

Mutacje

Ujęcie funkcjonalne

Mutacja

- Trwała, przekazywana przy replikacji zmiana sekwencji nukleotydowej w materiale genetycznym
- Nie każde uszkodzenie DNA jest mutacją – staje się nią dopiero po utrwaleniu i przekazaniu do cząsteczki (lub cząsteczek) potomnych

Mutacje

- Rearanżacje genomu
- Zmienność liczby kopii fragmentów
- Zmienność na poziomie genów
 - obszary kodujące (białka i funkcjonalne RNA)
 - obszary regulatorowe

Mutacje – poziom kodu genetycznego

- Podstawienia
 - Niesynonimiczne
 - Zmiany sensu (missense)
 - Nonsens (nonsense)
 - Synonimiczne (ciche)
 - Mogą niekiedy wpłynąć na fenotyp - efekt częstości wykorzystywania kodonów synonimicznych

Mutacje – poziom kodu genetycznego

- Zmiany fazy odczytu - insercje lub delecje (indele)
 - zmienia sekwencję i/lub długość kodowanego białka poniżej miejsca wystąpienia
- Delecje lub insercje w kodowanym białku
 - indele wielokrotności 3 nukleotydów
 - delecje lub insercje eksonów
 - **Deficjencja** – rozległa delecja, np. obejmująca cały gen

Mutacje – poziom kodu genetycznego

- Zmiany fazy odczytu
 - zmienia sekwencję i/lub długość kodowanego białka poniżej miejsca wystąpienia
- Delecje lub insercje w białku
 - delecje lub insercje wielokrotności 3 nukleotydów
 - delecje lub insercje eksonów
 - **Deficjencja** – rozległa delecja, np. obejmująca cały gen

Mutacje – efekty fenotypowe

- Klasyfikacja Müllera
 - nullomorfy
 - hipomorfy
 - hipermorfy
 - antymorfy
 - neomorfy

Nullomorfy

- Brak jakiejkolwiek funkcji genu
- Tzw. allele *null*, inna nazwa: amorfy
- Nullomorfy:
 - transkrypcyjne (brak transkryptu)
 - translacyjne (brak białka wykrywalnego przeciwciałem)
 - inaktywacyjne (obecne białko, ale całkowicie nieaktywne)
 - najpewniejszy sposób na uzyskanie nullomorfa – deficyjencja (pełna delecja)
- Często recesywne
 - Dominacja (lub kodominacja) w przypadku efektu ilości białka - haploinsuficjencja

Hipomorfy

- Obniżona aktywność produktu, niewystarczająca do uzyskania dzikiego fenotypu homozygoty
- Obniżenie ilości produktu lub produkt o obniżonej aktywności
 - Np.
 - obniżona transkrypcja, obróbka RNA, stabilność, translacja
 - obniżona aktywność (np. katalityczna)
- Często recesywne

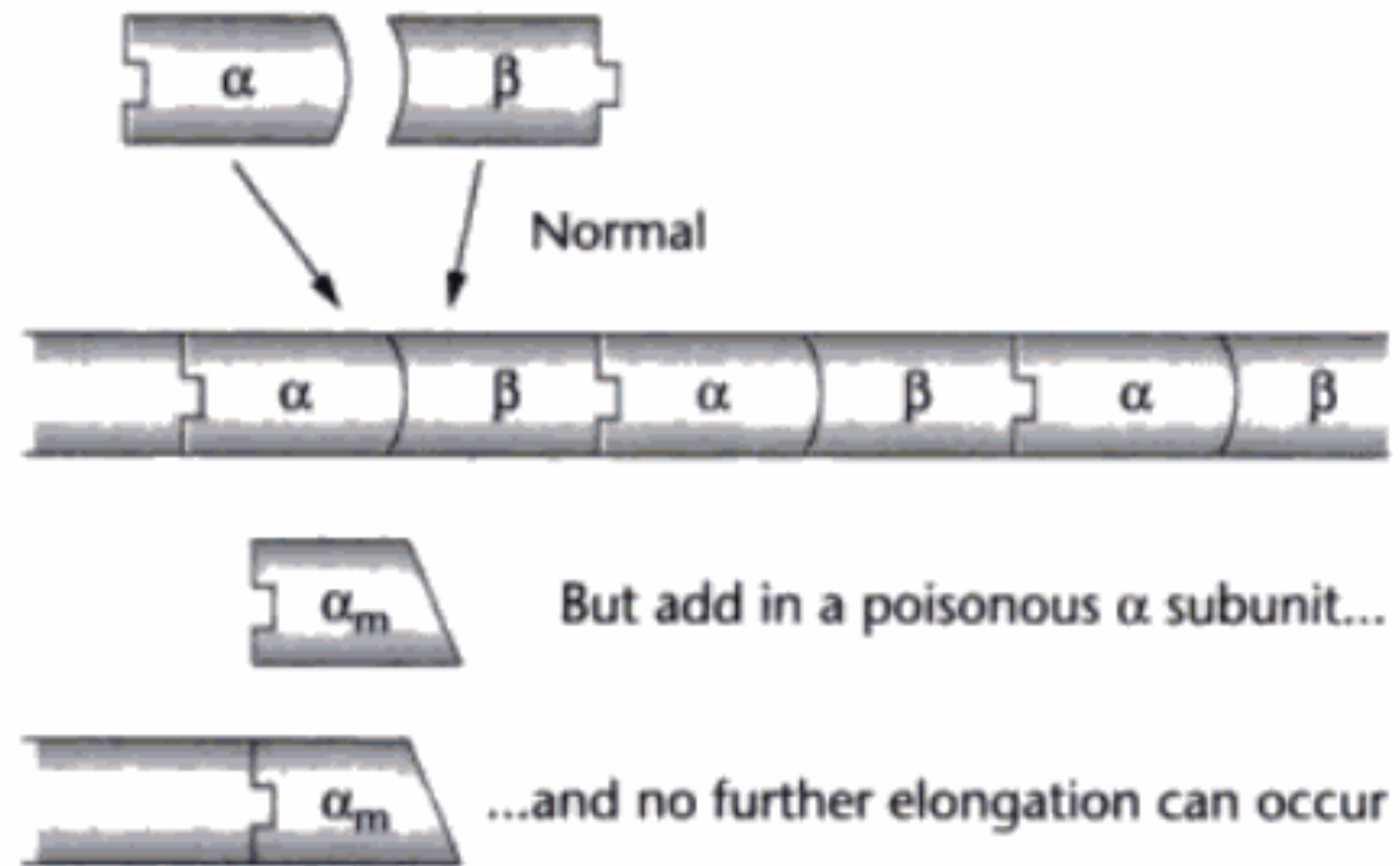
Hipermorfy

- Zwiększona aktywność produktu
- Fenotyp wynika z:
 - nadmiaru produktu genu (nadekspresja)
 - nadmiernie wysokiej aktywności produktu

Antymorfy

- Zmutowany produkt ma działanie antagonistyczne wobec dzikiego
- Fenotyp podobny do fenotypu nullomorfa lub hipomorfa, ale z definicji dominujący
- Zwiększenie dawki allelu dzikiego może osłabić (odwrócić) fenotyp
- Inny termin – mutacje dominujące negatywne (*dominant negative*)

