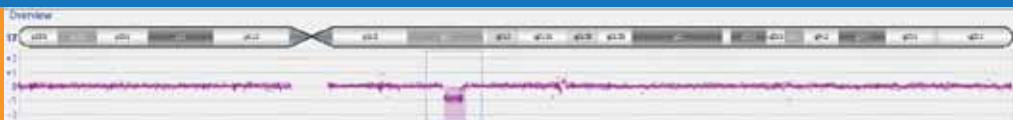


# Molekyylirikaryotyyppitys MKsyn (array-CGH)



# Molekyylrikaryotypitys (array-CGH)

Molekyylrikaryotypitys, synnynnäinen	B -MKsyn	KL 6220 EDTA-veri
Vanhempien tarkistustutkimus	B -MKsynV	ATK 9079 EDTA-veri
Molekyylrikaryotypitys, synnynnäinen	Ts-MKsyn	KL 6221 kudus
FISH-tarkistustutkimus	B -FIShtar	ATK 9087 hepariiniveri

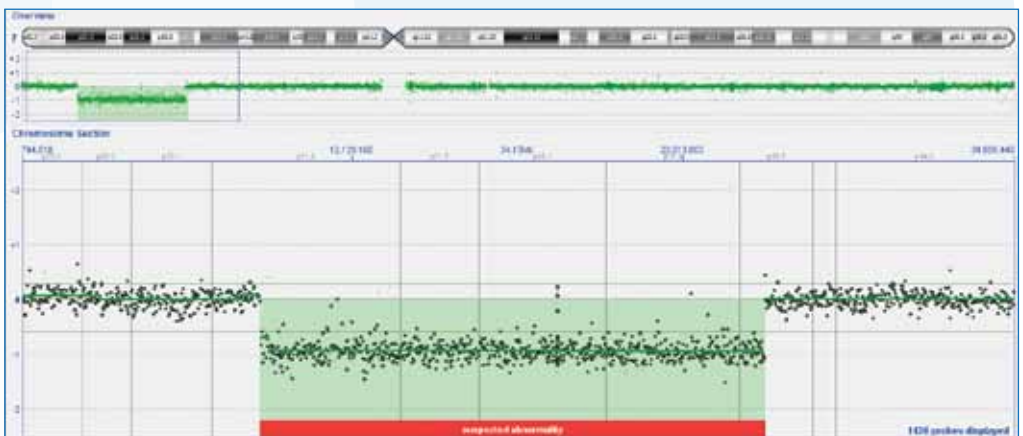
## Molekyylrikaryotypitystutkimus lyhyesti

Molekyylrikaryotypitys eli array-CGH -tutkimus on koko genomin laajuinen kopiolumuutosten tutkimus. Sillä voidaan selvittää kerralla koko genomin laajuisesti ei-tasapainossa olevat muutokset kuten deleetiot ja duplikaatiot kromosomitutkimusta huomattavasti tarkemmalla resoluutiolla ilman ennakkotietoa mahdollisen poikkeavuuden laadusta tai sijainnista (Kuva 1.). MKsyn-tutkimus paljastaa perinteiseen kromosomitutkimukseen ver-

rattuna huomattavasti useammin kehitysviiveen tai -vamman synn. Tutkimuksen teko soveltuu hyvin mm. taustaltaan tuntemattoman oireyhtymän selvittämiseen <sup>1,2</sup>.

## Molekyylrikaryotypitys ensisijaisena tutkimuksena

Kun selvitetään diagnoosia lapselle, jolla on todettu kehitysviive tai -vamma, useita rakenteellisia poikkeavuuksia tai autisismikirjon sairaus, on perusteltua tehdä ensisijaisena tutkimuksena molekyyli-



Kuva 1. Esimerkki kopiolumuutuksesta (CNV). Kromosomin 7 lyhyessä käsivarressa (p) todetaan 17 Mb koinen deleetio.

karyotyypitys (MKsyn). MKsyn löytää noin kolme kertaa useammin poikkeavuuden (~15%) verrattuna tavalliseen kromosomitutkimukseen (~5%) kyseisillä indikaatioilla. Kansainväliset suositukset ovatkin nostaneet molekyylikaryotyypityksen ensisijaiseksi tutkimukseksi, kun kyseessä on etiologialtaan tuntemattoman kehityshäiriön/ kehitysvamman syy selvittely<sup>3,4</sup>.

