

Ćwiczenie C05: Geny

Koncepcja genu Analiza genu *KatG* u *Mycobacterium tuberculosis*. Katalog genów człowieka, OMIM.

Kornelia Polok

1. Koncepcja genu

1.1. Definicja genu

- ➡ Pierwotnie gen opisywano jako „jednostkę dziedziczności”, przy czym pojęcie jednostki ewoluowało wraz z postępem badań. Obecnie pojęcie genu odnosi się do fragmentu DNA (lub RNA u wirusów RNA), który odpowiada za powstanie funkcjonalnego produktu.

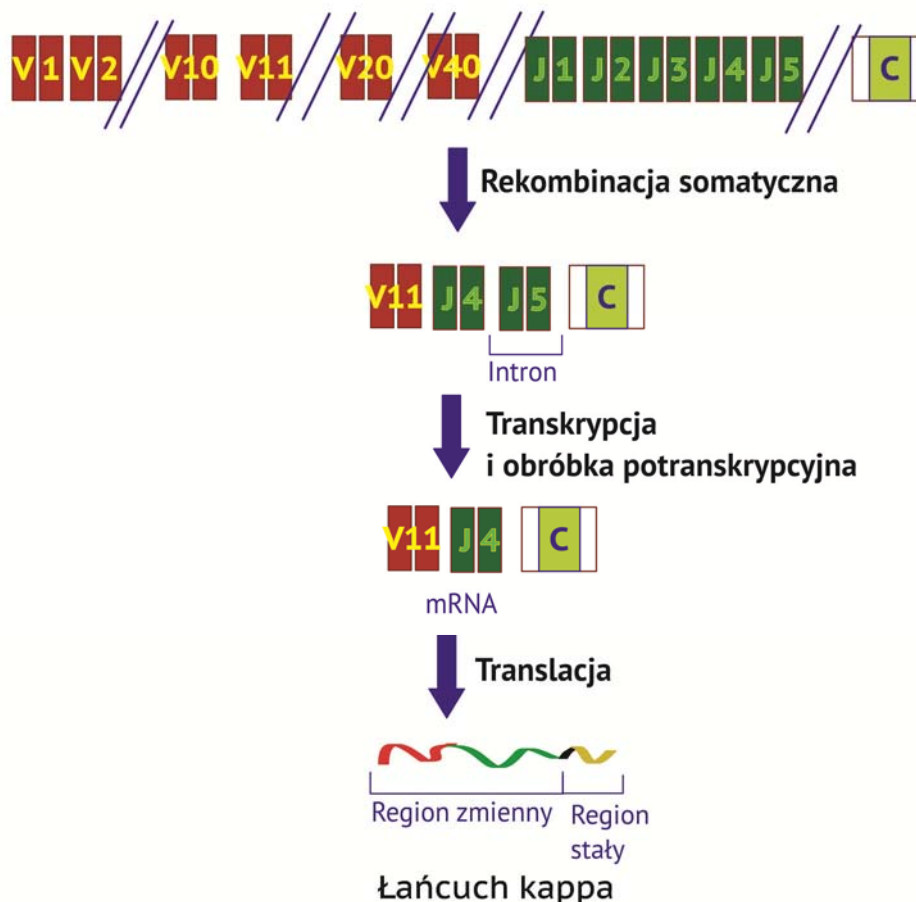
Gen to fragment lub kilka fragmentów DNA kodujących jeden lub kilka funkcjonalnych produktów będących białkiem lub RNA.

- Definicja ta uwzględnia sytuacje, gdy na bazie kilku fragmentów DNA może powstać wiele produktów na skutek różnej obróbki potranskrypcyjnej, możliwość transkrypcji pseudogenów, oddalenie elementów regulatorowych.
- Pseudogeny powstają w wyniku duplikacji funkcjonalnych genów, a następnie ewolucji w kierunku form niefunkcjonalnych. Wiele pseudogenów powstaje jako retrogeny (retrokopie) na skutek działalności retrotranspozonów. U człowieka obecnie jest aktywnych około 100 elementów *LINE* oraz 16 *HERV*. Około 20% genów ludzkich to pseudogeny, które podlegają transkrypcji. Ich funkcja nie jest znana.
- Dane z projektów sekwencjonowania genomów i transkryptomów wykazały, że jeden gen często wpływa na wiele cech (plejotropia), a także, że funkcja genów ulega zmianom pod wpływem czynników środowiskowych, przy czym mogą to być czasowe modulacje. Przykładowo uruchomienia odpowiedzi immunologicznej może wiązać się z aktywacją retrotranspozonów pod wpływem patogenów. Ekspresja retrotranspozonów z kolei może uruchomić receptory typu Toll, które zainicjują tworzenie przeciwciał.

