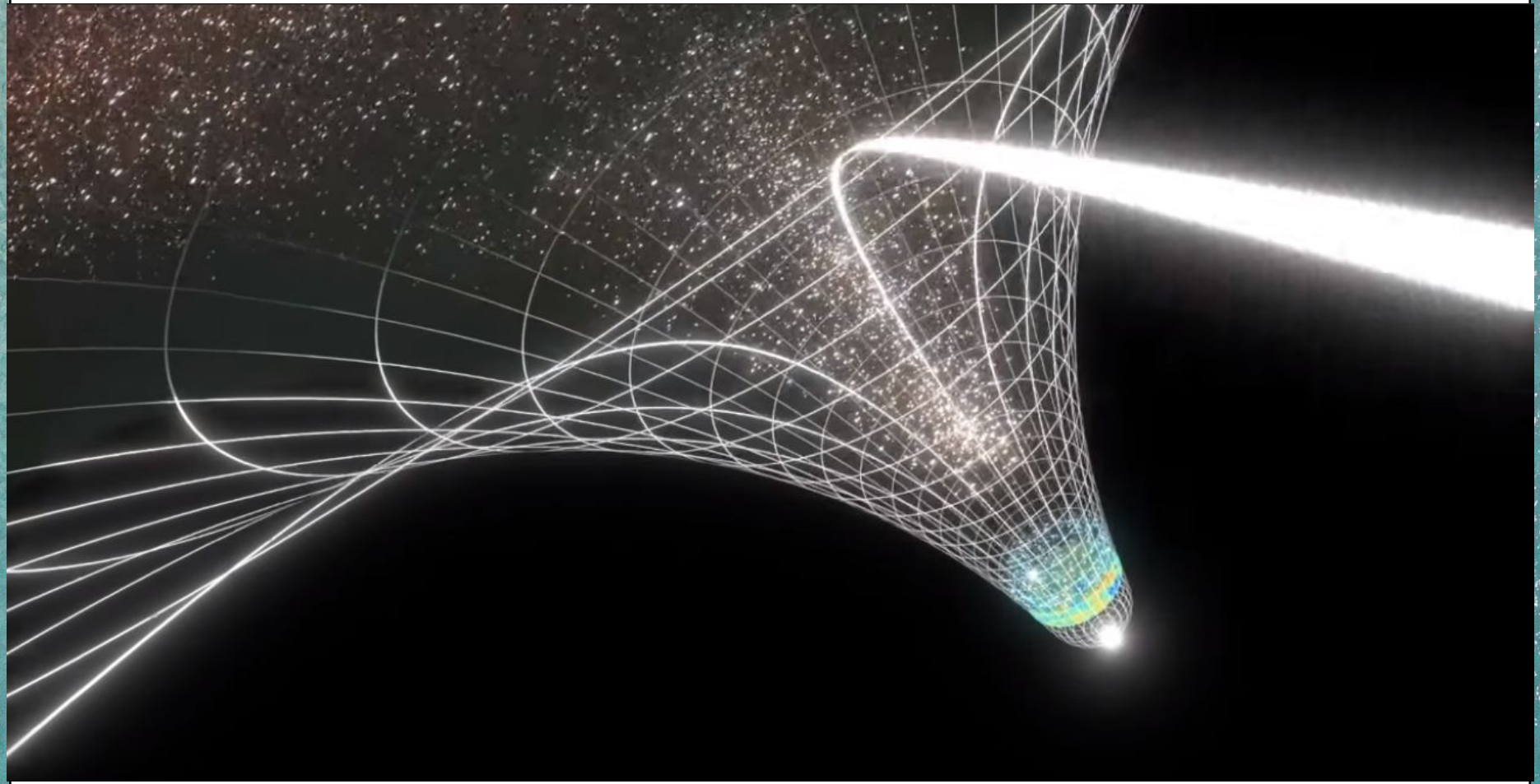
GENETYCZNE UWARUNKOWANIA ZESPOŁU MARFANA - wstęp do genetyki i sekwencjonowania

Dr Maciej Sykulski
Mgr Agnieszka Koppolu

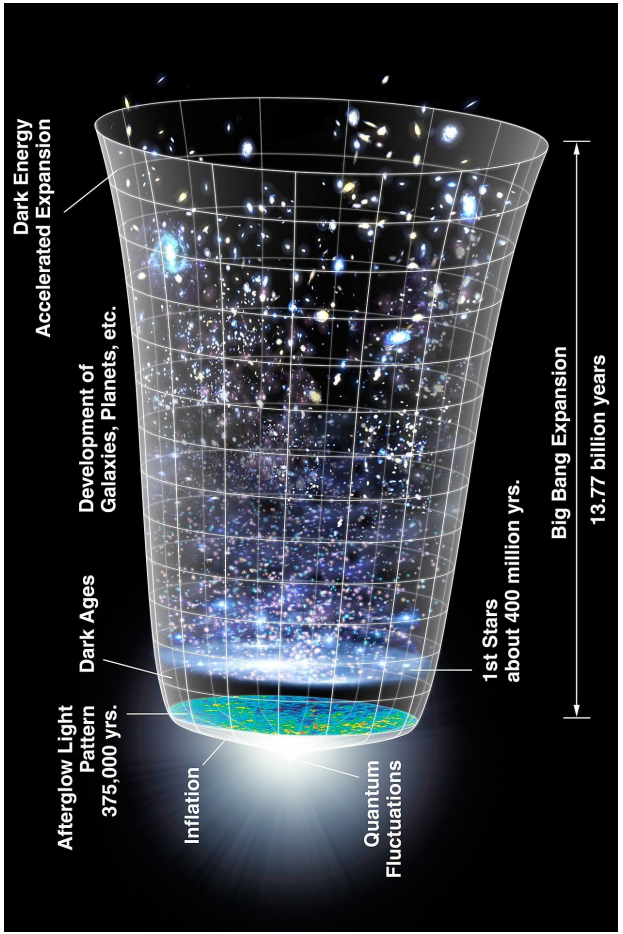
Victor Abel Murcia -Pienkowski
Piotr Gasperowicz
Elżbieta Bargeł

Zakład Genetyki Medycznej
prof. dr hab. n. med. Rafał Płoski
dr hab. n. med. Małgorzata Rydzanicz
dr hab. n. med. Joanna Kosińska
Anna Walczak
Anna Biernacka

Zacznijmy od początku ...

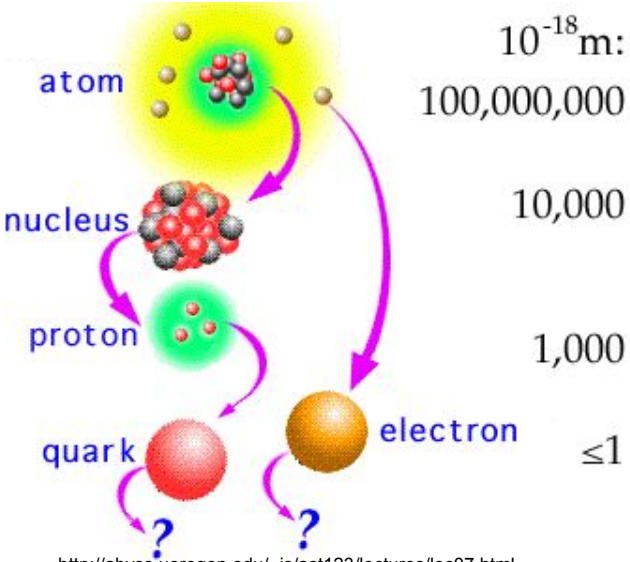


YouTube: Konforemna Cykliczna Kosmologia Rogera Penrose'a, czyli co bylo przed Wielkim Wybuchem.



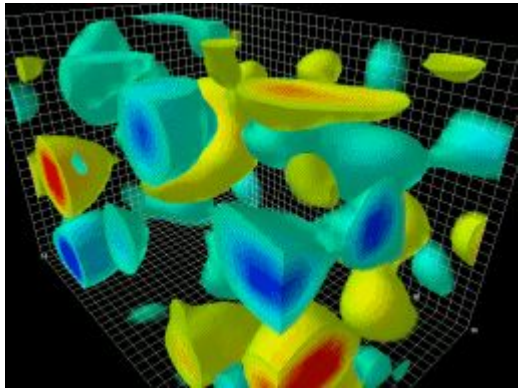
By NASA/WMAP Science Team - Original version: NASA; modified by Ryan Kaldari, Public Domain, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11885244

W dużej skali rzeczy zbliżają /grupują się z powodu grawitacji

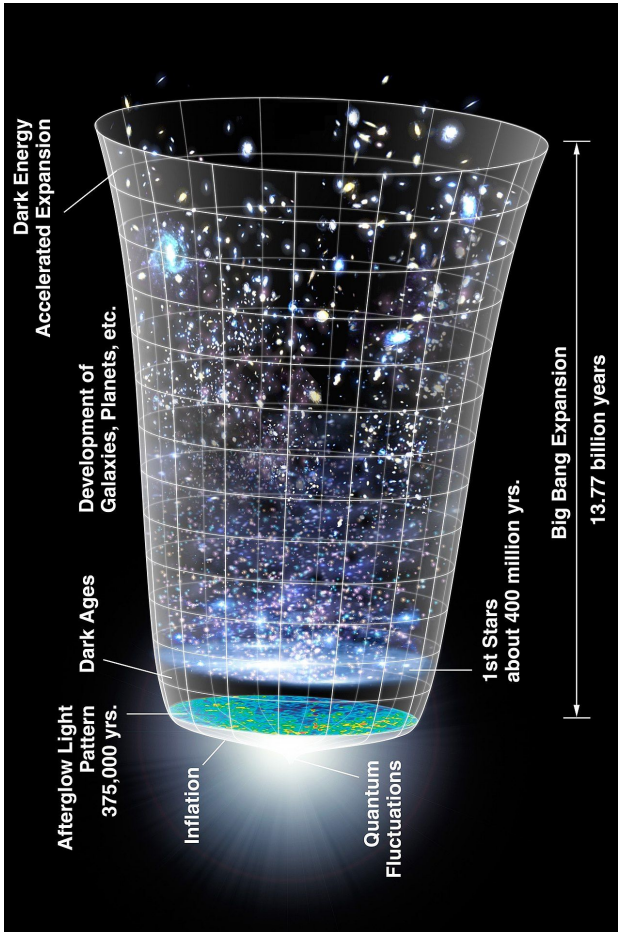


http://abyss.uoregon.edu/~js/ast123/lectures/lec07.html

W małej i średniej skali z powodu interakcji



http://www.damtp.cam.ac.uk/user/tong/whatisqft.html



By NASA/WMAP Science Team - Original version: NASA; modified by Ryan Kaldari, Public Domain, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=11885244

W dużej skali rzeczy zbliżają /grupują

p odu

g vitacji

Porządek Entropia Chaos

GLOBALNIE

LOKALNIE

Chaos - Entropia Porządek?

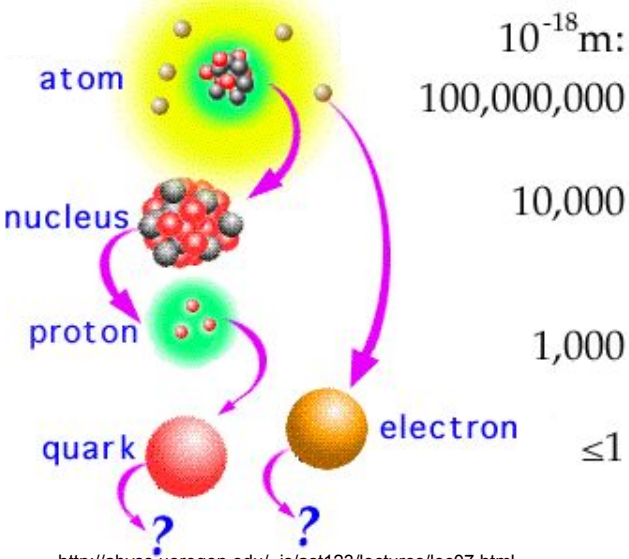
W ma i

średn

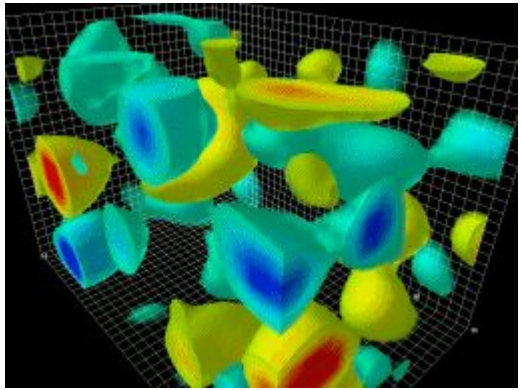
skali

powo

intera i



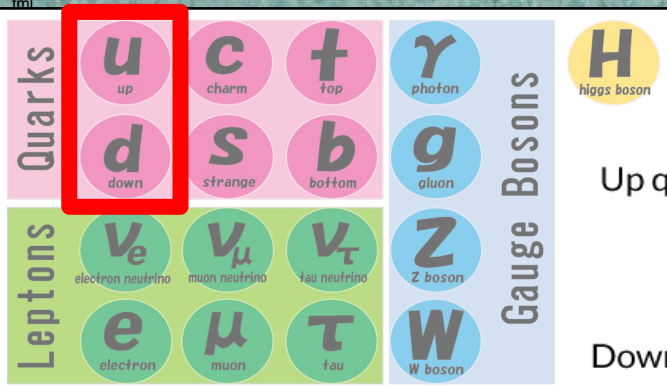
http://abyss.uoregon.edu/~js/ast123/lectures/lec07.html

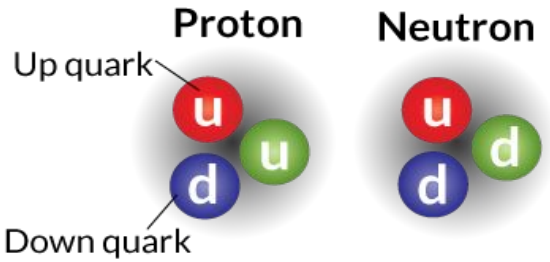


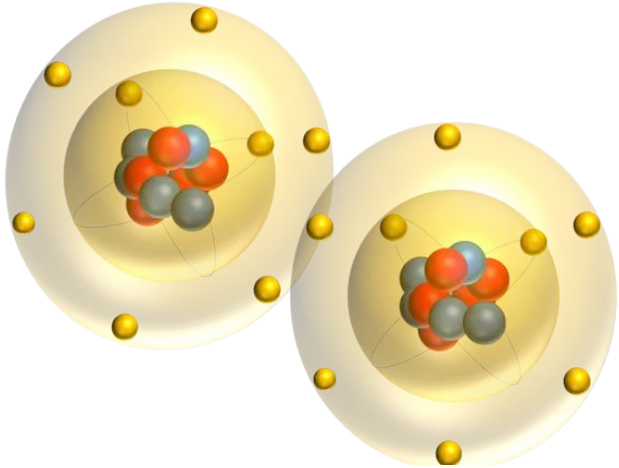
http://www.damtp.cam.ac.uk/user/tong/whatisqft.html

http://www.aip.nagoya-u.ac.jp/en/public/nu_research/features/detail/0003689.html

http://www.kidsreadingnetwork.com/matter-how-atoms-interact-to-form-elements-molecules-and-compounds/



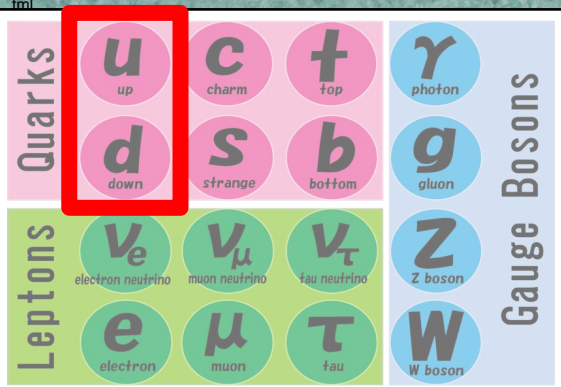


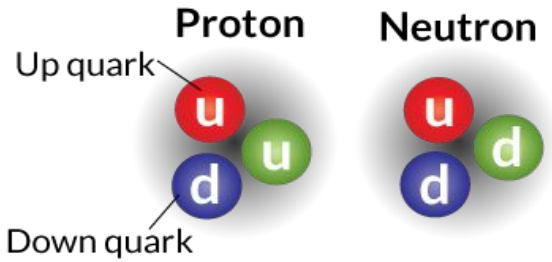


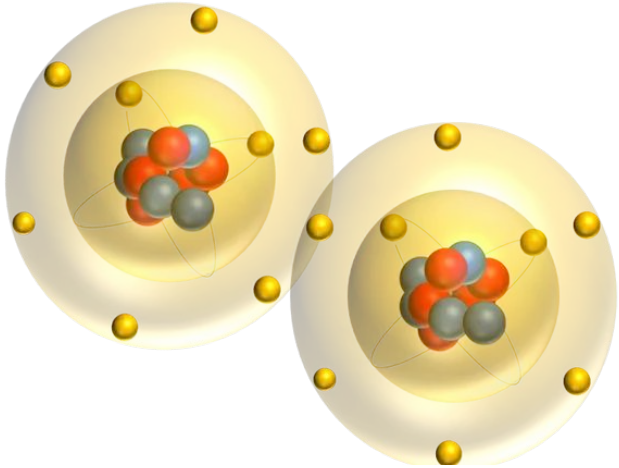
http://chemia-gimnazjum.info/index.php?podstrona=klasa1&dzial=2&temat=7

http://www.aip.nagoya-u.ac.jp/en/public/nu_research/features/detail/0003689.html

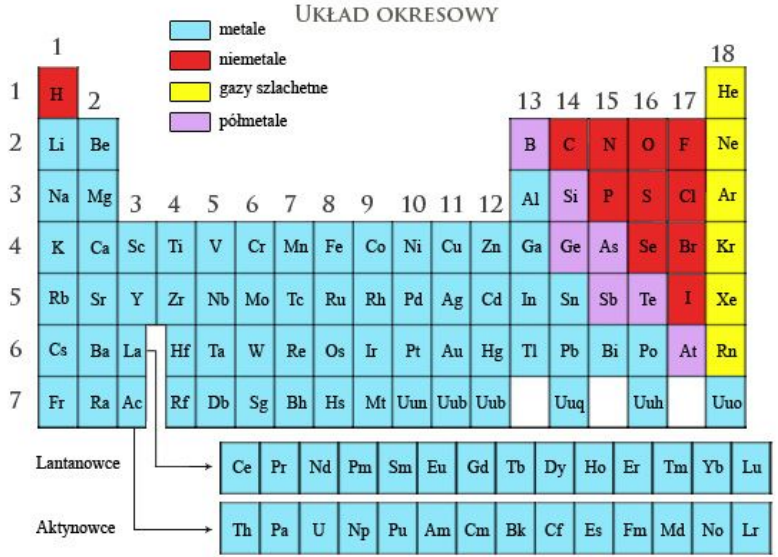
http://www.kidsreadingnetwork.com/matter-how-atoms-interact-to-form-elements-molecules-and-compounds/







