Diagnostyka molekularna chorób genetycznych

- Wprowadzenie
- Przeczytaj
- Audiobook
- Sprawdź się
- Dla nauczyciela

Uzupełnieniem badań molekularnych, często wykorzystywanym w diagnostyce genetycznej człowieka, są badania cytogenetyczne, w ramach których analizowana jest struktura chromosomów. Na zdjęciu wyniki analizy widmowej kariotypu.
Źródło: National Cancer Institute, Unsplash, domena publiczna.

W wyniku rozwoju technik biologii molekularnej powstała nowa gałąź medycyny – diagnostyka molekularna. Umożliwia ona analizę fragmentów kwasów nukleinowych w celu wykrycia genotypu związanego ze schorzeniami uwarunkowanymi genetycznie. Badania molekularne stają się coraz bardziej popularne: wykrywają nie tylko choroby genetyczne, ale i mutacje, które zwiększają ryzyko ich wystąpienia.

Twoje cele

- Scharakteryzujesz badania molekularne, uwzględniając ich zastosowanie w diagnostyce medycznej.
- Porównasz rodzaje testów stosowanych w badaniach molekularnych.
- Przedstawisz zastosowania wybranych technik inżynierii genetycznej w diagnostyce chorób genetycznych.

Przeczytaj

Co to są badania molekularne?

Przymiotnik „molekularne” wskazuje na badanie organizmów żywych na poziomie molekuł, czyli cząsteczek. Najczęściej badane są kwasy nukleinowe – cząsteczki DNA (kwasu deoksyrybonukleinowego) lub RNA (kwasu rybonukleinowego). Wąskie ujęcie biologii molekularnej odpowiada więc **genetyce molekularnej**, czyli badaniom materiału genetycznego i wszystkich procesów, które są związane z funkcjonowaniem kwasów nukleinowych.

Diagnostyka molekularna to jedna z najnowszych i najszybciej rozwijających się dziedzin badań laboratoryjnych. Najczęściej stosowane techniki umożliwiające analizę fragmentów kwasów nukleinowych to: łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR), analiza restrykcyjna, sekwencjonowanie oraz hybrydyzacja DNA.

Badanie z zakresu diagnostyki molekularnej polega na pobraniu materiału genetycznego pacjenta, a następnie jego weryfikacji pod kątem obecności obcych genów (w przypadku chorób zakaźnych) albo mutacji. Materiał ten to najczęściej krew (leukocyty), komórki nabłonka (z wymazu z jamy ustnej) oraz włosy (cebulka włosowa). Trzeba jednak pamiętać, że substancje z informacjami genetycznymi znajdują się w każdej żywej komórce, dlatego do badań tego rodzaju można wykorzystać dowolny rodzaj tkanki.

Termocykler wykorzystywany m.in. w reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR).

Źródło: GFJ, Wikimedia Commons, licencja: CC BY-SA 4.0.

Metody diagnostyki molekularnej wykorzystuje się w sposób:

- bezpośredni – w przypadku znajomości sekwencji genu jego prawidłowa forma stosowana jest jako sonda w celu wykrycia pojawiających się mutacji,
- pośredni – jeżeli gen wywołujący chorobę jest nieznany, w wykrywaniu wadliwych fragmentów DNA stosuje się analizę sprzężeń oraz analizę asocjacji.

Techniki inżynierii genetycznej stosowane w diagnostyce molekularnej

W diagnostyce chorób genetycznych szerokie zastosowanie znalazła **inżynieria genetyczna**. Umożliwia ona wykrywanie mutacji genowych, czyli zmian w sekwencji DNA (np. zamiany pojedynczego nukleotydu).

Techniki obecnie najczęściej wykorzystywane w diagnostyce molekularnej to hybrydyzacja DNA z sondami molekularnymi oraz metody oparte na reakcji PCR. Nośnikiem informacji genetycznej jest DNA, dlatego to ten kwas nukleinowy jest najczęściej poddawany badaniom. Wybór kwasu nukleinowego do badań molekularnych zależy jednak od rodzaju choroby oraz celu badania.

