Diagnosticera sicklecellsanemi med DNA-analys

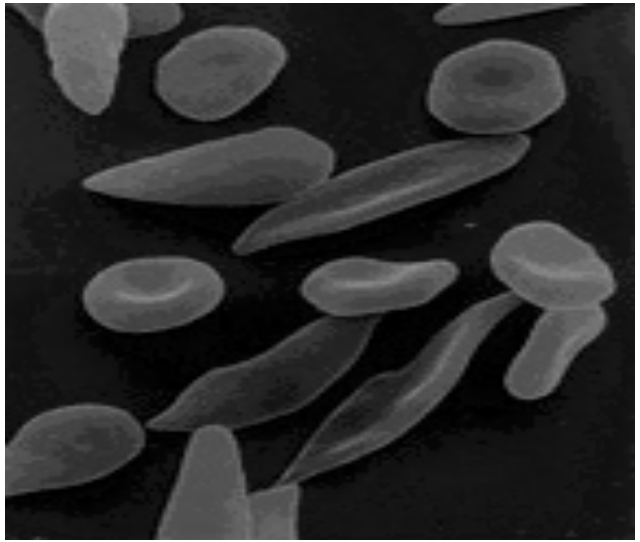
Niklas Dahrén

Sicklecellsanemi

- ✓ **Erytrocyterna ser ut som ”skäror”:** Sjukdomen innebär att de röda blodkropparna (erytrocyterna) ser ut som skäror (eng. sickle) istället för att ha normal form. Anledningen till den ovanliga formen är att hemoglobin-molekylerna (som finns inuti erytrocyterna) har klibbat ihop med varandra och bildat långa trådar.

- ✓ **Monogen recessiv sjukdom:** Sicklecellsanemi är en monogen recessiv genetisk sjukdom vilket innebär att sjukdomen orsakas av en enda gen (monogen) men båda allelerna av genen måste vara muterade för att sjukdomen ska bryta ut (recessiv).

- ✓ **Sjukdomen ger försämrad cirkulation och syrebrist:** Erytrocyter med denna ovanliga form har svårt att passera genom vissa blodkärl, klibbar ihop med varandra, fastnar i kärlväggarna och de är också extra känsliga för att förstöras i mjälten. Sjukdomen ger en försämrad cirkulation vilket ökar risken för vävnadshypoxi (syrebrist i vävnader) och cellnekros (celldöd). Detta kallas för kärlocklusiv sjukdom. Detta kan vara väldigt allvarligt för viktiga organ som kräver en hög syretillförsel.



Förekomst

- ✓ **Sjukdomen är vanligast i Afrika:** Knappt 2 procent av jordens befolkning bär på ett anlag för sjukdomen. I Afrika är siffran ca 10 procent medan den i Europa är ca 0,1 procent. Det föds minst 225 000 barn årligen med sicklecellsanemi varav drygt 200 000 föds i Afrika, drygt 20 000 i Asien och endast cirka 200 i Europa.

