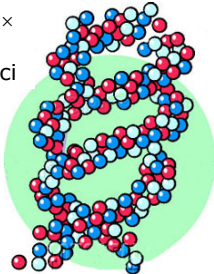


Genetika – genetická podmíněnost nemocí

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 (nejedn. 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
 - snáží se o pochopení veškeré informace obsažené v DNA živých organismů
 - strukturní genomika** = pochopení struktury genomu
 - konstrukce detailních genetických, fyzických a transkripčních map genomu příslušných organismů
 - reprezentovaly zejména iniciální fázi analýzy genomů; konkrétním cílem byla kompletní znalost DNA sekvence (např. HUGO projekt)
 - funkční genomika** = studium funkce genů a ostatních částí genomu
 - vysvětluje pomocí strukturní genomiky a snaží se o poznání funkce genů; velmi často k tomu využívá modelové organismy (myš, kvasinka, němatoda, Drosophila at.) jako časově a finančně výhodnou alternativu vyšších živočichů (zejm. pro možnost studovat mnoho generací v relativně krátkém čase)



2

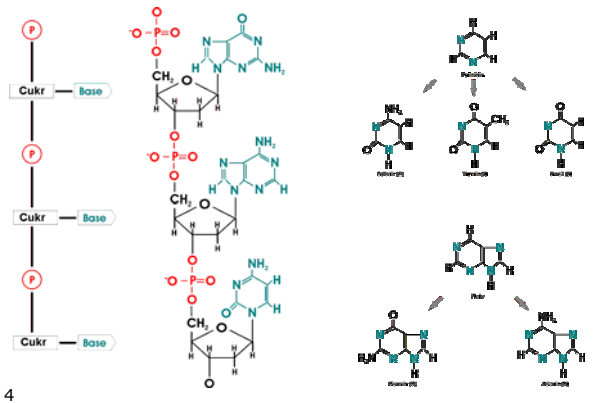
Chromozomální podstata dědičnosti

- 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
 - 4³ = 64, ale aminokyselin jen 21

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

3

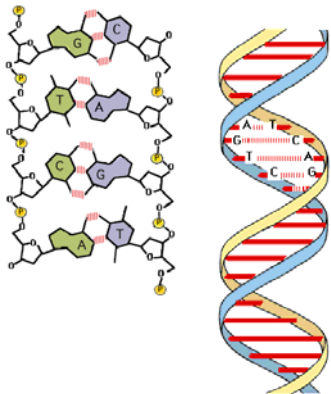
Nukleosid × nukleotid × báze × DNA



4

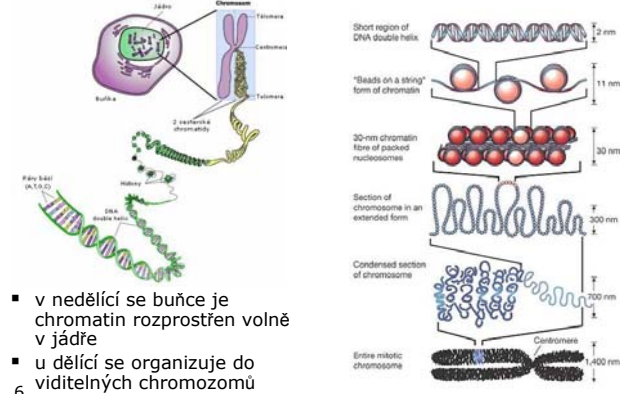
DNA - dvojšroubovice

- 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 × chromozom

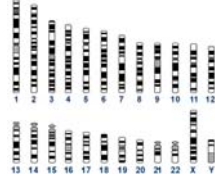


- v nedělic se buňce je chromatin rozprostřen volně v jádře
- u dělic se organizuje do viditelných chromozomů

