

Inovace studia molekulární a buněčné biologie reg. č. CZ.1.07/2.2.00/07.0354

Investice do rozvoje vzdělávání



INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Genomika (KBB/GENOM)

Investice do rozvoje vzdělávání



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

SNP (jednonukleotidové polymorfismy)

Ing. Hana Šimková, CSc.

Investice do rozvoje vzdělávání



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Cíl přednášky

- seznámení s charakterem, způsoby vzniku a efektem SNP, SNP jako markery, využití SNP pro asociační mapování

Klíčová slova

- SNP, diagnostické SNP, haplotyp, asociační mapování, vazebná nerovnováha

Investice do rozvoje vzdělávání

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPs)

- existence několika přirozených variant (alel) zasahujících jediný nukleotid. Nejběžnější alela nesmí přesáhnout 95% frekvence v populaci, nejméně čtená nad 1%.

Vznikají následkem transice, transverze, příp. delece nebo inserce.

Frekvence výskytu SNP se liší:

- a) mezi oblastmi genomu – nejméně v regulačních sekvencích, méně v místech s nižší úrovní rekombinací
- b) mezi druhy: člověk – 1-3 SNP /1kb
pšenice – oblasti až s 55 SNP/1kb

Existují databáze SNP pro jednotlivé organismy – např. spravované NCBI.

Investice do rozvoje vzdělávání

Využití SNP:

- k evolučním studiím
- k charakterizaci složení populace
- v biomedicínském výzkumu (náchyllost k chorobám, reakce na léky)
- jako markery - ve šlechtění (MAS)
 - pro poziční klonování genů

SNP jako markery:

- ☺ v genomu velmi početné, méně podléhají mutacím než mikrosatelity, relativně rovnoměrná distribuce po genomu, relativně snadná detekce
- ☹ poměrně nákladné získávání, polymorfismus omezený

SNP významné hlavně pro mapování **QTL** (quantitative trait loci) = lokusy, které přispívají k polygenní fenotypové variabilitě (geny pro kvantitativní znaky, geny spjaté s chorobami).

SNP dělíme podle efektu:

- synonymní SNP – nemění složení AK v kódované doméně nebo proteinu
- nesynonymní SNP (nonsense, missense) – mohou vést k syntéze nefunkčního proteinu. Pokud vyvolají chorobu → **diagnostické SNP** – jejich detekce je hlavním cílem projektů na vyhledávání SNP

Využití diagnostických SNP:

- k určení genetického rizika
- k předpovědi klinické reakce jednotlivce na určitý lék (farmakogenomika)

Pro identifikaci genů je dobré identifikovat tzv. haplotypy v oblasti kandidátních genů (lépe než analyzovat jednotlivé SNP)

HAPLOTYP (od „haploidní fenotyp“) – alelická konstituce ve 2 nebo více lokusech v určitém úseku chromozómu (tzv. **haplotypovém bloku**, velikost 2-100 kb). Nedochozí zde k rekombinaci – lokusy segregují jako jedna alela. Je to tedy určitá kombinace alel pro několik markerů (obvykle SNP) v těsné vazbě. Existence haplotypového bloku se projevuje **vazebnou nerovnováhou** (linkage disequilibrium, LD) → některé kombinace alel v populaci mnohem častější než průměr, jiné mnohem vzácnější – LD se v populaci udržuje po řadu generací (čím silnější výchozí LD, tím lépe se udržuje v čase)

