«ژن‌ها مانند یک قصه هستند که DNA زبان بیان این داستان است.» Sam Kean-

با استفاده از بیان نقل قول بالا می‌توان گفت سیتوژنتیک نیز داستان کروموزوم‌ها است و بیان آن با DNA و هیستون‌ها!

به بیان ساده سیتوژنتیک علم مطالعه کروموزوم‌ها از نظر ساختار، موفولوژی، عملکرد و فاکتورهای دیگر است. مطالعه کروموزوم‌های انسانی در تشخیص و پیش‌بینی روند بیماری و نیز در نظارت بر درمان نقش دارد. این بیماری‌ها و اختلالات می‌تواند شامل مواردی باشد که نه تنها توسط متخصصان ژنتیک پزشکی و مشاوران ژنتیک، بلکه توسط متخصصان اطفال، متخصص زنان و زایمان، پریناتولوژیست‌ها، هماتولوژیست‌ها، انکولوژیست‌ها، متخصصین غدد، پاتولوژیست‌ها و اورولوژیست ها مشاهده و تشخیص داده می‌شود.

تعداد کمی از رشته های آزمایشگاهی بالینی تخصصی پتانسیل تأثیرگذاری بر چنین طیف گسترده‌ای از متخصصان پزشکی را دارا می‌باشد، با این حال غالبا سیتوژنتیک کمتر از بسیاری از آزمایش‌های "تخصصی" درک و شناخته شده است.

در عرصه‌ای که تمام تکنولوژی‌ها به ویژه آزمایش‌های بالینی روز به روز اتوماتیک‌تر شده و توسط دستگاه‌های پیشرفته انجام می‌شود، سیتوژنتیک هنوز هم علمی است که با هنر درآمیخته است. چنین هنری در روش‌های کاریوتایپ خون به خوبی مشهود است. با وجود ابداع تکنیک‌های جدید و پیشرفته سیتوژنتیک مولکولی مانند FISH و CGH-array، هنوز در بسیاری از آزمایشگاه‌ها کاریوتایپ سنتی (Conventional Karyotyping) انجام شده و مورد اعتماد متخصصین است. همینطور کاریوتایپ سنتی جز اساسی‌ترین تکنیک‌هایی است که از متخصص سیتوژنتیک انتظار می‌رود در آن مهارت لازم را داشته باشد. چرا که در تکنیک‌های پیشرفته‌ای چون FISH نیز انتظار می‌رود تا کارشناس بتواند سلول‌ها را به خوبی کشت داده و کروموزوم‌های آن را برای انجام مابقی مراحل تهیه و آماده کند.

تاریخچه

گیاه‌شناس سوئیسی به اسم ناگلی در دهه ۱۸۴۰ اولین کسی بود که ساختارهای رشته‌ای شکل را درون هسته سلول‌های گیاهی مشاهده و توصیف کرد و آن‌ها را "سیتوبلاست‌های گذرا" نام نهاد، که امروزه ما آن را به اسم "کروموزوم" می‌شناسیم. اما شروع علم سیتوژنتیک انسانی به سیتولوژیست اتریشی و پرفسور آناتومی به نام Walter Flemming نسبت داده شده است. وی اولین کسی بود که در سال ۱۸۸۲ نخستین تصویر کروموزوم‌های انسان را منتشر کرد. پرفسور Flemming قسمت رنگ‌پذیر هسته را کروماتین نامید و برای اولین

بار از واژه میتوز اســتفاده کرد. بعدها در ســال ۱۸۸۸، Waldeyer اصــطلاح کروموزوم را از دو واژه‌ی یونانی به معنی اجسام رنگ شده (کروموز= واژه یونانی به معنی رنگ، زوم= واژه یونانی به معنی اجسام) ساخت. چندین دانشمند برجسته آن زمان شروع به جمع‌بندی این ایده کردند که عوامل تعیین کننده وراثت روی کروموزوم‌ها وجود دارد. پس از "کشــف مجدد" وراثت مندلی در ســال ۱۹۰۰، Sutton (و به طور مســتقل در همان زمان، Boveri) به طور رسمی "نظریه کروموزوم وراثت" را توسعه دادند. Sutton با ترکیب اصول سیتولوژی و ژنتیک، مطالعه کروموزوم‌ها را سیتوژنتیک نام نهاد.

