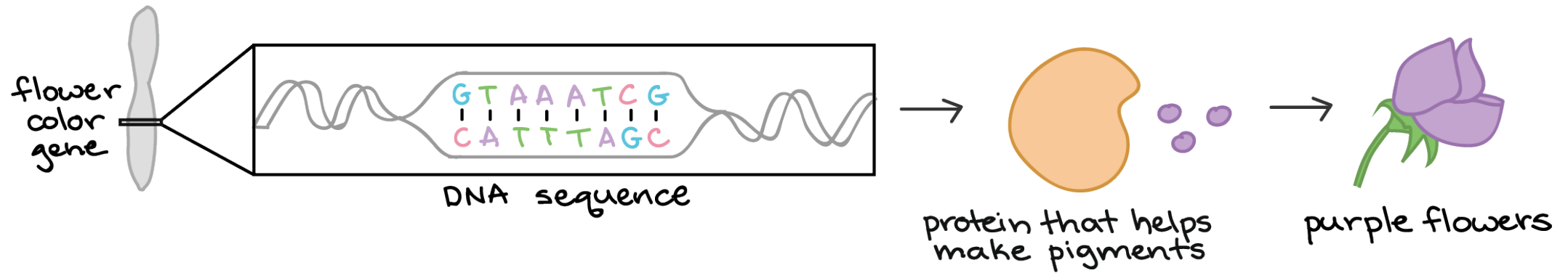


# GEN, IDENTIFIKACE GENU, GENETIKA KVALITATIVNÍCH A KOMPLEXNÍCH ZNAKŮ A METODY JEJICH ANALÝZY

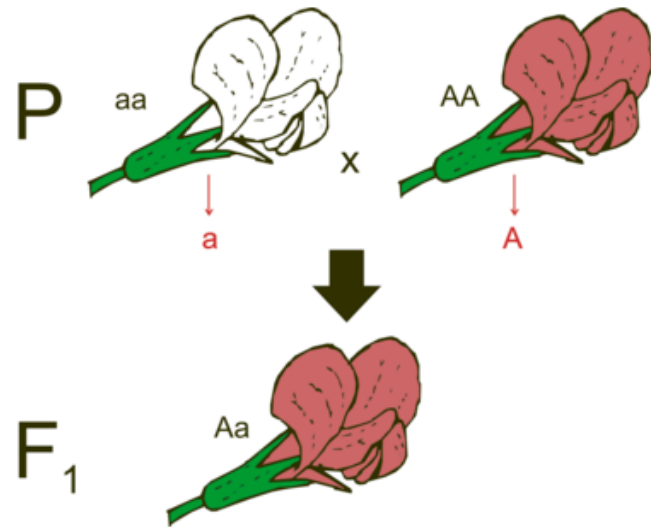
Marie Klumplerová

# VÝVOJ POJETÍ DEFINICE GENU – J.G. MENDEL

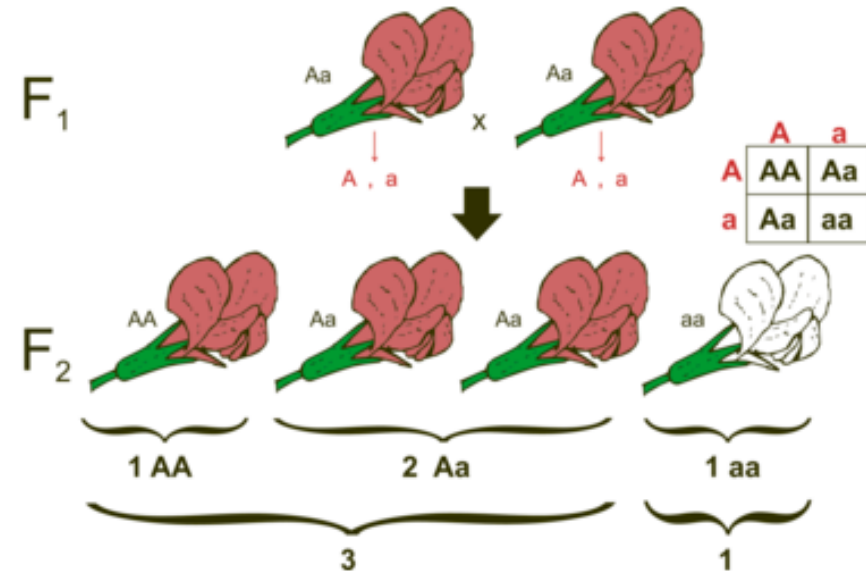


Jeden gen = jeden znak, gen = jednotkový faktor

# VÝVOJ POJETÍ DEFINICE GENU – J.G. MENDEL



1. zákon – uniformity  
Zákon o uniformitě F<sub>1</sub> generace

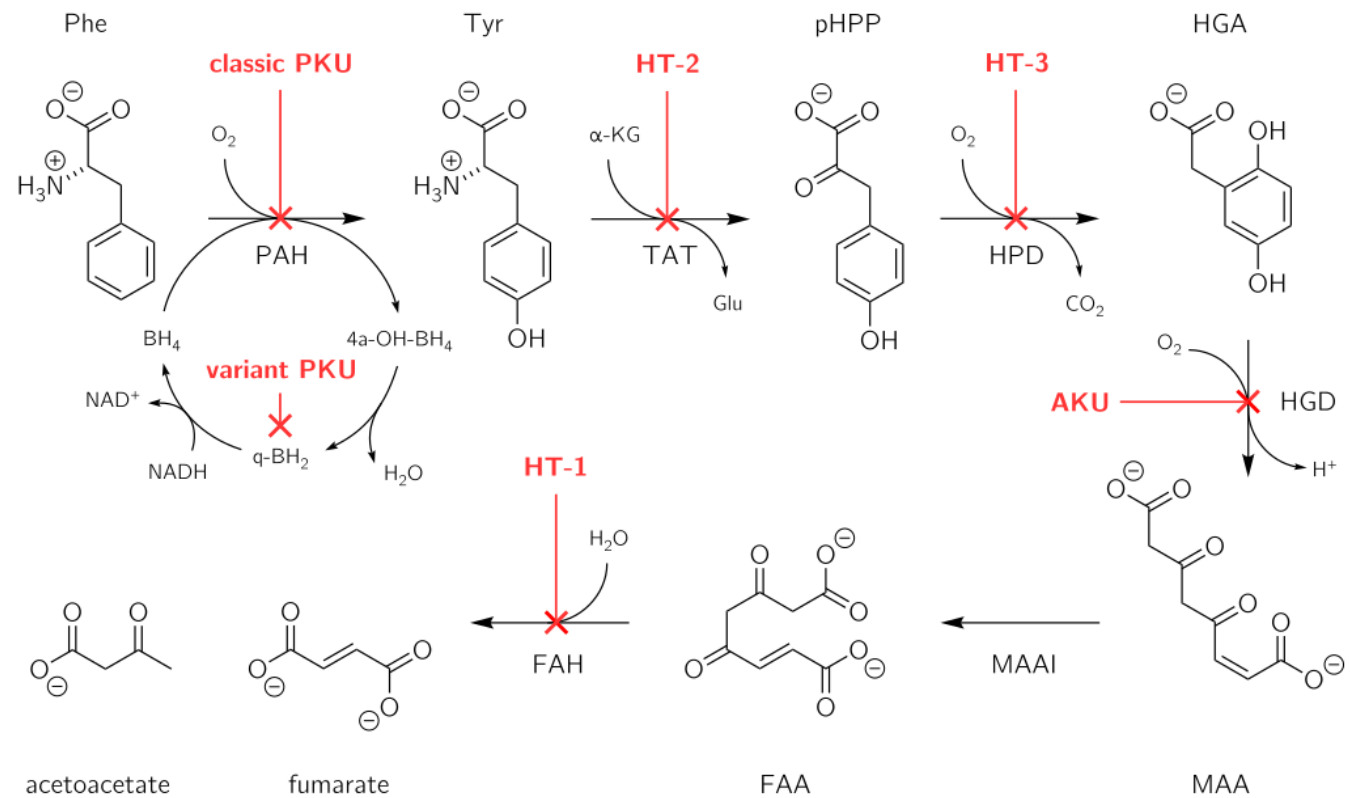


