

# Hibridizáció



***Molekuláris morfológiai módszerek:***

azon eljárások, amelyekkel a DNS-struktúra, s ezáltal a genetikai kód változásait mikroszkópos morfológiai módszerekkel azonosítjuk/vizualizáljuk.

- fluoreszcencia in situ hibridizáció (FISH),
- komparatív genomiális hibridizáció (CGH).



### ***In situ hibridizációs technikák:***

Ezekkel a módszerekkel sejtek és szövetek (köztük tumorok) kromoszomális szintű vizsgálata valósítható meg.

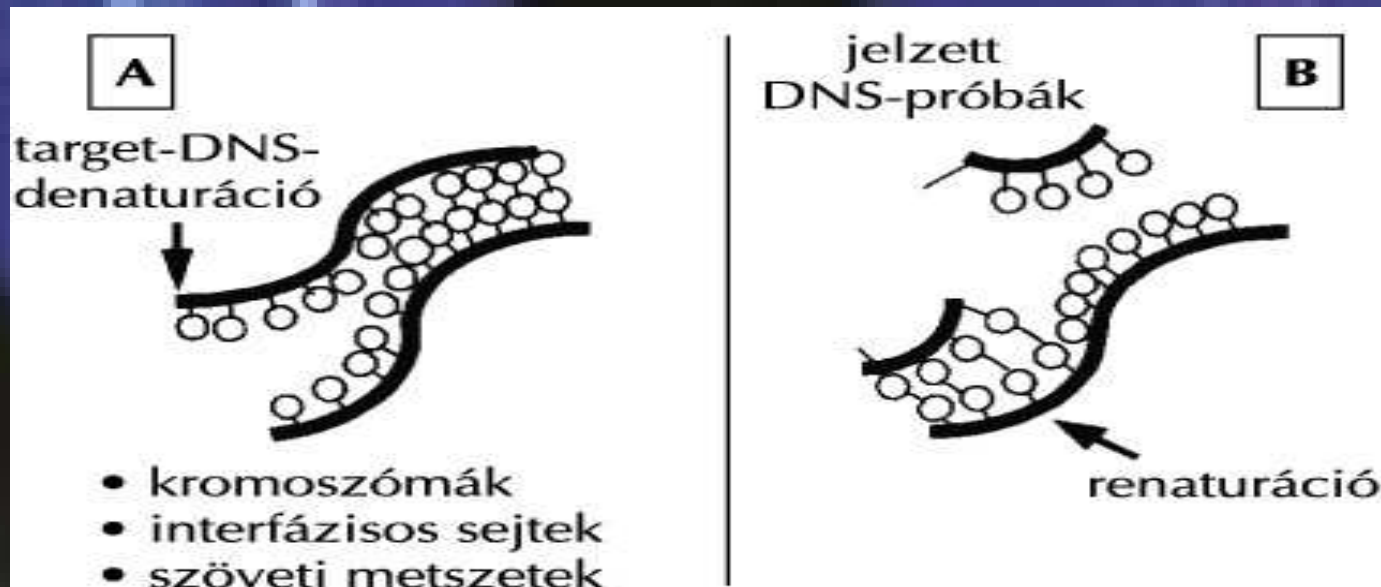
### ***Előnyei:***

- ✓ akár egy (de legfeljebb néhány) nap,
- ✓ nincs szükség arra a sejteket mesterséges körülmények között tenyésztenénk/manipulálnánk, és így az eredeti genetikai eltéréseket esetleg megváltoztatnánk,
- ✓ genetikai betegségek terápiát követő monitorozás is lehetséges
- ✓ környezeti hatások által indukált kromoszomális eltérések gyors kimutatására.

## Fluoreszcencia in situ hibridizáció:

### FISH alapja:

- A dupla szálú DNS-molekula megfelelő denaturálási hőmérsékleten egyszálúvá alakul át.
- A denaturált target-DNS az ugyancsak denaturált, kémiaiailag módosított DNS-próbával a renaturációs hőmérsékleten hibridizálódik. A fluoreszcensen jelzett, hibridizálódott DNS-próba, s ezáltal az általa jelzett normál- vagy károsodott DNS-szakasz a mikroszkóp alatt láthatóvá válik.