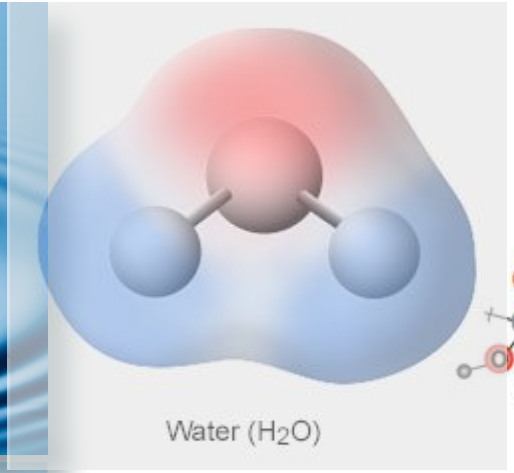
CHEMIA

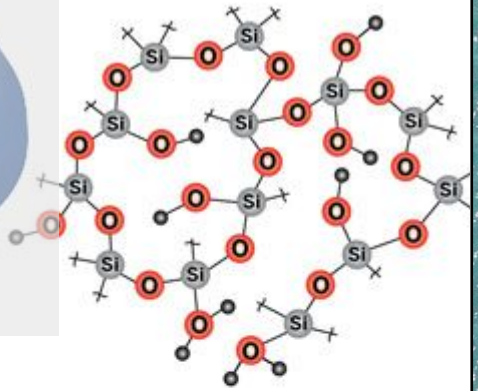


http://chemia-gimnazjum.info/index.php?podstrona=klasa1&dzial=2&temat=7

http://www.abc.net.au/science/articles/2014/04/02/3963264.htm https://pubs.acs.org/cen/coverstory/86/8617cover.html

CHEMIA





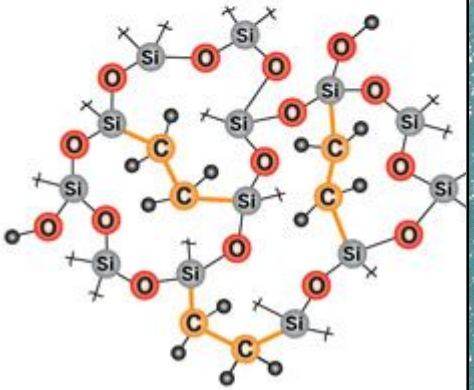
Chemia Organiczna

Ponad >~90% znanych związków chemicznych

1A	2A											3A	4A	5A	6A	7A	8A
H																	
												B	C	N	O	F	
													Si	P	S	Cl	
																Br	
																I	

Znane ludzkości związki chemiczne:

Największą tego rodzaju bazą jest CAS Registry - liczy ona **ok. 64 mln związków chemicznych**

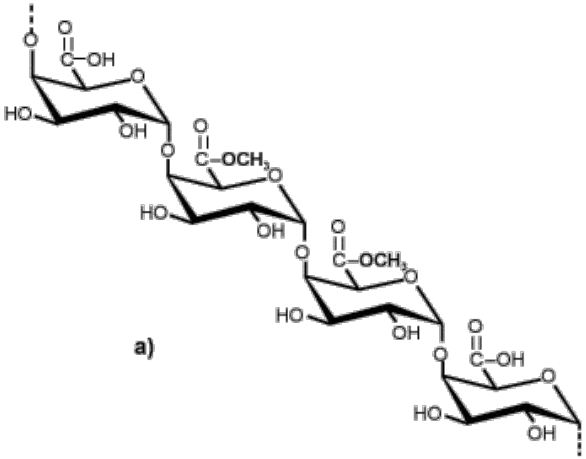


A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses, Allwyn Sundar Raj A

Dziesiątki milionów znanych związków chemicznych…
i to nie koniec - skąd tak wiele?
m.in. **związki łańcuchowe**

… jak się w tym połapać, **jak śledzić te wszystkie substancje** ?

… ***Natura*** znalazła drogę (czy jedyną? ile jest podobnych)



Replikujące się

Związki Łańcuchowe

RNA

DNA

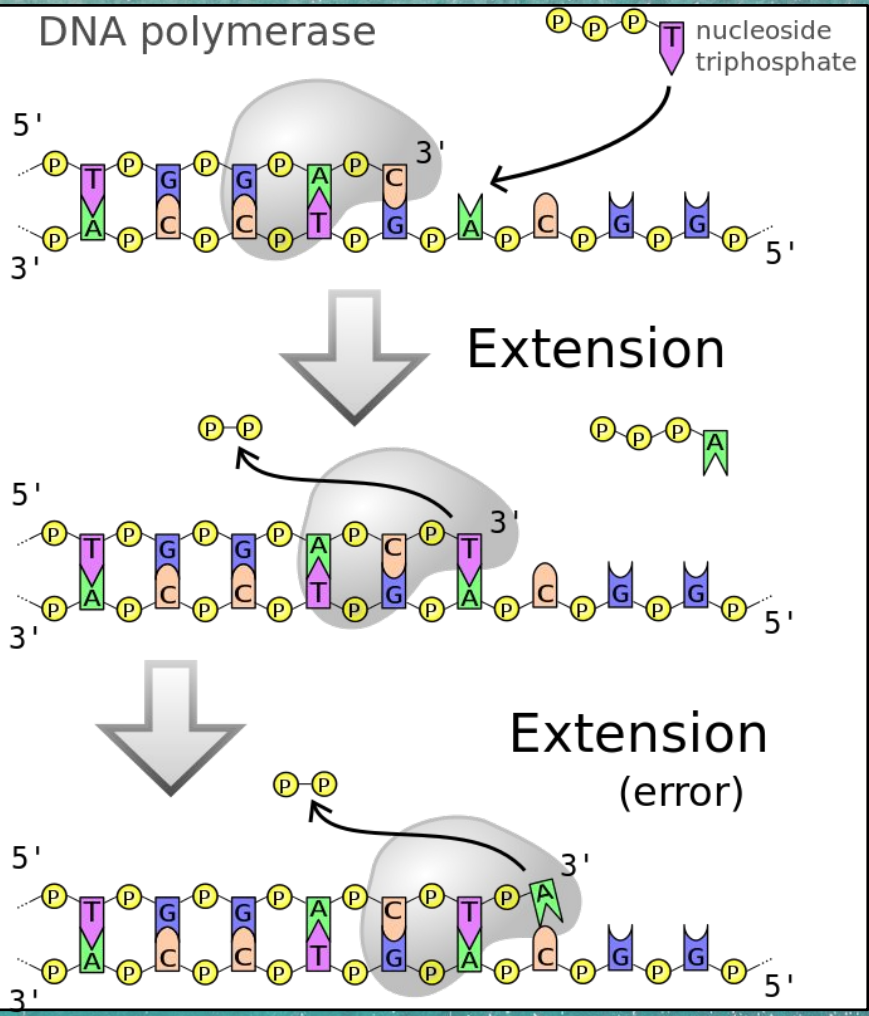
https://www.technologynetworks.com/genomics/lists/what-are-the-key-differences-between-dna-and-rna-296719

Związek chemiczny (białko)
Polimeraza DNA

przepisuje DNA
… niczym mnisi koptyjscy książki

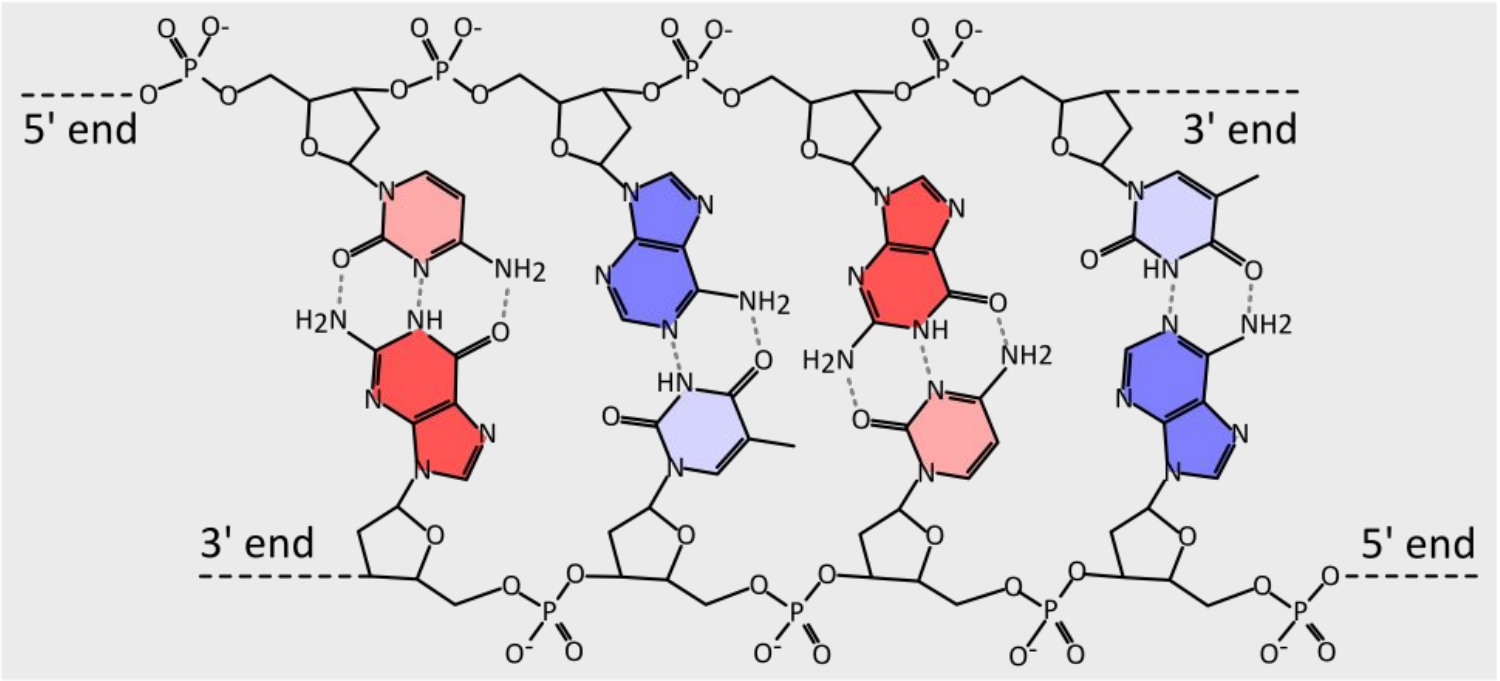
… czasem dodaje coś od siebie, tzn myli się 1/1mln - 1/10tyś. razy

Pomagają jej inne związki/mechanizmy naprawcze.



https://en.wikibooks.org/wiki/Principles_of_Biochemistry/Cell_Metabolism_I:_DNA_replication#/media/File:DNA_polymerase.svg

Wikipedia



CAGTGCCCGTAAGCCAGATTCAGA

-- kluczowa rzecz: **sekwencja** łańcucha, sposób zapisu informacji, niczym książka lub program komputerowy

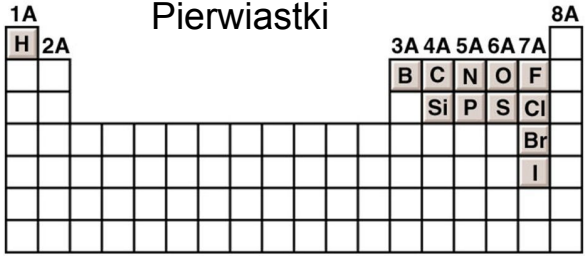
G ⟷ C
A ⟷ T
komplementarność

Użyteczne GADŻETY w naturze, klocki z których powstają większe, bardziej złożone rzeczy:

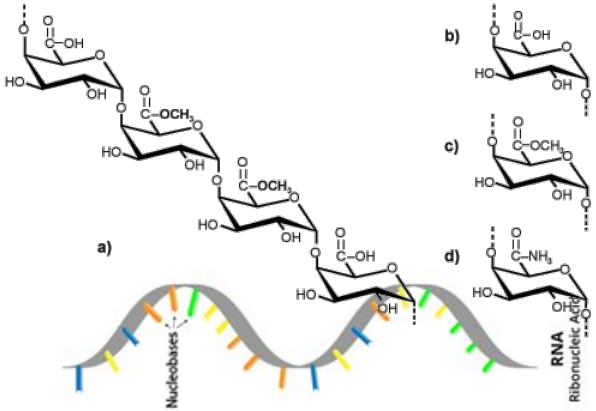
Kwarki

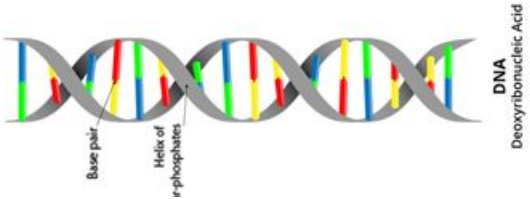
u c t e m t
d s b

Pierwiastki



Związki organiczne





RNA, DNA
Łańcuchowe
Replikujące się
Związki organiczne

Jaki jest następny przydatny GADŻET w Naturze

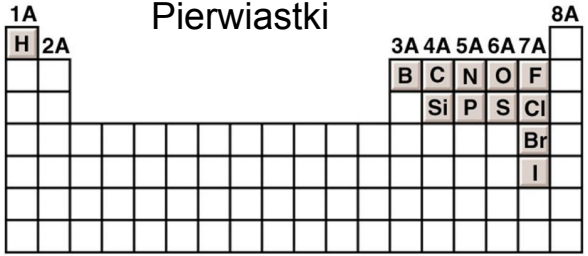
?

