Генетические школы
genschool.ru

Мутации
Классификация и номенклатура
Базы данных мутаций

Д.б.н. Стрельников Владимир Викторович

Зав. лабораторией эпигенетики ФГБНУ "МГНЦ"
Проф., кафедра молекулярной и медицинской генетики РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Лекция прочитана в рамках проекта genschool.ru, октябрь 2016 г.

Мутация – любое изменение в последовательности ДНК, независимо от локализации и влияния на жизнеспособность

Изменение последовательности ДНК

- Полиморфизм
  - Внутри- и межвидовое разнообразие
- Пока не изученные варианты
- Генетическое заболевание

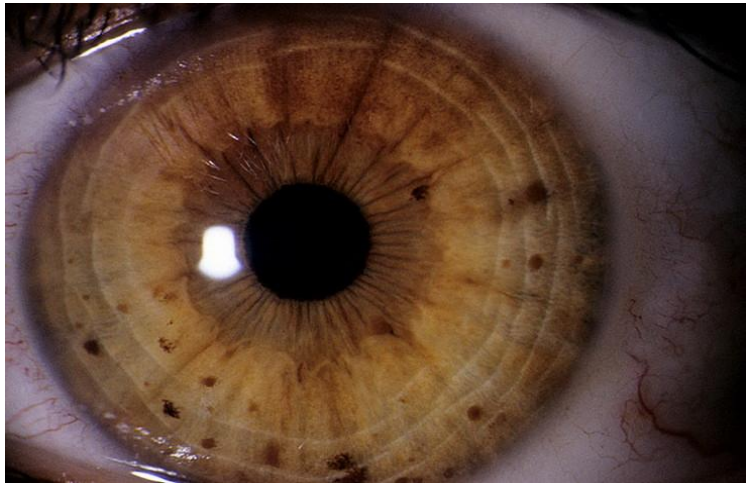
У человека: 100 мутаций за одно поколение

Синдром Ретта: мутации в гене *MeCP2*

- **Диагностируется в возрасте 6 – 18 месяцев**
- **Нормальное пренатальное и перинатальное развитие**
- **Затем наблюдается резкая регрессия, потеря навыков, появление стереотипных движений, задержка психомоторного развития, аутизм**
- **1 : 10 000 – 15 000**

Нейрофиброматоз

- сочетанные поражения кожи, глаз, нервной системы и внутренних органов



1 : 3500

Изменение последовательности ДНК,
не приводящее к заметным нарушениям функций -
нейтральная мутация, или полиморфизм

- Полностью нейтральный полиморфизм в существующих условиях среды:

  голубой **цвет глаз** — это результат мутации в гене *HERC2*

- Генетические варианты неясной значимости:

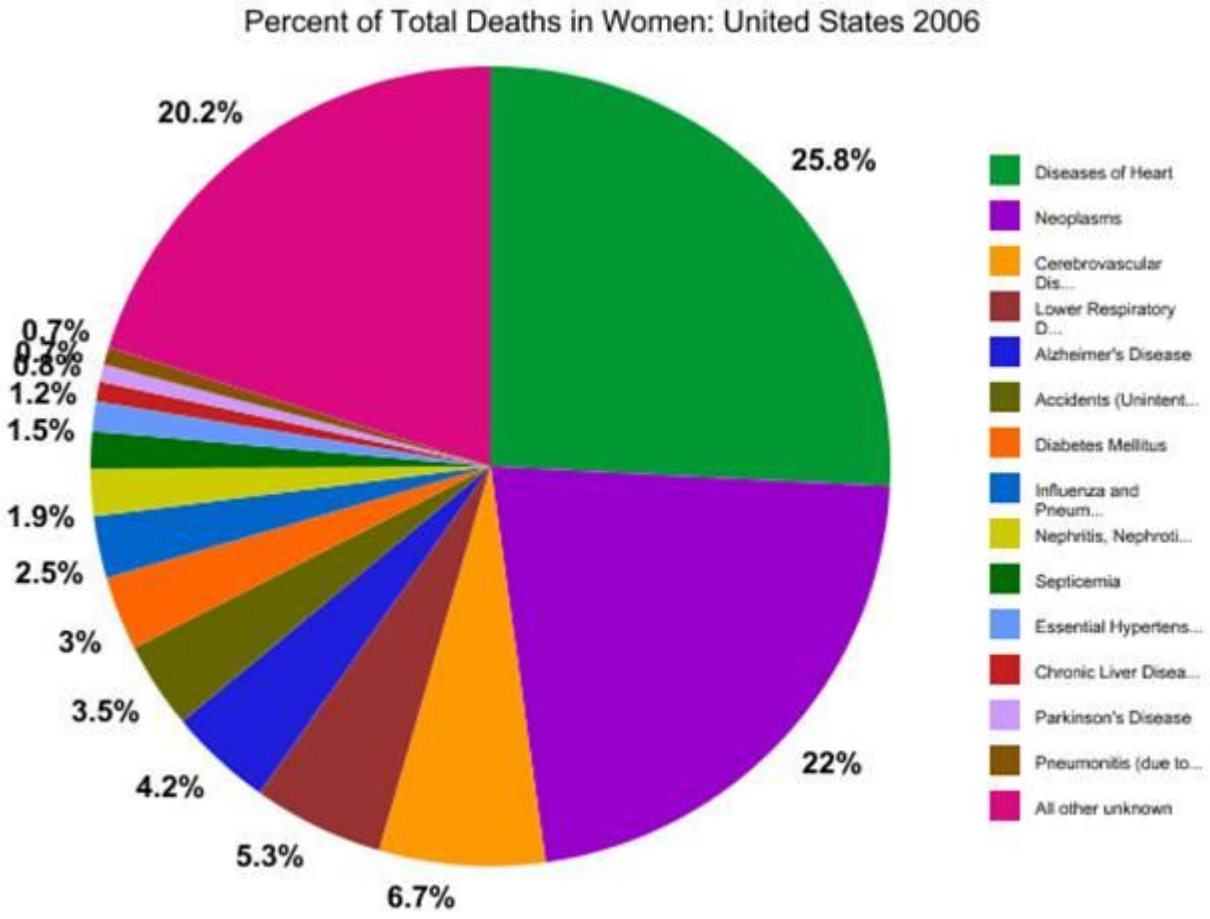
  множество миссенс-мутаций по всему геному

