

CELINA JANION

*Instytut Biochemii i Biofizyki PAN  
ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa*

## MUTACJE DYNAMICZNE

Mutacje dynamiczne stanowią nowy typ mutacji genetycznych wykrywanych w populacjach ludzkich i coraz więcej schorzeń jest utożsamianych z tym typem mutacji. Wczesna definicja mutacji jako nagłe pojawienie się odmiennej cechy, która dziedziczy się zgodnie z prawami Mendla, nie dotyczy mutacji dynamicznych. Zmiany powodujące mutacje dynamiczne narażają w ciągu kilku pokoleń, objawy kliczne i zapis w pełni zmutowanego genu mogą być przekazywane tylko przez jedno z rodziców, sposób dziedziczenia nie podlega prawom Mendla.

W chromosomalnym DNA organizmów ludzkich występują sekwencje złożone z 1-go do 6-ciu a czasami więcej nukleotydów, o różnej liczbie powtarzających się kopii. Mutacje dyna-

miczne powstają wskutek powielania się w genowym DNA, w czasie życia kilku pokoleń, powtarzających się ciągów trzech nukleotydów o sekwencjach CGG/CCG lub CAG/CTG.

Liczba powtórzeń wzrasta do pewnej wartości bez wywołania konsekwencji biologicznych, natomiast po jej przekroczeniu, w czasie jednej generacji, może nastąpić gwałtowny wzrost liczby kopii i częstości przekazywania potomstwu cech genetycznych danego schorzenia. Taki sposób dziedziczenia nazywa się paradoksem Sherman, a zwiększanie się częstości przekazywania schorzenia i zaostrzanie się objawów klinicznych w następnych pokoleniach — antycypacją (FU i współaut. 1991, SUTHERLAND i RICHARDS 1995).

### MUTACJE ZWIĄZANE Z AMPLIFIKACJĄ SEKWENCJI CGG/CCG W MIEJSCACH GENU KOPIOWANEGO NA NIE ULEGĄJACY TRANSLACJI REJON 5'-mRNA

#### SYNDROM KRUCHEGO CHROMOSOMU X

Pierwszy przypadek mutacji dynamicznej został wykryty w roku 1991 w wyniku zsekwencjonowania fragmentu DNA, z którym łączono występowanie zespołu kruchego chromosomu X, FRAXA (fragile X syndrome (OBERLE i współaut. 1991, YU i współaut. 1991).

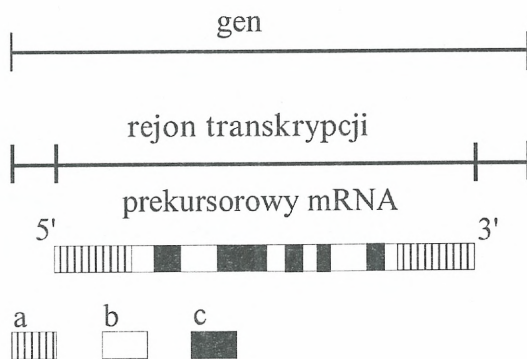
Obecność zespołu kruchego chromosomu można uwidocznić przez izolację chromosomów metafazowych z komórek limfocytów hodowanych w określonym podłożu (np. przy braku folianów lub w podłożu ubogim w prekursor DNA dezoksycytydynamę i tymidynamę), co indukuje to zjawisko (SUTHERLAND 1977). W przypadku wystąpienia syndromu FRAXA jest widoczne w mikroskopie charakterystyczne oderwanie grudki chromatyny pozostającej w kontakcie z chromosomem, a w innych przypadkach zani-

kanie wybarwiania się chromosomów w miejscu ulegającym kruszeniu.

Już wcześniej stwierdzono, że syndromowi FRAXA (mutację zlokalizowano na długim ramieniu q chromosomu X w loci Xq27.22-23) towarzyszy jedna z form upośledzenia umysłowego. Sekwencjonowanie DNA w rejonie FRAXA pozwoliło na zmapowanie w miejscu Xq27.3 genu *FMR-1* (od fragile X mental retardation) bogatego w sekwencje CGG, który był genetycznie niestały. Niestalość genetyczna dotyczyła różnic w liczbie powtórzeń trójnukleotydu CGG. Różne liczby kopii CGG obserwowano nie tylko między allelami genów u różnych osobników, ale i w obrębie tkanek tego samego organizmu. Następnie stwierdzono, że zjawisko kruszenia się chromosomu X, któremu towarzyszy fenotyp upośledzenia umysłowego, jest wynikiem mutacji dynamicznej, powielania sekwencji CGG w genie *FMR-1* oraz metylacji reszt C do

5-metylo-C w sekwencjach CG, co w konsekwencji powoduje supresję ekspresji tego genu (SUTHERLAND i RICHARDS 1995, BATES i LEHRAH 1994).

