

CYTOGENETIKA, CHROMOSOMY

vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno
s podporou projektu OPvK



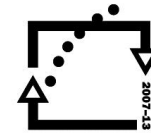
evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

zpracovala Mgr. Hanáková



Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

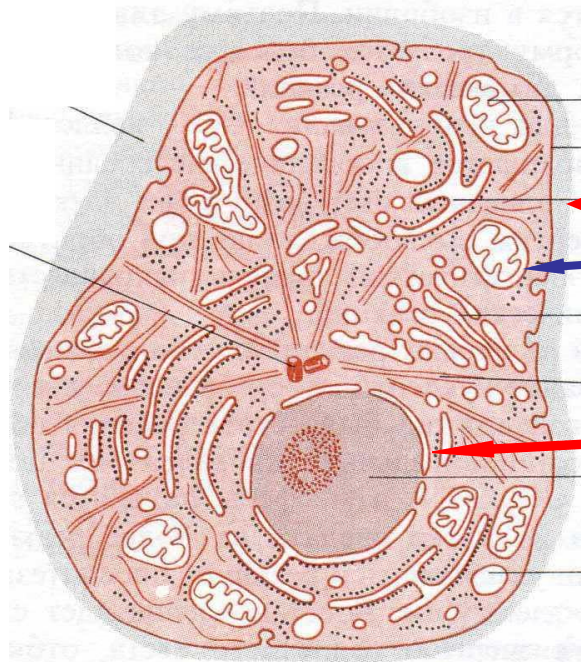


DEFINICE A HISTORIE

- **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

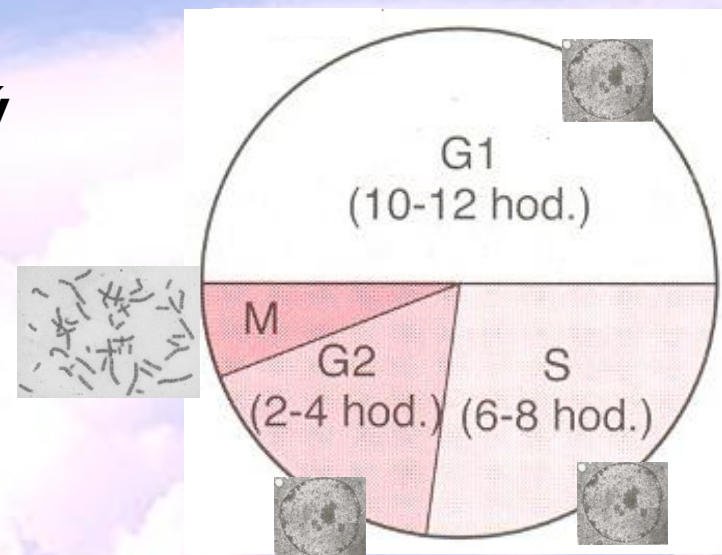
buněčný cyklus **somatických** buněk
(interfáze, mitóza, cytokineze)

- **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



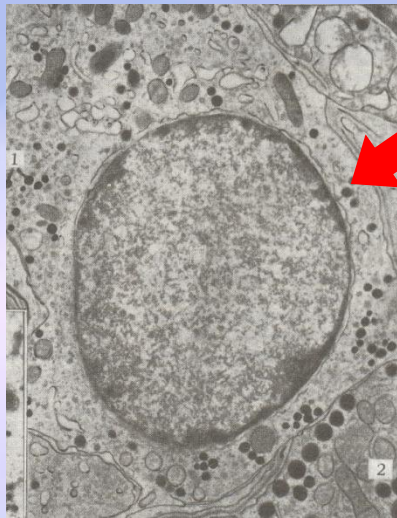
Obr. 2 (buněčný cyklus) (Nussbaum, 2004), upraveno

Interfázni 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)



