



Μοριακή Ιατρική

*Γιάννης Βασιλόπουλος
Επίκουρος Καθηγητής Γενετικής*

Μοριακή Ιατρική

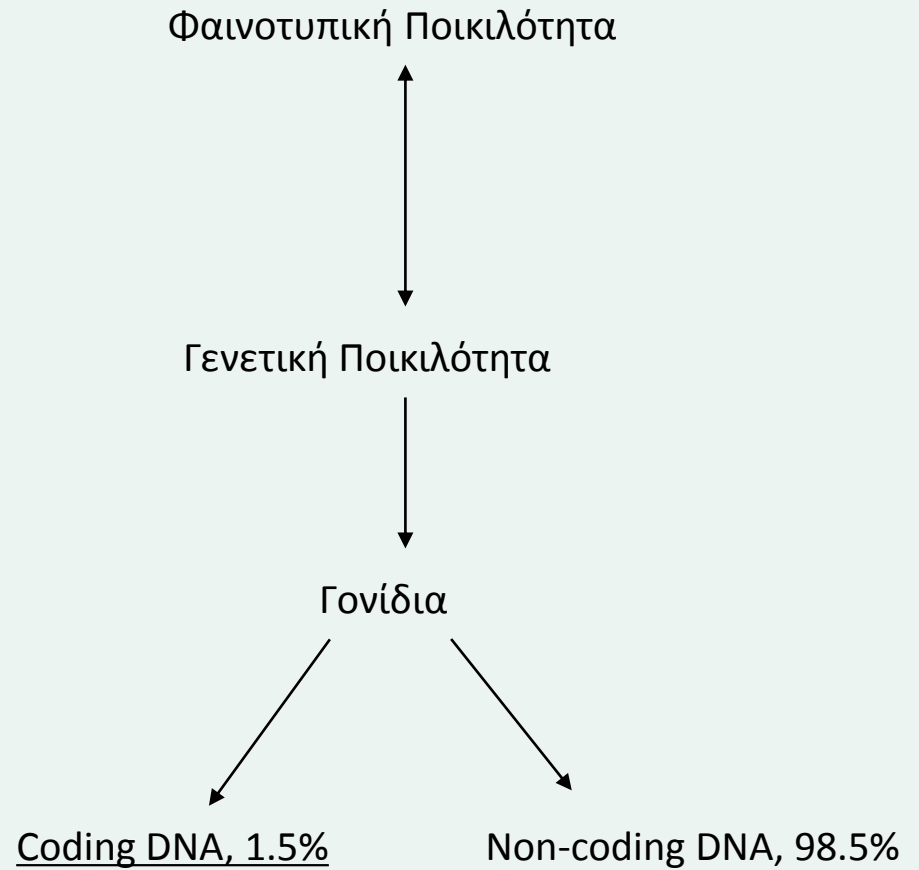


Μοριακή Ιατρική → Βιολογία + Ιατρική

Γονιδιωματική και ανθρώπινο γονιδίωμα

- Γενετική: Μελέτη στο επίπεδο μεμονωμένων γονιδίων, ποια η λειτουργία, πότε εκφράζεται, με τι αλληλεπιδρά?
- Γονιδιωματική: Ποια είναι η δομή του γονιδιώματος, σε πόσα αντίγραφα εμφανίζεται κάθε γονίδιο, πότε εκφράζονται, τι λειτουργία έχουν και πώς αλληλεπιδρούν? Τι ομοιότητες υπάρχουν μεταξύ οργανισμών.

Ποικιλότητα στην μοναδικότητα και στην ευπάθεια



Πεπρωμένο, Ποικιλομορφία και Πυρηνικά Οξέα

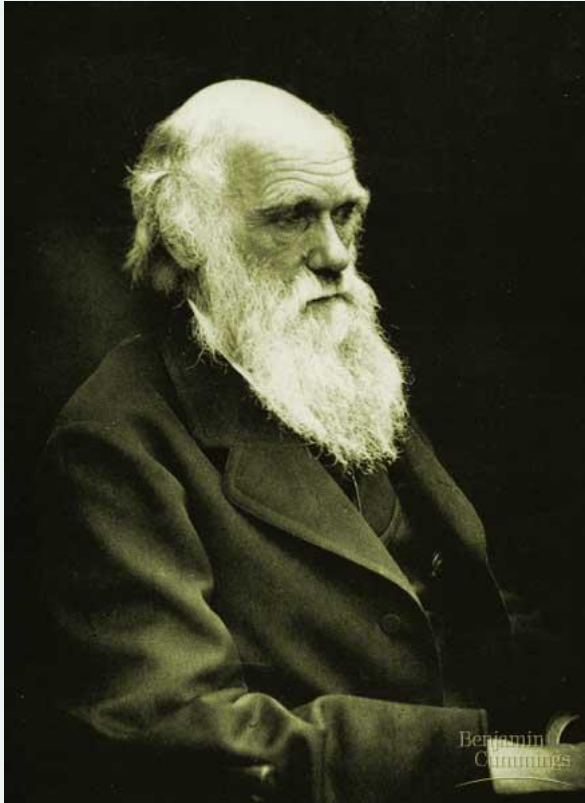


99.6%

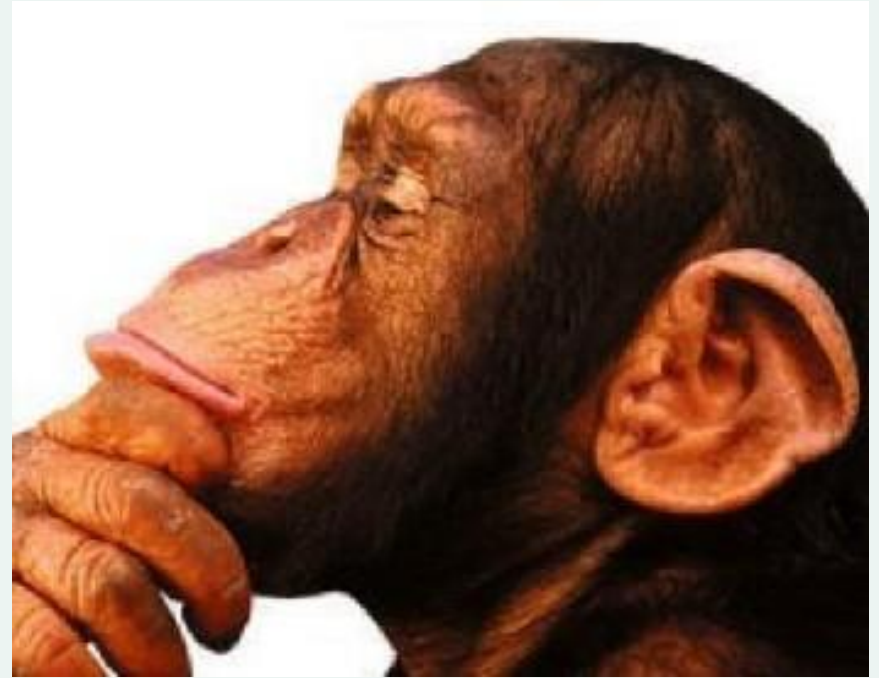


Πόσο διαφέρουμε μεταξύ μας?!!!!!!

Πεπρωμένο, Ποικιλομορφία και Πυρηνικά Οξέα



99%



Πόσο διαφέρουμε με άλλους οργανισμούς?!!!!!!

Πεπρωμένο, Ποικιλομορφία και Πυρηνικά Οξέα

Πεπρωμένο.....Type I Diabetes

Ποικιλομορφία.....Type II Diabetes

Πυρηνικά Οξέα.....DNA, RNA

Πεπρωμένο → Ένα βιβλίο με κενά που καλούμαστε να συμπληρώσουμε εμείς!!!!!!

Jim Fixx



5'10", 150 lbs
Marathon runner
Healthy lifestyle promoter
Died MI, age 52 (while running)
Father died MI age 43

