

CYTOGENETIKA, CHROMOSOMY

vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno
s podporou projektu OPvK



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

zpracovala Mgr. Hanáková



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

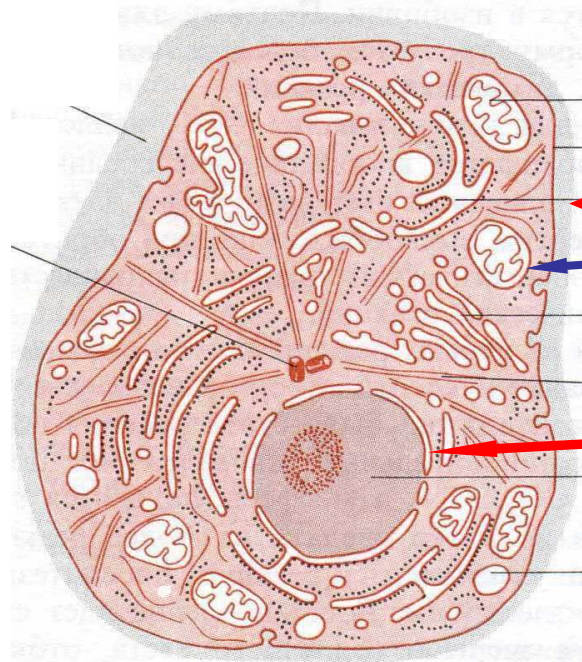


DEFINICE A HISTORIE

- **klinická cytogenetika** se zabývá analýzou **chromosomů** (jejich počtem a morfologií), jejich segregací v meióze a mitóze a vztahem mezi nálezy chromosomových aberací a fenotypovými projevy.
- **vznik moderní lidské cytogenetiky** se datuje od roku 1956, kdy Tjio a Levan vyvinuli efektivní metodiky analýzy chromosomů a stanovili, že normální počet lidských chromosomů je 46.



SCHEMA LIDSKÉ SOMATICKÉ BUŇKY



Obr. 1 (Alberts, 1986), upraveno

cytoplasma s organelami
(DNA v mitochondriích)

buněčné jádro
(DNA + proteiny + RNA)

klinická **cytogenetika** se zabývá
analýzou **chromosomů**, které
vznikají spiralizací molekul DNA
lokalizovaných **v buněčném jádře**

GENETICKÝ MATERIÁL JÁDRA BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

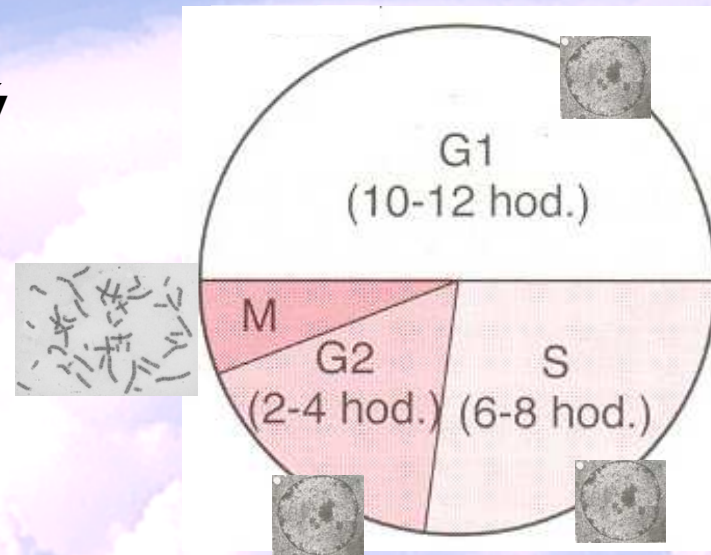
buněčný cyklus **somatických** buněk
(interfáze, mitóza, cytokineze)

- **G1, S, G2 fáze = INTERFÁZE**

nejdelší fáze buněčného cyklu,
chromatin je **málo kondenzovaný**
(různé stupně spiralizace -
pouze konstitutivní
heterochromatin zůstává trvale
kondenzován)

- **M fáze = MITÓZA + cytokineze**

dělení jádra a následně buňky -
kondenzace chromatinu,
vznik chromosomů, rozchod
chromosomů do dceřiných buněk

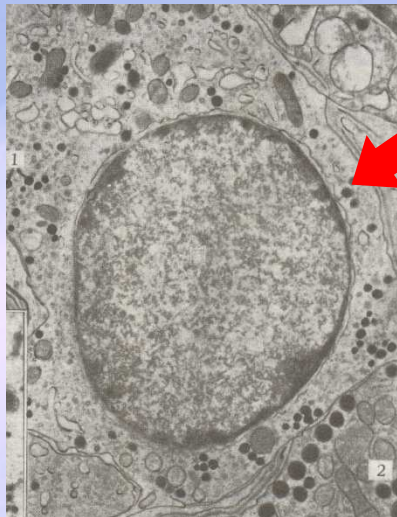


Obr. 2 (buněčný cyklus) (Nussbaum, 2004), upraveno

Interfázní jádro (Alberts, 1986)
Mitóza (Dokumentace OLG FN Brno)

ZMĚNA ORGANIZACE GENETICKÉHO MATERIÁLU BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU SOMATICKÝCH BUNĚK

chromosomy vznikají při buněčném dělení



DNA rozptýlená v buněčném jádře
(interfáze)

Obr. 3 (Ham, 1983)



chromosomy = spiralizované molekuly DNA
počet chromosomů člověka = 46
(mitóza)

Obr. 4 (Dokumentace OLG FN Brno)
Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)



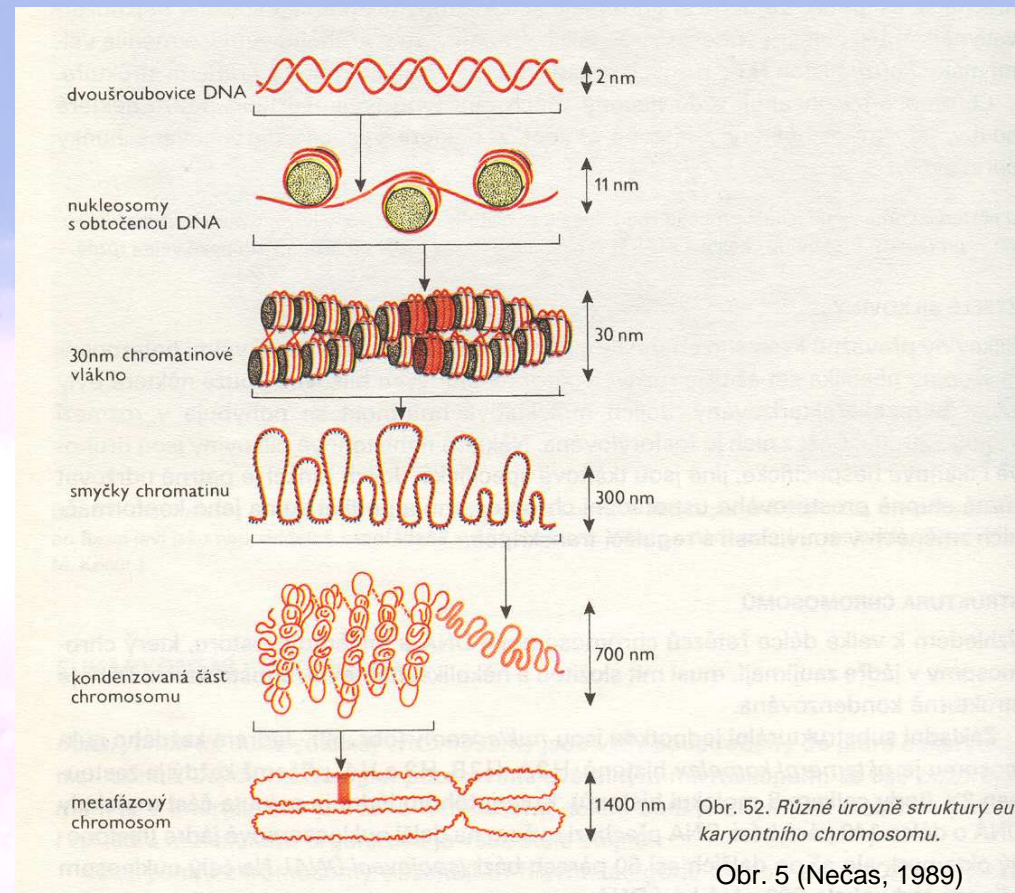
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