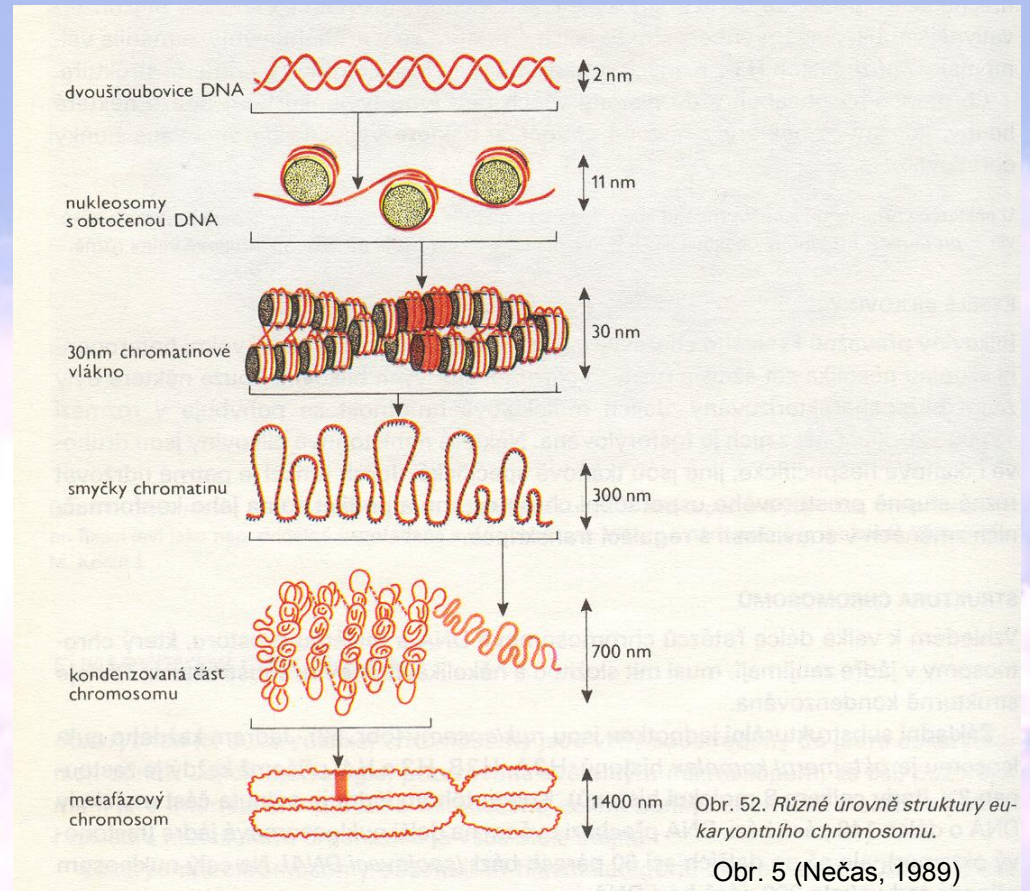
chromosomy = spiralizované molekuly DNA
počet chromosomů člověka = 46
(metafáze mitózy)

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

CHROMATIN A CHROMOSOMY BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU

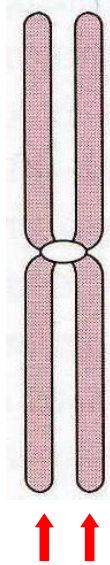
kondenzace chromatinu, vznik chromosomů

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



sesterské chromatidy
(identické kopie)

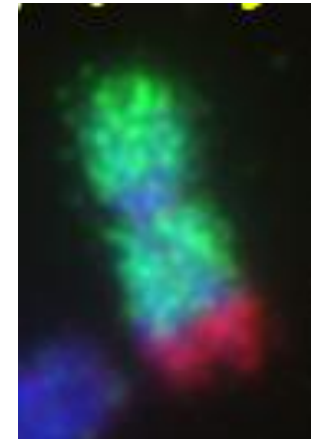
chromosom s G- pruhy



chromosom
konvenčně barvený



chromosom
metoda FISH



dvouchromatidový metafázní chromosom

Obr. 6

Reálné chromosomy (Dokumentace OLG FN Brno)

Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

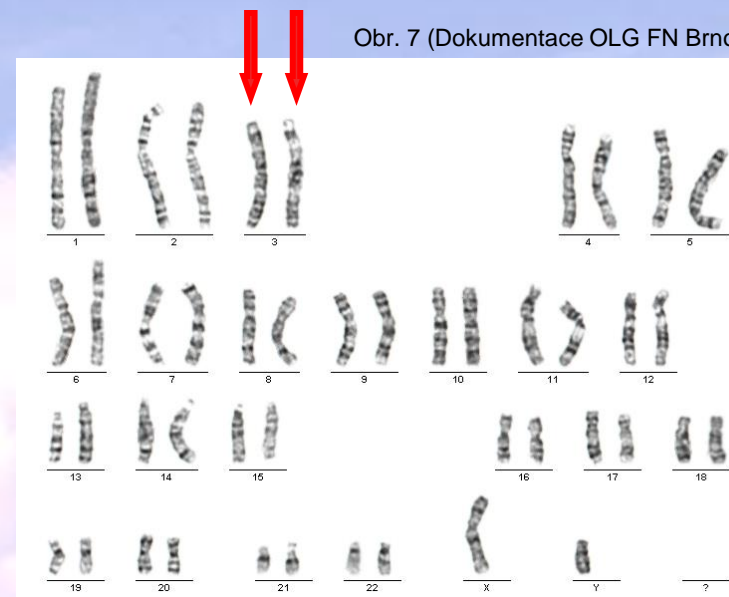
CHROMOSOM

- **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)



