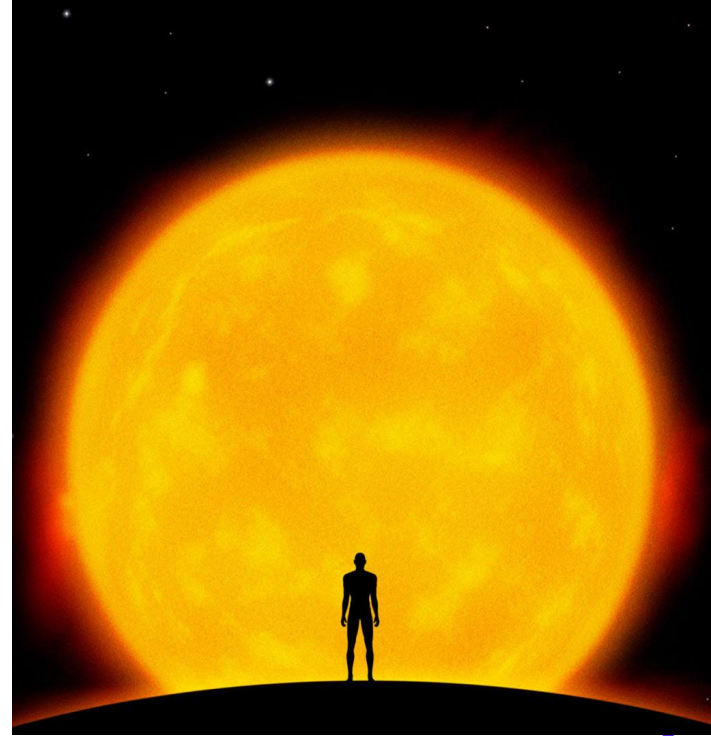
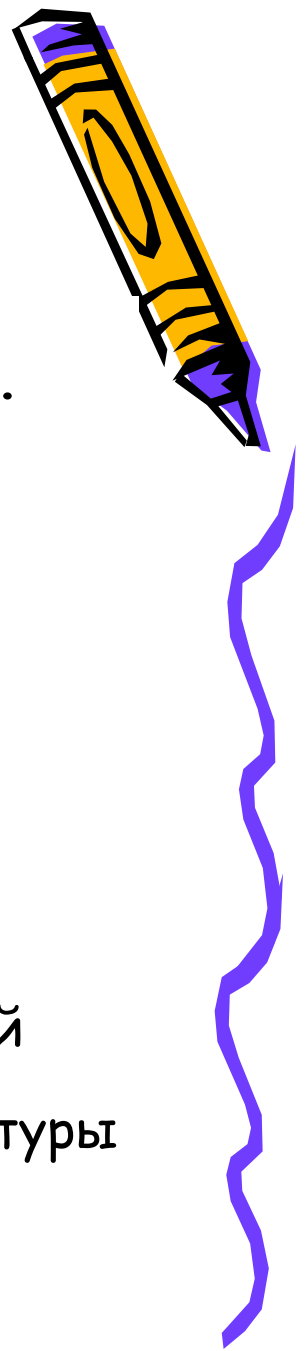


Методы окраски хромосом



Этапы цитогенетического анализа хромосом.



- Культивирование клеток крови человека (чаще лимфоцитов венозной крови) на питательных средах.
- Стимуляция митозов фитогемагглютинином (ФГА).
- Добавление колхицина (разрушает нити веретена деления) для остановки митоза на стадии метафазы.
- Обработка клеток гипотоническим раствором (хромосомы расходятся и лежат отдельно друг от друга).
- • фиксация клеток с использованием ледяной уксусной кислоты и этанола (метанола) в соотношении 3:1 (фиксатор Карнуа), что способствует сохранению структуры хромосом;
- • окрашивание хромосомных препаратов

