

# GENETIKAI VIZSGÁLATI MÓDSZEREK FEJLŐDÉSE EGY EMBERÖLTŐ ALATT ÉS JELENTŐSÉGÜK AZ ENDOKRINOLÓGIÁBAN

## EVOLUTION OF GENETIC METHODS IN THE PAST DECADES AND THEIR RELEVANCE IN ENDOCRINOLOGY

Patócs Attila

az MTA doktora, egyetemi tanár, Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézet, Budapest,  
Országos Onkológiai Intézet Molekuláris Genetikai Osztály, Budapest, ELKH Örökletes Daganatok Kutatócsoport  
patocs.attila@oncol.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

A molekuláris genetikai vizsgálatok a betegségokozó genetikai eltérések kimutatására irányulnak. A genetikai vizsgáló módszerek az elmúlt emberöltőben óriási fejlődésen mentek keresztül. Ez igaz a vizsgálatok léptékére, költségére, a genetikai adatok mennyiségére és alkalmazásuk elterjedésére is. Ebben a rövid közleményben áttekintésre kerülnek azok az úttörő felfedezések, amelyek a napjainkban rutin eljárássá váló molekuláris genetikai módszereket megalapozták. Számos esetben a különböző szakterületeken dolgozó tudósok véletlennek gondolt felfedezései voltak szükségesek ahhoz, hogy ez a molekuláris genetikai diagnosztikai szakterület napjaink egyik vezető iparágává fejlődjön. E közleményben a szerző e gyorsan fejlődő terület alkalmazási lehetőségeit is bemutatja az endokrinológia terén.

### ABSTRACT

Molecular genetic studies aim to identify the disease-causing genetic alterations. The methods used in molecular genetic diagnostics have undergone a tremendous development during the last 70 years. The capacity, their cost, the amount of data generated and their use in every day clinical practice increased significantly. In this short report, those pioneer developments are summarized which paved the road for these molecular genetic methods. In many cases, observations and accidental discoveries of scientists working on other areas were needed for the evolution of these methods to reach their leading role in industrial field. The author presents the possible applications of this rapidly growing field in endocrinology.

**Kulcsszavak:** nukleinsav, gén, DNS-szekvenálás, genetikai diagnosztika, endokrinológia

**Keywords:** nucleic acid, gene, DNA sequencing, genetic diagnostics, endocrinology

## BEVEZETÉS

A genetikai tényezők okozta betegségek többségének háttérében hibás géntermékek állnak, amelyek kimutatása napjainkban a legdinamikusabban fejlődő, új diagnosztikai eljárásokkal történik. A gének a DNS (deoxiribonukleinsav) olyan szakaszai, amelyek a sejtek működéséhez szükséges fehérjetermékeket és egyéb szabályozó molekulákat kódolják. A gének jelentős része nem fehérjét, hanem szabályozó ribonukleinsav (RNS) molekulát kódol, amit az összeállítás nem kódoló RNS-ekről szóló cikkében mutattunk be (Decmann–Igaz, 2023, 976–985.). A betegségkötő eltérések olyan változások a DNS-molekulában, amelyek a fehérjetermék hiányához vagy kóros fehérjetermék képződéséhez vezetnek. Ezek a variánsok a népesség csekély hányadában (< 1%) mutathatók ki. A betegségkötő eltérések (patogén variánsok, korábban mutációk) mellett a DNS kb. 5-6 millió olyan variánst is tartalmaz, amelyek az emberek közötti különbségekért felelősek. Ezeket nevezzük génpolimorfizmusoknak. Emberben minden egyes gén két (egy az anyától, egy az apától örökölt) példányban fordul elő. Az emberi genomban kb. 30 000-40 000 fehérjét kódoló gén található.

E genetikai eltérések vizsgálatára jelent meg a genetikai diagnosztika tudománya, amely az utóbbi években óriási fejlődésen ment keresztül.