Winston Churchill



5'8", 270 lbs
Legendary gluttony
Smoker
Slothful
Died age 90

2001...Αποκωδικοποίηση του Γενετικού Κώδικα του ανθρώπου

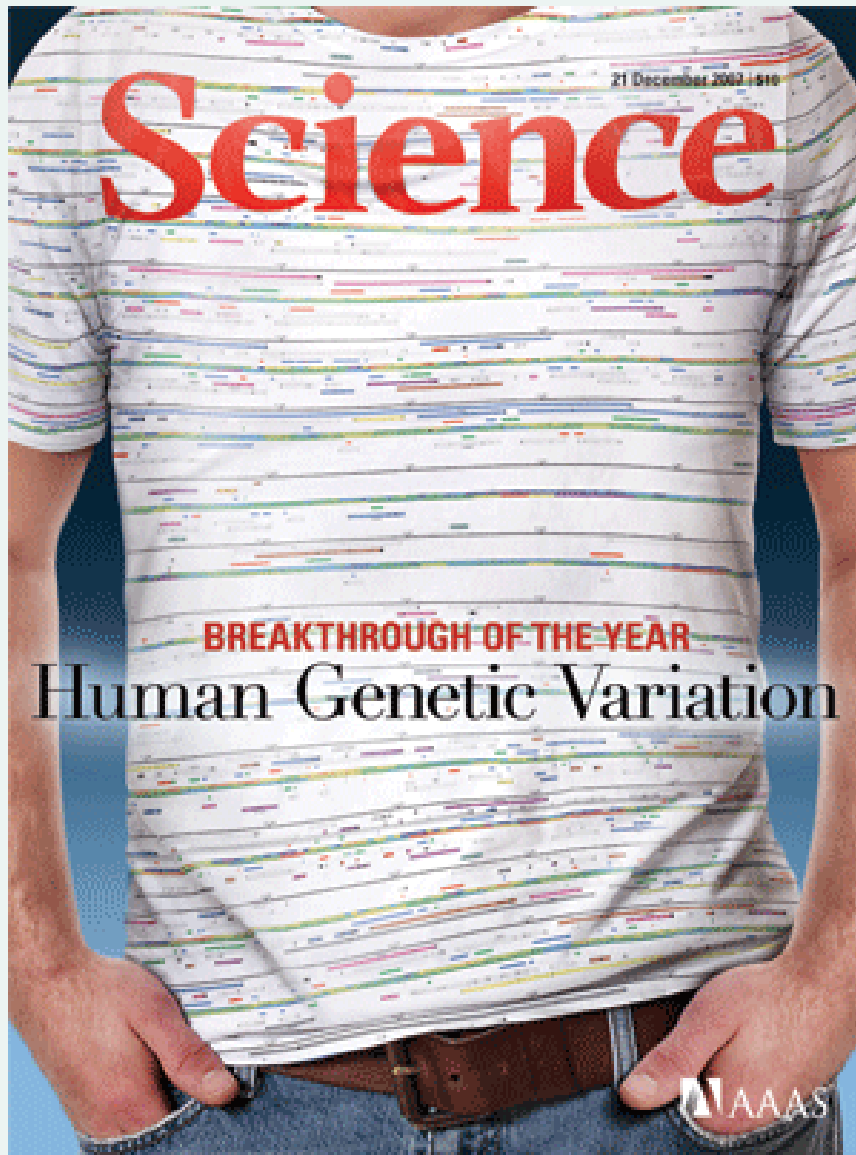
GAATTCCTTTGGTATCCAATGAAGAAATCGAATCCATACCCATAGCTATAAAAAACAT
TTCAGGAGAAAAATAGACCGAAGCTGCTCAATTAGCGCAATGATTCGTTTCAAAAAAT
GTGAAACTTGCCAGCTTACTTCGGCATGTCTGGTCAATTTGGAAAAATTCATCTTACT
CAACCATTATTTAAAGTCGCATTTAAAAAATGTTGAAAAATTTTTAAATATACTTG
TTCTTTCTGTGGTGCCTTACAAAAATCTTGAATCTTGGAAATGATCAAGCAGATAGACG
AACGAAATACTGGAATAACAGTTAAAGATCGTGCTGCTTTTAAAAAAATTTTAGAAGCT
ACCAAACAAAGCAAATCAAGTGTATTGCACCTAATTGCCAAAAACAAGTCTCTCCTTT
ACAATATTGAAAAATAATAACTTTATATATAAATTCGGGTACTACAAAGGGTATAGTTT
TGGATAACAGGCATGTGTTAATATCTTACAAAAATCTCCACAAAACGTTAAATATATG
TTAACCCCTTCGAATGCTCATCAAATCGTATCTCCGAAAAATGCTTTTATGCTAATAG
TATCTTACTTCCACCACATAATCTACGAATCAATGTTTATGATGGTCAGGTTACGA
GTTTGTAAACAAGTGATTTGAATCTGATAATGCGAAGAGTTGCTAATAATGAGACAAAT
GCAAAAAATACAAAAAATCTTGGATTCTATCGATAACAGCCGAGGTGCCAATCCATATGC
TACAAATAAAAAGCTTACTTTGGATACTTTGACAGGTGGACACTCAAAGAATCTTAT
TGCGAAGTTATATTAATGGCAACGTAATTCCTGAGACTGCCAGAGCTGTAATCGAACC
TCTATGAATAAAAATCTGGCTTTATTTGAAGTACCATCTACATTTTAAACAAGTTAAGAGA
TGTTGTCTTTTATAATCACGTTACGAAAGATAACATACTCAAAGTCTTCAAACGAAC
AAGCTTTTCTAACATATATCAAAGTGATCATAATCTGAAAAATCCTTATATGGTTTAT
GATTTAGCACAGAAGAAATGGATATTTAACCTTGGCTCCTAATTTCCGGTGATATTTT
AAAAAGGAAAGAGGAAAGTGGTTTTGTAACATTTGCGAGACATCCATCTATCTGGTTAA
CTAATATCCAATCTGGTATAATAAAAAAGATCAGAAGGGTTTACTATTAACATCCCAACC
ACAATTTGCACATCTTTTAAATGCTGATTTTGGATGGAGATGAGATGACAATATATCTTT
CAAATCCCATGTGCCAATCTCGAACAGCTTTGATATGAACCTCACGAAATCTCTTCA
AAAAATCTATAACAAGCAATCCAATGTTCCGGCTTGGTCCAAGATCAAATACCAGCCTTG
AATAAGTTATATAGACGACAAAATTAACATATAACGATCGCTTGGTGATTTTAGGACA
ATTCGGATTTCTGTTAACACCTGGAAAAAGATAATTAACCGAAAAAGATATACTTTCTT
GTGTATTTCCAAAAACATATACACTCAAAGGAATTTGTTAAAAATGGCGAACTTATTTG
GAGAATTTTACAAATAAATCGTTTCCGCAAAATCCTCAAAGTCCATCTTTGGGCATCT
TGTTTTATTTTATGGACAAGAGTATGGTTTGACTATATTGGATACAATGCGAGATTTG
TTCAAAAATTTTATTACACATTTTGGTTTTCAGTGTAATAAATCCGAGATATGATCCCAAGC
CCAAAAATTTTGGATATTTAGAAAAAGATCGTAGACCAAGAAGTGGATAAAATGATAA
ACAAACAAAACCTCTATATGACGATATCGAACAAAGGTAAGGTTATAATCAACTCTTATG
ATGATATTTCTGAGTTCAGATTAATAAATGTTGGCTATATGAAAAAGAACTAGAAAAGC
AACTTTTGGAACTTTTGGATGAATATATGATGAAGACAATAATTTCTAGAGATGTA
TAGAACGGGATATAAGGTCAACATTAACGAACCTCTCTCTATTTATGTTGTTCTCGGGTT
TTAAAAATTTATGAAAAATATCGAAATGATTACACCGGCTTAAATGGTAAAACATCTTTG
TTTAGCTTACCAGATTTCTATAAATTTACAAGATTAATGGGTTTCATCAAAGCTCTATTGC
CAAAGGTTAACGTTTGAAGAATATGCTACAATCGTAAAAACAAGAAGCTTTTCCACAAA
TTGTTAATGTTACAACCTGGTACTTCAAAAACAGGATTTTGGGGAAAAAAATGGTTAAA
ATGGCTTCTGAATTC

3 Δισεκατομμύρια βάσεις!!!



400 Τόμοι Βιβλίων!!!

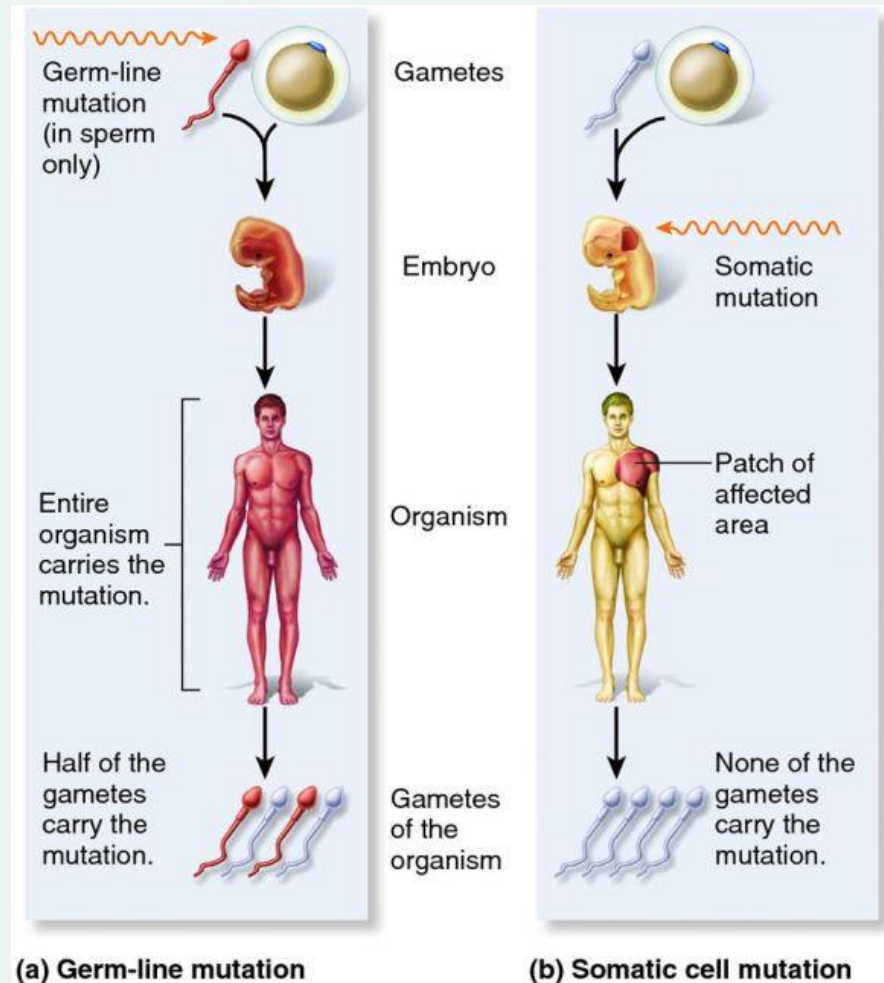
Το γονιδίωμα του ανθρώπου



- 3 billions base pairs (ATGC)
- 20,000 protein-coding genes
- 99.6% inter-individual identity (yet 4 millions differences)
- 99% identical to chimpanzee genome (yet 6% different genes)

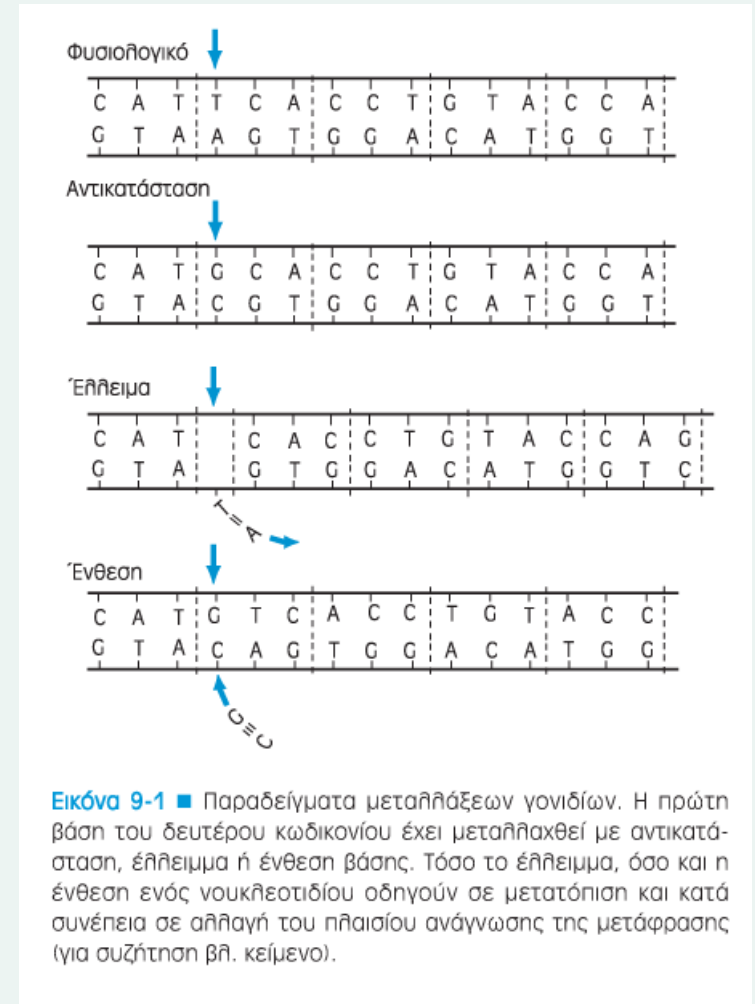
Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

- Κληρονομήσιμες μεταβολές (τυχαία) στο DNA που εντοπίζονται σε ένα γενετικό τόπο → η πηγή όλης της γενετικής ποικιλότητας



Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

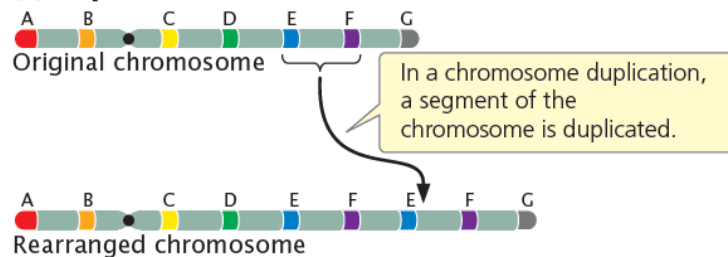
- **Γονιδιωματικές μεταλλαγές** – αριθμός χρωμοσωμάτων, ανευπλοειδία, μειωτικές διαιρέσεις, συχνές σε καρκινικά κύτταρα.
- **Χρωμοσωμικές μεταλλαγές** – δομή χρωμοσωμάτων, σπάνιες.
- **Γονιδιακές μεταλλαγές** – σφάλματα στην αντιγραφή του DNA αλλά και στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA.



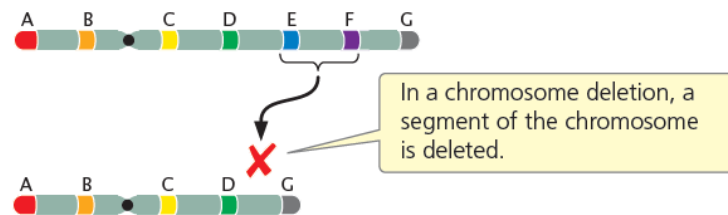
Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

- Χρωμοσωμικές μεταλλαγές – δομή χρωμοσωμάτων, σπάνιες.

