



VARIABILIDADE GENÉTICA HUMANA

RIB0102: Genética Molecular

Aparecida Maria Fontes

Ribeirão Preto – Agosto / 2024

aparecidamfontes@usp.br



HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE
DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO - USP

BIBLIOGRAFIA:

- ❑ Genética Médica. Thompson & Thompson. Nussbaum, McInnes e Willard. (2016), 8ª Edição. Editora Elsevier.
- ❑ Genética Médica. Schaefer & Thompson Jr. (2015). 1ª Edição. Editora Artmed.
- ❑ Genetics: from gene to genomes. Hartwell, Goldberg, Fischer e Hood. (2018). 6ª Edição. Editora McGraw Hill.
- ❑ The Human Genome in Health and Disease: A Story of four letters. Samuelson, T. (2019). 1ª Edição. Editora CRC.
- ❑ Managing Health in the Genomic Era. Henrich, V.C.; Orlando, L.A. And Shirts, B.H. (2020). 1ª Edição. Editora Elsevier e Academic Press.

Principais Tópicos

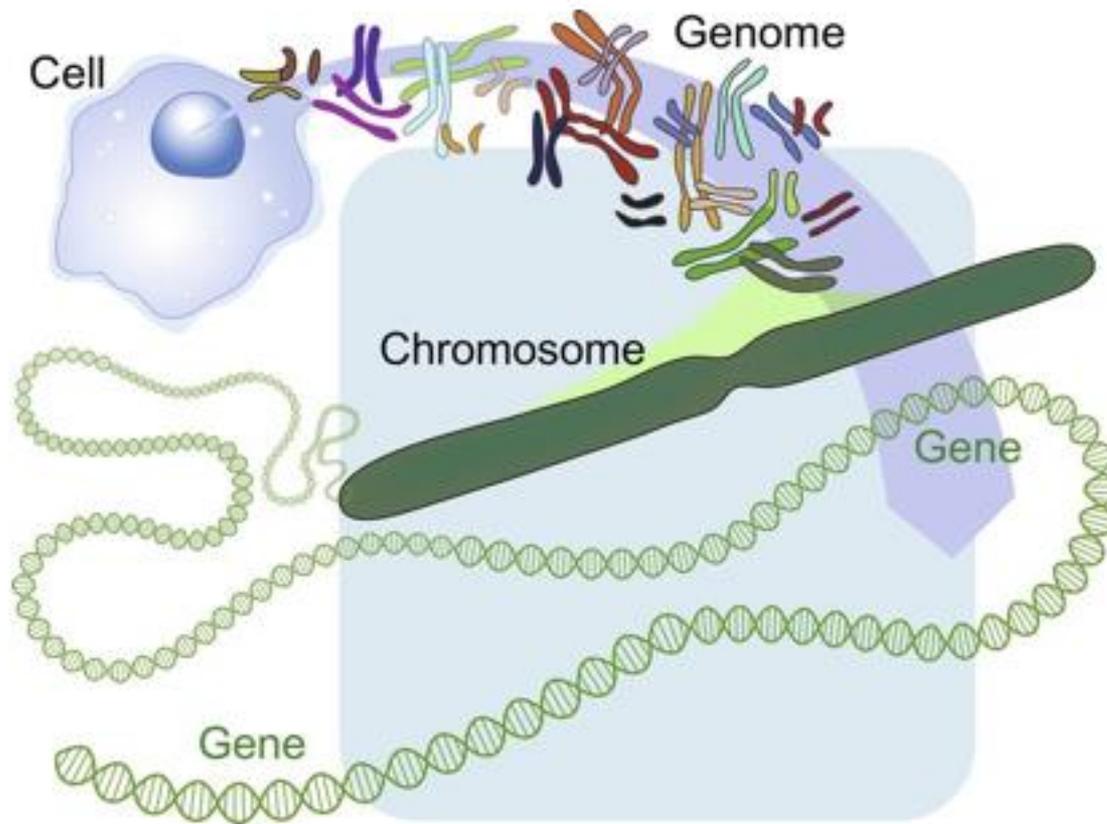
Parte 1

1. Variação genética individual: SNV e SNP
2. Heterogeneidade alélica x de *locus*
3. Marcadores informativos de ancestralidade
4. Sequências repetidas no genoma humano
5. Variação genética individual: variação estrutural – *STR* e *VNTR*
6. Genética *forense*: microsatélite
7. Diversidade genética humana
8. Origem do homem moderno

Parte 2

9. Exercícios

Relação: Gene e Genoma



A genética estuda o gene específico ou variante gênica e a genômica refere-se a todos os genes e como eles se interagem

A SIMILARIDADE DO GENOMA
DE DUAS PESSOAS É 99,9%

Diferenças em 6.000.000 nt

Relação: Mutação e Diversidade Genética



1. Variação genética individual: SNV e SNP

A terminologia **variante** não leva em consideração a frequência e normalmente é expressa como variante de nucleotídeo único (SNV).

Em genética de populações um **polimorfismo** ocorre quando o alelo mais comum tem uma frequência menor do que 99% e é expressa em polimorfismo de nucleotídeo único.

O conceito de polimorfismo não depende do tipo de mutação que o causou, do local onde ele está presente ou se ele tem efeito fenotípico sobre o indivíduo. Depende exclusivamente de sua frequência na população.

1. Variação genética individual: SNV e SNP

Dados de 2018 mostram que em humanos foram mapeados 700 milhões de SNV (700×10^6 SNVs). As SNVs são cerca de 20 vezes mais frequentes que SNPs.

Das 700 milhões de variantes, 37 milhões são variantes comuns presentes em mais que 1% da população e portanto são classificadas como SNPs SNV (37×10^6 SNPs). Em 2007 = 3×10^6 SNPs.

Estima-se que o número de SNV entre dois indivíduos não relacionados seja cerca de 5 milhões.

1. Definição de Mutação, Variante e Polimorfismo

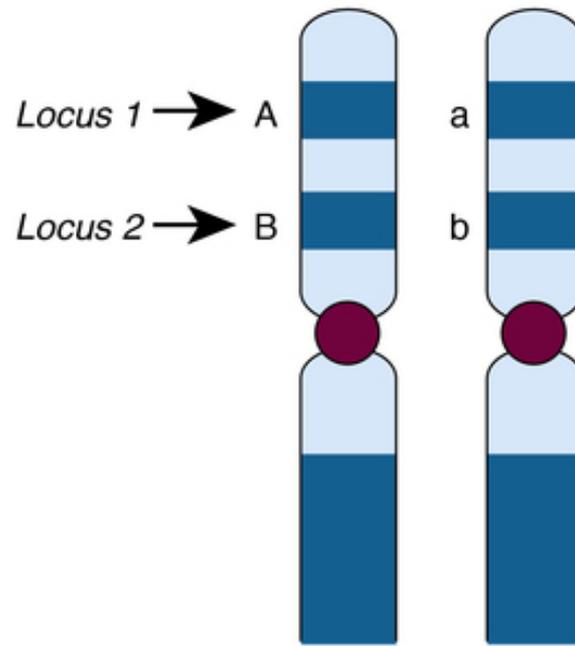
Variantes do genoma humano: dados recentes

Aganezov *et al* 2022, compararam 3202 genomas humanos na versão **T2T-CHM13** e revelaram mais de **2 milhões variantes** que eram desconhecidas.

Vollger *et al* 2022, compararam T2T-CHM13 e GRCh38 e identificaram **81 milhões de bp de duplicações** que eram desconhecidas. Além disso, mostraram que **75% dos genes duplicados** são epigeneticamente silenciados.

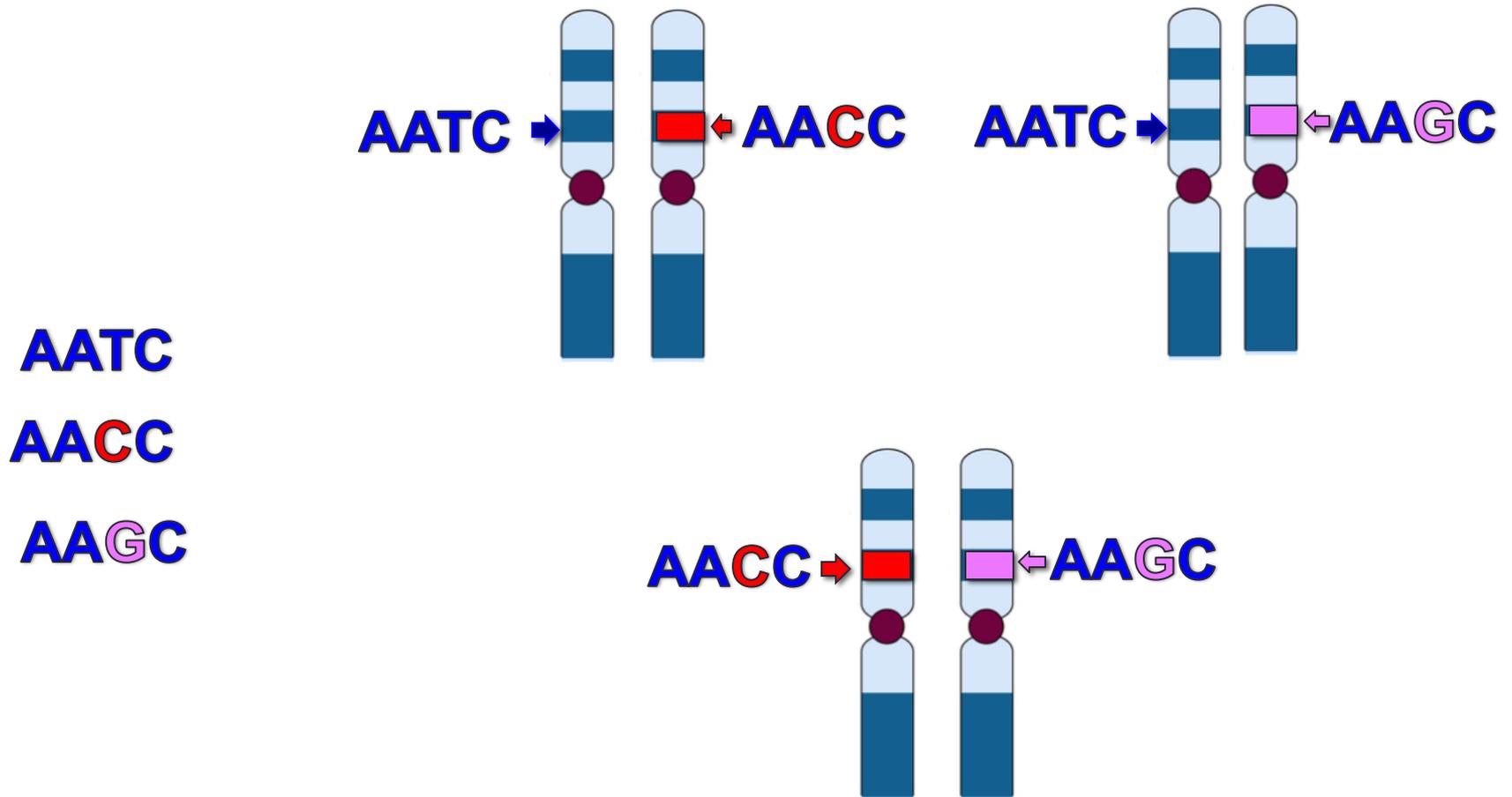
Altemose *et al* 2022, realizaram análise comparativa na região **centromérica do cromossomo X** em 1.599 indivíduos e identificaram que entre os africanos a diversidade genética é maior quando comparada às demais populações.

1. Variação genética individual: SNV e SNP



Aqui temos um par de cromossomos homólogos e dois *loci* 1 e 2 em um indivíduo heterozigoto para ambos *loci*. Ou seja, indivíduo com genótipo heterozigoto tem dois diferentes alelos que ocupam determinado *locus*.

1. Variação genética individual: SNV e SNP



Locus polimórfico com três alelos sendo segregados em uma família.
Os 3 indivíduos são heterozigotos para esse *locus*.

Exemplo SNP: Doença de Gaucher

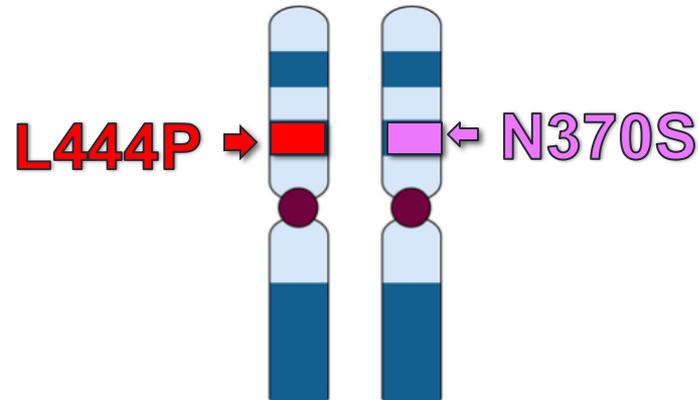
Doença de Gaucher



GBA⁺ (N370N e L444L)

L444P

N370S



Locus polimórfico com três alelos sendo segregados em uma família.

Os pais são heterozigotos para esse *locus* e seus alelos mutantes são diferentes.

O genótipo do filho(a) é heterozigoto composto.

HETEROGEIDADE ALÉLICA X HETEROGENEIDADE DE *LOCUS*

2. Heterogeneidade alélica x de *locus*

Heterogeneidade alélica - Fibrose cística: *locus* CFTR

Gene *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*)

Mutação:

ΔF508

G551D

G542X

621+1(G>T)

1717-1(G>A)

R117H

R553X

N1303K

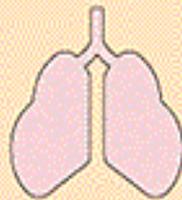
etc.

