

EWA WÓJCIK, ELŻBIETA SMALEC, KAROLINA GÓRAL

*Instytut Bioinżynierii i Hodowli Zwierząt  
Akademia Podlaska  
B. Prusa 14, 08-110 Siedlce  
E-mail: wojcik@ap.siedlce.pl  
esmalec@ap.siedlce.pl  
mala.cz@interia.pl*

## ŁAMLIWE MIEJSCA CHROMOSOMU

Mutacje są źródłem zmienności genetycznej i dlatego są nierozdzielnie związane ze zmianami ewolucyjnymi, obserwowanymi wśród organizmów żywych. Mają one charakter spontaniczny, przypadkowy i bezwarunkowy, i wtedy większość z nich jest niekorzystna dla organizmu. Mutacje mogą powstawać również pod wpływem czynników mutagennych, czyli mogą być indukowane przez człowieka.

Jednym z rodzajów mutacji są aberracje chromosomowe, związane z naruszeniem bu-

dowy chromosomu, wywołujące dziedziczne zmiany cech organizmu. Do tej kategorii należą miejsca łamliwe chromosomu, widoczne jako jego złamania i przerwy (DEBACKER i KOOY 2007).

Łamliwość chromosomów prowadzi do zmienności trudnej do przewidzenia. Może powodować powstawanie wad rozwojowych, wysoką śmiertelność we wczesnym okresie życia, osłabienie żywotności zwierząt (DANIELAK-CZECH i SŁOTA 2004), a także ekspansje nowotworów (OHTA i współaut. 1996).

## MIEJSCA ŁAMLIWE

Termin „łamliwe miejsce” (ang. fragile chromosome site) użył po raz pierwszy Magenis w 1970 r. do opisania powtarzających się złamań na długim ramieniu chromosomu 16 człowieka, segregujących się w mendlewski sposób (patrz DURKIN i GLOVER 2007). W kolejnych latach ujawniono dodatkowe miejsca łamliwe, zlokalizowane w chromosomie Xq28 (Lubs 1969, Giraud i współaut. 1976, Harvey i współaut. 1977, Turner i współaut. 1978; patrz DURKIN i GLOVER 2007). Ekspresję miejsca łamliwego na chromosomie X powiązano z umysłowym upośledzeniem. Uzyskane w przeszłości wyniki badań i odkrycia dotyczące lokalizacji miejsc łamliwych przyczyniły się do ekspansji badań w tej dziedzinie (DURKIN i GLOVER 2007).

Miejsca łamliwe, to miejsca, w których chromosomy wykazują zwiększoną częstość

złamań i przerw (BAL 2006). Są klasyfikowane jako rzadko występujące (SUTHERLAND i RICHARDS 1999, SUTHERLAND 2003) lub pospolite (ZŁOTORYNSKI i współaut. 2003, SCHWARZ i współaut. 2006), w zależności od częstości występowania w populacji. Miejsca łamliwe typu rzadkiego mają charakter dziedziczny i występują w populacji incydentalnie. Z kolei pospolite miejsca łamliwe uznawane są za powszechnie występujące w genomie danego gatunku. Ich liczba może się wahać w szerokim zakresie (ŚWITOŃSKI i współaut. 2006). Badania niestabilności chromosomów wykazały, że zwiększona częstość występowania miejsc łamliwych następuje w określonych i specyficznych warunkach hodowli *in vitro* lub po indukcji określonymi związkami chemicznymi (BAL 2006).

*Loci* łamliwych miejsc określane są literami „FRA”, po których następuje określenie poszczególnego chromosomu i konkretnego łamliwego miejsca na tym chromosomie, oznaczonego kolejną literą. Na przykład FRA-XA odnosi się do łamliwego miejsca A na chromosomie X; jest to rzadkie, wrażliwe na brak kwasu foliowego, łamliwe miejsce związane z syndromem łamliwego chromosomu X (NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE).

Regiony genomu, skłonne do niestabilności i przestawień są przypuszczalnie szkodliwe dla organizmu i podlegają selekcji podczas rozwoju. Fakt, że miejsca łamliwe utrzymują się w genomie organizmów od drożdży do człowieka sugeruje, że mają one do spełnienia ważne funkcje w komórce (ARLT i współaut. 2006). Pełnią ważną rolę w organizacji wyższej struktury chromosomu oraz w procesie replikacji. Łamliwe miejsca są najpóźniej replikowane podczas S-fazy cyklu komórkowego i są sygnałem dla komórki o zakończeniu replikacji. Czynniki kontrolujące cykl komórki monitorują te miejsca blokując wejście w mitozę do momentu, kiedy powielanie tych fragmentów nie zostanie ukończony. Wówczas rola łamliwych miejsc w regulacji cyklu zostaje zakończona i w większości są one destabilizowane poprzez zniszczenie genów kontrolujących cykl (ARLT i współaut. 2006).

