

20 aprilie 2008, Medical Student

Testul de paternitate - descrierea stiintifica a analizei genetice

Scris de Andrei Popescu

Sunday, 20 April 2008

Bagaj informational stiintific

Fiecare fiinta umana are 46 de cromozomi. 23 din partea mamei si 23 din partea tatalui. Fiecare pereche de cromozomi are acelasi fond informational genetic cu mici variatii. Doi cromozomi din cei 46 sunt fie cromozomi X- sau Y-. Combinatia XX da nastere sexului feminin, iar XY sexului masculin.

Variatiile din interiorul cromozomilor ADN –ului realizeaza o structura unica pentru fiecare fiinta umana. Numai gemenii identici (dintr-un singur ou) au acelasi ADN. Totusi, jumătate din cromozomii unei persoane sunt aproape identici cu jumătatea ADN-ului paternal sau maternal.

Acest aspect permite compararea ADN –ului apartinand tatalui, mamei si copilului (sau numai al tatalui si al copilului) pentru demonstrarea sau excluderea paternitatii. Analiza efectuata de noi compara regiuni caracteristice ale ADN-ului. Regiunile contin modele care se repeta. Numarul repetitiilor difera de la persoana la persoana.

Sunt copiate si amplificate regiunile pe care dorim sa le testam pentru a se inlesni analizarea unei mostre cat mai mari. Apoi testam lungimea si numarul repetitiilor din fragmentele alese. In final, lungimea fragmentelor, pentru toate persoanele testate, este comparata si calculata cu ajutorul computerului. Aceasta ne permite sa calculam probabilitatea paternitatii.

Amplificarea ADN-ului

Mai intai trebuie sa copiem si sa amplificam regiunile pe care dorim sa le testam. Simultan, marcam fragmentele ADN-ului cu substante fluorescente. Se permite astfel detectarea anumitelor secvente capilare.

Pentru a copia fragmentele utilizam reactia in lant de polimerizare. Aceasta reactie in lant este creata de o enzima care copiaza ADN-ul prin mai multe etape.

Dupa 30 de etape, teoretic am creat pana la 1 miliard de copii identice. Acest proces este similar cu acela al diviziunii celulare, unde fiecare celula contine aceeasi informatie ADN.

Analiza fragmentelor ADN

Pe masura ce copiem si amplificam fragmentele ADN, in acelasi timp le marcam cu substante fluorescente. O data ce mostrele sunt expuse luminii laser, aceste culori vor aparea pe frecvente diferite.

Fragmentele marcate cu substanta colorata sunt apoi separate prin electroforeza. Fragmentele sunt expuse unui camp electronic si impinse printr-un tub foarte subtire (o capilara). Acest tub este umplut cu un polimer vascos.

Avandu-se in vedere ca ADN-ul este incarcat negativ, el va fi mutat la polul pozitiv in cadrul unui camp electric. Fragmentele mai lungi vor avea nevoie de mai mult timp pentru a ajunge la polul respectiv, fata de cele mai scurte.

La capatul capilarei un laser trimite lumina monocolora. Aceasta lumina laser stimuleaza portiunile colorate cu substanta fluorescenta sa emita o lumina cu o anumita lungime a razei. Culoarea fragmentelor ne permite sa le identificam pe fiecare. Faptul ca putem sa masuram timpul necesar unui fragment pentru a ajunge la polul pozitiv ne ajuta sa deducem apoi lungimea fragmentului.

Evaluare Statistica

Apoi, informatiile referitoare la toate lungimile masurate sunt compilate in computer. Computerul calculeaza congruentele intre toate fragmentele apartinand persoanelor testate. Aceste calcule sunt exprimate apoi in probabilitatea si sansele paternitatii investigate.

Pentru a obtine acest lucru, programul utilizeaza distributia statistica a datelor, apartinand tuturor variantelor posibile ale markerului aferent unui anumit grup de populatie, denumita tabele de frecventa. Frecventa pentru fiecare varianta este diferita (spre ex. exista variante care se regasesc numai la anumite persoane, si variante care se regasesc la multi indivizi). In consecinta, posibilitatea unei congruente accidentale intre doua persoane va fi diferita in fiecare caz.

Desigur, markerii utilizati in testele noastre au o importanta crescuta. Combinatia a cel putin 16 markeri ne permite sa garantam o probabilitate de cel putin 99,99%. Aceasta inseamna ca in cazul unei corelatii totale intre copil si presupusul tata, posibilitatea unei congruente accidentale ar fi mai mica de 0.01%.

Cititi si interviul cu Dr. Frank Pfannenschmid, Director General DelphiTest GmbH Germania, referitor la testele de paternitate in Germania si Romania.