Sekwencjonowanie DNA, czyli ustalanie sekwencji nukleotydowej danego genu lub genomu, stosowane jest najczęściej w przypadku mutacji nieznanych, w których nie jest wiadome, jaki gen odpowiedzialny jest za objawy. Zmiany, jakie zaszły w sekwencji DNA, można zidentyfikować, porównując zapis poszczególnych nukleotydów.

Sekwencjonowanie stosowane jest do identyfikacji chorób takich jak:

- mukowiscydoza (różne mutacje genu *CFTR* kodującego białko CFTR – przezbłonowy regulator transportu jonów),

- fenyloketonuria (mutacja genu *PAH* kodującego białko PAH – hydroksylazę fenyloalaniny),

- choroba Huntingtona (mutacja w genie *IT15* kodującym białko huntingtynę).

Techniki bazujące na PCR, która umożliwia powielenie danego fragmentu DNA, wykorzystywane są m.in. w diagnostyce chorób jednogenowych: do

wykrywania delecji eksonów w genach, rozróżniania alleli zmutowanych i prawidłowych czy też do wykrywania mutacji punktowych.

Reakcję łańcuchową polimerazy można wykorzystać do oceny predyspozycji do zachorowania na nowotwory. W przypadku wykrycia mutacji genów *BRCA1* oraz *BRCA2* stwierdza się zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi. Mutacje genów *APC* i *CHEK2* skutkują wyższym ryzykiem rozwoju raka szyjki macicy.

Hybrydyzacja pozwala na wykrywanie specyficznych sekwencji DNA. Polega na przyłączaniu wyznakowanych fragmentów kwasów nukleinowych do komplementarnych sekwencji. Takie wyznakowane izotopami lub chemicznie odcinki kwasów nukleinowych to sondy molekularne. Wiążą się z komplementarnymi sekwencjami w badanym materiale genetycznym, tworząc hybrydy.

Wyróżnia się różne typy hybrydyzacji.

- Southern blot pozwala na określenie lokalizacji lub wykrywanie obecności danej sekwencji DNA.
- Northern blot wykorzystywany jest do identyfikacji określonej sekwencji RNA.
- Fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ* (FISH) służy do wykrywania określonej sekwencji DNA.

Choroby genetyczne diagnozowane metodą hybrydyzacji to m.in.:

- fenyloketonuria (mutacja genu *PAH* kodującego białko PAH – hydroksylazę fenyloalaniny),
- hemofilie: typu A (mutacja genu *Xq28* powodująca niedobór VIII czynnika krzepnięcia krwi), typu B (mutacja w locus *Xq27.1-q27.2* skutkująca niedoborem IX czynnika krzepnięcia krwi) i typu C (mutacja w genie *4q35*, niedobór XI czynnika krzepnięcia krwi).

Analiza restrykcyjna stosowana jest do wykrywania mutacji punktowych w miejscach rozpoznawanych przez enzymy restrykcyjne. Wykrycie zmienionych fragmentów kwasu nukleinowego po zastosowaniu określonego enzymu wskazuje na obecność mutacji w danej sekwencji DNA.

Analiza restrykcyjna DNA wykorzystywana jest do wykrywania m.in.:

- anemii sierpowatej (mutacja w genie *HBB* kodującym białko β-globinę),

- fenyloketonurii (mutacja genu *PAH* kodującego białko PAH – hydroksylazę fenyloalaniny).

Więcej informacji znajdziesz w e-materiałach:

- *Sekwencjonowanie DNA*;
- *Łańcuchowa reakcja polimerazy*;
- *Analiza restrykcyjna i elektroforeza DNA*;
- *Sondy molekularne i hybrydyzacja DNA*.

> **Ważne!**
>
> Gwałtowny rozwój technologii badań genetycznych nie byłby możliwy bez zsekwencjonowania genomu człowieka. Dzięki trwającemu w latach 1990–2000 Projektowi Poznania Genomu Ludzkiego (ang. *Human Genome Project*) zsekwencjonowano 99% genomu człowieka. W 2003 r. opisano i przeanalizowano sekwencję każdego genu. Znajomość prawidłowych sekwencji ludzkich genów umożliwia identyfikację wielu mutacji genetycznych warunkujących choroby *Homo sapiens*.
>
> Więcej informacji o Projekcie Poznania Genomu Ludzkiego znajdziesz w e-materiałach pt. *Genom człowieka* oraz *Mapa genetyczna człowieka*.

