

# Fyzické metody genového mapování

Určuje **fyzické umístění genů** na chromosomech, přičemž vzdálenosti mezi nimi jsou vyjádřeny **počtem bazí** (na rozdíl od genetických map, kde vzdálenosti jsou relativní, v cM).

Využívá celou řadu metod včetně metod cytogenetických a molekulárně genetických technik

**Postup:** lokalizace širokého spektra **polymorfních markerů** vytvoří „záchytné body“ po celém genomu, mezi než pak lze umisťovat **různé sekvence DNA** včetně genů, všechny přístupy vedou k vytipování **kandidátních oblastí** a posléze kandidátního genu, který je dále analyzován za účelem potvrzení, že se skutečně jedná o **hledaný gen**.

- **kandidátní geny** jsou geny, jejichž charakteristiky naznačují, že mohou být zodpovědné za **genetické onemocnění**

## Metody s nízkým stupněm rozlišení (kb)

### Hybridomová technika

- základem bylo vytvoření **husté sítě marker-genů** v genomu
- **hybridomové techniky** jsou založené na hybridizaci **2 druhů buněk** (člověk – myš) v tkáňové kultuře
- za vhodných podmínek vzniká **buněčný hybrid**, který postupující řadou dělení
- postupně náhodně **ztrácí chromosomy lidského původu**
- po určitém **počtu dělení stabilizace**, kdy buňky mají karyotyp z chromosomů hlodavce a několika **chromosomů lidských**
- **klonování buněk** - panel klonovaných buněk, na kterých zjišťujeme přítomnost vhodného znaku, který je specifický pro **lidské buňky**
- při **pozitivním výskytu znaku** - cytogenetická analýza, které chromosomy člověka jsou v klonu přítomny
- gen podmiňující **danou vlastnost** je tedy lokalizován na určitý chromosom **porovnáním přítomnosti** (nepřítomnosti) **znaku** a přítomnosti (nepřítomnosti) určitého **chromosomu** na panelu buněk
- využívá se též k **lokalizaci genu** na určitém chromosomu

### FISH metoda (Fluorescence in Situ Hybridizace) Hybridizace in situ

- lokalizace genů pomocí **technik hybridizace DNA**
- vhodně označená **sonda** + preparát **chromosomů**
- **denaturace DNA** chromosomů v preparátu + „obarvení“ fluorescenčně značenou sondou, která se specificky **fixuje na denaturovanou DNA** chromosomů a místo její lokalizace prokážeme **mikroskopicky**

## Metody s vysokým stupněm rozlišení

**cíl:** získání map jednotlivých chromosomů, které jsou představovány **pořadím bazí** jednotlivých nukleotidů

- využívají často **materiál genomových** a chromosomově **specifických knihoven**
- **ORF (Opening Reading Frame)** - k vyhodnocování kódujících sekvencí = metoda otevření **čtecích rámečků**
- principem je **prohledávání databáze** sekvenčních údajů na přítomnost **stop-kodonů**, které jsou od sebe **dostatečně vzdáleny**
- **poziční klonování** - využívá informace o lokalizaci genu na určité pozici některého chromosomu
- pátrání po **funkčním genu** je pak lokalizováno na **omezenou část DNA** v okolí této pozice