### Indikaatiot

Kehitysviiveen ja/tai -vammaisuuden, autismitutkimuksen sairauksien ja rakenteellisten poikkeavuuksien etiologian selvittely, joko ensisijaisena tutkimuksena tai kun peruskaryotyyppi on osoittautunut normaaliksi. Epäiltäessä mikrodeleetio tai -duplikaatio-oireyhtymää. Sytogeneettisesti balansoidulta näyttävän muutoksen katkoskohtien mahdollisten yli- tai alimäärien tutkiminen suuremmalla tarkkuudella. **Tulosten tulkinnan kannalta on oleellista kirjata tutkittavan kliiniset tiedot läheteeseen mahdollisimman tarkasti!** Lisäksi voidaan tarvita vanhempien näytteitä, joista tarvittaessa tehdään tarkistustutkimus lapsella todetun kopiolumuutoksen vertailua ja tulkintaa varten (MKsynV).

### Molekyylikaryotyypitystutkimuksen edut

MKsyn-tutkimuksella pystytään erottamaan geeninaineksen häviämät (deleetiot) ja kahdentumat (duplikaatiot) suuremmalla tarkkuudella kuin tavallisella kromosomitutkimuksella. MKsyn-tutkimuksella voidaan löytää jopa 50-200 kb kokoiset muutokset kun taas kromosomitutkimuksen resoluutio on huomattavasti karkeampi, noin 5-10 Mb. MKsyn-tutkimus paljastaa siten usean tunnetun mikrodeleetio-/duplikaatio-oireyhtymän,

kuten CATCH tai Williams, mutta lisäksi harvinaisempia syndroomia, sekä uusia syndroomia, jotka eivät ole niin helposti kliinisesti tunnistettavissa<sup>5</sup> (Kuva 2.). Samalla tutkitaan mahdollisten heterotsygotian puutosalueiden (LOH) ja uniparentaalista disomia sisältävien alueiden esiintyminen (UPD, jossa tietyn kromosomiparin molemmat kromosomit ovat peräisin vain toiselta vanhemmalta). Myös tällaiset muutokset saattavat olla syynä tutkittavan kliinisiin oireisiin.

### Molekyylikaryotyypitystutkimuksen rajoitukset

Molekyylikaryotyypitys ei paljasta balansoituja kromosomimuutoksia, kuten balansoituja translokaatioita, kun niissä ei ole kopiolumäärän ali- tai ylimäärää. Menetelmällä ei myöskään voida todeta matala-asteista mosaikismia tai monogeenisten tautien geenimutaatioita (esim. Rettin oireyhtymä) tai toistojaksosairauksia (esim. Fragiili-X). Epäiltäessä trisomia, esim. sikiönäytteessä, TriMdel tutkimus tai kromosomitutkimus on suositeltava. Triploidian toteamiseen sikiönäytteestä soveltuu tavallinen kromosomitutkimus (tai TriNhO -tutkimus).

### Monipuolinen molekyylikaryotyypitys

Molekyylikaryotyypitys soveltuu myös prenataalivaiheen tutkimukseksi lapsivesi- tai istukanäytteestä (Ts-MKsyn). Kun sikiön kromosomitutkimuksessa todetaan uusi kromosomipoikkeavuus, voidaan jatkotutkimuksena samasta näytteestä tehdä MKsyn-tutkimus kopiolumuutosten poissulkemiseksi ja/tai todetun poikkeavuuden tarkemmaksi kuvaamiseksi<sup>4,6,7</sup>. Tarvittaessa myös karyotyypin

jäädessä normaaliksi, voidaan MKsyn-tutkimus pyytää jatkotutkimuksena, jos kliinisen tiedon perusteella on vahva epäily kromosomipoikkeavuudesta.

