

Molekulární genetiky II



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

Polymorfismy lidské DNA využívané ve vazebné analýze, polymérické a **nepolymérické** diagnostice

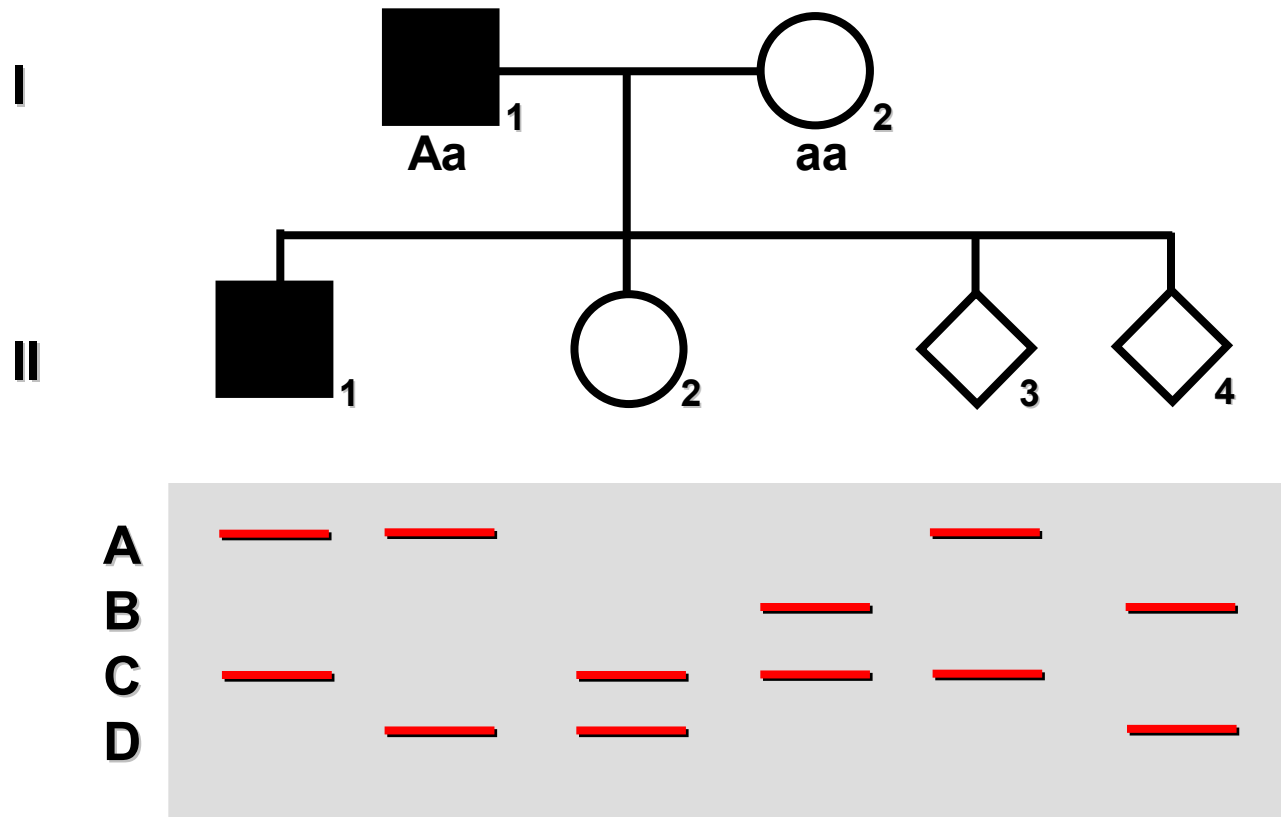
Mikrosatelity (*syn.* krátké tandemové repetice)

STR...short tandem repeats, SSR...simple sequence repeats

TAGCCATCGGTA **CACACACACACACACACAC** GTGCTTCAGTAGC
TAGCCATCGGTA **CACACACACACACACAC** GTGCTTCAGTAGCGTAG

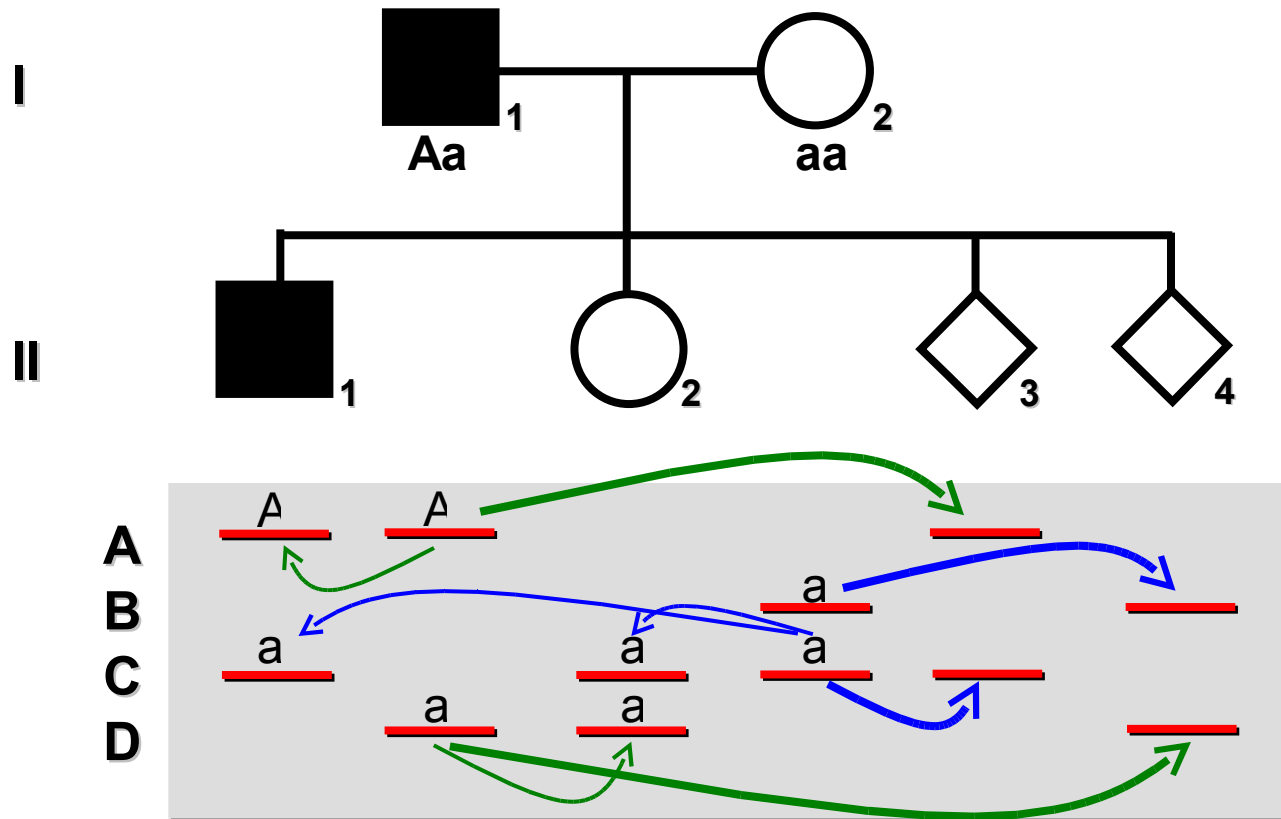
Pokud se detekovatelný polymorfismus nachází dostatečně blízko lokusu, ve kterém se vyskytuje kauzální mutace pro sledovanou chorobu, bude tento polymorfismus ve vazbě s mutovanou alelou a ve většině případů bude současně s ní předáván z rodičů na potomky (kosegregace) a bude možné jej využít jako marker i bez znalosti molekulární podstaty daného onemocnění.

