

# Molekulare Pathologie

## Verschiedene Klassen von Mutationen

1. Deletionen (von 1 bp bis zu mehreren Megabasen)
2. Insertionen und Duplikationen
3. Austausch einzelner Basen (Punktmutationen):

Missense-Mutationen: eine Aminosäure wird durch eine andere ersetzt

Nonsense-Mutationen: eine Aminosäure wird durch ein STOP-Codon ersetzt

Stille Mutationen: der Basenaustausch führt nicht zum Austausch einer Aminosäure

Splice-site Mutationen: führen zur zusätzlichen Entstehung einer Splice-Stelle oder zur Zerstörung einer Splice-Stelle

Frameshift: Durch Deletion oder Insertion einzelner Basen wird der Leserahmen verschoben; es kommt zum Ablesen einer veränderten Aminosäuresequenz und (meist) zur Entstehung eines vorzeitigen STOP Signals

4. Frameshifts können auch durch größere Deletionen und Insertionen entstehen
5. Dynamische Mutationen: Repeats können ihre Länge verändern (bei Übertragung durch die Keimbahn; z.B. Triple-Repeat-Erkrankungen)
6. Epigenetische Mutationen

# Molekulare Pathologie

## Effekte von veränderten Allelen:

Null-Allel (amorph): es wird kein funktionsfähiges Genprodukt produziert

hypomorph: es wird weniger oder weniger aktives Genprodukt produziert

hypermorph: es wird mehr oder höher aktives Genprodukt produziert

neomorph: es wird Genprodukt mit veränderter Funktion oder Aktivität produziert

antimorph: das produzierte Genprodukt hat antagonisierende Wirkung

## Nomenklatur, um Mutationen zu beschreiben:

Aminosäuresubstitutionen: R117H oder Arg117His

nonsense-Mutationen: G542X oder Gly542Stop

Basenaustausche: 1162G>A

Splice-site Mutationen: IVS4 + 1G>T

↓  
Intronic variation

↓  
1. Base im Intron4

## Deletionen und Insertionen:

Aminosäuredeletionen: F508del

Nucleotiddeletionen: 6232-6236del oder 6232-6236delATAAG

Nucleotidinsertionen: 409-410insC

# Molekulare Pathologie

Kriterien zur Unterscheidung zwischen pathogener Mutation und Polymorphismus

1. Veränderung ist nur in betroffenen Patienten, nicht in nicht-betroffenen Kontrollen (Problem: verminderte Penetranz, polygenetische Erkrankungen)
2. Deletionen des ganzen Gens sind meistens pathogen
3. Nonsense- und Frameshift-Mutationen zerstören meist die Genfunktion und sind pathogen
4. Mutationen, die konservierte Splice-Stellen (GT.....AG) zerstören führen zu Miss-Splicing
5. Missense-Mutationen, die in funktionell relevanten Proteindomänen liegen
6. Missense-Mutationen, die Aminosäuren betreffen, die evolutionär konserviert sind
7. Aminosäure-Substitutionen, die zum nichtkonservativen Austausch führt (z.B. polare gegen nichtpolare Aminosäuren)
8. Segregation innerhalb einer Familie

# Molekulare Pathologie

## Loss-of-function versus gain-of-function

1. Loss-of-function: Genprodukt mit vollständigem Verlust oder reduzierter Funktion (amorph oder hypomorph)
2. Gain-of-function. Genprodukt mit erhöhter Aktivität oder veränderter Funktion (hypermorph oder neomorph)
3. Dominant-negative Effekte: führen meist zu einem Funktionsverlust eines Teils der Proteinfunktion und zu einer veränderten oder verstärkten Funktion eines anderen Teils der Proteinfunktion

# Molekulare Pathologie

## Loss-of-function versus gain-of-function

### 1. Loss-of-function: Genprodukt mit vollständigem Verlust oder reduzierter Funktion (amorph oder hypomorph)

**Table 16.1:** Eleven ways to reduce or abolish the function of a gene product (see *Table 9.5* for a classification of mutations by their nature and location in the gene)

