

**Komplementin birləşmə reaksiyası (KBR).
İmmunflüoressensiya reaksiyası
(İFR).İmmunferment analiz (İFA)
Radioimmün metod (RİM). İmmunblotinq
(İB). Genetik üsulların mikrobioloji
diaqnostikada tətbiqi. Zəncirvari polimeraza
reaksiyası. Sekvenləşdirmə üsulu.**

Məşğələnin planı:

I. Müəllimin giriş sözü, davamiyyətin yoxlanılması

II. Müzakirə olunan suallar və müvafiq slayd, cədvəl, ləvazimatların nümayişi

1. Komplementin birləşməsi reaksiyası (KBR) və onun mahiyyəti

2. KBR-in mexanizmi və diaqnostikada əhəmiyyəti.

3. Nişanlanmış anticisimlərin iştirakı ilə gedən reaksiyaların mahiyyəti.

4. Nişanlanmış anticisimlərin iştirakı ilə gedən reaksiyaların ekspress diaqnostikada əhəmiyyəti.

5. İmmunflüoresensiya reaksiyasının (Kuns reaksiyası) mexanizmi: düz variant (İFR) və dolay variant (dİFR).

6. İmmunferment analiz və onun mahiyyəti: düz və dolay variantlar.

7. Radioimmün metod (konkurent, əks və dolay), tətbiqi.

8. İmmunblotinq, mexanizmi.

9. Genetik metodların mikrobioloji diaqnostikada tətbiqi.

10. Molekulyar-genetik üsullar, növləri, diaqnostikada tətbiqi.

1. Zəncirvari polimeraza reaksiyasının (ZPR, real-time ZPR) mahiyyəti, mexanizmi və təcrübi əhəmiyyəti.

2. Molekulyar hibridləşmə üsulu, mahiyyəti, mexanizmi və təcrübi əhəmiyyəti.

3. Restriksion analiz, mahiyyəti, mexanizmi və təcrübi əhəmiyyəti.

4. Sekvenləşdirmə üsulu, mahiyyəti, mexanizmi və təcrübi əhəmiyyəti.

5. Gen mühəndisliyi, məqsəd və vəzifələri.

Komplementin iştirakı ilə gedən reaksiyalar

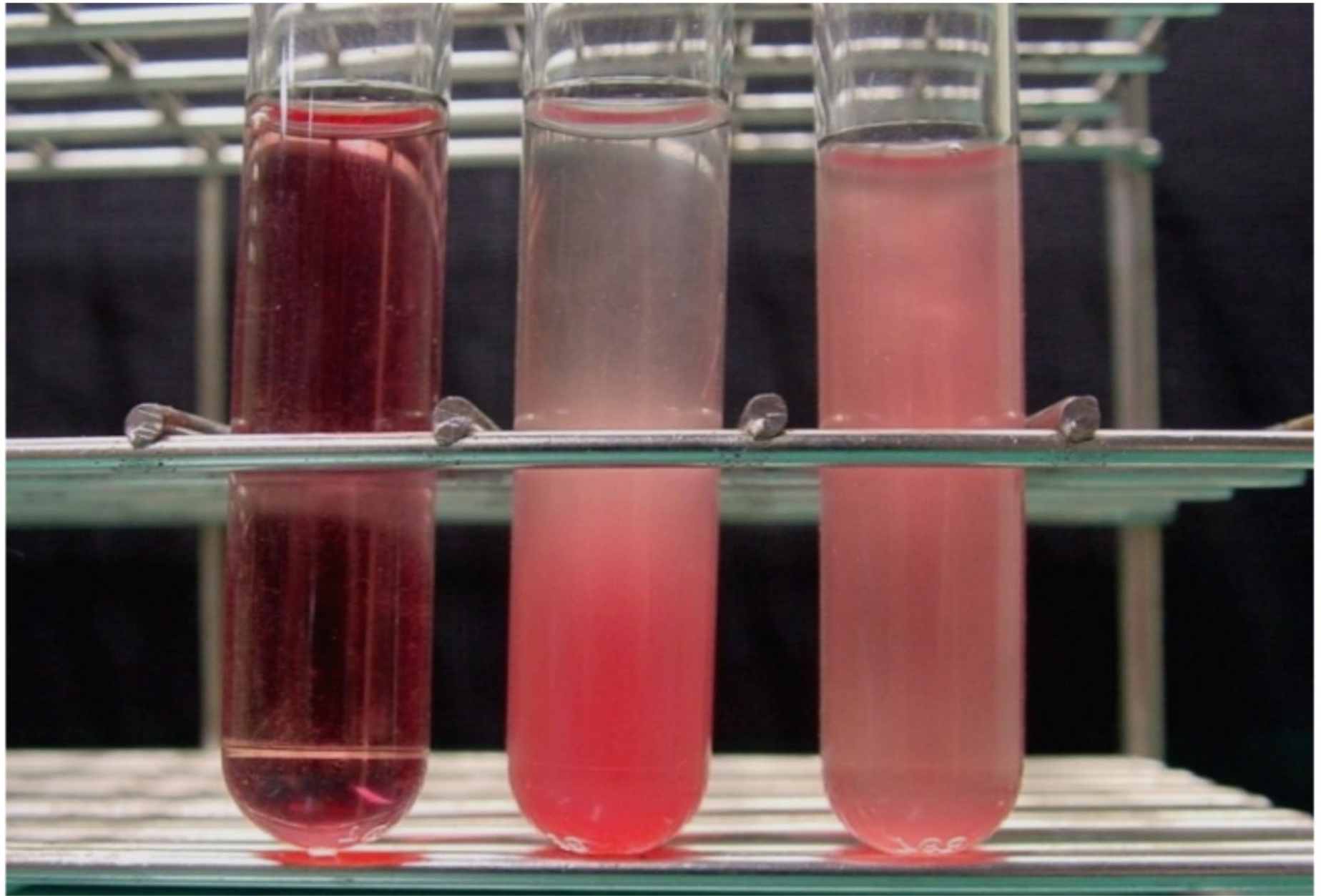
☐ Lizis reaksiyası:

■ **İnfeksiya və immunizasiya prosesində** - insan və heyvanların qanında müəyyən mikrob və hüceyrələrə qarşı müxtəlif **spesifik anticisimlər** (aqlütinin, presipitin, lizin, opsonin və s.) əmələ gəlir.

● **Lizin** - bu anticisimlərdən biri olub, təsir etdiyi obyektlərdən (antigenlərdən) asılı olaraq - bakteriolizin, spiroxetolizin, hemolizin, sitolizin, spermolizin və s. də adlandırılır

● **Lizinlərin təsirindən** - müxtəlif hüceyrələrin parçalanmasına lizis reaksiyası deyilir.

● **Lizisin baş verdiyi** obyektədən asılı olaraq - bakteriolizis, hemolizis, spiroxetolizis və s. lizis reaksiyaları məlumdur



Hemolizis reaksiyası

☐ Komplementin birləşmə reaksiyası (KBR):

♦ *ilk dəfə* - belçikalı alimlər J.Borde və O.Janqu (1901) tərəfindən hazırlanaraq, təklif edilmişdir.

♦ **reaksiya** - 2 sadə reaksiyanın cəmindən ibarət mürək-kəb reaksiyadır;

♦ qoyuluş texnikasına, yüksək həssaslığına, spesifikliyinə görə - infeksion xəstəliklərin seroloji diaqnostikasında geniş istifadə olunur;