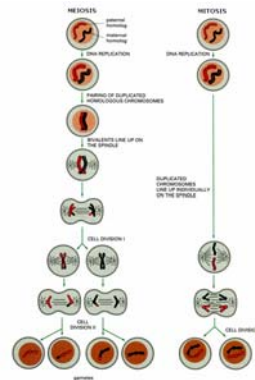
6

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 gonozomů (44XX nebo 44XY)
 - zárodečné (vajíčko, spermie) 23 - **haploidní**
- struktura chromozomu
 - centromera
 - telomery (raménka)
 - douhé - q
 - krátké - p
 - barvením chromozomů (např. Giemsa) se dosáhne charakteristického pružování a tím rozlišení jednotlivých chromozomů



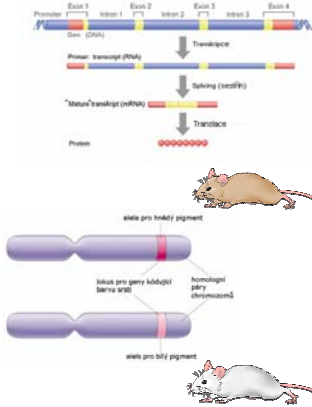
Dělení buněk



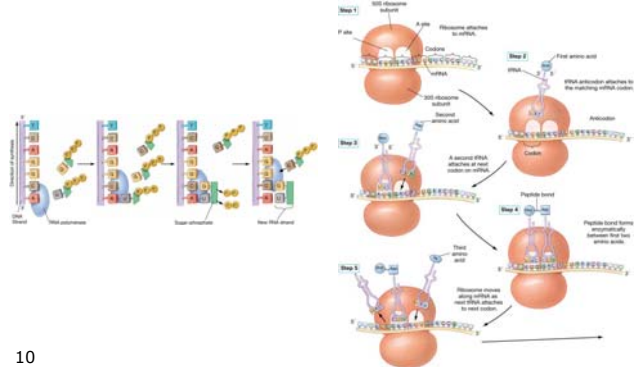
- mitóza**
 - 2 dceřinné buňky s diploidním počtem chromozomů
 - 1 cyklus DNA replikace následuje rozdělení chromozomů a jádra (profáze → prometafáze → metafáze → anafáze → telofáze) a násl. celé buňky (cytokineze)
- meióza**
 - 1 cyklus replikace následován 2 cykly segregace chromozomů a buněčného dělení
 - 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 sestřerských chromatid
 - 2 dceřinné buňky s haploidním počtem chromozomů
 - vznik pohlavních buněk (spermie, vajíčko)
 - dotatečně 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' neřepisovaná oblast (UTR)
- genové rodiny**
 - sekvencně 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 vyskytují vícero variant (= alel), které mohou být různé časté
- genotyp** - kombinace alel v určitém lokusu v diploidním genomu
- fenotyp** - vnější projev (vyjádření) genotypu

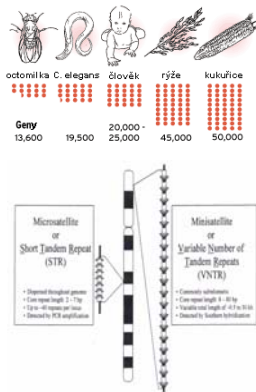


Genová exprese - transkripce a translace DNA



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-repetic
 - L1-repetic
- mitochondriální DNA
 - několik desítek genů kódujících proteiny zapojené v mitochondriálních procesech
 - přenos pouze od matky!