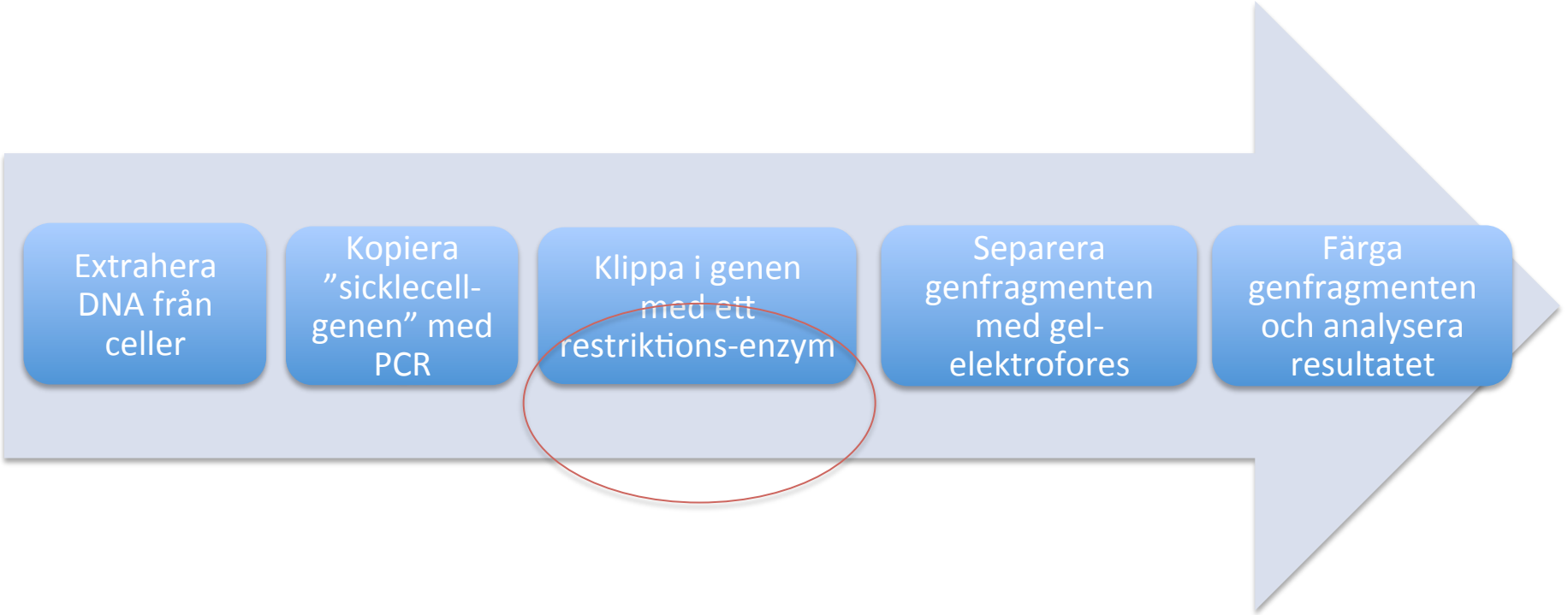
- ✓ **I Sverige finns uppskattningsvis** knappt 100 invånare med sjukdomen.

- ✓ **Den muterade genen ger ett visst malariaskydd:** Sjukdomen är vanligare i malariaområden som t.ex. Afrika eftersom den muterade genen ger ett visst malariaskydd. Det är aldrig positivt att ha sjukdomen eftersom det är en väldigt allvarlig sjukdom. Evolutionen borde därför ha ”gjort sig av” med denna muterade genvariant eftersom den minskar överlevnadschansen. Men om man är heterozygot (anlagsbärare av sjukdomen) så har man ett visst skydd mot malaria eftersom malariaparasiten då har svårt att leva inuti erytrocyterna. Den muterade genen har därför levt kvar i t.ex. Afrika där malaria är relativt vanligt.

Sjukdomen beror på en punktmutation

- ✓ **Sjukdomen beror på en punktmutation** i genen för hemoglobin. Den genen finns på kromosom nummer 11.
- ✓ **Punktmutationen har ändrat nukleotidsekvensen** på ett ställe i genen vilket får följden att aminosyra nr. 6 i hemoglobinet är utbytt från glutaminsyra till valin.
- ✓ **Hemoglobinet får lägre löslighet:** Punktmutationen innebär att hemoglobinet blir mycket mindre lösligt i vatten vilket får följden att olika hemoglobinmolekyler klibbar ihop med varandra istället och bildar långa trådar när syre inte är bundet. Erytrocyterna blir då mindre formbara.

Tillvägagångssätt för att diagnosticera sicklecellsanemi med DNA-analys



För att kunna diagnosticera sicklecellsanemi behövs ett restriktionsenzym

- ✓ **Restriktionsenzymer har förmågan** att klippa/klyva DNA på specifika ställen. Det finns många restriktionsenzymer och varje enzym har specifika nukleotidsekvenser (bassekvenser) de känner igen och vid dessa klyvs DNA:t.

