

# OBSAH

## Kapitola 1.

Úvod. _____	11
1.1. Historický vývoj cytogenetiky. _____	11

## Kapitola 2.

<b>Základy mikroskopické techniky a jiné metody používané v cytogenetice. _____</b>	<b>13</b>
2.1. Světlo a jeho fyzikální vlastnosti. _____	13
2.1.1. Čočky a jiná optická tělesa. _____	14
2.1.2. Geometrie zobrazování spojnou čočkou. _____	15
2.1.3. Hlavní vady čoček. _____	15
2.1.4. Hranoly. _____	15
2.2. Světelný (optický) mikroskop. _____	16
2.2.1. Složení světelného mikroskopu. _____	16
2.2.2. Mechanická část mikroskopu. _____	18
2.2.3. Osvětlovací zařízení. _____	18
2.2.4. Optické součásti mikroskopu. _____	18
2.2.4.1. Typy okulárů. _____	18
2.2.4.2. Typy objektivů. _____	19
2.2.4.3. Vlastnosti objektivů. _____	19
2.2.4.4. Kondenzor. _____	20
2.2.4.5. Filtry. _____	22
2.2.5. Rozlišovací schopnost světelného mikroskopu. _____	22
2.2.6. Zvětšení mikroskopu. _____	23
2.2.7. Některé typy současných mikroskopů. _____	23
2.2.8. Údržba mikroskopu. _____	23
2.2.9. Nastavení správného osvětlení mikroskopu. _____	24
2.3. Zvláštní způsoby mikroskopování. _____	25
2.3.1. Způsoby mikroskopování. _____	25
2.3.2. Fázový kontrast. _____	25
2.3.3. Fluorescenční mikroskopie. _____	26
2.3.4. Interferenční mikroskopie. _____	27
2.3.5. Zástinová mikroskopie (pozorování v šikmém osvětlení, v temném poli ). _____	27
2.3.6. Polarizační mikroskopie. _____	28
2.4. Perspektivy světelné mikroskopie a analýza obrazu. _____	28

2.5. Cytochemické a histochemické metody.	30
2.6. Imunocytochemické reakce.	30
2.7. Radioizotopové metody.	31

### **Kapitola 3.**

<b>Techniky zhotovování cytogenetických preparátů.</b>	<b>33</b>
3.1. Příprava mikroskopického skla.	33
3.2. Příprava cytogenetického preparátu.	33
3.2.1. Předpůsobení.	33
3.2.2. Odběr materiálu.	35
3.2.3. Fixace materiálu.	36
3.2.4. Způsoby zpracování fixovaného materiálu.	39
3.2.4.1. Macerace.	40
3.2.5. Barvení chromozomů.	41
3.2.5.1. Rozdělení barviv a barvicích technik.	41
3.2.5.2. Nejčastěji používané způsoby barvení chromozomů.	43
3.2.6. Uzavírání preparátů.	45
3.2.7. Popis preparátů.	46

### **Kapitola 4.**

<b>Buněčný cyklus a způsoby stanovení jeho délky.</b>	<b>47</b>
4.1. Význam buněčného cyklu.	47
4.2. Charakteristika buněčného cyklu eukaryotických buněk.	47
4.2.1. G <sub>1</sub> - fáze.	48
4.2.2. S - fáze.	48
4.2.3. G <sub>2</sub> - fáze.	48
4.2.4. Cytokineze.	48
4.3. Variace v délce buněčného cyklu.	49
4.4. Regulace buněčného cyklu.	49
4.5. Vliv poškození DNA na buněčný cyklus.	51
4.6. Synchronizace buněk.	52
4.7. Metody stanovení délky buněčného cyklu.	53
4.7.1. Metody autoradiografické.	53
4.7.2. Metody kolchicinové.	55
4.7.3. Metody fotometrické.	57

## Kapitola 5.

<b>Mitóza a meióza.</b>	<b>58</b>
5.1.1. Význam mitózy.	58
5.1.2. Regulace mitózy.	58
5.1.3. Fáze mitózy a jejich význam.	59
5.1.3.1. Profáze.	60
5.1.3.2. Metafáze.	60
5.1.3.3. Anafáze.	60
5.1.3.4. Telofáze.	61
5.1.4. Mitotický aparát.	61
5.1.4.1. Mikrotubuly.	62
5.1.4.2. Funkce mikrotubulů v mitotickém vřeténku.	63
5.1.4.3. Kinetochory a jejich význam.	63
5.1.5. Mechanismus pohybu chromozomů v metafázi.	63
5.1.6. Mechanismus anafázního rozestupu chromozomů.	64
5.1.7. Podmínky správné segregace chromozomů.	64
5.1.8. Poruchy mitózy a jejich genetické důsledky.	65
5.2.1. Význam meiózy.	67
5.2.2. Obsah DNA v buňkách během meiózy.	67
5.2.3. Genetická regulace meiózy.	68
5.2.4. Stádia meiózy.	68
5.2.4.1. Premeiotická interfáze.	68
5.2.4.2. Profáze I.	68
5.2.4.3. Synaptonemální komplex.	68
5.2.4.4. Metafáze I.	71
5.2.4.5. Anafáze I.	71
5.2.4.6. Telofáze I.	71
5.2.4.7. II. Meiotické dělení.	72
5.2.5. Poruchy meiózy a jejich genetické důsledky.	72
5.2.6. Produkty meiózy z hlediska gametogeneze.	73

