



A MOLEKULÁRIS BIOLÓGIÁTÓL A KLINIKAI DIAGNÓZISIG. GÉNTERÁPIA

2020. 04. 21.



I. AZ ÖRÖKÍTŐANYAG ELVÁLTOZÁSAI

II. AZ ÖRÖKÍTŐANYAG VIZSGÁLATÁNAK LEHETŐSÉGEI

III. AZ ÖRÖKÍTŐANYAG BEFOLYÁSOLÁSA: GÉNTERÁPIA





GENETIKAI TANÁCSADÁS

A.

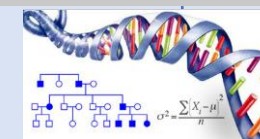
B.

C.

Kórtörténet, eddigi laboratóriumi-, képalkotó-családfa és klinikai vizsgálatok alapján a genetikai megbetegedés nagy valószínűséggel kizárható

Klinikai fenotípus, laboratóriumi és képalkotó vizsgálatok alapján teljesül egy adott genetikai megbetegedés diagnosztikai kritériuma

GÉNDIAGNOSZTIKA



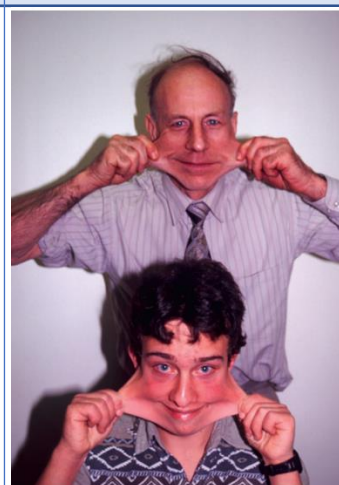
GENETIKAI TANÁCSADÁS

További panasz, tünet alapján

Ismételt genetikai tanácsadás

Klinikai genetikai diagnózis

Családtervezés/ potenciális terápia





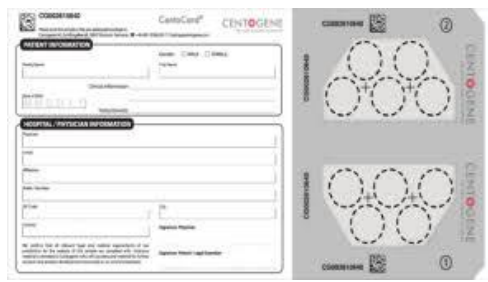
VIZSGÁLATI MINTA

BIOPSZIA



- Bőr
- Izom
- Tumor**
- Chorion

PERIFÉRIÁS VÉRMENTA/
Csontvelő



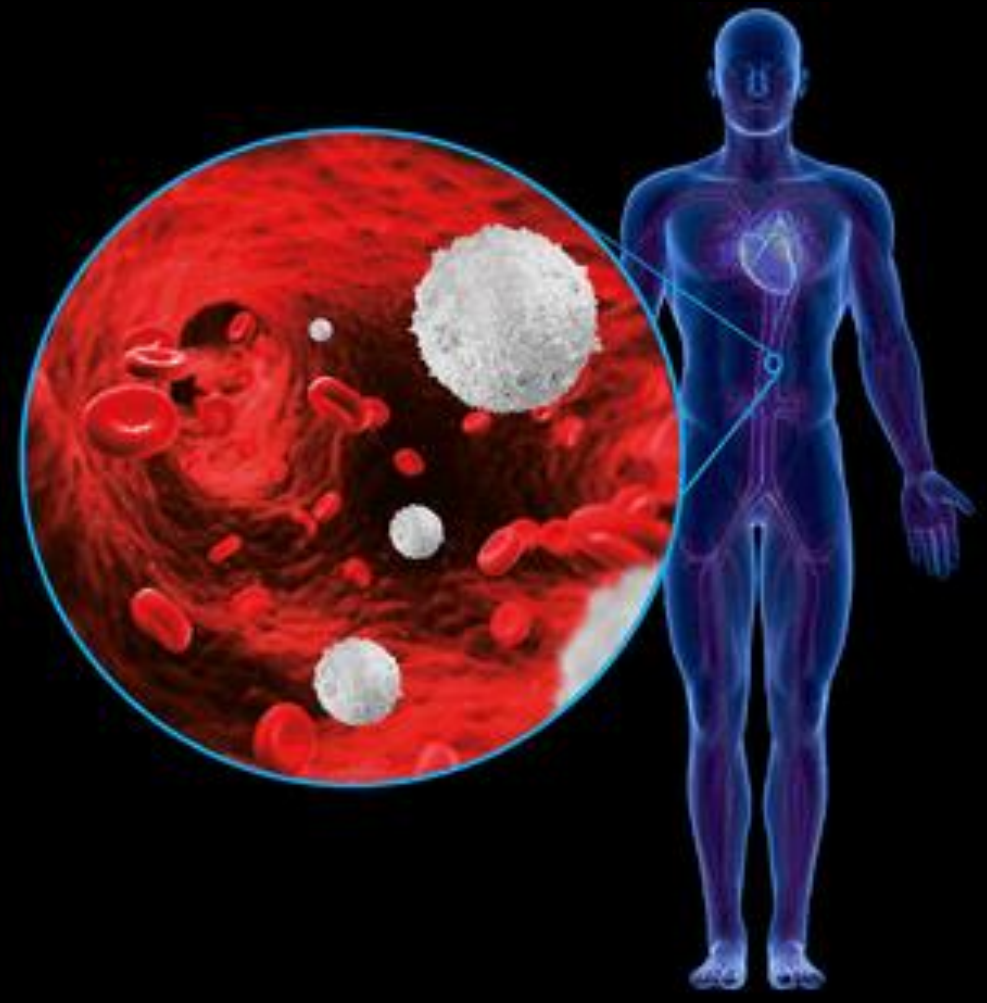
50 µL

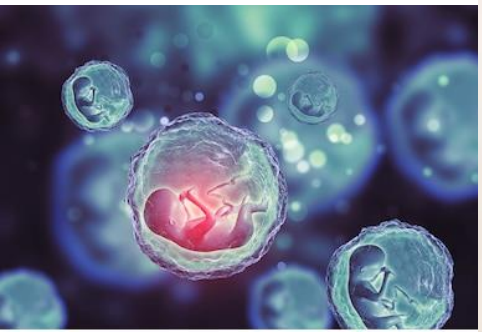


2 mL



2-4 mL





FEJLŐDÉSI ELMARADÁS

KORAI TÜNET

CSALÁDTERVEZÉS

FARMAKOGENOMIKA

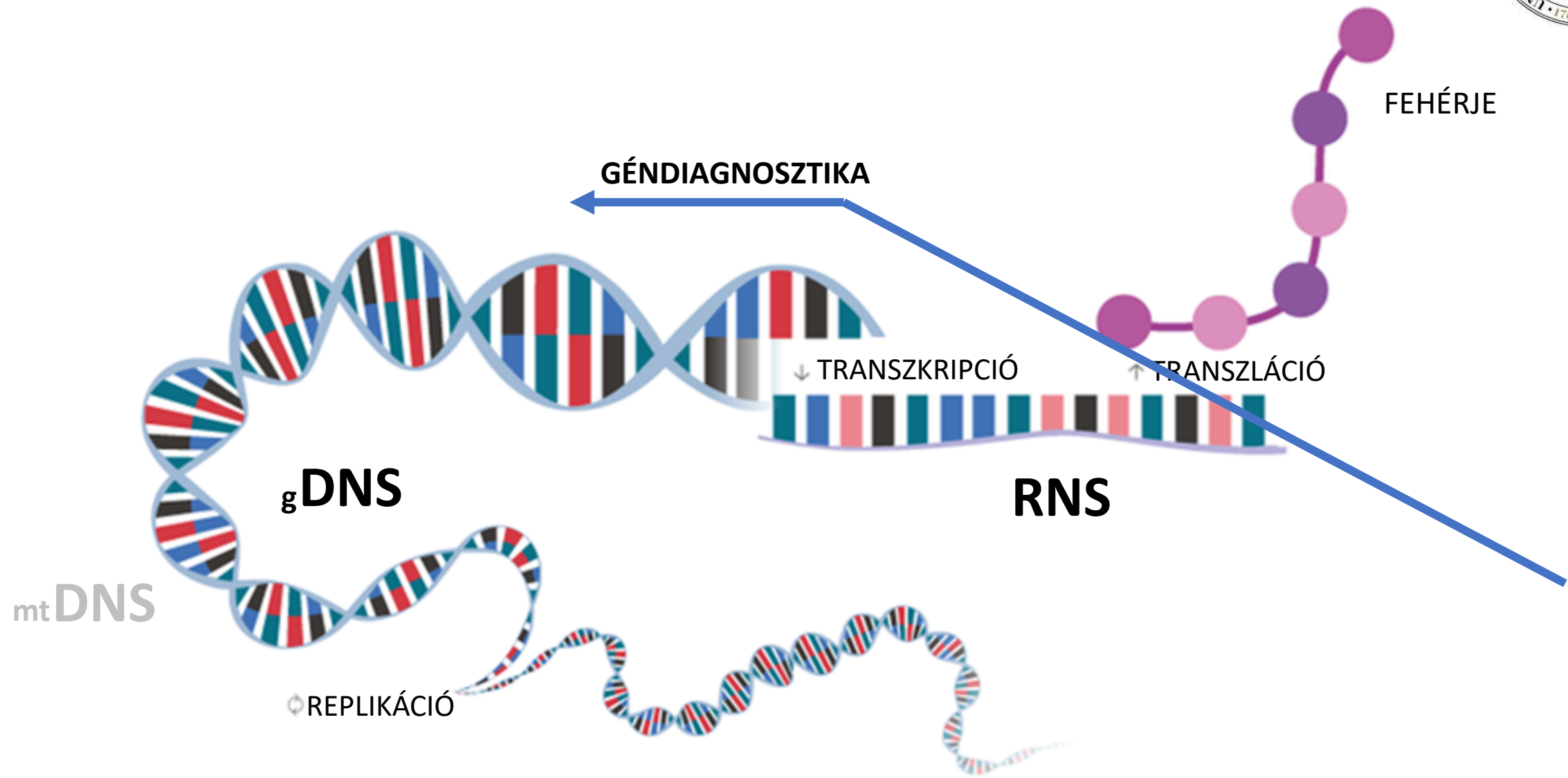
**ÚJSZÜLÖTTKORI
SZŰRÉS**

PRENATÁLIS

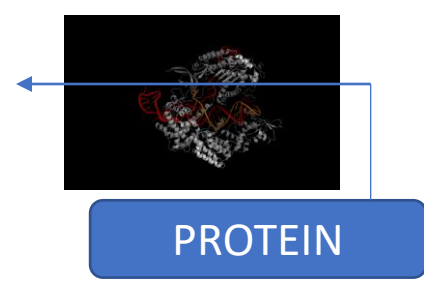
10 HÉT

20 HÉT

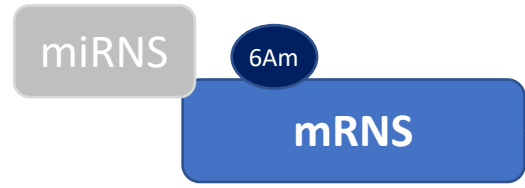
VIZSGÁLANDÓ NUKLEINSAV



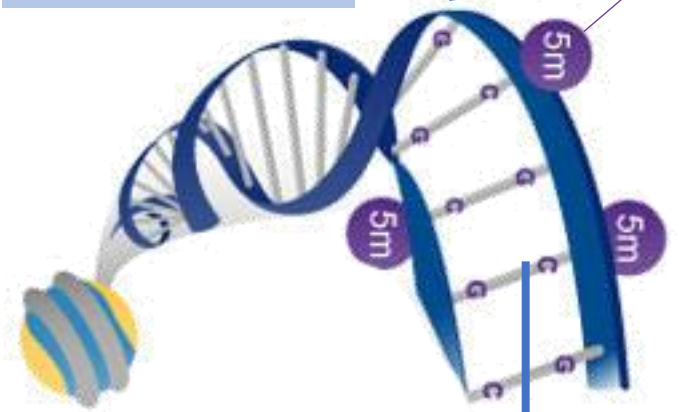
BIOLÓGIAI FUNKCIÓ (FENOTÍPUS)