Gene Changes in Cystic Fibrosis

Mucus
Production
Gene



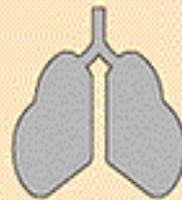
Normal



No Symptoms



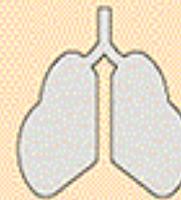
Mutation 1



Severe Symptoms



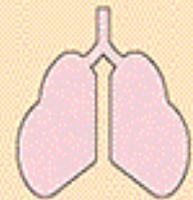
Mutation 2



Mild Symptoms



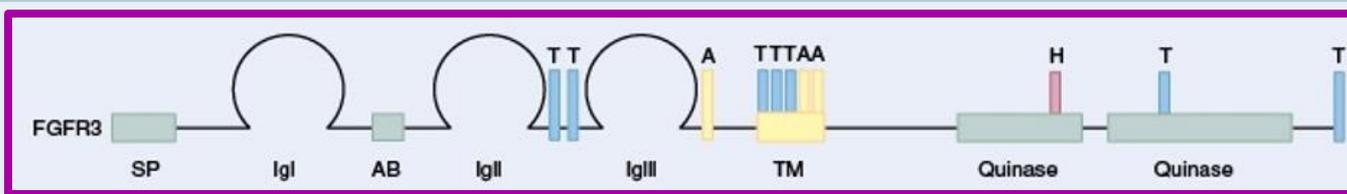
Mutation 3



No Symptoms

2. Heterogeneidade alélica x de *locus*

Heterogeneidade alélica - Acrondoplasia: *locus* FGFR3



Diferentes domínios funcionais

Hipocondroplasia (A)

Displasia tanatofórica (T)

Acondroplasia (H)



Membros moderadamente curtos



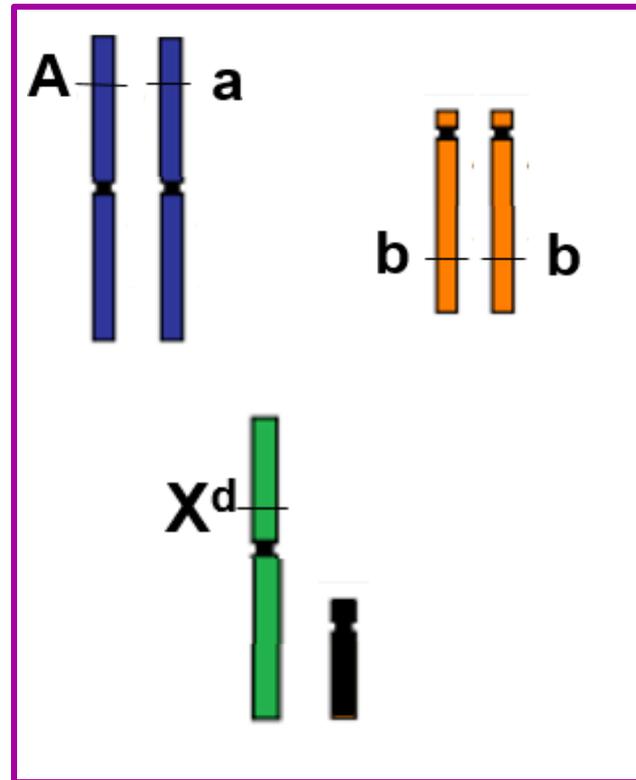
Letal
= a mais comum entre as displasias esqueléticas letais



Membros curtos em relação ao corpo e macrocefalia

2. Heterogeneidade alélica x de *locus*

Heterogeneidade de *locus* ou não alélica

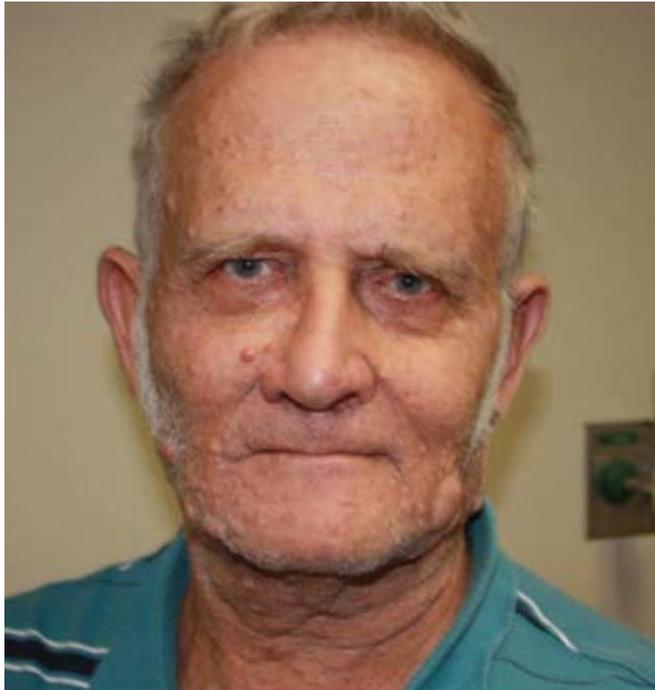


Diferentes *loci* resultam em um fenótipo similar.

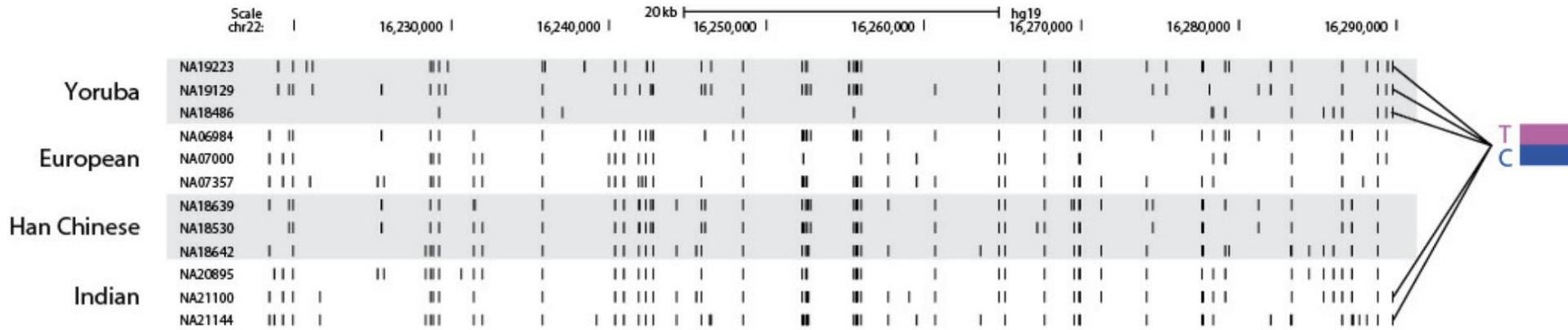
2. Heterogeneidade alélica x de *locus*

Heterogeneidade de *locus*: neurofibromatose

- ❑ Mutações em NF1, NF2 e SPRED1



1. Variação genética individual: SNV e SNP

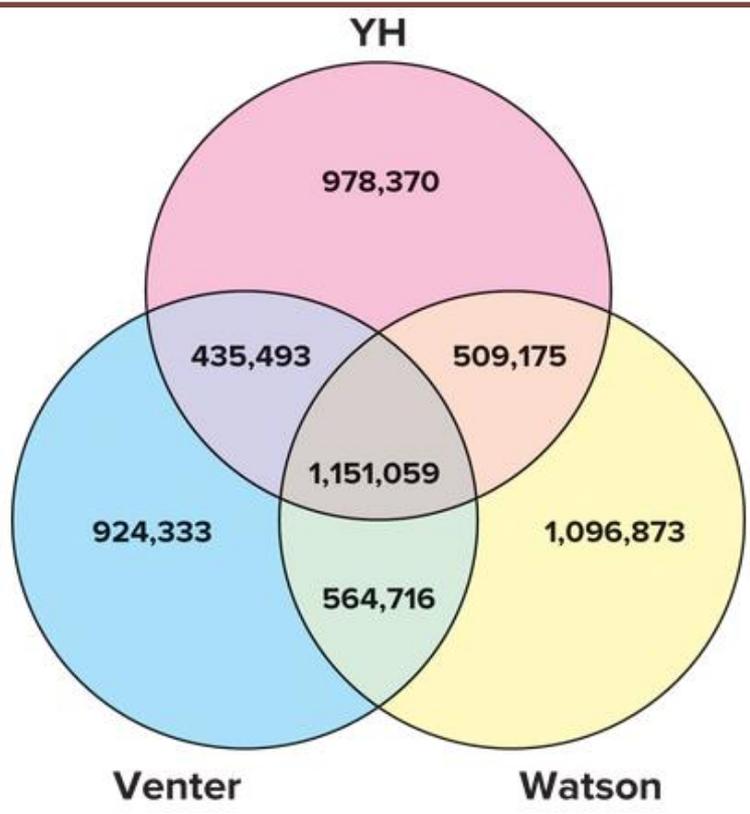


Mapeamento genômico de SNV. SNV são distribuídas ao acaso como ilustrado em uma região do cromossomo 22.

Análise comparativa de 12 indivíduos de 4 populações com relação à SNP. Cada barra representa situações onde um indivíduo tem pelo menos 1 alelo diferente do alelo do genoma referência.

À direita é mostrado um genótipo com mais detalhes em que T é a base no genoma referência .

1. Variação genética individual: SNV e SNP



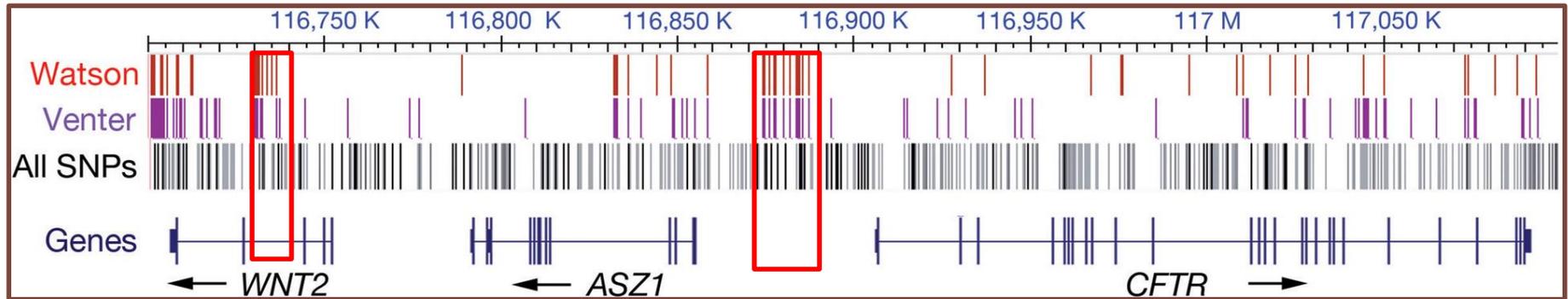
Os genomas de três indivíduos: James Watson, J. Craig Venter e um indivíduo chinês revela cerca de $5,6 \times 10^6$ SNVs diferentes em relação ao genoma referência do GenBank.

Cada genoma diplóide tem cerca de 1×10^6 SNPs não compartilhado com nenhum dos outros dois genomas.

Cerca de $2,6 \times 10^6$ SNPs são comuns entre os três genomas.

Variação do DNA extensa: permite distinguir os indivíduos dentro das espécies.

1. Variação genética individual: SNV e SNP



Distribuição de SNPs/SNVs em uma região de 400 kb do cromossomo 7, o qual contém o gene CFTR.

Os diferentes locais no genoma são heterozigotos, homozigotos para um único SNP/SNV usando o genoma referência humano.

Observa-se que em ambos genomas a maioria dos SNPs/SNVs ocorrem nas regiões de íntrons, ou nas regiões intergênicas.

3. Marcadores Informativos de Ancestralidade

A população mundial com 7 bilhões de indivíduos é derivada de subpopulações muito menores que até recentemente existiam como subpopulações separadas ou grupos étnicos com diferentes origens geográficas.

Forças evolutivas que influenciam na estrutura genética das populações

• FLUXO GÊNICO

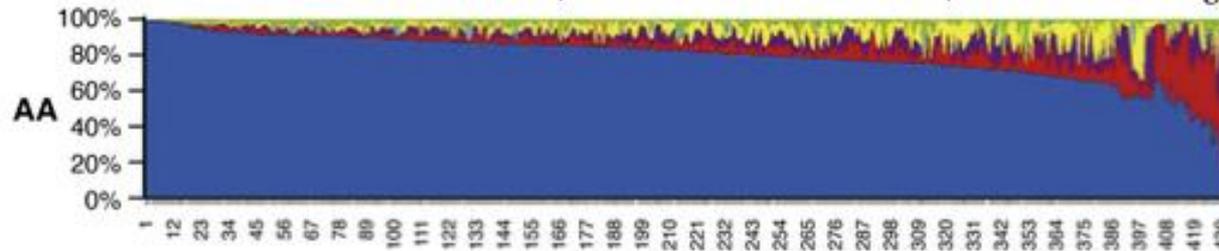
• SELEÇÃO NATURAL

• DERIVA GENÉTICA

• MUTAÇÃO

• RECOMBINAÇÃO

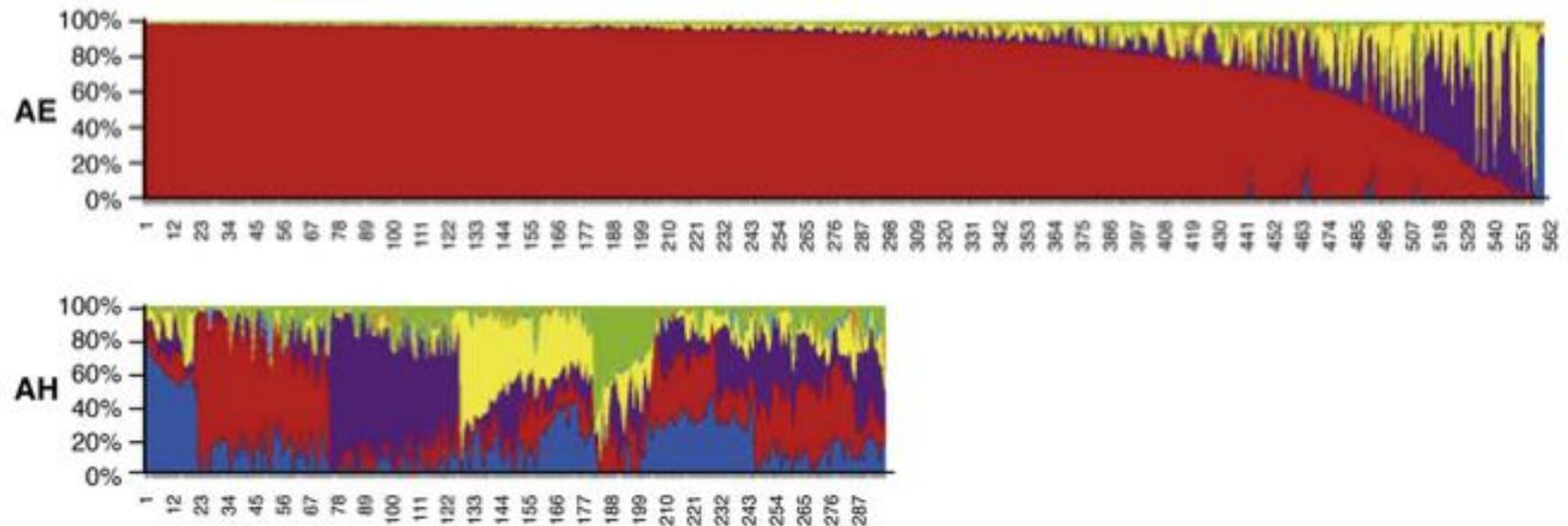
3. Marcadores Informativos de Ancestralidade



Hoje em dia, os alelos que mostram grandes diferenças nas frequências alélicas entre as populações originárias em diferentes partes do mundo são referidos como **marcadores informativos de ancestralidade**.

