

Dossier Tasca 4

Per què algunes persones amb el genotip de l'anèmia falciforme no presenten símptomes?

Membres del grup:

Antonia Adamovici
Àlex Tafalla
Ada Pedroche

CFGS LBC 2 MP11
Equip Docent

Anna Alcalde Aragonés
Anna Benaiges Bertomeu
Pia Martín Borràs

Instruccions

En aquest dossier anireu contestant a les qüestions plantejades a la presentació del treball de la 1 a la 20 i traslladareu aquí les taules que apareixen i les omplireu.

Per últim, per parelles o grups de màxim 3 persones trieu i defenseu un dels possibles tractaments per tractar l'anèmia falciforme.

Podeu triar entre:

- a) CRISPR-Cas9
- b) Gene therapy
- c) Gene switches
- d) Exon skipping
- e) RNA interferència
- f) Fàrmacs moleculars petits

Cada grup farà una presentació explicant el tipus de tractament, en què consisteix i com aplicar-lo en l'anèmia falciforme o qualsevol altra malaltia genètica, podeu investigar.

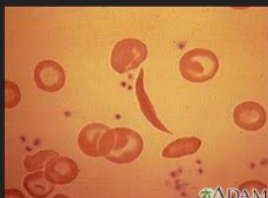
Aneu a aquest enllaç [Central Dogma and Genetic Medicine](#) Click & Learn i seleccioneu "Genetic Medicine".

Part 1: Observació i plantejament de preguntes

1) Què pots apreciar a partir de les imatges dels 2 frotis observats a la presentació?

Observa aquests frotis sanguinis:

Frotis Ceniya



Frotis Ingrid



En el frotis de Ceniya hi ha només 1-2 glòbuls vermells amb forma de drepanocit i en el frotis d'Ingrid se n'observen molts més.

2) Quines qüestions et pots plantejar després d'aquesta observació?

Perquè una d'elles té més globuls vermells en forma de drepanòcit i l'altra més?

3) Quin tipus d'informació necessitaràs per ajudar a resoldre les teves qüestions?

La informació genètica de les dos pacients.

4) Creus que totes les cèl·lules del frotis funcionen de la mateixa forma? Per què?

No, ja que al tenir diferent forma, unes impediran la circulació de les altres formant com un tap i no deixant arribar la sang a certs llocs del cos.

Part 2: Estructura i funció de l'hemoglobina en els eritròcits.

5) Segons el què has observat al vídeo sobre la Part 1, per què creus que la forma típica dels eritròcits és tant important per a la seva funció?

Perquè la forma rodona que tenen els GR, permet arribar a totes les cèl·lules del cos realitzant així l'intercanvi d'oxigen.

6) Com interfereix la forma dels eritròcits falciformes amb la seva funció?

Els glòbuls vermells contenen la molècula de la hemoglobina que transporta oxigen a totes les parts del nostre organisme, els GR amb forma normal són flexibles i viatgen de manera senzilla pel torrent sanguini, però en l'anèmia falciforme la forma dels GR en forma de falç, poden impedir el correcte reg sanguini cap a la resta de l'organisme, el que pot causar dolor i dany als teixits.

7) Per als 2 tipus de cèl·lules de la figura 2 de la presentació:

a) Què tenen en comú les cèl·lules?

Les dos cèl·lules estan formades per hemoglobina.

b) Què tenen de diferents?

La manera en que la hemoglobina és compacta dins del glòbul vermell, als GR normals estan disperses, i en el drepanòcit formen com uns fils rígids.

8) Què fa l'hemoglobina al nostre cos?

És una proteïna de l'interior dels glòbuls vermells que transporta oxigen des dels pulmons als teixits i òrgans del cos; a més, transporta el diòxid de carboni de tornada als pulmons.

9) Basant-nos en la figura 2 de la presentació i el vídeo de la part 1:

a) Què li passa a l'eritròcit quan l'hemoglobina s'agrega?

L'hemoglobina s'agrega de manera que forma filaments rígids i deformes i crea aquesta forma de falç.

b) I com afectarà això a l'organisme?