Change	Example
<b>Delete:</b>	
(i) the entire gene	Most $\alpha$ -thalassemia mutations ( <i>Figure 16.2</i> )
(ii) part of the gene	60% of Duchenne muscular dystrophy ( <i>Figure 16.3</i> )
Insert a sequence into the gene	Insertion of LINE-1 repetitive sequence (see Section 9.5.6) into <i>F8C</i> gene in hemophilia A
<b>Disrupt the gene structure:</b>	
(i) by a translocation	X-autosome translocations in women with Duchenne muscular dystrophy ( <i>Figure 15.9</i> )
(ii) by an inversion	Inversion in <i>F8C</i> gene ( <i>Figure 9.20</i> )
<b>Prevent the promoter working:</b>	
(i) by mutation	$\beta$ -Globin -29A $\rightarrow$ G mutation ( <i>Table 17.2</i> )
(ii) by methylation	Fragile-X full mutation ( <i>FMR1</i> ) ( <i>Box 16.8</i> )
<b>Destabilize the mRNA:</b>	
(i) by a polyadenylation site mutation	$\alpha$ -globin AATAAA $\rightarrow$ AATAGA mutation
(ii) by nonsense-mediated RNA decay	Fibrillin mutations ( <i>FBN1</i> )
<b>Prevent correct splicing <i>Figure 9.11</i>:</b>	
(i) by inactivating donor splice site	<i>PAX3</i> 451 + 1G $\rightarrow$ T mutation ( <i>Figure 16.1</i> )
(ii) by inactivating acceptor splice site	<i>PAX3</i> 452-2A $\rightarrow$ G mutation ( <i>Figure 16.1</i> )
(iii) by activating a cryptic splice site	$\beta$ -Globin intron 1 -110G $\rightarrow$ A mutation ( <i>Figure 9.13</i> )
Introduce a frameshift in translation	<i>PAX3</i> 874-875insG mutation ( <i>Figure 16.1</i> )
Convert a codon into a stop codon	<i>PAX3</i> Q254X mutation ( <i>Figure 16.1</i> )
Replace an essential aminoacid	<i>PAX3</i> R271C mutation ( <i>Figure 16.1</i> )
Prevent post-transcriptional processing (Section 16.6.1).	Cleavage-resistant collagen N-terminal propeptide in Ehlers Danlos VII syndrome
Prevent correct cellular localization of product	F508del mutation in cystic fibrosis

# Molekulare Pathologie

## Loss-of-function versus gain-of-function

1. Loss-of-function: Genprodukt mit vollständigem Verlust oder reduzierter Funktion (amorph oder hypomorph)

Haploinsuffizienz: Phänotyp wird durch eine 50%-ige Reduktion der Proteinfunktion bewirkt (bei dominanten Erkrankungen) :

- a.) Genprodukt ist in ein quantitatives Signaltransduktionssystem eingebettet (z.B. variables Besetzen eines Rezeptors)
- b.) miteinander konkurrierende Genprodukte (z.B. Kinasen und Phosphatasen)
- c.) Genprodukte, die in einer festgesetzten Stöchiometrie miteinander interagieren (z.B.  $\alpha$ - und  $\beta$ -Globine)

# Molekulare Pathologie

## Loss-of-function versus gain-of-function

2. Gain-of-function. Genprodukt mit erhöhter Aktivität oder veränderter Funktion (hypermorph oder neomorph):
  - a.) pathologische Überexpression
  - b.) strukturelle Veränderung einer Enzymdomäne
  - c.) Rezeptor steht permanent auf „on“
  - d.) Proteinaggregation
  - e.) Ionenkanal permanent offen
  - f.) chimäres Gen → chimäres Genprodukt (z.B. Bcr-Abl)
  - g.) strukturell abnorme Multimere
  - h.) durch Missense-Mutation kommt es zum Substratwechsel

