



LÉKAŘSKÁ FAKULTA MASARYKOVY UNIVERSITY
Interní hematologická klinika LF MU a FN Brno
Centrum molekulární biologie a genové terapie



Expresní DNA microarray

Boris Tichý
2.10.2012



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Historie

1987 Kulesh et al. - cDNA knihovna na papírovém filtru

Přelom 80./90. - E. Southern – in-situ syntéza oligonukleotidů

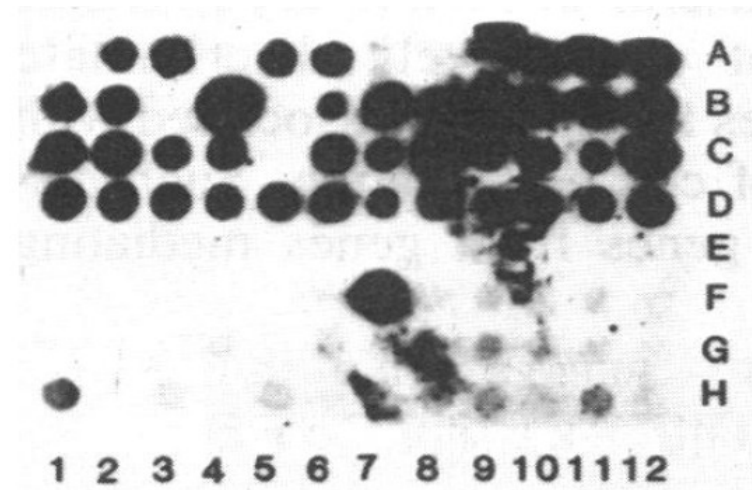
1991 – Fodor et al. - světlem řízená paralelní syntéza

1995 – Schena et al. - cDNA expresní microarray

1996 – lidská cDNA microarray

1997 – celogenomová (kvasinka) cDNA microarray

1997 – celogenomová (kvasinka) oligonukleotidová microarray



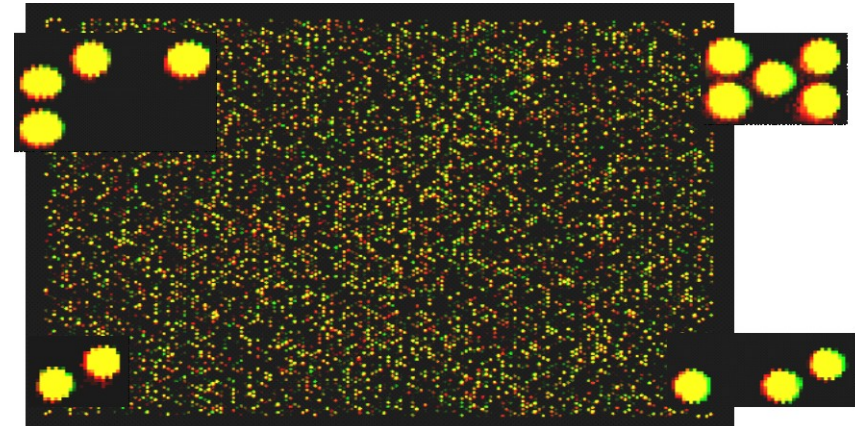
Typy

High- i low- density

Sondy – krátké i dlouhé oligonukleotidy, cDNA

Skříčka, cartridge, mikrokuličky, membrány

Jedno- a dvou- kanálové



Aplikace

mRNA

- Celogenomové
- Exonové (whole transcript)
- Cílené – konkrétní dráhy, diagnózy

microRNA

lincRNA (long intergenic noncoding RNA)



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Tato prezentace je spolufinancována
Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

