

Citogenética molecular aplicada ao diagnóstico clínico

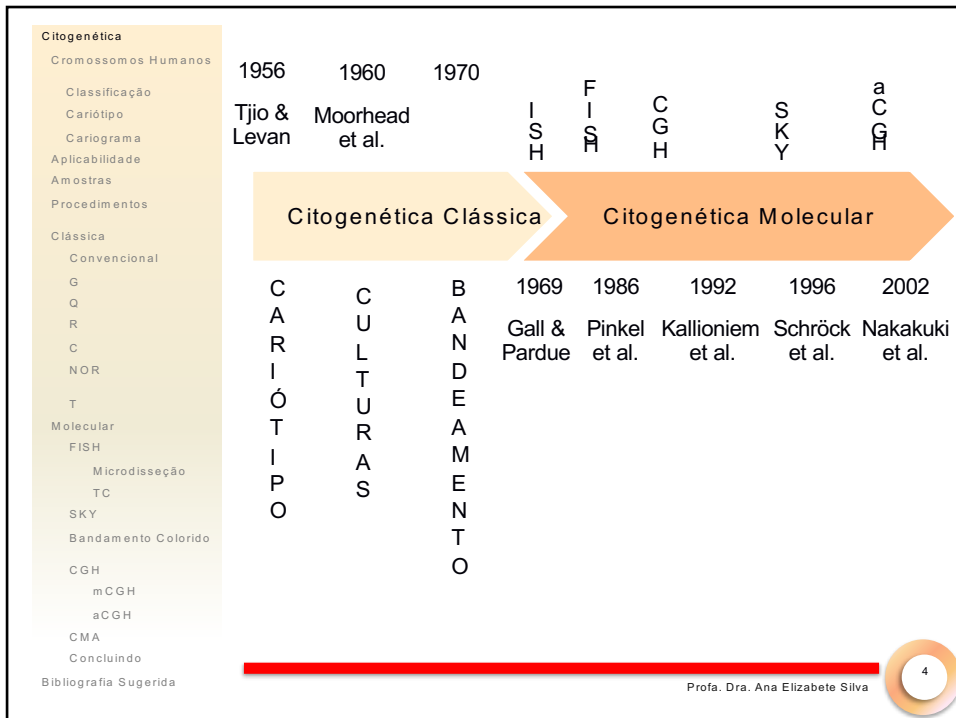
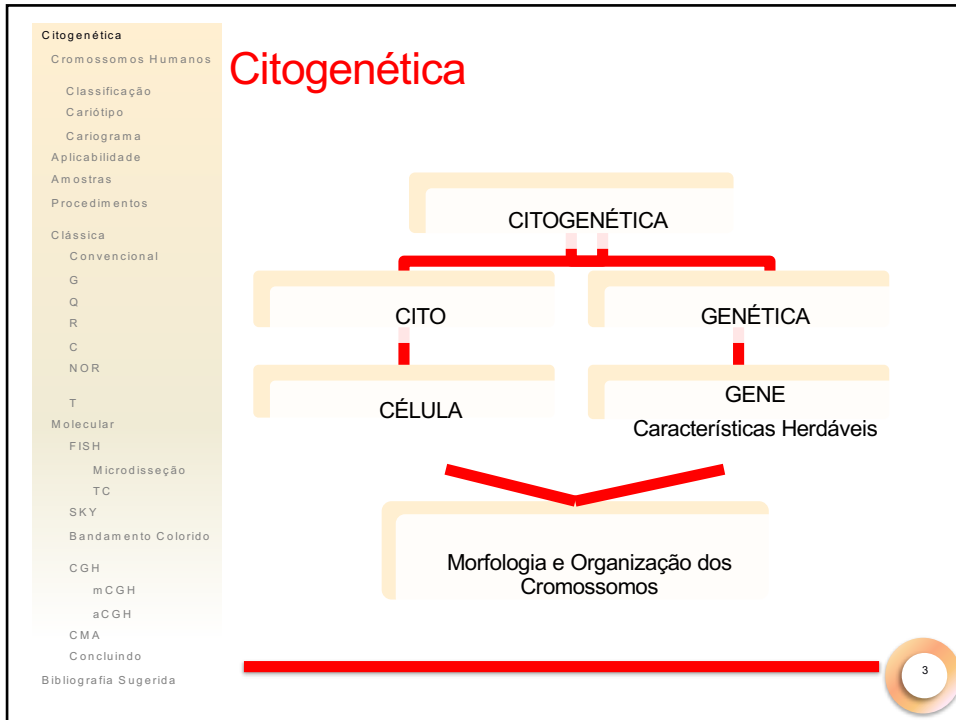
Profa. Dra. Marilanda Ferreira Bellini
Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular Humana
E-mail: marilanda.bellini@unesp.br
marilanda_bellini@yahoo.com



Objetivos

Ao término desta aula o aluno deverá ser capaz de:

- Identificar a estrutura cromossômica;
- Classificar cromossomos de acordo com a razão q/p (morfologia);
- Ordenar os cromossomos humanos de acordo com grupos de classificação morfológica (cariótipo);
- Elencar os diferentes tipos de materiais para obtenção de cromossomos;
- Descrever as técnicas de coloração cromossômica;
- Aplicar técnicas de citogenética no diagnóstico e prognóstico de patologias humanas.



Citogenética

Cromossomos Humanos

- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos

Clássica

- Convencional
- G
- Q
- R
- C
- NOR

T

Molecular

- FISH
- Microdisseção
- TC
- SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
- mCGH
- aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Cromossomos

5

Citogenética

Cromossomos Humanos

- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos

Clássica

- Convencional
- G
- Q
- R
- C
- NOR

T

Molecular

- FISH
- Microdisseção
- TC
- SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
- mCGH
- aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Cromossomos Humanos

46 cromossomos
Tijio & Leyvan, 1956

23 (origem paterna)

22 Autossomos
1 Sexual (X ou Y)

23 (origem materna)

22 Autossomos
1 Sexual (X)

Cromossomos homólogos: semelhantes em tamanho, forma, com a mesma disposição de genes.

