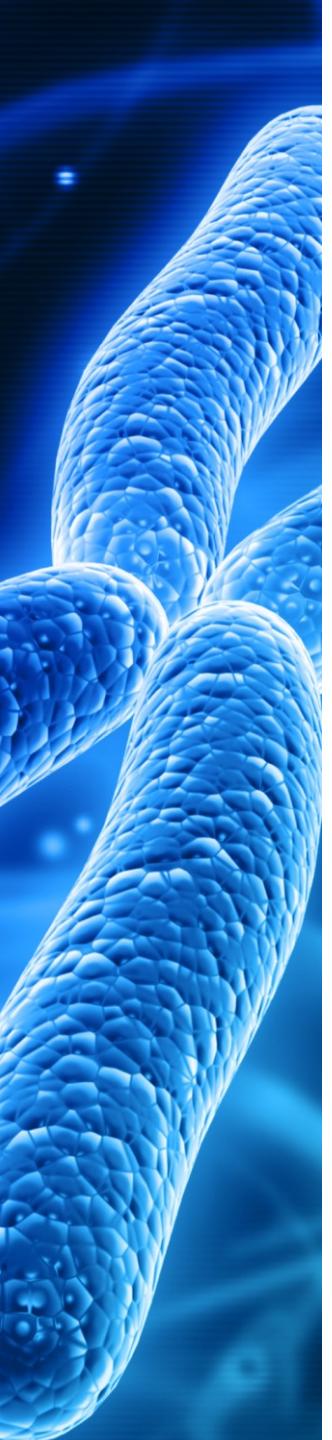




Cytogenetika a průtoková cytometrie

Bc. Kateřina Kutálková



Klasická cytogenetika

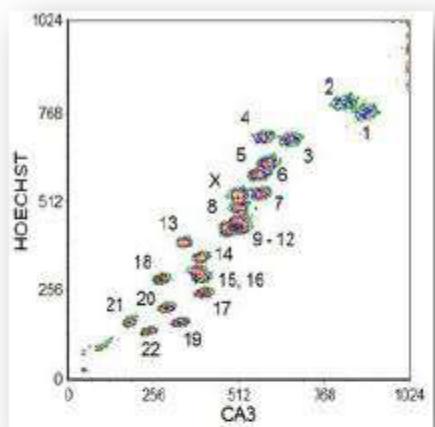
- Zatížena chybou, subjektivní
- Malý počet spočítaných buněk



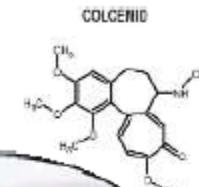
(Jahani and Kamaledin Setarehdan, 2012)

Příprava vzorku (živočišné buňky)

5. Evaluace

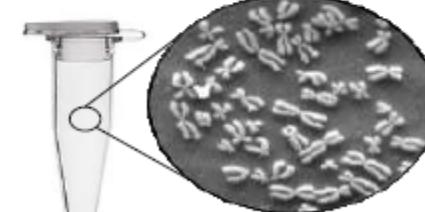
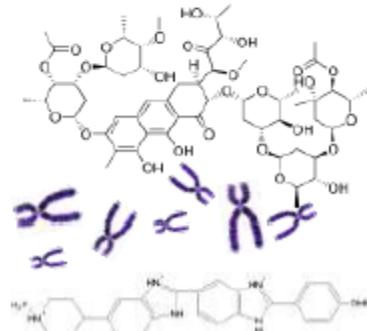


