

Exon skipping workshop

Annemieke Aartsma-Rus

Mei 2019

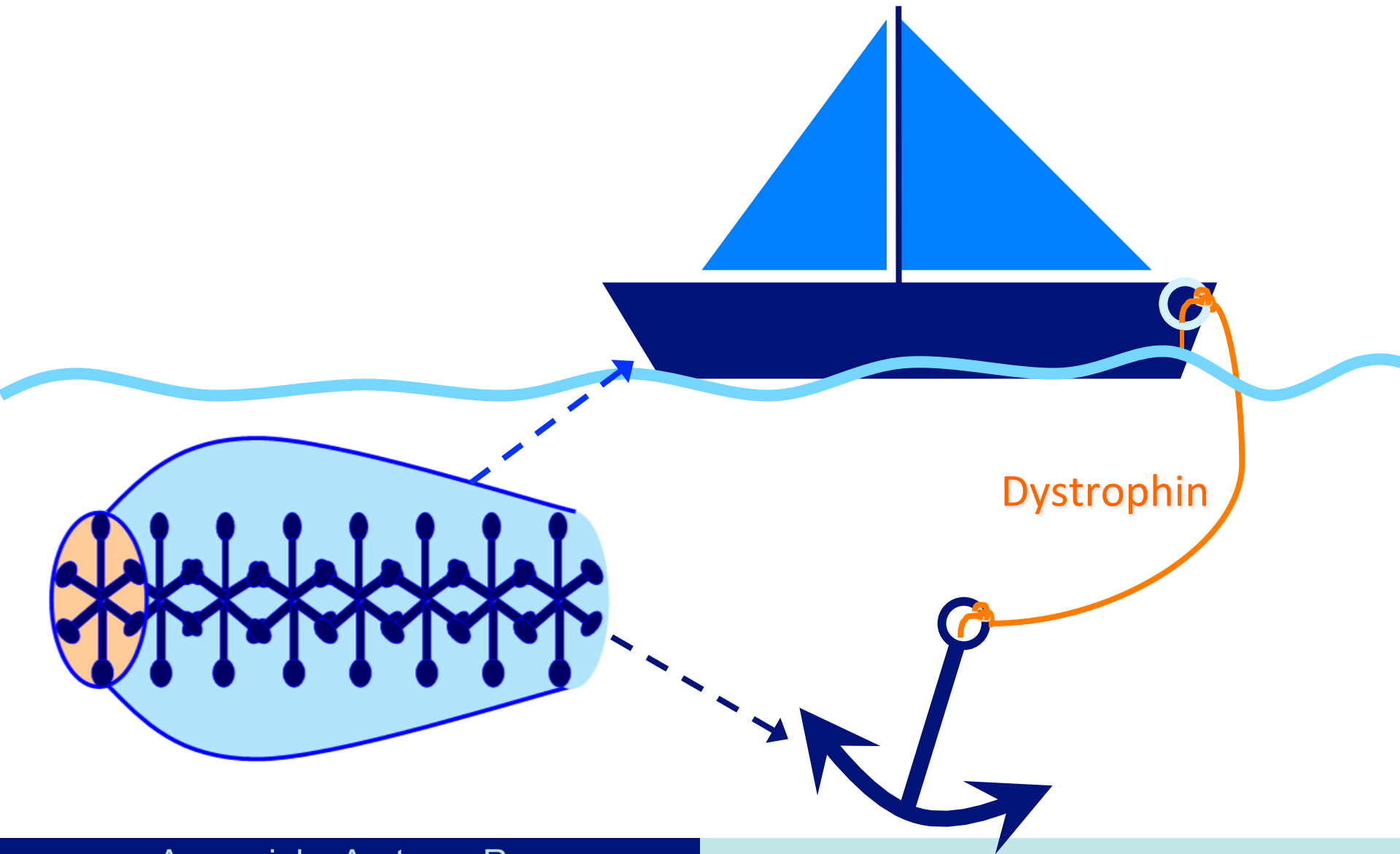


Overview

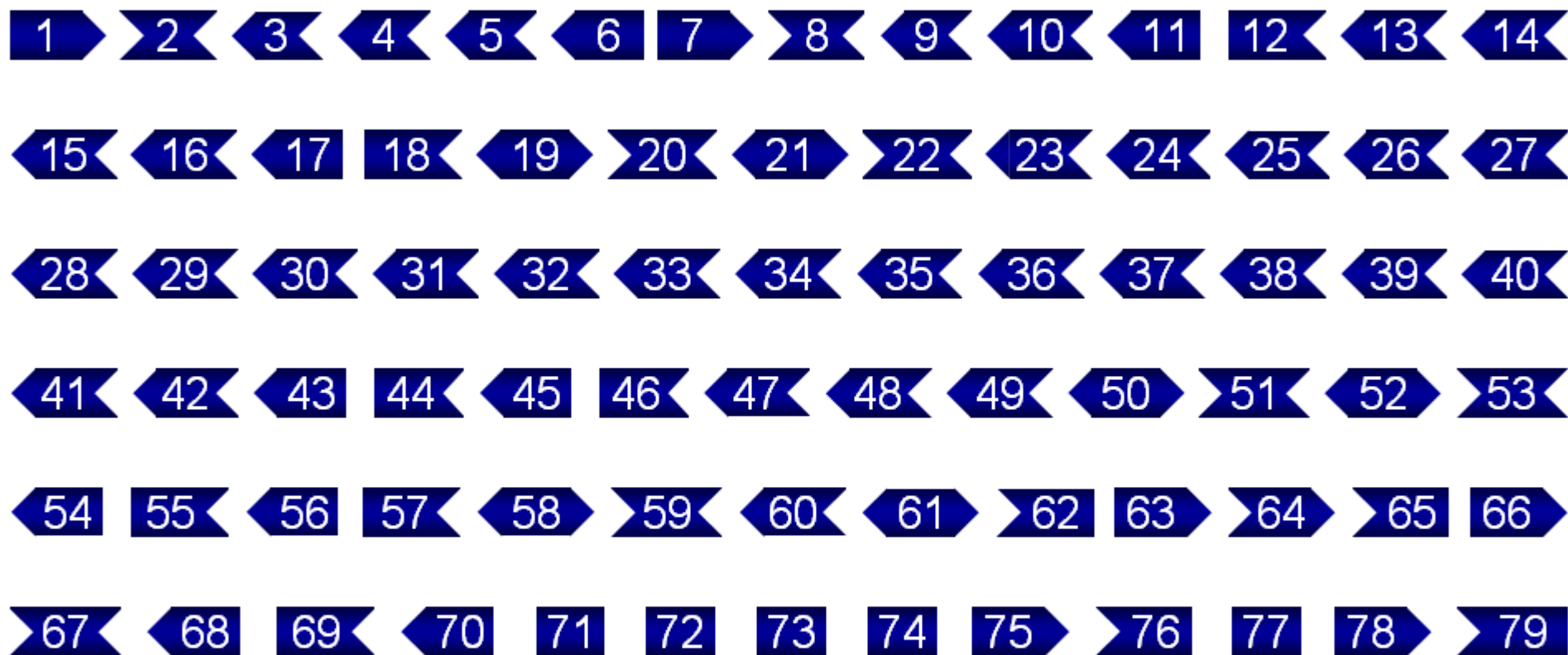
- Uitleg exon skippen (15-20 minuten)
 - Waarom zou het werken?
 - Hoe werkt het
 - Voor verschillende mutaties
 - Overwegingen
- Vragen over exon skippen
- “Mijn kind heeft mutatie xxx”