Úkol č. 2, str. 81 – Polycystická choroba ledvin (AD, $p = 5cM$)



a) Riziko postižení pro II/3 i II/4 je 50%.

Úkol č. 2, str. 81 – Polycystická choroba ledvin (AD, p = 5cM)

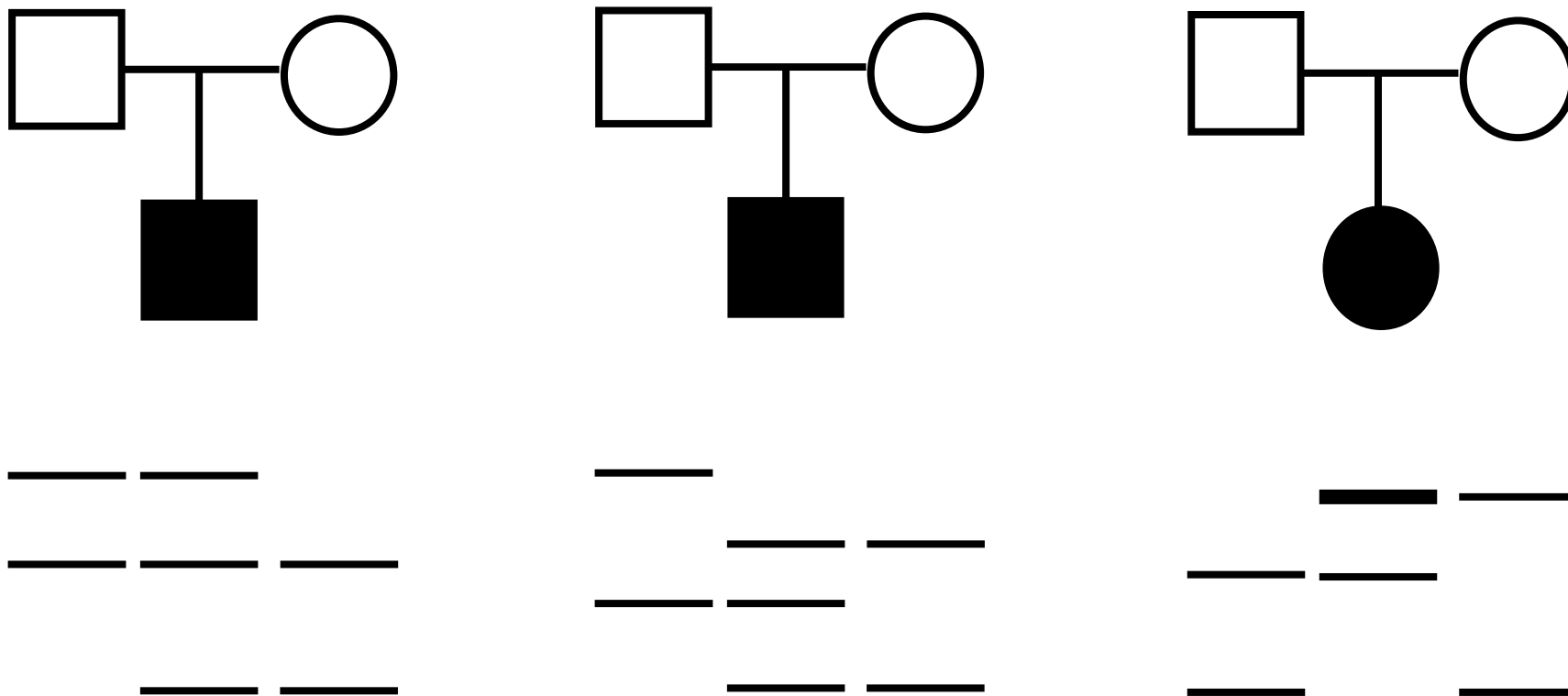


a) Riziko postižení pro II/3 i II/4 je 50%.

b) Riziko postižení pro II/3 je 95%.

b) Riziko postižení pro II/4 je 5%.

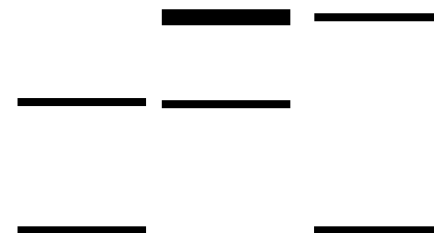
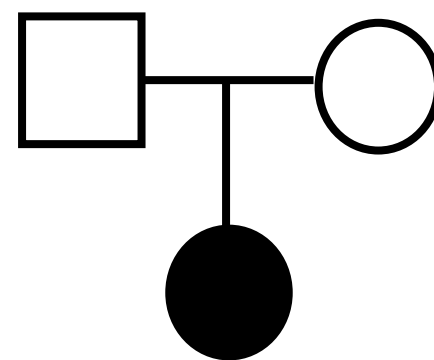
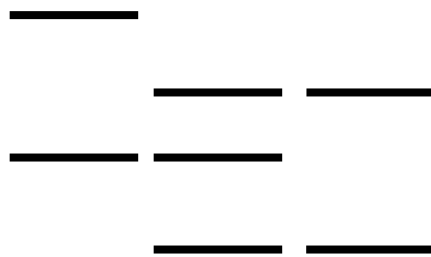
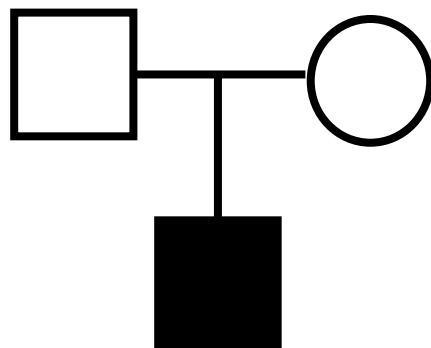
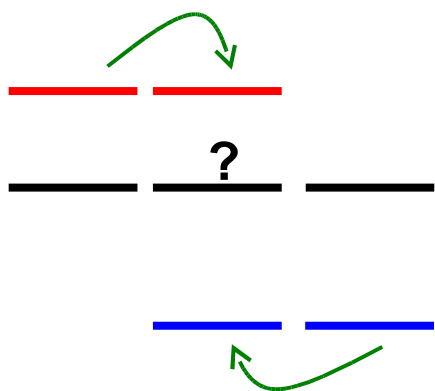
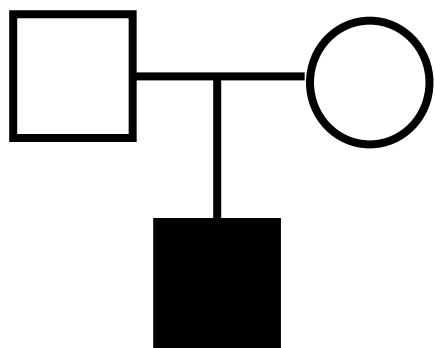
Nondisjunkce u Downova syndromu



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

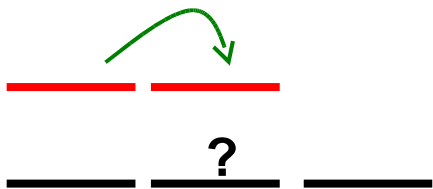
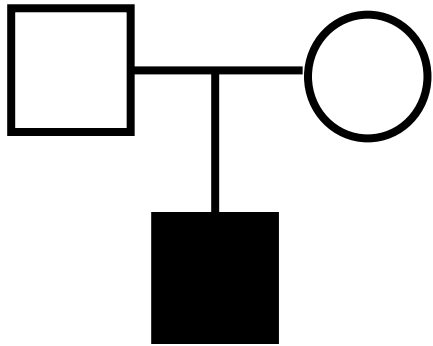
Od kterého z rodičů zdědilo dítě třetí kopii chromozómu 21?
V kterém meiotickém dělení došlo k nondisjunkci?