6

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA


Concluindo

Bibliografia Sugerida


Cromossomos Humanos

Classificação


Acrocêntrico



$3,0 < q/p < \infty$




Submetacêntrico




$p \ 30\% < q$


$1,7 < q/p \leq 3,0$




Metacêntrico



$1 \leq q/p \leq 1,7$





Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

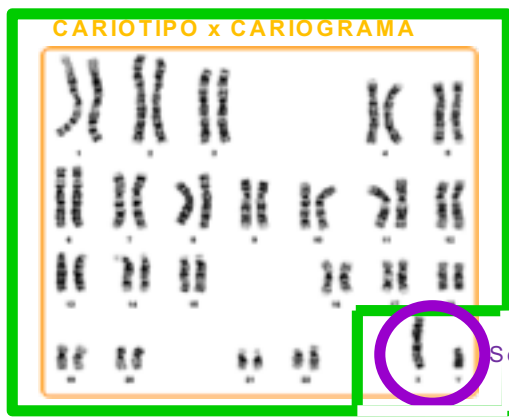
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida


Cromossomos Humanos

CARIÓTIPO x CARIÓGRAMA



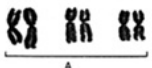
Constituição cromossômica

Organização cromossômica




Cariograma

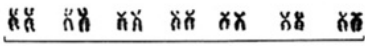
Grupo A
6 maiores cromossomos
(Pares 1 a 3)
1 e 3 → metacêntricos
2 → submetacêntrico



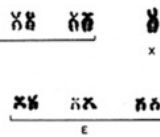
Grupo B
Maiores submetacêntricos,
após o 2
(Pares 4 e 5)



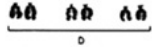
Grupo C
Submetacêntricos
(Pares 6 a 12 + X)



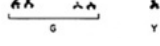
Grupo E
(Pares 16 a 18)
16 → metacêntrico
17 e 18 → submetacêntricos




Grupo D
Acrocêntricos
(Pares 13 a 15)
Região satélite




Grupo G
Menores Acrocêntricos
(Pares 21 e 22 + Y)
Região Satélite (exceto Y)



Grupo F
Menores metacêntricos
(Pares 19 e 20)





Citogenética


- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade**
- Amostras
- Procedimentos
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Aplicabilidade:

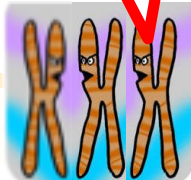
Anomalias Cromossômicas

↓

Alterações Microscopicamente Visíveis



Estruturais




Numéricas

↓

Distúrbios Cromossômicos → **Malformações congênicas**
Incapacidade Intelectual
Abortos Espontâneos
Infertilidade

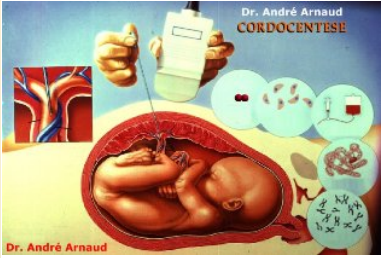
O que você está fazendo aqui?



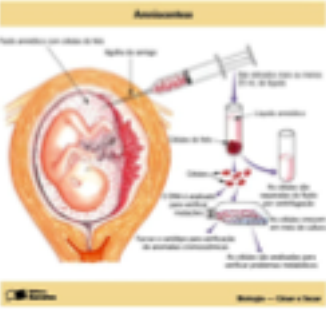
Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras**
- Procedimentos
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Amostras



12ª a 15ª semana



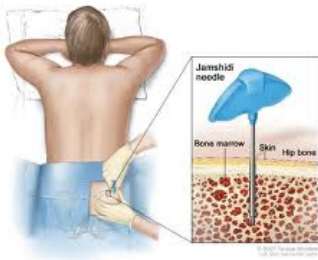
≥16ª semana

11

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras**
- Procedimentos
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Amostras



→ Procedimentos Citogenética

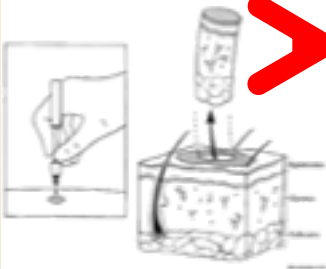
Meio de cultura RPMI 1640 (10mL);
Soro Fetal Bovino à 10%.

12

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras**
- Procedimentos
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
- T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Amostras



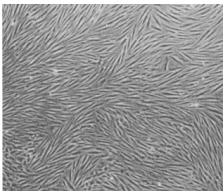
Biópsia
Material de Aborto
(Placenta ou feto)

Fragmentação
Mecânica e Enzimática
Colagenase (0,125%),
37°C , 5% de CO₂/1h

↓

Crescimento
(2 a 3 dias)

Meio de cultura Alfa-mem (10mL);
Soro Fetal Bovino à 10%.



Procedimentos Citogenética ←

13

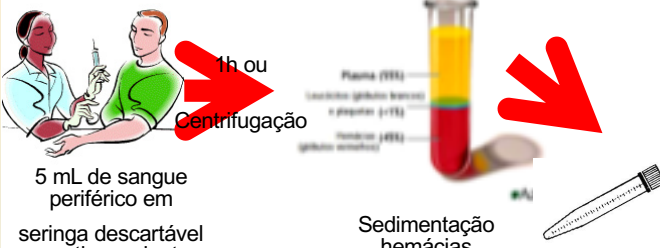
Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras**
- Procedimentos
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
- T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Amostras

Cultura de Linfócitos

(Moorhead et al., 1960)



5 mL de sangue periférico em
seringa descartável
+ anticoagulante

Centrifugação

Sedimentação hemácias

Transferir plasma +
linfócitos + 5,0 mL de
Meio de cultura RPMI
1640 + 10% de soro + 1%
fitohemaglutinina
70h, 37°C

Intérfase:

G1 = 14 a 24 horas

S = 8 a 9 horas

G2 = 2 a 3 horas

14

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

• Fitohemaglutinina

- *Phaseolus vulgaris*
- Desdiferenciação
- Mitogênico

Fitohemaglutinina

<https://alunosanalisesclinicas.wordpress.com/tag/hematologia/>

Acesso: 07/09/2018

15

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Hipotonia e pingagem em lâmina

Leucócitos em cultura estimulados com fitohemaglutinina

Visão da metáfase em lâmina

16

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
- FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Obtenção de Cromossomos

- **Colchicina**
 - *Colchium autumnale*
 - Alcalóide
 - Impede a formação da fibra do fuso

Figura 1 Ação da Colchicina aplicada em diferentes fases do ciclo celular. Os cromossomos arrestam na metáfase da duplicação cromossômica. Os cromossomos arrestam de 8 minutos (Carr-Saunders) até minutos minutos após o início de polimerização de microtubulos (Carr-Saunders) e Boveri-Boveri.

17

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
- FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Procedimentos de Citogenética

Colchicina
1,5 - 2h
37°C

800 a 1000 rpm
5 min

Solução Hipotônica
37°C - 10 min
KCl (0,075%)

800 a 1000 rpm
5 min

Fixador
Metanol: Ácido
acético (3:1)

18

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Classificação por bandas

- **Caracterização realizada por técnicas especiais de tratamento e coloração → bandas**
- **Padrão definido de segmentos corados ao longo do cromossomo**



Banda Clara

Banda Escura

19

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Métodos de Coloração

- **Métodos de Citogenética**
 - Convencional (Giemsa)
 - Banda G = discrimina segmentos cromossômicos
 - Banda R = reversa de G
 - Banda Q = Quinacrina, Bandas brilhantes correspondem a bandas G escuras
 - Banda C = evidencia região centromérica e pericentromérica
 - Banda NOR (RON) = evidencia Região Organizadora de Nucléolos.
 - Banda T = evidencia telômeros
- **Métodos de Citogenética Molecular**
 - FISH
 - SKY
 - CGH

20

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

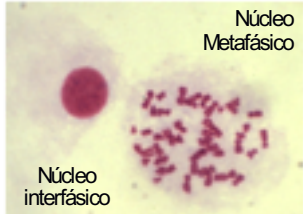
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Coloração Convencional (Giemsa)

- **Cromossomos corados homogeneamente;**
 - Contagem dos cromossomos
 - Classificação em 7 grupos
 - Alterações Grosseiras
 - Alterações Numéricas
 - Alterações Estruturais
- Pareamento cromossômico de 1, 2, 3, 16, 17, 18 e Y.



