

## Příklady z genetiky

---

Řešené příklady ze stránek <http://genetika.wz.cz/priklady/>. Jakákoli písemná publikace tohoto textu bez uvedení zdroje není povolena.

### **DNA, komplementarita, dopsání komplementárního vlákna**

#### **Zadání:**

Máte zadaný úsek vlákna DNA. Dopište k zadanému vláknu komplementární vlákno, aby se obnovila dvoušroubovice.

5' C A T T G A G T 3'

#### **Řešení:**

Podle **Chargaffova pravidla** je v molekule DNA stejné zastoupení purinových (adenin, guanin) a pyrimidinových bází (cytosin, thymin) stejné. Bylo zjištěno, že se párují **adenin s thyminem** (2 vodíkové můstky) a **cytosin s guaninem** (3 vodíkové můstky).

Pro zápis používáme zkratky bází - **A, C, G a T**

Vlákna DNA ve dvoušroubovici jsou orientována **antiparalelně**. DNA vlákno má tak "dva konce" - podle čísla volného uhlíku deoxyribosy rozlišujeme 5' a 3' konec. Při zápisu komplementárního vlákna tak musíme mít na paměti, že druhé vlákno je orientováno antiparalelně.

#### **Výsledek:**

5' C A T T G A G T 3'  
3' G T A A C T C A 5'

## **Transkripce, přepis z DNA do RNA**

### **Zadání 1:**

Máte zadaný úsek vlákna DNA. Dopište k zadanému vláknu komplementární vlákno RNA.

3' C A T T G A G T 5'

### **Řešení:**

V molekule RNA se nevyskytuje pyrimidinová báze thymin. Místo ní v RNA nacházíme pyrimidinovou bázi **uracyl**, který je rovněž komplementární k adeninu.

Přepis genetické informace z DNA do RNA provádí enzym **DNA dependentní RNA polymerasa**. Je důležité si uvědomit, že polymerasa čte matrici (vlákno DNA) ve směru **3' → 5'**, zatímco syntéza RNA řetězce probíhá ve směru **5' → 3'**.

Geny jsou umístěny na obou vláknech DNA. Pro konkrétní gen je však vždy směrodatná pouze správně polarizovaná sekvence jednoho vlákna. Z hlediska jednoho přepisovaného genu můžeme vlákna dvoušroubovice DNA rozdělit na **kódující vlákno** a **pracovní vlákno**.

Kódující (též paměťové či pozitivní) vlákno má stejnou sekvenci (pouze místo **T** je **U**) jako výsledná mRNA, která vzniká transkripcí tohoto genu. Je jasné, že toto vlákno nemůže sloužit jako matrice pro přepis do RNA. Úlohu matrice zastává druhé vlákno - tzv. pracovní (antikódující či negativní). Toto vlákno má tudíž komplementární sekvenci k syntetizované mRNA.

Pro přepis z DNA do RNA si proto musíme uvědomit jednak které vlákno je pracovní a jednak se ujistit o jeho polaritě (rozdíl mezi směrem čtení matrice a syntézy RNA je uveden výše).

V tomto jednodušším typu příkladu uvažujeme, že uvedené vlákno je rovnou vlákno pracovní a my pouze provedeme přepis dle komplementarity bází.

### **Výsledek:**

3' C A T T G A G T 5' DNA - pracovní vlákno  
5' G U A A C U C A 3' mRNA

---

### **Zadání 2:**

Máte zadané paměťové vlákno DNA. Napište sekvenci mRNA, vzniklé transkripcí tohoto genu.

5' C A T T G A G T 3'

### **Řešení:**

Nabízí se nám dvě možná řešení. První řešení je rychlejší - vzhledem k tomu, že jde o vlákno paměťové (má stejnou sekvenci jako mRNA - viz výše), stačí přepsat tuto sekvenci a všechna **T**

nahradit za U. Polarita zůstane zachována (Paměťové vlákno DNA je orientováno stejně jako vzniklé vlákno mRNA).

Druhé řešení je pomalejší, ale kompletnější. K paměťovému vláknu nejprve doplníme komplementární řetězec pracovního vlákna (pozor na polarizaci - bude obrácená) a podle něj teprve opět dle komplementarity doplníme vlákno mRNA. Nezapomeneme opět správně označit polaritu takto vzniklého řetězce. Tomuto řešení se nevyhneme, pokud je i sekvence pracovního vlákna vyžadována jako součást řešení příkladu.

### **Výsledek:**

5' C A T T G A G T 3' DNA - paměťové vlákno  
3' G T A A C T C A 5' DNA - pracovní vlákno  
5' C A U U G A G U 3' mRNA

## **Translace, genetický kód**

### **Zadání 1:**

Máte zadaný úsek vlákna mRNA. Proveďte translaci a zapište vzniklou sekvenci aminokyselin.

5' **G A A A C C C U U** 3'

### **Řešení:**

Translace probíhá na ribozomech, kde je matrice (vlákno mRNA) čtena ve směru **5' → 3'**. Bylo zjištěno že genetický kód je **tripletový**, což znamená, že o zařazení jedné konkrétní aminokyseliny rozhoduje vždy trojice sousedních nukleotidů. Tyto trojice na mRNA označujeme jako **kodony**. Aminokyseliny jsou na místo proteosyntézy přinášeny navázané na molekuly tRNA. Molekuly tRNA mají ve své sekvenci zařazen triplet bází, který je komplementární k určitému tripletu - kodonu na mRNA. Tento triplet na tRNA se označuje jako **antikodon**. Párování kodon - antikodon pak zajišťuje správné zařazování aminokyselin v závislosti na čtené matici mRNA.

Úkol snadno vyřešíme pomocí tabulky genetického kódu, která k určitým tripletům přiřazuje kódované aminokyseliny. Mějte na paměti, že tyto tabulky odpovídají kodonům na mRNA, která je "čtena" ve směru **5' → 3'**.