Nondisjunkce u Downova syndromu

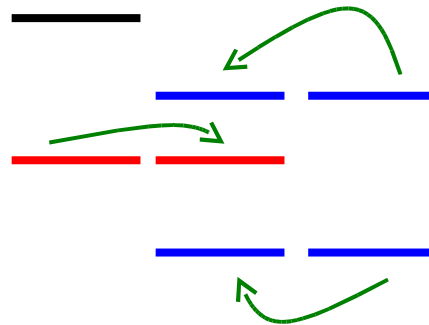
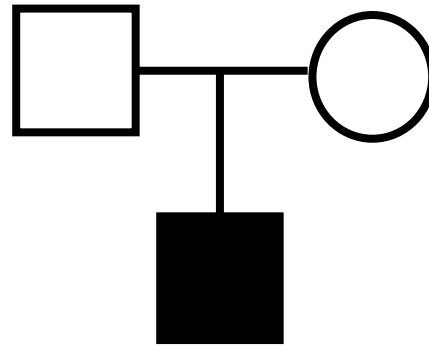


*Meióza I u otce
nebo u matky*

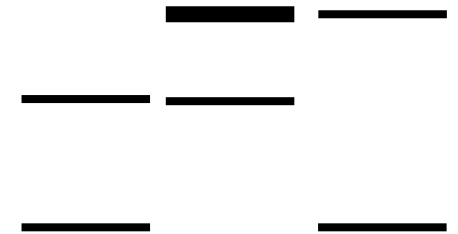
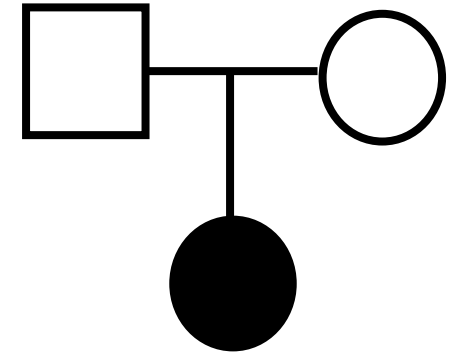
Nondisjunkce u Downova syndromu



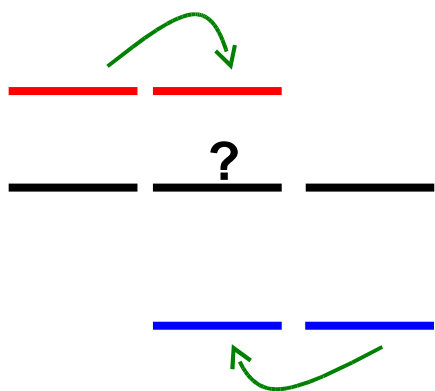
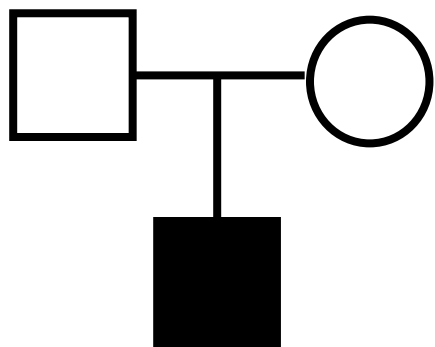
*Meióza I u otce
nebo u matky*



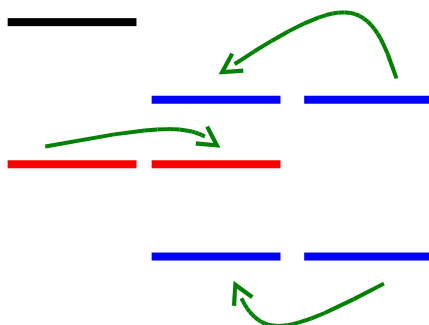
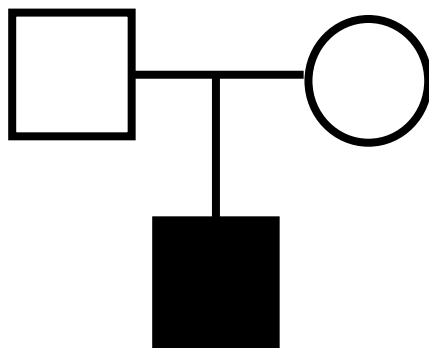
Meióza I u matky



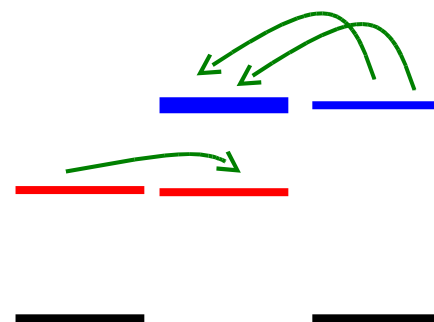
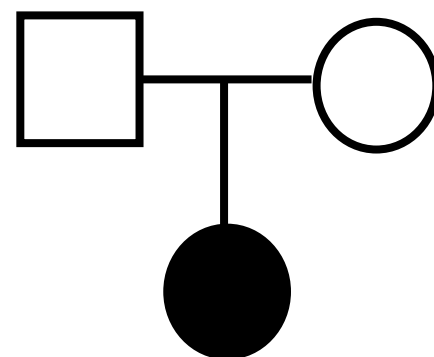
Nondisjunkte u Downova syndromu