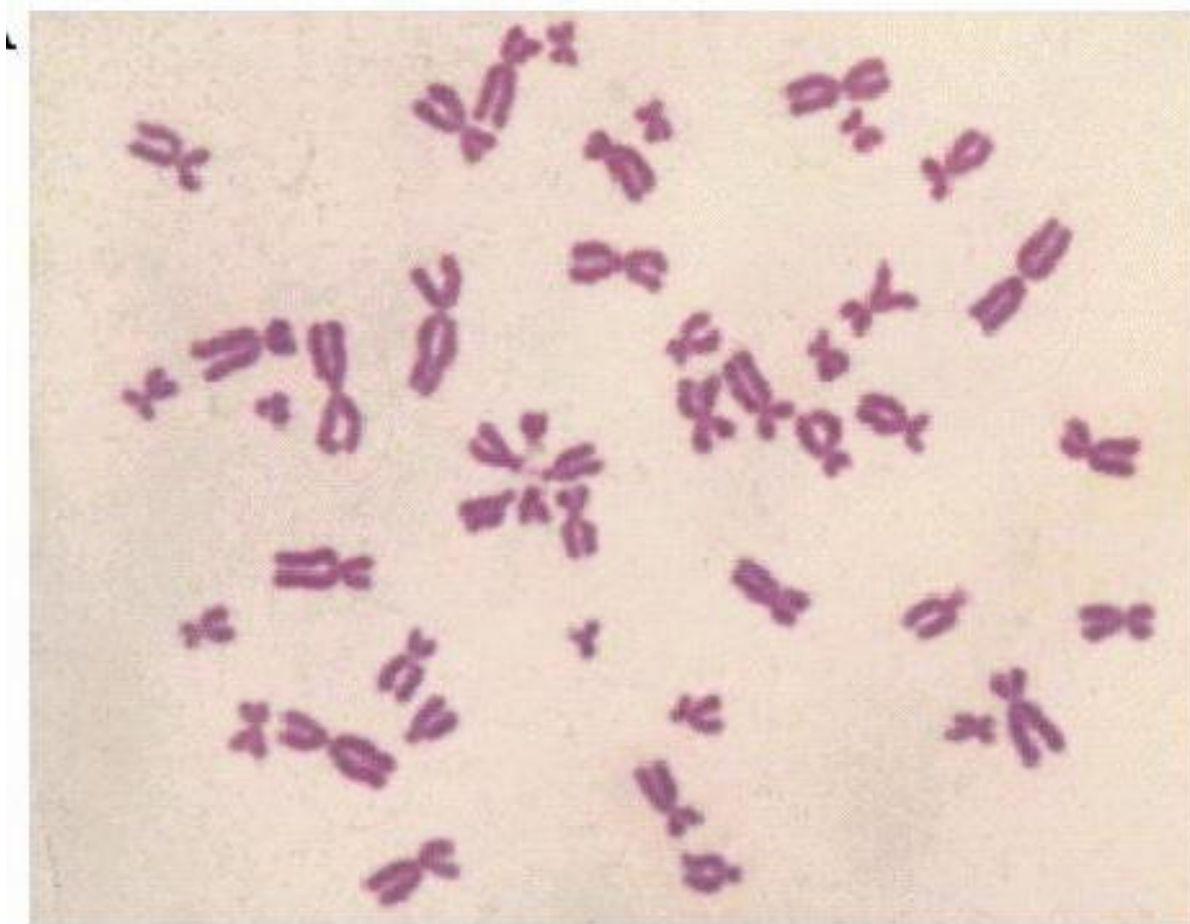


• Рутинная окраска

- позволяет охарактеризовать число и морфологию хромосом, выявить некоторые структурные нарушения, в частности, поломки, межхромосомные обмены с образованием дицентрических хромосом, крупные транслокации.

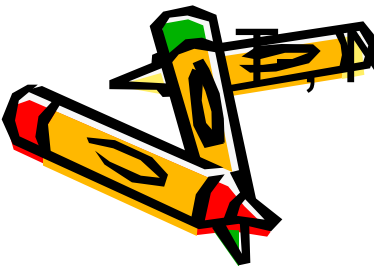


- краситель Романовского-Гимзы -
раствор эозина и метиленового
синего

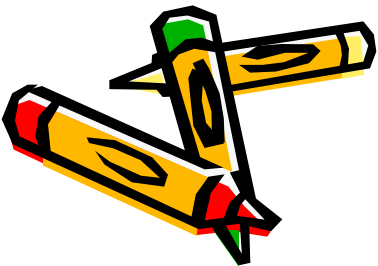




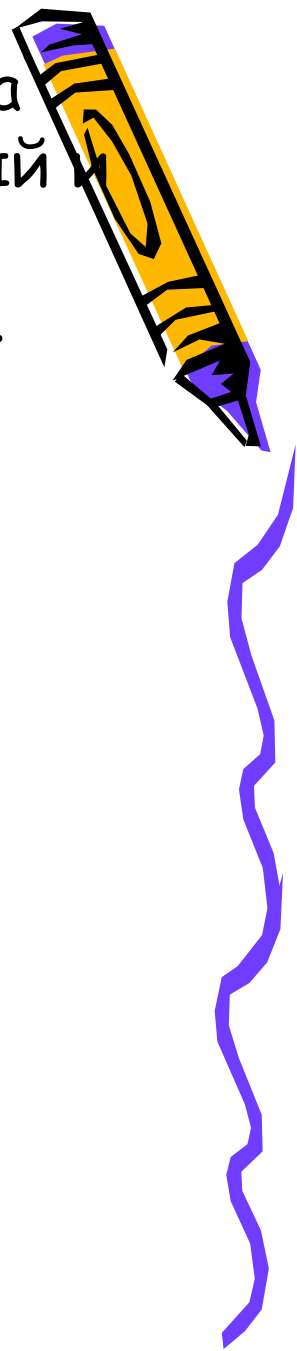
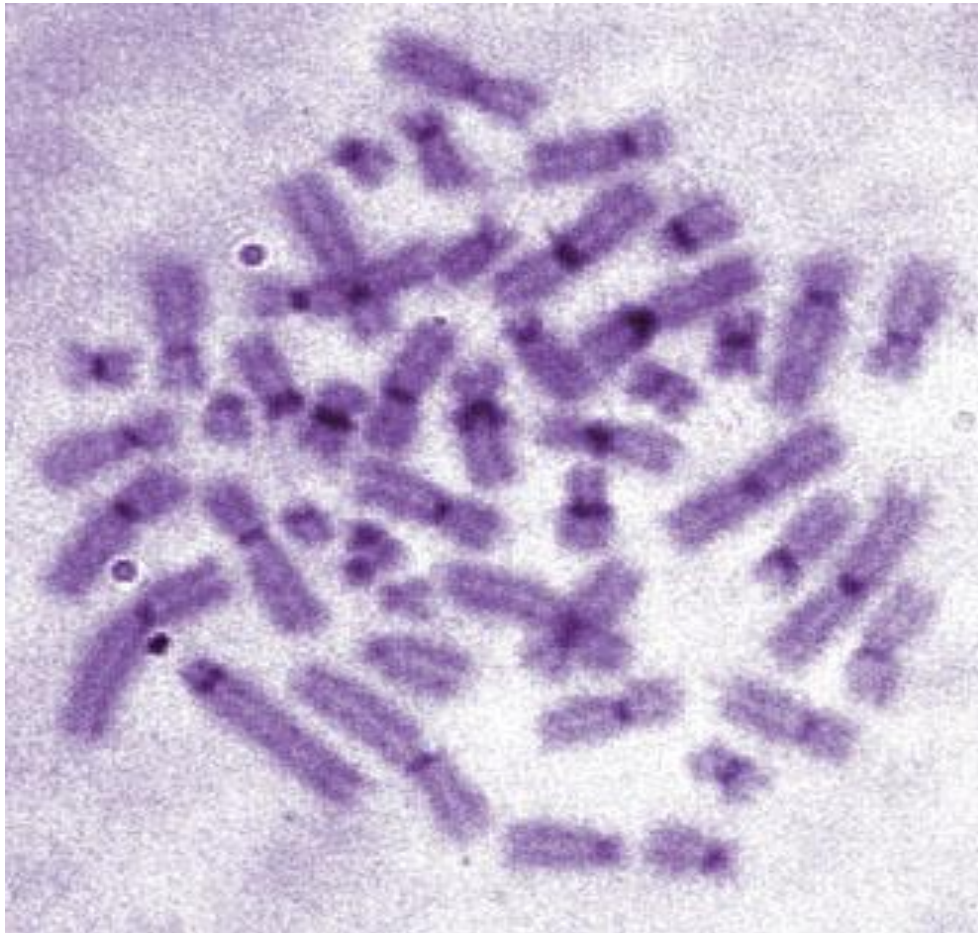
- **методы дифференциального окрашивания. 2 группы:**
- - приводящие к окрашиванию сегментов вдоль длины хромосом (Q-, G-, R);
- - приводящие к окрашиванию специфических хромосомных структур (C-, F-, NOR).