Dále si všimneme, že translaci zahajuje iniciační kodon **AUG** (zároveň kóduje methionin) a ukončují ji kodony terminační - **UAA, UAG a UGA**. Těmi se pro začátek nebudeme v tomto příkladu zabývat a provedeme pouze přepis "zleva do prava" dle tabulky genetického kódu. Stačí použít zkratky příslušných aminokyselin a u polypeptidového řetězce se již neoznačuje 5' a 3' konec (má smysl pouze u nukleových kyselin).

### **Výsledek:**

**glu - thr - leu**

---

### **Zadání 2:**

Máte zadané paměťové vlákno DNA. Napište sekvenci mRNA, vzniklé transkripcí tohoto genu a proveďte jeho translaci.

3' **T T T A G T G G A T A C A C G** 5'

### **Řešení:**

Teorie a řešení přepisu z DNA do RNA je uvedena v předchozím příkladu. Proto se zde nebudu opakovat a pouze připomenu dbát na zapsání správné orientace řetězců. V příkladu si všimněte, že pokud jednoduše "pod sebe" napíšete paměťové vlákno DNA, pracovní vlákno DNA a vlákno

mRNA - potom má mRNA polarizaci **3' → 5'**. To samo o sobě nevádí, ovšem je nutno si uvědomit, že translace probíhá ve **směru opačném!** Proto je nutné postupovat v tomto případě zprava doleva - nebo si pro názornost přepsat mRNA do správné polarizace (více než správné se hodí slovo "pohodlné"). Potom již není problém pomocí tabulky genetického kódu napsat sekvenci aminokyselin. Všimněte si, že vznikne řetězec pouhých tří aminokyselin - čtvrtý triplet je totiž terminační a ukončí tak translaci.

### **Výsledek:**

**3' T T T A G T G G A T A C A C G 5' DNA - paměťové vlákno**

**5' A A A T C A C C T A T G T G C 3' DNA - pracovní vlákno**

**3' U U U A G U G G A U A C A C G 5' mRNA**

**5' G C A C A U A G G U G A U U U 3' správně orientovaná mRNA**

**ala - his - arg vzniklý tripeptid**

---

### **Zadání 3:**

Proveďte translaci cirkulární DNA, která je tvořena 13 nukleotidy o této sekvenci:

a) **A U G A A A A A A A A A**

b) **A U G C C C C C C C C C C**

Tedy tripletem AUG a dále sekvencí 10 stejných nukleotidů.

Zapište sekvenci aminokyselin takto vzniklého polypeptidu.

### **Řešení:**

Vtipem těchto hypotetických příkladů je, že v této kruhové sekvenci je iniciační triplet (**AUG**), od kterého je zahájena transkripce a to do té doby, než dojde na terminační triplet. Pokud na něj nedojde, potom probíhá translace do nekonečna :-)

V prvním případě potom budeme překládat tuto sekvenci:

**AUG-AAA-AAA-AAA-AAU-GAA-AAA-AAA-AAA-UGA**

Ve druhém potom tuto sekvenci:

**AUG-CCC-CCC-CCC-CAU-GCC-CCC-CCC-CCA-UGC-CCC-CCC-CCC-AUG**

Všimněte si, že v prvním případě bude translace zastavena terminačním tripletem **UGA**. Ve druhém případě však během translace na terminační triplet nikdy nenarazíme (všimněte si, že se opět vrátíme k počátečnímu - tj. iniciačnímu tripletu **AUG**).

**Řešení:**

a) **met - lys - lys - lys - asp - glu - lys - lys - lys**

b) [**met - pro - pro - pro - his - ala - pro - pro - pro - cys - pro - pro - pro**] . n  
n je rovno nekonečnu

## Mutace, přepis mutované sekvence

### Zadání 1:

Máte zadaný úsek vlákna DNA (jde o kódující - paměťové vlákno. Pod ním je několik kopií stejného úseku, v každém však došlo k určité mutaci. Pojmenujte tyto mutace, potom proveďte transkripci a translaci původního i mutovaných vláken. Jaké vidíte rozdíly v polypeptidových vláknech?

5' **C G C A A T T C G A G G G G G A C C** 3' - **původní vlákno**

5' **C A C A A T T C G A G G G G G A C C** 3' - **mutované vlákno 1**

5' **C G A A A T T C G A G G G G G A C C** 3' - **mutované vlákno 2**

5' **C G C C A A T T C G A G G G G G A C C** 3' - **mutované vlákno 3**

5' **C G C A A T T \_ G A G G G G G A C C** 3' - **mutované vlákno 4**

### Řešení:

Jako **substituci** označujeme záměnu báze (záměna purinové báze za purinovou, či pyrimidinové za pyrimidinovou je tzv. transice, purinové za pyrimidinovou či naopak je tzv. transverze). Taková mutace může být tzv. samesense (se stejným smyslem - pokud nedojde k záměně aminokyseliny ve výsledném polypeptidu), missense (s odlišným smyslem - pokud je zařazena chybná aminokyselina) nebo nonsense (beze smyslu - pokud takováto mutace vytvoří terminační triplet uprostřed genu).

Mutace jako **adice** (přidání nadbytečného nukleotidu) nebo **delece** (chybění nukleotidu) způsobují **posun čteho rámce** (frameshift). Jde o to, že díky chybějícímu nebo nadbytečnému nukleotidu se hranice tripletů posunou, a tak od místa mutace mohou být zařazovány zcela jiné aminokyseliny (následky mutace se neomezí na jednu aminokyselinu). Navíc takovýto posun může taktéž odhalit stop kodon a tím pádem translaci předčasně ukončit.

Teorie a řešení přepisu z DNA do RNA je uvedena v příkladu 2. Pro naše potřeby si zcela postačíme s tím, že paměťové vlákno DNA má stejnou sekvenci jako vzniklá mRNA (pouze místo T je U). Translace je pak tématem příkladu 3 na který se zde odvolávám.

Provedeme tedy translaci všech vláken a sepíšeme důsledky různých mutací (které nezapomeneme pojmenovat).