Tallarà la circulació dels teixits convertint-se en crisis de dolor.

10) L'hemoglobina és un tipus de proteïna.

a) On emmagatzema el nostre cos les instruccions per sintetitzar proteïnes?

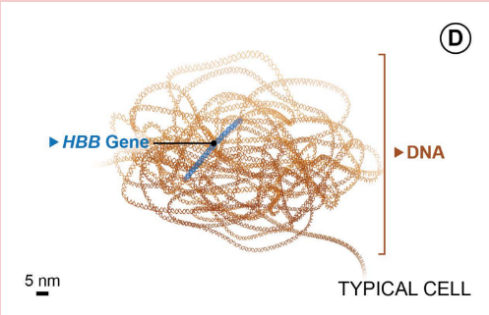
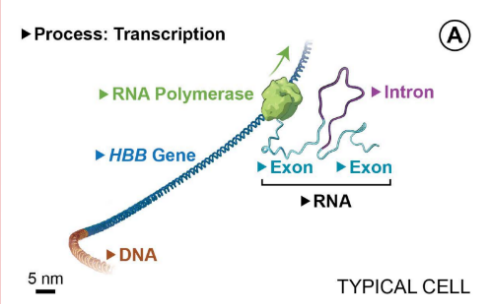
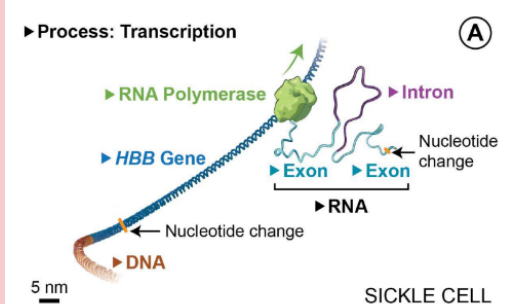
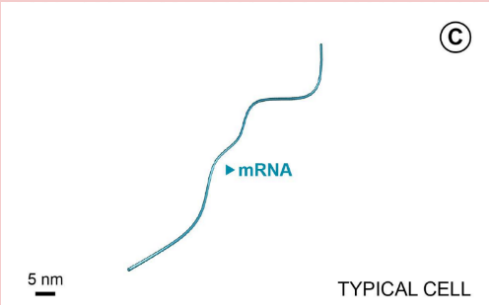
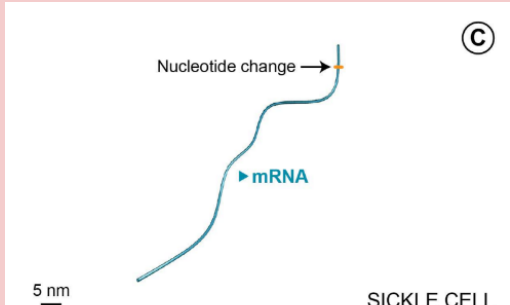
Als gens del nostre material genètic, l'ADN.