A LEGFONTOSABB FELFEDEZÉSEK,  
AMELYEK A GENETIKAI DIAGNOSZTIKA FEJLŐDÉSÉT EREDMÉNYEZTÉK

A géneket tartalmazó DNS szerkezetének megismerését tartja a legtöbb molekuláris genetikus szakmája kiinduló pontjának. Feltétlenül igaz az, hogy James Watson és Francis Crick 1953-ban publikált tanulmánya (Watson–Crick, 1953) egy olyan új szakterületet nyitott, amely a biológiai jelenségek molekuláris szintű vizsgálatával foglalkozik. Ez határterület a molekuláris biológia, kémia, biokémia és a genetika között. Természetesen a DNS-molekula felfedezése előtt is számos olyan felismerés történt, amely megalapozta ezt a felfedezést is. 1866-ban Gregor Mendel fektette le az öröklődés alapjait, majd a „nuklein” felfedezése 1868-ban Friedrich Miescher nevéhez kötődik. Ez is egy véletlennek köszönhető, hiszen munkája során fehérjét vizsgált, és fehérvérsejtek magjából izolálta a fehérje- és zsírbontó enzimekkel nem emészthető anyagot. Phoebus Levene 1919-ben igazolta, hogy a „nukleint” bázis, foszfát és cukor alegységek építik fel. Oswald T. Avery és munkatársainak munkájához köthető annak felfedezése, hogy a genetikai információt nem fehérjék, hanem a DNS kódolja (Avery et al., 1979). Ezt követően jött az első mérőföldkő, Watson és Crick munkája a DNS szerkezetének megismeréséről, amelyért 1962-ben – a DNS kettős-hélix modell első helyes leírásáért Maurice Wilkinsszel kiegészülve – megkapták az élettani-orvosi Nobel-díjat.

A nukleinsavak egyik fő jellemzője, hogy az őket alkotó nukleotidok képesek párba állni, így két nukleinsavszál képes egymáshoz kötődni. Ettől stabil a DNS, ahol két nukleinsavszál csavarodik egymás köré, illetve a DNS-ről így tud az információ az RNS-re átíródni. Az egymásnak megfelelő nukleinsavak „párosodását” hibridizációnak hívjuk, ami a molekuláris genetikai diagnosztika talán legalapvetőbb jelensége. A sejt osztódása során a DNS két szála kettéválik, és új szálak képződnek, aminek nyomán a DNS megkettőződik (replikáció).

Ezeket az alapfolyamatokra választ adó felfedezéseket követték azok a felfedezések, amelyek már a betegségek hátterében álló eltéréseket mutatták ki. Az első vizsgálatok a fénymikroszkóppal is látható kromoszómák vizsgálatán alapulnak. A kromoszómák a sejtek osztódása során válnak láthatóvá, és a DNS transzportformáinak tarthatók. A kromoszómákat vizsgáló módszereket gyűjtőnéven citogenetikai módszereknek hívjuk.

### CITOGENETIKAI MÓDSZEREK

A sejtben előforduló DNS összességét genomnak nevezzük. Az emberi genom kb. hárommilliárd DNS-bázispárból áll, ami 23 pár (összesen 46) kromoszómán található. A vizsgáló módszerek első generációja a kromoszómák megjelenítésére irányult. A legkorábbi módszerek közé az ún. kromoszómasáv-technikák tartoztak. Az izolált kromoszómákészletet tárgylemezen megfestették, és mikroszkóp alatt vizsgálták a kromoszómaszerelvény jellemző sávmintázatát.

Joe Hint Tjio és Albert Levan 1956-ban bizonyították, hogy az emberben 46 kromoszóma van (Tjio–Levan, 1956), majd még ebben az évtizedben a Down-szindróma (21-es triszómia [kettő helyett három 21-es kromoszóma]), Turner-szindróma és Klinefelter-szindróma genetikai hátterét is felismerték. Utóbbi szindrómák a nemi kromoszómákat érintik, hiszen a 46 kromoszóma közül kettő nemi, férfiakban egy X és egy Y, nőkben pedig két X. Turner-szindrómás lányokban az X-kromoszóma egyik példánya vagy egy része hiányzik, Klinefelter-szindrómás férfiakban pedig számfeletti X-kromoszóma mutatható ki. Mindezek összetett fejlődési és nemi működési zavarokat okoznak.

1966-ban a kromoszómák vizsgáló módszereit már a születés előtt, a terhesség alatt végzett vizsgálatokban, a terhes anyaméhből, a magzatot körülvevő folyadék-ból nyert sejtek tenyésztés utáni vizsgálatára is alkalmazták (Steele–Breg, 1966).

Természetesen, a kromoszómák számbeli eltérései mellett szükséges volt a finomabb elemzés, a kromoszómakon belüli régiók elkülönítése, amire újabb technikákat is kidolgoztak, amelyek révén mind kisebb kromoszómaeltérések váltak láthatóvá. Ezek egyik módja a fluoreszcens próbák alkalmazása. Az egyik legújabb módszer a komparatív genomhibridizálás (CGH), amely nagyon pontosan, számos kromoszómaeltérés egyidejű felismerésére képes.