Полиморфизмы, ассоциированные с мультифакториальными заболеваниями

Предрасположенность к тромбофилии

- полиморфизм G1691A гена фактора V свёртывания крови (фактор Лейден)
- полиморфизм C677T гена метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR
- полиморфизм G20210A гена протромбина
- полиморфизм -675 5G/4G гена ингибитора активатора плазминогена (PAI-1)
- полиморфизм V34L гена F13A1 фактора XIII свёртывания крови
- полиморфизм A1298C гена метилентетрагидрофолатредуктазы MTHFR
- полиморфизм T1565C гена GpIIIa гликопротеина IIIa
- полиморфизм G-455A гена β-фибриногена FGB

Полиморфизмы, ассоциированные с мультифакториальными заболеваниями



National Center for Health Statistics, Center for Disease Control

Полиморфизмы, ассоциированные с сердечно-сосудистыми заболеваниями

Полиморфизмы генов фолатного обмена:

- C677T метилентетрагидрофолат редуктазы *(MTHFR)*
- A1298C метилентетрагидрофолат редуктазы *(MTHFR)*
- A2756G метионин синтазы *(MTR)*
- A66G метионинсинтазаредуктазы *(MTRR)*
- A80G в гене транспортера фолатов *(SLC19A1)*

Полиморфизмы генов ренин-ангиотензиновой системы:

- I9-83G/A в гене ренина *(REN)*
- T704C, Met235Thr в гене ангиотензиногена *(AGT)*
- C521T, Thr174Met в гене ангиотензиногена *(AGT)*
- Alu Ins/Del, в гене ангиотензин конвертирующего фермента *(ACE)*
- A1166C в гене рецептора первого типа ангиотензина II *(AGTR-1)*
- G1675A в гене рецептора второго типа ангиотензина II *(AGTR-2)*
- Ins/Del в гене рецептора B2 брадикинина *(BDKRB2)*
- G894T, Glu298Asp в гене эндотелиальной синтазы оксида азота *(NOS3)*
- T-786C, в гене эндотелиальной синтазы оксида азота *(NOS3)*

Моногенные формы внезапной сердечной смерти

Phenotype	Gene[A]	Protein	Effect of mutation	OMIM identifier[B]
LQTS	*KCNQ1* (11p15.5)	K^+ voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1 ($K_V7.1$)	Loss of function, reduced I_{Ks}	607542
	KCNH2 (7q35)	K^+ voltage-gated channel, subfamily H (eag-related), member 2 ($K_V11.1$; HERG)	Loss of function, reduced I_{Kr}	152427
	SCN5A (3p21)	Na^+ channel, voltage-gated, type V, α subunit ($Na_V1.5$)	Impaired inactivation, increased persistent I_{Na}	600163
	ANK2 (4q25)	Ankyrin 2, neuronal	Aberrant localization of ion transporters	106410
	KCNE1 (21q22.1)	K^+ voltage-gated channel auxiliary subunit	Reduced I_{Ks}	176261
	KCNE2 (21q22.1)	K^+ voltage-gated channel auxiliary subunit	Reduced I_{Kr}	603796
	CAV3 (3p25)	Caveolin 3	Increased persistent I_{Na}	601253
	SCN4B (11q23)	Na^+ channel, voltage-gated, type IV, β subunit	Increased persistent I_{Na}	608256
	SNTA1 (20q11.2)	Syntrophin, α1	Increased persistent I_{Na}	601017
	AKAP9 (7q21)	A kinase (PRKA) anchor protein (*yotiao*) 9	Reduced I_{Ks}	604001
	KCNJ5 (11q24)	K^+ inwardly rectifying channel, subfamily J, member 5 (Kir3.4)	Reduced $I_{K,ACh}$	600734
Jervell and Lange-Nielson syndrome	*KCNQ1* (11p15.5)	K^+ voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1 ($K_V7.1$)	Loss of function, reduced I_{Ks}	607542
	KCNE1 (21q22.1)	K^+ voltage-gated channel auxiliary subunit	Reduced I_{Ks}	176261
Andersen syndrome	*KCNJ2* (17q23.1)	K^+ inwardly rectifying channel, subfamily J, member 2 (Kir2.1)	Loss of function, reduced I_{K1}	600681
Timothy syndrome	*CACNA1C* (12p13.3)	Ca^{2+} channel, voltage-dependent, L type, α1C subunit ($Ca_V1.2$)	Gain of function, increased I_{Ca}	114205
SQTS	*KCNQ1* (11p15.5)	K^+ voltage-gated channel, KQT-like subfamily, member 1 ($K_V7.1$)	Gain of function, increased I_{Ks}	607542
	KCNH2 (7q35)	K^+ voltage-gated channel, subfamily H (eag-related),member 2 ($K_V11.1$; HERG)	Gain of function, increased I_{Kr}	152427
	KCNJ2 (17q23.1)	K^+ inwardly rectifying channel, subfamily J, member 2 (Kir2.1)	Gain of function, increased I_{K1}	600681
	CACNA1C (12p13.3)	voltage-gated Ca^{2+} channel, $Ca_V1.2$	Loss of function, reduced I_{Ca}	114205
	CACNB2 (10p12)	Ca^{2+} channel, voltage-dependent, β2 subunit	Loss of function, reduced I_{Ca}	600003
	CACNA2D1 (7q21)	Ca^{2+} channel, voltage-dependent, α2/δ subunit 1	Loss of function, reduced I_{Ca}	114204
BrS	*SCN5A* (3p21)	Na^+ channel, voltage-gated, type V, α subunit ($Na_V1.5$)	Loss of function, reduced I_{Na}	600163
	GPD1L (3q22.3)	glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like	Reduced I_{Na}	611778
	SCN1B (19q13.1)	Na^+ channel, voltage-gated, type I, β subunit	Reduced I_{Na}	600235
	SCN3B (11q23.3)	Na^+ channel, voltage-gated, type III, β subunit	Reduced I_{Na}	608214
	MOG1 (17p13.1)	RAN guanine nucleotide release factor	Reduced I_{Na}	607954
	KCND3 (1p13.3)	K^+ voltage-gated channel, Shal-related subfamily, member 3 ($K_V4.3$)	Gain of function, increased I_{to}	605411
	KCNE3 (11q13)	K^+ voltage-gated channel auxiliary subunit	Increased I_{to}	604433
	KCNE5 (Xq22.3)	K^+ voltage-gated channel auxiliary subunit	Increased I_{to}	300328
	CACNA1C (12p13.3)	Ca^{2+} channel, voltage-dependent, L type, α1C subunit ($Ca_V1.2$)	Loss of function, reduced I_{Ca}	114205
	CACNB2 (10p12)	Ca^{2+} channel, voltage-dependent, β2 subunit	Loss of function, reduced I_{Ca}	60003
	KCNJ8 (12p12.1)	K^+ inwardly rectifying channel, subfamily J, mem	Gain of function, increased $I_{K,ATP}$	600935
CPVT	*RYR2* (1q42.1)	Ryano		
	CASQ2 (1p13.3)	Calseq		
	TRDN (6q22)	Triadir		

