



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE
DO ROZVOJE
VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace předmětu

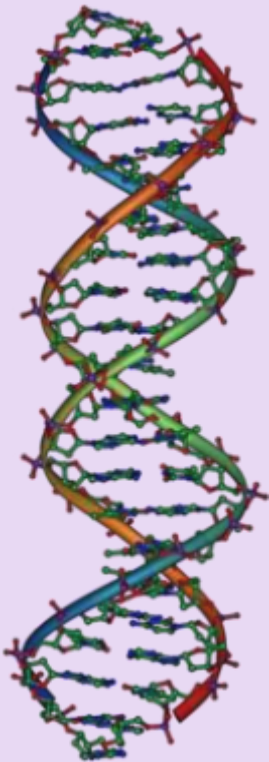
Genetika člověka GCP SB

„Propojení výuky oborů
Molekulární a buněčné biologie
a Ochrany a tvorby životního
prostředí“

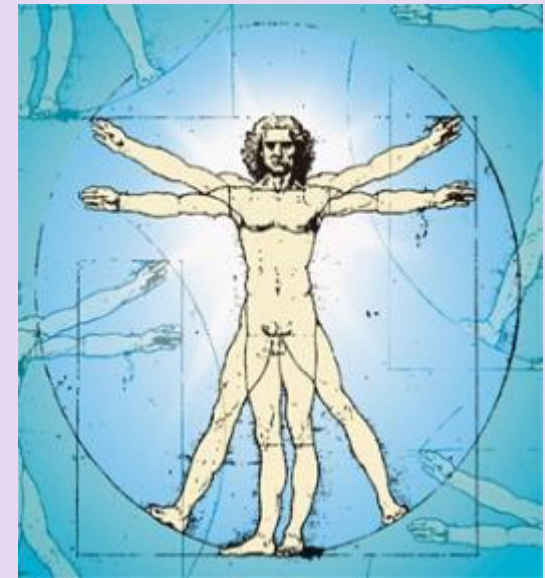
Reg. č.: CZ.1.07/2.2.00/28.0032

Genetika člověka / GCPSB

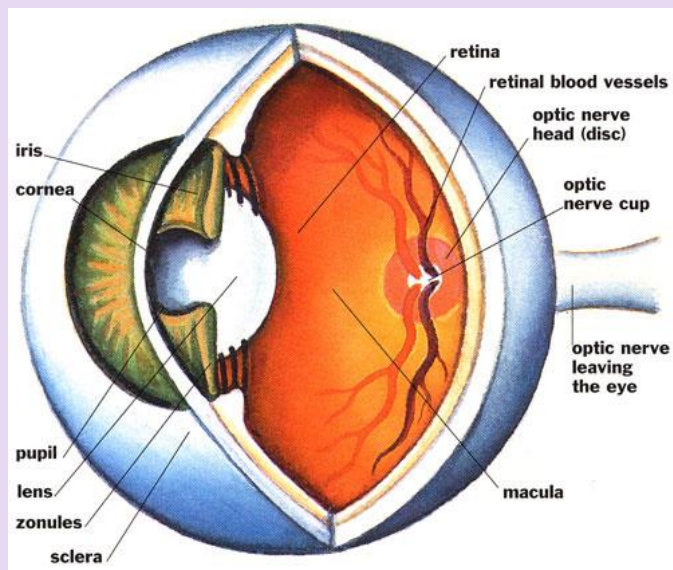
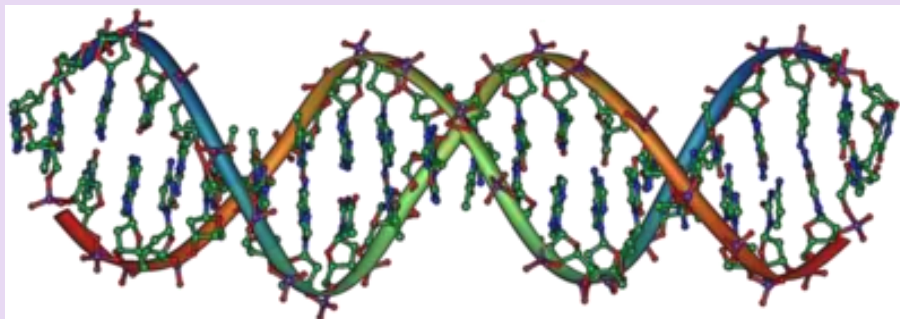
9. Molekulární genetika oka



Radim Vrzal
2015

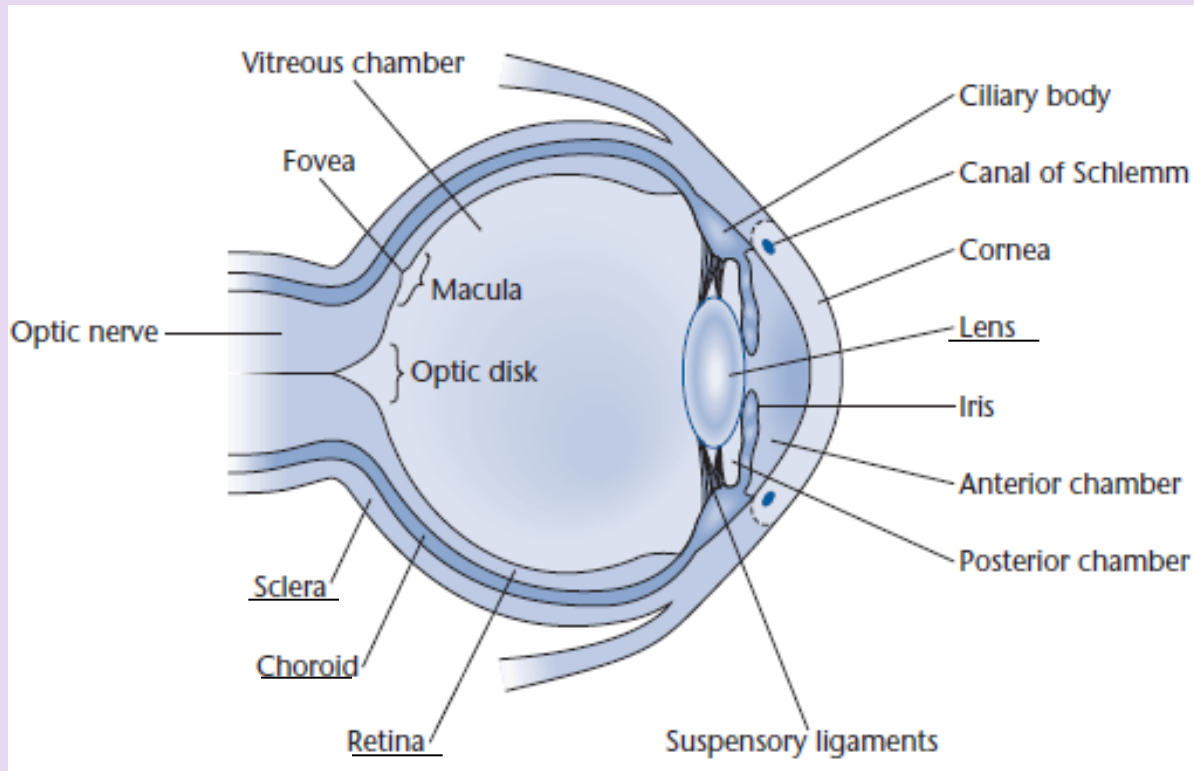


Molekulární genetika oka



Lidský vizuální systém – struktura oka

- téměř sférický útvar o průměru cca 25 mm
- 3 vrstvy v zadní části oka (bělmo, cévnatka, sítnice), 2 z nich tvoří specializované komponenty v přední části (řasnaté tělísko, duhovku, čočka)

