

3.4 Come possiamo studiare l'effetto dei virus sui percorsi cellulari?

Benvenuti in un nuovo video sulla diagnosi virale. Sicuramente sai che quando un virus infetta una cellula, produce una serie di squilibri molecolare, assicurarsi che la cella sintetizza molecole in risposta all'infezione, sia come difesa o per informare l'infezione ad altre cellule. In questo video parleremo di microarrays, una tecnica usata per sapere quali percorsi di cella sono interessati dall'infezione virale.

Chip di microarray o microchip di DNA, che essi sono tutti sinonimi, hanno molte applicazioni nella ricerca, ad esempio, per sviluppare farmaci, studiare l'espressione di geni correlati con la patogenicità virale, ecc. Ma ci sono altri microchip che può essere utilizzato nella diagnosi, per identificare nuovi virus, per monitorare i pazienti trattati con agenti antivirali, o per controllare la qualità dei vaccini e confermare che sono esenti di microrganismi contaminanti. Quindi, come potete vedere, gli usi sono innumerevoli. A proposito i microarrays progettato per diagnosticare molti virus sono chiamati virochips.

Sono costituiti da una membrana che può essere in nylon, silicone o un semplice vetrino. Il DNA di molti geni è ordinato secondo un modello specifico e immobilizzato in questa membrana. Questi frammenti di DNA, conosciuti come sonde o oligomeri, sono disposte in punti o macchie microscopiche. Quando un virus infetta una cellula, vengono attivate una serie di segnali. Raggiungono il nucleo e attivare i geni specifici. Il risultato è la sintesi di mRNA che va nel citoplasma. Beh, questo mRNA (o dopo trascrizione inversa in DNA complementare) ibridizza con il DNA attaccato alla matrice solida.

Two-channel microarrays

La tecnica tipica comporta l'estrazione del mRNA dalle cellule infette e non infette. Con l'enzima RT, che abbiamo visto nel video precedente, il mRNA è inverso trascritto nel cDNA, utilizzando diversi colori-labeled dNTP per le cellule infette e per le cellule non infette, modo che sono contrassegnati con colori diversi di fluorescenza. Quando questi cDNA vengono aggiunti il matrice con migliaia di sequenze di DNA, nelle giuste condizioni, se c'è questa complementarità tra la sonda del microarray e il cDNA, entrambi ibridare. Come hanno colore diverso, possiamo essere determinare con cui le sonde del cDNA da cellule infette e da non infette si ibrida, e così determinare l'espressione dei geni che ha innescato l'infezione virale. Non dimenticate che nel microchip ci sono migliaia di sonde, così nello stesso esperimento possiamo vedere l'espressione di molti geni differenti, che sono identificati dalla loro posizione sul chip. Anche se può sembrare complicato, microarrays può essere personalizzati a seconda dello scopo per cui verranno utilizzati. E non ti preoccupare, che non sono leggere manualmente: Ci sono lettori di microarray e programmi specializzati ad interpretare i segnali fluorescenti.

One-channel microarrays

Un fluorocromo di colore unico, può essere utilizzato soprattutto se vogliamo quantificare la quantità di mRNA perché così vedremo i valori assoluti, che metteremo a confronto con l'intensità di fluorescenza che fornisce DNA diluito a concentrazioni note. In questo modo, i risultati possono essere confrontati tra diversi laboratori o ottenuti in tempi diversi.

In questo video abbiamo visto un'introduzione ai microarray una tecnologia molto potente, con molte applicazioni. Sono sicuro che avete molte domande. C'è un video in inglese nel materiale supplementare che risolverà molti dei loro.

<https://www.jove.com/video/2536/using-pan-viral-microarray-assay-virochip-to-screen-clinical-samples>

Inoltre, come questo si conclude questa sezione del diagnosi attraverso gli acidi nucleici, non dimenticate di fare gli esercizi corrispondenti. La ringrazio molto per la vostra attenzione.