در ابتدا تعیین تعداد دیپلوئید گونه‌های پســتانداران دشــوار بود، زیرا کروموزوم‌ها به طور فشــرده و متمرکز در متافاز قرار داشتند. در دهه ۱۹۵۰ چندین پیشرفت تکنیکی از جمله اضافه کردن کلشیسین جهت توقف سلول‌ها در مرحله متافاز و اســتفاده از محلول هیپوتونیک در راســتای حصــول گســتره‌های بهتر کروموزومی انجام شــد. اســتفاده از محلول هیپوتونیک، مانند بســیاری از کشــفیات مهم، یک خطای کار بوده اســت. در ســال ۱۹۵۲ T.C.Hsu در انتهای مقاله خود اعلام کرد:

> بعد از ارســال این مقاله برای چاپ مشــخص شــد که گســتره‌های خوب متافازی در نتیجه یک اشتباه به دست آمده‌اند. قبل از مرحله فیکساتیو، کشت‌ها به جای شستشو در محلول ایزوتونیک سالین، در محلول هیپوتونیک شستشو داده شده‌اند.

در سال ۱۹۵۶ ثابت شد تعداد کروموزوم‌های دیپلوئید انسان ۴۶ است و روش کشت لکوسیت‌های خون محیطی تعریف شده توسط Moorhead et al توسط بسیاری از سیتوژنتیک‌ها اتخاذ شد. تا قبل از این به مدت ۳۰ سال تصور بر آن بود که تعداد دیپلوئید کروموزوم‌های انسانی ۴۸ عدد است. با مشخص شدن تعداد صحیح کروموزوم انسان، امکان توصیف درست تعداد کروموزوم‌های انسان و ناهنجاری‌های کروموزومی ممکن پذیر بود. این موضوع امکان شــناســایی ناهنجاری‌های تعدادی کروموزوم‌ها از جمله تریزومی ۲۱ در ســندروم داون، تریزومی ۱۸ در ســندروم ادوارد، 47,XXY در ســندروم کلاین فلتر، 45,X در ســندروم ترنر، تریزومی ۱۳ در ســندروم پاتو و نیز کروموزوم فیلادلفیا در بیمار مبتلا به ســرطان خون میلوئیدی را فراهم کرد. در حقیقت در ســال ۱۹۷۳ Janet Rowley بود که عنوان کرد "کروموزوم فیلادلفیا" در واقع نتیجه یک جابه‌جایی بین کروموزوم‌های ۹ و ۲۲ است. در همان سال جابه‌جایی (۸؛۲۱) در بیماری AML شناسایی شد. به این ترتیب ارتباط بین کروموزوم‌ها و سرطان برای همگان مشهود شد. بعدها گزارش شد که از سلول‌های کشت شده از مایع آمنیوتیک می توان برای تعیین محتوای کروموزوم جنین جهت بررسی سلامت جنین استفاده کرد. در سال ۱۹۶۰ کروموزوم‌ها بر اساس گروه‌بندی Denver به ۷ گروه تقسیم‌بندی شدند.

مدت زمان زیادی نیست که تصور می‌شد انسان‌ها حاوی ۴۸ عدد کروموزوم هستند. تصور کاربردهای بالینی و تحقیقاتی چنین گستره‌ای برای پیشگامان علم سیتوژنتیک می‌توانست جقدر هیجان‌انگیز باشد. اما شاید هیجان‌انگیزتر از آن چیزی است که در آینده در پیش رو داریم.