PROTEIN



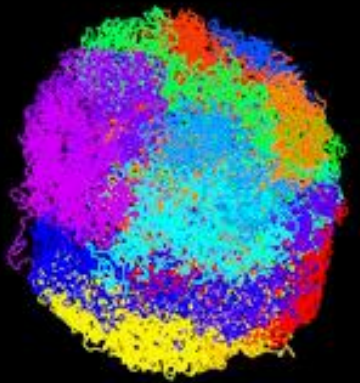
DNS metiláció



HISZTON METILÁCIÓ,
ACETILÁCIÓ,
UBIKVITINÁCIÓ

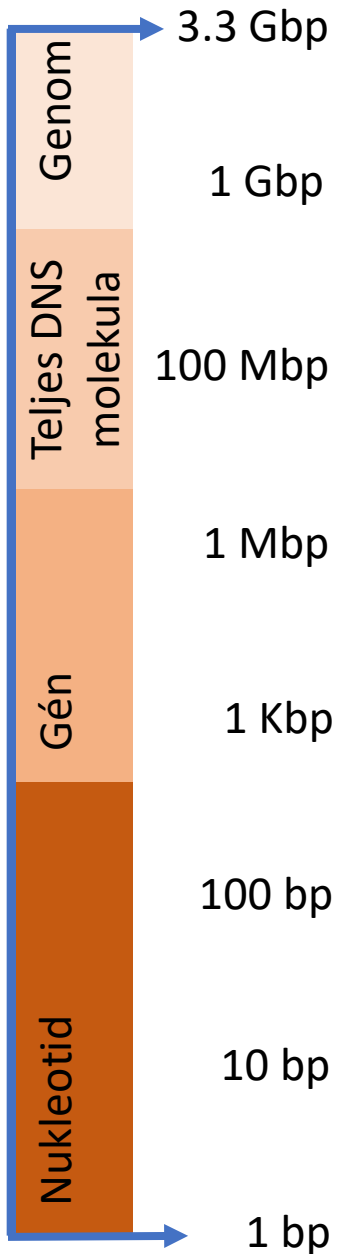
DNS SZEKVENCIA

- MOZAICIZMUS
- HETEROGENITÁS
- EPISZTÁZIS

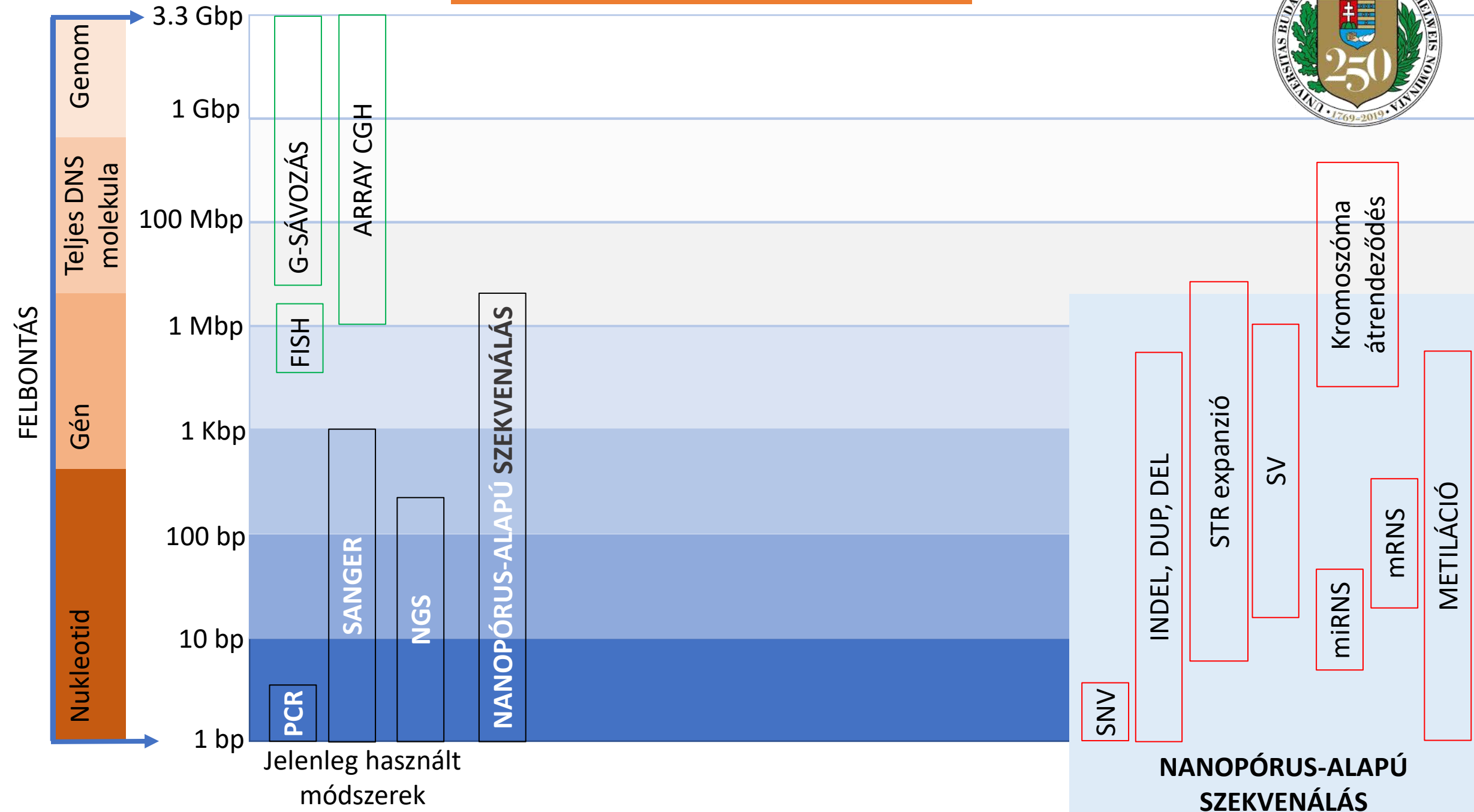


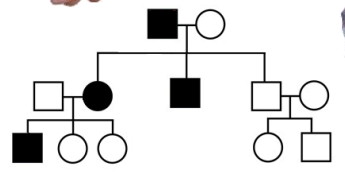
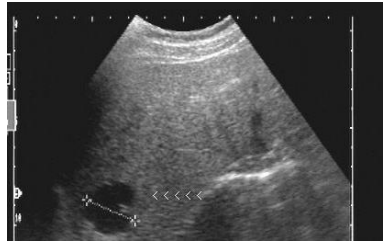
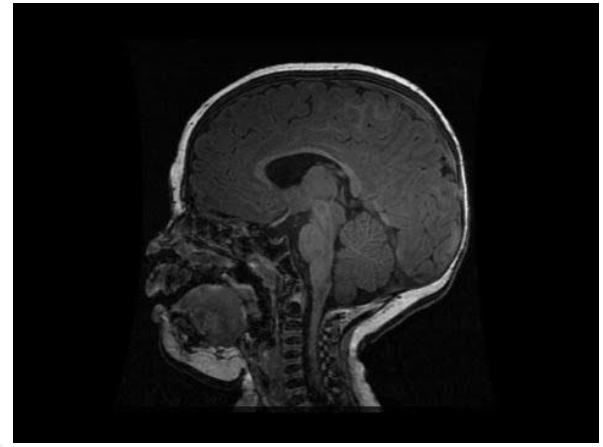
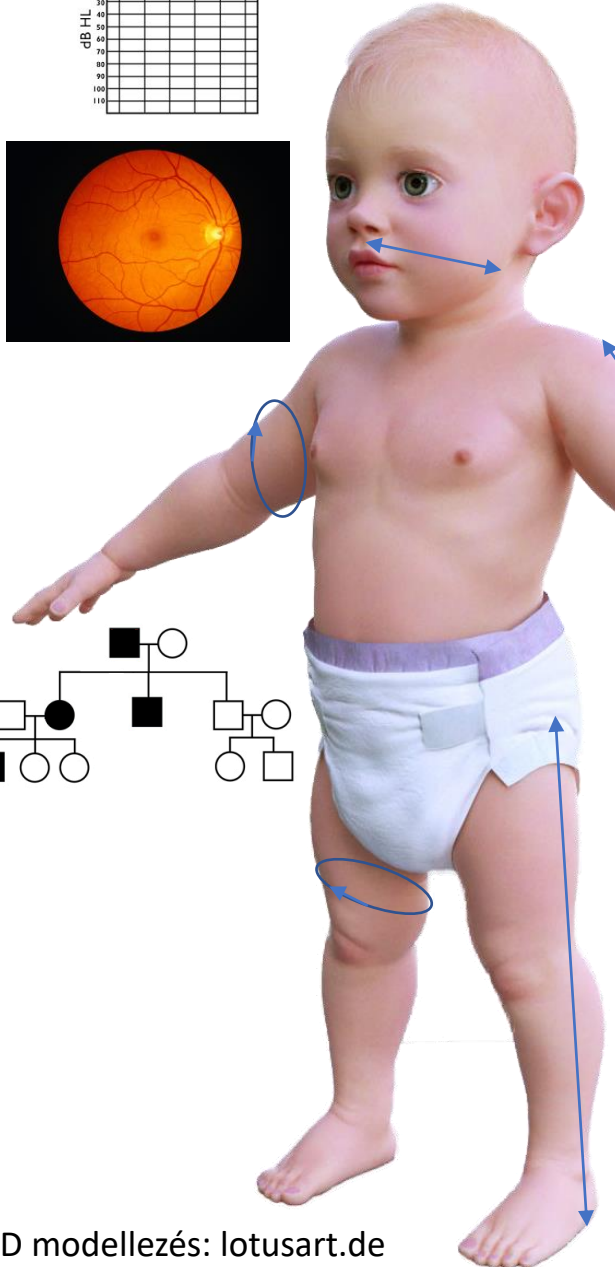
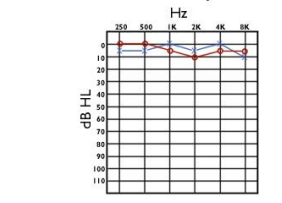