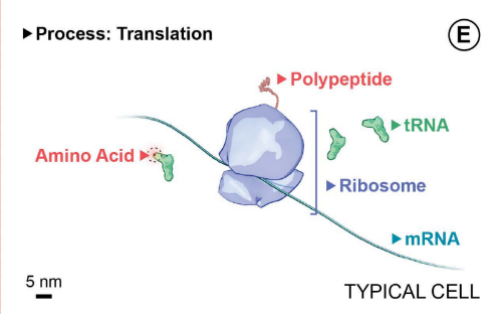
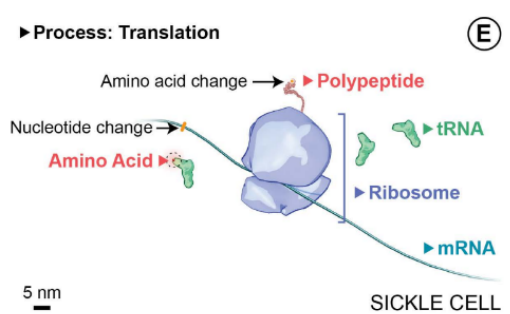
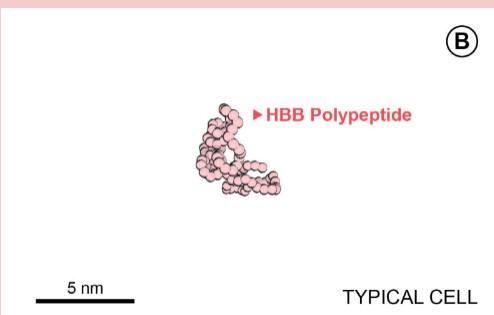
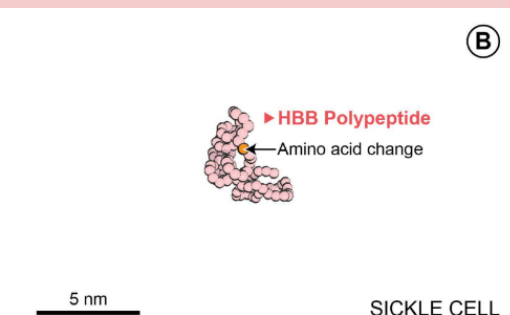
b) Quin canvi en aquestes instruccions pot conduir a l'agregació de l'hemoglobina?

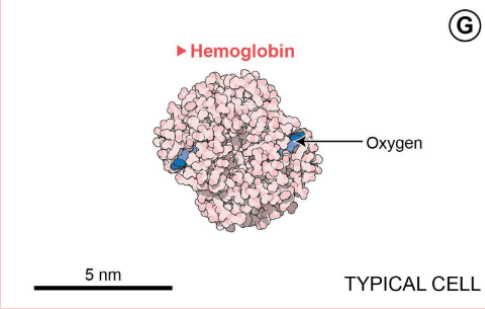
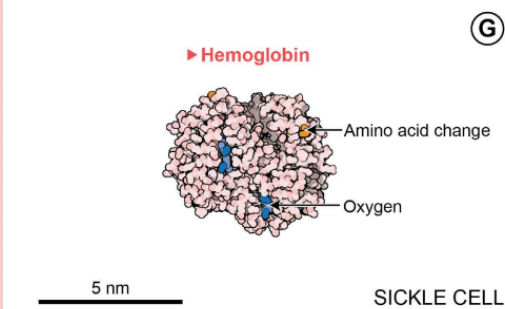
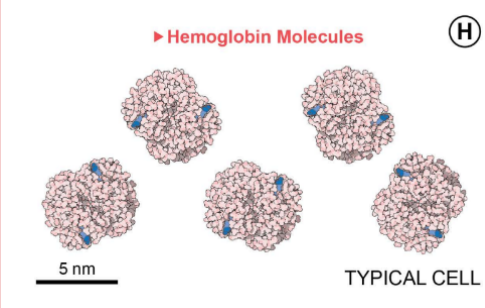
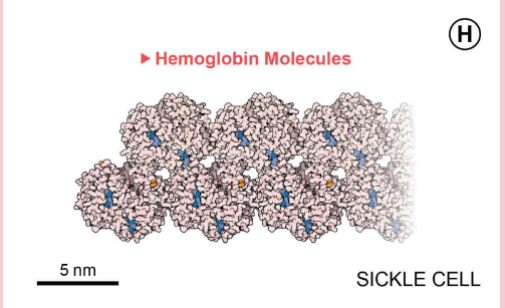
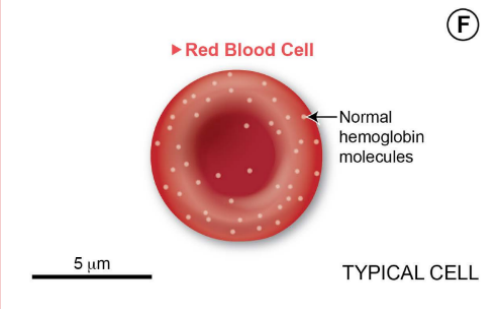
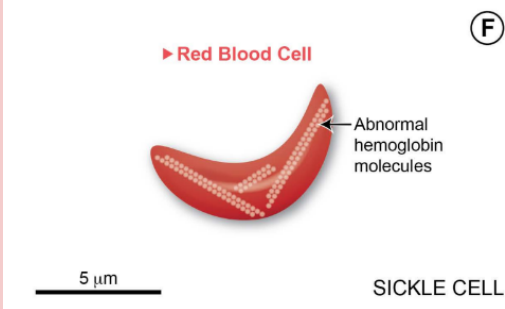
Pot estar causat per un simple canvi en una lletra del codi genètic, això modificarà a un dels aminoàcids de la proteïna de la hemoglobina. Concretament la valina es troba al lloc del que hauria de ser l'àcid glutàmic.