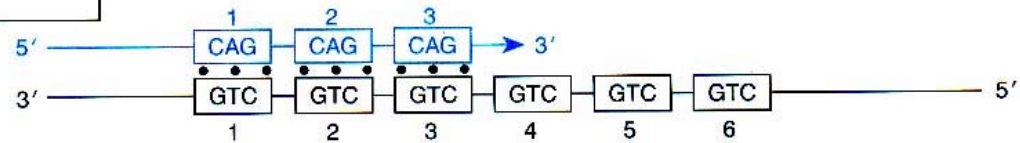
# Erkrankungen mit verlängerten Repeats

1. Vermehrung langer Repeats: FSHD Femur-Scapula-Humerus-Muskeldystrophie
2. Vermehrung von Trinukleotid-Repeats:
  - a.) Trinukleotidexpansionen außerhalb von kodierenden Sequenzen:
    - FraX (CGG)<sub>n</sub>: X-chrom
    - Friedreich Ataxie (GAA)<sub>n</sub>: autosomal rezessiv
    - Myotone Dystrophie (CTG)<sub>n</sub>: autosomal dominant
    - Spinocerebelläre Ataxie 8 (SCA8) (CTG)<sub>n</sub>: autosomal dominant
  - b.) Trinukleotidexpansionen in kodierenden Bereichen:
    - Chorea Huntington (CAG)<sub>n</sub> = Glutamin<sub>n</sub>
    - SCA1, SCA2, SCA3, SCA6, SCA7 (CAG)<sub>n</sub>