### Řešení:

**arg - asp - ser - arg - gly - thr** - **původní vlákno**

**his - asp - ser - arg - gly - thr - mutované vlákno 1**

Mutace - substituce (transice), měnící smysl (missense)

**arg - asp - ser - arg - gly - thr - mutované vlákno 2**

Mutace - substituce (transverse), zachovávající smysl (samesense)

**arg - gln - phe - glu - gly - asp - mutované vlákno 3**

Mutace - adice, s posunem čtecího rámce (frameshift)

**arg - asp - STOP - mutované vlákno 4**

Mutace - delece, s posunem čtecího rámce (frameshift), předčasné ukončení translace (nonsense)

## **Zápisy karyotypů**

### **Zadání:**

Zapište karyotypy u uvedených jedinců. Slovo "zdravý" označuje jedince s normálním karyotypem.

- Zdravý muž
- Zdravá žena
- Žena s Turnerovým syndromem
- Muž s Klinefelterovým syndromem
- Holčička s Patauovým syndromem (klasická trisomie)
- Muž s balancovanou translokací 14;21

Dále zapište diagnózu dle následujících karyotypů.

- 45, X
- 47, XXX
- 46, XY, der(21;21), +21
- 45, XX, der(14;21)
- 46, XY, del(5p)

### **Řešení:**

Při řešení této úlohy vycházíme ze znalosti normálního karyotypu člověka a příslušných chromosomových aberací. Při zápise těchto karyotypů se snažíme řídit nejnovější normou (ISCN 1995).

Při hodnocení karyotypu nejprve sečteme všechny chromosomy (standardně jde o 46 chromosomů); pokud se v karyotypu vyskytuje Robertsonská translokace (2 chromosomy spojené v jeden) - počítáme tento derivovaný chromosom pouze jednou.

Následně zapišeme přítomné pohlavní chromosomy.

Dále zapišeme různé odchylky oproti normálu...

Při hodnocení karyotypu chlapce s Downovým syndromem (a to s klasickou trisomií 21) tedy zapišeme:

Počet chromosomů: 47

Pohlavní chromosomy: XY

Odchylky (nadpočetný 21. chromosom): +21

Tedy: **47, XY, +21**

V případě dívky s balancovanou translokací 21;21 by zápis vypadal takto:

**45, XX, der(21;21)**, respektive 45, XX, t(21;21)

Zkratka **der** v tomto případě označuje derivovaný chromosom; zkratka **t** přesněji translokaci. Zápis (21;21) pak informuje o tom, kterých chromosomů se abnormalita týká.

Další zkratky potom zahrnují:

**del** - delecce

**dup** - duplikace

**inv** - inverse

**i** - isochromosom

**r** - ring chromosom (kruhový chromosom)

Chromosomální mozaika se potom zapisuje takto (žena se dvěma buněčnými liniemi - 45, X a 46, XX):

**45, X / 46, XX**

Při zápisu diagnózy si všímáme, zda je karyotyp normální či ne a pokud není, potom zda jde o balancovanou či nebalancovanou abnormalitu.

#### **Výsledek:**

- Zdravý muž - 46, XY
- Zdravá žena - 46, XX
- Žena s Turnerovým syndromem - 45, X
- Muž s Klinefelterovým syndromem - 47, XXY (respektive 48, XXXY či 49, XXXXY)
- Holčička s Patauovým syndromem - 47, XX, +13
- Muž s balancovanou translokací 14;21 - 45, XY, der(14;21)
  
- 45, X - Žena s Turnerovým syndromem (monosomie X chromosomu)
- 47, XXX - Žena s trisomií X ("Superfemale")
- 46, XY, der(21;21), +21 - Muž s translokační formou Downova syndromu
- 45, XX, der(14;21) - Žena s balancovanou translokací 14;21 (bez klinického projevu)
- 46, XY, del(5p) - Muž s delecí krátkého raménka 5. chromosomu (Cri du chat syndrom)

## **Chromosomové mutace**

### **Zadání:**

Pojmenujte následující chromosomové mutace. Písmenka označují jednotlivé úseky, \* označuje centromeru.

**ABCDEF\*GHIJKL** - normální chromosom

**ABEF\*GHIJKL** - mutace 1

**ABBCDEF\*GHIJKL** - mutace 2

**CBADEF\*GHIJKL** - mutace 3

**ABCDHG\*FEIJKL** - mutace 4

**DEF\*GHIJKL** - mutace 5

**ABCDEF\*FEDCBA** - mutace 6

**ABCDEF\*GHXYZJKL** - mutace 7

### **Řešení:**

Při řešení této úlohy vycházíme ze znalostí chromosomových mutací. Potom porovnáme úseky (písmenka) mutovaného chromosomu s úseky normálního chromosomu a mutaci pojmenujeme.

### **Výsledek:**

**ABEF\*GHIJKL** - Intersticiální delece úseku **CD**

**ABBCDEF\*GHIJKL** - Duplikace úseku **B**

**CBADEF\*GHIJKL** - Paracentrická inverze (úsek **ABC**)

**ABCDHG\*FEIJKL** - Pericentrická inverze (úsek **EF\*GH**)

**DEF\*GHIJKL** - Terminální delece úseku **ABC**

**ABCDEF\*FEDCBA** - Isochromosom (raménko **ABCDEF**)

**ABCDEF\*GHXYZJKL** - Inzerce úseku **XYZ**

## **Monohybridismus**

### **Zadání 1:**

U hypotetické květiny je červená barva květů podmíněna dominantní alelou **A**. Provedli jsme křížení květiny s červenými květy a květiny s bílými květy. Všichni potomci (100%) měli květy červené. Jaký genotyp lze očekávat u rodičovských rostlin a potomků?

### **Řešení:**

Uvažujeme jednoduchý monohybridismus dle 1. Mendelova zákona. Rostlina s bílými květy musí být recesivním homozygotem s genotypem **aa**, neboť nesyntetizuje-li červenou barvu květů, pak nemůže mít ani jednu dominantní alelu, která tento fenotypový znak podmiňuje.

