

LABORATORIJ ZA CITOGENETIKU

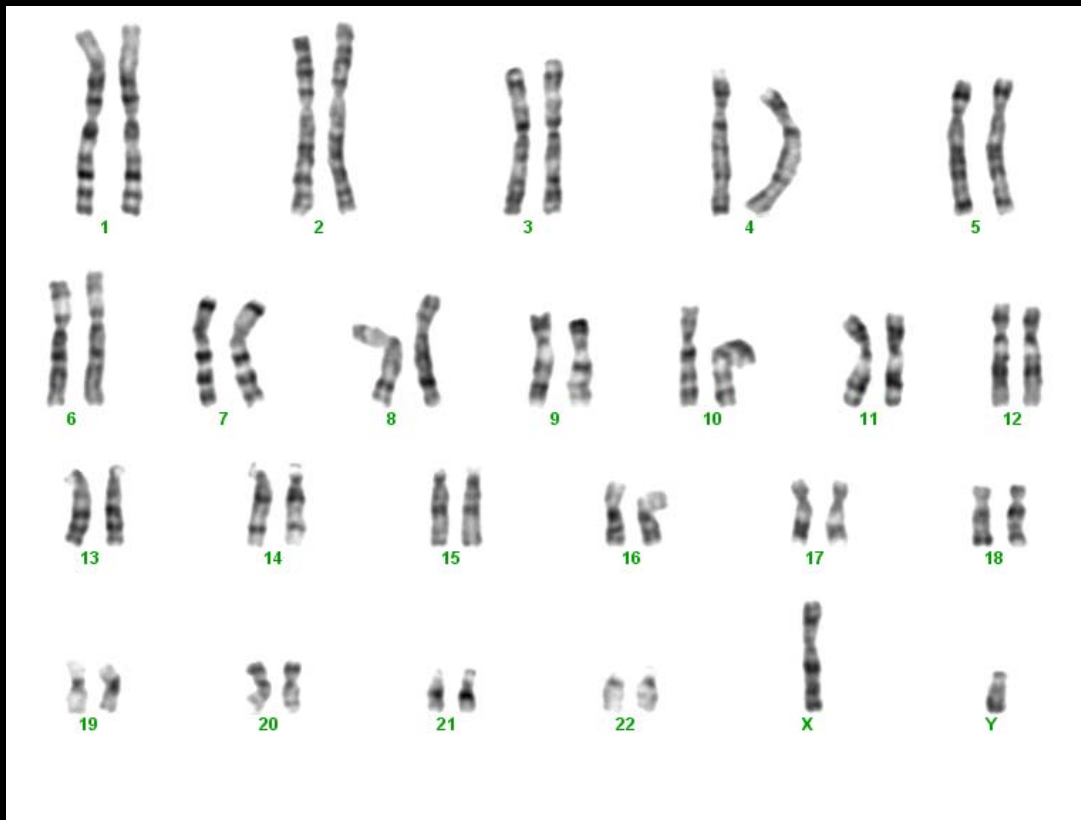
ZAVOD ZA BIOLOGIJU I MEDICINSKU GENETIKU

MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠTE U RIJECI



Prof.dr.sc.Bojana Brajenović-Milić

DIJAGNOSTIKA NASLJEDNIH BOLESTI NA RAZINI KROMOSOMA



KARIOTIP ČOVJEKA

- 46 kromosoma
- 22 para autosoma
- 1 par gonosoma

žene XX

muškarci XY

METODE IZRADE KROMOSOMSKIH PREPARATA

DIREKTNA METODA:

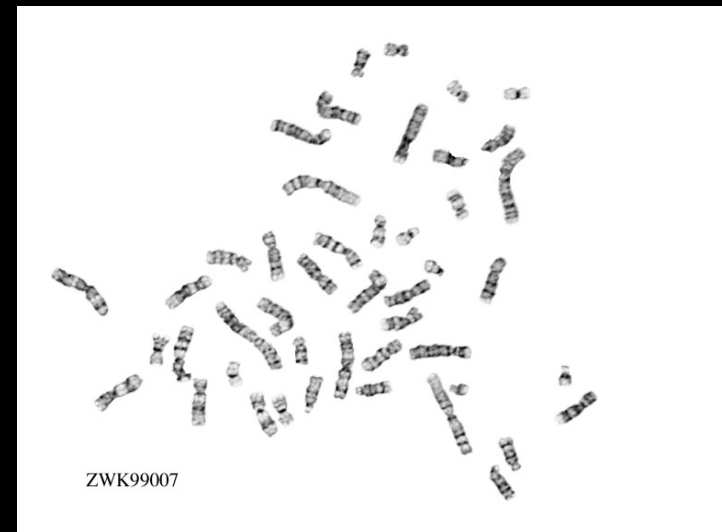
KOŠTANA SRŽ

KORION FRONDOZUM

INDIREKTNA METODA:

KRATKOTRAJNA STANIČNA KULTURA (KRV)

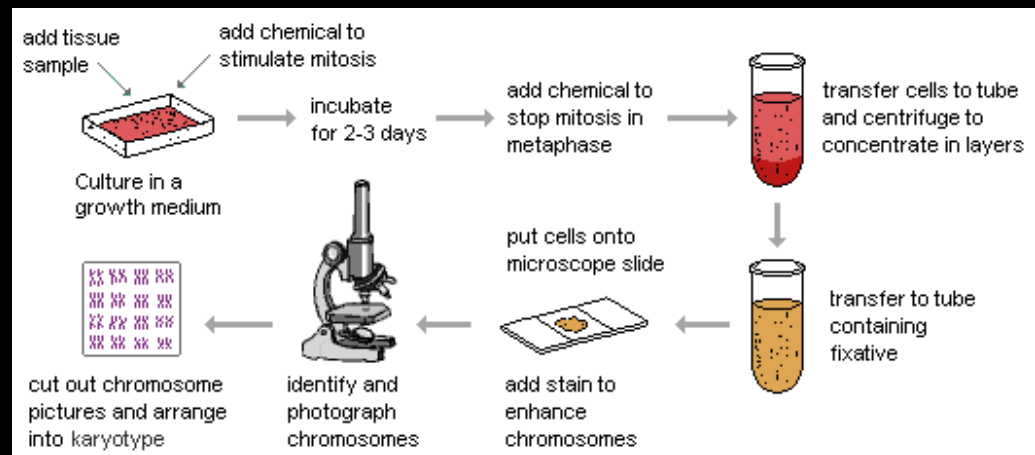
DUGOTRAJNA STANIČNA KULTURA
(STANICE PLODOVE VODE, STANICE KOŽE)



KRATKOTRAJNA STANIČNA KULTURA

1. UZIMANJE KRVI (KRV + HEPARIN)
2. DODAVANJE FITOHEMAGLUTININA I KULTIVIRANJE (72h / 37°C)
3. PREKIDANJE KULTURE CITOSTATIKOM KOLHICINOM
4. OBRADA KULTURE:

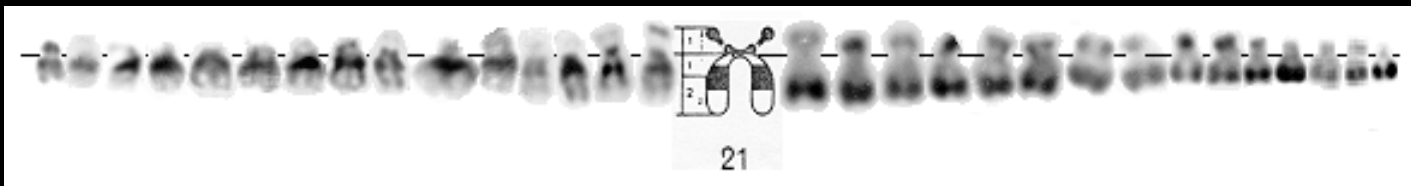
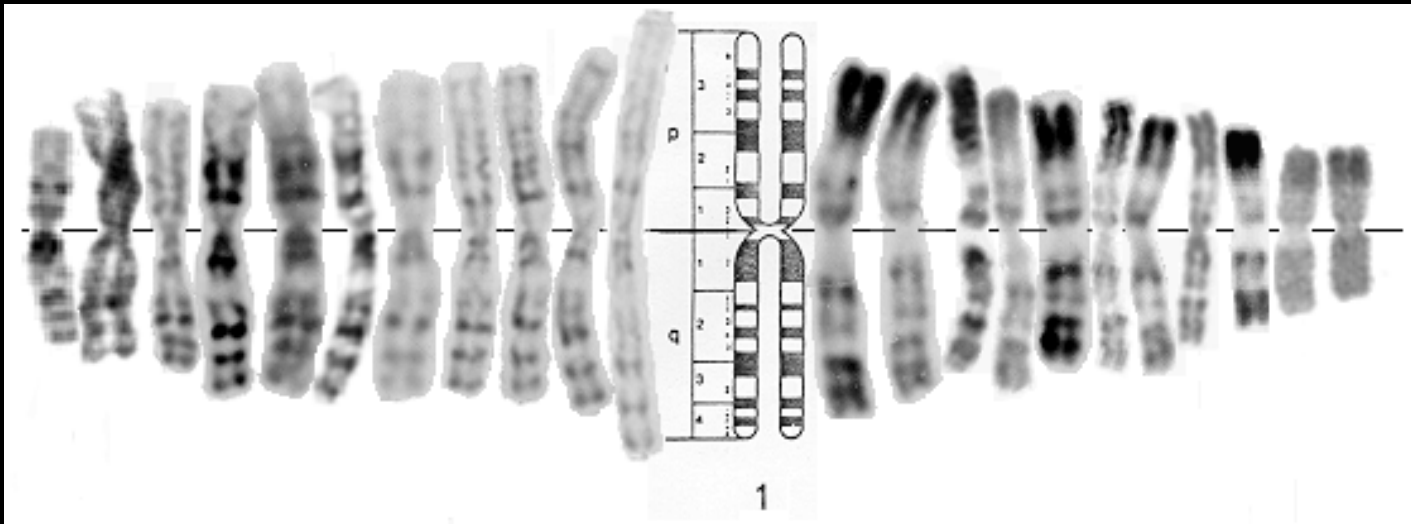
- HIPOTONIJA (KCl)
- FIKSACIJA (OCTENA KIS.+METANOL)
- ISKAPAVANJE



5. BOJANJE KROMOSOMA:

- RUTINSKO (GIMZA BOJOM)
- OPRUGAVANJE KROMOSOMA (G, R, C, Q-PRUGE)

