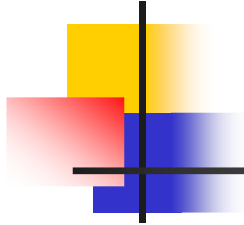


ГЕННИ МУТАЦИИ

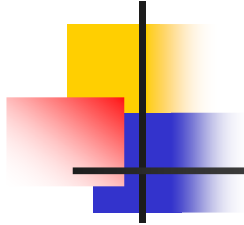
Доц. Милена Атанасова, д.б.
Ръководител сектор "Биология"
МУ-Плевен

Генетичен материал



- ДНК
 - Основна функция: да съхранява генетичната информация
 - Обикновено не се променя
 - Но **мутации** се случват

Мутации



- Терминът мутация се отнася до промяна в генетичния материал, който се унаследява
- Мутациите водят до алелно разнообразие и според фенотипния ефект биват:
 - неутрални
 - вредни – причина за много заболявания (хемофилия)
 - полезни – база за еволюционни промени (бяла кожа)

Три основни типа мутации

- **Хромозомни** – промяна в структурата на хромозомите
 - **Геномни** – промяна в броя на хромозомите
 - **Генни** – касаят промяна в нуклеотидната последователност на един ген
- Промените могат да засегнат дъщерните клетки
 - Мутациите в репродуктивните клетки се предават на поколениято



Мутации

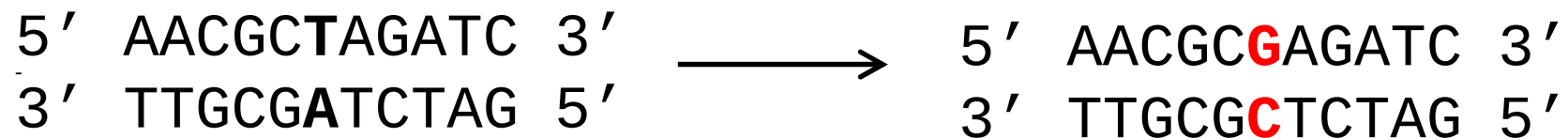
- Много вродени болести се дължат на мутирани гени.
- Различни злокачествени заболявания се дължат на фактори на околната среда, предизвикващи ДНК мутации, наречени „мутагени“.
- Генните мутации променят ДНК нуклеотидната последователност



А. Точкови мутации

Точкови мутации – промяна на една базова двойка в ДНК

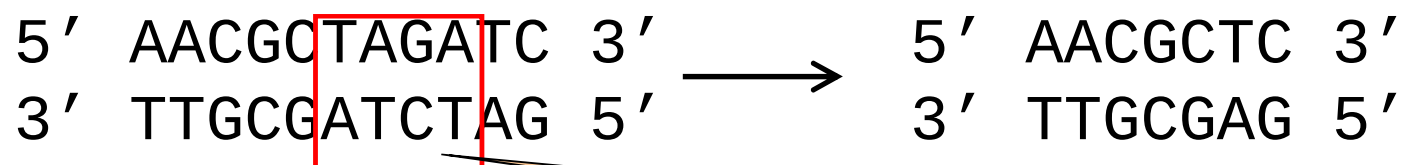
- **Субституция** – замяна на една нуклеотидна база с друга



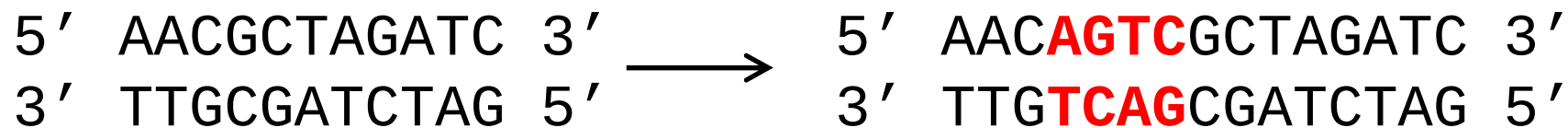
Транзиция – смяна на една пирамидинова (С,Т) с друга пирамидинова база или на пуринова (А,Г) с друга пуринова

Трансверзия – една пуринова база се заменя с пиримидинова база или обратно.

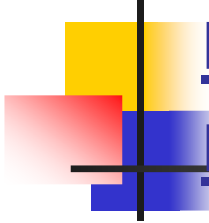
- Мутациите могат да включват малки делеции или къси инсерции



Делеция на 4 базови двойки

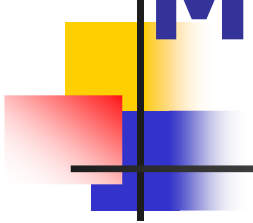


Добавяне на 4 базови двойки



Генните мутации могат да увредят кодиращи последователности на гена

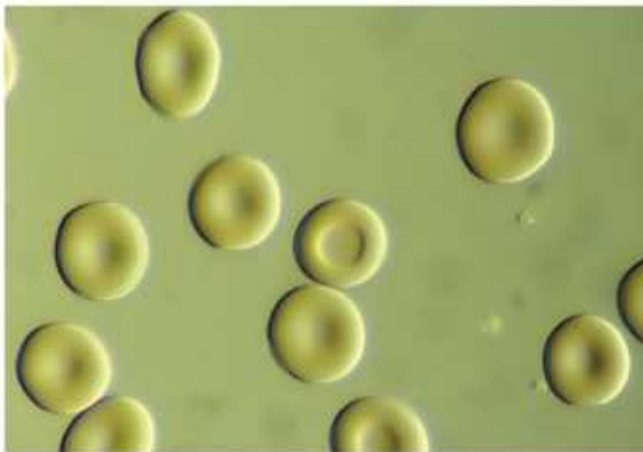
- Мутациите в кодиращата последователност на структурния ген може да има различен ефект върху АК последователност на пептида
- **Тихи мутации** – онези базови субституции, които не повлияват аминокиселинната последователност на полипептида
- напр.: CCC → CCG (pro → pro)
- Генетичният код е изроден
- Замяната на 3-то място в кодона често не променя кодираната АК - фенотипа



Мисенс (missense) мутация

- Замяна на една АК с друга в полипептидната верига на белтъка,
- Напр.: Сърповидноклетъчна анемия – в бета веригата на хемоглобина, шестата по ред АК, **глутамат** е заменена с хидрофобната АК, **валин**: предпоставка за намалена разтворимост на хемоглобина и склонност към агрегиране на еритроцити при ниско парциално налягане на O₂ (сатурация < 85%)
- Кодоминантно унаследяване – формира се молекула на HbS
- Медицинско значение – в ареали с ендемична малария

Сърповидно-клетъчна анемия



Normal red blood cells

10 μm



Sickled red blood cells

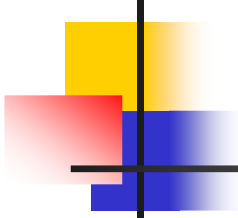
10 μm

(a) Micrographs of red blood cells

NORMAL: NH_2 – VALINE – HISTIDINE – LEUCINE – THREONINE – PROLINE – GLUTAMIC ACID – GLUTAMIC ACID

SICKLE CELL: NH_2 – VALINE – HISTIDINE – LEUCINE – THREONINE – PROLINE – VALINE – GLUTAMIC ACID

(b) A comparison of the amino acid sequence between normal β -globin and sickle-cell β -globin.