Workshop: onderbreken met vragen mag

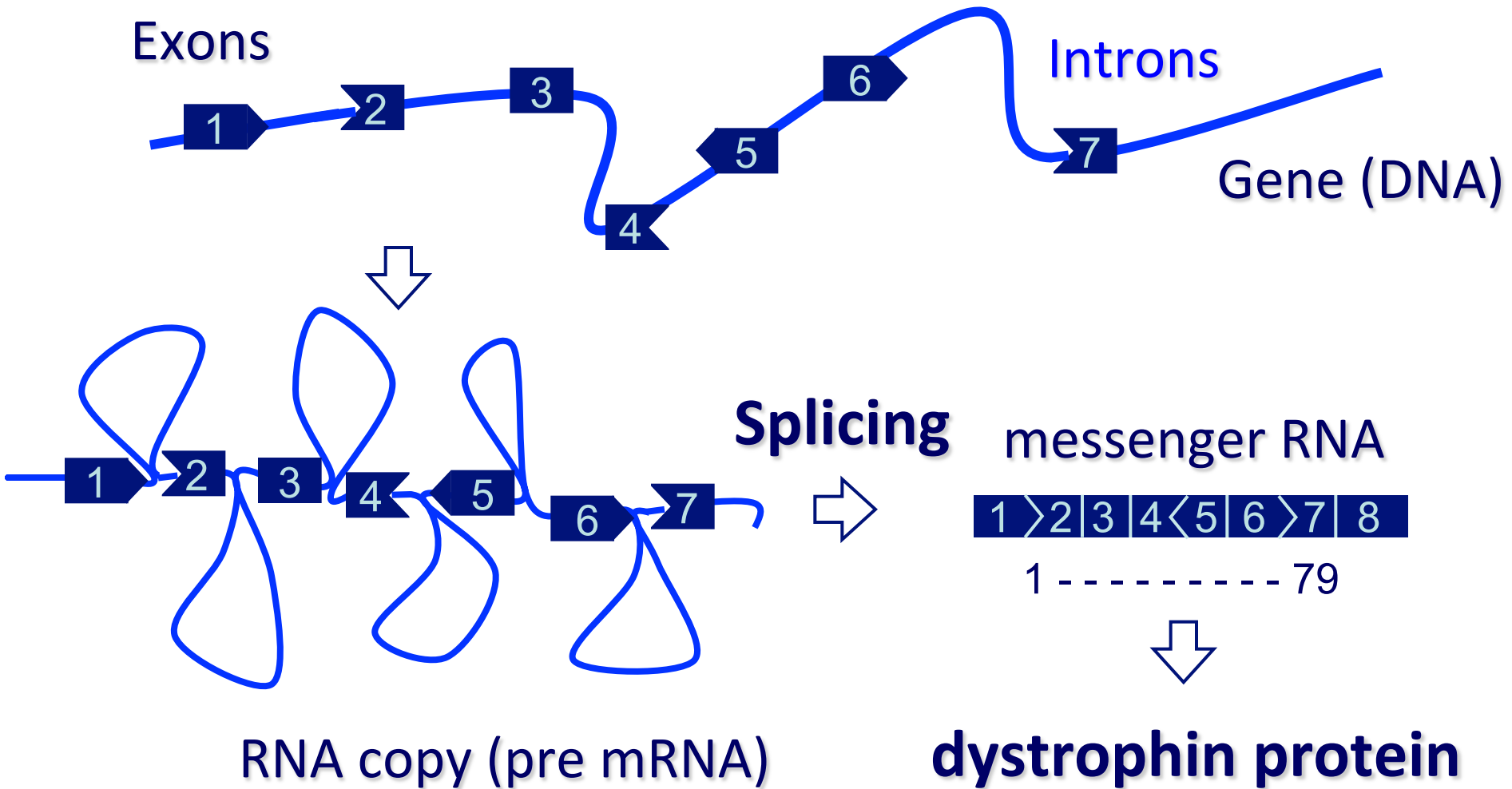
Dystrofine



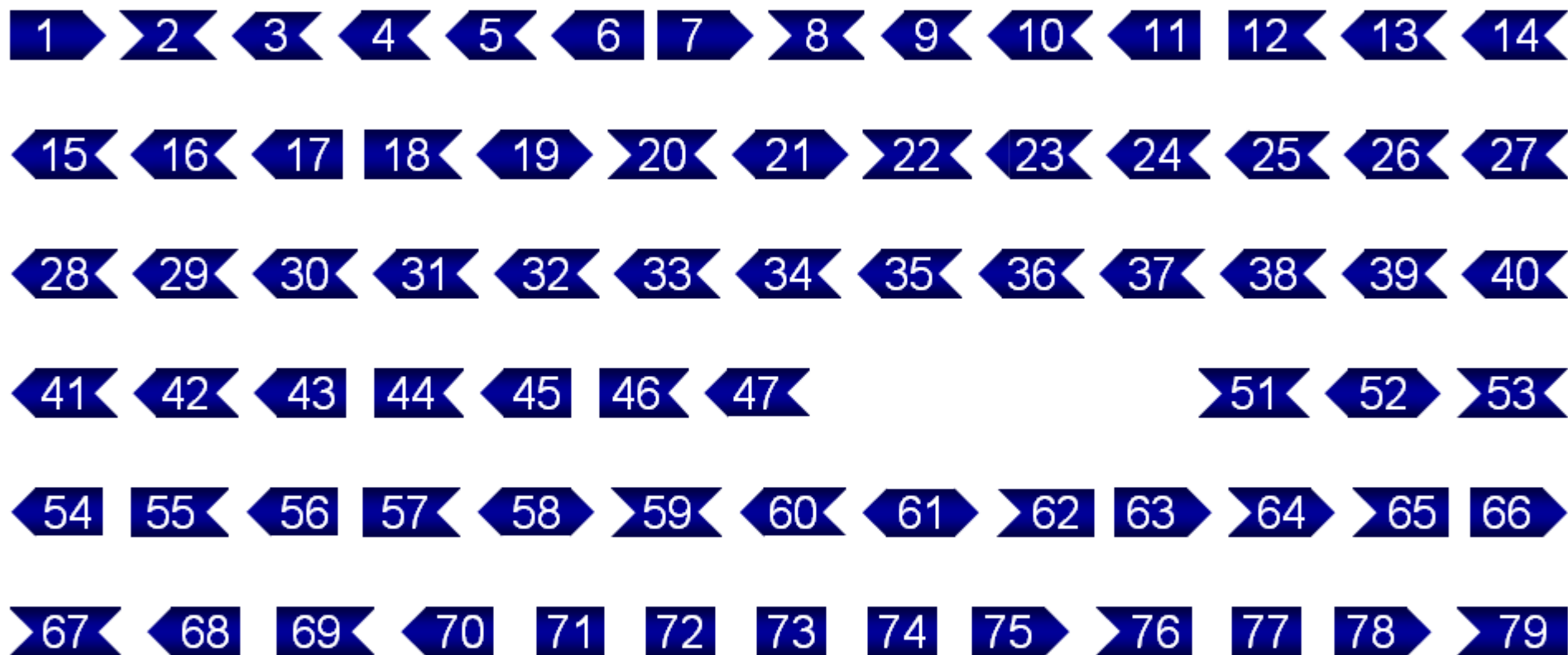