Núcleo Metafásico

Núcleo Interfásico

Cultura de linfócitos Femininos, 44+XX,
Aumento final: 1000x

21

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

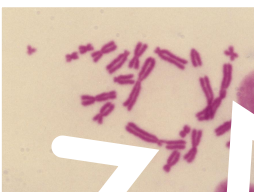
CMA

Concluindo


Bibliografia Sugerida

Coloração Convencional (Giemsa)

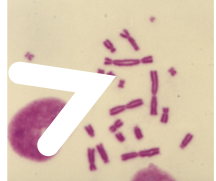
- **Alterações Estruturais**



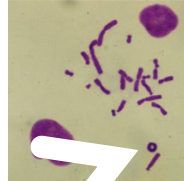
Quebras e Gaps Cromatídicos



Rearranjos Complexos



Cromossomo Dicêntrico



Cromossomo em Anel

Cultura de Células CHO-k1
Aumento final: 1000x

22

Bellini, Mantovani 2003, http://gentox.bio.br/?page_id=92

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda G, GTG (Seabright, 1971)

- Enzima: Tripsina – desnaturação de proteínas.
- Corante: Giemsa

Ou

- Desnaturação por Calor (tampão fosfato 0,06M)
- Corante Wright

- Discrimina segmentos cromossômicos.
- Bandas escuras (G+) → DNA rico em AT, genes pouco ativos, heterocromatina
- Bandas claras (G-) → DNA rico em CG, genes muito ativos, eucromatina

23

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

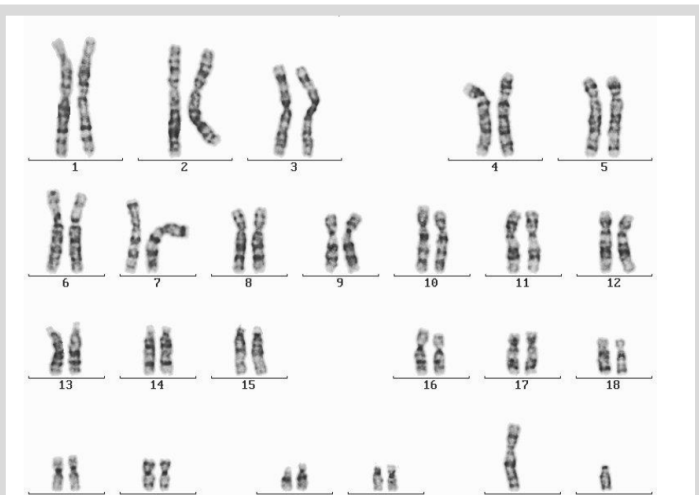
mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida



Bandamento GTG: Cariótipo de homem normal 46, XY.

Banco de dados do Departamento de Genética da FMRP - USP

24

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

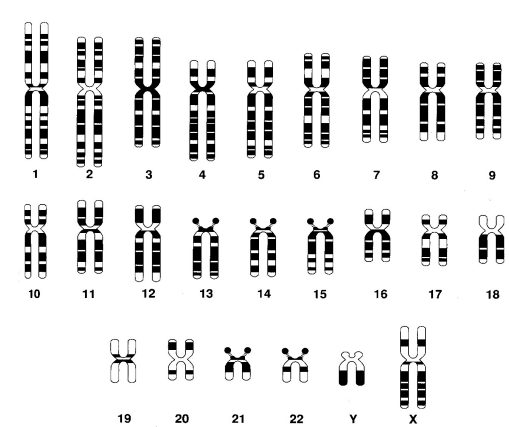
mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida



400-500 bandas

Resolução:

~6 milhões pb

~50 genes/banda

5-10 Mb

25

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva – <http://www.ucm.es/.../AVG/praticas/ cariotipo/carioP.htm>
http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S1413-81232002000300013&script=sci_arttext

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

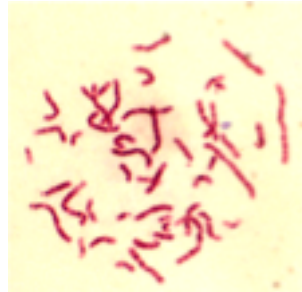
aCGH

CMA

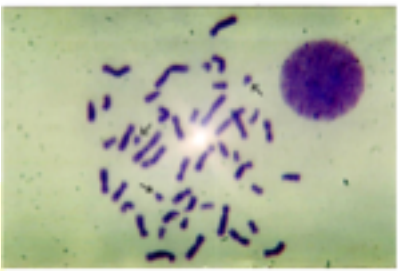
Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda G, GTG



Cultura de linfócitos Femininos, 44+XX,
Aumento final: 1000x



Cultura de linfócitos Masculinos, 45+XY,
Trissomia do 21 – Síndrome de Down
Aumento final: 1000x

26

Bellini, Peruquetti, Orcini2012,
http://www.poligene.com.br/laboratorios_florianopolis_areas_atuacao_humana_citogenetica.asp

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda G

- Leucemia Mielóide Crônica (LMC)
- Cromossomo Filadélfia.

t (9;22) (q34;q11)

<http://www.unesp.br/prope/projtecn/Saude/saude48a.htm>,
<http://ligadepatologiaufc.blogspot.com.br/2011/10/leucemia-mielode-cronica.html>

27

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Interpretação de Bandas e sub-bandas

Esquema de la t(4;8)mat.

Cromossomo → braço → região → banda → sub-banda → sub-sub-banda

8
q
q2
q21
q21.1
q21.13

28

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Conventional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

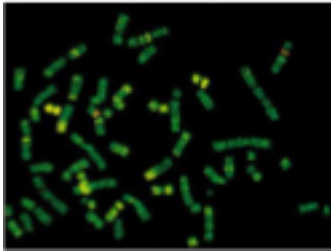
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda Q

- **Corante: Quinacrina (fluorescente);**
- **Bandas brilhantes e opacas;**
- **Bandas brilhantes correspondem a bandas G escuras (G+);**




29

<http://www.slideboom.com/presentations/2200>

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Conventional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

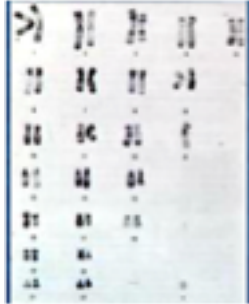
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda R

- **Desnaturação com solução salina e calor;**
- **Corante: Giemsa**
- **Bandamento inverso ao de Banda G e Banda Q**
 - Banda R escura → Banda G clara, Banda Q opaca
 - Banda R clara → Banda G escura, Banda Q brilhante



30

<http://www.slideboom.com/presentations/2200>

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda C (Summer, 1972)

- Solução de Hidróxido de Bário e HCl + Corante Giemsa.
- Evidenciam região que contem heterocromatina constitutiva:
 - centromérica,
 - pericentroméricas,
 - Yq.



