

Genetická podmíněnost nemocí

Genetika, genomika

genetika

specializovaný biologický obor zabývající se **variabilitou** a **dědičností** u všech živých organizmů

lidská genetika

studuje variabilitu a dědičnost u člověka

klinická genetika

zabývá se genetikou patologických stavů

diagnostika, genetické poradenství a prevenci genetických nemocí (nejen u pacienta ale celé rodiny!)

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

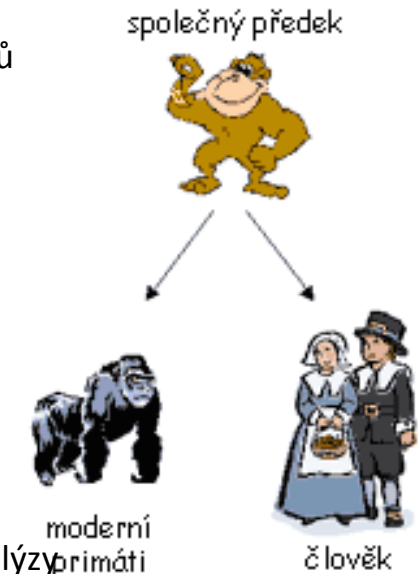
snaží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organizmů

strukturní genomika = pochopení struktury genomu

konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomů příslušných organizmů, konečným cílem je 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 (myš, kvasinka, nematoda, Drosophila aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



Chromozomální podstata dědičnosti

DNA, RNA, proteiny

DNA nese potřebnou informaci potřebnou pro regulaci vývoje, růstu, metabolismu a reprodukce
složena z nukleotidů (zbytek kys. fosforečné, deoxyribóza a dusíkatá báze [A, G, C, T])

DNA kostra – polynukleotidový řetězec

zbytky deoxyribózy a kys. fosforečné spojené fosfodiesterovou vazbou

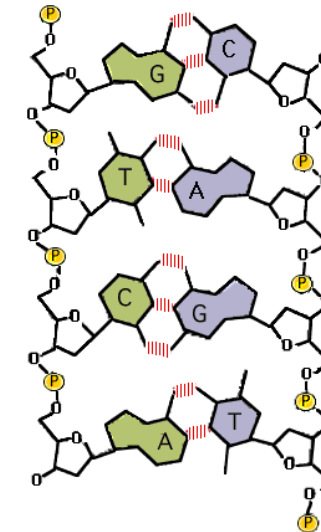
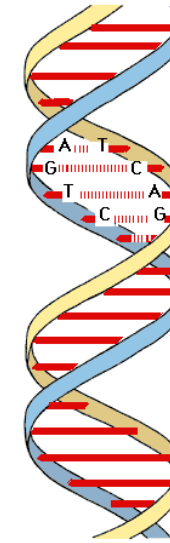
DNA dvojšroubovice - 2 polynukleotidové řetězce v opačné orientaci

jedno vlákno v 5' → 3' směru, druhé opačně

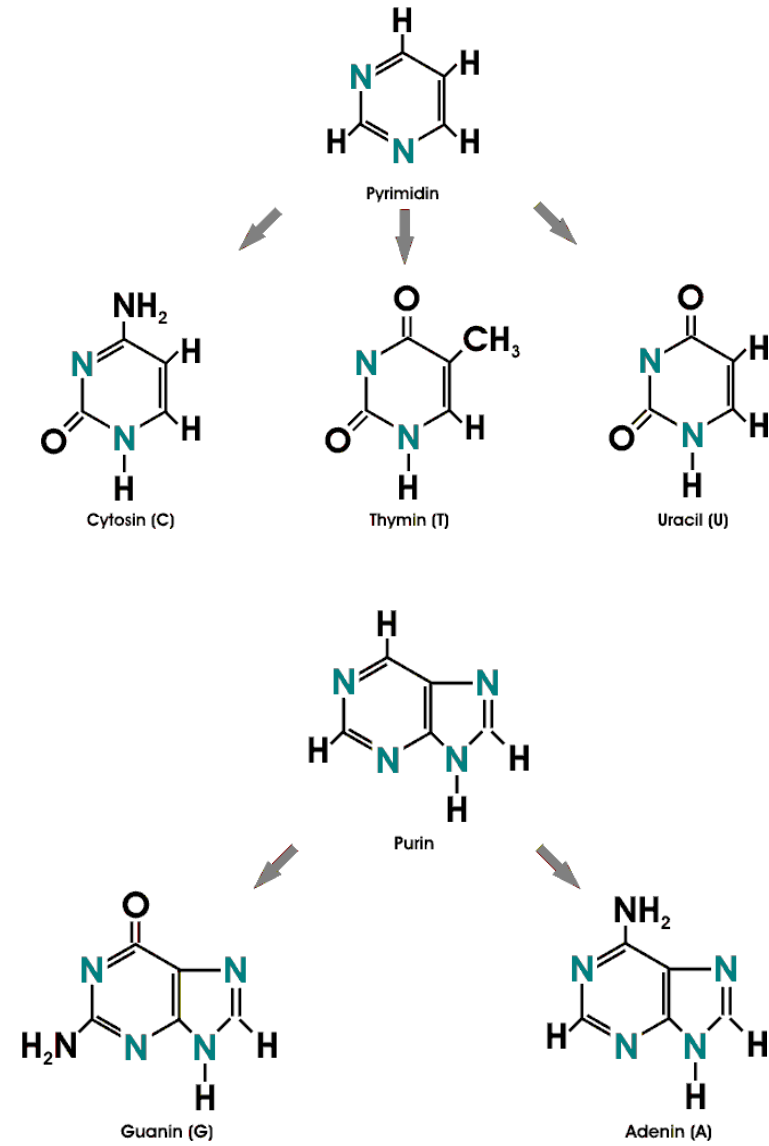
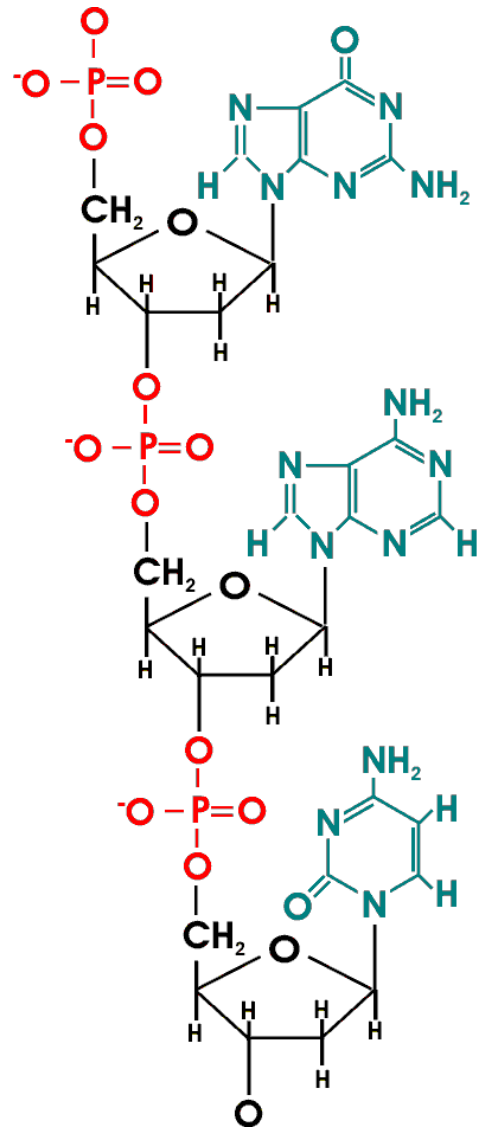
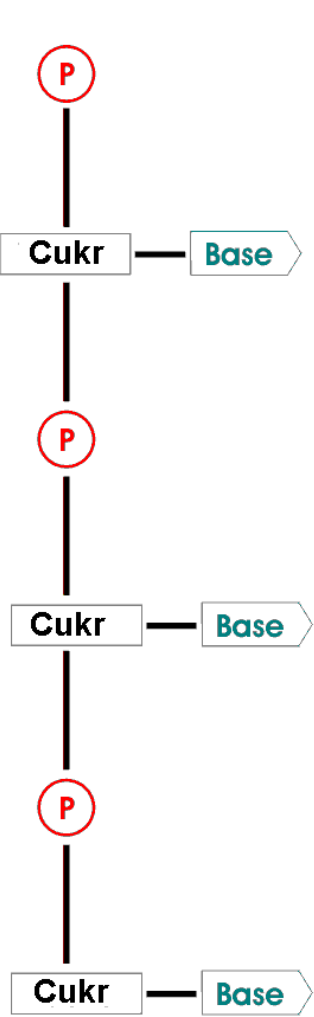
vodíkové vazby mezi páry bází (A=T, G≡C)

dvojšroubovice se rozpadá při replikaci a transkripci

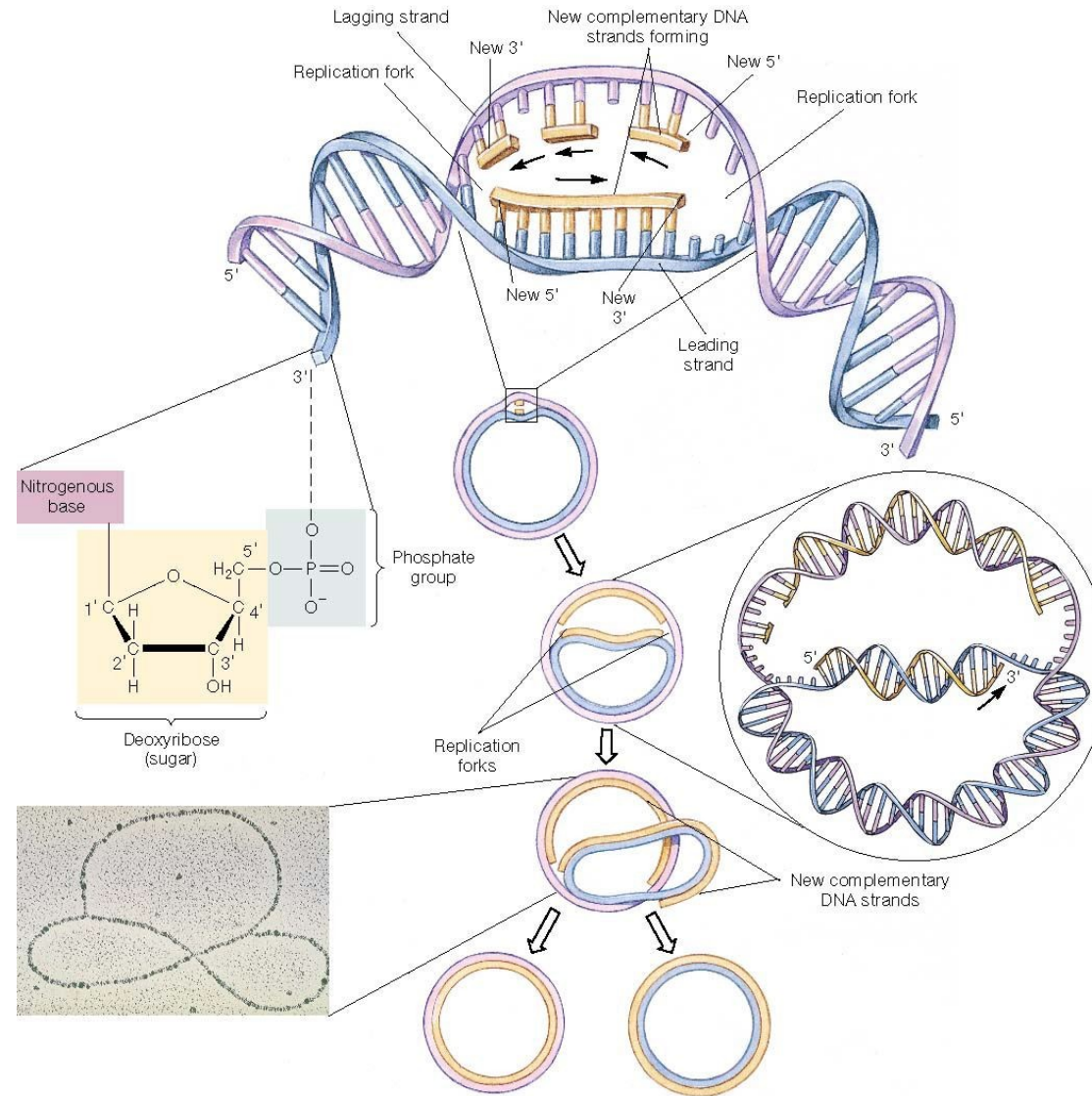
molekulárně-biologické dogma: DNA → RNA → protein



Nukleosid × nukleotid × báze × DNA



DNA replikace



Gen

DNA obsahuje definované úseky zvané **geny** – základní jednotky dědičnosti

gen = segment molekuly DNA, který obsahuje kód pro AK přísl. polypeptidu a nezbytné regulační sekvence pro regulaci své exprese

promotor (5'-konec)

vazebná místa pro transkripční faktory

exony

introny

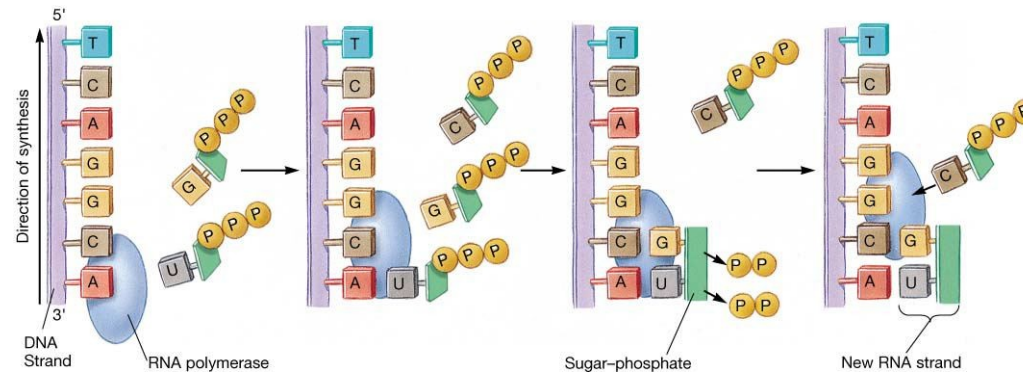
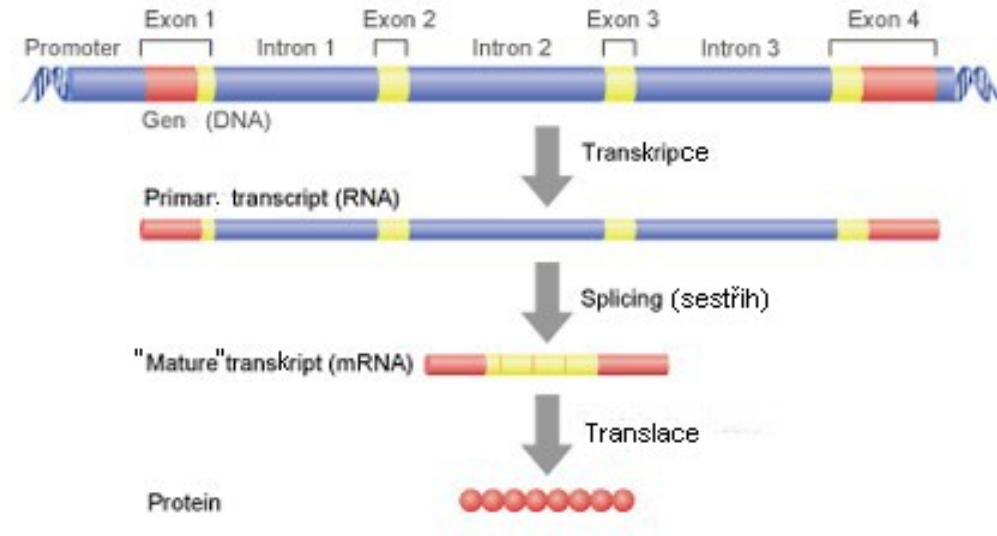
3' nepřepisovaná oblast (UTR)

při **transkripci** vzniká RNA

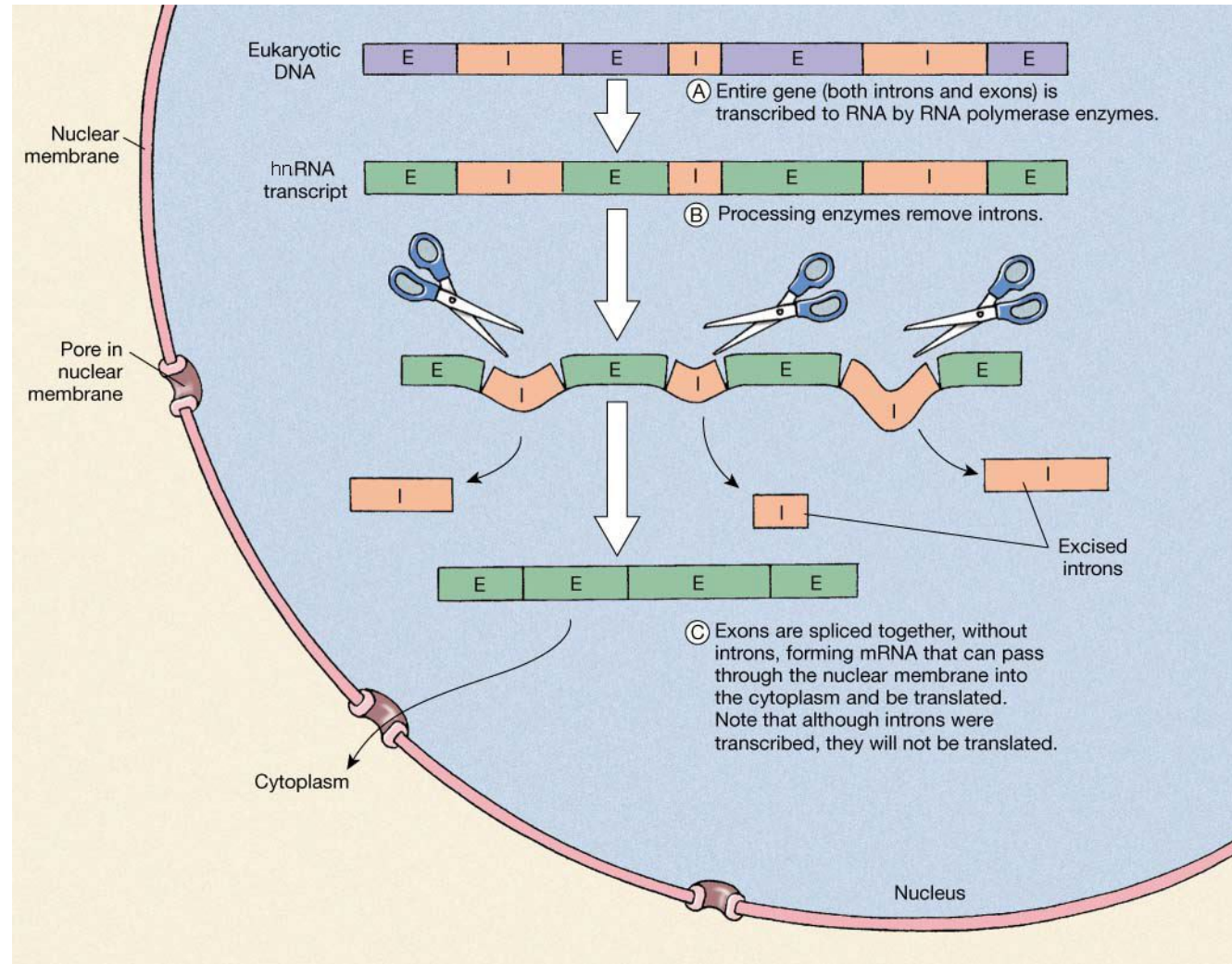
1) hnRNA je komplementární celému genu (1. exon → poly-A konec)

