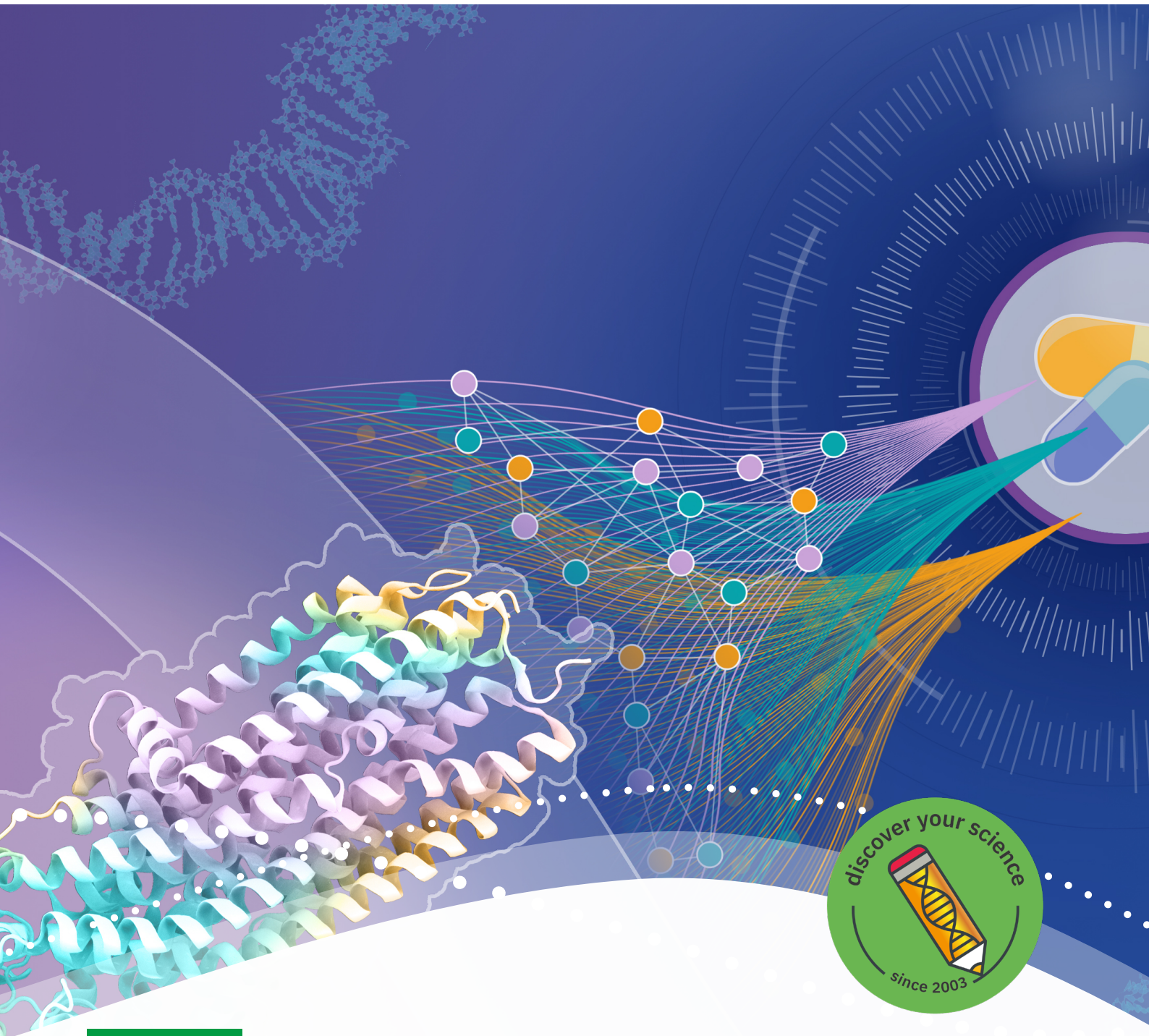


Από το DNA στη Θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



About EMBL

EMBL is Europe's leading laboratory for the life sciences. We are an intergovernmental organisation supported by over 25 member states and operating across six sites in Europe. EMBL performs fundamental research in molecular biology, studying the story of life.

Our research drives the development of new technology and methods in the life sciences, and we work to transfer this knowledge for the benefit of society.

About Science Education and Public Engagement

EMBL's Science Education and Public Engagement (SEPE) office leads and coordinates the institute's science education programmes and public engagement efforts.

Building on EMBL's long history of science education and public engagement, we support EMBL's commitment to sharing and discussing our research with young learners, teachers and diverse audiences.

Our science education activities share the scientific discoveries of EMBL through inspiring teaching and learning experiences with school science teachers and young people of all backgrounds aged between 10 and 19 years.

Our programmes convey complex, cutting-edge topics in life science research in an exciting and insightful way, fostering the discovery of current research trends, the scientific method, and scientific career paths. Our activities are developed and run in close collaboration with EMBL scientists.

Visit our website for further information about EMBL's science education activities: embl.org/about/sepe

Translation disclaimer

All EMBL resources are initially produced in English. However, as an intergovernmental organisation, we aim to best serve all our member countries. Therefore, to make our content as accessible as possible, we warmly welcome translations of our teaching and learning resources into any local language.

Translations of resources are prepared by volunteer translators. While any reasonable efforts are made to provide accurate translations, portions may be incorrect. EMBL does not assume any responsibility or liability for any errors, omissions, or ambiguities in the translations.

The official version of the resource is the English version. If any questions arise related to the accuracy of the information contained in the translated resource, please refer to the English version.

Acknowledgements

We thank Anna Antonacopoulou from Gymnasium of Kalavryta, Antonios Krimitzas from 2nd Pallini Lyceum, Alexandra Ntroumpogianni from 2nd General Lyceum of Rethymno, Antigoni Mixafenti from 2o GEL Neapolis, Katerina Peirounaki from General Lyceum of Lixouri and Georgios Villias from Anaxagoreio High School for translating the resource into Greek. We sincerely appreciate their expertise and commitment to improving the resource accessibility for Greek audiences.

Πίνακας περιεχομένων

Οδηγός εκπαιδευτικού	5
Εισαγωγή.....	6
Επισκόπηση.....	6
Ενημερωτικά φυλλάδια	9
Γονιδιωματική	10
Εξατομικευμένη ιατρική	12
Αλληλούχιση γονιδιώματος	15
Κυστική ίνωση.....	18
Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)	22
Οπτικοποίηση τμημάτων DNA με τη χρήση ηλεκτροφόρησης με πήκτωμα (gel)	24
Ο τροχός των κωδικονίων (γενετικός κώδικας).....	25
Φύλλο εργασίας μαθητή.....	26
Προετοιμασία εκτός τάξης	27
Δραστηριότητα 1	28
Δραστηριότητα 2	29
Δραστηριότητα 3	32
Δραστηριότητα 4	35
Οδηγός για το BLAST και το ClinVar	37
Γλωσσάριο.....	46
Φύλλο απαντήσεων.....	50
Μάθετε περισσότερα.....	57

Οδηγός εκπαιδευτικού

Από το DNA στη θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



Εισαγωγή

Στο διαρκώς εξελισσόμενο τοπίο της έρευνας στις επιστήμες της ζωής, είναι ζωτικής σημασίας να εφοδιάζονται οι μαθητές με τις πιο πρόσφατες γνώσεις και εργαλεία. Ένας σημαντικός τομέας είναι η γονιδιωματική, και ειδικότερα η αλληλούχιση γονιδιωμάτων. Αυτός ο διδακτικός πόρος προσφέρει στους μαθητές μια μοναδική ευκαιρία να εμβαθύνουν σε αυτόν τον τομέα και να κατανοήσουν τη γενετική σύσταση των ατόμων και τις επιπτώσεις της.

Η αλληλούχιση του γονιδιώματος έχει φέρει επανάσταση στον τρόπο με τον οποίο προσεγγίζουμε την υγειονομική περίθαλψη, παρέχοντας απaráμιλλη γνώση της γενετικής βάσης διαφόρων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων γενετικών διαταραχών όπως η κυστική ίνωση (CF). Αποκρυπτογραφώντας τον περίπλοκο κώδικα του DNA ενός ατόμου, οι επιστήμονες μπορούν να προσαρμόσουν τις θεραπείες και τις αγωγές ειδικά στο γενετικό προφίλ του, οδηγώντας σε πιο αποτελεσματικές και εξατομικευμένες παρεμβάσεις υγειονομικής περίθαλψης.

Αυτός ο διδακτικός πόρος που βασίζεται στη χρήση υπολογιστή εστιάζει στην έρευνα της γονιδιωματικής, εμπλέκοντας τους μαθητές σε πρακτική εκμάθηση, ενθαρρύνοντας την κριτική σκέψη και διεγείροντας την περιέργεια για τις δυνατότητες της γονιδιωματικής.

Επισκόπηση

Αυτό το διδακτικό υλικό προορίζεται για χρήση από εκπαιδευτικούς δευτεροβάθμιας εκπαίδευσης με μαθητές ηλικίας 16-19 ετών. Το πακέτο πόρων έχει σχεδιαστεί τόσο για δια ζώσης όσο και για διαδικτυακή μάθηση. Ο πόρος αποτελείται από τέσσερις κύριες δραστηριότητες και μία δραστηριότητα εκτός τάξης – η οποία πρέπει να εκτελεστεί πριν από τη χρήση του υλικού. Ο εκπαιδευτικός μπορεί να αποφασίσει αν και πώς θα εκτελέσει τη δραστηριότητα εκτός τάξης.

Η υλοποίηση και των τεσσάρων δραστηριοτήτων μπορεί να διαρκέσει έως και δύο διδακτικές ώρες (90 λεπτά). Για την ολοκλήρωση των δραστηριοτήτων, οι μαθητές θα πρέπει να έχουν πρόσβαση σε υπολογιστή με σταθερή σύνδεση στο διαδίκτυο. Σημειώστε ότι ο εκπαιδευτικός έχει την ευελιξία να επιλέξει ποιες δραστηριότητες θα υλοποιήσει.

Σημειώστε επίσης ότι ο χρόνος που προτείνουμε για την εκτέλεση των δραστηριοτήτων είναι μια πρόχειρη εκτίμηση και εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από παράγοντες όπως οι προϋπάρχουσες γνώσεις των μαθητών και ο τρόπος που ο εκπαιδευτικός επιλέγει να εφαρμόσει τις δραστηριότητες στην τάξη του.

Σύνδεση με το πρόγραμμα σπουδών

Πρόγραμμα σπουδών	Σύνδεσμοι
A-Level (AQA)	3.4.1, 3.4.2, 3.8.1, 3.8.3, 3.8.4.2, 3.8.4.3
IB Βιολογίας 2025	D.1.2.1, D.1.2.9, D.1.2.11, D.2.2.3
AP Βιολογίας 2020	6.7, 6.8

Προαπαιτούμενες γνώσεις

Για την επιτυχή ολοκλήρωση των δραστηριοτήτων απαιτούνται προηγούμενες γνώσεις σε θέματα όπως το κεντρικό δόγμα, το DNA, τα γονίδια, τα χρωμοσώματα, οι μεταλλάξεις, η δομή και η λειτουργία των πρωτεϊνών και η λειτουργία των οργανιδίων.

Μαθησιακά αποτελέσματα

Οι μαθητές θα μπορούν να:

- Ερμηνεύουν το αποτέλεσμα μιας ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα (gel) που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό τμημάτων DNA.
- Χρησιμοποιούν τα εργαλεία BLAST και ClinVar για τον εντοπισμό συγκεκριμένων μεταλλάξεων.
- Κατανοήσουν τον τρόπο με τον οποίο οι μεταλλάξεις μπορούν να επηρεάσουν τη δομή και τη λειτουργία μιας πρωτεΐνης.
- Προσδιορίζουν εξατομικευμένες θεραπευτικές προσεγγίσεις με βάση διαφορετικές μεταλλάξεις.
- Εκτιμήσουν τον αντίκτυπο της αλληλούχησης του γονιδιώματος στην εξατομικευμένη ιατρική.

Περιεχόμενα του διδακτικού πόρου

Ο πόρος αποτελείται από τον παρόντα Οδηγό εκπαιδευτικού, Φύλλα εργασίας μαθητών, Ενημερωτικά φυλλάδια, έναν Οδηγό και ένα [σύντομο επεξηγηματικό βίντεο](#) για τη χρήση του BLAST και του ClinVar, ένα Γλωσσάριο και ένα Φύλλο απαντήσεων. Αξίζει να σημειωθεί ότι μπορείτε να εξάγετε κάθε ενότητα του πόρου ξεχωριστά και να διανείμετε το σχετικό περιεχόμενο στους μαθητές σας.

Συνιστούμε στους μαθητές να εξοικειωθούν με τα παρεχόμενα ενημερωτικά δελτία, ή τουλάχιστον με το δελτίο για την κυστική ίνωση, το οποίο περιέχει τις πληροφορίες που χρειάζονται για να ολοκληρώσουν τις δραστηριότητες.

Δομή του διδακτικού πόρου

Ο πόρος περιλαμβάνει τέσσερις κύριες δραστηριότητες, οι οποίες συμπληρώνονται από μια πρόταση για μια προπαρασκευαστική δραστηριότητα εκτός τάξης. Δύο βίντεο της ομάδας SEPE που αποτελούν μέρος του πόρου προσφέρουν μια γενική εικόνα της πολυπλοκότητας του γονιδιώματος και του τρόπου με τον οποίο μπορούν να διερευνηθούν οι παραλλαγές του με τη χρήση διαδικτυακών εργαλείων.

Προετοιμασία εκτός τάξης

Πριν από τη διεξαγωγή των δραστηριοτήτων του πόρου στην τάξη, οι μαθητές μπορούν να παρακολουθήσουν το βίντεο του EMBL «[Exploring the genome](#)» (Εξερευνώντας το γονιδίωμα) για να εντρυφήσουν στο θέμα του πόρου. Στη συνέχεια, οι μαθητές μπορούν να παρακολουθήσουν ένα σύντομο βίντεο, να διαβάσουν τις πληροφορίες στα ενημερωτικά φυλλάδια του πόρου και να απαντήσουν σε ορισμένες ερωτήσεις κουίζ για να αξιολογήσουν τι έχουν μάθει μέχρι στιγμής.

Δραστηριότητα 1

Εκτιμώμενος χρόνος που απαιτείται: 15 λεπτά

Στην πρώτη δραστηριότητα, οι μαθητές καλούνται να βοηθήσουν έναν ειδικό στην εξωσωματική γονιμοποίηση (IVF) να ελέγξει τα έμβρυα ως προς τον κίνδυνο κυστικής ίνωσης (CF), αναλύοντας ένα ηλεκτροφορητικό πήκτωμα (gel) αγαρόζης χρησιμοποιώντας τα γενετικά αποτυπώματα DNA (DNA fingerprinting) από διαφορετικά έμβρυα. Εξετάζεται το μεταλλαγμένο γονίδιο CFTR, το οποίο ευθύνεται για την κυστική ίνωση, με ιδιαίτερη έμφαση στη μετάλλαξη delF508.

Δραστηριότητα 2

Εκτιμώμενος χρόνος που απαιτείται: 30 λεπτά

Η δεύτερη δραστηριότητα βάζει τους μαθητές στη θέση ενός γενετικού συμβούλου που ειδικεύεται στις αναπνευστικές και γαστρεντερικές διαταραχές, ο οποίος καλείται να διαγνώσει τρεις ασθενείς με συμπτώματα που υποδηλώνουν κυστική ίνωση, αλλά χωρίς γνωστό οικογενειακό ιστορικό. Για να επιβεβαιώσουν την κυστική ίνωση, οι μαθητές αναλύουν αν οι ασθενείς φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο CFTR χρησιμοποιώντας το BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Για να μάθουν περισσότερα σχετικά με τις επιπτώσεις των μεταλλάξεων σε επίπεδο πρωτεΐνης, οι μαθητές χρησιμοποιούν το εργαλείο ClinVar.

Δραστηριότητα 3

Εκτιμώμενος χρόνος που απαιτείται: 30 λεπτά

Η Δραστηριότητα 3 επικεντρώνεται στην κατανόηση της ταξινόμησης των μεταλλάξεων CFTR που προκαλούν κυστική ίνωση, καθώς κάθε κατηγορία μεταλλάξεων επηρεάζει διαφορετικά την πρωτεΐνη CFTR. Χρησιμοποιώντας τις πληροφορίες που παρέχονται στο ενημερωτικό φυλλάδιο για την κυστική ίνωση (CF), οι μαθητές καλούνται να προσδιορίσουν ποια κατηγορία της μετάλλαξης υπάρχει σε κάθε ασθενή και να εξηγήσουν ποιες κυτταρικές διεργασίες μπορεί να επηρεάζονται.

Δραστηριότητα 4

Εκτιμώμενος χρόνος που απαιτείται: 15 λεπτά

Στη Δραστηριότητα 4, οι μαθητές εφαρμόζουν τις γνώσεις τους σχετικά με τις επιπτώσεις των μεταλλάξεων στην πρωτεΐνη CFTR για να προσδιορίσουν την καταλληλότερη ιατρική θεραπεία για κάθε ασθενή.

Επισήμανση

Για λόγους απλούστευσης, σε όλο το διδακτικό υλικό και τις δραστηριότητες των μαθητών, αναφερόμαστε στις παραλλαγές του γονιδίου CFTR ως μεταλλάξεις. Ωστόσο, στα δύο βίντεο SEPE, που συμπληρώνουν τον πόρο: «Exploring the Genome» και «Exploring Nucleotide Variations Using BLAST and ClinVar», χρησιμοποιείται ο όρος παραλλαγές.



Marietta Schupp/EMBL

Ενημερωτικά φυλλάδια

Από το DNA στη θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



Γονιδιωματική

Η γονιδιωματική είναι ο τομέας της βιολογίας που επικεντρώνεται στη μελέτη της δομής, της λειτουργίας και της εξέλιξης των γονιδιωμάτων. Το γονιδίωμα είναι το πλήρες σύνολο του γενετικού υλικού (DNA ή RNA) ενός οργανισμού. Η γονιδιωματική περιλαμβάνει την ανάλυση της αλληλουχίας, της οργάνωσης και της έκφρασης των γονιδίων μέσα στα γονιδιώματα, ώστε να γίνει κατανοητό πώς τα γονίδια επηρεάζουν διάφορα χαρακτηριστικά και διαδικασίες στους ζωντανούς οργανισμούς. Αυτό περιλαμβάνει τη μελέτη των σχέσεων μεταξύ των γονιδίων και τον εντοπισμό παραλλαγών στις αλληλουχίες του DNA που συμβάλλουν στις διαφορές μεταξύ ατόμων, ειδών και πληθυσμών. Η γονιδιωματική διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο σε τομείς όπως η ιατρική, η γεωργία και η εξελικτική βιολογία.



ΕΙΚΟΝΑ 1: Οι επιμέρους συνιστώσες της γονιδιωματικής.