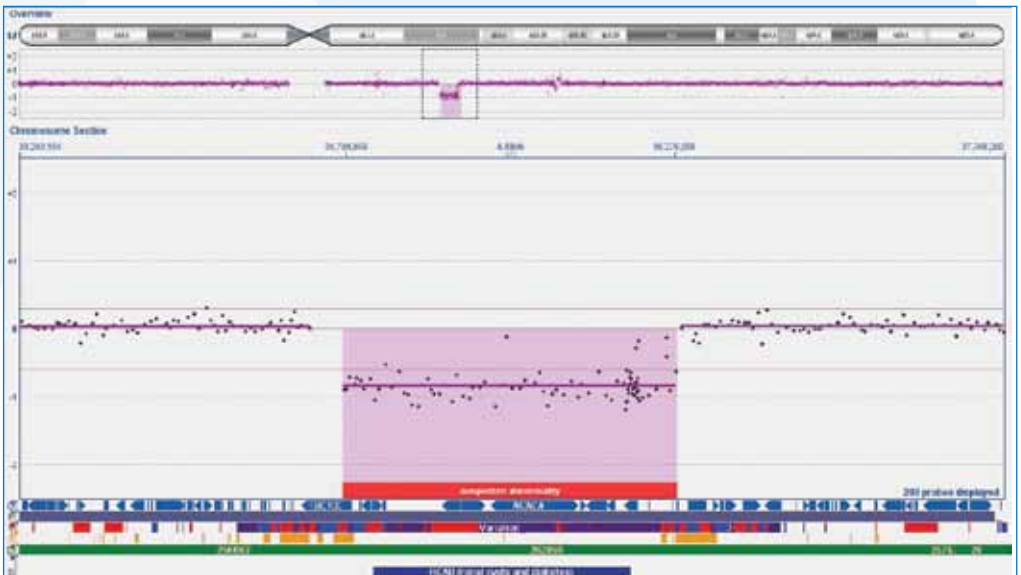
MK-tutkimus ollaan validoimassa lähitulevaisuudessa myös hematologisille näytteille. Hematologisen maligniteetin yhtenä osatutkimuksena voidaan hyödyntää molekyylikaryotyypitystä osoittamaan kopolukumuutoksia esim. useita kromosomeja koskevien rakenteellisten poikkeavuuksien osalta.

### Molekyylikaryotyypitys-menetelmä

Tutkimuksessa käytetään koko genomia kattavia 180k mikrosiruja, CytoSure ISCA CNV+UPD array (OGT=Oxford Gene Technology Ltd, ISCA=International Standard Cytogenomic Array). Sirulle on kiinnitetty 60

nukleotidin mittaisia CNV-/SNP-oligonukleotidikoettimia (180 000 kpl).

Tutkimus tehdään verestä tai kudoksesta eristetystä DNA-näytteestä, joka leimataan Cy5-fluorokromilla (punainen). Verrokkina käytetään kaupallista referenssi-DNA:ta, joka leimataan Cy3-fluorokromilla (vihreä). Hybridisaation aikana näyte-DNA ja referenssi-DNA kilpailevat sitoutumisesta lasilla oleviin oligonukleotidikoettimiin. Tämän jälkeen fluoresenssiarvojen intensiteetit mitataan laser-skannerilla. Intensiteettiä muutetaan tekstitiedostoksi Feature Extraction -ohjelmalla (Agilent Technologies Inc.) ja tulokset analysoidaan CytoSure Interpret -ohjelmalla (Hg19, OGT). Normaalia poikkeavat geeni-/kromosomialueet, deleetiot, duplikaatiot, LOH- ja UPD-alueet



Kuva 2. Esimerkki tapauksesta, jossa tutkittavalla todettiin kromosomialueella 17q12 noin 1,5 Mb kokoinen deleetio. Alue on tunnettu mikrodeleetiosyndrooma-alue, jossa sijaitsee munuaisoireyhtymä RCAD ja 17q12 mikrodeleetiosyndrooma.

tulevat tutkittavasta näytteestä esille. Kopia-lukumuutoksia, jotka tulkitaan kliinisesti neutraaleiksi (Database of Genomic Variants, OMIM, Decipher, ECARUCA, ISCA, Segmental Duplications) ei raportoida.

