

# Genetická podmíněnost nemocí

Podstata dědičnosti

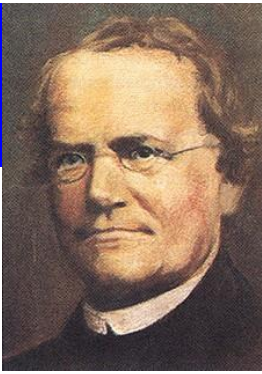
Genetická variabilita  
(mutace × polymorfismus)

Monogenní × komplexní nemoci

**Mgr. Jolana Lipková, Ph.D.**



# Johan Gregor Mendel



*Jednotky dědičnosti se nemísí, jsou materiální povahy, párové, předávají se z generace na generaci  
Při pohlavním rozmnožování se může z každého rodiče přenést na jeho potomka vždy  
pouze jediná alela z páru.*

- **1. Mendelův zákon**

**Zákon o uniformitě F<sub>1</sub> hybridů a identitě reciprokých křížení**

*Při vzájemném křížení 2 homozygotů vznikají potomci genotypově i fenotypově jednotní. (ušní lalůčky přisedlé f a volné F)*

- **2. Mendelův zákon**

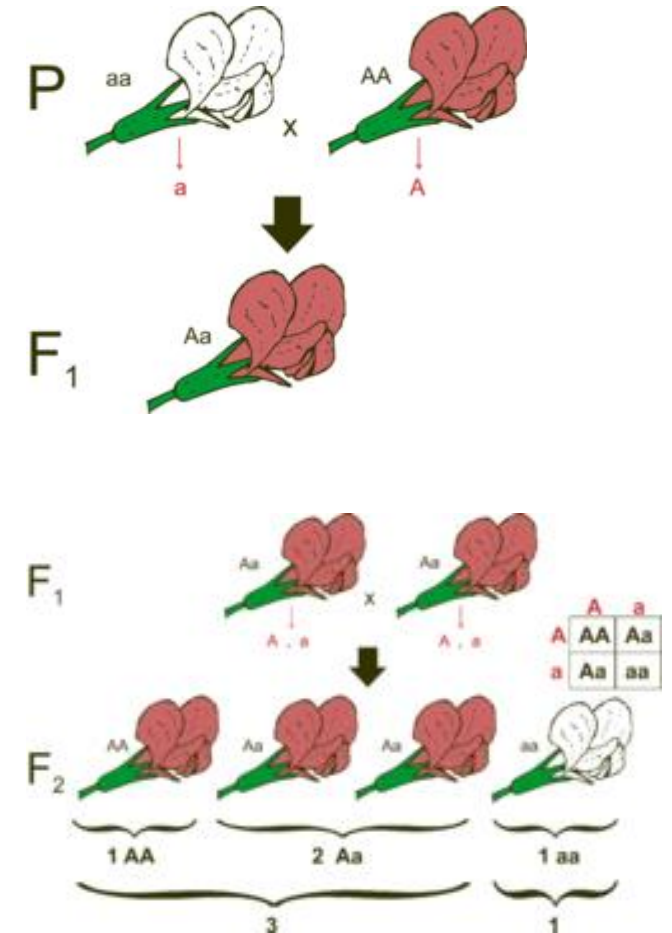
**Zákon o náhodné segregaci genů do gamet**

*Při křížení 2 heterozygotů může být potomkovi předána každá ze dvou alel (dominantní i recesivní) se stejnou pravděpodobností. Při křížení heterozygotů lze genotypy a fenotypy vzniklých jedinců vyjádřit poměrem malých celých čísel. Vzniká genotypový a fenotypový štěpný poměr.*

- **3. Mendelův zákon**

**Zákon o nezávislé kombinaci alel**

*Vzájemným křížením polyhybridů (vícenásobných heterozygotních hybridů) vzniká genotypově i fenotypově nejednotné potomstvo s tolika kombinacemi genů, kolik je možných matematických kombinací mezi dvěma matematickými veličinami.*

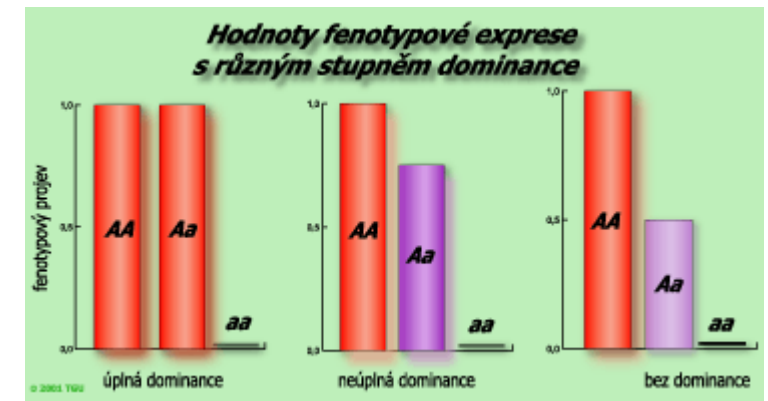
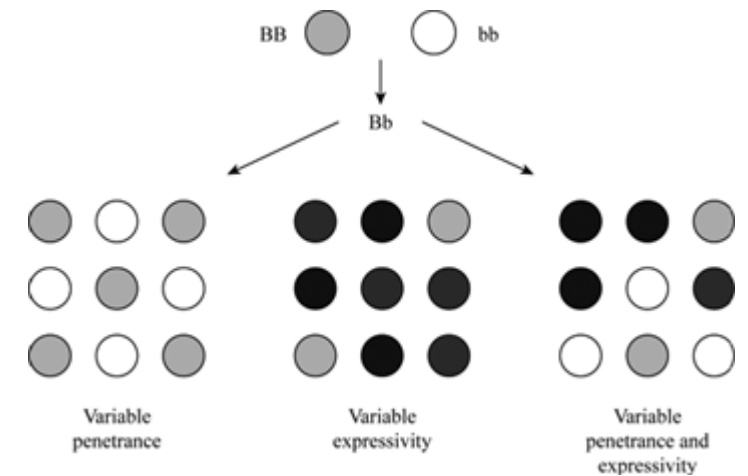


# Podmínky nutné pro platnost Mendelových zákonů

1. Zákony platí pro znaky kvalitativní, dědičnost jednoho znaku je řízena 1 genem, bez **genové interakce**
2. Geny nesmí být na **pohlavních chromozomech a semiautonomních organelách**
3. Mezi dvěma geny nesmí existovat **genová vazba**
4. Všichni jedinci i jejich gamety musejí mít shodnou **životnost**

## Odchyly od Mendelových zákonů

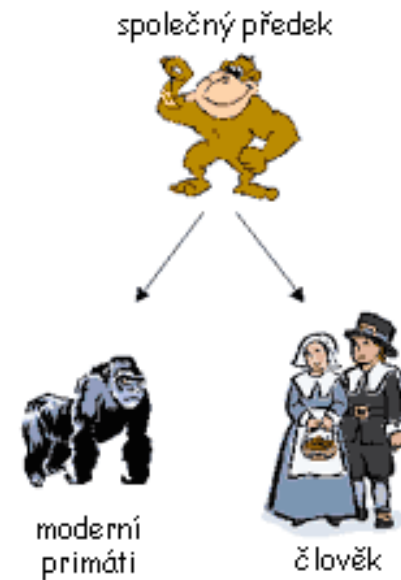
- Letalita, snížená vitalita (vitální-subvitální-semiletální-letální) *Huntington.chorea-dom.hom-abort*
  - Snížená penetrance (*polydaktylie*)
  - Odlišná expresivita
  - Dědičnost vázaná na pohlaví
  - Vazba genů
  - Genové interakce
    - epistáze - potlačují (*Hh, fenotyp Bombai-hh epistatický nad AB, AB+hh-0*)
    - inhibice
    - komplementarita (alespoň 2 dom. alely)
    - duplicita -jeden znak -různé geny, k jeho vyjádření stačí jediná dominantní alela
    - mnohonásobný alelismus -polymorfní geny (*ABO, HLA*)
    - kodominance alel - krevní skupiny
    - superdominance -heterozygot má vyšší fenotyp hodnotu než oba homozygoti (heteroza)
    - pleiotropie - jeden gen více znaků (*metabolické řetězce*)
  - Polygenní dědičnost
  - Mitochondriální dědičnost (cytoplazmatická dědičnost)-maternální efekt
  - Genový imprinting (transkripce pouze jedné alely)
  - Dynamické mutace (amplifikace opakování tripletů)
  - Strukturní balancované chromozomální aberace
- 3 Epigenetika



# Genetika

specializovaný biologický obor zabývající se variabilitou a dědičností

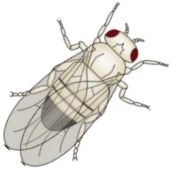
- **klinická genetika**
  - zabývá se genetikou patologických stavů
  - zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (u celé rodiny!)
  - genetické poradenství
- **lidská genetika**
  - studuje variabilitu a dědičnost u člověka
- **cytogenetika**
  - studium chromozomů
- **molekulární genetika**
  - studium struktury a funkce jednotlivých genů
- **populační genetika**
  - studium proměnlivosti populací
- **komparativní a evoluční genetika**
  - mezidruhové srovnání a studium evoluce druhů



# Genomika



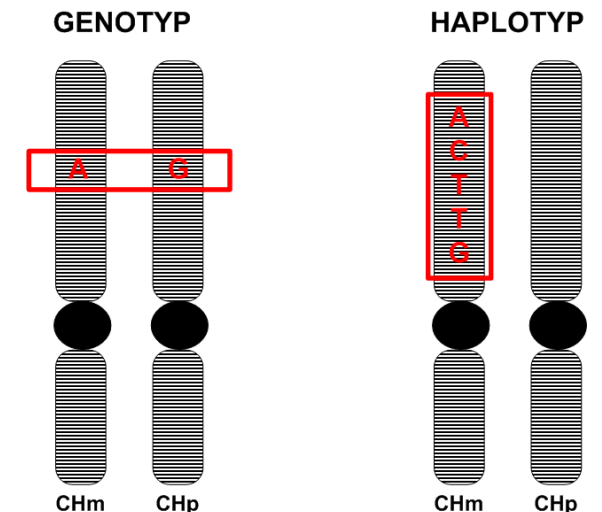
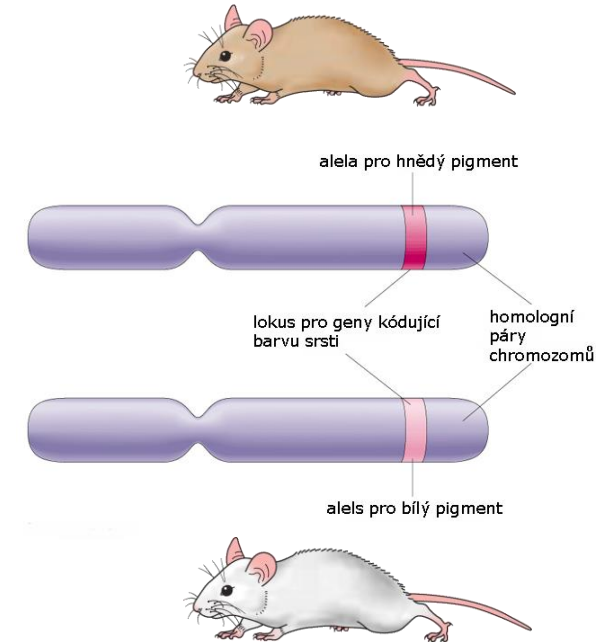
- studuje strukturu a funkci genomů pomocí genetického mapování, sekvenování a funkční analýzy genů
- snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
- **strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
  - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů 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** (kvasinka, 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**)
  - **transkriptomika**      **proteomika**      **metabolomika**      **toxikomika**
- **bioinformatika** = shromažďování, analýza a vizualizace biologických souborů dat
  - využívá metod výpočetní techniky, tvorba databází a softwarů



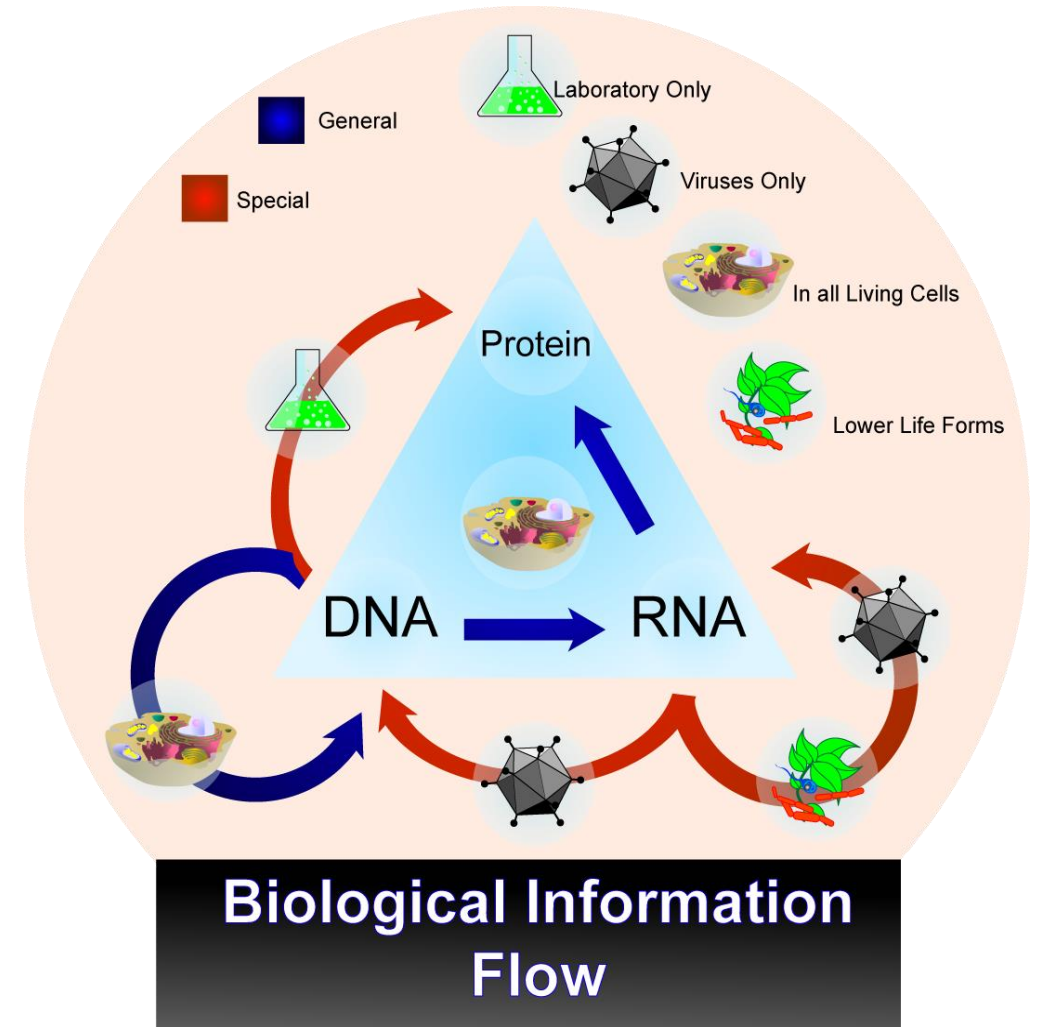
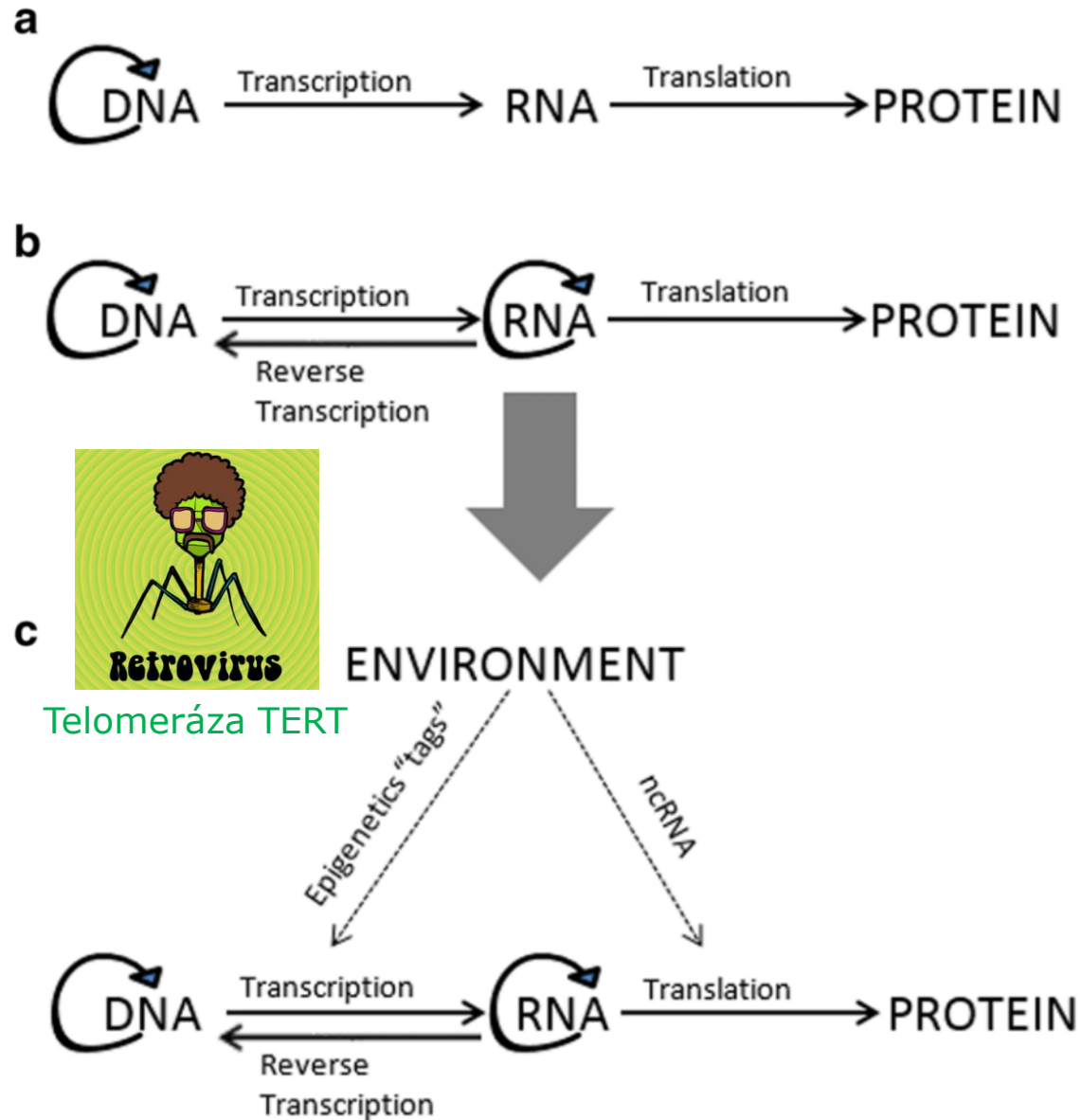
# Základní genetické pojmy

## gen, alela (rec/dom), lokus, homozygot, heterozygot, genotyp, fenotyp

- **gen** – základní jednotka dědičnosti
  - **genové rodiny**
    - sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce
      - např. geny pro hemoglobiny, imunoglobuliny, některé enzymy, ...
  - **pseudogeny**
    - podobné konkrétním genům ale nefunkční
- každý gen je umístěn na konkrétním místě konkrétního chromozomu = **lokus** (např. 12q21.5)
  - lokalizace genů je u všech lidí stejná, sekvence ale ne!
- **alela** – konkrétní varianta genu
  - v populaci se pro naprostou většinu genů vyskytuje vícero variant (= alel), které mohou být různě časté = **genetický polymorfismus**
- **genotyp** – kombinace alel v určitém lokusu na paternálním a maternálním chromozomu diploidního genomu
- **haplotyp** – lineární kombinace genů/alel na jenom z homologních párů chromozomů-které jsou ve vazbě a jsou tudíž preferenčně předávány rodiči potomkům pohromadě (výjimečně dochází k rekombinaci)
- **fenotyp** – vnější projev (vyjádření) genotypu
  - znak – jednoduše měřitelná, většinou spojitá proměnná
  - fenotyp – sbor znaků
  - intermediární fenotyp – podobný znaku, ne vždy musí být spojitý



# Molekulárně biologické dogma

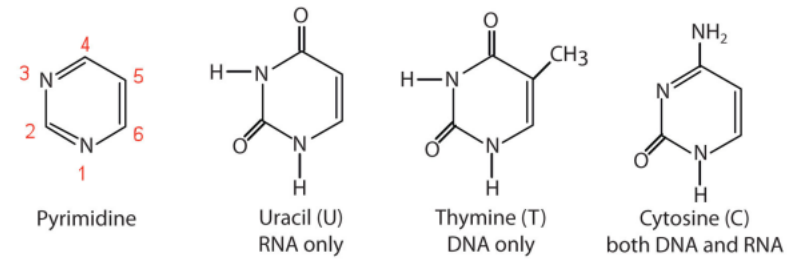


# Nukleosid × nukleotid × báze × DNA

Nukleotidy = základní stavební kameny NA

## A) Nukleová báze

- Puriny – adenin (A); guanin (G)
- Pyrimidiny – cytosin (C); thymin (T - DNA); uracil (U - RNA)

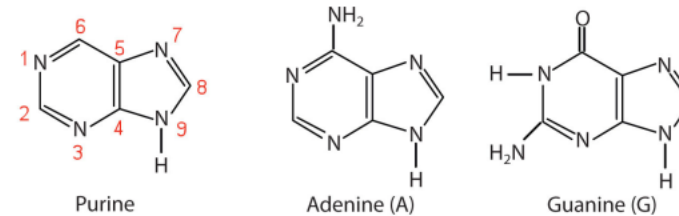


## B) Nukelosid

- Nukleová báze + pentóza (ribóza; deoxyribóza)
- N-glykosidická vazba

## C) Nukleotid

- Fosforylovaný nukleosid



Další funkce

## Skladování a přenos energie

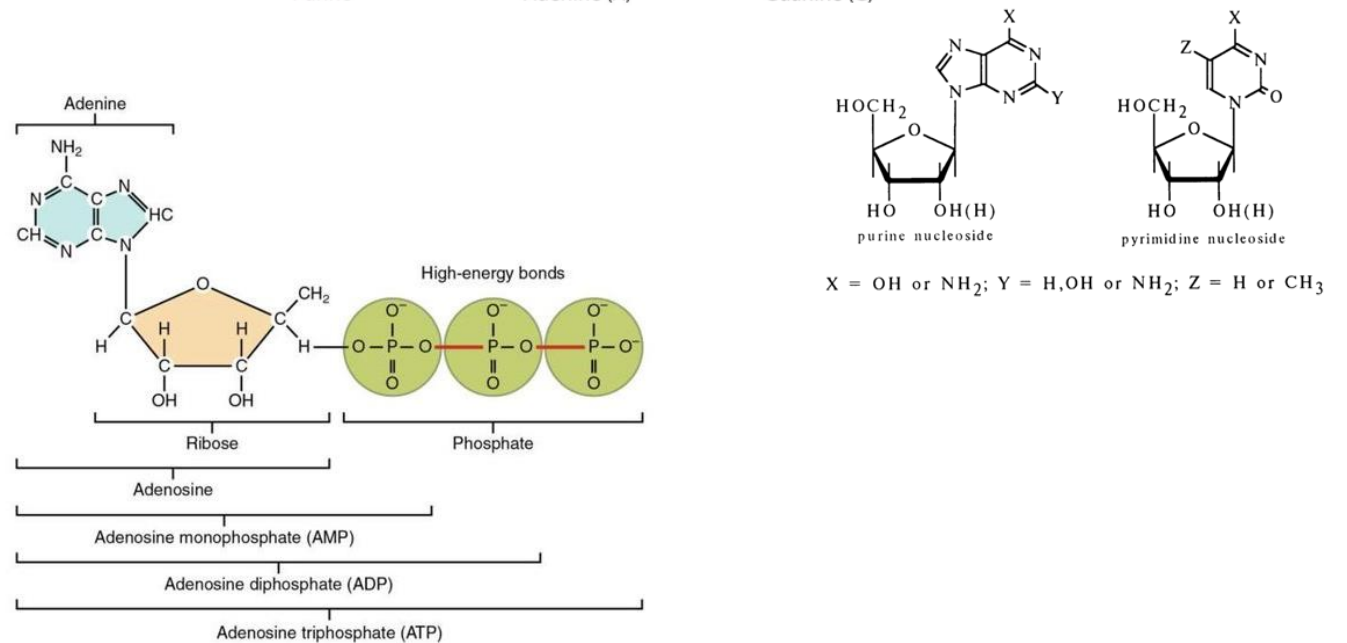
- Hydrolýza fosfoanhydridové vazby
- Většina ATP je intracelulární

## Signální molekuly

- Intracelulární signalizace
- Např. cAMP a cGMP (second messenger)

## Koenzymy

- 8
- Např. Koenzym A







# Gen

- **Genes that encode a single protein** - hemoglobin gene HBA and HBB.
- **Genes that encode many proteins**  
"A single fruit fly gene can encode 38,000 types of different proteins."
- **Non-protein coding genes** – gene regulation

Podle funkce:

**Housekeeping genes:** code protein products for transcription, translation and replication.

**Inducible genes:** remain inactive, expressed under the influence of extrinsic factors.

**Developmental genes:** help in the early stage of the growth and development of organisms.

**Tissue-specific genes:** express only in some type of tissue, remains inactive in other types of tissues.

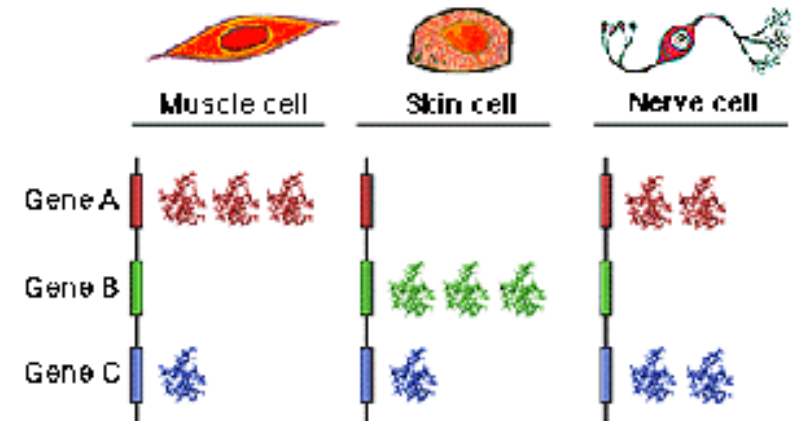
**Homologous genes:** inherited from a common ancestor, share a common function and have sequence similarities are categorized into homologous genes.

**Non-homologous genes:** not inherited from a common ancestor instead, it is originated due to some evolutionary forces are known as non-homologous genes.

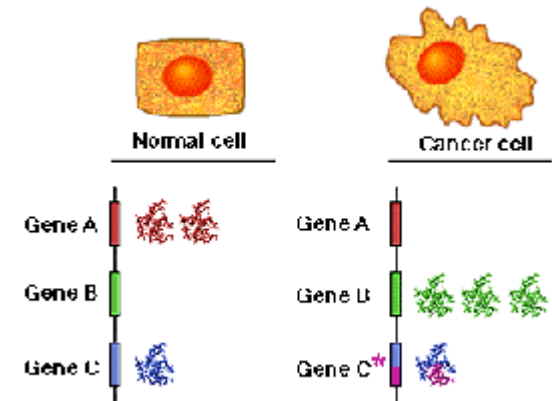
**Autosomal genes:** genes located on autosomal chromosomes are categorized into autosomal genes

**Sex-linked genes:** Genes located on the X or Y chromosome (in humans) or on sex chromosomes are classified in this category. These genes are very crucial for the reproductive health of a person.