Użyteczne GADŻETY w naturze, klocki z których powstają większe, bardziej złożone rzeczy:

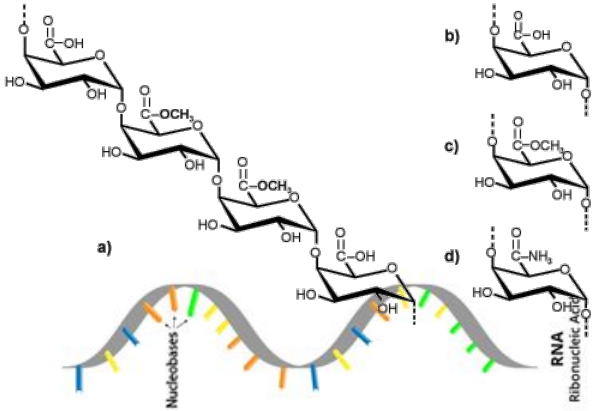
Kwarki

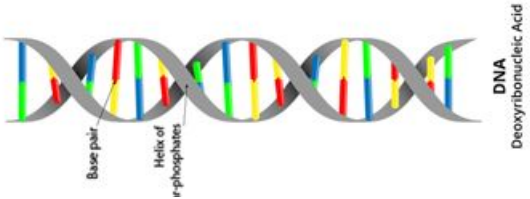
u c t e m t
d s b

Pierwiastki



Związki organiczne

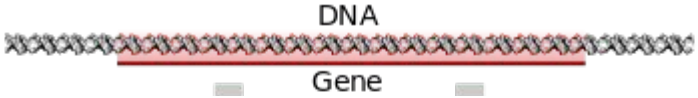




Łańcuchowe
Replikujące się
Związki organiczne

Jaki jest następny przydatny GADŻET w Naturze

GEN



https://www.atdbio.com/content/14/Transcription-Translation-and-Replication

GEN

DNA

ulega przepisaniu

→

transkrypcji

RNA kodujące GEN

mRNA

mówi jak skonstruować (translacja) →

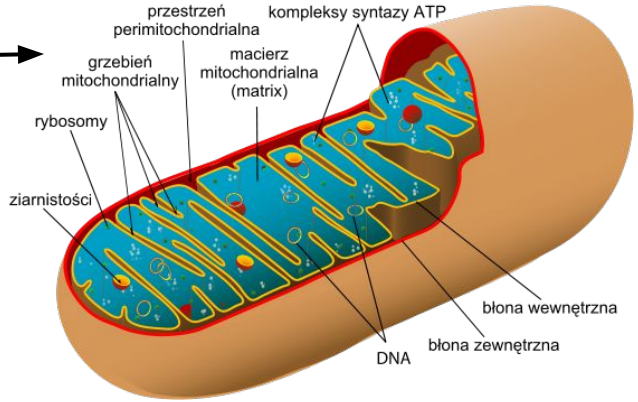
powstaje białko
Np. Polimeraza DNA
Np. Fibrilina

http://biotechnologia.pl/biotechnologia/budowa-komorki-w-pigulce-powtorka-przed-sesja

anslacji

powstaje białko
Np. Polimeraza DNA
Np. Fibrilina

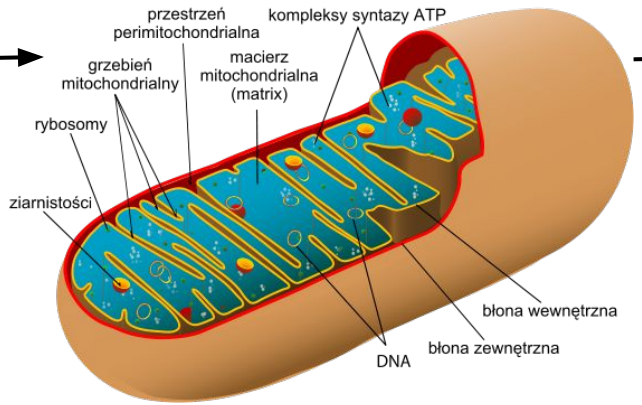
Komórka (mitochondrium)

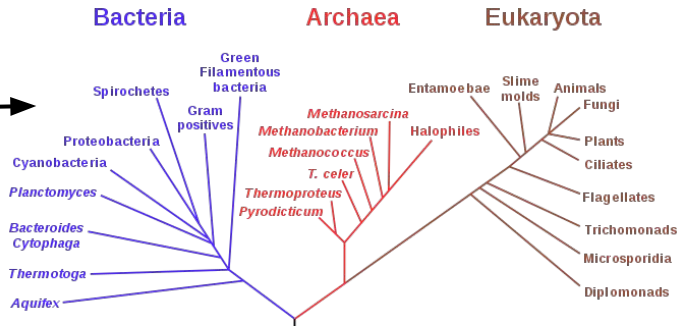


anslacji

powstaje białko
Np. Polimeraza DNA
Np. Fibrilina

Komórka (mitochondrium)



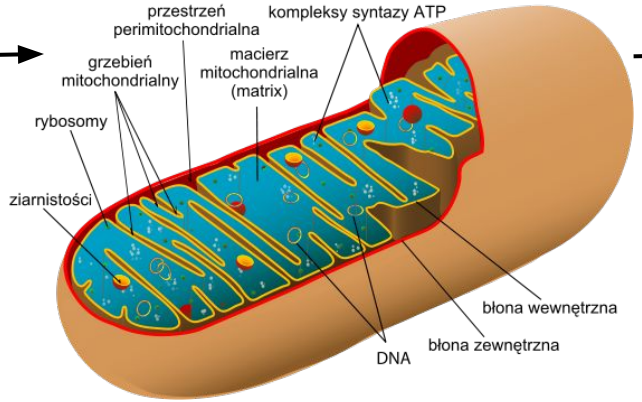


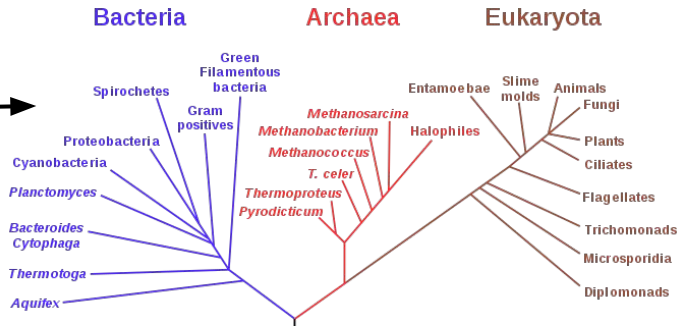
Drzewo Życia

anslacji

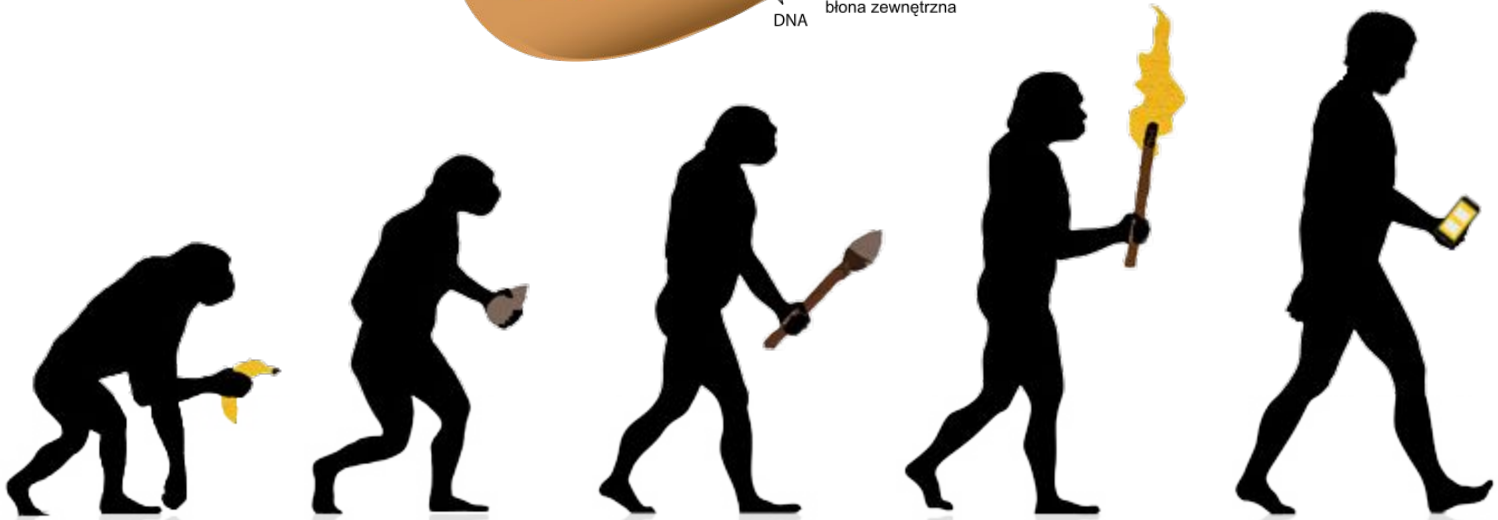
powstaje białko
Np. Polimeraza DNA
Np. Fibrilina

Komórka (mitochondrium)





Drzewo Życia

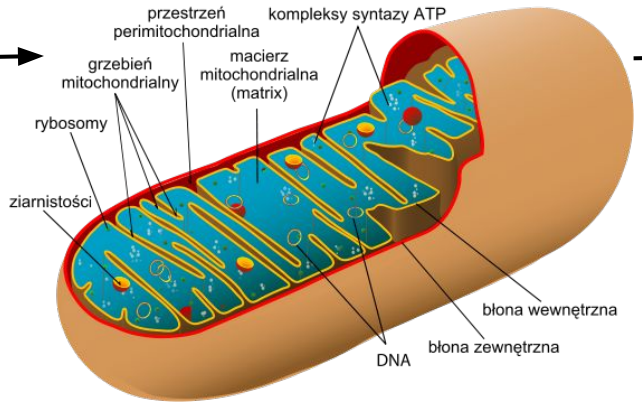


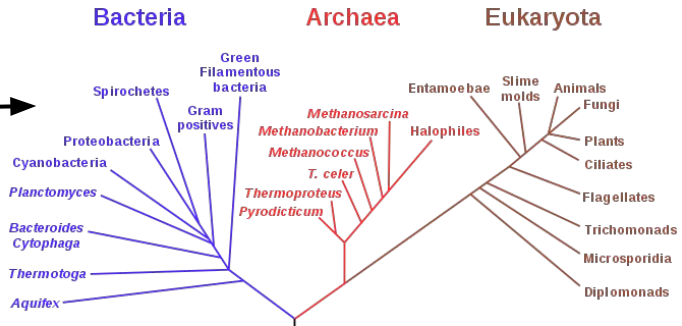
https://lumos.digital/

anslacji

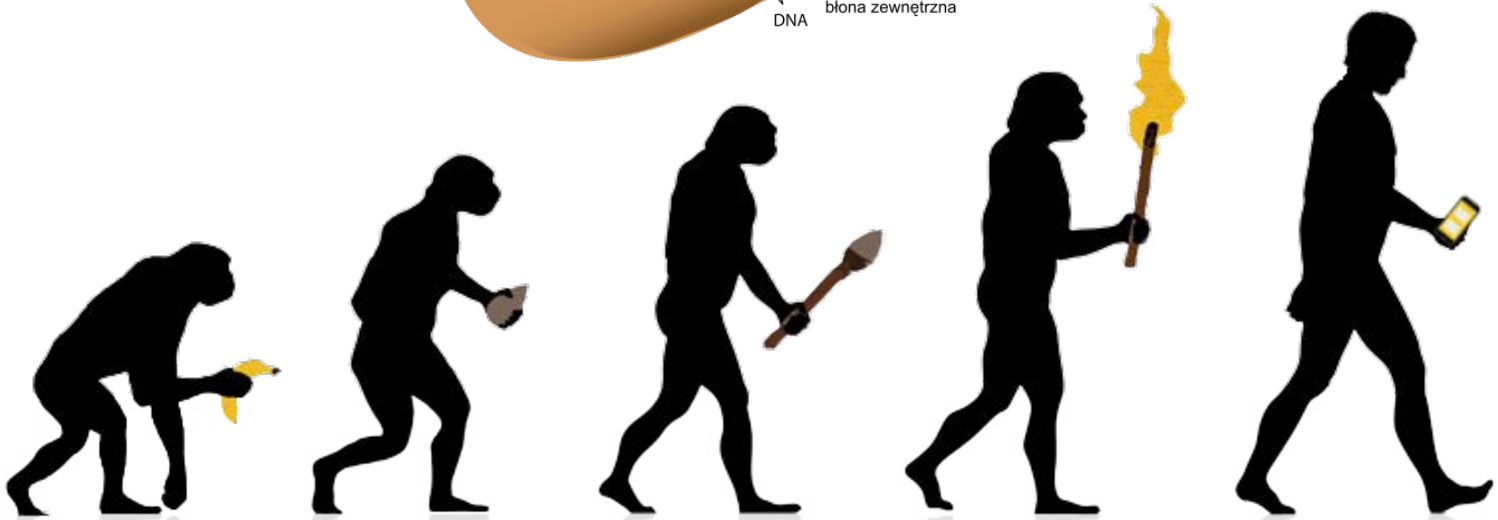
powstaje białko
Np. Polimeraza DNA
Np. Fibrilina

Komórka (mitochondrium)





Drzewo Życia



?

W jaki sposób GENY na to pozwalają

https://lumos.digital/

W jaki sposób GENY na to pozwalają ?

GENY to sekwencja - może ich być tyle co napisanych i nienapisanych książek

Jak lektury szkolne, niektóre mniej ważne inne ważniejsze,

Okazuje się, że ludzie między sobą mają praktycznie identyczny zestaw lektur, znaczy genów.
Nasze DNA jest podobne do siebie w ponad 99%

Mężczyźni mają ~80 dodatkowych genów na chromosomie Y

Jest ponad 19 000 genów w genomie ludzkim

Nasze geny mogą różnić się między sobą.

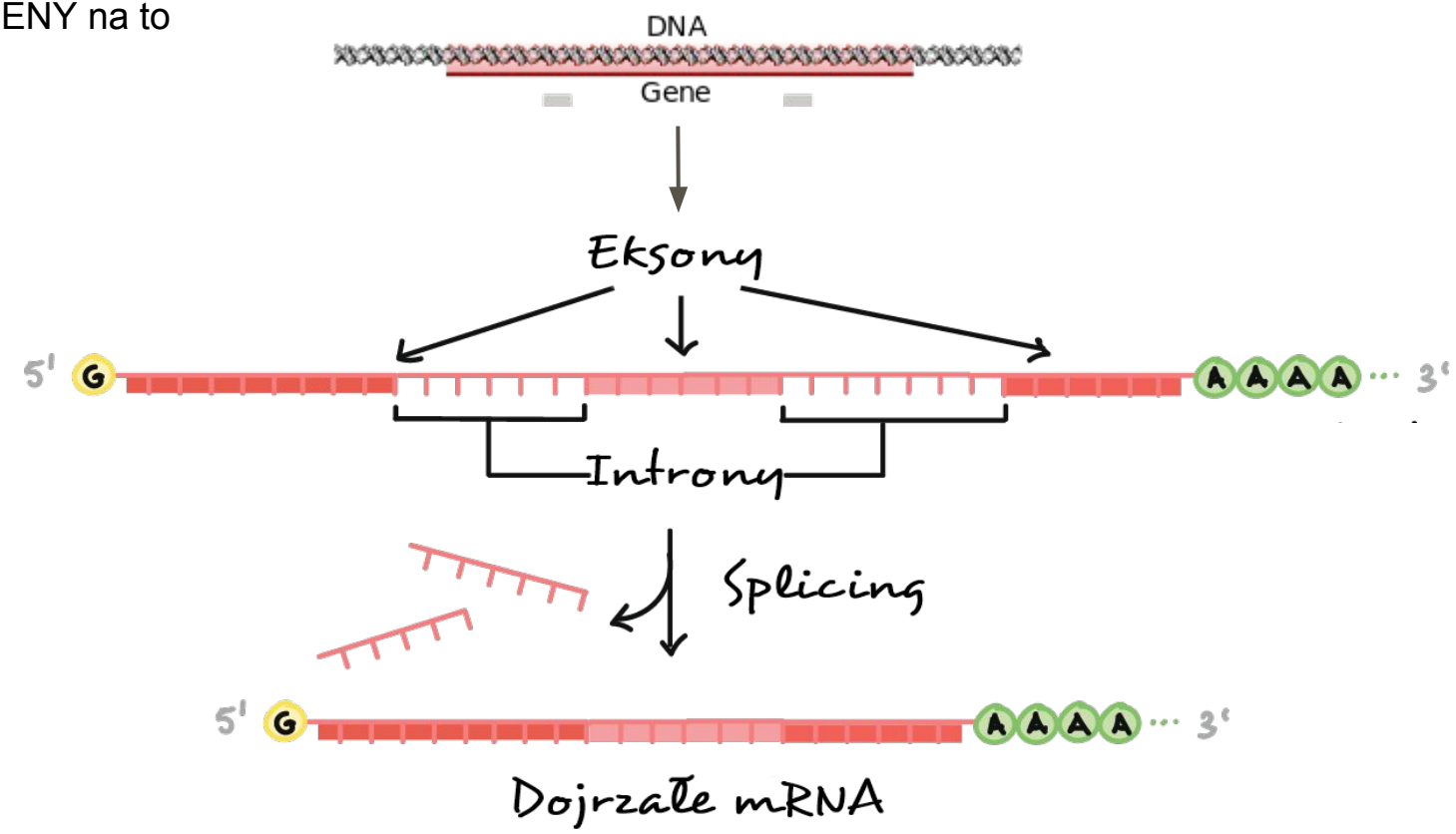
Niektóre są zduplikowane, w dwóch lub więcej kopiach od mamy i od taty,

inne tylko w jednej, czasem niepełnej kopii, zdarza się, że genu brakuje w ogóle, lub jest wyłączony (np przerwany w połowie),

… no i jest jeszcze ogromna, ***100x większa niż geny,*** przestrzeń między- i intra- genowa

https://pl.khanacademy.org/science/biology/gene-expression-central-dogma/transcription-of-dna-into-rna/a/eukaryotic-pre-mrna-processing

W jaki sposób GENY na to pozwalają ?

