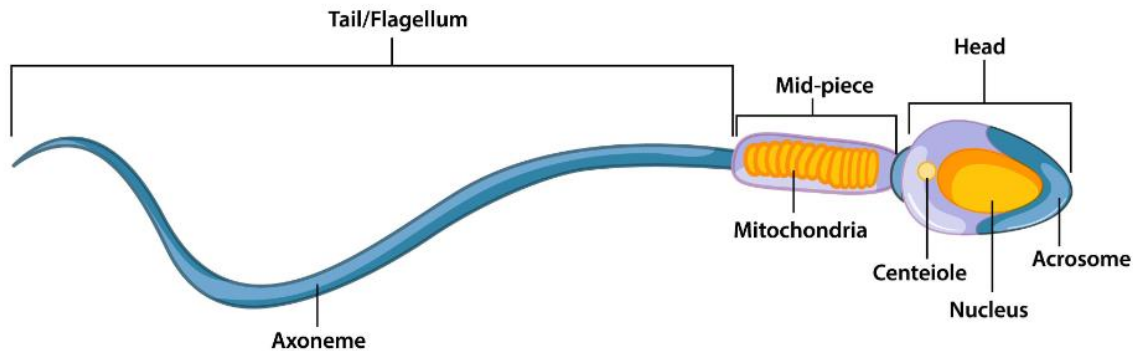


Reakce genomu na vlivy prostředí: Vznik mutací a základy epigenetiky

Mgr. Jana Fialová Kučerová, Ph. D.

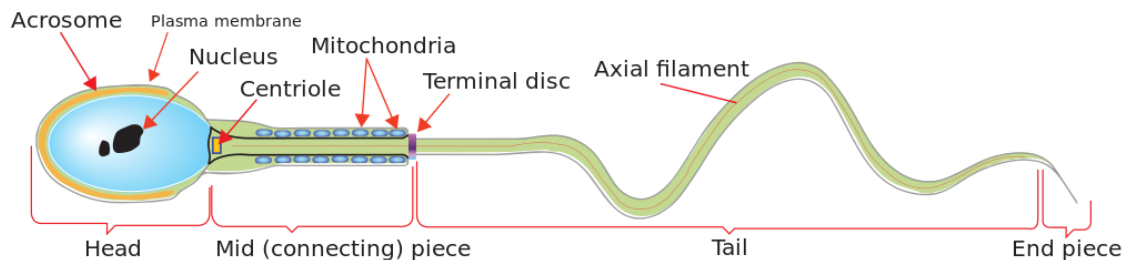
Mitochondrie u zárodečných buněk



Demystifying the demise of paternal mitochondrial DNA (Science 2016)

<https://www.science.org/doi/10.1126/science.aah4131>

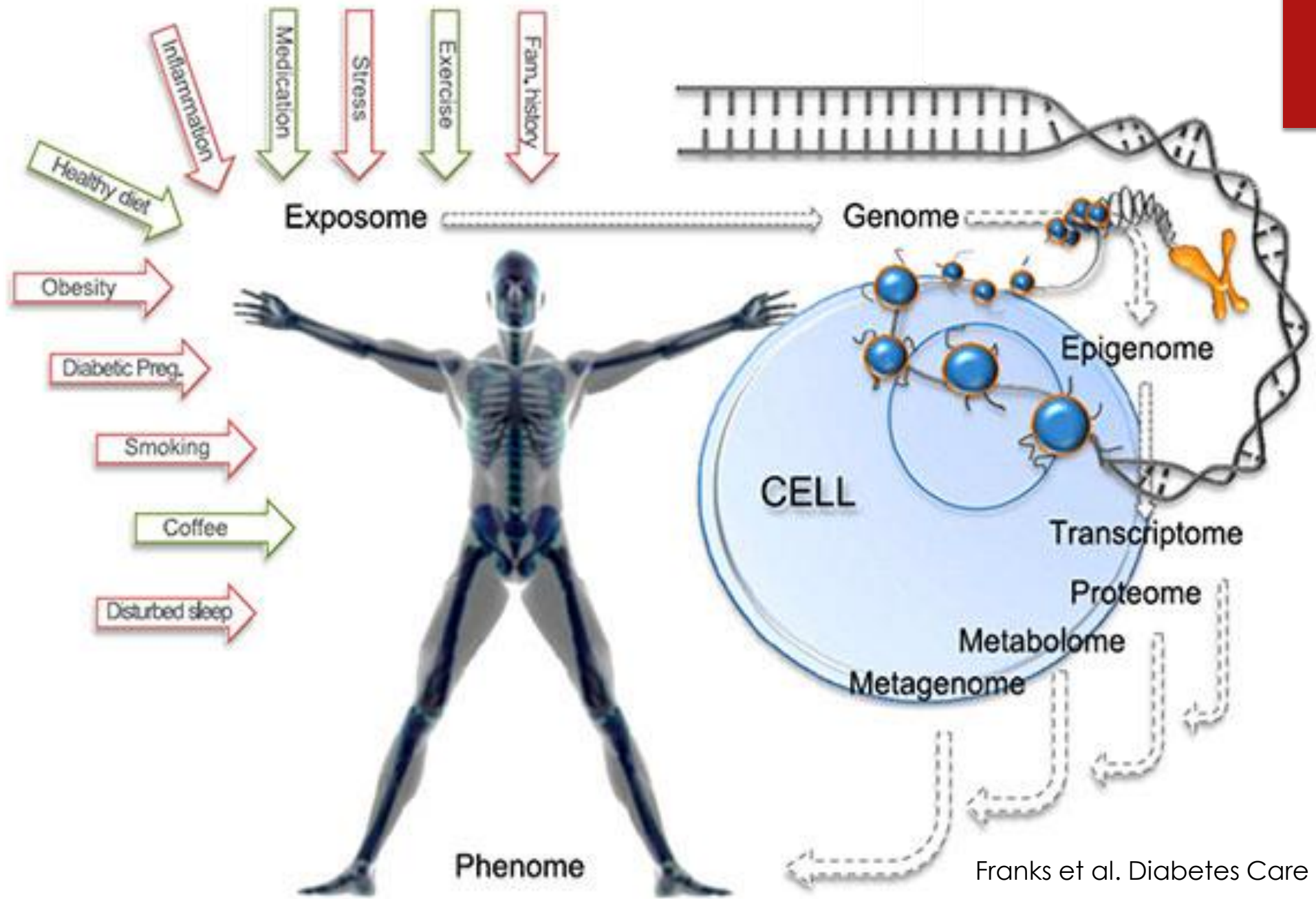
- ▶ spermie
~50-75 mitochondrií
(cca 10 x redukce během spermatogeneze)
- ▶ vajíčko
10⁵ - 10⁸ mitochondrií
 - ▶ 1000 x více než spermie
- ▶ paternální mitochondrie degradovány autofází – nezbytné pro další vývoj



Mitochondrie u zárodečných buněk



- ▶ spermie
~50-75 mitochondrií
(cca 10 x redukce během spermatogeneze)
- ▶ vajíčko
10⁵ - 10⁸ mitochondrií
 - ▶ 1000 x více než spermie
- ▶ paternální mitochondrie degradovány autofází – nezbytné pro další vývoj



Osnova přednášky

- ▶ Mutace – genetická variabilita
- ▶ Epigenetika

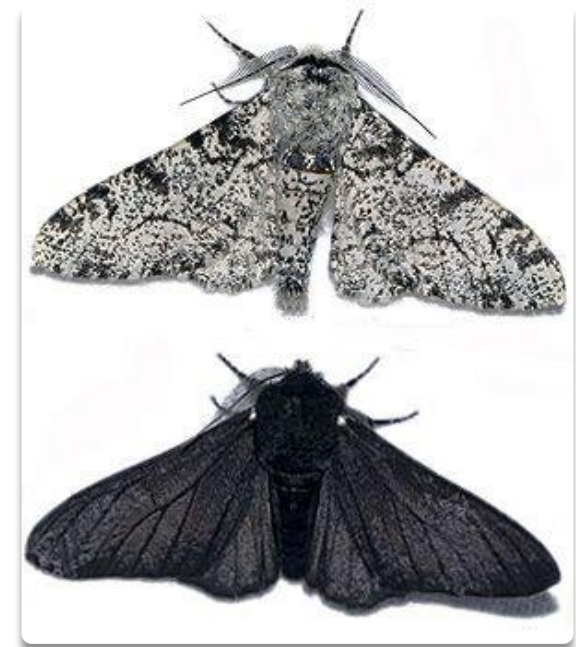
Genetická variabilita

- ▶ **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 mutagenéze – 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 %



Význam mutací z pohledu evoluce

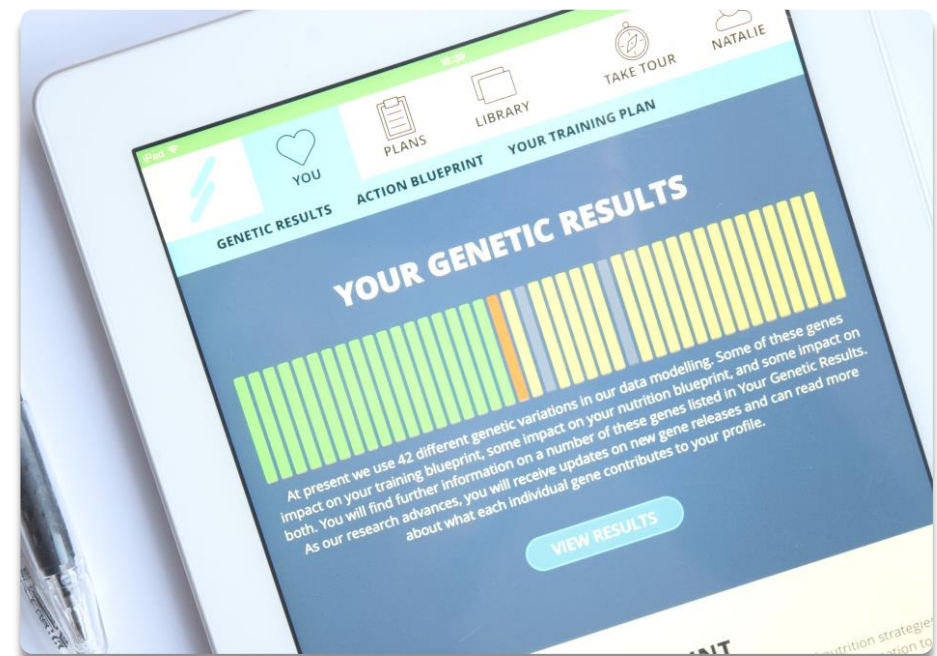
- ▶ **„Pozitivní“ mutace** – zdroj dědičné variability
 - ▶ Selektce jedinců s výhodnými znaky – význam pro evoluci
- ▶ **„Negativní mutace“** – vznik vadných genů, stárnutí, vznik geneticky podmíněných onemocnění, tvorba nádorů atd.
- ▶ **Mutace neutrální**
- ▶ **Mutace letální**
 - ▶ Předpokládá se, že každý člověk nese 5 až 10 recesivně letálních mutací



Biston betularia – Drsnokřídlec březový

Genový doping?

