

# Molekulární genetiky IV

**zimní semestr**

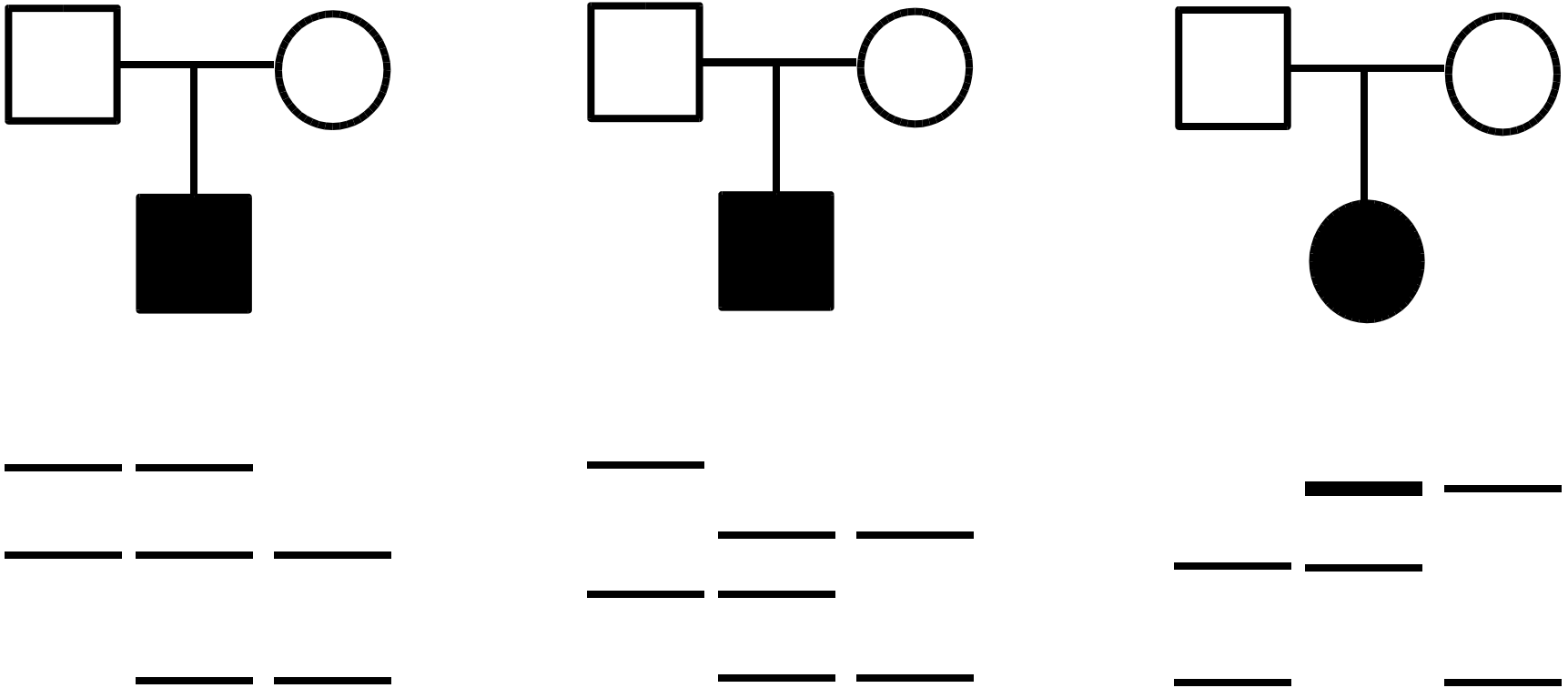
**6. výukový týden (5.11. – 9.11.2007)**



Ústav biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN, Praha

## Nondisjunkce u Downova syndromu

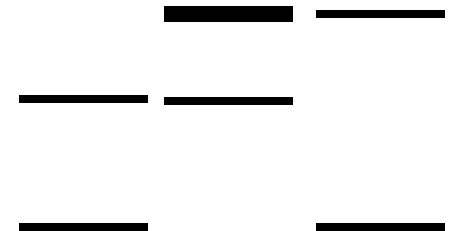
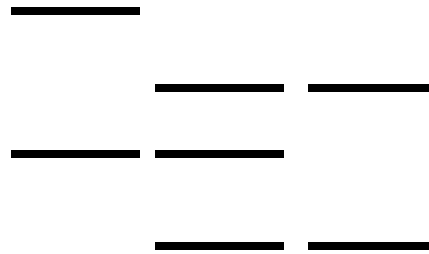
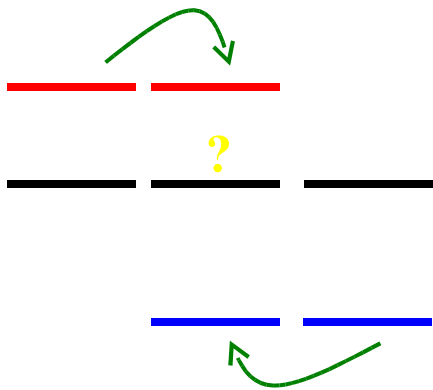
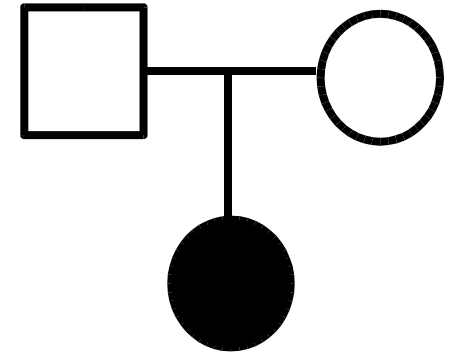
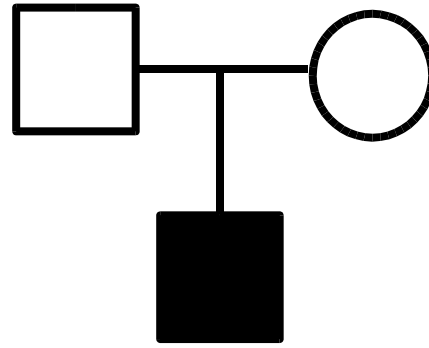
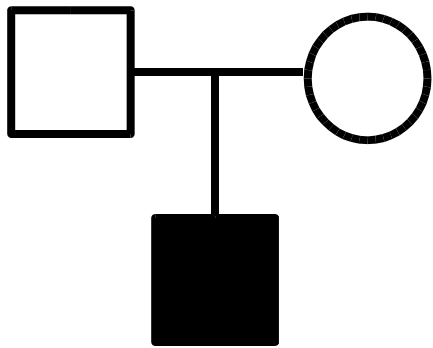
2



Tři rodokmeny rodin s dětmi postiženými Downovým syndromem (prostá trisomie).  
Výsledek analýzy DNA – tetranukleotidového polymorfismu na chromozómu 21 - je  
znázorněn pod rodokmeny.