Z obserwacji prowadzonych przez GERICKIE (1999) wynika, że wzrost łamliwości chromosomu wiąże się z zaburzeniami zachowań u ludzi. Autor wyjaśnia wspólną teorię, dotyczącą możliwego znaczenia modyfikacji wyższej struktury DNA w koordynacji funkcji genu w ewolucji mózgu i podczas rozwoju. Cytogenetyczne niestabilności, przejawiające się jako łamliwe miejsca chromosomów, miejsca wymiany chromatyd siostrzanych, przemieszczenia, duplikacje, delecje i odwrócenia, prowadzą do zaburzeń zachowania psychicznego, powstawania zmian neurodegeneracyjnych (GERICKIE 2006), a także z zaburzeń procesów rozmnażania i reprodukcji (DANIELAK-CZECH i SŁOTA 2004). Badania cytogenetycznych niestabilności na poziomie chromatyny pozwalają na identyfikację regionu regulującego procesy epigenetyczne (GERICKIE 2006).

Łamliwe miejsca obserwowane w mikroskopie świetlnym jako niezabarwione dziury, przerwy lub silne przewężenia w chromosomach metafazowych, sugerują anormalną strukturę chromatyny. Identyfikacji łamliwych miejsc chromosomu dokonuje się na trzech poziomach organizacji chromatyny:

- badając zdolność DNA pochodzącą od łamliwych miejsc do kształtowania nukleosomów, zasadniczych strukturalnych elementów chromosomów,

- badając układ struktury nukleosomów powyżej łamliwych miejsc i ekspresji łamliwych miejsc w liniach komórek,

- wizualizując łamliwe miejsca w wyższej strukturze chromatyny.

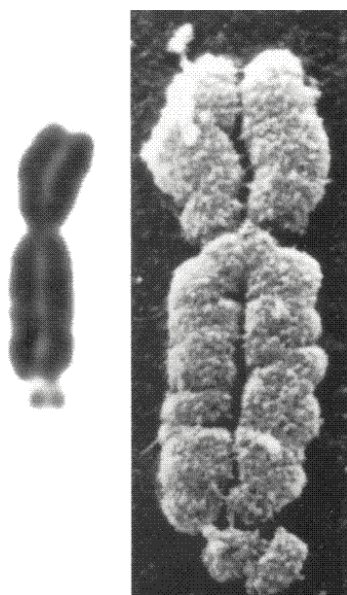
Łamliwe miejsca związane ze strukturą chromatyny odgrywają aktywną rolę w procesach metabolicznych DNA takich jak: replikacja, transkrypcja, naprawa i rekombinacja, które są blisko połączone z niestabilnością łamliwych miejsc (WANG 2006).

Przerwy nie zawsze pojawiają się przypadkowo. Zdarzają się w niewielu specyficznych miejscach na chromosomach, kiedy komórki są najbardziej podatne na uszkodzenia, podczas etapów w cyklu komórkowym, gdy DNA jest kopiowany albo replikowany i komórka rozdziela się na dwie identyczne (siostrzane) komórki (ARBOR 2002). Regiony łamliwych miejsc chromosomu występujące powszechnie i rzadko zawierają pewną ilość genów mikroRNA (miRNA) (CALIN i współaut. 2004). DURKIN i GLOVER (2007), mapując małe niekodujące geny miRNA na regiony chromosomów, zidentyfikowali łamliwe miejsca. Stwierdzili, że ze 186 genów miRNA, jakie rozpatrywali w badaniach, więcej niż połowa mapowanych genów zawierało znane łamliwe miejsca, zarówno typu rzadkiego, jak i występujących powszechnie.

#### MIEJSCA ŁAMLIWE TYPU RZADKIEGO

Rzadkie łamliwe miejsca, które są obserwowane w populacji w mniej niż 5%, segregowane są w mendlowski sposób. Zwiększenie liczby złamań w tych położeniach jest najczęściej spowodowane wzrostem powtórzeń nukleotydowych (DURKIN i GLOVER 2007). Ich występowanie wiąże się zazwyczaj z nagromadzeniem powtórzeń 3-nukleotydowych (często CCG). Mają one charakter dziedziczny. Dziedziczą się jak prosta mendlowska cecha kodominująca (KING i STANSFIELD 2002). U człowieka klasycznym przykładem jest zespół łamliwego chromosomu X, a głównym objawem klinicznym tej choroby jest upośledzenie umysłowe. Jest to najczęściej występująca postać dziedzicznego upośledzenia umysłowego u mężczyzn (Ryc. 1). Dziedziczenie tej choroby sprzężone jest z chromosomem płci X (PASSARGE 2004).