Cells and Gene Expression



Gene Expression and Cancer



# Struktura genu

**Místo počátku transkripce:** místo kde začíná syntéza mRNA (pozice 0, -30bp od TATA boxu) .

**Promotor:** Oblast genu (5'-konec) upstream od místa počátku transkripce sloužící jako templát pro navázání transkripční jednotky a iniciaci transkripce. **Inducibilní promotor** – je závislý na přítomnosti induktoru (nízkomolekulární látka). **Konstitutivní promotor** – nezávislý (provozní „house keeping“ geny).

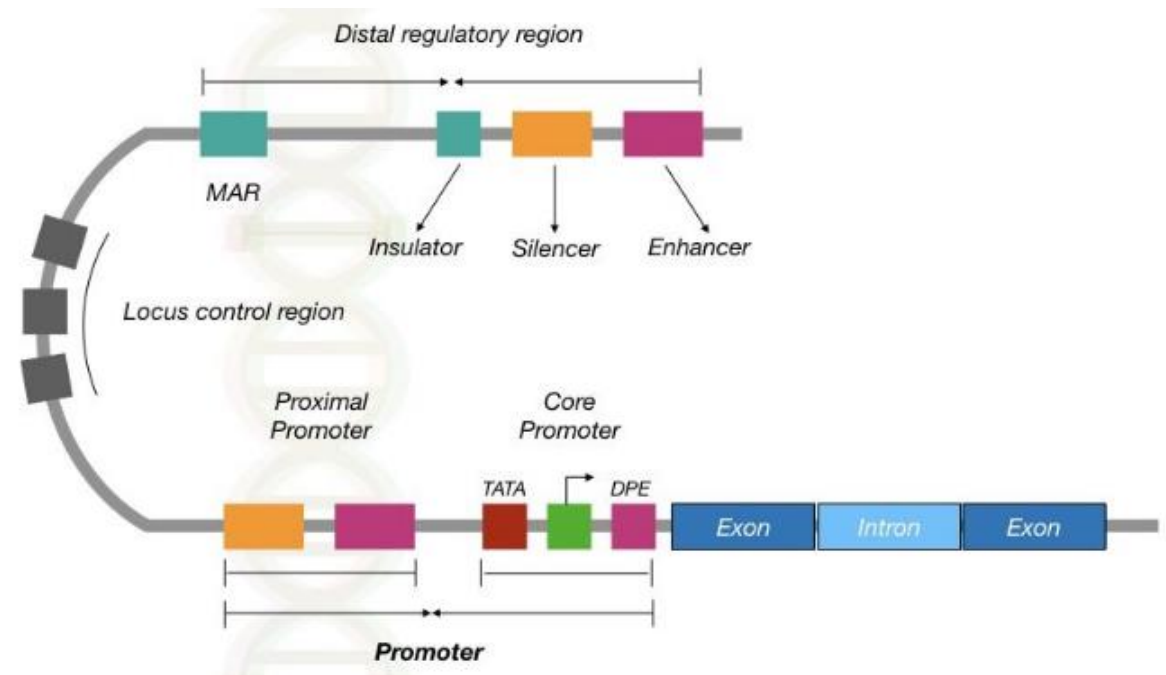
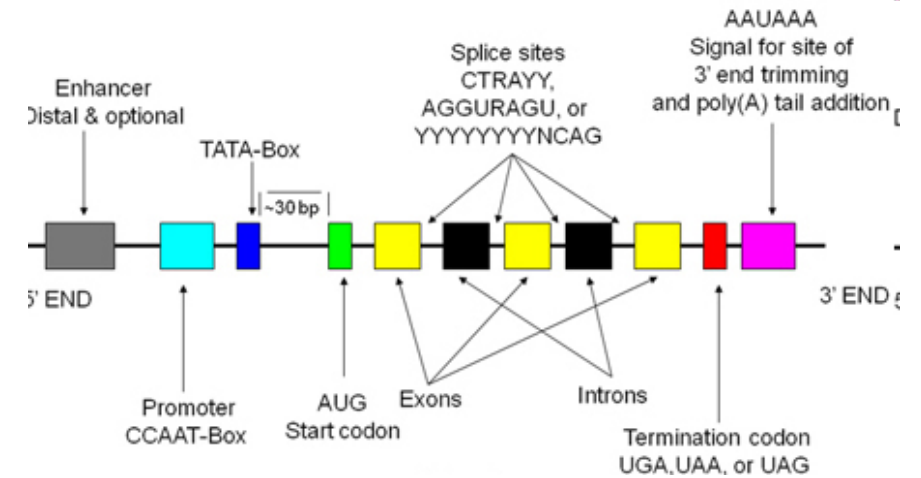
**Enhancer:** Část sekvence genu která interaguje s transkripčními faktory a tak zvyšuje účinnost transkripce. Je umístěna upstream nebo downstream od kódující sekvence a může být stovky bází daleko od kódující sekvence kterou kontroluje.

**Silencer:** Opak enhanceru.

**Transkripční faktory:** Proteiny interagující se specifickou sekvencí DNA, většinou ovlivňující terciální strukturu DNA a tak regulují transkripční jednotku. Jsou buď aktivátory nebo represory viz výše.

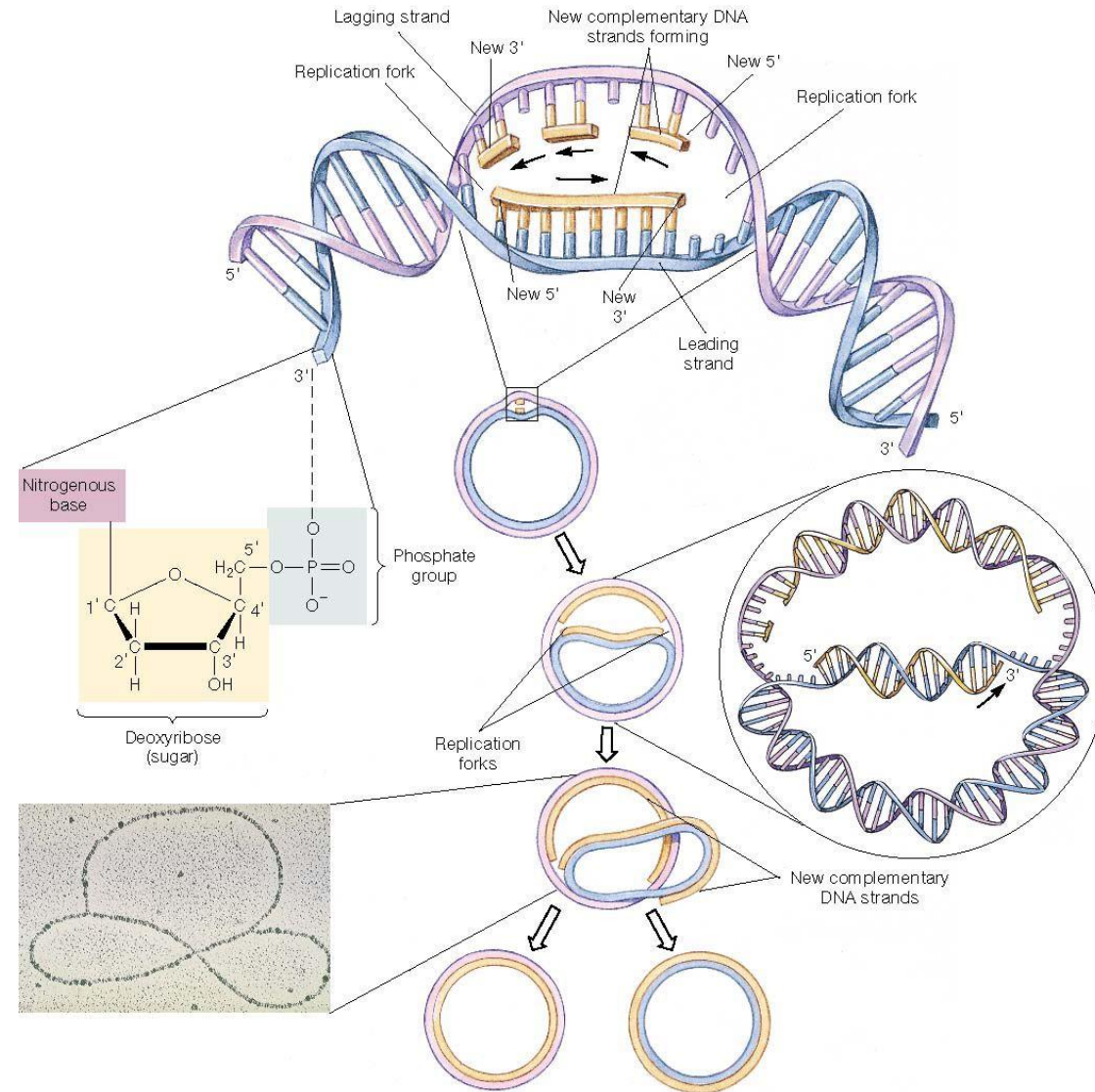
**Koaktivátory:** Proteiny interagující s transkripčními faktory (ale ne s DNA) regulující transkripci.

**Signální sekvence:** kóduje signální peptid, který předurčuje zacílení proteinu na buněčné úrovni a následně se odštěpuje.

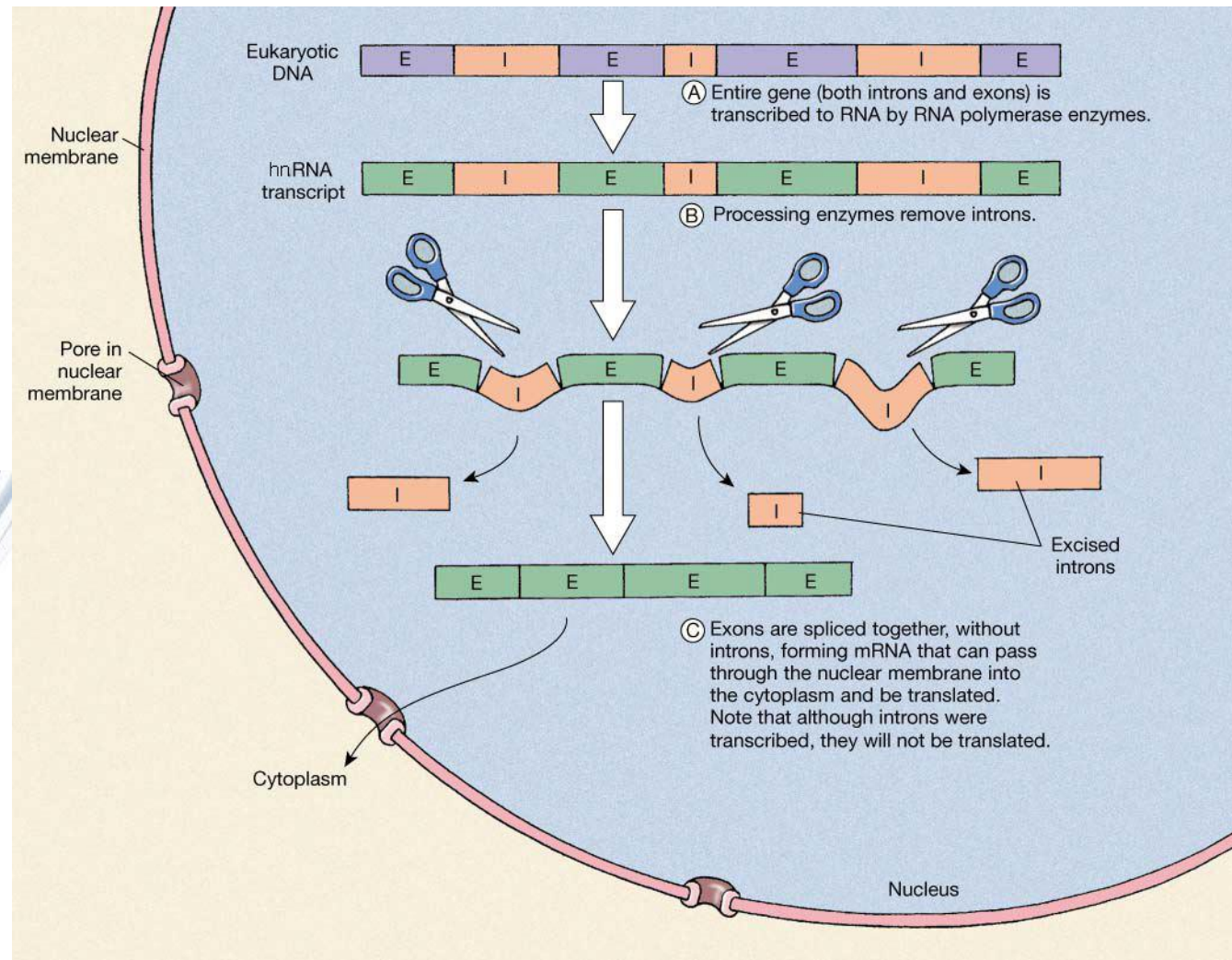
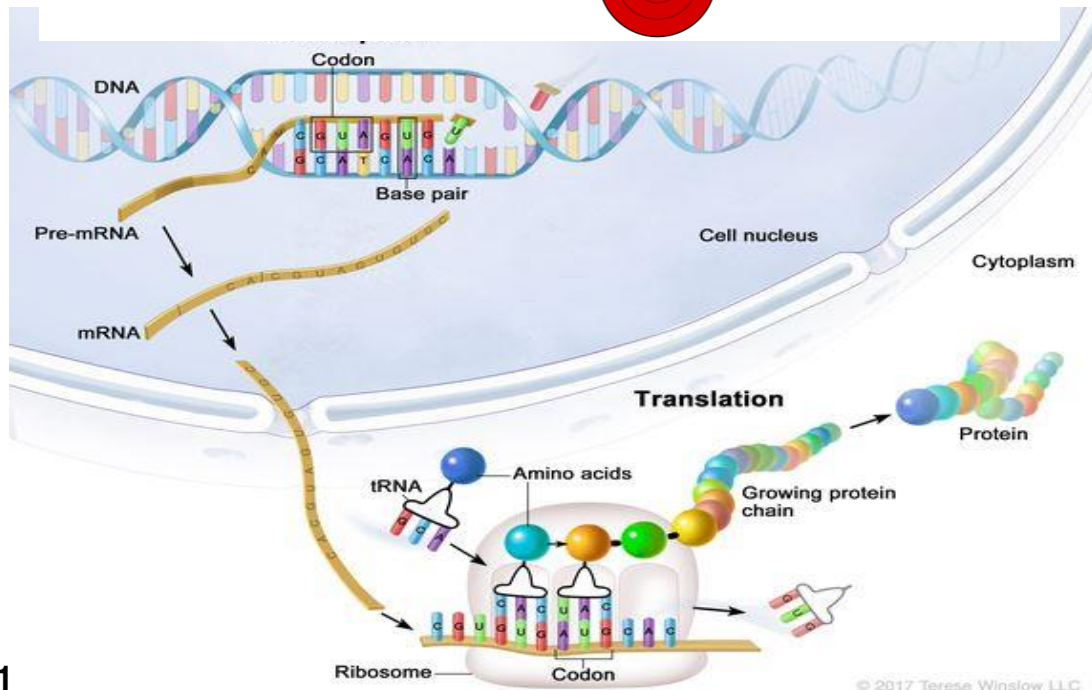
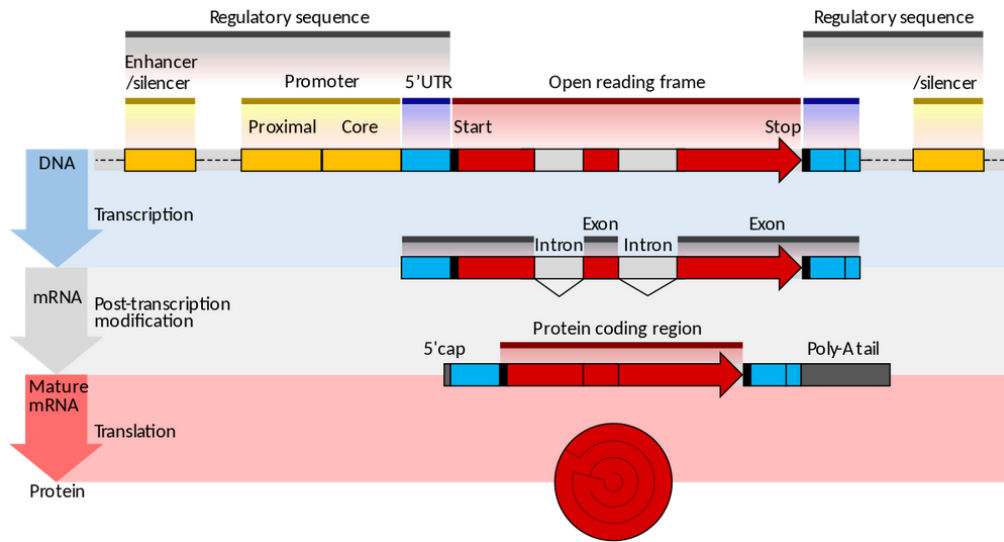


*Life originated from a common ancestor thus the **chemical structure of genes is almost similar in prokaryotes and eukaryotes.** However, the **regulatory sequence elements, transcription and translocation machinery differ.***

# DNA replikace



# Transkripce- RNA „splicing“

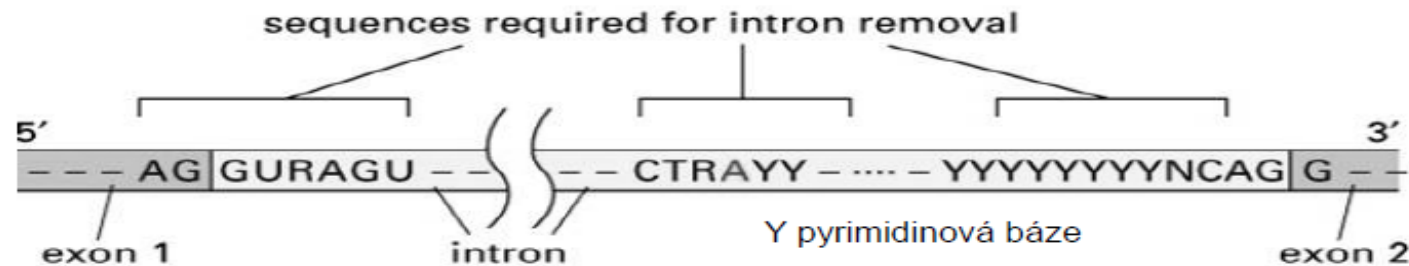


# Posttranskripční úpravy mRNA



## Postranskripční úpravy mRNA

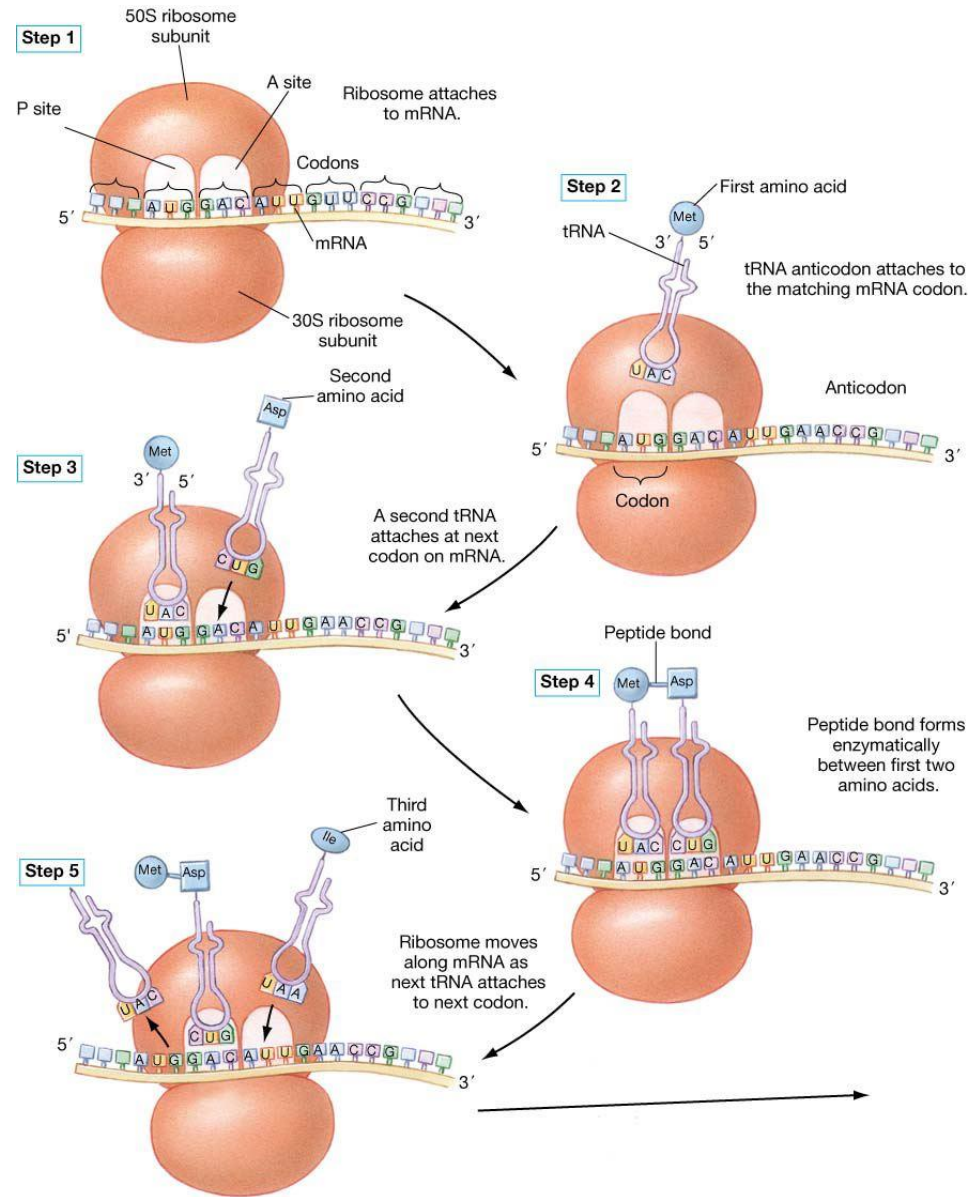
- **Čepička (capping).** modifikovaný guanozin ( $m^7G$ ) je přidáván na 5'-konec většiny mRNA. Stabilita mRNA a podílí se na vazbě k ribozomu.
- **Polyadenylace.** 100-200 bp dlouhá sekvence polyadenozinu je přidávána na 3'-konec většiny eukaryotické pre-mRNA. PolyA konec není kodován v DNA.
- **Sestřih intronů a exonů.** introny jsou vyštěpeny a exony spojeny dohromady ve struktuře zvané spliceozom.



The structure of a typical human protein coding mRNA including the untranslated regions (UTRs)



# Translase

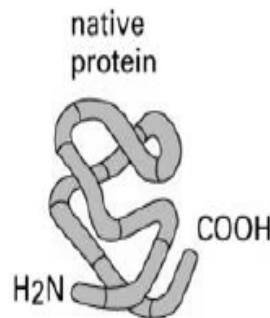


# RNA - protein

- **Translace** (syntéza proteinů): Translace je proces přeměny informace z RNA do aminokyselinového řetězce (polypeptidu) probíhající v cytoplasmě. Zralá mRNA je transportována do cytoplasmy k ribozomům (mnohdy vázané na endoplasmatickou retikulární síť).
- **Ribozóm** se skládá ze strukturní rRNA a 80 různých proteinů, které tvoří malou a velkou podjednotku.
- **Iniciace**: Zachycení mRNA a nalezení start kodonu **AUG**, který koduje methionin.  
*(M je odštěpen během postranslačních úprav nebo společně se signálním peptidem)*
- **Elongace**: Přidávání různých AK v aktivované formě vázané na tRNA a vytváření peptidové vazby mezi amino a karboxylovou skupinou.
- **Terminace**: STOP kodón (**UAA, UAG nebo UGA**)

## Posttranslační úpravy:

- Fosforylace, glykosylace, organelové cílení a odštěpení signálního peptidu, složení do aktivního stavu (vytvoření terciální a kvartérní struktury).