- 1. Λειτουργική γονιδιωματική:** Η μελέτη του τρόπου λειτουργίας και αλληλεπίδρασης των γονιδίων, με έμφαση στη γονιδιακή έκφραση, τη ρύθμιση και το ρόλο τους στη βιολογία.
- 2. Συγκριτική γονιδιωματική:** Συγκρίνει τα γονίδια διαφορετικών ειδών για την κατανόηση των εξελικτικών σχέσεων, την εύρεση ομοιοτήτων και διαφορών και την ανακάλυψη μοναδικών γονιδίων.
- 3. Δομική γονιδιωματική:** Μελετά τη φυσική δομή του γενετικού υλικού, συμπεριλαμβανομένης της διάταξης των γονιδίων, των μη κωδικοποιητικών περιοχών και των παραλλαγών στη δομή του DNA.
- 4. Μοριακή γονιδιωματική:** Εστιάζει στις λεπτομέρειες των γονιδίων και του DNA, μελετώντας τη δομή τους, τη λειτουργία τους και τον τρόπο με τον οποίο ελέγχονται.
- 5. Γονιδιωματική πληθυσμών:** Μελετά τη γενετική ποικιλομορφία εντός και μεταξύ ομάδων οργανισμών για να κατανοήσει τα πρότυπα ποικιλομορφίας, τον τρόπο εξάπλωσης των γονιδίων και τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζονται από παράγοντες όπως η φυσική επιλογή.

Γονιδιωματική – συνέχεια

6. **Ιατρική γονιδιωματική:** Στοχεύει στην κατανόηση του τρόπου με τον οποίο η γενετική επηρεάζει τη νόσο, στον εντοπισμό γενετικών παραγόντων κινδύνου και στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών και διαγνωστικών μεθόδων για την υγειονομική περίθαλψη.
7. **Γονιδιωματική του καρκίνου:** Διερευνά τις γενετικές αλλαγές που οδηγούν στον καρκίνο, τον τρόπο με τον οποίο οι όγκοι αναπτύσσονται και ανταποκρίνονται στη θεραπεία, καθώς και τη χρήση της γονιδιωματικής ανάλυσης για την καθοδήγηση της διάγνωσης και της θεραπείας.
8. **Επιγονιδιωματική:** Μελετά τις αλλαγές στη γονιδιακή δραστηριότητα που προκαλούνται από παράγοντες διαφορετικούς από την αλληλουχία του DNA, όπως οι χημικές τροποποιήσεις του DNA, οι οποίες μπορούν να επηρεάσουν την κληρονομικότητα και τη λειτουργία των γονιδίων.
9. **Μεταγονιδιωματική:** Μελετά γενετικό υλικό από περιβάλλοντα όπως το έδαφος ή το ανθρώπινο σώμα για την κατανόηση της ποικιλομορφίας και των λειτουργιών των μικροβιακών κοινοτήτων.
10. **Εξελικτική γονιδιωματική:** Μελετά τον τρόπο με τον οποίο τα γονίδια και τα γονιδιώματα αλλάζουν με την πάροδο του χρόνου, συμπεριλαμβανομένων των μηχανισμών της εξέλιξης, όπως η μετάλλαξη και η φυσική επιλογή, για την κατανόηση της ιστορίας και της ποικιλομορφίας της ζωής.

Η γονιδιωματική χρησιμοποιεί μια ποικιλία μεθόδων για τη μελέτη της δομής, της λειτουργίας και των αλληλεπιδράσεων των γονιδιωμάτων, μερικές από τις οποίες παρατίθενται παρακάτω.

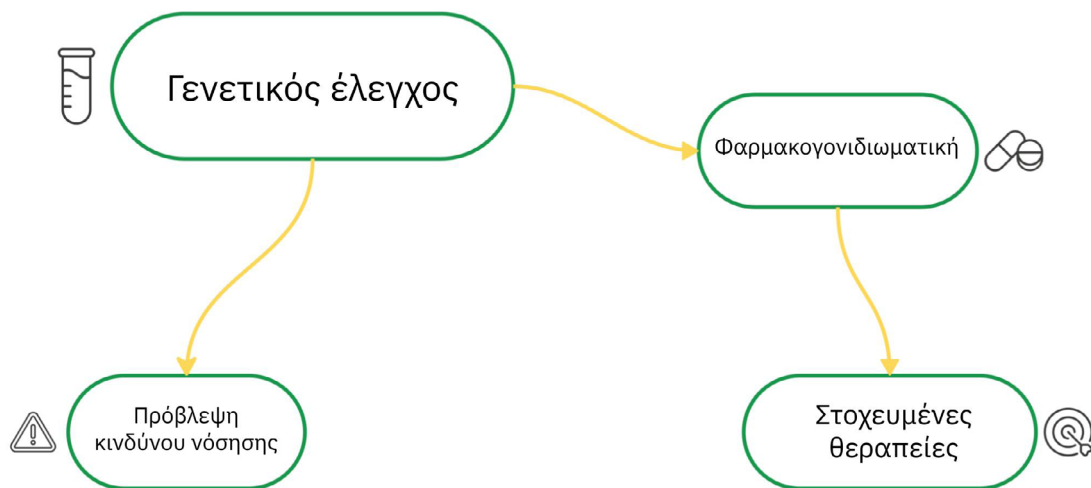
1. **Αλληλούχιση DNA:** Προσδιορίζει την ακριβή σειρά των νουκλεοτιδίων σε ένα μόριο DNA, επιτρέποντας στους ερευνητές να αναλύσουν τη γενετική πληροφορία.
2. **Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR):** Ενισχύει συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA, επιτρέποντας την παραγωγή εκατομμυρίων αντιγράφων μιας περιοχής-στόχου για περαιτέρω ανάλυση.
3. **Μικροσυστοιχίες (DNA chips):** Αυτές επιτρέπουν στους επιστήμονες να εξετάζουν χιλιάδες έως εκατομμύρια κομμάτια DNA ταυτόχρονα σε ένα μόνο πείραμα. Χρησιμοποιώντας ειδικούς ανιχνευτές στο DNA, οι ερευνητές μπορούν εύκολα να εντοπίσουν συγκεκριμένες αλληλουχίες που ταιριάζουν με αυτό που ψάχνουν. Αυτό τους βοηθά να κατανοήσουν πώς τα γονίδια συνεργάζονται μεταξύ τους, τι κάνει κάθε άτομο μοναδικό και πώς αναπτύσσονται οι ασθένειες – όλα αυτά με απίστευτη λεπτομέρεια.
4. **Αλληλούχιση RNA (RNA-seq):** Προσδιορίζει την αλληλουχία και την ποσότητα των μορίων RNA σε ένα δείγμα, παρέχοντας πληροφορίες για την έκφραση και τη ρύθμιση των γονιδίων.
5. **CRISPR-Cas9 genome editing:** Επιτρέπει την ακριβή τροποποίηση αλληλουχιών DNA εντός του γονιδιώματος, διευκολύνοντας τις λειτουργικές μελέτες των γονιδίων και του ρόλου τους στις βιολογικές διαδικασίες.
6. **Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα (gel):** Διαχωρίζει θραύσματα DNA ή RNA ανάλογα με το μέγεθος χρησιμοποιώντας ένα ηλεκτρικό πεδίο, επιτρέποντας στους ερευνητές να απεικονίσουν και να αναλύσουν νουκλεϊκά οξέα.
7. **Βιοπληροφορική ανάλυση:** Χρησιμοποιεί υπολογιστικά εργαλεία και αλγόριθμους για την ανάλυση και ερμηνεία γονιδιωματικών δεδομένων.

Εξατομικευμένη ιατρική

Η εξατομικευμένη ιατρική είναι η δημιουργία ενός σχεδίου υγειονομικής περίθαλψης προσαρμοσμένου σε ένα άτομο, λαμβάνοντας υπόψη τις μοναδικές πτυχές των γονιδίων, του περιβάλλοντος και του τρόπου ζωής του.

Η γονιδιωματική διαδραματίζει κεντρικό ρόλο σε αυτή την προσέγγιση, καθώς περιλαμβάνει την εξέταση των γενετικών πληροφοριών για την ανάπτυξη στρατηγικών θεραπειών προσαρμοσμένων στη μοναδική γενετική σύνθεση και τις ειδικές ιατρικές ανάγκες ενός ατόμου. Αλλά η εξατομικευμένη ιατρική δεν σταματά στη γενετική. Λαμβάνει επίσης υπόψη άλλους σημαντικούς παράγοντες, όπως τον τρόπο με τον οποίο ένα άτομο ανταποκρίνεται στη φαρμακευτική αγωγή, τις διατροφικές του προτιμήσεις, το επίπεδο σωματικής του δραστηριότητας, ακόμη και τους μικροοργανισμούς που ζουν στο σώμα του.

Ο απώτερος στόχος της εξατομικευμένης ιατρικής είναι να δημιουργηθεί ένα σχέδιο υγειονομικής περίθαλψης που να ταιριάζει σε ένα άτομο τόσο τέλεια όσο ένα σχολαστικά προσαρμοσμένο ένδυμα. Προσαρμόζοντας τις θεραπείες στο γενετικό προφίλ και τους παράγοντες του τρόπου ζωής κάθε ατόμου, η εξατομικευμένη ιατρική όχι μόνο βελτιώνει την αποτελεσματικότητα της θεραπείας αλλά και ελαχιστοποιεί τον κίνδυνο ανεπιθύμητων ενεργειών. Αντί να εφαρμόζει γενικευμένα πρωτόκολλα θεραπειών, η εξατομικευμένη ιατρική στοχεύει στην παροχή φροντίδας που είναι τόσο μοναδική όσο το κάθε άτομο, σαν μια λύση κατά παραγγελία σχεδιασμένη ειδικά για την υγεία και την ευημερία του.



ΕΙΚΟΝΑ 1: Η συμβολή της γονιδιωματικής στην εξατομικευμένη ιατρική.

Εξατομικευμένη ιατρική – συνέχεια

Γενετικές εξετάσεις

Αποτελούν το θεμέλιο για την εξατομικευμένη ιατρική, παρέχοντας βασικές γενετικές πληροφορίες για την πρόβλεψη κινδύνου και τη φαρμακογονιδιωματική.

Φαρμακογονιδιωματική

Χρησιμοποιεί γενετικές πληροφορίες από τις γενετικές εξετάσεις για να προβλέψει τον τρόπο με τον οποίο ένας ασθενής θα μεταβολίσει και θα ανταποκριθεί σε διάφορα φάρμακα.

Βοηθά στην ελαχιστοποίηση των προσεγγίσεων δοκιμής και λάθους στην επιλογή φαρμάκων, μειώνοντας τον κίνδυνο ανεπιθύμητων φαρμακευτικών αντιδράσεων και βελτιώνοντας την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα των ασθενών.

Πρόβλεψη κινδύνου νόσησης

Χρησιμοποιούνται γενετικές πληροφορίες για να αξιολογήσει την ευαισθησία ενός ατόμου σε ορισμένες ασθένειες.

Στοχευμένες θεραπείες

Ανάπτυξη θεραπειών που στοχεύουν σε συγκεκριμένα γενετικά χαρακτηριστικά, ώστε οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης να μπορούν να εξατομικεύουν την επιλογή και τη δοσολογία των φαρμάκων για τη βελτιστοποίηση των θεραπευτικών αποτελεσμάτων.

Προσαρμοσμένες θεραπείες

Ας ρίξουμε μια ματιά στη διαδικασία ανάπτυξης εξατομικευμένων φαρμάκων.



ΕΙΚΟΝΑ 2: Στάδια της διαδικασίας ανάπτυξης εξατομικευμένων ιατρικών θεραπειών.

- 1. Γονιδιωματικές πληροφορίες:** Οι γενετικές εξετάσεις χρησιμοποιούνται για την ανεύρεση συγκεκριμένων γενετικών διαφορών που επηρεάζουν τον τρόπο με τον οποίο ένα άτομο ανταποκρίνεται στα φάρμακα.
- 2. Προσδιορισμός στόχου:** Οι ερευνητές εντοπίζουν μόρια, όπως πρωτεΐνες ή ένζυμα, που σχετίζονται με την υπό θεραπεία ασθένεια, τα οποία μπορεί είτε να προκαλούν άμεσα την ασθένεια είτε να συμβάλλουν σε αυτήν μέσω της μη ορθής λειτουργίας.
- 3. Σχεδιασμός και ανάπτυξη φαρμάκων:** Οι επιστήμονες χρησιμοποιούν μοντελοποίηση σε υπολογιστή και χημικές τεχνικές για να σχεδιάσουν φάρμακα που αλληλεπιδρούν με αυτά τα μόρια για τη θεραπεία της νόσου.

Εξατομικευμένη ιατρική – συνέχεια

4. **Κλινικές μελέτες:** Αυτές οι μελέτες μπορεί να περιλαμβάνουν υποομάδες ασθενών με συγκεκριμένα γενετικά ή μοριακά χαρακτηριστικά για να αξιολογηθεί η απόδοση του φαρμάκου σε διαφορετικούς πληθυσμούς. Η διάρκεια των κλινικών μελετών μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με παράγοντες όπως η πολυπλοκότητα της νόσου που μελετάται, η διαθεσιμότητα των συμμετεχόντων, οι απαιτήσεις του ρυθμιστικού πλαισίου και οι ειδικοί στόχοι της μελέτης. Για παράδειγμα, οι μελέτες Φάσης 1 συνήθως διαρκούν μερικούς μήνες έως ένα έτος και επικεντρώνονται στην ασφάλεια, ενώ οι μελέτες Φάσης 3, οι οποίες συγκρίνουν τις νέες θεραπείες με τα υφιστάμενα πρότυπα, μπορεί να διαρκέσουν αρκετά χρόνια.
5. **Ανάπτυξη βιοδεικτών:** Οι βιοδείκτες είναι μετρήσιμοι δείκτες που μπορούν να βοηθήσουν στην πρόβλεψη της ανταπόκρισης ενός ασθενούς σε μια συγκεκριμένη θεραπεία. Παίζουν καθοριστικό ρόλο στον εντοπισμό των ασθενών που είναι πιθανότερο να ωφεληθούν από ένα συγκεκριμένο φάρμακο και στην παρακολούθηση της ανταπόκρισής τους στη θεραπεία με την πάροδο του χρόνου. Στην κυστική ίνωση, για παράδειγμα, η ανάπτυξη βιοδεικτών επικεντρώνεται στον εντοπισμό δεικτών φλεγμονής των πνευμόνων και εξέλιξης της νόσου. Οι ερευνητές αναλύουν δείγματα πτυέλων για να μετρήσουν τα επίπεδα συγκεκριμένων φλεγμονωδών δεικτών που σχετίζονται με τη σοβαρότητα της κυστικής ίνωσης. Με την παρακολούθηση αυτών των βιοδεικτών με την πάροδο του χρόνου, οι κλινικοί γιατροί μπορούν να αξιολογούν τη δραστηριότητα της νόσου και να προσαρμόζουν τα θεραπευτικά σχήματα για τη βελτίωση των αποτελεσμάτων για τα άτομα με κυστική ίνωση.
6. **Συνταγογράφηση ακριβείας:** Οι γιατροί χρησιμοποιούν γενετικές και μοριακές πληροφορίες για να επιλέξουν το καλύτερο φάρμακο και τη βέλτιστη δόση για την αποφυγή παρενεργειών.
7. **Παρακολούθηση και προσαρμογή:** Τα σχέδια θεραπείας μεταβάλλονται με βάση τον τρόπο ανταπόκρισης των ασθενών και τυχόν αλλαγές στο γενετικό τους προφίλ.

Βιβλιογραφικές αναφορές:

- Goetz LH, Schork NJ. Personalized medicine: motivation, challenges, and progress. *Fertil Steril*. 2018 Jun;109(6):952-963. doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.05.006. PMID: 29935653; PMCID: PMC6366451. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6366451/>
- Superchi C, Brion Bouvier F, Gerardi C, Carmona M, San Miguel L, Sánchez-Gómez LM, Imaz-Iglesia I, Garcia P, Demotes J, Banzi R, Porcher R; PERMIT Group. Study designs for clinical trials applied to personalised medicine: a scoping review. *BMJ Open*. 2022 May 6;12(5):e052926. doi: 10.1136/bmjopen-2021-052926. PMID: 35523482; PMCID: PMC9083424. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9083424/>

Αλληλούχιση γονιδιώματος

Η αλληλούχιση του γονιδιώματος είναι η διαδικασία προσδιορισμού της πλήρους αλληλουχίας του DNA (γονιδίωμα) ενός οργανισμού.

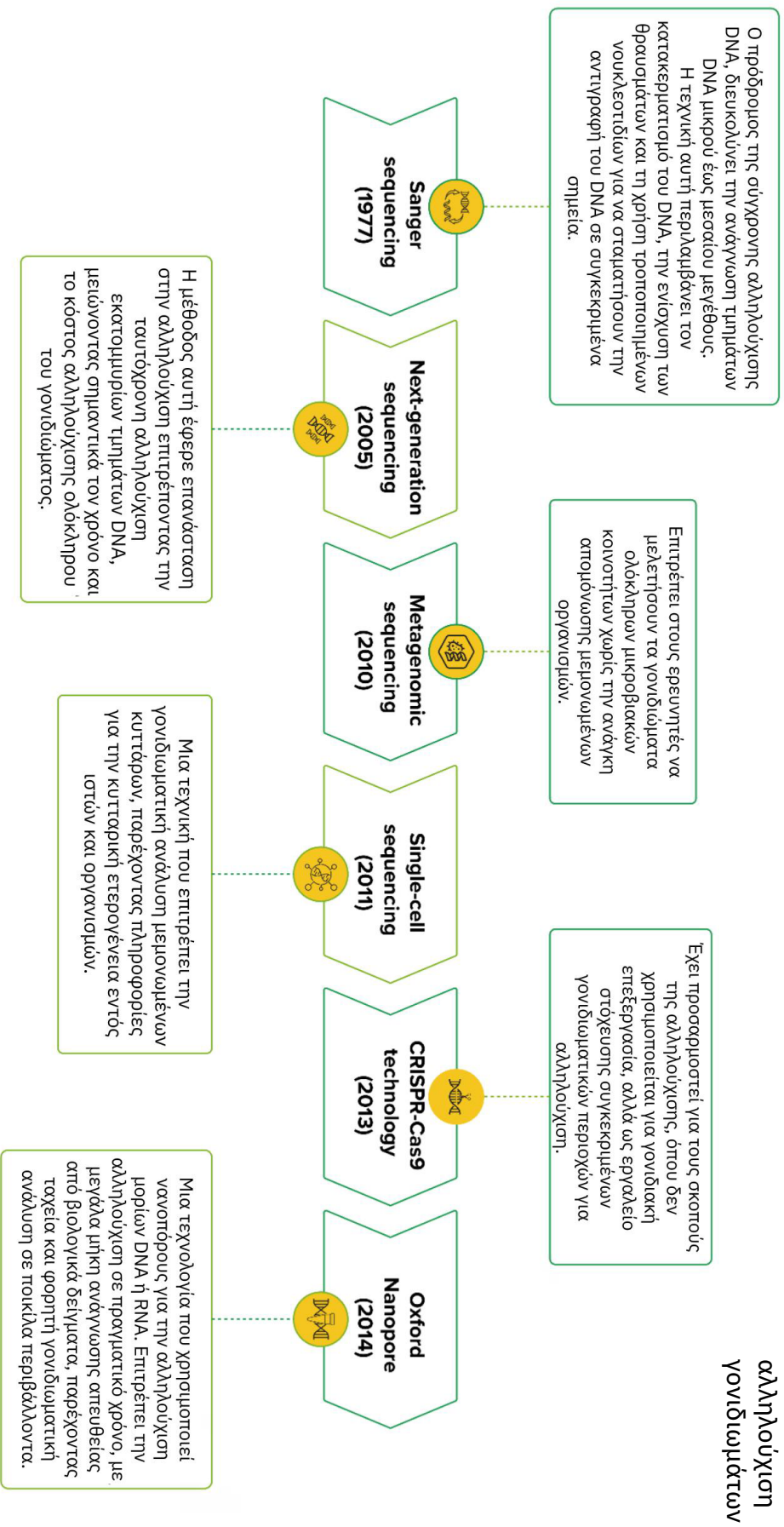
Ακολουθεί ένα γενικό περίγραμμα της διαδικασίας αλληλούχισης του γονιδιώματος:



ΕΙΚΟΝΑ 1: Στάδια της διαδικασίας αλληλούχισης του γονιδιώματος.

