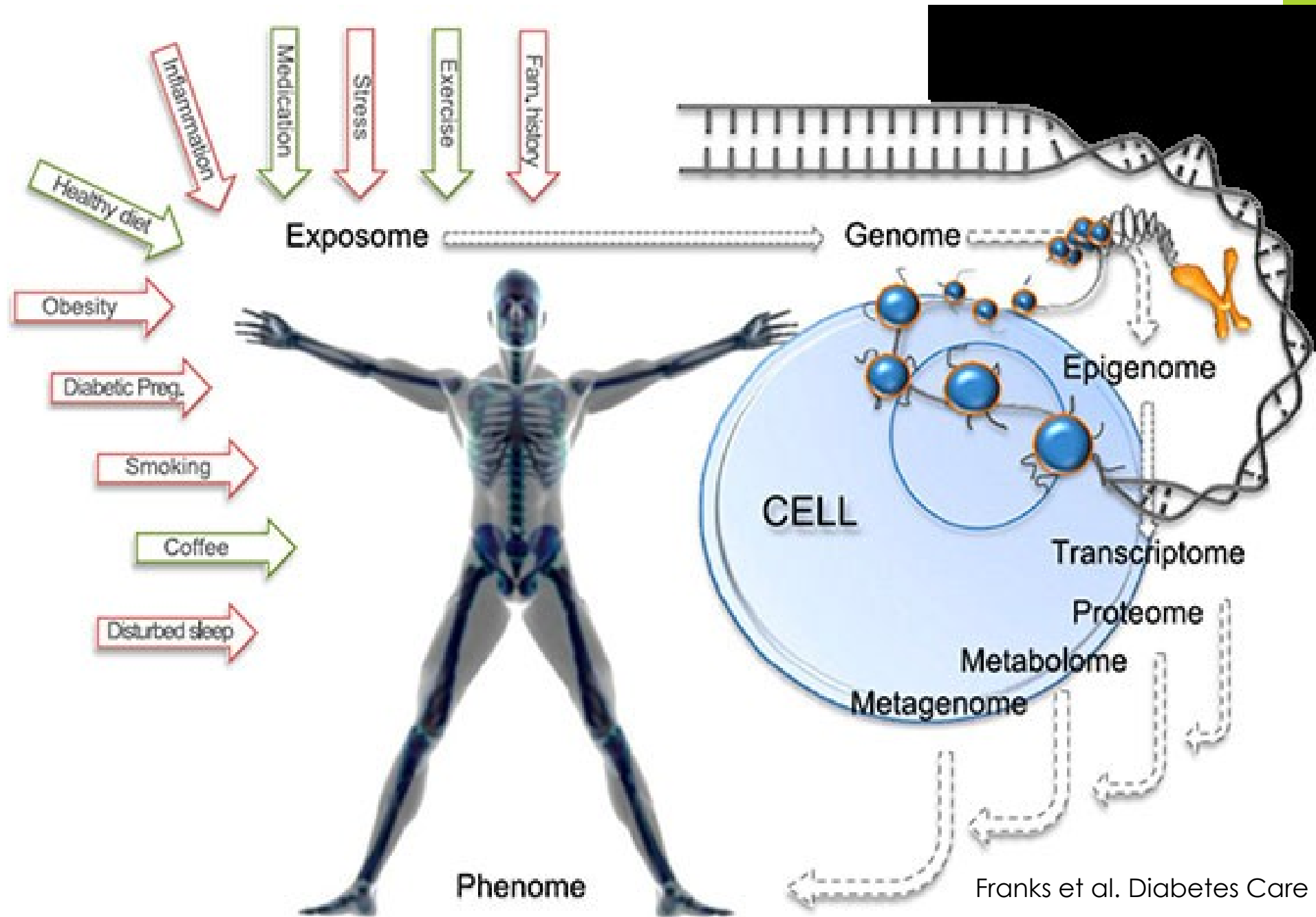


# Lidský genom a jeho struktura Základy jaderné a mimojaderné dědičnosti

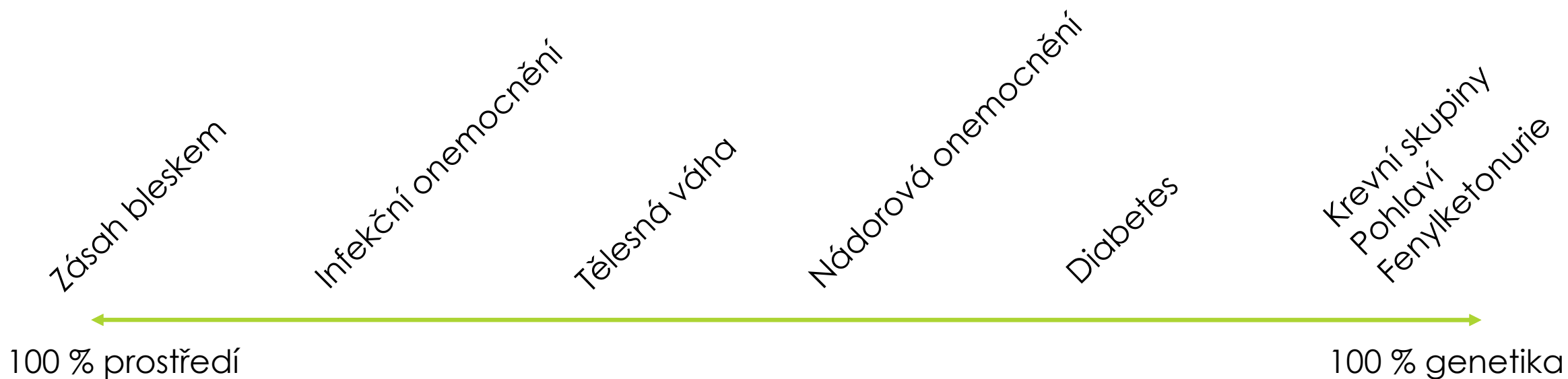
Mgr. Jana Fialová Kučerová, Ph. D.



# Osnova přednášky

- ▶ Základy genomiky
- ▶ Mendelovy zákony dědičnosti
- ▶ Odchytky od Mendelových zákonů
- ▶ Mimorejaderná dědičnost

# Genová determinace biologických znaků

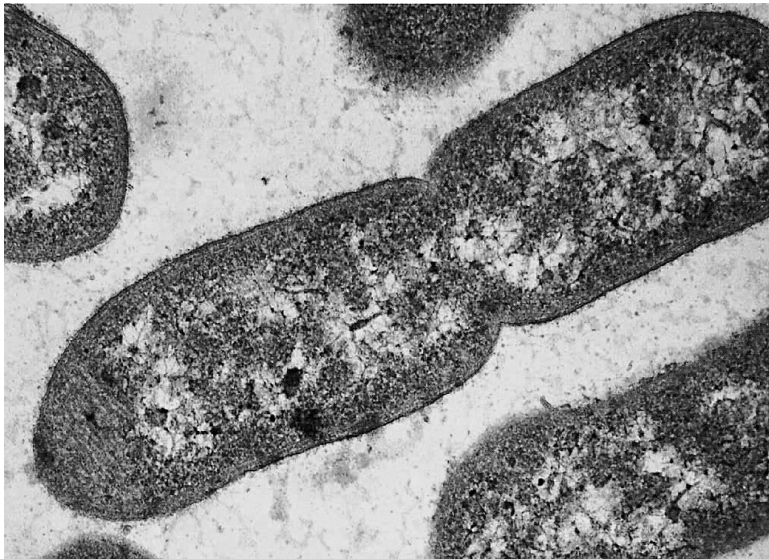


# Historie

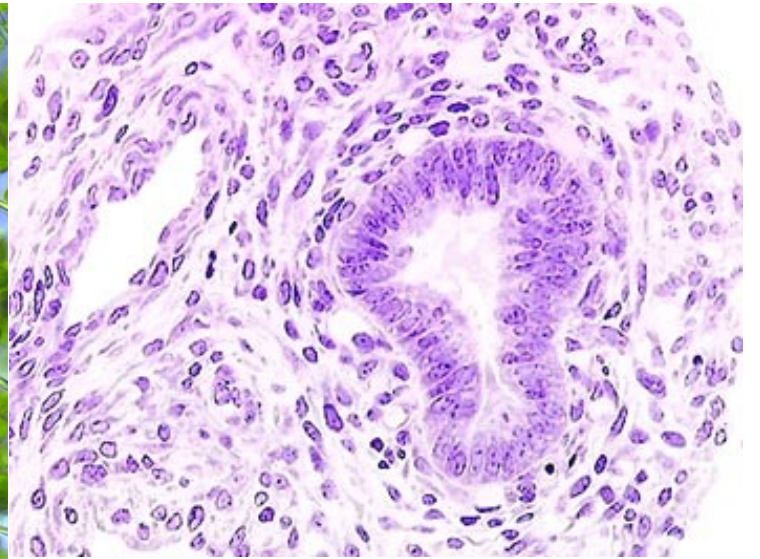
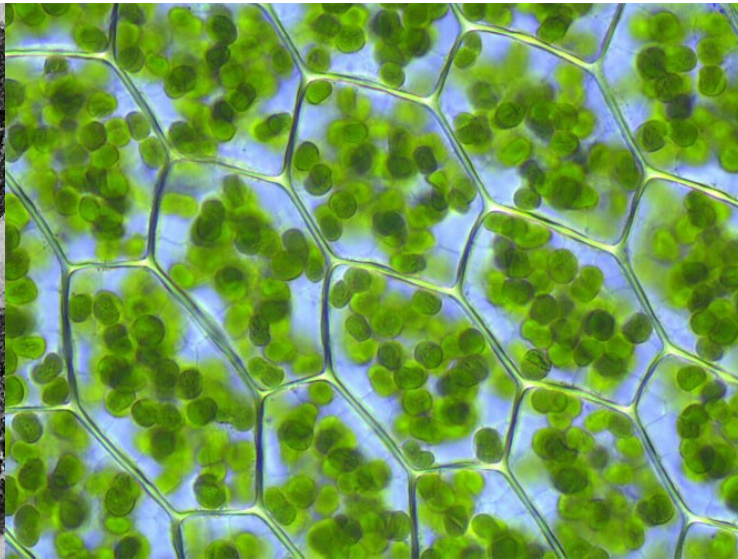
- ▶ Různé teorie přenosu znaků z generace na generaci již od starověku – křížení vhodných jedinců
- ▶ 19. století – koncept pangeneze
  - ▶ Charles Darwin – blending inheritance – děti jsou průměrem znaků rodičů
- ▶ J. G. Mendel (1822–1884)
  - ▶ 1866 - Pokusy s rostlinnými hybridy
  - ▶ 1900 - C. Correns,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



