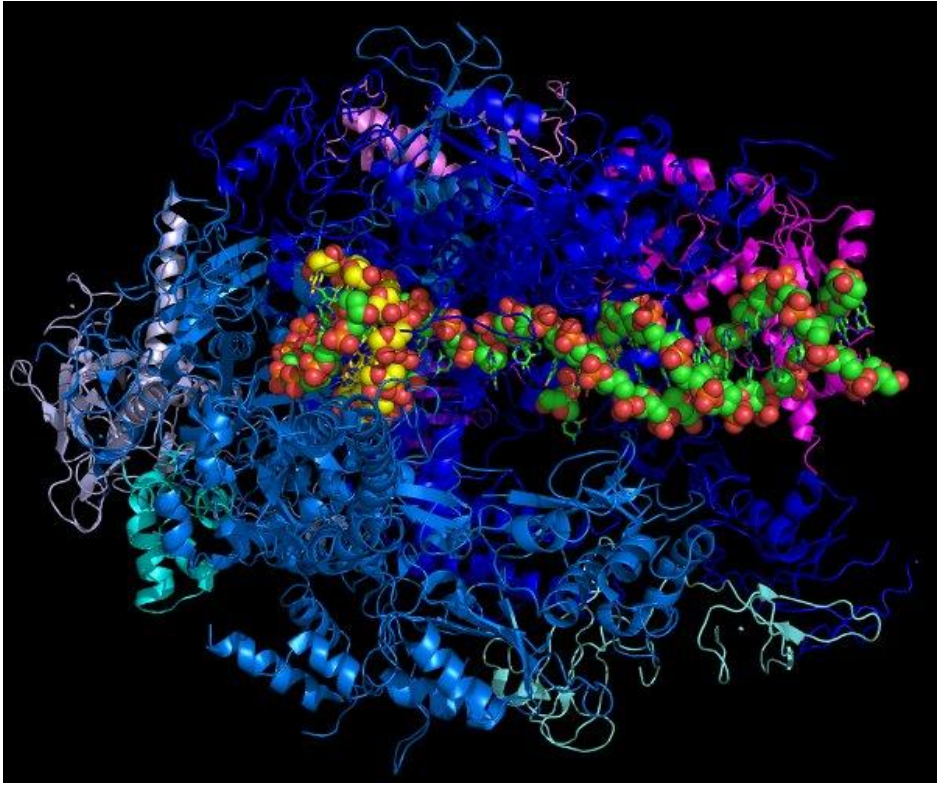
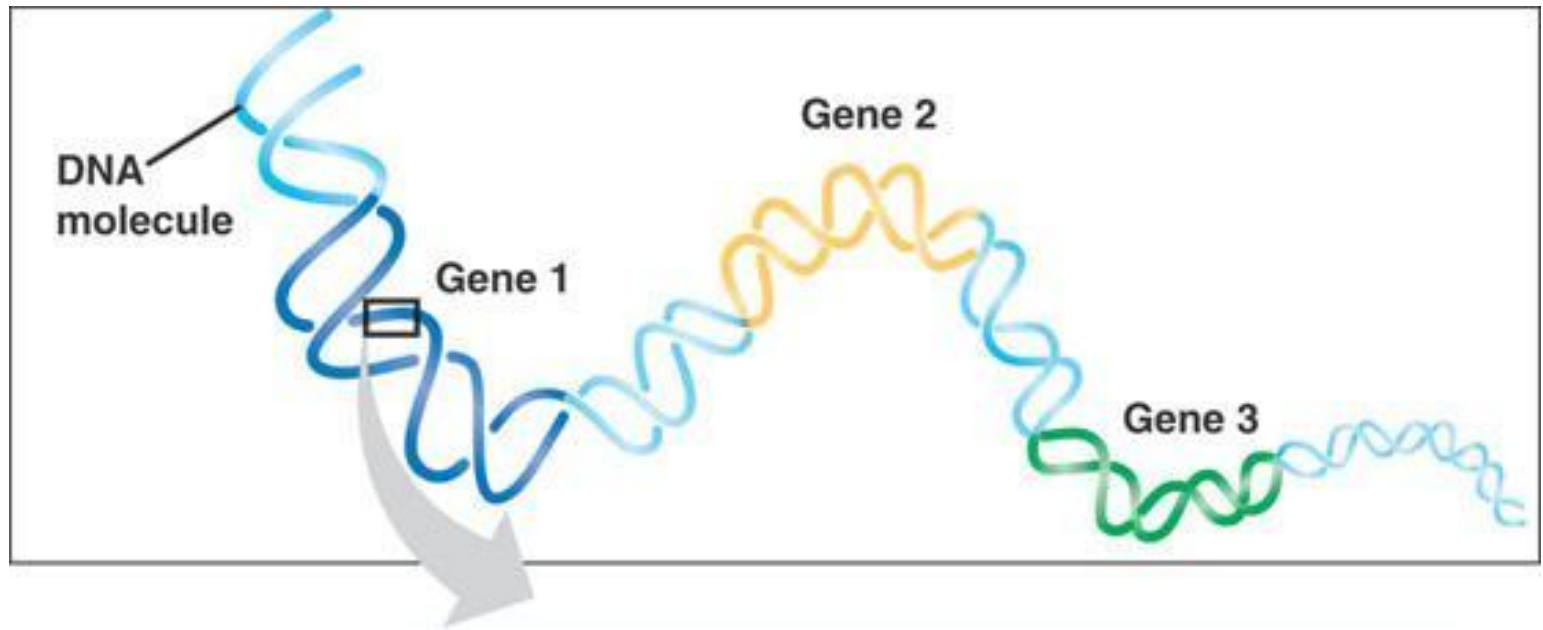
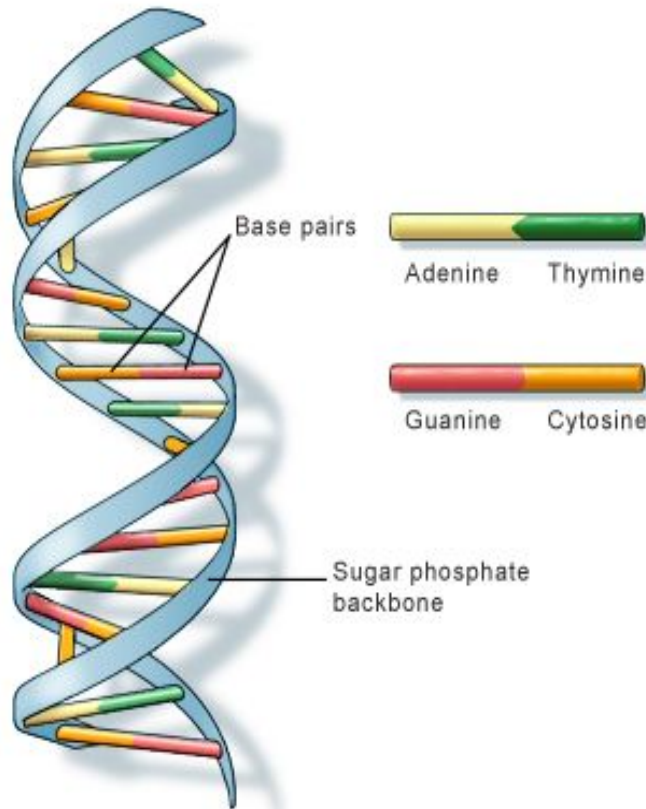