1 gen -1 protein

## Geny kódující více proteinů:

Alternativní sestřih

Různé čtecí rámce

Různá místa iniciace a terminace

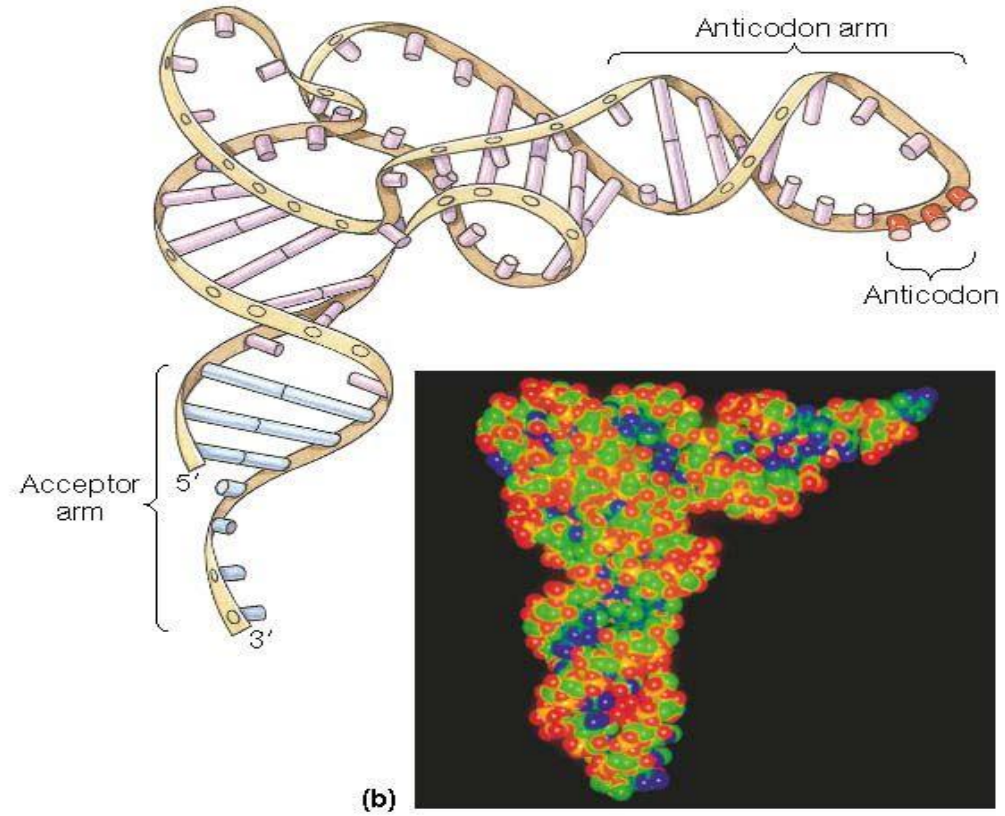
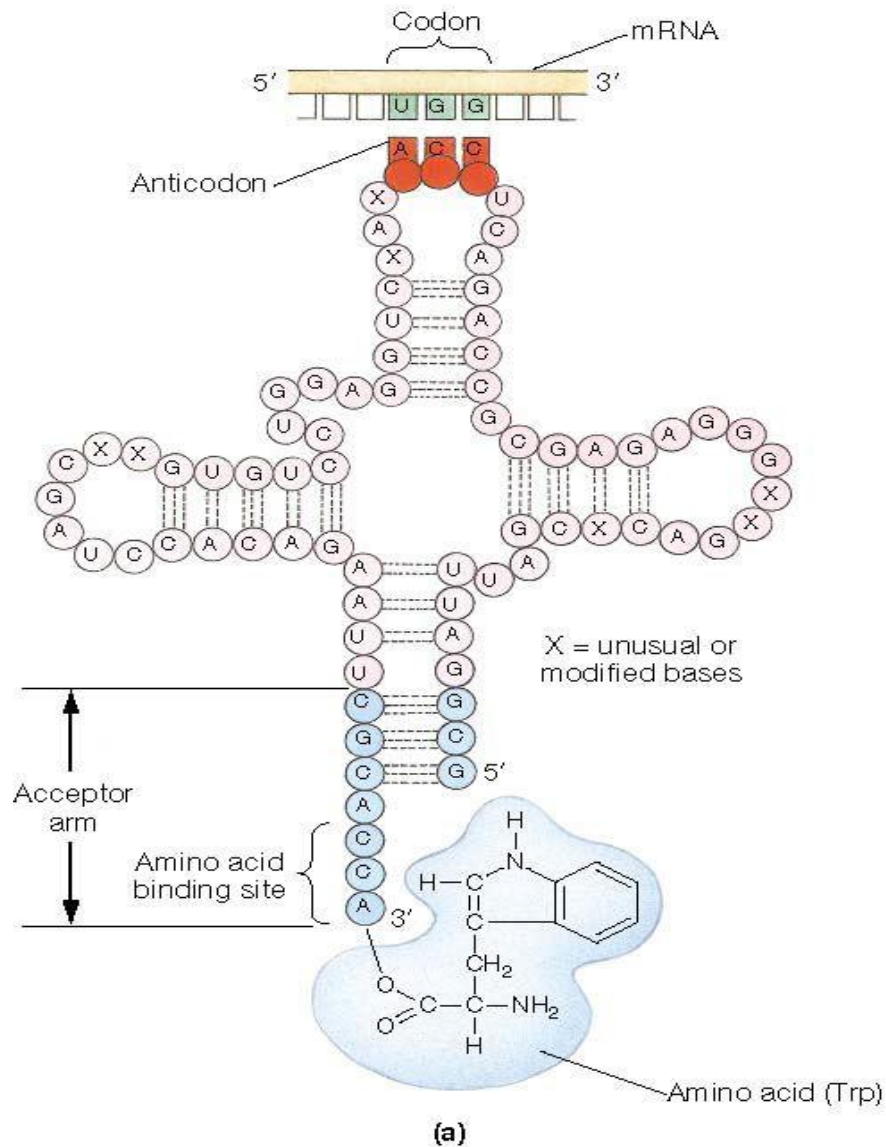
Přeskok v čtecím rámci

Epigenetika

1 protein - potřebný pro více biolog. procesů  
1 biologický proces - více proteinů



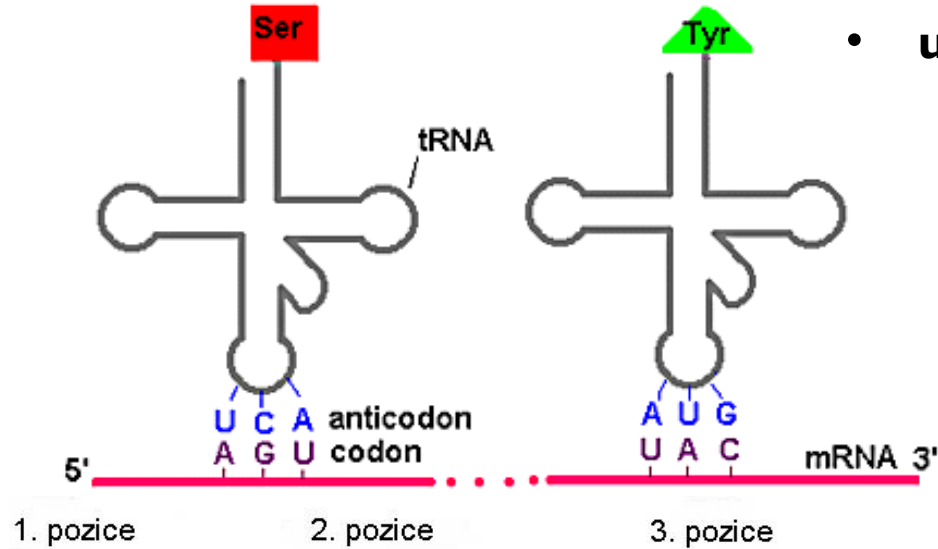
# Translase – detail tRNA / AK



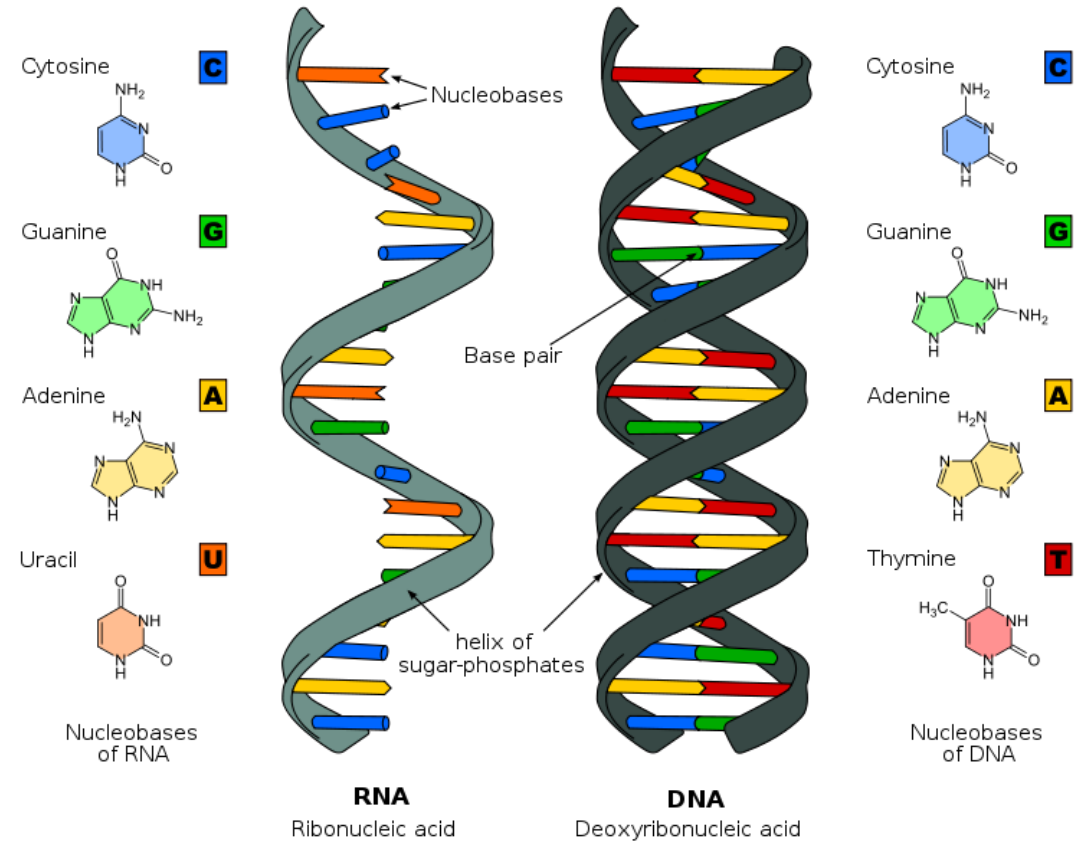
# Genetický kód

- určuje pořadí AK v proteinu

- Univerzální - podobný princip u většiny živých organismů
- Tripletový - trojkombinace z celkem 4 nukleotidů (A, C, G, T)
- Degenerovaný -  $4^3 = 64$ , ale aminokyselin jen 21



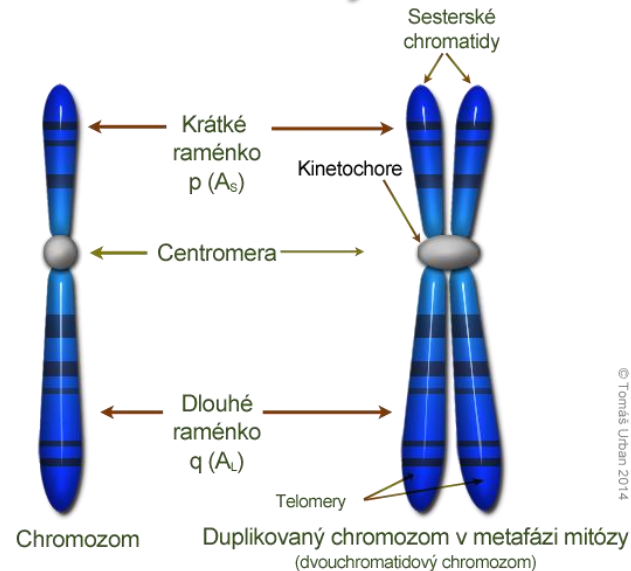
	U		C		A		G		
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G



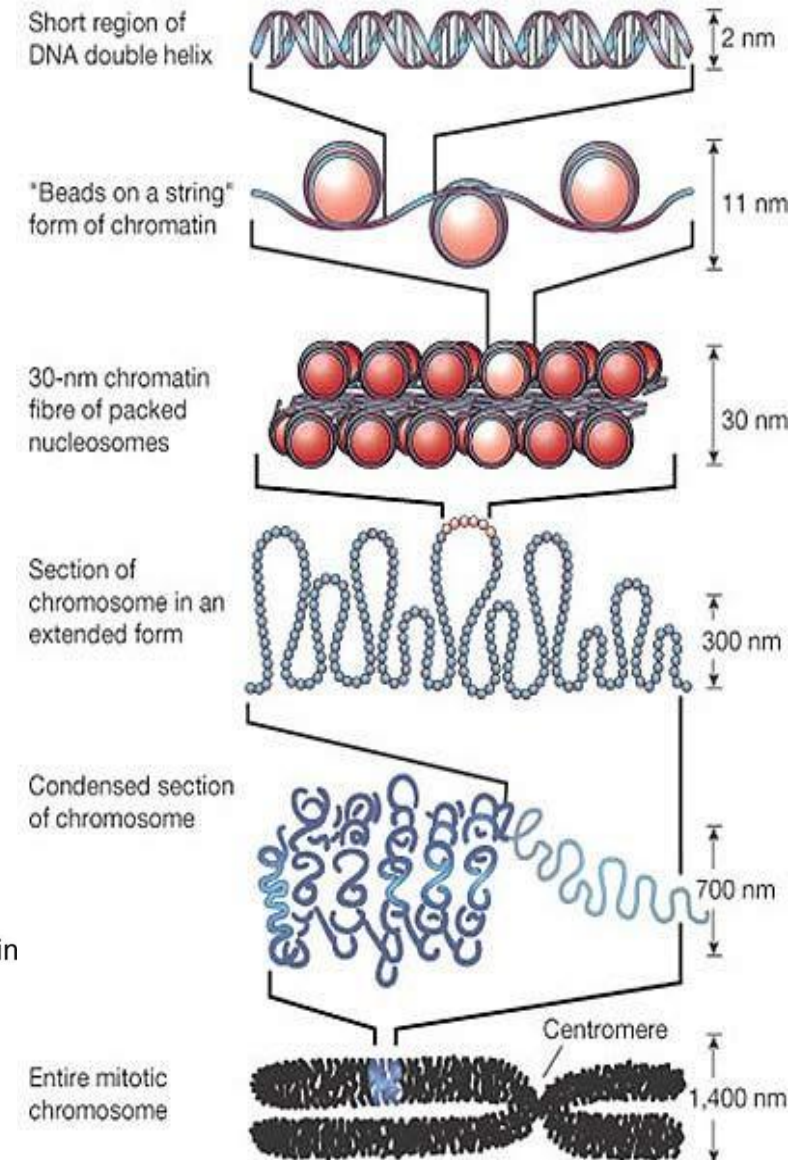
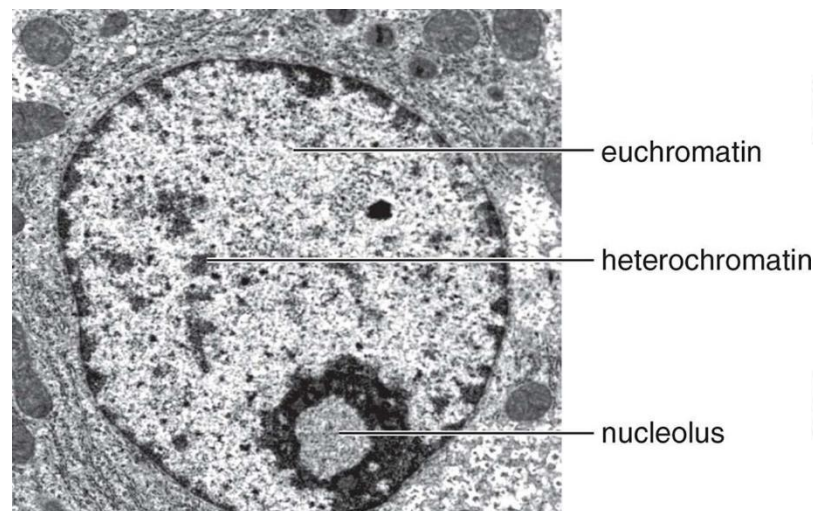
# Chromatin × chromatida × chromozom

- DNA je organizována v **chromozomech**
  - **chromatin** + chromozomální proteiny (histony)
- chromozom = lineární sekvence genů přerušovaných nekódujícími úseky
- **v nedělí** se buňce je chromatin rozprostřen volně v jádře
- **u dělí** se organizuje do viditelných chromozomů
- struktura chromozomu
  - centromera
  - telomery (raménka)
    - dlouhé - q
    - krátké - p
- dvě kopie daného chromozomu po replikaci (před dělením) = sesterské chromatidy
- **heterochromatin** (konstitutivní a fakultativní)
- **euchromatin**

## Submetacentrický chromozom

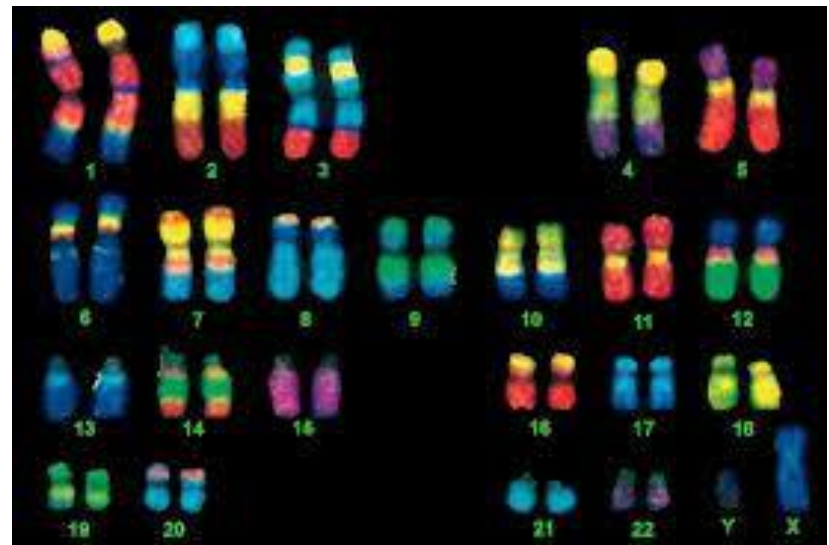
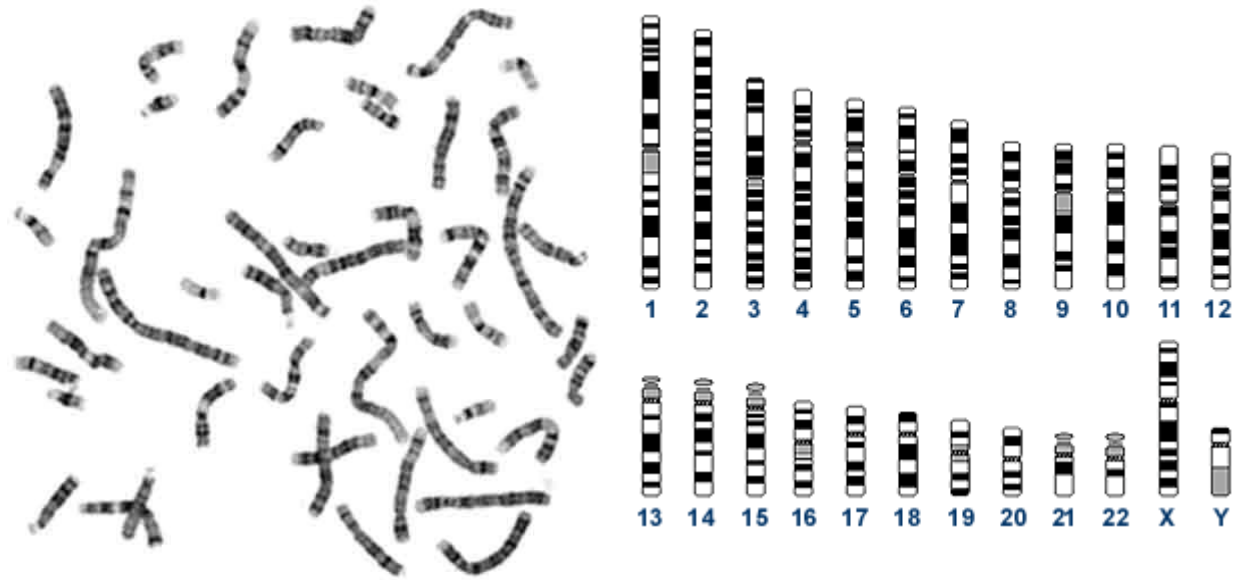


© Tomáš Urean 2014



# Karyotyp člověka

- každý biologický druh má svou charakteristickou chrom. výbavu (počet a morfologii) = **karyotyp**
  - u člověka mají somatické **diploidní** bb. 46 chromozomů
    - 22 párů homologních autozomů
    - 1 pár gonozomů (44XX nebo 44XY)
  - **gamety (vajíčko, spermie) 23 – haploidní**
  - standardní klasifikace číslováním podle velikosti
- zpracování vzorku buněk pro karyotyp
  - nejlépe hodnotitelné jsou kondenzované chromozomy v metafázi nebo prometafázi **mitózy**
    - lymfocyty perif. krve nutno uvést do mitózy mitogenem a zastavit v metafázi např. colchicinem
  - barvením chromozomů (**např. Giems**) se dosáhne charakteristického pruhování a tím rozlišení jednotlivých chromozomů
- hodnocení karyotypu
  - manuální – obarvený chromozomový “rozptyl” (nejč. mitotické lymfocyty nebo bb. plodové vody) se po obarvení vyfotí, vystříhnou a seřadí do párů
  - **automatizované (mikroskop + software)**



# Buněčný cyklus

Posloupnost vzájemně koordinovaných procesů od jednoho buněčného dělení k následujícímu

## **divide or not to divide!**

- Rozhodování podle růstových faktorů (24h)
- G1-11h; S-8h, G2-4h, M-1h (buňka střevního epitelu - 12h, jaterní b. - 1rok)
- M fáze a interfáze (90%)

### • **G1 fáze (1. přípravná, postmitotická)**

růst, zdvojení buněčné hmoty, intenzivní syntetické procesy – RNA, proteiny (enzymy), opravy genomu- může přejít do G0

1. Kontrolní bod-cykliny a Cdk

### • **S fáze (syntetická)**

replikace jaderné DNA a syntéza histonů (H2A, H2B, H3, H4 & H1) na konci chromatidy spojeny v místě centromery

### • **G2 fáze (2. přípravná)**

závislá na dokončení replikace DNA v S fázi

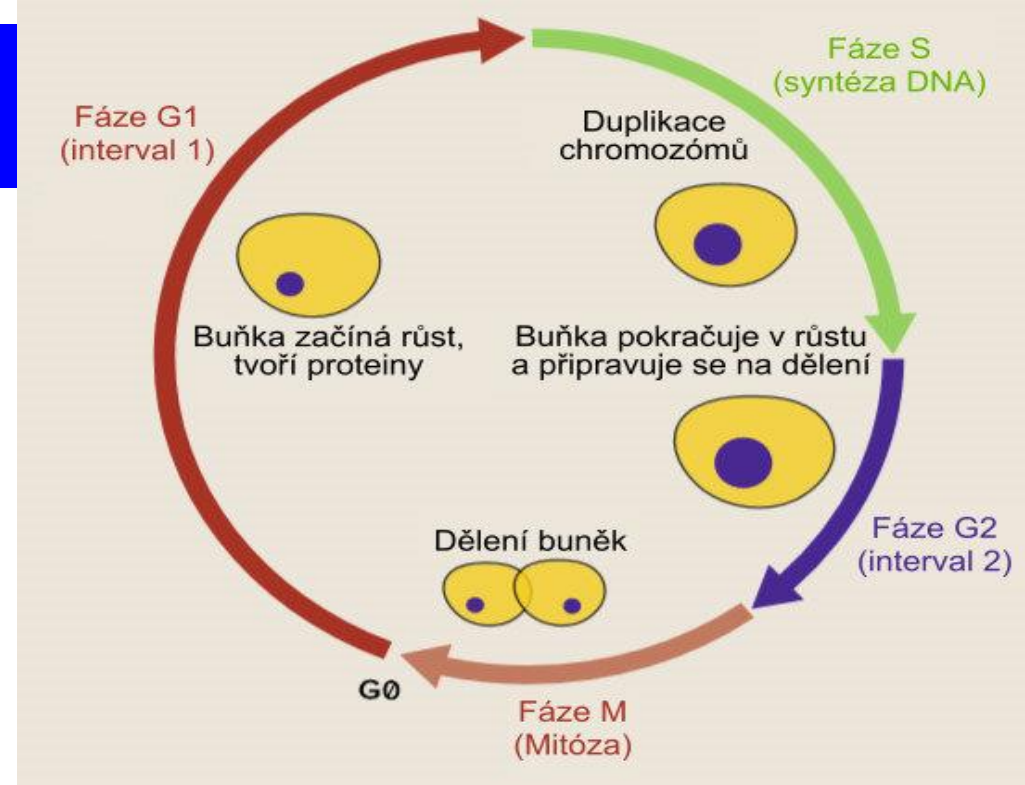
proteiny potřebné ke kondenzaci chromozomů, ke tvorbě mitotického aparátu jaderného obalu

2. kontrolní uzel buněčného cyklu –cykliny a Cdk

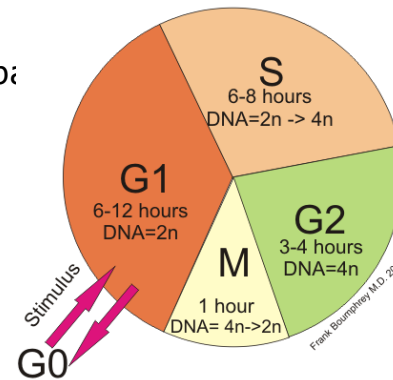
### • **M fáze (mitotická)**

jaderné dělení, kondenzace chromozomů – až 10 000x nebo meióza (zárodečné buňky)

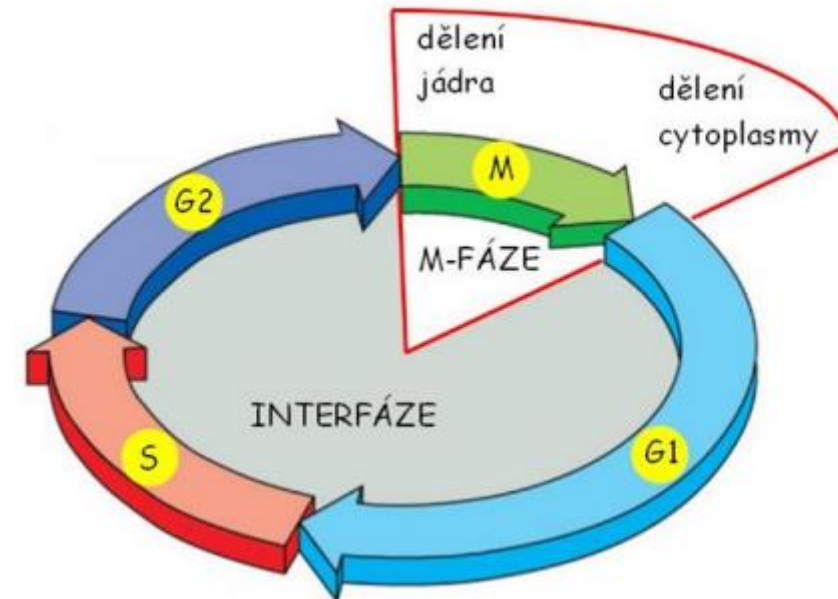
Karyokineze a cytokineze



Eukaryotic Replication Cycle  
(Times are for Cells Growing in Culture)

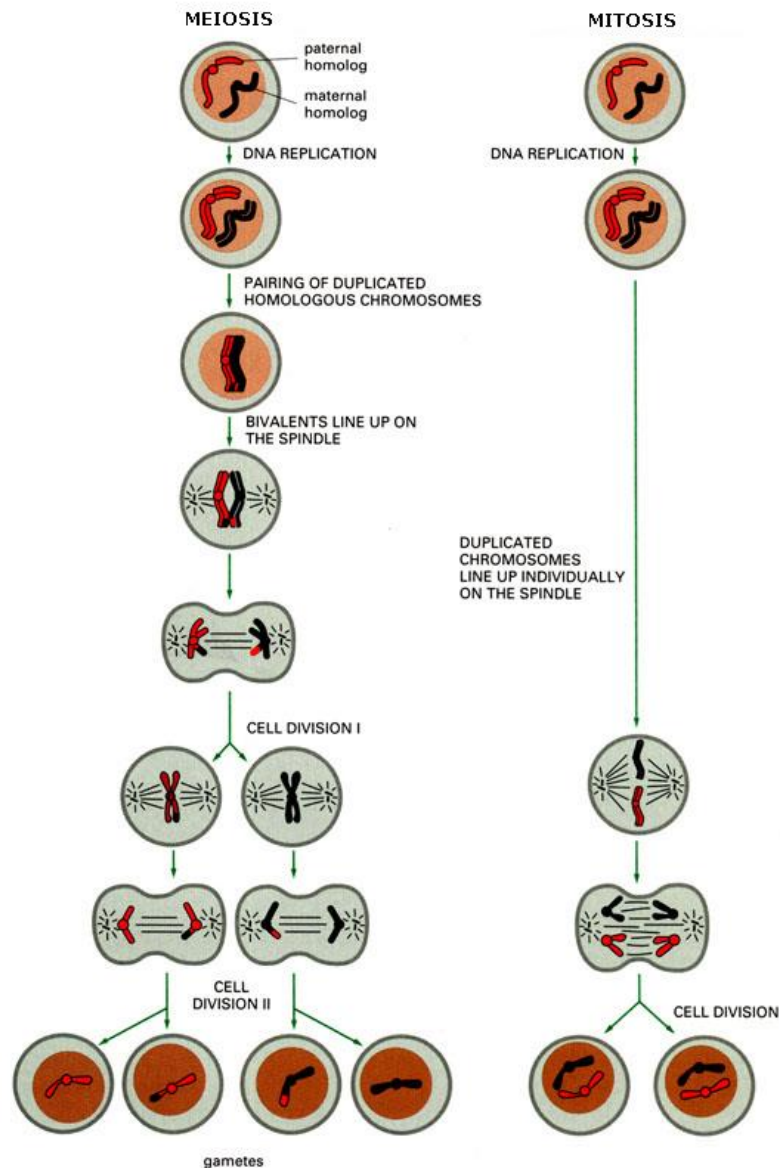


G0: Resting Phase  
G1: Growth & Metabolism  
S: DNA Replication  
G2: Growth of Structural Elements  
M: Mitosis



G0 fáze – některé buňky přecházejí po mitóza –diferencované nedělící se svalové b., b. oční čočky