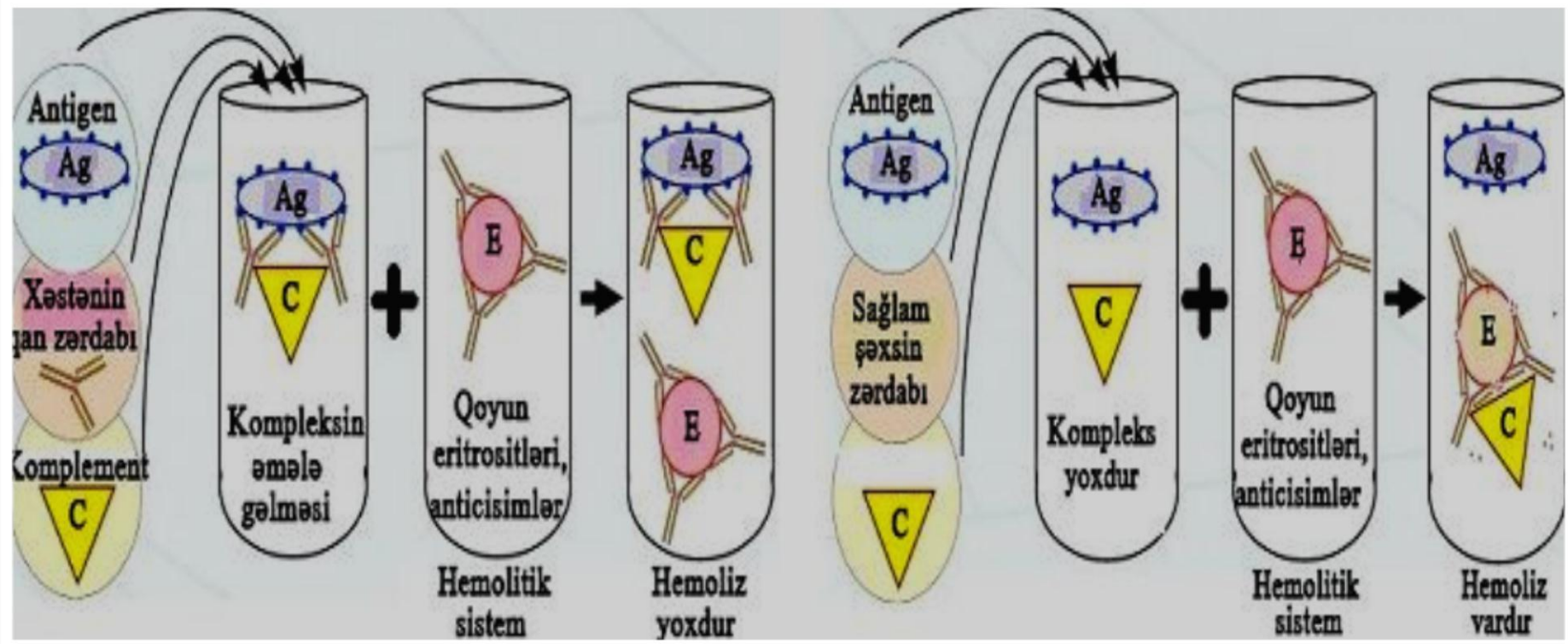
♦ reaksiyanı qoymaq üçün 5 inqredient: antigen, anticisim, komplement (I sistem), qoyun eritrositləri və ona qarşı hemolitik zərdab (II sistem) istifadə edilir;

♦ uyğun Ag və Ac-in qarşılıqlı təsirdə olması - komplementin onlara birləşməsi ilə nəticələnir (komplement klassik yolla aktivləşir);

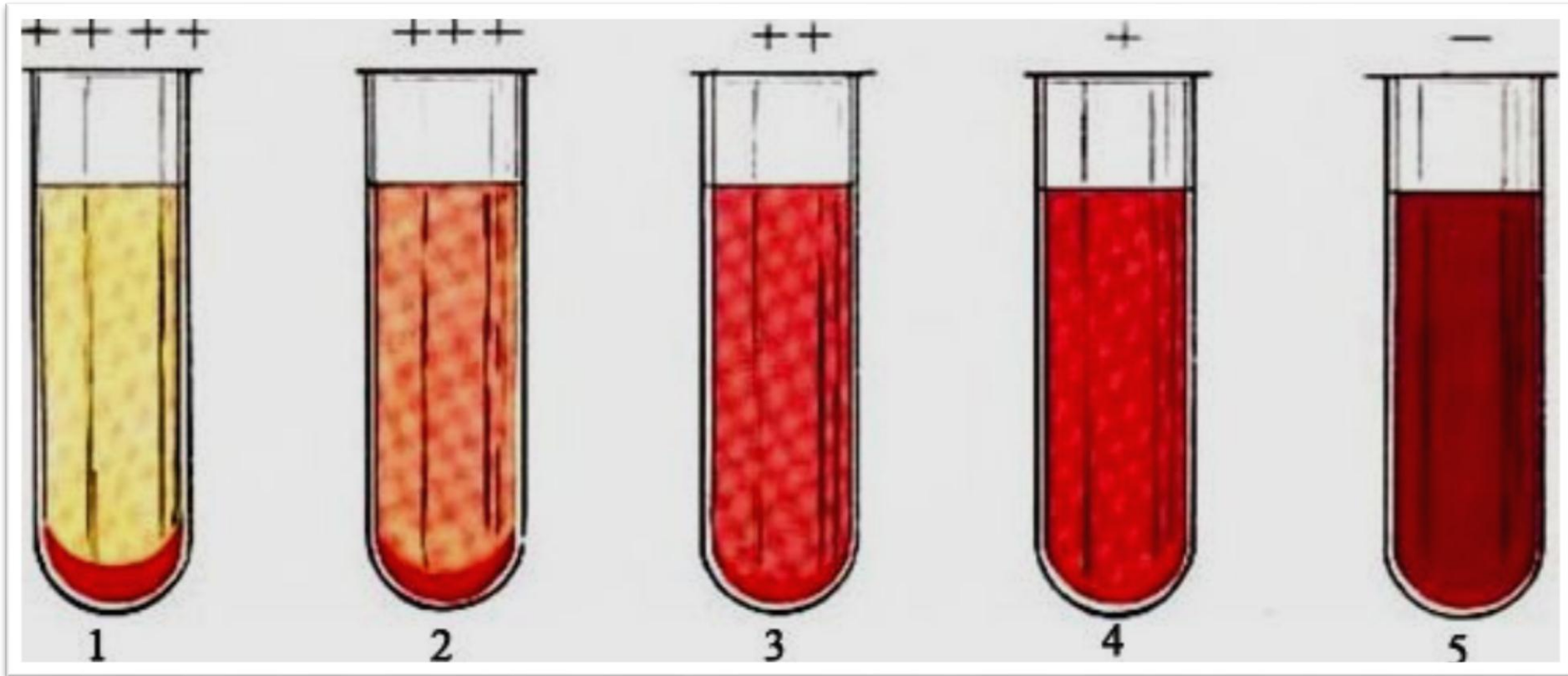
♦ bu proses - gözlə görünür.

Mərhələlər (sistemlər)	İnqredientlər	Sınaq borularındakı inqredientlərin miqdarı, ml		
		Təcrübə	Nəzarət zərdabı	Nəzarət antigeni
I	Müayinə zərdabı (1:5, 1:10, 1:20), ml	0,5	0,5	-
	Antigen (işçi dozada), ml	0,5	-	0,5
	Komplement (işçi dozada), ml	0,5	0,5	0,5
	Fizioloji məhlul, ml	-	0,5	0,5
<i>Termostatda 37⁰C-də 1 saat inkubasiya</i>				
II	Hemolitik sistem (hemolit. zərdab +3%-li eritrosit suspenziyası), ml	1,0	1,0	1,0
<i>Termostatda 37⁰C-də 1 saat inkubasiya</i>				
Nəticənin qeyd edilməsi		Hemoliz yoxdur	Hemoliz var	Hemoliz var
Son nəticə: KBR müsbətdir (qan zərdabında spesifik anticisimlər vardır)				