Dystrofine gen



Splicing



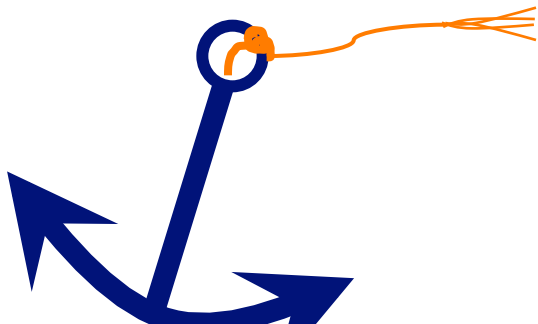
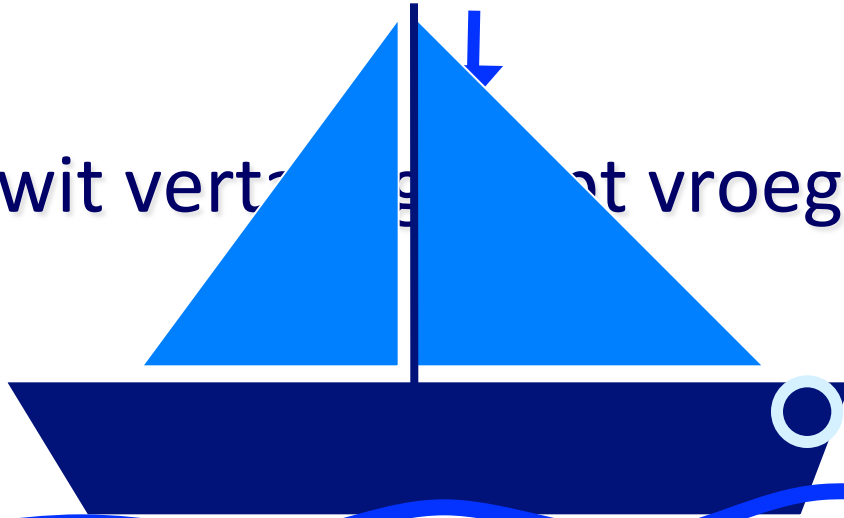
Duchenne: code verstoord