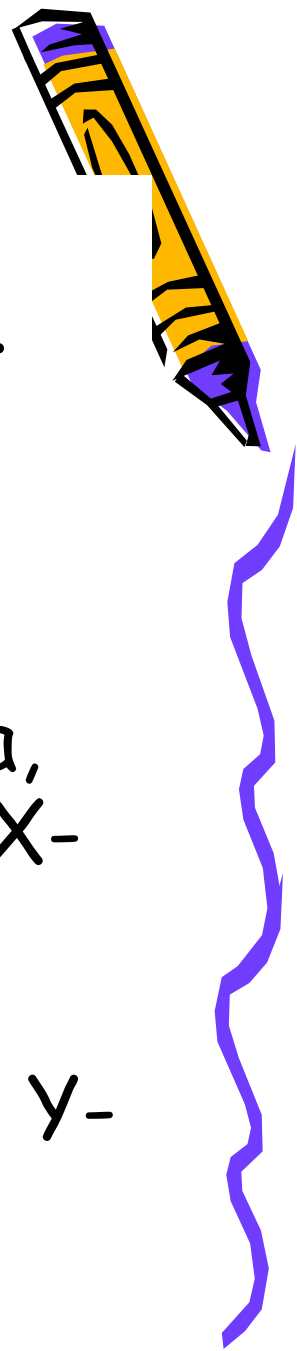


- **C-окрашивание** (от англ. *Costitutive heterochromatin* - конститутивный гетерохроматин) - выявляет темноокрашенные сегменты конститутивного гетерохроматина
- основан на кратковременном воздействии на препараты хромосом щелочью.
- Позволяет оценивать сегменты прицентромерных участков всех хромосом и длинного плеча Y-хромосомы).
- Используется для уточнения перичентромерных инверсий.



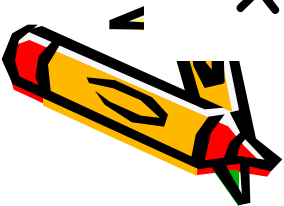
- при С-окраске в каждой хромосоме человека краситель воспринимает лишь центромерный и околоцентромерный районы во всех хромосомах и длинное плечо Y-хромосомы.



