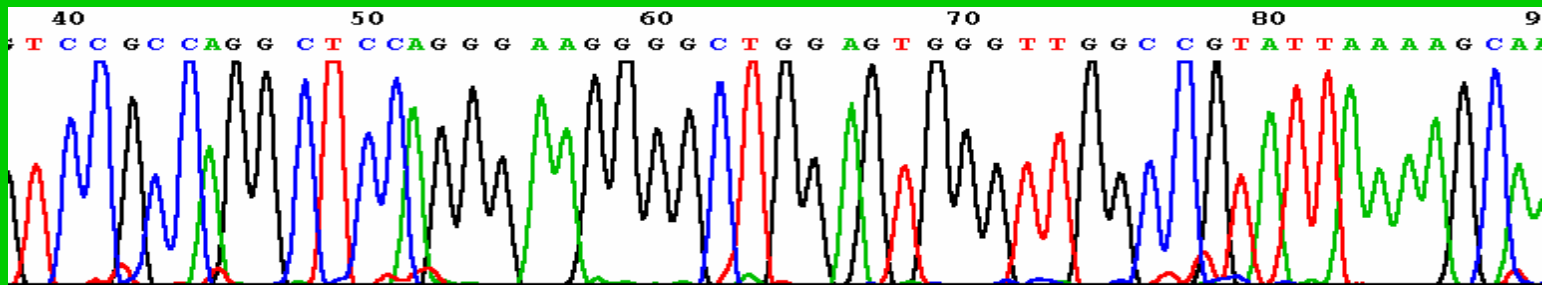
Sekvenační analýza bodových mutací (detekce heterozygotů)



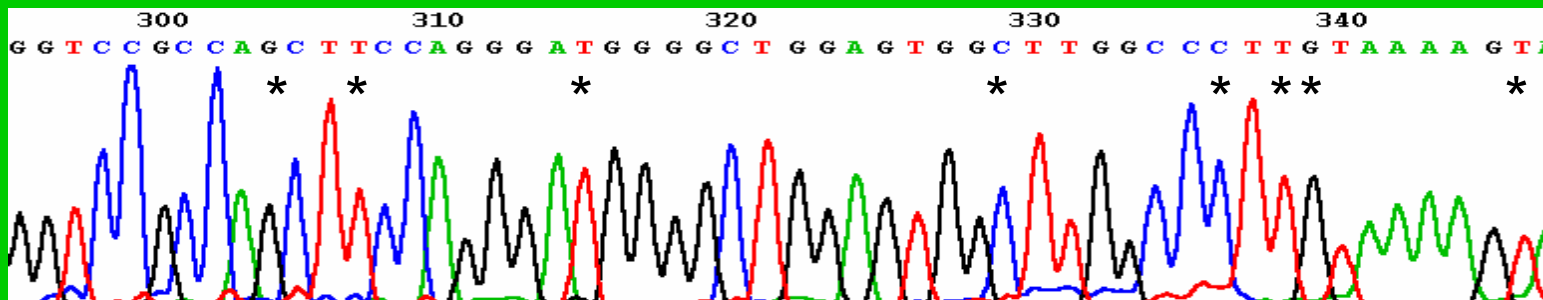
CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Sekvenační analýza bodových mutací (detekce homozygotních mutant)