# Buňka



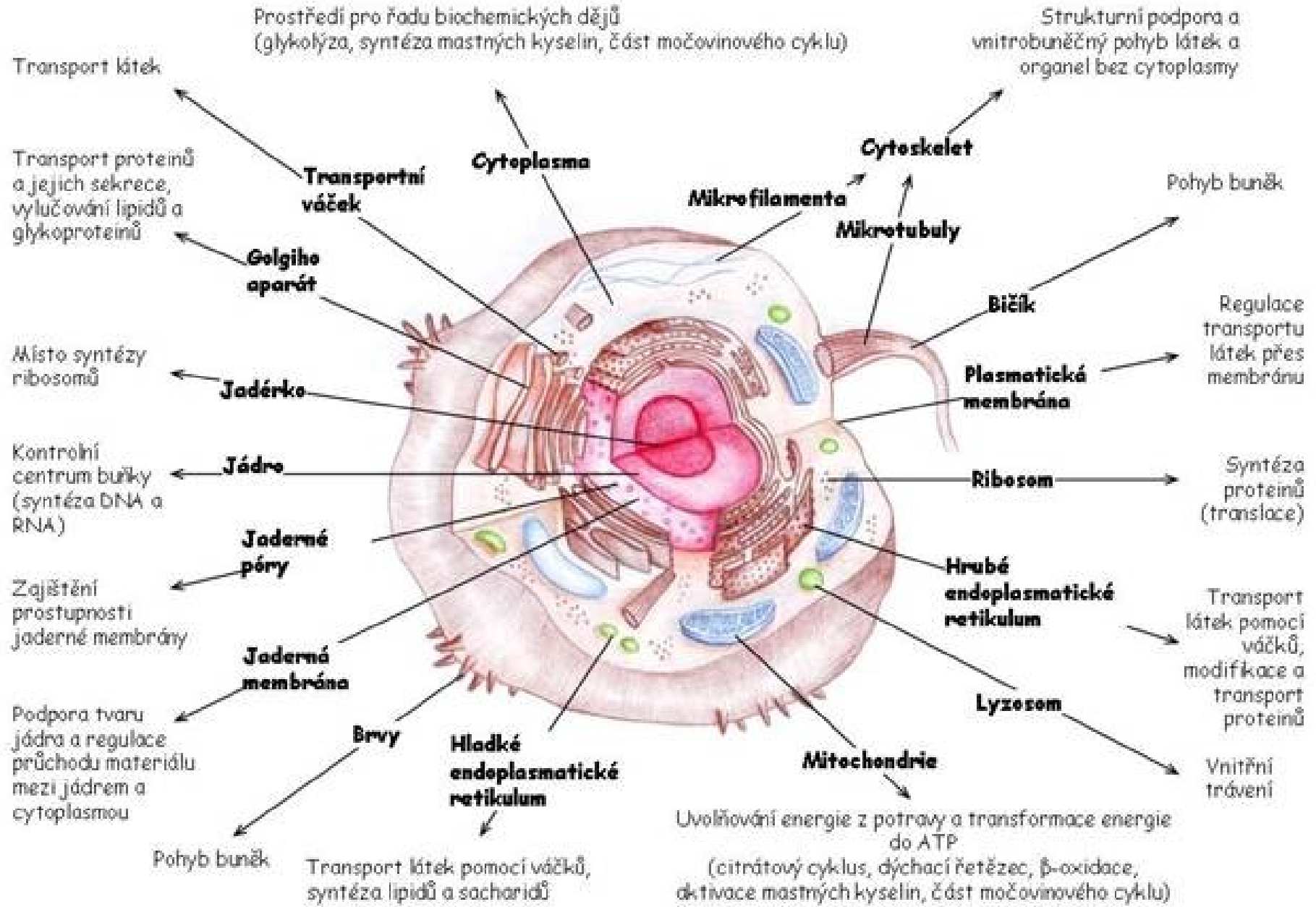
Prokaryota



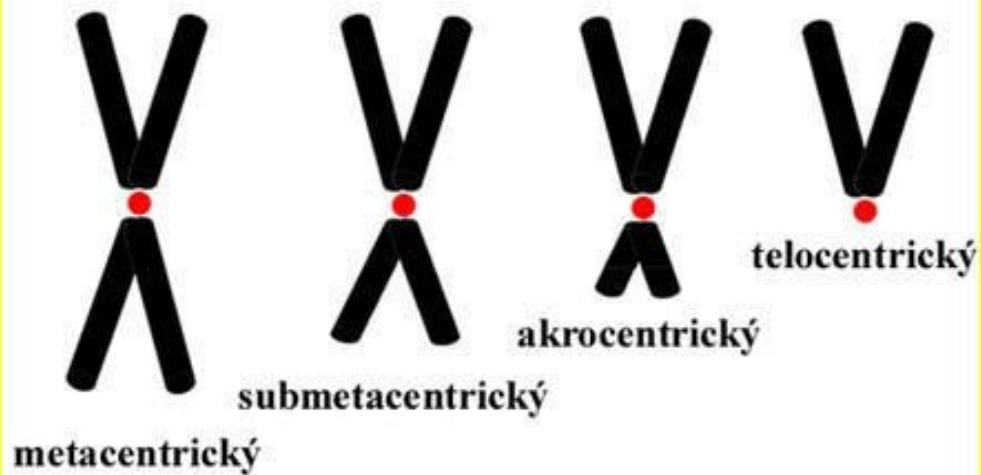
Eukaryota



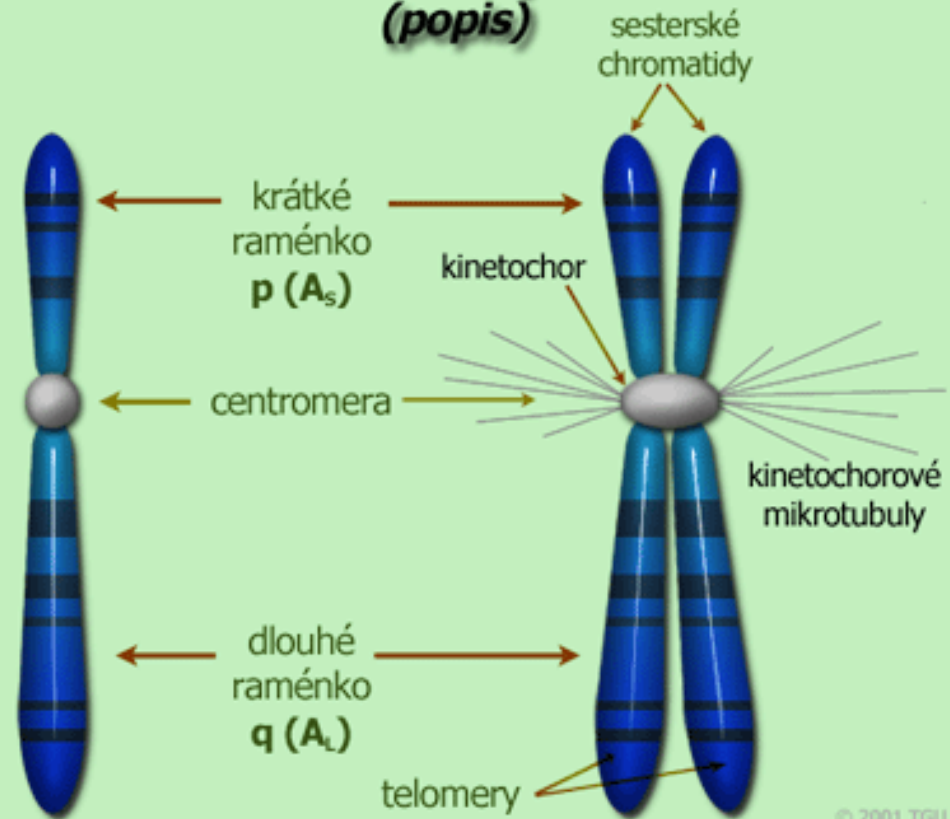
# Eukaryotní živočišná buňka



## Základní typy chromosomů



## Submetacentrický chromozom (popis)



chromozom

chromozom v metafázi



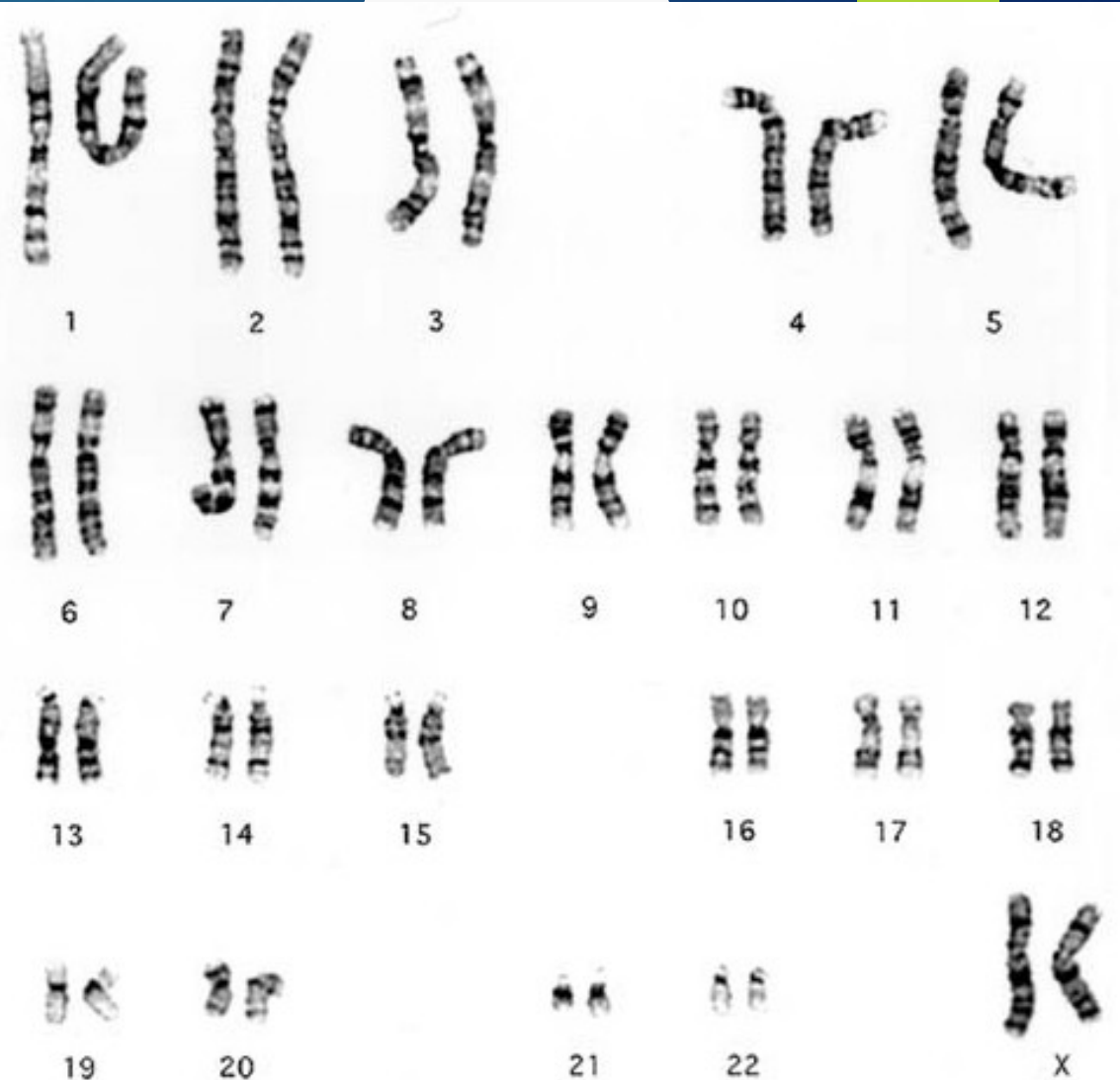
# Karyotyp člověka

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

## THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

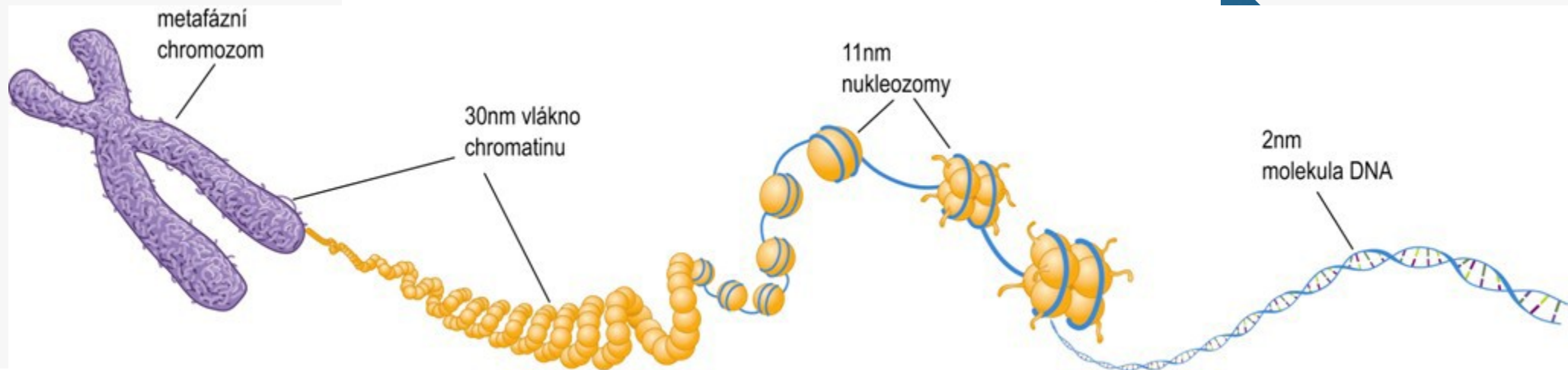
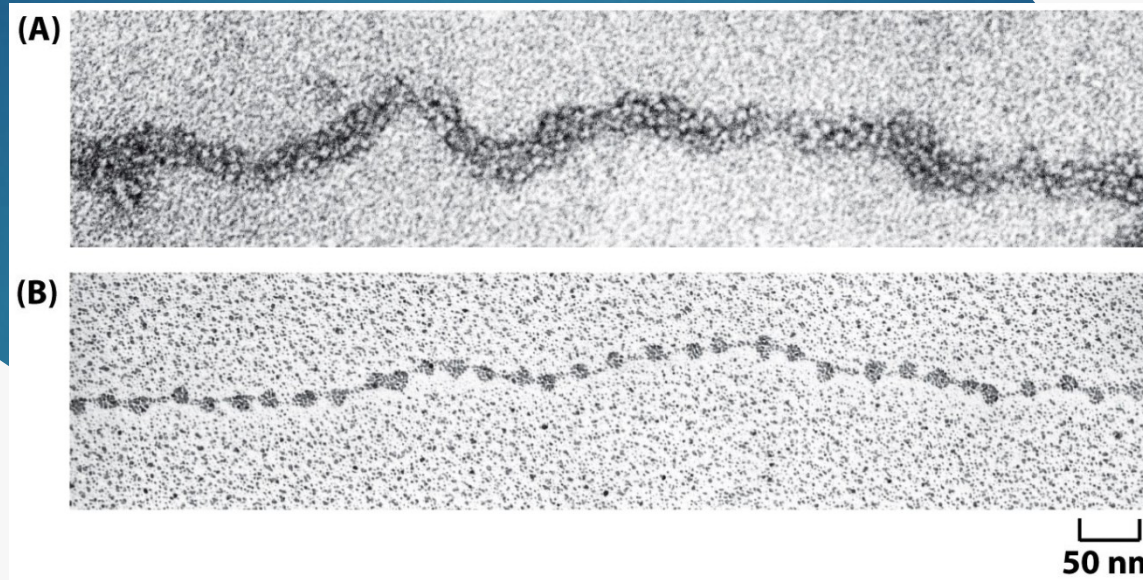
By *JOE HIN TJIO* and *ALBERT LEVAN*

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



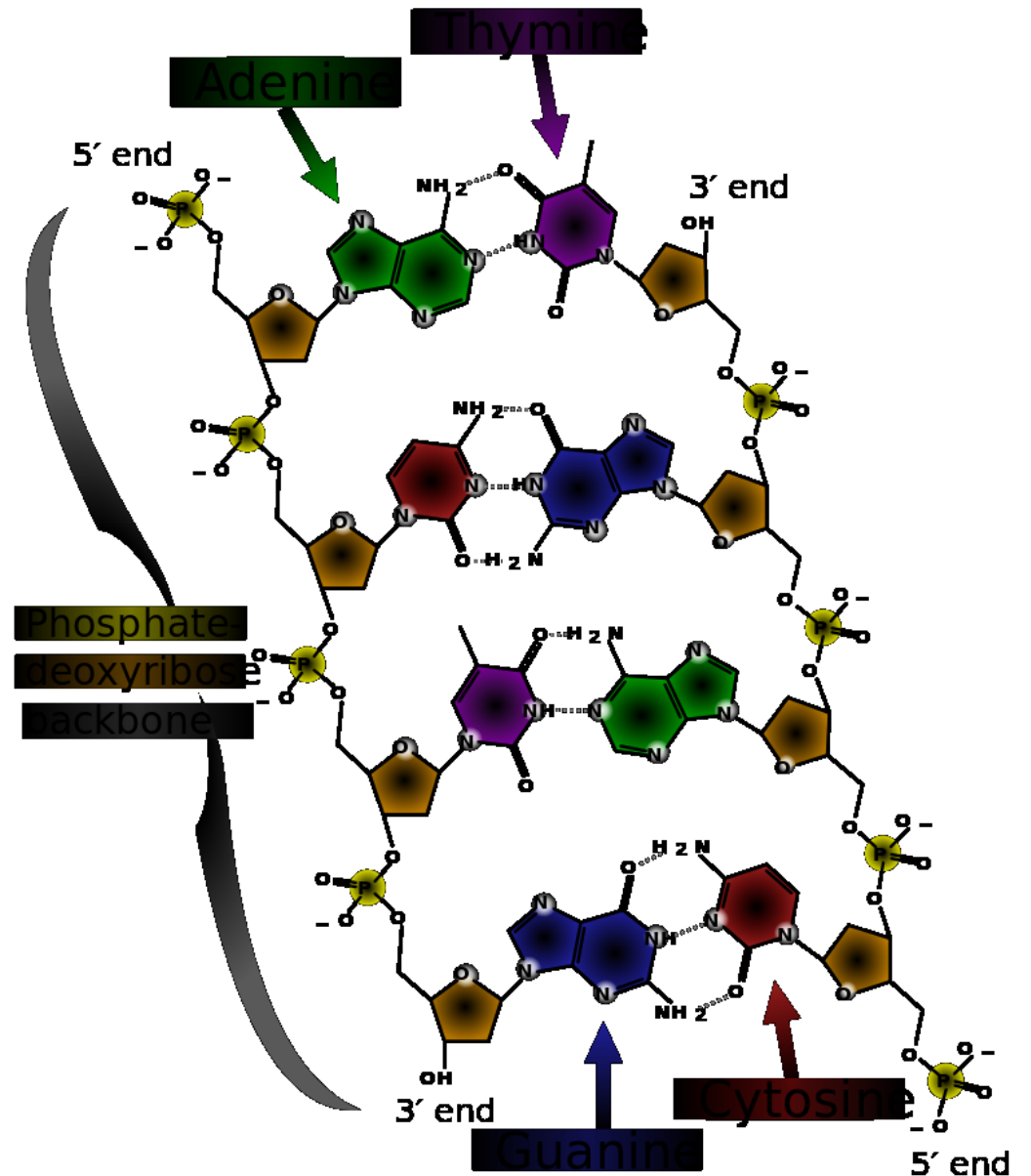
Courtesy of Dr. K. Phelan, Greenwood Genetic Center.  