- 1. Συλλογή δείγματος:** Η διαδικασία αρχίζει με τη λήψη δείγματος από τον οργανισμό του οποίου το DNA πρόκειται να αλληλουχηθεί. Το δείγμα αυτό μπορεί να ληφθεί από αίμα, σάλιο, ιστό ή οποιαδήποτε άλλη πηγή που περιέχει DNA.
- 2. Εκχύλιση DNA:** Το DNA εξάγεται στη συνέχεια από το δείγμα χρησιμοποιώντας διάφορες βιοχημικές μεθόδους. Στο στάδιο αυτό διαχωρίζεται το DNA από άλλα κυτταρικά συστατικά.
- 3. Προετοιμασία βιβλιοθήκης:** Ακολουθεί η προετοιμασία του εξαχθέντος DNA σε βιβλιοθήκη αλληλούχισης. Αυτό περιλαμβάνει τον κατακερματισμό του DNA σε μικρότερα κομμάτια και την προσάρτηση ειδικών μικρών μορίων DNA που διευκολύνουν την προσκόλληση των τμημάτων DNA στην πλατφόρμα αλληλούχισης. Τα μικρά αυτά μόρια λειτουργούν ως εκκινητές για την ενίσχυση του DNA κατά την αλληλούχιση.
- 4. Αλληλούχιση:** Η παρασκευασμένη βιβλιοθήκη DNA υποβάλλεται στη συνέχεια σε τεχνολογία αλληλούχισης. Υπάρχουν διάφορες διαθέσιμες πλατφόρμες αλληλούχισης, όπως η Illumina, η PacBio και η Oxford Nanopore, η καθεμία με τα δικά της πλεονεκτήματα και περιορισμούς. Κατά την αλληλούχιση, οι βάσεις (A, T, C και G) των μορίων DNA διαβάζονται και καταγράφονται.
- 5. Ανάλυση δεδομένων:** Αφού ολοκληρωθεί η αλληλούχιση, τα δεδομένα που προκύπτουν, συνήθως με τη μορφή μη επεξεργασμένων αλληλουχιών, υποβάλλονται σε βιοπληροφορική ανάλυση. Αυτό περιλαμβάνει την ευθυγράμμιση των αναγνώσεων με ένα γονιδίωμα αναφοράς (εάν είναι διαθέσιμο) ή τη συναρμολόγησή τους de novo σε συνεχόμενες αλληλουχίες (contigs) για την ανακατασκευή της αρχικής αλληλουχίας του γονιδιώματος. Αυτές οι συνεχείς αλληλουχίες DNA αποτελούνται από αλληλεπικαλυπτόμενες αναγνώσεις και χρησιμεύουν ως δομικά στοιχεία για την ανακατασκευή του γονιδιώματος. Αυτό το βήμα περιλαμβάνει τη συναρμολόγηση επικαλυπτόμενων αναγνώσεων για να σχηματίσουν μια πληρέστερη γονιδιωματική εικόνα.
- 6. Ερμηνεία:** Τέλος, η συναρμολογημένη γονιδιωματική αλληλουχία ερμηνεύεται για τον εντοπισμό γονιδίων, ρυθμιστικών στοιχείων, παραλλαγών και άλλων χαρακτηριστικών ενδιαφέροντος. Αυτό το βήμα περιλαμβάνει συχνά τη σύγκριση του αλληλουξημένου γονιδιώματος με γονιδιώματα αναφοράς ή με υπάρχουσες βάσεις δεδομένων για τον χαρακτηρισμό γονιδίων και τον εντοπισμό παραλλαγών.

Αλληλούχιση γονιδιώματος – συνέχεια



ΕΙΚΟΝΑ 2:
Ορόσημα στην
αλληλούχιση
γονιδιωμάτων

Αλληλούχιση γονιδιώματος – συνέχεια

Παρακάτω παρατίθενται βίντεο για να μάθετε περισσότερα σχετικά με επιλεγμένες μεθόδους αλληλούχισης γονιδιώματος.

Επεξήγηση της αλληλούχισης Sanger

Βίντεο: [Sanger DNA Sequencing, From Then to Now.](#)

Επεξήγηση της αλληλούχισης «Επόμενης Γενιάς» (Next-generation)

Βίντεο: [Next Generation Sequencing - A Step-By-Step Guide to DNA Sequencing.](#)

Επεξήγηση της μεταγονιδιωματικής

Βίντεο: [Metagenomics principles and workflow](#)

Επεξήγηση της αλληλούχισης με τη χρήση του Oxford Nanopore

Βίντεο: [Nanopore Sequencing](#)

Βιβλιογραφικές αναφορές:

1. Burian AN, Zhao W, Lo TW, Thurtle-Schmidt DM. Genome sequencing guide: An introductory toolbox to whole-genome analysis methods. *Biochem Mol Biol Educ.* 2021 Sep;49(5):815-825. doi: 10.1002/bmb.21561. Epub 2021 Aug 11. PMID: 34378845; PMCID: PMC9291972. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9291972/>
2. Heather JM, Chain B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics.* 2016 Jan;107(1):1-8. doi: 10.1016/j.ygeno.2015.11.003. Epub 2015 Nov 10. PMID: 26554401; PMCID: PMC4727787. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4727787/>
3. Durmaz AA, Karaca E, Demkow U, Toruner G, Schoumans J, Cogulu O. Evolution of genetic techniques: past, present, and beyond. *Biomed Res Int.* 2015;2015:461524. doi: 10.1155/2015/461524. Epub 2015 Mar 22. PMID: 25874212; PMCID: PMC4385642. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4385642/>

Κυστική ίνωση

Τι είναι η κυστική ίνωση;

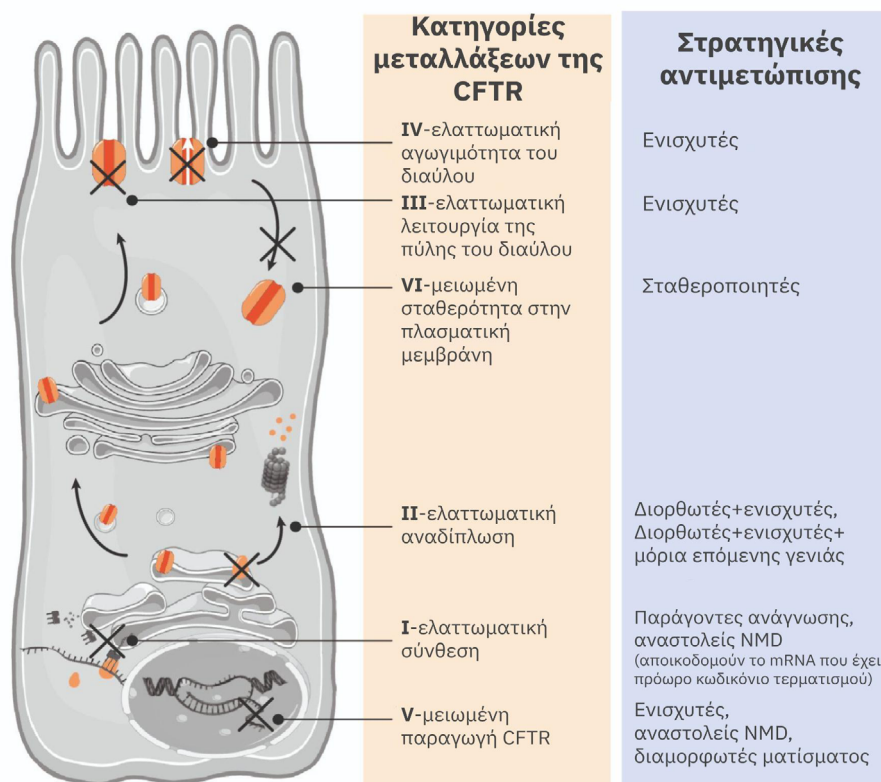
Η κυστική ίνωση (CF) είναι μια γενετική πάθηση που προσβάλλει 1 σε κάθε 2.500-3.500 μωρά που γεννιούνται στην Ευρώπη και τη Βόρεια Αμερική. Η νόσος χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση παχιάς βλέννας, ιδίως στους πνεύμονες και το πεπτικό σύστημα, η οποία μπορεί να προκαλέσει δυσκολίες στην αναπνοή και συχνές αναπνευστικές λοιμώξεις. Τα συμπτώματα αυτά εξελίσσονται σε χρόνια καθώς οι ασθενείς προχωρούν στη ζωή τους, απαιτώντας συνεχή διαχείριση και φροντίδα για την ανακούφισή τους και τη βελτίωση της ποιότητας ζωής.

Τι προκαλεί την κυστική ίνωση;

Η κυστική ίνωση είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη γενετική διαταραχή που εκδηλώνεται μόνο όταν ένα άτομο κληρονομεί δύο αντίγραφα ενός μεταλλαγμένου γονιδίου, ένα από κάθε γονέα. Οι μεταλλάξεις που ευθύνονται για την κυστική ίνωση εμφανίζονται σε μια συγκεκριμένη θέση στο χρωμόσωμα 7, η οποία κωδικοποιεί το γονίδιο του ρυθμιστή της διαμεμβρανικής αγωγιμότητας της κυστικής ίνωσης (*CFTR*). Το γονίδιο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη CFTR, μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη η οποία δρα ως δίαυλος που επιτρέπει στα ιόντα χλωρίου να ρέουν έξω από το κύτταρο. Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR* μπορεί να προκαλέσουν διαταραχές στη σύνθεση, τη δομή και τη λειτουργία της πρωτεΐνης, οδηγώντας σε μείωση της έκκρισης ιόντων χλωρίου και νερού. Ως αποτέλεσμα, παχιά βλέννα συσσωρεύεται στην επιφάνεια των εκκριτικών κυττάρων, προκαλώντας τα συμπτώματα της νόσου που περιγράφονται παραπάνω.

Ποιες μεταλλάξεις του *CFTR* προκαλούν κυστική ίνωση;

Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR* ομαδοποιούνται σε έξι κατηγορίες που αντικατοπτρίζουν τις λειτουργικές τους συνέπειες σε πρωτεϊνικό επίπεδο. Για λόγους απλότητας, ο παρακάτω πίνακας επικεντρώνεται μόνο σε τρεις από αυτές.



ΕΙΚΟΝΑ 1:

Ένα κύτταρο με διαφορετικά μεταλλαγμένες πρωτεΐνες CFTR.

Κυστική ίνωση – συνέχεια

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Κατηγορίες μεταλλάξεων *CFTR* και οι κυτταρικές βλάβες στις οποίες οδηγούν.

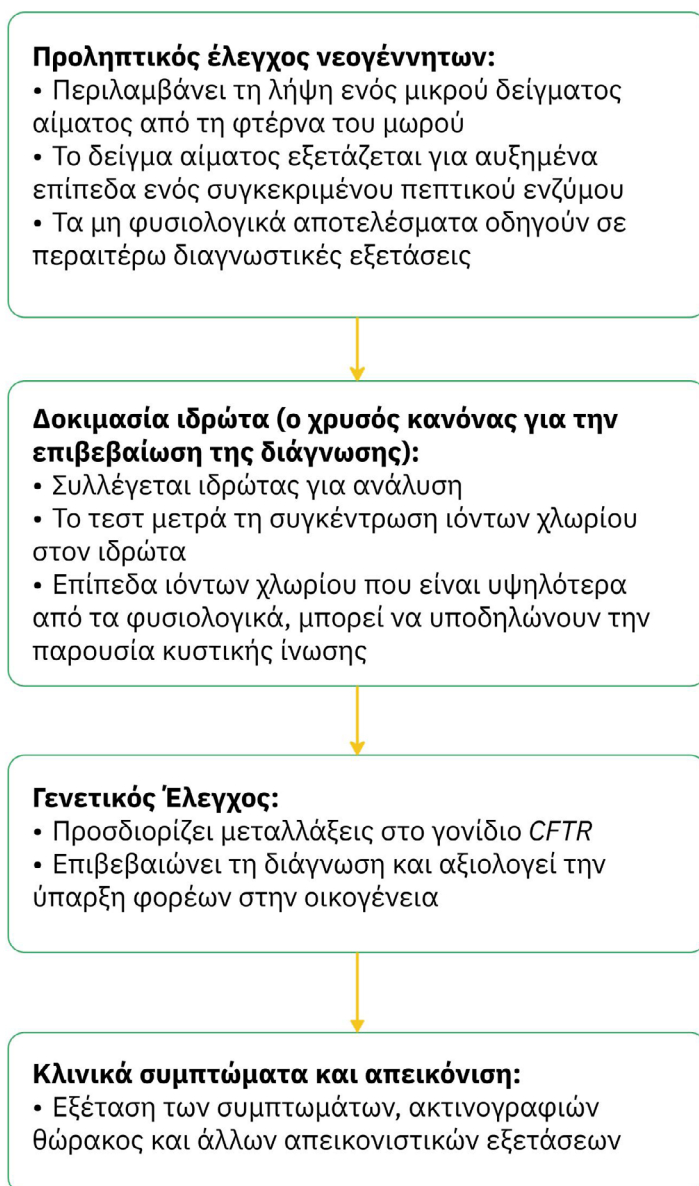
	Κατηγορία I	Κατηγορία II	Κατηγορία III
Παραδείγματα μεταλλάξεων	126995 G>T (G542X) R553X R1162X	192094 C>G (N1303K) F508del I507del	127023 G>A (G551D) G178R G551S
Επίδραση των μεταλλάξεων στο mRNA ή την πρωτεΐνη	Δημιουργεί ένα πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού	Προκαλεί αλλαγή ενός αμινοξέος στην πολυπεπτιδική αλυσίδα	Προκαλεί αλλαγή ενός αμινοξέος στην πολυπεπτιδική αλυσίδα
Κυτταρική βλάβη	Μειωμένη μεταφορά ιόντων χλωρίου έξω από το κύτταρο	Μειωμένη μεταφορά ιόντων χλωρίου έξω από το κύτταρο	Μειωμένη μεταφορά ιόντων χλωρίου έξω από το κύτταρο
Αιτία κυτταρικής βλάβης	Πολύ λίγες έως καθόλου πρωτεΐνες <i>CFTR</i> στην κυτταρική μεμβράνη, επειδή το ριβόσωμα διακόπτει τη μετάφραση όταν συναντά ένα πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού στο mRNA, εμποδίζοντας τη σύνθεση της πρωτεΐνης. Αυτό το πρόωρο κωδικόνιο τερματισμού προσελκύει επίσης ένα σύστημα επιτήρησης που εξαλείφει το <i>CFTR</i> mRNA.	Η πρωτεΐνη <i>CFTR</i> είναι λανθασμένα αναδιπλωμένη και δεν επιτυγχάνεται σταθερότητα δομής στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου τα συστήματα επιτήρησης ανιχνεύουν την ελαττωματική πρωτεΐνη και εμποδίζουν τη μεταφορά της στην κυτταρική μεμβράνη. Σε περίπτωση που οι πρωτεΐνες φτάσουν στην κυτταρική μεμβράνη, δημιουργούνται σοβαρές βλάβες στους διαύλους.	Η πρωτεΐνη <i>CFTR</i> είναι παρούσα στην κυτταρική μεμβράνη, αν και έχει λειτουργικά ελαττώματα στο κανάλι της, επειδή μια αλλαγή αμινοξέος εμποδίζει το κανάλι <i>CFTR</i> να ανοίξει σωστά.

Κυστική ίνωση – συνέχεια

Πώς γίνεται η διάγνωση της κυστικής ίνωσης;

ΕΙΚΟΝΑ 2:

Τα βήματα διάγνωσης της κυστικής ίνωσης.



Πώς αντιμετωπίζεται η κυστική ίνωση;

Μέχρι πρόσφατα, οι θεραπείες για την κυστική ίνωση στόχευαν μόνο στα συμπτώματα της νόσου, αλλά πιο πρόσφατα, σημειώθηκε πρόοδος στην αποκατάσταση της λειτουργίας της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης. Έτσι, υπάρχουν σήμερα θεραπείες για την κυστική ίνωση που χορηγούνται ανάλογα με την κατηγορία της μετάλλαξης. Ορισμένα παραδείγματα παρατίθενται παρακάτω.

Κυστική ίνωση – συνέχεια

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Κατηγορίες μεταλλάξεων *CFTR* και πιθανές θεραπευτικές επιλογές.

Κατηγορία μεταλλάξης	Κατηγορία I	Κατηγορία II	Κατηγορία III
Θεραπεία	Οι ενώσεις «ανάγνωσης», όπως το μόριο ELX-02, προωθούν την ανάγνωση του mRNA με μεταλλάξεις χωρίς νόημα (nonsense), παρακάμπτοντας τα πρόωρα κωδικόνια τερματισμού και επιτρέποντας τη σύνθεση λειτουργικών πρωτεϊνών πλήρους μήκους και τη σωστή μεταφορά ιόντων χλωρίου.	Η συνδυαστική χρήση «διορθωτικών» ενώσεων όπως η lumacaftor που βοηθά τις λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες να αποκτήσουν τη σωστή τους μορφή και «ενισχυτικών» ενώσεων όπως η ivacaftor, η οποία διατηρεί το κανάλι ανοικτό, βελτιώνει τη ροή των ιόντων χλωρίου έξω από το κύτταρο.	Το ivacaftor είναι φάρμακο γνωστό ως «ενισχυτής» επειδή συνδέεται με την ελαττωματική πρωτεΐνη CFTR στην κυτταρική μεμβράνη και βοηθά να διατηρηθεί το κανάλι ιόντων χλωρίου ανοικτό.

References:

- Jaques R, Shakeel A, Hoyle C. Novel therapeutic approaches for the management of cystic fibrosis. *Multidiscip Respir Med*. 2020 Nov 26;15(1):690. doi: 10.4081/mrm.2020.690. PMID: 33282281; PMCID: PMC7706361.
- Ratjen, F., Bell, S., Rowe, S. et al. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers* 1, 15010 (2015). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.10>
- Amaral MD (University of Lisboa, Lisboa, Portugal). Novel personalized therapy for cystic fibrosis: treating the basic defect in all patients (Review). *J Intern Med* 2015; 277: 155–166.
- De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M; Diagnostic Working Group. Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax*. 2006 Jul;61(7):627-35. doi: 10.1136/thx.2005.043539. Epub 2005 Dec 29. PMID: 16384879; PMCID: PMC2104676. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2104676/>
- Naehrig S, Chao CM, Naehrlich L. Cystic Fibrosis. *Dtsch Arztebl Int*. 2017 Aug 21;114(33-34):564-574. doi: 10.3238/arztebl.2017.0564. PMID: 28855057; PMCID: PMC5596161. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5596161/>
- Philip M. Farrell, Terry B. White, Clement L. Ren, Sarah E. Hempstead, Frank Accurso, Nico Derichs, Michelle Howenstine, Susanna A. McColley, Michael Rock, Margaret Rosenfeld, Isabelle Sermet-Gaudelus, Kevin W. Southern, Bruce C. Marshall, Patrick R. Sosnay, Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation, *The Journal of Pediatrics*, Volume 181, Supplement, 2017, Pages S4-S15.e1, ISSN 0022-3476, <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2016.09.064>.
- Eitan Kerem (2020) ELX-02: an investigational read-through agent for the treatment of nonsense mutation-related genetic disease, *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29:12, 1347-1354, DOI: 10.1080/13543784.2020.1828862
- Condren ME, Bradshaw MD. Ivacaftor: a novel gene-based therapeutic approach for cystic fibrosis. *J Pediatr Pharmacol Ther*. 2013 Jan;18(1):8-13. doi: 10.5863/1551-6776-18.1.8. PMID: 23616732; PMCID: PMC3626070.
- <https://www.orkambi.com/how-orkambi-works>

Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

Η PCR είναι μια τεχνική που επιτρέπει την εκθετική ενίσχυση πολύ λίγων ή ακόμη και μεμονωμένων μορίων DNA. Για να επιτευχθεί αυτό, τα μόρια DNA υποβάλλονται σε αρκετούς κύκλους αποδιάταξης, υβριδοποίησης των εκκινητών στις μητρικές αλυσίδες και επιμήκυνσης των νέων αλυσίδων του DNA.