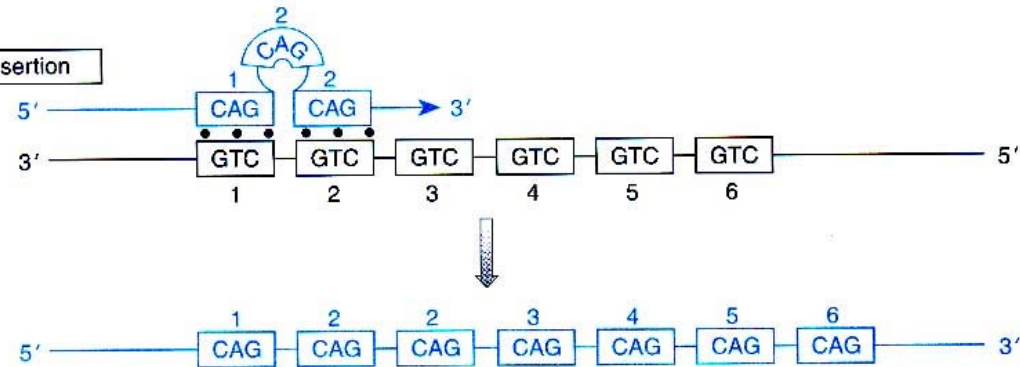


# Erkrankungen mit verlängerten Repeats Mechanismus

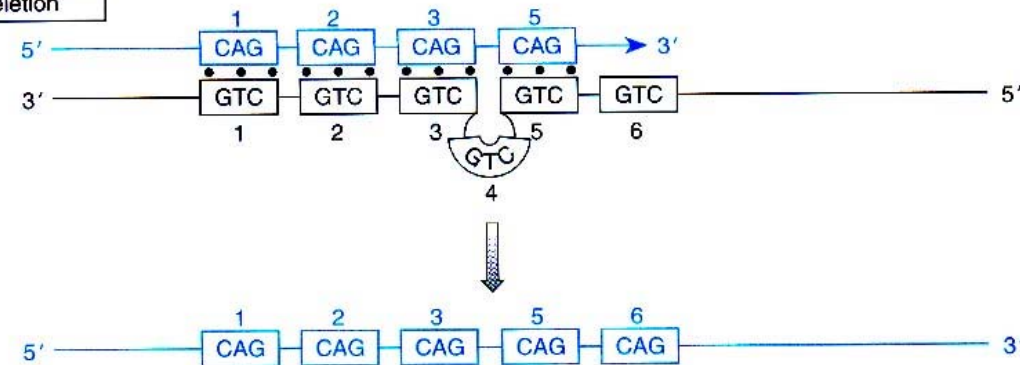
Normal replication



Backward slippage causes insertion



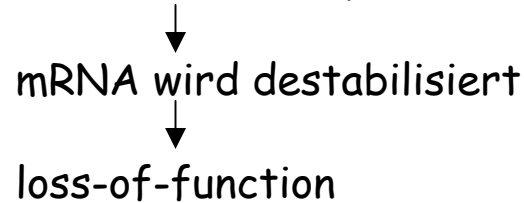
Forward slippage causes deletion



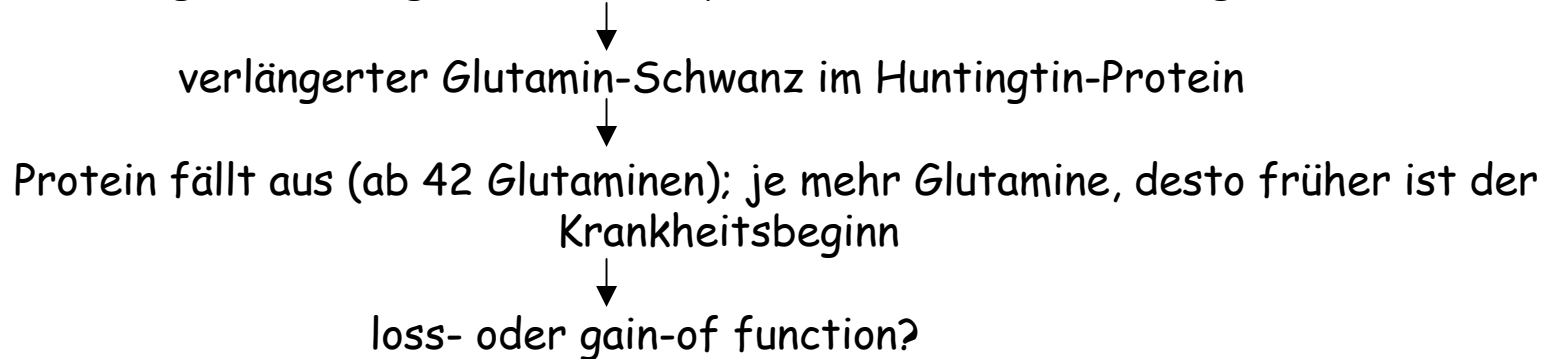
# Erkrankungen mit verlängerten Repeats

## Pathomechanismen

1. Fragiles X-Syndrom: verlängertes CGG-Repeat (pathogen mehr als 22 Repeats) im 5'UTR-Bereich (untranslatierter Bereich) von FraX



1. Chorea Huntington: verlängertes CAG-Repeat im Exon 1 von Huntingtin



# Erkrankungen mit verlängerten Repeats

## Besonderheiten

Repeats können sich über die Keimbahn verlängern:

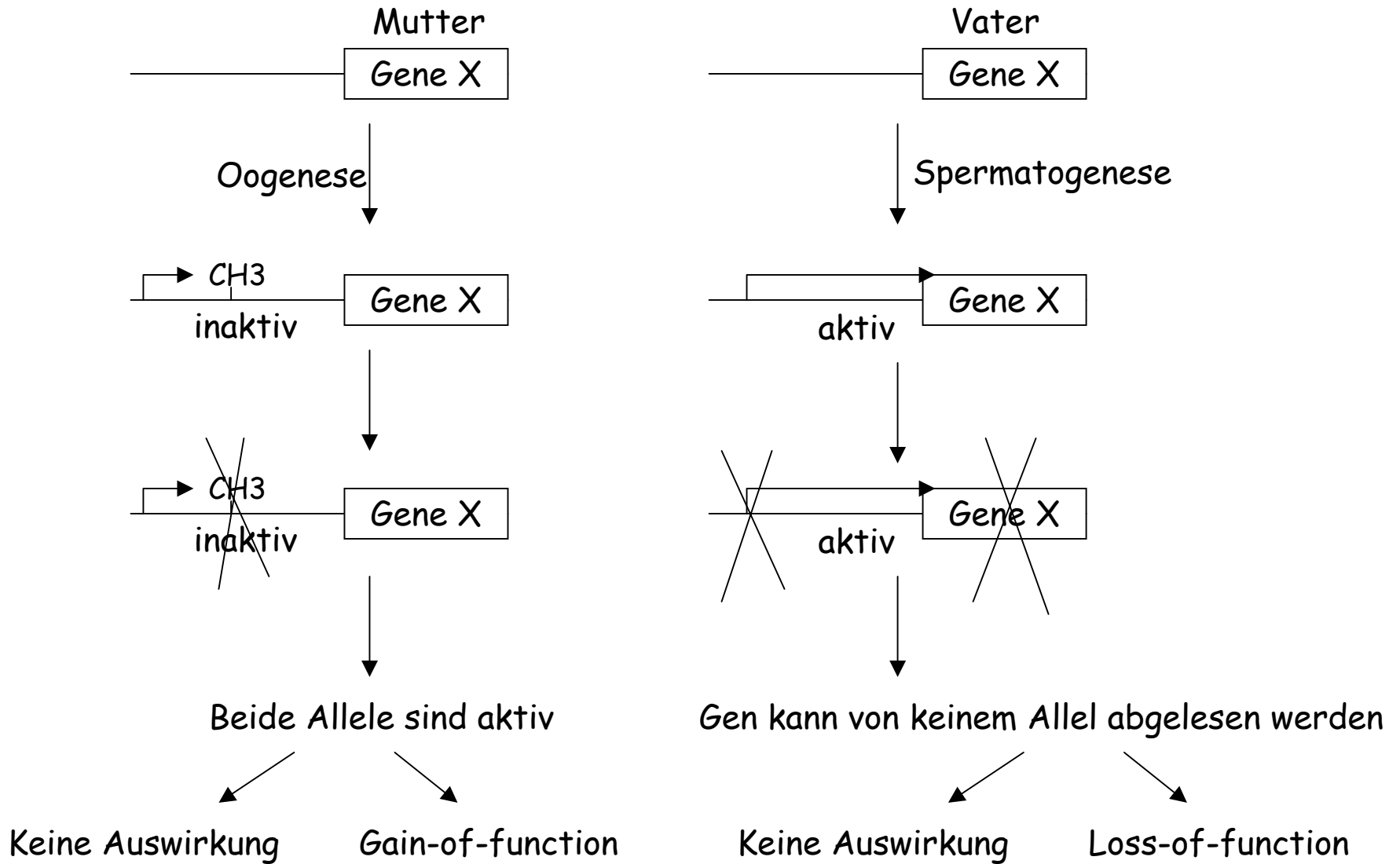
1. FraX: 54-200 Repeats sind Prämutation (Symptome manifestieren sich nicht)  
ab 200 Repeats Vollmutation  
Repeats können sich über die weibliche Keimbahn (wenn verlängertes Repeat von der Mutter kommt) verlängern (Selektionsmechanismen in Spermato- und Oogenese)
2. Chorea-Huntington:  
Repeats können sich über die männliche Keimbahn (wenn verlängertes Repeat vom Vater kommt) verlängern

# Epigenetische Mutationen

Prader-Willi-Syndrome (PWS): mentale Retardierung, muskuläre Hypotonie, Adiositas, Hypogenitalismus

Angelman-Syndrome (AS): geistige Behinderung, keine Sprachentwicklung, Wachstumsretardierung, Hyperaktivität, Lachsalven

# Epigenetische Mutationen



# Epigenetische Mutationen

*Imprinted Gene*: Gene, bei denen ein Allel, in Abhängigkeit davon, ob es von Mutter oder Vater kommt, inaktiv vorliegt.