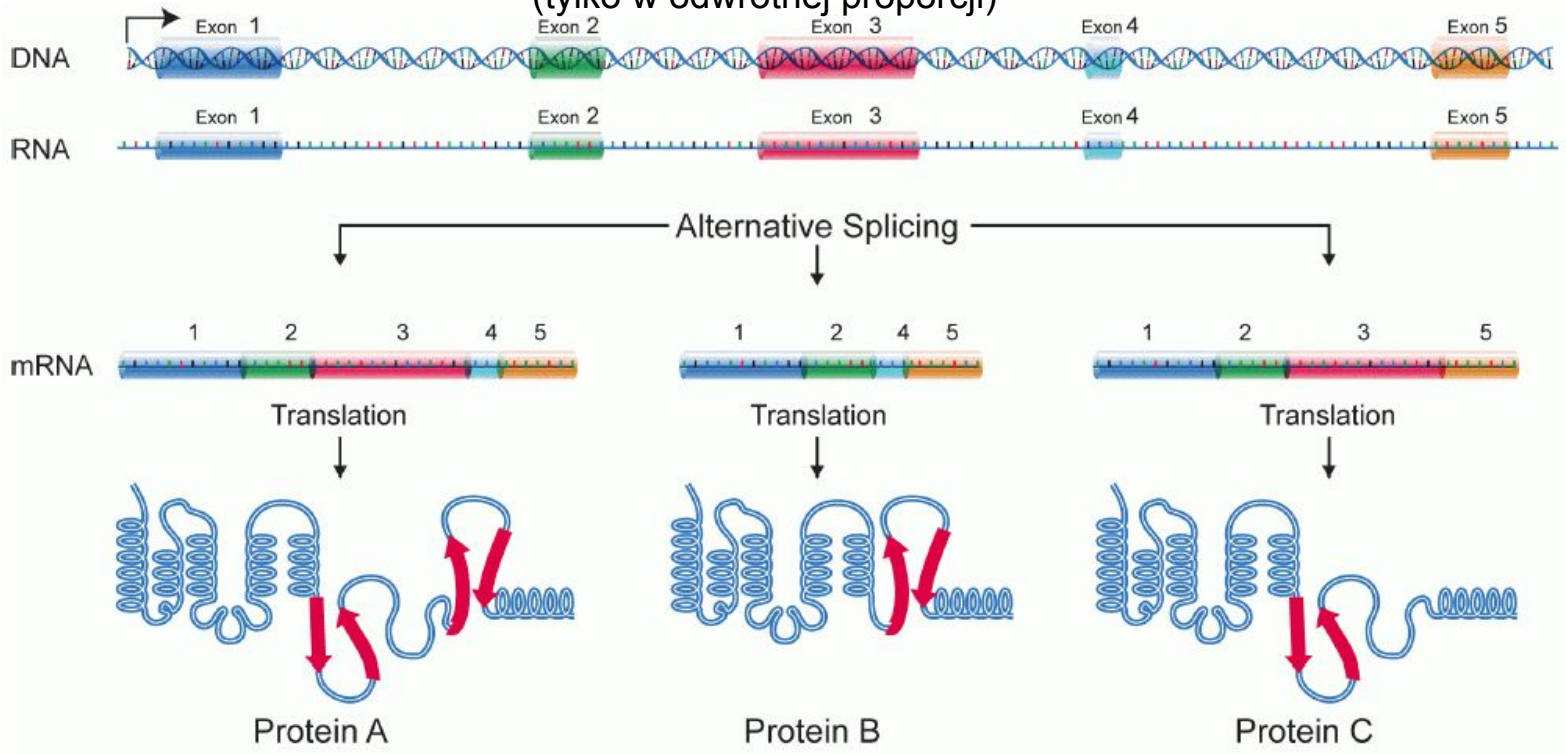


→ ***RYBOSOM*** → białko

Wikipedia

W jaki sposób GENY na to pozwalają ?

Exony → właściwy film, Introny → reklamy (tylko w odwrotnej proporcji)

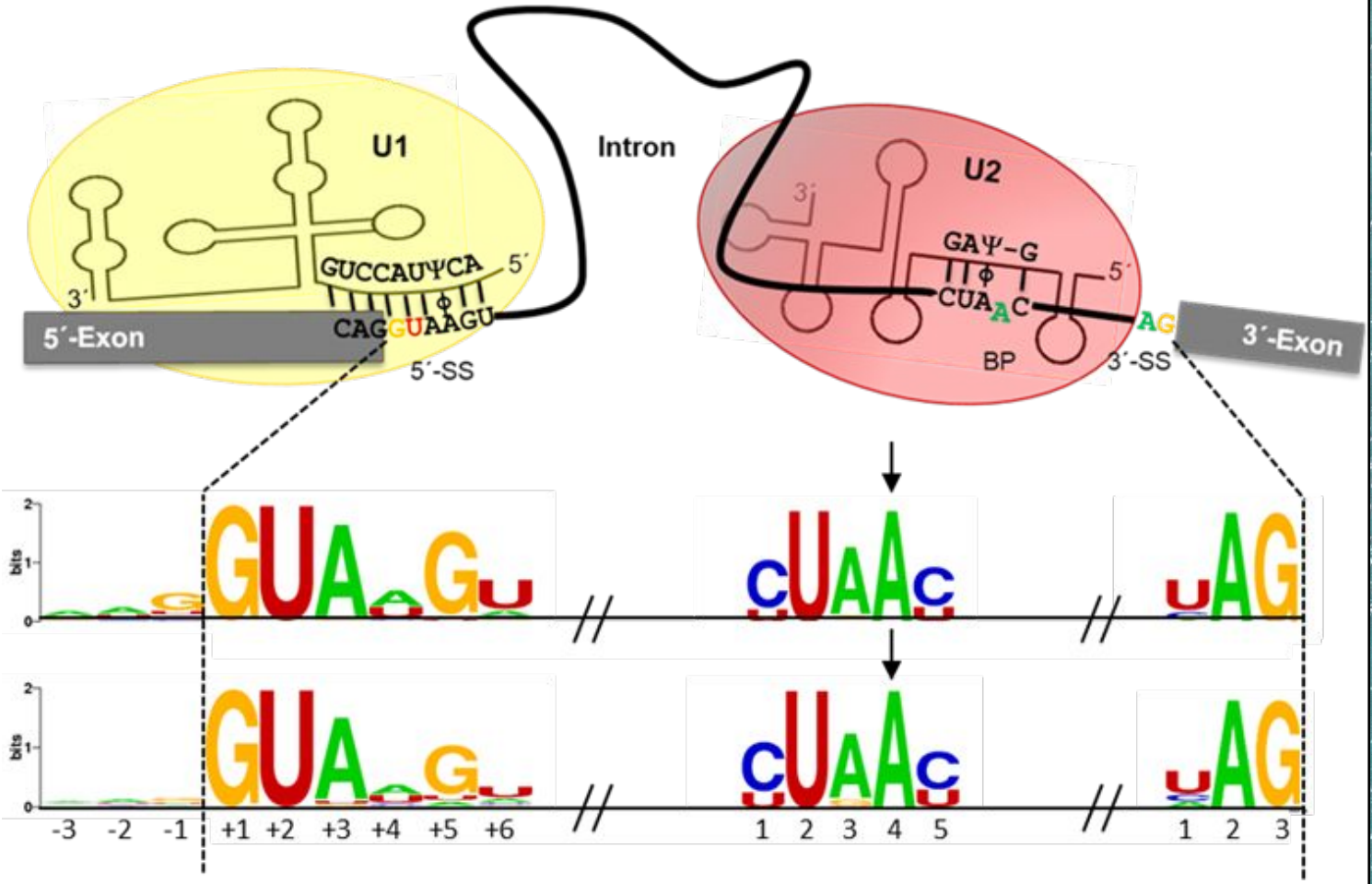


Exony - fragmenty genów, mogą być podjednostkami (podGADŻETAMI), introny pozwalają ewolucji mieszać fragmenty genów ze sobą

Wikipedia https://www.tu-braunschweig.de/ifg/ag/kaeufer/research

Miejsce składania egzonów, czyli tam gdzie wycinane są introny ma specyficzną sekwencję.

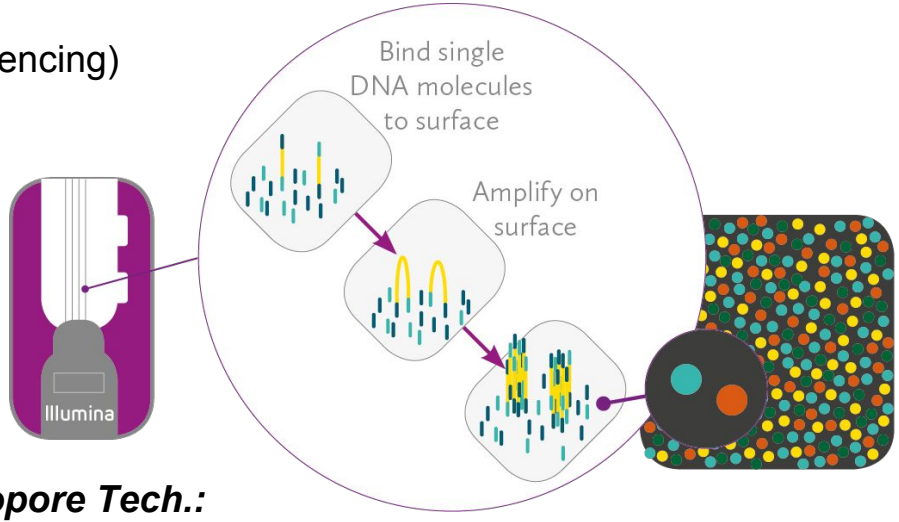
Wewnątrz intronów czasem także znajdują się istotne sekwencje



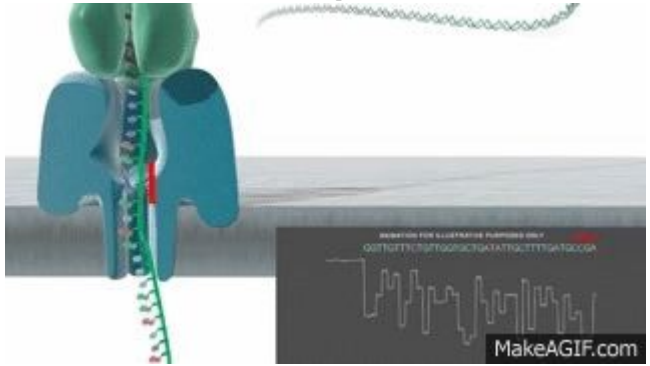
Jak poznajemy geny u człowieka?

Sekwencjonowanie NGS (Next Generation Sequencing)

***Sekwencjonowanie Illumina*:**
- “doczep co pasuje i zrób zdjęcie” w wysokiej rozdzielczości



Sekwencjonowanie nanoporowe Oxford Nanopore Tech.:
- przepuść DNA przez mały otwór i odczytaj je jak głowicą magnetofonu



także PacBIO, 454, Thermo Fisher, Sanger, ...

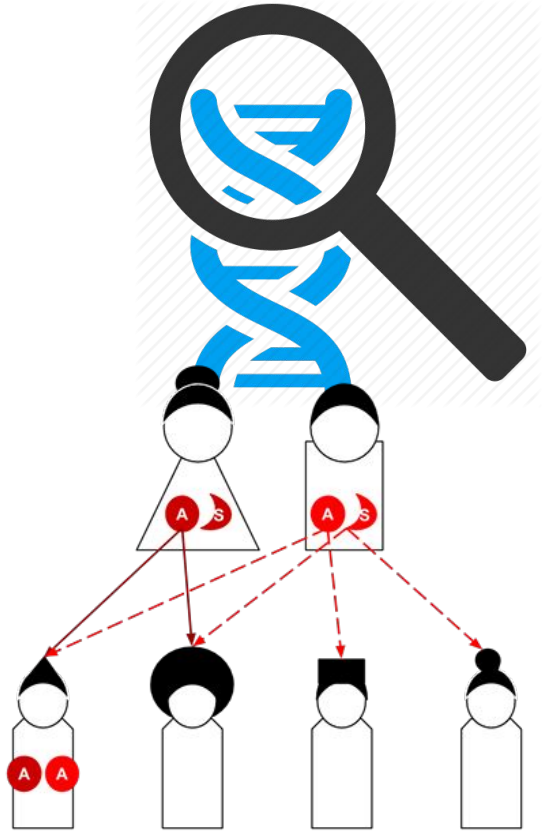
Jak sekwencjonujemy?

- Cały genom (WholeGenomeSequencing) - wciąż drogo (kilkanaście-kilkadziesiąt tysięcy złotych w zależnośći od technologii i jakości).
- Wybrane fragmenty - krótkie amplikony PCR, może być tanio.
- Tylko Exomy (WholeExomeSequencing, 1/100 całego genomu) - średni koszt, ale badanie często pozwala wykryć to co interesujące w całym genomie.

Kogo sekwencjonujemy?

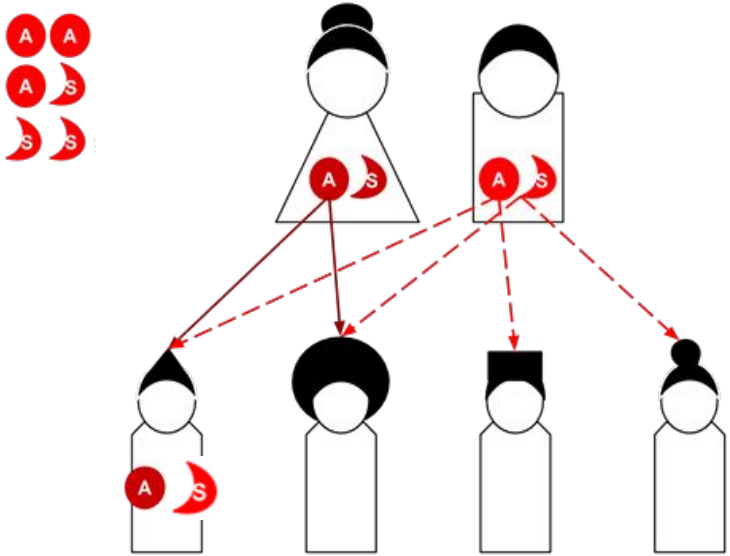
- Pacjentów, rodziców i rodzeństwo,...
- Reprezentatywną grupę ludzi z miasta, kraju,
- do dziś zsekwencjonowano kilkadziesiąt tysięcy pełnych i ponad kilkaset tysięcy WES ludzkich genomów

Cały genom to 2 x 3 000 000 000 nukleotydów (literek)



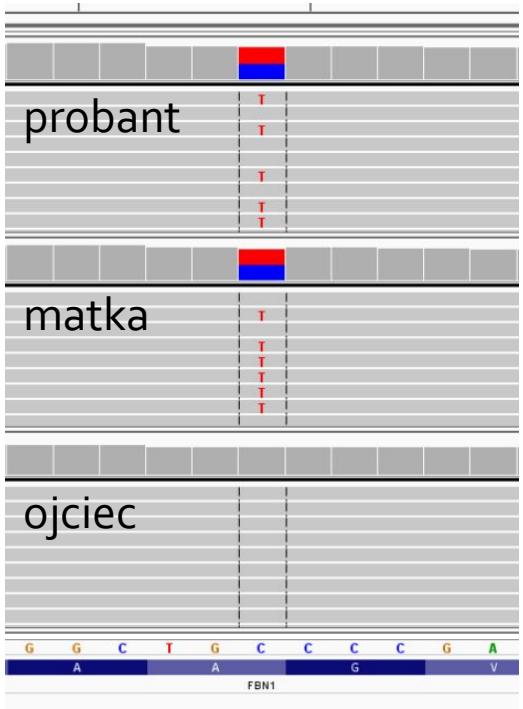
http://sc101.org/sickle-cell-inheritance.html

https://www.iconfinder.com/icons/499452/dna_analysis_genetic_research_genetics_genome_helix_medical_analytics_molecule_spiral_structure_icon



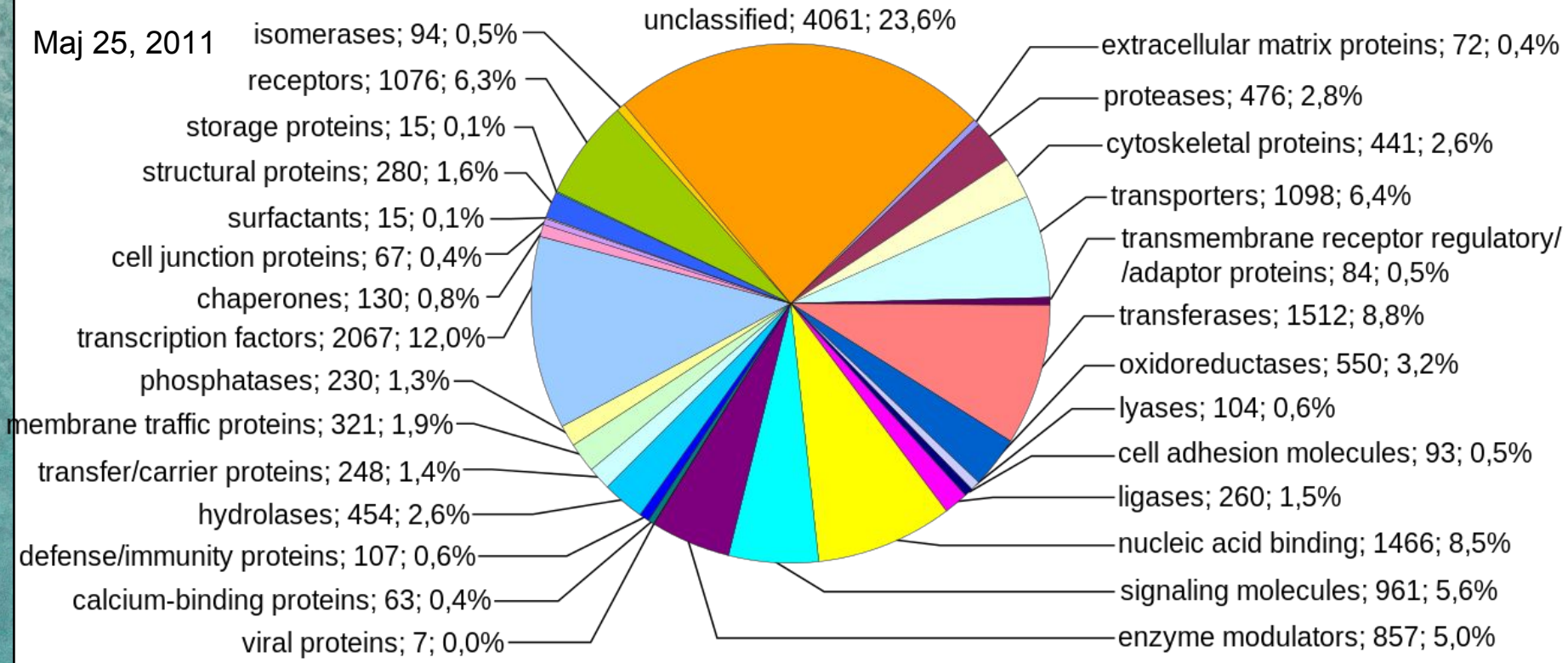
Co widzimy po zsekwencjonowaniu?

