

Übung

Name des Studierenden:

Datum:

Einführung

Bitte bereiten Sie folgende Probleme vor der Übung am Mittwoch. Die Klausur wird ähnliche Probleme haben (s. auch Probleme in den ersten zwei Übungen). Während matlab kein Prüfungsgegenstand ist, sind die in dem matlab-Tutorial besprochenen Themen prüfungsrelevant.

1 Polygene Krankheiten

Erkrankte Geschwisterpaare In dieser Übung wollen wir die erste publizierte affected-sib-pair-Analyse durcharbeiten. Für ein zufällig gewähltes Locus ist eine zufällige Segregation zu erwarten:.

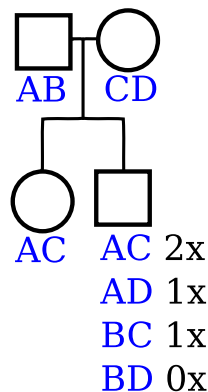


Abbildung 1: Zufällige Segregation.

- kein elterliches Allel gemeinsam: $1/4$ (AC – BD)
- ein elterliches Allel gemeinsam: $1/2$ (AC – AD und AC – BC)
- zwei elterliche Allele gemeinsam $1/4$ (AC – AC)
- Im Allgemeinen (ungeachtet des genetischen Modells) ist eine Abweichung von den Häufigkeiten $1/4 - 1/2 - 1/4$ dafür, dass ein Geschwisterpaar 0 – 1 – 2 elterliche Allele gemeinsam haben

Die ASP-Analyse prüft auf eine Abweichung von diesem Muster.

Beim Diabetes Typ 1 kommt es aufgrund einer Autoimmunreaktion zur Zerstörung der Beta-Zellen der Bauchspeicheldrüse, welche normalerweise das Insulin produzieren. Eine Reihe von Studien zeigten eine Assoziation von bestimmten HLA-Typen¹ mit dem Diabetes mellitus Typ 1. Das HLA-System verfügt über sehr viele Allele, so dass die Identifikation von Identität durch Abstammung (wie in der Abbildung) häufig möglich ist. Daher untersuchten Cudworth und Woodrow² HL-A-Haplotypen bei einer Reihe von Familien mit zwei oder mehr vom Diabetes mellitus Typ 1 betroffenen Geschwistern.

¹Das humane Leukozytenantigen-System (HLA-System, HL-Antigene, engl. Human Leukocyte Antigene) ist der Name des humanen Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC). Unterschiedliche HLA-Allele sind mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen assoziiert.

²Cudworth AG, Woodrow JC (1975) Evidence for HL-A-linked genes in "juvenile" diabetes mellitus. British Medical Journal 3:133–135.

Aufgabe: Bestimme die Anzahl Geschwisterpaare mit jeweils 0,1 oder 2 IBD-Allele. Berechne die erwarteten Anteile unter der Voraussetzung, dass die HL-A Allele keine Verbindung mit dem Diabetes haben. Verwende den χ^2 -Test (s. unten), um die statistische Signifikanz der Ergebnisse zu prüfen.

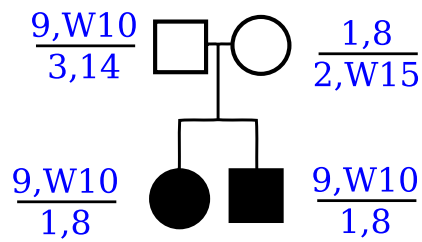


Abbildung 2: Familie mit zwei diabetischen Kindern mit Angabe des HLA-Haplotyps (die zwei Loci sind durch Komma getrennt). Es liegt eine Identität durch Abstammung (identity by descent, IBD) für zwei Allele vor.

