**Farmacja 2019/2020**

***Ćwiczenie 7***

**Temat: Mutacje i ich skutki.**

***LITERATURA***

1. *Alberts B., Bray D., Hopkin K., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P.: Podstawy biologii komórki. PWN, Warszawa 2018.*
2. *Drewa G. Ferenc T: Genetyka medyczna. Podręcznik dla studentów. Elsevier &Partner,*

*Wrocław 2018.*

1. *Fletcher H.L., Hickey G.I., Winter P.C.: Genetyka. PWN, Warszawa 2010.*
2. *Bal J.: Genetyka medyczna i molekularna. PWN, 2017.*
3. **Mutacje genowe**

To utrwalone zmiany w sekwencji zasad nukleotydowych **w pojedynczym genie.** Są wykrywane jedynie metodami biologii molekularnej. Mogą zachodzić:

* w komórkach rozrodczych(**mutacje germinalne**) - są przekazywane potomstwu lub powstają *de novo* w procesie oogenezy lub spermatogenezy; mogą być przyczyną chorób jednogenowych,
* w komórkach somatycznych(**mutacje somatyczne**) - nie są dziedziczone; ich nagromadzenie przyczynia się do rozwoju nowotworów.

**Mutacje spontaniczne** są spowodowane błędami w czasie replikacji DNA,

**Mutacje indukowane** są spowodowane działaniem czynników fizycznych (np. promieniowanie UV, promieniowanie jonizujące), substancji chemicznych (np. nitrozaminy, policykliczne węglowodory aromatyczne, dioksyny, aktywne formy tlenu powstające wyniku metabolizmu tlenowego) oraz czynników biologicznych (np. aflatoksyny; niektóre wirusy).

Typy mutacji genowych:

* **mutacje punktowe** – dotyczą pojedynczego nukleotydu,
* **duże zmiany genowe** – dotyczą więcej niż jednego nukleotydu,
* **mutacje transkrypcyjne –** występują w regionie genu związanym z regulacją transkrypcji np. w sekwencji promotora (np. TATA) lub w sekwencjach wzmacniających,
* **mutacje dynamiczne** (ekspansje trójkowe) **-** polegają na zwiększeniu ilości powtórzeń nukleotydowych; możliwe zaburzenia syntezy nici opóźnionej (poślizg polimerazy),
* **mutacje splicingowe –** zachodzą na granicy intron - ekson; zakłócając proces wycinania intronów i składania eksonów.

**Mutacje punktowe**

|  |
| --- |
| **Typy mutacji punktowych** |
| * **tranzycja** - zmiana puryny w purynę (A→G, G→A) lub pirymidyny w pirymidynę (C→T, T→C)
* **transwersja** - zmiana puryny w pirymidynę (np. A→C, G→C)
* **delecja** - utrata jednego lub kilku nukleotydów
* **insercja** - wstawienie jednego lub kilku dodatkowych nukleotydów
 |

Podział mutacji punktowych zależnie od powodowanych przez nie skutków:

* **mutacje missensowne (zmiany sensu)**:zmiana pojedynczej zasady w jednej z dwóch pierwszych zasad kodonu; powodują zmianę kodowanego przez triplet aminokwasu; zmienia się aminokwas w białku;
* **mutacje ciche (milczące):** zmiany dotyczą trzeciej zasady kodonu; nie wywołują zmian w kodowanym białku i w fenotypie; nagromadzają się w DNA powodując polimorfizm;
* **mutacje nonsensowne**:zmieniają kodon na kodon stop i powodują powstawanie krótszych polipeptydów;
* **mutacje zmiany ramki odczytu**:insercja lub delecja w rejonie kodującym powoduje przesunięcie ramki odczytu; zmieniają wszystkie kodony i tym samym sekwencje aminokwasowe w białku; często powodują powstanie zmutowanego fenotypu;
* **mutacje transkrypcyjne**:występują w regionie genu związanym z regulacją transkrypcji np. w sekwencji promotora (np. TATA) lub w sekwencjach wzmacniających – mogą wywoływać obniżenie transkrypcji genu ze spadkiem produkcji mRNA i w efekcie białka;
* **mutacje splicingowe**:mogą powodować usunięcie eksonu lub zatrzymanie intronu w czasie obróbki pre-mRNA; powodują zmianę sekwencji nukleotydowej w dojrzałym mRNA i tym samym zmianę sekwencji aminokwasowej w białku.

