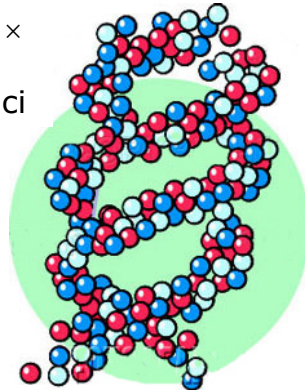


Genetika – genetická podmíněnost nemocí

Principy dědičnosti

Genetická variabilita (mutace × polymorfismus)

Monogenní × komplexní nemoci



1

Genetika, genomika

- **genetika**
 - specializovaný biologický obor zabývající se **variabilitou** a **dědičností**
 - **klinická genetika**
 - zabývá se diagnostikou, léčením a prevencí genetických nemocí (nejen u pacienta ale 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 organismy (myš, kvasinka, nematoda, Drosophila aj.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



společný předek



moderní primáti



člověk

2

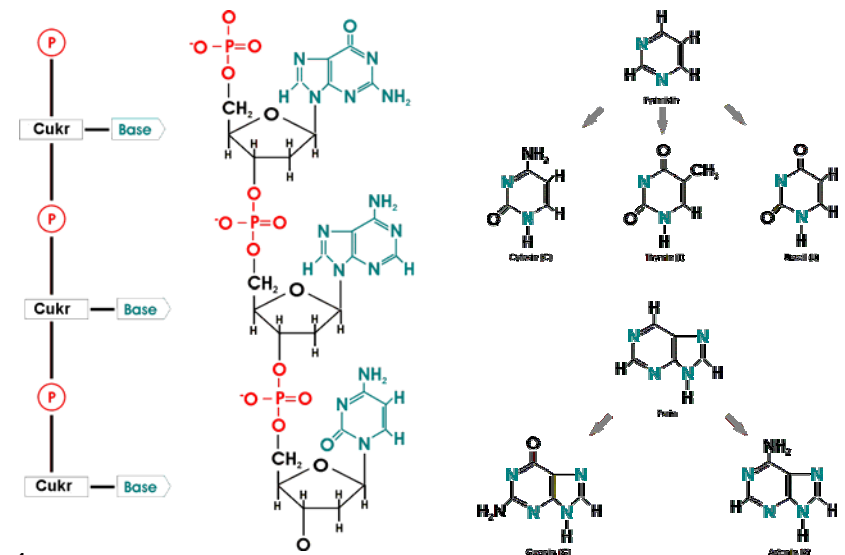
Chromozomální podstata dědičnosti

- **DNA**
 - nese potřebnou informaci potřebnou pro regulaci vývoje, růstu, metabolismu a reprodukce
 - složena z nukleotidů (zbytek kys. fosforečné, deoxyribóza a dusíkatá báze)
 - molekulárně-biologické dogma
 - DNA → RNA → protein
- organizována v **chromozomech**
 - chromatin+ chromozomální proteiny (histony)
- základní jednotky informace jsou **geny**
 - lidský genom obsahuje cca 30 000 genů
 - každý je umístěn na konkrétním místě konkrétního chromozomu = **lokus**
- **genetický kód** – určuje pořadí aminokyselin v proteinu
 - univerzální
 - podobný princip u většiny živých organismů
 - tripletový
 - trojkombinace 4 nukleotidů (A, C, G, T)
 - degenerovaný
 - $4^3 = 64$, ale aminokyselin jen 21

	1. pozice			2. pozice			3. pozice		
	U	C	A	G	U	C	A	G	
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	
A	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	
G	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	
C	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	
G	GUU Val	GUU Val	GUC Val	GUA Val	GUG Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	
A	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	GUG Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	
C	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly					