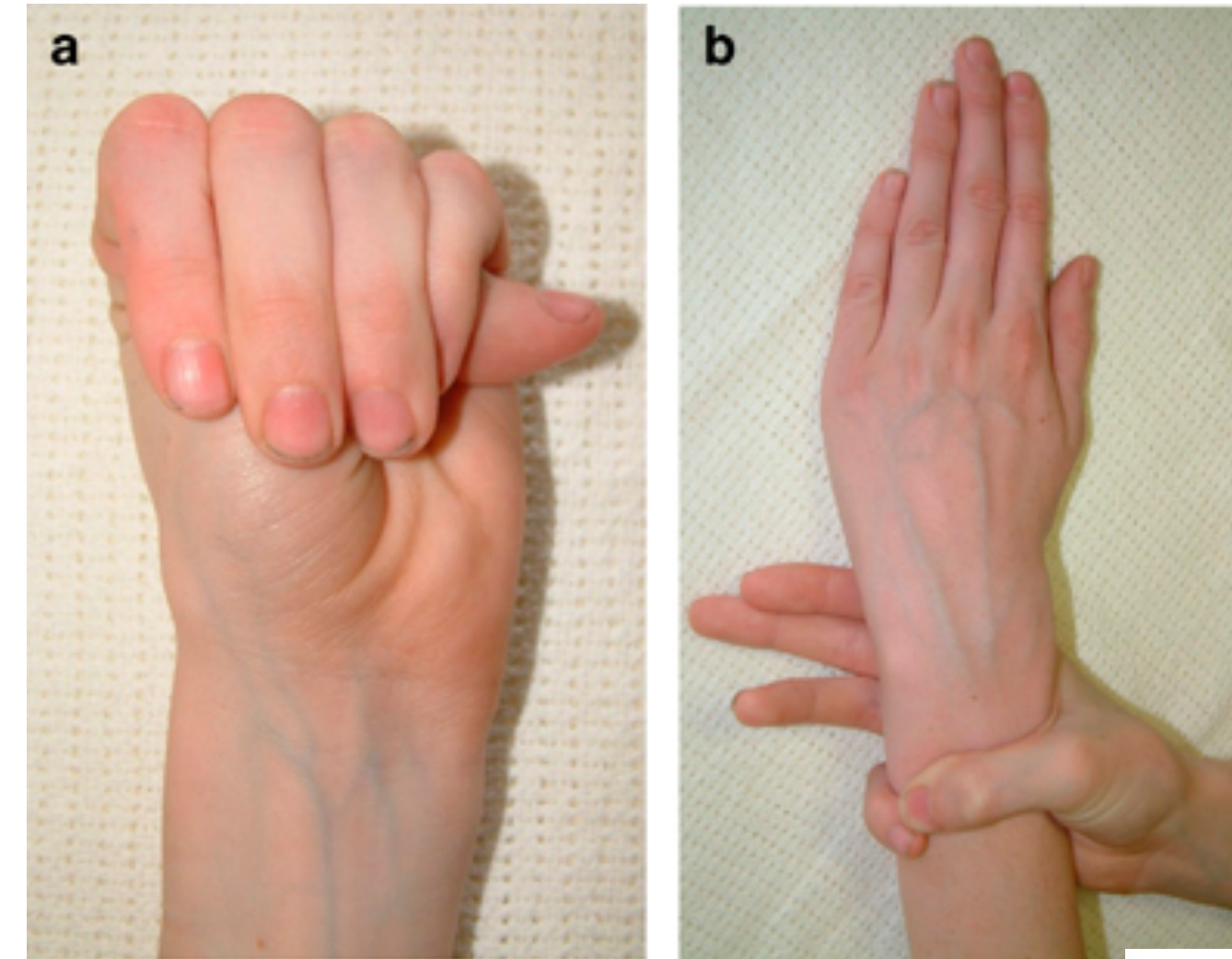
Antymorfy



Mutacje w genach podjednostek tubuliny blokujące polimeryzację

Antymorf – zespół Marfana

- Dominująca mutacja w genie *FBN1* kodującym fibrylinę – białko tkanki łącznej
- Zmutowane białko blokuje polimeryzację białka prawidłowego
- Defekty tkanki łącznej, aorty i zastawek serca, wysoki wzrost, arachnodaktylia
- Ok. 1:5 000 urodzeń



Sławni muzycy chorzy na zespół Marfana

- Niccolò Paganini (1782-1840)
- Robert Johnson (1911-1938)



Neomorfy

- Zmieniona (nowa) aktywność genu
- Aktywność genu w niewłaściwym miejscu lub czasie (heterochronia)
 - przykład: chłoniak Burkitta: translokacja fragmentu chromosomu 8 na 14 przenosi gen *c-myc* pod kontrolę silnego promotora IGHα aktywnego w limfocytach
- Niewłaściwa aktywność, ale nie antagonistyczna dla produktu dzikiego
 - Wiele mutantów regulatorowych
 - Np. białko pozbawione domeny odpowiadającej za regulację aktywności, konstytutywnie aktywne

Neomorf

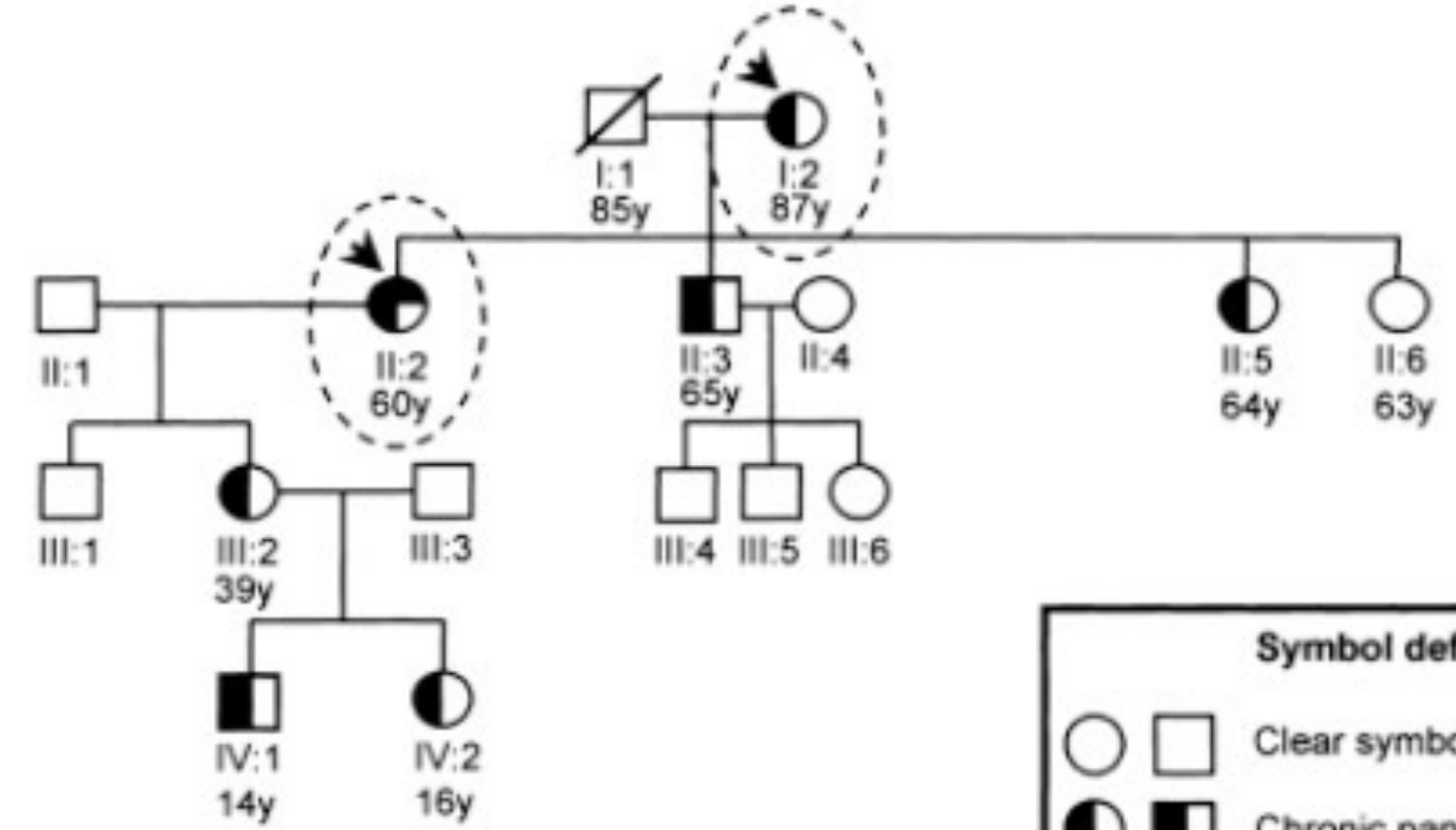
- *Antennapedia* (Antp73b)
- Sekwencja genu *Antp* przeniesiona w pobliże promotora genu ulegającego ekspresji w głowie
- Rozwój odnóży na segmencie głowowym