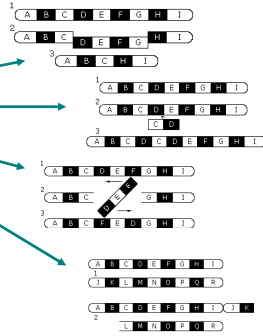
Genetická variabilita

- fyzilogická **interindividuální variabilita** i geneticky podmíněné nemoci jsou důsledkem genetické variability
- v populaci se pro daný gen vyskytují vícero variant (= alel), které mohou být různé časté
 - genetická variabilita je výsledkem dvou procesů
 - mutací *de novo* (chyba replikace, mutageny)
 - rekombinace (meiotický crossing-over)
 - na výsledné situaci v populaci se dále odráží genetický drift a přirozená selekce
- na základě populační frekvence jednotlivých variant se tradičně rozlišují genetický polymorfismus a mutace
 - genetický 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%
- typy
 - genomové
 - změna počtu chromozomů nebo celých sad (aneuploidie, polyploidie)
 - chromozomové (aberrace)
 - výrazná změna struktury jednotlivých chromozomů (duplikace, delecce, inserce, inverze, translokace)
 - genové
 - kratší změny (1 - tisíce bází) = mutace a polymorfizmy v pravém slova smyslu



Klasifikace mutací/polymorfizmů

- **bodové (tranzice a transverze)**
 - bialelické jednonukleotidové polymorfizmy (angl. single nucleotide polymorphisms, tzv. SNP)
- **délkové**
 - delece (1bp - MB)
 - inserce + duplikace
 - inverze
 - translokace
- **funkční dopad**
 - žádný (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**



13

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

14

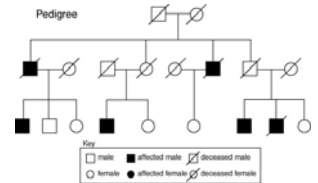
Klasifikace geneticky podmíněných nemocí

- 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

15

Monogenní nemoci

- onemocnění je důsledkem **mutace v jediném lokusu** (= jednolokusové)
- přenos mutace (a fenotypu) odpovídá Mendelovým zákonům (= mendelické nemoci)
 - konstrukce rodokmenů
- typy přenosu
 - autozomální
 - geny na obou autozomech aktivní
 - gonozomální (X-chromozom vázané)
 - muži hemizygotní
 - u žen 1 X-chromozom inaktivování!!
 - (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
 - většinou výrazně patologické



16

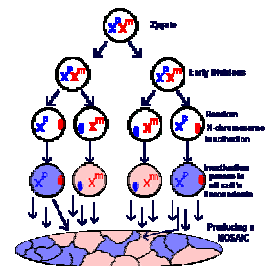
Autozomální monogenní nemoci

- 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
 - 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)
 - familiární predispozice k nádorům
 - ztráta heterozygoty (loss-of-heterozygosity, LOH) u supresorových genů (např. retinoblastom)
- nemoci jsou důsledkem jak mutací přenašečů mezi generacemi tak vzniklých nově
 - **autozomálně recesivní (AR)**
 - velmi často enzymové defekty
 - postižen je mutovaný homozygot (popř. sourozenci), heterozygotní rodiče jsou přenašeči (asymptomatici)
 - riziko $0.50 \times 0.50 = 0.25$
 - muži a ženy většinou postižení stejně
 - frekvence přenašečů nemoci v populaci >>> frekvence nemocných
 - nejčastější AR nemoci u bělochů je cystická fibróza
 - f nemocných 1/2000, f přenašečů 1/22 !!!
 - konsanguinita (příbuzní rodiče) a inbreeding významně zvyšuje riziko AR (přenašeči v rodinách)
 - domluvené sňatky (např. bratranec / sestřenice)
 - geneticky izolované populace (např. Áškenazi 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)

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
 - 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 inaktivována a v interakci se zobrazuje jako "Barrovův" tělíčko (viz sporné identifikace pohlaví)
 - proces je náhodný, může se týkat jak otcovského tak materského X
 - důsledkem je variabilní exprese X-vázaných genů u heterozygotek ("manifestující přenašečka")
 - funkční mozaicismus