3

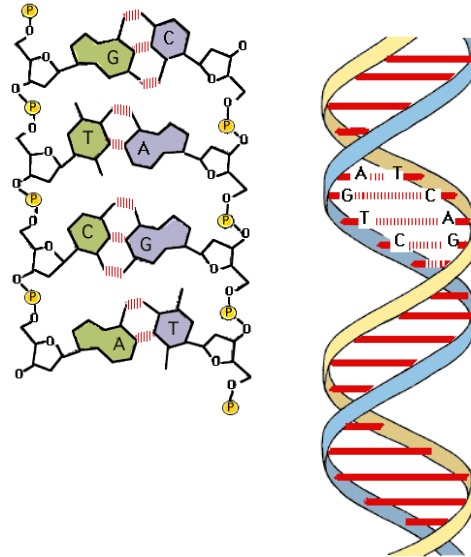
Nukleosid × nukleotid × báze × DNA



4

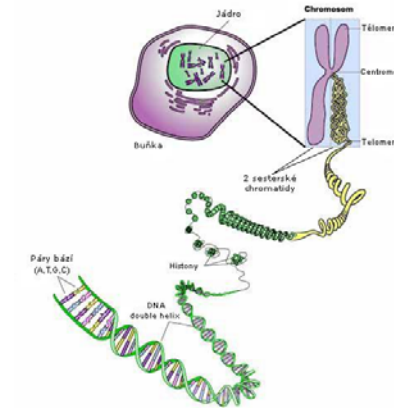
DNA - dvojšroubovice

- DNA kostra – polynukleotidový řetězec
 - zbytky deoxyribózy a kys. fosforečné spojené fosfodiesterovou vazbou
- DNA dvojšroubovice
 - 2 polynukleotidové řetězce v opačné orientaci
 - vodíkové vazby mezi páry bází (A=T, G=C)

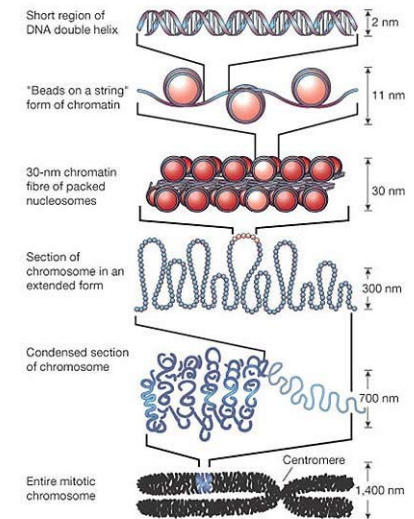


5

Chromatin x chromozom



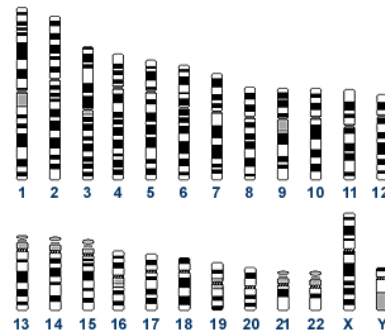
- v nedělicí se buňce je chromatin rozprostřen volně v jádře
- u dělicí se organizuje do viditelných chromozomů



6

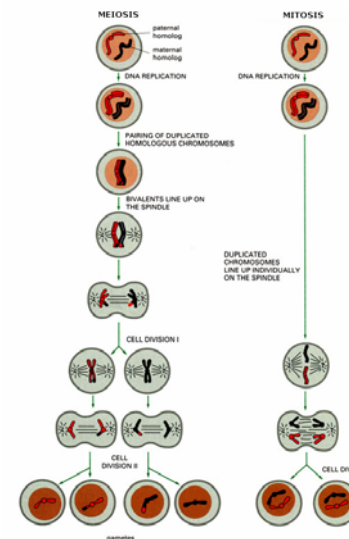
Karyotyp člověka

- každý biologický druh má svou charakteristickou chrom. výbavu (počet a morfologii) = **karyotyp**
 - u člověka mají **diploidní** bb. 46 chromozomů
 - 22 párů homologních autozomů, 1 pár gomozomů (44XX nebo 44XY)
 - zárodečné (vajíčko, spermie) 23 - **haploidní**
- struktura chromozomu
 - centromera
 - telomery (raménka)
 - dlouhé - q
 - krátké - p
 - barvením chromozomů (např. Giems) se dosáhne charakteristického pruhování a tím rozlišení jednotlivých chromozomů



