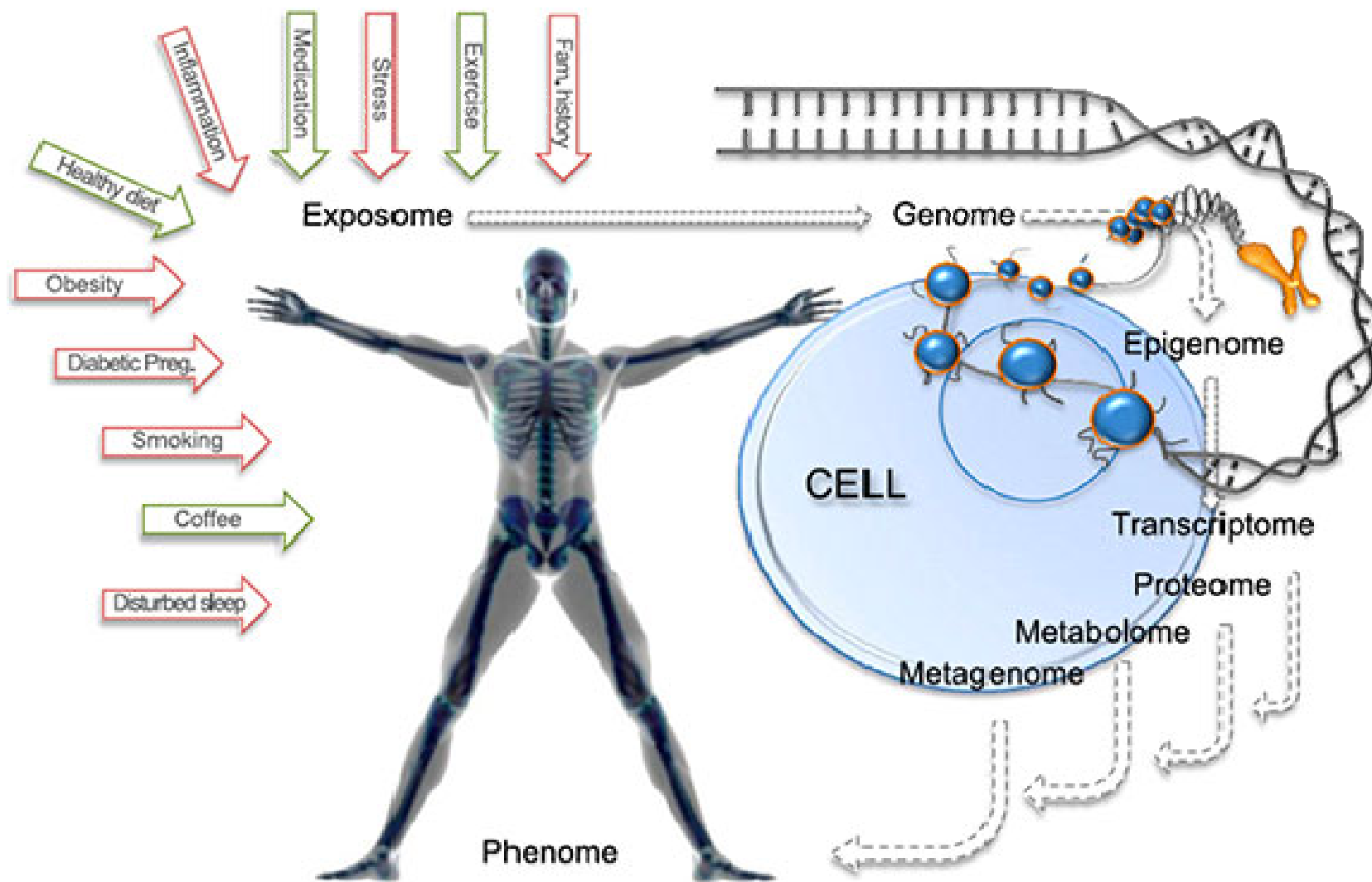


**Lidský genom a jeho struktura**

**Základy jaderné a mimojaderné dědičnosti**

**Epigenetika**



Základy  
genomiky

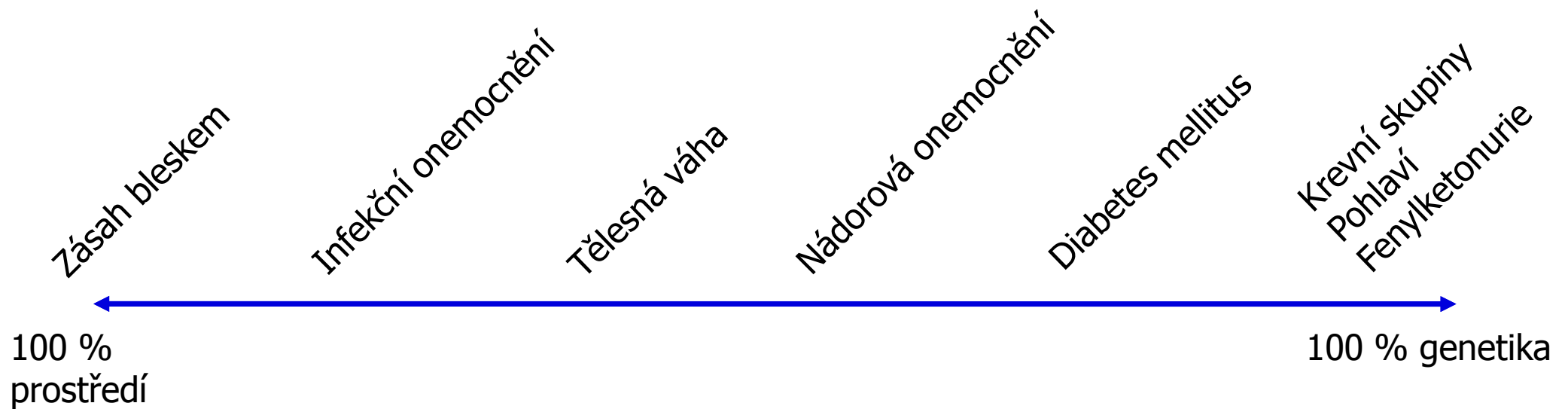
Mendelovy  
zákony  
dědičnosti

Odchytky od  
Mendelových  
zákonů

Mimojaderná  
dědičnost

Epigenetika

# Genová determinace biologických znaků

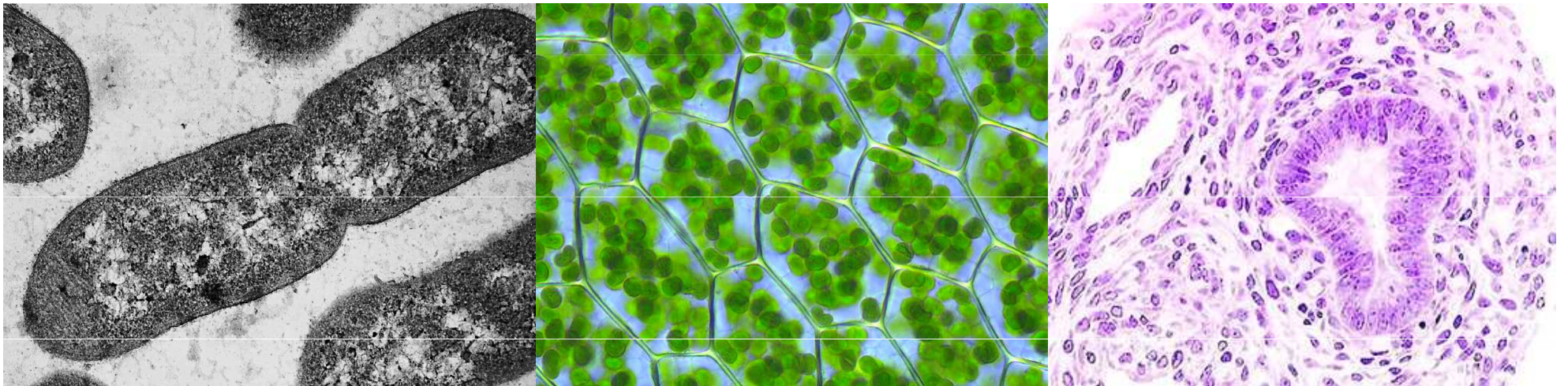


# Historie

- Různé teorie přenosu znaků z generace na generaci již od starověku
  - křížení vhodných jedinců
- 19. století – koncept pangeneze
  - Charles Darwin – blending inheritance – děti jsou průměrem znaků rodičů
- J. G. Mendel (1822–1884)
  - 1866 - Pokusy s rostlinnými hybridy
  - 1900 - C. Correns, E.v. Tschermak, H.d. Vries – znovuobjevení Mendelovy práce
- 1910 - T.H. Morgan – lokalizace genů na chromozomy
- 1953 – J.D. Watson, F.H. Crick, R. Franklinová, M. Wilkins – struktura DNA
- 1956 – A. Levan, A.J. Tjio – správné spočítání lidských chromozomů
- 1990-2000 (2003) – Projekt lidského genomu