Alfred L. George Jr. / *J Clin Invest.* 2013

Molecular and genetic basis of sudden cardiac death

Sudden, Unexplained Death in 40 years or Younger

Save a sample for genetic testing

- Sudden, unexplained death, especially if triggered by exercise, emotional stress or acoustic stimuli
- Possible cardiac etiology (when no other contributing factors present)
- Drowning (i.e. drowning of a sober experienced swimmer)
- Single motor vehicle accident (no mitigating factors: toxicology negative, favorable road conditions, etc.)
- Unexplained seizure
- Family history of sudden death or inherited heart disease
- Cardiomyopathies (non-ischemic)
- Thoracic Aneurysm
- Known cardiac genetic diagnosis

Middleton et al. Acad Forensic Pathol 2013 3(2): 191-194.

SADS FOUNDATION
StopSADS.org

National Society of Genetic Counselors
nsgc.org

Save 5-10mls K_2EDTA (lavender/pink top) of blood

Short term Storage (4 weeks or less) Fridge – 4° C	Long term Storage (months to years) Freezer – -20° C or -80° C
Ship overnight at room temperature to clinical lab or DNA bank	Ship overnight (Monday to Thursday) to clinical lab or DNA bank in 8"x8" Styrofoam container packed with **dry ice**

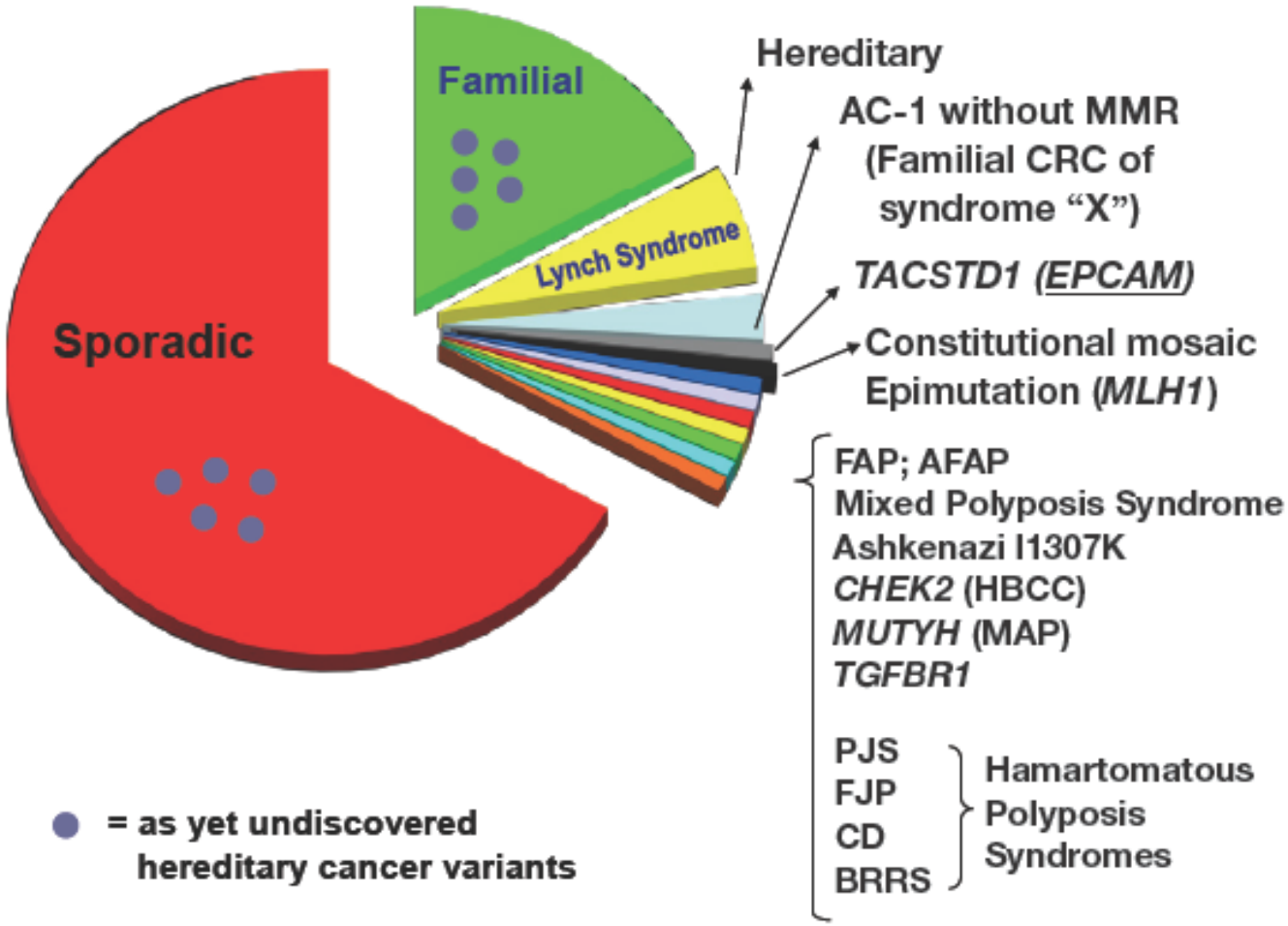
FAMILION

GeneDx

Family members can be referred to: The SADS Foundation 800-786-7723 and Cardiac genetic counselors www.nsgc.org. For more information on postmortem genetic testing visit the NSGC's link: www.nsgc.org/postmortem.