obrázek karyotypu = 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

KARYOTYP

normální mužský karyotyp

46,XY

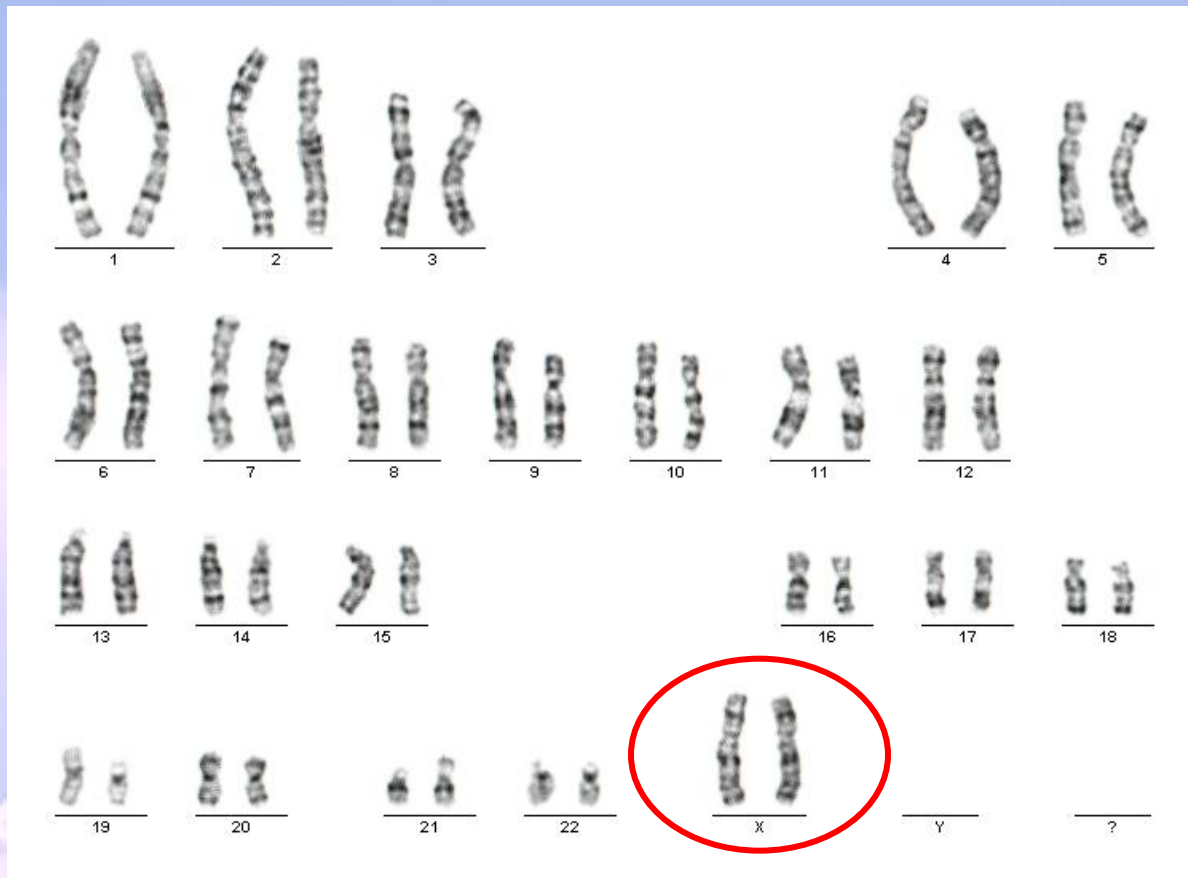


Obr. 8 (Dokumentace OLG
FN Brno)

KARYOTYP

normální ženský karyotyp

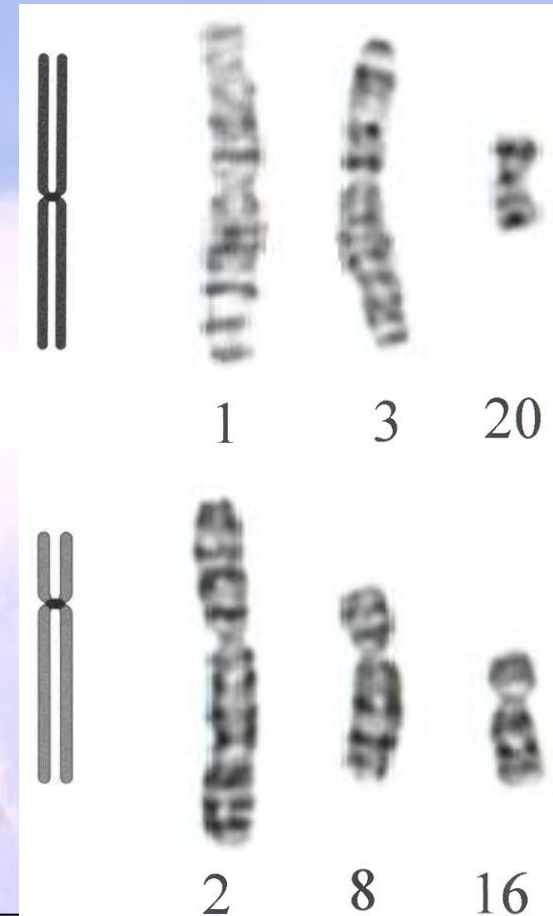
46,XX



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



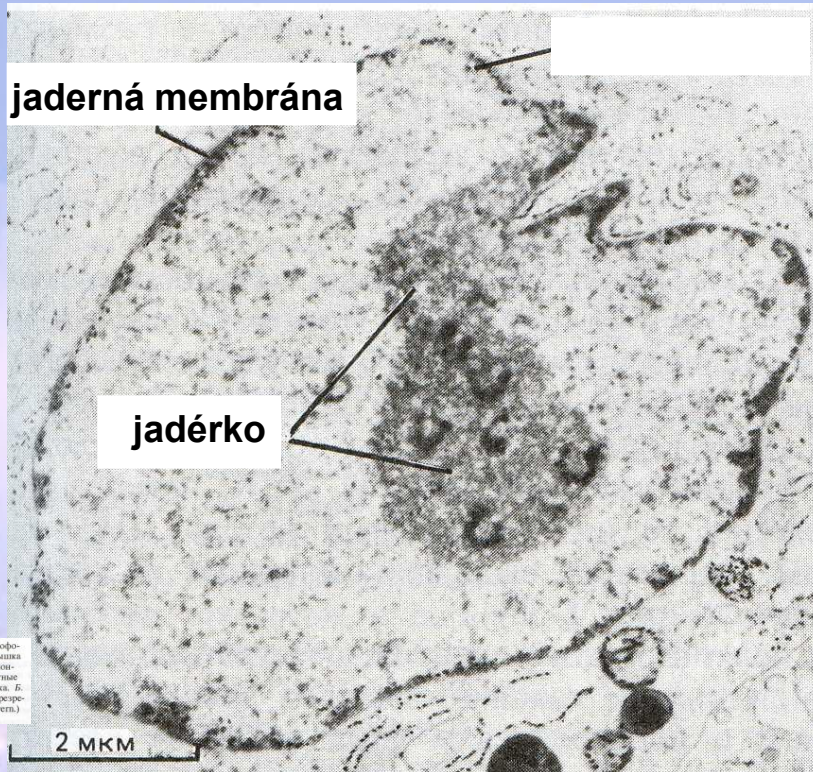
Pohlavní chromosomy:

- 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.**

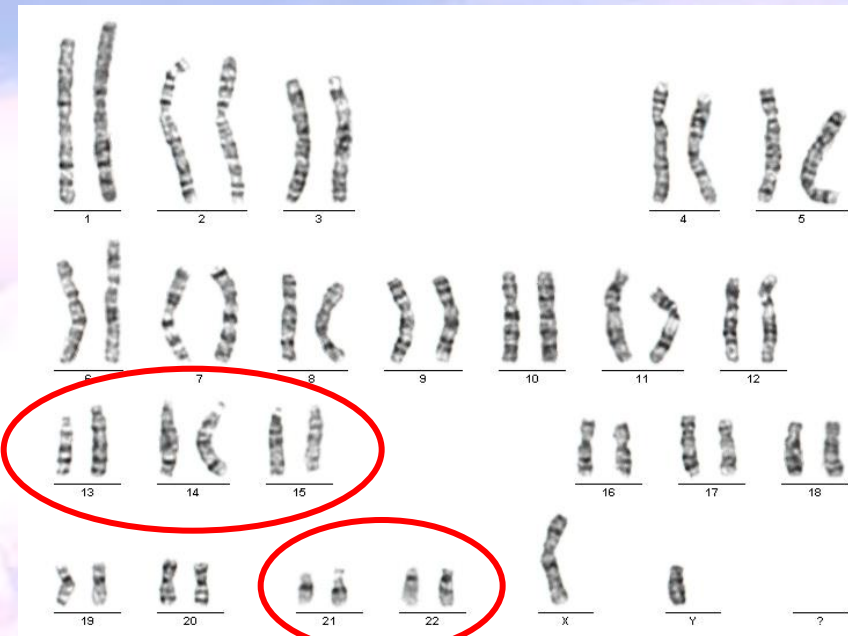
Obr. 12 (Dokumentace OLG FN Brno)

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 (Alberts, 1986), upraveno



Obr. 14 (Dokumentace OLG FN Brno)