**МУТАГЕНЕЗ**

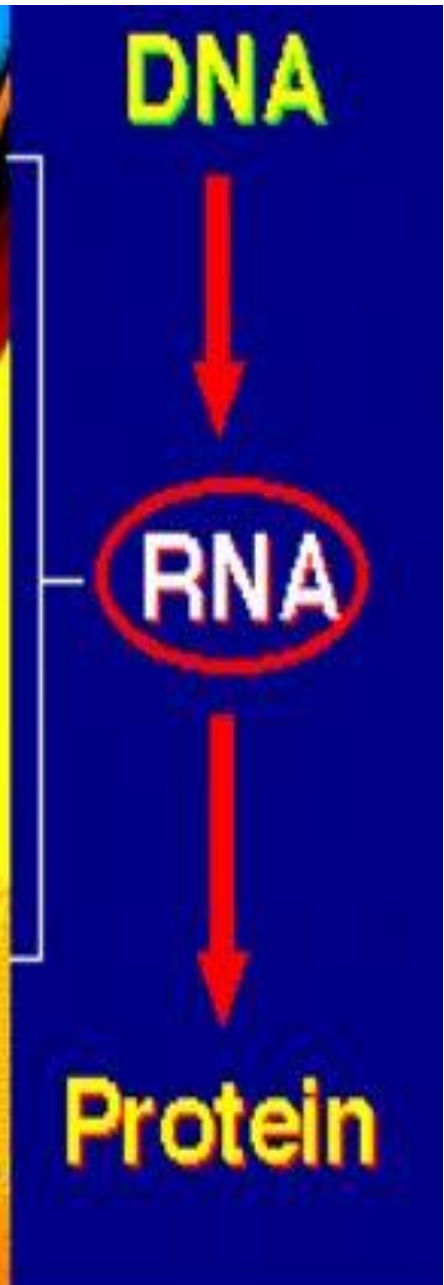
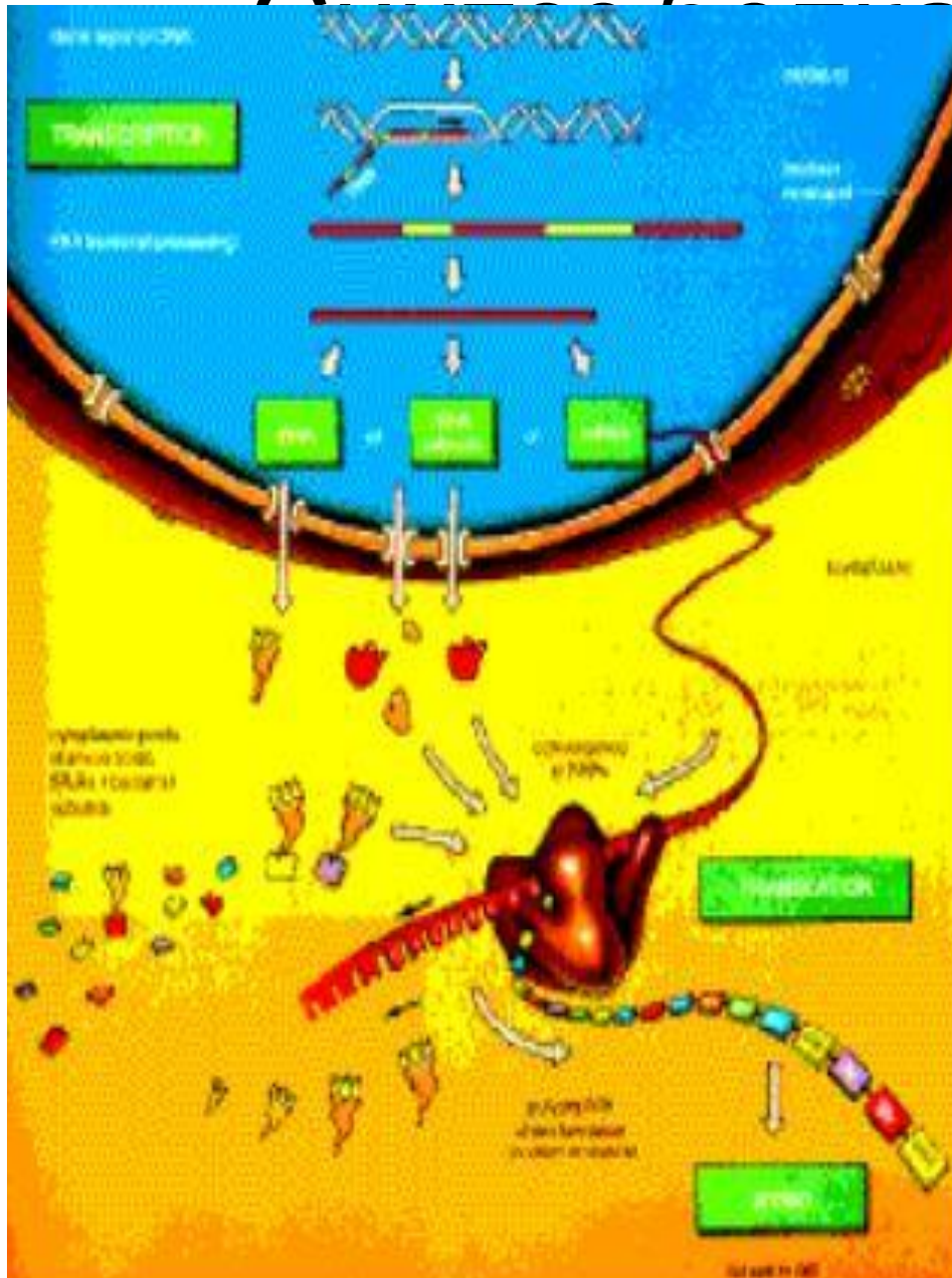




# Что такое ДНК?



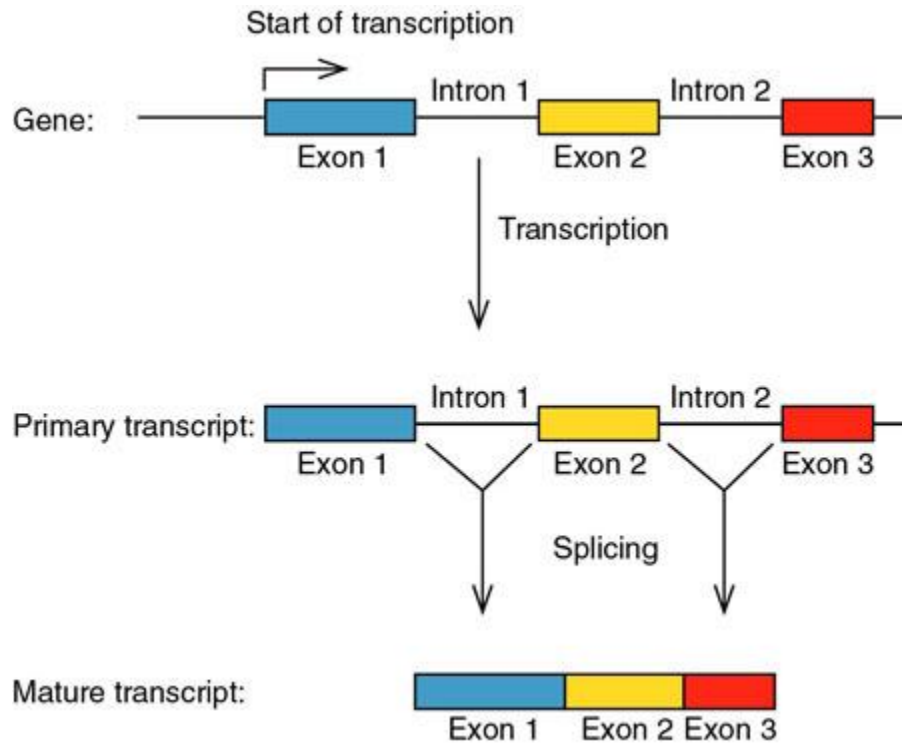
- ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота - наследственный материал человека
- локализована в ядрах клеток - ядерная ДНК
- небольшое кол-во в митохондриях – митохондриальная ДНК
- Пуриновые основания: аденин(А) и гуанин (Г)  
Пиримидиновые основания цитозин(Ц) и тимин(Т)
- ДНК человека состоит из 3 миллиардов оснований (нуклеотидов)
- более 99 % оснований одинаковы у всех людей



# Структура гена

- **Экзоны** - смысловую последовательность гена
- **Интроны** — зона, „перемежающая“ экзоны

# СПЛАЙСИНГ



**ЛИС-бдпвдыгзщщц- СЕЛ-дофыдаао- ПОД-  
офдаууаащ- ЕЛЬ**



**ЛИС-СЕЛ- ПОД- ЕЛЬ**





# АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ СПЛАЙСИНГ

- Экзон может включаться (или нет) в состав конечного транскрипта
- Позволяет одному гену производить несколько мРНК и, соответственно, белков
- Разные варианты сплайсинга могут приводить к образованию разных изоформ одного и того же белка