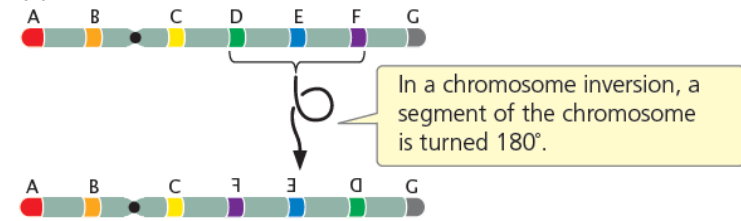
(a) Duplication



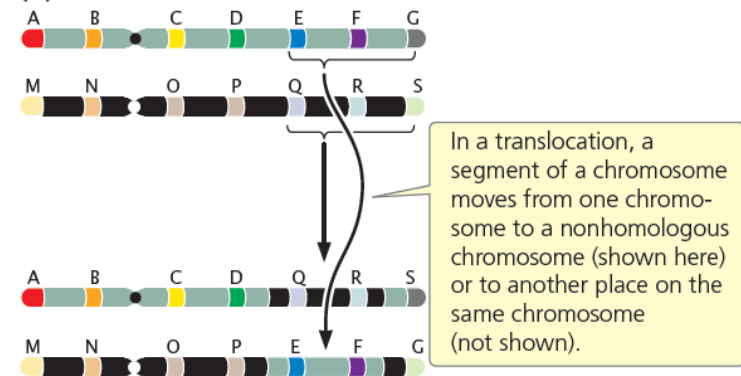
(b) Deletion



(c) Inversion

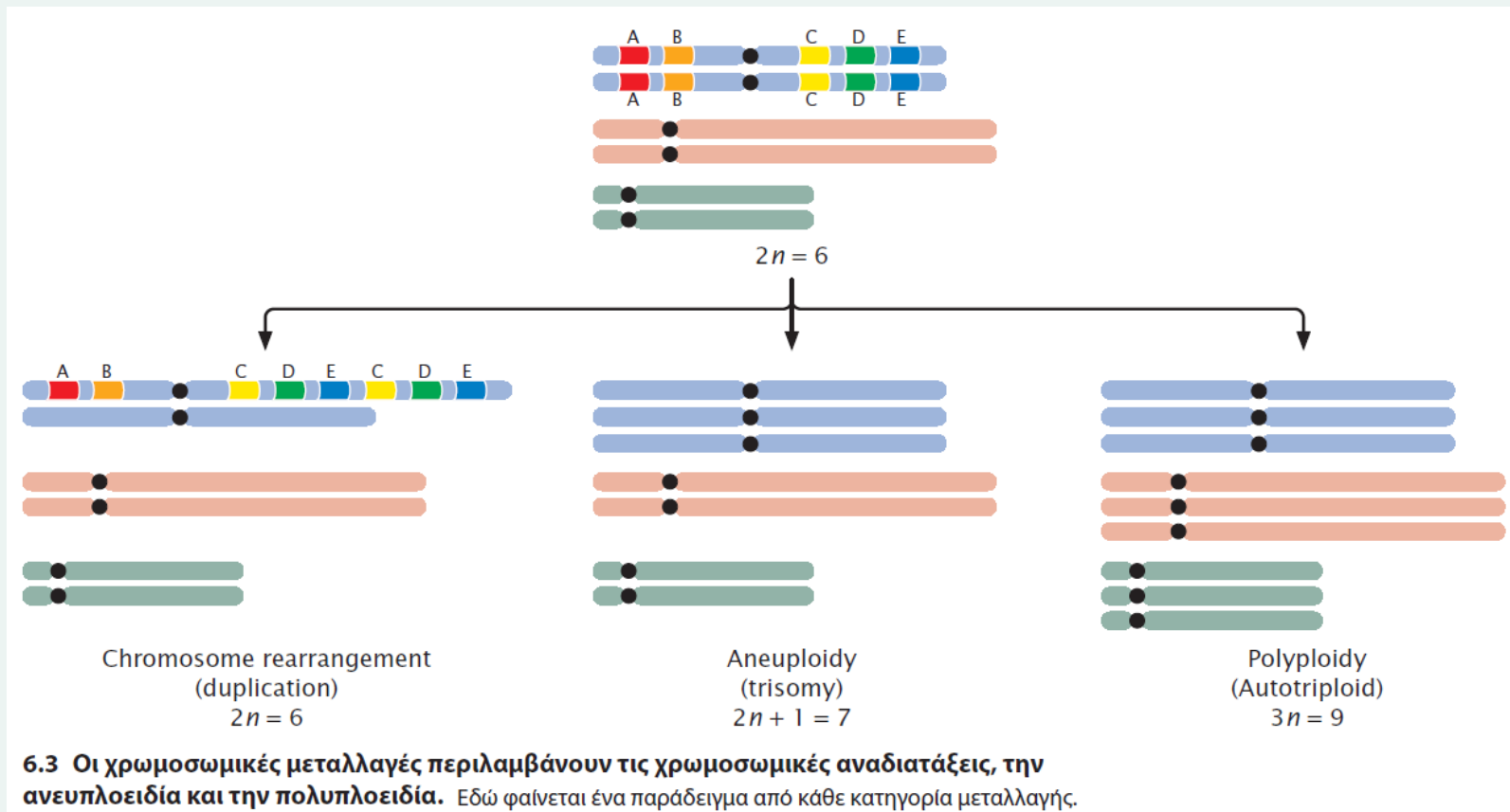


(d) Translocation



Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

- Γονιδιωματικές μεταλλαγές – αριθμός χρωμοσωμάτων, ανευπλοειδία, μειωτικές διαιρέσεις, συχνές σε καρκινικά κύτταρα.



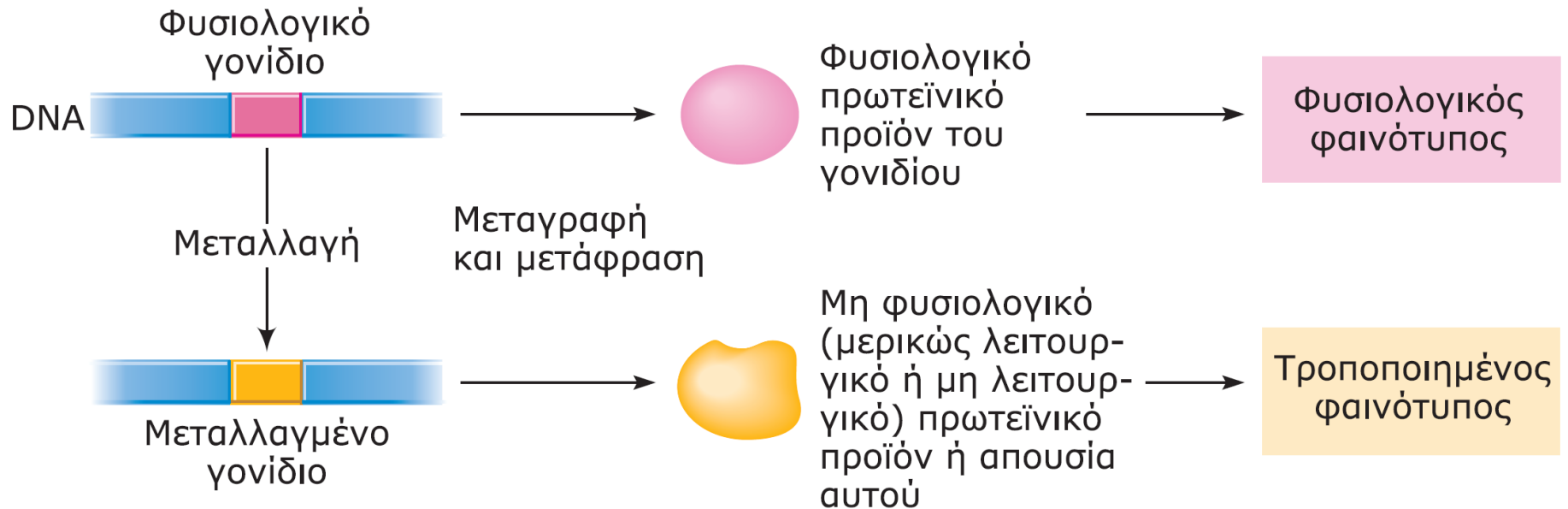
Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

- **Γονιδιακές μεταλλαγές** – σφάλματα στην αντιγραφή του DNA αλλά και στην επιδιόρθωση βλαβών του DNA.
 - λόγω δυσλειτουργίας κατά την αντιγραφή του DNA, τοποθετώντας μία λάθος βάση στην πολυνουκλεοτιδική αλληλουχία.
 - λόγω χημικής μετατροπής: αυτόματων μεταβολών ή τροποποιήσεων βάσεων λόγω απώλειας βάσεων.
 - λόγω δράσης ελευθέρων ριζών.
 - είτε από υπεριώδη ή ιοντίζουσα ακτινοβολία.
 - λόγω αλληλεπιδράσεων με το περιβάλλον.

Μεταλλάξεις/Μεταλλαγές

Συνέπειες των μεταλλαγών στην κωδική περιοχή ενός γονιδίου.

Σημειώστε ότι δεν οδηγούν όλες οι μεταλλαγές σε τροποποιημένες πρωτεΐνες (όπως παρουσιάζεται στο γενικευμένο παράδειγμα της εικόνας αυτής) και ότι δε συμβαίνουν όλες οι μεταλλαγές σε κωδικές περιοχές.



Μεταλλαγές

Αλληλουχία τμήματος
ενός φυσιολογικού γονιδίου

Αλληλουχία
μεταλλαγμένου γονιδίου

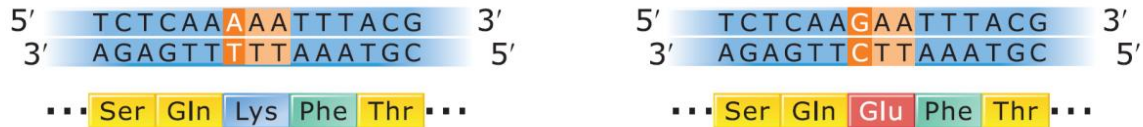
α) Μεταλλαγή μετάπτωσης (AT προς GC στο παράδειγμα αυτό)



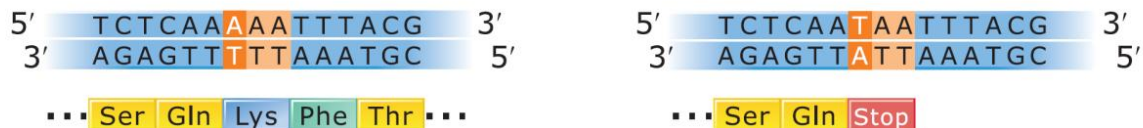
β) Μεταλλαγή μεταστροφής (CG προς GC στο παράδειγμα αυτό)



γ) Παρερμηνεύσιμη μεταλλαγή (Μετατροπή ενός αμινοξέος σε ένα άλλο. Εδώ, μία μετάπτωση από AT σε GC μετετρέπει ένα κωδικόνιο λυσίνης σε κωδικόνιο γλουταμινικού οξέος.)

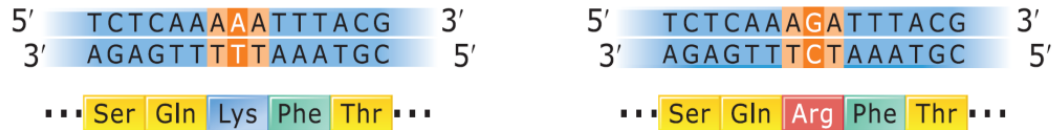


δ) Ανερμηνεύσιμη μεταλλαγή (Μετατροπή του κωδικονίου ενός αμινο-ξέος σε κωδικόνιο λήξης. Εδώ, μια μεταστροφή από AT σε TA μετα-τρέπει ένα κωδικόνιο λυσίνης σε κωδικόνιο λήξης.)



