



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/>



Vyšetření pomocí fluorescenční in situ hybridizace (FISH)

Analýze chromozomů molekulárně cytogenetickou metodou FISH obvykle předchází klasické vyšetření karyotypu, jímž lze identifikovat numerické a některé rozsáhlejší strukturní odchylky chromozomů. V případě negativního nálezu, při zjištění složitější strukturní aberace, marker chromozomu nebo při podezření na nízkofrekvenční mozaiku se s přihlédnutím ke klinickému nálezu pacienta indikuje další specializované vyšetření metodou FISH pomocí fluorescenčně značených DNA sond.

FISH je možné užít i pro rychlou detekci chromozomových aneuploidií či delecí (resp. duplikací) na interfázních i metafázních buňkách.

Používány jsou sondy CEP pro satelitní DNA (centromerické oblasti), sondy LSI pro jedinečné genové regiony a sondy malovací WCP pro označení celého chromozomu. Metoda mFISH využívá WCP sondy pro všechny chromozomy. Hodnocení se provádí ve fluorescenčním mikroskopu, obvykle také s použitím speciálního software.

Vyšetření se provádí na buňkách ve fázi dělení – mitózách. V některých případech lze analýzu provést také na buněčných interfázních jádrech. Metoda FISH umožňuje diagnostiku malých chromozomálních přestaveb a verifikaci, upřesnění či doplnění výsledků zjištěných základním cytogenetickým vyšetřením (G pruhování), metodou MLPA a arrayCGH.

Metoda je mnohem citlivější než G-pruhování, ale validní výsledek zaručuje jen pro danou vyšetřovanou oblast, nikoli pro celý karyotyp.

Indikační kritéria

jsou podobná jako u vyšetření karyotypu a platí tedy, že chromozomové aberace jsou obvykle spojeny s komplexem fenotypových odchylek – mají charakter syndromů. Počet známých mikrodelečních/duplikačních syndromů kontinuálně vzrůstá, proto se zvyšují i možnosti indikací.

Postnatální vyšetření:

- Upřesnění výsledku karyotypu (marker chromozom, mozaicismus, nebalancovaná i balancovaná aberace)
- Stanovení subtelomerických přestaveb
- Mikrodeleční / duplikační syndromy - známé i nově objevené pomocí array CGH nebo z literatury

Prenatální vyšetření:

- Věk matky nad 37 (35) let
- Abnormální výsledek biochemického a ultrazvukového screeningu pro Downův syndrom a vrozené vývojové vady
- Intrauterinní růstová retardace
- Zvýšená hodnota šijového projasnění a absence nosní kosti u plodu
- Nález ultrazvukových markerů a vrozených vad u plodu
- Nosičství balancovaných aberací u rodičů
- Aneuploidie chromozomu u dítěte, resp. u plodu z předchozí gravidity

Výsledek není roven vyšetření karyotypu! Týká se pouze lokusů, komplementárních s použitými sondami.



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/>

Ústav biologie a lékařské genetiky

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované oblasti:
Centromerické sondy	Numerické hodnocení, mozaicismus, marker chromozomy
Lokusově specifické sondy	Mikrodeleční/duplikační syndromy, subtelomerické oblasti, ověřování nálezů array CGH a karyotypu
Malovací sondy	Přestavby chromozomů, marker chromozomy
mFISH, mband	Komplexní přestavby chromozomů, marker chromozomy

Doby odezvy vzorků

Materiál	Doba odezvy (kalendářní dny):	
	Běžně	Statim
Krev – venózní, pupečnicková	7 - 30	4 – 14 (podle dodání materiálu a eventuálního opakování kultivace)
Plodová voda	14 – 21 (nativ 1- 2 dny)	je vždy statim
Choriové klky	14 – 28 (nativ 1-2 dny)	je vždy statim
Placenta, tkáň z potratu	14 - 60	14 – 21 (nativ 2 dny)
Kůže, sval, ovarium a jiné tkáně	14 - 60	14 – 28
Bukální stěr	3-30	2-7
Buněčná suspenze po kultivaci, nakapané preparáty	7-30	2-7

V případě nutnosti objednat sondy může vyšetření trvat déle než jeden kalendářní měsíc.

Kontaktní informace

Oddělení lékařské cytogenetiky

ÚBLG 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84, Praha 5,
150 06

Tel. 22 44 33 562

Centrální příjem vzorků:

Po – Pá
7:30h – 14.30h

Požadavky na vzorek

Krev: 3 ml do zkumavky LiHe (novorozenci 1-2ml)**Plodová voda:** 20 ml do sterilních zkumavek nebo kultivačních lahvíček**Choriové klky:** 20 mg do kultivační lahvičky s médiem (na požádání možno vyzvednout v laboratoři)**Jiné tkáně:** množství dle možnosti, optimálně do kultivační lahvičky s médiem, eventuálně do sterilní zkumavky s fyziologickým roztokem.**Bukální sliznice:** stěry provádíme sami v rámci FN Motol; externího pacienta poslat na odběr do genetické ambulance**Suspenze kultivovaných buněk, preparáty:** po dohodě podle požadovaného vyšetření**Vzorek označit** minimálně jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku.

Odkazy

1) ISCN 2013: An International System For Human Cytogenetic Nomenclature, edit. Mittelman F., Karger S., Basel 2013

2) Fluorescence *In Situ* Hybridization (FISH)

By: Clare O'Connor, Ph.D. (Biology Department, Boston College)
© 2008 Nature Education

Transport vzorku do 30 minut od odběru ve vhodných nádobách, boxech či stojanech při obyčejné teplotě. Krev nebo solidní tkáň lze uchovat 72 hodin při teplotě +2 až +8 st.C. Dlouhodobý transport vyžaduje termostabilní přepravky zamezující znehodnocení vzorku mrazem nebo teplem (chladicí vložky). Suspenze kultivovaných buněk, preparáty: zabezpečit proti vylití či poškození, poslat poštou nebo kurýrem. Jinak uchovávat v chladu, nejlépe při -20 stupních Celsia Žádanky uložit zvlášť do igelitových desek.

Transport vzorku poštou musí vyhovět jejich požadavkům.