# Dělení buněk



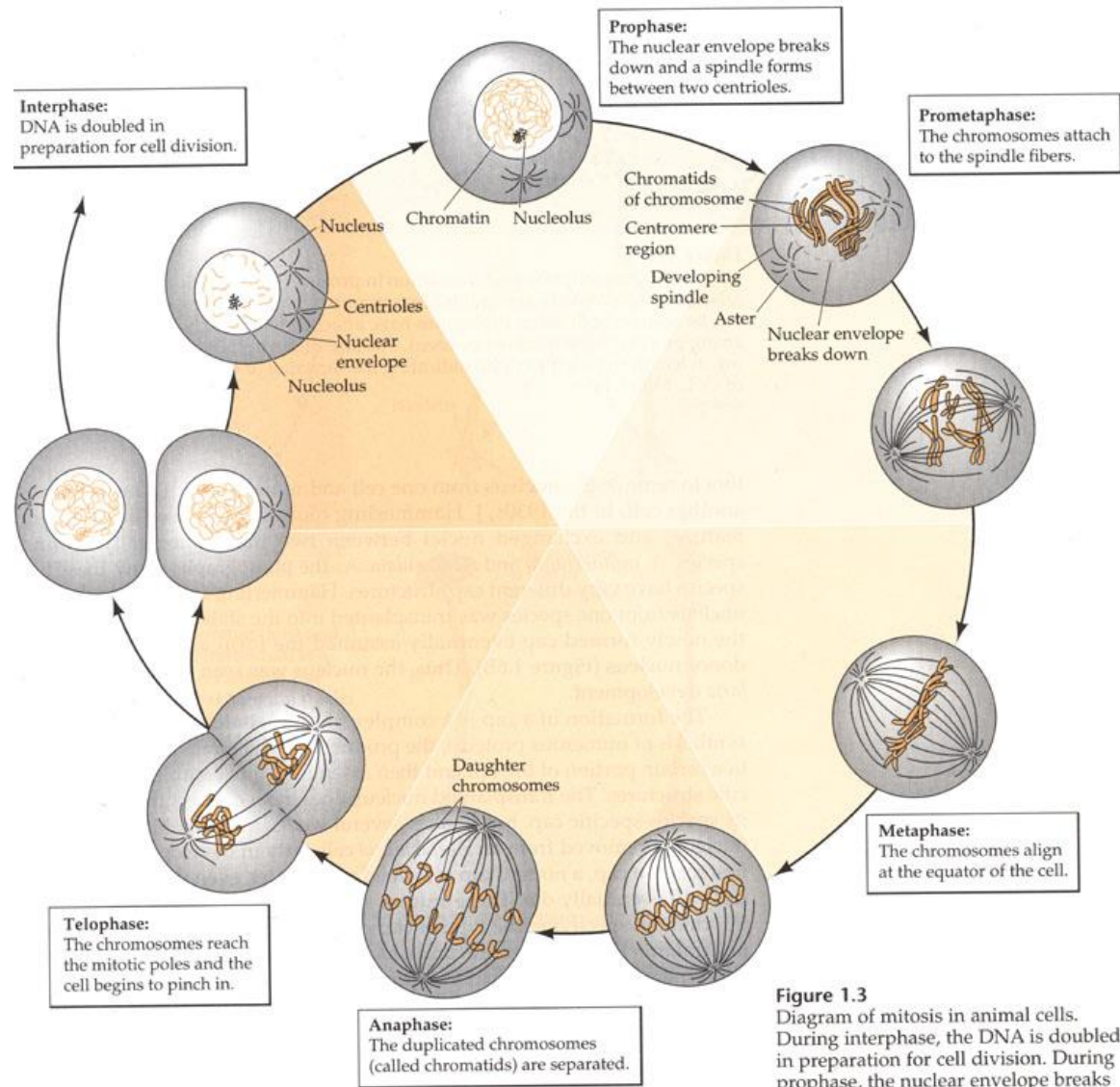
**Mitóza** = 2 dceřiné buňky s diploidním počtem chromozomů, 1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)

**Meióza** = 1 cyklus replikace následován 2 cykly segregace chromozomů a buněčného dělení

1.meiotické (redukční) dělení – rozdělení homologních chromozomů  
významné – odehrává se zde meiotický crossing-over (rekombinace) – žádná z gamet není identická!  
poruchy rozestupu – např. trisomie

2.meiotické dělení – rozestup sesterských chromatid  
2 dceřinné buňky s haploidním počtem chromozomů  
vznik pohlavních buněk (spermie, vajíčko)  
dodatečné promíchání genetického materiálu crossing-overem

# Mitóza - detail



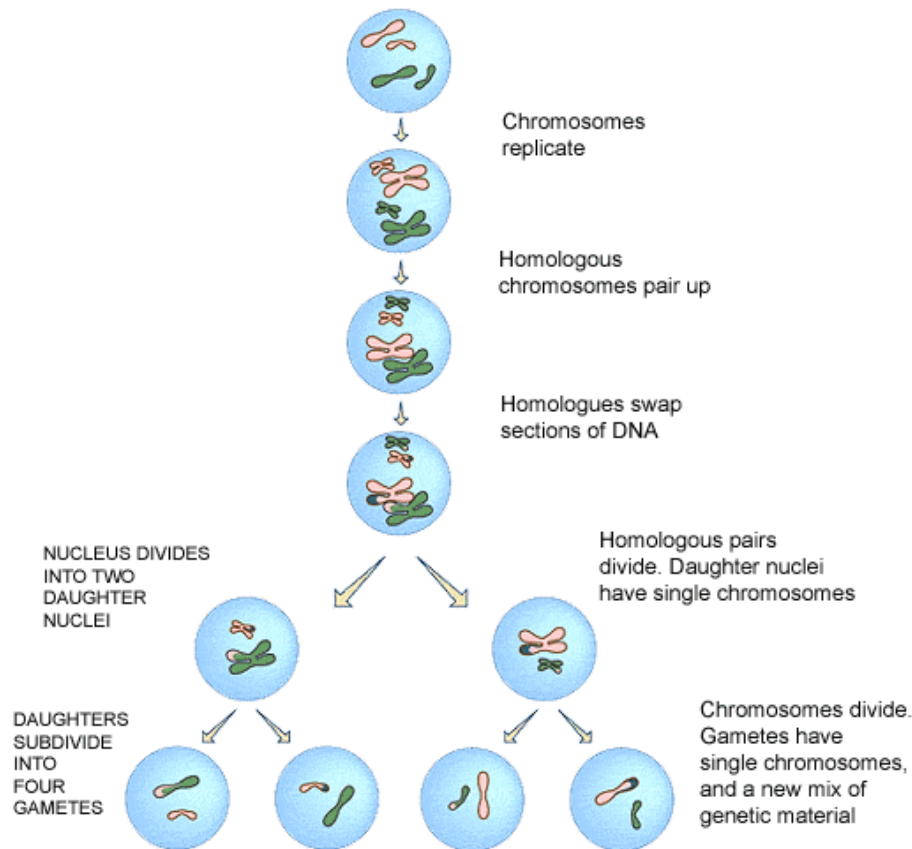
**Figure 1.3**  
Diagram of mitosis in animal cells. During interphase, the DNA is doubled in preparation for cell division. During prophase, the nuclear envelope breaks down and a spindle forms between the

- Během mitózy klesá syntéza RNA a proteinů
- (*histony jen v S fázi*)
- **Bloomův syndrom (četnost SCE 60x vyšší) - SCE-Sister Chromatin Exchange**
- Patří mezi **syndromy chromosomální nestability**, AR, vzácný
- zodpovědný gen (*BLM, Bloom syndrome, RecQ helicase-like*) - **porucha reparace DNA**
- teleangiektatický erytém (v 1.roce)- senzitivita pokožky na UV - maligní transformace
- imunologické projevy (poruchy B-lymfocytů - nízké hladiny IgG, IgA a IgM- infekce.
- pleiotropní efekt genů-multisystémové poruchy



# Genetická variabilita (~0.1%)

## Meiotické dělení

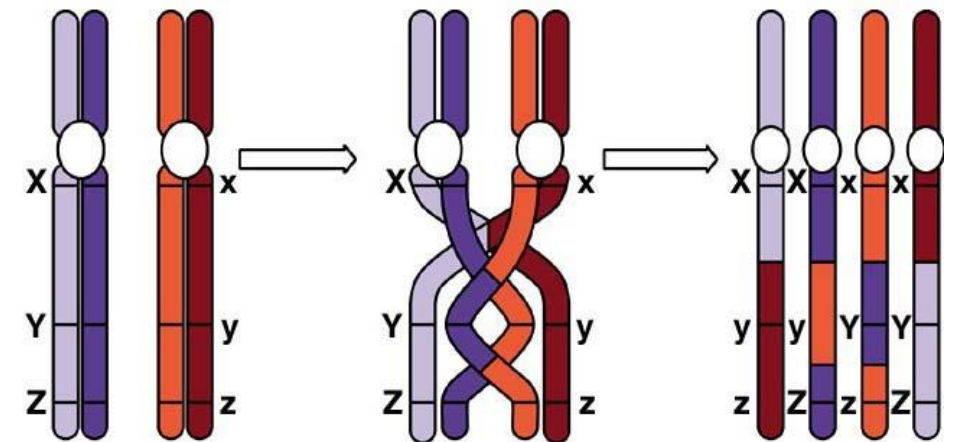


- DNA sekvence kódujících i nekódujících úseků genomu je variabilní
- v populaci pro daný gen vyskytuje vícero variant (= alel) s různou populační frekvencí = **genetická variabilita**, která je výsledkem několika procesů
  - 1) **sexuální reprodukce**
  - 2) **nezávislé meiotické segregace**  
23 párů ch. →  $2^{23}$  kombinací = 8,388,608 různých gamet
  - 3) **rekombinace** (meiotický crossing-over)  
>> kombinací než 8 miliónů
  - 4) **mutageneze de novo**
    - chyba při DNA replikaci
      - *proof-reading* DNA polymerázy ani *mismatch DNA repair* není 100%
    - působení externích mutagenů
  - 5) **genetický drift**
  - 6) **přirozená selekce**



# Crossing-over a rekombinace

- při meióze získává každá gameta **náhodně** 1 z páru homologního chromozomu - **paternálního (CHp) nebo maternálního (CHm)**
  - při celkovém množství 23 párů je tedy teoreticky možných  $2^{23}$  kombinací (= **8,388,608 různých gamet**)
- ve skutečnosti ale gameta obsahuje **směs homologního CHm a CHp chromozomu** v důsledku procesů během prvního meiotického dělení = **crossing-overu a rekombinace**
  - takže např. alely, které původně pocházely od různých prarodičů, mohou být na jednom chromozomu
  - vzniká tedy mnohem vyšší počet kombinací než 8 miliónů**
- **pravděpodobnost rekombinace** ale není pro každý úsek DNA stejná, ale záleží na vzdálenosti
  - čím blíže jsou geny u sebe tím menší je pravděpodobnost rekombinace
    - vzdálenost se může udávat i v centimorganech (1cM = 1% pravděpodobnost rekombinace)
- existence **haplotypů**
  - lineární kombinace alel (SNPs) na vícero sousedních lokusech jednoho z homologních chromozomů **přenášena pohromadě** (∅ rekombinace)
  - statistická asociace mezi DNA variantami
  - na dané chromatidě se tedy vyskytují skupiny těsně vázaných variant = **haplotypové bloky**



# Lidský genom



- **Human Genome Project (HUGO)** – James D. Watson 1990, (The first complete human genome was only decoded in 2021)
- haploidní genom obsahuje  $3-3.3 \times 10^9$  bp (3 054 815 472 base pairs, when the X chromosome is included, 2 963 015 935 base pairs when the Y chromosome)
- **gen** = konkrétní úsek molekuly DNA nesoucí informaci pro tvorbu proteinu nebo NA (rRNA, tRNA...) 20-25 tisíc
- **pseudogen** = sekvence DNA, která je podobná genu, ale nedochází k jejímu přepisování v RNA (transkripci) ~ 20 tisíc pseudogenů






geny tvoří jen 2% DNA






5-8 % virová DNA

až 70% repetitivně sekvence

90% identita savců

99,9% identita mezi lidmi

Species	<i>Escherichia coli</i>	<i>Gallus gallus</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Daphnia pulex</i>	<i>Oryza sativa</i>
Number of Genes	~4,200	~17,000	~21,000	~31,000	~38,000
Common Name	 Bacteria	 Chicken	 Human	 Water flea	 Rice

Species	<i>T2 phage</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Paris japonica</i>
Genome Size	170,000 bp	4.6 million bp	130 million bp	3.2 billion bp	150 billion bp
Common Name	 Virus	 Bacteria	 Fruit fly	 Human	 Canopy Plant



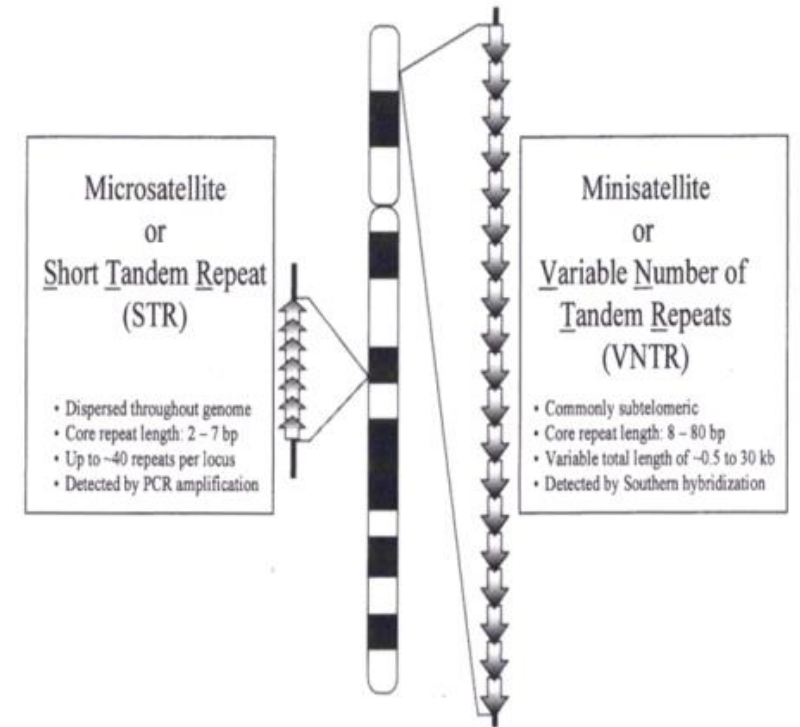
**50% - 60%**

Většina DNA se podílí na produkci enzymů pro tvorbu nebo štěpení cukrů či stavbu buněčných struktur np. struktura hemoglobinového pigmentu x strukturou pigmentu chlorofylu

# Repetitivní sekvence

**Repetitivní sekvence** = DNA s vysokým množstvím kopií

- podílí se na formování vyšších nukleoproteinových struktur, jako jsou **telomery nebo centromery**
  - při chromozomových přestavbách
  - mají vliv na regulaci genové exprese - RNA interference
  - zajišťují ochranu konců lineárních chromozomů
  - řídí správný průběh mitotického i meiotického dělení buňky
  - zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou "evoluční" rezervou
- 
- **rozptýlené** –mohou se pohybovat
  - DNA transpozony (př. „Sleeping Beauty“ – genová terapie)
  - retrotranspozony –schopnost kopírovat se díky reverzní transkriptáze
  - endogenní retroviry = LTR
  - autonomní – LINE – L1-repetice
  - neautonomní – SINE – Alu-repetice
- 
- **tandemové** -za sebou jdoucí identické repetice, VNTR
  - makrosatelity - centromery
  - minisatelity - 5-30bp, které se více vyskytují v subtelomerických oblastech chromozomů, podkladem polymorfismů
  - mikrosatelity – opakování 1- 5 bp
  - telomerické sekvence
- 27 genetické markery- forenzní vědy



# Mitotické hodiny - Telomery

Vysoce konzervované nukleoproteinové komplexy - ochrana pro konce chromozomů

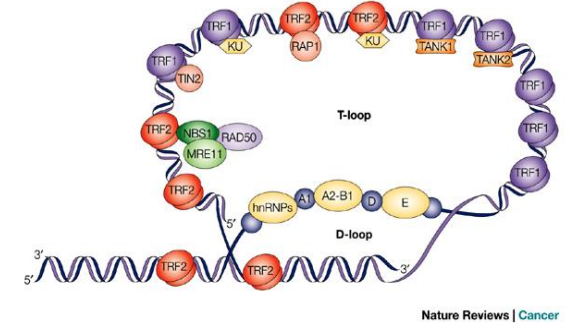
- repete TTAGGG (3000x)
- posledních 100-200bp- přesah G-bohaté ss vlákno + proteiny-T-smyčka (telozom)
- **Hayflickův limit pro každou buňku (replikativní senescence)**
  - během každého cyklu se 5 konec zkracuje (odstranění primery z okazakiho fragmentu) -ztráta 5-200 bp
  - 40 -60 dělení
  - diferencované buňky-kratší telomery

**telomeráza** –prodlužuje nejkratší telomery v buňkách!

- v zárodečných buňkách
- v nádorových buňkách (90%)

**Homeostáza systému telomery - telomeráza je komplexní a svázána s genetickými a environmentálními faktory**

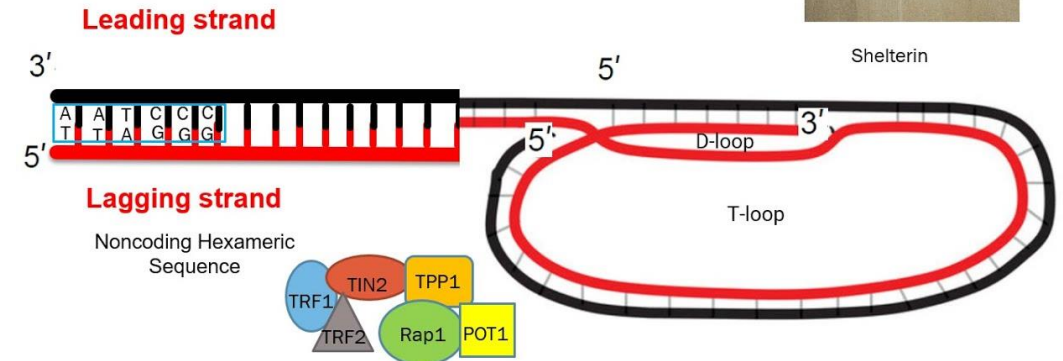
**Snížení aktivity telomerázy** - volné radikály, diferenciační činidla, epigallocatechin gallate z čaje, tamoxifen, antineoplastické látky – cisplatina, doxorubicin, protein fosfatáza 2, MAPK, androgeny, inhibitory reverzní transkriptázy  
**Zvýšení aktivity telomerázy** - chemické karcinogeny, mutace telomerických sekvencí, gamma záření, PKC, EGF, estrogeny



Nature Reviews | Cancer

## TELOMERE AND TELOMERASES

It prevents the **telomere** ends from being recognized as break points by the DNA repair system.



# Telomerázová terapie

Cíle:

- immortalizace b. bez maligního zvrhnutí
- omlazení dárcovské tkáně, nebo své vlastní
- genová terapie (imunoterapie)

Nature Communications, 2019:

- kmenové buňky - prodloužení telomer
- myší chiméry- o 12,74% delší života, než medián
- bez fyziologických rozdílů
- schopnost nadále prodlužovat si stávající telomery
- o 20% méně náchylné k vývoji nádorů, souvisejících s věkem

## Nesmrtelnost ve zkusavce? Španělští vědci prodloužili myší život o 12%

Autor: Lukáš Kekrt | říj 23, 2019

Dokážeme v budoucnosti manipulovat s délkou našich životů? Tuto otázku si položil tým vědců ve španělském Národním výzkumném středisku pro rakovinu. Kultivaci embryonálních buněk se týmu podařilo prodloužit život laboratorních myší o více než 12% jeho průměrné délky.

Sdílet přes:

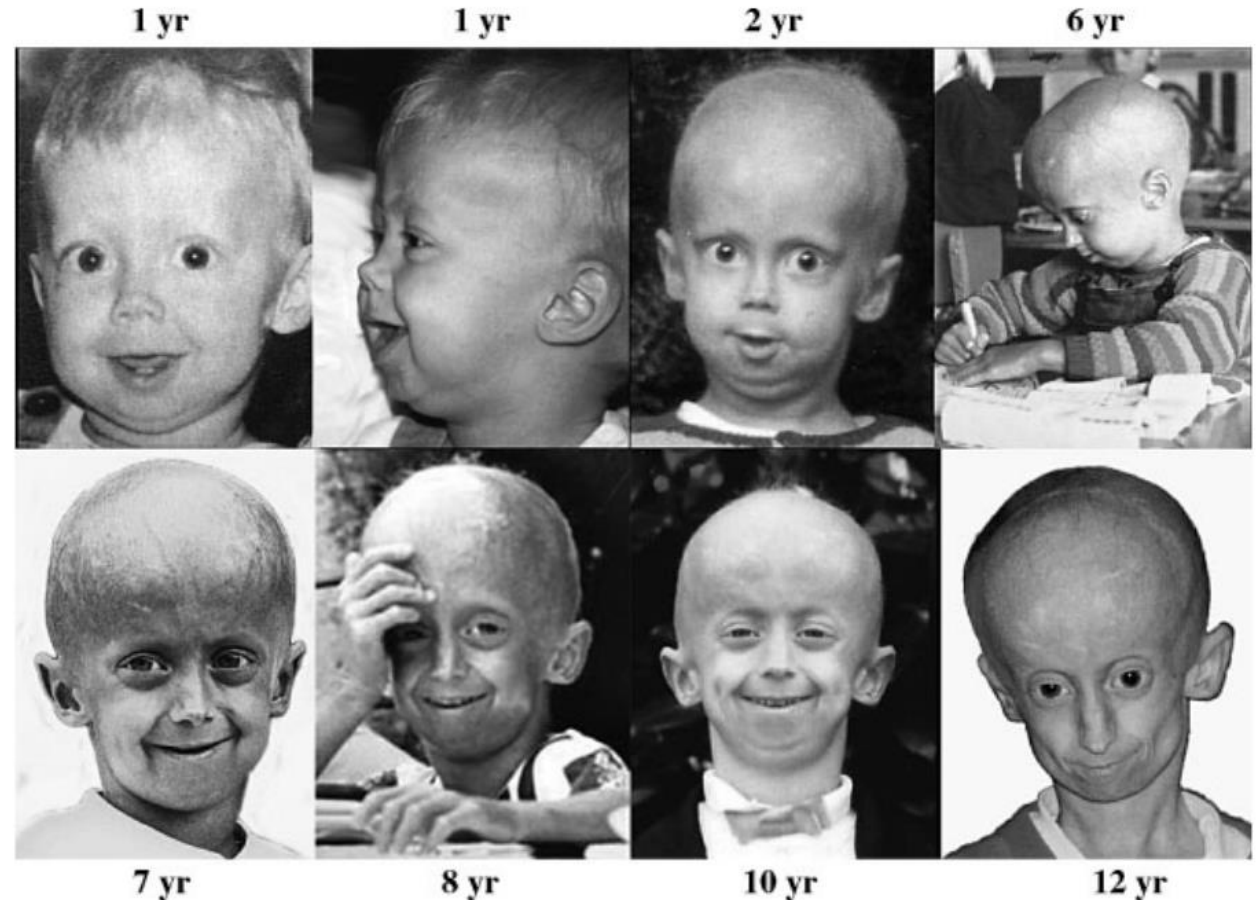


2 min čtení



# Repetitivní sekvence – dynamické mutace

- **15 nemocí, výlučně u člověka (nerv. tkáně)**
  1. dědičné (founder effect)
  2. gen. nestabilita nádorů
  3. gen. nestabilita v somatických buňkách-stárnutí
- **Expanze CAG-polyglutaminový trakt**
- **Expanze v nekodujících oblastech**  
(SyFraX, myotonická dystrofie, Friedreichova ataxie)
  
- **Hutchinson-Gilford Progeria Syndrom (HGPS)** – velmi vzácné onemocnění (mutace v genu LMNA) u něhož se stařecký fenotyp začíná rozvíjet do 2 let věku s mediánem dožití 13 let. Nemocní mají typický vzhled: malý vzrůst, ptačí obličej s vystouplýma očima, atrofickou pokožku s vychudlým podkožím a tenké končetiny s nápadnými klouby, rozvoj aterosklerózy (infarkt myokardu, mozková mrtvice)
- Průměrná **délka telomer** fibroblastů HGPS pacientů **kratší** než „age-matched“ kontroly.
  - **Kratší telomery jsou symptom né příčina nemoci!**



# Repetitivní sekvence - patologie

## myotonické dytrofie

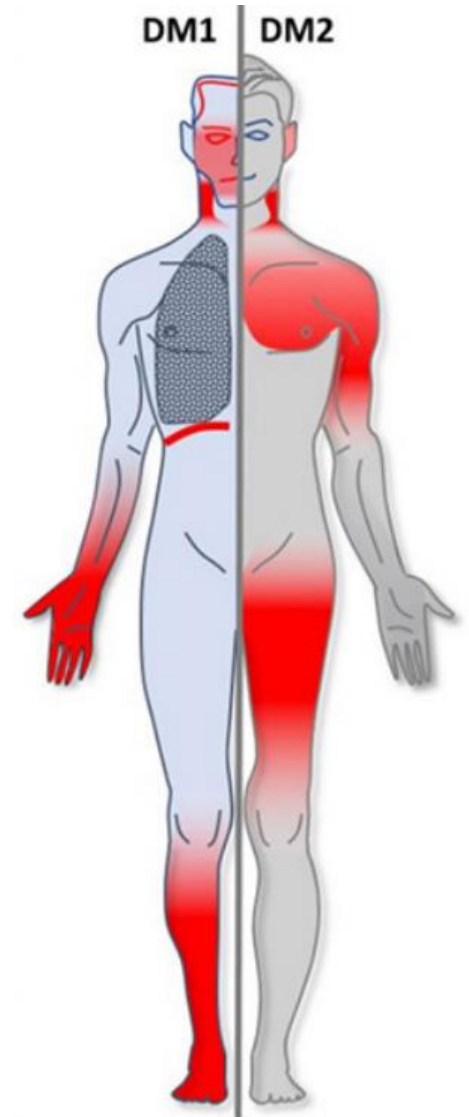
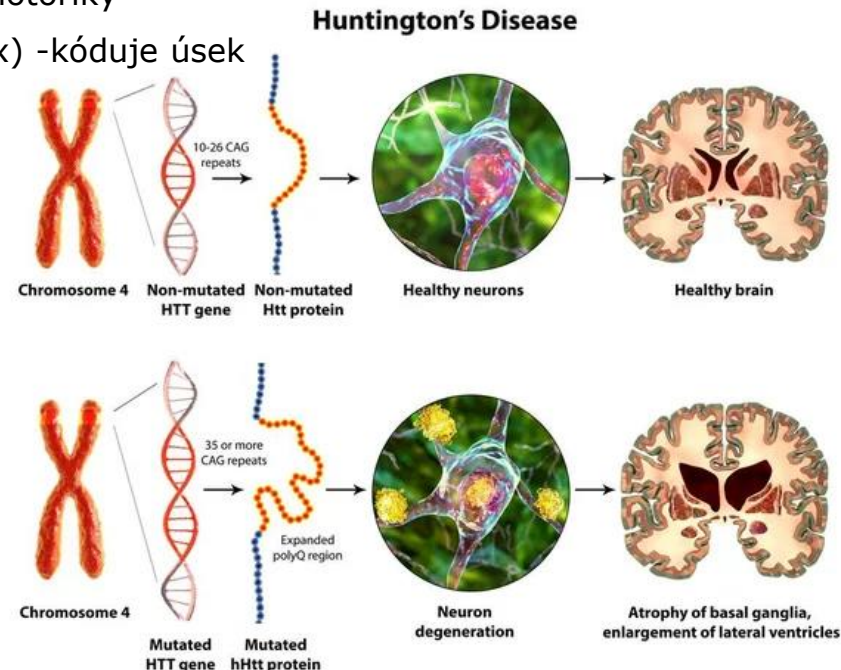
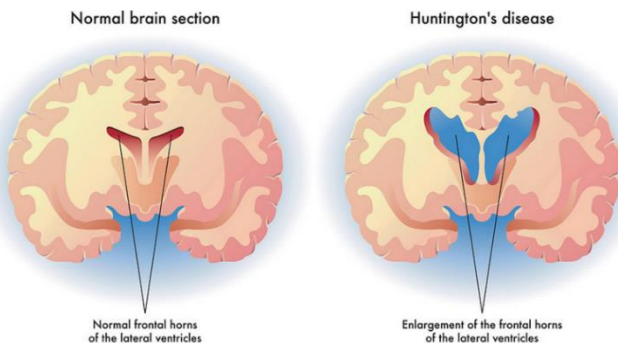
- AD, svalová dystrofie se svalovou slabostí provázenou paradoxně zvýšeným svalovým tonem
  - patologická expanze trinukleotidu CTG v 3' nepřekládané oblasti genu DMPK (dystrophia myotonica protein kinase). Mutantní mRNA má sama o sobě patogenní potenciál
- ANTICIPACE - závažnost nemoci se stupňuje (nebo klesá věk nástupu) v následujících generacích**

## Huntingtonova chorea

- AD, fatální neurologické onemocnění s nástupem v dospělosti (incidenci 4–10 na 100 000)
- projevuje se jako demence s extrapyramidovou poruchou motoriky
- v genu pro huntingtin je repetitivní sekvence (CAG)<sub>n</sub> (9–35x) -kóduje úsek bílkoviny tvořený zbytky glutaminu (polyglutaminový úsek).
- **nad 40 tripletů**, protein nepracuje správně s výsledným progresivním odumíráním neuronů v nucleus caudatus.