Cromossomo dicêntrico




<http://dc127.4shared.com>

31

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

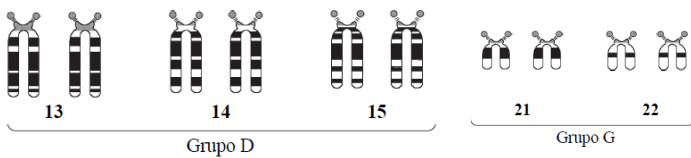
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida


Banda RON (NOR)

- Corante: Nitrato de Prata
- As bandas NOR evidenciam região organizadora de nucléolo.



Grupo D Grupo G

Impregnação pela prata nos cistrons ribossômicos ativos na intérfase anterior



Amabis & Martho, Analisando cariótipos humanos, 1997, Bellini, Peruquetti, 2012

32

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH


CMA


Concluindo

Bibliografia Sugerida

Banda T

- **As bandas T correspondem a regiões teloméricas;**





Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA


Concluindo

Bibliografia Sugerida


Banda T

- **Tamanho x Envelhecimento**
- **Células Somáticas**
- **Telô~~me~~rase**

< Telômero > idade célula




Progérias




Síndrome Hutchinson-Gilford

Síndrome Werner



Envelhecimento precoce





Síndrome Hutchinson-Gilford

Abbreviations used in describing chromosomes and karyotypes

Abbreviation	meaning	example	description
cen	centromere		
del	deletion	46, XX, del(5)(p15.3)	Cri du chat syndrome deletion of band 5p15.3
der	derivative chromosome	der(22)	a chromosome derived from chromosome 22 and containing the chromosome 22 centromere
dup	duplication	46, XY, dup(21)(q21)	A male with a duplication of band q21 on chromosome 21
inv	inversion	46, XX, inv(9)(p12q13)	A female with a pericentric inversion on chromosome 9
mar	marker chromosome	47, XX, +mar	A female with an extra (unidentified) chromosome
mat	of maternal origin	46, XY, del(15)(q12)(mat)	A boy with Angelman syndrome
pat	of paternal origin	46, XX, del(15)(q12)(pat)	A girl with Prader-Willi syndrome
t	translocation	46, XY, t(1;2)(p21;p24)	A boy with a reciprocal translocation between band p21 on chromosome 1 and band p24 on chromosome 2
ter	the end of the chromosome arm	pter or qter	
+	gain of material	47, XY, +21	A boy with trisomy 21
-	loss of material	46, XX, 5p-	A less precise definition of the girl with Cri du chat above
/	mosaic	46,XX / 45, X	A mosaic case of Turner's syndrome

Alterações Cromossômicas

70's

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH


CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Citogenética Molecular

- Perdas e ganhos cromossômicos;
- Amplificações e deleções gênicas;
- Identificação cromossômica;
- Mapeamento;
- Rearranjos.



<http://www.avensonline.org/blog/cytogenetics-analysis-of-chromosomes.html/>

Acesso em 07/09/2018

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH


aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

FISH



Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 83, pp. 2934-2938, May 1986
Genetics

Cytogenetic analysis using quantitative, high-sensitivity, fluorescence hybridization

(in situ hybridization/biote labeling/hybrid cells/chromosome-specific staining)

D. PINKEL, T. STRAUPE, AND J. W. GRAY

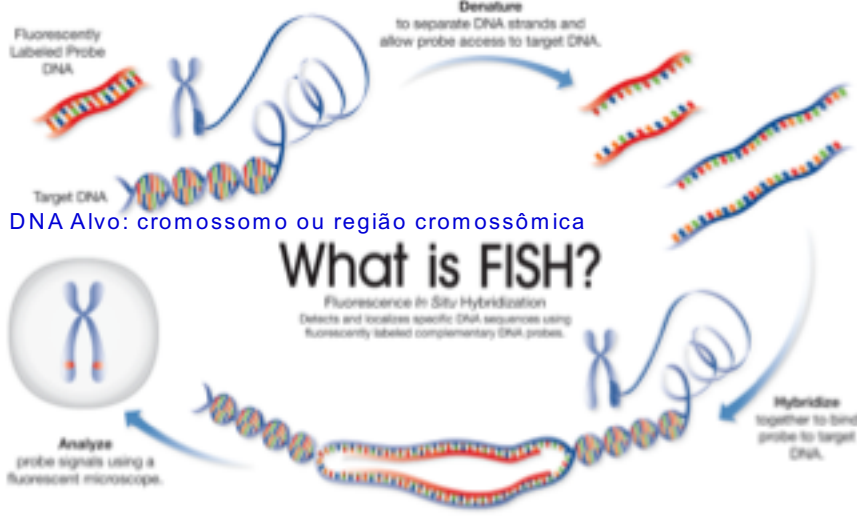
Biomedical Sciences Division, Lawrence Livermore National Laboratory, Livermore, CA 94550

- Técnica de mapeamento físico de DNA em que uma sonda de DNA marcada com fluorocromo é hibridizada ao cromossomo ou núcleo interfásico e visualizado em microscópio de fluorescência
- Resolução: 100 – 200 Kb
– 50x maior que bandamento de alta resolução

<https://www.cytocell-us.com/>
 Acesso: 07/09/2018

37

Sonda: Segmento de DNA específico (100-200Kb)



DNA Alvo: cromossomo ou região cromossômica

What is FISH?

Fluorescence In Situ Hybridization
Detects and localizes specific DNA sequences using fluorescently labeled complementary DNA probes.

38

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo


Bibliografia Sugerida

FISH

(Fluorescence In Situ Hybridisation)


- Tipos de Sondas:**

Cópia Única




Gene specific probe

Alfa-satélite



Centromere probe

Cromossomo inteiro (WCP)



Chromosome painting probe

Examples of different types of fluorescence in situ hybridisation (FISH) probes
Expert Review in Molecular Medicine © 2005 Cambridge University Press

sonda beta-satélite (satélite dos acrocêntricos D e G)
sonda satélite clássica (heterocromatina 1, 9, 16 e Y)

https://www.researchgate.net/figure/Examples-of-different-types-of-fluorescence-in-situ-hybridisation-FISH-probes-a_fig1_9035148 - Acesso em 07/09/2018

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

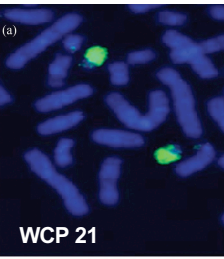
aCGH

CMA

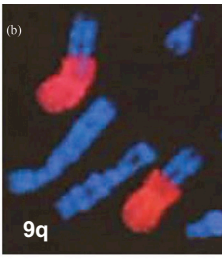
Concluindo

Bibliografia Sugerida

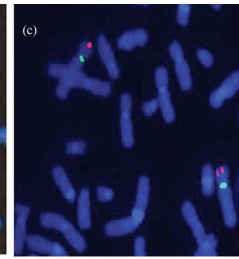
c) lócus-específica 4p16.3 centromérica 4p11-q11