CHROMATIN A CHROMOSOMY BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

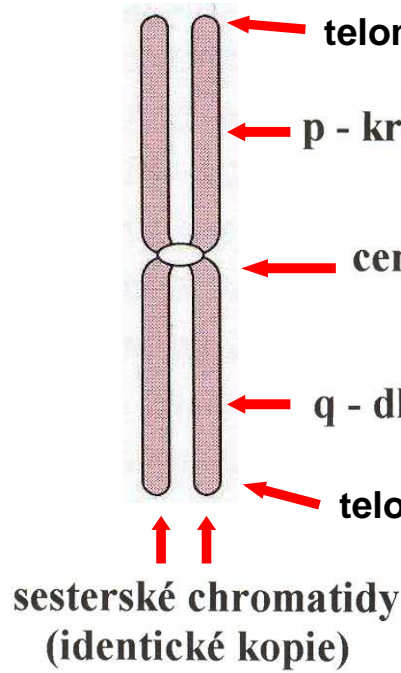
kondenzace chromatinu, vznik chromosomů

během buněčného cyklu se chromatin nachází v různých fázích spiralizace (v interfázi nízký stupeň spiralizace, během mitózy postupná kondenzace, maximální v metafázi mitózy)

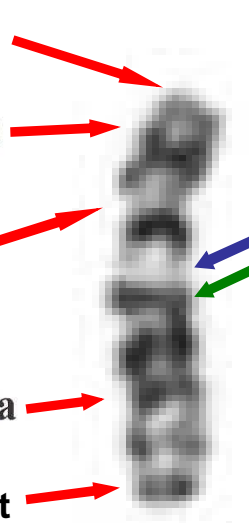


CHROMOSOMY V PRAXI

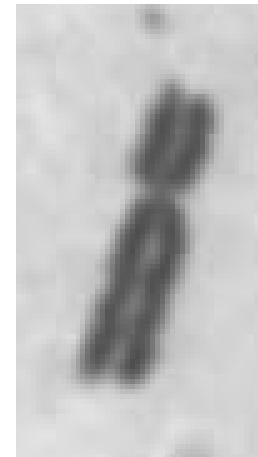
schema chromosomu



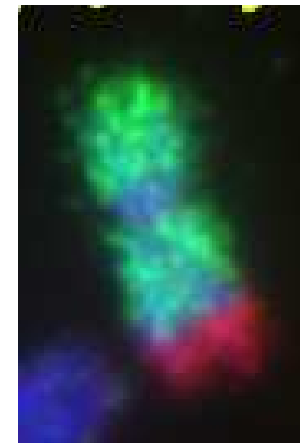
chromosom s G- pruhy



chromosom konvenčně barvený



chromosom metoda FISH



dvouchromatidový metafázní chromosom

Obr. 6

Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)

Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

CHROMOSOM

- **centromera** = heterochromatinová oblast (konstitutivní heterochromatin), místo rozdělení krátkých a dlouhých ramének, místo spojení sesterských chromatid, místo tvorby kinetochorů v meióze a mitóze, (primární konstrikce, zaškrcení)
- **telomera** = specifická DNA sekvence na koncích každého chromosomu (každé chromatidy, dvoušroubovice DNA), která zajišťuje integritu chromosomu během buněčného dělení (repetitivní hexamer (TTAGGG)_n)



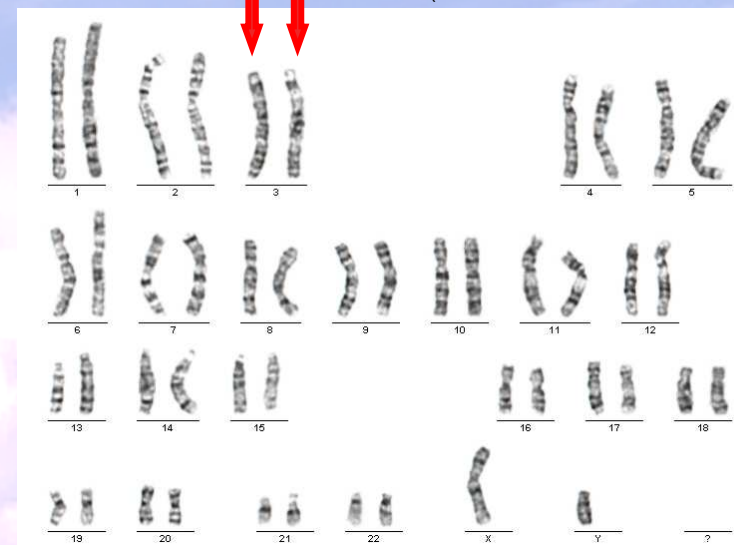
CHROMOSOMY - KARYOTYP

- **karyotyp** = utříděný a zhodnocený soubor chromosomů v somatických buňkách pacienta, v zápisu označujeme počet chromosomů, typ pohlavních chromosomů a případné aberace (zápis karyotypu např. **46,XY**)
- normální lidský karyotyp se skládá ze **46 chromosomů**, z toho **22 párů autosomů** (nepohlavních chromosomů) a **2 gonosomů** (pohlavních chromosomů)
- chromosomový pár je tvořen **homologními** chromosomy, z nichž jeden je zděněn od otce a druhý od matky, nepárové chromosomy jsou **nehomologní** (somatické diploidní buňky)

chromosomový pár
(homologní chromosomy)



Obr. 7 (Dokumentace OLG FN Brno)



obrázek karyotypu - karyogram
= utříděný a zhodnocený soubor chromosomů jedné buňky, který charakterizuje i chromosomy v ostatních buňkách pacienta ve vyšetřované tkáni



