

Arvelig immundefekt

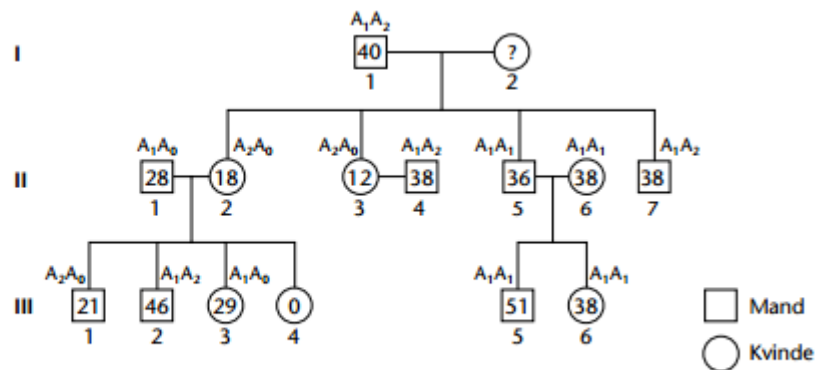
A. En arvelig immundefekt hos mennesket skyldes mangel på enzymet ADA, *adenosin-deaminase*. Der findes tre alleler, som hver koder for en variant af ADA-enzymet, se figur 1. Man har bestemt aminosyresekvensen i disse enzymer. Analysen af enzymerne viste, at ADA 1 og ADA 2 kun adskiller sig ved en enkelt aminosyre, idet alanin er erstattet af valin.

A_1 - og A_2 -allelerne koder for enzymer med normal enzymaktivitet, mens A_0 koder for et ikke-fungerende enzym.

Figur 2 viser et stamtræ over en familie, hvor alle tre alleler og også sygdommen forekommer. De enkelte personers relative enzymaktivitet er angivet i symbolerne. En relativ enzymaktivitet på 30 og derover anses for normal, da den giver et normalt fungerende immunforsvar.

Enzymaktiviteten for I-2 er aldrig blevet bestemt.

| Allel | Enzymvariant |
|-------|--------------|
| A_1 | ADA 1 |
| A_2 | ADA 2 |
| A_0 | ADA 0 |



Figur 1.

Figur 2. Stamtræ over en familie, hvor ADA-mangel forekommer.

a. Hvilken mutation kan føre til den nævnte ændring i aminosyresekvensen?

Immundefekt skyldes en arvelig gendefekt eller mutation i generne. Det kan ramme begge køn, som et slags usynligt handicap, og kan, hvis det ikke bliver behandlet, være dødeligt. Nogen immundefekter er forbundet med andre forsvarsproblemer som fx blodsygdomme eller autoimmune sygdomme. Nogle immundefekter rammer ikke kun immunforsvaret, men kan også ramme andre organer som fx hjertet, fordøjelseskanalen, nervesystemet, samt hjernen. Nogen immundefekter sinker den fysiske udvikling, mens andre øger risikoen for kraft.

b. Giv en mulig forklaring på, at enzymvarianterne ADA 1 og ADA 2 kan have samme aktivitet trods forskellen i aminosyresammensætning.

Selvom der er en forskel i aminosyresammensætningen mellem ADA 1 og ADA 2, så kan de stadig have sammen aktivitet, da både alanin og valin er hydrofobe. Hvis alanin blev erstattet af en anden aminosyre som var hydrofil, så ville aktiviteten ikke være den samme.

Analysér figur 2. Angiv genotypen for I-2 og III-4, og forklar forskellen i enzymaktivitet hos personerne II-2 og II-5.

c.

Figur 2 viser et stamtræ over tre generationer, hvor ADA-mangel forekommer i familien. Første generation består af en kvinde og en mand, hvor manden har koder for A_1A_2 og det ser ud som om man, ikke ved hvad kvinden har. Men de får fire børn – to piger og to drenge. Person II-2 har A_2A_0 og har en enzymaktivitet på 18, altså under det normale. Person II-3 har ligeledes A_2A_0 , og ligesom sin søster en enzymaktivitet under det normale. Person II-5 har derimod A_1A_1 og en enzymaktivitet over det normale, og det samme har person II-7, som har en enzymaktivitet helt op på 38. Alle fra anden generation, undtagen person II-7, har fundet en partner, men kun person II-2 og person II-5 får børn med deres partner. Disse børn får selvfølgelig overført gener fra deres forældre, og da både person II-2 og hendes partner har gener som koder for A_0 , så får nogen af deres børn også dette gen. Person III-1 har A_1A_0 og altså en enzymaktivitet under det normale. Person III-2 har A_1A_2 og derfor en enzymaktivitet på over det normale. Person III-3 har A_1A_0 , men hendes enzymaktivitet ligger kun lige under det normale. Til sidst er der person III-4, som der ikke står noget ved. I den anden børnefolk, har person III-5 A_1A_1 og har dermed den højeste enzymaktivitet, mens person III-6 også har et udmærket enzymaktivitets niveau på over det normale.

Genotype for person I-2:

| | | |
|-------|----------|----------|
| | A_0 | A_1 |
| A_1 | | A_1A_1 |
| A_2 | A_2A_0 | A_1A_2 |

Moren må have genotypen A_0A_1 , fordi når et af børnene har A_1A_1 så må moren have et A_1 , da faren har A_1A_2 . Det andet barn har A_2A_0 derfor må der komme et A_0 fra moren.

Genotype for person III-4:

Her ser man generne fra person III-4s forældre, og person ses III-4 i det nederste højre hjørne. Ud fra figur 2, så kan man se det er en kvinde, og hun har modtaget begge gen fra sine forældre som koder for A_0 og har en enzymaktivitet på 0, og derfor ikke et almindeligt fungerende immunforsvar.

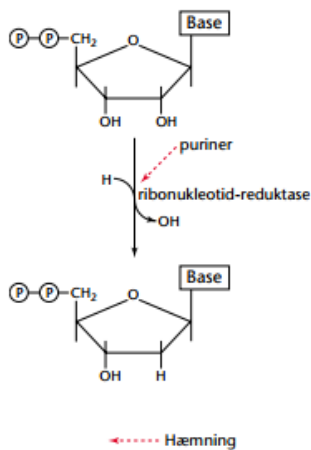
| | | |
|-------|----------|----------|
| | A_2 | A_0 |
| A_1 | A_1A_2 | A_1A_0 |
| A_0 | A_0A_2 | A_0A_0 |

Når man kigger på enzymaktiviteten mellem II-2 og II-5, så kan man se at de har de samme forældre og at personerne er af modsat køn, og at person II-2 har en enzymaktivitet på 18, hvor person II-5 har en aktivitet på 36, altså over det normale. Dette skyldes at person II-2 har et gen som koder for A_0 , altså et ikke fungerende enzym-system. Men samtidig har personen også et gen for A_2 , som sikrer at aktiviteten er til stede, men dog ikke fungerende optimalt. Person II-5 har A_1A_1 , altså to gener for en velfungerende enzymaktivitet.

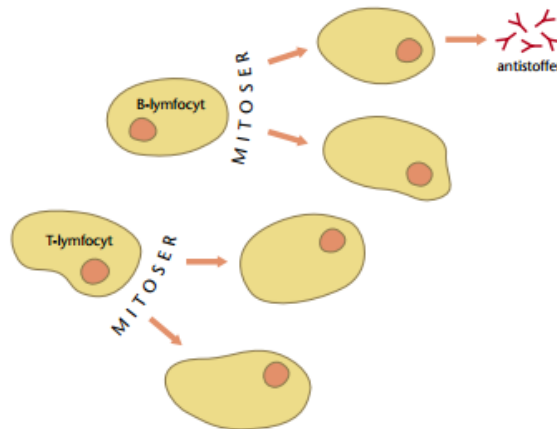
- B. ADA, *adenosin-deaminase* er nødvendig for nedbrydning af puriner i cellerne. Hvis ADA er inaktivt, ophobes purinerne i cellerne. Puriner er giftige i høje koncentrationer, bl.a. fordi de hæmmer enzymet ribonukleotid-reduktase, se *figur 3*. Dette skader især celler i deling, der syntetiserer DNA. Personer med ADA-mangel rammes ofte hårdt af infektioner, der normalt ville være harmløse.

Som behandling har man forsøgt:

- Injektion med ADA.
- Injektion med IgG.
- Knoglemarvstransplantation.



Figur 3. Syntese af DNA-nukleotider.



Figur 4. Deling og differentiering af B- og T-lymfocytter.

Beskriv processen vist i *figur 3*, og forklar, hvorfor ADA-mangel kan medføre, at DNA-dannelsen hæmmes.

a.

Da ADA nedbryder puriner, så vil der når man har ADA-mangel, ophober sig puriner, som vil gå ind og ødelægge ribonukleotid-reduktasen, som vil hæmme dannelsen af DNA.

Forklar, hvorfor personer med ADA-mangel ofte rammes hårdt af infektioner.

b.

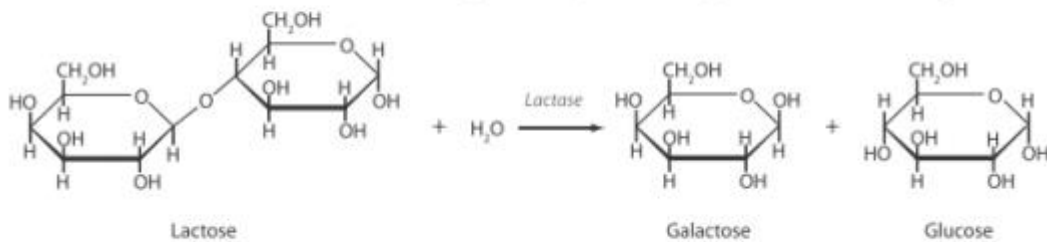
Inddrag *figur 3* og *figur 4*.

Som sagt, så når der ophober sig puriner, grundet ADA-mangel, så sker der DNA-hæmmelse, som man kan se på *figur 3*. Når det sker, kan cellerne ikke dele sig specielt hurtigt, som medvirker at immunforsvaret bliver svækket. Derfor vil folk med ADA-mangel blive ramt hårdere af infektioner.

c. Vurder fordele og ulemper ved de tre nævnte behandlingsformer.

Hvis man injektorer med ADA, så vil fordelene være at der nu vil være den passende mængde af ADA til at nedsætte ophobningen af puriner, så immunsystemet kan fungere optimalt igen. Ulempen vil være at det sikkert vil blive hurtigt, så man skal have en ny injektion. Man skal derfor altid have en injektionssprøjte med sig. Hvis man injektorer med IgG, så vil man styrke immunforsvaret, da IgG er det dominerende antistof. Det vil hurtigt genkende antigenet og bekæmpe det, men det ville ikke kunne gendanne de andre celler, så derfor er man igen afhængig af en injektion, som man altid skal have på sig. Hvis man vælger en knoglemarvstransplantation, kan man udskifte de ikke producerede ADA-celler med nogle raske. Cellerne vil derfor være raske og producere nogle velfungerende celler.

Mennesker er i stand til at nedbryde lactose (mælkesukker) som børn. I store dele af verden mister den voksne befolkning dog helt eller delvist denne evne og bliver lactoseintolerante. Lactoseintolerante får i større eller mindre grad maveproblemer og diarré, hvis de indtager mælk.

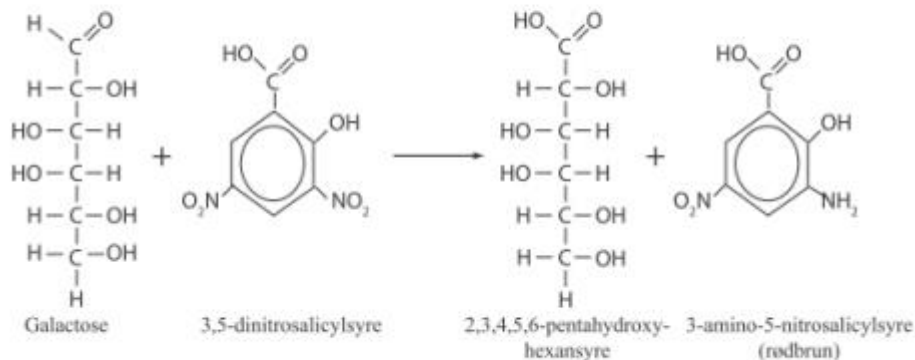


Figur 1. Nedbrydningen af lactose.

1. Angiv hvilken enzymklasse *lactase* tilhører.
Lactase tilhører enzymklassen hydrolase

Koncentrationen af lactose i mælk kan bestemmes ved en spektrofotometrisk metode. Først behandles mælken med *lactase*, så lactose nedbrydes til glucose og galactose som vist i *figur 1*.

Glucose og galactose kan ved reaktion med 3,5-dinitrosalicylsyre danne den rødbrune forbindelse 3-amino-5-nitrosalicylsyre, der absorberer lys ved 540 nm, vist i *figur 2*.



Figur 2. Princippet for reaktion mellem galactose og 3,5-dinitrosalicylsyre. Reaktionen er ikke afstemt. Glucose reagerer på tilsvarende vis.

2. Argumenter for at der er tale om en oxidation af galactose i reaktionen vist på *figur 2*.
En oxidation foregår ved at der bliver afgivet en eller flere elektroner, og oxidationstrinnet bliver højere.

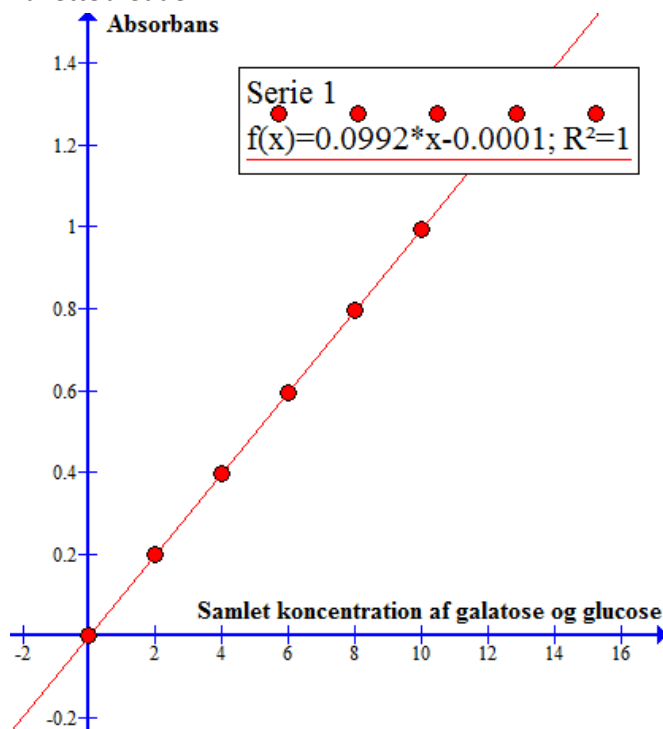
I et forsøg lod man en række standardopløsninger af galactose og glucose reagere med 3,5-dinitro-salicylsyre. Absorbans af opløsningerne blev målt ved 540 nm, se figur 3.

| Samlet koncentration af galactose og glucose (mM) | Absorbans |
|---|-----------|
| 0 | 0 |
| 2,0 | 0,198 |
| 4,0 | 0,397 |
| 6,0 | 0,595 |
| 8,0 | 0,794 |
| 10,0 | 0,992 |

Figur 3. Sammenhørende værdier for den samlede koncentration af galactose og glucose og absorbans ved 540 nm. Kuvettebredde 1,0 cm.

3. Eftervis at måleresultaterne fra ovenstående forsøg vist i figur 3 er i overensstemmelse med Lambert-Beers lov.

Lambert-Beers lov lyder på: $A = \epsilon_{\lambda} * [A] * l$ hvor A er absorbansen, ϵ_{λ} er ekstinktionskoefficienten eller den molar absorptionskoefficient, [A] er den aktuelle koncentration af stoffet A og l er kuvettebredden.



Udefra grafen kan man se at tallene stemmer overens med tabellen

Efterfølgende blev mælk behandlet med *lactase* og fortyndet 100 gange med vand. Derefter reagerede den fortyndede mælk med 3,5-dinitrosalicylsyre, og absorbansen blev målt ved 540 nm i en kuvette med en bredde på 1,0 cm. Absorbansen blev målt til 0,513.

4. Bestem koncentrationen af lactose i mælken. Resultatet angives i mM.
Den aktuelle koncentration er målt ved:

$$[A] = \frac{A}{\epsilon_{\lambda} \cdot l} \Leftrightarrow$$

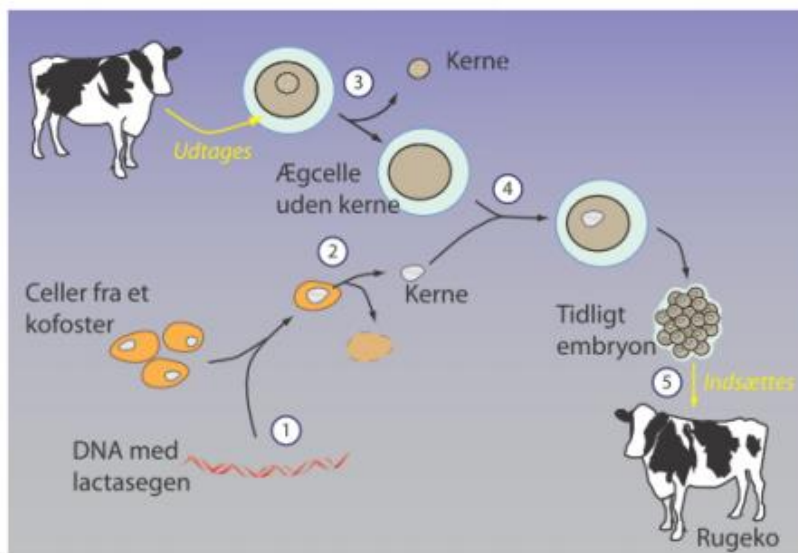
$$[A] = \frac{0.513}{540 \cdot 1} = [A] = 0.0009500000000$$

$$0.0009500000000 \cdot 100 = 0.09500000000$$

Koncentration er derfor 0,095 mM

Forskere har fremstillet en ko, der producerer mælk med et lavt indhold af lactose. Princippet i metoden er at indsætte et ekstra gen for *lactase* i en celle fra et kofoster. Den transformerede celle anvendes til fremstilling af en genmodificeret ko, se figur 4.

Den genmodificerede ko producerer *lactase* i yveret, og dermed nedbrydes lactose i mælken.



Figur 4. Fremstilling af en genmodificeret ko.

5. Skriv en kort figurtekst til figur 4, der beskriver hvordan en genmodificeret ko kan fremstilles.

Det første man ser på figur 4 er det ønskede DNA med lactasegenet, og ved siden af ser man celler fra et almindeligt kofoster. Ved trin nummer 2 ser man hvordan det ønskede gen er sat ind i cellen for et kofoster. Ved trin 3 har man taget nogle æggecelle fra en ko og taget kernen ud, så man har en tom æggecelle uden DNA. Det næste trin sætter man sit eget gen med lactase ind i den tomme æggecelle, hvorefter man ved det sidste trin indsætter den nu fulde æggecelle i en rugeko, hvorefter fosteret vil vokse under normale omstændigheder i koen, men med det specielle gen for lactase man ønskede.

En anden metode til at producere mælk med lavt indhold af lactose er ved hjælp af en genmodificeret skimmelsvamp. Et gen for *lactase* er fundet i en bakterie, der lever i Grønland. Genet er oprenset og indsat i en skimmelsvamp, der nu kan producere *lactase* i store mængder. Lactaseenzymet er aktivt selv ved lave temperaturer og kan tilsættes almindelig mælk, så lactose nedbrydes. Mælken kan på den måde anvendes af lactoseintolerante personer.

Diskuter fordele og ulemper ved de to metoder nævnt ovenfor til produktion af mælk med lavt lactoseindhold.

6.

Fordelen ved begge metoder er at lactoseintolerante personer også kan nyde mælken og andre mælkeprodukter. Ulempen ved den genmodificeret ko, er, at om det er etisk korrekt at ændre ved koens gener. Samtidig er metoden med skimmelsvamp langt mere naturlig og virker mere overskuelig. For hvis man begynder at ændre på køer, så de danner lavere indhold af lactose, hvad bliver det næste så? Men samtidig får man en ko, som producerer lactose fri mælk, som gør at man ikke behøver at behandle mælken yderligere.