



Understanding Chromosome & Gene Disorders

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (метод FISH)

rarechromo.org

Флуоресцентная гибридизация *in situ* (метод FISH)

Хромосомы

Хромосомы — это структуры, которые содержат генетическую информацию (ДНК). Она сообщает организму как развиваться и функционировать. В каждой клетке организма находится 46 хромосом, расположенных парами. Каждая такая пара имеет по одной хромосоме от родителя, располагается в порядке увеличения размера, и пронумерована от 1 до 22. В последней паре находятся половые хромосомы. У девочек две X-хромосомы (XX), а у мальчиков одна X и одна Y-хромосомы (XY). Цитогенетическое (хромосомное) исследование выявляет изменения в количестве и структуре хромосом, а также потерю (делецию) и увеличение (дупликацию) генетического материала.

Люди с такими изменениями в хромосомах могут быть подвержены риску врожденных пороков, задержки в развитии, нарушений в поведении и интеллектуальной недостаточности.

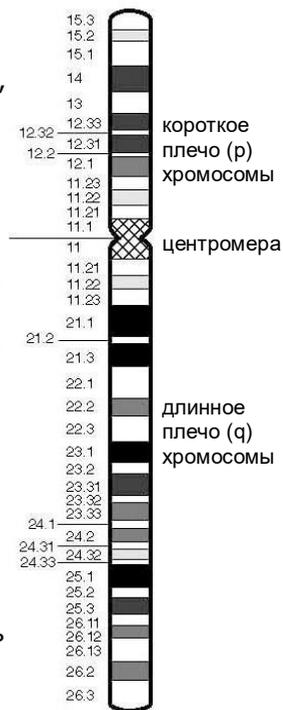
Исследование хромосомного набора человека (анализ хромосомных перестроек)

Хромосомы можно увидеть под микроскопом, если их окрасить. Они имеют короткое (p) плечо и длинное (q) плечо, скрепленные между собой структурой, которая называется центромерой. Каждая хромосома имеет четкий рисунок из светлых и темных поперечных полос (бэндов), которые пронумерованы по направлению к центромере. Справа на диаграмме показан рисунок бэндов хромосомы 10.

Специалисты по клиническим исследованиям используют микроскопический анализ для выявления изменений в форме хромосом и рисунка их бэндов. Если количество изменений достаточно велико, то во время исследования можно увидеть перестройки и дисбалансы (делеции и дупликации), которые затрагивают хромосомы или части хромосомы. Специалисты по клиническим исследованиям, которые проводят этот анализ, имеют опыт в выявлении очень маленьких и едва заметных изменений. Однако хромосомные перестройки, делеции и дупликации часто имеют очень малый размер. Соответственно, даже достаточно квалифицированным специалистам может быть сложно обнаружить их с помощью обычного хромосомного анализа. Метод FISH (флуоресцентная гибридизация *in situ*) позволяет обнаружить некоторые такие изменения.

Что такое метод FISH?

Метод FISH может быть использован для выявления маленьких делеций и дупликаций, которых не видно при микроскопическом анализе. Он также может быть использован для выявления количества хромосом определенного типа, присутствующих в каждой клетке, и для подтверждения предполагаемых перестроек после микроскопического анализа. Метод FISH применяют для изучения определенного участка хромосомы. Данный метод основан на использовании химического вещества, способного флуоресцировать на определенном участке хромосомы. Для того, что рассмотреть хромосомы ученые используют флуоресцентный микроскоп, с помощью которого можно увидеть светящиеся точки и определить их количество. У людей с делецией вместо двух светящихся точек (по одной на каждой хромосоме) видна только одна. У людей с дупликацией можно увидеть три светящиеся точки.



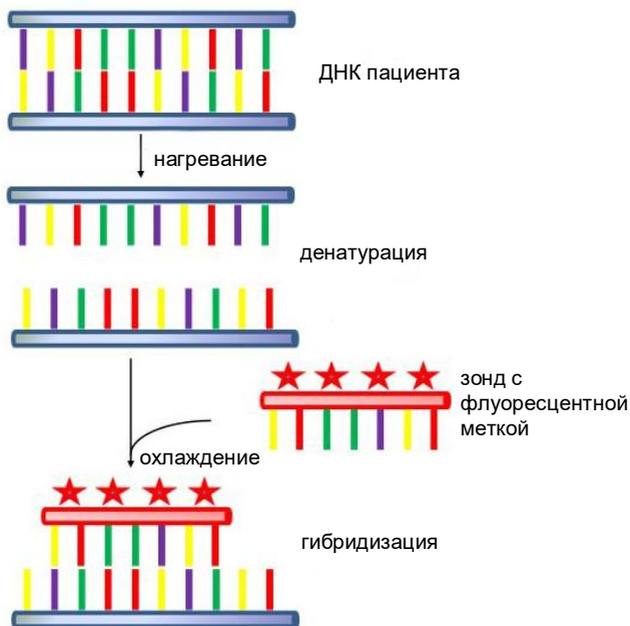
Как работает метод FISH?