- ▶ Gen **ACTN3** (Alpha-actin-3) – varianta tohoto genu je důležitá pro správnou funkci rychlých svalových vláken. Častý výskyt u sprinterů a silových atletů
- ▶ Mutace v genu pro receptor **erythropoetinu** – Finský lyžař dlouhých tratí Eero Manta převyšoval normu počtu červených krvinek asi o 25 až 50 %. Zvýšená kyslíková kapacita organismu – autozomálně dominantní benigní erytrocytóza
- ▶ Mutace v genu pro **apolipoprotein A1** – vychytávání cholesterolu z krve – vysoký věk obyvatel Limone sul Garda

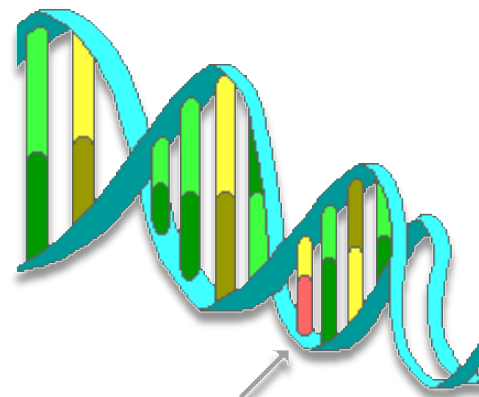


Cena základního balíčku cca 6000 Kč

Klasifikace mutací

- ▶ Spontánní x indukované
- ▶ Gametické x somatické
- ▶ Dominantní x recesivní (1:100)

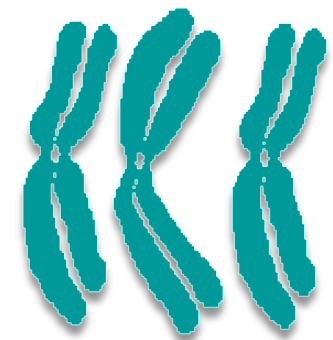
- ▶ Genové x chromozomové x genomové
- ▶ Účinek na fenotyp:
 - ▶ Morfologické mutace
 - ▶ Biochemické
 - ▶ Vitální -> subvitální -> semiletální -> letální
 - ▶ Podmíněné (např. teplotně senzitivní mutace)



point mutation in a DNA molecule



structural modification of a chromosome



irregular number of homologous chromosomes

Spontánní mutace

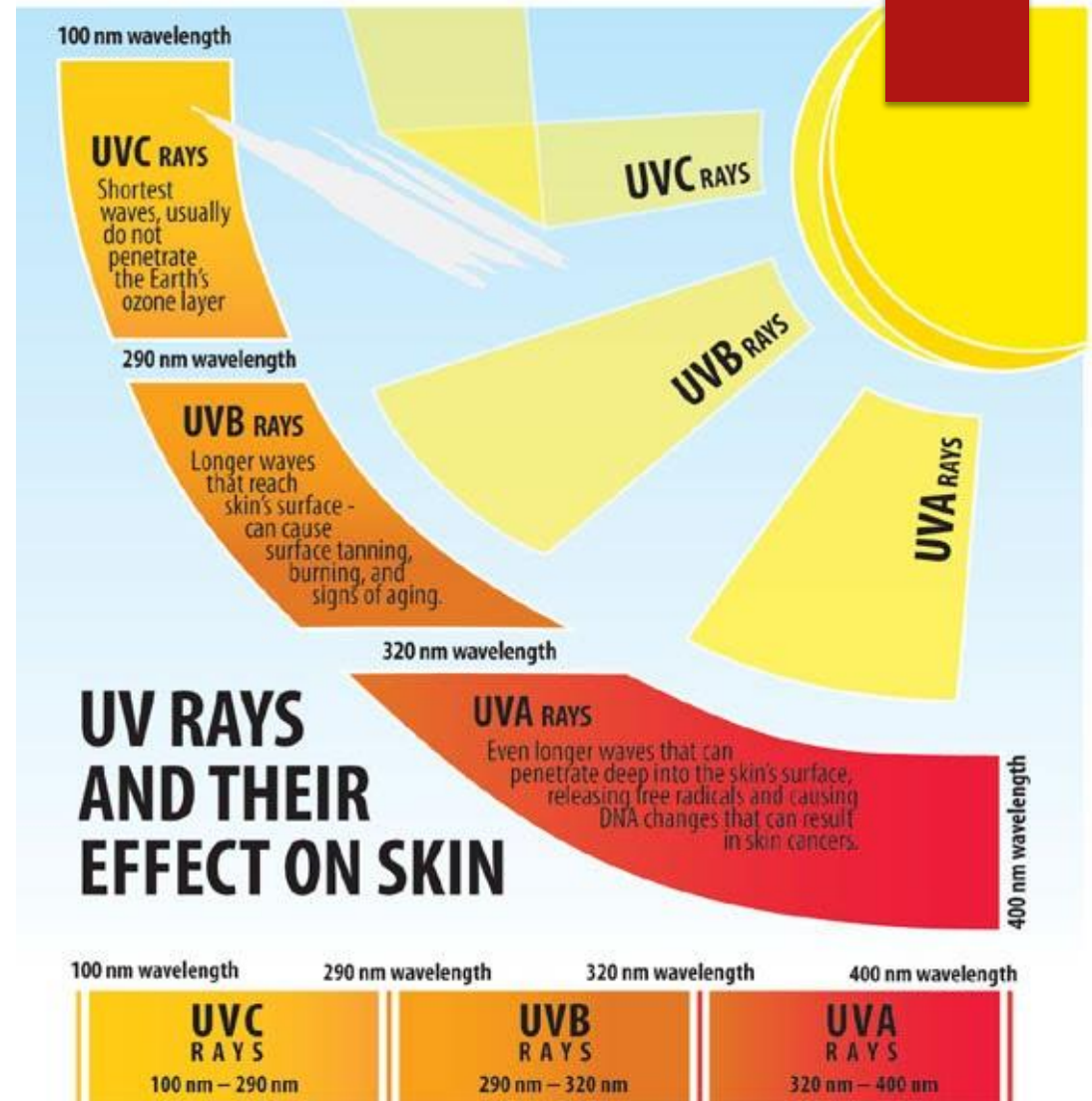
- ▶ Četnost spontánních mutací: $10^{-5} - 10^{-10}$
- ▶ Příčiny:
 - ▶ **Mechanismy uvnitř buňky** (replikace DNA, produkty vlastního metabolismu)
 - ▶ Chyba DNA polymerázy (teoreticky $10^{-1} - 10^{-2}$ x skutečně $10^{-9} - 10^{-11}$ → oprava chybně zařazených bází "proofreading")
 - ▶ Funkce reparačních mechanismů
 - ▶ Vnější faktory – **mutageny**
 - ▶ **A) fyzikální faktory** (10– 15 %)
 - ▶ **B) chemické faktory** (70 – 80 %)
 - ▶ **C) biologické faktory** (10 – 20 %)



Xeroderma pigmentosum

Fyzikální faktory – UV záření

- ▶ Elektromagnetické záření s vlnovou délkou kratší než má viditelné světlo
- ▶ Dávka UV záření, která snižuje viabilitu lidských fibroblastů na 1/100:
 - ▶ 40 - 50 J/m² – UV-C
 - ▶ 60 - 80 J/m² – UV-B
 - ▶ 400 – 500 J/m² – UV-A
- ▶ Hlavní mechanismy poškození DNA po účinku UV záření:
 - ▶ Vznik tzv. fotolézi
 - ▶ Poškození DNA zprostředkované působením záření a fotosenzitivátorů (např. furokumariny)
 - ▶ Působení reaktivních kyslíkových radikálů (ROS)



The wavelength of UV (ultraviolet) rays is measured in nanometers (or billionths of a meter), abbreviated as "nm."

Biologické účinky UV záření

- ▶ Příznivé účinky: tvorba vitamínu D, léčba některých chorob
- ▶ Škodlivé účinky: nádory kůže, předčasná stárnutí kůže, poškození očí, suprese imunitního systém
- ▶ Důležitá je ochrana před UV
 - ▶ Omezení pohybu na slunci mezi 10 a 16h
 - ▶ Sledování UV indexu
 - ▶ Pobyt ve stínu
 - ▶ Ochranný oděv + vhodné brýle
 - ▶ Ochranné krémy (faktor 15+)



NORMAL MOLE

A mole is a small brown spot or growth that appears in the first few decades of life. It can be flat or raised and generally is round.



BASAL CELL

This is the most common skin cancer. This nonlethal blemish can be a shiny bump, a pink growth, a scar-like area or an open sore that doesn't heal easily.



SQUAMOUS CELL

Persistent bleeding is common with this rarely deadly cancer. Warts, scaly patches, open sores and rapidly growing bumps are telltale signs.

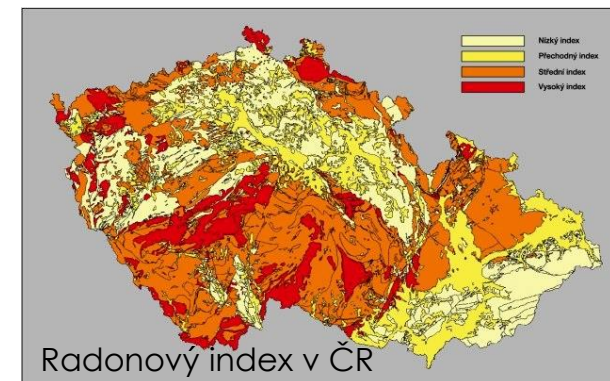


MELANOMA

This deadly cancer is usually larger than a pencil's eraser, multicolored and changes size and shape. Also look for asymmetry and uneven borders.

Fyzikální faktory – ionizační záření

- ▶ **Radioaktivita** – důsledek radiačního rozpadu, při kterém se mění stav nebo složení atomových jader nuklidů
- ▶ **Ionizující záření** – meziatomový pohyb elementárních částic, které mají dostatečnou energii na ionizaci atomů
 - ▶ Kvanta ionizujícího záření mají tak vysokou energii, že jsou schopna vyrážet elektrony z atomového obalu a tím látku ionizovat
- ▶ Typy ionizujícího záření:
 - ▶ **Elektromagnetické** – vzniká periodickou změnou elektrického a magnetického pole, která má původ v určitém zdroji a šíří se prostorem; hmota ve formě energie v podobě fotonu (paprsky X, gamma záření)
 - ▶ **Korpuskulární** – proud rychle letících elementárních atomových částic (elektrony, protony, neutrony, alfa částice)
- ▶ Zdroje záření:
 - ▶ Přírodní zdroje (kosmické záření, přírodní radionuklidy)
 - ▶ Umělé zdroje (lékařství – RTG, radioizotopy)
 - ▶ Vnější ozáření
 - ▶ Vnitřní ozáření (radionuklidy v lidském těle)



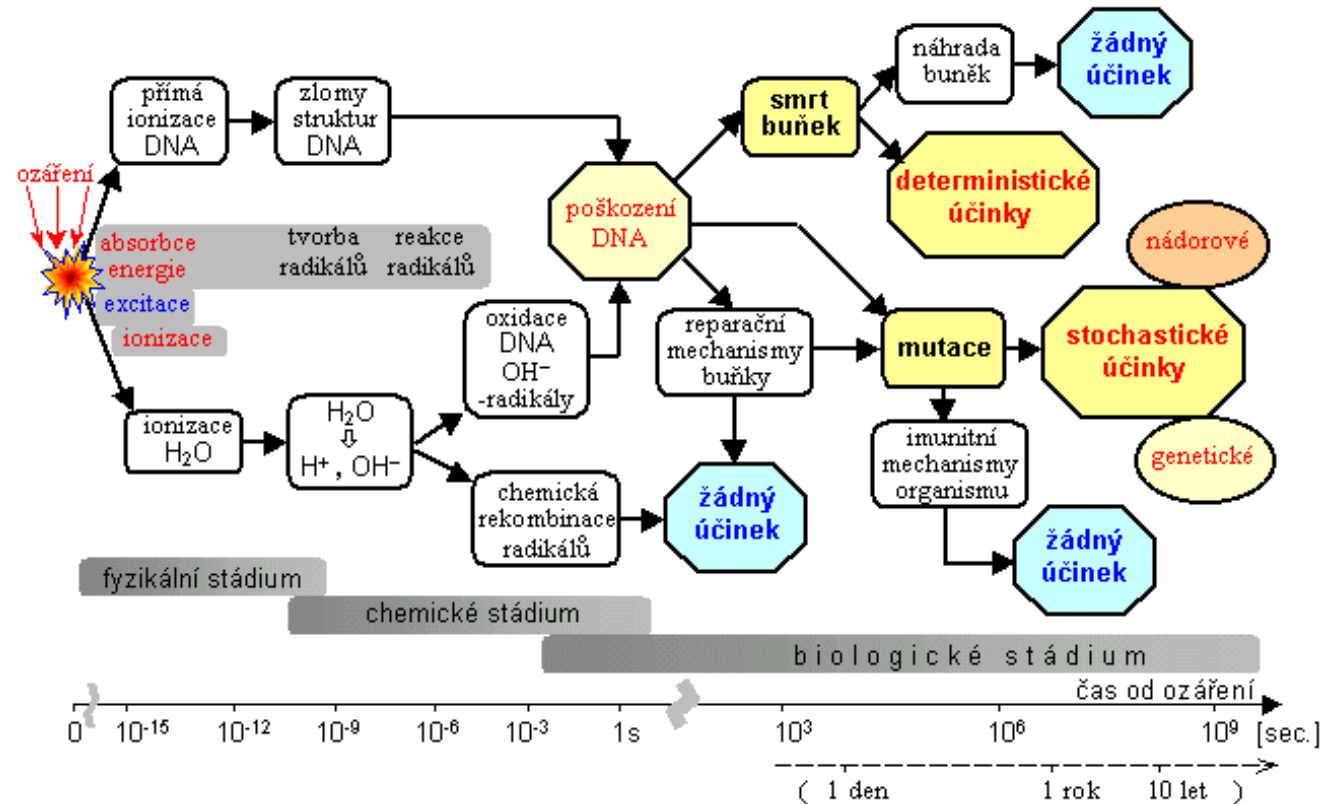
An aerial photograph of a nuclear power plant, showing various structures, pipes, and containment domes. A semi-transparent dark grey rectangle is overlaid on the center of the image, containing white text. A solid red vertical bar is located in the top right corner of the image.