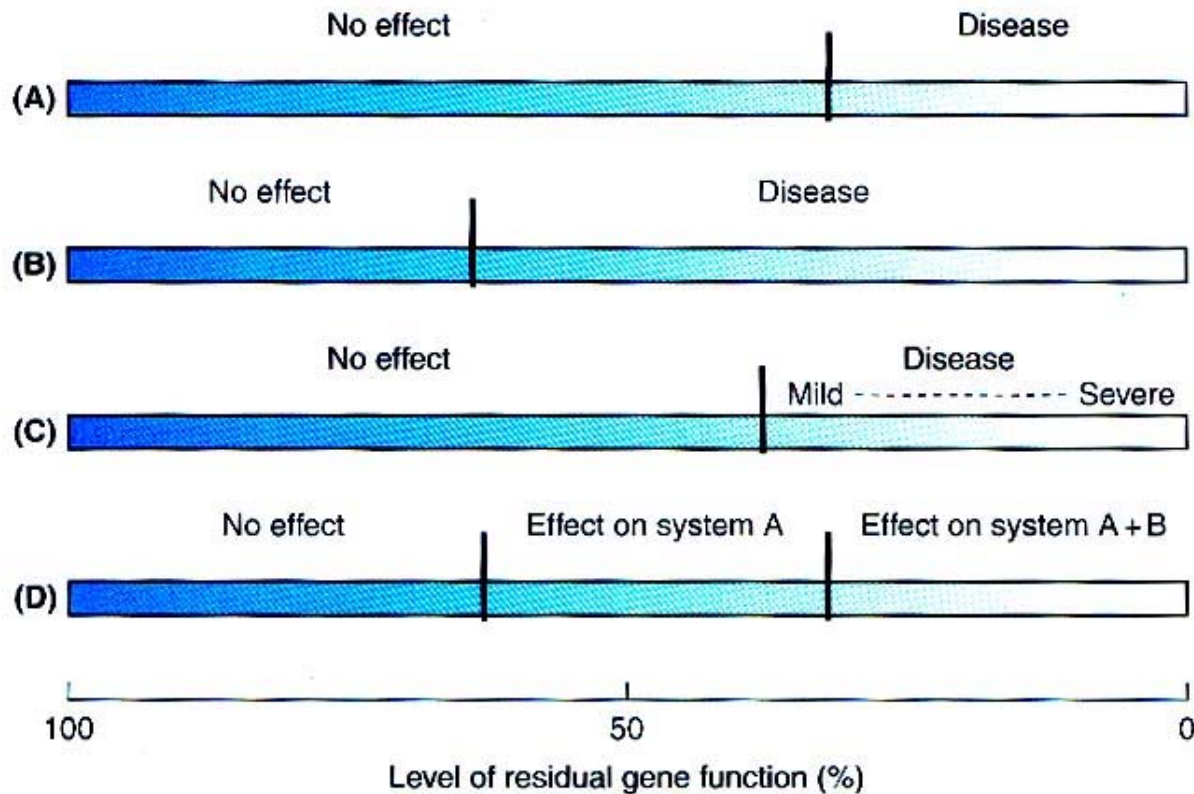
Methylierung von Cysteinen in CpG-Inseln ist die molekulare Basis von imprinting  
Krankheiten, die imprinting Gene betreffen entstehen daher in Abhängigkeit davon, ob die Mutation von Mutter oder Vater kommt

Ursachen von PWS und AS:

- a.) Deletionen
- b.) Uniparenterale Disomien
- c.) Punktmutationen in bestimmten Genen (bisher nur für AS bekannt)
- d.) Fehler im Imprinting: fehlerhaftes Methylierungsmuster