7

Dělení buněk

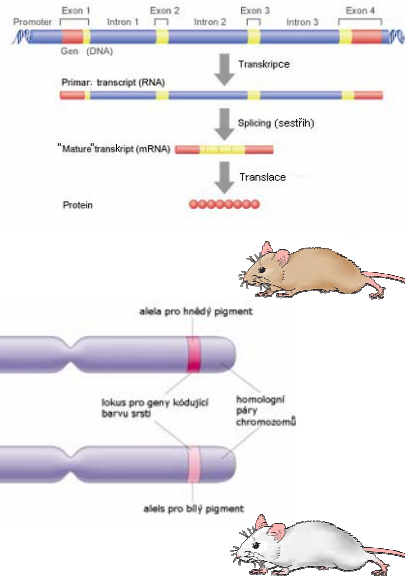


8

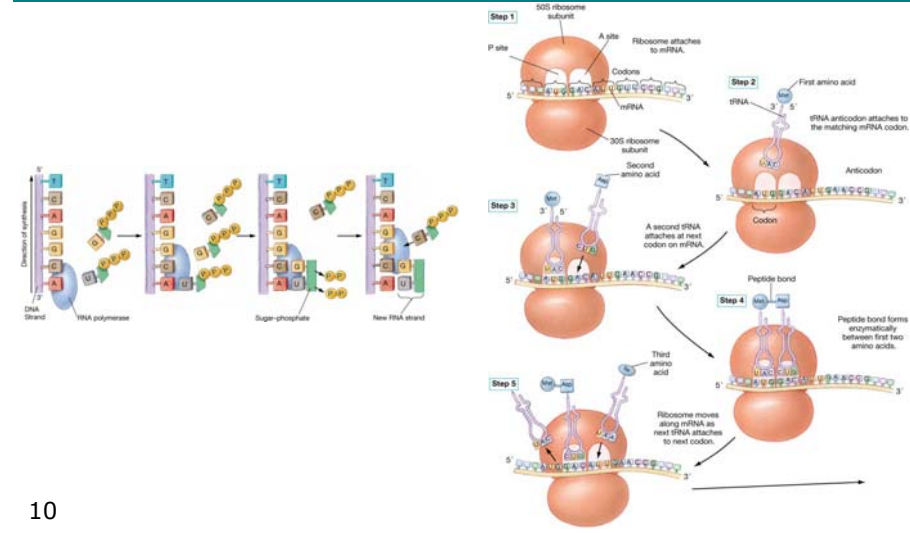
- **mitóza**
 - 2 dceřinné buňky s diploidním počtem chromozomů
 - 1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)
- **meióza**
 - 1 cyklus replikace následován 2 cykly segregace chromozomů a buněčného 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

Gen × alela × genotyp × fenotyp

- gen** – základní jednotka dědičnosti
 - segment molekuly DNA, který obsahuje kód pro aminokyseliny přísl. polypeptidu a nezbytné regulační sekvence pro regulaci své exprese
 - exony
 - introny
 - promotor (5'-konec)
 - vazebná místa pro transkripční faktory
 - 3' nepřepisovaná oblast (UTR)
- genové rodiny**
 - sekvenčně podobné geny, které vznikly zřejmě duplikací během evoluce
 - např. geny pro (hemo)globiny, imunoglobuliny, ...
- pseudogeny**
 - podobné konkrétním genům ale nefunkční
- alela** – konkrétní varianta genu
 - v populaci se pro daný gen vyskytuje více variant (= alel), které mohou být různě časté
- genotyp** – kombinace alel v určitém lokusu v diploidním genomu
- fenotyp** – vnější projev (vyjádření) genotypu