Dziedziczne zapalenie trzustki

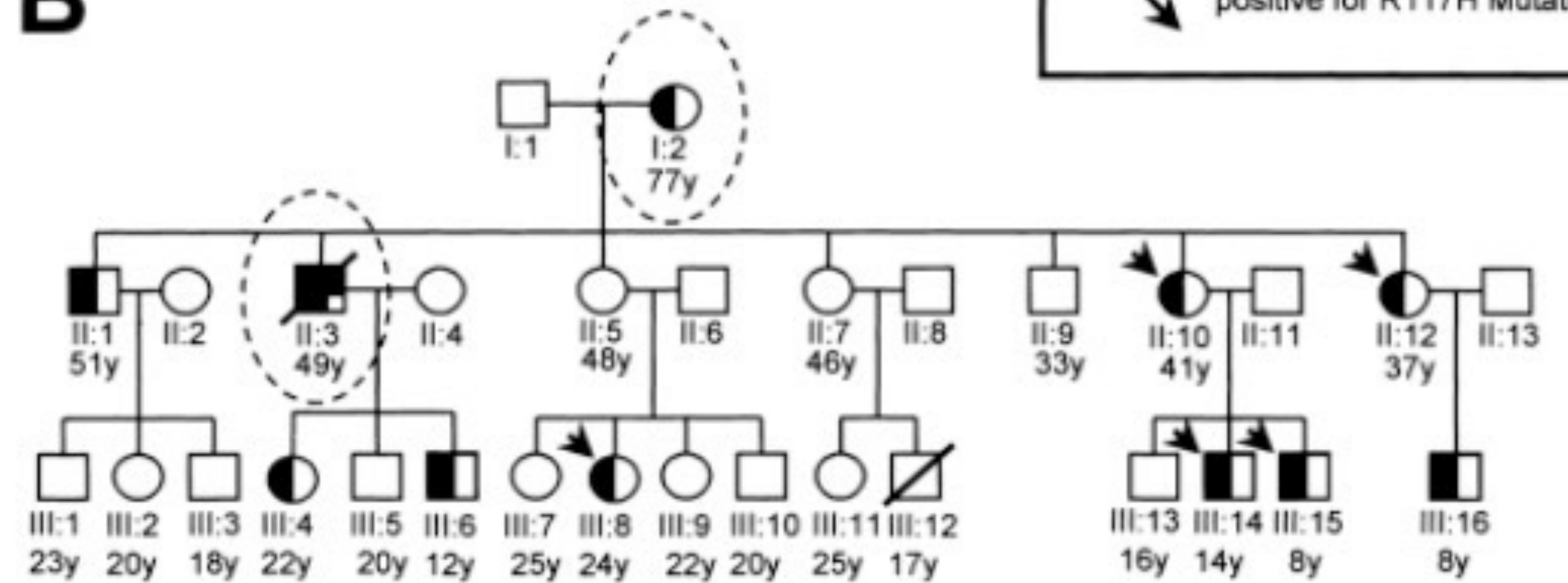
- Choroba dominująca autosomalna
- Przewlekłe zapalenie trzustki. Niekiedy z rozwojem raka trzustki
- Najczęściej mutacje w genie kodującym trypsynę

A



Symbol definitions	
○ □	Clear symbol
◐ ◑	Chronic pancreatitis
◐ ◑	Chronic pancreatitis + Pancreatic cancer
↘	positive for R117H Mutation

B



Dziedziczne zapalenie trzustki

- Trypsyna w trzustce ulega autoinaktywacji przez proteolizę
- Mutacja R117H - “supertrypsyna” oporna na proteolizę - aktywna w komórkach trzustki



Inne terminologie

- Mutacje utraty funkcji (*loss-of-function*)
 - nullomorfy i hipomorfy w klasyfikacji Müllera
- Mutacje nabycia funkcji (*gain-of-function*)
 - neomorfy i hipermorfy w klasyfikacji Müllera
- Mutacje dominujące negatywne (*dominant negative*)
 - antymorfy
 - niekiedy zaliczane do “nabycia funkcji” albo “utraty funkcji” – częste niejednoznaczności

Mutacje utraty funkcji

- *Null* – całkowita utrata funkcji. Np. deficyjencja.
- Częściowa utrata funkcji (hipomorf). Dotyczy poziomu produktu lub jego aktywności.
- Warunkowe
 - np. temperaturo-wrażliwe – utrata aktywności tylko w warunkach restrykcyjnych - np. podwyższona (ts) lub obniżona (cs) temperatura.
 - Ważne narzędzie do badania genów, w których mutacje *null* są letalne
 - Mutanty ts często są hipomorficzne w temperaturze permissywnej

Letalność

- Mutacja powoduje niezdolność do przeżycia
 - U organizmów wielokomórkowych często śmierć na wczesnych etapach rozwoju - embrioletalność
 - Problem definicji - czy mutacja prowadząca do przedwczesnej śmierci, ale już po urodzeniu jest letalna?
 - ujęcie ewolucyjne - tak, jeżeli śmierć przed osiągnięciem wieku reprodukcyjnego

Niezbywalność

- Geny, których mutacje nullomorficzne są letalne to geny niezbywalne (niezbędne): ang. **essential**
- U drożdży *S. cerevisiae*, w warunkach laboratoryjnych: ~20% genów
- *E. coli*: ~14%
- *Mycoplasma*: ~55%
- Mysz: ~40%??

Dominacja i recesywność

- Dominacja i recesywność to pojęcia względne
 - dany allel może być dominujący względem jednego, a recesywny względem innego allelu
- Dominację i recesywność należy rozpatrywać pod kątem
 - konkretnego fenotypu
 - poziomu organizacji (komórka vs. organizm)

Względność dominacji

- Dziedziczenie jednolitego ubarwienia u kotów na przykładzie rasy brytyjskiej
- allel B - dominujący: barwa czarna
- allel b : barwa czekoladowa
 - **recesywny w stosunku do B**
 - ale **dominujący w stosunku do $b1$**
- allel $b1$: barwa cynamonowa
 - recesywny w stosunku do B i do b



Dominacja i recesywność

- Poziomu organizacji (komórka vs. organizm)
 - np. supresory nowotworów (p53, Rb)
 - Na poziomie komórkowym recesywne – komórka z jednym allelem dzikim funkcjonuje prawidłowo
 - Na poziomie organizmu (rodowody) dominujące – u heterozygot rozwija się zespół chorobowy częstego występowania rzadkich nowotworów (zespół Li-Fraumeni, retinoblastoma)

Dominacja i recesywność

- Mutacje nullomorficzne i hipomorficzne (utrata funkcji) z reguły są recesywne
 - Jeden allel pozostaje aktywny i wytwarza produkt. Ilość produktu (enzymu) nie jest limitująca (limituje zwykle substrat)
 - Ponieważ są to najczęstsze mutacje, to większość izolowanych mutacji jest recesywna

Haploinsuficjencja

- Wyjątek: haploinsuficjencja
 - Jedna kopia (allel) nie wystarcza do zapewnienia odpowiedniej ilości produktu
 - U drożdży stwierdzono dla około 3% (~200) genów
 - Zdarza się haploinsuficjencja warunkowa – heterozygota objawia fenotyp tylko w konkretnych warunkach środowiska