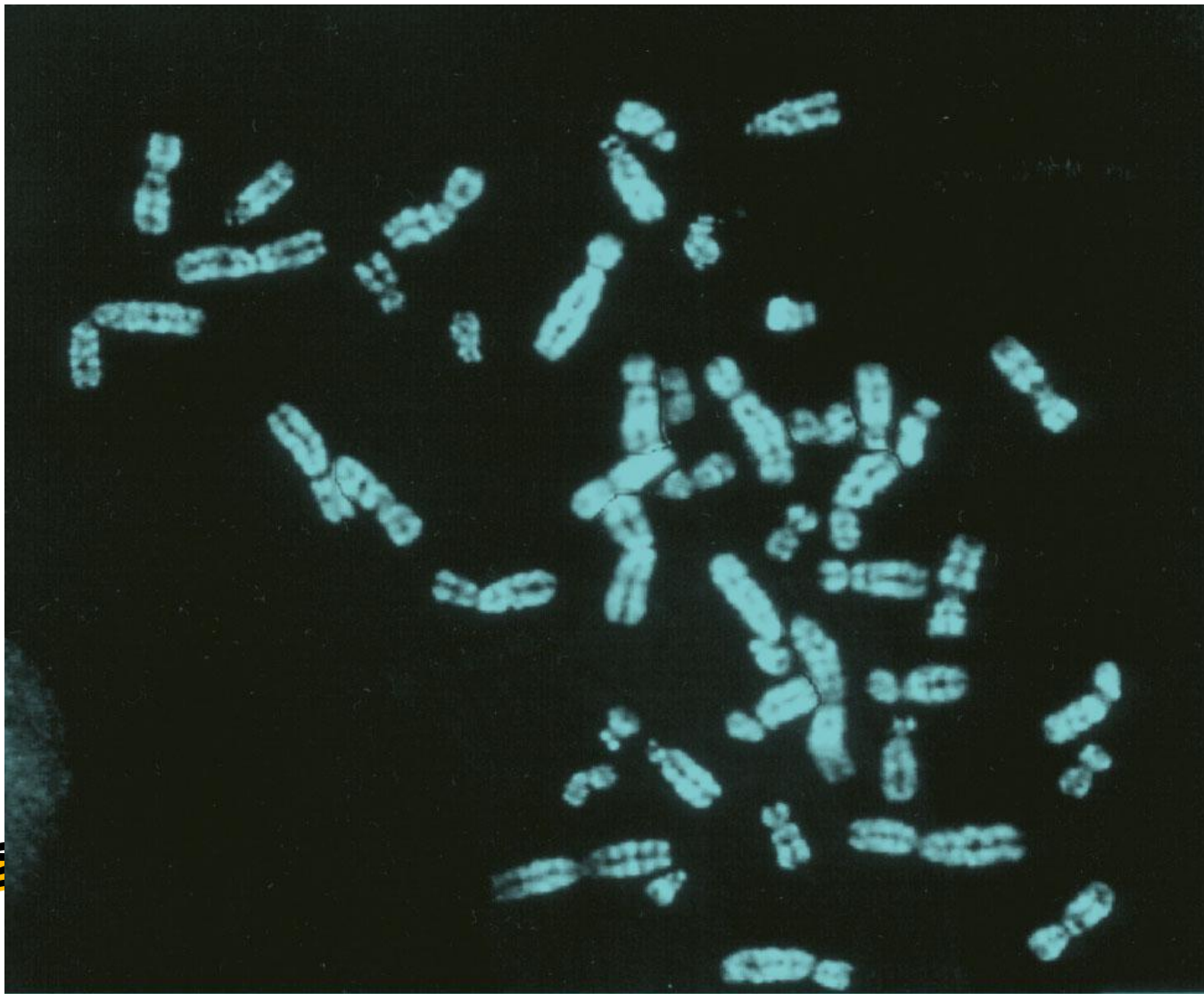


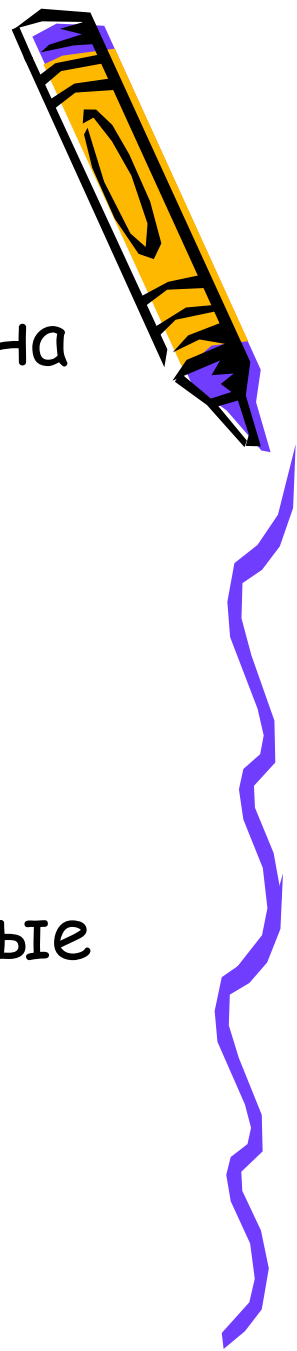
- Q-окраска(флуоресцентная с использованием флюорохромов.
- (акрихин и акрихин-иприт).

- используют для быстрого определения генетического пола, выявление транслокаций между X- и Y-хромосомами или между Y-хромосомой и аутосомами, как скрининг мозаицизма с участием Y-хромосом.