ZÁPIS KARYOTYPU

46,XX - normální ženský karyotyp

46,XY - normální mužský karyotyp

počet chromosomů v buňkách pacienta

typ pohlavních chromosomů



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



KARYOTYP

normální mužský karyotyp

46,XY

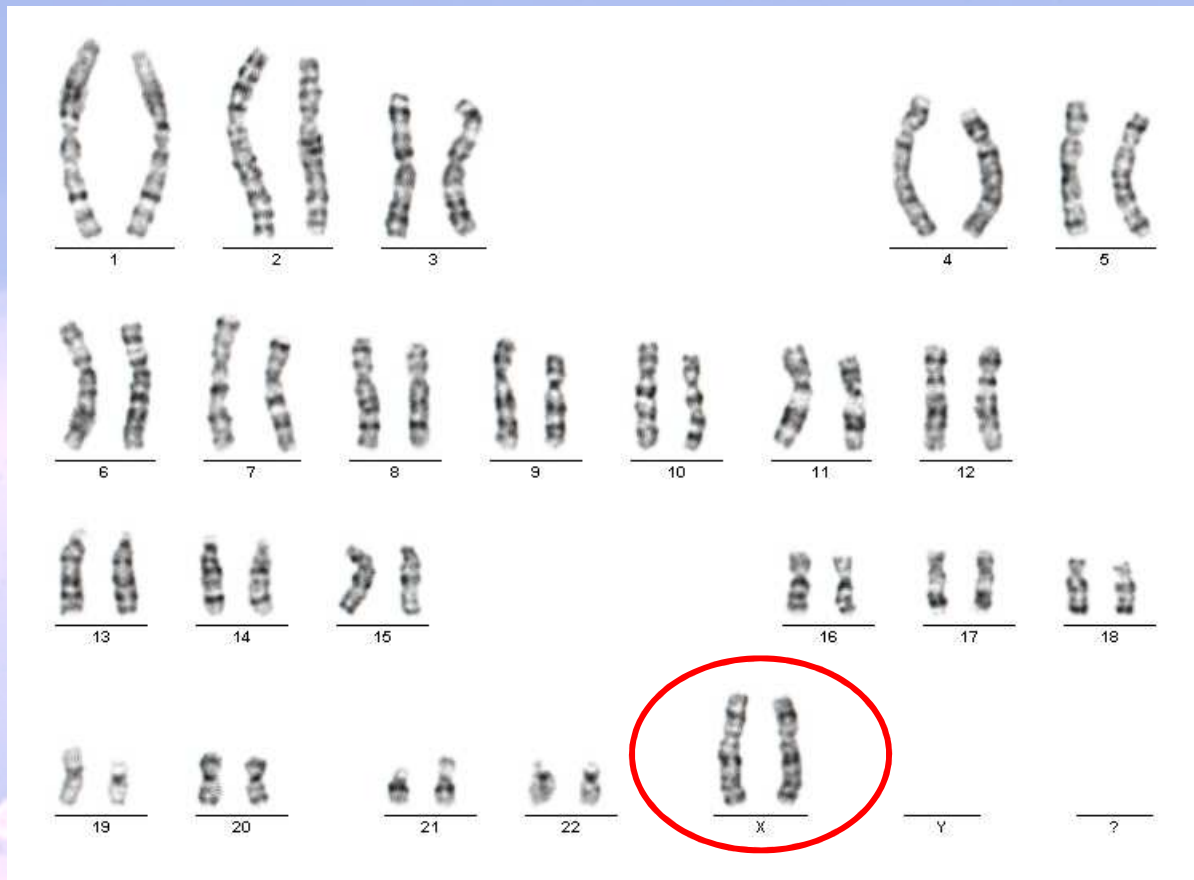


Obr. 8 (Dokumentace OLG
FN Brno)

KARYOTYP

normální ženský karyotyp

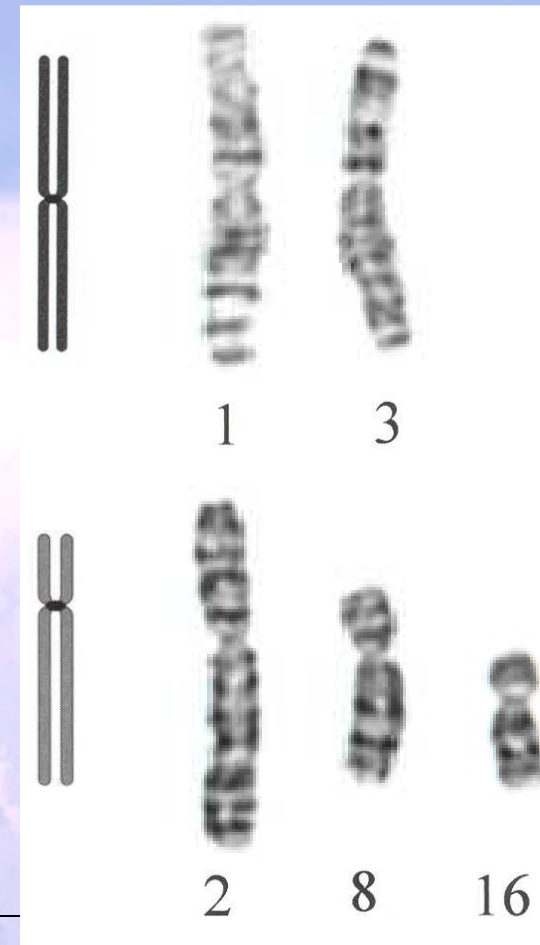
46,XX



Obr. 9 (Dokumentace OLG
FN Brno)

CHROMOSOMY - třídění chromosomů podle umístění centromery

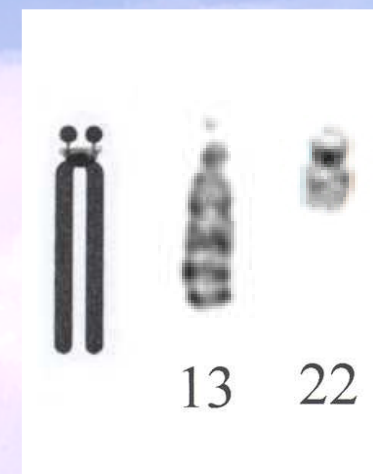
- **metacentrické chromosomy**
centromera téměř nebo úplně uprostřed,
tedy krátká a dlouhá raménka jsou
(téměř) stejně dlouhá
- **submetacentrické chromosomy**
centromera mimo střed chromosomu, p a
q raménka jsou jasně délkově odlišena



Obr. 10
Schemata chromosomů (Nussbaum, 2004)
Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)

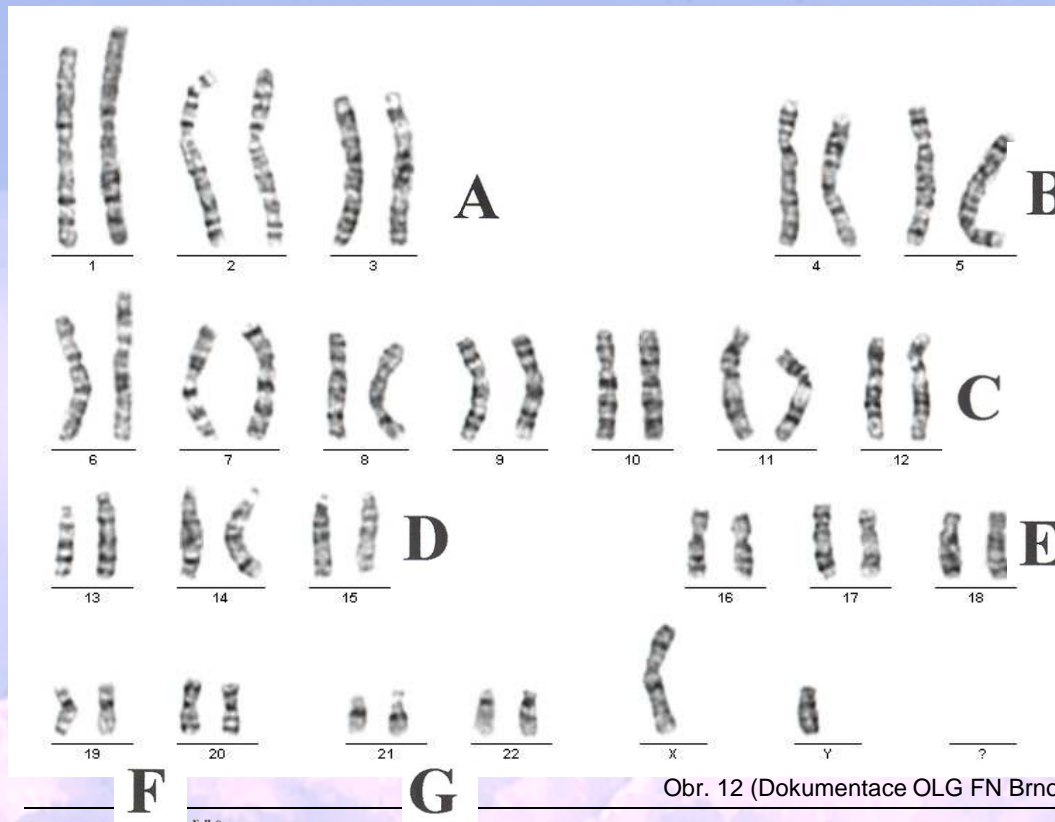
CHROMOSOMY - třídění chromosomů podle umístění centromery