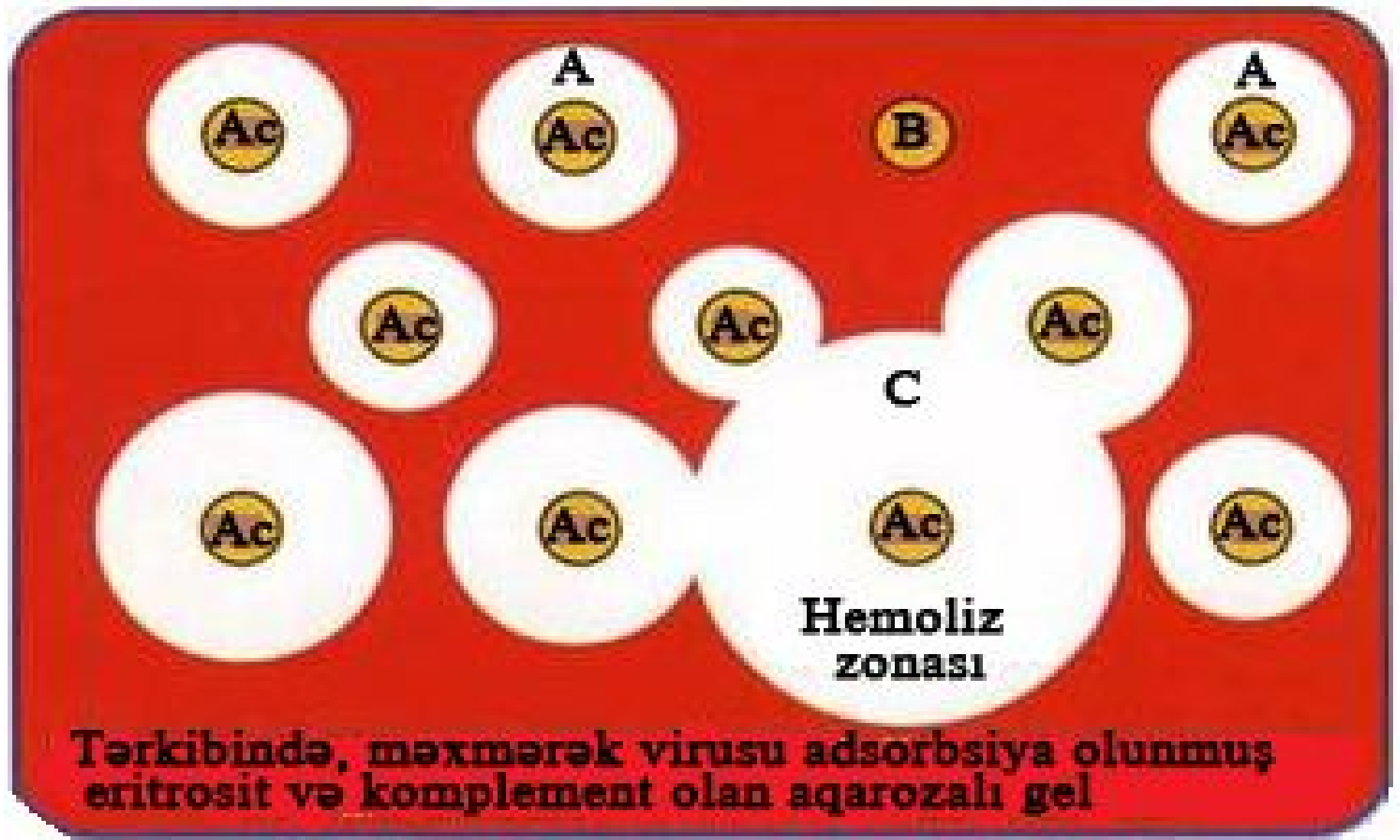
KBR-nın qoyuluş sxemi



KBR-nın qoyuluş sxemi: 1-xəstənin qan zərdabı ilə müsbət reaksiya - hemoliz yoxdur; 2-sağlam adamın qan zərdabı ilə mənfi reaksiya - hemoliz vardır



KBR-in nəticəsinin qeyd edilməsi: 1) ++++ - kəskin müsbət; 2) +++, 3) ++ - müsbət; 4) + - zəif müsbət reaksiya; 5) *mənfi reaksiya*



Radial hemoliz reaksiyası (məxmərək virusu anticisimləri ilə): A-məlum zəif titrli anticisimlə (15 BV) hemoliz (nəzarət üçün); B-normal zərdab əlavə edilmiş çuxurcuqda hemoliz yoxdur (nəzarət üçün); C-xəstənin qan zərdabı ilə hemoliz - müsbət cavab

Nişanlanmış anticisim və ya antigenlərlə qoyulan reaksiyalar

☐ **Bu reaksiyalar** - hal-hazırda geniş istifadə olunur.

■ ***Anticisimlərin*** və ya antigenlərin nişanlanması onların müəyyən maddələrlə kimyəvi birləşdirilməsi ilə baş verir.

■ ***Bu üsullar*** - nəticələrin tez alınmasına və yüksək həssaslığına görə digər üsullardan fərqlənir.

■ Bakterial və virus infeksiyalarının ekspres-diaqnostikasında daha çox istifadə olunur.

■ ***Bu maddələr*** (nişanlar) - istifadə olunur:

1) flüoroxromlar - ultrabənövşəyi şüaların təsiri ilə işıqlanma (flüoressensiya) verirlər;

- ◆ flüoressein izotiosionatla - sarı-yaşıl rəng,
- ◆ rodaminlə - qırmızı rəng,
- ◆ akridinlə - narıncı rəng və s.; **immunflüoresensiya reaksiyasında (İFR)** - istifadə olunur.

2) ferritin - tərkibində 23% dəmir olan zülaldır, kontrast rəng (tünd) vermə xüsusiyyətinə malikdir; **immunelektron mikroskopiyada (İEM)** - istifadə edilir.

3) fermentlər - substratlarla qarşılıqlı təsirdə onları par-çalayır, əmələ gəlmiş məhsullar əlavə olunmuş xromoge-nin rəngini dəyişir; **immunferment analizdə (İFA)** - isti-fadə olunur.

4) radioaktiv maddələr - müxtəlif radiaktiv maddələrin izotoplarından (^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{125}J) istifadə edilir və yüksək həssaslıqlı **radioimmun analizdə (RIA)** - istifadə olunur.

☐ İmmunflüoresensiya reaksiyası (İFR):

♦ *ilk dəfə* - A.Kuns (1942) tərəfindən təklif edilmişdir;

♦ *İFR* və ya *Kuns reaksiyası* - ekspres-diaqnostika üsulu olub, flüorxromlarla (izotiosionat, rodamin, akridin və s.) nişanlanmış anticisimlərlə patoloji materialda olan antigenin təyininə əsaslanır;

♦ nişanlanmış anticisimlər - immunoloji spesifikliyini saxlayır və müvafiq korpuskulyar antigenlə birləşir;

♦ əmələ gəlmiş nişanlı anticisim+antigen kompleksini - lüminessent mikroskopunda, intensiv işıq saçma görüntü-şünə əsasən asanlıqla təyin etmək olur;

♦ *İFR* - yüksək həssaslığa malikdir, sadədir, xəstənin patoloji materialından təmiz kulturanın alınmasını tələb etmir.

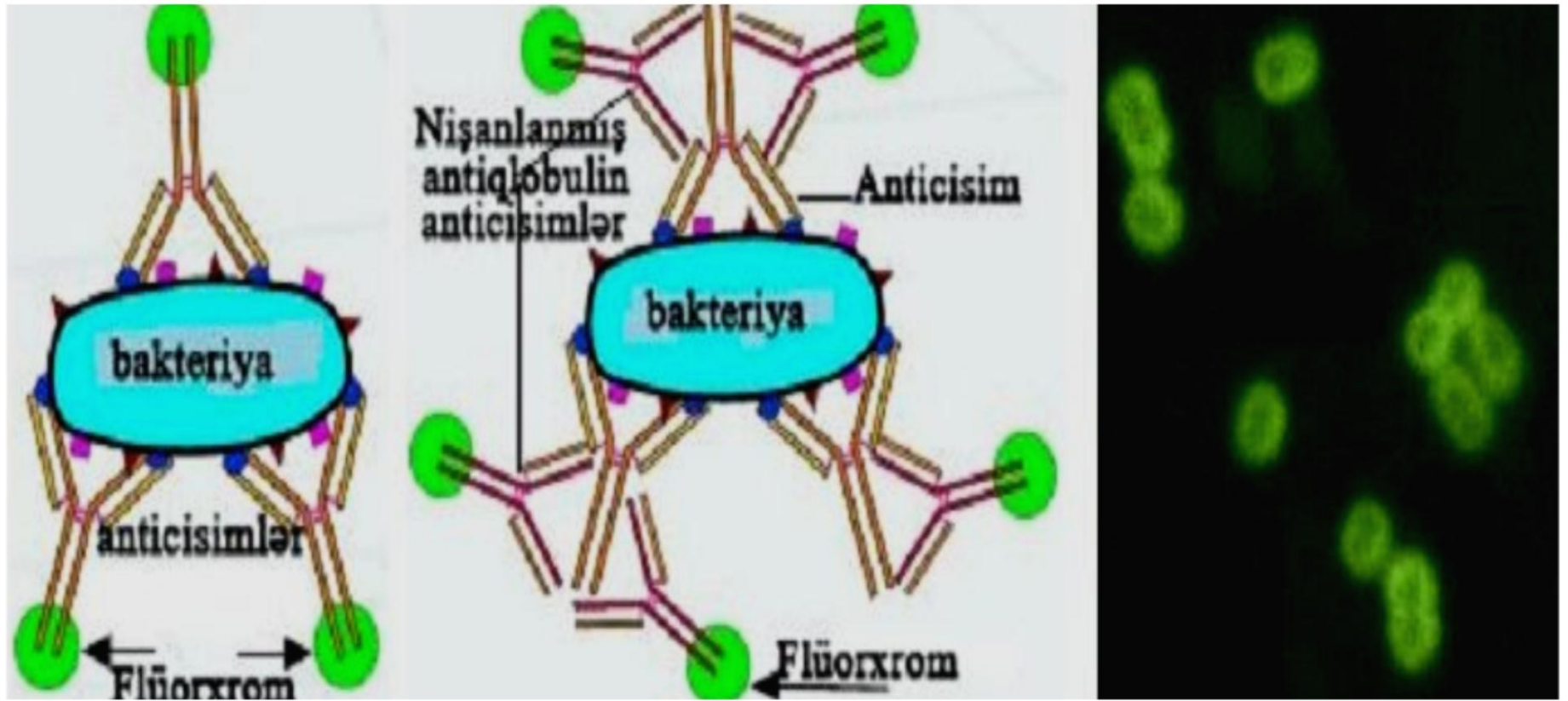
■ Düz İFR (Kuns reaksiyası):

♦*bu variantda* - məlum nişanlanmış anticisimlə, müayinə olunan antigen təyin olunur;

♦*reaksiyanı qoymaq üçün* - patoloji materiallardan yaxmalar hazırlanır, otaq temperaturunda qurudulur, fiksa-siya edilir, yuyulur və üzərinə lüminessensiyaedici zərdab əlavə edilir və termostatda (37⁰C) nəm kamerada 20-30 dəq saxlanılır, sonra yuyulur və qurudulur;

♦ preparatın üzərinə - 1 damla qliserin məhlulu tökülür, örtük şüşəsi ilə örtülür, lüminessent mikroskopda immer-sion obyektivlə (x90) baxılır;

♦preparatda - tünd fonda, törədicilərin morfolojiyasına uyğun işıqsaçan obyekt (mikrob hüceyrələri, virus yığıntıları və s.) görünərsə, deməli patoloji materialda törədici-lər (antigen) var.