Germinální sekvence V_H3-15



Mutovaná sekvence V_H3-15



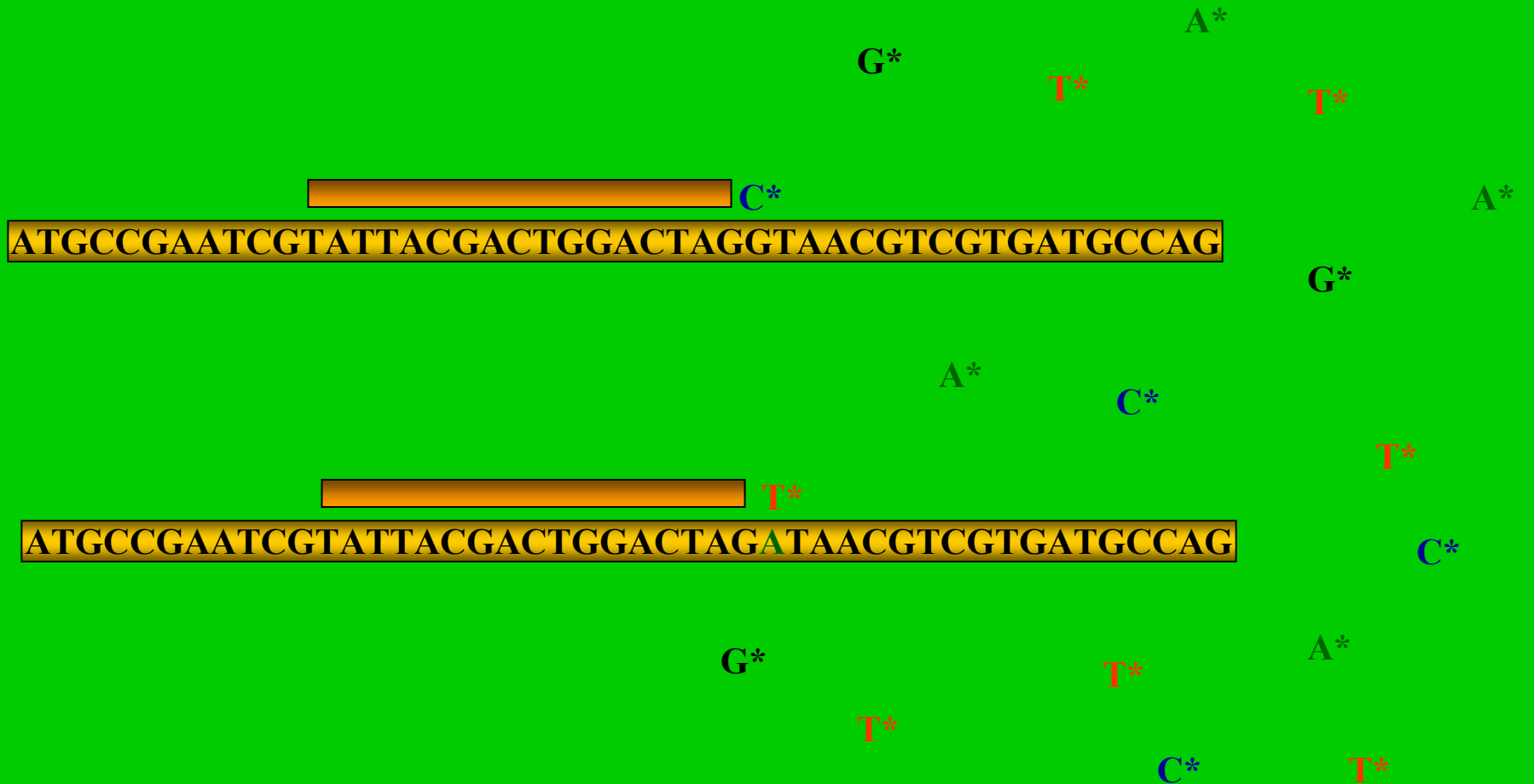
CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