U druhé - červené - rodičovské rostliny nemůžeme pouze z fenotypu usoudit na genotyp (červenou barvu nalezneme jak u dominantního homozygota, tak i u heterozygota). Vzhledem k fenotypu potomků (všichni mají červené květy) je však jasné, že červený rodič musí být dominantní homozygot (**AA**). Kdyby šlo o heterozygota, mělo by červenou barvu pouze 50% (přibližně) potomků.

Všichni potomci jsou potom heterozygoti

### **Výsledek:**

Rodič - bílý: genotyp **aa**

Rodič - červený: genotyp **AA**

Potomek - červený: genotyp **Aa**

---

### **Zadání 2:**

Potomky z předchozího příkladu (tj. fenotypově červené, genotypově heterozygoty) zkřížíme:

- Navzájem mezi sebou
- S bílým rodičem
- S červeným rodičem

Jaké můžeme očekávat genotypy a fenotypy u potomků z těchto křížení

### **Řešení:**

Křížení potomků - heterozygotů mezi sebou probíhá přesně dle 2. Mendelova zákona, na který se tímto odvolávám.

Při křížení potomků - heterozygotů s bílým rodičem se zaměříme na to, jakou alelu předá právě potomek - heterozygot. Rodič předává pouze recesivní alelu **a**, ovšem potomek (teď již také rodič :-)) - heterozygot může předat dominantní **A** i recesivní **a** alelu; každou s 50% pravděpodobností. Polovina potomků z tohoto křížení tak budou recesivní homozygoti (**aa**, fenotypově bílí); druhá polovina potom opět heterozygoti (**Aa**, fenotypově červení).

A nakonec křížení potomků - heterozygotů s červeným rodičem - dominantním homozygotem. Dominantní homozygot (**AA**) předává vždy dominantní alelu. Tudíž všichni potomci budou fenotypově červení. Heterozygot předává buď dominantní nebo recesivní alelu (viz výše), polovina potomků budou tedy opět dominantní homozygoti (**AA**), druhá polovina heterozygoti (**Aa**).

**Výsledek:**

a) 25% **aa** (bílá barva), 50% **Aa** (červená barva), 25% **AA** (červená barva)

a) 50% **aa** (bílá barva), 50% **Aa** (červená barva)

a) 50% **AA** (červená barva), 50% **Aa** (červená barva)

## Tvorba rodokmenu

### Zadání 1:

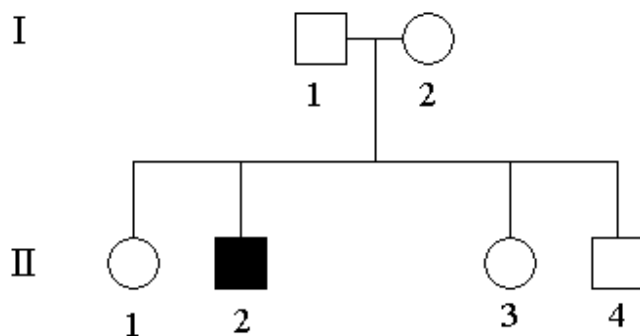
Nakreslete genealogické schéma této rodiny:

Rodiče (otec 45 let, matka 39 let) mají 4 děti (dcera 15, syn 13, dcera 7, syn 4). Starší ze synů je postižen dědičnou chorobou, zbytek rodiny je zdravý.

### Řešení:

Při sestavení rodokmenu použijeme standardních značek. Nezapomeneme, že jedince v jedné generaci (pokud možno) řadíme podle věku a to zleva doprava, od nejstaršího k nejmladšímu. Jedince rovněž příslušným způsobem očíslováme. Do legendy můžeme ke každému jedinci uvést věk, případně další podrobnosti.

### Výsledek:



I/1 - 45 let

I/2 - 39 let

II/1 - 15 let

II/2 - 13 let, **postižen**

II/3 - 7 let

II/4 - 4 roky

---

### Zadání 2:

Ve stejné rodině určete riziko, že další narozené dítě těchto rodičů bude opět trpět dědičnou chorobou, pokud ona dědičná choroba (kterou trpí syn II/2) je:

- Hemofilie
- Fenylketonurie

Od kterého z rodičů pochází mutovaná alela?

**Řešení:**

V prvním případě (hemofilie) jde o gonosomálně recesivně dědičnou chorobu (X - vázanou). Jelikož syn II/2 je postižen, jeho X chromosom musí nést mutovanou alelu. Otec (I/1) je zdravý, proto jeho X chromosom musí nést zdravou alelu. Z toho plyne, že X chromosom s mutovanou alelou musí pocházet od matky (I/2). Jelikož matka sama je zdravá, nese mutovanou alelu pouze jeden z dvojice jejích X chromosomů.

Matka tedy s 50% pravděpodobností předá každému dítěti X chromosom s mutovanou alelou. Pokud bude toto dítě chlapec, bude postižen. Pokud bude toto dítě děvče, bude přenašečkou, avšak bude hemofilii dále přenášet. Jelikož pravděpodobnost narození chlapce je rovněž 50% - je pravděpodobnost narození postiženého dítěte  $0,5 \cdot 0,5 = 0,25 = 25\%$ .

V případě druhém (fenyktonurie) jde o autosomálně recesivně dědičnou chorobu. Postižený syn (II/2) má obě alely mutovány. Jedna z nich pochází od matky a druhá od otce. Oba rodiče jsou tudíž přenašeči - heterozygoti (sami jsou zdraví). Každé dítě bude s 25% pravděpodobností zdravé, s 25% pravděpodobností postižené a s 50% pravděpodobností půjde o přenašeče.

**Výsledek:**

- a. Hemofilie - 25% pravděpodobnost narození postiženého dítěte (50% pro chlapce, 0% pro děvče); mutovaná alela pochází od matky.
- b. Fenyktonurie - 25% pravděpodobnost narození postiženého dítěte; mutovaná alela pochází od obou rodičů.