Choroby dominujące

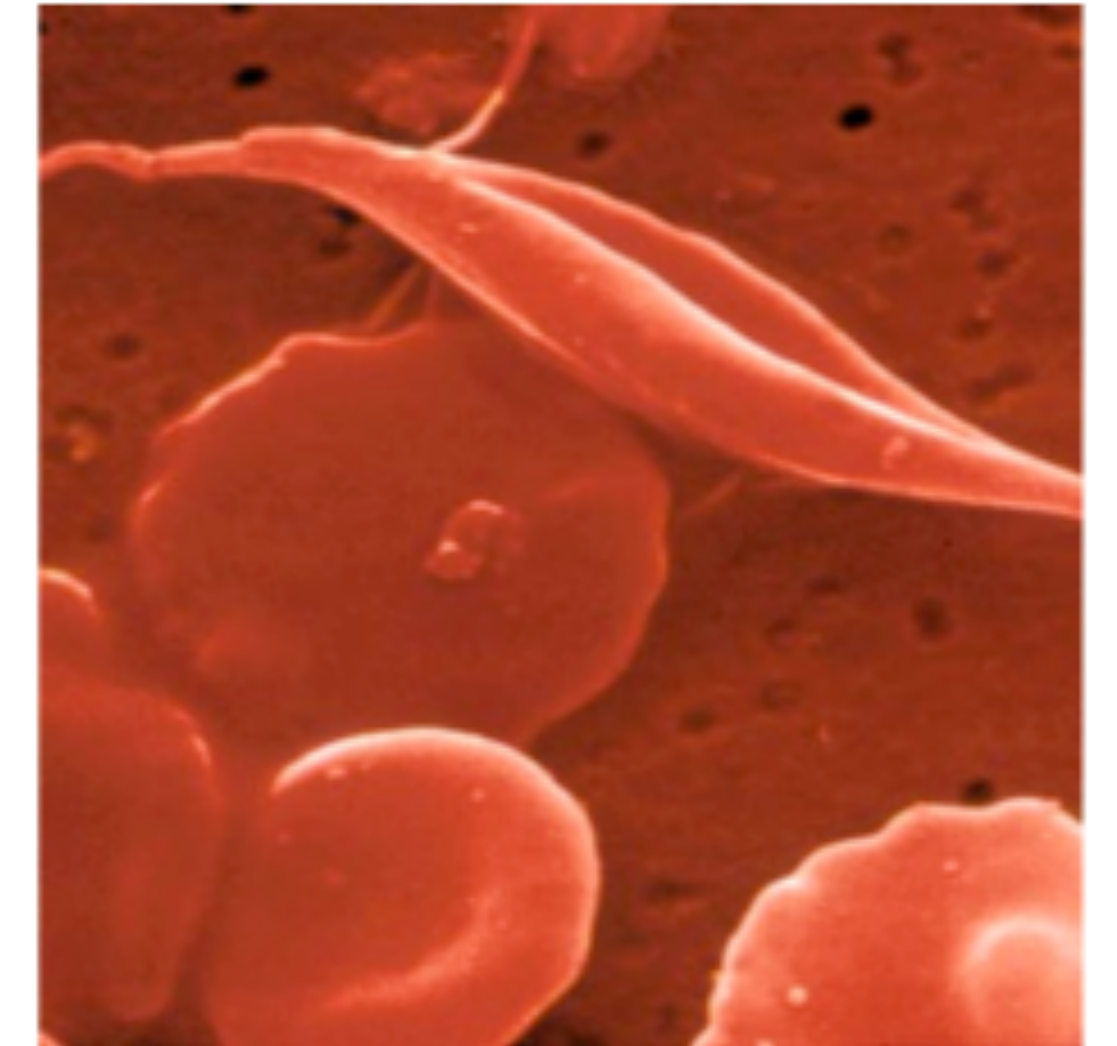
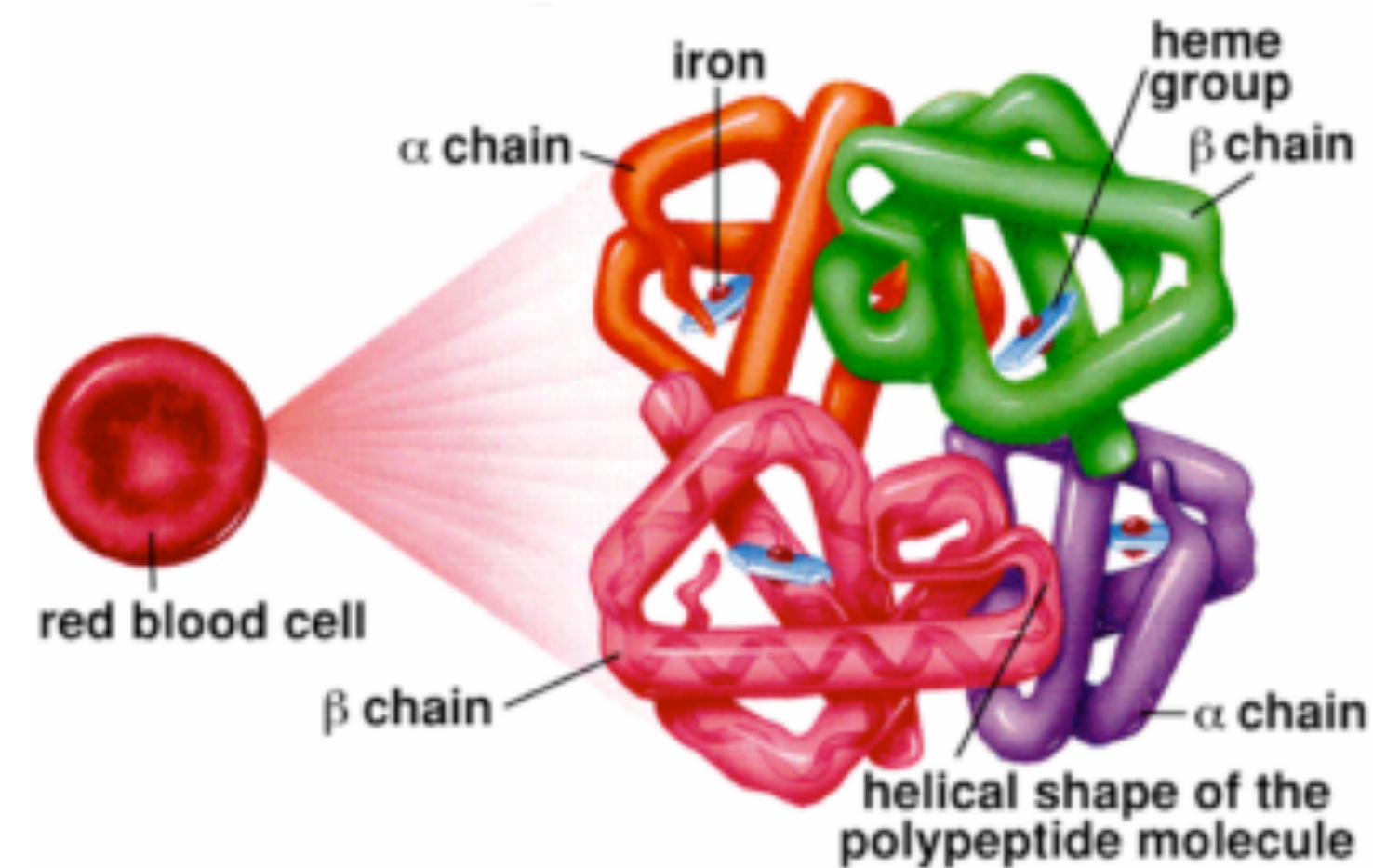
- Jednym z mechanizmów jest haploinsuficjencja
- Chorzy są heterozygotami, u homozygot zwykle dużo cięższe objawy albo letalność