Мутации и полиморфизмы в этиопатогенезе онкозаболеваний

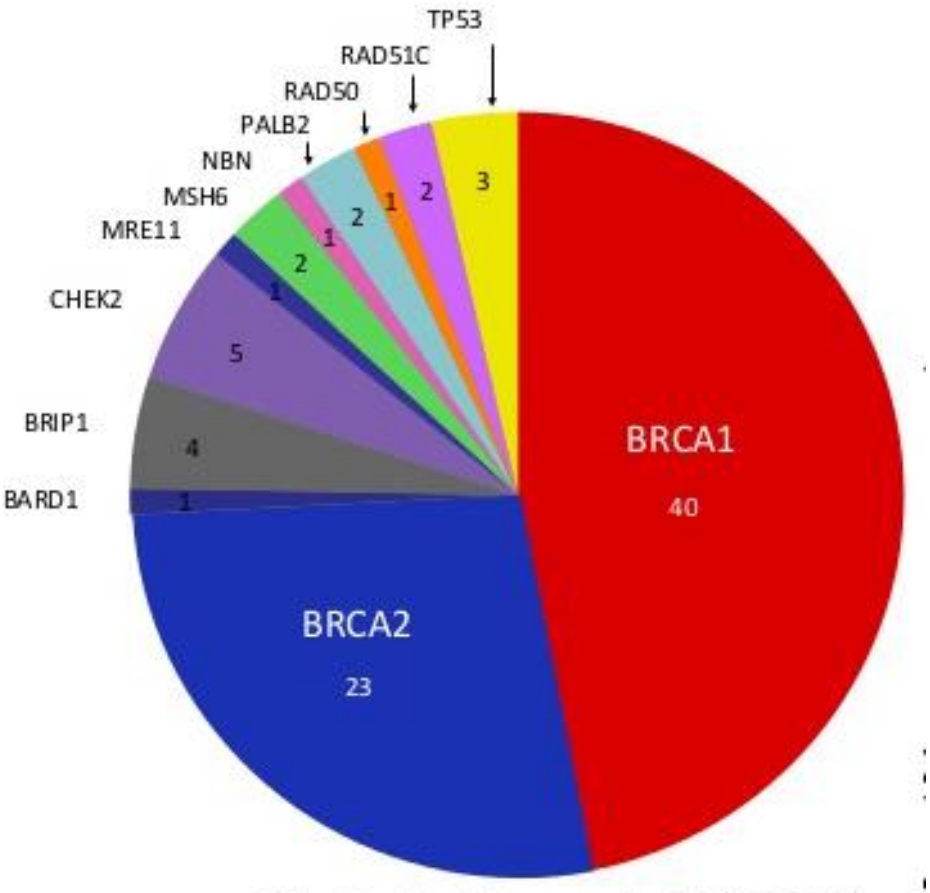
Пример 1: колоректальный рак



Мутации и полиморфизмы в этиопатогенезе онкозаболеваний

Пример 2: рак яичника

- 20% больных – носители мутаций

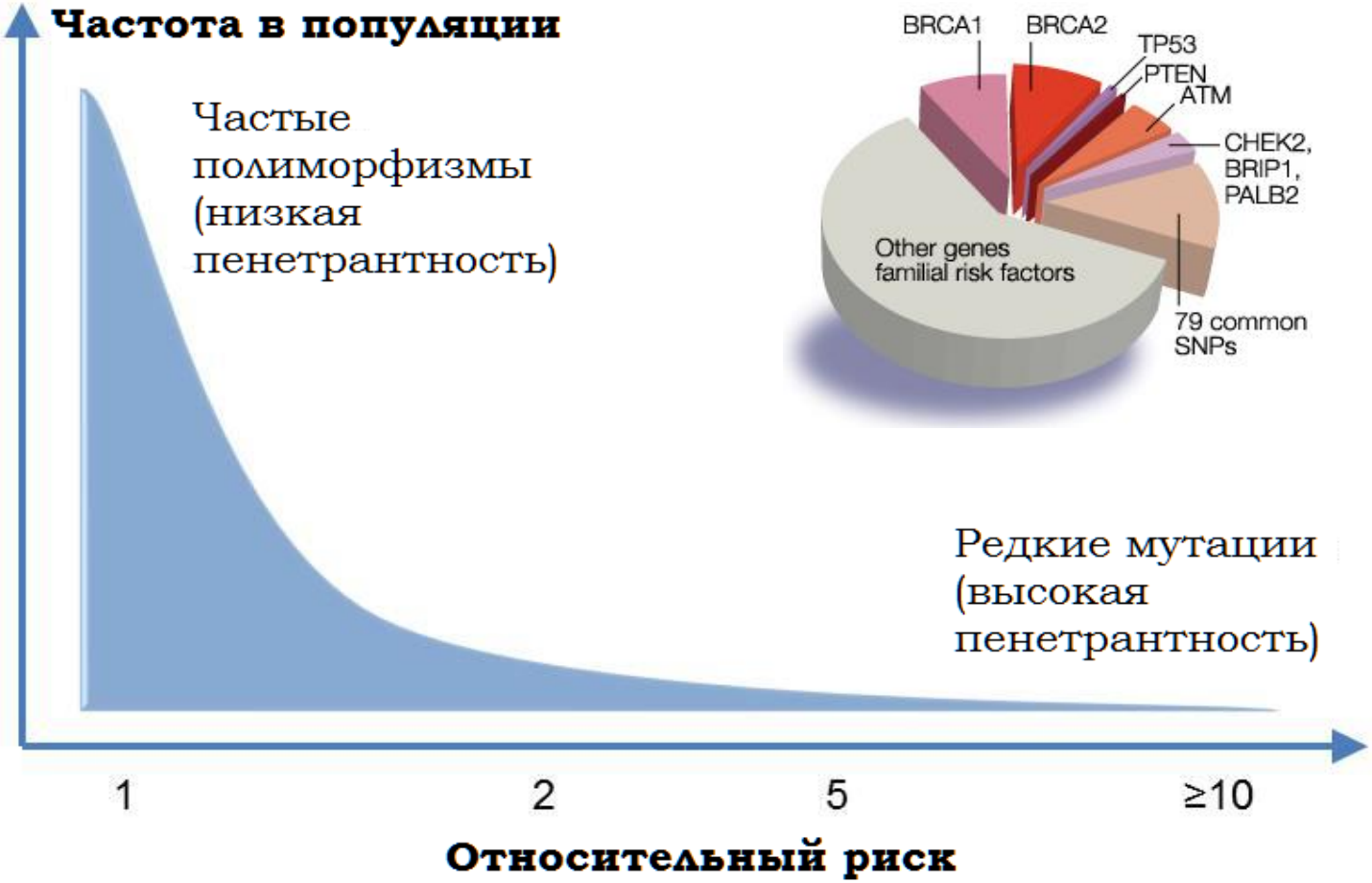


Walsh, Swisher et al. *PNAS* 2011

Генная структура предрасположенности к раку яичника

Генетическая структура предрасположенности к раку

Пример 3: рак молочной железы



Классификации мутаций

По уровням организации генома:
геномные, хромосомные, генные мутации

-Геномные мутации – изменение количества хромосом за счет нарушения их расхождения при делении клетки.