SNP analýza

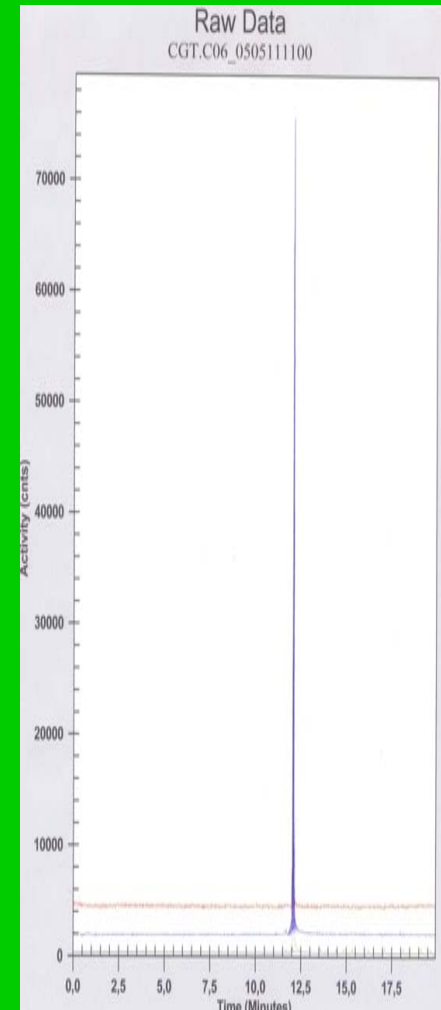
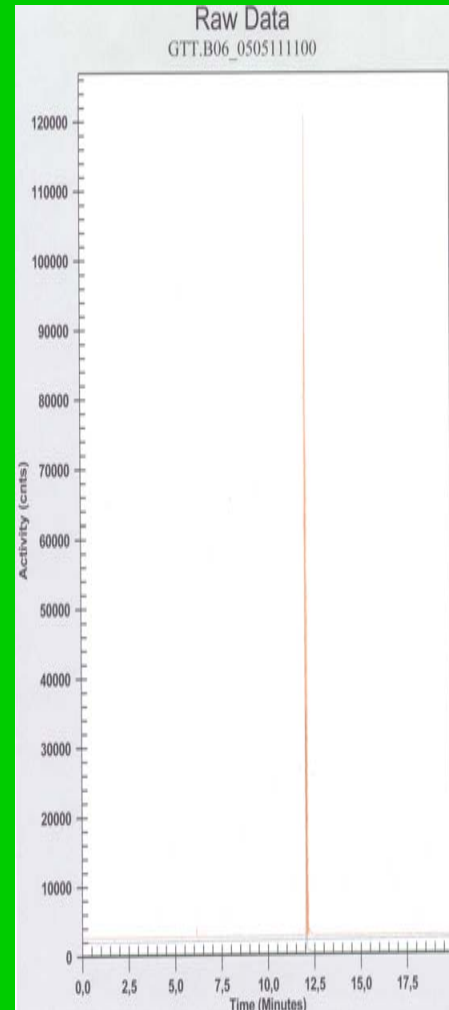
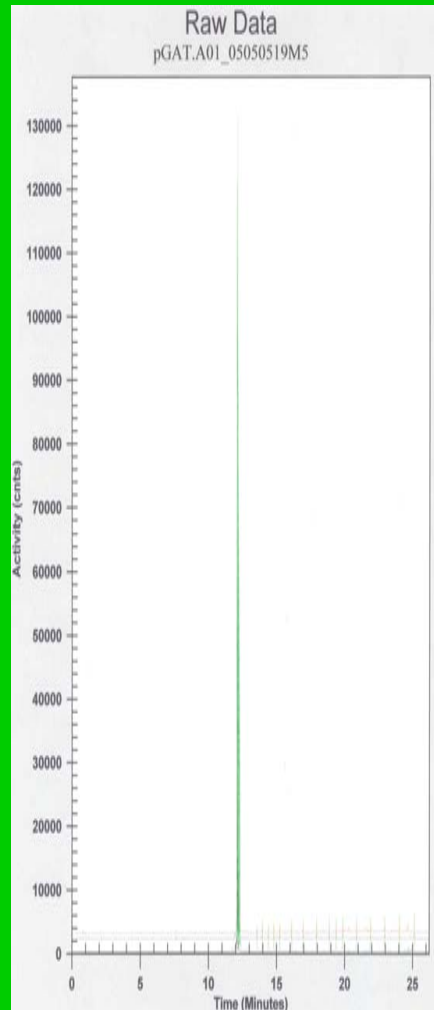
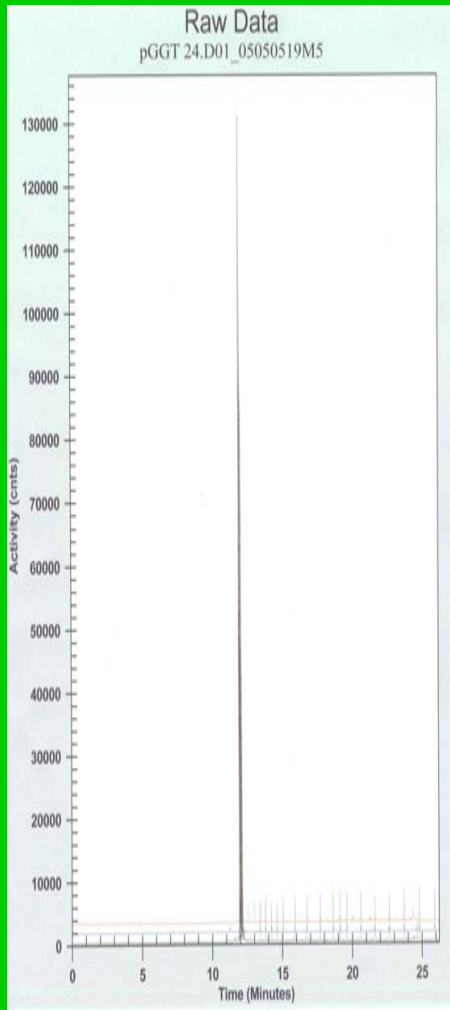


CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Princip SNP analýzy pomocí prodlužování primeru (SNP extension kit, Beckman Coulter)