A nemzetközi eredményeket szorosan követve, az első, hazai szerzőktől való közlés 1970-ből származik, amelyben Papp Zoltán és munkatársai egy valódi hermafroditizmus (mind petefészek, mind hereszövet jelenléte és átmeneti nemi szervek ugyanabban az egyénben) háttérében 46,XX-46,XY mozaicizmust igazoltak (Papp et al., 1970).

### MOLEKULÁRIS GENETIKAI MÓDSZEREK A POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ (PCR) FELFEDEZÉSE

Kary Mullis munkásságához fűződik a genetika és a genetikai diagnosztika másik forradalmi, Nobel-díjjal elismert felfedezése. Az 1980-as években fedezte fel, hogy a DNS kettőződését laboratóriumi körülmények között is reprodukálni lehet (Mullis–Faloona, 1987). Ehhez olyan enzimekre van szükség, amelyek a DNS



A polimeráz láncreakció (PCR) alapeleme, a *Thermus aquaticus* lelőhelye az Old Faithfull-gejzír a Yellowstone Nemzeti Parkban (Wyoming, USA)

(Fotó: R. Robinson, National Park Service, USA, 1948; Wikipedia, public domain)



Az Old Faithfull-gejzír krátere

(Fotó: William Henry Jackson, Geological and Geographical Survey of the Territories (U.S.), 1871–1872; DeGolyer Library, Southern Methodist University, Dallas, TX, USA)

alkotóelemeit beépítik egy új DNS-szálba, majd minden egyes ciklust megismételve a DNS mennyisége megkétszereződik (Saiki et al., 1988). Tekintettel arra, hogy a DNS két szálának elválasztásához a laboratóriumi körülmények között magas hőmérséklet szükséges, olyan enzimre volt szükség, amely ezt kibírja. Így esett választásuk a forró vizű gejzírekben élő baktérium, a *Thermofilus (Thermus) aquaticus* DNS-építő enzimére (DNS-polimeráz). A polimeráz enzim mellett egy másik enzim, a ligáz felfedezésére is szükség volt, ami a DNS-szakaszok összekötésére képes. A ligáz felfedezésében egy magyar származású tudós, Francis Barany, van elvülhetetlen érdemei (Barany, 1990).

E reakciók ismétlésével a DNS mennyisége számottevően felsokszorozható, és igen kis mennyiségű mintából kezelhető mennyiségű DNS-re lehet szert tenni.

Ezt követően számos olyan módszert fejlesztettek ki, amelyek a PCR-en alapulnak. A mutációk közvetlen kimutatása is lehetséges PCR-módszerrel. Azt a folyamatot, amelynek során egy mutáció vagy polimorfizmus azonosítása történik, genotipizálásnak nevezzük.





A *Thermus aquaticus* baktérium elektromikroszkópos képe  
(Fotó: Diane Montpetit [Food Research and Development Centre,  
Agriculture and Agri-Food Canada]; Wikipedia, public domain)

#### A DNS-SZEVENCIA NUKLEOTIDSZINTŰ MEGHATÁROZÁSA

Napjainkban a genetikai diagnosztika egyik leggyakoribb vizsgáló módszere az adott gén nukleotidsorrendjének meghatározása. E módszercsoportot DNS-szekvenálásnak nevezzük, amelynek a legelső és továbbra is aranystandardként alkalmazott formája a Sanger-féle szekvenálás (Frederick Sanger brit biokémikusról, aki kétszer is megkapta a kémiai Nobel-díjat) (Sanger et al., 1977). A szekvenálást megelőzi a DNS kivonása a mintákból, a vizsgálni kívánt génszakasz PCR-rel történő sokszorozása és tisztítása. Ezt követi maga a DNS-szekvenálás. Ennek során napjainkban már automatizált készülékekkel meghatározzák a minták DNS-nukleotidsorrendjét. Kezdetben a nukleotidok radioizotópokkal voltak jelölve, majd 1986-tól a fluoreszcens festékekkel jelölt nukleotidok alkalmazása terjedt el. Ezzel párhuzamosan megindult az automata DNS-szekvenáló készülékek fejlesztése és gyártása.