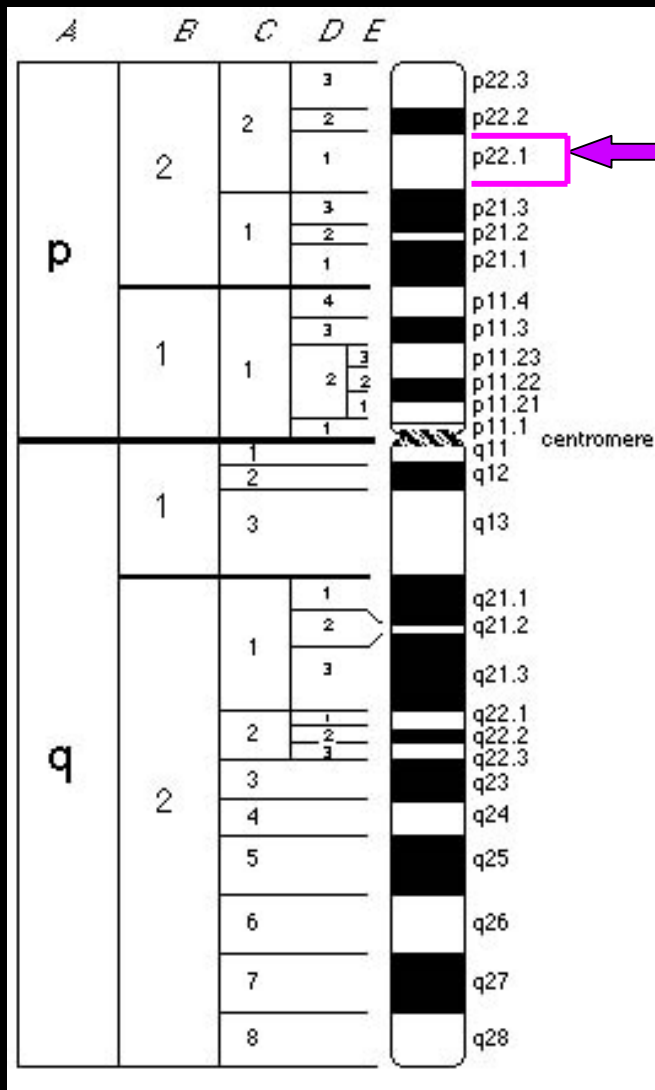
METODE KLASIČNE CITOGENETIKE



G-pruge

R-pruge

IDEOGRAM



Primjer opisa pruge: p22.1

- centromera
- p kratki krak
- q dugi krak
- pruge

METODE MOLEKULARNE CITOGENETIKE

FLUORESCENTNA *IN SITU* HIBRIDIZACIJA

(engl. Fluorescence *in situ* Hybridization)

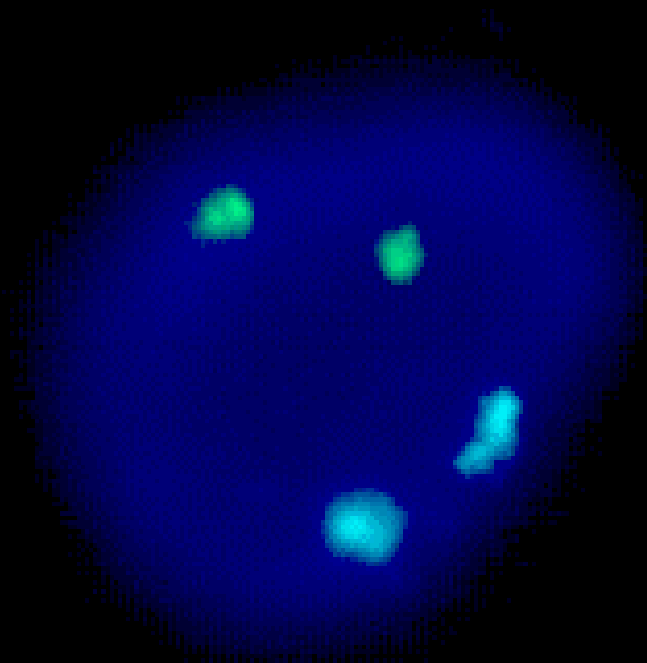
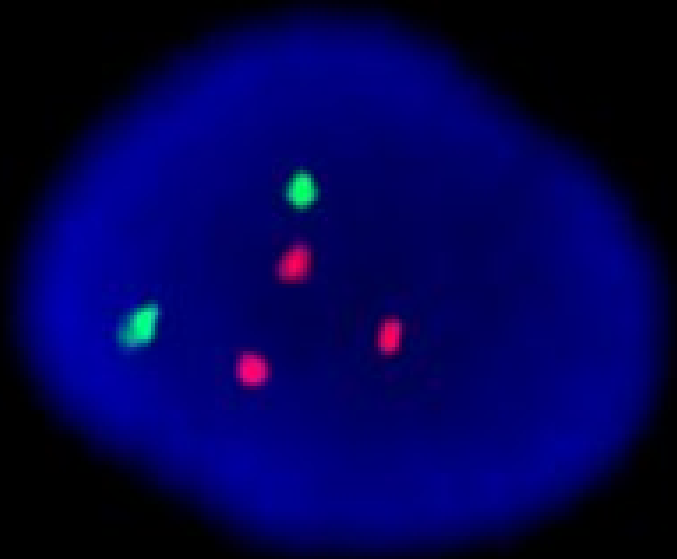
In situ hibridizacija (ISH) objedinjuje citogenetičke i molekularno genetičke tehnike