2) mRNA vzniká sestřihem hnRNA (intronů)

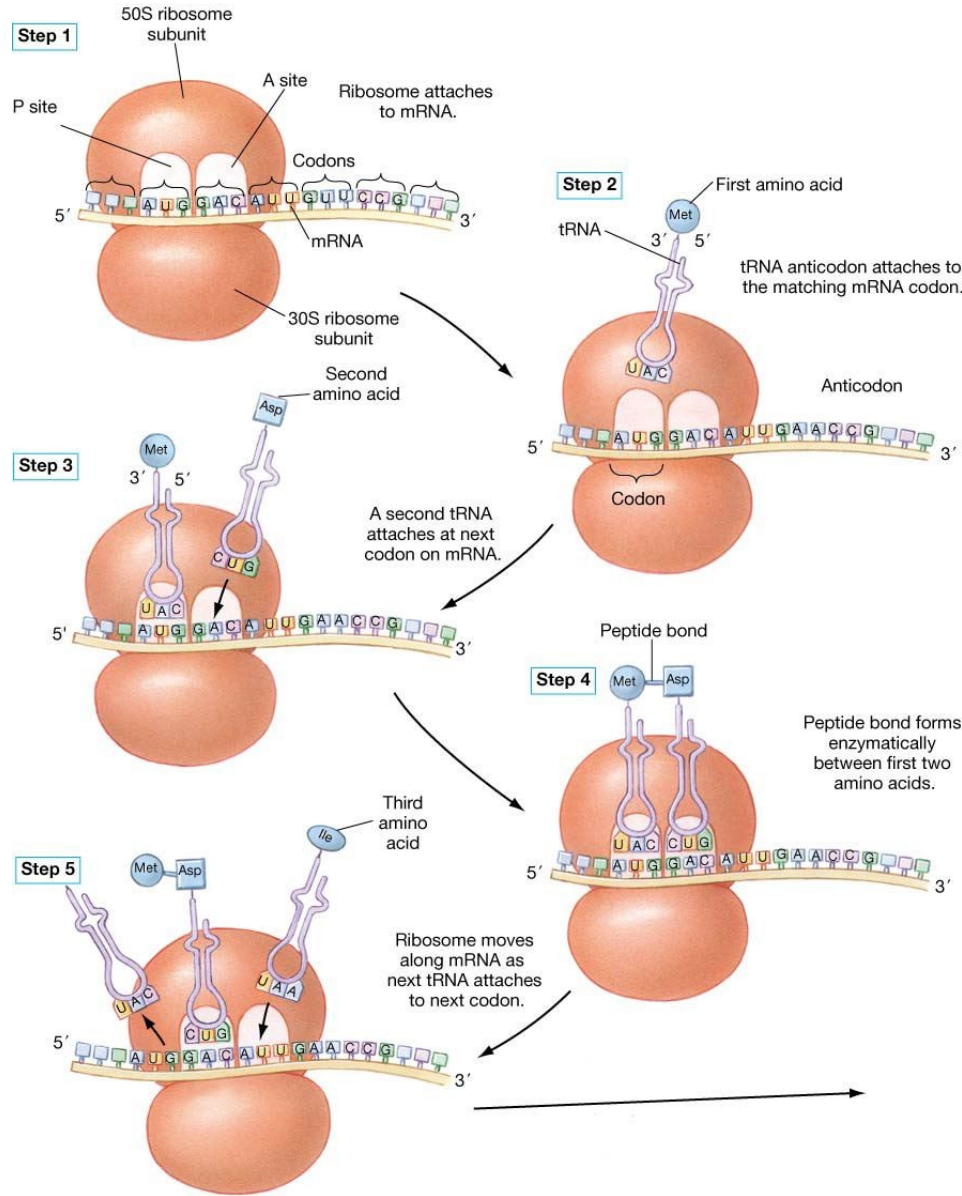
translací vzniká protein



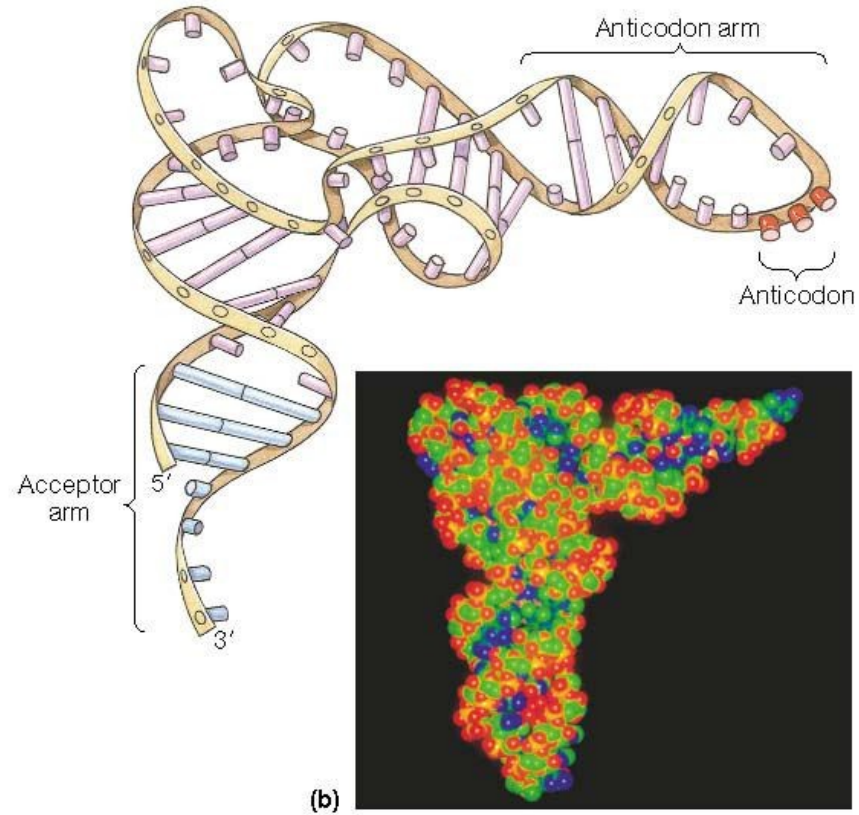
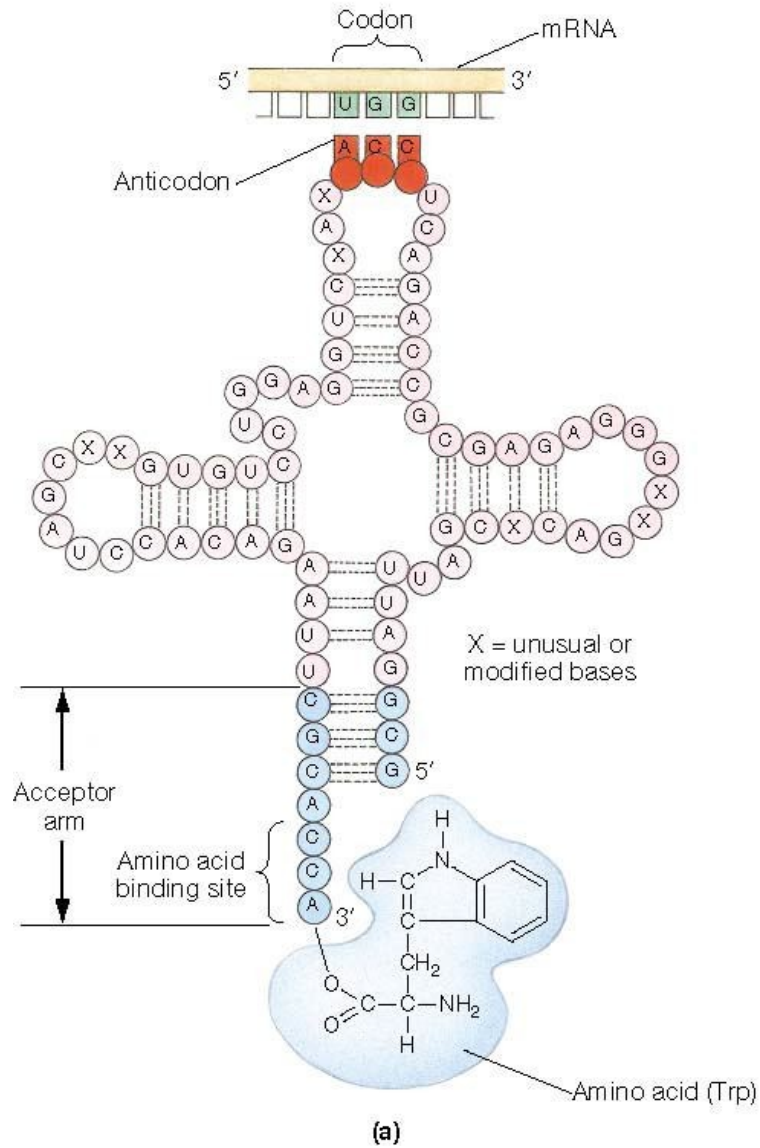
RNA "splicing"



Translase



Translase – detail tRNA / AK



Genetický kód

	1. pozice		2. pozice				3. pozice		
	U	C	A	G	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

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

Chromatin × chromatida × chromozom

DNA je organizována v **chromozomech**
chromatin + chromozomální proteiny
(histony)

chromozom = lineární sekvence genů
přerušovaných nekódujícími úseky
v nedělicí se buňce je chromatin
rozprostřen volně v jádře

u dělicí se organizuje do viditelných
chromozomů

struktura chromozomu

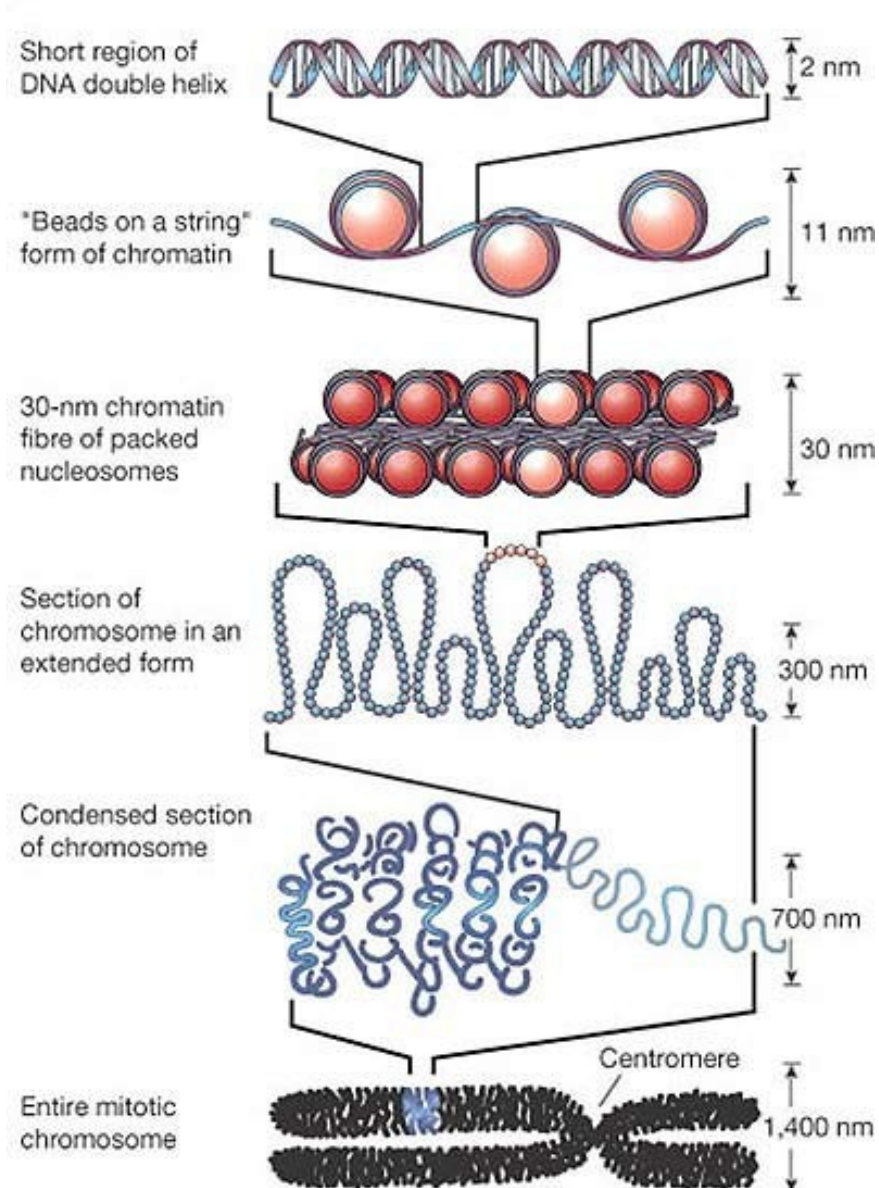
centromera

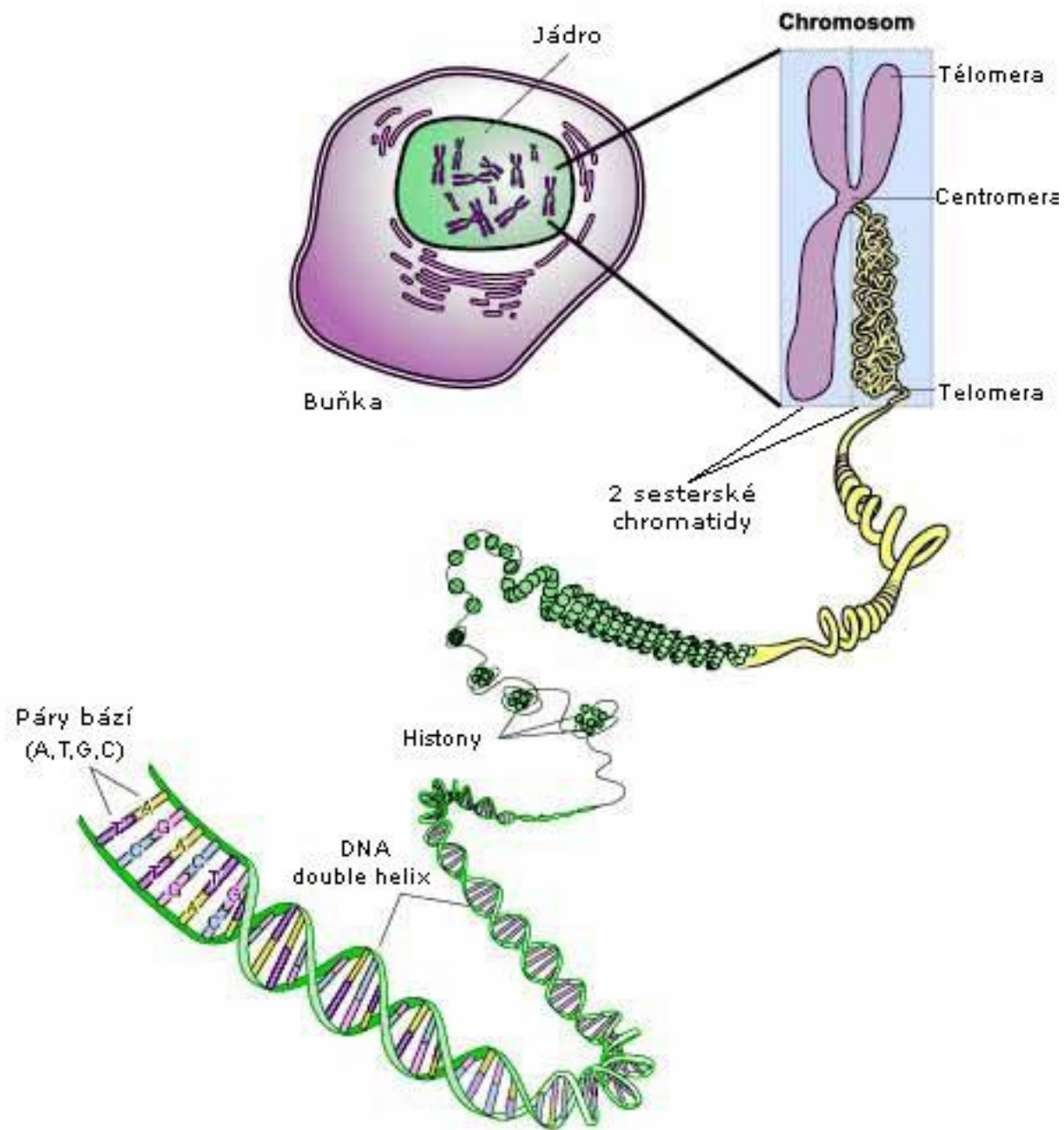
telomery (raménka)