Odcinek DNA stanowiący gen jest zawsze dłuższy od jego części ulegającej transkrypcji (przepisaniu na mRNA), a z kolei transkrybowany mRNA jest dłuższy od jego części ulegającej translacji (przepisaniu na sekwencję danego białka). Translacji nie ulegają rejonu nukleotydów znajdujące się od końca 5' i 3' mRNA oraz introny znajdujące się wewnątrz pierwotnego transkryptu mRNA. Ciąg powtarzających się sekwencji CGG w genie *FMR-1*, których ekspansja powoduje objawy kliniczne, występuje w pobliżu miejsca promotorowego w nie ulegającym translacji odcinku przylegającym do końca 5' mRNA (ryc. 1). W genach *FMR1* u ludzi zdrowych, ciąg nukleotydów CGG występuje w po-



wtórzeniach od 6 do 50-krotnych. Niestabilność genetyczną, która prowadzi do dalszej ekspansji kopii CGG, obserwuje się już przy 19-tu powtórzeniach, natomiast u chorych liczba powtórzeń osiąga liczbę od 200 do 2000 (KUNST i WARREN 1994, SUTHERLAND i RICHARDS 1994). Ciągi GGC w pozycji około  $(CGG)_{10}$  i  $(CGG)_{20}$  zawierają zwykle dwie pojedyncze kopie AGG w normalnych genach *FMR1* a jedną lub wcale w genach zmutowanych, co sugeruje, że AGG wpływa na utrzymywanie stałej liczby kopii CGG (EICHLER i współaut. 1995). Obraz kliniczny mimo wzrostu liczby kopii CGG może nie ujawniać się przez kilka generacji i nagle w ciągu jednej generacji następuje silna ekspansja ciągów powtarzających się i zanik ekspresji genu, którego objawem fenotypowym jest upośledzenie w rozwoju umysłowym.

Przekazywanie objawów klinicznych odbywa się wyłącznie poprzez organizm matki. Ojciec może być przenosicielem choroby, może przekazywać spowielone ponad 230-krotnie, sekwencje GGC, ale ani on sam ani jego córki nie wykazują objawów klinicznych (KUNST i WARREN 1994).

Białko kodowane przez gen *FMR1* ma właściwości wiązania się z RNA (SIOMI i współaut. 1993). Gen *FMR1* szczególnie silnie ulega ekspresji w komórkach neuronów mózgu, jąder, macicy i w innych zdrowych tkankach z normalnym lub niosącym premutację allelem genu. Białko FMR1 nie występuje u osobników chorych. W badaniach immunochemicznych białko FMR1 wykazuje lokalizację cytoplazmatyczną (BATES i LEHRACH 1994, DEVYS i współaut. 1993). Funkcja tego białka nie jest znana.

Rejon sekwencji powtarzających się CGG występuje w pobliżu miejsca promotorowego genu *FMR1*, bogatego w sekwencje GC. Sekwencje bogate w nukleotydy GC występują w pobliżu miejsc promotorowych większości genów ludzkich i tworzą tak zwane wysepki CpG, w których reszty C rzadko są metylowane do reszt

Ryc. 1. Hipotetyczny gen i jego pierwotny produkt transkrypcji — prekursorowy mRNA.

Pierwotny transkrypt zawiera: a — 5' i 3' rejonu mRNA nie ulegające translacji; b — eksony i c — introny. Przed wytworzeniem funkcjonalnego mRNA introny ulegają wycięciu, eksony połączeniu a końcowe rejonu mRNA modyfikacji.

5-meC. Wyjątkiem (choć nie jedynym) jest silna metylacja wysepek CpG w genach występujących na jednym z dwóch chromosomów X. Metylacja CpG powoduje inaktywację genów. We wszystkich tkankach somatycznych ssaków płci żeńskiej jeden z dwóch chromosomów X ulega inaktywacji. Tak więc liczba informacji genetycznej zdolnej do ekspresji w chromosomach X, w somatycznych tkankach matki (X,*in*X) i tkankach ojca (XY) jest jednakowa (CRAIG i BICKMORE 1994). Okazało się, że pełnemu rozwojowi mutacji dynamicznych w genie *FMR1*, z którymi jest związane opóźnienie umysłowe i syndrom kruchego chromosomu X, towarzyszy metylacja C w wysepkach CpG (i w ciągach GGC) i zanik ekspresji genu *FMR1* (OBERLE i współaut. 1991, KUNST i WARREN 1994).

Mutacje w rejonie FRAXA występują u mężczyzn z częstością 1/1500 urodzeń, u kobiet 1/2500 i stanowią drugą pod względem częstości (po zespole Downa) przyczynę upośledzeń w rozwoju umysłowym występujących w populacjach ludzkich (OBERLE i współaut. 1991).

W rejonie q27–28 chromosomu X są znane jeszcze 2 geny, w których mutacje dynamiczne sekwencji GCC (ich dokładna pozycja w genach

nie jest jeszcze znana) powodują obraz kruche-  
go zespołu chromosomu X. Są to geny (w nawia-  
sie podana jest liczba kopii GCC przy mutacjach  
dynamicznych): *FRAXE* (200–1000) umiejscowio-  
ny około 600 par zasad poza locus *FRAXA* i  
*FRAXF* (300–500), występujący w locus Xq28  
(PARRISH i współaut. 1994). Tylko mutacjom  
dynamicznym w genie *FRAXE* towarzyszy, obok  
zespołu kruchego chromosomu, występowanie

opóźnienia w rozwoju umysłowym; przebieg kli-  
niczny opóźnienia jest znacznie łagodniejszy niż  
w przypadku *FRAXA*. Mutacja dynamiczna  
*FRAXF*, poza zjawiskiem kruszenia się chromo-  
somu, efektu fenotypowego nie wywołuje.

