

Molekulární cytogenetika

Mezi **metody molekulární cytogenetiky** patří vyšetření, která zkoumají DNA na chromosomální úrovni na základě molekulárně genetických principů. Tyto metody jsou především FISH, CGH, a různé druhy *array*. Jejich hlavním účelem je tedy zjistit různé submikroskopické chromosomální aberace, které jsou špatně zachytitelné klasickým vyšetřením karyotypu v optickém mikroskopu.

Fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

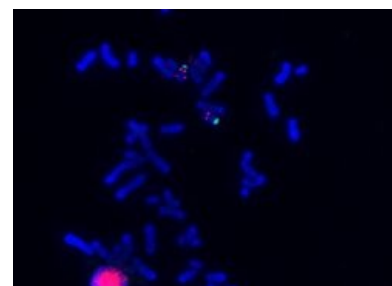
 *Podrobnější informace naleznete na stránce FISH.*

Při tomto vyšetření používáme fluorescenčně značené sondy, které hybridizujeme s částečně denaturovaným vyšetřovaným chromosomem. Sondy dělíme na **centromerické**, **lokus specifické** a **telomerické**. Obvykle vyšetřujeme metafázní chromosomy, které jsou nejlépe kondenzované, můžeme tedy popsat vzájemný vztah lokusů. Vyšetření lze ovšem provést i na interfázních jádrech.

Například chceme-li prokázat přítomnost translokace na chromosomu 16, použijeme lokus specifické sondy pro danou oblast chromosomu a centromerické sondy pro chromosomy 16, čímž zjistíme, jestli jsou všechny 4 alely (2 kopie maternální a 2 paternální) na metafázních chromosomech na svých místech. Pokud však chceme prokázat například jen trisomii chromosomu 21, stačí použít centromerické sondy v interfázi – vidíme tři signály, nepotřebujeme znát umístění.

Obecně platí, že čím méně jsou chromosomy při vyšetření kondenzované, tím je při vyšetření možno vyšší rozlišení, ale stává se méně přehledným.

Pro prokázání složitějších přestaveb lze použít metodu **mnohobarevné FISH** (multicolour FISH, M-FISH) nebo **spektrálního karyotypování**, při kterých je použito více sond značených různými fluorochromy.



FISH lokus specifická sonda, M. Prader-Willi, delece 15q11-q13

Komparativní genomová hybridizace (CGH)

 *Podrobnější informace naleznete na stránce CGH.*

Při tomto vyšetření hybridizujeme na standardní chromosom dvě různě značené skupiny sond. Jednou barvou je značená standardní chromosomální výbava, tedy stejná, jako je chromosom, na něj hybridizujeme. Druhou barvou je značena DNA z vyšetřované tkáně. Za normálních podmínek na vzorový chromosom hybridizují oba značené vzorky stejně. Pokud je ve sledované tkáni daná oblast chromosomu duplikovaná, je větší pravděpodobnost, že se přichytí na vzorek než u značené standardní DNA. Proto v tomto případě svítí více v dané oblasti barva testovaného vzorku. Pokud je v daném úseku delece, DNA testované tkáně nebude v daném úseku hybridizovat. Proto bude převažovat ve fluorescenčním mikroskopu barva standardní chromosomální výbavy.

Tato metoda již byla dnes již prakticky opuštěna, neboť byla nahrazena přesnější array-CGH.

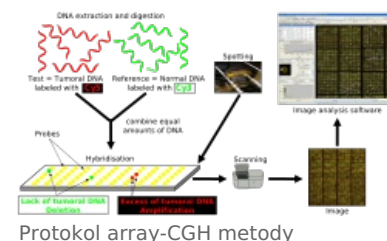
Metoda hybridizačních čipů (array)

Metoda mikročipů spočívá v tom, že jsou v jednotlivých jamkách čipu fixovány sondy se známou sekvencí DNA. Při přidání značené vyšetřované DNA se fragmenty vážejí k sondám se známým umístěním. Pokud dojde k hybridizaci DNA z vyšetřovaného vzorku s danou sondou na destičce mikročipu - je následně ve scanneru pomocí laseru detekován signál, který je analyzován příslušným softwarem přímo v počítači.

Jednou z možností využití této metody je **array-CGH**, vyšetření vycházející z principu CGH. Porovnáváme zde množství kopií lokusu na vyšetřovaném a standardním genomu ne na celém chromosomu, ale po jednotlivých úsecích dle jamek v čipu.

Druhou platformou je tzv. **SNP-array**, která je založena na detekci SNP, tedy jednonukleotidových polymorfismů, opět na principu hybridizace oligonukleotidových sond na čipu. Tato metoda umí oproti array-CGH i blíže rozlišit například uniparentální disomii (UPD) či ztrátu heterozygoty (LOH), oproti array-CGH však má o něco horší rozlišení.

Array metody jsou dnes metodou volby při vyšetření osob s podezřením na některý z **mikrodelečních syndromů**, tedy například u dětí s psychomotorickou retardací (PMR) a nespecifickou kraniofaciální dysmorií.



Odkazy

Související články

- Identifikace chromozomů
- Chromosom
- Denaturace nukleových kyselin, molekulární hybridizace
- Hybridizace in situ – FISH
- Komparativní genomová hybridizace – CGH

Použitá literatura

- OTOVÁ, Berta, et al. *Lékařská biologie a genetika I. díl*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2008. 123 s. s. 97–101. ISBN 978-80-246-1594-3.
- KOHOUTOVÁ, Milada, et al. *Lékařská biologie a genetika. (II. díl)*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2012. 202 s. ISBN 978-80-246-1873-9.