

5. MOLEKÜLER GENETİK TANı YÖNTEMLERİ

5. METHODS OF MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS

Prof. Dr. Şaban Tekin
Doç. Dr. Birsen Cevher Keskin

MOLEKÜLER GENETİK TANI YÖNTEMLERİ

Prof. Dr. Şaban Tekin
Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Doç. Dr. Birsen Cevher Keskin
TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi

Özet

Moleküler genetik tanı yöntemleri özellikle hastalıkların temelinde yatan sebeplerin belirlenmesine yönelik DNA, gen, protein, hücre ve doku seviyesinde gerçekleştirilen test ve analizleri kapsamaktadır. Moleküler genetik alanındaki tıbbi laboratuvar, genomik bilgi ve teknolojiler arasındaki verimli etkileşimin sonucu olarak moleküler tanı karşımıza çıkmaktadır. Tüm bu faktörler, kalıtsal hastalıkların genetik temelini tanımlanmasına ve tam olarak karakterize edilmesine katkıda bulunduğundan doğru tanı için hayati önem taşımaktadır. Yeni nesil dizileme veya genom düzeyinde ilişkilendirme çalışmaları gibi güncel yöntemler, hastalık mekanizmaları hakkında çok önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu kapsamda değerlendirilen genomik biyobelirteçler, yalnızca hastalığa yatkınlığın değerlendirmesine değil, aynı zamanda doğru ve kişiselleştirilmiş tedavi yöntemlerinin tasarlamasına ve uygulamasına fırsat verebilmektedir. Hastalıklarda rol oynayan genlerin tanımlanması, genetik bozukluklarla ilgili bilimsel verilerin önemli derecede artışına yol açmıştır. Dolayısıyla hastalıkların patogenez ve tedavisi konusunda yeni görüşlerin ortaya çıkmasına olanak sağlamıştır. Genel olarak, bir hastalığın moleküler genetik temeline ilişkin bilginin ilk klinik uygulaması tanı aşaması olmaktadır. Moleküler teknikler, birçok vakada hedef dokulardan elde edilen DNA molekülünün analizi sonrası, mutasyon taşıyan bireylerin kesin olarak genetik tanımlanmasına olanak veren hassas yöntemlerdir. DNA analizleri günümüzde genlerdeki mutasyona bağlı farklı hastalıkların semptomlarını gösteren bireylerin tanısında rutin olarak kullanılmaktadır. Ayrıca presemptomatik testler, taşıyıcılık testleri ve doğum öncesi tanı için de kullanılmaktadır. Moleküler tanı yöntemleriyle ilaç metabolizmasına dahil olan genlerdeki varyantlar tanımlanabilmekte ve ilaç dozajının bireyselleştirilmesi mümkün olabilmektedir. Yaygın hastalıkların oluşumu ve patojenitesine katkıda bulunan yeni genler tanınmaya başladıkça, bireylerin hastalık riski altında olup olmadığını ve en etkili spesifik tedavilerin belirlemesi amacıyla daha yeni genetik testlerin kullanılması beklenmektedir. Moleküler genetik teknikler, yeni nesil dizileme ve biyoinformatik uygulamalardaki gelişmeler daha kapsamlı genetik çalışmalar yapma ve çok değerli verilere ulaşma fırsatı sağlayacaktır. Bu bölümde direkt mutasyon analizi ve bilinmeyen mutasyonların tespitinde kullanılan teknikler ele alındıktan sonra, mikroarray teknolojisi ve yeni nesil dizileme (YND) teknolojisi farklı platformları ve farklı araştırmalardaki kullanım alanları tartışılmıştır.

Anahtar Kelimeler

Mikroarray, PCR, Yeni nesil dizileme, Allel spesifik oligonükleotit, Real time PCR, marker

METHODS OF MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS

Abstract

Molecular genetic diagnosis methods include tests and analyses performed at the level of DNA, gene, protein, cell, and tissue, especially to determine the underlying origins of diseases. Molecular diagnosis appears because of the efficient interaction between laboratory medicine, genomic information, and technology in the field of molecular genetics. All these factors contribute to the identification and full characterization of the genetic basis of hereditary diseases, which is vital for the correct diagnosis. Current methods, such as next-generation sequencing or genome-level association studies, provide crucial insights into disease mechanisms, and genomic biomarkers provide an opportunity for physicians not only to assess disease susceptibility, but also to design and implement accurate diagnostic methods and personalize drug treatment modalities. The identification of the genes involved in human diseases has led to a significant increase in scientific data on genetic disorders. Therefore, it has allowed the emergence of new views on the pathogenesis and treatment of diseases. In general, the first clinical application of knowledge of the molecular genetic basis of a disease is in diagnosis. In many cases, molecular techniques are sensitive methods that allow precise genetic identification of individuals carrying mutations by performing DNA analysis on target tissue. DNA analysis is now routinely used in the diagnosis of individuals showing symptoms of different diseases due to mutations in single genes. In molecular diagnostic methods, DNA analyses are used for presymptomatic tests, carrier tests, and prenatal diagnosis, which can identify variants in genes involved in drug metabolism and allow personalizing of drug dosage. As new genes that contribute to the occurrence and pathogenicity of common diseases begin to be recognized, it is expected that new genetic analysis will be used to predict whether an individual is at risk for the disease and to identify subtypes that may best respond to specific treatments. Advances in molecular genetic techniques, Next-generation sequencing (NGS) technologies, and bioinformatics tools will provide the opportunity to conduct more comprehensive molecular genetic studies and access very valuable data in scientific research. In this chapter, after discussing the techniques used in direct mutation analysis and detection of unknown mutations, microarray technology and various platforms of NGS technology and their usage areas in different research studies are discussed.

Keywords

Microarray, PCR, Next-generation sequencing, NGS, Allel specific oligonucleotide, Real time PCR, Marker