2. zákon – segregace  
Zákon o náhodné segregaci genů do gamet

# VÝVOJ POJETÍ DEFINICE GENU

Archibald Garrod – jeden gen  
= jeden metabolický blok

Beadle a Tatum – jeden gen =  
jeden enzym



# GEN

Sekvence DNA (RNA), která kóduje genový produkt: RNA nebo polypeptid

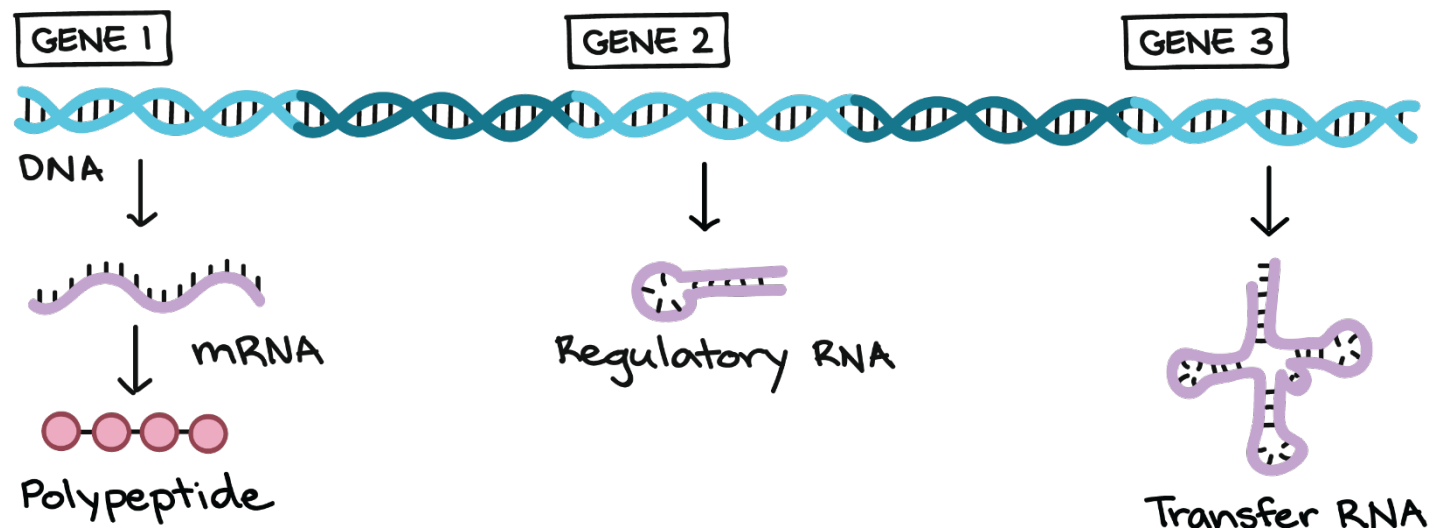
Strukturní geny

Geny jiné struktury

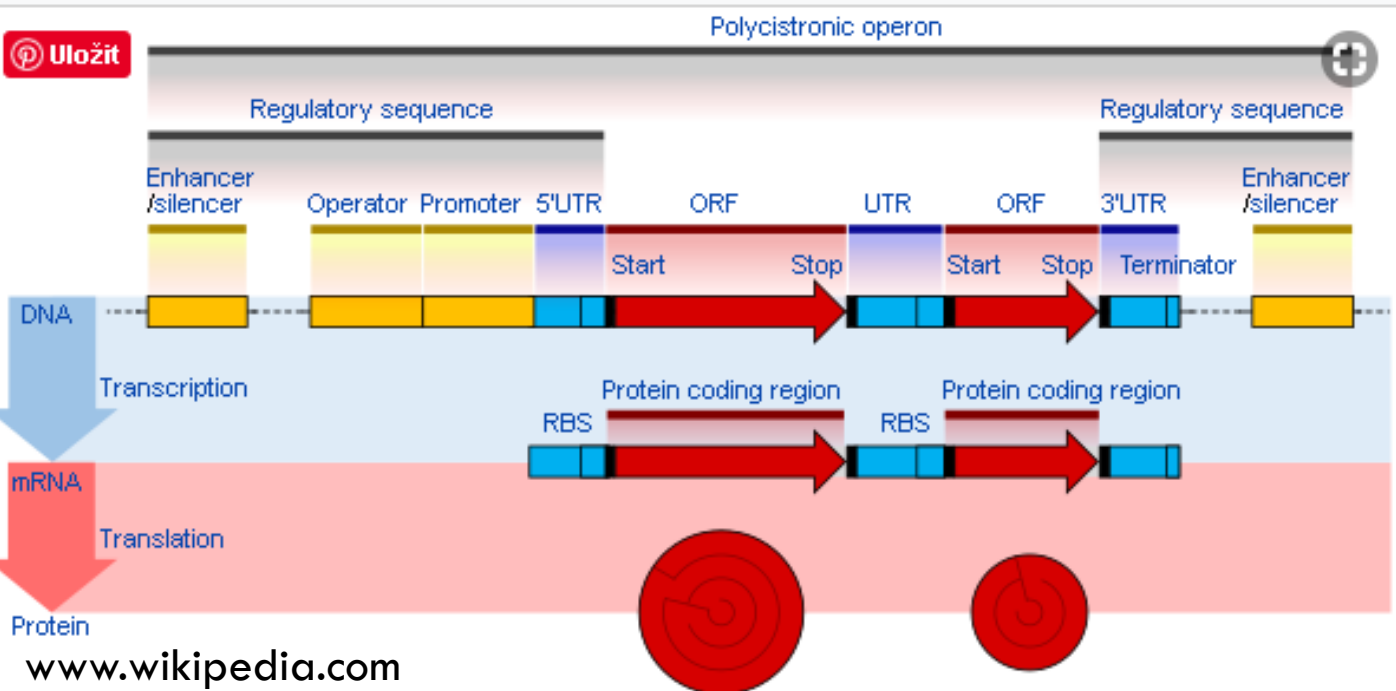
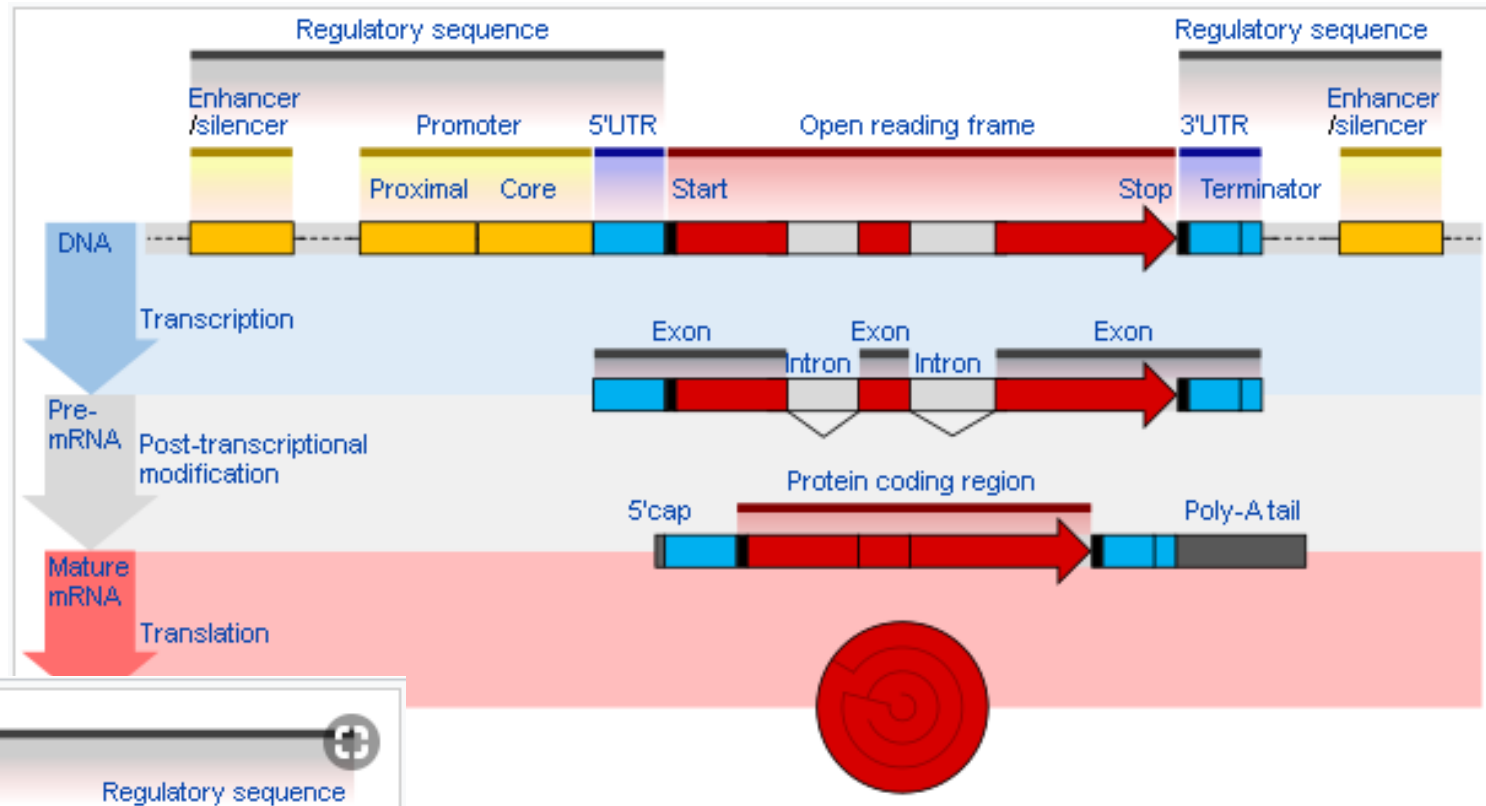
Geny pro RNA