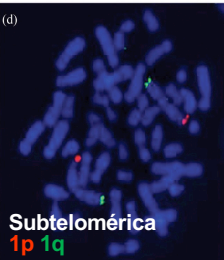


WCP 21

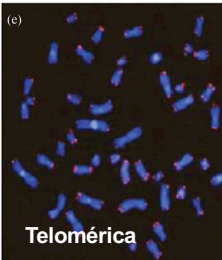


9q

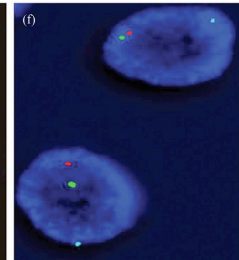




Subtelomérica 1p 1q



Telomérica



f) Interphase-FISH locus-específica gene SRY (sex determining region Y) em Yp11.31, centrômero X e heterocromatina Yq12

Genetics and Molecular Biology, 37, 1 (suppl), 194-209 (2014)

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

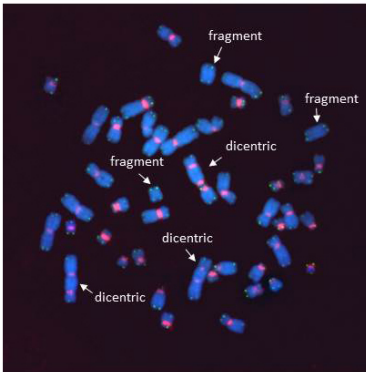
Concluindo

Bibliografia Sugerida

- **Sondas Alfa-satélites (Centroméricas)**
 - Enumeração de Cromossomos
 - Identificação de aneuploidias e rearranjos
- **Sondas Teloméricas**
 - Deleções terminais
 - Perdas teloméricas
 - Fusão cromossômica

Centromérica

Telomérica



<http://www.nirs.qst.go.jp/ENG/core/rmd/05.html> – Acesso: 07/09/2018

41

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

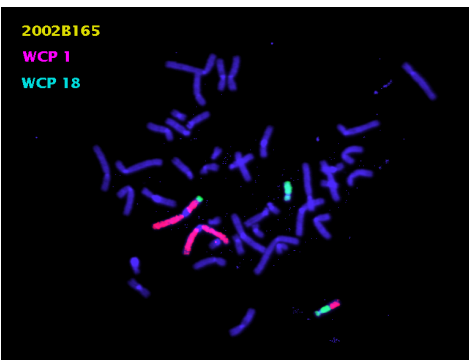
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

- **Whole Chromosome Probe (WCP)**
 - Identificação de aneuploidias e rearranjos



<https://www.humangenetics.uni-bonn.de/de/diagnostik/molekulare-zytogenetik> Acesso: 07/09/2018

42

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

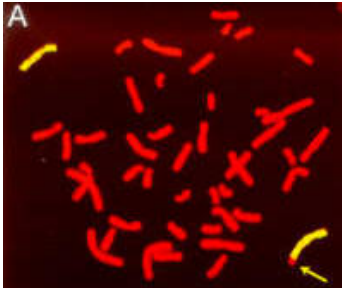
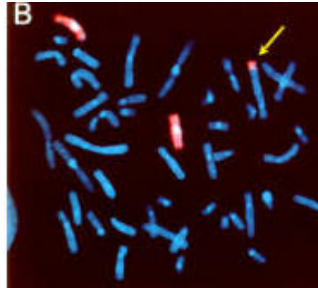
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

• **Whole Chromosome Probe (WCP)**

– Identificação de aneuploidias e rearranjos

A- Criança com anomalias congênitas: sonda do cromossomo 4; material extra, braço longo de um dos cromossomos 4 (seta),

B- Metáfase da mesma criança: sonda do cromossomo 9. Dois cromossomos 9 normais; a parte extra do cromossomo 4 identificada como tendo origem no cromossomo 9 (seta).

43

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH


mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida


CANCER GENETICS and CYTOGENETICS

Cancer Genetics and Cytogenetics 153 (2004) 127–132

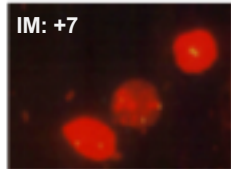
Aneuploidies, deletion, and overexpression of *TP53* gene in intestinal metaplasia of patients without gastric cancer

Ana Cristina Gobbo César^a, Aldenis Albaneze Borim^b, Alaor Caetano^b, Patricia Maluf Cury^b, Ana Elizabete Silva^{a,*}

^aDepartamento de Biologia, UNESP-Campus de São José do Rio Preto-SP, Rua Cristóvão Colombo, 2365, 13054-000-São José do Rio Preto, SP, Brazil; ^bInstituto de Diagnóstico e Referência de Medicina, HEMORIO, São José do Rio Preto-SP, Brazil

Received 12 September 2005; received in revised form 8 January 2004; accepted 20 January 2004

IM: +7




MN:

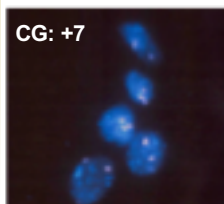
17c verde

TP53

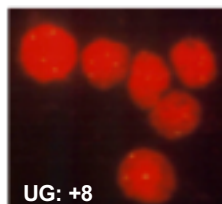
vermelho



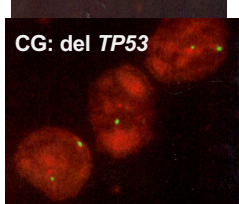
CG: +7



UG: +8



CG: del TP53



44

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Cancer Genetics and Cytogenetics 149 (2004) 17–22

Cytogenetic alterations in chagasic achalasia compared to esophageal carcinoma

Fernanda da Silva Manoel-Caetano^a, Aldenis Albazeze Borim^b, Alaor Caetano^b, Patrícia Maluf Cury^b, Ana Elizabete Silva^{a,*}

CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS

MEGAESÔFAGO:

60% aneuploidias: – 7,+7, +17

54,5% deleção *TP53*

CARCINOMAS:

100% aneuploidias tri e tetra simultâneas;

100% deleção *TP53*

70% amplificação *CCND1*

45

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Bellini et al. *BMC Gastroenterology* 2010, 10:20

<http://www.biomedcentral.com/1471-230X/10/20>

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Chromosomal imbalances are uncommon in chagasic megaesophagus

Marilanda F Bellini^{1,2}, Antonio J Manzato³, Ana E Silva^{1*}, Marileila Varella-Garcia²

A- perda *CDKN2A/CEP9*

B- perda *EGFR/CEP7*

C- perda *FHIT/CEN3*

D- ganho *TP63*/ perda *PIK3CA*

46

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

• Aplicações

- Mapeamento de genes e sequências gênicas;
- Identificação de rearranjos cromossômicos/pequenas deleções;
- Monitoramento de indivíduos/populações expostas à mutagênicos;
- Estrutura e organização dos cromossomos
- Identificação de alterações cromossômicas em esperma
- Diagnóstico Pré-Natal e Pré-Implantação
- Diagnóstico de neoplasias
- Monitoramento de pacientes leucêmicos/transplante de medula óssea (doador de sexo oposto)

