

Co se děje v genetické laboratoři?

Tento letáček byl vytvořen s pomocí Dr Iana M Fraylinga, Institute of Medical Genetics, University Hospital of Wales, Cardiff, UK; Dr Domenica Coviella, Laboratory of Medical Genetics, Fondazione IRCCS, Milan, Italy a The Genetic Interest Group.

Překlad: Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN v Motole
Únor 2009

Tato práce byla podpořena projektem Eurogentest v rámci Evropského 6. RP; číslo kontraktu -NoE 512148

Ilustrace: Rebecca J Kent
www.rebeccajkent.com
rebecca@rebeccajkent.com



Informace pro pacienty a rodiny

Co se děje v genetické laboratoři?

Následující řádky popisují, co se děje se vzorkem, který byl odeslán do genetické laboratoře. Probereme zejména:

- různé metody používané v laboratoři,
- proč některé genetické testy trvají tak dlouho, zatímco jiné mohou být provedeny rychle,
- proč v některých případech laboratoř nemůže získat výsledek.

Další informace o tom, proč byste mohli podstoupit genetický test, najdete v letáčku “**Co to je genetický test?**”.

Co to je genetický test?

Většina genetických testů vyšetřuje **DNA**, chemickou sloučeninu v našich buňkách, která dává našemu tělu instrukce, jak má růst, vyvíjet se a fungovat. DNA je řetězec kódovaných zpráv, seskupených do přesných návodů, které nazýváme **geny**. Lidé mají 30 000 různých genů, seskupených do řady vláknitých struktur, kterým říkáme **chromosomy**. Chromosomy dědíme od svých rodičů, 23 od matky a 23 od otce, takže máme dvě sady po 23 chromosomech, neboli 23 párů chromosomů. Když si představíte genetiku jako knihu života, DNA jsou v ní písmena, geny slova a chromosomy kapitoly.

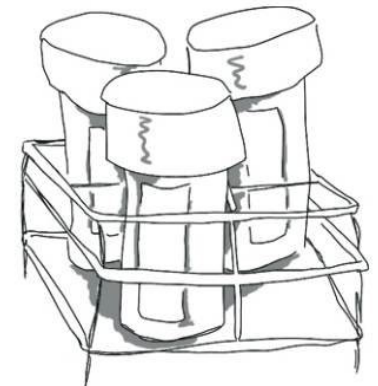


Co se stane s mým vzorkem po dokončení testu?

Pokud pacient nepožaduje likvidaci vzorku po testování, laboratoř obvykle DNA uchová a může uchovat i vzorky chromosomů. Laboratoř vám ráda poskytne informace o vašem vzorku a kdykoli můžete požádat o jeho zničení. Testování jiných chorob se neprovádí bez souhlasu pacienta.

Pokud byl poskytnut souhlas, laboratoře mohou s vývojem nových, lepších testů znovu otestovat uložené vzorky (např. v případě, že původní testování nepřineslo výsledky). Tak mají pacienti i klinici jistotu, že se jim dostalo nejmodernějšího testování. Laboratoře mohou použít anonymizované vzorky DNA pro vývoj nových testů nebo je poskytnout jako vzorky pro kontroly kvality (QA), pokud pacienti neuvědomí, že si takové použití svého vzorku nepřejí. Stejně jako všechny uložené klinické vzorky je DNA považována za součást pacientových lékařských záznamů, a je proto předmětem lékařského tajemství. To znamená, že přístup k ní může umožnit pouze příslušný zdravotnický odborník.

Někteří lidé se obávají, že by k jejich DNA mohla získat přístup policie. Takový požadavek je velmi vzácný. Pokud by policie chtěla získat přístup ke vzorku DNA z genetické laboratoře, stejně jako v případě jakékoli jiné součásti lékařských záznamů by k tomu musela mít soudní příkaz.



dokonce více genů. To může trvat velmi dlouho, mnoho měsíců. Bude to záviset na mnoha faktorech, například na tom, jak velký je příslušný gen a jaké vybavení má laboratoř k dispozici.