1.2. Składanie genów kodujących lekkie łańcuchy kappa przeciwciał u kręgowców

➔ U kręgowców przeciwciała stanowią ochronę przed patogenami i innymi obcymi substancjami atakującymi organizm. Każde przeciwciało składa się z czterech łańcuchów polipeptydowych: dwóch ciężkich i dwóch lekkich. Łańcuchy lekkie występują w dwóch formach: kappa i lambda. Każdy łańcuch peptydowy zawiera region zmienny (V), segment W komórkach rozrodczych oraz we wczesnym rozwoju zarodkowym DNA kodujące przeciwciała zbudowane jest z segmentów V, J i C. Są one połączone. Geny warunkujące dane przeciwciało są składane z istniejących segmentów dopiero podczas różnicowania limfocytów B, czyli komórek produkujących przeciwciała.

Składanie genów podczas różnicowania przeciwciał można prześledzić na przykładzie lekkiego łańcucha kappa (Rys. 1.2.). U człowieka za łańcuch ten odpowiada klastery na chromosomie 2, który składa się z 76 segmentów V, z czego co najmniej 40 jest aktywnych. Ponadto w skład klastra wchodzi 5 segmentów J (łączących) oraz pojedynczy stały segment C. Podczas różnicowania limfocytów B, w wyniku rekombinacji somatycznej dochodzi do połączenia jednego segmentu V z jednym segmentem J oraz z segmentem C. Wszystkie segmenty między tymi połączonymi stają się intronami i są usuwane podczas dojrzewania. Podobne procesy zachodzą podczas składania genów tworzących łańcuchy ciężkie, łańcuchy lambda oraz receptory białkowe limfocytów T.



Rys. 1.2. Składanie genów kodujących łańcuch lekkie kappa przeciwciał w trakcie dojrzewania limfocytów B u ludzi.

2. Analiza genu *KatG* u *Mycobacterium tuberculosis*

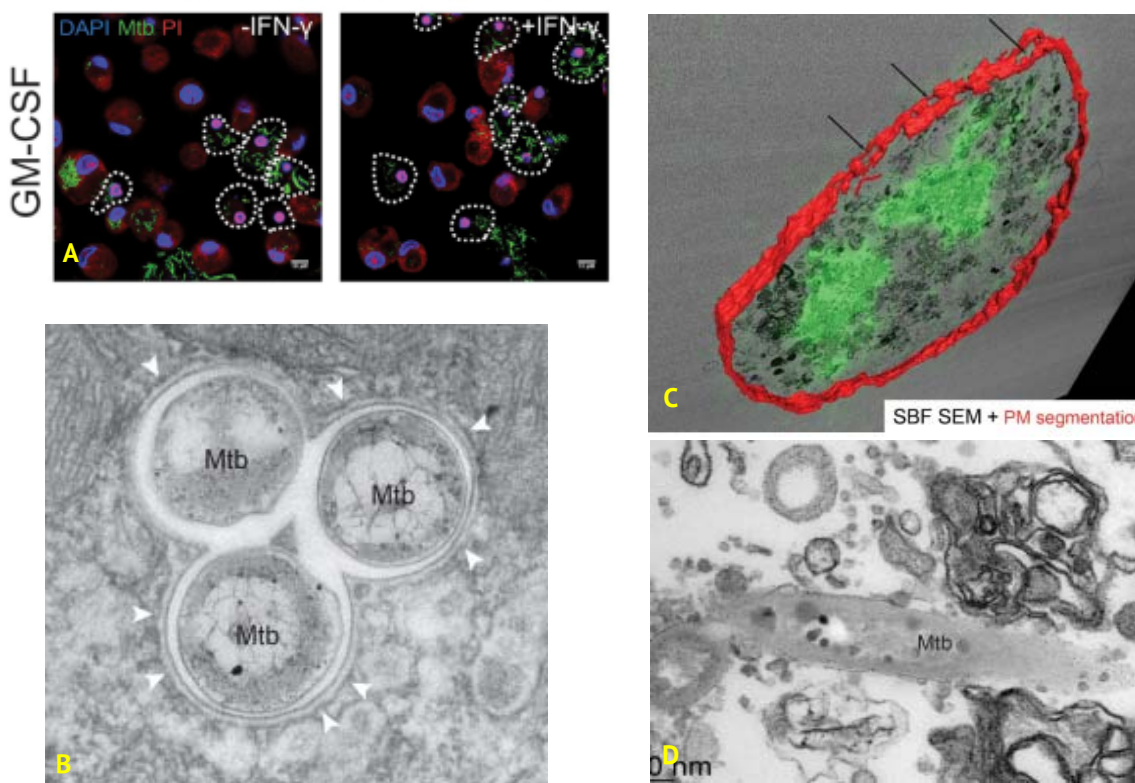
➔ 2.1. *Mycobacterium tuberculosis*, czynnik etiologiczny gruźlicy