Noncommercial, educational use only.

# Chromatin



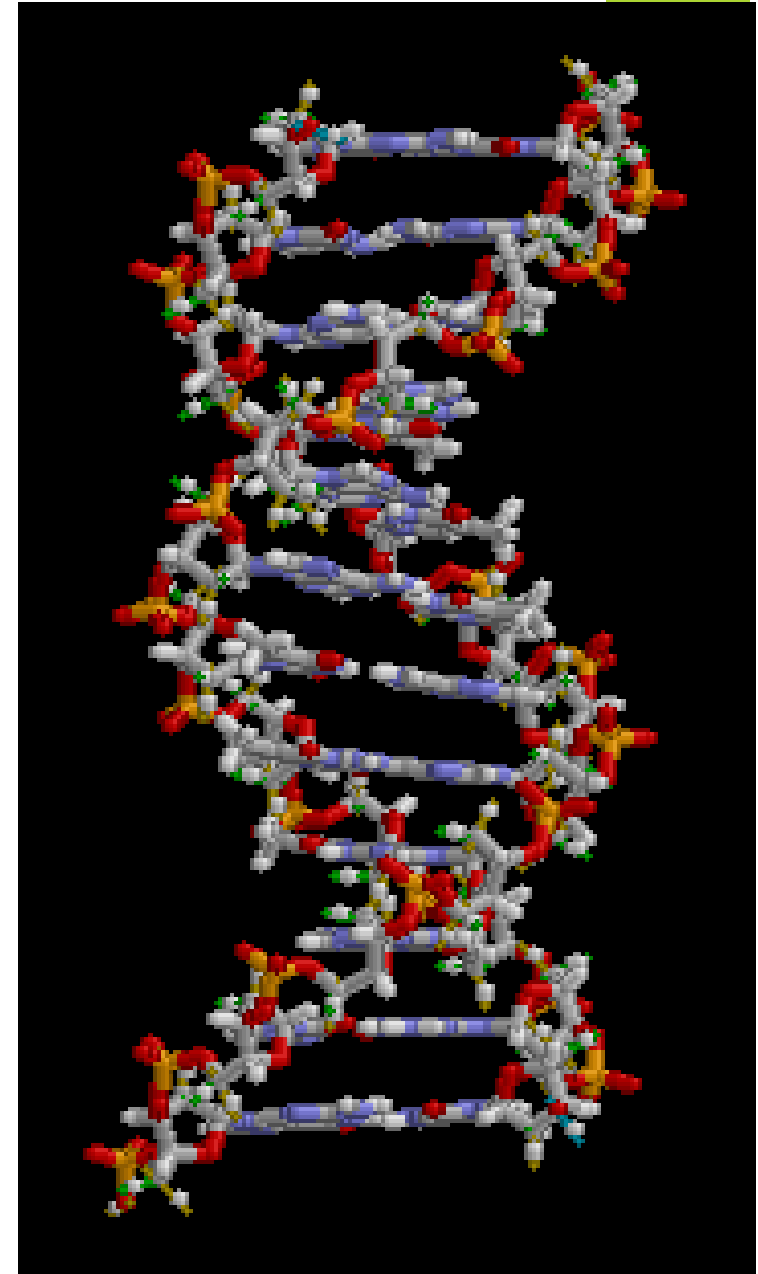
# Složení nukleových kyselin

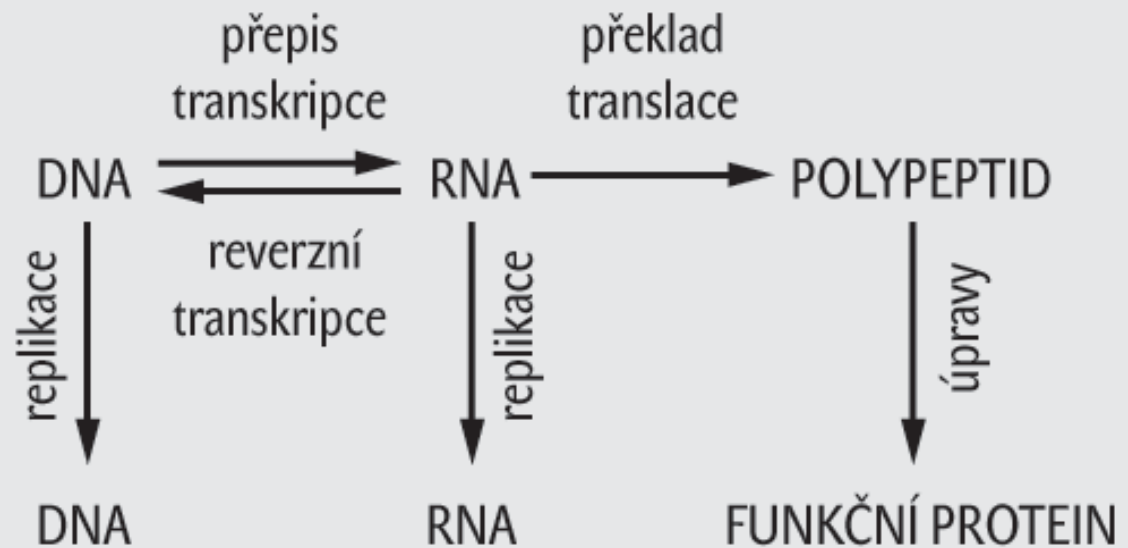
- ▶ Nukleotid
  - ▶ Kyselina fosforečná
  - ▶ Pentóza
    - ▶ ribóza
    - ▶ deoxyribóza
  - ▶ Organické báze
    - ▶ purinové báze
      - ▶ adenin
      - ▶ guanin
    - ▶ pyrimidinové báze
      - ▶ cytozin
      - ▶ tymin
      - ▶ uracil



# Struktura DNA

- ▶ Společná osa
- ▶ Komplementarita řetězců - vnitřní část tvoří báze AT a GC (planární charakter bází)
- ▶ Cukřofosfátová páteř – osa = 1 nm
- ▶ Chargaffovo pravidlo  $(A+G)/(T+C) = 1$
- ▶ Menší a větší žlábek = místa pro vazbu proteinů k DNA (vodíkové vazby)
- ▶ Nejčastější pravotočivé vinutí