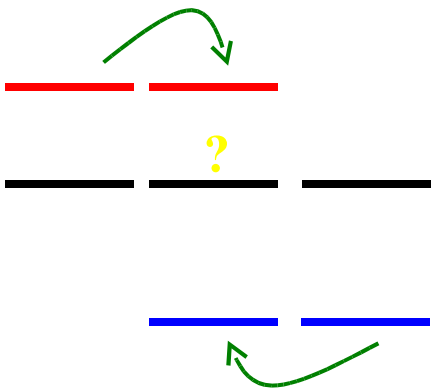
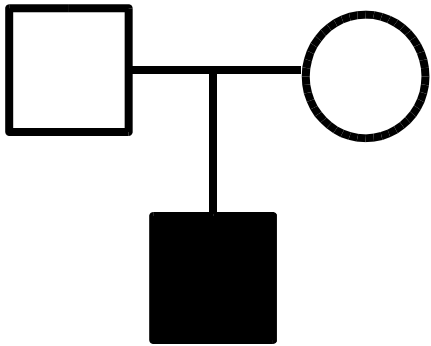
Od kterého z rodičů zdědilo dítě třetí kopii chromozómu 21?  
V kterém meiotickém dělení došlo k nondisjunkci?

# Nondisjunkce u Downova syndromu

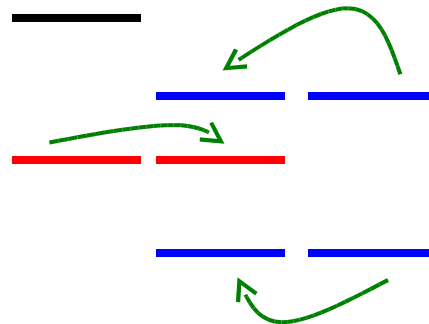
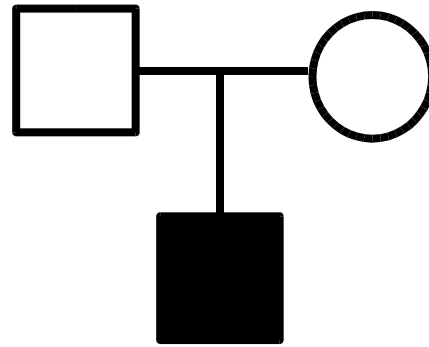


Meióza I u otce  
nebo u matky

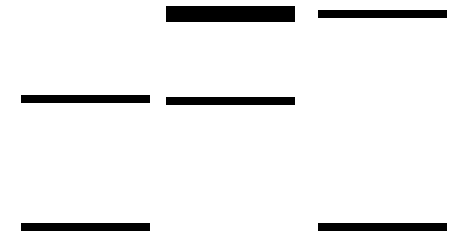
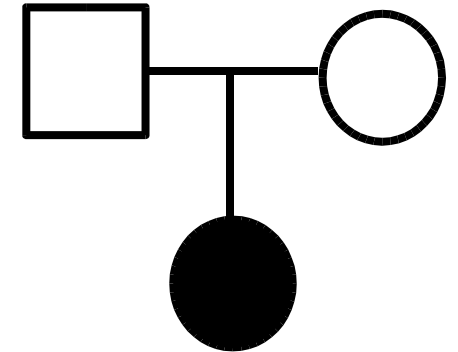
# Nondisjunkce u Downova syndromu



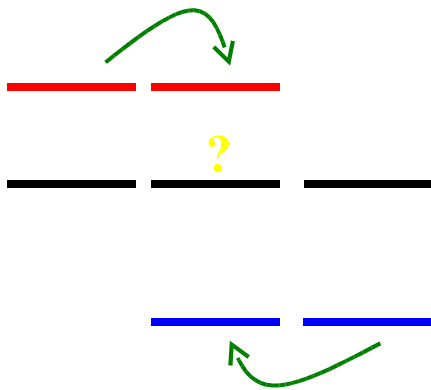
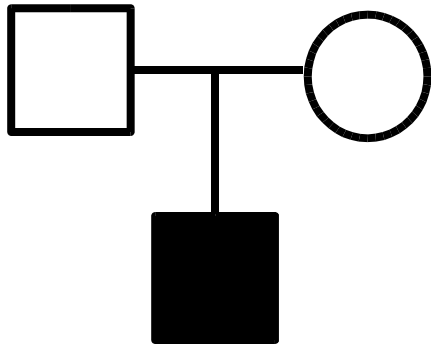
Meióza I u otce  
nebo u matky



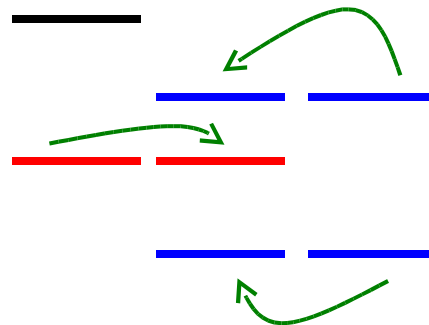
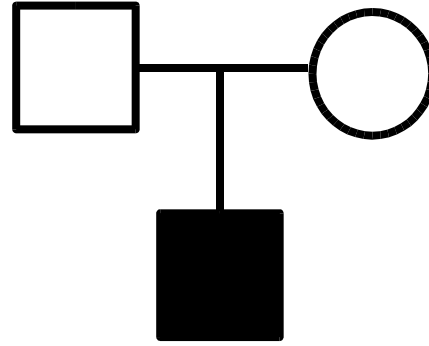
Meióza I u matky



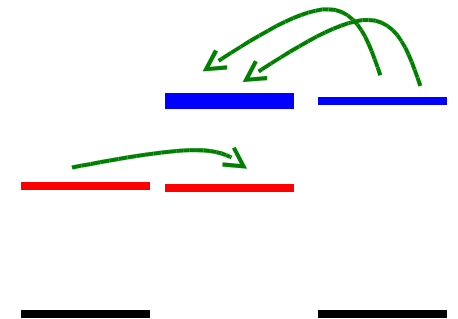
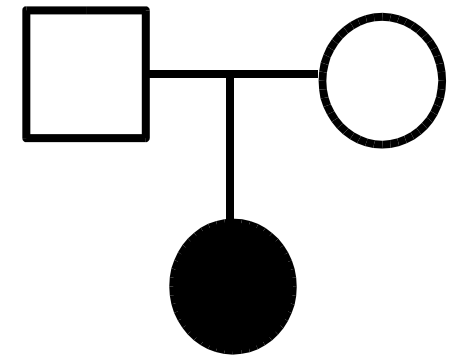
# Nondisjunkce u Downova syndromu