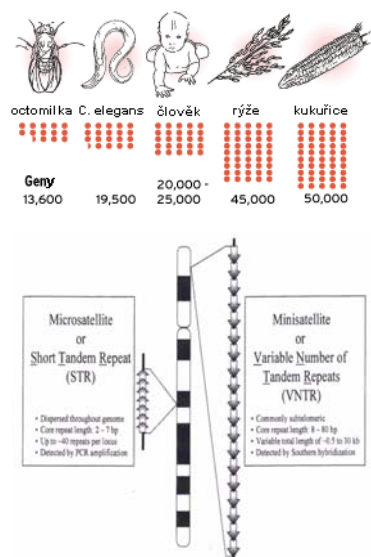


Genová exprese - transkripce a translace DNA



Lidský genom

- Human Genome Project (HUGO)
- hustota genů na jednotlivých chromosomech dost heterogenní
 - pouze ~10% kódující sekvence
 - ~75% se skládá z jedinečné (neopakující se) sekvence
 - zbytek repetitivní sekvence
 - nejasná funkce, zřejmě udržují strukturu chromozomů, možná jsou "evoluční" rezervou
 - typy repetice
 - tandemové
 - mikrosatelity
 - minisatelity
 - Alu-repetice
 - L1-repetice
- mitochondriální DNA
 - několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v mitochondriálních procesech
 - přenos pouze od matky!



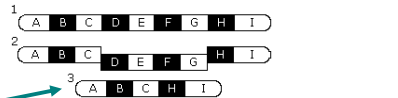
Genetická variabilita

- fyzilogická **interindividuální variabilita** i geneticky podmíněné nemoci jsou důsledkem **genetické variability**
- v populaci se pro daný gen vyskytuje více konkrétních variant (= **alel**), které mohou být různě časté
 - genetická variabilita je výsledkem dvou procesů
 - (1) mutací *de novo* (chyba replikace, mutageny)
 - (2) rekombinace (meiotický crossing-over)
 - na výsledné situaci v populaci (= frekvenci alel) se dále odráží **genetický drift** a přirozená **selektce**
- na základě populační frekvence jednotlivých variant se tradičně rozlišují genetický polymorfismus a mutace
 - genetický polymorfismus** = existence několika (přínejménším dvou) alel pro daný gen, z nichž nejméně častá má populační frekvenci alespoň 1%
 - mutace** = méně častá alela má populační frekvenci <1%
- typy
 - genomové
 - změna počtu chromozomů nebo celých sad (aneuploidie, polyploidie)
 - chromozomové (aberrace)
 - výrazná změna struktury jednotlivých chromozomů (duplikace, delece, inserce, inverze, translokace)
 - genové
 - kratší změny (1 - tisíce bází) = mutace a polymorfizmy v pravém slova smyslu

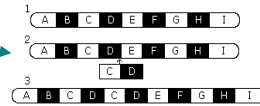


Klasifikace mutací/polymorfizmů

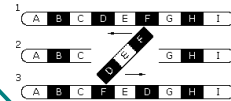
- bodové (tranzice a transverze)
 - biialelické jednonukleotidové polymorfizmy (angl. single nucleotide polymorphisms, tzv. SNP)



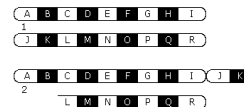
- délkové
 - delece (1bp – MB)
 - inserce + duplikace
 - inverze
 - translokace



- funkční dopad
 - žádný – alternativní kodon (tzv. silent)
 - substitucí vytvořen stop-kodon (tzv. nonsense)
 - dojde k záměně aminokyseliny (tzv. missense)
 - ke změně místa sestřihu (tzv. frameshift)
 - zdvojení dávky genu (tzv. gene-dosage effect)

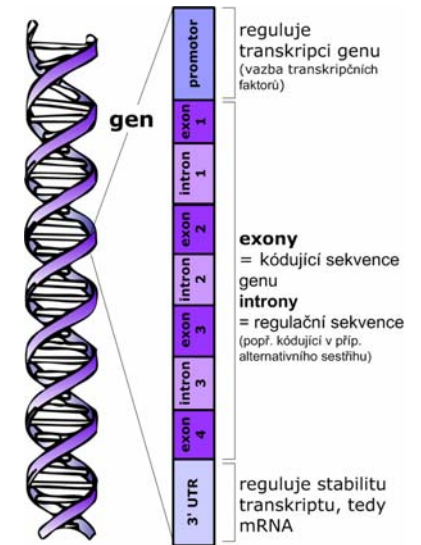


- důsledky
 - germinativní bb. => **geneticky podmíněné nemoci**
 - somatické buňky => **nádory**