- **princip:** interakcija obilježene DNA ili RNA probe s komplementarnom jednolančanom (ciljnom) DNA sekvencom
- **ciljna DNA :** metafazni kromosomi ili interfazna jezgra
- **svrha:** identifikacija numeričkih i strukturnih aberacija kromosoma
- **područje:** klinička citogenetika, citogenetika tumora (mikrodelecije i mikroduplikacije), mapiranje gena i evolucija kariotipa

DNA probe mogu biti za:

- cijeli kromosom ili krak kromosoma (whole chromosomal paint probes -WCP)
- centromere (centromere specific probes) visoko repetitivna DNA, npr. Alfa satelitne probe
- mala područja eukromatina (single copy ili unique sequence probes) detekcija mikrodelecijskih sindroma
- telomerne (subtelomerne) probe: detekcija skriveneih delecija i translokacija telomera (subtelomerne probe)

INTERFAZNI FISH



Probe za kromosome 13, 18, 21, X i Y

13 - zeleno

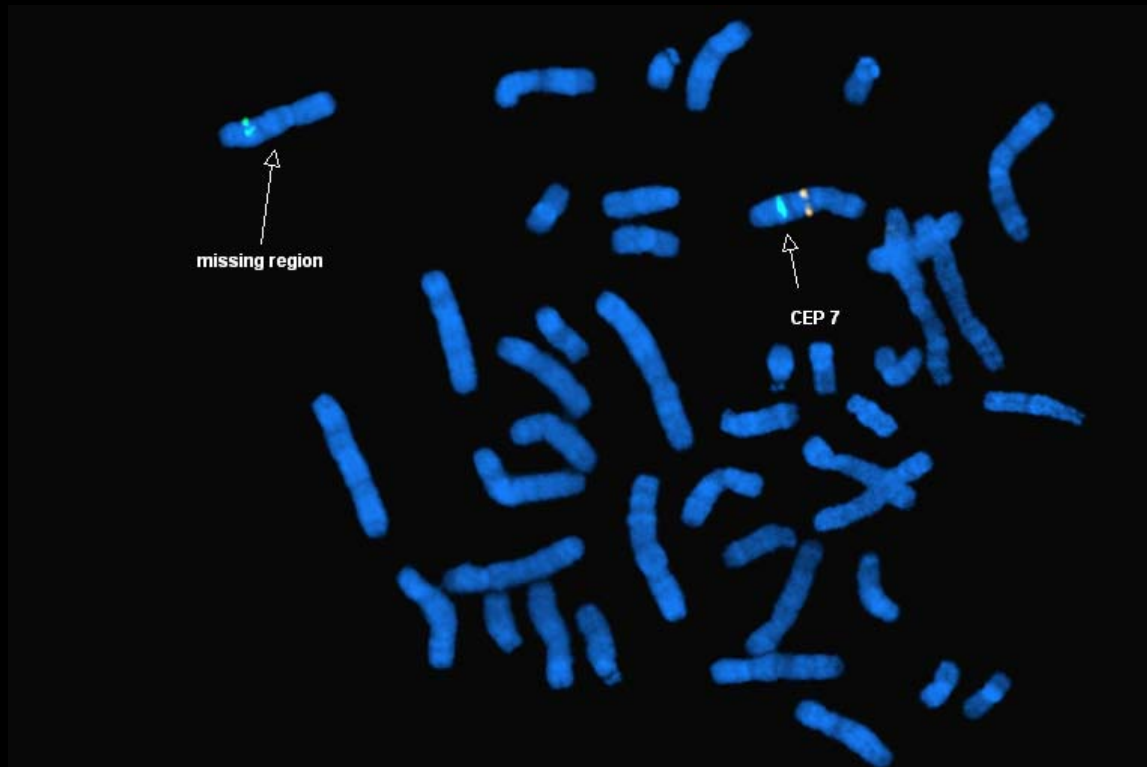
21 - crveno

18 - plavo

X - zeleno

Y - crveno

METAFAZNI FISH

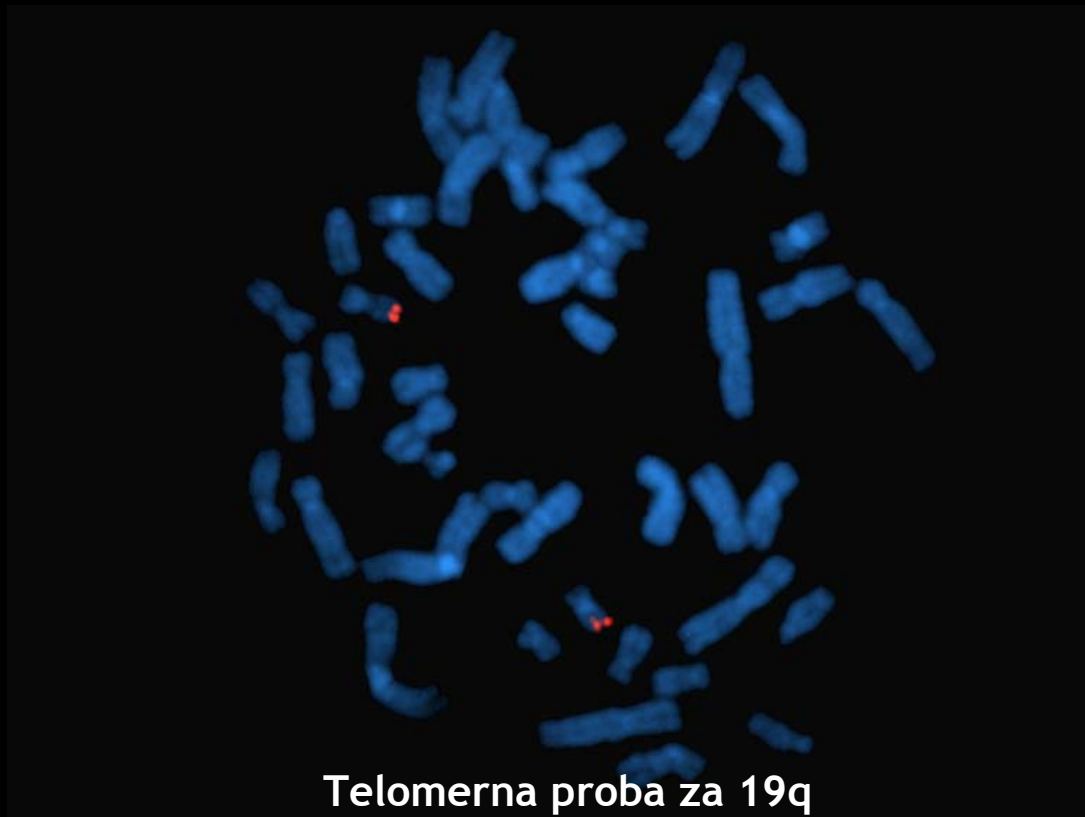


Mikrodelecija u području elastin gena na kromosomu broj 7 (sindrom Williams)

Kontrolna proba za kromosom 7 (zeleno); proba za mikrodeleciju (crveno)

Kariotip: 46,XX.ish.del(7)(q11.23q11.23)(D7S486-,D7S522+)