Rodzinna hipercholesterolemia

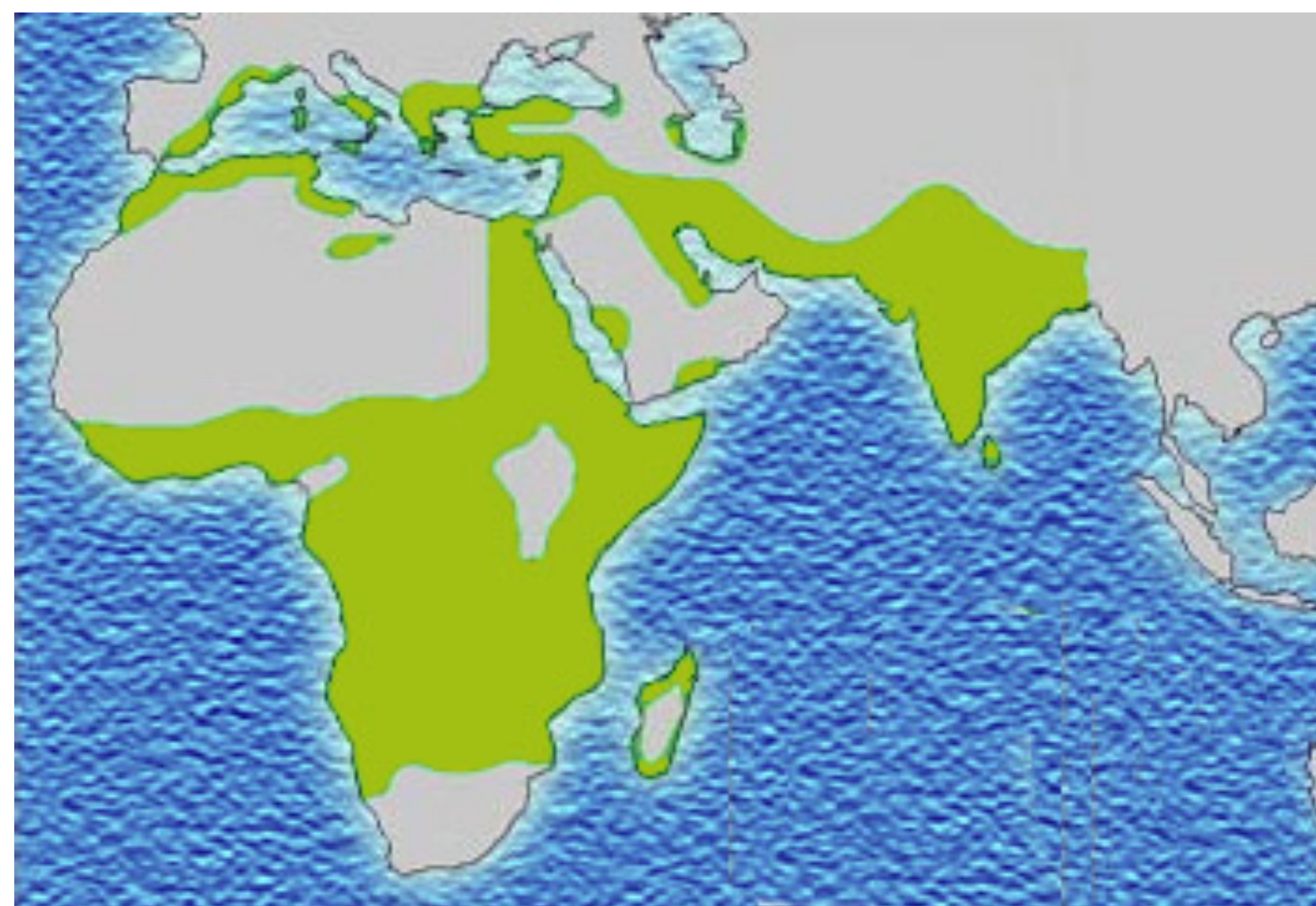
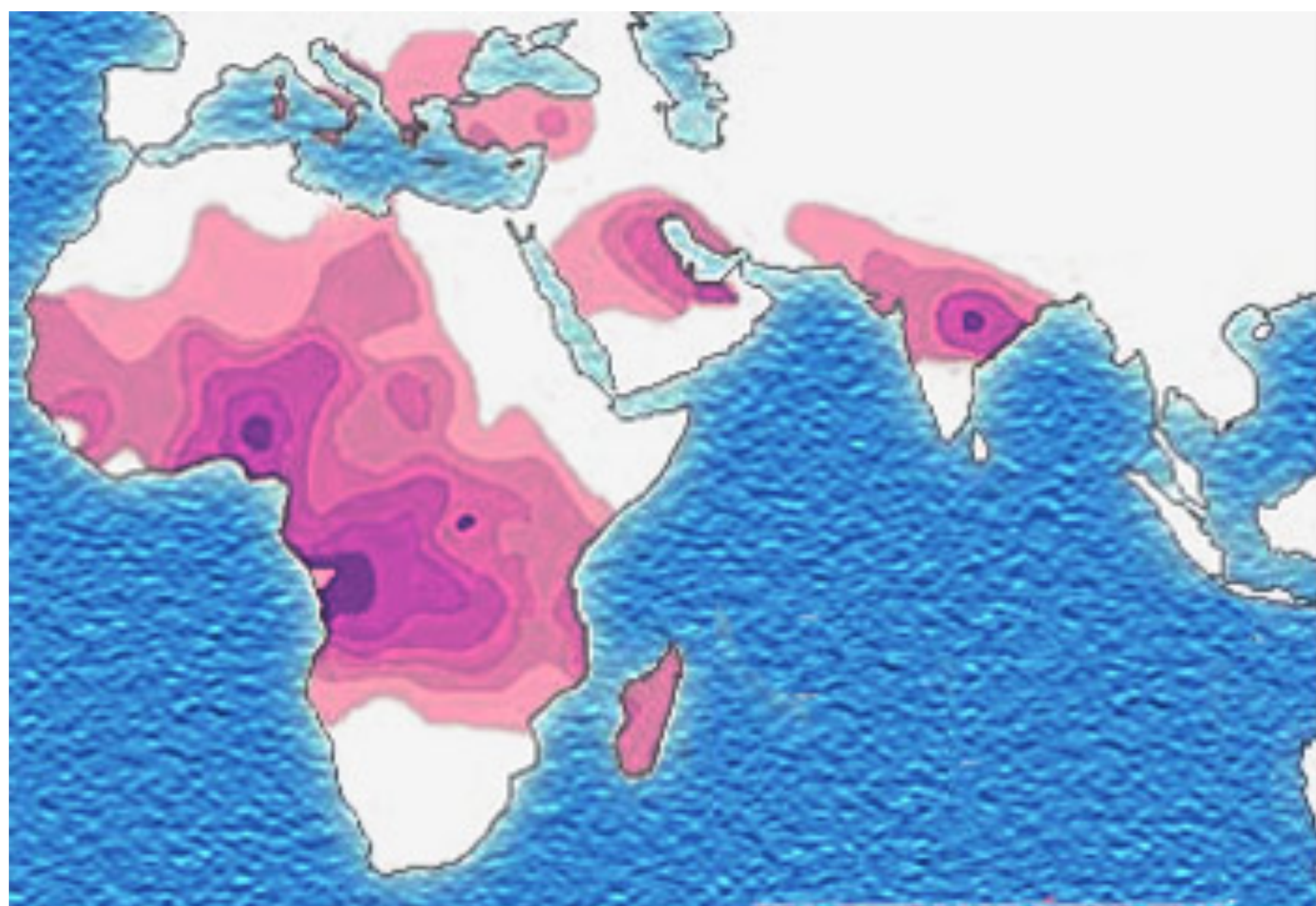
- Mutacje w genach LDLR (receptor LDL – *low density lipoprotein*) i ApoB (apolipoproteina B – część kompleksu LDL odpowiedzialna za oddziaływanie z receptorem)
- Heterozygoty: podwyższony poziom LDL we krwi, miażdżyca, choroby serca ok. 40 r. życia
 - leczenie: statyny, dieta
- Homozygoty: ciężkie schorzenia serca i naczyń już w dzieciństwie
 - leczenie: trudne, wysokie dawki statyn, przeszczep wątroby

Haploinsuficjencja warunkowa

- Anemia sierpowata
 - Mutacje w genie β -globiny (HbS)
 - Choroba recesywna, ale w warunkach niskiego ciśnienia (wysoko w górach) nosiciele (heterozygoty) chorują – warunkowa haploinsuficjencja
 - Dodatkowy fenotyp – odporność na malarię, fenotyp dominujący
 - W rejonach występowania malarii heterozygoty mają przewagę selekcyjną nad obiema homozygotami – naddominacja



Anemia sierpowata



Znani nosiciele allelu *HbS*



Lassana Diarra
(ex. Real Madryt, ex. rep. Francji)



Ryan Clark
(Pittsburgh Steelers)

HbS i sport

- W latach 2004 - 2008 5 przypadków śmierci u zawodników akademickiej ligi futbolu amerykańskiego powiązanych z nosicielstwem anemii sierpowatej
 - ~2% wszystkich (reszta to inne choroby, urazy i przyczyny niezwiązane z uprawianym sportem)
 - ryzyko u nosicieli 37 x wyższe, niż u homozygot dominujących

Mutacje dominujące

- Haploinsuficjencja nullomorfów i hipomorfów
- Hipermorfy
- Antymorfy – więcej kopii allelu dzikiego może odwrócić fenotyp
- Neomorfy