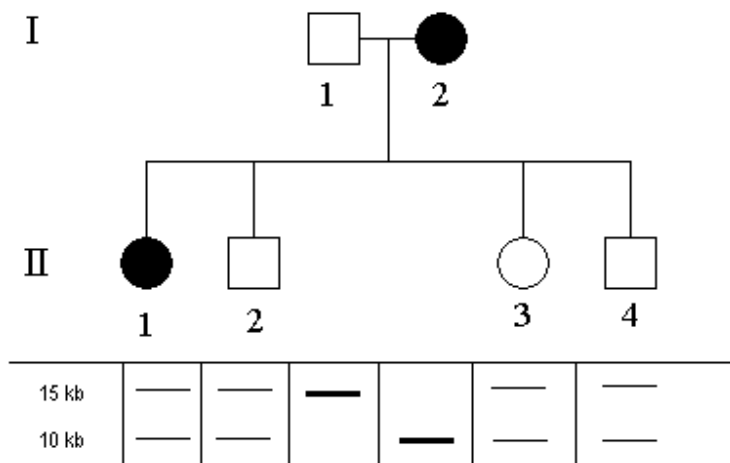
## Restrikční analýza

### Zadání:

Určete, zda se v následujících případech jedná o úspěšnou restrikční analýzu (zda je vyšetření "informativní").

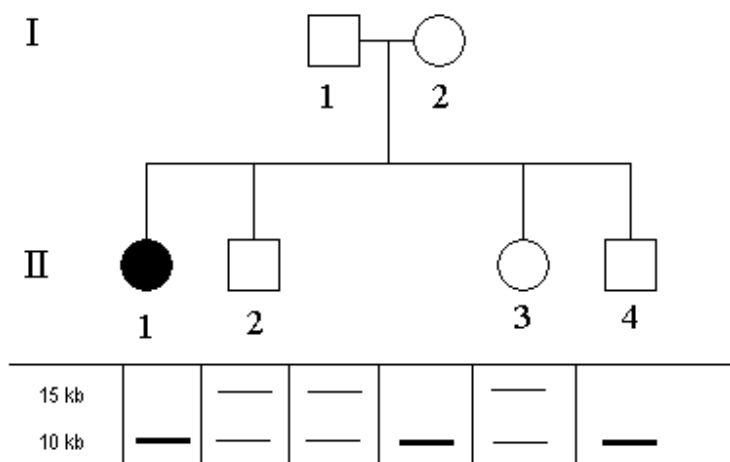
Pokud ne - vyřešte následující otázky pouze na základě genealogického vyšetření.

Schéma 1:



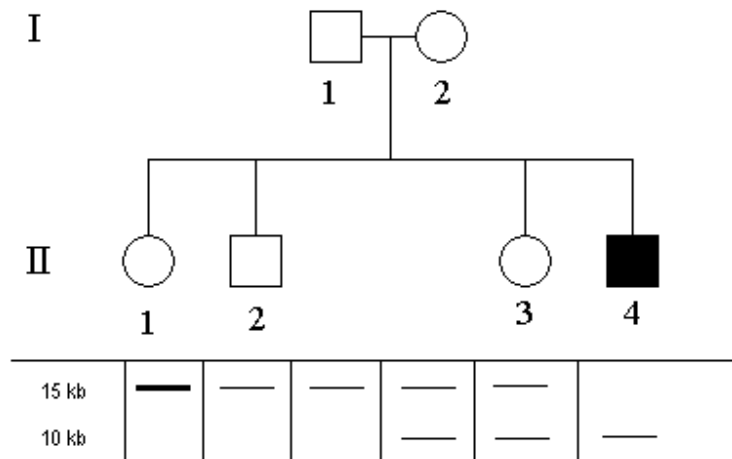
Matka I/2 trpí familiární hypercholesterolémií (AD dědičná choroba). Stejná choroba se nyní projevila u její starší dcery (II/1). Rozhodněte, zda i další děti této matky zdědily gen pro familiární hypercholesterolémii.

Schéma 2:



Rodiče jsou zdraví, u jejich starší dcery (II/1) byla diagnostikována fenylketonurie (AR). Žádné další z jejich dětí touto chorobou netrpí. Dokážete na základě této DNA analýzy určit, které z těchto dětí je přenašečem fenylketonurie?

Schéma 3:



Rodiče jsou zdraví, u jejich nejmladšího dítěte (II/4) však byla krátce po narození diagnostikována hemofilie A (X vázaná dědičnost). Žádné jiné dítě touto chorobou netrpí. Zjistěte, od kterého z rodičů pochází mutovaná alela a zda (a s jakou pravděpodobností) jsou dívky II/1 a II/3 přenašečkami hemofilie.

Mezi sledovaným genem a vazebným místem sondy je vzdálenost 3 cM.

### Řešení 1:

U prvního schématu se nejedná o informativní DNA analýzu. Otec i matka jsou homozygoti v délce restrikčních fragmentů a všechny jejich děti jsou heterozygoti. Nedokážeme rozlišit, který z matčinych fragmentů je ve vazbě s mutovanou alelou.

Úlohu tedy budeme řešit na základě genealogického vyšetření. Jelikož se jedná o AD dědičnou chorobu, matka předá mutovanou alelu v 50% případů každému dítěti.

Poznámka - Matku považujeme za heterozygota (nese jednu mutovanou alelu). Pokud by byla dominantní homozygotka (obě alely mutované), byl by její stav velmi závažný.

### Řešení 2:

Také tato analýza není zcela informativní. Dokážeme sice vysledovat, který fragment u otce je ve vazbě s mutovanou alelou, ovšem u matky se nám to nepodaří. Postižená dcera má oba fragmenty délky 10 kb. Vzhledem k tomu, že otec je heterozygot v délce restrikčních fragmentů, můžeme zkonstatovat, že jeho 15 kb dlouhý fragment není ve vazbě s mutovanou alelou a naopak, že jeho 10 kb dlouhý fragment ve vazbě s mutovanou alelou je.

Matka je ovšem stejně jako postižená dcera homozygotem v délce restrikčních fragmentů. O tom, který z jejich 10 kb dlouhých fragmentů je ve vazbě s mutovanou alelou, nedokážeme

rozhodnout.