- **akrocentrické chromosomy**
centromera je umístěna velmi blízko
jednomu konci;
od krátkých ramének jsou odškrnceny
satelity (malé výrazné části chromatinu);
místo odškrncení = sekundární konstriktce
(tenké stopky);
(sekundární konstriktce obsahuje kopie
genů kódujících rRNA = organizátor
jadérka)



Obr. 11
Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)
Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)

CHROMOSOMY - třídění chromosomů do skupin podle velikosti a pozice centromery normální mužský karyotyp 46, XY



Pohlavní chromosomy:

- chromosom X – podle velikosti a polohy centromery lze zařadit do **skupiny C**
- chromosom Y – velikostně se nejvíce blíží chromosomům skupiny G. Významný rozdíl mezi chromosomy 21, 22 a chromosomem Y je však ten, že chromosomy 21 a 22 mají satelity a chromosom Y na p raméncích **nenese satelity.**

Obr. 12 (Dokumentace OLG FN Brno)

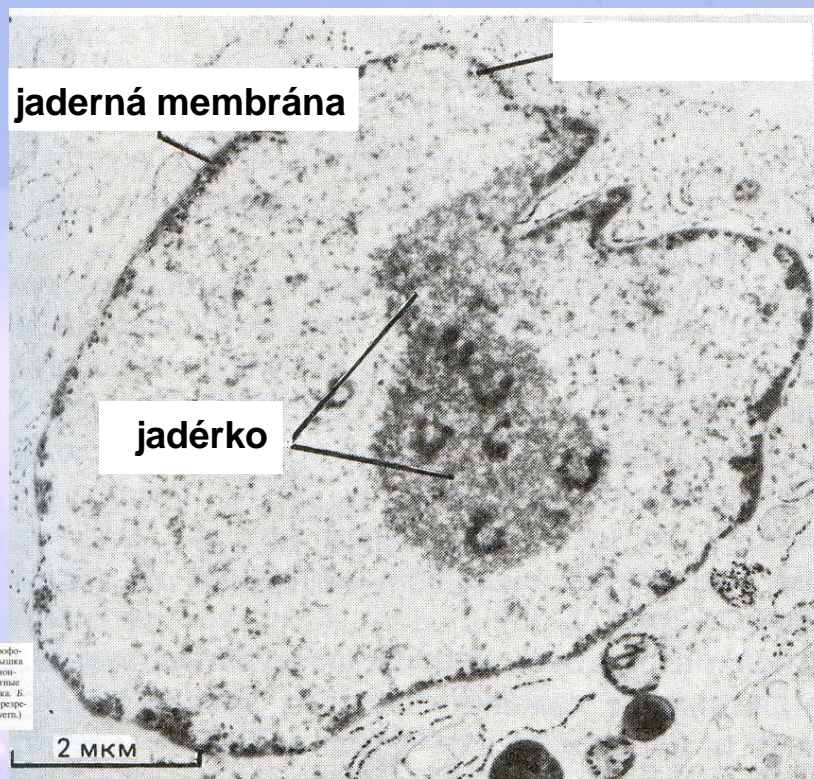


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

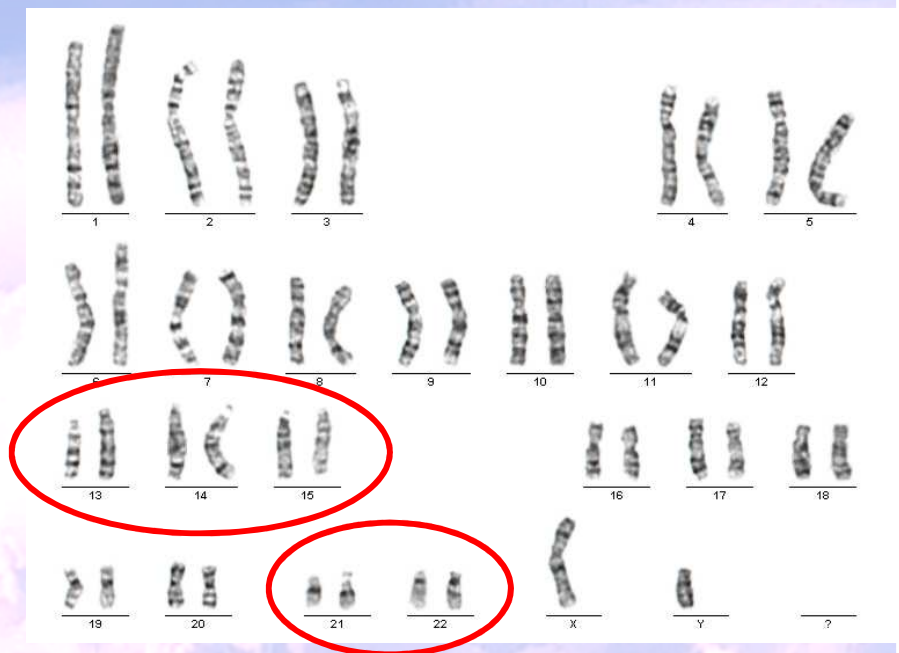


JADÉRKO

- difuzní struktura v jádře, která není ohraničena membránou
- dochází v ní k syntéze podjednotek ribosomů (ribosomy – bílkovinné struktury, které se účastní syntézy bílkovin v cytoplasmě) – geny pro syntézu lokalizovány v oblasti sekundární konstriktce akrocentrických chromosomů
- **je přítomno v interfázním jádře, mizí v mitóze**



Obr. 13 (Álberts, 1986), upraveno



Obr. 14 (Dokumentace OLG FN Brno)

STANOVENÍ POČTU PRUHŮ V HAPLOIDNÍ SADĚ CHROMOSOMŮ

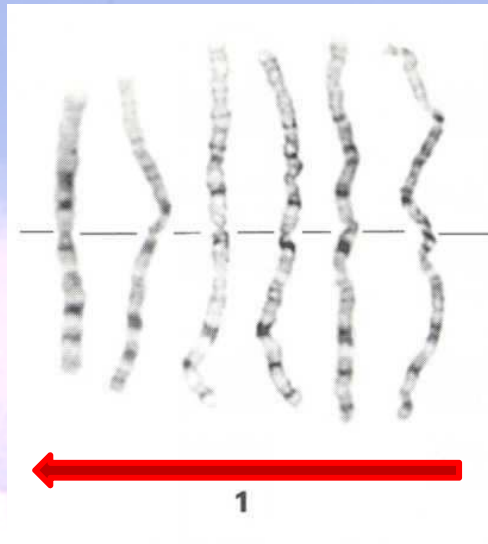
bphs –
bands per haploid set



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



Spiralizace chromosomů v mitóze



Různé délky chromosomů (chromosom č. 1) – závisí na stupni spiralizace chromosomů a zpracování suspenze buněk
- v různých mitózách se nacházejí chromosomy odlišné délky

400 pruhů 550 pruhů 850 pruhů
v haploidní sadě chromosomů (bphs)

Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů

Association for Clinical Cytogenetics
GENERAL BEST PRACTICE GUIDELINES (2007) v1.02