Meióza I u otce  
nebo u matky



Meióza I u matky



Meióza II u matky

# SEKVENACE DNA

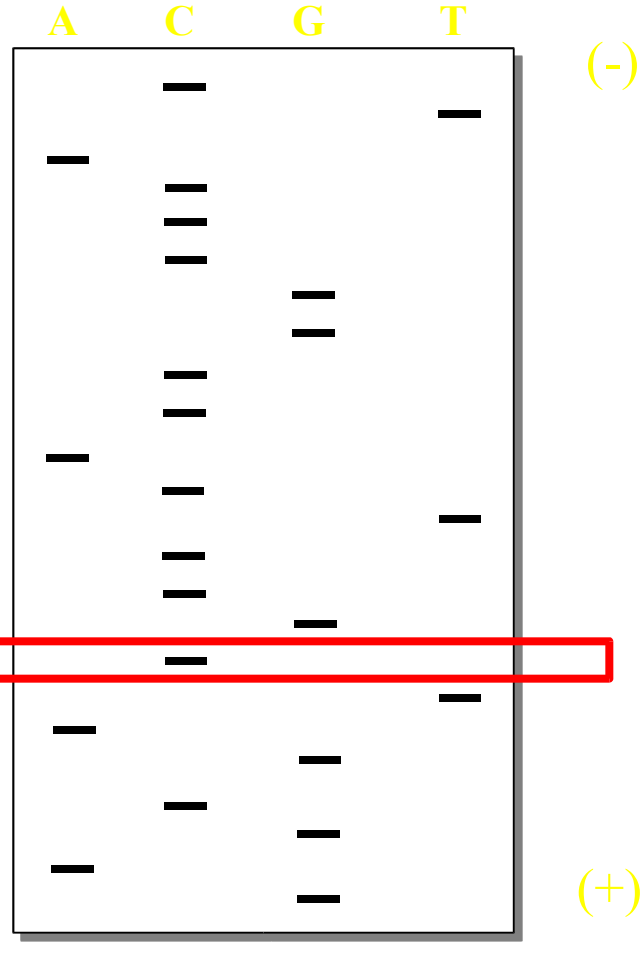
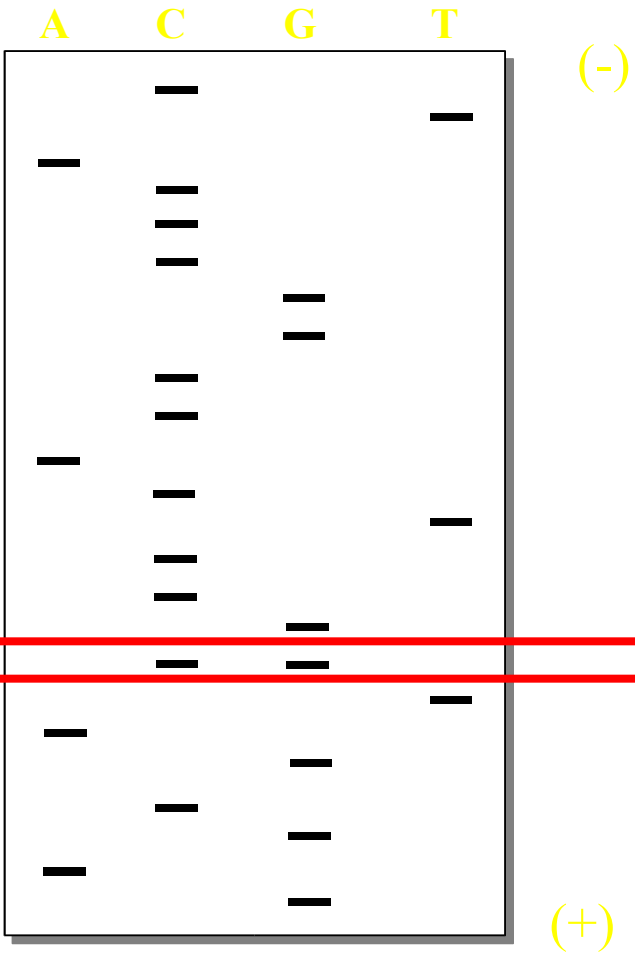
## externí soubory:

<http://www.dnalc.org/ddnalc/resources/animations/sangerseq.exe>

<http://www.dnalc.org/ddnalc/resources/animations/cycseq.exe>

P

C



5'-GAGCGATCGCCTCACC GGCCCATC-3'

5'-GAGCGATCGCCTCACC GGCCCATC-3'

G

5'-GAGCGATCGCCTCACCGGCCCATC-3'

5'-GAGCGATCGCCTCACCGGCCCATC-3'

250

Glu Arg Ser Pro His Arg Pro Ile

..... GAG CGA UCG CCU CAC CGG CCC AUC... ..



250

Glu Arg **Trp** Pro His Arg Pro Ile

..... GAG CGA **UGG** CCU CAC CGG CCC AUC... ..

**Ser252Trp**

**S252W**



### Barevný prostor

druhá база

### dekódování



Možné dinukleotidy

Nultá база

Dekódované dinukleotidy

Sekvence ve standardním formátu

první база



# SOLiD: přepište výsledky z barevného prostoru do sekvence (první база je G). Která sekvence obsahuje mutaci a která chybu?

Kontrolní sekvence

Y Y R R Y R Y R R B Y Y G G B R B R B B G R Y

Pacient 1

Y Y R R Y R Y R R B Y Y G G B R B R B B G R Y

Y Y R R Y R G B R B Y Y G G B R B R B B G R Y

Pacient 2

Y Y R R Y R Y R R B Y Y G G B R B R B B G R Y

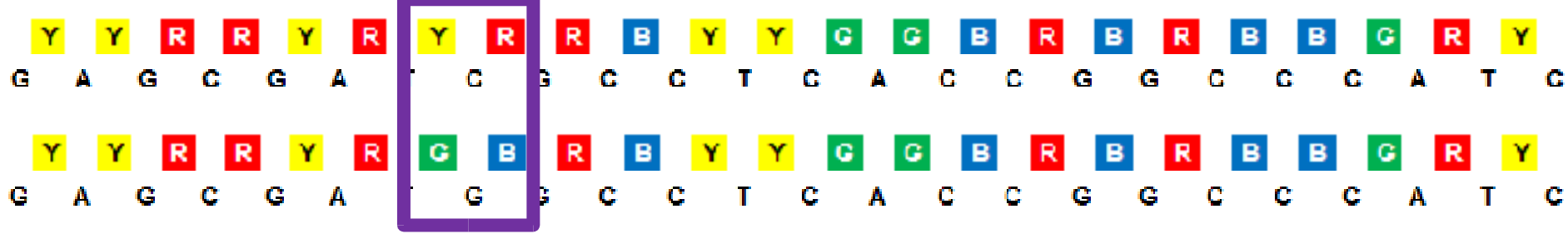
Y Y R R Y R Y B R B Y Y G G B R B R B B G R Y

# SOLiD: přepište výsledky z barevného prostoru do sekvence (první база je G). Která sekvence obsahuje mutaci a která chybu?