# Buňka

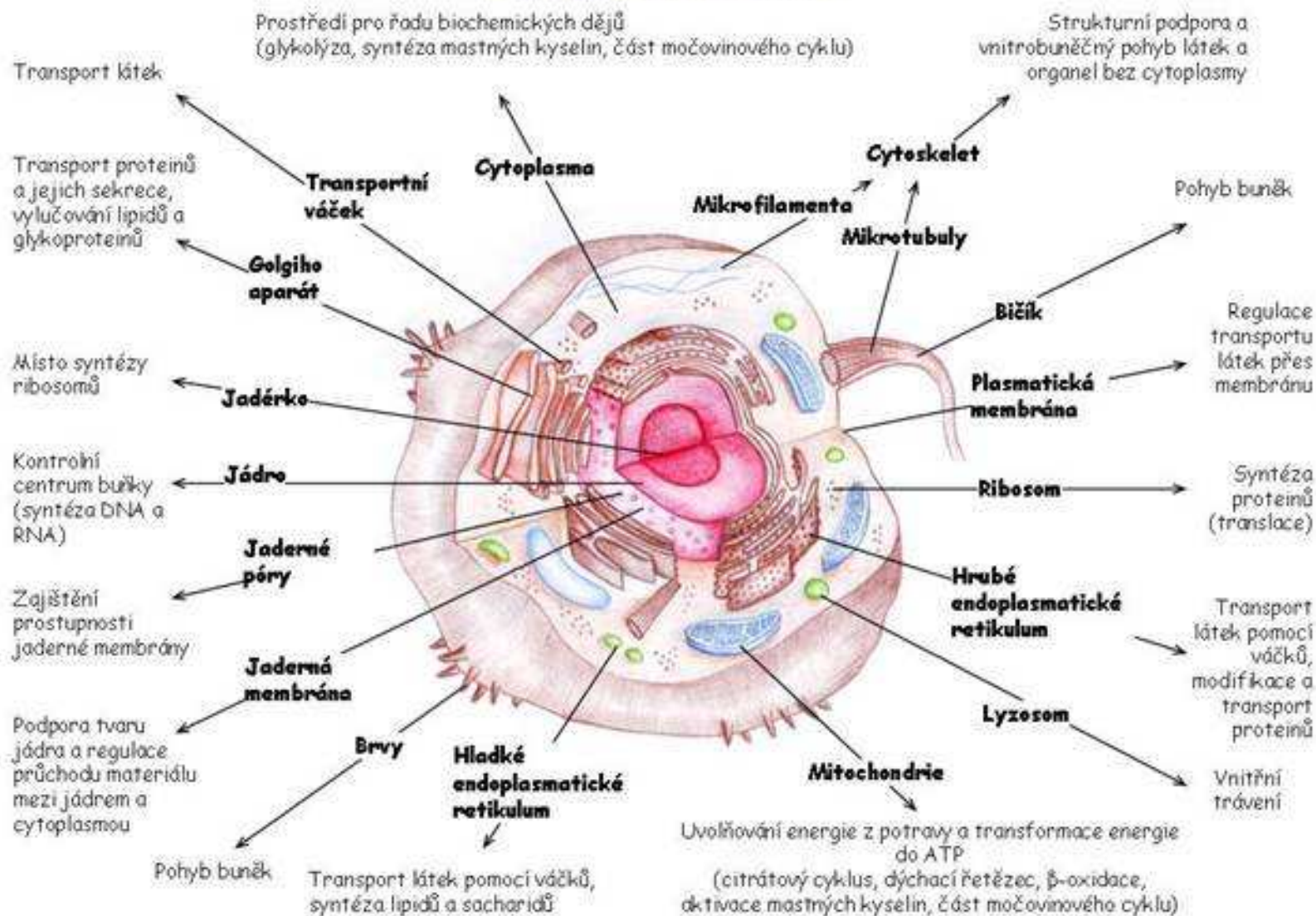


Prokaryota

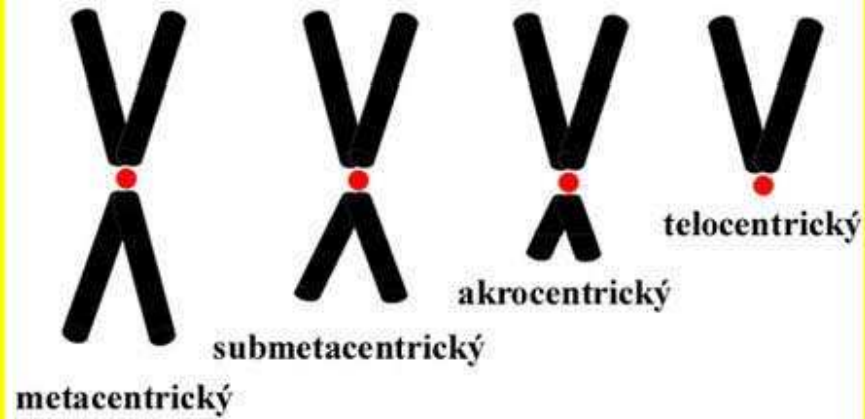
Eukaryota



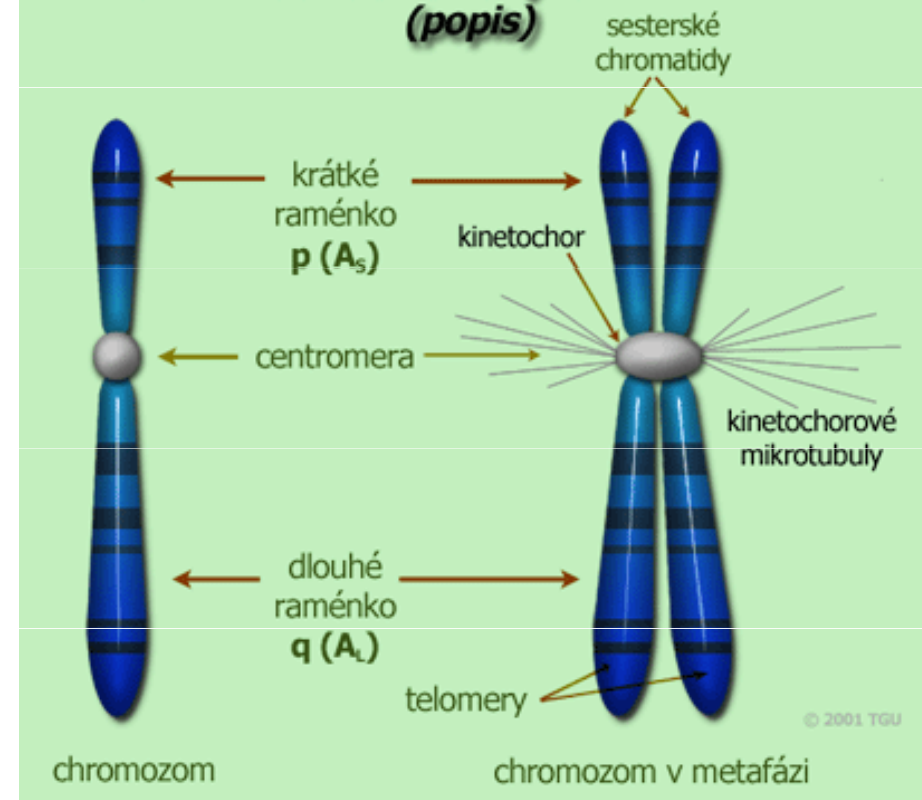
## Eukaryotní živočišná buňka



## Základní typy chromosomů



## Submetacentrický chromozom (popis)





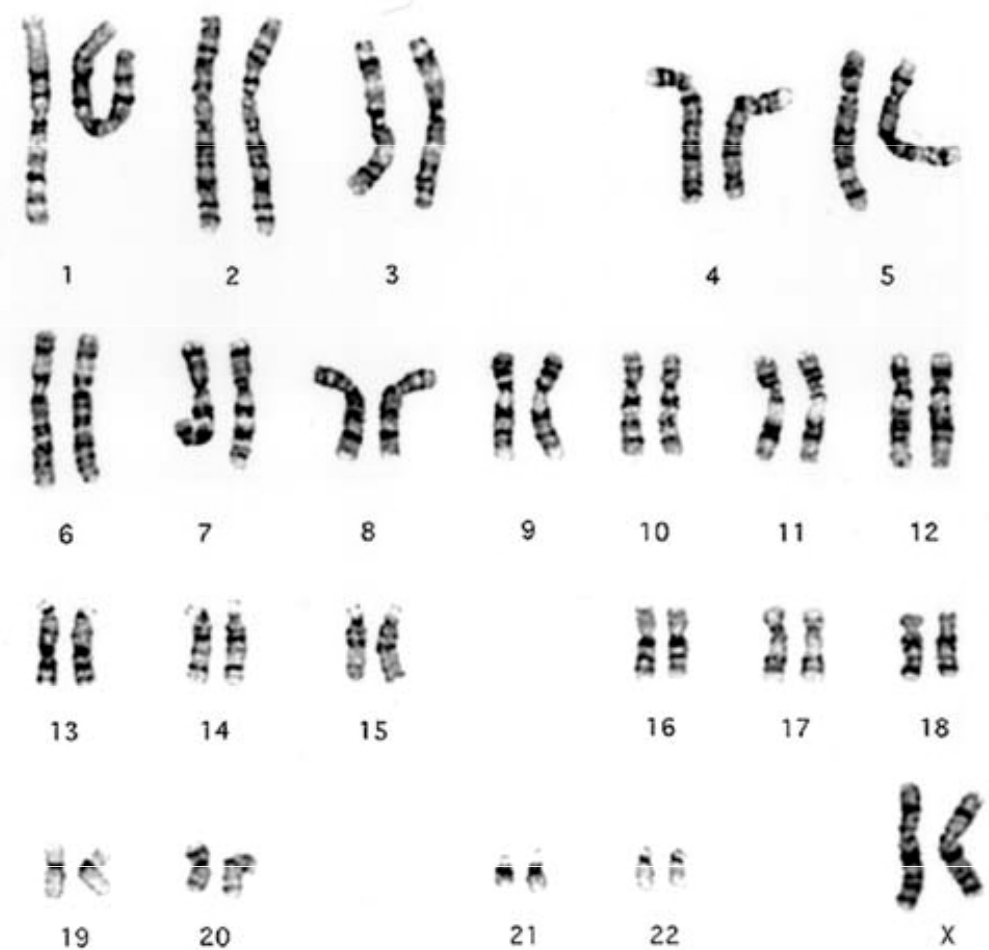
# Karyotyp člověka

- 1956, **Joe Hin Tjio** a **Albert Levan**
- Diploidní lidská buňka obsahuje 46 chromozomů – 22 párů autozomů a jeden pár pohlavních chromozomů

## THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

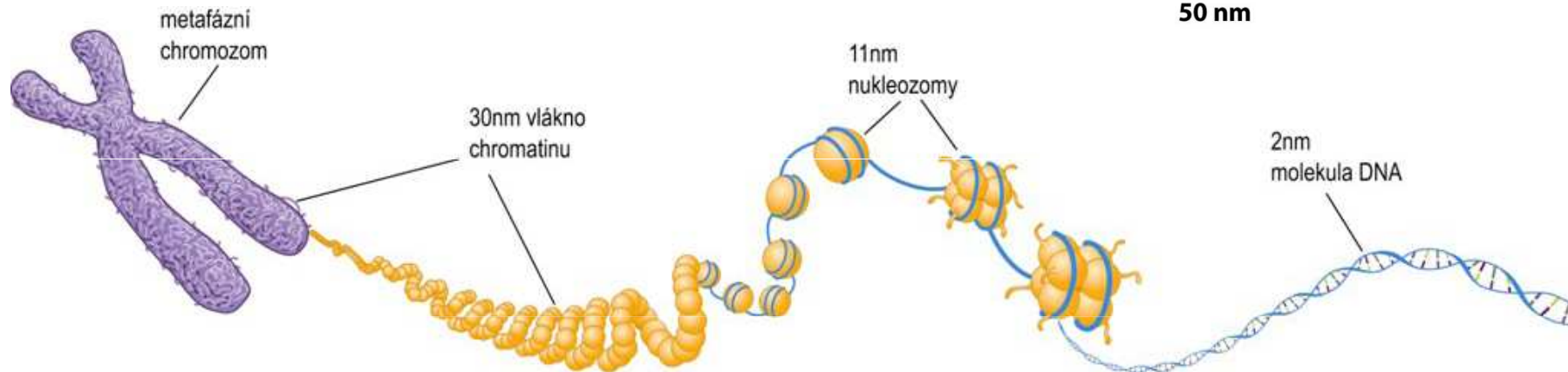
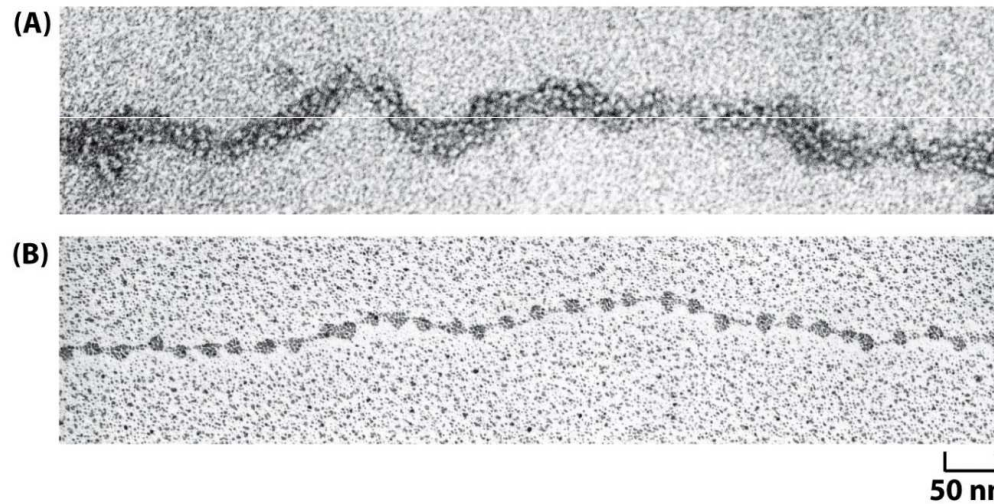
By *JOE HIN TJIO* and *ALBERT LEVAN*

ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN



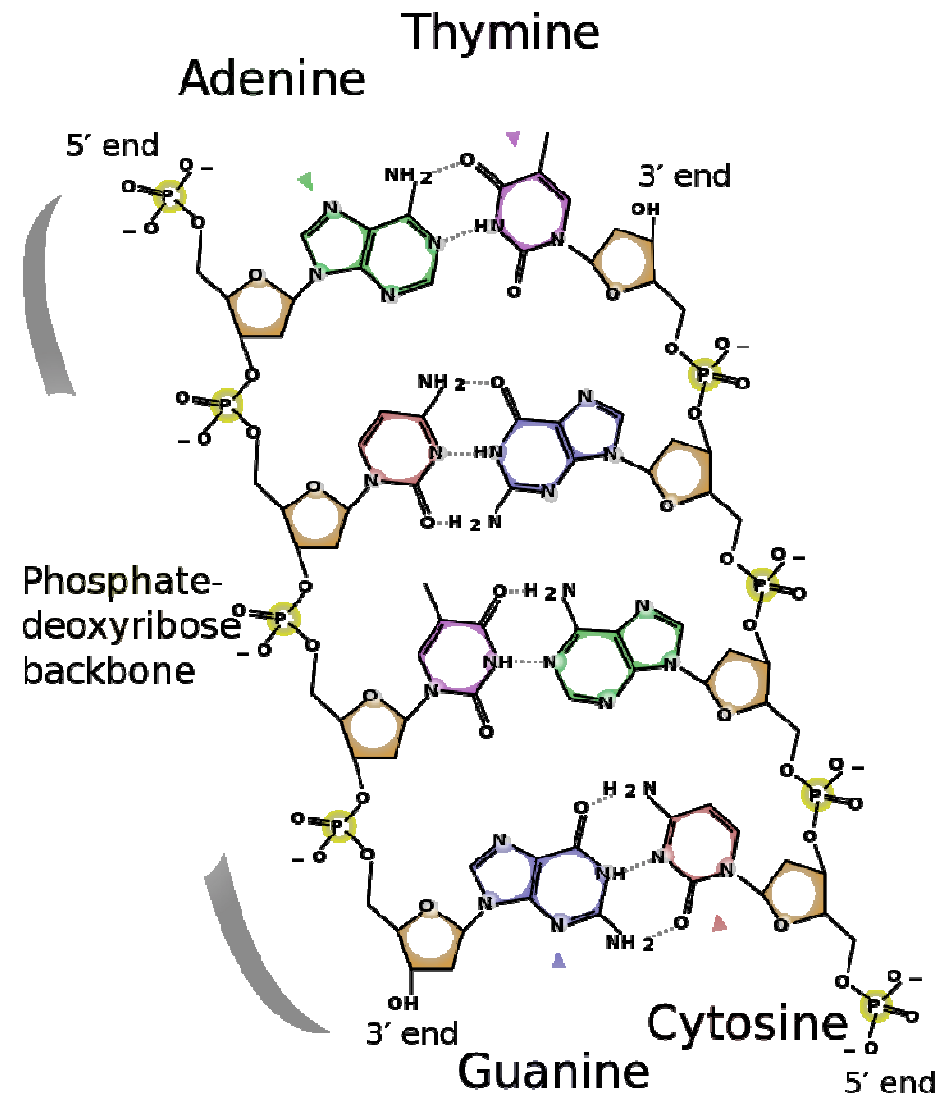
Courtesy of Dr. K. Phelan, Greenwood Genetic Center.  
Noncommercial, educational use only.

# Chromatin

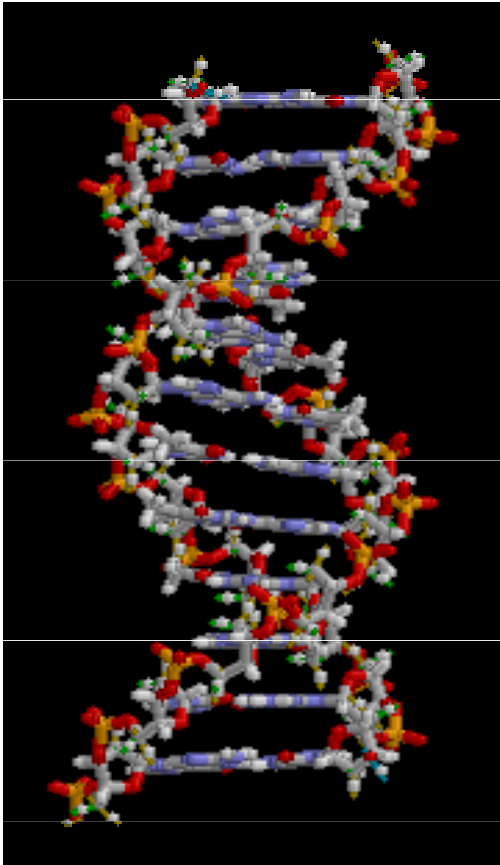


# Složení nukleových kyselin

- Nukleotid
  - Kyselina fosforečná
  - Pentóza
    - ribóza
    - deoxyribóza
  - Organické báze
    - purinové báze
      - adenin
      - guanin
    - pyrimidinové báze
      - cytozin
      - tymin
      - uracil



## Struktura DNA



Společná osa

Komplementarita řetězců - vnitřní část tvoří báze AT a GC (planární charakter bází)