c.2956G>A

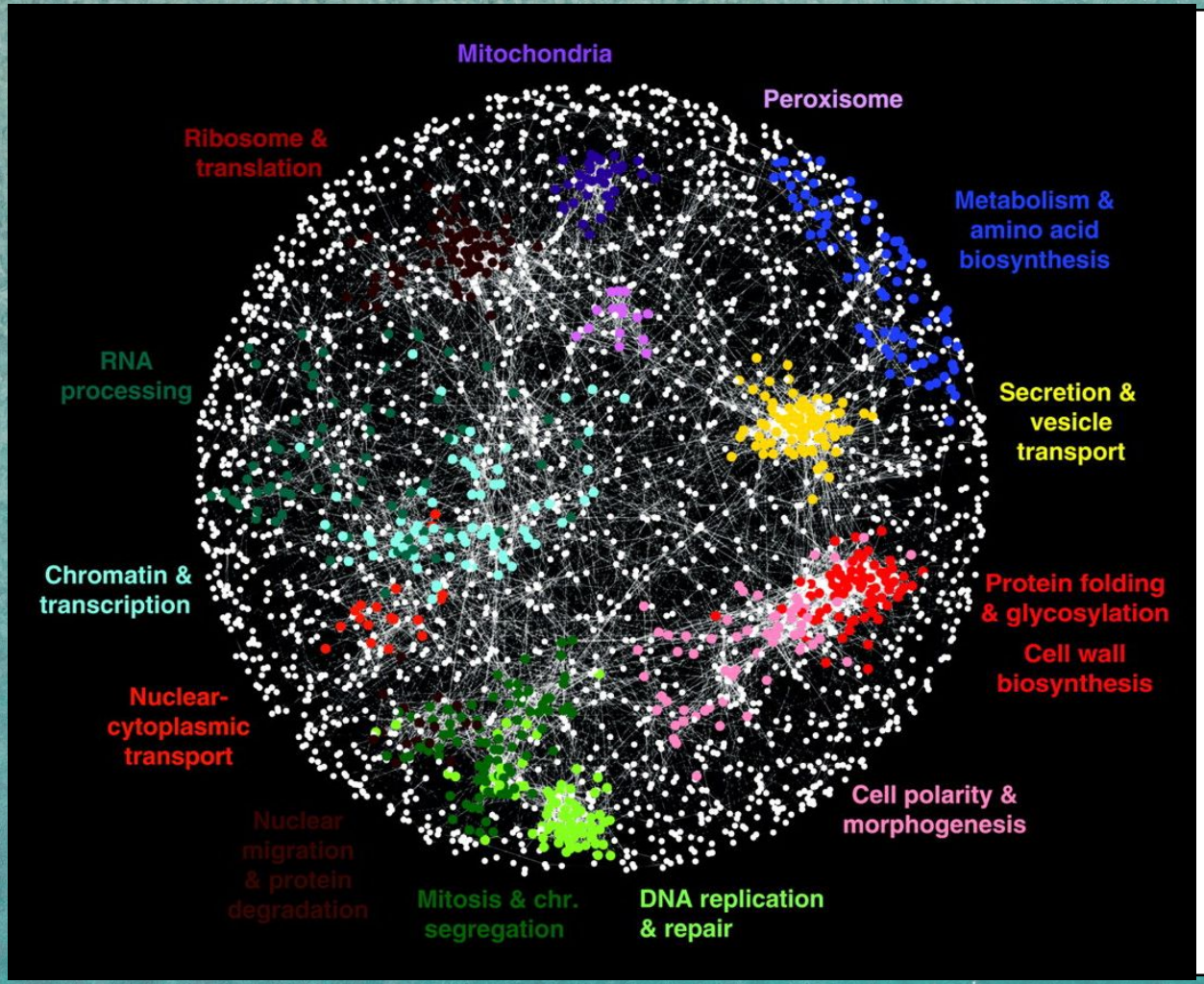


Znane, rozumiane i nieznane białka kodowane w genomie człowieka

Maj 25, 2011



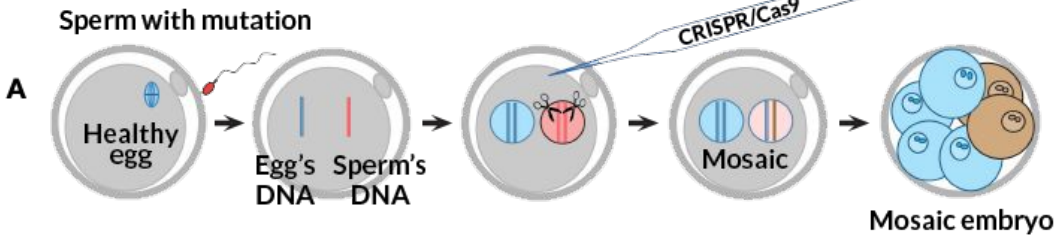
https://en.wikipedia.org/wiki/Human_genome#/media/File:Human_genome_by_functions.svg

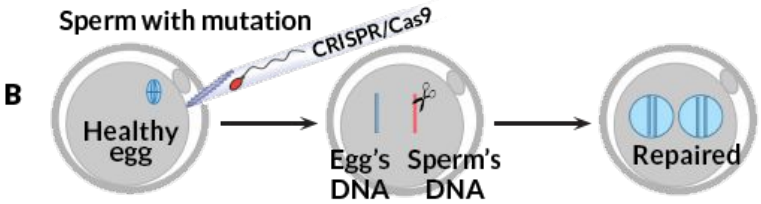


Sieć powiązań między białkami

The Genetic Landscape of a Cell Michael Costanzo et al. Science 22 Jan 2010

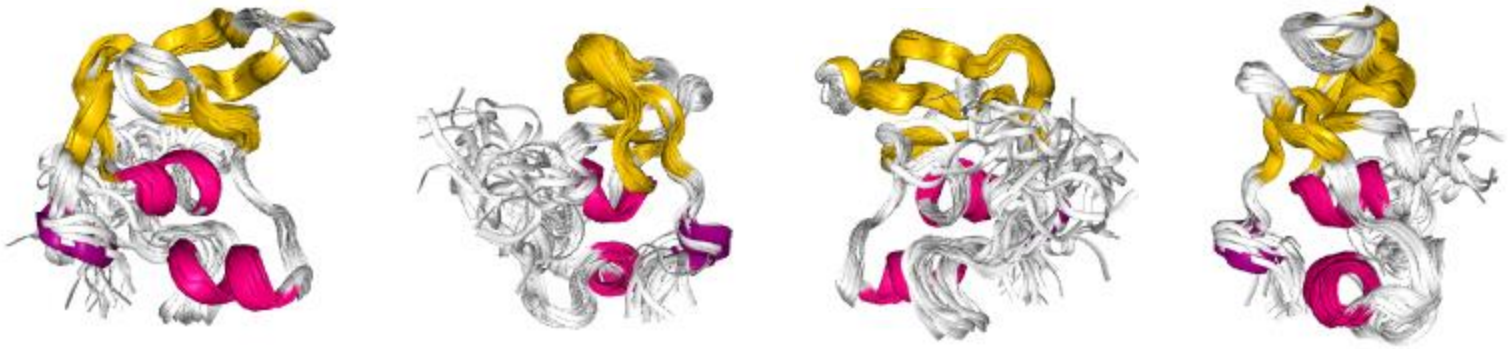
Wg artukułu naukowego w czasopiśmie Nature, metodą CRISPR/Cas9 poprawiono wadę w genie ludzkiego zarodka, która może prowadzić do ciężkiej choroby serca. “Nożyczki” do edycji genów były wstanie wyeliminować defekt w 72% testowanych zarodków go posiadających.





Source: H. Ma et al/Nature 2017, https://punnett.blogspot.com/2017/08/crispr-editing-of-human-embryos.html

Białko FBN1 – fibrylina 1

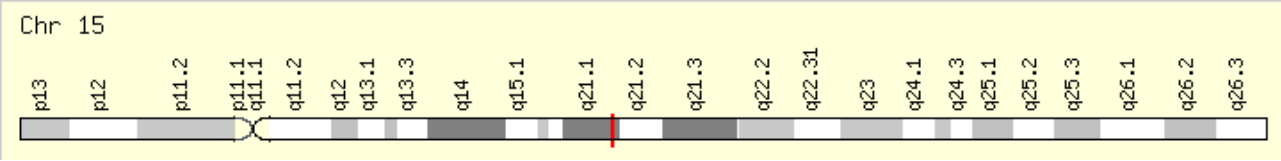


- Składnik strukturalny **mikrofibryli substancji międzykomórkowej**
- Łączy w sobie właściwości strukturalne i regulacyjne tkanek łącznych

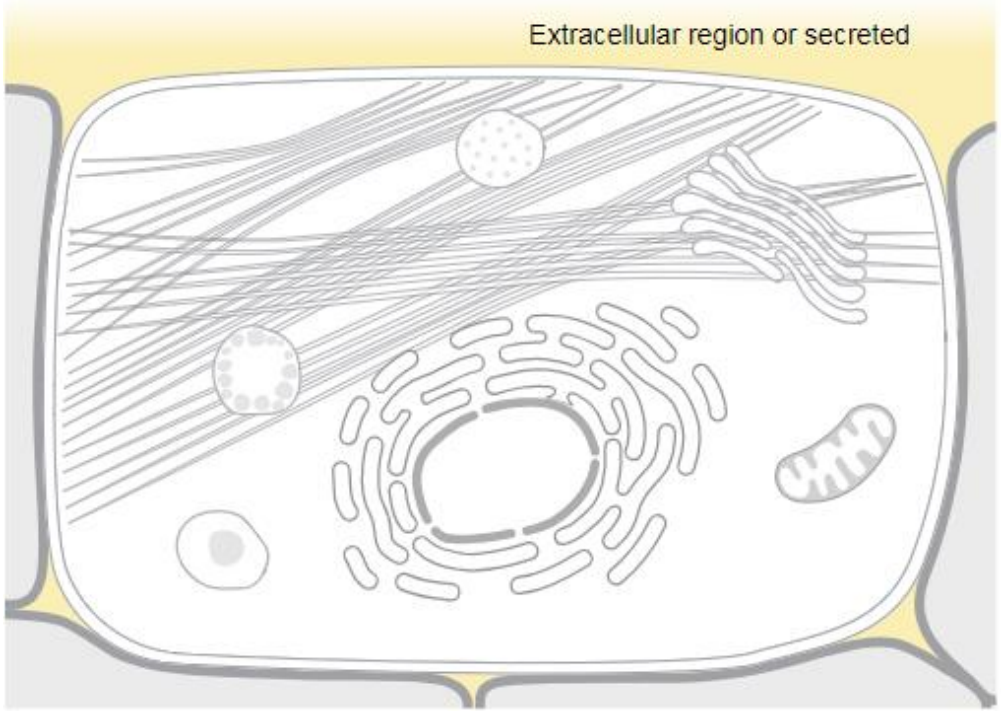
Co to oznacza?

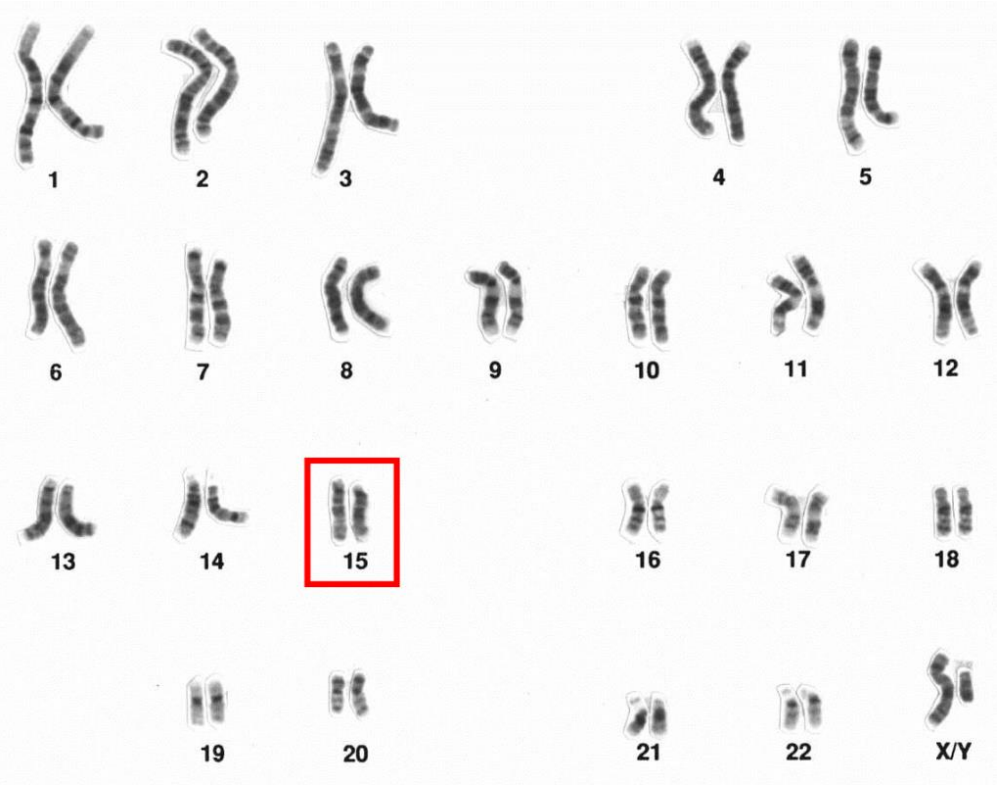
- Tkanka łączna zawiera wyjątkowo dużo substancji międzykomórkowej.
- Mikrofibryle to takie „rusztowanie”.

Gen *FBN1* (fibrillin 1)