W genach *FRAXE* u osobników zdrowych  
występuje 6–25 kopii GCC, do 200 kopii stano-  
wi stan premutacyjny, a pełna mutacja zacho-  
dzi powyżej 200 powtórzeń.

#### MIEJSCA KRUCHE W CHROMOSOMACH SOMATYCZNYCH (AUTOSOMACH)

Miejsca kruche w chromosomach występują  
na skutek mutacji w różnych genach i chromo-  
somach (obecnie znanych jest ponad 100 takich  
miejsc) i nie są one powiązane ani z chromoso-  
mem X, ani z objawami klinicznymi. W przypad-  
ku chromosomu 16 został zsekwencjonowany  
fragment DNA w rejonie *FRA16A*. Stwierdzono,  
że i w tym przypadku syndrom kruchego chro-  
mosomu był wywołany przez zwielokrotnienie  
liczby kopii CCG. Podobnie jak w genie *FMR-1*  
ciągi CCG były zlokalizowane w pobliżu miejsc

bogatych w sekwencje CG i sekwencje te były  
zmetylowane, gdy występował zespół kruchego  
chromosomu (NANCARROW i współaut. 1994). W  
allelach genów *FRA16A* nie wykazujących efek-  
tu kruszenia występowało 20 kopii CCG; w  
chromosomach — w których indukowane jest  
kruszenie się chromosomu — 1000–2000 kopii.  
Mutacji dynamicznej *FRA16A*, poza kruszeniem  
się chromosomu wywołanym *in vitro*, nie towa-  
rzą żadne zmiany fenotypowe.

#### MUTACJE ZWIĄZANE Z AMPLIFIKACJĄ SEKWENCJI CTG W CZĘŚCI GENU KOPIOWANEGO NA NIE ULEGAJĄCY TRANSLACJI REJON 3'-mRNA

Dotychczas jest znany tylko jeden taki przy-  
padek i dotyczy genu dystrofii miotonicznej.  
Dystrofia miotoniczna występuje z częstością  
1/8000 urodzin, kliniczny obraz jest dość  
zróżnicowany. Dotyczy głównie chorób mięśni-  
owych, przykurczu mięśni, progresywnego osła-  
bienia mięśni, może być też połączona z arytmia  
serca, nienormalną odpowiedzią na glukozę,  
kataraktą, a u mężczyzn powodować przed-  
wczesnełysienie i atrofię jąder (BATES i LEHRACH  
1994). Gen *MD* zlokalizowano na chromosomie  
19, w loci 19q13.3 (MAHADEVAN i współaut.  
1992). Mutacja jest spowodowana powieleniem  
w genie ciągów CTG znajdujących się w nie

ulegającym translacji rejonie 3'-mRNA. Nor-  
malne allele genu mają 5–35 powtórzeń, niesta-  
łe powyżej 35, a allele osobników chorych 100–  
2000 (BROOK i współaut. 1992). Białko kodowa-  
ne przez ten gen ma właściwości kinazy białko-  
wej zależnej od cAMP. Mutacja powoduje  
zmniejszanie się ilości transkrybowanego  
mRNA (FU i współaut. 1992, 1993). Syndrom  
kliniczny może przybierać różne formy pod  
względem ostrości schorzenia. Im wiek osoby z  
ujawniającą się chorobą jest wcześniejszy, tym  
atak choroby ostrzejszy. Schorzenie jest auto-  
somalne, dominujące i przekazywane przez or-  
ganizm matki.

#### MUTACJE DYNAMICZNE W REJONACH GENOW PRZEPISYWANYCH NA CIĄGI POLIGLUTAMINY W KODOWANYCH BIAŁKACH

Poważną grupę schorzeń, których przyczy-  
ną są mutacje dynamiczne, stanowią schorze-  
nia neurodegeneracyjne i neurologiczne, powo-  
dujące zanik mięśni, niedorozwój ruchowo-mo-  
toryczny a także opóźnienia w rozwoju umysł-  
owym i inne objawy kliniczne. Należą do nich:  
choroba Huntingtona, rdzeniowo-opuszkowy  
zanik mięśni (spinal and bulbar muscular  
atrophy, SBMA) zwany też chorobą Kennediego,  
ataksja rdzeniowo-mózdkowa typ 1 (SCA1),  
dentatorubral-pallidoluisian atrofia (DRPLA) jej

odmiana Haw River Syndrom oraz choroba Ma-  
chado-Joseph. Wspólną cechą obejmującą tę  
grupę mutacji jest to, że są one spowodowane  
powielaniem sekwencji CAG w części genu ule-  
gającej translacji w rejonie 5'-mRNA. Ponieważ  
CAG koduje glutaminę, w kodowanym białku  
pojawiają się ciągi glutaminy. Schorzenia te  
ujawniają się w różnym okresie życia. Istnieje  
ściśła zależność między liczbą powielanych ko-  
pii CAG a wiekiem osoby, w którym się schorze-  
nie ujawnia a ostrością jego przebiegu. Z wyją-  
t-

kiem choroby Kennedyego, która jest związana z chromosomem X i jest cechą recesywną, pozostałe mutacje znajdują się na chromosomach

autosomalnych i są cechami dominującymi. Wszystkie przekazywane są przez organizm ojca.