Znaczenie badań molekularnych w diagnostyce medycznej

Istnieje ok. 7 000 chorób jednogenowych. Niestety, skuteczne metody leczenia opracowano do tej pory tylko dla niektórych z nich, jak np. wrodzonej ślepoty Lebera. Wyróżnia się jednak niewielką grupę chorób genetycznych, których **wczesne wykrycie** umożliwia łagodzenie przebiegu oraz niwelowanie ich skutków. Przykłady takich chorób to: fenyloketonuria, mukowiscydoza, galaktozemia, anemia sierpowata.

Badania molekularne ze względu na cel prowadzenia można podzielić na: testy diagnostyczne, testy prognostyczne i badania na nosicielstwo. Testy diagnostyczne pozwalają na identyfikację chorób genetycznych w celu dobrania potencjalnych metod łagodzenia objawów. Testy prognostyczne pozwalają oszacować ryzyko zachorowania, dzięki czemu można wdrożyć odpowiednie działania profilaktyczne. Badania na nosicielstwo umożliwiają określenie prawdopodobieństwa wystąpienia chorób genetycznych u potomstwa.

Testy diagnostyczne

Testy diagnostyczne polegają na analizie materiału genetycznego pod kątem obecności mutacji związanych z rozwojem danej choroby. Wykrycie takiej mutacji pozwala na

diagnozę i wdrożenie odpowiedniego postępowania, w tym leczenia (jeśli jest ono dostępne). Testy te wykorzystuje się w diagnostyce wielu chorób genetycznych występujących u dzieci, takich jak dystrofia mięśniowa Duchenne'a wywołana mutacją genu dystrofiny, zespół Marfana spowodowany mutacją w genie *FBN1* czy mukowiscydoza, która rozwija się wskutek mutacji w obrębie genu *CFTR*. Genetyczne testy diagnostyczne są również zalecane przy podejrzeniu nietolerancji pokarmowych – można dzięki nim stwierdzić m.in. nietolerancję laktozy i glutenu. Wykonanie badania genetycznego bywa również wskazane m.in. u osób z powtarzającymi się napadami padaczkowymi, zwłaszcza u dzieci, ponieważ w tej grupie wiekowej przyczyny genetyczne odgrywają największą rolę.

Innym zastosowaniem badań molekularnych jest identyfikacja genetycznej przyczyny już rozwijającej się choroby nowotworowej. Materiał do badań stanowi DNA komórek nowotworowych pochodzące z płynów ustrojowych (w których występują te komórki) lub z wycinków guza nowotworowego. Dzięki diagnostyce molekularnej można określić, czy przeciwko nieprawidłowej zmianie genetycznej obecnej u danego pacjenta opracowano już lek celowany molekularnie – innymi słowy, czy u badanego występuje tzw. cel molekularny, który jest warunkiem skuteczności terapii celowanej molekularnie. Mechanizm działania leków ukierunkowanych molekularnie polega na hamowaniu molekularnych mechanizmów powstawania i progresji nowotworów, np. przekazywaniu sygnału dotyczącego podziału komórek nowotworowych przez nieprawidłowe białka. Terapia celowana molekularnie przyczyniła się do ogromnego postępu w leczeniu nowotworów złośliwych i rozwija się bardzo intensywnie: obecnie badanych jest kilkaset potencjalnych leków.

Testy prognostyczne

Badania na nosicielstwo

Więcej informacji o możliwościach leczenia chorób genetycznych znajdziesz w e-materiałach:

- *Procedura terapii genowej*,
- *Terapia genowa i poradnictwo genetyczne*.

Podsumowując, badania DNA pozwalają m.in. na:

- diagnozowanie i zaplanowanie leczenia chorób genetycznych,
- wykrywanie mutacji zwiększających ryzyko rozwoju danego schorzenia w przyszłości,
- wykrywanie patogenów obecnych w organizmie żywym,
- weryfikację nosicielstwa mutacji genetycznych u par planujących ciążę.