Regulační geny

Pozor! Pseudogeny



# STRUKTURA GENU



**EUKARYOTA**  
 Regulace transkripce  
 Transkripční faktory  
 Regulace translace  
 5' UTR, 3' UTR  
 siRNA, miRNA

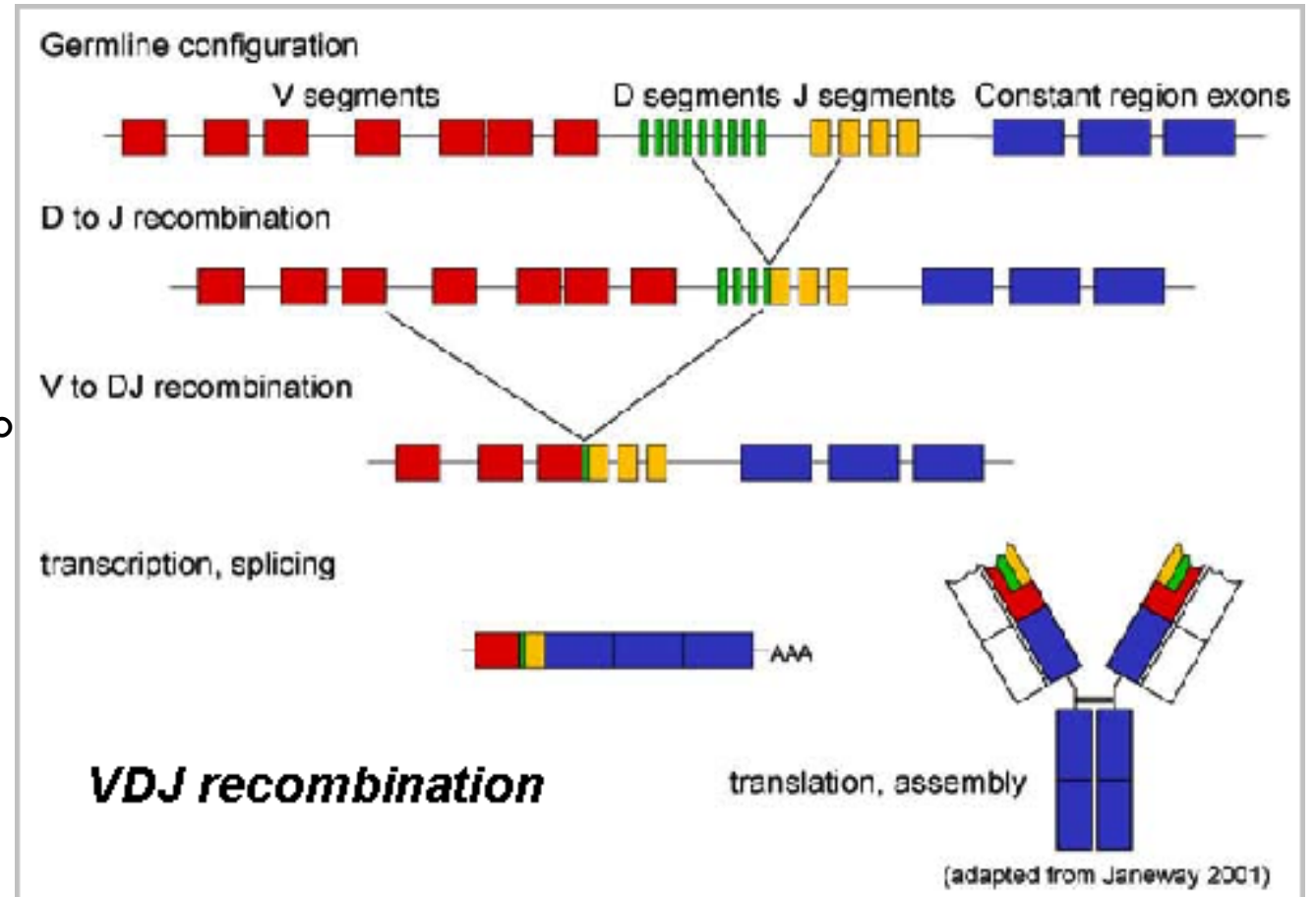
**PROKARYOTA**  
 Operon  
 Regulace transkripce  
 Konstitutivní geny  
 Inducibilní geny  
 Represibilní geny



# GENY JINÉ STRUKTURY

1) Různé varianty sestřihu a využití různých exonů:  
Takový gen je sekvence DNA,  
která je jednotkou transkripce a kóduje sadu blízce  
příbuzných polypeptidů

2) Genové segmenty,  
které se použijí pro tvorbu genů protilátek a T buněčného  
receptoru  
specifická skupina, jiná organizace



# ZÁKLADNÍ TERMINOLOGIE

## ALELA

Konkrétní sekvence nukleové kyseliny lišící se v sekvenci nukleotidů od jiné alely téhož genu

## GENOTYP

soubor alel organismu

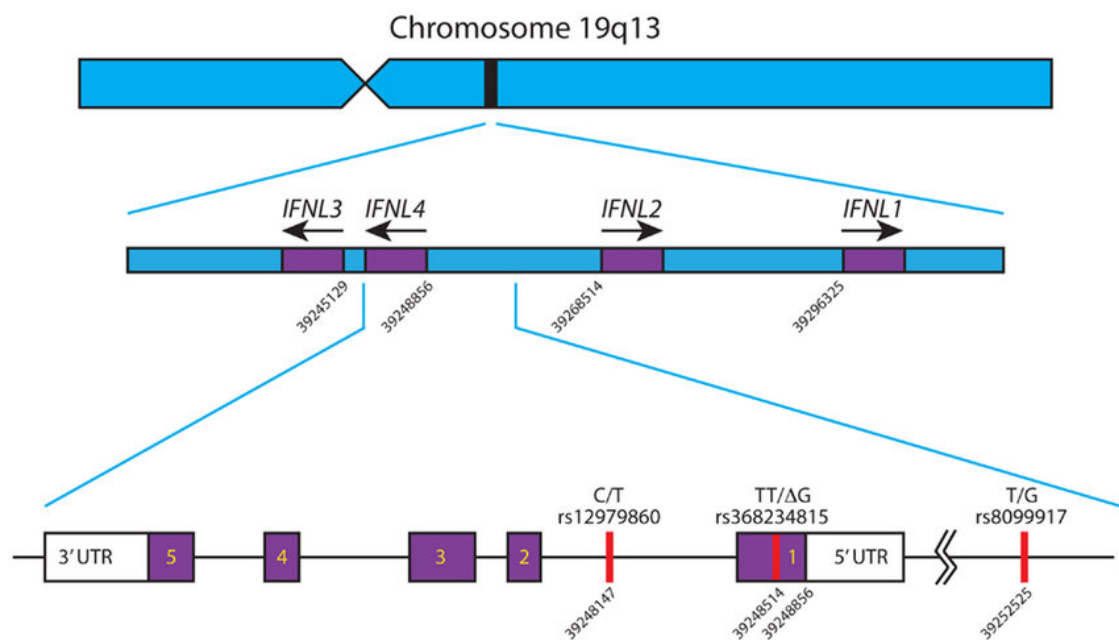
Homozygot x heterozygot

## ALELICKÉ INTERAKCE

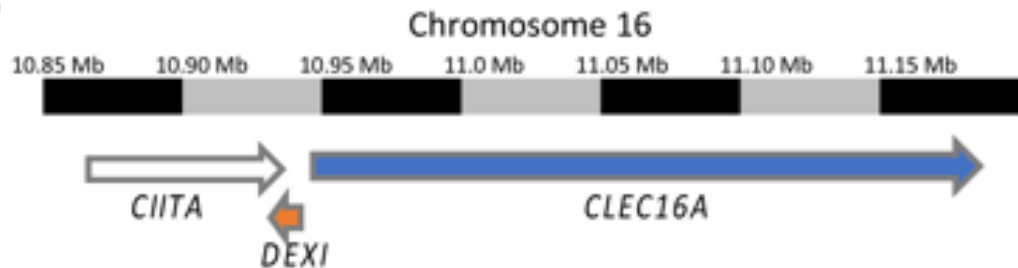
Dominance (recesivita) x kodominance x neúplná dominance