dlouhé - q

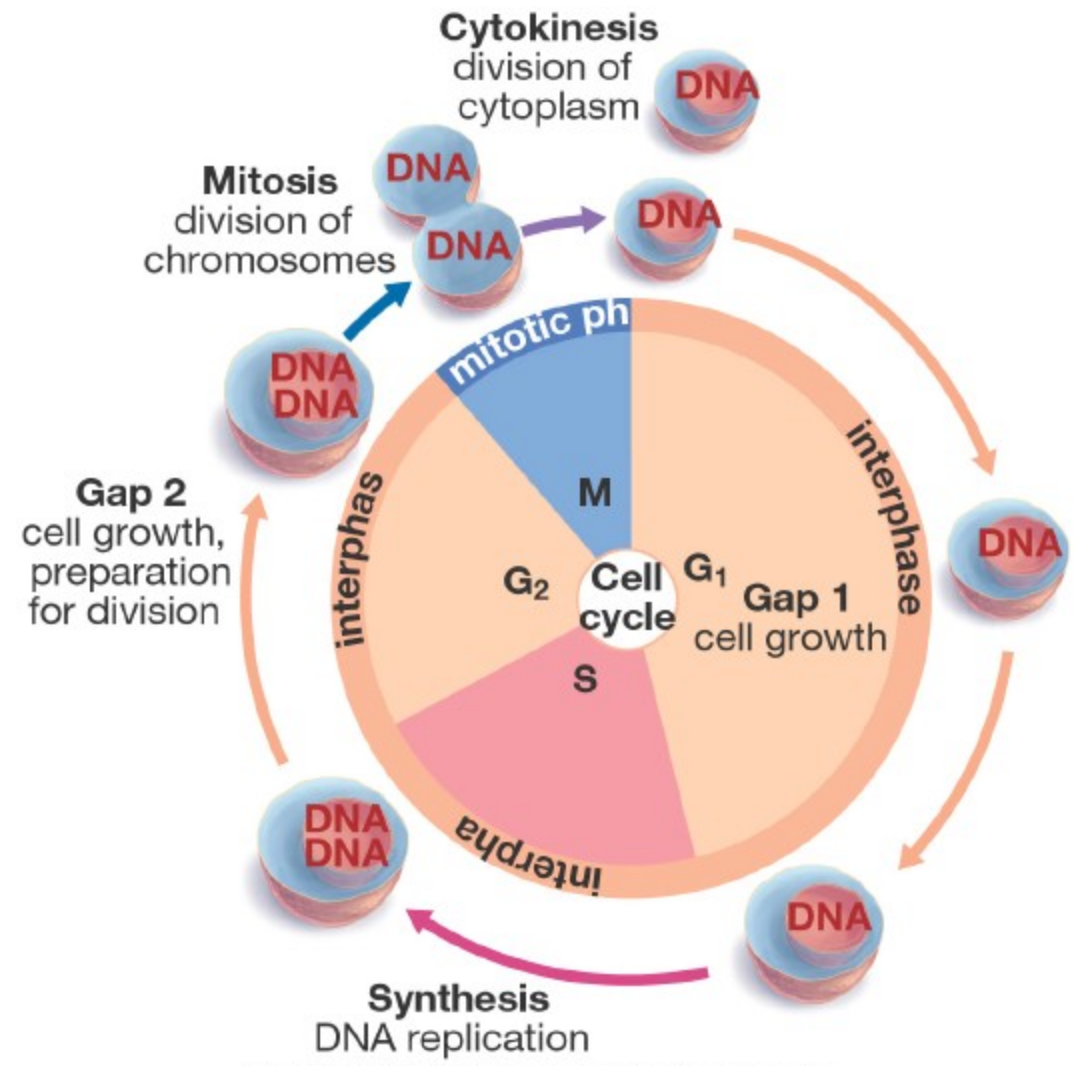
krátké - p

dvě kopie daného chromozomu po
replikaci (před dělením) = sesterské
chromatidy

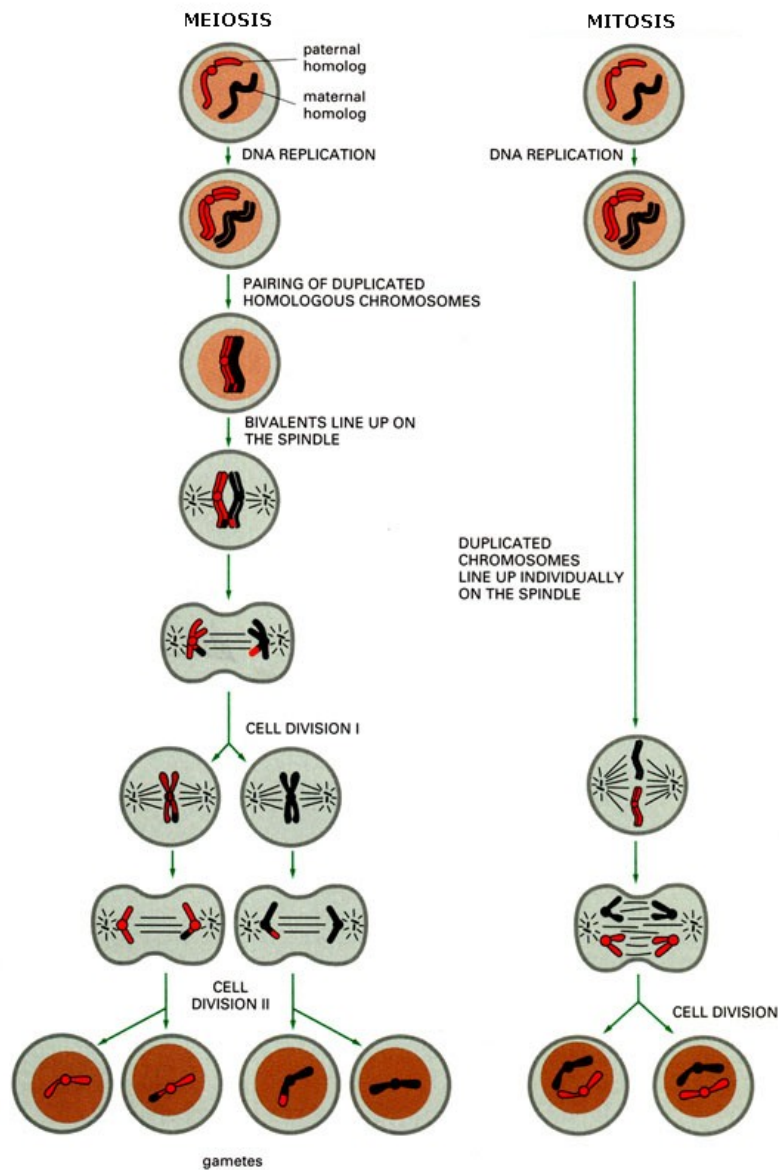




Buněčný cyklus



Dělení buněk



mitóza

1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)
vzniknou 2 dceřinné buňky s diploidním počtem chromozomů

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

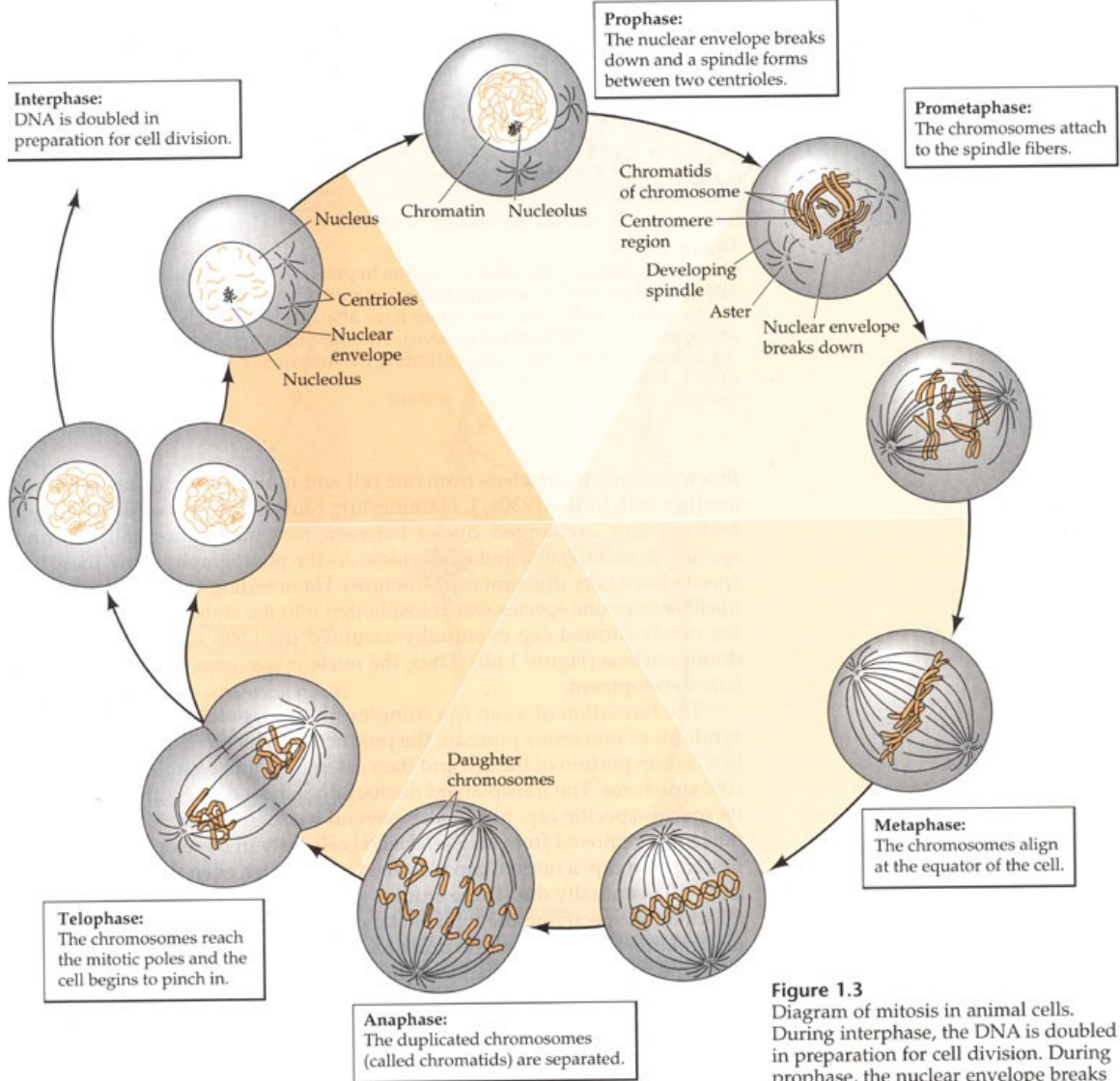


Figure 1.3
Diagram of mitosis in animal cells. During interphase, the DNA is doubled in preparation for cell division. During prophase, the nuclear envelope breaks down and a spindle forms between the

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 prometáfázi mitózy

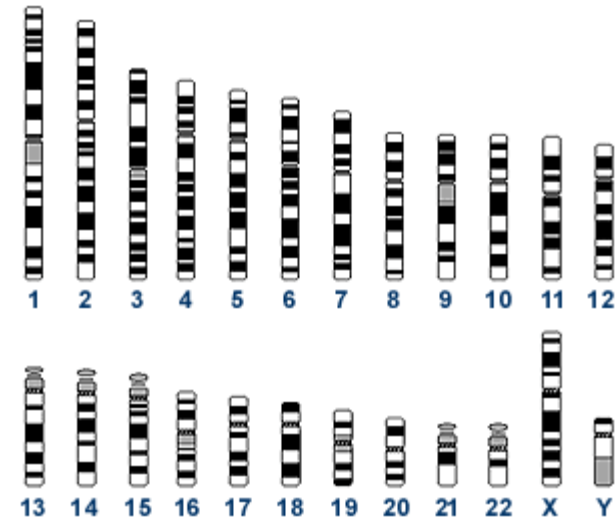
lymfocyty perif. krve nutno uvést do mitózy mitogenem a zastavit v metafázi např. colchicinem

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, vystřihnou a seřadí do párů

automatizované (mikroskop + software)



Gen × alela × 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

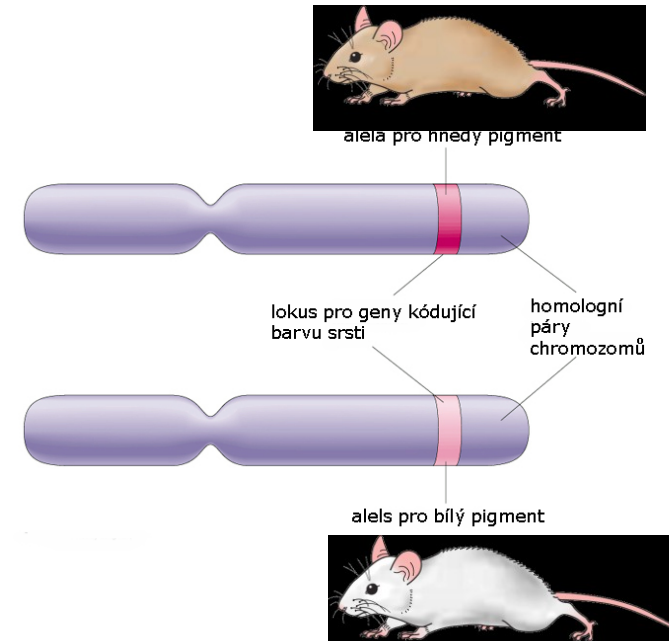
haplotyp – lineární kombinace alel na jenom z homologních párů chromozomů

fenotyp – vnější projev (vyjádření) genotypu

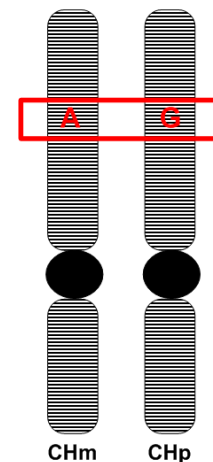
znak – jednoduše měřitelná, většinou spojitá proměnná

fenotyp – sobor znaků

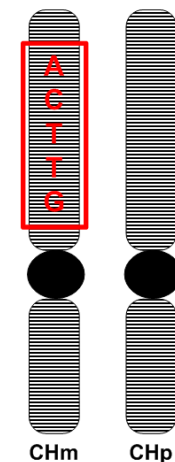
intermediární fenotyp – podobný znaku, ne vždy musí být spojitý



GENOTYP

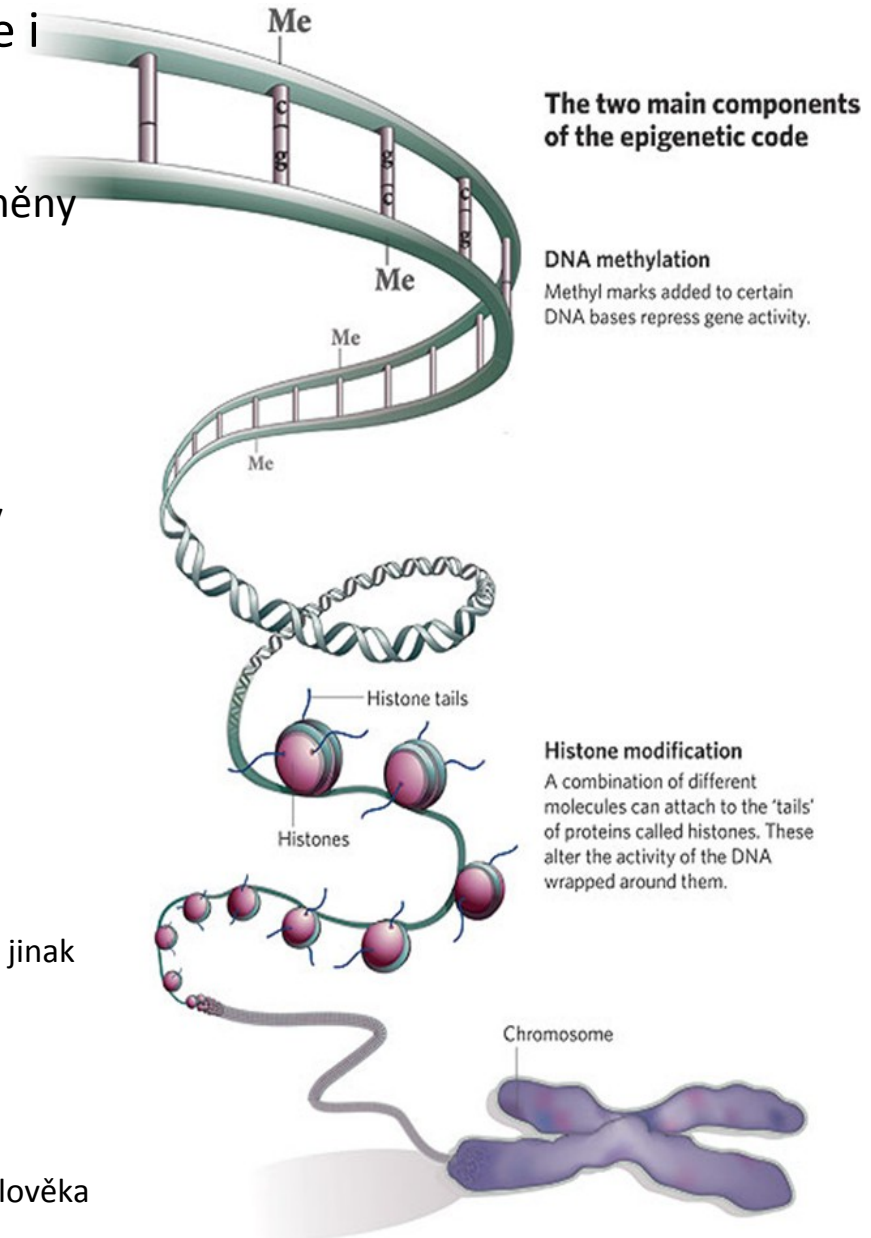


HAPLOTYP



Epigenetika

- studuje změny v genové expresi (a tedy obvykle i ve fenotypu), které nejsou způsobeny změnou nukleotidové sekvence DNA
- výjimky z obecného pravidla, že dědičné fenotypické změny jsou způsobeny změnami v genech
- epigenetické jevy mohou být děděny
- z buňky na buňku tedy jak při **mitóze**
- z generace na generaci, tj. při **meióze**
- “epigenetický kód”
- přenáší se při replikaci DNA a dělení buněk (tj. identický fenotyp dceřině buňky)
- chromatin
 - DNA
 - histony
 - nehistonové proteiny
- typy epigenet. modifikací
 - (1) heterochromatin = modifikace histonů
 - (2) euchromatin = DNA metylace
 - 5-methylcytosin se chová analogicky při replikaci ale jinak při transkripci
 - (3) micro-RNAs (silencing)
 - translace ale i DNA metylace
 - (4) priony
 - možná transmise na dceřině buňky – ale nejasné u člověka



DNA metylace a modifikace histonů

- oblasti DNA s >55% CG (lineárně) se nazývají CpG oblasti
- cíle DNA-metyltransferáz = 5-methylcytosin