Cukrfosfátová páteř – osa = 1 nm

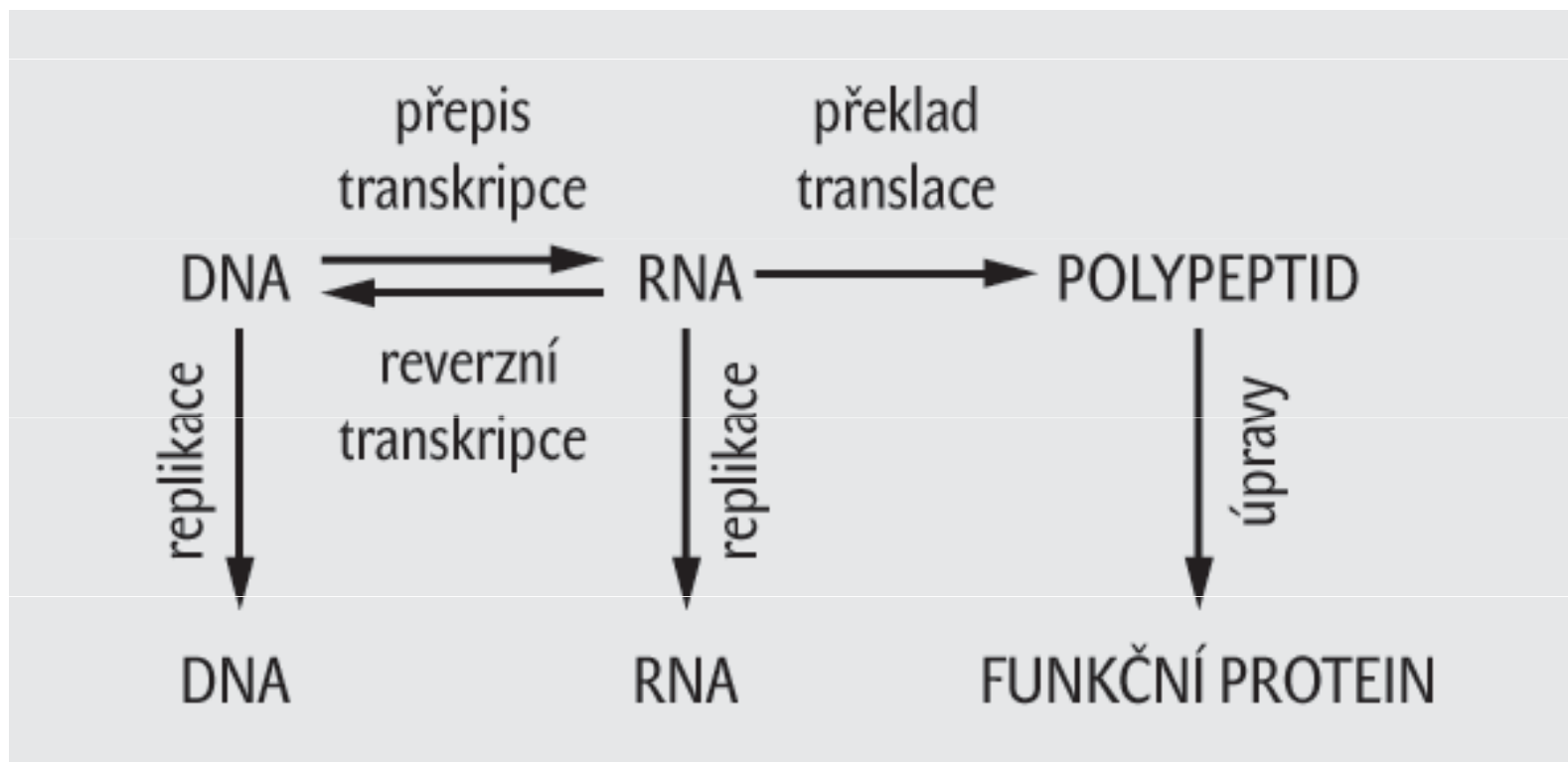
Chargaffovo pravidlo  $(A+G)/(T+C) = 1$

Menší a větší žlábek = místa pro vazbu proteinů k DNA (vodíkové vazby)

Nejčastější pravotočivé vinutí

# Ústřední dogma molekulární biologie

1958 – Francis Crick



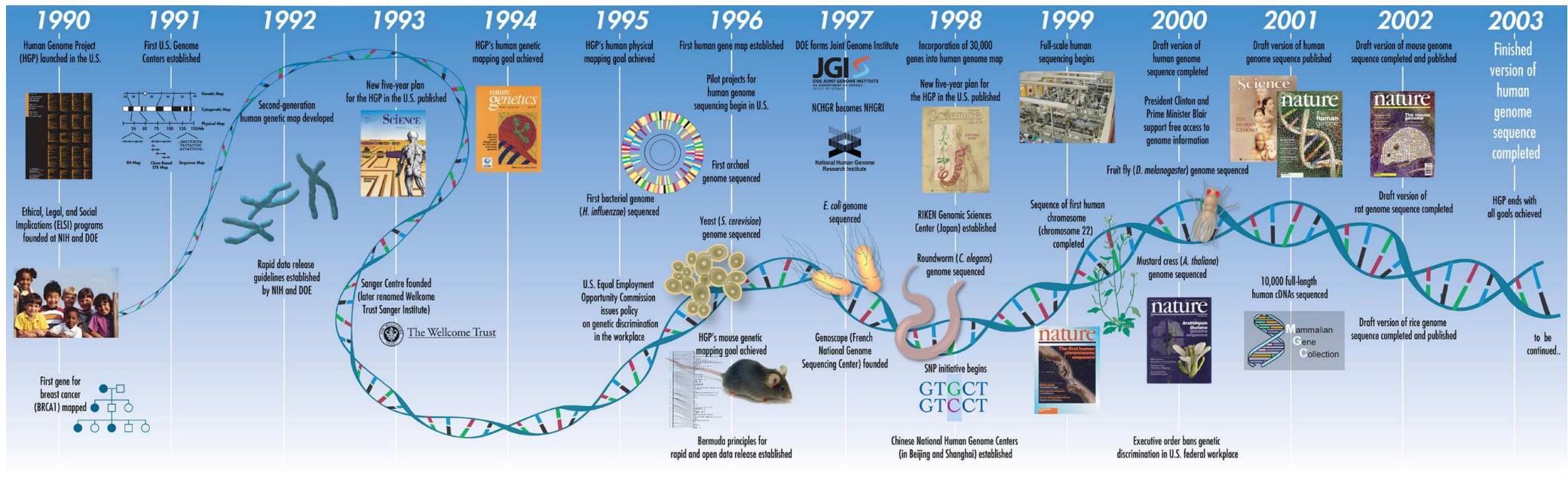


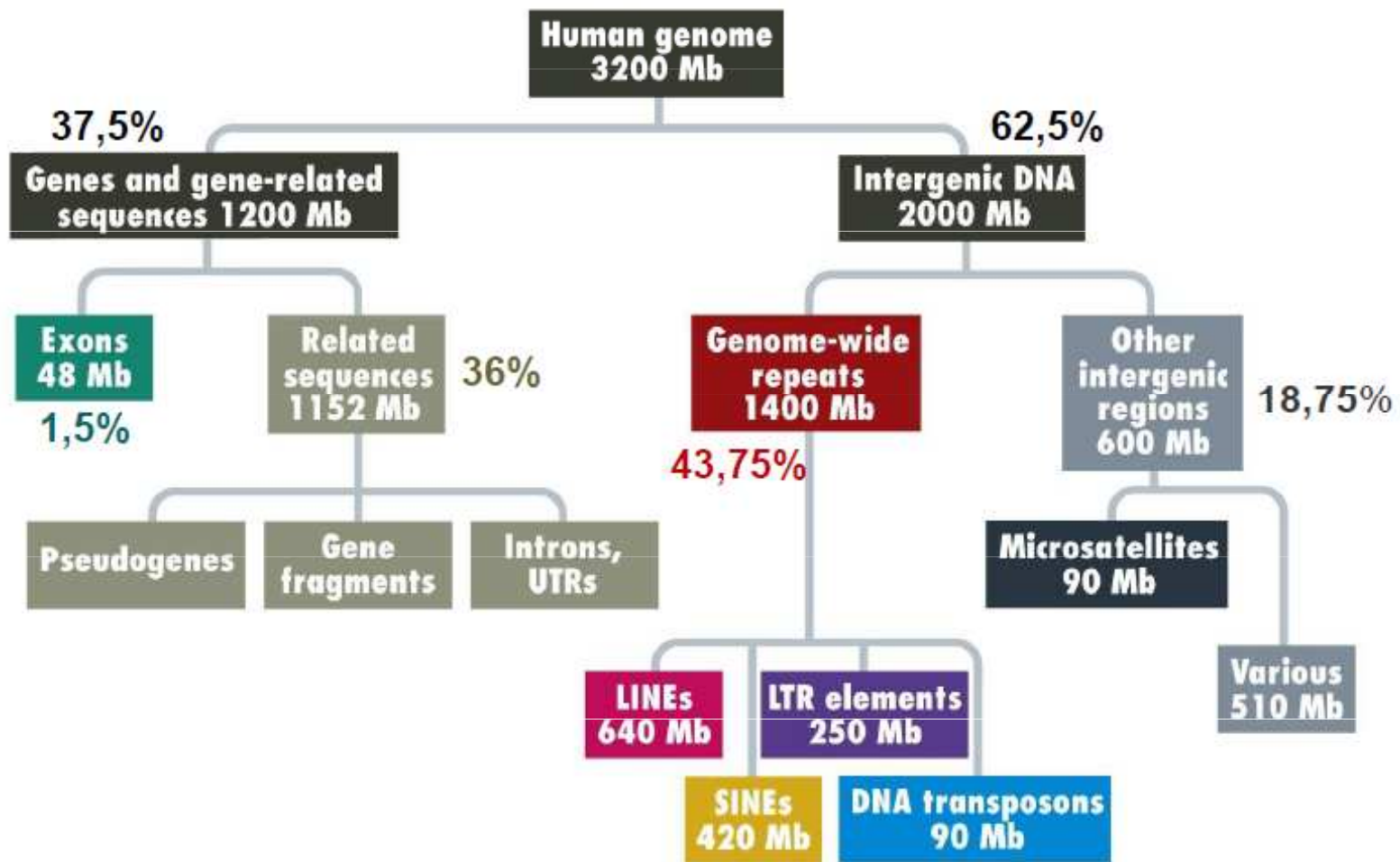




# Genom

- Genetická informace (RNA/DNA) živé soustavy, která se vyznačuje replikací a dědí se na potomstvo (soubor veškeré genetické informace konkrétního organismu)
- 1990-2003 **Human Genom Project (HUGO)**





# Genomika

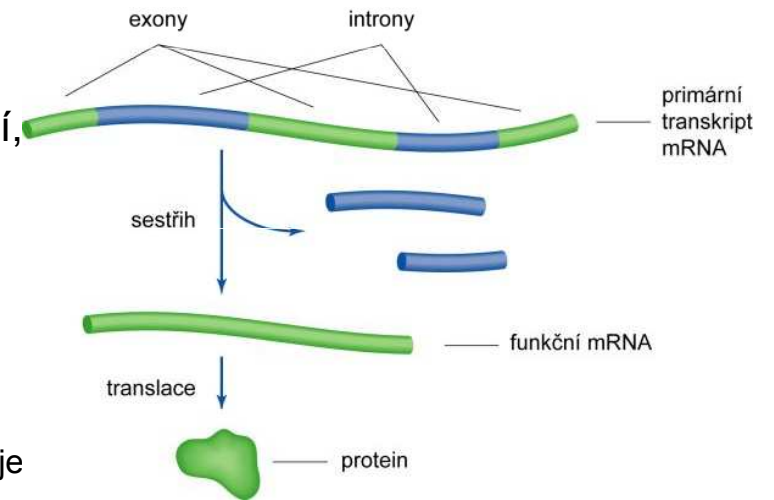
- studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
  - **strukturní genomika** = pochopení **struktury** genomu
    - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organismů
    - reprezentovala zejména iniciální fázi analýzy genomů; konečným cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
  - **funkční genomika** = studium **funkce genů** a ostatních částí genomu
    - využívá poznatků strukturní genomiky a snaží se o poznání funkce genů; velmi často k tomu využívá modelové organizmy (*Saccharomyces cerevisiae*, nematoda, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Mesocricetus auratus* aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)
  - **bioinformatika** = shromažďování, analýza a vizualizace biologických souborů dat
    - využívá metod výpočetní techniky, tvorba databází a softwarů





# Od genotypu k fenotypu

- **Gen** – dědičná jednotka (úsek DNA) se specifickou biologickou funkcí, lokalizovaná na určitém místě na chromozomu
  - strukturní geny: jednoduché x složené
  - geny pro funkční typy RNA (tRNA, rRNA, snRNA, ...)
- **Alely** – různé formy téhož genu (líše se navzájem v sekvenci DNA)
  - Dominantní x recesivní; standardní x mutantní; polymorfní (více standardních alel pro je)
- **Genetický kód** – systém pravidel, podle kterých je genetická informace uložená v DNA překládána do pořadí AMK v proteinu
- **Homozygot** - jedinec, který obsahuje stejné alely genu
- **Heterozygot** - jedinec, který obsahuje odlišné alely genu (-> tvoří odlišné gamety)
- **Genotyp** – genetická sestava organismu reprezentovaná souborem alel a sekvencí jeho genomu
- **Fenotyp** – pozorovatelné znaky organismu (soubor znaků a vlastností, kterými se organismus projevuje v daném prostředí, vyjádření genotypu)





# Gregor Johann Mendel

- 1822 Hynčice – 1884 Brno
- Mnich a později opat augustiánského kláštera na Starém Brně
- 1854-1863 – pokusy s hrachem (*Pisum sativum*)
  - 27 225 rostlin
  - 7 párových znaků
  - Zavedl pojmy dominantní a recesivní
- 1865 – přednesl výsledky na zasedání Přírodovědeckého spolku
- 1866 – publikoval práci “Pokusy s rostlinnými hybridy“



M E D















# Mendelovy principy dědičnosti

Jednotky dědičnosti (geny) se nemísí

Jednotky dědičnosti jsou materiální povahy (gen je součást DNA s určitou funkcí)

Dědičné jednotky jsou párové a jsou dvojího charakteru (dominantní a recesivní)

Dědičné jednotky se přenáší do další generace prostřednictvím pohlavních buněk

semeno		květ	luska		stonek	
tvář	dělohy	barva	tvář	barva	umístění	velikost
						
šedý & kulatý	žluté	bílá	plný	žlutý	lusky a květy podél stonku	dlouhý
						
čilý & svrasklý	zelené	fialová	přiškrcený	zelený	koncové usky, vrcholový květ	krátký
1	2	3	4	5	6	7

# Zákony dědičnosti odvozené z Mendelových principů

## 1. Zákon o uniformitě hybridů

- Křížíme-li dominantního homozygota s homozygotem recesivním, jsou jejich potomci F1 generace v sledovaném znaku všichni stejní