<i>Familie</i>	<i>Kind #1</i>	<i>Kind #2</i>	Anzahl gemeinsamer Haplotypen (0–1–2)
1	2,12 / 2,12	2,12 / 2,12	
2	W28,W18 / -,W10	W28,W18 / -,W10	
3	2,12 / 9,8	2,12 / 9,8	
4	2,7 / 9,14	2,7 / 9,14	
5	11,W22 / 1,8	11,W22 / 2,8	
6	-,W10 / 1,8	-,W10 / 1,8	
7	3,7 / 3,W10	1,17 / 3,W10	
8	9,5 / 2,W15	9,5 / 2,W15	
9	2,W10 / 10,8	2,W10 / 9,W5	
10	2,W15 / 11,W18	2,W15 / 11,W18	
11	W28,W22 / 9,W18	W28,W22 / 9,W18	
12	2,W15/2,W10	2,W15/2,W10	
13	2,8/11,7	1,8/9,14	
14	-,12/-,W18	-,12/-,W18	
15*	1,8/2,27	1,8/2,27	
16	2,W15/1,8	2,W15/1,8	
16	W29,12/1,8	2,W15/1,8	
16	W29,12/1,8	2,W15/1,8	
17	1,8/W29,8	1,8/W29,8	
17	1,8/W29,8	2,12/W29,8	
17	1,8/W29,8	2,12/W29,8	
17	2,12/W29,8	2,12/W29,8	
17	2,12/W29,8	1,8/W29,8	
17	1,8/W29,8	2,12/W29,8	

Tabelle 1: Daten von Tabelle 11, Cudworth und Woodrow (1975). *) In dieser Familie war der Elternteil, welcher den Haplotyp 1,8 verebte hatte, verstorben, so dass IBD und IBS nicht zu unterscheiden waren. Daher ist hier 1 gemeinsames Allel zu zählen. Familie 16 hatte drei betroffene, Familie 17 vier betroffene Kinder.

Insgesamt sind 24 Geschwisterpaare in der Tabelle eingetragen. Was ist die erwartete Verteilung der Paare mit 0, 1 und 2 gemeinsamen IBD-Haplotypen unter der Nullhypothese?

Erwartete Zahlen von Geschwisterpaaren			
IBD-Allele	0	1	2
Beobachtete Zahlen von Geschwisterpaaren			
IBD-Allele	0	1	2

Der χ^2 -Wert lässt sich nun berechnen mit der Formel (O_i beobachtet, E_i erwartet):

$$\chi^2 = \sum_{i=0}^2 \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

p -Werte für eine χ^2 -Verteilung mit zwei Freiheitsgraden finden sich in der folgenden Tabelle:

	p -Wert			
	.05	.025	.01	.001
χ^2	5.99	7.38	9.21	13.82

Fragen

Liegt eine signifikante Kopplung an den HL-A-Lokus nach der ASP-Methode vor?

Was könnten die Gründe sein, dass der HL-A-Haplotyp nicht bei jedem erkrankten Geschwisterpaar übereinstimmt?

Warum setzt die ASP-Methode eine Kenntnis des genetischen Modells bzw. des Vererbungsmodus nicht voraus? Vergleichen Sie sie mit der lod-Wert-Analyse.