Молекула ДНК в клетках представляет собой две нити. Переплетаясь, они образуют двойную спираль (см. справа). Каждая нить ДНК содержит четыре азотистых основания (А, Т, Г и С). Эти основания способны взаимодействовать друг с другом и удерживать нити ДНК вместе. Однако они могут соединяться только в том случае, если они идеально подходят или являются комплементарными к основаниям другой нити (например, А может соединяться только с Т, а С — только с G). Когда две комплементарные последовательности находят друг друга, они образуют связь, известную как гибридизация. Метод FISH основан на принципе использования способности одной нити ДНК специфически гибридизироваться с парной нитью ДНК. В методе FISH используются короткие ДНК участки (зонды), к которым прикреплена флуоресцентная метка. Зонды связываются комплементарно с тестируемыми участками хромосомы. При нагревании ДНК пациента её двойные спирали расщепляются или денатурируют, что позволяет зондам гибридизироваться с комплементарной нуклеотидной последовательностью (см. схему ниже).

При наличии небольшой делеции в участке ДНК, комплементарный ему зонд не будет гибридизован. При дупликации большая часть зонда способна гибридизироваться.



Две нити ДНК удерживаются вместе в форме двойной спирали за счет связей между парами оснований.



Обзор FISH-теста



FISH-тест на наличие делеции. В процессе исследования обычно используют два зонда; первый зонд (зеленый) является контрольным, с помощью которого можно определить наличие обеих копий исследуемой хромосомы. Этот зонд гибридизируется с последовательностью, не затронутой делецией, и поэтому сигнал можно наблюдать на каждой хромосоме. Второй зонд (красный) проходит гибридизацию с последовательностью, которая может отсутствовать. Делеция обычно наблюдается лишь в одной хромосоме из пары. Таким образом, зонд привязывается только к незатронутой хромосоме, исключая хромосому с делецией, поэтому выявляется лишь один сигнал.

Какие зонды используются?

Многие зонды для метода FISH привязываются к конкретным участкам ДНК, содержащим генетическую информацию, и обнаруживают небольшие несоответствия. Такие зонды называются локус-специфическими. Другие же зонды привязываются к центромере или к теломерам — концам плеч хромосомы. С их помощью подсчитывают количество интересующих хромосом и выявляют перестановки. Также используются зонды-красители, которые привязываются ко всей хромосоме.

Какие образцы нужны для проведения FISH-теста?

FISH-тест чаще всего проводится на образцах крови взрослых и детей. Также его проводят для пренатальной диагностики анеуплоидии (дополнительных хромосом) на образцах амниотической жидкости, полученных путем амниоцентеза, или на образцах плаценты, полученных путем биопсии ворсин хориона (БВХ). Реже этот метод используется для пренатальной диагностики делеций, для этого также используются образцы амниотической жидкости или образцы, полученные путем БВХ.

Почему вашему ребенку предлагают FISH-тест?

FISH-тест часто проводится параллельно со стандартным микроскопическим анализом, если у вашего ребенка есть признаки, которые явно указывают на определенный синдром делеции или другой синдром, для выявления которого применяется FISH-тест. Ваш генетик может рекомендовать одновременное проведение микроскопического анализа и FISH-теста или использование FISH-теста в случае нормальных результатов микроскопического анализа.

Как будет выглядеть результат FISH-теста?

Результаты, скорее всего, предоставит и подробно объяснит ваш генетик. Кроме того, вероятно, вам также придет письмо по результатам консультации. Результаты FISH-теста часто входят в общий отчет вместе с результатами микроскопического анализа. Первая строчка результатов – кариотип. Если в хромосомах ребенка нет делеций, кариотип может выглядеть подобным образом:

46,XX.ish 22q11.2(TUPLE1x2)(ARSAx2)

46	Общее количество хромосом
XX	Половые хромосомы (XX для девочек, XY для мальчиков)
ish	Анализ проведен методом флуоресцентной гибридизации <i>in situ</i> (FISH)
22	FISH-тест хромосомы 22
q11.2	FISH-тест бэнда 11.2 на длинном (q) плече хромосомы
(TUPLE1x2)	Присутствуют две копии (как и предполагалось) фрагмента ДНК (зонда), названного TUPLE
(ARSAx2)	Присутствуют две копии (как и предполагалось) фрагмента ДНК (зонда), названного ARSA2

Если есть делеция, кариотип записывается немного по-другому, как показано ниже

46,XX.ish del(22)(q11.2q11.2)(TUPLE1-)

46	Общее число хромосом
XX	Половые хромосомы (XX для девочек, XY для мальчиков)
ish	Анализ проведен методом флуоресцентной гибридизации <i>in situ</i> (FISH)
del	Делеция или отсутствие генетического материала
(22)	Делеция хромосомы 22
(q11.2q11.2)	В хромосоме обнаружены две точки разрыва, обе в бэнде 22q11.2, а также между ними отсутствует генетический материал
(TUPLE1-)	Отсутствует одна копия фрагмента ДНК (маркера), названная TUPLE

Через какое время появятся результаты?