Starší syn (II/2) a mladší dcera (II/3) mají 15 kb dlouhý fragment, který mohli dostat jedině od otce. Tento fragment není ve vazbě s mutovanou alelou. Od matky dostali oba jeden z jejich 10 kb dlouhých fragmentů. Mají 50% šanci, že se jednalo o fragment s vazbou na mutovanou alelu. S 50% pravděpodobností tedy budou přenašeči fenylketonurie.

U mladšího syna (II/4) je situace jiná. Je to opět homozygot pro fragment o délce 10 kb, ovšem narozdíl od své starší sestry je zdravý. Od svého otce mohl dostat pouze 10 kb dlouhý fragment, který je ve vazbě s mutovanou alelou. Od matky tedy musel dostat "zdravý" fragment o stejné délce. Jedná se tedy o fenotypově zdravého přenašeče fenylketonurie.

### **Řešení 3:**

Zde máme příklad informativní DNA analýzy. Otec I/1 je zdrav, proto jeho 15 kb dlouhý fragment není ve vazbě s mutovanou alelou (otec má jako muž pouze jeden X chromosom, proto u něj nacházíme pouze jeden fragment, stejně jako u dalších mužských rodinných příslušníků).

U postiženého syna (II/4) nacházíme fragment o délce 10 kb - tudíž se jedná o fragment, který je ve vazbě s mutovanou alelou. Tento fragment pochází od matky. Její druhý fragment (o délce 15 kb) není ve vazbě s mutovanou alelou, jednak proto, že sama matka postižená není (u žen se onemocnění projevuje pouze pokud jsou mutovány alely na obou X chromosomech) a jednak protože syn II/2 postižen není, ačkoliv zdědil tento fragment od matky (všimněte si, že otec nikdy nepředává X chromosom svým synům, ale zato jej vždy předá svým dcerám - viz dále).

Obě dcery dostaly od otce 15 kb dlouhý "zdravý" fragment. Jejich přenašečství bude záviset na tom, jaký fragment získaly od matky. Jak vidíme - starší dcera II/1 dostala i od matky 15 kb dlouhý fragment, který rovněž není ve vazbě s mutovanou alelou. Starší dcera tedy přenašečkou není.

Mladší dcera II/3 dostala od matky fragment o délce 10 kb. Tento fragment je ve vazbě s mutovanou alelou. Tato dcera je tedy přenašečkou.

Vzhledem k tomu, že může dojít k rekombinaci mezi sledovaným genem a místem, kde hybridizuje sonda, která zviditelňuje výsledek restriční analýzy - musíme výslednou pravděpodobnost upravit na základě vzdálenosti mezi sledovaným genem a místem, který rozpoznává sonda.

Vzdálenosti 1 cM odpovídá 1% šance rekombinace.

U dcery II/1 jsme na základě DNA analýzy usoudili, že se přenašečku nejedná. Po úpravě pravděpodobnosti však nepůjde o 0% pravděpodobnost, ale pravděpodobnost, že se jedná o přenašečku, bude činit 3%.

Stejně tak u dcery II/3 není pravděpodobnost přenašečství 100%, ale pouze 97%, neboť i zde musíme zohlednit pravděpodobnost rekombinace.

### **Výsledky:**

U prvního schématu jde o neinformativní DNA analýzu. Na základě genealogického vyšetření je zde pravděpodobnost 50%, že každé matčino dítě bude trpět familiární hypercholesterolémií.

U druhého schématu je analýza zcela informativní pouze pro syna II/4, který je určitě přenašečem fenylketonurie. Jedinci II/2 a II/3 jsou na základě analýzy přenašeči s 50% pravděpodobností.

Ve třetím případě jde o informativní analýzu, kdy mutovaná alela pochází od matky. Dcera II/1 je přenašečkou hemofilie s 3% pravděpodobností; dcera II/3 s 97% pravděpodobností.

## **Jednoduchá dědičnost genetických chorob**

### **Zadání 1:**

Otec trpí familiární hypercholesterolémií. Matka je zdravá. Jaké je riziko pro jejich potomky, že po otci zdědí tuto chorobu?

### **Řešení:**

Familiární hypercholesterolémie je autosomálně neúplně dominantně dědičná choroba. Neúplně dominantní choroba postihuje heterozygoty i dominantní homozygoty, ovšem dominantní homozygoty mnohem hůře. Pokud teoreticky (ale i v praxi) uvažujeme "nemocného" jedince - myslíme tím ve většině případů heterozygota. Nemocní - homozygoti jsou vzácní - jednak to znamená, že oba rodiče musí trpět stejnou dědičnou chorobou (a i potom je jen 25% šance, že se jim narodí dominantní homozygot) a jednak je jejich onemocnění většinou velmi závažné (může je například ohrožovat na životě). Velká většina dominantně dědičných chorob je ve skutečnosti neúplně dominantních. Úplně dominantních genetických chorob (kde heterozygot i dominantní homozygot jsou postiženi stejně) je relativně málo. Matka je zdravá - považujeme ji za recesivního homozygota (nenese mutovanou alelu).

Máme zde tedy případ křížení heterozygota s recesivním homozygotem. Polovina potomků (50%) budou recesivní homozygoti (zdraví jedinci), druhá polovina heterozygoti (postižení jedinci). Riziko je bez pohlavních rozdílů.

### **Výsledek:**

Pro každého potomka je zde 50% šance, že zdědí po otci familiární hypercholesterolémii.

---

### **Zadání 2:**

Matka trpí fenylketonurií. Otec je zdravý a v jeho rodině se fenylketonurie nikdy nevyskytla. Jaké je riziko pro jejich potomky, že budou trpět fenylketonurií.

### **Řešení:**

Fenylketonurie je autosomálně recesivně dědičná choroba. Pokud matka trpí fenylketonurií, potom je recesivní homozygot. Otec je zdravý, může být dominantní homozygot nebo heterozygot. Vzhledem k poznámce, že se v otcově rodině fenylketonurie nikdy nevyskytla, lze otce považovat za dominantního homozygota.

Dostaneme tedy křížení dominantního a recesivního homozygota. Všichni potomci (bez ohledu na pohlaví) budou heterozygoti; fenotypově zdraví, ovšem přenašeči fenylketonurie.

**Výsledek:**

Žádné dítě těchto rodičů nebude trpět fenylketonurií, ovšem všechny děti budou přenašeči.

---

**Zadání 3:**

Dvěma fenotypově zdravým rodičům se narodil chlapec s hemofilií. Který z rodičů přenáší hemofilii? Jaké je riziko, že i další dítě bude trpět hemofilií?

**Řešení:**

Hemofilie je X vázaná recesivně dědičná choroba. Vzhledem k tomu, že muži mají pouze jeden X chromosom, můžeme otce z nosičství hemofilie vyloučit (pokud by měl X chromosom s předpokladem pro hemofilii - musel by sám hemofilií trpět). Nosičkou je tedy matka (sama není nemocná, neboť má ještě druhý - "zdravý" X chromosom).

Otec předává potomkovi buď chromosom X nebo chromosom Y. Matka předává pouze X chromosom. Každé dítě těchto rodičů má 50% šanci, že dostane od matky X chromosom s mutovanou alelou. Pokud tento "nemocný" chromosom dostane děvče (od otce dostane X chromosom), potom půjde o fenotypově zdravou přenašečku. Žádné děvče těchto rodičů hemofilií trpět nebude.

Ovšem chlapci dostávají od otce Y chromosom. Jelikož mají 50% šanci, že od matky dostanou X chromosom s mutovanou alelou, mají zároveň i 50% šanci, že budou trpět hemofilií.

Pravděpodobnost, že bude hemofilií trpět syn těchto rodičů je 50%. Pravděpodobnost, že bude hemofilií trpět dcera je 0%. Pokud chceme vyčíslit obecně riziko pro potomka, potom musíme vynásobit riziko pro chlapce (50%), teoretickou šancí narození chlapce (rovněž 50%). Tedy  $1/2 \cdot 1/2 = 1/4 = 25\%$

**Výsledek:**

Pro chlapce je riziko 50%, pro dívky 0% (s 50% pravděpodobností však půjde o přenašečky hemofilie). Pro dítě obecně je riziko 25%.

## Hardyho-Weinbergova rovnováha pro 2 alely

### Zadání 1:

V populaci (9800 jedinců celkem) se vykytuje hypotetický geneticky podmíněný znak. Dominantní forma tohoto znaku je podmíněna dominantní alelou **A**, recesivní forma znaku je podmíněna recesivní alelou **a**. Dominantní fenotyp mělo 4998 jedinců. Určete genovou frekvenci dominantní a recesivní alely (populace je v H-W rovnováze).

### Řešení:

Označme si dominantní alelu (respektive její frekvenci v populaci) jako **p** a recesivní alelu jako **q**. Pro populaci, která je v H-W rovnováze platí následující vztah:  $p^2 + 2pq + q^2 = 1$ ; kde výraz  $p^2$  odpovídá dominantním homozygotům (tedy jejich procentuálnímu zastoupení v celku; celek - 100% = 1 je zastoupen pravou stranou rovnice),  $q^2$  odpovídá recesivním homozygotům a  $2pq$  heterozygotům.

Dále pro genové frekvence alel platí tento vztah:  $p + q = 1$ .

V uvedené populaci máme 4998 jedinců s dominantním fenotypem. Celkem je v populaci 9800 jedinců - tedy recesivní fenotyp má 4802 (9800-4998=4802) jedinců. U jedinců s dominantním fenotypem neznáme genotyp (může jít o dominantní homozygoty i heterozygoty); genotyp známe pouze u jedinců s recesivním fenotypem - jde o genotyp **qq** (respektive **aa**, ovšem pro názornost se v tomto případě budeme držet označení recesivní alely jako **q** a dominantní jako **p**).

Abychom mohli sestavit rovnici - musíme znát procentuální zastoupení recesivních homozygotů v populaci (zatím známe jen absolutní počet, ne procento z celku).

Tedy  $4802 / 9800 = 0,49 = 49\%$

Můžeme tedy sestavit následující rovnici:  $q^2 = 0,49$

Pokud obě strany rovnice odmocníme - získáme výraz:  $q = 0,7$

A konečně dosazením do rovnice  $p + q = 1$  získáme rovnici  $p + 0,7 = 1$

Snadno tedy vypočteme -  $p = 0,3$

Pro kontrolu si můžeme dopočítat, zda správně dopočteme počet jedinců s dominantním fenotypem.

Spočteme zastoupení heterozygotů:  $2pq = 2 \cdot 0,3 \cdot 0,7 = 0,42 = 42\%$

A zastoupení dominantních homozygotů:  $p^2 = 0,3 \cdot 0,3 = 0,09 = 9\%$

Dominantní fenotyp by mělo mít 51% (42 + 9 = 51) všech jedinců.

$9800 \cdot 0,51 = 4988$

Zkouška tedy vyšla - výsledek je správný.

### Výsledek:

$p = 0,3$  (frekvence alely **A**)

$q = 0,7$  (frekvence alely **a**)

---

## Zadání 2:

U 200 osob byla vyšetřena krevní skupina. V MN systému byly výsledky následující: 32 jedinců mělo skupinu **M**, 96 jedinců mělo skupinu **MN** a 72 jedinců mělo skupinu **N**. Vypočtěte genové frekvence alel.

## Řešení:

Krevní systém **MN** je jedním z vedlejších krevních systémů. Jde o monogenní znak, který se dědí kodominantně. Jinými slovy - jedinci s genotypem **MM** mají skupinu **M**, jedinci s genotypem **MN** mají skupinu **MN** a jedinci s genotypem **NN** mají skupinu **N**.