*Meiόza I u otce
nebo u matky*

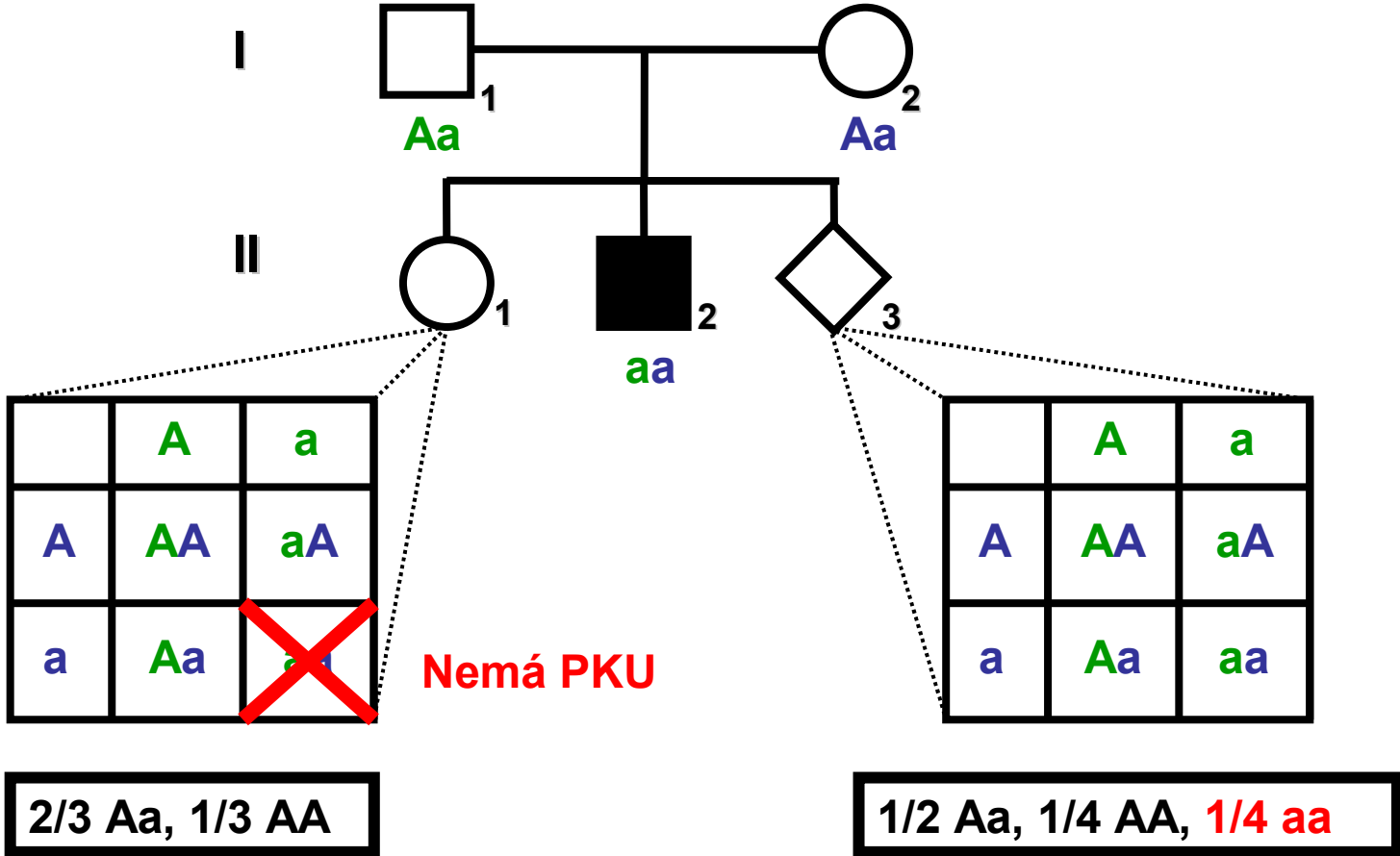


Meiόza I u matky



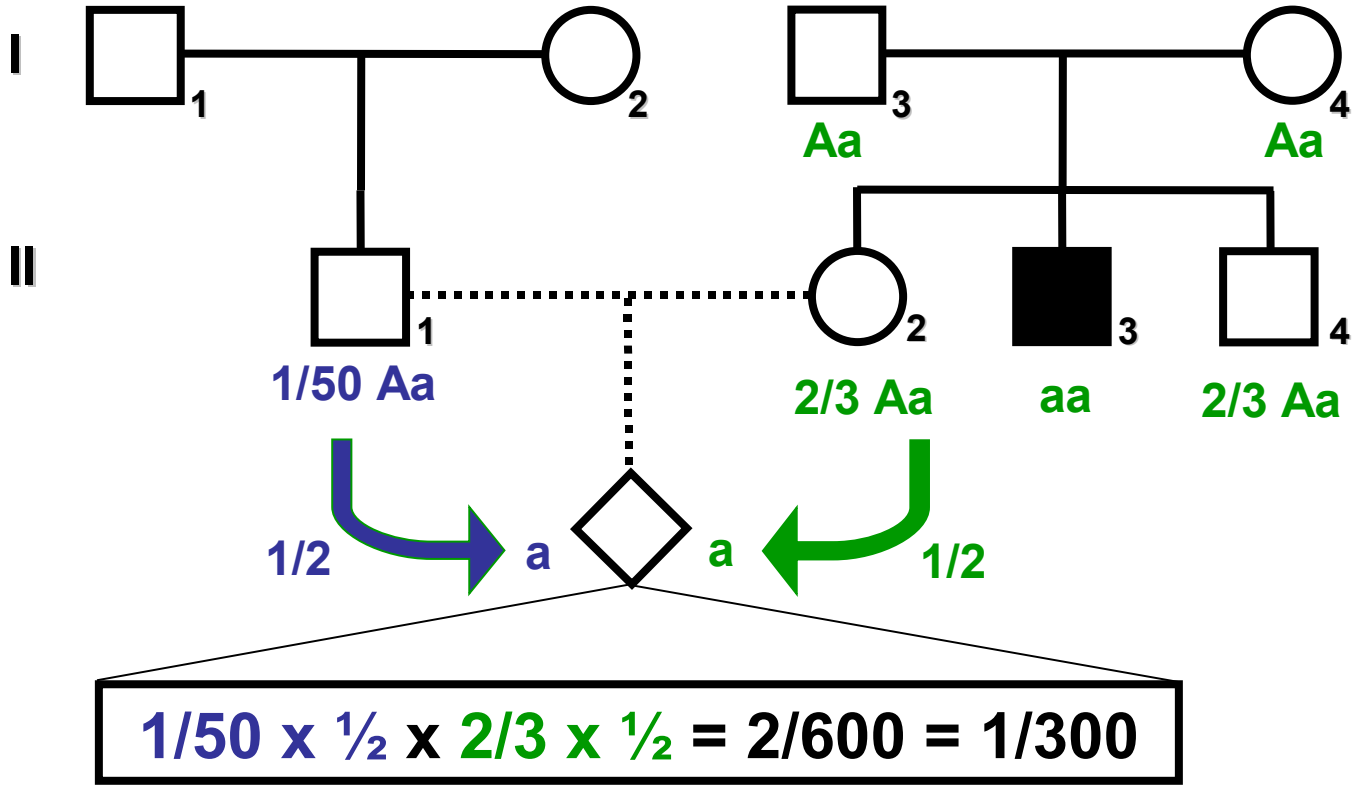
Meiόza II u matky

Úkol č. 1, str. 95, PKU



Prenatální dg. v té době nebyla možná. Riziko 25% umožňovalo rodičům požádat o ukončení těhotenství ze zdravotních (genetických) důvodů. Screening po narození dítěte by odhalil onemocnění, dietní opatření by umožnila relativně příznivý vývoj

Úkol č. 2a, str. 95, PKU (incidence 1/10000)



