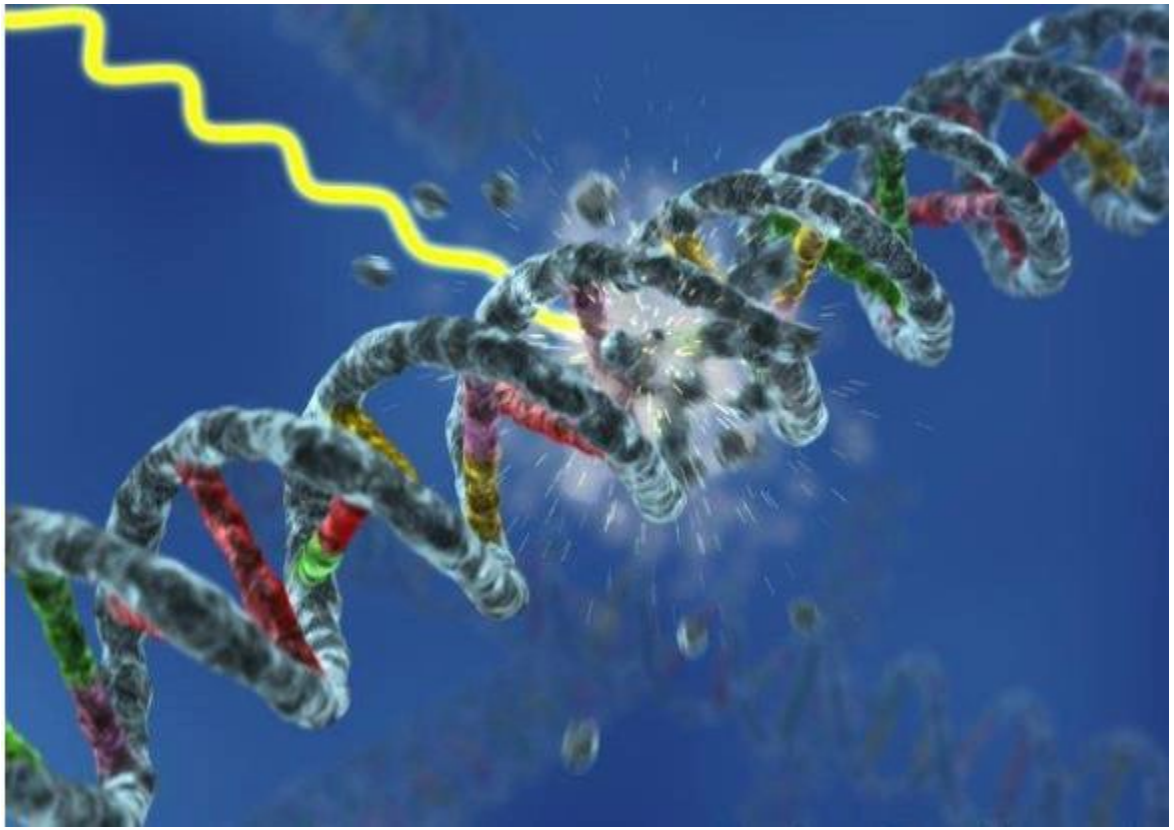


Djelovanje zračenje na stanice i makromolekule

Metode za utvrđivanje učinaka zračenja

Prof. dr. sc. Vesna Benković
Zavod za animalnu fiziologiju
Biološki odsjek
Prirodoslovno-matematički fakultet

Učinak zračenja na makromolekule



Promjene u staničnom metabolizmu i funkciji nakon ozračivanja

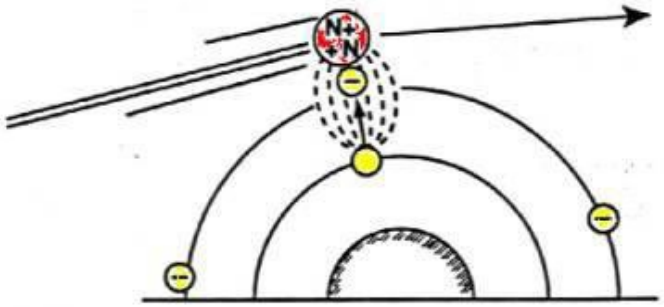
- **kočenje mititičkog ciklusa: mitoza može biti odgođena ili inhibirana.**
- **poremećaj u staničnom rastu: stanični rast može biti zaustavljen, uobičajeno nakon perioda latencije.**
- **promjene u permeabilnosti membrana: povećana ili smanjena**

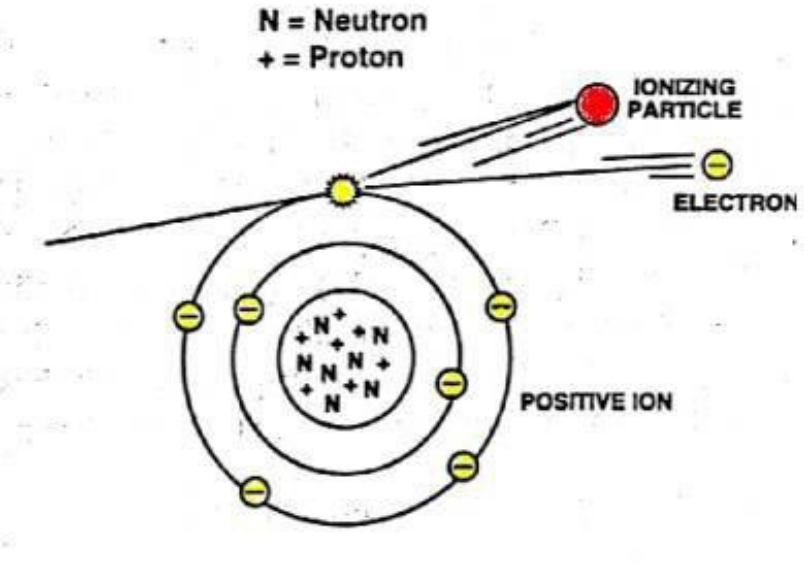
  Oksidacija lipidnih molekula – promjene u dvosloju

  Oštećenja proteinskih dijelova membrane – promjene funkcija ionskih kanala i pumpi

- **promjene u pokretljivosti stanica: nakon zračenja može biti smanjena**

Učinak ionizirajućeg zračenja na razini atoma

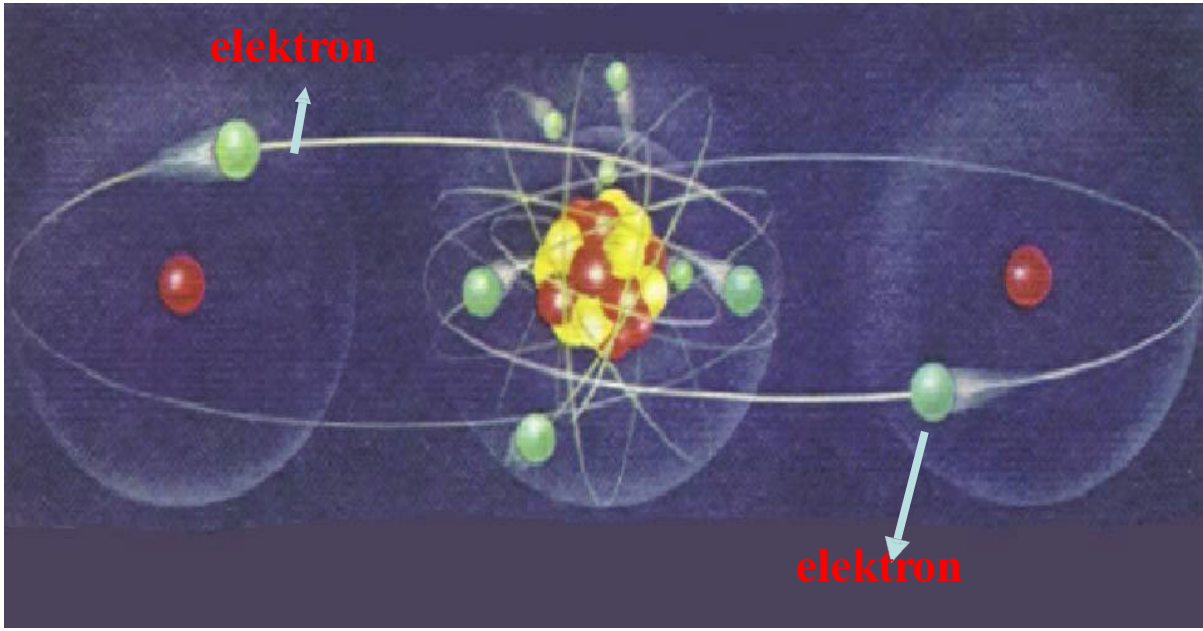




Ekscitacija

Ionizacija

Radioliza H_2O



$$H_2O + h\nu \rightarrow H_2O^+ + e^-$$

$$H_2O + h\nu \rightarrow H_2O^* \rightarrow H^o + HO^o$$

$$H_2O + e^- \rightarrow e^- \rightarrow H^o + HO^-$$

$$H_2O + e^- \rightarrow H_2O^* \rightarrow H^o + OH^o$$

$$H_2O \rightarrow H^+ + OH^o$$

$$e^- + H^+ \rightarrow H^o$$

$$H_2O^+ + OH^- \rightarrow H_2O + OH^o$$

$$H_2O^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH^o$$

$$H_3O^+ + e^- \rightarrow H_2O + H^o$$

Učinak kisika na stvaranje slobodnih radikala

Kisik može modificirati reakciju omogućujući stvaranje drugih vrsta slobodnih radikala s većom stabilnošću i dužim životnim vijekom

$H^0 + O_2 \rightarrow HO_2^0$ (hidroperoksilni slobodni radikal)

$R^0 + O_2 \rightarrow RO_2^0$ (organski peroksi slobodniradikal)

$$H^0 + OH^0 \rightarrow H_2O$$

$$H^0 + H^0 \rightarrow H_2$$

$$OH^0 + OH^0 \rightarrow H_2O_2$$

$$RH + OH^0 \rightarrow R^0 + H_2O$$

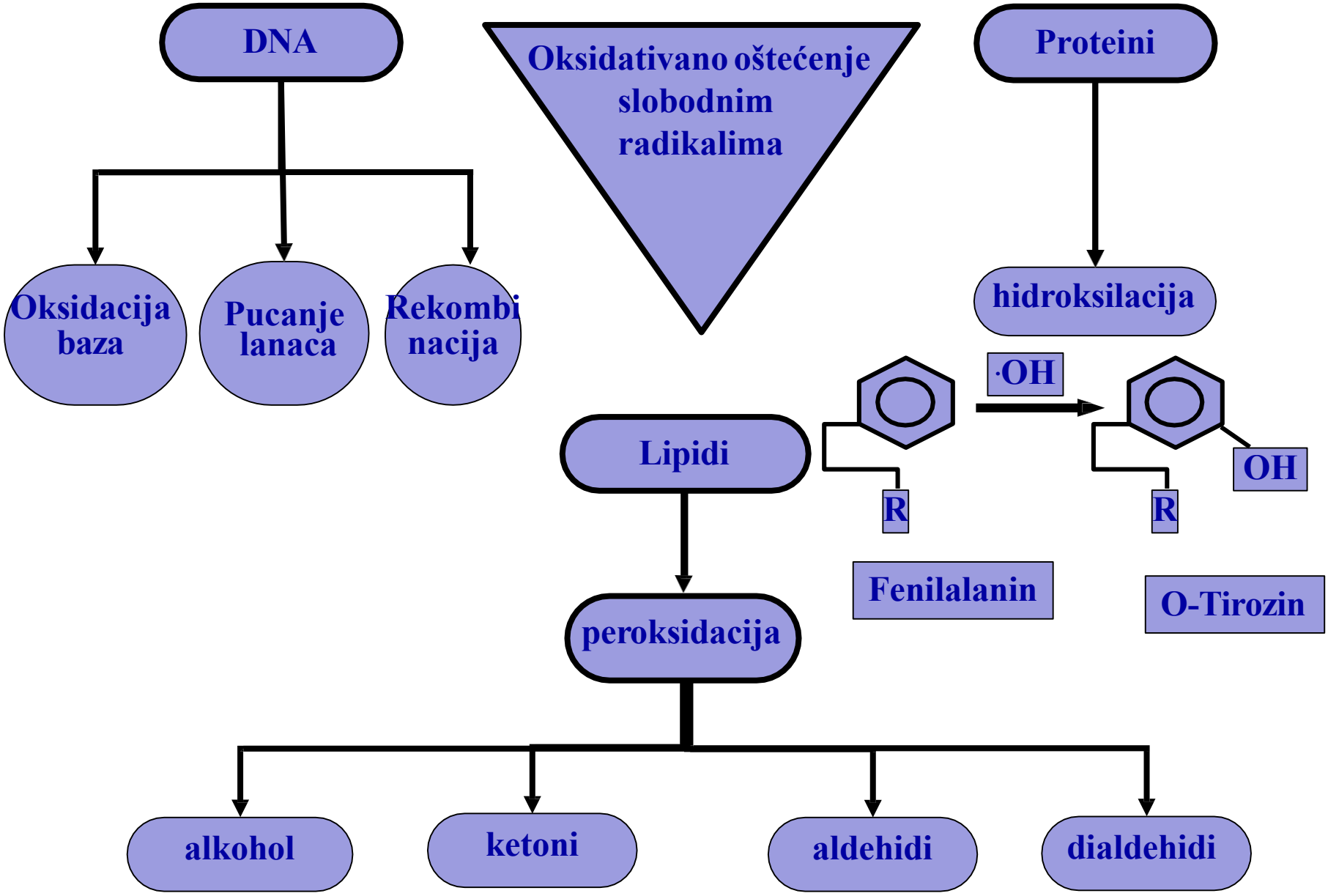
$$RH + H^0 \rightarrow R^0 + H_2$$

$$R^0 + OH \rightarrow ROH$$

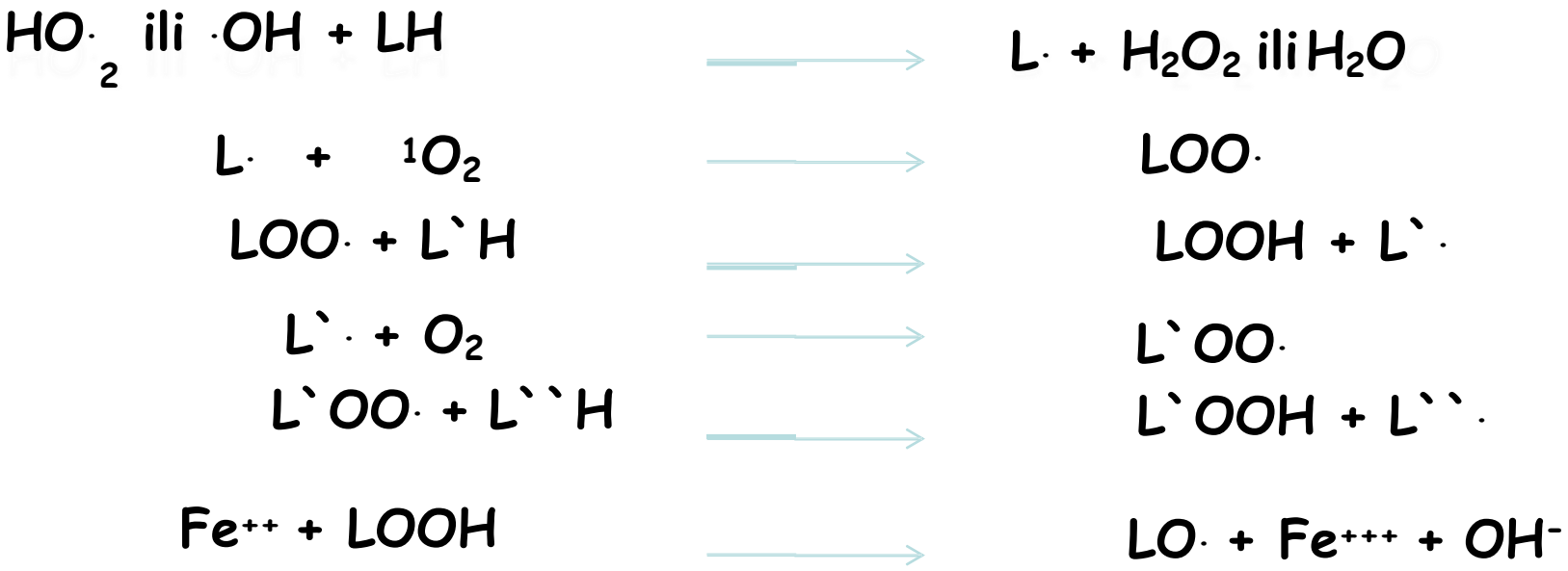
$$R^0 + H \rightarrow RH$$

$$R^0 + O_2 \rightarrow ROO^0$$

$$ROO^0 + RH \rightarrow ROOH + R^0$$

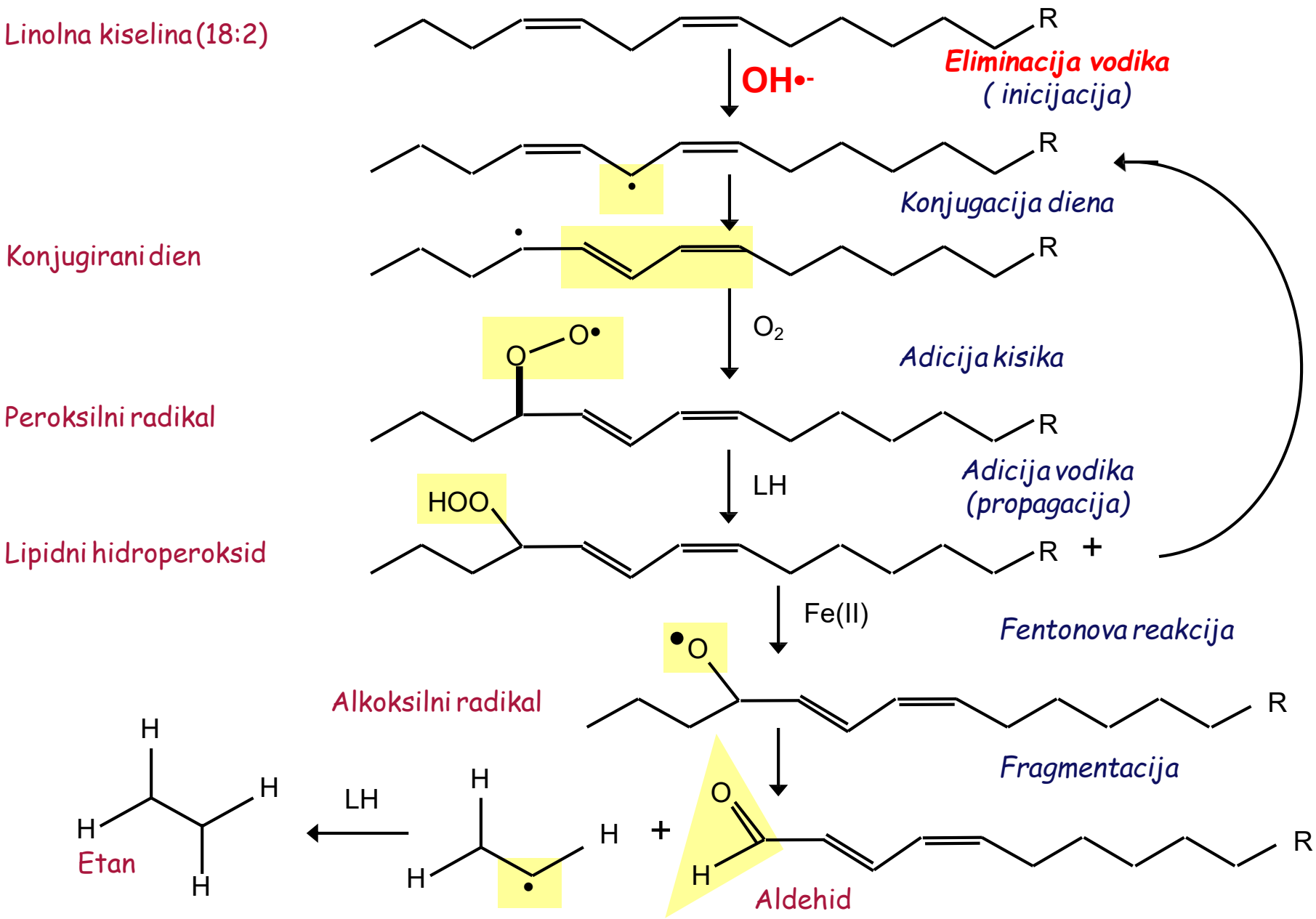

DNA
Oksidativano oštećenje slobodnim radikalima
Proteini
Oksidacija baza
Pucanje lanaca
Rekombinacija
hidroksilacija
·OH
Lipidi
R
R
OH
Fenilalanin
O-Tirozin
peroksidacija
alkohol
ketoni
aldehidi
dialdehidi

