



Leids Universitair
Medisch Centrum

Duchenne en Genetica

Annemieke Aartsma-Rus
Juni 2021



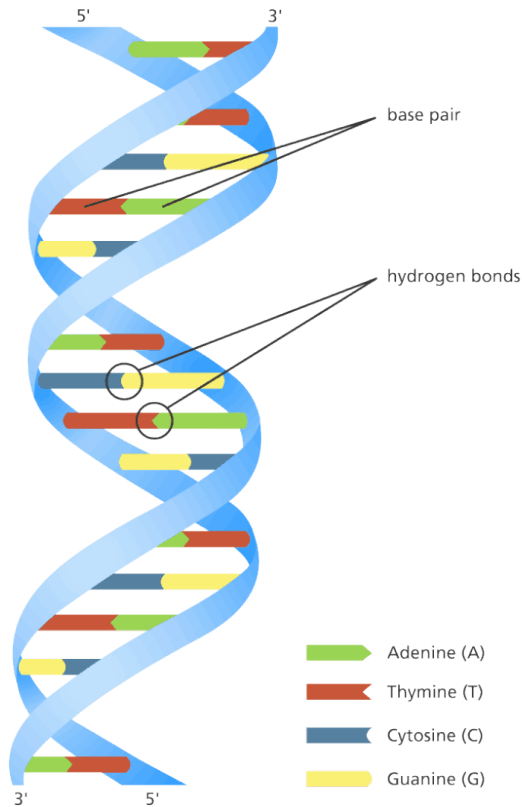
Disclosures (past 5 years)

- Employed by LUMC, which has patents on exon skipping technology, some of which has been licensed to BioMarin and subsequently sublicensed to Sarepta. As co-inventor of some of these patents I am entitled to a share of royalties
- Ad hoc consultant for PTC Therapeutics, BioMarin Pharmaceuticals Inc., Alpha Anomeric, Eisai, Sarepta Therapeutics, Global Guidepoint and GLG consultancy,, Wave, SpliceSense, Roche, Galapagos, Biogen, CRISPR Tx and Takeda.
Remuneration paid to LUMC
- Member of the scientific advisory boards of ProQR, Sarepta Therapeutics, Silence Therapeutics and Hybridize Therapeutics. Remuneration paid to LUMC
- LUMC received speaker honoraria from PTC Therapeutics and BioMarin Pharmaceuticals

Outline vandaag

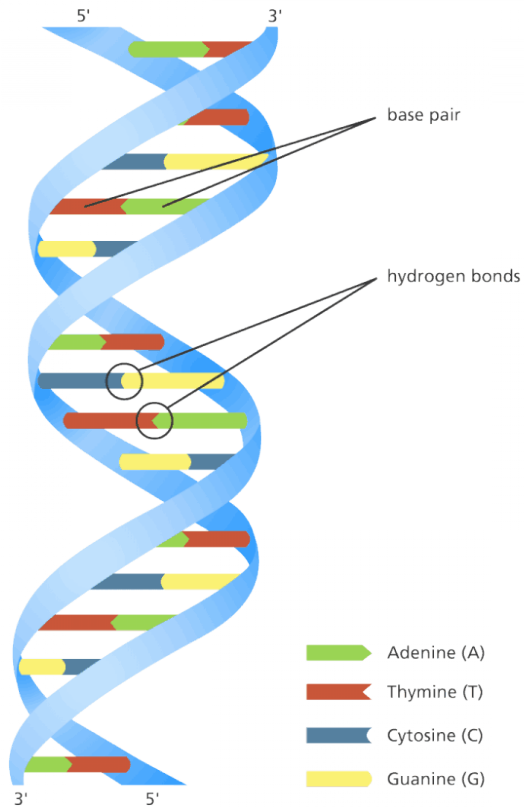
- Algemene introductie over genetica
- Genetica en Duchenne
 - Types mutaties
 - Uitzonderingen
 - Wat betekent dit voor ziektebeloop?
- Quiz

Hoe werkt DNA?



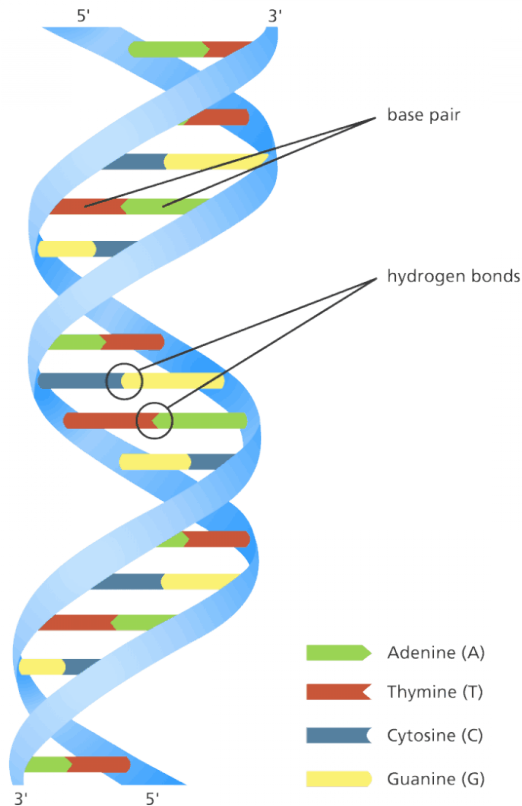
- Bestaat uit 4 bouwstenen
- Opgebouwd uit 2 strengen
- Altijd dezelfde bouwstenen tegenover elkaar
- Hierdoor kan DNA zichzelf kopiëren
- Iedere cel heeft 2 meter DNA!
- Ligt opgewonden in chromosomen

Kopieren



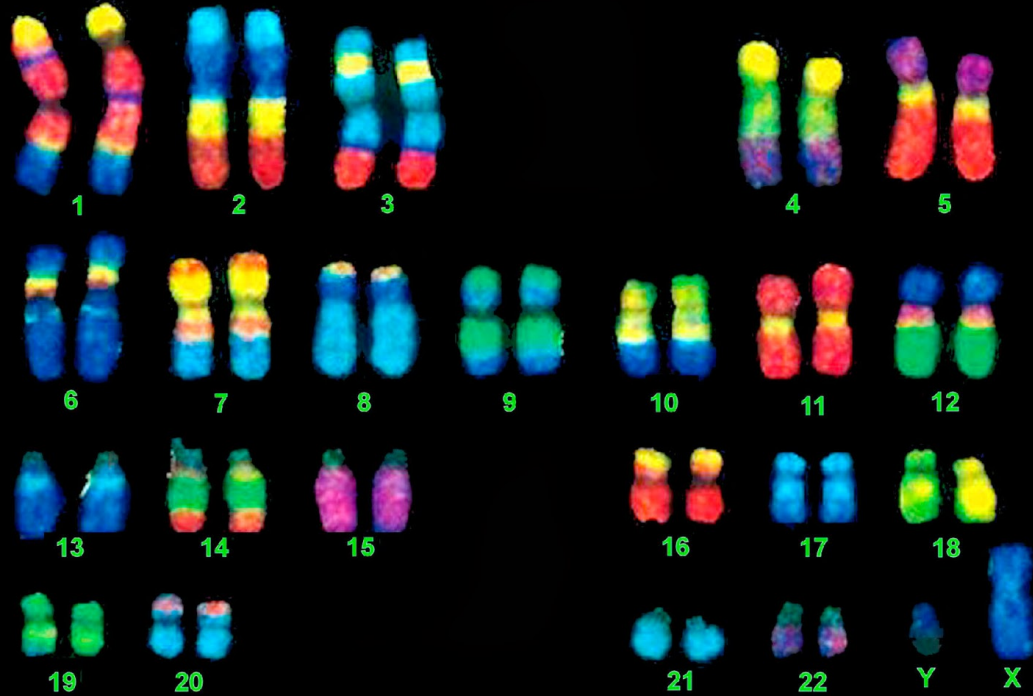
A	T
C	G
G	C
T	A
C	G
G	C
A	T
A	T
T	A

Hoe werkt DNA?



