

ATBC - BIO-INFORMATICA - OPSGEM - GENETICA

BIO-INFORMATICA

OPSPOREN VAN GENETISCHE MUTATIES BIJ ERFELIJKE
ZIEKTES

HERHALING

OEFENEN MET DE STOF

OVERZICHT BI2B BIOINFORMATICA

Week	Onderwerpen theorieles	Onderwerpen werkcollege
1	Introductie, biologische databases	Stamboom analyse, zoeken in OMIM
2	PCR, primer design, primer eigenschappen	Zoeken in NCBI, gen naar mRNA sequentie, primer design
3	Gelelektroforese, Sanger sequencing, genstructuur, genetische varianten	Tools voor primer design en primer analyse, blast resultaten primer analyse, bekende mutaties op het kandidaatgen
4	Introductie + toepassingen next generation sequencing & third generation sequencing, genome assemblies, genome browsers	Primer design, zoeken naar RP genen in genome browsers
5	Genetische markers, mutaties & genetische varianten	Targeted next generation sequencing data analyse, weektaak doornemen
6	Onderzoek doornemen, oefenen met de stof	Exome sequencing data analyse
7	Oefentoets, vragen	Oefentoets thematoets, weektaak afmaken, vragen

DOELEN

Herhaling & oefenen!



AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- Weektaak 1 t/m 6
- Space Race
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

SAMENVATTING WEEK 5


- Mutatie: veranderen van de gen structuur, resulterende in een variante vorm
- Variant: verandering in de meest voorkomende DNA nucleotide sequentie
- Verschillende typen variatie: SNVs & SNPs, indels, structurele variatie
- Genetische markers: DNA sequentie met bekende locatie op een chromosoom
- Hoe kom je achter genetische variatie?
 - Sequence het DNA
 - Map de reads tegen een referentiegenoom
 - Zoek naar verschillen tussen de reads en het referentiegenoom
 - Annoteer de genetische variatie
- Variant annotatie:
 - Positie, variant effect, sequentie conservatie, MAF

AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- Weektaak 1 t/m 6
- Space Race
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

OPDRACHT

Het volgende wordt gezegd over de genstructuur van PSEN2:

Levy-Lahad et al. (1996) determined that the AD4 gene contains 12 exons, including 10 coding exons. The first 2 exons encode the 5-prime untranslated region. 


Teken de genstructuur; dat houdt in: exonen, intronen, 5' UTR en 3' UTR.

OPDRACHT

Over één van de varianten in het PSEN2 gen staat het volgende in de OMIM database:

.0003 ALZHEIMER DISEASE, FAMILIAL, 4

PSEN2, ASP439ALA

In a patient with early-onset (age 52 years) Alzheimer disease (AD4; 606889) who was heterozygous for the E2/E3 isoforms of apolipoprotein E (107741.0001/ 107741.0015), Lleo et al. (2001) identified a heterozygous A-to-C transversion in exon 12 of the PSEN2 gene, resulting in an asp439-to-ala (D439A) substitution in the C-terminal portion of the protein. Haplotype analysis indicated a maternal origin, but the patient's mother was deceased and had been adopted, precluding familial analysis. Six asymptomatic sibs did not carry the mutation. Lleo et al. (2001) suggested that the mutation may alter the endoproteolytic processing of the protein. 

- Wat voor type variant is dit? En is deze non-synonymous of synonymous?
- Wat betekenen de onderstreepte begrippen?

AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- **Weektaak 1 t/m 6**
- Space Race
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

PETRA DIAGNOSTICEREN: WELKE ZIEKTE, WELK GEN, WELKE MUTATIE



- Stamboom analyse
- Diagnose erfelijke ziekte Petra

- Kandidaat gen kiezen
- Primer design (handmatig) voor amplificatie van kandidaat gen

- Primer design (m.b.v. tools) voor amplificatie van kandidaat gen
- Uitzoeken van bekende mutaties in het kandidaatgen

Onderzoek naar één enkel kandidaat gen

PETRA DIAGNOSTICEREN: WELKE ZIEKTE, WELK GEN, WELKE MU



Week 4

- Structuur van genen die te maken hebben met Petra's ziekte onderzoeken
- Verdiepen in genetische variatie en de effecten van variatie

Onderzoek naar alle genen die te maken hebben met de ziekte van Petra

Week 5

- Genetische variatie onderzoeken in genen die te maken hebben met Petra's ziekte

Week 6

- Genetische variatie onderzoeken in het exoom van Petra

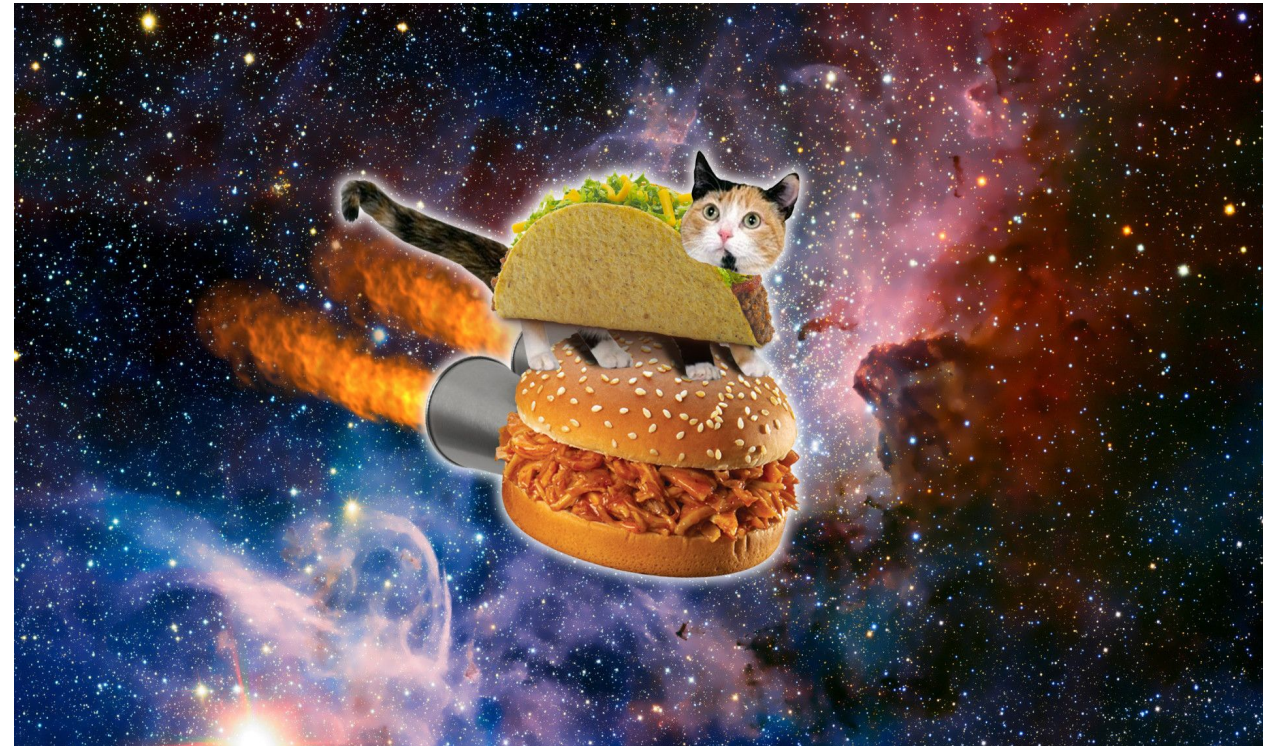
Onderzoek doen naar het hele exome van Petra

AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- Weektaak 1 t/m 6
- **Space Race**
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

SPACE RACE

- Maak koppels
- Ga naar <https://b.socrative.com/login/student/>
- Room name: BIOINF2
- Verzin een fancy teamnaam
- Begin met de race!



<https://wallpaperaccess.com/space-cat>, 11-12-2021

AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- Weektaak 1 t/m 6
- Space Race
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

OPDRACHT

- Teken de genstructuur van *RHO*
- Geef in je tekening de volgende onderdelen aan:
 - Exonen
 - Intronen
 - Transcriptie start, transcriptie stop
 - Translatie start, translatie stop
 - 5' UTR
 - 3' UTR
- Noteer ook de posities (getallen) van begin/einde v.d. exonen, intronen, UTRs en van transcriptie start/stop en translatie start/stop

gene

```
5001..11706
/gene="RHO"
/gene_synonym="CSNBAD1; OPN2; RP4"
/note="rhodopsin"
/db_xref="GeneID:6010"
/db_xref="HGNC:HGNC:10012"
/db_xref="MIM:180380"
```

mRNA

```
join(5001..5456,7238..7406,8613..8778,8895..9139970..11706)
/gene="RHO"
/gene_synonym="CSNBAD1; OPN2; RP4"
/product="rhodopsin"
/transcript_id="NM_000539.3"
/db_xref="GeneID:6010"
/db_xref="HGNC:HGNC:10012"
/db_xref="MIM:180380"
```

CDS

```
join(5096..5456,7238..7406,8613..8778,8895..9139970..10080)
```

OPDRACHT

- Zoek de structuur van *RHO* op in een genome browser, klopt de getekende structuur?
- In OMIM zijn o.a. de volgende varianten bekend:

.0026	RETINITIS PIGMENTOSA 4	RHO, IVS4AS, G-T, +1	-	-	RCV000013914
.0039	RETINITIS PIGMENTOSA 4	RHO, 3-BP DEL, CYS264DEL	rs121918590 ▼	-	RCV000013926...
.0019	RETINITIS PIGMENTOSA 4	RHO, 12-BP DEL, EX1	-	-	RCV000013906

- Wat betekent dit?

AGENDA

- Samenvatting week 5
- Huiswerk bespreken
- Weektaak 1 t/m 6
- Space Race
- Opdrachten
- Samenvatting alle lesstof

OPDRACHT

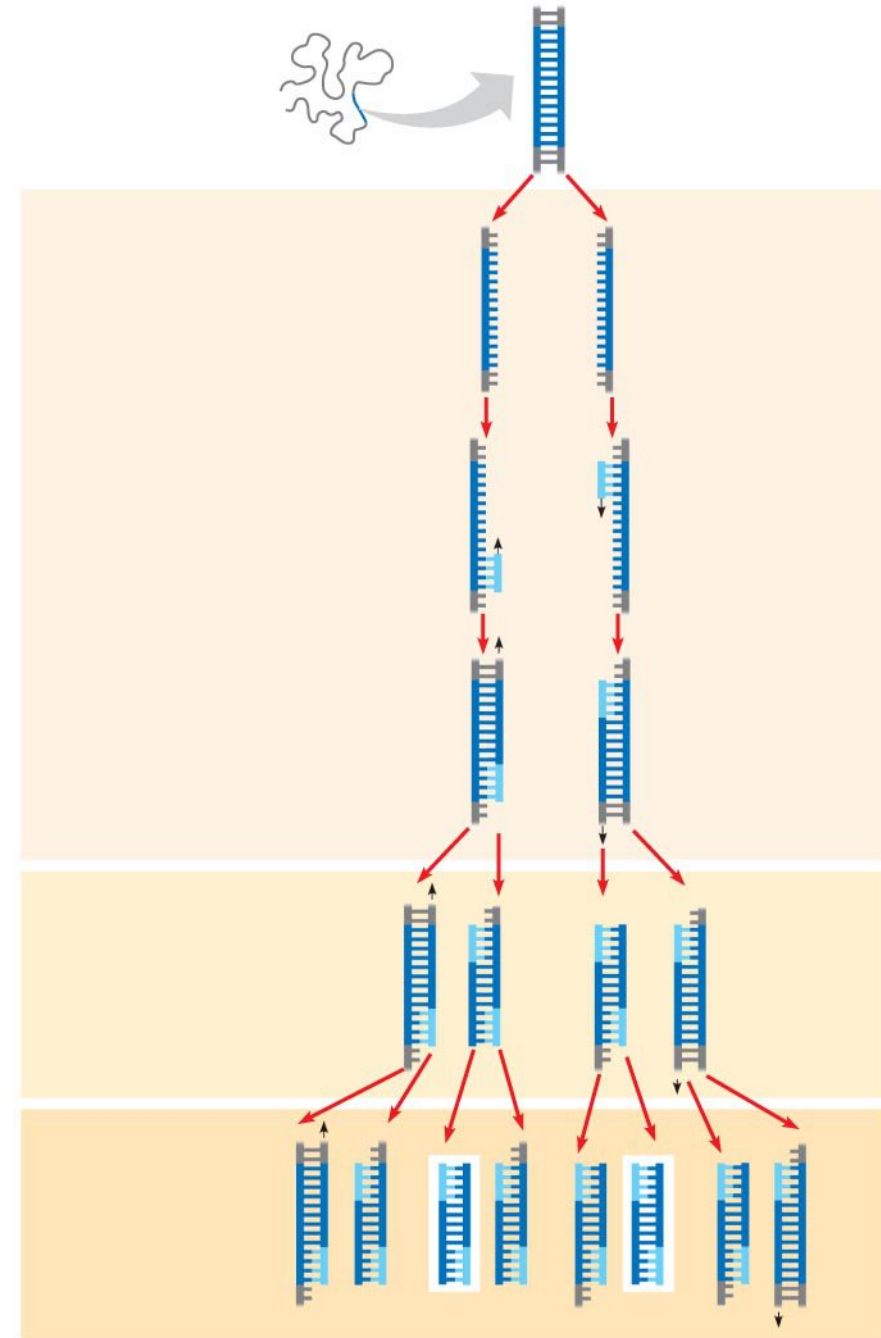
- Vat alle lesstof samen a.d.h.v. het uitgedeelde invulschema
- Probeer dit in de eerste instantie te doen zonder naslagwerk raad te plegen (dus uit je hoofd!).
- Breng structuur aan in de stof door verbanden te leggen tussen begrippen.
- Identificeer onderwerpen waar je nog vragen over hebt of extra verdieping nodig is. Schrijf deze vragen op voor volgende les.

WEEK 1

- NCBI & EBI bevatten veel databases met biologische data, waaronder sequentie databases (e.g. Nucleotide, Gene, GeneBank, RefSeq)
- Sequenzen wordt steeds makkelijker en goedkoper
aantal sequenties in deze databases neemt snel toe
- Belangrijke eigenschappen van een database:
 - Accession number/identificer
 - Biologische annotatie
 - Bibliografische annotatie
- Gebruik de juiste zoektermen en booleans om data te zoeken

WEEK 2

- Doel PCR: amplificeren van DNA
- Één PCR cyclus bestaat uit drie stappen: denaturatie, hybridisatie en elongatie
- Een PCR experiment bestaat uit meerdere cycli
- Primer design: forward en reverse primer
- Belangrijkst: primers moeten uniek zijn!
- Ontwerpen van primers:
 - Lengte
 - Hybridisatie- en smelt temperatuur
 - GC content
 - Secundaire structuren en repeats



WEEK 3

- Gelelektroforese:
 - Methode om moleculen op grootte te scheiden
 - Gel waar elektrisch veld op wordt gezet
 - Negatief geladen moleculen bewegen naar positieve pool
 - DNA ladder om grootte DNA fragment te bepalen
- Sanger sequencing:
 - Maakt gebruik van ddNTPs met fluorescerend label
 - Wanneer polymerase er een ddNTP in zet stopt de reactie. Er kans geen dNTP meer aan gezet worden door polymerase chain termination
 - Volgorde van fluorescerende kleuren geeft volgorde van DNA
- Genstructuren bepalen aan de hand van annotatie

WEEK 4

- Sequenzen van een genoom:
DNA fragmenteren → fragmenten amplificeren + sequencen → reads
reads assembleren tot genoom of mappen tegen referentie genoom
- Next generation sequencing (NGS) & third generation sequencing:
Methodes om met hoge snelheid en hoge throughput parallel DNA te sequencen
- NGS: korte reads (~35 – 150 nt)
- Third generation sequencing: lange reads (~ 20.000 – 200.000 nt)
- Referentie genoom = DNA-sequentie die het genoom van een soort het beste representeert
- Referentie genomen zijn verkregen d.m.v. genome assembly

WEEK 5

- Mutatie: veranderen van de gen structuur, resulterende in een variante vorm
- Variant: verandering in de meest voorkomende DNA nucleotide sequentie
- Verschillende typen variatie: SNVs & SNPs, indels, structurele variatie
- Genetische markers: DNA sequentie met bekende locatie op een chromosoom
- Hoe kom je achter genetische variatie?
 - Sequence het DNA
 - Map de reads tegen een referentiegenoom
 - Zoek naar verschillen tussen de reads en het referentiegenoom
 - Annoteer de genetische variatie
- Variant annotatie:
 - Positie, variant effect, sequentie conservatie, MAF

VERANTWOORDING

- In deze uitgave is géén auteursrechtelijk beschermd werk opgenomen
- Alle teksten © Ingrid Paffen en © Emma Vos / HAN tenzij expliciet externe bronnen zijn aangegeven
- Screenshots op basis van eigen werk auteur en/of vernoemde sites
- Eventuele images zijn opgenomen met vermelding van bron