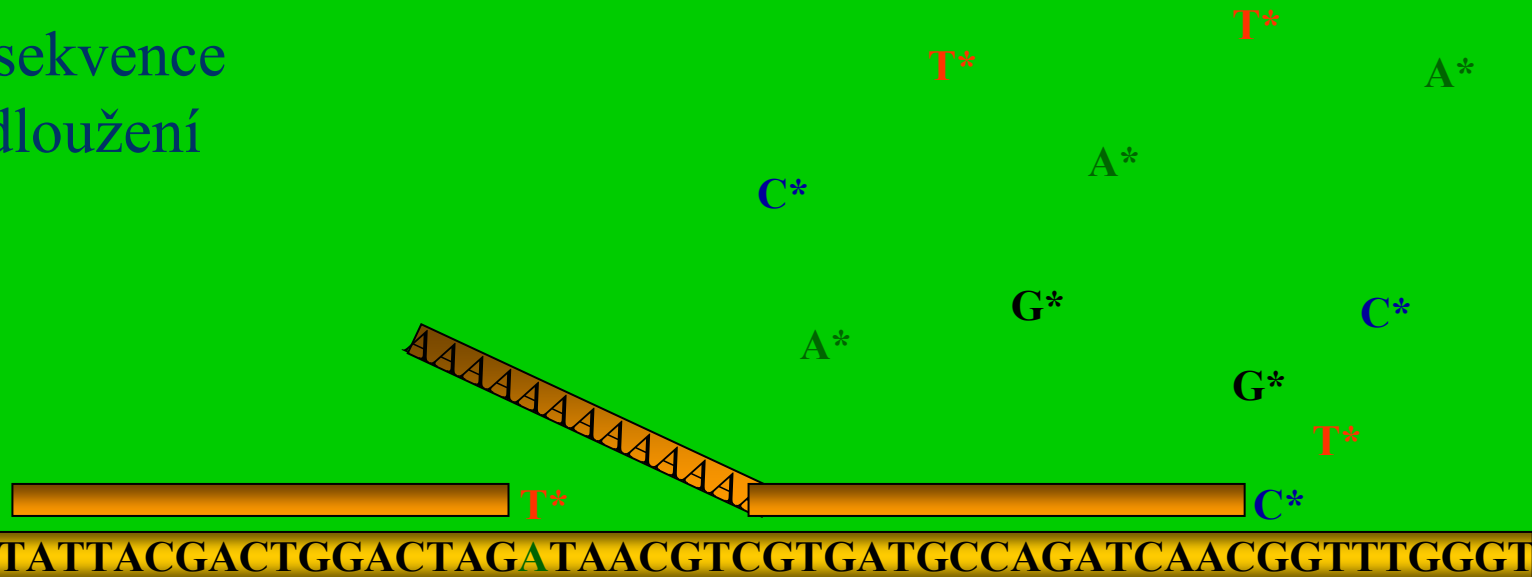
SNP detekce K-ras AA 12, záměna GGT → GAT, GTT, CGT



CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

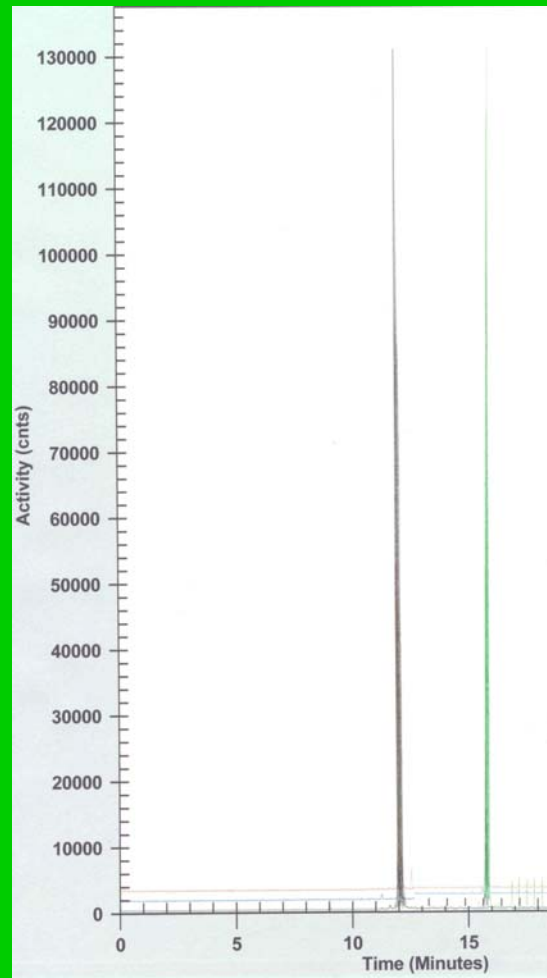
Detekci SNP prodlužováním primerů lze multiplexovat

poly-A sekvence
pro prodloužení
primerů



CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Příklad duplexní SNP detekce (genotyp GGT, GAT v genu „X“)



CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Srovnání sekvenační analýzy a SNP analýzy

	Sekvenační analýza	SNP analýza
Získaná informace	Komplexní, přesná identifikace celé amplifikované oblasti	Přesná identifikace pouze definovaných mutací
Pracnost	Vysoká	Vysoká
Časová náročnost	Náročná	Náročná, ale kratší než sekvenační analýza
Rutinní provedení	Ano	Ano
Analýza	Časově náročná, nutno prohledávat místa potenciálních mutací	Časově nenáročná, automatické zpracování

CGATTCTGACAATGeneticCATAGCTC

Děkuji za pozornost

CGATTCTGACAATGenetiCATAGCTC