Duchenne: Code verstoord

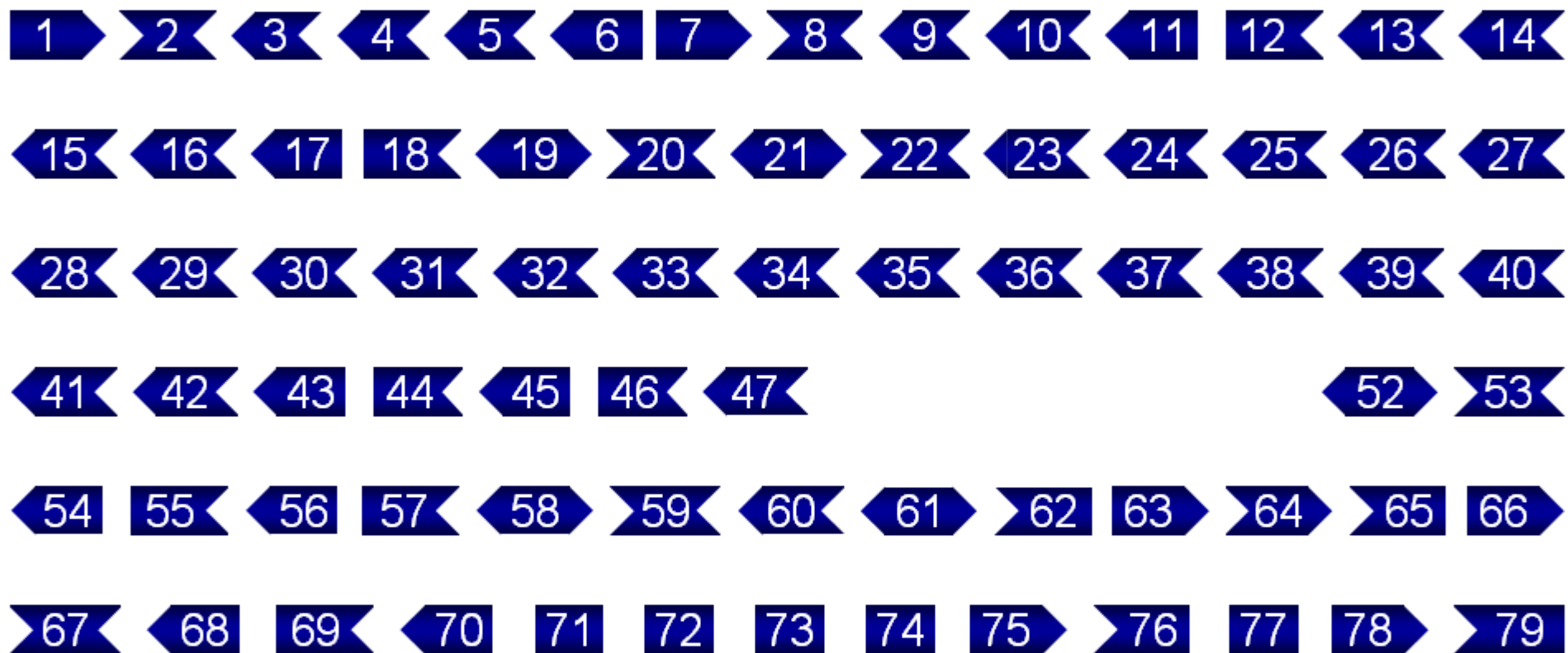


Eiwit vertaalt niet vroegtijdig

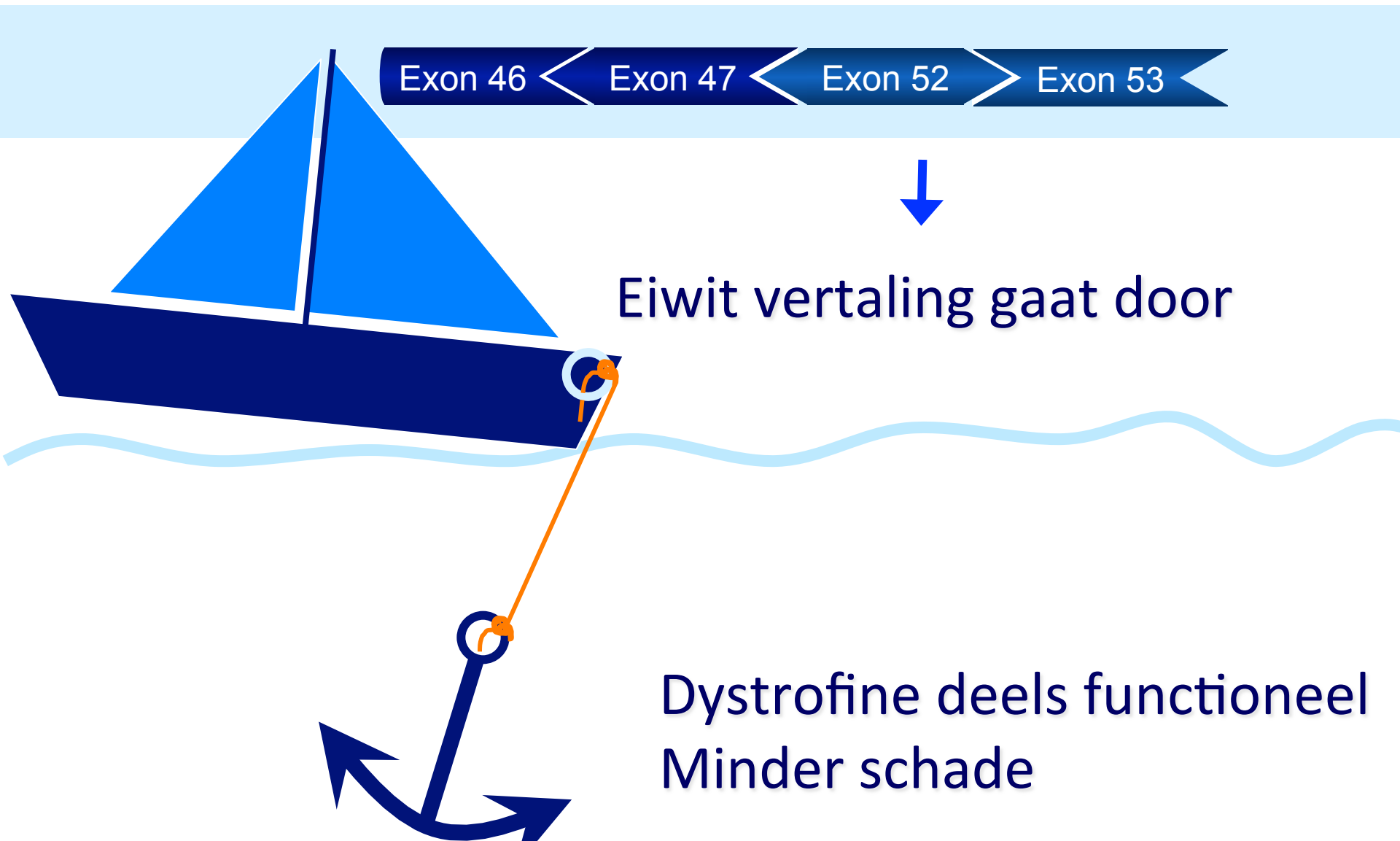


Dystrofine niet functioneel

Becker: code behouden