Q-метод

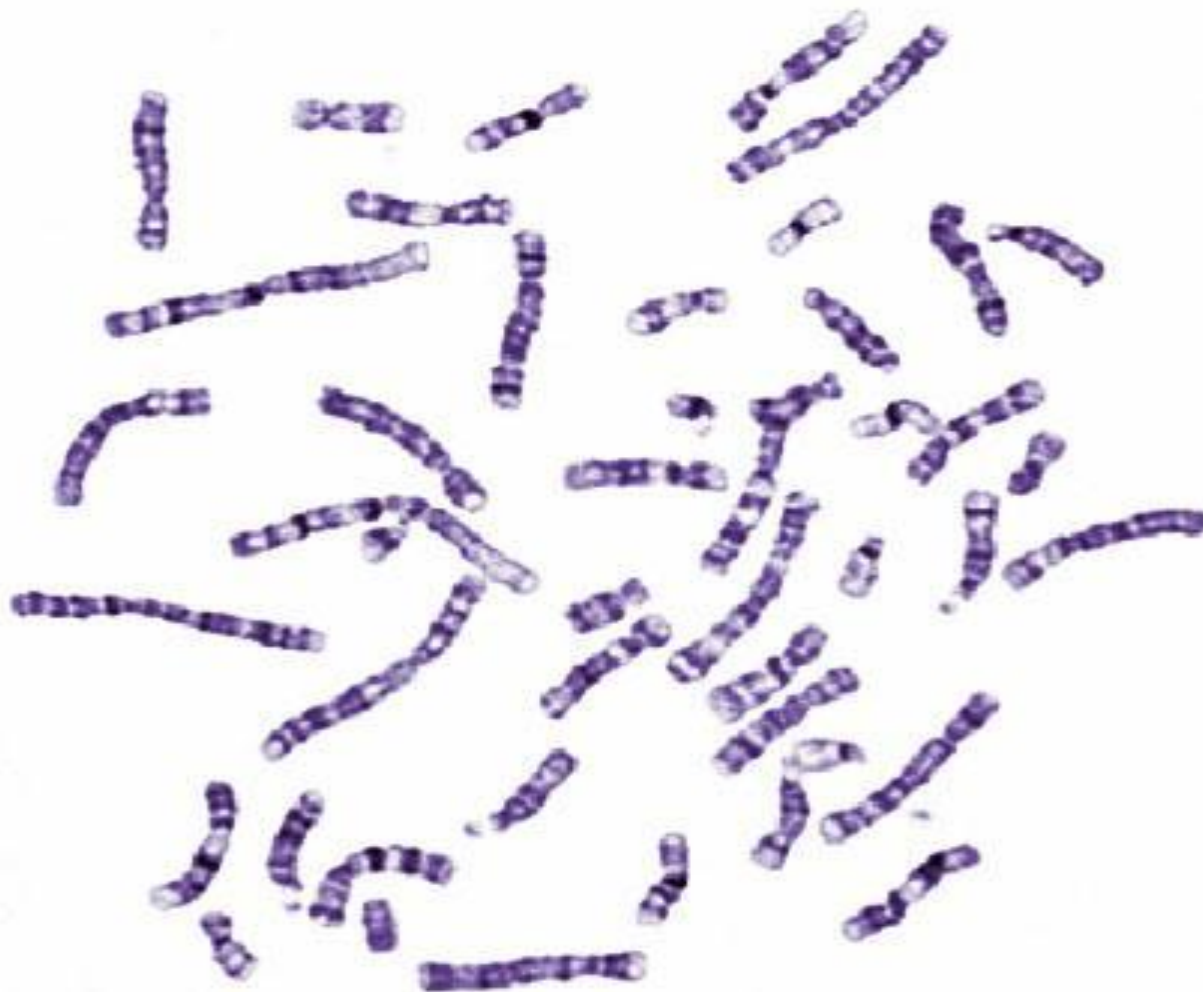


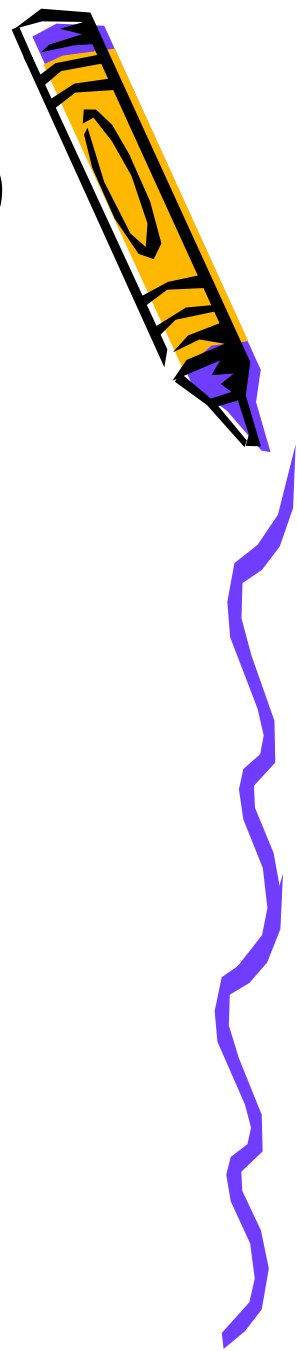


- **G-окрашивание** (Giemsa) - обработка хромосомных препаратов раствором протеолитического фермента трипсина и последующая окраска красителем Гимза,
- при этом наблюдается полосатая исчерченность хромосом, где темные полосы соответствуют гетрохроматиновым районам, а светлые - эухроматиновым.



G-метод

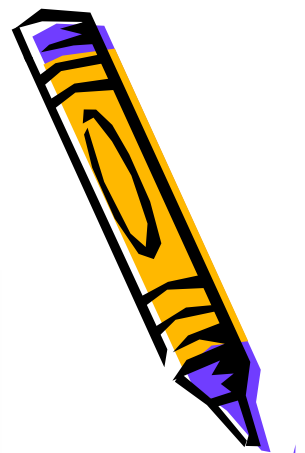
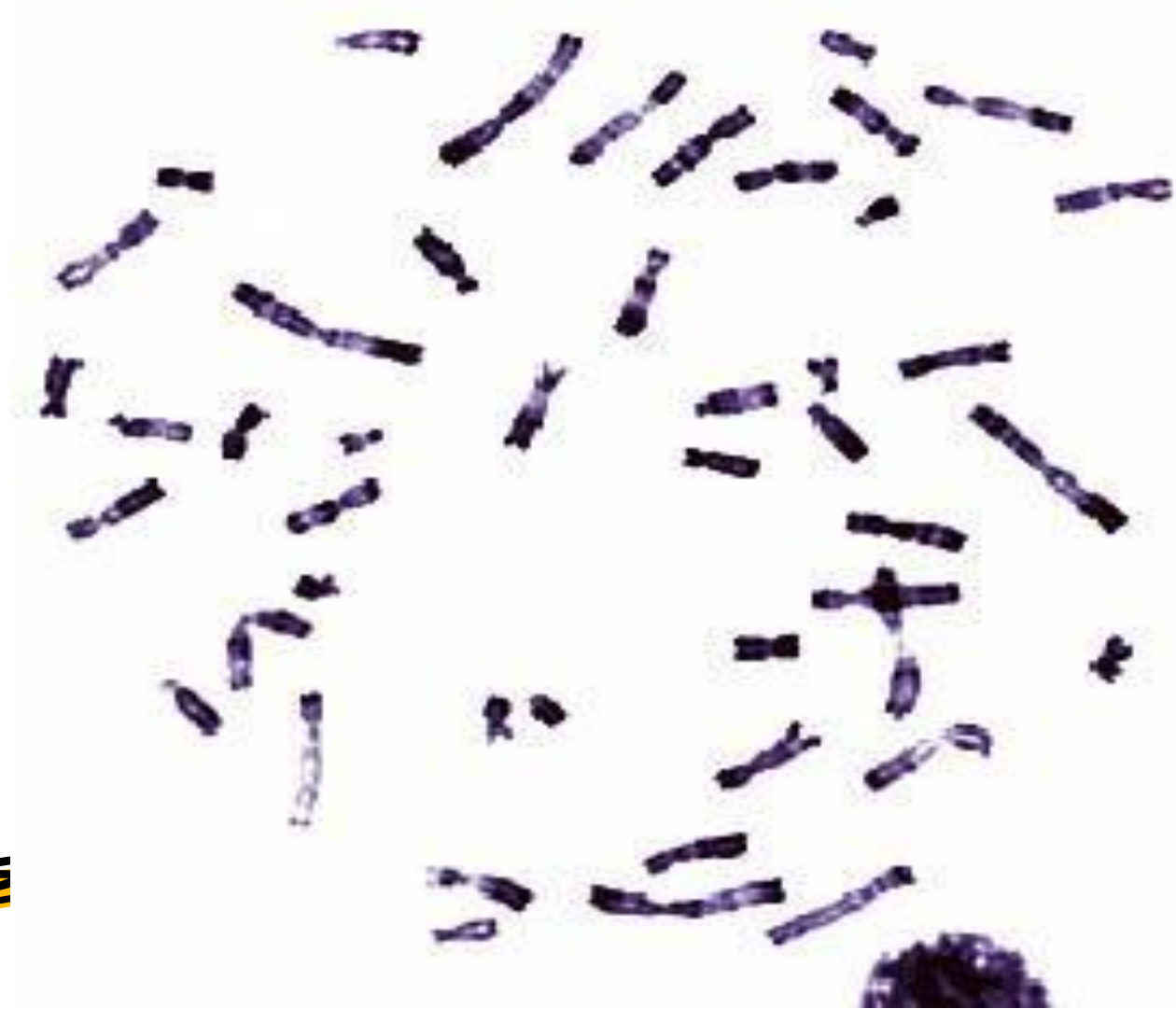




