

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**.*