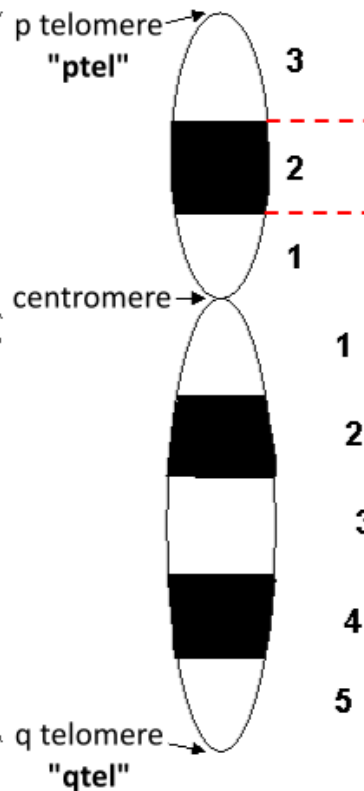
# LOKUS



A



Chromosome 3:



p-arm  
"petit"

q-arm  
"queue"

This region of the chromosome is called **3p22**

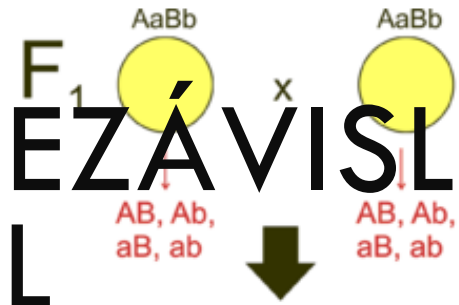
This region of the chromosome is called **3p22.1**

This region of the chromosome is called **3p21**

B

Gene	Location on Chromosome 16
<i>CLEC16A</i>	10,944,488-11,182,189
<i>DEXI</i>	10,928,891-10,942,131
<i>CIITA</i>	10,877,198-10,936,388

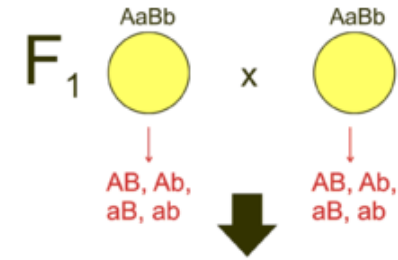
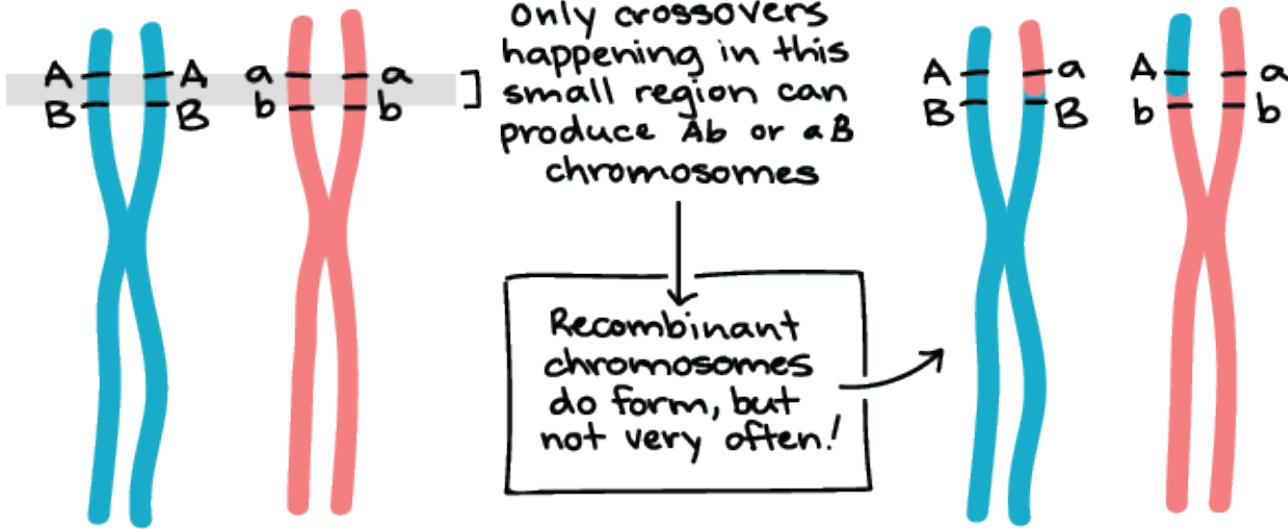
# 3. MENDELŮV ZÁKON O NEZÁVISLÉ KOMBINOVATELNOSTI ALEL



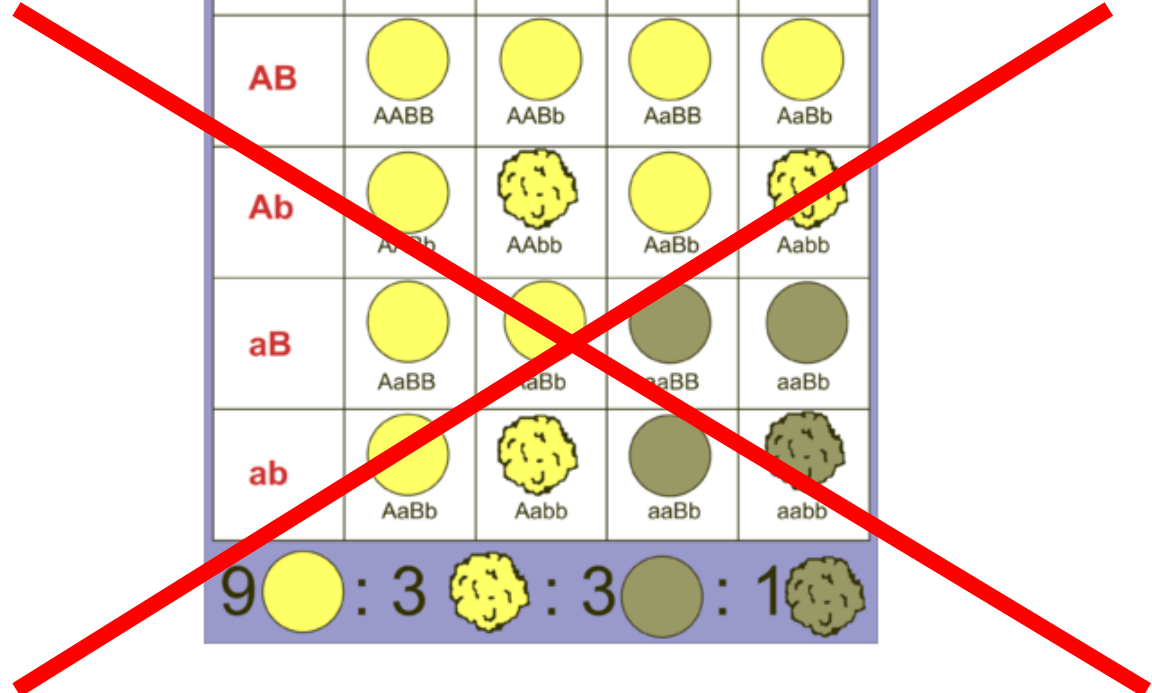
F <sub>2</sub>	AB	Ab	aB	ab
AB	AABB	AABb	AaBB	AaBb
Ab	AABb	AAbb	AaBb	Aabb
aB	AaBB	AaBb	aaBB	aaBb
ab	AaBb	Aabb	aaBb	aabb

9 : 3 : 3 : 1

# LOKUS A VAZBA GENŮ



$F_2$	$AB$	$Ab$	$aB$	$ab$
$AB$	$AABB$ (yellow circle)	$AABb$ (yellow circle)	$AaBB$ (yellow circle)	$AaBb$ (yellow circle)
$Ab$	$AaBb$ (yellow circle)	$AAbb$ (yellow flower)	$AaBb$ (yellow circle)	$Aabb$ (yellow flower)
$aB$	$AaBB$ (yellow circle)	$aABb$ (yellow circle)	$aaBB$ (green circle)	$aaBb$ (green circle)
$ab$	$AaBb$ (yellow circle)	$Aabb$ (yellow flower)	$aaBb$ (green circle)	$aabb$ (green flower)
$9$ (yellow circle) : $3$ (yellow flower) : $3$ (green circle) : $1$ (green flower)				