- Bestaat uit 4 bouwstenen
- Opgebouwd uit 2 strengen
- Altijd dezelfde bouwstenen tegenover elkaar
- Hierdoor kan DNA zichzelf kopiëren
- Iedere cel heeft 2 meter DNA!
- Ligt opgewonden in chromosomen

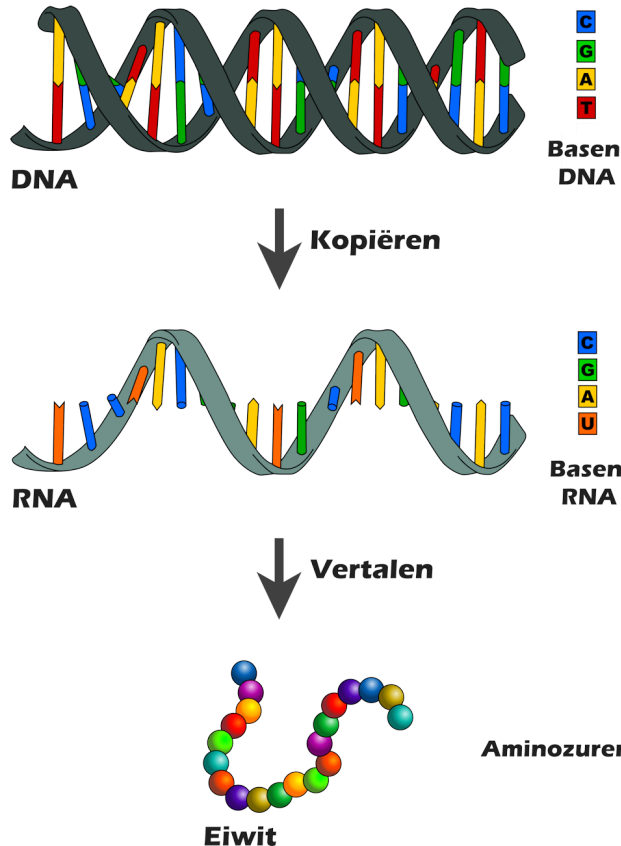
Chromosomen



HUMAN CHROMOSOMES

- 1 set van elke ouder
- 2 kopieën in elke cel
- Geeft 1 set door aan kinderen

Van DNA naar eiwit



- Elke 3 RNA bouwstenen zijn code voor 1 aminozuur (eiwit bouwsteen)
- Met een 'DNA alfabet' van 4 letters coderen voor een 'eiwit alfabet' van 26 soorten aminozuren

Van DNA naar eiwit

Standard genetic code

1st base	2nd base								3rd base
	T		C		A		G		
T	TTT	(Phe/F) Phenylalanine	TCT	(Ser/S) Serine	TAT	(Tyr/Y) Tyrosine	TGT	(Cys/C) Cysteine	T
	TTC		TCC		TAC		TGC		C
	TTA	TTG ^[A]	TCA		TAA	Stop (Ochre) ^[B]	TGA	Stop (Opal) ^[B]	A
	TCG		TAG		Stop (Amber) ^[B]	TGG	(Trp/W) Tryptophan	G	
C	CTT	(Leu/L) Leucine	CCT	(Pro/P) Proline	CAT	(His/H) Histidine	CGT	(Arg/R) Arginine	T
	CTC		CCC		CAC		CGC		C
	CTA		CCA		CAA	(Gln/Q) Glutamine	CGA		A
	CTG ^[A]		CCG		CAG		CGG		G
A	ATT	(Ile/I) Isoleucine	ACT	(Thr/T) Threonine	AAT	(Asn/N) Asparagine	AGT	(Ser/S) Serine	T
	ATC		ACC		AAC		AGC		C
	ATA		ACA		AAA	(Lys/K) Lysine	AGA	(Arg/R) Arginine	A
	ATG ^[A]	(Met/M) Methionine	ACG		AAG		AGG		G
G	GTT	(Val/V) Valine	GCT	(Ala/A) Alanine	GAT	(Asp/D) Aspartic acid	GGT	(Gly/G) Glycine	T
	GTC		GCC		GAC		GGC		C
	GTA		GCA		GAA	(Glu/E) Glutamic acid	GGA		A
	GTG		GCG		GAG		GGG		G