Ionizačního záření kolem nás

- ▶ Přirozená dávka je 2,5 až 3,0 mSv/rok
 - ▶ Limit pro pracovníka se zářením 50mSv/rok
 - ▶ RTG střev 4 mSv; RTG kyčlí 1,7 mSv
 - ▶ 3 lety nadzvukovým letadlem Praha – USA 0,38 mSv
 - ▶ Hodina sledování televize 0,01 mSv/rok
- ▶ Jaderná energetika
 - ▶ Jaderná odpad (Dukovany – 56 tun ročně)
 - ▶ Havárie – únik radioaktivních látek
 - ▶ Černobyl (26.4 1986) – ekvivalent 90 atom. bomb svržených na Hirošimu; radioaktivní mrak byl zachycen pracovníky JE Dukovany 29.4; zamoření cesiem (pol. rozpadu 30 let) a jodem (pol. r. 8 dní) – cesium v potravinovém řetězci
 - ▶ Fukushima (11.3.2011) – poškození 4 reaktorů

Biologické účinky ionizačního záření

- ▶ **Přímé účinky** – přímý zásah biologicky důležitého místa v buňce (tzv. terče) – vznik mutací
- ▶ **Nepřímé účinky** – poškození kritických buněčných struktur působením volných radikálů
- ▶ Efektem zasažení terče jsou dvouvláknové zlomy v DNA
- ▶ Řídké ionizující záření (β , γ) – průchod dvou částic stejným místem rychle po sobě = 1 zlom – poškození závisí na druhé mocnině dávky
- ▶ Husté ionizující záření (α , neutrony, proton) – poškození je přímo úměrné dávce – jeden průchod 1 zlom
- ▶ 1000 – 2000 poškozených bází / 1Gy
- ▶ 500 – 1000 jednořetězcových zlomů / 1Gy
- ▶ 40-50 dvouvláknových zlomů / 1Gy
- ▶ Citlivost buňky se mění v průběhu buněčného cyklu (nejvíce v raných fázích mitózy)
- ▶ Celotělová dávka 0,1Gy – 1 zhoubný nádor na 200 lidí



Účinek ionizujícího záření na člověka

Radiation-induced chromosome aberrations

- ▶ **Intermitotická smrt buňky** – vysoké dávky záření, destrukce jaderné hmoty, porucha mitochondrií, narušení iontové rovnováhy - apoptóza, nekróza
- ▶ **Mitotická smrt** - zástava mitózy, fragmentace chromozomů, chromozomové aberace
- ▶ **Zástava syntézy DNA, transkripce DNA**
- ▶ **Poškození genetického materiálu**

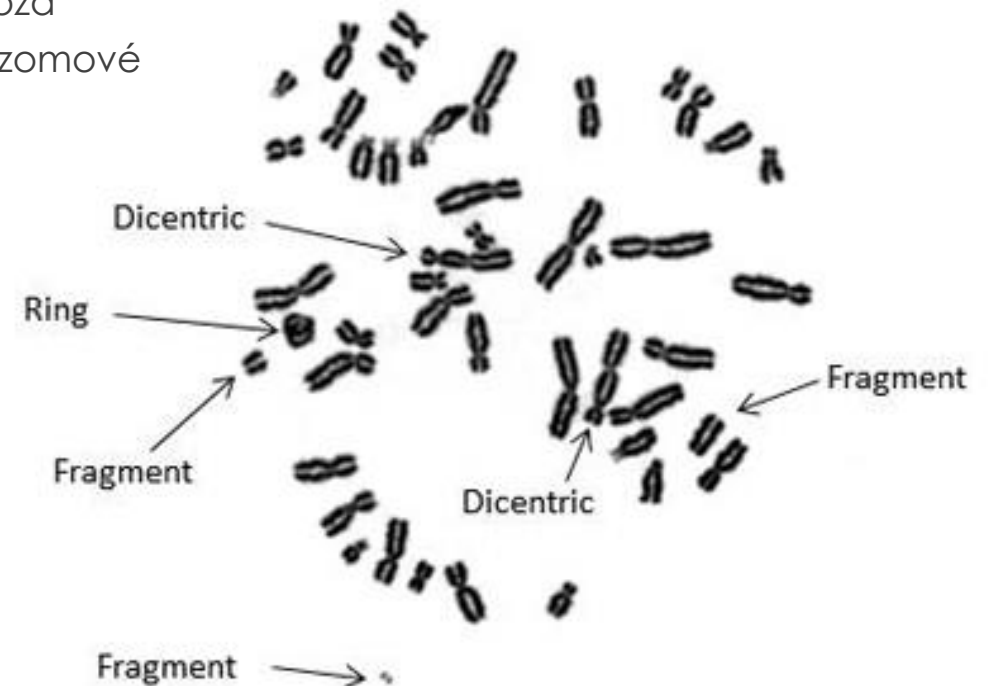
- ▶ **Deterministické účinky** – důsledkem poškození velkého počtu buněk

- ▶ Akutní nemoc z ozáření
- ▶ Akutní lokalizované poškození
- ▶ Poškození plodu *in utero*
- ▶ Nenádorová pozdní poškození

- ▶ **Stochastické účinky** – důsledkem změny jedné nebo málo buněk

- ▶ Zhoubné nádory
- ▶ Genetické změny

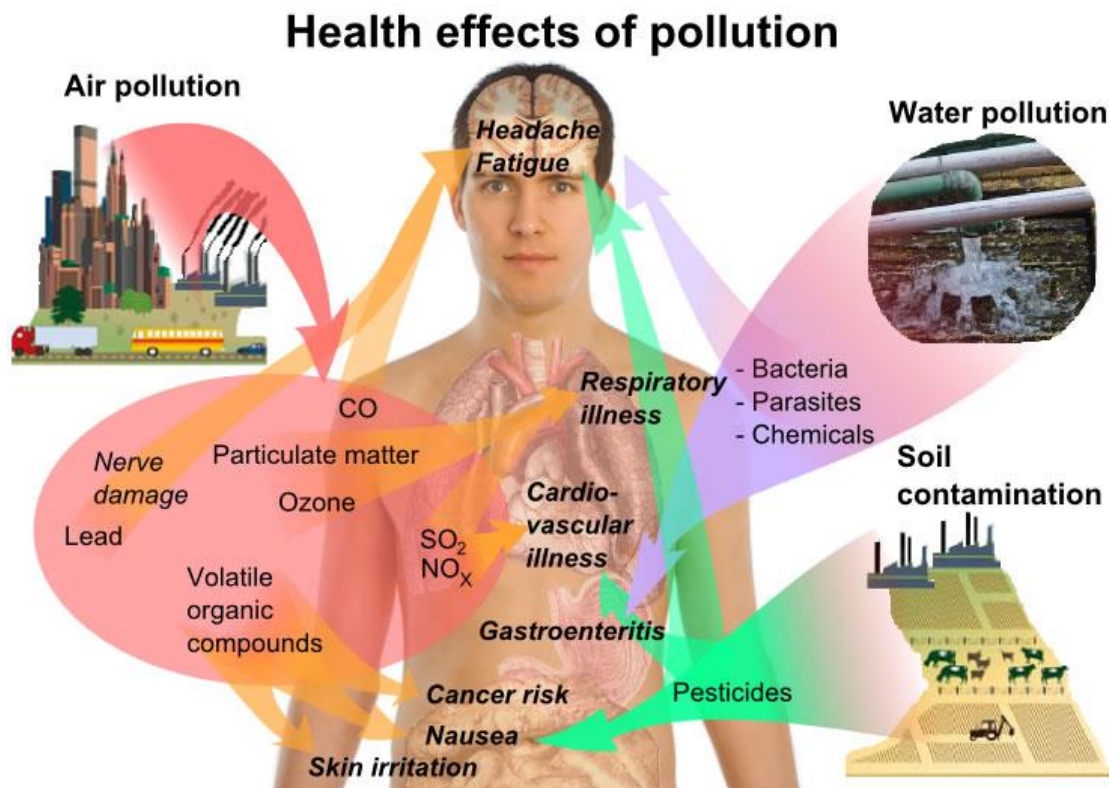
- Letální dávka LD₅₀
 - Člověk 4 - 5 Gy
 - Pes 2,5 - 3 Gy
 - Myš 7 - 10 Gy
 - Hmyz 100 - 1000 Gy



Chemické mutageny

- ▶ **Chemické mutageny** – látky, které způsobují mutace podmíněné změnou struktury DNA
- ▶ **Karcinogeny** – látky u kterých bylo prokázáno, že po požití, vdechování nebo působení na kůži dochází k onemocnění zhoubnými nádory. Většina karcinogenních látek má zároveň i mutagenní účinky. (Př. Benzen, vinilchlorid, polycyklické a aromatické uhlovodíky, nitrosaminy, azbest atd.)
- ▶ **Teratogeny** – látky vyvolávající změny plodu během těhotenství, zejména v prvních osmi týdnech (vývojové vady, malformace). Poruchy nejsou spojeny se změnou genotypu. (př. Benzen, aflatoxiny, ftalany, cytostatika, některé analgetika aj.)
- ▶ **Promutageny** – látky vyžadující ke svému účinku metabolickou aktivitu (xenobiotika)

Mutageny přítomné v životním prostředí



- ▶ Všeobecně rozšířené mutageny
 - ▶ Voda
 - ▶ Vzduch
 - ▶ Půda
- ▶ Profesionální expozice (mutageny jen v některých provozech)
 - ▶ **Průmysl:** vinylchlorid – angiosarkom; trichlorethylen, chlorpren, černouhelný dehet – zdroj PAU
 - ▶ **Zemědělství:** pesticidy organofosfáty, biostimulátory
 - ▶ **Zdravotnictví:** inhalační anestetika, cytostatika, imunosupresiva



Kontaminace vody

- ▶ Povrchová voda – pesticidy, herbicidy, dusíkaté hnojiva, insekticidy, fungicidy a jiné organické látky
- ▶ Desinfekce pitné vody chlorováním - vznik nízkomolekulárních látek – trihalomethany (chloroform, PCB, chlorbenzen, tetrachloretylen aj.)
- ▶ Zvýšená pravděpodobnost vzniku nádorů trávicího traktu a močového měchýře

Kontaminace ovzduší a půdy

▶ Ovzduší:

- ▶ **Oxid siřičitý** (HSO_3 a SO_3 – vysoce mutagenní)
- ▶ **Oxid dusíku**, CO – automobily
- ▶ Výskyt **polycyklických aromatických uhlovodíků** (PAU), **PCB**, **DDT**, **těžké kovy** (Be, Cr, Cd, Ni, As); v průmyslových oblastech emise **benzenu**, **formaldehydu**, benzínu, vinylchloridu, trichloretylenu
- ▶ **Přízemní ozon**, polétavý prach
- ▶ Důsledky: alergická onemocnění, nádory plic, bronchitidy, astma

▶ Půda:

- ▶ **PAU**, rezidua **pesticidů**, **herbicidů**, **insekticidů**, **fungicidů**, **růstových regulátorů**, **deriváty organických nitrosloúčenin**
- ▶ **DDT** (kumulace v potravním řetězci – i v mateřském mléce)
- ▶ **Těžké kovy**

Mutagenní látky v potravě

- ▶ Toxiny produkované rostlinami – ochrana před hmyzem, houbami a animálními predátory
- ▶ V normální stravě se odhaduje 5 -10 000 různých přírodních chemických látek
- ▶ Látky vykazující karcinogenní účinky byly nalezeny např. v koření (anýz, kmín, bazalka), ovoci, zelenině, kávě, čaji, medu či v houbách
- ▶ Benzpyren a jiné PAU – opékání masa nad otevřeným ohněm; pyrolýza proteinů a aminokyselin (heterocyklické aminy)
- ▶ Nitrosloučeniny (teplná úprava masa obsahující dusitany)
- ▶ Mykotoxiny (aflatoxin B1, aflatoxin M1 – v mléku)
- ▶ Kofein? (**pro savce ne**)
- ▶ Umělá sladidla (cyklamáty, sacharin)?
- ▶ Konzervační látky (nitrofurany)
- ▶ Rezidua herbicidů, pesticidů, těžkých kovů



Aditiva v potravinách

- ▶ Antioxidanty, aromatizující přísady, balící plyny, barviva, emulgátory, konzervanty, kypřící látky, kyseliny, lešticí látky, nosiče a rozpouštědla, odpěňovače
- ▶ Přijatelný denní příjem (ADI) – množství potravinářského aditiva (v mg na kg tělesné hmotnosti), kterému může být člověk vystaven, každý den po celý život, aniž by to pro něj představovalo zdravotní riziko.
- ▶ Stanovení ADI
 - ▶ Pokusy na experimentálních zvířatech – stanovení nejvyšší dávky chemické látky, při které se ještě neprojeví nežádoucí účinek

Mutageny a životní styl

- ▶ Kosmetika, barvy na vlasy, laky na nehty, sprchové gely, mýdla, antiperspiranty
- ▶ Kouření – příčina 30 % úmrtí na nádorové onemocnění
 - ▶ 67 karcinogenů



ALL-NATURAL BLUEBERRIES



INGREDIENTS: AQUA (84%), **SUGARS (10%)** (FRUCTOSE (48%), GLUCOSE (40%), SUCROSE (2%)), FIBRE E460 (2.4%), **AMINO ACIDS (<1%)** (GLUTAMIC ACID (23%), ASPARTIC ACID (18%), LEUCINE (17%), ARGININE (8%), ALANINE (4%), VALINE (4%), GLYCINE (4%), PROLINE (4%), ISOLEUCINE (3%), SERINE (3%), THREONINE (3%), PHENYLALANINE (2%), LYSINE (2%), METHIONINE (2%), TYROSINE (1%), HISTIDINE (1%), CYSTINE (1%), TRYPTOPHAN (<1%)), **FATTY ACIDS (<1%)** (OMEGA-6 FATTY ACID: LINOLEIC ACID (30%), OMEGA-3 FATTY ACID: LINOLENIC ACID (19%), OLEIC ACID (18%), PALMITIC ACID (6%), STEARIC ACID (2%), PALMITOLEIC ACID (<1%)), ASH (<1%), PHYTOSTEROLS, OXALIC ACID, E300, E306 (TOCOPHEROL), THIAMIN, **COLOURS** (E163a, E163b, E163e, E163f, E160a) **FLAVOURS** (ETHYL ETHANOATE, 3-METHYL BUTYRALDEHYDE, 2-METHYL BUTYRALDEHYDE, PENTANAL, METHYLBUTYRATE, OCTENE, HEXANAL, DECANAL, 3-CARENE, LIMONENE, STYRENE, NONANE, ETHYL-3-METHYLBUTANOATE, NON-1-ENE, HEXAN-2-ONE, HYDROXYLINALOOL, LINALOOL, TERPINYL ACETATE, CARYOPHYLLENE, ALPHA-TERPINEOL, ALPHA-TERPINENE, 1,8-CINEOLE, CITRAL, BENZALDEHYDE), METHYLPARABEN, 1510, E300, E440, E421 and **FRESH AIR** (E941, E948, E290).

