

Molekulare Pathologie & Mutationen

Peter N. Robinson

Institut für medizinische Genetik
Charité Universitätsmedizin Berlin

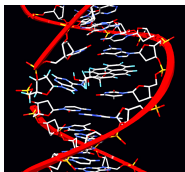
21. Dezember 2015

Outline

- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen
- 3 Mikrodeletionssyndrome
- 4 Nomenklatur
- 5 Molekulare Pathologie

Einfache Mutationen

- Mutationen in der DNA können durch eines der zahlreichen Mutagene in der Umwelt hervorgerufen werden
 - ▶ z.B. Mutationsrate der hypervariablen Minisatellitenloci war verdoppelt bei Menschen, die den radioaktiven Niederschlägen von Tschernobyl ausgesetzt waren
- Unter normalen Bedingungen rühren die meisten Mutationen jedoch von **endogenen** Effekten her, z.B: spontan auftretende Fehler bei der DNA-Replikation.



Einfache Mutationen

- $\sim 10^{17}$ Zellteilungen im Leben eines Menschen
- Jede Zellteilung erfordert Neusynthese von 6×10^9 Nukleotiden
- Fehlerfreie DNA-Replikationen würde $\sim 10^{26}$ richtige Syntheseschritte erfordern ...
- Tatsächliche Genauigkeit der DNA-Polymerasen: Ein Replikationsfehler pro $10^9 - 10^{11}$ eingebauten Nukleotiden
- Exons proteinkodierender Gene: $\sim 1.5\%$ der DNA \Rightarrow
 $1.65 \times 10^{-6} - 1.65 \times 10^{-8}$ Mutationen pro Gen pro Zellteilung
- Bei 10^{16} Mitose $\Rightarrow 10^8 - 10^{10}$ Mutationen pro Gen
- Schädliche Mutationen in somatischen Zellen bleiben meist ohne Folgen

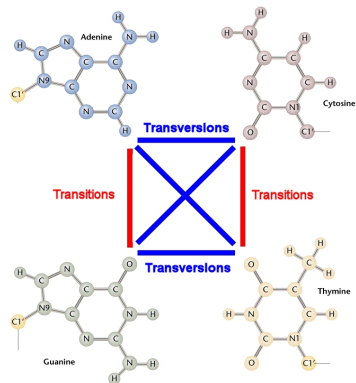
Transversionen und Transitionen

- Transition:

- ▶ Pyrimidin zu Pyrimidin: $C \leftrightarrow T$
- ▶ Purin zu Purin: $A \leftrightarrow G$

- Transversion

- ▶ Pyrimidin zu Purin $C \rightarrow A, C \rightarrow G$
- ▶ Pyrimidin zu Purin $T \rightarrow A, T \rightarrow G$
- ▶ Purin zu Pyrimidin $A \rightarrow C, A \rightarrow T$
- ▶ Purin zu Pyrimidin $G \rightarrow C, G \rightarrow T$



- Transitionen sind häufiger als Transversionen (wohl wegen der chemischen Ähnlichkeit innerhalb der beiden Gruppen)

Beobachtete Mutationen

- In der DNA entstehen die meisten Mutationen wohl rein zufällig
- Beim menschlichen Genom macht die kodierende DNA etwa 1.5%, die konservierte DNA insgesamt etwa 5–8% aus
- Krankheitsauslösende Mutationen betreffen vor allem diese Sequenzen

Synonyme (stille) Mutationen

UUU Phe 17,1	UCU Ser 14,7	UAU Tyr 12,1	UGU Cys 10,1
UUC Phe 20,4	UCC Ser 17,5	UAC Tyr 15,5	UGC Cys 12,4
UUA Leu 7,3	UCA Ser 11,9	(UAA STOPP)	(UGA STOPP)
UUG Leu 12,7	UCG Ser 4,5	(UAG STOPP)	UGG Trp 13,0
CUU Leu 12,9	CCU Pro 17,3	CAU His 10,6	CGU Arg 4,7
CUC Leu 19,5	CCC Pro 20,0	CAC His 15,0	CGC Arg 10,8
CUA Leu 7,0	CCA Pro 16,7	CAA Gln 11,9	CGA Arg 6,3
CUG Leu 40,1	CCG Pro 7,0	CAG Gln 34,4	CGG Arg 11,8
AUU Ile 15,8	ACU Thr 12,9	AAU Asn 16,7	AGU Ser 12,0
AUC Ile 21,3	ACC Thr 19,1	AAC Asn 19,3	AGC Ser 19,4
AUA Ile 7,2	ACA Thr 14,9	AAA Lys 24,0	AGA Arg 11,7
AUG Met 22,3	ACG Thr 6,2	AAG Lys 32,5	AGG Arg 11,6
GUU Val 10,9	GCU Ala 18,6	GAU Asp 22,1	GGU Gly 10,8
GUC Val 14,6	GCC Ala 28,4	GAC Asp 25,7	GGC Gly 22,6
GUA Val 7,0	GCA Ala 16,0	GAA Glu 29,0	GGA Gly 16,4
GUG Val 28,7	GCG Ala 7,6	GAG Glu 40,3	GGG Gly 16,4

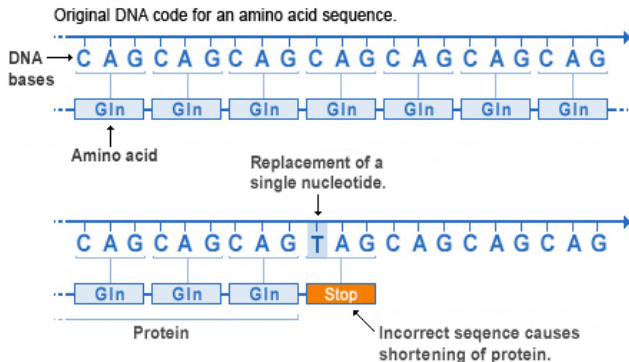
N nichtdegenerierte Position
N zweifach degenerierte Position
N vierfach degenerierte Position

Aus Strachan/Read: Molekulare Humangenetik, 3. Aufl. © 2005 Elsevier GmbH

Synonym = Keine Veränderung der Aminosäuresequenz

Nonsense Mutationen

Nonsense mutation



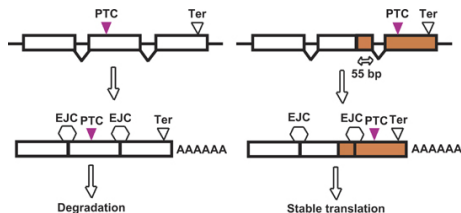
U.S. National Library of Medicine

US National Library of Medicine

- Vorzeitiger Abbruch der Translation
- Nonsense-vermittelter Abbau (NMD)

Nonsense-mediated decay

- Das NMD-System überwacht die mRNA und baut Transkripte ab, welche ein vorzeitiges Stoppcodon enthalten, um die Translation unnötiger bzw. aberranter Transkripte zu verhindern

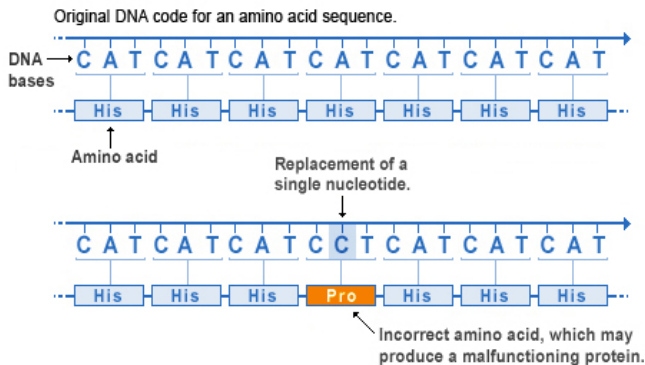


exon-junction complex (EJC): "Marke" nach Entfernung eines Introns
→ Abbau von Transkripten mit Stoppcodon vor dem letzten Exon

Khajavi M et al (2006) *Eur J Hum Genet.* 14:1074–81

Missense Mutationen

Missense mutation



U.S. National Library of Medicine

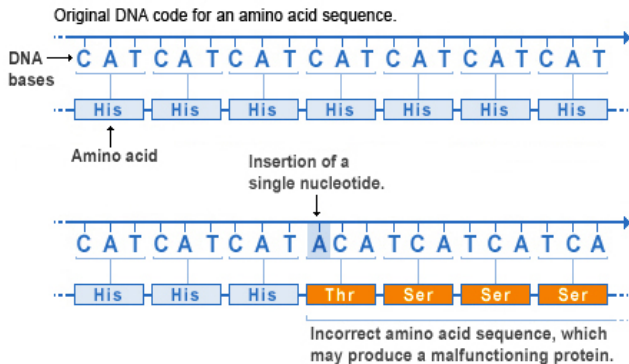
US National Library of Medicine

Missense Mutationen: Konservativ vs. Nichtkonservativ

- Durch eine konservative Substitution wird eine Aminosäure durch eine chemisch ähnliche Aminosäure ersetzt
- Der genetische Code hat sich offenbar so entwickelt, dass der Effekt von Basensubstitutionen häufig eine konservative Aminosäuresubstitution ist

Insertionen

Insertion mutation

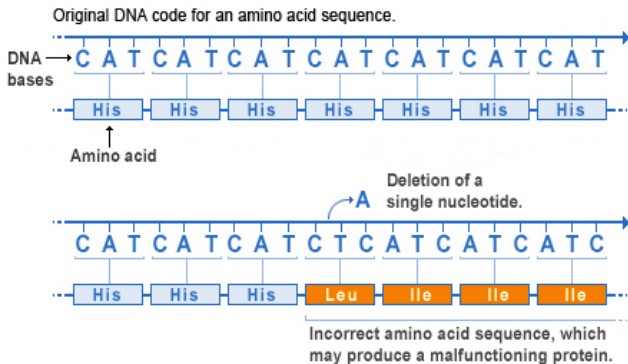


U.S. National Library of Medicine

US National Library of Medicine

Deletionen

Deletion mutation



U.S. National Library of Medicine

US National Library of Medicine

Punktmutationen

Wildtyp

MAX HOL MIR EIN EIS

Substitution

”Konservativ”

MAX HOL DIR EIN EIS

”Nichtkonservativ”

MAX HOL MIR EIN EFS

Deletion

1 bp

MAX HOM IRE INE IS

3 bp

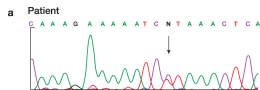
MAX HOL EIN EIS

Insertion

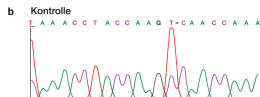
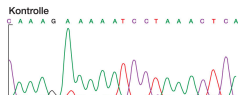
1 bp

MAX HOL ADI REI NEI S

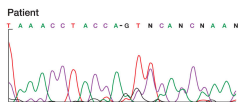
Nachweis von Mutationen durch DNA-Sequenzierung



a) heterozygote Mutation



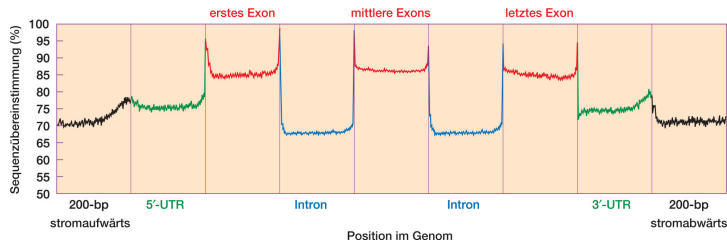
b) Insertion einer einzelnen Base (3659delC)



Aus Strahan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

Sequenzkonservierung

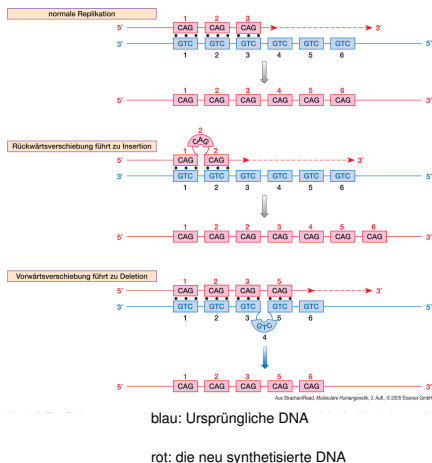
- Neutrale Substitutionsrate beim Menschen von ca. 2×10^{-9} pro Position und Jahr
- Diese Substitutionsrate gilt z.B. für die "Wobble"-Positionen der Codons und in vielen nichtkodierenden Sequenzen
- Eine geringere Divergenz zwischen z.B. Mensch und Maus deutet auf eine negative Selektion hin



Aus Strachan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

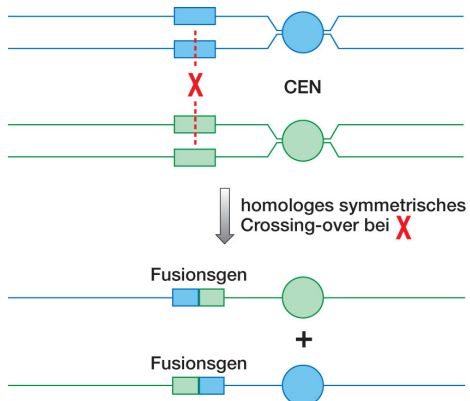
VNTR-Polymorphismen

- Mutationsrate von Mikrosatellitenloci ca. 10^{-4} pro Locus/Generation
- Fehlpaarung von gegeneinander verschobenen DNA-Strängen (slipped strand mispairing)



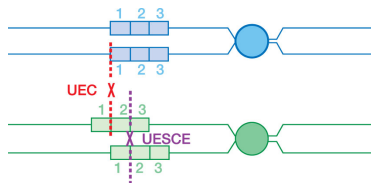
Homologe Rekombination

- Austausch zwischen identischen Sequenzen während der Meiose bei einem Paar homologer Chromosomen
- Der Austausch ist normalerweise ausgeglichen: Spaltung und Neuverknüpfung erfolgen an der gleichen Position



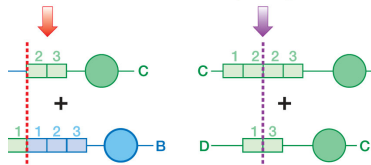
Ungleiches Crossing-over

- Eine Form nichtalleler homologer Rekombination
- Crossing-over zwischen nichtallelen Sequenzen auf Nichtschwesterchromatiden von einem Paar homologer Chromosomen

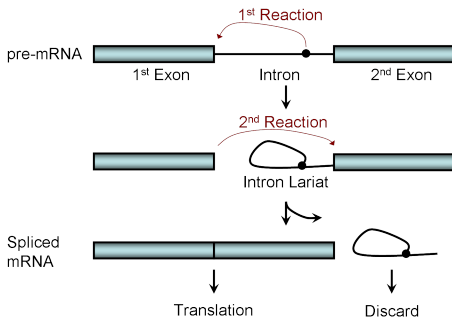
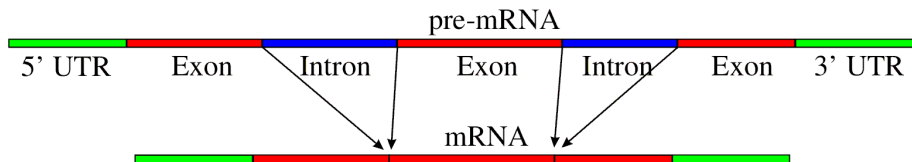


ungleiches Crossing-over (UEC)

ungleicher Austausch zwischen Schwesterchromatid (UESCE)



RNA-Spleißen



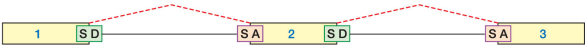
Wikipedia

● GT-AG-Regel

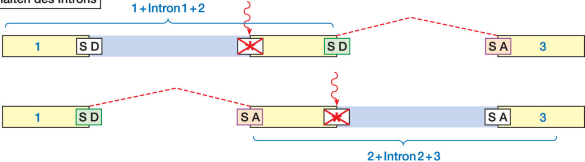
Exon-Skipping vs. Intronretention

a

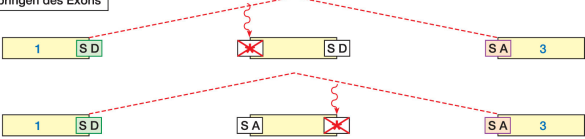
normales Spleißen



Beibehalten des Introns



Überspringen des Exons

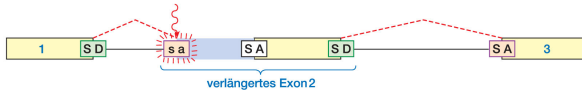


Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle

b

Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle

Aktivierung einer kryptischen Spleißakzeptorstelle in Intron1

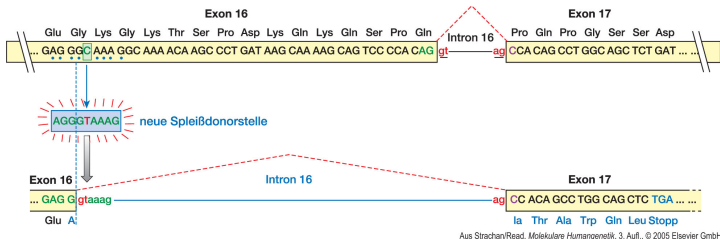


Aktivierung einer kryptischen Spleißdonorstelle in Exon 2



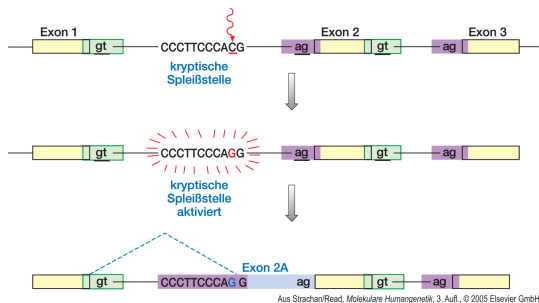
Aus Strachan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

Beispiel: Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle



- "Stille" Mutation: GGC = Gly, GGC = Gly
- Durch die Mutation wird jedoch eine kryptische Spleißstelle aktiviert, die Spleißreaktion verläuft fehlerhaft
- Eine der bei der Gliedergürtel-Muskeldystrophie Typ 2A nachgewiesenen Mutationen

Beispiel: Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle

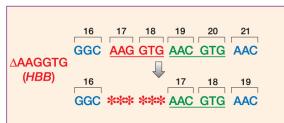
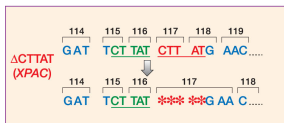
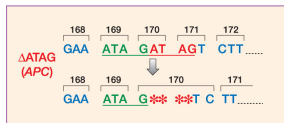
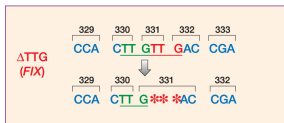
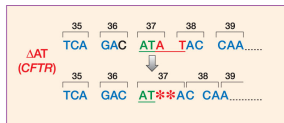
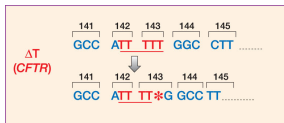


- Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle innerhalb eines Introns

Outline

- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen**
- 3 Mikrodeletionssyndrome
- 4 Nomenklatur
- 5 Molekulare Pathologie

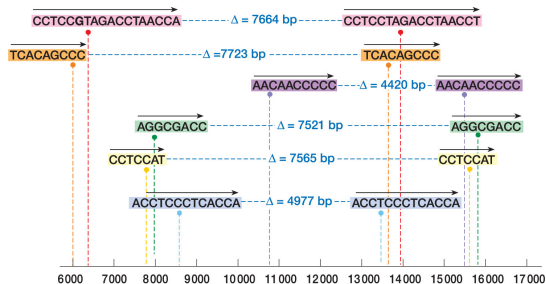
Kurze repeats und indels



Aus Strachan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

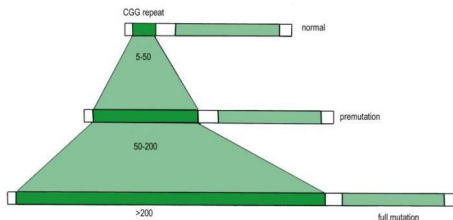
- Kurze tandemartige Wiederholungssequenzen sind für Deletionen/Insertionen besonders anfällig

Kurze repeats und indels



- Die Randbereiche vieler pathogener Deletionen im mitochondrialen Genom sind durch kurze, direkt repetitive Sequenzen gekennzeichnet (z.B: Kearns-Sayre-Syndrom).
- Die Deletionen sind wahrscheinlich auf eine Fehlpaarung gegeneinander verschobener DNA-Stränge zurückzuführen

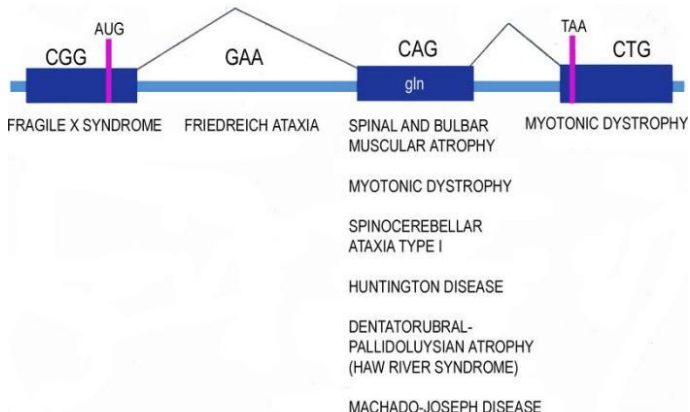
Instabile Verlängerungen von tandem-repeats



(c) 2005, Laurie Ann Demmer, M.D.

- Fragiles X-Syndrom
- Schweregrad der Erkrankung korreliert mit der Anzahl der CGG-Repeats

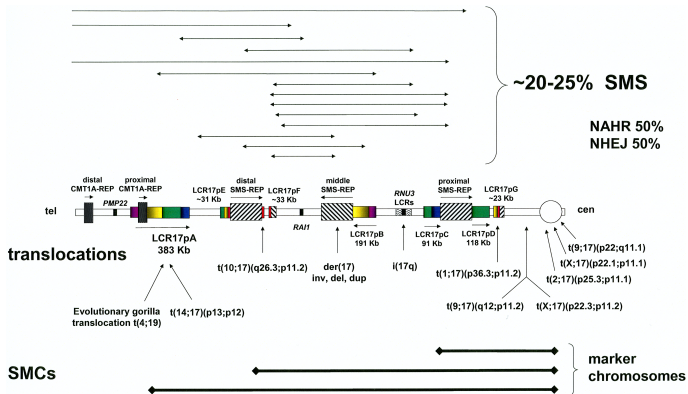
Instabile Verlängerungen von tandem-repeats



(c) 2005, Laurie Ann Demmer, M.D.

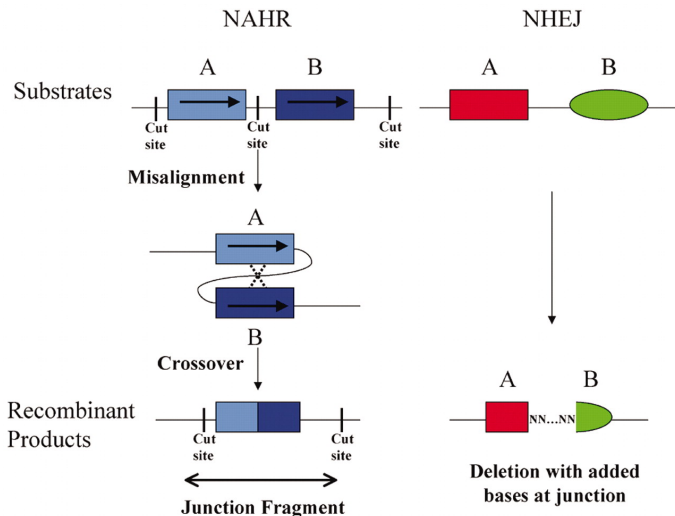
- Zahlreiche Repeatexpansionserkrankungen
- Die meisten betreffen vorwiegend das Nervensystem

”Genomische Krankheiten”



- Low-copy-repeats mit $> 97\%$ Sequenzidentität
- Smith-Magenis-Syndrom-Region

”Genomische Krankheiten”



- NAHR: Nichtallelische homologe Rekombination
- NHEJ: Nichthomologes End-Joining

Outline

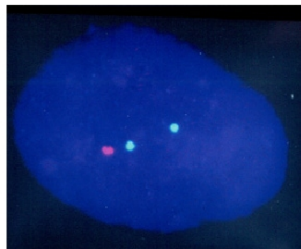
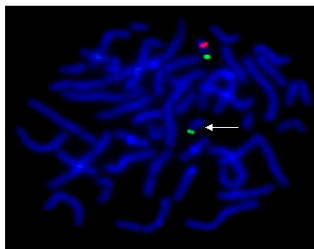
- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen
- 3 Mikrodeletionssyndrome**
- 4 Nomenklatur
- 5 Molekulare Pathologie

Mikrodeletionssyndrome

- Die Deletionen sind so klein (< 5 Mb), dass sie in der Regel nicht durch routinemäßige konventionelle Zytogenetik erfasst werden.
- Meist *Contiguous Gene Syndrome*: Merkmale bedingt durch Deletion von multiplen nebeneinander liegenden Genen.
- Der klinische Phänotyp ist relativ spezifisch.
- Es muss durch FISH gezielt gesucht werden.

Mikrodeletionssyndrome

- Nachweis mittels FISH



ish del(22)(q11.2q11.2)(TUPLE1,D22S553, D22S609,D22S942)-

Zytogenetische Mutationen

Unterschiedliche Auflösungen ...



21

Trisomie 21
322 Gene

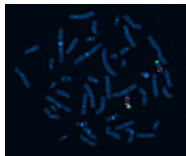
46 Mb



11

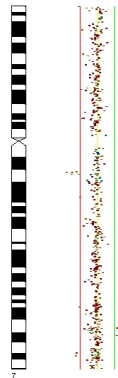
Deletion 11q
> 40 Gene

ca. 10 Mb



Prader-Willi-Syndrom
> 30 Gene Nachweis per FISH

4 Mb



Deletion 7q
> 15 Gene (Nachweis mittels Array-CGH)

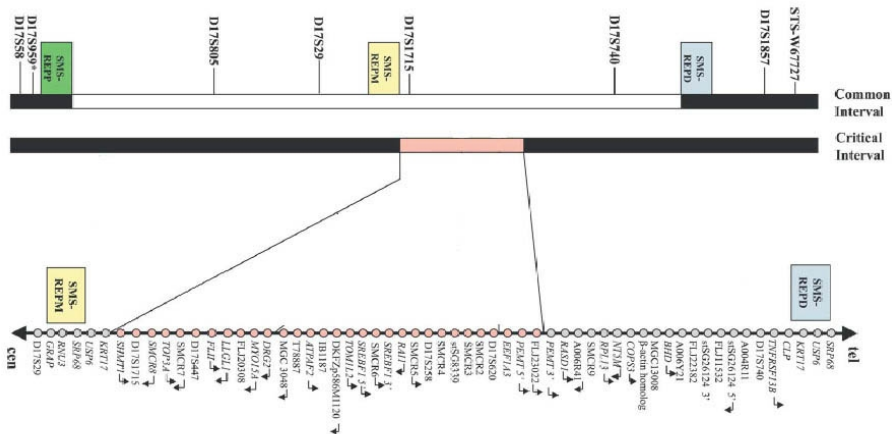
ca. 1,5 Mb

Marc Trimborn, Institut für Medizinische Genetik

Beispiel: Smith-Magenis-Syndrom

- Erstbeschreibung 1982
- Inzidenz 1:25.000 (> 100 Fallbeschreibungen)
- Mikrodeletion auf Chromosom 17p11.2
- Kraniofaziale Dismorphie: zeltförmige Oberlippe, Brachyzephalie
- Mentale Retardierung
- Verhaltensauffälligkeiten: Selbstaggression, Selbstumarmungen, Polyembolokoilomanie
- Hypercholesterolämie

Beispiel: Smith-Magenis-Syndrom



- Haploinsuffizienz für insbesondere *SREBF1*, *MYO15A*, *RAI1* für Hauptmerkmale verantwortlich

Mikrodeletionssyndrome

Williams-Beuren-Syndrom	7q11.23
CATCH-22	22q11.2
Neurofibromatose 1	17q11
Prader-Willi-Syndrom	15q11-13
Angelman-Syndrom	15q11-13
Wolf-Hirschhorn-Syndrom	4p16.3
Cri-du-Chat-Syndrom	5p15.3
Smith-Magenis-Syndrom	17p11.2
Miller-Dieker-Syndrom	17p13.3
Alagille-Syndrom	20p11.23
Rubinstein-Taybi-Syndrom	16p13.3
...	...

Outline

- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen
- 3 Mikrodeletionssyndrome
- 4 Nomenklatur**
- 5 Molekulare Pathologie

Standardisierte Nomenklatur für Mutationen

- DNA: A,C,G,T
 - ▶ c.435C>A
- Protein: 1- oder 3-Buchstabencode
 - ▶ p.A212P, Ala212Pro
- HGNC¹-Gensymbole verwenden, z.B. *FBN1* für Fibrillin-1
- Nettes Tool:
<http://www.humgen.nl/mutalyzer/1.0.1/>

¹HUGO Gene Nomenclature Committee

Standardisierte Nomenklatur für Mutationen

DNA ...

- Einfache Substitution c.123A>G
- Deletion c.123delA
- Duplication c.123dupA
- Insertion c.123_124insC

Deletionen & Insertionen

- c.546delT
- c.546del
- c.586_591del
- c.586_591delTGGTCA **oder** c.586_591del6
- c.546_547insT (**Nicht** c.546insT **da** zweideutig)
- c.1086_1087insGCGTGA

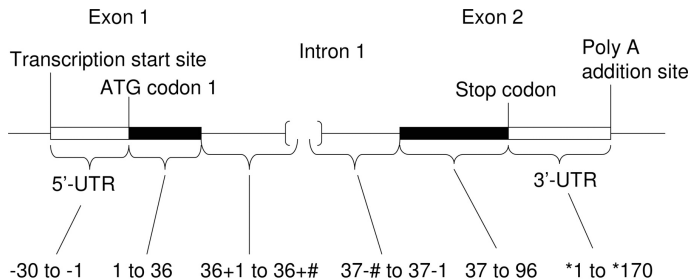
Allele

- Um (z.B. bei rezessiven Erkrankungen) Veränderungen in zwei Allelen zu bezeichnen:
- [...], +
- c. [546C>T] + [2398delT]

Frameshift

- Kurzform p.Arg83fs
- Alternativ: p.Arg83SerfsX15
 - ▶ Erste Aminosäuresubstitution (Arg83Ser)
 - ▶ Länge des verschobenen Leserasters bis zum vorzeitigen Stoppcodons (X15)

Nummerierung



indicates any positive integer number

- Spleißmutationen: z.B. 36+1G>C, 37-2A>G

Nomenklatur: Beispiele

Und jetzt eine Quiz...es folgt die Nukleotid- und Aminosäuresequenz des ersten Exons von *VIG*²

	p. (Protein) Aminosäurepositionen →											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
	c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

²= Very Important Gene

Nomenklatur: Mutation # 1

WT.

		p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	...
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

Mutation

		p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	...
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	AGT	TCT	
		1	4	7	10	13	16	19	22		28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											



Bemerkung: GGT = Gly, AGT=Ser

Nomenklatur: Mutation # 1

WT.

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	

c. (codierende) Nukleotidpositionen →

Mutation

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	TAC	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	AGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	28	31		

c. (codierende) Nukleotidpositionen →



c.28G>A, p.G10S (GGT = Gly, AGT=Ser)

Nomenklatur: Mutation # 2

WT

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	


c. (codierende) Nukleotidpositionen →

Mut

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAG	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13		19	22	25	28	31	

c. (codierende) Nukleotidpositionen →



Bemerkung: Stoppcodons: TGA, TAG, TAA


Nomenklatur: Mutation # 2

WT

		p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	...
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

Mut

		p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	...
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAG	AGA	TTT	GGT	TCT	
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											



c.21C>G, p.Y7X oder p.Tyr7X, TAC=Tyr, TAG=Stopp

Nomenklatur: Mutation # 3

WT

	p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
	c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

Mut

	p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	--C	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
	c. (codierende) Nukleotidpositionen →											



Nomenklatur: Mutation # 3

WT

	p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
	c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

Mut

	p. (Protein) Aminosäurenpositionen →											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	--C	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
	c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

c.16_17delAG, p.Ser6fs Frameshift; Der Serinrest an Position 6 ist die erste betroffene Aminosäure

Nomenklatur: Mutation # 4

WT

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	


c. (codierende) Nukleotidpositionen →

Mut

p. (Protein) Aminosäurenpositionen →

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser		
... CAA	ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	---	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
	1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	

c. (codierende) Nukleotidpositionen →



Nomenklatur: Mutation # 4

WT

		p. (Protein) Aminosäurepositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

Mut

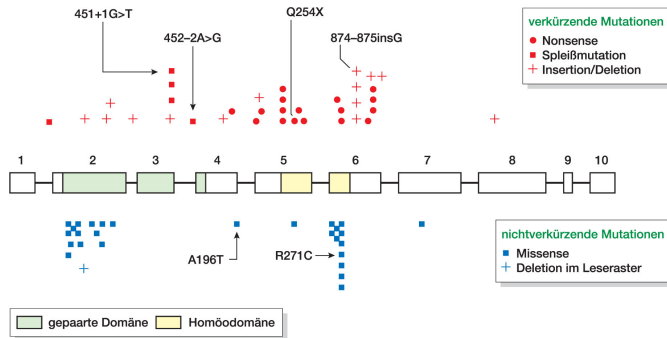
		p. (Protein) Aminosäurepositionen →											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
...	CAA	Met	Ala	Asn	Leu	Ala	Ser	Tyr	Arg	Phe	Gly	Ser	
		ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	---	TAC	AGA	TTT	GGT	TCT	...
		1	4	7	10	13	16	19	22	25	28	31	
		c. (codierende) Nukleotidpositionen →											

c.16_18delAGC, p.Ser6del Deletion einer einzelnen Aminosäure (keine Leserasterverschiebung)

Outline

- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen
- 3 Mikrodeletionssyndrome
- 4 Nomenklatur
- 5 Molekulare Pathologie**

Mutationen bei genetischen Krankheiten



Aus Strachan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

• Unterschiedliche Funktionsverlustmutation bei dem PAX3-Gen

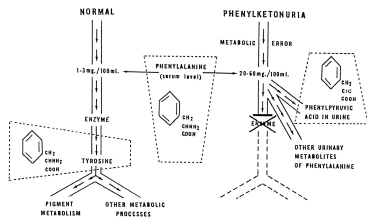
Ziele der molekularen Pathologie

- Die Auswirkungen von Mutationen zu verstehen
- Hierdurch auch die normalen Funktionen des betroffenen Gens besser verstehen
- Neue Therapieoptionen hiervon ableiten (molekulare Medizin): schwierig, aber gelegentlich erfolgreich

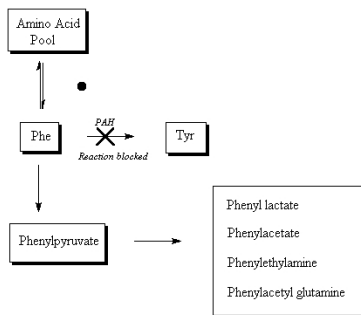
Funktionsverlustmutationen

- Das Proteinprodukt des mutierten Gens hat eine verringerte oder keine Funktion
- Häufig bei rezessiven Krankheiten
- Bei den meisten Proteinen ist die genaue Quantität nicht entscheidend, die halbe Menge ist für die normale, gesunde Funktion der Zelle bzw. des Organismus ausreichend
- Typische Beispiele sind die Enzymopathien

Phenylketonurie



Abnormal Metabolism of Phenylalanine



- Mangel an Phenylalaninhydroxylase (PAH)
- Monomeres Enzym. Heterozygote Mutationsträger (~50% Enzymaktivität) sind gesund

Funktionsverlustmutationen

- Wenn ein Phänotyp Folge des Funktionsverlustes eines Gens ist, kann man davon ausgehen, dass jede Veränderung, die das Genprodukt inaktiviert, dasselbe klinische Erscheinungsbild hervorruft
- Zum Beispiel kann das Fragile-X-Syndrom durch Repeat-Expansionen oder gelegentlich durch andere Mutationen hervorgerufen werden

Funktionsverlustmutationen: Mechanismen

Viele Mutationsarten können zum Funktionsverlust führen³

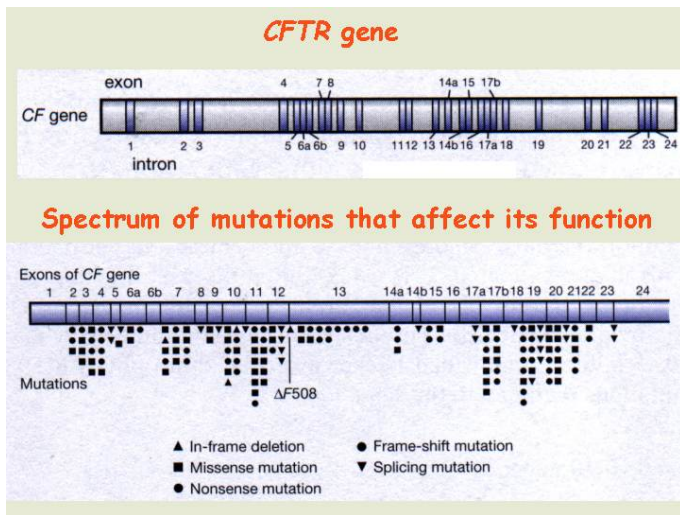
- Kurze Insertionen/Deletionen, insbesondere mit Leserasterverschiebung
- Nonsense-Mutationen
- Spleißmutationen
- Deletionen des gesamten Gens
- (Bestimmte) Missense-Mutationen

³s. Tabelle 16.1 in Strachan & Read für eine ausführliche Liste von 11 möglichen Mechanismen, die die Funktion eines Gens einschränken oder zerstören können.

Mutationen im CFTR-Gen

- Mutationsanalyse: PCR, DNA-Sequenzierung oder mutationsspezifische Screening-Methoden
- Häufigste Mutation ($\sim 75\%$): $\Delta F508$ in Exon 10 (F = Phenylalanin)
- Allelische, "milde" Mutationen in CFTR mit isolierter Aplasie des Ductus deferens assoziiert
- Ethnische Unterschiede in Mutationshäufigkeit und -verteilung

Verteilung von CFTR-Mutationen

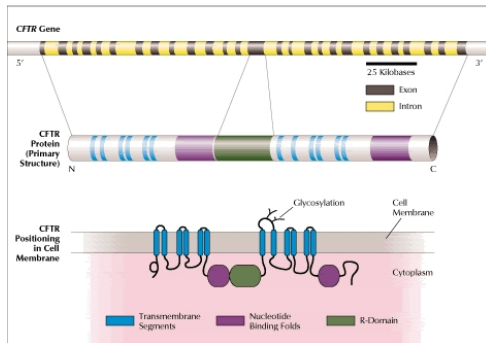


BB329 Membranes and Cellular Signalling homepage,







<http://homepages.strath.ac.uk/~dfs99109/BB310/CFgene.html>

Das CFTR-Gen

- CFTR = "CF transmembrane conductance regulator"
- 7q31
- 230 kb, 27 Exons
- 12 Transmembranbereiche
- 2 ATP-Bindungsdomänen
- 1 regulatorische (R-) Domäne
- cAMP – induzierter Cl^- Kanal

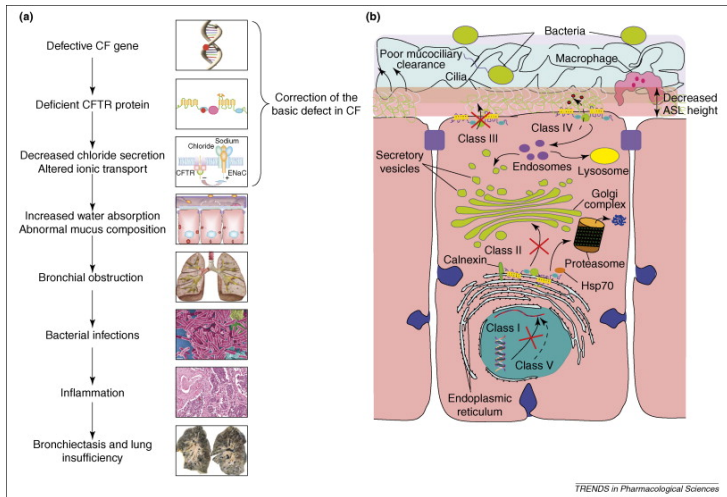


CFTR Mutationsklassen

Defect Classification	Normal	I	II	III	IV	V
						
Defect Result		No synthesis	Block in Processing	Block in Regulation	Altered Conductance	Reduced Synthesis
Types of Mutation		Nonsense; Frameshift	Missense; Amino Acid Deletion ($\Delta F508$)	Missense; Amino Acid Change (G551D)	Missense; Amino Acid Change (R117H) (R347P)	Missense; Amino Acid Change (A445E) Alternative Splicing
Potential Therapy		Gentamicin, Gene Transfer	Butyrates, Gene Transfer	Genistein, Gene Transfer	Milrinone, Gene Transfer	Gene Transfer

Kulczycki et al (2003) American Journal of Medical Genetics **116A**:262–267.

CF Pathomechanism



Haploinsuffizienz

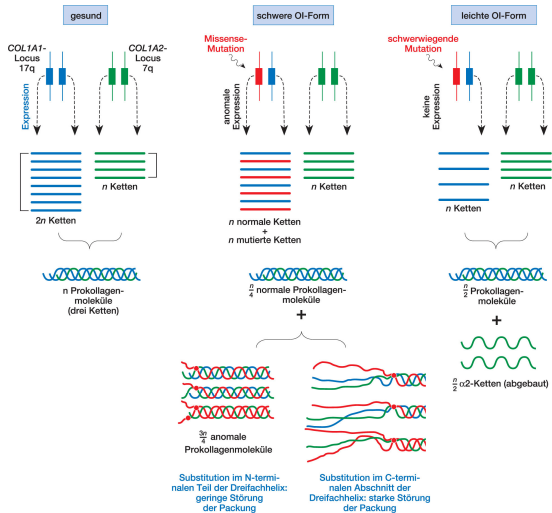
- Bei anderen Genen führt eine Verringerung der Genfunktion um 50% (**Haploinsuffizienz**) zu einem anomalen Phänotyp
- Relativ wenig Gene⁴
- Dosisabhängigkeit kann insbesondere dann der Fall sein wenn...
 - ▶ das Genprodukt Bestandteil eines quantitativen Signalsystems ist
 - ▶ das Genprodukt gemäß einer festgelegten Stöchiometrie mit anderen Proteinen kooperiert
- Hier ist die relative Menge eines Genproduktes von Bedeutung
- Entsprechende Krankheiten folgen einem autosomal dominanten Erbgang
- Gene, deren Produkte allein aktiv sind (z.B. lösliche Enzyme) zeigen selten Dosiseffekte

⁴s. Tabelle 16.2 in Strachan & Read für eine ausführliche Liste.

Dominant-negativ

- Wenn ein mutiertes Polypeptid nicht nur seine eigene Funktion verliert, sondern auch das Produkt des normalen Allels beeinträchtigt, kommt es zu einem dominant-negativen Effekt
- Dominant-negative Mutationen haben gravierendere Auswirkungen als einfache Nullallele desselben Gens
- Kommt insbesondere bei Strukturproteinen vor
- Klassisches Beispiel: Kollagen Typ 1, Osteogenesis imperfecta (Glasknochenkrankheit)

Osteogenesis imperfecta



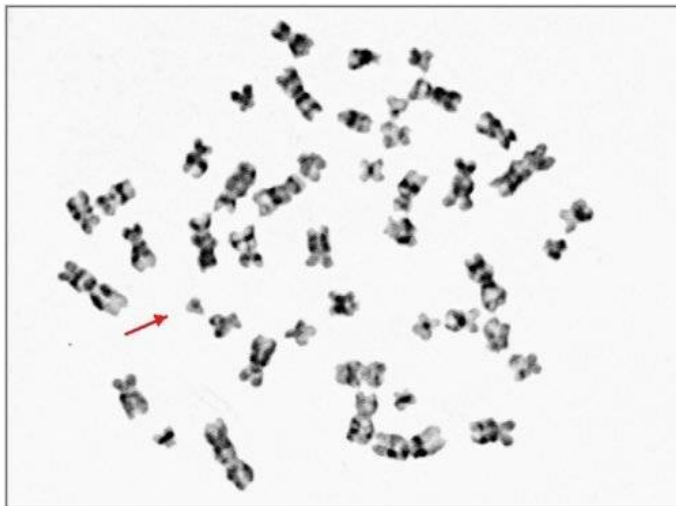
Quelle: Schmidt, H. J. (2004). Molekulare Humangenetik, 9. Aufl. © WVG Elsevier GmbH

Funktionsgewinnmutationen

Mutationen können dazu führen, dass ein Genprodukt eine neue Funktion gewinnt

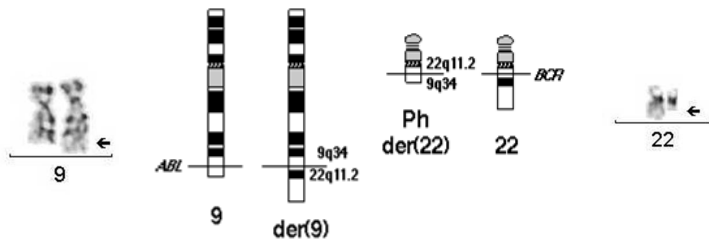
Überexpression	PMP22	Charcot-Marie-Tooth-Krankheit
Rezeptor konstitutiv aktiv	GNAS	McCune-Albright-Syndrom
Fehlerhaftes Öffnen eines Ionenkanals	SCNA4	Paramyotonia congenita
Bildung von Proteinaggregaten	HD	Morbus Huntington
Bildung eines Fusionsproteins	BCR-ABL	chronische myeloische Leukämie

BCR-ABL



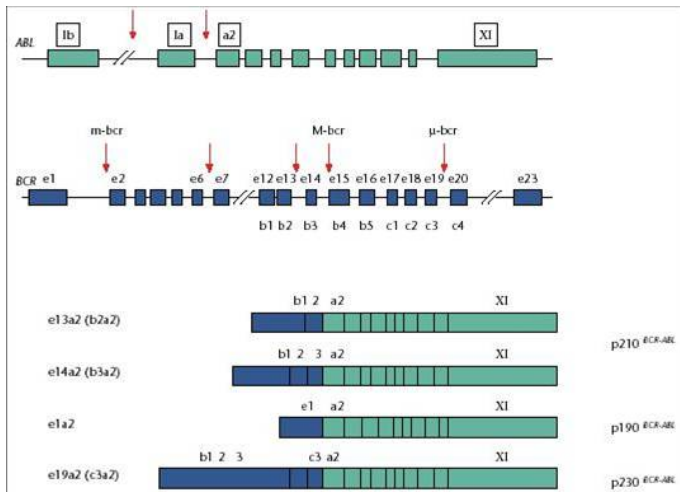
- Das Philadelphia-Chromosom

BCR-ABL



- Das Philadelphia-Chromosom: **der(22)t(9;22)(q34;q11)**

BCR-ABL



- Bildung eines Fusionsproteins

BCR-ABL



- Das BCR-ABL-Fusionsprotein weist eine erhöhte Tyrosinkinase-Aktivität auf (Funktionsgewinn)

Mutationen und Krankheiten

- Unterschiedliche Mutationen in einem Gen können unterschiedliche klinische Folgen haben, bzw. zu unterschiedlichen Krankheiten führen

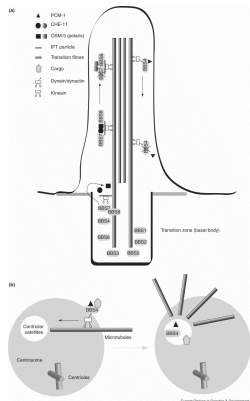
Mutationen im Gen für Fibrillin-1 (*FBN1*)

Marfan-Syndrom (MFS)	Aorta, Skelett, Auge
neonatales MFS	extrem schwerwiegend
Ectopia lentis	isolierte Augenbeteiligung
Familiäre Arachnodaktylie	Dolichostenomelie, Arachnidaktylie
FAAD	isolierte Aortenbeteiligung
Weill-Marchesani-Syndrom	Kurzwuchs, Brachydaktylie, Gelenksteifheit, Ectopia lentis

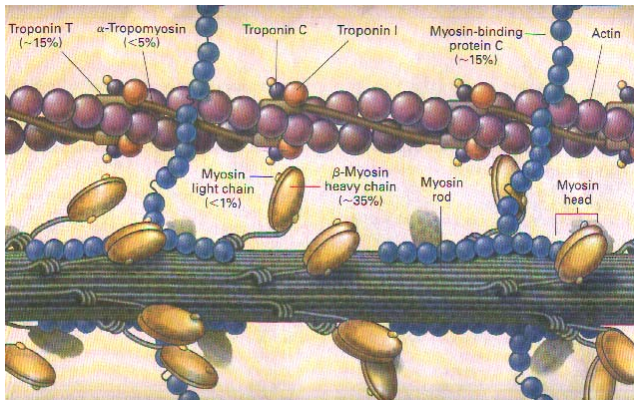
Robinson et al (2006) The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders. *Journal of Medical Genetics* **43**:769–787

Genetische Heterogenität

- Mutationen in unterschiedlichen Genen können auch zu derselben oder aber einer sehr ähnlichen Krankheit führen
- Beispiel: Bardet-Biedl-Syndrom
 - ▶ Netzhautdegeneration
 - ▶ Fettleibigkeit
 - ▶ Retardierung
 - ▶ Nierenmalformationen
 - ▶ Polydaktylie
- Ziliopathie



Hypertrophe Kardiomyopathie



- Hypertrophe Kardiomyopathie⁵
- Mutationen in einem der Gene *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*, *ACTC*, *MYL2*, *MYL3*

⁵1:500 in der Allgemeinbevölkerung

Krankheitsfamilien und Pathways



Noonan-Syndrome



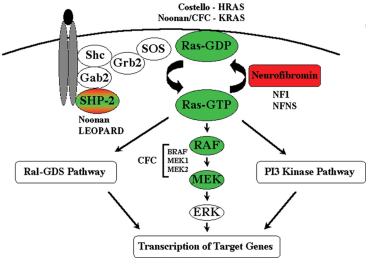
LEOPARD-Syndrome



CFC-Syndrome



Costello-Syndrom

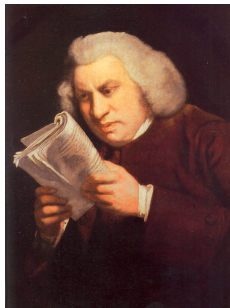


Neurofibromatose Typ 1

RAS/MAPK-Pathway-Syndrom

The End of the Lecture as We Know It

- Kontakt:
peter.robinson@charite.de
- Strachan & Read, Kapitel 16



Lectures were once useful; but now, when all can read, and books are so numerous, lectures are unnecessary. If your attention fails, and you miss a part of a lecture, it is lost; you cannot go back as you do upon a book... People have nowadays got a strange opinion that everything should be taught by lectures. Now, I cannot see that lectures can do as much good as reading the books from which the lectures are taken. I know nothing that can be best taught by lectures, except where experiments are to be shown. You may teach chymistry by lectures. You might teach making shoes by lectures!

Samuel Johnson, quoted in Boswell's Life of Johnson (1791).