Amino-acid biochemical properties Nonpolar Polar Basic Acidic

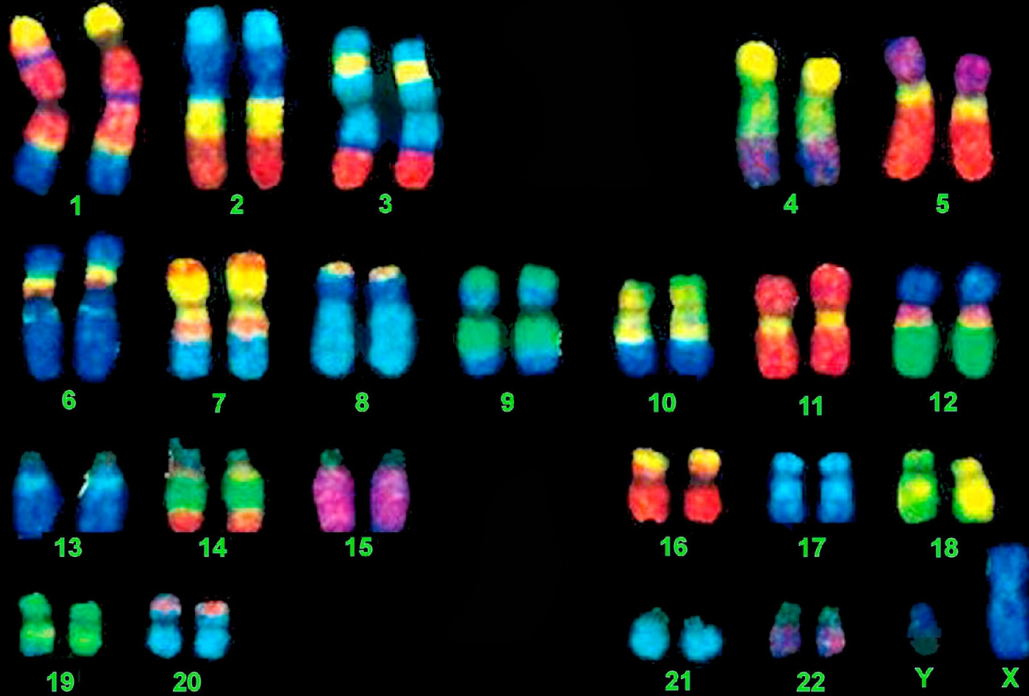
Termination: stop codon

ATG CAT CAT CAT

TAT CAT TAT TAG

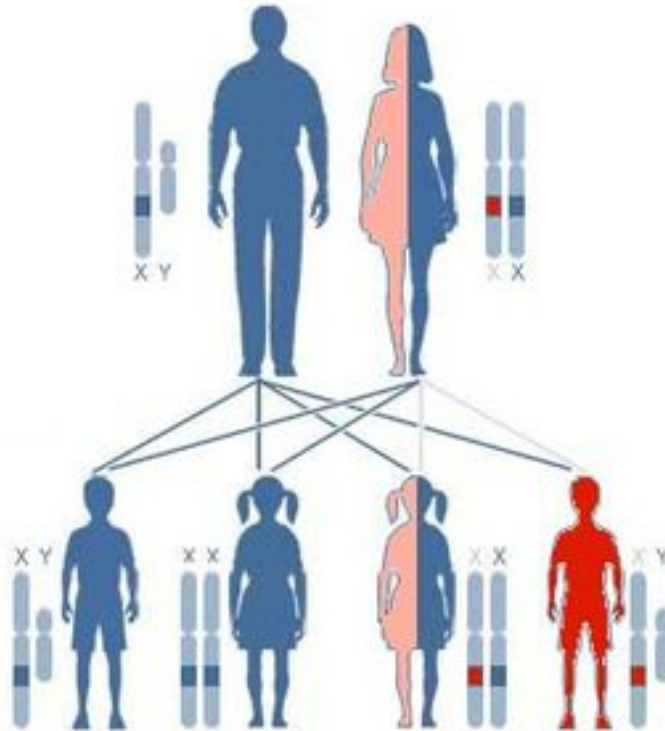
Geslachtsgebonden ziektes

- Vrouw: XX
- Man: XY



HUMAN CHROMOSOMES

Geslachtsgebonden overerving (bv Duchenne)



Outline vandaag

- Algemene introductie over genetica
- **Genetica en Duchenne**
 - Types mutaties
 - Wat betekent dit voor ziektebeloop?
- Quiz