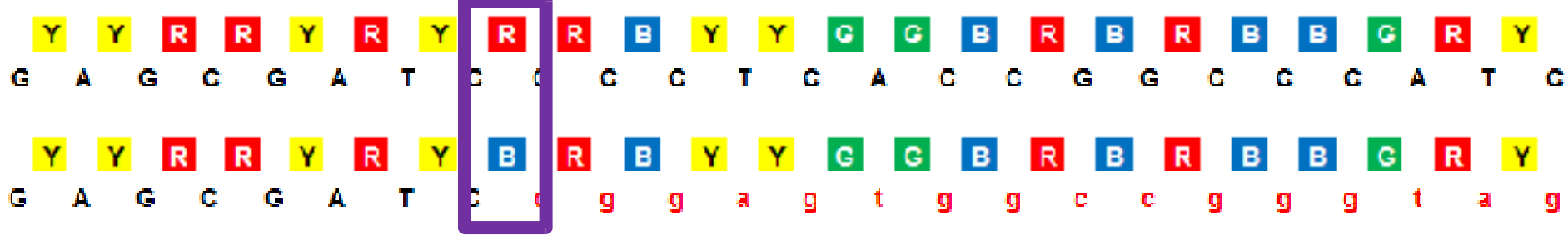
Kontrolní sekvence



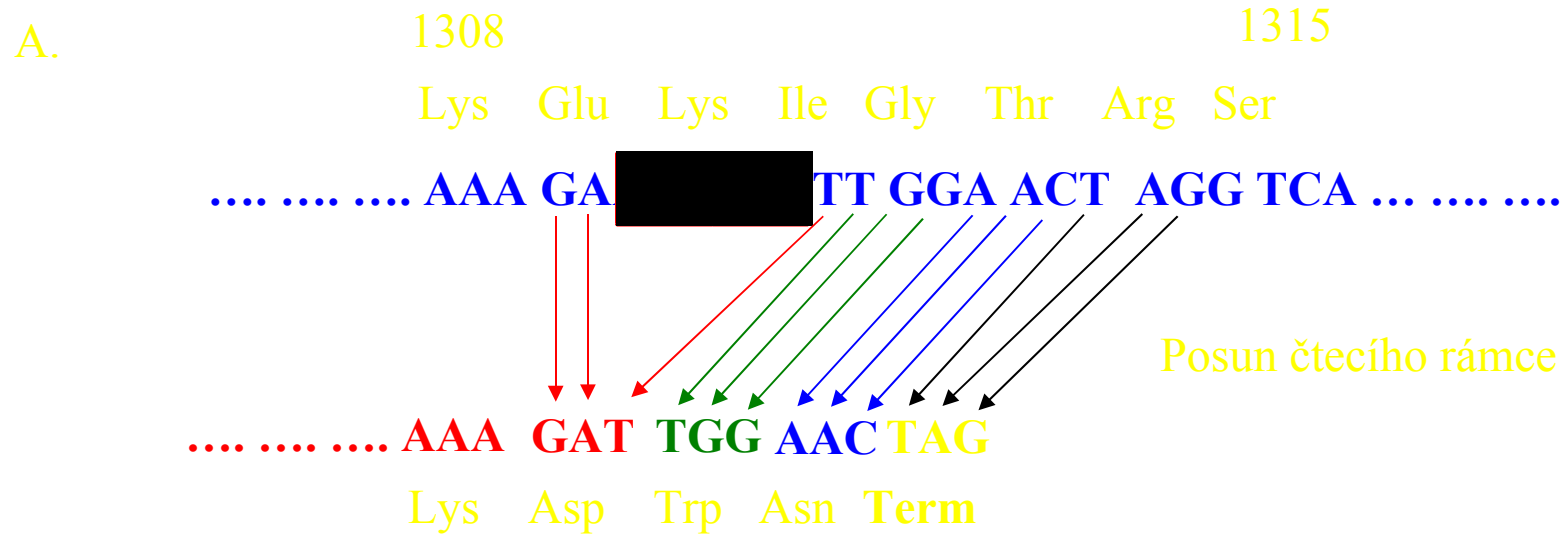
Pacient 1



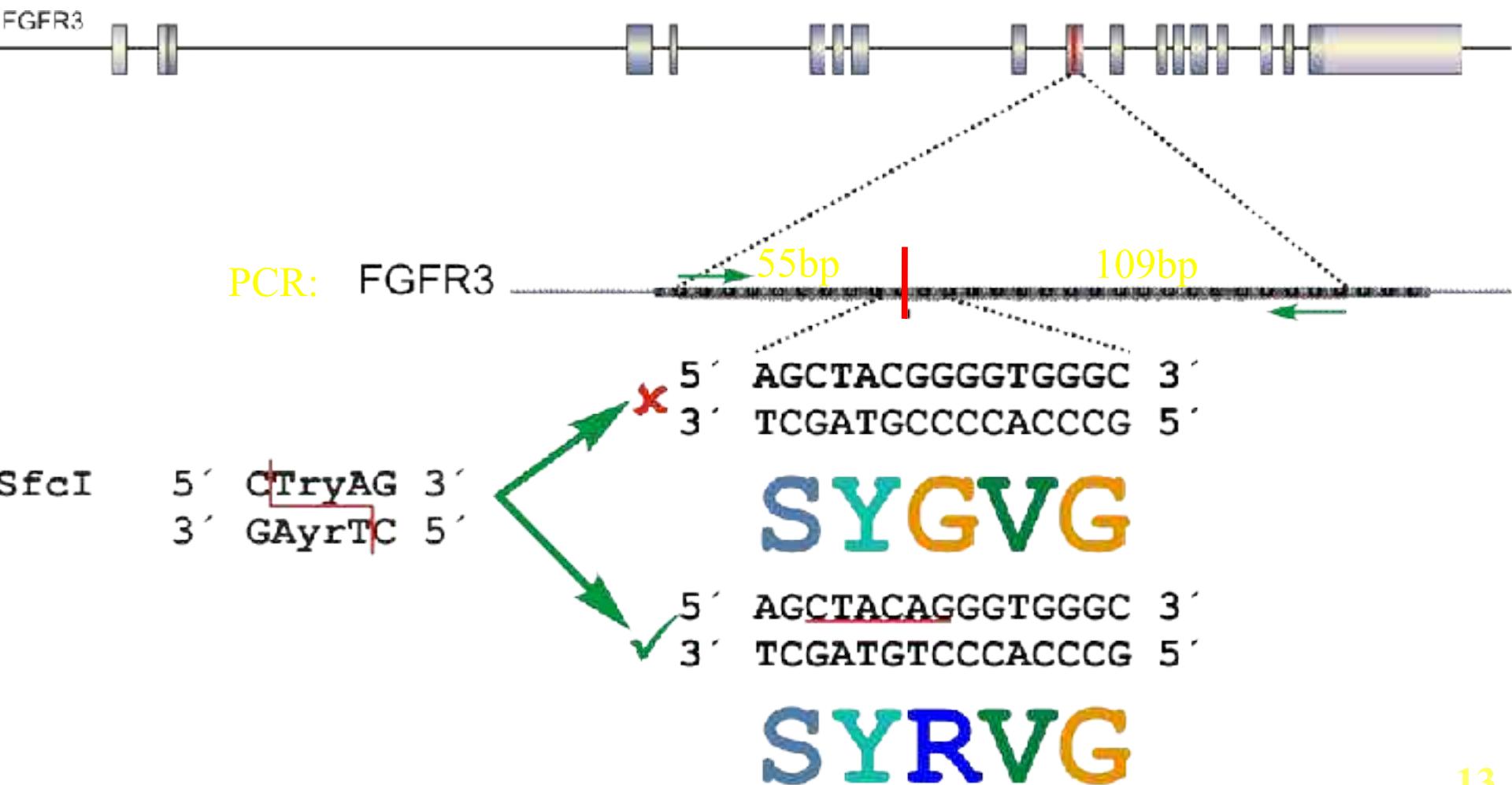
Pacient 2



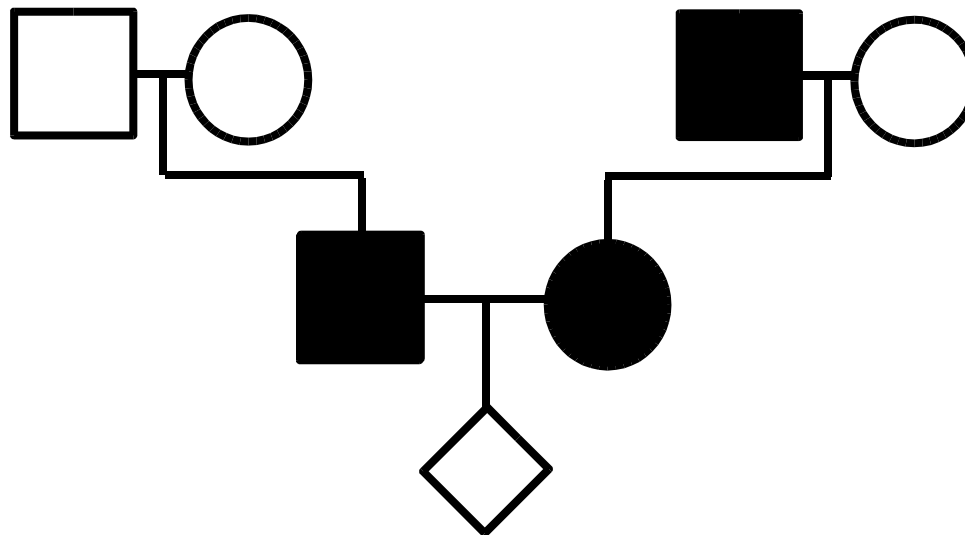
Pacient 1 – mutace C na G, pacient 2 – chyba stanovení, nutno předělat



Achondroplazie je nejčastější genetickou příčinou malého vzrůstu. Bylo zjištěno, že příčinou onemocnění je mutace v genu FGFR3. Asi 95% pacientů má jediný typ mutace, a sice 1138G>A, což vede k záměně