Кратные изменения – полиплоидии – у человека несовместимы с жизнью.
Анеуплоидии – изменения количества отдельных хромосом. По-разному влияют на жизнеспособность и развитие патологических фенотипов

-Хромосомные мутации: внутрихромосомные перестройки – делеции, дупликации, инверсии, транслокации; межхромосомные перестройки

- Генные мутации: нуклеотидные замены, делеции, инсерции, дупликации, экспансии повторов

Классификации генных мутаций

- **По типу производимого биологического эффекта**
  - потеря функции белка
  - появление новой функции белка
  - доминантный негативный эффект
  - изменение дозы гена

- **По влиянию на структуру белкового продукта гена**
  - синонимичные замены
  - несинонимичные замены (миссенс-мутации)
  - формирование стоп-кодона (нонсенс-мутации)
  - мутации сайтов сплайсинга
  - мутации сдвига рамки считывания

- **Эпигенетическая мутация**
  - аномальное метилирование/деметилирование ДНК, приводящее к изменению функционирования гена без изменения нуклеотидных последовательностей.

Классификации генных мутаций

- **По степени патогенности**

- 1: непатогенные или клинически незначимые
(*not pathogenic or of no clinical significance*);

- 2: скорее непатогенные или имеющие несущественную клиническую значимость
(*likely not pathogenic or of little clinical significance*);

- 3: неясной патогенности (*uncertain*);

- 4: вероятно патогенные (*likely pathogenic*);

- 5: определённо патогенные (*definitely pathogenic*).

Номенклатура генных мутаций

HGVS

HUMAN GENOME VARIATION SOCIETY

http://www.hgvs.org/mutnomen

HGNC

HUGO Gene Nomenclature Committee

http://www.genenames.org/

Номенклатура генных мутаций

индикаторы типа референсной последовательности

- p. = protein (белок)

  1 – метионин, последний - стоп-кодон

- c. = coding DNA (белоккодирующая часть гена)

  1- A в ATG (метионин), используется на практике
  самый распространенный и большой транскрипт

- g. = genomic

  (нумерация нуклеотидов в хромосоме)

- m. = mitochondrial

c.78G>C (p.Trp26Cys)

Номенклатура генных мутаций в интронах

начало интрона:

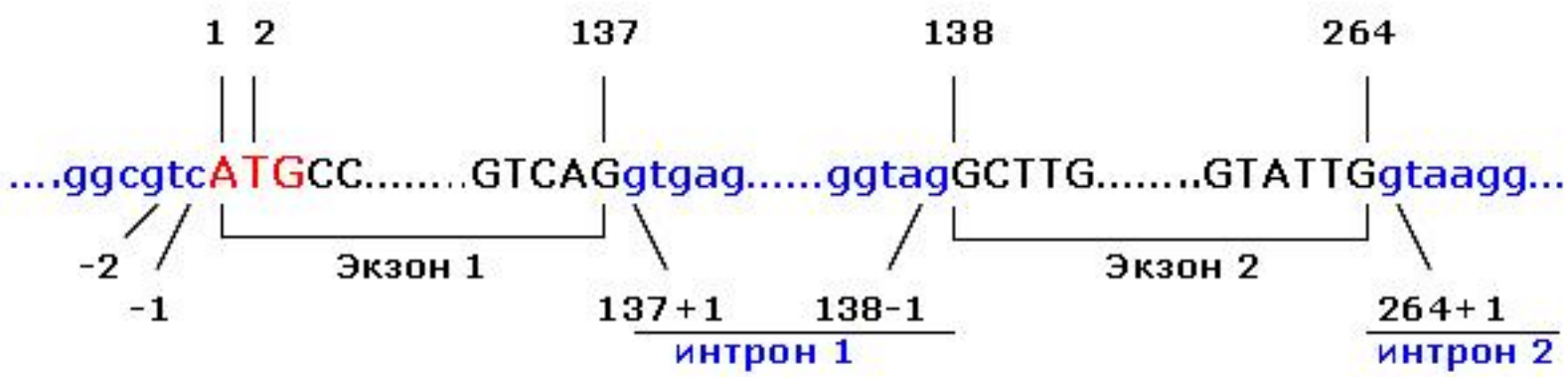
номер последнего нуклеотида предыдущего экзона + позиция в интроне

c.77+1G, c.77+2T,…

конец интрона:

номер первого нуклеотида следующего экзона + позиция в интроне

c.78-2A, c.77-1G



Номенклатура генных мутаций

- **замены**
  c.-7A>C, c.3G>T,
  c.88+2T>G,
  c.89-1G>T
  p.Trp26Cys (p.W26C),
  p.Trp26* (p.W26*)
- **делеции**
  c.13del (c.13delT),
  c.13_16del (c.13_16del4),
  c.120_123+4del8
- **дупликации**
  c.13dup (c.13dupT),
  c.92_94dup (c.92_94dupGAC)
- **инсерции**
  c.51_52insT, c.51_52insGAGA
- **вариабельные повторы**
  c.162CAG(12_34), c.123+74CA(3_6)
- **сдвиг рамки**
  p.Gly44Valfs*14 (p.Gly44fs),
  p.Leu30Serfs*3 (p.Leu30fs)
- **инверсии**
  c.77_80inv
- **комплексные**
  c.112_117delinsTG,
  (c.112_117del6insTG)
- **гаплотип**
  c.[76C>T; 83G>C]
- **рецессивное заболевание**
  c.[76C>T];[87G>A]

Номенклатура генных мутаций

По влиянию на первичную структуру белка

delF508 – выпадение фенилаланина 508
N44G – замена аспарагина на глицин 44
W128X – замена триптофана на стоп-кодон
W128*