## Kapitola 6.

<b>Submikroskopická a mikroskopická struktura chromozomů.</b>	<b>74</b>
6.1. Submikroskopická struktura chromozomů.	74
6.2. Histony.	75
6.3. Proteiny nehistonové povahy.	75
6.4. Organizace DNA v chromozomech eukaryotických buněk.	76

6.4.1. Nukleozomy - první úroveň organizace chromatinu. _____	76
6.4.2. Solenoid - 30 nm vlákno - druhá úroveň organizace chromatinu. _____	76
6.4.3. Radiální smyčky - třetí úroveň organizace chromozomů. _____	76
6.5. Mikroskopická struktura chromozomů a jejich morfologie. _____	78
6.5.1. Telomery. _____	78
6.5.2. Centromera. _____	79
6.5.3. Oblast organizátoru jádérka. _____	81
6.5.4. Perichromozomová vrstva. _____	82
6.6. Organizace chromatinu v interfázním jádře. _____	82

## **Kapitola 7.**

<b>Metody podélné diferenciacie chromozomů. _____</b>	<b>84</b>
7.1. Morfometrická identifikace chromozomů. _____	84
7.2. Přehled pruhovacích metod. _____	85
7.2.1. Q - pruhování (Q - banding), QFQ technika. _____	86
7.2.2. G - pruhování (G - banding), GTG - technika. _____	87
7.2.3. R - pruhování (R - banding). _____	88
7.2.4. C - pruhování (C - banding). _____	89
7.2.5. N - pruhování (N - banding). _____	89
7.2.6. Barvení stříbrem (AgNO <sub>3</sub> ) - silver staining. _____	89
7.2.7. G11 - pruhování. _____	90
7.2.8. Cd - pruhování. _____	90
7.2.9. Pruhování pomocí restrikčních endonukleáz. _____	90
7.2.10. Zvýrazňující přebarvovací techniky (counter staining). _____	90
7.2.11. Replikační pruhování (pruhování zprostředkované inkorporací BrdU do DNA). _____	91
7.2.12. D - pruhování _____	91
7.2.13. HRT - technika vysoké rozlišovací schopnosti (high resolution technique). _____	91
7.3. Organizace genomu a vlastnosti chromozomových pruhů. _____	92
7.4. Evoluce pruhování chromozomů. _____	93
7.5. Metody pruhování rostlinných chromozomů. _____	93
7.6. Polymorfismus chromozomů. _____	94
7.7. Sestavování karyotypů a idiogramů. _____	94

## **Kapitola 8.**

<b>Změny ve struktuře chromozomů. _____</b>	<b>98</b>
---	-----------

8.1. Genové, chromozomové a genomové mutace. _____	98
8.2. Vznik chromozomových (strukturních) aberací. _____	99
8.3. Klastogeny a jejich působení. _____	99
8.3.1. Fyzikální klastogeny. _____	99
8.3.2. Chemické klastogeny. _____	101
8.3.3. Biologické klastogeny. _____	101
8.4. Rozdělení klastogenů podle závislosti účinku na fázi buněčného cyklu. _____	102
8.5. Schopnost mutagenů indukovat genové a chromozomové mutace. _____	103
8.6. Přeměna lézí DNA indukovaných klastogeny na léze vedoucí ke vzniku chromozomových aberací. _____	103
8.7. Molekulární mechanismus vzniku chromozomových aberací. _____	104
8.8. Nenáhodná distribuce indukovaných chromozomových aberací. _____	107
8.9. Klasifikace strukturních chromozomových aberací. _____	108
8.10. Jednotlivé typy strukturních chromozomových aberací a jejich genetický význam. _____	109
8.10.1. Delece. _____	109
8.10.2. Duplikace. _____	110
8.10.3. Inverze. _____	110
8.10.4. Inzerce. _____	111
8.10.5. Translokace. _____	111
8.11. Dědičnost chromozomových a chromatidových aberací. _____	111
8.12. Detekce chromozomových aberací. _____	112
8.12.1. Chromozomové aberace pozorovatelné v metafázi. _____	112
8.12.2. Chromozomové aberace pozorovatelné v anafázi. _____	113