- 11 756 pz => 2 871 aminokwasów
- 66 eksonów





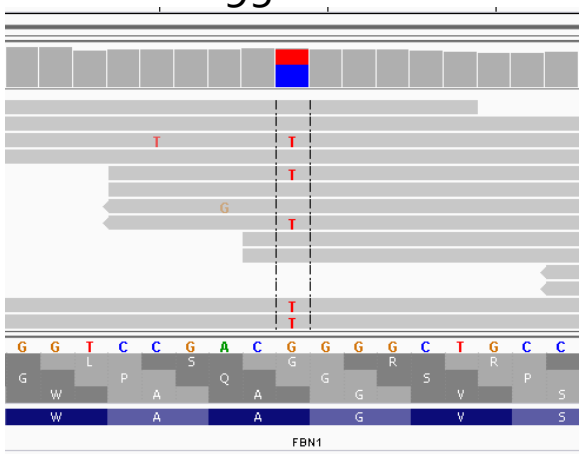
GTGGTGATGAGGGCGACGAAGGAGGGGGTGTCAT TTTC TTTTT CTTT CTTTT TTTAAAAAAAGTAT TTCT CT CGCGA GAAAC CGCT GCG CGGA CGATAC TTGAAGAGG TGGGGAAAG GAGGGGG CTG CGGGAG CC GCGG CAGAGA CTGTG GGTG CCA CAAGCG GACAGGA GC CACAG CTGG GACAG
CTGCGAGCGGAGCCGAGCAGTGG CTGTAG CGG CCA CGACT GGGAG CAGC CGC CG CCG CCT CCTCGG GAGTC GGAGC CG CCG CTT CTC CACT GGCAG GGGC CG CCTGAA GTGGGAG CAG CGC CTGG AGAA GGCG GGAGGAG CC CGG CC CGGGGGA CGGG CGG CGGGATA GCGG GAC CC CGG CGGC
GCGGTGCGCTTCAGGGCGCAG CGGC GGC CGCA GAC CGAGC CC CGGG CG CGGCAA GAGGC GGCG GGAGC CGGT GGCG GCT CGG CATCAT GCGT CGAGG GCGT CTG CTGGAGA TCG CC CTGGGA TTT AC CGTG CTTT TAGCG TC CTACA CGAG CCATG GGGC GGACG CCAA TTTGGAG GCT GGGAAC G
TGAAGGAAACCAGAGCCAGTCGGGCCAAGA GAAGAGG CGGTGGA GGACA CGAC GCG CTTAAAGGA CC CAATGT CTGT GGATCA CGTTA TAATGCTTACT GTTG CC CTGGATG GAAAAC CTTAC CT GG CGGAAAT CAGTG TATTGT CC CCAT TTGC CGG CATT CCTG TGGGGAT GGATTT TGTT CGAG
GCCAAATATGTGCACTTGCCCAT CTGGT CAGATAG CTC CTT CCT GTGG CTC CAGAT CCATA CAACA CTG CAATATT CGCT GTATGAATG GAGGTAG CTG CAGTGA CGATCA CTGT CTATG CCA GA AAGGATA CATAGGGA CTCA CTGT GGACAA CCT GTTTGT GAAAGTGG CTGT CTCA ATGGAGGAA
GGTGTGTGGCCCCAAATCGATGTGCA TGCA CTTA CGGATTTA CTGGA CC CCA GTGTGAAAGA GATTACA GGACAG GC CCATG TTTTA CTGTGAT CAG CAAC CAGATGTG CCA GGGACAA CT CAGCG GGATTGT CTG CACAAAAA CGCTCTG CTGT GC CACAGT CGG CCGA GC CTGGGG C CAC CC CTGT
GAGATGTGTCCTGCCCAGCCT CAC CC CTG CCG CCG TGGC TTCAT TC CAAATATC CG CACGG GAGCT TGTCAA GATGTGGA TGAATG CCAGG CCA TC CC CGGG CTCT GTCAG GGAGGAAATT GCAT TAA TACTG TTGGGT CTTT TGAGTG CAAATG CC CTGC TGGACA CAAAC TTAATGAAG TGTCA CAA
AAATGTGAAGATATTGATGAATGCAGCACCATTC CTGGAAT CTGTGAA GGGGGT GAATGTA CAAACA CAGTCA GCAGT TACTT TTGCAAA TGTC CC CCTGGTTT TTACA CCT CT CCAGAT GGTAC CAGATG CATAGAT GTTC GC CCAGGA TACTG TTACA CAGCTCTGA CAAAC GGGC GCT GCT CTAAC
CAGCTGCCACAGTCCATAACCAAAA TGCAG TGCT GCTG TGATG CCGG CC GATGCTGGT CTC CAGGGG TCA CTGT CGC CC CTGAGAT GTGT CC CATCAGA GCAA CCGAG GATTT CAACAAG CTGTG CT CTGTT CCTA TGGTAATT CC TGGGAGA CCAGAA TATC CTC CC CCA CC CCTTGG CC CCAT TC CTC
CAGTTCTCCCTGTTCCTC CTGG CTTT CCTC CTGGA CCT CAAATT CCGG TC CCT CGAC CAC CAGTG GAATATCTGTAT CCAT CTCGGGAG CCA CCAAGG GTGCTGC CAGTAAA CGTTA CTGATTA CTG CCAGT TGGT CCG CTAT CTCT GTCAAAAT GGACG CTG CATT CCAA CTC CTGGGA GTTA CCGG TGT
GAGTGCAACAAAGGGTTCCAGCTGGAC CTC CGTGG GGAGTGTA TTGATGT TGATGAATG TGAGAAAAAC CC CTGT GCTG GTGGTGA GTGTATTAA CAAC CAGGG TTCG TACA CCTG TCAGT GC CG AGCTGGATAT CAGAG CACA CTCA CGC GGACAGAA TGC CGAGA CATTGATGA GTGTT TACAGA
ATGGCCGGATCTGCAATAATGGACGCTG CAT CAACA CAGATGG CAGTTT TCATT GCGT GTGTAATG CGGG CTTT CATGT TACA CGAGATGG GAAGAACT GTGAAGATAT GGATGAATG CAG CATA AGGAA CATGTG CCT TAATGGAATG TGTAT CAATGAAGATG GCAGT TTTAAATG TATTTG CAAA
CCTGGATTCCAGCTGGCATCAGAT GGACG TTATTG CAAAGACA TTAACGA GTGTGAAA CC CCT GGGAT CTGCA TGAATGGG CGTT GCGT CAACA CTGAT GGCT CC TACAGAT GTGAATG CTT CC CTGGA CTGG CTGTGG GTCT GGATGG CCG TGTGTG TGTTGA CACA CACAT GCGGA GCA CATG CTA
TGGTGGATACAAGAGAGGCCAGTGTATCAAAC CTTTGT TTGGTG CTGT CAC TAAATCT GAATGCTGTTG CGC CAG CACTGA GTATG CATTTGG GGAAC CTTG CCAG CC GTGT CCTG CACA GAATT CA GCGGAA TATCAG GCA CTCT GCAG CAGTGG GC CAGGAATGA CGT CAGCAG GCAG TGATATAA
ATGAATGTGCACTAGATCCTGATATTTGC CCAAATG GAATCT GTGAAAAC CTT CGTGG GAC CTATAAATGTA TATGCAA TTCAG GATATGAAGT GGATT CAACTG GGAAAAACT GCGT TGATATT AAT GAATGTGTA CTGAA CAGT CTC CTTTG TGACAAT GGACAAT GTAGAAATA CTC CTGGAA GTT
TTGTCTGTACCTGCCCCAAGGGA TTTAT CTACAAA CCT GATCTAAAAA CATGT GAAGACAT TGATGAATG CGAAT CAAGT CCTT GCATTAA TGGAGT CTG CAAGAACAG CC CAGG CTCTTTTATT TGTGAATG TTCT TCTGAAA GTACT TTGGAT CCAA CAAAAAC CATCTGCATA GAAAC CATCAA GG
GCACTTGCTGGCAGACTGTCATTGAT GGGC GATGTGAGA TCAA CATCAAT GGAGC CAC CTTAAAG TC CCAGT GCTG CT CCT CC CTCGGTG CTGC GTGGGGAA GC CCGT GCA CC CTATG CCAAGT T GATC CCA TATGTGG TAAAGGGTA CTCAA GAATTAAAGGAA CACAAT GTGAAGATA TAGATGAA
TGTGAAGTGTTCCCAGGAGTGTGTAAAAATGGC CTGTG TGTTAA CACTAG GGGGT CATT CAAGTGT CAGTGT CC CAGTG GAATGAC TTTGGAT GC CACAGGAA GGATCTGTCTTGATAT CCG CCT GGAAAC CTG CTT CCTGA GGTAC GAGGAC GAGGAGTG CAC CCTGC CTATTG CTG GC CGC CAC CG
CATGGACGCCTGCTGCTGCT CCG TCGG GGCAG CCTGGGGTA CTGAG GAATGC GAGGAGTG TC CCATGA GAAATACT CCTGAGTA CGAGGAG CTGTG TC CGAGAGGA CC CGGATT TGC CACAAAAG AAA TTACAAAT GGAAAGC CTTT CTT CAAAGATAT CAATGAGT GCAAGAT GATAC CCA GC CTC
TGCACCCACGGCAAGTGCAGAAACA CCAT TGGCA GCTT TAAGTG CAGGTGT GACAG CGG CTTTG CTC TTGATT CTGAAGAAG GAACTG CACA GACATT GACGAAT GC CGCATA TCT CCT GAC CT CT GTGG CAGAGG CCAGT GTGTGAA CAC CC CTGGG GACTT TGAATG CAAGTGTG ACGAAG GCTA
TGAAAGTGGATTCATGATGATGAAGAACTGCATGGATATTGA TGAGTGT CAGAGAGA TC CTCT CC TATGC CGAGG TGGTGT TTGC CATAA CACAGAG GGAAGTTA CCG CTGT GAATGC CC GC CTG G CCAT CAGCTGTC CC CCAA CAT CTC CGC GTGTAT CGACA TCAATGAA TGTGAG CTGAG TGCA C
ACCTGTGCCCCAATGGCCGT TGCG TGAAC CTCA TAGGGAAGTA TCAGT GTGC CTG CAAC CCT GGCTA CCA TTCAA CTC CC GATAGG CTATTTT GTGTTGA CATTGA TGAATG CAGCATAA TGAAT GGT GGTTGT GAAAC CTTCTGCA CAAACT CTGAAG GCAG CTATGAAT GTAGCTGT CAGC CGGGAT
TTGCACTAATGCCTGACCAGAGATCAT GCA CCGA CATC GATGAGTG TGAAGATAAT CC CAATAT CTGTGAT GGTGGT CAGTG CACAAA TATC CCT GGAGAGTA CAGGTG CTTG TGTTATGA TGGA TT CATGG CATCTGAAGACA TGAAGACTTGTGTA GATGT CAATGAGTG TGAC CTGAAT CCAAA T
ATCTGCCTAAGTGGGACCTGTGAAAACA CGAAAGG CTCAT TTATC TGC CACT GTGATATG GGCTA CT CCGG CAAAAAAGGAAAAA CTGG CTGTA CAGACA TCAATGAA TGTGAAATT GGAGCA CA CAA CTGT GGCAAA CATG CTGTATG TAC CAATACAG CAGGAAG CTT CAAATGTA GCTG CAGT C
CCGGGTGGATTGGAGATGGCATTAAGTGCA CTGAT CTGGA CGAATGTT CCAA TGGAAC CCA TATGTG CAGC CAG CATGCA GACTG CAAGAATA CCAT GGGAT CTTAC CG CTGT CTGTG CAAGGAA GGA TACA CAGGTGAT GGCT TCA CTTGTA CAGAC CTTGA TGAGTG CTCTGAGAA CCTGAA TCT C
TGTGGCAATGGCCAGTGCCTCAATG CAC CAGGAGGA TAC CGCT GTGAATG CGACA TGGG CTTC GTGC CCA GTGCTGACG GGAAAGC CTGT GAAGATATTGA TGAGTG CTC CC TTC CGAACA TCTG TGTCTTTGGAA CTTG CCA CAAC CTC CCTGGC CTGT TC CGCT GTGAGTG TGAGATAG GCTA CGA
ACTGGACAGAAGCGGCGGGAACTGCACA GATGTGAAT GAATGCCTGGA TCCAAC CACGT GCAT CAGTGG GAACTG TGTCAA CACTC CAGGCA GCTATA TCTG TGACT GC CCA CCTGA TTTTGAA CTGAA CC CAACT CGAGTT GGCT GTGTTGA TAC CCG CTCTGGAAATTG CTATT TGGATAT TCGA CC
TCGAGGAGACAATGGAGATACAGCCTGCAG CAATGAAATT GGAGTTG GTGTTT CCAAA GCTT CCTGCT GCTG TTCT CTGG GTAAAGC CTGG GGTACTC CTTGTGA GATGTGT CCTGCT GTGAACA CAT CCGAG TACAAAATT CTTT GTC CTGGAG GGGAAGGT TTC CGAC CAAAT CCTA TCA CCGT TAT
ATTGGAAGATATTGATGAGTGCCAGGAGCTACCA GGGCTGTG CCAAGGA GGAAAATGTAT CAACA CCTTTGGGA GTTT CCAGT GC CGCT GTC CAAC CGG CTACTA CCTGAATGAAGATA CAC GAG TGTG TGATGATG TGAATGAATG TGAGACTC CTGGAAT CTGTG GTC CAGGGA CATGT TACAA C
ACCGTTGGCAACTACACCTGTAT CTGT CCT CCAGA CTA CATGCAA GTGAATGG GGGAAATAATT GCATG GATATGAGAAGAA GTTTGT GCTA CAGAAACTACTAT GCTGA CAAC CAGA CCTG TGA TGGAGAA TTGTTAT TCAA CATGAC CAAGAAGAT GTGCTGCT GTTC CTA CAACAT TGGC CGGG C
GTGGAACAAGCCCTGTGAACAGTGTC CCAT CC CAAGTA CAGATGAGT TTGCTACA CTCT GTGGAAGT CAAAGG CCAG GCTT TGTCA TCGA CATTTATA CCGGTTTA CC CGTTGA TATTGATGA GT GC CGGGA GATC CCAG GGGT CTGTGAAAAT GGAGTGT GTATCAA CATGG TTGG CAGCTTC CGAT
GTGAATGTCCAGTGGGATTCTTCTATAATGA CAAGTTGT TGGTTT GTGAAGATAT TGACGA GTGT CAGAACG GC CCAGT GTGC CAG CGCAA CGC CGAATG CAT CAACA CTGCA GGCAG CTA CCG CTGTGA CTGTAA GC CCGG CTA CCG CTT CAC CTC CACAG GACAGT GCAATGA TCG TAATGAATGT
CAAGAAATCCCCAATATATGCAGTCATGGG CAGTG CATTGA CACA GTTGGAAG CTTT TATTG CCTT TGC CACA CTGGT TTTAAAACAAA TGATGA CCAAA CCATG TGCT TGGACA TAAATGAATG T GAAAGAGATG CCT GTGGGAAT GGAACT TGC CGGAA CACAATT GGTT CCTT CAA CTGC CG CTGC
AATCATGGTTTCATCCTTTCTCACAA CAATGA CTGTATA GATGTTGA TGAATGTG CAAGTG GAAATGGGAAT CTTT GCAGAAAT GGC CAATG CATTAATA CAGTGGG GTCT TTC CAGTG CCAG TG CAAT GAAGGCTATGAGGT GGCT CCA GATGGGAG GAC CTGTGT GGATAT CAATGAATG TCTT CT
AGAACCCAGAAAATGTGCACCAGGTACCTGTCAAAA CTTG GATGGGT CCTACAGAT GCATT TGC CCA CCT GGATACA GTCT TCAAAATGA GAAGTGTGAA GATATTGAT GAGTGTG TCGAAGA GC CAGAAATTTG TGC CCT GGGCA CATG CAGTAA CACTGAA GGCAG CTT CAAATGT CTGT GTC CAG
AAGGGTTTTCCTTGTCCTCCAGTG GAAGAAGGTG CCAA GATTTG CGAATGAG CTA CTGTTAT GCGAAG TTTGAAGGA GGAAAGTGT TCAT CAC CCAAAT CCA GAAATCA CTC CAAG CAGGAATG CTG CTGTG CCT TGAAGGGAGAA GGCT GGGGAGA CC CCT GCGAG CT CTGC CC CAC GGAAC CTGA
TGAGGCCTTCCGCCAGATATGTC CTTAT GGAAGTGG GATCAT CGTG GGAC CTGATGA TTCAG CAGTT GATATGGA CGAATG CAAAGAAC CC GATGT CTGTAAA CATGGA CAGTG CATCAATA CAG ATG GTTC CTAT CGCTGCGA GTGT CC CTTTGG TTATATT CTAG CAGGGAATGAA TGTGTA GATA
CTGATGAATGTTCTGTTGGCAATCCTTG TGGAAATGGAA CCTGCAAGAA TGTGATT GGAGGTT TTGAATG CAC CTG CGAGGAGG GATTTGAG CC CGGT CCAA TGATGA CATGTGAAGA TATAAAT GAATG TGC CCAGAA TC CTCT GCT CTGTG CCTTC CGATGT GTGAACA CTTAT GGGT CATATGAAT
GCAAATGTCCCGTGGGATATGTGCTCA GAGAAGAC CGTAG GATGTG CAAAGATGAG GATGAGTG TGAAGAGGGAAAA CATGA CTGTA CTGAAAAA CAAATGGAATG CAAGAA CCT CATTGG CACA TATATGTG CAT CTGTGGA CC CGGG TATCAG CGGAGA CCTGATGGAGAA GGCTGTGTAGA TG
AGAATGAATGTCAGACGAAGCCAGGGATCTGTGAGAA TGGG CGCT GC CTCAA CAC CCG TGGGAG CTACA CCTGTGAGT GTAATGATG GGTTTA CCG CCA GC CC CAAC CAGGAC GAGTG CCTT GACAAT CGGGAAG GGTACTGCT TCA CAGAGGTG CTA CAAAACATG TGTCA GATCG GCT CCA GCAA
CAGGAACCCCGTCACCAAATCG GAATGCTGCT GTGAC GGAGGGAGA GGCT GGGGT CC CCA CTGTGA GATCT GC CCTT TC CAGGGGA CTGTG GCTT TCAAGAAA CTCTGTC CC CATGG CC GAGGAT T CATGA CCAATG GAGCAGA TATCGA TGAATG CAAGGTTAT TCA CGATGTT TGC CGAAATG GG
GAATGTGTCAATGACAGAGGATCATATCATTGCAT TTGTAAAA CTGGGTA CACTC CAGATATAA CTGGGA CTT CCTG TGTAGAT CTGAA CGAGTG CAAC CAGG CTC CCAAA CC CTG CAATTTTAT CTG CAAAAACA CAGAAGGGA GTTAC CAGTG TTCAT GC CCGAAAG GCTA CATT CTG CAAGAGGA
TGGAAGGAGCTGCAAAGATCTTGATGAGTGTGCAA CCAAG CAACA CAACTGC CAGTT CCTA TGTGTTAA CAC CATTG GCGG CTT CACAT GCAAATG TC CTC CCG GATTTA CC CAACA CCATA CGT CCTG CATTGA TAACAATGAA TGCA CCT CTGA CATCAA TCTG TGCG GGTCTAAGGG CATTTG CCA
GAACACTCCTGGAAGCTTCACCT GTGAATG CCAG CGGG GATTCTCA CTTGAT CAGAC CGG CTC CAG CTGTGAAGA CGTG GACGAG TGTGAGG GTAAC CAC CGCTGC CAGCA TGGCTGC CAGAACA TCATT GGGGG CTACA GGTG CAGCT GC CC CCAGG GCTA CCT CCA GCA CTAC CAGTG GAAC CAG
TGTGTTGATGAAAACGAATGCCTCAGCGCTCA CATCT GCGGA GGAGC CT CCTG TCA CAACA CC CTGGGGA GCTA CAAGTG CATGTG TC CCG CCG GCTT CCA GTATGAA CAGTT CAGTGGAG GATG C CAAGA CATCAAT GAATGTGG CT CTGC GCAGG CC CC CTG CAGCTATGG CTGTT CCAA TAC CGA
GGGCGGTTACCTGTGTGGCTGTC CAC CTGGT TACTT CC GCATAG GC CAAGGG CACTG TGTTT CTGGAAT GGGCA TGGG CCGAG GAAAC CCAGAG CCA CCTGTCA GTGGTGAAA TGGATGA CAATT CACT CTC CC CAGAGG CTTG TTACGA GTGTAAGAT CAATGG CTA CC CCAAA CGGGG CAGGAAA
CGGAGAAGCACAAACGAAACTGATGCCT CCAATAT CGAGGA TCAGT CTGAGA CAGAAG CCAAT GTGAGT CTTG CAAGTTG GGATGTT GAGAAGACA GC CATCT TTGCTTTCAA TATTT CC CACGT CAGTAA CAAGGTT CGAAT CCTA GAACT CCT TC CAGCT CTTA CAACT CTGA CGAAT CACAA CAG
ATACTTGATCGAATCTGGAAATGAAGATGGCTTCTTTAAAAT CAAC CAAAAGGAAGGGA TCAG CTAC CT CCA CTTCA CAAAGAAGAAG CCA GTGG CTGGAA CCTAT TCATTA CAAAT CAGTAGTA CTC CACTTTATAAAAAGAAAGAA CTTAA CCAA CTAGAAGA CAAATATGA CAAAGA CTAC CTCA
GTGGTGAACTGGGTGATAATCTGAAGATGAAAATCCAG GTTTTG CTT CATTAATT CAC CAT CCAGAGA CCAAA TAATTAAAAGAAAAA CAAATATAGATAG GTAGAACTATATTTT CC CC CAAT CAGAATCA TCATAT CATAGG TACAAT CTTT CAC CAAGTAAATT TGTATAAATAAG CA CTATT CTT
TGTATTACCAAAGCAAGGTACAGGTGACTAC CCTA GTTCAAAA CAAC CACTTTCTCAGG CTT CTCA TGTGTG TAGCTAA GCTA CCT TGTCA TATGTGT TGATT CTTGAAAA CTGGGA CGTGTA TT TC CATTG GGGGTT GGC CATTTAT GCTGA CATG CCAT CC TTC CAGCAAA CGTA CGGGAA TGTG CTT
TCAATTGATGGACTACTCTATTTTTTGCAAAT TTGTAAA CTTTG CTT CTC CAAATACAA GTACTA GGTTGT CCA TTTATGG TAC CTATTTG GTGCTAGTAAATTT TCAAA CTAGATTTA TAAATG CA CTGTAA TATGTA CACAA CTTAGAAA CCAAATTA CAAGTAT TCAGT TC CAATACT TCAT TAATTT C
AATCAACCAAAGTTAGTTCAGTAGCTTATCT CAGTTAT GAGTATAATA CATTA CATGTAAATTAA GTGTGT GTATACTGTAAT CGTG CTATTTT TTATCA TTGAAACA TTTATAAA CTAGAATAA TAAT GC CCTTAA TGTGAGG GTTTGTAA TGGTG CTTATTAA GAC CAAAGACT TGTTAAAT GTATAC
ACCAAGTGGTAATGAAATTTCGGTGACTGGC CCA CACG TGCATA GAGGT CTGGGAG GAC CAGGAAACA GC CTCAGTGGC CAGAGGA TCA CCAGT GCAT CCT TCAT CACAG CATGT GCAATAT GC CAAGATTA CC CTCG GTCAT TC CTGT CAACAAGG GGTCAA TGTCA TAAATGT CACAATAAAA CAA
TCTCTTCTTTTTTTTAGTTTACCCCTT GGCT TTGTGT TCTT GCATG GATTTGG GGTTGGA GGGG CCATT CCGGAGG CTAAATAAAGT CTC CTGGA TTTAAATTAT CCTGGGT CTCTTACT TATGG CTTATGAAAG TAC CAAATGTATAA CCA CTAGAAGAAAAT TTAACATA TGAGT CGAT CC CTTGTT TT
ATCCATTGAAAGTAGCAGAGTCTGGTGTCATTAA CCTGACT TGCT TGTGAGAAAT TTAGATTG TAGAGT CATTT CTGAAACA TGAC CTAATT CATC TTGTGA CTTTTAAA TAGTC TTAAATAC CA AGTT CAGT CATTGT CTTAGA GCA CATGAATTT CATTATAA TAGATTTAT CATG CC CC CCTCT CAAA
TATACACAGTTTTGGCAAGCCTTAGGTGTT CTGT TC CATTTTT TTTT CC CCTAAA CATCTTTC GTTAGT CAATG CTCAT CTAATTA CAAAGGGA TAATC CCAGA CTGTA TC CAATTG CTGTAA CT TTTG GTTT CTTAATGT CATAATT TTTAAAGT CTGTT TTATTTTAA GTGCAA TATTGAG TATTTAG CTG
TTAGGCTCAATCCGTCGATATGAAATAATTTTT TAAATC CCTAA GGGCA GGAAAGCA TTTCGTGGTAG TGAAAATAAGAGGAAA TAAGATGG CATGAAGG TGGTGG GCGGA GAAACTAG GTAGGA CACAGGAAA GTGCTCT CAAAAATCTTTGAAGAG CT CAGCT GAAAAAAATGGAG TAGATTTG
GCTCATACTATTCCGGAAGGCAAAAC CAGGGT CAGCTGATGT CAGC CC CAGTT TAATACA CACG GTC CCAAT TATAGAG CTACT CACTGAAAGAATGG GTTT CCTT GCATT GTGGTGA GCT CC CT GT CACAAGA TAGAAGAGTT TCAGT CTAGG CTTAAT GGCAA CCAT TGGACAAA GATG CTTT CTTC
CACCTAACAGGCCATTAACATCTTAAAG GTATTTT TGTAT CTCTAA TTTTGT TTATAATAGG TGCT CAACA GAATGAG CTGAATGG CTGT TACAAAGG GGGTTT GTAC CTTGG GTAAGAGATTAA AA TATAACT CAAAATTT CCTTCTAA CG CTGCA CCTATGGAA CCATG TGATAGAGG TGTATTAAAA
TTGTTATCGAAGAATATATAGCATATGGTAAACAACAGTTT GCATAT GGAAAATGT CTTTGA TAATTTAA CCAGAA CTG CATTATATT CAATAA CGGATTT TCTT TATAACAAA CAACAG GGGAA AATGGA GTTGG CACA CAGTGGA TCA CTTTGATA TTTTTAATA GTC CAAGT CTGGAT TTTATTTA T
TCCTGAGCCAACAATTTTGAACAGCATAT TTTC CATGT TTCT GACTG TAACAAAA CATTTT CCT CATTGTTC CATTGTAAA TATTC CT CTTGTT GGAACT CTTT TTAATC CTGAGA TTTAAAC CT GTA CCTTTCAA TTGT CTGTGA CCT TTCAAT TTCA CTTT CAATAGTT GAAGAACT TGGC TTTGTAAA TC
TCTCAGAAGCTTGAAAATATCTTGTCTCTA CC CC CT CAGC CCAT TTCAT TTGC CAATAATTA TTTTGTAA GTAGGGT TGAAATGAA CTCAG CTGG CC TTGTGAAAT GTTTAAA CTTG CACAAA CA ACTA CATTTT TGTT CAACAAATAG CAGTT TACT CAGC CAAAAT CACTT TGGATATT GC CATTA CAA
ATACTGTTAAACTTCAGAAATCATGTCTGTAAATTAGA TGAGC CAAAATAAAGGA CAATTG GGTTGAT GCTG CA