Interakcje genetyczne

Od ujęcia klasycznego do biologii systemów

Interakcje genetyczne

- Oddziaływania funkcjonalne między różnymi mutacjami
 - w obrębie tego samego genu
 - pomiędzy genami

W obrębie jednego genu - rewersja i pseudorewersja

- Rewersja: mutacja powrotna, w tej samej pozycji przywraca dziki allel
- Pseudorewersja: mutacja w innej pozycji tego samego genu przywraca dziki fenotyp

Rewersja

UAU -> UAA -> UAC

tyr stop tyr

UGG -> UGA -> CGA

trp stop arg

Dotyczy tego samego kodonu, ale nie musi przywracać tego samego aminokwasu, może dotyczyć tego samego lub innego nukleotydu

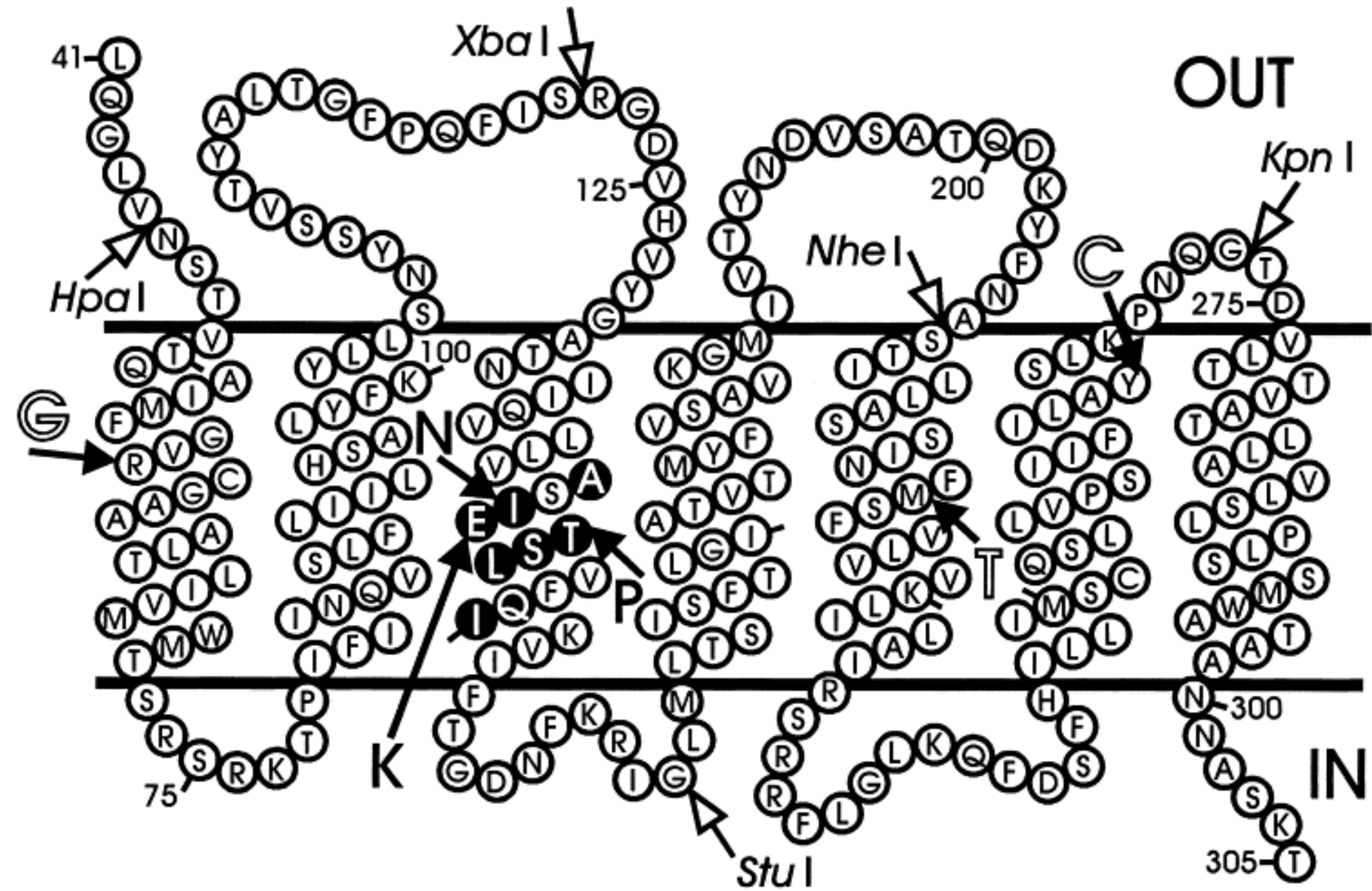
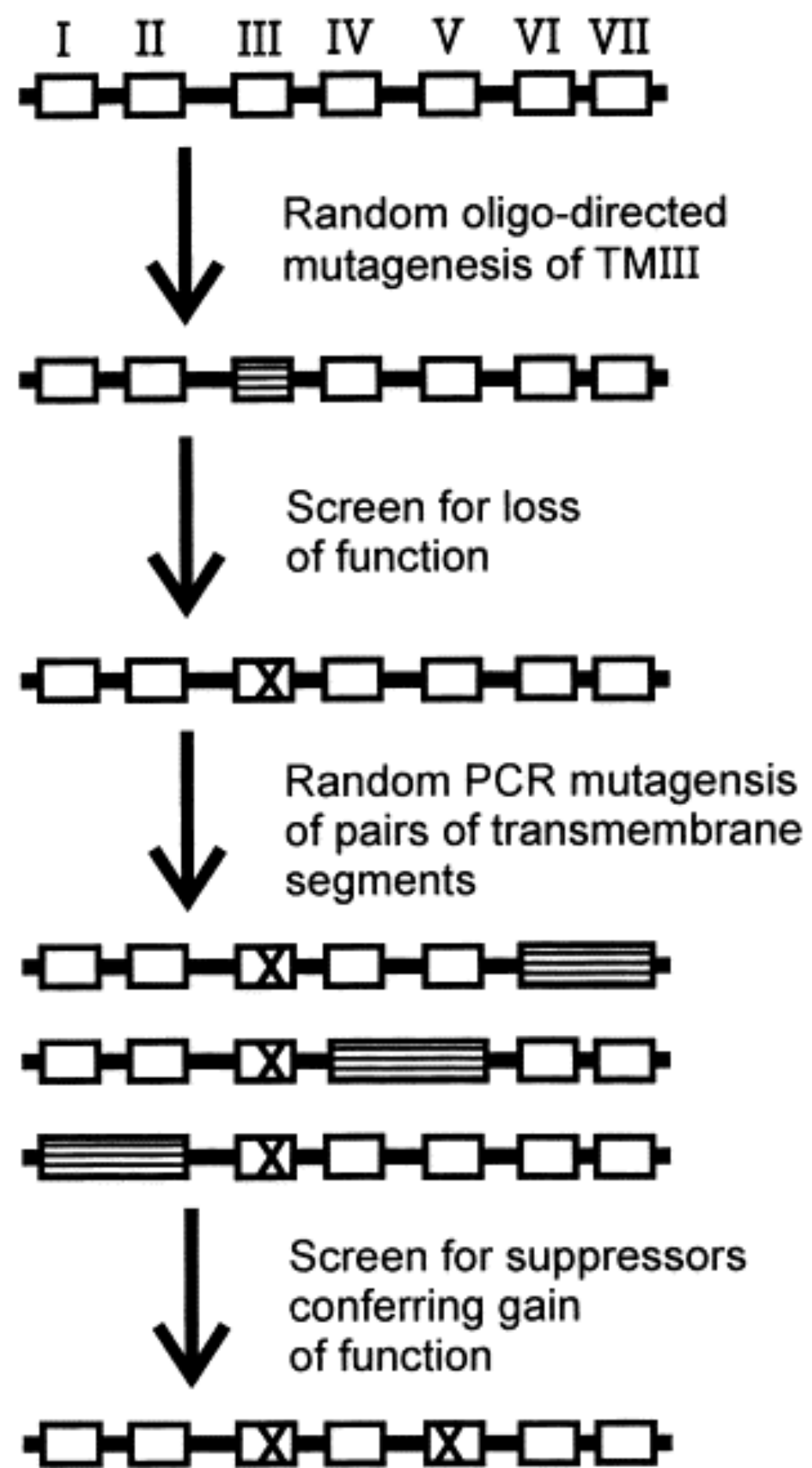
Rewersja - aspekt praktyczny