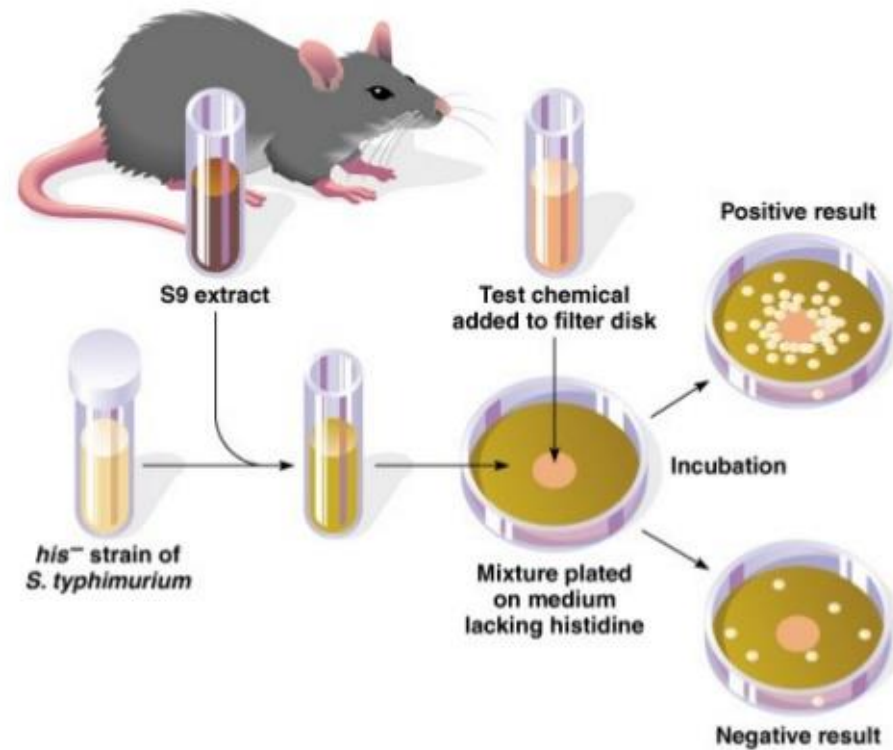
AN ALL-NATURAL BANANA



INGREDIENTS: WATER (75%), **SUGARS (12%)** (GLUCOSE (48%), FRUCTOSE (40%), SUCROSE (2%), MALTOSE (<1%)), STARCH (5%), FIBRE E460 (3%), **AMINO ACIDS (<1%)** (GLUTAMIC ACID (19%), ASPARTIC ACID (16%), HISTIDINE (11%), LEUCINE (7%), LYSINE (5%), PHENYLALANINE (4%), ARGININE (4%), VALINE (4%), ALANINE (4%), SERINE (4%), GLYCINE (3%), THREONINE (3%), ISOLEUCINE (3%), PROLINE (3%), TRYPTOPHAN (1%), CYSTINE (1%), TYROSINE (1%), METHIONINE (1%)), **FATTY ACIDS (1%)** (PALMITIC ACID (30%), OMEGA-6 FATTY ACID: LINOLEIC ACID (14%), OMEGA-3 FATTY ACID: LINOLENIC ACID (8%), OLEIC ACID (7%), PALMITOLEIC ACID (3%), STEARIC ACID (2%), LAURIC ACID (1%), MYRISTIC ACID (1%), CAPRIC ACID (<1%)), ASH (<1%), PHYTOSTEROLS, E515, OXALIC ACID, E300, E306 (TOCOPHEROL), PHYLLOQUINONE, THIAMIN, **COLOURS** (YELLOW-ORANGE E101 (RIBOFLAVIN), YELLOW-BROWN E160a), **FLAVOURS** (3-METHYLBUT-1-YL ETHANOATE, 2-METHYLBUTYL ETHANOATE, 2-METHYLPROPAN-1-OL, 3-METHYLBUTYL-1-OL, 2-HYDROXY-3-METHYLETHYL BUTANOATE, 3-METHYLBUTANAL, ETHYL HEXANOATE, ETHYL BUTANOATE, PENTYL ACETATE), 1510, NATURAL RIPENING AGENT (ETHENE GAS).

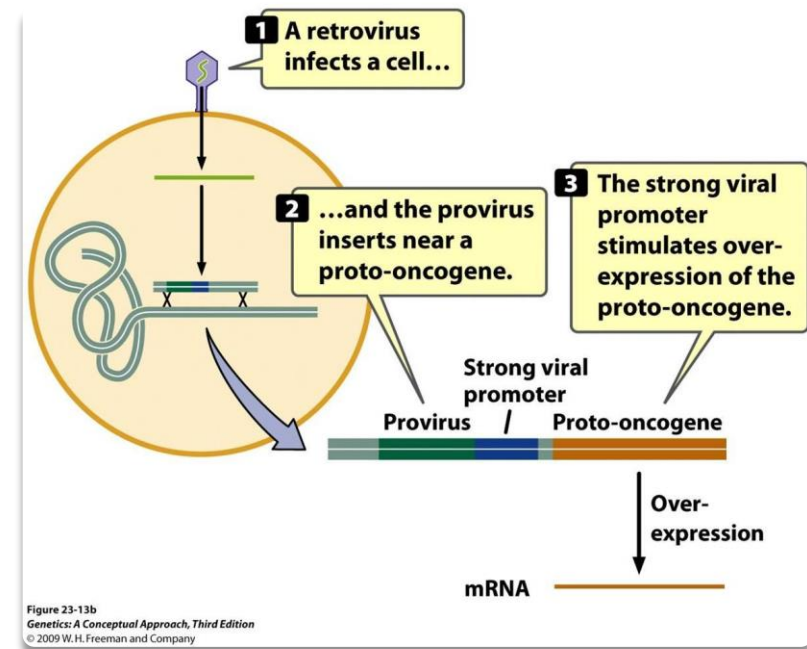
Testy mutagenity – př. Amesův test

Fig. 7.14, Ames test.



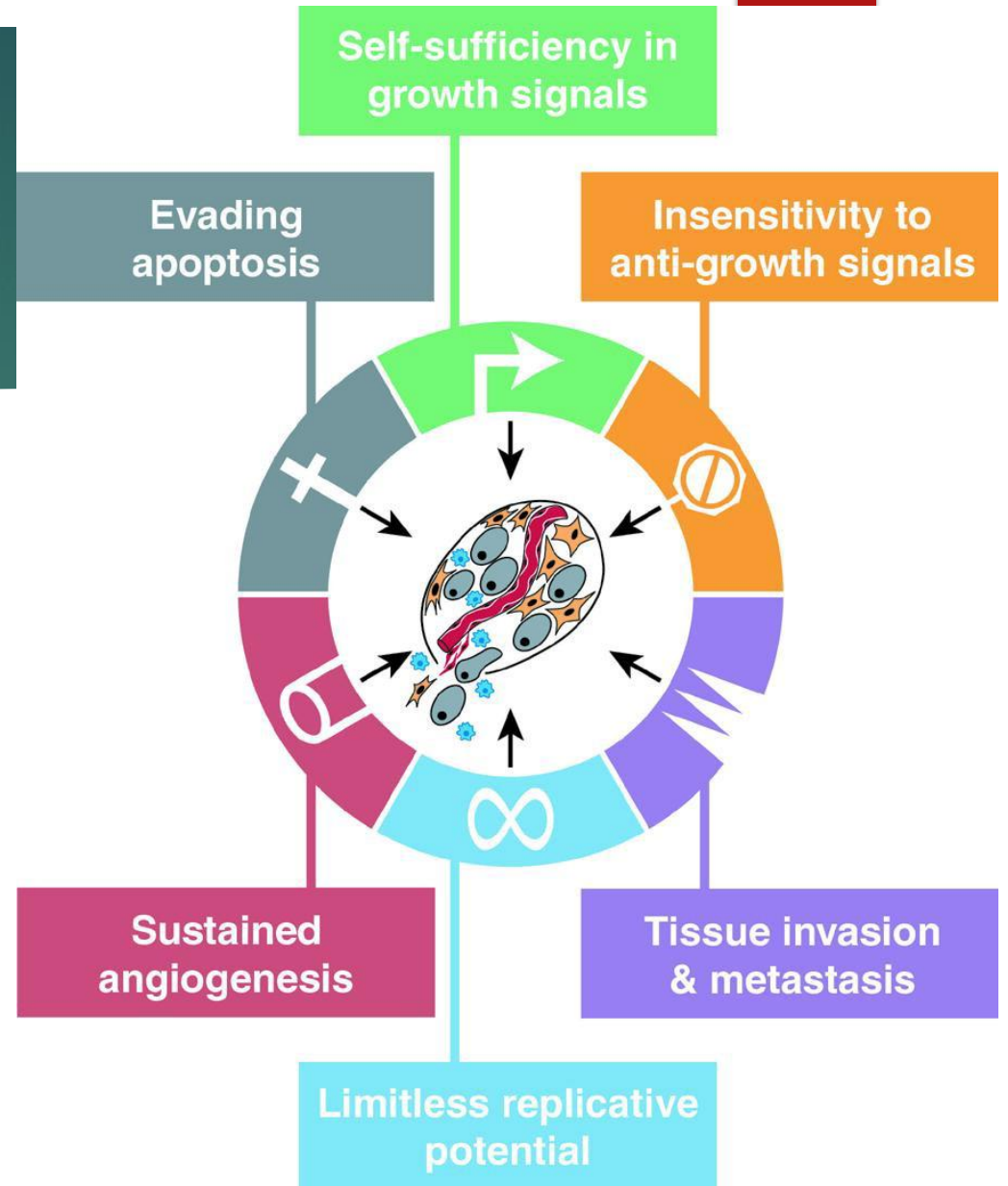
Biologické mutageny

- ▶ **Viry** – některé viry (herpesviry, hepadnaviry, adenoviry, retroviry) mají schopnost integrovat se do DNA hostitelské buňky, čímž mohou porušit sekvenci některého strukturního genu, nebo jeho regulační oblasti, promotor atd.
- ▶ **Mobilní genové sekvence** – transpozony a retrotranspozony – mohou působit stejným mechanismem jako retroviry – tj. inzercí na “nevhodné” místo v genomu
- ▶ Příklad: **HPV** (lidský papilomavirus) – karcinom děložního hrdla; **HHV-8** (lidský herpesvirus 8) Kaposiho sarkom



Nádorová onemocnění

- ▶ Onemocní 10 mil. lidí ročně; umírá 7 mil. lidí ročně
- ▶ Příčiny vzniku – kouření, alkohol, špatné stravovací návyky (obezita), nízká pohybová aktivita, dědičné faktory, infekční agens, radiace (přírodní), pracovní expozice, škodliviny v životní prostředí
40 % preventabilní příčiny (odhad)
kouření je nejvýznamější faktor
- ▶ Důležitá prevence – změna individuálního životního stylu



Antikarcinogeny - prevence

- ▶ Příjem rozmanité a vyvážené stravy
- ▶ Nejvýznamnější látky: **Polyfenoly** (flavonoidy, fenolové kyseliny), **Terpeny** (karotenoidy, monoterpeny), **Sírné sloučeniny** (dialylosulfidy, isothiokyanáty), **Saponiny** (triterpenoidy, steroidy)
- ▶ Příklady populárních antikarcinogenních látek a potravin:

Kurkumin (kurkuma)

Dialylosulfid (česnek)

Delfinidin (borůvky)

Indol-3-karbyl (zelí)

Elágová kyselina (jahody)

Genistein (sója)

Epigalaktochin-3-galát

Sulforan (brokolice)

(zelený čaj)

Lycopen (rajčata)

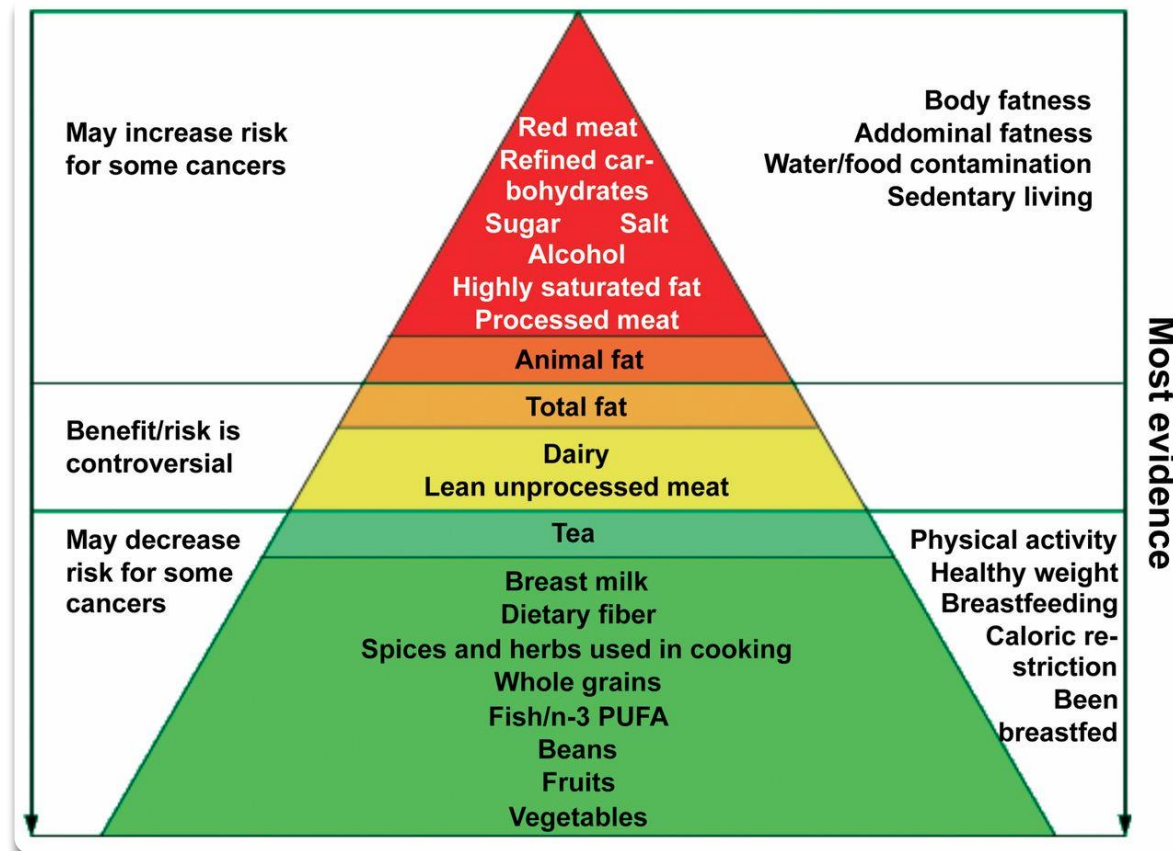
Resveratrol (hrozny)

Vláknina

Limonen (citrón)

Selen

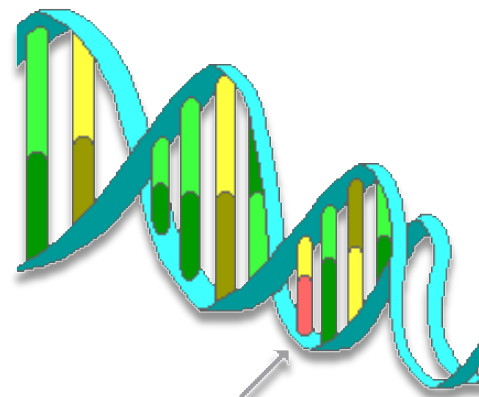
Brát s rezervou ;)



Klasifikace mutací

- ▶ Spontánní x indukované
- ▶ **Gametické x somatické**
- ▶ Dominantní x recesivní (1:100)

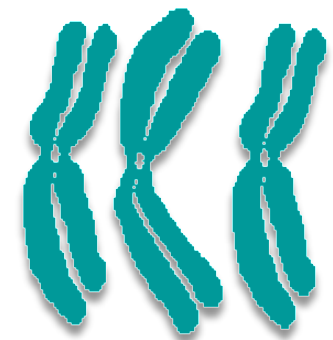
- ▶ Genové x chromozomové x genomové
- ▶ Účinek na fenotyp:
 - ▶ Morfologické mutace
 - ▶ Biochemické
 - ▶ Vitální -> subvitální -> semiletální -> letální
 - ▶ Podmíněné (např. teplotně senzitivní mutace)



point mutation in a DNA molecule



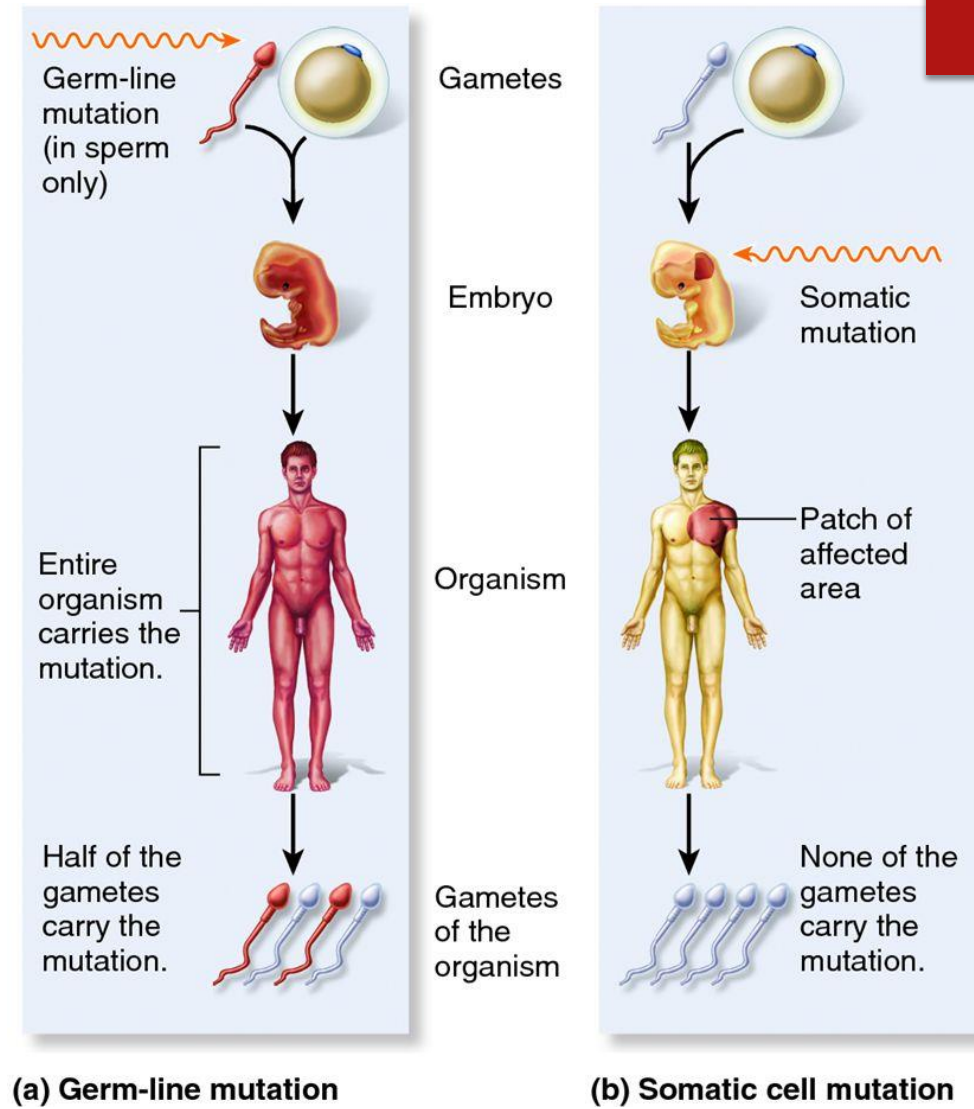
structural modification of a chromosome



irregular number of homologous chromosomes

Gametické x somatické mutace

- ▶ **Gametické mutace** vznikají v gametách nebo tkáních ze kterých se diferencují pohlavní buňky
- ▶ **Somatické mutace** vznikají v somatických buňkách



(a) Germ-line mutation

(b) Somatic cell mutation

Genové mutace

- ▶ Změna nukleotidové sekvence na určitém místě (bodě) v genu – bodové mutace – kódující i nekódující oblasti genomu
- ▶ **Adice (inzerce)** – zařazení jednoho nebo více nadbytečných nukleotidových párů
 - ▶ Může dojít k posunu čtecího rámce
- ▶ **Delece** – ztráta jednoho nebo více nukleotidů původní sekvence
 - ▶ Může dojít k posunu čtecího rámce
- ▶ **Substituce** – záměna původní báze sekvence jinou bází
 - ▶ **Tranzice** – purinová báze za purinovou; pyrimidinová báze za pyrimidinovou
 - ▶ **Transverze** – purinová báze za pyrimidinovou nebo naopak

Původní sekvence:

A-A-A-G-G-G-C-C-C-T-T-T

Adice:

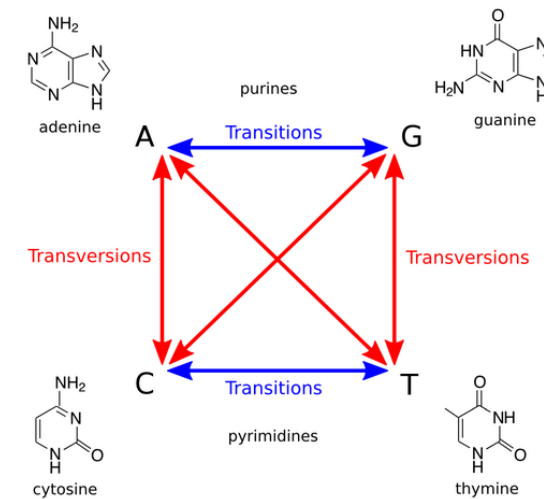
A-A-A-G-G-T-T-G-C-C-C-T-T-T

Delece:

A-A-A-G- _G-C-C-C-T-T-T

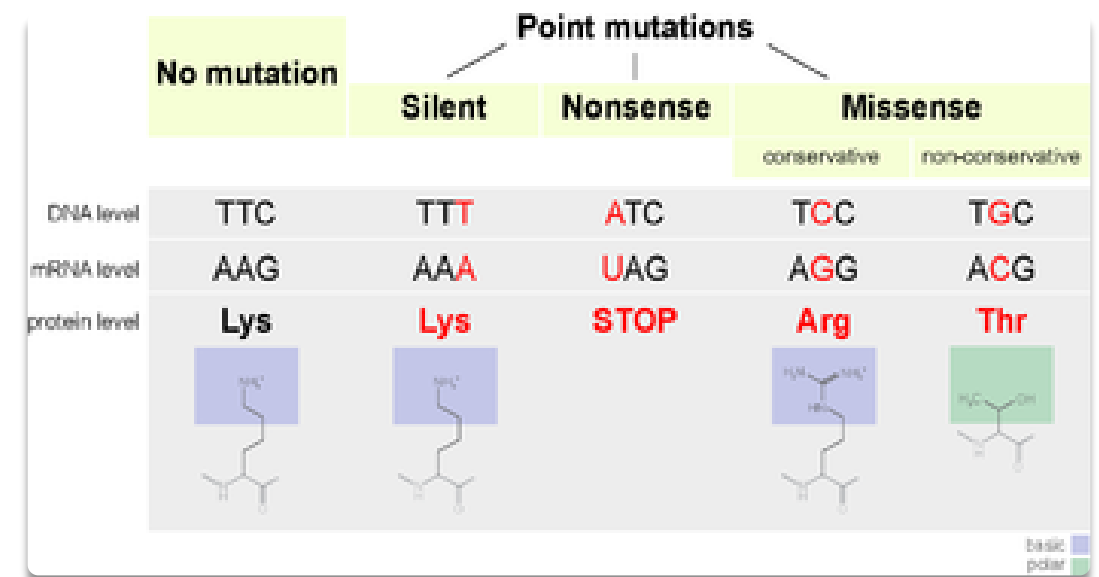
Substituce:

A-A-A-G-A-G-C-C-C-T-T-T



Efekt mutace na proteosyntézu

- ▶ **Mutace neměníci smysl** (samesense, silent mutation) – je zařazena stejná aminokyselina (degenerace genetického kódu); substituce na třetí pozici tripletu
- ▶ **Mutace měnící smysl** (missense mutation) – dojde ke změně polypeptidového vlákna – zařazení odlišné aminokyseliny při proteosyntéze
- ▶ **Nesmyslné mutace** (nonsense mutation) – vznik předčasného terminačního kodonu – není dokončena syntéza polypeptidu

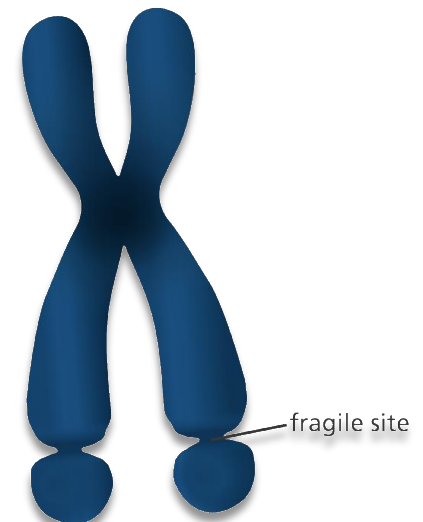


Dynamické mutace

- ▶ Expanze repetitivních sekvencí (typicky expanze trinukleotidových repetitivních)
- ▶ Nepřesností při replikaci
- ▶ Premutace – dosažení kritického počtu = mutace
- ▶ Huntingtonova choroba, syndrom fragilního X chromozomu



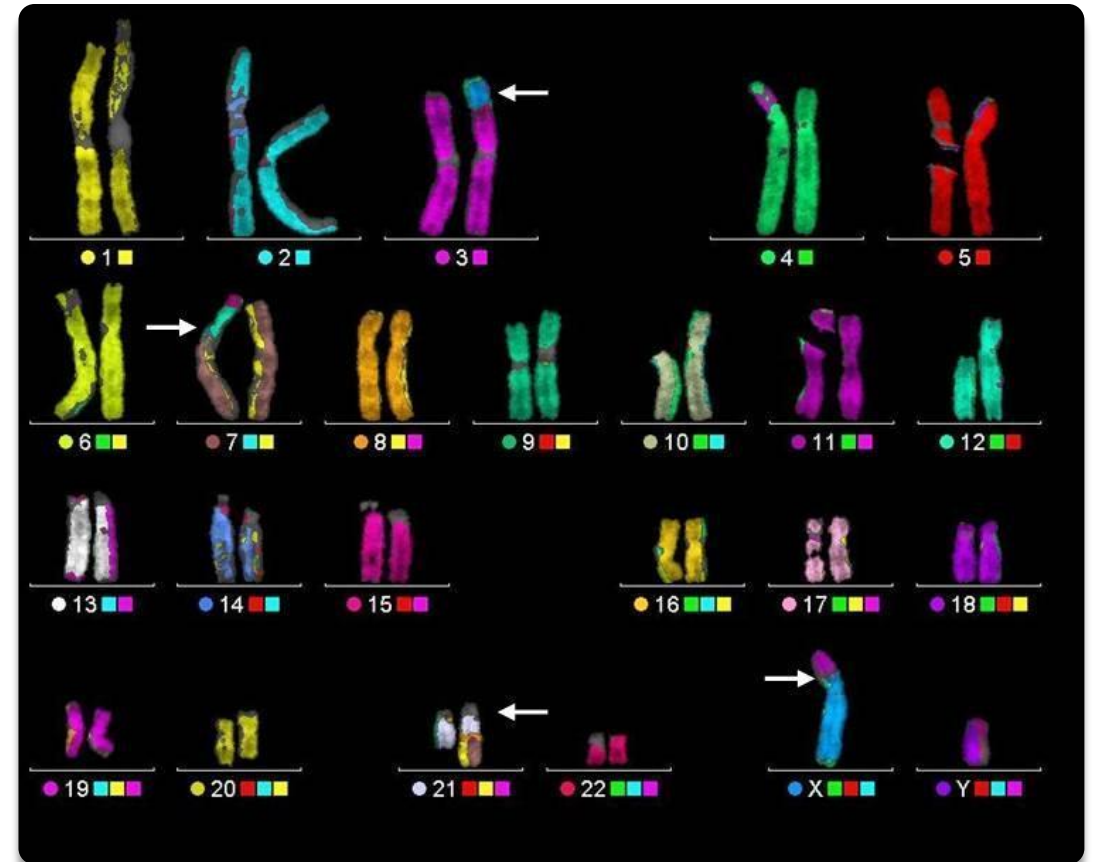
Normal X chromosome



Fragile-X chromosome

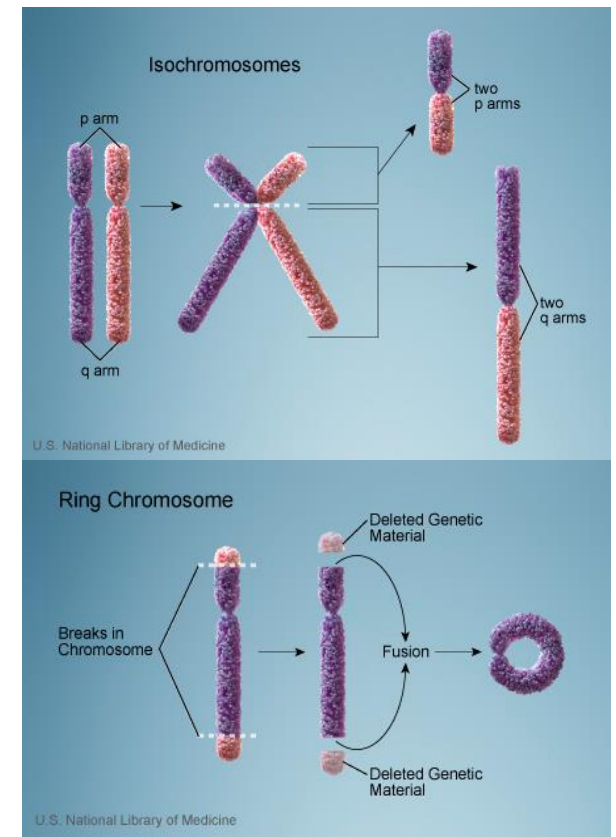
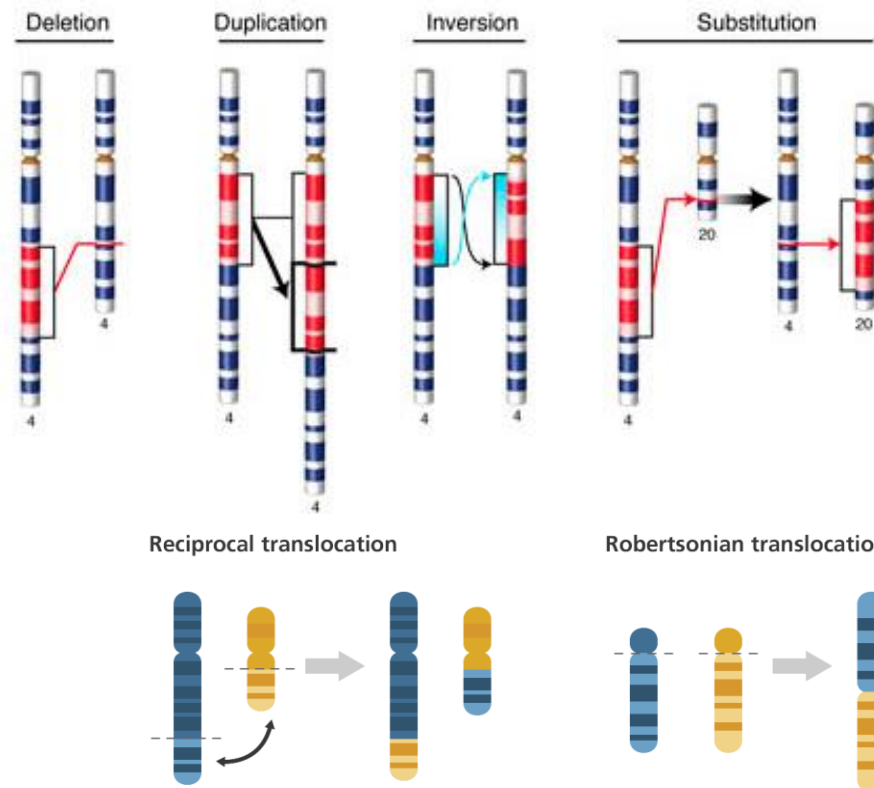
Chromozomové mutace

- ▶ Chromozomové aberace - změny struktury a tvaru chromozomu
- ▶ Vznikají následkem chromozomální nestability (chromozomálních zlomů) působením nadměrnou expozicí jedince mutagenům nebo zhoršenou funkcí reparačních mechanismů
- ▶ Lze dělit na:
 - ▶ **Balancované** – zachováno původní množství genetické informace
 - ▶ **Nebalancované** – není zachováno původní množství genetické informace



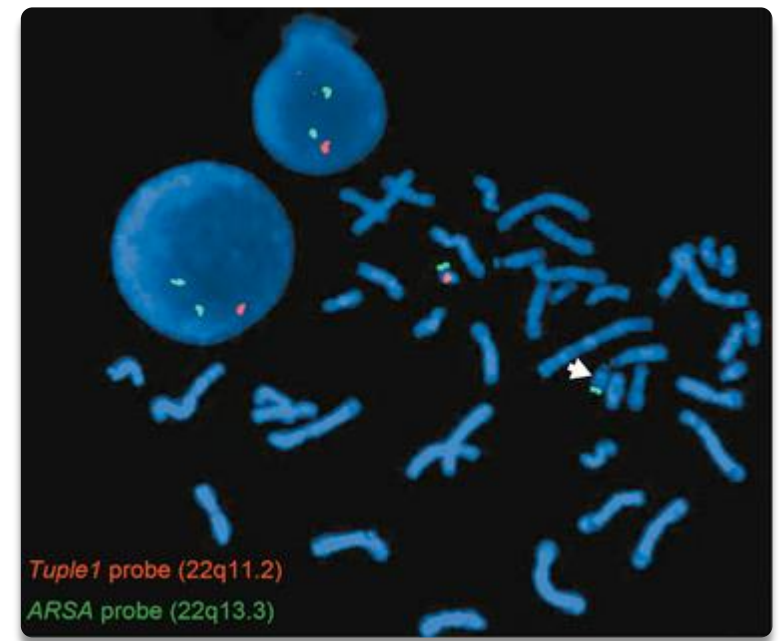
Chromozomové aberace

- ▶ Delece
- ▶ Duplikace
- ▶ Inzerce
- ▶ Inverze
- ▶ Translokace
 - ▶ Reciproké translokace
 - ▶ Robertsonské translokace
- ▶ Izochromozom
- ▶ Ring chromozom
- ▶ Fragmentace
- ▶ Marker chromozom



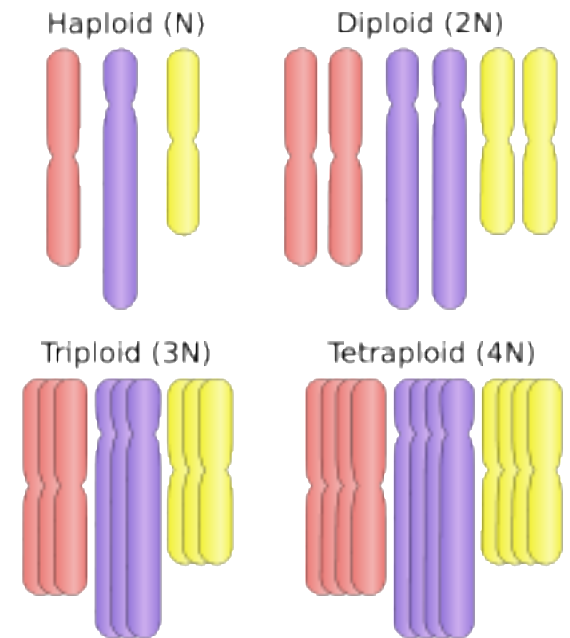
Chromozomové aberace

- ▶ Vrozené:
 - ▶ **Syndrom kočičího křiku** – delece 5p
 - ▶ Mikrodeleční syndromy (drobné intersticiální delece DNA segmentů – 2 až 4 Mb):
 - ▶ **DiGeorgeův syndrom** – 22q11.2
 - ▶ **Prader-Williho a Angelmanův syndrom** – 15q11-13
 - ▶ **Charcot-Marie-Tooth** – tandemová duplikace na chromozomu 17
- ▶ Získané (onkocytogenetika) – nádory (leukemie, solidní nádory)
 - ▶ **T(9;22)** – CML (Filadelfský chromozom – Ph); fúzní gen BCR/ABL na chromozomu 22, který kóduje hybridní protein p210 – iniciátor maligního procesu
 - ▶ Retinoblastom – **del(13)(q14)** – **Rb1 gen**
 - ▶ Neuroblastom – **del(1)(p36)**
 - ▶ **Delece genu p53** (17p13) – mnoho nádorů