FELBONTÁS



<p>TRIPLOID TETRAPLOID</p>	I. KROMOSZÓMA SZÁM	
<p>TRISZÓMIA MONOSZÓMIA</p>		
<p>TRANSZLOKÁCIÓ INVERZIÓ DUPLIKÁCIÓ DELÉCIÓ</p>	II. KROMOSZÓMA STRUKTÚRA	
<p>IDE IDE IDE VÁR MÁR HÉT ÓRA ÓTA EXPANZIÓ IDE VÁM ÁRH ÉTÓ RAÓ TA FRAMESHIFT IDE VÁR MÁR HÉT KÉP ÓRA ÓTA INDEL IDE VÁR MÁR HÉT DAL ÓRA ÓTA INSZERCÍÓ IDE VÁR MÁR HÉT ÓRA ÓTA DELÉCIÓ IDE VÁG MÁR HÉT ÓRA ÓTA PONTMUTÁCIÓ</p>	III. DNS SZEKVENCIA	
IDE VÁR MÁR HÉT ÓRA ÓTA		





GÉNDIAGNOSZTIKA

A. Egy vagy két szindróma

Céltzott génvizsgálat

Génméret
Mutációk
"hot spot"

Céltzott NGS
Sanger
PCR
FISH
Céltzott NS

B. Jellegzetes tünetegyüttes

Génpanel vizsgálat

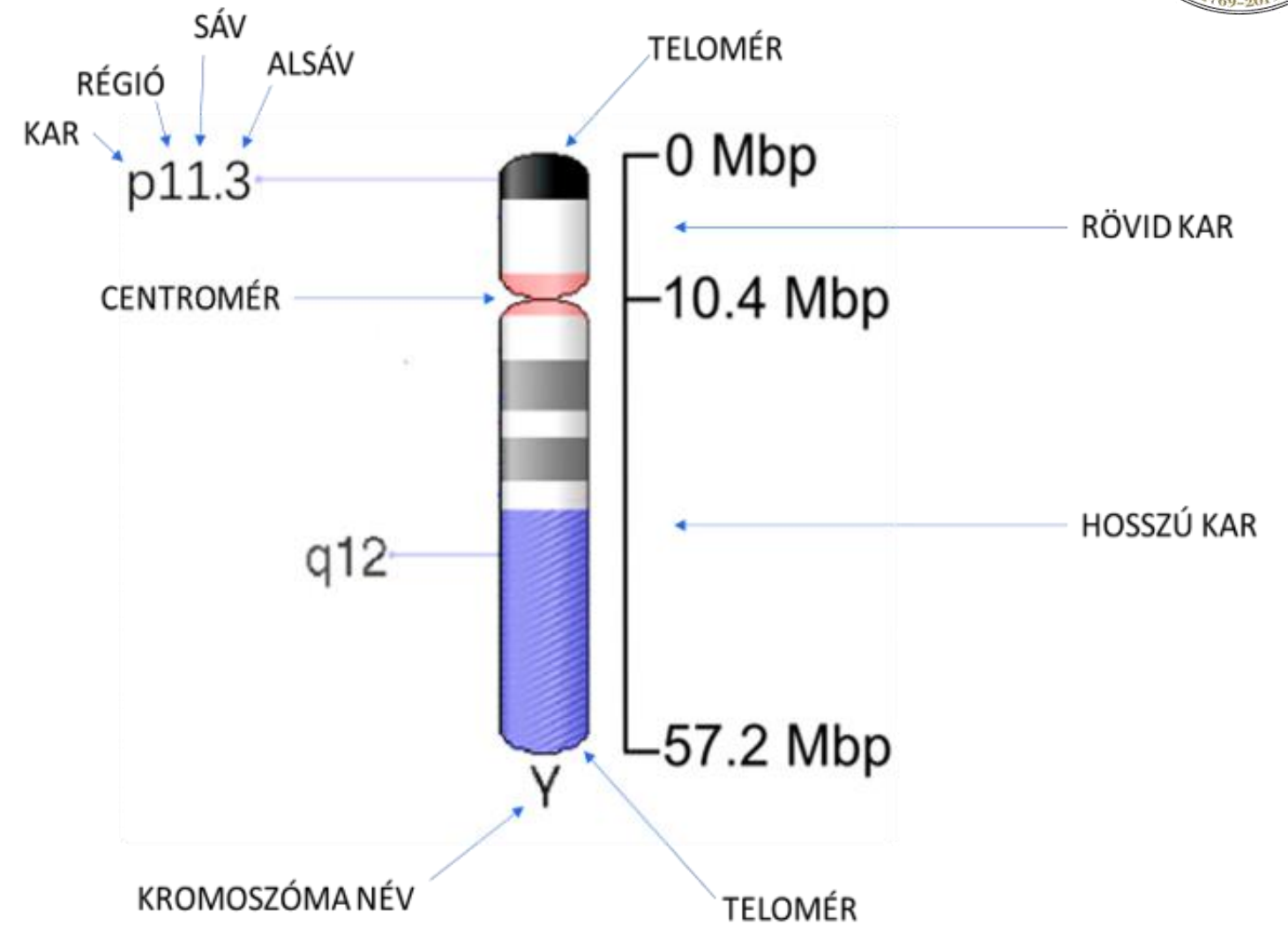
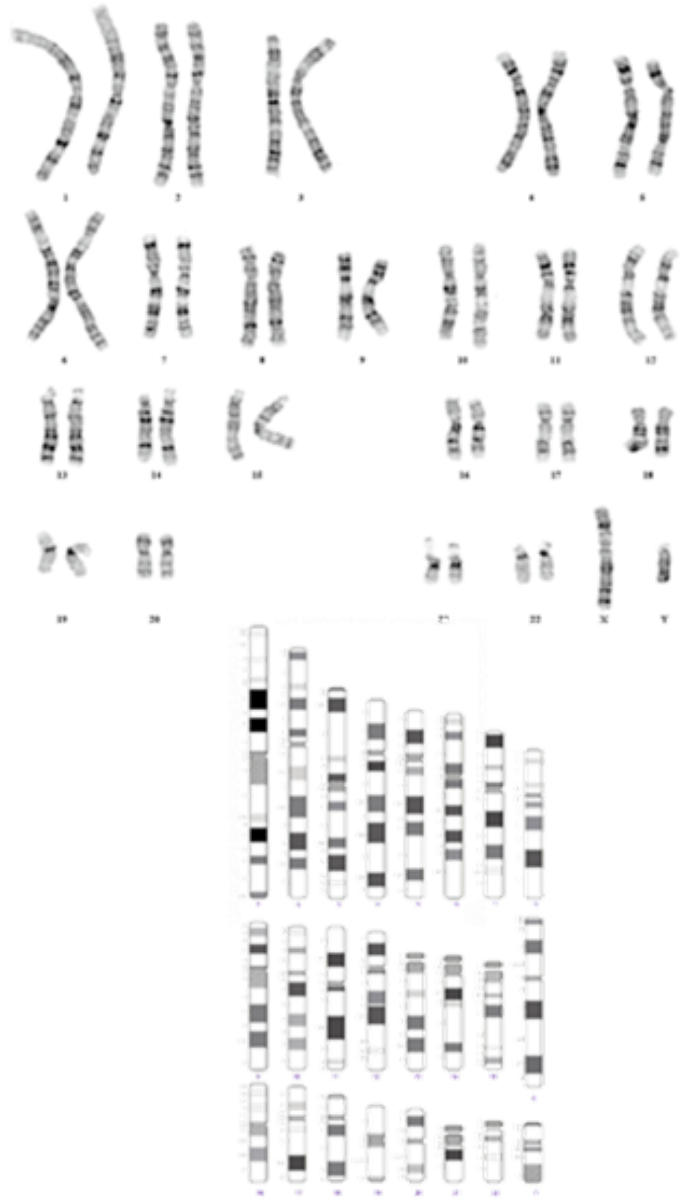
G-sáv
FISH
Array-CGH
Panel NGS
Panel NS

C. Nem jellegzetes tünetegyüttes

G-sáv
Array-CGH
WES

Bizonytalan
Jelentőségű
Variációk
Patogenitás
elemzése

A HUMÁN KROMOSZÓMÁK SZERKEZETE





47,XX,+21

Kromoszóma szám

Szex kromoszóma

Abnormalitás

CAVE! Mindig vesszővel (,) választjuk el az egységeket!

add – addíció

del – deléció

der – derivált kromoszóma

dic – dicentrikus kromoszóma

dup – duplikáció

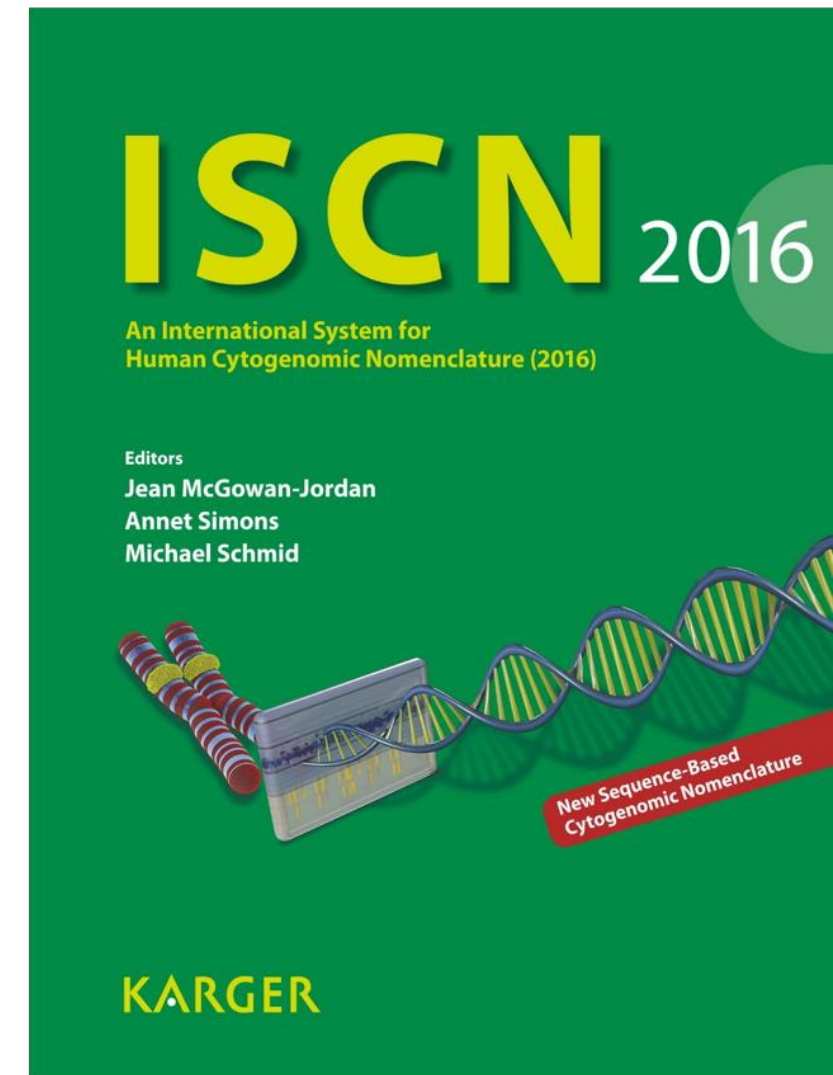
inv – inverzió

mar – marker kromoszóma

t – transzlokáció

Sorrend mozaicizmus esetén: 1. a megváltozott sejt; legutolsó a fiziológias sejt

pl. 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2)[5]/46,XX[15]