Słownik

analiza asocjacji

poszukiwanie korelacji występowania różnych alleli genów w populacji z występowaniem fenotypu; dotyczy cech dziedziczonych wieloczynnikowo

analiza sprzężeń

szukanie rejonów chromosomu położonych blisko genu determinującego daną cechę
choroby genetyczne

(gr. *genetes* – rodzic, zrodzony); grupa chorób wywołana mutacjami w obrębie genu lub genów (spowodowanych nieprawidłową budową lub liczbą genów, chromosomów), mających znaczenie dla prawidłowej budowy i czynności organizmu
diagnostyka molekularna

technika diagnostyczna służąca do określenia, wykrywania, a następnie analizy fragmentów kwasów nukleinowych pochodzących od pacjentów przy pomocy technik biologii molekularnej w celu uzyskania informacji klinicznych
dystrofia mięśniowa Duchenne'a

zaburzenie rozwojowe mięśni warunkowane wrodzonym (genetycznym) brakiem dystrofiny, białka komórek mięśni szkieletowych; u człowieka zanik tych mięśni, w tym mięśni oddechowych, prowadzi do śmierci w wieku młodocianym
fenyloalanina

aminokwas egzogenny, który musi być dostarczany do organizmu wraz z pokarmem; w organizmie zwierzęcym utlenia się do tyrozyny; choroba związana z zaburzeniami przemian metabolicznych fenyloalaniny to fenyloketonuria
galaktoza

cukier prosty należący do heksoz, wchodzi w skład laktozy; źródłem galaktozy jest laktoza (cukier mleczny) metabolizowana w organizmie człowieka do glukozy i galaktozy; w wyniku reakcji enzymatycznych galaktoza przekształcana jest do glukozy, ale u osób chorujących na galaktozemię przekształcenie to nie zachodzi
przezbłonowy regulator transportu jonów (CFTR)

(ang. *cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*); białko, które tworzy kanał chlorkowy w błonie komórkowej; kodowane przez gen *CFTR* znajdujący się na długim ramieniu chromosomu 7; nieprawidłowa forma tego białka wywołuje mukowiscydozę
mutacja

(łac. *mutatio* – zmiana); nieprawidłowy wariant materiału genetycznego (chromosomu albo sekwencji DNA)
tyrozyna

aminokwas egzogenny; powstaje z egzogennej dla zwierząt fenyloalaniny; u kręgowców z tyrozyny powstaje wiele ważnych biologicznie związków: hormony (adrenalina, tyroksyna), melaniny; w komórce, w obecności kwasu askorbinowego, tyrozyna rozpada się na kwasy: fumarowy i acetylooctowy, które następnie za pośrednictwem

acetylokoenzymu A są włączane do cyklu Krebsa; zachwianie rozpadu tyrozyny prowadzi do ciężkiej choroby — alkaptonurii

zespół Marfana

choroba genetyczna, której objawy dotyczą układu krążenia (m.in. poszerzenie aorty), narządu wzroku (m.in. podwichnięcie soczewki) i układu kostno-stawowego (m.in. nadmiernie długie kończyny)

Audiobook

Audiobook można wysłuchać pod adresem: https://zpe.gov.pl/b/PV3AD2pfS

Diagnostyka molekularna chorób genetycznych

Wczesne wykrywanie chorób genetycznych to jedno z najważniejszych zagadnień współczesnej medycyny. Przed wprowadzeniem badań molekularnych ich diagnostyka bazowała na badaniach cytogenetycznych. Polegały one na liczbowej i strukturalnej analizie chromosomów oraz – w przypadku chorób metabolicznych – na oznaczaniu aktywności enzymów. Oznaczało to, że możliwe było jedynie rozpoznawanie mutacji w genach, których produkty już poznano. Rozwój biologii molekularnej pozwolił na lepsze poznanie mechanizmów powstawania chorób o podłożu genetycznym.