U kodominance máme tedy výhodu, že ke každému fenotypu můžeme přesně přiřadit genotyp. Nůžeme tedy vypočítat rovnou procentuální zastoupení alely **M** v populaci. Celek představuje všech 200 osob. Protože se ale budeme zabývat alelami a každý jedinec má alely 2 - musíme jako celek počítat **400 alel**. Nyní - kolikrát se v tomto celku vyskytuje alela **M**? U 32 jedinců nacházíme skupinu **M** - jsou tedy dominantní homozygoti a každý z nich má alelu **M** dvakrát -  $32 \cdot 2 = 64$ . Dále nacházíme alelu **M** u jedinců se skupinou **MN**. To jsou ovšem heterozygoti a alelu **M** najdeme u každého pouze jednou. Tedy  $96 \cdot 1 = 96$ . U jedinců se skupinou **N** alelu **M** nenacházíme.

Celkem se v naší hypotetické populaci alela **M** vyskytuje **160krát** ( $64 + 96 = 160$ ).

Nyní toto číslo vyjádříme jako procento z celku:  $160 / 400 = 0,4$

A dopočteme frekvenci alely **N**:  $N = 1 - 0,4 = 0,6$  (vycházíme ze vzorce  $p + q = 1$ ).

Můžeme si opět udělat zkoušku, jestli vypočtené genové frekvence jsou správné:

Skupina M:  $M^2 = 0,4 \cdot 0,4 = 0,16 = 16\%$

$0,16 \cdot 200 = 32$  jedinců

Skupina MN:  $2MN = 2 \cdot 0,4 \cdot 0,6 = 0,48 = 48\%$

$0,48 \cdot 200 = 96$  jedinců

Skupina N:  $N^2 = 0,6 \cdot 0,6 = 0,36 = 36\%$

$0,36 \cdot 200 = 72$  jedinců

Výsledek zkoušky potvrzuje správnost výsledků.

## Výsledek:

M = 0,4

N = 0,6

## Dědičnost HLA haplotypů

### Zadání :

Rodina vykazuje následující HLA fenotypy:

Otec:  $A_2A_{14}B_3B_7$

Matka:  $A_2A_8B_5B_9$

Dítě:  $A_2B_3B_5$

Zapište genotypy otce a matky a dítěte s vyznačením haplotypů. Jaké další genotypy mohou mít děti těchto rodičů? Možnost rekombinace zanedbejte.

### Řešení:

**Hlavní histokompatibilní komplex** (MHC) je skupina genů na krátkém raménku 6. chromosomu, které kódují řadu genů - kromě jiných i **HLA antigeny** (Human leukocyte antigens). Jde o nejvýznamější lidský antigenní systém, důležitý z imunologického a transplantačního hlediska. Rozlišujeme HLA geny I. a II. třídy; obě třídy jsou vysoce polymorfní (pro každý lokus existuje velké množství různých alel). Významnou skutečností je, že sousedící HLA geny (například geny I. HLA třídy: HLA-A, HLA-B, HLA-C) se z rodičů na potomky přenáší jako tzv. **haplotypy**. Co to znamená? Že se přenáší jako bloky genů, mezi kterými pouze vyjíměčně dochází k rekombinaci (crossing-overu).

Předvedeme si na příkladu:

Otec má následující haplotypy:

$[A_1B_1]$

$[A_2B_2]$

Matka má následující haplotypy:

$[A_3B_3]$

$[A_4B_4]$

Písmenka **A** a **B** označují geny HLA systému; čísla označují přímo o kterou alelu se jedná (jde o vysoce polymorfní geny - viz výše). Dvojice genů uzavřená do závorky označuje geny uložené na **jednom chromosomu** - tvořící **haplotyp**.

Otec tedy potomkovi může předat buď kombinaci  $[A_1B_1]$  nebo  $[A_2B_2]$ , ale nikdy ne (velmi vzácně)  $[A_1B_2]$ .

Děti těchto rodičů tedy mohou mít následující kombinace haplotypů:

1. možnost

$[A_1B_1]$  (od otce)

$[A_3B_3]$  (od matky)

2. možnost

$[A_1B_1]$  (od otce)

$[A_4B_4]$  (od matky)

3. možnost

[**A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>**] (od otce)

[**A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>**] (od matky)

4. možnost

[**A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>**] (od otce)

[**A<sub>4</sub>B<sub>4</sub>**] (od matky)

Nyní se můžeme pustit do řešení úlohy. Dítě má fenotyp **A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>B<sub>3</sub>**. Všimněte si, že má ve fenotypu pouze jeden typ **A** antigenu - **A<sub>2</sub>**. Znamená to, že gen pro tento antigen má dvakrát (dostal jej od obou rodičů). Rozebereme si, od koho mohlo dítě jaký gen zdědit:

**A<sub>2</sub>** - od otce i od matky

**B<sub>3</sub>** - od otce

**B<sub>5</sub>** - od matky

Od matky tedy dítě dostalo tuto kombinaci (haplotyp): [**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**]

A od otce tuto kombinaci (haplotyp): [**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**]

Jelikož známe jeden haplotyp otce a matky, snadno vytvoříme i haplotyp druhý, ze dvou zbývajících genů (které logicky musí tvořit haplotyp druhý).

Otec

[**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**]

[**A<sub>14</sub>B<sub>7</sub>**]

Matka

[**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**]

[**A<sub>8</sub>B<sub>9</sub>**]

Dítě

[**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**] (od otce)

[**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**] (od matky)

Nyní již snadno dořešíme i zbytek úlohy - tj. další možné kombinace haplotypů u dětí těchto rodičů.

### **Výsledek:**

Otec

[**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**]

[**A<sub>14</sub>B<sub>7</sub>**]

Matka

[**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**]

[**A<sub>8</sub>B<sub>9</sub>**]

Dítě

[**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**] (od otce)

[**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**] (od matky)

Další možná kombinace pro dítě 1

[**A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>**] (od otce)

[**A<sub>8</sub>B<sub>9</sub>**] (od matky)

Další možná kombinace pro dítě 2

[**A<sub>14</sub>B<sub>7</sub>**] (od otce)

[**A<sub>2</sub>B<sub>5</sub>**] (od matky)

Další možná kombinace pro dítě 3

[**A<sub>14</sub>B<sub>7</sub>**] (od otce)

[**A<sub>8</sub>B<sub>9</sub>**] (od matky)