1.2 TABLE 1. G- BANDING EVALUATION SCORE

At least three of the criteria to be obtained to apply banding scores 3-9

0	No banding
1	Identification of some chromosomes by morphology and major landmarks
2 POOR <300 band	Unequivocal identification of chromosomes due to major landmarks
3 300 band	2 dark bands on 8p (8p12 & 8p22) 3 dark bands on 10q (10q21, 10q23, 10q25) 20p12 visible 22q12 distinct
4 MODERATE 400 band	3 dark bands on mid-4q (q22-28) 3 dark bands mid-5q (5q14, 5q21, 5q23) 2 dark bands on 9p (9p21 & 9p23) 13q33 distinct
5 500 band	7q33 & 7q35 distinct 3 dark bands on 11p (11p12, 11p14, 11p15.4) 14q32.2 distinct 4 dark bands on 18q (18q12.1, 18q12.3, 18q21.2, 18q22)
6 GOOD 550 band	5q31.2 distinct 8p21.2 visible 2 dark bands on 11pter (11p15.2 & 11p15.4) 22q13.2 distinct
7 700 band	2p25.2 distinct 2q37.2 distinct 10q21.1 and 10q21.3 resolve 17q22-q24 resolves into 3 dark bands
8 EXCELLENT 850 band	4p15.31 & 4p15.33 distinct 5p15.32 distinct 11q24.1 and 11q24.3 distinct 19p13.12 and 19p13.2 distinct
9 900 band	11p14.1 visible 20p12.1 & 20p12.3 distinct 22q11.22 distinct 22q13.32 distinct
10	Banding Resolution higher than level 9 with additional bands to those seen at the 900bphs level (ISCN 2005)[3] seen consistently on both homologues.



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů

6 GOOD 550 band	Sq31.2 distinct Bp21.2 visible 2 dark bands on 11pter (11p15.2 & 11p15.4) 22q13.2 distinct
---------------------------	---

Při analýze karyotypu u pacientů je třeba pracovat s dostatečně dlouhými chromosomy aby mohly být odhaleny menší strukturní aberace, jejichž velikost je na hranici rozlišovací schopnosti metody G-pruhování chromosomů (5-10Mb). Chromosomy v mitóze by měly být tak dlouhé aby počet proužků v haploidní sadě chromosomů byl alespoň 550.

V praxi není možné počítat v každé mitóze všechny proužky na každém chromosomu, proto byl vypracován jiný systém pro posouzení délky chromosomů. Jestli naše mitóza, se kterou pracujeme, má alespoň 550 pruhů, zjistíme následujícím způsobem. Tabulka 1.2 na předchozí stránce zahrnuje výčet proužků na konkrétních chromosomech, které je třeba v preparátu vidět, aby bylo možné usuzovat na konkrétní délku chromosomů. Na následujících stránkách je patrné, že proužky, které jsou v tabulce uvedené jako rozlišovací pro délku 550 pruhů, nejsou patrné na kratších chromosomech.

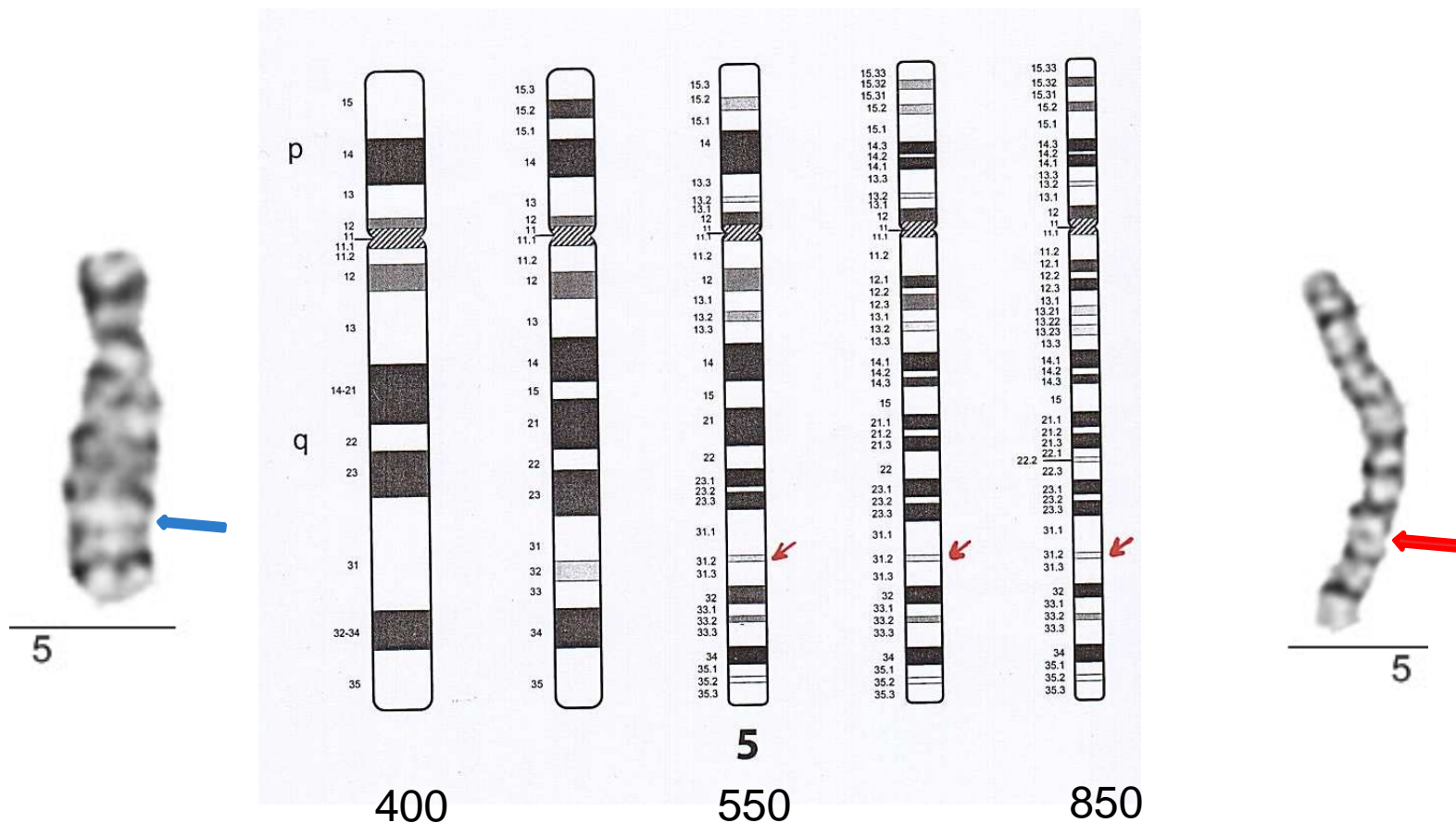
Systém analýzy obrazu, program Lucia, počítá počet pruhů na chromosomech automaticky, ale tento počet je pouze orientační.