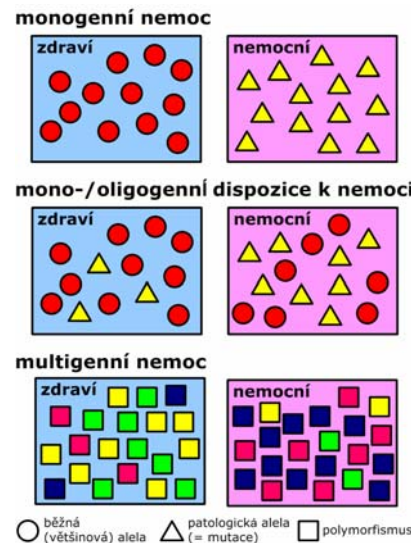
Vztah lokalizace záměny vs. efekt

- podle pozice v genu
 - 5' UTR (tj. promotor genu)
 - kvantitativní efekt (např. různá intenzita transkripce)
 - exony
 - kvalitativní efekt (např. různá sekundární a terciární struktura, aktivita, afinita, ...)
 - introny
 - kvalitativní efekt (změna sestřihového místa)
 - kvantitativní efekt? (vazba represorů nebo enhancerů)
 - 3' UTR
 - efekt na stabilitu mRNA



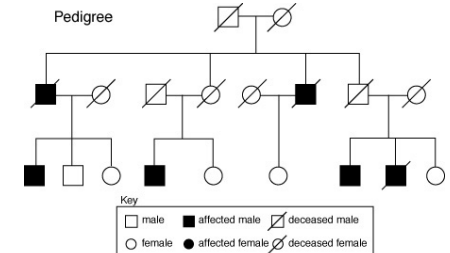
Klasifikace geneticky podmíněných nemocí

- prakticky každá nemoc (tj. její vznik a progres) je u daného jedince modifikována genetickou výbavou, avšak s různým podílem
 - **monogenní nemoci**
 - jedna kritická varianta (alela) konkrétního genu je téměř výhradně zodpovědná za rozvoj nemoci (fenotypu)
 - **chromozomální poruchy**
 - nejedná se o konkrétní chybu ale o nadbytek/nedostatek genů obsažených v celých chromozomech nebo jejich segmentech
 - **multigenní (komplexní) nemoci**
 - genetická dispozice podmíněná kombinací alel několika genů je manifestována prostředím



Monogenní nemoci

- onemocnění je důsledkem **mutace v jediném lokusu** (= jednolokusové)
- přenos mutace (a fenotypu) odpovídá Mendelovým zákonům (= mendelistické nemoci)
 - konstrukce rodokmenů
- typy 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
- doposud známé shrnuje OMIM (On-line Mendelian Inheritance in Man)
 - ~6000 klinicky významných fenotypů
- typické znaky
 - časná manifestace (dětství)
 - malá frekvence v populaci
- 16 - většinou výrazně patologické



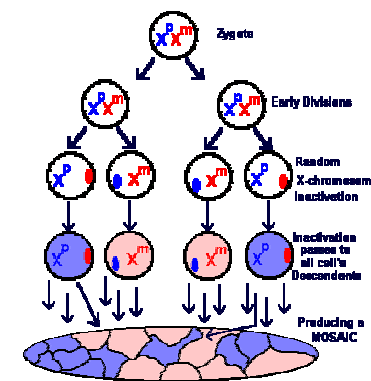
Autozomální monogenní nemoci

- (1) **recesivní** = u heterozygotů s 1 mutovanou alelou stačí produkt normální k udržení normální funkce
 - manifestní onemocnění u heterozygota je důsledkem:
 - haploinsuficience
 - pro normální funkci je potřeba >50% aktivního genového produktu
 - dominantně 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)
 - ztráty heterozygoty (loss-of-heterozygosity, LOH) v somatické buňce
 - např. familiární predispozice k nádorům důsledkem mutací v supresorových genech (např. retinoblastom)
- (2) pokud nestačí produkt k udržení normální funkce => **dominantní**
- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenášených mezi generacemi tak vzniklých nově

17

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
 - 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