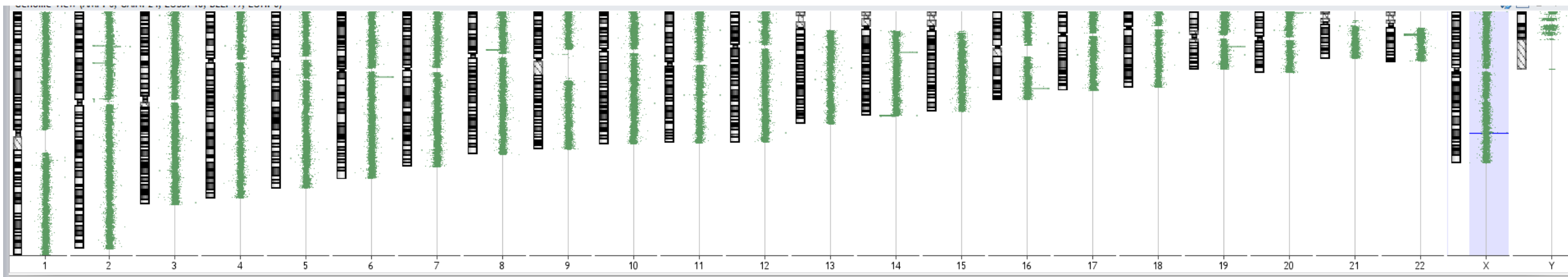
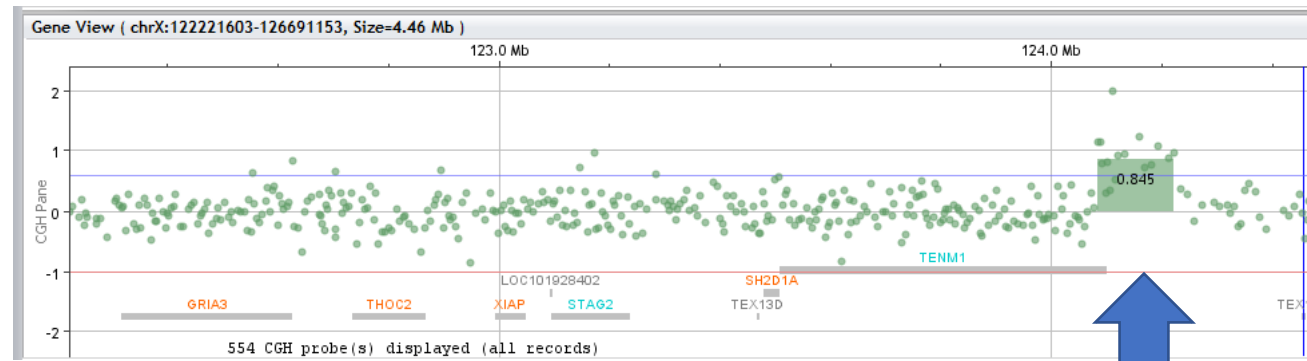
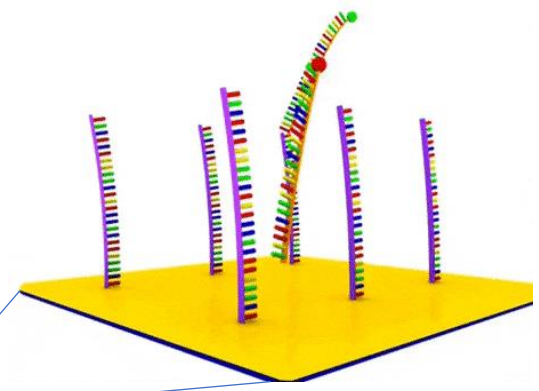
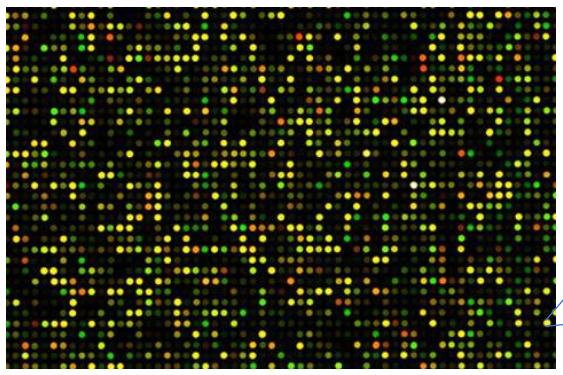
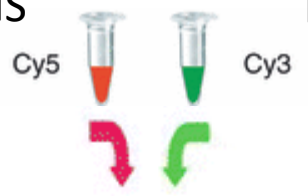


ARRAY CGH



Páciens DNS
Cy5

Referencia DNS
Cy3

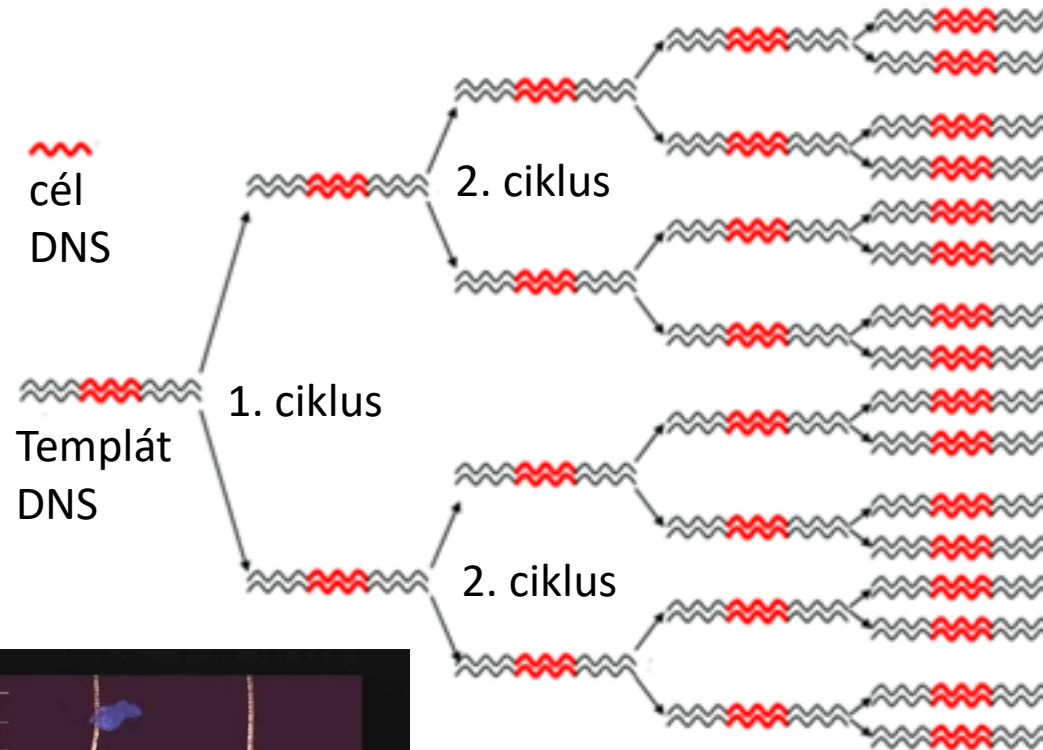
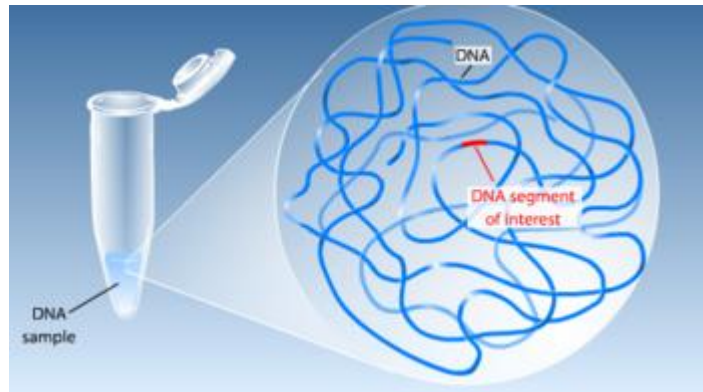


POLIMERÁZ LÁNCREAKCIÓ (PCR)

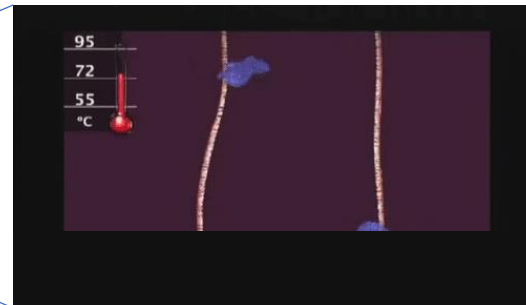
In vitro DNS klónozás/ amplifikáció



1. DNS izolálás



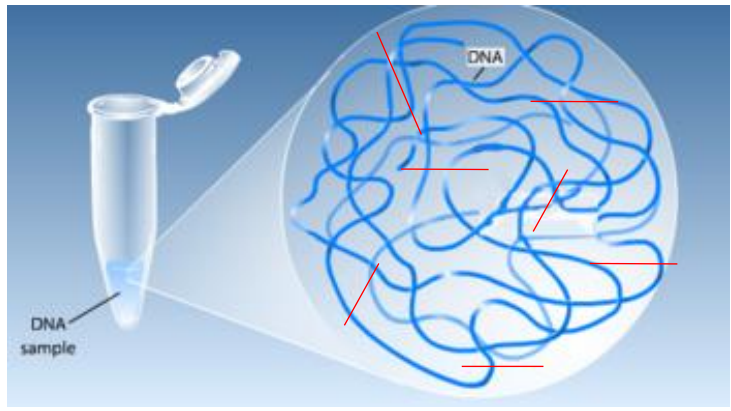
40 ciklus után:
 2^{40} kópia



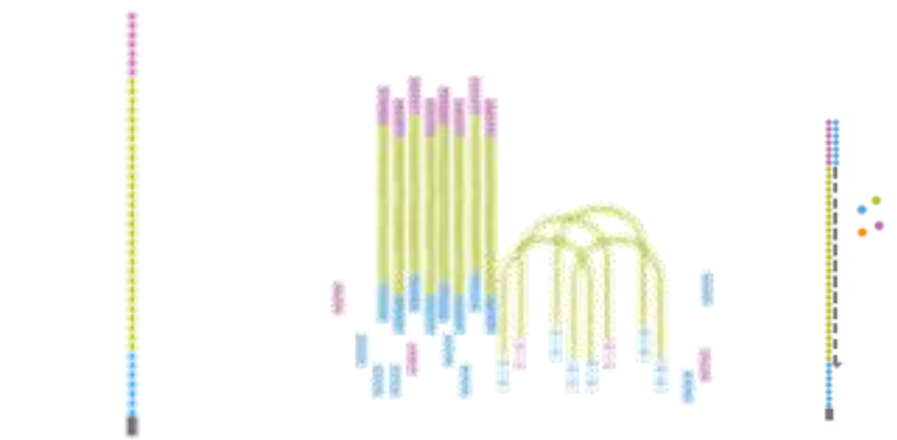
NGS (2. GENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁS)



