

Submikroskoopilised kromosoomiaberratsioonid (DNA koopiaarvu muutused)

Geneetika ja personaalmeditsiini kliinik, laboratoorse geneetika osakond, tsütogeneetika labor, tel. 731 9496, molekulaardiagnostika labor, tel. 731 9489
www.kliinikum.ee/geneetika

Submikroskoopiline kromosoomianalüüs on meetod, millega saab tuvastada balansseerimata muutusi kromosoomides (deletsioone ja duplikatsioone), mis on nii väikesed, et tavalisel kromosoomianalüüsil (G-vöödistus) mikroskoobis nähtavad ei ole. Ka väikese hulga geneetilise materjali (DNA) kadu või lisandumine võib põhjustada neuroloogilisi ja psühhiaatrilisi haigusi, vaimset ja füüsilist arengupeatust, kaasasündinud anomaaliaid. Meetod, mis aitab tuvastada selliseid submikroskoopilisi kromosoomiaberratsioone (väikseid deletsioone ja duplikatsioone ehk DNA koopiaarvu muutusi), on kromosomaalne mikrokiip ehk tsütokiip.

Hetkel on meil kasutusel Illumina Human CytoSNP-12 kiip, mis võimaldab analüüsida korraga 12 patsienti. Määratakse polümorfsete nukleotiidide (SNP – *Single Nucleotide Polymorphism*) hulka teatud positsioonis. Kiibil testitavad SNP-d katavad kogu genoomi (kõik kromosoomid), aga mitte ühtlase tihedusega. Paremini on kaetud geenirikkad regioonid, kuid kordusjärjestustega regioonides (nt tsentromeerid) testitavaid SNP-sid ei ole. Selline ülesehitus annab kiibi üldiseks lahutusvõimeks 60 kB ehk 60 000 aluspaari. Võrdluseks – karütüübianalüüsil on nähtavad muutused alates 7–10 miljonist aluspaarist (7–10 Mb).

Paljud tsütokiibil leitud koopiaarvu muutused on liigitatavad normaalse polümorfismi alla, kuid kui kadu või lisandumine sisaldab haiguspõhjuslikke ja doositundlikke geene, siis võib muutusel olla ka kliiniline tähendus. Praeguseks on kirjeldatud ligi sada erinevat mikrodeletsiooni ja mikroduplikatsiooni sündroomi. Duplikatsiooni leidmise korral on vajalikud lisaanalüüsid (kas G-vöödistus või FISH), et selgitada, kus lisandunud materjal paikneb.

Lisaks koopiaarvu muutustele saab tsütokiibi abil määrata *de novo* (uustekkelise, mitte päritud) aberratsiooni päritolu. Sellisel juhul on vajalik analüüsida ka vanemate DNA-d. Samuti on võimalik näha geneetiliselt identseid piirkondi genoomis, mis võivad olla põhjustatud kas vanemate suguluse, UPD (uniparentaalne disoomia) või kasvajate korral heterosügootsuse kao tõttu.

Kui submikroskoopilise kromosoomianalüüsi käigus leitakse suhteliselt väike muutus, on vajalik see kinnitada teise meetodiga. Leidude kinnitamiseks sobib kas FISH (*fluorescence in situ hybridization*) analüüs või mõni molekulaarne meetod (nt MLPA). Lisaks leiu kinnitamisele on pärilikkuse määramiseks vajalik ka vanemate analüüs.

Samuti on võimalik tsütokiibil tuvastada somaatilisi mosaiikseid muutusi luuüdis, veres või värskes kasvajakoes nii hematoloogiliste kasvajate kui soliidtuumorite korral.

Tasakaalustatud ümberkorraldusi (translokatsioone, inversioone ja insertsioone) selle meetodiga tuvastada ei ole võimalik.

Uuritav materjal, selle võtmine, saatmine ja säilitamine

Analüüsiks sobivad erinevad materjalid, millest eraldatakse DNA. Materjal saata molekulaardiagnostika või tsütogeneetika laborisse. Vt. ka: DNA eraldamine

Postnataalne uuring

Proovinõu	Veri: K2E/K3E-katsuti (lilla kork) või LH-katsuti (roheline musta rõngaga kork) Nahabiopsia: steriilne proovitops, füsioloogilise lahuse või söötmega
-----------	--

Analüüsitav kogus	1–2 mL verd
Säilivus	Veri saata kohe molekulaardiagnostika laborisse, nahabiopsia tsütogeneetika laborisse. Ei säilitata!

NB! Kui patsiendi DNA on laboris juba varasemate analüüside tõttu olemas, on seda võimalik kasutada ja uut materjali võtta pole vaja. Tellimisel tuleb märkida proovimaterjali taaskasutus. Vajadusel kontakteeruda molekulaardiagnostika laboriga.

Prenataalne uuring

Proovinõu	Lootevesi: steriilne proovitops Koorionibiopsia: steriilne proovitops transportsöötmega (saab laborist) Koetükid: steriilne proovinõu PBS-ga Peetunud raseduse materjal
Analüüsitav kogus	10 mL lootevett
Säilivus	Proovimaterjal saata kohe tsütogeneetika laborisse, vajadusel võib säilitada +4 °C juures ühe päeva

NB! Muutuste tõlgendamiseks võib olla vajalik ka vanemate DNA analüüs.

Kasvajate uuringud

Proovinõu	Luuüdi: LH-katsuti (roheline musta rõngaga kork) või K2E/K3E-katsuti (lilla kork) Veri: LH-katsuti (roheline musta rõngaga kork) või K2E/K3E-katsuti (lilla kork) Koetükid: steriilne proovitops
Analüüsitav kogus	1–2 mL verd või luuüdi; külmutatud või värske koematerjal vastavalt võimalusele
Säilivus	Proovimaterjal saata kohe molekulaardiagnostika või tsütogeneetika laborisse, vajadusel võib säilitada +4 °C juures ühe päeva

Analüüsi tegemise aeg: üks kord nädalas, analüüsisükkel vältab kolm järjestikust tööpäeva, millele järgneb andmete töötlus ja tulemuste analüüs.

Tulemuse väljastamiseni kulub kuni kolm nädalat alates analüüsi registreerimisest laboris. Vajadusel kontakteeruda tsütogeneetika ja/või molekulaardiagnostika laboriga.

Analüüsimeetod: HumanCytoSNP-12 v2-1-kiip (lahutuvus ~60 kb) ja Genome Studio v2011.1 tarkvara (Illumina Inc), QuantiSNP (MyBioSoftware) ja/või BlueFuse Multi (Illumina Inc) 4.4. Antud meetodikaga ei ole võimalik tuvastada madala taseme mosaiiksust (alla 10%), tasakaalustatud struktuurimuutusi genoomis ja muutusi, mis jäävad kiibi lahutuvuse tasemest allapoole.

Vastuse vorm

Vastus vormistatakse valemina vastavalt ISCN 2020 juhendile. Valemis on kirjas koopiaarvu muutus ja täpne lokalisatsioon (kromosoomivöödi tähistus ja nukleotiidide kohanumbrid). Valemile järgneb leiu tõlgendus vabas vormis. Raporteeritakse ainult need muutused, mis võivad omada või omavad kliinilist tähendust.

Näidustus ja kliiniline tähendus

Näidustuseks on:

- 1) ebaselge etioloogiaga vaimse ja/või füüsilise arengu mahajäämus või peetus;
- 2) autism või autismilaadsed käitumishäired;
- 3) kaasasündinud hulgiväärarengud;
- 4) ultraheliuuringul leitud loote väärareng;

- 5) karüotüübianalüüsil leitud muutuse täpsustamine;
- 6) diagnostiliste ja prognostiliste koopiarvu muutuste tuvastamine erinevate kasvajate korral;
- 7) balansseerimata muutuste tuvastamine, kui karüotüpeerimine pole õnnestunud

Konstitutsionaalsete koopiarvu muutuste avastamise korral on patsiendile/perele vajalik meditsiinigeneetiku konsultatsioon.

Somaatiliste koopiarvu muutuste avastamise korral otsustab edasise tegevuse analüüsi tellinud arst.

Submikroskoopiline analüüs ei anna teavet balansseeritud struktuursete ümberkorralduste kohta genoomis.

Kati Kuuse/Pille Tammur

Muudetud 24.10.2023