

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK**

**MEHANIZMI NASTANKA CNV-A I POSLJEDICE NA LJUDSKO  
ZDRAVLJE**

**MECHANISMS OF CNV FORMATION AND THEIR EFFECT ON  
THE HUMAN HEALTH**

**SEMINARSKI RAD**

Ivana Šašek

Preddiplomski studij molekularne biologije  
(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: Doc. dr. sc Petra Korać

Zagreb, 2015.

# SADRŽAJ

1	UVOD .....	3
2	VARIJACIJE BROJA KOPIJA .....	4
3	MEHANIZMI NASTANKA CNV-A.....	5
3.1	NEALELSKA HOMOLOGNA REKOMBINACIJA .....	6
3.2	SPARIVANJE NEHOMOLOGNIH KRAJEVA KROMOSOMA .....	7
3.3	REPLIKACIJSKI MEHANIZMI.....	8
4	UTJECAJ NA LJUDSKO ZDRAVLJE .....	11
4.1	AUTIZAM .....	11
4.2	SHIZOFRENIJA .....	12
4.3	AUTOIMUNE BOLESTI.....	13
5	ZAKLJUČAK .....	14
6	LITERATURA .....	15
7	SAŽETAK .....	17
8	SUMMARY .....	18

# 1 UVOD

U ljudskoj populaciji postoji veliki broj polimorfizama u obliku broja istih kopija specifičnih segmenata kromosoma. Prisutne su različite adicije i duplikacije koje čine varijacije u broju kopija kromosoma ili njihovih segmenata. Otkriće varijacija u broju kopija (CNV, od eng. *copy number variations*) u ljudskom genomu znatno je utjecalo na spoznaju o strukturnim varijacijama molekule DNA. Te se varijacije koriste kod utvrđivanja razlika u genomu jedinki iste vrste, jedna su od glavnih snaga evolucije genoma, čine dodatnu zalihu gena, ali su i uzrok raznih poremećaja gena jer u većini slučajeva promjene broja kopija gena ili regulatornih sekvenci drastično mijenjaju ponašanje, tj. funkciju pojedine vrste stanica. (Hastings i sur.2009). Mehanizmi njihova nastanka istraživani su na modelnim organizmima, ponajviše na pekarskom kvascu, vinskoj mušici i bakteriji *E. Coli*. Razvojem molekularnih metoda omogućena je analiza genoma u različitim populacijama, a time je došlo i do otkrića sve većeg broja strukturnih varijacija između različitih jedinki, kao i detekcije njihove uloge u nastanku različitih bolesti i poremećaja.

Tijekom godina istraživanja i razvojem novih tehnika i metoda, predloženi su različiti modeli i mehanizmi nastanka strukturnih varijacija. Posljednja istraživanja su usmjerena na pogreške u replikaciji DNA i utjecaj stresa na taj proces. Cilj ovog rada je objasniti molekularne mehanizme koji dovode do nastanka varijanti broja kopija kromosoma, te kako njihov nastanak i prisutnost u ljudskom genomu utječu na razvoj i pojavu bolesti.

## 2 VARIJACIJE BROJA KOPIJA

Strukturne varijacije su promjene u strukturi genomske DNA koje su veće od 1 kb, a pridonose različitosti genoma jedinki iste vrste. One mogu biti nestabilne, kao što su varijacije u broju kopija (CNV), ili stabilne, kao što su recipročne translokacije. Za nastanak strukturnih varijacija potreban je lom fosfodieterske veze u molekuli DNA (Stankiewicz i Lupski 2010).

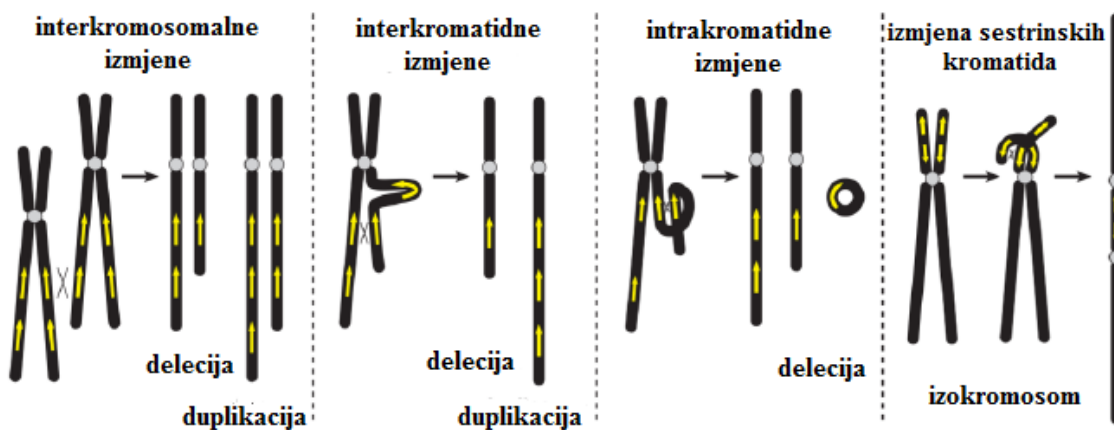
CNV čine segmenti DNA veličine od 1 kb do nekoliko megabaza, a uzrok su neravnoteže genoma neke vrste. Delecije, duplikacije, triplikacije, insercije i translokacije mogu uzrokovati CNV-ove. Otprilike 13% genoma čine CNV-ovi, a njihova distribucija nije nasumična, već je ona povezana sa lokacijom egzona, pokretnih genetičkih elemenata ili segmentalnih duplikacija. CNV-ovi se mogu nasljeđivati ili povremeno *de novo* pojavljivati u genomu (Cooper i sur. 2007).

Postoji poveznica između CNV-a i malog broj kopija ponavljanja (LCR, do eng. *low-copy repeats*). LCR-ovi su DNA fragmenti veći od 1 kb, čija sekvenca se ponavlja dva ili više puta u genomu. Često se nazivaju i segmentalnim duplikacijama, a homologija njihovih sekvenci je veća od 90%. LCR-ovi mogu stimulirati stvaranje CNV-ova i na taj način uzrokovati nestabilnost genoma (Stankiewicz i Lupski 2010).

Neutralni evolucijski procesi objašnjavaju pojavu CNV-ova kao slabih mutacija bez fenotipskih posljedica. Pretpostavlja se da su mehanizmi koji dovode do povećanja broja ovih mutacija povezani sa lokalnim značajkama genoma, tj. određene su regije podložnije njihovom nastanku. Dokazano je da su regije u kojima se nalaze LCR-ovi su podložnije nastanku CNV-ova u odnosu na druge regije u genomu. Drugi evolucijski mehanizam, prirodna selekcija, aktivno utječe na distribuciju CNV-a u genomu. Selekcija može utjecati na razinu genske ekspresije, te omogućiti duplikaciju ili deleciju regulatornih transkripcijskih elemenata gena koji se nalaze unutar ili u blizini CNV-a. (Cooper i sur. 2007) .

### 3 MEHANIZMI NASTANKA CNV-a

Mehanizmi koji uzrokuju pojavu CNV-a mogu se dogoditi u spolnim stanicama tijekom mejoze, ali i postzigotno u ranim fazama embrionalnog razvoja. Osim nasljeđivanjem od roditelja, CNV-ovi mogu nastati sljedećim procesima: intrakromatidnim izmjenama - izmjenama materijala između istih kromatida, interkromatidnim izmjenama - izmjenama među sestrinskim kromatidama i interkromosomalnim izmjenama - izmjenama između homolognih kromosoma (Slika 1) (Sun i sur. 2012).



Slika 1. Mehanizmi nastanka CNV-a ( preuzeto iz Liu i sur. 2012.)

Kao posljedica svih tih procesa mogu se javiti duplikacije, delecije, translokacije i inverzije. Duplikacijom će se određeni dijelovi kromosoma pojavljivati više puta, delecijom će se izgubiti dio kromosoma, a translokacijom će se premjestiti segment jednog kromosoma na drugi kromosom.

Promjene u strukturi kromosoma najčešće se događaju homolognom i nehomolognom rekombinacijom. Osnovno svojstvo rekombinacije je da dolazi do izmjene genetičkog materijala. U mehanizmu homologne rekombinacije potrebna je regija homologije kako bi došlo do rekombinacije, dok se u mehanizmu nehomologne rekombinacije koristi mikrohomologija nekoliko komplementarnih baznih parova ili nema homologije.

Do promjena neće doći ako se koriste homologne sekvence koje se nalaze na jednakim položajima u sestričkim kromatidama, ali postoji mogućnost rekombinacije između homolognih sekvenci koje se nalaze na različitim položajima u kromosomima (Hastings i sur. 2009).

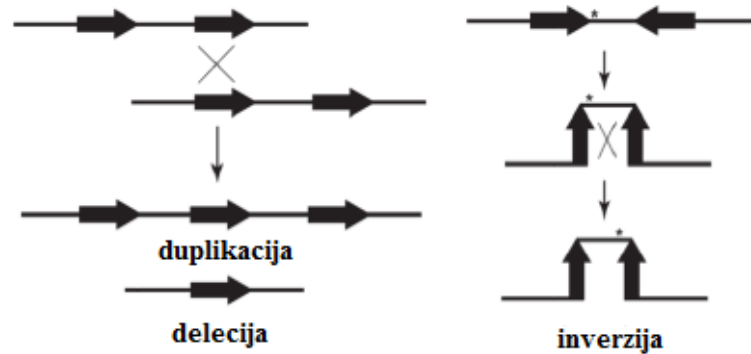
Prema mehanizmu kojim nastaju CNV-ovi su podijeljeni u dvije velike grupe: učestali CNV-ovi i rijetki CNV-ovi. Učestali CNV-ovi čine 20-40% svih CNV-a, a dijelovi genoma u kojima se nalaze su regije segmentalnih duplikacija. Veliki broj ovih CNV-ova povezan je s psihičkim poremećajima kao što su autizam i shizofrenija. Rijetki se CNV-ovi baziraju na mikrohomologijama koje imaju tupe krajeve ili kratke insercije na mjestima spajanja. Većina rijetkih CNV-ova su jednostavne tandemske duplikacije ili delecije, no postoje i kompleksnije strukture koje mogu u istoj sekvenci sadržavati i duplicirane i deletirane segmente (Arlt i sur. 2012).

Predloženo je mnogo mehanizama kojima nastaju CNV-ovi, a tri najvažnija mehanizma su: nealelska homologna rekombinacija, sparivanje nehomolognih krajeva kromosoma i replikacijski mehanizmi (Sun i sur. 2012).

### **3.1 Nealelska homologna rekombinacija**

Jedan od prvih otkrivenih mehanizama koji uzrokuje nastanak CNV-a je nealelska homologna rekombinacija (NAHR, od eng. *nonallelic homologous recombination*). Ovakva rekombinacija uključuje iste sekvence gena u nesrodnim jedinkama (Liu i sur. 2012.). NAHR se događa i u spolnim i somatskim stanicama. U spolnim stanicama može uzrokovati promjene gena koje će dovesti do pojave poremećaja, a u somatskim stanicama kao rezultat mitoze može se javiti mozaična populacija stanica (Gu i sur. 2008.). Promjene gena su posredovane učestalim genetičkim strukturama, intervalima koji su omeđeni paralognim repetitivnim sekvencama ili LCR-ovima. LCR-ovi su važni medijatori i stimulatori NAHR-a, štoviše smatra ih se „vrućim mjestima“ NAHR-a. Njihova međusobna pojava na udaljenosti manjoj od 10 mb može biti uzrok pomaka položaja kromosoma ili kromatida pri čemu se javlja NAHR koji može rezultirati nejednakim *crossingoverom* (Stankiewicz i Lupski 2010).

Ako se NAHR dogodi između LCR-ova u istoj orijentaciji, rezultat će delecijom ili duplikacijom (Slika 2). Najčešće je to recipročna duplikacija segmenta koji se nalazi između LCR-ova. Ovaj mehanizam pogoduje delecijama zato jer one mogu nastati i u cis i trans orijentaciji, dok duplikacije mogu jedino nastati *crossingoverom* u trans orijentaciji (Liu i sur. 2012).



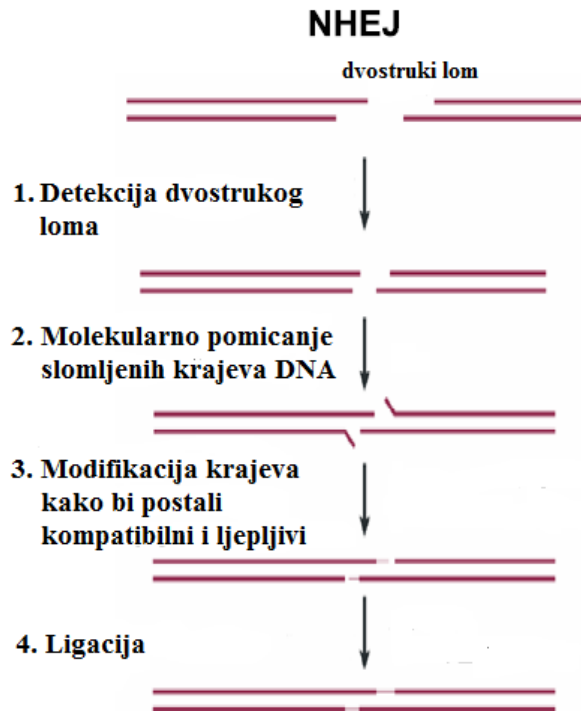
**Slika 2. Mogući ishodi NAHR-a (preuzeto iz Liu i sur. 2012.)**

Nealelska homologna rekombinacija inverznih LCR-ova dovodi do inverzije tog segmenta genoma (Slika 2). Također, česta je pojava i struktura izokromosoma; strukturalno abnormalnih kromosoma kod kojih je jedan krak deletiran, a drugi dupliciran; a njihova pojava je povezana sa paralognim LCR-ovima koji se nalaze na sestrinskim kromatidama (Liu i sur. 2012).

### 3.2 Sparivanje nehomolognih krajeva kromosoma

Ovaj proces dio je mehanizma popravka dvolančanih lomova molekule DNA koji mogu nastati djelovanjem ionizirajućeg zračenja ili reaktivnih kisikovih radikala. Za popravak nije potrebna homologija lanaca ili se koristi vrlo mala mikrohomologija, pri čemu se lanci direktno spajaju.

Četiri su važna koraka kod nehomolognog spajanja krajeva kromosoma (NHEJ, od eng. *nonhomologous end joining*) (Slika 3). Prvo se detektiraju dvolančani lomovi u molekuli DNA na koje se onda vežu enzimi koji su potrebni za njihov popravak. Enzimi približavaju lance kako bi se oni spojili, pri čemu nastaju stršeći krajevi DNA. Stršeći krajevi se modificiraju da bi postali ljepljivi kako bih ih ligaza u zadnjem koraku povezala.



**Slika 3. Prikaz glavnih koraka nehomolognog spajanja kromosoma (preuzeto iz Gu i sur. 2008.)**

U ovom mehanizmu kao medijatori ne sudjeluju LCR-ovi, no mehanizam se može inducirati samom strukturom genoma (Gu i sur. 2008). Nakon ovakvog popravka nastaju promjene u sekvenci DNA, a najčešće su to dodatni nukleotidi na mjestu spajanja molekula (Gu i sur. 2008). Sparivanje nehomolognih krajeva kromosoma češće je u spolnim stanicama gdje u mejozi može dovesti do interkromosomalnih i intrakromosomalnih promjena (Sun i sur.2012).

### 3.3 Replikacijski mehanizmi

Replikacija je vrlo važan biološki proces jer omogućuje precizno prepisivanje molekule DNA tijekom umnažanja. U replikaciji sudjeluju oba lanca DNA istovremeno pa ih je potrebno odmotati i razdvojiti. Struktura koja nastaje razmatanjem DNA naziva se replikacijska rašlja u kojoj svaki lanac služi kao kalup za sintezu novoga komplementarnog lanca.



Vodećim lancem se naziva lanac koji se sintetizira u 5'-3' smjeru, a tromi lanac se sintetizira u 3'-5' smjeru. Replikacija je vrlo složen proces, te su unatoč postojanju enzima koji ima korektivnu aktivnost, pogreške u replikaciji moguće.

Mehanizmi koji se temelje na pogreškama u replikaciji DNA vrlo su važni u nepovratnim složenim promjenama gena. Te složene promjene obuhvaćaju velik broj varijacija u broju kopija, insercije kratkih sekvenci na mjestima lomova i pojavu mikrohomologije na mjestima popravka lomova nastalih replikacijom (Liu i sur. 2012).

Jedan od takvih mehanizama je mehanizam zaustavljanja replikacijske rašlje i zamjene kalupa (FoSTeS, od eng. *fork stalling and template switching*) kao i posredovani mehanizam replikacije inducirane lomom (MMBIR, od eng. *mediated break-induced replication*). To su replikacijski mehanizmi popravka DNA koji koriste nukleotidnu mikrohomologiju. Dodatno, poseban mehanizam koji govori o nastavku replikacije kod neispravne replikacijske rašlje naziva se replikacija inducirana lomom (BIR, od eng. *break-induced replication*).

Prema modelu BIR kada replikacijska rašlja dođe do ureza u lancu koji je kalup, dio rašlje se odvaja što dovodi do nestanka replikacijske rašlje. Prekinuti lanac, koji je bio dio replikacijske rašlje, pocijepa se pomoću enzima kako bi nastao 3' kraj. Taj kraj će pronaći homolognu sekvencu, najčešće na sestrinskoj kromatidi, i stvoriti omču koja će naknadno postati nova replikacijska rašlja koja sadrži vodeći i tromi lanac. Ovakva replikacija nije učinkovita, te će doći do odvajanja dijela rašlje i ponavljanja procesa. Nakon određenog broja ponavljanja mehanizma, replikacija će se normalno nastaviti. U slučaju da pronađena homologna sekvencija nije na sestrinskoj kromatidi, može doći do translokacija (Hastings i sur. 2009).

U modelu FoSTeS, tijekom DNA replikacije replikacijska rašlja se zaustavlja kada nailazi na LCR ili dijelove genoma koji se teže repliciraju. Kada se replikacijska rašlja zaustavi, tromi lanac se odvaja od kalupa, pronalazi novu replikacijsku rašlju u svojoj neposrednoj blizini i veže se za nju. Vezanje lanca je omogućeno mikrohomologijom na 3' kraju gdje započinje sinteza nove DNA (Stankiewicz i Lupski 2010). Nije predložen detaljan molekularni mehanizam ovog modela jer ga je teško eksperimentalno provjeriti (Hastings i sur. 2009).

Model MMBIR razjašnjava mehanizam položaja nove rašlje na koju se lanac vezao. Ovisno o tome nalazi li se nova rašlja uzvodno ili nizvodno od mjesta na kojem se početna rašlja zaustavila, dogodit će se duplikacija ili delecija. Izbor tromog ili vodećeg lanca nove replikacijske rašlje kao kalupa za sintezu novog lanca, određuje orijentaciju pogrešno ugrađenog fragmenta. Orijehtacija može biti normalna ili inverzna (Gu i sur. 2008). Ako se rašlja pozicionirala iza već duplirane sekvence, može doći do pojave triplikacija. Moguće su i translokacije u slučaju vezanja na rašlju koja se nalazi na nekom drugom kromosomu. Pomoću ovog modela mogu nastati LCR-ovi koji su stimulatori NAHR-a (Hastings i sur. 2009).

Replikacijski mehanizmi imaju važnu ulogu u formiranju rijetkih CNV-ova koji mogu biti uzrok kompleksnih promjena genoma. Ovi mehanizmi mogu poslužiti kao model za objašnjenje nastanka jednostavnih promjena, kao što su delecije, duplikacije, translokacije i inverzije, ali i složenijih promjena genoma (Liu i sur.2012).

## 4 UTJECAJ NA LJUDSKO ZDRAVLJE

Kako bi mogli razumjeti ulogu CNV-a u razvoju ljudskih bolesti, potrebno je proučiti fenotipske promjene koji oni uzrokuju. Delecije i duplikacije mogu različitim molekularnim mehanizmima dovesti do promjene fenotipa. CNV može utjecati na ekspresiju okolnih gena unutar genomske regije u kojoj se nalazi i tako uzrokovati različite fenotipe (Schaschl i sur. 2009). Jedna od najčešćih posljedica je promjena broja kopija regulatornih regija gena koji ovise o količini. CNV-ovi mogu rezultirati i pozicijskim efektom na način da se stvaraju bliže ili dalje od heterokromatinskih područja. (Smith i sur. 2010). Također, kao posljedica interakcije CNV-a i drugih varijanti javlja se negativna fenotipska promjena koju uzrokuje pojava recesivne mutacije na alelu nakon što se dogodila delecija (Kurotaki i sur. 2005).

Otkriveno je da su mnoge bolesti i složeni poremećaji povezani s CNV-om. Kod pacijenata oboljelih od autizma, shizofrenije, epilepsije, Parkinsonove bolesti, Alzheimerove bolesti i autoimunih bolesti otkrivene su delecije ili duplikacije određenih kromosoma. Najčešći CNV prisutan u ljudskoj populaciji je 16p11.2, a povezan je sa spektrom poremećaja živčanog sustava (Shishido i sur. 2014).

### 4.1 Autizam

Autizam je poremećaj živčanog sustava u kojem se javljaju problemi s komunikacijom, smanjena mogućnost socijalne interakcije i ograničeni obrasci ponašanja. Smatra se da oko 10% ljudske populacije oboljele od autizma u svom genomu ima prisutne kromosomske strukturne promjene. Ako su se te promjene dogodile u genima koji kodiraju stanične signalne molekule, mogu se razviti različiti poremećaji koji zahvaćaju živčani sustav (Shishido i sur. 2014).

Genetička podloga ovog poremećaja poznata je za mali broj slučajeva. Duplikacijski sindrom 15q11q3, nasljeđuje se od majke. Regija u kojoj dolazi do duplikacije je podložna čestim promjenama, te se pojava duplikacije smatra rizičnim faktorom za razvoj autizma (Marshall i sur. 2008).

Delecije na dužem kraku kromosoma 7, na kromosomu 22, dugog kraka kromosoma 2 i dugog kraka kromosoma 18 imaju ulogu u razvoju opisanog poremećaja. 15q13.3 mikrolelecijski sindrom, može dovesti do pojave različitih kompleksnih fenotipova koji su povezani s razvojem živčanog sustava, a među kojima je i autizam (Shinawi i sur. 2009). U regiji u kojoj dolazi do delecije nalaze se geni koji sudjeluju u regulaciji aktivnosti živčanog sustava, a jedan od tih gena kodira za protein ubikvitin ligazu (UBE3A) koji sudjeluje u denaturaciji proteina. Delecija regije u kojoj se nalazi taj gen potiče razvoj autizma (Shishido i sur. 2014).

## 4.2 Shizofrenija

Složeni psihički poremećaj u kojem se javljaju halucinacije, deluzije, manjak kognitivnih sposobnosti i apatija zove se shizofrenija.

Epidemiološkim istraživanjima na blizancima otkrivena je složena genetička pozadina bolesti koja se nasljeđuje u 73%-90% slučajeva (Stankiewicz i Lupski 2010). Mikrolelecijski sindrom 15q13.3 prisutan je kod pacijenata oboljelih od shizofrenije kao i kod onih s autizmom. Ovaj sindrom obuhvaća 1.5 Mb regiju između dviju segmentalnih duplikacija, kao i 3.8 Mb deleciju. Recipročna duplikacija ove regije smatra se rizičnim faktorom za pojavu bolesti (Magri i sur.2010). Prisutnost delecije 22q11.2, poznate kao i sindrom 22q11.2, kod pacijenata povećava vjerojatnost pojave shizofrenije. 3 Mb delecija na kromosomu 22 obuhvaća regiju u kojoj se nalazi 6 gena koji sudjeluju u razvoju živčanog sustava (Bassett i sur. 2008). Delecijska regija 1q21.2 u kojoj se nalaze četiri segmentalne duplikacije je vrlo kompleksna. Delecija koja uzrokuje pojavu bolesti obuhvaća 1.35 Mb regiju koja se nalazi između segmentalnih duplikacija (Magri i sur.2010). Ova delecija se može nasljeđivati od majke ili nastati *de novo* (Mefford i sur. 2008). Delecijom regije na kromosomu 2 nestaju četiri gena, a pojava te delecije je češća kod pacijenata oboljelih od shizofrenije nego kod zdravih pacijenata (Magri i sur. 2010).

### 4.3 Autoimune bolesti

Nastanak autoimunih bolesti kao što su sistemski lupus, Chronova bolest, reumatodni artritis, psorijaza i dijabetes tipa 1 povezan je s CNV-om. Ako je CNV prisutan u genima karakteristično eksprimiranim u stanicama imunološkog sustava koji su ovisni o količini, može uzrokovati različite poremećaje.

Segmentalna duplikacija regije na kromosomu 1 utječe na gene Fc receptora koji se veže se za imonoglobulin G. Različiti polimorfizmi baznih parova prisutni u toj genskoj regiji pridonose razvoju autoimunih bolesti (Schaschal i sur. 2009).

Defenzini su antimikrobni peptidi koji imaju višestruke uloge u imunološkom sustavu, a klaster njihovih gena na 900 kb regiji kromosoma 8 podložan je segmentalnim duplikacijama i inverzijama, što se povezuje sa Chronovom bolesti i psorijazom. Delecija uzvodno od GTP-azne familije M gena je rijedak primjer povezanosti CNV-a s autoimunim bolestima. To je 20 kb delecija, koja se nalazi 2.7 kpb uzvodno od gena i uzrok je razvoja Chronove bolesti. Lokus komplementa 4 (C4) lokus nalazi se u blizini segmentalnih duplikacija, a gen C4 postoji u obliku C4A i C4B koji oboje variraju u broju kopija. Potpuni nedostatak C4 proteina jedan je od rizičnih faktora za razvoj sistemskog eritemskog lupusa. Segmentalne duplikacije okružuju regiju u kojoj se nalazi gen za neutrofilni citosolni faktor 1 na kromosomu 7. Postoji više identičnih kopija toga gena od kojih neke imaju 2 pb deleciju koja uzrokuje nastanak nefunkcionalnog proteina. Kopije koje ne sadrže deleciju, variraju u broju. Iako nije u potpunosti eksperimentalno utvrđeno, smatra se da ovaj gen ima ulogu u razvoju reumatoidnog artritisa (Olson i Holmdahl, 2012). Gen na kromosomu 17, koji varira u broju kopija, kodira ligand kemokina (*CCL3L1*), a on se veže za različite receptore citokina. Pretpostavlja se da taj gen ima utjecaj na autoimunost, ali zbog kompleksnosti regije nije moguće eksperimentalno potvrditi ovu tvrdnju (Kulkarni i sur. 2009).

## 5 ZAKLJUČAK

Otkriće molekularnih mehanizama nastanka CNV-a omogućilo je razumijevanje njihovih mutacijskih procesa i utjecaja na fenotip. Regije gena koji su uključeni u razvoj živčanog i imunoškog sustava podložne su nastanku CNV-a, te uzrokuju fenotipske promjene i razvoj bolesti. Daljnja istraživanja mehanizama koja uključuju homolognu i nehomolognu rekombinaciju potreba su kako bi se istražili svi aspekti ovakvih promjena genoma. Također potrebna su i daljnja istraživanja replikacijskih mehanizama koji nisu u potpunosti eksperimentalno dokazani, ali se na temelju predloženih modela vjeruje da su vezani za velik broj složenih strukturnih promjena genoma.

Genske terapije koje se temelje na otkrivenim mehanizama nastanka CNV-a mogle bi pomoći u liječenju bolesti i određene fenotipske promjene direktno povezati sa CNV-om. U budućnosti razvoj novih tehnologija i metoda omogućit će detekciju sve većeg broja strukturnih varijacija u ljudskom genomu.

## 6 LITERATURA

- Arlt Martin F., Wilson Thomas E., Glover Thomas W., 2012. Replication Stress and Mechanisms of CNV Formation. *Current Opinion in Genetics & Development* **22**, 204-210
- Bassett Anne S., Scherer Stephen W., Brzustowicz Linda M., 2010. Copy Number Variations in Schizophrenia: Critical Review and New Perspectives on Concepts of Genetics and Disease. *The American Journal of Psychiatry* **167**, 899-914
- Cooper Gregory M., Nickerson Deborah A, Eichler Evan E, 2007. Mutational and selective effects on copy-number variants in the human genome. *Nature Genetics* **39**, 22-29
- Gu Wenli, Zhang Feng, Lupski James R, 2008. Mechanisms for human genomic rearrangements. *PathoGenetics* **1**
- Hastings PJ, Lupski James R, Rosenberg Susan M, Ira Gregorz, 2009. Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews Genetics* **10**, 551-564
- Hasting PJ, Ira Gregorz, Lupski James R, 2009. A microhomology-mediated break-induced replication model for the origin of human copy number variation. *PLoS Genetics* **5**
- Kulkarni H, Castiblanco J, Shimizu C, Aluyen i sur., 2009. Reply to: "Experimental aspects of copy number variant assays at CCL3L1". *Nature Medicine* **15**, 1117 – 1120
- Kurotaki N, Shen JJ, Touyama M i sur., 2005. Phenotypic consequences of genetic variation at hemizygous alleles: Sotos syndrome is a contiguous gene syndrome incorporating coagulation factor twelve (FXII) deficiency. *Genetics in Medicine* **7**, 479-483
- Liu Pehgfei, Carvalho Claudia M.B., Hastings P.J, Lupski James R. 2012, Mechanisms for recurrent and complex human genomic rearrangements. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* **22**, 211-220

- Magri C, Sacchetti E, Traversa M i sur., 2010. New copy number variations in schizophrenia. *PLos One*,**5**
- Mefford HC, Sharp AJ, Baker C. i sur., 2008. Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *The New England Journal of Medicine* **359**, 1685-1699
- Olsson Lina M., Holmdahl Rikard, 2012. Copy number variation in autoimmunity-importance hidden in complexity? *European Journal of Immunology* **42**, 1969-1976
- Schaschal H., Aitman T. J., Vyse T.J, 2009. Copy number variation in the human genome and its implication in autoimmunity. *Clinical and Experimental Immunology* **156**, 12-16
- Shinawi M1, Schaaf CP, Bhatt SS i sur., 2009. A small recurrent deletion within 15q13.3 is associated with a range of neurodevelopmental phenotypes. *Nature Genetics* **41**, 1269-1271
- Shishido Emiko, Aleksic Branko, Ozaki Norio, 2014. Copy-number variation in the pathogenesis of autism spectrum disorder. *Psychiatry and Clinical Neurosciences* **68**, 85-95
- Smith Adam J., Trewick Anne L., Blakemore Alexandra I. F., 2010. Implications of copy number variation in people with chromosomal abnormalities: potential for greater variation in copy number state may contribute to variability of phenotype. *The HUGO Journal* **4**, 1-9
- Stankiewicz Pawel, Lupski James R., 2010. Structural Variation in the Human Genome and its Role in Disease. *The Annual Review of Medicine* **61**, 437-455
- Sun Zhe, Liu Pengfei, Jia Xueyuan i sur., 2013. Replicative mechanisms of CNV formation preferentially occur as intrachromosomal events: evidence from Potocki-Lupski duplication syndrome. *Human Molecular Genetics* **22**, 749-756



## 7 SAŽETAK

Strukturne varijacije pridonose različitosti genoma jedinki iste vrste, a mogu biti nestabilne, kao što su varijacije u broju kopija (CNV. Od eng. *copy-number variations*), ili stabilne, kao što su recipročne translokacije. CNV čine segmenti DNA veličine od 1 kb do nekoliko megabaza. Delecije, duplikacije, triplikacije, insercije i translokacije mogu biti posljedica pojave takvih varijacija. CNV-ovi se mogu nasljeđivati od roditelja ili povremeno pojavljivati *de novo* u genomu, a kao stimulatori u njihovom nastajanju sudjeluju male kopije ponavljanja (LCR, od eng. *low copy repeats*). Cilj ovog rada je objasniti molekularne mehanizme koji dovode do nastanka CNV-a i njihov utjecaj na ljudsko zdravlje. Najvažniji mehanizmi su nealelska homologna rekombinacija, sparivanje nehomolognih krajeva kromosoma i replikativni mehanizmi. Ovisno o vrsti mehanizmima kojim nastaju, CNV-ovi su podijeljeni u dvije skupine: učestali CNV-ovi (*recurrent CNV*) i rijetki CNV-ovi (*non-recurrent CNV*). CNV se povezuje s nastankom bolesti imunološkog i živčanog sustava, a najviše istraživanja je provedeno na pacijentima oboljelih od autoimunih bolesti, shizofrenije i autizma. S razvojem novih metoda i tehnologija uloga CNV-a u razvoju poremećaja i bolesti bit će eksperimentalno potvrđena, a molekularni mehanizmi njihovog nastanka omogućit će razvoj genskih terapija i uspješnije liječenje bolesti.

## 8 SUMMARY

Structural variations of the genome contribute to the diversity of individuals and can be unstable, such as copy-number variations (CNV), or stable, such as reciprocal translocations. CNVs are segments of DNA ranging from one kilobase to several megabases in size. Deletions, duplications, insertions and translocations may be the cause of these variations. The aim of this review is to explain the mechanisms of CNV formation and their consequences on human health. The most important mechanisms are nonallelic homologous recombination (NAHR), nonhomologous end joining (NHEJ) and replicative mechanisms. Depending on the type of the mechanism that CNVs are formed by, they are divided into two major categories: recurrent CNVs and non-recurrent CNVs. CNVs are associated with the occurrence of the diseases in the immune and nervous systems. Most of the research has been done in patients that suffer from autoimmune diseases, schizophrenia and autism. With the development of new methods and technologies, the role of CNVs in the occurrence of different diseases will be experimentally confirmed, and molecular mechanisms of their formation will allow the development of gene therapies.