1. DNS izolálás

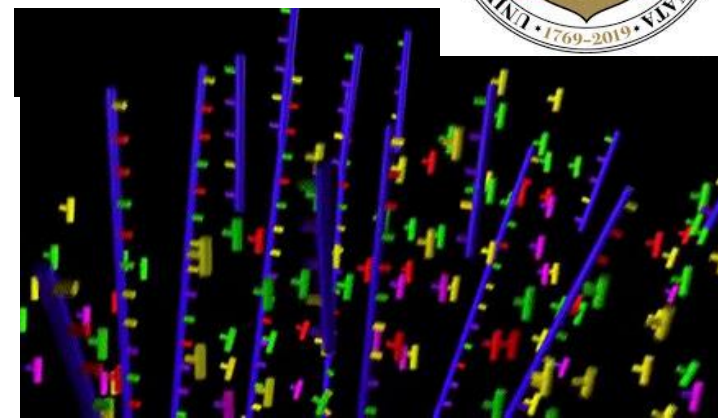


FRAGMENTÁCIÓ
150-400 bp-ra



**KÖNYVTÁR
KÉSZÍTÉS**

**KLASZTER-
GENERÁLÁS**

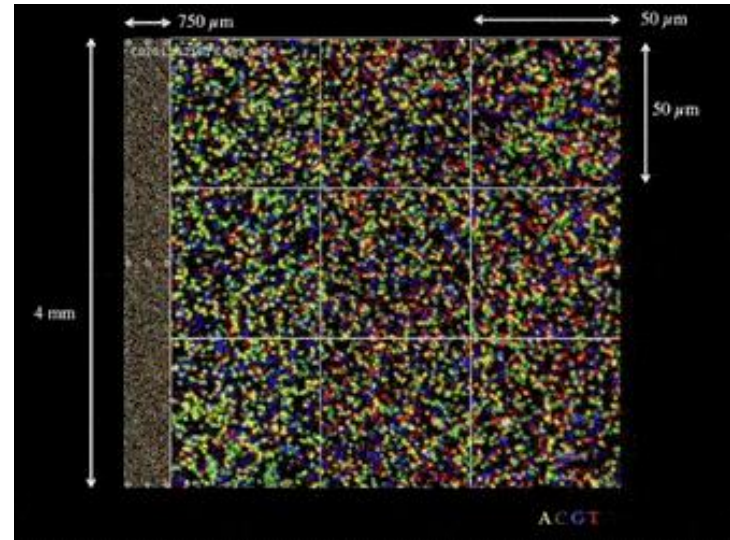


SZEKVENÁLÁS

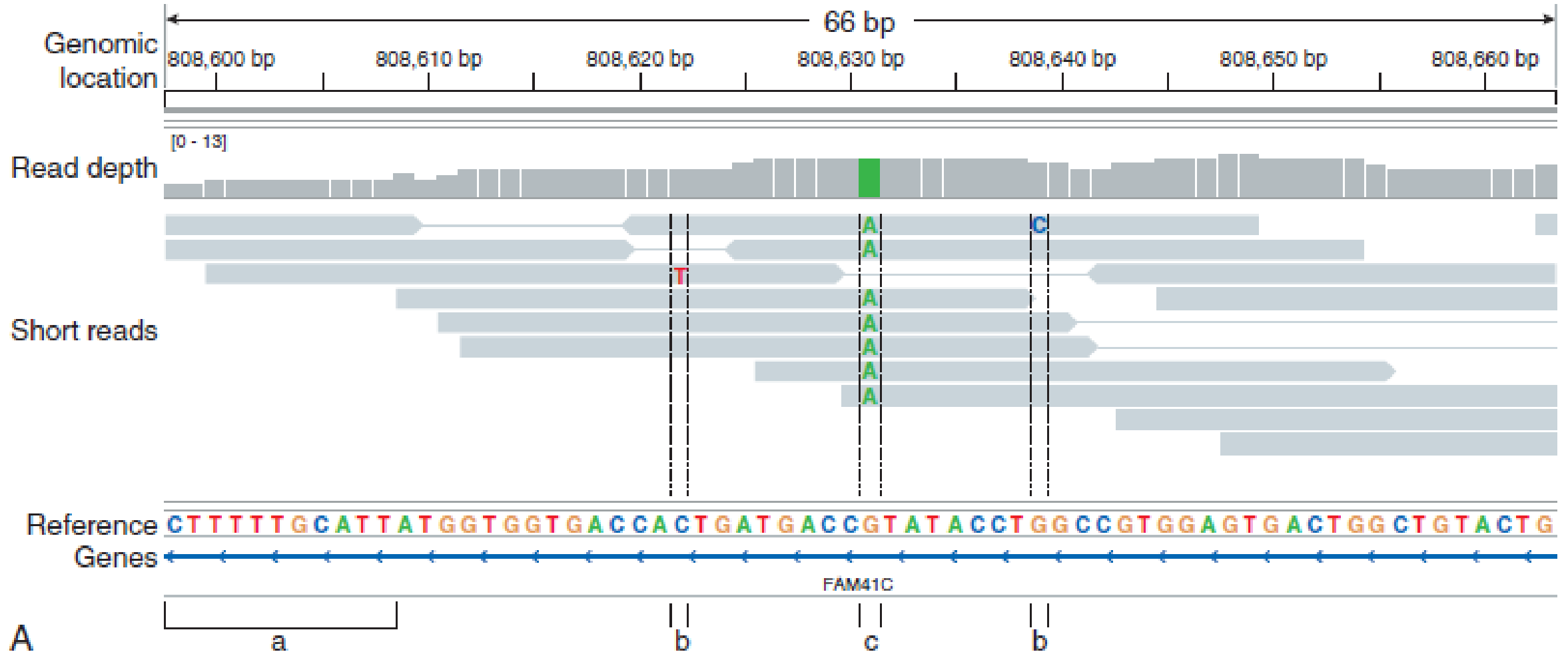


ÉRTELMEZÉS

**SZEKVENCIA ILLESZTÉS
REFERENCIA GENOMHOZ**

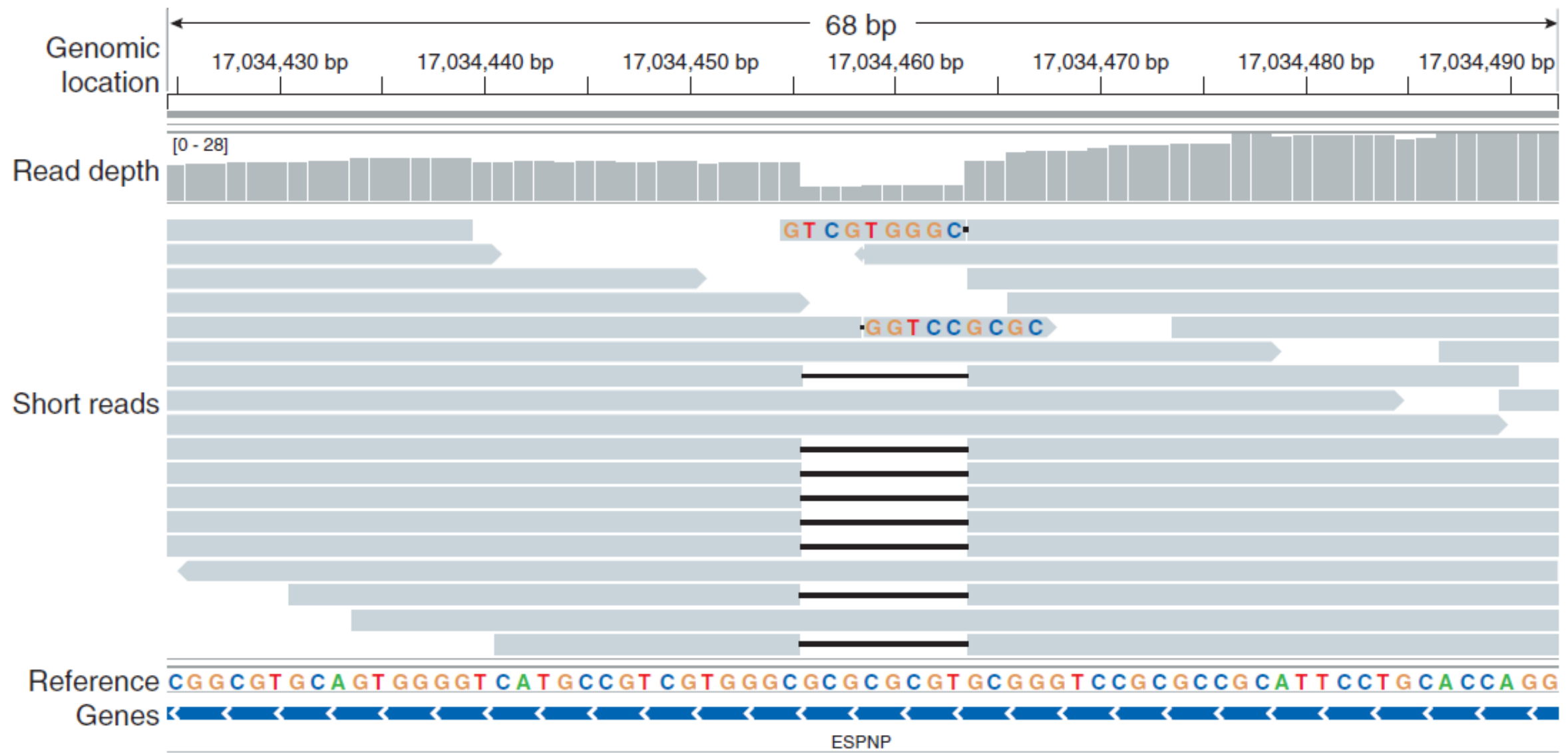


NGS (2. GENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁS)