• "maintenance" metylace

• metyltransferázy

• *de novo* metylace

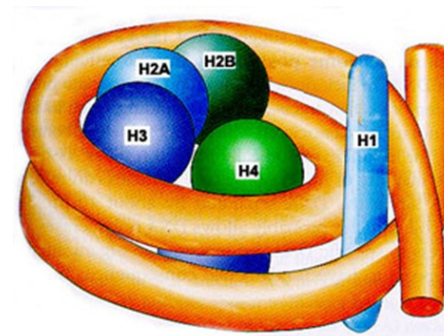
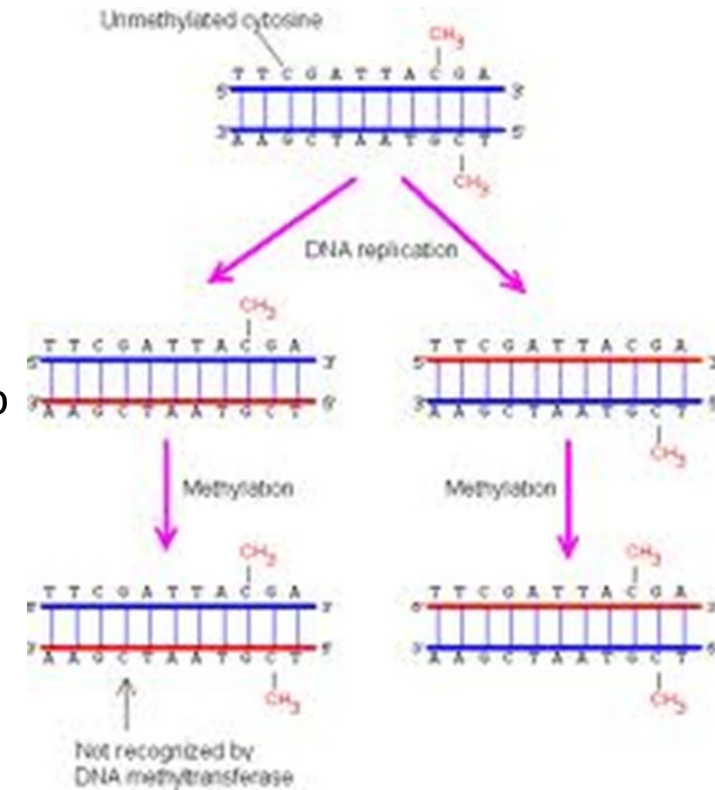
- velmi často v promotorových oblastech genů

• ne u "housekeeping" genů

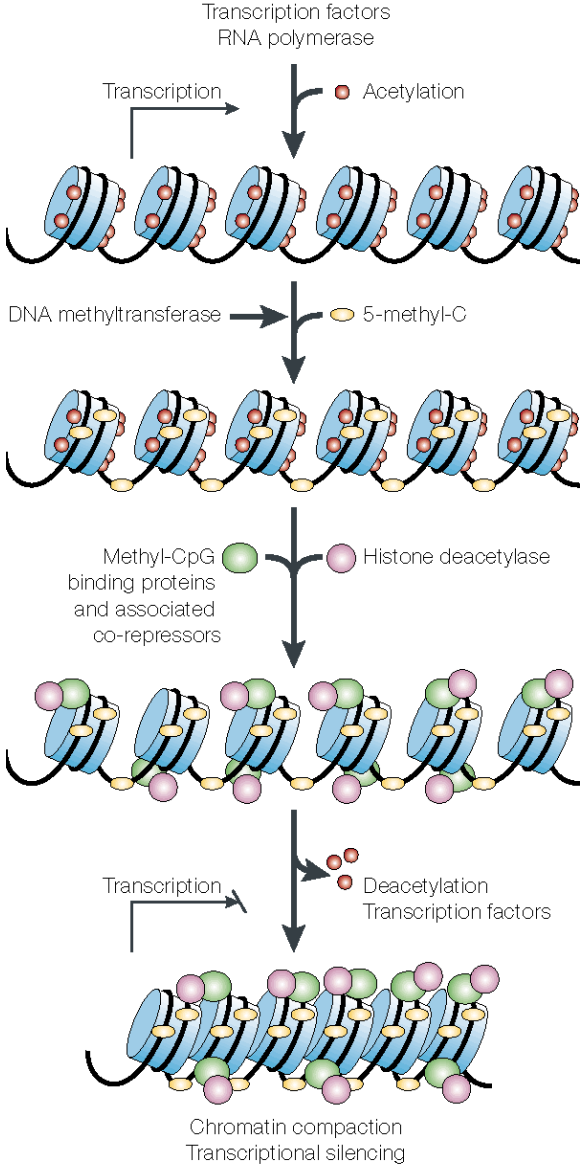
- hyper- nebo hypometylace mění "assembly" transkripčního komplexu a tím intenzitu exprese

- spolupracuje s ostatními enzymy podílejícími se na modifikaci h

modifikace	reziduum	efekt
acetylace	lyzin	-transkripce, ↓ kondenzace, reparace, replikace
metylace	lyzin (mono-, di-, tri-M)	↓ transkripce, reparace
	arginin (mono-, di-M)	↓ transkripce
fosforylace	serin, treonin	transkripce, reparace, kondenzace
ubiquitinylace	lyzin	transkripce, reparace
sumoylace	lyzin	transkripce
O-GlcNac	serin, treonin	transkripce
glykace ???	???	???



Kooperace DNA metylace a modifikace histonů



Epigenetika ve fyziologickém a patofyziologickém kontextu

•fyziologicky

- (1) diferenciacie buněk v mnohobuněčném eukaryotickém organizmu = epigenetika
 - totipotentní kmenová buňka
 - embryo: zygota ---> blastocysta
 - fetus: pluripotentní buňky ---> progenitorové buňky ----> diferencované buňky
 - regenerace diferencovaných buněk = přenos epigenetických změn
 - zejm. díky konformaci histonů
 - a setrvalé tvorbě faktorů zodpovědných za epigenetické změny
- (2) inaktivace jednoho z X-chromozomů u žen
- (3) evoluce ??????

•patofyziologie

- (1) germinativní buňka
 - nemoci na základě genomického imprintingu
 - behaviorální poruchy a mentální retardace!
 - Angelmanův/Prader/Williho syndrom, fragilní X syndrom, některé thalasémie,
 - fetální programování
- (2) somatická buňka
 - nádory a další chromozomální instability
 - hypometylace protoonkogenů nebo hypermetylace supresorů (inaktivace Rb, p53, ...)
 - mikrosatelitová instabilita
 - nenádorová onemocnění
 - diabetes, obezita, ateroskleróza

Lidský genom

Human Genome Project (HUGO) – 1990 - 2003

v haploidní genom obsahuje cca 3.3×10^9 bp

z **99.9% identická sekvence**

pouze **3% jsou kódující sekvence**

popsáno cca 30 000 genů (20 - 25 000 proteiny)

exprimovaných v libovolném čase v průběhu života organismu

~**75%** se skládá z **jedinečné (neopakující se) sekvence**

zbytek tvoří repetitivní sekvence

nejasná funkce, zřejmě udržují strukturu chromozomů,

možná jsou "evoluční" rezervou

typy repetice

tandemové

mikrosatelity

minisatelity

Alu-repetice

L1-repetice

hustota genů na jednotlivých chromosomech je dost

heterogenní

mitochondriální DNA

několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v

mitochondriálních procesech

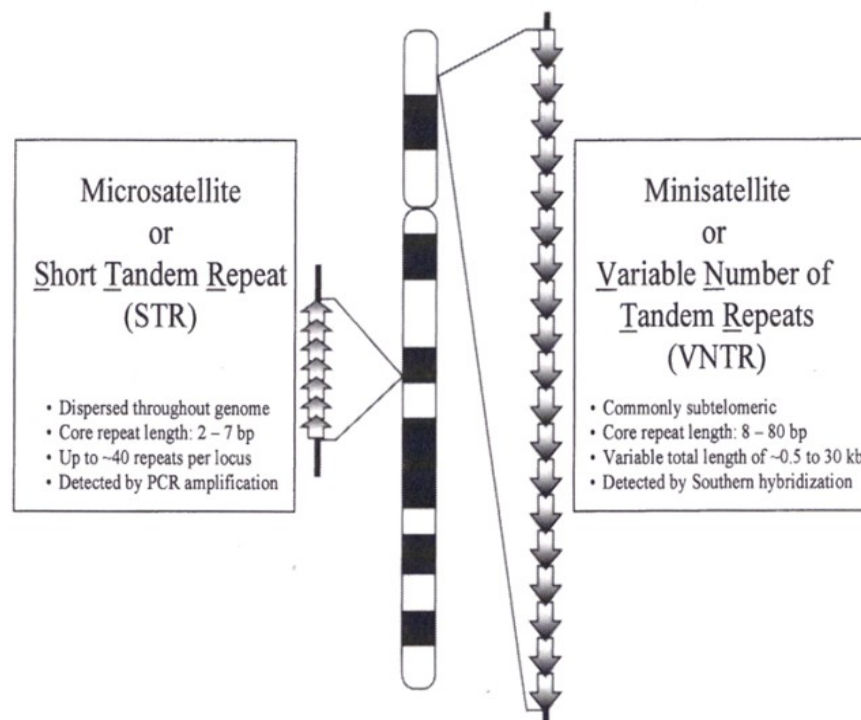
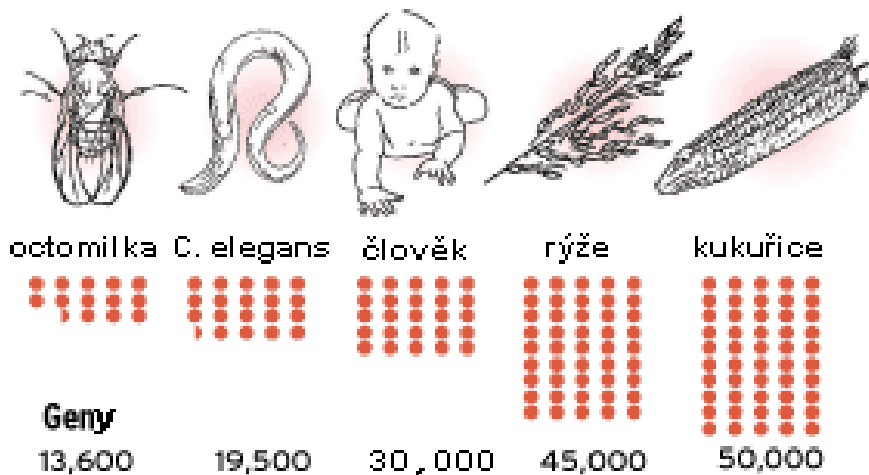
přenos pouze od matky!

HapMap project 2003 – 2005

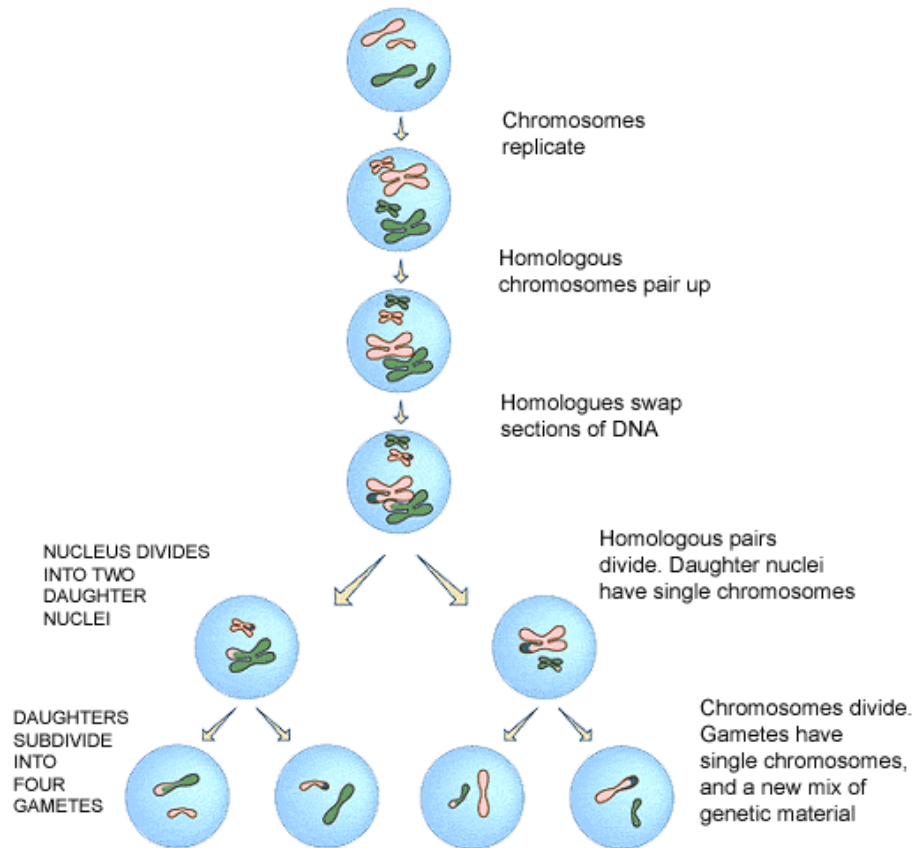
na n=269 osob 4 etnik (Yoruba, Han, Japanese, Caucasian)

popisuje charakter LD a rozsah **genetické variability (=**

0.1%)



Genetická variabilita (~0.1%)



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

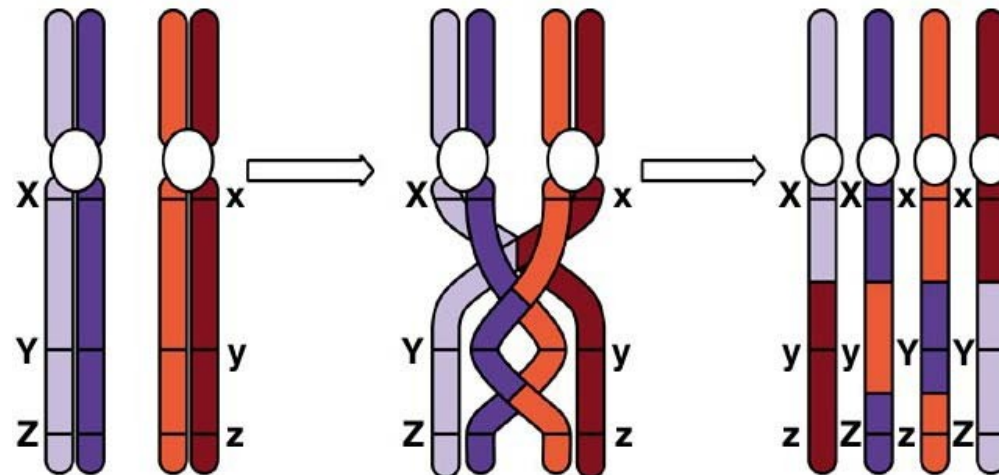
při meióze získává každá gameta **náhodně** 1 z páru homologního chromozomu - paternálního (CHp) nebo maternálního (CHm)

při celkovém množství 23 páru 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)



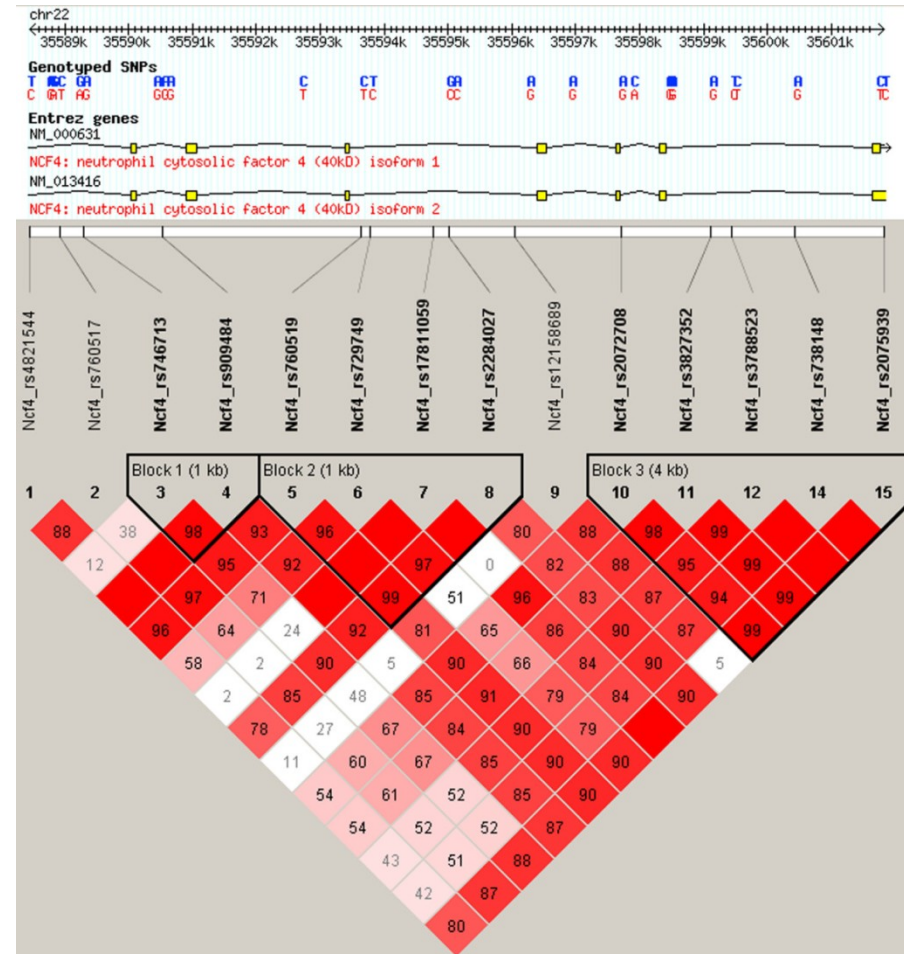
Haplotypové bloky

existence **haplotypů**

lineární kombinace alel (SNPs) na vícero sousedních lokusech jednoho z homologních chromozomů přenášená pohromadě (∅ rekombinace)

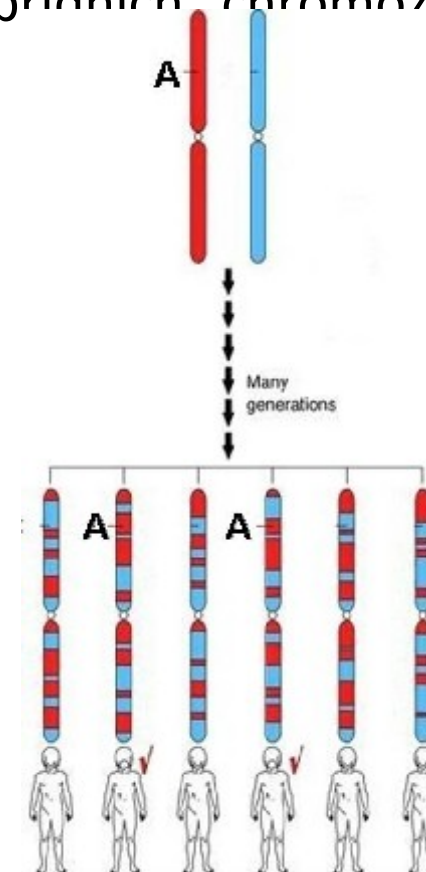
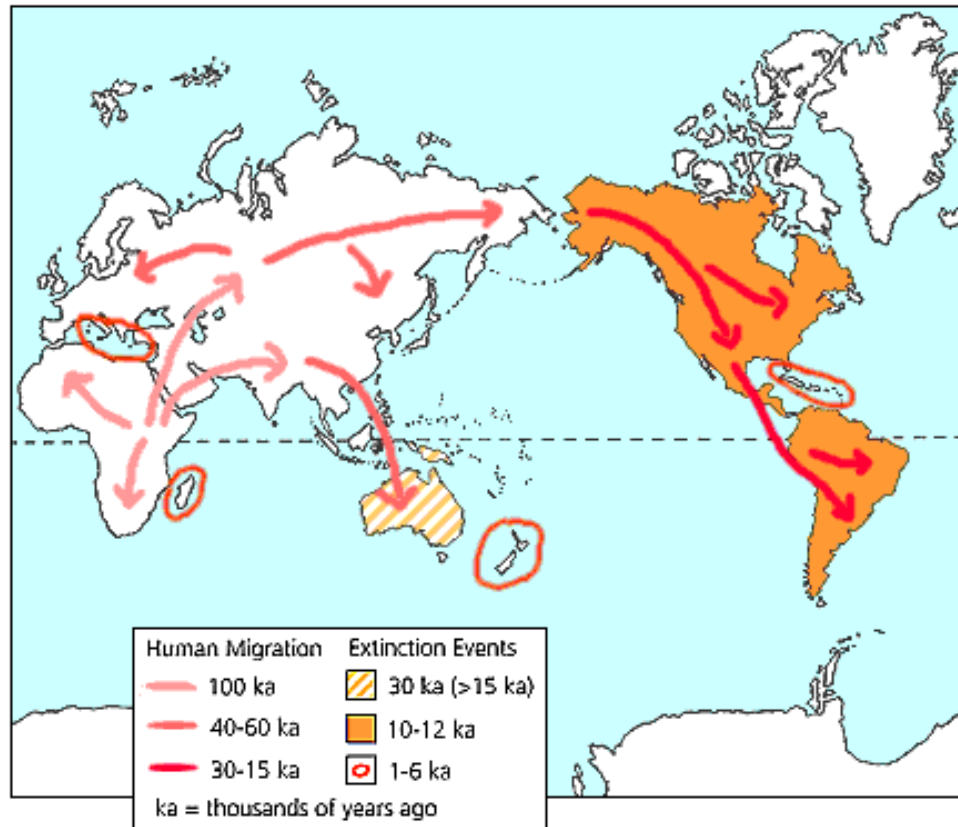
statistická asociace mezi DNA variantami
linkage disequilibrium (LD)

na dané chromatidě se tedy vyskytují skupiny těsně vázaných variant = **haplotypové bloky**

