

Polymorfismus konformace jednoduchých řetězců

Jedná se o techniku **vyhledávání mutací** v genomu. Patří mezi nejjednodušší techniky k této činnosti. Bývá označovaná zkratkou **SSCP** (single strand conformation polymorphism, **polymorfismus konformace jednořetězcové DNA**).

Princip techniky

Jejím principem je elektroforéza jednovláknové DNA na nedenaturujícím polyakrylamidovém gelu při nízké teplotě. Řetězec DNA se „sbalí“ podle vnitřních komplementarit, čímž vznikne prostorová struktura podobná např. tRNA. Rychlost, jakou pak jednořetězcová DNA putuje během elektroforézy nukleových kyselin, závisí na přesné konformaci. Protože i velmi malá změna v sekvenci nukleotidů může způsobit, že DNA vytvoří úplně jinou prostorovou strukturu, je možné pomocí SSCP **odlišit často i záměnu jediné báze**.

Práce s PCR

Při práci s většinou PCR produktů se DNA během SSCP rozdělí do dvou skupin frakcí: První skupina putuje pomaleji, proužky bývají ostřejší a bývá jich větší počet. Druhá frakce putuje rychle a zpravidla tvoří jediný pruh.

Důvodů, proč jeden PCR produkt tvoří několik proužků, je několik:

- každý řetězec denaturované DNA zaujme jinou konformaci,
- jeden řetězec může tvořit více stabilních konformací,
- část molekul nevytvoří sbalenou prostorovou strukturu,
- část molekul renaturuje do původní dvoušroubovice a vzniknou tak znovu homoduplexy,
- u heterozygotů může část molekul renaturovat za tvorby heteroduplexů.

Spolehlivost techniky

Uvádí se, že při práci s úsekem DNA dlouhým 100–300 bp lze pomocí SSCP zachytit 99 % bodových mutací, pro úseky dlouhé 400 bp více než 80 %. S rostoucí délkou vyšetřovaného fragmentu DNA účinnost SSCP klesá a pro úseky delší než asi 750 bp není tato technika vhodná.

Odkazy

Související články

- Centrální dogma molekulární genetiky
- Polymorfismus délky restrikčních fragmentů
- Mutace
- Genetický kód
- Polymerasová řetězová reakce

Zdroj