## 2. Princip dominance

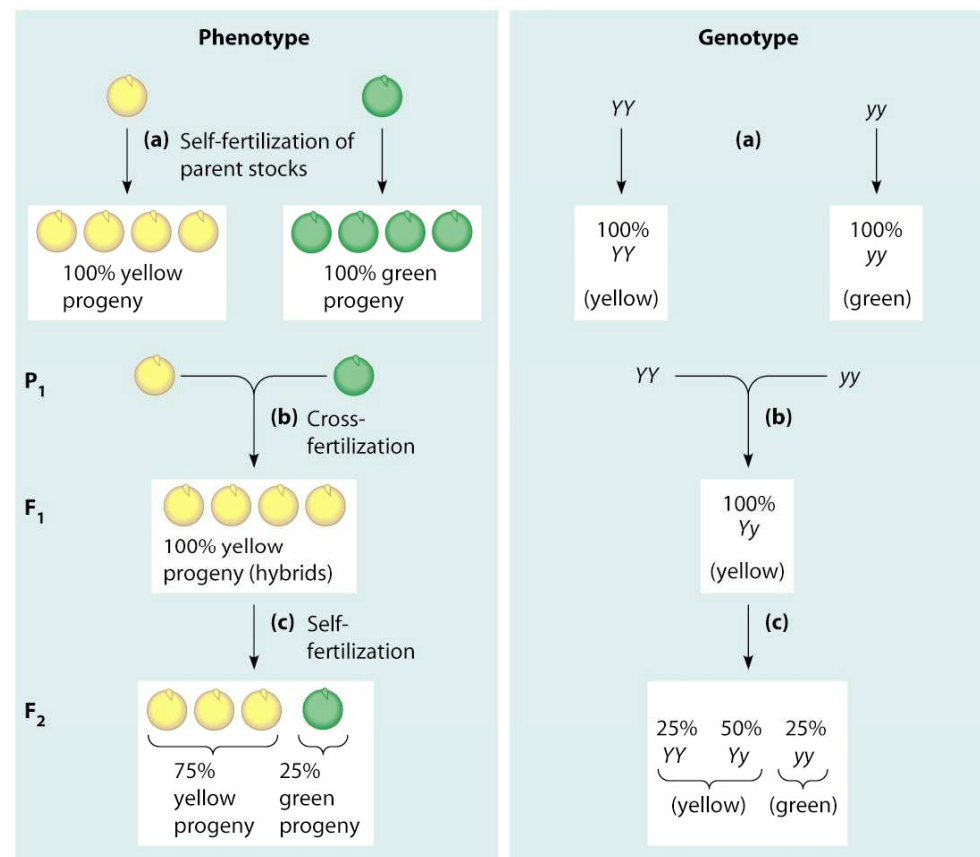
- U heterozygota může jedna alela překrýt přítomnost druhé

## 3. Princip segregace

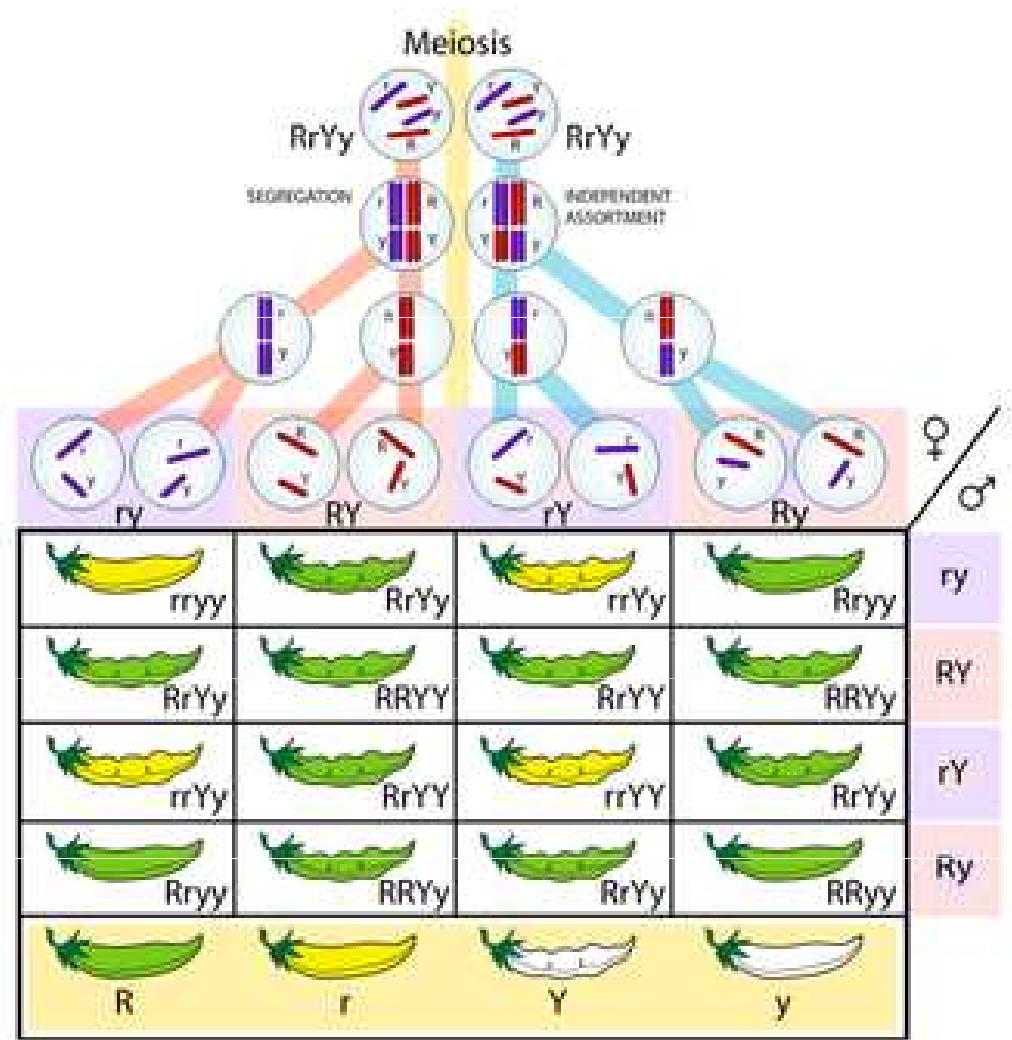
- Dvojice samostatných alel se v průběhu tvorby gamet rozcházejí a do každé gamety přechází jedna z obou alel.

## 4. Zákon o nezávislé kombinaci alel

- Alely různých genů se kombinují (segregují) nezávisle na sobě



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc.



Monogenní  
dědičnost (AD, AR,  
znaky vázané na  
pohlavní  
chromozomy)

Chromozomové  
aberrace

Multifaktoriální  
dědičnost

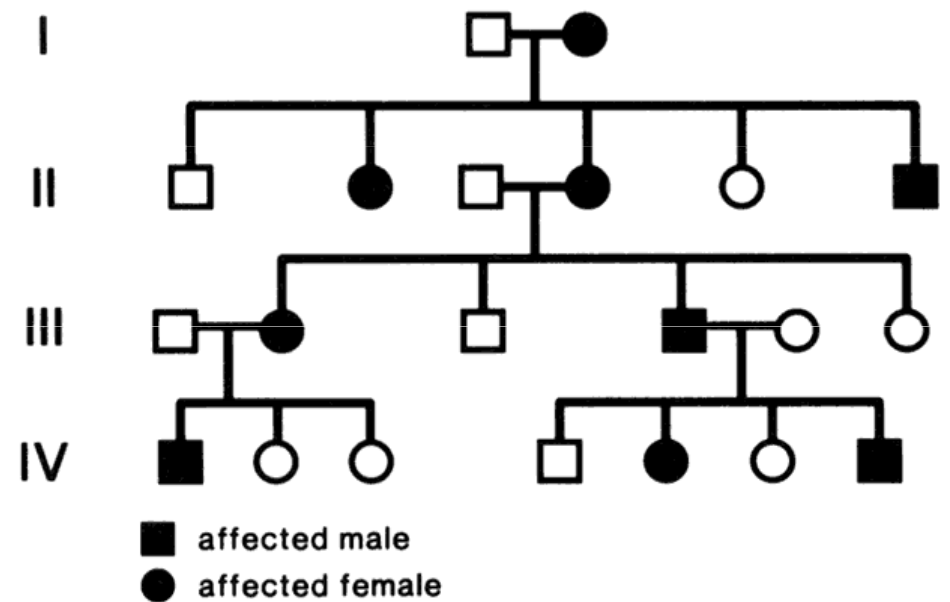
Genetické změny  
somatických buněk  
(nádorová  
onemocnění)

Mitochondriální  
dědičnost

## Geneticky podmíněné znaky

## Autozomově dominantní dědičnost

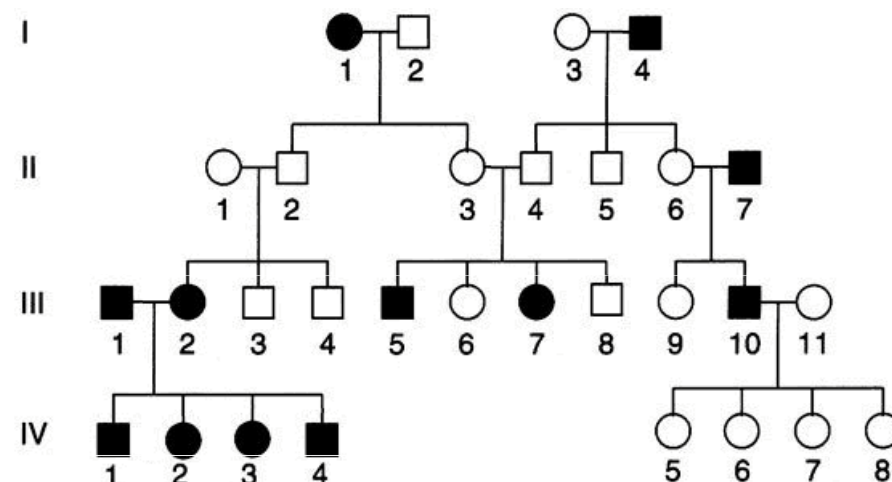
- Dominantní alela leží na autozomu
- Vertikální typ dědičnosti
- Často stejně postižený rodič
- Stejná četnost u obou pohlaví
- Znak se projeví i u heterozygotů
- 50% šance přenosu pro potomky a sourozence jedince se sledovaným znakem
- Příklad: Vlnité vlasy, vlasová linie do špičky, rolování jazyka, achondroplazie (zakrslost), Marfanův syndrom





## Autozomově recesivní dědičnost

- Recesivní alela na autozomu
- Horizontální typ dědičnosti
- Stejná četnost u obou pohlaví
- Postižení jsou pouze homozygoti
- Šance přenosu 25 %
- Častější u příbuzenských sňatků
- Příklad: Albinismus (chybění pigmentu), alkaptonurie a fenylketonurie (porucha metabolismu aminokyselin), cystická fibróza (porucha dýchání), galaktosemie (porucha metabolismu sacharidů), srpkovitá anemie (porucha v hemoglobinu)