Przykłady chorób wynikających z mutacji genowych

**Anemia sierpowatokrwinkowa** – jest spowodowana mutacja punktową: substytucją (A → T) w **genie kodującym β-globinę**; w efekcie kwas glutaminowy zostaje zastąpiony przez walinę.

**Fenyloketonuria** - może być spowodowana różnymi **mutacjami punktowymi** (substytucje, delecje, insercje, mutacje splicingowe) w **genie kodującym hydroksylazę fenyloalaniny** (PAH). Mutacja powoduje niedobór tego enzymu, co prowadzi do wzrostu poziomu fenyloalaniny i jej metabolitów we krwi (np. kwasu o – hydroksyfenylooctowego - wpływa na „mysi” zapach moczu) oraz uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego.

**Mukowiscydoza** - przyczyną są **mutacje w** **genie *CFTR****.* Prawidłowy gen koduje białko aktywujące kanał chlorkowy błony cytoplazmatycznej komórek nabłonkowych. U zdecydowanej większości chorych stwierdza się **delecję kodonu CTT dla fenyloalaniny.** Efektem tej mutacji jest synteza nieprawidłowo sfałdowanego białka CFTR, które nie dociera do błony komórkowej (jest kierowane do degradacji w proteasomach).

**Hipercholesterolemia rodzinna -** główną przyczyną są **mutacje w genie kodującym receptor dla lipoprotein o niskiej gęstości (LDLR)**. Najczęstsze to mutacje missensowne lub nonsensowne, pozostałe to delecje i insercje zachodzące w wielu miejscach genu. Brak receptora LDL lub utrata funkcji na skutek mutacji genu, powoduje zwiększenie stężenia LDL, w tym cholesterolu we krwi, co przyczynia się do przyśpieszonego rozwoju miażdżycy i wczesnego występowania incydentów sercowo-naczyniowych.

**Mutacje dynamiczne (ekspansje trójkowe)**

polegają na **zwiększeniu ilości powtórzeń nukleotydowych**; ich ilość może wzrastać w kolejnych pokoleniach; objawy choroby pojawiają się coraz wcześniej i w coraz większym nasileniu w kolejnych pokoleniach.

Przykład: **Choroba Huntingtona –** spowodowana jest **mutacją dynamiczną w genie *Hdh* kodującym białko huntingtynę.** Prawidłowy gen zawiera sekwencję 5’CAG-3’ powtórzoną kolejno od 10 do 35 razy. Mutacja polega na **zwiększeniu liczby powtórzeń 5’CAG-3’ od 36 do 121**, co powoduje powstanie nieprawidłowego białka. Gromadzi się ono w neuronach i powoduje ich obumieranie w różnych częściach mózgu. Im większa liczba powtórzeń CAG w genie *Hdh* tym wcześniej pojawiają się pierwsze objawy choroby: otępienie, postępujący zanik pamięci, zaburzenia mowy, niekontrolowane ruchy (ruchy pląsawicze)

1. **Mutacje chromosomowe (aberracje strukturalne i liczbowe)**

|  |  |
| --- | --- |
| Budowa ludzkiego chromosomu metafazowego.Chromosomy: metacentryczne (p=q): 1, 3, 16, 19 , 20submetacentryczne (p<q ): 2, 4 – 12, 17, 18, Xakrocentryczne (p<<q): 13 – 15, 21, 22, Y  | Kompletny zestaw chromosomów komórki to **kariotyp.**  Prawidłowy kariotyp człowieka: 46, XX lub XY. *Wg U.S. National Library of Medicine.* |

 **Aberracje strukturalne chromosomów**

powstają w wyniku złamania jednego lub kilku chromosomów i nieprawidłowego połączenia się fragmentów chromosomów podczas podziału komórkowego (mitozy, mejozy) lub zapłodnienia. Aberracje strukturalne **zrównoważone** nie powodują ubytku lub zwiększenia ilości materiału genetycznego. Aberracje strukturalne **niezrównoważone** prowadzą do ubytku lub nadmiaru materiału genetycznego.



