

mezinárodní konsorcium

DNA 12 anonymních dárců

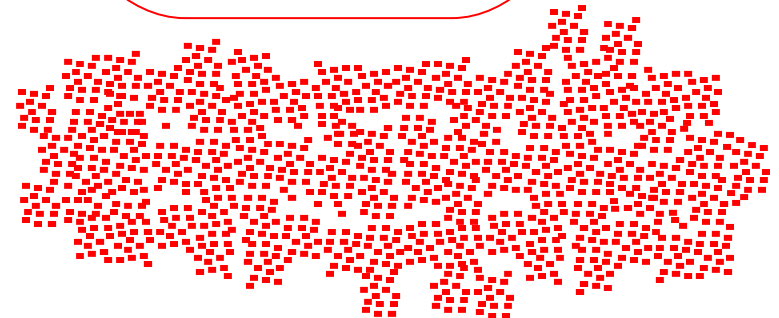


mapování



Celera Genomics

5 dárců různé etnicity

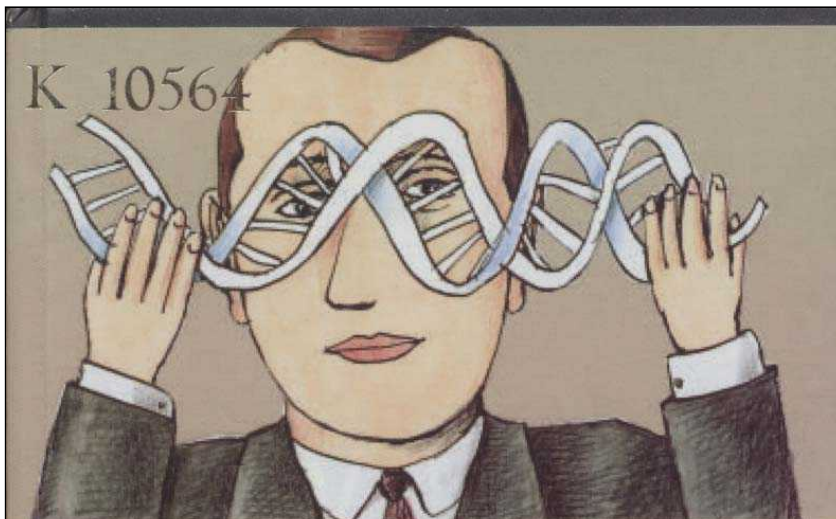


whole-genome shotgun



paired-end sequencing, scaffolds

K 10564



KEVIN
DAVIES

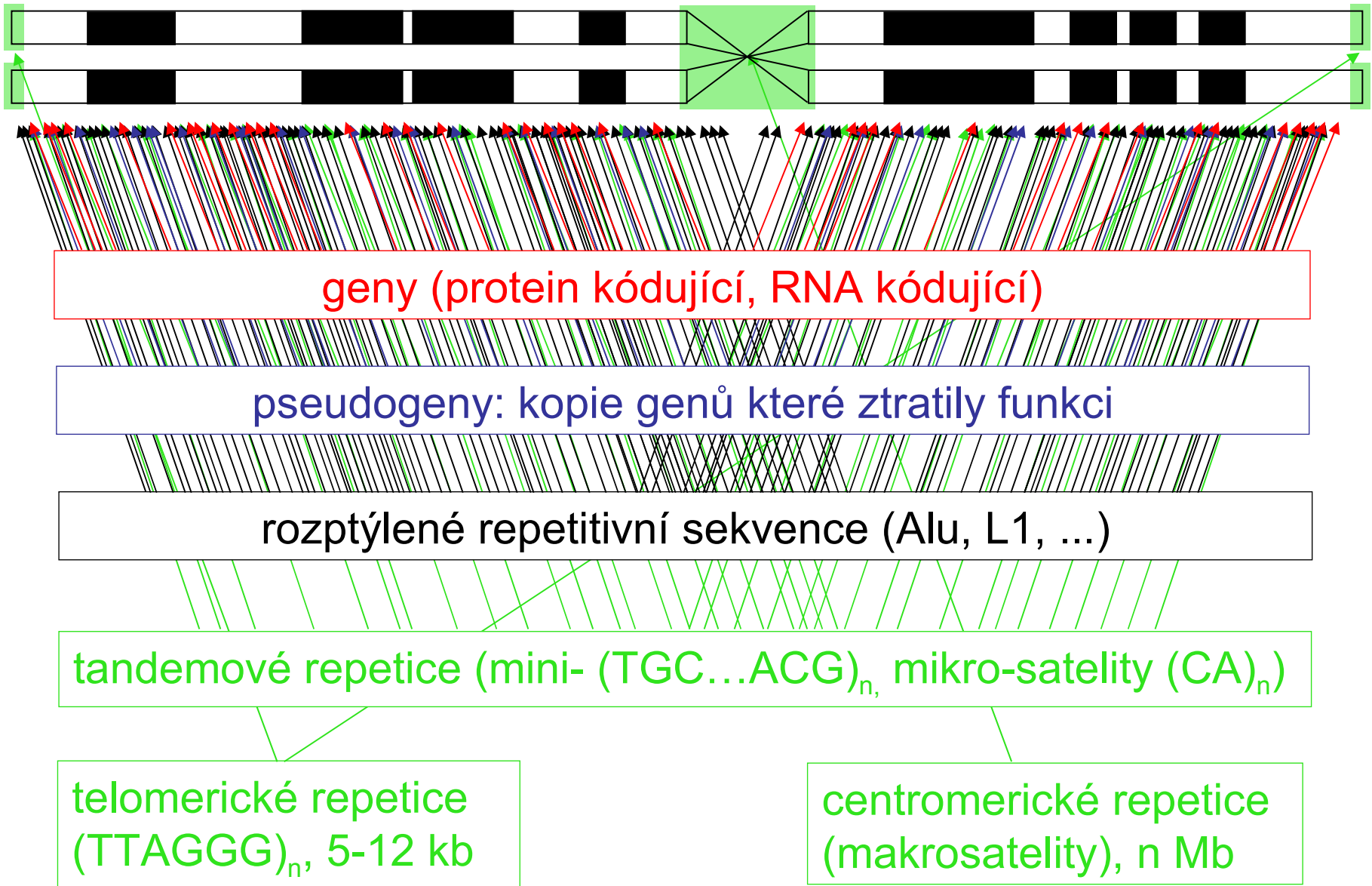
Příběh
největšího
vědeckého
objevu
naší doby