Мисенс (missense) мутация

Ако замяната на аминокиселината не променя функцията на белтъка (което се оценява по фенотипа), тази мутация се нарича **неутрална**

- вид на мисенс мутация
- промяна в АК последователност

Напр.: CTT → ATT (leu → ile)

GAA → GAG (glu → asp)

- липсва фенотипен ефект върху функцията на белтъка
- Мисенс мутацията е заменила една АК с химически сходна молекула и кодонът е **синонимен**

Мутации в кодиращ участък на структурния ген може да има различен ефект за полипептидната верига.



Нонсенс (nonsense) мутация

- - Такава субституция на база, която променя нормалния кодон в терминален (стоп) кодон
- Напр.: AAA → AAG (lys → stop).
- - Транслацията се прекратява преждевременно
- - Получава се скъсен, функционално неактивен протеин

Фреймшифт (Frameshift) мутация



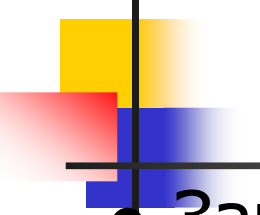
- Вмъкване или загуба на една нуклеотидна двойка в кодиращата последователност на гена:
 - **Инсерция**
 - **Делеция**
- Променя напълно разчитането на рамката и след тази мутация последващата аминокиселинна последователност е различана и абнормална
- Много тежка промяна във фенотипа
- Висок леталитет

TABLE 16.1
Consequences of Point Mutations Within the Coding Sequence

Type of Change	Mutation in the DNA	Example
None	None	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3'*
		Met - Thr - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Silent	Base substitution	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-C-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3'
		Met - Thr - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Missense	Base substitution	5'-A-T-G-C-C-C-G-A-C-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-3'
		Met - Pro - Asp - Pro - Lys - Gly - Thr -
Nonsense	Base substitution	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-G-T-A-A-G-G-G-A-C-C-3'
		Met - Thr - Asp - Pro - STOP!
Frameshift	Addition/deletion	5'-A-T-G-A-C-C-G-A-C-C-C-G-A-A-A-G-G-G-A-C-C-
		Met - Thr - Asp - Ala - Glu - Arg - Asp -

*DNA sequence in the coding strand. Note that this sequence is the same as the mRNA sequence except that the RNA contain uracil (U) instead of thymine (T).

Б. Блокови мутации

- 
- Загуба или вмъкване на 3 или кратен на 3 брой нуклеотиди
 - Полипептидната верига е по – къса или по – дълга с толкова АК, колкото кодона е засегнала мутацията
 - При неравен кросинговър могат да се засегнат части от гени – повлиява се фенотипа:

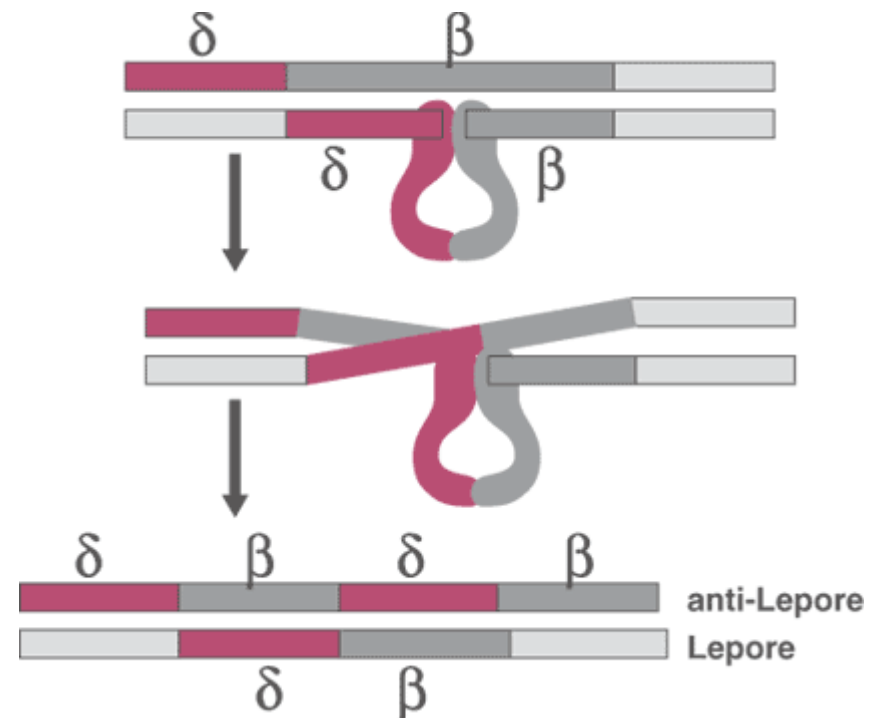
Хибридни (фузионни) белтъци:

Лепоре таласемия

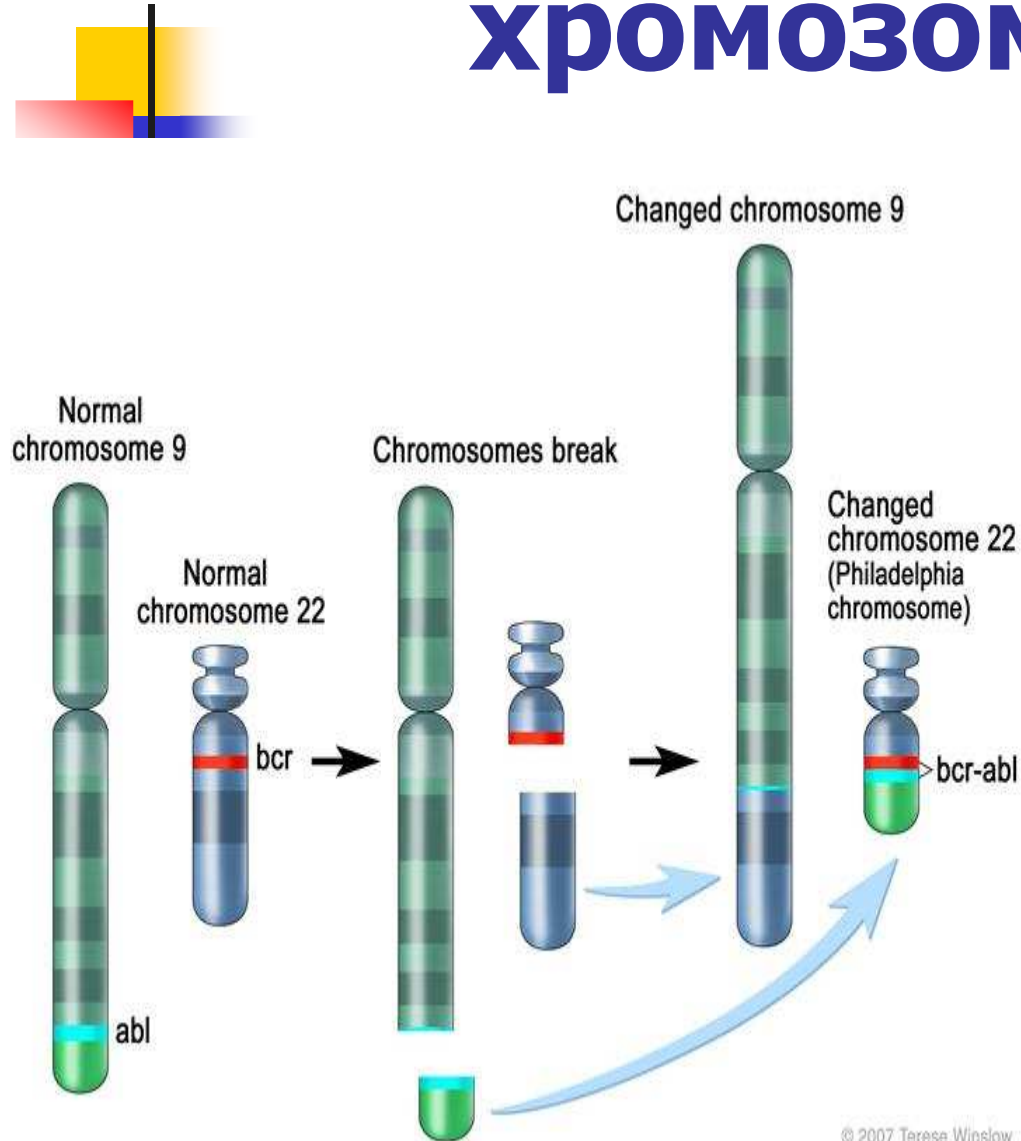
Филадельфийска хромозома

Лепоре таласемия

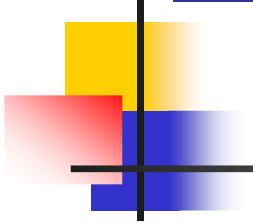
- лепоре таласемия
(фузионен белтък,
съдържащ част от бета
и част от делта
веригите)
- Получен в резултат на
неравен (нехомоложен)
кросинговър



Филадельфийска хромозома



- **хибриден ген** в резултат на реципрочна транслокация между 9 и 22 хромозоми;
- хибридният протеин отключва развитие на хронична миелоидна левкемия (Bcr – Abl)



Генни мутации и повлияване на генотипа и фенотипа

- В природните популации най-често срещаният генотип е т.н. **див – тип** (кодиран от доминантни и рецесивни алели).
- **Прави мутации** – променят дивия генотип в нов вариант
 - Ако последният е полезен ще движи еволюцията напред
 - или ще бъде елиминиран от популацията
- **Обратни мутации** – възстановява се дивия тип белег - Наричат се също реверзия



Типове мутации

- Генетичните термини за класификация на мутациите са:

- **Вредни** мутации

- Намаляват шанса на организма да преживее

- **Летални** мутации

- Водят до смърт на организма
- Напр. хомозиготна полидактилия при котки

- **Мутации в зависимост от условията**

Повлияват фенотипа само при определена комбинация от условия.

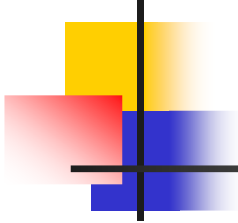
Напр. Мутанти чувствителни на температура

- **Полезните** мутации повишават преживяемостта, оцеляването или репродуктивната способност

Мутации в некодираща ДНК

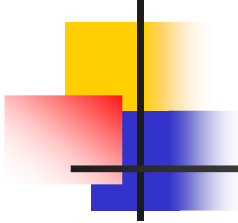
- 
- Мутации настъпващи извън кодиращите последователности на гена повлияват експресията му
 - Мутациите могат да повлияят последователността в **промотора**:
 - Мутации усилващи транскрипцията
 - Мутации намаляващи транскрипцията
 - В **интроните** водят до нарушения в сплайсинга
 - Мутациите могат да повлияят нивото на репликация, репарация, транслация, зрееене, постранслационни промени на белтъците и контрола на клетъчния цикъл





Мутации от повтаряне на тринуклеотиди

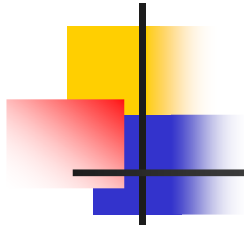
- Няколко заболявания при човека се причиняват от необикновена форма на мутация – експанзия на тринуклеотиди (TNRE)
- Този термин се отнася до феномена, когато последователност от 3 нуклеотида се увеличава от една генерация в следващото поколение
- Напр. тринуклеотидна експанзия на CAG (glu) – агрегация на белтъците и прогресия на заболяването



Мутации от повтаряне на тринуклеотиди

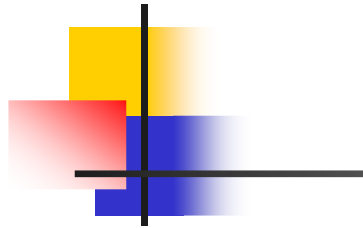
Такива заболявания са :

- Болест на **Хънтингтон** повторение на ЦАГ 35 до 150
- Синдром на **чуливата X-хромозома** – повторение на триплета ЦГГ повече от 200 пъти в 5' края на ген в X-хромозомата