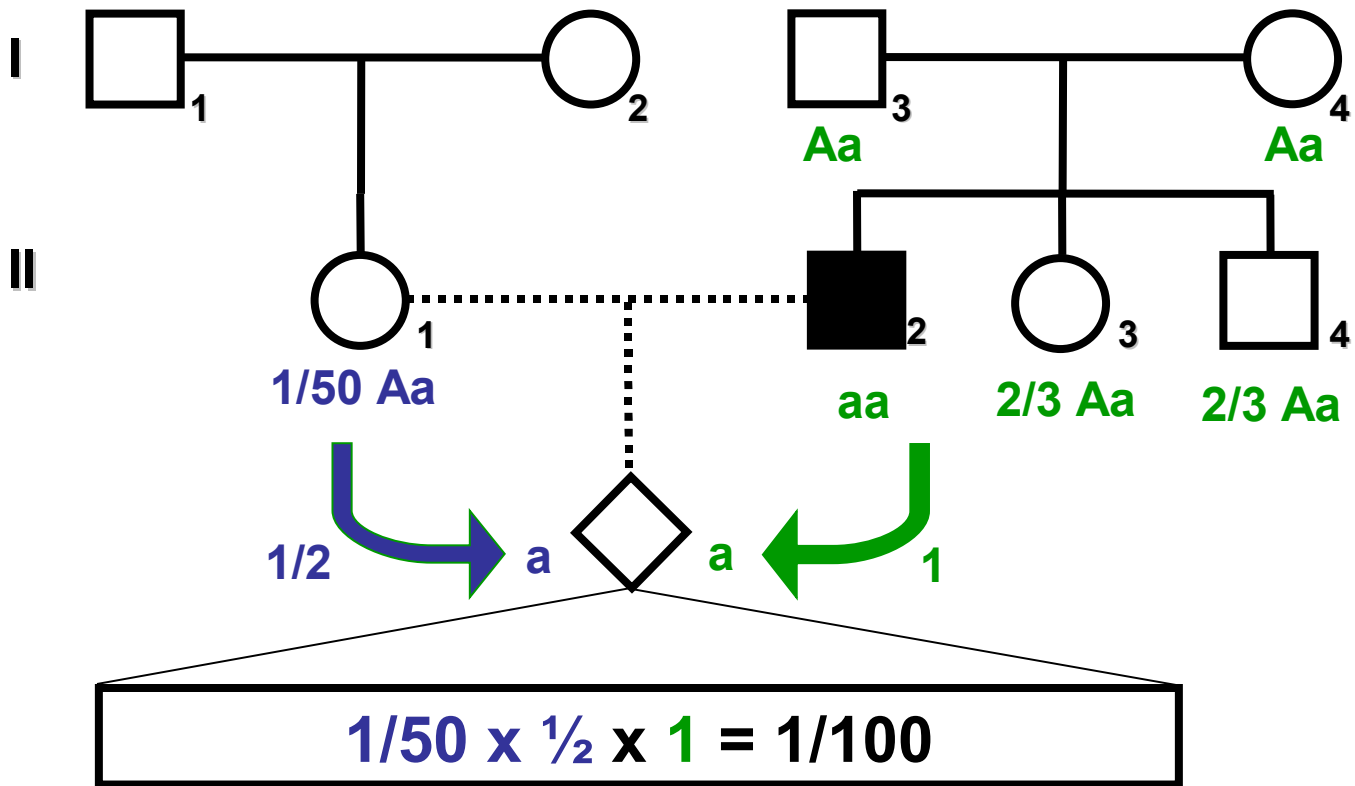
$q^2 = 1/10000$

$q = 1/100$

$2pq = 2 \times 99/100 \times 1/100 = 1/50$

Riziko postižení nízké, zátěžové testy v případě PKU málo přesné, lze doporučit DNA analýzu. Je nutné mít dostatek času na provedení vyšetření DNA v obou rodinách !! Jinak není možné přistoupit k prenatální dg.

Úkol č. 2b-1, str. 95, PKU (incidence 1/10000)

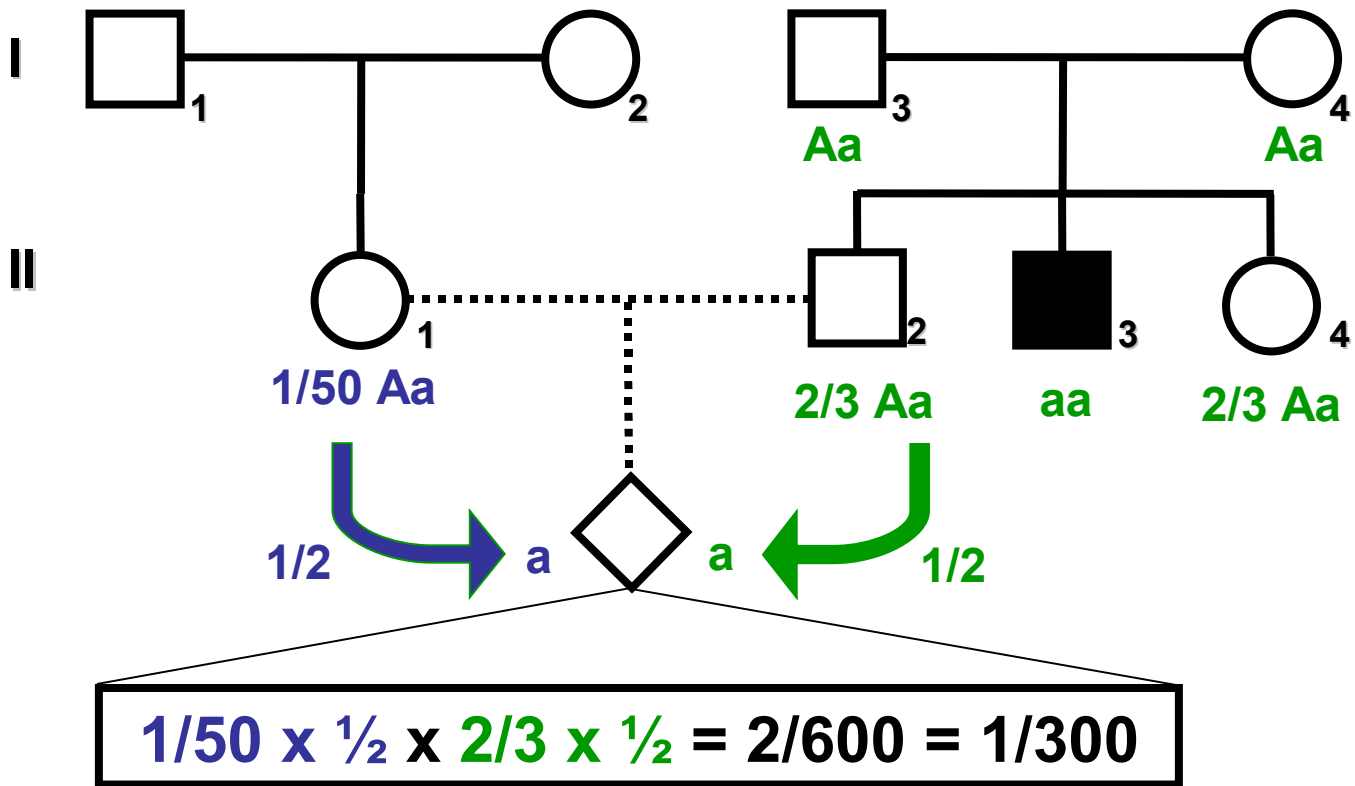


$q^2 = 1/10000$

$q = 1/100$

$2pq = 2 \times 99/100 \times 1/100 = 1/50$

Úkol č. 2b-2, str. 95, PKU (incidence 1/10000)

