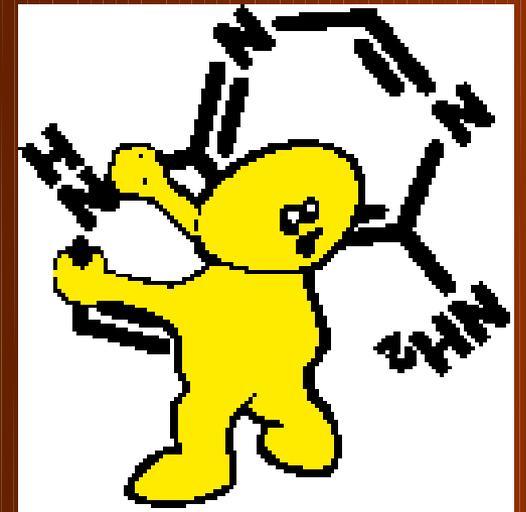
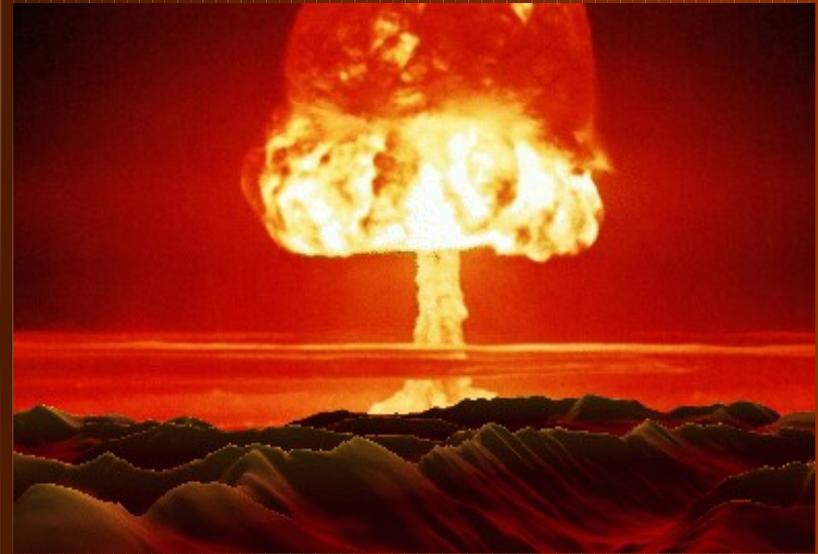
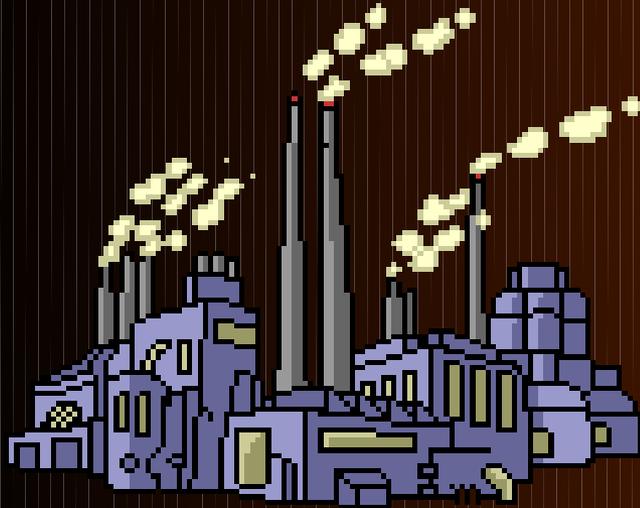


Генетический контроль мутационного процесса

- Первичная структура ДНК является динамичной и подвергается постоянным изменениям.



- Многие из этих изменений возникают в результате ошибок репликации, рекомбинации и репарации.
- Другие изменения являются результатом природной нестабильности специфических химических связей, проявляющейся при нормальных физиологических условиях.