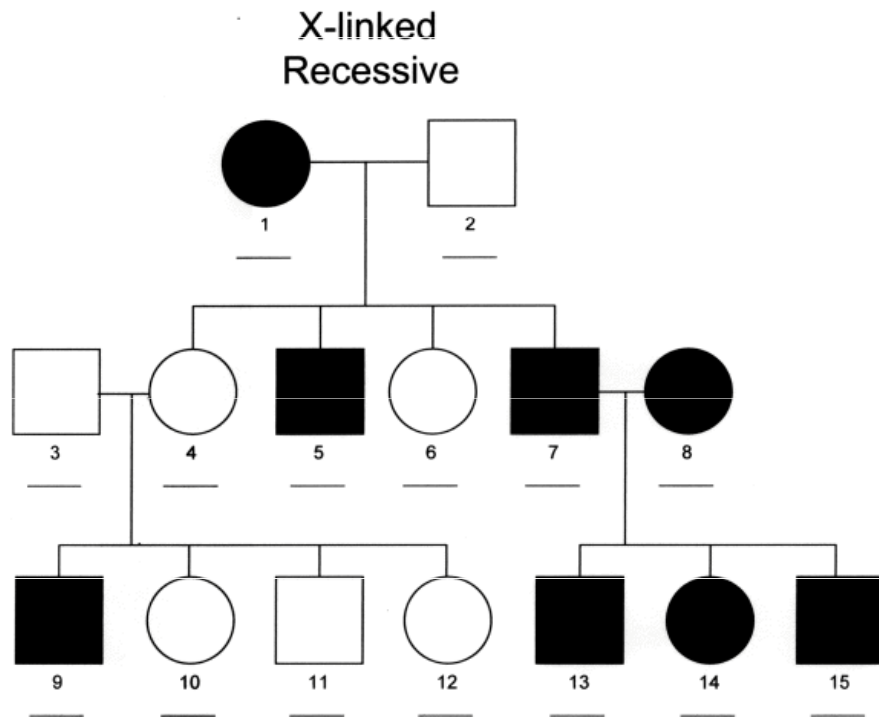
## Snímek 27

---

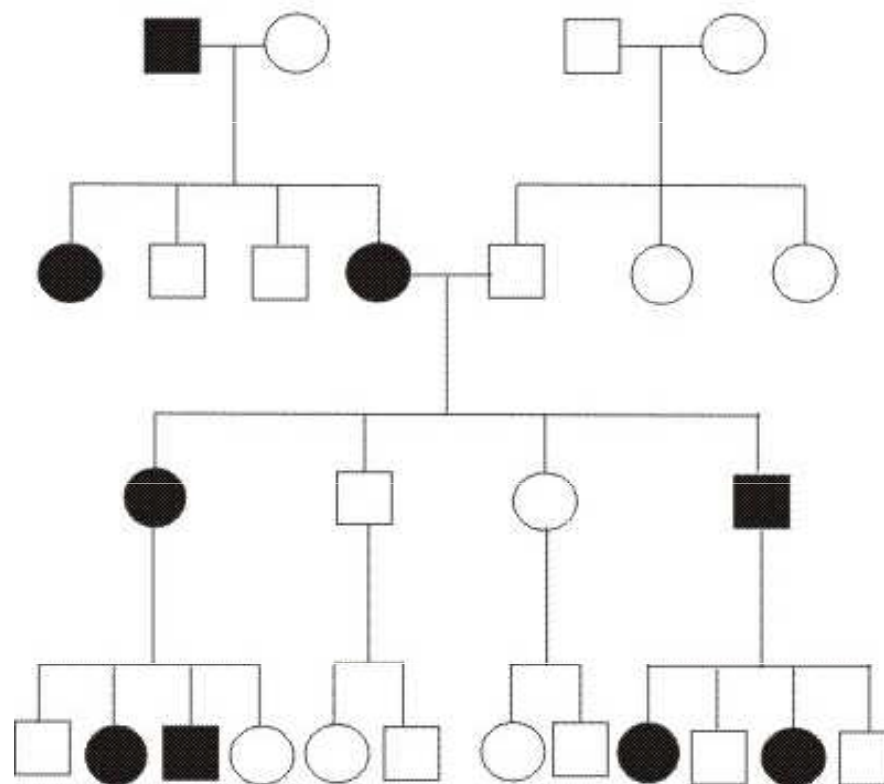
**PH1**

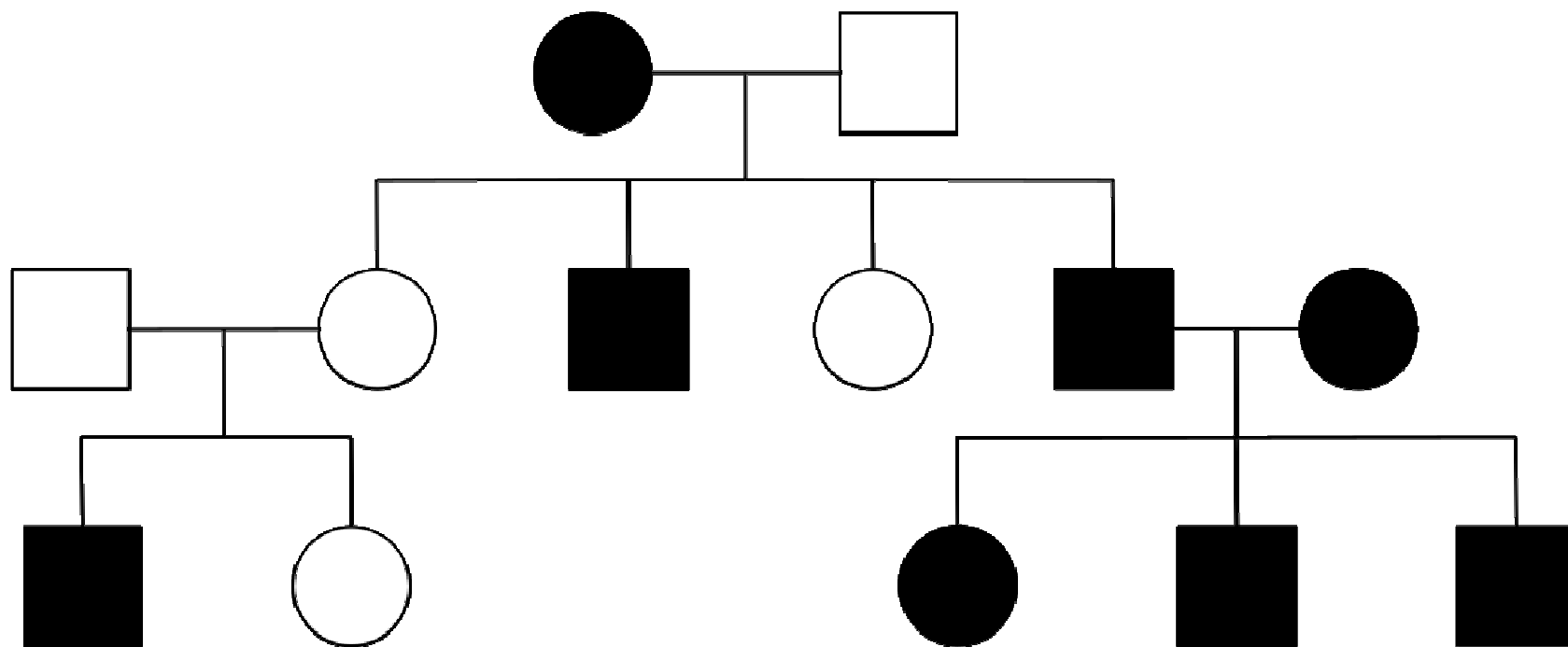
Pavel Hruška, 3/13/2021

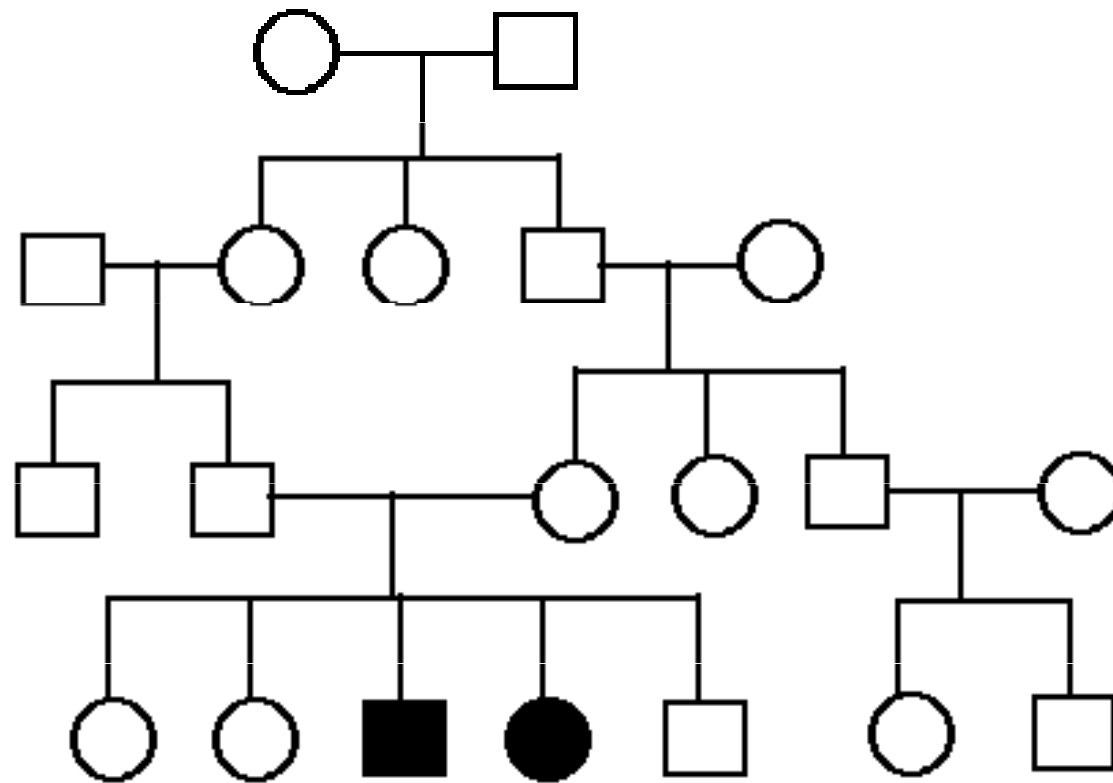
## Znaky vázané na pohlavní chromozomy



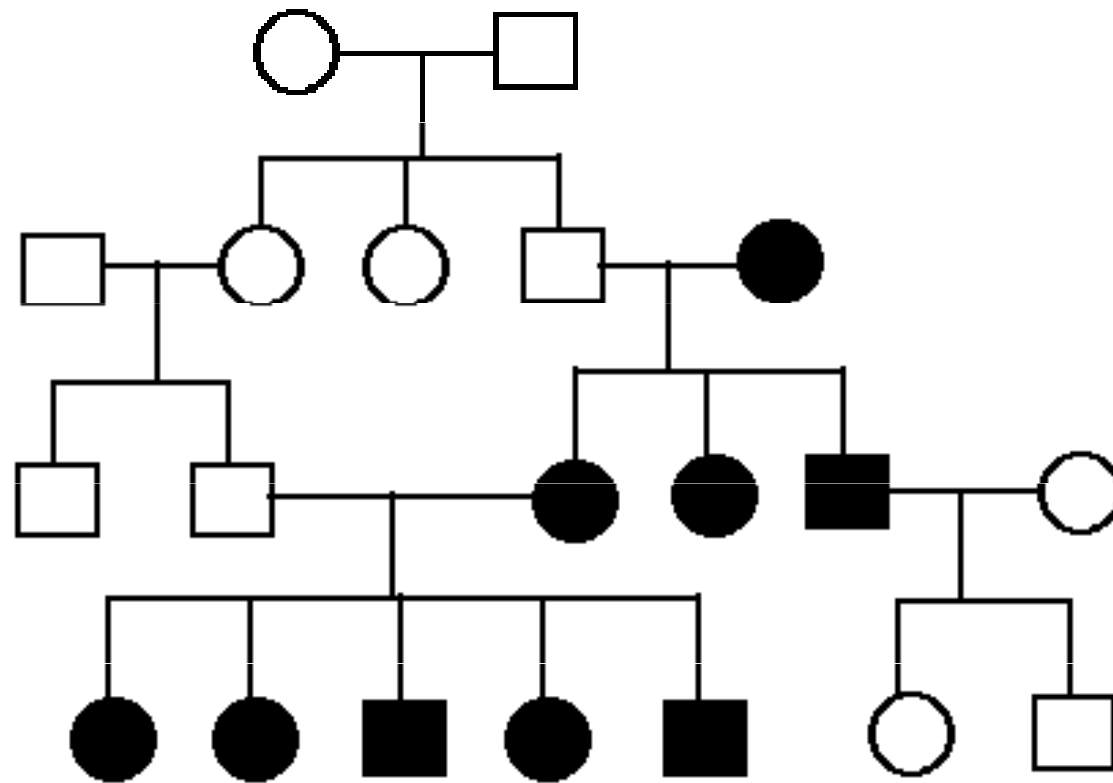
- Pohlavní chromozomy: XX ženy, XY muži
- Postižení jsou nejčastěji synové a dcery jsou přenašečky
- Vzácný X-vázaných onemocnění u žen
- Př. Hemofilie, Duchennova svalová dystrofie











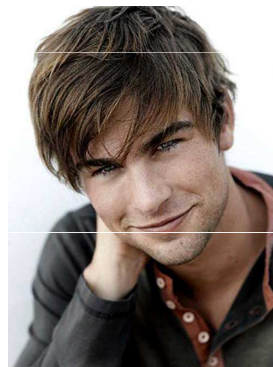
## Interakce alel



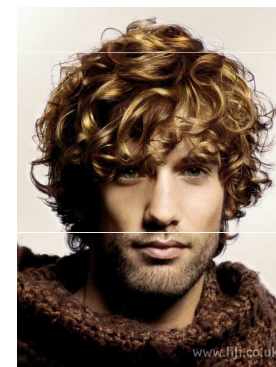
- Neúplná dominance
- Kodominance
- Mnohonásobný alelismus / alelové série
- Letální alely
- Penetrance
- Expresivita
- Genové interakce

# Neúplná dominance

- Fenotyp heterozygota je někde mezi fenotypem obou homozygotů
- Příklad: Familiární hypercholesterolemie (mutace genu pro LDLR)
  - Homozygoti jsou bez receptoru
  - Heterozygoti mají v jaterních buňkách poloviční počet receptorů pro vychytávání LDL cholesterolu



Rovné AA



Vlnité Aa

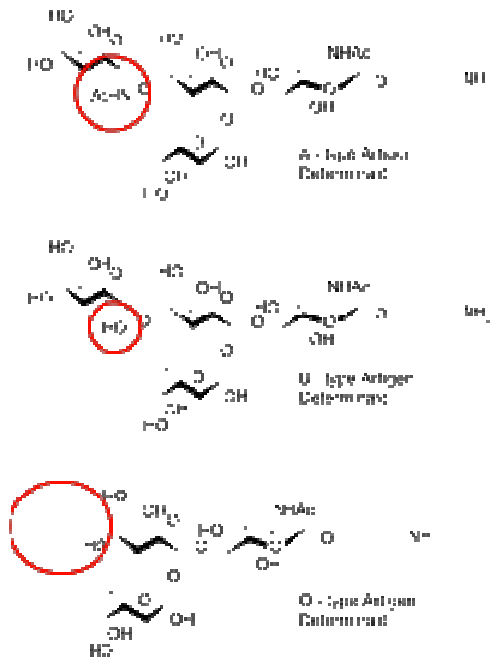


Kudrnaté aa

# Kodominance

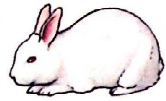


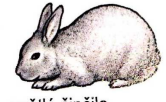
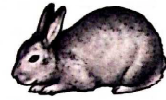

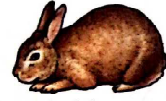

- Heterozygot vykazuje fenotypové znaky obou homozygotů
- Alely fungují nezávisle
- Krevně skupinový systém AB0 (ABh), MN

Krevní skupina	Genotyp
A	$I^A I^A$ nebo $I^A i$
B	$I^B I^B$ nebo $I^B i$
AB	$I^A I^B$
0	$ii$



# Alelové série

- Geny s více alelami
- Př. Barva srsti králíků
  - $c^+ > c^{ch} > c^h > c$ 
    - $c^+$  plně funkční (standardní)
    - $c^{ch}$ ,  $c^h$  částečně funkční (hypomorfní)
    - $c$  nefunkční (nulová)

	<u>genotyp</u>	<u>fenotyp</u>	<u>fenotyp</u>	<u>genotyp</u>
 albinotický	$cc$	bílá srst na celém těle	 standardní	$c^+c$ $c^+c^{ch}$ $c^+c^h$
 himálský	$c^hc^h$	černá srst na koncových částech těla; bílá srst na zbytku těla	 světlá činčila	$c^{ch}c$
 činčila	$c^{ch}c^{ch}$	srst na celém těle tvoří bílé chlupy s černými špičkami	 světlá činčila s černými koncovými částmi těla	$c^{ch}c^h$
 standardní	$c^+c^+$	barevná srst na celém těle	 himálský	$c^hc$

**Obr. 4.3** ▶ Barva srsti u králíků. Odlišné fenotypy jsou podmíněny čtyřmi různými alelami genu  $c$ .

# Letální alely

Recesivní letalita – recesivní homozygoti umírají

Dominantní letalita – dominantní homozygoti i heterozygoti umírají

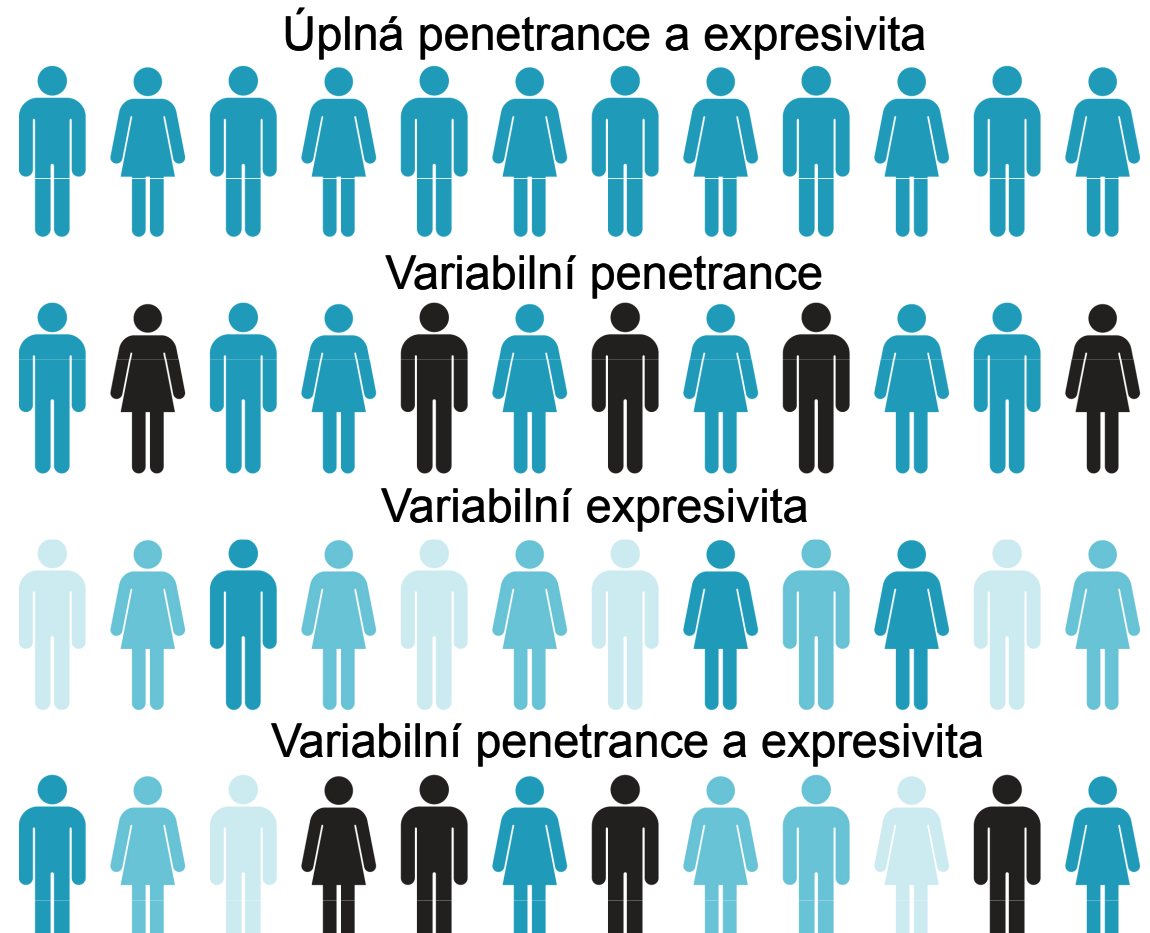
Recesivní letalita dominantní alely

Př. Tay Sachsova choroba – recesivně letální



# Penetrance a expresivita

- **Neúplná penetrance**  
znak se u jedinců neprojeví, i když mají odpovídající genotyp
- **Variabilní expresivita**  
znak se manifestuje různě silně u všech jedinců, kteří jej nesou