سلول:

سلول واحد پایه زندگی است. سلول ساده‌ترین ساختاری زیستی است که قادر است به طور مستقل به صورت زنده وجود داشته باشد. سلول‌های پروکاریوتی مانند باکتری فافد هسته هستند و مواد ژنتیکی آنان به صورت آزاد درون سیتوپلاسم وجود دارد. در حالی که مواد ژنتیکی سلول‌های یوکاریوتی درون هسته‌ی سلول قرار دارند. واژه یوکاریوت (Eukaryote) از دو واژه یونانی eu به معنای حقیقی و karyon به معنای هسته تشکیل شده است. تمام سلول‌های یوکاریوتی در برخی از مراحل حیات خود دارای هسته می‌باشند. هسته حاوی غشای هسته‌ای، کروماتین و هستک می‌باشد.

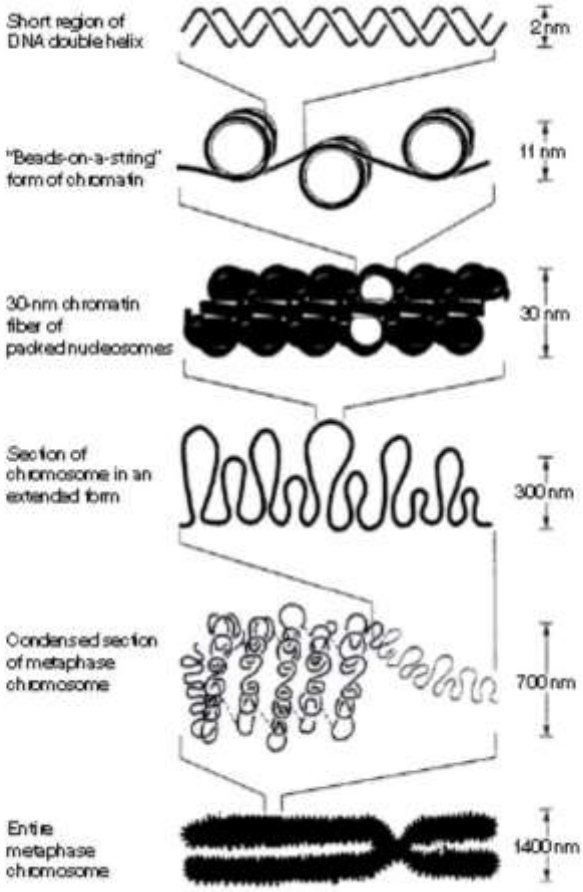
سازمان‌دهی DNA:

کروماتین انسانی از یک مولکول پیوسته DNA، پروتئین‌های هیستونی و غیرهسیتونی تشکیل شده است. مولکول DNA یک سلول دیپلوئید انسانی به صورت آزاد و غیرفشرده طولی معادل ۲ متر دارد. جهت قرار گرفتن چنین طولی از ملکول DNA در ساختار کوچکی چون هسته، DNA باید به میزان زیادی متراکم و فشرده شود. در همین راستا چندین سطح «بسته‌بندی» DNA وجود دارد. اولین سطح از تراکم خود ساختار مارپیچی DNA می‌باشد. مرحله بعدی فشردگی توسط پروتئین‌های هیستونی انجام می‌شود بدین گونه که با اتصال دو مولکول از هر یک از هیستون‌های H2A، H2B، H3 و H4، اکتامر تشکیل شده و مارپیچ مولکول DNA دو بار به دوراین اکتامر می‌پیچد. ساختار ۱۰nm ایجاد شده نوکلئوزوم نام دارد و ساختار اضلی کروماتین می‌باشد. پروتئین H1 مانند یک رابط نوکلئوزوم‌ها را کنار یکدیگر قرار می‌دهد. با تابندگی بیشتر نوکلئوزوم‌ها، ساختار ۳۰nm به نام سلنوئید ایجاد می‌شود. هر دور از ساختار سلنوئید حدود ۶ نوکلئوزوم را شامل می‌شود. سلنوئیدها به صورت دمین‌های حلقوی DNA که به پروتئین‌های غیرهیستونی ماتریکس متصل هستند، بسته‌بندی می‌شوند. نقاط اتصال هر حلقه در طول DNA ثابت است. این دمین‌های حلقوی نیز به هم پیچیده و واحدهای بسیار فشره‌ای