Historia diagnostyki molekularnej chorób genetycznych sięga lat 70. XX w. i badań nad anemią sierpowatą. W 1978 roku po raz pierwszy zastosowano analizę restrykcyjną DNA i hybrydyzację z sondą molekularną do wykrycia mutacji w kodonie 6 β-globiny. Badania Kana i Dozy'ego wykazały, że metoda analizy polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP, z ang. *restriction fragment length polymorphism*) pozwala wskazać chorych, nosicieli oraz zdrowych i może być stosowana do wykrywania mutacji lub różnic w sekwencji DNA między osobnikami. Równolegle Orkin i współpracownicy do wykrycia tej samej mutacji wykorzystali hybrydyzację Southern blot z dwoma wariantami oligonukleotydowej sondy molekularnej. Hybrydyzacja metodą Southerna pozwala na wykrycie obecności oraz określenie wielkości poszukiwanego fragmentu DNA. Jest przydatna przy badaniu mutacji punktowych, które prowadzą do utraty lub wprowadzenia dodatkowego miejsca restrykcyjnego, jak również do wykrywania mutacji o charakterze delecji lub insercji większych niż 50 – 100 par zasad.

Zarówno badania DNA, jak i RNA odgrywają istotną rolę w diagnostyce molekularnej chorób genetycznych. Wybór kwasu nukleinowego do analizy zależy od konkretnej choroby i celów badania. Zazwyczaj to jednak analiza DNA jest wiodąca, ponieważ jest on głównym nośnikiem informacji genetycznej. Dlatego współczesne metody biologii molekularnej stosowane w diagnostyce jednogenowych chorób genetycznych opierają się głównie na hybrydyzacji DNA z sondami molekularnymi i reakcji PCR.

Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR, z ang. *polymerase chain reaction*), która pozwala na namnażanie określonej sekwencji DNA lub RNA, jest stosowana w celu uzyskania wystarczającej ilości materiału genetycznego do dalszych badań. Techniki

diagnostyczne bazujące na tej metodzie są bardzo czułe i specyficzne; umożliwiają ponadto skrócenie czasu analizy i obniżenie jej kosztów. Określenie nosicielstwa choroby z wykorzystaniem techniki hybrydyzacji typu Southern blot zajmuje około jednego tygodnia – PCR zaledwie kilka godzin.

Uzyskanie dokładnej diagnozy chorób genetycznych może wymagać jednoczesnego wykorzystania różnych technik inżynierii genetycznej. Na przykład połączenie PCR z metodą Southern blot pozwala na wykrycie mutacji punktowych w DNA oraz na potwierdzenie obecności mutacji za pomocą hybrydyzacji z sondą DNA. Można także zastosować PCR do wprowadzenia sztucznego miejsca restrykcyjnego w celu identyfikacji mutacji. Taka metoda, określana skrótem PCR-RFLP, jest wykorzystywana do bezpośredniego identyfikowania mutacji jednogenowych i określania nosicielstwa.

Jeśli istnieje potrzeba zidentyfikowania jednej z kilku możliwych mutacji w genie, najczęściej stosuje się sekwencjonowanie DNA poprzedzone badaniem przesiewowym. Techniki przesiewowe opierają się na porównaniu wielkości lub sekwencji badanych fragmentów jednoniciowych lub dwuniciowych kwasów nukleinowych ze wzorcowym fragmentem DNA. Jeśli badany fragment różni się od wzorcowego, to prawdopodobnie występuje zmiana w sekwencji nukleotydów. Wnioski wynikające z takiego badania można potwierdzić pełnym sekwencjonowaniem DNA.

Analiza RNA również jest bardzo ważna w diagnostyce molekularnej i ma swoje unikalne zastosowania. Kwas rybonukleinowy jest kluczowym elementem procesu transkrypcji, w którym DNA jest kopiowany na RNA. Weryfikacja ekspresji genów na poziomie RNA pozwala na badanie, które geny są aktywne w danym miejscu i czasie, co może pomóc w diagnozowaniu chorób i identyfikowaniu nowych celów terapeutycznych. Techniką, w której analizie poddaje się mRNA, jest hybrydyzacja typu Northern blot. Umożliwia ona wykrycie i ilościowe określenie stopnia zmiany wielkości transkryptu genu oraz poziomu ekspresji genów.