# Ústřední dogma molekulární biologie

1958 – Francis Crick

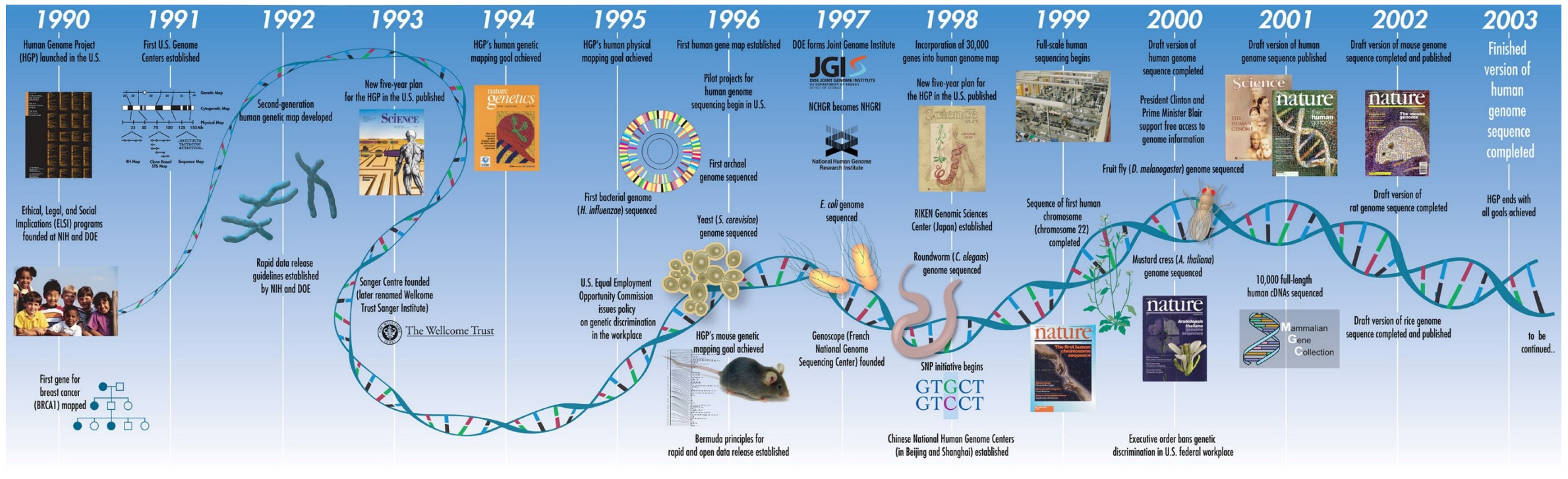




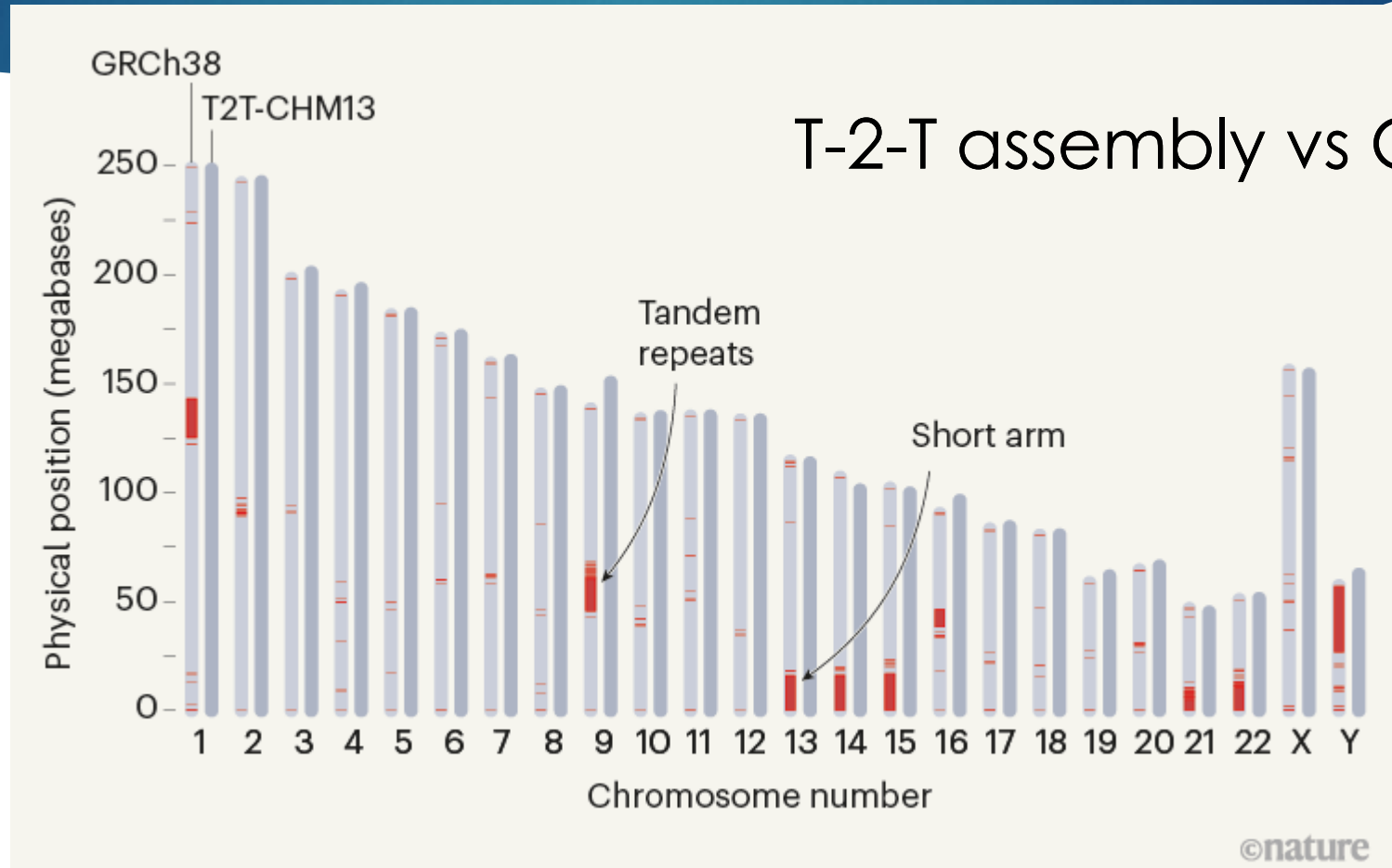


# Genom

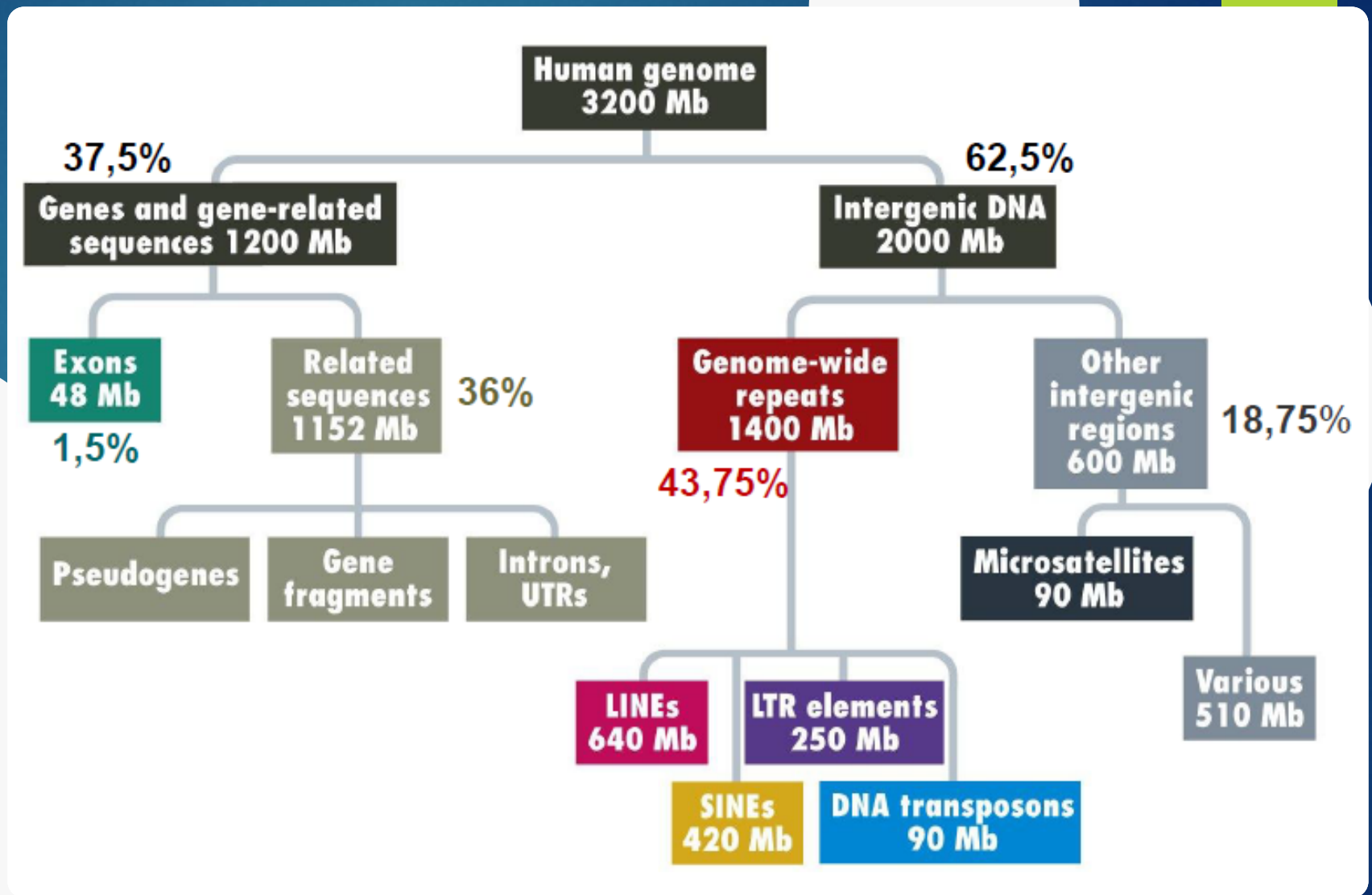
- ▶ Genetická informace živé soustavy (DNA, u virů i RNA), která se vyznačuje replikací a dědí se na potomstvo (soubor veškeré genetické informace konkrétního organismu)
- ▶ 1990 - 2003 **Human Genom Project (HUGO)** cca 92 % obsahu genomu
- ▶ 2022 **Telomere-to-Telomere Genome (T2T)** kompletní genom „bez mezer“



# Completing the Human Genome Sequence (Again)



Lidský  
genom



# 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 organismy (*Saccharomyces cerevisiae*, nematoda, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Mesocricetus auratus* aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)
  - **bioinformatika** = shromažďování, analýza a vizualizace biologických souborů dat
    - ▶ využívá metod výpočetní techniky, tvorba databází a softwarů