O gráfico acima mostra a ancestralidade de um grupo de americanos que se identificam como afro-americanos (AA). Cores diferentes indicam a origem geográfica diferente: África (**azul**), Europa (**vermelho**), Oriente Médio (**roxo**), América (**verde**), Ásia do extremo oriente (ciano) etc..

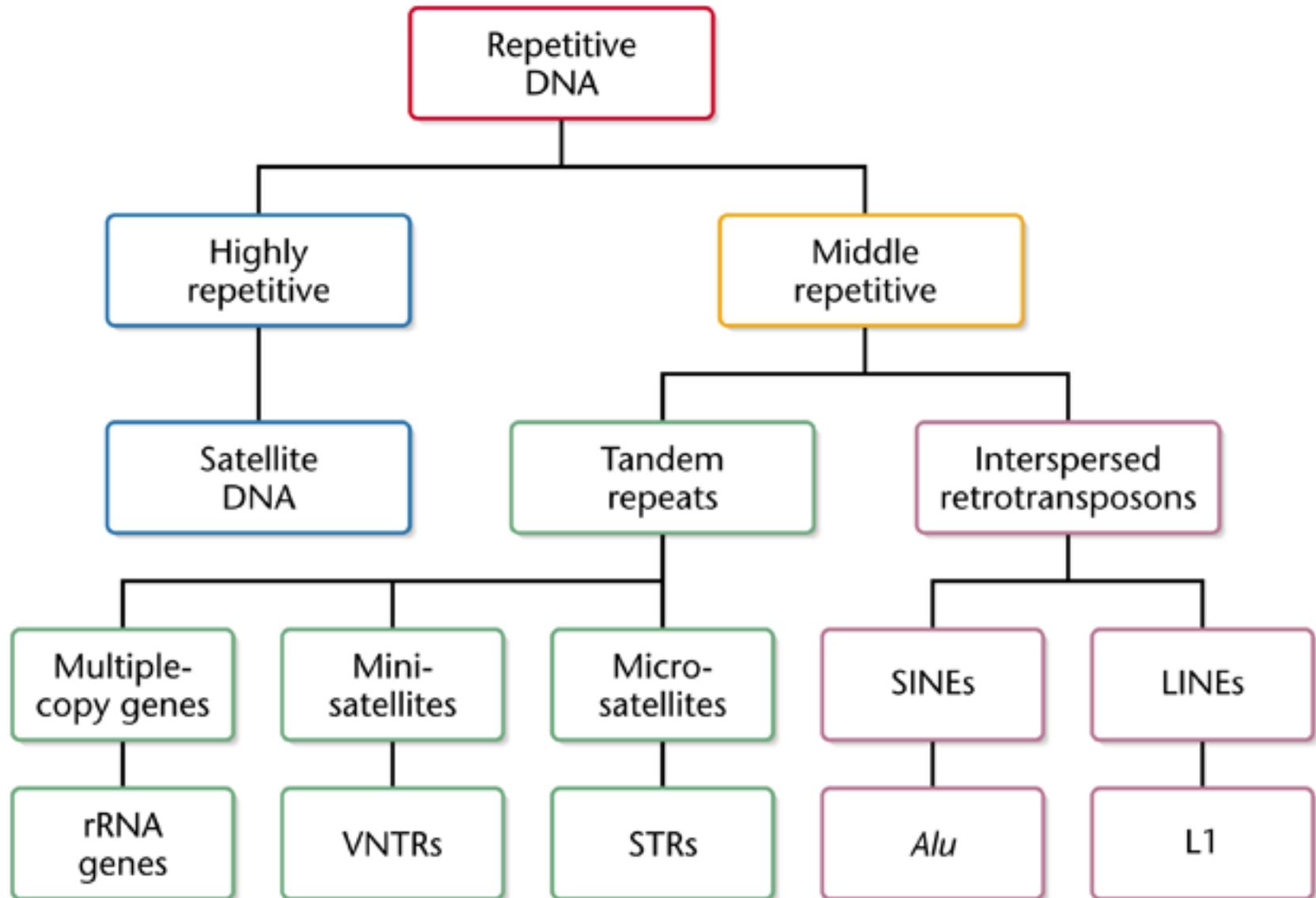
3. Marcadores Informativos de Ancestralidade



Ancestralidade de um grupo de americanos que se autoidentificam como americano-europeus (AE) e americanos hispânicos (AH).

Embora haja milhões de variantes com frequências alélicas diferentes que podem distinguir grupos populacionais distintos, a genotipagem de alguns SNPs em um indivíduo é suficiente para identificar a proporção provável de seu genoma que tem contribuição de seus ancestrais de diferentes populações continentais e inferir a provável origem geográfica dos ancestrais daquele indivíduo.

4. Sequências repetidas do genoma humano



4. Sequências repetidas no genoma humano

Algumas das sequências repetidas do genoma são móveis:
Elementos Transposon - 45% genoma

Element Type	Length	Copies in Genome	% of Genome
LINEs	1–6 kb	850,000	21
SINEs	100–500 bp	1,500,000	13
LTR elements	<5 kb	443,000	8
DNA transposons	80–300 bp	294,000	3
Unclassified	—	3,000	0.1

O Genoma humano tem 40 a 50 vezes mais DNA para elementos transposons do que DNA para genes funcionais. A maior parte desses elementos encontram-se inativos (silenciados). Ocasionalmente seu potencial de mobilidade pode ser ativado e resultar em efeito mutagênico.

4. Sequências repetidas do genoma humano

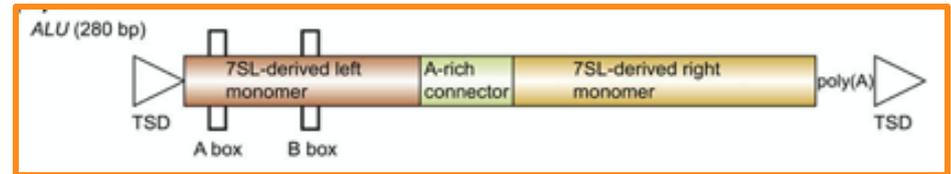
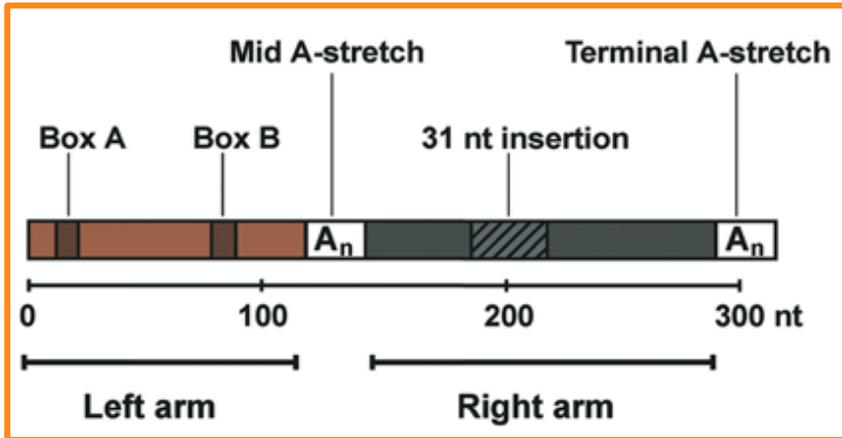
Genoma Humano: distribuição dos diferentes elementos

Repeat element	Total nucleotides	Fraction of genome
Nonrepeat fraction	1,534,775,888	48.8
LINE1	536,111,998	17.1
LINE2	115,120,085	3.7
SINE/Alu	321,968,603	10.2
SINE/MIR	87,678,939	2.8
LTR/ERV1	89,021,720	2.8
LTR/ERVL	59,920,359	1.9
<hr/>		
DNA	113,446,795	3.6
Satellite	78,362,451	2.5
Simple repeat	38,687,958	1.2

T
r
a
n
s
p
o
s
i
o
n
s

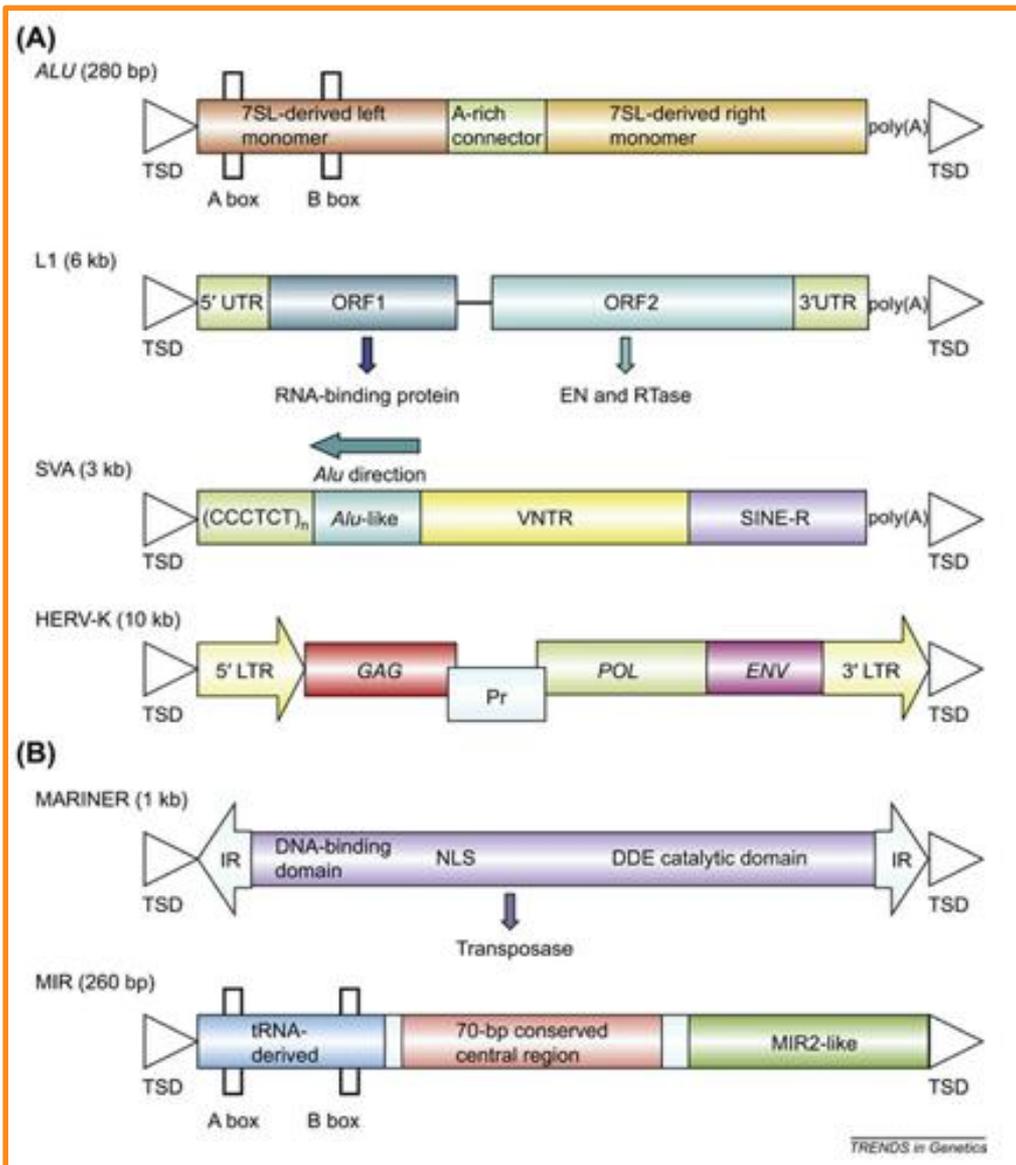
4. Genoma Humano: sequências repetidas - transposons

Sine (Alu): estrutura



A estrutura da sequência Alu está representada à esquerda e à direita. Contém dois braços. O braço à esquerda tem regiões **promotoras** internas (A e B) que controlam a **transcrição do RNA**. No *centro* e em uma das *extremidades* há sequências ricas em A. O braço à direita recebeu uma inserção de 31 nucleotídeos após um evento de duplicação.

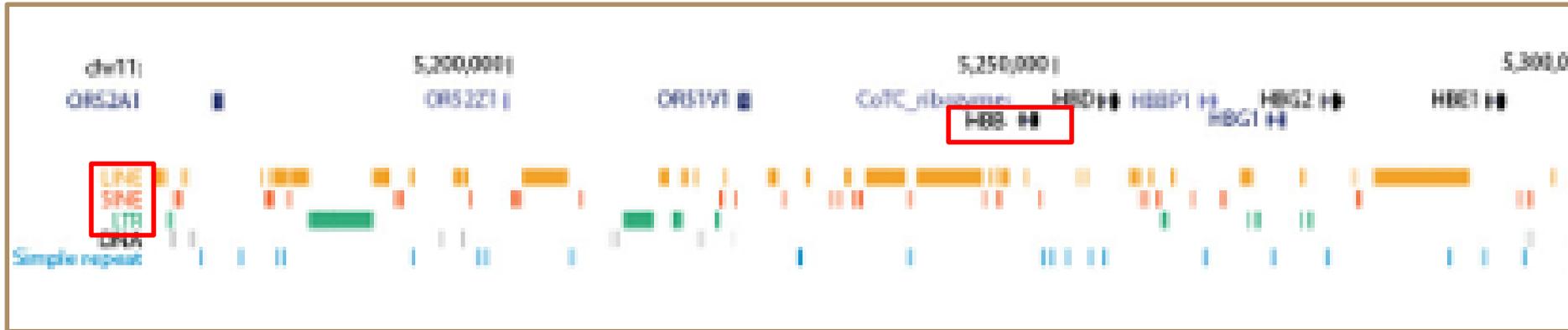
4. Sequências repetidas no genoma humano: transposons



A. Estrutura dos transposons que tornaram-se ativos a 6 milhões de anos atrás. **B.** Estrutura de transposons inativos.

4. Sequências repetidas do genoma humano

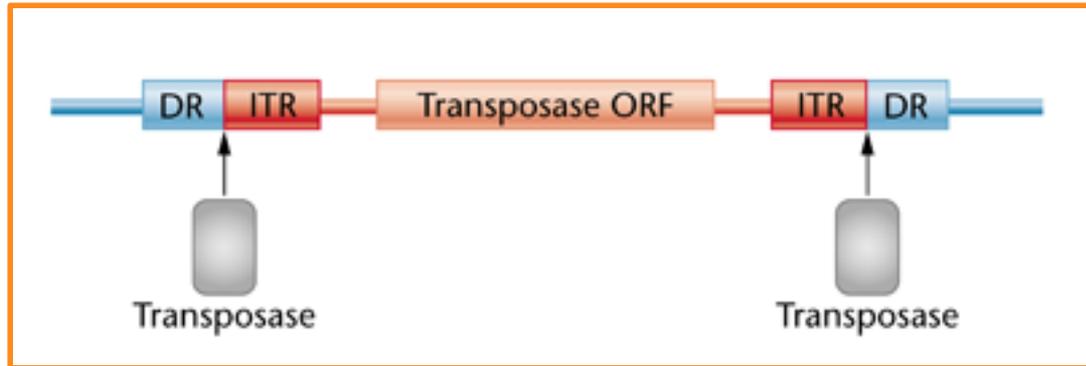
Genoma humano e a densidade de elementos repetidos



A figura mostra uma **região do cromossomo 11** que contém o *locus* da **β -globina** e a riqueza de **elementos repetidos**, sendo os transposons a classe mais abundante.