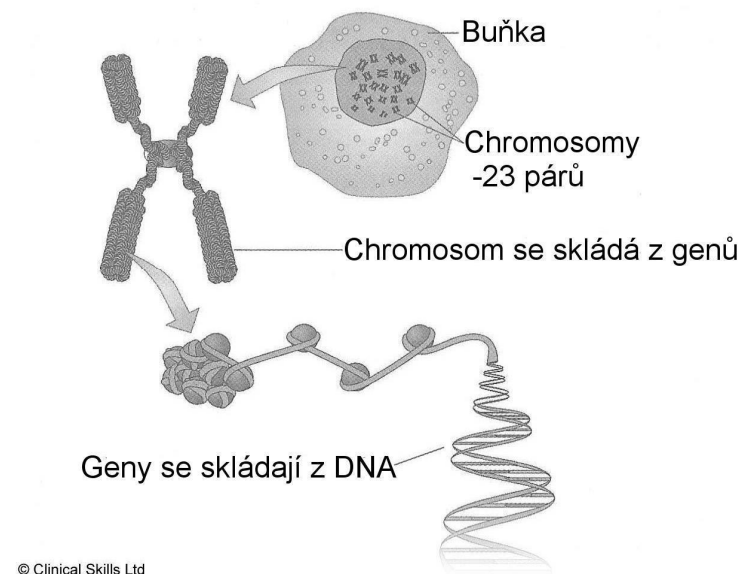
Například v případě Duchenneovy muskulární dystrofie je onemocnění způsobeno mutacemi v genu pro *dystrofin*. To je jeden z nejdelších známých genů. Může dojít k velkému množství různých mutací, a proto nalezení konkrétní mutace v rodině může být velmi zdlouhavý a pracný proces. Naopak v případě Huntingtonovy nemoci k mutacím v genu pro *huntingtin* dochází vždy ve stejné malé oblasti. Vědci tak přesně vědí, kde mají v genu hledat, a test je proto docela jednoduchý a mnohem rychlejší.

Důležitým faktorem je také kvalita DNA. Někdy musí laboratoř nejprve vyšetřit DNA někoho, kdo již zemřel, aby zjistila konkrétní mutaci. Pokud je DNA zemřelého člověka špatné kvality, může to zdvojnásobit nebo ztrojnásobit dobu, po kterou se hledá mutace. Někdy se vyšetření nepodaří dokončit, protože DNA není dostatečné množství.

Mohou se výsledky mýlit?

Vzhledem k tomu, že genetické testy mají velmi závažné důsledky pro jedince a jeho rodinu, jsou prováděny velmi pečlivě. Podniká se celá řada opatření, aby byly vydány správné výsledky. Pokud je nalezena mutace, pokaždé se ověřuje, aby bylo jisté, že je výsledek správný. Ačkoli na mnoha částech testu pracují stroje, laboratorní pracovník výsledky vždycky kontroluje. Často se provádí další test, který výsledky prvního testování potvrdí. Různá opatření mají také zabránit možnosti záměny vzorku. Mnoho laboratoří se navíc účastní mezinárodních kontrol kvality (QA), což pomáhá zajistit, že poskytují kvalitní a spolehlivé genetické testy.

Obrázek 1: Geny, chromosomy a DNA



Změny v genech nebo chromosomech nazýváme **mutace**. Můžete si mutaci představit jako záměnu písmene nebo změnu slovosledu ve větě. Mutace jsou zcela běžné a všichni jich neseme celou řadu. Důsledek mutace může být dobrý nebo špatný. Nemusí se také nijak projevit. Záleží to na faktorech prostředí, na náhodě nebo na mutacích v dalších genech.

Mutace mohou způsobit problémy, pokud zabrání genu nebo chromosomu v předávání správných instrukcí, které tělo potřebuje, aby mohlo správně fungovat. Genetické testy proto hledají mutace v konkrétním genu nebo chromosomu. Testy se obvykle provádějí na vzorku z krve nebo někdy také z jiné tkáně. (Někdy je možné pro získání DNA odebrat vzorek slin. Většinou však molekulární genetici potřebují větší množství DNA vysoké kvality, a proto dávají přednost vzorku krve.) Vzorek odebraný pacientovi putuje do laboratoře, aby mohla analyzovat geny a

chromosomy.

Genetická pracoviště většinou mají svou vlastní genetickou laboratoř. Vzhledem k tomu, že existuje velké množství genetických testů pro mnoho genetických chorob, ne každá laboratoř provádí všechny testy. To se týká zejména vzácných genetických onemocnění. Vzorek proto může být odeslán do jiné laboratoře, která se specializuje právě na ten test, který si lékař přeje provést.

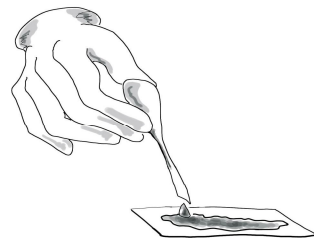
Je dobré si zapamatovat, že genetický test obvykle poskytne informace pouze o testované chorobě. Neexistuje žádný obecný test pro všechny genetické choroby. Cílem genetického testu, který provádí genetické pracoviště, je získat informace o zdravím jedince nebo rodiny. Genetická pracoviště obvykle nenabízejí testy ověření otcovství, i když tato informace může někdy v průběhu vyšetřování vyjít najevo.

Genetické laboratoře

Existují dva základní typy genetických laboratoří. Jedna studuje **geny**, zatímco druhá **chromosomy**.

1) Cytogenetika

Pokud se lékař domnívá, že genetickou chorobu způsobil problém na jednom z **chromosomů**, požádá o vyšetření pacientových chromosomů **cytogenetickou** laboratoř. Používají se vzorky krve, kůže nebo materiál získaný z amniocentézy nebo CVS. Nejprve se buňky pěstují v tkáňových kulturách, poté se na mikroskopických sklech obarví tak, aby byly chromosomy lépe vidět.



zúčastněné frustrující. Je však velice důležité, aby laboratoř neoznačila za škodlivé mutace, které škodlivé nejsou. Mohlo by to vést k chybné diagnóze.

Dokáže laboratoř pokaždé najít mutaci?

Někdy proběhne vyšetření, které má zjistit příčinu problému, a žádná mutace není nalezena.

Může k tomu dojít z celé řady důvodů:

- Genetický test někdy sleduje pouze nejčastější mutace, které způsobují dané onemocnění. Pokud má tedy pacient neobvyklou mutaci, laboratoř ji nemusí najít.
- Vědci ještě neidentifikovali všechny geny, které způsobují genetické choroby.
- Pacient nemusí mít nemoc, kterou se zdá mít. Vědci proto možná nehledají ve správném genu.

Je důležité mít na paměti, že techniky genetického testování a naše genetické znalosti se rychle rozvíjejí. Proto i mutace, kterou nyní není možné nalézt, bude možná nalezena v budoucnu díky novým technikám, které budou mít vědci k dispozici.

Proč některé genetické testy trvají tak dlouho, zatímco jiné jsou hotové rychle?

Pokud laboratoř přesně ví, jakou mutaci hledá, protože někdo jiný v rodině má stejnou chorobu nebo protože v laboratoři vědí, na kterou oblast genu se zaměřit, má mnohem snazší úkol. Test potom může trvat jen týden nebo dva.

Pokud však v rodině nebyla mutace dříve nalezena nebo pokud se s onemocněním pojí celá řada genů, bude získání výsledku pracnější. Místo toho, aby se laboratoř zaměřila na jednu genovou oblast, bude možná muset analyzovat celý gen nebo

Jak laboratoř pozná, zda je mutace škodlivá ?

To je velice důležitá otázka. Genetické laboratoře mají úsloví, že “mutaci najde každý, ale ne každý ji dokáže interpretovat”. Mutace mohou být různě závažné. Rozeznat, jaký vliv bude mutace mít, vyžaduje odborné znalosti o chorobě a genu nebo chromosomu. Je třeba se zabývat detaily. Takže jak laboratoř pozná, zda je mutace dobrá, špatná, nebo zcela bez efektu?

Především je zcela zásadní, aby se odborník, kterým je klinický genetik, podíval na pacienta, jeho příbuzné a jejich rodinnou anamnézu. Možná i na výsledky všech dalších vyšetření, která byla provedena. To mu poskytne klíč k tomu, jaký gen nebo chromosom je třeba vyšetřit. Pokud se například genetik domnívá, že by pacient mohl mít cystickou fibrózu, protože o takové možnosti svědčí jeho symptomy a někdo z jeho příbuzných trpěl touto nemocí, odebere pacientovi vzorek a pošle ho do laboratoře k vyšetření. Poskytne laboratoři všechny relevantní informace o pacientovi a jeho rodinné anamnéze a požádá, aby hledala mutace, které cystickou fibrózu způsobují. Pokud laboratoř najde některou z mutací, které způsobují cystickou fibrózu, bude vědět, že pacient má toto onemocnění.

Někdy se stane, že dítě je postižené určitým onemocněním, ale žádný z jeho rodičů nemá mutaci. V takovém případě je pravděpodobné, že k mutaci došlo poprvé až při početí tohoto dítěte. Říká se tomu „de novo“ mutace (z latiny) nebo také „nová“ mutace.