# MAPOVÁNÍ GENOMU

Genetická mapa

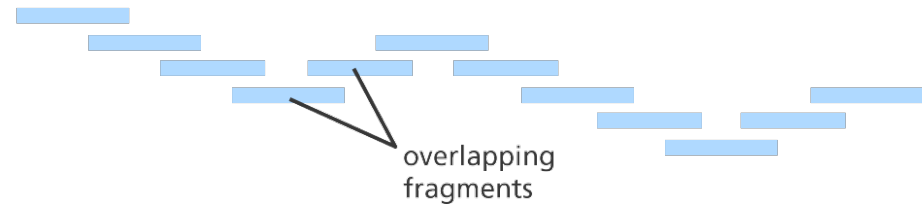
Fyzická mapa



Genetic mapping



Physical mapping



# KVALITATIVNÍ X KVANTITATIVNÍ ZNAK

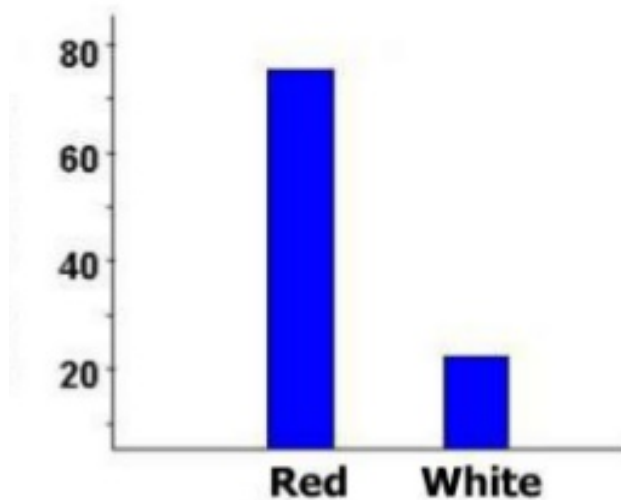
Majorgeny

Minorgeny

**Qualitative**

---

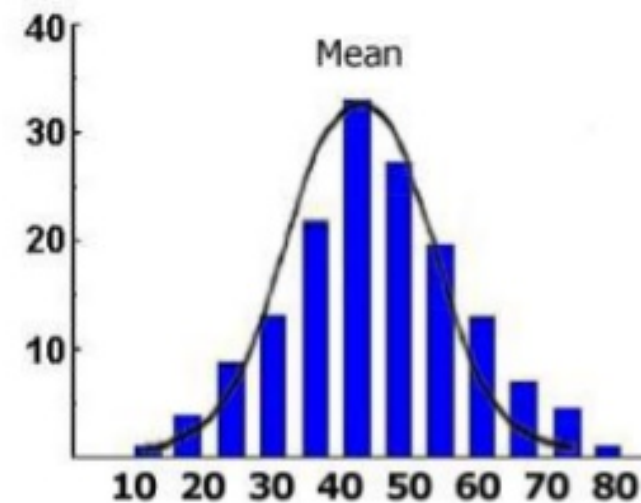
**Discontinuous variation**



**Quantitative**

---

**Continuous variation**



# KVALITATIVNÍ ZNAKY

Znak je dán jedním nebo několika málo geny (majorgeny)

Dědí se mendelisticky: Autosomální x gonosomální dědičnost

Znaky mají diskrétní, diskontinuitní charakter

GENOKOPIE – genetická heterogenita a mikroheterogenita

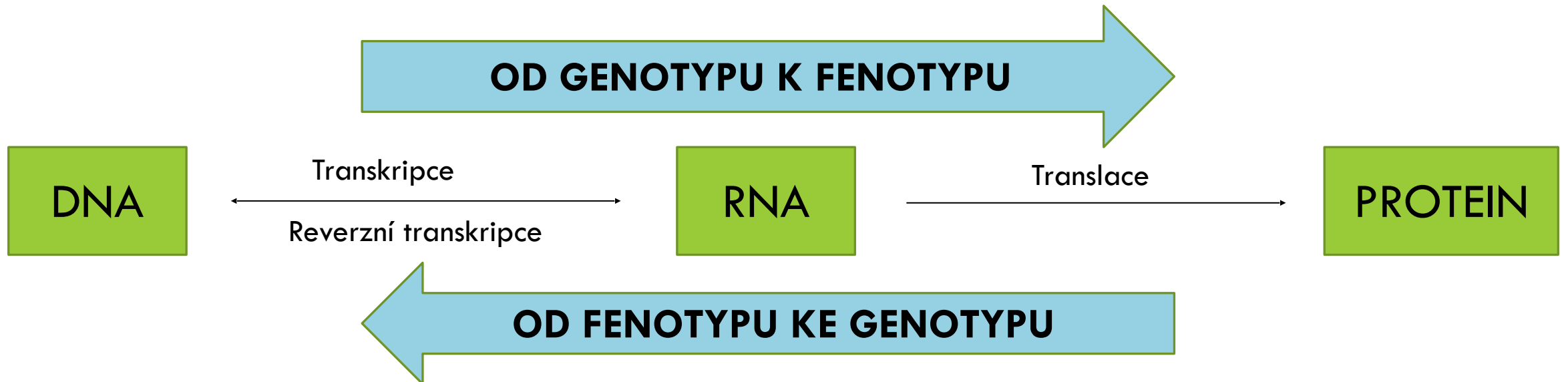
Komplikace - PENETRANCE A EXPRESIVITA

# IDENTIFIKACE GENU

**Experimentální křížení** (in vivo) – od fenotypu ke genotypu

**Molekulární analýza** (in vitro) – PCR, RT-PCR, umlčování genů, knock-out – od genotypu k fenotypu

**Počítačová analýza** (in silico)



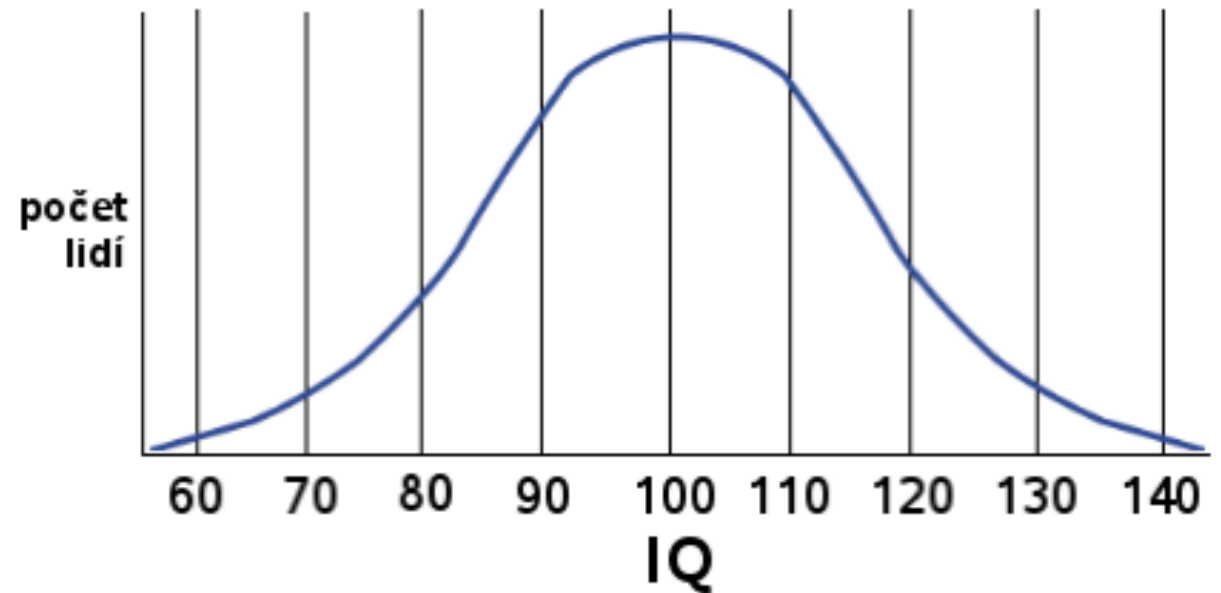
# KVANTITATIVNÍ ZNAK

Komplikované působení desítek až stovek genů (minorgeny) pod vlivem faktorů prostředí

Prostředí: klima, výživa, stres, životní styl, infekce, medikace, toxické látky ...

Znaky mají kontinuální charakter

Výška, váha, IQ, krevní tlak





# MOLEKULÁRNÍ DISEKCE KOMPLEXNÍHO ZNAKU

## Postup

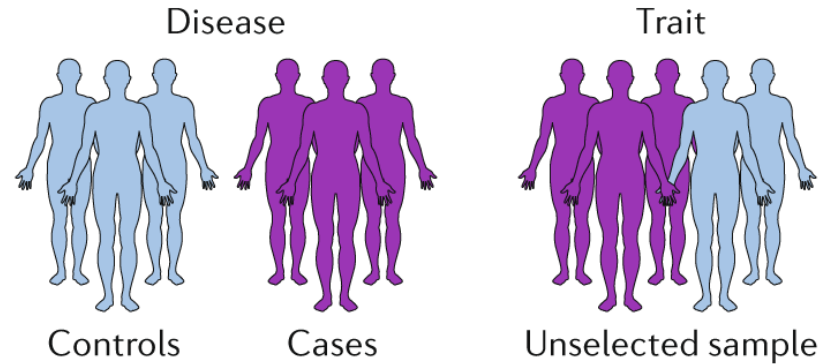
1. Fenotypizace
2. Genome-wide association study (GWAS)
3. Analýza genové exprese: RNA, proteiny
4. Analýza drah (pathway analysis)

Genetické mapy a sekvenování genomu umožnily lokalizaci nejprve genů kódujících jednoduše mendelisticky dědičné znaky a choroby. V případě komplexních znaků, je však třeba určit počet, lokalizaci, velikost efektu a vzájemné interakce jednotlivých zúčastněných genů. Některé z těchto informací lze získat molekulárním rozkladem (disekci) komplexního znaku. Možnosti detekce a identifikace genů podílejících se na komplexním znaku do značné míry závisí na jejich počtu, velikosti jejich efektu a frekvenci alel v populaci.

Při hledání těchto genů je nezbytné nejprve přesně definovat fenotyp studovaného komplexního znaku, jehož genetickou podstatu zkoumáme. Poté se vytvoří dvě skupiny extrémních fenotypů (zdravý/nemocný), u nichž je předpoklad rozdílného genetického založení ve zkoumaném znaku. Tyto skupiny jsou podrobeny celogenomovému screeningu, který umožňuje identifikovat markery související (asociované) s variabilitou studovaného fenotypu. V případě potřeby je možné identifikovat další markery a potvrdit předchozí výsledky funkční analýzou genové exprese vybraných genů. Je také možné usuzovat

# FENOTYPIZACE

Population



Přesná definice studovaného znaku/onemocnění

Vytvoření dvou skupin extrémních genotypů: nemocní x zdraví

Předpoklad = rozložení je nenáhodné = rozdílné genetické založení znaku

Pozor FENOKOPIE

# GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDY

Princip: identifikace markerů ve vazbě k dosud neznámým významným genům

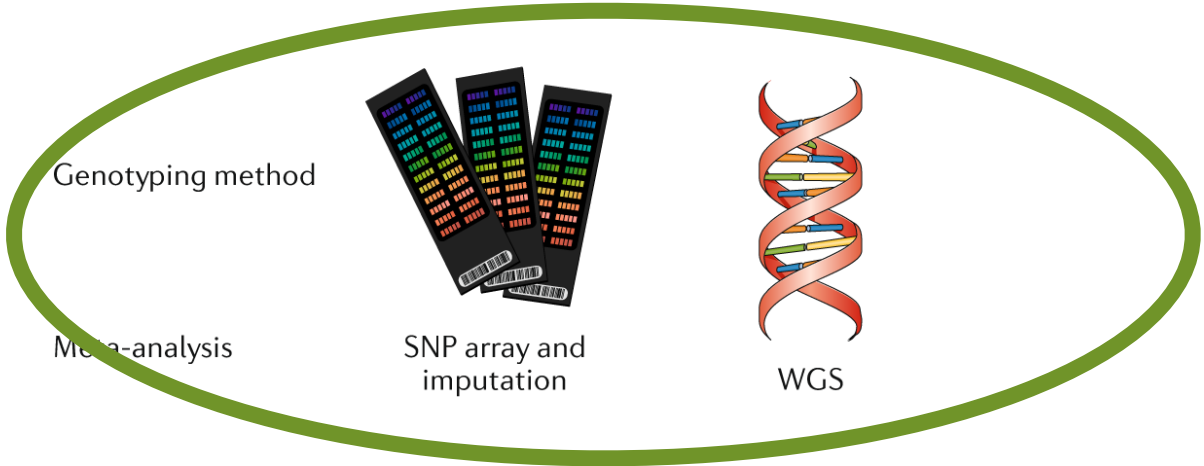
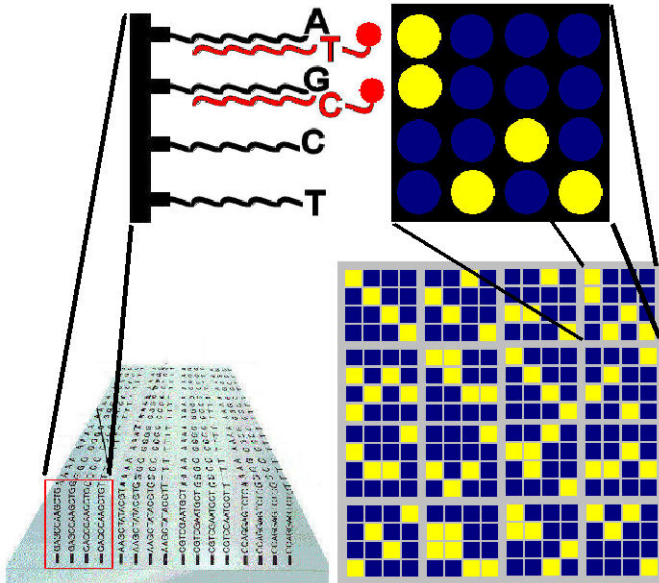
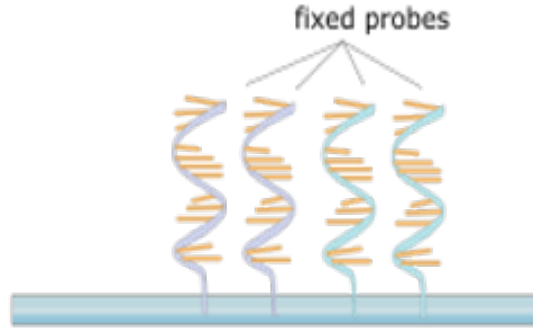
Markery: mikrosatelity, SNP

Postup: srovnání skupin extrémních fenotypů

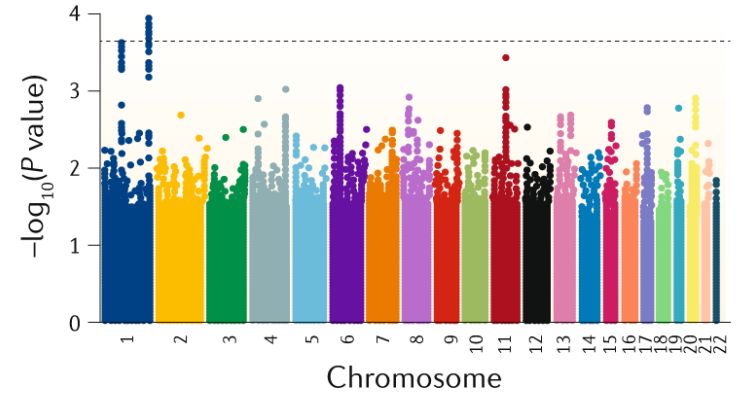
Výsledky: kandidátní chromosomální oblasti

Další postup: mapování oblasti, kandidátní geny

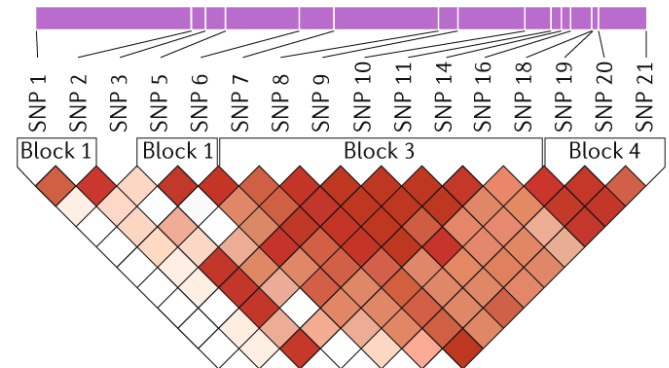
markery



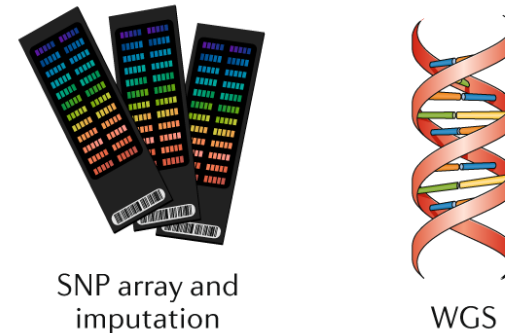
Statistical association



Linkage disequilibrium



# rovnání skupin extrémních fenotypů



Genotyping method

B.