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

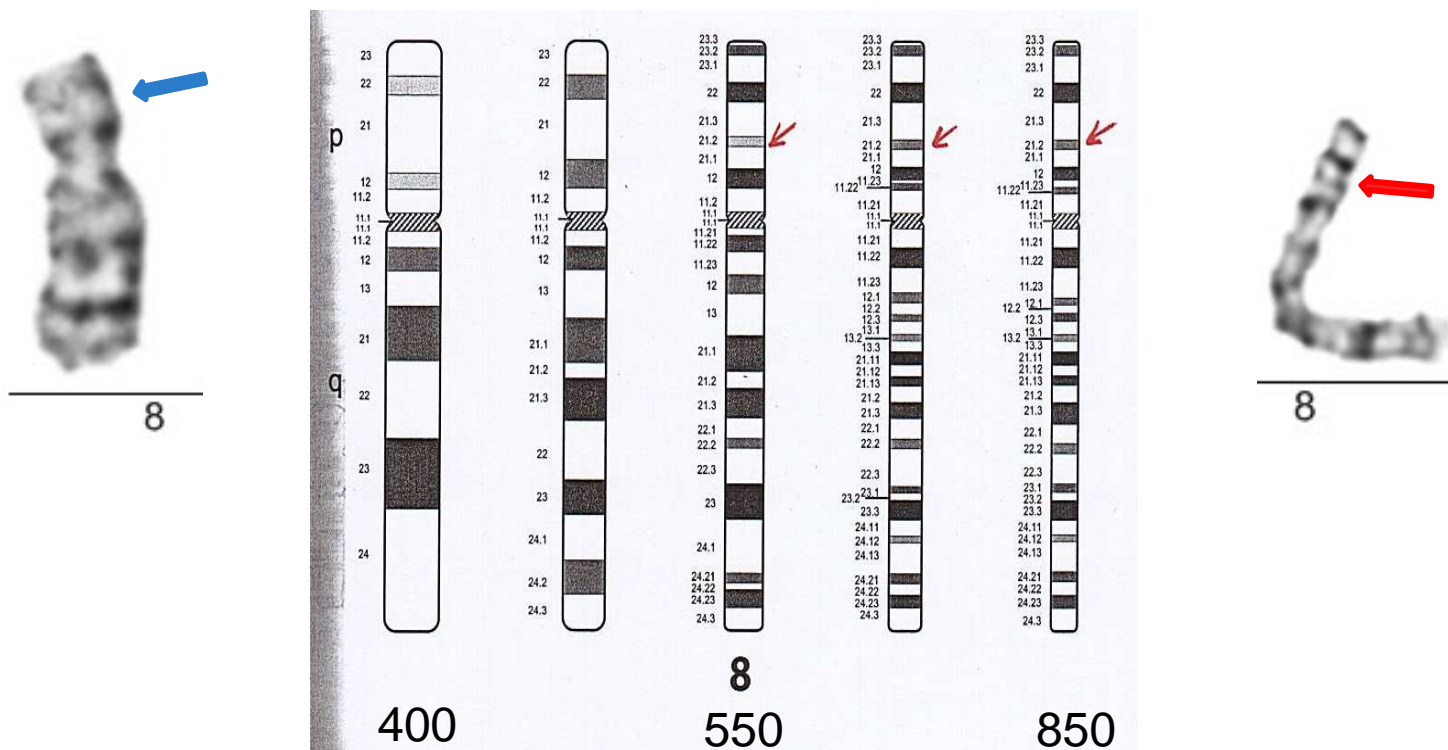


Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů

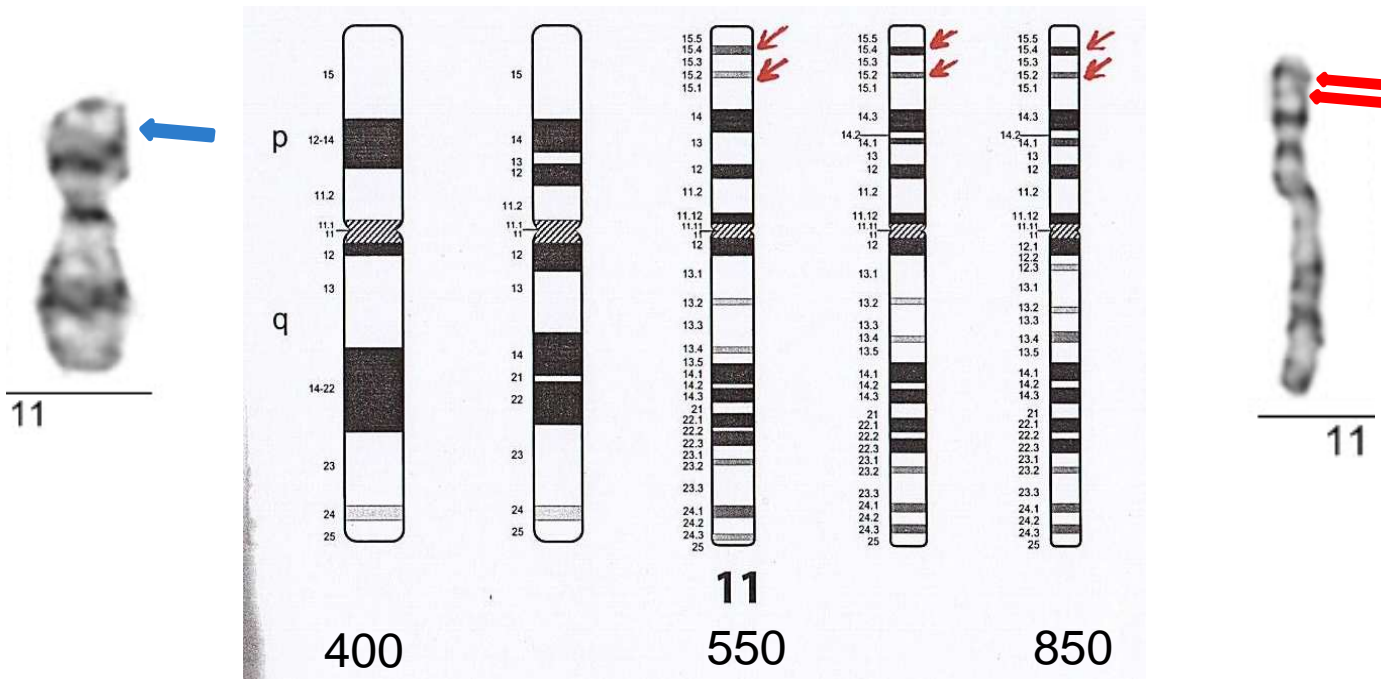


Idiogramy - pruhovací vzory chromosomů s G-pruhy

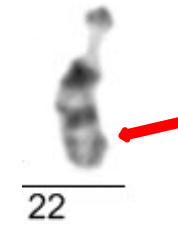
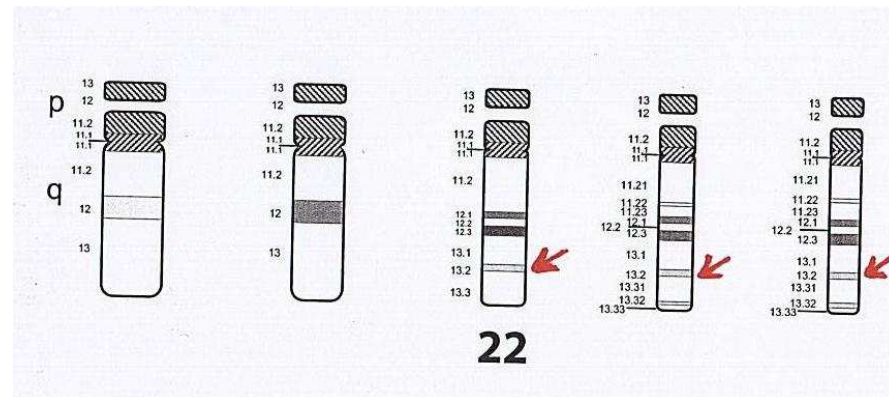
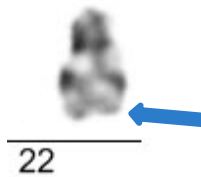
Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů



Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů

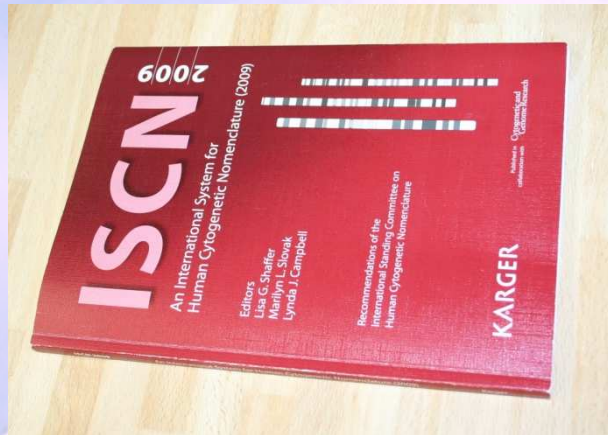


Kritéria pro posouzení počtu pruhů v haploidní sadě chromosomů



MEZINÁRODNÍ CYTOGENETICKÁ NOMENKLATURA - ISCN

ISCN – An International System for Human Cytogenetic Nomenclature – mezinárodní cytogenetická nomenklatura