4. Sequências repetidas no genoma humano: transposons

Transposons de DNA e retrotransposons no genoma humano x atividade



silenciado

Types of Transposable Elements in the Human Genome

silenciado

DNA transposons



Pode ser ativado

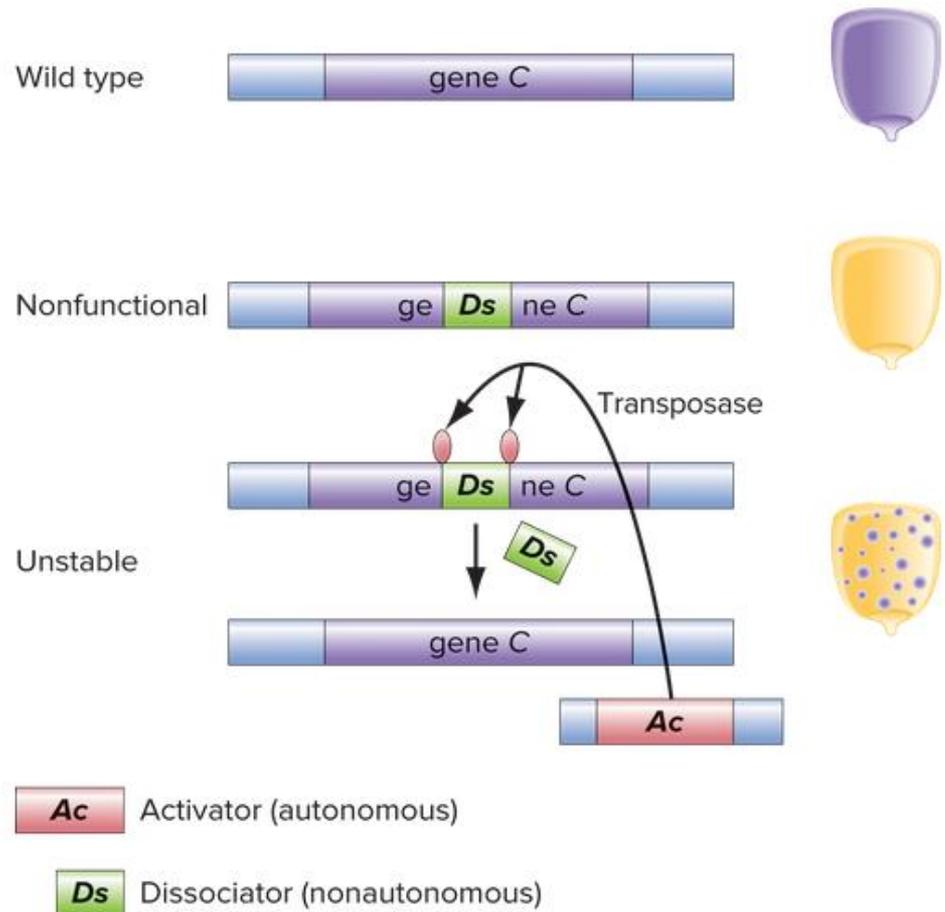
LTR retrotransposons (ERVs)



Pode ser ativado

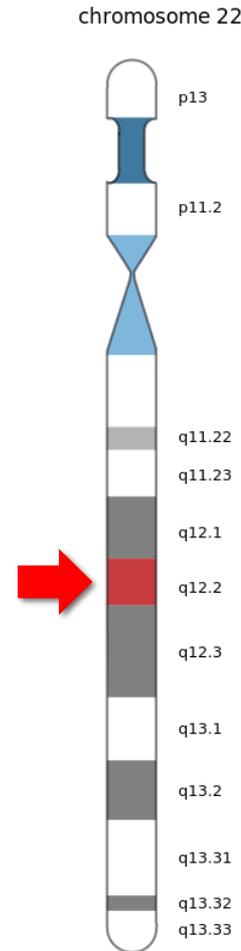
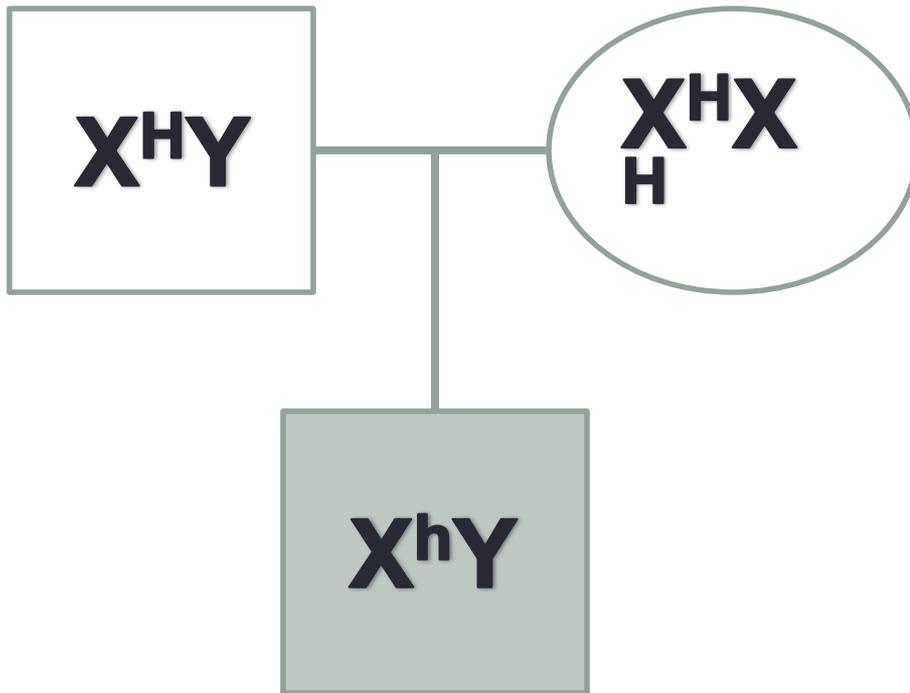
4. Transposons: Descoberta

Elementos Transposons: sequências móveis



4. Sequências repetidas no genoma humano: transposons

Line 1: Retrotransposon e doença genética

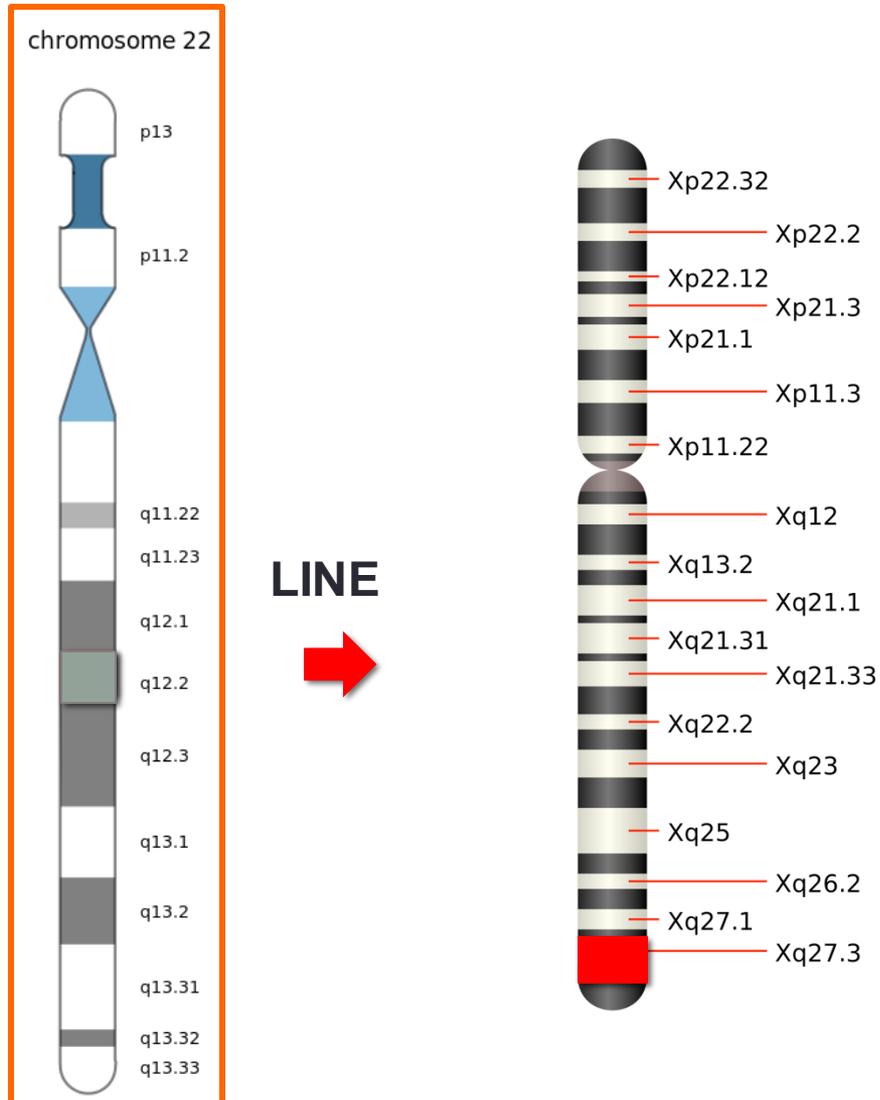


Cromossomo 22 de ambos pais tinham elemento LINE.

Kazazian, H. H., et al. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature* 332, 164–166 (1988)

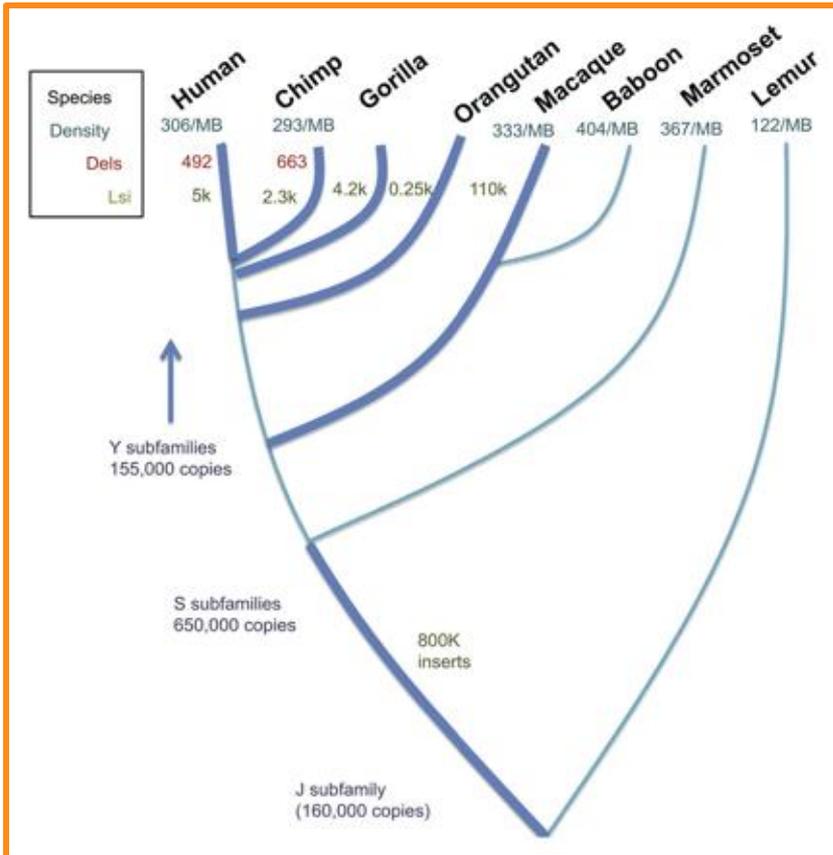
4. Sequências repetidas no genoma humano: transposons

Line 1: Retrotransposon e doença genética



4. Genoma Humano: sequências repetidas - transposons

Sine (Alu) x Evolução dos Primatas



Quando ocorreu a separação das linhagens chimpanzé e humanos há aproximadamente de 6 milhões de anos ocorreram cerca de 2.300 e 5.000 inserções de Alu-linhagem específica, respectivamente e fixaram-se em cada espécie.

Comparações das sequências Alu em neurônios de chimpanzés e humanos mostrou maiores níveis de edição de RNA em humanos. Isso sugere que a seleção natural favoreceu o aumento da edição RNA em Alu e pode constituir um mecanismo de informação alternativa que envolveu genes de neurônios em humanos.

5. Variação genética individual: estrutural

STR (microsatélite) x VNTR (minisatélite)

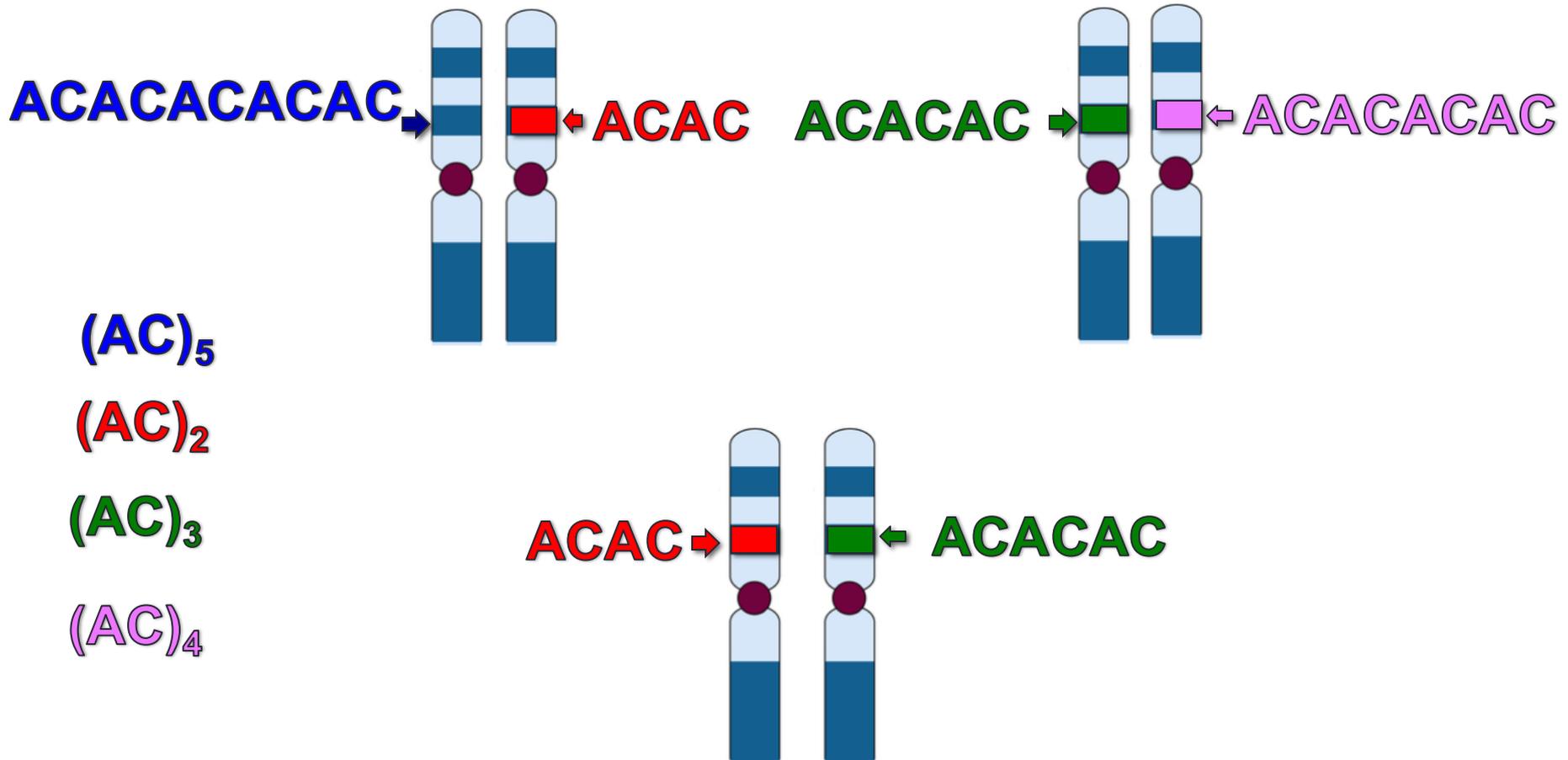
Microsatélite ou STR (*Short tandem repeats*): são sequências repetidas *in tandem* curtas, ou seja, constituídas por 2 a 6 bp e distribuídas ao longo do genoma.

Exemplo 5'-CA-3': pode aparecer 2 ou 40 vezes [(CA)_n] por *locus* e aparece ao longo do genoma a cada cerca de 10.000 bp.

Microsatélite ou STR: representam cerca de 3% do genoma humano e pode ser encontrado 1 em cada 20.000 nucleotídeos.

Microsatélite: podem ser encontrados em regiões codificadoras e estarem associados com doenças genéticas, como por exemplo, doença de Huntington.

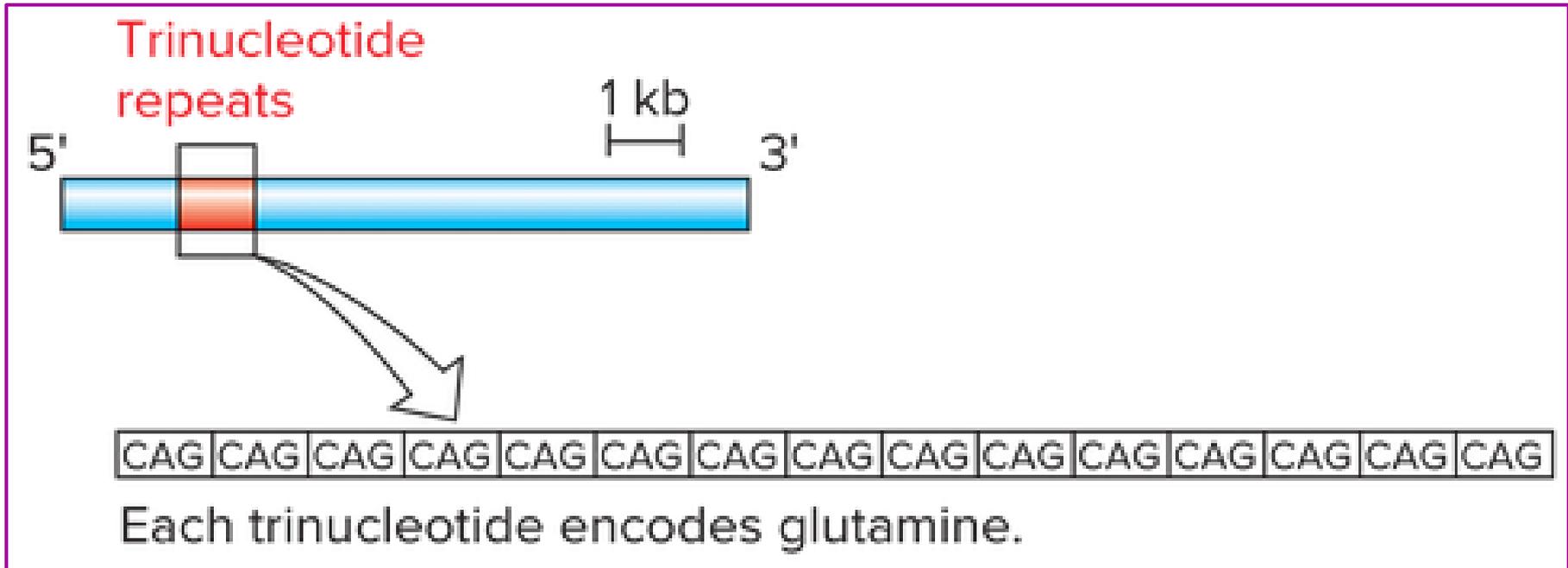
5. Variação genética individual: estrutural



Locus de microsatélite com quatro alelos sendo segregados em uma família. Os 3 indivíduos são heterozigotos para esse *locus*.

5. Variação genética individual: estrutural

Doença de Huntington: expansão do trinucleotídeo CAG

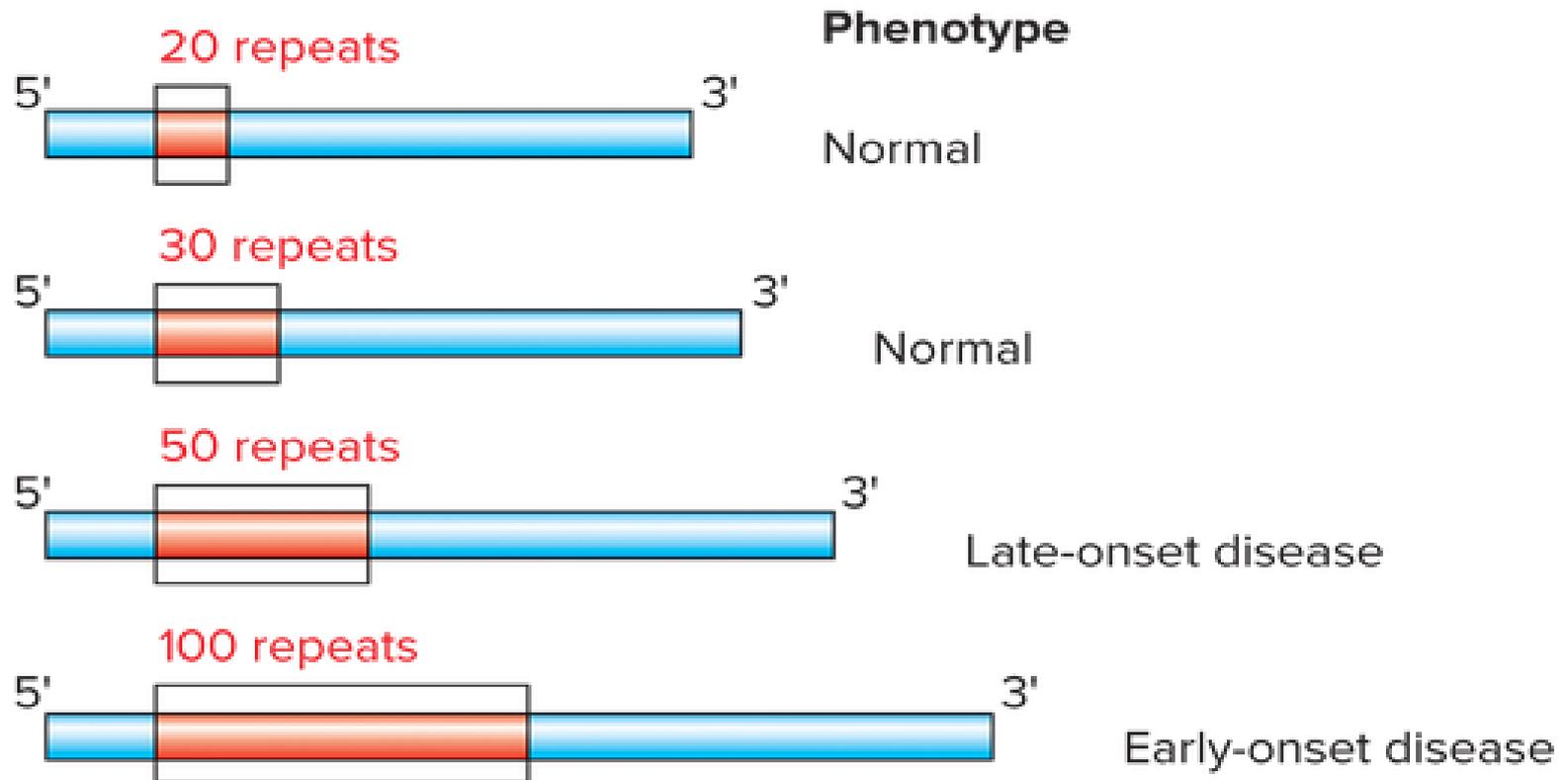


Na região codificadora 5': há uma sequência de 3 nt que codifica para glutamine e é repetida..

5. Variação genética individual: estrutural

Doença de Huntington: expansão do trinucleotídeo CAG

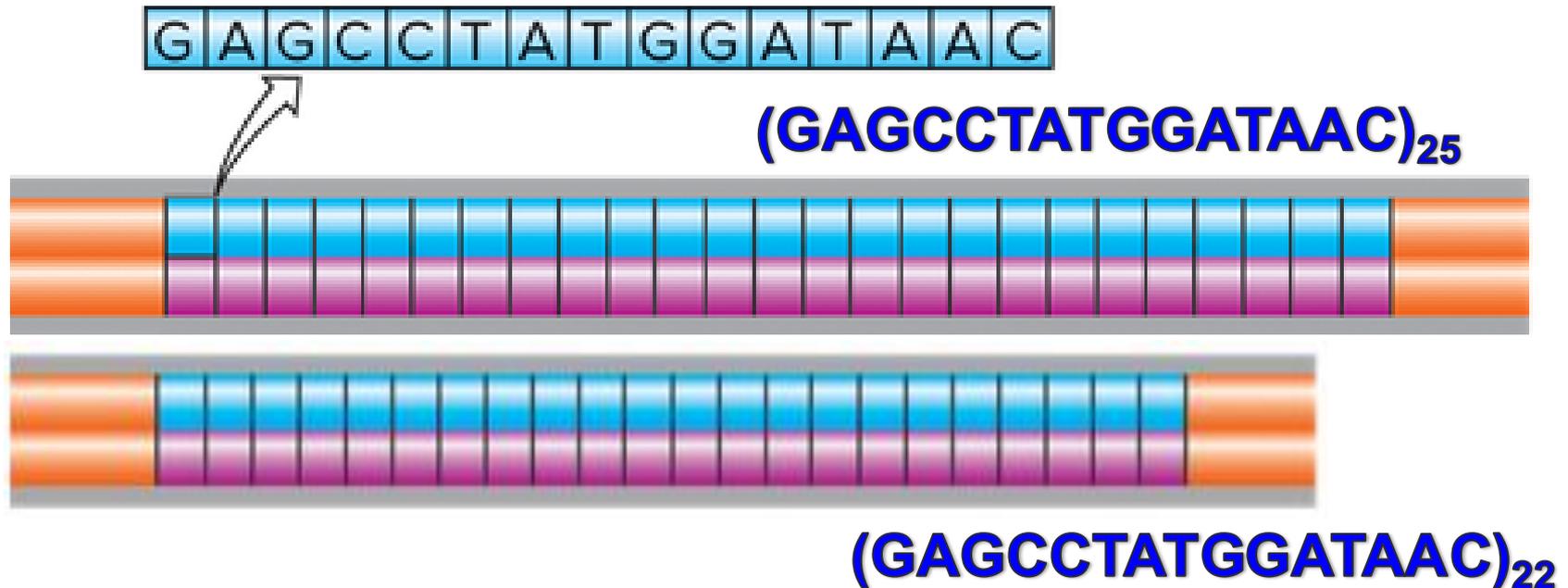
(b) Some alleles at the *HD* locus



5. Variação genética individual: estrutural

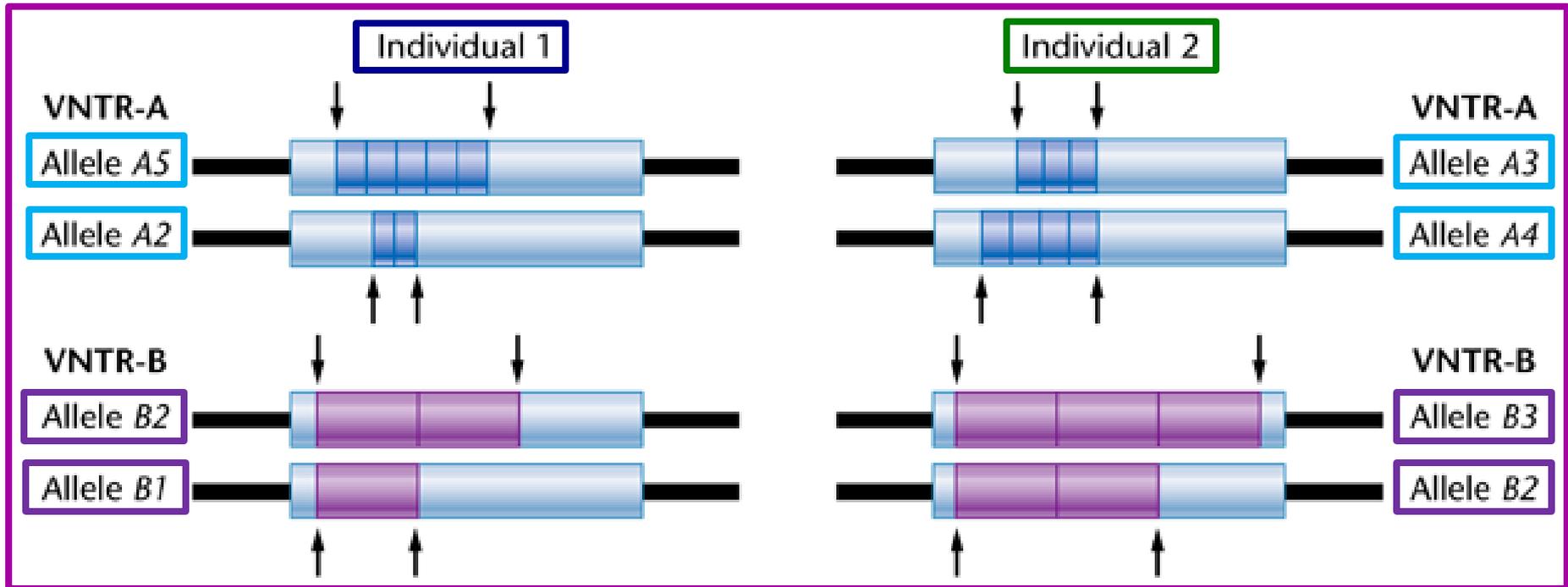
STR (microsatélite) x VNTR (minisatélite)

Minisatélite ou VNTR (*Variable nucleotide tandem repeats*): são sequências repetidas *in tandem* de número variável, constituídas por 10 a 100 bp e distribuídas ao longo do genoma.



5. Variação genética individual: estrutural

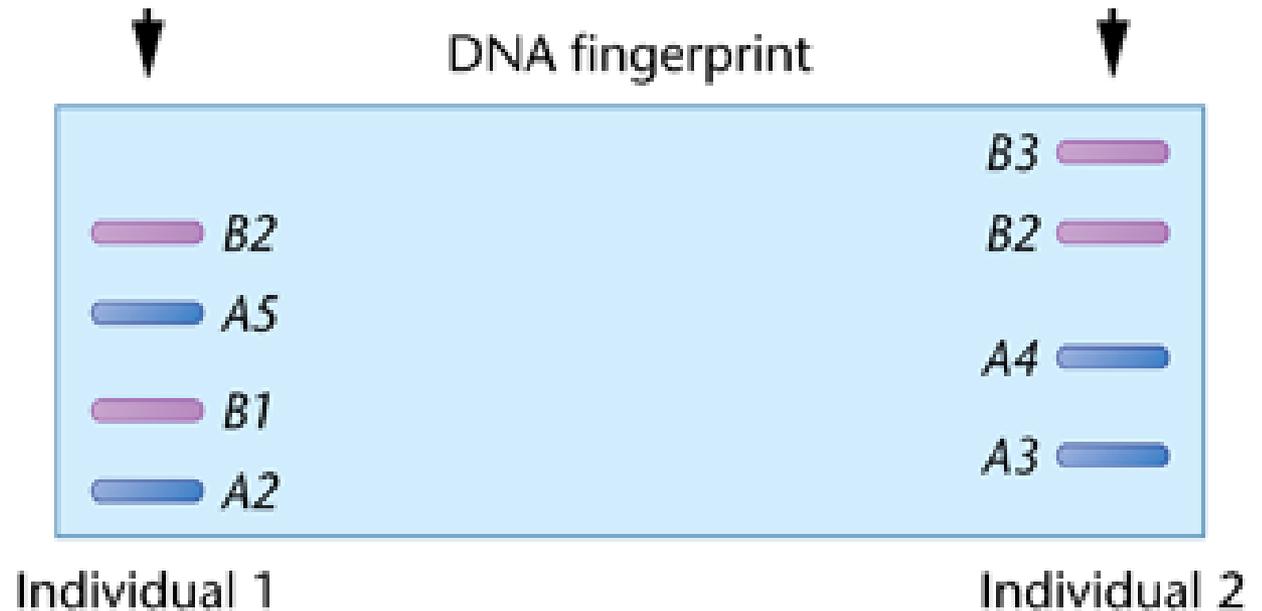
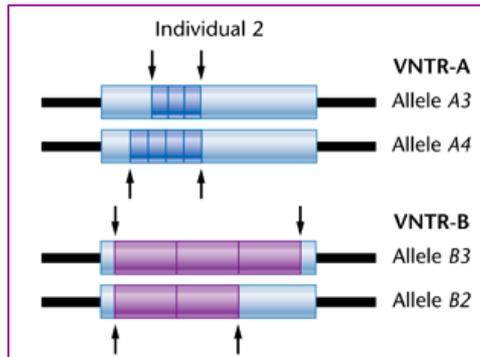
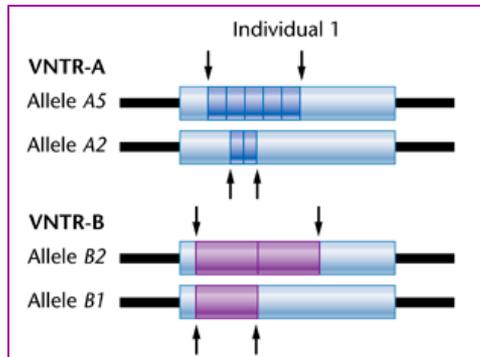
VNTR (minisatélite)



Dois *loci* VNTR para dois indivíduos. Alelos VNTR em dois *loci* (A e B) são mostrados para dois diferentes indivíduos. O número de repetições é variável e os alelos são identificados pelo número de repetições.

5. Variação genética individual: estrutural

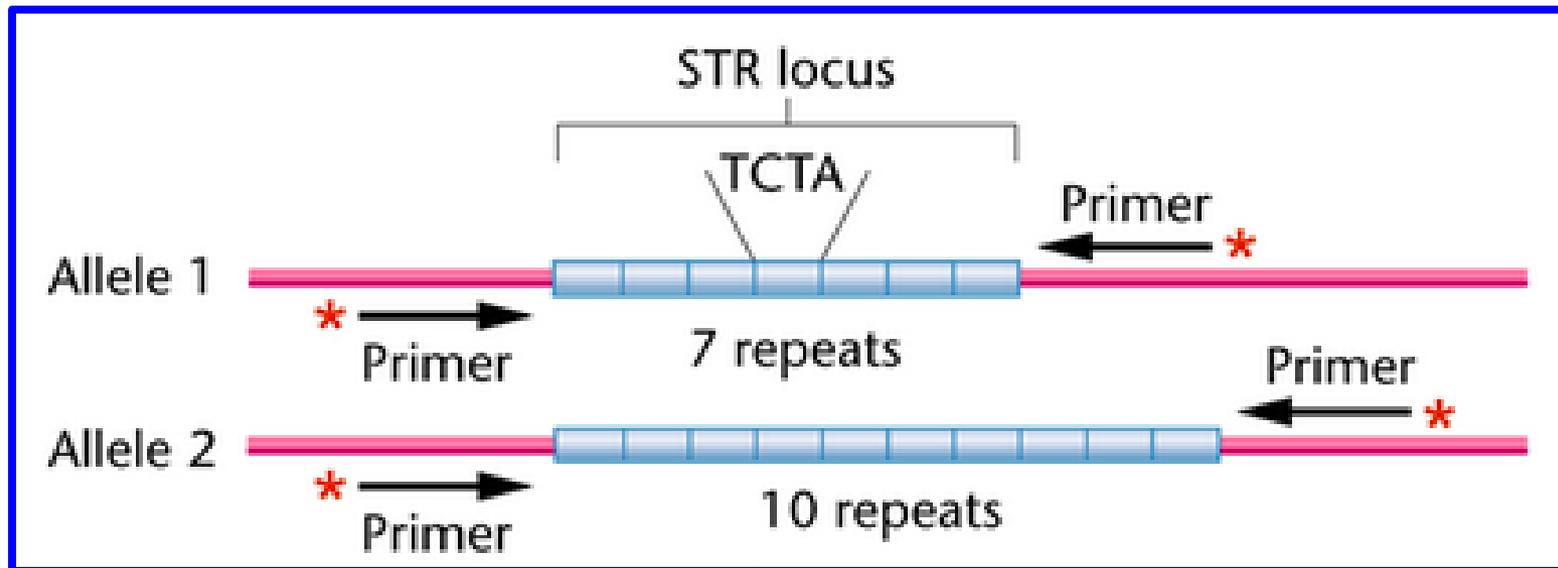
VNTR (minisatélite)



DNA *fingerprint* de dois *loci* VNTR para dois indivíduos. O número de repetições é variável e o padrão das bandas é diferente para cada indivíduo.

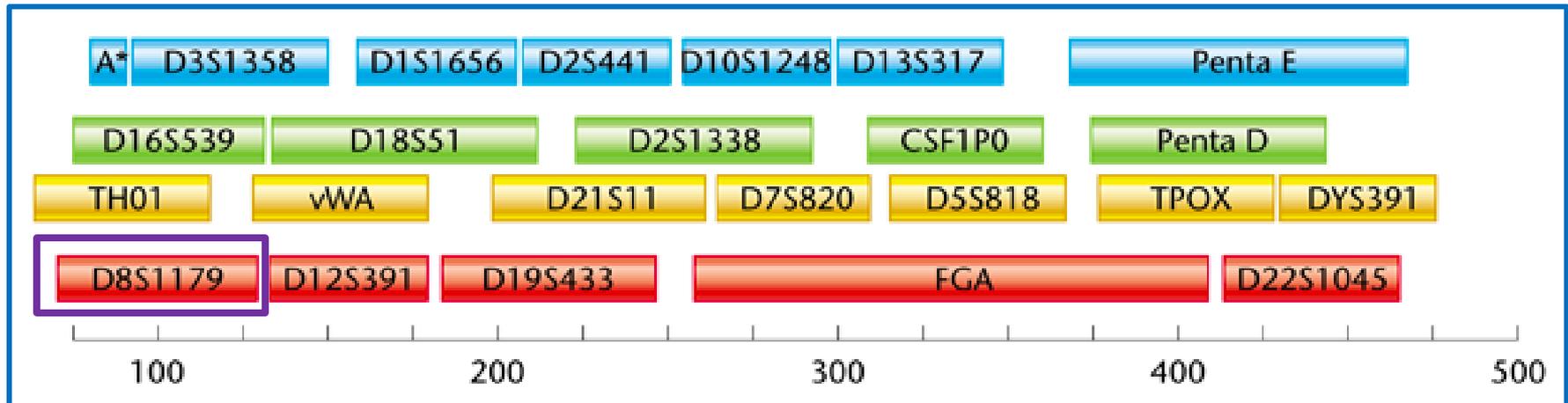
6. Genética forense: microsatélite

Amplificação por PCR de regiões do genoma conhecidas como microsatélite ou STR



O locus D8S1179 é constituído de 4 bases 5'- TCTA – 3' e o número de repetições pode variar de 7 a 20 vezes, dependendo do alelo. Na população são encontrados 19 possíveis alelos.

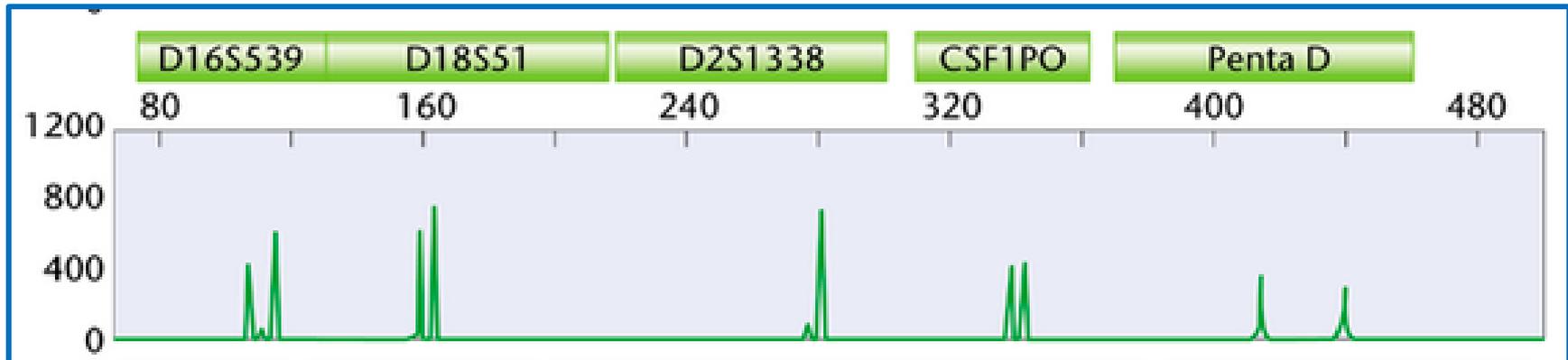
6. Genética forense: microsatélite



Comercialmente há 24 produtos STR disponíveis. EM USA, o FBI utiliza 20 *loci* STR. Na Europa são utilizados 12 STR aqui em Brasil alguns pesquisadores 13 STRs.

6. Genética forense: microsatélite

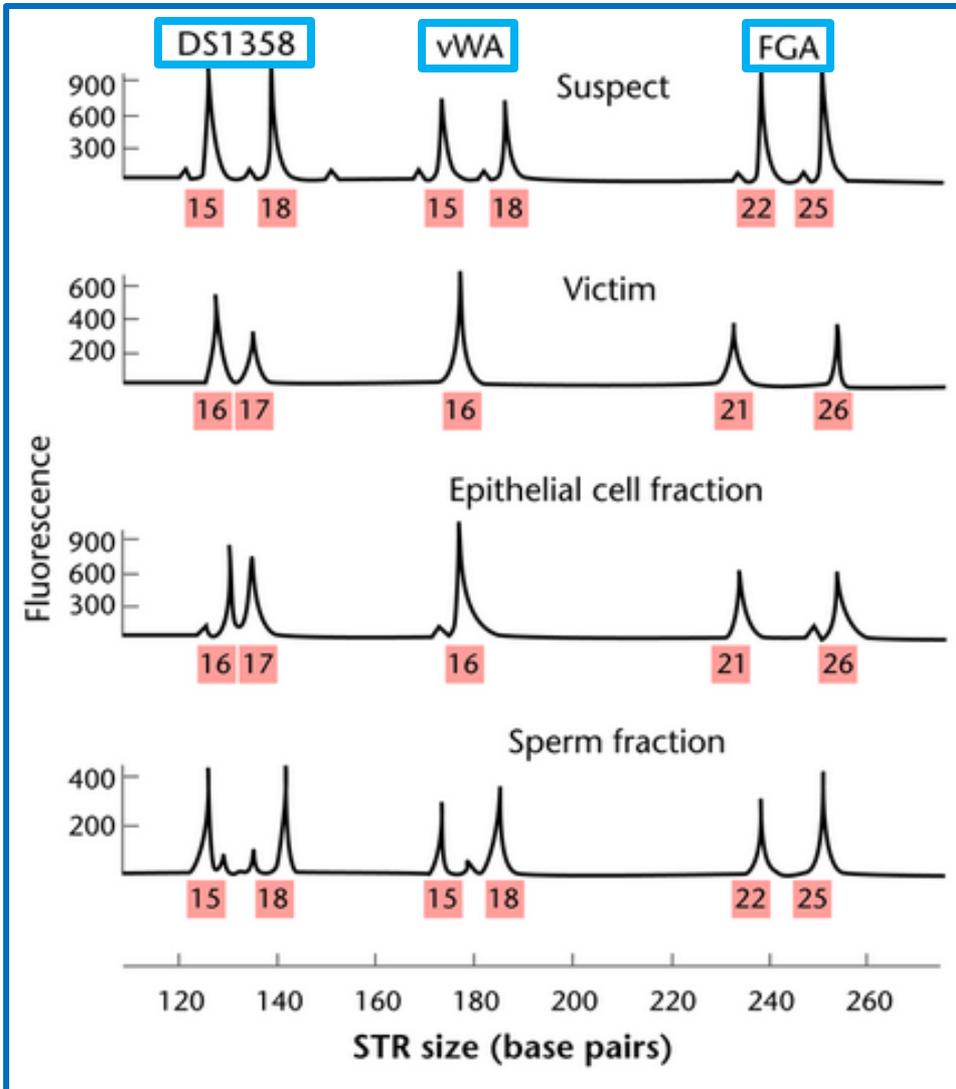
Após a amplificação da amostra do DNA por PCR, os tamanhos dos alelos (número de repetições dos microsatélites) podem ser identificadas por eletroforese de capilaridade



***Loci* heterozigotos mostram dois picos e homozigotos 1 pico.**

6. Genética forense: microsatélite

Relato de caso



Eletoferograma mostrando o perfil STR de quatro amostras. Foram examinados 3 *loci* STR e amostras do suspeito e da vítima.

Com base no número de alelos, que está associado com o número de repetições em cada alelo: observa-se que o perfil STR do esperma tem homologia com o perfil STR do suspeito.

O QUE SÃO CARACTERÍSTICAS INDIVIDUAIS DO PUNTO DE VISTA GENÉTICO?



Marcello Barcinski

Do ponto de vista genético características individuais são características de sub-grupos populacionais em função da genética que define essas sub-populações

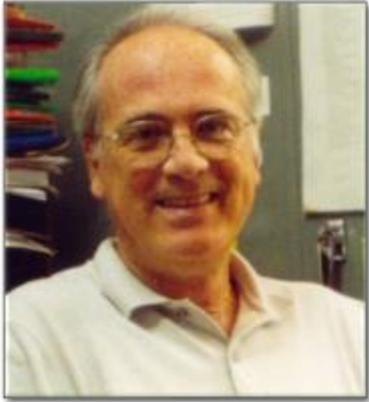
7. Diversidade Genética Humana



*Fabrício Rodrigues
dos Santos*

Cada espécie é o produto de uma contingência histórica de eventos biológicos ao acaso (mutações, deriva) e adaptativos (seleção natural) ao longo das gerações.

7. Diversidade Genética Humana



*Fábio de Melo
Sene*

A evolução é uma mudança ao longo de gerações, sendo a unidade do processo evolutivo a *população*.

A seleção natural ocorre sobre a variabilidade genética existente na população.

7. Diversidade Genética Humana

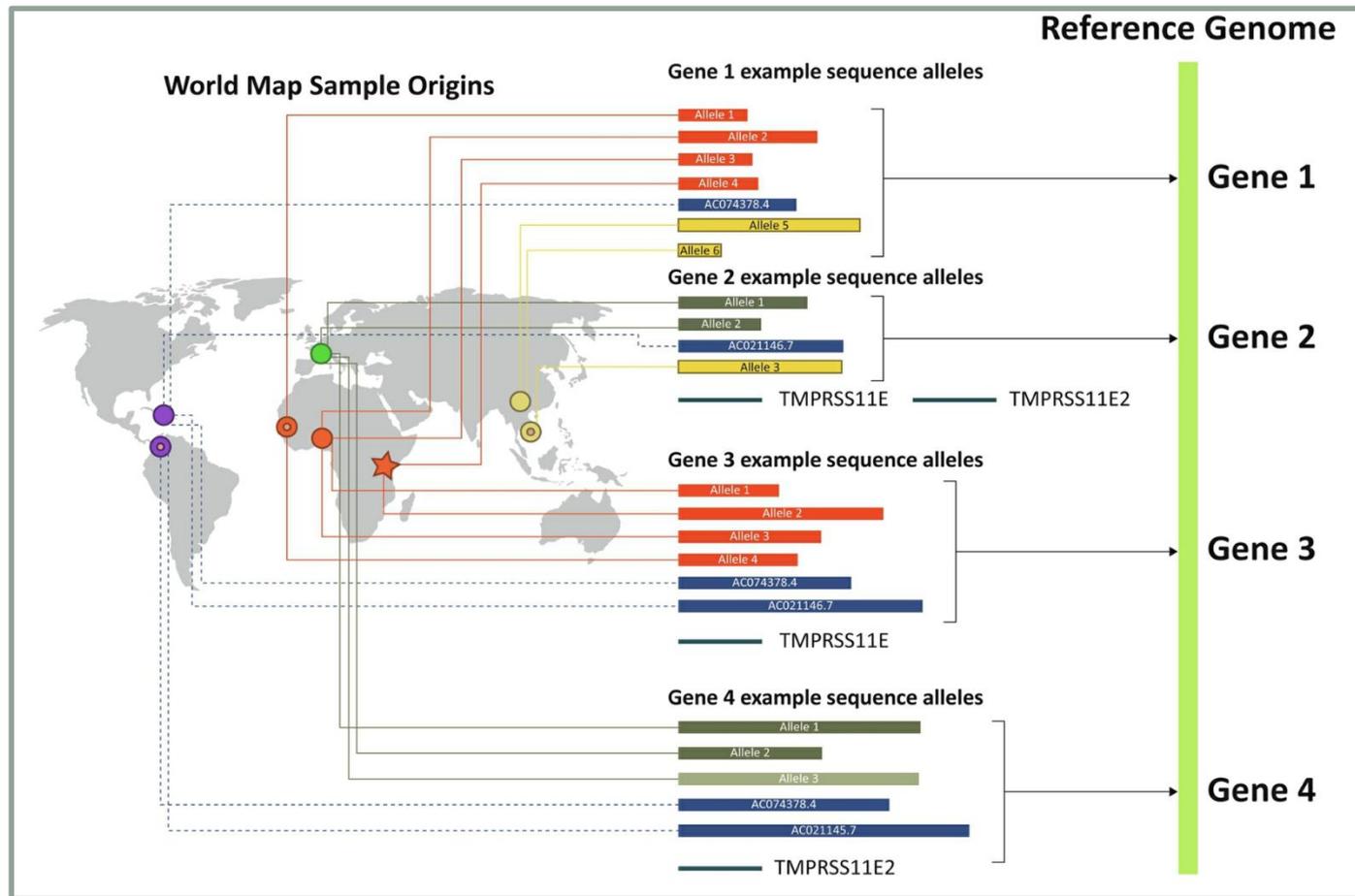
Medicina de Precisão

Passou a ser praticada como consequência do desenvolvimento de diversas áreas da pesquisa biomédica e uma delas é a genética de populações.

7. Diversidade Genética Humana

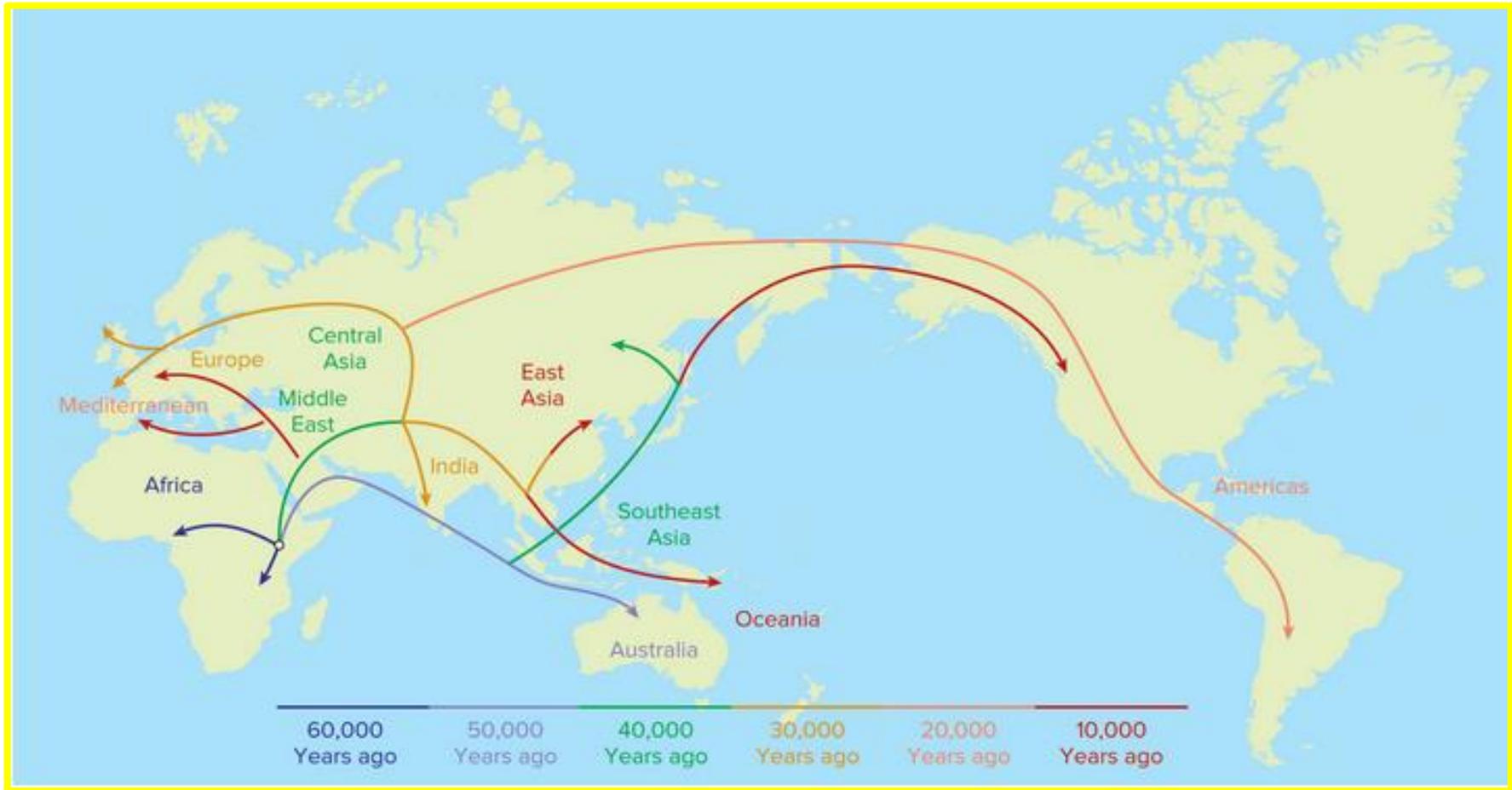


7. Diversidade Genética Humana



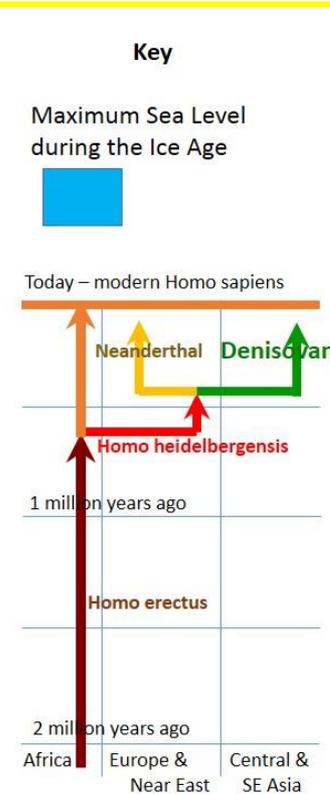
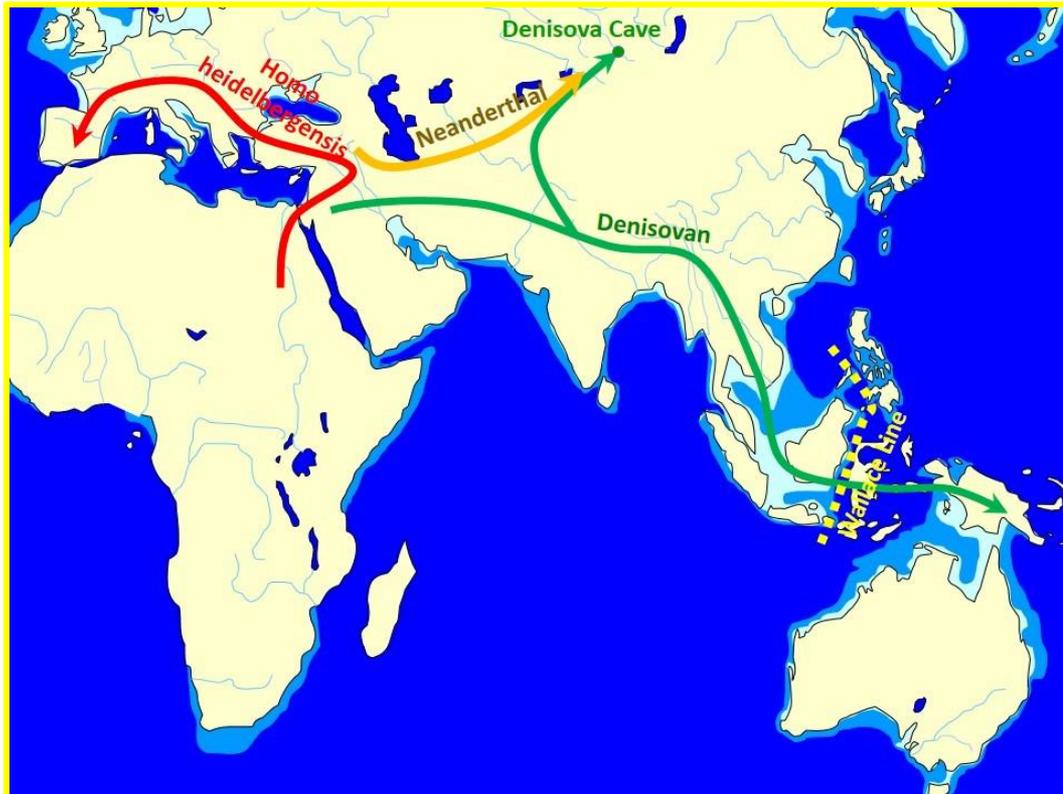
Exemplos de alelos variantes de 4 genes, em relação ao genoma referênciã e a origem das respectivas SNPs.

8. Origem do Homem Moderno

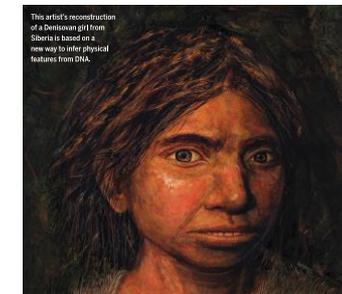


Até recentemente: o homem moderno originou na África há cerca de 200 mil anos atrás.

8. Origem do Homem Moderno



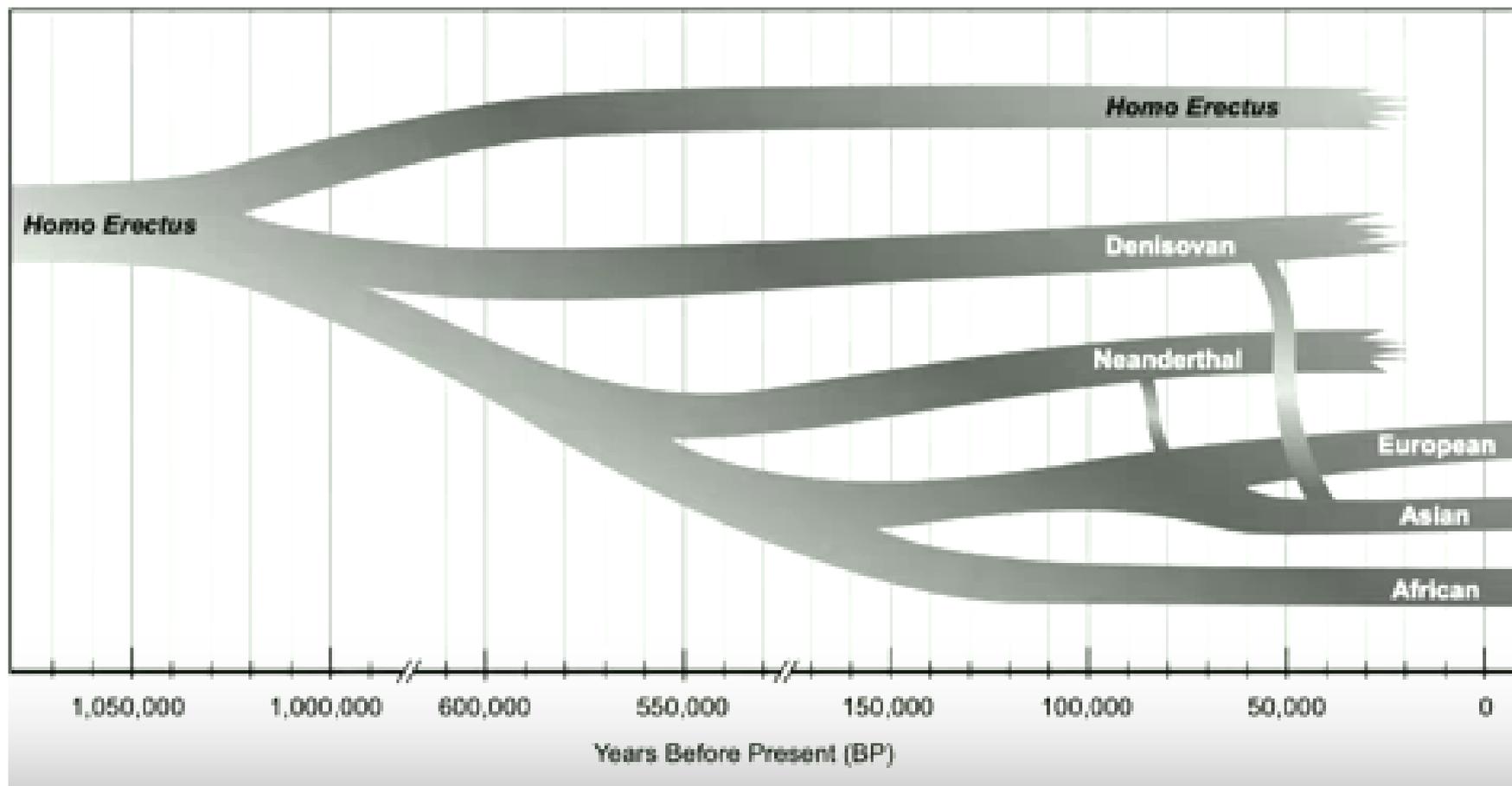
Neanderthal



Denisovan

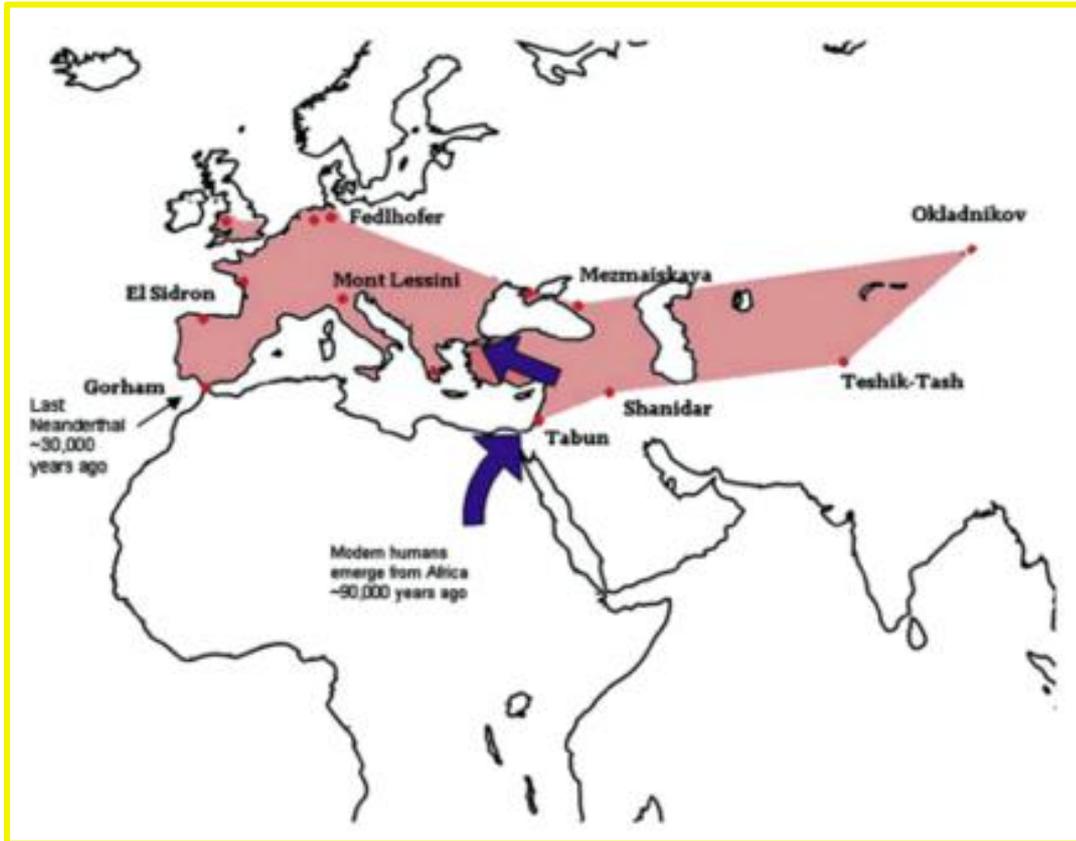
Dados recentes: o homem moderno na Europa e Ásia conviveram com outros hominídeos (Neanderthals e Denisovan) e acredita-se que o *Homo sapiens sapiens* compartilha alelos com Neanderthals e Denisovanos.

8. Origem do Homem Moderno



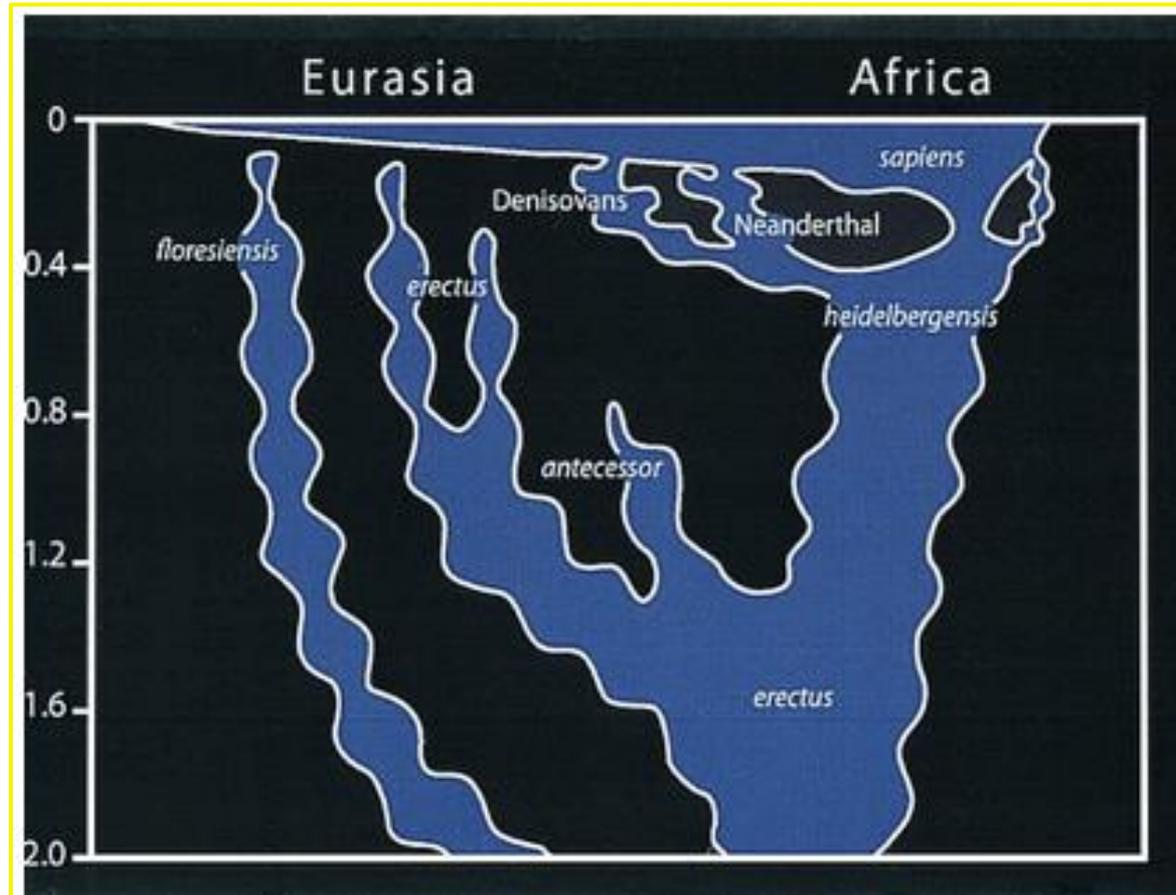
Variantes de DNA de Neanderthal e Denisovanos acompanharam as migrações humanas que se espalharam para o resto do mundo fora da África.

8. Origem do Homem Moderno



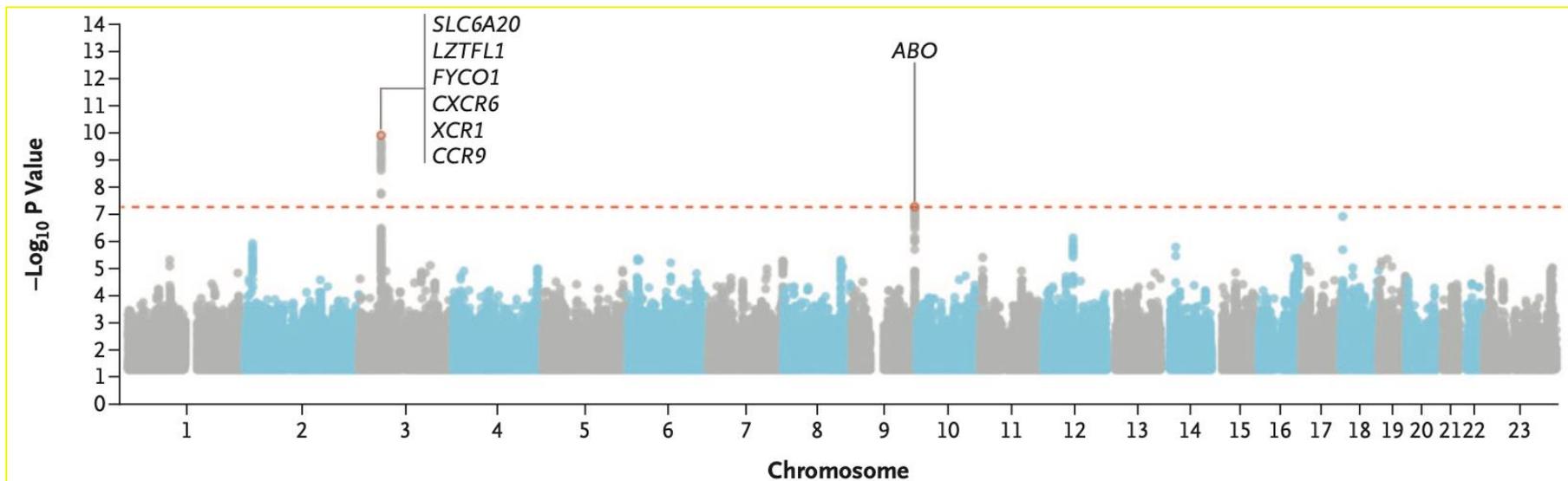
Domínio Neanderthal. À esquerda: pontos em **vermelho** representam as regiões onde foram encontrados **fósseis de Neandertais**. À direita: reconstrução de Neandertais.

8. Origem do Homem Moderno



Árvore representando a relação das várias espécies de *Homo* e seus locais geográficos.

Curiosidades:



Em um estudo de GWAS (estudos de associação em larga escala para a compreensão da relação entre variantes genéticas e determinado fenótipo) com > 49.000 pacientes que tiveram a forma severa de COVID-19 e > 1.700.000 indivíduos controle foram identificados dois *loci* associados com a susceptibilidade.

Em um segundo estudo foi mostrado que o *locus* 3p.21.31 (segmento genômico de 50 kb) surgiu com os Neanderthais e está presente em cerca de 50% da população do sul da Ásia e cerca de 16% dos Europeus.