VIDENSKAB OG PRAKSIS | STATUSARTIKEL

Molekylær karyotypering

Dansk Selskab for Medicinsk Genetik

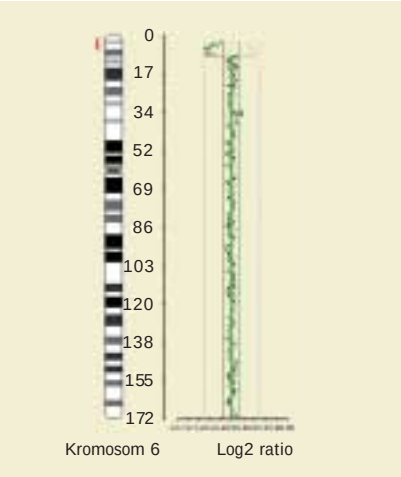
Molekylærbiolog Søren Pedersen, molekylærbiolog Lillian G. Jensen & ledende overlæge Peter K.A. Jensen

Undersøgelser, der omfatter hele genomet på en gang, foretages traditionelt med kromosomanalyser og forudsætter adgang til levende, mitotisk aktive celler. Et supplement til den klassiske kromosomanalyse er komparativ genomisk hybridisering (CGH), der giver en øget resolution. CGH udføres traditionelt ved anvendelse af almindelige kromosompræparater, hvortil der hybridiseres med differentielt opmærket genomisk DNA fra patienten og en rask kontrolperson. CGH-metoden kan derfor kun påvise kvantitative ændringer f.eks. deletioner og duplikationer. Resolutionen er imidlertid optisk begrænset af, at analysen er baseret på mikroskopiske billeder af metafasekromosomer.

Den nye *array*-baserede CGH-metode er en videreudvikling af denne metode med den centrale ændring, at metafasekromosomerne er erstattet af DNA-mikro-*arrays*. I forbindelse med genomiske analyser anvendes der ofte *bacterial arteficial chromosome* (BAC)-kloner som *array*-materiale. Disse BAC-kloner anvendes også i det Humane Genom Projekt, hvor DNA-sekvensen hos mennesket er fastlagt. Den eksakte fysiske lokalisation og DNA-sekvensen af det humane DNA i den enkelte BAC-klon kendes derfor.

Array-komparativ genomisk hybridisering

Påvisning af kvantitative genomiske forandringer ved hjælp af mikro-*array*-teknologi udføres nu på rutinebasis i Danmark i klinisk genetisk regi. Hermed er der opnået en række vigtige forbedringer i forhold til de metoder, der hidtil har været tilgængelige: 1) højere opløsning – langt mindre forandringer kan påvises, 2) præcis kortlægning af påviste forandringer og 3) stort udviklingspotentiale.



Figur 1. En terminal kromosom 6p-deletion er påvist ved hjælp af *array*-komparativ genomisk hybridisering. Den mest terminale BAC-klon der begynder i DNA-base-position 90.997 og den sidste BAC-klon, der er inkluderet i deletionen, er i slutbase-position 6.217.514, deletionen er derfor på ~ 6,1 Mb. De resterende 155 BAC-kloner viser alle normal log2-transformeret ratio.

Højere resolution

I det nuværende *set up* anvendes et BAC-klonsæt på 3.500 kloner. Disse er udvalgt, så de dækker det humane genom med en gennemsnitlig afstand på 1 mio. baser (1 Mb) mellem de enkelte kloner, hvilket giver en øgning af resolutionen på 5-10 gange i forhold til de kromosombaserede metoder.

Denne øgede resolution og den deraf afledte diagnostiske forbedring med *array*-CGH er dokumenteret i flere publikationer, bl.a. ved undersøgelse af mentalt retarderede patienter med dysmorfe træk, hos hvem der tidligere med kromosomanalyse er fundet normal karyotype. Blandt sådanne patienter er der påvist kvantitative genomændringer hos 15-25% med *array*-CGH analyser [1].

Præcis kortlægning

De kvantitative genomændringer, der påvises med *array*-CGH-analyser, kortlægges i forhold til BAC-klonernes kendte genomiske (kromosomale) positioner. Ud over denne væsentlige forbedring af præcisionen, forbedrer det også mulighederne for opbygningen af databaser. Et eksempel på sådan en database er DECIPHER, der integrerer array-CGH-data og kliniske patientbeskrivelser.

Udviklingsmulighederne

I sin grundopbygning har array-CGH-analysen en mulighed for øgning af resolutionen ved at øge antallet af array-kloner. En alternativ mulighed, der allerede arbejdes med, er anvendelsen af korte, syntetisk fremstillede DNA-fragmenter (oligonukleotider), hvormed analysens detaljeringsgrad kan øges yderligere. Analysens potentiale for automatiseringer gør array-CGH til en væsentlig konkurrent til de nuværende kromosomanalyser [2].

Korrespondance: *Søren Pedersen*, Klinisk Genetisk Afdeling, Århus Sygehus, Århus Universitetshospital, DK-8000 Århus C. E-mail: soped@as.aaa.dk

Interessekonflikter: ingen angivet

Litteratur

1. Shaw-Smith C, Redon R, Rickmann L et al. Microarray base comparative genomic hybridisation (array-CGH) detects submicroscopic chromosomal deletions and duplications in patients with learning disability/mental retardation and dysmorphic features. J Med Genet 2004;41:241-8.
2. Rickman L, Fiegler H, Carter NP et al. Prenatal diagnosis by array-CGH. Eur J Med Genet 2005;48:232-40.