- Mutacje punktowe często ulegają rewersji - problemy z utrzymaniem szczepów mutantów
- Rozległe delecje nie ulegają rewersji
 - mutacje markerowe w szczepach laboratoryjnych powinny być delecjami
- Na podstawie rewersji można tworzyć bardzo czułe testy oznaczające częstość mutacji

Pseudorewersja

- “Supresja wewnątrzgenowa”
- Kolejna mutacja w innej pozycji tego samego genu odwraca efekt pierwszej mutacji
- Narzędzie do badania oddziaływań między aminokwasami wewnątrz białka

Pseudorewersja – badanie struktury białka



Interakcje między różnymi genami: od genetyki do biologii systemów

Interakcje genetyczne między różnymi genami

- Fenotyp podwójnego mutantu AB nie jest prostym połączeniem fenotypów mutacji A i B
- Gdy nie ma interakcji:
 - mutacja w (białe oczy) i mutacja y (żółte ciało) u *Drosophila*: mutant wy ma białe oczy i żółte ciało
 - mutacja $leu2$ i mutacja $ura3$ u drożdży: podwójny mutant $leu2, ura3$ wymaga leucyny i uracylu
- Ujęcie jakościowe wymaga dobrze zdefiniowanych, dyskretnych (0,1) fenotypów – np. letalność

Interakcje genetyczne między różnymi genami

- Dla ujęcia ilościowego wymagana jest liczbową miara fenotypu (*fitness* - dostosowanie)
 - np. czas podziału (czas generacji) – czas wymagany do podwojenia liczby komórek w hodowli, miara tempa wzrostu
 - np. mutant *m1* rośnie w tempie 0,5 dzikiego, mutant *m2* w tempie 0,9 dzikiego, przy braku interakcji wzrost podwójnego mutantu w tempie $0,5 \cdot 0,9 = 0,45$ dzikiego - model multiplikatywny

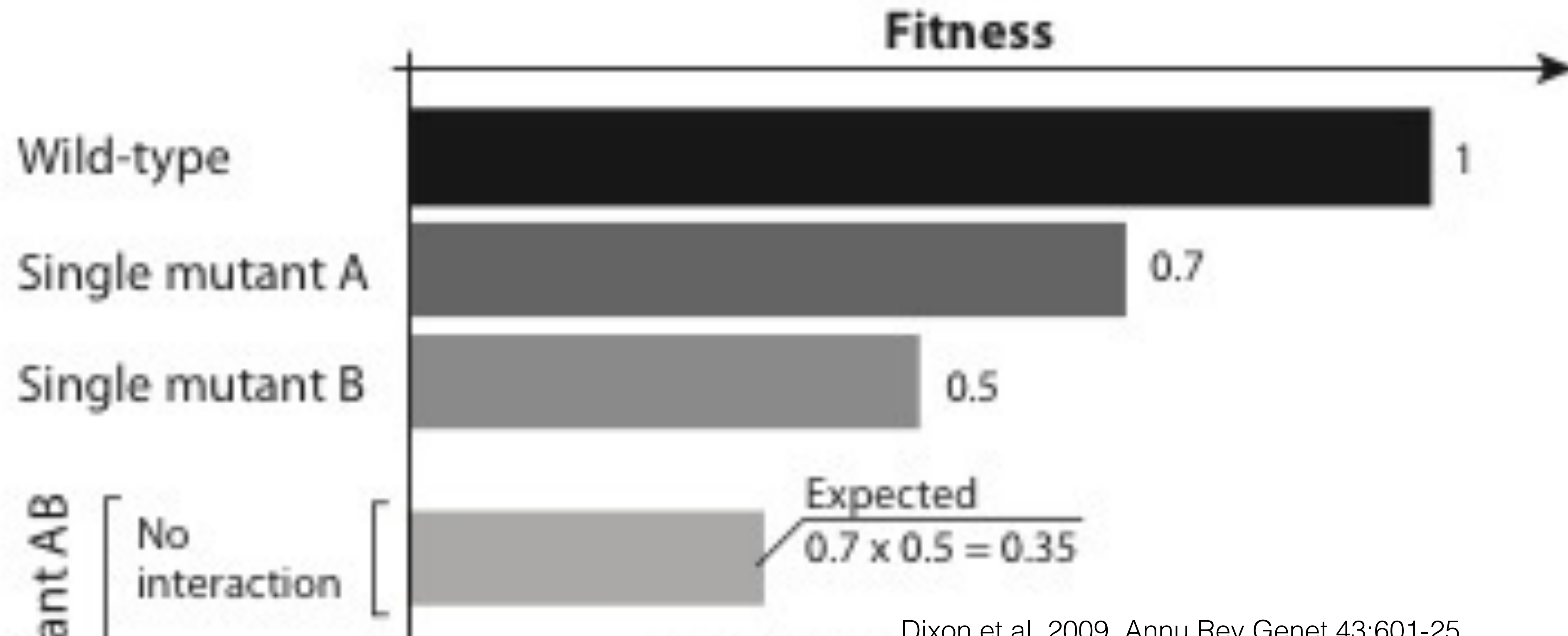
Problem terminu “epistaza” (*epistasis*)

- Epistaza (“*epistasis*”), Bateson 1909 – jeden z rodzajów interakcji
 - w tym znaczeniu stosowane w genetyce klasycznej
- Epistaza (org. “*epistacy*”), Fisher 1918 - wszelkie interakcje genetyczne
 - w tym znaczeniu używane w genetyce populacji i genetyce ewolucyjnej, obecnie też w tekstach angielskich jako *epistasis*

Interakcje

- **Łagodzące, pozytywne** (*positive, alleviating interactions*)
 - Fenotyp podwójnego mutantu lżejszy (bliższy dzikiemu), niż przewidywany dla sumowania fenotypów mutantów pojedynczych
- **Syntetyczne, pogarszające, negatywne** (*negative, synthetic, aggravating interactions*)
 - Fenotyp podwójnego mutantu cięższy, niż przewidywany dla sumowania fenotypów pojedynczych mutantów