تحت عنوان کروموزوم (۱۴۰۰nm) را به وجود می‌آورند که تنها در طی تقسیم سلولی با میکروسکوپ نوری قابل رویت می‌باشند. کروموزوم‌ها در متافاز میتوزی به متراکم‌ترین حالت خود می‌رسند.

ساختار کروموزوم:

هر کروموزوم از دو کروماتید خواهری و هر کروماتید از دو رشته DNA فشرده و متراکم تشکیل شده است. سانترومر، تلومر و نواحی سازمان دهنده هسته‌ک (Nucleus Organiying Region=NOR) بخش‌های دیگر

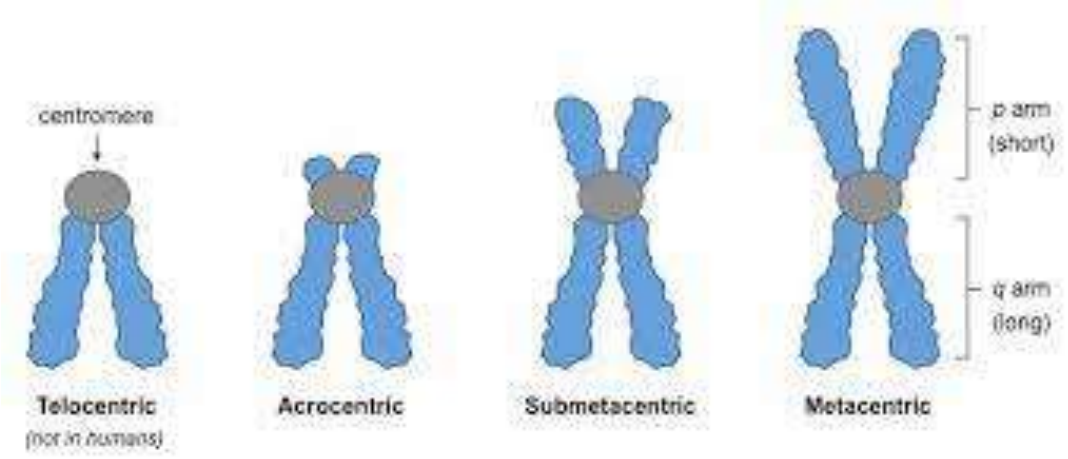


کروموزوم هستند.

ساختار حیاتی برای حفظ تعادل کروموزومی ارگانیسم سانتروم می‌باشد. کروموزوم‌های انسانی تنها یک سانتروم دارند (مونوسنتریک) و بر اساس جایگاه قرارگیری سانترومر کروموزوم‌های انسانی در سه گروه متاسانتریک، ساب‌متاسانتریک و آکروسانتریک طبقه‌بندی می‌شوند. در کروموزوم‌های متاسانتریک سانتروم درست در وسط کروموزوم قرار دارد و طول بازوی کوتاه (p) با بازوی بلند (q) برابر است. در کروموزوم آکروسانتریک، سانترومر در انتهای کروموزوم قرار دارد. سانترومر کروموزوم‌های ساب‌متاسانتریک نه در وسط قرار دارند و نه در انتها.

اهمیت سانترومرها علاوه بر نقش داشتن‌شان در بقای سلول، تقریباً در هر جنبه‌ای از نامگذاری ISCN مهم و حیاتی است. به بیان ساده، تعداد ساختارهای مستقل سانترومری در یک سلول، تعیین کننده‌ی تعداد کل کروموزوم‌های آن سلول است.