**ЛИС-бдпвдыгзщщц- СЕЛ-дофыдаао- ПОД-  
офдаууащ- ЕЛЬ**



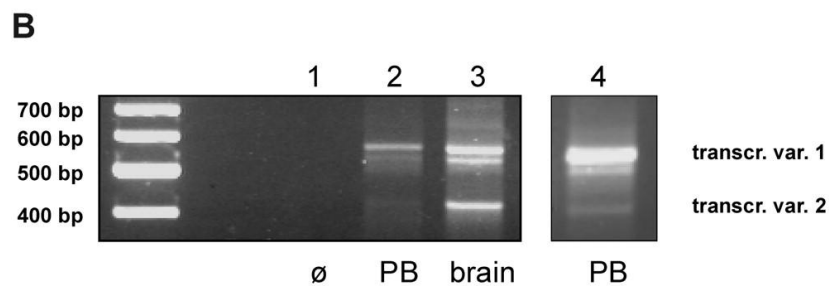
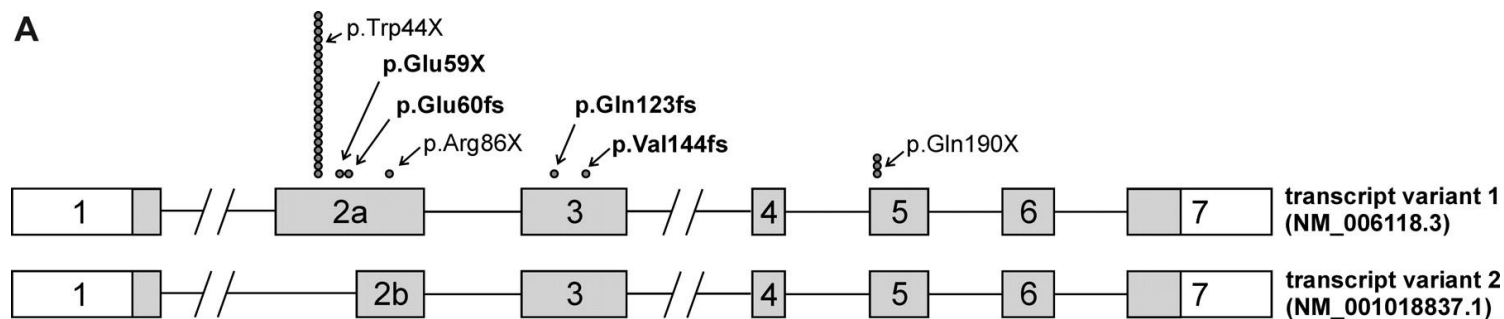
**ЛИС-ПОД- ЕЛЬ**



# Ген НАХ1

- Белок НАХ1 – митохондриальная молекула, структурно похожая на антиапоптотическое семейство Bcl2
- В процессе альтернативного сплайсинга продуцирует два изоформа белка
- Если поврежден только первый изоформ, фенотипически- нейтропения
- При повреждении обоих изоформов, помимо нейтропении, встречаются различные неврологические расстройства

# Транскрипционные варианты белка HAX1



# МУТАЦИИ

- (от лат. mutatio - изменение, переменна) - любое изменение в последовательности ДНК

По результатам исследований одного английского университета, не имеет значения, в каком порядке распознаются буквы в слове. Главное, чтобы первая и последняя буквы были на месте. Остальные буквы могут следовать в любом беспорядке, все равно текст читается без проблем. Причиной этого является то, что мы не читаем каждую букву по отдельности, а все слово целиком.

# МУТАЦИИ

- **Геномные** – изменение числа хромосом, кратное целому геному
- **Хромосомные**
  - изменение числа отдельных хромосом в геноме (анеуплоидия)
  - крупные перестройки структуры отдельных хромосом (хромосомные aberrации)
- **Генные** - стойкое изменение последовательности ДНК в составе одного гена

# Количество мутаций в аллельных генах

- Гетерозигота
- Гомозигота
- Компаунд-гетерозигота



# Мутации возникают разными путями:

- Герминальные, или врожденные, локализующиеся в половых клетках
- Соматические, или приобретенные, полученные в течение периода жизни
- Мутации *de novo*, которые происходят только в яйцеклетках или сперматозоидах, или те, которые происходят сразу после оплодотворения

# Точковые мутации (миссенс)

- изменяется один нуклеотид

# Результаты точковых мутаций

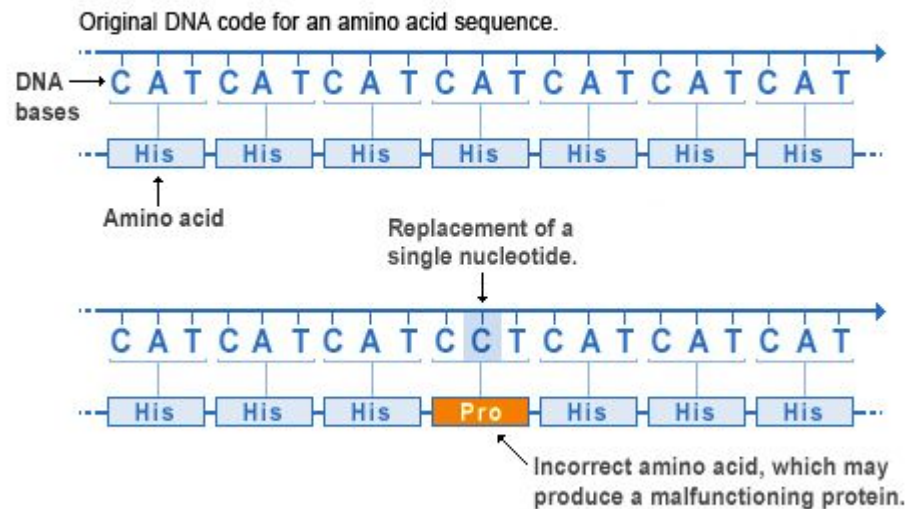
- сохранение смысла кодона –  
синонимическая замена нуклеотида

**ЛИС-СЭЛ-ПОД-ЕЛЬ**

# Миссенс мутация

- замена одной пары нуклеотидов
- ведет к замене одной аминокислоты в молекуле белка
- функция белка изменена, но болезнь протекает легче

Missense mutation



# Результаты точковых мутаций

- изменение смысла кодона - приводит к замене аминокислоты в соответствующем месте полипептидной цепи (миссенс-мутация)

**лес-сел-под-ель**

# Результаты точковых мутаций

- образование бессмысленного кодона с преждевременной терминацией (нонсенс-мутация)

**ХИС-СЕЛ-ПОД-ЕЛЬ**

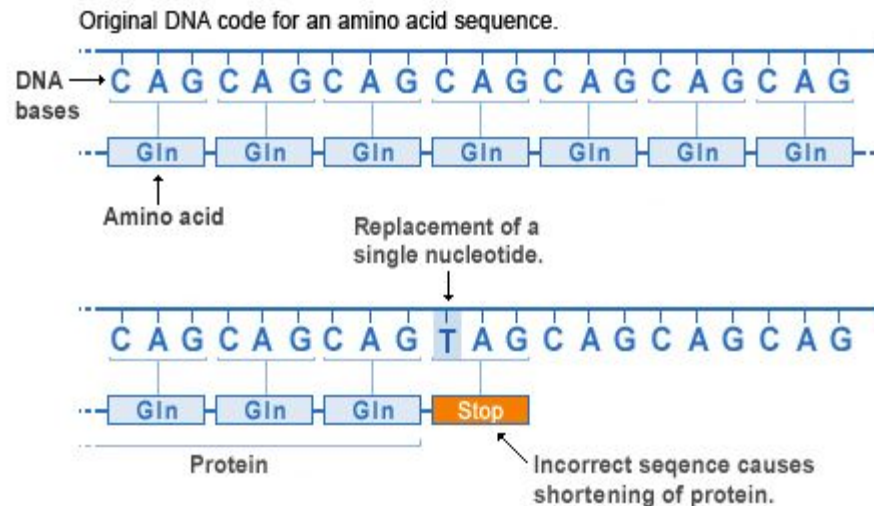
# Проявление миссенс-мутаций зависит

- от природы соответствующих аминокислотных замен в белке
- от функциональной значимости домена, в котором произошла замена

# Нонсенс мутация

- замены нуклеотидов, при которых образуются терминирующие кодоны
- ведет к остановке синтеза белка
- в результате - короткий белок, который может неправильно функционировать или не функционирует совсем