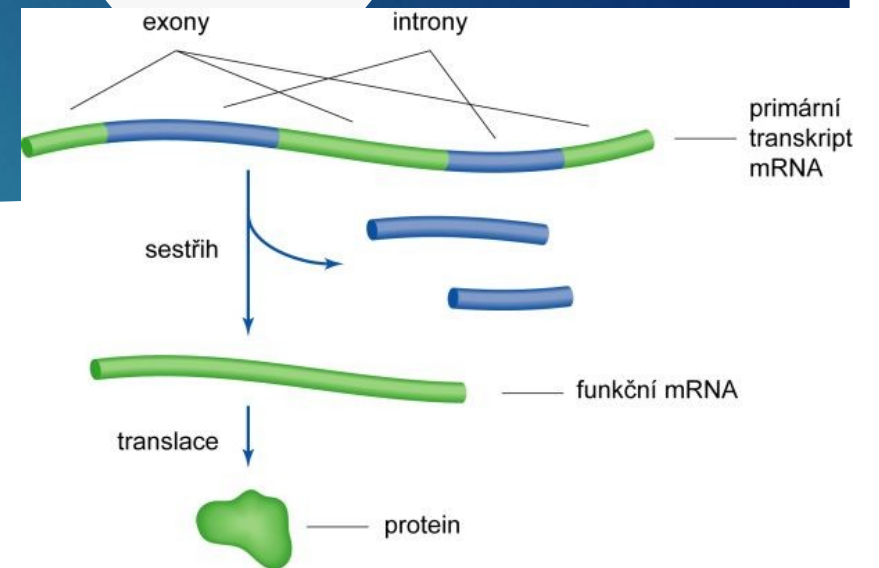
# Genetika

- ▶ Věda, která zkoumá DNA
- ▶ Věda o heritabilitě (dědivosti) a variabilitě
- ▶ Věda, zabývající se dědičností i proměnlivostí organismů a jejími příčinami
- ▶ 1866 - **Johann Gregor Mendel**
  - ▶ Pokusy s rostlinnými hybridy (základní principy dědičnosti)
- ▶ 1900 - **Hugo de Vries, Carl Correns a Eric von Tschermak von Seysenegg (+ bratr Armin)**
  - ▶ znovuobjevení Mendelových objevů
- ▶ 1906 - **William Bateson**
  - ▶ termín genetika (z řeckého *genesis* = zrození)



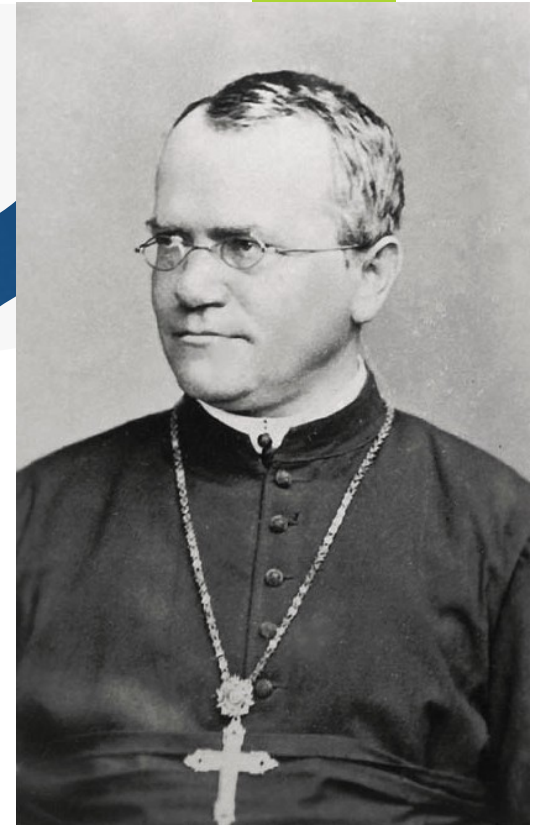
# Od genotypu k fenotypu

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

















# Gregor Johann Mendel

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



# Mendelovy principy dědičnosti

- ▶ Jednotky dědičnosti (geny) se nemísí
- ▶ Jednotky dědičnosti jsou materiální povahy (gen je součástí DNA s určitou funkcí)
- ▶ Dědičné jednotky jsou párové a jsou dvojího charakteru (dominantní a recesivní)
- ▶ Dědičné jednotky se přenášejí do další generace prostřednictvím pohlavních buněk

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

# Zákony dědičnosti odvozené z Mendelových principů

## 1. Zákon o uniformitě hybridů

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

## 2. Princip dominance

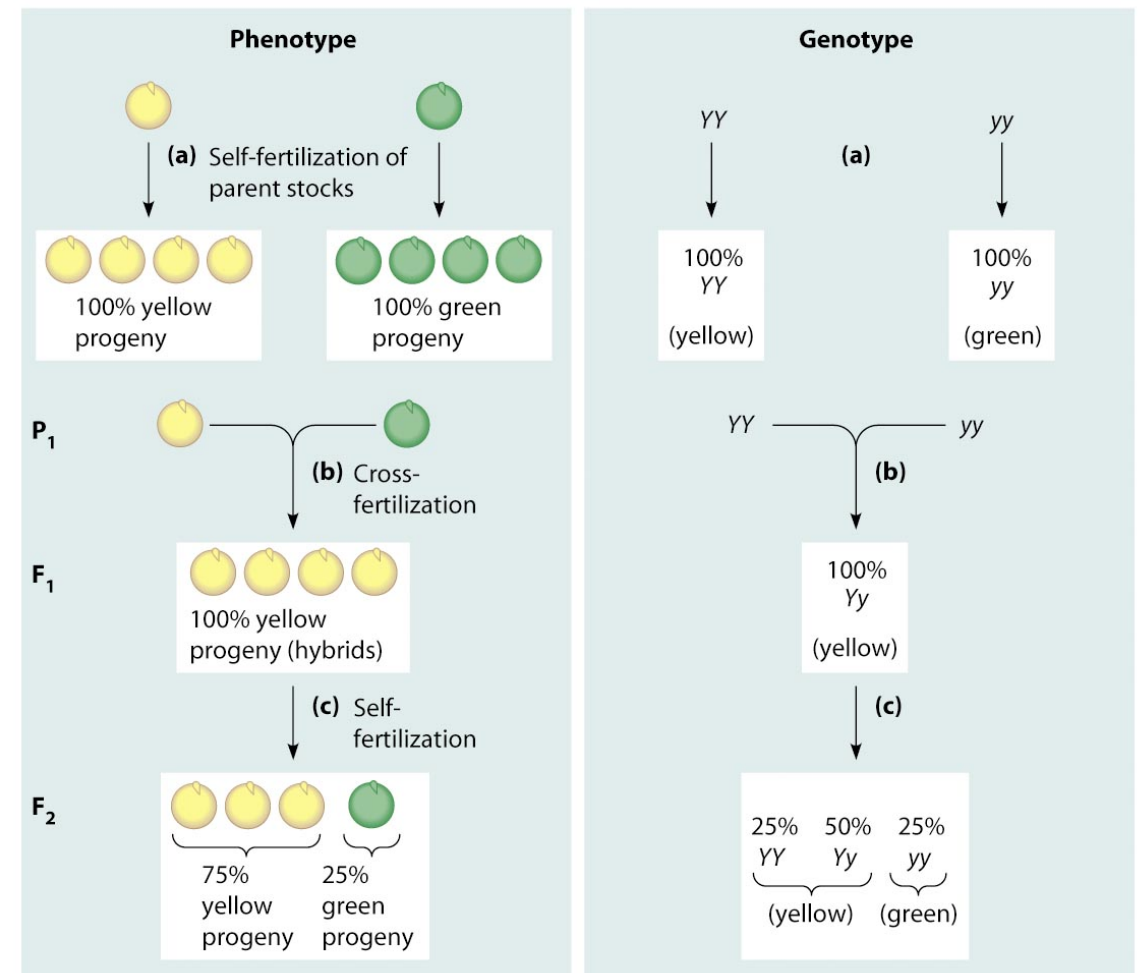
- ▶ U heterozygota může jedna alela překrýt přítomnost druhé

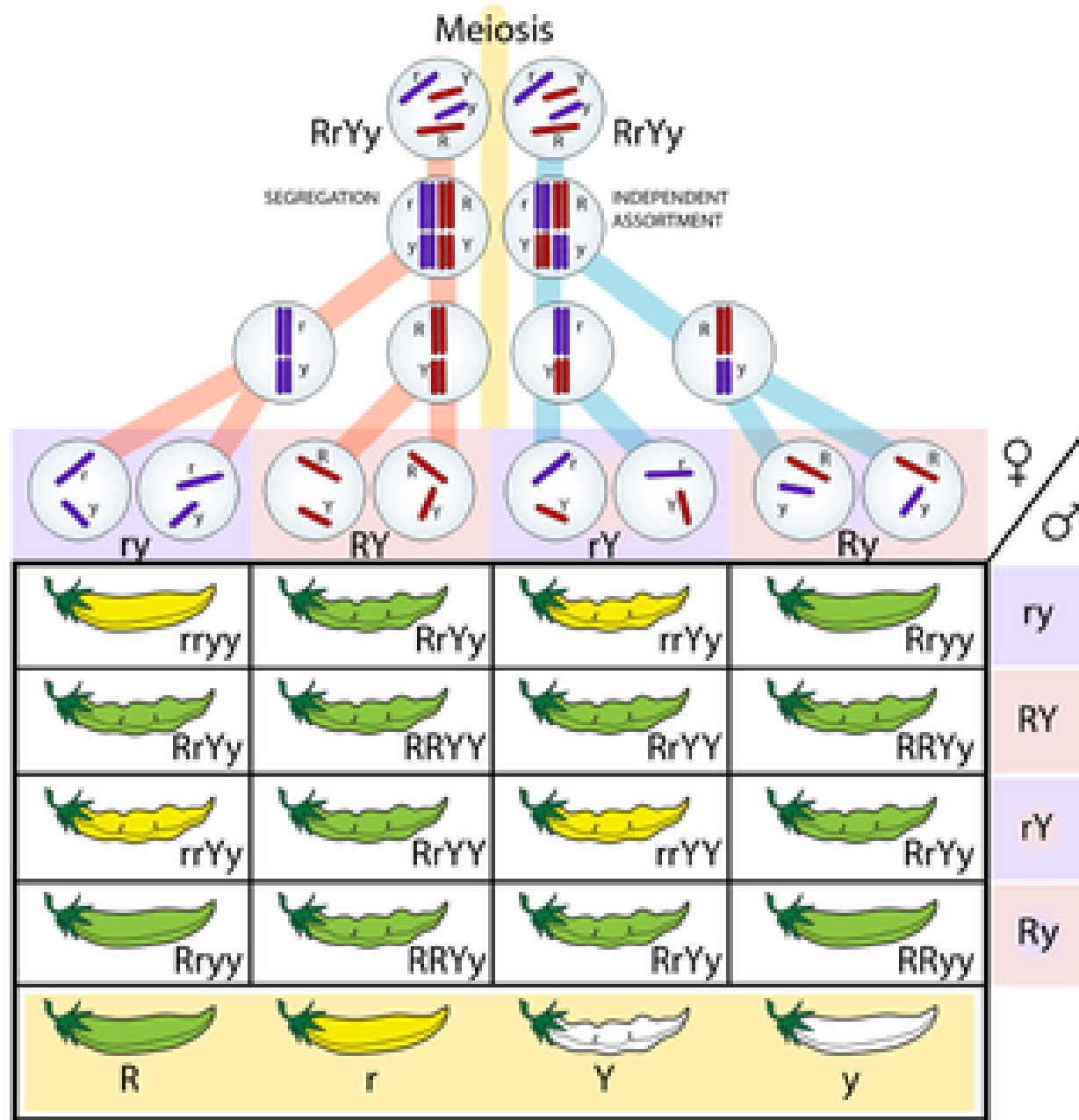
## 3. Princip segregace

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

## 4. Zákon o nezávislé kombinaci alel

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





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

Chromozomové  
aberrace

Multifaktoriální  
dědičnost

Genetické změny  
somatických buněk  
(nádorová  
onemocnění)