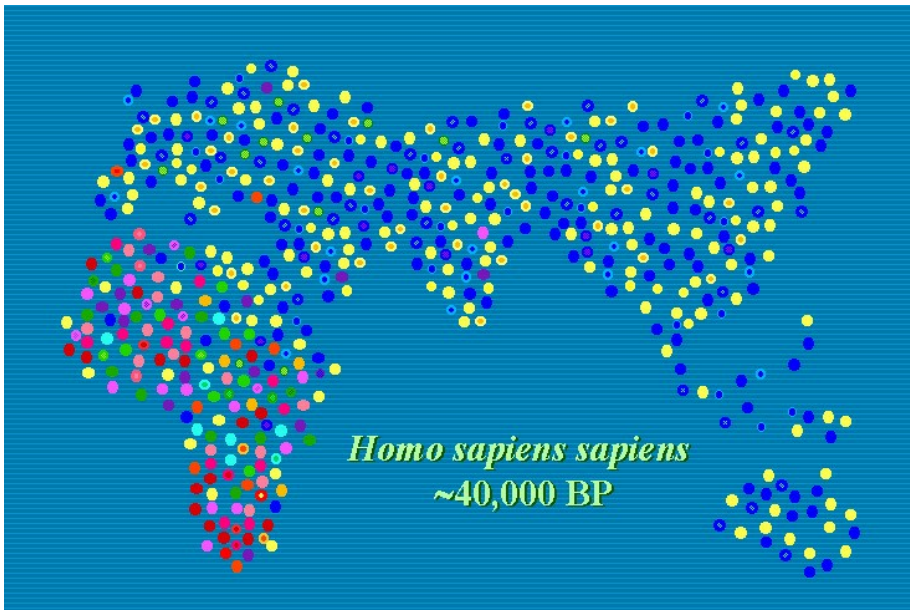
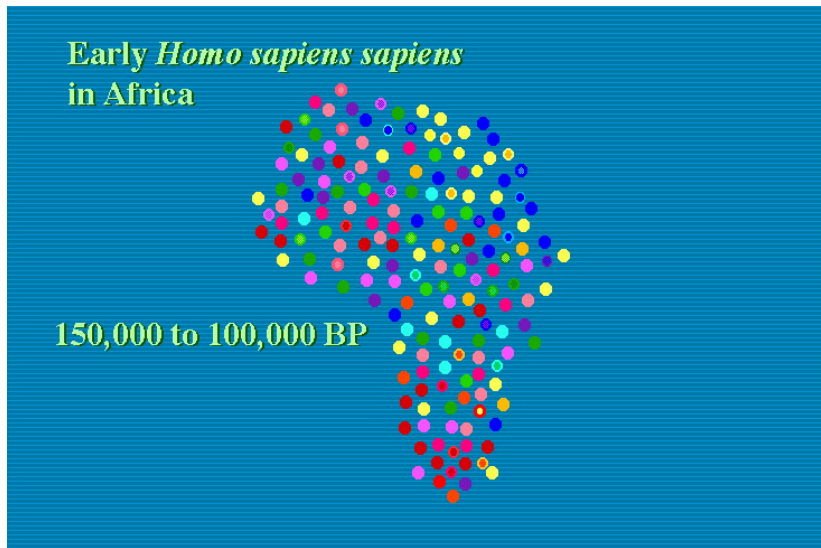


Troška historie (antropologie)

- původ haplotypových bloků
- rekombinační historie ancestrálních chromozomů
 - současná populace je potomstvem anatomicky moderního Homo sapiens (Afrika před cca 150 000 let)
 - migrace malých populací (↓ effective breeding pool) + selekce + drift + “bottlenecks” aj. → většina neafrických populací je homogennějších
- současná (inter-breeding) populace = určitý počet “hybridních” chromozomů



Lidská populační historie



Evoluce – selekce na kontinuálně se měnící prostředí??



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

chromozomální poruchy

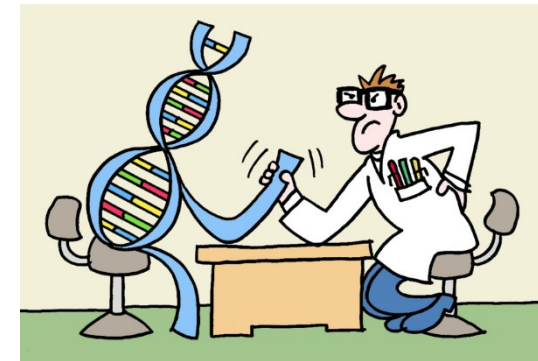
nejedná se o konkrétní chybu ale o nadbytek/nedostatek genů obsažených v celých chromozomech nebo jejich segmentech (“gene dosage” efekt)

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

komplexní (poly-, multigenní) nemoci (tzv. civilizační)

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

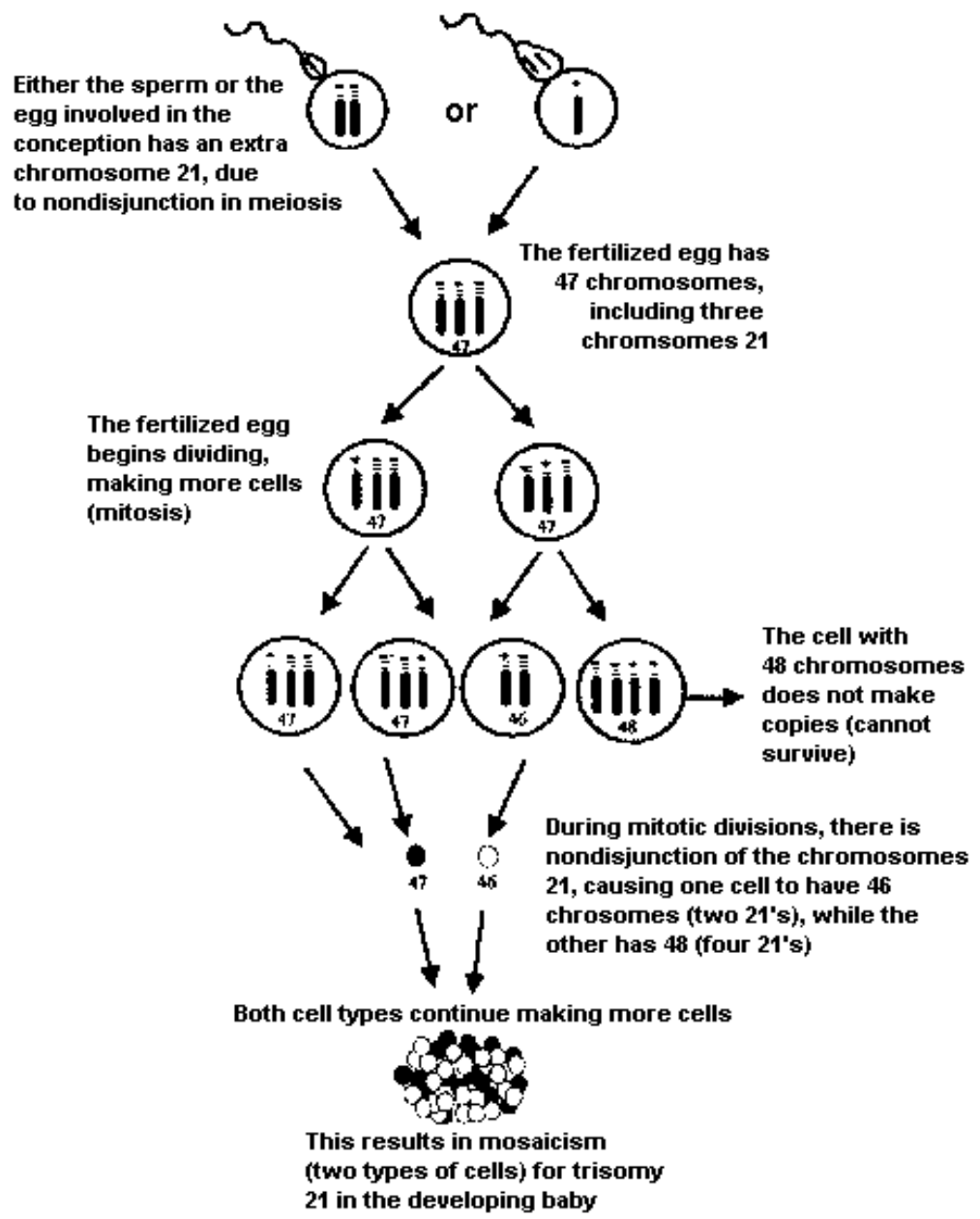


Chromozomální poruchy

- vznikají v důsledku změn genetické informace, ale na rozdíl od monogenních a komplexních se nedědí!
- **aneuploidie** (změna počtu chromosomů v sadě)
- porucha rozdělení sesterských chromosomů [meiotická non-disjunkce]
- monosomie
 - gonozomální
 - Turnerův sy. (45, X0)
- trisomie
 - autozomální
 - Downův sy. (47, XX/XY + 21)
 - Edwardsův sy. (47, XX/XY +18)
 - Patauův sy. (47, XX/XY +13)
 - gonozomální
 - Klinefelterův sy. (47, XXY)
- **polyploidie** (porucha rozdělení celých sad nebo oplození 2 spermii [dispermie])
- u člověka neslučitelné se životem
 - těhotenství je potraceno
 - molla hydatidosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
 - porod novorozence s triploidí – velmi časná letalita



Kompletní aneuploidie vs. mozaicismus



Typy DNA záměn

na základě populační frekvence se tradičně rozlišují polymorfismus a mutace

polymorfismus = existence několika (přinejmenším dvou) alel pro daný gen, z nichž nejméně častá má populační frekvenci alespoň 1%

mutace = méně častá alela má populační frekvenci <1%

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

typy záměn

1) genomové

změna počtu chromozomů (trisomie, monosomie)

změny celých sad (aneuploidie, polyploidie)

2) chromozomové (aberrace)

výrazná změna struktury jednotlivých chromozomu (duplikace, delece, inserce, inverze, translokace)

3) **genové** – **podílí se na genetické variabilitě v populaci**

kratší změny (1 – tisíce bází) = mutace a polymorfizmy v pravém slova smyslu

naprostá většina DNA záměn leží v nekódujících oblastech genomu

repetitivní – mikrosatelity CTGACTTTGAGACACACACACACATGGTCTGATGCG

nerepetitivní – SNPs CTGGCTAGTCGGCTATAGC[A/G]GTCAGGAACGTCGAG

Klasifikace genových mutací/polymorfizmů

bodové (tranzice a transverze)

nejč. bi-alelické **jednonukleotidové polymorfizmy** (angl. single nucleotide polymorphisms, tzv. SNP) – cca 100 000 v lidském genomu

délkové

repetice

nejč. **mikrosatelity** (např. CA₁₂)

delece (1bp – MB)

inzerce + duplikace

inverze

translokace

funkční dopad substitucí – podle lokalizace v genu!

v kódující oblasti (exonech)

žádný (tzv. silent)

substitucí vytvořen stop-kodon (tzv. nonsense) – např. thalasemie

záměna aminokyseliny (tzv. missense) – např. patologické hemoglobiny

změna čtecího rámce (tzv. frameshift) – např. Duchennova muskulární dystrofie, Tay-Sachs

expansi trinukleotidových repeticí – např. Huntingtonova choroba

delece vede ke zkrácení proteinu – např. cystická fibróza

ke změně místa sestřihu

výsledkem může být kvalitativní efekt (např. různá primární, sekundární a terciární struktura, aktivita proteinu, afinita, ...)

v nekódujících oblastech

5' UTR (tj. promotor genu) = kvantitativní efekt (např. různá intenzita transkripce)

introny - kvalitativní efekt (změna sestřihového místa) nebo kvantitativní efekt (vazba represorů nebo enhancerů)

3' UTR - efekt na stabilitu mRNA

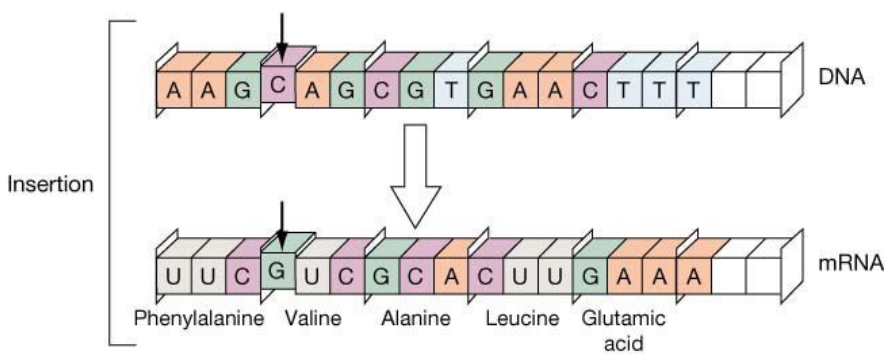
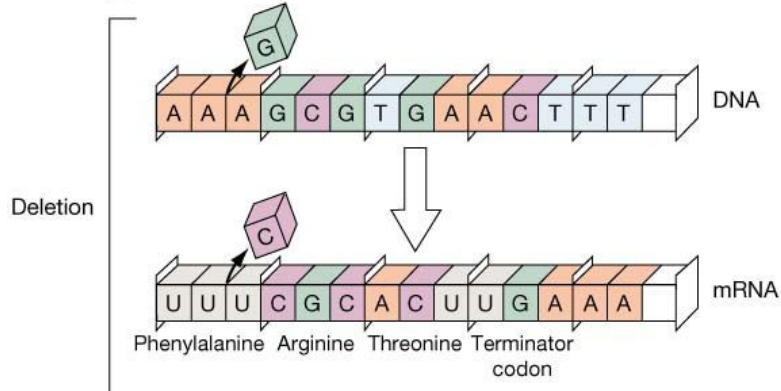
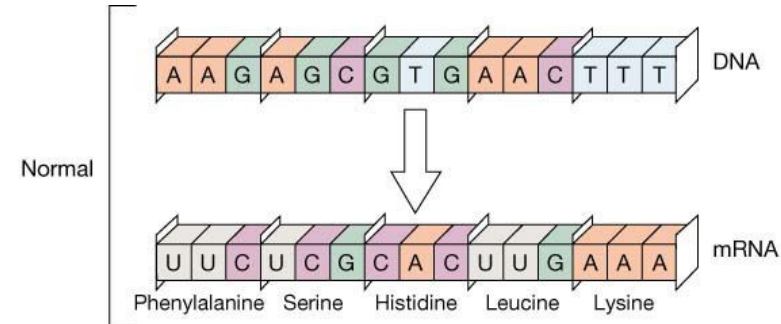
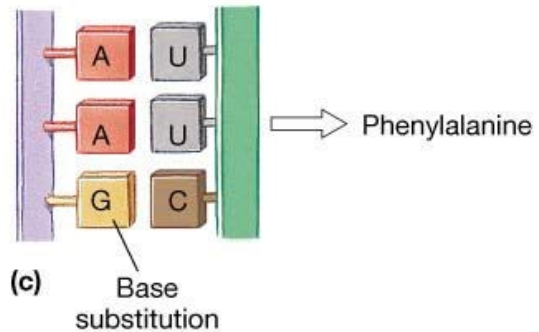
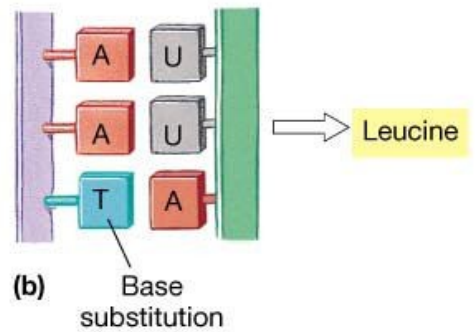
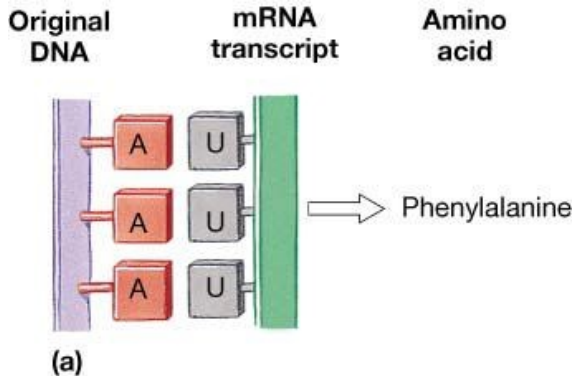
výsledkem může být znásobení dávky genu (tzv. gene-dosage effect)

důsledky

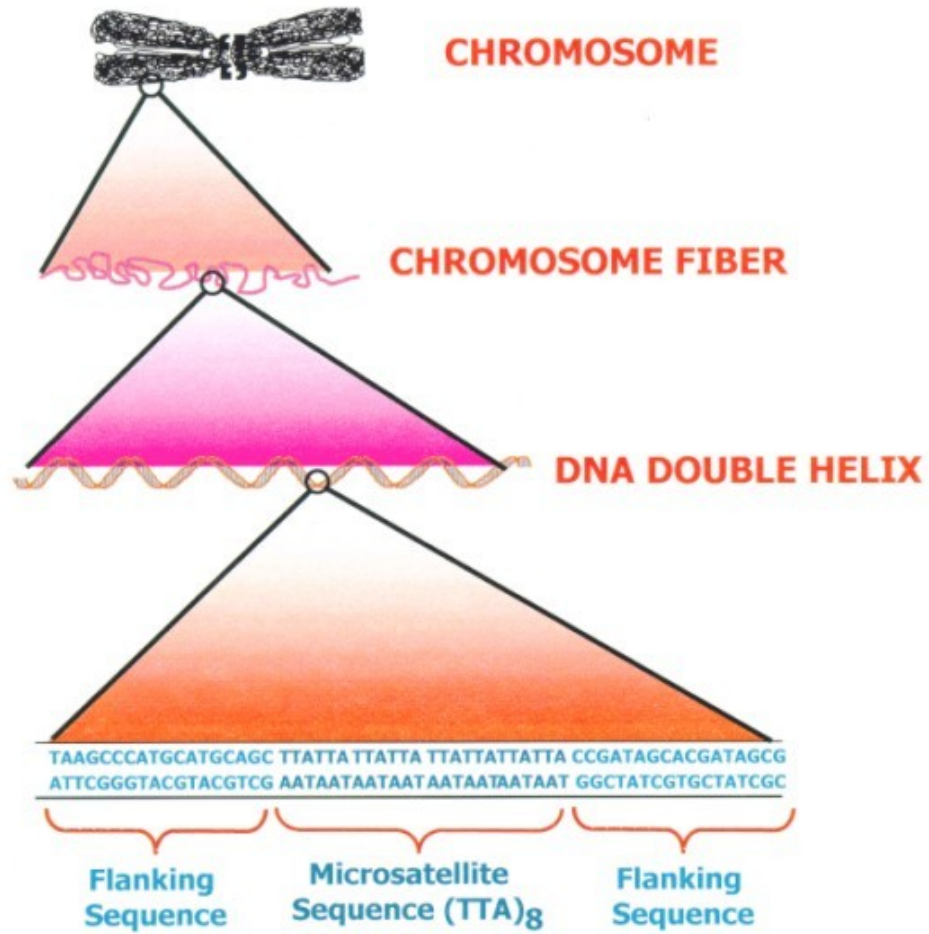
gamety ⇒ **fyziologická variabilita a geneticky podmíněné nemoci**

somatické bb. ⇒ **nádory**

Missense a frameshift substitute



Mikrosatelity



Species	Microsatellite DNA	Vasopressin Receptor Gene	Social Behavior
Prairie Voles			
Montane Voles			
Chimpanzees			
Bonobos			
Humans			