V některých případech laboratoř neví, zda mutace chorobu způsobila nebo ne. Může to být tím, že změna v kódu DNA je velmi drobná. Takovým mutacím říkáme „varianty nejasného významu“ a jejich nález může být pro všechny

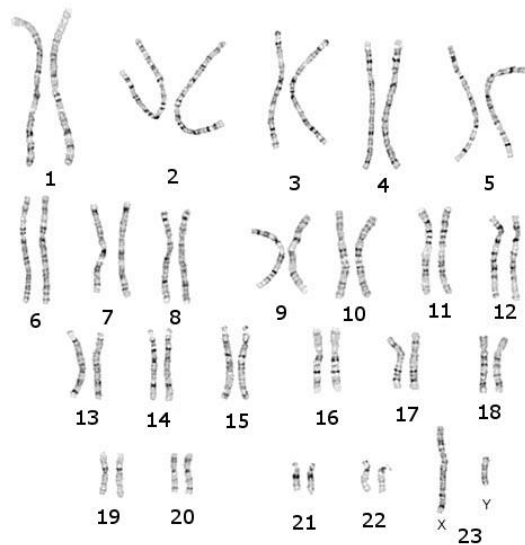


Obrázek 2: Jak vypadají chromosomy v mikroskopu



Cytogenetik nejprve zkontroluje **počet chromosomů**. Některá onemocnění jsou způsobena přítomností nadbytečných chromosomů. Nejtypičtějším příkladem takové nemoci je Downův syndrom. Lidé s tímto postižením obvykle mají v buňkách jeden chromosom navíc. Cytogenetik také zkontroluje **strukturu chromosomů**. Ke změnám struktury chromosomů dochází, když je materiál v nějakém chromosomu narušen a nebo nějakým způsobem přeskupen. Může dojít k zisku nebo ke ztrátě chromosomového materiálu. Tyto změny mohou být tak malé, že je obtížné je detekovat. Někdy se proto používá jiná technika, tzv. **fluorescenční hybridizace in situ (FISH)**, k detekci malých změn, které není možné vidět pod mikroskopem, případně k ověření malé změny pozorované mikroskopem.

Obr. 3: Seřazené chromosomy: karyotyp



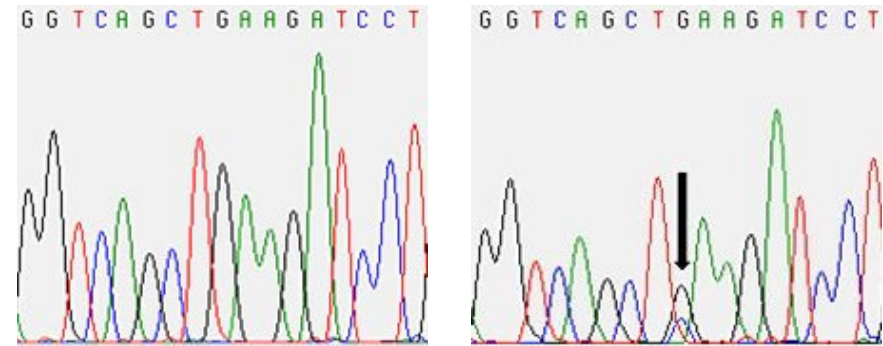
Cytogenetický test může trvat dlouho. Laboratoř musí nejprve vypěstovat buňky, což trvá nejméně týden. Zhruba další týden může trvat, než se připraví sklíčka a než se vyšetří chromosomy pod mikroskopem jeden po druhém.

2) Molekulární genetika

Pokud má lékař podezření, že genetická choroba je způsobena změnou (mutací) v **genu**, požádá **molekulárně genetickou** laboratoř o vyšetření **DNA** konkrétního genu. Informace je v DNA zapsána jako kód tvořený čtveřicí písmen: A, C, G a T. Molekulárně genetická laboratoř může vyšetřit přesnou sekvenci tohoto kódu v konkrétním genu a zjistit tak, zda v ní došlo k nějakým chybám – nebo ke změnám v pravopisu, chcete-li. Jediný gen však může tvořit 10 000 i více písmen kódu DNA. Molekulární genetik proto musí být schopen kód přečíst a najít změny. Pokud změny způsobí, že gen nemůže vydávat správnou informaci tělu, může to být příčinou genetické choroby.

Na rozdíl od chromosomů není DNA v mikroskopu vidět. Molekulární genetik DNA izoluje z buněk a použije ji pro specifické chemické reakce, které mu umožní přečíst kód vyšetřovaného genu. K detekci mutací se používá řada různých technik. Jednou z běžně užívaných metod je vyšetření sekvence DNA.

Obr. 4: DNA sekvenování: Najdi rozdíl!



Normální sekvence

Sekvence pacienta

Na obrázku je krátký úsek genetického kódu. Pokud máte obrázek barevný, vidíte, že každé písmeno DNA je zobrazeno jinou barvou. Obrázek nalevo představuje normální sekvenci, obrázek napravo sekvenci pacienta. Na levém obrázku má každé písmeno jeden „hrot“. Na obrázku vpravo však vidíte, že pacient má v jedné pozici „hroty“ dva, G (černý) a C (modrý). To znamená, že v této pozici je mutace na jednom z páru chromosomů.