**(Neuplná dominance - u dominantního homozygota-abort)**

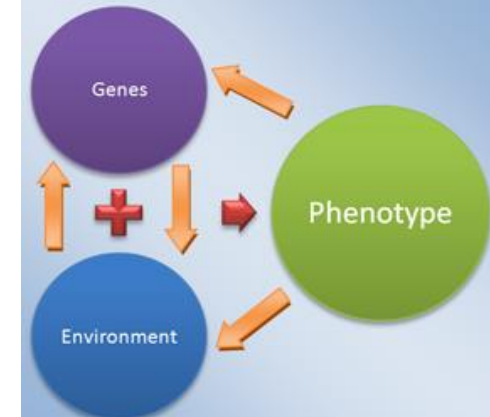
Juvenilní forma –  
rychlejší progrese



# Vliv prostředí na lidský genom

## „Nature versus nurture“

- Genetická výbava jedince je sice osudově zadána v okamžiku zplodění,
- ale není pro další život konečná, protože v průběhu života se může měnit jak pod vlivem četných faktorů **epigenetických** (vlivy prostředí), tak pod vlivem **dalších faktorů genetických** (např. mutacemi somatických buněk v průběhu maligní transformace).
- **Genetická proměnlivost**  
(zdroj individuální variability - vytváří se nové kombinace alel):
  - segregace alel při vzniku gamet
  - rekombinace při crossing-overu
  - vznik náhodných kombinací alel při oplození
  - **Mutace**
- náhodné změny genotypu, změna genetické informace
- mutace jako evoluční nástroj patogenů (prokatryota), dlouhodobě evolučně prospěšné



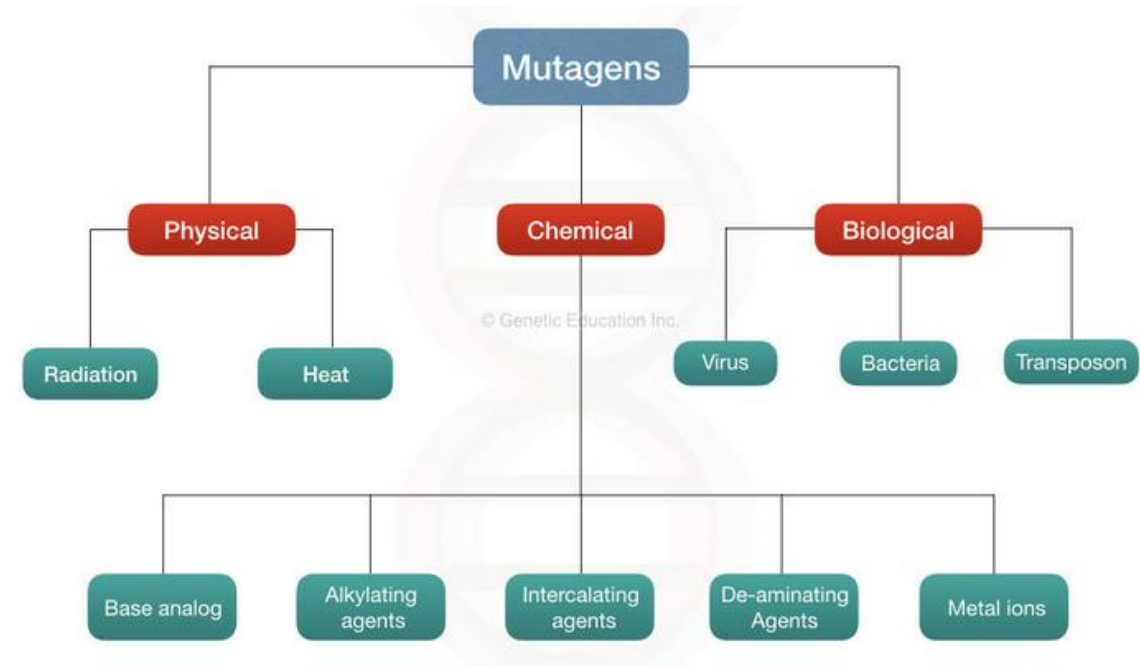


# Mutace

- **Biologické mutageny:**  
onkogenní viry: adenoviry, herpes viry, virus Epsteina-Barrové, Rousův sarkomální virus a Rauscherův virus leukémie, bakterie, transpozony
- **Fyzikální mutageny:**  
záření (rentgenové, gama, UV - tvorba thymidinových dimerů)
- **Chemické mutageny:**  
organické, alkylační činidla (ATB), anorganické látky, alkaloidy, kationty těžkých kovů, peroxidy, dusitany, aromatické chlorované deriváty, volné radikály (O·)

## Typy mutací (klasifikace)

- Dle okolností jejich vzniku: **spontánní a indukované** (četnost  $\sim 10^{-7}$ , oprava polymerázou a proteinem p53)
- Dle zasažené buňky: **somatické** (*de novo, prenatálně, aborty, vvv*)  
**germinativní** (*přenášeny na potomstvo -často příčinou zániku plodu*), u potomka přítomny ve všech buňkách, mají vliv na vývoj druhu, „úspěšnost“ germinativní mutace 1:100 000
  - a. snížená plodnost/neplodnost
  - b. embryonální mortalita
  - c. abort
  - d. dědičná onemocnění a VVV
- Dle úrovně, na kterou působí: **genomové, chromozomové a genové**
- Dle evoluce: **výhodné, nevýhodné a neutrální**
- Dle alelických interakcí: **úplná dominance, neúplná dominance, kodominance a recesivita**
- Dle sekvencí v DNA: **kódující a nekódující sekvence**



# Vzácné mutace a polymorfismus

**mutace** = výsledek mutageneze- nově vzniklá změna v DNA

pozor, existuje ale značná nejednotnost v terminologii – někdy se mutací myslí záměna v kódující oblasti genu a polymorfizmem záměna v nekódující, jindy např. mutací záměna vedoucí k rozvoji patologického fenotypu, polymorfizmem záměna bez patologického důsledku

**vzácné mutace** - jsou výrazně patologické a tudíž jsou z populace odstraňovány selekcí, nebo vznikly nedávno a nestačily se v populaci rozšířit, vyskytuje se v populaci méně než v 1 %

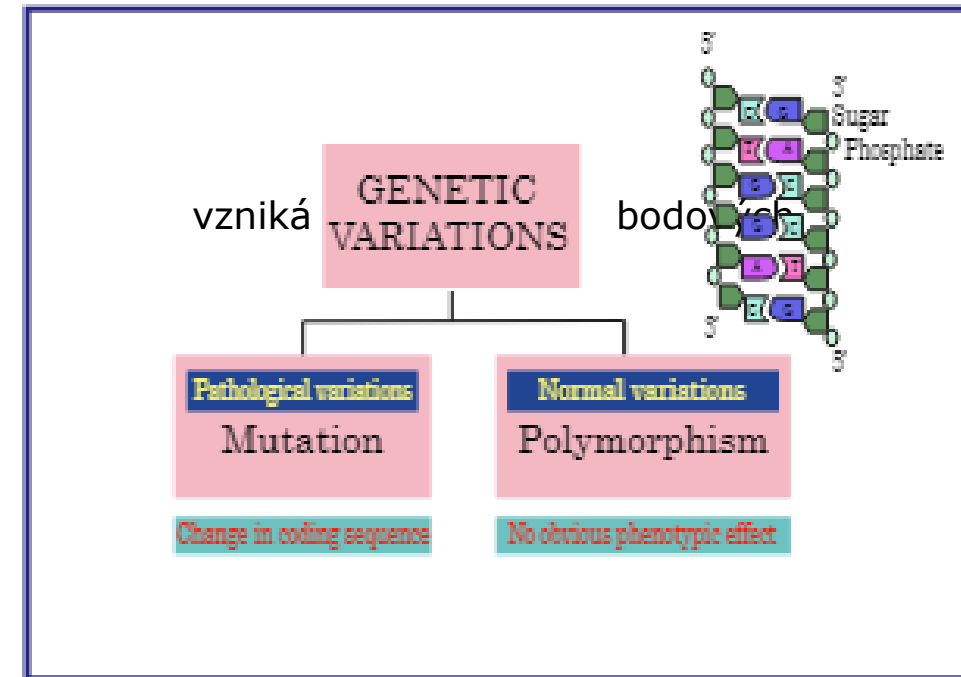
**polymorfismus** = existence několika (přinejmenším dvou)

alel pro daný gen, z nichž nejméně častá má

populační frekvenci alespoň 1%

- **bodový (SNP)** - jednonukleotidový polymorfismus-substituce mutací v DNA-bialelické
- **variabilní počet tandemových repetitivních** - repetitivní- multialelické minisatelitní (VNTR) a mikrosatelitní (STR) polymorfismy
- **přítomnost/nepřítomnost spec. sekvence na spec. místě** (np.Alu, indel)

34 vznik mutací- pravděpodobně genetickým driftem (selekce)



# Genové mutace

- mění jednotlivé geny (alely), většinou jsou indukované
  - v kódujících i nekódujících oblastech
  - podstata je molekulární, mění se struktura DNA, ale nenarušuje se celistvost stavby chromozomu
  - v somatických nebo v pohlavních buňkách
- Podle mechanismu vzniku:**
- **Substituce** = záměna nukleotidů (bází)
    - **Tranzice** (purin-purin: A-G; pyrimidin-pyrimidin: C-T)
    - **Transverze** (purin-pyrimidin; A-C, A-T, G-C, G-T...)
  - **Adice** (inzerce) = Zařazení 1/více nadbytečných nukleotidů.
    - < 3 nt = posun čtecího rámce (frameshift mutation) = odlišný polypeptid
    - = 3 nt (nerušující ORF) = prodloužení polypeptidu
  - **Delece** = ztrátu 1/více nukleotidů původní sekvence
  - **Inverze** = převrácení pořadí nukleotidů
- Typ dědičnosti- monogenní onemocnění

## a. Mutace neměňící smysl (silent, synonymous)

Po mutaci zařazena stejná AMK  
Způsobeny substitucemi na třetí pozici tripletu.

## a. Mutace měňící smysl (missense, non-synonymous)

Po mutaci zařazena odlišná AMK  
**Konzervativní** = záměna za chemicky podobnou AMK  
**Nekonzervativní** = záměna za AMK s odlišnými vlastnostmi (vliv na funkci polypeptidu)

## b. Nesmyslné mutace (nonsense, damaging)

vznik předčasného terminačního kodonu v sekvenci DNA

## c. Mutace měňící čtecí rámec (frameshift)

vznik předčasného terminačního kodonu v sekvenci DNA

Normal



BEAST

Substitution



FEAST

Insertion



BREAST



Deletion



BEST



A

Inversion



BEATS

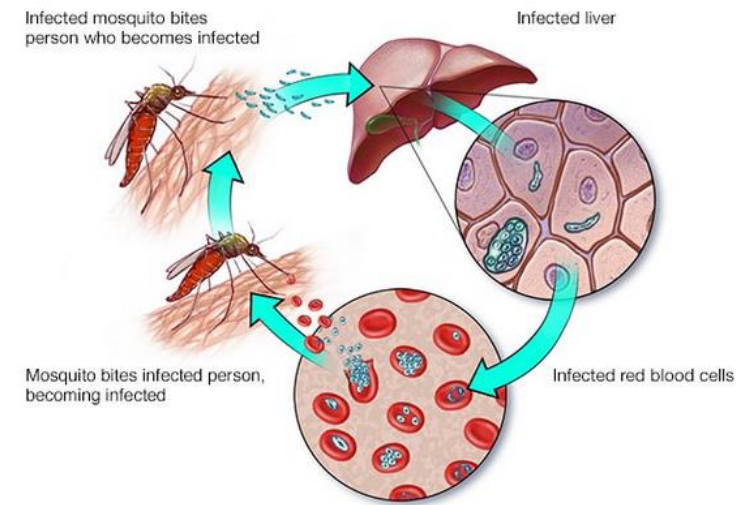
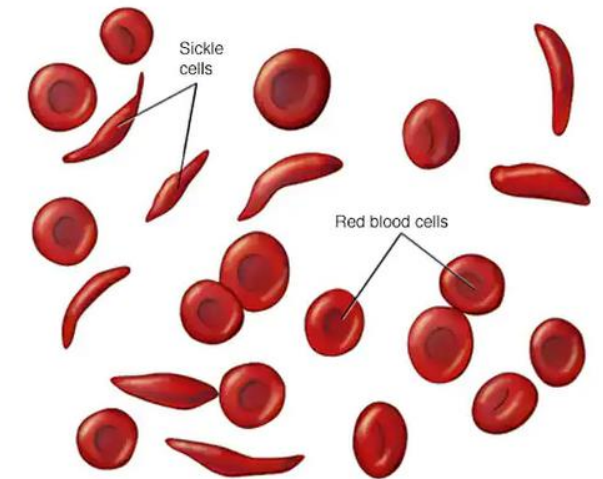
# Genové mutace

## Srpkovitá anemie

- missense mutace genu pro hemoglobin na 6. pozici v  $\beta$ -řetězci (hydrofóbní valin místo hydrofilní glutamové kyseliny, tvorba shluků Hb a tím změna tvaru ery) → HbS
- autosomálně recesivní

	ancestral	mutant
DNA	-CTC-	-CAC-
mRNA	-GAG-	-GUG-
AA	-glu-	-val-

- Srpkovité červené krvinky mnohem hůř přenášejí kyslík. Lidé se srpkovitou anémií mají proto ve srovnání s obyčejnými lidmi červených krvinek víc. **To jim dává proti malárii velkou výhodu, díky níž mají lepší šanci přežít.**



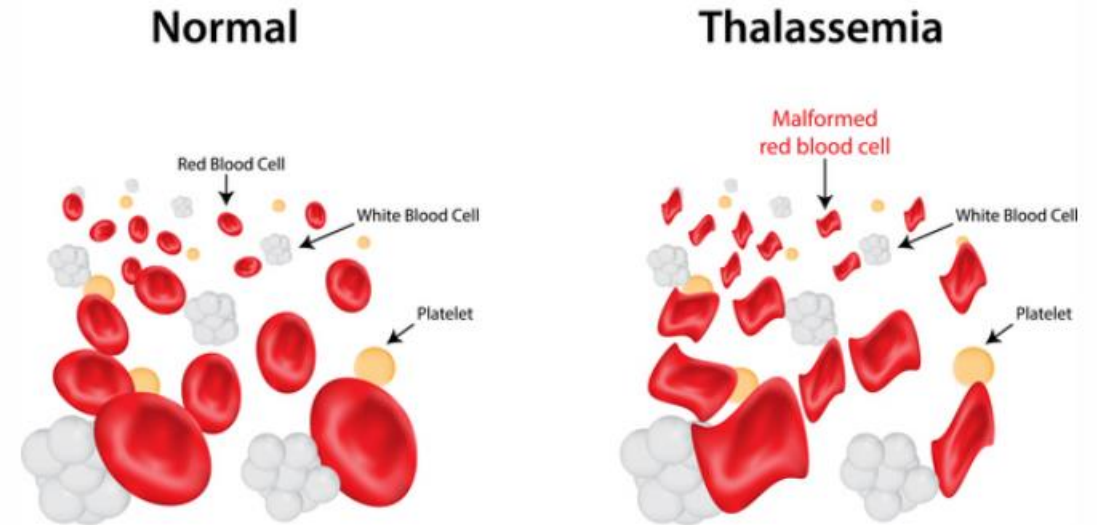
# Genové mutace

## $\beta^0$ thalasemie

- nonsense mutace pro Hb – chybná syntéza řetězců globinu
- autozomálně recesivní

	ancestral	mutant
DNA	-AGT-	-ACT-
mRNA	-UCA-	-UGA-
AA	-ser-	-STOP

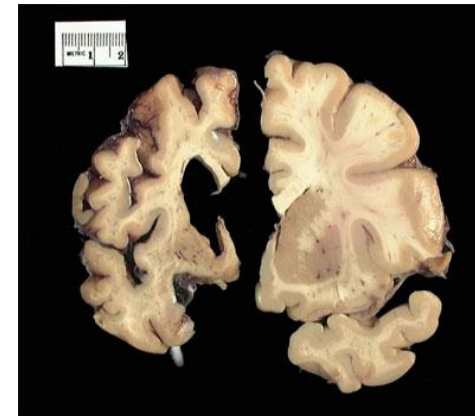
## Thalassemia



## Huntingtonova choroba

- trinukleotidová expanze

	ancestral	mutant
DNA	...TAC-GTC-...	...TAC-(GTC-GTC-GTC) <sub>20</sub> -GTC-...
mRNA	...-AUG-CAG-...	...-AUG-(CAG-CAG-CAG) <sub>20</sub> -CAG-...
AA	...-met-gln-...	...-met-(gln-gln-gln) <sub>20</sub> -gln-...

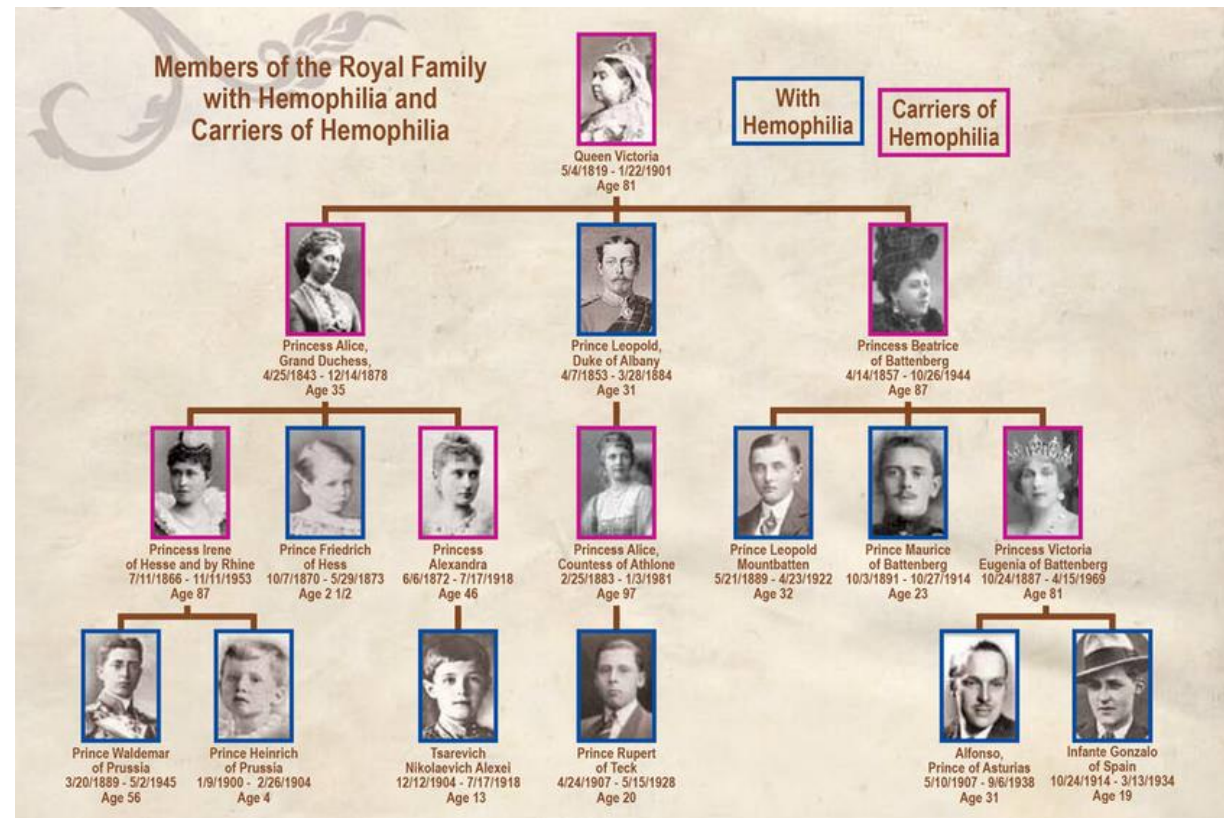
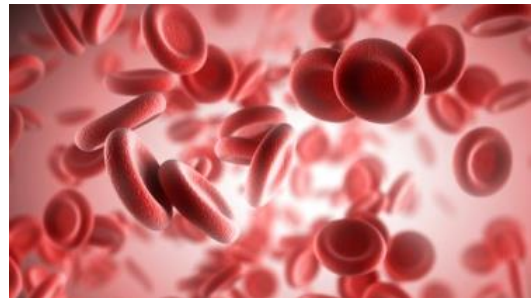


# Genové mutace

## Hemofilie A

= nedostatek srážecího faktoru VIII

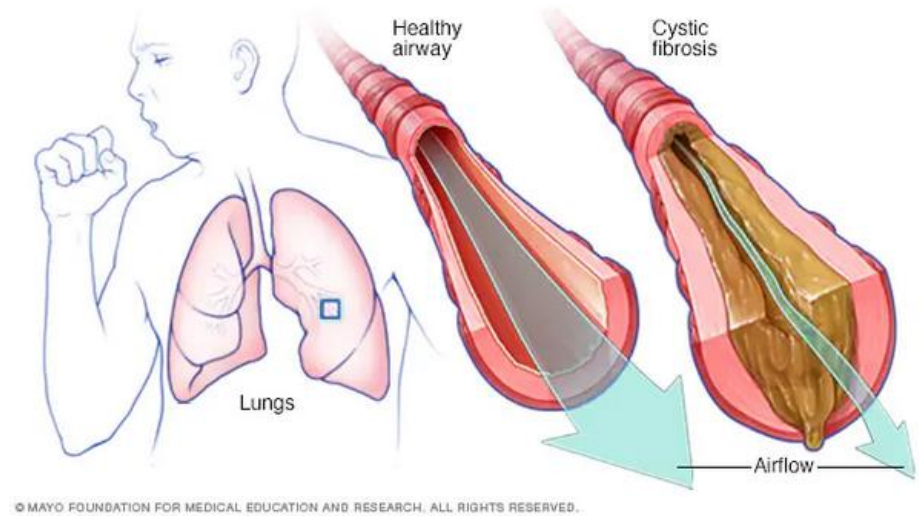
- inverze části genu F8C-nejčastější (45%)
- inserce (LINE1) do genu F8- snížení tvorby proteinu
- Monogenní onemocnění - gonozomálně recesivní X vázané
- žena je přenašečka



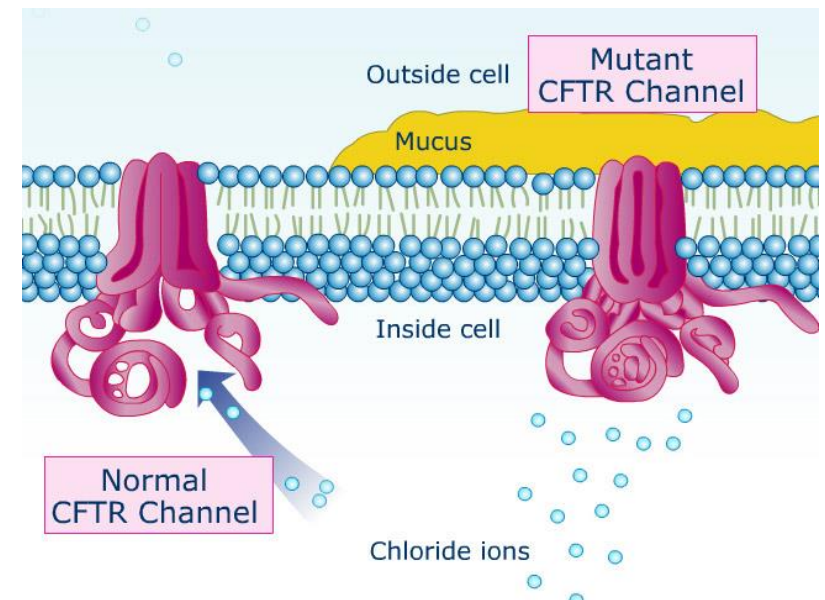
# Genová mutace

## Cystická fibróza

- deleční mutací genu produkujícího protein CFTR (chloridový ABC transportér na buň. membráně) → nefunkční protein
- delta F508-delece 3 bp v pozici 1652 až 1655 v exonu 10 (delece phe v kodonu 508)
- více než 1200 mutací - selekce ve prospěch heterozygotů?(cholera, tyfus?)
- autozomálně recesivní



	ancestral	mutant
DNA	-TAG-AAA-CCA-	-TA A-CCA-
mRNA	-AUC-UUU-GGU-	-AUU-GGU-
AA	-ile-phe-gly-	-ile-gly-