## Nonsense mutation





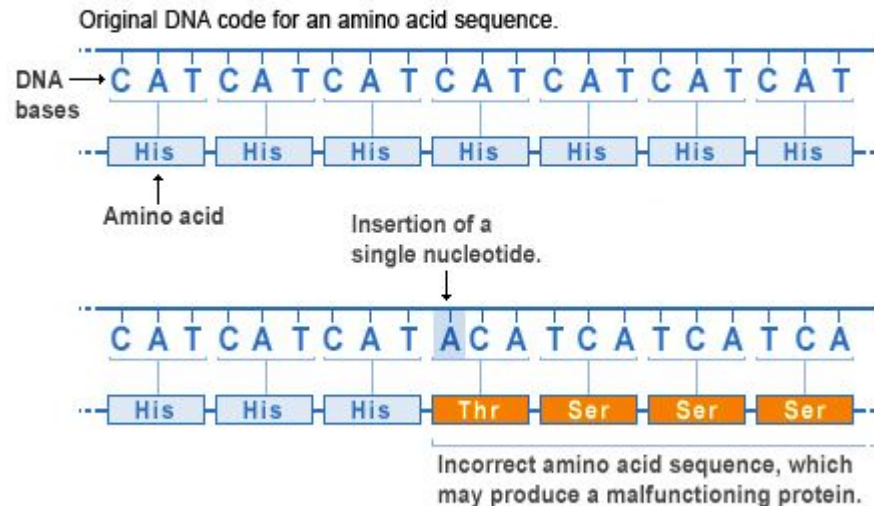
# Бессмысленные триплеты

- Амбер – UAG (амбер-мутация)
- Охр - UAA
- Опал – UGA
  
- '\*' (или 'Ter') – обозначение стоп-кодона (иногда используется 'X' )

# Вставка

- Вставка в последовательность ДНК дополнительных пар нуклеотидов
- Часто ведет к синтезу нефункционального белка

Insertion mutation



ЛИС-СЕЛ- ПОД- ЕЛЬ

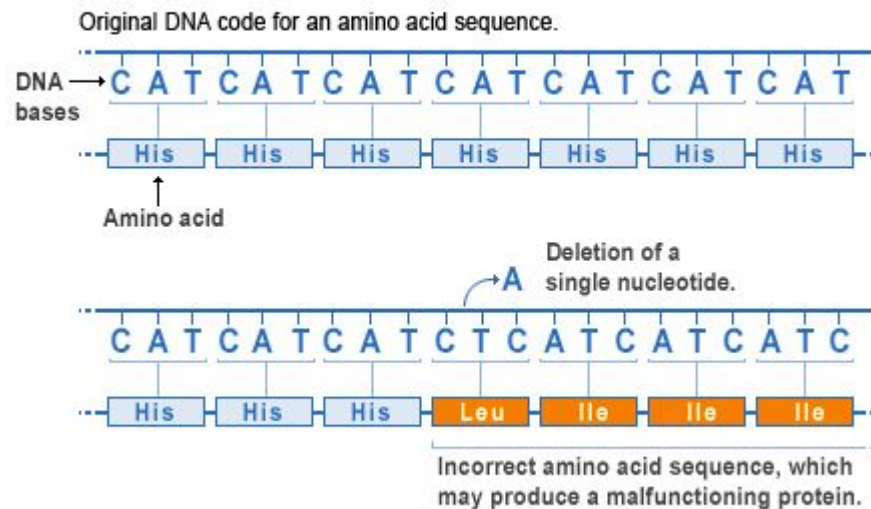
ЛИС-СЕЛ- ПОД- ЕЛЬ

ЛИС-КСЕ-ЛПО-ДЕЛ-Ь

# Делеция

- маленькая делеция - удаление одного или нескольких пар нуклеотидов
- большая делеция может удалить часть гена или несколько соседних генов. Результат – потеря функции белка

Deletion mutation



**ЛИС-СЕЛ- ПОД- ЕЛЬ**

**ЛИС-~~СЕЛ~~- ПОД- ЕЛЬ**

**ЛИС-ПОД-ЕЛЬ**

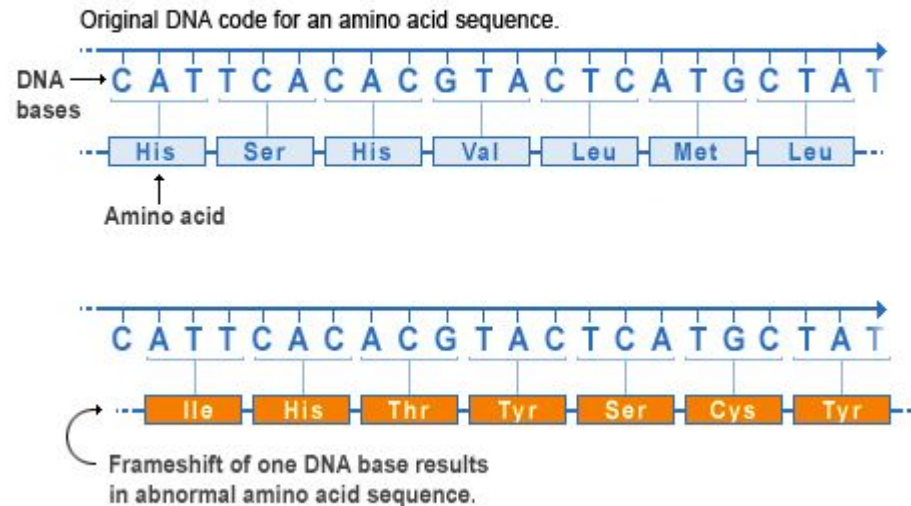
**~~ЛИС-СЕЛ-ПОД-ЕЛЬ~~**

**ЕЛЬ**

# Сдвиг рамки считывания

- Меняется код, состоящий из трех нуклеотидов
- Обычно получается нефункциональный белок
- Вставки, делеции и дупликации могут вести к сдвигу рамки считывания