- charakteristika normálního a patologického karyotypu
- techniky pruhování a barvení chromosomů
- pruhovací vzory chromosomů s G – pruhy (idiogramy)
- vzory zápisů chromosomových aberací
- další průběžně aktualizované cytogenetické informace

GENETICKÝ MATERIÁL JÁDRA BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU



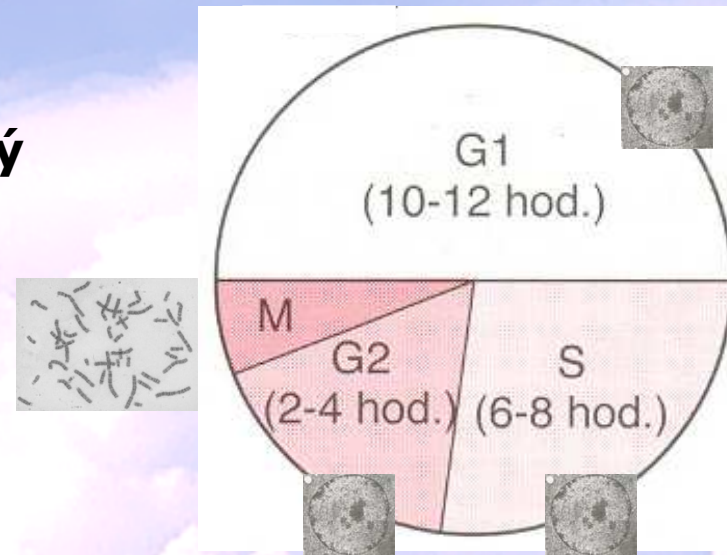
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



GENETICKÝ MATERIÁL JÁDRA BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

buněčný cyklus **somatických** buněk
(interfáze, mitóza, cytokineze)

- **G1, S, G2 fáze = INTERFÁZE**
nejdelší fáze buněčného cyklu,
chromatin je **málo kondenzovaný**
(různé stupně spiralizace -
pouze konstitutivní
heterochromatin zůstává trvale
kondenzován)
- **M fáze = MITÓZA + cytokineze**
dělení jádra a následně buňky -
kondenzace chromatinu,
vznik chromosomů, rozchod
chromosomů do dceřiných buněk



Obr. 17

Buněčný cyklus (Nussbaum, 2004), upraveno
Interfázni jádro (Alberts, 1986)
Mitóza (Dokumentace OLG FN Brno)

JADERNÝ MATERIÁL

pojmy **chromatin** a **chromosomy** - týkají se téhož jaderného materiálu, chromosomy jsou tvořeny chromatinem

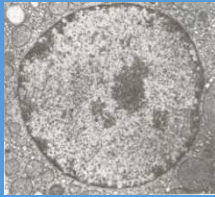
- **chromatin** – komplex molekul DNA a proteinů - různé stupně spiralizace
- **chromosom** – jednotlivé molekuly DNA + proteiny - spiralizované **v mitóze**, despiralizované v interfázi
 - tvořen 1 nebo 2 chromatidami v závislosti na fázi buněčného cyklu
- **chromatida** = 1 kontinuální molekula dvouvláknové DNA ve vazbě s chromosomovými proteiny spiralizované **v mitóze**, despiralizované v interfázi



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

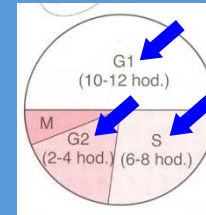


jádro v interfázi



Obr. 18 (Alberts, 1986)

CHROMATIN v interfázi



schema buněčného cyklu
- interfáze, upraveno

Obr. 19 (Nussbaum, 2004)

- **euchromatin** - dekondenzovaná forma chromatinu
 - **transkripčně aktivní chromatin** (přepis genů do RNA)
- **heterochromatin** - kondenzovaná forma chromatinu
 - **transkripčně inaktivní chromatin** (ale replikace probíhá)

konstitutivní heterochromatin

- zůstává v kondenzovaném stavu a nepřepisuje se do RNA v průběhu celého buněčného cyklu (i v interfázi) ve všech buňkách a ve všech vývojových stádiích organismu
- **transkripčně trvale inaktivní**
- **centromery**, - **chromocentra** = oblasti konstitutivního heterochromatinu v interfázi

fakultativní heterochromatin

- **může přecházet ze stavu heterochromatinu do stavu euchromatinu**
- 1 z chromosomů **X** v buňkách **samic savců** je tvořen euchromatinem, 2. heterochromatinem. Na počátku vývoje jedince jsou oba euchromatinové, v rané fázi embryogeneze dochází k inaktivaci jednoho chromosomu.



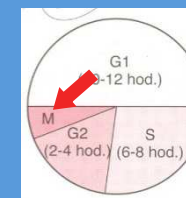
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno





Obr. 20 (Dokumentace OLG FN Brno)

CHROMOSOMY v mitóze

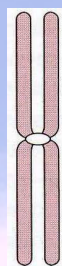


schema buněčného cyklu – mitóza, upraveno
Obr. 21 (Nussbaum, 2004)

- **vyšetřujeme** chromosomy, které jsou tvořeny dvěma chromatidami (v metafázi nebo prometáfazi mitózy)



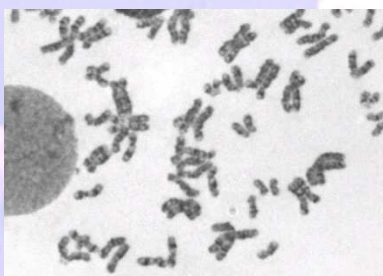
Obr. 22 (Dokumentace OLG FN Brno)



Obr. 23 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

mitóza - metafázní chromosomy, tvořené dvěma chromatidami

- v anafázi mitózy se chromatidy každého chromosomu rozcházejí k opačným pólům dělicího vřeténka - každý chromosom je tvořen jednou chromatidou (chromosomy v této podobě **nevyšetřujeme**)



Obr. 24
(Dokumentace
OLG FN Brno)



Obr. 25 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

mitóza - anafázní chromosomy, po rozchodu chromatid k pólům dělicího vřeténka jsou tvořeny jednou chromatidou

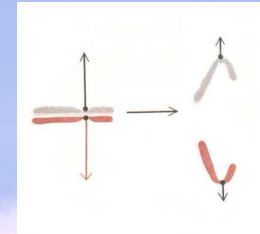


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

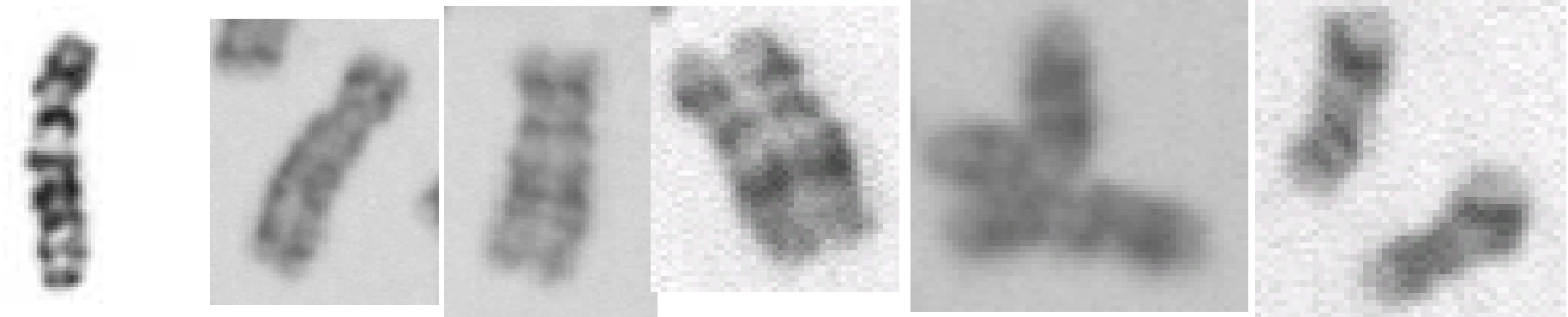


CHROMOSOMY - metafáze a anafáze mitózy

chromosomy - rozchod sesterských chromatid
v anafázi mitózy



Obr.26 (Alberts, 1986)