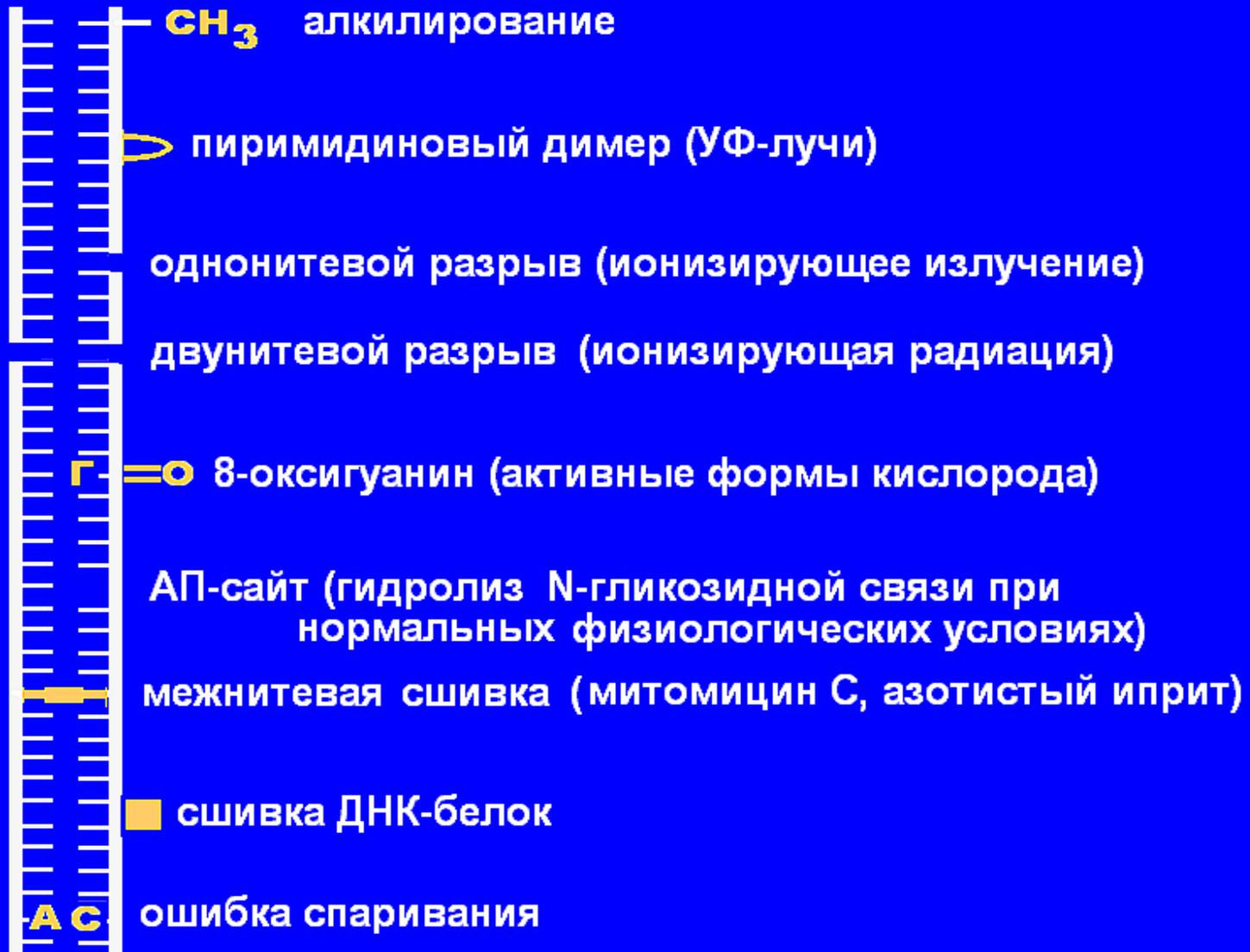
- ДНК в живых клетках взаимодействует со множеством химических соединений и некоторыми физическими агентами, многие из которых присутствуют в окружающей среде.



- Все эти *изменения в молекулярной структуре* генетического материала являются *повреждениями ДНК*.
- Эндогенные ДНК-повреждающие агенты повреждают ДНК с помощью тех же самых химических механизмов, что и ДНК-повреждающие агенты окружающей среды
- Повреждения ДНК приводят к двум главным следствиям: **возникновению мутаций и гибели клеток**.
- Повреждение ДНК – это неотъемлемый аспект жизни в биосфере.

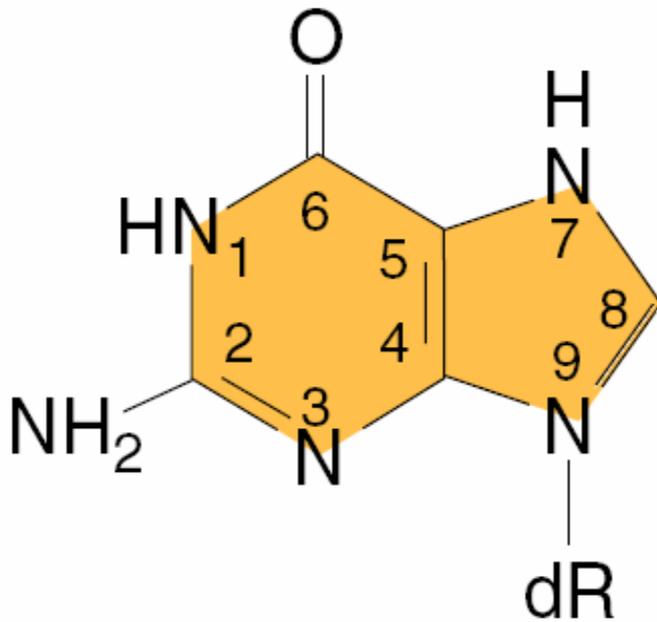
- Повреждения ДНК можно разделить на два класса – спонтанные и индуцированные (обусловленные воздействием внешней среды).