İFR reaksiyalarının qoyuluş sxemi: a) düz İFR (Kuns reaksiyası); b) dolayı İFR (Veller-Kuns reaksiyası); c) lüminessent mikroskopda işıqsaçan hüceyrələrin - pnevmokokların görünüşü

■ Dolayı və ya qryri-düz İFR:

♦ **bu variant** - nişanlanmış antiqlobulin anticisimdən istifadə edilərək antigen+anticisim kompleksinin aşkar edilməsinə əsaslanır;

♦ **2 müxtəlif immun zərdablardan** istifadə etməklə 2 mərhələdə aparılır:

-- I mərhələdə - patoloji materialdan hazırlanmış yaxma qurudulur və fiksasiya edilir, sonra üzərinə müvafiq anticisimli zərdab əlavə olunur, termostatda (37°C) nəm kamerada 15 dəq inkubasiya edilir, sonra yuyulur;

-- II mərhələdə - yuyulmuş preparatın üzərinə dovşan qlobulininə qarşı nişanlanmış antiqlobulin zərdab əlavə olunur, termostatda, nəm kamerada 15 dəq inkubasiya edilir, sonra yuyulur, qurudulur və lüminessent mikroskopda baxılır.

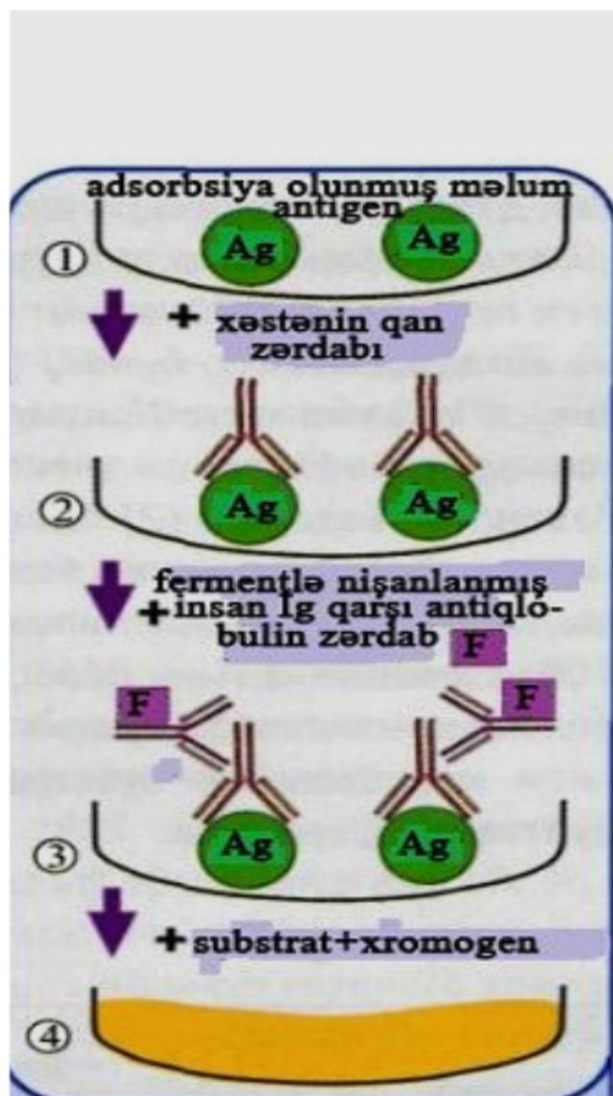
■ İmmunferment analiz (İFA):

♦ *reaksiya* - müxtəlif fermentlərlə (peroksidaza, qələvili fosfataza və s.) nişanlanmış məlum Ac-lə, müayinə olunan Ag-in və ya Ac-in aşkar olunmasına əsaslanır;

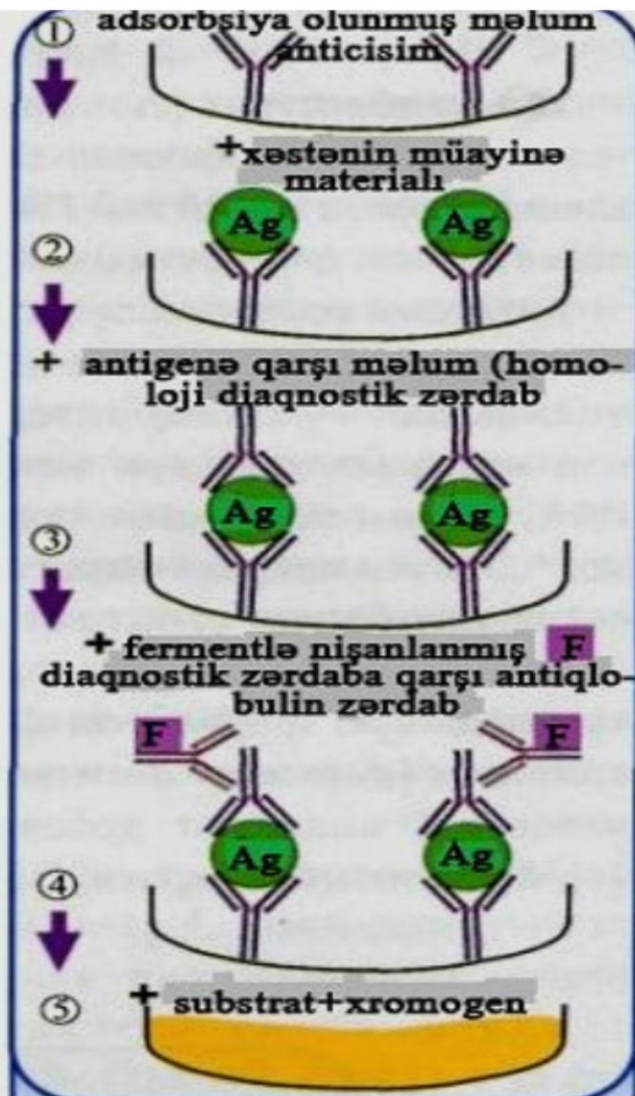
♦ müayinə olunan antigen və ya anticisim, nişanlanmış Ac-in, uyğun Ag-lə birləşməsindən əmələ gəlmiş immun kompleksdə fermentin aktivliyinə əsasən təyin olunur;

♦ kompleksin üzərinə fermentin (peroksidazanın) parçalaya biləcəyi substrat (H_2O_2) və parçalanma nəticəsində əmələ gəlmiş maddəni (O_2) təyin etmək üçün indikator - xromogen (5-aminosalisil turşusu, ortofenildiamin və s.) əlavə edilir;

♦ ferment substratı parçaladıqda - xromogenin rəngi dəyişilir - sarı-qəhvəyi (peroksidaza istifadə etdikdə) və ya sarı-yaşıl (fosfataza istifadə etdikdə) rəngdə olur.