#### CHOROBA HUNTINGTONA

Choroba ta jest znana też jako płasawica Huntingtona. Gen, którego dynamiczne mutacje są przyczyną choroby Huntingtona jest zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 4 w miejscu p16. 3. Na podstawie trzech publikacji, które obejmują łącznie analizę 905 genów ludzi zdrowych i 1225 chorych można stwierdzić, że w normalnych allelach sekwencja CAG występuje w liczbie 9–34 powtórzeń; w stanie promutacyjnym 30–38, i 37–121 w genach chorych (DUYAO i współaut. 1993, SNELL i współaut. 1993, ANDREW i współaut. 1993). Ekspansja ciągów CAG jest połączona z zawansowanym wiekiem ojca (GOLDBERG i współaut. 1993).

Choroba Huntingtona powoduje zaburzenia neurodegeneratywne, płasawicę, demencję i rozpad osobowości. W początkowym okresie pojawia się ona pod postacią zwykle drobnych, nie kontrolowanych ruchów, które stopniowo i nieubłagalnie rozwijają się w postać płasawicy, zwaną też pod nazwą tańca świętego Wita. Choroba ujawnia się w wieku średnim, choć zdarzały się przypadki ujawnienia jej w wieku powyżej

lat 70-ciu, jak i w wieku lat 10-ciu. Przy liczbie kopii (CAG)<sub>47</sub> rozwój choroby u ojca nastąpił w wieku lat trzydziestu, u syna liczba kopii wzrosła do (CAG)<sub>71</sub>, a rozwój choroby nastąpił w wieku lat dziesięciu (RUBINSTEIN i współaut. 1994). Jest to zgodne z zaobserwowaną zależnością; im rozmiar mutacji dynamicznych jest większy, tym wcześniej obserwuje się początek choroby.

Rola białka HD nie jest znana, jest ono jednak niezbędne do utrzymania funkcji komórkowych (house keeping gene). Białko zmutowane ulega ekspresji w mózgu, zwłaszcza w neuronach, występuje też i w innych tkankach (STRONG i współaut. 1993).

Występowanie choroby Huntingtona ma charakter etniczny. Częściej pojawia się we wschodniej Anglii (1 przypadek/10 000), niż w Japonii (1 przypadek/1 000 000) (RUBINSTEIN i współaut. 1994). Przypuszcza się, że białko HD jest czynnikiem transkrypcyjnym i bierze udział w regulacji ekspresji genów (SUZUKI 1994).

#### CHOROBA KENNEDIEGO (SBMA)

Schorzenie to powoduje rdzeniowo-opuszkowy zanik mięśni, jego występowanie jest związane z mutacją dynamiczną zwiększającą liczbę kopii CAG w pierwszym eksonie genu AR, umiejscowionym na chromosomie X w locus Xq12-21 (La SPADA i współaut. 1991). Gen AR koduje białko receptorowe męskiego hormonu androgeny, wynikiem mutacji jest występowanie zmienionego białka. Receptory androgeny są rozmieszczone w rdzeniu pacierzowym i w opuszkach neuronów motorycznych. Zwiększenie liczby kopii reszt glutaminy w białku AR prowadzi do zmian funkcji regulacyjnych transkrybo-

wanego białka, braku stymulacji neuronów motorycznych przez androgen i do degeneracji komórek (MHATRE i współaut. 1993).

Choroba Kennedyego powoduje drżenie i skurcze mięśni, po czym następuje słabnięcie i zanik mięśni, a także nadmierny rozwój piersi i zaburzenia spermatogenezy. Mutacja występuje z częstością około 1 przypadek /50 000 mężczyzn. Liczba powtórzeń CAG w genie AR wynosi 11–35 u osób zdrowych, a pełna mutacja rozwija się przy 40–62 powtórzeniach (SUTHERLAND i RICHARDS 1993). Im ciąg CAG jest dłuższy, tym wcześniej następuje rozwój schorzenia.

#### ATAKSJA RDZENIOWO-MÓZDŻKOWA — TYP 1

Powoduje neurodegenerację mózdzku, struny rdzeniowej i komórek mózgowych. Białko kodowane przez SCA1 nie jest znane, wiadomo jednak że mRNA jest w tkankach transkrybowane (ORR i współaut. 1993). Miejsce lokalizacji genu SCA1 6p22-23 znajduje się na długim ramieniu chromosomu 6.

Choroba ujawnia się w wieku od 4–70 lat, progresja trwa 10–20 lat. SCA1 typ 1 wykazuje najbardziej widoczne powiązania między liczbą kopii CAG a wiekiem rozwoju choroby. W normalnych genach SCA1 (zdrowi osobnicy) występuje 19–36 ciągów CAG, powyżej 35 występuje niestałość alleliczna, a 43–81 kopii obserwowana

no u osobników chorych (CHUNG i współaut. 1993). Schorzenie występuje rzadko. W ciągach CAG w genach SCA1 u ludzi zdrowych występuje przerwa monotonii. Pozycje 13-tą i 15-tą w kolejnej sekwencji CAG zastępuje CAT (ORR i współaut. 1993, CHUNG i współaut. 1993).

