

# Molekulare Pathologie & Mutationen

Peter N. Robinson

Institut für medizinische Genetik  
Charité Universitätsmedizin Berlin

21. Dezember 2015

# Outline

1 Mutationen

2 Repeats und Mutationen

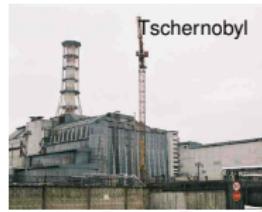
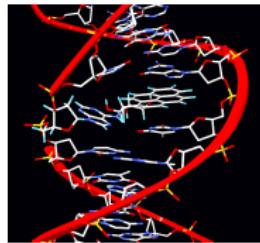
3 Mikrodeletionssyndrome

4 Nomenklatur

5 Molekulare Pathologie

# Einfache Mutationen

- Mutationen in der DNA können durch eines der zahlreichen Mutagene in der Umwelt hervorgerufen werden
  - ▶ z.B. Mutationensrate der hypervariablen Minisatellitenloci war verdoppelt bei Menschen, die den radioaktiven Niederschlägen von Tschernobyl ausgesetzt waren
- Unter normalen Bedingungen röhren 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  $6 \times 10^9$  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

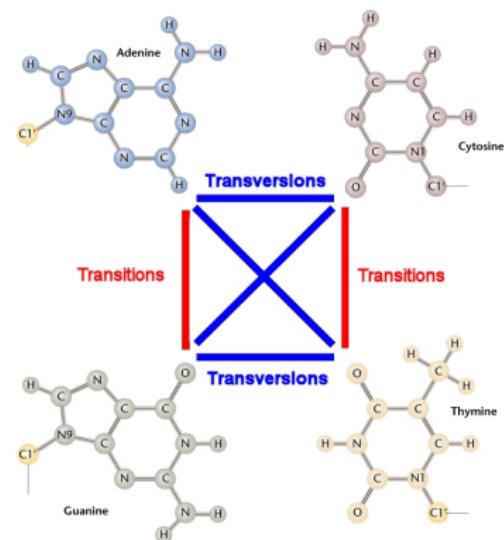
- Transition:

- ▶ 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

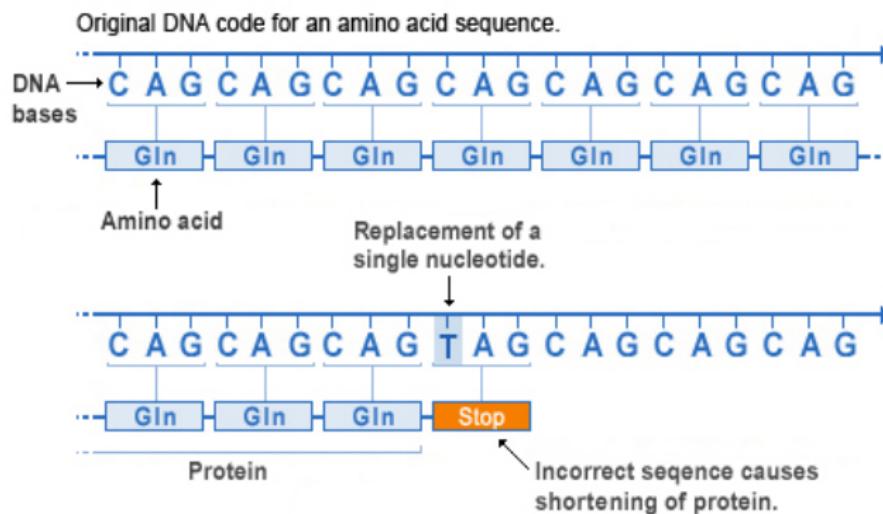
N nichtdegenerierte Position  
G zweifach degenerierte Position  
R vierfach degenerierte Position

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

Synonym = Keine Veränderung der Aminosäuresequenz

# Nonsense Mutationen

## Nonsense mutation



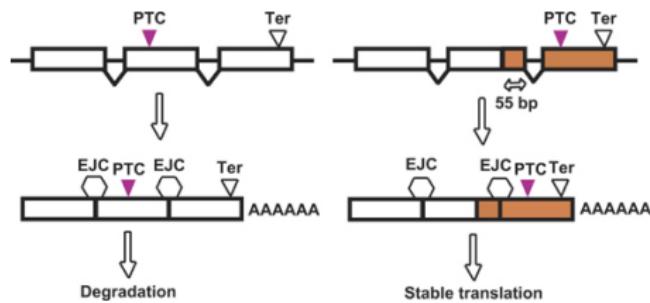
U.S. National Library of Medicine

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

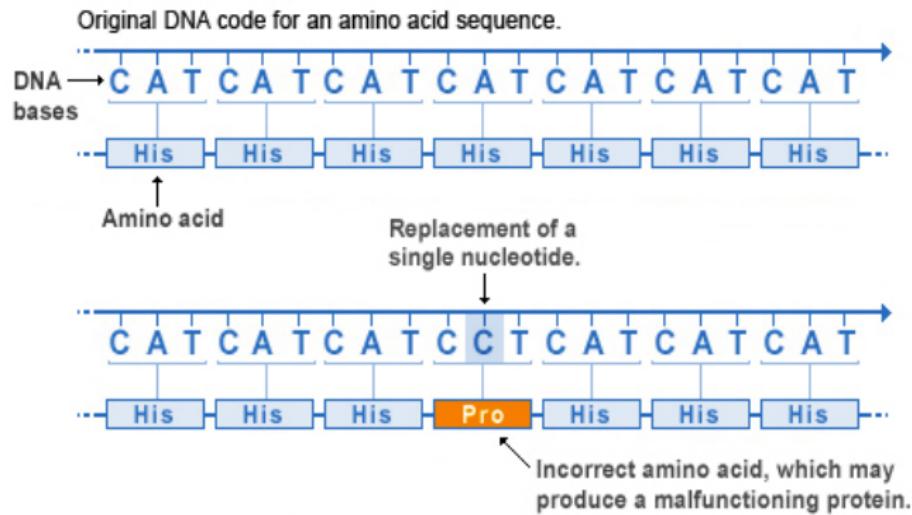


exon-junction complex (EJC): "Marke" nach Entfernung eines Introns  
→ Abbau von Transkripten mit Stoppcodon vor dem letzten Exon

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

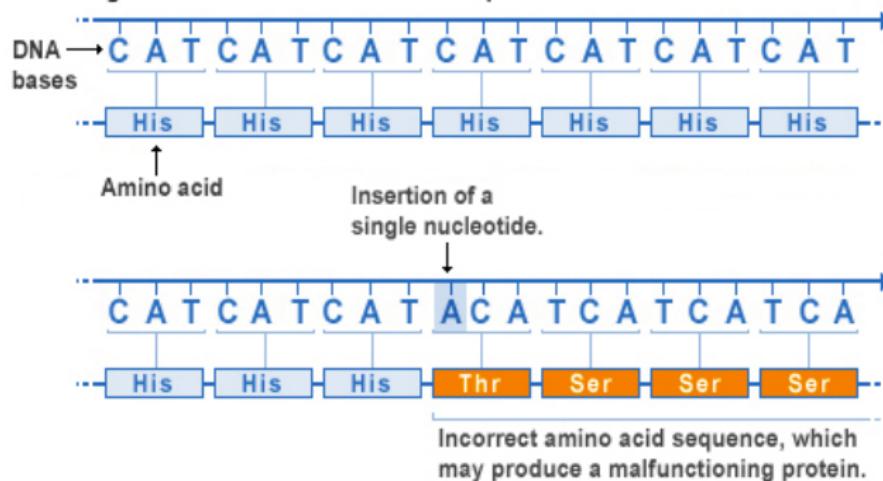
# Missense Mutationen: Konservativ vs. Nichtkonservativ

- 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

Original DNA code for an amino acid sequence.