Co se děje v genetické laboratoři?

Tento letáček byl vytvořen s pomocí Dr Iana M Fraylinga, Institute of Medical Genetics, University Hospital of Wales, Cardiff, UK; Dr Domenica Coviella, Laboratory of Medical Genetics, Fondazione IRCCS, Milan, Italy a The Genetic Interest Group.

Překlad: Ústav biologie a lékařské genetiky UK 2. LF a FN v Motole
Únor 2009

Tato práce byla podpořena projektem Eurogentest v rámci Evropského 6. RP; číslo kontraktu -NoE 512148

Ilustrace: Rebecca J Kent
www.rebeccajkent.com
rebecca@rebeccajkent.com



Informace pro pacienty a rodiny

Co se děje v genetické laboratoři?

Následující řádky popisují, co se děje se vzorkem, který byl odeslán do genetické laboratoře. Probereme zejména:

- různé metody používané v laboratoři,
- proč některé genetické testy trvají tak dlouho, zatímco jiné mohou být provedeny rychle,
- proč v některých případech laboratoř nemůže získat výsledek.

Další informace o tom, proč byste mohli podstoupit genetický test, najdete v letáčku **“Co to je genetický test?”**.

Co to je genetický test?

Většina genetických testů vyšetřuje **DNA**, chemickou sloučeninu v našich buňkách, která dává našemu tělu instrukce, jak má růst, vyvíjet se a fungovat. DNA je řetězec kódovaných zpráv, seskupených do přesných návodů, které nazýváme **geny**. Lidé mají 30 000 různých genů, seskupených do řady vláknitých struktur, kterým říkáme **chromosomy**. Chromosomy dědíme od svých rodičů, 23 od matky a 23 od otce, takže máme dvě sady po 23 chromosomech, neboli 23 párů chromosomů. Když si představíte genetiku jako knihu života, DNA jsou v ní písmena, geny slova a chromosomy kapitoly.

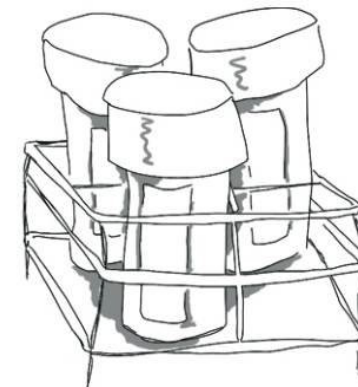


Co se stane s mým vzorkem po dokončení testu?

Pokud pacient nepožaduje likvidaci vzorku po testování, laboratoř obvykle DNA uchová a může uchovat i vzorky chromosomů. Laboratoř vám ráda poskytne informace o vašem vzorku a kdykoli můžete požádat o jeho zničení. Testování jiných chorob se neprovádí bez souhlasu pacienta.

Pokud byl poskytnut souhlas, laboratoře mohou s vývojem nových, lepších testů znovu otestovat uložené vzorky (např. v případě, že původní testování nepřineslo výsledky). Tak mají pacienti i klinici jistotu, že se jim dostalo nejmodernějšího testování. Laboratoře mohou použít anonymizované vzorky DNA pro vývoj nových testů nebo je poskytnout jako vzorky pro kontroly kvality (QA), pokud pacienti neuvědomí, že si takové použití svého vzorku nepřejí. Stejně jako všechny uložené klinické vzorky je DNA považována za součást pacientových lékařských záznamů, a je proto předmětem lékařského tajemství. To znamená, že přístup k ní může umožnit pouze příslušný zdravotnický odborník.

Někteří lidé se obávají, že by k jejich DNA mohla získat přístup policie. Takový požadavek je velmi vzácný. Pokud by policie chtěla získat přístup ke vzorku DNA z genetické laboratoře, stejně jako v případě jakékoli jiné součásti lékařských záznamů by k tomu musela mít soudní příkaz.



dokonce více genů. To může trvat velmi dlouho, mnoho měsíců. Bude to záviset na mnoha faktorech, například na tom, jak velký je příslušný gen a jaké vybavení má laboratoř k dispozici.

