

Polymorfismy nukleových kyselin

Polymorfismus je existence **dvou či více variant** (alel, sekvenčních variant, proteinů apod.), které jsou zastoupeny v populaci s frekvencí ≥ 0.01 ^[1]. Obvykle je považujeme za **nepatogenní** sekvenční varianty. Samotný polymorfismus nebo jejich kombinace se **může podílet na vzniku onemocnění**. Polymorfní části bývají především v nekódujících sekvencích DNA a to z důvodu, že **nepodléhají selekci**. Nejčastější formou polymorfismu bývá záměna basí.

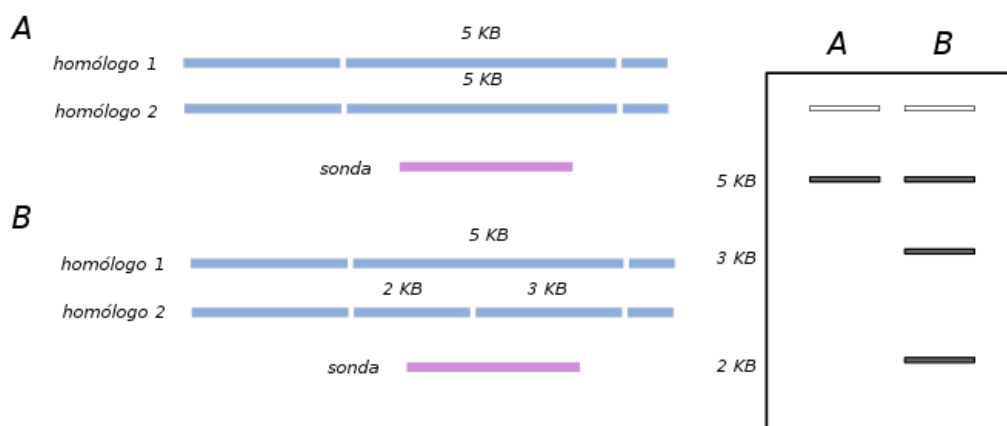
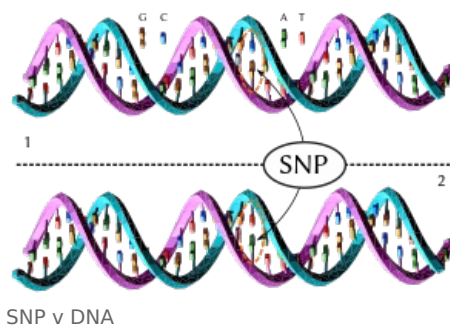
Jednonukleotidové polymorfismy (SNP)

Většina SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) se nachází v **nekódujících oblastech DNA**. Nejčastěji k nim dochází **substitucí jednoho nukleotidu**. Také může docházet k inzerci či delecí. Polymorfismy v jednom nukleotidu se často využívají jako markery (při studiu náchylnosti k onemocněním nebo citlivosti k léčbě farmaky atd.).

Polymorfismus v délce restrikčních fragmentů (RFLP)

SNP polymorfismy mohou zapříčinit **změnu restrikčního místa** (ztráta, nový vznik). Důsledkem je změna délky restrikčního fragmentu, v takovém případě hovoříme o polymorfismu v délce restrikčních fragmentů (*RFLP* – *Restriction Fragment Length Polymorphism*).

Tento polymorfismus lze odhalit kombinací metod **PCR nebo Southernovou hybridizací** (pokud je známa sekvence DNA v oblasti polymorfního místa) s restrikčním štěpením pomocí specifické restriktázy. Sledované úseky lze vizualizovat hybridizací se **značenými sondami DNA**, které jsou úplně nebo alespoň z části komplementární k restrikčním fragmentům DNA.



Elektroforéza restrikčních fragmentů

Na obrázku vidíme dva homologní chromozomy A a B, přičemž u chromozomu B došlo ke **vzniku nového restrikčního místa**. To způsobilo, že **z původního fragmentu velkého 5 kb** vznikly dva fragmenty o velikosti **2 kb a 3 kb**. Vpravo máme obraz na gelové elektroforéze, která nám prokázala přítomnost dvou fragmentů, odlišně dlouhých od ostatních fragmentů.