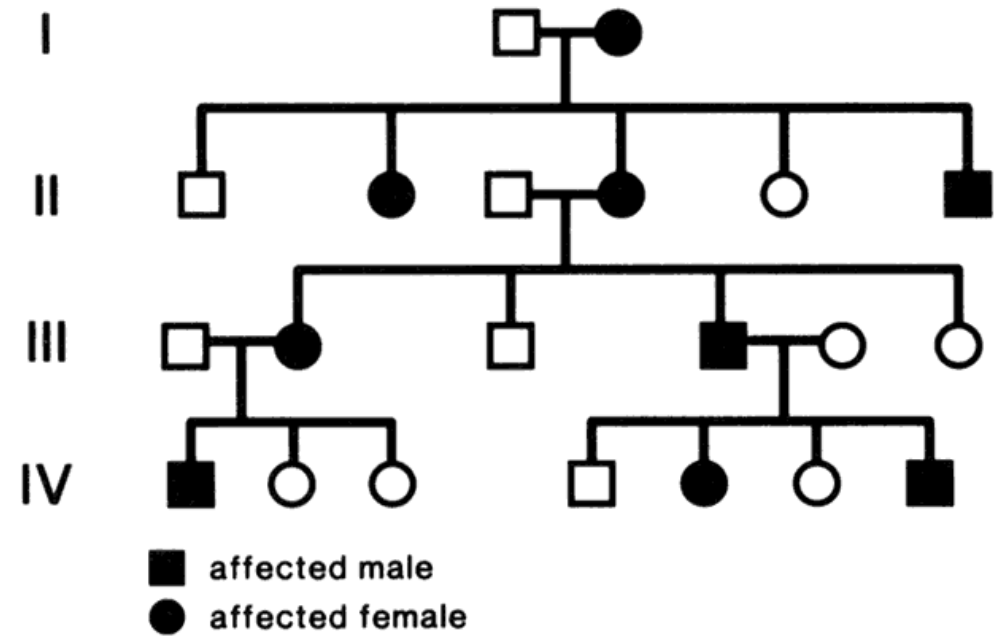
Mitochondriální  
dědičnost

Geneticky podmíněné znaky



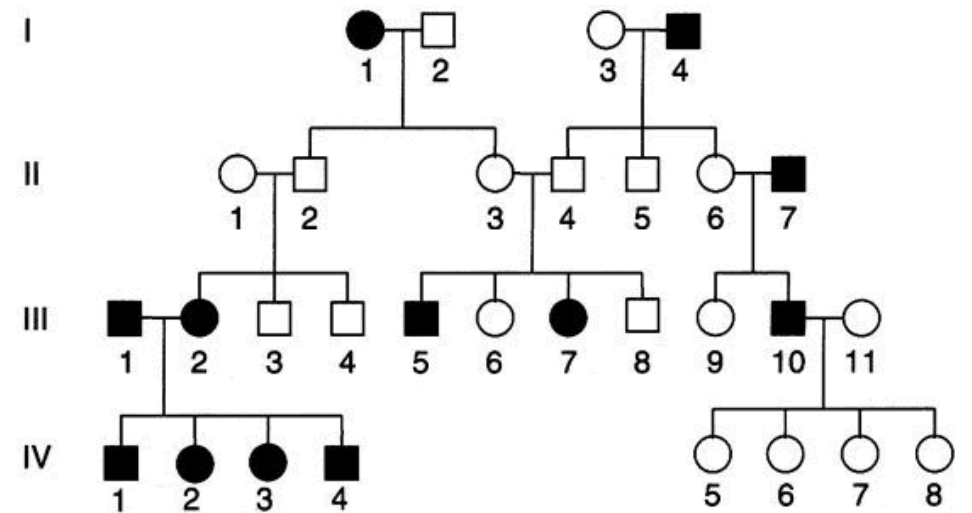
# Autozomově dominantní dědičnost

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



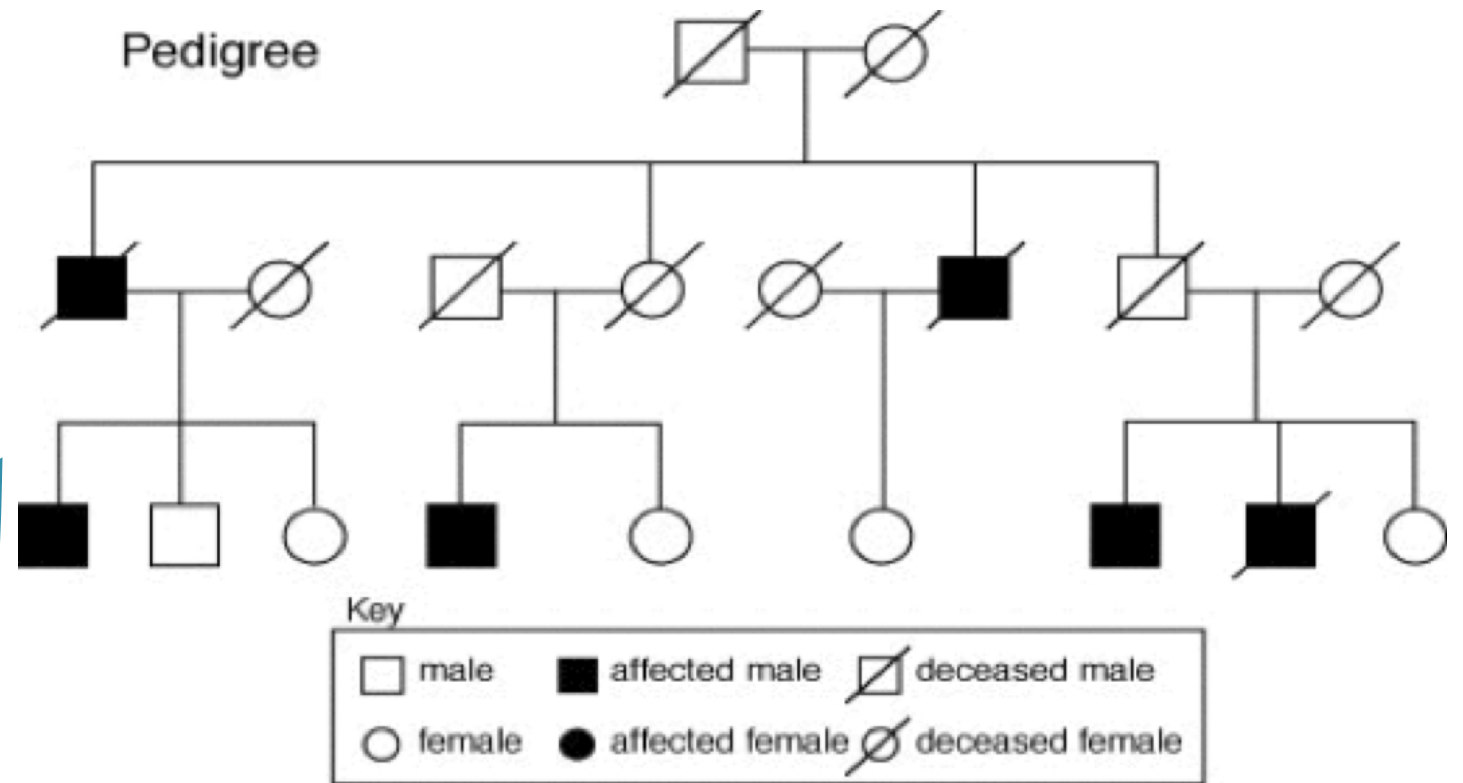
# Autozomově recesivní dědičnost

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



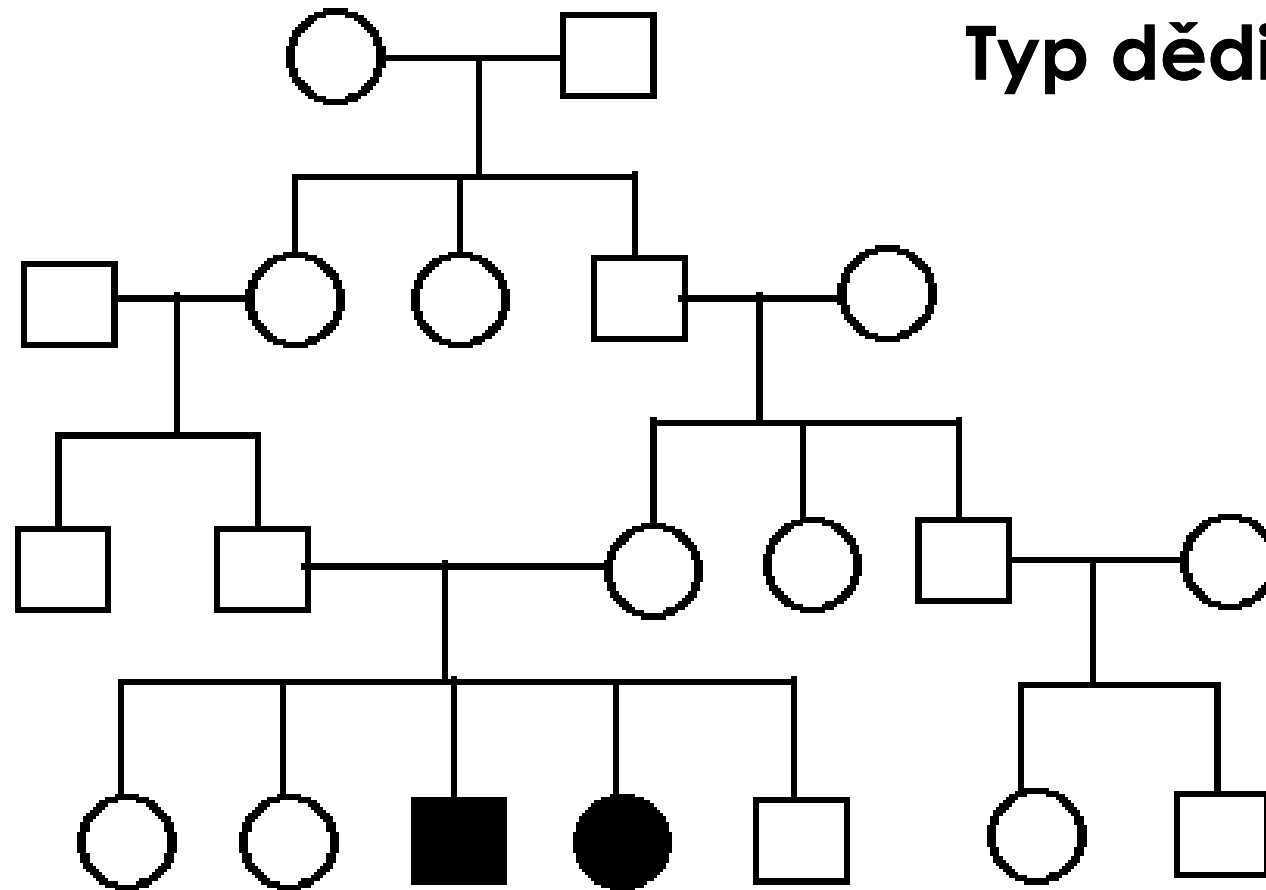
## Vázané na pohlavní chromozomy

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

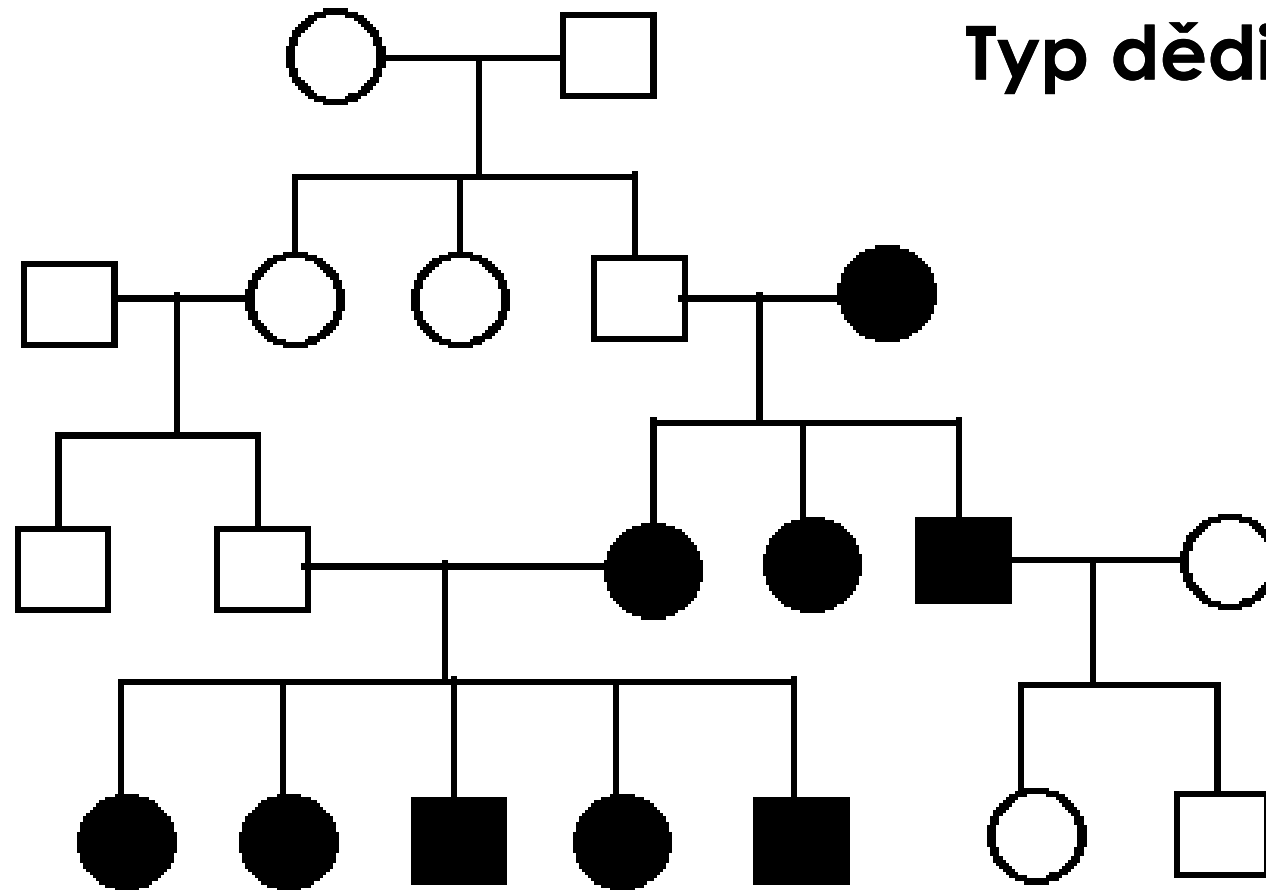


**Příklad rodokmenu**

Typ dědičnosti?