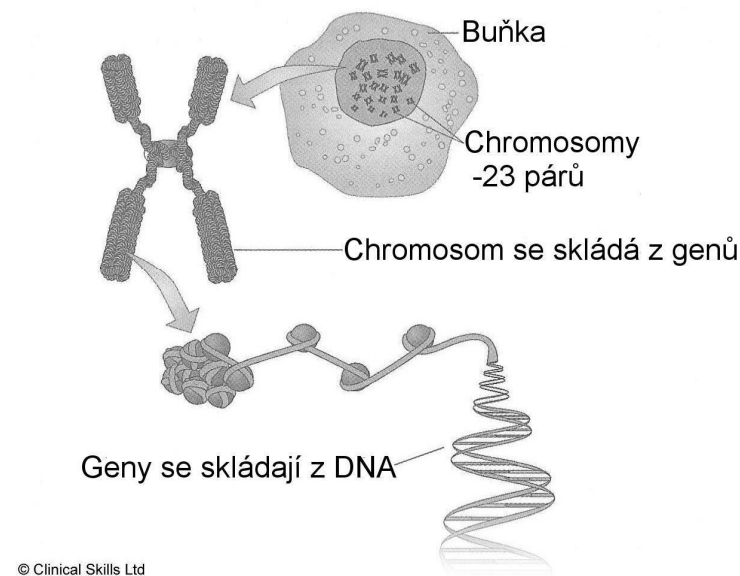
Například v případě Duchenneovy muskulární dystrofie je onemocnění způsobeno mutacemi v genu pro *dystrofin*. To je jeden z nejdelších známých genů. Může dojít k velkému množství různých mutací, a proto nalezení konkrétní mutace v rodině může být velmi zdlouhavý a pracný proces. Naopak v případě Huntingtonovy nemoci k mutacím v genu pro *huntingtin* dochází vždy ve stejné malé oblasti. Vědci tak přesně vědí, kde mají v genu hledat, a test je proto docela jednoduchý a mnohem rychlejší.

Důležitým faktorem je také kvalita DNA. Někdy musí laboratoř nejprve vyšetřit DNA někoho, kdo již zemřel, aby zjistila konkrétní mutaci. Pokud je DNA zemřelého člověka špatné kvality, může to zdvojnásobit nebo ztrojnásobit dobu, po kterou se hledá mutace. Někdy se vyšetření nepodaří dokončit, protože DNA není dostatečné množství.

Mohou se výsledky mýlit?

Vzhledem k tomu, že genetické testy mají velmi závažné důsledky pro jedince a jeho rodinu, jsou prováděny velmi pečlivě. Podniká se celá řada opatření, aby byly vydány správné výsledky. Pokud je nalezena mutace, pokaždé se ověřuje, aby bylo jisté, že je výsledek správný. Ačkoli na mnoha částech testu pracují stroje, laboratorní pracovník výsledky vždycky kontroluje. Často se provádí další test, který výsledky prvního testování potvrdí. Různá opatření mají také zabránit možnosti záměny vzorku. Mnoho laboratoří se navíc účastní mezinárodních kontrol kvality (QA), což pomáhá zajistit, že poskytují kvalitní a spolehlivé genetické testy.

Obrázek 1: Geny, chromosomy a DNA



Změny v genech nebo chromosomech nazýváme **mutace**. Můžete si mutaci představit jako záměnu písmene nebo změnu slovosledu ve větě. Mutace jsou zcela běžné a všichni jich neseme celou řadu. Důsledek mutace může být dobrý nebo špatný. Nemusí se také nijak projevit. Záleží to na faktorech prostředí, na náhodě nebo na mutacích v dalších genech.

Mutace mohou způsobit problémy, pokud zabrání genu nebo chromosomu v předávání správných instrukcí, které tělo potřebuje, aby mohlo správně fungovat. Genetické testy proto hledají mutace v konkrétním genu nebo chromosomu. Testy se obvykle provádějí na vzorku z krve nebo někdy také z jiné tkáně. (Někdy je možné pro získání DNA odebrat vzorek slin. Většinou však molekulární genetici potřebují větší množství DNA vysoké kvality, a proto dávají přednost vzorku krve.) Vzorek odebraný pacientovi putuje do laboratoře, aby mohla analyzovat geny a

chromosomy.

Genetická pracoviště většinou mají svou vlastní genetickou laboratoř. Vzhledem k tomu, že existuje velké množství genetických testů pro mnoho genetických chorob, ne každá laboratoř provádí všechny testy. To se týká zejména vzácných genetických onemocnění. Vzorek proto může být odeslán do jiné laboratoře, která se specializuje právě na ten test, který si lékař přeje provést.

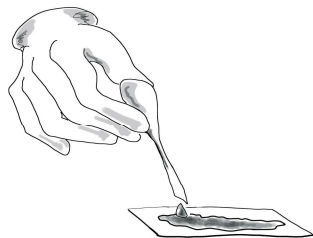
Je dobré si zapamatovat, že genetický test obvykle poskytne informace pouze o testované chorobě. Neexistuje žádný obecný test pro všechny genetické choroby. Cílem genetického testu, který provádí genetické pracoviště, je získat informace o zdraví jedince nebo rodiny. Genetická pracoviště obvykle nenabízejí testy ověření otcovství, i když tato informace může někdy v průběhu vyšetřování vyjít najevo.

