

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Πρόλογος.....	7
Περιεχόμενα	11

ΜΕΡΟΣ Α΄ Η ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ F.I.S.H.

Κεφάλαιο 1

Η Τεχνική FISH / Ιστορία - Ορισμοί - Είδη ανιχνευτών

Ιστορική αναδρομή	17
Ορισμός και περιγραφή	21
Ανάλυση στοιχείων της FISH	26
Ανιχνευτές - Είδη ανιχνευτών	26
Χαρακτηριστικά ανιχνευτών.....	30

Κεφάλαιο 2

Μέθοδοι δημιουργίας ανιχνευτών / Γενετική μηχανική

Γενικά	39
Η επιστήμη της γενετικής μηχανικής	40
Οι ενδονουκλεάσες περιορισμού.....	43
Δημιουργία βιβλιοθήκης κλώνων cDNA.....	46

Ειδικοί φορείς (Vectors).....	46
Εφαρμογή μεθόδου PCR.....	48
Η μέθοδος DOP-PCR.....	48
Linker-adapter PCR.....	50
Alu-PCR.....	51
Επιτόπια επισήμανση με εκκινητή.....	52
Μειονεκτήματα της PCR.....	53
Φθοριοκυτταρομετρία και FISH.....	53
Μικροανατομική εκτομή.....	55

Κεφάλαιο 3

Τρόποι σήμανσης ανιχνευτών

Άμεσες μέθοδοι.....	57
Έμμεσες μέθοδοι.....	58
Τεχνικές επισήμανσης ανιχνευτών.....	60
Χρωστικές και φθοριοχρώματα.....	61
Η FISH και τα συστήματα H/Y.....	67
Τυχαίοι παράγοντες μειωμένης φωτεινότητας.....	68
Μειονέκτημα των ανιχνευτών.....	69

Κεφάλαιο 4

Άλλα επιπρόσθετα χαρακτηριστικά στοιχεία της FISH

Τα άφθονα και σωστά παρασκευάσματα.....	71
Η καλή μονιμοποίηση των δειγμάτων.....	72
Η επεξεργασία με ένζυμο.....	74
Αποδιάταξη και προϋβριδισμός.....	75
Ο υβριδισμός και οι παράμετροί του.....	75
Πλυσίματα μετά τον υβριδισμό.....	78
Ανοσοϊστοχημικές αντιδράσεις.....	78
Η φθορίζουσα μικροσκοπία.....	79

Κεφάλαιο 5

Εφαρμογές της μεθοδολογίας FISH - Πλεονεκτήματα και Όρια

Εφαρμογές.....	95
Ραδιοβιολογία – Τοξικολογία.....	95
Η ζωο-FISH.....	97
Προγεννητική διάγνωση.....	98
Χαρτογράφηση γονιδίων.....	100

Κλινική γενετική – Μεταγεννητικός έλεγχος	101
Ινική FISH ή FISH λεπτών ινών (Fiber-FISH)	104
Συγκριτικός υβριδισμός γενώματος	105
Πλεονεκτήματα	106
Όρια της FISH - Προοπτικές	110

Κεφάλαιο 6

Η μεθοδολογία M-FISH – Πολλαπλή FISH

Γενικά	113
--------------	-----

Συμπεράσματα – Προοπτικές	125
--	-----

Βιβλιογραφία	129
---------------------------	-----

ΜΕΡΟΣ Β'

ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΚΑΙ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΑ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Πειραματικό πρωτόκολλο καλλιέργειας φυσιολογικών και καρκινικών κυττάρων	157
Πειραματικό πρωτόκολλο της μεθόδου FISH	165
Μεθοδολογία μεταγραφής δι' εγκοπής (Nick translation)	175
Τεχνική PCR με εκφυλισμένους ολιγο-εκκινητές (DOP-PCR)	179
Τεχνική PCR με Alu-εκκινητές (Alu-PCR)	183
Τεχνική PCR με κεντρομετρικούς εκκινητές (Alphoid-PCR)	185
Πειραματικό πρωτόκολλο της πολλαπλής FISH (M-FISH)	187

ΜΕΡΟΣ Γ'

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κεφάλαιο 1

Η χαρτογράφηση του γενώματος	197
---	-----

Γενετικοί, κυτταρογενετικοί και φυσικοί χάρτες	198
--	-----

Ανίχνευση γονιδίων ασθενειών του ανθρώπου	203
---	-----

Ανίχνευση λειτουργικών γονιδίων	204
---------------------------------------	-----

Κεφάλαιο 2

Ιδεογράμματα χρωματοσωμάτων του ανθρώπου	209
Ιδεογράμματα των χρωματοσωμάτων 1-4	210
Ιδεογράμματα των χρωματοσωμάτων 5-8	211
Ιδεογράμματα των χρωματοσωμάτων 9-12	212
Ιδεογράμματα των χρωματοσωμάτων 13-20	213
Ιδεογράμματα των χρωματοσωμάτων 21,22,X,Y	214

Κεφάλαιο 3

Διευθύνσεις στο Διαδίκτυο βάσεων δεδομένων Γενετικής	221
Συνομογραφίες	223
Γλωσσάριο	225
Ευρετήριο	227