Το μείγμα αντιδραστηρίων για μια PCR απαιτεί τα ακόλουθα:

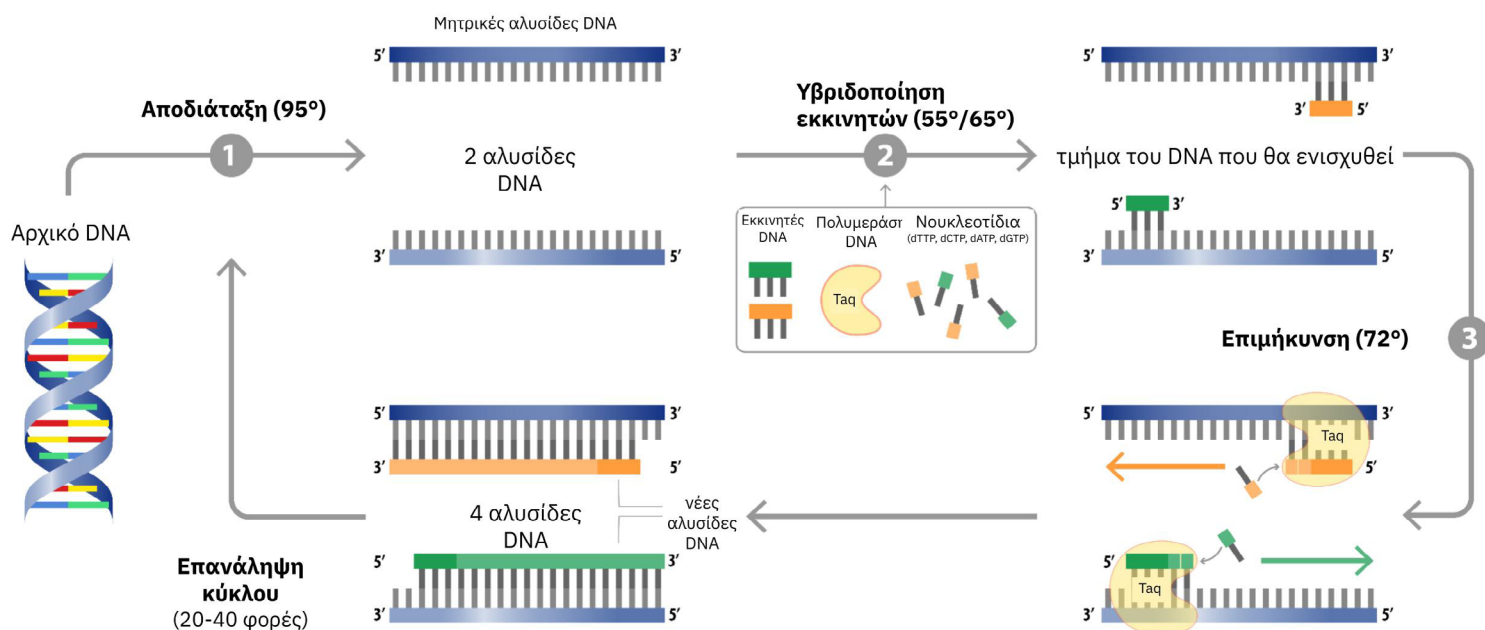
- Το DNA που θα ενισχυθεί (αρχικό DNA)
- Εκκινητές συμπληρωματικοί προς τις μητρικές αλυσίδες του αρχικού DNA
- Ένα ένζυμο που συνθέτει το DNA (DNA πολυμεράση)
- Ελεύθερα νουκλεοτίδια (dNTPs) που θα χρησιμοποιήσει η πολυμεράση DNA για να επιμηκύνει τη νέα αλυσίδα DNA.
- Ένα ρυθμιστικό διάλυμα που παρέχει τις βέλτιστες συνθήκες για την αντίδραση

Κάθε κύκλος ενίσχυσης περιλαμβάνει τρία διαφορετικά στάδια:

1. Κατά το στάδιο της **αποδιάταξης** το αρχικό δίκλωνο DNA διαχωρίζεται σε δύο μονόκλωνες αλυσίδες. Επομένως, η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος πρέπει να είναι αρκετά υψηλή ώστε να σπάσουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών αλυσίδων του DNA. Ωστόσο, οι πολυμεράσες που απαιτούνται για την ενίσχυση του DNA είναι ένζυμα και τα περισσότερα ένζυμα είναι πολύ ευαίσθητα στις υψηλές θερμοκρασίες. Ευτυχώς, έχουν απομονωθεί πολυμεράσες DNA από βακτήρια που ζουν σε ακραίες συνθήκες και έχει βρεθεί ότι αντέχουν τις υψηλές θερμοκρασίες που απαιτούνται για την αποδιάταξη. Επομένως, η θερμοκρασία πρέπει να προσαρμόζεται ανάλογα με την πολυμεράση DNA που χρησιμοποιείται (συνήθως 94-98°C).
2. Κατά τη διάρκεια του σταδίου **υβριδοποίησης των εκκινητών**, η θερμοκρασία της αντίδρασης μειώνεται ώστε να επιτραπεί στους ειδικά σχεδιασμένους εκκινητές να συνδεθούν με το μονόκλωνο DNA μέσω συμπληρωματικής σύζευξης βάσεων. Οι εκκινητές που χρησιμοποιούνται για τις συνήθεις εφαρμογές PCR αποτελούνται συνήθως από περίπου 20 νουκλεοτίδια (18-24) και έχουν περιεκτικότητα GC 40-60%. Η θερμοκρασία σε αυτό το στάδιο εξαρτάται από τη θερμοκρασία τήξης (T_m) των εκκινητών. Η T_m των εκκινητών ορίζεται ως η θερμοκρασία στην οποία το 50% των εκκινητών διαχωρίζεται από τις μητρικές αλυσίδες του αρχικού DNA, ενώ το άλλο 50% εξακολουθεί να σχηματίζει δίκλωνα τμήματα με αυτές. Η μείωση της θερμοκρασίας υβριδοποίησης (T_a) θα αυξήσει το ποσοστό των εκκινητών που δεσμεύονται στις ειδικές θέσεις πρόσδεσης, αλλά μπορεί επίσης να αυξήσει τη πρόσδεση σε μη ειδικές θέσεις. Η αύξηση της θερμοκρασίας μειώνει τη συνολική πρόσδεση των εκκινητών αλλά αυξάνει την ειδικότητα. Η T_a επιλέγεται γενικά να είναι 3°C έως 5°C κάτω από την T_m του ζεύγους εκκινητών, αν και εξαρτάται επίσης από τη χρησιμοποιούμενη πολυμεράση. Για τις περισσότερες αντιδράσεις κυμαίνεται μεταξύ 55°C και 65°C. Η (θεωρητικά) βέλτιστη T_a μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας έναν μαθηματικό τύπο, αλλά ακόμη και μετά τον προσεκτικό υπολογισμό της T_a για την PCR, οι επιστήμονες συχνά πρέπει να προσδιορίσουν τη βέλτιστη T_a εκτελώντας αντιδράσεις PCR με θερμοκρασιακή διαβάθμιση, όπου μπορούν να δοκιμάσουν παράλληλα διαφορετικές θερμοκρασίες υβριδοποίησης.

PCR – συνέχεια

3. Αφού γίνει η υβριδοποίηση των εκκινητών στις αλυσίδες του DNA, η θερμοκρασία αυξάνεται στη βέλτιστη θερμοκρασία λειτουργίας της πολυμεράσης στους 68°C-72°C. Κατά τη διάρκεια αυτού του βήματος **επιμήκυνσης**, η πολυμεράση, ξεκινώντας από τους εκκινητές, συνθέτει τη νέα αλυσίδα DNA προσθέτοντας διαδοχικά ελεύθερα νουκλεοτίδια (dNTPs) όπως αυτό καθορίζεται από την αρχική αλυσίδα DNA που χρησιμοποιείται ως μήτρα (καλούπι).



ΕΙΚΟΝΑ 1: Η μέθοδος PCR.

Το αρχικό DNA αποδιάσσεται (1), επιτρέποντας στους εκκινητές να συνδεθούν με τις συμπληρωματικές τους αλληλουχίες (2) προτού ακολουθήσει η επιμήκυνσή τους από την DNA πολυμεράση και τη σύνθεση των νέων αλυσίδων DNA (3). Με την επανάληψη αυτών των βημάτων, το DNA ενισχύεται περαιτέρω. Σημειώνεται ότι οι θερμοκρασίες που δίνονται σε αυτή την εικόνα είναι οι βέλτιστες για τη χρήση της Taq πολυμεράσης. Άλλες πολυμεράσες ενδέχεται να απαιτούν διαφορετικές θερμοκρασίες.

Η ακολουθία αποδιάταξης, υβριδοποίησης των εκκινητών και επιμήκυνσης επαναλαμβάνεται στη συνέχεια αρκετές φορές και κάθε φορά η ποσότητα του DNA διπλασιάζεται, οδηγώντας σε εκθετική αύξηση της ποσότητας του επιθυμητού προϊόντος PCR. Δυστυχώς, οι πολυμεράσες δεν είναι τέλειες και μπορεί να κάνουν λάθη, όπως η προσθήκη ενός λανθασμένου νουκλεοτιδίου. Κατά συνέπεια, κατά τη διάρκεια κάθε βήματος επιμήκυνσης, υπάρχει η πιθανότητα εισαγωγής μεταλλάξεων στο DNA. Επομένως, η απόφαση για τον αριθμό των επαναλήψεων της ακολουθίας (των κύκλων) βασίζεται στην ισορροπία μεταξύ της παραγωγής αρκετού DNA και της ελαχιστοποίησης του κινδύνου εισαγωγής ανεπιθύμητων μεταλλάξεων, ιδίως όταν το DNA πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε πειράματα κλωνοποίησης. Συνήθως, ο αριθμός των επαναλήψεων κυμαίνεται μεταξύ 20 και 35 κύκλων.

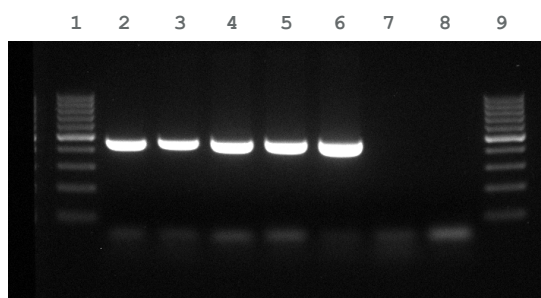
Η έναρξη και ο τερματισμός της ακολουθίας των κύκλων PCR πλαισιώνονται από μια αρχική αποδιάταξη 30 δευτερολέπτων έως 5 λεπτών σε θερμοκρασία αποδιάταξης και μια τελική επιμήκυνση 5-10 λεπτών σε θερμοκρασία επιμήκυνσης (και οι δύο εξαρτώνται από την πολυμεράση).

Οπτικοποίηση τμημάτων DNA με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα (gel)

Για τον έλεγχο του αποτελέσματος μιας PCR χρησιμοποιείται η ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα (gel).

Στο τέλος της PCR, το μείγμα της αντίδρασης μπορεί να τοποθετηθεί σε ειδικές υποδοχές σε πήκτωμα αγαρόζης. Τα πηκτώματα αυτά περιέχουν πόρους διαφορετικού μεγέθους μέσα από τους οποίους τα μικρότερα τμήματα DNA μπορούν να κινηθούν ταχύτερα από τα μεγαλύτερα. Δεδομένου ότι τα μόρια DNA είναι αρνητικά φορτισμένα λόγω των φωσφορικών ομάδων στον σκελετό τους, θα κινηθούν προς το θετικά φορτισμένο άκρο όταν βρεθούν σε ηλεκτρικό πεδίο. Έτσι, με τα πηκτώματα, τα τμήματα DNA μπορούν να διαχωριστούν με βάση το μέγεθός τους.

Τα πηκτώματα αναλύονται σε μια τράπεζα υπεριώδους ακτινοβολίας με αποτέλεσμα τα θραύσματα DNA να φαίνονται ως φωτεινές ζώνες λόγω μιας φθορίζουσας χρωστικής που προστίθεται στο μείγμα του πηκτώματος και προσδένεται στο DNA. Το πήκτωμα φωτογραφίζεται για μεταγενέστερη αναφορά.



ΕΙΚΟΝΑ1: Εικόνα ενός πηκτώματος αγαρόζης στο οποίο έχουν φορτωθεί και ηλεκτροφορηθεί δείγματα αντιδράσεων PCR.

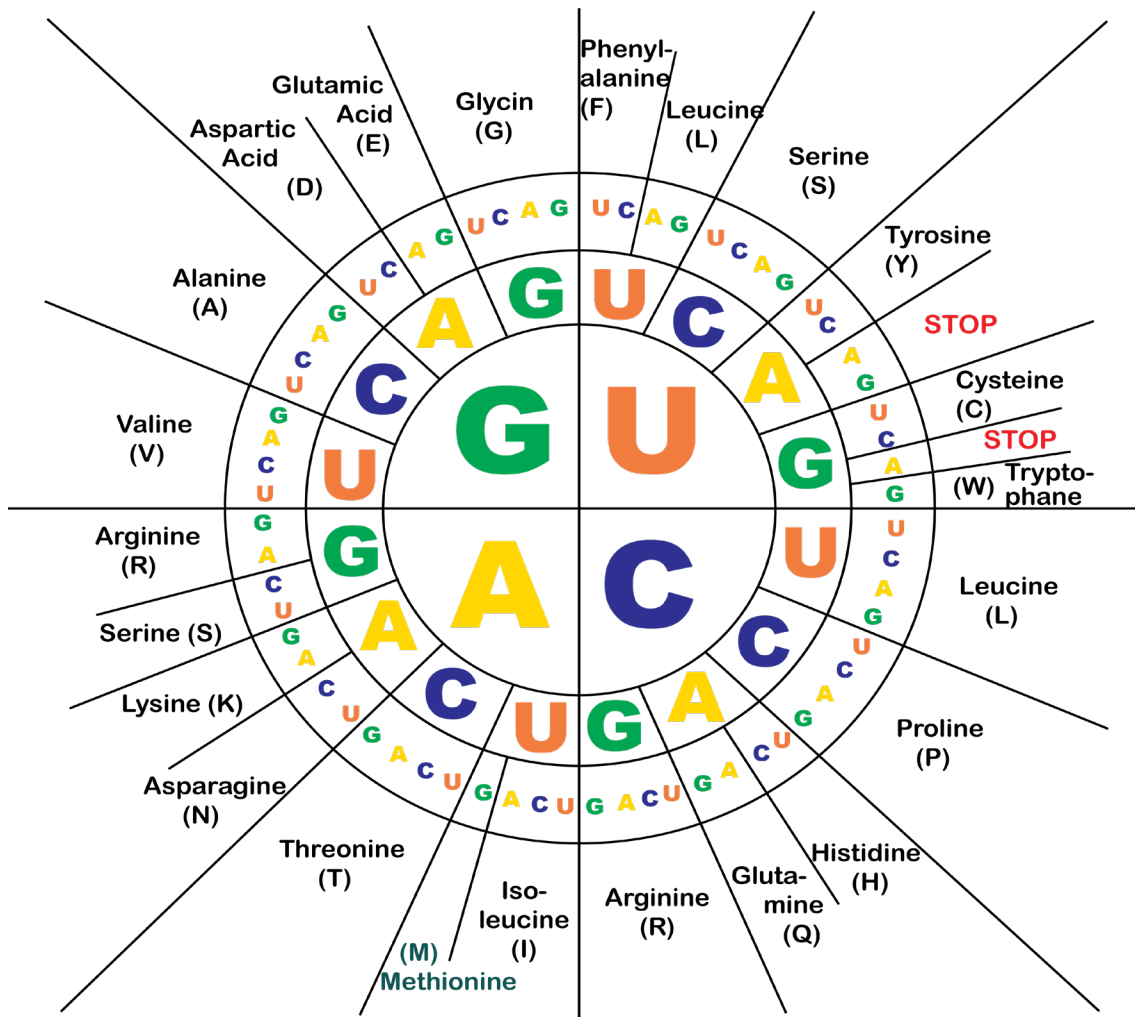
Η εικόνα δείχνει ένα πήκτωμα με 9 λωρίδες. Οι λωρίδες 1 και 9 δείχνουν ζώνες ενός μάρτυρα DNA με ζώνες γνωστού μοριακού βάρους (και συνεπώς μεγέθους) – ο μάρτυρας βοηθά στον προσδιορισμό του μεγέθους των ζωνών που είναι ορατές στις λωρίδες όπου έχουν τοποθετηθεί δείγματα. Στις λωρίδες 7 και 8, έχουν τοποθετηθεί δείγματα από αντιδράσεις PCR στις οποίες δεν προστέθηκε αρχικό DNA (λωρίδα 7) ή το ένζυμο πολυμεράση DNA (λωρίδα 8). Κατά συνέπεια, δεν παρατηρούνται ζώνες DNA σε αυτές τις λωρίδες (αρνητικοί μάρτυρες). Στις λωρίδες 2-6 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά την εκτέλεση PCR με 5 διαφορετικά δείγματα αρχικού DNA. Τα προϊόντα DNA εμφανίζονται ως ζώνες στο πήκτωμα. Και στα 5 δείγματα, η PCR ήταν επιτυχής. Οι αμυδρές ζώνες στο κάτω μέρος του πηκτώματος προκύπτουν από τους εκκινητές που είχαν προστεθεί σε περίσσεια στην αντίδραση PCR και δεν ήταν απαραίτητοι για την ενίσχυση.

Πόροι:

- **Βίντεο:** "Ένα 8-λεπτο βίντεο που εξηγεί τις αρχές της ηλεκτροφόρησης σε πήκτωμα και πώς τα διαφορετικού μεγέθους θραύσματα DNA θα είναι ορατά σε ένα πήκτωμα, <https://www.youtube.com/watch?v=afdP3eWFj3k>.
- **Βίντεο:** "Ένα 8-λεπτο βίντεο που εξηγεί την ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης, δίνοντας επίσης παραδείγματα για τις χρήσεις του. Εξηγεί επίσης τη χρήση των κλιμάκων DNA ως δείκτες μεγέθους <https://www.youtube.com/watch?v=ZDZUAleWX78>.

Ο τροχός των κωδικονίων (γενετικός κώδικας)

Προκειμένου να μεταφράσουμε το RNA σε μια αλληλουχία αμινοξέων, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε έναν τροχό κωδικονίων (γενετικός κώδικας). Κάθε βάση μιας τριπλέτας, η οποία διαβάζεται από αριστερά προς τα δεξιά στην αλληλουχία του RNA, μπορεί να διαβαστεί και στον τροχό των κωδικονίων ξεκινώντας από τον εσωτερικό του κύκλο με κατεύθυνση προς τα έξω. Το όνομα του αμινοξέος που κωδικοποιείται από την εκάστοτε τριπλέτα εμφανίζεται στην περιφέρεια του τροχού. Για παράδειγμα, αν η τριπλέτα "AUG" εμφανίζεται στην αλληλουχία RNA, στον τροχό των κωδικονίων εντοπίζουμε πρώτα το "A" στον εσωτερικό κύκλο, στη συνέχεια το "U" στον μεσαίο κύκλο και τέλος το "G" στον εξωτερικό κύκλο του τροχού. Στην περιφέρεια του τροχού βρίσκουμε το αντίστοιχο αμινοξύ, τη "μεθειονίνη", που κωδικοποιείται από το κωδικόνιο AUG.