Part 3: Targetes expressió gènica.

11) Fes una taula completant els següents camps:

Targeta	Què mostra la targeta "typical"?	Què canvia a la targeta "sickle card"?
D	 Aquest és el DNA d'una cèl·lula normal. La seqüència marcada en blau ens indica el gen que codifica per a la síntesis de les proteïnes de l'hemoglobina.	 Aquest és el DNA d'una cèl·lula mutada. El gen que codifica per a la síntesis de les proteïnes de l'hemoglobina té un nucleòtid canviat.
A	 En el procés de transcripció, l'enzim RNA-polimerasa llegeix la cadena de DNA per crear-ne una de RNA. Tot això passa dintre del nucli.	 Com podem veure, el RNA polimerasa ha transcrit el nucleòtid canviat de la molècula de DNA a la de RNA i pertany a un fragment d'exó.
C	 Un cop s'ha afegit un cap, una cua i s'ha fet el splicing,	 Com la mutació pertany a un fragment d'exó, després del

	el RNA missatger està madur i pot sortir del nucli cap al citoplasma per a anar als ribosomes.	splicing (eliminació d'introns), la mutació segueix estant a la cadena de RNA madur.
E	► Process: Translation (E)  Un cop als ribosomes, es llegeix la cadena de RNA missatger i es tradueix a proteïna (polipèptid). Cada tres nucleòtids (codó) s'ensambla un aminoàcid que és transportat pel tRNA, que porta l'anticodó corresponent.	► Process: Translation (E)  En la cadena de RNA missatger amb el nucleòtid canviat, és llegirà un codó diferent, que es traduirà en un aminoàcid diferent al normal.
B	(B)  Aquí tenim una de les quatre subunitats que configuren la molècula d'hemoglobina. Els aminoàcids que formen les proteïnes són fonamentals perquè influeixen en la seva estructura. De l'estructura de les proteïnes depèn la seva funcionalitat.	(B)  En aquesta subunitat (és una cadena polipeptídica beta) hi ha un aminoàcid diferent, concretament es canvia una glutamina per una valina. L'estructura d'aquesta proteïna ha de ser molt específica ja que d'això depèn la correcta unió a l'oxigen.

G	 ► Hemoglobin Oxygen 5 nm TYPICAL CELL Aquí tenim una hemoglobina A1, conformada per dues cadenes α i dues cadenes β.	 ► Hemoglobin Amino acid change Oxygen 5 nm SICKLE CELL Aquí tenim l'hemoglobina S, resultat de dues cadenes α i dues cadenes β mutades.
H	 ► Hemoglobin Molecules 5 nm TYPICAL CELL El conjunt d'hemoglobines normals són proteïnes individuals capaces de unir-se i transportar oxigen.	 ► Hemoglobin Molecules 5 nm SICKLE CELL En la cèl·lula mutada es formen fibres d'hemoglobina S, això fa que tinguin menor capacitat per transportar oxigen.
F	 ► Red Blood Cell Normal hemoglobin molecules 5 μm TYPICAL CELL Els eritròcits transporten oxigen mitjançant l'hemoglobina, situada a l'hemimembrana externa dels eritròcits.	 ► Red Blood Cell Abnormal hemoglobin molecules 5 μm SICKLE CELL La mutació de l'hemoglobina determina alteracions a l'estructura de l'eritròcit, que adquireix forma de mitja lluna o de falç. La membrana plasmàtica es torna rígida i viscosa.