1. Kultivace

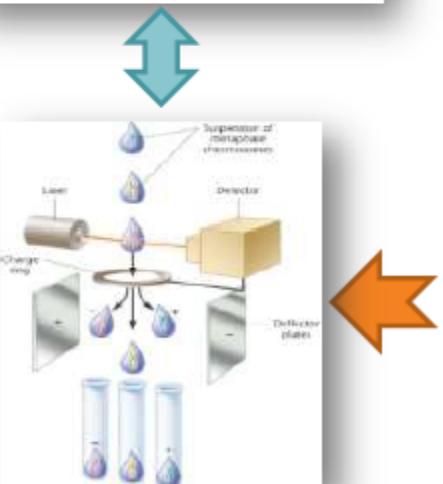


2. Synchronizace

4. Barvení



3. Izolace

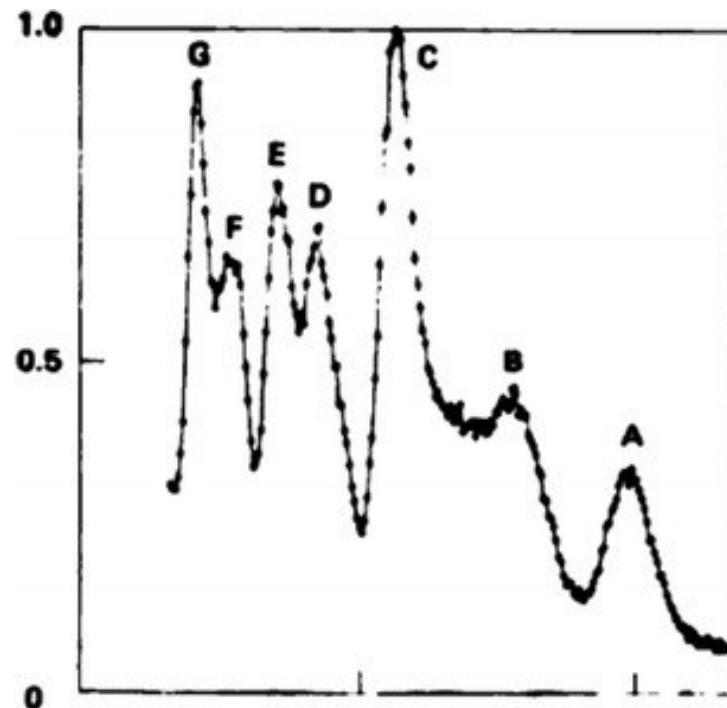


5. Akvizice a Sortování

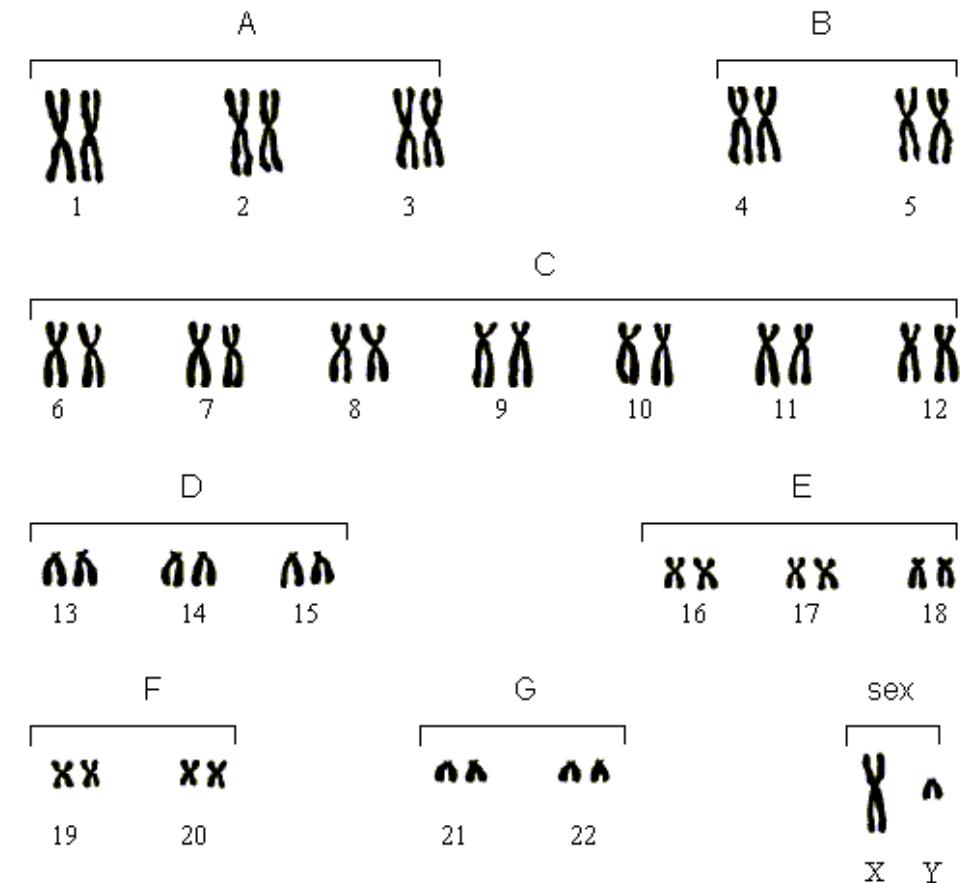
http://www.beckman.cz/Media/Default/Dokumenty/DNAXII_presentations/1310-Kubickova-Sortovani%20savcich%20chromozomu%20a%20jejich%20prakticke%20vyuziti.pdf