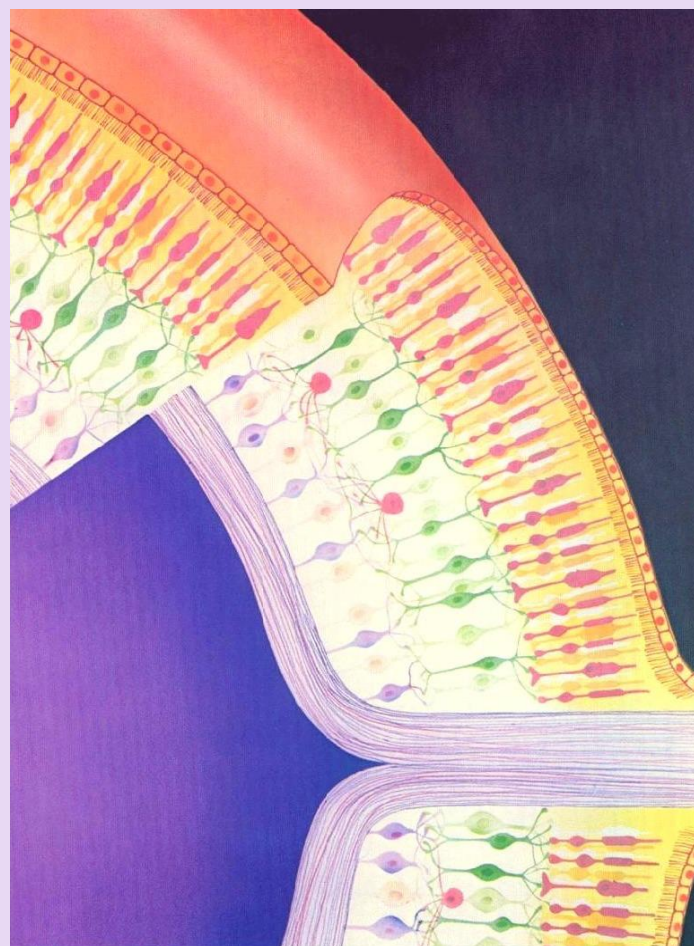
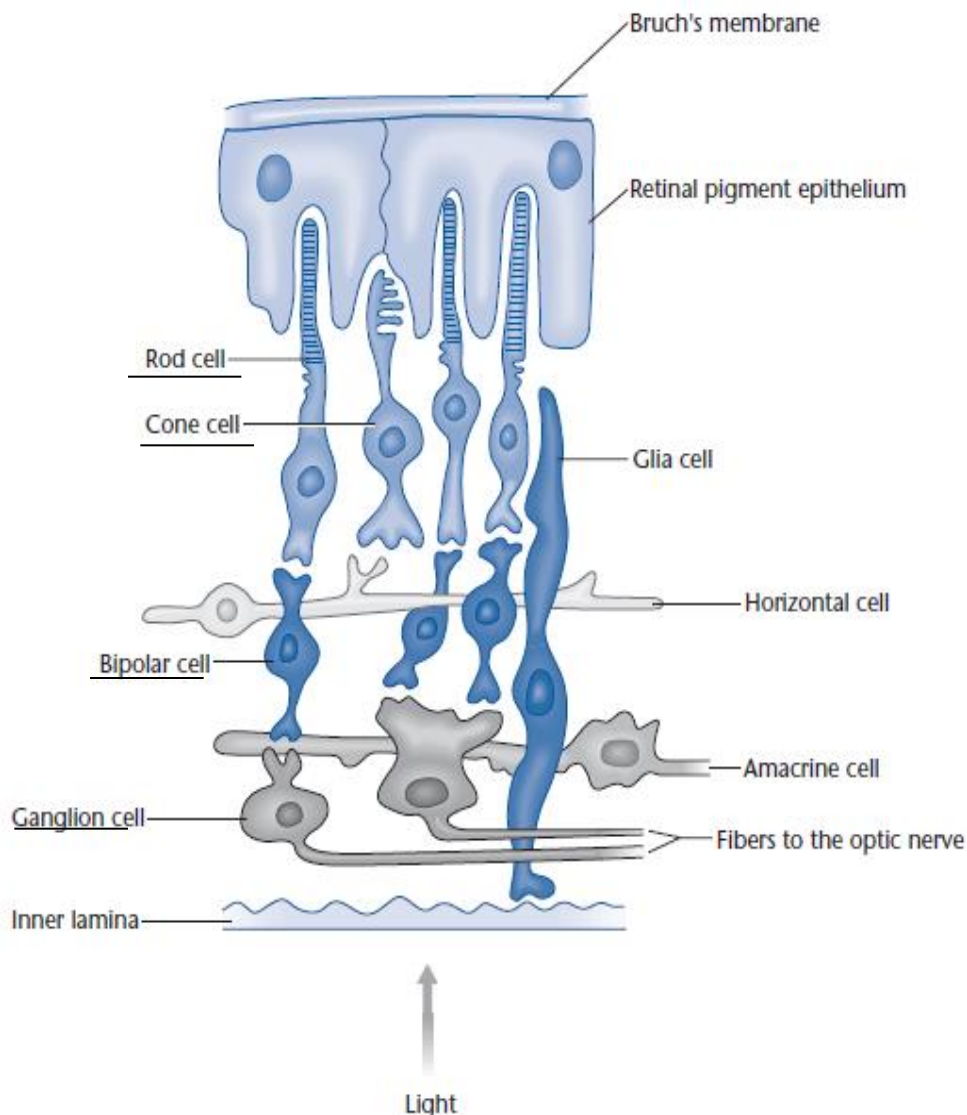


- Čočka se v průběhu vývoje oka tvoří nezávisle
- Rozsah otevření zornice je kontrolován hladkými svaly duhovky
- Přední oční komora – rohovka až duhovka
- Zadní oční komora – duhovka až čočka
- Sklivec – síť kolagenových vláken a mukopolysacharidů

Struktura sítnice

120 milionů **tyčinek** – noční vidění

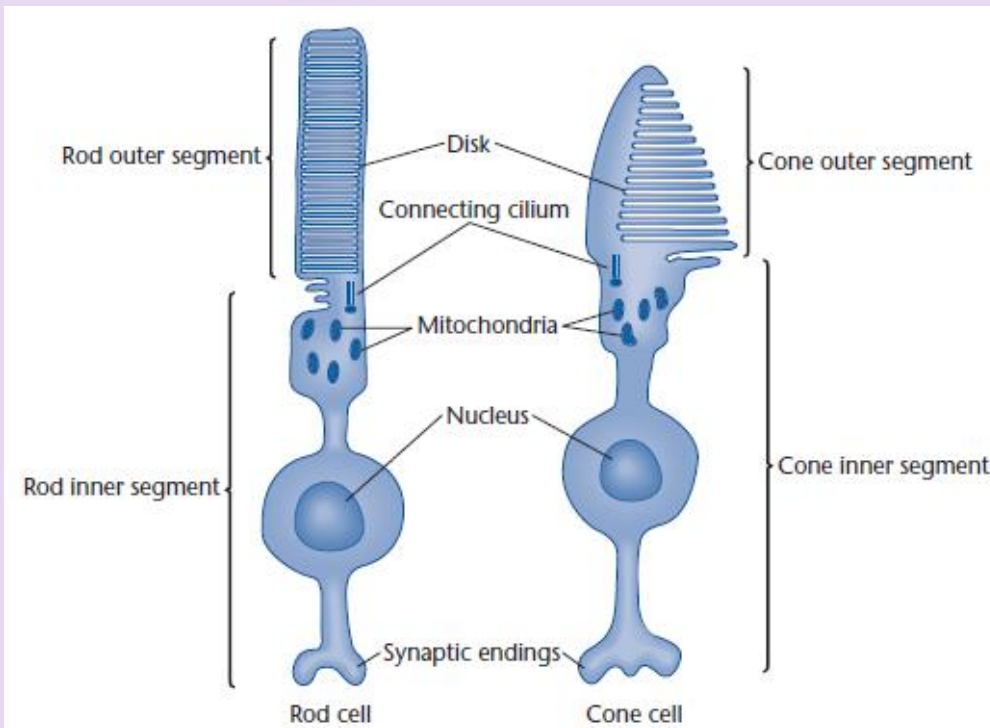
6 milionů **čípků** – koncentrovány v žluté skvrně (macula) – barevné vidění a ostrost vidění



Struktura tyčinek a čípků

Tyčinky – navrstvené membránové disky obklopené cytoplasmou napojené na vnitřní segment s jádrem a synaptickým zakončením

Čípky – disky v kuželovité uspořádání napojené na vnitřní segment s jádrem a synapsí

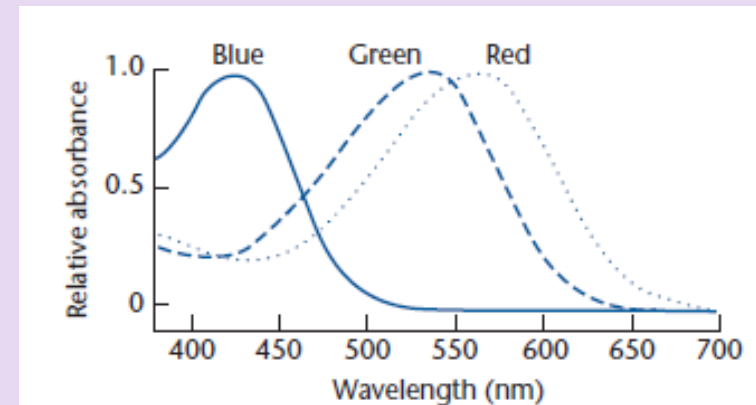


Světlo – cca 370 – 760 nm

Rhodopsin - protein tyčinek lokalizovaný v discích vnějšího segmentu - absorpční maximum 500 nm

- Váže **retinal** – produkován sítnicí z vitamínu A

- 3 typy čípků – 426, 530, 555 nm – modrý, zelený, červený



Biochemie fototransdukce

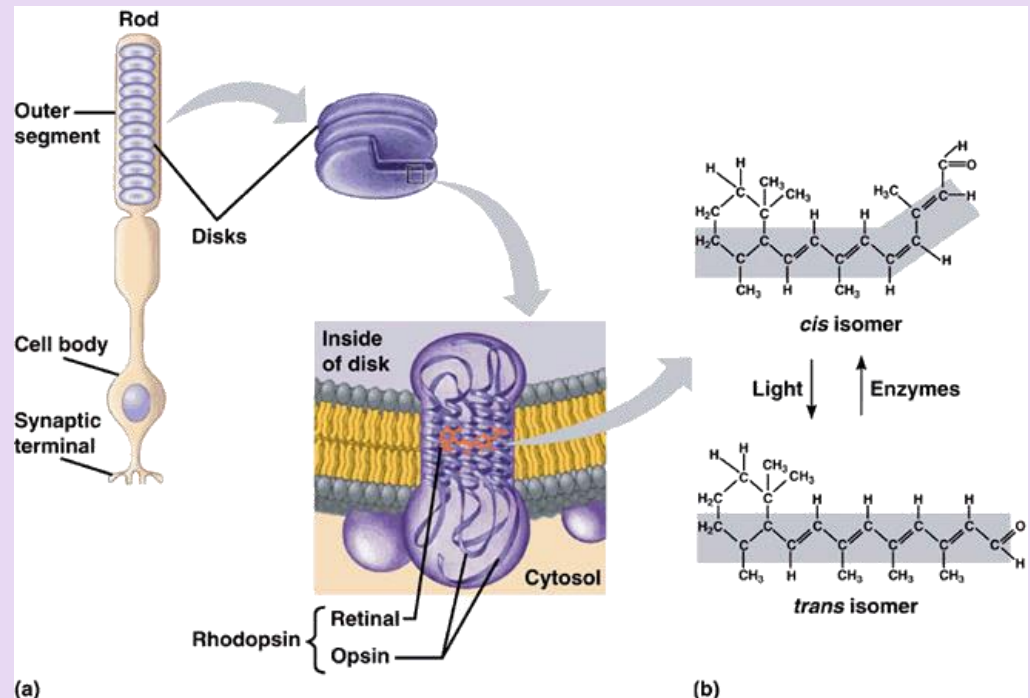
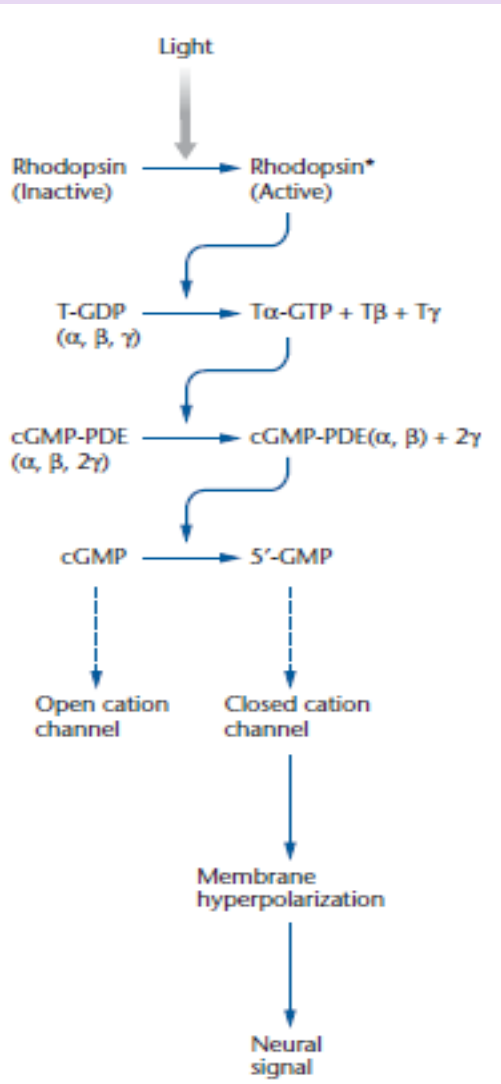
11-cis-retinal – vazba na rhodopsin (K296)