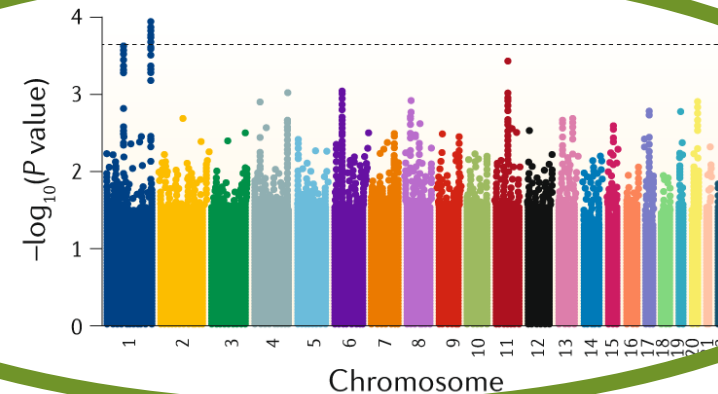
	SNP 1	SNP 2	SNP 4	....SNP 50000
<b>CASE (nemocní)</b>	<i>Alela G</i> 1715 ze 3000 frekvence alely G= 57%	<i>Alela G</i> 900 ze 3000 G= 30%	<i>Alela A</i> 2520 ze 3000 A=84%	
<b>CONTROL (zdraví)</b>	<i>Alela G</i> 1350 ze 4000 frekvence alely G= 34%	<i>Alela G</i> 1400 ze 4000 G= 35%	<i>Alela A</i> 3160 ze 4000 A=79%	
	P hodnota 0,000001	P hodnota -	P hodnota -	