تلومرها انتهای فیزیکی کروموزوم‌ها هستند و به عنوان کلاهک محافظ برای آن‌ها عمل می‌کنند. تلومرها به غشای هسته متصل هستند و مانع از ادغام انتهاهای کروموزوم‌ها و تجزیه DNA بعد از شکست کروموزوم



می‌شوند.

یادگیری شناسایی کروموزوم‌های انسانی با G- بندینگ برای تکنسین‌های سیتوژنتیک بالینی و تحقیقاتی مفید و در بعضی موارد ضروری است. قبل از توسعه روش‌های بندینگ، کروموزوم‌ها بر اساس اندازه و نسبت طول بازوهایشان شناسایی می‌شدند. آنها از نظر اندازه و مورفولوژی به گروه‌های A تا G طبقه‌بندی شدند. از آنجا که این طبقه‌بندی‌ها هنوز می‌توانند برای شناسایی کروموزوم مفید باشند، حتی با توسعه بیشتر الگوهای بندینگ کروموزوم، در کاریوگرام‌ها به عنوان استاندارد بین المللی برای کاریوتایپینگ حفظ شده‌اند.

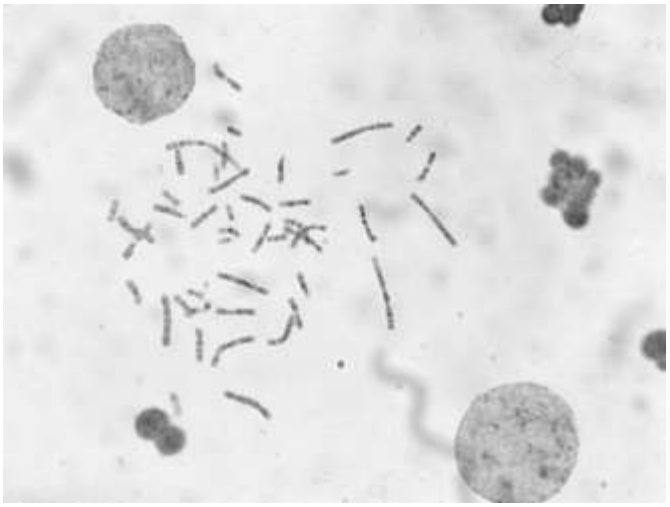
:ISCN

حروف ISCN مخفف عبارت International System for Human Cytogenomic Nomenclature به معنی سیستم بین‌المللی برای نامگذاری سیتوژنوم انسانی است. به بیان ساده ISCN کتاب آموزش و راهنمای خوانش و گزارش نویسی مشاهدات کروموزومی در علم سیتوژنتیک می‌باشد و اولین بار در کنفرانسی در دنور در سال ۱۹۶۰ مطرح و معرفی شد.

رنگ‌آمیزی:

کروموزوم‌ها در حالت طبیعی خود فاقد رنگ هستند و فقط در زیر میکروسکوپ نوری مجهز به قابلیت فاز کنتراست قابل مشاهده هستند. به همین دلیل، روش‌های رنگ‌آمیزی زیادی برای کمک به تجسم کروموزوم‌ها معرفی شده است. روش‌های بندینگ را می‌توان در دو گروه اصلی تقسیم‌بندی کرد: ۱) روش‌های بندینگی که بندهای باریک و متفاوتی در طول تمام کروموزوم ایجاد می‌کند مانند روش‌های بندینگ G، Q و R. ۲) روش‌های بندینگی که بند یا ناحیه خاصی از چند یا تمام کروموزوم‌ها را رنگ می‌کند از جمله این روش‌ها می‌توان به C و NOR اشاره کرد.

رایج‌ترین روش بندینگ در اکثر آزمایشگاه روش G-بندینگ است که در آن بخش‌های متراکم‌تر DNA توسط



زنگ گیمسا رنگ می‌گیرند.