## **Kapitola 9.**

<b>Využití cytogenetických metod při testování genotoxicity. _____</b>	<b>115</b>
9.1. Úloha cytogenetiky v genetické toxikologii. _____	115
9.2. Používané cytogenetické testy. _____	116
9.2.1. Analýza získaných chromozomových aberací v lidských periferních lymfocytech (CAPL). _____	117
9.2.1.1. Cytogenetická technika používaná při analýze získaných chromozomových aberací z lidských periferních lymfocytů. _____	118
9.2.1.2. Hodnocení získaných chromozomových aberací. _____	119
9.2.1.3. Některé další organismy používané pro detekci chromozomových aberací. _____	119
9.2.2. Mikrojaderný test. _____	120
9.2.2.1. Zásady hodnocení mikrojader. _____	122
9.2.2.2. Varianta mikrojaderného testu s cytochalasinem B. _____	122

9.2.3. Analýza sesterských chromatidových výměn (SCE).	122
9.2.3.1. Princip detekce SCE a jejich vizualizace po inkorporaci BrdU do DNA.	123
9.2.3.2. Mechanismus vzniku SCE.	125
9.2.3.3. Některé modely vzniku SCE.	125
9.2.4. Test na indukci aneuploidii.	126
9.2.5. Test na přenosné translokace	126
9.2.6. Asociace satelitních chromozomů.	127
9.2.7. Předčasná kondenzace chromozomů (PCC).	127
9.3. Vztah mezi poškozením chromozomů, mutagenními a karcinogenními účinky.	127

## **Kapitola 10.**

<b>Úvod do cytogenetiky nádorových buněk (onkocytogenetiky).</b>	<b>129</b>
10.1. Historie onkocytogenetiky.	129
10.2. Vznik nádorů a chromozomové změny.	129
10.2.1. Onkogeny a antionkogeny.	130
10.3. Cytogenetické nálezy v nádorových buňkách.	130
10.4. Rozdělení cytogenetických změn pozorovaných v nádorových buňkách.	132
10.5. Nejčastější chromozomové změny nádorových buněk.	132
10.6. Význam molekulární cytogenetiky v onkocytogenetice.	136

## **Kapitola 11.**

<b>Molekulární cytogenetika.</b>	<b>137</b>
11.1. Hybridizace <i>in situ</i> .	137
11.1.1. Příprava a značení sond.	137
11.1.2. Typy DNA sond.	139
11.1.3. Detekce sond.	141
11.1.3.1. Radioaktivní hybridizace <i>in situ</i> .	141
11.1.3.2. Neradioaktivní hybridizace <i>in situ</i> .	141
11.1.4. Metoda fluorescenční hybridizace <i>in situ</i> .	142
11.1.5. Využití hybridizace <i>in situ</i> .	144
11.1.6. PRINS technika.	146
11.1.7. Technika komparativní genomové hybridizace (CGH).	146
11.1.8. Identifikace chromozomových změn pomocí multisonďového systému.	147
11.1.9. Vícebarevná FISH.	147
11.2. Průtokové karyotypování a třídění chromozomů.	149
11.3. Mikrodisekce chromozomů.	150

## Kapitola 12.

<b>Standardizovaný systém nomenklatury lidských chromozomů.</b>	<b>151</b>
12.1. Řazení lidských chromozomů v karyotypu.	152
12.2. Klasifikace lidských chromozomů obarvených pruhovacími technikami.	153
12.3. Mezinárodní systém pro lidskou cytogenetickou nomenklaturu.	153
12.3.1. Základní pravidla značení karyotypů a strukturních i numerických abnormalit podle ISCN.	156
12.3.2. Označování numerických chromozomových abnormalit.	156
12.3.3. Označování strukturních chromozomových abnormalit.	157
12.3.4. Bližší specifikace některých strukturních přestaveb chromozomů.	157
12.3.5. Neurčitost při označování chromozomů či alternativní interpretace.	159
12.3.6. Pravidla označování karyotypů s vícenásobnými abnormalitami.	160
12.4. Mezinárodní systém označování lidských chromozomů vyšetřovaných pomocí techniky <i>in situ</i> hybridizace.	160
12.4.1. Používané symboly a zkratky.	160
12.4.2. Pravidla označování karyotypů při použití techniky ISH.	161
12.4.3. Příklady použití ISCN nomenklatury pro techniku ISH.	161
<b>Použitá a doporučená literatura.</b>	<b>163</b>