Lipidna peroksidacija – oksidacija lipidnih dijelova membrana (višestruko nezasićene masne kiseline)

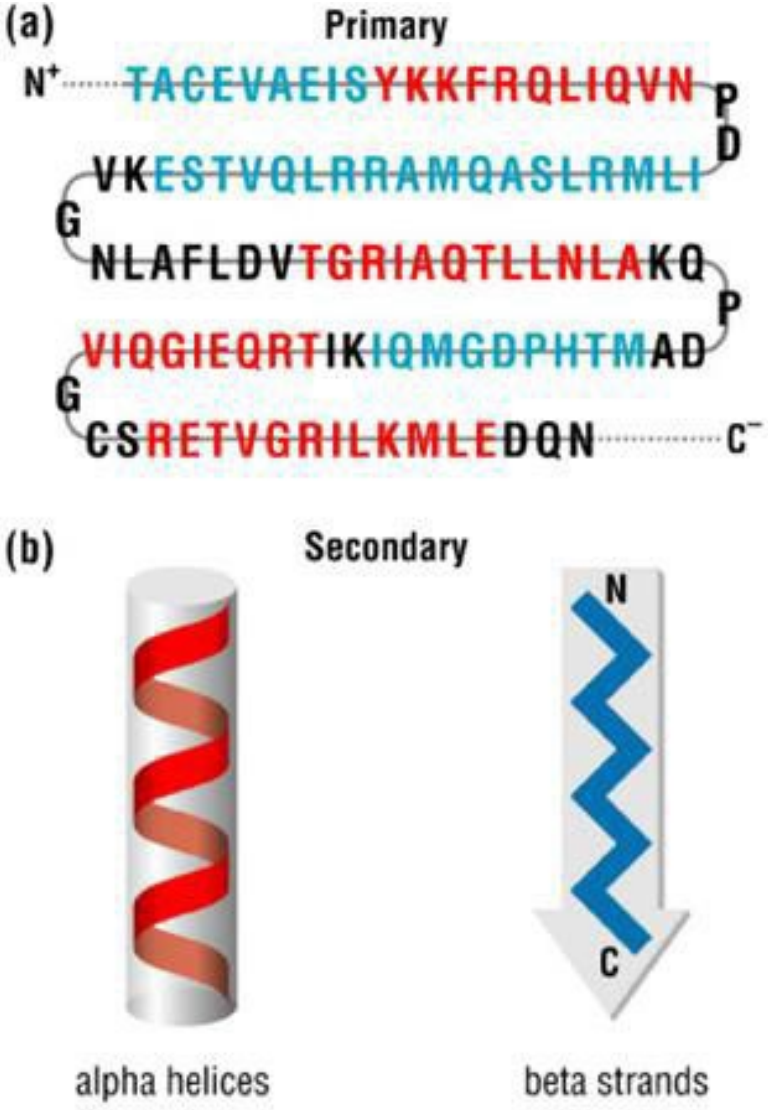


Markeri lipidne peroksidacije:

malondialdehid (MDA), konjugirani dieni, 4-hidroksinonenal (HNE), izoprostani

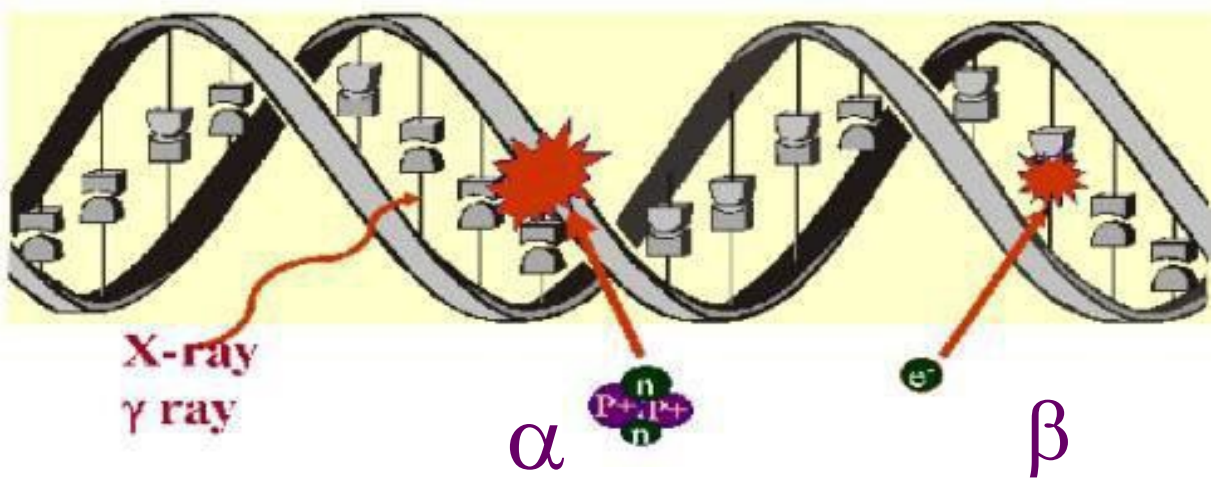

Linolna kiselina (18:2)
R
OH•-
Eliminacija vodika
(inicijacija)
R
Konjugacija diena
Konjugirani dien
R
O2
O
O•
Adicija kisika
Peroksilni radikal
R
LH
Adicija vodika
(propagacija)
HOO
Lipidni hidroperoksid
R +
Fe(II)
Fentonova reakcija
•O
Alkoksilni radikal
R
Fragmentacija
H
H
H
Etan
LH
H
H
H
+
O
H
R
Aldehid

Narušavanje strukture proteina

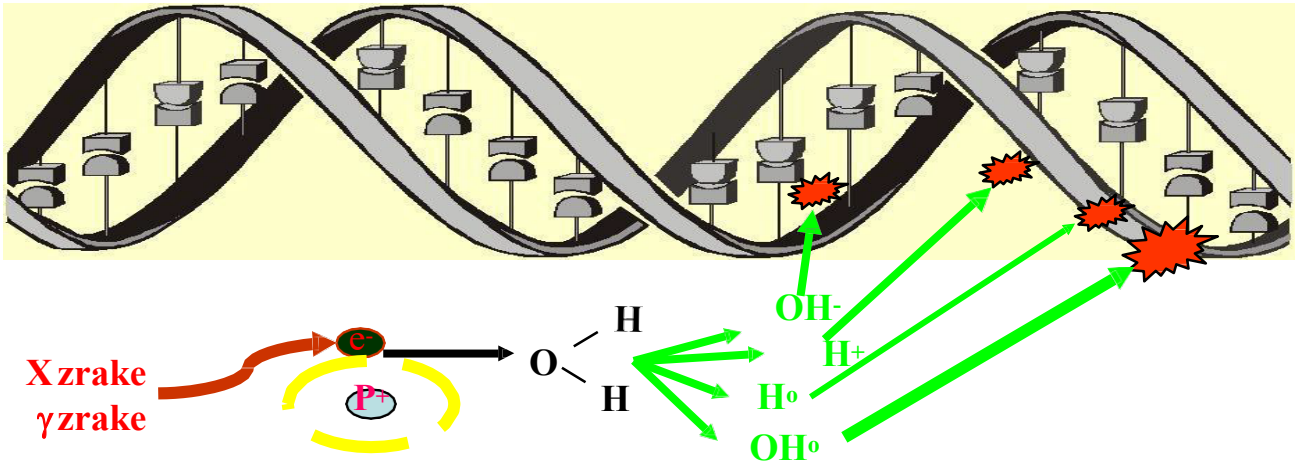


Narušavanje strukture DNA

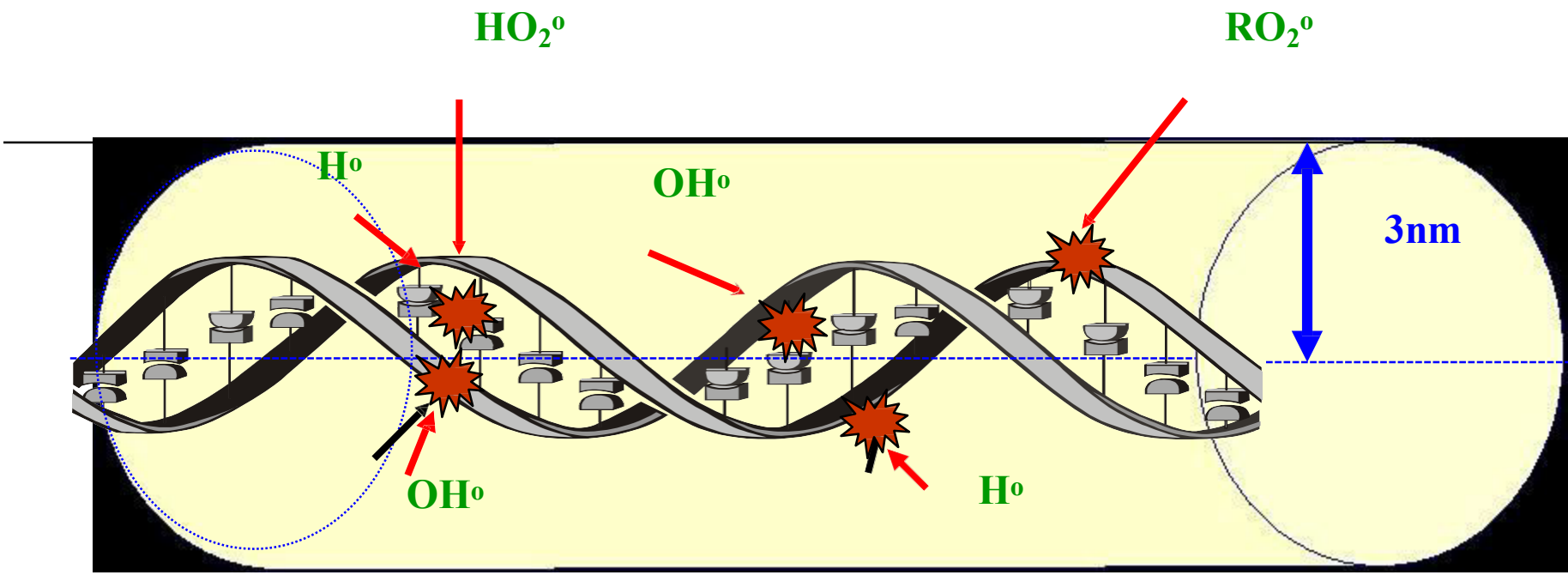
1) teorija izravnog (direktnog) djelovanja oštećenja - s visokim LET zračenjem, npr. alfa čestica i neutrona



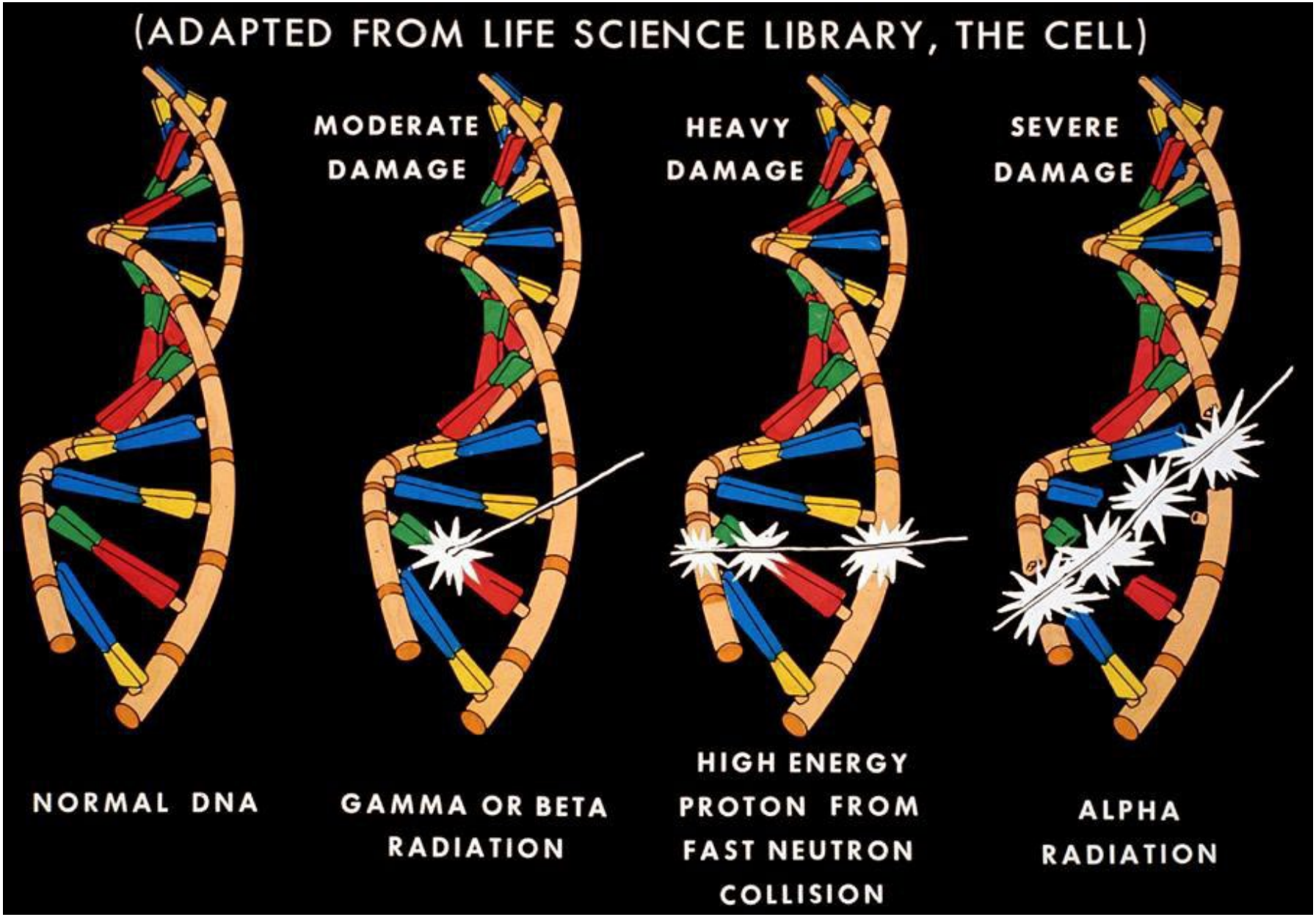
2) teorija neizravnog (posrednog) djelovanja - s niskim LET zračenjem, npr. X i gama zrake



Život slobodnih radikala

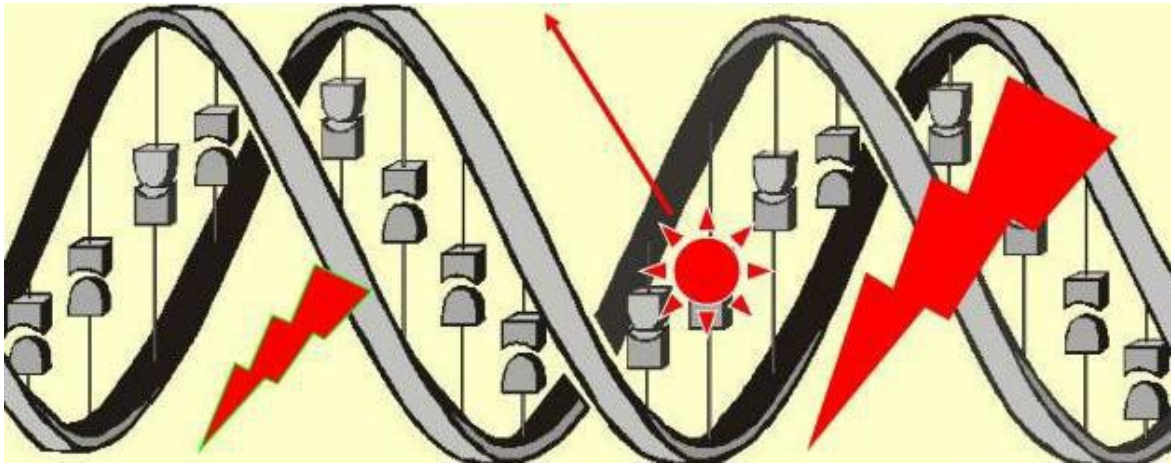


Zbog kratkog života jednostavnih slobodnih radikala (10^{-10} s), samo oni koji su nastali u vodenom stupcu od oko 2-3 nm oko DNA mogu sudjelovati u neizravnom efektu

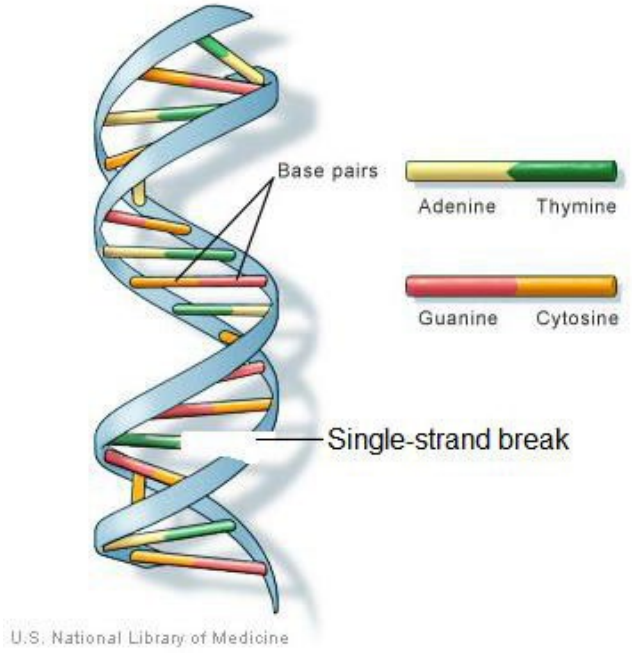

(ADAPTED FROM LIFE SCIENCE LIBRARY, THE CELL)
MODERATE DAMAGE
HEAVY DAMAGE
SEVERE DAMAGE
NORMAL DNA
GAMMA OR BETA RADIATION
HIGH ENERGY PROTON FROM FAST NEUTRON COLLISION
ALPHA RADIATION