جدولی از تاریخچه سیتوژنتیک:

سال	محقق	کشف
۱۸۶۵	Gregor Mendel	کشف اصول وراثت
۱۸۶۷	Gustav Giemsa	اختراع ترکیب رنگ گیمسا
۱۸۸۲	Walther Flemming	تعریف میتوز، استفاده fixation، رنگ‌آمیزی
۱۸۸۸	Heinrich Wilhelm Waldeyer	نام‌گذاری کروموزوم‌ها

۱۸۹۳	Oscar Hertwig	نشر اولین کتاب سیتوژنتیک: سلول و بافت (Cell and Tissue)
۱۹۰۲	Theodor Boveri, Walter Sutton	نمایش وجود کروموزوم‌های همولوگ
۱۹۰۵	Nettie Stevens	گزارش وجود کروموزم Y در مردان
۱۹۱۴	Theodor Boveri	طرح تئوری «تغییرات کروموزومی می‌تواند منجر به سرطان شود»
۱۹۳۷	Albert Blakeslee and A. G. Avery	استفاده از کلشیسین برای توقف متافازها
۱۹۴۱	Frits Zernike	تولید میکروسکوپ فاز کنتراست
۱۹۵۲	Arthur Hughes; Kyoko Makino and Kazuo Nishimura; T. C. Hsu	ارائه استفاده از محول هیپوتونیک در سیتوژنتیک
۱۹۵۳	James Watson and Francis Crick	ارائه ساختار دو رشته‌ای مارپیچ DNA
۱۹۵۶	Jo Hin Tjio and Albert Levan	اثبات ۴۶ کروموزومی بودن انسان
۱۹۵۸	Charles E. Ford	گزارش اولین مورد ناهنجاری‌های کروموزومی در لوسمی
۱۹۵۸	David Hungerford	گزارش کارایی بهتر محلول ۰.۰۷۵M پتاسیم کلراید در مقایسه با سدیم سیترات در بهبود مورفولوژی کروموزوم‌ها
۱۹۵۹	Jerome Lejeune	کشف کروموزوم ۲۱ اضافی در افراد مبتلا به سندروم داون
۱۹۵۹	Patricia Jacobs and John Strong	کشف XXY در افراد مبتلا به سندروم کلاین فلتر
۱۹۵۹	Charles E. Ford	گزارش سندروم ترنر (45, X)
۱۹۶۰	J. A. Book and Berta Santesson	معرفی تریپلوئیدی در انسان
۱۹۶۰	Klaus Patau	معرفی تریزومی ۱۳
۱۹۶۰	John Edwards	معرفی تریزومی ۱۸
۱۹۶۰	Peter Nowell	ارائه تاثیر phytohemagglutinin A (PHA) درکشت لنفوسیت
۱۹۶۰	Paul S. Moorhead, Peter Nowell,	ارائه پروتکل کشت و هاروست خون

	W. J. Mellman, D. M. Battips, and David Hungerford	
اولین کنفرانس در مورد نام‌گذاری کروموزومها	ISCN	**۱۹۶۰**
سومین کنفرانس در مورد نام‌گذاری کروموزوم‌های انسانی و اولین کنفرانس در راستای تعریف بندها	ISCN	**۱۹۷۱**
تعریف انواع روش‌های G-band	Adrian Sumner; S. R. Patil; Maximo Drets and Margery Shaw; Marina Seabright	**۱۹۷۱**
نشر R-band در آمریکا	Bernard Dutrillaux, Jerome Lejeune	**۱۹۷۱**
ارائه روش رنگ‌آمیزی نقره NOR کروموزم	C. Goodpasture and S. E. Bloom	**۱۹۷۵**
توصیف روش هاروست in-situ با لامل	David Peakman, Marilyn Moreton, Barbara Corn, Arthur Robinson	**۱۹۷۷**
ارائه روش G-band با رزولوشن بالا	Jorge Yunis	**۱۹۷۹**