Interindividuální variabilita

fyziologická **interindividuální variabilita** znaků je důsledkem genetické variability

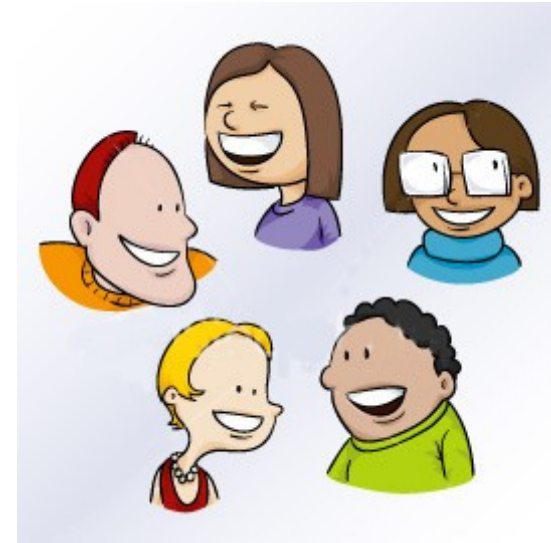
pokud působí na daný znak hodně faktorů, které se vzájemně neovlivňují, blíží se populační distribuce normálnímu rozložení
pokud je jeden faktor významně silnější než ostatní, nebo pokud jsou mezi nimi interakce, je pak distribuce asymetrická, více vrcholová aj.

interindividuální variabilita daného znaku je přítomna v celé populaci (tedy zdravých i nemocných)

nemoc jako plynulá funkce znaku

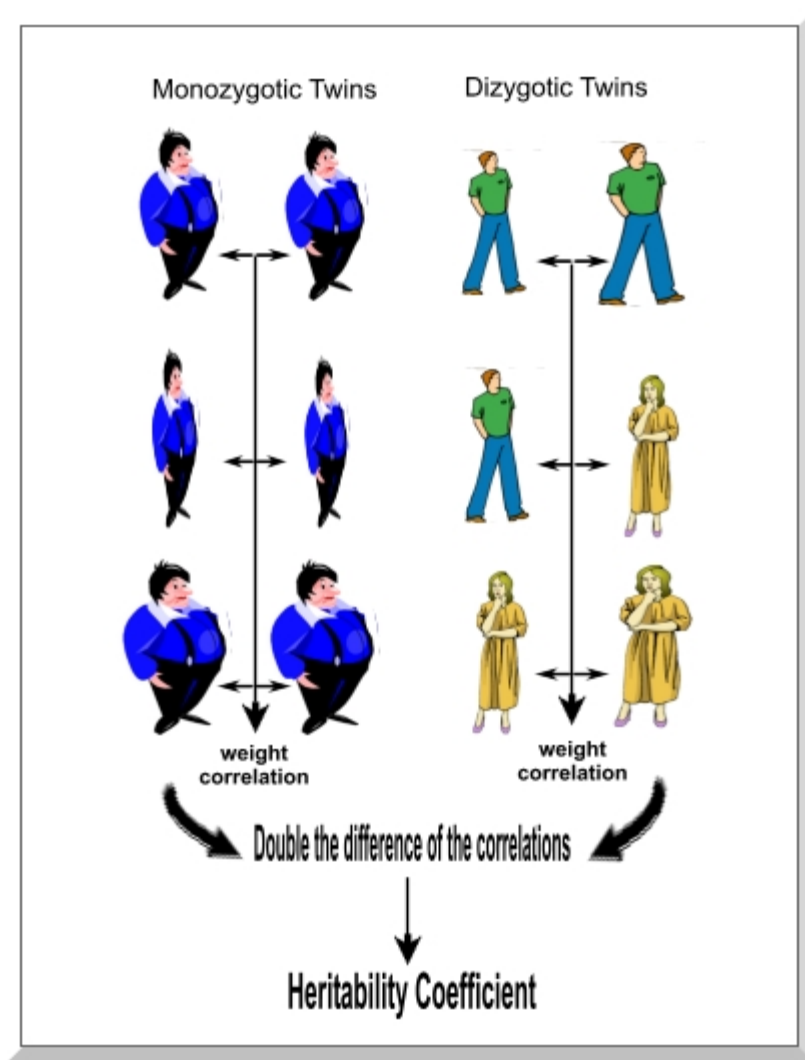
etiologie nemocí

nemoc “z jedné velké příčiny” × nemoc multifaktoriální
dominantní příčinou nebo částí z mnoha příčin mohou být faktory genetické, pak specificky hovoříme o monogenních a komplexních nemocech



MUNI
MED

Z čeho lze poznat, že na vzniku určité nemoci (IM fenotypu) se podílí genetické faktory?



binární fenotyp (ano/ne)

familiární agregace

prevalence v rodinách postižených probandů > prevalence v celk. populaci

platí jak pro monogenní tak komplexní nemoci

segregační analýza

nalezení modelu dědičnosti daného fenotypu rodinách (tj. recesivní nebo dominantní)

pouze u monogenních (pro "major" geny)

spojitý fenotyp (jak moc)

intra-family correlation coefficient

proporce celk. variability ve fenotypu způsobená variabilitou mezi rodinami

heritabilita

procento variability fenotypu v důsledku variability genotypu (studie na dvojčatech MZT, DZT)

Monogenní nemoci (ano / ne)

onemocnění je důsledkem **mutace v jediném lokusu** (= jednolokusové)
přenos mutace (a fenotypu) odpovídá Mendelovým zákonům (= mendelistické nemoci)
konstrukce rodokmenů

typy přenosu

autozomální

gonozomální (X-chromozom vázané)

(imprinting, mozaicizmus)

podle projevu genotypu ve fenotypu

recesivní

dominantní

neúplně dominantní

kodominantní

doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man)

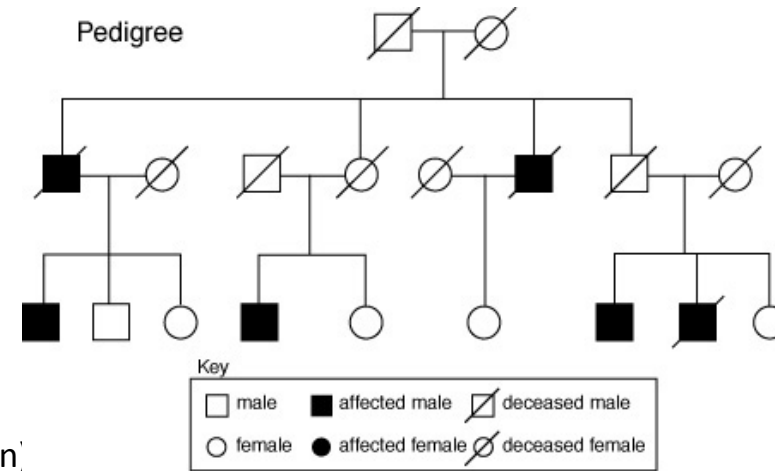
~6000 klinicky významných fenotypů

typické znaky

časná manifestace (dětství)

malá frekvence v populaci

většinou výrazně patologické



Gregor Mendel

Zakladatel klasické genetiky

Johan Mendel narozen 1822 v selské rodině na severu Moravy, která v té době byla součástí Rakousko-Uherské monarchie.

Rakouský augustiniánský mnich (působil v Brně, kde mu bylo umožněno velkorysým nadřízeným, opatem F.C. Nappem pracovat a bádát)

Gregor Mendel

Od roku 1856 Mendel studoval hrách, který pěstoval v zahradě vedle opatství, kde žil (Mendelovo náměstí v Brně)

Podařilo se mu prokázat, že znaky, které sledoval, se chovaly podle přesných matematických principů a vyvrátil tak teorii „míchaných znaků“.

Mendelova práce byla znovuobjevena v roce 1900 třemi botaniky
Carl Correns (Německo)
Erich von Tschermak (Rakousko)
Hugo de Vries (Holandsko)

Historické souvislosti

1866 publikoval svoje dílo

1875 poprvé popsána mitóza

1890 poprvé popsána meióza

1900 znovuobjeveno Mendelovo dílo

1902 Walter Sutton, Theodore Boveri a další popsali paralelu mezi chováním chromosomů a alel.

Proč hrách?

Mendel použil pro studium genetiky hrách, protože:

Byly komerčně dostupné vhodné odrůdy

Hrách je jednoduché pěstovat

Hrách má mnoho pozorovatelných znaků:

Barva semen – zelená nebo žlutá

Tvar semen – okrouhlá nebo svařtělá















Barva lusku – zelená nebo žlutá

Tvar lusku – hladký nebo svařtělý

Barva květů – bílá nebo červená

Pozice květů – Axiální nebo terminální

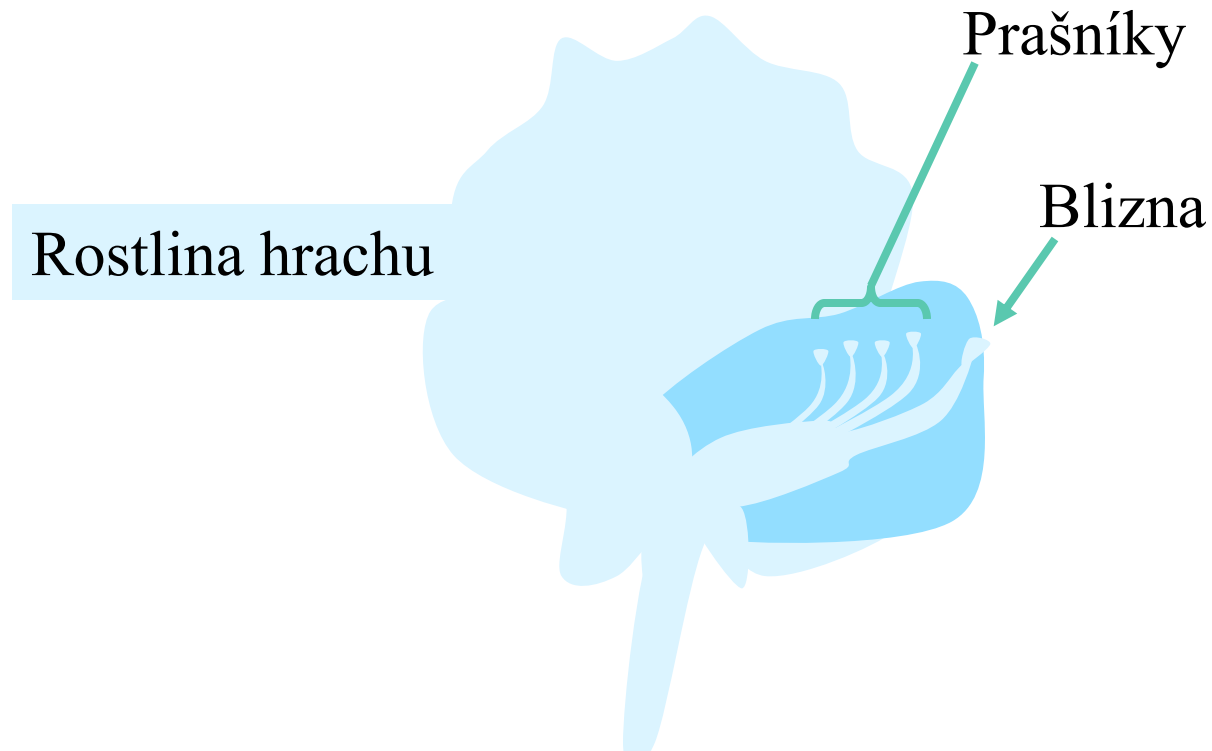
Rozměr květiny – Vysoká nebo trpasličí

semeno		květ	plod		stonek	
tvar	dělohy	barva	tvar	barva	umístění květů	velikost
						
kulatý	žluté	bílá	hladký	žlutý	úžlabní	vysoké rostliny
						
hranatý, svařtělý	zelené	červená	svařtělý	zelený	vrcholové	nízké rostliny
1	2	3	4	5	6	7

Proč hrách?

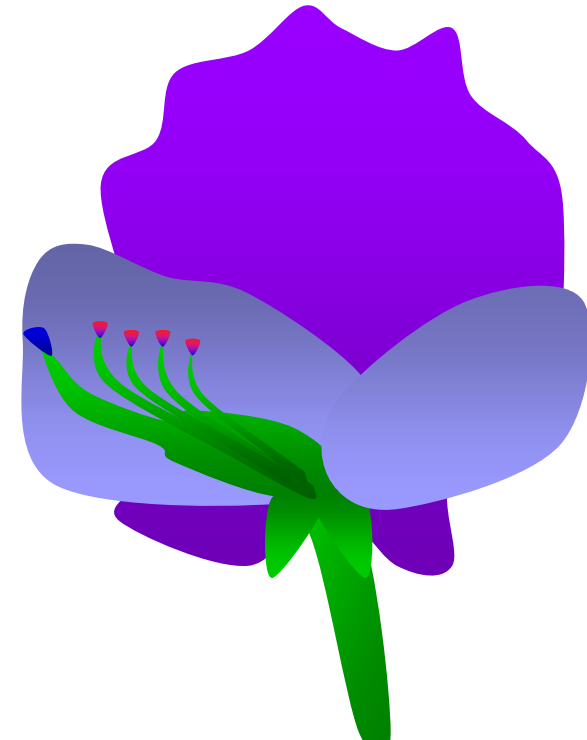
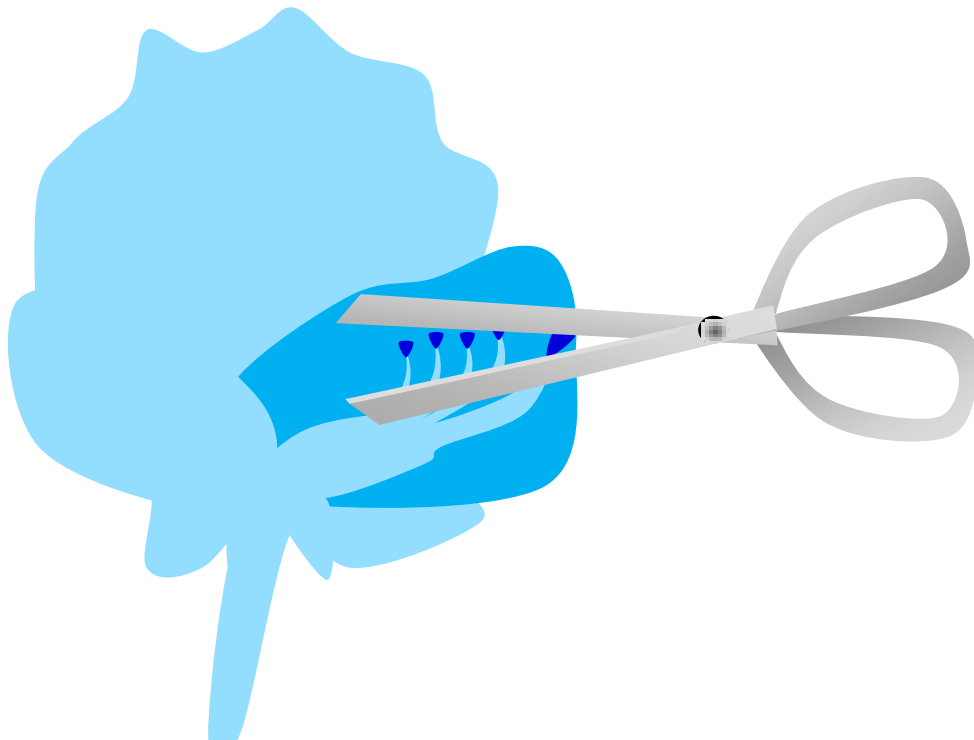
Květiny hrachu jsou takové konstituce, že se v typickém případě samoopylují

Díky tomu lze relativně jednoduše kontrolovat křížení u této rostliny



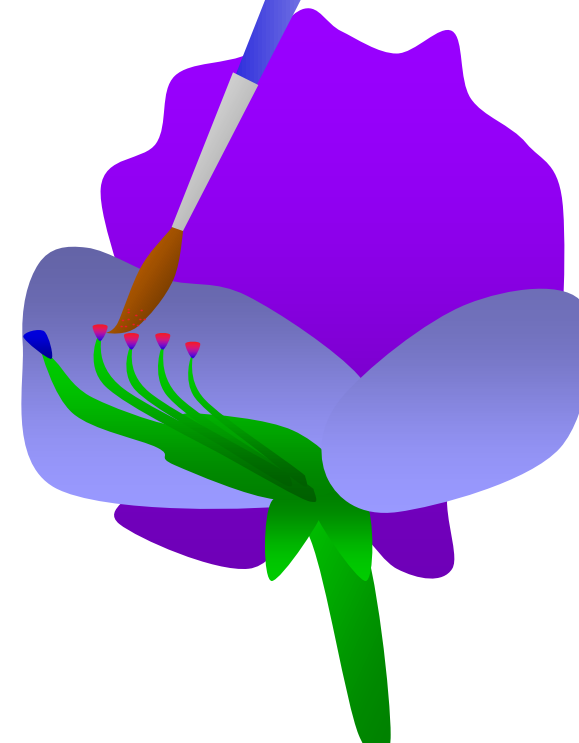
Proč hrách?