a



b

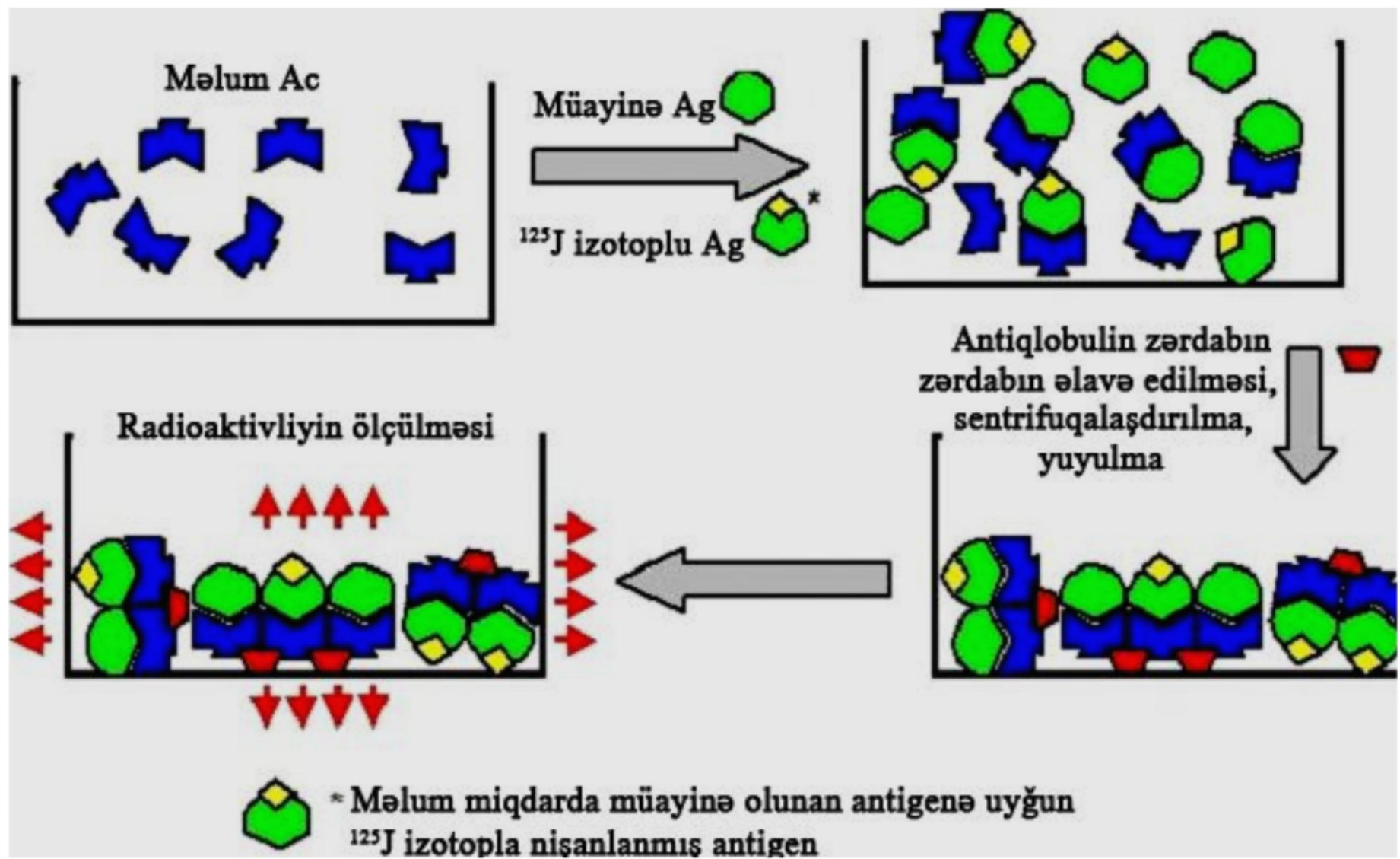


c

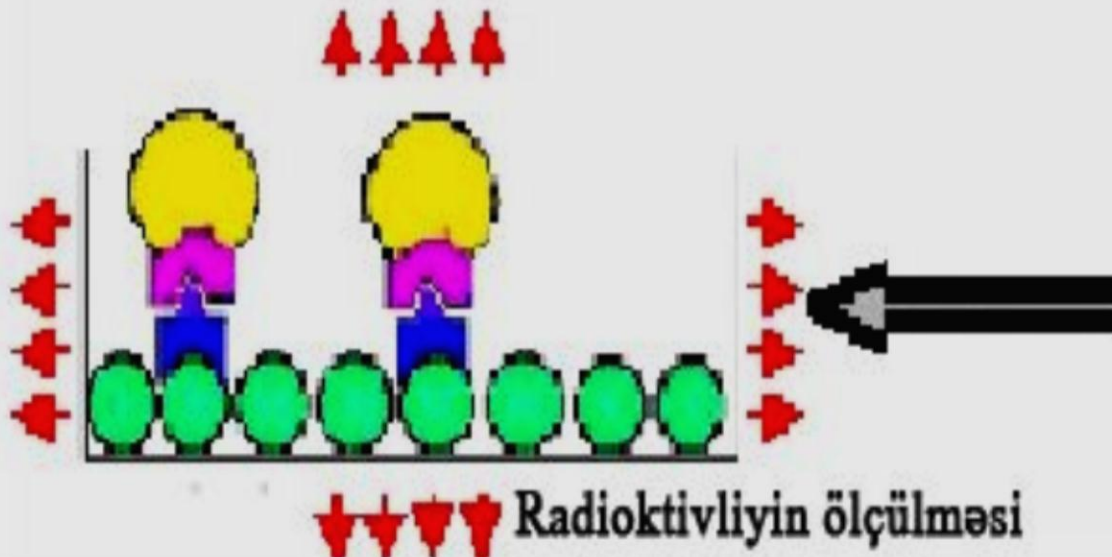
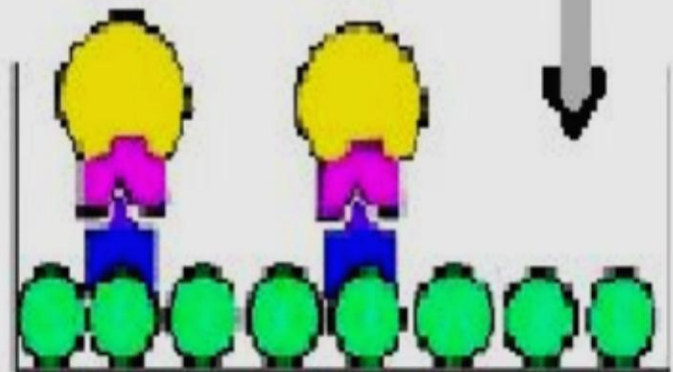
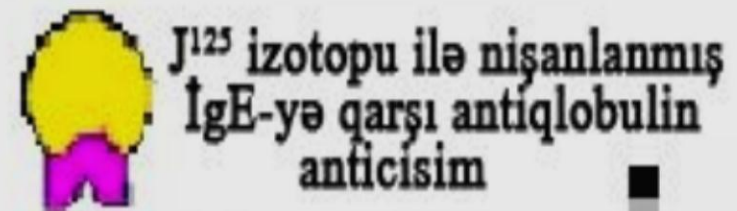
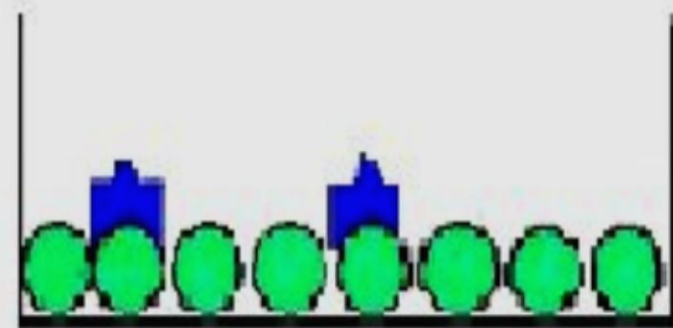
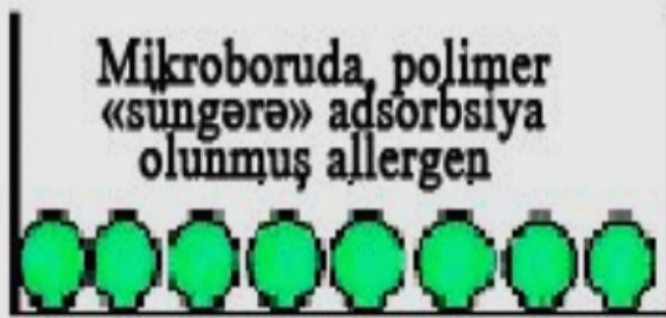
İFA-nın qoyuluş sxemi: a) xəstənin qan zərdabında spesifik anticisimlərin təyini; b) xəstənin materialında antigenlərin təyini (“sandviç” tipli reaksiya); c) polistirol lövhənin çuxurcuqlarında sarı-qəhvəyi rəngin əmələ gəlməsi - müsbət reaksiya

■ Radioimmun analiz – RİA:

- ◆ **ilk dəfə** - R.Yalou və S.Berson (1950) tərəfindən hazırlanmışdır;
- ◆ diabetli xəstələrə qanında - insulinin miqdarını öyrənmiş və praktikada istifadə etməyi təklif etmişlər;
- ◆ RİA - radioizotoplarla (^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{125}J), əsasən də ^{125}J nişanlanmış Ag və ya Ac arasında formalaşan immun kompleksin radioaktivliyinin ölçülməsinə əsaslanır;
- ◆ əmələ gəlmiş Ag+Ac kompleksinin miqdarı - radioaktivliyin intensivliyi ilə tərs və ya düz mütənasib olur;
- ◆ radioaktivlik - xüsusi radiospektrometr cihazı vasitəsilə ölçülür;
- ◆ müxtəlif modifikasiyaları məlumdur: bərk fazalı RİA daha çox istifadə olunur, burada da Ac (və ya Ag) polistirol lövhənin çuxurcuğuna adsorbsiya olunur.