Zlokalizowano jeszcze cztery typy SCA, oznaczone kolejnymi cyframi od SCA2 do SCA5 (SUTHERLAND i RICHARDS 1995). Kliniczne roz-

różnienie między tymi typami nie jest klarowne. Geny zmutowane występują na różnych chromosomach, nie o wszystkich wiadomo, jaki typ mutacji powoduje ataksję rdzeniowo-mózdkową. Być może SCA2 i SCA3 mapujące się odpowiednio w loci 12q23-24 oraz 14q24. 3-32. 1, powstają na skutek mutacji dynamicznych, a schorzenia te są też znane pod inną nazwą.

#### PADACZKA MIOKLONALNA Z PŁASAWICĄ ATETOTYCZNĄ (DRPLA)

Ten typ padaczki jest spotykany głównie w rodzinach japońskich. Schorzenie powoduje degenerację neuronów w systemie centralnego układu nerwowego, epilepsję i demencję. Kliniczny obraz jest często trudny do rozróżnienia od choroby Huntingtona. Gen odpowiedzialny za to schorzenie został zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 12, w miejscu 12p. Produkt i funkcja genu nie jest znana. Wiadomo jest, że gen ulega ekspresji w mózgu. Przypuszcza się, że powtórzenia CAG znajdują się w części genu ulegającym translacji, w rejonie 5'-mRNA. W genie normalnych występuje 7-25 kopii CAG, u pacjentów 49-75. Niższy wiek ujawnienia choroby i ostrość przebiegu są ściśle skorelowane z liczbą kopii CAG. Najmniejszą liczbę kopii (CAG)<sub>54</sub> stwierdzono u pewnej Japonki. Choroba ujawniła się w wieku 57 lat jako nieznaczne upośledzenie chodu i była najłagodniejszym przejawem mutacji dynamicznej (NAGAFUCHI i współaut. 1994, KOIDE i współaut. 1994).

W Stanach Zjednoczonych, w rodzinie amerykańsko-afrykańskiej zamieszkałej w Haw River wykryto amerykańską odmianę DRPL, Haw River Syndrom (MIM 140340). Miejsce występowania genu znajduje się na krótkim ramieniu chromosomu 12, loci 12p-p12. Objawy kliniczne choroby są podobne, ale nie identyczne do ataksji DRPLA (MIM 125370) występujących w rodzinach japońskich (BURKE i współaut. 1994). Syndrom Haw River został przebadany w obrębie jednej rodziny, w pięciu generacjach w 22 osobowej grupie pacjentów. Stwierdzono, że ciąg CAG w genach normalnych występuje w liczbie 3-13 kopii, w genach pacjentów — 63-68 kopii.

Podobne objawy do DRPLA wykryto w rodzinie francuskiej. Przebadano 6 generacji. Allel zmienionych genów zmapowano jednak na chromosomie 14, w loci 14q24. 3-32. 1, w miejscu występowania genu powodującego chorobę Machado-Joseph i SCA3 (CANCEL i współaut. 1994).

#### CHOROBA MACHADO-JOSEPH

Schorzenie zostało wykryte pierwszy raz w w rodzinie portugalskiej zamieszkałej na Azorach, obecnie jest uważane za występujące powszechnie. Zmapowane zostało na chromosomie 14, w loci 14q24.3-32. 1 (KAWAGUCHI i współaut. 1994); w tym samym loci zmapowano gen SCA3. Powoduje ono zaburzenia neurodegeneracyjne, mózdkowo-rdzeniowe, zanik mózdzka, porażenie nerwów obwodowych, pa-

raliz mięśni ocznych. W normalnym genie sekwencje CAG występują w liczbie od 13-41 powtórzeń, u chorych od 62-80. Stwierdzono, że istnieje znaczna odwrotna korelacja między wiekiem osoby z ujawnioną chorobą a długością powtórzeń CAG (GIUNTI i współaut. 1995). Przypuszcza się, że sekwencje CAG ulegają translacji na ciągi glutaminy w kodowanym białku. Rola białka nie jest znana.

#### MECHANIZM POWSTAWANIA MUTACJI DYNAMICZNYCH

Mechanizm powstawania mutacji dynamicznych nie jest dostatecznie poznany. Można przypuszczać, że powielanie sekwencji powtarzających następuje w czasie replikacji poprzez poślizgnięcie się nici aktualnie replikowanej i ponowną replikację nici matrycowej (STRISINGER i współaut. 1966, KUNKEL 1990). Dlaczego taki

błąd nie uległ naprawie i dlatego przy pewnej liczbie kopii trójek nukleotydowych następuje znaczne przyspieszenie w amplifikacji spowolnianego odcinka nie jest do końca wyjaśnione. Istnieje przypuszczenie, że pewną rolę może mieć powstawanie nukleosomowej struktury DNA. Nukleosom bowiem łatwo wytwarza się,

gdy powtórzenia osiągają 250 nukleotydów (WANG i współaut. 1994). Tworzenie nukleosomów może być jednak skutkiem, ale nie przyczyną pojawienia się dużej liczby kopii powtarzających się odcinków. Przypuszcza się, że rozprzestrzenianie się sekwencji powtarzających może być wynikiem wewnętrznej właściwości sekwencji bogatych w G (w tym sekwencji CGG i CAG), łatwości do tworzenia szpilek struktury tetrahelikalnej i hamowania syntezy DNA (FRY i LOEB 1994, GACY i współaut. 1995, USDIN i WOODFORD 1995, SMITH i współaut. 1995). Takie struktury mogłyby ułatwiać powtórzną replikację już raz zreplikowanej nici DNA.