Μεταλλαγές

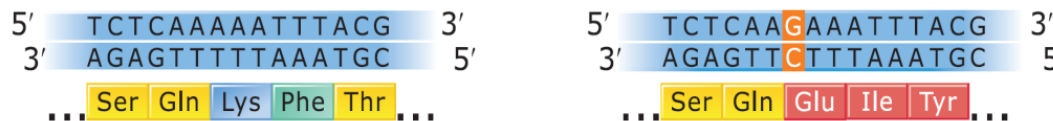
- ε) Ουδέτερη μεταλλαγή (Μετατροπή του κωδικονίου ενός αμινοξέος σε κωδικόνιο ενός άλλου αμινοξέος με παρόμοιες χημικές ιδιότητες. Εδώ, μια μετάπτωση από AT σε GC μετατρέπει ένα κωδικόνιο λυσίνης σε κωδικόνιο αργινίνης)



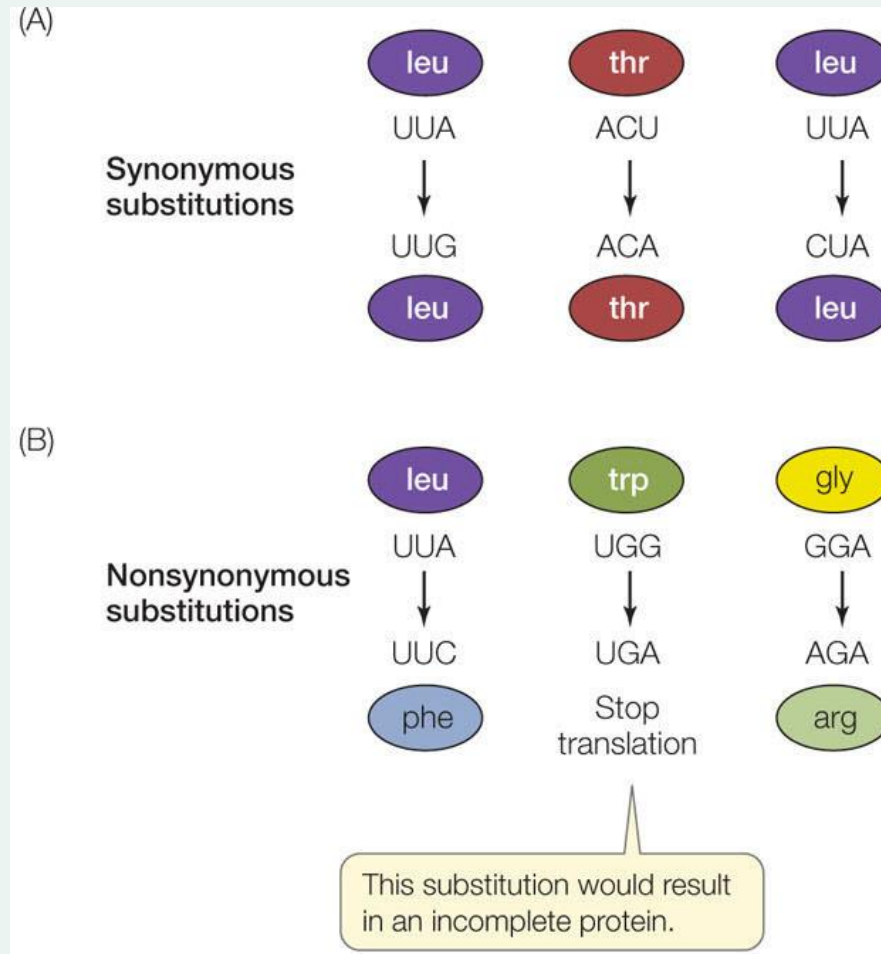
- στ) Σιωπηλή μεταλλαγή (Αλλαγή ενός κωδικονίου σε άλλο κωδικόνιο που αντιστοιχεί στο ίδιο αμινοξύ. Εδώ, λόγω μιας μετάπτωσης από AT σε GC στην τρίτη θέση ενός κωδικονίου λυσίνης προκύπτει ένα άλλο κωδικόνιο που κωδικοποιεί και πάλι λυσίνη.)



- ζ) Μεταλλαγή μετατόπισης αναγνωστικού πλαισίου (Η προσθήκη ή η εξά-λειψη ενός ή περισσότερων ζευγών βάσεων οδηγεί σε μετατόπιση του αναγνωστικού πλαισίου. Εδώ, η εισαγωγή ενός ζεύγους βάσεων GC προ-καλεί πλήρη αλλαγή της αμινοξικής αλληλουχίας μετά τη



Μεταλλαγές

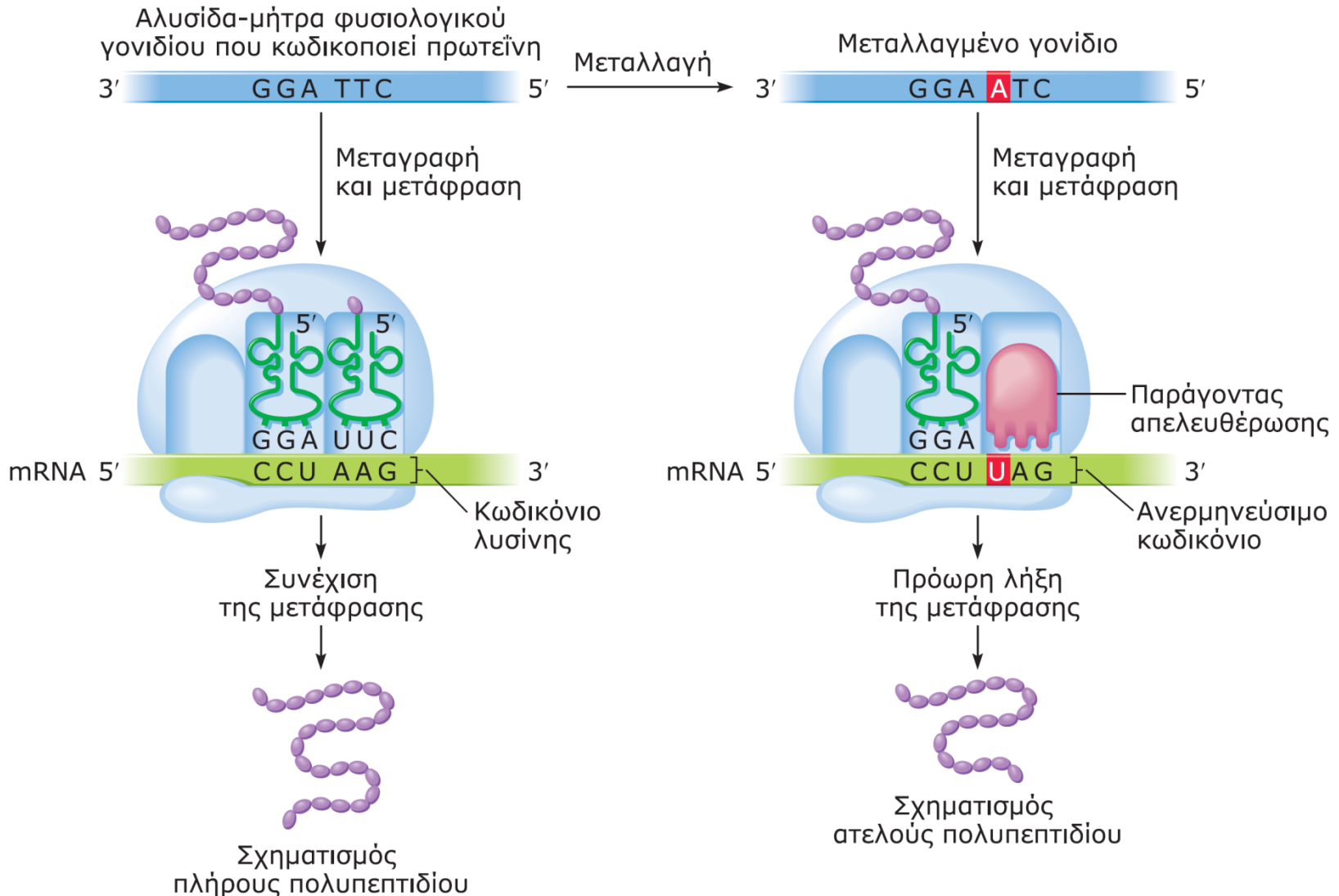


Ερώτηση

Ποιος τύπος μεταλλαγής συνήθως επιφέρει την πλήρη απώλεια της φυσιολογικής δομής και λειτουργίας της πρωτεΐνης;

Μεταλλαγές

Μια ανερμηνεύσιμη μεταλλαγή και οι επιπτώσεις της στη μετάφραση



Μεταλλαγές σε μη κωδικές περιοχές

- Μεταλλαγές στον επαγωγέα μπορεί να οδηγήσουν σε μη μεταγραφή ή σε μειωμένη μεταγραφή.
- Μεταλλαγές σε όρια εξονίων-ιντρονίων (*exon-intron boundaries*) μπορεί να οδηγήσουν σε απώλεια εξονίου ή σε κατακράτηση ιντρονίου.
- Μεταλλαγές σε κρυφά εξόνια μέσα σε ιντρόνια μπορεί να οδηγήσει στην προσθήκη νέων εξονίων και άρα τροποποιημένο μετάγραφο και εν τέλει πρωτεΐνη.

Μεταλλαγές - mRNA

- **Μεταλλαγές στο μηχανισμό της συναρμογής**
 - Ειδικές αλληλουχίες στην αποκοπή ιντρονίων → Τα ιντρόνια ξεκινάνε πάντα (σχεδόν) με GT και λήγουν σε AG.....αν αλλάξουν τότε περισσότερα ή λιγότερα εξόνια)
- **Μεταλλαγές στο σημείο της πολυαδενυλίωσης**
 - Στο σημείο αυτό το αρχικό μετάγραφο αποκόπτεται για την προσθήκη 100-200 A (poly-A) στο 3' του RNA → μια μεταλλαγή μπορεί να οδηγήσει σε μακρύ και ασταθές mRNA (παράδειγμα AATAAA > AACAAA στην β-σφαιρίνη οδηγεί σε αναιμία)

5' . . . agccacaccctagggttggccaatctactccaggagcaggagggcaggagccagggctgggcaataaaa
 gtcagggcagagccatctattgcttACATTTGCTTCTGACACAACCTGTGTTCACTAGCAACCTCAAACAGACACCATG

Εξόνιο 1 ValHisLeuThrProGluGluLysSerAlaValThrAlaLeuTrpGlyLysValAsnValAspGluValGlyGlyGlu
 GTGACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGATGAAAGTTGGTGGTGAG
 AlaLeuGlyAr-
 GCCCTGGGCAGgttggtatcaaggttacaagacaggtttaaggagaccaatagaaactgggcatgtggagacagagaag

Ιντρόνιο 1 actcttgggttctgataggcactgactctctctgcctattggctctatcttccacccttggGCTGCTGGTGGTCTAC
 -gLeuLeuValValTyr

Εξόνιο 2 ProTrpThrGlnArgPhePheGluSerPheGlyAspLeuSerThrProAspAlaValMetGlyAsnProLysValLys
 CCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCTTTGGGGATCTGTCCACTCTGATGCTGTTATGGGCAACCTAAGGTGAAG
 AlaHisGlyLysLysValLeuGlyAlaPheSerAspGlyLeuAlaHisLeuAspAsnLeuLysGlyThrPheAlaThr
 GCTCATGGCAAGAAAGTCTCGGTGCCTTTGTGATGGCTGGCTACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTGGCACA
 LeuSerGluLeuHisCysAspLysLeuHisValAspProGluAsnPheArg
 CTGAGTGAGCTGACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACTCAGGgtgagctctatgggacccttgatgtttt
 ctttcccttcttttctatggttaagtctcatgtcataggaaggggagaagtaacaggttacagtttagaatgggaaac
 agacgaatgatgcatcagtggtgaagctcaggatcgttttagtttcttttatttctgttccataacaattgttttc
 ttttgtttaattcttgctttcttttttcttctcgcgaatttttactattatacttaatgccttaacattgtgtat