## ***DNS próbák / target DNS / DNS-szonda:***

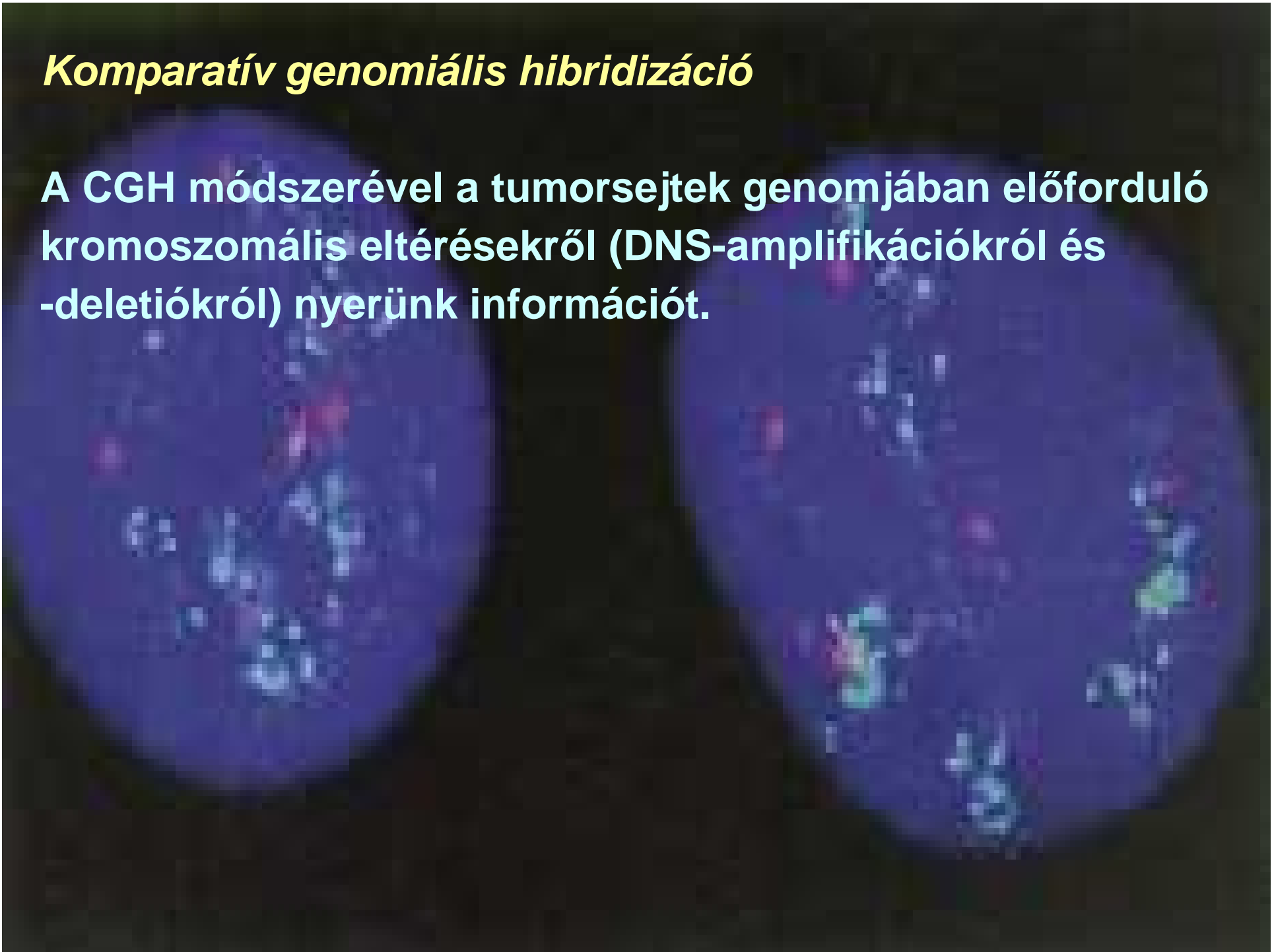
- a genom egy-egy kis szakaszát jelenítik meg.
- nemcsak tárgylemezre fixált kromoszómapreparátum lehet, de interfázisban lévő sejtek magjai, vagy akár szöveti metszetekben lévő sejtek magjai is.
- jelzése fluoreszcensen módosított dUTP-vel történik, jelzetlen dNTP-k, DNA-áz I- és polimeráz I-enzimek jelenlétében, megfelelő reakciókörülmények biztosítása mellett.

## ***Alkalmazásai:***

- a kromoszomális rendellenességek kimutatása,
- géntérképezés,
- genetikai betegségek diagnózisa,
- radioaktív sugárzás által előidézett genetikai károsodások kimutatásáa,
- kromatin organizációjának és struktúrájának tanulmányozása.