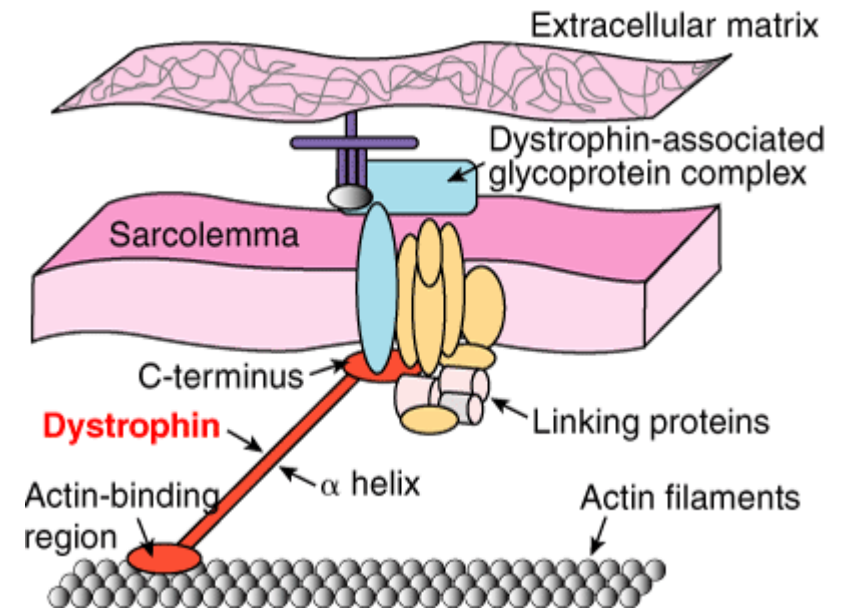
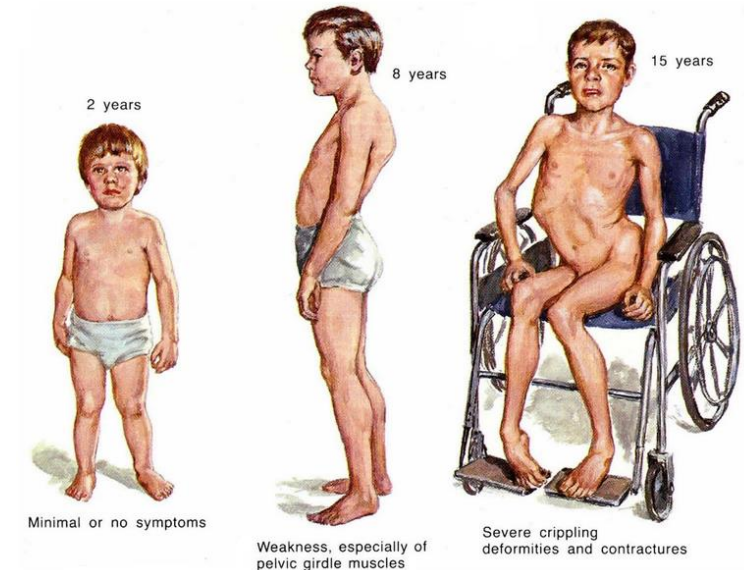


# Genová mutace

## Duchennova svalová dystrofie

- „frameshift“ mutace = posun čtecího rámce v genu pro protein dystrofin
- Chybí dystrofin - dystrofinopatie
- gonozomálně recesivní – vazba na X chromozom

	ancestral	mutant
DNA	-CAC-TGT	-CAC-TTG-T..-
mRNA	-GUG-ACA-	-GUG-AAC-U..-
AA	-val-thr-	-ile-gly-





# Chromozomové mutace - aberace

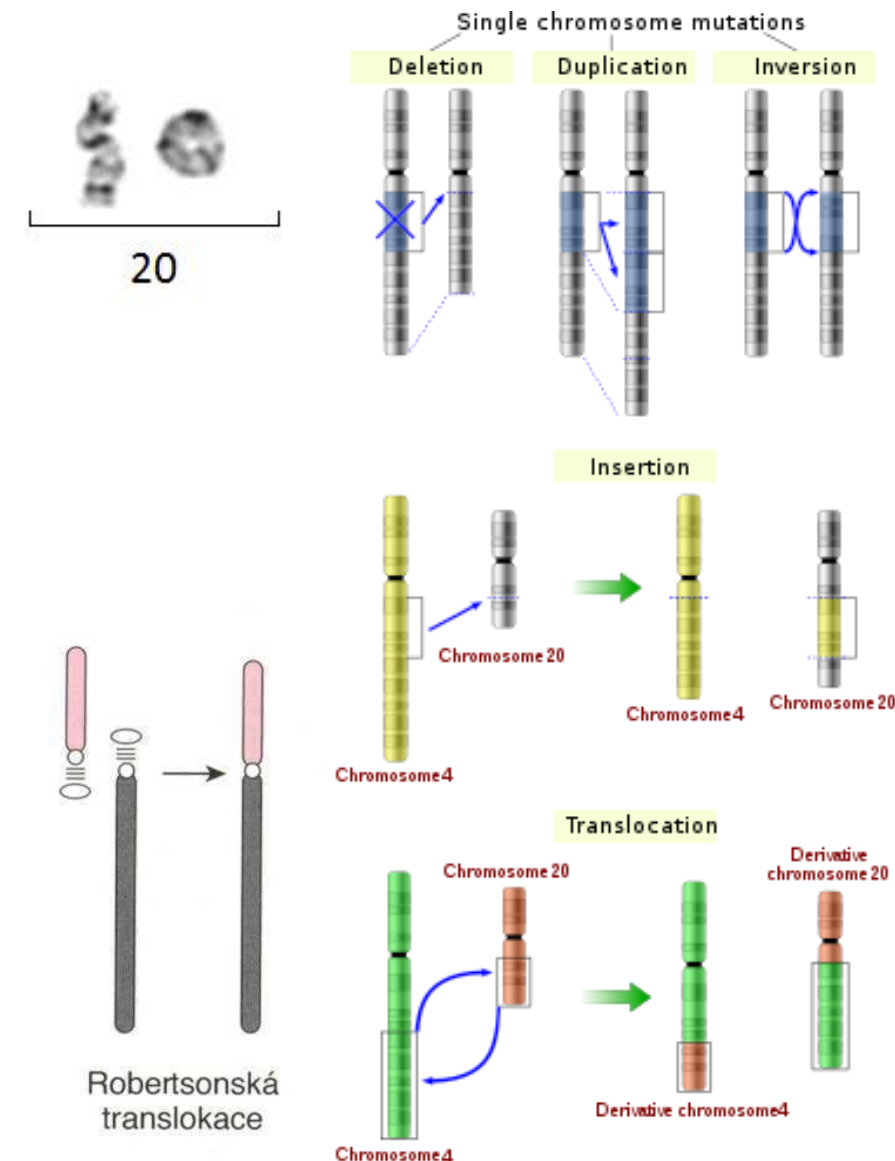
- nemění strukturu samotných genů, ale mění strukturu chromozomů
- dají pozorovat ve světelném mikroskopu
- mohou být překážkou normálního průběhu meiózy a jimi postižené gamety mohou být sterilní nebo mohou po splynutí vznikat neživota schopné zygoty.
- **Dělíme na: strukturní x numerické (genomové mutace)**  
**balancované x nebalancované**  
**autosomální x gonosomální**

## Strukturní chromozomové aberace balancované

(je zachováno původní množství genetického materiálu)

- **inzerce** - část chromozomu vyštěpena z původního chromozomu a připojena k jinému chromozomu
- **inverze** = převrácení části chromozomu o 180°
- **translokace** = přesun části chromozomu na jiný chromozom, může vést k vytvoření nového znaku (přímé x reciproké)  
**Robertsonské: fúze dvou akrocentrických chromozomů**

- **nebalancované** (kdy část genetického materiálu chybí či přebývá)
- **deficience** = ztráta koncové části chromozomu, oddělený kousek se rozpadne v cytoplazmě, dochází ke ztrátě genů, ztráta důležitých genů vede ke smrti
- **delece** = ztráta vnitřní části chromozomu.
- **duplikace** = zdvojení některých částí chromozomů
- **fragmentace** = rozpad na malé části (buňka se nedělí)
- **ring chromozom** = spojení konců chromozomu (po delecii telomer).
- **izochromozom** = chromozom, který má pouze dlouhá, či naopak pouze krátká raménka.



# Genomové mutace

## Numerické chromozomové aberace – aneuploidie

- způsobeny abnormálním počtem chromozomů v karyotypu
- struktura chromozomů je neporušená, patologie-**nestandardní množství genů**
- vznikají díky chybě při rozchodu chromozomů do dceřiných buněk během buněčného dělení (**nondisjunkce**) nebo abnormalitami fertilizace či časná embryogeneze atd.
- **aneuploidie** - numerická odchylka se týká pouze určitého chromozomu nebo chromozomů, ne však celé sady. Konkrétní chromozom může být buď znásoben - **trisomie** (3x - tři kopie chromozomu), **tetrasomie** (4x - čtyři kopie chromozomu), nebo naopak ztracen - **monosomie** (1x - jedna kopie chromozomu), **nulisomie** (0x - žádná kopie chromozomu) (nádory)

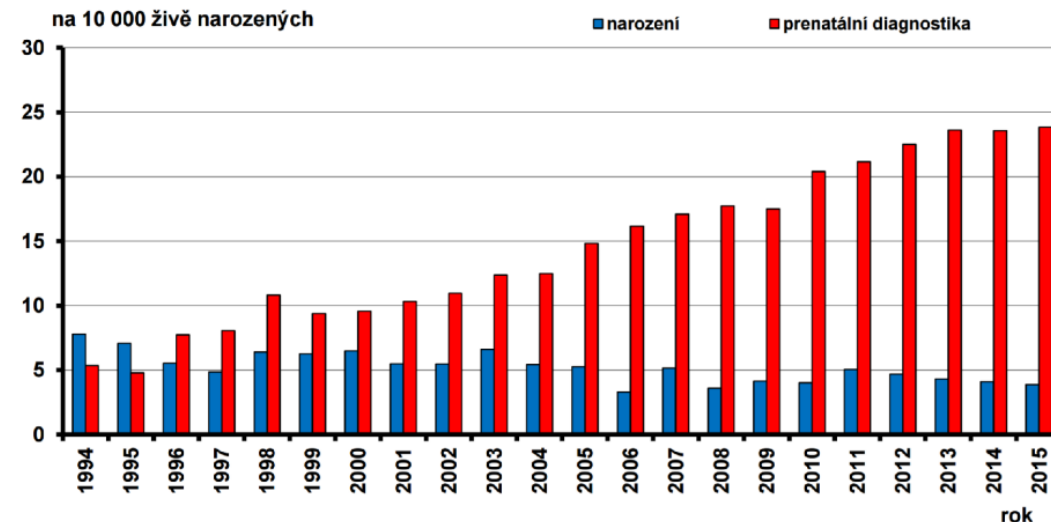
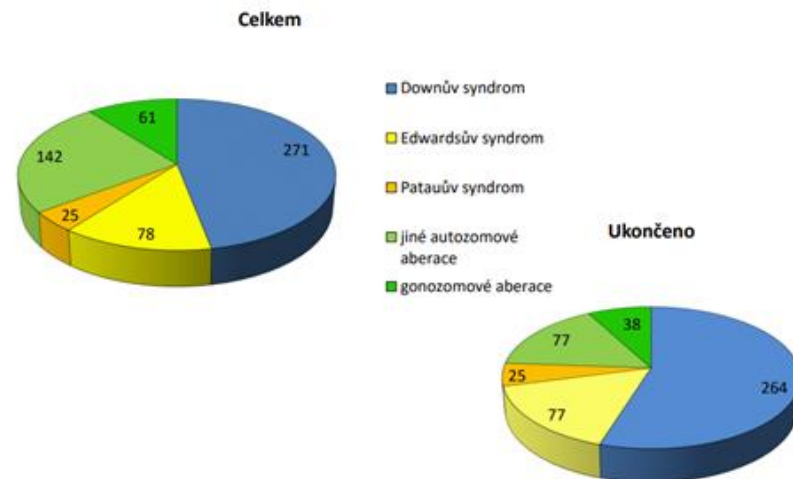
### Aneuploidie pohlavních chromozómů (Gonozomy)

- Turnerův syndrom (žena: 45, X0) 1: 2500
- Klinefelterův syndrom (muž: 47, XXY) 1:1000
- XXX syndrom (žena: 47, XXX) – „Superfemale“ 1:1000
- XYY syndrom (muž: 47, XYY) – „Supemale“ 1:1000

### Aneuploidie somatických chromozómů (Autozomy)

- Downův syndrom (žena/muž: 47, + 21) 1:2500
- Edwardsův syndrom (žena/muž: 47, + 18) 1:6000
- Patauův syndrom (žena/muž: 47, + 18) 1:5000

Diagnostikované vrozené chromozomové aberace v ČR v roce 2015



# Genomové mutace

## Numerické chromozomové aberace-polyploidie

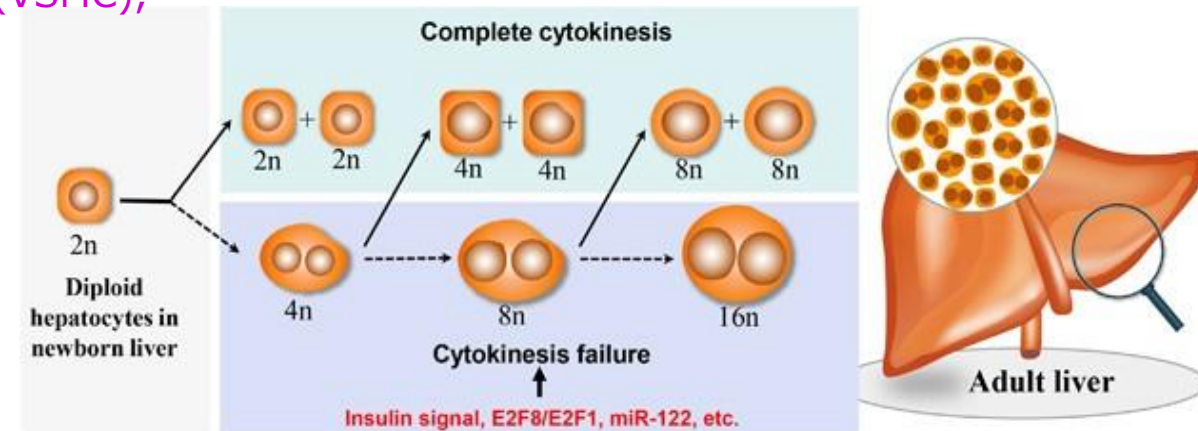
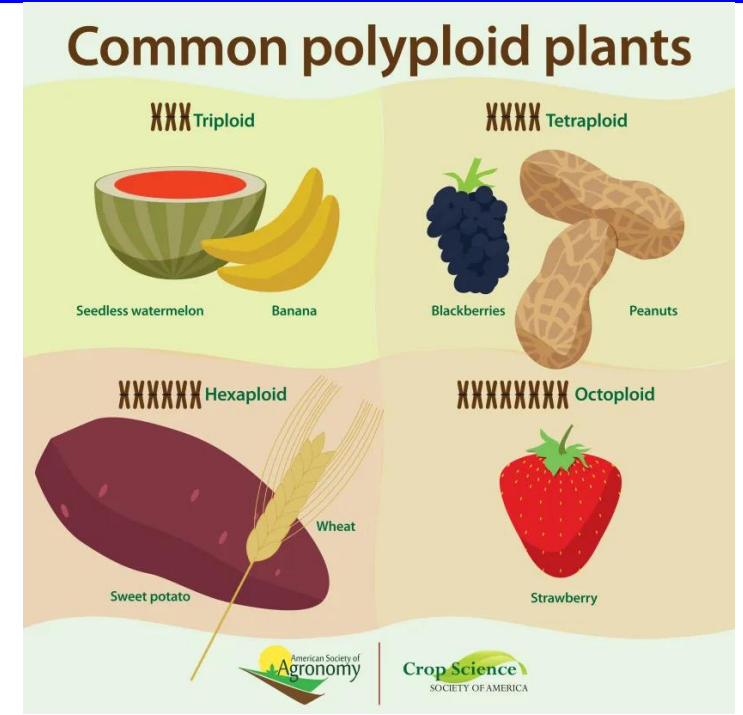
- **polyploidie** - znásobena je celá chromozomová sada - porucha rozdělení celých sad nebo oplození spermii (dispermie), u člověka přichází v úvahu zejména triploidie ( $3n = 69$  chromozomů) a tetraploidie ( $4n = 92$  chromozomů), většinou ale:
  - těhotenství je potraceno
  - molla hydatidosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
  - porod novorozence s triploidí – velmi časná letalita

## **Polyploidie lidských buněk**

**(vznik endoreplikací-endomitózou, fúzi b., cytokiny...)**

1. vývoj tkáně (játra, svaly, srdce, placenta, mozek, kostní dřeň)
2. patologické procesy-hyperthyroidóza (thyroidní b.), hypertenze (VSMC), nádory

- Nuliploidie – erytrocyt
- Tetraploidie, oktaploidie - jaterní b. (vícejaderné) jádro může být  $2n$  nebo polyploidní + aneuploidie
- Endopolyploidie-megakaryocyty (8-16ploidie)-128 sad chrom.
- Embryonický trofoblast - tertraploidní



# Klasifikace geneticky podmíněných nemocí

- prakticky každá nemoc (tj. její vznik a progres) je u daného jedince modifikována genetickou výbavou, avšak s různým podílem na finálním fenotypu
- *snad s výjimkou úrazů, závažných intoxikací a vysoce virulentních infekcí, kde individuální genetická konstituce nehraje prakticky žádnou roli*

## 1. Z hlediska etiologie nemoci - **Monofaktoriální** (gen.x negen. charakter) x **multifaktoriální**

### **monogenní nemoci**

jedna kritická “chyba” (tj. alela) konkrétního genu je sama o sobě nebo v homozygotní kombinaci téměř výhradně zodpovědná za **rozvoj nemoci** (fenotypu) nebo **přenašečství** a tedy zvýšenému riziku pro potomky

### **chromozomální poruchy**

nejedná se o konkrétní chybu ale o nadbytek/nedostatek genů obsažených v celých chromozomech nebo jejich segmentech (“gene dosage” efekt)

### **komplexní (poly-, multigenní) nemoci**

genetická dispozice podmíněná kombinací alel několika genů je výrazně manifestována prostředím a komorbiditami

## 2. Podle typu dědičnosti – **mendelistické** - dom/rec- monogenní, autozomální (nezávislá segregace, volná kombinovatelnost)

**nemendelistické** - multifaktoriální, mitochondriální, imprinting, expanze trin. repetit (HD, fraX)

## 3. Podle charakteru mutace - *genové, chromozomální, genomové*

# Monogenní nemoci

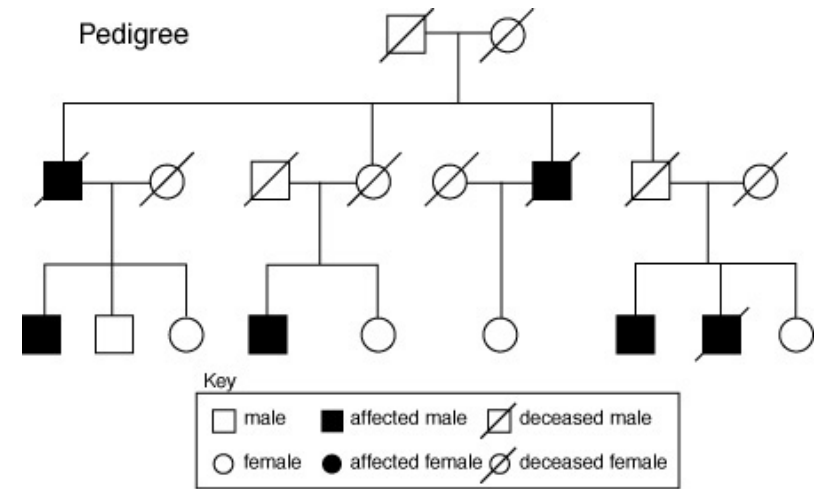
- **mendelistická dědičnost** (charakteristický způsob přenosu v rodinách)
- dědičný podklad se uplatňuje jako **velký faktor**, tj. je přítomen prakticky u **všech nemocných** a jedná se prokazatelně o faktor příčinný + přídatné faktory genetické i faktory zevního prostředí.
- příčinou těchto nemocí bývají především tzv. **vzácné alely** -variantní alela, která vznikla mutací někdy v nedávné nebo vzdálené minulosti a je většinou relativně málo častá, nahrazuje původní „divokou“ alelu na jednom nebo obou chromozomech
- determinována alelami v **jednom lokusu**
- choroby **dětského věku** (méně než 10% -po pubertě, 1% po skončení reprodukčního věku)
- často výrazně **patologické**
- V populační studii na 1 milionu živě narozených dětí byla **incidence vážných monogenních chorob odhadnuta na 0,36%**, u 6-8% hospitalizovaných dětí se uvažuje o monogenních chorobách.
- doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man) ~**6000 klinicky významných fenotypů**
- čtyři základní typy dědičnosti:

	dominantní	recesivní
autosomální	autosomálně dominantní (AD)	autosomálně recesivní (AR)
X-vázaný	X-dominantní (XD)	X-recesivní (XR)

# Monogenní nemoci

- Dělíme podle typu přenosu

- autozomální
  - geny na obou autozomech aktivní
- gonozomální (X-chromozom vázané)
  - muži hemizygotní
  - u žen 1 X-chromozom inaktivován!!
- jiné
  - imprinting, mozaicismus, ...



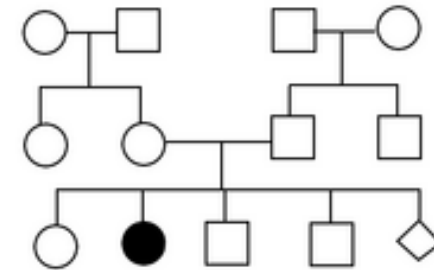
- podle projevu genotypu ve fenotypu

- recesivní
  - nemoc jen u mutovaného homozygota
- dominantní
  - nemoc stejná u heterozygota a mutovaného homozygota
- neúplně dominantní
  - odstupňovaná tíže nemoci u heterozygota a mutovaného homozygota
- kodominantní
  - jak normální tak patologická alela jsou vyjádřeny ve fenotypu

PLEIOTROPIE-fenylketonurie - rec. alela ovlivňuje víc znaků

# Monogenní nemoci - AR

- Nemoc jen u **mutovaného homozygota**, u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt k udržení normální funkce
- **manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:**
  - **haploinsuficience** - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
  - **dominantě negativního efektu** - syntéza abnormálního proteinu, který "soutěží" s normálním a ovlivňuje fenotyp (např. osteogenesis imperfecta)
  - zesílení funkce ("**gain-of-function**") - mutací je posílena přirozená vlastnost proteinu
  - **ztráty heterozygoty** (loss-of-heterozygosity, LOH) v somatické buňce - např. familiární predispozice k nádorům v důsledku mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)
- velmi často **enzymové defekty**
- postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatictí) - riziko  $0.50 \times 0.50 = 0.25$ ,
- frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných
- **Cystická fibróza** - nejčastější AR nemocí u bělochů je (f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22)
- **Enzymopatie** - fenylketonurie, galaktosemie, Tay-Sachsova choroba
- **Spinální muskulární dystrofie, srpkovitá anémie, Thalasémie**
- **Imunodeficience:** hyper-IgE syndrom (Jobův syndrom), WHIM syndrom, DiGeorgův syndrom.



# Monogenní nemoci - AD

- Dominantní alela je na autozomu
- Nemoc se projevuje v každé generaci - postižený jedinec má postiženého jednoho rodiče (a prarodiče)
- Nemocní jsou i heterozygoti
- Riziko opakování pro potomky a sourozence postiženého je 50%
- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově
- riziko pro potomka 0.50 (pokud by byli oba rodiče postižení pak 0.75, ale to je vzácné)
  
- **Familiární hypercholesterolemie (1/500)** -nejčastější dědičné metabolické onemocnění (1/200 - 500)  
Homozygoti pro mutovanou alelu jsou obzvláště těžce postiženi (**neúplná dominance**)
- **Myotonická svalová dystrofie (1/1000), Huntingtonova chorea (1/3000)**
- Marfanův syndrom
- Neurofibromatóza
- Achondroplazie
- Brachydaktylie, Syndaktylie
- Osteogenesis imperfecta
- těžké kombinované imunodeficiency (SCID), chronická granulomatózní choroba, deficiency adenosindeaminázy
- MHC II deficit, deficit adhezivity leukocytů
- **Leidenská mutace: (Faktor V Leiden)** -Heterozygoti mají riziko žilní trombózy 5–10x vyšší, homozygoti 80-100x vyšší!!!  
(**neúplná dominance**)



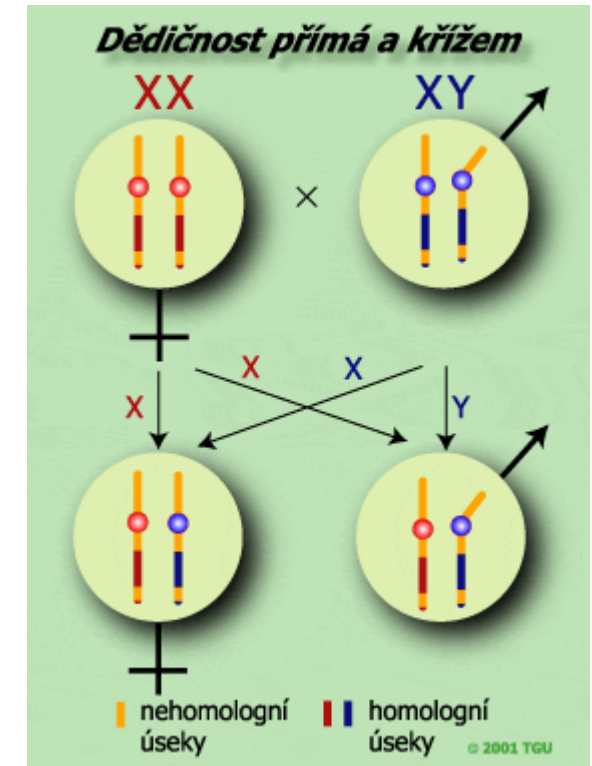
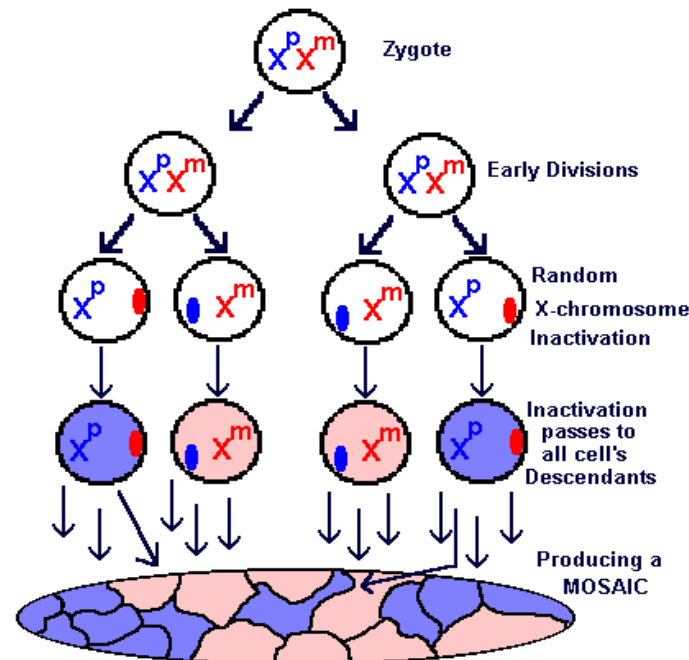
# Monogenní nemoci - X-vázané

- **Nemendelistická dědičnost**- není identita reciprokových křížení
- ženy 3 genotypy, muži pouze 2
- X-vázané nemoci se **manifestují u všech mužů**, kteří zdělili mutaci, a pouze u homozygotních žen
- **inaktivace X-chromozomu u žen** (16 dní po oplození)
- kompenzace dávky a exprese X-vázaných genů
- má počátek inaktivace (blízko centromery), nepodléhá 20 genů
- hypotéza Lyonové ("lyonizace") -v somatických bb. je 1 X inaktivovaný a v interfázi se zobrazuje jako "Barrovo" tělísko (viz sporné identifikace pohlaví)
- proces je **náhodný**, může se týkat jak otcovského tak mateřského X
- důsledkem je variabilní exprese X-vázaných genů u heterozygotek ("manifestující přenašečka")
- **funkční mozaicismus**

- XD -**
  - Hypertrychoza
  - Parciální barvoslepost
  - Deficience GGPH
  - Ichtyosis
  - Lesh-Nhyanův syndrom
- XR -**
  - Hemofilie A
  - Duchenneova muskulární dystrofie
  - Wiskott-Aldrichův syndrom
  - Imunodeficience

## Geny na gonozomech

- 1.dědičnost jako autozomy (c-o)
- 2.vázané na pohlaví-dědičnost křížem
- 3.přímá dědičnost-holandrická-mužská linie

