

## Løsninger: Hvordan måler man en biomarkør?

I dette opgaveark skal du arbejde med mutationer i *BRCA*-generne og brystkræft. Du kan få hjælp til opgaverne i afsnittet "Hvordan måler man en biomarkør?".

Mutationer i *BRCA*-generne er disponerende biomarkører for brystkræft og kræft i æggestokkene. *BRCA1*-genet sidder på kromosom 17. En af de kendte mutationer, som øger risikoen for kræft, hedder c.68-69delAG. Det er ikke et særlig mundret navn, men kort fortalt betyder det, at mutationen er en deletion (del) af nukleotiderne adenin (A) og guanin (G) på position 68-69 i *BRCA1*-genet.

1. Hvad betyder en deletion mutation, og hvilke andre former for mutationer kender du?

En deletion er, når der bliver fjernet ét eller flere nukleotider i DNA'et.

Andre former for mutationer inkluderer:

Insertions: Ét eller flere nukleotider bliver indsat i DNA'et.

Substitution/Punktmutation: Ét nukleotid bliver ændret til et andet nukleotid.

Dublikation: En DNA-sekvens kopieres, så den findes to steder i genomet.

To søstre har lige fundet ud af, at deres mor er blevet diagnosticeret med brystkræft. Nu vil de gerne vide, om de også er disponerede for brystkræft. De vælger derfor at få undersøgt deres *BRCA*-gener.

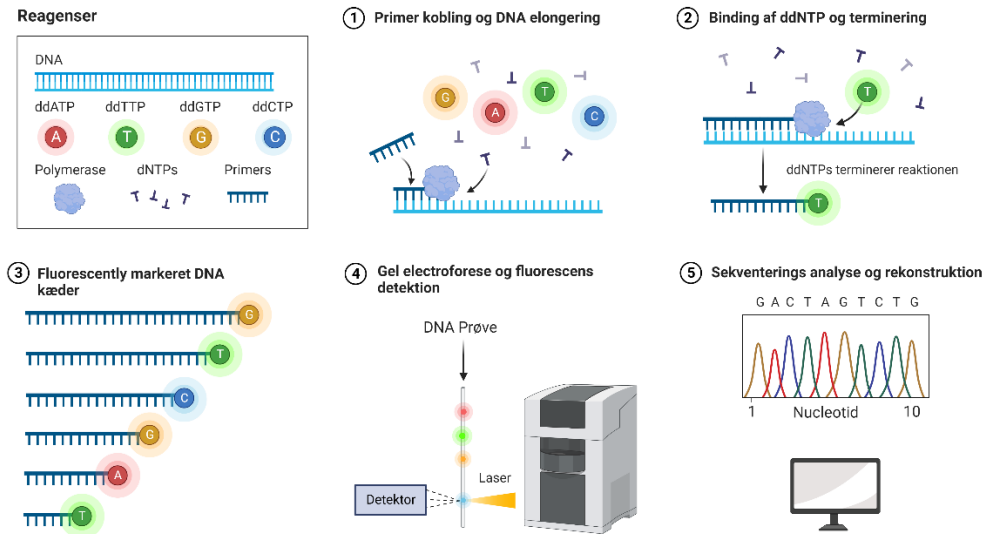
2. Hvilke to teknikker skal man bruge for at finde ud af, om der er mutationer i *BRCA1*-genet?

Man skal bruge PCR for at opformere DNA'et, så man har nok kopier til at sekventere det.

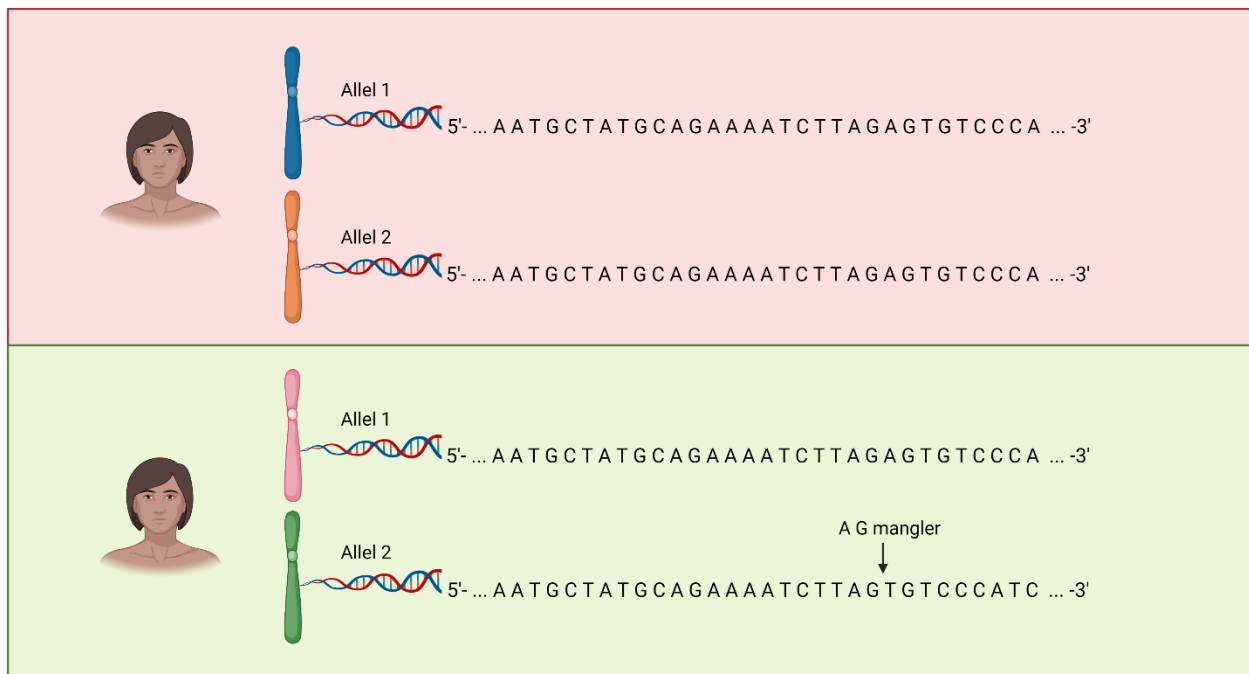
Man skal bruge DNA-sekventering for at identificere rækkefølgen af nukleotider i genet.