# Genotyp-Phänotyp-Korrelationen

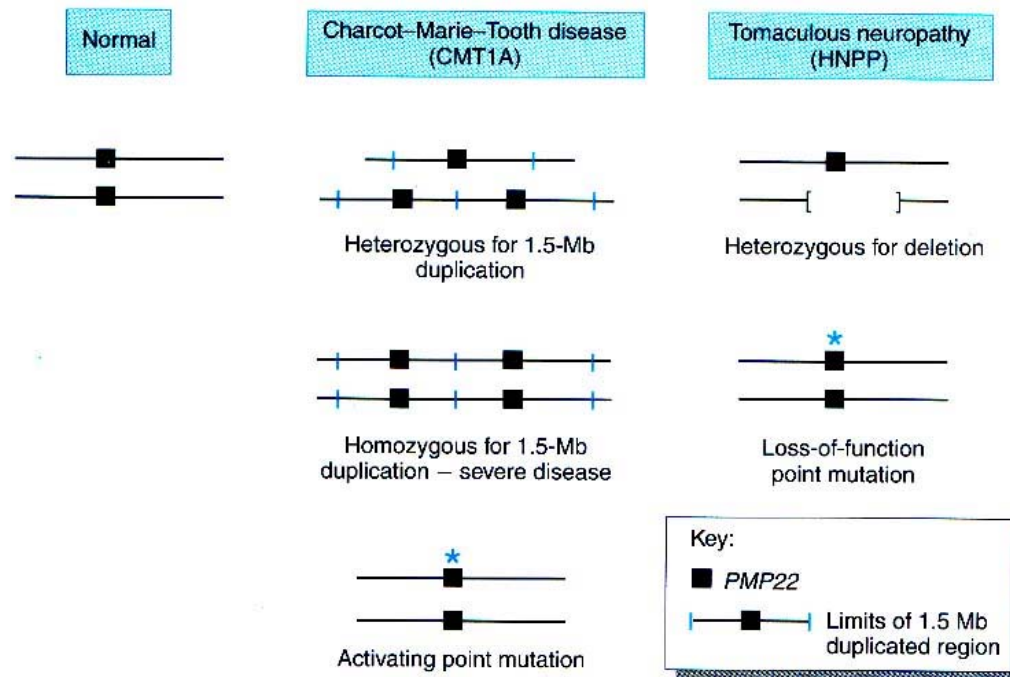
1. Schweregrad des Phänotypen hängt von der verbleibenden Restaktivität des entsprechenden Genproduktes ab:



# Genotyp-Phänotyp-Korrelationen

1. Schweregrad des Phänotypen hängt von der verbleibenden Restaktivität des entsprechenden Genproduktes ab
2. Allelie verschiedener Phänotypen: verschiedene Mutationen in demselben Gen können verschiedene Phänotypen auslösen

Mutationen in unterschiedlichen Proteindomänen können unterschiedliche Auswirkungen auf die Protein Funktion haben: loss-of-function, gain-of-function oder dominant negativ  
Duplikationen bzw. Deletionen des selben Gens haben unterschiedliche Wirkungsmechanismen (loss- oder gain-of-function)