RIA-nın rəqabət üsulunun qoyuluş sxemi



RAST-ın - radioallergosorbent testin qoyuluş sxemi

■ İmmunoblotinq üsulu:

◆ **bu üsulda** (İFA və ya RİA istifadə etməklə) - elektroforezlə tərkib hissələrə ayrılmış məlum antigenlərin köməkliyi ilə, xəstənin qan zərdabında naməlum anticisimlərin aşkar edilməsinə əsaslanır;

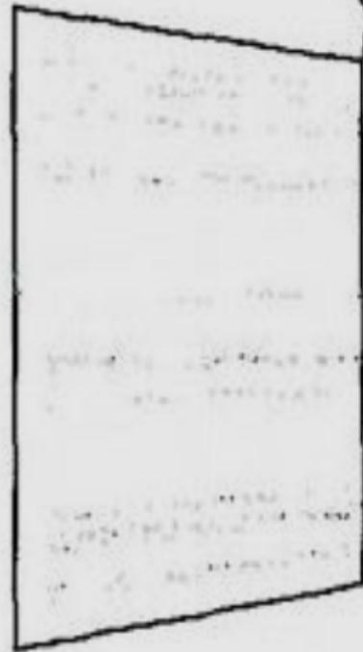
◆ **İFA üçün** - məlum antigen kimi, bütöv mikrob hüceyrələri və onların fraqmentlərindən, virus hissəciklərindən və s. istifadə edilir;

◆ antigenlərin fraksiyalara ayrılmasına görə - immuno-blotinq üsulu daha həssas və yüksək spesifikliyi ilə adi İFA və RİA-dan fərqlənir;

◆ bu üsulla - **antimikrob, antivirüs və göbələklər əleyhinə anticisimlər** təyin edilir;

◆ bunun üçün - **əvvəlcə bakteriya, virus, göbələk antigenləri** gəldə elektroforezlə tərkib hissələrə ayrılır.

1. Mikrobların həll olan zülalları
gəldə elektroforezlə fraksiyalara ayrılır



2. Gəldə ayrılmış zülal fraksiyaları
nitrosellüloz membrana köçürülür

3. Membran zolaqlar
şəkilində kəsilir

4. Xəstənin qan zərdabı ilə
düz İFA qoyulur; vizual olaraq
zərdab Ac ilə spesifik Ag arasındakı
qarşılıqlı təsir qeyd olunur

İmmunoblotinq üsulunun qoyuluş sxemi

**Zəncirvari
polimeraza
reaksiyası (ZPR)**

Genetik üsulların infeksiyon xəstəliklərin diaqnostikasında tətbiqi

- Müasir dövrdə DNT-diaqnostika adlanan molekulyar-genetik üsullar tibbi və bioloji praktikada:
 - ◆ xəstəliklərin diaqnostikasında (irsi, infeksiyon),
 - ◆ atalıq hüququnun təyininə,
 - ◆ genlərin klonlaşdırılmasında,
 - ◆ yeni genlərin alınmasında və s. geniş istifadə olunur.
- DNT-diaqnostika - özündə bir neçə üsulu birləşdirir.
 - Bunlardan ən geniş yayılanı - **zəncirvari polimereza reaksiyasıdır (ZPR)**.

► Zəncirvari polimeraza reaksiyası - ZPR

■ *Reaksiyasının iş prinsipini* - ilk dəfə Amerika alimi K.Mallis (1983) hazırlamış və bununla molekulyar-biologiya sahəsində son illərin ən görkəmli kəşflərindən birini etmişdir (1994-cü ildə Nobel mükafatına layiq görülmüşdür).

● *ZPR-diaqnostika* - müayinə olunacaq patoloji materialda infeksiya törədicisinin çox da böyük olmayan DNT fraqmentinin aşkar olunmasına əsaslanır.

● *Bu fraqment* - bir-neçə yüz azot əsaslarının (A-T, Q-S) ciddi qaydada, müəyyən ardıcılıqla yerləşmiş DNT "hissəciclərindən" ibarət ola bilər.

● *Müayinə zamanı* - yalnız infeksiya törədicisi üçün spesifik olan DNT fraqmenti axtarılır.

■ **ZPR** - tapılmış fraqmentin çoxaldılması və klonlaşdırılması üçün istifadə olunur, fraqmenti “görmək” üçün onların sayı 1024-dən az olmamalıdır.

● **ZPR müayinədən** daha çox - cinsi yolla yayılan xəstəliklərin (CYYX) diaqnostikasında tətbiq edilir.

● **Müayinə üçün material:**

◆ **epitel hüceyrələrinin qaşıntısı** (uretradan, uşaqlıq boynu kanalından);

◆ **bioloji mayelər** (prostat, plevral, likvor, dölyanı, oynaq mayesi, tüpürcək);

◆ **sidik** (səhər sidiyinin ilk hissəsi);

◆ **mədə və onikibarmaq bağırsaq möhtəviyyatı;**

◆ **qan və qan zərdabı;**

◆ **bəlgəm, selik** və s. bioloji ifrazatlar götürülür.



1



2

ZPR aparmaq üçün: 1-amplifikator iCycler IQ-5 (Bio-Rad, ABŞ); 2-amplifikasiya aparmaq üçün istifadə olunan dəst

■ **ZPR-müayinəsini** aparmaq üçün - temperaturası avto-matik dəyişən xüsusi proqramlaşdırılmış cihaz - ZPR-termostat və ya amplifikatordan istifadə olunur.

● Amplifikasiya - müəyyən növ infeksiyaya uyğunlaşdırılmış proqrama əsasən aparılır, proses 2-3 saat davam edir.

● Müayinə 3 mərhələdə aparılır:

◆ DNT-nin alınması;

◆ DNT fragmentinin amplifikasiyası;

◆ amplifikasiya məhsullarının deteksiyası (qeyd olunma).

I. DNT-nin alınması

■ **Bu mərhələdə** - müayinə üçün götürülmüş material xüsusi olaraq işlənir:

◆ **materiala** - reaksiyanın “təmiz” aparılmasına mane olan üzvi birləşmələri (lipidlər, aminturşular, zülallar, karbohidratları və s.) həll edən xüsusi məhlul əlavə edilir və onlar kənarlaşdırılır;

◆ **nəticədə** - “təmiz” DNT və ya RNT alınır;

◆ **DNT-nin alınmasına sərf olunan müddət** - infeksiya törədicilərinin və müayinə üçün istifadə olunan digər ma-terialların növlərindən asılıdır;

◆ məsələn, qanı - növbəti mərhələyə hazırlamaq üçün 1,5-2 saat vaxt tələb olunur.

II. DNT fraqmentinin amplifikasiyası

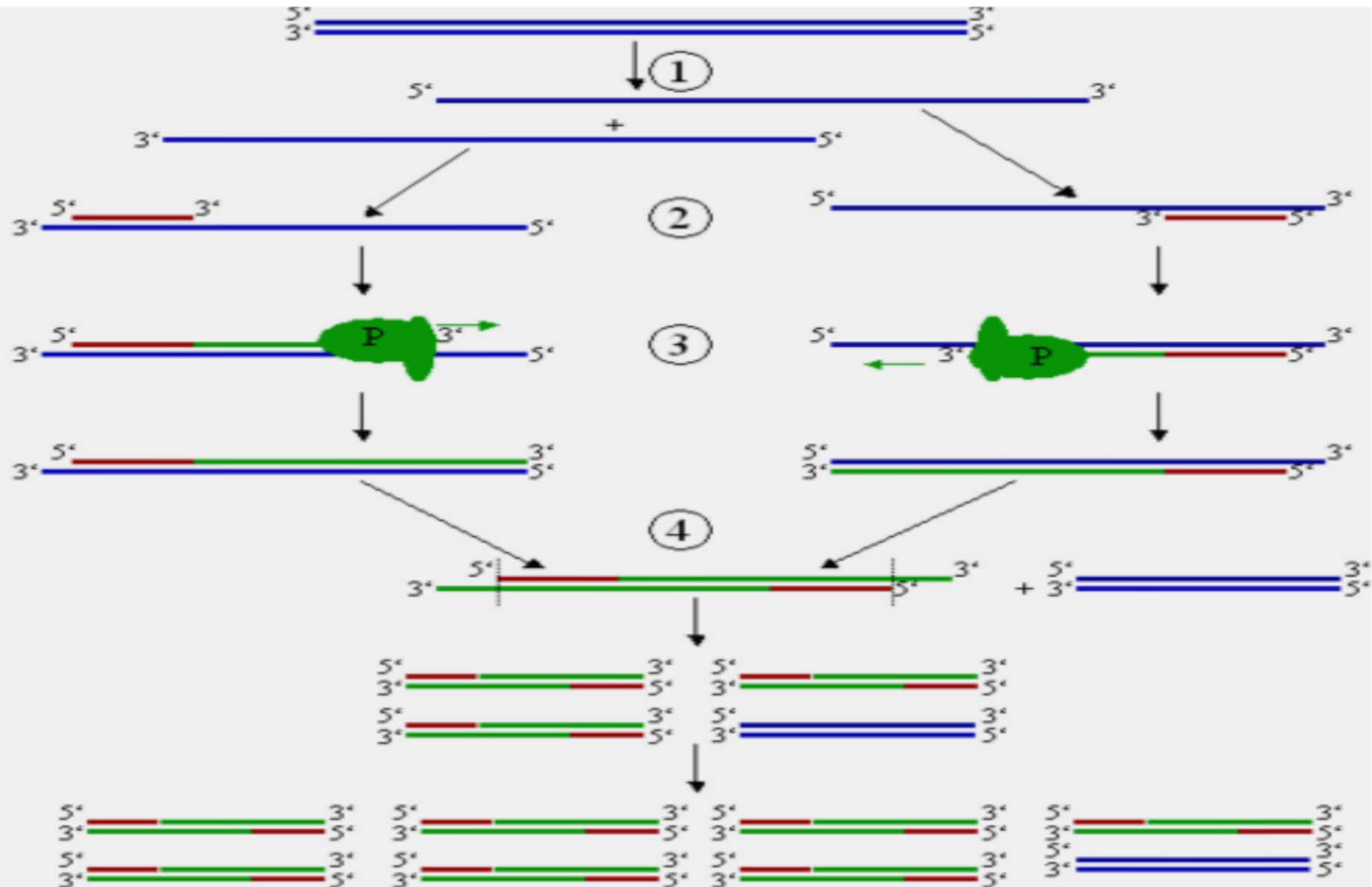
■ *Bu mərhələdə* - amplifikasiya yolu ilə infeksiya törədicisinin DNT zəncirindən müəyyən bir fraqment - DNT-matrisa (qəlib) alınır:

◆ *amplifikasiyanın əsasında* - DNT zəncirinin sona qədər qurulması və ya DNT-nin tək zəncirinin ikiləşməsi - DNT replikasiyası durur;

◆ *əvvəlcə DNT fraqmentinin surəti çıxarılır* - sonra sürətlərin sayı zəncirvari reaksiya rejimində çoxaldılır;

◆ *1-ci dövrədən sonra* - 2 fraqment, *2-ci dövrədən sonra* - 4, *3-dən sonra* - 8, *sonra* - 16, 32, 64, 128, 256...1024 fraqment (10-cu sikldə) alınır;

◆ *hər dövrədə sürətlər* - həndəsi silsilə ilə çoxalır: *20 dövrədən sonra* - million, *30 dövrədən sonra* - milliard fraqment surəti almaq mümkündür.



ZPR-in birinci siklinin sxemi: 1) 94-96°C-də denaturasiya; 2) 68°C-də “bişirmə”; 3) 72°C-də elonqasiya (P-polimeraza); 4) birinci siklin qurtarması. Alınmış iki DNT-zənciri növbəti sikl üçün matrisa olur, buna görə də DNT-matrisaların miqdarı hər sikldən sonra ikiləşir

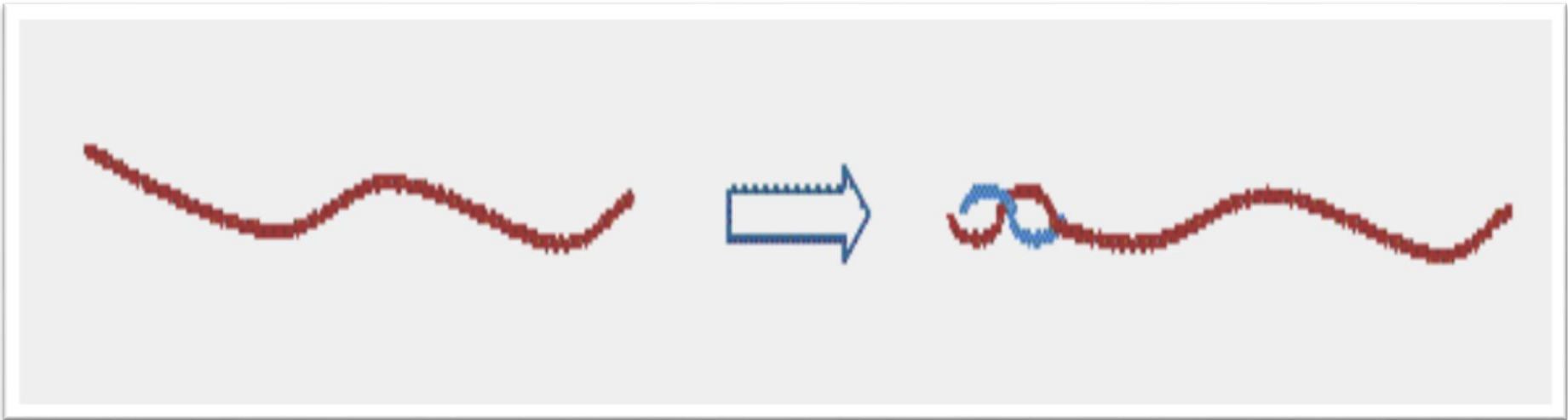
■ ZPR üçün 20-35 sikl yerinə yetirilir - 1 sikl 3 pillədən ibarət olur.

● Denaturasiya (“ərimə”): hazırlanmış qarışıq amplifikatorda 0,5-2 dəq müddətində 94-96⁰C-də qızdırılır; bu zaman DNT-nin komplementar sapları arasında olan hid-rogen rabitələr qırılır və saplar bir-birindən aralanır.



Denaturasiya - DNT saplarının bir-birindən aralanması

● **"Bişirmə"** və ya **"birləşdirmə"**: DNT sapları biri-birindən aralandıqdan sonra temperatur 60-72°C-dək azaldılır (oligonukleotidlərin tərkibindən asılı olaraq) və 1,0-1,5 dəq saxlanılır; bu vaxt denaturasiyada əmələ gəlmiş DNT saplarının 3'-sonluğu - A və B praymerlərin 5'-sonluğu ilə birləşir.



"Bişirmə" - DNT saplarının praymerlərlə birləşməsi

● **Elonqasiya** və ya **“uzatma”**: reaksiyanın bu pilləsi polimeraza fermentinin (taq- və pfu-polimeraza) fəaliyyəti üçün lazım olan optimal temperaturda (72°C) aparılır; polimeraza fermenti - qarışığın tərkibində olan dezoksinu-kleozidtrifosfatdan istifadə edərək, praymerlərin 3'-sonlu-ğundan başlayaraq qarşı-qarşıya, komplementar DNT zəncirini axıra - 5'-sonluğa qədər bərpa edir.



Elonqasiya - polimereza ilə praymerlərin DNT sapına komplementar olaraq uzanması

III. Amplifikasiya məhsullarının deteksiyası

- *Bu mərhələdə* - amplifikasiya məhsulları qarışığının ayrılması baş verir, aşağıdakı komponentlər lazım olur:
 - ◆ amplifikasiya olunacaq DNT-fraqmenti - matrisa;
 - ◆ DNT fraqmentinin hər 2 sapının əks uclarına komplementar - 2 praymer;
 - ◆ termostabil DNT-polimeraza - taq-polimeraza;
 - ◆ 4 növ dezoksinukleozidtrifosfat - dATP, dGTP, dCTP, dTTP;
 - ◆ reaksiyanın pH-nı, ion balansını təmin etmək üçün - öküz zərdabı albumini və müxtəlif duzlardan ibarət bufer məhlulu.