## Frameshift mutation

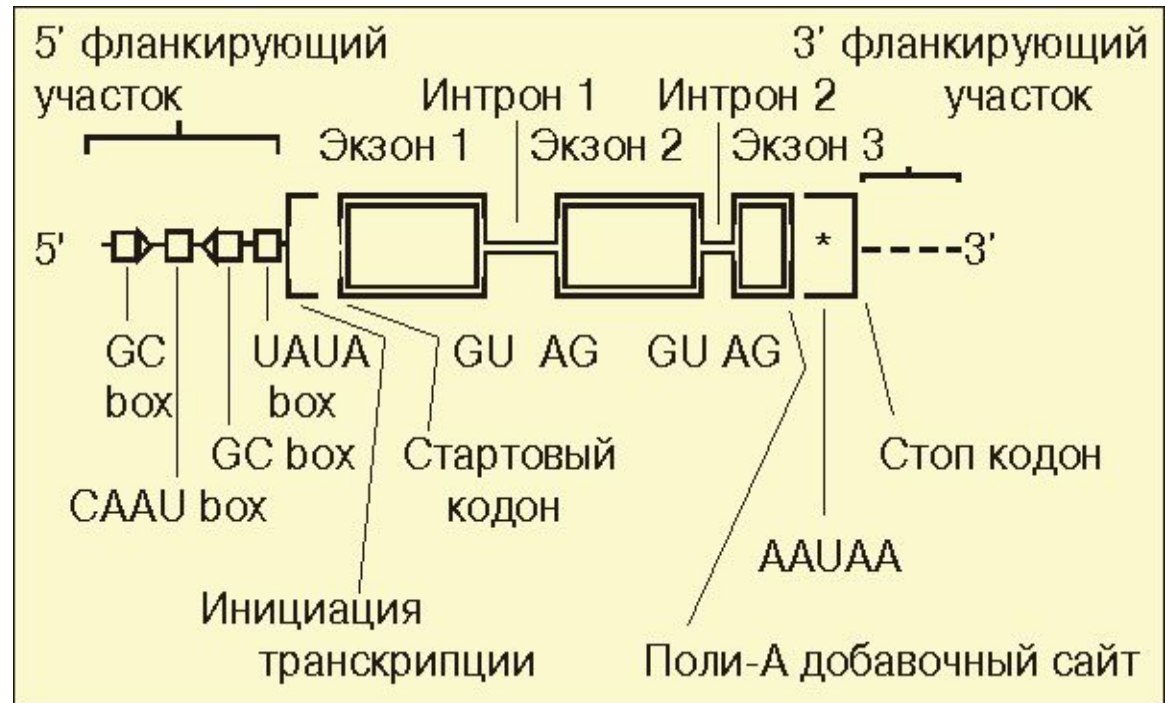


**ЛИС-СЕЛ- ПОД- ЕЛЬ**

**ЛСС-ЕЛП-ОДЕ-ЛЬ**

# Проявление мутаций

- Зависит от их внутригенной локализации

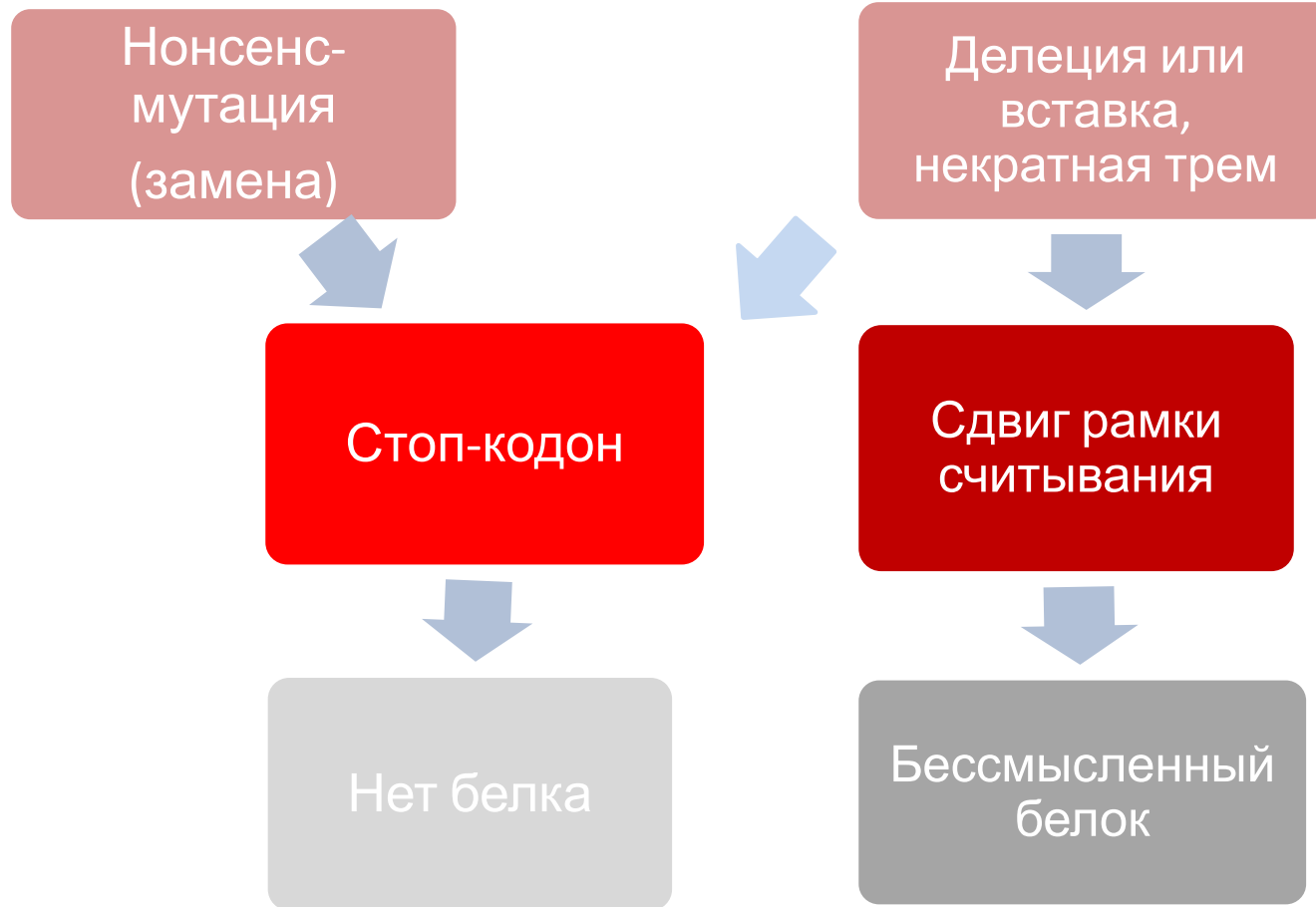




# Локализация мутаций

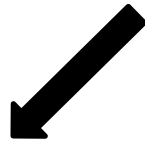
- мутации в экзонах
- мутации в интронах
- мутации в сайтах сплайсинга (на стыках экзонов и интронов)
- мутации регуляторной области

# Повреждающее действие мутаций



# Сплайсинговые мутации (на стыке экзонов и интронов)

нарушают процессинг первичного РНК-транскрипта



неправильное вырезание  
интрона

вырезание экзонов



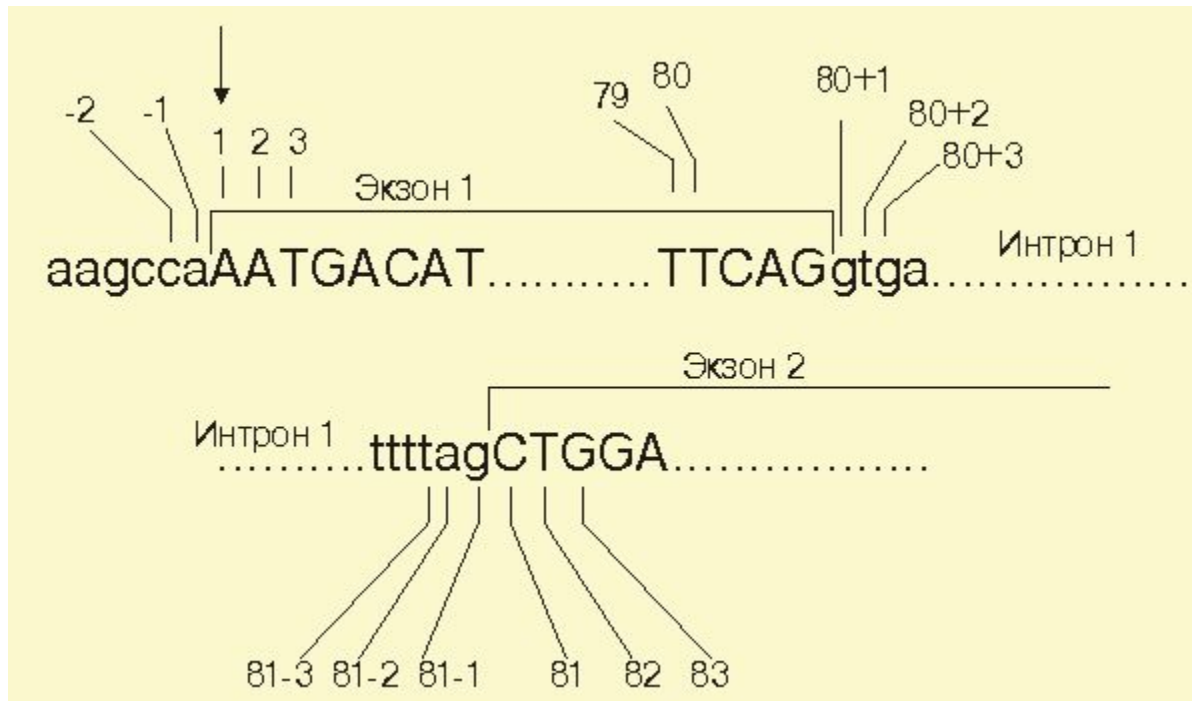
трансляция бессмысленного  
удлиненного белка

образование  
делетированного белка

# Номенклатура мутаций

- "c." последовательность кодирующей ДНК (например, c.76A>T)
- "g." последовательность геномной ДНК (например, g.476A>T)
- "r." последовательность РНК (например, r.76a>u)
- "p." последовательность белка (например, p.Lys76Asn)

# Принцип нумерации нуклеотидов в гене



# Нумерация нуклеотидов

## Кодирующая последовательность ДНК :

- Нуклеотида 0 не бывает
- Нуклеотид 1 – это нуклеотид А в кодоне АТG (трансляционный инициальный кодон)
- Нуклеотиды в сторону 5' от АТG-инициального кодона обозначаются как -1, предыдущий -2, и т.д.
- Нуклеотиды в сторону 3' от **трансляционного стоп-кодона** обозначаются как \*1, the next \*2, и т.д.
- Интронные нуклеотиды
  - Начало интрона: номер последнего нуклеотида предыдущего экзона, плюс, позиция в интроне, напр., с.77+1G, с.77+2T, и т.д.
  - Конец интрона: номер первого нуклеотида следующего экзона, минус, позиция в интроне вверх по течению, напр., с.78-1G

# Замена нуклеотида

- **c.76A>C** означает, что нуклеотид А в месте 76 заменен на нуклеотид С
- **c.88+1G>T** означает замену G на T в 1 позиции интрона

# Вставка

- Обозначается "*ins*"
- **c.76\_77insT** означает, что нуклеотид T вставлен между нуклеотидами 76 и 77 кодирующей последовательности ДНК
- Дублицирующие вставки описываются как дубликации



