3. Faktor V mutáció:

A hemosztázis konzultáción már ismertetett V faktor egyik lehetséges mutációja az ún. Leiden-mutáció; pontmutáció következtében a fehérje 506-dik aminosava argininról glutaminra változik (egybetűs aminosav kóddal jelölve R506Q).

A mutáció kimutatása két primer párral történik, az egyik (H) primer pár abban az esetben ad PCR terméket, ha nincs jelen mutáció (az 506. aminosav arginin), míg a (S) primer pár abban az esetben ad PCR terméket, ha az 506. aminosav a pontmutáció következtében glutaminra módosult (a konzultáció anyagában G és A a módosult nukleotid alapján).

A gyakorlaton a két primer párt következőképpen tervezték meg:

Bemásolták az NCBI kereső programjába a következő keresőszavakat:  *Homo sapiens coagulation factor V*.  Számos egyéb információ mellett megkapjuk az V faktor nukleotid szekvenciáját. A szekvenciában megkeressük az 506. aminosavat kódoló nukleotidokat. Mivel igazán sikeresen akkor tudunk pontmutációt (SNP, single nucleotide polymorphism) kimutatni, ha az pontmutáció helye a primer 3? végén van, nekünk kell az egyik primert megadni a primertervező programnak. A forward primert paraméterei miatt nem fogadja el a program, a reverse primer megfelelő. Ezzel a primerrel és a program által hozzáválasztott forward primerrel detektálható a pontmutáció.

Megvizsgálták,  kimutatható e ez a mutáció PCR-RFLP vizsgálattal.

Ebben az esetben a kérdéses mutációt tartalmazó DNS fragmentumot PCR segítségével felszaporítjuk, majd restrikciós endonukleázzal (RE) emésztjük. Amennyiben a mutáció során a kiválasztott restrikciós endonukleáz felismerő helye eltűnt/megjelent, az emésztés során kapott fragmentumok különböző méretűek lesznek mutációt hordozó és nem hordozó személynél.

Az interneten megtalálható *NEBcutter* program segítségével kideríthatő, van e olyan restrikciós endonukleáz, melynek felismerő helye a mutáció helyén található. Válasz: van ilyen, a program segitségével láthatjuk a restrikciós endonukleáz emésztés után mekkora fragmentumok keletkeznek és ezek milyen képet mutatnak gélelektroforézissel.