Odstraněním prašníků z jedné rostliny a umělého oplodnění za pomoci opylovacího kartáčku lze dosáhnout u hrachu snadno kontrolovaného křížení.



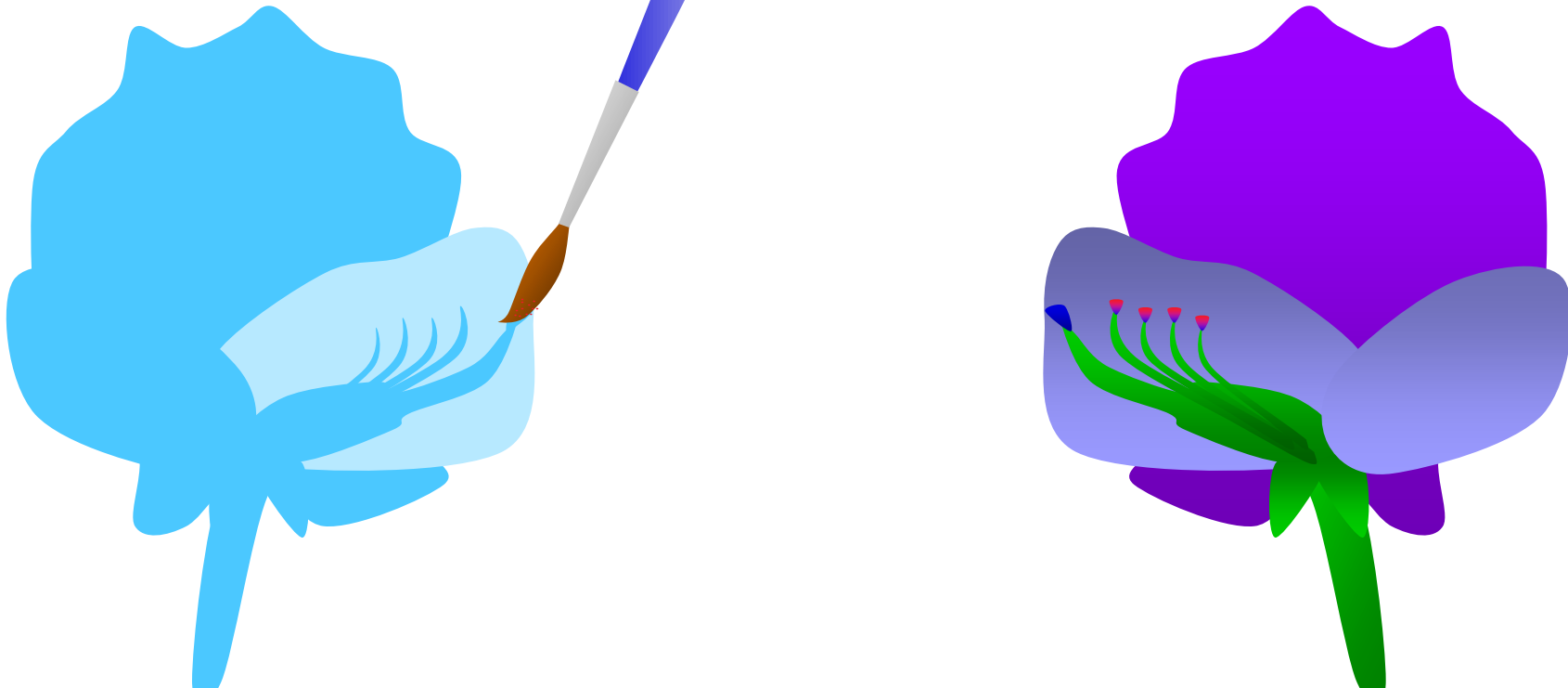
Proč hrách?

Odstraněním prašníků z jedné rostliny a umělého oplodnění za pomoci opylovacího kartáčku lze dosáhnout u hrachu snadno kontrolovaného křížení.



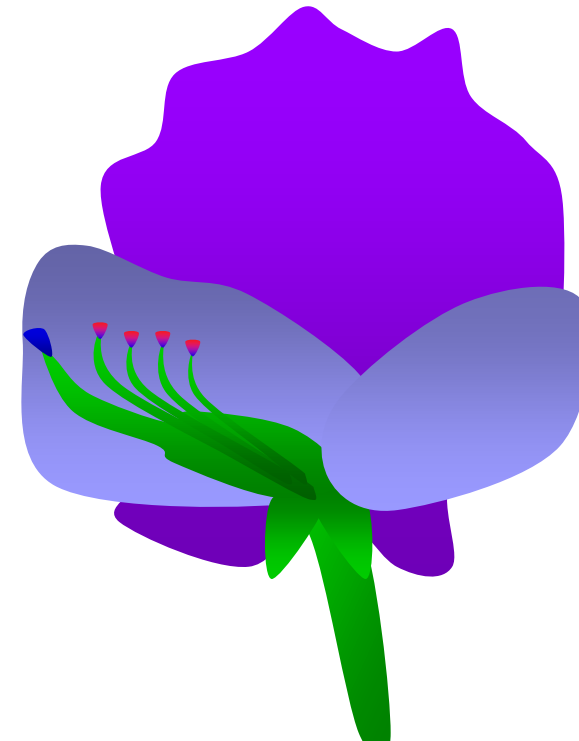
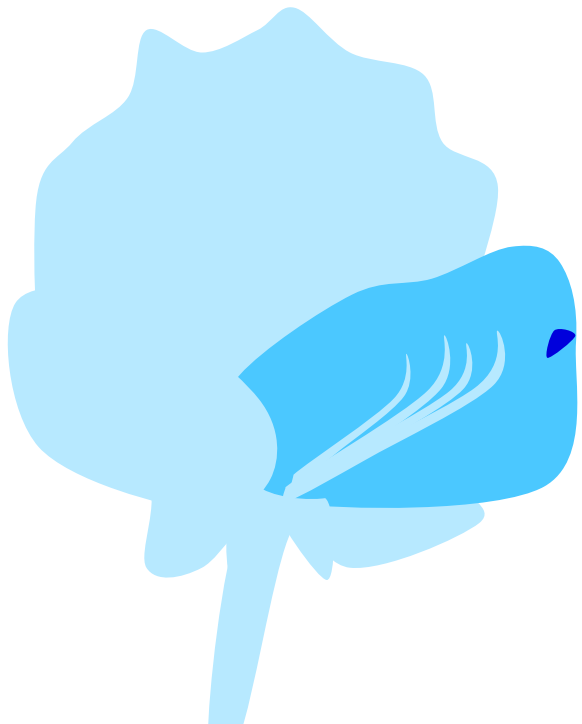
Proč hrách?

Odstraněním prašníků z jedné rostliny a umělého oplodnění za pomoci opylovacího kartáčku lze dosáhnout u hrachu snadno kontrolovaného křížení.



Proč hrách?

Odstraněním prašníků z jedné rostliny a umělého oplodnění za pomoci opylovacího kartáčku lze dosáhnout u hrachu snadno kontrolovaného křížení.



Mendelovy výsledky

Při křížení hrachu s červenou a bílou barvou květů získal Mendel následující výsledky: :

V první dceřinné generaci (F_1) měly všechny rostliny červené květy

Ve druhé generaci (druhá dceřinná neboli F_2):

705 červených

224 bílých

Poměr červených k bílým cca 3:1

Mendelovy výsledky II

Protože generace F1 neměla žádné světle červené květy a protože se v generaci F2 znovu objevily květy bílé, vyvrátil Mendel teorii „mísení znaků“.

Mendel formuloval, že pokud dvě rodičovské rostliny hrachu mají dvě sady všech genů, mají také i dvě kopie genu pro barvu květů

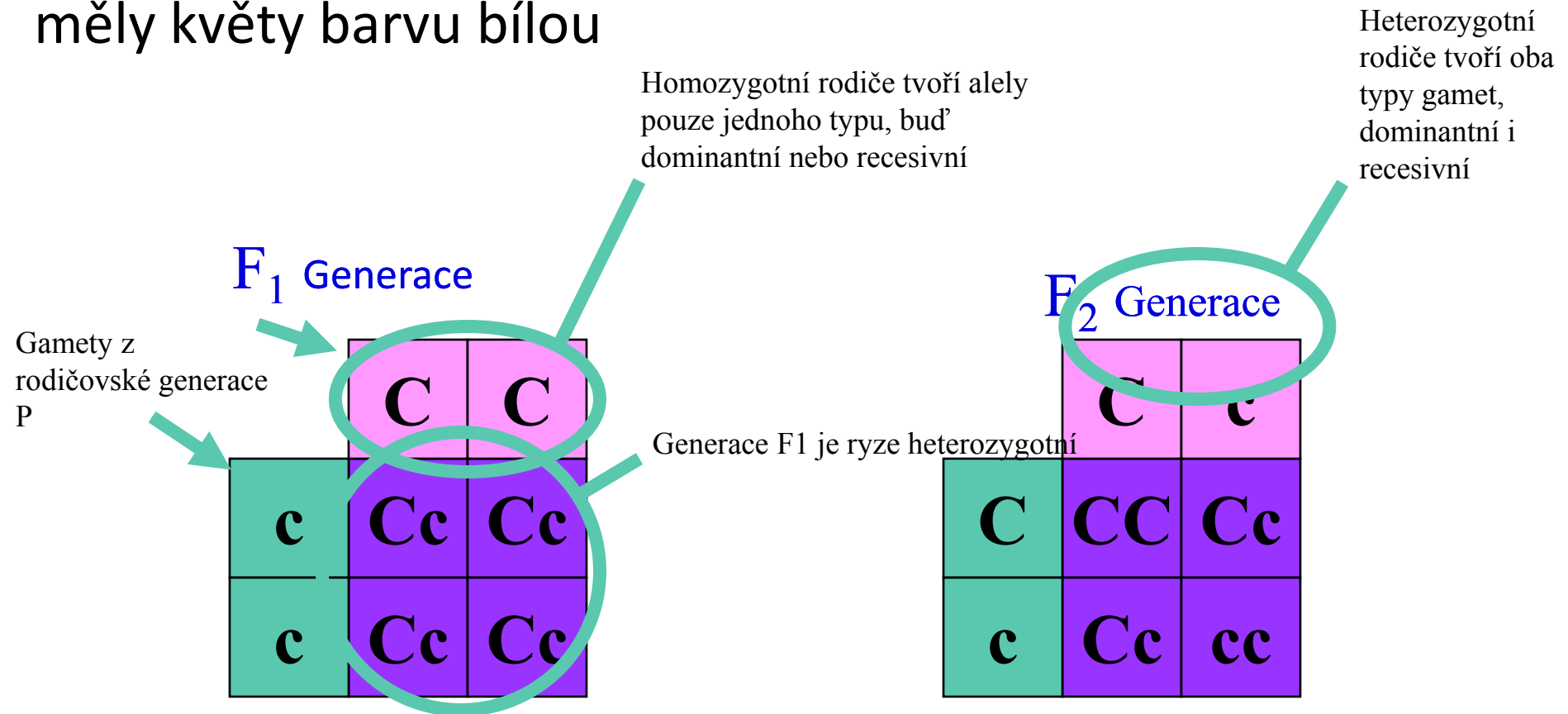
Každý gen má dvě varianty zvané alely

V případě alel pro barvu květů hrachu je to alela pro červenou a alela pro bílou barvu.

Vysvětlení Mendelových experimentů

V první dceřinné generaci, tedy F_1 generaci, byla bílá alela schována za dominantní červenou alelu

Ve druhé dceřinné generaci, tedy F_2 generaci, 1/4 potomstva získalo dvě kopie alel pro bílou barvu, proto měly květy barvu bílou



Mendelovy výsledky

Znak

Semena

Kulaté/svraštělé

Žluté/zelené

Plné/svraštělé

Maskované
recesivní znaky se
znovuobjeví v F2

Lusky

zelené/žluté

axiální/terminální

Květy

červené/bílé

Vzrůst

Vysoké/trpasličí

F1 Výsledky

Všechny kulaté

Všechny zelené

Všechny plné

Všechny zelené

Všechny axiální

Všechny červené

Všechny vysoké

F2 Výsledky

Dominantní znaky v F1 maskují
fenotypicky recesivní znaky

5,474 Kulaté

1,850

svraštělé

6,022 Žluté

2,001 zelené

882 Plné

299 svraštělé

428 Zelené

152 žluté

651 Axiální

207

terminální

705 červené

224 bílé

787 vysoké

277

trpasličí

Autozomální monogenní nemoci

u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt normální k udržení normální funkce ⇒

recesivní

pokud ne ⇒ **dominantní**
onemocnění 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 (např. Huntingtonova chorea)

familiární predispozice k nádorům

ztráta heterozygosity (loss-of-heterozygosity, LOH) u supresorových genů (např. retinoblastom)

nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášných mezi generacemi tak vzniklých nově

autozomálně recesivní (AR)

velmi často enzymové defekty
postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatictí)

riziko $0.50 \times 0.50 = 0.25$

muži a ženy většinou postiženi stejně

frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných

nejčastější AR nemocí u bělochů je cystická fibróza

f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22 !!!

konsanguinita (příbuzní rodiče) a imbreeding významně zvyšuje riziko AR (přenašeči v rodinách)

domluvené sňatky (např. bratranec / sestřenice)

geneticky izolované populace (např. Aškenazi židé – Tay-Sachsova choroba)

autozomálně dominantní (AD)

nemoc se projevuje v každé generaci - postižený jedinec má

postiženého rodiče (a prarodiče) a to matku nebo otce

riziko pro potomka 0.50 (pokud by byli oba rodiče postižení pak 0.75, ale to je vzácné)

příklady nejčastějších AD

familiární hypercholesterolemie (1/500),

myotonická dystrofie (1/1000)

Huntingtonova chorea (1/3000)

X-vázané monogenní nemoci

ženy 3 genotypy, muži pouze 2

X-vázané nemoci se manifestují u všech mužů, kteří zdědili mutaci, a pouze u homozygotních žen ale výjimky viz dále

příklady

hemofilie A

Duchenneova muskulární dystrofie

Wiskott-Aldrichův syndrom (imunodeficience)

inaktivace X-chromozomu u žen

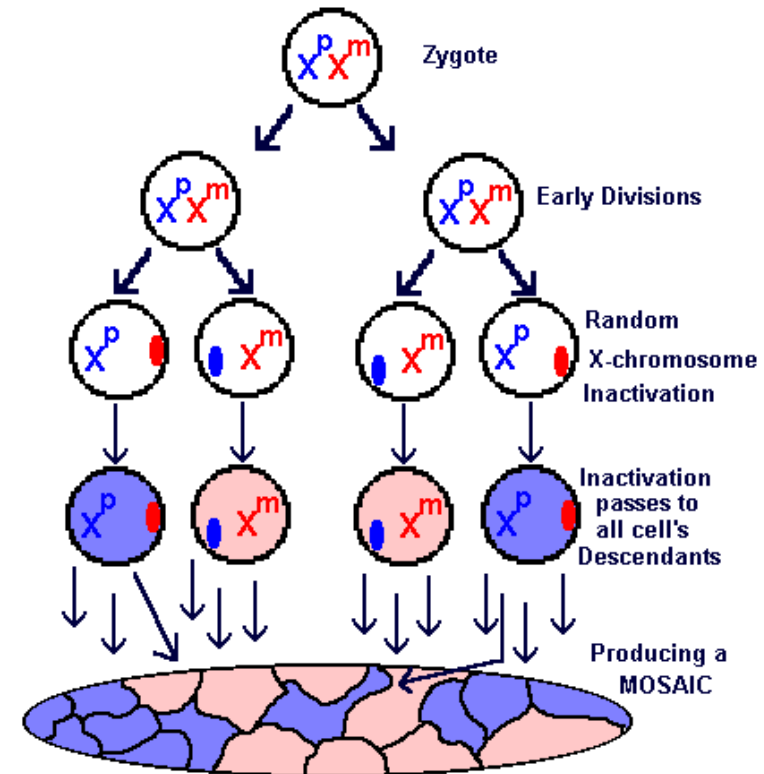
kompenzace dávky a exprese X-vázaných genů

hypotéza Lyonové ("lyonizace")

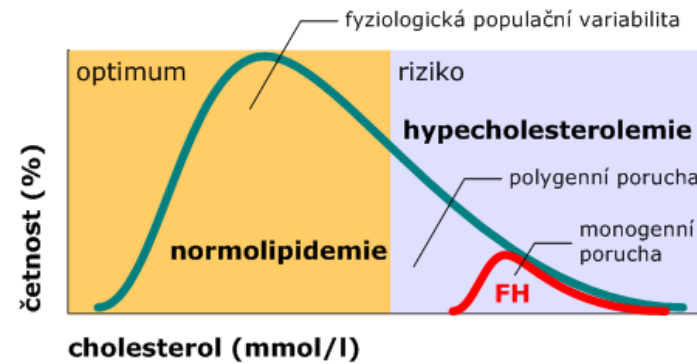
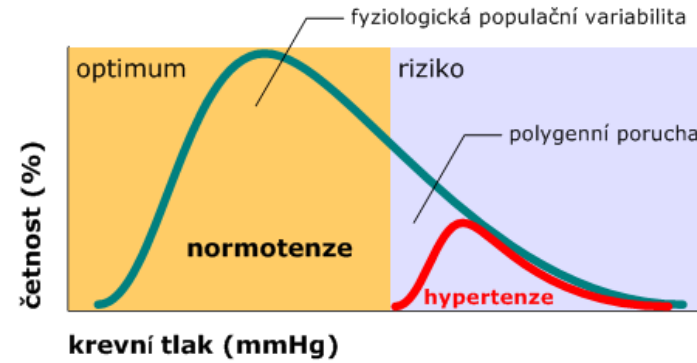
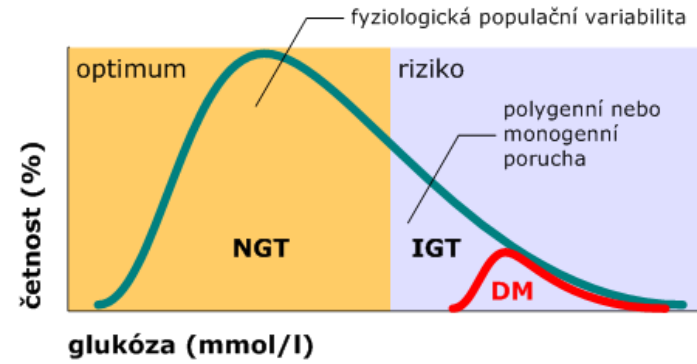
v somatických bb. je 1 X inaktivovaný a v interfázi se zobrazuje jako "Barrovo" tělísko (viz sporné identifikace pohlaví)
proces je náhodný, může se týkat jak otcovského tak mateřského X

důsledkem je variabilní exprese X-vázaných genů u heterozygotek ("manifestující přenašečka")

funkční mozaicismus



Komplexní choroby (spojitý fenotyp)