Genetické laboratoře

Existují dva základní typy genetických laboratoří. Jedna studuje **geny**, zatímco druhá **chromosomy**.

1) Cytogenetika

Pokud se lékař domnívá, že genetickou chorobu způsobil problém na jednom z **chromosomů**, požádá o vyšetření pacientových chromosomů **cytogenetickou** laboratoř. Používají se vzorky krve, kůže nebo materiál získaný z amniocentézy nebo CVS. Nejprve se buňky pěstují v tkáňových kulturách, poté se na mikroskopických sklech obarví tak, aby byly chromosomy lépe vidět.



zúčastněné frustrující. Je však velice důležité, aby laboratoř neoznačila za škodlivé mutace, které škodlivé nejsou. Mohlo by to vést k chybné diagnóze.

Dokáže laboratoř pokaždé najít mutaci?

Někdy proběhne vyšetření, které má zjistit příčinu problému, a žádná mutace není nalezena.

Může k tomu dojít z celé řady důvodů:

- Genetický test někdy sleduje pouze nejčastější mutace, které způsobují dané onemocnění. Pokud má tedy pacient neobvyklou mutaci, laboratoř ji nemusí najít.
- Vědci ještě neidentifikovali všechny geny, které způsobují genetické choroby.
- Pacient nemusí mít nemoc, kterou se zdá mít. Vědci proto možná nehledají ve správném genu.

Je důležité mít na paměti, že techniky genetického testování a naše genetické znalosti se rychle rozvíjejí. Proto i mutace, kterou nyní není možné nalézt, bude možná nalezena v budoucnu díky novým technikám, které budou mít vědci k dispozici.

Proč některé genetické testy trvají tak dlouho, zatímco jiné jsou hotové rychle?

Pokud laboratoř přesně ví, jakou mutaci hledá, protože někdo jiný v rodině má stejnou chorobu nebo protože v laboratoři vědí, na kterou oblast genu se zaměřit, má mnohem snazší úkol. Test potom může trvat jen týden nebo dva.

Pokud však v rodině nebyla mutace dříve nalezena nebo pokud se s onemocněním pojí celá řada genů, bude získání výsledku pracnější. Místo toho, aby se laboratoř zaměřila na jednu genovou oblast, bude možná muset analyzovat celý gen nebo

Jak laboratoř pozná, zda je mutace škodlivá ?

To je velice důležitá otázka. Genetické laboratoře mají úsloví, že “mutaci najde každý, ale ne každý ji dokáže interpretovat”. Mutace mohou být různě závažné. Rozeznat, jaký vliv bude mutace mít, vyžaduje odborné znalosti o chorobě a genu nebo chromosomu. Je třeba se zabývat detaily. Takže jak laboratoř pozná, zda je mutace dobrá, špatná, nebo zcela bez efektu?

Především je zcela zásadní, aby se odborník, kterým je klinický genetik, podíval na pacienta, jeho příbuzné a jejich rodinnou anamnézu. Možná i na výsledky všech dalších vyšetření, která byla provedena. To mu poskytne klíč k tomu, jaký gen nebo chromosom je třeba vyšetřit. Pokud se například genetik domnívá, že by pacient mohl mít cystickou fibrózu, protože o takové možnosti svědčí jeho symptomy a někdo z jeho příbuzných trpěl touto nemocí, odebere pacientovi vzorek a pošle ho do laboratoře k vyšetření. Poskytne laboratoři všechny relevantní informace o pacientovi a jeho rodinné anamnéze a požádá, aby hledala mutace, které cystickou fibrózu způsobují. Pokud laboratoř najde některou z mutací, které způsobují cystickou fibrózu, bude vědět, že pacient má toto onemocnění.

Někdy se stane, že dítě je postižené určitým onemocněním, ale žádný z jeho rodičů nemá mutaci. V takovém případě je pravděpodobné, že k mutaci došlo poprvé až při početí tohoto dítěte. Říká se tomu „de novo“ mutace (z latiny) nebo také „nová“ mutace.

