FN MOTOL

Fakultní nemocnice v Motole
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
Laboratoře ÚBLG
Ústav biologie a lékařské genetiky 2. LF UK a FN Motol
Přednosta: Prof. MUDr. Milan Macek, DrSc.
http://ublg.lf2.cuni.cz/

[Ü]BLG ústav biologie a lékařské genetiky

Molekulárně genetické vyšetření aneuploidií chromozomů 13, 18, 21, X a Y pomocí metody QFPCR

Kvantitativní fluorescenční polymerázová řetězová reakce (Quantitative Fluorescent Polymerase Chain Reaction; QFPCR) je speciální aplikací klasické PCR metody sloužící k namnožení definovaných úseků DNA. Své uplatnění má zejména v prenatální diagnostice chromozomálních aberací - je zaměřena na detekci numerických aneuploidií chromozomů 13 (Pataučův syndrom), 18 (Edwardsův syndrom), 21 (Downův syndrom) a pohlavních chromozomů (Turnerův syndrom, Klinefelterův syndrom, syndrom supermale a superfemale atd), které představují více než 90 % chromozomálních aberací.

QFPCR umožňuje vyloučit nebo potvrdit numerické aneuploidie vybraných chromozomů do 2 dnů, což v rámci prenatální diagnostiky představuje zásadní výhodu oproti klasické karyotypizaci plodu, která trvá zhruba 2 týdny. Metoda vyžaduje malé množství materiálu a při porovnání STR markerů plodu a matky umožní také odhalit případnou kontaminaci vzorku.

Na druhou stranu je QFPCR vyšetření svými možnostmi poněkud limitované. Oproti klasické karyotypizaci se nedokáže vyjádřit k numerickým abnormalitám jiných chromozomů, než které jsou součástí příslušného QFPCR kitu. Dalším nedostatkem je nemožnost identifikovat balancované strukturní chromozomální aberace - například inverze nebo translokace. Problémy mohou nastat rovněž s abnormalitami, které se budou vyskytovat ve formě chromozomální mozaiky. Metoda není úspěšná u některých typů polyploidií - ve vzácných případech může být neinformativní pro všechny markery na jednom nebo více chromozomech. V takovém případě je nutno použít alternativní metodu buď metodu FISH nebo úplnou karyotypizaci.

Indikační kritéria

- **vysoké riziko vrozené chromozomální aberace pro plod**
  - pozitivní I trimestrální nebo II trimestrální screening
  - vrozené vývojové vady na UZ
  - věk ženy nad 42 let
- **pokročilá gravidita** (odběr plodové vody po 21. týdnu těhotenství)

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované chromozomy
Stanovení chromozomálních aneuploidií pomocí QF-PCR soupravy Devyser Complete (CE IVD kit)	13, 18, 21, X, Y

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doba odezvy vzorků (pracovní dny)
	Běžně i STATIM
Stanovení chromozomálních aneuploidií pomocí QF-PCR soupravy Devyser Complete (CE IVD kit)	**2**

Kontaktní informace	Požadavky na vzorek	Odkazy
Oddělení lékařské molekulární genetiky ÚBLG 2. LF UK a FN Motol V Úvalu 84, Praha 5, 150 06 **Centrální příjem vzorků:** Po – Pá 7:30h – 14.30h	**Krev – 5 ml do K_3EDTA** (novorozenci 1ml, děti 1-2ml) **Plodová voda – 1-2ml** nativní buňky – sterilní zkumavka **Choriové klky – 10 mg** nativní buňky – sterilní zkumavka **Plodová voda nebo choriové klky** – kultivované buňky – sterilní zkumavka 90-100% narostlá kultura buněk v 25 cm^2 kultivační lahvičce **Izolovaná DNA - 2 - 20 ng/µl** v množství 20 - 30 µl **Vzorek označit** minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku. DNA plodu značit jednoznačně jako DNA plodu.	

Transport vzorku co nejdříve, (nejpozději do 3 hodin po odběru) ve vhodných nádobách, boxech či stojanech při obyčejné teplotě. Dlouhodobý transport vyžaduje termostabilní přepravky zamezující znehodnocení vzorku mrazem nebo teplem (chladící vložky). Žádanky uložit zvlášť do igelitových desek.