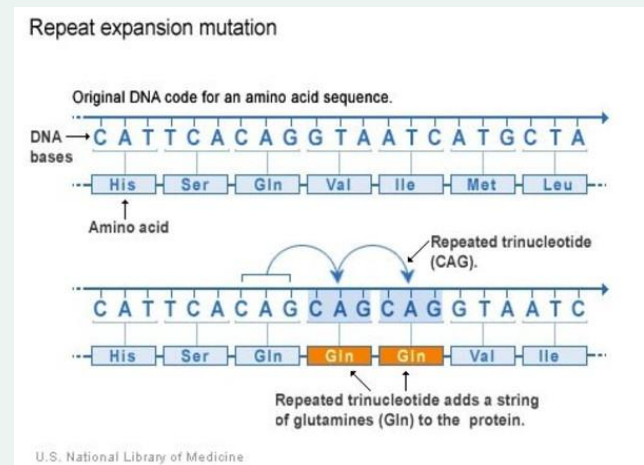
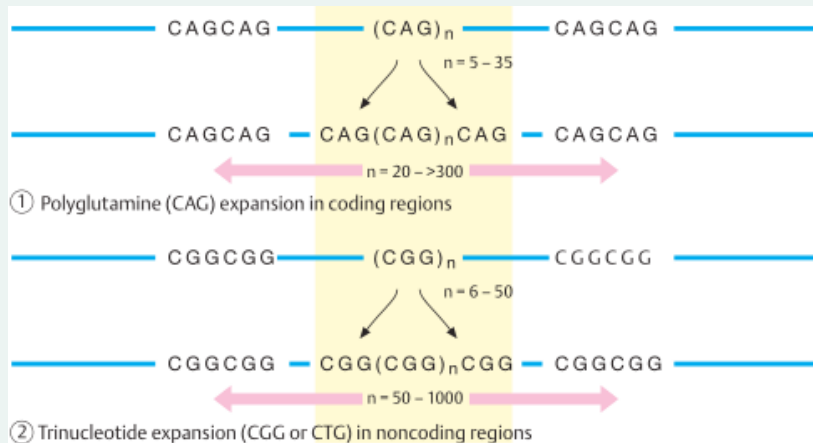
Ιντρόνιο 2 aacaaaaggaaatactctgagatacattaagtaacttaaaaaaaaaactttacacagctctgcctagtacattactatt
 tggaaatatagtgtgcttatttgcatattcataatgtccctactttatcttttatttttaattgatacataatca
 ttatacatatttatgggttaaagtgtaattgttttaatatgtgtacacatatggaccaatcagggttaattttgcatt
 tgaattttaaaaaatgctttcttcttttaataatactttttgtttatcttatttctaatactttccctaactctcttt
 ctttcagggcaataatgatacaatgtatcatgcctctttgaccattctaagaataacagtgataatttctgggta
 aggcaatagcaaatatttctgcatataaatatttctgcatataaattgtaactgatgtaagaggttccatattgctaa
 tagcagctacaatccagctaccattctgcttttattttatggttgggataaggctggattattctgagccaagctag
 gcccttttgctaatactgttcatactcttatcttctccacagCTCCTGGGCAACGTGCTGGTCTGTGTCTGGCC
 LeuLeuGlyAsnValLeuValCysValLeuAla

Εξόνιο 3 HisHisPheGlyLysGluPheThrProProValGlnAlaAlaTryGlnLysValValAlaGlyValAlaAsnAlaLeu
 CATCACTTTGGCAAAGAATTCACCCACCAGTGCAAGGCTGCCTATCAGAAAGTGGTGGCTGGTGTGGCTAATGCCCTG
 AlaHisLysTyrHisTer
 GCCCAAGTATCACTAAGCTCGCTTCTTGTGTCCAATTTCTATTAAGGTTCTTTGTCCCTAAGTCCAACACTAC
 TAAACTGGGGGATATTATGAAGGCCTTGAGCATCTGGATTCTGCCTAATAAAACATTTATTTTCATTGCaatgat
 gtatttaaatatttctgaaatatttactaaaaaggaatgtgggaggtcagtgcatttaaacataaagaatgatg
 agctgttcaaaccttgggaaaatacactatattcttaaacctcatgaagaaggtgaggctgcaaccagctaatgcaca
 ttggcaacagccctgatgcctatgccttattcatccctcagaaaaggattctttagaggcttga. . . 3'

Εικόνα 3-7 ■ Η νουκλεοτιδική αλληλουχία ολόκληρου του γονιδίου της β-σφαιρίνης του ανθρώπου. Στην εικόνα παρουσιάζεται η αλληλουχία της αλληλουχίας 5' προς 3'. Οι σκιασμένες περιοχές με γαλάζιο με τα κεφαλαία γράμματα αναπαριστούν τις αλληλουχίες των εξονίων, που αντιπροσωπεύονται στο ώριμο mRNA. Τα μικρά γράμματα αναπαριστούν ιντρόνια και πλευρικές αλληλουχίες. Στην περιοχή 5' φαίνονται σκιασμένα με σκούρο μπλε τα πλάσια CAT και TATA. Με το ίδιο χρώμα παρουσιάζονται επίσης και τα διουκλεοτιδικά GT και AG στα όρια ιντρονίων-εξονίων, που είναι σημαντικά για τη συναρμογή του RNA, καθώς και το σήμα AATAAA που είναι σημαντικό για την προσθήκη της ουράς poly-A. Τα κωδικόνια έναρξης ATG (AUG στο mRNA) και λήξης TAA (UAA στο mRNA) της μετάφρασης εμφανίζονται με μπλε γράμματα. Η αμινοξική ακολουθία της β-σφαιρίνης αναγράφεται πάνω από την κωδική αλληλουχία (χρησιμοποιούνται οι συντομογραφίες του Πίνακα 3-1). (Τροποποιημένο από Lawn RM, Efstratiadis A, O'Connell et al: The nucleotide sequence of the human b-globin gene. Cell 21: 647-651, 1980).

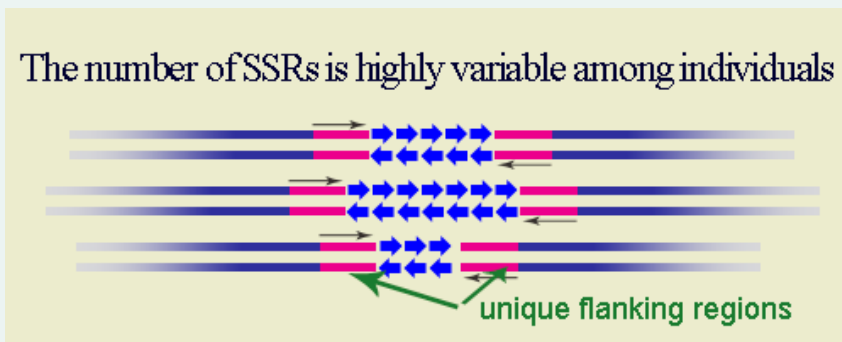
Δυναμικές μεταλλαγές – επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων

- Μεταλλαγές μέσα σε περιοχές επανάληψης αλληλουχίας DNA – αύξηση ή μείωση του αριθμού των επαναλήψεων
 - Συνήθως προσθήκη επαναλήψεων CAG (πολυγλουταμικές αλυσίδες) – απώλεια λειτουργίας πρωτεΐνης + πρόωμη έναρξη συμπτωμάτων (γενετική επίσπευση) → παράδειγμα Huntington (Φυσιολογικά 11-33 αντίγραφα CAG -> Παθολογικά 37-200 αντίγραφα CAG)
- Μεταλλαγές σε περιοχές έξω από τα γονίδια
 - Γενετικοί δείκτες – (Simple sequence repeats, SSRs ή **microsatellites**)



Δυναμικές μεταλλαγές – επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων

- **Μεταλλαγές μέσα σε περιοχές επανάληψης αλληλουχίας DNA – αύξηση ή μείωση του αριθμού των επαναλήψεων**
 - Συνήθως προσθήκη επαναλήψεων CAG (πολυγλουταμικές αλυσίδες) – απώλεια λειτουργίας πρωτεΐνης + πρόιμη έναρξη συμπτωμάτων (γενετική επίσπευση) → παράδειγμα Huntington (Φυσιολογικά 11-33 αντίγραφα CAG -> Παθολογικά 37-200 αντίγραφα CAG)
- **Μεταλλαγές σε περιοχές έξω από τα γονίδια**
 - Γενετικοί δείκτες – (Simple sequence repeats, SSRs ή microsatellites)

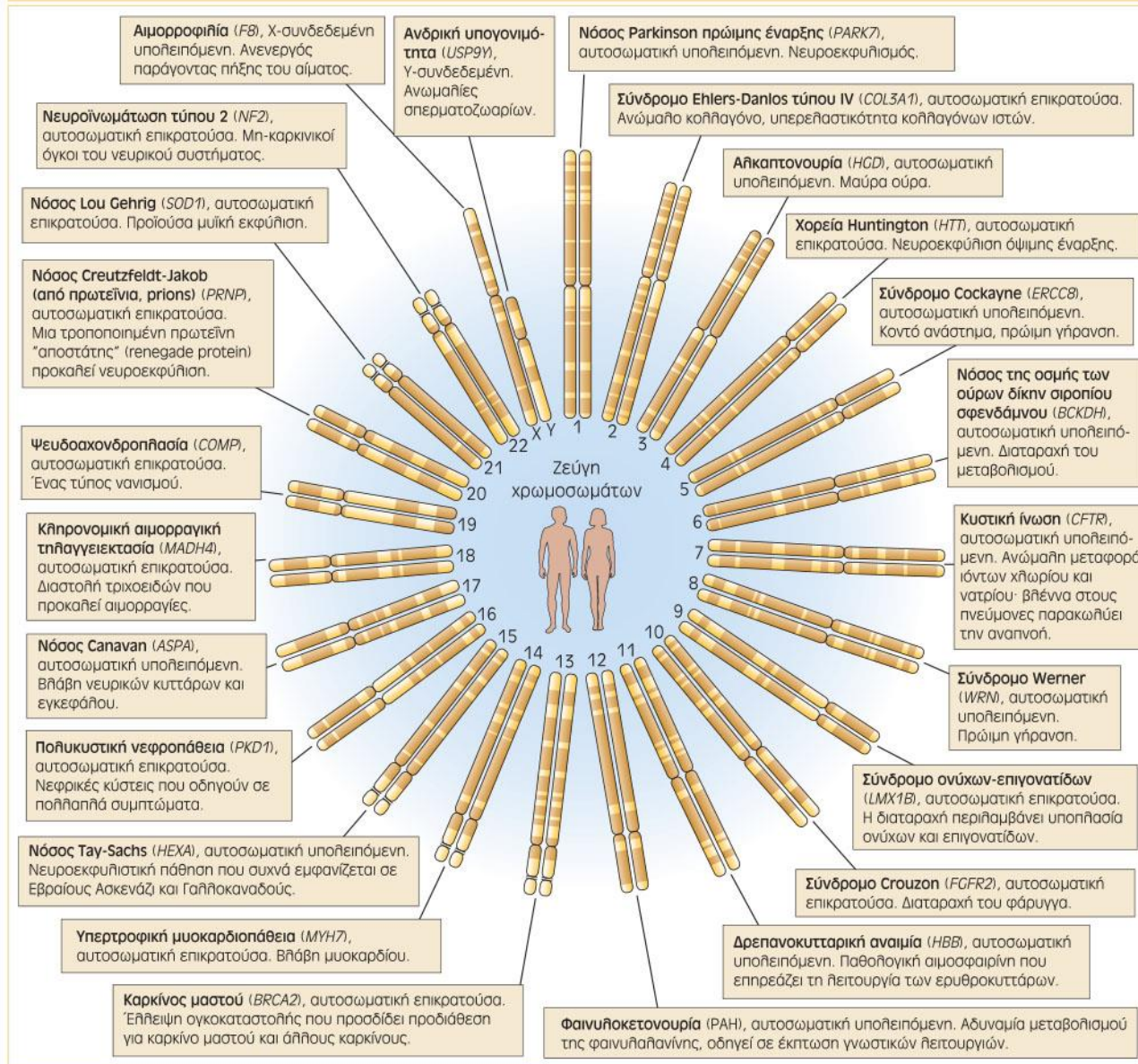


Sequence	Primer	
ACTGTCGACACACACACACACGCTAGCT		(AC) ₇
TGACAGCTGTGTGTGTGTGTGCGATCGA		
ACTGTCGACACACACACACACACGCTAGCT		(AC) ₈
TGACAGCTGTGTGTGTGTGTGCGATCGA		
ACTGTCGACACACACACACACACACACGCTAGCT		(AC) ₁₀
TGACAGCTGTGTGTGTGTGTGTGCGATCGA		
ACTGTCGACACACACACACACACACACACGCTAGCT		(AC) ₁₂
TGACAGCTGTGTGTGTGTGTGTGCGATCGA		