Fotoizomerace na all-trans-reinal při 500nm

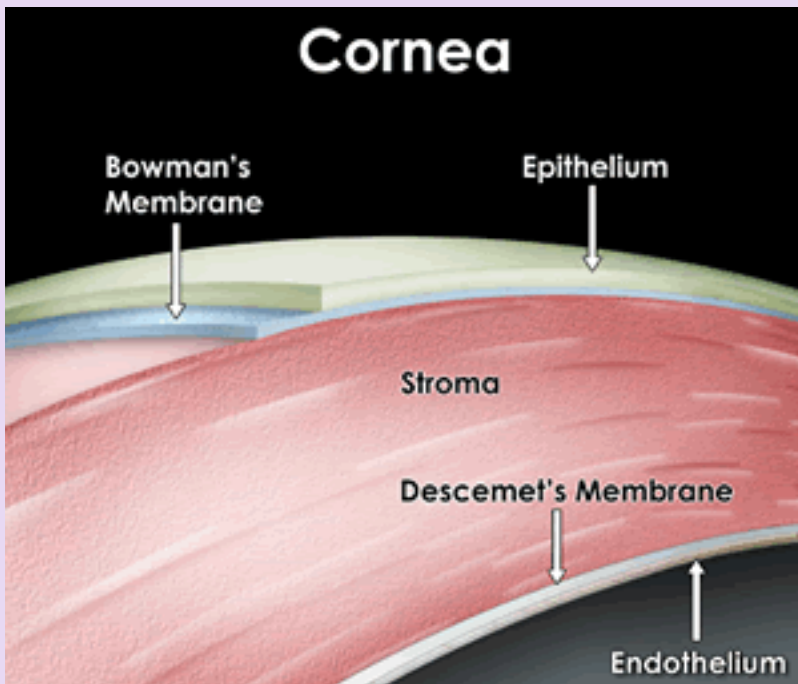
Aktivace Transducinu – trimer – α , β , γ

Náhrada GDP za GTP \rightarrow Aktivace cGMP-fosfodiesterasy

Zavřený kanál \rightarrow Hyperpolarizace = signál



Genetické poruchy oka



Rohovka (cornea) – 3 vrstvy

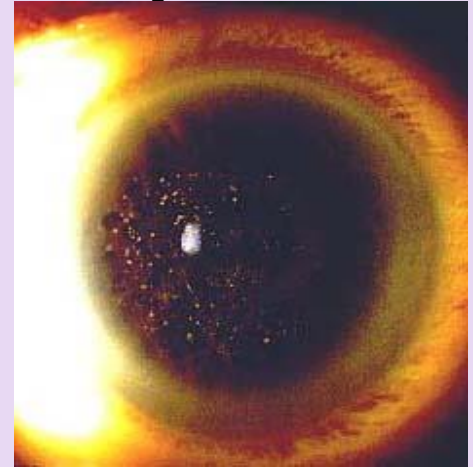
- epitel
- stroma – cca 90 % tloušťky – vrstvy se svazky kolagenových vláken zapaštěné do skupiny proteoglykanů
- endotel

Dystrofie rohovky – skupina poruch charakterizovaná neprůhledností rohovky

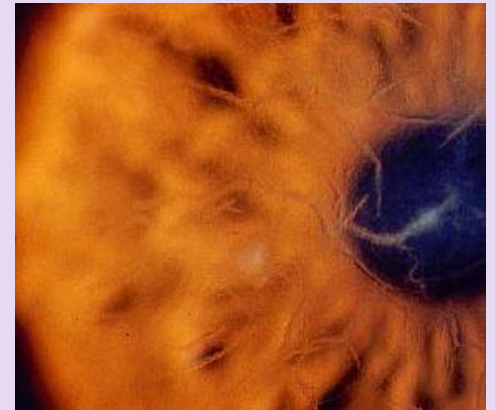
- klasifikace často dle:
místa a rozsahu akumulace usazenin

Dystrofie rohovky

- **I. kategorie** – stromální deposity se podobají zrnkům cukru či strouhanky a tvoří neprůsvitné skvrny = granulární korneální dystrofie (GSD)
 - GCD typ I+II – druhá dekáda po narození
 - GCD typ III – dříve v životě, bolestivější



- **II. kategorie** – akumulace hustých skvrn s překrývajícími se radiálními filamenty ve stromatu pod epitelem = Lattice corneal dystrophy (LCD, mřížovitá korneální dystrofie)
 - LCD typ I - dříve v životě, bolestivější
 - ztráta vidění, často nutná transplantace rohovky



Dystrofie rohovky

- Lokalizace genu do oblasti 5q31
- BIGH3 / TGFBI – kóduje [keratoepithelin](#) – syntéza jen v rohovce
 - funkce neznámá – buď váže stromální buňky dohromady, nebo je směruje do extracelulární matrix

Analýzy rodin odhalily nejčastěji následující [mutace keratoepithelinu](#)

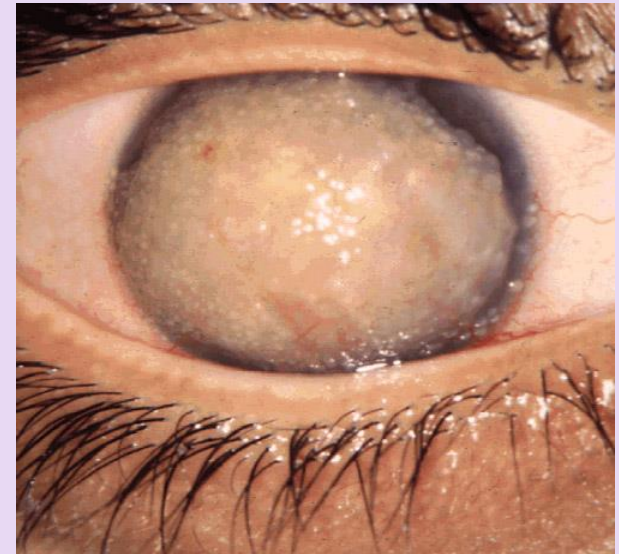
- GCD typ I. – R555W (Arg555Trp)
 - GCD typ II. – R124H (Arg124His)
 - GCD typ III. – R555Q (Arg555Gln)
 - LCD typ I. – R124C (Arg124Cys)
-
- Mutace v TGFBI genu → konformační změny či abnormální proteolýza
→ tvorba agregátů
 - Rychlost akumulace a vzor usazování [závisí na mutaci !!!](#)

Dystrofie rohovky

- Macular corneal dystrophy – mutace karbohydrát sulfotransferasy (CHST6) – 16q23.1
- AR, stroma se pokrývá nepravidelnými skvrnami
 - N-acetyl-6-O-sulfotransferasa – přidává sulfát na proteoglykany zodpovědné za průhlednost rohovky



- Gelatinous drop-like corneal dystrophy –
úložiště materiálu pod vrstvou epithelia během dětství
- 1p32.1 – TACSTD2 – tumor-associated calcium signal transducer 2 – membránový produkt ; mutace vede k zvýšené epitheliální propustnosti



Glaukom

Skupina poruch charakterizovaná
poškozením očního nervu a progresivní ztrátou vidění



Cca 66 milionů lidí
na světě má
glaukom

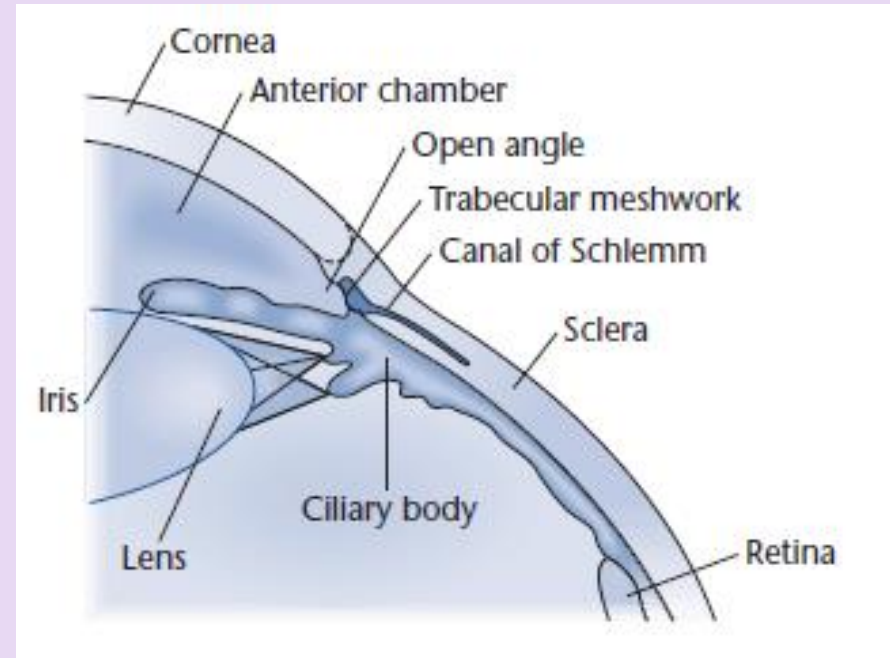
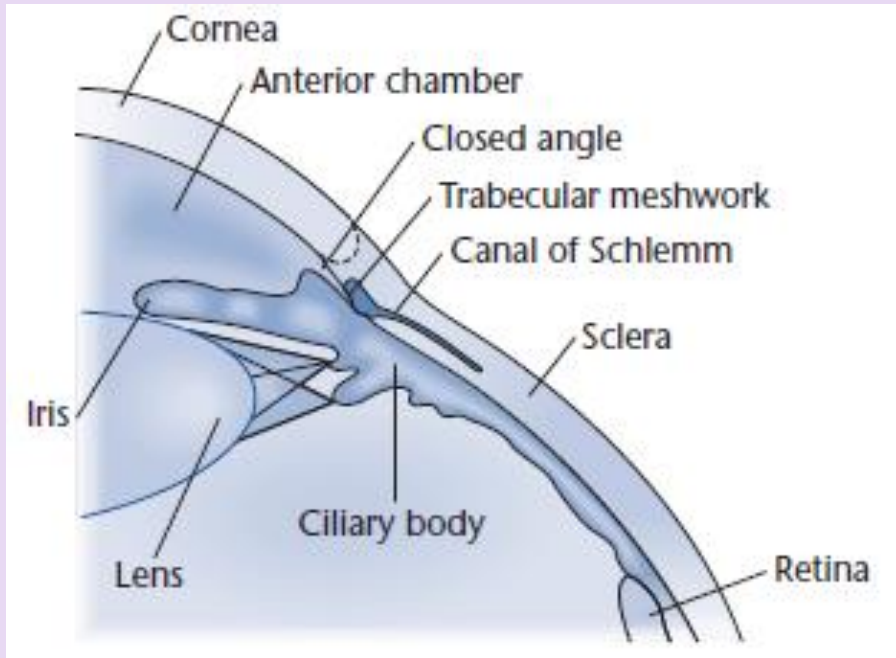
90 % sporadický
10 % rodinný