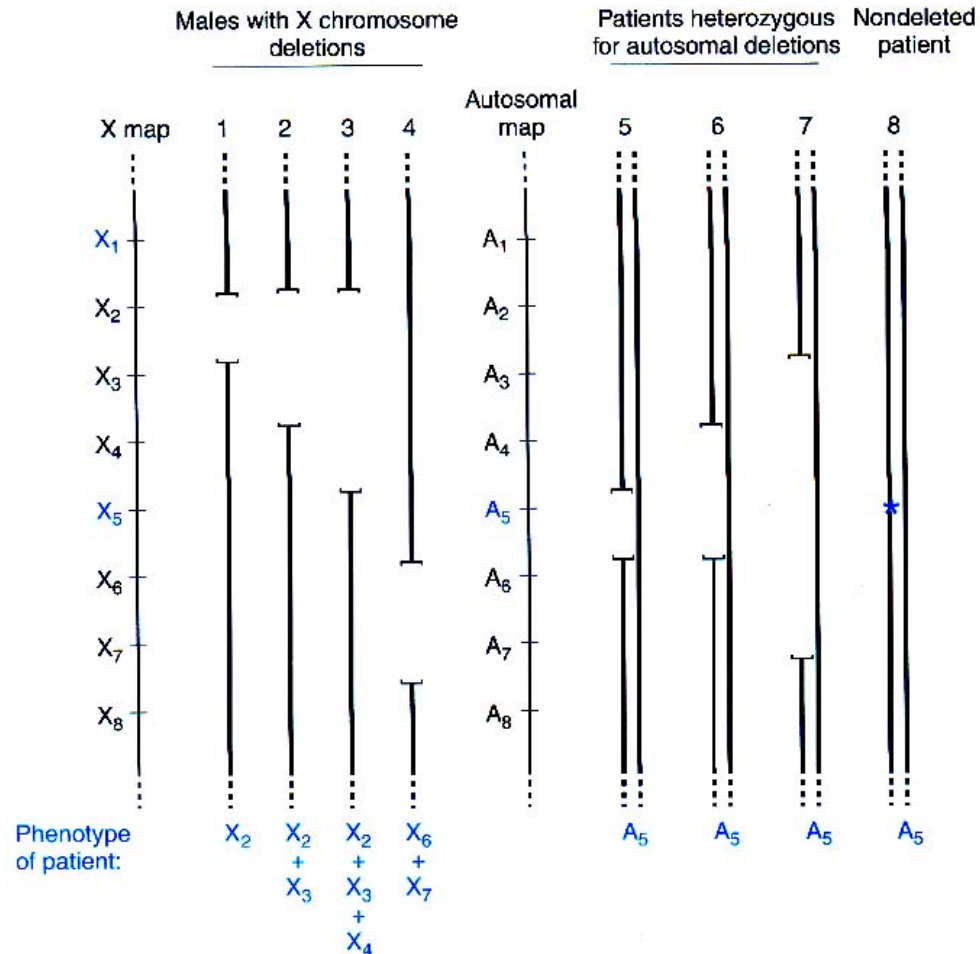
# Genotyp-Phänotyp-Korrelationen

1. Schweregrad des Phänotypen hängt von der verbleibenden Restaktivität des entsprechenden Genproduktes ab
2. Allelie verschiedener Phänotypen: verschiedene Mutationen in demselben Gen können verschiedene Phänotypen auslösen  
Mutationen in unterschiedlichen Proteindomänen können unterschiedliche Auswirkungen auf die Protein Funktion haben: loss-of-function, gain-of-function oder dominant negativ
3. Genetische Variabilität in Familien: verursacht durch „Modifier Gene“; phänotypische Unterschiede in verschiedenen Mausstämmen verursacht durch „Modifier Gene“
4. Bei mitochondrialen Erkrankungen:  
Heteroplasmie und Instabilität können eine große Variabilität innerhalb von Familien verursachen.

# Molekulare Pathologie von Chromosomenstörungen

Microdeletion, Microduplication: klein, mit dem Lichtmikroskop nicht oder nur schwer sichtbare Stücke eines Chromosoms sind deletiert oder dupliziert

Contiguous gene syndrome: Phänotyp setzt sich zusammen aus der Funktionsänderung mehrerer Gene



# Molekulare Pathologie von Chromosomenstörungen

Microdeletion, Microduplication: klein, mit dem Lichtmikroskop nicht oder nur schwer sichtbare Stücke eines Chromosoms sind deletiert oder dupliziert

Contiguous gene syndrome: Phänotyp setzt sich zusammen aus der Funktionsänderung mehrerer Gene

Bei Chromosomenstörungen setzt sich der Phänotyp meist zusammen aus den Symptomen des Contiguous Gene Syndromes plus unspezifische Effekte, die aus dem zuviel oder zuwenig von genetische Dosis resultieren