ΕΙΚΟΝΑ 1: Ο τροχός των κωδικονίων.

Ο τροχός των κωδικονίων επιτρέπει τη μετάφραση τριπλετών βάσεων σε αμινοξέα. Τα πλήρη ονόματα των αμινοξέων και το γράμμα που αντιπροσωπεύει το καθένα από αυτά βρίσκονται στην περιφέρεια του τροχού.

Φύλλο εργασίας μαθητή

Από το DNA στη θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



Προετοιμασία εκτός τάξης

Εξοικειωθείτε με το αντικείμενο του διδακτικού πόρου παρακολουθώντας δύο βίντεο και διαβάστε τις πληροφορίες που παρέχονται στα [ενημερωτικά φυλλάδια](#).

Βίντεο για να παρακολουθήσετε:

(5 λεπτά και 10 δευτερόλεπτα): [Exploring the genome](#)

(2 λεπτά και 30 δευτερόλεπτα): [Cystic Fibrosis Mechanism and Treatment | HHMI BioInteractive Video](#)

Αξιολογήστε τι έχετε μάθει μέχρι στιγμής απαντώντας στις παρακάτω ερωτήσεις.

Αναφέρετε τον ρόλο της πρωτεΐνης CFTR στα κύτταρα που παράγουν βλέννα.

.....

.....

Εξηγήστε πώς συντίθεται η πρωτεΐνη CFTR από το γονίδιο *CFTR*.

.....

.....

Αναφέρετε σε ποιο τμήμα του κυττάρου βρίσκεται η πρωτεΐνη CFTR.

.....

.....

Περιγράψτε τη μοριακή βάση της κυστικής ίνωσης.

.....

.....

Αντιστοιχίστε τις παρακάτω γνωστές μεταλλάξεις της κυστικής ίνωσης με την περιγραφή του τρόπου μέσω του οποίου παρεμποδίζουν τη σωστή λειτουργία της πρωτεΐνης CFTR.

Αποτέλεσμα
Η συντιθέμενη πρωτεΐνη φτάνει στην κυτταρική μεμβράνη αλλά έχει ελαττωματικό κανάλι.
Η σύνθεση της πρωτεΐνης CFTR διακόπτεται πρόωρα στο mRNA και η πρωτεΐνη CFTR της μεμβράνης είναι λίγο έως καθόλου λειτουργική.
Η πρωτεΐνη CFTR δεν είναι σωστά διπλωμένη και επομένως δεν μπορεί να μεταφερθεί στην κυτταρική μεμβράνη.

Μετάλλαξη
126995 G>T (G542X)
192094 C>G (N1303K)
127023 G>A (G551D)

Περιγράψτε πώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί η ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα για την ταυτοποίηση ατόμων/εμβρύων με κυστική ίνωση που φέρουν τη μετάλλαξη delF508.

.....

.....

Αναφέρετε τον τρόπο κληρονομής που χαρακτηρίζει την κυστική ίνωση.

.....

.....

Δραστηριότητα 1

Ανάγνωση πηκτώματος αγαρόζης για την ταυτοποίηση εμβρύων με τη μετάλλαξη CFTR delF508 (15 λεπτά)

Στην Ευρώπη, ένα σε κάθε 2.500 έως 3.500 μωρά που γεννιούνται κινδυνεύει να αναπτύξει κυστική ίνωση. Τα άτομα με κυστική ίνωση φέρουν διάφορες μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), οι οποίες όταν μεταλλάσσονται, μπορούν να οδηγήσουν σε ελαττωματική παραγωγή βλέννας σε διάφορα όργανα, όπως οι πνεύμονες και το πεπτικό σύστημα. Μια τέτοια μετάλλαξη που προκαλεί κυστική ίνωση είναι η διαγραφή 3 νουκλεοτιδίων σε μια συγκεκριμένη θέση στο εξώνιο 10 του γονιδίου *CFTR*. Αυτή η μετάλλαξη, γνωστή και ως delF508, προκαλεί την απώλεια του αμινοξέος φαινυλαλανίνη. Η απώλεια αυτού του αμινοξέος προκαλεί την εσφαλμένη αναδίπλωση και αποικοδόμηση των πρωτεϊνών. Μεταξύ των πάνω από 300 μεταλλάξεων στο γονίδιο *CFTR*, αυτή η συγκεκριμένη μετάλλαξη είναι η πιο συχνή στους ασθενείς με ΚΙ.

Η κυστική ίνωση είναι μια διαδεδομένη γενετική πάθηση που εκδηλώνεται όταν ένα μεταλλαγμένο γονίδιο *CFTR*, τόσο από τη μητέρα όσο και από τον πατέρα, μεταβιβάζεται στο μωρό τους. Στα κέντρα εξωσωματικής γονιμοποίησης (IVF) ελέγχονται τα **γενετικά αποτυπώματα DNA (DNA fingerprints)** των εμβρύων για να εξακριβωθεί αν τα γονίδια *CFTR* φέρουν τη μετάλλαξη delF508. Παρακάτω απεικονίζεται **ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης** από μια κλινική εξωσωματικής γονιμοποίησης που πραγματοποιεί γενετικό έλεγχο σε έμβρυα. Σε αυτή τη συγκεκριμένη ανάλυση, ένα μικρό τμήμα μεγέθους 154 ζευγών βάσεων (bp) του εξωνίου 10 του *CFTR* ενισχύεται με τη χρήση **αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR)** και απεικονίζεται σε πήκτωμα αγαρόζης ως μια ζώνη των 154 bp για το αλληλόμορφο φυσικού τύπου του γονιδίου και ως μια ζώνη των 151 bp, κατά 3 bp μικρότερη, για το μεταλλαγμένο αλληλόμορφο (μετάλλαξη delF508).

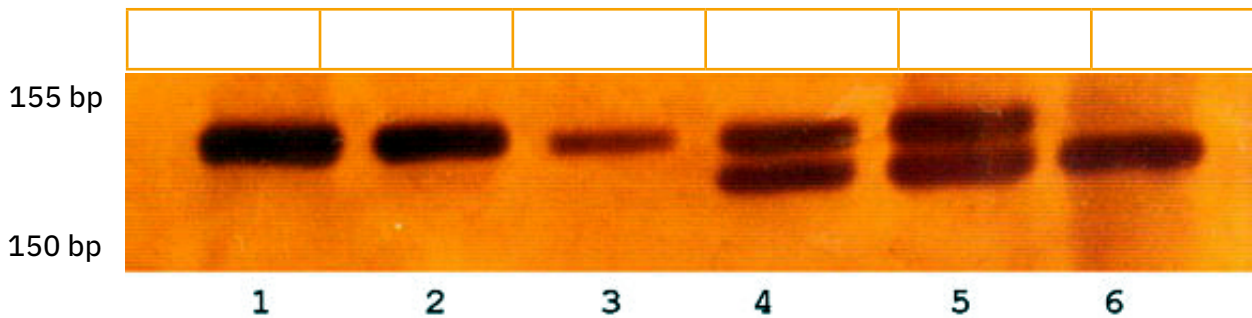
Απαντήστε στις ερωτήσεις που ακολουθούν και βοηθήστε το προσωπικό του κέντρου IVF, να εντοπίσει τα έμβρυα που φέρουν μεταλλαγμένα γονίδια *CFTR*, ώστε να τα επιλέξει πριν από την εξωσωματική γονιμοποίηση.

1 Α. Εξετάστε σε κάθε στήλη, τις ζώνες DNA που αντιπροσωπεύουν γονιδιακά τμήματα από έξι διαφορετικά έμβρυα. Προσδιορίστε και σημειώστε κάθε στήλη ως εξής:

- Σημειώστε "CC" στις στήλες από έμβρυα με ομόζυγο γονίδιο *CFTR* φυσικού τύπου.
- Σημειώστε "Cc" στις στήλες από έμβρυα με ετερόζυγο γονίδιο *CFTR*.
- Σημειώστε "cc" στις στήλες από έμβρυα με ομόζυγο γονίδιο *CFTR* που φέρουν τη μετάλλαξη delF508.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ! Όλοι οι όροι με **έντονη γραφή** βρίσκονται στο [Γλωσσάριο](#).

Δραστηριότητα 1 - συνέχεια



1 Β. Εξηγήστε γιατί τα έμβρυα 4 και 5 είναι απίθανο να αναπτύξουν κυστική ίνωση.

Δραστηριότητα 2

Προσδιορισμός μεταλλάξεων σε ασθενείς με κυστική ίνωση (30 λεπτά)

Παραδοσιακά, η διάγνωση της κυστικής ίνωσης βασίζεται σε κλινικά συμπτώματα που υποδηλώνουν τη νόσο ή/και σε θετικό οικογενειακό ιστορικό. Τα συμπτώματα επηρεάζουν συνήθως τους αεραγωγούς, το γαστρεντερικό σύστημα και άλλα συστήματα.

Υποθέστε ότι είστε γενετικός σύμβουλος σε νοσοκομείο που ειδικεύεται στις αναπνευστικές και γαστρεντερικές διαταραχές και ότι σας έχουν παραπεμφθεί τρεις ασθενείς επειδή έχουν συμπτώματα που υποδηλώνουν κυστική ίνωση, αλλά δεν έχουν γνωστό οικογενειακό ιστορικό. Γνωρίζοντας ότι η κυστική ίνωση είναι γενετική διαταραχή, για να την επιβεβαιώσετε πρέπει να γνωρίζετε αν οι ασθενείς φέρουν μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR*. Αφού απομονώθηκε το DNA των ασθενών και στάλθηκε στη συνέχεια για αλληλούχιση, έχετε τώρα τα δεδομένα της αλληλούχισης για να τα αναλύσετε.

2 Α. Χρησιμοποιήστε το BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) για να εξετάσετε τις αλληλουχίες DNA των τριών ασθενών με κυστική ίνωση που ακολουθούν και να προσδιορίσετε ποια μετάλλαξη φέρουν.

Δραστηριότητα 2 – συνέχεια

Το BLAST είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο εργαλείο βιοπληροφορικής για τη σύγκριση αλληλουχιών από πρωτογενή βιολογικά δεδομένα, όπως οι αλληλουχίες αμινοξέων των πρωτεϊνών ή τα νουκλεοτίδια των αλληλουχιών DNA, με μια βάση δεδομένων παρόμοιων αλληλουχιών. Ως εκ τούτου, το BLAST είναι χρήσιμο για τον εντοπισμό μεταλλάξεων σε ένα δεδομένο δείγμα σε σύγκριση με μια αλληλουχία αναφοράς.

1. Μεταβείτε στον ιστότοπο [BLAST](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) στη διεύθυνση <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>
2. Ακολουθήστε τις οδηγίες που παρέχονται στον [Οδηγό για το BLAST και το ClinVar](#) σχετικά με τη χρήση των εργαλείων. Για να δείτε ένα σύντομο επεξηγηματικό βίντεο σχετικά με τη χρήση του BLAST και του ClinVar, [πατήστε εδώ](#).
3. Εισάγετε τις γενετικές αλληλουχίες κάθε ασθενούς στο εργαλείο BLAST για να τις αναλύσετε.

>Ασθενής 1

CTAAAATTTTCAGCAATGTTGTTTTTGACCACTAAATAAATTGCATTTGAAATAATG-
GAGATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATT-
AGAAGGAAGATGTGCCTTTCAAATTCAGATTGAGCATACTAAAAGTGACTCTCTAATTTTC-
TATTTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGCAGAGAAAGACAATATAGTTCTTTGGAGAA-
GGTGAATCACAAGTGAAGTCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAAC-
TAATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAAATGTCATTTCATGTAAAAAAAT

>Ασθενής 2

CTAAAATTTTCAGCAATGTTGTTTTTGACCACTAAATAAATTGCATTTGAAATAATG-
GAGATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATT-
AGAAGGAAGATGTGCCTTTCAAATTCAGATTGAGCATACTAAAAGTGACTCTCTAATTTTC-
TATTTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGCAGAGAAAGACAATATAGTTCTTTGAGAA-
GGTGAATCACAAGTGAAGTCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAAC-
TAATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAAATGTCATTTCATGTAAAAAAAT

>Ασθενής 3

TGTTTCTTATTTTAAAATAATTTTCTACTTGAAATATTTTACAATACAATAAGG-
GAAAAATAAAAAAGTTATTTAAGTTATTCATACTTTCTTCTTTCTTTTCTTTTCTTTT-
AGAAAGTATTTATTTTCTGGAACATTTAGAAAAAAGTTGGATCCCTATGAACAGTG-
GAGTGATCAAGAAATATGGAAAGTTGCAGATGAGGTAAGGCTGCTAACTGAAATGATTTT-
GAAAGGGGTAACATACCAACACAAATGGCTGATATAGCTGACATCAT

Κρατήστε σημειώσεις για τα παρακάτω:

- Την ακριβή θέση της μετάλλαξης και την αλλαγή του νουκλεοτιδίου
- Τον τύπο της μετάλλαξης (προσθήκη, έλλειψη, αντικατάσταση, αναστροφή ή διπλασιασμός).
- Ακολουθήστε τις οδηγίες σχετικά με τους **Κανόνες σύνταξης** γονιδιώματος [Οδηγό για το BLAST και το ClinVar](#), για να δώσετε στη μετάλλαξη DNA κάθε ασθενούς ένα όνομα που να συμμορφώνεται με τους Κανόνες σύνταξης γονιδιώματος.

Δραστηριότητα 2 – συνέχεια

ΣΗΜΕΙΩΣΗ! Οι Κανόνες σύνταξης που αναμένεται να ακολουθήσετε αποτελούν μέρος της ονοματολογίας HGVS η οποία είναι ένα διεθνώς αναγνωρισμένο πρότυπο για την περιγραφή των μεταλλάξεων σε αλληλουχίες DNA, RNA και πρωτεϊνικές αλληλουχίες.

ΥΠΟΔΕΙΞΗ! Σύνδεσμος σε σύντομο επεξηγηματικό βίντεο με οδηγίες για τη χρήση του BLAST και του ClinVar: https://youtu.be/J4JkH_VD59k.

Ασθενής 1

Θέση μετάλλαξης και νουκλεοτιδική αλλαγή:.....
 Τύπος:
 Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης:

Ασθενής 2

Θέση μετάλλαξης και νουκλεοτιδική αλλαγή:.....
 Τύπος:
 Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης:

Ασθενής 3

Θέση μετάλλαξης και νουκλεοτιδική αλλαγή:.....
 Τύπος:
 Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης:

2 Β. Διερευνήστε τις επιπτώσεις των μεταλλάξεων με τη χρήση του ClinVar.

Τώρα που έχετε εντοπίσει την ακριβή αλλαγή σε επίπεδο DNA που υπάρχει στα δείγματα των ασθενών και έχετε σημειώσει τα ονόματα των μεταλλάξεων για κάθε μία από αυτές, επισκεφθείτε τον ιστότοπο [ClinVar](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/) για να μάθετε περισσότερα για αυτές τις γενετικές παραλλαγές και τις συσχετίσεις τους με την κυστική ίνωση.

Το ClinVar είναι μια ελεύθερα προσβάσιμη, δημόσια βάση δεδομένων που περιέχει αναφορές για τη συσχέτιση ανθρώπινων γενετικών παραλλαγών και φαινοτύπων με την ανθρώπινη υγεία, συνοδευόμενες από υποστηρικτικά στοιχεία. Διατηρείται από το Εθνικό Κέντρο Βιοτεχνολογικών Πληροφοριών (NCBI), το οποίο αποτελεί μέρος της Εθνικής Βιβλιοθήκης Ιατρικής των Ηνωμένων Πολιτειών (NLM).

1. Επισκεφθείτε τον ιστότοπο της ClinVar στη διεύθυνση <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>.
2. Χρησιμοποιήστε τη λειτουργία αναζήτησης στον δικτυακό τόπο ClinVar για να εισαγάγετε τις αναγνωρισμένες μεταλλάξεις χρησιμοποιώντας τα ονόματά τους.
3. Για κάθε μετάλλαξη, σημειώστε ποια αλλαγή προκαλεί σε επίπεδο αμινοξέων.
4. Σημειώστε αν οι μεταλλάξεις που εντοπίσατε ταξινομούνται ως παθογόνες για την κυστική ίνωση.

Δραστηριότητα 2 – συνέχεια

Ασθενής 1

.....

.....

.....

Ασθενής 2

.....

.....

.....

Ασθενής 3

.....

.....

.....

Δραστηριότητα 3

Επιπτώσεις των μεταλλάξεων στις κυτταρικές διεργασίες (30 λεπτά)

Οι μεταλλάξεις του *CFTR* που προκαλούν κυστική ίνωση ταξινομούνται σε έξι διαφορετικές ομάδες. Κάθε κατηγορία μετάλλαξης επηρεάζει την παραγωγή της πρωτεΐνης *CFTR* με διαφορετικό τρόπο, με αποτέλεσμα να προκύπτουν πρωτεΐνες με διαφορετικό βαθμό δυσλειτουργίας. Αυτό σημαίνει ότι οι ασθενείς με κυστική ίνωση που οφείλεται σε διαφορετικούς τύπους δυσλειτουργικών πρωτεϊνών *CFTR* μπορεί να χρειαστεί να λάβουν εξατομικευμένη θεραπεία προκειμένου να αντισταθμίσουν τη μειωμένη λειτουργία της πρωτεΐνης και να έχουν το καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα.

3 Α. Ανατρέξτε στον [ΠΙΝΑΚΑ 1](#) του ενημερωτικού φυλλαδίου για την κυστική ίνωση, όπου θα βρείτε πληροφορίες σχετικά με τις μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη νόσο και τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζουν τις κυτταρικές διεργασίες. Στη συνέχεια απαντήστε στις ερωτήσεις που ακολουθούν.

Προσδιορίστε και καταχωρίστε στον πίνακα ποια κατηγορία μετάλλαξης αντιστοιχεί σε ποιον ασθενή.

Κατηγορία κυστικής ίνωσης	Κατηγορία 1	Κατηγορία 2	Κατηγορία 3
Μετάλλαξη σε επίπεδο DNA	126995 G>T	192094 C>G	127023 G>A
Ασθενής με κυστική ίνωση			

Δραστηριότητα 3 – συνέχεια

3 B. Ανατρέξτε ξανά στον πίνακα και εξηγήστε ποιες από τις κυτταρικές διεργασίες που αναφέρονται στο παρακάτω πλαίσιο είναι διαταραγμένες στους εξεταζόμενους ασθενείς.

Μεταγραφή, Μετάφραση, Μεταφορά πρωτεϊνών, Μεταφορά ιόντων χλωρίου

Ασθενής 1

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ασθενής 2

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ασθενής 3

.....

.....

.....