glycinu v pozici 380 na arginin. Touto mutací se zároveň vytváří restrikční místo pro SfcI



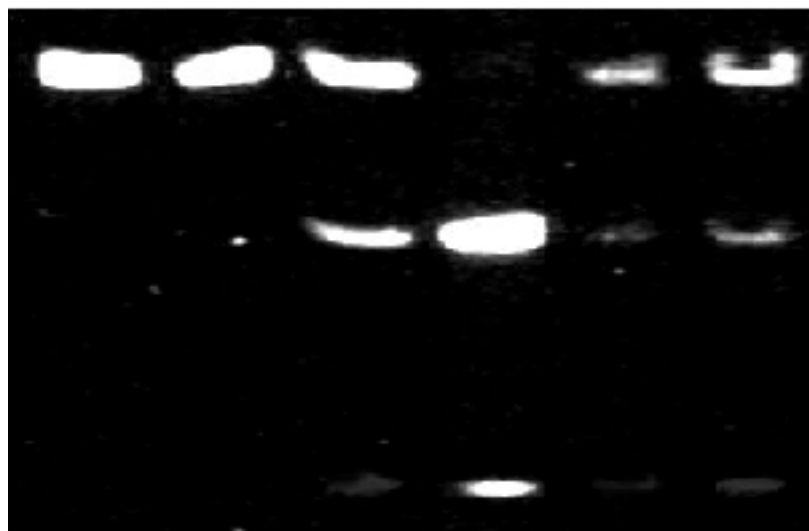
Úkol: stanovte riziko, že v manželům, kteří trpí achondroplazií se narodí dítě postižené homozygotní formou tohoto onemocnění (tento genotyp je neslučitelný s postnatálním životem, navíc těhotenství matek s achondroplazií pro ně představuje značnou zátěž):



164

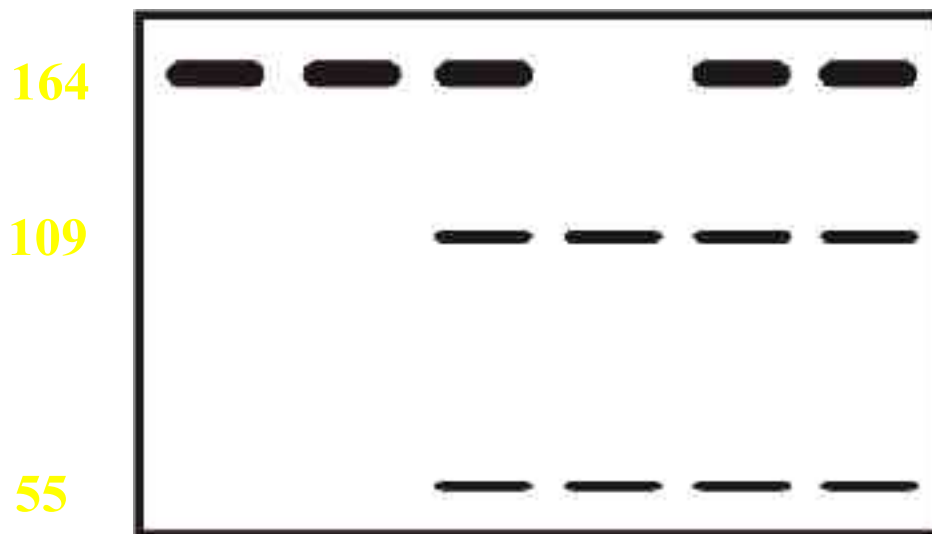
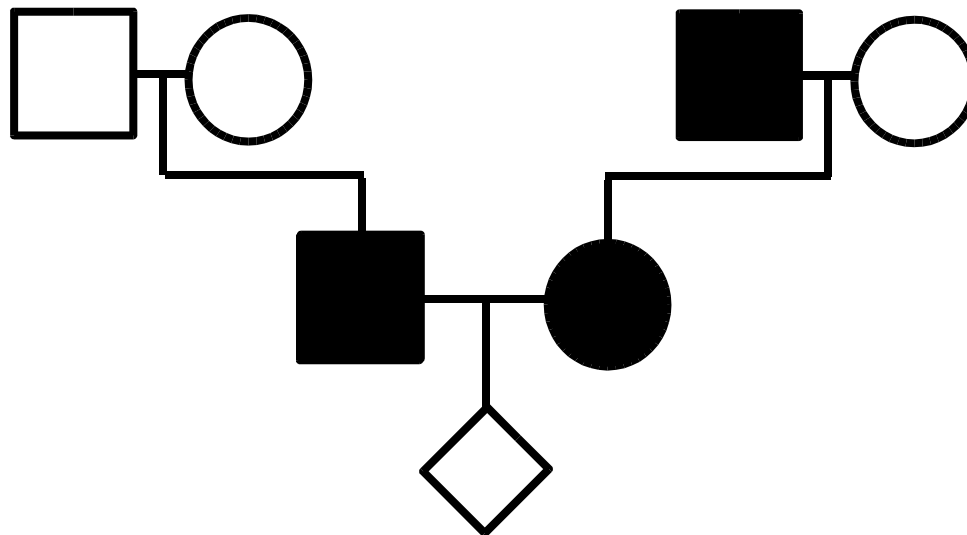
109