- R-окраска (от англ. Reverse - обратная) отличается противоположностью рисунка G-окраске.
- Темноокрашенными здесь являются эухроматиновые участки хромосом, а светлыми - гетерохроматиновые.
- нагревание препаратов хромосом при высокой температуре (78-90С) и окрашиванием раствором красителя Гимза

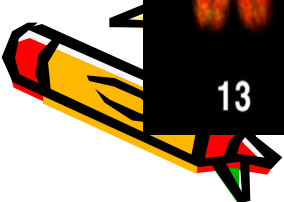
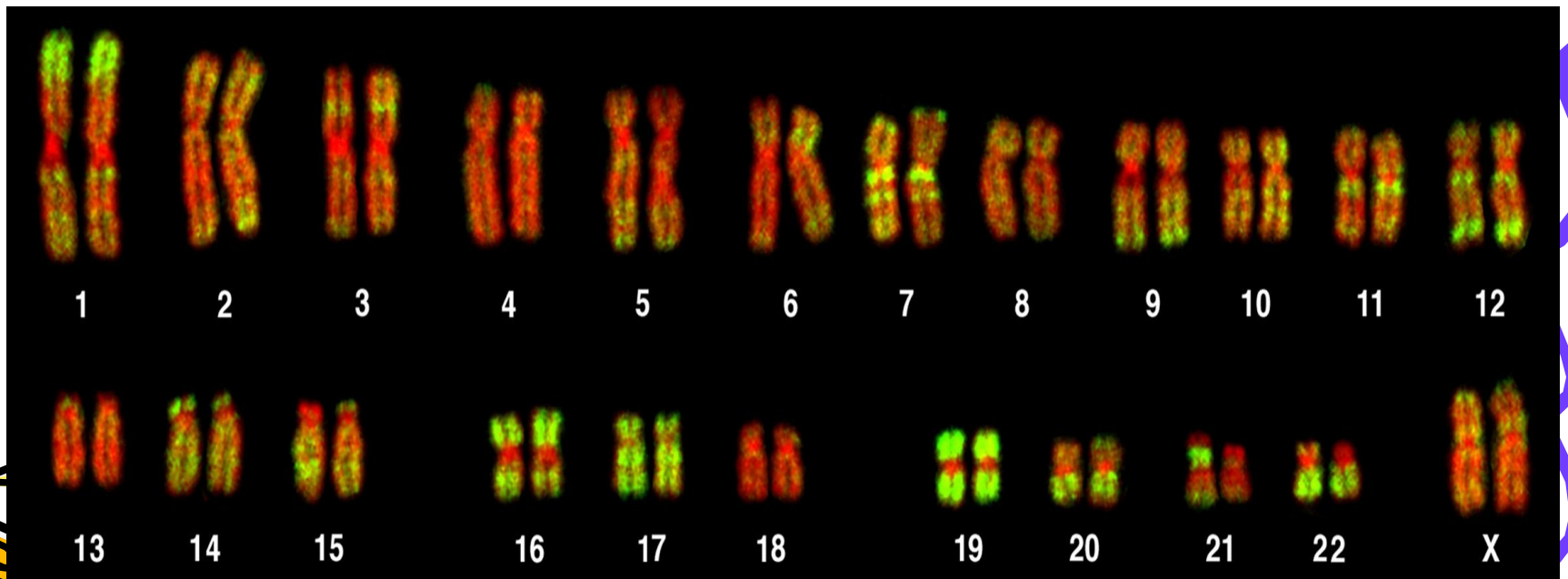