Tipovi oštećenja DNA

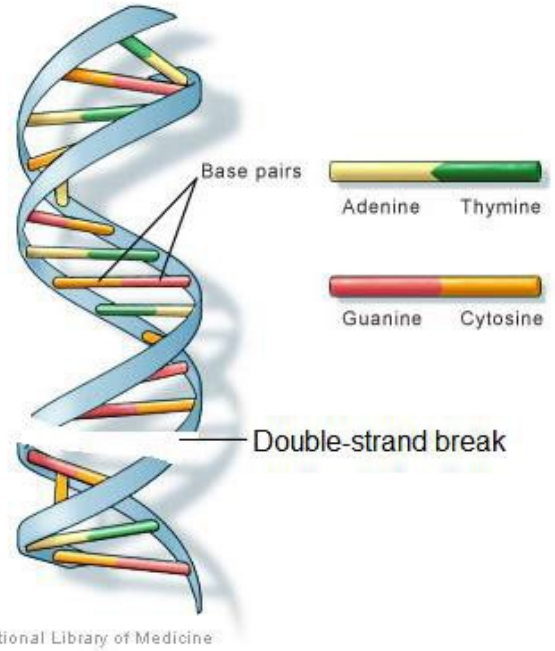
Oštećenja baza 1000-2000 po 1 Gy



jednolančani lomovi 500-1000 po 1 Gy

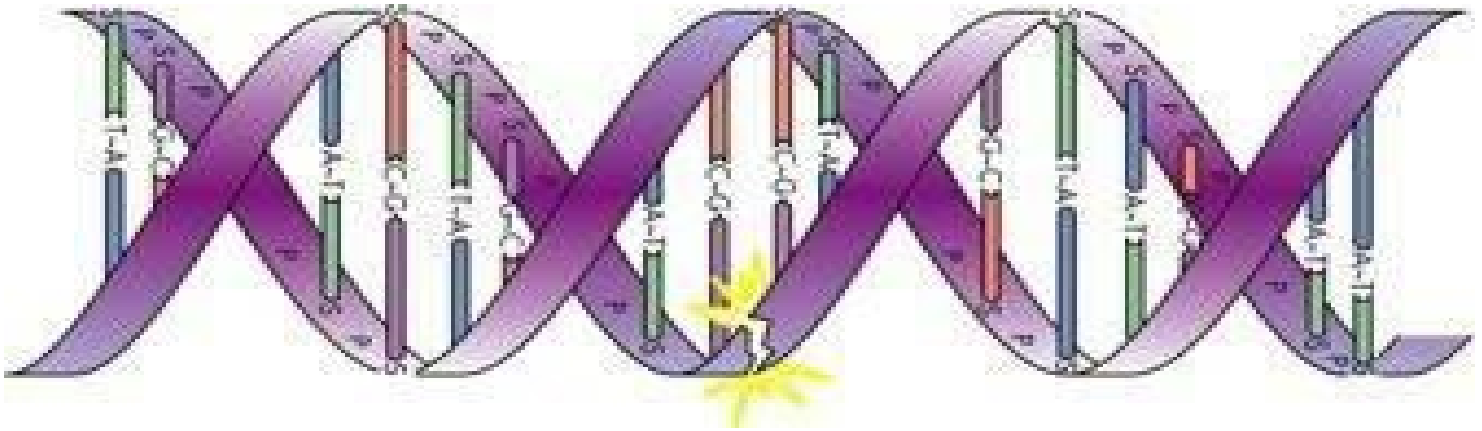


dvolančani lomovi 40-50 po 1 Gy



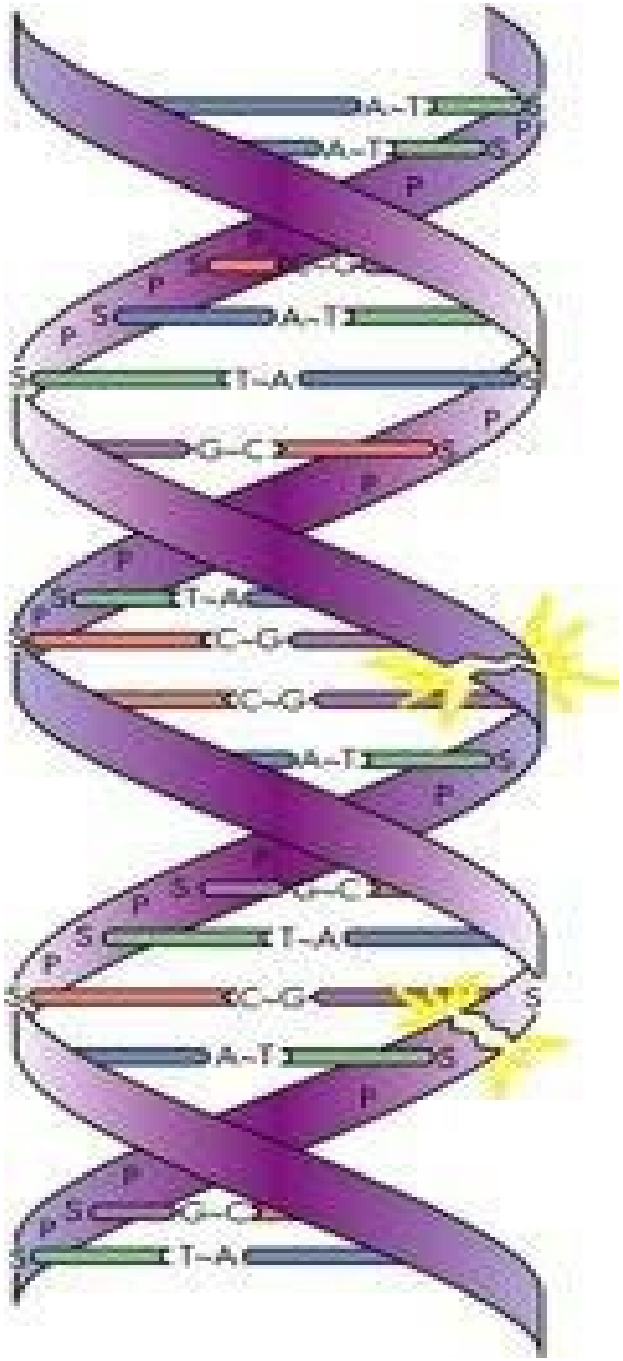
Jednolančani lomovi

prenesena energija u interakciji s makromolekulom DNA može prekinuti kemijske veze,
- točkasta mutacija.
- kod zračenja niskih LET.



Dvolančani lomovi

Pojave s dvostrukim vezama obično se javljaju s gustim ionizacijskim (visokim LET) zračenjem

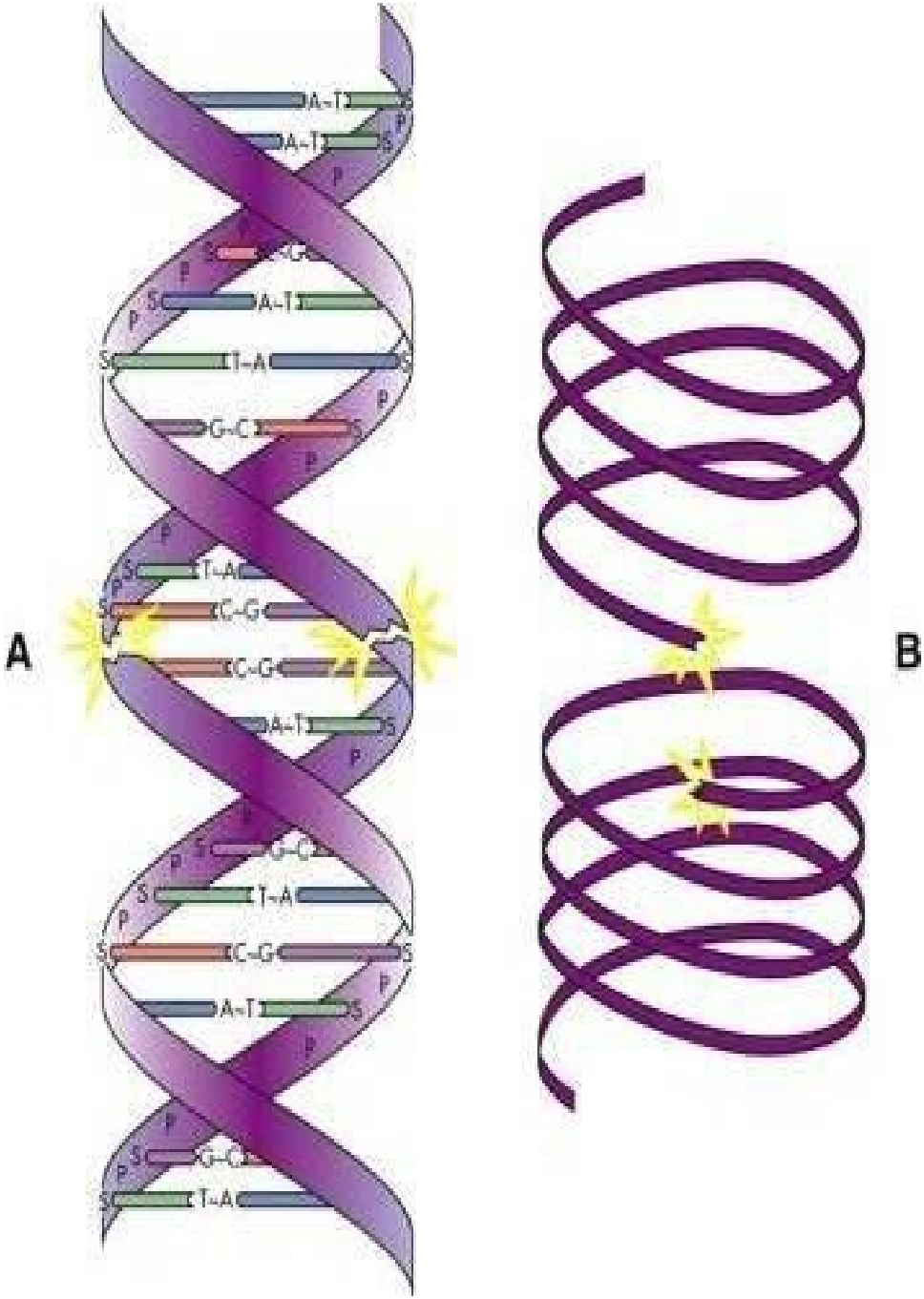


Dvolančani lom unutar iste regije

Kada se dvije interakcije (udarci) na svakom od dva lanca šećer-fosfata pojavljuju unutar iste regije DNK ljestvice

rezultat je cijepan ili slomljeni kromosom, pri čemu svaki novi dio sadrži nejednake količine genetskog materijala

Ako se stanica s oštećenim kromosom dijeli, svaka nova kći stanica dobit će netočnu količinu genetskog materijala.
To dovodi do smrti ili oštećenom funkcioniranju nove stanice kćeri.

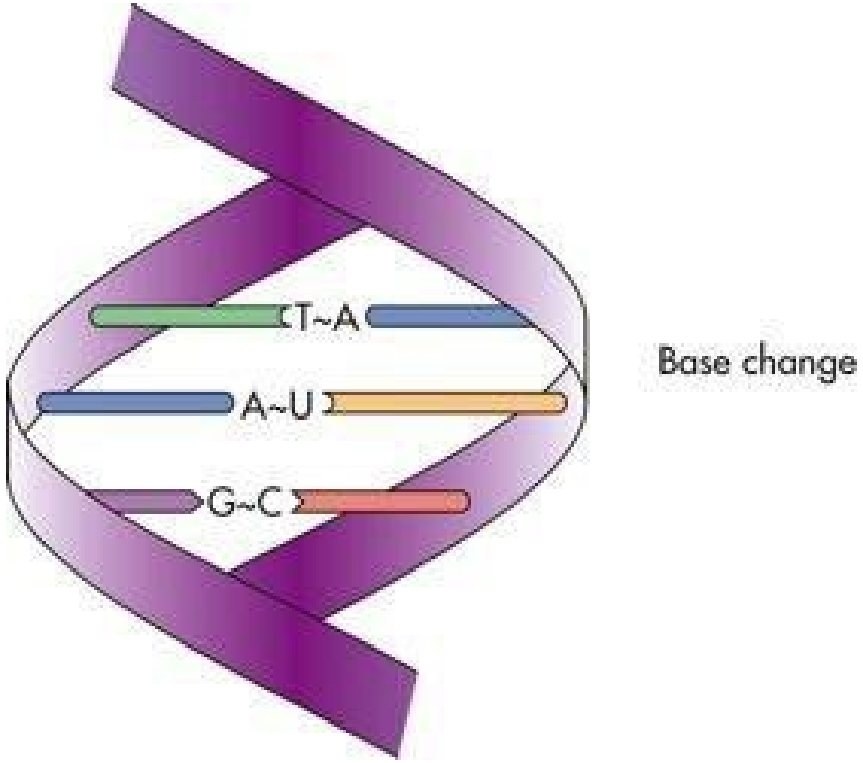


Mutacija

Izravna posljedica je promjena osnovne sekvence. Budući da se genetska informacija koja se prenosi na buduće generacije nalazi u strogom nizu tih baza, gubitak ili promjena baze u DNA lancu je **mutacija.**

akutne posljedice za stanicu,

prijenos netočne genetske informacije na jednu od dvije stanice kćeri kada se stanica dijeli.



Kovalentno križno povezivanje (Covalent Cross-Linking)

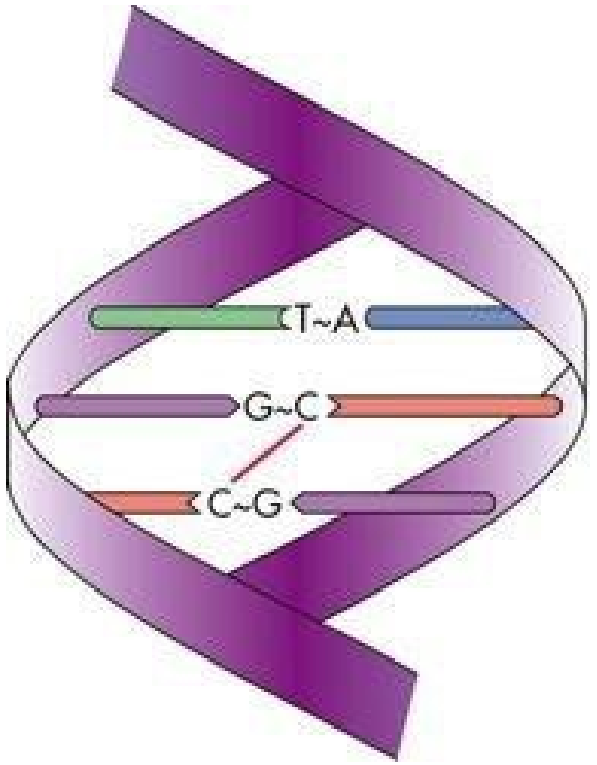
Kovalentno križno povezivanje - između atoma dijeljenjem jednog ili više parova elektrona.

Nakon ozračivanja, neke molekule mogu proizvesti male, zaobljene (potkovica) molekule koje postaju vrlo interaktivne ("ljepljive"). To može uzrokovati da se te molekule pričvrste na druge makromolekule ili na druge dijelove istog lanca makromolekula.

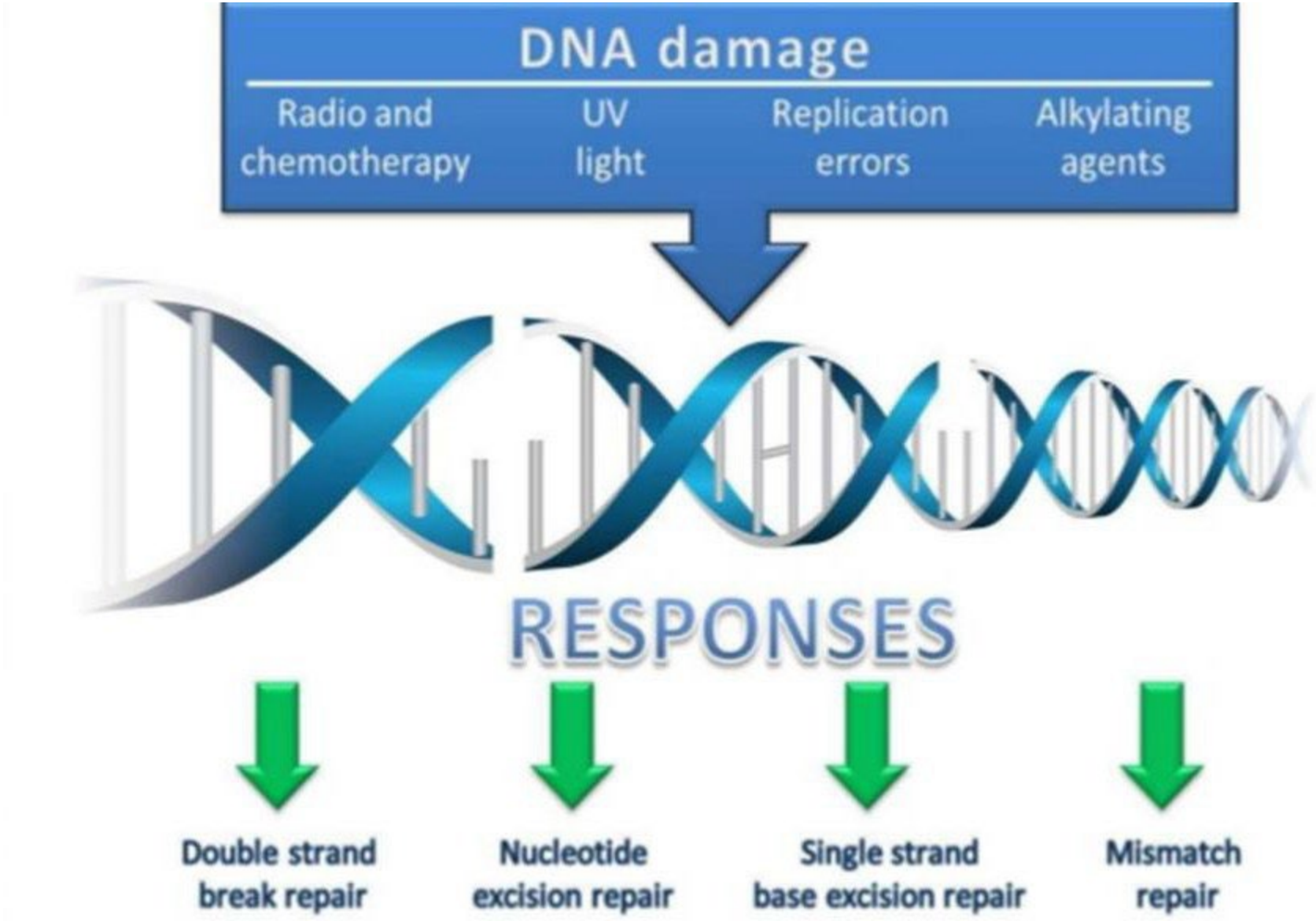
križna veza može se stvoriti
između dva mjesta na istom DNA lancu - intrastrand cross-link.
između komplementarnih DNA ili između potpuno različitih molekula DNA.

