**Materiaal en methode Weektaak 1**

Het doel was om meer informatie te verkrijgen over de verschillende methoden om genetisch onderzoek te doen. Verder is er met behulp van deze methoden een diagnose gesteld voor patiënte P. Er is gebruik gemaakt van OMIM om een diagnose voor patiente P vast te stellen. Verder is de stamboom van patiënte P gebruikt om het overervingspatroon van de ziekte te achterhalen. Met behulp van genetic counseling worden symptomen samen met een arts vastgesteld, ook wordt er gekeken naar vergelijkbare symptomen binnen de familie van de patiënte, om zo met behulp van stamboomanalyse een overervingspatroon vast te stellen. Patiënte P kreeg vanaf haar 22e levensjaar last van haar symptomen, nachtblindheid; progressieve degeneratie van haar netvlies én ze ontwikkelde de aandoening: tunnel vision. Door in OMIM te zoeken op deze 3 symptomen kon de juiste diagnose gesteld worden.

**Materiaal en methode Weektaak 2**

Het PCR-experiment en de gel-elektroforese stonden centraal. Doormiddel van het labprotocol is het PCR-experiment en de gel-elktroforese uitgevoerd om de lengte van een DNA fragment te kunnen bepalen. Verder is er handmatig een PCR primerset ontworpen om de coderende sequentie van het DNA fragment te vermenigvuldigen. Het DNA fragment was afkomstig van de NCBI Nucleotide Database, dat gevonden is via een referentie in de OMIM Database waarmee we de diagnose van patiënte P hebben vastgesteld. Handmatig een primerset ontwerpen is gebeurd aan de hand van een aantal voorwaardes: de primes moeten van de 5’ kant naar de 3’ kant lopen; de lengte van de primes moet rond de 20 nt liggen; een Tm tussen de 55 en 62 graden en de primers moeten een acceptabel GC% hebben. De coderende DNA sequentie loopt van 133 tot 6543 nt, het gen is 7230 nt lang verder zijn de handmatig ontworpen primers 20 nt lang. Er is rekening gehouden met de Tm, GC% en welke kant de forward en reverse primer oplopen.

**Materiaal en methode Weektaak 3**

Er zijn doormiddel van primer BLAST en primer3plus primers ontworpen. Door meerdere tools te gebruiken zijn de ontworpen primers met elkaar vergeleken op functionaliteit en hoe vaak de sequentie van de primer op andere plekken in ons DNA voorkomt. De sequentie is een exon dat afkomstig is uit een van de 111 kandidaatgenen die de ziekte van patiënte P kunnen veroorzaken. De sequentie is verkregen via de NCBI database waarnaar verwezen werd op de OMIM database. De primers zijn ontworpen op basis van voor ons gunstige eigenschappen; lengte van ongeveer 20 nt; Tm tussen de 55 en 62 graden; Tm verschil van max 4 graden én een GC% dat tussen de 30 en 60 % licht. Zo is de functionaliteit van de primers zo goed als gegarandeerd. Een primer kan aan alle bovenstaande eisen voldoen maar evengoed niet gebruikt worden tijdens het PCR-experiment. Namelijk als een primer op meerdere plaatsen in het DNA kan binden, dit kan leiden tot een foute resultaten.