Rzadkie łamliwe miejsca są pogrupowane zgodnie z czynnikami, które wywołują je



Miejsce łamliwe

Ryc. 1. Zespół łamliwego chromosomu X (MEDICINE WORLD 2007).

podczas trwania hodowli tkankowej (DURKIN i GLOVER 2007). Łamliwe miejsca typu rzadkiego ujawniają się w trakcie trwania procesu hodowli limfocytów w medium pozbawionym kwasu foliowego lub z niskim poziomem tymidyny (SUTHERLAND 2003). Główną grupą rzadkich łamliwych miejsc są te, wrażliwe na brak kwasu foliowego (ang. folate sensitive), połączone z rozszerzeniem powtórzeń CGG. Grupa ta obejmuje FRAXA, w genie *FMRI*, który jest odpowiedzialny za zespół łamliwego chromosomu X i FRAXE w genie *FMRI*, odpowiedzialnego za opóźnienie umysłowe. Autosomalne „folate sensitive” łamliwe miejsca w *locus* FRA12A, w genie *DIP2B* także połączone z opóźnieniem umysłowym. Pozostałe rzadkie łamliwe miejsca, obojętne na brak kwasu foliowego (ang. nonfolate sensitive), charakteryzujące się rozprzestrzenionymi powtórzeniami bogatymi w pary AT, są wywoływane przez BrdU (5-bromo-2-deoksyurydyna) albo distamycynę-A. Zawierają one *loci* FRA10B i FRA16B, w których allele z bardzo rozprzestrzenionymi powtórzeniami 42- i 33-bp AT minisatelitarnymi są wyrażane jako łamliwe miejsca (DURKIN i GLOVER 2007). Siedem z wrażliwych na brak kwasu foliowego (FRA10A, FRA11B, FRA12A, FRA16A, FRAXA, FRAXE i FRAXF) i dwa z obojętnych na brak kwasu foliowego (FRA10B i FRA16B) *loci* łamliwych miejsc, zostały scharakteryzowane pod względem molekularnym (LUKUSA i FRYNS 2008). Opóźniona replikacja jest charakterystyczną cechą rzadkich łamliwych miejsc. Po raz pierwszy pokazana została w łamliwym chromosomie X umiejscowionym w genie *FMRI*, a później w *loci*

FRAXE, FRA16B, i FRA10B. Prawdopodobnym wyjaśnieniem opóźnionej replikacji w rzadkich łamliwych miejscach jest ekspansja znalezionych w tych miejscach powtórzeń CGG i AT, mogących tworzyć drugorzędowe struktury, takie jak spinki, które blokują postęp na widelkach replikacyjnych (DURKIN i GLOVER 2007).

#### MIEJSCA ŁAMLIWE TYPU POSPOLITEGO

Pospolite łamliwe miejsca (CFSs), które są obserwowane u wszystkich gatunków ssaków: kotów, psów, świń, koni, krów, jeleni, szczurów, czy myszy stanowią największą klasę łamliwych miejsc (GLOVER i współaut. 2005). W odróżnieniu do rzadkich łamliwych miejsc, CFSs reprezentują składnik normalnej struktury chromosomu i nie są wynikiem powtórzeń nukleotydowych (DURKIN i GLOVER 2007). Uznawane są one za powszechnie występujące w genomie danego gatunku, ale ich liczba może się wahać w szerokim zakresie. Ujawnienie się miejsc łamliwych pospolitych może być skorelowane z kancerogenezą (ŚWITOŃSKI i współaut. 2006).

Miejsca łamliwe występujące powszechnie są zazwyczaj stabilne w komórkach somatycznych. Gdy poddaje się je działaniu inhibitorów replikacji w warunkach hodowlanych, łamliwe miejsca przejawiają różne cechy niestabilności DNA, takie jak: przerwy, złamania, przegrupowania (GLOVER 2006). Afidiokolina (inhibitor polimerazy DNA – APH) lub bromodeoksyurydyna, a także 5-azacytydyna (5-AZA) indukują miejsca łamliwe pospolite (ŚWITOŃSKI i współaut. 2006). Inne inhibitory indukcji, np. hydroksymocznik, są mniej spe-

cyficzne w indukowaniu defektów, zwłaszcza w łamliwych miejscach, prawdopodobnie z powodu różnic w mechanizmach hamowania replikacji (ARLT i współaut. 2003, 2006).

Pospolite miejsca łamliwe, to duże regiony niestabilności genomu, które można znaleźć u wszystkich organizmów. Są one gorącymi miejscami, gdzie następuje reorganizacja chromosomu i często dochodzi do delecji. Pewna liczba tych łamliwych miejsc została znaleziona i obejmuje geny, które są kodowane przez bardzo duże regiony genomu (SMITH i współaut. 2007). Model miejsc CFSS oparty jest na bazie opóźnionej albo wstrzymywanej replikacji, roli w strukturze sekwencji białek, które kontrolują przebieg transkrypcji w stabilności łamliwych miejsc. Sekwencja w łamliwych miejscach stwarza trudności w replikacji, dalej jest wstrzymywana przez afidiokolinę i pewne inne formy obciążające replikację. Niepełna replikacja w tych miejscach może prowadzić do chromosomowych przerw i złamań albo „ekspresji” łamliwych miejsc (ARLT i współaut. 2006, GLOVER 2006, PICHIORRI i współaut. 2008).