## Genové interakce

- Spolupůsobení dvou nebo více genů z různých alelických párů
- Různé kombinace alel dvou různých genů způsobují různé fenotypy
- Produkty genů spolu interagují, na sebe navazují, ve fenotypu se překrývají apod.
- Interakce většího množství genů - plynulá proměnlivost – přechod od kvalitativních znaků ke kvantitativním

	ABC	ABc	AbC	Abc	aBC	aBc	abC	abc
ABC	AABBCC	AABBcC	AABbCC	AABbCc	AaBBCC	AaBBcC	AaBbCC	AaBbCc
ABc	AABBcC	AABBcc	AABbCc	AABbcc	AaBBcC	AaBBcc	AaBbCc	AaBbcc
AbC	AABbCC	AABbCc	AAbbCC	AAbbCc	AaBbCC	AaBbCc	AabbCC	AabbCc
Abc	AABbCc	AABbcc	AAbbCc	AAbbcc	AaBbCc	AaBbcc	AabbCc	Aabbcc
aBC	AaBBCC	AaBBcC	AaBbCC	AaBbCc	aaBBCC	aaBBcC	aaBbCC	aaBbCc
aBc	AaBBcC	AaBBcc	AaBbCc	AaBbcc	aaBBcC	aaBBcc	aaBbCc	aaBbcc
abC	AaBbCC	AaBbCc	AabbCC	AabbCc	aaBbCC	aaBbCc	aabbCC	aabbCc
abc	AaBbCc	AaBbcc	AabbCc	Aabbcc	aaBbCc	aaBbcc	aabbCc	aabbcc

Copyright © J. Montvilo 2011

1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1

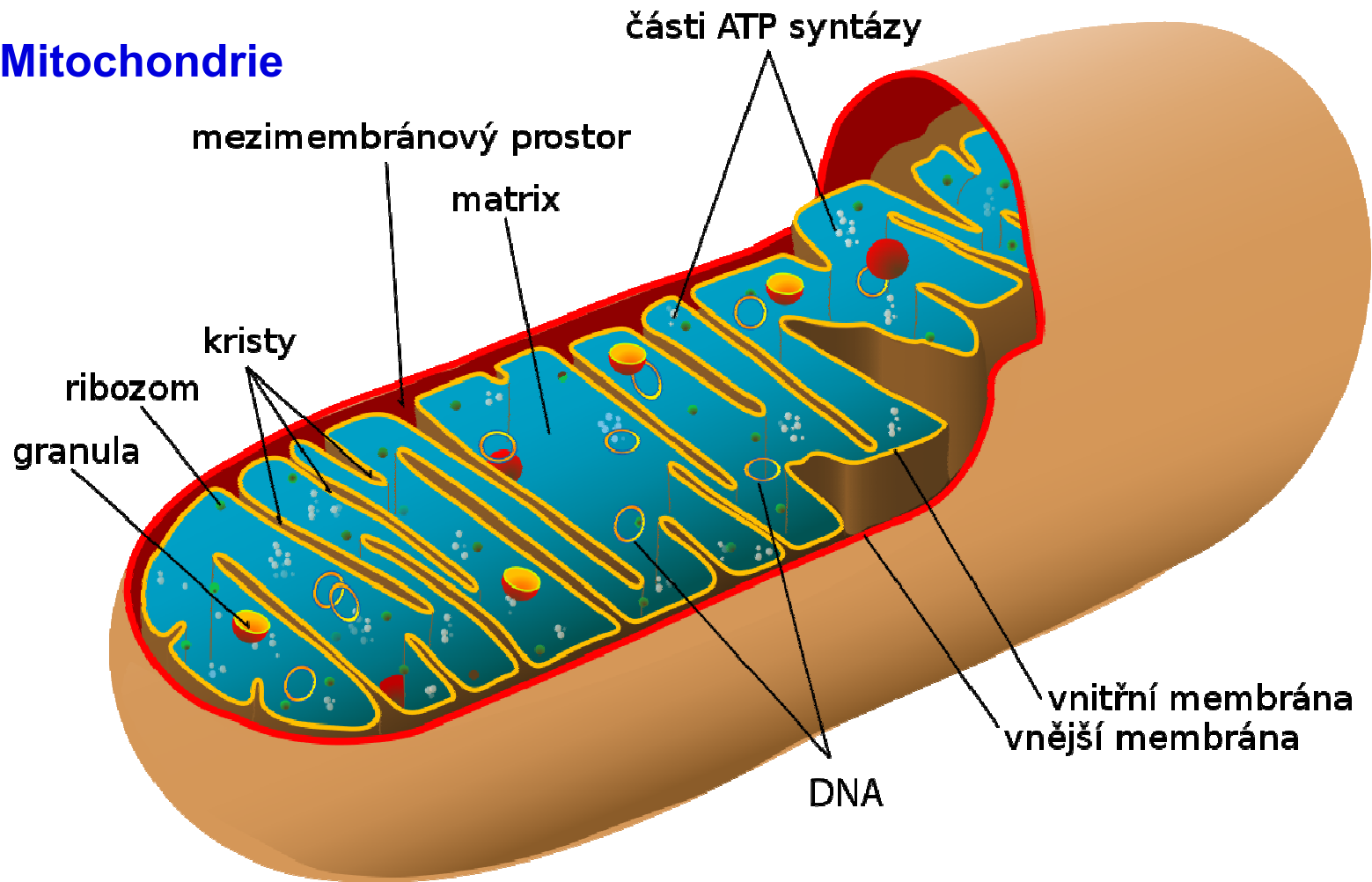


## Genetická variabilita



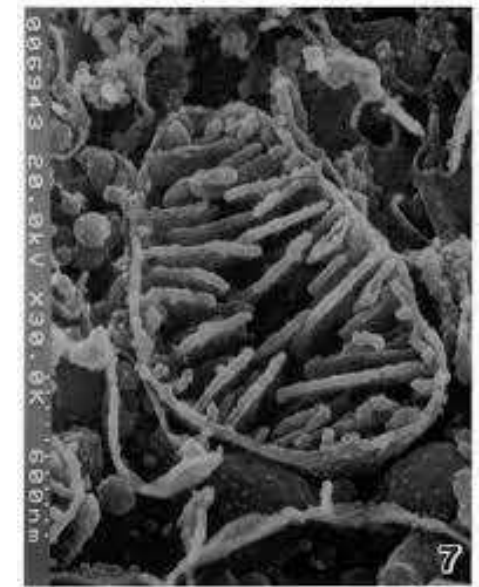
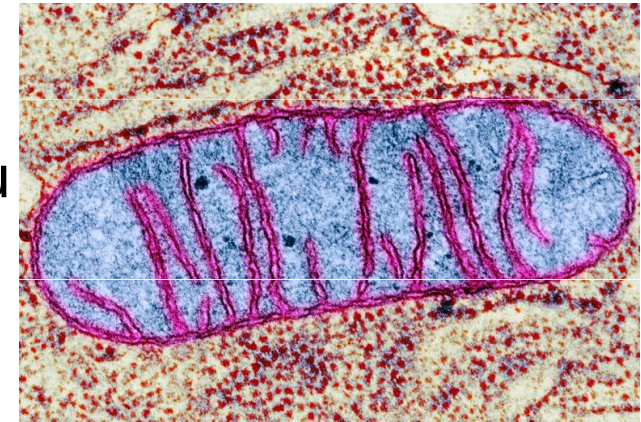
- **Mutace** – dědičné změny genetického materiálu
- Poskytují nové genetické varianty, které umožňují evoluci organismů
- Obvykle náhodný neadaptivní proces, při kterém jsou podmínkami vnějšího prostředí selektováni jedinci s dříve náhodně vzniklými mutacemi
- Cílená mutagenese – výhradně pro vědecké účely
- **Mutant** – organismus se změnou v genotypu v důsledku mutace
- **Mutace** – nové alely s frekvencí nižší jak 1 %
  
- **Polymorfismus** – stav, kdy v populaci existují minimálně 2 genetické varianty (alely) s frekvencí vyšší jak 1 %

# Mitochondrie



# Mitochondriální dědičnost

- Mitochondrie jsou ohraničený dvojitou membránou
- Významná úloha v energetickém metabolismu
- Evolučně endosymbióza prokaryotických buněk – vlastní genom
- mtDNA – kružnicová molekula
- Využívají produkty vlastních genů, ale i proteiny, kódované jadernými geny, které jsou do mitochondrií přeneseny z cytosolu
- Lidská mtDNA
  - 16 571 bp
  - 37 genů
    - 2 pro rRNA, 22 pro tRNA, 13 polypeptidy podílející se na enzymatické výbavě mitochondrií

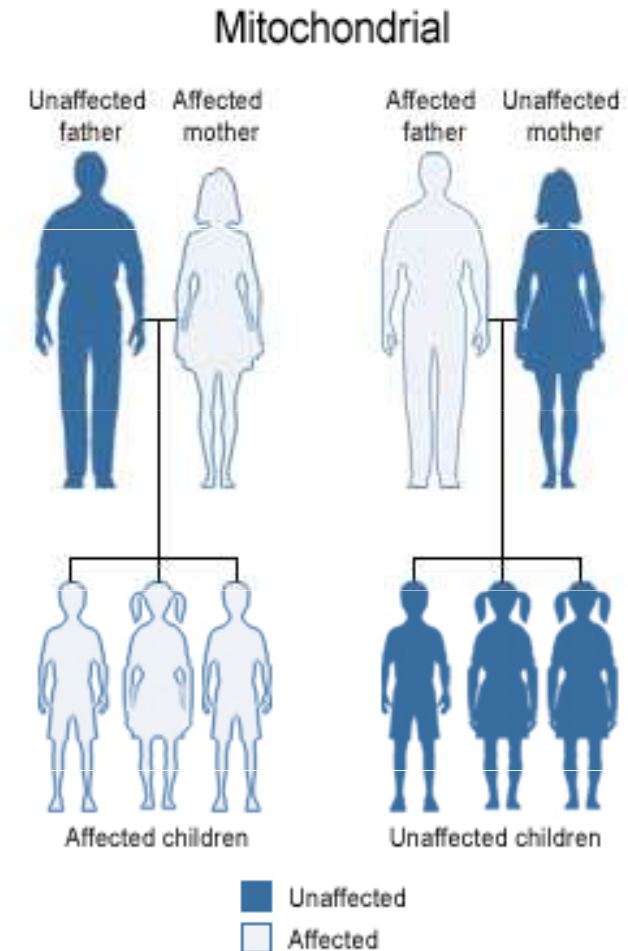


## Mutace mitochondriálních genů

- Vedou poruchám oxidativní fosforylace
- Mutace v mtDNA vznikají častěji než v jaderné DNA
  - Důsledkem pravděpodobně vyššího výskytu mutagenních volných radikálů, jiná DNA polymeráza, méně reparačních mechanismů
- Míra postižení
  - Homoplazmie – mutace ve všech molekulách mtDNA v buňce
  - Heteroplazmie – jen část postižených molekul - hladina heteroplazmie nesmí překročit určitou hodnotu – může se v buňkách lišit (svalová, srdeční a nervová tkáň mají malý replikační potenciál, a je v nich proto vysoká heteroplazmie)

# Genetická klasifikace mitochondriálních chorob

- Defekty v jaderné DNA
  - defekty v transportu a využití substrátu
  - defekty v importu proteinů
  - defekty v Krebsově cyklu
  - defekty v oxidačně-fosforylačních krocích
  - defekty v respiračním řetězci
- defekty v mtDNA
  - velká přeuspořádání mtDNA – delece velkých úseků
  - bodové mutace mtDNA
- Defekty v komunikaci mezi mtDNA a jadernou DNA
- Získané defekty mtDNA – vlivem toxinů, léčiv, stárnutí



U.S. National Library of Medicine

# Vzácné mitochondriální choroby

- **Nejčastější neurologické příznaky**
  - obrna okohybných svalů, poškození zrakového nervu, mozková mrtvice, křeče, svalová poškození, únava a neschopnost fyzické zátěže, ataxie, demence, periferní neuropatie
- **Projevy poškození orgánů v důsledku poruch v mtDNA**
  - poruchy vedení srdečního vzruchu, kardiomyopatie, diabetes mellitus, šedý zákal, laktázová acidóza, poškození ledvinných glomerulů, poškození sluchu, poškození jater, poškození slinivky břišní, intersticiální pseudoobstrukce, epizodické zvracení, pancytopenie, deprese
- **Chronická externí oftalmoplegie (CPEO)**
  - bodová mutace v tRNA7
  - napřed paralýza okohybných svalů, později paralýza svalů dolních končetin
- **Kearns-Sayrův syndrom (KSS)**
  - delece v různých částech mtDNA
  - příznaky: od 20. roku věku (ztráta vidění, sluchu, srdeční choroby, demence, ataxie, malý vzrůst)