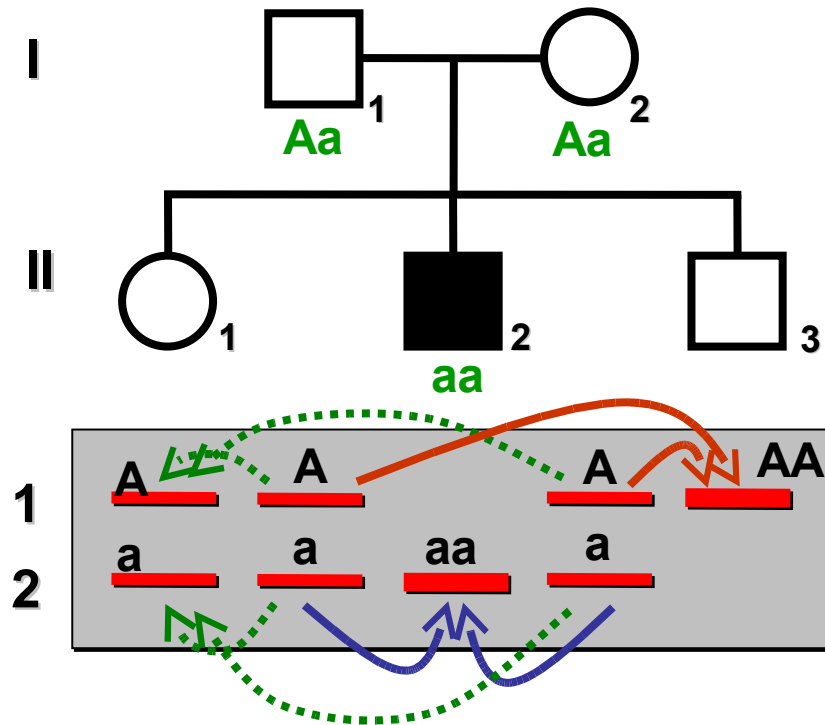


$q^2 = 1/10000$

$q = 1/100$

$2pq = 2 \times 99/100 \times 1/100 = 1/50$

Úkol č. 3, str. 96, PKU



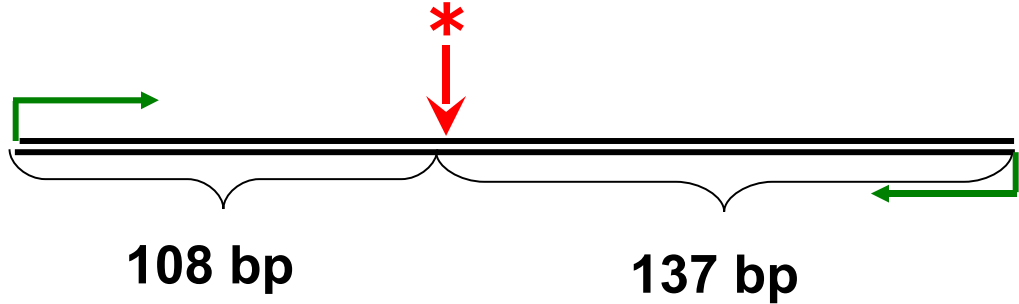
- ANO, rodina je informativní z hlediska genotypu dětí.
- Intragenová sonda, dcera tedy JE heterozygotní.
- Intragenová sonda, syn tedy JE dominantní homozygot.
- Jedná se o nepřímou diagnostiku, NELZE využít mimo kontext dané rodiny.

Úkol č. 4, str. 96

**R408W
(Sty I)**

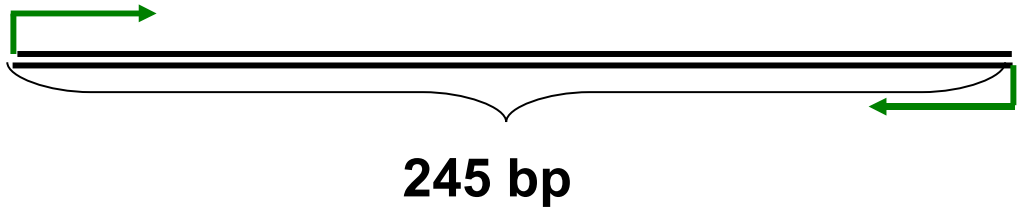
**Mutovaná
alela**

R408W

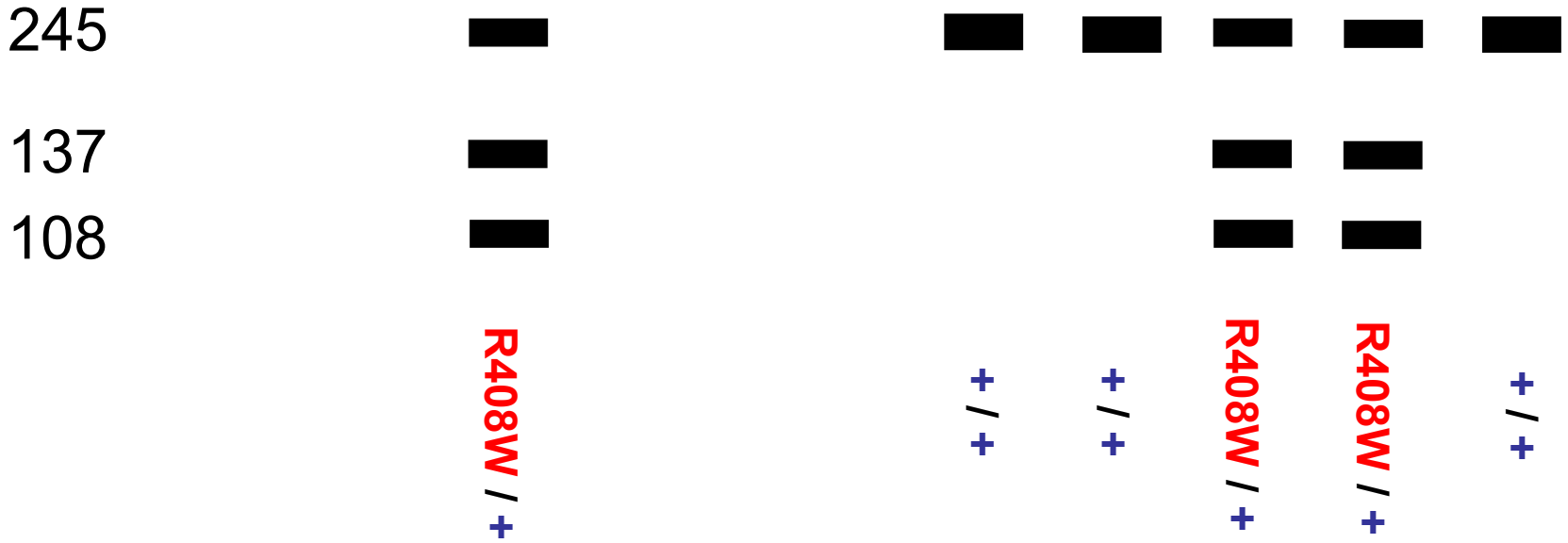
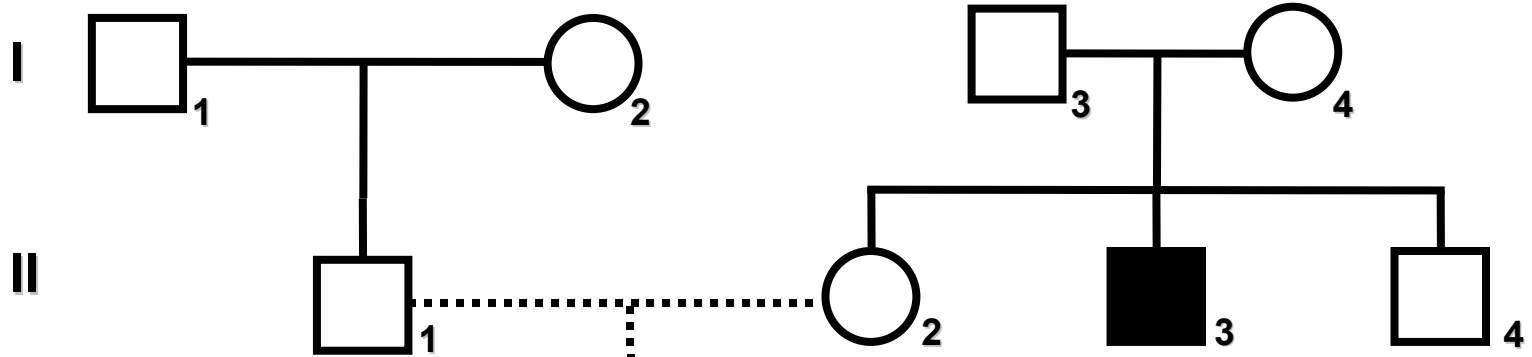