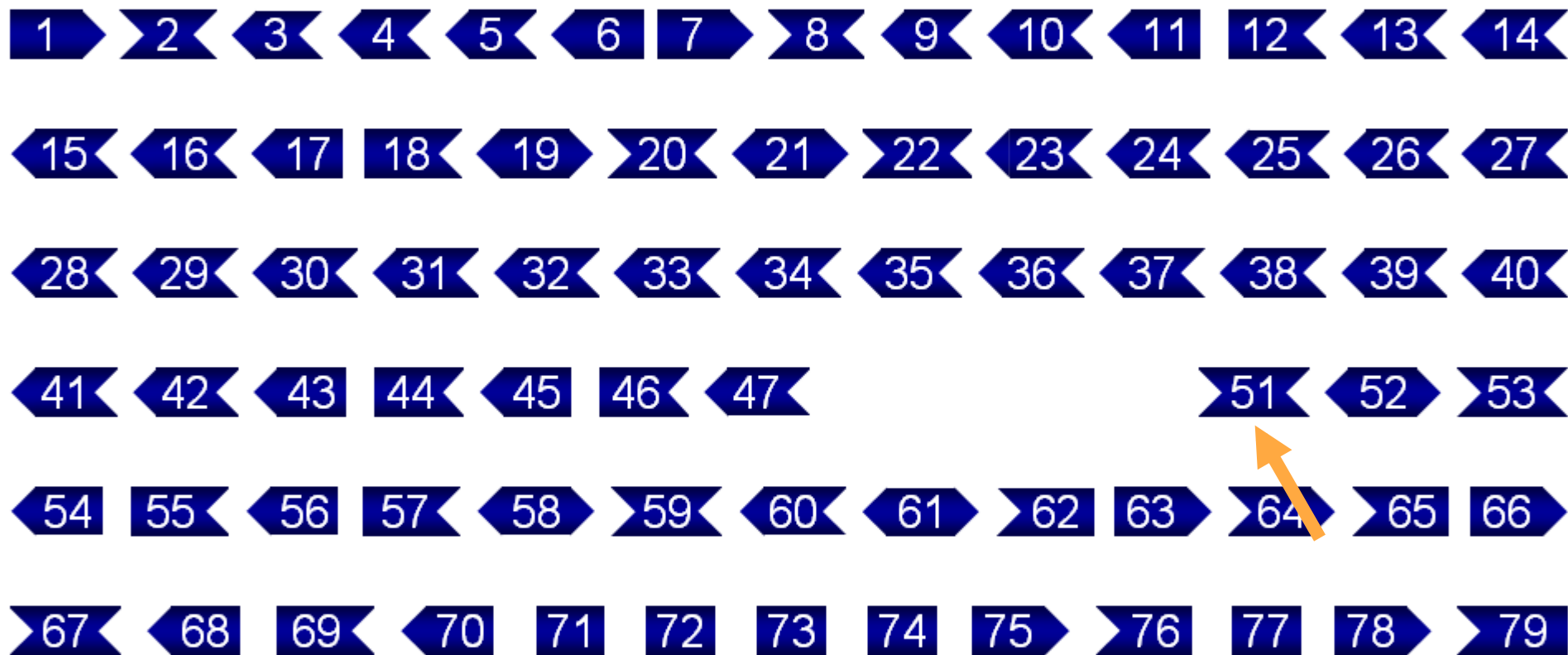
Becker: code behouden



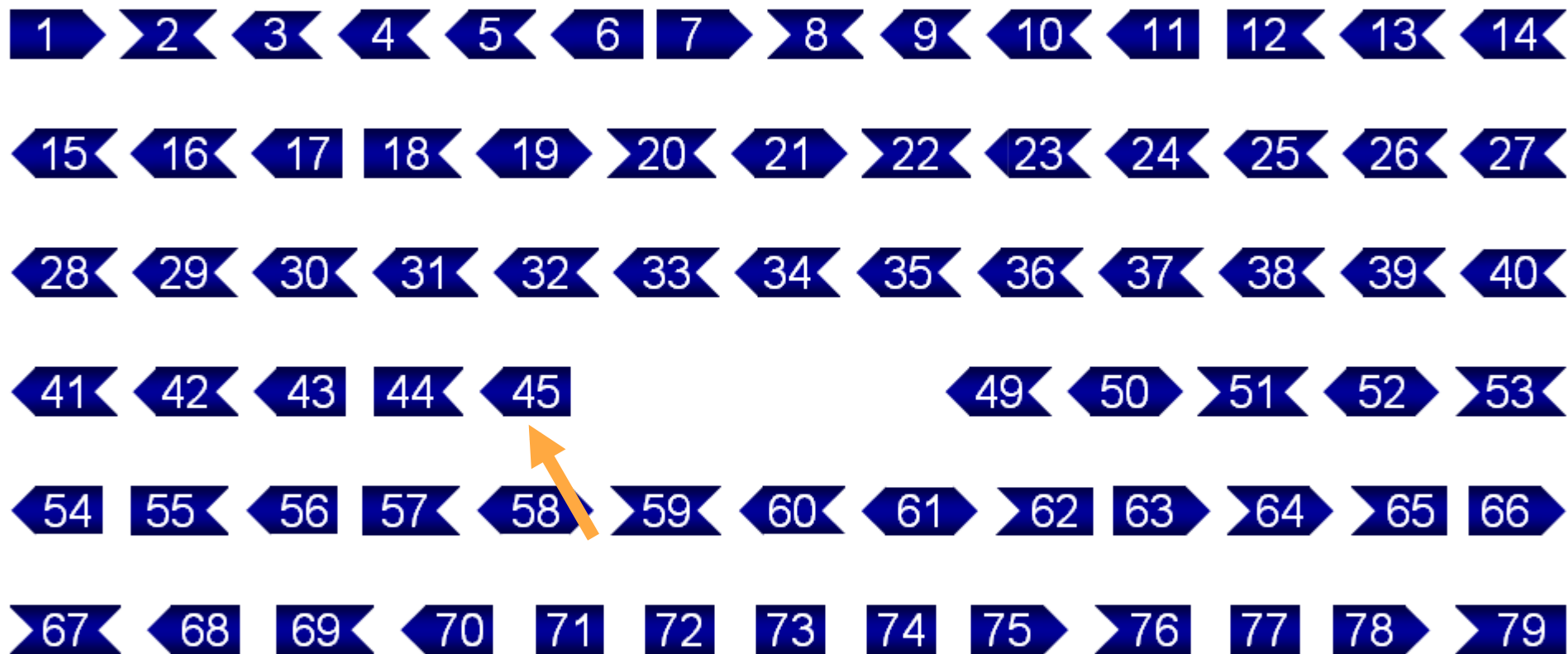
Exon skippen: code herstellen



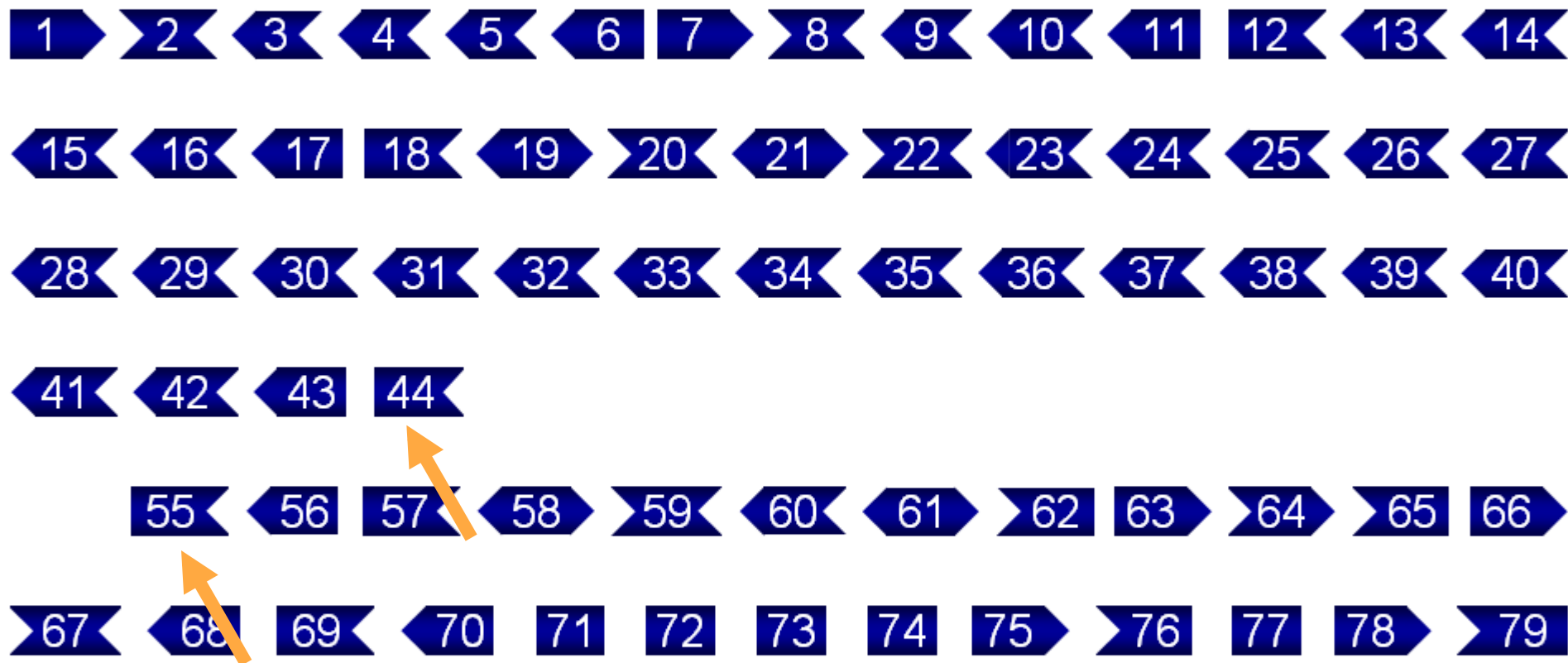