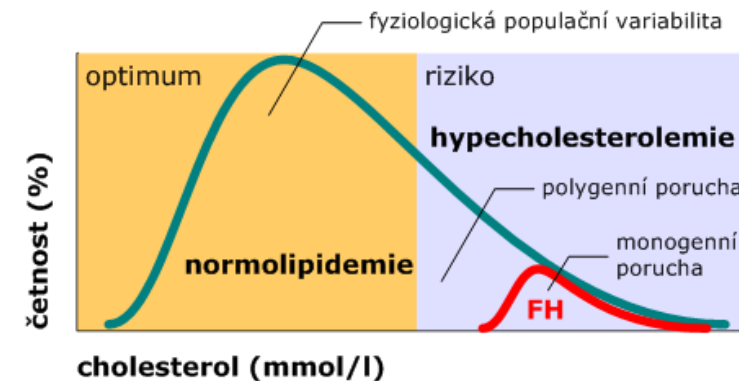
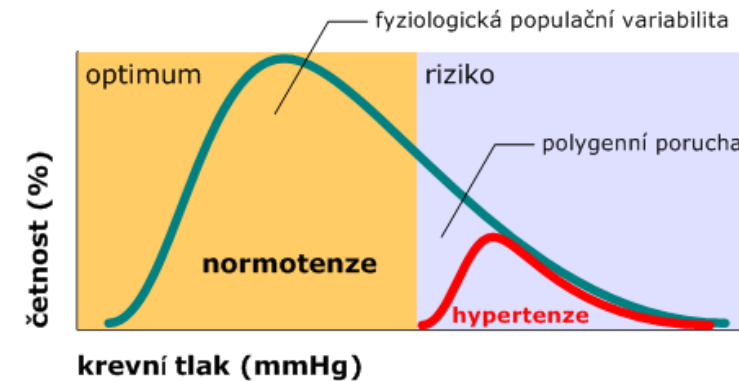
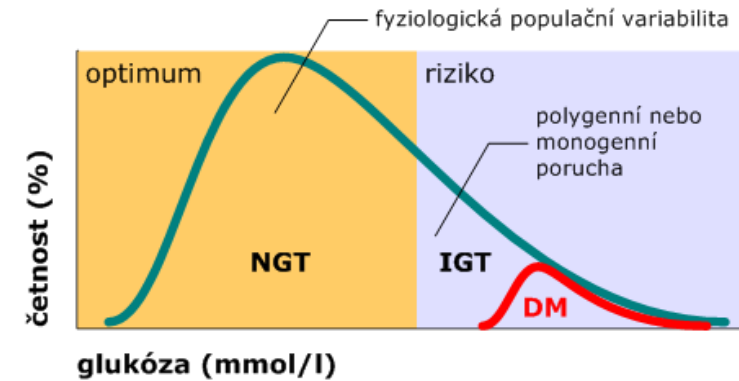


# Komplexní nemoci

- multifaktoriální, multigenní
  - kombinace **genů a faktorů** zevního prostředí (genotyp-genotyp+genotyp-prostředí)
  - v klinické praxi často kolísá názor na výsledky genetických studií, které se snaží odhalit genetický podklad komplexních nemocí, od neodůvodněného očekávání nad nalezenými geny velkého účinku až po velkou skepsi vzhledem k existenci genetického podkladu v populaci četných nemocí (nad 1%), jako je v kardiologii např. esenciální hypertenze.
  - choroba má **prokazatelně familiární výskyt**- musíme očekávat podíl genetického podkladu na její manifestaci
  - Své genetické pozadí mají i tak relativně vzdálené proximální fenotypy, jako je např. kvalita života u nemocných s chronickým kardiovaskulárním onemocněním.
  - Hledání genetické determinace:
    - **zvýšený výskyt v rodinách -familiární agregace**- příbuzní sdílejí větší podíl genů navzájem než s nepříbuznými
    - **zvýšená incidence u dvojčat** MZ větší než DZ (stupeň fenotypové shody, konkordance, odhad heritability)
    - **dědičnost intermediálních fenotypů**
    - **heritabilita** – relativní podíl variability podmíněné geneticky na celkové variabilitě znaku
- Až 80% populace onemocní do konce života komplexní nemocí**

# Komplexní choroby

- fenotyp **nevykazuje klasickou mendelistickou** dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- **genová složka není homogenní, vztah genů není aditivní** – **multiplikativní model**
- **predisponující "geny"** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost
  - je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**)
    - dieta, fyzická aktivita, kouření, ....
  - a **interakcí genů** mezi sebou
- nejčastější komplexní nemoci
  - diabetes (1. i 2. typu)
  - dyslipidemie
  - esenciální hypertenze
  - schizofrenie
  - alergie, nádory



# Komplexní nemoci

komplexní onemocnění jsou charakterizována:

- **neúplnou penetrancí** patologického fenotypu
  - u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru vícero genů) se **patologický fenotyp nerozvine**
- existencí **fenokopíí**
  - patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmíněného genotypu (somatická mutace, teratogen)
- existencí **genokopíí**
  - genotyp determinující velmi podobný fenotyp determinovaný odlišným genotypem
- **genetickou heterogenitou** (lokusovou a alelickou)
  - klinický obraz není specifický, ale může se rozvinout v důsledku záměn v genech ležících na různých lokusech (= lokusová heterogenita) hluchota, v jednotlivých genech může být přítom vícero mutací či polymorfizmů (= alelická heterogenita) CF, p53
- **polygenní dědičností**
  - predispozice k rozvoji patologického fenotypu se zvyšuje pouze při simultánním výskytu určitého souboru alel
- **vysokou populační frekvencí alel** zodpovědných za rozvoj patologického fenotypu
  - každá jednotlivá predisponující alela pravděpodobně není sama o sobě výrazně patogenní
  - **alely příznivé, nepříznivé a neutrální**
- **pleiotropie**
  - mnohočetné fenotypové efekty jednoho genu nebo páru genů
- 52 • spolupůsobením dalších mechanismů přenosu - **mitochondriální dědičnost, imprinting (patern./matern.)**

	JEDNOLOKUSOVÉ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost		

# Genetické studie

- Hledání **markerů/kandidátních genů** (jednodušší u mendelisticky děděných nemocí)
  - s klinickou manifestací nemoci
  - s klinickou závažností nemoci
  - s intermediálním fenotypem
  - s odpovídavostí nemoci na léčbu
  - Markery-neexprimované a exprimované (vázané)
  - Systematické hledání genů (sekvenace) nebo komplexní analýza (chipy)
- **Celogenomové asociační studie** (GWAS=Genome-Wide Association Study) vyhledávají polymorfismus jednotlivých nukleotidů nebo běžné genové variace, které se typicky chovají jako ukazatelé genových oblastí s malým efektem u stoupajícího rizika nemocí (u komplexních nemocí)

*Genome-wide association studies have identified various strong associations between genetic polymorphisms and susceptibility to common infectious disease phenotypes, such as HIV-1, hepatitis B and C viruses, dengue, malaria, tuberculosis, leprosy, meningococcal disease and prion disease*
- Dalším významným momentem je výběr statistické metodologie, která zhodnotí sílu asociace genů s chorobami. Možnosti jsou v zásadě dvě: **linkage (vazebná) analýza a asociační studie**. K detekci specifických genetických oblastí a genů, které se účastní v transmisi nemoci, je v principu možné použít obě metody.

# Genetické studie

## Linkage (vazebná) analýza

### vztah mezi lokusy

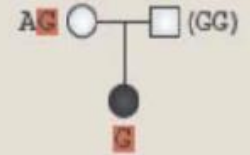
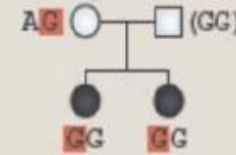
Testuje kosegregaci genového markeru a fenotypu nemoci v rodině. Čili marker a nemoc se v dané rodině mají vždy vyskytovat spolu.

## Asociační studie

### Společný výskyt alel či fenotypů (vztah mezi alelami/fenotypy)

Vyšetřují souvýchyt markeru a nemoci na populační úrovni, tj. u nepříbuzných jedinců, obvykle srovnáním frekvencí markerů u nepříbuzných nemocných a kontrolních subjektů (studie case-control)

*Statistickou sílu asociace je možno dále zvýšit obohacením o další kritéria, jako jsou klinické subtypy nemoci (studie case-case), závažnost nemoci, časný začátek nemoci, rizikové faktory pro nemoc včetně pohlaví a vhodné biologické znaky (např. plasmatické hladiny cytokinů při asociaci genetických polymorfismů v cytokinových genech; studie genotyp-fenotyp).*



Property of mapping approach	Linkage analysis	Association analysis
Data type studied	Relatives	Unrelated or related individuals
Relevant parameter	Recombination fraction	Association statistic
Range of effect detected (linkage or association)	Long ( $\leq 5$ Mb)	Short ( $\leq 100$ kb)
Number of markers required for genome-wide coverage	Moderate (500–1,000)	Large ( $> 100,000$ )
Statistics used	Cumbersome (requires tailor-made likelihood methods)	Elegant; can use the range of classical statistical tools
Dealing with correlated markers	Pose problems in presence of ungenotyped individuals	Can be handled efficiently
Biological basis of approach	Observe (or infer) recombination in pedigree data	Exploit unobserved recombination events in past generations
Dealing with allelic heterogeneity	Not a problem	Reduces power
Detecting genotyping errors	Potentially detected as Mendelian inconsistencies	Potentially detected only in family data, but not in case-control data
Most suitable application	Rare, dominant traits	Common traits

# Klinická genetika

- **zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí**
- **genetické poradenství**
- **vrozené vady** - poruchy utváření orgánů, které vznikly v období nitroděložního života, i poruchy funkční (např. duševní opoždění) a poruchy na úrovni biochemické a molekulární (např. vrozené vady metabolismu).

<b>Skupina</b>	<b>Příčina</b>	<b>Zastoupení</b>
Primárně (geneticky)	chromozomální aberrace	10 %
	monogenní dědičnost	20 %
Sekundárně (prostředí)	léky, infekce, záření	5 %
	porodní poranění	12 %
	infekce po narození	7 %
Neznámé (multifaktoriální)	geny + prostředí	46 %



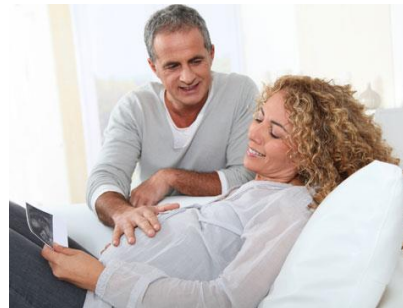
# Klinická genetik

## Prenatální diagnostika

- zahrnuje vyšetřovací postupy směřující k vyhledávání statisticky významné odchylky ve struktuře nebo funkci, která přesahuje hranice fenotypové variability
- umožňuje v závažných případech ukončení gravidity, u dalších je možno v předstihu plánovat optimální perinatální péči.

Rizikové faktory:

- věk matky v době porodu je vyšší jak 35 let
- pozitivní biochemický screening z krve matky
- ultrazvukový nález, který zvyšuje riziko přítomnosti chromozomální aberace (nahromadění tekutiny v podkoží, nepřítomnost nosní kůstky, srdeční vada plodu aj.)
- přítomnost chromozomální aberace v rodině



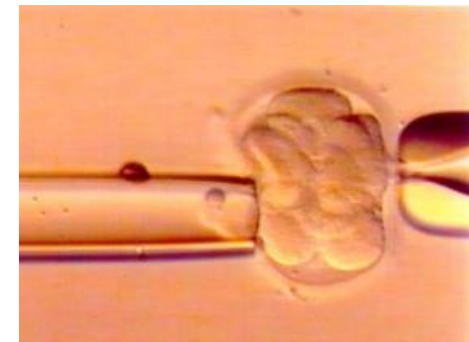
## Stanovení pohlaví plodu

- volné fetální DNA kolující v krvi matky
- neinvazivní s přesností ~98 %
- od 10. týdne těhotenství
- DNA plodu z venózní krve matky
- z klinického hlediska je určení pohlaví plodu důležité v případě rizika nějaké genetické choroby vázané na určité pohlaví (např. hemofilie).



## Preimplantační diagnostika

- metodu časně prenatální diagnostiky, která je vázána na techniky umělého oplodnění.
- za účelem minimalizace chyby genetického vyšetření je třeba k oplozování vajíček použít metody intracytoplazmatické injekce spermie
- buňky pro genetické vyšetření jsou odebírány z embrya nejčastěji ve stadiu 8 buněk nebo blastocysty



# Prenatální diagnostika

- Ultrazvuk, MRI
- Vyšetření karyotypu
- **cytogenetické** vyšetření
- **FISH** – fluoresceční hybridizace in situ- vazba denaturované sDNA se specifickou sondou
- **AmnioPCR (Quantitative fluorescent PCR (QF-PCR))** je moderní metoda sloužící ke genetickému vyšetření plodu-porovnání DNA markerů matky i plodu → stanovení počtu jednotlivých chromozomů u plodu. výsledek je následně potvrzen klasickým cytogenetickým vyšetřením
- k dispozici je v současné době vyšetření 21. chromozomu - amnioPCR, nebo sada vyšetřující chromozomy 13,18, 21, X a Y- tzv. multiamnioPCR.
- **invazivní metody** - amniocentéza, biopsie choriových klků, kordocentéza
- **NIPT- Neinvazivní prenatální testování-** vyšetření volné DNA plodu, která koluje v krvi matky- Cell-free fetal DNA (cffDNA) – nejcitlivější dostupný test pro stanovení rizika Downova, Edwardsova a Patauova syndromu, stanovení pohlaví, RH krevní skupiny nebo vyloučení de novo nebo dědičných monogenních chorob

## PRENATAL TESTING

Non-invasive and invasive tests used during pregnancy for the identification of OI and other birth anomalies.

### Non-invasive prenatal testing (NIPT)

NIPT uses fetal DNA from the mother's bloodstream for prenatal testing of OI. Used from 7th-10th weeks of gestation.

### Ultrasound

Allows to discover severe OI cases from 20th weeks of gestation non-invasively.

### Chorionic villus sampling (CVS)

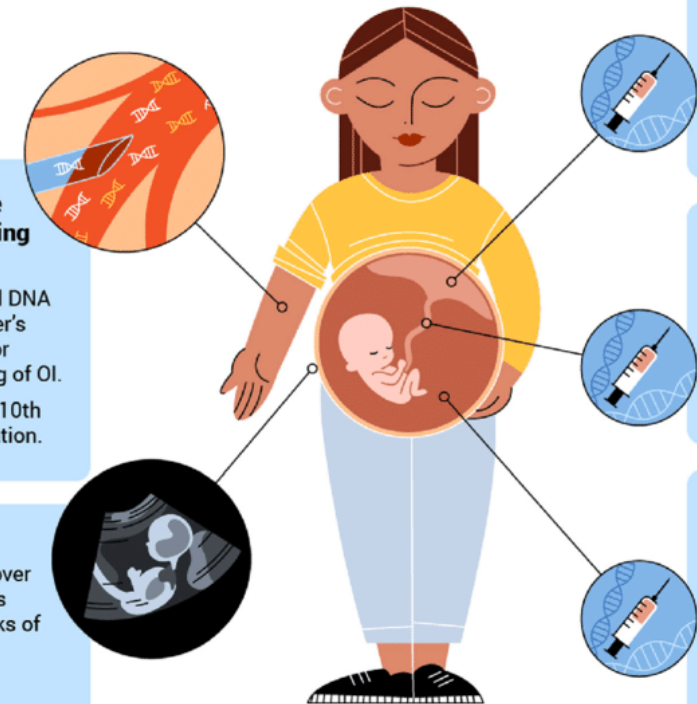
An Invasive sampling of the placental tissue for further genetic analysis of OI. Used from 10th-12th weeks of gestation.

### Cordocentesis

An invasive sampling of umbilical cord blood for further OI genetic analysis. Used on 22nd-24th weeks of gestation.

### Amniocentesis

An invasive sampling of amniotic fluid for further OI genetic analysis. Used from 15th-20th weeks of gestation.



# Klinická genetika

## Postnatální diagnostika-

- **trombofilie** - příčinou různých komplikací v těhotenství, genetické
- vyšetření u: gravidních, před začátkem užívání hormonální antikoncepce,
- před chirurgickým zákrokem
- **Leidenská mutace** - mutace genu pro inhibitor koagulace faktor V
- - riziko trombembolie ~30 %,AD (5-10% výskyt)
- **Hyperhomocysteinemie** - mutace enzymu konvertujícího kyselinu listovou - projeví při nedostatku vitaminů B6, B12 a kyseliny listové, AR
- **Defekt antitrombinu (FII)** - mutace koagulačního faktoru II
- - riziko trombembolie ~70 - 90 %

## Cystická fibróza

- více než 30 mutací, které způsobují toto onemocnění

důvody k vyšetření jsou:

- podezření na klinické onemocnění
- příbuzenský vztah rodičů
- opakované potraty
- léčená neplodnost



# Jaderná a mimojaderná dědičnost

There are two kinds of genetics – nuclear and uncLEAR" (Boris Ephrussi (1901 -1979)

Organelová dědičnost –cytoplazmatická dědičnost- nemendelistická segregace, rozdíl v recipročním křížení a vyštěpování v průběhu ontogeneze

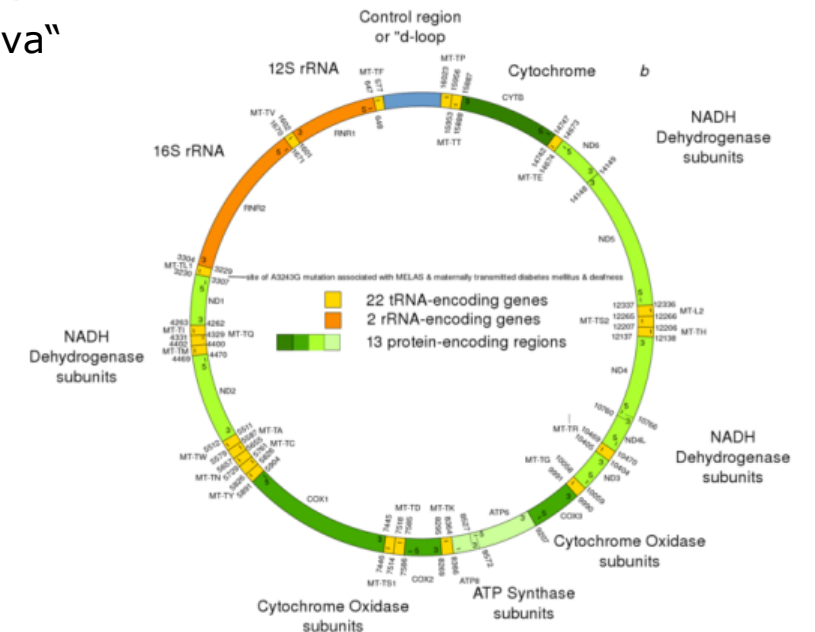
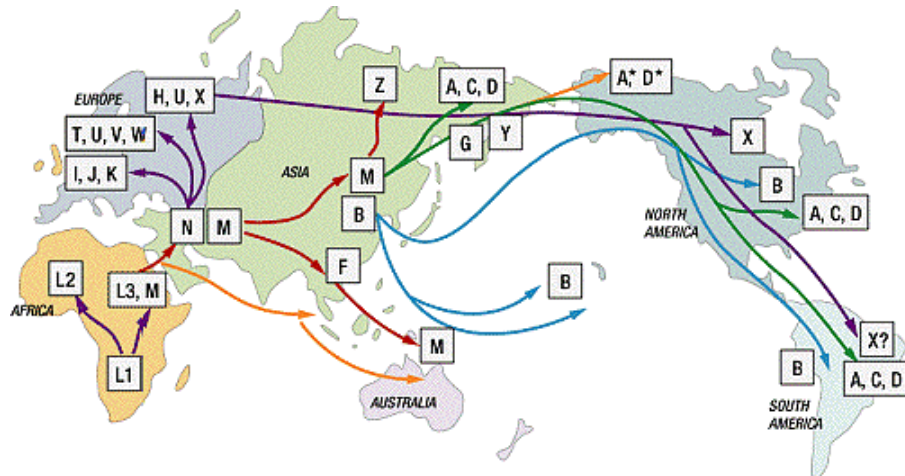
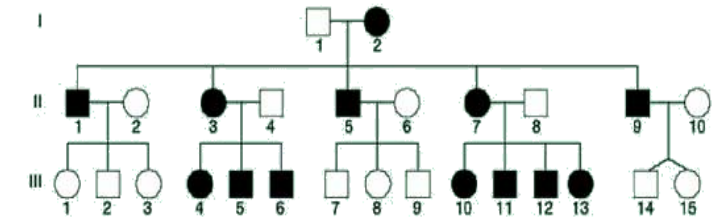


3 200 000 000 pb

16 569 pb

# Mitochondriální DNA

- původ: alfaproteobakterie pohlcena eukaryotickou buňkou
- mnoho genů během evoluce bylo z mtDNA horizontálně přeneseno do buněčného jádra (geny v jádře kódující různé mitochondriální proteiny silně připomínají bakteriální proteiny)
- ~ 16,5 tisíce bp, H a L vlákno, nemá histony, nemá introny, 93% kódující DNA,
- nemá repetitivně sekvence, kóduje 37 genů
  - 24 genů pro různou nekódující RNA
  - 13 genů kóduje vlastní mitochondriální polypeptidy zapojené v mitochondriálních procesech (využívány během oxidativní fosforylace)
- maternální dědičnost
- genetické analýzy: na základě mtDNA určena migrace lidstva - „mitochondriální Eva“ (bez rekombinace-přenos „en bloc“ - haplotypy, haploskupiny, vysoká mutabilita)



# Mitochondriální nemoci

- počet mitochondrií v buňce - variabilní až 2000
- 8-10 DNA v každé mitochondrii, množí se autonomně, náhodné rozdělení do různých tkání
- Mutační rychlost 10x vyšší než jádro (delece a bodové mutace)

Mutace homoplazmické- ve všech molekulách mt –recesivní

Mutace heteroplazmické - častější-v některých mt

**Děti jedné matky tak mohou mít odlišné fenotypy v závislosti na množství mutantní mtDNA v jednotlivých tkáních**

**Hladina Heteroplazmie**-pro každou buňku jiná

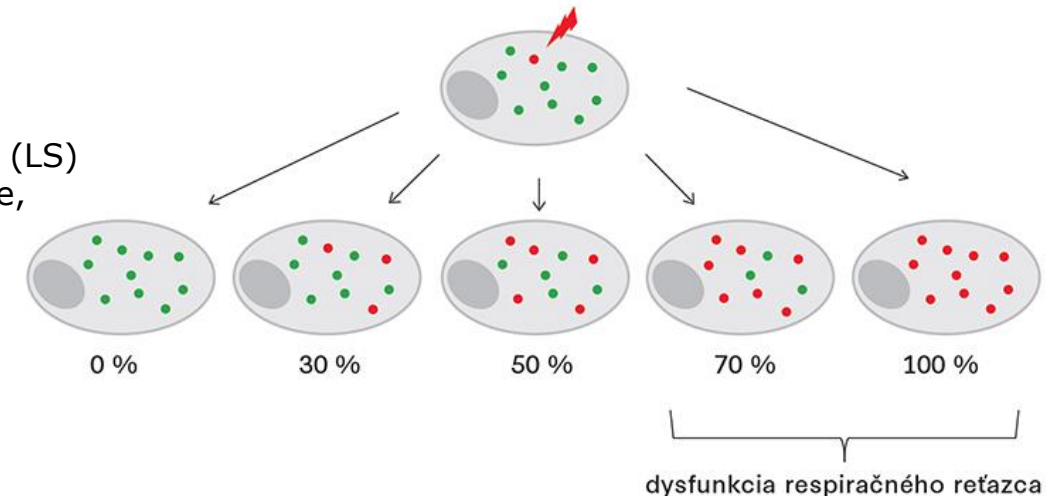
m.8993T>G v genu MT-ATP6

při hladině heteroplazmie více než asi 90 % diagnostikován Leighův syndrom (LS)

naopak u pacientů s hladinou heteroplazmie 70 až 90 % se projeví neuropatie,

ataxie a retinitis pigmentosa (NARP)

- Porucha oxidativní fosforylace
- Variabilita - stejná mutace se jinak manifestuje
- Neurometabolická onemocnění, myopatie



Leberova hereditární optická neuropatie (LHON), Leighův syndrom, NARP, MELAS, MERRF  
Maternálně dědičný diabetes a hluchota (MIDD), Pearsonův syndrom, Syndrom Kearns-Sayre

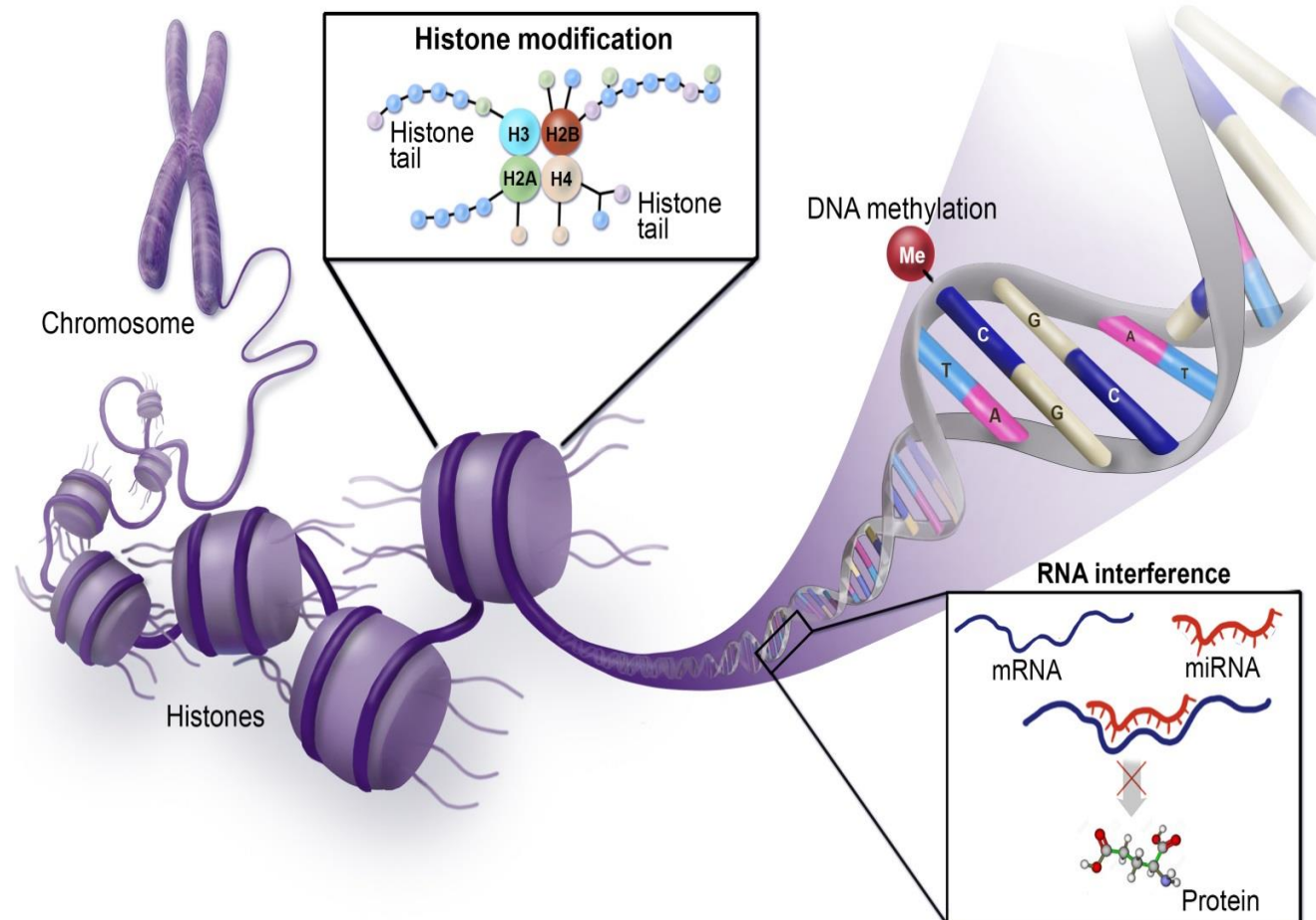
„Common deletion“ cca 500bp - cancerogeneze

# Epigenetika

Genetická výbava každé buňky jedince je identická, profil proteinů nikoliv

Zabývá se studiem **reverzibilních dědičných změn ve funkci genu** (změny v genové expresi), které **nejsou způsobeny** změnami v nukleotidové sekvenci DNA.