DNA molekule također mogu postati kovalentno vezane na protein.

Sve ove veze su potencijalno smrtonosne za stanicu ako nisu pravilno popravljene.



Popravak oštećene DNA



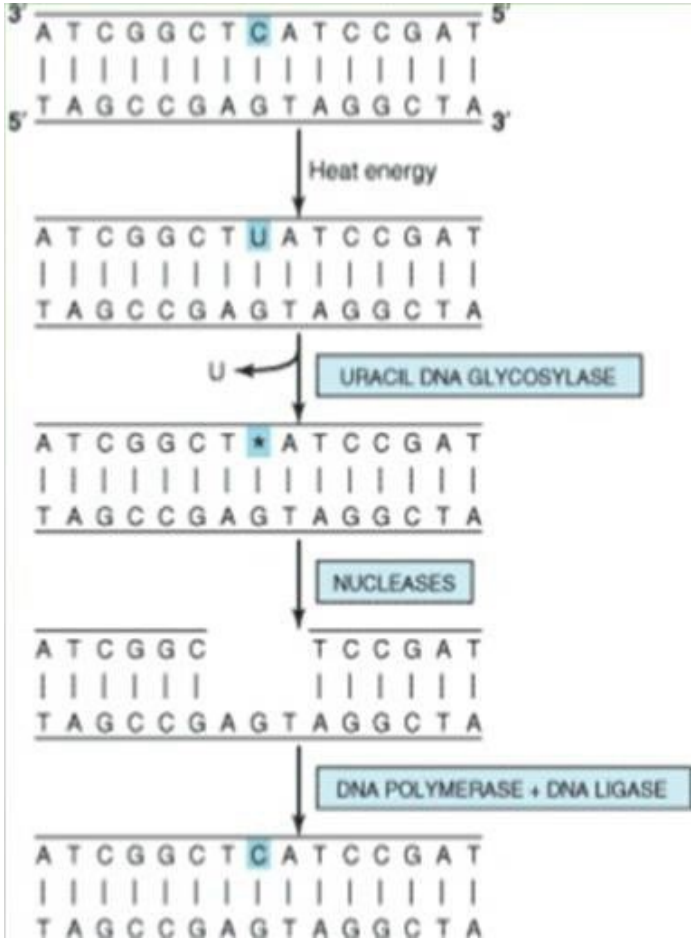
Popravak jednostrukih lomova (izrezivanje baza)

Popravlja većinu od 10-20.000 apurinskih i 500 apimidimskih mjesta /stanica/danu koji se formiraju spontano

Važno za popravak većine jednolančanih lomova i oštećenja baze nakon IR.

Postojanost dovodi do blokiranja replikacije DNA, citotoksičnih mutacija, genetske nestabilnosti.

Apurin/apirimidin (AP) endonukleaza uklanja 1-3 nukleotida T1/2 <5 min. Aktivni geni popravljaju se brže nego neaktivni



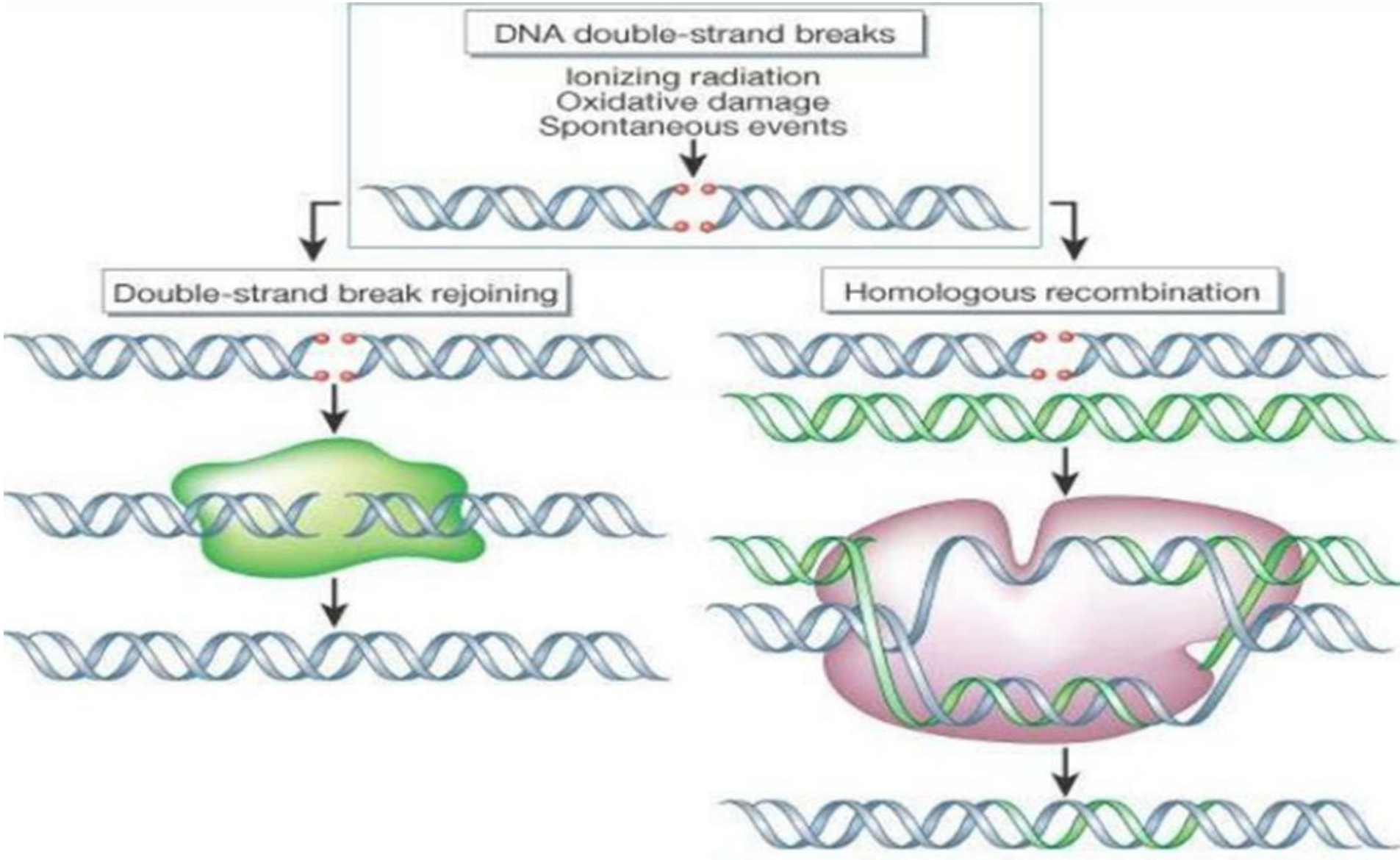
uracil DNA glikozilaza - uklanja uracil stvoren spontanom deaminacijom citozina u lancu DNA

endonukleaza - reže veze blizu defekta, izrezuje nekoliko baza

DNA polimeraza - nadomješta izrezani dio

Ligaza spaja lanac

Popravak dvostrukih lomova

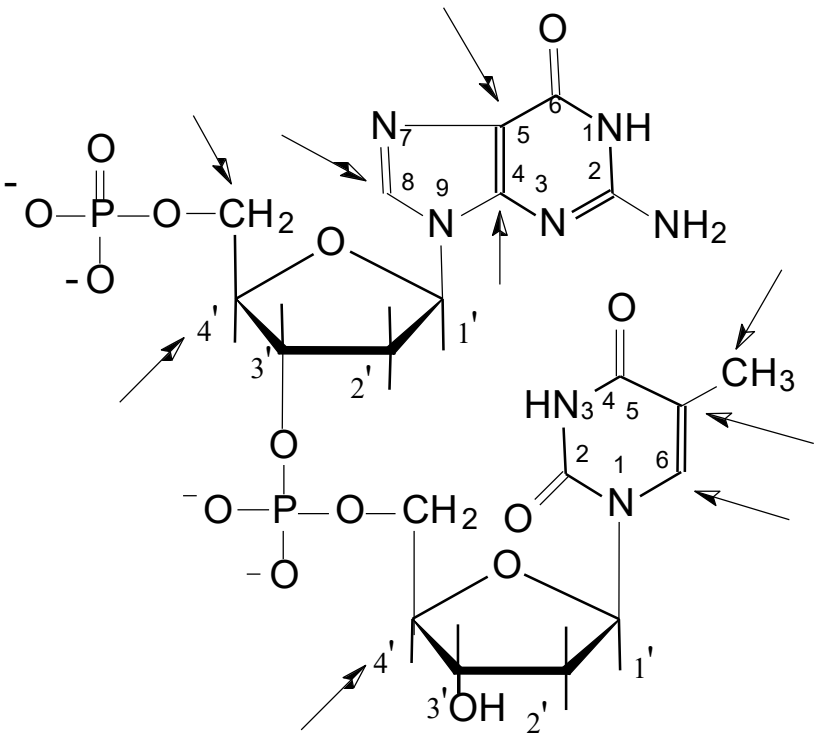


mehanizmi genotoksičnog djelovanja na DNA

1. napad mutagena na nukleofilne centre u DNK npr. mol dušika ili amino skupina u prstenu baza, atom O_2 u karboksi skupinama baza

   Mutageni – elektrofilna svojstva

Mjesta napada slobodnih radikala



2. Postanak adukata na DNK

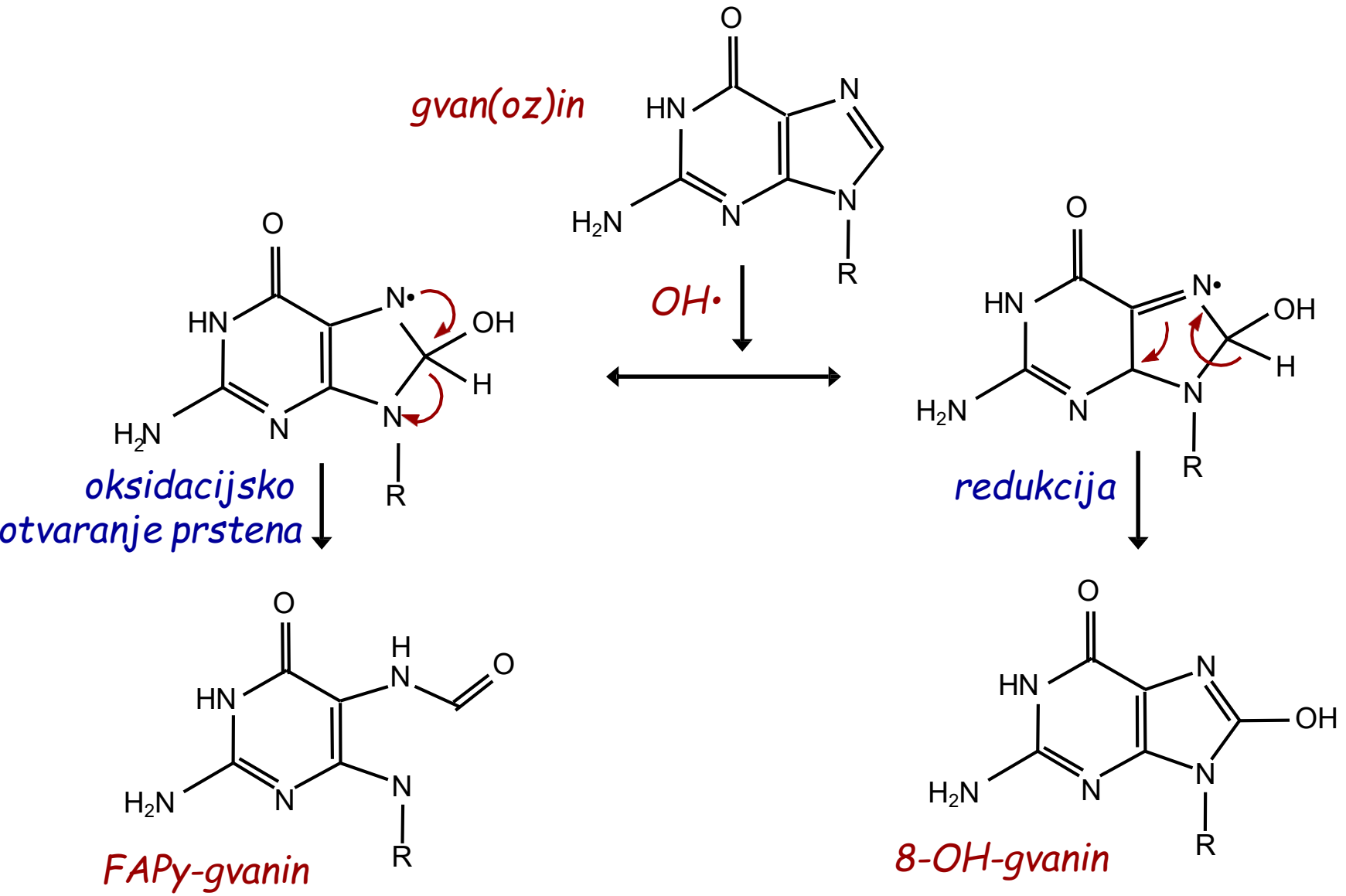
   posljedica reakcije mutagena s nukleofilnim centrima u DNK

   alkilirajući agensi, aromatski amini, policiklički aromatski ugljikovodici

   položaj adukata određuje vrstu mutacije

3. Ugradnja pogrešnih baza udvostručavanjem DNK

Oksidacija DNA baze: oksidacija gvanina s OH•



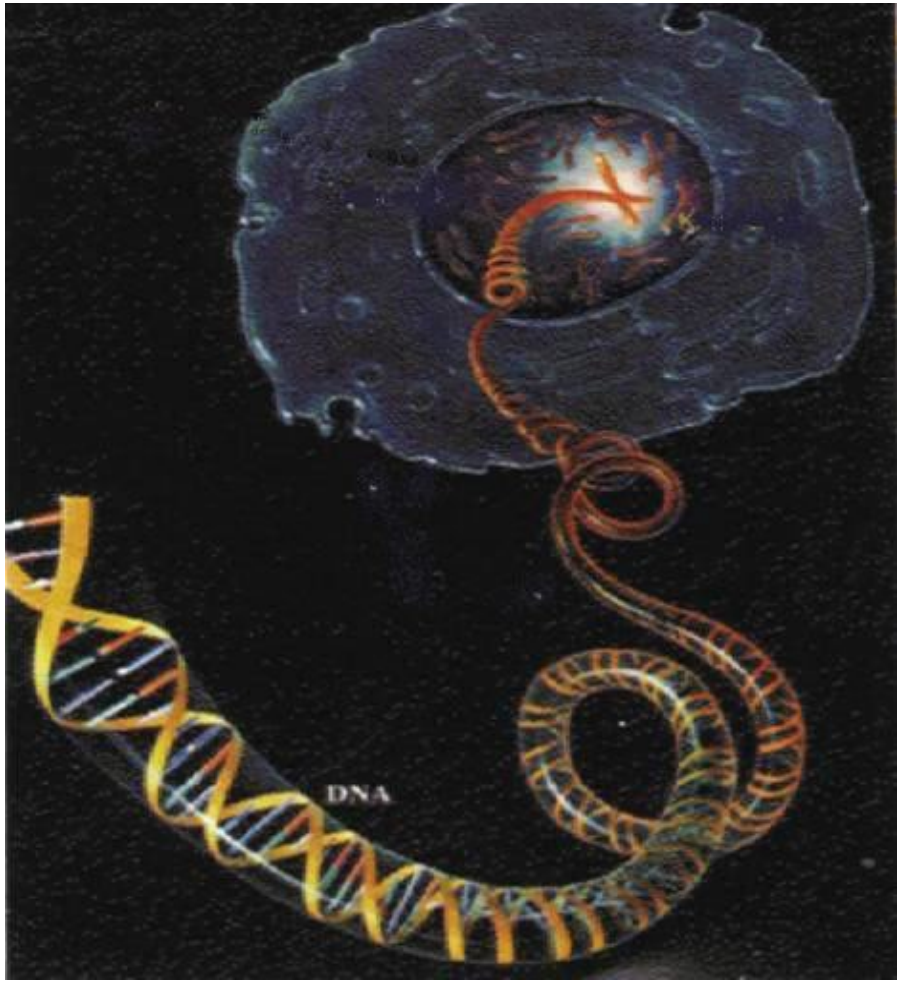
Podjela genetičkih oštećenja:

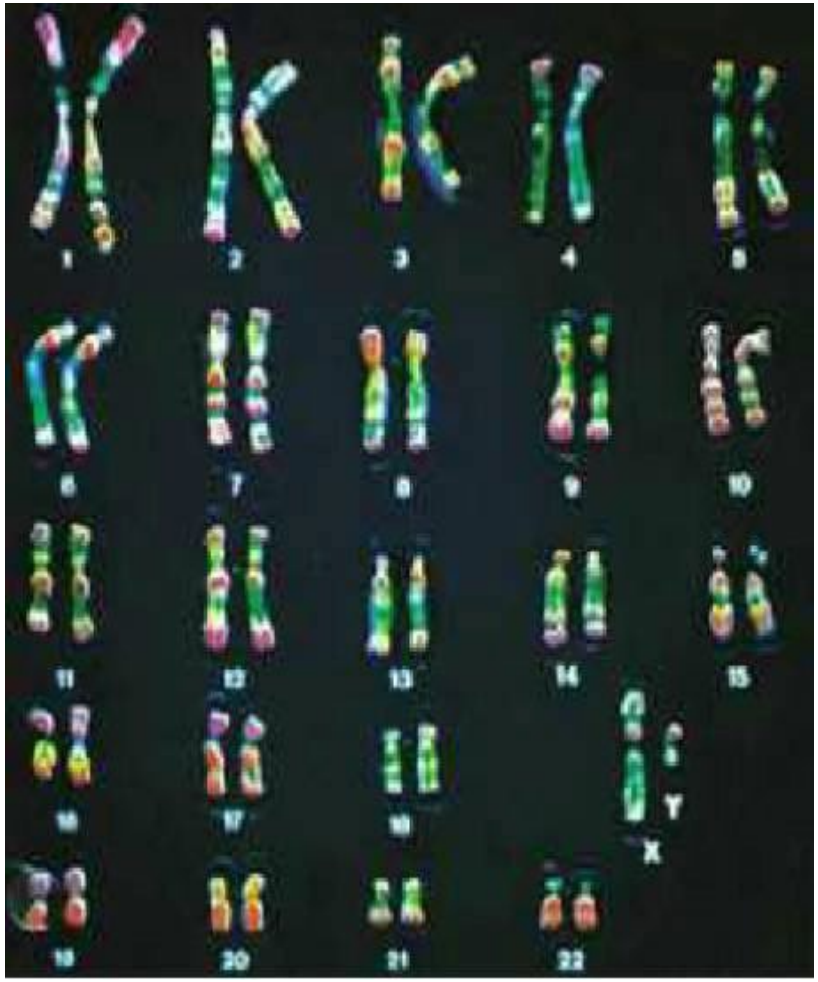
- mutacije gena – promjene slijeda nukleotida unutar samog gena
  - točkaste mutacije
    - istosmislene
    - pogrešne
    - besmislene
  - frame shift mutacije