- ✓ **Restriktionsenzymerna kommer ursprungligen** från bakterier och används i bakterier som ett skydd mot angripande virus. Forskare har dock isolerat dessa enzymer och de används nu flitigt inom molekylärbiologisk och medicinsk forskning och diagnosticering.

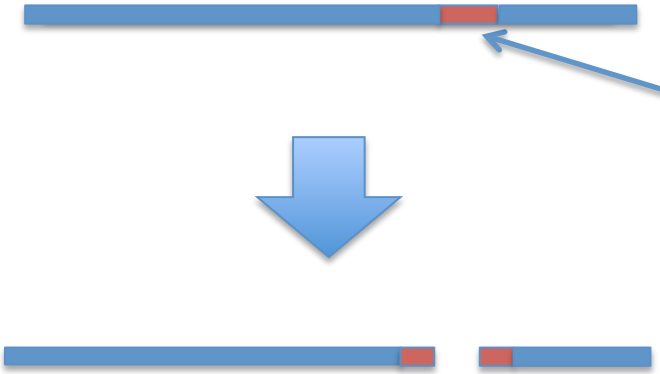
- ✓ **Vissa restriktionsenzym klyver DNA** med s.k. ”blunt ends” medan vissa klyver med s.k. ”sticky ends (klistriga ändar).

”Blunt ends”

”Sticky ends”

Restriktionsenzymet klipper i den friska genen men inte i den muterade

Frisk gen

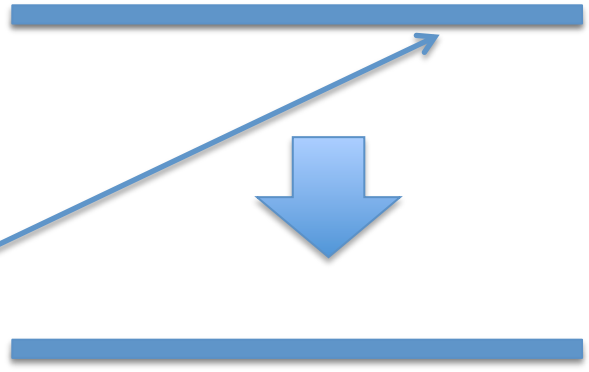


Efter ”behandling” med restriktionsenzymet bildas 2 fragment av genen.

Restriktionsenzymet känner igen denna kvävebassekvens och klipper genen här.

En punktmutation har förändrat sekvensen vilket innebär att restriktionsenzymet ej känner igen sekvensen. Genen klipps därför inte.

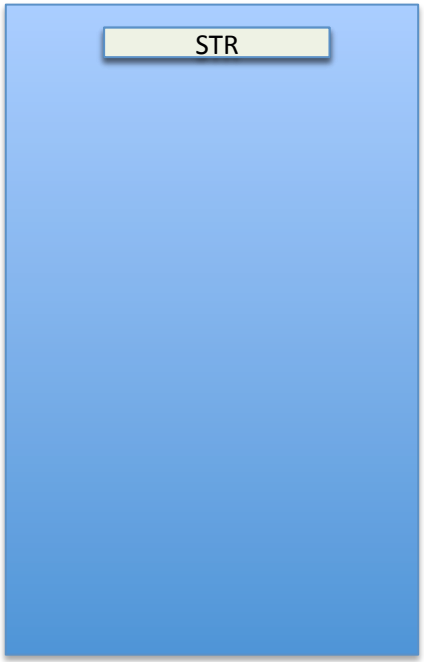
Muterad gen



Vid ”behandling” med restriktionsenzymet sker ingenting. Genen är fortfarande intakt.