### Näyte

3 ml EDTA-verta. Tutkittavan ollessa lapsi, tulee vanhemmista ottaa samalla EDTA-verinäytteet mahdollisesti tarvittavaa lapsen tuloksen tulkintaa varten. (Pyydettyessä tutkimuksia sähköisesti, tulee myös vanhempien näytteille tehdä pyynnöt; B -MKsynV, ATK 9079). Tutkimus tilattavissa läheteillä K ja D.

### Säilytys ja lähetys

Huoneenlämpöisenä (1-2 vrk), jääkaappilämpötilassa (3-4 vrk).

### Tulkinta

Tutkimustuloksista annetaan kirjallinen lausunto.

### Tekotiheys

Tehdään arkisin, valmis 5 viikossa, kiireelliset näytteet sovittavissa erikseen.

### Tiedustelut

sairaalageneetikko  
Nina Horelli-Kuitunen, 050 3581609,  
nina.horelli-kuitunen@medix.fi

sairaalageneetikko  
Kirsi Piippo, 050 4090868  
kirsi.piippo@medix.fi

---

### Kirjallisuus

1. Vermeesch JR et al. Genome-wide arrays: quality criteria and platforms to be used in diagnostics. Human mutation 2012; vol 34:906-915.
2. Leeuw de N et al. Diagnostic interpretation of array data using public databases and internet sources. Human mutation 2012; vol 34:930-940.
3. Miller DT, et al. Consensus statement: Chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. Am J Hum Genet 2010; vol 86:749-764.
4. Williams NM et al. Rare chromosomal deletions and duplications in attention-deficit hyper-activity disorder: a genome wide analysis. Lancet 2010; vol 376:1401-08.
5. Riggs ER et al. Chromosomal microarray impacts clinical management. Clin.Genet 2013; doi:10.1111/cge.12107:1-7.
6. Wapner RJ et al. Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. NEJM 2012; vol 367:2175-83.
7. Vetro A et al. The introduction of arrays in prenatal diagnosis: a special challenge. Human mutation 2012; vol 34:923-929.

## **FISH-tarkistustutkimus, B –FISHtar ATK 9087**

Mikäli lapsen MKsyn-tutkimuksessa todetaan uusi, *de novo*, kopiolukumuutos, jota ei ole peritty kummaltakaan vanhemmalta, on syytä poissulkea vanhemmilta rakenteellisen poikkeavuuden, kuten ns. interstitiaalisen translokaation, mahdollisuus. Tämä on tärkeää erityisesti uusiutumisen riskin arvioinnin kannalta.

Vanhempien verinäytteistä tehdään viljelyille solupreparaateille tutkimus fluoresenssi in situ -hybridisaatio (FISH)-menetelmällä. Koetin valitaan ja testataan lapsen näytteellä siten, että se sijoittuu juuri lapsella poikkeavaksi todetulle kromosomialueelle.

Tällaiset koettimet tilataan aina erikseen tapauskohtaisesti. FISH-tarkistustutkimus sisältää koettimen testauksen lapsen näytteellä sekä molempien vanhempien FISH-tutkimukset.

## **Näyte**

1-3 ml hepariiniverta sekä lapsesta että vanhemmista. Pyyntönä B -FISHtar, ATK 9087. Tutkimus tilattavissa lähetteellä K.

## **Säilytys ja lähetys**

Huoneenlämpöisenä (1-2 vrk), jääkaappilämpötilassa (3-4 vrk).

## **Tulkinta**

Tutkimustuloksista annetaan kirjalliset lausunnot.

## **Tekotiheys**

Tehdään arkisin, valmis 3 viikossa.

## **Tiedustelut**

sairaalageneetikko  
Nina Horelli-Kuitunen, 050 3581609,  
nina.horelli-kuitunen@medix.fi

sairaalageneetikko  
Kirsi Piippo, 050 4090868  
kirsi.piippo@medix.fi



Yhtyneet Medix Laboratoriot Oy  
Nihtisillankuja 1, 02630 ESPOO  
(09) 52 561 (vaihde)  
[www.yml.fi](http://www.yml.fi)

**Yhtyneet Medix**  
laboratoriot 