Rozluštěný genom

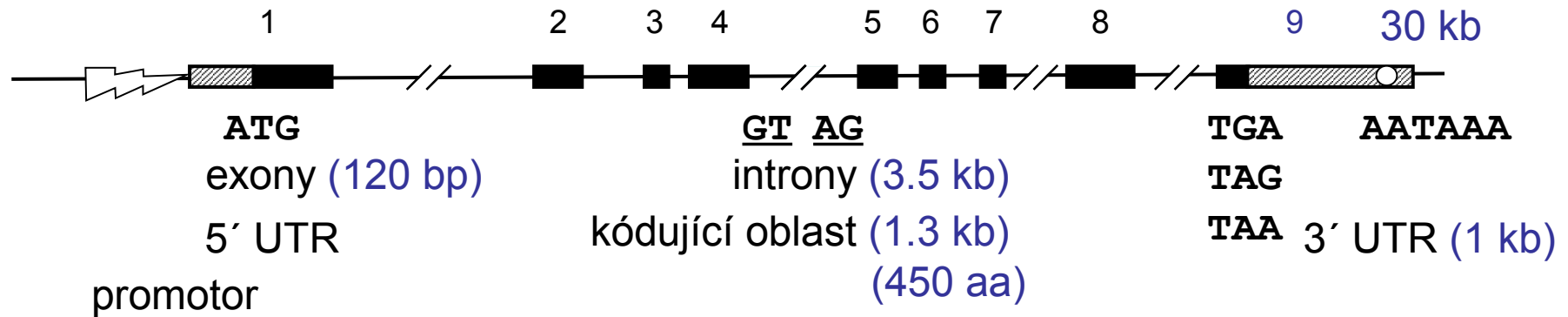
K A

F
E
N
I
:

typy sekvencí v lidském genomu



geny kódující proteiny



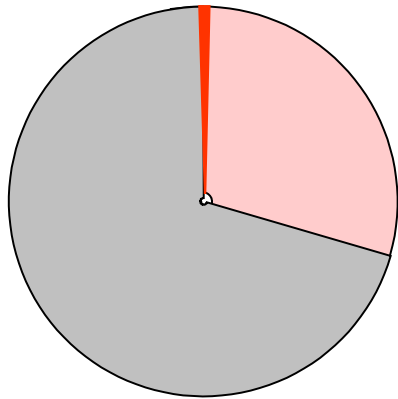
nejdelší gen: dystrofin (2.5 Mb, 89 exonů)
nejvíce exonů: titin (363 exonů)

genové rodiny

počet genů: méně než 25 tisíc

geny kódující nekódující RNA (ncRNA)

pseudogeny



geny (exony + introny) cca. 1/4

exony protein kódujících genů cca. 1.5%

mezigenová DNA



‘junk DNA’ 98.5%

podstata, původ a funkce ‘junk DNA’ ?

nepravidelná distribuce genů v genomu

2500



1

600



13

400



18

1500



19

300



21

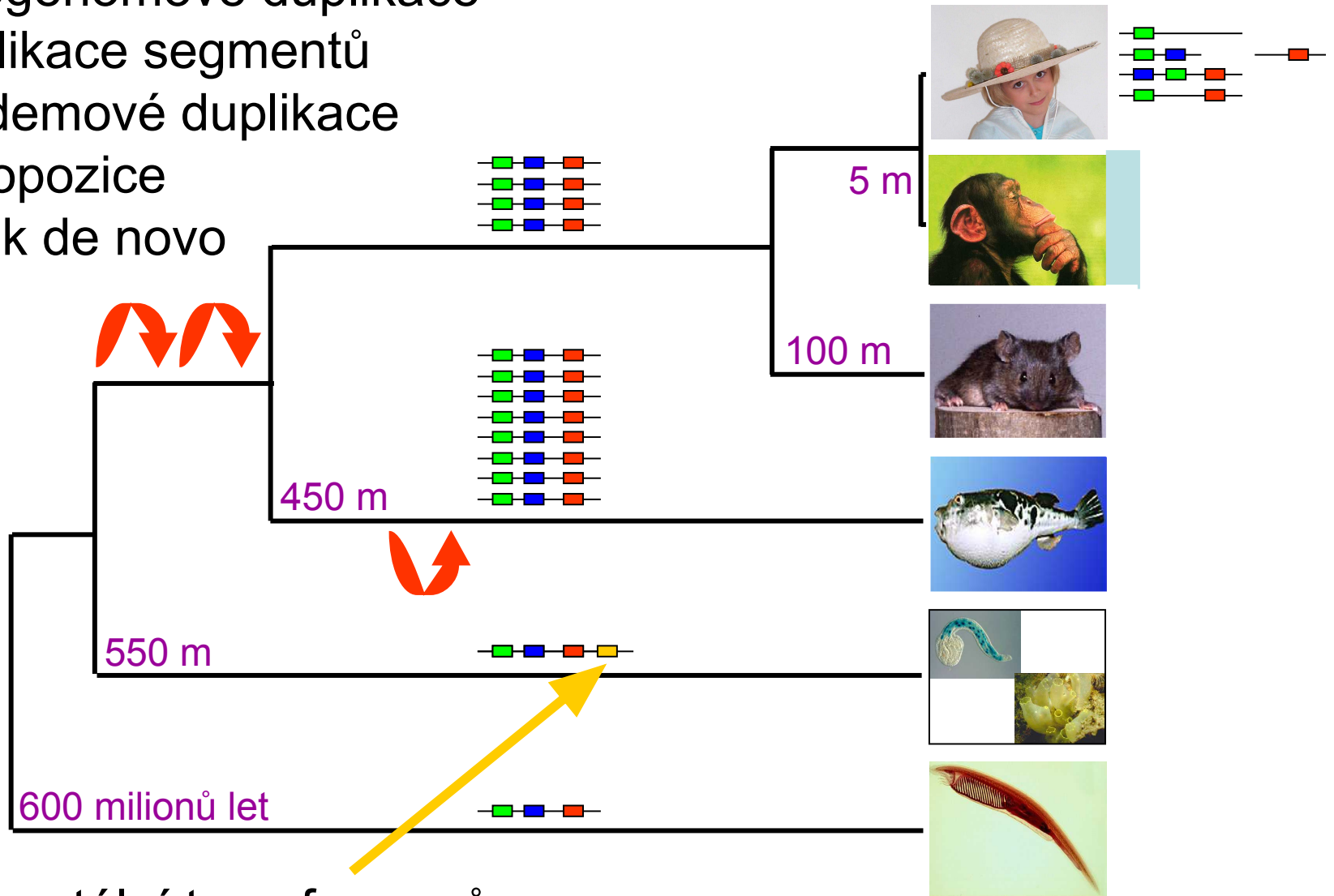
700



22

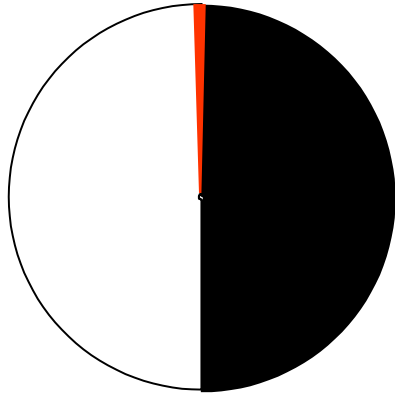


původ genů
celogenomové duplikace
duplikace segmentů
tandemové duplikace
retropozice
vznik de novo