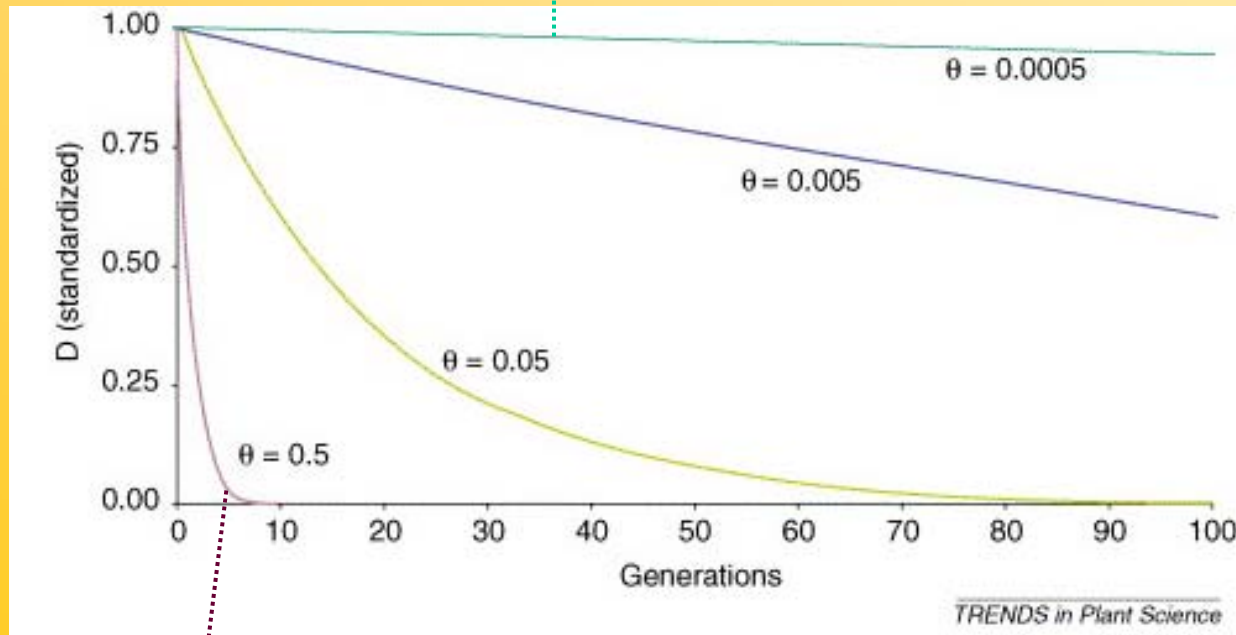
Ancestrální haplotyp

- odpovídá společnému předchůdci vzdáleně příbuzných jedinců.

Pokles vazebné nerovnováhy s časem při různých hodnotách frekvence rekombinací (vyjádřeno frakcí rekombinantů θ)

frakce rekombinantů 0.05% (velmi silná vazba)