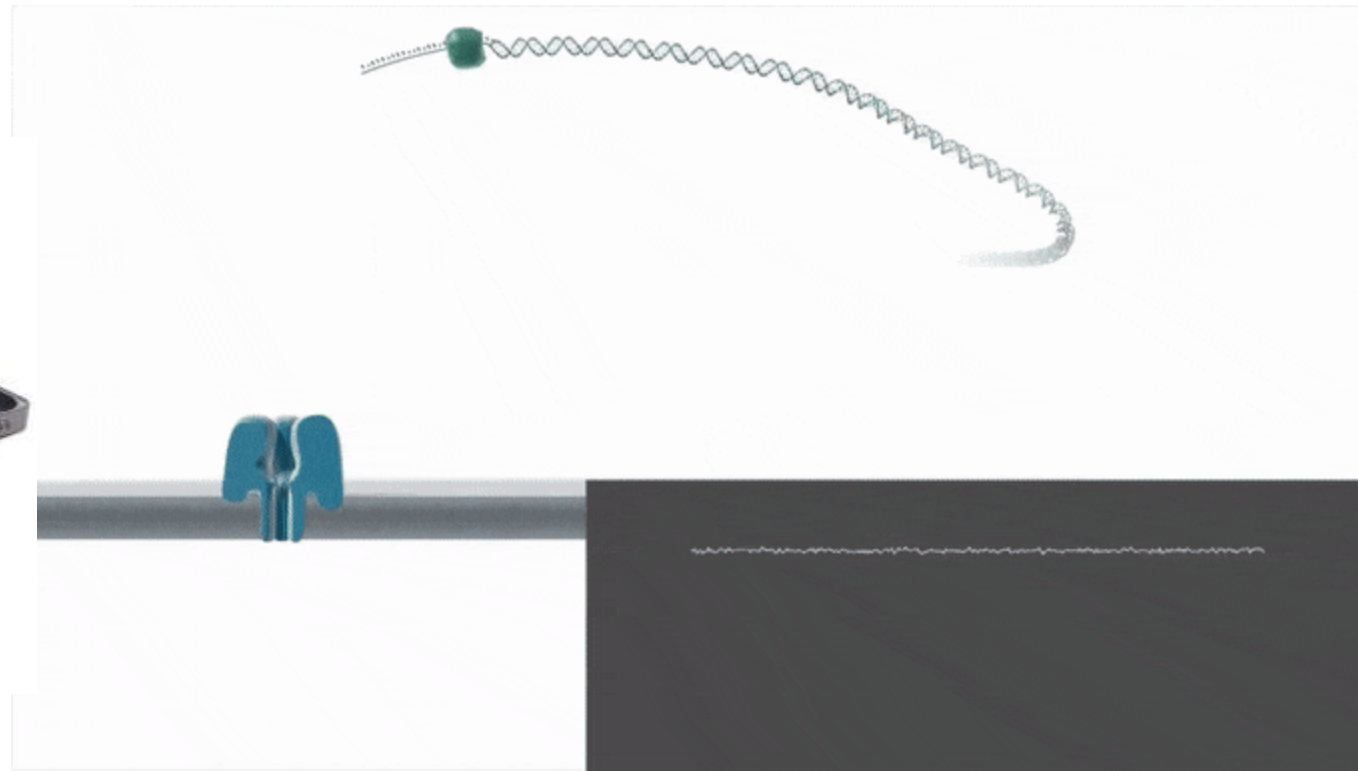
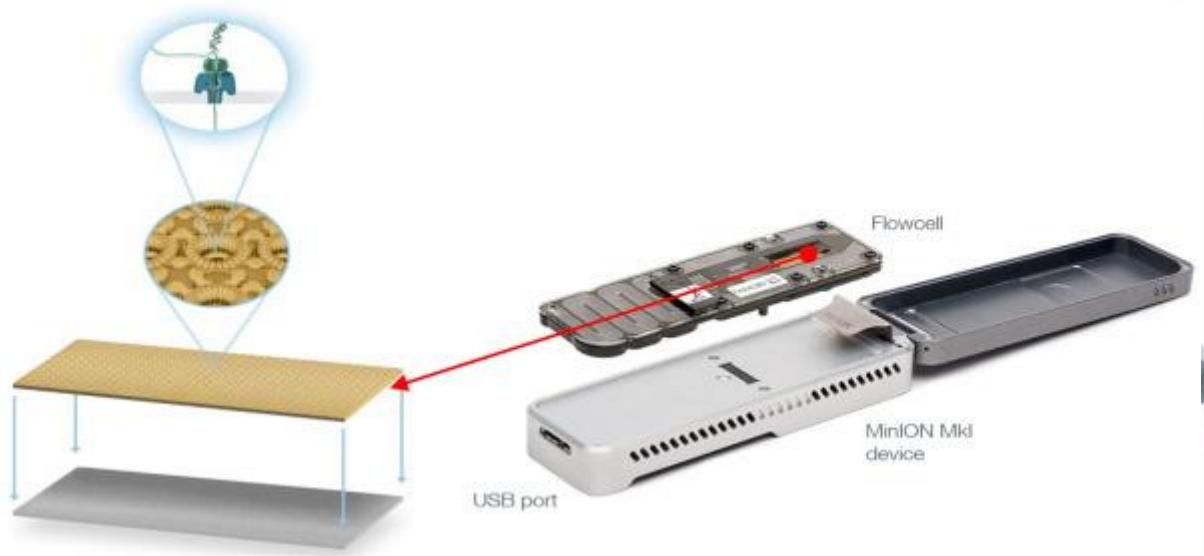
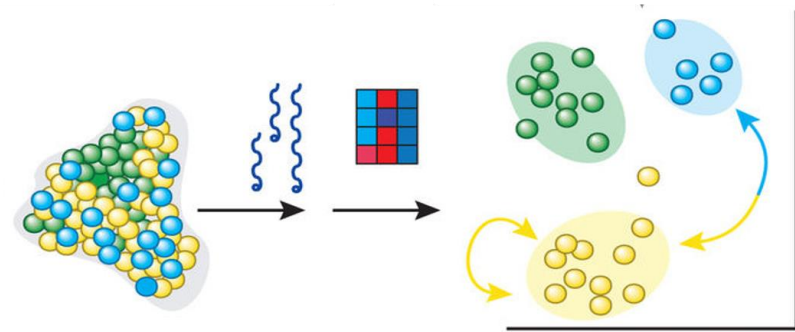


A

NGS (2. GENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁS)



NANOPÓRUS SZEKVENÁLÁS (3. GENERÁCIÓS SZEKVENÁLÁS)

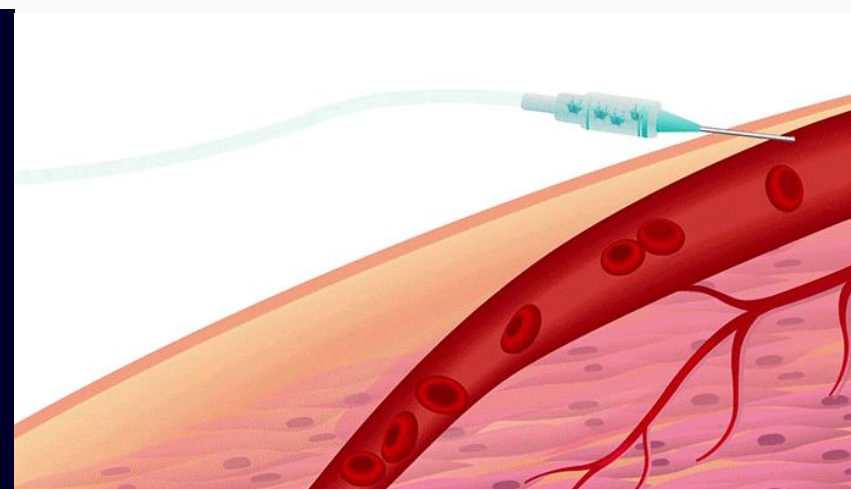


GENOMIKAI ESZKÖZTÁR

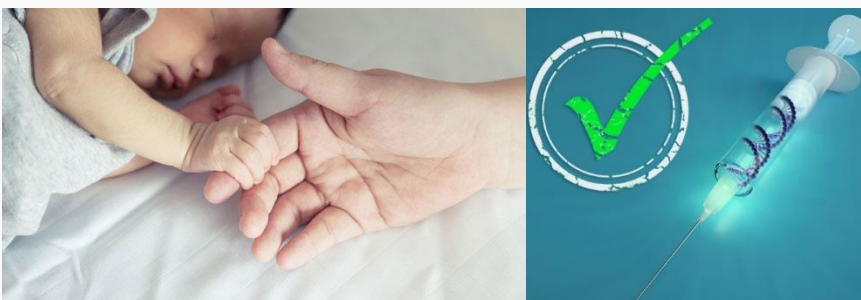
Génközpontú analízis



	Nanopórus-alapú	NGS	Sanger	CGH	FISH
Elemezhető nukleinsav	DNS, RNS, cDNS	DNS, cDNS	DNS, cDNS	DNS, RNS	DNS, RNS
Analízis	Nukleinsav szekvencia+ metiláció (WGS génpanel vagy célzott)	Nukleinsav szekvencia (WGS, WES, génpanel vagy célzott)	Nukleinsav szekvencia (célzott)	Sok proba hibridizáció (WG)	Célzott proba hibridizáció (targeted)
Felbontás	1 bp – 2.3 Mbp	1 bp – 400 bp	1 bp – 1000 bp	> 1 Mbp	100 Kbp – 2 Mbp
Mozaicismus	>1%	>10-18%	>40%	>10%	>10%
Heterogenitás	Egy-sejt	Átlag	Átlag	Átlag	Egy-sejt
Áteresztőképesség	Közepes-magas	Igen magas	Alacsony	Magas	Alacsony
Multiplexelhetőség	Igen	Igen	Nem	Nem	Korlátozott

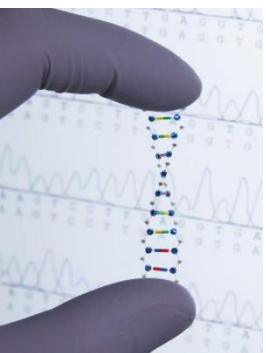


GÉNTERÁPIA – jelen és jövő





GENETIKAI ANYAG BEJUTTATÁSA



vad-típusú génkópiával pótolnak egy homozigóta funkcióvesztéses (loss-of-function, LOF) recesszív mutációt

DNS

pl. SMA, FLPLD

csendesítenek egy funkciónyeréses (gain-of-function, GOF) domináns mutációt

siRNS, miRNS

pl. transthyretin amyloidosis

pre-mRNS érés megváltoztatása

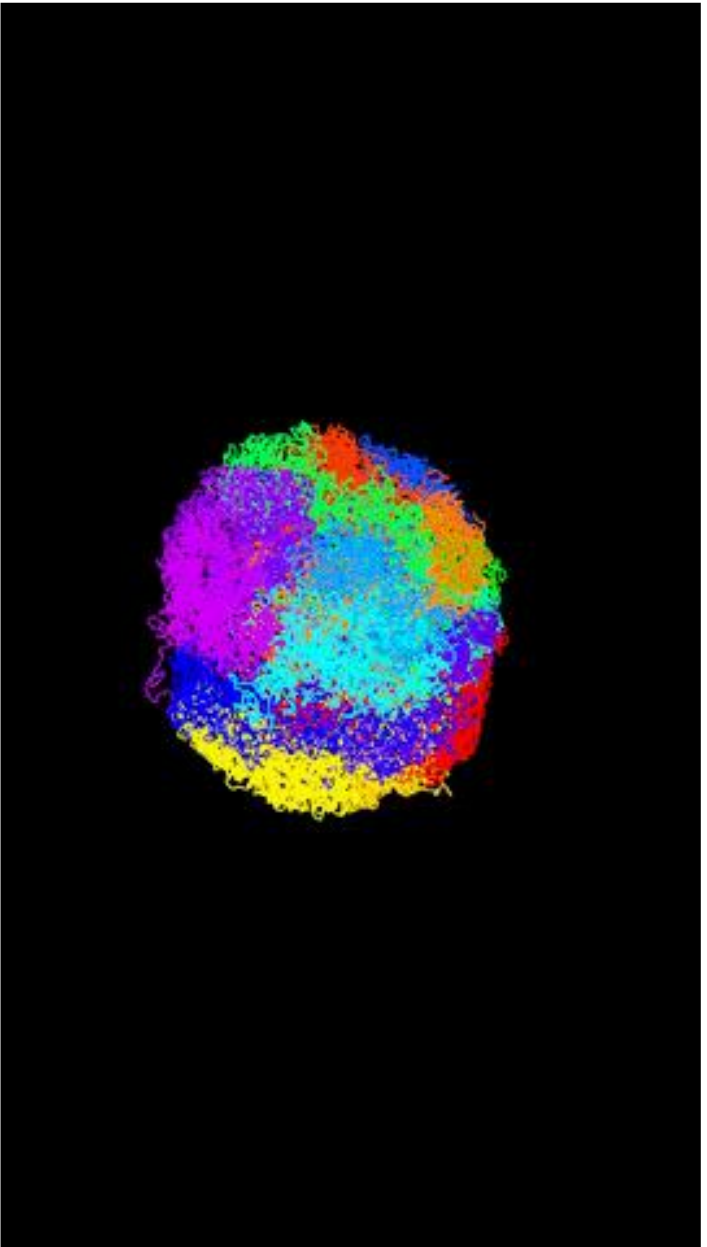
ASO

pl. SMA, DMD, Parkinson, ALS, DM HIV, Huntington

CÉLPONT: citoplazma/ sejtmag

GÉNTERÁPIA

BIOLÓGIAI FUNKCIÓ (FENOTÍPUS)