18

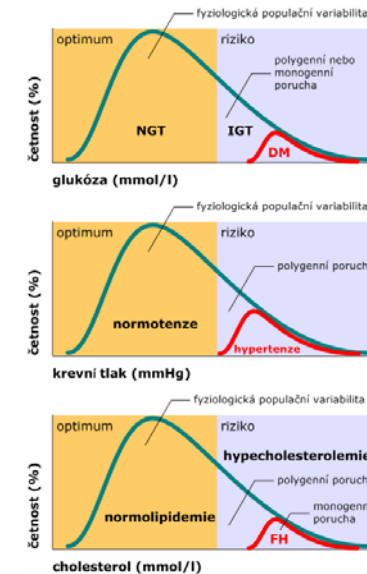
Chromozomální poruchy

- 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 triploidii – velmi časná letalita

19

Komplexní choroby

- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
 - fenotyp nevykazuje klasickou mendelistskou dominantní či recesivní dědičnost jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- predisponující "geny"** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminují jednoznačně jeho přítomnost
 - je nutné spolupůsobení negenetických faktorů (**prostředí**)
 - dieta, fyzická aktivita, kouření, ...
 - a **interakcí genů** mezi sebou
- 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
 - existenci fenokopii
 - 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
 - diabetes (1. i 2. typu)
 - dyslipidemie
 - esenciální hypertenze
 - alergie



20

	JEDNOLOKUSOVÉ NEMOCI	KOMPLEXNÍ NEMOCI
Závažnost nemoci, manifestace	Narušují homeostázu zásadním způsobem a porucha se objevuje brzy v průběhu života. Závažnost je pro konkrétního nositele je značná. Z hlediska populační morbidity a mortality jsou však nevýznamné!	Rovněž zásadně narušují homeostázu, ovšem efekt nastupuje postupně a efekt kulminuje v pozdějším období života. Hlavní faktor ovlivňující morbiditu a mortalitu v populaci, zejm. v rozvinutých zemích!
Interakce s prostředím	Některé se vyvinou bez ohledu na prostředí, u jiných je nutný specifický etiologický činitel (např. u fenylketonurie přítomnost fenylalaninu v dietě) nebo několik činitelů (např. oxidační stres u hemolytické anemie při G6PD deficitu).	Manifestace je pravidelně výsledkem spolupůsobení komplexu genů interagujících s prostředím během vývoje, dospívání a zejm. stárnutí.
Variabilita fenotypu	Modifikují geny, někdy pohlaví (např. heredit. hemochromatóza) a efekt prostředí činí fenotyp do jisté míry variabilní, ale ne tak jako u komplexních onemocnění; efekt hlavního patologického genu vždy dominuje a kvalitativně jsou značně homogenní.	Fenotyp je výsledkem interakce efektů jednotlivých genů, přičemž charakter interakce může být heterogenní, aditivní či multiplikatívni.
Penetrance	Obecně vysoká.	Typicky nekompletní (avšak pojem penetrance úzce souvisí s definicí fenotypu, což je u komplexních onemocnění svýbitný problém).
Populační frekvence genetických variant	Obecně velmi nízká jako důsledek vysokého selekčního tlaku; výjimku z pravidla představují nemoci, které přináší určitou selekční výhodu (např. hereditární hemoglobinopatie v malarických oblastech).	Frekvence minoritních alel jsou vyšší, často se jedná o tzv. běžné polymorfizmy. Varianty genů jsou pravděpodobně evolučně starší; evoluční konzervace je součástí lidského vývoje.
Genetická architektura	Poměrně velmi velká lokusová homogenita (tj. stejný gen), ale jsou výjimky (např. retinitis pigmentosa, Ehlers-Danlosův syndrom aj.). Typicky extrémně vysoká alelická heterogenita (tj. různé mutace) jako důsledek očisťující selekce (např. ~160 mutací u hemofilie B, ~270 mutací u cystické fibrózy, ~700 u familiární hypercholesterolemie).	Je předmětem intenzivního výzkumu. Lokusová heterogenita bude zřejmě vyšší, alelická už by nemusela být, protože zodpovědné varianty nejsou předmětem tak silné selekce (běžné polymorfizmy).



... OK, komu ještě sežrala domácí úloha psa?