# Vzácné mitochondriální choroby

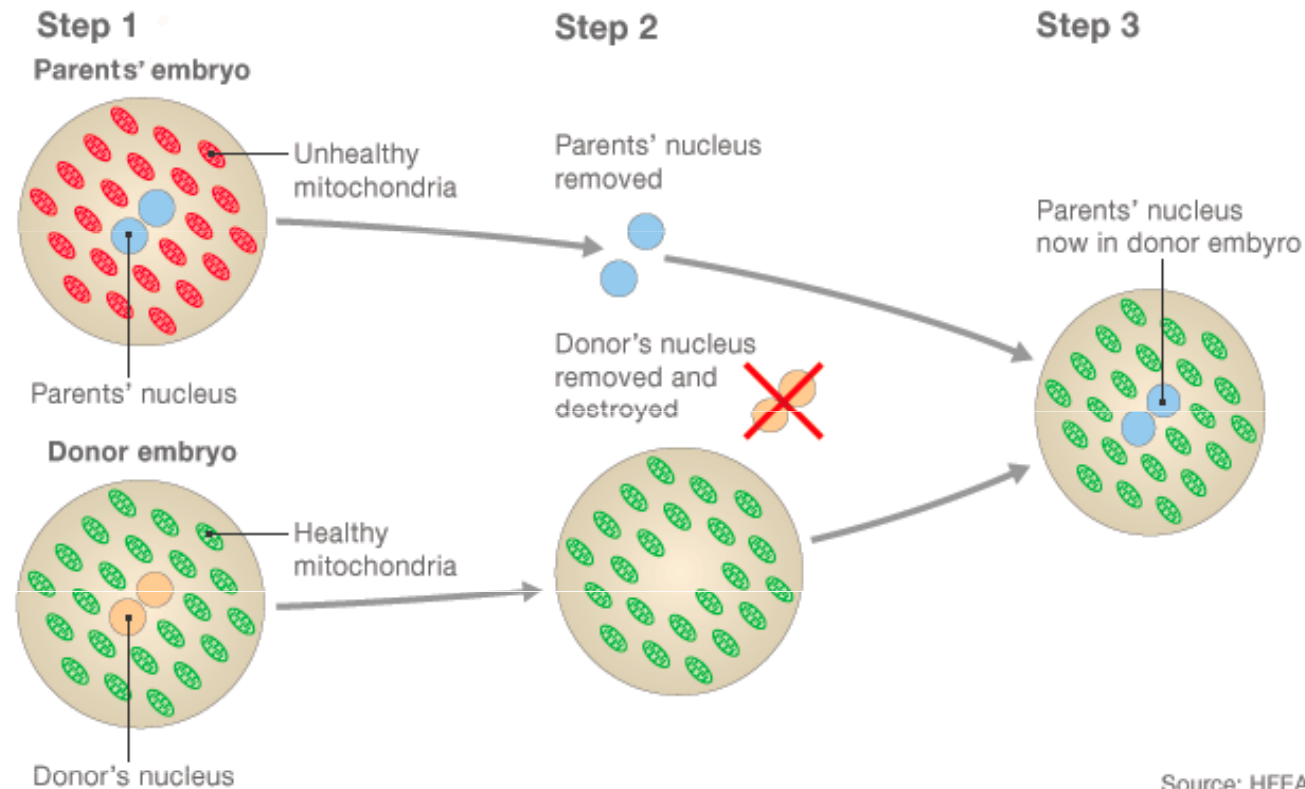
- **Leberova dědičná oční neuropatie (LHON)**

- většinou homoplazmické mutace v genech pro podjednotku NADH dehydrogenázy (MT-ND1, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND6)
- postižení očního nervu a náhlá ztráta zraku (jedno nebo obě oči) průměrně ve věku 27 let, také srdeční dysrytmie
- incidence 1:50 000, diagnostikováno častěji u mužů – je zde předpokládán určitý druh interakce genů vázaných na X-chromozom s mtDNA



# Dítě tří rodičů

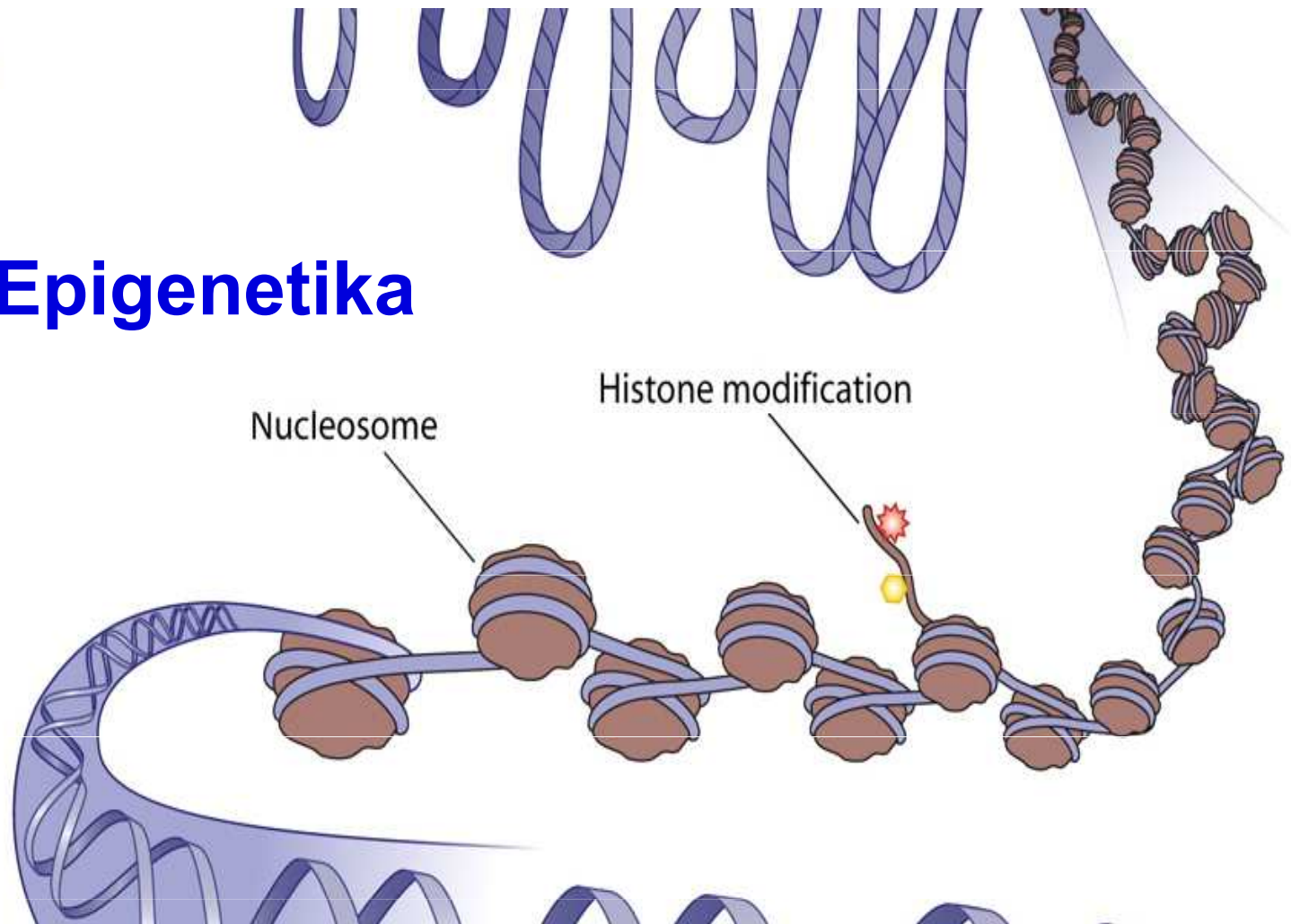
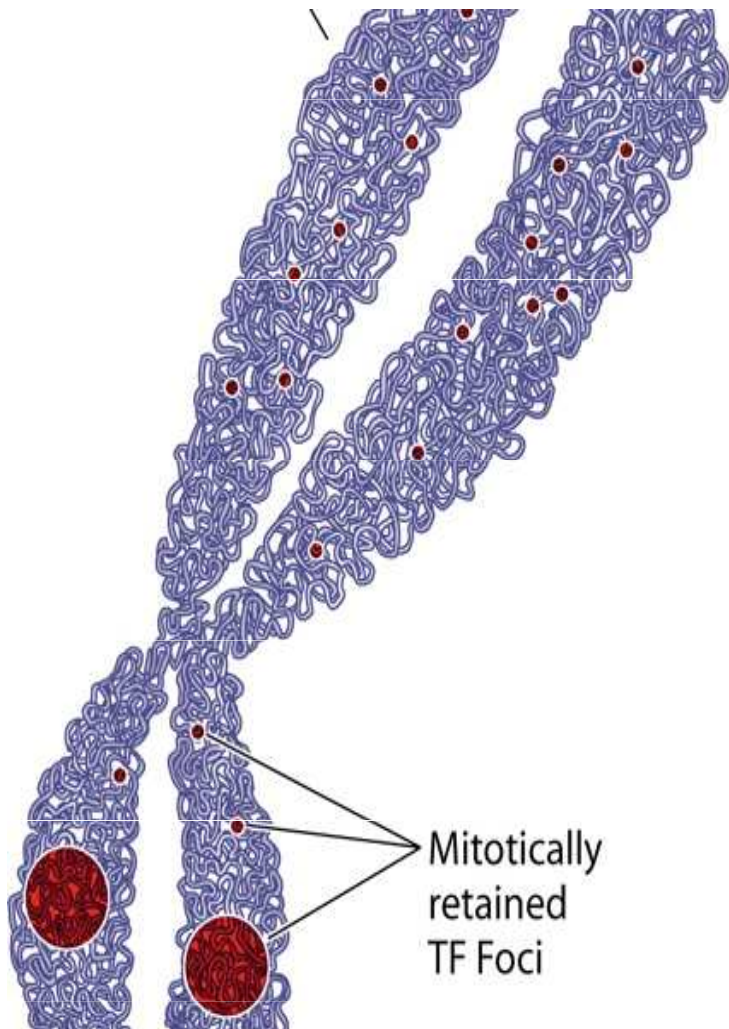
## Method one: Embryo repair



Source: HFEA

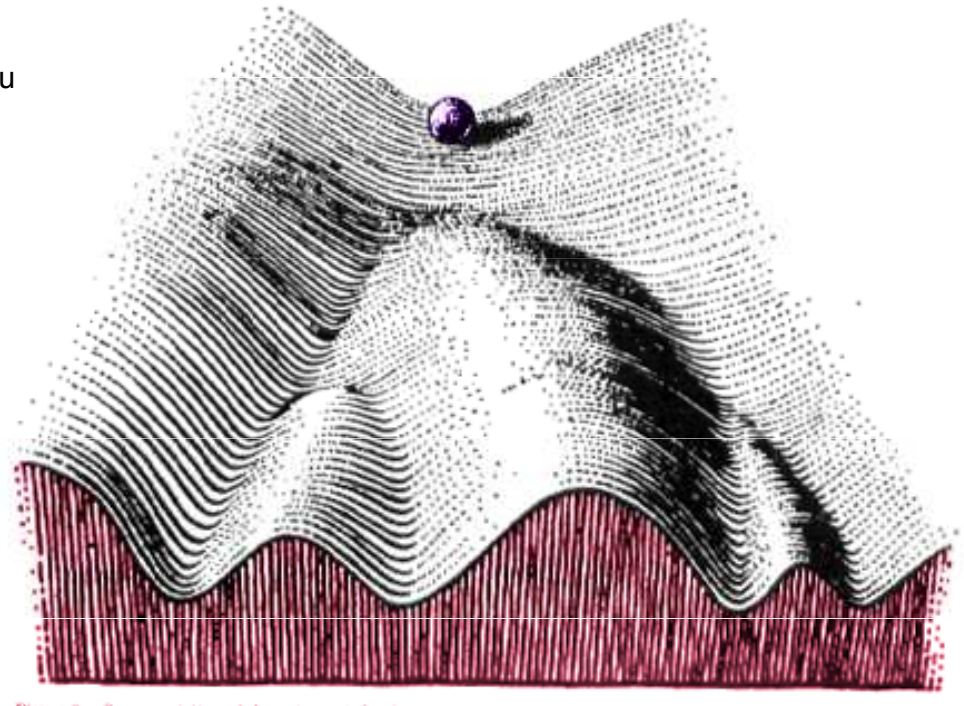


# Epigenetika



# Epigenetika je nejistá genetika ...

- Věda o stabilních (reverzibilních) **genetických modifikacích**, které vedou ke změně exprese a funkce genů **beze změny sekvence DNA**
- Každá buňka v jedinci má stejnou genetickou výbavu, ale liší se expresí jednotlivých genů
- Umožňuje buňkám s identickým genotypem vznik odlišných fenotypů a přenos informace do dalších buněk
- Epigenom začíná být formován v raných fázích embryogeneze – z pluripotentních buněk se vyvíjejí buňky specializované
- Informace o změnách v genové expresi je specifická pro daný buněčný typ

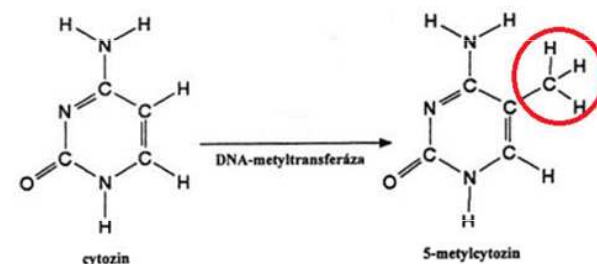


# Význam epigenetických procesů

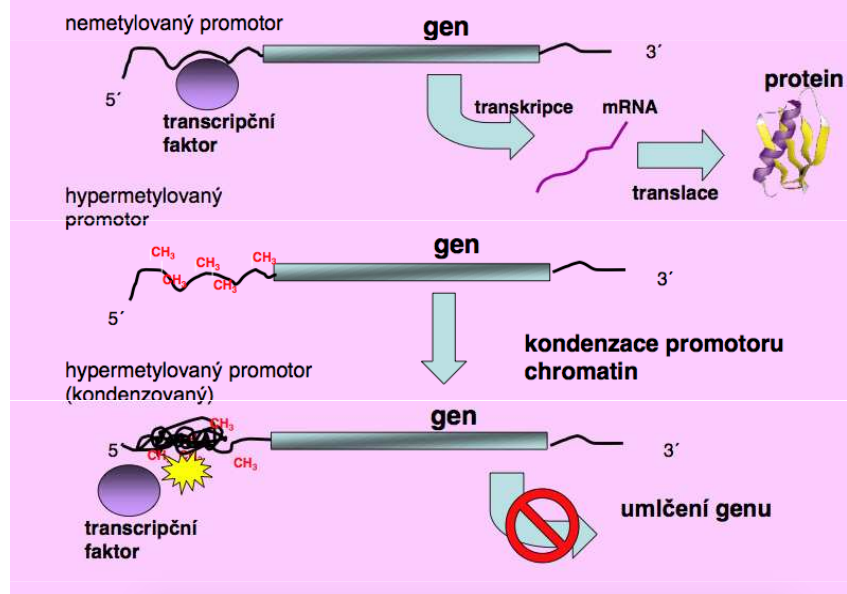
- Buněčná paměť o expresi genů
- Genomový imprinting
- Alelické interakce
- Poziční efekt
- Kompenzace dávky genů
- Obrana vůči parazitům
- Zdroj evoluční variability
- Vývojová plasticita
- Fenotypová plasticita = schopnost adaptace na prostředí v průběhu svého života  
(př. Schopnost se učit, cvičením zvětšovat svaly)

# Metylace DNA

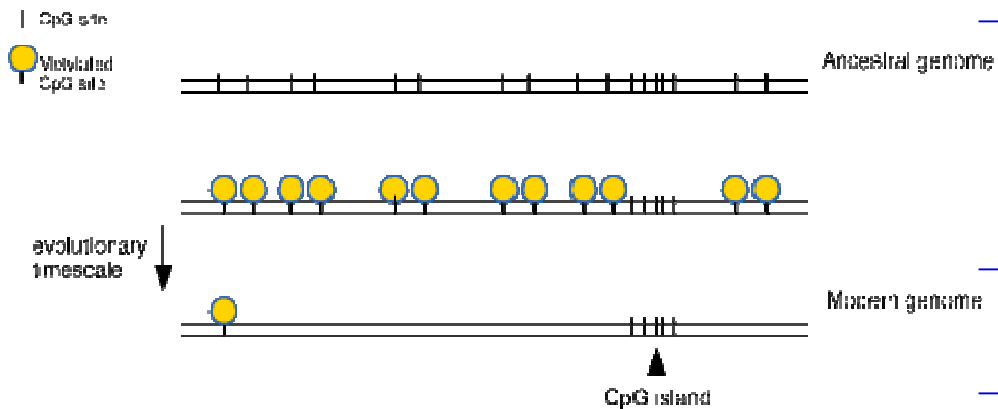
- Adice metylové (CH<sub>3</sub>) skupiny na 5. uhlík cytosinu v CpG dinukleotidech
- Metylace stabilizuje kondenzovanou konformaci chromatinu – **udržuje geny v inaktivním stavu**
- Metylace je zprostředkována pomocí **DNA metyltransferáz**, substrátem je S-adenozylmetionin
- Reakce vede k vazbě metyl-DNA vazebných proteinů
- Důležitá role v genomovém imprintingu a inaktivaci chromozomu X
- Abnormální hypermetylace CpG v promotoru tumor-supresorových genů může vést k umlčení jejich exprese a rozvoji maligního nádoru
- K léčbě nádorových onemocnění se využívá inhibitorů DNA metyltransferáz



## Epigenetické umlčování



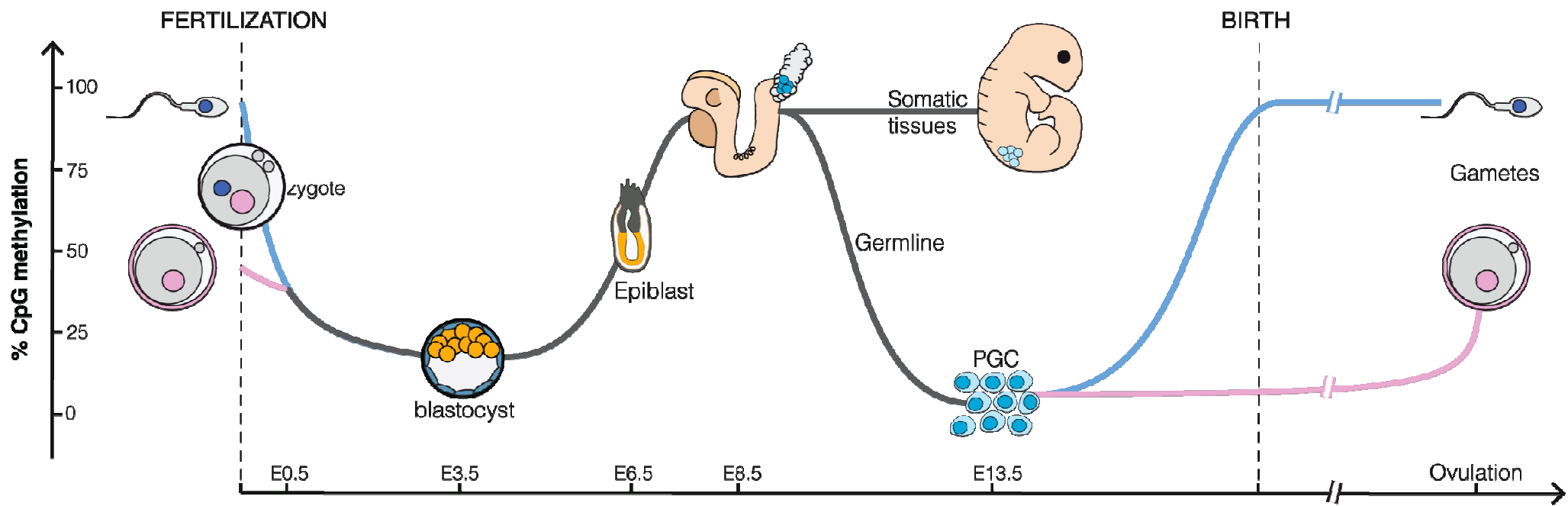
# Methylace DNA



- Každá tkáň si zachovává určitý typ modifikace, která je zachovávána pomocí udržovací **DNA metyltransferázy**.
- U savců je asi 10 % genomu metylováno – 70-80 % CpG oblastí
- Nejvyšší hustota 5mC je v oblastech heterochromatinu, jako jsou centromery či subtelometrické sekvence DNA. Vysoce metylované jsou také DNA transpozony a retroelementy.
- U savců CpG oblasti nahloučeny do tzv. CpG ostrovů, které jsou soustředěny v oblasti promotorů, prvních exonů genů (u člověka až 70 % promotorových oblastí, zejména konstitutivně exprimovaných) – jsou méně metylované
- Evolučně se metylované oblasti ztrácely deaminací 5mC na tymin
- Na metylované oblasti se vážou specifické proteiny rodiny vazebných proteinů s umlčujícím účinkem pro příslušné genové oblasti (např. MECP2)
- Mutace genu pro MECP2 u člověka vyvolává Rettův syndrom: pro muže letální, u žen vážné neurologické postižení (X vázaný gen)

# Methylace DNA během vývoje

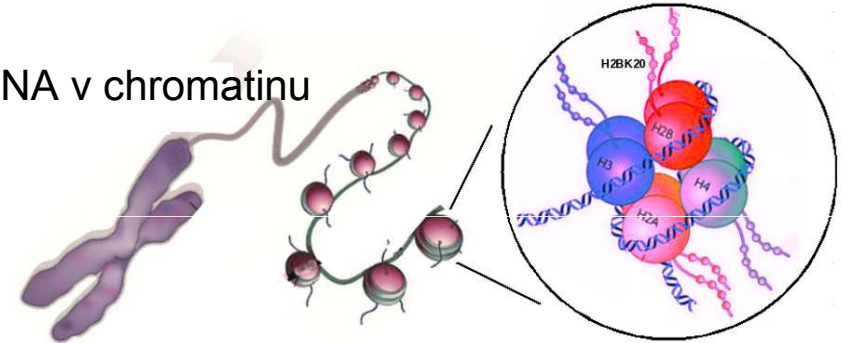
- Během vývoje dochází k výrazným cyklickým změnám methylace.
  - Rozsáhlá demethylace primordiálních zárodečných buněk, a teprve při zrání gamet dochází k prudkému nárůstu aktivity DNA-metyltransferáz i stupně methylace genomu.
  - Nejmenší frakce 5mC zůstává v promotorech imprintovaných genů – k imprintu zřejmě dochází při meioze a je pohlavně specifický
  - K další globálním metylačním změnám dochází po fertilizaci a během časné embryogeneze





# Histonové modifikace – struktura chromatinu

- Histony jsou primární proteiny zprostředkovávající uspořádání DNA v chromatinu
- Jadérko – nejnižší hustota (transkripce rRNA genů)
- Euchromatin – transkripčně aktivní oblasti DNA
- Heterochromatin – převážně umlčené sekvence DNA



Konstitutivní – vysoký obsah repetitivních sekvencí

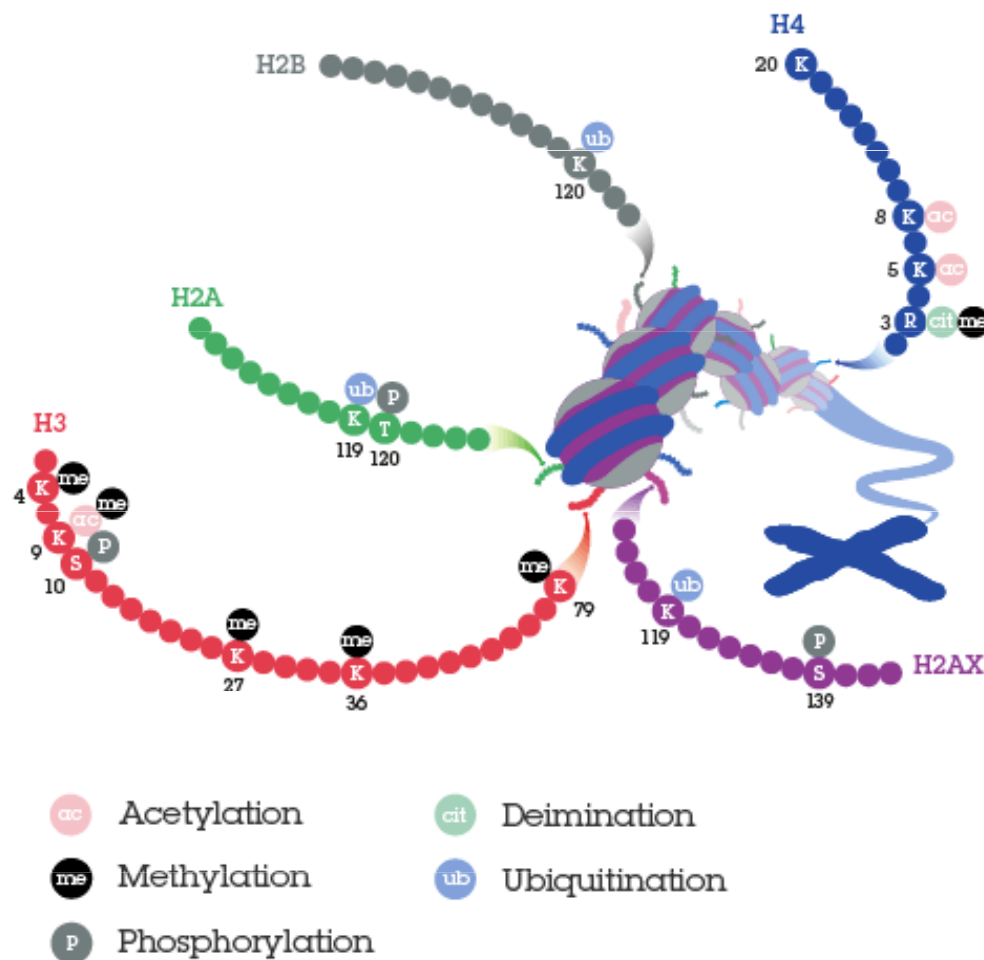
Fakultativní – programované umlčení chromozomů nebo jejich úseků (inaktivace chrom. X)

- Základní jednotkou chromatinu jsou nukleosomy („korálky na niti“)
- Internukleosomální histon H1 skládá chromatinové vlákno
- Jádro nukleosomu tvoří čtyři různé histonové proteiny - H2A, H2B, H3 a H4
- Všechny nukleosomální histony jsou evolučně významně konzervativní z hlediska délky i složení aminokyselin
- H2A, H2B, H3 a H4 mají na karboxyterminálním konci globulární doménu, umožňující interakci histonů s DNA, a aminotermální konce vybíhající z nukleosomu s pozitivním elektrickým nábojem a obsahem lyzinových reziduí.
- Amino konce představují místa většiny posttranslačních modifikací histonů



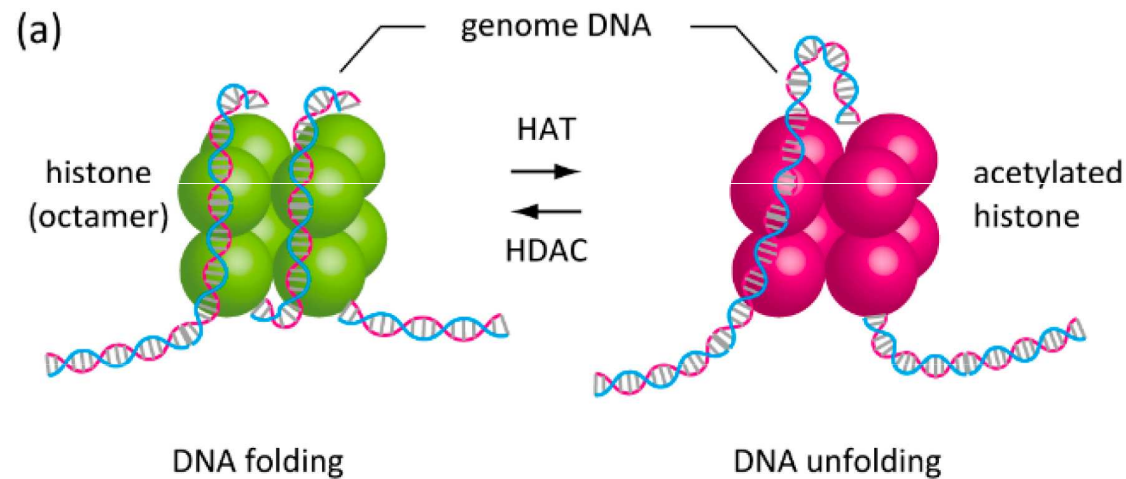
# Histonové modifikace

- Modifikace histonů vedou k tvorbě transkripčně neaktivního heterochromatinu či jeho rozvolnění
- Aminokyselinová rezidua ve specifických pozicích aminoterminálních konců histonů se podrobují řadě posttranslačních modifikací, jako jsou acetylace (aktivace), metylace (aktivace, represe), fosforylace (aktivace), ubiquitinace (aktivace, represe), sumoylace (represe)
- Nejčastěji modifikované aminokyseliny R = arginin, K = lyzin, S = serin
- Reverzibilní modifikace – histon acetyláza x histon deacetyláza, histon metyláza x histon demethyláza ...
- Úpravy histonů jsou reverzibilní a mohou podle fyziologických nebo environmentálních změn měnit stavy genové exprese – adaptační mechanismy buňky i organismu



# Acetylace histonů

- Acetylace histonů způsobuje snížení pozitivního náboje histonového aminoterminálního konce, což vede k méně kondenzovanému chromatinu a zvýšené přístupnosti DNA pro transkripční faktory
- K léčbě nádorových onemocnění se využívá inhibitorů histon deacetyláz



# RNA interference (RNAi)

- Proces, při kterém interferují (párují se) nekódující molekuly RNA s cílovými úseky mRNA, což má za následek post-transkripční inhibici genové exprese (siRNA, miRNA, piRNA ...)
- Příklad **MikroRNA** – krátké ~22nt dlouhé sekvence nekódujícího RNA, které se podílejí na regulaci genové exprese komplementární vazbou na 3'UTR mRNA