**Delecje -** utrata fragmentu chromosomu w wyniku jednego złamania (**delecja terminalna**) lub dwóch złamań (**delecja interstycjalna**) chromosomu.

**Chromosom pierścieniowy -** powstaje wyniku połączenia dwóch złamanych końców jednego lub kilku chromosomów.

**Duplikacje -** podwojenie fragmentu chromosomu (obecność dwóch kopii danego fragmentu chromosomu).

**Inwersje -** chromosom ulega złamaniu w 2 miejscach, a fragment pomiędzy złamaniami ulega odwróceniu o 180 stopni. Inwersja **paracentryczna** nie obejmuje centromeru, inwersja **pericentryczna** obejmuje centromer.

**Izochromosomy -** powstają w wyniku nieprawidłowego poprzecznego podziału chromosomu w obrębie centromeru; każdy izochromosom składają się z dwóch identycznych ramion: długich lub krótkich.

**Chromosomy dicentryczne -** powstają w wyniku fuzji dwóch fragmentów chromosomów; każdy chromosom dicentryczny zawiera dwa centromery.

**Translokacje** - powstają w wyniku złamania jednego chromosomu i przyłączenia się złamanego fragmentu do terminalnej części innego chromosomu lub równoczesnego złamania się dwóch chromosomów różnych par i wzajemnej zamiany fragmentów pomiędzy tymi chromosomami **(translokacja wzajemna**; zrównoważona).

**Fuzja centryczna (translokacja robertsonowska) -** to złamanie w rejonie centromerów chromosomów akrocentrycznych i wzajemne połączenie się dwóch ramion długich; krótkie ramiona obu chromosomów zostają utracone (krótkie ramiona chromosomów akrocentrycznych zawierają nieaktywną genetycznie heterochromatynę). Fuzje centryczne u człowieka dotyczą najczęściej chromosomów 13 i 14 oraz 14 i 21.

Przykłady aberracji strukturalnych chromosomów powodujących choroby:

**Zespół Cri Du Chat** („zespół miauczenia kota”) - delecja terminalna ramienia krótkiego chromosomu 5.

**Zespól Pradera-Willego -** delecja interstycjalna długiego ramienia chromosomu 15 pochodzenia **ojcowskiego**.

**Zespół Angelmana** („zespół szczęśliwej kukiełki”) - delecja interstycjalna długiego ramienia chromosomu 15 pochodzenia **matczynego.**

**Przewlekła białaczka szpikowa (CML) -** translokacja wzajemnapomiędzy chromosomem 9 i 22. Powstaje mniejszy chromosom, nazywany **chromosomem filadelfijskim (Ph).** Występuje on u 95% chorych na przewlekłą białaczkę mieloblastyczną (CML).

**Aberracje liczbowe chromosomów (mutacje genomowe)**

**Aneuploidia -** polega na dodaniu lub utracie jednego chromosomu do diploidalnego garnituru chromosomowego.

**Poliploidia -** zwielokrotnienie liczby chromosomów o **n** (np. 3n, 4n itd.).

Poza kilkoma wyjątkami, aberracje liczbowe prowadzą do obumarcia zarodka/płodu, urodzenia martwego plodu lub zgonu okołoporodowego płodu. Stanowią około 50% przyczyn poronień samoistnych w pierwszym trymestrze ciąży.