horizontální transfer genů
(také transfer z genomu organel)

repetitivní DNA



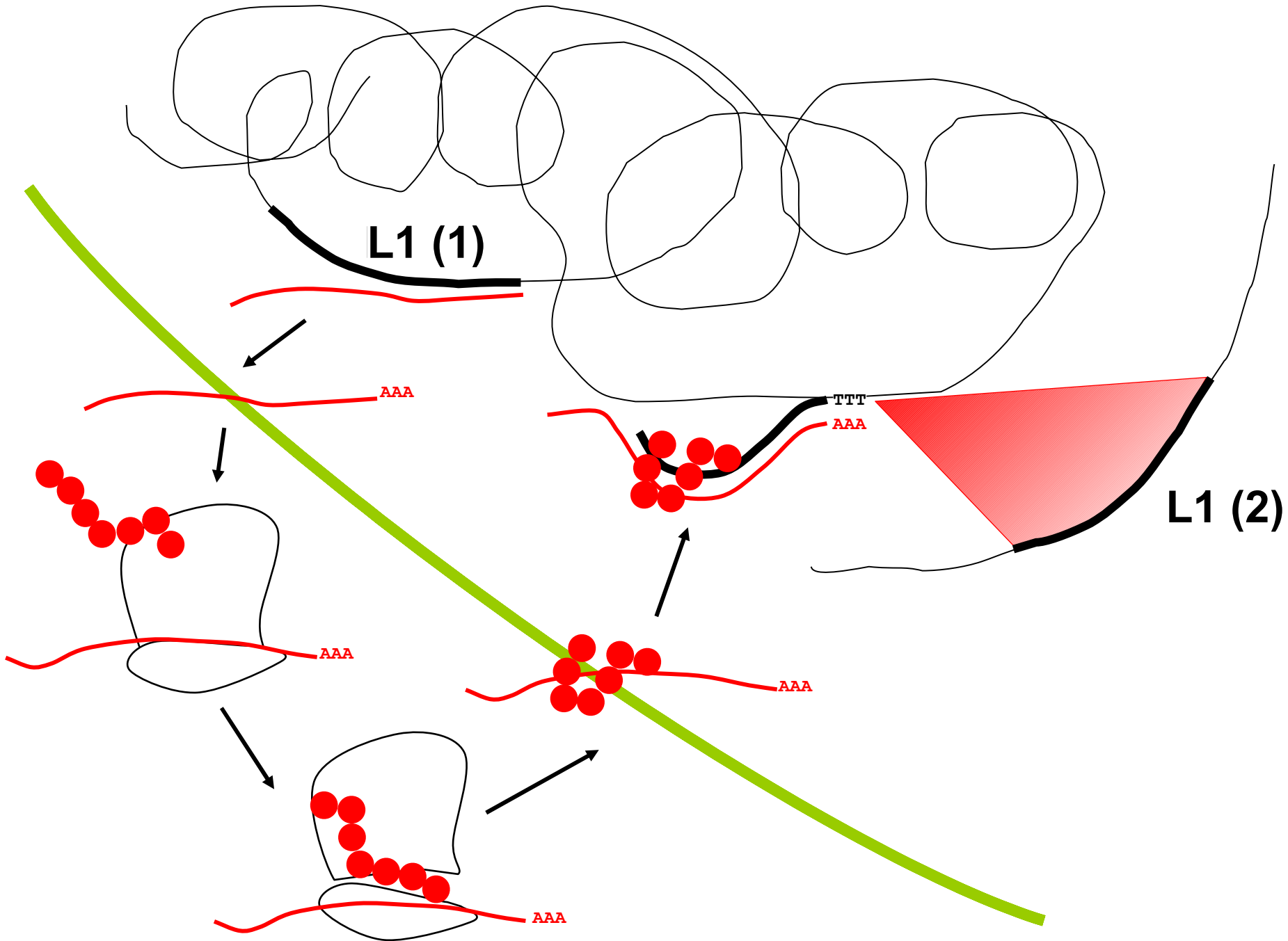
exony cca. 1.5%

repetitivní DNA cca. 50%

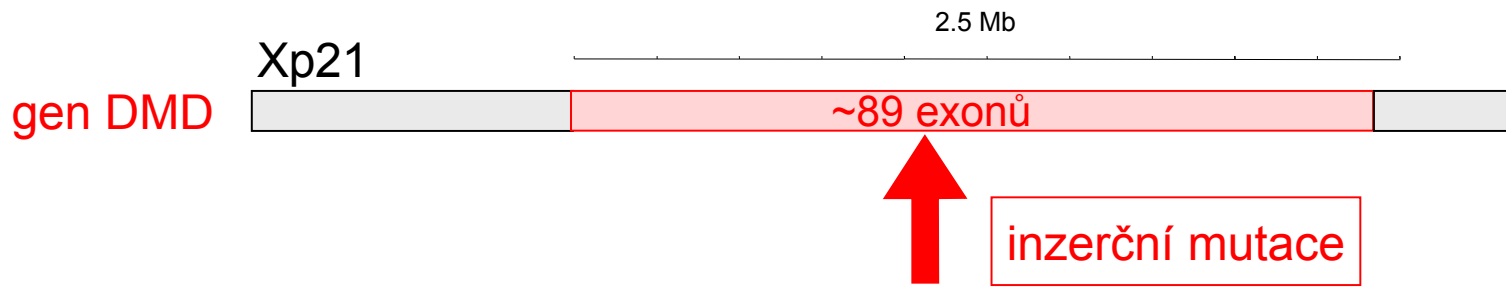
nerepetitivní DNA



mobilní (sobecká) DNA



DMD - Duchennova muskulární dystrofie



DMD intron 44 ← 10 20 30 40 50 60

DMD exon 44 ←

5' aagacttacCTTAAGATACCATTGTATTTAGCATGTTCCCAATTCTCAGGAATTTGTGT
 3' ttctgaatgCAATTTATGGTAAACATAAATCGTACAAGGGTTAAGAGTCCTTAAACACA