Основные повреждения ДНК

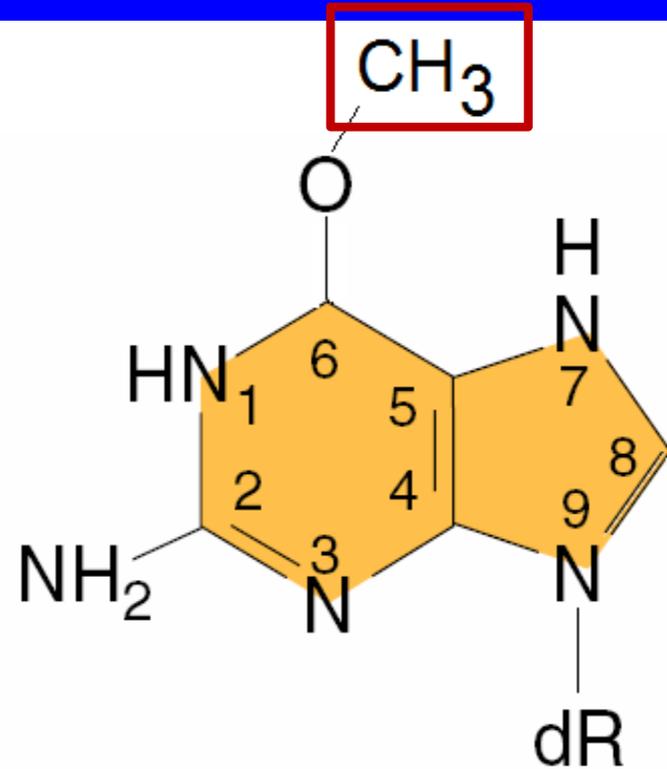


Основные повреждения ДНК

 **CH₃** алкилирование



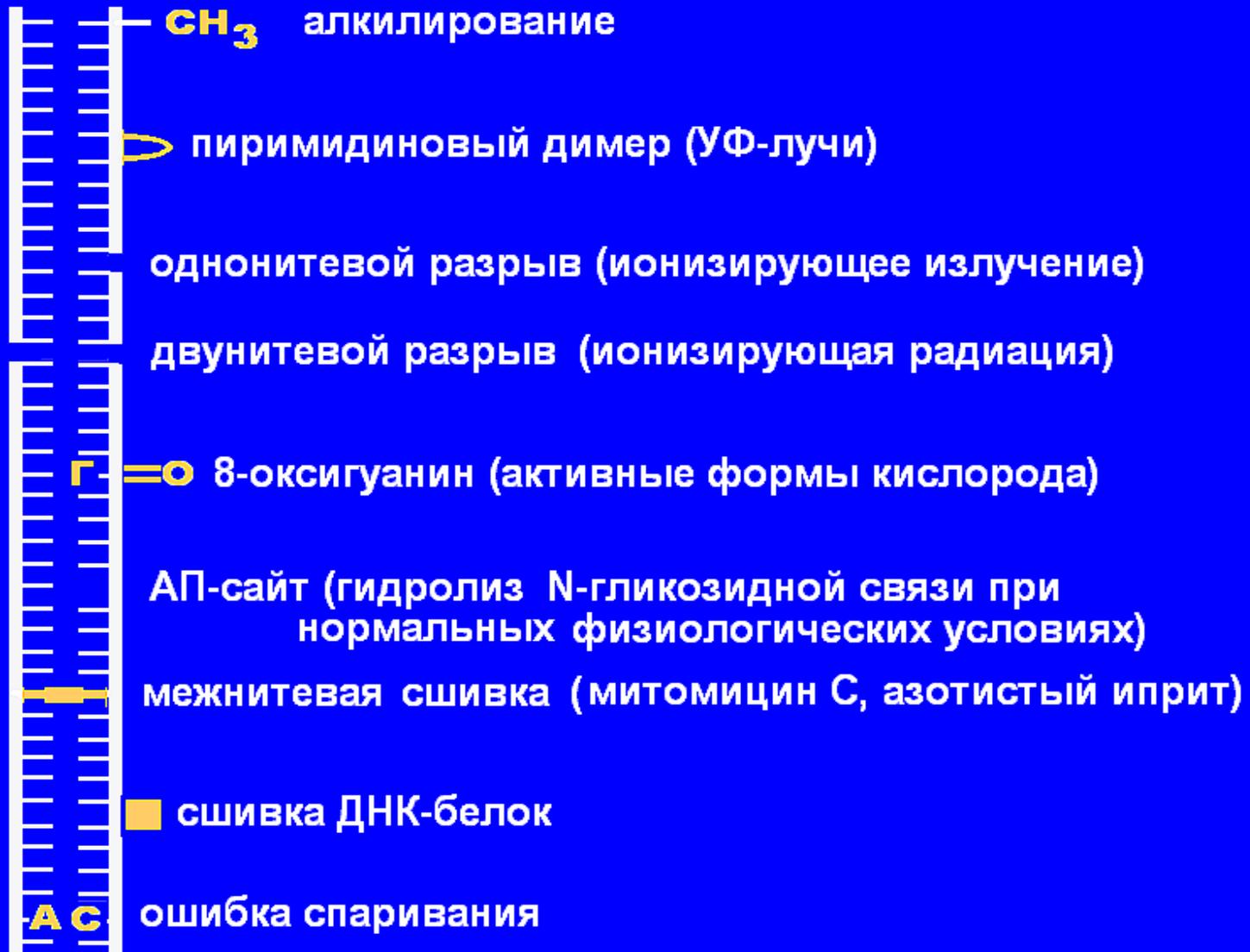