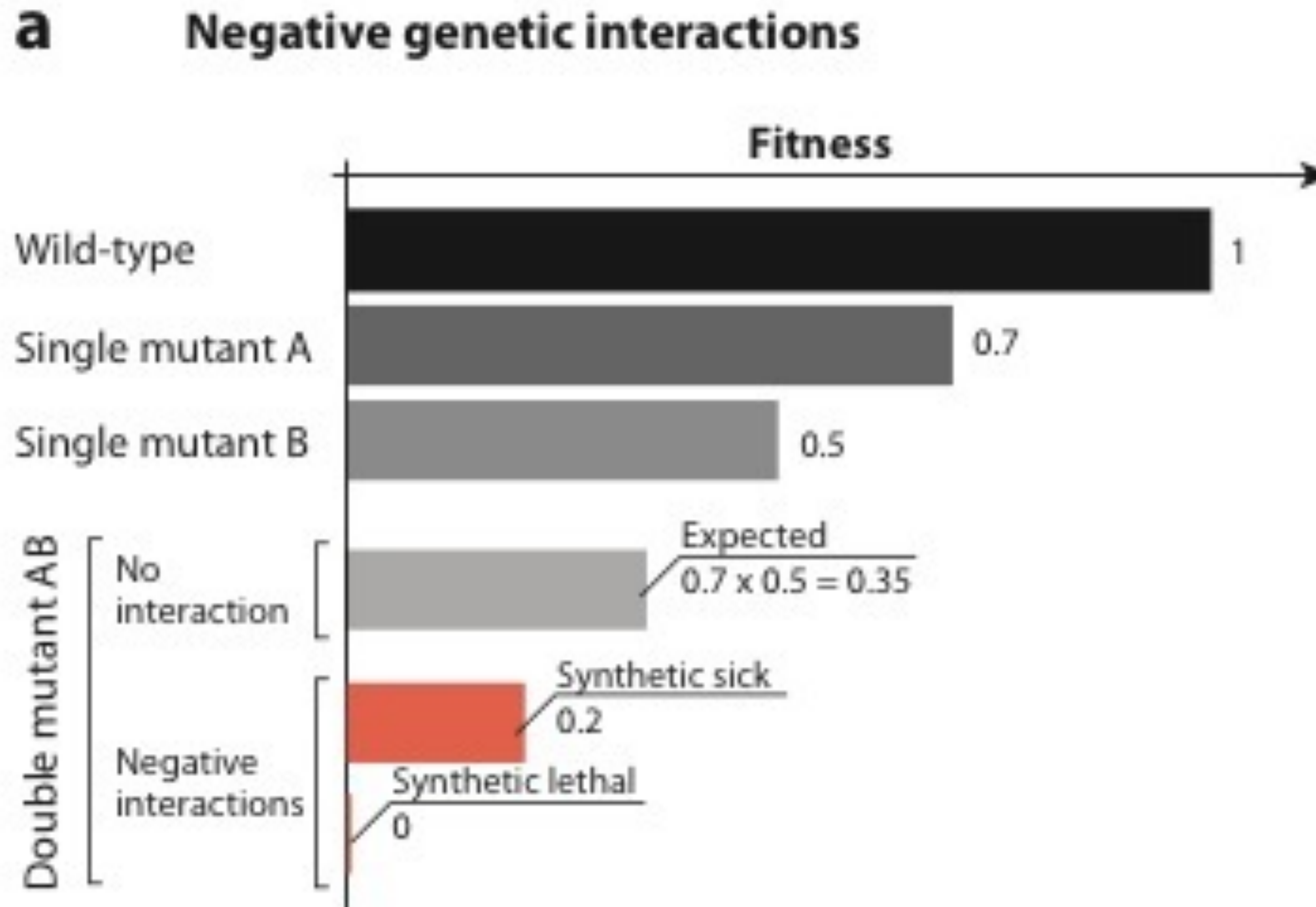
Ujęcie ilościowe - multiplikatywne



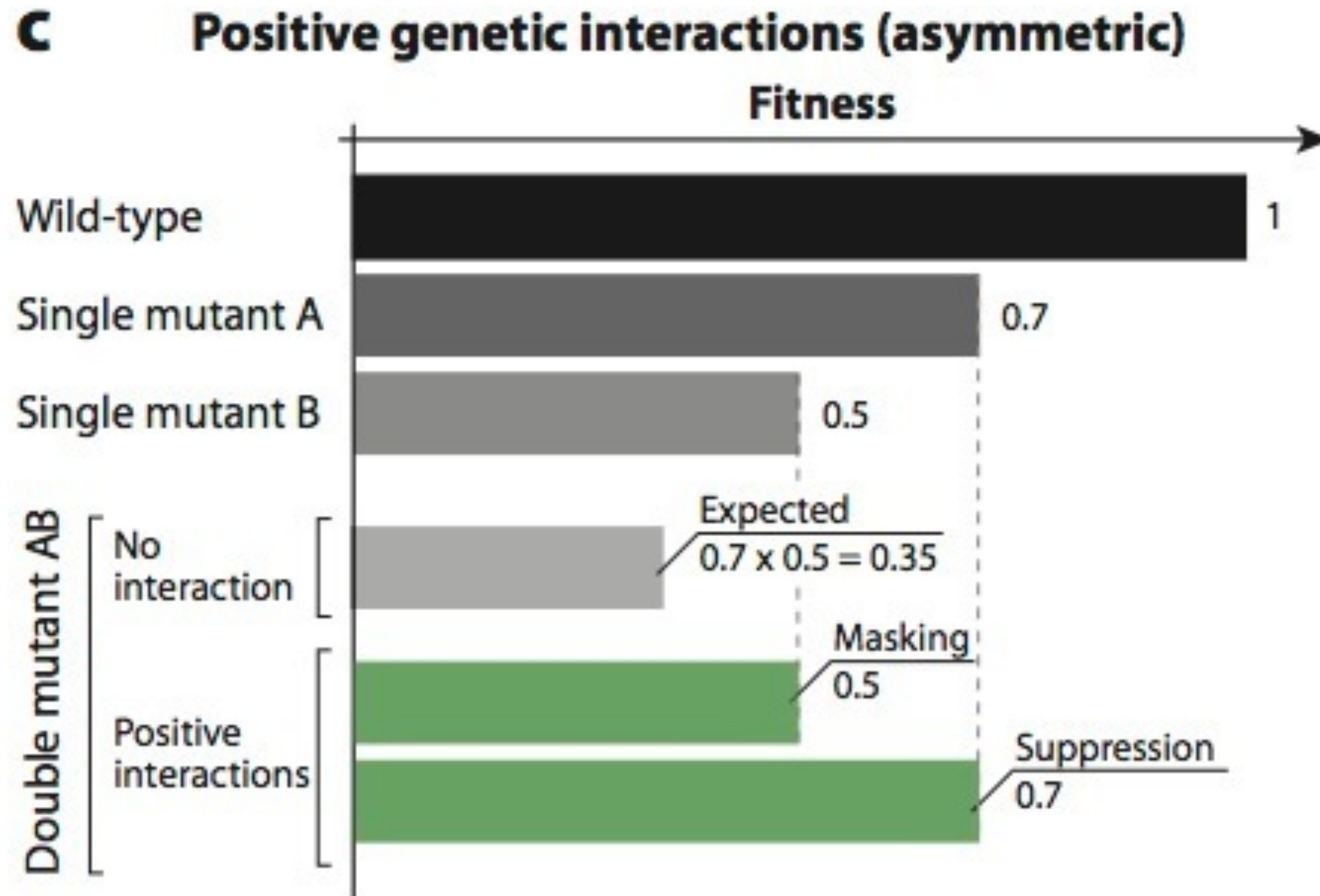
Dixon et al. 2009, Annu Rev Genet 43:601-25

U mikroorganizmów typową miarą dostosowania (fenotypu) jest tempo podziałów. Przy braku interakcji oczekiwane tempo podziałów podwójnego mutantu to **iloczyn** wartości mutantów pojedynczych.

Ujęcie ilościowe - interakcje syntetyczne



Ujęcie ilościowe – interakcje łagodzące



Miary dostosowania

- Najczęściej stosowaną miarą jest tempo podziałów
- Inne miary:
 - efektywność metaboliczna: przyrost biomasy przy stałym dopływie substancji pokarmowych
 - przeżywalność w warunkach stresowych (np. w fazie stacjonarnej hodowli)

Interakcje łagodzące

- **Supresja**

- Fenotyp mutacji (*a*) znoszony przez mutację w innym genie (*b*)
 - Podwójny mutant *ab* ma fenotyp dziki lub bliski dzikiemu (nie cięższy, niż sam *b*)

- **Epistaza**

- Fenotyp mutacji (*a*) maskowany przez mutację w innym genie (*b*)
 - Podwójny mutant *ab* ma fenotyp taki sam, jak mutacja *b* (**epistatyczna**) – obecność mutacji *b* narzuca fenotyp niezależnie od allelu genu *a* (**hipostatycznego**) i maskuje allele genu *a*
 - epistaza symetryczna – pojedyncze mutanty *a* i *b* mają taki sam fenotyp, jak podwójny *ab*

Supresja

- Fenotyp mutacji (a) znoszony przez mutację w innym genie (b)
- Różne grupy mechanizmów
 - Informacyjne
 - np. translacyjna supresja mutacji nonsens
 - Ilościowe
 - Interakcyjne (“zamka i klucza”)
 - Zmieniające ten sam szlak
 - Zmieniające inny szlak
 - obejście
 - zmiana środowiska komórki
 - obniżenie/podwyższenie aktywności szlaku antagonistycznego

Supresja informacyjna

- Supresory związane z przekazywaniem informacji genetycznej (*informational suppressors*)
- Najbardziej znana supresja translacyjna nonsens - mutacje genów tRNA (antykodeon) umożliwiające rozpoznanie kodonu stop
- Przydatne w badaniu ekspresji genu, ale nie w badaniu funkcji konkretnych genów