Основные базы данных мутаций

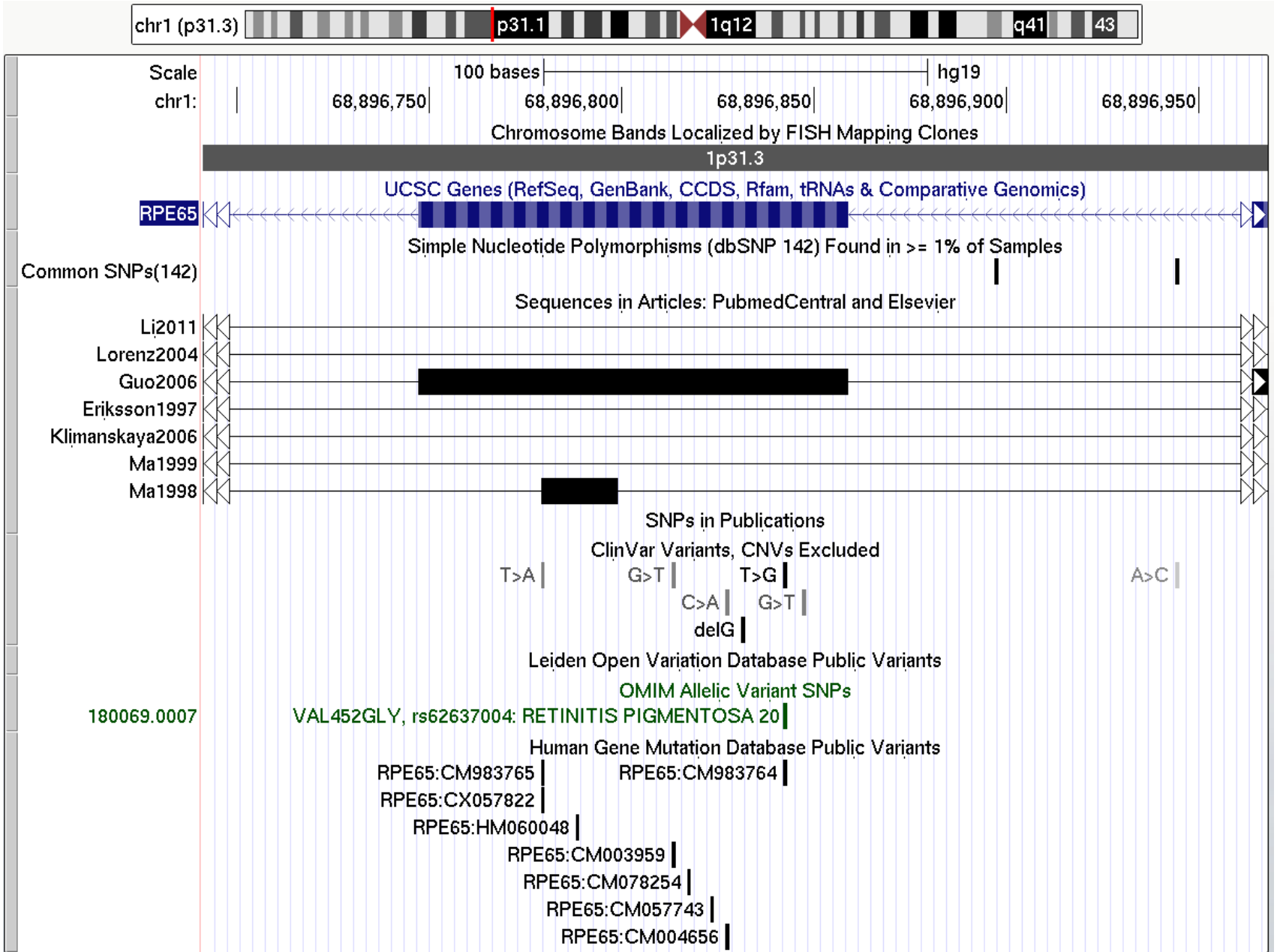
- Human Genome Mutation Database **(HGMD)**
- Online Mendelian Inheritance in Man **(OMIM)**
- Leiden Open Variation Database Public Variants **(LOVD)**
- **ClinVar**

Списки и агрегаторы

- University of California Santa Cruz Genome Browser (UCSC Genome Browser) – агрегатор баз данных с удобным визуальным интерфейсом

- Список баз данных генетических вариантов, подготовленный Center for Human and Clinical Genetics, Leiden University Medical Center

