

# Mapování genomu

**Mapování genomu** je metoda, kterou získáváme co nejpřesnější představu o genových mapách. Základem mapování je zjištění **počtu chromozomů**, **polohy genů** na daných chromozomech a v jakém **pořadí** jsou geny umístěny (vzdálenost genů). Zjišťování přesné sekvence je možné pomocí metod mapování genomu a sekvenování genomu.

Jedním z hlavních úkolů **lékařské genetiky** je identifikovat geny, určit jejich funkci a odhalit změny, které **způsobují onemocnění** – nezbytným předpokladem k tomu je právě mapování genů.

K **mapování lidského genomu** jsou využívány dvě metody:

- **genetické mapování**
  - využívá frekvenci **meiotických crossing-overů** k odhadu vzdálenosti mezi lokusy
- **fyzické mapování**
  - využívá **cytogenetické a molekulárně genetické techniky** k přesné lokalizaci na chromosomu

## Mapování genomu

Počet chromozomů jsme schopni zjistit běžnými metodami cytogenetického vyšetření karyotypu. Pro stanovení pořadí a vzdáleností genů se využívá zákonů **genové vazby** a **tříbodového pokusu**.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce **Genová vazba**.*

 *Podrobnější informace naleznete na stránce **Tříbodový pokus**.*

Mezi další metody mapování patří například metoda hybridomová a mapování pomocí sond.

### Hybridomová metoda

Dříve byla využívána, v dnešní době se od ní spíše upouští. Metoda je příliš zdouhavá a vyžaduje zkušenosti.

Úspěšné pokusy byly u hybridů myší a lidských buněk. Byly vybírány myší linie s deficitem určitého enzymu, jehož funkci u potomstva zcela přebíral odpovídající lidský gen. Tito hybridé měli tendenci k **eliminaci lidských chromozomů**. Vyhodnocení probíhalo ve sledování **přítomnosti produktu daného chromozomu**. Pokud v buňce zbyl pouze jeden lidský chromozom a byl přítomen i jeho produkt, **gen byl lokalizován** právě na tento chromozom.

Touto metodou se podařilo lokalizovat genový **komplex HLA systému** člověka dle jeho antigenních produktů a translokace do distální části p-raménka chromozomu 6.

### Metoda mapování pomocí sond

Pokud známe proteinový produkt nějakého genu, můžeme vyzkoušet **molekulární sondu**. Sestavíme sekvenci nukleotidů, které kódují frekvenci zkoumaného genu a můžeme zkusit **vzájemnou hybridizaci**.

V modifikaci **DNA-RNA** je použito vlákno mRNA, označené radioaktivním izotopem. Báze označená izotopem se hybridizuje s částí DNA, kde je odpovědný strukturní gen.

## Metody sekvenování

Pro určení přesné sekvence nukleotidů v DNA byly vytvořeny Sangerova a Maxam & Gilbertova metoda. V dnešní době se více využívá metoda Sangerova.

### Sangerova metoda

Využívá speciální vlastnosti speciálních nukleotidů - 2', 3' dideoxyribonukleotidtrifosfátů (ddATP, ddCTP, ddGTP a ddTTP), na jejichž konec nemůže být navázán další nukleotid.

Namnožíme jednovláknovou DNA, přidáme DNA polymerázu, příslušné primery a dostatek deoxyribonukleotidtrifosfátů (dATP, dCTP, dGTP a dTTP) (pro syntézu) a určité množství dalšího typu dideoxyribonukleotidtrifosfátu (např. ddATP). Primery nasednou na jednovláknovou DNA a polymeráza doplňuje sekvenci druhého vlákna. Při doplňování dATP do řetězce je určitá pravděpodobnost, že doplní ddATP, jejímž zařazením **ukončí polymeraci**. Takový produkt bude končit adeninem. V případě, že bude reakce probíhat s ddCTP, ddGTP a ddTTP, získáme **směs oligonukleotidů** zakončených příslušnou bází.

Následně provedeme **elektroforézu dané směsi**. Hodnocení elektroforézy provádíme odspodu a vyhodnocujeme sekvenci DNA.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce **Polymerázová řetězová reakce**.*

## Maxam & Gilbertova

Využívá specifického **chemického štěpení DNA** za určitými nukleotidy namísto polymerační reakce. Vyhodnocení probíhá elektroforeticky, stejně jako u metody Sangerovy.

## Výsledky mapování

Pomocí znalosti přesných sekvencí jsme schopni **zjistit původ nemoci**. Gen, který dané postižení způsobuje vyřadíme z funkce **cílenou mutací**.

Z etických důvodů **nelze provádět takové pokusy na člověku!**.

## Genetické mapy

Založeny na základu vazebné analýzy. K odhadu vzdálenosti mezi dvěma lokusy je využívána **frekvence meiotických crossing-overů**.

Vzdálenost příslušných genů na chromozomu (rekombinační zlomek) vyjadřujeme pomocí **Morganova čísla**:

$$p = \frac{\text{počet rekombinantů}}{\text{počet všech}} * 100$$

Morganovo číslo vyjadřujeme v **centimorganech [cM]**.

## Fyzické mapy

Pomáhá určit *'přesné umístění genů v sekvenci DNA'*. Vzdálenosti mezi geny jsou vyjádřeny v párech bází. Tato metoda využívá technik cytogenetických a molekulárně genetických.

## Odkazy

### Související články

- Genom
- Klinická genetika

### Externí odkazy

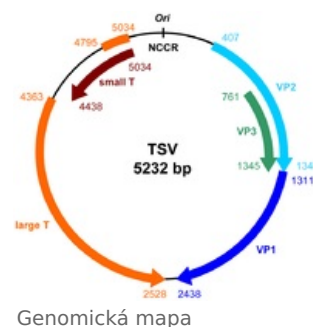
- **HUGO** - *Humane Genome Mapping Organization* (<http://www.hugo-international.org/>)
- Genetika -Biologie; Mapování genomu (<http://www.genetika-biologie.cz/mapovani-genomu>)

### Použitá literatura

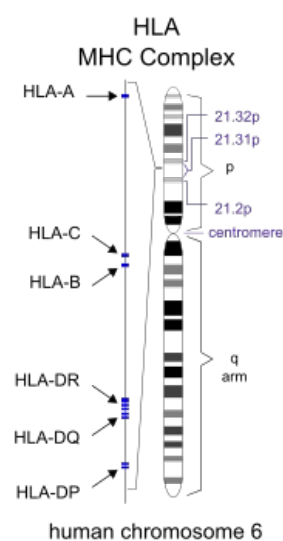
- OTOVÁ, Berta, et al. *Lékařská biologie a genetika I. díl*. 1. vydání. Praha : Karolinum, 2008. 123 s. ISBN 978-80-246-1594-3.



Sangerova metoda sekvenování,  
5'TACAGTTTCAGGA3'



Genomická mapa



Fyzická mapa HLA komplexu