Sporadický glaukom – první klinické znaky nad 50 let – chirurgie, laserová terapie, léky

Běžným znakem je **zvýšený vnitrooční tlak** – molekulární podstata není známa

Glaukom

2 typy – **closed-angle** (angle-closure) a **open-angle glaucoma**



Statut iridokorneálního (rohovkoduhovkového) úhlu - ke klasifikaci glaukomů

- jediný defekt či součást multisystémové poruchy
- věk začátku – pediatrický glaukom (PCG) – narození až 3 roky
- juvenilní glaukom (JPOAG) – od 3 do 30 let
- dospělý glaukom (APOAG) – od 30 výše

Glaukom

- přinejmenším 10 lokusů POAG (primary open angle glaucoma),
5 charakterizováno

Disorder	Gene	Site	Protein
Primary open-angle glaucoma with increased intraocular pressure	<i>MYOC</i>	1q24.3	Myocilin
Primary open-angle glaucoma with normal intraocular pressure	<i>OPTN</i>	10p13	Optineurin
Primary congenital glaucoma	<i>CYP1B1</i>	2p21	Cytochrome P4501B1; monooxygenase
Axenfeld–Regier syndrome with glaucoma	<i>PITX2</i>	4q25	Bicoid-like homeobox transcription factor
Axenfeld–Regier syndrome with glaucoma	<i>FOXC1</i>	6p25.3	Forkhead transcription factor

Funkce
neznámá,
in vitro –
špatné
složení –
agregace –
apoptosa

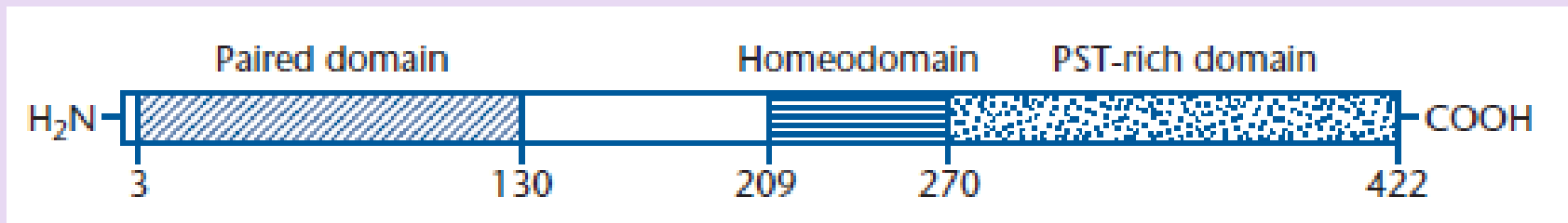
Optineurin – funkce neznámá, komponenta Golgiho aparátu v trabekulárních síťových buňkách oka

CYP1B1 – patří do rodiny cytochromů P450, monooxygenasy, 1 : 1 250 u Romů na Slovensku, funkce CYP1B1 v očních buňkách není známa, snad mutant je neschopen metabolizovat určitou molekulu

Aniridie



- 1 : 80 000, AD
- **oční abnormality** – zhoršená vizuální jasnost, nekontrolovatelné trhavé pohyby očí, neprůhlednost čoček (katarakta), časný nástup glaukomu
- V mnoha případech se vyskytuje s dětským ledvinným nádorem (Wilmsův nádor) – abnormality genitálií a močového traktu, mentální retardace = WAGR syndrom
- Mnoho dětí má deleci na 11p13
- PAX6 – reguluje expresi genů během vývoje a embryogenese



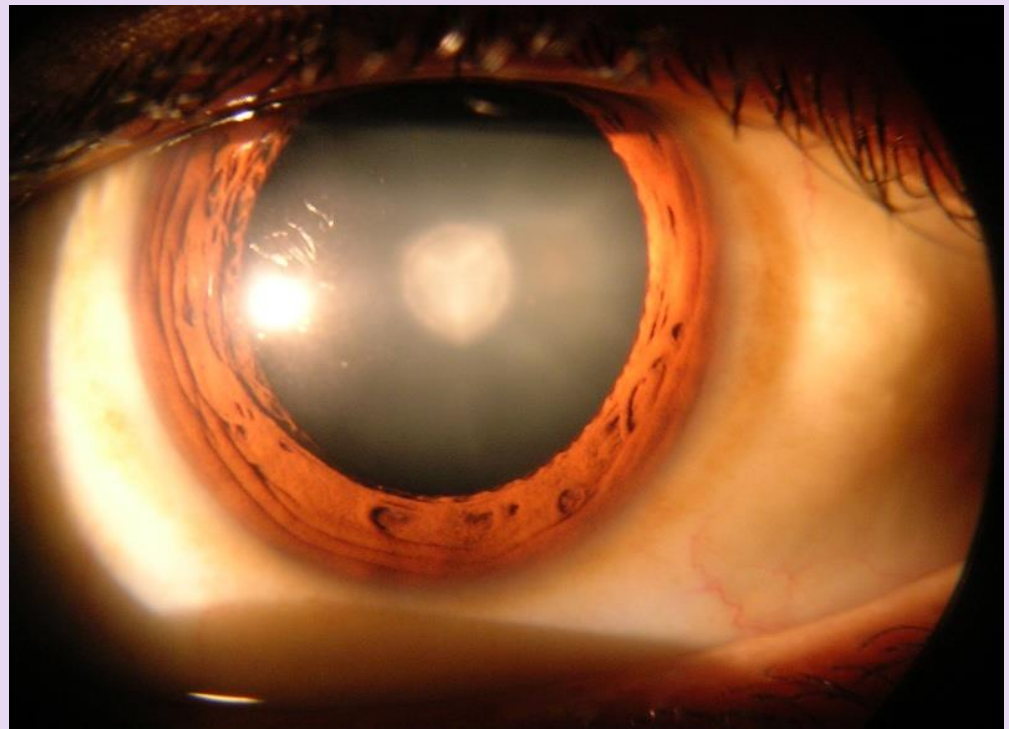
- Pozorované mutace většinou způsobují zkrácení proteinu

Katarakta

Ztráta průhlednosti čočky oka

- čočka = transparentní struktura lámající světlo
- protein krystallin – zodpovědný za průhlednost – 90 % proteinů čočky
- α , β , γ – krystallin - zvýšení indexu lomu

- 16 milionů na světě
- 46 % všech slepot



Vrozené katarakty – u novorozenců, následky infekce, vývojové defekty, mutace proteinů ovlivňující proteiny čočky

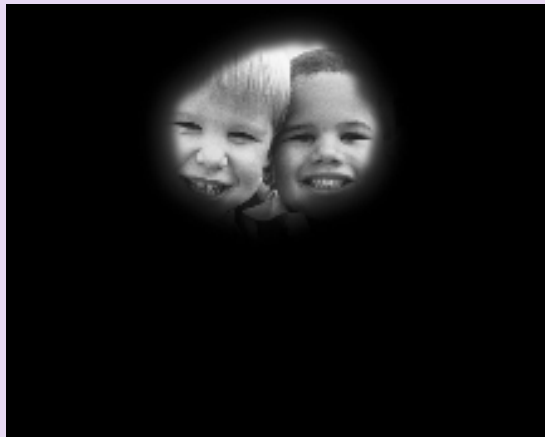
Na věku závislé katarakty – UV, kouření

Katarakta

Gene	Site	Protein	Cataract
<i>CRYAA</i>	21q22.3	α A-crystallin	Nuclear
<i>CRYAB</i>	11q23.1	α B-crystallin	Posterior polar
<i>CRYBB1</i>	22q12.1	β B1-crystallin	Pulverulent
<i>CRYBB2</i>	22q11.2	β B2-crystallin	Cerulean; nuclear; pulverulent
<i>CRYBA1</i>	17q11.2	β A1/A3-crystallin	Nuclear; pulverulent; lamellar; sutural
<i>CRYGC</i>	2q33.3	γ C-crystallin	Pulverulent; lamellar;
<i>CRYGD</i>	2q33.3	γ D-crystallin	Nuclear; lamellar; cerulean; aculeiform; pulverulent
<i>MIP</i>	12q13.3	Lens fiber major intrinsic protein (aquaporin 0); water transport channel protein	Lamellar; variable morphology (polymorphic)
<i>GJA8</i>	1q21.1	Connexin 50; gap junction protein	Nuclear; pulverulent
<i>GJA3</i>	13q12.11	Connexin 46; gap junction protein	Nuclear; pulverulent
<i>BFSP2</i>	3q22.1	Beaded filament structural protein 2 (phakinin); lens-specific cytoskeleton protein	Lamellar; pulverulent
<i>PITX3</i>	10q24.32	Paired-like homeodomain transcription factor 3	Total; pulverulent
<i>MAF</i>	16q23.1	Leucine zipper transcription (bZIP) factor	Pulverulent
<i>HSF4</i>	16q22.1	Heat shock transcription factor 4	Lamellar