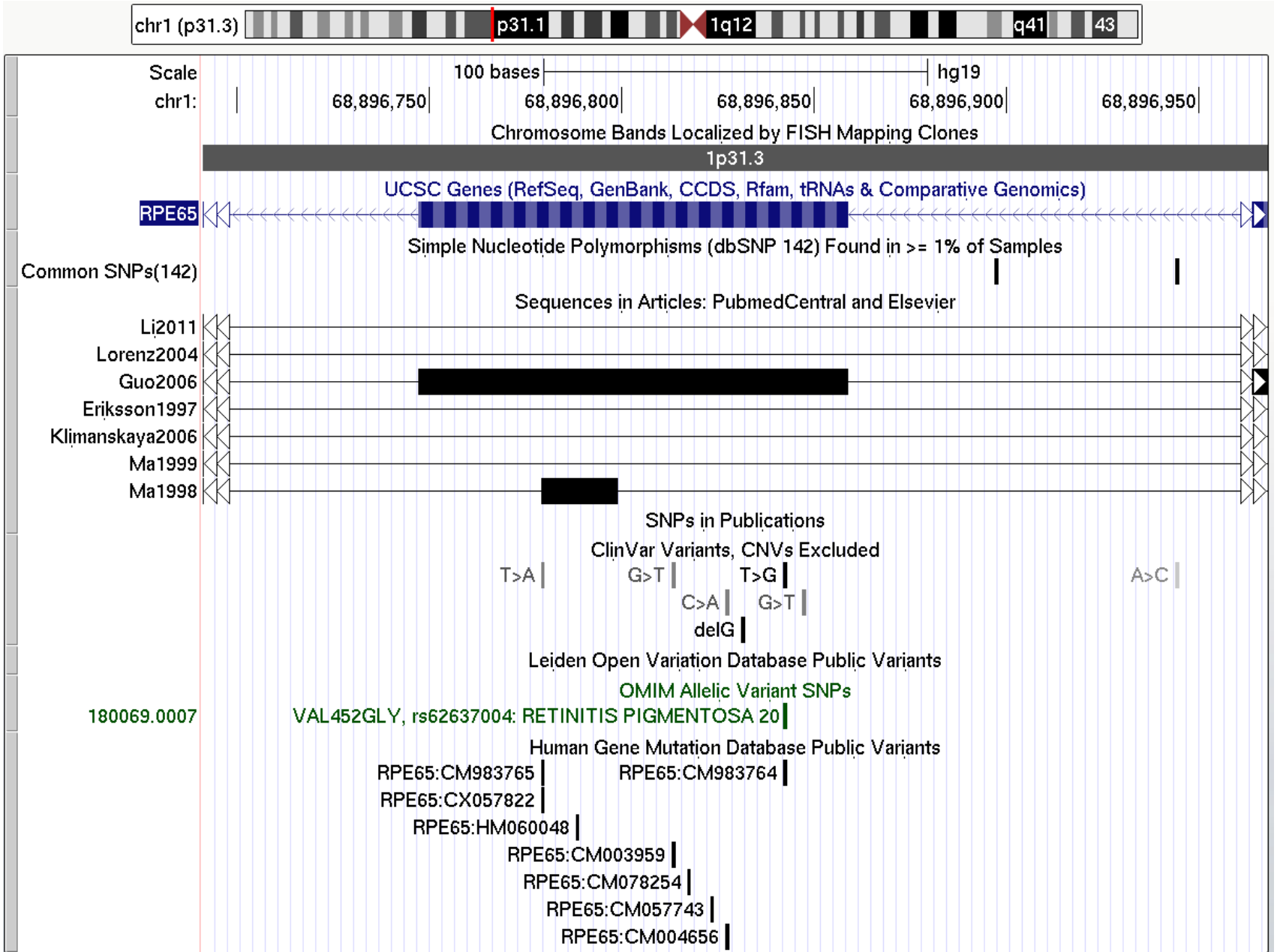
UCSC Genome Browser



Human Genome Mutation Database (HGMD)

- Требует регистрации пользователя
- Профессиональная версия, содержащая обновления последних лет, является платной
- Наличие в HGMD ссылки на статью с упоминанием конкретной мутации в контексте генетической патологии не означает автоматически, что эта мутация ассоциирована с развитием патологического фенотипа
- Для установления клинической значимости мутации необходимо самостоятельно знакомиться с предложенными HGMD публикациями

UCSC Genome Browser



Human Genome Mutation Database (HGMD)

Human Gene Mutation Database Public Variants

Link to HGMD: RPE65:CM983764

Item: RPE65:CM983764
Position: chr1:68896843-68896843
Band: 1p31.3
Genomic Size: 1
View DNA for this feature (hg19/Human)

Annotated Gene:	RPE65
Accession of Variant:	CM983764
Type of Variant:	substitution

Human Genome Mutation Database (HGMD)

Gene Symbol	Chromosomal location	Gene name	cDNA sequence	Extended cDNA	Mutation viewer
RPE65 (Aliases: available to subscribers)	1p31	Retinal pigment epithelium specific protein (65kD) (Aliases: available to subscribers)	NM_000329.2	Not available	BIOBASE Feature available to subscribers

Mutation type	Number of mutations	Mutation data by type (register or log in)
Missense/nonsense	83	Get mutations
Splicing	15	Get mutations
Regulatory	0	No mutations
Small deletions	14	Get mutations
Small insertions	13	Get mutations
Small indels	2	Get mutations
Gross deletions	1	Get mutations

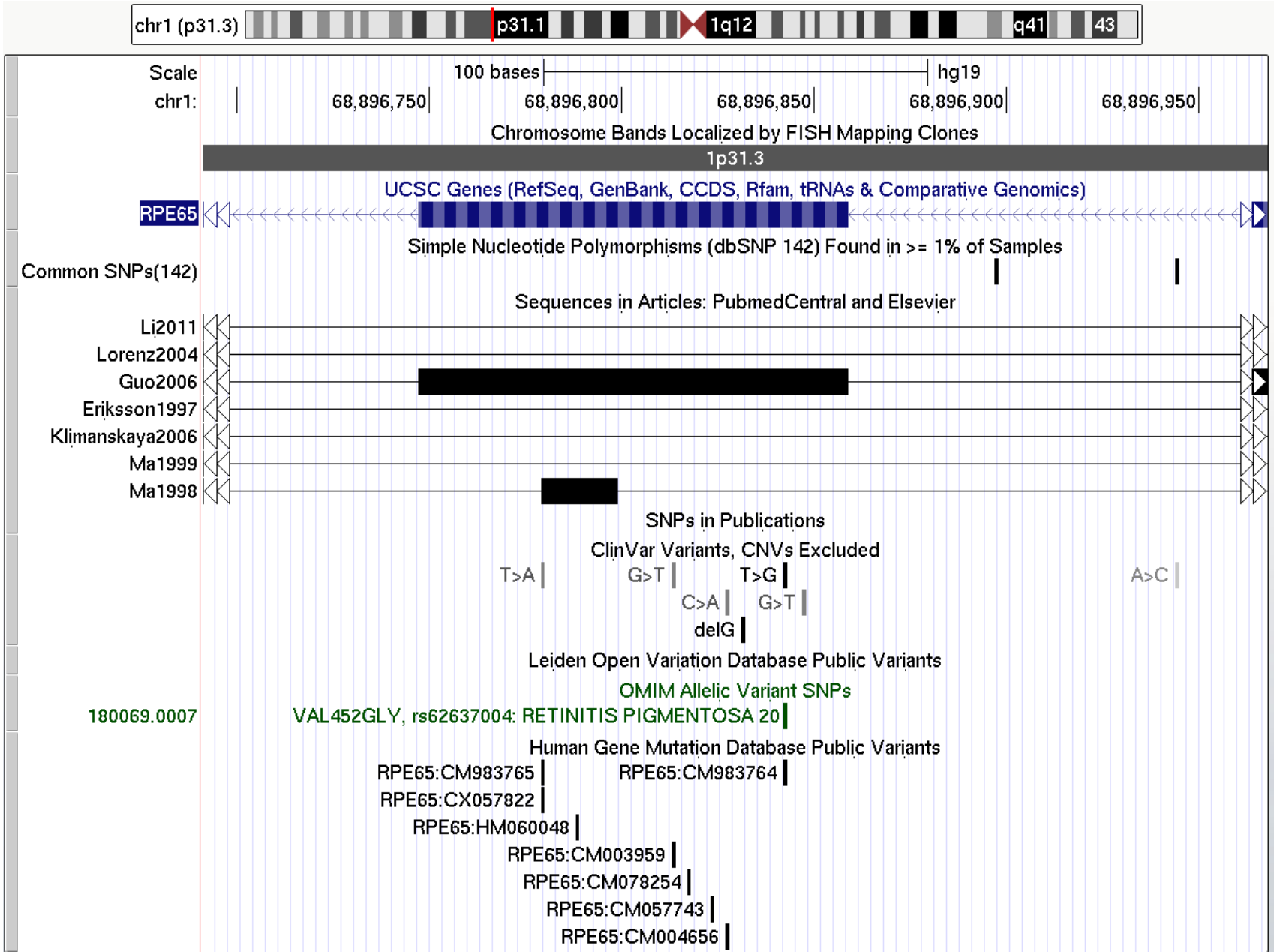
Human Genome Mutation Database (HGMD)