Dystrofine

Gezond



Duchenne



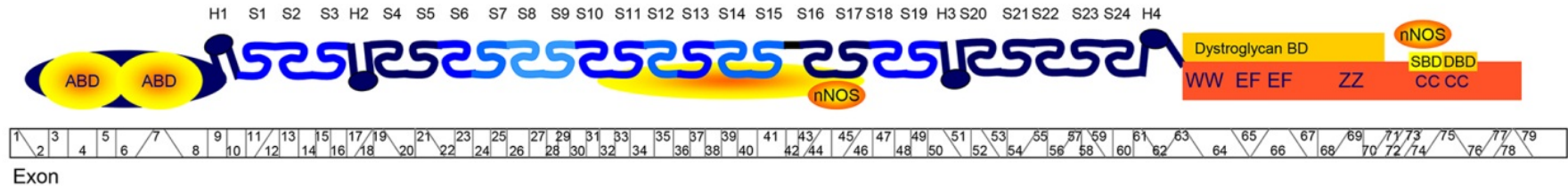
Becker



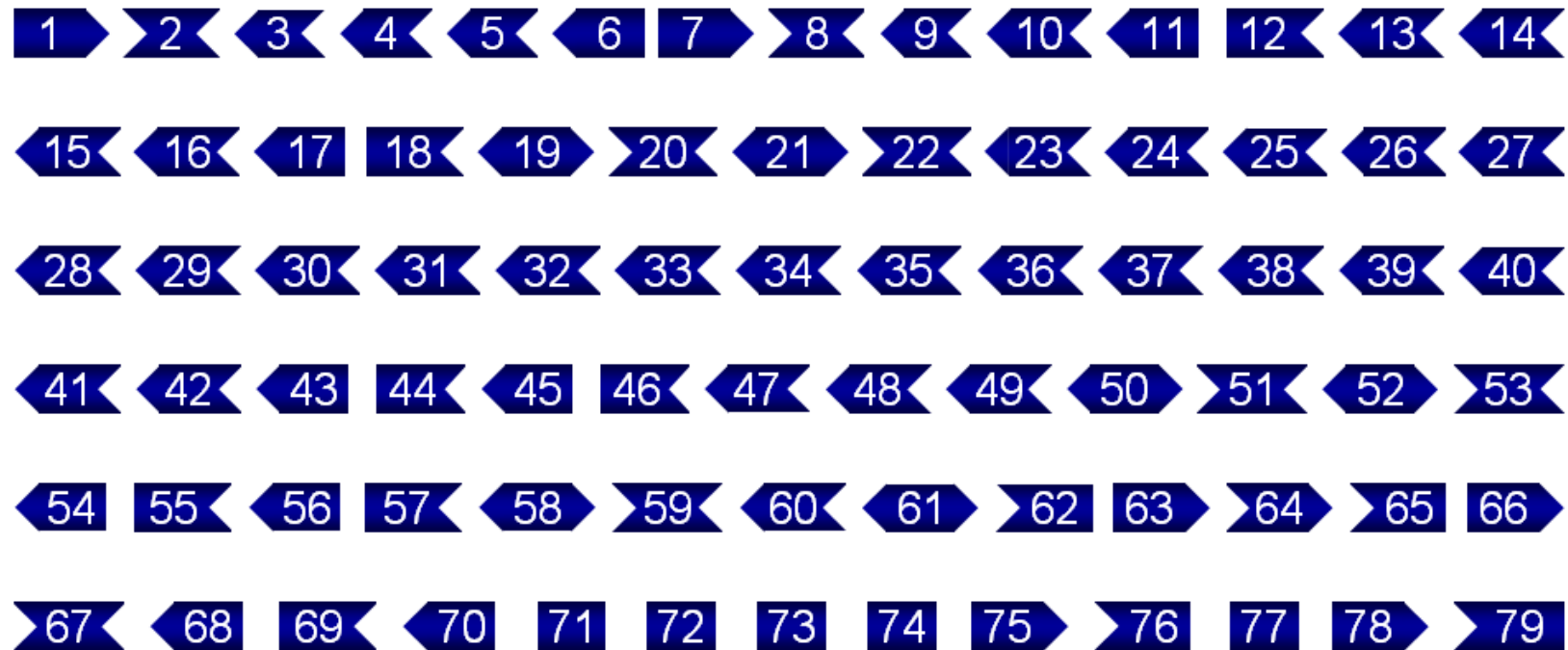
Actin binding domain

Central rod domain

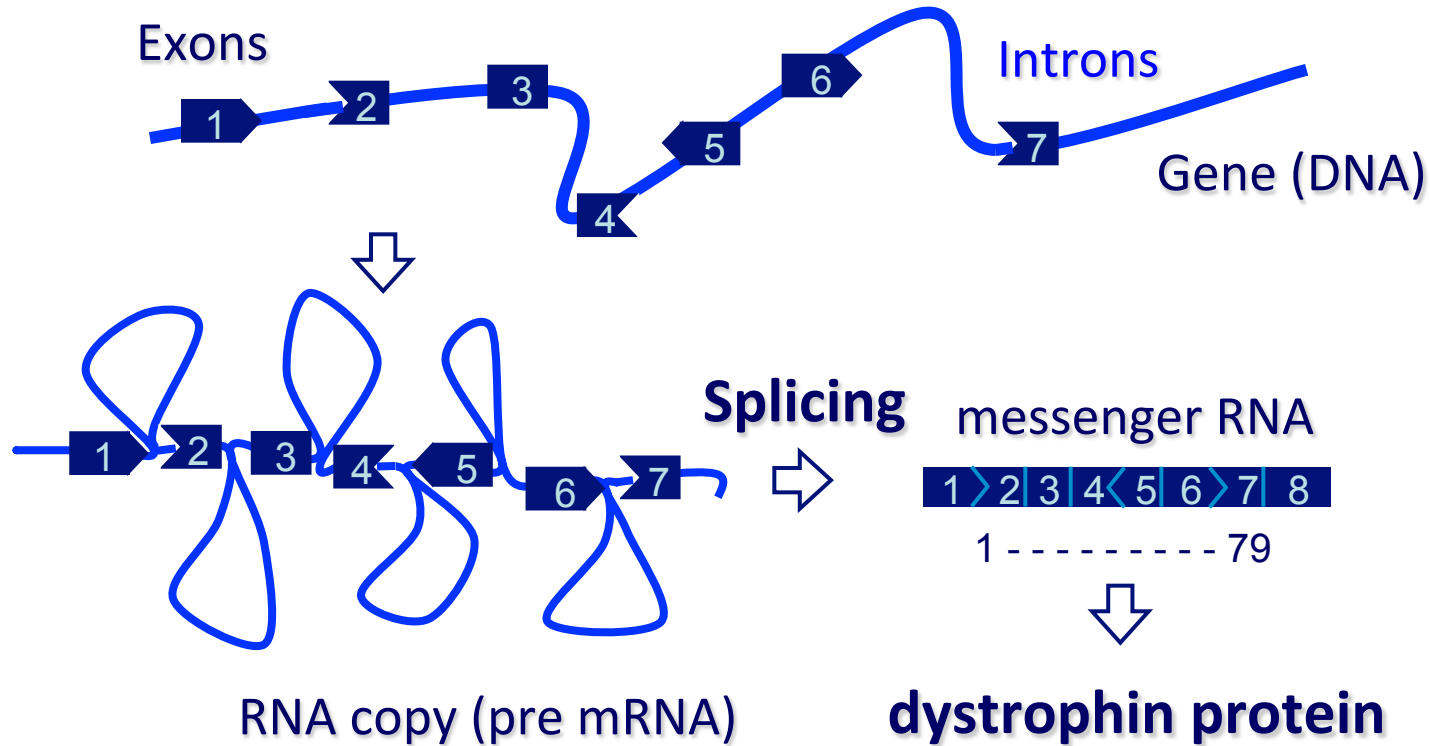
Cysteine rich/C-terminal domains



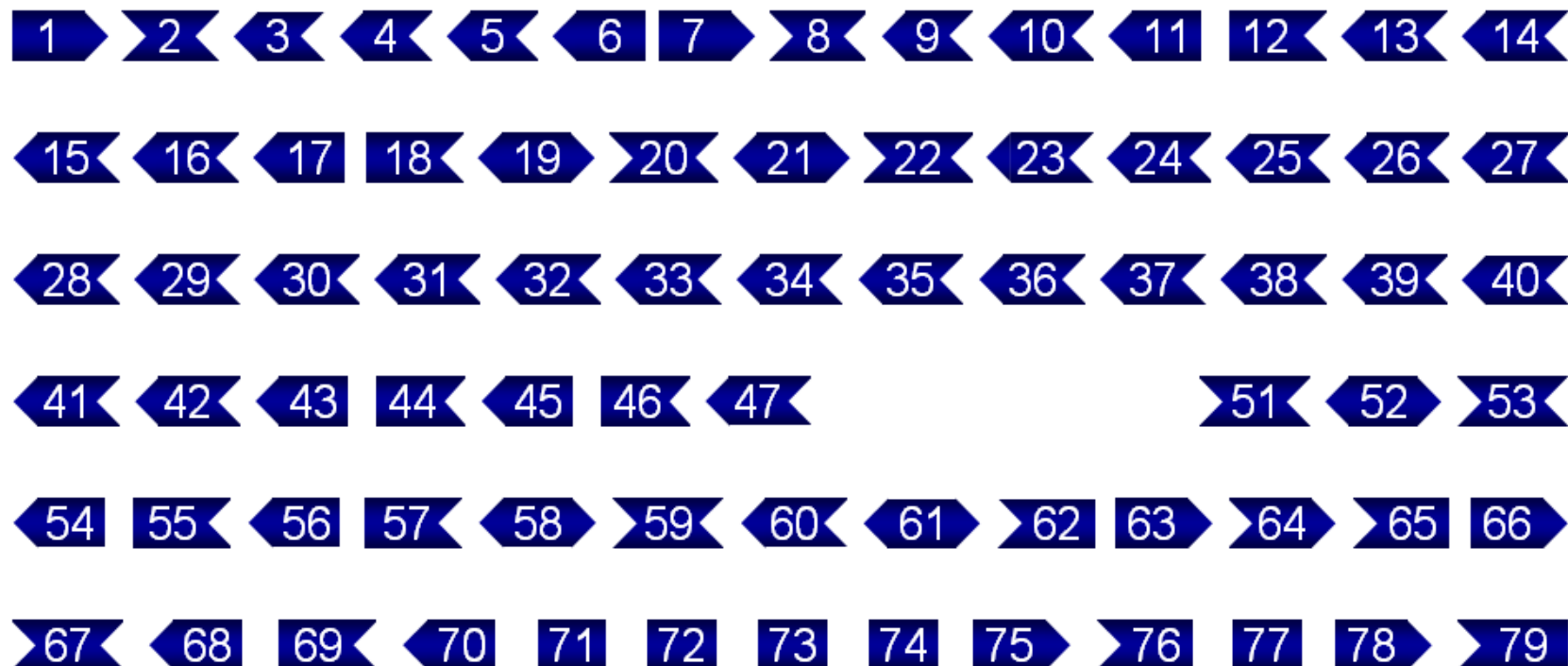
Dystrofine genetische code



Splicing



Duchenne: code verbroken



Exon 48-50 deletie



Code onleesbaar

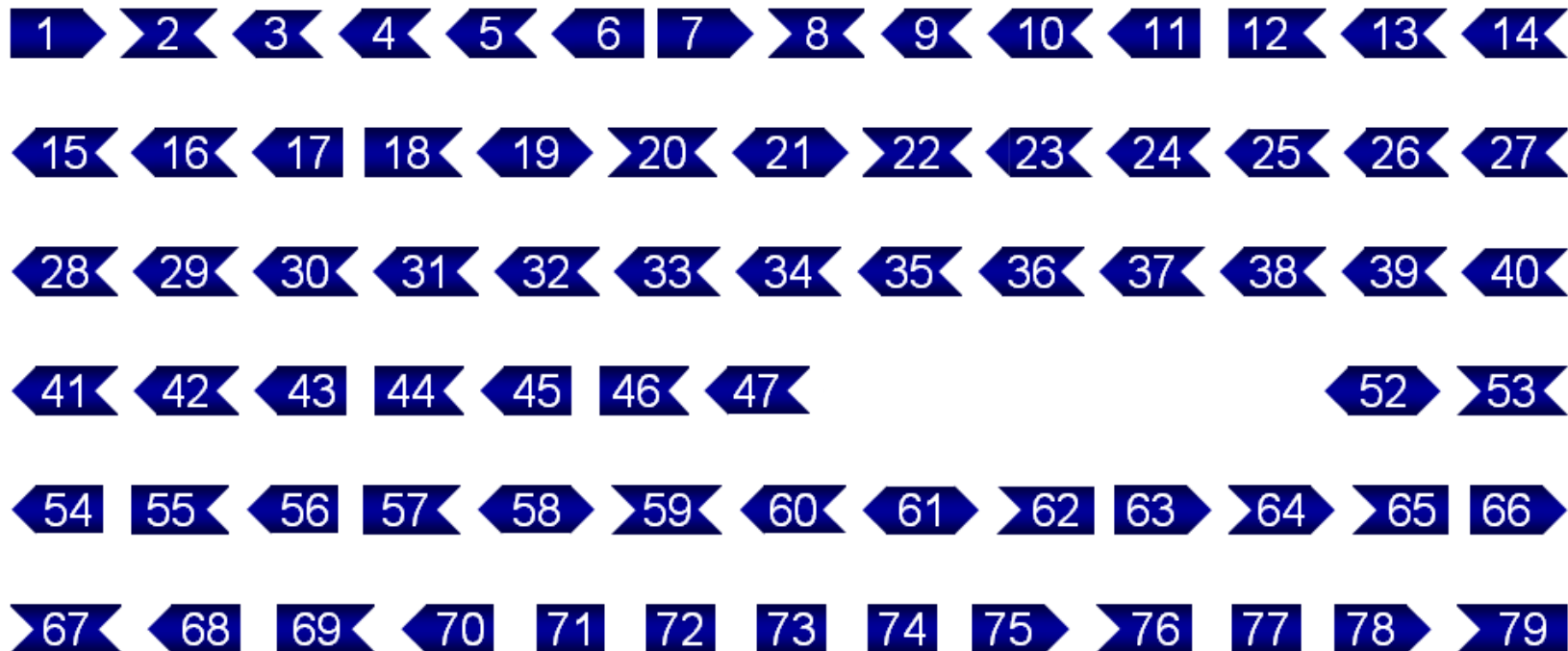


Eiwit vertaling stopt vroegtijdig