Vazebná nerovnováha

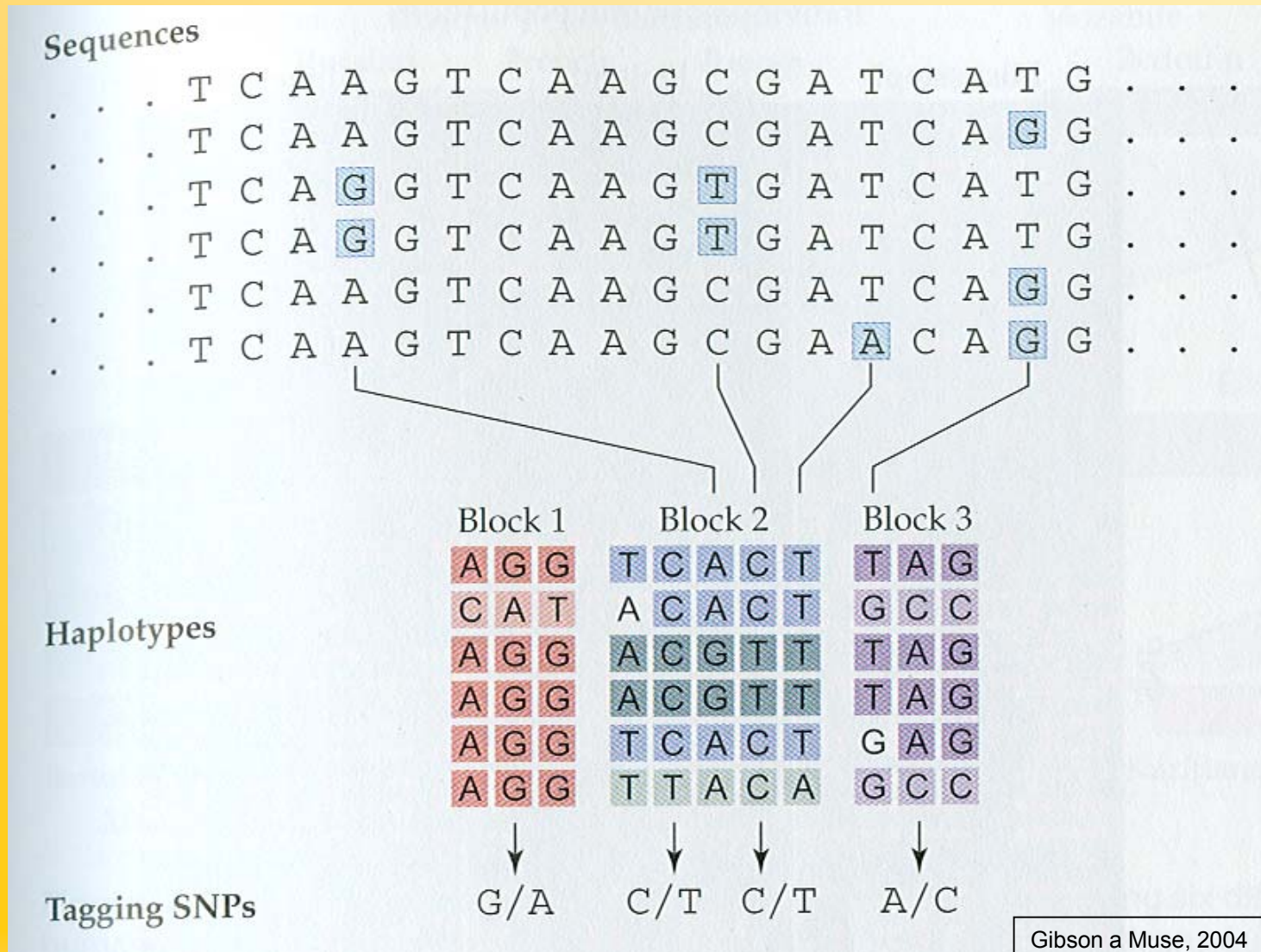


θ = frakce rekombinantů

frakce rekombinantů 50% (lokusy nejsou ve vazbě)

Investice do rozvoje vzdělávání

Haplotypový blok – může obsahovat mnoho SNP, ale k jednoznačné identifikaci haplotypového bloku jich stačí jen několik – tzv. **tag SNP** (identifikující SNP)
 – slouží jako referenční bod pro definování dalších SNP v okolí



Gibson a Muse, 2004

Investice do rozvoje vzdělávání

HapMap Project (www.hapmap.org)

- HapMap = mapa haplotypových bloků u člověka
- cílem projektu je určit minimální sestavu 500 000 tag SNP (na základě analýzy stovek etnicky odlišných jedinců) – měla by zachytit variabilitu v cca 10 milionech SNP přítomných v genomu člověka
- umožní celogenomové studie komplexních genetických chorob

Investice do rozvoje vzdělávání



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

Vazebná nerovnováha se využívá pro **ASOCIAČNÍ MAPOVÁNÍ** (LD mapping)

- zkoumá se, zda se určitý typ SNP vyskytuje u nepříbuzných jedinců se studovaným znakem (např. dědičnou chorobou) častěji, než je průměr výskytu této alely v rámci populace. To může být způsobeno tím, že
 - a) SNP přímo vyvolává studovaný znak
 - b) SNP je ve vazebné nerovnováze s místem, které přispívá ke znaku

Asociační mapování

- slouží k určení genetické vzdálenosti zejména pro polygenní znaky
- hlavně u lidí (omezené možnosti rekombinačního genetického mapování, většina chorob polygenních)
- u rostlin a hospodářských zvířat pro mapování kvantitativních znaků (QTL)

Asociace může mít i jiné příčiny než LD!

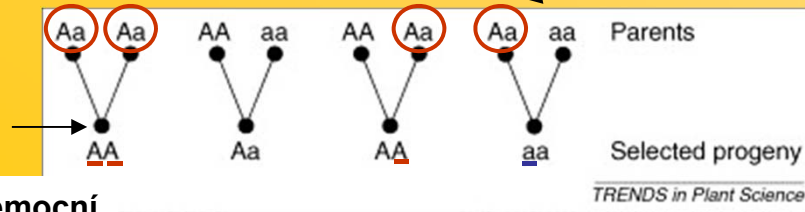
Dvě fáze asociačního mapování:

1. vytipování místa asociovaného s daným znakem (chorobou) – obvykle kombinací rekombinačního mapování (pro hrubé zamapování) a asociačního mapování (umožňuje lepší přiblížení ke genu)
2. detailní analýza na větším počtu případů k identifikaci genu, případně polymorfních nukleotidů zodpovědných za kvantitativní znak
 - case-control population sampling – hledáním spojitosti mezi SNP a chorobou ve velké populaci
 - ☹ Ovlivněno řadou faktorů v populaci (různorodost populace, migrace, kulturní vlivy)
 - transmission disequilibrium testing (testování přenosu nerovnováhy, TDT)
 - hledáním nerovnoměrného přenosu SNP alel na postižené potomky.
 - ☹ Musí být studováno minimálně 500 trojic rodičů a potomků.

A – alela analyzovaná pro asociaci s chorobou

Sleduje se přenos této alely z heterozygotů na nemocné potomky.

TDT



$$p = (x - y)^2 / (x+y)$$

x – přenesení alely A na nemocného potomka (3)

y – nepřenesení alely A ... (1)

**nemocní
potomci**

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.