Μεταλλαγές

- SNPs (single nucleotide polymorphisms) (>1%)
- Tandem repeat Sequences
 - Microsatellites (<8 bp)
 - Minisatellites (VNTRs; 8-100 bp)
- Copy number variants (CNVs; 1Kb – 1Mb)
- Insertions – deletions (indels; 100bp – 1Kb)

Πολλές ανθρώπινες ασθένειες προκαλούνται από μεταλλάξεις ενός γονιδίου



ΕΙΚΟΝΑ 2-20 Οι θέσεις των μεταλλαγμένων γονιδίων για ορισμένες μονογονιδιακές ασθένειες στα 23 ζεύγη χρωμοσώματων ενός ανθρώπου. Κάθε χρωμόσωμα εμφανίζει ένα χαρακτηριστικό τύπο ζώνωσης. Τα Χ και Υ είναι τα φυλετικά χρωμοσώματα (XX στις γυναίκες και XY στους άνδρες). Τα γονίδια που σχετίζονται με κάθε ασθένεια φαίνονται στις παρενθέσεις.

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ

SNPs (single nucleotide polymorphisms)

SNP

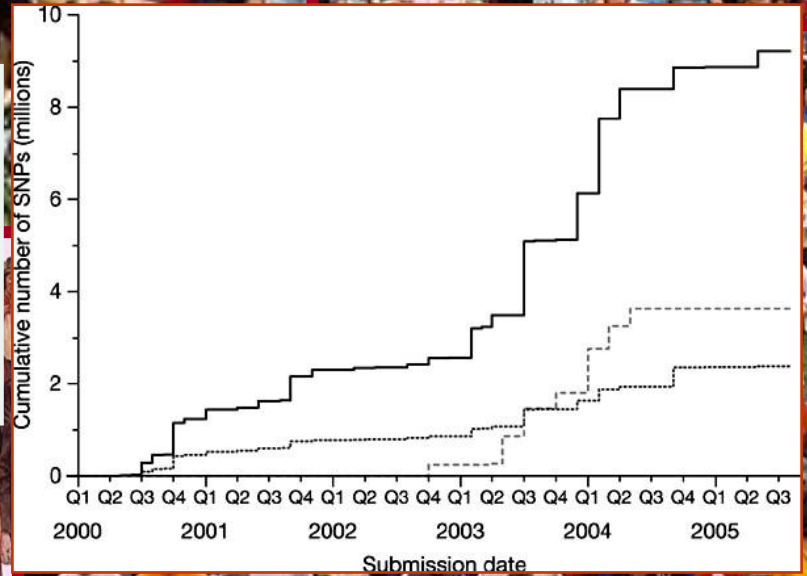
1 / 1000bp
0,1% γονιδιώματος

5...A T T A G A C T A...3
3...T A A T C T G A T...5

Allele (1)

5...A T T A A A C T A...3
3...T A A T T T G A T...5

Allele (2)



Προσδιορισμός γενετικών όρων

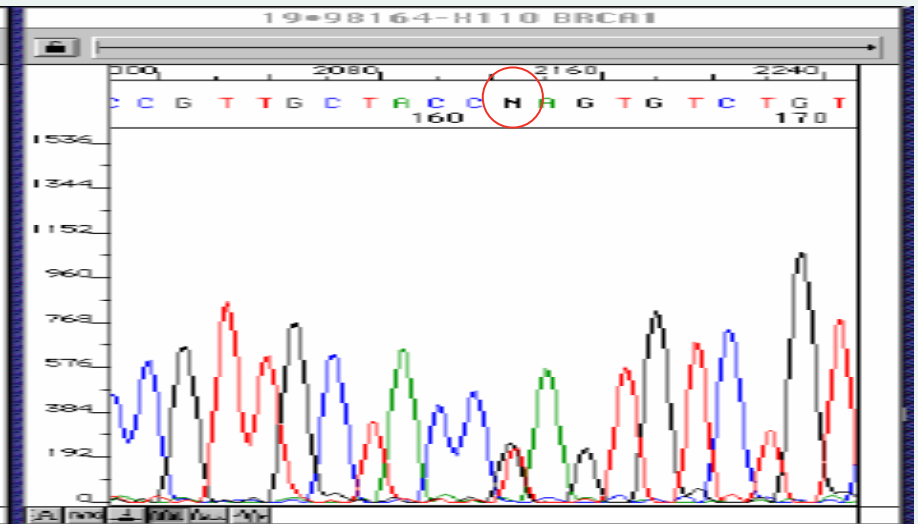
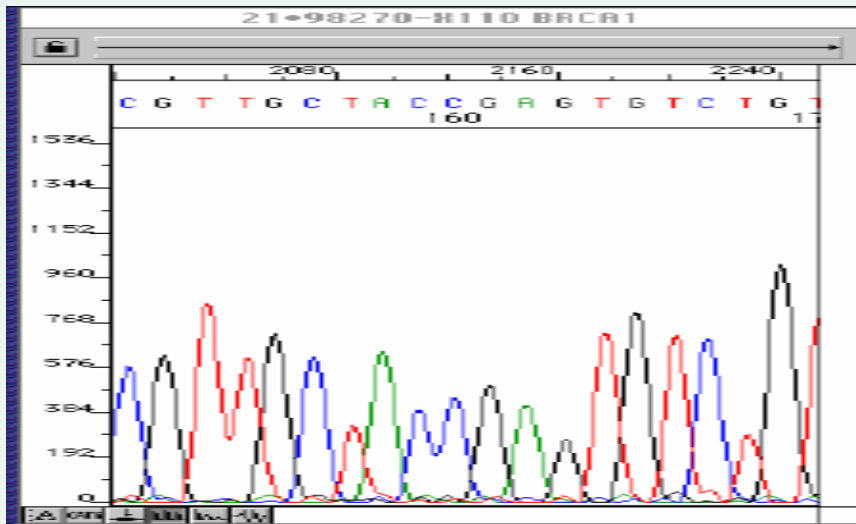


Γενετικός τόπος (genetic locus)

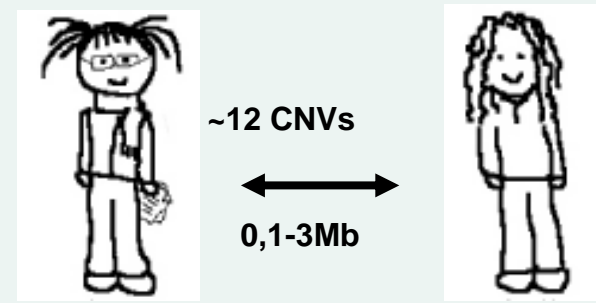
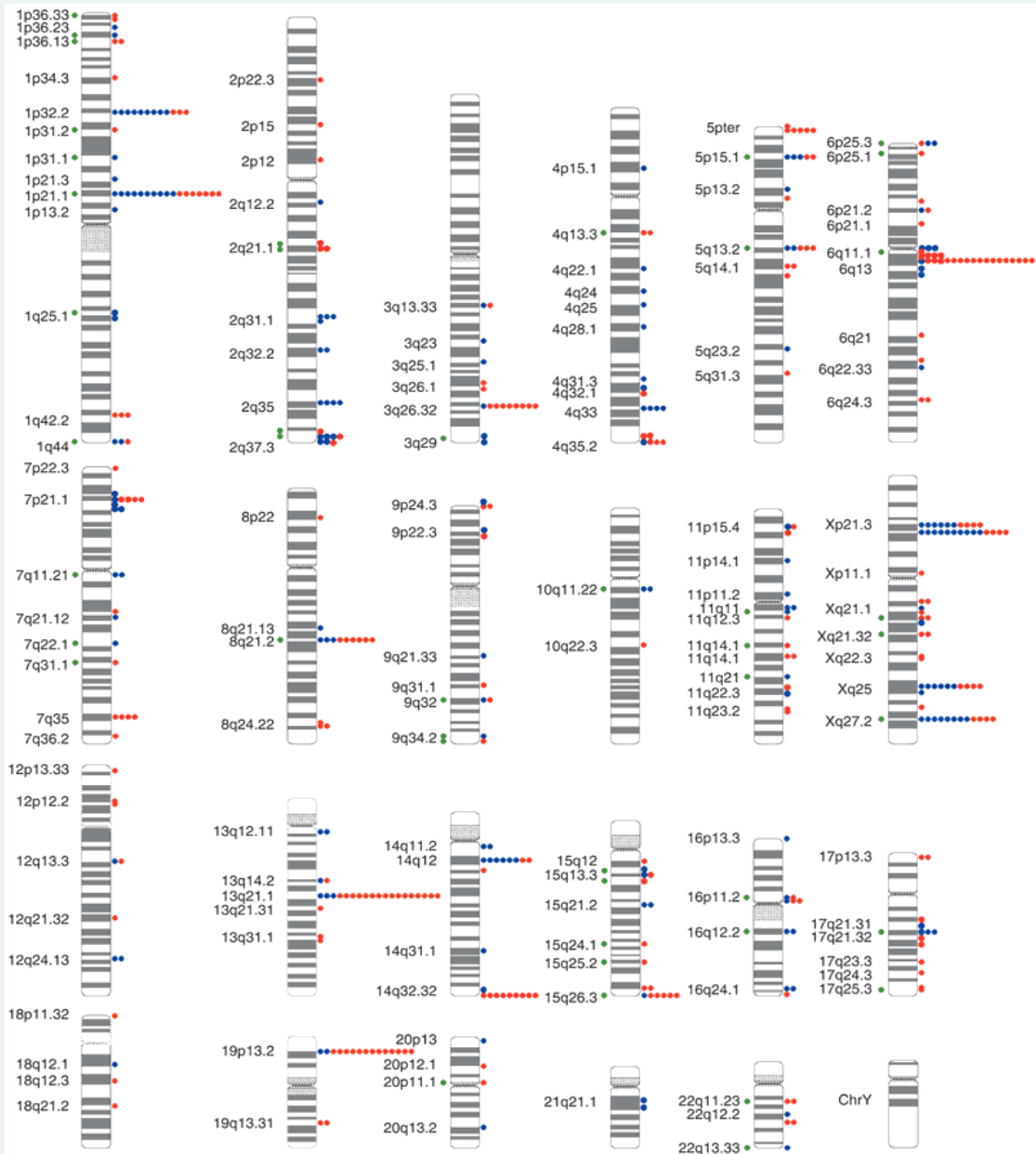
Αλληλόμορφα (alleles)

