

OBSAH

Zoznam skratiek.....	7
Úvod.....	11

1 Päť hlavných míľnikov molekulovej biológie a referenčná sekvencia ľudského genómu	13
--	-----------

2 Základná terminológia	16
--------------------------------------	-----------

3 Genetická variabilita ľudského genómu	20
3.1 Zdroj genetickej variability	20
3.2 Jednonukleotidový variant (SNV)	21
3.3 Indel variant.....	22
3.4 Štrukturálne varianty	23

4 Metódy molekulovej biológie a genomiky na detekciu DNA variantov	24
4.1 Klasická PCR.....	24
4.2 Sangerova sekvenácia.....	28
4.3 PCR v reálnom čase a využitie fluorescenčného značenia	29
4.3.1 Kvantitatívna PCR	32
4.3.2 Alelová diskriminácia – genotypizácia pomocou dvoch TaqMan® prób	33
4.4 Sekvenovanie novej generácie	34
4.4.1 Sekvenácia génových panelov a sekvenácia klinického exómu.....	35
4.4.2 Sekvenácia celého exómu a celého genómu	40
4.5 Analýza dĺžky fragmentov	41
4.5.1 Mikrosatelitná analýza.....	41
4.5.2 Diagnostika patologicky expandovaných tripletov	43
4.5.3 Multiplexná od ligácie závislá amplifikácia próby	43

4.6 Molekulová mikročipová analýza	44
4.6.1 Komparatívna genómová hybridizácia (CGH)	44
5 Molekulovobiologická podstata chorôb a úloha génov.....	46
5.1 Molekulovogenetická podstata chorôb a určenie patogenity genetických zmien	49
5.2 Monogénne dedičné ochorenia ako paradigma štúdia molekulovobiologickej podstaty chorôb	50
5.3 Základné pojmy klinickej genetiky dôležité pre pochopenie molekulovej podstaty chorôb	52
5.4 Druhy mendelistickej dedičnosti s príkladmi	54
5.5 Klasifikácia variantov pri monogénne dedičných ochoreniach je výsledkom výskumu molekulovobiologickej podstaty chorôb	58
5.6 Podľa efektu na funkciu proteínu rozlišujeme varianty straty funkcie a získania funkcie	64
5.7 Všeobecné databázy, databázy ľudských genotypov a fenotypov, databázy pre cielenú terapiu – ich význam pre určenie klinického významu variantu.....	67
5.7.1 HGMD (Human Gene Mutation Database)	69
5.7.2 Lokus špecifické databázy (LSDB)	70
5.7.3 Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)	71
5.7.4 Databáza ClinVar	72
5.7.5 GeneReviews	72
5.7.6 OncoKB	73
6 Štúdium somatických zmien pri rakovine má širšie dôsledky pre pochopenie genetických zmien pri iných chorobách	75
6.1 Receptorové tyrozínkinázy, signálne dráhy RAS/MAPK a PI3K	76
6.2 Signalizácia JAK/STAT cez cytokínové receptory.....	80
6.3 Signalizácia cez proteíny rodiny BCL2.....	81
6.4 Klasifikácia variantov v somatických nádoroch – rozdiel medzi hnacími a sprievodnými mutáciami.....	81

6.5 Príklady cielených terapií v onkológii zameraných na somatické varianty	84
6.5.1 HER2	84
6.5.2 EGFR	85
6.5.3 KIT a ABL	86
6.5.4 FLT3.....	86
6.5.5 BCR-ABL	86
6.6 Komplexné genomické profilovanie a sprievodná diagnostika	87

7 Molekulová biológia a patobiológia vybraných

Ľudských génov	92
7.1 Gén CFTR a cystická fibróza – paradigma precíznej medicíny pri monogénne dedičných ochoreniach	93
7.1.1 Molekulová patobiológia a kauzálne patogénne varianty	95
7.1.2 Molekulová diagnostika pri CF	96
7.1.3 Precízna terapia na základe molekulovej diagnostiky	97
7.2 Kolorektálny karcinóm – paradigma molekulovej biológie a diagnostiky nádorov.....	98
7.2.1 Najčastejšie mutovaný gén pri KKK – APC a signálna dráha Wnt.....	99
7.2.2 Gény opravy nesprávne zaradených báz a ich úloha pri Lynchovom syndróme a sporadických nádoroch ...	102
7.3 Štyri kauzálne gény klasickej familiárnej hypercholesterolémie – viacej génov, jedna signálna dráha, jeden fenotyp	106
7.3.1 Najčastejšie mutované gény pri FH sú súčasťou signálnej dráhy LDL receptora	107
7.3.2 Molekulová diagnostika a precízna terapia	110
7.4 Geneticky podmienené choroby srdca.....	110
7.4.1 Genetický základ monogénne dedičných kardiomyopatií	111
7.4.2 Genetický základ monogénne dedičných arytmogénnych chorôb srdca	117

7.4.3 Klinická užitočnosť molekulovogenetickej diagnostiky	120
7.5 Vybrané gény pri neurodegeneratívnych ochoreniach	121
7.5.1 Gény APP, MAPT, PSEN1, PSEN2 a Alzheimerova choroba.....	122
7.5.2 Gény SNCA, LRRK2, GBA, PRKN, PINK1, PARK7 a Parkinsonova choroba	124
7.5.3 Ďalšie príklady monogénne dedičných neurologických ochorení	125
7.6 Genetické testovanie.....	127
7.6.1 Druhy genetického testovania podľa účelu.....	128
Použitá literatúra	133
Zoznam obrázkov.....	149
Zoznam boxov	149