Az első magyar szerzős molekuláris genetikai közlés a cisztás fibrózis magyarországi mutációs adataiból született (Nemeti et al., 1991). Az 1990-es években

egymás után azonosították a monogénes (egy génhiba okozta) kórképért felelős géneket. Az endokrinológiai betegségek közül a mellékvesekéreg elégtelenségért felelős, a szteroid bioszintézisben részt vevő enzimeket kódoló gének eltéréseinek kimutatása volt az egyik első, klinikai diagnosztikában is alkalmazott eljárás (Barta et al., 1998).

A gének beazonosítása után, hazánkban is nagyon korán elkezdődött az örökletes hormonrendszeri daganatok molekuláris genetika vizsgálata is. Az 1990-es évek közepétől a multiplex endokrin neoplázia 2-es típusának genetikai diagnosztikája, majd az ezredfordulótól a multiplex endokrin neoplázia 1-es típusának, a von Hippel–Lindau-kór és a mellékvesevelőből kiinduló feokromocitómák molekuláris genetikai diagnosztikája a napi klinikai diagnosztikában elérhetővé vált (erről szól Perge Pál és Igaz Péter cikke, e lapszám 996–1004. oldalán). Ebben a Semmelweis Egyetem akkori 2-es számú Belgyógyászati Klinika Rácz Károly professzor vezette endokrin munkacsoportjának volt elvülhetetlen érdeme (Igaz et al., 1999; Balogh et al., 2004; Patócs et al., 2004.).

#### ÚJGENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁSI TECHNIKÁK ÉS SZEKVENÁLÓ RENDSZEREK

Ezek a technológiák jelenleg a mindennapi rutin diagnosztikai eljárásokat jelentik. Előnyük a rendkívül nagy áteresztő képesség, ami mind az egyszerre vizsgálható minták számában, mind pedig az egyszerre vizsgálható DNS-szakaszok vagy gének számában megmutatkozik. A technológia több jól elkülöníthető lépésből áll, amelyek egy része laboratóriumi eljárás (például minta-előkészítés és ún. szekvenálási könyvtárkészítés), míg a mérés utáni lépések, az adatfeldolgozás és elemzés, bionformatikai folyamatokat jelentenek. A bioinformatika a biológiai adatok számítástechnikai módszerekkel történő elemzésére utal, ami a nagy mennyiségű adatok elemzésére napjaink egyik legfontosabb módszerévé vált.

A minta-előkészítés kritikus minden módszernél, így az NGS-alapú (*next-generation sequencing*) vizsgálatokban is. A kevés és rossz minőségű anyagból (például daganatok esetében a biopsziás minták) a kinyerhető DNS mennyisége és minősége kétségessé teheti a szekvenálást. A könyvtárkészítés során a célszekvenciáknak megfelelő DNS-felsokszorozás történik. A szekvenálás egyik fontos minőségi mutatója az adatmennyiség, valamint a célszekvenciákra illeszkedő szekvenálási adatok (readek), amit lefedettségnek hívunk. A szekvenálás során talán a legelterjedtebb műszercsaládot az Illumina cég szekvenálói jelentik. Itt a különböző igényekhez, felhasználási területekhez illeszkedő műszerek állnak rendelkezésre, amelyekkel a pár gént tartalmazó panelektől a teljes genom vizsgálatáig terjedhetnek a mérések. A mérés kritikus eleme az adatok értékelése,

amihez bioinformatikai módszereket használnak. E módszerek révén olyan elképesztő mennyiségű adat születik, amilyen a korábbiakban elképzelhetetlen volt. Mindehhez komoly számítástechnikai háttér (adatok tárolása, az illesztések során átmeneti tárolás és számító kapacitás) szükséges.

Az újgenerációs szekvenálás nyomán nagyszámú variáns kerülhet felismerésre, amelyek klinikai jelentősége sokszor nem ismert. Az azonosított variánsok osztályozására jelenleg öt kategóriát használnak: biztosan betegségkókozó, valószínűleg betegségkókozó, ismeretlen jelentőségű (variant of unknown significance, VUS), valószínűleg jóindulatú és biztosan jóindulatú. Ehhez szükséges a bioinformatikai elemzés során alkalmazott algoritmusok kapcsolása olyan adatbázisokhoz, amelyek tartalmazzák a genetikai variánsok klinikai összefüggéseit is. A teljes folyamat végén egy olyan adatbázis keletkezik, amely tartalmazza az összes olyan variánst és a hozzájuk tartozó adatokat, amelyek azonosításra kerültek. A klinikai genetikus munkájának alapját ezeknek az adatoknak a további értelmezése jelenti.