Diagnostyka molekularna przyczyniła się do rozwoju medycyny spersonalizowanej, umożliwiając analizę specyficznych cech genetycznych pacjentów, co implikuje jednostkowe podejście do diagnozy i leczenia. Dostosowanie terapii do potrzeb każdego chorego zwiększa jej skuteczność i minimalizuje skutki uboczne. Dziś możliwe jest opracowanie indywidualnej terapii genowej i modyfikacja genomu komórek somatycznych, w których wystąpiła szkodliwa mutacja. W ten sposób medycyna staje się coraz bardziej osobista, a trafna diagnostyka i leczenie chorób zyskują coraz większe szanse powodzenia.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o. o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Polecenie 1

Porównaj omówione techniki inżynierii genetycznej wykorzystywane podczas diagnostyki molekularnej chorób genetycznych. W odpowiedzi uwzględnij rodzaj materiału genetycznego oraz cel metody.

Polecenie 2

Wyjaśnij znaczenie odkrycia reakcji PCR dla rozwoju badań nad genetycznym podłożem chorób człowieka.

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:

Ćwiczenie 1

Zaznacz prawdziwe stwierdzenia dotyczące genetycznych testów diagnostycznych.

- [ ] Do technik stosowanych w diagnostyce molekularnej zalicza się łańcuchową reakcję polimerazy, sekwencjonowanie oraz hybrydyzację DNA.
- [ ] Są bardzo czułe.
- [ ] Są wykorzystywane w diagnostyce chorób genetycznych, np. dystrofii mięśniowej Duchenne'a.
- [ ] Nie każda tkanka może być do nich wykorzystana.
- [ ] Pozwalają na wykrywanie mutacji zwiększających ryzyko rozwoju danego schorzenia w przyszłości.
- [ ] Są mało specyficzne.

Ćwiczenie 2

Przyporządkuj rodzajom badań molekularnych ich charakterystykę.

Testy diagnostyczne	Umożliwiają wykrycie obecności w DNA mutacji, które znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia danej choroby w przyszłości.
Testy prognostyczne	Umożliwiają identyfikację osób będących nosicielami mutacji odpowiedzialnych za rozwój chorób dziedziczonych autosomalnie recesywnie.
Badania na nosicielstwo	Polegają na analizie materiału genetycznego pod kątem obecności mutacji odpowiedzialnych za rozwój danej choroby i występowanie konkretnych symptomów z nią związanych.

Ćwiczenie 3

W jaki sposób diagnozuje się zespół Marfana? Zaznacz prawidłową odpowiedź.

- ○ Przeprowadzając badania na nosicielstwo stwierdzające obecność mutacji odpowiedzialnych za rozwój chorób dziedziczonych autosomalnie recesywnie.
- ○ Przeprowadzając genetyczny test diagnostyczny, który polega na analizie materiału genetycznego pod kątem obecności mutacji związanych z rozwojem danej choroby.
- ○ Przeprowadzając test prognostyczny pozwalający na stwierdzenie obecności w DNA mutacji, które znacznie zwiększają ryzyko rozwoju danej choroby w przyszłości.

Ćwiczenie 4

Połącz w pary nazwy technik stosowanych w diagnostyce molekularnej chorób i ich opisy.

Analiza restrykcyjna	wykrywanie specyficznych sekwencji DNA poprzez przyłączanie wyznakowanych fragmentów kwasów nukleinowych do komplementarnych sekwencji w badanym materiale genetycznym
PCR	powielenie danego fragmentu DNA, wykorzystywane są m.in. w diagnostyce chorób jednogenowych do wykrywania mutacji punktowych
Sekwencjonowanie DNA	wykrywanie mutacji punktowych w miejscach rozpoznawanych przez enzymy restrykcyjne; wystąpienie zmienionych fragmentów kwasu nukleinowego po zastosowaniu określonego enzymu wskazuje na wystąpienie mutacji w danej sekwencji DNA
Hybrydyzacja	ustalanie sekwencji nukleotydowej danego genu lub genomu, stosowane najczęściej w przypadku mutacji nieznanych, w których nie jest wiadome, jaki gen odpowiedzialny jest za występujące objawy

Ćwiczenie 5

Uzupełnij tekst, dobierając poprawne sformułowania spośród podanych poniżej.