Exon skippen voor Δ exon 48-50



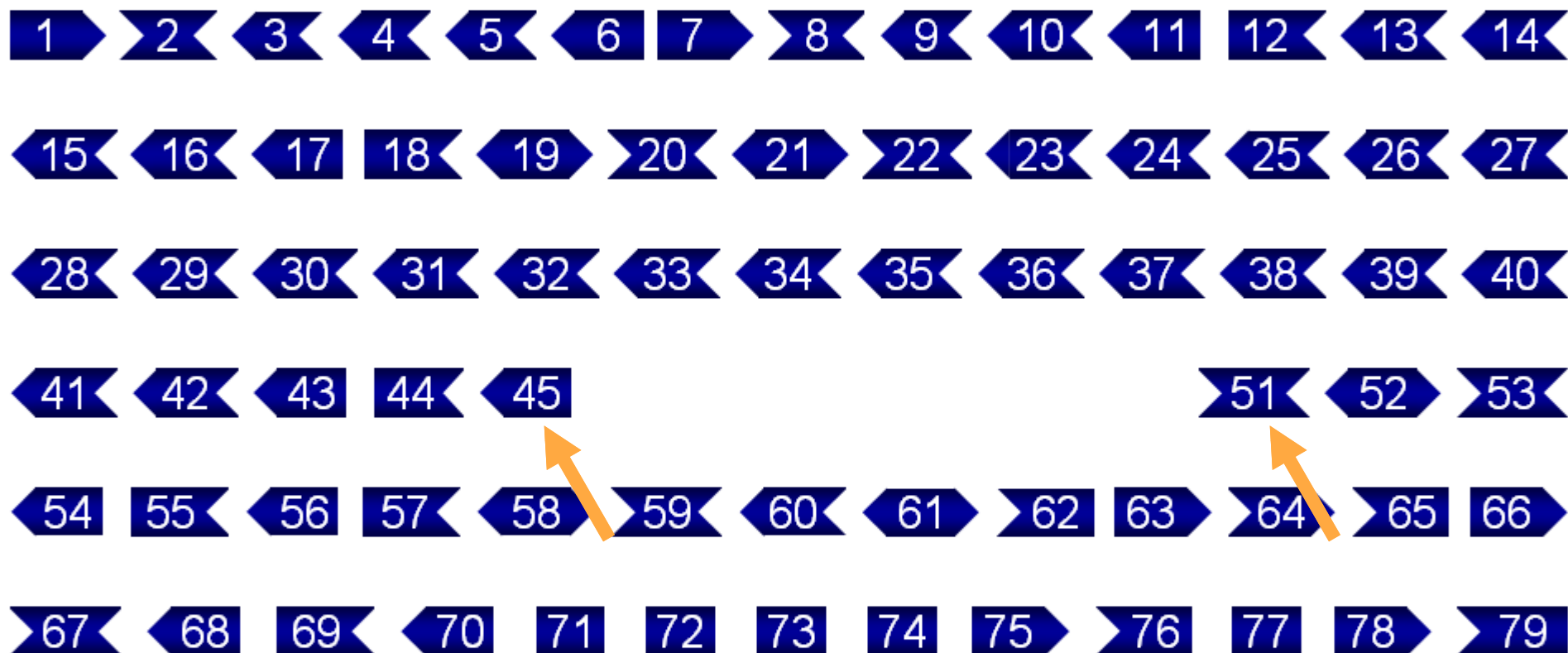
Exon skippen voor Δ exon 46-48



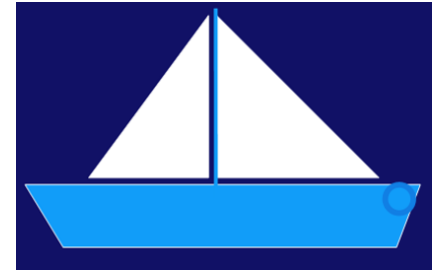
Exon skippen voor Δ exon 45-54



Exon skippen voor Δ exon 46-50