Dystrofine niet functioneel

Becker: code blijft intact



Becker: Code intact



Code is leesbaar



Eiwit vertaling gaat door



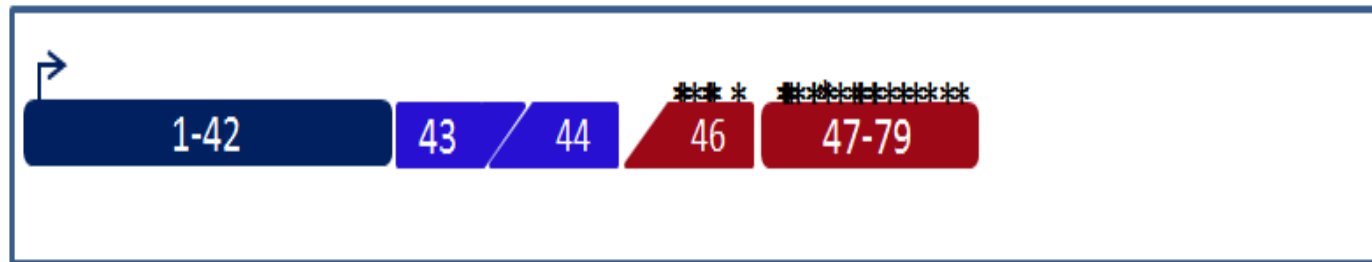
Dystrofine deels functioneel

Type mutaties

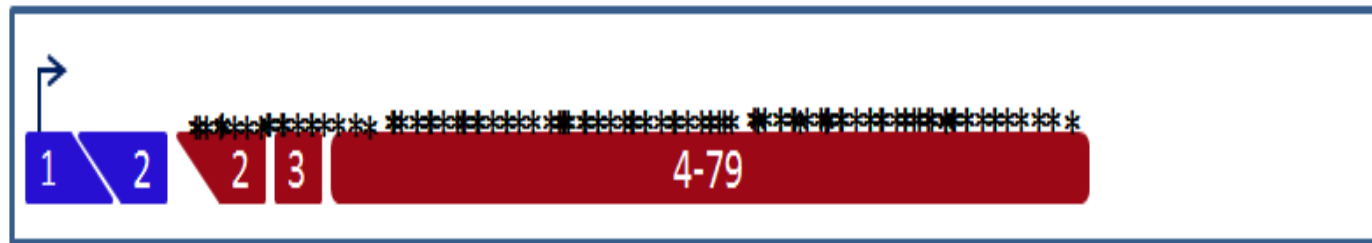
Mutation type	Percentage
Deleties	65%
Duplication	9%
Small mutation	25%
Nonsense mutation	13%
Overig	1%

Deleties en duplicaties

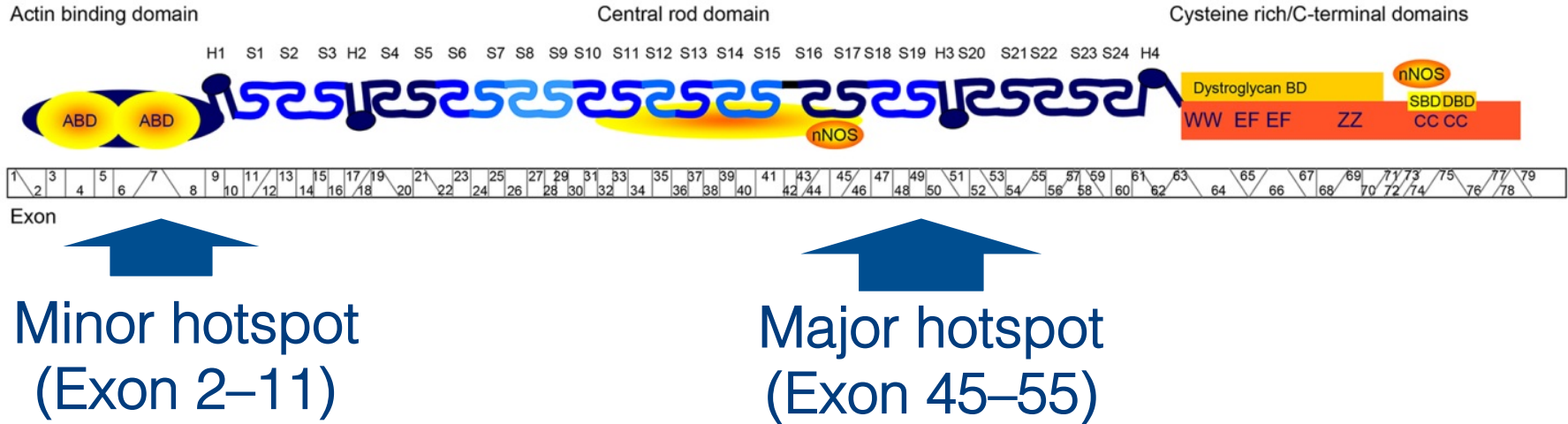
A Deletion of one or more exons (68%)