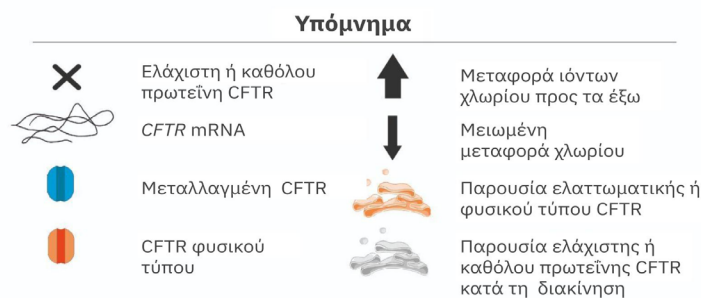
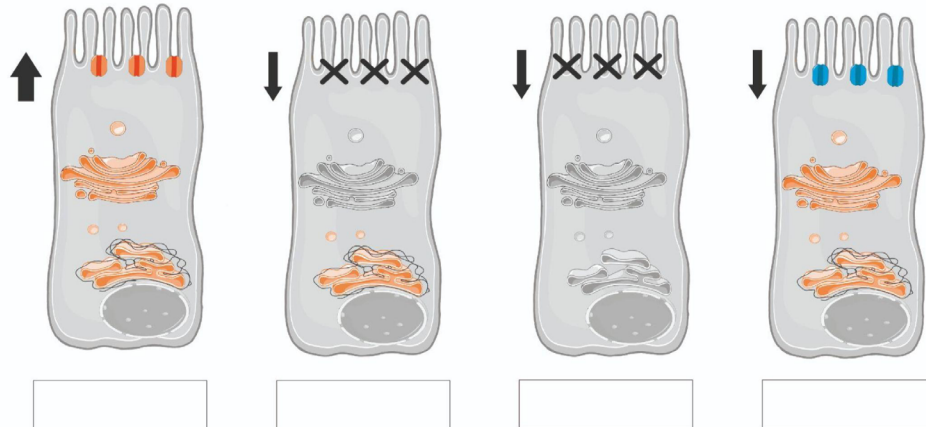
.....

.....

.....

Δραστηριότητα 3 – συνέχεια

3 Γ. Παρακάτω παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά κύτταρα από ένα υγιές άτομο και άτομα με κυστική ίνωση. Εξετάστε την επίδραση που έχουν ορισμένες μεταλλάξεις στην παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR και αντιστοιχίστε τα κύτταρα με τους ασθενείς που τις φέρουν.



3 Δ. Παρακάτω παρουσιάζεται σχηματικά ένα τμήμα του κωδικοποιητικού πλαισίου του γονιδίου *CFTR* και των αντίστοιχων αμινοξέων του. Σε αυτό εμφανίζεται η μετάλλαξη deltaF508 η οποία οφείλεται σε έλλειψη 3 νουκλεοτιδίων από το αρχικό DNA του αλληλομόρφου φυσικού τύπου. Κοιτάζοντας το παρακάτω σχήμα και τον [τροχό των κωδικονίων](#) στα ενημερωτικά φυλλάδια, προβλέψτε αν το αμινοξύ στη θέση 507 θα επηρεαζόταν με οποιονδήποτε τρόπο.



Δραστηριότητα 4

Εύρεση πιθανών θεραπευτικών επιλογών για την κυστική ίνωση (15 λεπτά)

4 Α. Γνωρίζοντας την επίδραση που έχουν οι διάφορες μεταλλάξεις του CFTR στην πρωτεΐνη, προσδιορίστε τις πιθανές θεραπευτικές επιλογές από τον παρακάτω κατάλογο που είναι οι πλέον κατάλληλες για κάθε ασθενή. Εξηγήστε το σκεπτικό σας.

Κατάλογος φαρμάκων:

- ELX-02/θεραπεία "ανάγνωσης" - προάγει την ανάγνωση των mRNAs με μεταλλάξεις χωρίς νόημα, παρακάμπτοντας τα πρόωρα κωδικόνια λήξης και επιτρέποντας τη σύνθεση λειτουργικών πρωτεϊνών πλήρους μήκους και τη σωστή μεταφορά ιόντων χλωρίου.
- Ivacaftor/θεραπεία με "ενισχυτή" - συνδέεται με την ελαττωματική πρωτεΐνη CFTR στην κυτταρική μεμβράνη και βοηθά να διατηρηθούν ανοιχτοί οι δίαυλοι χλωρίου.
- Lumacaftor/θεραπεία "διορθωτή" - βοηθά τις λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες να αποκτήσουν τη σωστή τους μορφή.
- Orkambi- εμπορικό φάρμακο που περιέχει lumacaftor και ivacaftor.

Ασθενής 1

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ασθενής 2

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Ασθενής 3

.....

.....

.....

.....

.....

.....

Δραστηριότητα 4 – συνέχεια

4 Β. Σας παραπέμφθηκε ένας νέος ασθενής με συμπτώματα κυστικής ίνωσης. Μετά την αλληλούχιση του γονιδιώματος του ασθενούς, ανακαλύπτετε ότι το άτομο φέρει δύο διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR*. Ενώ το ένα αλληλόμορφο περιέχει τη μετάλλαξη N1303K, το άλλο αλληλόμορφο περιέχει τη μετάλλαξη G542X. Έχοντας κατά νου αυτές τις πληροφορίες, να προβλέψετε εάν μια θεραπεία με συνδυασμό lumacaftor και ivacaftor θα ήταν επαρκής για να ανακουφίσει το ελάττωμα που προκαλείται από τις μεταλλάξεις.

4 Γ. Στο τέλος της εργάσιμης ημέρας σας, συντάξτε μια σύντομη έκθεση που να συνοψίζει την εργασία σας σχετικά με τα τελευταία περιστατικά κυστικής ίνωσης, συμπληρώνοντας τα κενά που ακολουθούν.

πρωτεϊνών, ClinVar, αλληλούχιση, BLAST, παθογόνου, DNA, θεραπεία, μετάλλαξη

.....από κάθε ασθενή απομονώθηκε και υποβλήθηκε σε
Οι αλληλουχίες που αποκτήθηκαν ευθυγραμμίστηκαν με μια αλληλουχία γονιδιώματος αναφοράς με το εργαλείο....., και προσδιορίστηκε το προφίλ μεταλλάξεων του γονιδιώματος κάθε ασθενούς. Στη συνέχεια, ένας γρήγορος έλεγχος στη βάση δεδομένων αποκάλυψε την επίδραση των μεταλλάξεων του ασθενούς σε επίπεδο και επέτρεψε την κατηγοριοποίηση της μετάλλαξης ως Με βάση τις διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις πιθανές θεραπευτικές επιλογές για κάθε, συνταγογραφήθηκε η καλύτερη για κάθε ασθενή.

Οδηγός για το BLAST και το ClinVar

Από το DNA στη θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



ΠΩΣ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΕΤΕ ΤΟ BLAST

- Μεταβείτε στη διεύθυνση <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> και επιλέξτε Nucleotide Blast.

- Αντιγράψτε και επικολλήστε όλη την αλληλουχία DNA από τον Ασθενή 1, μαζί με την επικεφαλίδα της, στη γραμμή **Enter Query Sequence**. Αυτές οι πληροφορίες αλληλουχίας παρουσιάζονται σε μορφή FASTA. Το FASTA είναι ένας τύπος μορφής αρχείου που περιέχει πληροφορίες ακολουθίας με μια σύντομη περιγραφή που διακρίνεται από το σύμβολο ">".

>Patient 1

CTAAAATTTTCAGCAATGTTGTTTTTGACCAACTAAATAAATTGCATTT-
GAAATAATGGAGATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGT-
GTGATATATGATTACATTAGAAGGAAGATGTGCCTTTCAAATTCAGATTGAG-
CATACTAAAAGTGACTCTCTAATTTTCTATTTTGGTAATAGGACATCTC-
CAAGTTTGCAGAGAAAGACAATATAGTTCTTGGAGAAGGTGGAATCACACT-
GAGTGGAGATCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAACTAAT-
TATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAAATGTCATTCATGTAAAAAAAT

Αλληλουχία
DNA του
Ασθενούς 1

Από το αναπτυσσόμενο μενού στην καρτέλα **Choose Search Set**, επιλέξτε Human RefSeqGene sequences ως τη βάση δεδομένων σας, η οποία περιέχει τις πρότυπες αλληλουχίες αναφοράς του ανθρώπινου γονιδιώματος για καλά χαρακτηρισμένα γονίδια. Το πρόγραμμα αναζητά να βρει τη θέση της αλληλουχίας DNA του ασθενούς στο γονιδίωμα και να την συγκρίνει με το πρότυπο.

Choose Search Set

Database ☒ Standard databases (nr etc.): ☐ rRNA/ITS databases ☐ Genomic

Human RefSeqGene sequences(RefSeq_Gene) ▼

Exclude ☐ Models (XM/XP) ☐ Uncultured/environmental sample sequences

Limit to ☐ Sequences from type material

Entrez Query

Enter an Entrez query to limit search ?

Program Selection

Optimize for ☒ Highly similar sequences (megablast)
☐ More dissimilar sequences (discontiguous megablast)
☐ Somewhat similar sequences (blastn)
 Choose a BLAST algorithm ?

BLAST Search **database Human RefSeqGene sequences(RefSeq_Gene)** using ☐ Show results in a new window

- Δεν απαιτούνται περαιτέρω ρυθμίσεις.
- Επιλέξτε **BLAST**.

Μετά από λίγο χρόνο αναμονής, το BLAST θα εμφανίσει τα αποτελέσματα της ευθυγράμμισης των ακολουθιών όπως φαίνεται παρακάτω. Στην καρτέλα **Descriptions** (Περιγραφές) υπάρχει μόνο ένα αποτέλεσμα.

BLAST® » blastn suite » results for RID-XEVK66PS016

Home Recent Results Saved Strategies Help

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title Example
 RID XEVK66PS016 Search expires on 02-23 22:55 pm [Download All](#)
 Program BLASTN [Citation](#)
 Database genomic/9606/RefSeqGene [See details](#)
 Query ID lcl|Query_5839831
 Description None
 Molecule type dna
 Query Length 386
 Other reports [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism only top 20 will appear ☐ exclude
 Type common name, binomial, taxid or group name
[Add organism](#)

Percent Identity E value Query Coverage
 to to to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

☒ select all 1 sequences selected [GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Homo sapiens CF transmembrane conductance regulator (CFTR), RefSeqGene (LRG_663) on chromosome 7	Homo sapiens	708	708	100%	0.0	99.74%	257188	NG_016465.4

Επιλέξτε την καρτέλα **Alignments** (Ευθυγράμμισεις) για να δείτε την ευθυγράμμιση αλληλουχιών μεταξύ του DNA του ασθενούς και του γονιδιώματος αναφοράς. Θα εμφανιστεί η παρακάτω εικόνα.

Descriptions Graphic Summary **Alignments** Taxonomy

Alignment view Pairwise ☐ CDS feature [Restore defaults](#)

1 sequences selected

ο οργανισμός στον οποίο εντοπίζεται αυτή η αλληλουχία

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Next](#)

Homo sapiens CF transmembrane conductance regulator (CFTR), RefSeqGene (LRG_663) on chromosome 7

Sequence ID: **NG_016465.4** Length: 257188 Number of Matches: 1

Range 1: 126762 to 127111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
641 bits (347)	0.0	349/350 (99%)	0/350 (0%)	Plus/Plus

Query 1 CTAATAATTTTCAGCAATGTTGTTTGGACCAACTAAATAAATGCATTGAAATAATGGAG 60
 Sbjct 126762 CTAATAATTTTCAGCAATGTTGTTTGGACCAACTAAATAAATGCATTGAAATAATGGAG 126821

Query 61 ATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATTAG 120
 Sbjct 126822 ATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATTAG 126881

Query 121 AAGGAAGATGTCCTTTCAAATTCAGATTGAGCATACTAAAGTGACTCTCTAATTTTCT 180
 Sbjct 126882 AAGGAAGATGTCCTTTCAAATTCAGATTGAGCATACTAAAGTGACTCTCTAATTTTCT 126941

Query 181 ATTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGACAGAGAAAGACAATATAGTTCTTGGAGAAG 240
 Sbjct 126942 ATTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGACAGAGAAAGACAATATAGTTCTTGGAGAAG 127001

Query 241 GTGGAATCACACTGAGTGGAGATCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAACTA 300
 Sbjct 127002 GTGGAATCACACTGAGTGGAGATCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAACTA 127061

Query 301 ATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAATGTCATTATGTAaaaaaaT 350
 Sbjct 127062 ATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAATGTCATTATGTAaaaaaaT 127111

Όνομα του γονιδίου

Sbjct είναι το γονιδίωμα αναφοράς, ενώ **Query** είναι η αλληλουχία που εισαγάγαμε.

Για παράδειγμα, αυτή η ευθυγράμμιση δείχνει ότι η αλληλουχία του Ασθενούς 1 είναι κατά 99% πανομοιότυπη με την αλληλουχία αναφοράς του γονιδίου CFTR του Homo sapiens στο χρωμόσωμα 7 με 1 αναντιστοιχία μεταξύ των δύο αλληλουχιών. Η αλληλουχία του Ασθενούς 1 βρίσκεται μεταξύ των νουκλεοτιδίων 126762-127111 στο γονίδιο μήκους 257188 νουκλεοτιδίων.

- Για να εντοπίσετε την ακριβή θέση της αναντιστοιχίας μεταξύ των αλληλουχιών του Ασθενούς και των αλληλουχιών αναφοράς, σαρώστε την ευθυγράμμιση.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ! Τα νουκλεοτίδια που ταιριάζουν μεταξύ των δύο αλληλουχιών εμφανίζονται ως ζεύγος με παύλα που τα συνδέει. Εάν υπάρχει αναντιστοιχία μεταξύ των νουκλεοτιδίων, δεν θα είναι ορατή αυτή η παύλα. Η οπτική αναπαράσταση μπορεί να αλλάξει επιλέγοντας από τις επιλογές προβολής ευθυγράμμισης. Ο αριθμός στην αρχή και στο τέλος κάθε γραμμής ακολουθίας αντιπροσωπεύει τη θέση νουκλεοτιδίου εντός του γονιδιώματος ή της ακολουθίας από την οποία προήλθε το τμήμα DNA.

Descriptions Graphic Summary **Alignments** Taxonomy

Alignment view Pairwise ☐ CDS feature [Restore defaults](#)

1 sequences selected

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Next](#)

Homo sapiens CF transmembrane conductance regulator (CFTR), RefSeqGene (LRG_663) on chromosome 7
Sequence ID: [NG_016465.4](#) Length: 257188 Number of Matches: 1

Range 1: 126762 to 127111 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
641 bits(347)	0.0	349/350(99%)	0/350(0%)	Plus/Plus

Query 1	CTAAAAATTTAGCAATGTTGTTTTGACCAACTAAATAAATTCATTGAAATAATGGAG	60
Sbjct 126762	CTAAAAATTTAGCAATGTTGTTTTGACCAACTAAATAAATTCATTGAAATAATGGAG	126821
Query 61	ATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATTAG	120
Sbjct 126822	ATGCAATGTTCAAAATTTCAACTGTGGTTAAAGCAATAGTGTGATATATGATTACATTAG	126881
Query 121	AAGGAAGATGTGCTTTTCAAAATTCAGATTGAGCATACTAAAAGTGACTCTCTAATTTTCT	180
Sbjct 126882	AAGGAAGATGTGCTTTTCAAAATTCAGATTGAGCATACTAAAAGTGACTCTCTAATTTTCT	126941
Query 181	ATTTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGACAGAGAAAGACAATATAGTTCTTGGAGAAG	240
Sbjct 126942	ATTTTTGGTAATAGGACATCTCCAAGTTTGACAGAGAAAGACAATATAGTTCTTGGAGAAG	127001
Query 241	GTGGAATCACACTGAGTGCAGATCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAACTA	300
Sbjct 127002	GTGGAATCACACTGAGTGCAGATCAACGAGCAAGAATTTCTTTAGCAAGGTGAATAACTA	127061
Query 301	ATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAAATGTCATTGTAaaaaaaT	350
Sbjct 127062	ATTATTGGTCTAGCAAGCATTTGCTGTAAATGTCATTGTAaaaaaaT	127111

Στην περίπτωση αυτή, η αλληλουχία ερωτήματος έχει μια παραλλαγή G>A στη θέση [127023](#).

Πώς να σημειώσετε τις συντεταγμένες της νουκλεοτιδικής παραλλαγής;

ΣΗΜΕΙΩΣΗ! Το ανθρώπινο γονιδίωμα είναι ένα βιομόριο που αποτελείται από δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων. Επομένως, είναι σημαντικό να χρησιμοποιείτε τη σωστή ονοματολογία όταν μιλάτε για τις ακριβείς αλλαγές στις αλληλουχίες ενός γονιδίου που σας ενδιαφέρει και για το πού συμβαίνουν αυτές οι αλλαγές. Προκειμένου να προσδιορίσουμε και να επικοινωνήσουμε σωστά τις συντεταγμένες του γονιδιώματος όπου μπορούμε να δούμε διαφορές, χρησιμοποιούμε τη διεθνή αναγνωρισμένη ονοματολογία της Human Genome Mutation Society για να περιγράψουμε τις μεταβολές στις αλληλουχίες του DNA, του RNA και των πρωτεϊνών.

- Ακολουθήστε την παρακάτω σύνταξη για να ονομάσετε σωστά τη μετάλλαξη της αλληλουχίας και τη θέση της. Αυτό είναι παρόμοιο με τη γραφή του ονόματος μιας τοποθεσίας σε ένα σύστημα πλοήγησης.

Για αλληλουχίες με αντικατάσταση ενός νουκλεοτιδίου, θα ακολουθήσουμε την παρακάτω σύνταξη:

Syntax

Simple sequence substitution

Syntax `sequence_identifier ":" coordinate_type "." position reference_sequence ">"`
 alternate_sequence
 Examples `NC_000023.10:g.33038255C>A`

Στο παράδειγμά μας, αναγνωριστικό ακολουθίας ή **Sequence identifier** (ID) είναι το **NG_016465.4** (βλ. το προηγούμενο αποτέλεσμα BLAST). Το **NG** σημαίνει ελλιπής γονιδιωματική περιοχή (incomplete genomic region). Άλλοι κωδικοί που μπορούν να παρατηρηθούν στα αναγνωριστικά ακολουθίας (sequence IDs) είναι το **NM** για "mRNA" και το **NC** για πλήρη γονιδιωματικά μόρια (complete genomic molecule).

Descriptions Graphic Summary **Alignments** Taxonomy

Alignment view: Pairwise ☐ CDS feature [Restore defaults](#)

1 sequences selected

[Download](#) [GenBank](#) [Graphics](#) [Next](#)

Homo sapiens CF transmembrane conductance regulator (CFTR), RefSeqGene (LRG_663) on chromosome 7

Sequence ID: **NG_016465.4** Length: 257188 Number of Matches: 1

Ο τύπος συντεταγμένων ή **coordinate type** αναφέρεται στον τύπο του μορίου. Παρακάτω αναφέρονται οι αποδεκτοί τύποι συντεταγμένων:

Κωδικός	Τύπος μορίου	Κωδικός	Τύπος μορίου
c	coding DNA – αλληλουχία αναφοράς κωδικού DNA	o	circular genomic – αλληλουχία αναφοράς κυκλικού γονιδιώματος
g	linear genomic – αλληλουχία αναφοράς γραμμικού γονιδιώματος	p	protein – αλληλουχία αναφοράς πρωτεΐνης
m	mitochondrial DNA – αλληλουχία αναφοράς μιτοχονδριακού DNA	r	RNA – αλληλουχία αναφοράς RNA (μετάγραφο)
n	non-coding DNA – αλληλουχία αναφοράς μη κωδικού DNA		

Στο παράδειγμά μας, ο τύπος συντεταγμένων ή **coordinate type** είναι **g** για ακολουθία αναφοράς γραμμικού γονιδιώματος.

