

УДК 57.088

Діана КРАСУЦЬКА, студент

Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»,
м. Київ, Україна, e-mail: krasutska.diana@iill.kpi.ua

ДНК-МІКРОЧИП, ЯК МЕТОД ДІАГНОСТИКИ ЗАХВОРЮВАНЬ ЛЮДИНИ

Анотація. Проаналізовано роботу ДНК-мікрочипа, як методу діагностики захворювань людини та визначено основні переваги та недоліки нанопристрою порівняно з іншими способами дослідження організму. На основі отриманих знань сформовано чітке уявлення про ефективність роботи біочипа та перспективи його розвитку.

Ключові слова: ДНК-мікрочип, діагностика захворювань, біопристрій, нанотехнології, генетичні методи досліджень.

Історія біочипів почалася в кінці 1980-х років з аналізу послідовностей ДНК. Саме в той час академік ІМБ РАН А. Д. Мірзабеков висунув ідею створення біочипа в якості альтернативи методу секвенування по Сенгеру [2, с. 2].

ДНК мікрочип (ДНК чип або біочип) – мікропластинка, до якої прикріплені ДНК-зонди (невеликі одноланцюгові молекули ДНК) (рис. 1). Тверда поверхня може бути представлена склом чи силіконом. Існують й інші платформи: мікроскопічні кульки, що випускаються Illumina.

На сьогоднішній день ДНК – чипи можна використовувати для детекції однонуклеотидного поліморфізму, при генотипуванні, секвенуванні мутантних геномів, вивченні екзон-інтронної будови генів, аналізі диференційної генної експресії. Розроблено ряд мікрочипів для експресного методу ідентифікації нітрифікуючих бактерій, бактерій груп *Vacillus* та архебактерій.

ДНК-мікрочип працює на основі явища гібридизації. За недостатньої кількості матеріалу здійснюють процес утворення додаткових копій ділянок хромосомної ДНК.

Аналіз зразків полягає в міченні їх різними флюоресцентними мітками. Далі зразки наносять на мікрочип та деякий час інкубують. Внаслідок чого відбувається гібридизація комплементарних одноланцюгових молекул. Під час промивання чипа всі некомплементарні ДНК змиваються. Кінцевим етапом є сканування лазером, що викликає світіння мічених молекул. Визначити послідовність ДНК можна за допомогою мікроскопа, підключеного до комп'ютера.

Контроль якості зображень, отриманих при скануванні, є важливим етапом аналізу ДНК-мікрочипа. Пил чи нерівномірність розподілу світла спричиняють появу неоднорідностей чи плям. Через перешкоди вияву таких плям неозброєним оком проводиться порівняння інтенсивності світіння проби з якимось контрольним значенням чи за допомогою моделювання деяких значень в деякому наборі мікрочипів.

У 2018 році ФДБУ «Новосибірський науково-дослідний інститут травматології і ортопедії ім. Я. Л. Цив'яна» Міністерства охорони здоров'я Російської Федерації було проведено дослідження по створенню ДНК-мікрочипа для виявлення генетичної схильності до ідіопатичного скаліозу в підлітковому віці. Це дозволить виявити можливість прояву захворювання ще до початку його клінічних проявів, а також допоможе спрогнозувати характер його протікання та результати лікування. Зі списку маркерів, що могли б мати асоціацію із



Рис. 1. Будова ДНК – мікрочипа

захворюванням, було відібрано 79 для створення прогнозованої тест-системи. Після виділення геномної ДНК, підготовки мічених зондів до гібридизації, їх очистки, обробки мікрочипа, проводилася сама гібридизація та сканування мікрочипа. Результати досліджень виявилися успішними. Тест-система добре відрізняє різні алелі маркерів, не дивлячись на те, що вони можуть відрізнятися лише одним нуклеотидом. Цікавим є те, що при дослідженні даною тест-системою зразків ДНК людей, що мають родинні зв'язки, можна виявити схожість інтенсивності сигналів позитивних та негативних контролів. Генетичне успадкування даного захворювання є полігенним.

Перспективою для розвитку технології ДНК – мікрочипу став моніторинг генної експресії. Тому, з'явився новий напрямок – функціональна геноміка. Стало можливим визначати функціональне значення генів, що дозволило вивчати патогенетичні основи різних захворювань.

На основі аналізу результатів досліджень щодо визначення хвороб людини виявлено наступні переваги: мінімізація витрат реагентів та досліджуваного матеріалу; можливість аналізу великої кількості генів за багатьма параметрами; висока чутливість при порівнянні з іншими ПЛР-методами; легкість проведення аналізу та визначення результатів [2, с. 2].

Окрім переваг метод ДНК-мікрочипу має кілька недоліків: можливість визначення невеликої кількості мутацій, що зводиться до детекції переважно мутагенних та локальних мутацій; інтенсивність світіння, зареєстрована в конкретному місці мікрочипа, лінійно залежить від кількості ДНК, яка пройшла гібридизацію (така залежність не завжди є, але точно оцінювати кількість ДНК зразка можна лише при деяких початкових концентраціях, які можуть забезпечити лінійну залежність); величина бази генів, що перебувають в розпорядженні людства (синтез деякого зонда, що має розташовуватися на мікрочипі, є неможливим через не існування якогось гена).

Отже, ДНК-мікрочип – мініатюрна пластинка, на яку нанесено фрагменти ДНК відомої послідовності для проведення генетичного аналізу.

Таким чином, метод ДНК- мікрочипу порівняно з іншими ПЛР-технологіями є найбільш перспективним через автоматизацію процесу дослідження, низьку вартість його проведення та легкість отримання результатів.

Ефективність ДНК-біочипів пов'язана з можливістю паралельного проведення декількох реакцій, чим забезпечується отримання більшої кількості інформації за той самий період часу. Для клінічних досліджень розроблені спеціальні лазерні аналізатори, що можуть зчитувати інформацію одночасно з усієї поверхні мікрочипу.

Література

1. Збірник наукових статей / Окулич-Козарин В., Мурза А., Агеев Є. та ін.]. – Варшава: “Diamond trading tour”, 2016. – 124 с.
2. Галета А. О. ДНК-мікрочип, як ефективний молекулярний інструмент для виявлення мутацій-поліморфізмів / Анастасія Олександрівна Галета. // Інноваційні аспекти розвитку науки та техніки. – 2021. – № 5. – С. 5.
3. Міжнародний журнал прикладних та фундаментальних дослідів. – 2018. – №11. – С. 67–74.
4. An Analysis of Gene Regulatory Network Topology Using Results of DNA Microchip Experiments [Електронний ресурс] / S.Babichev, O. Khamula, I. Perova, B. Durnyak. – 2020. – Режим доступу до ресурсу: https://www.researchgate.net/publication/347831534_An_Analysis_of_Gene_Regulatory_Network_Topology_Using_Results_of_DNA_Microchip_Experiments.
5. Оцінка якості обробки складних даних біологічної природи на основі критеріїв ентропії / Литвиненко В. І., Бабічев С. А., Таїф М. А., Фефелов А. О.. // Інститут проблем штучного інтелекту МОН України та НАН України. – 2016. – С. 15.