K L Y W K Y K A H E W N E P I Q T

TTAAAA CCTTTGTCCTACTAC

CTTTCTGAGAAACTGTTCTGTTAGCCACTGATTAATAATCTTTATATCA GATGA
 GAAAGACTCTTTGACAAGTCGAAGACAATCGGTGACTAATTTATAGAAATATAGT CTACT
 K R L F Q E A E T L W Q N F I K I D S S

GTAGGTTGCAAAAATTTCTCCCATGTTGTAGGTTGCTGTTCACTCTGATGGTAGTTTC
 CATCCAACGTTTTTAAAAGAGGGTACAACATCCAACGGACAAGTGAGACTACCATCAAAG
 Y T A F I K E W T T P Q R N V R I T T E

TTTTGCTGTGCAGAAGCTCTTTAGTTAATTAGATCCATTTGTCAATTTTGTCTTTTGT
 AAAACGACACGTCTTCGAGAAATCAAATTAATCTAGGGTAAACAGTTAAAACAGAAAACA
 K A T C F S K L K I L D W K D I K D K T

TGCCATTGCTTTTGGTGTGTTTGGACATGAAGTCCTTGCCACGCCTATGTCTGAATGGT
 ACGGTAACGAAAACCAAAAACCTGTACTTCAGGAACGGGTGCGGATACAGGACTTACCA
 A M A K P T K S M F D K G V G I D Q I T

duplikace cílové sekvence

AATGCCTAGGTTTTCTTCTAGGGTTTTATGGTTTTAGGTTTAAAGTTTAAATCTTTAAT
 TTACGGATCCAAAAGAAGATCCCAAAAATACCAAAATCCAAATTCGAAATTTAGAAATA

I G L N E E L T K I T K P K V N L D K I



CCATCTTGAATTGATTTTTGTATAAGGTGTAAGGAAGGGATCCAGTTTCAGCTTTCTACA
 GGTAGAACTTAACTAAAACATATTCACATTCCTTCCTAGGTCAAAGTCGAAAGATGT
 W R S N I K T Y P T L F P D L K L K R C

TATGGCTAGCCAGTTTTCCAGCACCATTATTAATAAGGGAATCCTTTCCCATTTGCTT
 ATACCGATCGGTCAAAAGGGTTCGGTAAATAATTTATCCCTTAGGAAAGGGGTAACGAA
 I A L W N E W C W K N F L S D G W Q K

GCGGCATTAT

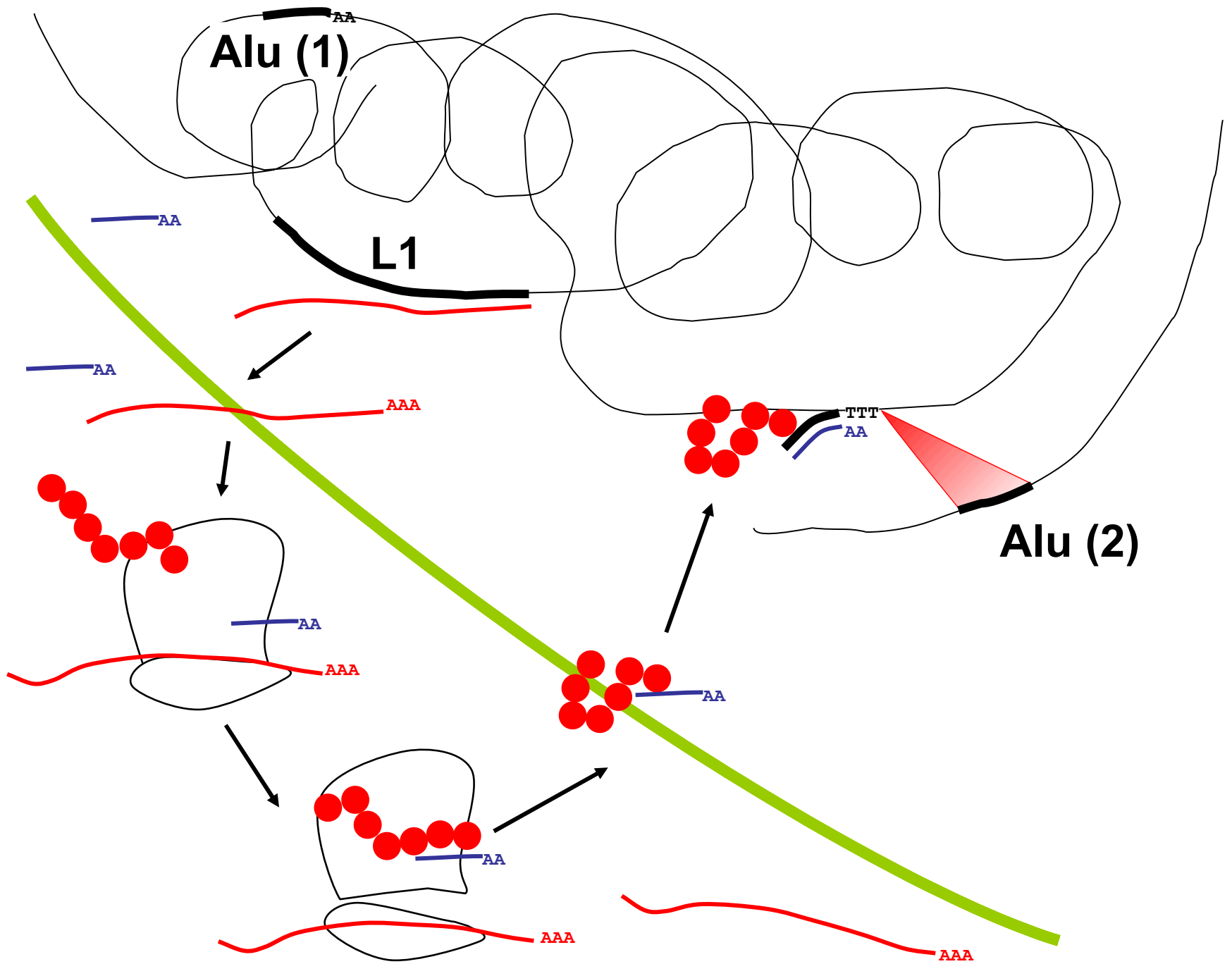
GTTTTTCTCAGGTTGTCAAAGATCAGATAGTTGTAGATATGCGGCAAAAAAAAAAAAA
 CAAAAGAGTCCAACAGTTTCTAGTCTATCAACATCTATACGCGGTTTTTTTTTTTTTTT
 N K E P K D F I L Y N Y I H P F F F F F