metafázní
dvouchromatidový
chromosom

průběh rozchodu chromatid

dva
jednochromatidové
chromosomy

Obr. 27 Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



CHROMOSOMY / CHROMATIDY

Chromosom tvořen 1 chromatidou

NEBO

Chromosom tvořen 2 chromatidami

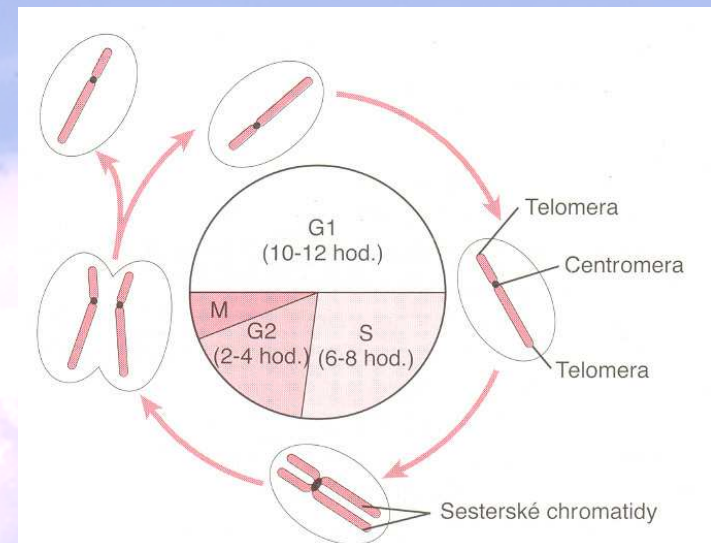
Chromosom je tvořen 1 chromatidou (1 molekulou DNA):

- konec anafáze mitózy (chromosom spiralizován)
- telofáze mitózy, cytokineze
- G1 fáze interfáze (chromosom despiralizován)
- do počátku S fáze interfáze (chromosom despiralizován)

S fáze interfáze - replikace (zdvojení) molekul DNA - chromatidy, které se nacházejí v despiralizovaném stavu, jsou zdvojeny, vznik sesterských chromatid, vzájemně identických kopií v rámci každého chromosomu; každý chromosom je tvořen dvěma chromatidami

Chromosom je tvořen 2 chromatidami (2 identickými molekulami DNA):

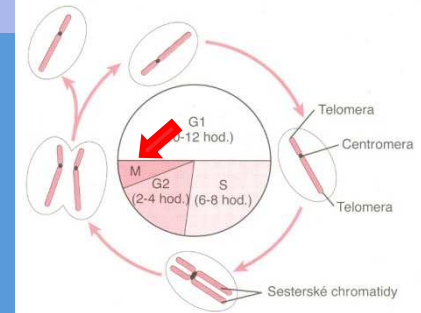
- konec S fáze interfáze (despiralizované)
- G2 fázi interfáze (despiralizované)
- profáze, prometafáze a metafáze mitózy - postupná spiralice chromosomů
- počátek anafáze mitózy - chromosomy jsou tvořeny 2 chromatidami, během této fáze mitózy dochází k podélnému dělení centromery a rozchodu sesterských chromatid každého chromosomu k protilehlým pólům jádra, na konci anafáze jsou chromosomy tvořeny 1 chromatidou



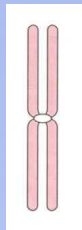
Obrázek 2.1 Typický mitotický cyklus, popsáný v textu. Vyznačeny jsou telomery, centromery a sesterské chromatidy.

Obr. 28 (Nussbaum, 2004)

MITÓZA

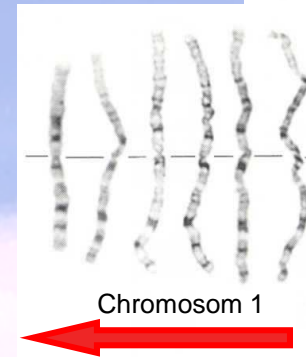


Obrázek 2.1 Typický mitotický cyklus, popsáný v textu. Vyznačeny jsou telomery, centromery a sesterské chromatidy.



profáze → prometafáze → **metafáze**
 – postupné zkracování molekul DNA (chromosomů)
 v důsledku **spiralizace**

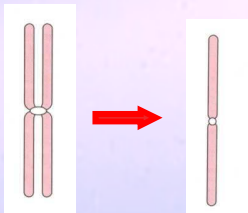
Obr. 30 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)



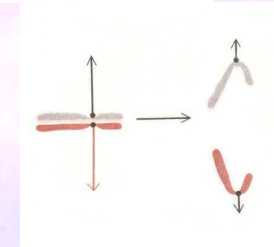
Obr. 29 (Nussbaum, 2004)

Obr. 31 (ISCN 1995)

- **anafáze** – oddělení sesterských chromatid chromosomů v centromeře, segregace k protilehlým pólům jádra (46 chromosomů → 92 chromosomů)

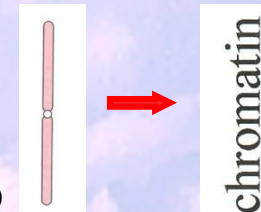


Obr. 32 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)



Obr. 33 (Alberts, 1986)

- **telofáze** – počátek dekondenzace chromosomů, tvorba jaderného obalu kolem dceřinných jader
- **cytokineze** – rozdělení cytoplazmy původně mateřské buňky



Obr. 34 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

Doporučená literatura

- 1) Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F.: Klinická genetika, Triton, 6. vydání, 2004, ISBN 80-7254-475-6



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



Použitá literatura

Text:

- 1) Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F.: Klinická genetika, Triton, 6. vydání, 2004, ISBN 80-7254-475-6
- 2) Kuglík P.: Vybrané kapitoly z cytogenetiky, Masarykova univerzita v Brně, 1. vydání, 2000, ISBN 80-210-2334-1
- 3) Rosypal S., Rosypalová A., Vondrejs V.: Molekulární genetika. SPN Praha, 2. přepracované a doplněné vydání, 1989, ISBN 80-04-23117-9
- 4) Therman E., Susman M.: Human Chromosomes, Structure, Behavior, and Effects, Springer – Verlag, Third edition, 1993, ISBN 0-387-97871-2

Obrázky:

- 1) Nussbaum R.L., McInnes R.R., Willard H.F.: Klinická genetika, Triton, 6. vydání, 2004, ISBN 80-7254-475-6
- 2) ISCN 2013, Shaffer L.G., McGowan-Jordan J., Schmid M. (ed), S. Karger, Basel 2013, ISBN 978-3-318-02253-7
- 3) Alberts a kol.: Molekulární biologie buňky, překlad do ruského jazyka, „Mir“ 1986
- 4) Nečas a kol.: Biologie – učebnice pro lékařské fakulty, 2. přepracované a rozšířené vydání, Avicenum, Zdravotnické nakladatelství, 1989
- 5) Ham: Histologie, překlad do ruského jazyka, „Mir“ 1983



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