B Duplication of one or more exons (11%)



Deleties en duplicaties clusteren



Exon skippen voor deleties



Code hersteld



Deels functioneel dystrofine

Exon skippen

- Code weer leesbaar maken
- Welk exon of welke exonen geskipt moeten worden hangt af van de mutatie
- Vooralsnog alleen voor deleties en duplicaties van 1 exon getest in klinische studies
- In Europe niet goedgekeurd, alleen in de VS

Kleine mutaties

C Small mutations (20%)

Nonsense mutation (10%)



Small mutation within exon (insertion, deletion) (7%)



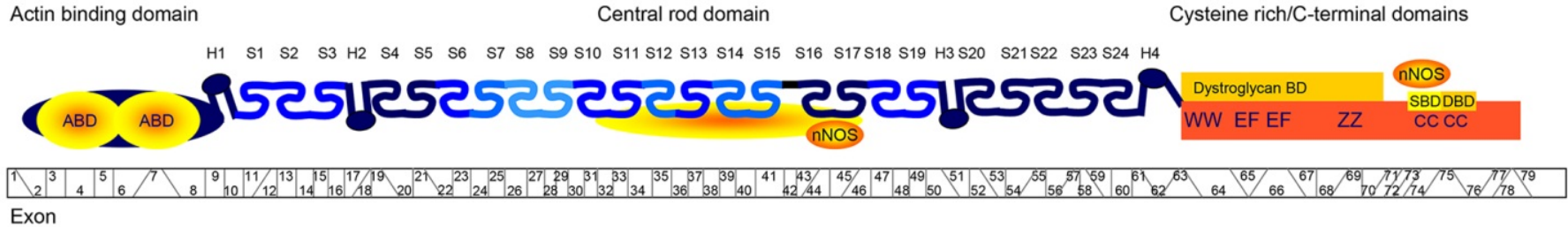
Splice site mutation (3%)



Exon not included in mRNA



Kleine mutaties clusteren niet



Stopcodon readthrough (ataluren)

Nonsense mutation (10%)

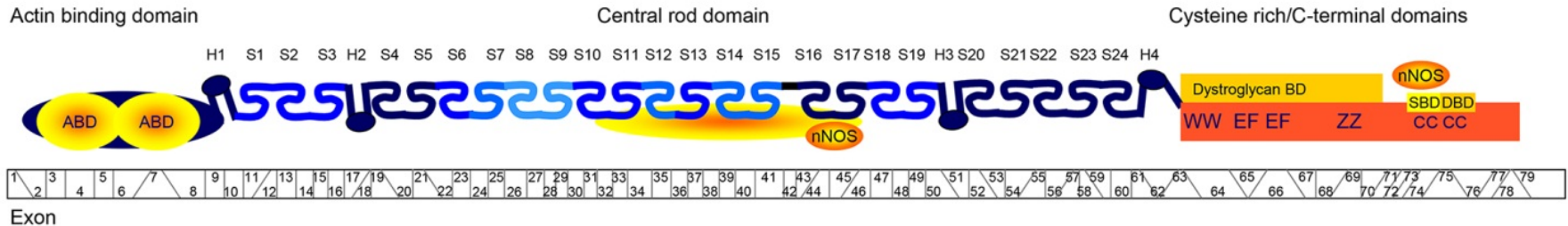


Small mutation within exon (insertion, deletion) (7%)

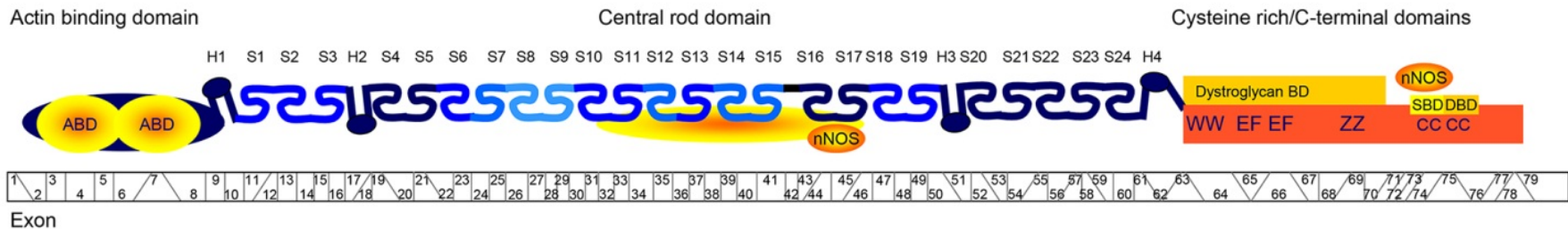


Zeldzame mutaties (voor gevorderden)

- Cryptisch exon mutatie (stuk intron herkend als exon)
- Bevat stop signaal en/of verstoort de gencode
- Translocaties (Duchenne bij vrouwen)
- Missense mutaties (exon 64–70)

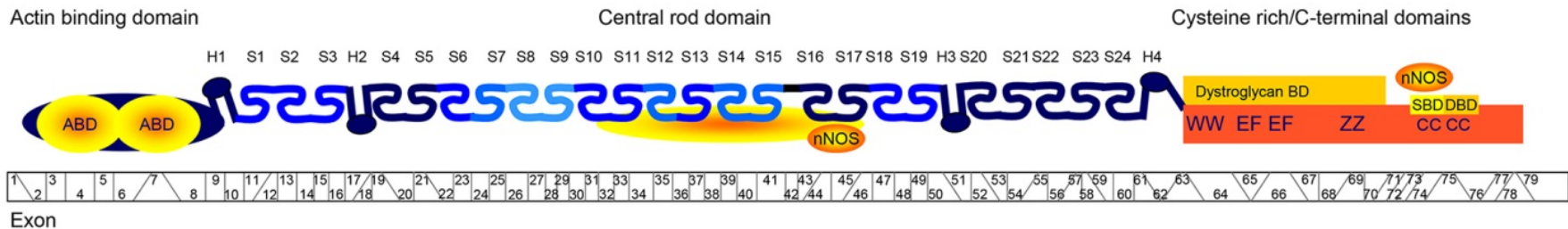


Locatie mutatie voor Duchenne



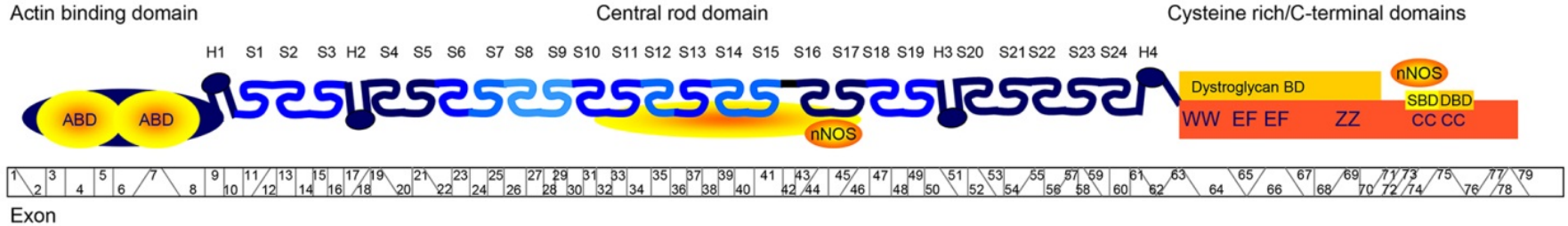
- Voor spierzwakte maakt locatie niet uit
 - Als laatste deel eiwit mist is dystrofine niet functioneel
- Voor eventuele problemen met gedrag, leren en cognitie wel
- Hangt af van mogelijkheid productie kleine dystrofine vormen in hersenen
 - Mutaties voor exon 44 minder kans op problemen dan mutaties na exon 44
 - Mutaties na exon 62 nog meer kans op problemen