Nie wiadomo też dlaczego w przekazywaniu niektórych mutacji dynamicznych (syndromu FRAXA, dystrofia miotoniczna) udział ma wyłącznie matka a ojciec jest tylko nosicielem, podczas gdy w innych przypadkach sytuacja jest odwrotna. W przypadku syndromu kruchego chromosomu genu *FMR1* przyczyny można byłoby upatrywać w tym, że inaktywacja chromo-

somu X zachodzi tylko w tkankach somatycznych u kobiet, a nie w tkankach somatycznych mężczyzn. Nie ma jednak żadnych przesłanek dla wytłumaczenia, dlaczego niektóre schorzenia są przekazywane przez ojca. Brak jest również danych, czy w rodzinach dotkniętych mutacjami dynamicznymi są uszkodzone funkcje naprawy przeciwdziałające mutacjom dynamicznym. Takie funkcje mogłyby spełniać system naprawy niedopasowanych zasad, który może też usuwać niesparowane trójnukleotydowe pętle, jakie mogą się znajdować wskutek błędu powtórnego kopiowania poza dwuniciową, replikowaną strukturą DNA (UMAR i współaut. 1994).

Lista schorzeń uwarunkowanych mutacjami dynamicznymi z pewnością nie jest pełna (JIANG i współaut. 1995). Przypuszcza się, że mutacje dynamiczne mogą być przyczyną takich chorób psychicznych, jak schizofrenia i psychozy maniakalne (O'DONOVAN i współaut. 1995).

## DYNAMIC MUTATIONS

### Summary

Dynamic mutations arise by a massive expansion of trinucleotide repeats in genes coding for proteins which lead to a number of hereditary diseases in humans. Their nature,

mechanism of formation and clinical consequences are briefly reviewed.

### LITERATURA

- ANDREW S. E., GOLBERG Y. P., KREMER B., TELENUS H., THEILMANN J., ADAM S., STERR E., SQUITNERI F., LIN B., KALCHMAN M. A., GRAHAM R. K., HAYDEN M. R., 1993. *Evidence for a mechanism predisposing intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type 1*. Nature Genetics 4, 398-403.
- BATES G., LEHRAH H. 1994. *Trinucleotide repeat expansions and human genetic disease*. BioEssays 16, 277-284.
- BROOK J. D., MCCURRACH M. E., HARLEY H., BUCLER A. J., CHURCH D., ABURATANI H., HUNTER K., STANTON V. P., THIRION J-P., HUDSON P., SOHN R., ZEMEIMAN B., SNELL R. G., RUNDLE S. A., CROW S., DAVIES J., SHELBOURNE P., BUXTON J., JONES C., JUVONEN V., JOHNSON K., HAPER P. S., SHAW D. J., HOUSMAN D. E., 1992. *Molecular basis of myotonic dystrophy: expansion of a trinucleotide (CTG) repeat at the 3' end of a transcript encoding a protein kinase family member*. Cell 68, 799-808.
- BURKE J. R., WINGFIELD M. S., LEWIS K. E., ROSES A. D., LEE J. E., HULETTE C., PERICAK-VANCE M. A., VANCE J. M., 1994. *The Haw River syndrome: Dentatorubropallidolusian atrophy (DRPLA) in an African-American family*. Nature Genetics 7, 521-524.
- CANCEL G., DURR A., STEVANIN G., CHNEIWEISS H., DUICKAERTS D., SERDARU M., DE TOFFOL B., AGID I., BRICE A. 1994. *Is DRPLA also linked to 14q?* Nature Genetics 6, 8.
- CHUNG M-Y., RANUM L. P. W., DUVICK L. A., SERVADIO A., ZOGHBI H. Y., ORR D., 1993. *Evidence for a mechanism predisposing to intergenerational CAG repeat instability in spinocerebellar ataxia type 1*. Nature Genetics 5, 244-258.
- CRAIG J. M., BICKMORE W. A., 1994. *The distribution of CpG islands in mammalian chromosomes*. Nature Genetics 7, 376-381.
- DEVYS D., LUTZ Y., ROUYER N., BELLOCQ J-P., MANDEL J-L., 1993. *The FMR-1 protein is cytoplasmic, most abundant in neurons and appears normal in carriers of fragile X premutation*. Nature Genetics 4, 335-340.
- DUYAO M., AMBROSE C., MYERS R., NOVELLETO A., PERSICETTI F., FRONTALI M., FOLSTEIN S., ROSS C., FRANZ M., ABBOTT M., GRAY J., CONNEALLY P., YOUNG A., PENNEY J., HOLLINGWORTH Z., SHOULSON I., LAZZARINI A., FALEK A., KOROSHETZ W., SAX D., BIRD E., VONSATTEL J., BONILLA E., ALVIR J., CONDE J. B., CHA J-H., DURE L., GOMEZ F., RAMOS M., SAANCHES-RAMOS J., SNODGRASS S., DE YOUNG M., WEXLER N., MOSCOWITZ C., PENCHASZADEH G., MACFARLANE H., ANDERSON M., JENKINS B., SRINIDHI J., BARNES B., GUSELA J., MACDONALD M., 1993. *Trinucleotide repeat length instability and age of onset in Huntington's disease*. Nature Genetics 4, 387-392.
- EICHLER E. E., KUNST C. B., LUGENBEEL K. A., RYDER O. A. VON., WARREN S.T., NELSON D. L., 1995. *Evolution of the cryptic FMR1 CGG repeat*. Nature Genetics 11, 301-308.
- FRY M., LOEB L. A., 1994. *The fragile X syndrome d(CGG)n nucleotide repeats from a stable tetrahelical structure*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91, 4950-4954.
- FU J. D., FRIEDMAN D., RICHARDS S., PEARMAN J. K., GIBBS R. A., PIZZUTI A., ASHIZAWA T., PERRYMAN M. B., SCARLATO G., FENWICK R. G. JR, CASKEY C. T., 1993. *Decrease expression of myotonin-protein kinase messenger RNA and protein in adult form of myotonic dystrophy*. Science 260, 235-238.