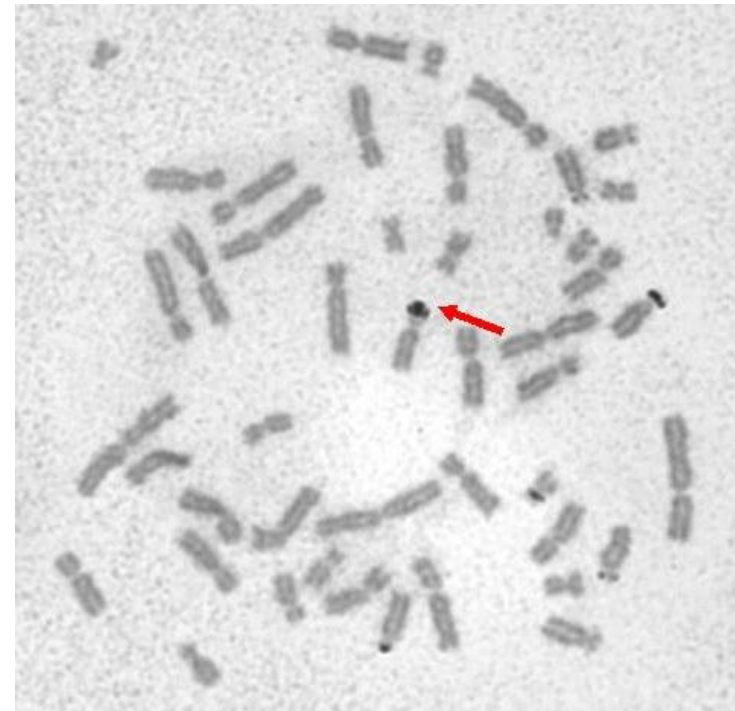
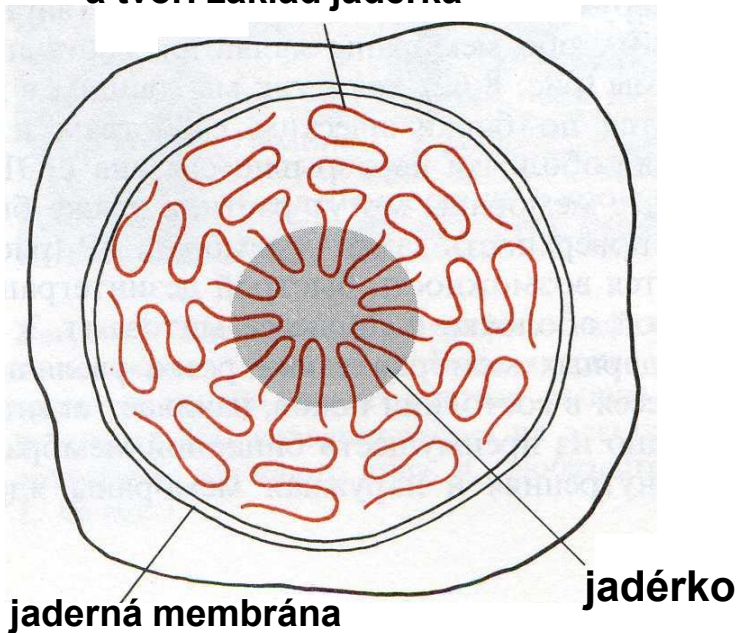
JADÉRKO

přítomnost jadérka v interfázním jádře a jeho nepřítomnost v mitóze souvisí se spiralizací a despiralizací akrocentrických chromosomů

interfázní jádro

mitóza

10 dekonenzovaných akrocentrických chromosomů v interfázi, jejich chromatinové smyčky, které obsahují geny pro rRNA (sekundární konstriktce) se shlukují a tvoří základ jadérka



spiralizované akrocentrické chromosomy, každý má spiralizovanou svou chromatinovou smyčku, která tvoří sekundární konstriktci

Obr. 16
(Dokumentace
OLG FN Brno)

Obr. 15
(Alberts,
1986),
upraveno

GENETICKÝ MATERIÁL JÁDRA BĚHEM BUNĚČNÉHO CYKLU



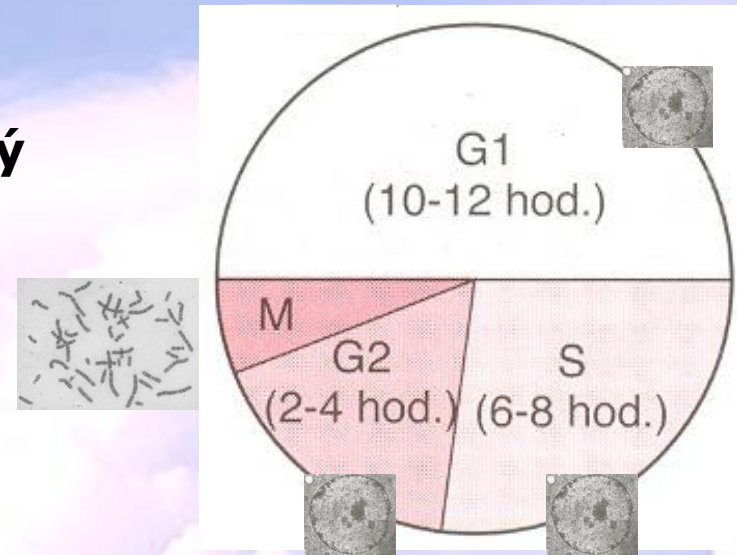
Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno



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

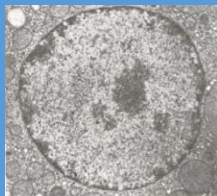
Buněčný cyklus (Nussbaum, 2004), upraveno
Interfázni jádro (Alberts, 1986)
Mitóza (Dokumentace OLG FN Brno)

JADERNÝ MATERIÁL

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

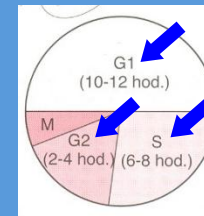
- **chromatin** – komplex molekul DNA a proteinů - různé stupně spiralizace
- **chromosom** – jednotlivé molekuly DNA + proteiny - spiralizované **v mitóze**, despiralizované v interfázi
 - tvořen 1 nebo 2 chromatidami v závislosti na fázi buněčného cyklu
- **chromatida** = 1 kontinuální molekula dvouvláknové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





Obr. 18 (Alberts, 1986)

CHROMATIN v interfázi



schema buněčného cyklu
- interfáze, upraveno

Obr. 19 (Nussbaum, 2004)

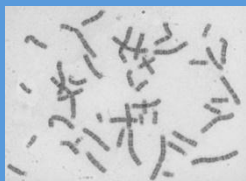
- **euchromatin** - dekondenzovaná forma chromatinu
 - **transkripčně aktivní chromatin** (přepis genů do RNA)
- **heterochromatin** - kondenzovaná forma chromatinu
 - **transkripčně inaktivní chromatin** (ale replikace probíhá)

konstitutivní heterochromatin

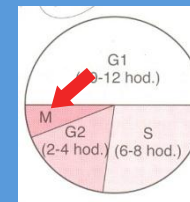
- zůstává v kondenzovaném stavu a nepřepisuje se do RNA v průběhu celého buněčného cyklu (i v interfázi) ve všech buňkách a ve všech vývojových stádiích organismu
- **transkripčně trvale inaktivní**
- **centromery**, - **chromocentra** = oblasti konstitutivního heterochromatinu v interfázi

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.



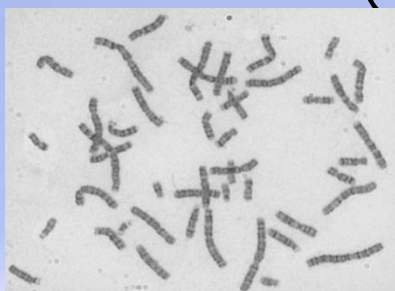
CHROMOSOMY v mitóze



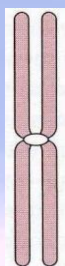
schema buněčného cyklu – mitóza, upraveno
Obr. 21 (Nussbaum, 2004)

Obr. 20 (Dokumentace OLG FN Brno)

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



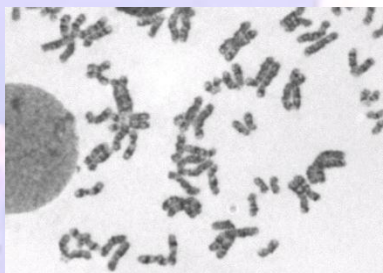
Obr. 22 (Dokumentace OLG FN Brno)



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. 25 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)

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

Obr. 24
(Dokumentace
OLG FN Brno)

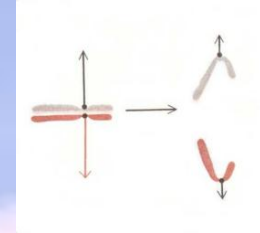


Vytvořilo Oddělení lékařské genetiky FN Brno

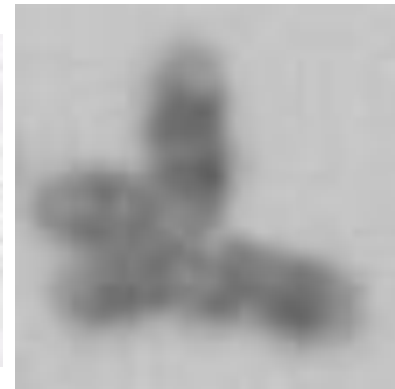


CHROMOSOMY - metafáze a anafáze mitózy

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)