Ważnym zastosowaniem badań molekularnych jest określenie _____ choroby nowotworowej. Umożliwia to dobranie odpowiedniej dla danego pacjenta _____ molekularnie, jeśli jest dostępna. Materiałem do badania molekularnego może być DNA pochodzący z _____ znajdujących się w płynach ustrojowych lub DNA obecny w _____ guza nowotworowego.

wycinkach | terapii niecelowanej | podłoża | terapii celowanej | komórek nowotworowych

Ćwiczenie 6

Określ prawdziwość stwierdzeń.

Stwierdzenie	Prawda	Fałsz
Do badań genetycznych najczęściej wykorzystuje się materiał genetyczny wyizolowany z krwi i wymazu z jamy ustnej.	○	○
Badania molekularne nie pozwalają na wykrywanie mutacji zwiększających ryzyko rozwoju danego schorzenia w przyszłości.	○	○
Łańcuchowa reakcja polimerazy i sekwencjonowanie DNA to znane techniki biologii molekularnej.	○	○
Metody diagnostyki molekularnej mogą zostać wykorzystane w sposób pośredni i bezpośredni.	○	○

Ćwiczenie 7

Jedną z najbardziej znanych metod stosowanych w badaniach molekularnych jest łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR). Metoda ta polega na powieleniu w krótkim czasie fragmentu DNA nawet do miliardów kopii. Umożliwia ona analizę nawet śladowych ilości DNA.

Wskaż dwa przykłady wykorzystania PCR w diagnostyce molekularnej chorób genetycznych.

Ćwiczenie 8

Testy prognostyczne umożliwiają wykrycie w DNA mutacji, które znacznie zwiększają ryzyko wystąpienia określonej choroby nowotworowej u danego pacjenta w przyszłości. Dotyczy to np. mutacji w genach *BRCA1* i *BRCA2*, które zwiększają predyspozycję do zachorowania na raka piersi.

Na podstawie powyższego tekstu i własnej wiedzy wyjaśnij, jakie znaczenie ma określenie predyspozycji do wystąpienia raka piersi u danej osoby.

Dla nauczyciela

Autor: Anna Juwan
Przedmiot: Biologia

Temat: Diagnostyka molekularna chorób genetycznych

Grupa docelowa: uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres podstawowy

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

VIII. Biotechnologia. Podstawy inżynierii genetycznej. Uczeń:

4) przedstawia zastosowania wybranych technik inżynierii genetycznej w medycynie sądowej, kryminalistyce, diagnostyce chorób;

Zakres rozszerzony

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

XV. Biotechnologia. Podstawy inżynierii genetycznej. Uczeń:

5) przedstawia zastosowania wybranych technik inżynierii genetycznej w medycynie sądowej, kryminalistyce, diagnostyce chorób;

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii.

Cele operacyjne (językiem ucznia):

- Scharakteryzujesz badania molekularne, uwzględniając ich zastosowanie w diagnostyce medycznej.
- Porównasz rodzaje testów stosowanych w badaniach molekularnych.
- Przedstawisz zastosowania wybranych technik inżynierii genetycznej w diagnostyce chorób genetycznych.

Strategie nauczania:

- konstruktywizm;
- konektywizm.

Metody i techniki nauczania:

- z użyciem komputera;
- ćwiczenia interaktywne;
- rozmowa kierowana;
- praca z audiobookiem;
- gwiazda pytań.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca całego zespołu klasowego.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami, słuchawkami i dostępem do internetu;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, pisak/kreda.

Przed lekcją:

1. **Przygotowanie do zajęć.** Nauczyciel loguje się na platformie i udostępnia uczniom e-materiał „Diagnostyka molekularna chorób genetycznych". Prosi uczniów o zapoznanie się z treścią e-materiału oraz o rozwiązanie ćwiczenia nr 1 z sekcji „Sprawdź się" na podstawie treści w sekcji „Przeczytaj".