Ομόζυγο

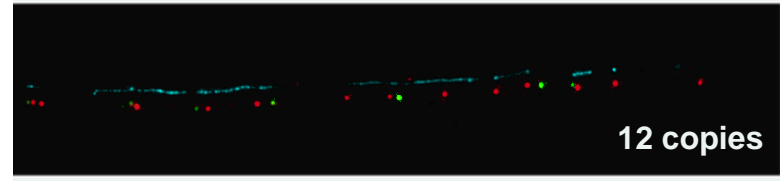
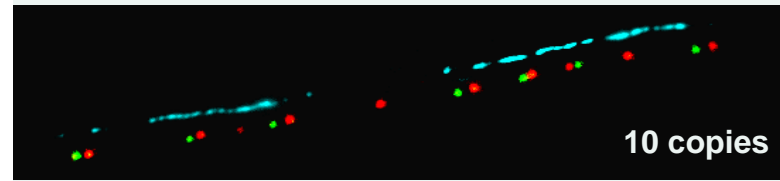
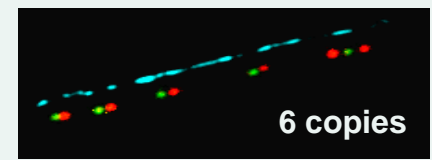
Ετερόζυγο



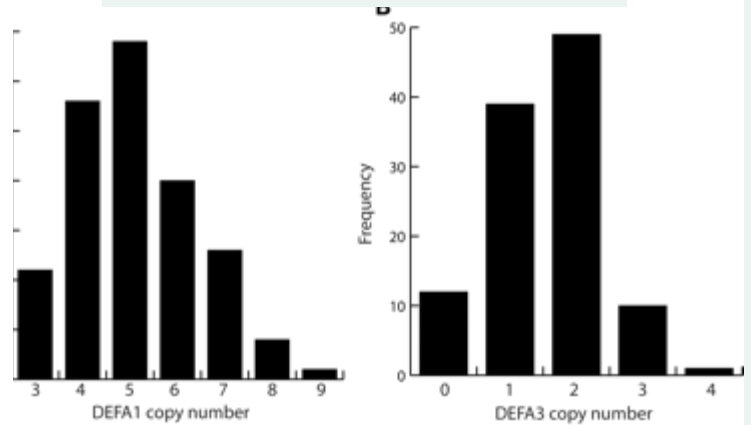
CNVs (copy number variation)



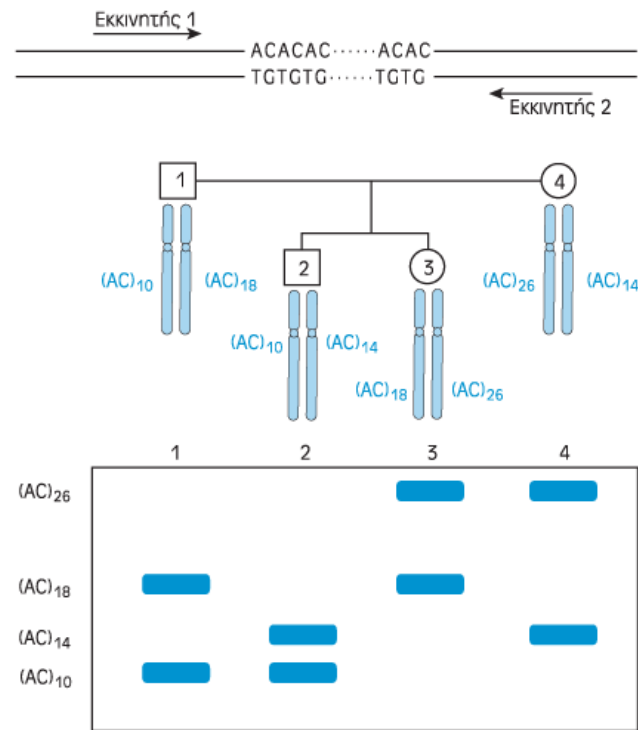
AMYLASE GENES



DEFENSIN GENES

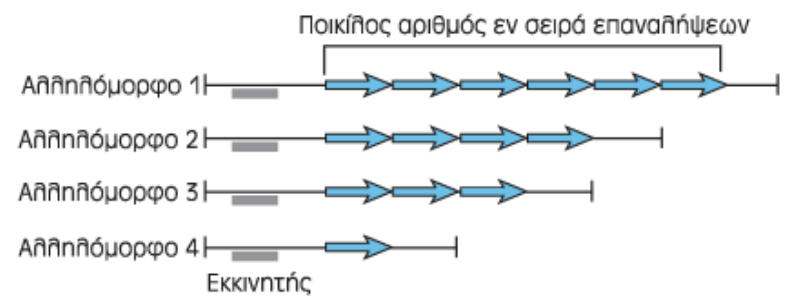
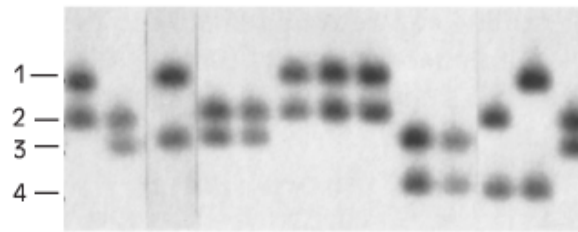
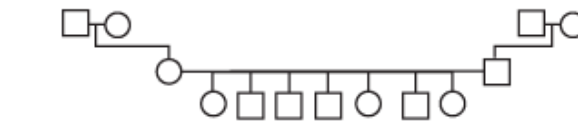


Μέθοδοι ανίχνευσης γενετικών παραλλαγών



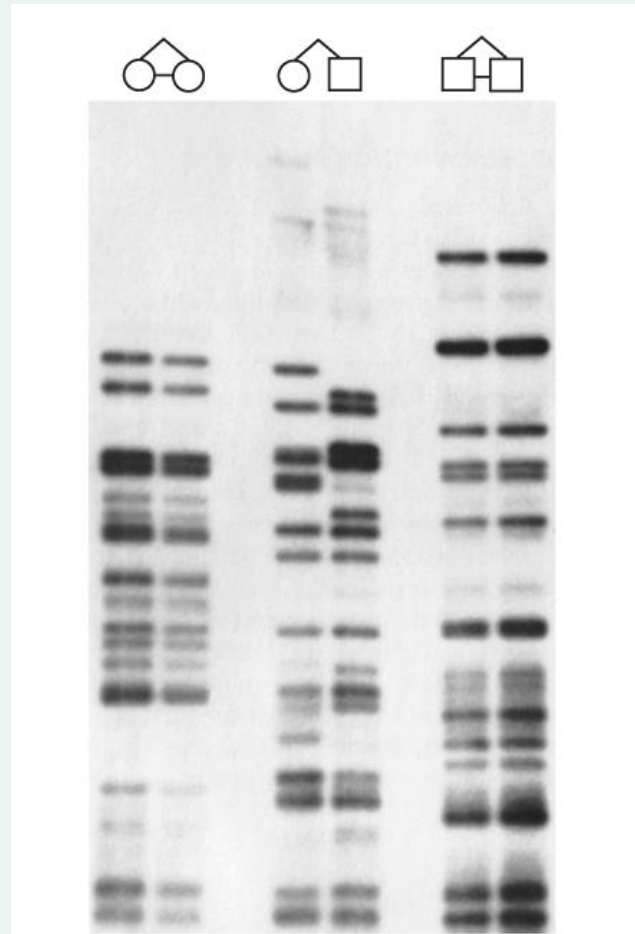
Εικόνα 9-4 ■ Μικροδορυφορικοί δείκτες στο DNA του ανθρώπου. Στο πάνω μέρος της εικόνας παρουσιάζεται το DNA που περιέχει έναν μικροδορυφορικό δείκτη (AC)_n στο ένα χρωμόσωμα. Οι εκκινητές 1 και 2, που χρησιμοποιούνται στην PCR, είναι συμπληρωματικοί των μοναδιαίων αλληλουχιών, οι οποίες βρίσκονται εκατέρωθεν της δινουκλεοτιδικής επανάληψης. Στο μέσο της εικόνας παρουσιάζεται ένα γενεαλογικό δέντρο που δείχνει το συνηθισμένο πρότυπο κληρονομιάς ενός μικροδορυφορικού πολυμορφισμού, που οφείλεται στον ποικίλο αριθμό επαναλήψεων του δινουκλεοτιδίου AC. Ο γονότυπος του κάθε ατόμου αναγράφεται κάτω από το σύμβολο κάθε ατόμου στο γενεαλογικό δέντρο. Τα διαφορετικού μεγέθους τμήματα ενισχύονται με PCR χρησιμοποιώντας τους εκκινητές 1 και 2, που βρίσκονται εκατέρωθεν της αλληλουχίας των δινουκλεοτιδίων AC και διαχωρίζονται μεταξύ τους βάσει μεγέθους, με ηλεκτροφόρηση (κάτω μέρος της εικόνας).

Μέθοδοι ανίχνευσης γενετικών παραλλαγών



Εικόνα 9-5 ■ Συνεπικρατής κληρονόμηση ενός αυτοσωματικού πολυμορφισμού DNA, που οφείλεται σε μεταβλητό αριθμό εν σειρά επαναλήψεων. Τα αλληλομόρφοι 1 έως 4 περιλαμβάνουν μεταβλητό αριθμό ίδιων (ή σχεδόν ίδιων) βραχέων αλληλομορφικών DNA (βέλη). Η ποικιλία στο μέγεθος των αλληλομόρφων μπορεί να ανιχνευθεί μετά από πέψη του γονιδιωματικού DNA με περιοριστικά ένζυμα και υβριδοποίηση με έναν μοναδιαίο ανιχνευτή, που εντοπίζεται εκτός των αλληλομορφικών VNTR αλλά μεταξύ των αλληλομορφικών αναγνώρισης των περιοριστικών ενζύμων, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό των θραυσμάτων των αλληλομόρφων (Με την ευγενική παραχώρηση των: A. Bowcock, Washington University, St. Louis Missouri).

Μέθοδοι ανίχνευσης γενετικών παραλλαγών



Εικόνα 9-6 ■ Αποτύπωμα DNA διδύμων αδελφών με τη χρήση ενός ανιχνευτή πολυμορφισμών VNTR, οι οποίοι εντοπίζονται σε πολλούς γενετικούς τόπους του γονιδιώματος. Τα δείγματα, ανά ζεύγη, αντιστοιχούν σε DNA από ζεύγη διδύμων. Οι δίδυμοι του πρώτου, όπως και του τρίτου ζεύγους, έχουν τα ίδια αποτυπώματα DNA, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι μονοζυγωτικοί ενώ οι δίδυμοι του μεσαίου ζεύγους έχουν σαφώς διαφορετικά αποτυπώματα DNA, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι διζυγωτικοί (Με την ευγενική παραχώρηση των: Alec Jeffreys, University of Leicester, UK).