Le Beau i współaut. (1984) obserwowali spóźnioną replikację łamliwych miejsc CFSS i jako pierwsi pokazali, że sekwencja w FRA-3B powielana jest bardzo późno i jest dodatkowym wynikiem działania APH, a w rezultacie znacząco opóźnionej replikacji, bo w około 16,5% *locus* FRA3B w stosunku do pozostałych niereplikowanych fragmentów w fazie G2 (patrz DURKIN i GLOVER 2007). Badania nad regulacją replikacji w CFSS, FRA16D i FRA7H, wskazują, że *loci* te mogą także mieć trudności w postępie widełek replikacyjnych. Autorzy opracowali model, w którym regiony CFS inicjują replikację poprawnie, ale są powolne w ukończeniu tego procesu, dlatego w sąsiedztwie miejsc niereplikowanego DNA dochodzi do łamania się chromosomu. Ta spóźniona replikacja w CFSS może, podobnie jak w rzadkich łamliwych miejscach, wynikać z formowania drugorzędowych struktur, które opóźniają postęp widełek replikacyjnych, albo może wynikać z innych czynników, które wpływają na dynamikę replikacji w tych regionach (DURKIN i GLOVER 2007).

W ostatnich latach znacznie wzrosła wiedza o genomowej strukturze CFSS i komórkowych mechanizmach kontrolujących ich stabilność. Badania CFSS pozwoliły na powiązanie czynników transkrypcyjnych komórki i naprawy DNA, z wielorakimi białkami tego cyklu, które uczestniczą w stabilności CFS

(DURKIN i GLOVER 2007, PICHIORRI i współaut. 2008), np:

- ATR – ataksja-telangiectazja i związana z Rad3, kinaza (ARLT i współaut. 2003);

- *BRCA1* – ludzki gen supresorowy znajdujący się na długim ramieniu 17 chromosomu w *locus* 17q21 (MIKI 1994), ekspresja zmutowanego *BRCA1* osłabia kontrolę w punkcie kontrolnym fazy G2/M (LARSON i współaut. 1997);

- CHK1 – (ang. checkpoint kinaze), homolog kinazy cyklu komórkowego u drożdży (ARLT i współaut. 2003);

- *RAD51* – homolog prokariotycznego genu *RecA E. coli*, który jest ulokowany na długim ramieniu (q) na chromosomie 15 (ARLT i współaut. 2006), mutacje w tym genie prowadzą do zwiększenia liczby podwójnych złamań (SHINOHARA i współaut. 1992).

W 2002 r. Glover i współautorzy z Medical School i Howard Hughes Medical Institute odkryli (patrz ARBOR 2002), że białko ATR chroni łamliwe miejsca od złamania podczas replikacji DNA. ATR reguluje sygnały działania kilku ważnych białek w łańcuchu, które kontrolują replikację w komórce. Kiedy replikacja przeciąga się, ATR wysyła chemiczny sygnał „mówiący” komórce o zatrzymaniu replikacji do momentu, gdy zostanie zidentyfikowany problem. Ponadto ARBOR (2002) cytując pracę Casper (2002) podaje, że duży poziom afidiokoliny w komórce bez ATR w warunkach hodowlanych powoduje większą liczbę złamań. Złamania w łamliwych miejscach były od 5. do 10. razy liczniejsze w porównaniu do normalnych komórek. Nieulegające replikacji regiony mogą stymulować w fazie S i/albo G2/M aktywację czynników transkrypcyjnych, w których ATR gra kluczową rolę. Jednak identyfikacja łamliwych miejsc na metafazowych chromosomach sugeruje, że duża liczba tych defektów może umknąć kontroli czynników transkrypcyjnych. Delecje albo translokacje w łamliwych miejscach mogą wynikać z podwójnych złamań nici DNA, spowodowanych uszkodzeniami już osłabionego regionu na pojedynczej nici albo anormalnego procesu łączenia przerw przy uszkodzonych widełkach (GLOVER 2006).

Ekspresja cytogenetyczna CFS ujawnia się w określonych warunkach stresu replikacyjnego. CFSS służą jako „podpisy” w stresie replikacyjnym co w konsekwencji pozwala zrozumieć mechanizm niestabilności genomu w normalnej i nowotworowej komórce (DURKIN i GLOVER 2007).

## ŁAMLIWOŚĆ CHROMOSOMÓW A KANCEROGENEZA

Niestabilność genetyczna, chromosomowa i mikrosatelitarna jest jedną z charakterystycznych cech komórek nowotworowych. W komórkach nowotworowych niestabilność chromosomowa wyraża się nagromadzeniem aberracji strukturalnych i liczbowych chromosomów (SĄSIADK i współaut. 2003). Doniesienia naukowców przedstawiają coraz więcej dowodów na to, że istnieje związek pomiędzy miejscami łamliwymi i chorobą nowotworową. Badacze znajdują złamania i przerwy w chromosomach w komórkach rakowych (SEPPA 1998). Łamliwe miejsca i związane z nimi geny są często tracone lub przegrupowywane w wielu komórkach nowotworowych (GLOVER 2006). Obserwowane delecje w komórkach rakowych biorą się z nieodpowiednich albo wadliwych homologicznych napraw blokowanych widełek i mogą być wzmacniane przez mutacje w punkcie kontrolnym replikacji.