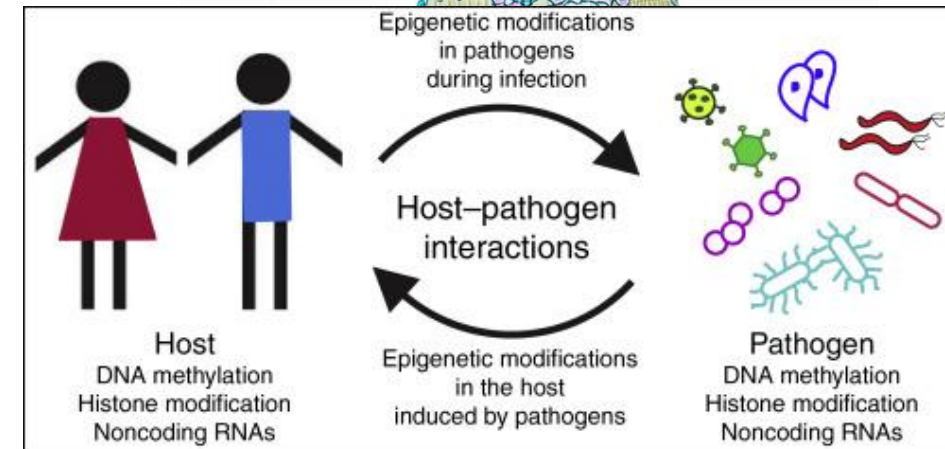
- A) Methylace DNA**
- B) Modifikace histonů**
- C) RNA interference**



# Dědičnost infekčních částic

**Infekční dědičnost** - symbiotické nebo parazitické asociace mikroorganismů s eukaryotní buňkou (zahrnuje **vloženou cizorodou genetickou informaci** různých patogenů, virů, bakteriofágů či bakterií do genomu eukaryotní buňky. Infekční dědičnost je forma nemendelistické dědičnosti, infekční částice v buňce hostitele může způsobit změny ve fenotypu hostitelského organismu a poté přenést změněný fenotyp na své potomky.

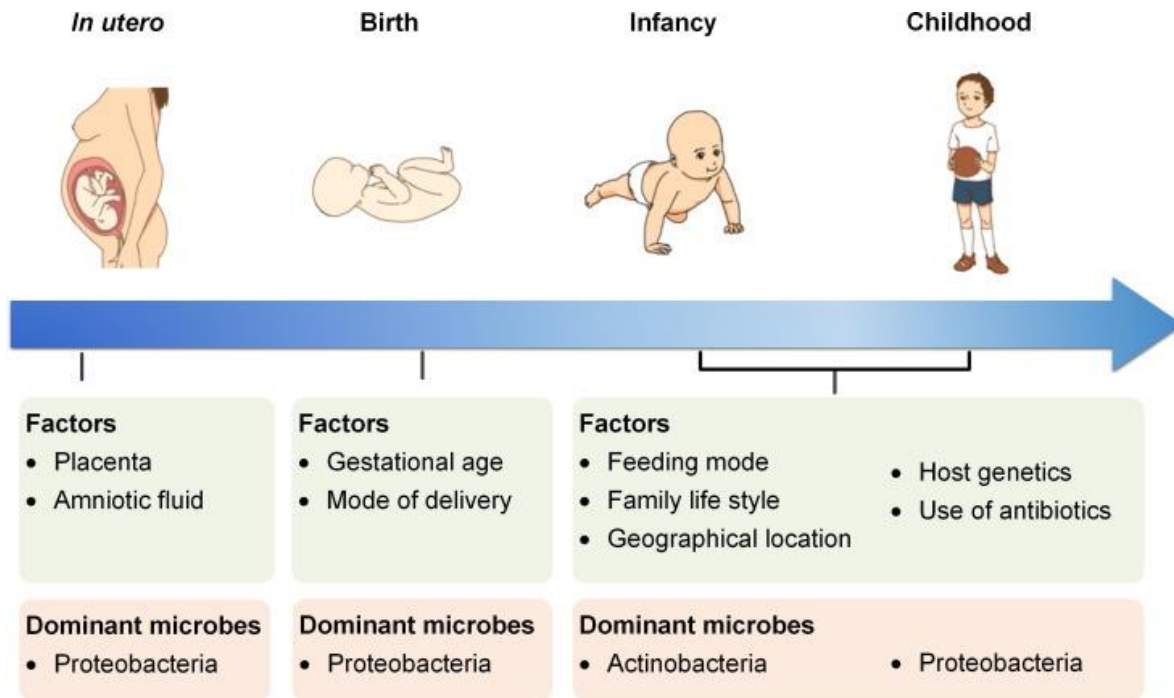
- „The latent human **herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres** of human chromosomes in vivo and in vitro“  
*„it specifically and efficiently integrates into telomeres of chromosomes during latency rather than forming episomes, and the integrated viral genome is capable of producing virions.“*
- „Reverse-transcribed SARS-Cov-2 RNA can inegrate into genome of cultured human cells and can be expressed as chimeric transcripts in patient-derived tissues“





# Mikrobiom - druhý lidský genom

- **10krát** více bakterií, plísní a jiných mikroorganismů než lidských buněk
- 2011 - **Human Microbiome Project**, viz <http://commonfund.nih.gov/hmp/>)
- střevní mikrobiom - individuální - "střevní skupiny" neboli **enterotypy**
- **střevo má po mozku nejvíce nervových buněk** - „druhý mozek“
- střevní mikroorganismy přímo interagují s enterickým NS a **ovlivňují naše chování** (psychotika)



**rich placental microbiome** in normal term pregnancies likely providing important metabolic and immune contributions to the growing fetus; **altered microbial composition during pregnancy** may produce aberrant metabolites impairing fetal brain development and **life-long neurological outcomes (dysbiosis)**

## The Importance of the MICROBIOME

By the Numbers



**10-100 trillion**

Number of symbiotic microbial cells harbored by each person, primarily bacteria in the gut, that make up the human microbiota

**90%**

Up to 90% of all disease can be reached in some way back to the gut and health of microbiome

**>10,000**

Number of different microbe species researchers have identified living in the human body

**10X**

There are 10 times as many outside organisms as there are human cells in the human body

**100 to 1**

The genes in our microbiome outnumber the genes in our genome by about 100 to 1

**22,000**

Approximate number genes in the human gene catalog

**3.3 million**

Number of non-redundant genes in the human gut microbiome

**99.9%**

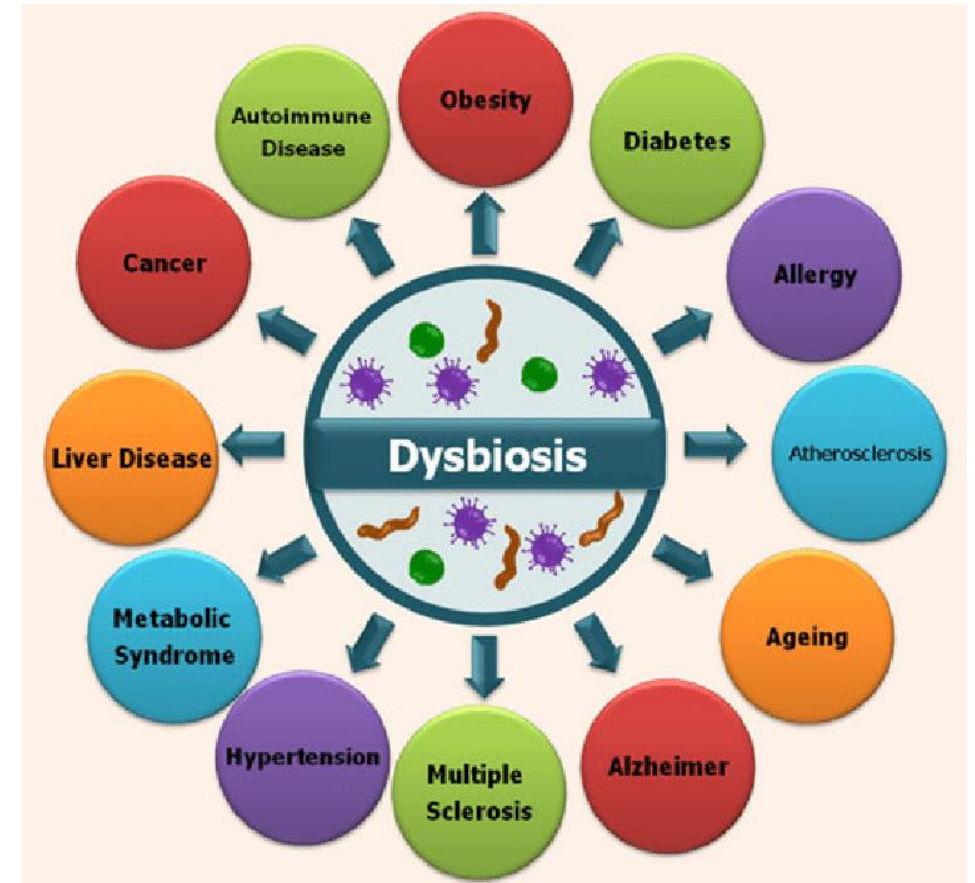
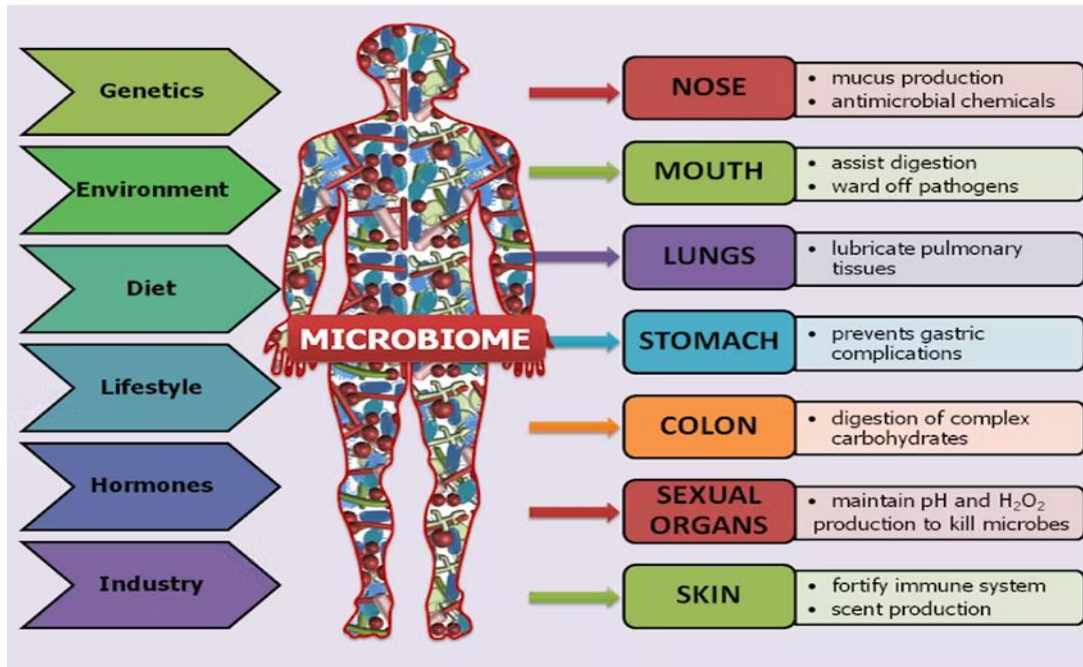
Percentage individual humans are identical to one another in terms of host genome

**80%- 90%**

Percentage individual humans are different from another in terms of the microbiome

# Mikrobiom - patologie

- **dysbalance mikrobiomu- antibiotika, potrava (typ a doba), stres**
- složení a vlastnosti střevního mikrobiomu se liší u jedinců s **obezitou**
- složení střevního mikrobiomu - vliv na metabolické děje - „low grade inflammation“ (chronický subklinický zánět) -spojen s funkcí mikrobiomu- u lidí se sklonem k obezitě
- **tzv. fekální transplantace** (infekce Clostridium difficile, 80% úspěšnost, první léčba fekální bakterioterapií v ČR- FN Brno,2009)



- **Sugar** disrupts microbiome, eliminates protection against obesity and diabetes

- Genome-microbiome interplay provides insight into the determinants of the **human blood Metabolome**

# Orální mikrobiomu-oralom

- druhý největší po střevním – mezidruhové interakce (*bacteria, archaea, fungi, viruses, and protozoa*)
- microbiome, mykobiome a virom- 1000
- Human Oral Microbiome Database (HOMD)
- Dysbióza asociovaná s vyšším rizikem výskytu:

## Onemocnění parodontu

### Zubního kazu

### Rakoviny

*head and neck squamous cell cancer*  
*pancreatic cancer*  
*colorectal cancer*

### Systémových nemocí

*rheumatoid arthritis*  
*SLE*

### Kardiovaskulárních nemocí

*hypertension*  
*ateroskleróza*

### Neurologických nemocí

*Alzheimer's disease*

- one study confirmed that the composition and structure of *supragingival plaque is mainly related to caries*, whereas *subgingival plaque is mainly related to periodontal disease*

- *salivary microbiome of obese patients differs from that of normal-weight hosts*

#### Periodontitis

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Tannerella forsythia*
- *Treponema denticola*
- *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*



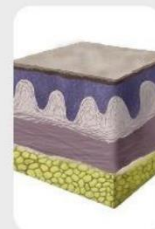
#### Dental caries

- *Streptococcus mutans*
- *Lactobacillus*
- *Streptococcus sobrinus*



#### Oral lichen planus

- *Capnocytophaga sputigena*
- *Eikenella corrodens*
- *Prevotella intermedia*



#### Oral cancer

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Streptococcus gordonii*



#### Autoimmune diseases

1. Rheumatoid arthritis
  - *Rheumatoid arthritis*
2. Sjogren syndrome
  - Firmicutes / Proteobacteria ratio
3. Systemic lupus erythematosus
  - *Actinomyces*
  - *Prevotella oulorum*
  - *Pseudomonas spp.*



#### Cardiovascular diseases

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Streptococcus sanguinis*



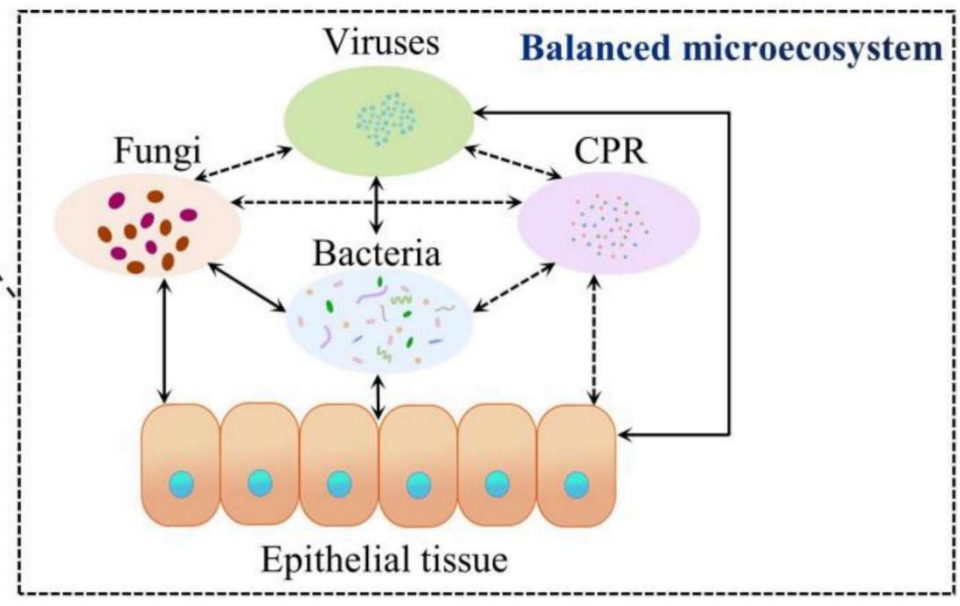
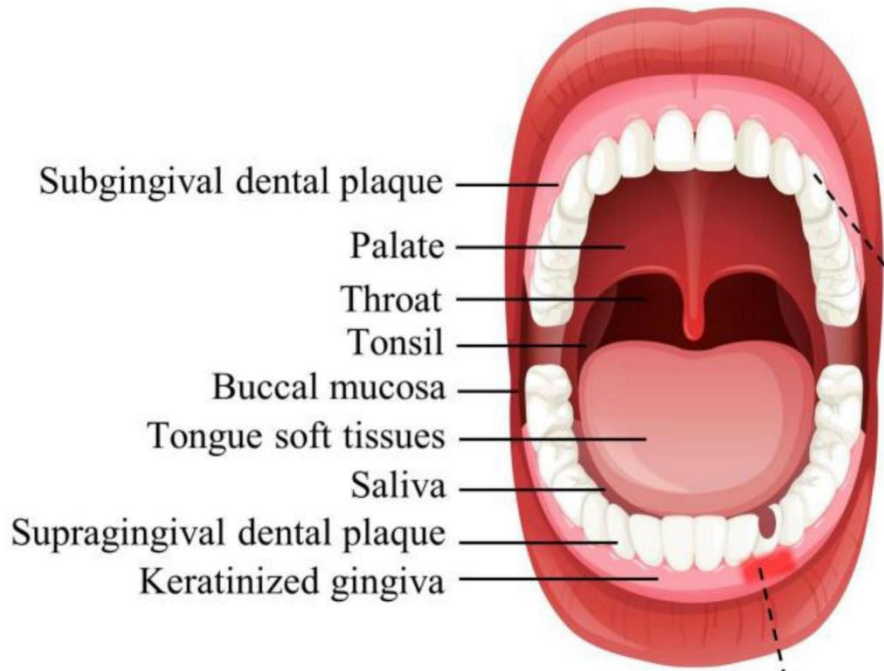
#### Diabetes

- *Porphyromonas gingivalis*
- *Tannerella forsythia*

#### Systemic malignancies

1. Gastrointestinal cancer
  - *Porphyromonas gingivalis*
  - *Tannerella forsythia*
  - *Neisseria elongata*
  - *Streptococcus mitis*
  - *Fusobacterium nucleatum*
  - *Lactobacillus*
2. Lung cancer
  - *Capnocytophaga*
  - *Veillonella*

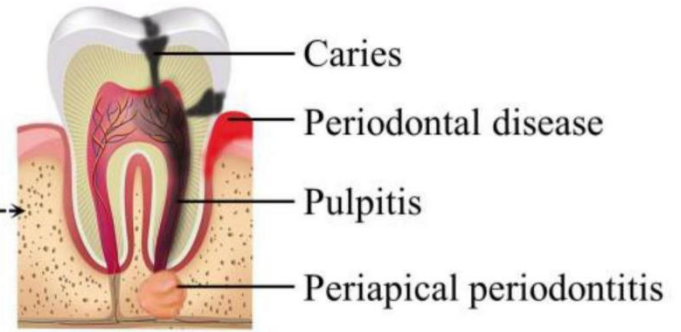
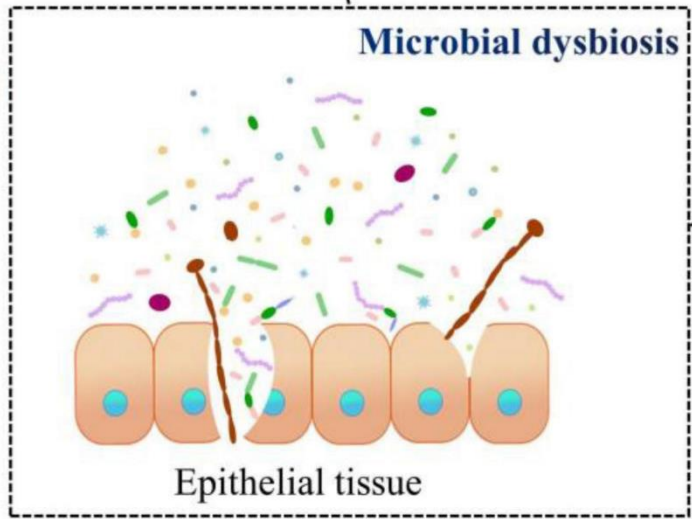




Causing



Various factors



Various oral diseases

↔ Interactions exist and have been confirmed.  
 ↔ Interactions must be verified.

# Fenotyp

## Genetická predispozice

## Genové interakce

Vývoj zubů - amelogeneze, (vývojové vady zubů)

Zubní kaz

Parodontitida - dědičné formy -70%heritabilita

(GWAS - 38 genů, kratší délka telomer u chronické formy)

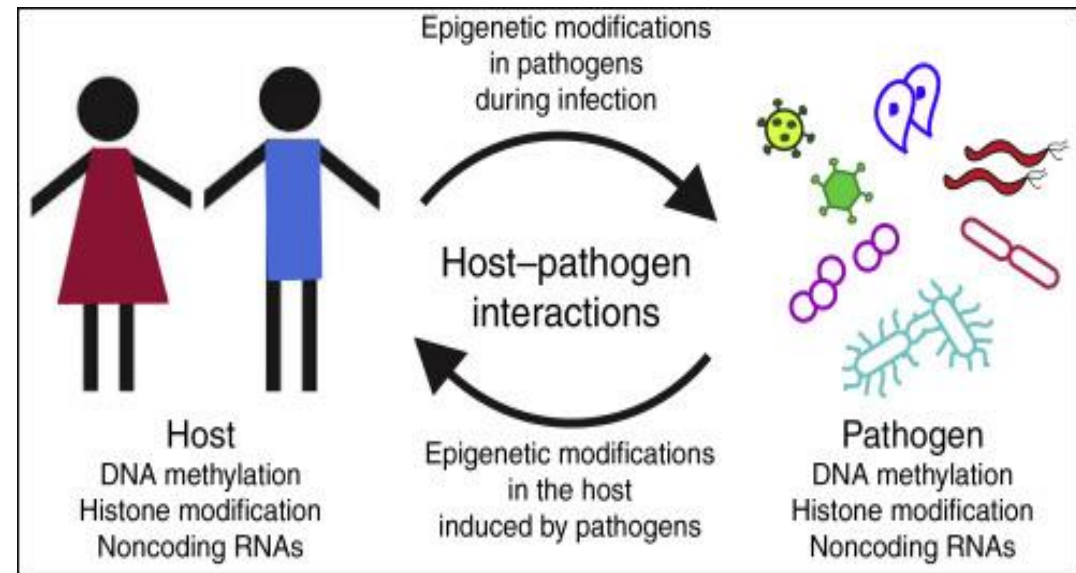
Gingivitida

- Imunitní systém
- Metabolismus a příjem cukrů (alkoholu)
- Potravní chování (chuť – taster x non-taster)
- Sliny (množství, složení)

## Faktory prostředí

## Epigenetické změny

## Mikrobiom



# Genetika zubního kazu

complex, chronic, multifactorial disease

studie na dvojčatech:

- higher concordance and heritability between MZ twins in dental caries occurrence and severity
- significant heritability for oral microorganisms including Streptococci, salivary flow rate, salivary pH and salivary amylase activity.

vazebná/asociační analýza

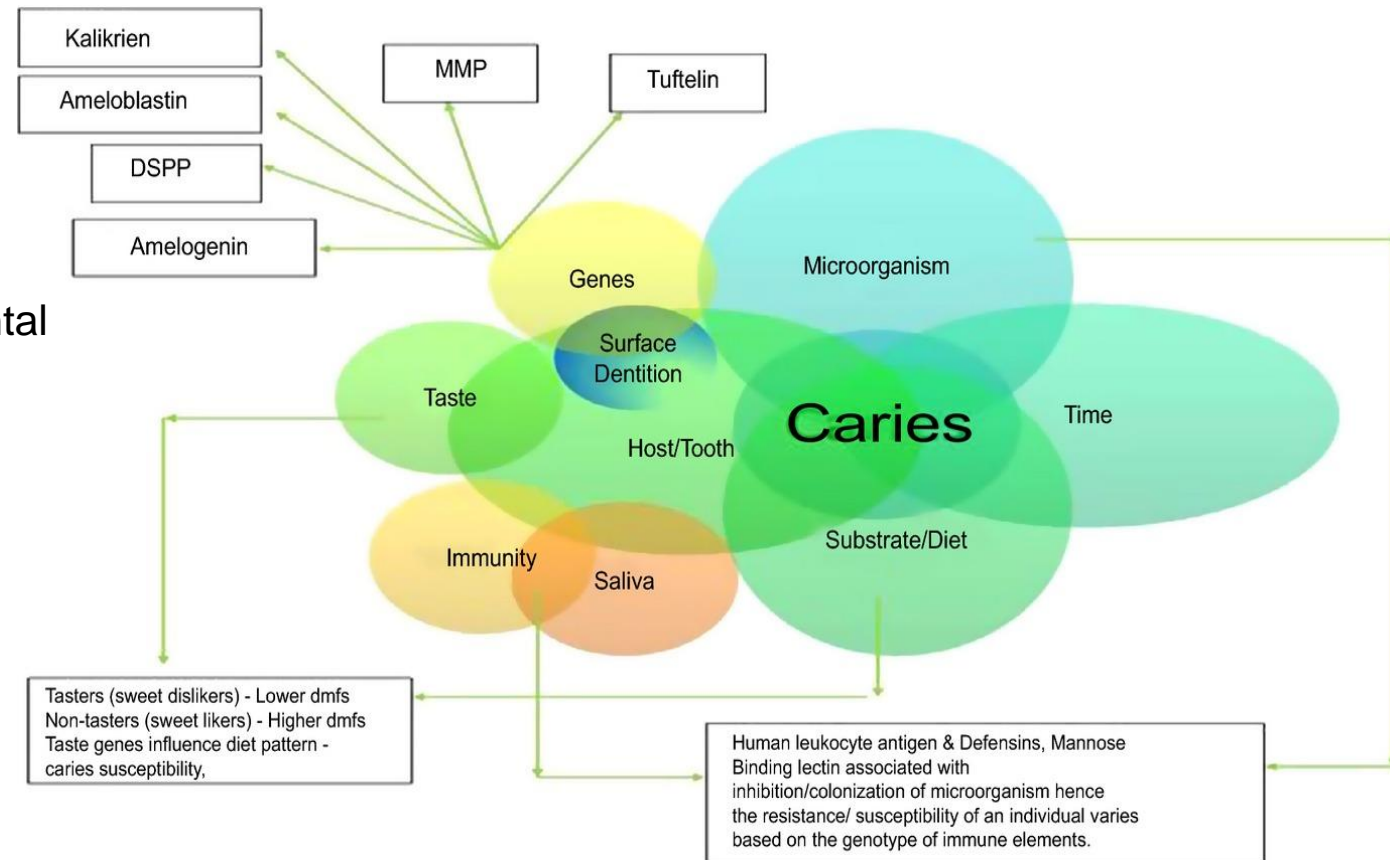
- dental caries is strongly familial based with probable genetic and sex-linked associations.
- parents and siblings -who were highly resistant to dental caries
- individual's resistance to caries despite being on a highly cariogenic diet

„Tooth genes“

amelogenin, enamelin, ameloblastin, tuftelin,  
dentine sialophosphoprotein

Defekty mineralizace

„Taste genes“



# THE END

