



*Better health through
laboratory medicine.*

PEARLS OF LABORATORY MEDICINE

Análisis de Dosis Génica

Ibi Aseyori, PhD, CG(ASCP)

Immufood Lab –Subdirectora de Laboratorio
Universidad del Pueblo –Instructora de Salud & Ciencias Computacionales
Trinity Lab Services - Consultora

DOI: 10.15428/CCTC.2020.333181



Análisis de Dosis Génica

Objetivos de aprendizaje

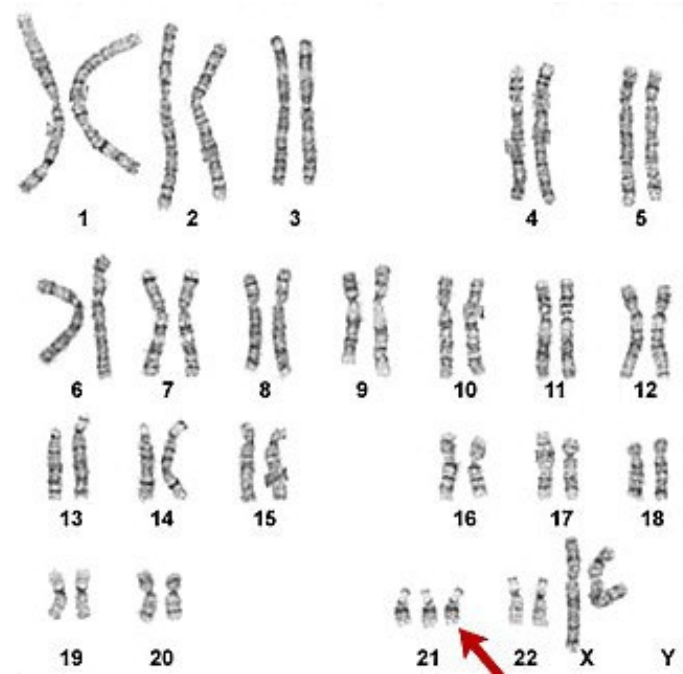
- Comprender los efectos de dosis génica
- Identificar las pruebas disponibles para el análisis de dosis génica
- Comentar tendencias actuales en el análisis de dosis génica

Esquema

- Introducción y definiciones – efectos de dosis génica
- Pruebas – enfoques que abarcan todo el genoma usando secuenciación de nueva generación (NGS) y secuenciación del exoma completo (WES)
- Tendencias actuales – cáncer, farmacoterapia, e investigación

¿Cuáles son los efectos de dosis génica?

- Copias de un gen dentro de un genoma
- Cantidad de producto génico que puede expresarse
- Se da un efecto de dosis génica cuando el gen estructural produce una cantidad de producto proporcional a su número de copias
- Más copias de un gen = más producto génico expresado
- Menos copias = menos producto expresado
- Síndrome de Down (Trisomía 21)



Reproducido con permiso de:

https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php?title=File:Karyotype_Down_syndrome.gif

¿El número de copias siempre afecta la dosis génica?

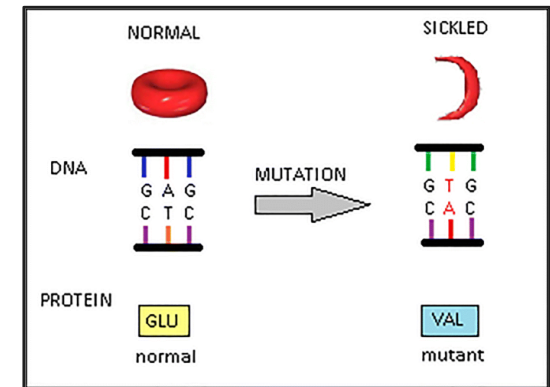
- **Depende**
 - Ganancias o pérdidas no siempre afectan fenotipo o dosis
 - Un número de copias de un gen puede afectar la dosis de otro gen
 - Variabilidad de número de copias entre individuos (polimorfismos)
 - Tipo de alternación genética puede afectar dosis génicas de manera diferente
- Variante de nucleótido único (SNV)
 - $\geq 1\%$ = polimorfismos de nucleótido único (SNPs)
 - mutación sinónima / silenciosa
 - no sinónima / con cambio de sentido
 - mutación con cambio de sentido conservativa
 - mutación con cambio de sentido no conservativa
por ej., anemia de células falciformes
 - mutación con ganancia de terminación, con pérdida de inicio, o con cambio de sentido
 - por ej., fibrosis quística
 - delección
 - SNP

Regla general:

Dosis normal = 2 = 2 copias

< 2 = deficiencia (pérdida)

> 2 = exceso (ganancia)



NORMAL	MUTACIÓN	FALCIFORME
ADN		
PROTEÍNA		
GLU		VAL
normal		mutante

Laurentino, M. R., Parente Filho, S. L. A., Parente, L. L. C., da Silva Júnior, G. B., Daher, E. D. F., & Lemes, R. P. G. Non-invasive urinary biomarkers of renal function in sickle cell disease: an overview. *Annals of hematology* 2019; 1-8. (Adaptado con permiso)

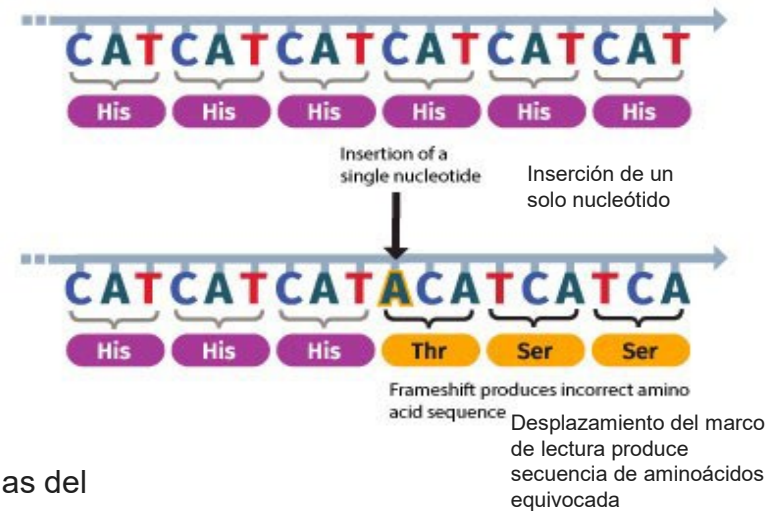
Otros tipos de alteraciones genéticas

- Inserción o deleciones = Indel (< 50 pares base)
 - Tipo de mutación: Desplazamiento del marco de lectura
 - Ocurre durante la traducción

- Variaciones estructurales (> 50 pares base)
 - Tipos de mutación: deleciones, inserciones, inversiones, translocaciones, duplicaciones o combinación de todas ellas

- **Variación de número de copias (CNV)**

- variación estructural que cambia el número de copias del ADN por deleción o por duplicación
- CNV varía entre individuos
- aprox. 4.8 a 9.5% de los tramos repetidos en el genoma se clasifican como CNV
- LIBRO DE TEXTO = ≥ 1 kb y presentes en un número variable de copias vs genoma de referencia
- Las CNV surgen por mecanismos de recombinación homóloga o de recombinación no homóloga



Rifai, N., Horvath, A. R., Wittwer, C. T., & Park, J. (Eds.). Principles and Applications of Molecular Diagnostics. Elsevier 2018. (*Adaptado con permiso*)

CNV

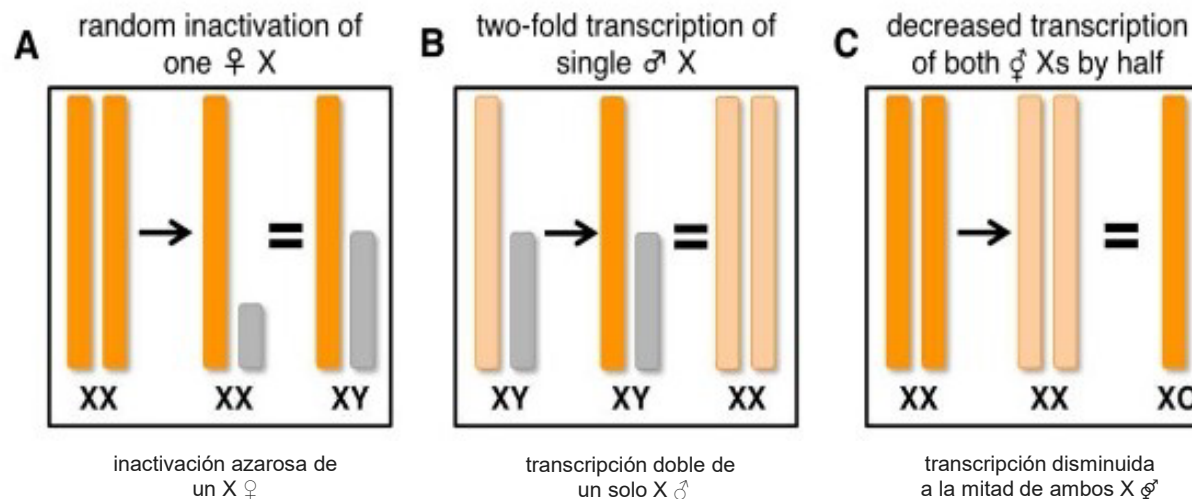
- Variantes raras (<1%) o comunes (>5%) observadas en la población
- Heredadas o *de novo* (por ej., trastorno del espectro autista, con envejecimiento)
- Las ganancias estructurales pueden ser
 - Duplicaciones
 - Transposiciones insercionales
- Las pérdidas o deleciones estructurales pueden ser
 - heterocigotas (falta solo una copia),
 - homocigotas (faltan ambas copias), o
 - hemicigotas (por ej., cromosoma X en machos, cáncer)
- CNV es normal. Por ej., una persona podría tener 4 copias en vez de lo usual, que son 2; otra podría tener 3, y otra más tiene 5. Todas normales.
- **CNV y dosis génica inciden en una amplia gama de rasgos, se asocian con riesgo de enfermedades (bajo y alto), y explican algunos trastornos *de novo***

Ejemplos de CNV mal adaptadas

- Trastornos psiquiátricos
- Cardiomiopatías – enfermedades cardíacas asociadas con muerte cardíaca súbita
- Esclerosis lateral amiotrófica (ELA) – Además de los SNP, un número consistente de CNV comunes (>5%) y raras (<1%) se han asociado con ELA
- Enfermedad de Huntington, o EH, ≥ 36 repeticiones de CAG en el gen responsable (*HTT*)
 - Individuos con 27–35 repeticiones de CAG no se ven afectados por la enfermedad
 - Estos individuos no afectados (con 27-35 repeticiones de CAG) tienen tramos de CAG más largos en comparación con la población general.

Ejemplo de compensación de dosis

- Células masculinas y femeninas expresan los genes del cromosoma X al mismo nivel
- Las células femeninas tienen el doble de cromosomas X que las células masculinas



CarmenMariaConroy / CC BY-SA (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0>) (Adaptado con permiso)

Tipos de dosis y compensación

(A) Número de copias del gen estructural = cantidad de producto

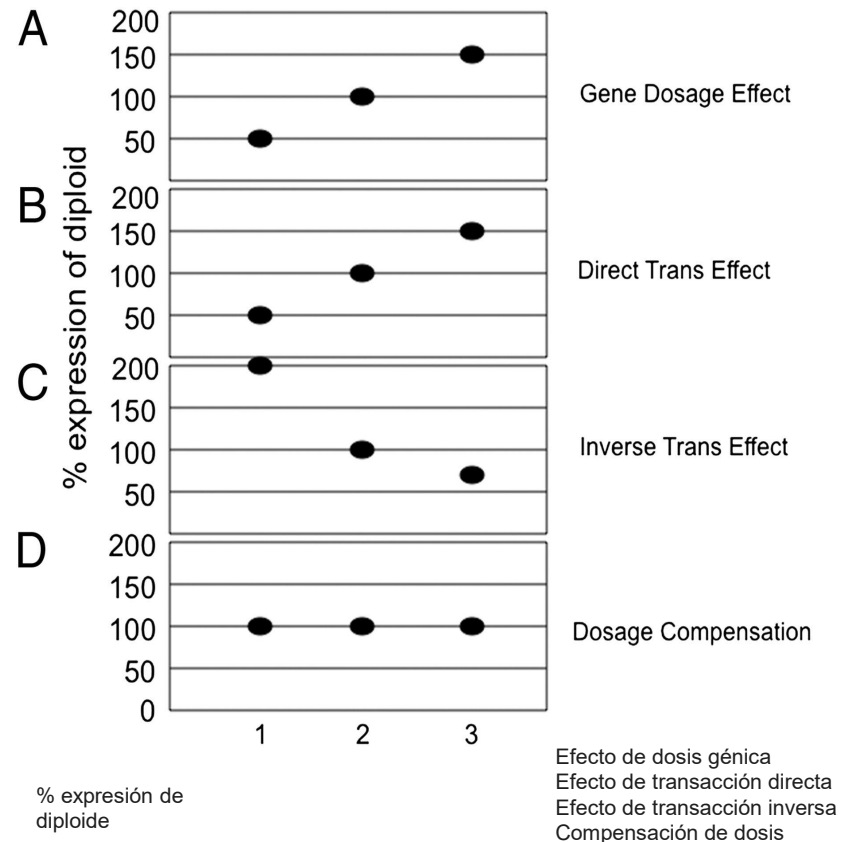
(B) Efectos de transacción directa cuando la expresión génica de un gen se ve afectada por la dosis génica de otro gen

(C) Expresión de un gen se correlaciona de manera inversa con la dosis de otra región cromosómica

(D) Dosis no cambia ni afecta expresión

- un efecto de dosis inversa de una región aneuploide incluye genes que también se encuentran en el cromosoma alterado

- La dosis combinada del gen estructural y la inversa puede producir una expresión casi igual en todas las dosis cromosómicas



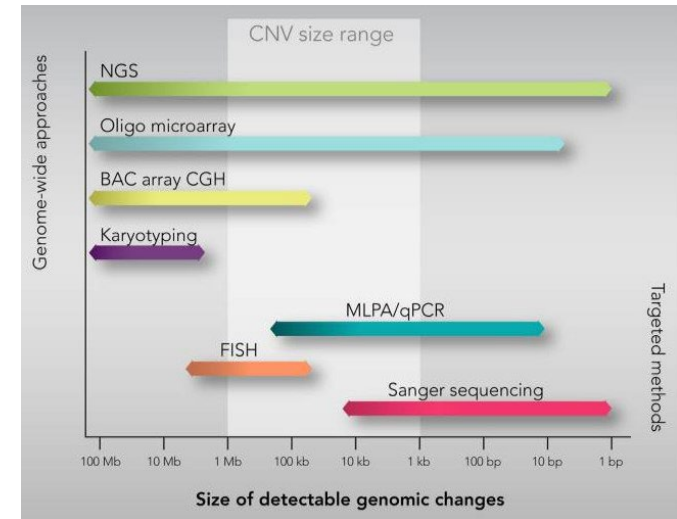
Birchler, J. A., & Veitia, R. A. Gene balance hypothesis: connecting issues of dosage sensitivity across biological disciplines. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012; 109:37, 14746-14753.
(Adaptado con permiso)

Resumen: Efectos de dosis génica & Compensación de dosis

- Varían los efectos de dosis génica y varían entre individuos
 - Ejemplo: Enfermedad de Parkinson. La evidencia ha demostrado que las causas genéticas pueden variar según los antecedentes geográficos y étnicos de las poblaciones estudiadas.
- Variación de la expresión de productos génicos
- Variación de enfermedad y de fenotipo de la enfermedad
- Varía la manera en que ocurre la dosis génica
 - estructural – duplicación o delección que afecta a varios pares base
 - longitud
 - repeticiones cortas = repeticiones de dos nucleótidos (como A-C-A-C-A-C-) o repeticiones de tres nucleótidos (como CAG en la enfermedad de Huntington)
 - repeticiones largas = se repiten genes enteros
 - Mutaciones con pérdida de función
- Variación de mecanismos de compensación

¿Cómo realizamos el análisis de dosis génica? ¿Enfoques que abarcan todo el genoma?

- Pruebas citogenéticas y moleculares
 - Cariotipo
 - FISH - hibridación fluorescente *in situ*
 - Microarray
 - CGH - hibridación genómica comparativa
 - SNP - polimorfismos de nucleótido único
- Secuenciación
 - NGS – secuenciación de nueva generación
 - WES – secuenciación del exoma completo
- PCR – reacción en cadena de la polimerasa
 - qPCR - PCR cuantitativa en tiempo real
 - mPCR-RETINA - prueba múltiple de invasores en tiempo real, basada en PCR
 - MLPA - amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples



Enfoques que abarcan todo el genoma Rango de tamaño de CNV

NGS
Microarray oligo
BAC array CGH
Cariotipo

Métodos puntuales

FISH MLPA/qPCR

Secuenciación Sanger

Tamaño de cambios genómicos detectables

Morello, G., Guarnaccia, M., Spampinato, A. G., La Cognata, V., D'Agata, V., & Cavallaro, S. Copy number variations in amyotrophic lateral sclerosis: piecing the mosaic tiles together through a systems biology approach. *Molecular neurobiology* 2018; 55:2, 1299-1322. (Adaptado con permiso)

Otros enfoques notables

- Prueba de relación de parálogos (PRT)
- Conteo molecular de número de copias (MCC)
- Enfoques múltiples basados en PCR, por ej.,
 - hibridación de sonda amplificable múltiple (MAPH)
 - PCR múltiple cuantitativa de fragmentos fluorescentes cortos (QMPSF)
 - cuantificación de amplicones múltiples (MAQ)

Tendencias actuales en efectos de dosis génica

Trends in Genetics

Volume 36, Issue 10, October 2020, Pages 764-776



Review

The Consequences of Abnormal Gene Dosage: Lessons from Chromosome 18

Jannine DeMars Cody^{1, 2, 3, 4} ✉

Macromolecular crowding links ribosomal protein gene dosage to growth rate in *Vibrio cholerae*

Alfonso Soler-Bistué^{1,2}, Sebastián Aguilar-Pierlé¹, Marc Garcia-Garcerá^{3,4,5}, Marie-Eve Val¹, Odile Sismeiro⁶, Hugo Varet⁶, Rodrigo Sieira⁷, Evelyne Krin¹, Ole Skovgaard⁸, Diego J. Comerçi², Eduardo P. C. Rocha^{3,4} and Didier Mazel^{1*}

Maximizing antibody production in a targeted integration host by optimization of subunit gene dosage and position

Joe Carver, Domingos Ng, Michelle Zhou, Peggy Ko, Dejin Zhan, Mandy Yim, David Shaw, Brad Snedecor, Michael W. Laird, Steven Lang, Amy Shen, Zhilan Hu ✉

First published: 21 January 2020 | <https://doi.org/10.1002/btpr.2967> | Citations: 3

Research article | [Open Access](#) | Published: 09 November 2019

Copy number variation is highly correlated with differential gene expression: a pan-cancer study

Xin Shao, Ning Lv, Jie Liao, Jinbo Long, Rui Xue, Ni Ai, Donghang Xu ✉ & Xiaohui Fan ✉

BMC Medical Genetics **20**, Article number: 175 (2019) | [Cite this article](#)

5096 Accesses | 7 Citations | [Metrics](#)



Investigación actual en efectos de dosis génica

[Kidney Int Rep.](#) 2020 May; 5(5): 575–576.

Published online 2020 Apr 10. doi: [10.1016/j.ekir.2020.03.007](https://doi.org/10.1016/j.ekir.2020.03.007)

PMCID: PMC7210744

PMID: [32406422](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32406422/)

Copy Number Variation: A New Genetic Form of Polycystic Kidney and Liver Disease

[Takuya Fujimaru](#)¹ and [Eisei Sohara](#)^{1,*}

Research article | [Open Access](#) | Published: 29 March 2020

Sensitivity to gene dosage and gene expression affects genes with copy number variants observed among neuropsychiatric diseases

[Maria Yamasaki](#) , [Takashi Makino](#), [Seik-Soon Khor](#), [Hiromi Toyoda](#), [Taku Miyagawa](#), [Xiaoxi Liu](#), [Hitoshi Kuwabara](#), [Yukiko Kano](#), [Takafumi Shimada](#), [Toshiro Sugiyama](#), [Hisami Nishida](#), [Nagisa Sugaya](#), [Mamoru Tochigi](#), [Takeshi Otowa](#), [Yuji Okazaki](#), [Hisanobu Kaiya](#), [Yoshiya Kawamura](#), [Akinori Miyashita](#), [Ryozo Kuwano](#), [Kiyoto Kasai](#), [Hisashi Tanii](#), [Tsukasa Sasaki](#), [Makoto Honda](#) & [Katsushi Tokunaga](#)

[BMC Medical Genomics](#) **13**, Article number: 55 (2020) | [Cite this article](#)

694 Accesses | 11 Altmetric | [Metrics](#)

A comprehensive genomic scan reveals gene dosage balance impacts on quantitative traits in *Populus* trees

Check for updates

Héloïse Bastiaanse, Matthew Zinkgraf, Courtney Canning, Helen Tsai, Meric Lieberman,  Luca Comai, Isabelle Henry, and Andrew Groover

PNAS July 2, 2019 116 (27) 13690–13699; first published June 18, 2019 <https://doi.org/10.1073/pnas.1903229116>

Edited by James A. Birchler, Division of Biological Sciences, University of Missouri, Columbia, MO, and approved May 24, 2019 (received for review February 22, 2019)

[Plant Epigenetics and Epigenomics](#) pp 161–171 | [Cite as](#)

The Gene Balance Hypothesis: Epigenetics and Dosage Effects in Plants

Authors

Authors and affiliations

Xiaowen Shi, Chen Chen, Hua Yang, Jie Hou, Tieming Ji, Jianlin Cheng, Reiner A. Veitia, James A. Birchler 

Farmacoterapia & Terapia Génica

- Farmacoterapia
 - Farmacogenética
 - Ejemplo: *CYP2D6*, (cromosoma 22), un gen clave para la metabolización de fármacos que no solo hospeda múltiples variantes genéticas que afectan la función enzimática sino que también muestra una amplia gama de alelos híbridos y con números de copias diferentes en varias poblaciones de pacientes
- Edición genómica
 - cambia partes específicas de un genoma
 - CRISPR-Cas9
 - investigación en curso para determinar si este enfoque es seguro y eficaz para usarse en las personas
- Terapia génica
 - Un enfoque terapéutico que se está investigando para el tratamiento de múltiples enfermedades
 - Un vector/paquete popular es el virus adenoasociado, o AAV
 - Aunque muchas terapias génicas se encuentran en la fase de investigación temprana o de pruebas clínicas, algunas ya han sido aprobadas por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos

Terapias génicas aprobadas por la FDA

TERAPIAS GÉNICAS APROBADAS

Tipo de Terapia	Estado de la Enfermedad	Año de Aprobación
Adición de Genes		
Vector virus adenoasociado, <i>in vivo</i>	Distrofia retinal hereditaria	2017
Vector virus adenoasociado, <i>in vivo</i>	Atrofia muscular espinal	2019

TERAPIAS CON CÉLULAS CAR-T APROBADAS

Tipo de Terapia	Estado de la Enfermedad	Año de Aprobación
Vector lentivírico, <i>ex vivo</i>	Leucemia linfoblástica aguda (ALL)	2017
Vector retrovírico, <i>ex vivo</i>	Linfoma recurrente o refractario de células B grandes	2017

Reproducido con permiso de: <https://www.thegenehome.com/gene-therapy-examples>

Referencias

1. Birchler, J. A., & Veitia, R. A. Gene balance hypothesis: connecting issues of dosage sensitivity across biological disciplines. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012; 109:37, 14746-14753.
2. [https://www.cell.com/trends/genetics/fulltext/S0168-9525\(20\)30152-9?rss=yes](https://www.cell.com/trends/genetics/fulltext/S0168-9525(20)30152-9?rss=yes)
3. Laurentino, M. R., Parente Filho, S. L. A., Parente, L. L. C., da Silva Júnior, G. B., Daher, E. D. F., & Lemes, R. P. G. Non-invasive urinary biomarkers of renal function in sickle cell disease: an overview. *Annals of hematology* 2019; 1-8.
4. Morello, G., Guarnaccia, M., Spampinato, A. G., La Cognata, V., D'Agata, V., & Cavallaro, S. Copy number variations in amyotrophic lateral sclerosis: piecing the mosaic tiles together through a systems biology approach. *Molecular neurobiology* 2018; 55:2, 1299-1322.
5. Rifai, N., Horvath, A. R., Wittwer, C. T., & Park, J. (Eds.). *Principles and Applications of Molecular Diagnostics*. Elsevier 2018.
6. Shi, X., Chen, C., Yang, H., Hou, J., Ji, T., Cheng, J., ... & Birchler, J. A. The Gene Balance Hypothesis: Epigenetics and Dosage Effects in Plants. In *Plant Epigenetics and Epigenomics*. Humana 2020; 161-171.
7. Zhang, F., Gu, W., Hurles, M. E., & Lupski, J. R. Copy number variation in human health, disease, and evolution. *Annual review of genomics and human genetics* 2009; 10, 451-481.

Transparencia / Conflictos de interés potenciales

Al presentar la Cápsula, la presentadora llenó el formato de transparencia para Química Clínica. Declaraciones y/o conflictos de interés potenciales:

- **Empleo o liderazgo:** Sin declaraciones
- **Rol de consultor o asesor:** Sin declaraciones
- **Participación accionaria:** Sin declaraciones
- **Honorarios:** Sin declaraciones
- **Financiamiento de investigación:** Sin declaraciones
- **Testimonios periciales:** Sin declaraciones
- **Patentes:** Sin declaraciones

Thank you for participating in this
Clinical Chemistry Trainee Council
Pearl of Laboratory Medicine.

Find our upcoming Pearls and other
Trainee Council information at
www.traineecouncil.org

Download the free *Clinical Chemistry* app
on iTunes today for additional content!

Follow us:

