I WANT TO LIVE FOREVER...

2A. GENEN EN MUTATIES

Je bent onderzoeker in het LifeSpan project. Net als alle andere leerlingen in de klas doe je onderzoek naar veroudering. Jouw onderzoek gaat specifiek over de rol die genen en mutaties spelen bij veroudering. Uiteindelijk presenteer je de resultaten uit het onderzoek aan de rest van de klas. De volgende opdrachten helpen je bij het bestuderen van de resultaten en het voorbereiden van je presentatie.

Veel plezier!

Caspar Geraedts, Jennifer Verkleij & Yuri Matteman

De Praktijk

De Praktijk, 2010. These learning materials are subject to the Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Netherlands License. Go to http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/nl/ for further information. *This material has been funded by the EU Network of Excellence LifeSpan.*

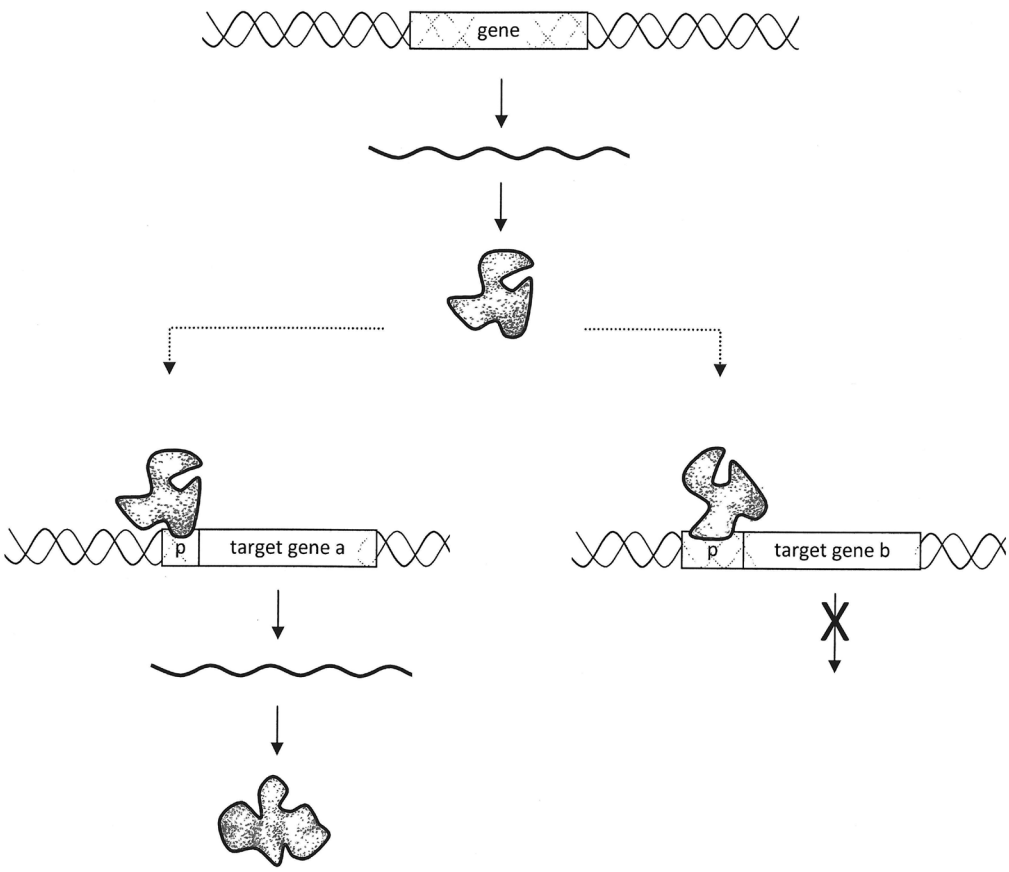
Opdracht 1. Genregulatie bij *C. elegans*

1. Bekijk het volgende filmpje:
Daryl Shanley 3 – Gene regulation in C. elegans

Caenorhabditis elegans is een nematode. Omdat het relatief simpele organismen zijn, en omdat ze zo kort leven, zijn deze kleine worpjes uitermate geschikt als studieobject. Door in het laboratorium bepaalde genen van *C. elegans* aan of uit te schakelen kan de rol van die genen onderzocht worden.

Het blijkt dat mutaties in één of enkele genen een enorme invloed kunnen hebben op de levensduur van de worm. Vaak gaat het daarbij om mutaties in genen die coderen voor *transcriptiefactoren*. Transcriptiefactoren zijn eiwitten die de expressie van andere genen beïnvloeden. Ze binden namelijk aan een *promotor*, een stukje DNA net vóór een gen, waardoor dat gen meer (of juist minder) wordt afgelezen. Dit noem je *genregulatie*.

2. De afbeelding hieronder geeft een schematische weergave van de werking van een transcriptiefactor. Benoem in de afbeelding de volgende begrippen: *DNA*, *eiwit*, *mRNA*, *promotor* en *transcriptiefactor*.



Figuur 1. De werking van een transcriptiefactor. Afbeelding: C. Geraedts.

3. Bij *C. elegans* komt de transcriptiefactor DAF-16 voor. Bij sommige langlevende mutanten van *C. elegans* is de concentratie DAF-16 in de cellen hoger dan normaal. Uit onderzoek blijkt dat DAF-16 de expressie van tientallen genen beïnvloedt. Geef van elk van de onderstaande genen aan of ze bijdragen aan onderhoud of aan voortplanting. Geef ook aan of het gen door DAF-16 juist meer of minder tot expressie komt (streep door wat niet van toepassing is).

Tabel 1. Genen waarvan de expressie beïnvloed wordt door het gen DAF-16 (in C.elegans). Naar: Murphy et al. (2003).

gen	codeert voor	onderhoud of voortplanting?	meer of minder o.i.v. DAF-16?
hsp-16.1	een zogenaamd heat shock protein, een eiwit dat in actie komt na blootstelling aan (te) hoge temperaturen	onderhoud / voortplanting	meer / minder
lys-7	een lysozym, een eiwit dat de wand van bacteriën afbreekt	onderhoud / voortplanting	meer / minder
vit-2	vitellogenine, een eiwit dat nodig is voor de vorming van eicellen	onderhoud / voortplanting	meer / minder
sod-3	superoxide dismutase, een enzym dat vrije radicalen in de cel opruimt (dat zijn zeer reactieve atomen die allerlei moleculen kunnen beschadigen)	onderhoud / voortplanting	meer / minder

Figuur 2. C. elegans
Bron: Wikipedia / Bob Goldstein

Opdracht 2. Biobank

1. Bekijk het volgende filmpje:
Andres Metspalu 1 – Genetic variation in humans

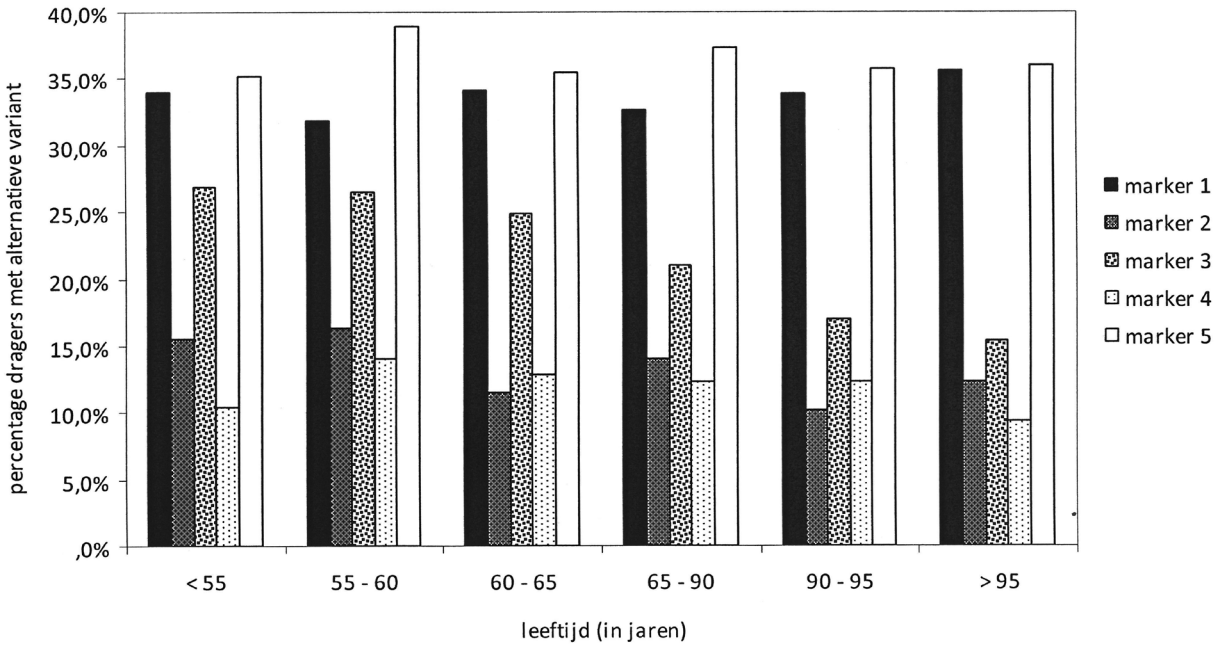
Andres Metspalu doet onderzoek naar de relatie tussen genen en levensduur bij de mens. Zijn er in het menselijk genoom bepaalde genen die zorgen voor 'lang leven'? Om deze vraag te beantwoorden is in Estland een enorme databank aangelegd waarin gegevens over het DNA van duizenden personen zijn opgeslagen. Vergelijkbaar onderzoek wordt in Nederland gedaan door wetenschappers van het Leids Universitair Medisch Centrum. Hieronder in tabel 2 zie je een heel klein stukje biobank uit de zogenaamde Leiden Langleven Studie. In werkelijkheid worden natuurlijk honderdduizenden markers (plaatsen op het DNA) onderzocht.

Tabel 2. Gegevens van 7 personen uit de biobank van de Leiden Langleven Studie. Van iedere marker wordt aangegeven of een persoon drager is van de meest voorkomende genetische variant (0) of van de alternatieve variant (1).

	leeftijd	marker 1	marker 2	marker 3	marker 4	marker 5
donor 1739 (M)	89	1	0	0	0	1
donor 1740 (V)	56	1	0	0	0	0
donor 1741 (M)	92	0	1	0	0	1
donor 1742 (V)	59	1	0	1	0	1
donor 1743 (M)	61	1	0	0	0	0
donor 1744 (V)	95	0	0	0	0	1
donor 1745 (V)	92	1	0	0	0	1
etc.						

2. Van genen bestaan vaak verschillende varianten. Vaak gaat het daarbij om verschillen in één of enkele nucleotiden. Een marker is een plaats op een gen waar de nucleotidenvolgorde variabel is. Hoe worden de verschillende varianten van één gen ook wel genoemd?

. . . . . .



Figuur 3. Het percentage dragers van de alternatieve variant van vijf markers, uitgezet naar leeftijdscategorie. Gebaseerd op onderzoek van Rudi Westendorp en Eline Slagboom (Leids Universitair Medisch Centrum).

3. Bekijk figuur 3. Bij welke marker is de correlatie met leeftijd het grootst? En hebben dragers van de alternatieve variant van deze marker een grotere of kleinere kans om oud te worden? Streep door wat niet van toepassing is.

de correlatie met leeftijd is het grootst bij marker 1 / 2 / 3 / 4 / 5

dragers van de alternatieve variant hebben een grotere / kleinere *kans om oud te worden*

4. Bij *C. elegans* zijn genen gevonden die de levensduur van een individu met een factor vijf kunnen verlengen. Bij de mens zijn dergelijke genen nog niet gevonden. Welke reden kun je daarvoor bedenken?

.....

.....

.....

5. Stel, in de toekomst kunnen ze op basis van jouw DNA een volledige analyse maken van de risico's die je loopt op allerlei (erfelijke) ziekten. Ook kunnen ze een schatting maken van jouw persoonlijke levensverwachting. Geef één argument waarom je de uitkomst van zo'n onderzoek wél zou willen weten. Geef ook één argument waarom je de uitkomst juist niet zou willen weten.

Ik zou de uitkomst wel willen weten, omdat...

.....

.....

Ik zou de uitkomst niet willen weten, omdat...

.....

.....

Opdracht 3. Mutaties

Alle cellen van jouw lichaam bevatten hetzelfde DNA. Maar DNA is een groot en complex molecuul. Na verloop van tijd ontstaan onherroepelijk foutjes in de nucleotidenvolgorde van het DNA. Die foutjes noem je *mutaties*. Mutaties ontstaan soms spontaan. Onder invloed van straling, chemicaliën of virussen kan de mutatiesnelheid enorm toenemen.

1. In het spel *I want to make babies!* ben je een aantal oorzaken van mutaties tegengekomen. Hieronder worden enkele oorzaken nog eens opgesomd. Noteer de letters van de oorzaken bij de juiste categorie.

spontante mutaties: .....

mutagene straling: .....

mutagene chemicaliën: .....

virussen: .....

Oorzaken van mutaties

a. *depurinatie* - Door hydrolyse splitsen iedere dag spontaan duizenden purinen (A en G) van de DNA-streng af. Hierdoor ontstaan her en der 'gaten' in de DNA-traptreden.

b. *hitte* - Een kortstondige blootstelling aan hitte (een hitteschok) veroorzaakt allerlei hydrolysereacties, waardoor het DNA beschadigd raakt.

c. *humaan papillomavirus* - Het humaan papillomavirus (HPV), de veroorzaker van o.a. baarmoederhalskanker, kan veranderingen aanbrengen in de genexpressie.

d. *oplosmiddelen* - Benzeen, een oplosmiddel dat vroeger voor verf en andere middelen werd gebruikt, kan bij inademing mutaties veroorzaken.

e. *radioactiviteit* - De energie die vrijkomt bij radioactief verval kan allerlei verschillende beschadigingen van het DNA veroorzaken.

f. *replicatiefouten* - Bij DNA-replicatie, voorafgaand aan de celdeling, worden verkeerde basen ingebouwd. Ook worden soms teveel of te weinig basen ingebouwd.

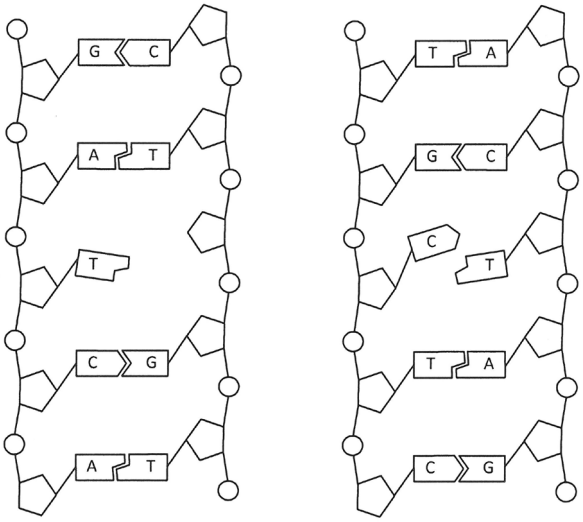
g. *sigarettenrook* - Sigarettenrook bevat polycyclische aromaten, nitrosamines en andere stoffen, die allerlei verschillende mutaties kunnen veroorzaken.

h. *vrije radicalen* - Door stofwisseling ontstaan voortdurend zuurstofatomen met een ongepaard elektron in de buitenste schil. Deze vrije radicalen oxideren de stikstofbasen in DNA.

i. *zonlicht* - Ultraviolet licht (UV) in zonlicht bindt twee naast elkaar gelegen pyrimidinen (C of T) aan elkaar. De bindingen met de tegenoverliggende basen worden verbroken.

Naar schatting ontstaan onder normale omstandigheden in één cel honderdduizenden mutaties per dag. Een groot deel van die mutaties wordt vrij snel weer hersteld. Hiervoor beschikt de cel over verschillende DNA herstellende eiwitten.

Stel dat in een DNA-streng de volgende twee mutaties voorkomen (zie figuur 4). Links ontbreekt een stikstofbase, rechts is een verkeerde base ingebouwd. Beide mutaties worden hersteld.



Figuur 4. Twee puntmutaties. Afbeelding: C. Geraedts.

2. De mutatie in het linker plaatje wordt hersteld door het enzym Pol β (een DNA polymerase). Op de ontbrekende plek bouwt Pol β automatisch de juiste stikstofbase in. Hoe 'weet' Pol β welke base dat moet zijn?

. . . . . .

. . . . . .

3. Bij de mutatie in het rechter plaatje bestaat de kans dat de basenvolgorde van het herstelde DNA afwijkt van de oorspronkelijke volgorde. Leg dat uit.

. . . . . .

. . . . . .

4. Kanker ontstaat doordat in de tumorcellen verschillende mutaties zijn opgetreden. Bij veel tumoren is sprake van mutaties in de genen die coderen voor de eiwitten die DNA-schade herstellen. Leg uit waarom bij kanker vaak juist díe genen zijn gemuteerd.

. . . . . .

. . . . . .

Opdracht 4. De LifeSpan conferentie

Op een wetenschappelijke conferentie komen onderzoekers van verschillende universiteiten bijeen om gegevens uit te wisselen en onderzoeksresultaten te bespreken. Dat gaan jullie ook doen. Als afsluiting van deze opdracht is er een soort wetenschappelijke conferentie waar jullie een korte presentatie geven over de onderwerpen die je tot nog toe hebt bestudeerd. Daarnaast schrijven jullie een kort voorstel voor een vervolgonderzoek.

De presentatie bestaat uit drie onderdelen:

A. Genen en veroudering bij C. elegans

Leg aan de hand van de afbeelding op pagina 10 uit:
- welke genen actief zijn bij langlevende mutanten van *C. elegans* (tip: de genen in de afbeelding staan ook in de tabel op pagina 3)
- hoe DAF-16 de expressie van andere genen regelt
- dat er bij langlevende mutanten sprake is van een hogere investering in herstel van schade

B. Genen en veroudering bij de mens

Leg aan de hand van de afbeelding op pagina 11 uit:
- wat een biobank is
- dat bepaalde markers een rol spelen bij levensduur
- dat er tot op heden bij de mens geen genen gevonden zijn die zo'n grote invloed hebben op de levensduur als bij *C. elegans*

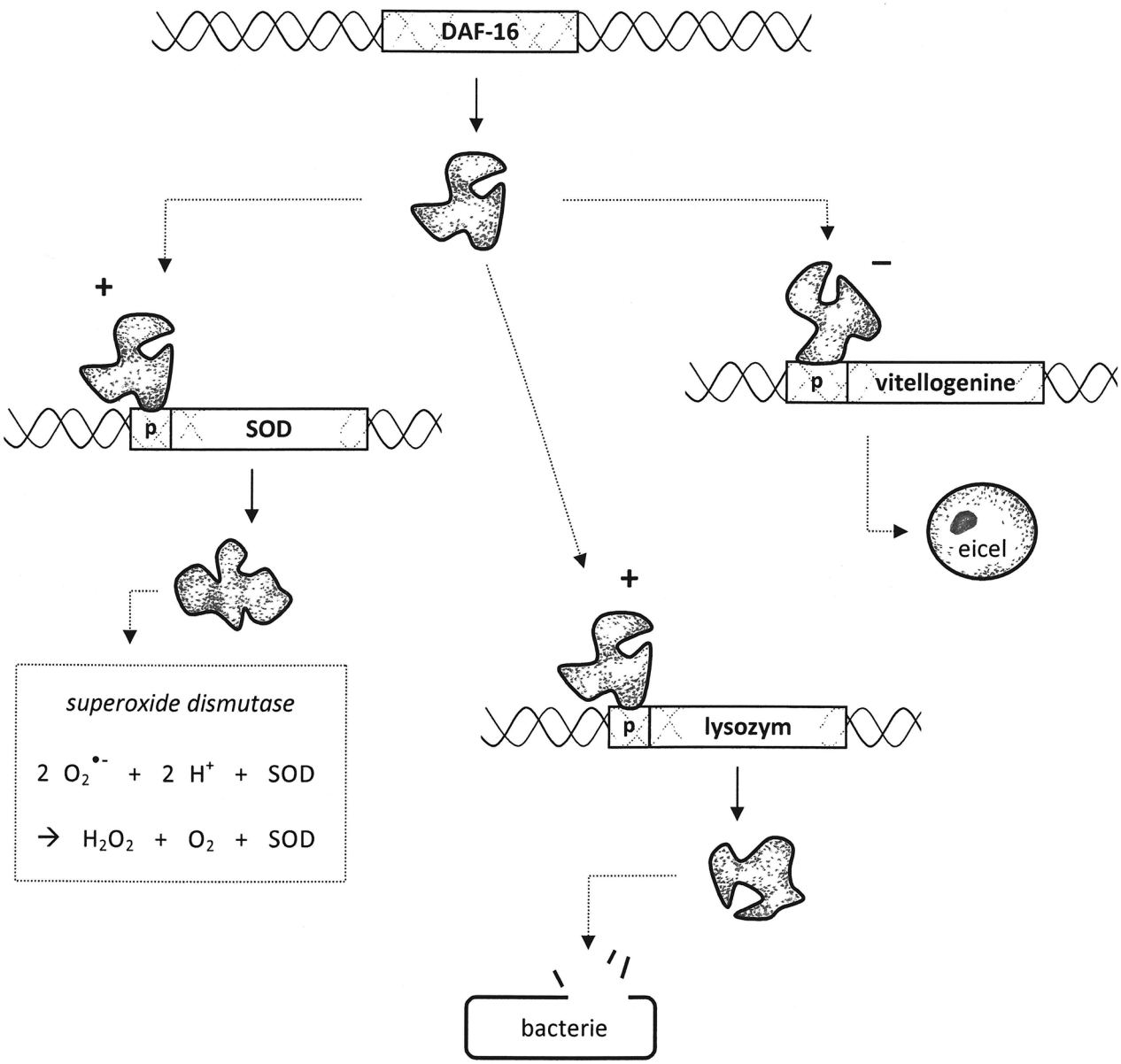
C. Voorstel voor vervolgonderzoek

Je wilt berekenen hoe groot de invloed is die genen hebben op levensduur. Voor je onderzoek gebruik je de gegevens van een aantal ééneiige tweelingen én hun partners. Beschrijf kort welke stappen je neemt om je onderzoeksvraag te beantwoorden (zie het schema op pagina 12).

De voorbereiding
Voor jullie zijn al PowerPoint slides gemaakt, met daarop de afbeeldingen op pagina 10 en 11. Je kunt deze kopieën gebruiken om aantekeningen te maken. Je onderzoeksvoorstel schrijf je in het schema op pagina 12. Schrijf het eventueel eerst in klad.

De conferentie
Geef aan de hand van de PowerPoint slides een korte presentatie over wat je hebt geleerd. Je mag je aantekeningen erbij houden. Presenteer ook je onderzoeksvoorstel aan de rest van de klas. De docent bepaalt steeds wie er aan de beurt is.

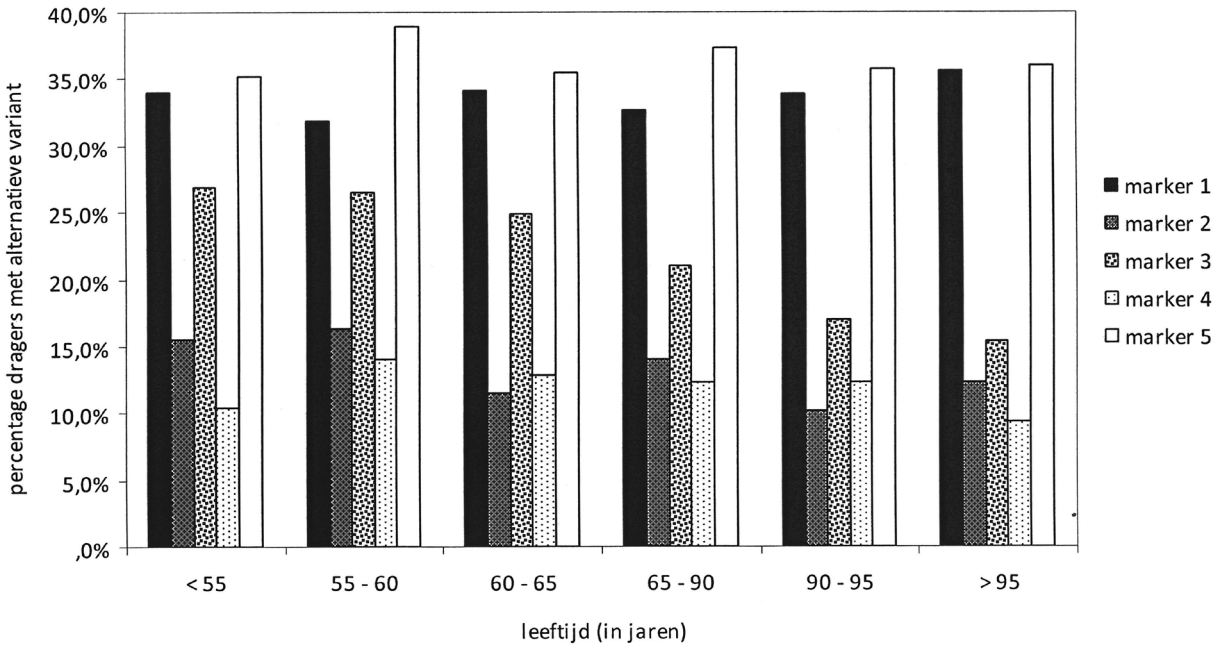
A. Regulatie door DAF-16



B. Biobank (fragment)

	leeftijd	marker 1	marker 2	marker 3	marker 4	marker 5
donor 1739 (M)	89	1	0	0	0	1
donor 1740 (V)	56	1	0	0	0	0
donor 1741 (M)	92	0	1	0	0	1
donor 1742 (V)	59	1	0	1	0	1
donor 1743 (M)	61	1	0	0	0	0
donor 1744 (V)	95	0	0	0	0	1
donor 1745 (V)	92	1	0	0	0	1
etc.						

B. Correlatie tussen vijf markers en leeftijd



C. Onderzoeksvoorstel

Titel onderzoek
Inleiding (ongeveer 50 woorden)
Onderzoeksvraag
Hypothese
Opzet onderzoek (inclusief materiaal en methoden)