R-метод





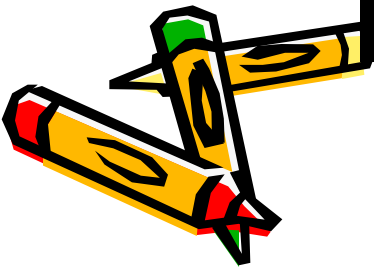
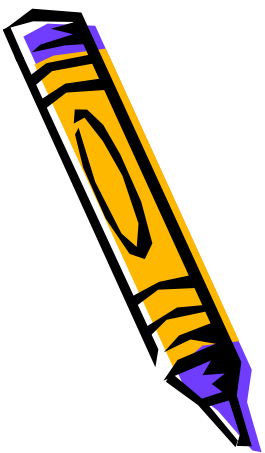
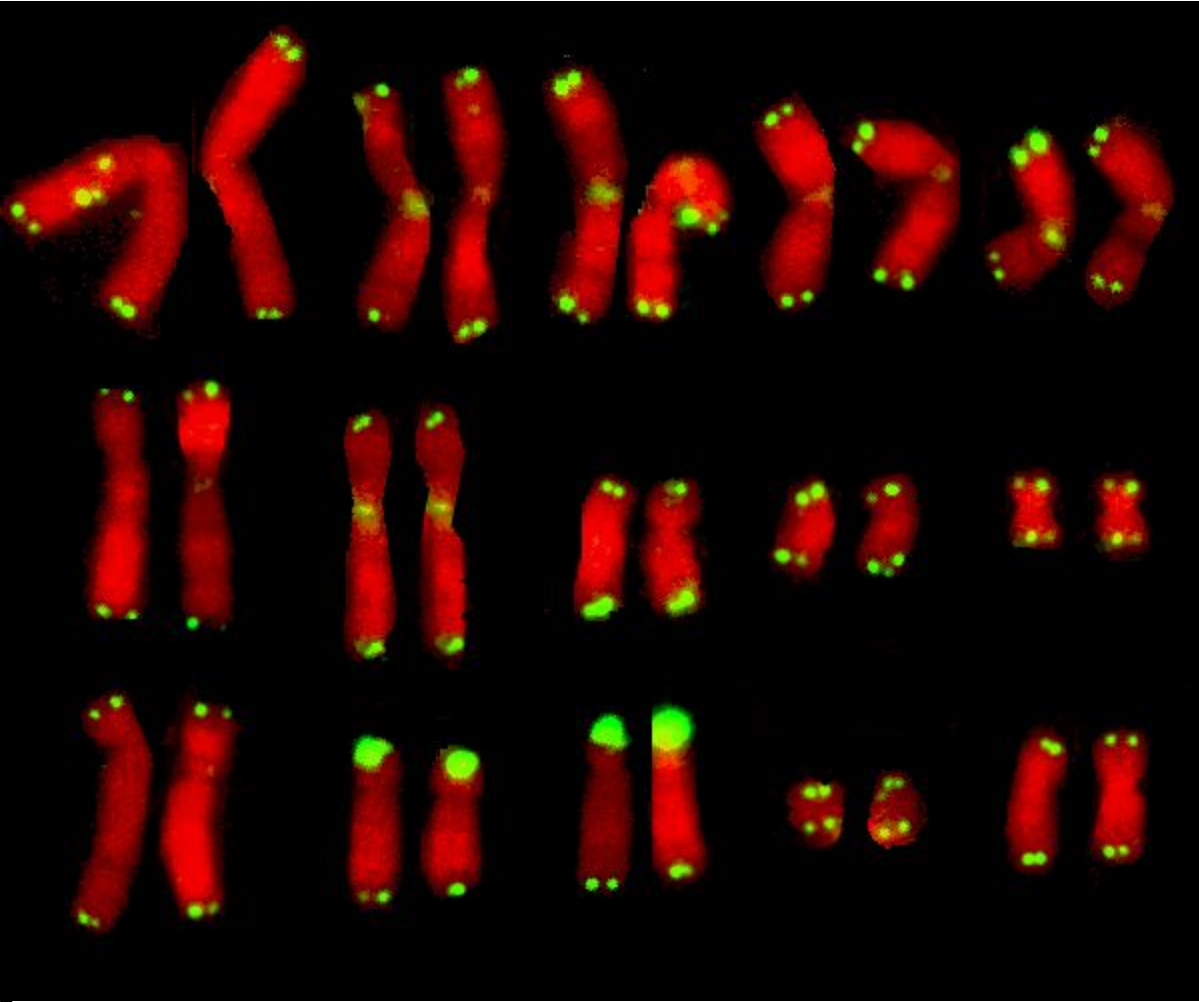
- T-окраска (от англ. Telomere - теломера) - применяется для выявления теломерных районов хромосом в коротких и длинных плечах.



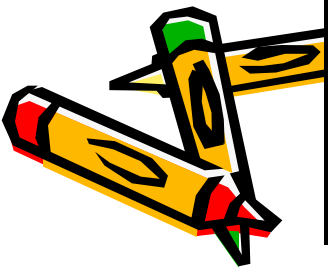
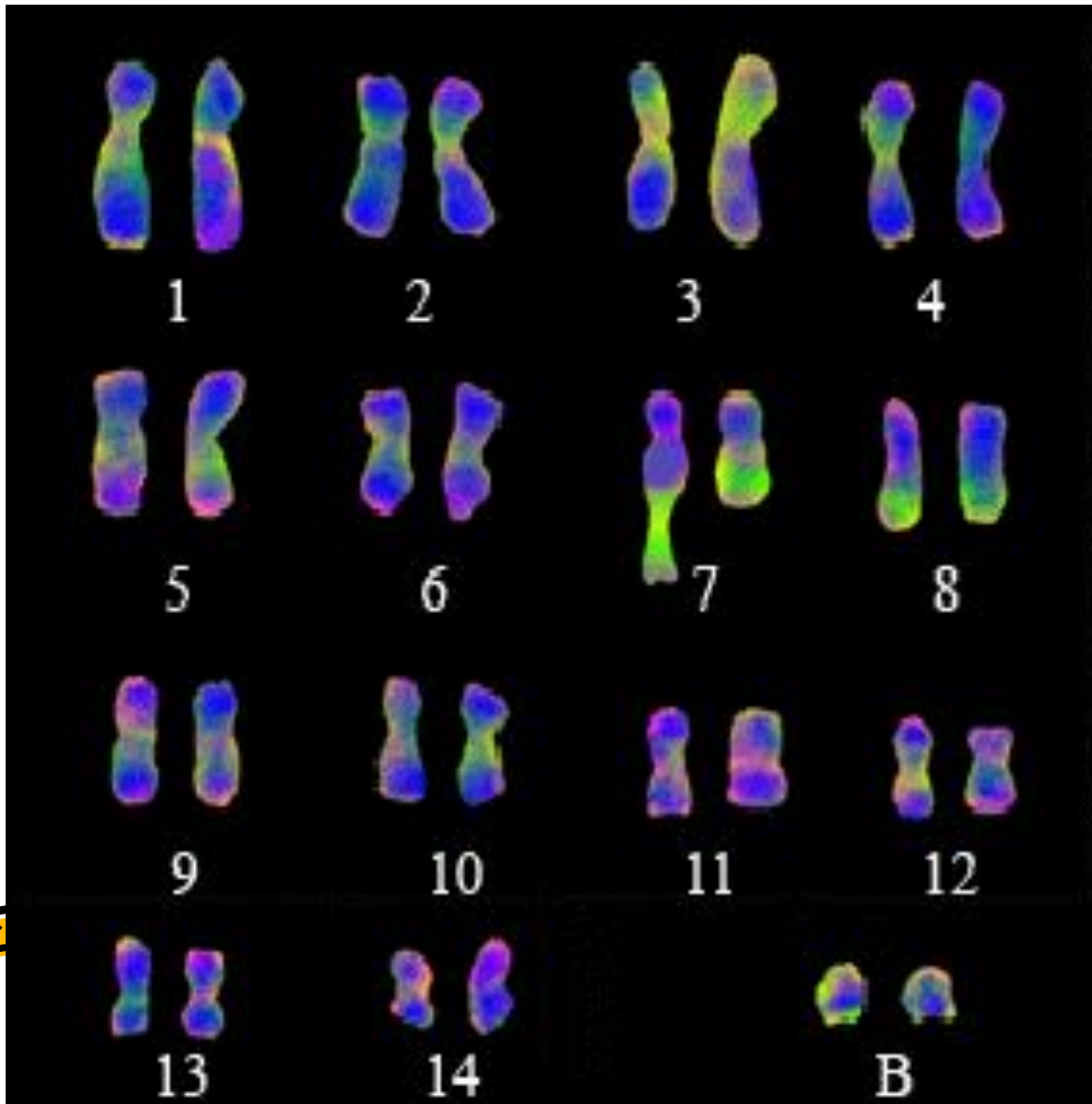


- NOR-окраска
- нитратом серебра (AgNO_3).
- Выявляют районы ядрышковых организаторов, содержащих гены рРНК и формирующих в интерфазе ядрышки





Fish

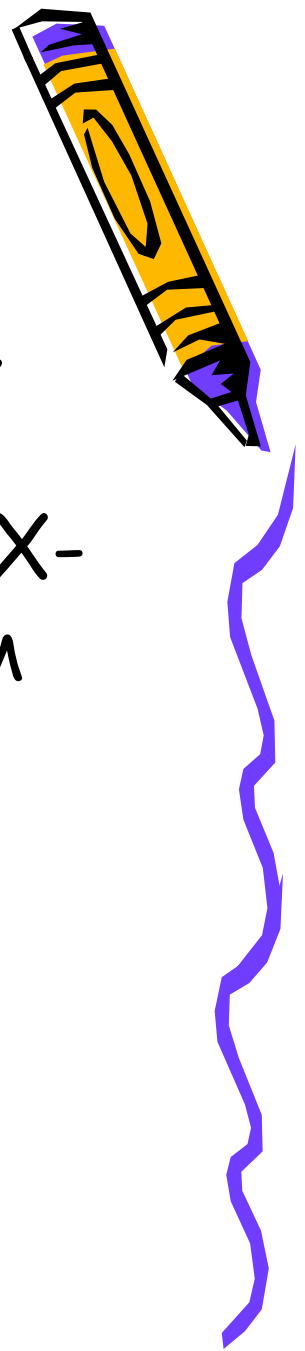


Определение полового хроматина

- В соматических клетках женщин половой хроматин выявляется в виде гетерохроматина - небольшой, хорошо окрашиваемой структуры округлой формы тельцем Барра.
- Половой гетерохроматин - это одна из X-хромосом, находящаяся в неактивном (суперспирализованном) состоянии.
- Количество телец Барра в клетках всегда на одно меньше, чем число X-хромосом.
- То есть только одна X-хромосома в соматических клетках человека (и мужчины, и женщины) всегда находится в активном состоянии.



- X-хромосома значительно больше Y-хромосомы и гораздо богаче генами. В связи с этим «феномен X-инактивации» служит механизмом компенсации различий в дозе генов, сцепленных с X-хромосомой.



- При микроскопии наличие в ядрах клеток одного тельца Барра означает, что клетки содержат две X-хромосомы,
- двух телец Барра – три X-хромосомы,
- отсутствие телец Барра свидетельствует о содержании одной X-хромосомы.

- *Возможности метода позволяют сделать заключение только относительно количества X-хромосом, но никак относительно кариотипа и даже общего состава половых хромосом. Обнаруженная аномалия всегда является показанием к кариотипированию.*