Fontos, hogy a különböző, klinikai vagy betegség-specifikus mutációs adatbázisokban (dbSNP, clinVar, HMGD, OMIM) tárolt információk elemzését is el kell végezni. Ki kell emelni azt is, hogy éppen melyik verziószámú adatbázist használjuk, mert a betegség-specifikus adatbázisokat rendszeresen frissítik. Ez eredményezheti azt, hogy egy korábban VUS-ként nyilvántartott variánsról később kiderülhet, hogy betegségkókozó vagy fordítva, teljesen ártalmatlan variánssá kerül átminősítésre. Mindezek alapján, nem javasolt kezelési döntéseket hozni VUS-ra alapozva. Minden VUS esetén a vizsgálatot végző labornak ismertetnie kell a klinikai genetikus felé az új klinikai összefüggéseket. Ebből adódik, hogy a molekuláris genetikai diagnosztikát végző laboratóriumoknak meg kell felelniük a mintatárolás (biobanki tevékenység), a módszerekhez szükséges infrastruktúra, a bioinformatika, a biztonságos adattárolás és a klinikai genetikusok felé történő információátadás feltételeinek is.

Számos hazai központban alkalmazzák már ezt a technológiát a különböző kórkepek diagnosztizálásában. Elsősorban azokban a betegségekben indokolt az NGS használata, ahol több gén érintettsége is felmerül. Különösen fontos ez az endokrinológiában a nemi mirigyek alulműködésének azon genetikailag meghatározott formáiban, ahol a gond az ezeket szabályozó agyi központokban (elsősorban a hipotalamuszban) található (hipogonadotrop hipogonadizmus) (Butz et al., 2021), a cukorbetegség ritka formáiban (Gaál et al., 2021) és e cikkgyűjtemény egy másik cikkében bemutatott feokromocitóma/paraganglióma (Perge–Igaz, 996–1004.) genetikai hátterének vizsgálatában (Sarkadi et al., 2021).



## ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt hetven évben, ami a DNS szerkezetének első leírása óta eltelt, egy új, túlzás nélkül állíthatóan nagy jelentőségű orvosi szakma jött létre. A modern technológiák, az informatikai eljárások és a társadalmi igény az élet minden területén a gyors információhoz jutást várja el. A kórképek diagnosztizálása igényes és nagy körütekintést igénylő folyamat. Hagyományos módszerekkel a komplex esetek diagnózisa sokszor téves vagy nem teljes, és genetikailag heterogén. A gyakori megjelenésű kórképek esetén pedig, például rákbetegségben, a rák kialakulásáért vagy progressziójáért felelős genetikai eltérések beazonosítása teszi lehetővé a genetikai eltérésen alapuló pontosabb, precíz kezelési stratégiát. E fejlődés az endokrinológiai diagnosztikát is jelentősen érinti. Napjaink fő feladata az, hogy a klinikai igényeknek megfelelő molekuláris genetikát végző laboratóriumokból ellenőrzött és orvosszakmailag is jóváhagyott eredmények kerüljenek a betegellátásba. Az alkalmazott módszerek rohamos fejlődése egyéb területek, például az informatika, adatkezelés, adattárolás, a jogi és etikai szabályozás fejlesztését is szükségessé teszi.

## IRODALOM

- Avery, O. T. – Macleod, C. M. – McCarty, M. (1979): Studies on the Chemical Nature of the Substance Inducing Transformation of Pneumococcal Types. *The Journal of Experimental Medicine*, 149, 2, 297–326. DOI: 10.1084/Jem.149.2.297, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2184805/>
- Balogh K. – Patócs A. – Majnik J. et al. (2004): Genetic Screening Methods for the Detection of Mutations Responsible for Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. *Molecular Genetics and Metabolism*, 83, 1–2, 74–81. DOI: 10.1016/J.Ymgme.2004.08.013
- Barany, F. (1990): The Cloning of Thermostable Ligase from *Thermus Aquaticus* and Its Use in DNA Amplification and Detection. In: Noyer-Weidner, M. – Trautner, T. A. (eds.): *Second New England Biolabs Workshop on Biological DNA Modification*. Berlin
- Barta C. – Sasvári-Székely M. – Guttman A. (1998): Simultaneous Analysis of Various Mutations of the 21-Hydroxylase Gene by Multi-Allele Specific Amplification and Capillary Gel Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 21 817, 281–286. DOI: 10.1016/S0021-9673(98)00457-9
- Butz H. – Nyíró G. – Kurucz P. et al. (2021): Molecular Genetic Diagnostics of Hypogonadotropic Hypogonadism: From Panel Design towards Result Interpretation in Clinical Practice. *Human Genetics*, 140, 1, 113–134. DOI: 10.1007/S00439-020-02148-0, <https://link.springer.com/article/10.1007/s00439-020-02148-0>
- Decmann Á. – Igaz P. (2023): Nem kódoló RNS-ek mint hormonok? A hormonfogalom lehetséges bővülése. *Magyar Tudomány*, 184, 8, 976–985.
- Gaál Z. – Szűcs Z. – Kántó, I. et al. (2021): A Comprehensive Analysis of Hungarian MODY Patients – Part I: Gene Panel Sequencing Reveals Pathogenic Mutations in *HNF1A*, *HNF1B*, *HNF4A*, *ABCC8* and *INS* Genes. *Life (Basel)*, 27, 11, 755. DOI: 10.3390/Life11080755, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8400228/pdf/life-11-00771.pdf>