- promjene strukture kromosoma
  - kromatidna oštećenja – kromatidni lom, kromatidni „gap” , intrakromatidna izmjena
  - kromosomska oštećenja – kromosomski lom, acentrični fragmenti, dicentrični kromosomi, prstenasti kromosomi, translokacije, intrakromatidne izmjene, kromosomske inverzije, amplifikacije i delecije

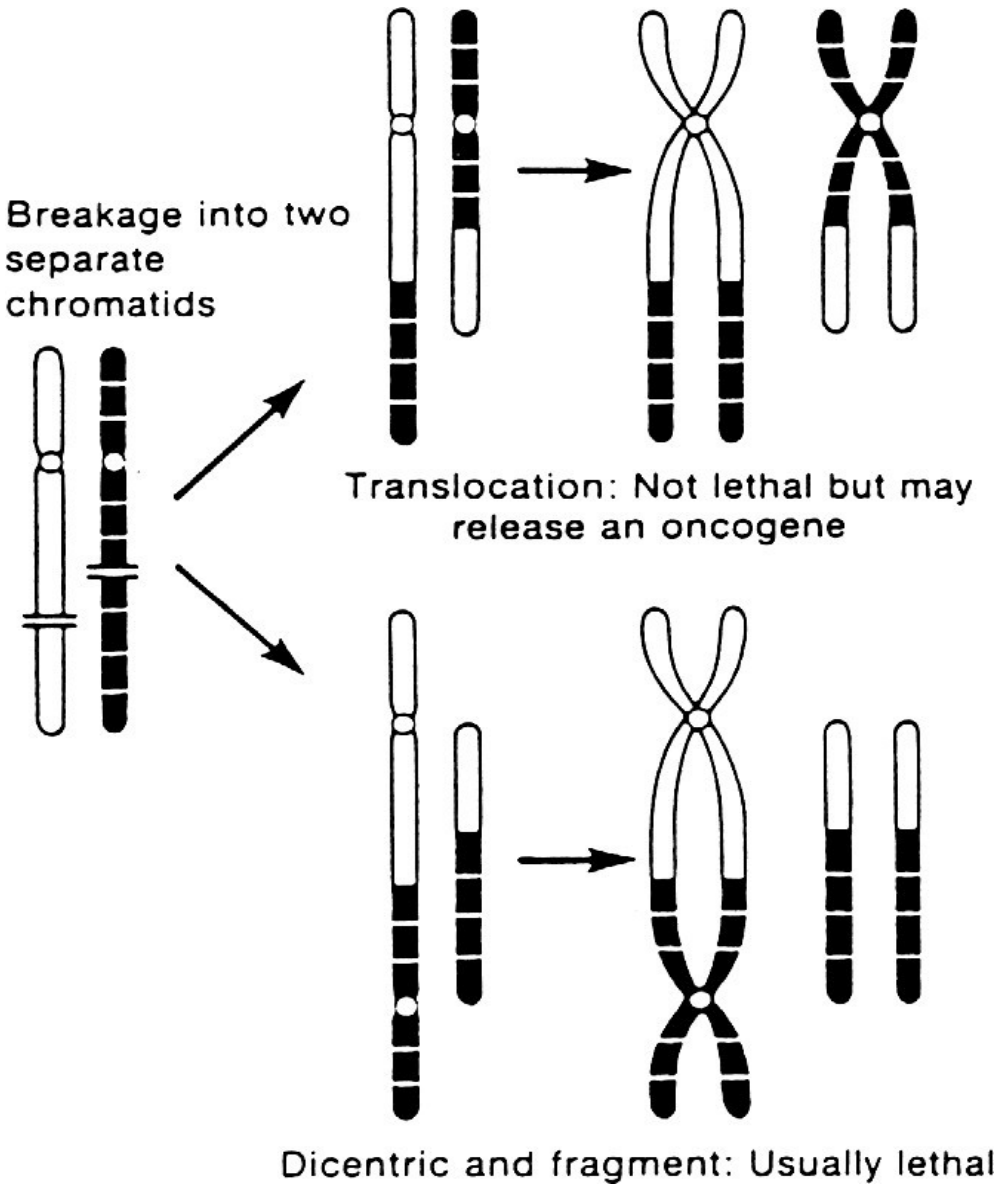
- promjene broja kromosoma – uslijed djelovanja aneugena

Oštećenja kromosoma uzrokovana zračenjem





Tipovi rearanžmana

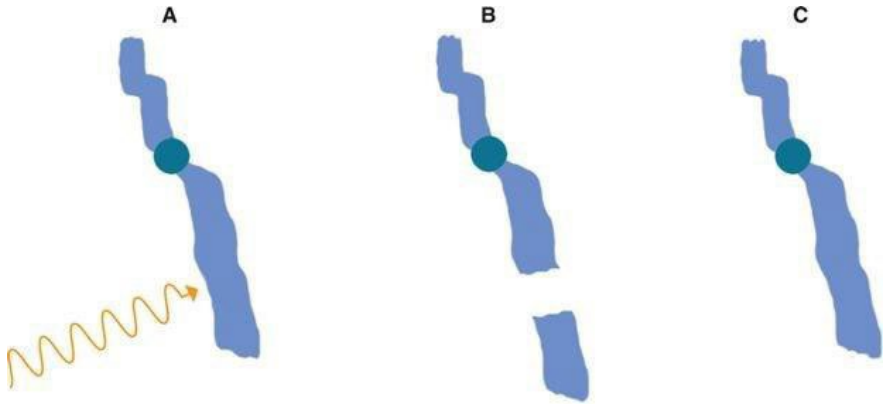


- simertični (balansirani)
  - Generalno stabilni
  - translokacije/inverzije
- asimetrični (ne balansirani)
  - Generalno letalni
  - Dicentrici/ringovi

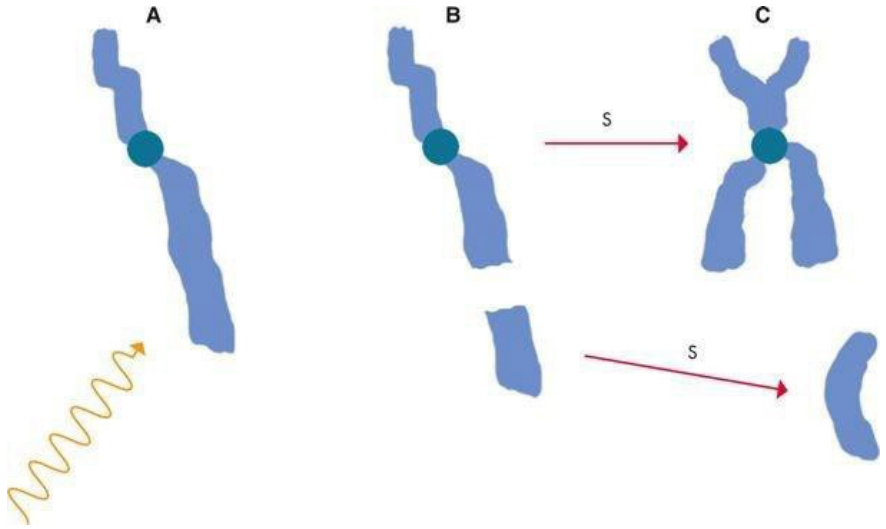
posljedice strukturalnih promjena

1. Restitucija, pri čemu se lomovi ponovno pridružuju u izvornoj konfiguraciji bez vidljivih oštećenja. U tom slučaju ne dolazi do oštećenja stanice jer je kromosom vraćen u stanje u kojem je bilo prije ozračivanja.

način na koji se popravlja 95% pojedinačnih kromosoma.

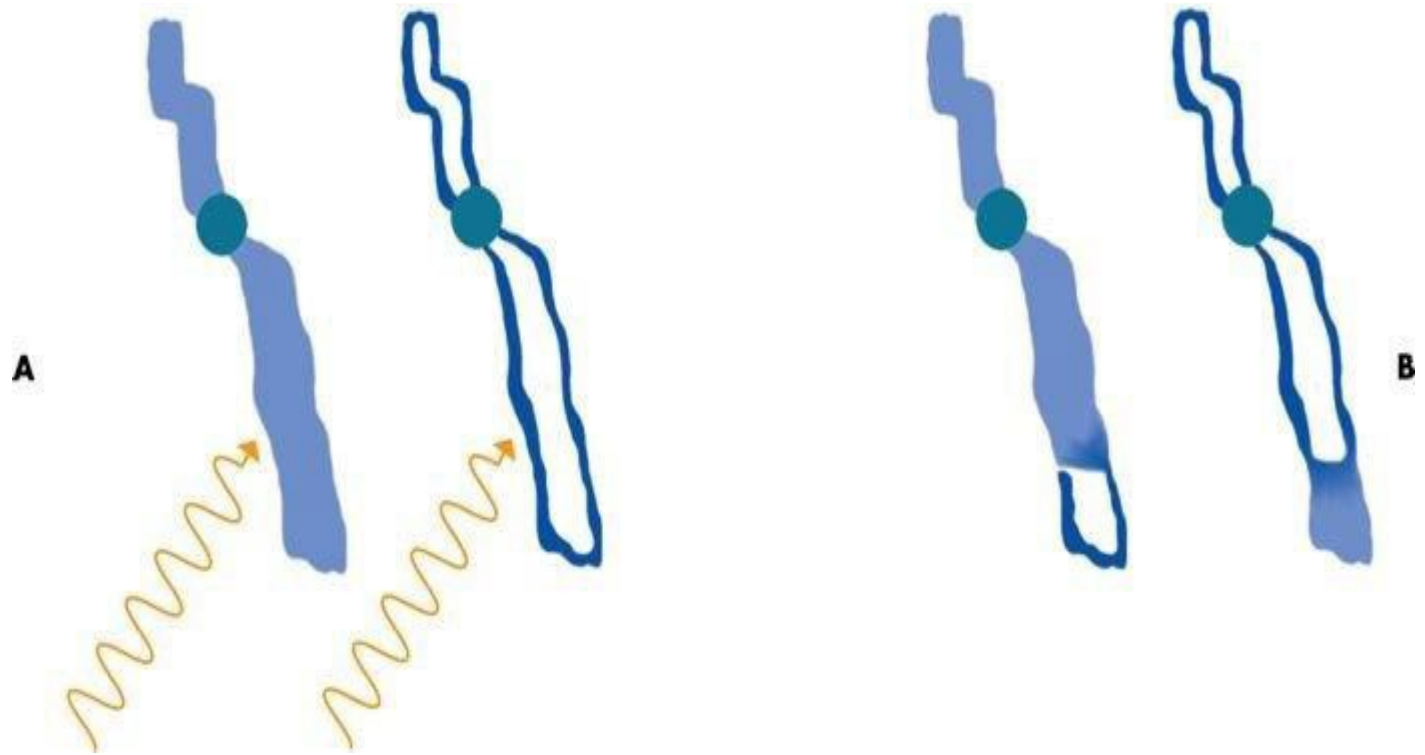


2. Delecija, pri čemu se dio kromosoma ili kromatida gubi u sljedećoj diobi stanice, stvarajući aberaciju poznatu kao acentrični fragment.

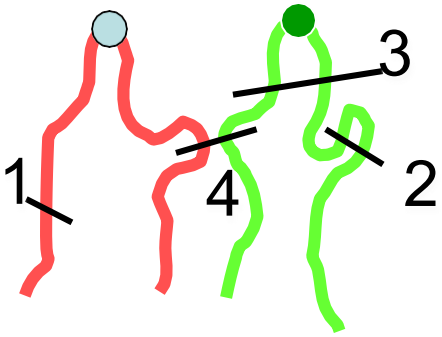


3. Rearanžmani slomljenih krajeva, pri čemu se može proizvesti grubo oštećen kromosom. Prsten kromosomi ring kromosomi, dicentrični kromosomi i anafazni mostovi.

4. Rearanžmani slomljenih krajeva bez vidljivih oštećenja kromosoma, pri čemu je genetski materijal kromosoma preraspodijeljen, a kromosom izgleda normalno. Translokacije su primjer takvih preoblikovanja. Promjene kao što su ove neizbježno dovode do mutacije jer su položaji gena na kromosomima preuređeni.
dovode do smrti stanice ili nemogućnosti diobe



Kromosomske aberacije

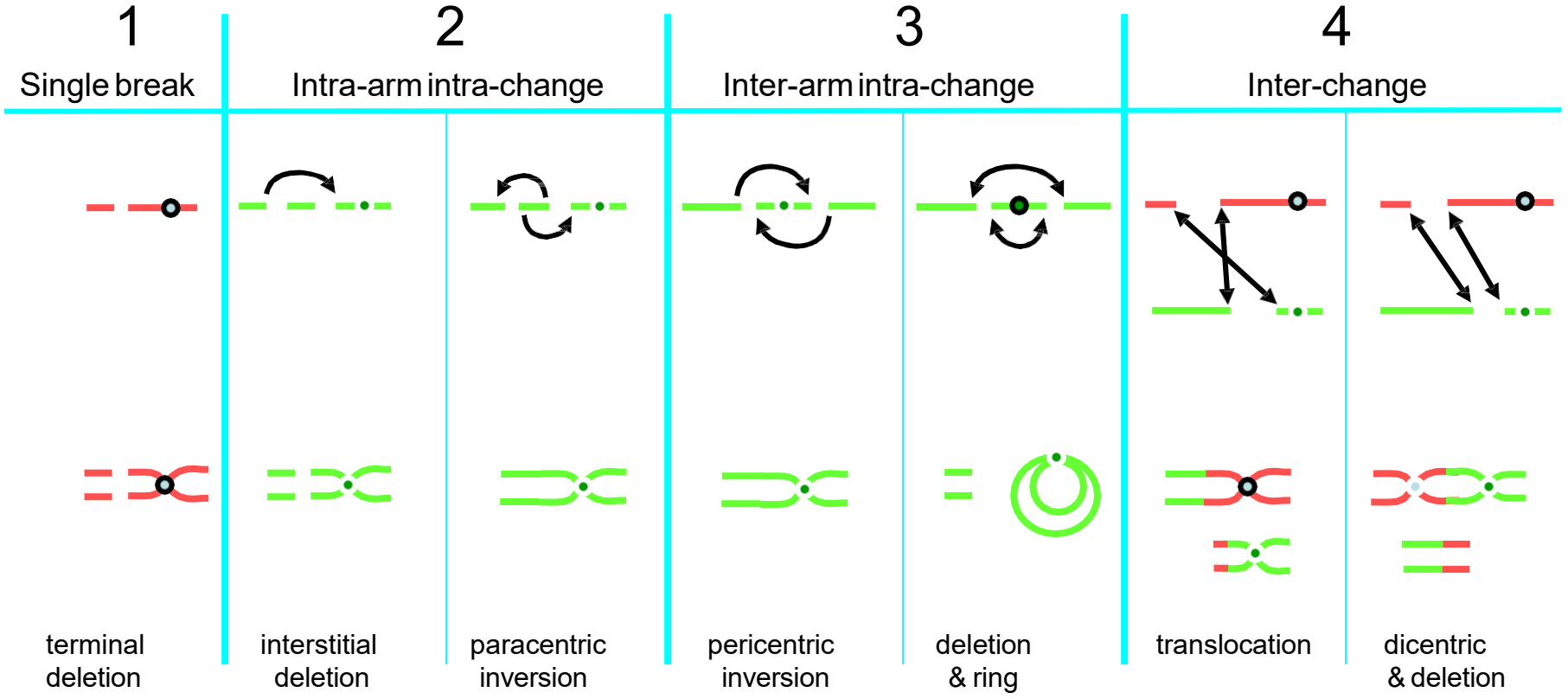


Intrakromosomske

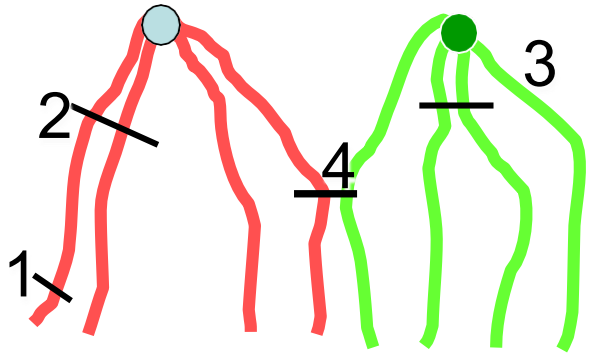
stable (non-lethal) Pericentric Inversions
non-stable (lethal) Centric Rings

Interkromosomske

Translocations
Dicentrics



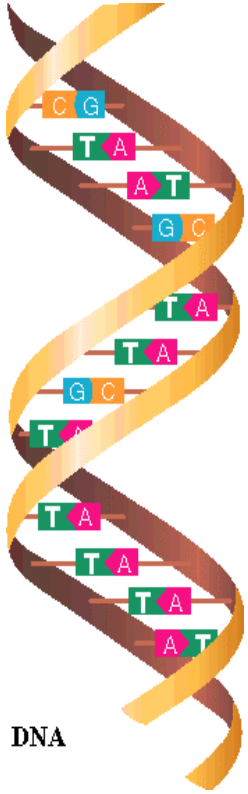
Kromatidne aberacije



1	2	3	4	
Single break	Sister union	Inter-arm intra-change	Inter-change	
terminal deletion	deletion & ring	deletion & ring	translocation	dicentric & deletion