**Normální
alela**

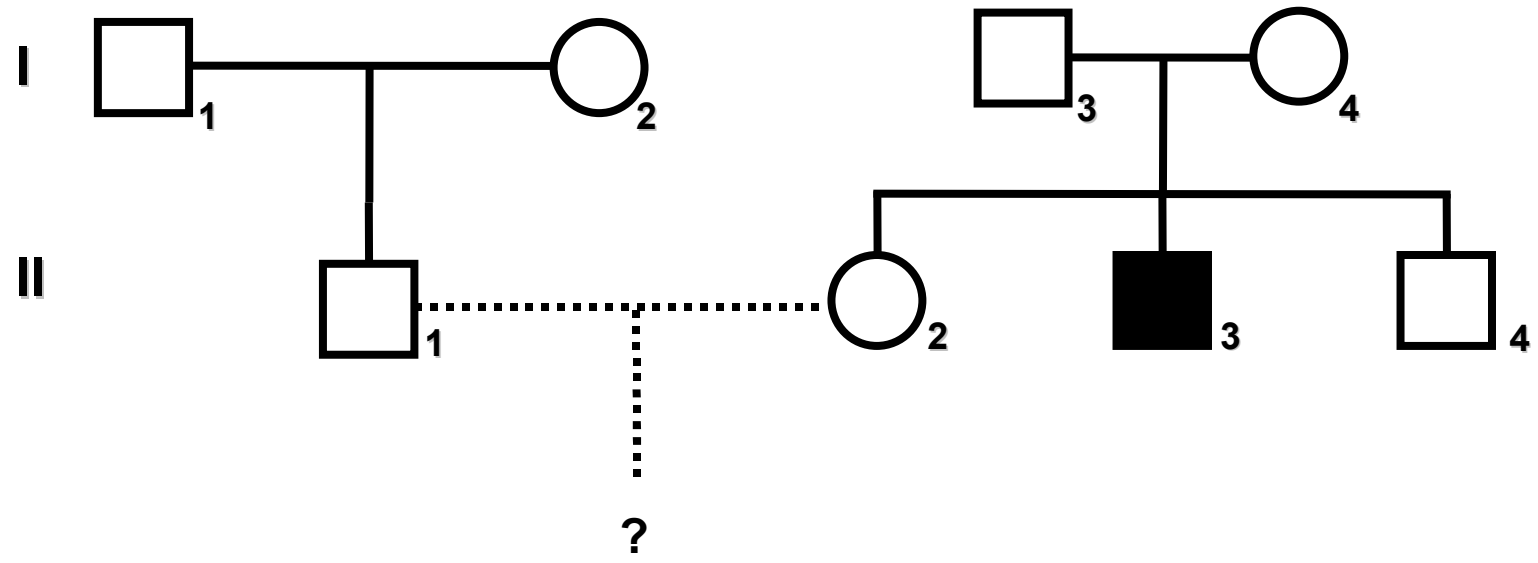
+



Úkol č. 4a, str. 96-97



Úkol č. 5, str. 97-98 – výsledky SSCP pro EXON č. 6

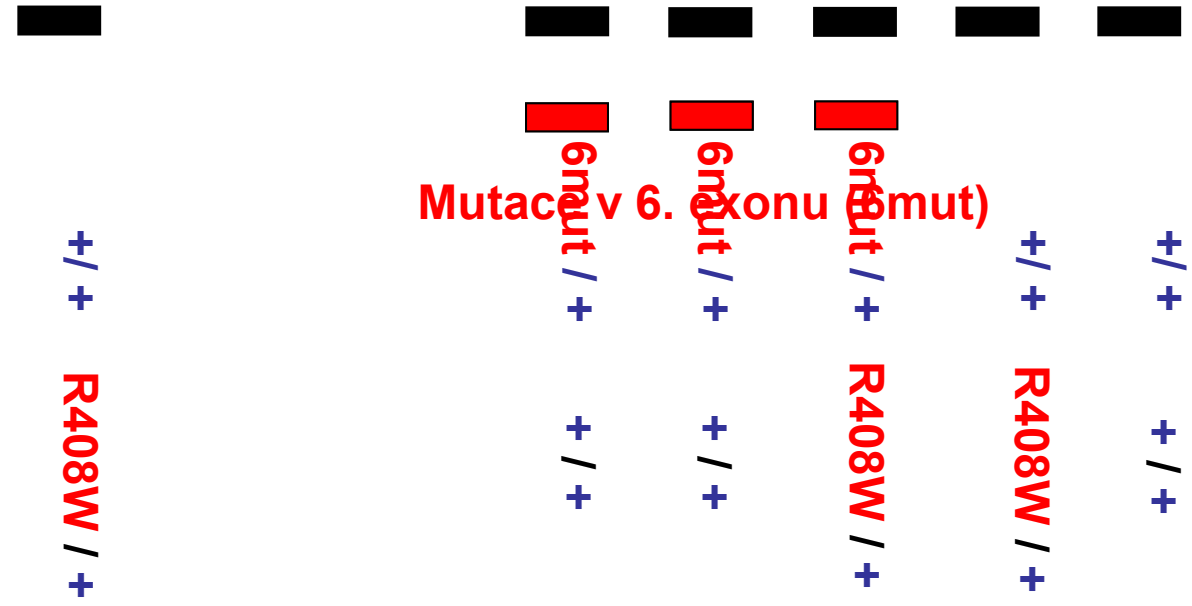


GENOTYP

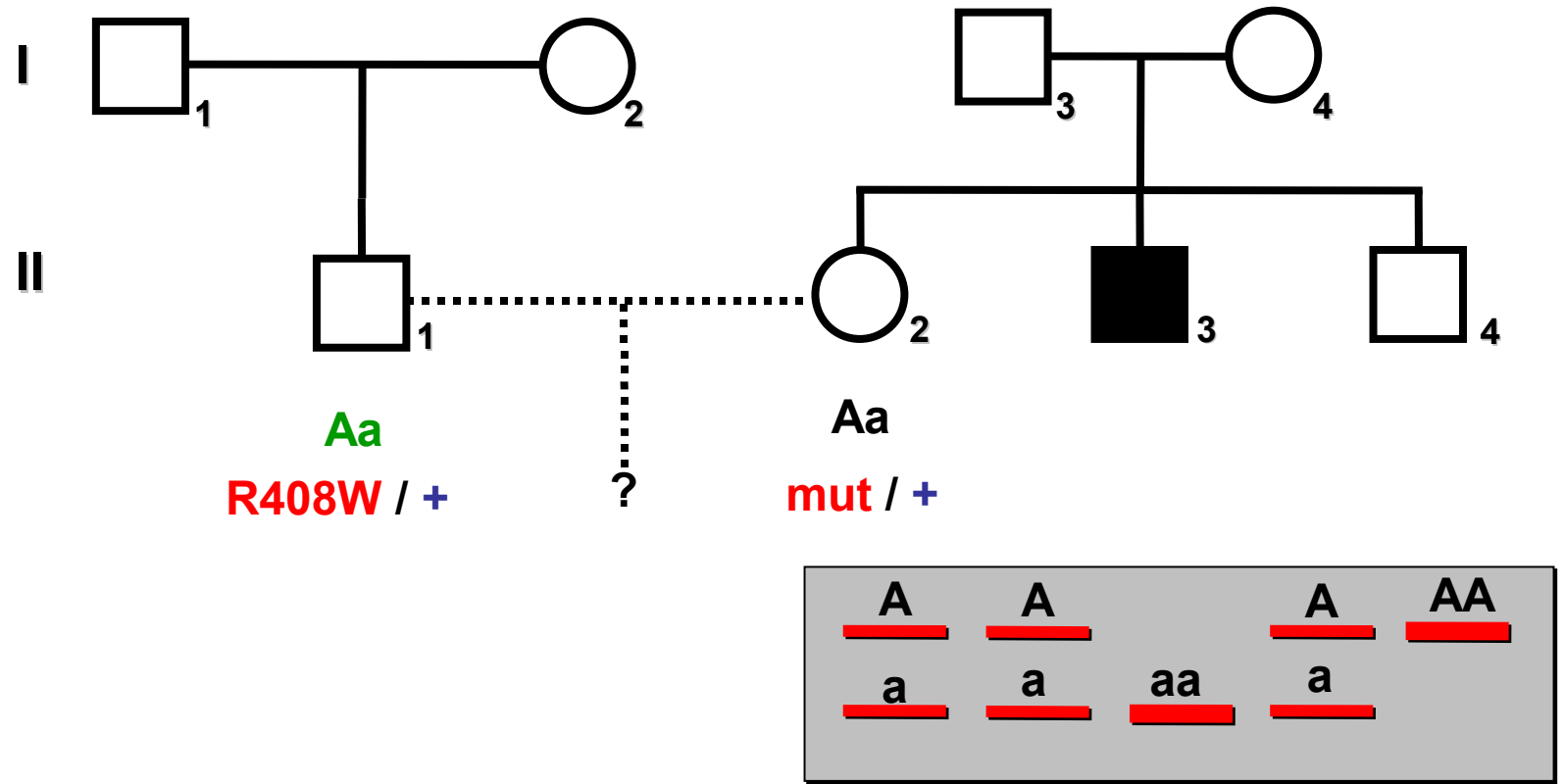
6mut / +

Mutace v 6. exonu (6mut)