12) Després de fer l'interactiu canviaràs l'ordre de les targetes o el mantindràs igual?

No, perquè primer hem fet l'interactiu i després l'activitat. Per això hem ordenat les targetes correctament des del principi.

13) D'acord amb les teves targetes:

a) En quina molècula un canvi condueix a canvis en l'hemoglobina resultant?

El canvi en la molècula de DNA és el desencadenant de l'hemoglobina alterada.

b) Quins processos estudiats al dogma central de la biologia condueixen a l'hemoglobina resultant?

La transcripció i la traducció.

Part 4: Transcripció i traducció.

14) Cal que facis la transcripció, de DNA a RNA i després la traducció de RNA a aminoàcids utilitzant la taula del codi genètic. Trobaràs una a la presentació o al document "Genetic Code Chart" del classroom.

Taula 2. Seqüència parcial Típica del gen HBB.

Codó No	1	2	3	4	5	6	7
ADN	CAC	GTG	GAC	TGA	GGA	CTT	CTC
mARN	GUG	CAC	CUG	ACU	CCU	GAA	GAG
aa	Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu

Taula 3. Seqüència parcial del gen HBB mutat que provoca l'anèmia falciforme.

Codó No	1	2	3	4	5	6	7
ADN	CAC	GTG	GAC	TGA	GGA	CAT	CTC
mARN	GUG	CAC	CUG	ACU	CCU	GUA	GAG
aa	Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Glu

15) D'acord amb els resultats obtinguts:

a) Descriu les diferències observades entre totes 2 seqüències gèniques. Quins codons són els afectats?

La mutació s'observa en el codó nº6 en el canvi d'una timina per una adenina, fent així un canvi en els aa Glu → Val.

b) La mutació observada és una inserció, deleció, substitució o inversió?

La mutació és una substitució.

c) Com impacta aquesta mutació en la seqüència d'aminoàcids?

Canvia la proteïna perquè en lloc de tenir Glutamina dona Valina i això comporta un canvi de proteïna.

Part 5: Modelatge proteic.

16) Construeix els 2 models proteics utilitzant el model proporcionat a la presentació per a cada aminoàcid i assenyalat el punt on la proteïna mutada canvia respecte a la típica proteïna. Fes-ho en paper quadriculat i diferents colors per cada aminoàcid. Fica aquí una fotografia del vostre resultat.

Per construir aquest models hem entrat a la pàgina [Uniprot](https://www.uniprot.org/) que en s'ha donat la seqüència sencera de HBB, cada lletra representa una proteïna.

Aminoácido	Abreviatura (3 letras)	Abreviatura (1letra)
Ac. Aspártico	Asp	D
Ac. Glutámico	Glu	E
Arginina	Arg	R
Lisina	Lys	K
Asparagina	Asn	N
Histidina	His	H
Glutamina	Gln	Q
Serina	Ser	S
Treonina	Thr	T
Alanina	Ala	A
Glicina	Gly	G
Valina	Val	V
Prolina	Pro	P
Leucina	Leu	L
Fenilalanina	Phe	F
Tirosina	Tyr	Y
Isoleucina	Ile	I
Metionina	Met	M
Triptofano	Trp	W
Cisteïna	Cys	C