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

47

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Principle of rapid prenatal FISH

- Probes for chromosomes 13, 18 and 21 in one tube labelled with three different colours
- Probes for X and Y in a second tube
- Hybridize probes to uncultured amniotic fluid cells. Score 100–200 nuclei

● 13

● 21

● 18

● X

● Y

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

48

24

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

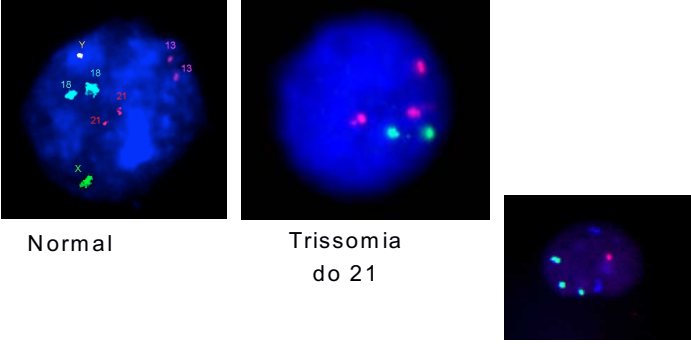
mCGH

aCGH

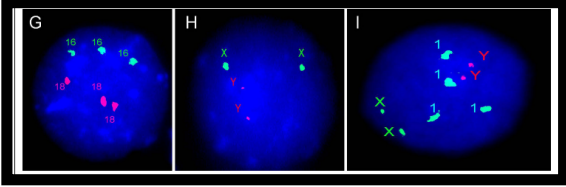
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida



Normal **Trissomia do 21** **Triplo X**



Triplóide **Tetraplóide**

49

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

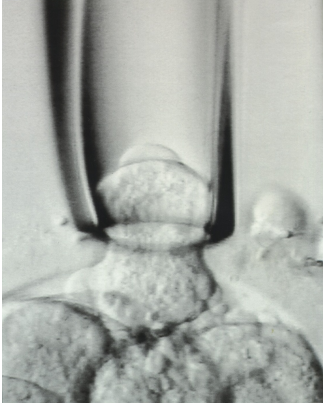
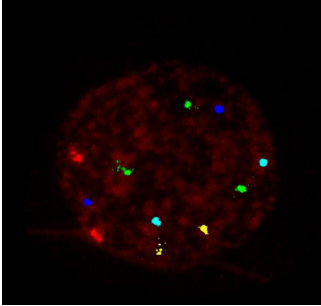
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

• Diagnóstico Pré-implantação

3 sinais verde:
blastômero com trissomia do 21

50

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Em espermatozoides



Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

51

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

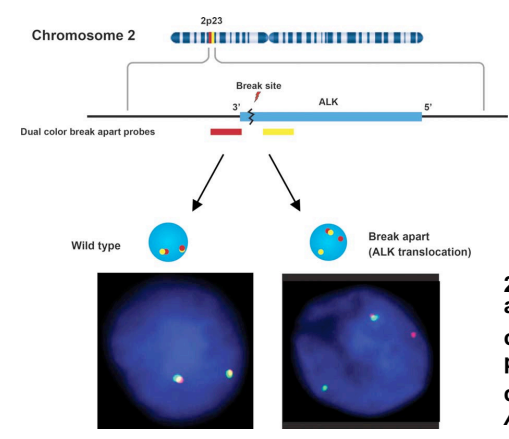
CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Diagnóstico de Neoplasias

– Translocação (câncer de pulmão) – gene *ALK*




2013: FDA aprovou a droga crizotinib (Pfizer) para portadores de fusão do gene *ALK* - t(2;5)

Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

52

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH**
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
 - CGH
 - mCGH
 - aCGH
 - CMA
 - Concluindo
 - Bibliografia Sugerida

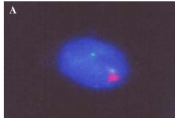
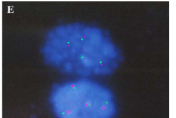
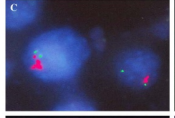
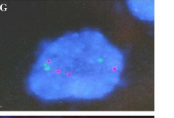


Cancer Genetics and CytoGenetics 165 (2006) 41–50

Alterations of the CCND1 and HER-2/neu (ERBB2) proteins in esophageal and gastric cancers

Lucimari Bizarri^a, Aldenis Albanese Borim^b, Kátia Ramos Moreira Leite^c,
Fernanda de Toledo Gonçalves^d, Patrícia Maluf Cury^e, Eloiza Helena Tajara^f,
Ana Elizabete Silva^{a,*}

CANCER GENETICS AND CYTOGENETICS

(A-B) Amplificação **CCND1**

(C-D) Amplificação **Her-2**

(E-F) **Polissomia 11 / CCND1**

(G-H) **Polissomia 17 / Her-2**

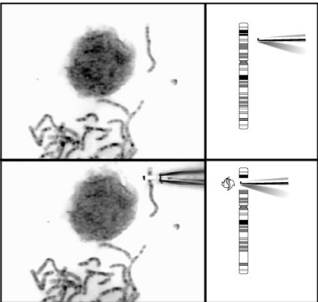
Mama → Terapia molecular: Herceptin (Trastuzumab)

53

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH**
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
 - CGH
 - mCGH
 - aCGH
 - CMA
 - Concluindo
 - Bibliografia Sugerida

Microdisseção




54

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Territórios Cromossômicos

-posicionamento relativo dos TC em posições preferenciais em relação ao outros:

-**cr grandes** → periferia do

-**cr pequenos** → interior do

Genes ativos: encontrados no interior e periferia do TC

Regiões transcricionalmente ativas: encontradas em alças estendidas para fora do TC

Regiões não codificadoras e genes inativos (vermelho): podem ser encontradas na periferia ou interior do TC

(a) Cr 12; 14; 15: linfócitos de camundongo

(b-c) Intérfase: TC em fibroblastos de camundongo

(d) Genes ativos x inativos

Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

55

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

SKY

REPORTS

Multicolor Spectral Karyotyping of Human Chromosomes

E. Schröck, S. de Masso, T. Veldman, E. Schoel, J. Wenzel, M. A. Ferguson-Smith, Y. Ning, S. H. Ledbetter, I. Bar-Am, B. ...