AA
 TT
 F F F F F F F F F F F F F F F F F I K I D Y H F R R W

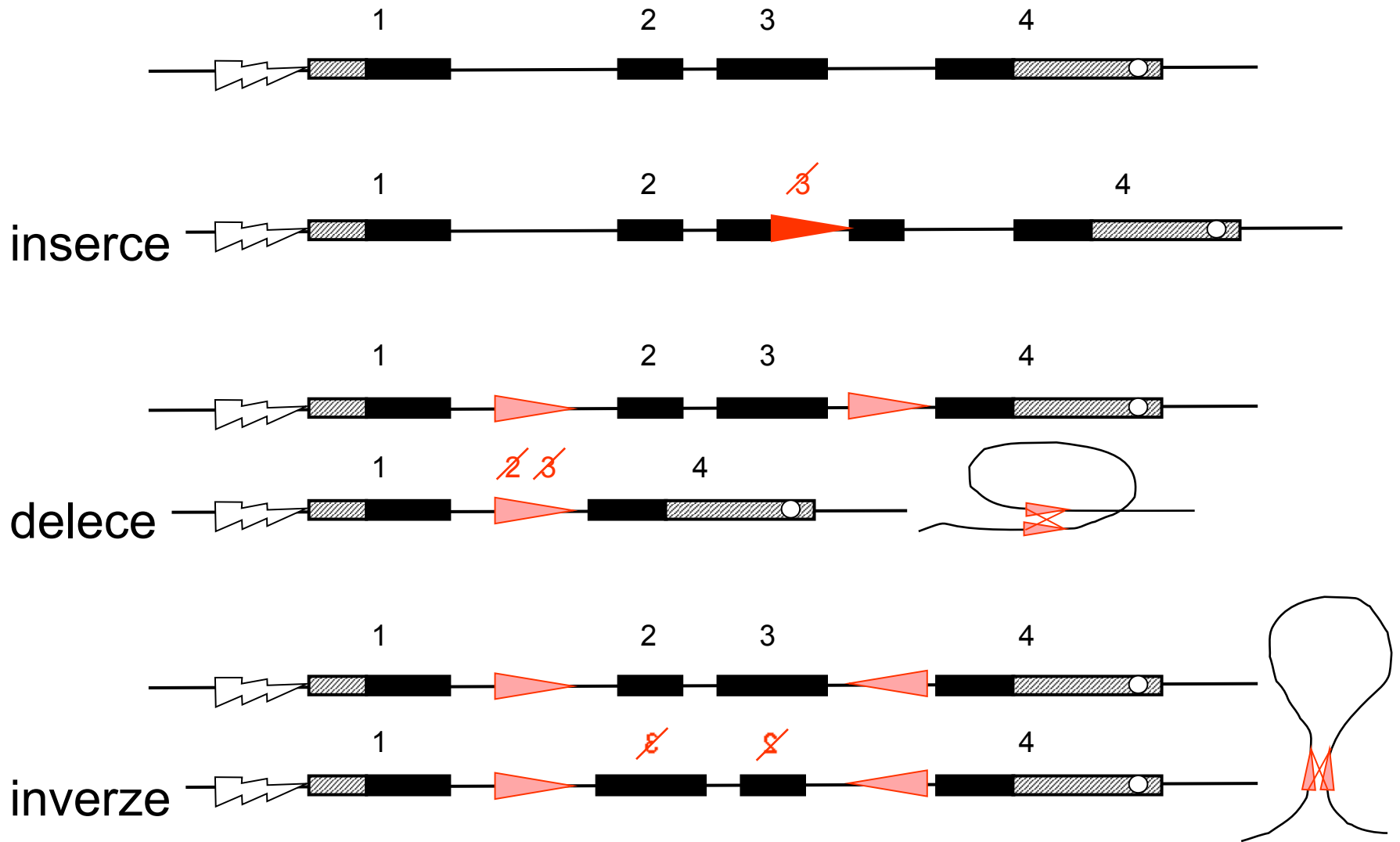
TTTCTCAACAGATCTGTCAAATCGCctgcaggtaaaagcatatggatcaagaaaaataga 3'
 AAAGAGTTGTCTAGACAGTTTAGCGgacgtccattttcgtatacctagttcctttttatct 5'
 K E V S R D F R

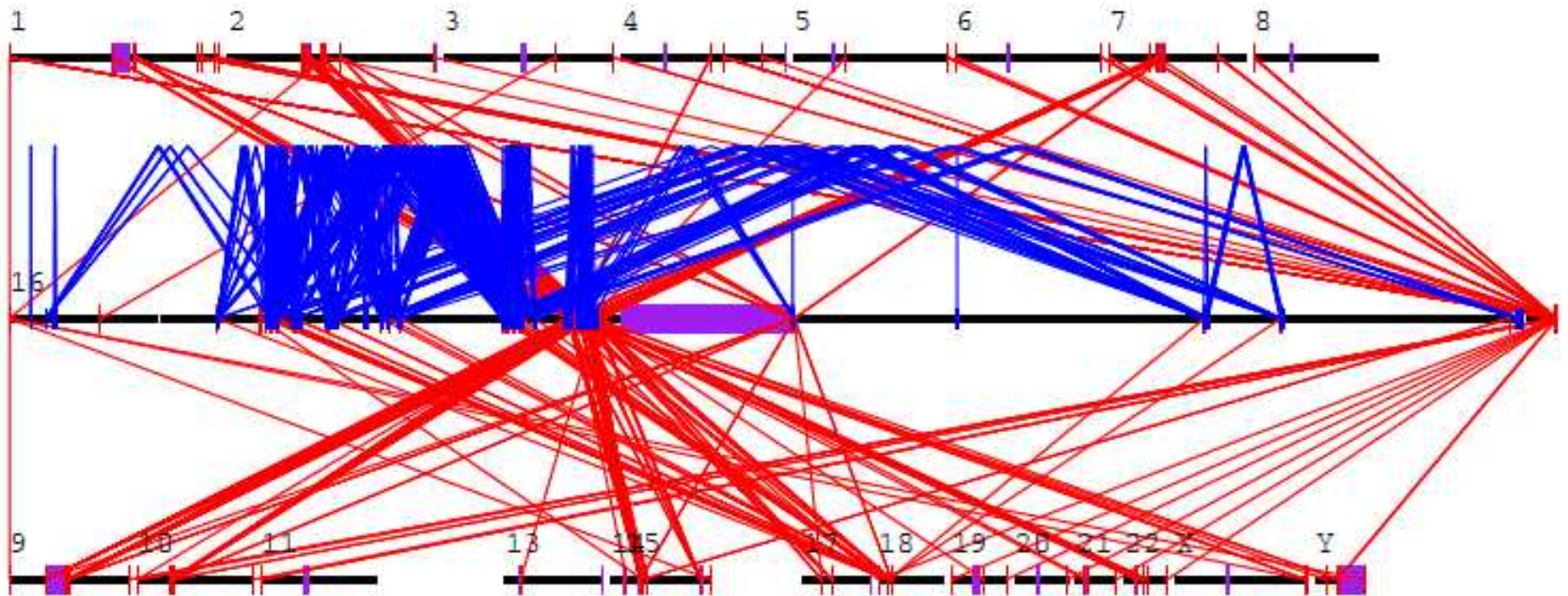
DMD exon 44 ←

← DMD intron 43



vliv transpozonů na genom





http://humanparalogy.gs.washington.edu/build36/view/blowups/starburst.S5000.P0.95/chr16_5kb_95perc.pdf