Retinitis pigmentosa

- Nejběžnější progresivní porucha sítnice, 1:4000
- Cca 20 % AD, 15 % AR, 10 % XR, zbytek sporadický
- Časné symptomy – snížené noční vidění a ztráta periferního vidění (tunelové vidění)

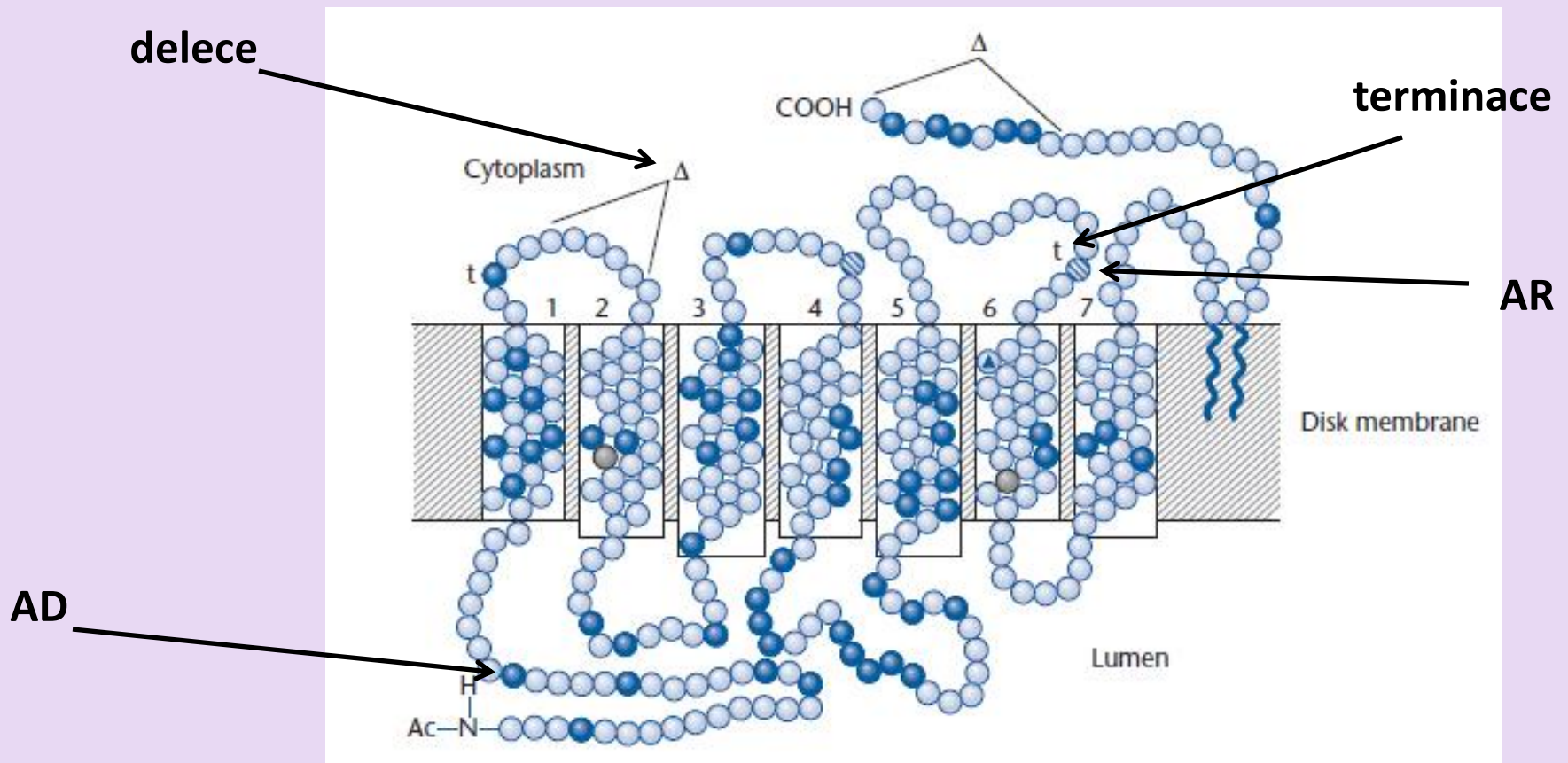


- Zpočátku degenerují tyčinky, posléze i čípky
- Často nemoc dospělých
- Některé z genů kódují proteiny fototransdukční kaskády

Gene	Site	Protein	Function
<i>RHO</i>	3q22.1	Rhodopsin	Phototransduction cascade
<i>RDS</i>	6p21.2	Peripherin/RDS	Rim protein of photoreceptor disks
<i>PDE6A</i>	5q33.1	Rod α subunit cGMP phosphodiesterase	Phototransduction cascade
<i>PDE6B</i>	4p16.3	Rod β subunit cGMP phosphodiesterase	Phototransduction cascade
<i>CNGA1</i>	4p12	Rod α subunit cGMP-gated channel	Phototransduction cascade
<i>CNGB1</i>	16q13	Rod β subunit cGMP-gated channel	Phototransduction cascade
<i>SAG</i>	2q37.1	Arrestin	Deactivates activated rhodopsin
<i>RP2</i>	Xp11.23	Tubulin-specific chaperone cofactor C	Link from plasma membrane to cytoskeleton; triggers tubulin GTPase activity
<i>RPGR</i>	Xp11.4	RP GTPase regulator	Protein transport

Retinitis pigmentosa

- Známo víc než 100 různých mutací genu pro (RHO) rhodopsin
- Většina ADRP jsou missense mutace vedoucí ke změně AK v doménách



Vrozená stacionární noční slepota

Congenital Stationary Night Blindness (CSNB) – zhoršené vidění při utlumeném světle jako následek defektní odpovědi tyčinky

- stacionární = nepostupující
- nystagmus - koulení/škubání očních bulv
- 2 skupiny
 - kompletní CSNB – žádná aktivita tyčinek, krátkozrakost (myopie), normální aktivita čípků
 - nekompletní CSNB – aktivita tyčinek a čípků je snížena, buď myopie, nebo hyperopie (dalekozrakost)
- geneticky heterogenní – AD, AR, XR – identifikováno 8 lokusů
 - GNAT1 (3p21.31) – kóduje podjednotku α transducinu
 - CACNA1F (Xp11.3) – kóduje podjednotku α_1 napět'ového kanálu pro vápník – nedochází k uvolnění vápníku a neprodukuje se nervový vzruch

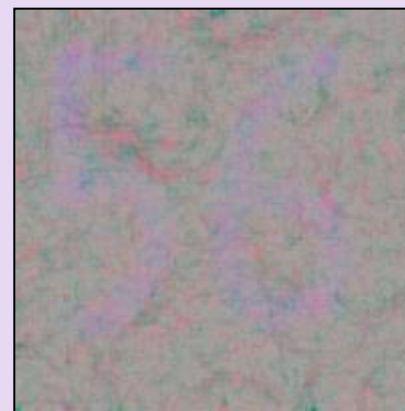
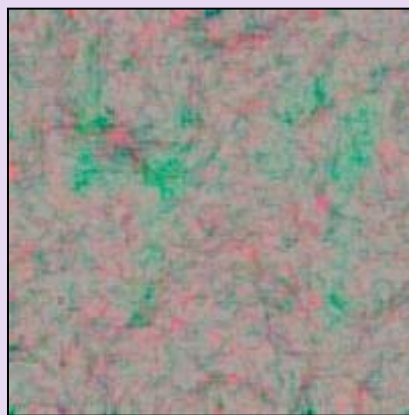
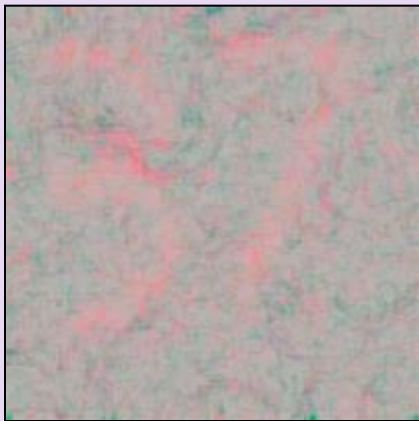
Defekty barevného vidění

3 druhy čípků – červený, zelený, modrý

V každém je vizuální pigment – **opsin** – absorbuje určitou vlnovou délku

- modrý	– 426 nm	- tritanopia	} celková ztráta
- zelený	– 530 nm	- deuteranopia	
- červený	– 555 nm	- protanopia	