Komplexní choroby

choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „**komplex**“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů

fenotyp nevykazuje klasickou mendelistickou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)

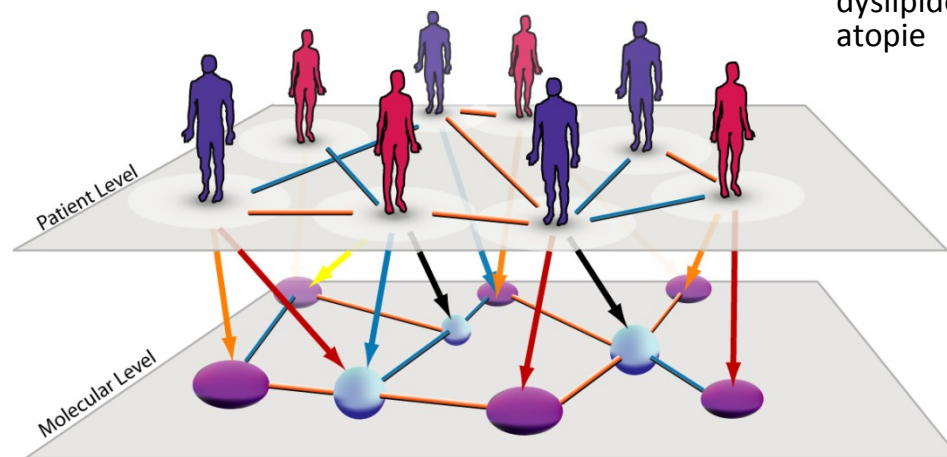
predisponující „geny“ zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminuje jednoznačně jeho přítomnost

je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (prostředí)

dieta, fyzická aktivita, kouření,

komorbidit

a interakcí genů mezi sebou



komplexní onemocnění jsou charakterizována:

neúplnou penetrancí patologického fenotypu

u určité části osob, přestože zdědí nevýhodný genotyp (tedy soubor vícero alel) se patologický fenotyp nerozvine

existencí fenokopí

patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmíněného genotypu

genetickou heterogenitou (lokusovou a alelickou)

klinický obraz není specifický, ale může se rozvinout v důsledku záměn v genech ležících na různých lokusech (= lokusová heterogenita), v jednotlivých genech může být přítom vícero mutací či polymorfizmů (= alelická heterogenita)

polygenní dědičnosti

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

spolupůsobením dalších mechanismů přenosu

mitochondriální dědičnost, imprinting

nejčastější komplexní nemoci

esenciální hypertenze

porucha gluk. tolerance / diabetes (1. i 2. typu)

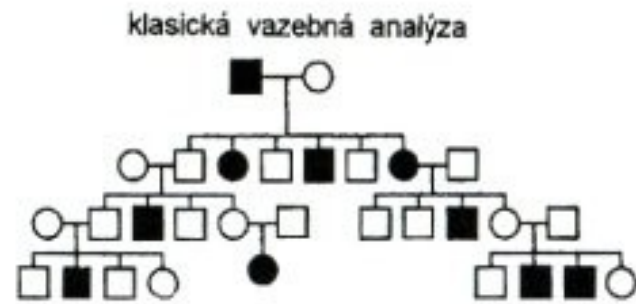
dyslipidemie

atopie

Srovnání zákl. charakteristik

	MONOGENNÍ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost	Obvykle narušují homeostázu zásadním způ.	
Interakce s prostředím	Většinou	
Variabilita fenotypu	Modifikující geny a efekt prostředí činí fen.	
Penetrance	Obecně vys.	
Populační	Obecně velmi nízká jako důsledek vysok.	
Genetická architektura	Poměrně velmi velká lokusová homogenita, ale	

Mapování kauzálních variant = genetická epidemiologie



vazebná (linkage) studie

sleduje přenos genetického (nejč. mikrosatelity) a fenotypového znaku mezi přímými příbuznými v postižených rodinách, popř. mezi sourozeneckými páry

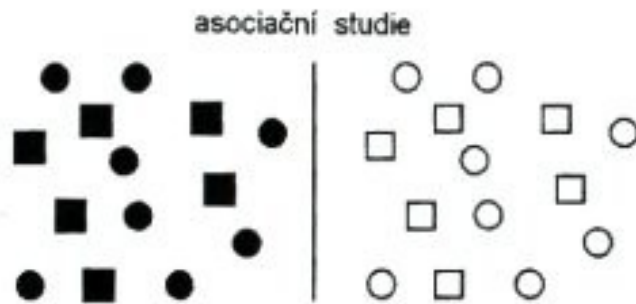
podle toho zda je či není stanoven model dědičnosti se dále dělí na

parametrické

neparametrické

concordant sibling pairs (oba nemocní)

discordant sibling pairs (jeden ano druhý ne)



asociační studie

srovnává výskyt genetického znaku (nejč. SNPs) mezi fenotypicky odlišnými skupinami nepříbuzných osob

studie kontroly x případy (case x control) –

retrospektivní

kohorty = prospektivní

“Candidate-gene” strategie vs. GWAS

“candidate-gene” AA

hypotéza o funkčnosti

SNP jako kauzální faktor

znalost patofyziologie limitujícím faktorem

“indirect” AA

předchozí indikace asociace na základě neparametrické linkage

změna v uvažování díky poznání LD a haplotypové struktury lidského genomu

SNP jako marker

pokrok v designu GWAS díky HapMap

~ do r. 2005

detekční metody pro všech ~10 mil. SNPs

shromáždit ~1000 případů a ~1000 kontrol

genotypovat všechny DNA pro všechny SNPs

tedy ~20 miliard genotypů

s tehdejší cenou (~0.5 USD/genotyp = \$10 billion USD pro každou komplexní nemoc) = naprosto nemyslitelné

od ~2007

detekce setu ~300,000 “tagging SNPs”

shromáždit ~1000 případů a ~1000 kontrol

genotypovat všechny DNA pro všechny SNPs

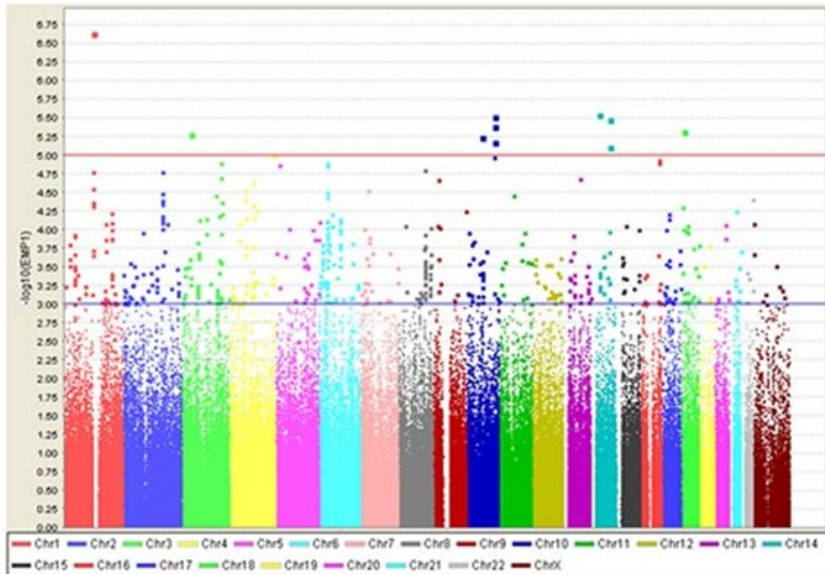
tedy ~600 milionů genotypů

s dnešní cenou (~0.001 USD/genotyp = \$800,000 USD pro každou komplexní nemoc) = naprosto reálné



GWAS

Studie GWAS je definována jako jakákoli studie genetických variací v celém lidském genomu, která je určena k identifikaci genetických asociací s pozorovatelnými rysy (jako je krevní tlak nebo váha) nebo s přítomností nebo nepřítomností onemocnění (jako je nádorové onemocnění) nebo stav.



472

J.R. Peirce et al./Biochemical Pharmacology 81 (2011) 471–477

Table 1
38 validated type 2 diabetes associated variants and impact on glucose-insulin homeostasis.

Chromosome	SNP	Nearest gene	Description	Reduced beta cell function	Reduced insulin action
1	rs10923931	NOTCH2	Notch Homolog 2		
1	rs340874	PROX1	Prospero homeobox 1		
2	rs780094	GCKR	Glucokinase (hexokinase 4) regulator		Yes
2	rs11898663	THADA	Thyroid adenoma associated	Yes	
2	rs243021	BCL11A	B-cell CLL/lymphoma 11A (zinc finger protein)		Yes
2	rs7578426	IRS1	Insulin receptor substrate 1		Yes
3	rs13081389	PPARG	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma		Yes
3	rs6795735	ADAMTS9	ADAM metalloproteinase with thrombospondin type 1 motif 9	Yes	
3	rs11708067	ADCY5	Adenylate cyclase 5	Yes	
3	rs1470579	IGFBP2	Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2	Yes	
4	rs1801214	WFS1	Wolfram syndrome 1 (wolframin)	Yes	
5	rs4457053	ZBED3	Zinc finger, BED-type containing 3		
6	rs10440833	CDKAL1	CDK5 regulatory subunit associated protein 1-like 1	Yes	
7	rs2191349	DGKB-TMEM195	Diacylglycerol kinase, beta	Yes	
7	rs849134	JAZF1	JAZF zinc finger 1	Yes	
7	rs4607517	GCK	Glucokinase	Yes	
7	rs972283	KLH4	Kruppel-like factor 14		Yes
8	rs896854	TP53BP1	Tumor protein p53 inducible nuclear protein 1		
8	rs3802177	SLC30A8	Solute carrier family 30 (zinc transporter), member 8	Yes	
9	rs10965250	CDKN2A/B	Cyclin-dependent kinase inhibitor 2A/B	Yes	
9	rs13292136	CHCHD9	Coiled-coil-helix-coiled-coil-helix domain containing 9		
10	rs12779790	CAMK1D	Calcium/calmodulin-dependent protein kinase ID	Yes	
10	rs5015480	HHEX/IDE	Hematopoietically expressed homeobox/insulin-degrading enzyme	Yes	
10	rs7903146	TCF7L2	Transcription factor 7-like 2	Yes	
11	rs2334499	Imprinted region			
11	rs231362/rs163184	KCNQ1	Potassium voltage-gated channel, KCQ-like subfamily, member 1	Yes	
11	rs5215	KCNJ11	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily 11, member 11	Yes	
11	rs1552224	CENPD2	Centaurin, delta 2	Yes	
11	rs1387153	MTRNR1B	Melatonin receptor 1B	Yes	
12	rs1531343	HMGCA2	High mobility group AT-hook 2		Possible
12	rs4760790	TSPAN8	Tetraspanin 8	Yes	
12	rs7957197	HNF1A	Hepatic nuclear factor 1 alpha		
15	rs11634397	ZFAND6	Zinc finger, AN1-type domain 6		
15	rs8042680	PRCI	Protein regulator of cytokinesis 1		
16	rs11642841	FTO	Fat mass and obesity associated		Yes
17	rs4430796	HNF1B	Hepatic nuclear factor 1 beta	Yes	
19	rs10423928	GLPR	Gastric inhibitory polypeptide receptor	Yes	
X	rs5945326	DUSP9	Dual specificity phosphatase 9		Possible

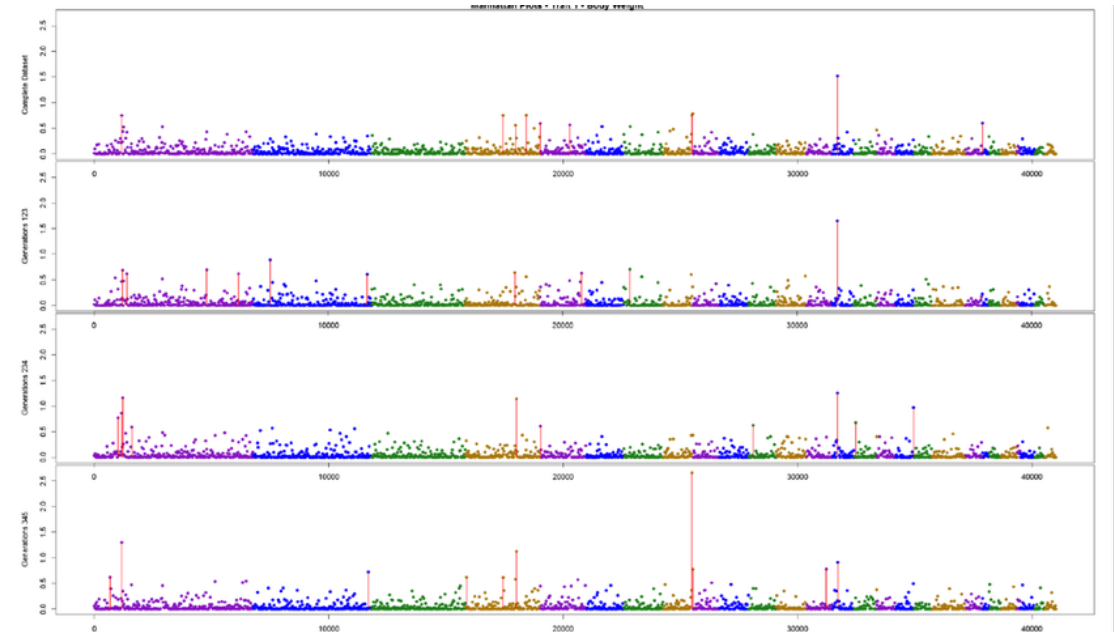
SNP, single nucleotide polymorphism.

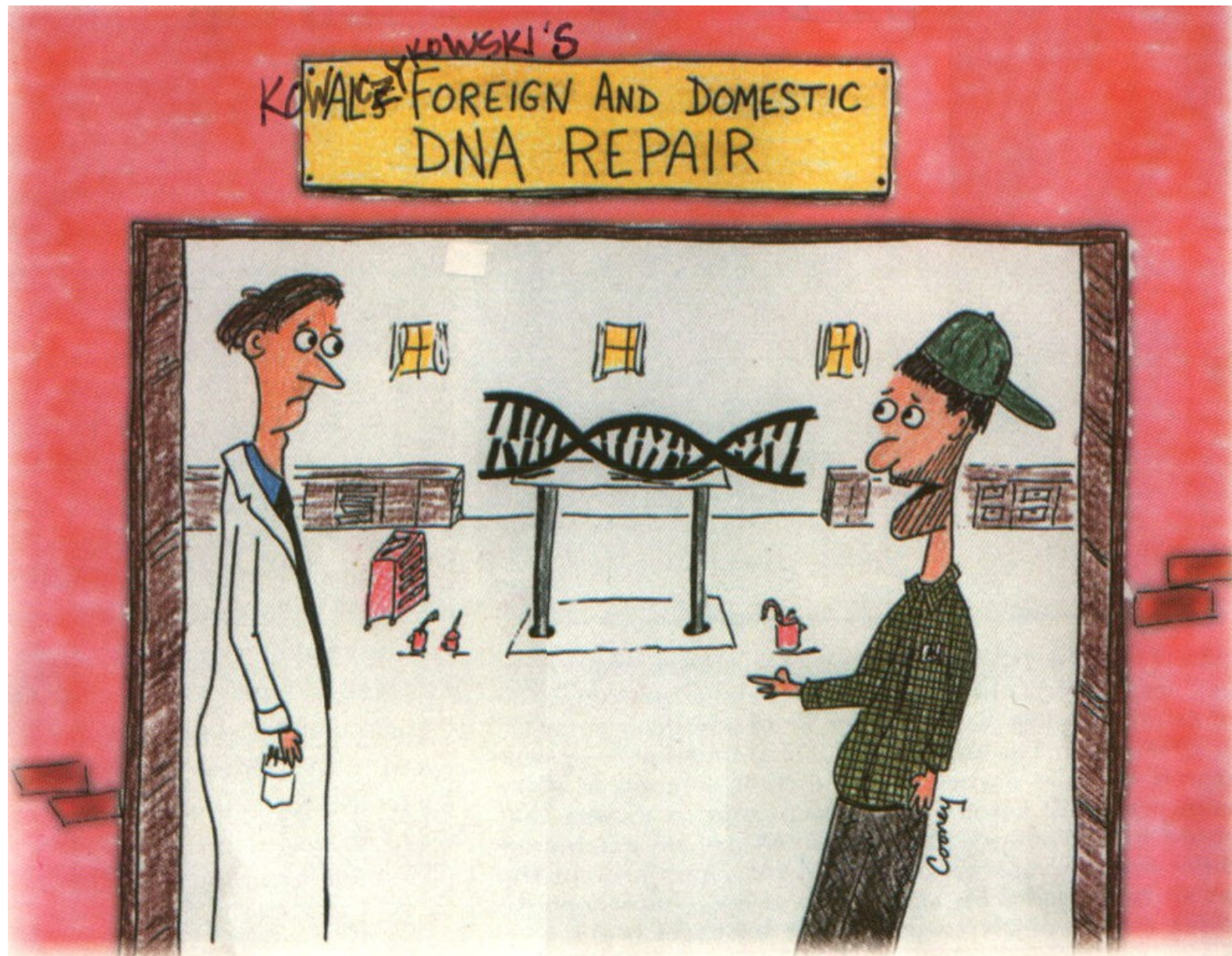
GWAS

Informace o celém genomu v kombinaci s epidemiologickými, klinickými a jinými fenotypovými údaji usnadňují pochopení základních biologických procesů ovlivňujících lidské zdraví, zlepšení predikce nemoci a péče o pacienta a v konečném důsledku pro realizaci příslibu personalizované medicíny. Kromě toho rychlý pokrok v porozumění vzorům lidských genetických variací a zraní vysoce výkonných a nákladově efektivních metod genotypizace poskytují výkonné výzkumné nástroje pro identifikaci genetických variant, které přispívají ke zdraví a nemocem.

Selekce SNP pro GWAS:

- 1) Molekulární (Affymetrix, Illumina)
- 2) Analytická





"You're lucky nobody was injured. Your base pairs are out of alignment and that has your reading frames all messed up."