segmentální duplikace v lidském genomu

cca. 5% genomu, podobnost kopií >90%

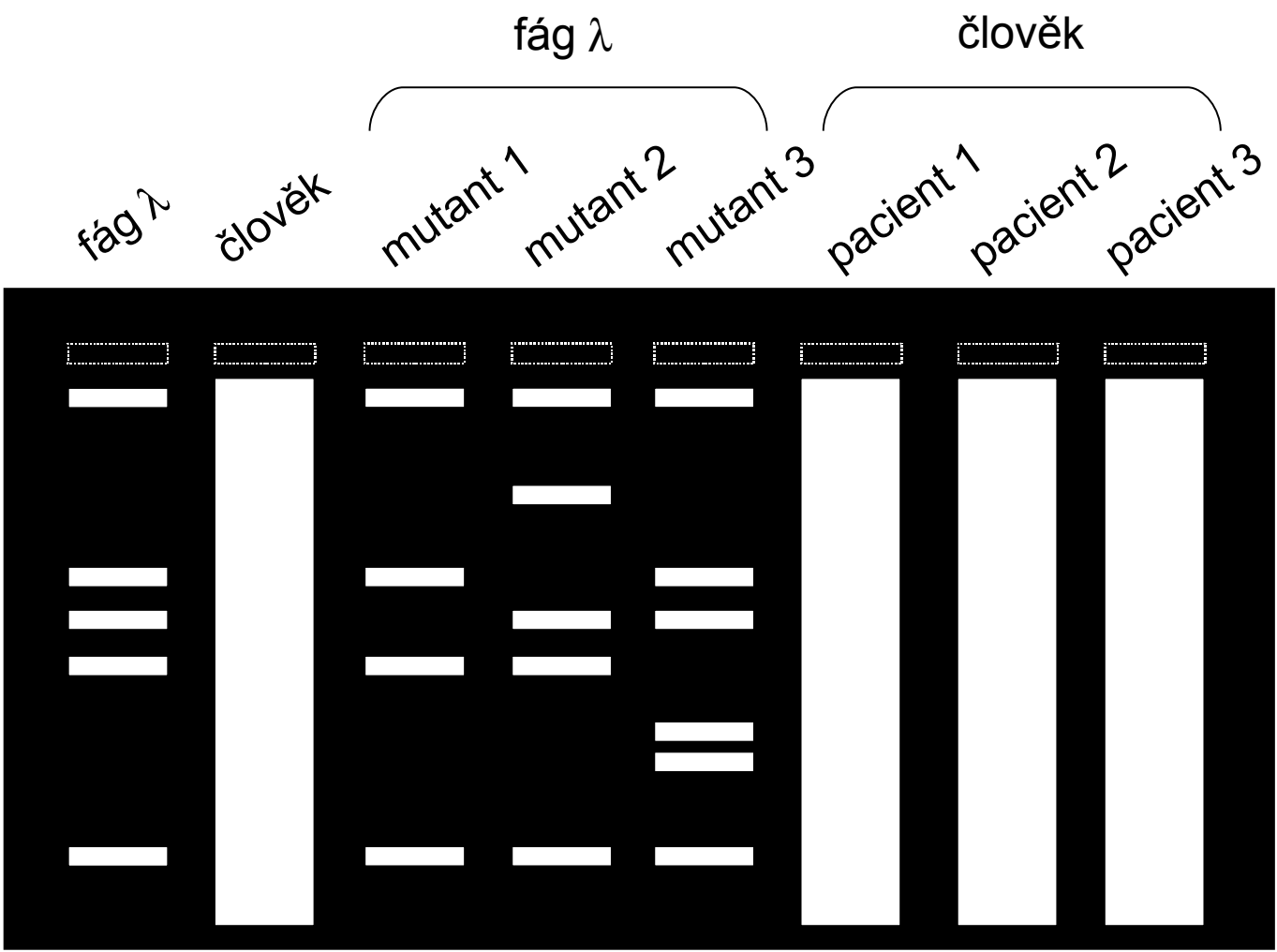
intra- i inter-chromozomální

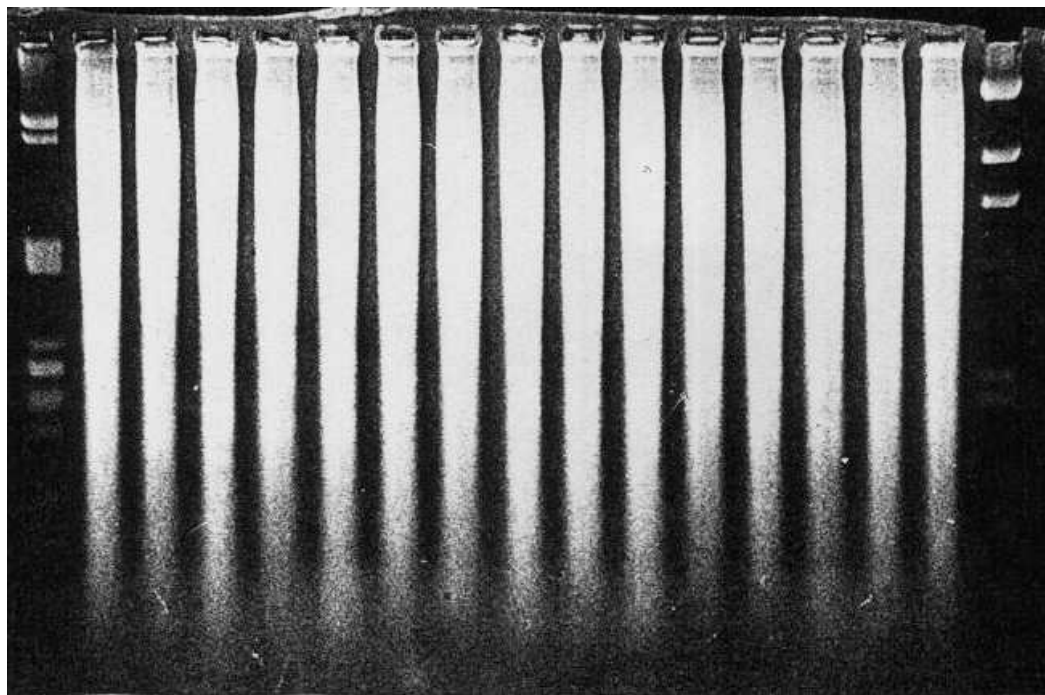
nejčastěji pericentromericky, subtelomericky

substrát pro rekombinace (genomové choroby)