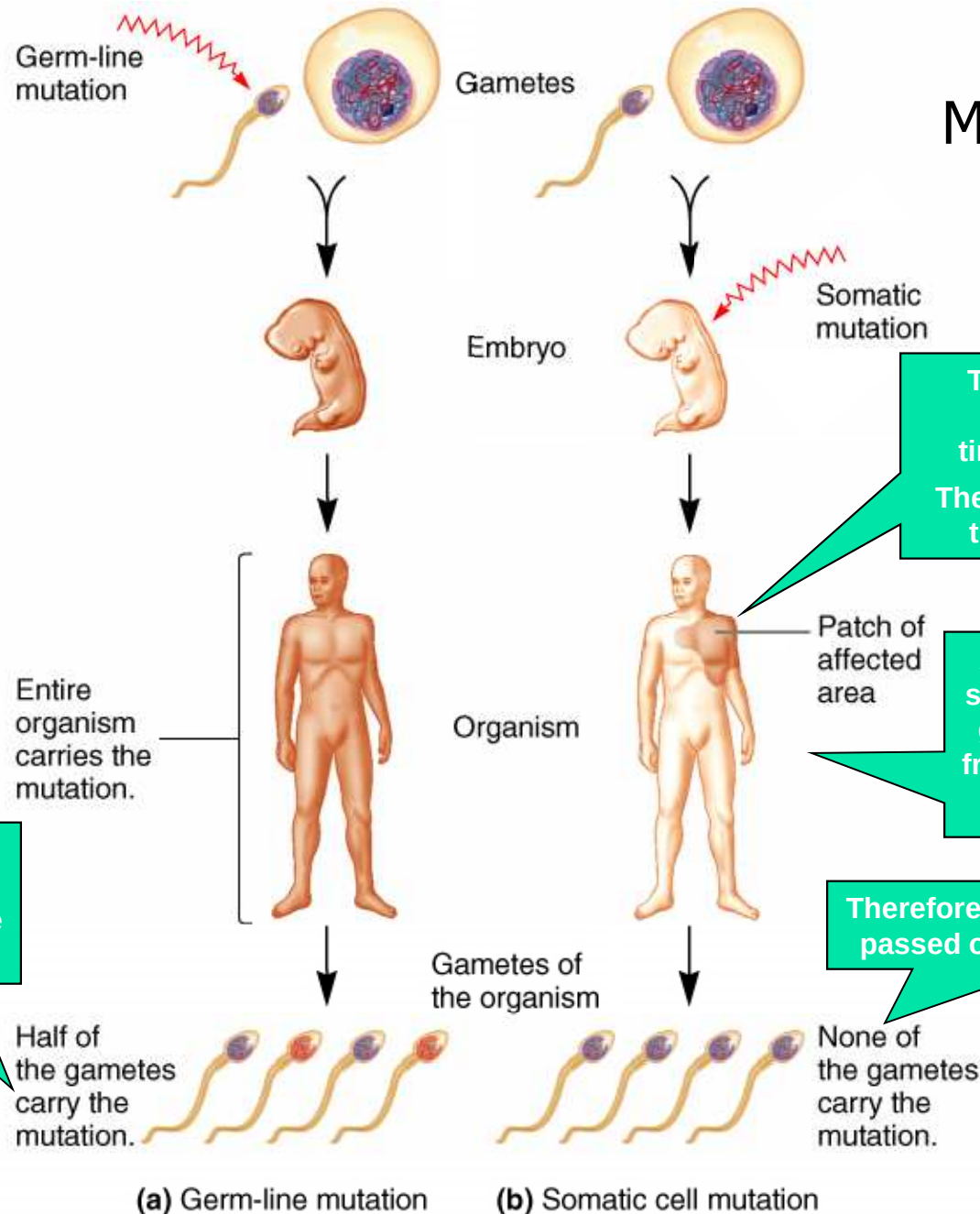
Мутации могат да настъпят в
зародишните или соматични клетки.

- Генетиците класифицират животинските клетки в два типа:
 - **зародишни клетки** дават началото на гаметите: яйца и сперматозоиди
 - **соматични клетки** всички останали клетки



Мозайка

Therefore, the mutation can be passed on to future generations



The size of the patch will depend on the timing of the mutation
The earlier the mutation, the larger the patch

An individual who has somatic regions that are genotypically different from each other is called a genetic mosaic

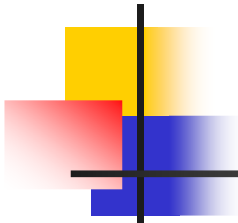
Therefore, the mutation cannot be passed on to future generations





Възникване и причини за мутации

- Мутации могат да възникнат спонтанно или да бъдат индуцирани
- **Спонтанни мутации**
 - резултат от абнормалитет в клетъчно – биологичните процеси
напр. грешки при репликацията на ДНК
- **Индуцирани мутации**
 - предизвикани от външни фактори – мутагени
 - могат да бъдат физични, химични и биологични



Причини за спонтанни мутации

- Спонтанните мутации могат да възникнат в резултат на три типа химични промени
 - 1. Депуринизация – най-честа
 - 2. Дезаминиране
 - 3. Тавтомерно превключване



Причини за спонтанни мутации

- Депуринизацията включва остраняване на **пурин** (**Г** или **А**) от ДНК.
 - поливалентните връзки между дезоксирибозата и пуриновите бази са нестабилни
това понякога предизвиква спонтанна реакция с водата, което води до разкъсване на връзката база – рибоза
 - Отпадането е наречено **апуриново** място
 - обикновено апуриновите места могат да се поправят
обаче ако репарационната система е инсуфициентна, ще възникне мутация при последваща ДНК репликация.

Причини за спонтанни мутации

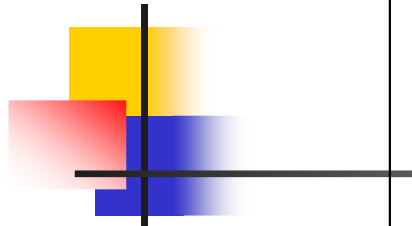
- **дезаминирането** означава отпадане на аминокгрупа от базата **Ц** → **У**
 - ензимите от репарацията могат да разпознаят урацила като неподходяща база и да го изрежат
 - но, ако системата за репарация е инсуфициентна ще възникне мутация

Ц – Г → А – Т по време на следващата ДНК репликация
- Дезаминиране може да стане и при **5-метил-цитозина** → **Т**
 - Т е нормален компонент на ДНК
 - това е проблем за ензимите на репарация
 - поради тази причина метилираните цитозинови бази формират **горещи точки** на мутация