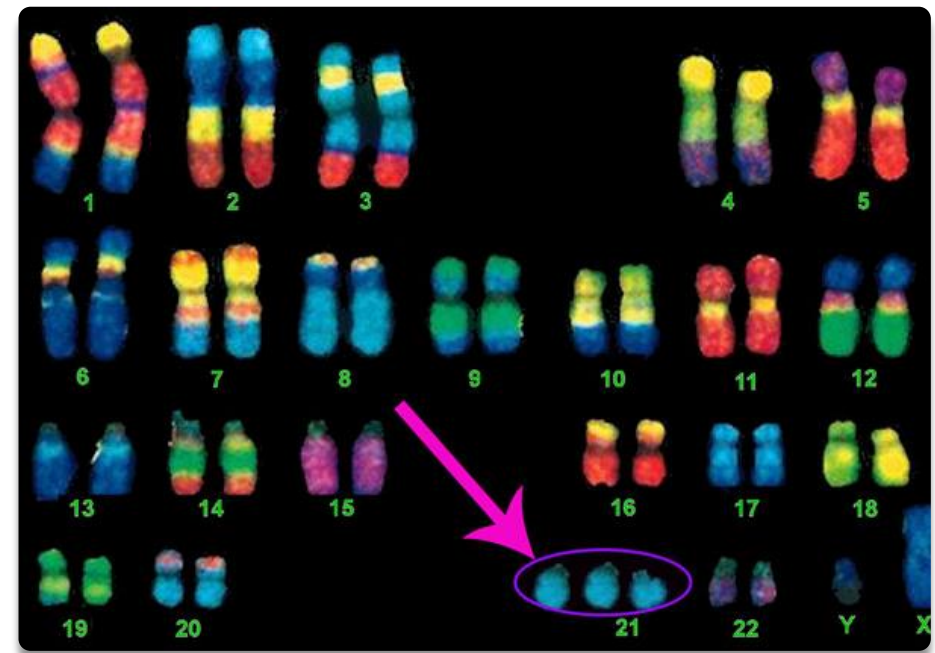
Genomové mutace

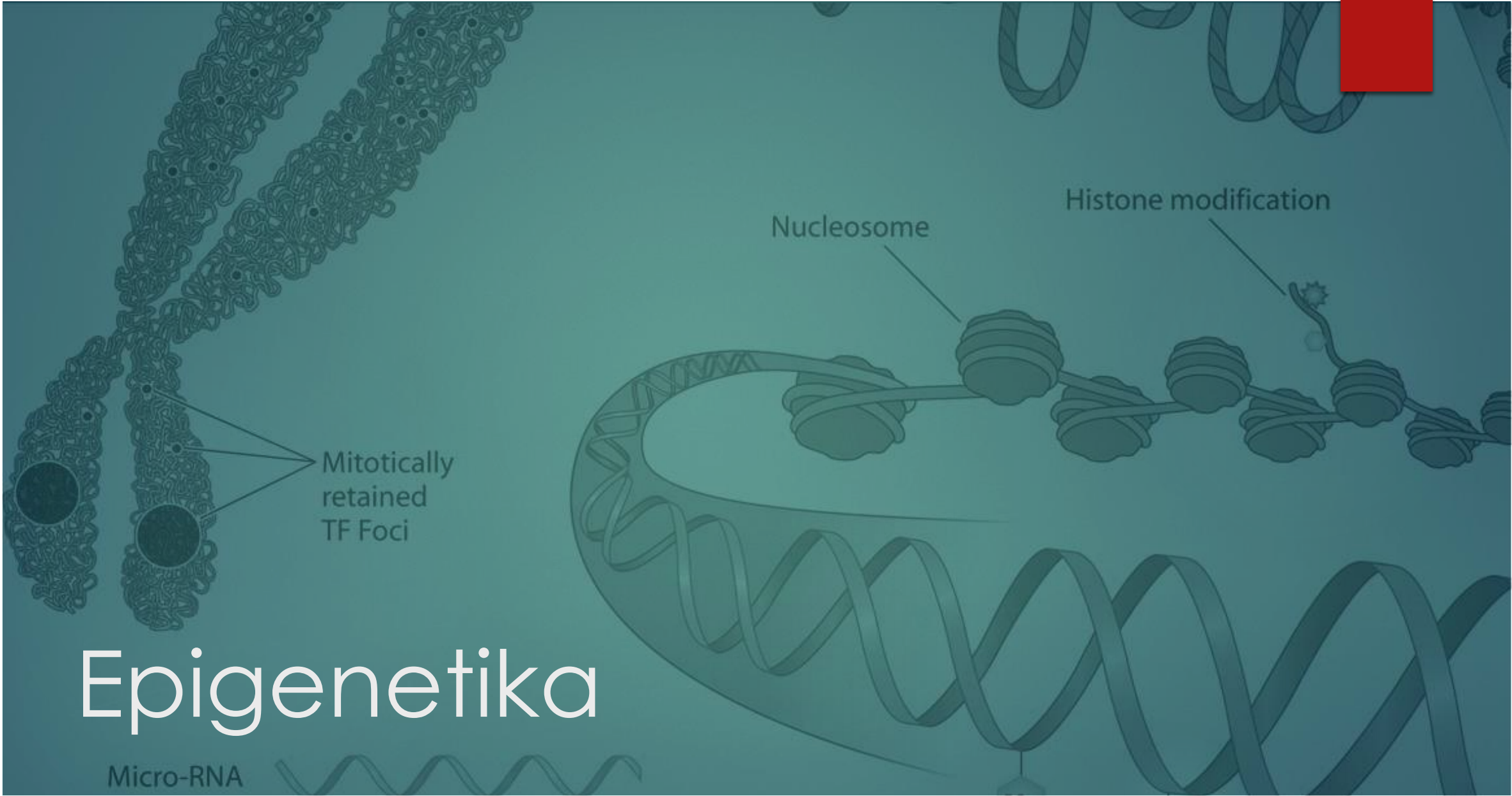
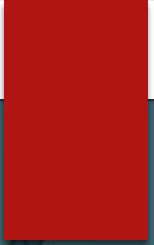
- ▶ Změny v počtu chromozomů
- ▶ Nejrozsáhlejší mutace – celý genom nebo jeho velká část (celé chromozomy)
- ▶ **Polyploidie** – znásobení celé chromozomální sady
 - ▶ Za normálních podmínek jsou vyšší organismy diploidní ($2n$)
 - ▶ Běžná u rostlin, u vyšších živočichů není slučitelná s životem
 - ▶ Polyploidní buňky – příčně pruhované svalstvo (syncytia - mají více jader); hepatocyty – buňky s vysokou metabolickou aktivitou
 - ▶ Nuliplodie – červené krvinky
- ▶ **Aneuploidie** – stav, kdy chybí nebo přebývá pouze některý chromozom
 - ▶ Vzniká při buněčném dělení nondisjunkcí
 - ▶ Normální stav je dizomie
 - ▶ V případě, že jeden chromozom z páru chybí – monozomie
 - ▶ Chromozom daného páru přebývá - trizomie



Nejčastější aneuploidie

- ▶ Vrozené chromozomové aberace a aneuploidie
 - ▶ 20 - 50 % všech počtů
 - ▶ 50 – 60 % abortů v I. Trimestru
 - ▶ 0,56 % živě narozených dětí
- ▶ **Downův syndrom**
 - ▶ Trizomie +21
 - ▶ 33 % der(14;21) – Robertsonovská translokace
- ▶ **Edwardsův syndrom +18**
- ▶ **Patauův syndrom +13**
- ▶ **Klinefelterův syndrom (47,XXY)**
- ▶ **Turnerův syndrom (45,X)**
- ▶ **Syndrom Jacobsové (47,XYY)**



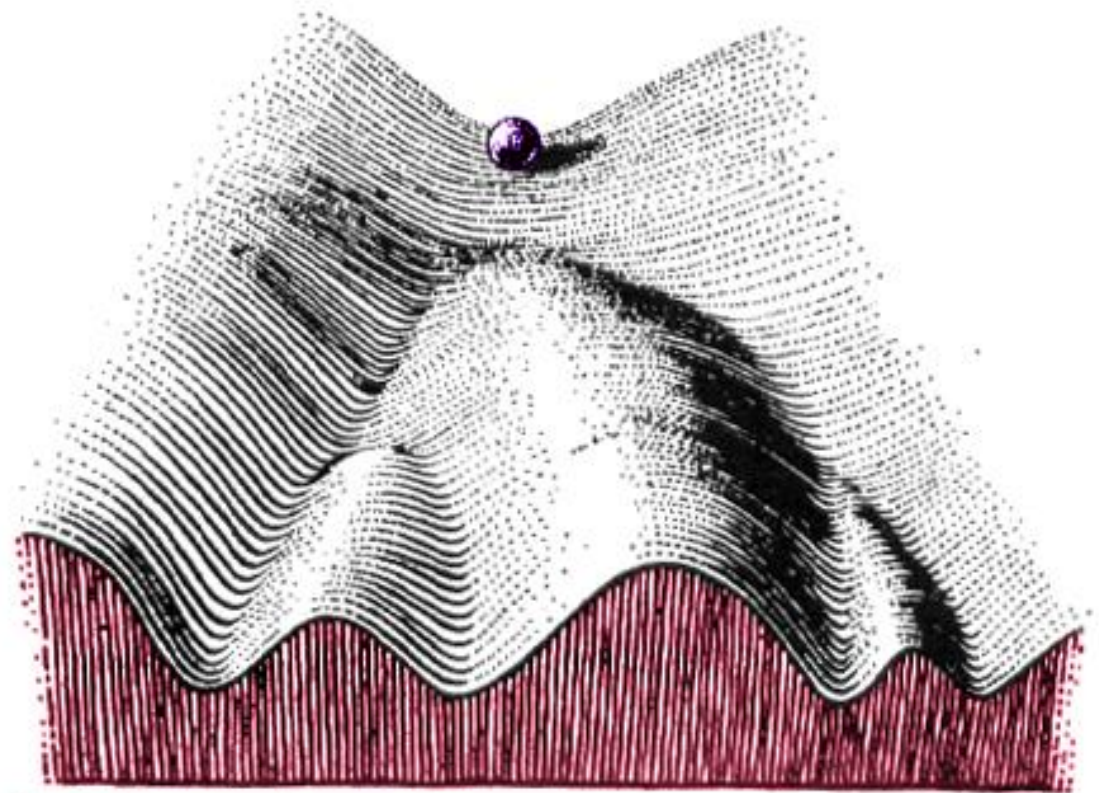


Epigenetika

Micro-RNA

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

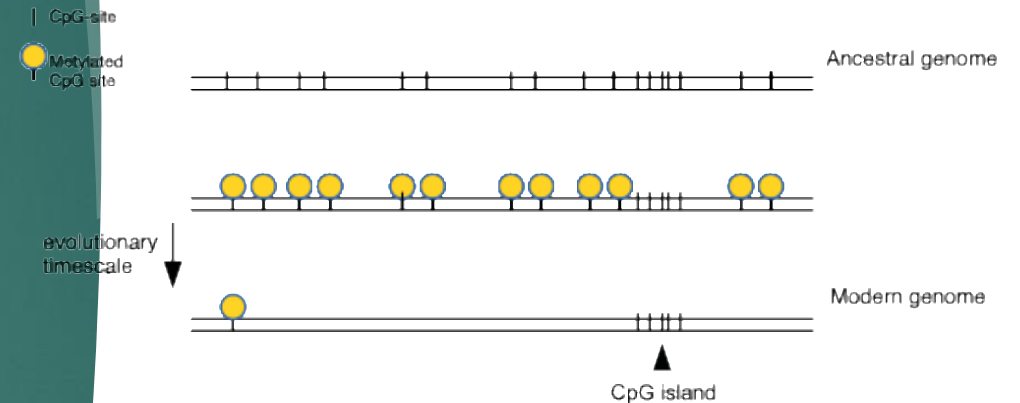


Význam epigenetických procesů

- ▶ 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)