# Делеция

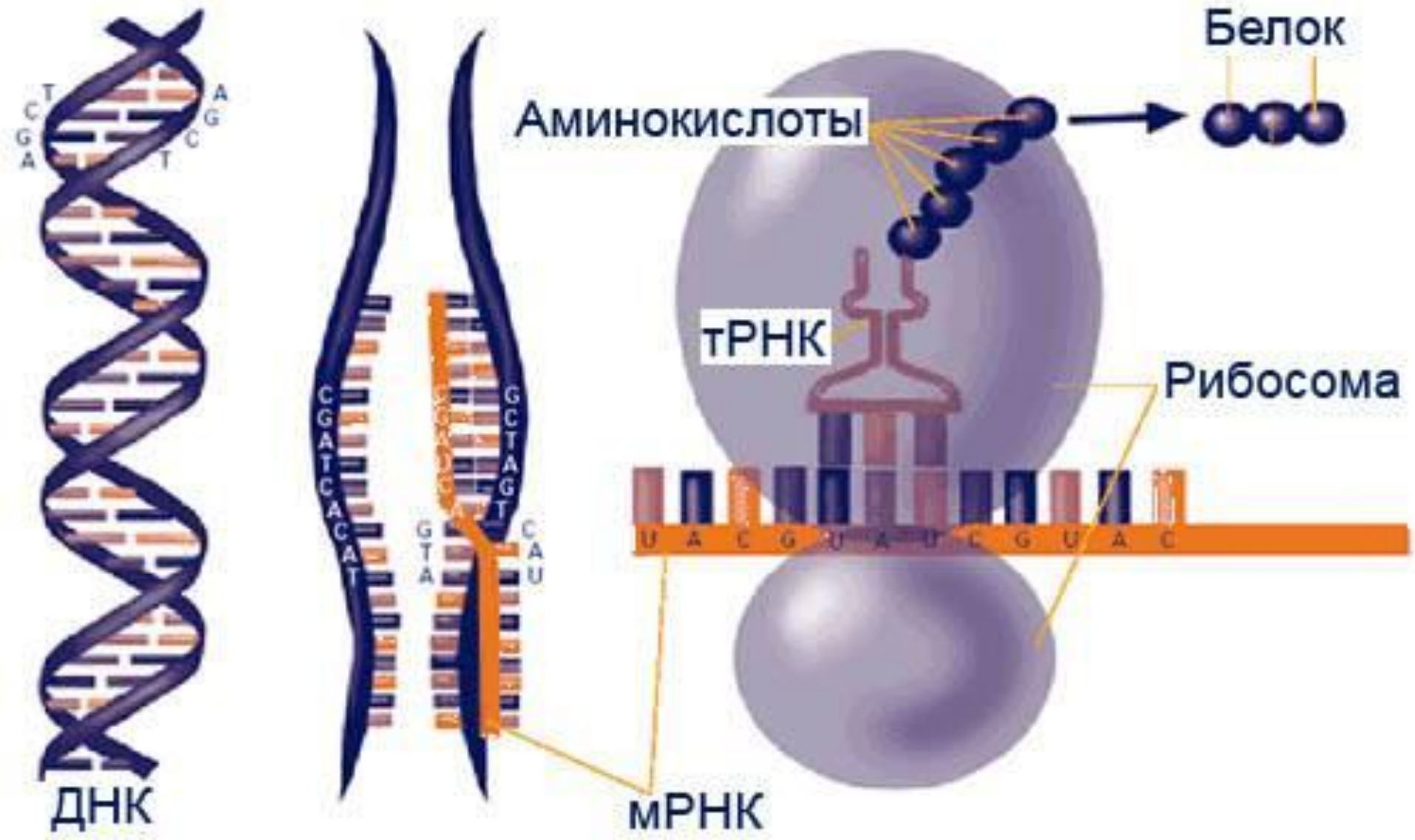
- **c.76\_78del (или c.76\_78delACT)**  
означает АСТ делецию нуклеотидов от 76 до 78

# Делеция /вставка

- «delins»
- Делеция/вставка двух и более последовательных нуклеотидов описывается как делеция следующая за вставкой
- **c.112\_117delinsTG (или c.112\_117delAGGTCAinsTG)** означает замену нуклеотидов 112-117 (AGGTCA) на TG
- **c.113delinsTACTAGC (или c.113delGinsTACTAGC)** означает замену нуклеотида в позиции 113 на 7 новых нуклеотидов (TACTACG)

От гена к белку

От дефектного гена к дефектному белку



# Запись повреждения на уровне ДНК

МУТАЦИЯ



РЕЗУЛЬТАТ

c.78 G>C



(p.Trp26Cys)

# Белок

- «р» – указывает на позицию в белке
- Три первые буквы названия аминокислоты (с заглавной)
- Или только заглавные первые буквы
- Например, p.Trp26Cys=p.T26C

# Что такое полиморфизмы единичных нуклеотидов -single nucleotide polymorphisms (SNPs)?

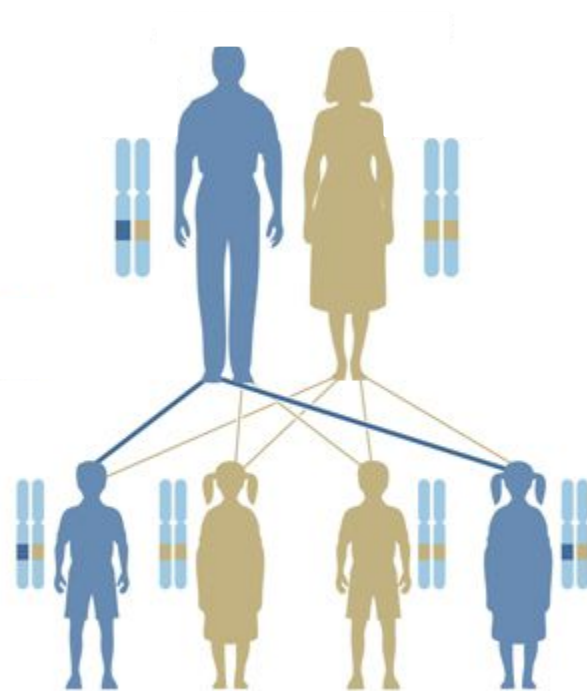
- Наиболее частые генетические вариации среди людей (более 1%) - цвет глаз, цвет волос, группа крови
- Каждый SNP представлен отличием в 1 нуклеотид
- Большинство полиморфизмов не влияют на состояние здоровья или процессы развития
- Некоторые вариации (или их комбинации) определяют наличие риска развития заболевания

# Наследование ПИДС



# Аутосомно-доминантное наследование

- Достаточно одной копии мутантного гена в каждой клетке
- Один из родителей поражен
- Проявляются в каждом поколении



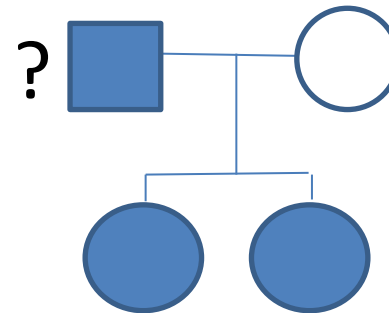


# Аутосомно-доминантное наследование

## Хронический кожно-слизистый кандидоз

- С раннего возраста кандидозы слизистых оболочек рта
- В посевах – рост *Candida albicans*
- Присоединение кожных проявлений
- Рецидивирующие панариции
- В иммунограмме – снижение Т-клеток
- Мутация в 4 экзоне гена STAT1 с.199 С>А/С, р.Q67K/Q в гетерозиготном состоянии

Семья Б.



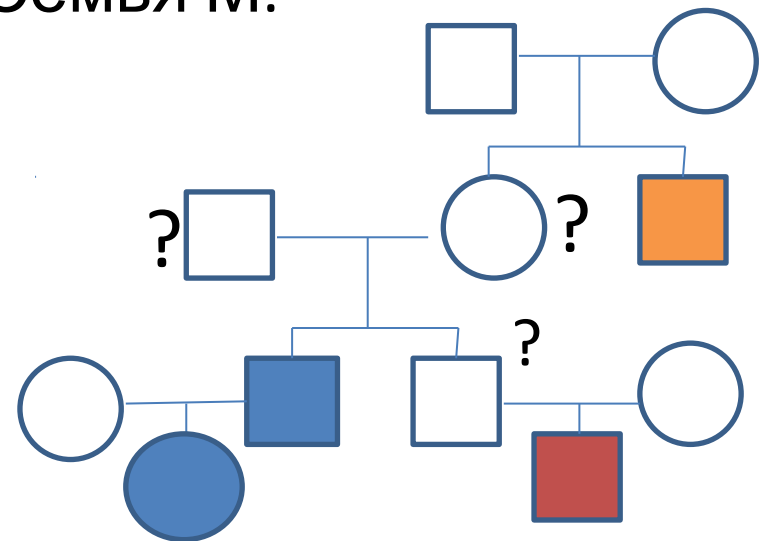
■ Мутация в гене STAT1

# Неполная пенетрантность

## Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром

- Аутосомно-доминантный тип наследования
- Мутация: в экзоне 7 гена TNFRSF6 - с.580 delG в гетерозиготном состоянии

Семья М.