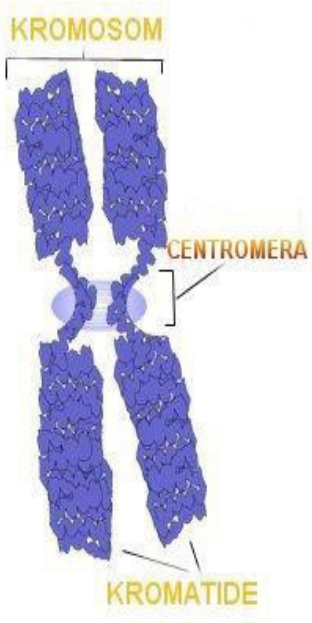
– oštećenje genoma

1. Direktno međudjelovanje s molekulom DNK - na nivou gena

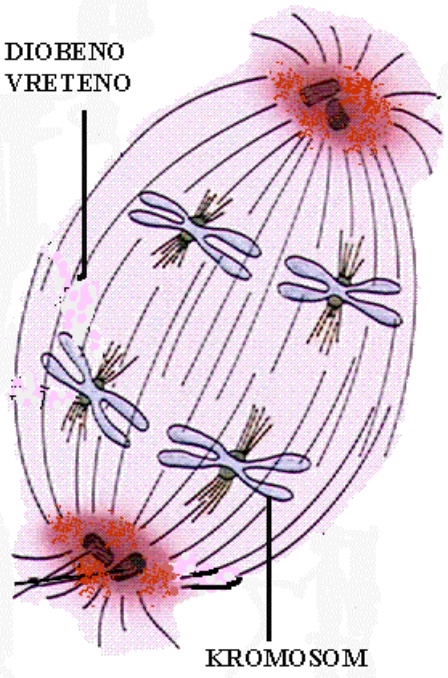


DNA

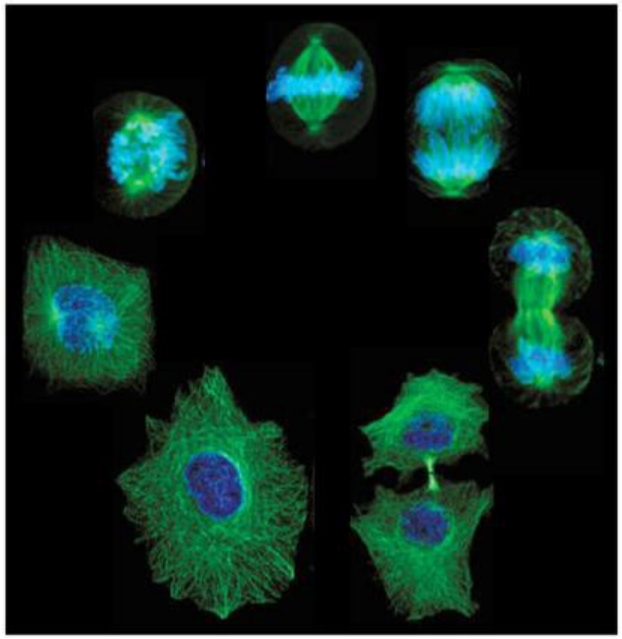
klastogeni - na nivou kromosoma



2. Indirektno djelovanje preko diobenog vretena – aneugeni

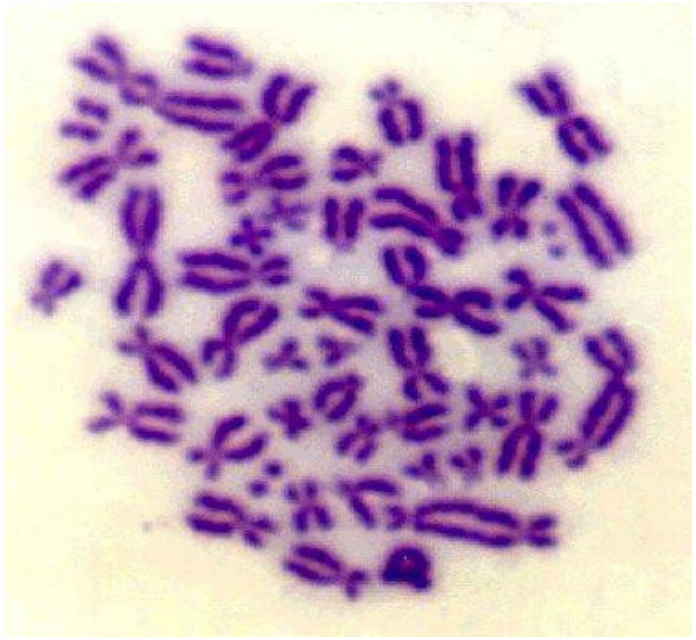




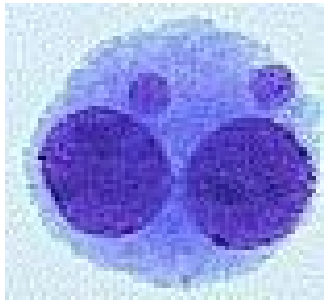


CITOGENETIČKI I MOLEKULARNI BIOMARKERI

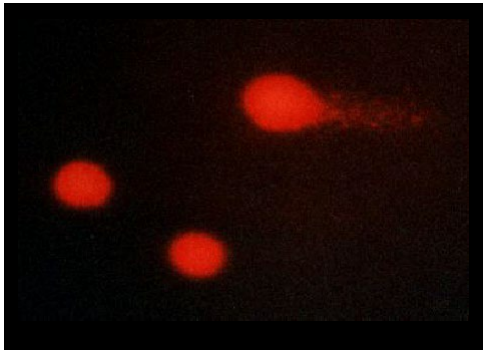
Analiza strukturnih aberacija kromosoma



Mikronukleus test



Komet test



Kratkotrajne kulture limfocita u uvjetima *in vitro*

- uzorci periferne krvi u uvjetima *in vitro* nasađuju se u hranjivi medij F-10, obogaćen 20% fetalnim telećim serumom i antibioticima
- za poticanje mitoze, u kulture se dodaje fitohemaglutinin
- stanične kulture rastu: 48 h za analizu kromosomskih aberacija,
  72 h za mikronukleus test, analizu izmjena sestrinskih kromatida (SCE) i analizu stanične kinetike
- 3 sata prije isteka kultiviranja u kulture za analizu strukturnih aberacija kromosoma, te SCE i analizu stanične kinetike radi inhibicije diobenog vretena dodaje se kolhicin
- u kulture za mikronukleus test nakon 44 h rasta dodaje se inhibitor citokineze - citohalazin B



Određivanje strukturnih aberacija kromosoma

Najčešće primjenjivana metoda u bionadzoru ljudi.

Limfociti periferne krvi, u oko 3 minute obiđu cijelo tijelo, dugi životni vijek

NESTABILNE ABERACIJE

- ometaju diobu stanice i dovode do gubitka genetičkog materijala – posljedica je smrt stanice

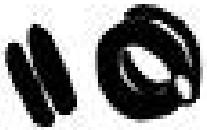
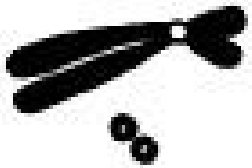
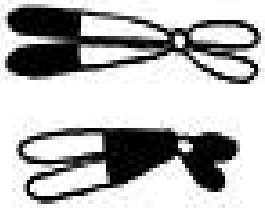
- njihova se učestalost u limfocitima postupno smanjuje nakon prestanka izlaganja mutagenima

Podjela: bicentrični kromosomi
prstenasti kromosomi
acentrični fragmenti
simetrični kromosomski rearanžmani

STABILNE ABERACIJE

- uravnotežene translokacije, inverzije i dr. simetrični kromosomski rearanžmani
- karakterizira ih postojanost – mogu se otkriti i mnogo godina nakon nastanka
- detekcija pomoću posebnih citogenetičkih tehnika – pruganje kromosoma, FISH

KROMOSOMSKE ABERACIJE

	IZMJENE DIJELOVA IZMEĐU RAZLIČITIH KROMOSOMA	IZMJENE DIJELOVA IZMEĐU DVA KRAKA ISTOG KROMOSOMA	IZMJENE DIJELOVA UNUTAR ISTOG KRAKA KROMOSOMA	KROMOSOMSKI LOM
A	 BICENTRIK I ACENTRIČNI FRAGMENT	 CENTRIČNI PRSTEN	 INTERSTICIJALNA DELECIJA I MINUTE	
S	 RECIPROČNA TRANSLOKACIJA	 PERICENTRIČNA INVERZIJA	 PARACENTRIČNA INVERZIJA	

A= ASIMETRIČNE; S= SIMETRIČNE

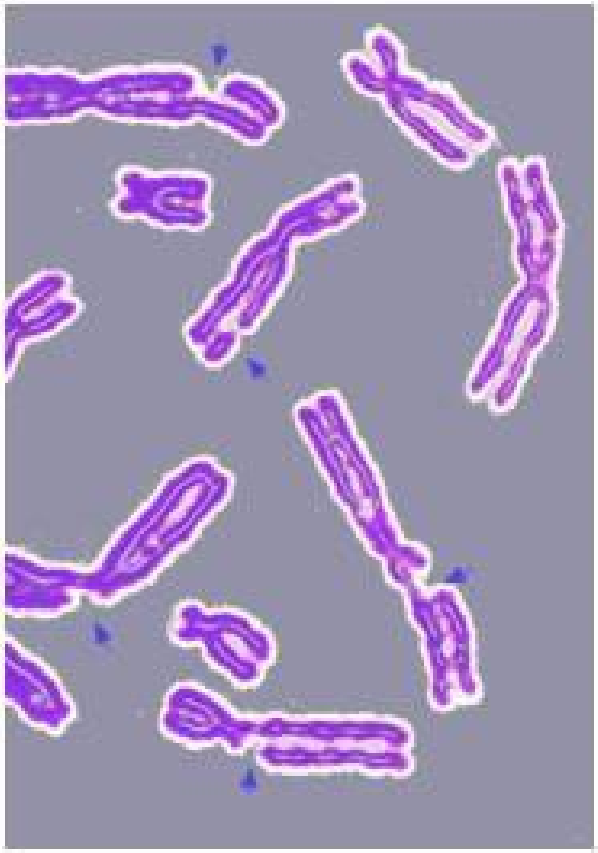
Izrada preparata

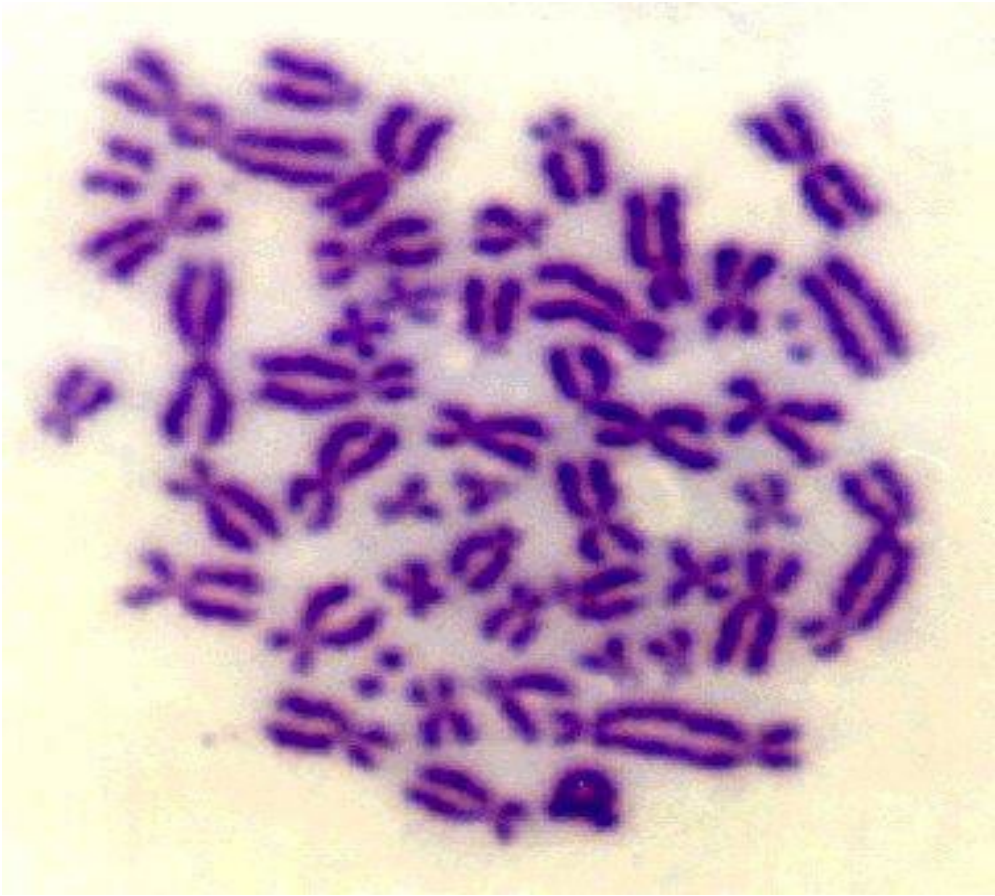
- bojanje – otopina boje Giemsa (5 %; 10 min)

Mikroskopska analiza preparata

- utvrđivanje broja (učestalosti) i vrsta strukturnih aberacija kromosoma
- 200 metafaza prve *in vitro* diobe limfocita







Mikronukleus test

- Mikronukleusi - male kromatinske strukture, samostalno smještene unutar interfazne citoplazme
- Nastaju uslijed lomova kromosoma i kondenzacije acentričnih kromosomskih ulomaka ili kromosoma zaostalih u anafazi
- Prisutnost mikronukleusa pokazatelj je postojanja aberacija u prethodnoj diobi stanice
- učestalost mikronukleusa može koristiti kao kvantitativna mjera strukturnih i numeričkih aberacija kromosoma
- Spontanom nastanku mikronukleusa doprinose:

a) mutacije kinetohornih proteina, centromera i diobenog vretena koje mogu izazvati nejednaku raspodjelu kromosoma ili gubitak čitavih kromosoma tijekom anafaze

b) nepopravljeni kromosomski lomovi koji dovode do stvaranja acentričnih ulomaka, a nastaju djelovanjem endogenih čimbenika ili pod vanjskim utjecajem

- Mikronukleus test brži je i jednostavniji od analize strukturnih aberacija kromosoma, podjednako je osjetljiv u detekciji oštećenja diobenog vretena i aberacija kromosoma, te je uključen u standardnu "bateriju" testova genotoksičnosti

- Primjenom standardnog mikronukleus testa ne mogu se razlikovati mikronukleusi koji potječu od acentričnih ulomaka od mikronukleusa koji potječu od čitavih kromosoma.

- u uvjetima *in vitro* i *in vivo*

Mikronukleus test u uvjetima *in vitro* – citohalazinom b blokirani mirkonukleus test

Hranjivi medij (20%-tni fetalni teleći serum + antibiotici) + uzorak krvi (0,8 ml) + fitohemaglutinin

↓

44. sat dodavanje citohalazina B (6µg/ml)

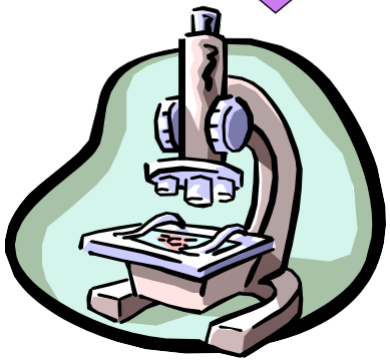
↓

Nakon 72 sata izrada preparata (višekratno centifugiranje i ispiranje u fiksativu, nakapavanje na stakla)

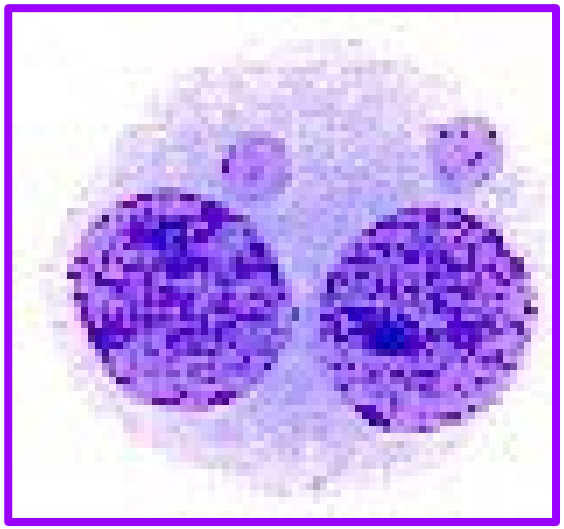
↓

Bojanje 5% otopinom Gimse

↓



→

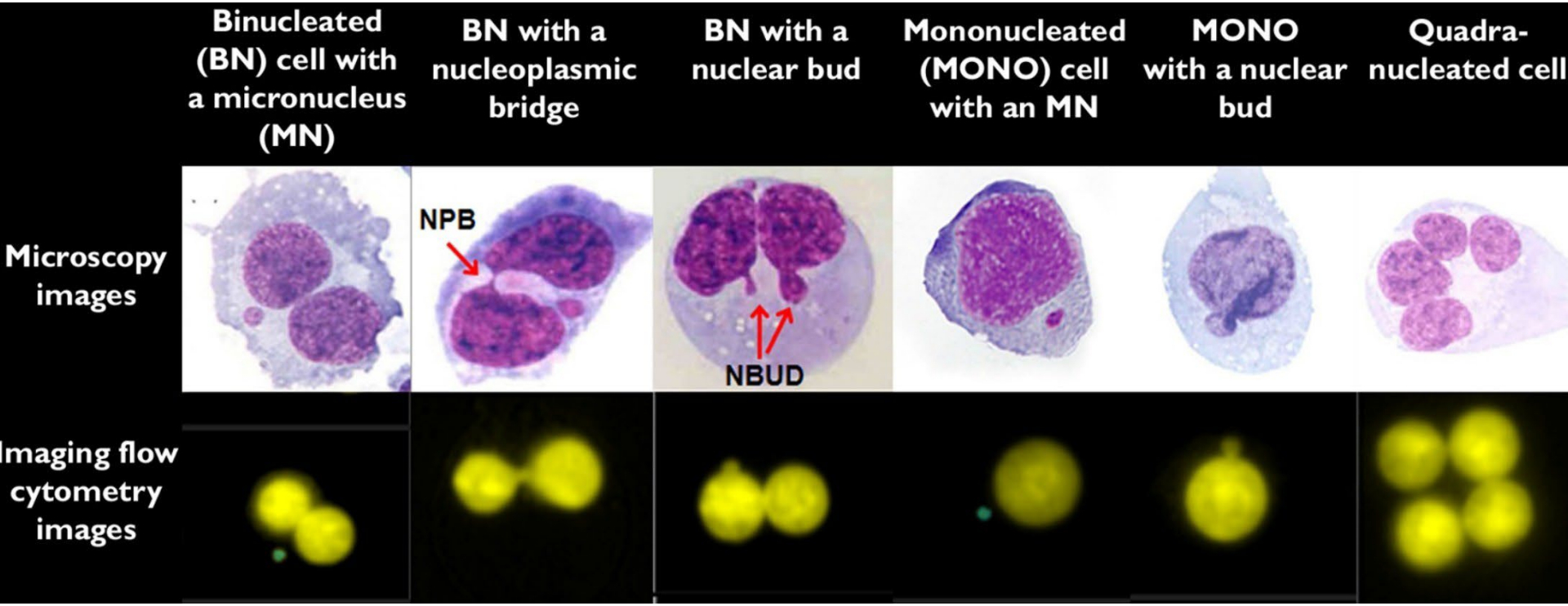


500 – 1000 binuklearnih stanica

pregledava se po 500-1000 binuklearnih limfocita. Utvrđuje se ukupni broj i raspodjela mikronukleusa (MN).