Mycobacterium tuberculosis (prątek gruźlicy) jest patogenem człowieka doskonale przystosowanym do przeżywania w komórkach ludzkich. Nie wytwarza typowych toksyn. Do zakażenia dochodzi drogą kropelkową. Zakażenie przebiega w dwóch fazach.

🟡 **Faza latencji:** bakteria wykorzystuje liczne białka, aby „oszukać” system immunologiczny człowieka. Przystosowuje się on także do bytowania w granulocytach. Między innymi przez system umożliwiający przeżywanie w obecności stresu oksydacyjnego. Istotnym elementem tego systemu jest gen *KatG* kodujący katalazę-peroksydazę. W fazie latencji osoby nie wykazują objawów choroby. Faza ta może trwać wiele lat i choroba może się nigdy nie rozwinąć. W tej fazie osoby zakażone nie zarażają.

🟡 **Faza płucna (objawowa):** pojawia się, gdy obniżona jest odporność, np. na skutek zakażenia HIV, przyjmowania leków immunosupresyjnych. Do objawowej gruźlicy dochodzi tylko w 10% przypadków.

M. tuberculosis może powodować zarówno gruźlicę płuc jak i gruźlicę pozapłucną, w tym gruźlicę oczną, kostną i gruźlicę układu pokarmowego. Z drugiej strony, *M. tuberculosis* może być uważany za komensala, gdyż w fazie latencji nie wywołuje objawów. Stwierdzono także, że niektóre antygeny prątka gruźlicy mogą wzmocnić odpowiedź antynowotworową. Podobnie działa szczepionka BCG. W utrzymaniu kontroli na d prątkiem gruźlicy uczestniczą elementy odpowiedzi komórkowej (IFN, TNF) oraz adaptacyjnej (limfocyty Th17, limfocyty CD4+ i CD8+)

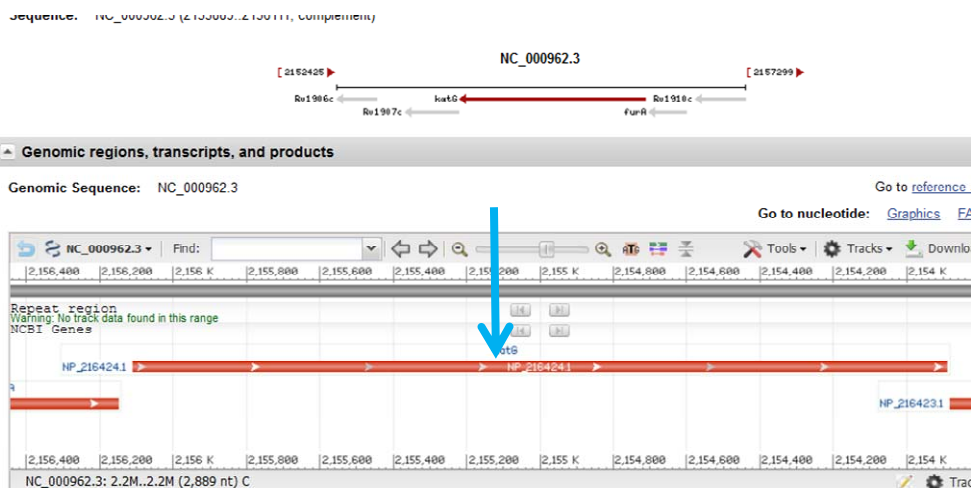


Rys. 2.1.. Komórki zainfekowane *M. tuberculosis*. A. makrofagi zakażone *M. tuberculosis*. Błona komórkowa staje się przepuszczalna, co prowadzi do nekrozy. B. *M. tuberculosis* widoczne w cytosolu. C. Replikacja *M. tuberculosis* w nekrotycznych komórkach. D. Replikacja *M. tuberculosis*, widok TEM.