Toepasbaarheid



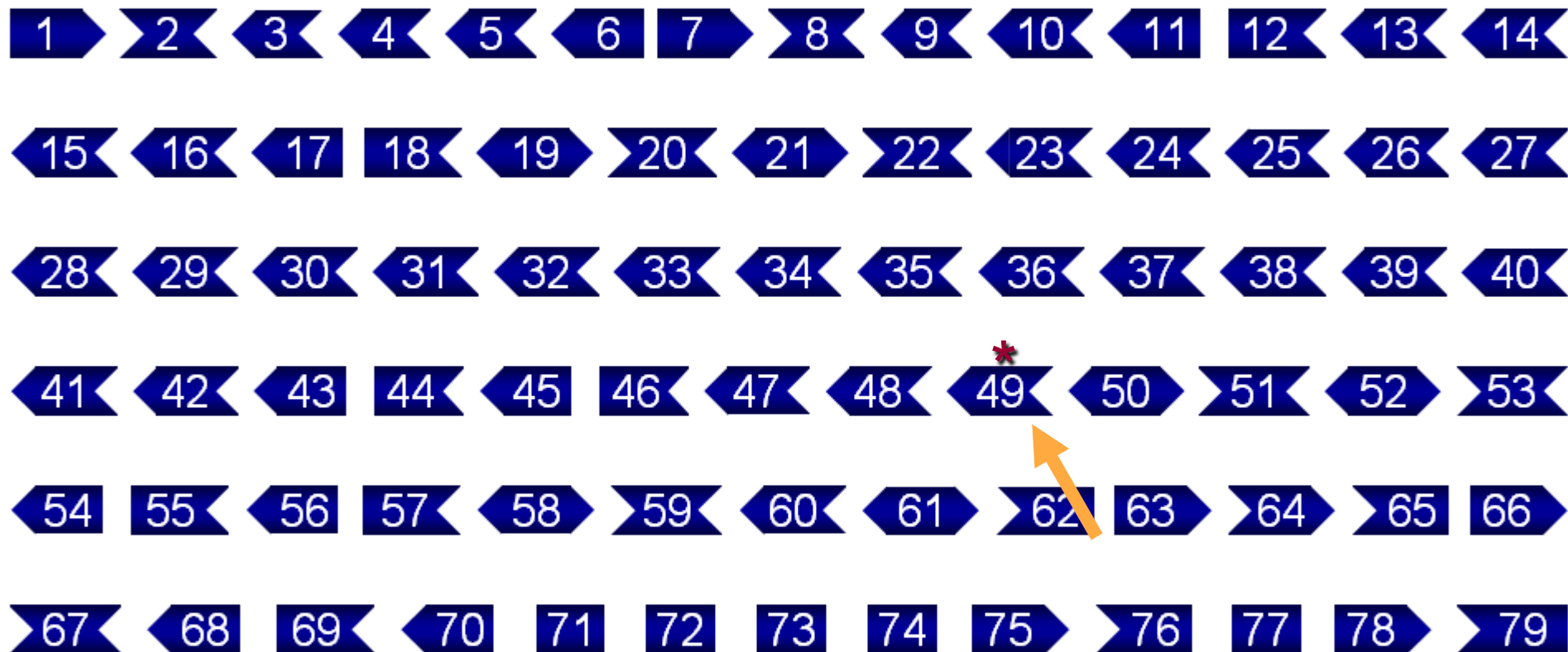
hotspot

Exon	All mutations	Deletions
51	14%	21%
45	9.0%	13%
53	8.1%	12%
44	7.6%	11%
50	3.8%	5.6%
43	3.1%	4.5%
8	2.0%	2.9%