Odkrycie różnych typów naturalnych łamliwych miejsc w chromosomach drożdży i charakterystyka związanych z nimi delecji, duplikacji i translokacji, ujawnia potencjalne mechanizmy łamliwości i wynikającej z niej reorganizacji chromosomu. Zrozumienie mechanizmu zapewni wgląd w powstawanie nowotworu. Delecje oraz reorganizacja w łamliwych miejscach typu CFSS i powiązane geny supresorowe są pierwotnymi efektami wogenezie nowotworów (FREUDENREICH 2007). DURKIN i GLOVER (2007) w komórkach hodowanych *in vitro* stwierdzili, że CFSS są gorącymi miejscami dla przerw i złamań w chromosomach metafazowych i powodują reorganizację chromosomu. Bazując na tej charakterystyce oraz związku CFSS i punktów złamań w zespolonych chromosomach, pewna ilość wcześniejszych prac sugeruje, że CFSS mogą być odpowiedzialne za niektóre reorganizacje chromosomów zaobserwowane w nowotworach. Jednakże ich prawdziwe biologiczne znaczenie i udział w reorganizacji chromosomu w nowotworach komórki nie były jasne, dopóki nie sklonowano pewnej ilości CFSS. Chociaż CFSS nie są zaangażowane w często powtarzającą się translokację w raku

i białaczce, liczne badania pokazały, że CFSS są miejscami częstych delecji i innych chromosomowych reorganizacji w komórkach guzów.

W przeciwieństwie do normalnych komórek, badania wskazują, że łamliwe miejsca są identyfikowane z częstymi złamaniami i przestawieniami w komórkach rakowych (MATSUYAMA i współaut. 2004). Większość badań skupiało się na sekwencjach FRA3B/FHIT (ang. fragile histidine triad) i FRA16D/WWOX (ang. WW domain-containing oxidoreductase), ponieważ są one dwoma najczęściej ulegającymi ekspresji i najbardziej charakterystycznymi łamliwymi miejscami i obydwa leżą w obrębie licznych genów supresorowych (MATSUYAMA i współaut. 2004, ARLT i współaut. 2006, KUROKI i współaut. 2006, PICHIORRI i współaut. 2008). FRA3B często wykazuje utratę alleli albo homozygotyczne delecje w wielu typach nowotworów, np. zlokalizowanych w płucach, przewodzie pokarmowym, nerce czy klatce piersiowej (ARLT i współaut. 2006).

ATR reguluje sygnały działania kilku różnych ważnych białek, kontrolujących replikację w komórce (ARBOR 2002). Komórki z białkiem BRCA1 mają dużą liczbę miejsc wykazujących niestabilności chromosomowe (VENKITARAMAN 2002). Mutacje w genie *BRCA1* powiększają m.in. ryzyko raka piersi (NAROD i współaut. 2000).

Łamliwe miejsca, defekty w replikacji DNA lub dysfunkcja telomeru mogą pobudzać amplifikację genów w nowotworach (ALBERTSON 2006). Sekwencje telomerów mogą wpływać na aberracje chromosomowe (BOUFFLER 1998). Dowiedziono, iż struktura telomeru ma znaczenie w regulowaniu stabilności genomu, starzeniu się komórki i powstawaniu nowotworów (DELANY i współaut. 2003). Identyfikacja łamliwych miejsc jest drogą do wyjaśnienia mechanizmu kancerogenezy, ponieważ łamliwość w określonych miejscach chromosomu może być przyczyną tworzenia się nowotworu (TAI i współaut. 1998, SCHWARZ i współaut. 2006).

## ZACHOWANIE W EWOLUCJI

Znajdowane łamliwe miejsca u ludzi, naczelnych, myszy, a nawet drożdży skłoniło Glovera (2002) (patrz ARBOR 2002) do zada-

nia retorycznego pytania: „Skoro są to okolice DNA skłonne do złamań i trudne do replikacji, to dlaczego zachowywały się one

w ewolucji przez miliony lat? Ewolucja powinna zablokować je dawno, jeżeli nie było ważnego powodu, aby utrzymywać je. W tym wypadku, tylko możemy domyślać się powodów” (ARBOR 2002).

Pewne regiony na chromosomie w ludzkim genomie były niejednokrotnie używane w ewolucji. W konsekwencji, genom jest kompozycją łamliwych miejsc skłonnych do reorganizacji, która zachowywała w liniach ewolucji, obszary genomu nieprzedstawiające tych samych poziomów ewolucji (RUIZ-HERRERA i współaut. 2006). Prawdopodobieństwo złamań w poszczególnych regionach jest skorelowane z homologicznym regionem w innym organizmie (HINSCH i HANNENHALLI 2006). Łamliwe miejsca zachowują konserwatywny ewolucyjny, począwszy od niższych eukariontów poprzez wszystkie grupy kręgowców (ARLT i współaut. 2006). Autorzy, prowadząc badania porównawcze na drożdżach *Saccharomyces cerevisiae* i ssakach, analizowali grupę drożdży ze zmutanym genem *MEC1*, wrażliwych na temperaturę, u których obserwowali podwójne złamania (DSBs) w specyficznych regionach genu z powoli postępującą replikacją widełek, która była nazwana powolnym rejonem replikacji (ang. replication slow zones – RSZs). *MEC1* jest ortologiem ATR, który odpowiada za utrzymanie stabilności w CFSs w komórkach ssaków. Ta obserwacja pozwoliła postawić hipotezę, że RSZs u drożdży są analogiczne w zachowaniu do CFSs u *Metazoa* (DURKIN i GLOVER 2007).

