

Mi történik a genetikai laboratóriumban?

A brossúra elkészítéséhez segítséget nyújtottak: Dr Ian M Frayling, Orvosi Genetikai Intézet (Institute of Medical Genetics), Walesi Egyetemi Klinika (University Hospital of Wales), Cardiff, UK; Dr Domenico Coviello, Orvosi Genetikai Laboratórium (Laboratory of Medical Genetics), Fondazione IRCCS, Milánó, Olaszország; és a Genetikai Érdekcsoport (Genetic Interest Group), UK.

Fordította Dr. Karcagi Veronika PhD, humángenetikus
Országos Környezetegészségügyi Intézet, Molekuláris Genetikai és
Diagnosztikai Osztály
1097 Budapest, Gyáli út 2-6.
Tel: 1-4761362, email: karcagi.veronika@oki.antsz.hu

2009. augusztus

A munkát támogatta az EuroGentest, az EU-FP6 NoE programja által támogatott szerződés keretében; szerződés szám 512148.

Az illusztrációkat készítette:
Rebecca J Kent
www.rebeccajkent.com
rebecca@rebeccajkent.com



Tájékoztató a betegek és családtagjaik számára

Mi történik a genetikai laboratóriumban?

A következőkben vázoljuk, hogy mi a genetikai laborba beküldött minta sorsa. A fő pontok, amelyeket tárgyalunk, a következők:

- a genetikai tesztek elvégzésének különböző módjai,
- egyes vizsgálatok miért vesznek hosszú időt igénybe, míg másokat gyorsan elvégeznek,
- egyes esetekben miért nem tudnak eredményt mondani.

A genetikai tesztek részletes információit elolvashatja a „**Mi a genetikai vizsgálat?**” című brossúrában.

Mi a genetikai teszt?

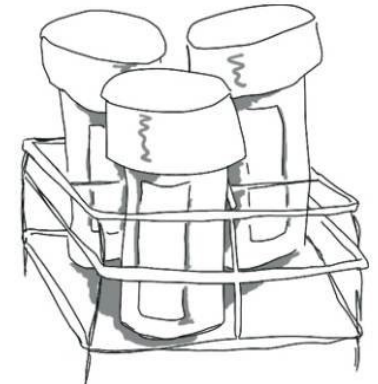
A genetikai tesztek többsége a DNS-t vizsgálja, azt a sejtjeinkben található anyagot, amely a szervezetünket utasítja, hogyan növekedjen, fejlődjön és működjön. A DNS kódüzenei génekbe szerveződő utasítások sorozatából áll. Az ember mintegy 30.000 génjének felcsavarodott szerkezeti elemei a kromoszómák. A kromoszómákat szüleinktől örököljük, 23 kromoszómánk anyai és 23 kromoszómánk apai eredetű, tehát két 23 tagból álló kromoszómakészlettel, azaz 23 pár kromoszómával rendelkezünk. Ha a genetikára úgy tekintünk, mint életünk írott könyvére, akkor a DNS képviseli a betűket, a gének a könyv szavai, és a kromoszómák a fejezetek.



DNS mintákat ill. a kromoszóma preparátumokat. A laboratóriumok készséggel informálják a beteget a DNS minta sorsáról, és kérésre bármikor meg is semmisítik azt, vagy megküldik a betegnek. A beteg hozzájárulása nélkül semmilyen további vizsgálathoz nem használják a mintákat.

Mivel rendszeresen fejlesztenek új tesztek, a laborok a tárolt mintákat tovább vizsgálhatják (ha pl. az eredetileg alkalmazott módszerrel nem kaptak eredményt). Ilyenkor mind a beteget, mind a szakorvost értesítik az új vizsgálat lehetőségéről. Gyakran anonimizált mintákat használnak az új eljárások kidolgozásához, esetleg megosztják a mintákat más laborokkal a minőségbiztosítási körvizsgálat során, hacsak a beteg nem kéri, hogy a mintáját ilyen célokra ne használják. Mint minden más tárolt információ, a DNS minta is része a beteg leleteinek, ezért az orvosi titoktartás rá is vonatkozik. Ez azt jelenti, hogy csak a megfelelő egészségügyi szakember férhet a mintákhoz.

Néhány embert nyugtalanít, hogy a rendőrség hozzáférhet DNS mintájukhoz. Ez csak kivételesen ritka esetekben fordulhat elő. A labor csak bírósági végzés felmutatásával bocsáthatja a mintát (akárcsak a beteg többi leletét) a rendőrség rendelkezésére.



megbízható eredményhez attól függően, hogy milyen nagy a vizsgálendő gén, és milyen a laboratórium felszereltsége.

A Duchenne izomdisztrófia esetében például a betegségért felelős disztrófin gén az eddig ismert legnagyobb méretű gén. A lehetséges mutációk ezreivel kell számolni, ezért a családra jellemző mutációt megtalálni igen hosszú időt igénylő, munkaigényes feladat. Ezzel szemben, a Huntington betegség esetében, a huntingtin gén mutációi mindig ugyanabban a szűk régióban fordulnak elő. Ezért pontosan tudják a mutáció helyét, így a teszt egyszerű, és jóval gyorsabb.

A DNS minősége is lényeges tényező. Előfordul, hogy labornak egy elhunyt személy DNS mintáját kell megvizsgálnia, hogy egy adott mutációra fény derüljön. Ha az elhunyt DNS mintája rossz minőségű, a vizsgálatokhoz szükséges idő megkétszereződhet, megháromszorozódhat. Néha a kevés DNS minta miatt a vizsgálatok el sem végezhetők.

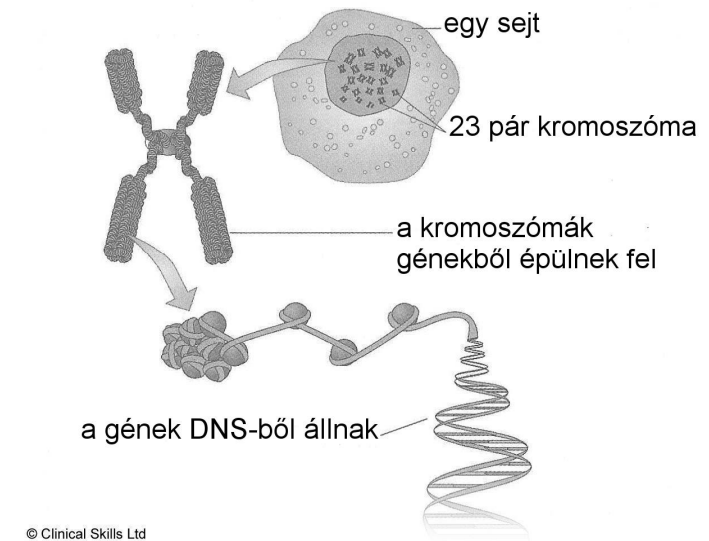
Lehet-e rossz az eredmény?

Miután a a genetikai vizsgálatok a beteg és a család számára fontos következményekkel járnak, nagyon körültekintően kell eljárni. Számos lépést végeznek el, hogy a helyes eredményt biztosítsák. Ha mutációt találnak, az eredményt ellenőrzéssel hitelesítik (bár a méréseket műszerek végzik, szakember mindig ellenőrzi az eredményeket). Sokszor más eljárással felülvizsgálják a kapott eredményeket, ezt hívják „keresztellenőrzésnek”. Különböző eljárásokkal kizárják azt is, hogy a minták esetleg összekeveredjenek. Sok laboratórium tagja továbbá a minőségbiztosítási rendszernek, amelynek segítségével jó minőségű, megbízható munkát végeznek.

Mi történik a vizsgálatok elvégzése után a mintámmal?

Hacsak a beteg nem kéri külön, hogy mintáját a vizsgálatok elvégzése után semmisítsék meg, a laboratóriumok tárolják a

1. ábra: Gének, kromoszómák és a DNS



A kromoszómákban vagy génekben bekövetkezett változások a mutációk. A mutációra úgy tekinthetünk, mint egy helyesírási hibára vagy a mondat értelmét megváltoztató szócserék sorozatára. A mutáció hatása hasznos, káros vagy közömbös lehet. Ez környezeti tényezőktől függ, a véletlentől vagy más génekben bekövetkezett változásoktól. A mutáció problémákat okozhat, amennyiben a gén vagy a kromoszóma a szervezet helyes működéséhez szükséges utasításokat leállítja. A genetikai tesztek célja, hogy megtalálják a génben vagy kromoszómában előforduló mutációt. A tesztekhez vér- vagy esetenként más eredetű mintákat használnak. (Néha nyálmintát vesznek a DNS kinyeréséhez. Elegendő mennyiségű és jó minőségű DNS mintához azonban a vérmintát részesítik előnyben.) A betegtől levett mintát laboratóriumba küldik, hogy ott a géneket vagy kromoszómákat megvizsgálhassák.

A genetikai klinikák/intézetek általában saját genetikai laboratóriummal rendelkeznek. Azonban olyan sok genetikai rendellenesség létezik, amelyhez genetikai tesztek

kapcsolódnak, hogy nem minden labor végzi el az összes genetikai vizsgálatot. Ez különösen a ritka genetikai betegségekre igaz. Ilyenkor a mintát esetleg más laborba küldik vizsgálatra, ahol elvégzik azokat a genetikai tesztek, amelyeket a szakorvos kért tőlük.

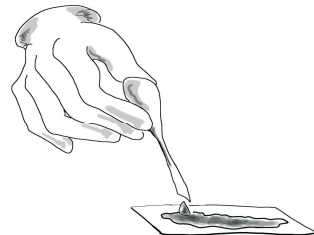
Ne feledjük, hogy a genetikai teszt csak arra a rendellenességre ad választ, amelyre azt célzottan elvégezték. Nem létezik ugyanis minden genetikai betegség felderítésére szolgáló általános vizsgálat. Az intézetben elvégzett genetikai vizsgálat a beteg és családja egészségi állapotáról ad felvilágosítást. Más céllal nem végeznek vizsgálatokat, így pl. apasági vizsgálatot sem végeznek, bár az eredményekből sokszor ez is megállapítható.

Genetikai laboratóriumok

A genetikai laborokat két fő csoportba sorolhatjuk. Egyik csoport a géneket, másik csoport a kromoszómákat vizsgálja.

1) Citogenetika

Ha a szakorvos szerint a genetikai betegséget kromoszóma rendellenesség okozza, akkor citogenetikai labort kér fel a vizsgálatok elvégzésére. Vérből, bőrből vagy a magzatvízből ill. chorion boholy biopsziából (CVS) nyert mintákat használnak a vizsgálathoz. Először sejtenyésztet hoznak létre. A sejteket tárgylemezre helyezik, és a kromoszómákat megfestik, hogy jól láthatóak legyenek.



A labor mindig ki tudja mutatni a mutációt?

Bizonyos alkalmakkor a probléma feltáró teszt elvégzésekor nem találják a mutációt.

Ennek számos oka lehet:

- Gyakran a vizsgálatok a leggyakoribb mutációkra terjednek ki. Ha a betegnek ettől eltérő mutációja van, akkor előfordulhat, hogy a labor nem tudja kimutatni azt.
- A tudósok még nem találták meg az összes génmutációt, ami a betegség kialakulásához vezet.
- A betegnek nem az a betegsége, amit feltételeznek, ezért nem a megfelelő gént vizsgálják.
- Tudnunk kell, hogy a genetikai analízisek technikája és a genetika tudománya gyorsan fejlődik, ezért elképzelhető, hogy bár Önnél nem találtak mutációt, de később a kutatók kimutatnak eddig nem ismert mutációkat, amelyek betegséget okoznak.

Miért tart az egyik génvizsgálat nagyon hosszú ideig, míg a másik kevés időt igényel?

Ha a labor pontosan tudja, hogy milyen mutációt keres, mert a családban már előfordult a betegség, vagy mert a labor tudja, hogy a gén mely szakaszát kell vizsgálni, akkor a feladat viszonylag könnyű. A vizsgálat ebben az esetben egy-két hetet vesz igénybe.

Ha azonban a családban előzőleg nem találtak mutációt, vagy több gén kapcsolódik ugyanazon betegséghez, akkor több munkára van szükség. A gén egy adott területére történő fókuszálás helyett a labornak az egész gént, esetleg több gént is meg kell vizsgálnia. Ilyenkor akár hónapokra is szükség van a

káros, előnyös vagy semleges?

Mindenekelőtt kulcsfontosságú, hogy a klinikai genetikus megvizsgálja a beteget, megismerje a beteg családfáját, rokonait, valamint hogy áttanulmányozza a beteg máshonnan származó leleteit. Ezekből következtethet arra, hogy melyik gén vagy kromoszóma vizsgálatát kérje. Így például, ha a vizsgálatai alapján cisztás fibrózisra gyanakszik, mert a beteg ennek a rendellenességnek a tüneteit mutatja, családjában már előfordult a betegség, akkor erre a betegségre kéri a genetikai vizsgálatot. Megküldi az összes lényegi információt a betegről és a családjáról, és megrendeli a mutációs tesztet cisztás fibrózisra. Ha a labor olyan mutációt talál, amelyről tudják, hogy a cisztás fibrózis betegséget okoz, akkor megállapítják, hogy a betegnek ez a genetikai rendellenessége.

Néha egy gyermekben olyan betegség lép fel, amelyre jellemző mutációt egyik szülő sem mutatja. Ebben az esetben a megfogant gyermekben lépett fel először a betegséget okozó mutáció. Ezt a latinból átvett „de novo” vagy „új” mutációnak nevezzük.

Bizonyos esetekben a labor nem tudja megállapítani, hogy a mutáció okoz-e betegséget. Ez akkor fordulhat elő, ha a DNS kód változása csekély mértékű. Ezt úgynevezett besorolatlan variánsoknak hívják és azonosításuk minden résztvevőt frusztrálhat. Nagyon fontos, hogy a labor ne jelentse ki egy mutációról, hogy az betegséget okoz, ha ez nem igaz, mert így félrevezető diagnózist állíthat fel.

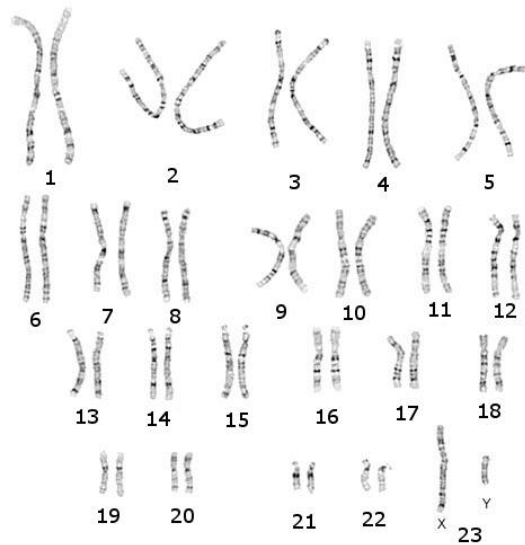


2. ábra: Hogyan láthatók a kromoszómák mikroszkóppal



A citogenetikus először a kromoszómaszámot ellenőrzi. Egyes esetekben a betegséget a kromoszómaszám növekedése okozza. Egyik közismert példája a Down szindróma. Az ebben a betegségben szenvedők egyik kromoszómájából több kópia van jelen a sejtekben. A citogenetikusok ezután a kromoszómaszerkezetet vizsgálják. A kromoszómaszerkezetben változás következik be, ha a kromoszóma karja letörik, és máshová kapcsolódik. Ekkor az egyik kromoszóma anyagában hiány, egy másikban pedig többlet keletkezik. A változások gyakran alig észrevehetők, ezért Fluoreszcens In-Situ Hibridizációs (FISH) módszert alkalmaznak, hogy megállapíthassák a változásokat, amelyek túl kicsik ahhoz, hogy mikroszkóppal észrevehetőek legyenek, illetve a mikroszkóppal észlelt változásokat ellenőrzik.

3. ábra: Sorrendbe állított kromoszómák: a kariotípus.



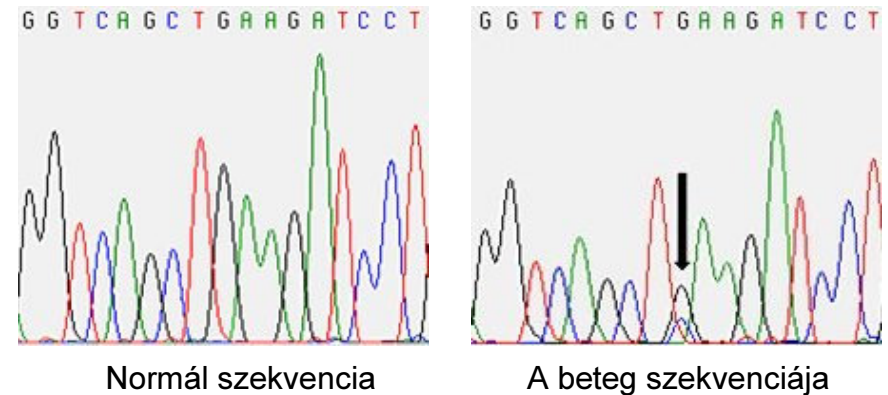
A citogenetikai vizsgálat gyakran hosszadalmas folyamat. A laborban először sejtenyészetet hoznak létre, amely legalább egy hetet vesz igénybe. A metszetek előkészítése, a mikroszkópos kromoszóma analízis újabb egy hetet igényel.

2) Molekuláris genetika

Ha a szakember szerint a genetikai betegséget génmutáció okozza, akkor molekuláris genetikai laboratóriumot kér fel a kérdéses gén DNS-ének vizsgálatára. A DNS-ben található kódokat négy betű variációja hordozza: A, C, G, T. A vizsgált gén egymást követő genetikai kódjának, szekvenciájának vizsgálatával kiderítik, hogy van-e, ha úgy tetszik, helyesírási hiba a kérdéses gén kódjában. Egy gén akár 10.000 vagy még több, DNS kódot alkotó betűt foglal magába. A szakember feladata, hogy megtalálja a kódban a hibát. Ha az itt található változás az oka, hogy a gén hibás utasítást ad a szervezetnek, akkor ez genetikai betegséget okoz.

A kromoszómáktól eltérően, a DNS nem látható mikroszkóppal. A molekuláris genetikus kivonja a sejtől a DNS-t, amelynek kémiai reakciói segítségével a kérdéses gén kódját leolvassa. Sok technika áll rendelkezésre a mutáció megállapítására. A DNS szekvenálás az egyik leggyakrabban használt módszer.

4. ábra: DNS szekvenálás: Vegye észre a különbséget!



Az ábrán egy rövid kódrészlet látható. A színes ábrán látható, hogy a DNS kód minden betűjét más szín képviseli. A baloldalon látható a normál szekvencia, míg a jobboldalon a hibás. A baloldali képen minden „betűhöz” egy csúcs tartozik, a jobboldalon azonban egy pozícióban két csúcs jelentkezik, a G (fekete) és a C (kék). Megállapítható, hogy ezen a ponton mutáció következett be a kromoszómápar egyikén.

Hogy állapítja meg a labor, hogy egy mutáció káros-e?

Ez egy központi kérdés. A genetikai laborok úgy tartják, hogy „mutációt bárki találhat, de nem mindenki tudja az eredményt értékelni”. A mutációk eltérő súlyosságú betegséget okozhatnak, és a mutáció hatásának megállapítása megkívánja a betegség, a gén, a kromoszóma szakszerű ismeretét, és a részletekre való odafigyelést. Tehát hogyan állapítják meg, hogy egy mutáció