Typ dědičnosti?



# Interakce alel

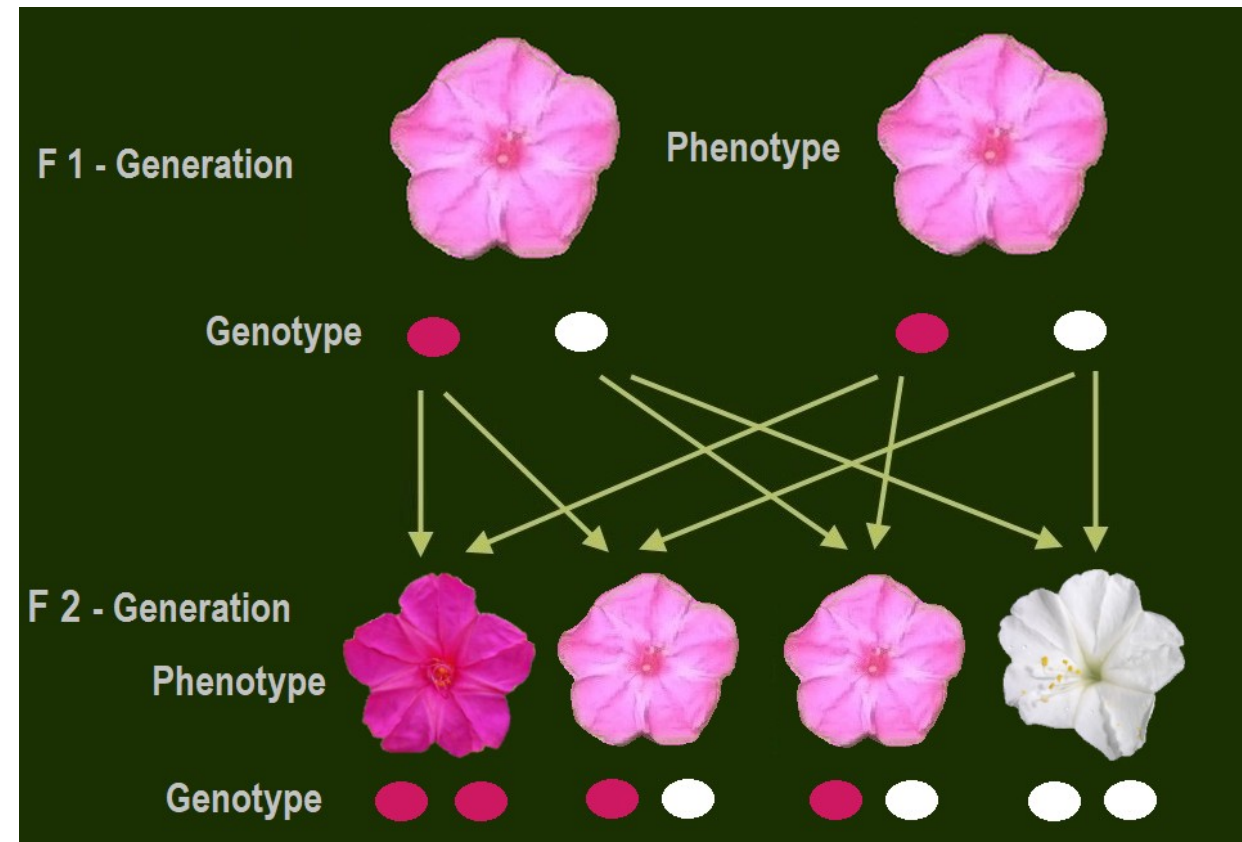


- ▶ Neúplná dominance
- ▶ Kodominance
- ▶ Mnohonásobný alelismus / alelové série
- ▶ Letální alely
- ▶ Penetrance
- ▶ Expresivita
- ▶ Genové interakce



# Neúplná dominance

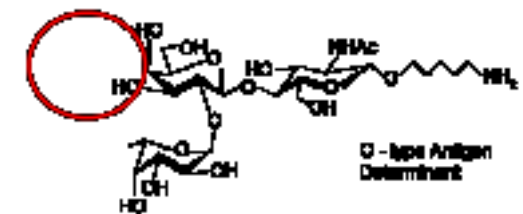
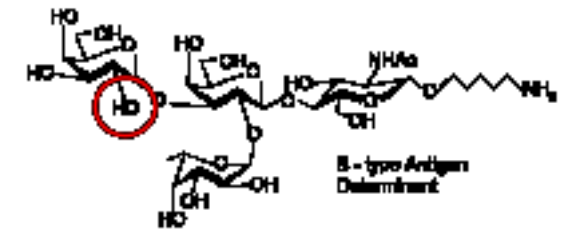
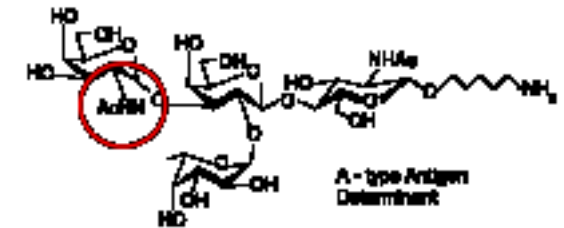
- ▶ Fenotyp heterozygota je někde mezi fenotypem obou homozygotů
- ▶ Př. Familiární hypercholesterolemie (mutace genu pro LDLR)
  - ▶ Homozygoti jsou bez receptoru
  - ▶ Heterozygoti mají v jaterních buňkách poloviční počet receptorů pro vychytávání LDL cholesterolu



# Kodominance


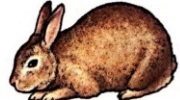






- ▶ Heterozygot vykazuje fenotypové znaky obou homozygotů
- ▶ Alely fungují nezávisle
- ▶ Krevně skupinový systém AB0 (ABh), MN

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



# Alelové série

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

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

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

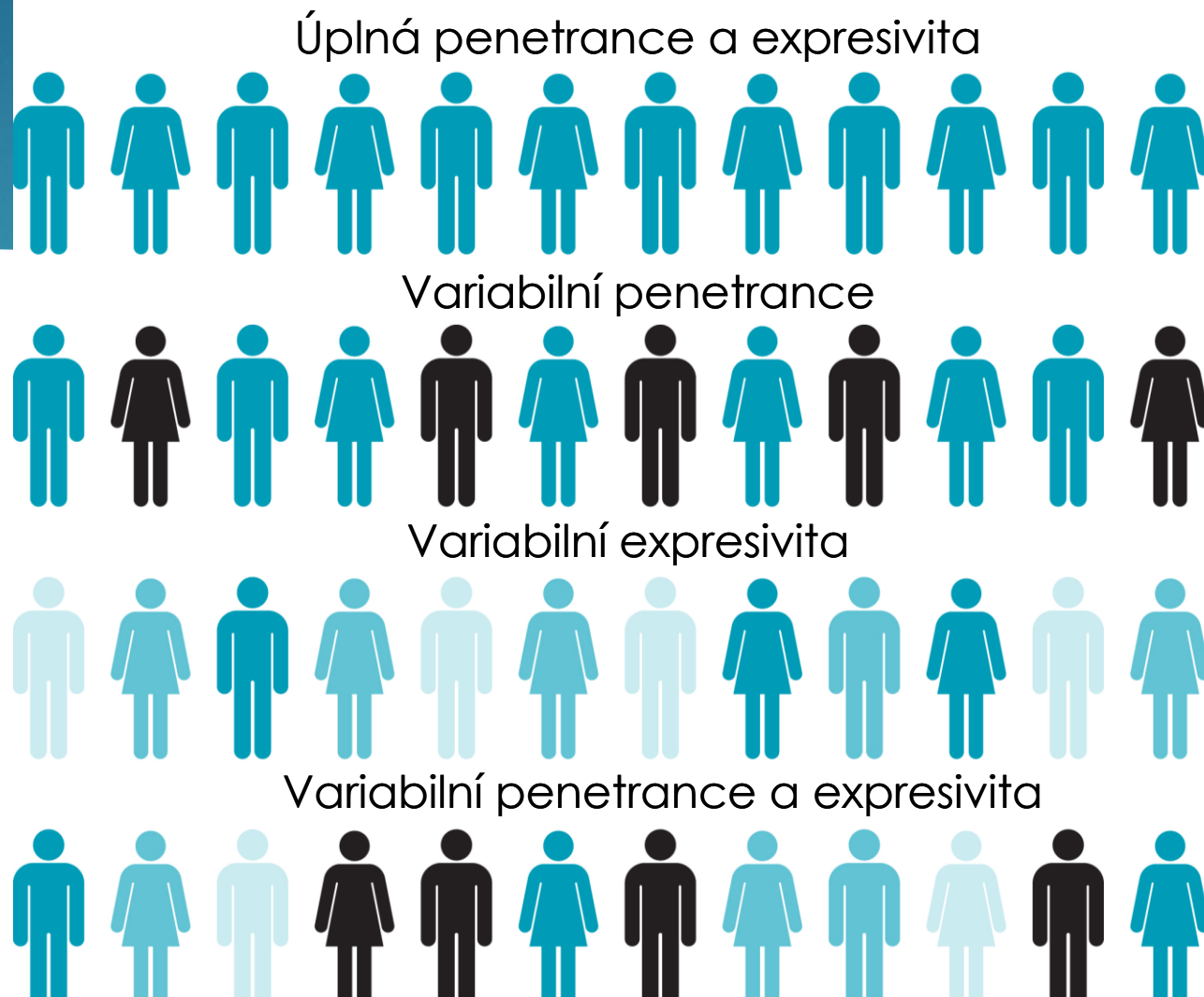
# Letální alely

- ▶ Recesivní letalita – recesivní homozygoti umírají
- ▶ Dominantní letalita – dominantní homozygoti i heterozygoti umírají
- ▶ Recesivní letalita dominantní alely
- ▶ Příklad Tay Sachsova choroba – recesivně letální



# Penetrance a expresivita

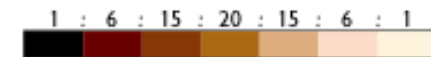
- ▶ **Neúplná penetrance**  
znak se u jedinců neprojeví, i když mají odpovídající genotyp
- ▶ **Variabilní expresivita**  
znak se manifestuje různě silně u všech jedinců, kteří jej nesou