Przebieg lekcji

Faza wstępna:

1. Nauczyciel wyświetla cele lekcji zawarte w sekcji „Wprowadzenie" i określa na tej podstawie kryteria sukcesu.
2. **Wprowadzenie do tematu.** Nauczyciel zadaje uczniom pytanie: „Jak można zdefiniować pojęcie »diagnostyka molekularna«?". Zapisuje na tablicy ustaloną wspólnie definicję.

Faza realizacyjna:

1. **Praca z multimedium („Audiobook”).** Uczniowie zapoznają się z audiobookiem udostępnionym przez nauczyciela. Następnie rozwiązują indywidualnie polecenie nr 1, w którym mają za zadanie porównać trzy techniki inżynierii genetycznej wykorzystywane podczas diagnostyki molekularnej chorób genetycznych. Porównują swoją odpowiedź z osobą z ławki
2. **Gwiazda pytań.** Nauczyciel dzieli uczniów na 4-osobowe grupy, a następnie prezentuje na tablicy interaktywnej schemat „gwiazdy pytań” (zob. materiały pomocnicze). Objaśnia uczniom, w jaki sposób powinni pracować ze schematem: na podstawie e-materiału oraz innych źródeł mają opracować zagadnienie dotyczące diagnostyki molekularnej, odpowiadając na pytania widniejące na schemacie. Nie mogą przy tym korzystać z e-materiału.
   Nauczyciel sprawdza wykonanie zadania, podchodząc do każdej grupy. Koryguje ewentualne błędy. Wybrani przez nauczyciela uczniowie kolejno prezentują wyniki prac swojego zespołu.
3. **Utrwalenie wiedzy i umiejętności.** Uczniowie w parach wykonują ćwiczenie nr 7 (w którym mają za zadanie wskazać dwa przykłady wykorzystania PCR w diagnostyce molekularnej chorób genetycznych) z sekcji „Sprawdź się”. Następnie porównują swoje odpowiedzi z najbliżej siedzącymi uczniami. Nauczyciel w razie trudności naprowadza podopiecznych na właściwe rozwiązanie lub wyjaśnia wątpliwości.
4. Uczniowie wykonują w parach ćwiczenie nr 8 (w którym mają za zadanie wyjaśnić, jakie znaczenie ma wiedza na temat predyspozycji do wystąpienia raka piersi u danej osoby), wyświetlone przez nauczyciela na tablicy. Przedstawiciele par prezentują swoje odpowiedzi. W przypadku gdy są one różne, uzgadniają wraz z nauczycielem prawidłową odpowiedź.

Faza podsumowująca:

1. Uczniowie rozwiązują ćwiczenie nr 6 (typu „prawda/fałsz”) z sekcji „Sprawdź się”. Następnie przygotowują podobne zadanie dla osoby z ławki. Tworzą trzy zdania prawdziwe i fałszywe dotyczące tematu lekcji. Uczniowie wykonują ćwiczenie otrzymane od kolegi lub koleżanki.
2. Nauczyciel wyświetla treści zawarte w sekcji „Wprowadzenie” i na ich podstawie dokonuje podsumowania najważniejszych informacji przedstawionych na lekcji. Wyjaśnia także wątpliwości uczniów.

Praca domowa:

1. Wykonaj ćwiczenia od 2 do 5 z sekcji „Sprawdź się”.

Materiały pomocnicze:

- Jane B. Reece i in., „Biologia Campbella”, tłum. K. Stobrawa i in., Dom Wydawniczy REBIS, Poznań 2021.

- „Encyklopedia szkolna. Biologia”, red. Marta Stęplewska, Robert Mitoraj, Wydawnictwo Zielona Sowa, Kraków 2006.

Załącznik 1. Gwiazda pytań.
Plik o rozmiarze 384.88 KB w języku polskim

Dodatkowe wskazówki metodyczne:

- Uczniowie mogą wykorzystać multimedium z sekcji „Audiobook” w celu przygotowania się do lekcji powtórkowej.