CM034833	TAT-TGT	Tyr-Cys	435	BIOBASE Feature available to subscribers	Leber congenital amaurosis	Sitorus (2003) Vision Res **43**, 3087	
CM005349	GGA-GTA	Gly-Val	436	BIOBASE Feature available to subscribers	Leber congenital amaurosis	Thompson (2000) Invest Ophthalmol Vis Sci **41**, 4293	
CM078253	GTT-GCT	Val-Ala	443	BIOBASE Feature available to subscribers	Leber congenital amaurosis	Stone (2007) Am J Ophthalmol **144**, 791	
CM983764	GTC-GGC	Val-Gly	452	BIOBASE Feature available to subscribers	Retinitis pigmentosa	Morimura (1998) Proc Natl Acad Sci U S A **95**, 3088	
CM004656	ACT-AAT	Thr-Asn	457	BIOBASE Feature available to subscribers	Cone-rod dystrophy, early-onset, severe	Lorenz (2000) Invest Ophthalmol Vis Sci **41**, 2735 Additional report available to subscribers	
CM057743	TGG-TGA	Trp-Term	458	BIOBASE Feature available to subscribers	Leber congenital amaurosis	Zernant (2005) Invest Ophthalmol Vis Sci **46**, 3052 Additional report available to subscribers	Mut. descr. .....

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)

- База данных свободного доступа
- Содержит описания мутаций в связи с патологическими фенотипами в историческом разрезе
- Для установления клинической значимости мутации недостаточно нахождения этой мутации в статье OMIM, посвященной фенотипу: необходимо знакомиться с полным содержанием статьи

UCSC Genome Browser



Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)

OMIM Allelic Variant SNPs (180069.0007)

OMIM Allelic Variant: 180069.0007 RETINITIS PIGMENTOSA 20
OMIM: 180069: Retinal pigment epithelium-specific protein, 65kD
Amino Acid Replacement: VAL452GLY
dbSNP: rs62637004

Position: chr1:68896843-68896843
Band: 1p31.3
Genomic Size: 1

Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)

.0007 RETINITIS PIGMENTOSA 20

RPE65, VAL452GLY [dbSNP:rs62637004] [ClinVar]

See 180069.0006 and Morimura et al. (1998).

.0008 RETINITIS PIGMENTOSA 20

LEBER CONGENITAL AMAUROSIS 2, INCLUDED

RPE65, ARG515TRP [dbSNP:rs121917745] [ClinVar]

In a 55-year-old Japanese woman, the child of consanguineous parents, who had been diagnosed with retinitis pigmentosa (RP20; 613794) at the age of 40, Kondo et al. (2004) detected a homozygous 1543C-T transition in the RPE65 gene that resulted in an arg515-to-trp (R515W) amino acid substitution. She had observed the development of night blindness in early childhood and had been free from visual disability until 24 years of age. Arg515 is located in a conserved RPE65-specific region. Kondo et al. (2004) noted that this mutation had been found in compound heterozygosity in Leber congenital amaurosis (LCA2; 204100).

ClinVar

ClinVar Variants, CNVs Excluded (T>G)

Item: T>G
Position: chr1:68896843-68896843
Band: 1p31.3
Genomic Size: 1
View DNA for this feature (hg19/Human)

Orignal name of item:	NM_000329.2(RPE65):c.1355T>G (p.Val452Gly)
Type of Variant:	single nucleotide variant
NCBI Entrez Gene ID:	6121
NCBI Entrez Gene Symbol:	RPE65
Clinical significance:	Pathogenic
dbSNP ID:	62637004

Leiden Open Variation Database Public Variants (LOVD)

- База данных свободного доступа
- Содержит, кроме ссылок на публикации, краткий анализ публикаций по каждой конкретной мутации («карта мутации»)

Специализированные базы данных мутаций

THE UNIVERSITY OF UTAH
Department of Pathology

BRCA1 Database

The classifications used in this BRCA database are:
1 (not pathogenic or of no clinical significance);
2 (likely not pathogenic or of little clinical significance);
3 (uncertain);
4 (likely pathogenic); and
5 (definitely pathogenic).

Location	Mutation Type	Nucleotide Change	Protein Change	Classification	Posterior Probability	Reference
Exon 2	Nonsense	c.8T>G	p.L3*	5 - Definitely pathogenic	>0.99	Keshavarzi (2012) Fam Cancer 11; 57
Exon 2	Insertion	c.32_33insC		5 - Definitely pathogenic	>0.99	Szabo (1995) Hum Mol Genet 4; 1811
Exon 2	Nonsense	c.34C>T	p.Q12*	5 - Definitely pathogenic	>0.99	Adem (2003) Cancer 97; 1
Exon 2	Indel	c.38_39delATinsGGG		5 - Definitely pathogenic	>0.99	Lim (2009) J Cancer Res Clin Oncol 135; 1593
Exon 2	Missense	c.53T>C	p.M18T	4 - Likely pathogenic	0.9840	Easton DF et al., Am J Hum Genet, 81: 873-883, 2007.

Список баз данных генетических вариантов

Center for Human and Clinical Genetics
Leiden University Medical Center
Genetic variation databases

http://www.humgen.nl/SNP_databases.html

Благодарю за внимание!