PROTEIN

miRNS

siRNS

mRNS

TRANSZKRIPCIÓS
FAKTOR

pre-mRNS

ASO

RNS polimeráz

DNS metiláció



HISZTON METILÁCIÓ,
ACETILÁCIÓ,
UBIKVITINÁCIÓ

DNS SZEKVENCIÁ

GÉNSEBÉSZET

MOZAICIZMUS
HETEROGENITÁS
EPISZTÁZIS

GÉNTERÁPIA



IN VIVO

- Gendicine (Tp53)
- Neovasculgen (VEGF)
- Glybera (LPL^{S447X} gén)
- Luxturna (hRPE65 gén)
- Vitravene (ASO-CMV retinitis)
- Spinraza (ASO-SMN2 pre-mRNS)
- Onpattro (RNAi-transzthyretin gén)
- Kynamro (ASO - Apo lipoprotein B-100)
- Imlygic (HSV-1 oncolytic virus GM-CSF gén)
- Eteplirsén (Morpholino Oligomer-Exon51 DMD)
- Oncorine (E1B 55kDa mutáns adenovirus dl1520)
- Defitelio (egyszálú oligonukleotid - VOD)
- Macugen (RNS oligonukleotid – VEGF165 izoforma)
- Rexin-G (Retrovirális vektor, ciklin G1 gátlót kódoló)
- Zolgensma (Onasemnogene Abeparvovec)



PÁCIENS

EX VIVO

ALLOGÉN T-SEJT

Zalmoxis (Suicide HSV-TK- Δ LNGFR gén)

ALLOGÉN CHONDROCYTA

Invossa (TGF β 1 gén)



Yeskarta (Anti CD19-CD28-CD3zetta CAR T gén)

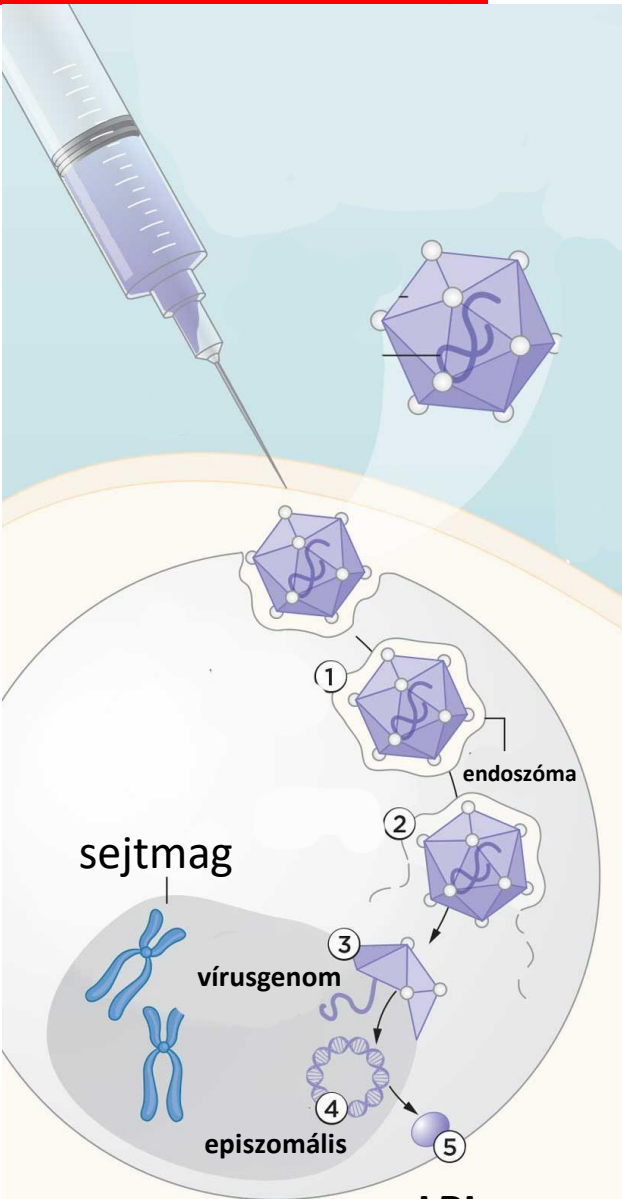
Kymriah (Anti CD19-CD137-CD3zetta CAR T gén)

AUTOLÓG HSC

Strimvelis (ADA gén)