- Igaz P. – Rácz K. – Tóth M. et al. (1999): Molekuláris genetikai módszerekkel igazolt ret-protoonkogén mutáció magyar MEN2A család esetében. *Orvosi Hetilap*, 140, 7, 355–357. <http://real-j.mtak.hu/11262/2/650.1999.02.07.pdf>
- Mullis, K. B. – Faloona, F. A. (1987): Specific Synthesis of DNA in Vitro via a Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. *Methods in Enzymology*, 155, 335–350. DOI: 10.1016/0076-6879(87)55023-6
- Nemeti M. – Louie, E. – Papp Z. et al. (1991): Molecular Analysis of Cystic Fibrosis in the Hungarian Population. *Human Genetics*, 87, 4, 511–512.
- Papp Z. – Gardo S. – Herpay G. et al. (1970): True Hermaphroditism with Chromosome Mosaic 46,XX–46,XY. *Zentralblatt für Gynäkologie*, 5, 92, 36, 1183–1189.
- Patócs A. – Karádi E. – Tóth M. et al. (2004): Clinical and Biochemical Features of Sporadic and Hereditary Pheochromocytomas: An Analysis of 41 Cases Investigated in A Single Endocrine Centre. *European Journal of Cancer Prevention*, 13, 5, 403–409; DOI: 10.1097/00008469-200410000-0000
- Perge P. – Igaz P. (2023): A feokromocitóma – egy különleges endokrin daganat. *Magyar Tudomány*, 184, 8, 996–1004.
- Saiki, R. K. – Gelfand, D. H. – Stoffel, S. et al. (1988): Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA Polymerase. *Science*, 239, 4839, 487–491. DOI: 10.1126/Science.2448875, <https://www.science.org/doi/10.1126/science.2448875>
- Sanger, F. – Nicklen, S. – Coulson, A. R. (1977): DNA Sequencing with Chain-Terminating Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 74, 12, 5463–5467. <https://www.pnas.org/doi/epdf/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Sarkadi B. – Likó I. – Nyirő G. et al. (2021): Analytical Performance of NGS-Based Molecular Genetic Tests Used in the Diagnostic Workflow of Pheochromocytoma/Paraganglioma. *Cancers (Basel)*, 22, 13, 4219. DOI: 10.3390/Cancers13164219, <http://real.mtak.hu/138825/>
- Steele, M. W. – Breg, W. R. (1966): Chromosome Analysis of Human Amniotic-Fluid Cells. *The Lancet*, 1, 7434, 383–385. DOI: 10.1016/S0140-6736(66)91387-0
- Tjio, J. H. – Levan, A. (1956): The Chromosome Number of Man. *Hereditas*, 42, 1–6. DOI: 10.1111/j.1601-5223.1956.tb03010.x, [https://sfmg.se/wp-content/uploads/2021/01/The-chromosome-number-of-man\\_Tjio-and-Levan\\_Hereditas\\_1956.pdf](https://sfmg.se/wp-content/uploads/2021/01/The-chromosome-number-of-man_Tjio-and-Levan_Hereditas_1956.pdf)
- Watson, J. D. – Crick, F. H. (1953): Molecular Structure of Nucleic Acids: A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid. *Nature*, 171, 737–738. <https://dosequis.colorado.edu/Courses/MethodsLogic/papers/WatsonCrick1953.pdf>