Syntax

Simple sequence substitution

Syntax `sequence_identifier ":" coordinate_type "." position reference_sequence ">"`
`alternate_sequence`

Examples `NC_000023.10:g.33038255C>A`

Η θέση ή **position** αναφέρεται στο σημείο όπου εντοπίσατε τη μετάλλαξη στην αλληλουχία αναφοράς. Στο παράδειγμά μας, το αλλαγμένο νουκλεοτίδιο βρίσκεται στη θέση **127023**.

Η αλληλουχία αναφοράς ή **reference sequence** αναφέρεται στο νουκλεοτίδιο του γονιδιώματος αναφοράς που έχει αλλάξει, το οποίο στο παράδειγμά μας είναι το **G**.

Η εναλλακτική αλληλουχία ή **alternate sequence** αναφέρεται στο νουκλεοτίδιο που δεν ταιριάζει στην αλληλουχία ερωτήματος, το οποίο στο παράδειγμά μας είναι το **A**.

Syntax `NG_016465.4 : g . 127023 G >`
`alternate_sequence`

A

Συνεπώς, η σωστή σύνταξη για τη συγκεκριμένη νουκλεοτιδική παραλλαγή είναι **NG_016465.4:g.127023G>A**.

- Επαναλάβετε τα ίδια βήματα για να ονομάσετε τις μεταλλάξεις των άλλων ασθενών. Τα ονόματα αυτά είναι διεθνώς αναγνωρισμένα και μπορούν να αναζητηθούν στο αρχείο ClinVar.

ΣΗΜΕΙΩΣΗ! Οι κανόνες σύνταξης που ακολουθείτε αποτελούν μέρος της ονοματολογίας HGVS, η οποία είναι ένα διεθνώς αναγνωρισμένο πρότυπο για την περιγραφή μεταλλάξεων σε αλληλουχίες μορίων DNA, RNA και πρωτεϊνικών. Επισκεφθείτε τον ιστότοπο στη διεύθυνση "<https://hgvs-nomenclature.org/stable/>" για να μάθετε πώς μπορείτε να χρησιμοποιείτε σωστή γλώσσα για άλλους τύπους αλλαγών στην αλληλουχία του DNA.

ΠΩΣ ΝΑ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΣΕΤΕ ΤΟ CLINVAR

- Μεταβείτε στη διεύθυνση <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>.
- Εισάγετε το όνομα της παραλλαγής με τη σωστή σύνταξη στο πλαίσιο αναζήτησης και πατήστε Search (Αναζήτηση).

The screenshot displays the ClinVar website interface. At the top, the NIH logo and 'National Library of Medicine' text are visible. Below this, the ClinVar search bar contains the text 'NG_016465.4:g.127023G>A'. A 'Search' button is located to the right of the search bar. Below the search bar, there is a navigation menu with links: Home, About, Access, Help, Submit, Statistics, and FTP. A yellow banner below the navigation menu contains an information icon and text: 'We've updated the ClinVar website to better support classifications of somatic variants! Read more about changes to the website in our [web release notes](#); more information about somatic variants in ClinVar is available on [GitHub](#).' Below the banner, a list of genomic variants is displayed, including: ACTGATGGTATGGGGCCAAGAGATATATCT, CAGGTACGGCTGTCTCACTTAGACCTCAC, CAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGGCAGAGC, CCATGGTGCATCTGACTCCTGAGGAGAAGT, GCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGT, and GGCACCTGACTCTCTGCTATTGGTCTAT. To the right of the variant list, the ClinVar logo and text 'ClinVar aggregates information about genomic variation and its relationship to human health.' are visible. Below the variant list, there are three columns of links: 'Using ClinVar' (About ClinVar, Data Dictionary, Downloads/FTP site, FAQ, Contact Us, Subscribe to the ClinVar mailing list), 'Tools' (ACMG Recommendations for Reporting of Secondary Findings, ClinVar Submission Portal, Submissions, Variation Viewer, RefSeqGene/LRG), and 'Related Sites' (ClinGen, GeneReviews, GTR, MedGen, OMIM, Variation).

- Αφού αναζητήσετε την παραλλαγή σας στο αρχείο, θα εμφανιστεί η παρακάτω σελίδα. Δείτε τα σχόλια για σχετικές πληροφορίες.

ClinVar Genomic variation as it relates to human health

Search by gene symbols, location, HGVS expressions, c-dot, p-dot, conditions, a [Search ClinVar](#) [Advanced search](#)

About Access Submit Stats FTP Help

NM_000492.4(CFTR):c.1652G>A (p.Gly551Asp) Cite Follow Print Download

We've updated the ClinVar website to better support classifications of somatic variants!
Read more about changes to the website in our [web release notes](#); more information about somatic variants in ClinVar is available on [GitHub](#).

Top reviewed classifications are shown here. Submission summary: **32 submissions 28 submitters 8 conditions**

Germline

Practice guidelines: **Pathogenic** Mar 2004 by American Colle... for Cystic fibrosis

Reviewed by expert panel: **Drug response** Mar 2021 by PharmGKB for ivacaftor response - Efficacy

Pathogenic Mar 2017 by CFTR2 for Cystic fibrosis

Somatic No data submitted for somatic clinical impact

Somatic No data submitted for oncogenicity

Αυτή η νουκλεοτιδική παραλλαγή είναι παθογόνος και σχετίζεται με την κυστική ίνωση.

Variant Details

Identifiers: NM_000492.4(CFTR):c.1652G>A (p.Gly551Asp)
Variation ID: 7120 Accession: VCV000007120.131

Type and length: single nucleotide variant, 1 bp

Location: Cytogenetic: 7q31.2 7: 117587806 (GRCh38) [NCBI UCSC] 7: 117227860 (GRCh37) [NCBI UCSC]

Timeline in ClinVar:

	First in ClinVar	Last submission	Last evaluated
Germline	Mar 24, 2015	Jun 17, 2024	Mar 3, 2004

HGVS:

Nucleotide	Protein	Molecular consequence
NM_000492.4:c.1652G>A MANE SELECT	NP_000483.3:p.Gly551Asp	missense
NC_000007.14:g.117587806G>A		
NC_000007.13:g.117227860G>A		
NG_016465.4:g.127023G>A		
NG_056131.3:g.761G>A		
LRG_663:g.127023G>A		
LRG_663t1:c.1652G>A	LRG_663p1:p.Gly551Asp	
	P13569:p.Gly551Asp	

[... less HGVS](#)

Protein change: **G551D**

Όπως εντοπίστηκε στο BLAST, πρόκειται για μια παραλλαγή ενός νουκλεοτιδίου

Πρόσθετη σύνταξη που αναφέρεται στην ίδια παραλλαγή σε διαφορετικές κατηγορίες αλληλουχιών, όπως το mRNA (NM).

Ο χαρακτηρισμός G551D σημαίνει ότι η νουκλεοτιδική παραλλαγή 126023 G>A οδηγεί σε αλλαγή αμινοξέος από G (γλυκίνη) σε D (ασπαραγίνη) στο 551ο αμινοξύ της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί.

Γλωσσάρι

Από το DNA στη θεραπεία

Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



Αλληλόμορφο: Ένα αλληλόμορφο είναι μια συγκεκριμένη εκδοχή ή μετάλλαξη ενός γονιδίου. Για παράδειγμα, το γονίδιο για το χρώμα των ματιών μπορεί να έχει διαφορετικά αλληλόμορφα που κωδικοποιούν το καφέ, το μπλε ή το πράσινο χρώμα.

Αναστροφή: Η αναστροφή είναι ένας τύπος μετάλλαξης όπου ένα τμήμα της αλληλουχίας του DNA αντιστρέφεται. Είναι σαν να διαβάζεις μια λέξη ανάποδα.

Αντικατάσταση: Η αντικατάσταση είναι ένας τύπος μετάλλαξης που αντικαθιστά ένα γράμμα ή μια βάση στην αλληλουχία του DNA με ένα άλλο. Είναι σαν να αλλάζετε ένα γράμμα σε μια λέξη με ένα άλλο.

Γενετική αποτύπωση (DNA fingerprinting): Η γενετική αποτύπωση είναι μια διαδικασία με την οποία οι επιστήμονες συγκρίνουν τα μοτίβα αλληλουχίας DNA των ατόμων, αφού πρώτα τα απεικονίσουν με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα, με σκοπό να τα διακρίνουν μεταξύ τους. Ακριβώς όπως τα δακτυλικά μας αποτυπώματα, κάθε άτομο έχει μια μοναδική γενετική σύσταση που το διαχωρίζει από τον υπόλοιπο πληθυσμό (εκτός από τους πανομοιότυπους διδύμους). Όπως η σύγκριση δακτυλικών αποτυπωμάτων σε μια σκηνή εγκλήματος, έτσι και η γενετική αποτύπωση μπορεί να βοηθήσει τους επιστήμονες να αντιστοιχίσουν το DNA σε άτομα ή να αναγνωρίσουν άτομα με συγκεκριμένες ασθένειες.

Γονιδιακή έκφραση: Η διαδικασία με την οποία οι πληροφορίες που κωδικοποιούνται σε ένα γονίδιο χρησιμοποιούνται για τη σύνθεση ενός λειτουργικού γονιδιακού προϊόντος, όπως μια πρωτεΐνη ή ένα μη κωδικό RNA. Περιλαμβάνει τη μεταγραφή του γονιδίου σε αγγελιοφόρο RNA (mRNA) από την RNA πολυμεράση, ακολουθούμενη από τη μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνη ή τη λειτουργία του μη κωδικού RNA.

Γονίδιο: Το γονίδιο είναι μια διακριτή αλληλουχία νουκλεοτιδίων η οποία συνιστά μέρος ενός χρωμοσώματος και χρησιμεύει ως τμήμα DNA που μεταφέρει οδηγίες για την ανάπτυξη και τη λειτουργία των ζωντανών οργανισμών. Τα γονίδια παίζουν καθοριστικό ρόλο στον καθορισμό διαφόρων χαρακτηριστικών ή γνωρισμάτων, όπως το χρώμα των ματιών, το ύψος και η ευαισθησία σε ορισμένες ασθένειες.

Γονιδίωμα: Το γονιδίωμα είναι το πλήρες σύνολο του γενετικού υλικού (DNA) ενός οργανισμού. Περιλαμβάνει όλα τα γονίδια και τις μη κωδικοποιητικές περιοχές που συνθέτουν ολόκληρο το γενετικό σχέδιο ενός οργανισμού.

Διπλασιασμός: Ο διπλασιασμός είναι ένας τύπος μετάλλαξης όπου ένα τμήμα του DNA διπλασιάζεται, με αποτέλεσμα ένα επιπλέον αντίγραφο αυτής της γενετικής πληροφορίας. Είναι σαν να έχουμε μια επαναλαμβανόμενη φράση σε μια πρόταση.

Έκκριση πρωτεϊνών: Η έκκριση πρωτεϊνών είναι η διαδικασία με την οποία τα κύτταρα απελευθερώνουν ή εξάγουν πρωτεΐνες στο εξωκυτταρικό περιβάλλον ή σε συγκεκριμένα οργάνδια εντός του κυττάρου. Η διαδικασία αυτή είναι απαραίτητη για πολλές βιολογικές λειτουργίες, συμπεριλαμβανομένης της επικοινωνίας μεταξύ των κυττάρων, της διατήρησης της κυτταρικής δομής και της ρύθμισης των φυσιολογικών διεργασιών. Διαδραματίζει ζωτικό ρόλο στη διασφάλιση της παράδοσης των πρωτεϊνών στους προβλεπόμενους προορισμούς τους, συμβάλλοντας έτσι στο συνολικό συντονισμό και τη λειτουργικότητα των κυτταρικών δραστηριοτήτων.

Έλλειψη: Η έλλειψη είναι ένας τύπος μετάλλαξης όπου ένα κομμάτι πληροφορίας χάνεται ή μετακινείται εκ νέου από την αλληλουχία του DNA. Είναι σαν να αφαιρείται ένα γράμμα από μια λέξη.

Εξώνιο: Τμήμα ενός μορίου DNA που κωδικοποιεί ένα συγκεκριμένο τμήμα μιας πρωτεΐνης. Τα γονίδια αποτελούνται από εξώνια και εσώνια. Τα εξώνια είναι τα τμήματα του γονιδίου που μεταγράφονται σε mRNA (αγγελιαφόρο RNA) και τελικά μεταφράζονται σε πρωτεΐνη.

Ετερόζυγος: Αναφέρεται στο άτομο που έχει δύο διαφορετικά αλληλόμορφα για ένα συγκεκριμένο γονίδιο. Αυτό σημαίνει ότι τα δύο αντίγραφα του γονιδίου που λαμβάνει από κάθε γονέα είναι διαφορετικά. Για παράδειγμα, εάν ένα άτομο κληρονομεί ένα επικρατές αλληλόμορφο και ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο (Αα) για ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, λέμε ότι είναι ετερόζυγο για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό.

Κεντρικό δόγμα: Το κεντρικό δόγμα της μοριακής βιολογίας που περιγράφει τη ροή της γενετικής πληροφορίας μέσα σε ένα βιολογικό σύστημα. Δηλώνει ότι οι πληροφορίες στο DNA μεταγράφονται σε RNA και στη συνέχεια το RNA μεταφράζεται σε πρωτεΐνες. Αυτή η διαδικασία είναι θεμελιώδης για το πώς εκφράζεται και χρησιμοποιείται η γενετική πληροφορία στους ζωντανούς οργανισμούς.

Μεταγραφή: Η μεταγραφή είναι η κυτταρική διαδικασία με την οποία οι κωδικοποιημένες γενετικές πληροφορίες του DNA μεταγράφονται, ή αντιγράφονται, σε ένα συμπληρωματικό μόριο RNA. Αυτό το μόριο RNA χρησιμεύει ως προσωρινό αντίγραφο συγκεκριμένων γενετικών οδηγιών, που του επιτρέπεται να εγκαταλείψει τον πυρήνα και να εισέλθει στο κυτταρόπλασμα για περαιτέρω επεξεργασία.

Μεταφορά πρωτεϊνών: Η μεταφορά πρωτεϊνών είναι ο κυτταρικός μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για τη μετακίνηση των νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών σε συγκεκριμένα κυτταρικά διαμερίσματα ή οργάνδια. Αφού συντεθούν οι πρωτεΐνες, πρέπει να φτάσουν στις καθορισμένες θέσεις τους μέσα στο κύτταρο για να επιτελέσουν τις λειτουργίες τους. Η διακίνηση πρωτεϊνών εξασφαλίζει την ακριβή παράδοση των πρωτεϊνών και συμβάλλει στην οργάνωση και την αποτελεσματικότητα των κυτταρικών διαδικασιών.

Μετάφραση: Η μετάφραση έπεται της μεταγραφής και είναι η διαδικασία με την οποία η μεταφερόμενη από το RNA πληροφορία χρησιμοποιείται για τη σύνθεση πρωτεϊνών. Τα ριβοσώματα διαβάζουν την αλληλουχία του RNA ανά τριπλέτα νουκλεοτιδίων (κωδικόνια) και αντιστοιχούν κάθε κωδικόνιο σε ένα συγκεκριμένο αμινοξύ. Αυτό οδηγεί στην κατασκευή μιας αλυσίδας αμινοξέων που σχηματίζει μια πρωτεΐνη.

Ομόζυγος: Αναφέρεται στο άτομο που έχει δύο πανομοιότυπα αλληλόμορφα για ένα συγκεκριμένο γονίδιο. Με απλά λόγια, και τα δύο αντίγραφα του γονιδίου που κληρονομούνται από κάθε γονέα είναι τα ίδια. Για παράδειγμα, εάν ένα άτομο κληρονομεί δύο επικρατούντα αλληλόμορφα (ΑΑ) ή δύο υπολειπόμενα αλληλόμορφα (αα) για ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό, τότε λέμε ότι είναι ομόζυγο για το συγκεκριμένο χαρακτηριστικό.



Προσθήκη: Η προσθήκη είναι ένας τύπος μετάλλαξης που προσθέτει ένα επιπλέον κομμάτι πληροφορίας στην αλληλουχία του DNA. Είναι σαν να προσθέτουμε ένα επιπλέον γράμμα σε μια λέξη.

Φυσικός τύπος: Πρόκειται για τη φυσιολογική εκδοχή ενός γονιδίου ή αλληλομόρφου, η οποία συνήθως απαντάται στην πλειονότητα των ατόμων ενός πληθυσμού, και δεν συνδέεται με μεταλλάξεις ή ανωμαλίες που θα άλλαζαν τη λειτουργία του.

Φύλλο απαντήσεων

Από το DNA στη θεραπεία

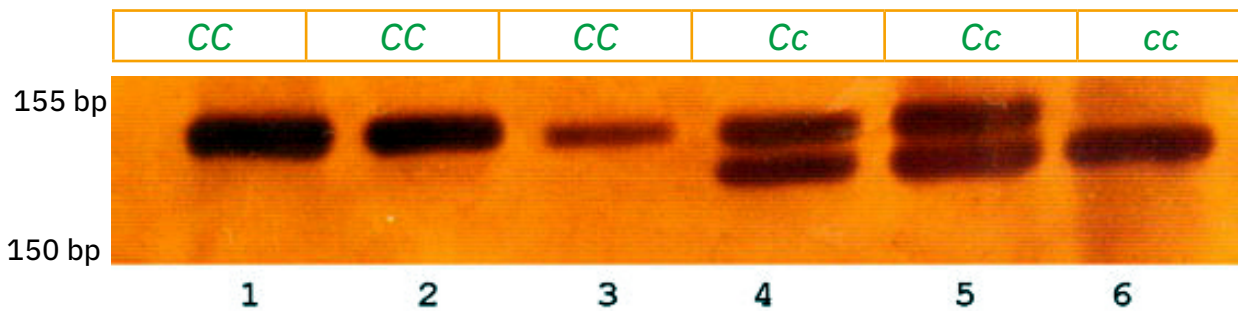
Δραστηριότητα μέσω υπολογιστή για τη γονιδιωματική



ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 1

1 Α. Εξετάστε σε κάθε στήλη, τις ζώνες DNA που αντιπροσωπεύουν γονιδιακά τμήματα από έξι διαφορετικά έμβρυα. Προσδιορίστε και σημειώστε κάθε στήλη ως εξής:

- Σημειώστε "CC" στις στήλες από έμβρυα με ομόζυγο γονίδιο CFTR φυσικού τύπου.
- Σημειώστε "Cc" στις στήλες από έμβρυα με ετερόζυγο γονίδιο CFTR.
- Σημειώστε "cc" στις στήλες από έμβρυα με ομόζυγο γονίδιο CFTR που φέρουν τη μετάλλαξη delF508.



1 Β. Εξηγήστε γιατί τα έμβρυα 4 και 5 είναι απίθανο να αναπτύξουν κυστική ίνωση.

Καθώς η κυστική ίνωση είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη γενετική διαταραχή, η νόσος εκδηλώνεται μόνο όταν μεταλλάσσονται και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια (ένα από τη μητέρα και ένα από τον πατέρα). Τα άτομα 4 και 5 έχουν ένα από τα αλληλόμορφα τους μεταλλαγμένο, ενώ το άλλο είναι φυσικού τύπου, όπως φαίνεται από τις δύο διακριτές ζώνες στο πήκτωμα – η κάτω είναι το κατά 3 βάσεις (bp) μικρότερο μεταλλαγμένο αλληλόμορφο και η πάνω είναι το αλληλόμορφο φυσικού τύπου, το οποίο έχει μήκος 154 bp. Δεδομένου ότι ένα λειτουργικό αλληλόμορφο είναι ικανό να παράξει αρκετή λειτουργική πρωτεΐνη CFTR για να εξασφαλίσει τη μεταφορά ιόντων χλωρίου και την παραγωγή βλέννας, οι ασθενείς 4 και 5 είναι απίθανο να αναπτύξουν κυστική ίνωση.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 2

2 Α. Χρησιμοποιήστε το BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) για να εξετάσετε τις αλληλουχίες DNA των τριών ασθενών με κυστική ίνωση που ακολουθούν και να προσδιορίσετε ποια μετάλλαξη φέρουν.