- Defekty v červené a zelené – X-vázané – cca 8 % mužů a 0,5 % žen



Izolace lidského rodopsinu a genů opsinů

- Na základě předpokládané podobnosti – screening s cDNA pro bovinní rodopsin

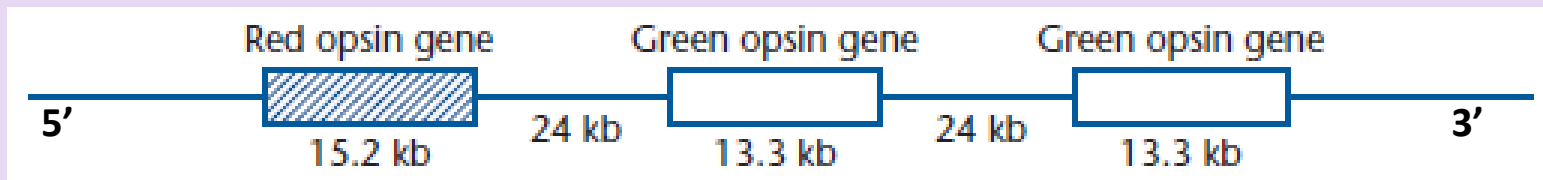
Gen lidského rhodopsinu – RHO, 3q22.1

Gen modrého opsinu – OPN1SW (opsin 1, short-wave sensitive), 7q32.1

Gen zeleného opsinu – OPN1MW (opsin 1, medium-wave sensitive), Xq28

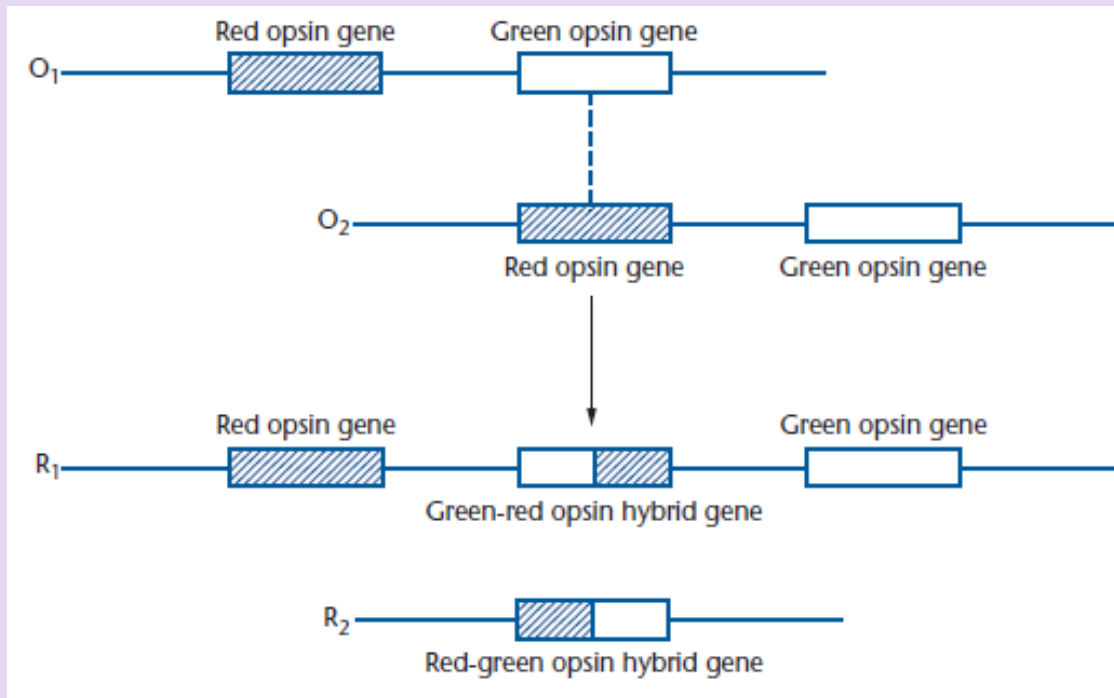
Gen červeného opsinu – OPN1LW (opsin 1, long-wave-sensitive), Xq28

OPN1LW a OPN1MW – 96 % AK podobnost, geny uspořádány head-to-tail
– 1 červený následovaný 2 geny pro zelený opsin



Molekulární genetika defektů barevného vidění

- Abnormality barevného vidění často následky vzniku nových (hybridních) genů
- Špatné párování mezi geny na homologních chromosomech během meiosis



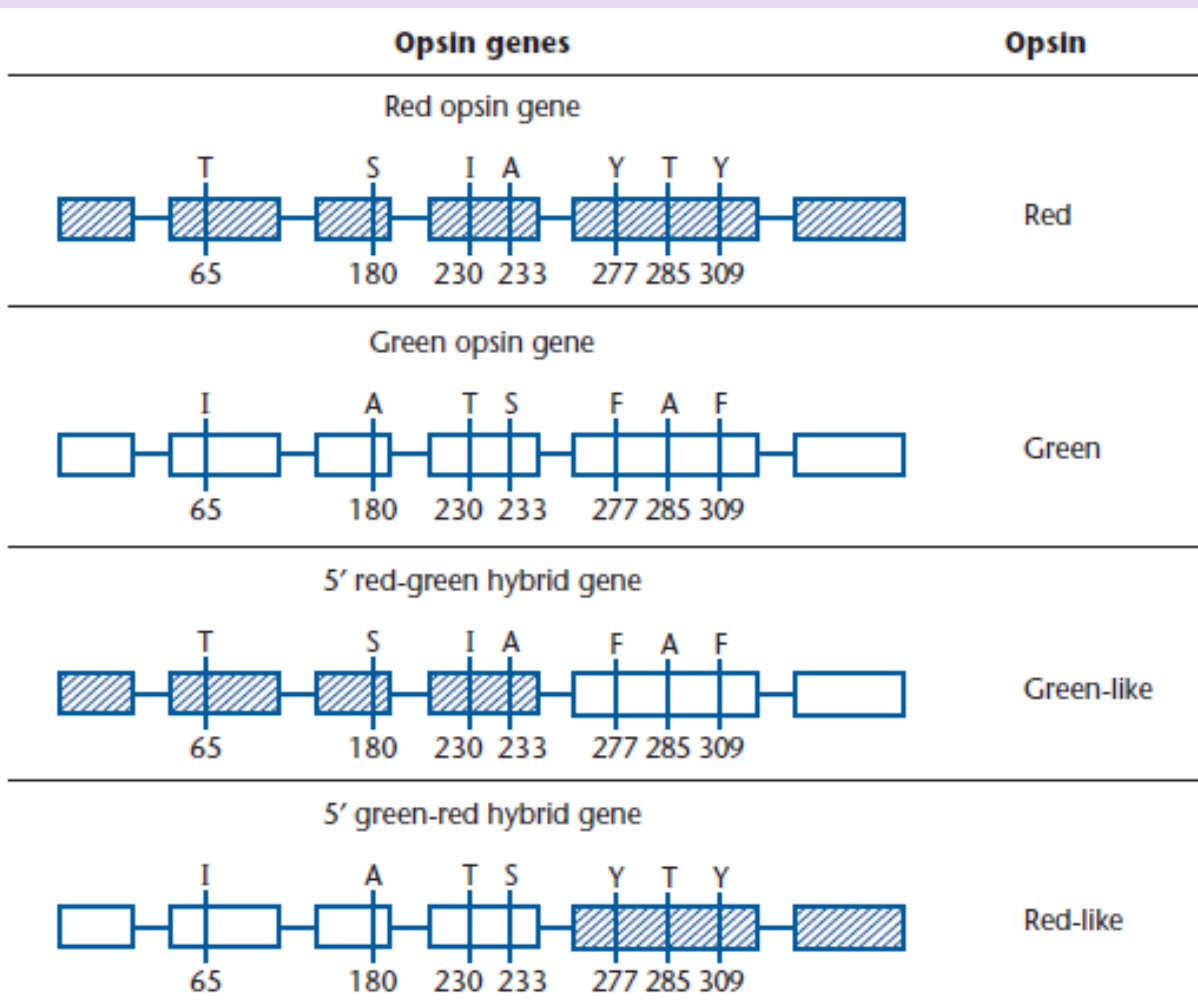
Protanopové – (většinou) první je červeno-zelený hybridní gen

U červených čípků – hybrid kóduje protein který ztratil svoji citlivost na červené světlo

Deutanopové – často jeden červený a žádný zelený opsin

Molekulární genetika defektů barevného vidění

Přítomnost Tyr (Y), Thr (T), Ser (S) – ovlivňuje spektrální vlastnosti opsinů



65, 277, 285, 309 –
hydroxylovány u
červeného opsinu
- Nikoliv u zeleného
opsinu

233, 230 – hydroxylovány
u zeleného opsinu
- Nikoliv u červeného

➔ Větší citlivost oka na
zelenou

➔ Větší citlivost na
červenou

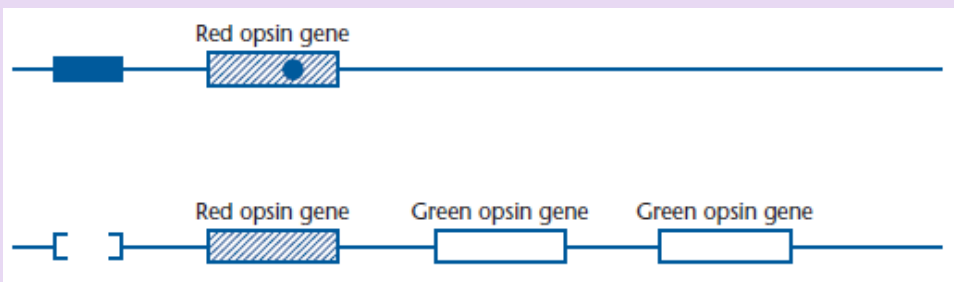
Monochromaticnost modrých čípků

= ztráta červeného a zeleného vidění – X-vázané, 1:100 000

- Bezbarvý svět – snížená vizuální jasnost, nystagmus



- Jedinci trpící monochromaticností - inaktivující mutace C203R (Cys203Arg)



- delece v upstreamu – 579 bp delece cca 4 kb od červeného opsinu → esenciální pro transkripci červeného a zeleného opsinu !!!

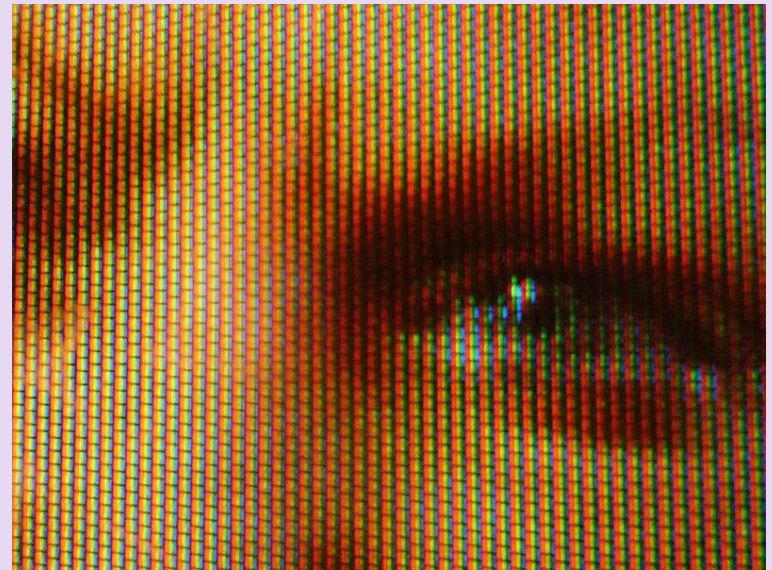
Evoluce barevného vidění

Trichromacie – vlastnost oka kdy má 3 nezávislé kanály pro vyjádření barevné informace

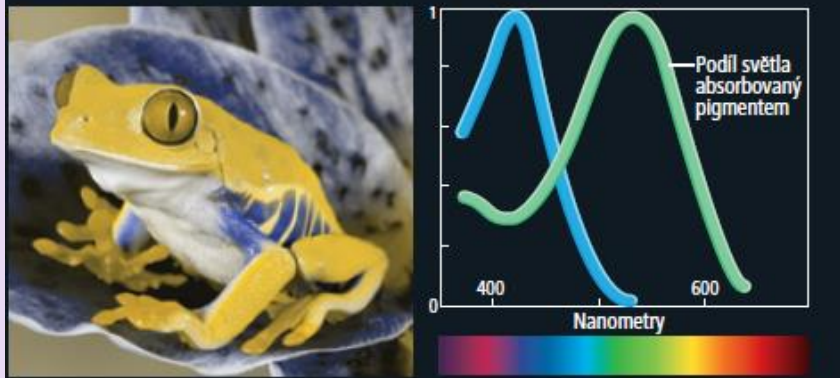
Skoro všichni savci, co nepatří mezi primáty = dichromatické vidění