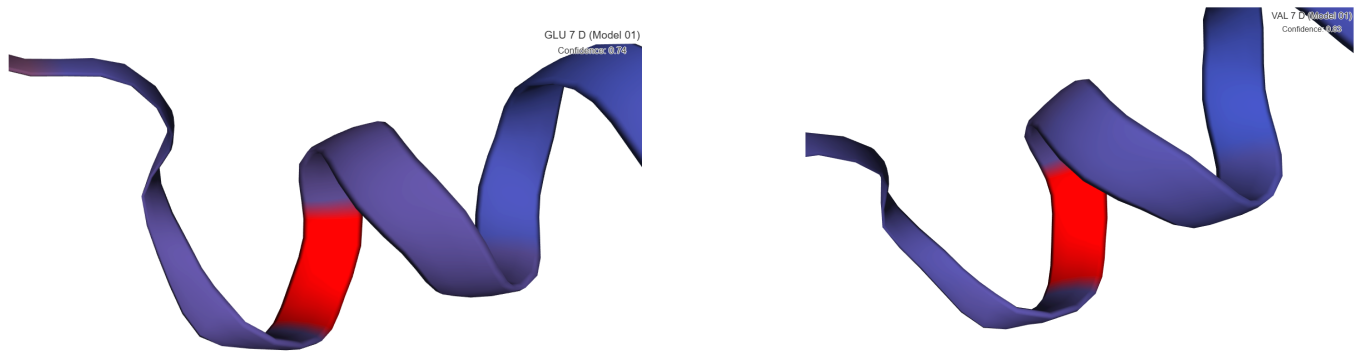
Aquesta és la seqüència típica del gen HBB:

MVHLTPEEKS AVTALWGKVN VDEVGGEALG RLLVVYPWTQ RFFESFGDLS
TPDAVMGNPK VKAHGKKVLG AFSDGLAHLD NLKGTFATLS ELHCDKLHVD
PENFRLLGNV LVCVLAHHFG KEFTPPVQAA YQKVVAGVAN ALAHKYH.

I aquesta és la seqüència del gen HBB mutat provocat per l'anèmia falciforme:

MVHLTPVEKS AVTALWGKVN VDEVGGEALG RLLVVYPWTQ RFFESFGDLS
TPDAVMGNPK VKAHGKKVLG AFSDGLAHLD NLKGTFATLS ELHCDKLHVD
PENFRLLGNV LVCVLAHHFG KEFTPPVQAA YQKVVAGVAN ALAHKYH.

Gràcies a [Swiss Model](#) hem pogut obtenir les següents imatges on es veu el canvi de l'estructura de la proteïna.



Imatge I. HBB típic Glu 7

Imatge II. HBB mutat Val 7

Part 6: Possibles tractaments.

Els individus amb només una còpia mutada del gen HBB no presenten simptomatologia d'anèmia falciforme. En canvi, els individus amb 2 còpies d'aquesta mutació coneguda com genotip d'anèmia falciforme sí que presenten símptomes.

La Ceniya té el genotip d'anèmia falciforme, com és que no té símptomes de la malaltia? Intentarem entendre-ho.

Mira aquest [vídeo](#) sobre la Ceniya i l'Ingrid i després llegeix aquest [article](#) sobre l'hemoglobina fetal per tal de poder respondre a les qüestions posteriors.

17) Quines diferències presenta l'hemoglobina fetal respecte l'hemoglobina d'adults?

La hemoglobina fetal és versió fetal més saludable i que és més eficaç per transportar oxigen que la seva contrapart adulta.

18) Per què aquesta diferència és important biològicament?

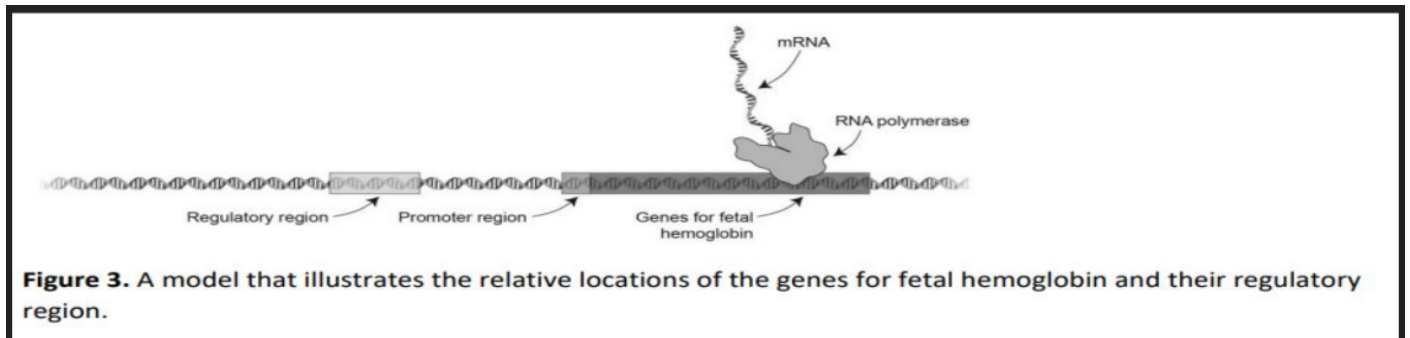
Perquè els nounats, encara així, tenint la malaltia de l'anèmia falciforme, no presenten símptomes ja que amb l'hemoglobina fetal compensa el defecte del gen mutat.