Γονοτύπηση

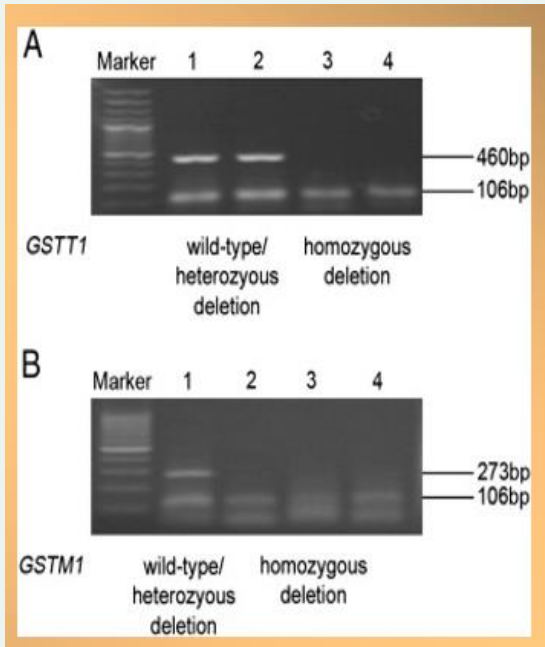


Figure 2.3.2.2 Assay based on differential PCR using two sets of primers to amplify the two alleles, AACC (common) and AACCins5874 (rare) (AD=atopic dermatitis sample; 1-9=control samples; -ve=negative control)

64 VASILOPOULOS ET AL

THE JOURNAL OF INVESTIGATIVE DERMATOLOGY

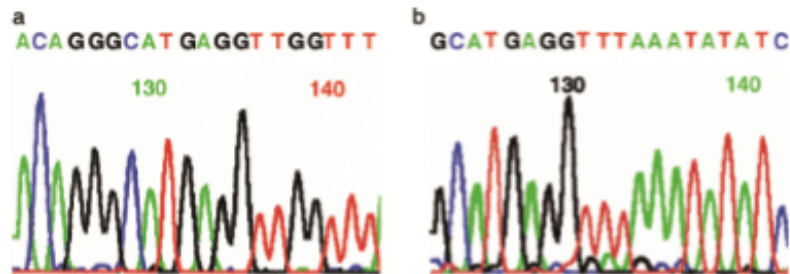
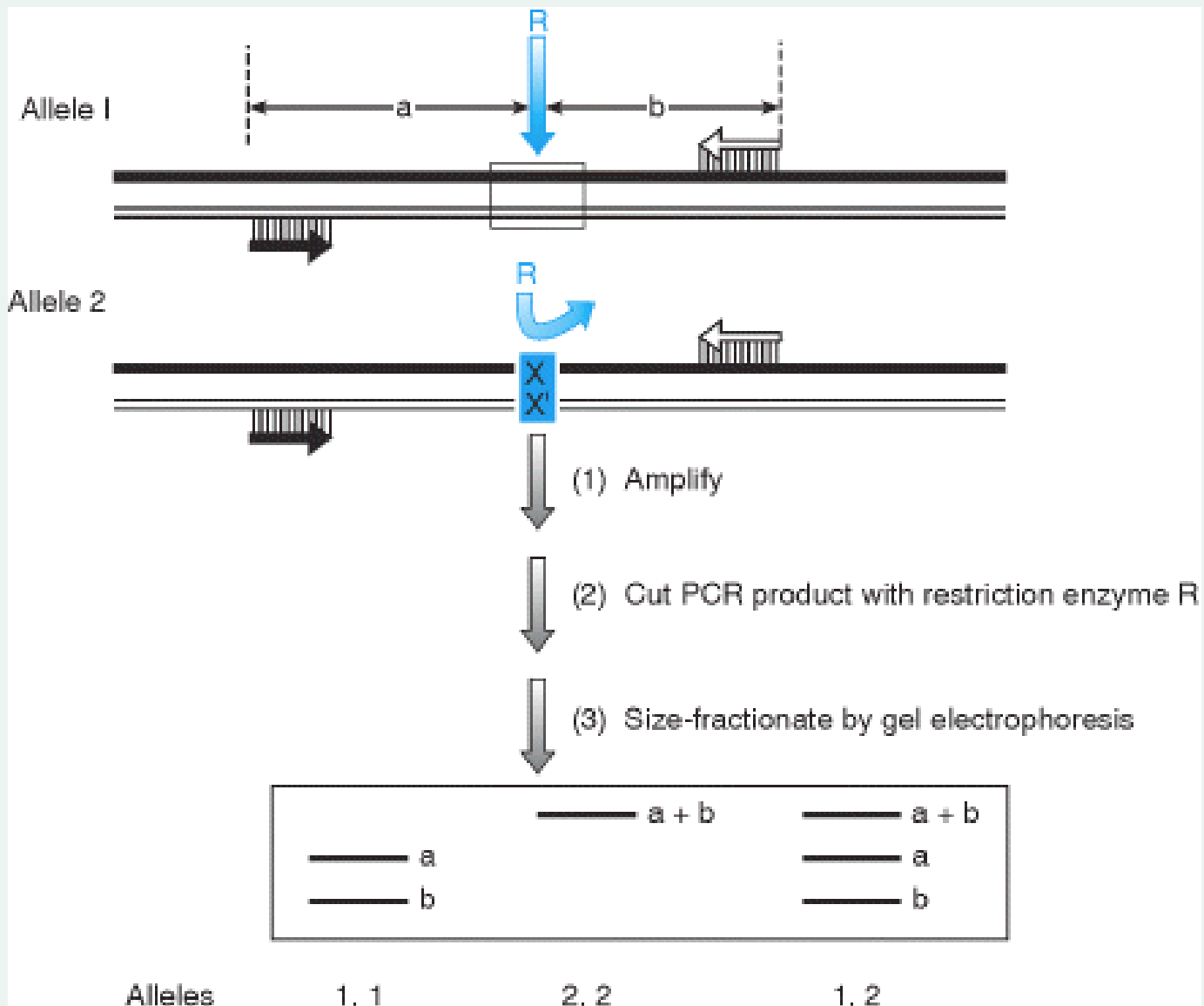


Figure 1
Chromatograms of a control and an atopic dermatitis 3'UTR sequences (a) Part of the chromatogram of the AE2 sequence (atopic dermatitis patient) that corresponds to exon 5 of the SCCE gene, from an atopic dermatitis patient. The 4 bp repeat is indicated by an arrow. (b) Part of the chromatogram of Poly9 (control) sequence where the second repeat (AACC) is absent. The 4 bp single repeat, indicated by an arrow, is shown as GGTT on the sequence of the chromatogram because we used the reverse primer to sequence the purified PCR product.

PCR-RFLP

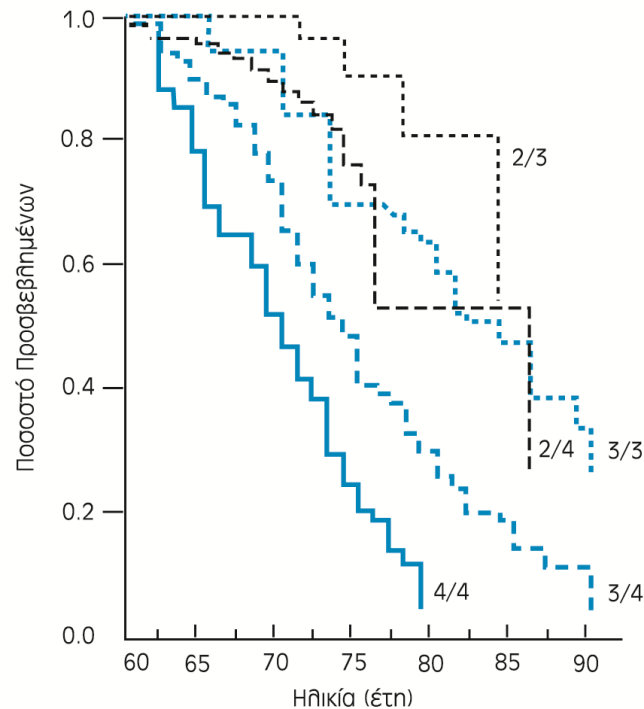


Γενετική ποικιλότητα



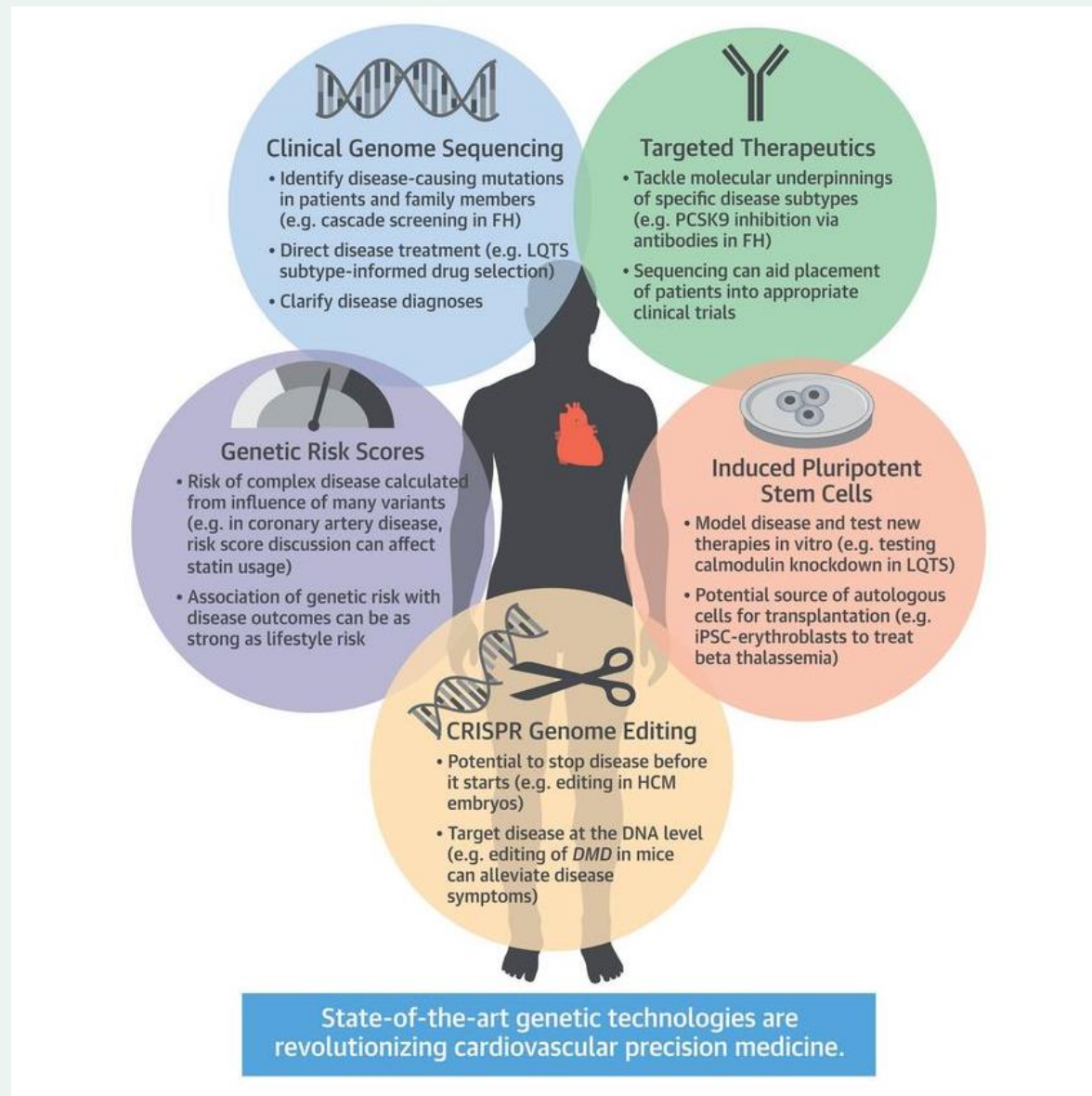
- 2% από εμάς έχουν 2 αντίγραφα του APOE4 αλληλόμορφου → **Alzheimer's disease**
- 1% από εμάς έχουν 2 αντίγραφα μιας μικρής απαλειφής στο γονίδιο CCR5 → **ανοσία στον HIV**
- 7% από εμάς δεν παράγουν λειτουργικό CYP2D6 ένζυμο → **χρήση κωδεΐνης δεν ανακουφίζει από τον πόνο**

Γενετική ποικιλότητα



Εικόνα 8-7 ■ Πιθανότητα να μην εκδηλωθεί η νόσος Alzheimer ως συνάρτηση της ηλικίας για διαφορετικούς γονοτύπους APOE. Στο ένα άκρο βρίσκεται ο ομοζυγώτης ε4/ε4 που έχει πιθανότητα μικρότερη από 10% να μην προσβληθεί από AD στην ηλικία των 80 ετών και στο άλλο άκρο ο ετεροζυγώτης ε2/ε3 που έχει πιθανότητα μεγαλύτερη από 80% να μην προσβληθεί από AD στην ηλικία των 80 ετών (Τροποποιημένο από: Strittmatter WJ, Roses AD: Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Annu Rev Neurosci.* 19: 57-77, 1996).

Εξατομικευμένη Γενετική Ιατρική – εύρος εφαρμογών





READ MORE

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Nussbaum RL, McInnes RR & Willard F.: Ιατρική Γενετική (7th ed., Εκδόσεις Πασχαλίδη)
- Korf BR.: Γενετική και Γονιδιωματική του Ανθρώπου (3th ed., Εκδόσεις Παρισιάνου).