55

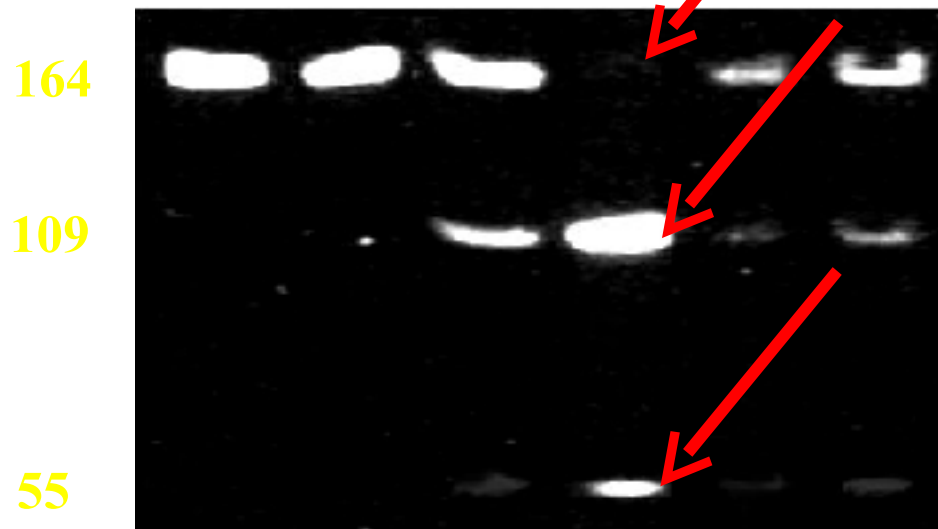
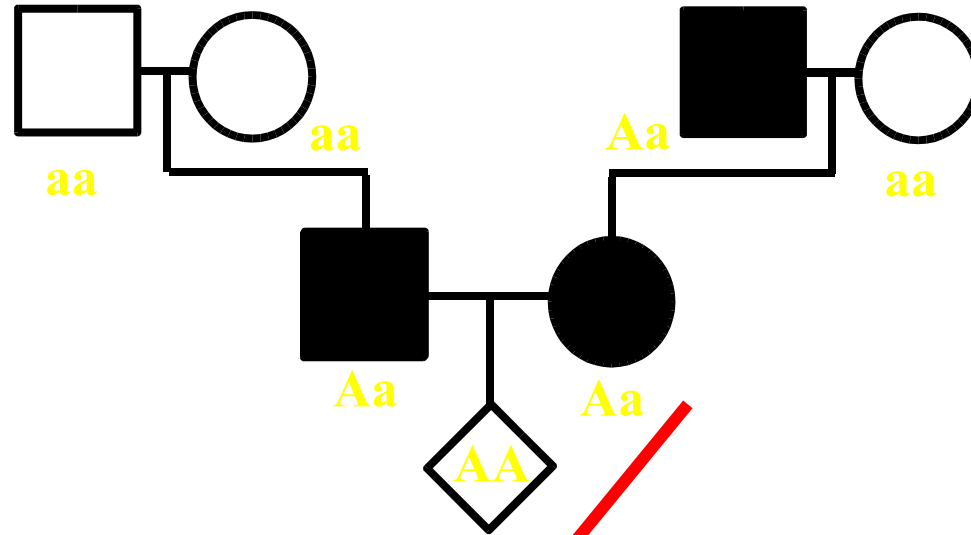


Shiang et al., 1994

Úkol: stanovte riziko, že v manželům, kteří trpí achondroplazií se narodí dítě postižené homozygotní formou tohoto onemocnění (tento genotyp je neslučitelný s postnatálním životem, navíc těhotenství matek s achondroplazií pro ně představuje značnou zátěž):



Řešení: oba rodiče jsou heterozygoti pro G380R, stejně tak otec těhotné ženy. DNA plodu obsahuje pouze alelu s přítomností restrikčního místa, tedy mutovanou, plod je tudíž homozygot (AA) a je indikováno přerušeni těhotenství . Pozn.: V rodině otce se jedná o novou mutaci (rodiče zdraví)





## Domácí úkol:

U malé části nemocných je achondroplazie způsobena jinou mutací v genu FGFR3, ve stejném kodonu, 1138G>C.

a) K jaké změně aminokyseliny dojde?

b) Navrhněte přímou DNA diagnostiku - bližší informace na stránkách ústavu ([klikni zde](#))

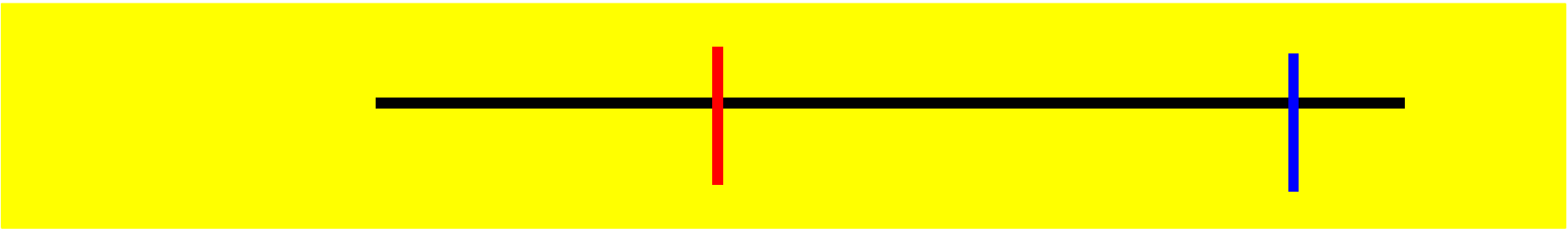
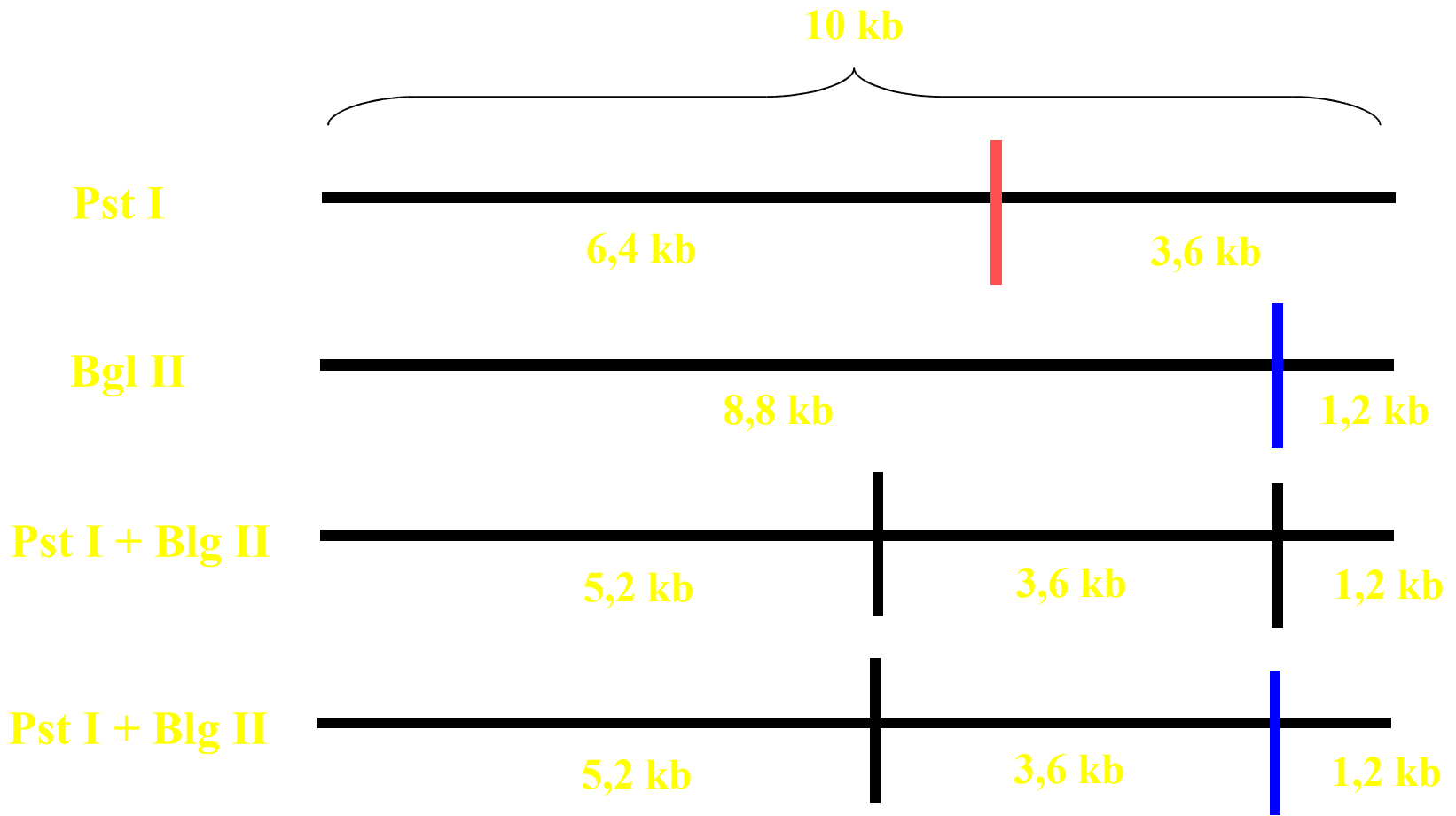
Sekvence DNA o délce 10kb obsahuje jedno cílové místo pro restriční endonukleázu Pst I a jedno místo pro enzym Bgl II. Byly provedeny tři samostatné reakce:

3. restrikce pouze s enzymem Pst I
4. restrikce pouze s enzymem Bgl II
5. dvojitá restrikce s oběma enzymy Pst I i Bgl II najednou

Při pokusech byly získány fragmenty těchto délek:

Reakce	enzym	délka fragmentu (kb)
1.	Pst I	6,4 a 3,6
2.	Bgl II	8,8 a 1,2
3.	Pst I i Bgl II	5,2, 3,6 a 1,2

Nakreslete restriční mapu této 10 kb dlouhé sekvence DNA s vyznačenými cílovými místy pro oba uvedené enzymy.



... Lys Ser Phe Cys Asn Leu Ala Ala Lys ...

... Lys Val Phe Ala Ile STOP

...	Lys	Ser	Phe	Cys	Asn	Leu	Ala	Ala	Lys	...
	AA	UCG	UU	UGC	AA	CUG	GCG	GCG	AA	
	AA	UCA	U	UGU	AA	CUA	GCA	GCA	AA	
	G	UCC	UUC	U	U	CUC	GCC	GCC	G	
		UCU				CUU	GCU	GCU		
		AGC				UUG				
		AGU				UUA				

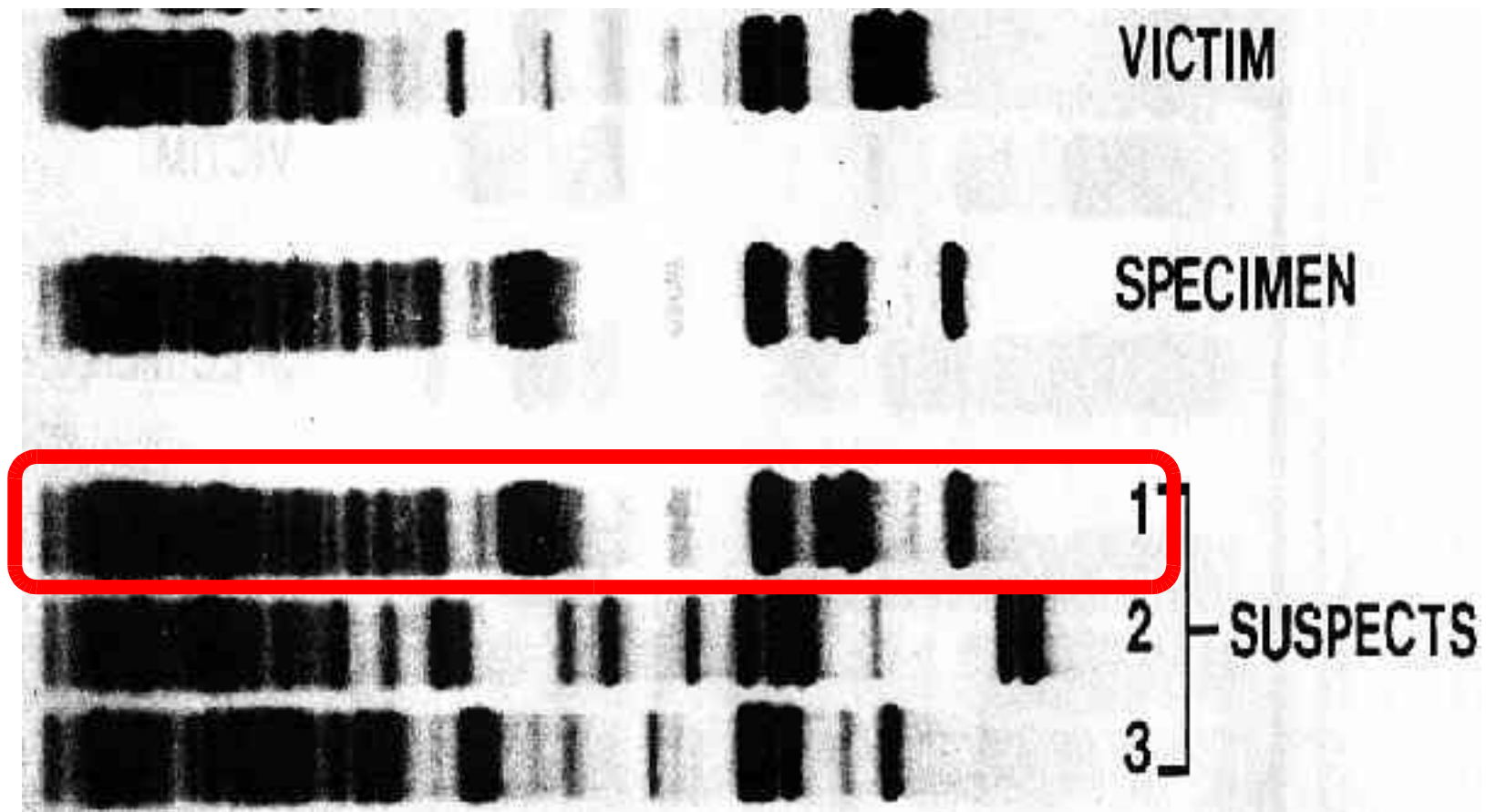
...	Lys	Val	Phe	Ala	Ile	STOP
	AA	GUG	UU	GCG	AU	UAG
	AA	GUA	U	GCA	AU	UAA
	G	GUC	UUC	GCC	AU	UGA
		GUU		GCU	U	