CHROMOSOMY / CHROMATIDY

Chromosom tvořen 1 chromatidou

NEBO

Chromosom tvořen 2 chromatidami

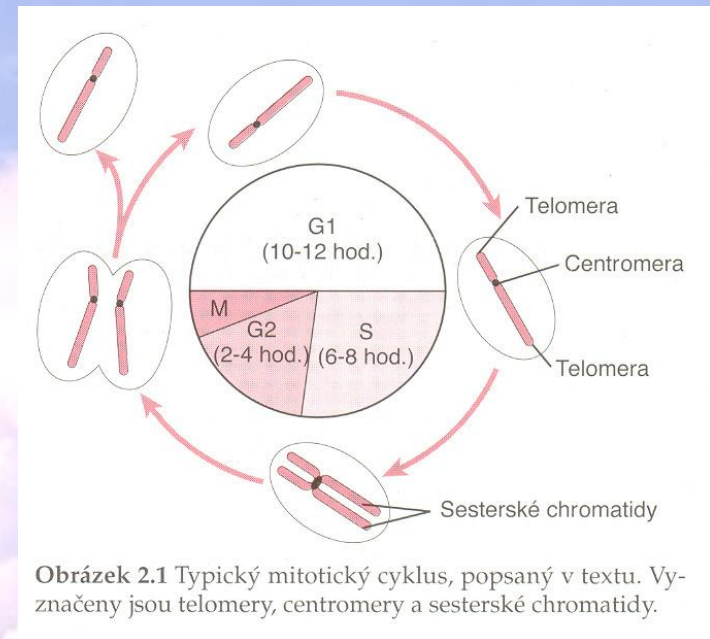
Chromosom je tvořen 1 chromatidou (1 molekulou DNA):

- 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):

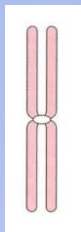
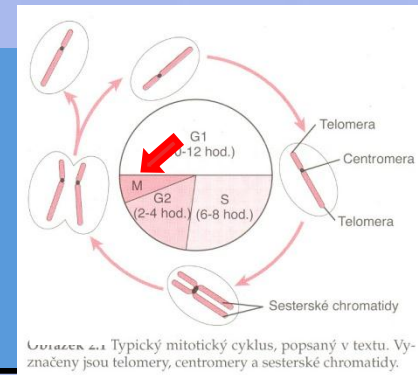
- konec S fáze interfáze (despiralizované)
- G2 fázi interfáze (despiralizované)
- profáze, prometáfáze a metafáze mitózy - postupná spiralizace chromosomů
- počátek anafáze mitózy - chromosomy jsou tvořeny 2 chromatidami, během této fáze mitózy dochází k podélnému dělení centromery a rozchodu sesterských 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.

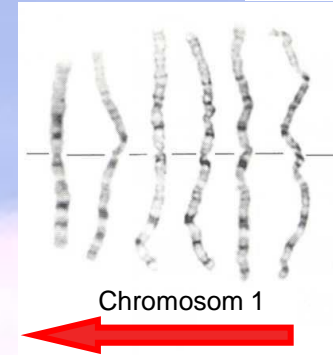
Obr. 28 (Nussbaum, 2004)

MITÓZA



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

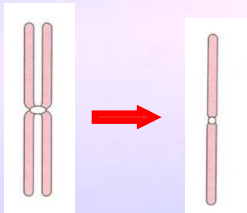
Obr. 30 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)



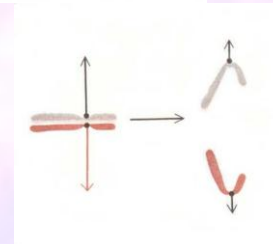
Obr. 29 (Nussbaum, 2004)

Obr. 31 (ISCN 1995)

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

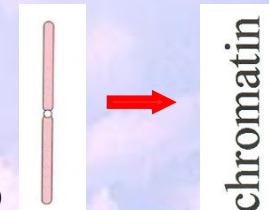


Obr. 32 Schema chromosomu (Nussbaum, 2004)



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 1995, Mitelman (ed), S. Karger, Basel 1995, ISBN 3-8055-6226-8
- 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