RhD lokus, barvoslepost, mikródeleční syndromy

CYP450, CYP2D6 odpověď na léky (farmakogenetika)



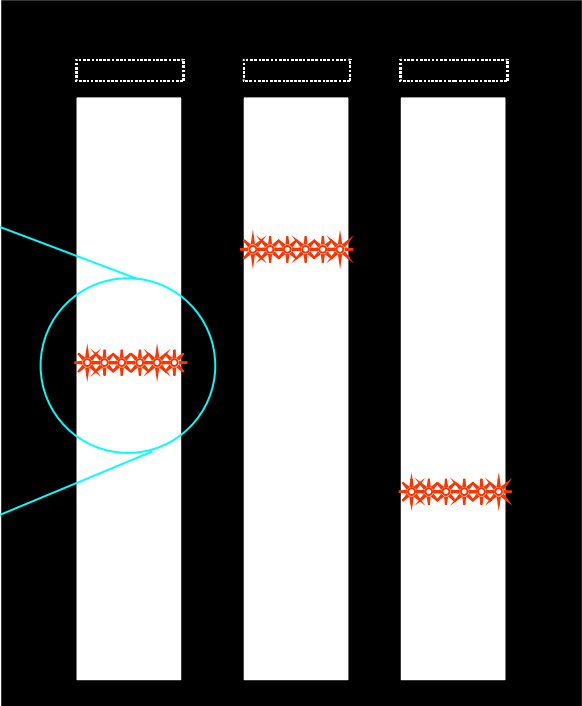
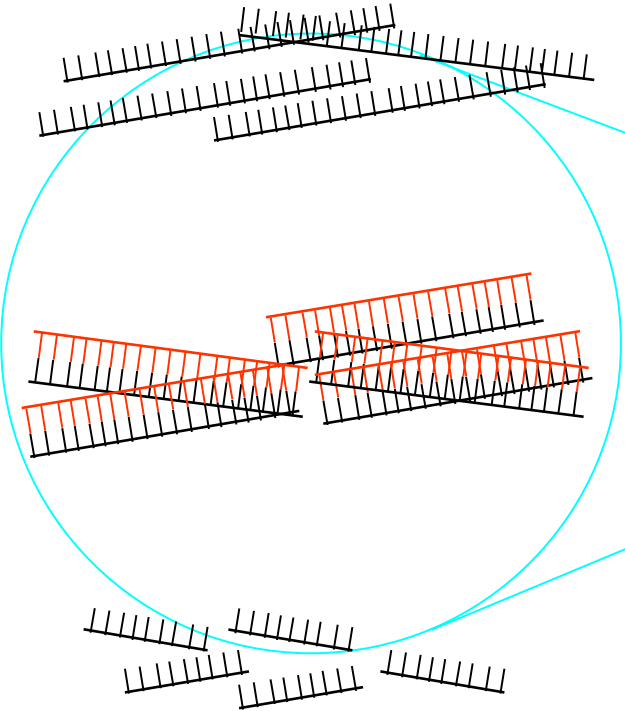


člověk

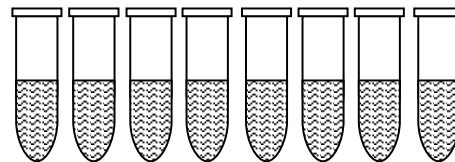
pacient 1

pacient 2

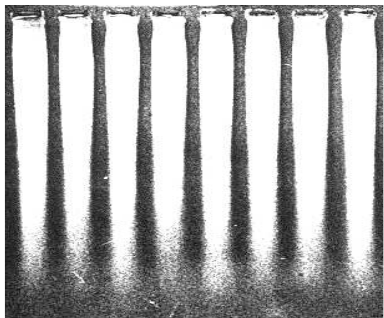
pacient 3



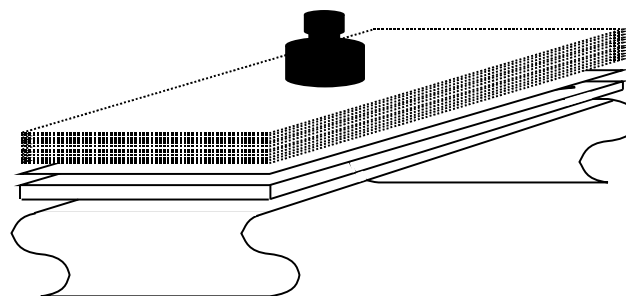
Southernova metoda



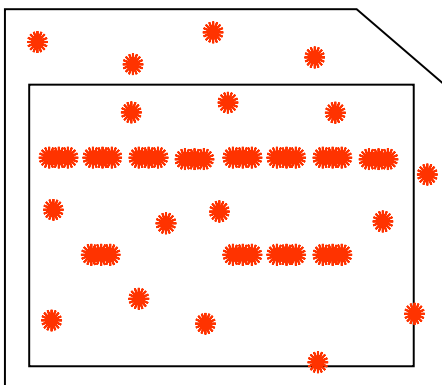
restrikční štěpení DNA (pondělí/úterý)



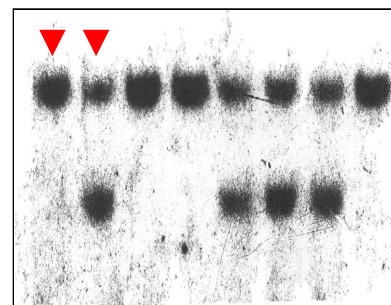
gelová elektroforéza (úterý/středa)