19) Què és el que passa normalment amb la producció d'hemoglobina fetal després de néixer?

A mesura que la globina fetal s'apaga i la globina adulta s'encén, cosa que passa aproximadament durant el primer any de vida, els símptomes comencen a manifestar-se. En casos rars, algunes persones tenen una condició benigna anomenada persistència hereditària de l'hemoglobina fetal (HPFH), marcada per la producció contínua d'hemoglobina fetal més enllà de la infància, que alleuja els símptomes de l'anèmia falciforme.

20) Recorda que una mutació específica al gen HBB condueix a l'anèmia falciforme.

Com és aquest fet de similar al què passa en l'interruptor genètic (regió reguladora del la Fig 3) per a l'Hb fetal de la Ceniya?



Com que l'hemoglobina adulta de la Ceniya no funciona correctament, ho compensa tenint una mutació a l'hemoglobina fetal que fa que la continuï produint, per tant no presenta símptomes de l'anèmia falciforme.

Part 7: Extensió a la malaltia de Huntington

La malaltia de Huntington és una malaltia rara hereditària que provoca la destrucció de les cèl·lules neuronals. Això pot comportar problemes de mobilitat, pèrdua de memòria, concentració i fins i tot la mort. Normalment els portadors de la mutació comencen a manifestar símptomes als 30-40 anys.

Nancy Wexler és una de les científiques que ha estudiat més aquesta malaltia. Ella va perdre la seva mare per aquesta malaltia.

La seva recerca ha ajudat a localitzar el gen afectat i desenvolupar un test genètic per diagnosticar la malaltia de Huntington.



Per diagnosticar la malaltia de Huntington necessitem conèixer la mutació que es produeix. Aquí baix tens 3 seqüències d'un gen relacionat amb la malaltia de Huntington de 3 individus diferents. Tots 3 poden desenvolupar la malaltia però de moment no presenten símptomes.

Compara les 3 seqüències i pensa quin patró comú observes.

Individual #1:

[illegible]

Individual #2:

[illegible]

Individual #3:

[illegible]

22) Com són de paregudes entre elles les diferents seqüències?

Totes tres seqüències contenen els triplets GGA/GCC/CAG/AGC.

23) Com són de diferents les seqüències?

La diferencia que demostren entre les seqüències és la quantitat del triplet CAG que contenen.

L'individu 1: Te 34 triplets de CAG.

L'individu 2: Te 37 triplets de CAG.

L'individu 3: Te 42 triplets de CAG.

Els científics han descobert que la seqüència CAG es repeteix de forma contínua en aquest gen. La majoria de la població tenen menys de 36 repeticions i no desenvoluparan la malaltia de Huntington. En canvi, les persones en més de 36 repeticions tenen el risc de patir la malaltia.

24) Com poden aquestes repeticions afectar al mRNA que es transcriu a partir d'aquestes seqüències?

La transcripció serà més llarga a causa de les repeticions.

25) Com poden aquestes repeticions afectar a la proteïna resultant?

Al haver més repeticions l'estructura de la proteïna es veurà afectada de manera que es possible que la seva estructura es vegi malversada.

26) Com poden aquests canvis afectar la funció de la proteïna?

El fet d'una estructura defectuosa afectaria a la funció de la proteïna donant així una proteïna deficient.