Konserwatywny genetyczny można rozpatrywać pod względem występowania u różnych gatunków podobieństw w układach grup genów syntenicznych lub sprzężonych albo w strukturze molekularnej analogicznych genów lub anonimowych sekwencji nukleotydowych (STRANZINGER 1990, STRANZINGER HEDIGER 1990). Wykazano, że grupy genów, które są sprzężone lub synteniczne u jednego gatunku, pozostają w takich samych zależnościach u innych gatunków nawet znacznie oddalonych taksonomicznie (WOMACK i MOLL 1986, THREADGILL i WOMACK 1991).

Rekombinacje między retrotransposonami, szczególnie w obrębie elementów „Ty”

(elementy retrowiralne u drożdży), są źródłem reorganizacji genomu, włączając delecje, translokacje i inwersje. Elementy te uporządkowane w konfiguracji „head-to-head”, mogą naśladować regiony CFSs, które są preferowanymi miejscami złamań dsDNA w warunkach utrudniających replikację. Poprzez stworzenie odmiany drożdży regulowanych przez galaktozę (ang. galactose-regulatable) ze zredukowanymi poziomami polimerazy, LEMOINE i współaut. (2005) pokazali, że translokacje chromosomowe i delecje, prawdopodobnie zmodyfikowane przez homologiczną rekombinację (HR), często występują między elementami „Ty”. ADMIRE i współaut. (2006), badając regiony chromosomów obejmujące powtarzalne geny tRNA, w których często dochodzi do opóźnienia w widełkach replikacyjnych, stwierdzili, że miejsca, w których dochodzi do złamań i translokacji chromosomowych, są szczególnie podatne na stres replikacji. A zatem, obydwa genomy, zarówno ssaków jak i drożdży, przedstawiają *loci* wrażliwe na utrudnienia replikacji. Chociaż rozmiar i podział wskazuje bardziej prostą budowę niestabilnych regionów u drożdży, to mogą funkcjonalnie być analogiczne do CFSs u ssaków i stanowią wyjątkowy model zrozumienia niestabilności CFSs i ich funkcji.

Zachowanie w ewolucji CFSs jest czymś zagadkowym biorąc pod uwagę, że miejsca niestabilności w genomie i reorganizacje przynoszą szkodliwe skutki zdrowotne, a są konserwatywne ewolucyjnie. CFSs utrzymują się we wszystkich gromadach, co sugeruje, że służą one konkretnemu celowi w przetrwaniu ewolucyjnym gatunków. Niestabilność CFS może być skutkiem wyższej struktury chromosomu albo regulacji transkrypcji w powiązanych genach. Z drugiej strony, inną intrygującą możliwością jest fakt, że łamliwość tych miejsc służy jako wartościowa biologiczna funkcja, ponieważ CFSs są późno replikowane służą jako sygnał terminalizacji replikacji w komórce. Punkty kontrolne w cyklu komórkowym mogą monitorować te tereny i blokować wejście w fazę mitozy zanim ich replikacja będzie kompletna (DURKIN i GLOVER 2007).

#### PODSUMOWANIE

Niestabilne regiony genomu mogą odgrywać istotną rolę w procesach powstawania defektów genowych i chromosomowych u

zwierząt i ludzi. Łamliwe miejsca na chromosomach możemy spotkać u wszystkich organizmów. Są to miejsca w chromosomach, któ-

re wykazują tendencję do złamań i przerw w specyficznych warunkach hodowli komórek, a także po indukcji związkami chemicznymi. Niestabilności te mogą być przyczyną nieodpowiedniej ekspresji genów determinujących cechy związane z reprodukcją. Mogą powodować powstawanie wad rozwojowych, wysoką śmiertelność we wczesnym okresie ży-

cia, osłabienie żywotności zwierząt, a także ekspansje nowotworów. Stanowią przedmiot badań cytogenetycznych w diagnozowaniu wad genetycznych. Identyfikacja osobników obciążonych wadami genetycznymi jest cennym narzędziem selekcyjnym w ocenie zdrowotności populacji.

## CHROMOSOME FRAGILE SITES

### Summary

Fragile sites on chromosomes are the sites which exhibit tendency towards breaks and gaps under specific conditions of *in vitro* cultured cells, and after induction with chemical agents. They are categorised as either rare and common. Fragile sites are evolutionary conserved. They are observed in all organisms and play a significant role as far as an occurrence of gene and chromosome disorders in animals and humans is concerned, thus constituting instable regions of the genome. The instabilities may

initiate inappropriate expression of genes determining various characteristics. They may give rise to developmental disorders, high mortality at an early stage of life, poorer animal liveability and reproduction as well as tumour expansions. Fragile sites constitute a subject of cytogenetic studies in diagnosing genetic disorders. They can also serve as a selection tool in an assessment of health, and identification of individuals with genetic disorders.