2.2. Charakterystyka *KatG* na podstawie bazy NCBI



2.2.1. Proszę wejść na stronę” <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=885638>, na której znajdują się informacje dotyczące genu *KatG* i odczytać informacje, o których mowa w punktach A-D. Część informacji należy odczytać z pop-up okna, które pojawi się po skierowaniu kursora na czerwoną linię symbolizującą gen. Okno daje także możliwość otworzenia sekwencji w formacie GenBank (sekwencja nukleotydowa).



Rys. 2.2.. Widok graficzny genu *KatG* w bazie NCBI.

- Jakie enzymy koduje gen *KatG*? Proszę podać krótką charakterystykę tej grupy enzymów.
- Proszę podać długość genu *KatG*?
- Z ilu aminokwasów składa się białko powstałe na bazie genu *KatG*?
- Z jakiego szczepu pochodzi omawiana sekwencja? Na podstawie informacji internetowych proszę podać 2-3 zdaniową informację na temat szczepu, z którego pochodzi sekwencja?
- Jakie efekty mogą wywołać mutacje w genie *KatG*?

2.3. Gruźlica lekooporna



W 2019 r odnotowano 10 mln przypadków gruźlicy na świecie, z czego 1,4 mln osób zmarło, co daje 14% śmiertelność. W krajach rozwiniętych coraz większym problemem jest gruźlica lekooporna. Na podstawie danych literaturowych proszę omówić na czym polega gruźlica wielolekooporna, gdzie najczęściej występuje oraz jakie jest uwarunkowanie genetyczne lekooporności *M. tuberculosis*. Opracowanie nie powinno obejmować max. 3 strony A4. Proszę podać literaturę wykorzystaną do opracowania.

Samodzielne wykonanie: 5 punktów

Termin: 22.04.2022., 23:59

3. Katalog genów człowieka OMIM

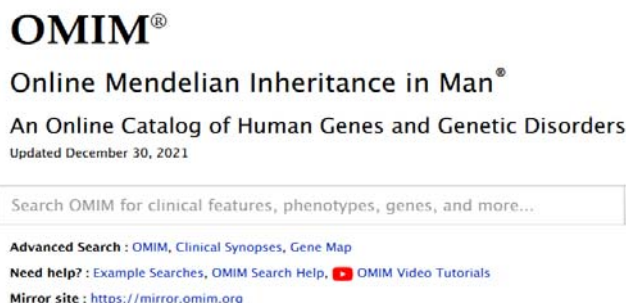
3.1. Charakterystyka bazy OMIM

➔ OMIM: Online Mendelian Inheritance in Man (<https://www.omim.org/>). Jest to baza zawierająca informacje o genach człowieka, genotypach oraz chorobach genetycznych. OMIM jest bazą zidentyfikowanych genów ludzkich. Baza zawiera informacje o położeniu genu na chromosomie, funkcji genu oraz charakterystykę chorób związanych z mutacjami w genach. Baza została utworzona w 1960 r., wersja online w 1985 r. Dane z 30 grudnia 2021 r. podają, że w bazie zgromadzono opisy 16 648 genów, w tym:

- 15 813 genów zlokalizowanych na autosomach,
- 748 genów sprzężonych z X,
- 50 genów sprzężonych z Y,
- 37 genów zlokalizowanych w mtDNA

Ponadto dostępne są materiały edukacyjne obejmujące filmy YT i przedstawiające sposób przeszukiwania bazy, oraz tutorial na stronach www.

- Proste wyszukiwanie polega na wpisaniu np. określonej choroby np. muscular dystrophy.
- Znak + (np. +muscular + dystrophy) pozwala na zwrot informacji zawierających oba wpisane słowa.
- Zastosowanie cudzysłowu, np. „muscular dystrophy” zwraca rekordy, które zawierają wpisaną frazę.
- Można także wykorzystać standardowe Boolean operators czyli AND, OR i NOT.



Rys. 3.1a. Zrzut ekranu dla strony startowej bazy OMIM.

ANGIOTENSIN I-CONVERTING ENZYME, PLASMA LEVEL OF, INCLUDED

ANGIOTENSIN I-CONVERTING ENZYME, BENIGN SERUM INCREASE, INCLUDED
 IgA NEPHROPATHY, PROGRESSION TO RENAL FAILURE IN, SUSCEPTIBILITY TO, INCLUDED

ANGIOTENSIN I-CONVERTING ENZYME, TESTICULAR, INCLUDED

Nazwa genu, opis

HGNC Approved Gene Symbol: **ACE** Lokalizacja: Chromosom 17, ramię długie, prążek 23.2

Cytogenetic location: **17q23.3** Genomic coordinates (GRCh38): **17:63,477,060-63,498,372** (from NCBI)

Gene-Phenotype Relationships

Położenie w genomie, sekwencja całego genomu GRCh38, dalej koordynaty wskazujące na zakres sekwencji, które obejmują gen.