3. Forklar kort hvad Sanger-sekventering er. Hvis du har brug for hjælp, kan du kigge på tekstboks fire i [Diagnostik af sygdomme - Biotech Academy](#).

Sanger-sekventering er en DNA-sekventeringsteknik, som minder om PCR. Den eneste forskel fra almindelig PCR er, at der er tilføjet en lille mængde fluorescerende dideoxy-nukleotider (ddNTPs) til reaktionen. Når et ddNTP bliver inkorporeret i den voksende DNA-streng, stopper PCR. Alt efter hvornår det fluorescerende ddNTP bliver inkorporeret i DNA'et, vil DNA-strengene få forskellig længde. Der er så mange kopier af DNA'et, at alle de forskellige længder af DNA-strengene vil blive dannet. DNA-strengene slutter alle sammen med et fluorescerende ddNTP, som kan måles med en detektor. ddNTP har hver sin fluorescerende farve, alt efter om det er adenin (ddATP), cytosin (ddCTP), guanin (ddGTP) eller thymin (ddTTP). Ud fra farven kan man bestemme rækkefølgen af nukleotider i DNA'et. Processen er også beskrevet på figuren fra tekstboks fire i "Diagnostik af sygdomme":



På figur 1 kan du se resultatet af DNA-sekventeringen af søstrenes *BRCA1*-gener.



**Figur 1:** DNA-sekventering af *BRCA1*-generne hos de to søstre. *BRCA1*-genet er langt, og figuren indeholder kun et udsnit af genet. Det første nukleotid er ikke position 1 i genet.

- Find ud af, om en af søstrene har en c.68-69delAG mutation i *BRCA1*-genet på en af de to alleler, og markér det på figuren.

Den nederste kvinde har en c.68-69delAG mutation i *BRCA1*-genet på allel 2. Den er markeret med en pil på figur 1.

*BRCA1*-genet koder for *BRCA1* proteinet. Genet bliver oversat til et protein via proteinsyntesen – også kaldet det centrale dogme. Du kan se en video om [det centrale dogme](#) på Biostriben, hvis du er i tvivl om, hvordan det fungerer. I det centrale dogme bliver 3 nukleotider oversat til 1 aminosyre. 3 nukleotider kaldes også et kodon. Den genetiske kode beskriver, hvilken aminosyre hvert kodon koder for. På figur 2 kan du se en oversigt over den genetiske kode.

		Anden base i kodonnet					
		U	C	A	G		
Første base i kodonnet	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA } <b>STOP</b> UAG }	UGU } Cys UGC } UGA } <b>STOP</b> UGG } Trp	U	C
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U	C
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met ( <b>start</b> )	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U	C
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U	C
						A	G

Figur 2: Den genetiske kode. Tre nukleotider i mRNA, også kaldet et kodon, koder for én aminosyre.

Ved hjælp af den genetiske kode kan man oversætte ethvert gen til en proteinsekvens. Starten på oversættelsen af *BRCA1*-genet er givet i figur 3.



Figur 3: *BRCA1*-genet.

5. Fortsæt oversættelsen og oversæt derefter den allel fra opgave 4, som indeholder en mutation. Husk på, at thymin (T) i DNA svarer til uracil (U) i mRNA.

Oversættelsen af *BRCA1*-genet kan ses på figur 3.

Oversættelsen af det muterede *BRCA1*-gen:



6. Hvilken konsekvens har mutationen for aminosyresekvensen?

Deletionen af AG ændrer alle aminosyrerne, som ligger efter mutationen i genet.

7. Hvad kaldes den type mutationer?

Det er en frameshift mutation. En frameshift mutation sker, når der bliver fjernet eller indsat et antal nukleotider, som ikke kan deles med 3.

8. Hvordan kunne mutationen påvirke funktionen af *BRCA1* proteinet?

En frameshift mutation er en meget alvorlig mutation, som ændrer proteinets struktur markant. Det medfører ofte, at det muterede protein ser så anderledes ud, at det ikke længere fungerer. *BRCA1* proteinet er en del af cellernes DNA reparationskompleks. Hvis *BRCA1* ikke fungerer, kan det ikke reparere skader i DNA'et, og cellerne kan udvikle sig til kræftceller.