- FU Y-H., KUHL D. P. A., PIZZUTI A., PIERRETI M., SUTCLIFFE J. S., RICHARDS S., VERKERK A. J. M. H., HOLDEN J. J. A., FERRICK R. G., WARREN JR. S. T., OOSTRA B. A., NELSON D. L., CASKEY C. T., 1991. *Variation of the CGG repeat at the fragile X site in genetic instability: Resolution of the Sherman paradox.* Cell 67, 1047-1058.
- FU Y-H., PIZZUTI A., FENWICK R. G. JR., KING J., RAJNARAYAN S., DUNNE P. W., DUBEL J., NASSER G. A., ASHIZAWA T., DE JONG P., WIERINGA B., KORNELUK R., PERRUMAN M. B., EPSTEIN H. F., CASKEY C. T., 1992. *An unstable triple repeat in gene related to myotonic muscular dystrophy.* Science 255, 1256-1258.
- GACY A. M., GOELLNER G., JURANIC M., MACURA S., MCMURRAY C. T., 1995. *Trinucleotide repeats that expand in human disease form hairpin structures in vitro.* Cell 19, 533-540.
- GIUNTI P., SWEENEY M. G., HARDING A. E., 1995. *Detection of the Machado-Joseph disease/spinocerebellar ataxia three trinucleotide repeat expansion in families with autosomal dominant motor disorders, including the Drew family of Watworth.* Brain, 118, 1077-10857.
- GOLDBERG Y. P., KREMER B., ANDREW S. E., THEILMANN J., GRAHAM R. K., SQUITIERI F., TELENUS H., ADAM S., SAJOO A., STAAR E., HEIBERG A., WOLFF G., HAYDEN M. R., 1993. *Molecular analysis of new mutations for Huntington's disease: intermediate alleles and sex origin effects.* Nature Genetics 5, 174-179.
- JIANG J-X., DEPREZ L. R. H., ZWARTHOF E. C., REIGMAN P. H. J., 1995. *Characterization of four novel CAG repeat-containing cDNAs.* Genome 30, 91-93.
- KAWAGUCHI Y., OKAMOTO T., TANIVAKI M., AIZAWA M., INOUE M., KATAYAMA S., KAWAKAMI H., NAKAMURA S., NISHIMURA M., AKIGUCHI I., KIMURA J., NARUMIYA S., KAKIZUKA A., 1994. *CAG expansion in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32. 1.* Nature Genetics 8, 221-228.
- KOIDE R., IKEUCHI T., ONODERA O., TANAKA H., IGARASHI S., ENDO K., TAKAHASHI K., KONDO R., ISHIKAWA A., HAYASHI T., SAITO M., TOMODA A., MIIKE T., NAITO H., IKUTA F., TSUI S., 1994. *Unstable expansion of CAG repeat in hereditary dentatorubral-pallidolusian atrophy (DRPLA).* Nature Genetics 6, 9-3.
- KUNKEL T., 1990. *Misalignment-mediated DNA synthesis errors.* Biochemistry 29, 8003-8011.
- KUNST C. B., WARREN S. T., 1994. *Cryptic and polar variation of the fragile X repeat could result in predisposing normal alleles.* Cell 77, 853-861.
- LA SPADA A. R., WILSON E. M., LUBAHN D. B., HARDING A. E., FISHBECK K. H., 1991. *Androgen receptor gene mutations in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy.* Nature 352, 77-79.
- MAHADEVAN M., TSILFIDIS C., SABOURIN L., SHUTLER G., AMEMIYA CH., JANSEN G., NEVILLE C., NARANG M., BARCELO J., O'HOY K., LEBLOND S., EARLE-MACDONALD J., DE JONG P. J., WIERINGA B., KORNELUK R. G., 1992. *Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene.* Science 255, 1253-1255.
- MHATRE A. N., TRIFIRO M. A., KAUFMAN M., KAZEMI-ESFARIANI P., FIGLEWICZ D., ROULEAU G., PINSKY L., 1993. *Reduced transcriptional regulatory competence of the androgen receptor in X-linked spinal and bulbar muscular atrophy.* Nature Genetics 5, 185-88.
- NAGAFUCHI S., YANAGISAWA H., SATO K., SHIRAYAMA T., OHSAKI E., BUNDO M., TAKEDA T., TADOKORO K., KONDO I., MURAYAMA N., TANAKA Y., KIKUSHIMA H., UMINO K., KUROSAWA K., FURUKAWA T., NIHEI K., INOUE T., SANO A., KOMURE O., TAKAHASHI M., YOSHIZAWA T., KNAZAWA I., YAMADA M., 1994. *Dentatorubral pallidolusian atrophy expansion of an unstable CAG trinucleotide on chromosome 12p.* Nature Genetics 6, 14-8.
- NANCARROW J. K., KREMER E., HOLMAN K., EYRE H., DOGGETT N. A., LE PASLIER D., CALLEN D. F., SUTHERLAND G. R., RICHARDS R. I., 1994. *Implication of FRA16A structure for the mechanism of chromosomal fragile site genesis.* Science, 264, 1938-941.