Někteří noční savci = 1 pigment

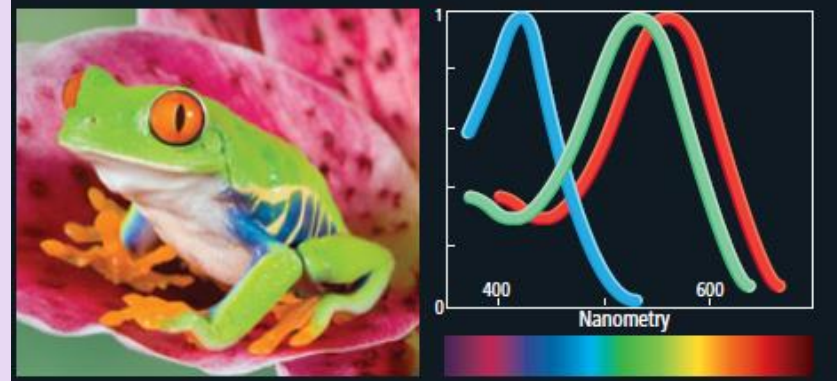
Některé ryby, ptáci – 4 pigmenty (UV)



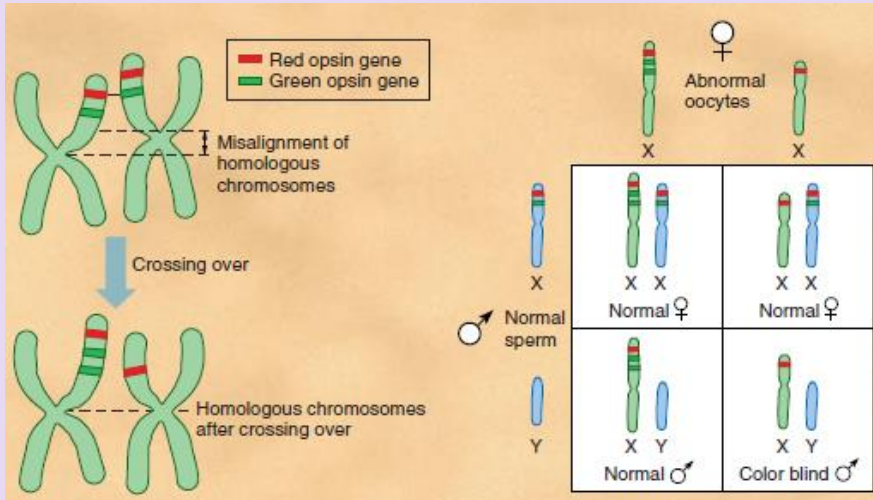
DICHROMATICKÉ VIDĚNÍ •



TRICHROMATICKÉ VIDĚNÍ •



Evolve barevného vidění



Během evoluce duplikace → následná mutace a selekční výhoda (podobné např. hemoglobin, imunoglobuliny)



2 mechanismy pro trichromacii:

Primáti Starého světa

Primáti Nového světa



Evolve barevného vidění

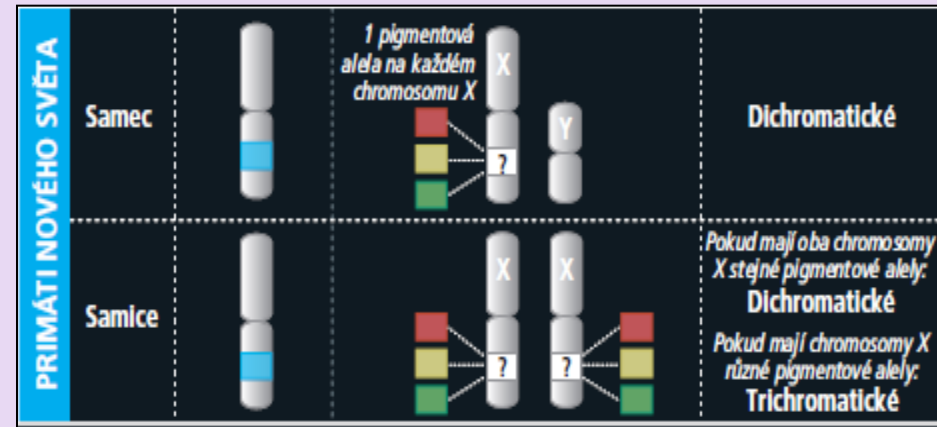
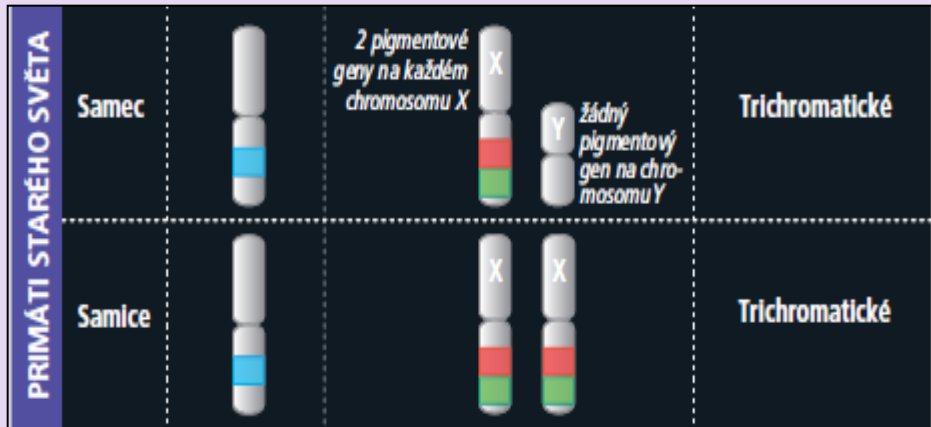
Primáti Starého světa – chromosom X – obě pohlaví

Primáti nového světa – Trichromacie JEN u samic – všichni samci a 1/3 samic = dichromacie

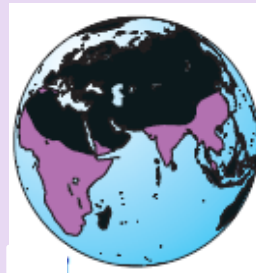


2 geny pro pigmenty – krátký a dlouhý (chromosom X)

Jak mohly získat trichromatické vidění ???

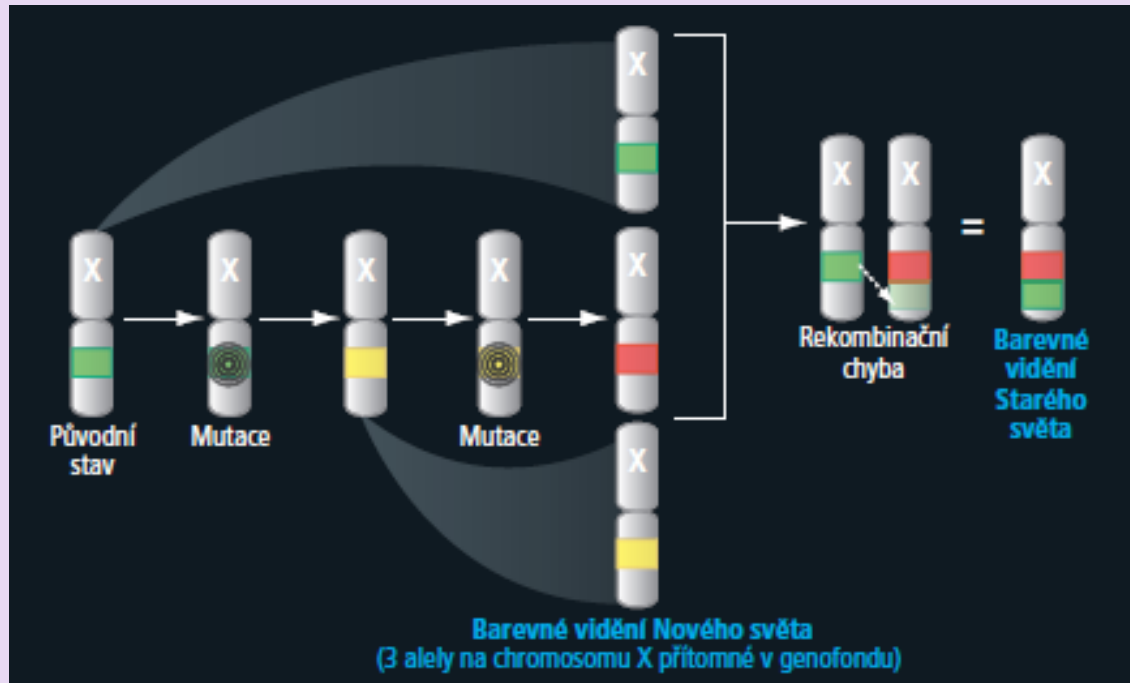


KODOMINANCE



Evolve barevného vidění

Společní předci primátů Starého a Nového světa = původní primitivní stav



2 geny pro pigmenty na X = selekční výhoda → chromosomy X s 1 pigmentem vymizely z genofondu !!!

Evoluce barevného vidění

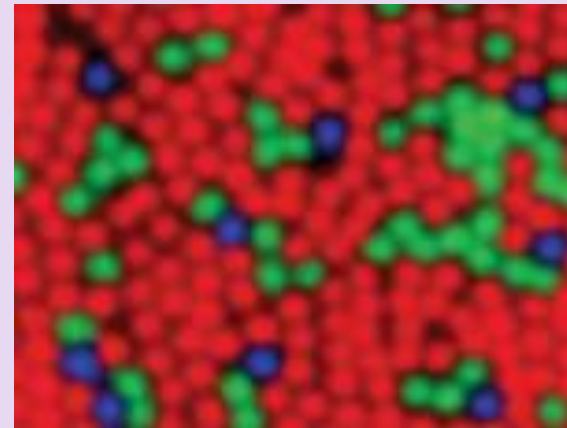
Trichromacie = 3 typy pigmentů = počáteční podmínka

- Nervové zpracování signálů generovaných fotoreceptory

!!! Čípek nedokáže generovat informaci, která vlnová délka byla absorbována !!!!