Locatie mutatie die code niet verstoren



- Maakt wel uit voor spierzwakte
 - Begin (exon 2-10) vaak ernstige Becker
 - Midden (exon 11-63) vaak milde tot matige Becker
 - Einde (exon 64-70) Duchenne
 - Grote mutaties (meer dan 36 exonen) Duchenne

Uitzonderingen code verbrekende mutaties



- Deletie exon 3-7: zowel Duchenne als Becker
- Kleine mutaties voor exon 8: zowel Duchenne als Becker
- Kleine mutaties in 'in-frame' exonen: soms Becker
- Exon 44 'skipbare' mutaties: mildere Duchenne

Outline vandaag

- Algemene introductie over genetica
- Genetica en Duchenne
 - Types mutaties
 - Uitzonderingen
 - Wat betekent dit voor ziektebeloop?
- **Quiz**

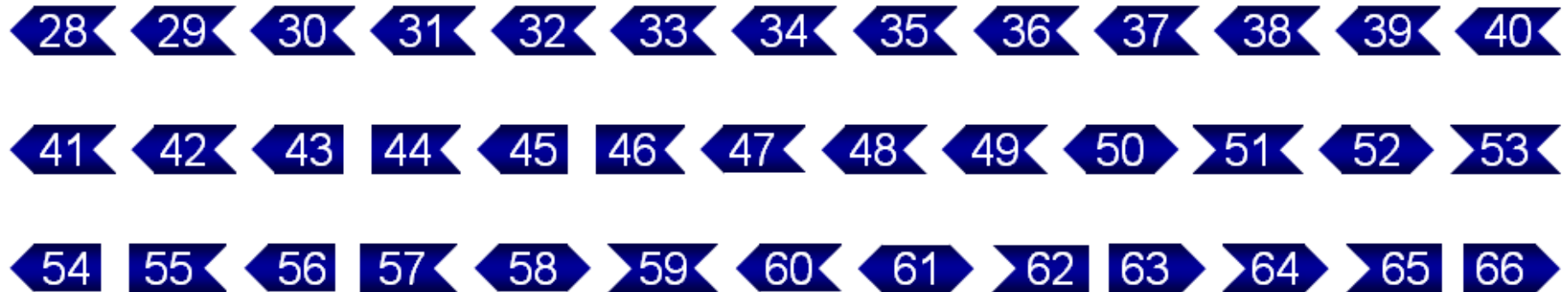
Outline vandaag

- Algemene introductie over genetica
- Genetica en Duchenne
 - Types mutaties
 - Uitzonderingen
 - Wat betekent dit voor ziektebeloop?
- **Quiz**

Welke ziekte verwacht je voor iemand met een deletie van exon 51?

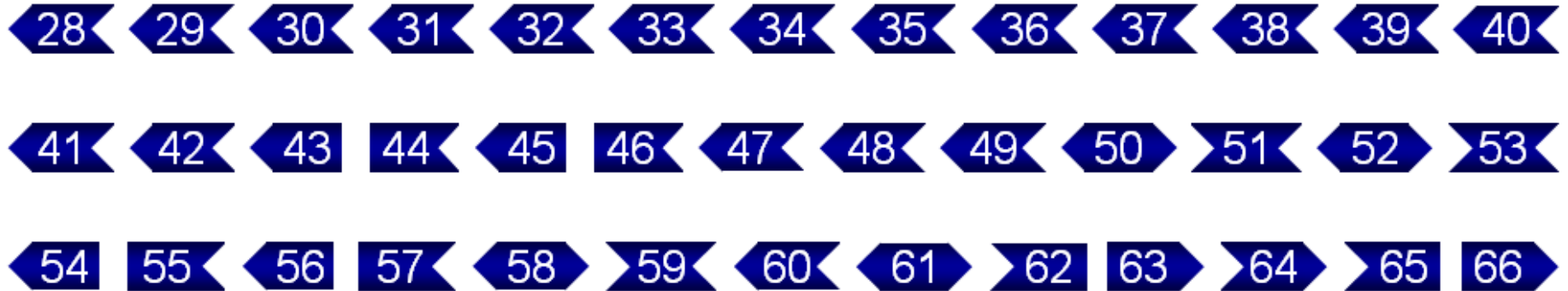
A. Becker

B. Duchenne



Kun je productie dystrofine herstellen voor exon 51 deletie?

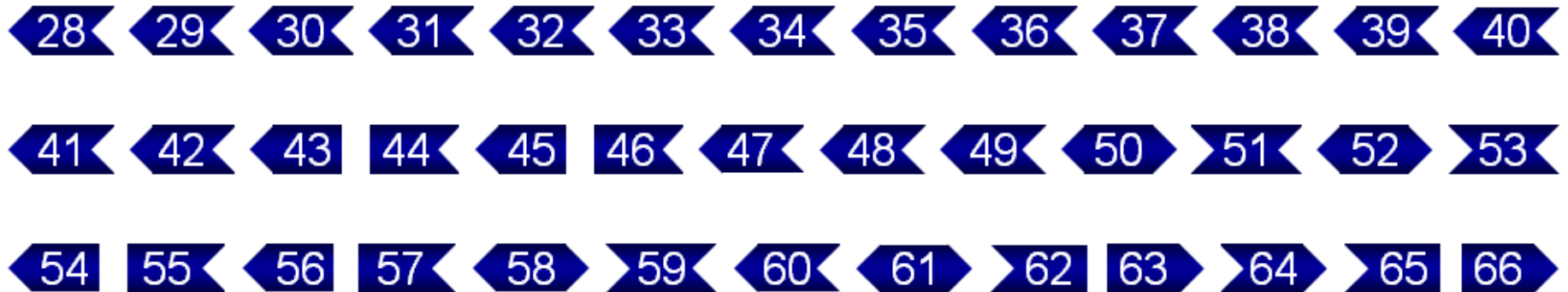
- A. Ja, met exon 45 skippen
- B. Ja, met exon 51 skippen
- C. Ja, met exon 53 skippen
- D. Ja, met stop codon readthrough (ataluren)
- E. Nee



Welke ziekte verwacht je voor iemand met een deletie van exon 45-50?