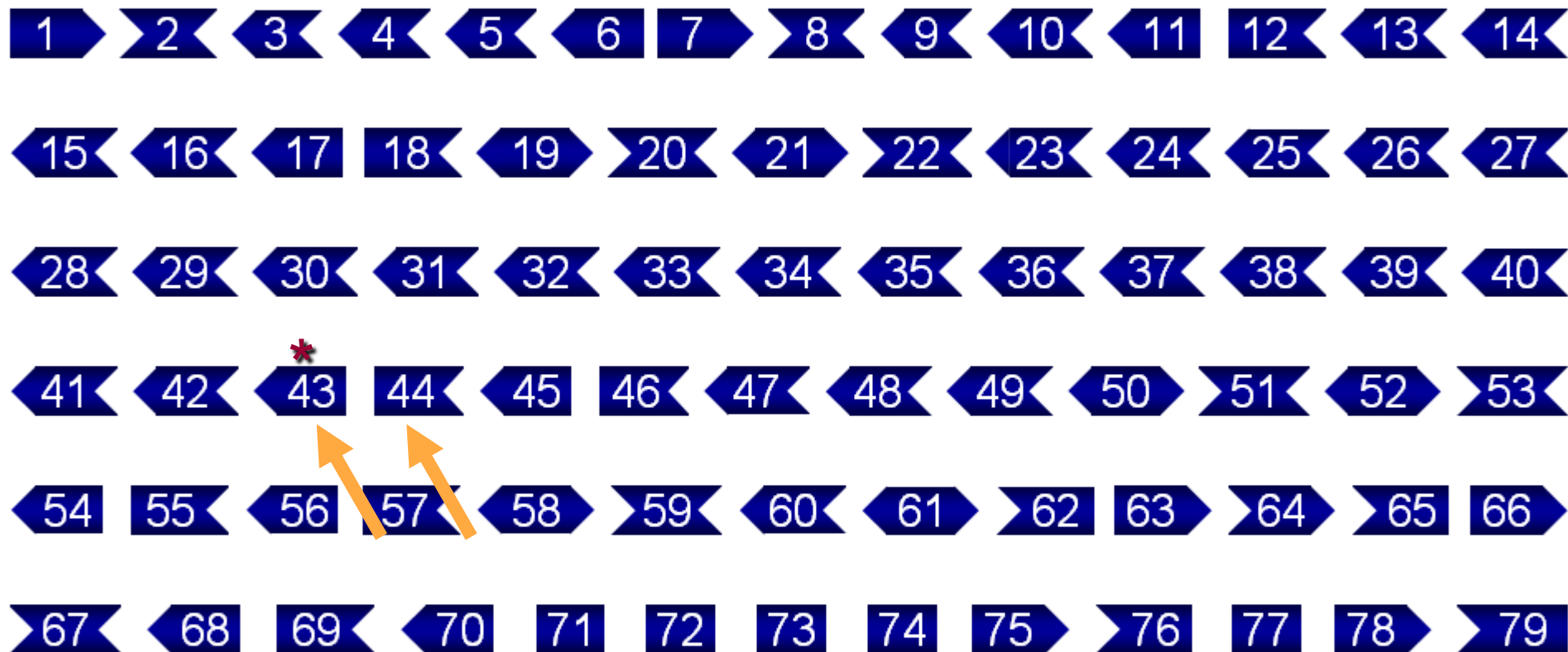
Overwegingen voor deleties

- Deleties clusteren in hotspots
- Meestal is skippen 1 exon genoeg
- Some moeten er 2 of meer exonen worden geskipt
- Dubbelskippen lukt in gekweekte cellen
- Moeilijker in muizen en honden
- Optimale dosering? Veiligheid?

Kleine mutaties



Kleine mutaties



Overwegingen voor kleine mutaties

- Voor 'in-frame' exonen skippen van 1 exon
- Voor 'uit-frame' exonen skippen van 2 of meer exonen nodig (meerderheid)
- Kleine mutaties clusteren niet
- Voor stop mutaties is Translarna™/Ataluren goedgekeurd (~50% van kleine mutaties) – maar niet beschikbaar in Nederland

Duplications



Overwegingen duplicaties

Duplicaties van 1 exon

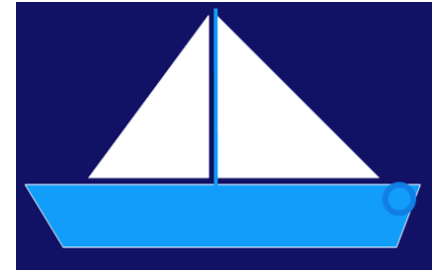
- In celkweek vaak beide geskipt (code verstoord)
- In dieren en mensen?

Grotere duplicaties (meerdere exonen)

- Competitie tussen originele en dubbele exon



Toepasbaarheid overwegingen 2



hotspot

Exon	All mutations	Deletions	Duplications	Small mutations
51	13.0%	19.1%	0.3%	3.0%
45	8.1%	11.8%	0.2%	2.2%
53	7.7%	11.4%	0.1%	1.5%
44	6.2%	8.85	0.4%	2.7%
46	4.3%	6.2%	0.2%	1.6%
52	4.1%	5.7%	0.5%	2.3%
50	4.0%	5.6%	0.2%	1.9%

Toepasbaarheid

Uit-frame mutaties: Duchenne (locatie maakt niet uit); Voor therapie maakt wel uit: na skippen moet dystrofine cruciale domeinen bevatten

- Boot bindende domein (dystroglycan domein)
 - Exon 64-70
- Een anker bindende domein (actine domains)
 - Exon 2-9 OF exon 32-45
- Een derde van het tussenstuk
 - Deleties tussen exon 11 en 63 moeten niet groter zijn dan 36 exonen

Ten slotte

- Exon skippen leidt tot productie Becker achtige dystrofines

Maar

- Becker patienten maken dystrofine vanaf geboorte
- Duchenne patienten maken dystrofine na behandeling
- Duchenne patienten maken minder dystrofine (momenteel)
- Tijd van ingrijpen bepaalt therapeutisch effect
- Spier kwaliteit
- Verloren functie komt niet terug