 [Podrobnější informace naleznete na stránce Polymorfismus délky restrikčních fragmentů.](#)

Polymorfismus v počtu tandemových repetit (VNTR)

VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats polymorphism*) mohou být zdrojem delečního, případně inzerčního polymorfismu. Důsledkem těchto změn je **odlišný počet kopií tandemových repetitivních jednotek** v rámci homologních chromozomů. Zahrnuje také **mikrosatelitové (STR – Short Tandem Repeats)** a **minisatelitové** sekvence.

Detekce VNTR (minisatelity)

Detekci mikrosatelitových i minisatelitových sekvencí lze zjistit využitím kteréhokoli restrikčního enzymu, který **štěpí DNA na obou koncích** tandemové repetice. Oblasti VNTR bývá obtížné amplifikovat standardní PCR, používáme spíše **Southernovu hybridizaci**.

Po štěpení vybraným restrikčním enzymem lze využít dvou typů sond. **Sonda 1** hybridizuje s úsekem DNA **mimo oblast repetice** (autoradiogram – jeden pruh, pokud je oblast repetice na obou DNA stejně dlouhá, dva pruhy při rozdílné délce). **Sonda 2** hybridizuje přímo **s tandemovými repetitivními sekvencemi**. Tyto sekvence se mohou vyskytovat i na jiných místech genomu, sonda tak detekuje **mnoho různě dlouhých lokusů** současně.

Tento typ analýzy se nazývá **DNA fingerprinting**. Využíval se k identifikaci jedinců a stanovení příbuznosti (forenzní medicína, paternitní spory). V dnešní době se multilokusové sondy využívají jako **mikrosatelitové markery**. Použitím alespoň 15 vysoce polymorfních markerů (které nejsou ve vazbě) jsme schopni vytvořit **DNA profil** jedince.

Mikrosatelity (STR)

Často používané mikrosatelitní sekvence bývají **dinukleotidové repetice** (nejčastěji CA – cytosin, adenin). Počet jejich repetice je **vysoce variabilní** v daném místě DNA různých chromozomů. Základní repetitivní jednotka má kolem **2–4 bp**^[2], pomocí PCR pak amplifikujeme obvykle úsek obsahující celou repetitivní oblast. Vzápětí separujeme tyto sekvence pomocí gelové elektroforézy.

Mechanismy vzniku mikrosatelitních polymorfismů

Nejpravděpodobnějším mechanismem vzniku variability mikrosatelitů je polymorfismus vzniklý **nepřesným párováním komplementárních vláken DNA** obsahujících repetitivní sekvenci, vzniklé sklouzáváním DNA-polymerázy a řetězce DNA. Nazývá se **replikační sklouznutí**. Způsobuje jak inserce, tak delece **jedné nebo několika repetice** v nově syntetizovaném řetězci.

Polymorfismus vzniklý insercí nebo delecí **velkých tandemových repetice** bývá nejčastěji způsoben **nerovnoměrným crossing overem** nebo nerovnoměrnou výměnou sesterských chromatid.

Mezi alelními i nealelními sekvencemi může nastat **nereciproký přenos** sekvence tzv. **genová konverze**. Ta způsobuje, že jeden pár interagujících sekvencí zůstává nezměněn (donor), zatímco pár druhý se změní (akceptor). Část sekvence akceptoru je nahrazena kopírovanou sekvencí donora.

Odkazy

Související články

- DNA (nukleová kyselina)
- RNA
- Polymorfismus délky restrikčních fragmentů
- Polymorfismus konformace jednoduchých řetězců
- Populační polymorfismy a jejich příčiny
- PCR
- Southernův blotting

Zdroje

- ŠTEFÁNEK, Jiří. *Medicína, nemoci, studium na 1. LF UK* [online]. [cit. 2010]. <<https://www.stefajir.cz/>>.
- ŠÍPEK, Antonín. *Genetika* [online]. [cit. 2010]. <<http://www.genetika-biologie.cz/>>.

Použitá literatura

- KOHOUTOVÁ, Milada. *Lékařská biologie a genetika (II. díl)*. 1. vydání. Praha : Nakladatelství Karolinum, 2013. 202 s. ISBN 978-80-246-1873-9.
- 1. KOHOUTOVÁ, Milada. *Lékařská biologie a genetika (II. díl)*. 1. vydání. Praha : Nakladatelství Karolinum, 2013. 202 s. ISBN 978-80-246-1873-9.
- 2. KOHOUTOVÁ, Milada. *Lékařská biologie a genetika (II. díl)*. 1. vydání. Praha : Nakladatelství Karolinum, 2013. 202 s. ISBN 978-80-246-1873-9.