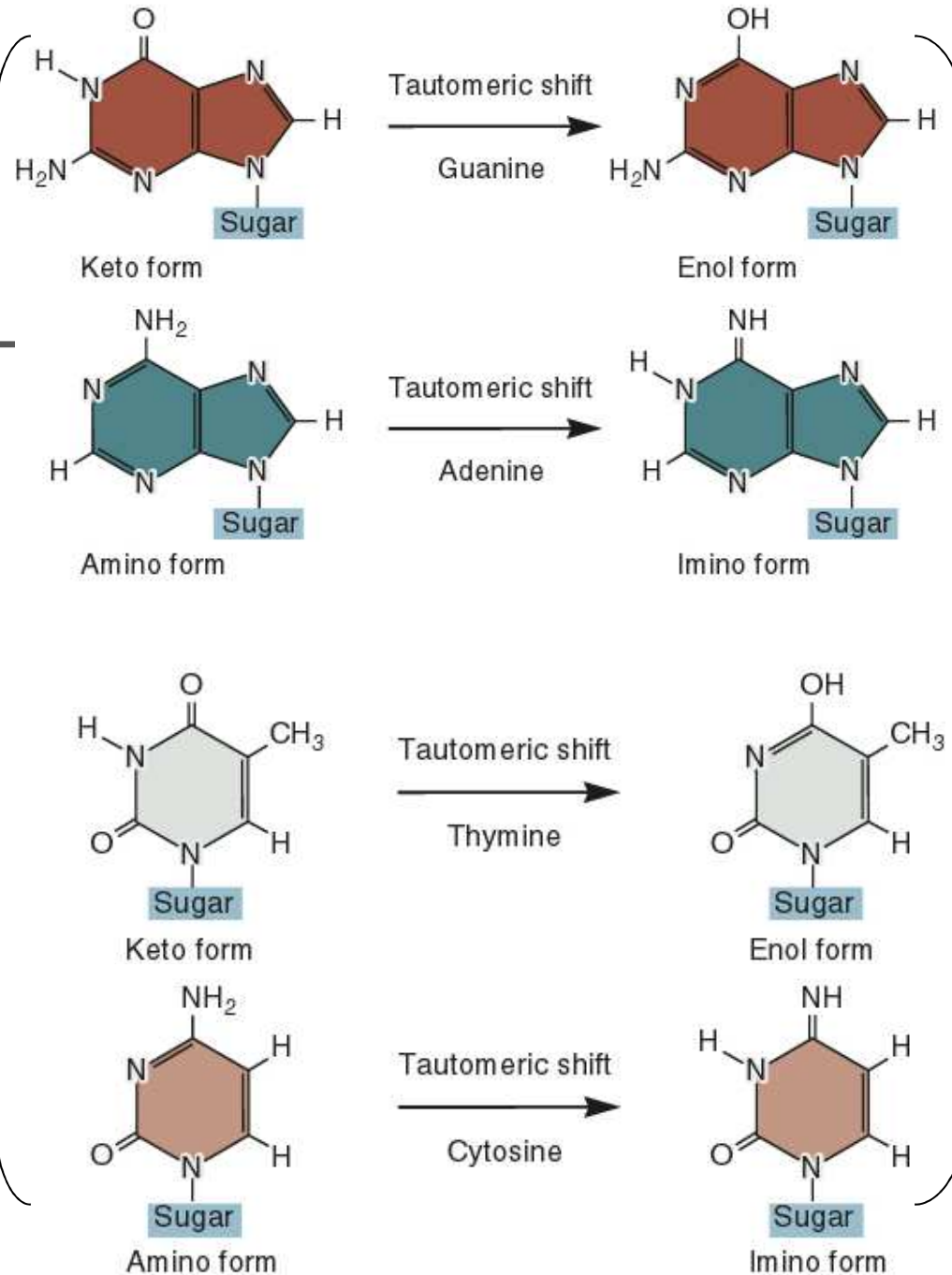


Причини за спонтанни мутации

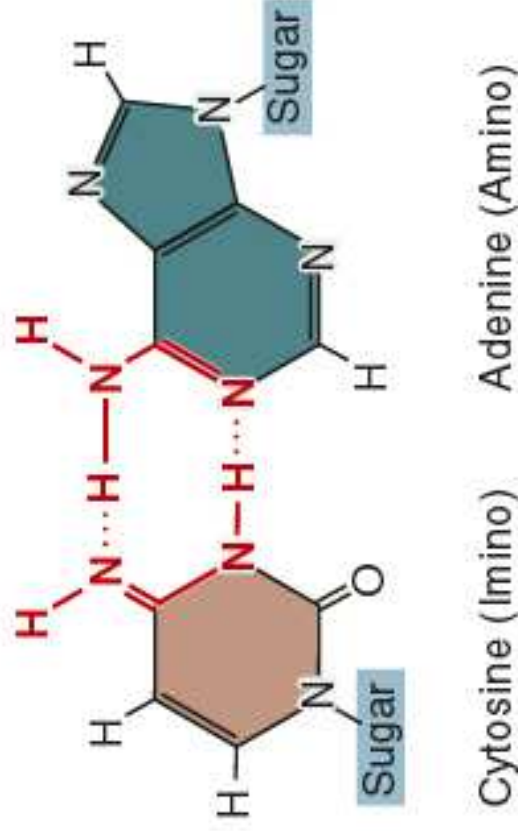
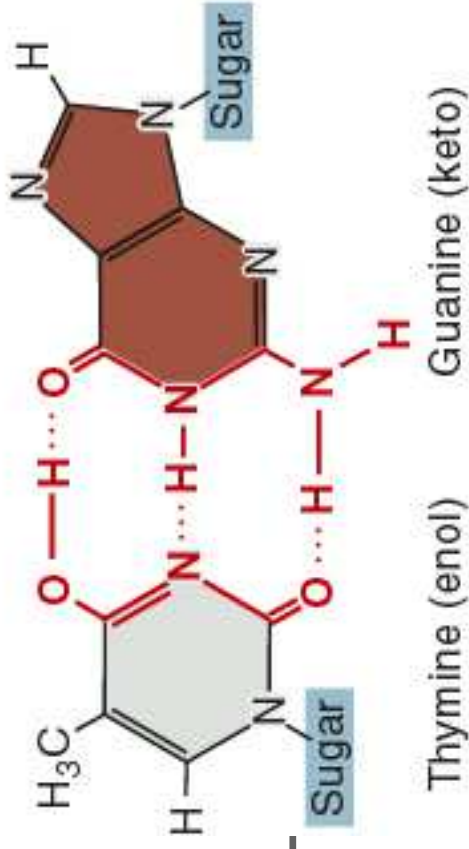
- **Тавтомерно превключване** означава временна промяна в структурата на базата
 - обикновено устойчивата форма на Т и Г са кетоформи
 - рядко, Т и Г могат да се превърнат в енолна форма
 - устойчивата форма на А и Ц обикновено е аминокформата
 - понякога те могат да преминат в иминоформа и да се образуват съответно А-Ц и Г-Т базови двойки



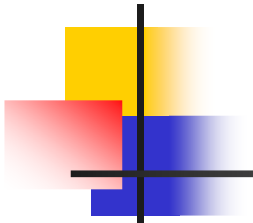
Common



Rare



(b) Mis-base pairing due to tautomeric shifts



Мутагенни фактори

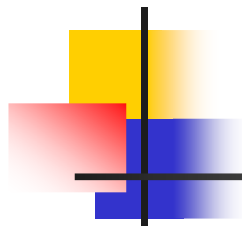
Видове мутагени

Мутагенните фактори обикновено се класифицират като **химични** и **физични**

Мутагените увреждат ДНК структурата по различен начин

- Химичните фактори принадлежат към 3 основни типа
 - **1. Модифициращи базите**
 - **2. Агенти, които се вмъкват в ДНК спиралата**
 - **3. Базови аналози**

Модификаторите на базите



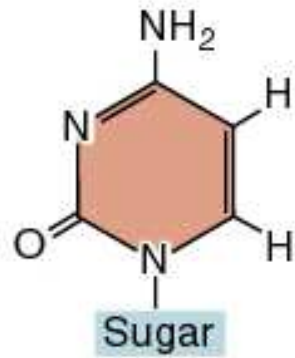
Променят поливалентно структурата на нуклеотида.

- напр. **азотната киселина** заменя аминогрупата с кетогрупа ($-\text{NH}_2 \rightarrow \text{C}=\text{O}$)
- това превръща **Ц** в **У** и **А** в **хипоксантин**
- някои модификатори разкъсват комплементарно свързаните нуклеотиди чрез алкилиране на базите в ДНК

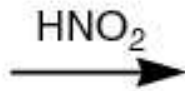
напр. азотът на горчицата и метилсулфонатът – добавят алкилна група

Г → о-6-метилгуанин, който се свързва с **Т**, а **Т** – в о-6-етилтимин свързва се с **Г**