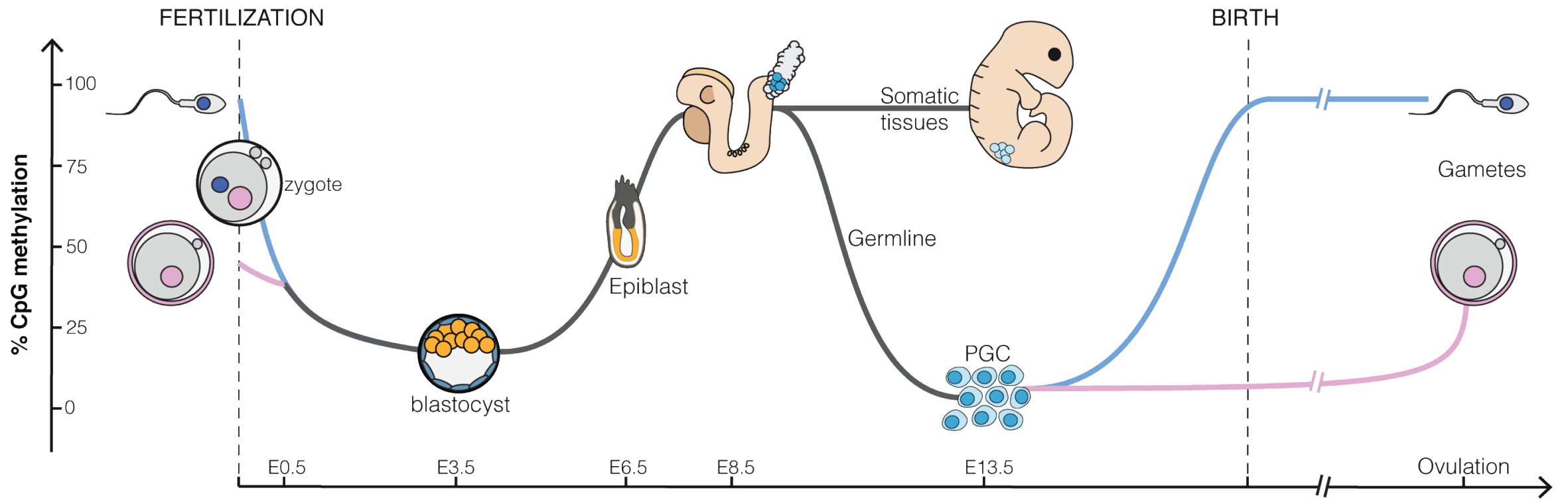
Metylace DNA

- ▶ 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 5-mC 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)



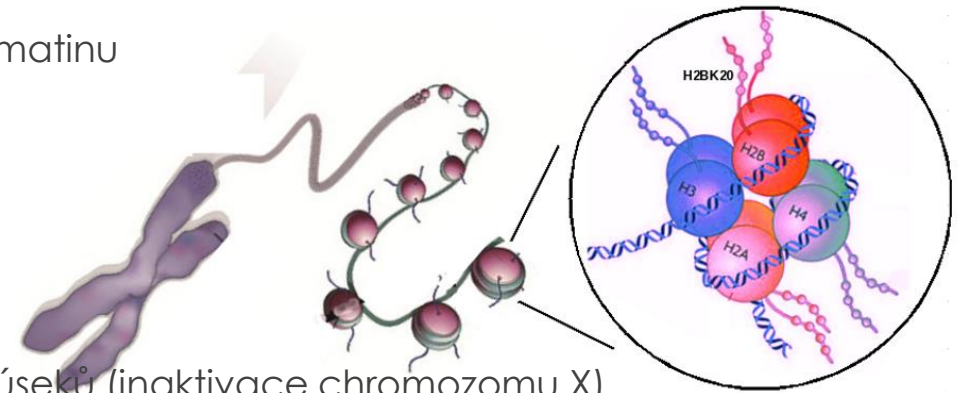
Metylace DNA během vývoje

- ▶ Během vývoje dochází k výrazným cyklickým změnám metylace.
 - ▶ Rozsáhlá demethylace primordiálních zárodečných buněk, a teprve při zrání gamet dochází k prudkému nárůstu aktivity DNA-metyltransferáz i stupně metylace 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 časně embryogeneze



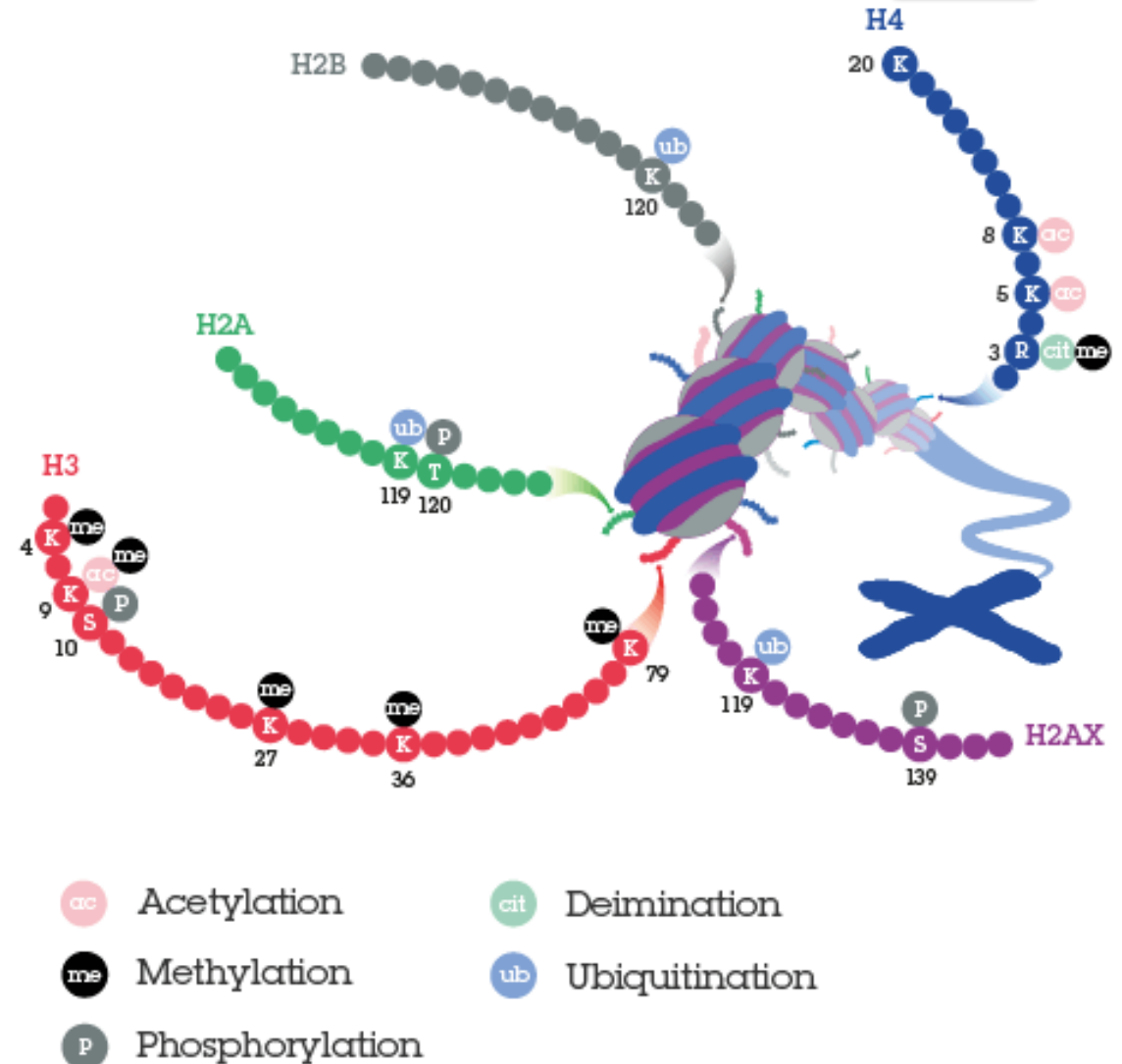
Histonové modifikace – struktura chromatinu

- ▶ 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 chromozomu 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 aminoterminální konce vyčníhající 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 deacetyláze, 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

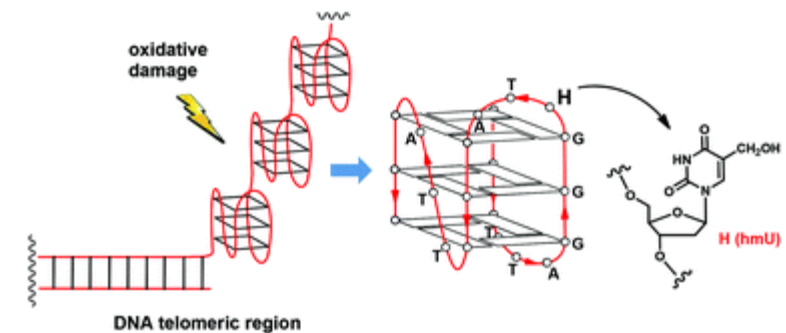


Acetylace histonů

- ▶ 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

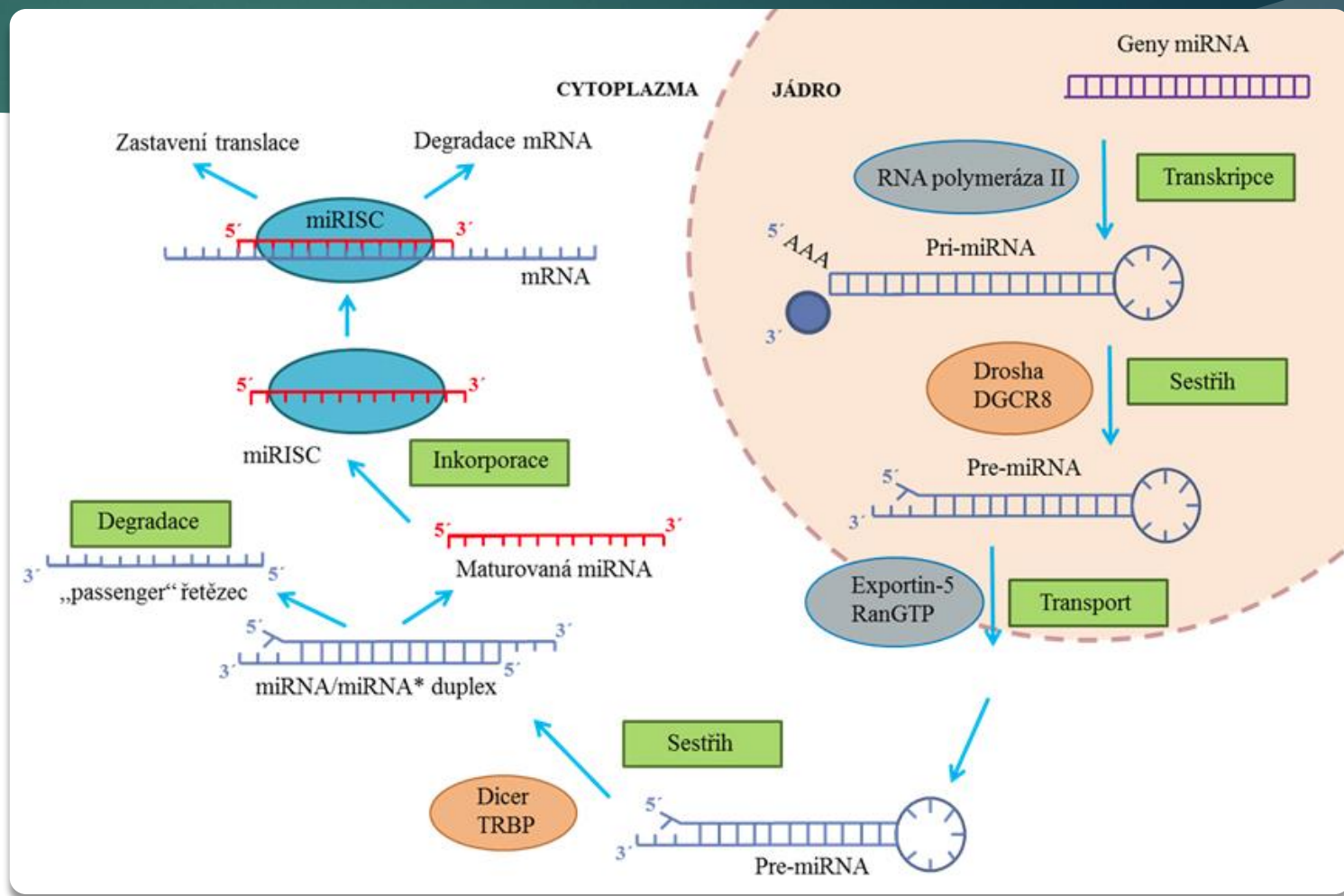
Telomery

- ▶ repetitivní sekvence na konci chromozomů, bohaté na G
- ▶ role v buněčném cyklu – zkracování telomer je znakem stárnutí
- ▶ telomeráza – enzym schopný prodlužovat telomery, aktivní v zárodečných a nádorových buňkách
- ▶ zkrácení telomer „až na dřev“ → konec dělení
- ▶ selhání „kontrolního bodu“ → nádorové riziko
- ▶ epigeneticky – heterochromatin – poziční efekt



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



Variabilita
geneticko-
genealogických
variant
demonstrována
na medvídčích