Doppelverdau-Problem

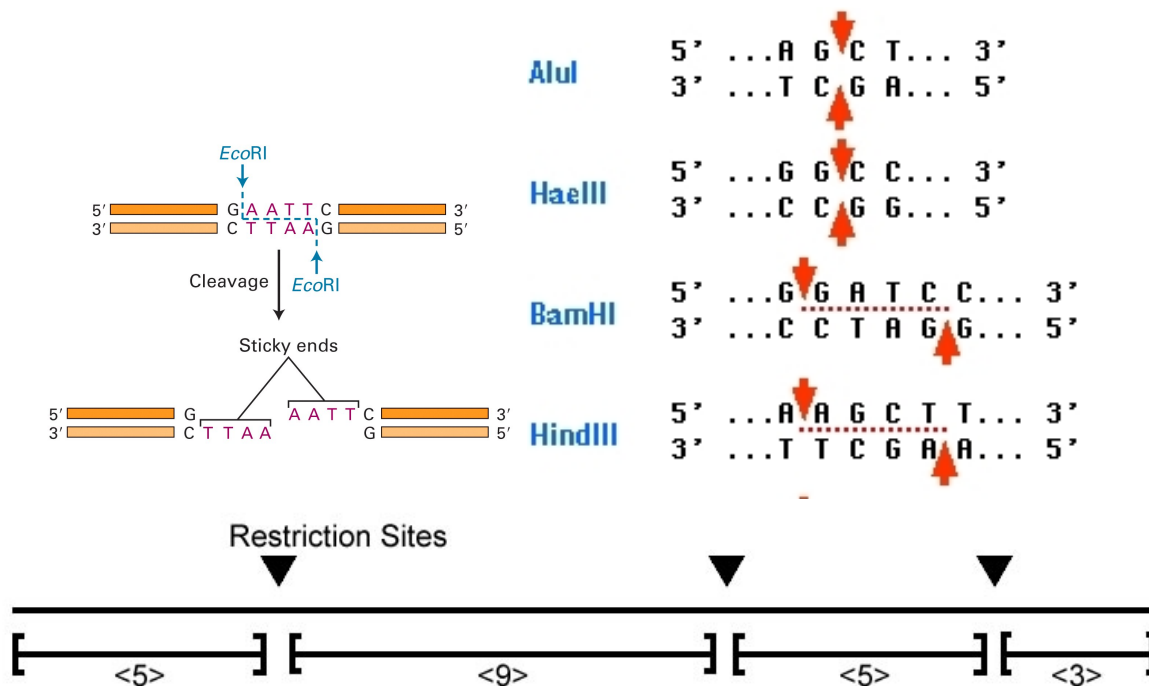


Abbildung 3: Restriktionsverdau. Links EcoRI. Rechts verschiedene Enzyme. Unten: Nach Verdau durch ein Restriktionsenzyme können je nach DNA-Sequenz mehrere Fragmente entstehen.

Das Doppelverdau-Problem:

- Dasselbe DNA-Segment mit zwei unterschiedlichen Restriktionsenzym verdauen (allein und in Kombination), d.h. man erhält drei Gruppen von Verdaufragmenten
- Gesucht wird eine Liste von Restriktionsstellen (Positionen, wo geschnitten wird) für beide Enzyme³

Aufgabe: Lösen Sie das Doppelverdauprobem für folgende Fragmentlängen:

- Restriktion durch Enzym A: 3, 10
- Restriktion durch Enzym B: 2, 5, 6
- Restriktion durch beide Enzyme: 1,2,4,6

Bemerkung: Die Länge der ursprünglichen DNA: 13

³Wir nehmen der Einfachheit halber an, dass es jeweils nur ein Fragment mit derselben Länge gibt.

2 Genomaufbau

Beschreiben Sie die Rolle der reversen Transkriptase und der Integrase im Lebenszyklus der LINEs

Wie könnten Alu-Sequenzen die Entstehung einer Translokation zwischen zwei Chromosomen begünstigen?

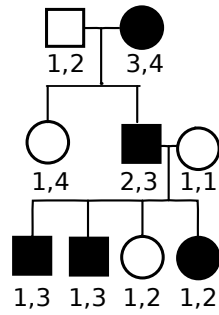
Definieren Sie ein Pseudogen und beschreiben Sie den Unterschied zwischen prozessierten und nichtprozessierten Pseudogenen

Definieren Sie die Begriffe ortholog, homolog und paralog

3 lod-Score

Definieren Sie den Begriff Haplotyp

Warum übersteigt die Rekombinationshäufigkeit nie 50%?



Bestimmen Sie die Phase, zählen Sie die Rekombinationen und berechnen Sie den lod-Score für folgende Familie für eine Rekombinationshäufigkeit von $\theta = 0.2$

4 RNA

Beschreiben Sie die Unterschiede zwischen DNA und RNA. Nennen Sie und beschreiben Sie die Funktionen von mindestens 4 Arten von RNA

RNA-Sekundärstruktur

- G–C: drei Wasserstoffbrücken
- A–T: zwei Wasserstoffbrücken
- G–U: Eine Wasserstoffbrücke ("wobble pair" → Wackelpaar)

Bestimmen Sie, unter Beachtung folgender Bedingungen:

- Bilden Nukleotide i und j eine Wasserstoffbrücke, dann $|i - j| > 1$
- Sind (i, j) und (p, q) zwei Wasserstoffbrücken (Paare von Nukleotiden), wobei $i < p < j$, dann gilt $q < j$

die gültigen Strukturen für die RNA-Sequenz AACUGAUAGC. Welche Struktur ist die energetisch günstigste?

Beschreiben Sie die Funktionen von Drosha, Dicer und den Argonaut-Proteinen

5 Mutationen

Beschreiben Sie die Folge der Mutation c.723_724insT

Beschreiben Sie die Folge der Mutation c.921delA

Welche der folgenden ist eine Nonsense-Mutation? ein Missense-Mutation? p.G107C, pG107X

Beschreiben Sie den Unterschied zwischen stillen Mutationen, konservativen und nichtkonservativen Aminosäuresubstitutionen