...	Lys	Ser	Phe	Cys	Asn	Leu	Ala	Ala	Lys	...
	AA	UCG	UU	UGC	AA	CUG	GCG	GCG	AA	
	A	UCA	UUC	UGU	C	CUA	GCA	GCA	A	
	AA	UCC			AA	CUC	GCC	GCC	AA	
	G	UCU			U	CUU	GCU	GCU	G	
		AGC				UUG				
		AGU				UUA				
...	Lys	Val	Phe	Ala	Ile	STOP				
	AA	GUG	UU	GCG	AU	UAG				
	A	GUA	UUC	GCA	AU	UAA				
	AA	GUC		GCC	AU	UGA				
	G	GUU		GCU	U					

Řešení: delece A v pozici 4 (pokud je první kodon AAG, nebo zkrácení A<sub>4</sub> na A<sub>3</sub>, pokud je první kodon AAA)

**“Který ze tří podezřelých je nejpravděpodobněji vinen?”**

**Autoradiogram Southernova blotu, hybridizovaného se sondou proti hojně repetitivní sekvenci (typu minisatelitu). Alely různé délky z mnoha lokusů se skládají dohromady v „otisk“ charakteristický pro jedince. Tato konkrétní metoda již nicméně vyšla z módy.**



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser	Ala	Val	Thr	Ala	Leu	Trp
					GAG	GAG	AAG	U						

16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Gly	Lys	Val	Asn	Val	Asp	Glu	Val	Gly	Gly	Glu	Ala	Leu	Gly	Arg

31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Leu	Leu	Val	Val	Tyr	Pro	Trp	Thr	Gln	Arg	Phe	Phe	Glu	Ser	Phe

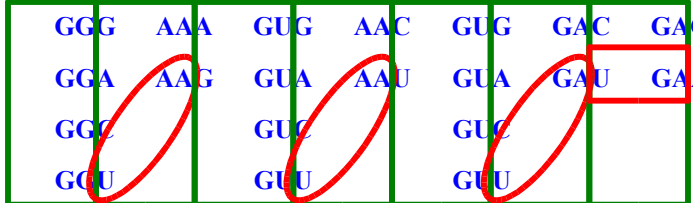
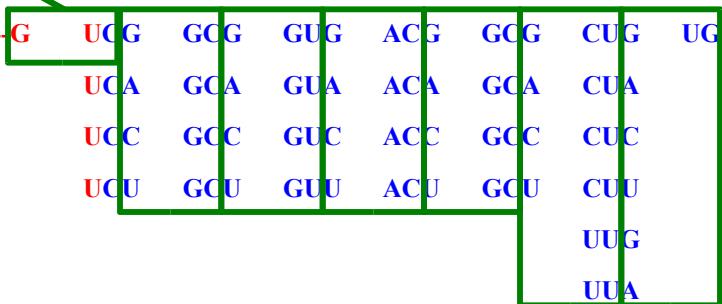






# Úkol č. 3, str. 68 b

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Val	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	Gly
GUG	CAU	CUG	ACG	CCG	GAG	GAG	-G	UCG	GCG	GUG	ACG	GCG	CUG	UGG
GUA	CAC	CUA	ACA	CCA				UCA	GCA	GUA	ACA	GCA	CUA	
GUC		CUC	ACC	CCC				UCC	GCC	GUC	ACC	GCC	CUC	
GUU		CUU	ACU	CCU				UCU	GCU	GUU	ACU	GCU	CUU	
		UUG											UUG	
		UUA											UUA	
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	Glu	Val	Gly	Gly	Glu	Ala	Leu	Gly	Arg
GGG	AAA	GUG	AAC	GUG	GAC	GAG	GUG	GGG	GGG	GAG	GCG	CUG	GGG	CGG
GGA	AAG	GUA	AAU	GUA	GAU	GAA	GUA	GGA	GGA	GAA	GCA	CUA	GGA	CGA
GGC		GUC		GUC			GUC	GGC	GGC		GCC	CUC	GGC	CGC
GGU		GUU		GUU			GUU	GGU	GGU		GCU	CUU	GGU	CGU
												UUG		
												UUA		
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Leu	Leu	Val	Val	Tyr	Pro	Trp	Thr	Gln	Arg	Phe	Phe	Glu	Ser	Phe
CUG	CUG	GUG	GUG	UAC	CCG	UGG	ACG	CAG	CGG	UUU	UUU	GAG	UCG	UUU
CUA	CUA	GUA	GUA	UAU	CCA		ACA	CAA	CGA	UUC	UUC	GAA	UCA	UUC
CUC	CUC	GUC	GUC		CCC		ACC		CGC				UCC	
CUU	CUU	GUU	GUU		CCU		ACU		CGU				UCU	
UUG	UUG												AGC	
UUA	UUA												AGU	



# Úkol č. 3, str. 68 c

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Val	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx
GUG	CAU	CUG	ACG	CCG	GAG	GAG	AAG	GUG	GCG	GUG	ACG	GCG	CUG	UCG
GUA	CAC	CUA	ACA	CCA				UCA	GCA	GUA	ACA	GCA	CUA	
GUC		CUC	ACC	CCC				UCC	GCC	GUC	ACC	GCC	CUC	
GUU		CUU	ACU	CCU				UCU	GCU	GUU	ACU	GCU	CUU	
		UUG											UUG	
		UUA											UUA	
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Gly	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx	Val	Gly	Gly	Glu	Ala	Leu	Gly	Arg
GUG	AAA	GUG	AAC	GUG	GAC	GAG	GUG	GGG	GGG	GAG	GCG	CUG	GGG	CGG
GGA	AAG	GUA	AAU	GUA	GAU	GAA	GUA	GGA	GGA	GAA	GCA	CUA	GGA	CGA
GGC		GUC		GUC			GUC	GGC	GGC		GCC	CUC	GGC	CGC
GCU		GUU		GUU			GUU	GGU	GGU		GCU	CUU	GGU	CGU
												UUG		
												UUA		
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Leu	Leu	Val	Val	Tyr	Pro	Trp	Thr	Gln	Arg	Phe	Phe	Glu	Ser	Phe
CUG	CUG	GUG	GUG	UAC	CCG	UGG	ACG	CAG	CGG	UUU	UUU	GAG	UCG	UUU
CUA	CUA	GUA	GUA	UAU	CCA		ACA	CAA	CGA	UUC	UUC	GAA	UCA	UUC
CUC	CUC	GUC	GUC		CCC		ACC		CGC				UCC	
CUU	CUU	GUU	GUU		CCU		ACU		CGU				UCU	
UUG	UUG												AGC	
UUA	UUA												AGU	