V některých případech laboratoř neví, zda mutace chorobu způsobila nebo ne. Může to být tím, že změna v kódu DNA je velmi drobná. Takovým mutacím říkáme „varianty nejasného významu“ a jejich nález může být pro všechny

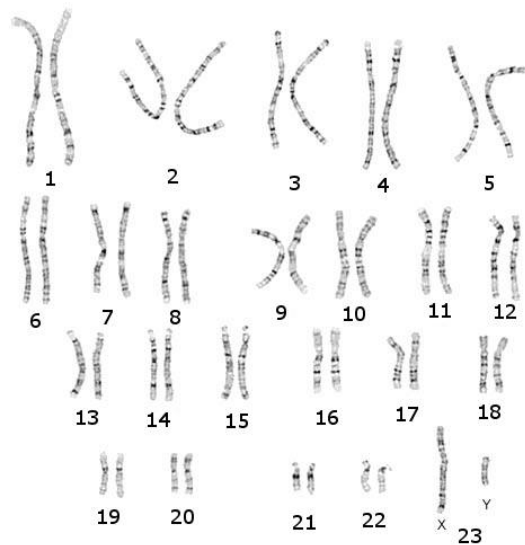


Obrázek 2: Jak vypadají chromosomy v mikroskopu



Cytogenetik nejprve zkontroluje **počet chromosomů**. Některá onemocnění jsou způsobena přítomností nadbytečných chromosomů. Nejtypičtějším příkladem takové nemoci je Downův syndrom. Lidé s tímto postižením obvykle mají v buňkách jeden chromosom navíc. Cytogenetik také zkontroluje **strukturu chromosomů**. Ke změnám struktury chromosomů dochází, když je materiál v nějakém chromosomu narušen a nebo nějakým způsobem přeskupen. Může dojít k zisku nebo ke ztrátě chromosomového materiálu. Tyto změny mohou být tak malé, že je obtížné je detekovat. Někdy se proto používá jiná technika, tzv. **fluorescenční hybridizace in situ (FISH)**, k detekci malých změn, které není možné vidět pod mikroskopem, případně k ověření malé změny pozorované mikroskopem.

Obr. 3: Seřazené chromosomy: karyotyp



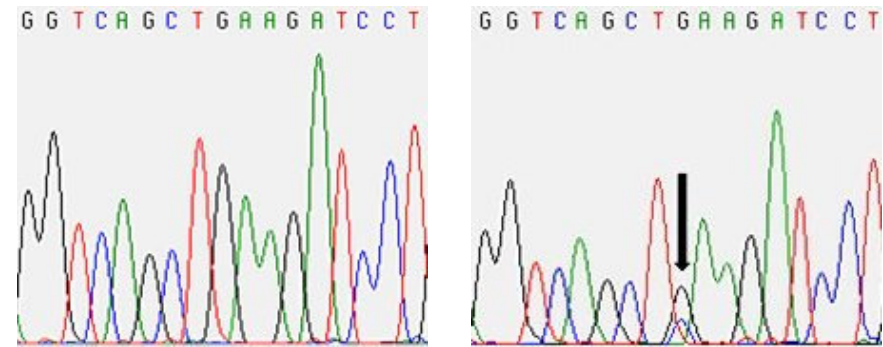
Cytogenetický test může trvat dlouho. Laboratoř musí nejprve vypěstovat buňky, což trvá nejméně týden. Zhruba další týden může trvat, než se připraví sklíčka a než se vyšetří chromosomy pod mikroskopem jeden po druhém.

2) Molekulární genetika

Pokud má lékař podezření, že genetická choroba je způsobena změnou (mutací) v **genu**, požádá **molekulárně genetickou** laboratoř o vyšetření **DNA** konkrétního genu. Informace je v DNA zapsána jako kód tvořený čtveřicí písmen: A, C, G a T. Molekulárně genetická laboratoř může vyšetřit přesnou sekvenci tohoto kódu v konkrétním genu a zjistit tak, zda v ní došlo k nějakým chybám – nebo ke změnám v pravopisu, chcete-li. Jediný gen však může tvořit 10 000 i více písmen kódu DNA. Molekulární genetik proto musí být schopen kód přečíst a najít změny. Pokud změny způsobí, že gen nemůže vydávat správnou informaci tělu, může to být příčinou genetické choroby.

Na rozdíl od chromosomů není DNA v mikroskopu vidět. Molekulární genetik DNA izoluje z buněk a použije ji pro specifické chemické reakce, které mu umožní přečíst kód vyšetřovaného genu. K detekci mutací se používá řada různých technik. Jednou z běžně užívaných metod je vyšetření sekvence DNA.

Obr. 4: DNA sekvenování: Najdi rozdíl!



Normální sekvence

Sekvence pacienta

Na obrázku je krátký úsek genetického kódu. Pokud máte obrázek barevný, vidíte, že každé písmeno DNA je zobrazeno jinou barvou. Obrázek nalevo představuje normální sekvenci, obrázek napravo sekvenci pacienta. Na levém obrázku má každé písmeno jeden „hrot“. Na obrázku vpravo však vidíte, že pacient má v jedné pozici „hroty“ dva, G (černý) a C (modrý). To znamená, že v této pozici je mutace na jednom z páru chromosomů.