Meta-analysis

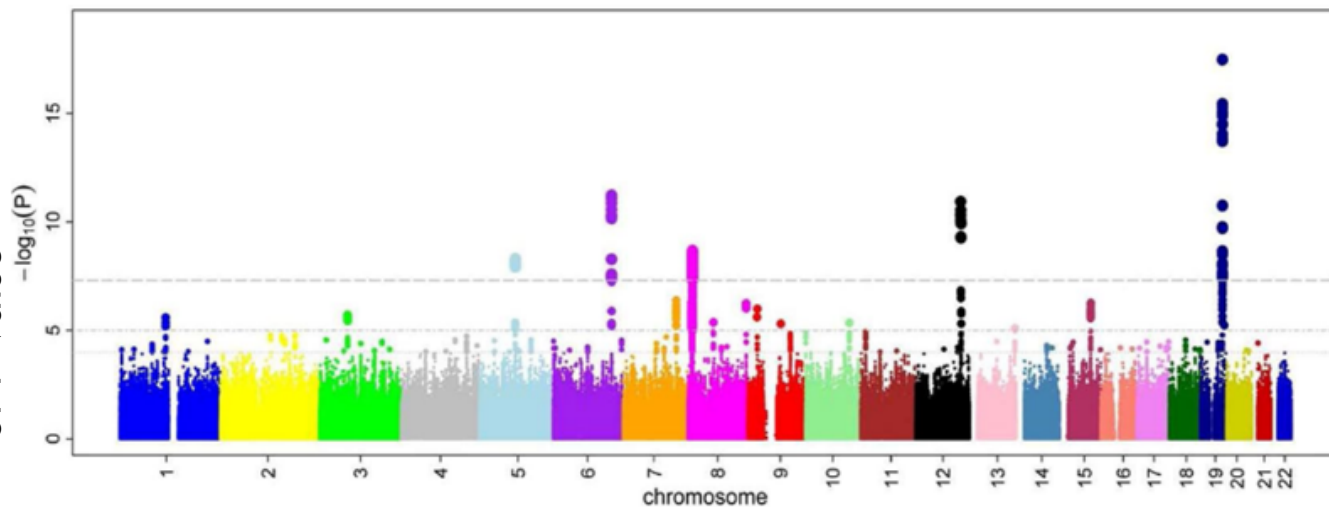
SNP array and imputation

WGS

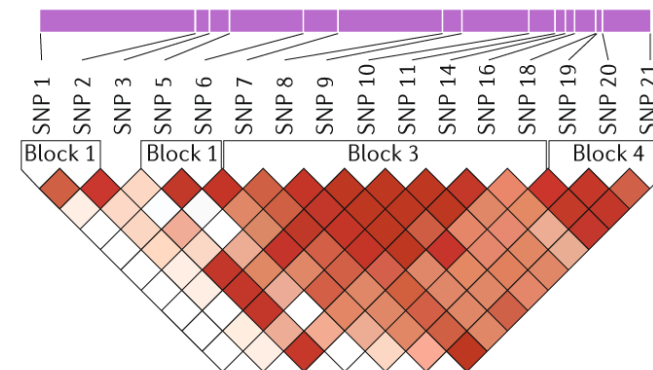
Statistical association



Negative logarithm of P-value



Linkage disequilibrium

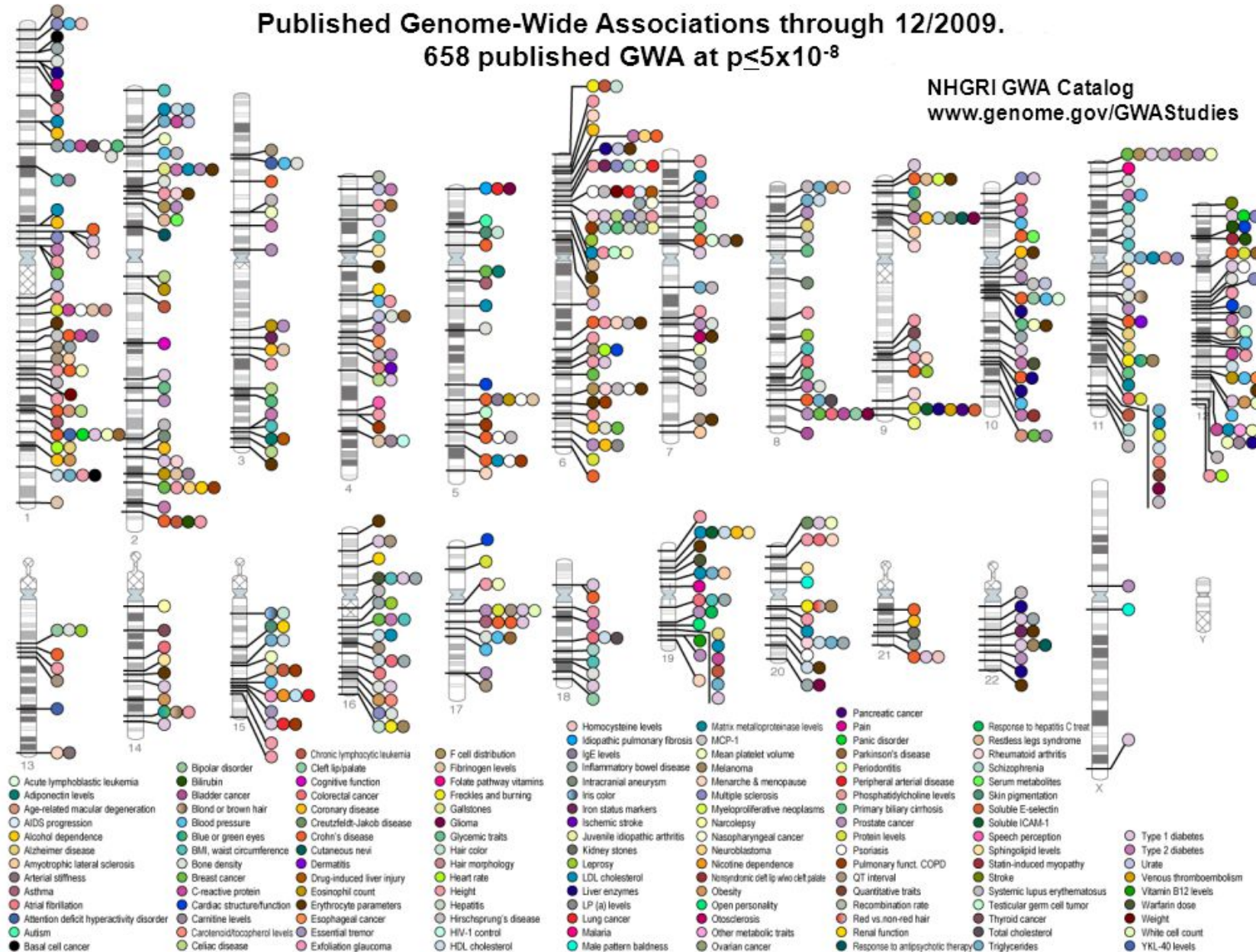


Manhattan plot – každá tečka znázorňuje jeden analyzovaný SNP



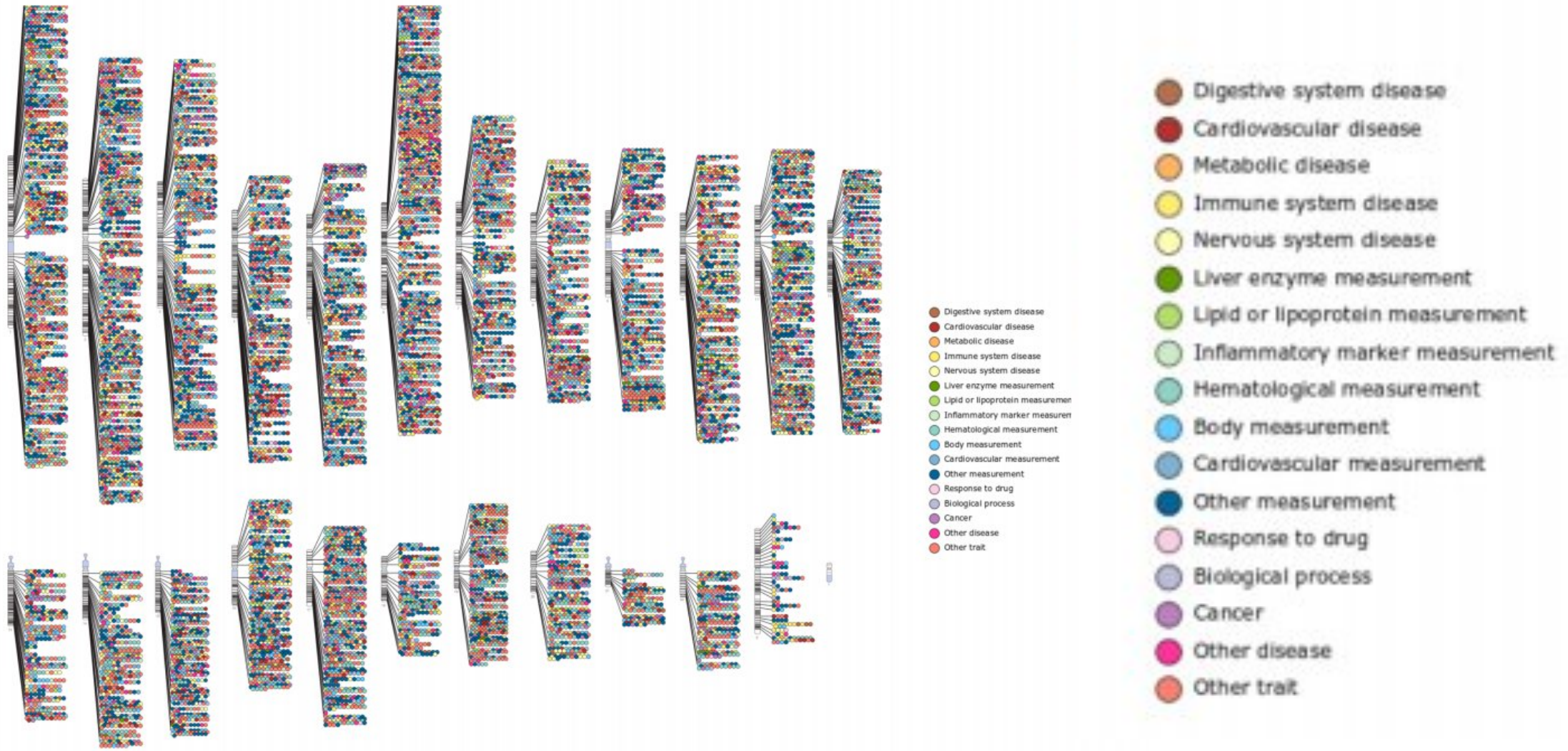
Published Genome-Wide Associations through 12/2009.  
658 published GWA at  $p \leq 5 \times 10^{-8}$

NHGRI GWA Catalog  
[www.genome.gov/GWAStudies](http://www.genome.gov/GWAStudies)



# Published Genome-Wide Associations as of May 2018

$p \leq 5 \times 10^{-8}$  for 17 trait categories

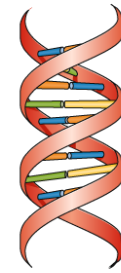




A.



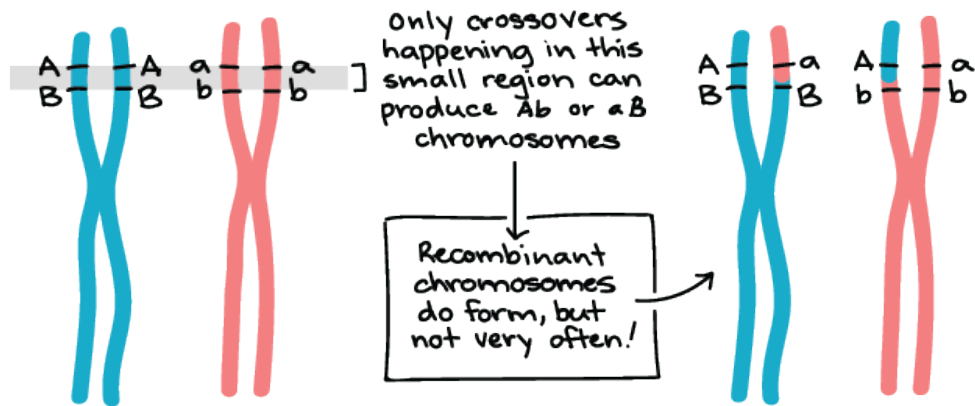
Genotyping method



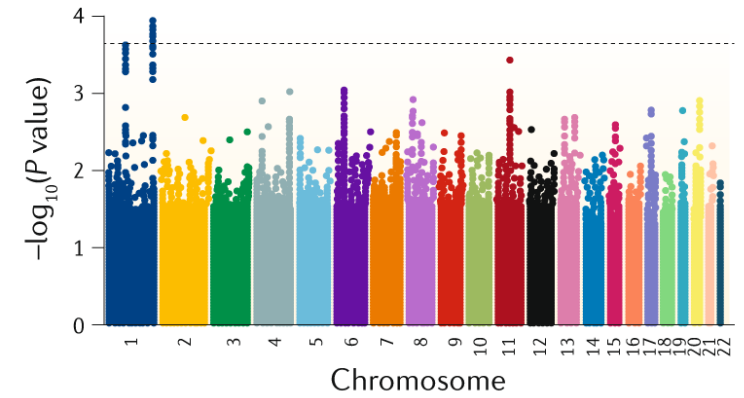
Meta-analysis

SNP array and imputation

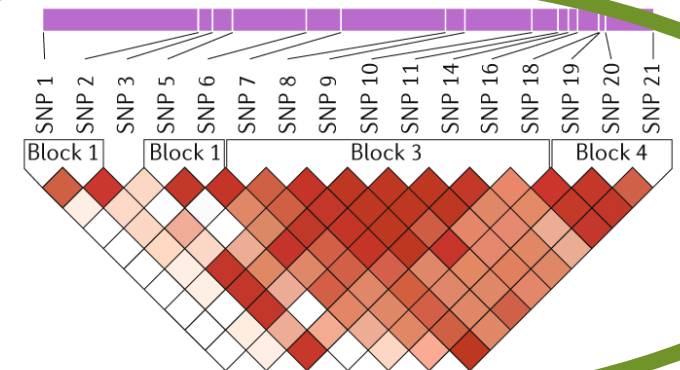
WGS



Statistical association



Linkage disequilibrium



kandidátní chromosomální oblasti  
 mapování oblasti  
 kandidátní geny



# MOLEKULÁRNÍ DISEKCE KOMPLEXNÍHO ZNAKU

Identifikace kandidátních genu

Analýza exprese

Identifikace funkčně významných drah