Resultatet av restriktionsenzymets påverkan kan vi sedan se med hjälp av gelelektrofores

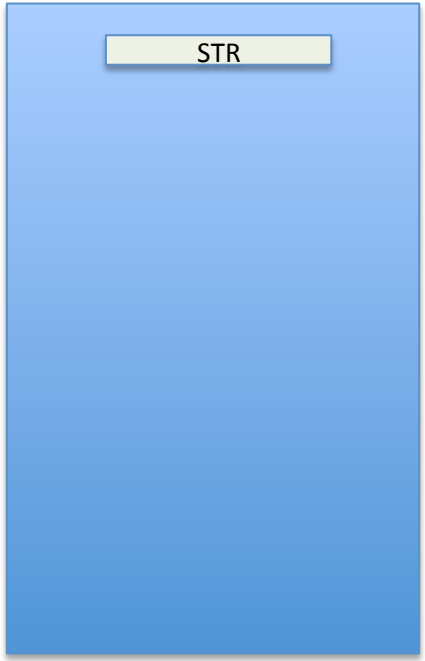
Den friska genens restriktionsmönster



Den friska genen har klippts i 2 DNA-fragment; ett medellångt och ett kort. Det korta fragmentet vandrar längst i gelen.

Den muterade genen har ej klippts vilket innebär att genen är intakt. Vi får därför enbart ett DNA-fragment i gelen. Detta fragment är långt och vandrar därför enbart en kort bit i gelen.

Den muterade genens restriktionsmönster



Varje gen finns alltid i 2 upplagor (2 alleler)

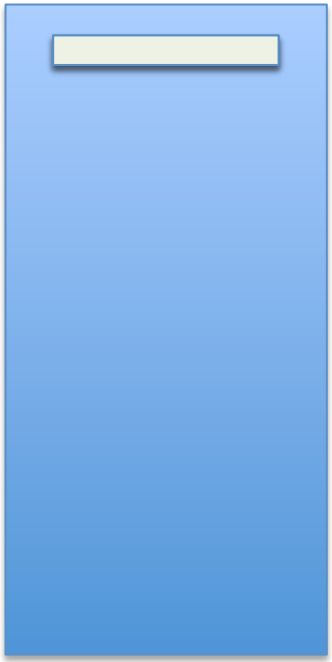
- ✓ **Alla gener finns i 2 upplagor:** Den ena upplagan (allelen) får vi från vår mamma och den andra upplagan (allelen) får vi från vår pappa. Ibland är de båda generna identiska. Ibland kan dock generna skilja sig åt (t.ex. kan en gen vara normal medan en gen är muterad).

- ✓ **För att bli sjuk krävs det att båda generna** är muterade eftersom detta är en recessiv sjukdom.

- ✓ **När vi diagnosticerar sicklecellsanemi** med gelelektrofores måste vi därför ha i beaktande att vi kan få fler än 2 band i gelen!

Bandmönstret hos helt friska, anlagsbärare resp. personer med sicklecellsanemi

Frisk individ:
Ingen av generna är muterad



Båda generna är normala och klipps därför i 2 delar vardera= 2 band i gelen.

Dominant homozygot

Anlagsbärare:
En av generna är muterad

En av generna är muterad och klipps ej= 1 band i gelen.

Den andra genen är normal och klipps därför i 2 delar= 2 band i gelen.

Heterozygot

Sjuk individ
Båda generna är muterade

Båda generna är muterade och därför klipps ingen= 1 band i gelen.

Recessiv homozygot

Exempel på andra genetiska sjukdomar som kräver restriktionsenzym vid analys

- ✓ **Hemokromatos:** Sjukdomen kallas även för ”*bronsdiabetes”* eller ”*jämtlandssjuka”*. Hemokromatos är en genetisk sjukdom som innebär att kroppen tar upp för mycket järn i tunntarmen. Nivåerna i kroppens vävnader och organ blir därmed för höga.

- ✓ **Akondroplasi:** Den vanligaste formen av dvärgväxt.

Se gärna fler filmer av Niklas Dahrén:

http://www.youtube.com/Kemilektioner
http://www.youtube.com/Medicinlektioner