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/

Neurofibromatóza typ 1 (NF1, MIM 613113)

Neurofibromatóza typu 1 (NF1) je při incidenci 1:3000 živě narozených dětí jedním z nejčastěji se vyskytujících autozomálně dominantních (AD) onemocnění u člověka. Hlavní příčinou rozvoje, toho s nádorovou predispozicí spojeného onemocnění, je inaktivace tumor supresorového genu *NF1* zárodečnými mutacemi.

Cílem molekulárně genetické diagnostiky je odhalit kauzální zárodečné mutace v genu *NF1*, přičemž není doposud známá jasná korelace mezi genotypem a fenotypem onemocnění, 50% zárodečných mutací vzniká *de novo* a v genu nenacházíme místa se zvýšenou pravděpodobností výskytu mutací.
Předmětem tohoto vyšetření je nesrážlivá venózní krev, izolovaná RNA a DNA, kultivované buňky plodové vody nebo nativní choriové klky pomocí RT PCR, PCR a následné sekvenační analýzy kapilární elektroforézou

Podrobný klinický i molekulárně-genetický popis NF1:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1109/

Indikační kritéria

Molekulárně-genetické vyšetření genu *NF1* je požadováno v případě

1. pacientů s klinickými projevy neurofibromatózy

Diagnostická kritéria byla stanovena v roce 1988 a platí dosud beze změny (National Institute of Health Consensus Development Conference) – pro diagnózu je nutná přítomnost dvou nebo více z následujících příznaků (převzato z Petrák a spol., Kliniká onkologie, 2009):

a. skvrny barvy bílé kávy (u dětí pět a více skvrn o průměru rovném nebo větším než 0,5 cm; u dospělých šest a více skvrn o průměru rovném nebo větším než 1,5 cm)
b. dva a více neurofibromů jakéhokoli typu nebo jeden plexiformní neurinom
c. mnohočetné axilární nebo inguinální pihy
d. dysplázie sfenoidálního křídla nebo kongenitální ohnutí nebo ztenčení kortikální části dlouhých kostí (s nebo bez pseudoartrózy)
e. gliom optického nervu bilaterálně
f. dva nebo více Lischových nodulů (hamartomů duhovky)
g. příbuzný 1. stupně s NF1 podle těchto kritérií

2. u příbuzných pacientů s potvrzenou mutací v *NF1* genu
3. prenatální vyšetření v rodinách s potvrzenou mutací v *NF1* genu

Analytické metody

Metoda	Vyšetřované markery/oblasti:
Vyšetření neurofibromatózy typu 1 metodou RT PCR , PCR a sekvenační analýzou a následné analýzy v ABI 3130.	*NF1*gen - celá kódující oblast genu oblast 17q11.2
Vyšetření neurofibromatózy typu 1 metodou MLPA (kit P081/P082 (MRC-Holland)).	*NF1*gen - vybrané oblasti genu oblast 17q11.2

Doby odezvy vzorků

Metoda	Doba odezvy:	
	Běžně	Statim
Vyšetření neurofibromatózy typu 1 - kompletní vyšetření nového pacienta (RT-PCR, MLPA, PCR, sekvenace)	6 měsíců	6 týdnů
Vyšetření neurofibromatózy typu 1 - cílené vyšetření známe mutace v rodině (PCR nebo MLPA nebo RT-PCR dle typu mutace v rodině)	3 měsíce	10 dnů

Kontaktní informace

Oddělení lékařské molekulární genetiky
4. patro, G

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

Centrální příjem vzorků:
Po – Pá
7:30h – 14.30h

Požadavky na vzorek

V případě vyšetření prvního pacienta v rodině se vyšetření provádí z izolované RNA i DNA. Pro ověření mutace v rodině se provádí vyšetření pouze z izolované DNA.

Krev na izolaci RNA - náběr do PAXgene zkumavky (PAXgene Blood RNA Tubes)
Krev ihned po náběru 10 krát otočit, poté nechat 2 hodiny po náběru stát při teplotě místnosti (18°- 25°C). Vzorek před transportem uchovat při teplotě místnosti.

Krev na izolaci DNA – 5-10 ml do K_3EDTA, děti 1-2ml.

Kultivované buňky plodové vody nebo nativní choriové klky (10 mg).
Izolovaná DNA - 50 - 300 ng/ul a více v množství 50 ul.
Vzorek označit jménem, příjmením a rodným číslem pacienta a datem odběru vzorku. DNA plodu označit jednoznačně jako DNA plodu

Odkazy

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1109/

Transport vzorku pro izolaci DNA 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 horkem (chladicí vložky). Žádanky uložit zvlášť do igelitových desek.
Transport vzorku pro izolaci RNA nejpozději do 2 dnů krev transportovat při teplotě místnosti . V případě potřeby je možné nabranou krev po expozici 2h při teplotě místnosti uchovat v mrazáku při -20°C, potom ale transportovat zamraženou na suchém ledu do laboratoře.