Zrakový systém musí porovnat odezvy sousedních čípků
→ každý čípek = 1 typ pigmentu

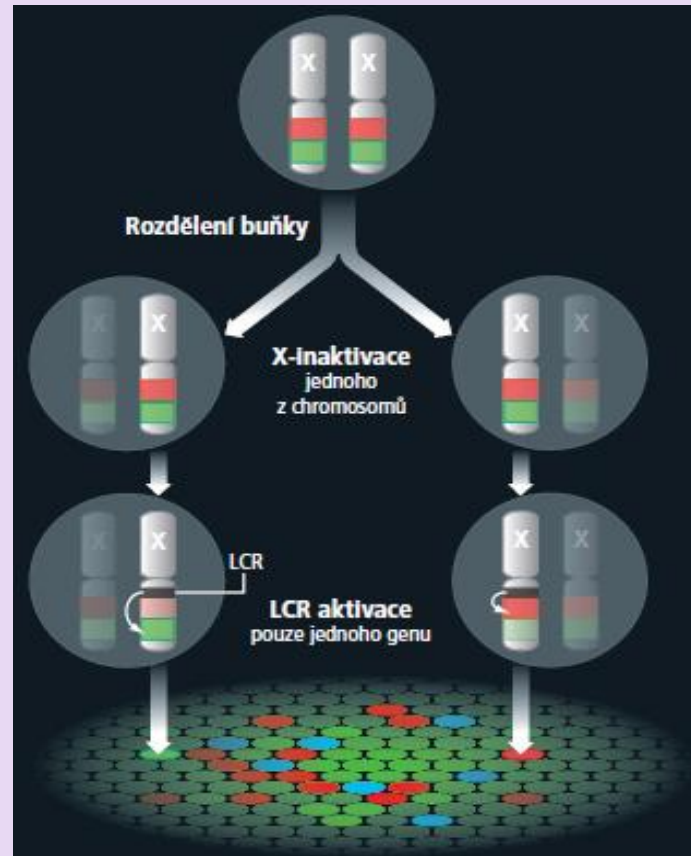
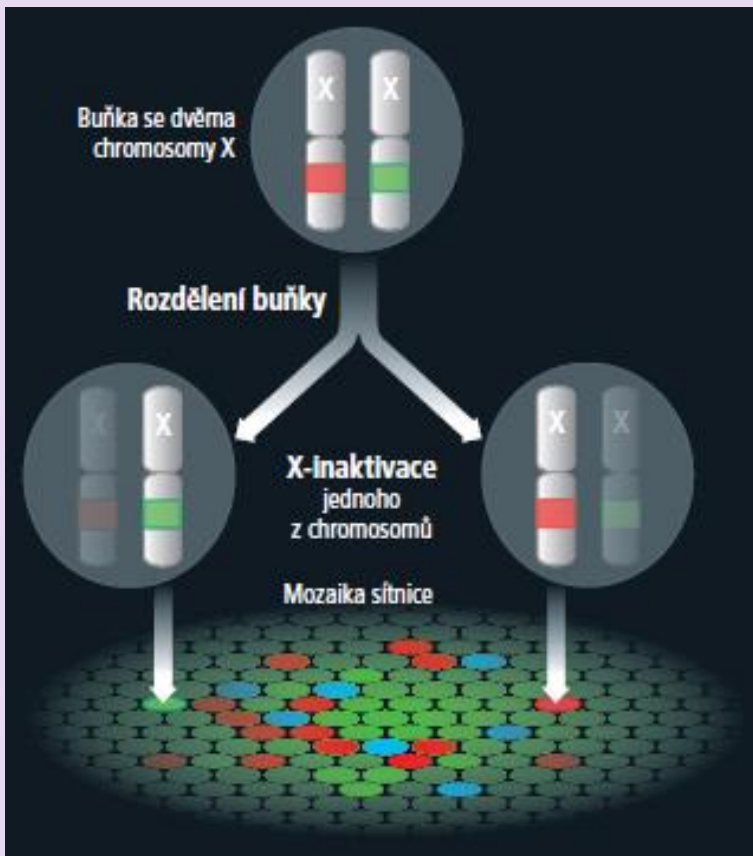
Čípky s odlišnými pigmenty
rozmístěny blízko sebe = **MOZAIKA**



Evoluce barevného vidění

Mechanismus exprese pigmentových genů

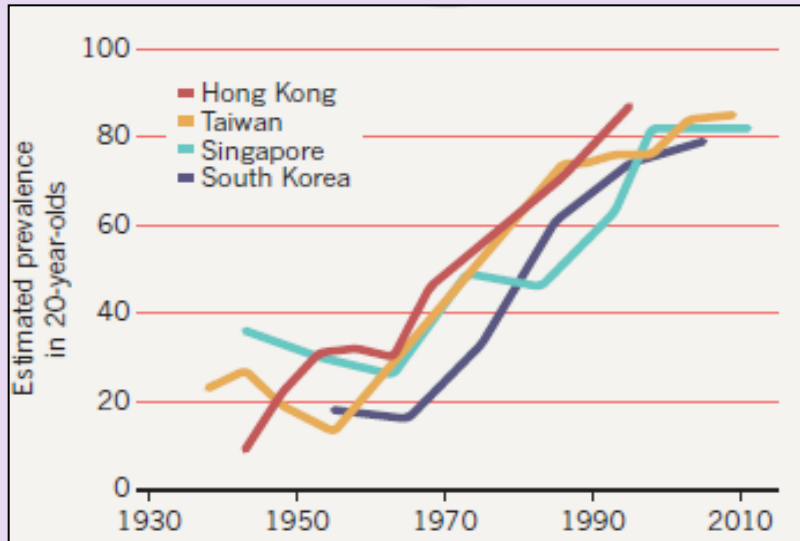
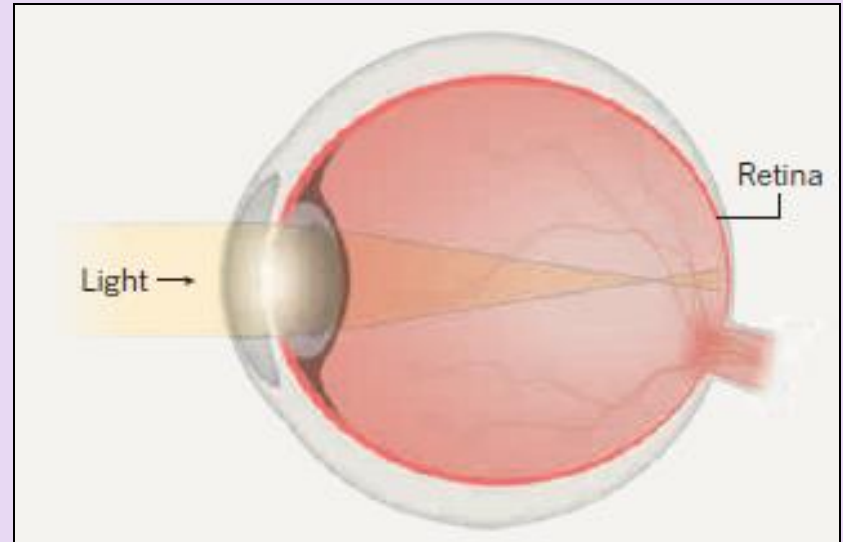
– X inaktivace



LCR =
regulační
oblast lokusu
(locus
control
region)

Myopie - krátkozrakost

Prudký nárůst v posledních 60ti letech – zejména v Asii



- Zlehka prodloužená bulva, čočka zaměřuje světlo před sítnicí.
- Nutnost: brýle, čočky, operace
- Vyvine se u školních dětí a mladistvých
- 20 % univerzitních studentů v Asii má extrémní formu - 50 % z nich zřejmě ztratí zrak

Myopie - krátkozrakost

60.léta 20.století – běžné mezi monozygotickými dvojčaty než mezi dizygotickými !!! → **GENETIKA** (7 lokusů na 13 chromosomech; asociační studie – COL2A1, TGFB1, HGF, IGF1, MMP (matrix metaloproteinázy)

Inuité – domorodí obyvatelé v Grónsku, Kanadě, Aljašce

- dospělí 2/131 = myopie
- víc než 50 % dětí a vnoučat = myopie

→ Nelze vysvětlit pouze genetikou

→ Společný jmenovatel = Práce s knihami !!

→ Studie 500 dětí (8 - 9letých v Kalifornii) a 4 000 dětí (5 - 11let v Sydney) = **čas strávený venku !!**



**Světlo má
protektivní
účinky !!!**



Model slepice / kuřata s brýlemi – možnost vyvolat myopii !!!

2009 – vysoká hladina osvětlení zpomalila vznik myopie

Myopie – krátkozrakost

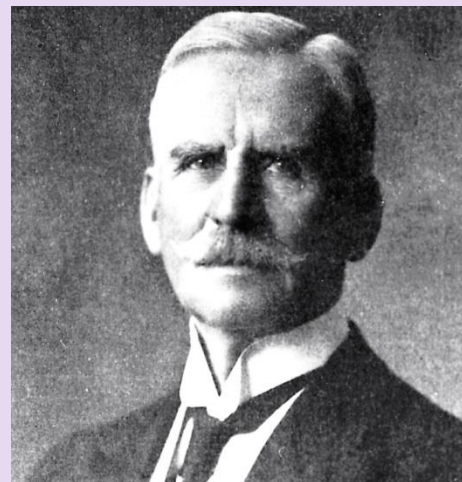
Hypotéza: světlo stimuluje uvolnění dopaminu v sítnici → blokáce prodloužení oční koule v průběhu vývoje !!!

3 hodiny denně pod světlem o intenzitě 10 000 lux !!! = **s brýlemi, pod stromem za jasného dne**

2009, Čína – 3-letý pokus – 40 min venku pro 6 - 7 leté děti → 30 % mělo myopii v 9/10 letech oproti 40 %

Taiwan – děti po dobu 80 min venku → po 1 roce 8 % dětí myopických ve srovnání s 18 % v kontrolách !!!

Zpátky do minulosti: **Edward Juler, 1904** - the myopia had become stationary, **change of air — a sea voyage if possible — should be prescribed !!!**



Závěr

Nezúžený a **plně barevný** pohled
na celý svět.