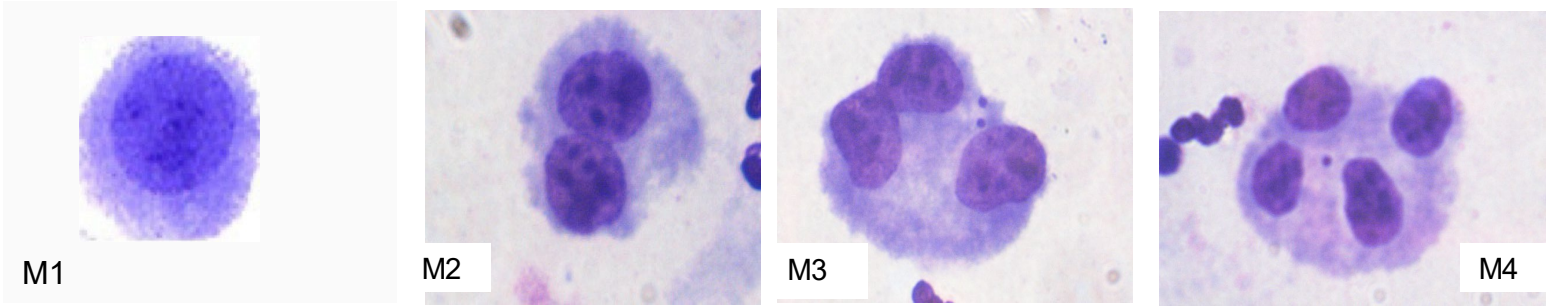
Kriteriji za brojanje:

1) binuklearne stanice koje sadrže bilo koji broj MN;
2) broje se samo MN koji su jasno odijeljeni od glavnih jezgara i smješteni unutar stanica s intaktnom citoplazmom i jezgrinim ovojnicama;
3) promjer MN treba biti manji od 1/3 glavne jezgre;
4) intenzitet obojenosti MN treba biti kao i kod glavnih jezgara (osim ako je preparat obojen fluorescencijskom bojom, pa intenzitet fluorescencije po jedinici površine MN može biti jednak, manji ili veći od intenziteta fluorescencije glavnih jezgara).



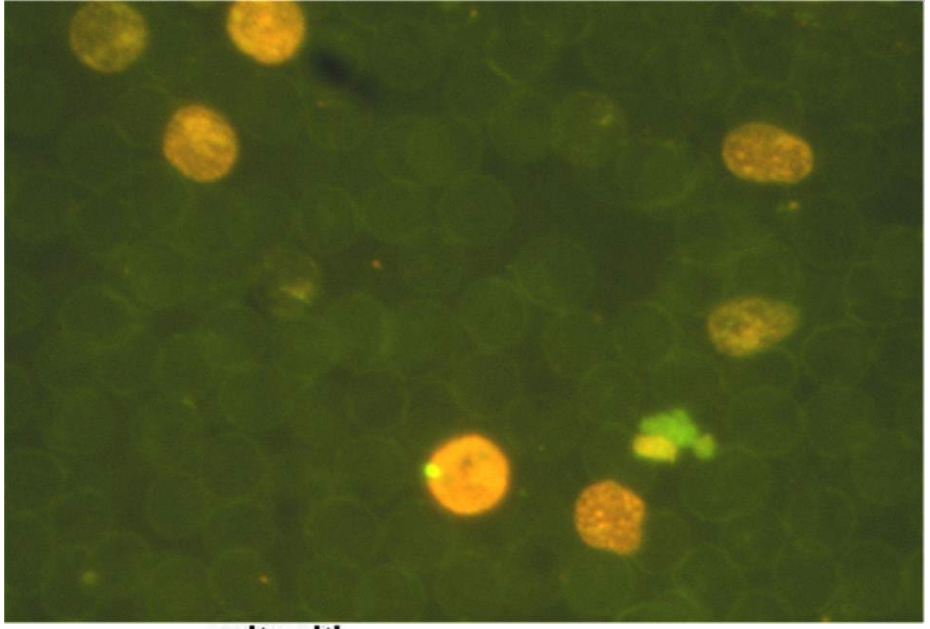
Analiza stanične kinetike - Indeks diobe jezgara (NDI-nuclear division indeks)

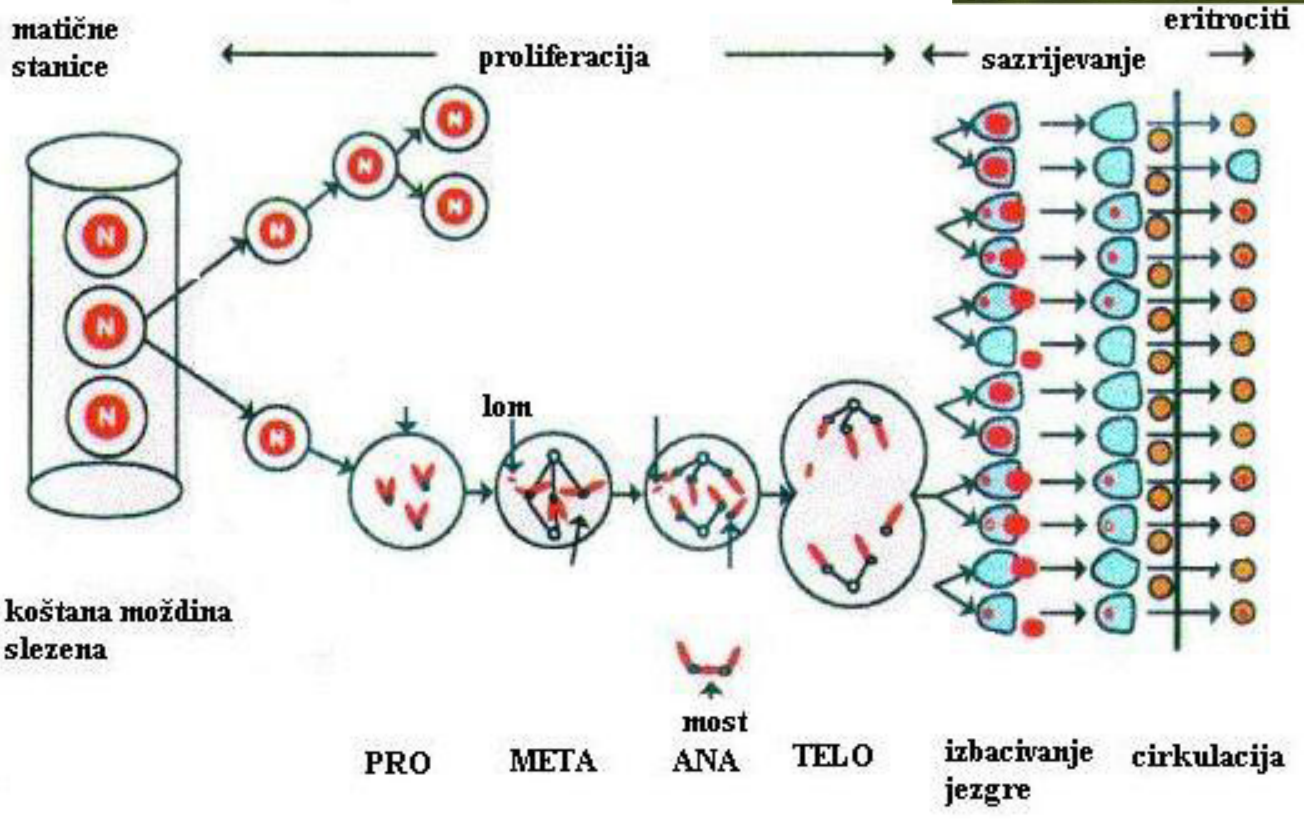
$$NDI = (M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3 + 4 \times M4)/N$$



Mikronukleus test u uvjetima in vivo

na stanicama koštane srži (polikromatski i normokromatski eritrociti) i retikulocitima sisavaca (glodavaca)





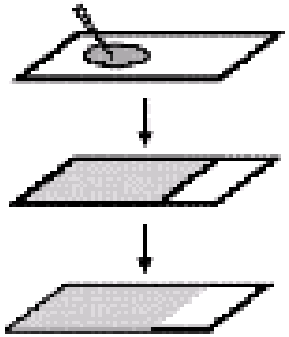
KOMET TEST

- vrlo osjetljiva tehnika za procjenu oštećenja i popravka DNA na razini pojedinačne stanice
- može se izvesti na različitim stanicama i tkivima humanog, životinjskog ili biljnog podrijetla te stanicama u kulturi
- za izvođenje testa dovoljan mali broj stanica, a rezultati se mogu dobiti unutar nekoliko sati
- prednost – stanice ne treba uzgajati u kulturi u uvjetima *in vitro*

Princip metode:

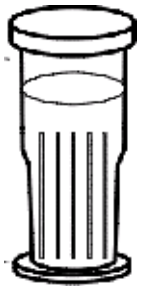
- stanice se fiksiraju u agaroznom “sendvič” gelu na brušenim predmetnim stakalcima, citoplazma se lizira pomoću otopine s visokom koncentracijom etilen-diamin-tetraoctene kiseline (EDTA) i detergenata; stanične jezgre se nakon denaturacije DNA u neutralnom ili lužnatom puferu izlože djelovanju električnog polja (elektroforeza)
- tijekom elektroforeze, fragmenti DNA nastali jednolančanim ili dvolančanim lomovima izlaze iz jezgre i kroz pore agaroznog gela putuju prema anodi.

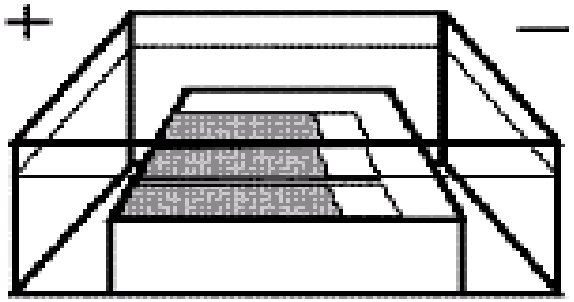
Izrada preparata
(agaroza + uzorak pune krvi)





Liza staničnih
struktura; pH 10

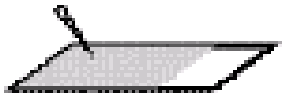




Denaturacija i elektroforeza;
pH 13

Neutralizacija; pH 7,5

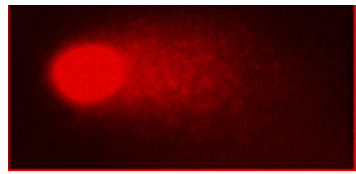
Bojenje preparata fluorescencijskom bojom
(etidij bromid)



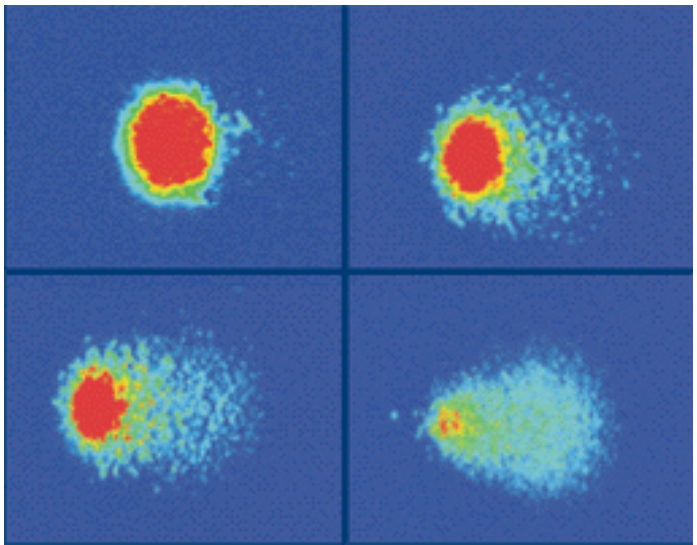


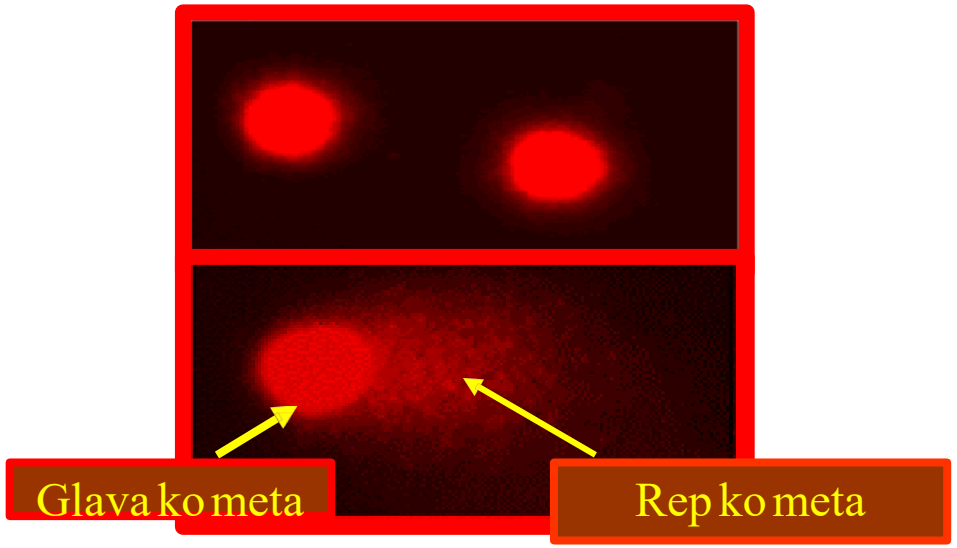


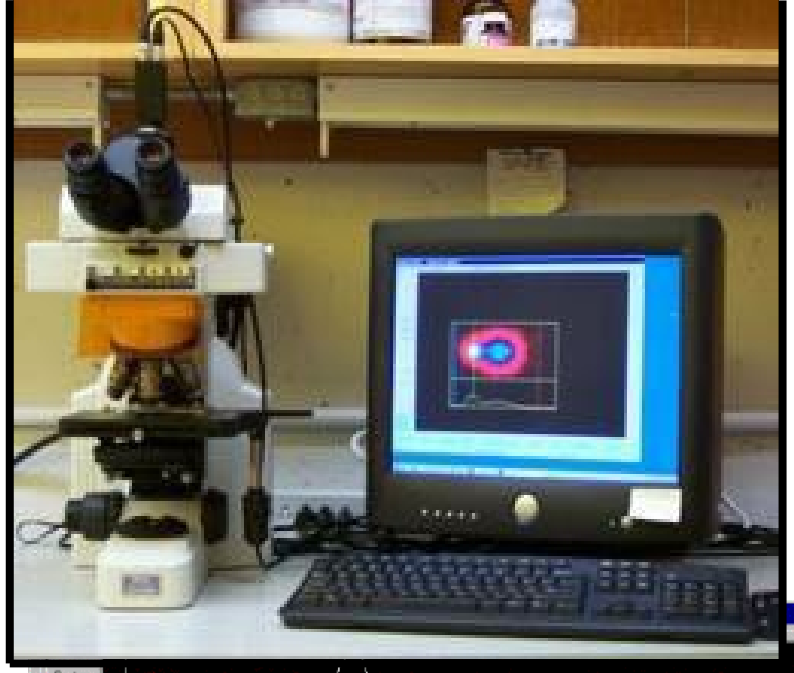
Mikroskopska analiza
preparata i mjerenje kometa

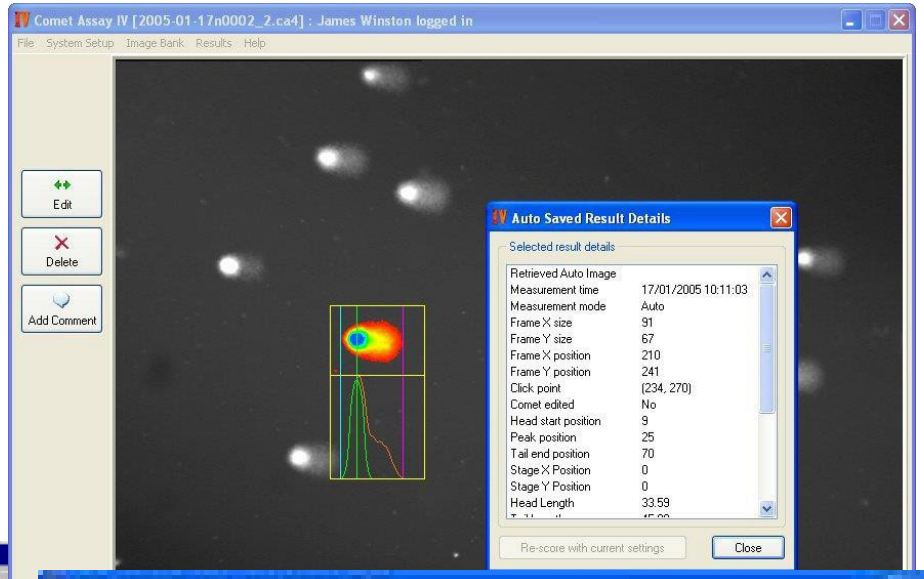


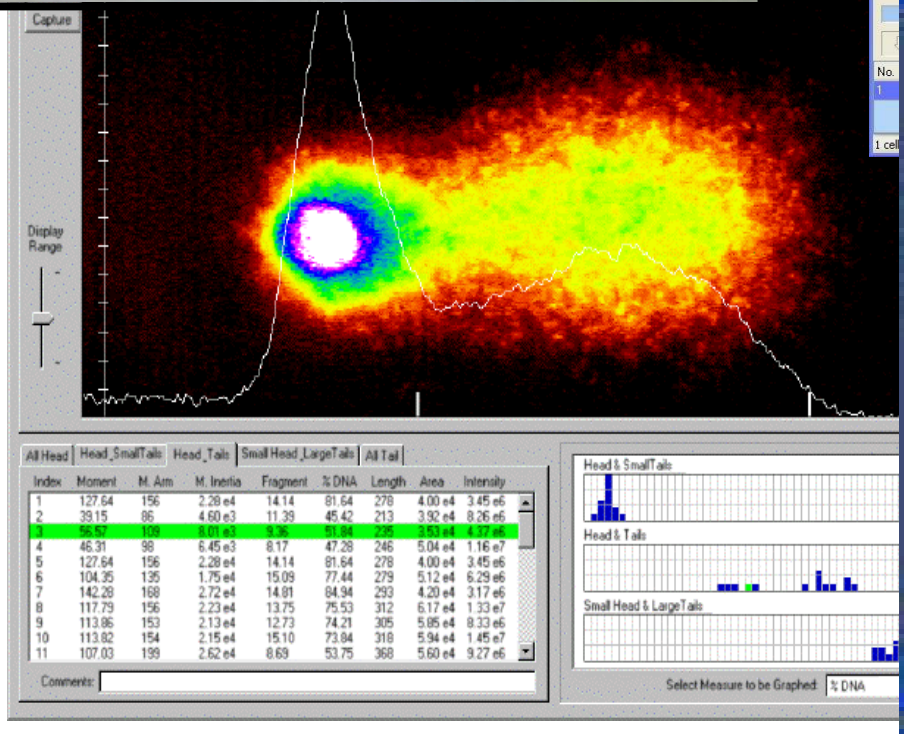
- glavnina DNA zbog velike molekularne mase ne može putovati kroz gel
- kraći fragmenti kroz gel putuju brže, a duži sporije, dolazi do njihovog razdvajanja prema veličini
- ovisno o razini oštećenja u DNA, nakon elektroforeze i bojanja s fluorescencijskom bojom (etidij-bromid), u gelu se mogu uočiti kometi različite veličine
- oštećenje DNA procjenjuje se na osnovi udjela DNA u “repu” kometa i udjela DNA u “glavi” kometa
- za mjerenje kometa i procjenu oštećenja koriste se sustavi za analizu slike (epifluorescencijski mikroskop povezan s računalom), a pomoću posebnih računalnih programa za svaki pojedinačni komet istovremeno se mjeri više parametara