Результаты анализа крови обычно готовы в течение 4-х недель. В приоритетном случае, например с новорожденными, результаты можно получить менее чем за 2 недели. Результаты можно получить и раньше, если до этого образец крови был взят для микроскопического анализа. Этот же образец можно использовать для анализа методом FISH.

В чём преимущества метода FISH?

- Методом FISH можно обнаружить множество небольших делеций, дупликаций и перестроек, которые не видны при стандартном микроскопическом анализе
- Диагноз, поставленный методом FISH, может позволить вашему ребенку не проходить множество других тестов

Как метод FISH может помочь?

- Вам и вашему врачу будет легче отследить проблемы со здоровьем, которые характерны для хромосомного нарушения вашего ребенка
- Метод также может помочь предположить, чего можно ожидать в будущем по мере взросления ребенка
- Кроме того, метод FISH может показать, какие именно гены затронуты делецией или дупликацией. Если какой-то ген или гены связаны с определенной особенностью или отклонением, метод FISH может помочь при лечении или наблюдении ребенка у врача
- Он также может помочь получить специализированную для вашего случая помощь
- Вы можете вступить в группу поддержки, чтобы познакомиться с другими родителями, которые сталкиваются с похожими проблемами
- Родители и другие члены семьи могут сдать FISH-тест и узнать, являются ли они носителями генных изменений, которые повышают риск рождения детей с хромосомными перестройками

Есть ли у метода FISH ограничения?

- FISH-тест обычно помогает выявить не все хромосомные изменения. Метод FISH обычно выявляет лишь конкретные делеции или дупликации на одном бэнде одной хромосомы, на которые он настроен
- FISH-зонды применимы лишь к хорошо известным синдромам делеции и дупликации хромосом. У вашего ребенка может быть небольшой дисбаланс, который невозможно обнаружить с помощью доступных сейчас стандартных FISH-тестов
- Метод FISH не всегда может точно определить, какие гены и точки разрыва вовлечены в дисбаланс
- Специалистам по клиническим исследованиям может быть трудно обнаружить дупликацию с помощью FISH-теста, так как не всегда легко увидеть дополнительные зонды

Какие еще тесты можно провести, если с помощью метода FISH не было обнаружено никаких признаков перестройки хромосом?

Если в результате микроскопического исследования и FISH-теста не будет обнаружена хромосомная перестройка, то ребенка могут направить на матричную сравнительную геномную гибридизацию (array CGH). Это исследование проверяет все изменения структуры молекулы ДНК и позволяет выявить те дисбалансы, которые невозможно обнаружить с помощью метода FISH или микроскопического исследования.

Информация и поддержка



Understanding Chromosome & Gene Disorders

Группа поддержки семей с редкими хромосомными отклонениями
The Stables, Station Rd West, Oxted, Surrey. RH8 9EE
Тел.: +44(0)1883 723356
info@rarechromo.org | www.rarechromo.org

Присоединитесь к группе *Unique*, чтобы получать дополнительную информацию, необходимую помощь и контактные данные семей с похожей историей. *Unique* — это благотворительная негосударственная организация. Финансовая поддержка осуществляется за счет пожертвований и грантов. Пожертвование можно сделать на официальном сайте: www.rarechromo.org
Помогите нам помочь вам!



Эта брошюра была составлена при поддержке компании EuroGentest

Данная брошюра не заменяет профессиональную медицинскую консультацию. По всем вопросам, касающимся здоровья, генетических отклонений, симптомов и их лечения обращайтесь к специалистам. Информация, представленная в брошюре, считается наиболее достоверной на момент публикации. Брошюра была составлена благотворительной организацией Unique и опубликована под редакцией доктора Шехла Мохаммед (Dr Shehla Mohammed) и доктора Каролайн Огилви (Dr Caroline Ogilvie) из больницы Гая, Лондон. Великобритания и профессора в области репродуктивной генетики Май Хультен (Maj Hultén), из Уорикского университета, Великобритания. 2011, 2013 Версия 2.1 (SW). 2023 Версия 2.2 (AP). Перевод выполнен в рамках Международного студенческого волонтерского проекта Unique. Куратор переводческого проекта – Наталья Викторовна Нечаева, доцент кафедры перевода РГПУ им. А. И. Герцена, Президент Ассоциации преподавателей перевода, Санкт-Петербург, Россия. Медицинскую редакцию выполнила Кожанова Татьяна Викторовна, к.м.н., врач лабораторный генетик, ГБУЗ «НПЦ специализированной медицинской помощи детям имени В.Ф. Войно-Ясенецкого ДЗМ», Москва, Россия. Russian translation 2025 (EV/AP)

Copyright © Unique 2023

Группа поддержки семей с редкими хромосомными отклонениями. Номер в реестре благотворительных организаций 1110661
Зарегистрирована в реестре компаний Англии и Уэльса 5460413