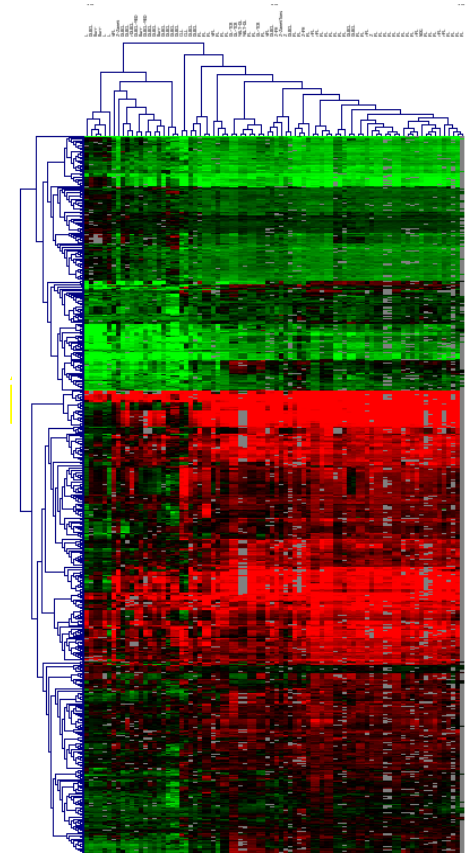
Aplikace

Studium efektů stimulů na genovou expresi

- Chemikálie (např. léčiva)
- Fyzikální faktory (záření)
- Gene knock-out (siRNA)
- Gene transfection (např. transkripční faktory, mutantní alely)

Studium rozdílů mezi vzorky

- Tkáně a orgány
- Diagnózy



RNA

Přepis

- Oligo-dT priming
 - Kvalitní RNA
 - 3' biased sondy
- Random priming – hexa, okta, nona mery
 - I degradovaná RNA
 - Celý transkript

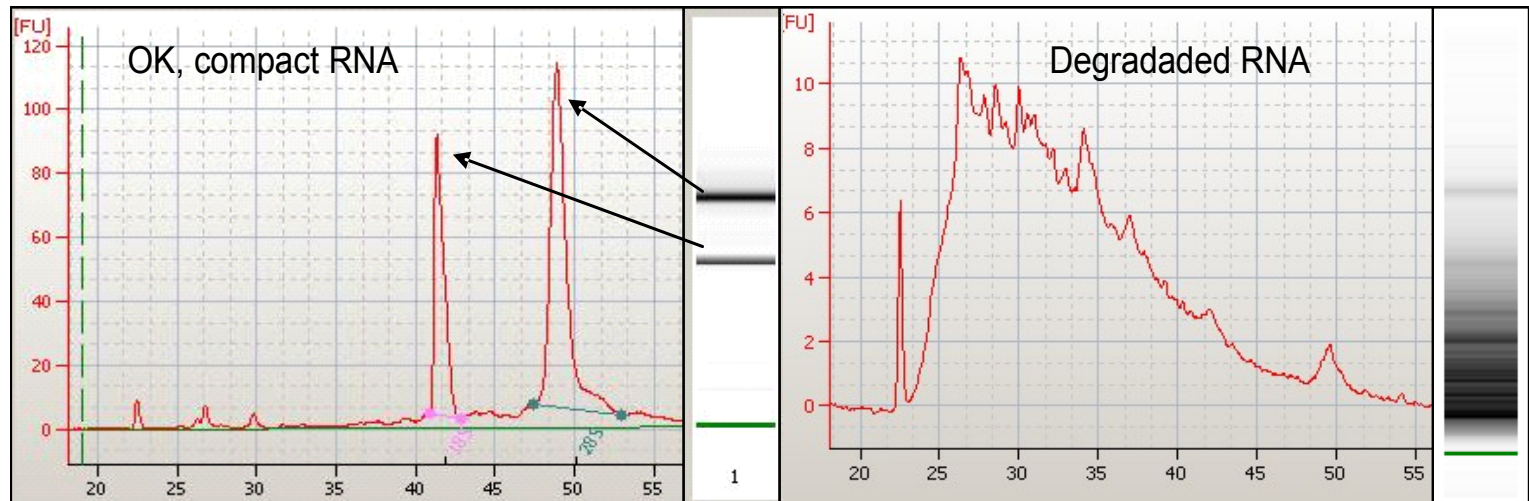
RNA

QC

elektroforéza – 18S a 28S rRNA (1 : 2-3)

BioAnalyzer

RT-PCR – 3' a 5' fragment



Affymetrix GeneChip

Krátké oligonukleotidy – 25mery

=> vysoká míra nespecifické hybridizace

=> probe-set – několik sond pro každý gen (~11)

=> perfect match a mismatch sondy (rozdíl ve 13. nukleotidu) – odhad nespecifické hybridizace

=> speciální metody pro zpracování dat