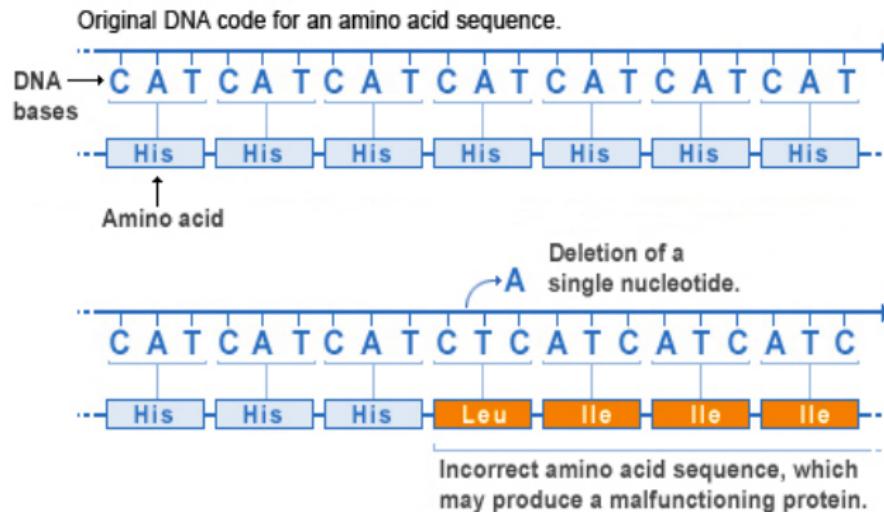


U.S. National Library of Medicine

US National Library of Medicine

# Deletionen

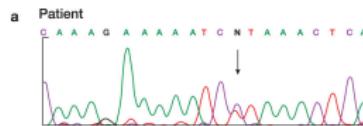
## Deletion mutation



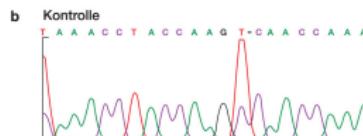
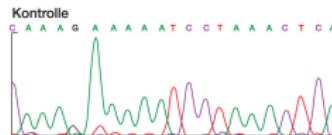
# Punktmutationen

Wildtyp	MAX HOL MIR EIN EIS
	<b>Substitution</b>
"Konservativ"	MAX HOL DIR EIN EIS
"Nichtkonservativ"	MAX HOL MIR EIN EFS
	<b>Deletion</b>
1 bp	MAX HOM IRE INE IS
3 bp	MAX HOL EIN EIS
	<b>Insertion</b>
1 bp	MAX HOL ADI REI NEI S

# Nachweis von Mutationen durch DNA-Sequenzierung



a) heterozygote Mutation



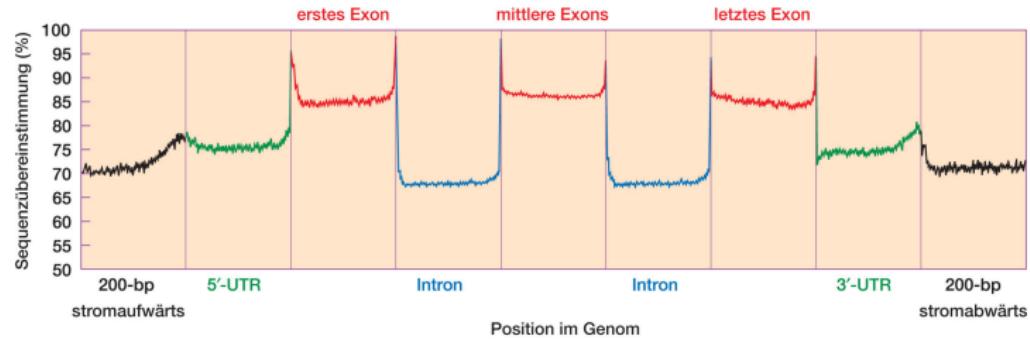
b) Insertion einer einzelnen Base (3659delC)



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

# Sequenzkonservierung

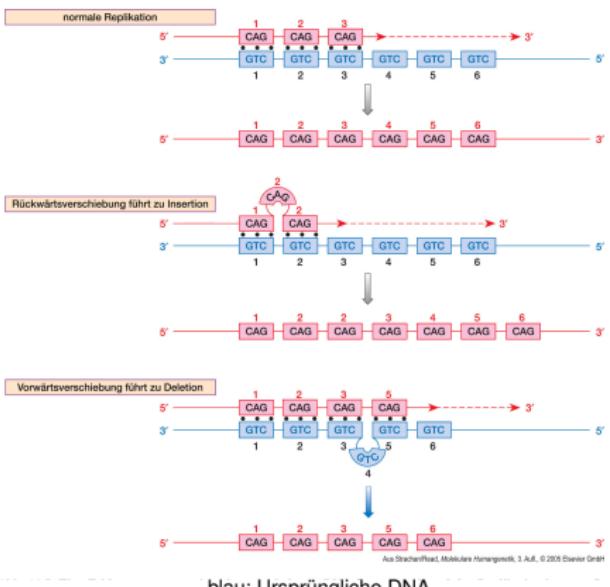
- Neutrale Substitutionsrate beim Menschen von ca.  $2 \times 10^{-9}$  pro Position und Jahr
- Diese Substitutionsrate gilt z.B. für die "Wobble"-Positionen der Codons und in vielen nichtkodierenden Sequenzen
- Eine geringere Divergenz zwischen z.B. Mensch und Maus deutet auf eine negative Selektion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



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

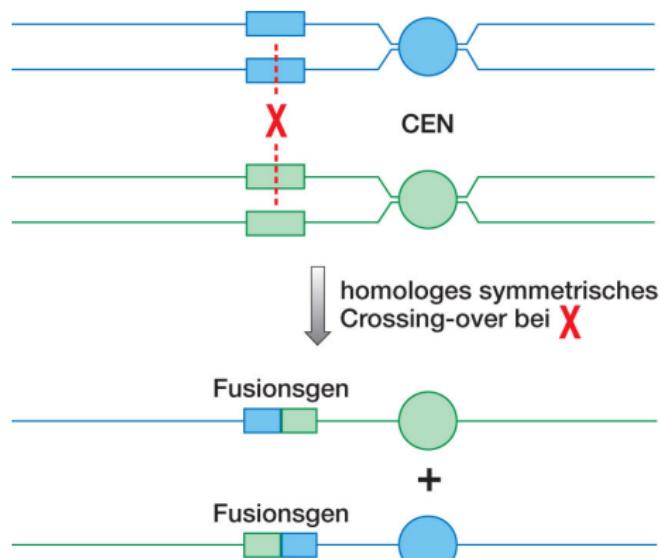
# VNTR-Polymerismen

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



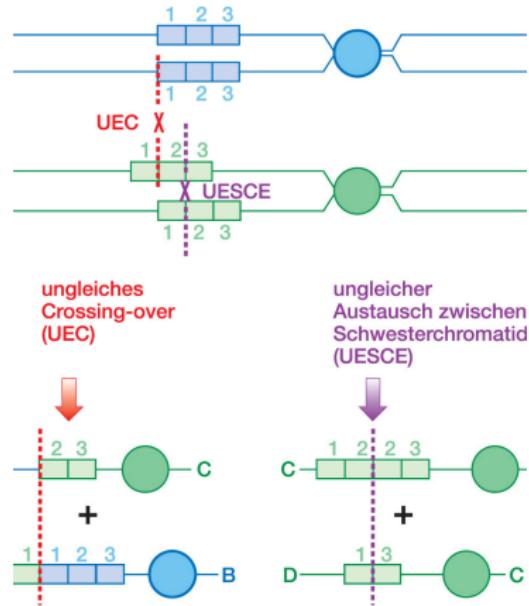
# Homologe Rekombination

- 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

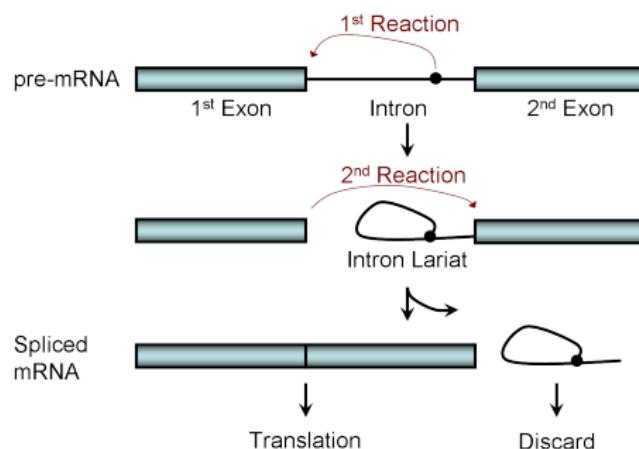
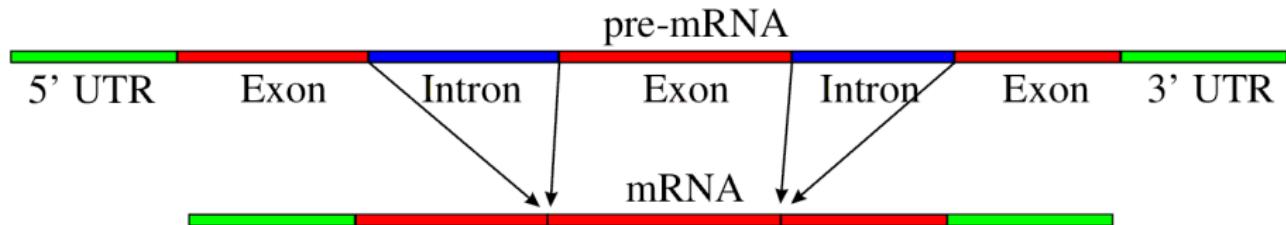


# Ungleiches Crossing-over

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



# RNA-Spleißen



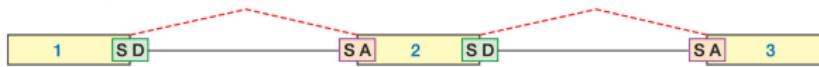
Wikipedia

- GT-AG-Regel

# Exon-Skipping vs. Intronretention

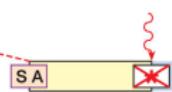
a

normales Spleißen



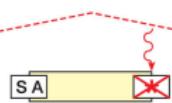
Beibehalten des Introns

1+Intron1+2



2+Intron2+3

Überspringen des Exons

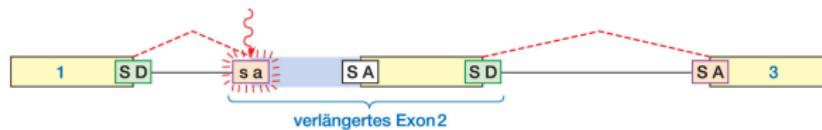


# Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle

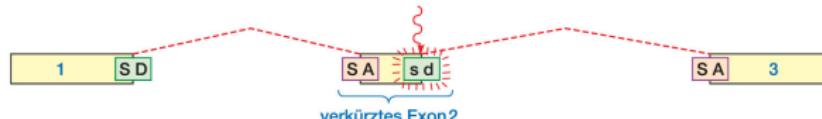
b

## Aktivierung einer kryptischen Spleißstelle

### Aktivierung einer kryptischen Spleißakzeptorstelle in Intron 1

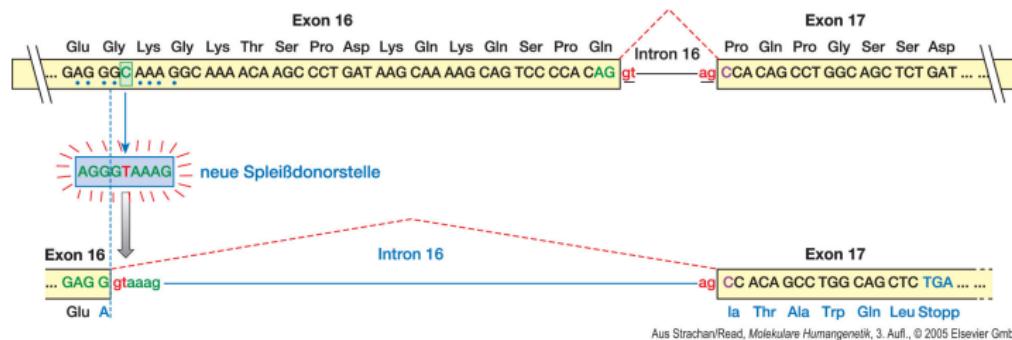


### Aktivierung einer kryptischen Spleißdonatorstelle in Exon 2



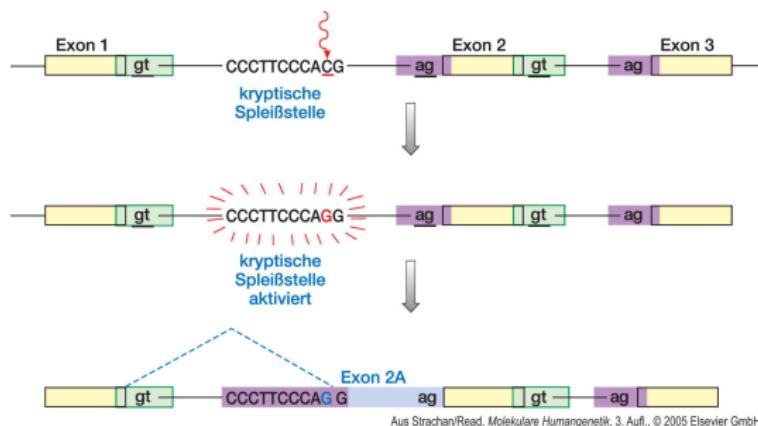
Aus Strachan/Read, Molekulare Humangenetik, 3. Aufl., © 2005 Elsevier GmbH

# 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

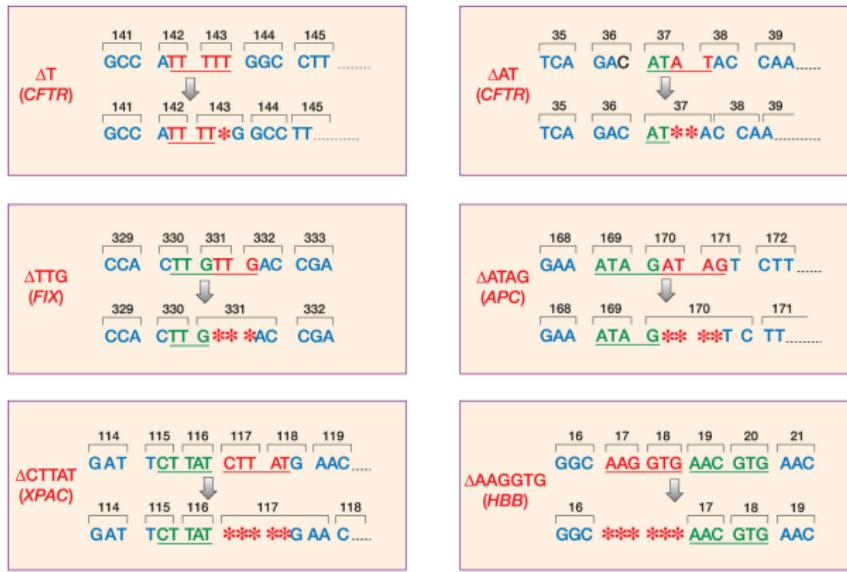
2 Repeats und Mutationen

3 Mikrodeletionssyndrome

4 Nomenklatur

5 Molekulare Pathologie

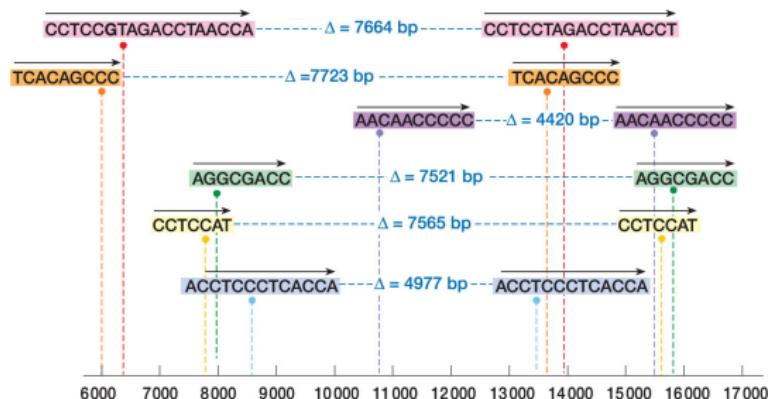
# Kurze repeats und indels



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

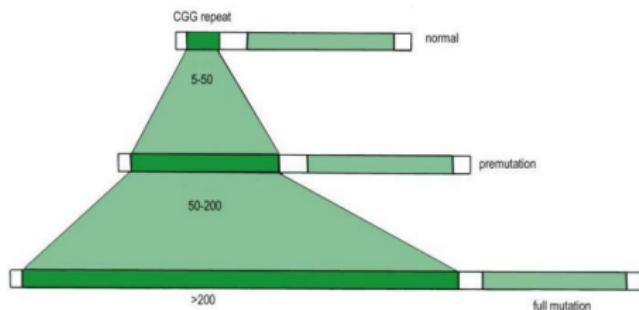
- Kurze tandemartige Wiederholungssequenzen sind für Deletionen/Insertionen besonders anfällig

# Kurze repeats und indels



- Die Randsbereiche 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

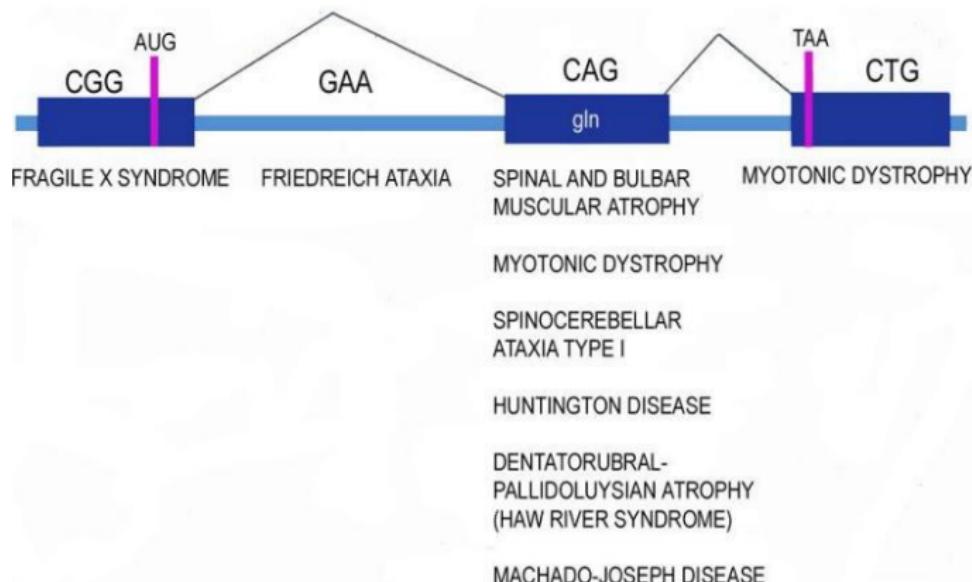
# Instabile Verlängerungen von tandem-repeats



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

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

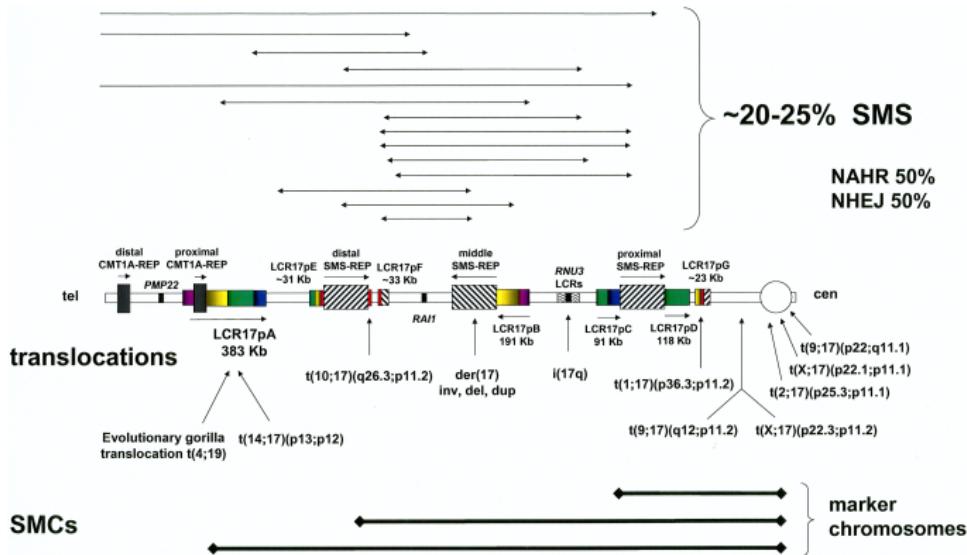
# Instabile Verlängerungen von tandem-repeats



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

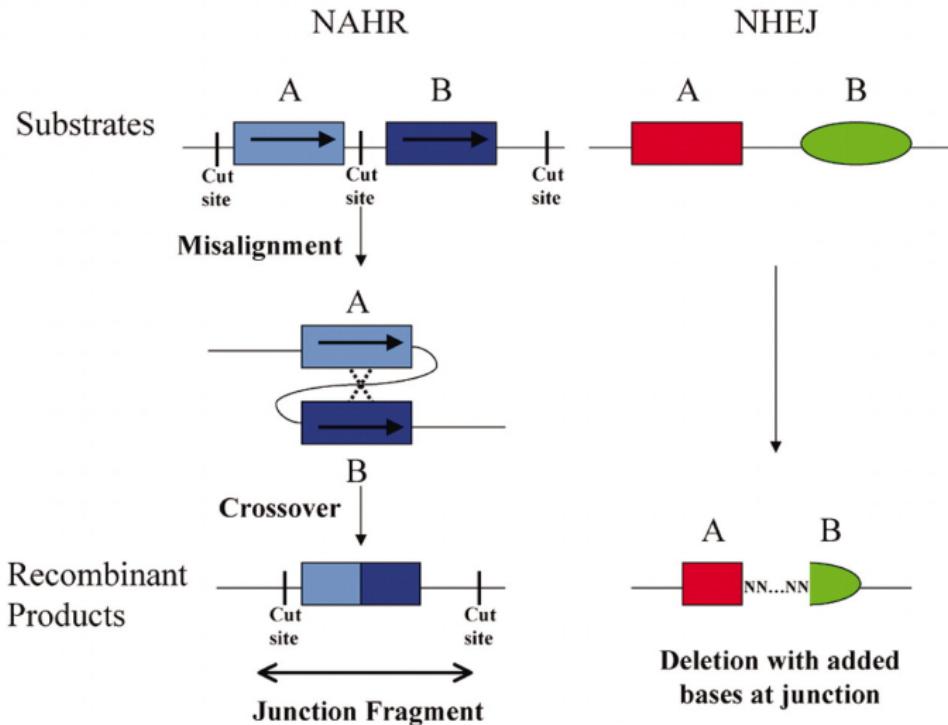
- Zahlreiche Repeatexpansionserkrankungen
- Die meisten betreffen vorwiegend das Nervensystem

# "Genomische Krankheiten"



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

# "Genomische Krankheiten"



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

# Outline

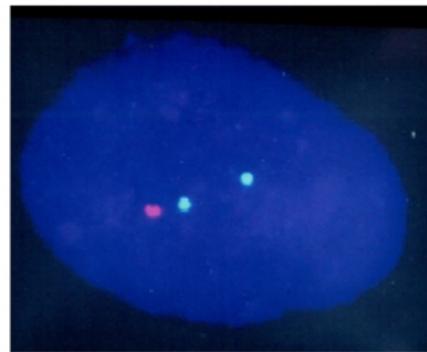
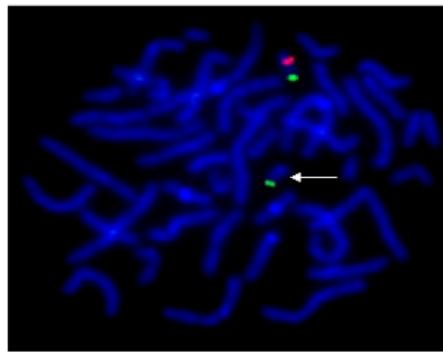
- 1 Mutationen
- 2 Repeats und Mutationen
- 3 Mikrodeletionssyndrome
- 4 Nomenklatur
- 5 Molekulare Pathologie

# 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)-

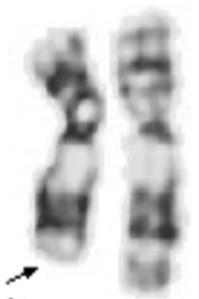
# Zytogenetische Mutationen

## Unterschiedliche Auflösungen ...



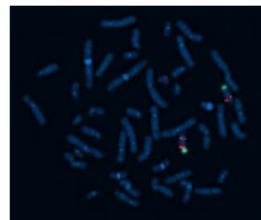
Trisomie 21  
322 Gene

46 Mb



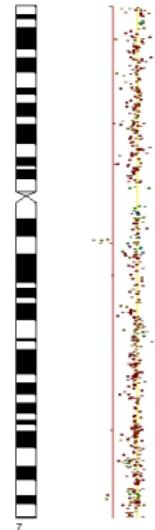
Deletion 11q  
> 40 Gene

ca. 10 Mb



Prader-Willi-Syndrom  
> 30 Gene Nachweis per FISH

4 Mb



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

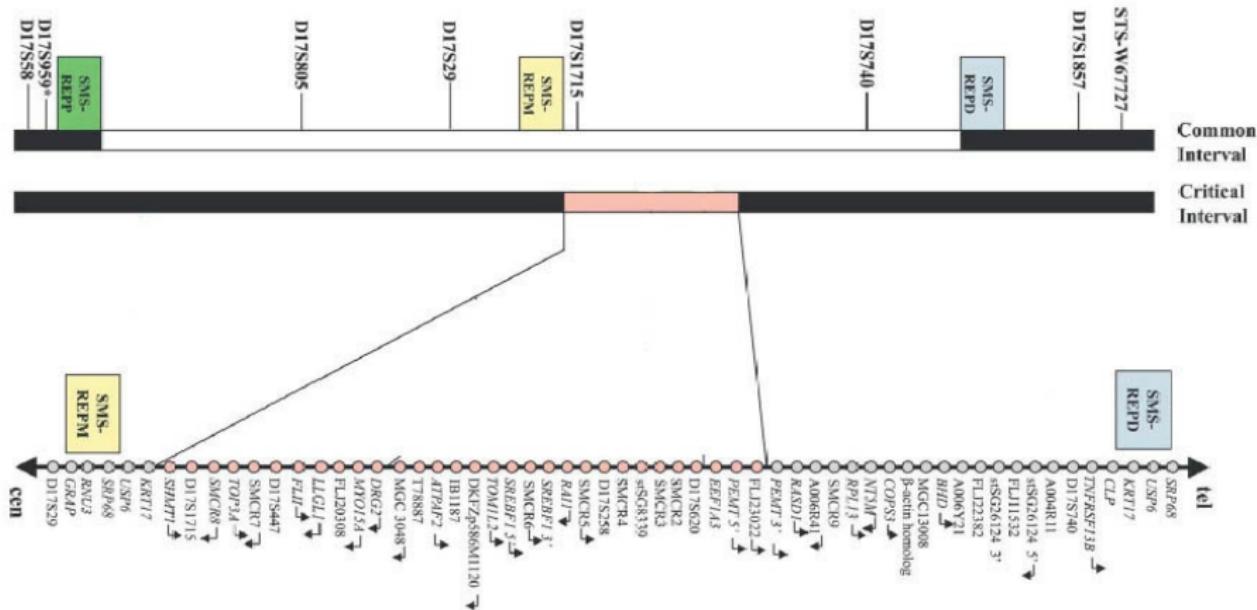
ca. 1,5 Mb

Marc Trimborn, Institut für Medizinische Genetik

# Beispiel: Smith-Magenis-Syndrom

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

# 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
- HGNC<sup>1</sup>-Gensymbole verwenden, z.B. *FBN1* für Fibrillin-1
- Nettes Tool:  
<http://www.humgen.nl/mutalyzer/1.0.1/>

---

<sup>1</sup>HUGO 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

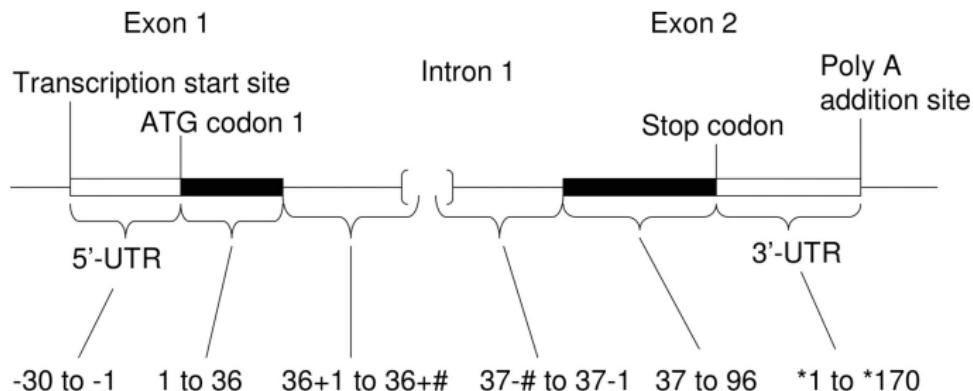
# Allele

- 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*<sup>2</sup>

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		
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 →												

<sup>2</sup>= Very Important Gene

# 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		
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		
ATG	GCC	AAT	CTT	GCT	AGC	TAC	AGA	TTT	AGT	TCT		...
1	4	7	10	13	16	19	22	25	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		
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		
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		
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		
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		
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		
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	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	
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	
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		
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		
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	
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	
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) Aminosäurenpositionen →												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
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		
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

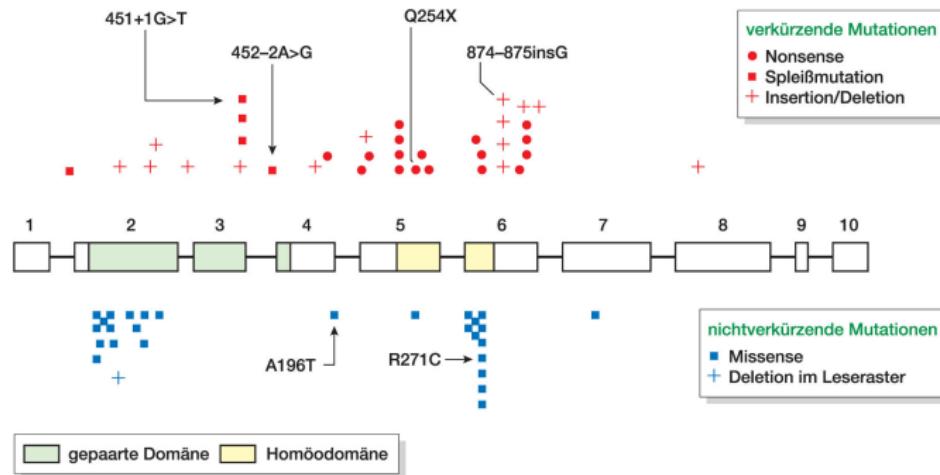
2 Repeats und Mutationen

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

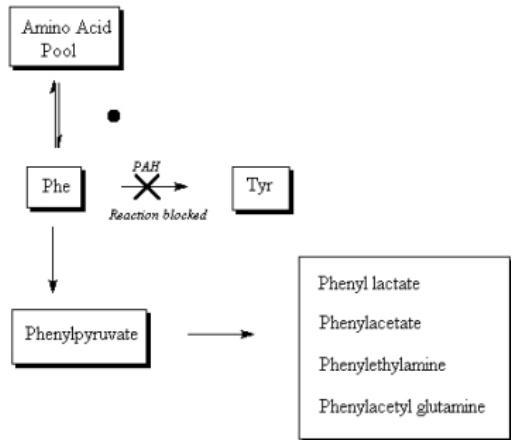
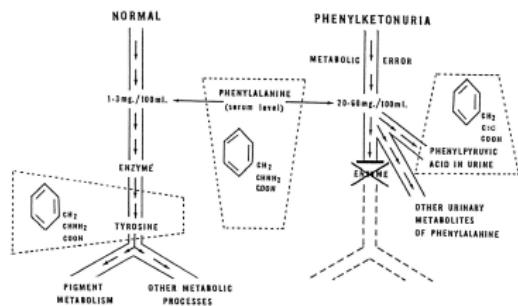
- Die Auswirkungen von Mutationen zu verstehen
- Hierdurch auch die normalen Funktionen des betroffenen Gens besser verstehen
- Neue Therapieoptionen hiervon ableiten (molekulare Medizin): schwierig, aber gelegentlich erfolgreich

# 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 führen<sup>3</sup>

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

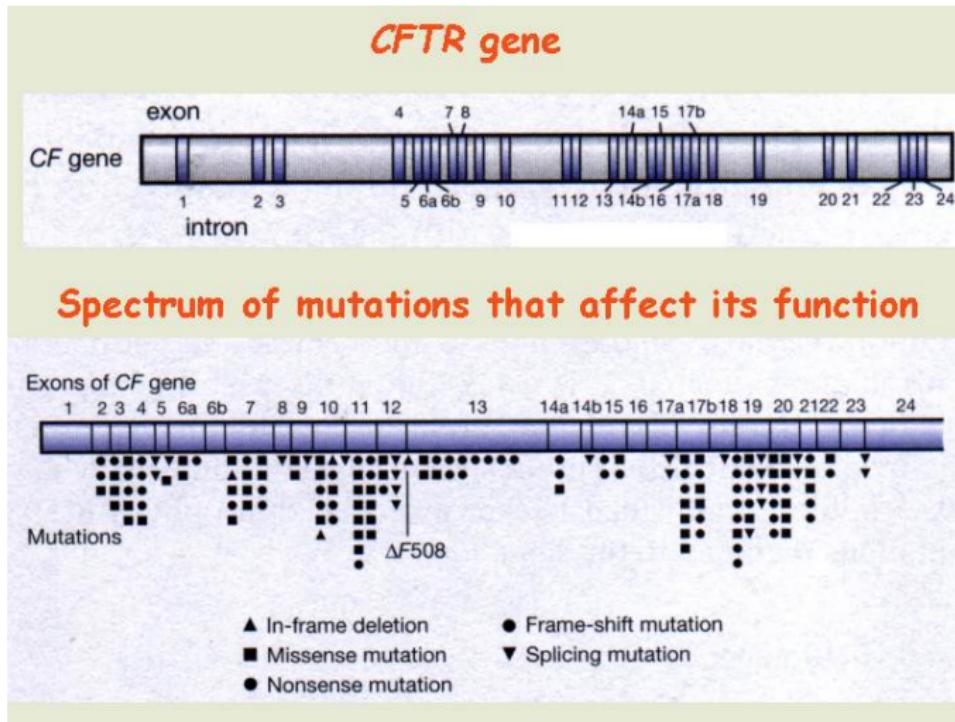
---

<sup>3</sup>s. 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 (~ 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

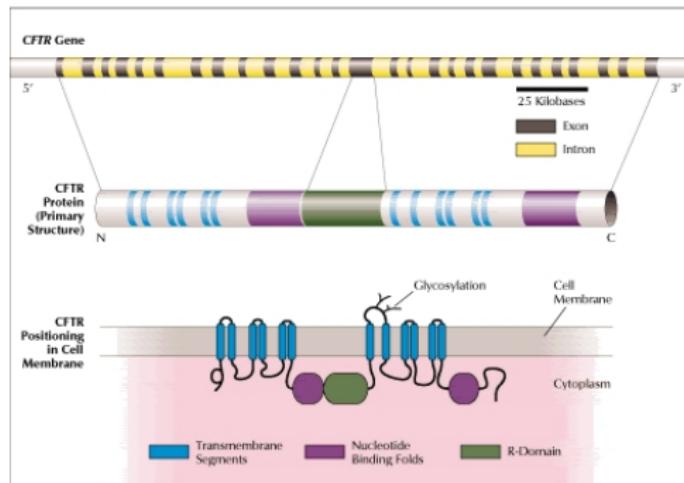


BB329 Membranes and Cellular Signalling homepage,

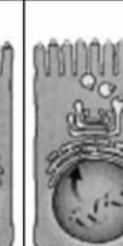
<http://homepages.strath.ac.uk/~dfs99109/BB310/CFgene.html>

# 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<sup>-</sup> Kanal

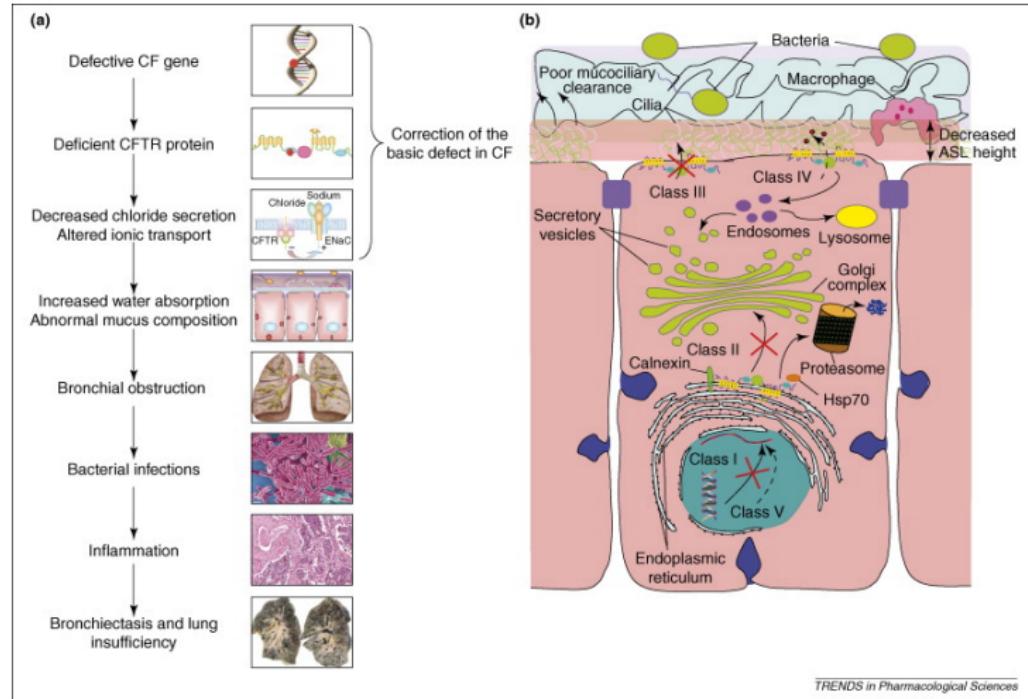


# CFTR Mutationsklassen

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 (A44E) 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 Gene<sup>4</sup>
- 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

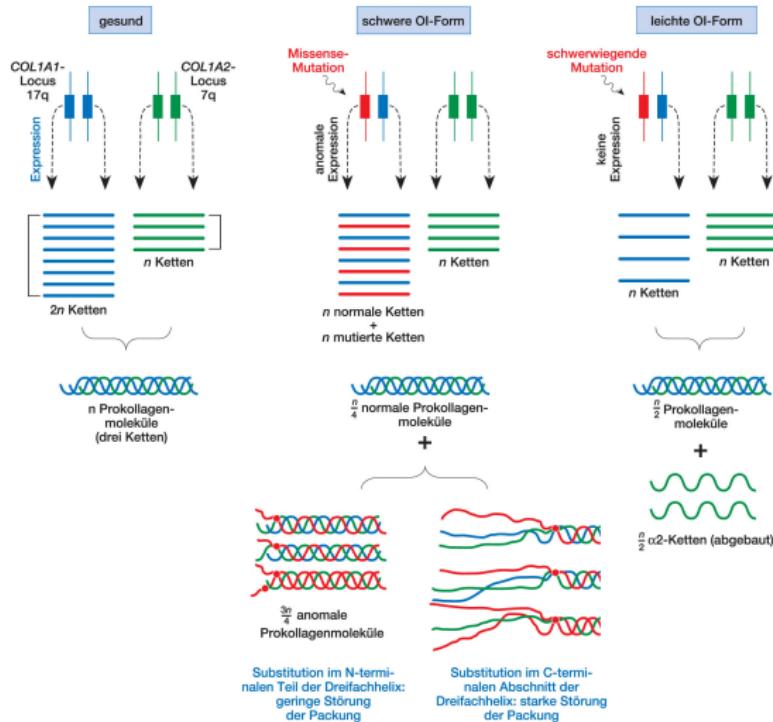
---

<sup>4</sup>s. 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

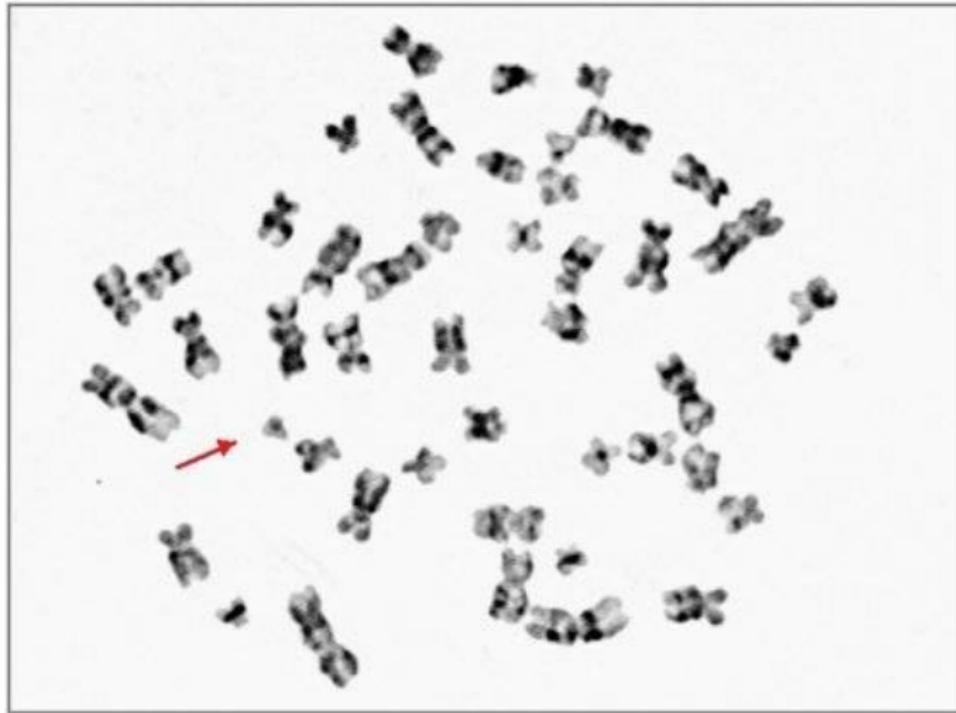


# Funktionsgewinnmutationen

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

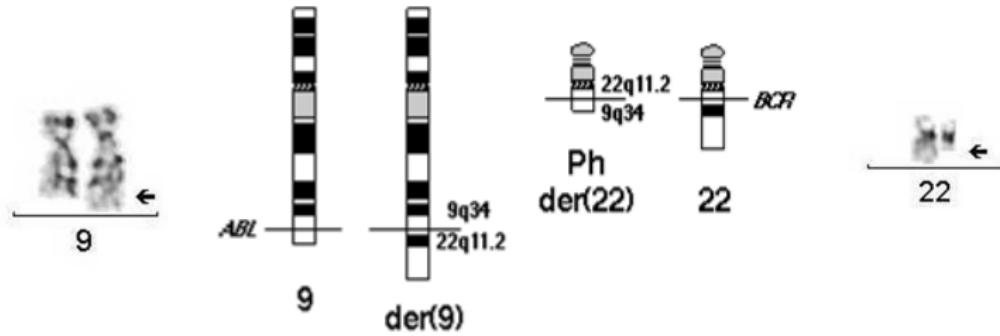
Überexpression	PMP22	Charcot-Marie-Tooth-Krankheit
Rezeptor konstitutiv aktiv	GNAS	McCune-Albright-Syndrom
Fehlerhaftes Öffnen eines Ionenkanals	SCNA4	Paramyotonia congenita
Bildung von Proteinaggregaten	HD	Morbus Huntington
Bildung eines Fusionsproteins	BCR-ABL	chronische myeloische Leukämie

# BCR-ABL



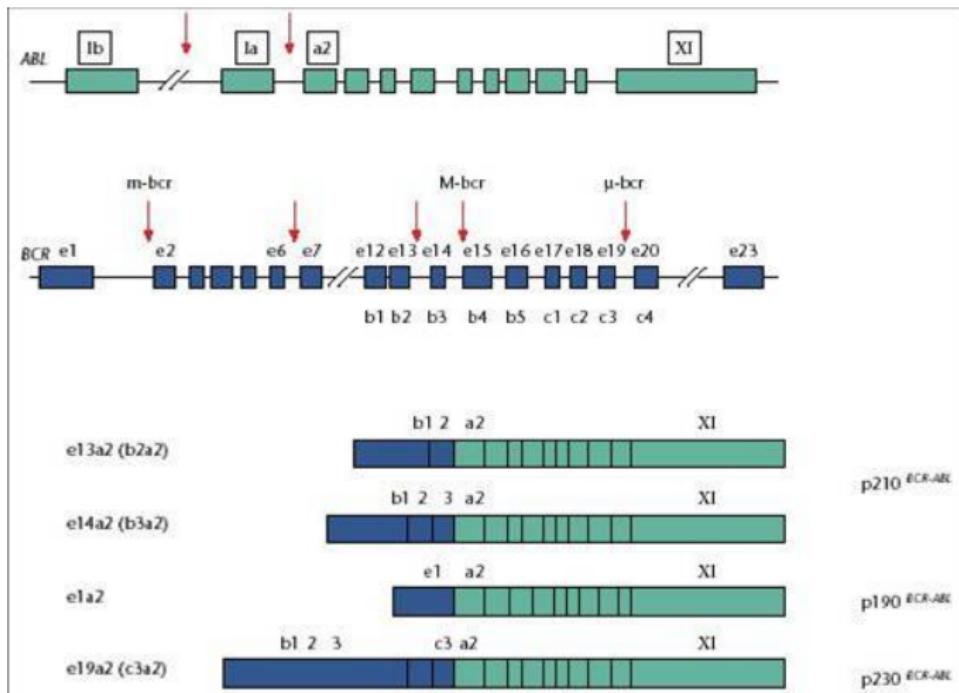
- Das Philadelphia-Chromosom

# 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*)

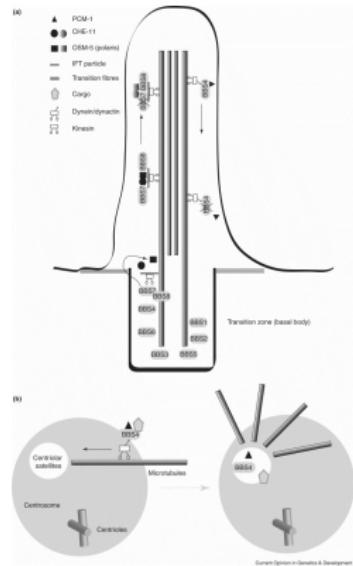
---

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, Ge- lenksteifheit, Ectopia lentis

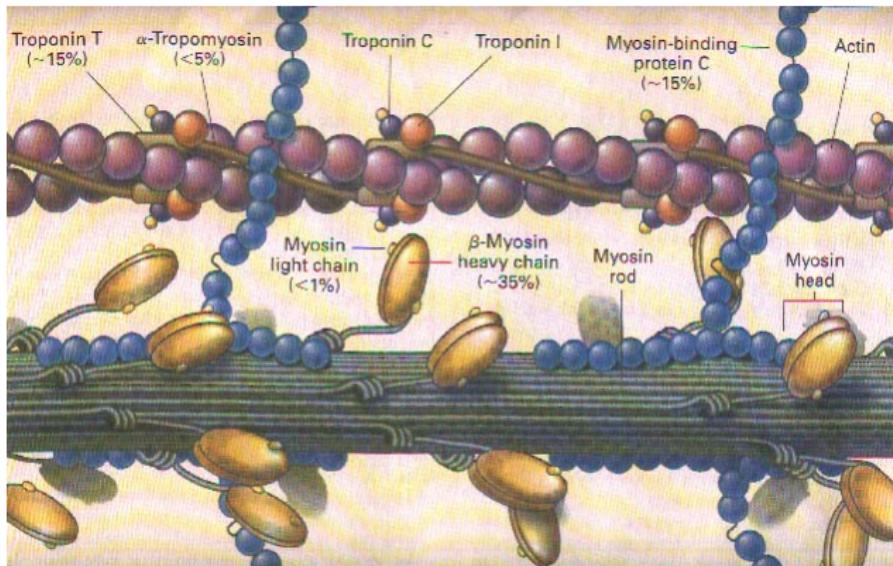
Robinson et al (2006) The molecular genetics of Marfan syndrome and related disorders. *Journal of Medical Genetics* 43:769–787

# 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 Kardiomyopathie<sup>5</sup>
- Mutationen in einem der Gene *MYH7*, *MYBPC3*, *TNNT2*, *TNNI3*, *TPM1*, *ACTC*, *MYL2*, *MYL3*

<sup>5</sup>1:500 in der Allgemeinbevölkerung

# Krankheitsfamilien und Pathways



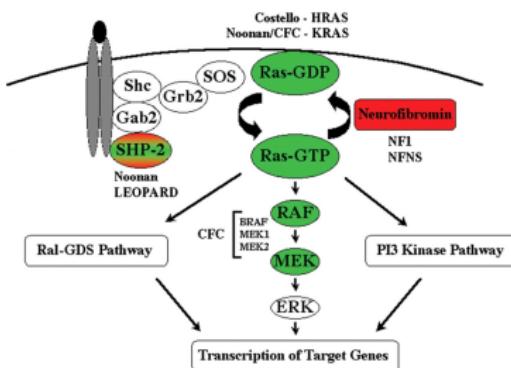
Noonan-Syndrome



LEOPARD-Syndrome



CFC-Syndrome



Costello-Syndrom



Neurofibromatose Typ 1

## RAS/MAPK-Pathway-Syndrome

# The End of the Lecture as We Know It

- Kontakt:  
[peter.robinson@charite.de](mailto: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).