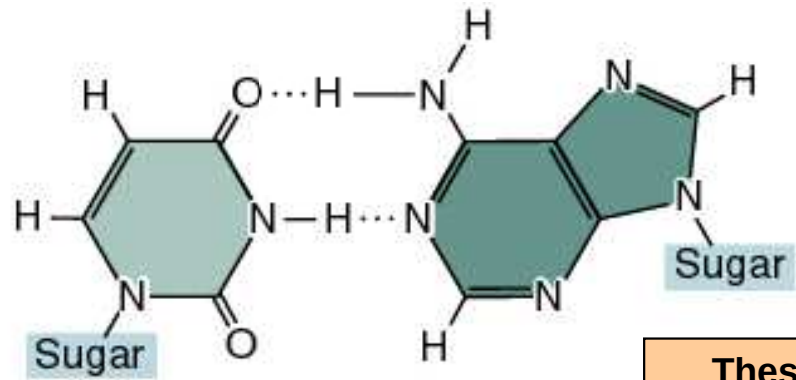
Template strand



Cytosine



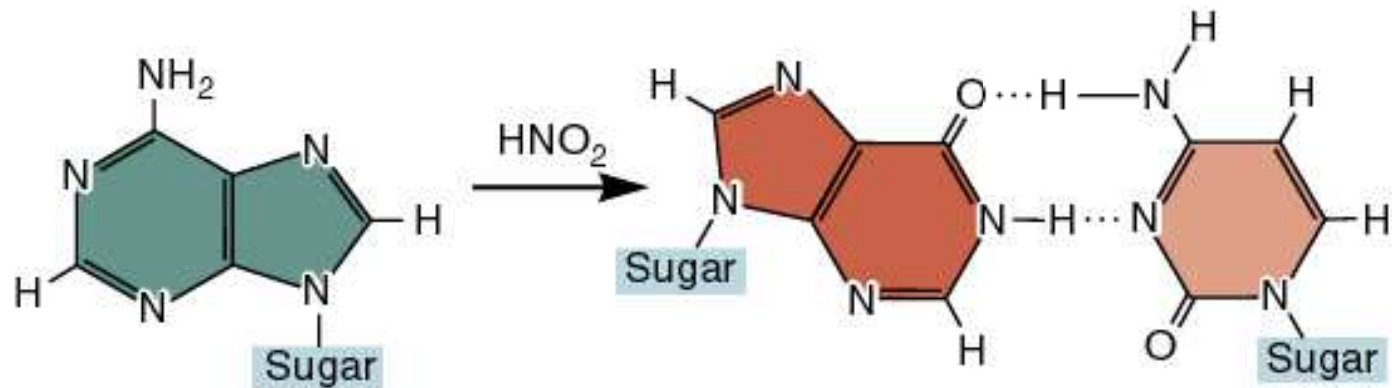
After replication



Uracil

Adenine

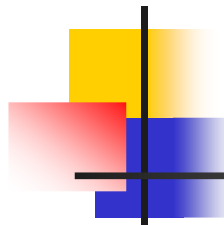
These mispairings
create mutations in the
newly replicated strand



Adenine

Hypoxanthine

Cytosine



Интеркалатните агенти

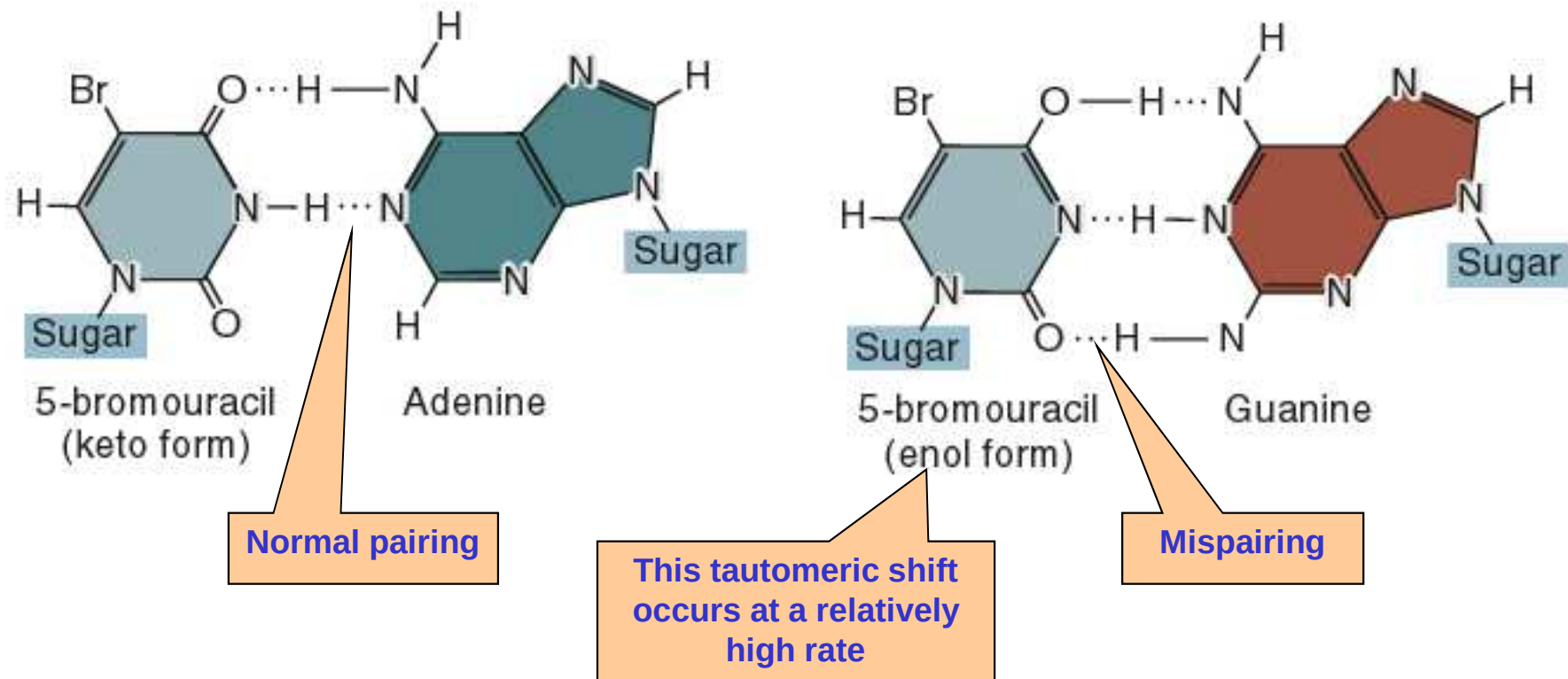
Интеркалатните агенти притежават плоска структура, позволяваща им да се вмъкнат между базите във двойната спирала

- това разширява и удължава спиралната структура
- при репликация на ДНК с вмъкнати такива агенти, дъщерните вериги могат да придобият 1 нуклеотид допълнително, или да го загубят
- примери: Акридинови багрила

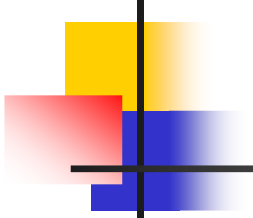
Етидиев бромид

- **Базовите аналози** се включват в дъщерните вериги при репликацията на ДНК
 - напр. **5-Br-U** в енолната си форма е аналог на **T** и се свързва с **G**
 - **2-АП** заменя **A** и може да се свърже с **T** или **C**