Location	Phenotype <small>Clinical Synopses</small>	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key
17q23.3	Renal tubular dysgenesis	267430	AR	3
	[Angiotensin I-converting enzyme, benign serum increase]			3
	[Microvascular complications of diabetes 3]	612624		3
	[Myocardial infarction, susceptibility to]			3
	[SARS, progression of]			3
	[Stroke, hemorrhagic]	614519		3

PheneGene Graphics

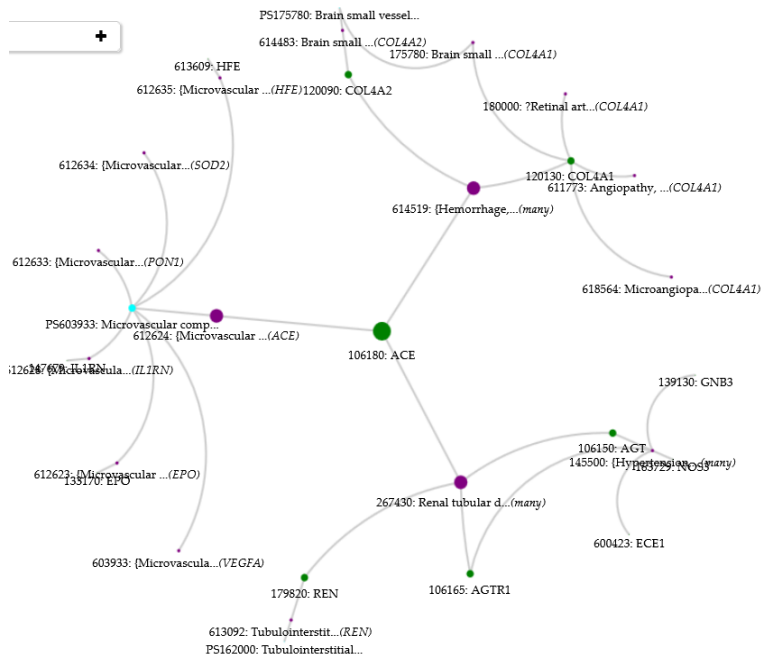
Fenotypy związane z mutacjami w genie.

Sposób dziedziczenia, tu autosomalny recesywny, dotyczy fenotypu 26430, dla pozostałych fenotypów nie określono.

TEXT

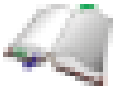
Rys. 3.1b. Zrzut ekranu dla wyszukiwań dla genu ACE.

Odczytując dane dotyczące fenotypów w OMIM należy pamiętać, że gen nie wywołuje choroby. Gen pełni istotne funkcje w organizmie. Choroba powstaje w wyniku mutacji w genie. Gen ACE (<https://www.omim.org/entry/106180?search=Ace&highlight=ace>) posiada własny promotor zlokalizowany w 12 intronie. Gen koduje enzym konwertujący angiotensynę (kinazę II). Jest to dipeptydylo karboksypeptydaza, która reguluje ciśnienie krwi oraz równowagę elektrolitową. Białko ACE jest integralnym białkiem błonowym. uwalniane jest ono z powierzchni komórki pod wpływem metalosekretazy cynkowej. Istnieją także dane wskazujące, że allel D tego genu sprzyja wzrostowi mięśni i lepszemu przystosowaniu do długotrwałego wysiłku, co jest korzystne w niektórych dyscyplinach sportowych. Mutacje w genie ACE prowadzą do istotnych zaburzeń.



Rys. 3.1c. Sieć powiązań dla genu ACE.

3.2. Poszukiwanie informacji o wybranych genach w bazie OMIM



Korzystając z prostego wyszukiwania w bazie OMIM proszę znaleźć informacje na temat genetycznego uwarunkowania hemofilii typu B (Hemophilia B).

- A. Proszę podać dokładną lokalizację genu warunkującego hemofilię typu B (chromosom, ramię) oraz sposób jej dziedziczenia.
- B. Jakie nieprawidłowości obserwuje się u osób z hemofilią typu B w badaniach laboratoryjnych?
- C. Proszę podać mutację, która odpowiada za hemofilię typu B.