- Мутация гена TNFRSF6
- Т-клеточная лимфома?
- Лимфогранулематоз

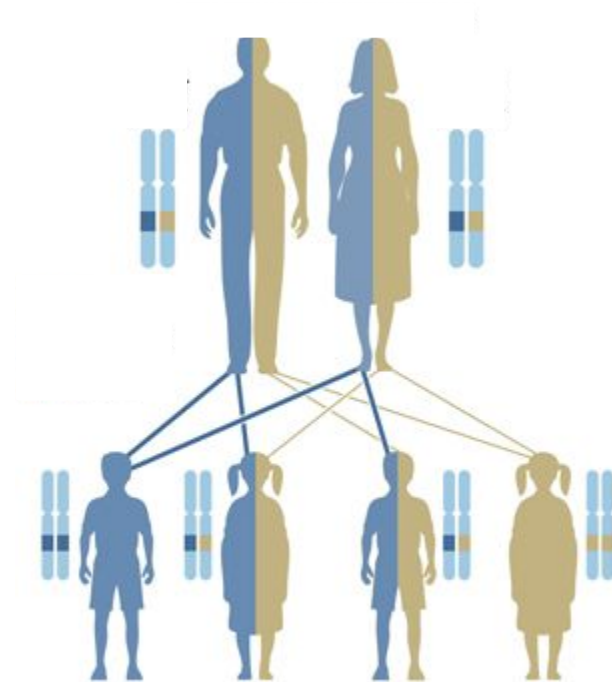
# Семейное консультирование

## Аутосомно-доминантное наследование

Кого обследовать?	Для чего обследовать членов семьи?
Родители пациента	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Возможность иметь здоровых детей в других браках</li><li>✓ В случае неполной пенетрантности гена</li></ul>
Пренатальная диагностика	✓ Для исключения риска рождения больного ребенка

# Аутосомно-рецессивное наследование

- В каждой клетке представлены две копии мутантного гена
- Оба родителя являются носителями пораженного гена
- Родители не имеют клинических проявлений заболевания
- Не проявляется в каждом поколении

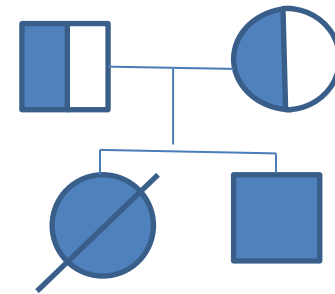


# Аутосомно-рецессивное наследование

Семья С.

**Тяжелая  
комбинированная  
иммунная  
недостаточность**

- Мутация в генах RAG1, RAG2-?
- Отказ от трансплантации первого ребенка



■ Мутация

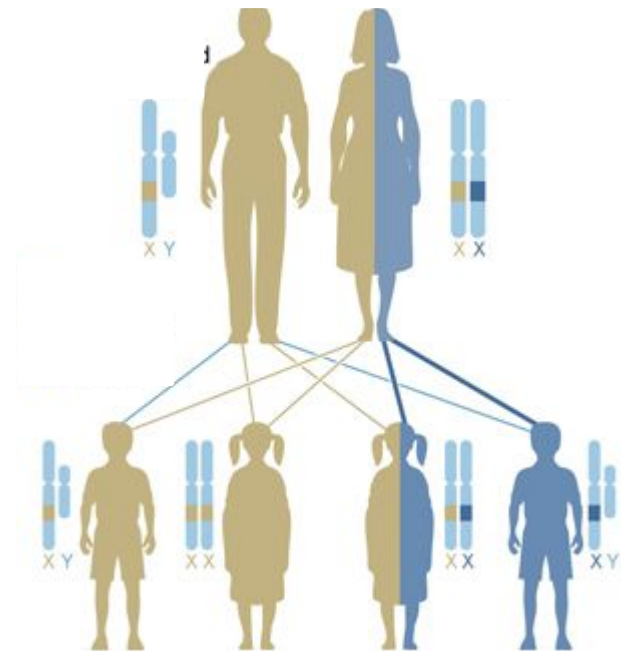
# Семейное консультирование

## Аутосомно-рецессивное наследование

Кого обследовать?	Для чего обследовать членов семьи?
Пренатальная диагностика ✓	Исключение риска рождения больного ребенка
Родители пациента-?	✓ Возможность иметь детей в других браках-?
Родителей пациента, если состоят в близкородственном браке	✓ Вероятность рождения больного ребенка в этом браке

# X-сцепленное рецессивное наследование

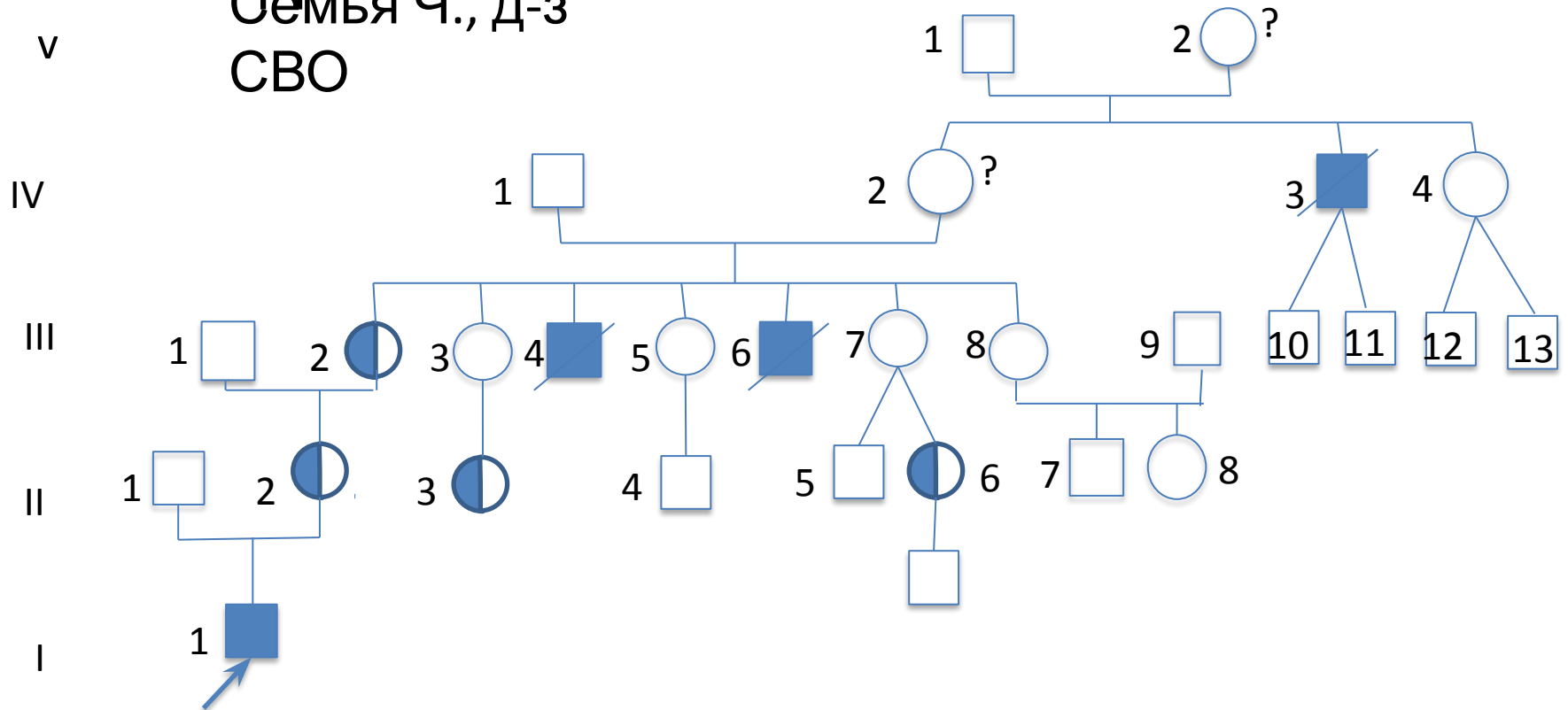
- Мутация в гене на X-хромосоме
- Мать носительница имеет больного сына, дочь-носительницу, здоровых мальчика и девочку