Przypadek 1

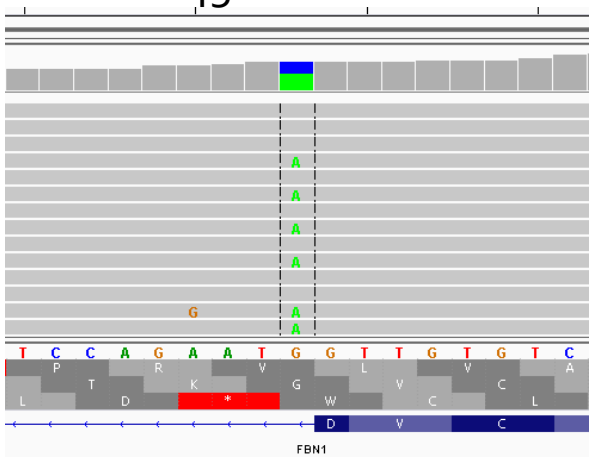
- Heterozygota złożona – dwie heterozygotyczne mutacje
- NM_000138.4:p.Ala986Thr/c.2956G>A
- NM_000138.4:c.4582+1G>T

Wynik sekwencjonowania całoeksomowego

c.2956G>A

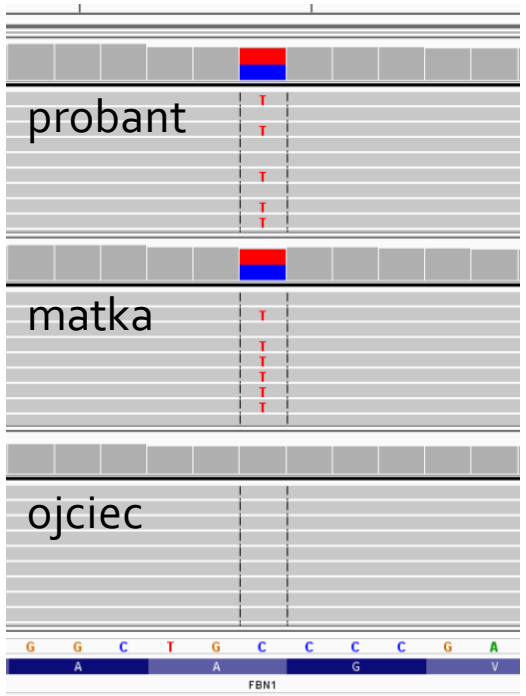


c.4582+1G>T

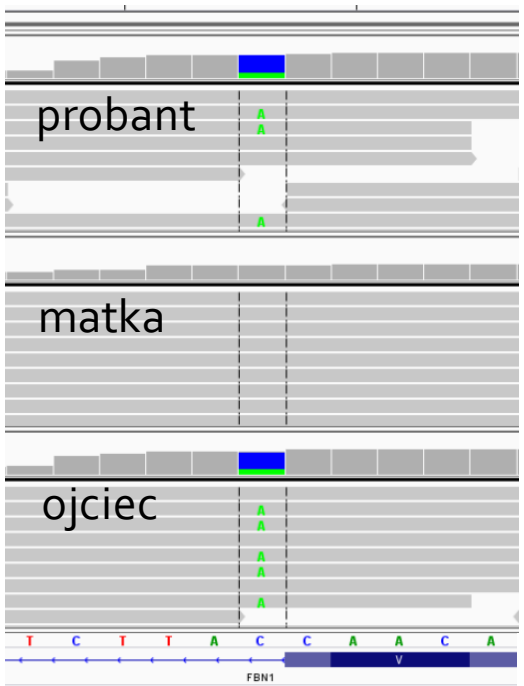


Wynik potwierdzenia metodą ADS

c.2956G>A

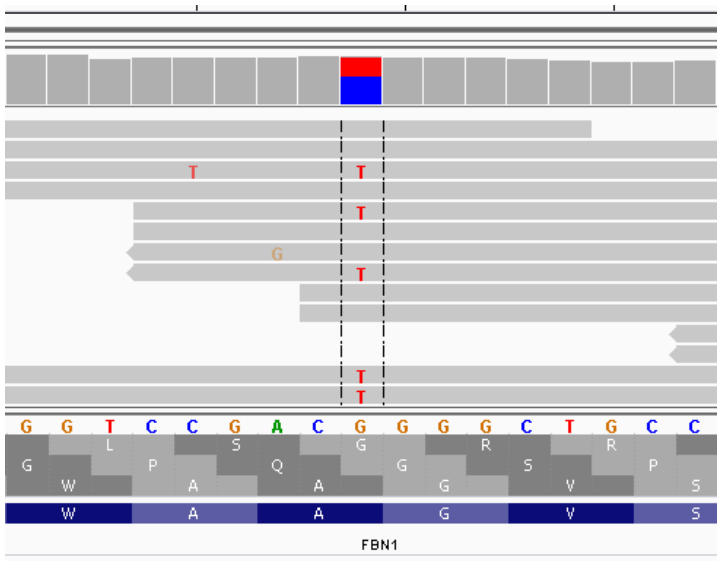


c.4582+1G>T



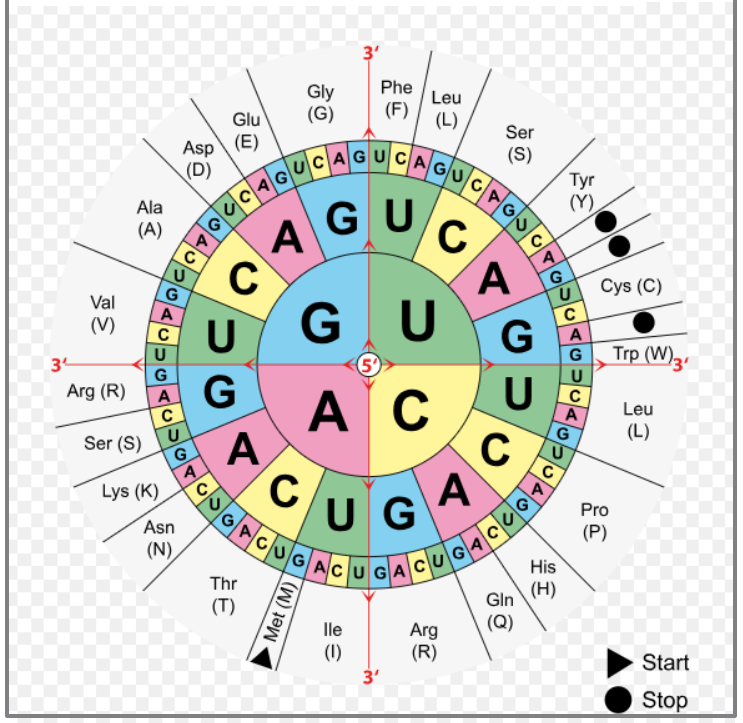
Rodzice wykazują pewne, lżejsze niż dziecko, cechy zespołu Marfana. Dziecko odziedziczyło po jednej mutacji od każdego z rodziców.
Warianty w układzie *in trans*.

NM_000138.4:p.Ala986Thr/c.2956G>A

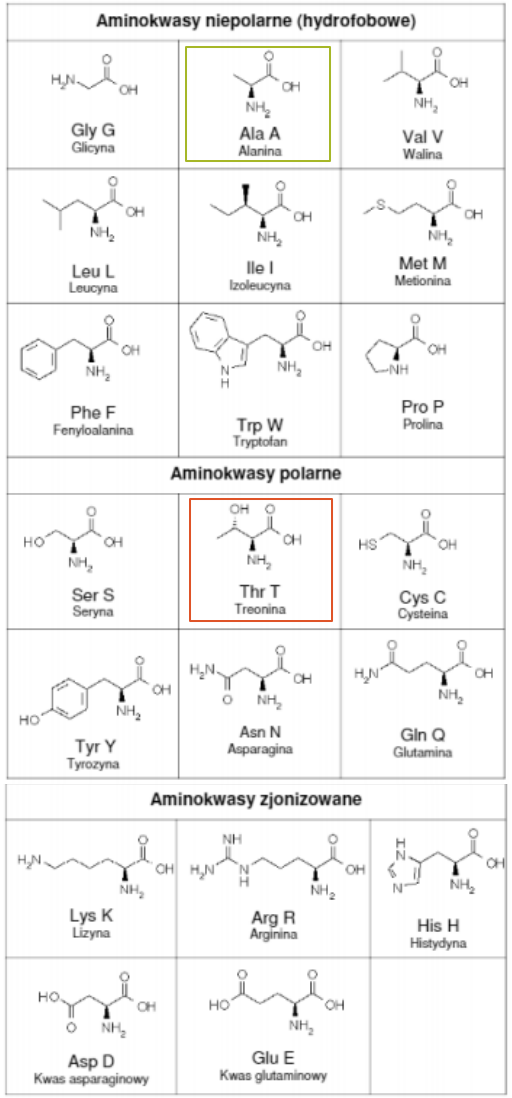


Predykcja patogenności:
CADD: 25,4
DANN: 0.9992 (0-1)
MutationTaster: Disease causing
MetaSVM: Damaging

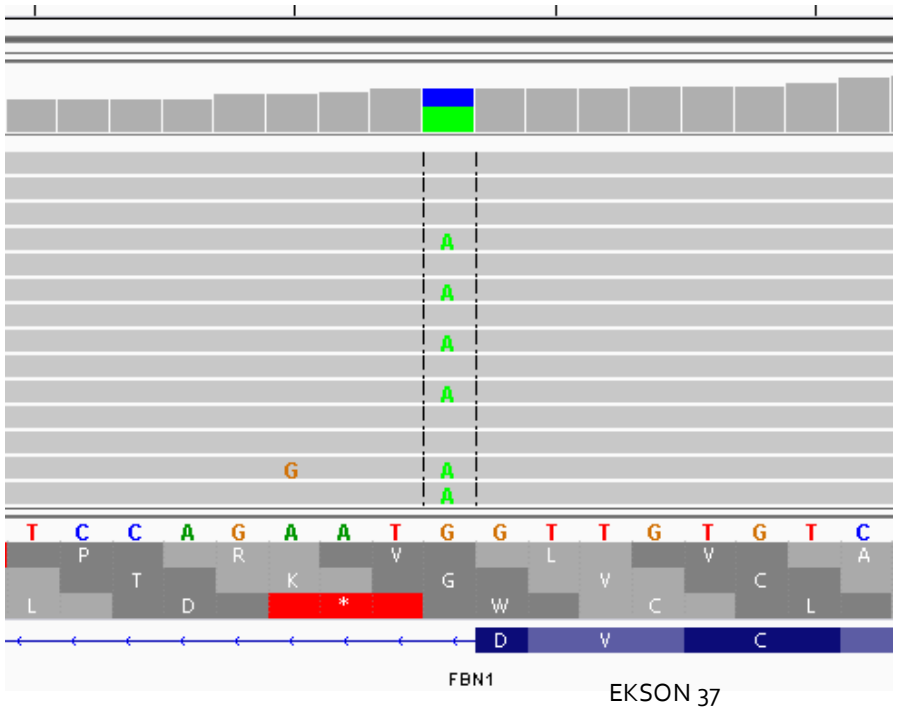
Szyfr kodu genetycznego:



- GCA > ACA
- Ala (alanina) > Thr (treonina)

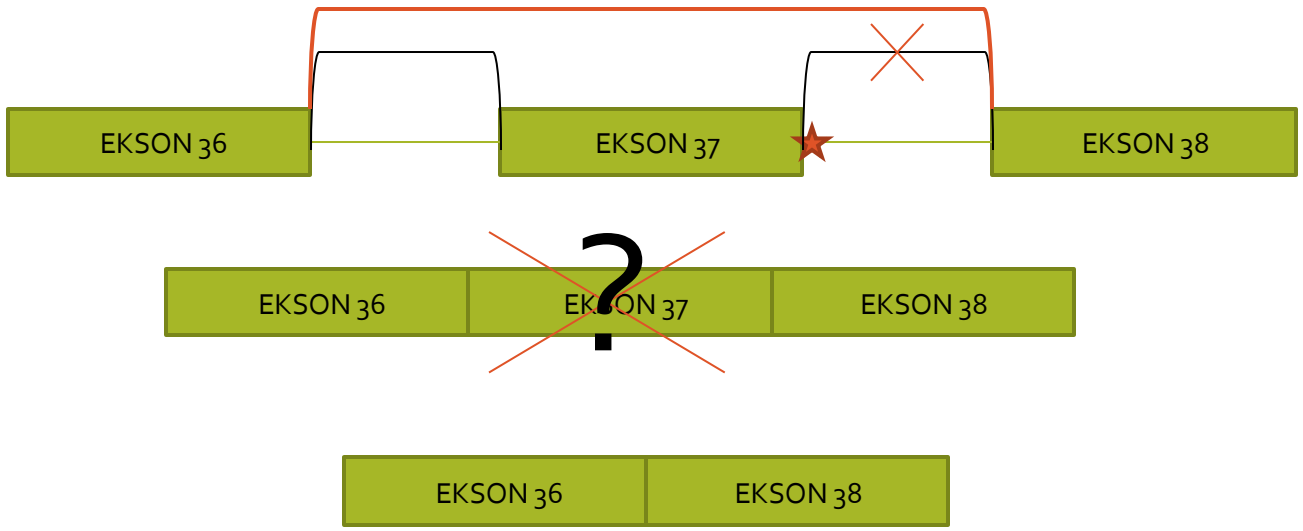


NM_000138.4:c.4582+1G>T



- Mutacja w intronie – sekwencja NIEKODUJĄCA
- Brak zmiany aminokwasu!!
- Czy mutacja nie jest niszcząca?

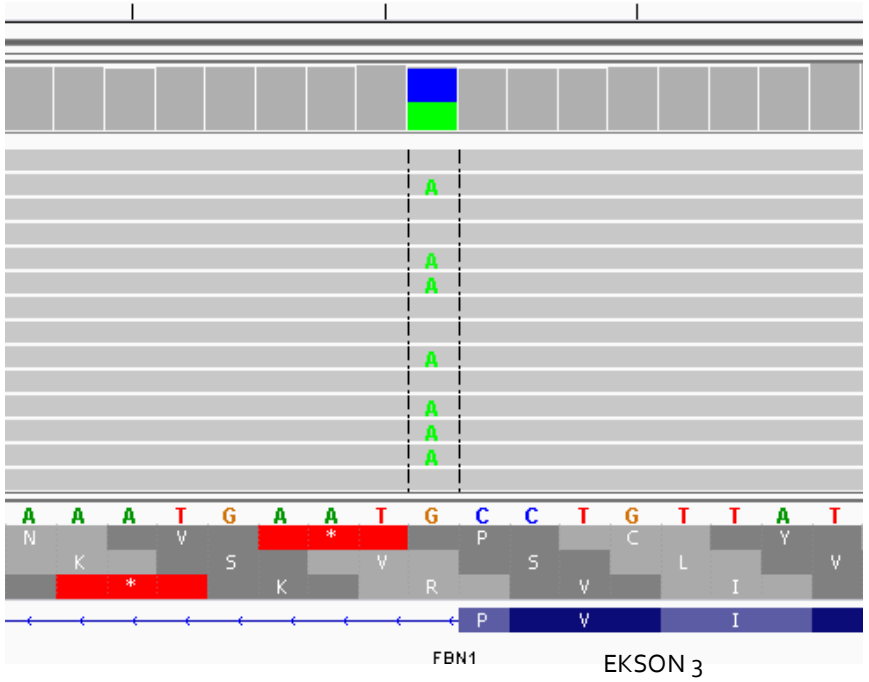
Może wpływać na składanie genu (splicing)



Predykcja patogenności:
CADD: 23,4
DANN: 0. 9949 (0-1)
MutationTaster: Disease causing

Pzypadek 2

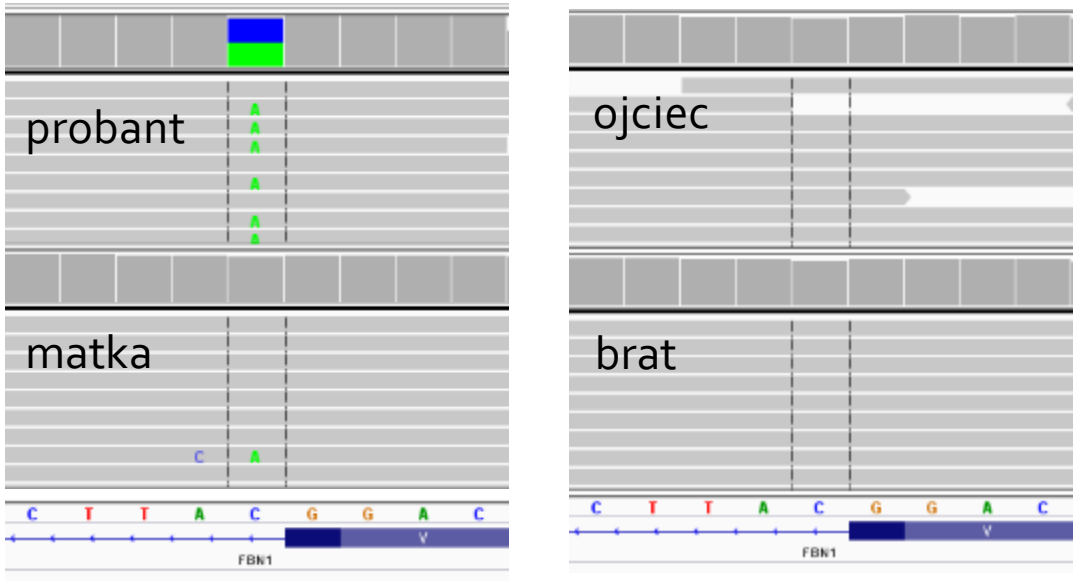
- Pojedyncza heterozygotyczna mutacja – AD – autosomalne dominujące
- NM_000138.4:c.247+1G>T



Predykcja patogenności:
CADD: 26,2 DANN: 0.9956 (0-1)
MutationTaster: Disease causing

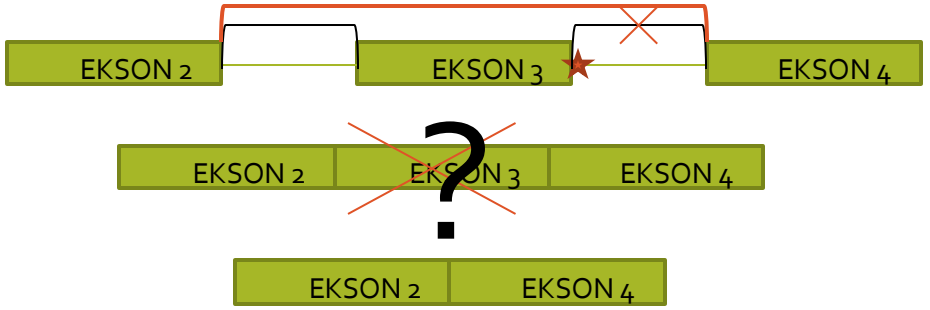
Wynik potwierdzenia metodą ADS

c.247+1G>T



de novo!

Może wpływać na składanie genu (splicing)

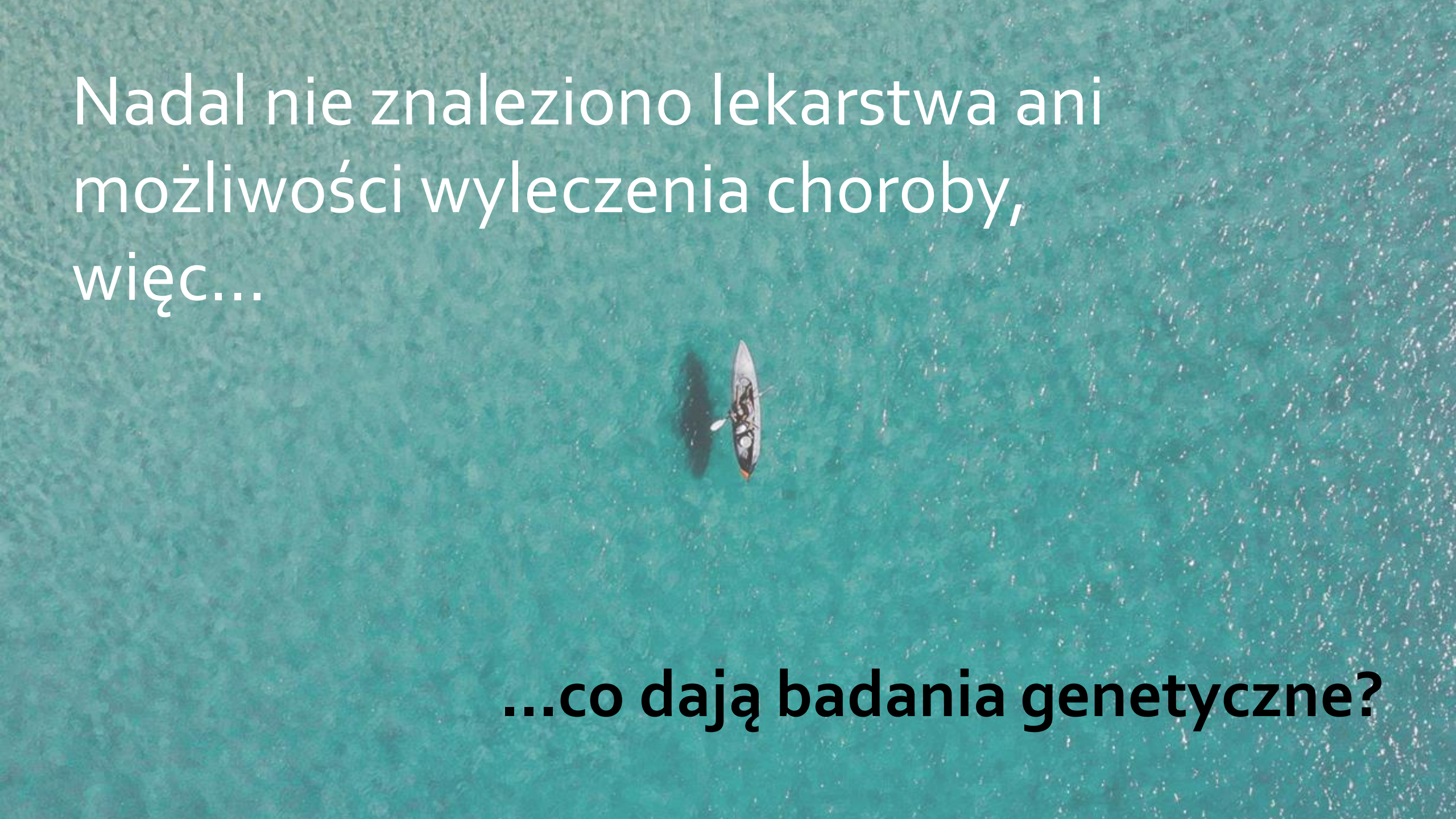


Skutki mutacji genetycznych

- Zmiana właściwości fizyko-chemicznych białka
- Zmiana konformacji (kształtu)
- Zmiana długości/struktury
  - wycięcie funkcjonalnego fragmentu
  - wstawienie nowego fragmentu

Białko nie działa prawidłowo, nie spełnia swojej funkcji!
Rusztowanie jest za słabe, brak łączności między komórkami.

Nadal nie znaleziono lekarstwa ani możliwości wyleczenia choroby, więc…



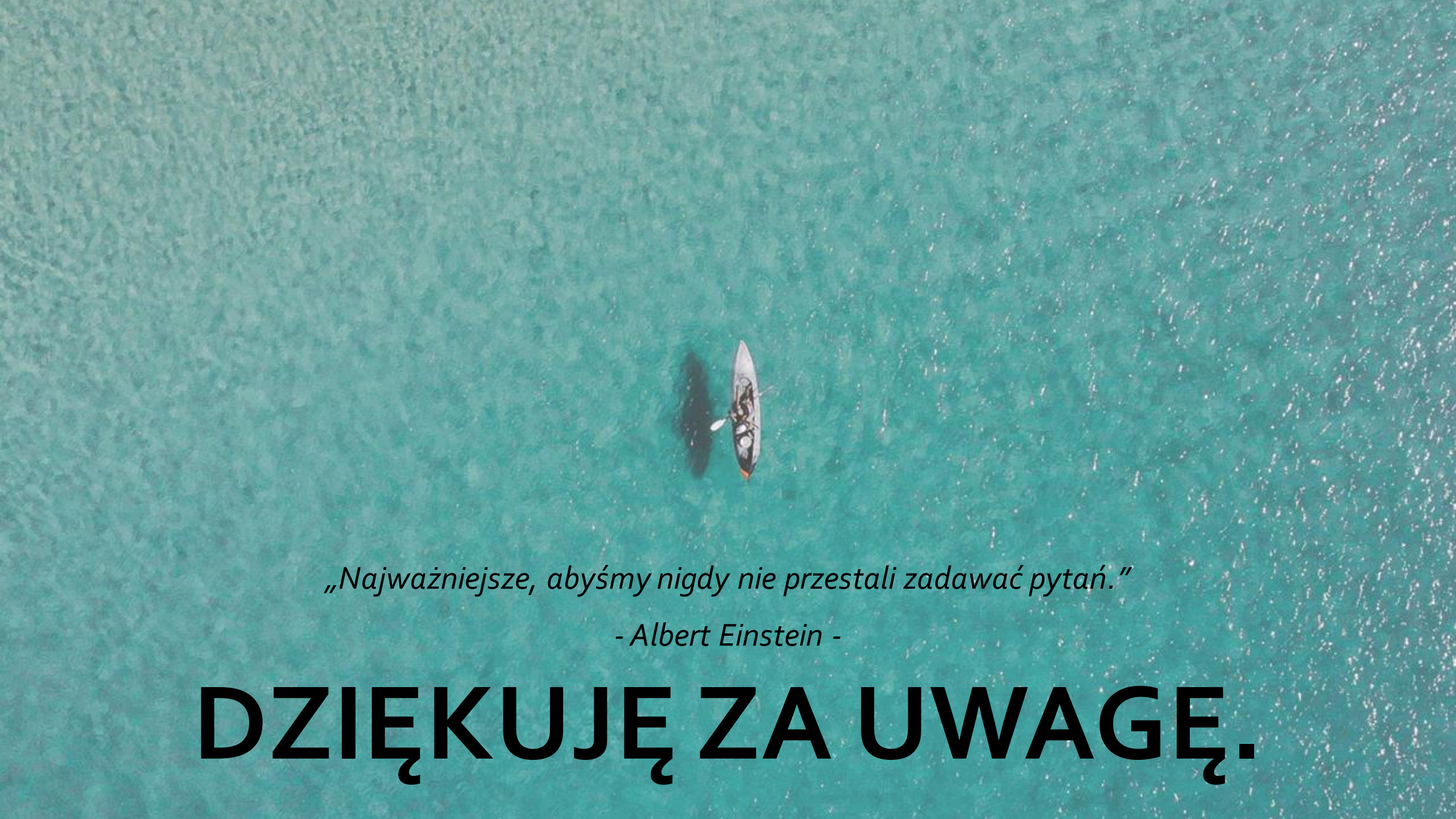
…co dają badania genetyczne?

- Dokładniejsze poznanie roli białka
- Identyfikacja miejsc szczególnie narażonych na uszkodzenia
- Identyfikacja mutacji niszczących

- A co z intronami – sekwencjami niekodującymi?

Każdy pacjent dostarcza nowej, cennej informacji o genie i jego wariantach.

Każdy pojedynczy przypadek jest unikalnym elementem wielkiej układanki, którą kiedyś uda się skompletować i zobaczyć cały obraz. Znaleźć rozwiązanie!



„Najważniejsze, abyśmy nigdy nie przestali zadawać pytań."

- Albert Einstein -

DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ.