

# **Molekulární biologie člověka :**

Mutace a nestability v lidském genomu

Dynamické mutace, repetitivní DNA

*Marie Vojtíšková*

KGMB, MU Brno 2004

**Nový mutační mechanismus - expanze  
trinukleotidů -**

**Genomová nestabilita spojená s opakováním  
trinukleotidů, (tetra -, penta.. ...dodekanukleotidů)**

**Počet dosud známých chorob spojený s expanzí  
cca 15**

Rozdílná fyziologická a patologická hladina počtu opakování

**Charakteristický rys dynamických mutací -**

**prodlužování expandované repetice  
během mezigeneračních transmisí**

**Exprese patologie dynamických mutací  
pouze u člověka**

## **Společný prvek dynamických mutací :**

na místě příslušného lokusu - genu nebo jeho blízkého okolí existuje tandemová repetice tripletu ( tetra .. penta ---) bází, přičemž zvýšení aktuálního počtu repeticí vede až ke vzniku choroby, nestability genomu

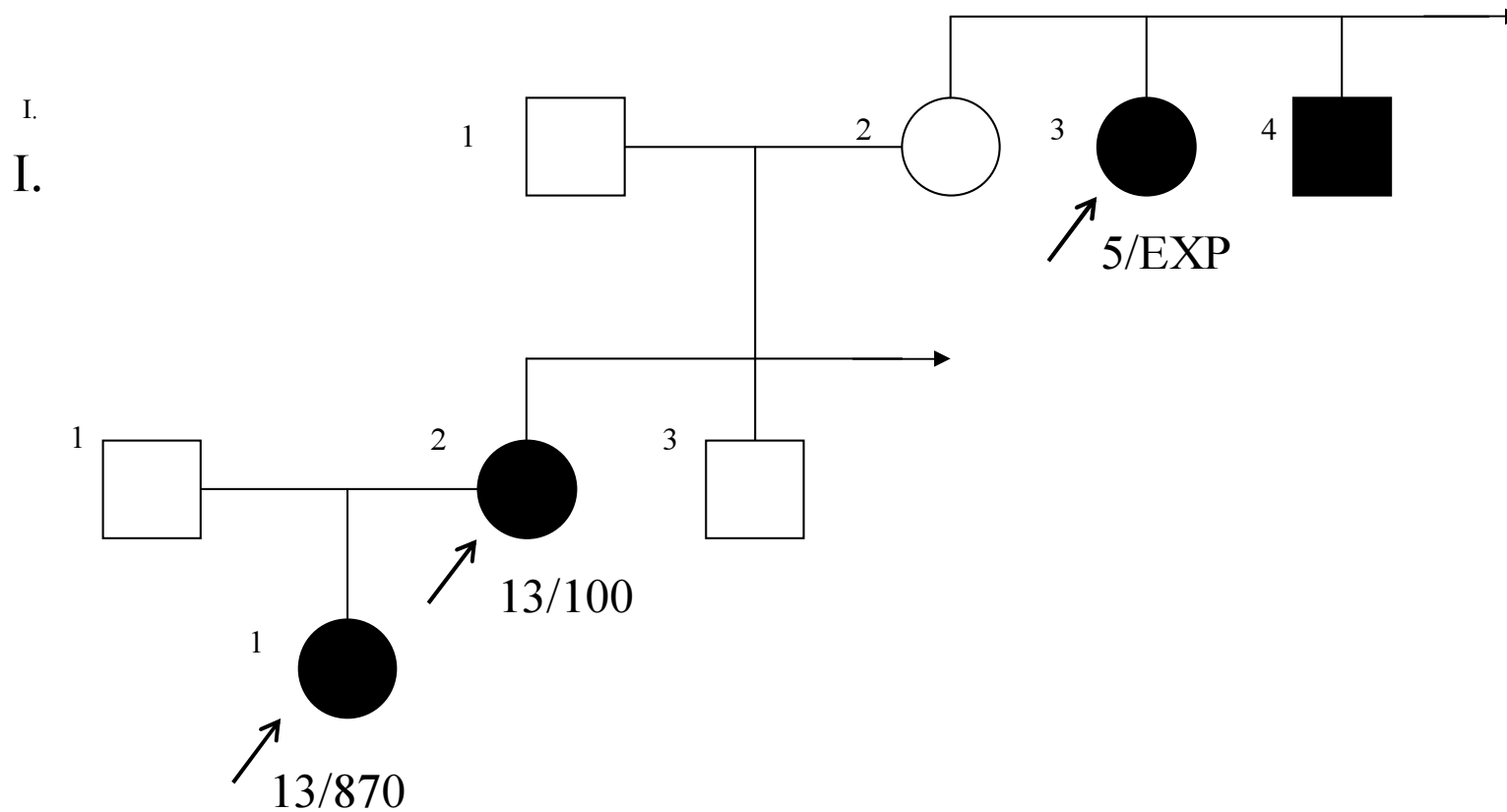
Patologie spojené s expanzí trinukleotidů:

a) *dědičné*

b) v návaznosti s genetickou *nestabilitou somatických nádorových buněk* ( poruchy reparačních mechanismů – např. nukleotidová excizní oprava , reparace chybného párování

c) *genetická nestabilita v somatických buňkách v závislosti na věku*

## Unstable CTG repeats in the DM family



Family pedigree. Numbers of CTG repeats on both alleles are shown. EXP denoted long range pathological CTG repeats determined by TP-PCR. Individuals III/1, I/3,4 are with DM phenotype. Mother II/2 is healthy. Arrows represented investigated member of the family.

## **Molekulární příčiny genetické nestability dynamických mutací:**

Trinukleotidové repetice - specifická podskupina STR-mikrosatelitů, vysoká frekvence (1/300- 500 kb) v **lidském genomu**

Sekvenční homogenost, symetrie repetitivních úseků - tandemový motiv  $[NNN]_n$ ,  $n$  = počet opakování

tvorba non B struktur dvoušroubovice DNA:

např. vlásenky ( hairpins),

lokální posun ( klouzání) řetězců

Hoogsteenovo párování - triplex, kvadruplexy

## **Mutace způsobené expanzí trinukleotidových repeticí**

**Expanze trinukleotidových repeticí** představuje nový mutační mechanismus, jehož kauzální role v oblasti výlučně lidských chorob se dotýká stále se rozšiřujícího počtu onemocnění, jejichž společným znakem je primární zasažení nervové tkáně .

Podle typu sekvence trinukleotidů na patologické alele mohou být choroby rozděleny na skupiny s expanzí v kodónu  $(CAG)_n$  pro glutamin, choroby polyglutaminového traktu a na skupinu chorob s velkými expanzemi v nekódujících oblastech genů ( SyFraX, Myotonická dystrofie, Friedreichova ataxie).

Původ mutací expandujících trinukleotidů dosud není spolehlivě vysvětlen. Bylo prokázáno, že nepřerušovaná sekvence CAG repetice je více náchylná k expanzi, než sekvence se vsuvkou CAT.





## **Model chybného párování sklouznutím řetězce (SSM)**

**během DNA replikace v repetitivních sekvencích může způsobit zejména v dlouhých sekvencích inzerci až expanzi alely vedoucí k patologii nebo deleci v dceřiném řetězci v závislosti na tom, na kterém řetězci se „bublina“ chybného párování nachází.**

**Je-li „bublina“ na dceřiném řetězci, tak dojde k inzerci, jeli na rodičovském, tak dochází k deleci.**

**Normální alely vykazují určitou variabilitu v počtu opakování repetice ve fyziologickém rozhraní.**

Mutation and instability of human DNA

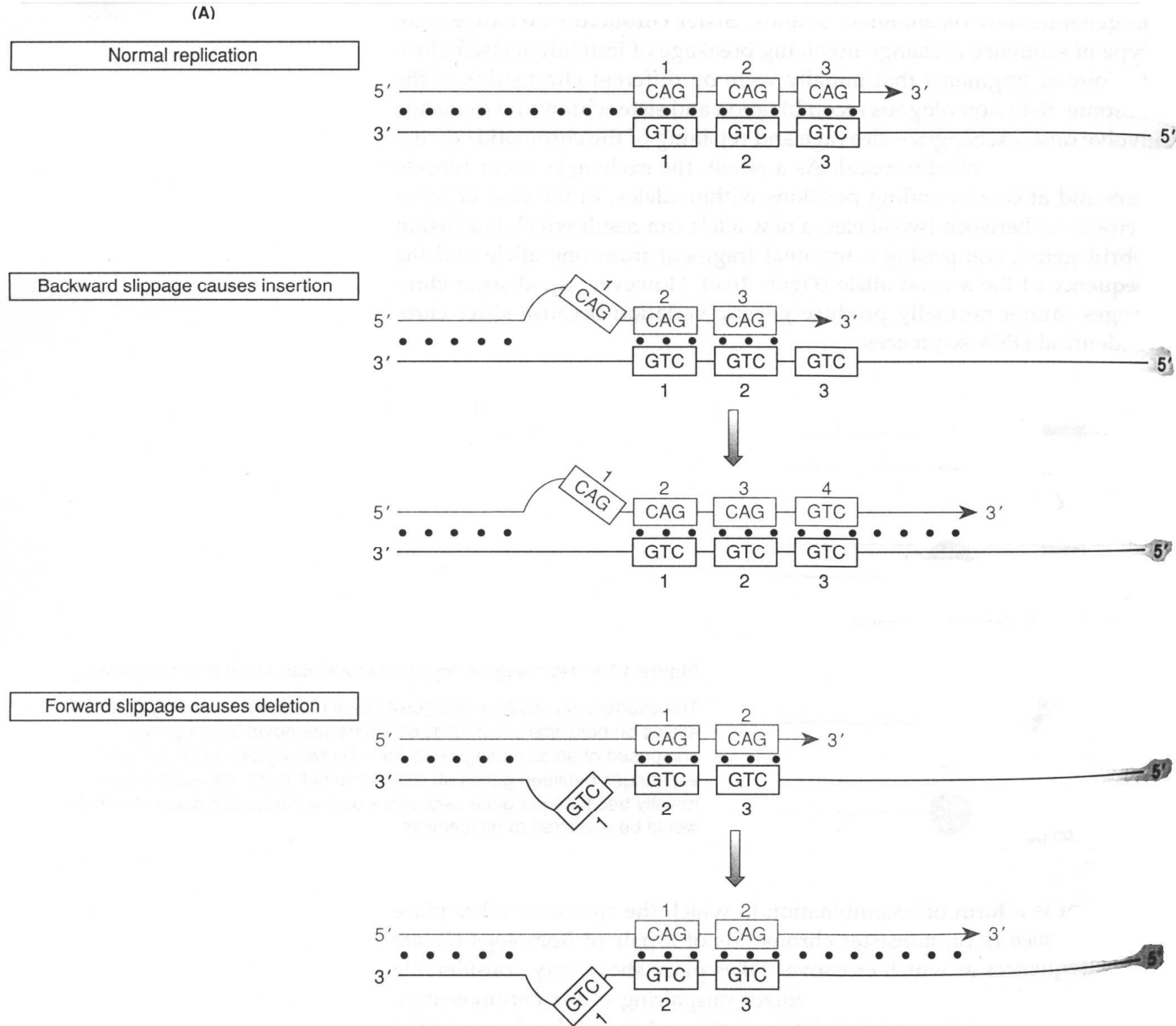
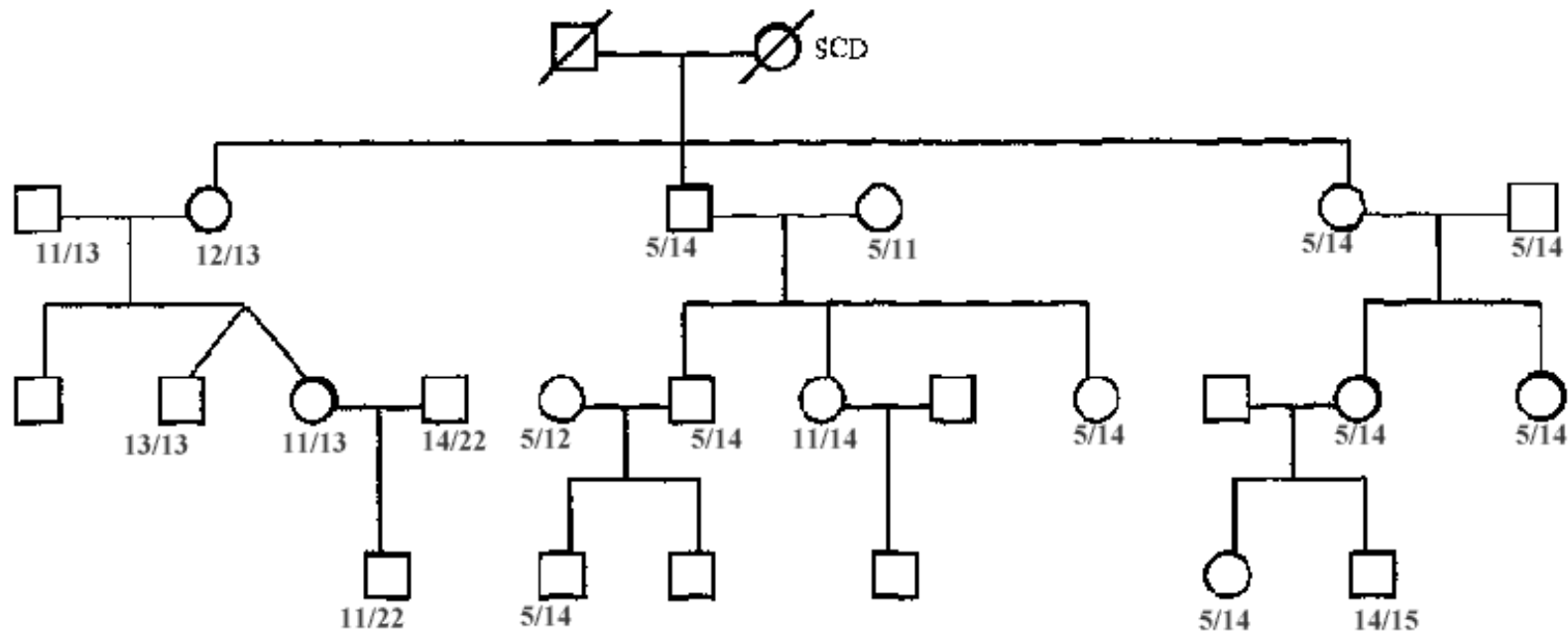


Figure 10.5: Slipped strand mispairing during DNA replication can cause insertions or deletions.

(where  $n$  = age in years - 15)



Fyziologické zastoupení alel  $(CTG)_n$  v genu pro myotonickou dystrofií (19q13.3)



# FraX



transcription

Absence of FMR 1 protein



Disruption of RNA processing  
in brain and testes

# DM



**Altered expression of RNA  
CUG-binding proteins**



**Altered processing of CUG  
containing mRNAs in skeletal  
muscle, heart, brain, and testes**

## **Myotonická dystrofie typu 2 – DM2**

– (3q21), expanze **(CCTG)<sub>n</sub>** v intronu 1 ( ZNF9)  
genu –

protein zinkového prstu

**Normální alela** – počet opakování tetranukleotidu  
do  $n = 30$

**Patologická alela - expanze  $n = ( 75 - 11\ 000)$**   
**CCTG**

**Replikace v tetranukleotidových opakujících se sekvencích (CCTG) :**

**disociace řetězců - následná syntéza opožděujícího řetězce**  
pomocí Ókazakiho fragmentů.

**Sekundární pseudostruktury - hlavní příčina genetické**  
nestability TR

**vznik expanzí nebo delecí**





**Příčiny nestability dynamických mutací v  
několikanásobně se opakujících sekvencích  
tri, tetra, penta .... nukleotidů :**

**replikace, rekombinace, reparace**

**Klouzání ( slippage) v repetících vytváří non B-  
DNA struktury**