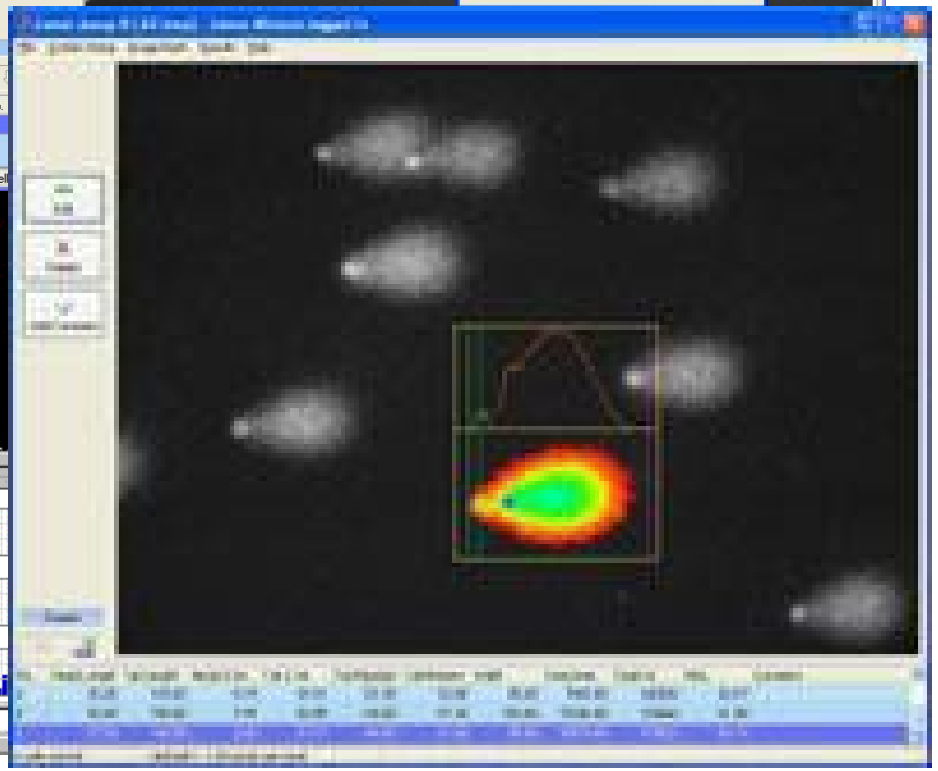







Comet Assay IV [2005-01-17n0002_2.ca4] : James Winston logged in
File System Setup Image Bank Results Help
Edit
Delete
Add Comment
Auto Saved Result Details
Selected result details
Retrieved Auto Image
Measurement time 17/01/2005 10:11:03
Measurement mode Auto
Frame X size 91
Frame Y size 67
Frame X position 210
Frame Y position 241
Click point (234, 270)
Comet edited No
Head start position 9
Peak position 25
Tail end position 70
Stage X Position 0
Stage Y Position 0
Head Length 33.59
Re-score with current settings
Close


Capture
Display Range
All Head
Head_SmallTails
Head_Tails
Small Head_LargeTails
All Tail
Index Moment M. Arm M. Inertia Fragment %DNA Length Area Intensity
1 127.64 156 2.28 e4 14.14 81.64 278 4.00 e4 3.45 e6
2 39.15 86 4.60 e3 11.39 45.42 213 3.92 e4 8.26 e6
3 56.57 109 8.01 e3 9.36 51.84 226 3.53 e4 4.37 e6
4 46.31 98 6.45 e3 8.17 47.28 246 5.04 e4 1.16 e7
5 127.64 156 2.28 e4 14.14 81.64 278 4.00 e4 3.45 e6
6 104.35 135 1.75 e4 15.09 77.44 279 5.12 e4 6.29 e6
7 142.28 168 2.72 e4 14.81 84.94 293 4.20 e4 3.17 e6
8 117.79 156 2.23 e4 13.75 75.53 312 6.17 e4 1.33 e7
9 113.86 153 2.13 e4 12.73 74.21 305 5.85 e4 8.33 e6
10 113.82 154 2.15 e4 15.10 73.84 318 5.94 e4 1.45 e7
11 107.03 199 2.62 e4 8.69 53.75 368 5.60 e4 9.27 e6
Comments:
Head & SmallTails
Head & Tails
Small Head & LargeTails
Select Measure to be Graphed
% DNA



- pomoću komet testa može se pratiti i popravak DNA

- u izvedbi komet testa važnu ulogu ima pH vrijednost pufera za lizu: pod neutralnim uvjetima u repu kometa prevladavaju dvolančani lomovi u DNA, dok pod lužnatim uvjetima (pH>13) najveći doprinos količini DNA u repu kometa daju jednolančani lomovi DNA i mjesta osjetljiva na lužine

- omogućava detekciju apoptotičnih ili nekrotičnih stanica → stanice koje ulaze u programiranu smrt ili apoptozu imaju izrazito fragmentiranu DNA. Njihovi se kometi jasno razlikuju od ostalih stanica jer imaju vrlo male glave i glavninu DNA raspršenu u dugim repovima

FLUORESCENCIJSKA *IN SITU* HIBRIDIZACIJA (FISH)

- Citogenetička tehnika koja omogućava specifično obilježavanje čitavih kromosoma (tzv. "Chromosome Painting“) ili pojedinih regija na kromosomima te kartiranje gena na kromosomima.

Princip metode:

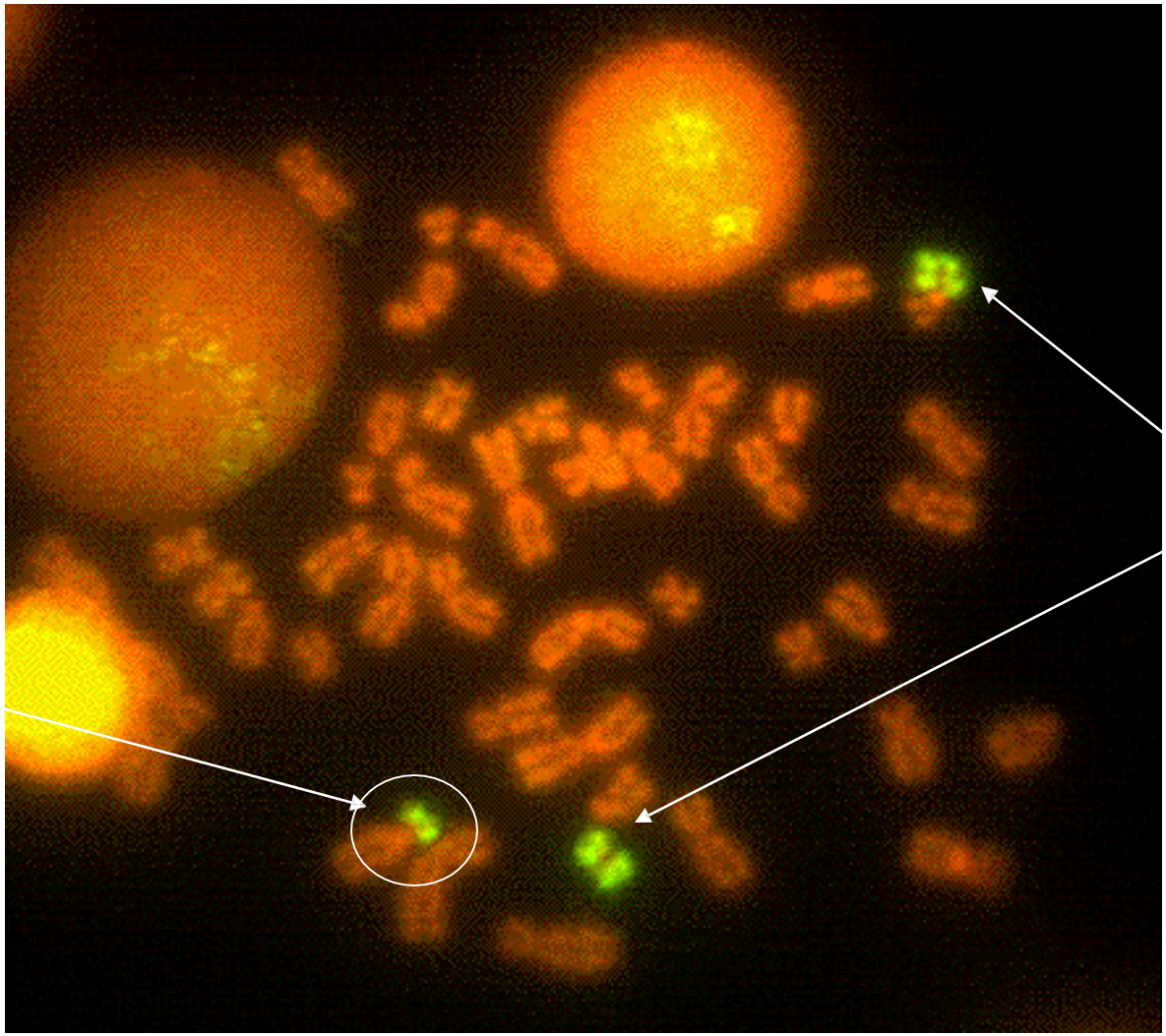
- Određeni slijed na molekuli DNA obilježava se s fluorescentnim markerom (tzv. DNA sonda, te se nanosi na mikroskopski preparat na kojem su metafazni kromosomi.

- DNA sonde i kromosoma se denaturira.

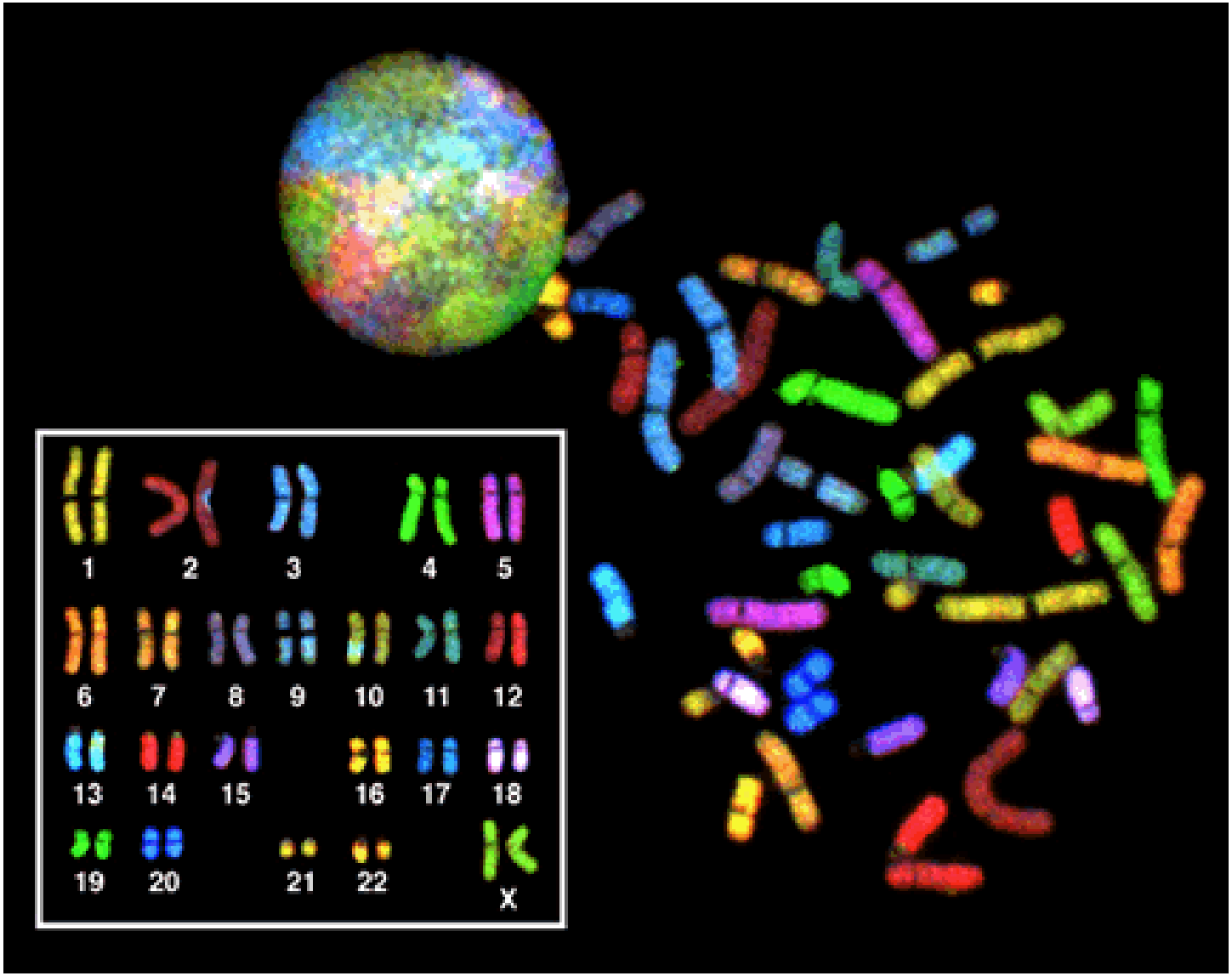
- DNA se renaturira, pri čemu se jednolančane molekule DNA sonde specifično povezuju s komplementarnim sljedovima na kromosomima.

- Tehnika je vrlo osjetljiva i najčešće se koristi u kliničkoj citogenetici.

- Omogućuje detekciju duplikacija, delecija, translokacija i inverzija na kromosomima.



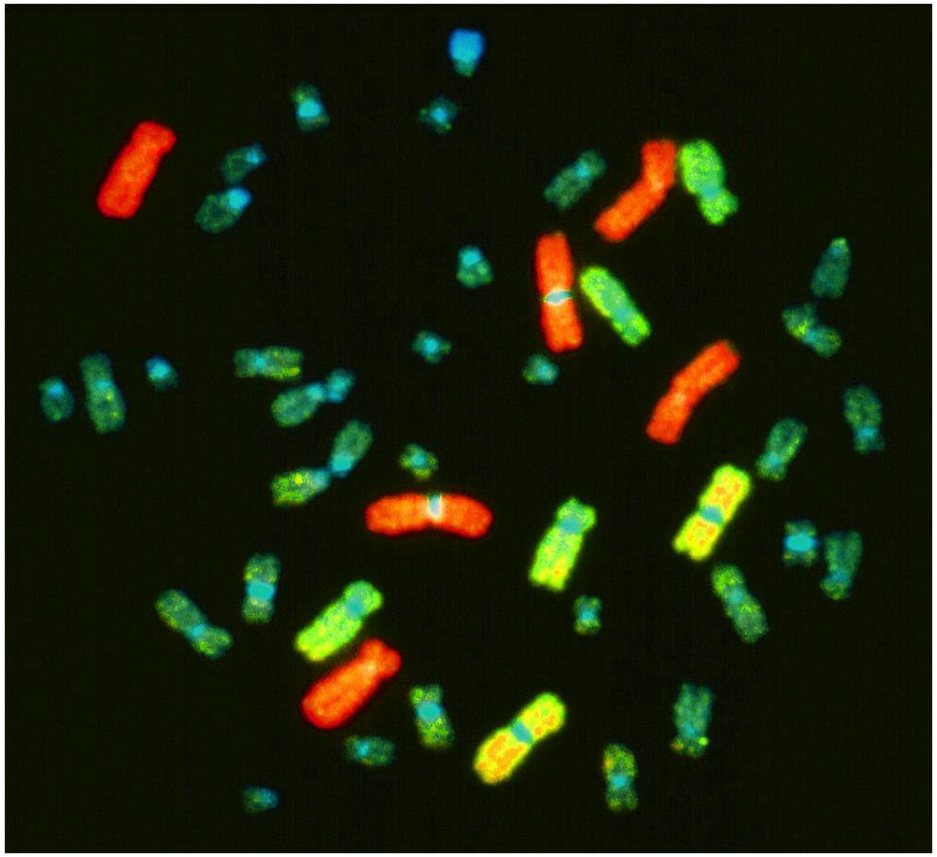
Here is an example of a 19 painting probe. The normal 19's are the two right-hand bright yellow chromosomes. The leftmost bright signal is a portion of chromosome 19 attached to another chromosome. This test was used to confirm the identity of the extra material as chromosome 19 material.



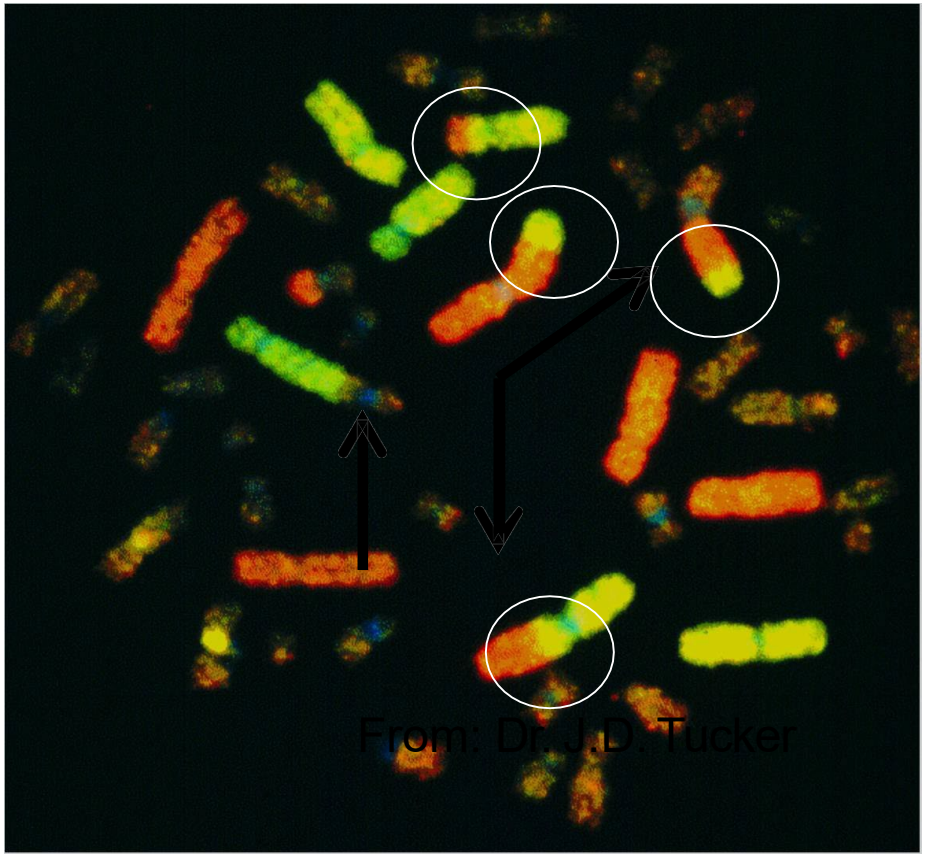
Specijalna kariotipizacija vizualizira sva 23 para kromosoma u isto vrijeme. Svaki par kromosoma obojen drugom bojom. Koristi se u identifikaciji translokacija u tumorskim stanicama i kod genetičkih abnormalnosti.

Multi-Color FISH kromosomi ljudskih limfocita

neozračeno



ozračeno



Multiplex FISH (M-FISH) - 27 različitih DNA proba hibridizirano istovremeno. Vidljivi su kompleksni kromosomski poremećaji u ozračenom uzorku

Hvala na pažnji!