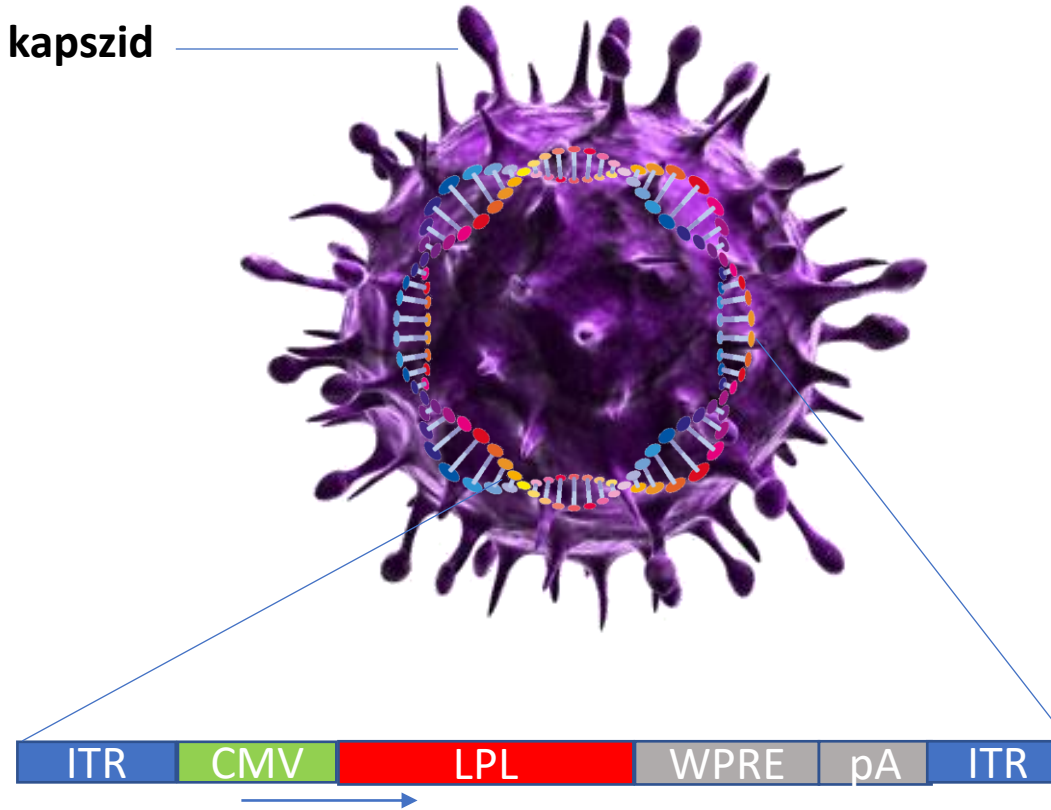


DONOR



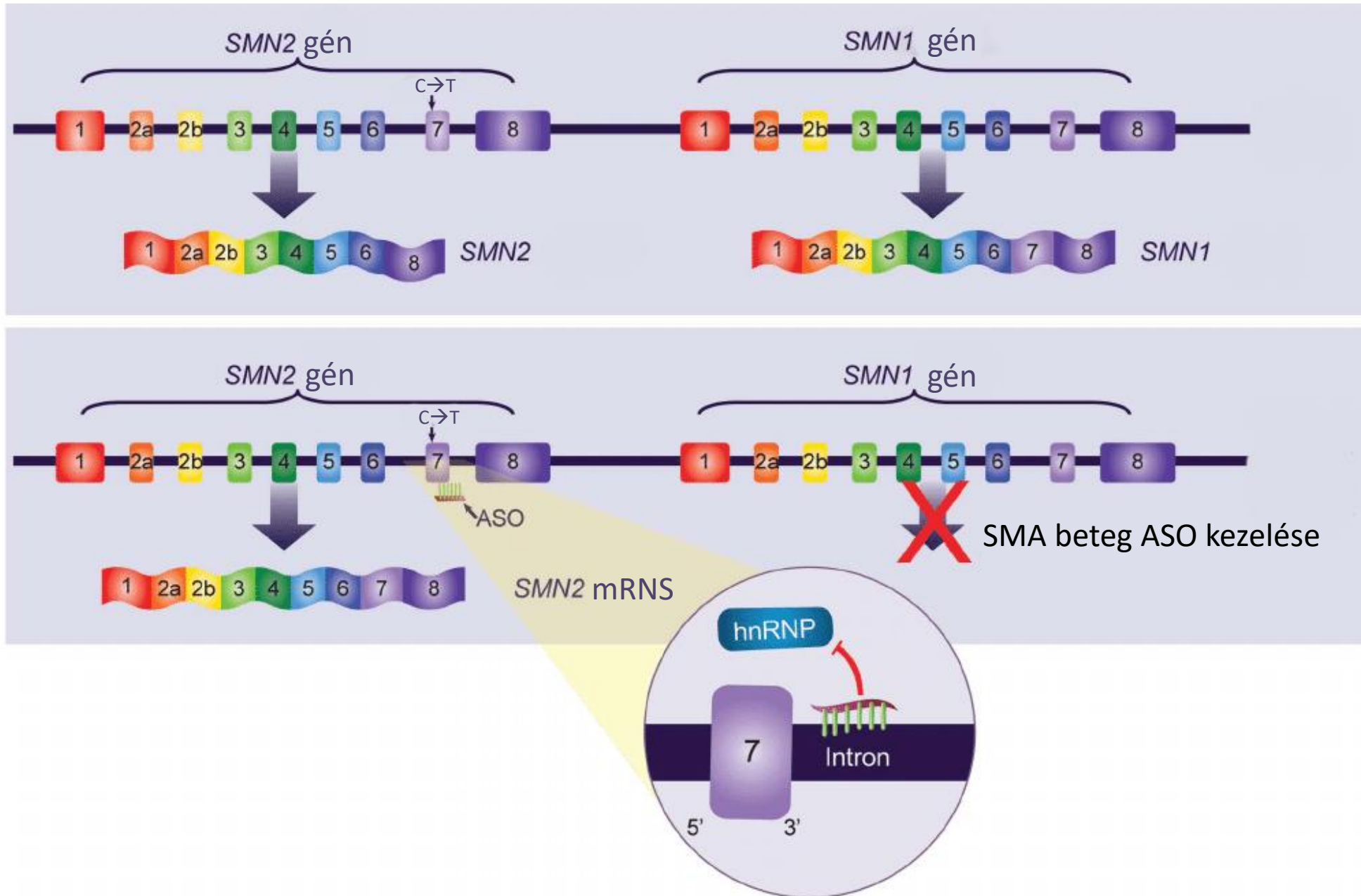
LPL expresszió

AAV1 kapszid



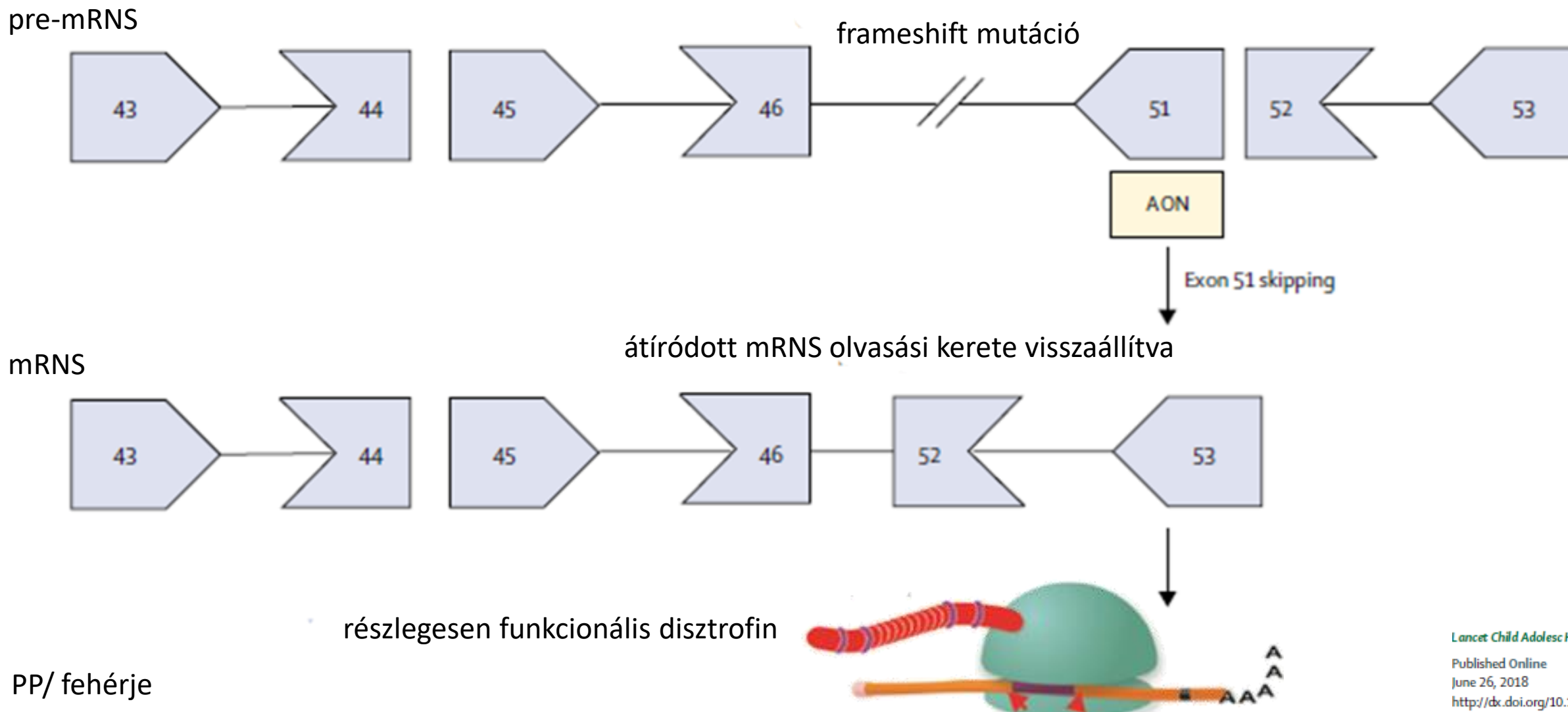
ITR - fordított terminális ismétlődés **CMV**- promoter **WPRE** – posztranszkripcionális rész

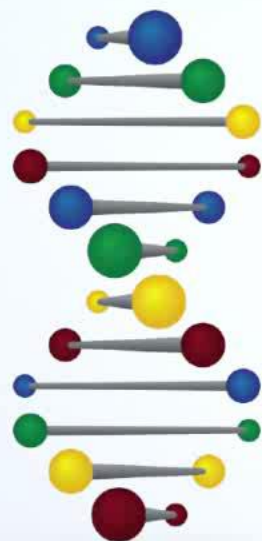
SPINRAZA: ASO *SMN2* pre-mRNS



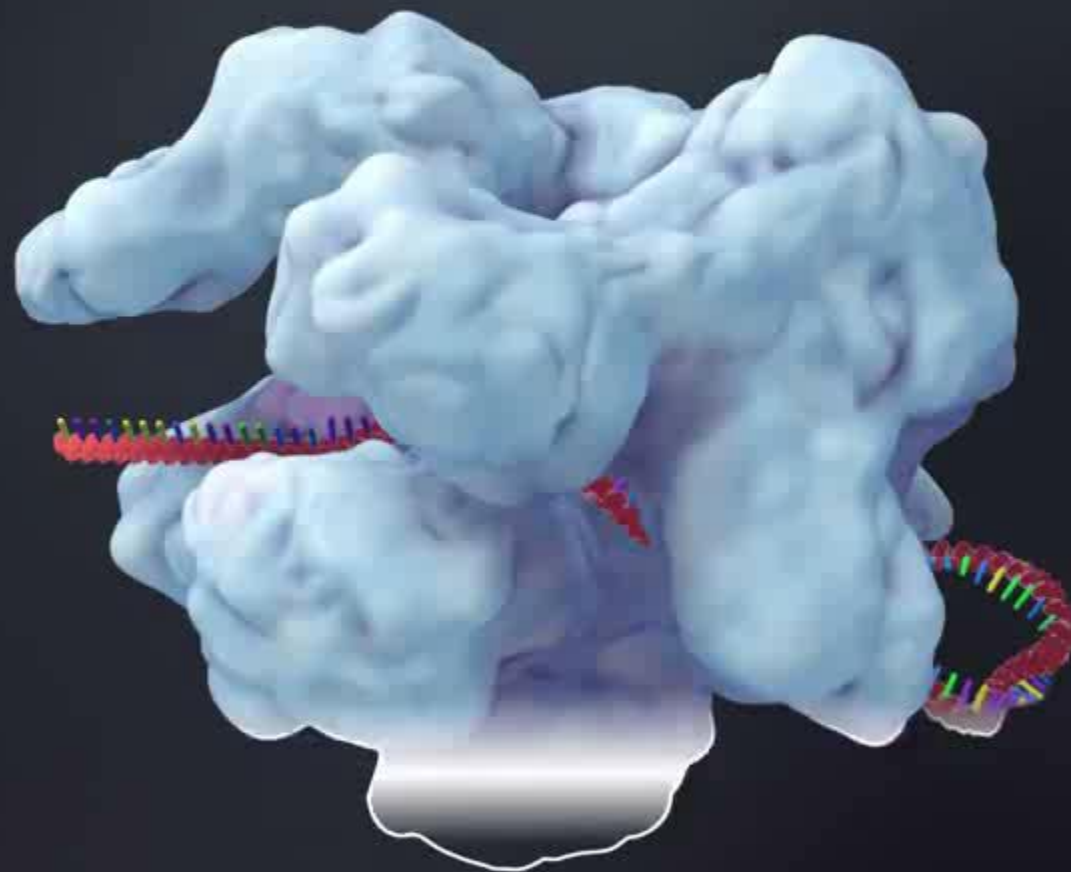


- USA törzskönyvezett

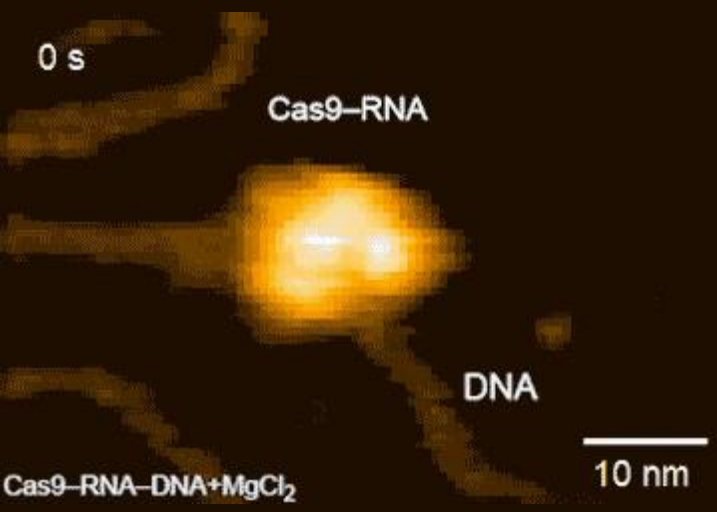




agtc



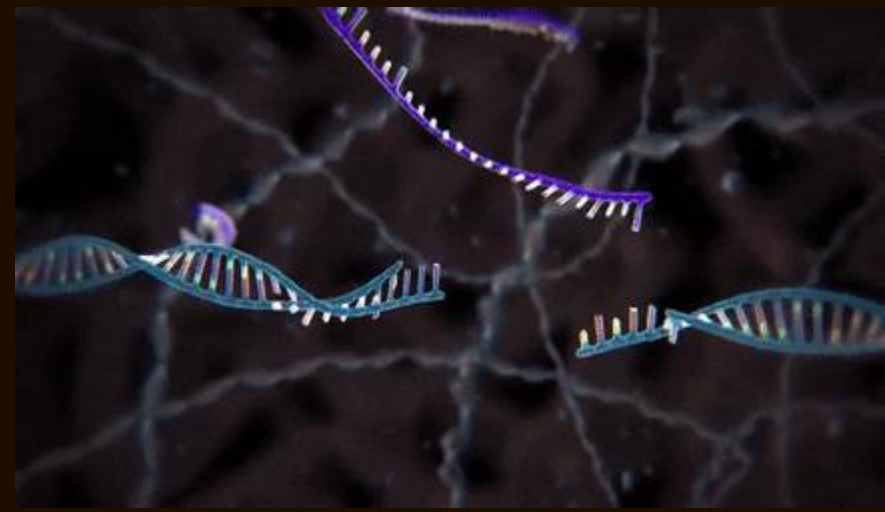
CRISPR- Cas-9 Rendszer



PONTMUTÁCIÓ KORREKCIÓ



GÉNKORREKCIÓ





KÉTARCÚ GÉNEK