Barvení

- Etidium bromid



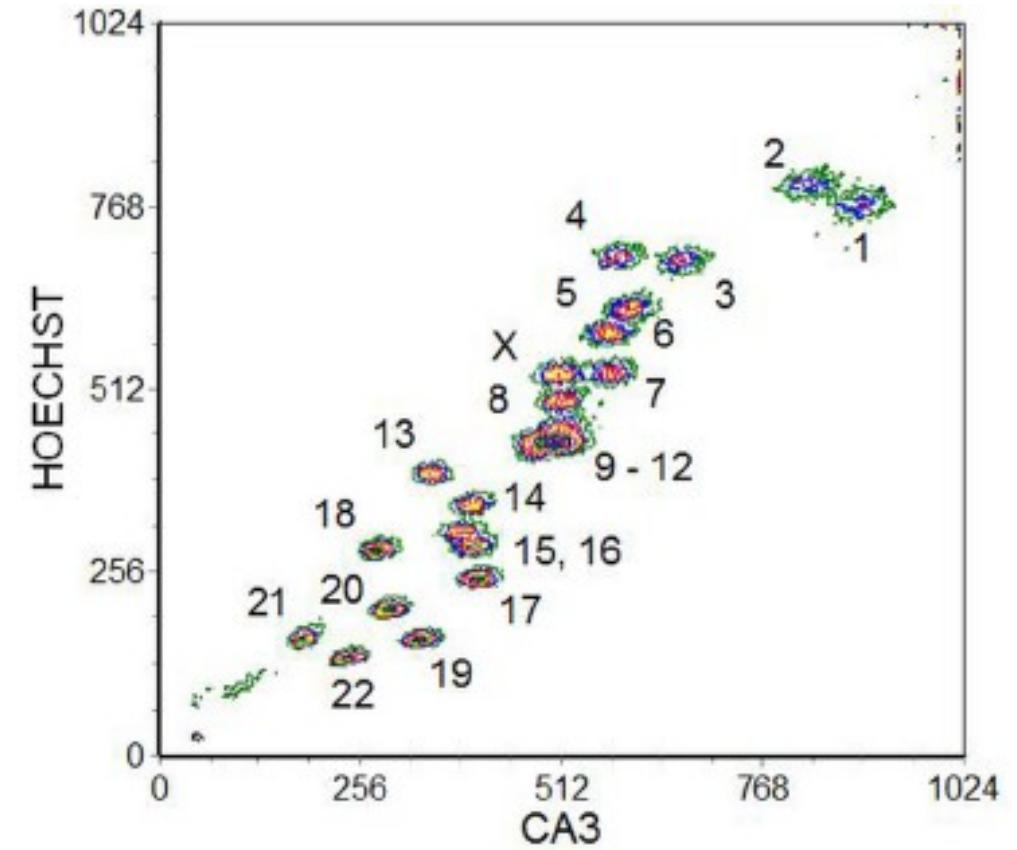
(Doležel *et al.*, 2012)



<http://www.web-books.com/MoBio/Free/images/Ch1C3.gif>

Barvení

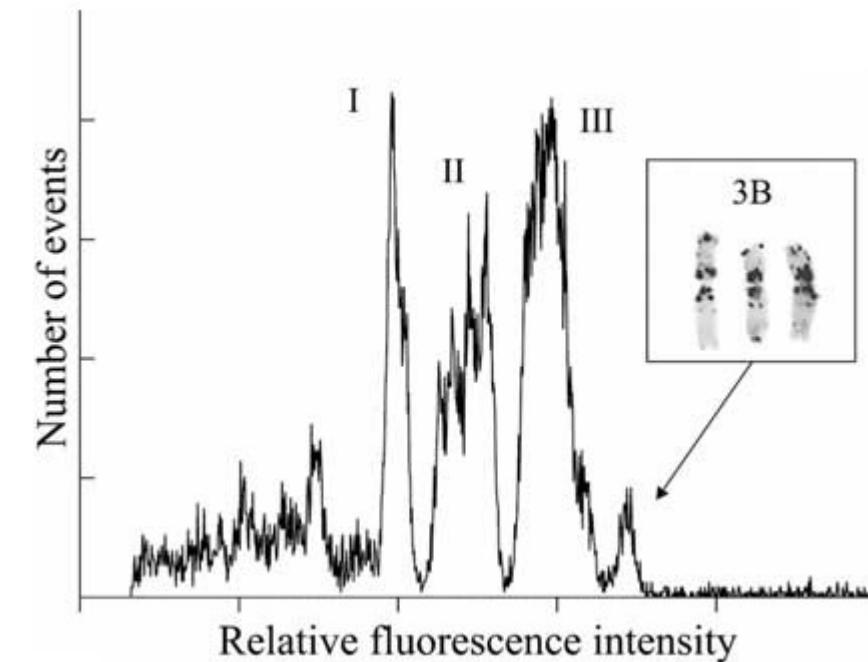
- Hoechst + Chromomycin



http://flowbook.denovosoftware.com/@api/deki/files/123/Chapter_10_Figure_05.png?size=webview