METAFAZNI FISH



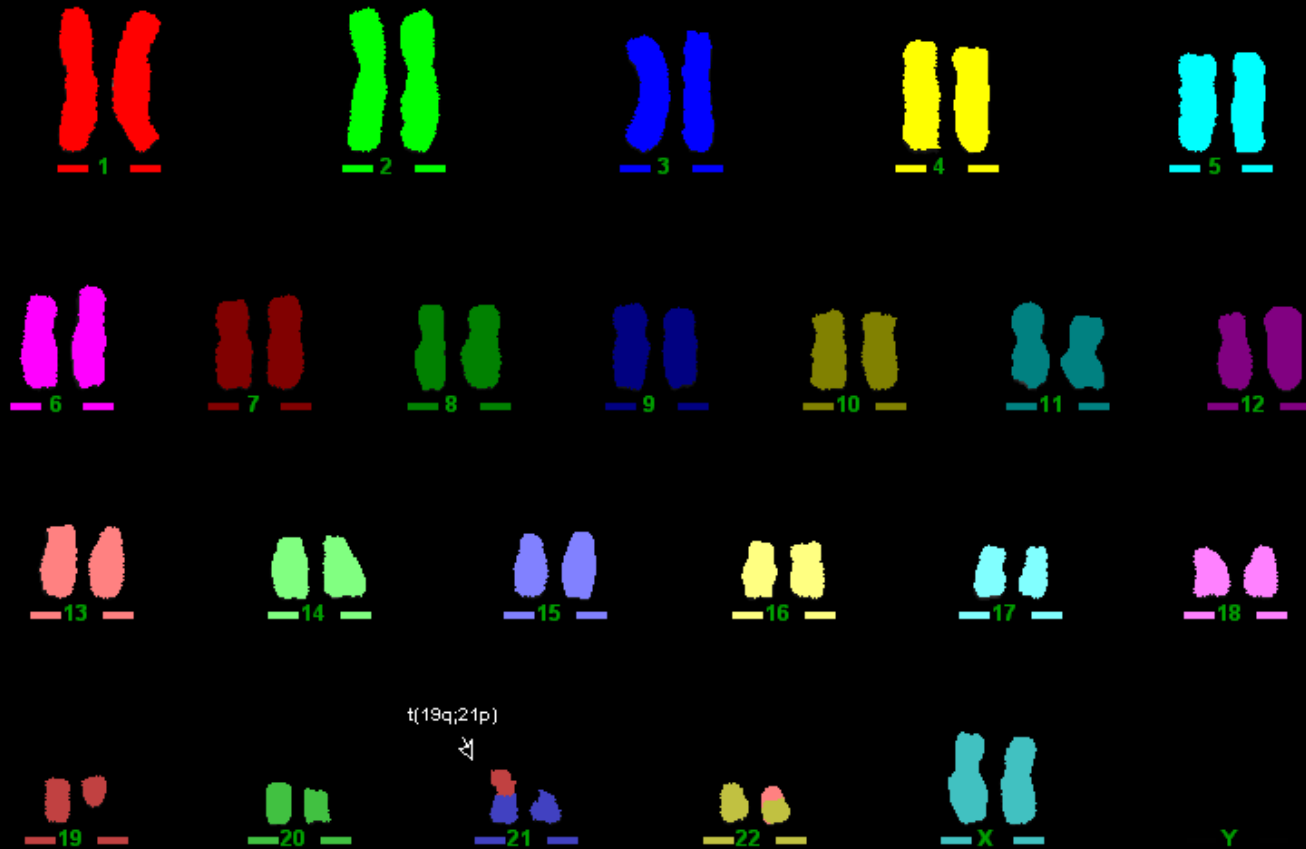
VIŠEBOJNA KARIOTIPIZACIJA

MULTIPLEX-FISH (m-FISH)

- istovremena vizualizacija svih metafaznih kromosoma u različitim bojama
- temelji se na simultanoj hibridizaciji 24 kromosom specifičnih proba obilježenim različitim fluorokromima ili kombinacijama fluorokroma
- *omogućava identifikaciju:
marker kromosoma
jednostavnih i složenih krom. Preuređenja*
- *nedostatak: mikrolelecije i duplikacije se ne detektiraju*

Primjer balansirane translokacije između 19q;21p

m-FISH



Primjer dokazivanja kromosomskog podrijetla marker kromosoma višebojnom FISH metodom