# X-сцепленное рецессивное

## наследование

Семья Ч., Д-3  
СВО



Мутация в гене WAS с.397G>A в 4 экзоне  
Результат мутации: p.Gly133Lys



# Семейное консультирование X-сцепленное рецессивное наследование

**Кого обследовать?**

**Для чего обследовать  
членов семьи?**

Тети пациента (сестры  
матери)

✓ Исключение носительства

Сестры пациента

✓ Исключение носительства

Пренатальная диагностика ✓ Исключение риска  
рождения больного  
ребенка

# Феномен мозаицизма

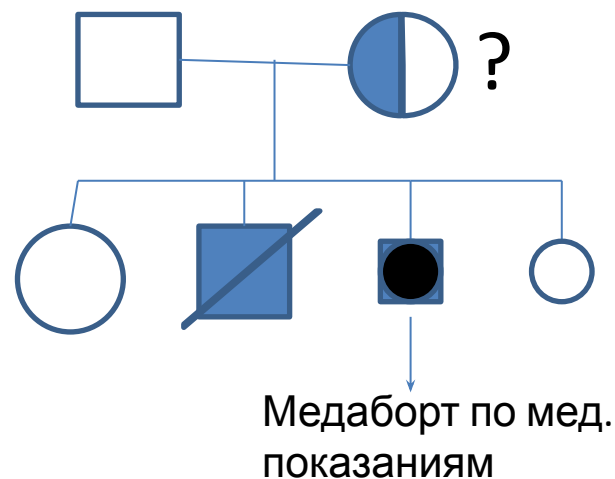


# Феномен мозаицизма

## Синдром Вискотта-Олдрича

- Мутация: 1046-1047 ins T в 10 экзоне
- Результат: сдвиг рамки считывания, ранний стоп-кодон в 494
- Трансплантация больного мальчика-погиб
- Та же мутация у плода
- Здоровый плод женского пола

## Семья П.



один пораженный ген

?



?

одна болезнь

# Мутации в гене WAS

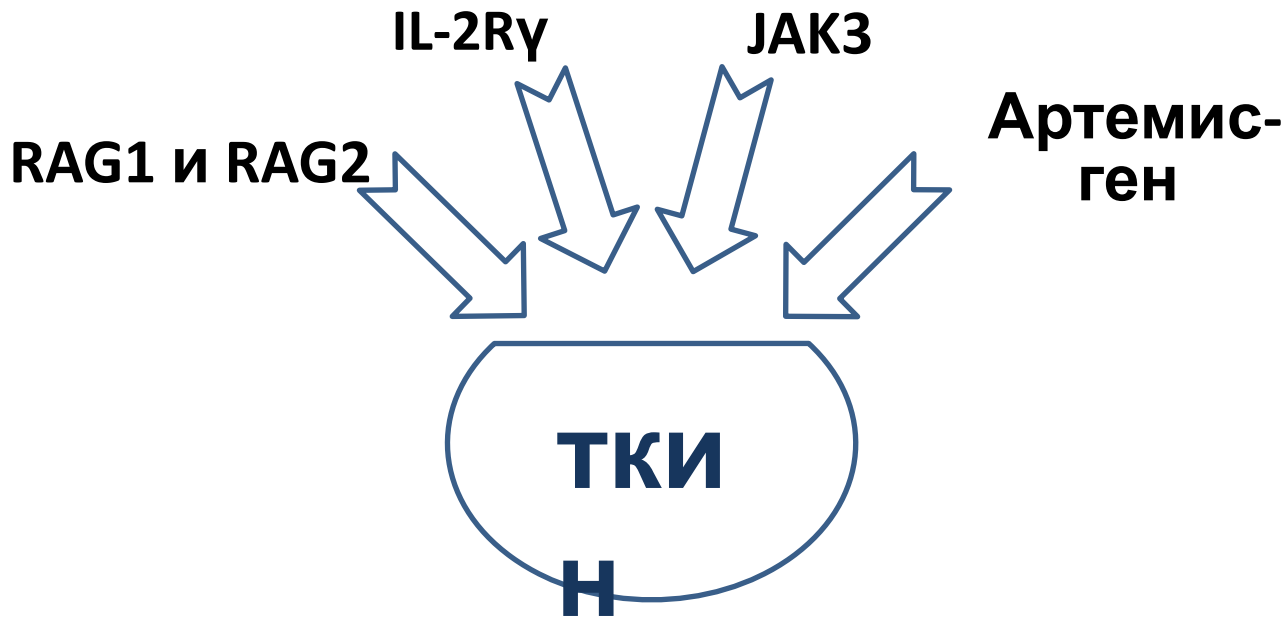
Три различных фенотипа:

- Синдром Вискотта-Олдрича (СВО)
- X-сцепленная тромбоцитопения
- Врожденная X-сцепленная нейтропения

# Мутации в гене WAS

Мутация в гене WAS, приводящая к	Фенотип	Необходимость ТГСК
Отсутствию белка	Синдром Вискотта-Олдрича	да, как можно раньше
Снижению количества белка	X-сцепленная тромбоцитопения	иногда, родственная
Незначительному снижению количества белка	X-сцепленная нейтропения	?

# Разные гены – один фенотип



# Пренатальная диагностика





# Биопсия хориона

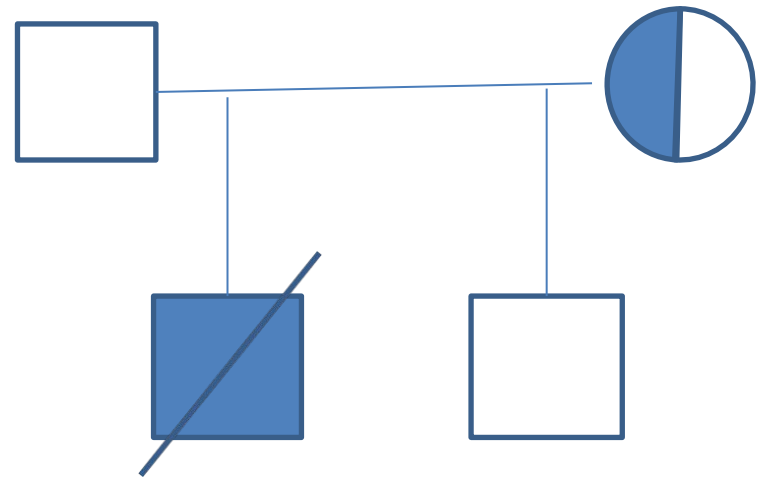
- Проводится строго под контролем УЗИ
- Объем тканей - 10-15 мг
- Частота получения необходимого количества плодного материала - 94-99,5 %
- Оптимальные сроки - 10-12 недель
- Медаборт до 12-13 (до 20) недели

# Пренатальная диагностика

## Синдром Вискотта-Олдрича

- Мутация: с.360+2 ins T в 3 экзоне гена WAS
- Здоровый мальчик

Семья Т.

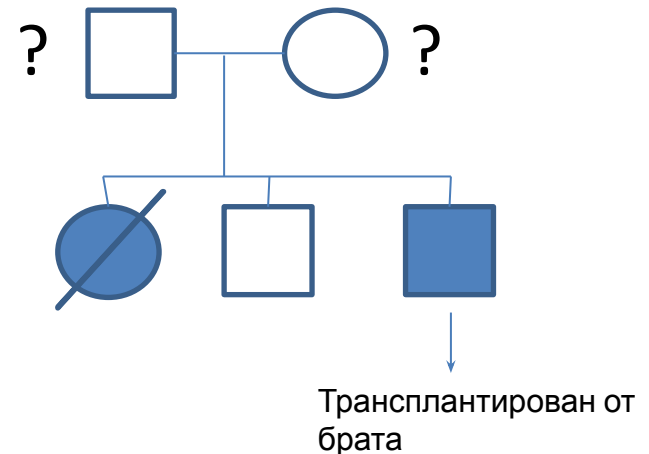


# Семейное консультирование

## ТКИН

- Мутация: JAK3-?
- Аутомно-рецессивный тип наследования
- Старшая девочка погибла в 1 год 2 мес

## Семья Р.



# Алгоритм действий

- Если поздно пришли во время беременности  $\implies$  пригласить для обследования сразу после рождения
- Сохранять материал, если ребенок умирает (кровь, аутопсийный материал)
- Сохранять известную генетику (чтобы было где посмотреть)

# Молекулярно-генетическая диагностика

- Подтверждение диагноза
- Прогноз для больного
- Прогноз для семьи
- Возможность пренатальной диагностики