Rostlinné chromosomy

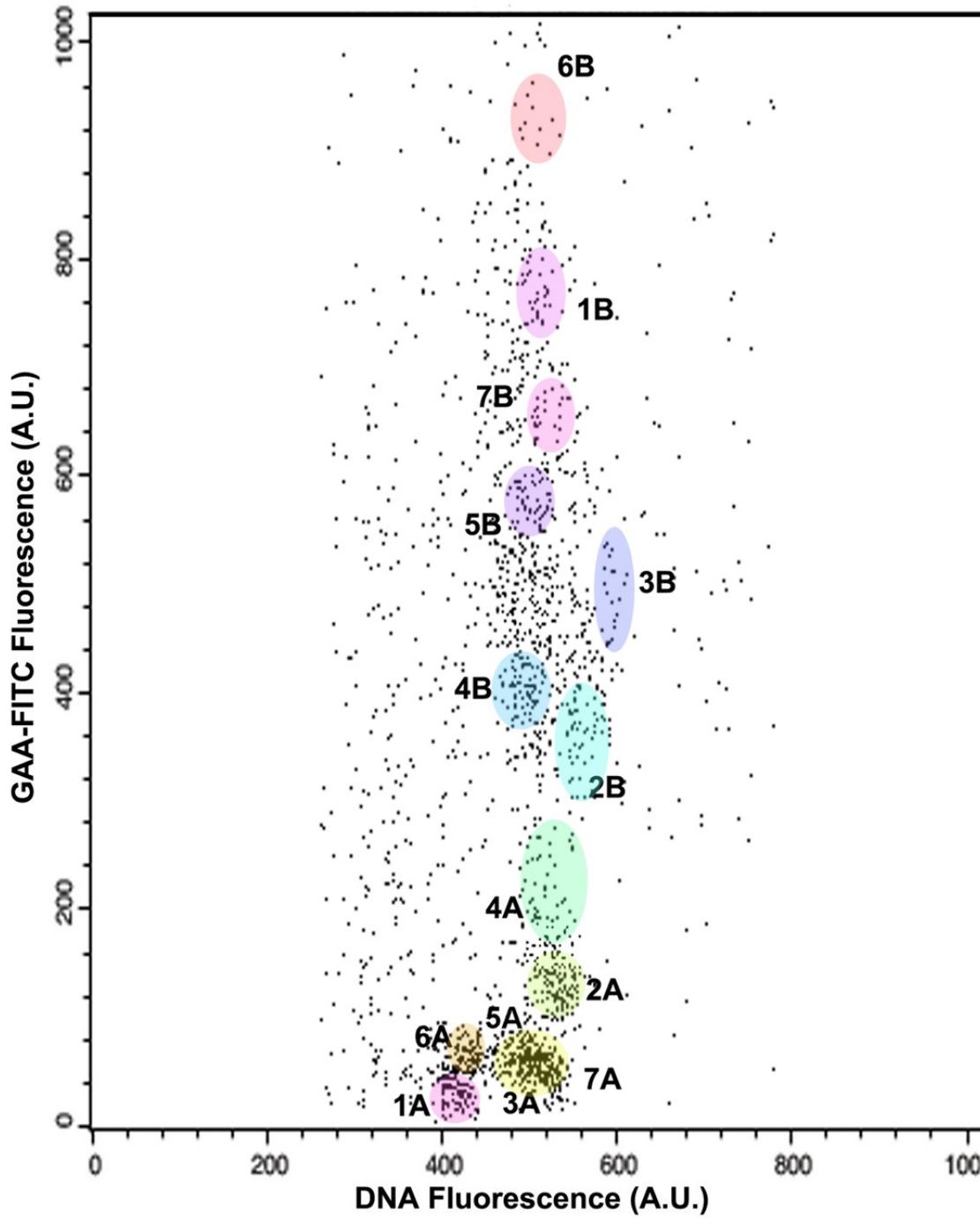
- Obtížná příprava neporušených chromozomů
- Polyploidie
- Stejný poměr A/T vs. G/C



(Doležel *et al.*, 2004; upraveno)