Базови аналози



(a) Base pairing of 5Bu with adenine or guanine



Физични мутагени

2 типа

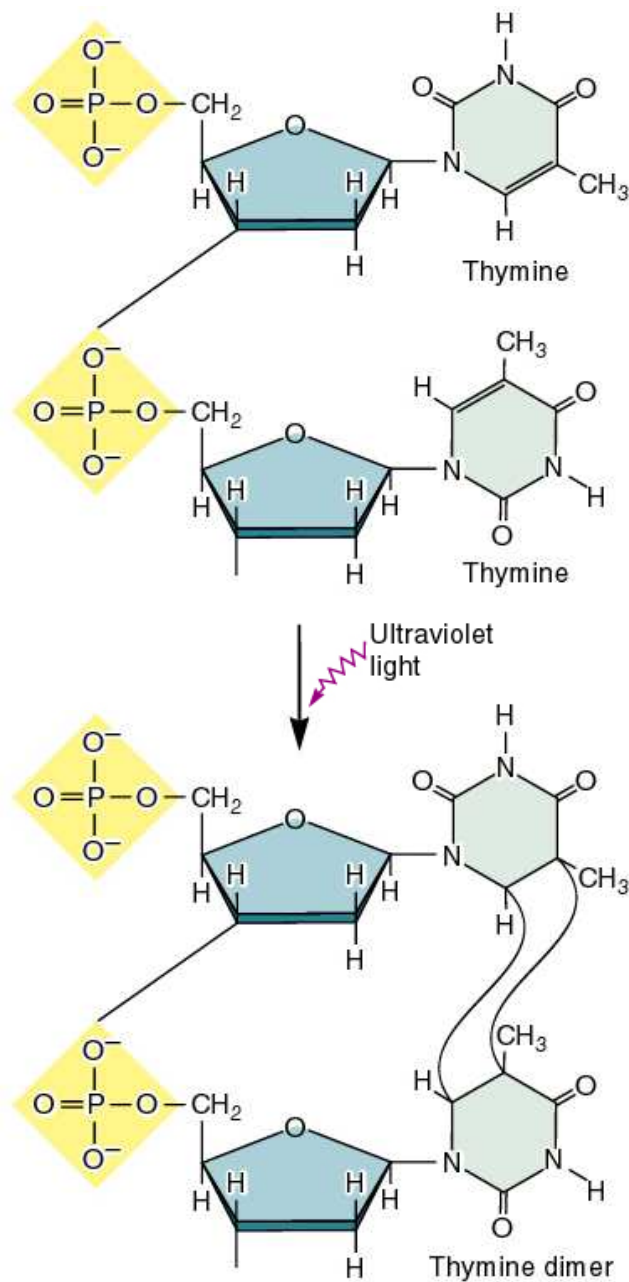
1. Йонизираща радиация
2. Неийонизираща радиация

- **Йонизираща радиация**

- X- и γ – лъчи
- имат къса дължина на вълната и висока енергия
- могат да проникват дълбоко в биологичните молекули; избиват електрони като превръщат атомите в положителни йони
- водят до образуване на **свободни радикали**
- предизвикват
 - делеции
 - скъсване в ДНК веригата
 - кръстосано свързване
 - хромозомни разкъсвания

Нейонизираща радиация

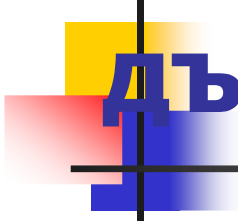
- UV лъчи
- носят по-малко енергия
- не проникват дълбоко в биологични молекули
- предизвикват образуване на **тиминови димери**
- тиминовите димери могат да предизвикат мутации при репликация



Самата ДНК репликация е мутагенна

- 
- Много мутации се дължат на грешки на ензима ДНК-полимераза.
 - Следователно, всеки химичен агент или хормон, който отключва ДНК репликацията е мутаген
 - Естрогени

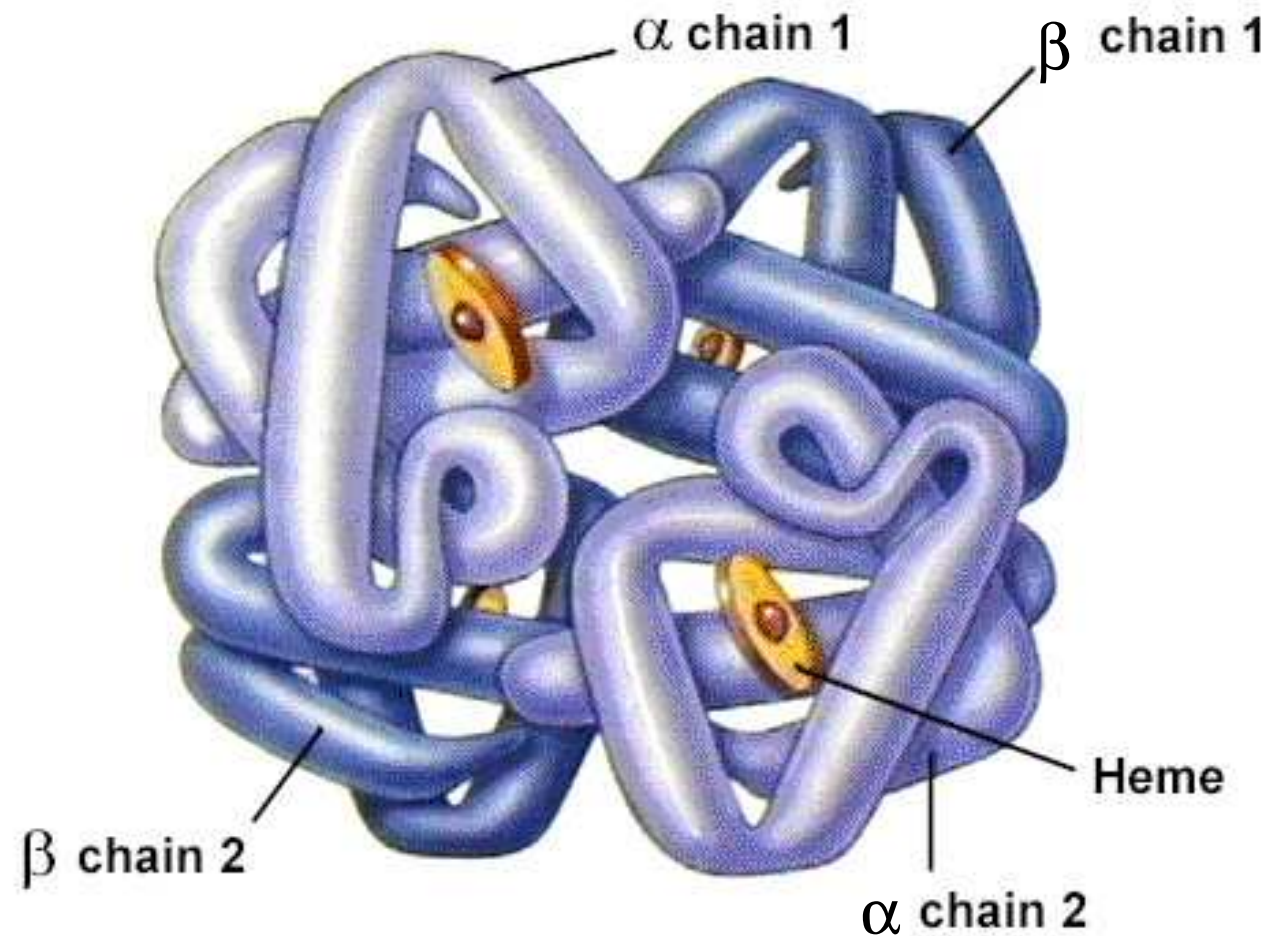
Има връзка между продължителността на годините с менструален цикъл и рак на гърдата или овариума
 - Растежни фактори или миметици
 - Могат да предизвикат ракови заболявания при човека
 - Раковите заболявания се повишават с възрастта
 - Заболяванията причинени от точкови мутации обикновено се предават от бащата
 - Раковите заболявания се развиват, когато една мутация стимулира репликацията на ДНК и клетъчното делене.



