

Uddannelsesinstitution

Uddannelsesinstitution

UC VIA (Århus)

Kontaktperson

Henning Ilsø

E-mail kontaktperson

hils@via.dk

Telefonnr. kontaktperson

30 200 118

Klinisk uddannelsessted

Klinisk uddannelsessted

Klinisk Genetisk Afdeling, Aarhus Universitetshospital

Klinisk underviser

Mathilde Holm Hjorth

E-mail klinisk underviser

mathjo@rm.dk

Telefonnr. klinisk underviser

29745169

Bachelorprojekt

Titel på bachelorprojekt

Inverse Shifting-PCR til detektion af inversioner i intron 22 af koagulationsfaktor-VIII genot

Abstract - kopieres fra bachelorprojekt

Baggrund: Hæmofili A er en blødersygdom, kendetegnet ved mangel på koagulationsfaktor VIII (F8). Denne mangel kan skyldes inversioner i intron22 af F8-genet (Inv22) og nedarves X-bundet recessiv. Inv22 inddeles i type 1 og 2. Til at detektere disse inversioner, anvender Klinisk Genetisk Afdeling (KGA), Aarhus Universitetshospital (AUH) i dag Southern Blot (SB), men de ønsker at overgå til metoden Inverse Shifting Polymerase Chain Reaction (IS-PCR).

Projektet omhandler derfor, hvorledes IS-PCR til detektion af Inv22 kan opsættes og implementeres på KGA, AUH.

Metode: I projektet blev der udarbejdet en procedure til IS-PCR, ud fra videnskabelige artikler, afdelingens retningslinjer og producenternes forskrifter. Denne procedure blev først afprøvet på genomisk DNA fra EDTA-blodprøver med en ikke-muteret genotype. Efterfølgende blev proceduren testet på genomisk DNA med Inv22, type 1 og 2. Proceduren blev yderligere testet på patientprøver, hvor resultatet heraf blev sammenholdt med resultater fra SB. Til slut blev proceduren afprøvet på faldende mængder genomisk DNA, for at undersøge ved, hvor lave mængder genomisk DNA, metoden kan detektere Inv22.

Resultater: IS-PCR-proceduren blev udviklet og testet gennem seks opsætninger, med tilhørende underopsætninger. Dette resulterede i en procedure, bestående af seks trin, som kan udføres på to dage. Ved test af patientprøver stemte resultaterne overens med tidligere resultater fra SB.

Yderligere blev det fundet, at IS-PCR-proceduren kan udføres på genomisk DNA ned til 0,75 µg.

Konklusion: Projektet lykkedes med at opsætte en anvendelig procedure for IS-PCR, til detektion af Inv22, og differentiering af type 1 og 2, på genomisk DNA fra EDTA-blodprøver. Det er muligt at IS-PCR kan erstatte SB til detektion af Inv22, men metoden er endnu ikke implementeret på KGA, AUH.

Motivation

En patogen inversion i intron 22 (inv22) af F8-genet ses hos ca. 45% af patienter med svær hæmofili A. Undersøgelse for inv22 På KGA, AUH foregår ved Southern Blot, der er en meget tidskrævende analyse, der kræver store mængder prøvemateriale (DNA). Gruppen har arbejdet med optimering og implementering af en ny relativ kompleks metode, inverse shifting-PCR (IS-PCR), der potentielt også vil kunne anvendes i forbindelse med prænatal diagnostik grundet kort svartid.

Gruppen har tilrettelagt og udført disse optimeringsforsøg med meget stor selvstændighed og grundighed. At de lykkedes med at opsætte analysen, er ligeledes i høj grad et resultat af gruppens analytiske evne til løbende at identificere "næste bedste skridt" i optimeringsarbejdet baseret på tolkning af opnåede resultater. Ligeledes har gruppen undersøgt hvor meget DNA analysen kræver (prænatal diagnostik) og til eksamen dokumenterede de at IS-PCR-analysen med tilpassede primere også kunne detektere patogene inv1 mutationer.

Bachelorrapporten er på et højt niveau både fagligt og formuleringsmæssigt, og alle konklusioner og perspektiveringer er velargumenterede. Gruppen fik ligeledes prisen for bedste poster til dimissionen.

Forfatternavn

Johanne Zimmer Schultz, Sofie Kreiberg Pedersen, Maja Heegaard Rasmussen, Gitte Hagen Sørensen

Forfatter e-mail

Johanne Zimmer Schultz: johanne.zimmer@gmail.com; Sofie Kreiberg Pedersen: sofiekp97@outlook.dk; Maja Heegaard Rasmussen: majarasmussen98@gmail.com; Gitte Hagen Sørensen: gittes97@live.dk

Forfatter telefonnr.

Johanne: 27828726

Eksamensdato

man, 01/24/2022 - 00:00

Må projektet offentliggøres i sin helhed?

Ja

Må Danske Bioanalytikere kontakte forfatterne?

Ja

Vedhæft bachelorprojektet

[IS-PCR-til-detektion-af-inversioner-i-intron-22-af-F8-genet 1.pdf](#)