### LITERATURA

- ADMIRE A., SHANKS L., DANZL N., WANG M., WEIER U., STEVENS W., HUNT E., WEINERT T., 2006. *Cycles of chromosome instability are associated with a fragile site and are increased by defects in DNA replication and checkpoint controls in yeast*. Genes Dev. 20, 159-173.
- ALBERTSON D., 2006. *Gene amplification in cancer*. Trends Genet. 22, 447-455.
- ARBOR A., 2002. *Checkpoint protein blocks chromosome breaks at fragile sites*. [http://www.eurekalert.org/pub\\_releases/2002-12/uomh-cpb120902.php](http://www.eurekalert.org/pub_releases/2002-12/uomh-cpb120902.php).
- ARLT M. F., CASPER A. M., GLOVER T. W., 2003. *Common fragile sites*. Cytogenet. Genome Res. 100, 92-100.
- ARLT M. F., DURKIN S. G., RAGLAND R. L., GLOVER T. W., 2006. *Common fragile sites as targets for chromosome rearrangements*. DNA Repair 5, 1126-1135.
- BAL J., 2006. *Biologia molekularna w medycynie*. PWN, Warszawa.
- BOUFFLER S. D., 1998. *Involvement of telomeric sequences in chromosomal aberrations*. Mutat. Res. 404, 199-204.
- CALIN G. A., SEVIGNANI C., DUMITRU C. D., HYSLOP T., NOCH E., YENDAMURI S., SHIMIZU M., RATTAN S., BULLRICH F., NEGRINI M., CROCE C. M., 2004. *Human micro RNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101, 2999-3004.
- DANIELAK-CZECH B., SŁOTA E., 2004. *Mutagen-induced chromosome instability in farm animals*. J. Anim. Feed Sci. 13, 257-267.
- DEBACKER K., KOOY R. F., 2007. *Fragile sites and human disease*. Hum. Mol. Genet. 2, R150-158.
- DELANY M. E., DANIELS L. M., SWANBERG S. E., TAYLOR H. A., 2003. *Telomeres in the Chicken: Genome Stability and Chromosome Ends*. Poult. Sci. 82, 917-926.
- DURKIN S. G., GLOVER T. W., 2007. *Chromosome Fragile Sites*. Annu. Rev. Genet. 41, 169-192.
- FREUDENREICH C. H., 2007. *Chromosome fragility: molecular mechanisms and cellular consequences*. Front. Biosci. 12, 4911-4924.
- GERICKE G. S., 1999. *Chromosomal fragility may be indicative of altered higher-order DNA organization as the underlying genetic diathesis in complex neurobehavioural disorders*. Med. Hypotheses 52, 201-208.
- GERICKE G. S., 2006. *Chromosomal fragility structural rearrangements and mobile element activity may reflect dynamic epigenetic mechanisms of importance in neurobehavioural genetics*. Med. Hypotheses 66, 276-285.
- GLOVER T. W., 2006. *Common fragile sites*. Cancer Lett. 232, 4-12.
- GLOVER T. W., ARLT M. F., CASPER A. M., DURKIN S. G., 2005. *Mechanisms of common fragile site instability*. Hum. Mol. Genet. 14, R197-R205.
- HINSCH H., HANNENHALLI S., 2006. *Recurring genomic breaks in independent lineages support genomic fragility*. BMC Evol. Biol. 6, 90.
- KING R. C., STANSFIELD W. D., 2002. *Słownik terminów biologicznych*. PAN, Poznań.
- KUROKI T., TAJIMA Y., FURUI J., KANEMATSU T., 2006. *Common fragile genes and digestive tract cancers*. Surg. Today 36, 1-5.
- LARSON J. S., TONKINSON J. L., LAI M. T., 1997. *A BRCA1 mutant alters G2-M cell cycle control in human mammary epithelial cells*. Cancer Res. 57, 3351-3355.
- LEMOINE F. J., DEGTYAREVA N. P., LOBACHEV K., PETES T. D., 2005. *Chromosomal translocations in yeast induced by low levels of DNA polymerase a model for chromosome fragile sites*. Cell 120, 587-598.
- LUKUSA T., FRYNS J. P., 2008. *Human chromosome fragility*. Biochim. Biophys. Acta 1779, 3-16.
- MATSUYAMA A., SHIRAIISHI T., TRAPASSO F., KUROKI T., ALDER H., MORI M., HUEBNER K., CROCE C. M., 2003. *Fragile site orthologs FHIT\_FRA3B and Fhit\_Fra14A2: Evolutionarily conserved but*