Ασθενής 1

Θέση της μετάλλαξης και αλλαγή νουκλεοτιδίου: **127023G>A**

Τύπος: **αντικατάσταση**

Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης: **NG_016465.4:g.127023G>A**

Ασθενής 2

Θέση της μετάλλαξης και αλλαγή νουκλεοτιδίου: **126995G>T**

Τύπος: **αντικατάσταση**

Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης: **NG_016465.4:g.126995G>T**

Ασθενής 3

Θέση της μετάλλαξης και αλλαγή νουκλεοτιδίου: **192094C>G**

Τύπος: **αντικατάσταση**

Όνομα μετάλλαξης σύμφωνα με τους κανόνες σύνταξης: **NG_016465.4:g.192094C>G**

2 Β. Διερευνήστε τις επιπτώσεις των μεταλλάξεων με τη χρήση του ClinVar.

Ασθενής 1

Αντικατάσταση αμινοξέος: **G551D (Gly551Asp)**

Παθογόνο: **Ναι**

Ασθενής 2

Αντικατάσταση αμινοξέος: **G542* (Gly542Ter)**

Παθογόνο: **Ναι**

Ασθενής 3

Αντικατάσταση αμινοξέος: **N1303K (Asn1303Lys)**

Παθογόνο: **Ναι**

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 3

3 Α. Ανατρέξτε στον ΠΙΝΑΚΑ 1 του ενημερωτικού φυλλαδίου για την κυστική ίνωση, όπου θα βρείτε πληροφορίες σχετικά με τις μεταλλάξεις που σχετίζονται με τη νόσο και τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζουν τις κυτταρικές διεργασίες. Στη συνέχεια απαντήστε στις ερωτήσεις που ακολουθούν.

Προσδιορίστε και καταχωρίστε στον πίνακα ποια κατηγορία μετάλλαξης αντιστοιχεί σε ποιον ασθενή.

Κατηγορία κυστικής ίνωσης	Κατηγορία 1	Κατηγορία 2	Κατηγορία 3
Μετάλλαξη σε επίπεδο DNA	126995 G>T	192094 C>G	127023 G>A
Ασθενής με κυστική ίνωση	Ασθενής 2	Ασθενής 3	Ασθενής 1

3 Β. Ανατρέξτε ξανά στον πίνακα και εξηγήστε ποιες από τις κυτταρικές διεργασίες που αναφέρονται στο παρακάτω πλαίσιο είναι διαταραγμένες στους εξεταζόμενους ασθενείς.

Μεταγραφή, Μετάφραση, Μεταφορά πρωτεϊνών, Μεταφορά ιόντων χλωρίου
Ασθενής 1

Η μετάλλαξη αντικατάστασης βάσης από γουανίνη σε αδενίνη στο DNA του Ασθενούς 1 οδηγεί στην αντικατάσταση ενός αμινοξέος από ένα άλλο. Η μετάλλαξη δεν επηρεάζει τη φυσιολογική μεταγραφή και μετάφραση της πρωτεΐνης ή τη μεταφορά της στη μεμβράνη. Ωστόσο, η μετάλλαξη παρεμβαίνει στην ικανότητα της πρωτεΐνης να ανοίγει σωστά, επηρεάζοντας έτσι τη μεταφορά ιόντων χλωρίου προς την επιφάνεια του κυττάρου.

Ασθενής 2

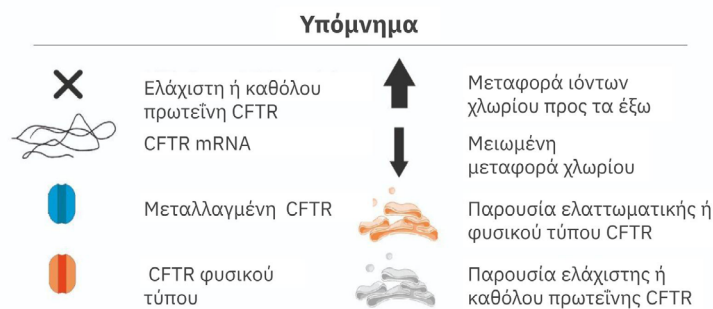
Η μετάλλαξη αντικατάστασης βάσης της γουανίνης σε θυμίνη στο DNA του Ασθενούς 2 δημιουργεί ένα πρόωρο κωδικόνιο λήξης στο mRNA του CFTR, προκαλώντας τη διακοπή της μετάφρασης της πρωτεΐνης πριν από την ολοκλήρωση της πλήρους σύνθεσης της, με αποτέλεσμα να παραχθεί ένα μικρότερο πρωτεϊνικό προϊόν. Σημειώνεται, πως ένα σύστημα επιτήρησης στο κύτταρο έχει τη δυνατότητα να εντοπίζει και να αποικοδομεί τέτοια mRNA με πρόωρα κωδικόνια λήξης, αποτρέποντας τη μετάφραση του mRNA. Συνεπώς, η μετάφραση της πρωτεΐνης CFTR δεν ολοκληρώνεται επιτυχώς. Δεδομένου ότι υπάρχει ελάχιστη έως καθόλου πρωτεΐνη CFTR στην κυτταρική μεμβράνη, η μεταφορά ιόντων προς το εξωτερικό του κυττάρου διαταράσσεται.

Ασθενής 3

Η μετάλλαξη αντικατάστασης βάσης της κυτοσίνης σε γουανίνη στο DNA αυτού του ασθενούς έχει ως αποτέλεσμα την αντικατάσταση ενός αμινοξέος από ένα άλλο, οδηγώντας σε διαταραχή της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης στο χώρο και της λειτουργίας της ως κανάλι μεταφοράς ιόντων. Η ελαττωματική αναδίπλωση της πρωτεΐνης εμποδίζει τη μεταφορά της πρωτεΐνης προς την κυτταρική μεμβράνη, επηρεάζοντας έτσι και τη μεταφορά ιόντων προς το εξωτερικό του κυττάρου.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 3 - ΣΥΝΕΧΕΙΑ

3 Γ. Παρακάτω παρουσιάζονται αντιπροσωπευτικά κύτταρα από ένα υγιές άτομο και άτομα με κυστική ίνωση. Εξετάστε την επίδραση που έχουν ορισμένες μεταλλάξεις στην παραγωγή της πρωτεΐνης CFTR και αντιστοιχίστε τα κύτταρα με τους ασθενείς που τις φέρουν.



3 Δ. Παρακάτω παρουσιάζεται σχηματικά ένα τμήμα του κωδικοποιητικού πλαισίου του γονιδίου CFTR και των αντίστοιχων αμινοξέων του. Σε αυτό εμφανίζεται η μετάλλαξη deltaF508 η οποία οφείλεται σε έλλειψη 3 νουκλεοτιδίων από το αρχικό DNA του αλληλομόρφου φυσικού τύπου. Κοιτάζοντας το παρακάτω σχήμα και τον τροχό των κωδικονίων στα ενημερωτικά φυλλάδια, προβλέψτε αν το αμινοξύ στη θέση 507 θα επηρεαζόταν με οποιονδήποτε τρόπο.

		θέση έλλειψης																												
Αριθμός νουκλεοτιδίων	1513																													1542
Νουκλεοτιδική αλληλουχία		A	A	T	A	T	C	A	T	C	T	T	T	G	G	T	G	T	T	C	T	A	T	G	A	T	G	A	A	
Αμινοξική αλληλουχία																														
Αριθμός αμινοξέων	505	N	I	I	F	G	V	S	Y	D	E																	514		

Μετά την έλλειψη της νουκλεοτιδικής τριπλέτας CTT από την κωδικοποιούσα περιοχή, ο γενετικός κώδικας (TTT) για τη φαινυλαλανίνη (F) χάνεται/διαταράσσεται εμποδίζοντας τη μεταγραφή και τη μετάφραση αυτής της πληροφορίας. Αυτή η διαγραφή τριών νουκλεοτιδίων οδηγεί επίσης σε αλλαγή του γενετικού κώδικα για το αμινοξύ στη θέση 507. Μετά τη διαγραφή του κωδικονίου CTT, το κωδικόνιο ACT για την ισολευκίνη αλλάζει σε ATT. Ωστόσο, αυτό το κωδικόνιο κωδικοποιεί επίσης το ίδιο αμινοξύ, αποτρέποντας την απώλεια πληροφοριών για την ισολευκίνη στη θέση 507.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 4

4 Α. Γνωρίζοντας την επίδραση που έχουν οι διάφορες μεταλλάξεις του *CFTR* στην πρωτεΐνη, προσδιορίστε τις πιθανές θεραπευτικές επιλογές από τον παρακάτω κατάλογο που είναι οι πλέον κατάλληλες για κάθε ασθενή. Εξηγήστε το σκεπτικό σας.

Κατάλογος φαρμάκων:

- ELX-02/θεραπεία "ανάγνωσης" – προάγει την ανάγνωση των mRNAs με μεταλλάξεις χωρίς νόημα, παρακάμπτοντας τα πρόωρα κωδικόνια λήξης και επιτρέποντας τη σύνθεση λειτουργικών πρωτεϊνών πλήρους μήκους και τη σωστή μεταφορά ιόντων χλωρίου.
- Ivacaftor/θεραπεία με "ενισχυτή" - συνδέεται με την ελαττωματική πρωτεΐνη CFTR στην κυτταρική μεμβράνη και βοηθά να διατηρηθούν ανοιχτοί οι διάλυτοι χλωρίου.
- Lumacaftor/θεραπεία "διορθωτή" - βοηθά τις λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες να αποκτήσουν τη σωστή τους μορφή.
- Orkambi- εμπορικό φάρμακο που περιέχει lumacaftor και ivacaftor.

Ασθενής 1

Ο Ασθενής 1 φέρει μια μετάλλαξη που εμποδίζει το σωστό άνοιγμα της πρωτεΐνης-διαύλου, οδηγώντας σε μειωμένη μεταφορά ιόντων χλωρίου μέσω αυτής. Αυτό το ελάττωμα στη λειτουργία της πρωτεΐνης μπορεί να αμβλυνθεί με τη χρήση ενός φαρμάκου που βοηθά την πρωτεΐνη να διατηρεί το κανάλι των ιόντων χλωρίου ανοιχτό. Σε αυτή την περίπτωση, η θεραπεία θα ήταν δυνατή με ivacaftor.

Ασθενής 2

Ο Ασθενής 2 φέρει μια μετάλλαξη που οδηγεί στο σχηματισμό ενός πρόωρου κωδικονίου λήξης στο mRNA του CFTR. Αυτό εμποδίζει τη μετάφραση του mRNA του CFTR σε πρωτεϊνικό προϊόν πλήρους μήκους. Για την αντιστάθμιση αυτού του κυτταρικού ελλείμματος, μια προσέγγιση "ανάγνωσης" με το σκεύασμα ELX-02 συνιστάται στη θεραπεία αυτού του ασθενούς.

Ασθενής 3

Αυτός ο ασθενής φέρει μια μετάλλαξη που προκαλεί την αντικατάσταση ενός αμινοξέος, η οποία οδηγεί σε λανθασμένη αναδίπλωση της πρωτεΐνης CFTR και ακατάλληλη λειτουργία του διαύλου ιόντων. Για τη θεραπεία των ασθενών με αυτή τη μετάλλαξη, θα χρειαζόταν ένα μείγμα φαρμακευτικών σκευασμάτων, που θα επέτρεπε πρώτον, τη σωστή αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας CFTR και δεύτερον - μόλις η πρωτεΐνη φτάσει στην κυτταρική μεμβράνη - την διατήρηση της ορθής λειτουργίας του διαύλου. Ως εκ τούτου, μια αγωγή με lumacaftor και ivacaftor (Orkambi) θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη θεραπεία αυτού του ασθενούς.

ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ 4 - ΣΥΝΕΧΕΙΑ

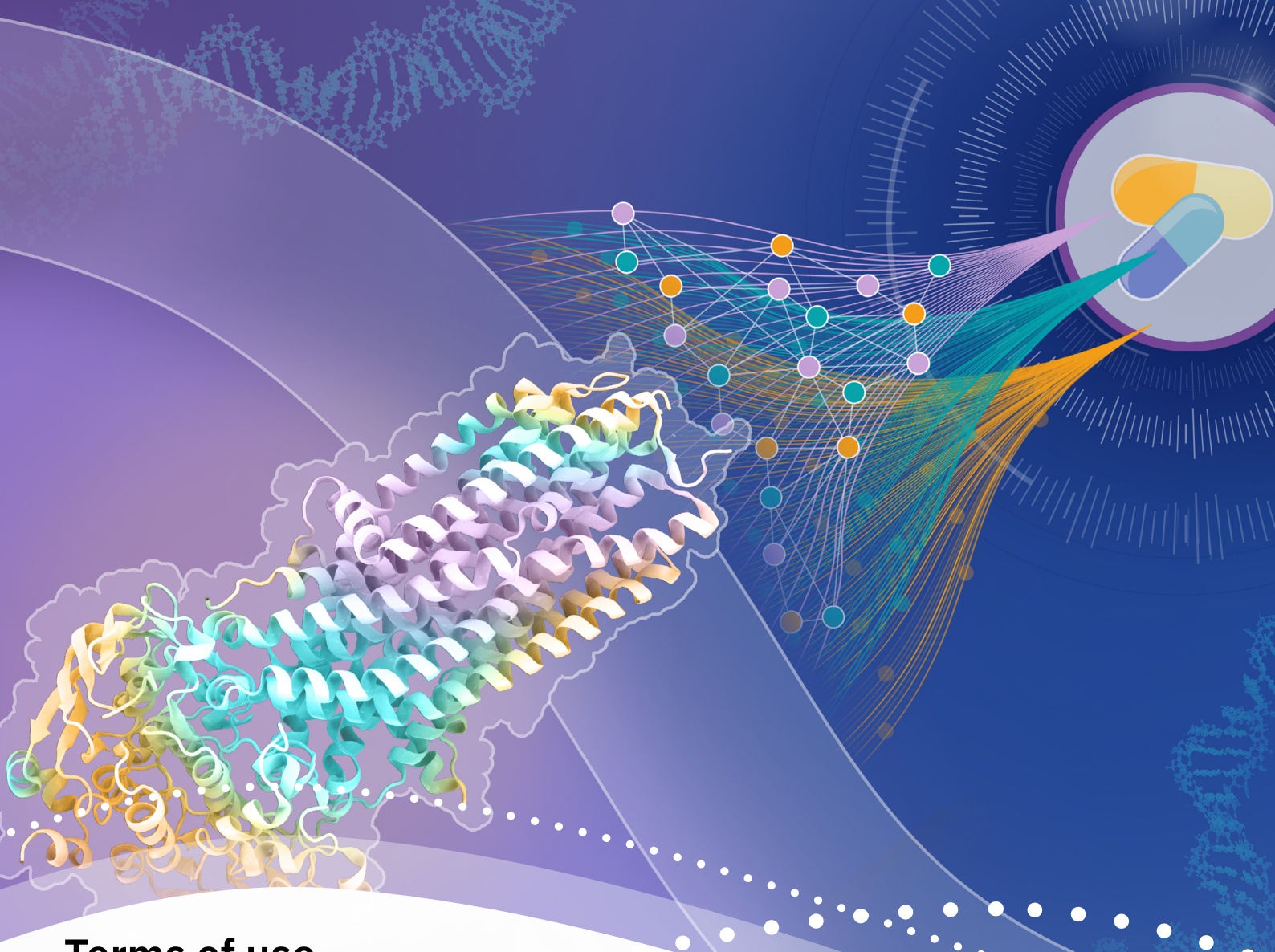
4 Β. Σας παραπέμφθηκε ένας νέος ασθενής με συμπτώματα κυστικής ίνωσης. Μετά την αλληλούχιση του γονιδιώματος του ασθενούς, ανακαλύπτετε ότι το άτομο φέρει δύο διαφορετικές μεταλλάξεις στο γονίδιο *CFTR*. Ενώ το ένα αλληλόμορφο περιέχει τη μετάλλαξη N1303K, το άλλο αλληλόμορφο περιέχει τη μετάλλαξη G542X. Έχοντας κατά νου αυτές τις πληροφορίες, να προβλέψετε εάν μια θεραπεία με συνδυασμό lumacaftor και ivacaftor θα ήταν επαρκής για να ανακουφίσει το ελάττωμα που προκαλείται από τις μεταλλάξεις.

Αν και το lumacaftor μπορεί να βοηθήσει στην επιδιόρθωση των λανθασμένα αναδιπλωμένων πρωτεϊνών που δημιουργούνται από τη μετάλλαξη N1303K και το ivacaftor διατηρεί τους ανοικτούς τους διαύλους ιόντων χλωρίου, η παραγωγή της CFTR σε επίπεδο μετάφρασης από το mRNA θα εξακολουθήσει να είναι μειωμένη. Εκτός από αυτά τα δύο φαρμακευτικά σκευάσματα, για να διορθωθούν οι κυτταρικές διεργασίες που διαταράσσονται από τις δύο μεταλλάξεις, θα χρειαζόταν ένα επιπλέον σκευάσμα, όπως η ELX-02 που θα εμποδίζει τον πρόωρο τερματισμό της μετάφρασης της πρωτεΐνης CFTR και θα βοηθούσε στην παραγωγή περισσότερης CFTR.

4 Γ. Στο τέλος της εργάσιμης ημέρας σας, συντάξτε μια σύντομη έκθεση που να συνοψίζει την εργασία σας σχετικά με τα τελευταία περιστατικά κυστικής ίνωσης, συμπληρώνοντας τα κενά που ακολουθούν.

πρωτεϊνών, ClinVar, αλληλούχιση, BLAST, παθογόνου, DNA, θεραπεία, μετάλλαξη

DNA από κάθε ασθενή απομονώθηκε και υποβλήθηκε σε **αλληλούχιση**. Οι αλληλουχίες που αποκτήθηκαν ευθυγραμμίστηκαν με μια αλληλουχία γονιδιώματος αναφοράς με το εργαλείο **BLAST**, και προσδιορίστηκε το προφίλ μεταλλάξεων του γονιδιώματος κάθε ασθενούς. Στη συνέχεια, ένας γρήγορος έλεγχος στη βάση δεδομένων **ClinVar** αποκάλυψε την επίδραση των μεταλλάξεων του ασθενούς σε επίπεδο **πρωτεϊνών** και επέτρεψε την κατηγοριοποίηση της μετάλλαξης ως **παθογόνου**. Με βάση τις διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις πιθανές θεραπευτικές επιλογές για κάθε **μετάλλαξη**, συνταγογραφήθηκε η καλύτερη **θεραπεία** για κάθε ασθενή.



Terms of use

The educational resource is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International (CC BY-NC-SA 4.0) License. To view a copy of this license, visit <https://www.creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>.

EMBL Science Education and Public Engagement

EMBL

Meyerhofstraße 1
69117 Heidelberg
Germany

Tel: +49 6221 387 8805
Mail: sepe@embl.de
Website: embl.org/sepe



Sign up for our newsletter:
embl.org/ells/newsletter/

