

Fyzikální metody genového mapování

Metody s nízkým stupněm rozlišení

Hybridomová technika

- Základem bylo vytvoření husté sítě marker-genů v genomu.
- Hybridomové techniky jsou založené na hybridizaci 2 druhů buněk (člověk – myš) v tkáňové kultuře.
- Za vhodných podmínek vzniká buněčný hybrid, který postupující řadou dělení postupně náhodně ztrácí chromosomy lidského původu.
- Po určitém počtu dělení dojde ke stabilizaci, kdy buňky mají karyotyp z chromosomů hlodavce a několika chromosomů lidských.
- Zjišťujeme pomocí panelu klonovaných buněk; na kterých zjišťujeme přítomnost vhodného znaku, který je specifický pro lidské buňky.
- Při pozitivním výskytu znaku se provede cytogenetická analýza. Ta zjistí, které chromosomy člověka jsou v klonu přítomny.
- Gen podmiňující danou vlastnost je tedy lokalizován na určitý chromosom porovnáním přítomnosti (nepřítomnosti) znaku a přítomnosti (nepřítomnosti) určitého chromosomu na panelu buněk.
- Využívá se též k lokalizaci genu na určitém chromosomu.

FISH metoda (Fluorescence in Situ Hybridizace)

- Jedná se o lokalizaci genů pomocí technik hybridizace DNA.
- Využívá se vhodně označená sonda + preparát chromosomů:
 - proběhne denaturace DNA chromosomů v preparátu + „obarvení“ fluorescenčně značenou sondou, která se specificky fixuje na denaturovanou DNA chromosomů; **místo její lokalizace prokážeme mikroskopicky.

Metody s vysokým stupněm rozlišení

- Cíl: získání map jednotlivých chromosomů, které jsou představovány pořadím bazí jednotlivých nukleotidů.
- Využívají často materiál genomových a chromosomově specifických knihoven.
- ORF (Opening Reading Frame), používá se k vyhodnocování kódujících sekvencí = metoda otevření čtecích rámečků.
 - Principem je prohledávání databáze sekvenčních údajů na přítomnost stop-kodonů, které jsou od sebe dostatečně vzdáleny.
- Poziční klonování, využívá informace o lokalizaci genu na určité pozici některého chromosomu.
 - Pátání po funkčním genu je pak lokalizováno na omezenou část DNA v okolí této pozice.

Odkazy

Zdroj

- ŠTEFÁNEK, Jiří. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. [cit. 2009]. <<https://www.stefajir.cz/>>.