# Genové interakce

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

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



Copyright © J. Montiel 2011



# 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 %



# Mitochondriální dědičnost

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



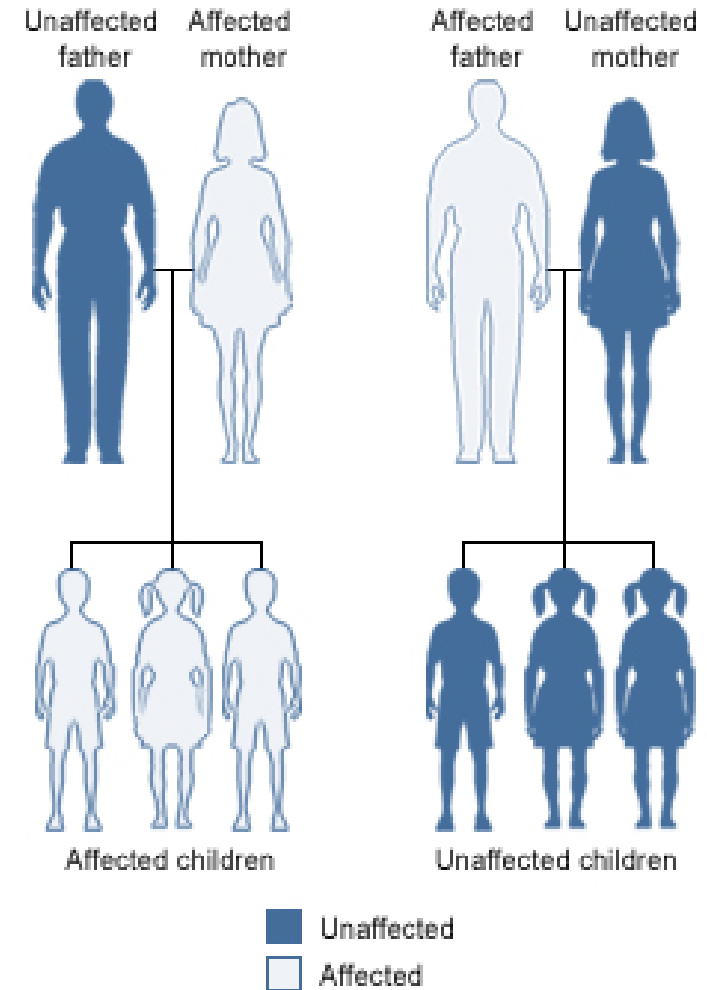
# Mutace mitochondriálních genů

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

# Genetická klasifikace mitochondriálních chorob

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

## Mitochondrial



# Bonus: Heteroplasmie

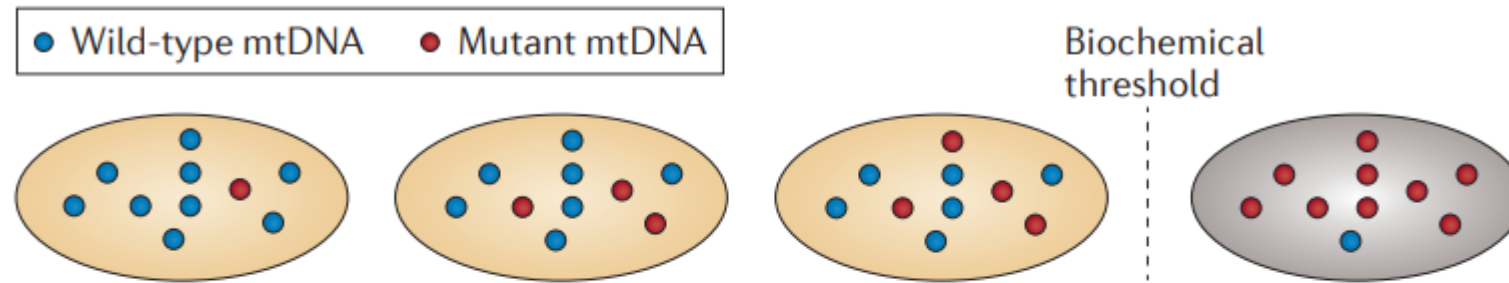


Figure 1 | **mtDNA heteroplasmy and the threshold effect.** Mitochondrial DNA (mtDNA) mutations that have occurred within approximately three human generations are usually heteroplasmic, and the same cell can contain varying proportions of mutated and wild-type mtDNA. If a mutation is pathogenic, the cell can usually tolerate a high percentage level of this variant before the biochemical threshold is exceeded and a defect in the respiratory chain is detected. Typically, this threshold level is >80%, suggesting that most mtDNA mutations are haploinsufficient or recessive<sup>64</sup>.



# Vzácné mitochondriální choroby

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

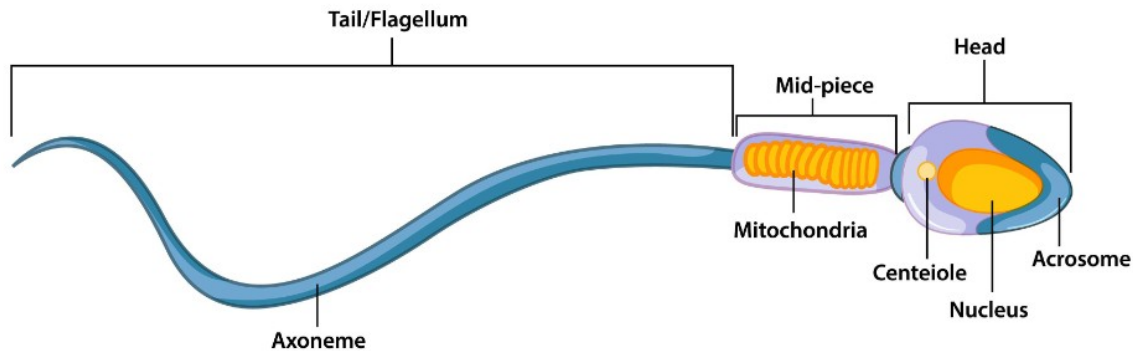


# Vzácné mitochondriální choroby

## ▶ **Leberova dědičná oční neuropatie (LHON)**

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

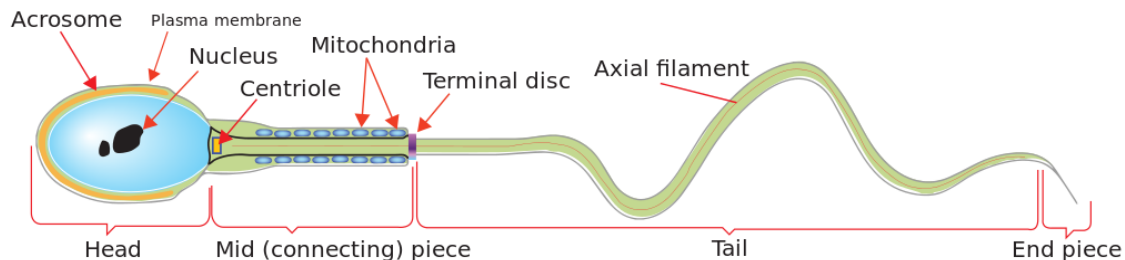
# Mitochondrie u zárodečných buněk



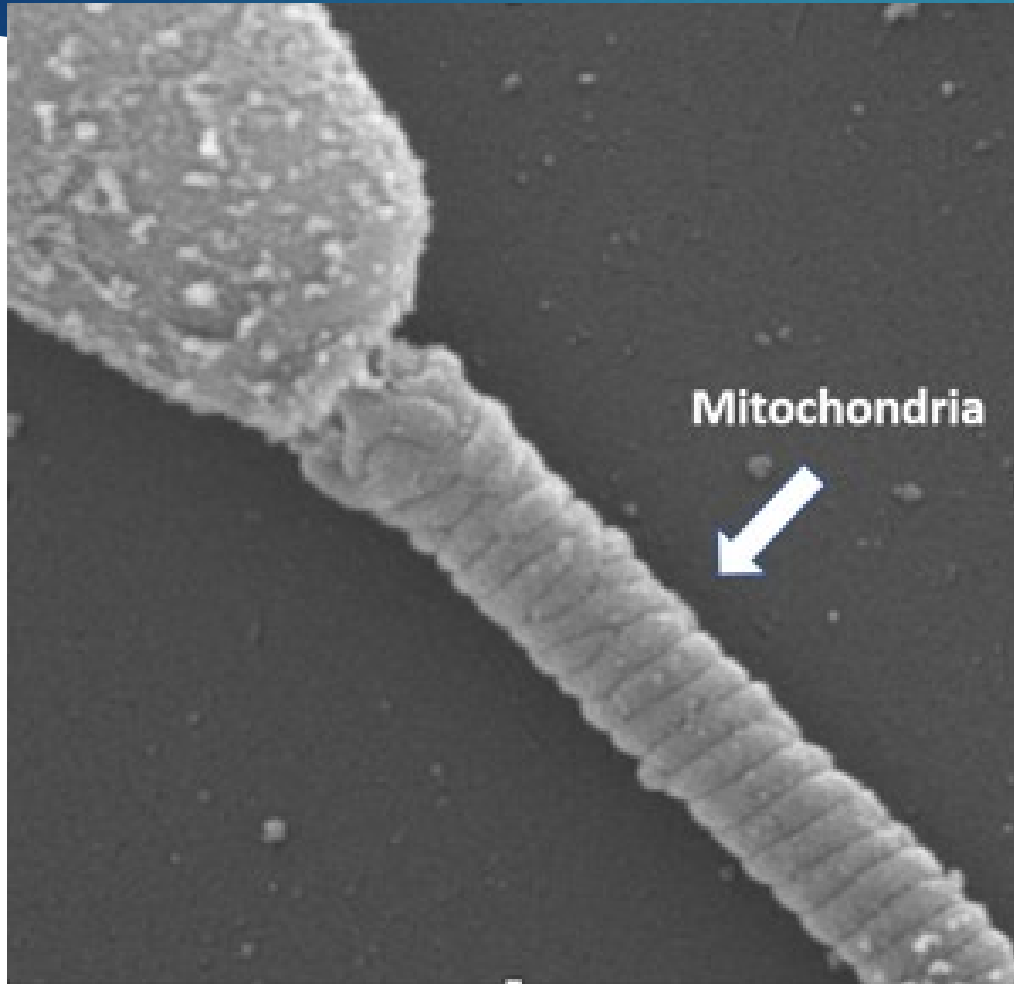
## Demystifying the demise of paternal mitochondrial DNA (Science 2016)

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

- ▶ spermie  
~50-75 mitochondrií  
(cca 10 x redukce během spermatogeneze)
- ▶ vajíčko  
10<sup>5</sup> - 10<sup>8</sup> mitochondrií
  - ▶ 1000 x více než spermie
- ▶ paternální mitochondrie degradovány autofází – nezbytné pro další vývoj



# Mitochondrie u zárodečných buněk

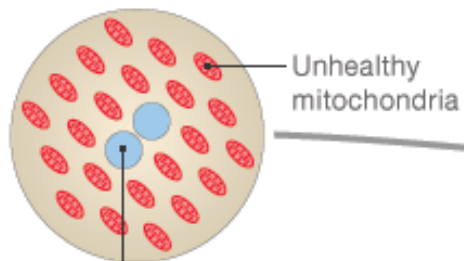


- ▶ spermie  
~50-75 mitochondrií  
(cca 10 x redukce během spermatogeneze)
- ▶ vajíčko  
 $10^5 - 10^8$  mitochondrií
  - ▶ 1000 x více než spermie
- ▶ paternální mitochondrie degradovány autofází – nezbytné pro další vývoj

## Method one: Embryo repair

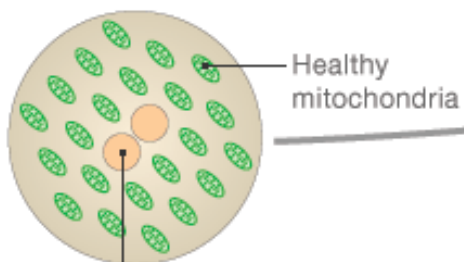
### Step 1

Parents' embryo



Parents' nucleus

Donor embryo

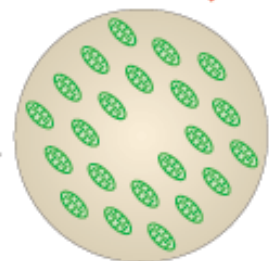


Donor's nucleus

### Step 2

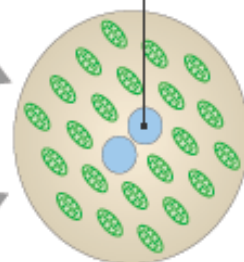
Parents' nucleus removed

Donor's nucleus removed and destroyed



### Step 3

Parents' nucleus now in donor embryo



Source: HFEA

Dítě tří rodičů ?