- OBERLE I., ROUSSEAU F., HEITZ D., KRETZ C., DEVYS D., HANAUER A., BOUE J., BERETHEAS M. F., MANDEL J. L., 1991. *Instability of a 55-base pair segment and abnormal methylation in fragile X syndrome.* Science 252, 1092-102.
- O'DONOVAN M. C., GUY C., CRADDOCK N., MURPHY K. C., CARDNO A. G., JONES L. A., OWEN M. J., MCGUFFIN P., 1995. *Expanded CAG repeats in schizophrenia and bipolar disorder.* Nature Genetics 10, 380-81.
- ORR H. T., CHUNG M-Y., BANFI S., KWIATKOWSKI T. J. JR., SERVADIO A., BEAUDET A. L., MCCALL A. E., DUVICK L. A., RANUM L. P. W., ZOGHBI H. Y., 1993. *Expansion of an unstable trinucleotide (CAG) repeat that is expanded in spinocerebellar ataxia type 1.* Nature Genetics 4, 221-26.
- PARRISH J. E., OOSTRA B. A., VERKERK A. J. M. H., RICHARDS C. S., REYNOLDS J., SPIKES A. S., SHAFFER L. G., NELSON D. L., 1994. *Isolation of GCC repeat showing expansion FRAXF, a fragile site distal to FRAXA and FRAXE.* Nature Genetics 8, 229-35.
- RUBINSTEIN D. C., AMOS W., LEGO J., GOODBURN S., RAMESAR R. S., OLD J., BONTROP R., McMAHON R., BARTON D. E., FERGUSON-SMITH M. A., 1994. *Mutational bias provides a model for the evolution of Huntington's disease and predicts a general increase in disease prevalence.* Nature Genetics 7, 525-30.
- SIOMI H., SIOMI M. C., NUSSBAUM R. L., DREIFUSS G., 1993. *The protein product of the fragile X gene, FMRI, has characteristics of an RNA binding protein.* Cell 74, 291-98.
- SMITH K. G., JIE J. J., FOX G. E., GAO X., 1995. *DNA CTG triplet repeats involved in dynamic mutations of neurologically related gene sequences form stable duplexes.* Nucleic Acids Res. 23, 4303-311.
- SNELL R. G., MCMILLAN J. C., CHEADLE J. P., FENTON I., LAZAROU L. P., DAVIES P., MACDONALD M. E., GUSELA J. F., HARPER P. S., SHAW D. J., 1993. *Relationship between trinucleotide repeat expansion and phenotypic variation in Huntington's disease.* Nature Genetics 4, 393-97.
- STREISINGER G., OKADA Y., EMRICH J., NEWTON J., TSUGITA A., TERZAGHI E., INNOUYE M., 1966. *Frameshift mutations and the genetics code.* Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 31, 77-4.
- STRONG T. V., TAGLE D. A., VALDES J. M., ELMER L. W., BOEHM K., SWAROOP M., KAATZ K. W., COLLINS F. S., ALBIN R. L., 1993. *Widespread expression of the human rat Huntington's disease gene and nonneural tissues.* Nature Genetics 5, 259-65.
- SUTHERLAND G. R., 1977. *Fragile sites on human chromosomes: Demonstration of their dependence on the type of tissue culture medium.* Science 197, 265-66.
- SUTHERLAND G. R., RICHARDS R. I., 1993. *Dynamic mutations on the move.* J. Med. Gene., 30, 978-71.
- SUTHERLAND G. R., RICHARDS R. I., 1994. *Dynamic mutations.* American Scientist, 82, 157-63
- SUTHERLAND G. R., RICHARDS R. I., 1995. *Simple tandem DNA and human genetic disease.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 3636-641.
- SUZUKI M., 1994. *A possible new zipper structure and DNA-binding of the Huntington's disease protein.* Proc. Japan Acad. Ser. B 70, 195-99.
- UMAR A., BOYER C., KUNKEL T. A., 1994. *DNA loop repair by human cell extracts.* Science 266, 814-16.
- USDIN K., WOODFORD K. J., 1995. *CCG repeats associated with DNA instability and chromosome fragility form structures that block DNA synthesis in vitro.* Nucleic Acids Res. 23, 4202-209.

- WANG Y-H., AMIRHAERI S., KANG S., WELLS R. D., GRIFFITH J. D., 1994. *Preferential nucleosome assembly at DNA triplet repeats from the myotonic dystrophy gene.* Science 265, 669-71.
- YU S., PRITCHARD M., KREMER E., 1991. *Fragile X genotype characterized by an unstable region of DNA.* Science 252, 1179-181.