• See all authors and affiliations

Science 28 Jul 1996
Vol. 273, Issue 5274, pp. 494-497
DOI: 10.1126/science.273.5274.494

56

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

SKY

5 fluorocromos e suas combinações (400-800nm)

<http://what-when-how.com/genetics/advances-in-cytogenetic-diagnosis-genetics/>

Acesso: 07/09/2018

57

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

SKY

Cariótipo normal

Cromossomos marcadores

Limitação:

- Cultivo celular – metáfases
- Não detecta deleções/duplicações e inversão

Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

58

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

SKY




D **E**

13 5 22b 16

9 5 16 12 22b

Y X 19 19

9 20 13

1 8 X Y

12 16 20 2 4

1 13 7 4

5 13 20

13 1 2 17 2 14 6 2

9 10 19 22b

Evolução cariotípica:
 células de gibão hibridizadas com sondas humanas
 → várias homologias cromossômicas

59

Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Bandamento Colorido

- **Permite a coloração sub-regional dos cromossomos para análise do cariótipo humano**
- **Identificação de rearranjos cromossômicos: inversões, deleções, duplicações, inserções, translocações**



60

<https://www.micro-shop.zeiss.com/?l=en&p=uk&f=r&i=5007&h=25&n=0&sd=000000-0528-915-uk>

Acesso: 07/09/2018

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

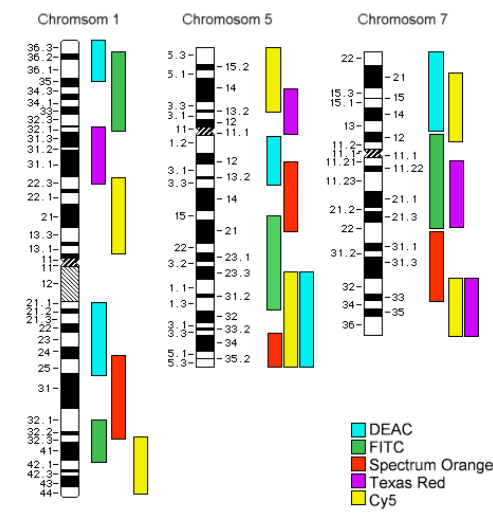
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Bandamento Colorido



Chromsom 1 Chromosom 5 Chromosom 7

■ DEAC
■ FITC
■ Spectrum Orange
■ Texas Red
■ Cy5

61

http://www.miszalok.de/Lectures/L16_Fish/Fish_d.htm28-915-uk

Acesso: 07/09/2018

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

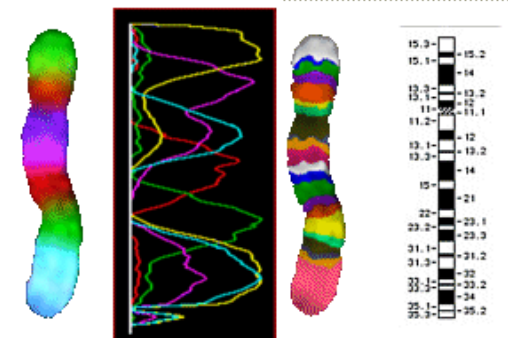
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Bandamento Colorido



- **mBAND do cromossomo 15:**
 - 25 bandas coloridas: correspondem a uma resolução de 550 bandas (complemento haplóide)

62

http://www.miszalok.de/Lectures/L16_Fish/Fish_d.htm28-915-uk

Acesso: 07/09/2018

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
- T
- Molecular**
- FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido**
- CGH
 - mCGH
 - aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

Bandamento Colorido

Inv (6) (p23q23)

63

Wan, T. S.; Ma, T. S. Molecular cytogenetics: an indispensable tool for cancer diagnosis. *Chang Gung Med*; 35(2):96-110, 2012. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22537925>.

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
- T
- Molecular**
- FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
- Bandamento Colorido**
- CGH**
- mCGH
- aCGH
- CMA
- Concluindo
- Bibliografia Sugerida

CGH (Comparative Genome Hybridisation)

64

<http://icgi.no/Diagnostics/karyotyping-and-CGH>
 Acesso: 07/09/2018

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

CGH

(Comparative Genome Hybridisation)

CGH on chromosomes

Resolution: 5 Mb

Array CGH

Resolution: 1 Mb or less

65

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

mCGH

Desvantagem: não detecta aberrações balanceadas (translocações, inversão, inserção)

Resolução: >3Mb

66

<http://uvmgg.wikia.com/wiki/CGH>

Acesso: 07/09/2018

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
- CGH**
 - mCGH**
 - aCGH
 - CMA
 - Concluindo
- Bibliografia Sugerida

mCGH

chromosomes
 cell average
 slide average
 0.5 0.75 1 1.25 1.5
 Conf
 95%

Ganho

Perda

<https://conganat.uninet.edu/IICVHAP/comunicaciones/003/index.htm>

Acesso: 07/09/2018

67

Citogenética

- Cromossomos Humanos
- Classificação
- Cariótipo
- Cariograma
- Aplicabilidade
- Amostras
- Procedimentos**
- Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
- Molecular
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
- CGH**
 - mCGH**
 - aCGH
 - CMA
 - Concluindo
- Bibliografia Sugerida

mCGH

Ganho

Perda

<http://www.lucia.cz/cs/front-page/lucia-cgh/>

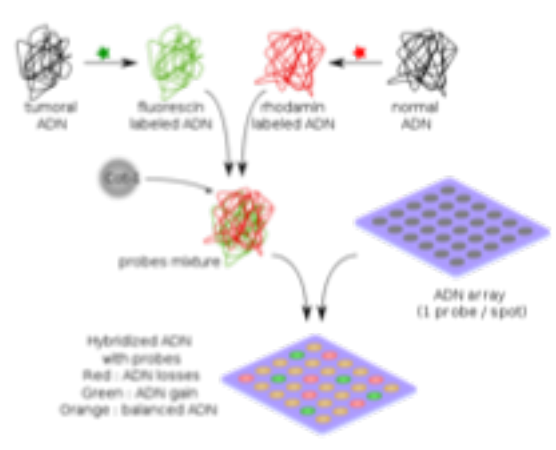
Acesso: 07/09/2018

68

Citogenética

- Cromossomos Humanos
 - Classificação
 - Cariótipo
 - Cariograma
 - Aplicabilidade
 - Amostras
- Procedimentos**
 - Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
 - Molecular**
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
 - CGH**
 - mCGH
 - aCGH**
 - CMA
 - Concluindo
 - Bibliografia Sugerida

aCGH



The diagram illustrates the aCGH process. It starts with 'tumoral ADN' (green) and 'normal ADN' (black). The tumoral ADN is labeled with 'fluorescein labeled ADN' (green), and the normal ADN is labeled with 'rhodamin labeled ADN' (red). These are combined into a 'probes mixture'. This mixture is then hybridized to an 'ADN array (1 probe / spot)'. The resulting 'Hybridized ADN with probes' are shown as a grid of colored spots: Red for 'ADN losses', Green for 'ADN gain', and Orange for 'balanced ADN'.