## ***Komparatív genomiális hibridizáció***

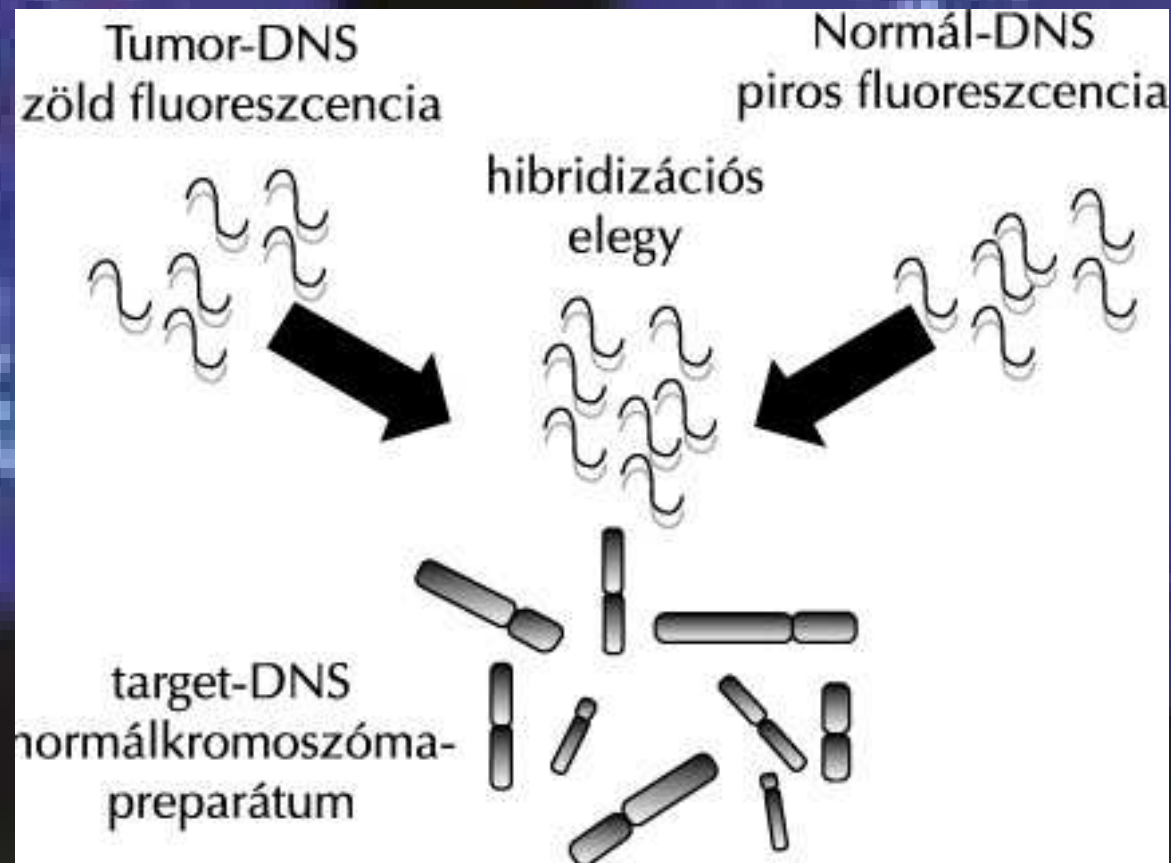
**A CGH módszerével a tumorsejtek genomjában előforduló kromoszomális eltérésekről (DNS-amplifikációkról és -deletiókról) nyerünk információt.**



- a kísérleti körülmények a FISH-hez hasonlóak,
- a jelzett DNS-próbákat a tumoros és normális sejtek teljes genomiális DNS-ei helyettesítik,
- a normális sejtekből származó genomiális DNS referencia DNS-ként szolgál,
- target-DNS minden esetben nem tumoros egyéntől származó, tárgylemezen fixált kromoszóma-preparátum.



A tumorszövetből származó DNS-t zölden fluoreszkáló festékekkel, míg a normális sejtekből származó DNS-t pirosan fluoreszkáló festékekkel jelöljük meg. Ezt követően a jelzett DNS-ek 1:1 arányú keverékét, a FISH-hez hasonlóan, a normális kromoszómákat tartalmazó preparátumra hibridizáljuk.



**A renaturáció során a fluoreszcensen jelzett normál- és tumor-DNS-fragmentek mennyiségüktől függő mértékben a normálkromoszómákhoz hibridizálódnak.**

**Ahol az adott DNS-szakaszon:**

- **normál- és tumor-DNS között nincs genetikai különbség: narancssárga (piros+zöld) fluoreszcencia,**
- **tumor-DNS-ben a normál-DNS-hez viszonyítva DNS-többlet van: erős zöld fluoreszcencia,**
- **a tumor-DNS-ben lévő hiány: piros fluoreszcencia.**