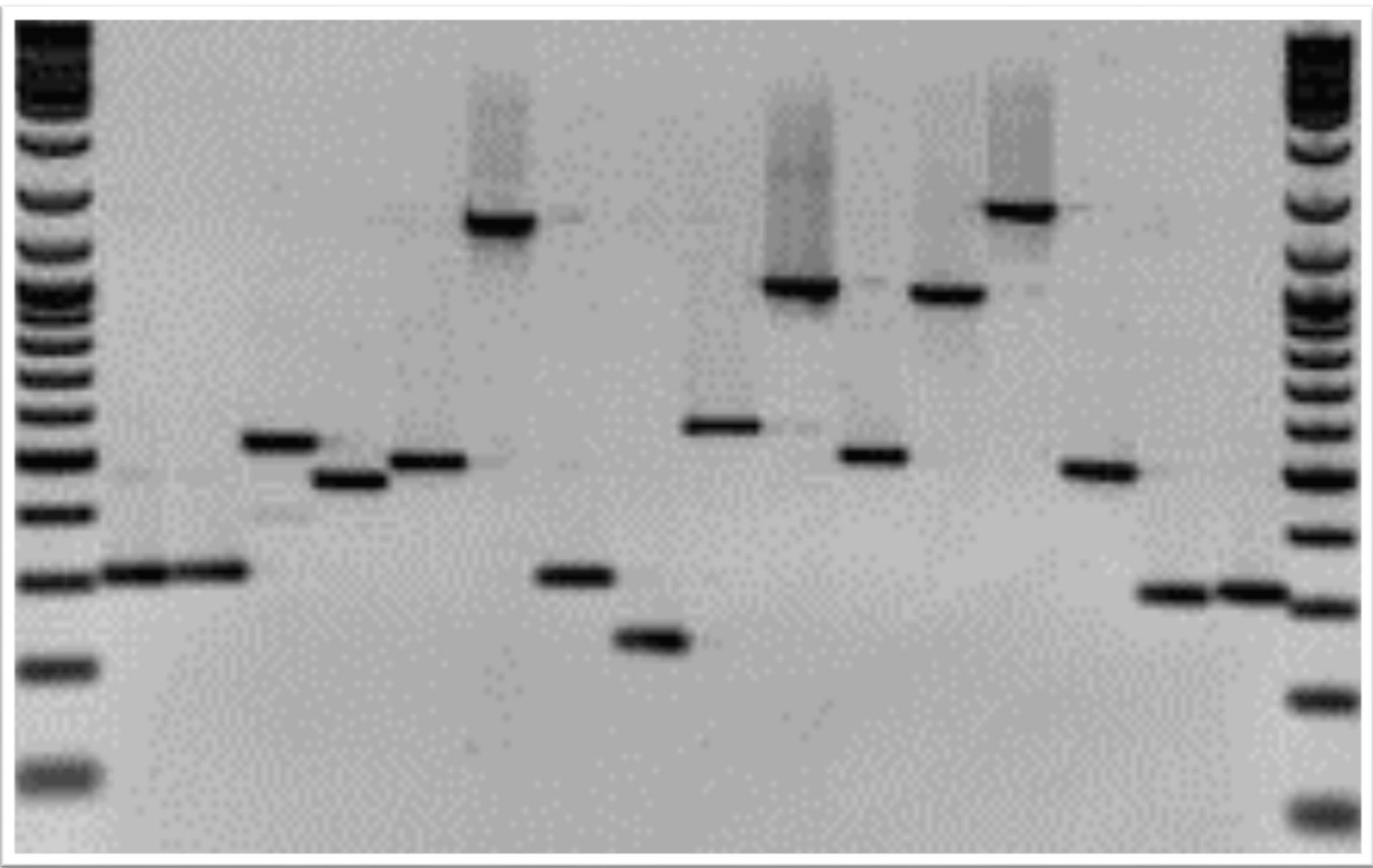
● ***Bu komponentlər:***

- ◆ müayinə edilən DNT,
- ◆ 2 praymer,
- ◆ 4 növ dezoksinukleozidtrifosfat,
- ◆ polimeraza fermenti,
- ◆ bufer məhlulu - müəyyən həcmlərdə bir sınaq şüşəsinə əlavə edilərək qarışıq hazırlanır.

● ***Qarışığa əlavə edilən xüsusi məhlul*** - DNT fraqmenti-nin fluoressensiyasına səbəb olur:

◆ ***bu narıncı-qırmızı rəngdə işıqlı zolaqlar şəklində*** əks olunur;

◆ ***ışıqsaçmanın əmələ gəlməsi*** - xəstədən götürülmüş materialda - virus, bakteriya və s. mikroorqanizm DNT-nin olmasını göstərir.

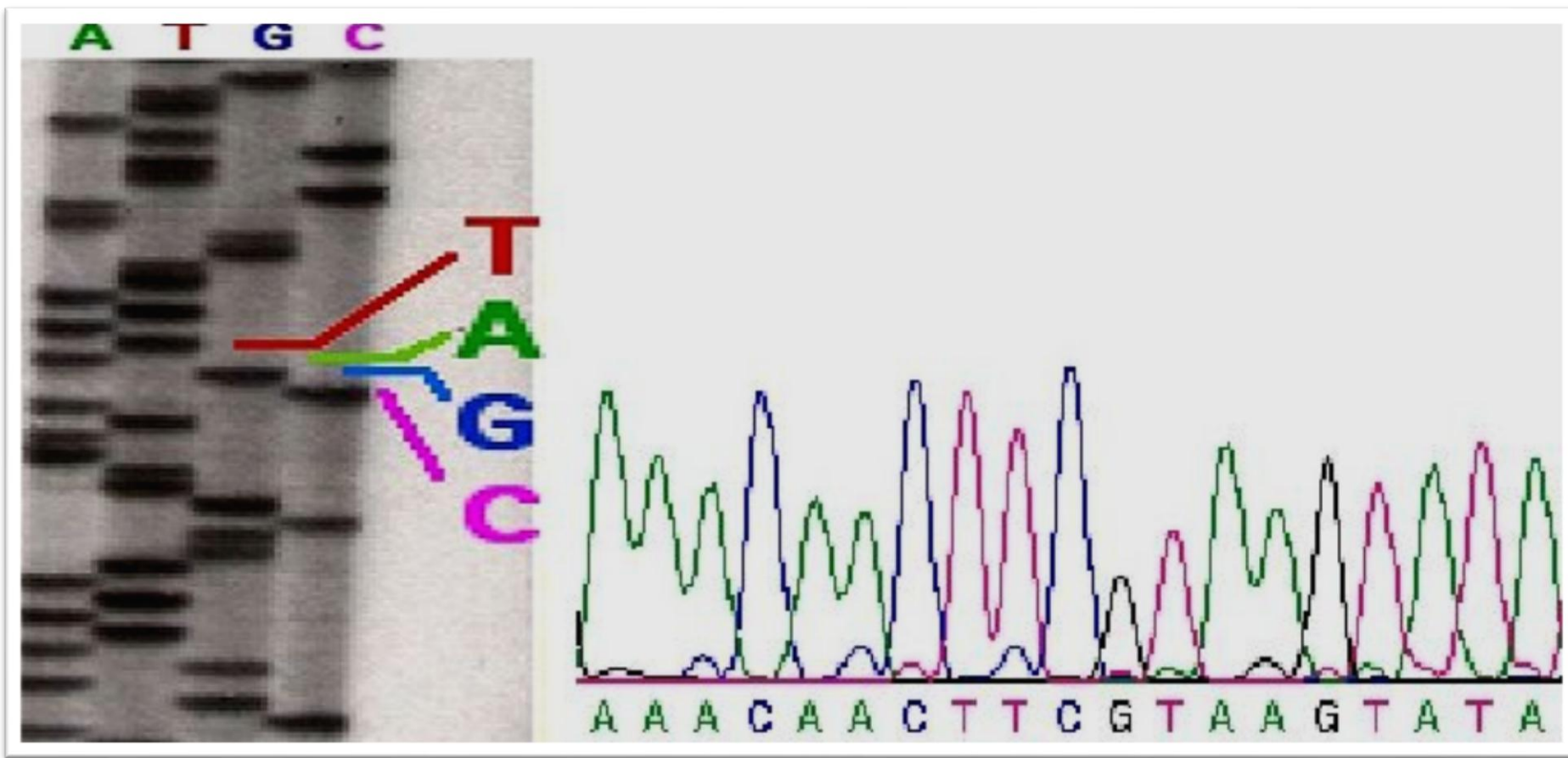


Geldə DNT markerləri (birinci və sonuncu ləkələr) və
ZPR məhsulları

Sekvenləşdirmə üsulu

► Sekvenləşdirmə və ya Senger üsulu:

- ilk dəfə F.Senger (1977) təklif etmişdir;
- üsul, biopolimerlərin (zülal və nuklein turşuları) **sekvenləşdirilməsinə** (lat. sequentum-ardıcılıq), yəni onların aminturşu və ya nukleotidlər ardıcılığının təyin edir;
- üsulun klassik variantında dezoksinukleotidlər (adenin, timin, qvanin, sitozin) radioaktiv izotopla (məsələn, [^{32}P]-dATF) nişanlanır və nəticə gəldə radioavtoqrafiyaya əsasən oxunur;
- müasir variantda - **DNT sekvenləşdirmə** tam avtomatlaşdırılmışdır və xüsusi cihazda - sekvenatorda aparılır;
- fluoressentlə nişanlanmış dezoksinukleotidlər detektor-da fluoressensiyaya əsasən qeydə alınır.



a

b

Sengerin sekvenləşdirmə üsulu: a) gel sahəsində radio-aktiv izotopla nişanlanmış polimeraza reaksiyası məhsulları; b) DNT sekvenləşmənin qrafik görünüşü

Nuklein turşularının hibridləşdirməsi üsulu

■ Hibridləşdirmə üsulu:

◆ ilk dəfə onu kəşf edən E.Sauzernin (1975) şərəfinə - *southern blotting* adlandırılmışdır;

◆ *üsulun mahiyyəti* - müayinə edilən materialda, nuklein turşularının radioaktiv izotopla (məsələn, [^{32}P]-DNT) və ya fermentlə nişanlanmış zondlar (oligonukleotid ardıcıl-lığı) vasitəsilə aşkar edilməsinə əsaslanır;

◆ zond kimi - müayinə olunan nuklein turşusu molekuluna komplementar olan təksaplı DNT və ya RNT molekullarından istifadə olunur;

◆ müayinə materialında - zond özünə komplementar olanı “tapır” və onunla kompleks əmələ gətirir.

**DİQQƏTİNİZƏ GÖRƏ
TƏŞƏKKÜR
EDİRƏM!**