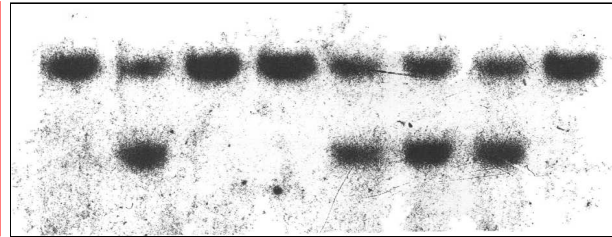
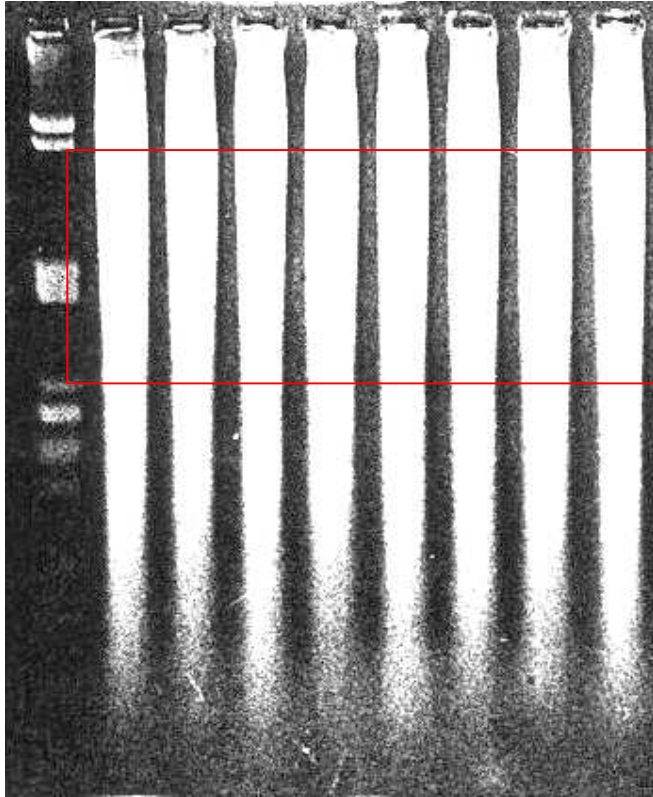
blotting na membránu (středa/čtvrtek)



hybridizace se sondou (čtvrtek/pátek)

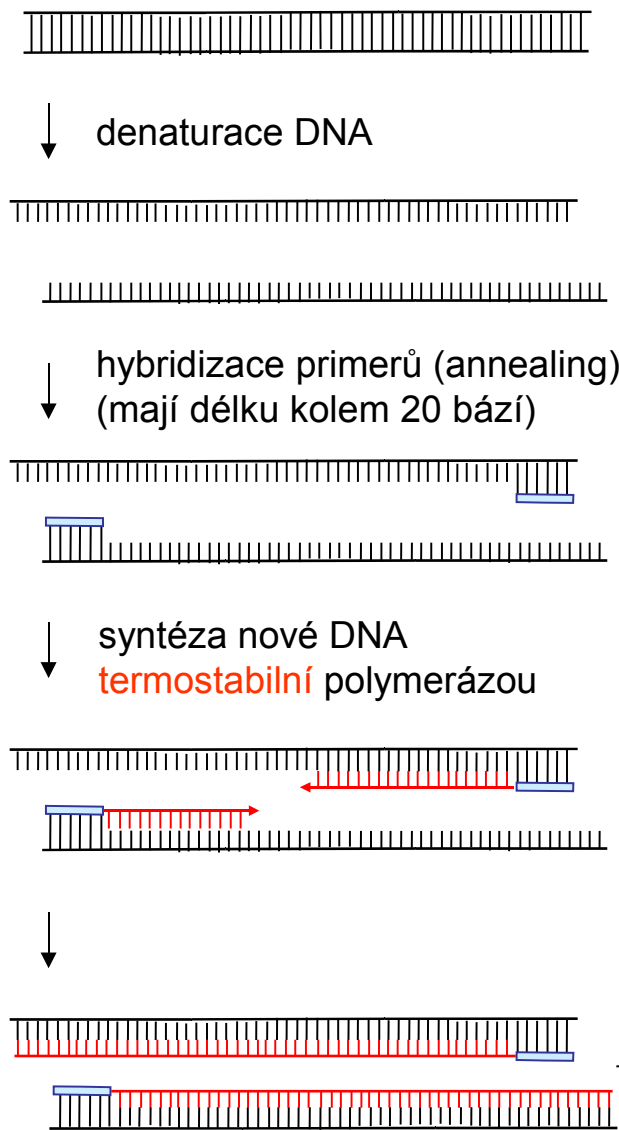


autoradiografie (pátek/pondělí, nebo déle)



Southern
1975

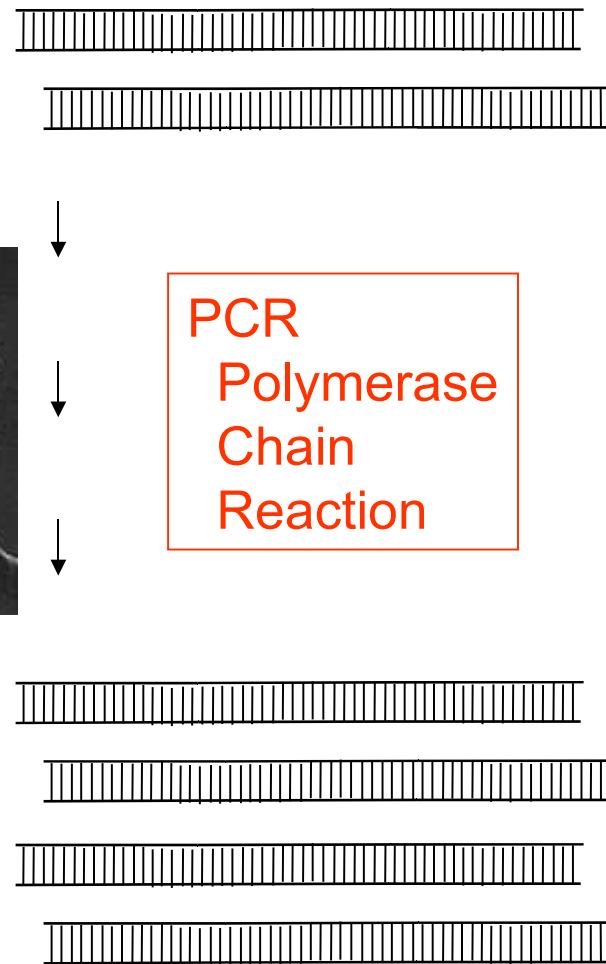
Northern
Western



po proběhnutí jednoho cyklu se jedna molekula DNA zmnoží na dvě



Mullis
1985



po proběhnutí dvou cyklů se jedna molekula DNA zmnoží na čtyři

po proběhnutí n cyklů se jedna molekula DNA zmnoží na 2^n molekul