**Aneuploidia**

przyczyną jest nie rozdzielenie się (**nondysjunkcja)** chromosomów homologicznych w I lub II podziale mejotycznym lub podczas embriogenezy w czasie podziału mitotycznego. W wyniku nondysjunkcji mejotycznej powstają gamety disomiczne (zawierają dwie kopie danego chromosomu) oraz nullisomiczne (bez danego chromosomu). Połączenie z gametą prawidłową prowadzi do powstania zygoty trisomicznej (47 chromosomów) lub monosomicznej (45 chromosomów). Wszystkie komórki rozwijającego się zarodka mają tę samą nieprawidłową liczbę chromosomów.

|  |  |
| --- | --- |
| **Nondysjunkcja w mejozie I** | **Nondysjunkcja w mejozie II**  |
| H:\Dysk D AGI\Akademia Staż\ZAJĘCIA ze studentami\BIOL i GENETYKA\Biol i genetyka FARMACJA 2018\Ćw. 7\nondysjunkcja1.png | H:\Dysk D AGI\Akademia Staż\ZAJĘCIA ze studentami\BIOL i GENETYKA\Biol i genetyka FARMACJA 2018\Ćw. 7\nondysjunkcja II podziału2.png |
| Homologiczne chromosomy nie rozdzielą się, co prowadzi do aneuploidii wszystkichkomórek jajowych lub plemników  | Zachodzi w wyniku błędu rozdziału chromatyd siostrzanych; niektóre gamety zawierają dodatkowe lub brakujące chromosomy  |

Połączenie prawidłowego plemnika (n) z nieprawidłową gametą żeńską (n+1 lub n-1) prowadzi do powstania odpowiednio: **zygoty trisomicznej** (47 chromosomów) lub zygoty monosomicznej (45 chromosomów). Wszystkie komórki rozwijającego się zarodka mają tę samą nieprawidłową liczbę chromosomów.



Zmiany liczby chromosomów spowodowane nondysjunkcją podczas mitozy w komórkach somatycznych nie są przekazywane potomstwu.

Efektem nondysjunkcji podczas mitozy może być powstanie linii komórkowych prawidłowej i nieprawidłowej liczbie chromosomów. Prowadzi to do powstania mozaikowości; np. zespół Turnera (45X0): niektóre komórki mają 45 chromosomów, pozostałe komórki zawierają 46 chromosomów**.**



Przykłady chorób spowodowanych aberracjami liczbowymi:

**Zespół Downa -** trisomia chromosomu 21, kariotyp: **47, XX/XY +21;** częstość występowania 1:800 - 1:1000 i wzrasta wraz z wiekiem (1:30 u 45-letnich kobiet).

**Zespół Edwardsa -** trisomia chromosomu 18, kariotyp: **47, XX/XY +18;** występuje u około 1 na 3000 żywo urodzonych noworodków, częściej u potomstwa kobiet po 35 roku życia; większość dzieci (ponad 90%) umiera w pierwszym miesiącu życia; te, które przeżywają pierwszy rok życia wykazują głębokie upośledzenie rozwoju.

**Zespół Turnera** – utrata chromosomu X - monosomia, kariotyp: **45, X0;** wady narządów wewnętrznych: niewydolność jajników (bezpłodność); większość kobiet prowadzi normalne życie zawodowe i rodzinne.

**Zespół Klinefeltera –** dodatkowy chromosom X u płci męskiej, kariotyp: **47, XXY;** występuje z częstością 1 na 800 noworodków płci męskiej; do rozpoznania dochodzi najczęściej u dorosłych mężczyzn w związku z bezpłodnością i niedorozwojem gonad; obecność drugiego chromosomu X uniemożliwia normalny przebieg spermatogenezy.

**Poliploidia**

to zwielokrotnienie całkowitej haploidalnej (n) liczby chromosomów w komórce.

**Triploidia**: 3n (3 x 23); kariotyp: 69,XXX,XXY lub 69, XYY; powstaje w wyniku zapłodnienia komórki jajowej dwoma plemnikami (dispermia); kariotyp: 69,XXY lub przez połączenie dwóch gamet, w tym jednej nieprawidłowej – diploidalnej; kariotyp: 69,XXY lub 69,XXX. Jest aberracją letalną; prowadzi do obumarcia płodu (poronienia samoistne; najczęściej) lub śmierci noworodka.

**Tetraploidia -** obecność dwóch dodatkowych haploidalnych zestawów chromosomów: 4n (92 chromosomy); powstaje w wyniku nieprawidłowego pierwszego podziału zygoty, bezpośrednio po zapłodnieniu. Jest aberracją letalną, prowadzącą do obumarcia zarodka /płodu.