Cromossomos metafásicos substituídos por sondas de DNA ou oligonucleotídeos → chips DNA
Resolução: 5- 10 Kb (0,5 Mb)

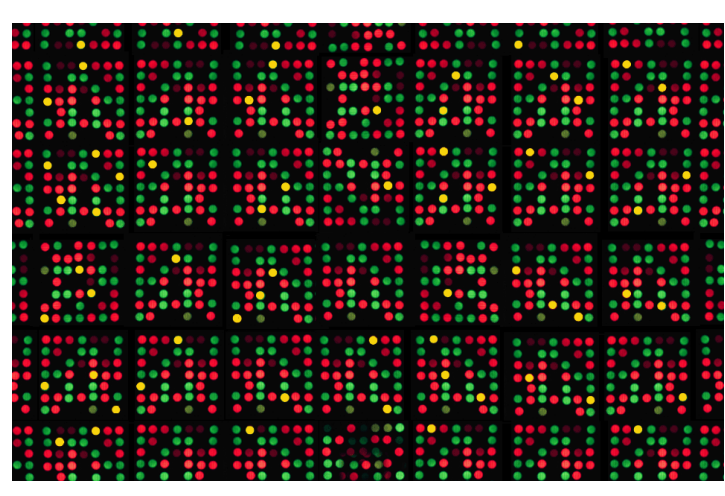
https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Array_comparative_genomic_hybridization.svg
Acesso:07/09/2018

69

Citogenética

- Cromossomos Humanos
 - Classificação
 - Cariótipo
 - Cariograma
 - Aplicabilidade
 - Amostras
- Procedimentos**
 - Clássica
 - Convencional
 - G
 - Q
 - R
 - C
 - NOR
 - T
 - Molecular**
 - FISH
 - Microdisseção
 - TC
 - SKY
 - Bandamento Colorido
 - CGH**
 - mCGH
 - aCGH**
 - CMA
 - Concluindo
 - Bibliografia Sugerida

aCGH



The image shows a large grid of colored spots representing an aCGH microarray. The spots are colored green, red, and orange, corresponding to the legend below.

Ganho **Normal** **Perda**

<http://www.enzoflifciences.com/platforms/genomics/microarray/enable-proven-consistent-acgh/>
Acesso:07/09/2018

70

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

aCGH

Cr 4

Perda 4p16.3-p15.33

Genes 4p16.3-p15.33

71

Genetics and Molecular Biology, 37, 1 (suppl), 194-209 (2014)
Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Chromosomal Microarray (CMA)

- Usada para identificar variações no número de cópias do DNA (Copy Number Variations- CNVs) em regiões associadas a doenças
- Descoberta de novas síndromes CNVs e novos genes que causam um espectro de fenótipos: autismo, esquizofrenia e dimorfismos
- Síndromes de microdeleção (22q11.2 S. DiGeorge) – microduplicação (17q21.31)

72

Journal of Pediatric Genetics Vol. 6 No. 1/2017
Prof. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Chromosomal Microarray (CMA)

- Identificação de sobreposição de CNVs em indivíduos com uma síndrome compartilhada é usada para identificar uma região crítica para uma síndrome de microdeleção.
- A menor região de sobreposição da deleção indica a região deletada necessária para a manifestação da síndrome

Journal of Pediatric Genetics Vol. 6 No. 1/2017

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Chromosomal Microarray (CMA)

aCGH continua transformando a Citogenética:

- fornece alta-resolução
- tecnologia avançada para mapeamento preciso e detecção de aberrações cromossômicas.

http://www.empiregenomics.com/site/technology_overview.php

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

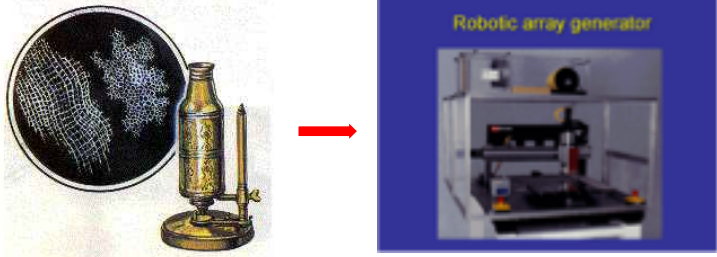
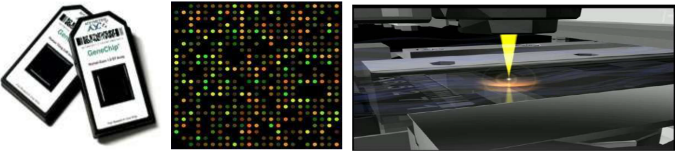
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Concluindo

75

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética

Cromossomos Humanos

Classificação

Cariótipo

Cariograma

Aplicabilidade

Amostras

Procedimentos

Clássica

Convencional

G

Q

R

C

NOR

T

Molecular

FISH

Microdisseção

TC

SKY

Bandamento Colorido

CGH

mCGH

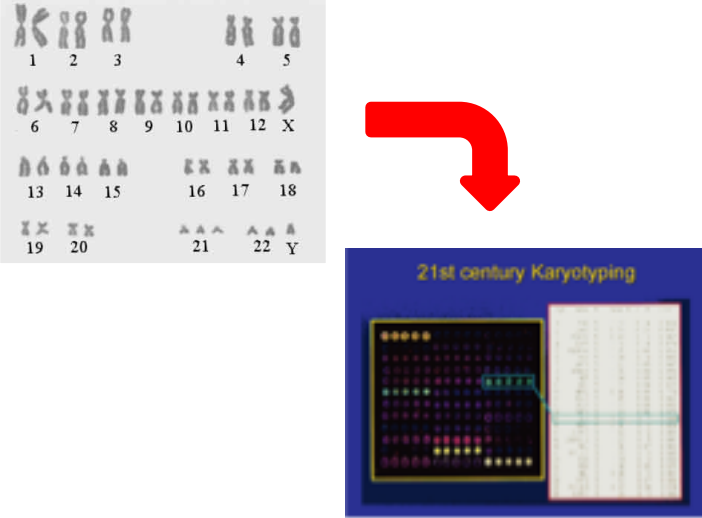
aCGH

CMA

Concluindo

Bibliografia Sugerida

Concluindo



76

Profa. Dra. Ana Elizabete Silva

Citogenética	<h2 style="color: red;">Bibliografia</h2> <ul style="list-style-type: none"> • BEIGUELMAN, B. Genética Médica, Citogenética Humana, 2ª ed., vol.1, São Paulo:EDART; Rio de Janeiro: FENAME, 1977, 199p – Capítulos 2. • GRIFFITHS, A.J.; MILLER, J.H.; SUZUKI, D.T.; LEWONTIN, R.C. & GELBART, W.M. Introdução à Genética. 8º ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006. • NUSSBAUM, R.L.; MCINNES, R.R. & WILLARD, H.F. Thompson e Thompson Genética Médica. 7ª ed.Elsevier, 2008. • OTTO, P.G.; OTTO, P.A.; FROTA-PESSOA, O. Genética Humana e Clínica, 2ª ed., São Paulo: ROCA, 2004, 360p. Capítulos I. • READ, A.; DONNAI, D. Genética Clínica: uma nova abordagem. Tradução: Maria Regina Borges-Osório, Porto Alegre: ARTMED, 2008, 448p. Capítulos 2, 4 e 7. • SNUSTAD, P.; SIMMONS, M.J. Fundamentos de Genética. 4ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.
Cromossomos Humanos	
Classificação	
Cariótipo	
Cariograma	
Aplicabilidade	
Amostras	
Procedimentos	
Clássica	
Convencional	
G	
Q	
R	
C	
NOR	
T	
Molecular	
FISH	
Microdisseção	
TC	
SKY	
Bandamento Colorido	
CGH	
mCGH	
aCGH	
CMA	
Concluindo	
Bibliografia Sugerida	