

lezione 13-14

venerdì 20 Novembre 2009

corso di genomica

a.a. 2009/10

aula 6a ore 14.00-16.00

corso di laurea specialistica
magistrale Biotecnologia

lezione 11 Dicembre sequenziamento shot-gun metodo
pyrofosfato 454 e 480 Roche. Dr.Rodriguez

lezione 15 Dicembre Programmi informatici per confronti
genomici. Dr.P. Daddabbo

la genomica

Genomics encompasses everything from sequencing genomes, ascribing functions to genes, and studying the structure of genes (gene architecture).

la genomica comprende tutto a partire dal sequenziamento dei genomi, attribuzione delle funzioni e studio dell'architettura dei geni

io aggiungerei: le conseguenze di queste strutture sui cambiamenti epigenetici (dovute alla collocazione dei geni nel cromosoma) e l'influenza sulla collocazione nel nucleo ed il suo funzionamento.

che ci facciamo

By studying an individual's entire genome, we can see which genes are active at particular times and under different environmental conditions, and see how these affect outward characteristics.

Studiando l'intero genoma di un individuo si può vedere quali sono i geni attivi nei momenti particolari ed in diverse condizioni ambientali, per vedere come questi influenzano l'espressione delle caratteristiche.

io aggiungerei: come le differenze interindividuali (fenotipi) sono generate dalle differenze genomiche (polimorfismi e mutazioni).

si possono aprire nuovi scenari?

A major challenge in current biology is to understand the genetic basis of variation for quantitative traits. We review the principles of quantitative trait locus mapping and summarize insights about the genetic architecture of quantitative traits that have been obtained over the past decades. **We are currently in the midst of a genomic revolution**, which enables us to incorporate genetic variation in transcript abundance and other intermediate molecular phenotypes into a quantitative trait locus mapping framework. This systems genetics approach enables us to **understand the biology inside the 'black box' that lies between genotype and phenotype** in terms of causal networks of interacting genes.

Mackay TF, Stone EA, Ayroles JF. Nat Rev Genet. 2009 Aug;10(8):565-77.

ipotesi di base dei WGAs

The underlying rationale for GWAS is the ‘common disease, common variant’ hypothesis, positing that common diseases are attributable in part to allelic variants present in more than 1–5% of the population. They have been facilitated by the development of commercial ‘SNP chips’ or arrays that capture most, although not all, common variation in the genome

study or no?

at least 40 loci have been associated with human height, a classic complex trait with an estimated heritability of about 80%, yet they explain only about 5% of phenotypic variance despite studies of tens of thousands of people. Although disease-associated variants occur more frequently in protein-coding regions than expected from their representation on genotyping arrays, in which over-representation of common and functional variants may introduce analytical biases, the vast majority (80%) of associated variants fall outside coding regions, emphasizing the importance of including both coding and non-coding regions in the search for disease-associated variants³.

T.A.Manolio et al. Nature October 2009, vol 461, 747-753; Finding the missing heritability of complex diseases.

GWA common disorders

Genome wide association studies show:
ubiquitous heritability of common disorders due to
multiple genes of small effect size

qualitative and quantitative disorders

case control studies = qualitative differences

multifactorial disorders = quantitative genetic liability
(responsabilità, predisposizione)

disconnection between qualitatively diagnosed disorders
and their quantitative polygenic liability

separando patologico da quantitativo

come si stabilisce la patologia?

chi digerisce male è patologico? chi corre male? ecc.

il limite con la patologia è una soglia arbitraria, beati monocoli in terra caecorum.

responsabilità-predisposizione poligenica trovata con studi GWA conduce agli estremi di tratti quantitativi ed infine si focalizza su tratti quantitativi anzichè patologici

genetica quantitativa_a e mendeliana_b

a Karl Pearson

b Gregory Bateson

a = biometrici “ le leggi di Mendel non si possono applicare per caratteri quantitativi perchè non hanno un pattern semplice Mendeliano di ereditarietà”

avevano ragione sulla distribuzione quantitativa, ma torto asserendo che non fosse Mendeliana.

applicabili solo a piante come piselli

R.A. Fisher 1918 scompone e ricomponne riportando a Mendel tutta la genetica (ogni tratto di un sistema multiplo è Mendeliano)

dalla G quantitativa a molecolare

i progenitori della genetica molecolare passati dall'analisi del fenotipo a come funziona un gene

assunzione che per capire come funziona un gene si doveva abbandonare i sistemi multifattoriali (riduzionismo)

più utile studiare la regolazione (induzione - inattivazione) di effetti monogenici

geni specifici di tratti complessi e patologie comuni sono prodotti da molteplicità di geni con effetto limitato

riunificazione con WGA

avvento di milioni di marcatori genomici dagli anni 80

nuove possibilità di analisi di tratti quantitativi complessi determinati da molti geni con piccolo effetto

accelerazione con microarrays con genotipizzazione di milioni di markers di DNA

analisi con odd-ratio < 2 implicazione di molti geni nella ereditabilità della malattia

percorso della genetica

- a. Mendel ha dimostrato l'ereditabilità di tratti qualitativi (che fossero monogenici non lo sapeva, ma lo intuì studiando caratteri diversi → seconda legge di Mendel)
- b. Fisher ha mostrato che le leggi di Mendel possono spiegare l'ereditarietà dei tratti quantitativi se multigenici
- c. adesso si sottolinea che i disordini qualitativi multigenici sono tratti quantitativi

marcatori e varianti

differenza tra funzione e marcatori usati nei WGS o WGAS

i markers indicano le zone associate portatrici dei tratti responsabili delle patologie

lo studio delle varianti di DNA (polimorfismi) associate alle patologie comuni porta alle patologie considerate in termini quantitativi

si aggregano i geni identificati per associazione che rappresenterebbero il gruppo poligenico che porta alla malattia

predisposizione poligenica

queste associazioni di geni predisponenti spingono a pensare alle malattie come le estremità di tratti quantitativi e quindi non più come malattie

quali tratti (caratteri) quantitativi stanno sotto le malattie comuni che si studiano?

alcuni sono ovvi: BMI (body mass index) obesità
alta pressione per l'ipertensione
umore per la depressione

per la maggior parte delle malattie i tratti quantitativi non sono chiari

da genetic risk a variabilità

passaggio da digitale ad analogico

pensare quantitativo fa vedere una continuità e non balzi tra fisiologico e patologico

si parla di dimensioni e non di disordine/disturbo “disorder”

variabilità genetica e non rischio genetico

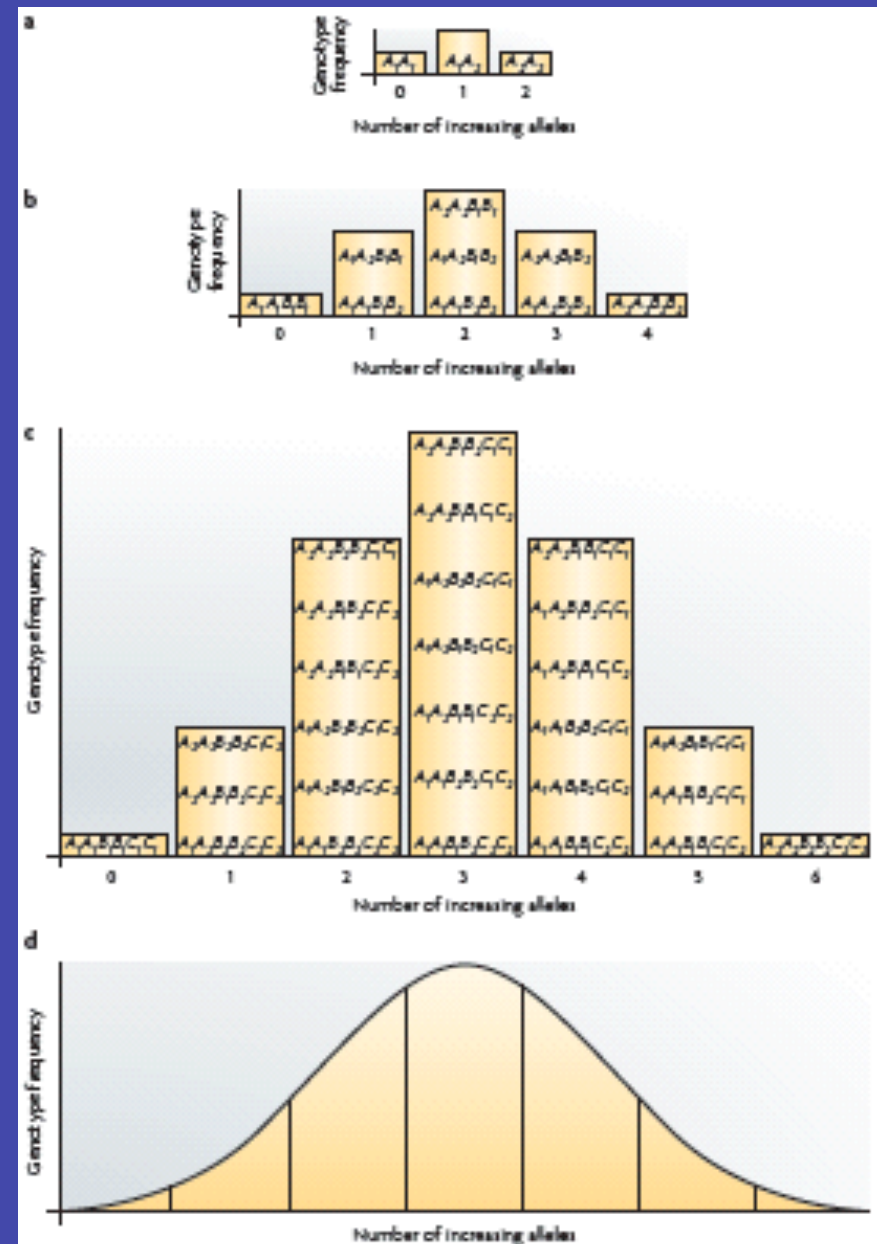
si passa dalla regressione logistica alla regressione lineare
dalla differenza delle medie alla varianza
dalla comorbidità alla covarianza

la predisposizione poligenica ha distribuzione normale
l'obiettivo è determinare la dimensione dei tratti quantitativi
che la determinano.

tratti poligenici sono quantitativi

a Mendelia phenotypes

b quantitative traits



didascalia figura tratti quantitativi

R. A. Fisher's 1918 paper, 'The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance', resolved the often bitter conflict between biometricians and Mendelians, which raged for a decade following the rediscovery of Mendel's work. Fisher showed that a complex quantitative trait could be explained by Mendelian inheritance if several genes affect the trait. Because he crossed true-breeding plants, Mendel's experiments showed that a single locus with two alleles of equal frequency results in three genotypes (see the figure, part a). If the allelic effects are additive, the three genotypes produce three phenotypes; in the case of Mendel's qualitative traits, the allelic effects showed complete dominance, so only two phenotypes were observed. However, assuming equal and additive effects, 2 genes yield 9 genotypes and 5 phenotypes (part b) and 3 genes yield 27 genotypes and 7 phenotypes (part c). With unequal and non-additive allelic effects and some environmental influence, three genes would result in a normal bell-shaped curve of continuous variation (part d). This logic assumes common alleles; rare alleles will skew the distribution. Genome-wide association research suggests that many more than three genes affect most traits, which underscores the expectation that polygenic traits are quantitative traits.

tratti poligenici sono quantitativi

Fisher nell'articolo del 1918: la correlazione tra parenti su supposti tratti mendeliani risolve i conflitti tra mendeliani e biometrici "genetisti quantitativi"

Incrociando vere piante fertili Mendel mostrò che un singolo locus con due alleli a frequenza uguale danno tre genotipi e due fenotipi (a). Se l'effetto allelico non fosse dominante ma additivo 3 genotipi = 3 fenotipi (Mendel aveva alleli a piena dominanza) (b).

- 2 geni con effetti additivi uguali 9 genotipi e 5 fenotipi
- 3 geni = 27 genotipi e 7 fenotipi (c).

- effetti diseguali, non additivi e ambientali, 3 geni danno una curva a campana a variazione continua (d).

-alleli rari distorceranno la curva

-GWA (association) indicano che molti geni determinano un carattere e sottolineano che i tratti poligenici sono quantitativi

identificare i meccanismi quantitativi

a. identificati i molti geni associati ad un carattere (disordine)

b. capire i meccanismi attraverso cui agiscono interferendo (comprensibile solo con analisi di tipo quantitativo):

- profili di espressione, interazioni ed altri ...omi

- modulazione degli stati fisiologici

- dal digitale all'analogico, da quantico ad onda e.m. (non so la fisica). Apparentemente +/- ma anche il modello Jacob-Monod ha una espressione di base, interaz.repr-induttore

esempi

diabete tipo 2 (T2D) studi caso controllo

-tramite follow-up studi quantitativi: velocità del gluc. ematico, protein C-relative, tolleranza al glucosio ecc.

- Crohn's disease, parecchi studi GWA evidenze di molti geni associati alla insorgenza,

- conducono a tratti quantitativi: infiammazione, sopravvivenza batterica ed infiammazione cronica, autofagia non considerato fenomeno quantitativo

molti studi in corso di GWA su numeri grandi di pazienti (anche decine di migliaia: schizofrenia, autismo su triadi)

varianti e sottotipi di disrodini

studi di GWA conducono dalle varianti di tratti quantitativi associati a sottotipi della malattia

- CD (Crohn's disease): *NOD2* nucleot. oligomerization domain 2 variant = associated to ileum CD, IL23R associat. to subphenotypes of dis.
- misurando i set di varianti si predice la predisposizione e le caratteristiche cliniche, determinando i set di rischio
- emergono molti effetti pleiotropici
- nuovo concetto di "diseasome" (tutti quei loci che convergono, tra cui quelli alternativi perchè pleiotropici)

esempio di diseasoma

8q12 associato con molte forme di cancro, moltissimi loci associati con molte malattie autoimmuni

classificazione: tutti i disordini genetici e tutti i geni associati

- si evidenziano associazioni tra malattie considerate diverse

- mettendo insieme le informazioni si possono evidenziare i criteri di predisposizione, rischio e prevenzione

studi su obesità, malattie cardiovascolari, diabete 1 e 2, Artr.Reumatoide, Colite ulcerosa,

esempi di studi: output

Several risk factors for Crohn's disease have been identified in recent genome-wide association studies. To advance gene discovery further, we combined data from three studies on Crohn's disease (a total of 3,230 cases and 4,829 controls) and carried out replication in 3,664 independent cases with a mixture of population-based and family-based controls. The results strongly confirm 11 previously reported loci and provide genome-wide significant evidence for 21 additional loci, including the regions containing STAT3, JAK2, ICOSLG, CDKAL1 and ITLN1. The expanded molecular understanding of the basis of this disease offers promise for informed therapeutic development.

Nat Genet. 2008 Aug;40(8):955-62. Epub 2008 Jun 29. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. Barrett JC, Hansoul S, Nicolae D. Bioinformatics and Statistical Genetics, Oxford, UK.