R408W / +



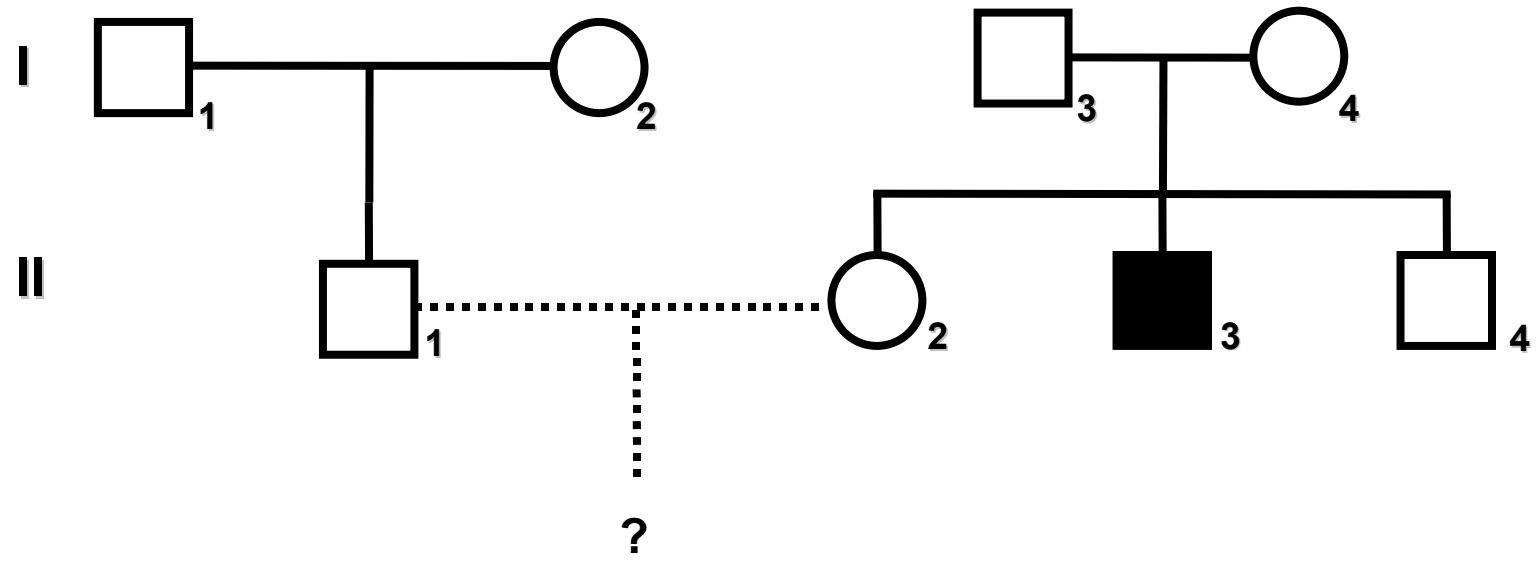
Úkol č. 4c,d, str. 97



c) Bylo by lepší znát druhou mutaci v rodině snoubenky, kterou musí mít II/3 a nejspíše i I/3. Spojením s nepřímou diagnostikou bychom mohli stanovit genotyp nenarozeného potomka snoubenců. Klinický genetik rozhodne, zda v této fázi prenatální vyšetření nabídnout snoubencům.

d) Pátrání po druhé mutaci v rodině snoubenky (ETIKA - poučený souhlas !)

Úkol č. 5, str. 97-98 – výsledky SSCP pro EXON č. 6

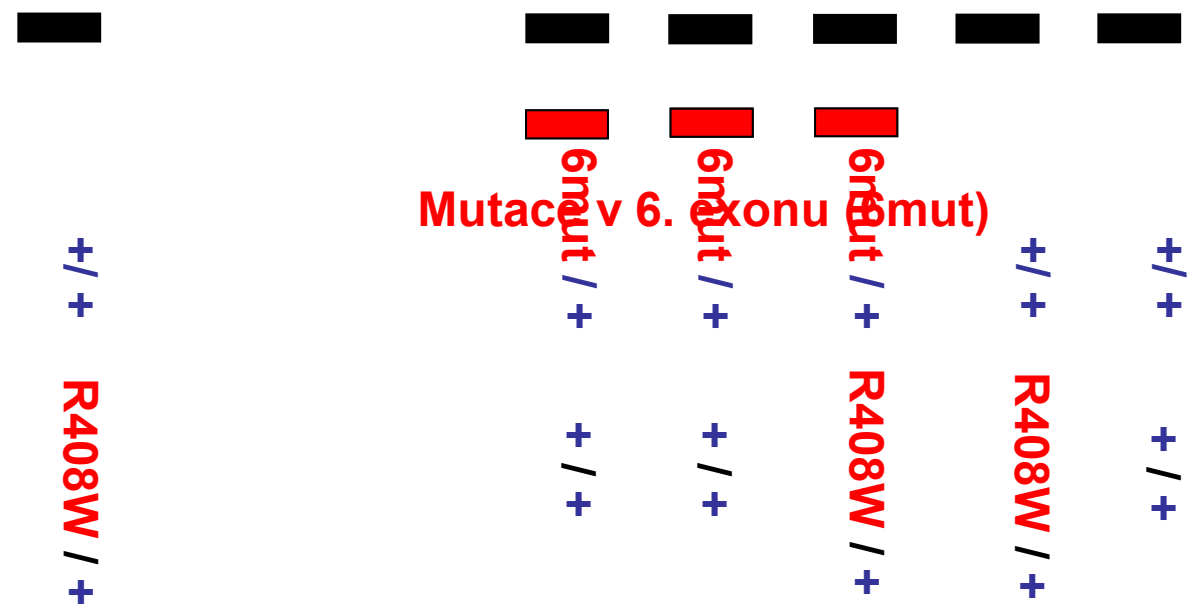


GENOTYP

6mut / +

Mutace v 6. exonu (6mut)

R408W / +



Úkol č. 5, str. 97-98

b) Biopsie trofoblastu (odběr 10.-12. týden gravidity), amniocyty po 15.-16. týdnu gravidity

MOŽNÉ POSTUPY

- nepřímá DNA analýza (RFLP), po doplnění vyšetření v rodině snoubence, pokud bude informativní
- přímá DNA analýza R408W, SSCP 6.exonu
- kombinace obou předchozích
- bude-li v době gravidity určena 6mut – přímá analýza
- sekvenování

Metodu volí specialista v laboratoři.

Úkol č. 5, str. 97-98

Poznámka:

Dle současných platných právních a etických norem:

- c) Odběr tkáně za účelem izolace a vyšetření DNA je vázán na poučený souhlas „pacienta“. U nezletilých o vyšetření rozhodují zákonní zástupci.
- d) Od okamžiku, kdy je známo, že snoubenci jsou heterozygotní, je možno na žádost ženy indikovat ukončení gravidity ze zdravotních (genetických) příčin pro 25% (vysoké) riziko závažné vady či choroby plodu. Teoreticky až do 24. týdne gravidity.