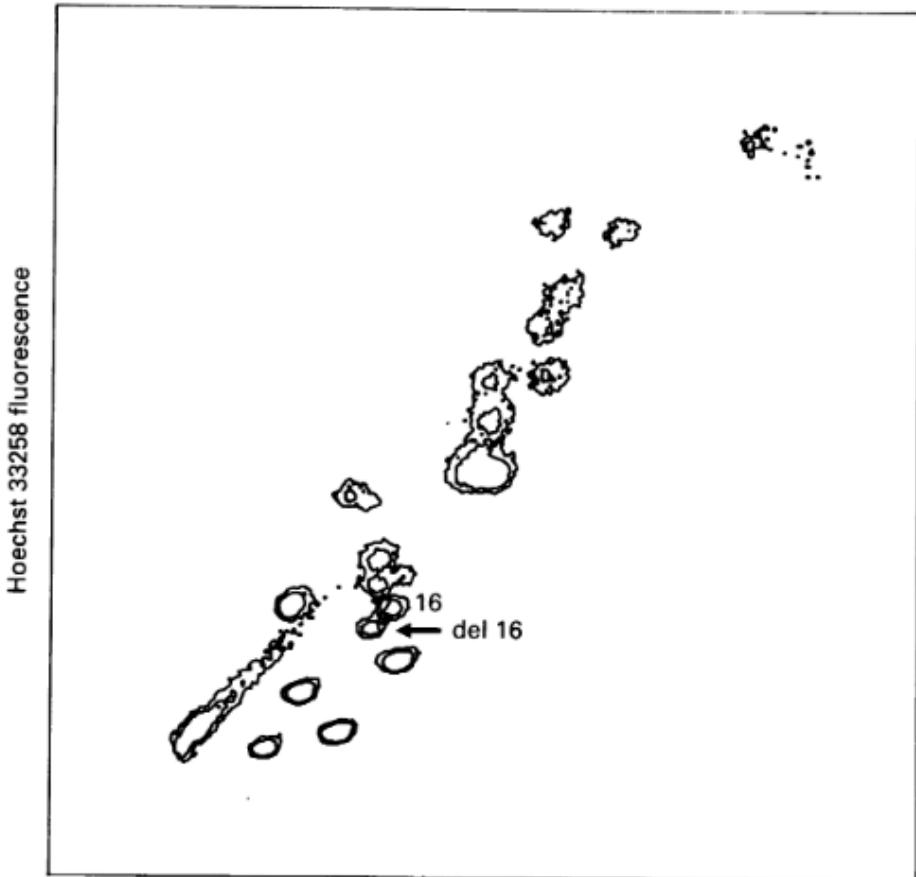
FISHIS



(Giorgi *et al.*, 2013;
upraveno)

Využití I

- Rychlá tvorba karyotypu
- Detekce chromozomových abnormalit



(Carter *et al.*, 1992)



Využití II

- Sortrování
 - Chromozomově specifické DNA knihovny
 - Chromozomové malovací sondy
 - Sekvenování
 - Identifikace proteinů vážících se k DNA
 - Evoluční a fylogenetické studie



Literatura

- Jahani, S., Kamaledin Setarehdan, S., 2012. Centromere and Length Detection in Artificially Straightened Highly Curved Human Chromosomes. *Int. J. Biol. Eng.* 2, 56–61.
- Doležel, J., Vrána, J., Šafář, J., Bartoš, J., Kubaláková, M., Šimková, H., 2012. Chromosomes in the flow to simplify genome analysis. *Funct. Integr. Genomics* 12, 397–416.
- Ng, B.L., Carter, N.P., 2006. Factors affecting flow karyotype resolution. *Cytometry A* 69A, 1028–1036.
- Doležel, J., Kubaláková, M., Bartoš, J., Macas, J., 2004. Flow cytogenetics and plant genome mapping. *Chromosome Res.* 12, 77–91.
- Giorgi, D., Farina, A., Grosso, V., Gennaro, A., Ceoloni, C., Lucretti, S., 2013. FISHIS: Fluorescence In Situ Hybridization in Suspension and Chromosome Flow Sorting Made Easy. *PLoS ONE* 8, e57994.
- Carter, N.P., Ferguson-Smith, M.A., Perryman, M.T., Telenius, H., Pelmear, A.H., Leversha, M.A., Glancy, M.T., Wood, S.L., Cook, K., Dyson, H.M., 1992. Reverse chromosome painting: a method for the rapid analysis of aberrant chromosomes in clinical cytogenetics. *J. Med. Genet.* 29, 299–307.

Děkuji za pozornost