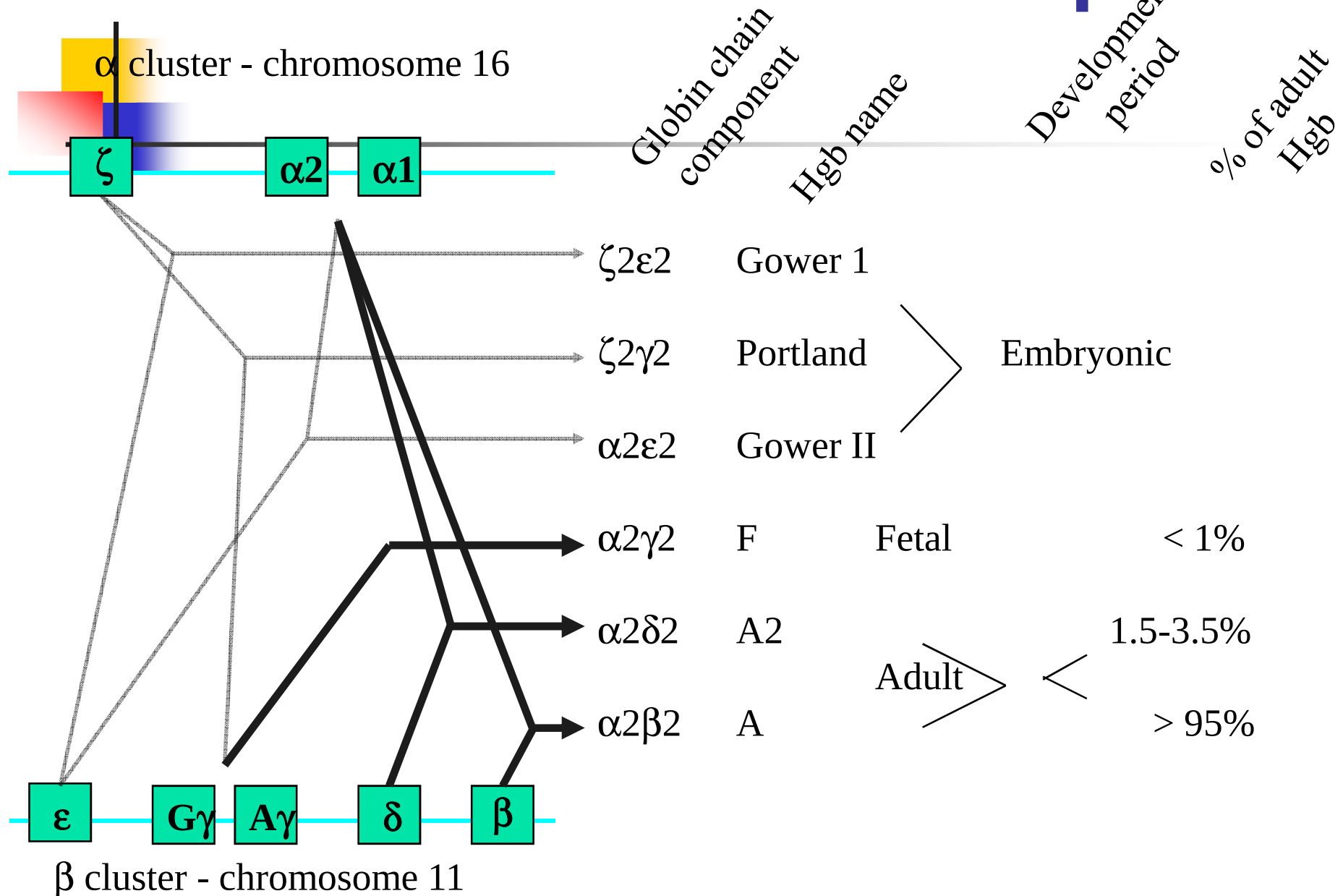
Патологии при човека, дължащи се на генни мутации

- **Рецесивни** аномалии при човека
- Известни са няколко хиляди:
 - Албинизъм
 - Таласемия
 - Сърповидно-клетъчна анемия
 - Болест на Tay-Sachs
 - Кистична фиброза
 - Фенилкетонурия
 - Галактоземия

Структура на хемоглобина (Hb A)



Синтез на глобиновите вериги

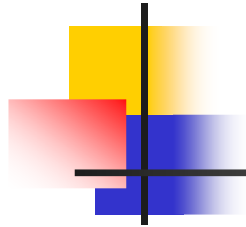




Нива на Hb при възрастни

Хемоглобин	Глобинови вериги	[С] *
HbA	$\alpha_2\beta_2$	96-98%
HbA2	$\alpha_2\delta_2$	2.3-3.5%
HbF	$\alpha_2\gamma_2$	<2%

*Нормалните за възрастни концентрации се достигат на 6-8 м. възраст



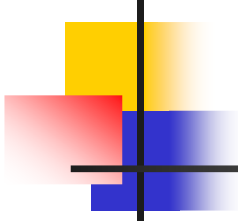
Таласемия

- Понижена продукция на нормалните глобинови гени
- α -таласемия – дефицит на един от гените за α -верига
- β -таласемия – дефицит на един от гените за β -верига



Фенилкетонурия - ФКУ

- Автозомно рецесивно заболяване
- Мутация на гена за ензима фенилаланинхидроксилаза превръща фенилаланина в тирозин → меланин
- Проявява се с изоставане в умственото развитие, гърчове, светла кожа и коса, дъх на мухъл, екзема
- Повече от 450 мутации в гена могат да се идентифицират при пациенти с ФКУ
- Мутацията се проявява още вътреутробно
- Новородените се скринират за ФКУ чрез кръвен тест на Гатри веднага след раждането
- Скринирането на новородените в България се изисква по закон
- Скринират се и бебета родени в къщи



Доминантни аномалии при човека

- Срещат се по-рядко
- Еднакво засягат двата пола
- Примери:
 - Болест на Хънтингтон
 - Ахондроплазия
 - Фамилна хиперхолестеролемия
- Всеки носител на мутацията има родител с такава мутация
- Мутацията се явява във всяко следващо поколение
- Хомозиготите са с много тежки аномалии
- Заболяването може да възникне и след зрялата възраст