18

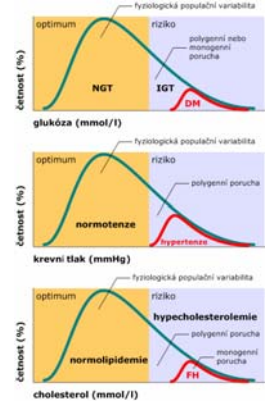
Chromozomální poruchy

- aneuploidie** (změna počtu chromosomů v sadě)
 - porucha rozdělení sesterských chromosomů [meiotická nondisjunkce]
 - 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 hydaticosa (a pak těhotenství nutno ukončit potratem)
 - porod novorozence s triploidii – velmi časná letalita

19

Komplexní choroby

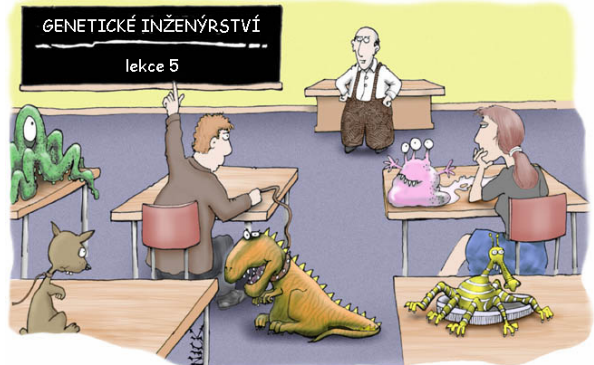
- choroby, na jejichž vzniku a progresi se podílí „komplex“ genetických, epigenetických a vnějších faktorů
 - fenotyp nevychází klasickou mendelskou dominantní či recesivní dědičností jako důsledek změn v jediném lokusu (tzv. jednolokusových)
- predisponující „geny“** zvyšují pravděpodobnost onemocnění, ale nedeterminují jednoznačně jeho přítomnost
 - je nutné spolupsobení negenetických faktorů (prostředí)
 - Interakci genů mezi sebou
 - dieta, fyzická aktivita, kouření, ...
- komplexní onemocnění jsou charakterizována:
 - neúplnou penetrancí patologického fenotypu
 - u určité části osob, přestože zdedili nevýhodný genotyp (zde ve smyslu souboru více genů) se patologický fenotyp nerozvine
 - existenci fenokopii
 - patologický fenotyp může být přítomen u lidí, kteří nejsou nosiči zmiňovaného genotypu
 - genetickou heterogenitou (lokusovou a alelickou)
 - klinický obraz není specifický, ale může se rozvíjet v důsledku sámení v genech lidí z různých lokusů (= lokusová heterogenita), v jednotlivých geňech může být přitom vícero mutací či polymorfismů (= alelická heterogenita)
 - polygenní dědičnost
 - predispozice k rozvoji patologického fenotypu se zvyšuje pouze při simultánním výskytu určitého souboru alel
 - každá jednotlivá predisponující alela pravděpodobně není sama o sobě výrazně patogenní
 - spolupsobením dalších mechanismů přenosu
 - mitochondriální dědičnost, imprinting
- nejčastější komplexní nemoci
 - diabetes (1. a 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 morbiditidy a mortalitidy 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 či G6PD deficitu).	Manifestace je pravidelně výsledkem spolupsobení komplexu genů interagujících s prostředím během vývoje, dospívání a zejm. stárnutí.
Variabilita fenotypu	Modifikující 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 multiplikativní.
Penetrance	Obecně vysoká.	Typicky nekompletní (avšak pojem penetrance úzce souvisí s definicí fenotypu, což je u komplexních onemocnění slevbový problém).
Populační frekvence genetických variant	Obecně velmi nízká jako důsledek vysokého selekčního tlaku; výjimku z pravidla představují nemoci, které přinášejí určitou selekční výhodu (např. hereditární hemoglobinopatie v malarických oblastech).	Frekvence minoritních alel jsou vyšší, často se jedná o tzv. běžné polymorfismy. 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-Danlosovův syndrom at.). Typicky extrémně vysoká alelická heterogenita (tj. různé mutace) jako důsledek očistující 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 polymorfismy).

21



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

22