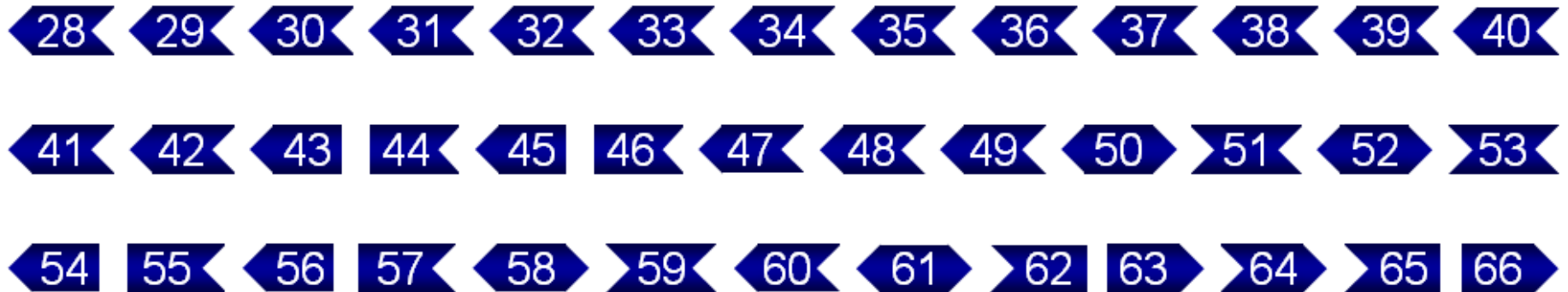
A. Becker

B. Duchenne



Kun je productie dystrofine herstellen voor iemand met een exon 45-50 deletie?

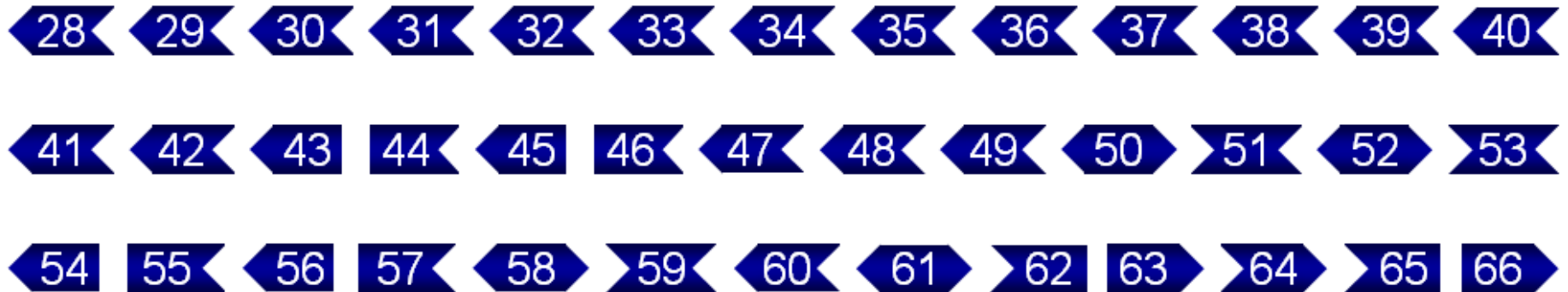
- A. Ja, met exon 45 skippen
- B. Ja, met exon 51 skippen
- C. Ja, met exon 53 skippen
- D. Ja, met stop codon readthrough (ataluren)
- E. Nee



Welke ziekte verwacht je voor iemand met een kleine deletie (1 DNA bouwsteen) in exon 46?

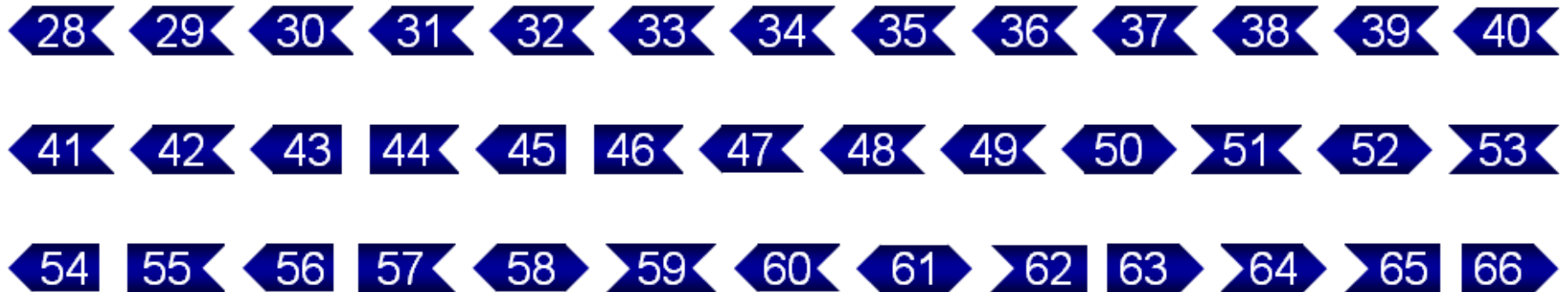
A. Becker

B. Duchenne



Kun je productie dystrofine herstellen voor iemand met zo'n kleine deletie in exon 46?

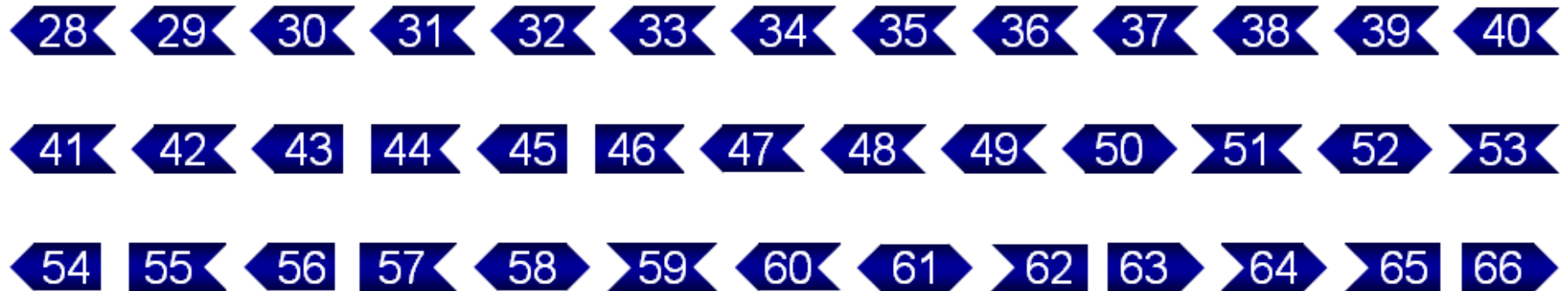
- A. Ja, met exon 45 skippen
- B. Ja, met exon 51 skippen
- C. Ja, met exon 53 skippen
- D. Ja, met stop codon readthrough (ataluren)
- E. Nee



Welke ziekte verwacht je voor iemand met een stop mutatie in exon 33?

A. Becker

B. Duchenne



De patient heft Duchenne. Kun je productie dystrofine herstellen voor iemand met een stopmutatie in exon 33?

- A. Ja, met exon 45 skippen
- B. Ja, met exon 51 skippen
- C. Ja, met exon 53 skippen
- D. Ja, met stop codon readthrough (ataluren)
- E. Nee