- highly recombinogenic*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 14988-14993.
- MATSUYAMA A., CROCE C. M., HUEBNER K., 2004. *Common fragile genes*. J. Histochem. 48, 29-36.
- MEDICINE WORLD, www.medicineworld.org
- MIKI Y., SWENSEN J., SHATTUCK-EIDENS D., FUTREAL P. A., HARSHMAN K., TAVTIGIAN S., LIU Q., COCHRAN C., BENNETT L. M., DING W. i współaut., 1994. *A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene BRCA1*. Science 266, 66-71.
- NAROD S. A., BRUNET J. S., GHADIRIAN P., ROBSON M., HEIMDAL K., NEUHAUSEN S. L., STOPPA-LYONNET D., LERMAN C., PASINI B., DE LOS RIOS P., WEBER B., LYNCH H., 2000. *Hereditary Breast Cancer Clinical Study Group. Tamoxifen and risk of contralateral breast cancer in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: a case-control study*. Lancet 356, 1876-1881.
- NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, www.nlm.nih.gov.
- OHTA M., INOUE H., COTTICELLI M. G., KASTURY K., BAF-FA R., PALAZZO J., SIPRASHVILI Z., MORI M., MCCUE P., DRUCK T., 1996. *The FHIT gene, spanning the chromosome 3p14.2 fragile site and renal carcinoma-associated t(3;8) breakpoint, is abnormal in digestive tract cancers*. Cell 84, 587-597.
- PASSARGE E., 2004. *Genetyka*. PZWŁ, Warszawa.
- PICHIORRI F., ISHII H., OKUMURA H., TRAPASSO F., WANG Y., HUEBNER K. J., 2008. *Molecular parameters of genome instability: Roles of fragile genes at common fragile sites*. J. Cell Biochem. 104, 1525-1533.
- RUIZ-HERRERA A., CASTRESANA J., ROBINSON T. J., 2006. *Is mammalian chromosomal evolution driven by regions of genome fragility?* Genome Biol. 7, R115.
- SĄSIĄDEK M., SCLADE-BARTUSIAK K., STEMBALSKA-KOZŁOWSKA A., BIELAWSKA-POHL A., ŚMIGIEL R., DUŚ D., 2003. *Niestabilność genetyczna w nowotworach. I Niestabilność chromosomowa w nowotworach*. Post. Biol. Kom. 30, 259-272.
- SEPPA N., 1998. *Chromosomal Fragility*. Sci. News 154, 317.
- SCHWARTZ M., ZLOTORYNSKI E., KEREM B., 2006. *The molecular basis of common and rare fragile sites*. Cancer Lett. 232, 13-26.
- SHINOHARA A., OGAWA H., OGAWA T., 1992. *Rad51 protein involved in repair and recombination in S. cerevisiae is a RecA-like protein*. Cell 69, 457-470.
- SMITH D. I., MCAVOY S., ZHU Y., PEREZ D. S., 2007. *Large common fragile site genes and cancer*. Semin Cancer Biol 17, 31-41.
- STRANZINGER G., 1990. *Gene and Chromosome Homologies in Different Species*. [W:] *Genome Analysis in Domestic Animals*. GELDERMANN H., ELLENDORF F. (red.). VCH Verlag Weinheim, 115-134.
- STRANZINGER G.F., HEDIGER R., 1990. *Gene and chromosome homologies in man and other mammals*. [W:] *Advances in Animals Breeding and Genetics Nr. 5, Farm Animals in Biomedical Research*. PLISKA V., STRANZINGER G. (red.). Verlag Paul Parey, Hamburg und Berlin, 17-29.
- SUTHERLAND G. R., 2003. *Rare fragile sites*. Cytogenet. Genome Res. 100, 77-84.
- SUTHERLAND G. R., RICHARDS R. I., 1999. *Human Genetics '99: Trinucleotide Repeats. Fragile Sites-Cytogenetic Similarity with Molecular Diversity*. Am. J. Hum. Gene. 64, 354-359.
- ŚWITOŃSKI M., SŁOTA E., JASZCZAK K., 2006. *Diagnostyka cytogenetyczna zwierząt domowych*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. A. Cieszkowskiego, Poznań.
- TAI J. J., HOU C. D., WANG-WUU S., 1998. *A Confirmation Analysis Method for Identification of Chromosomal Fragile Sites*. Cancer Genet. Cytogenet. 105, 1-5.
- THREADGILL D. W., WAMACH J. E., 1991. *The bovine pancreatic spasmolytic polypeptide gene maps to syntenic group U10: implications for the evolution of the human breast cancer estrogen inducible locus*. J. Hered. 82, 496-498.
- VENKITARAMAN A. R., 2002. *Cancer susceptibility and the functions of BRCA1 and BRCA2*. Cell 108, 171-182.
- WANG Y. H., 2006. *Chromatin structure of human chromosomal fragile sites*. Cancer Lett. 232, 70-78.
- WOMACK J. E., MOLL Y. D., 1986. *Gene map of the cow: conservation of linkage with mouse and man*. J. Hered. 77, 2-7.
- ZLOTORYNSKI E., RAHAT A., SKAUG J., BEN-PORAT N., OZERI E., HERSHBERG R., LEVI A., SCHERER S.W., MARGALIT H., KEREM B., 2003. *Molecular basis for expression of common and rare fragile sites*. Mol. Cell. Biol. 23, 7143-7151.