Гуанин



O⁶-метилгуанин

 **АС** ошибка спаривания

Основные повреждения ДНК



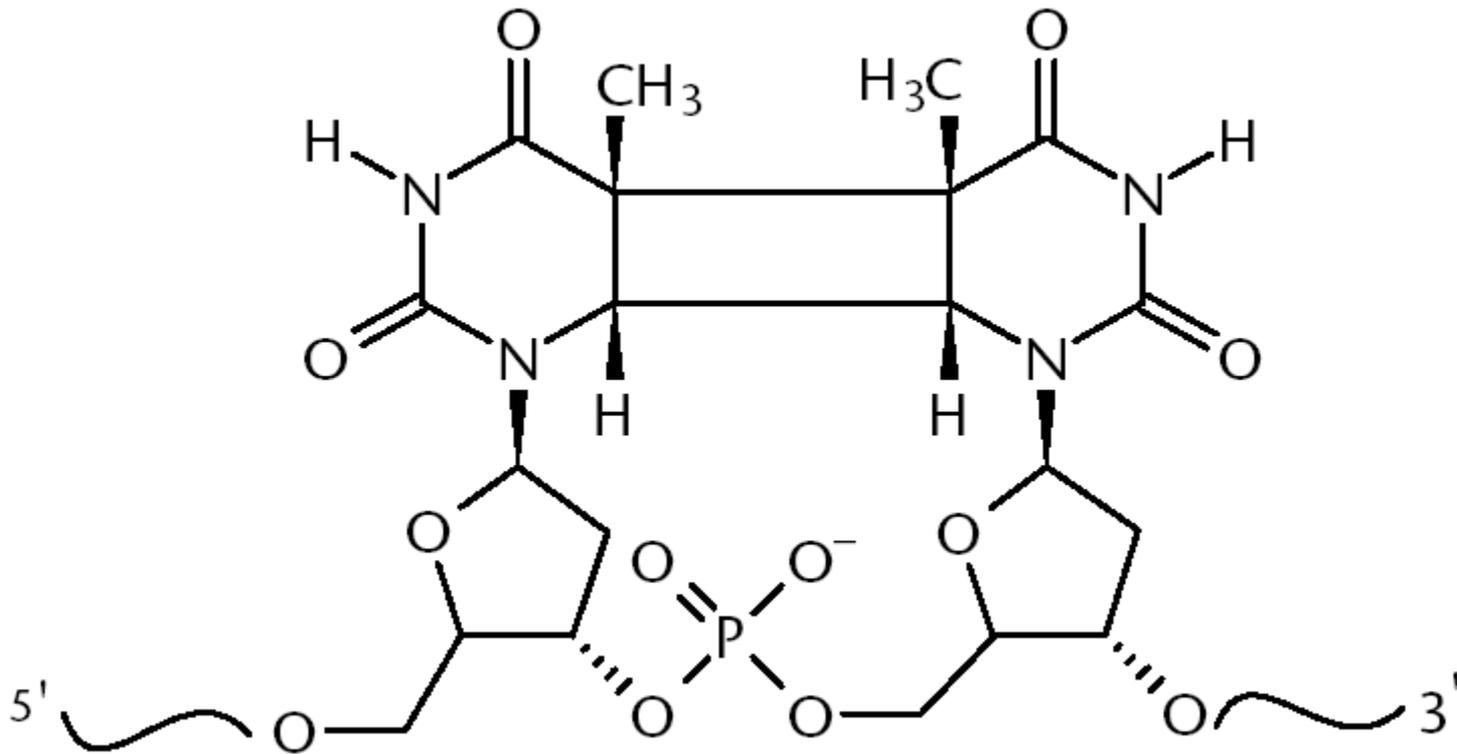
Основные повреждения ДНК



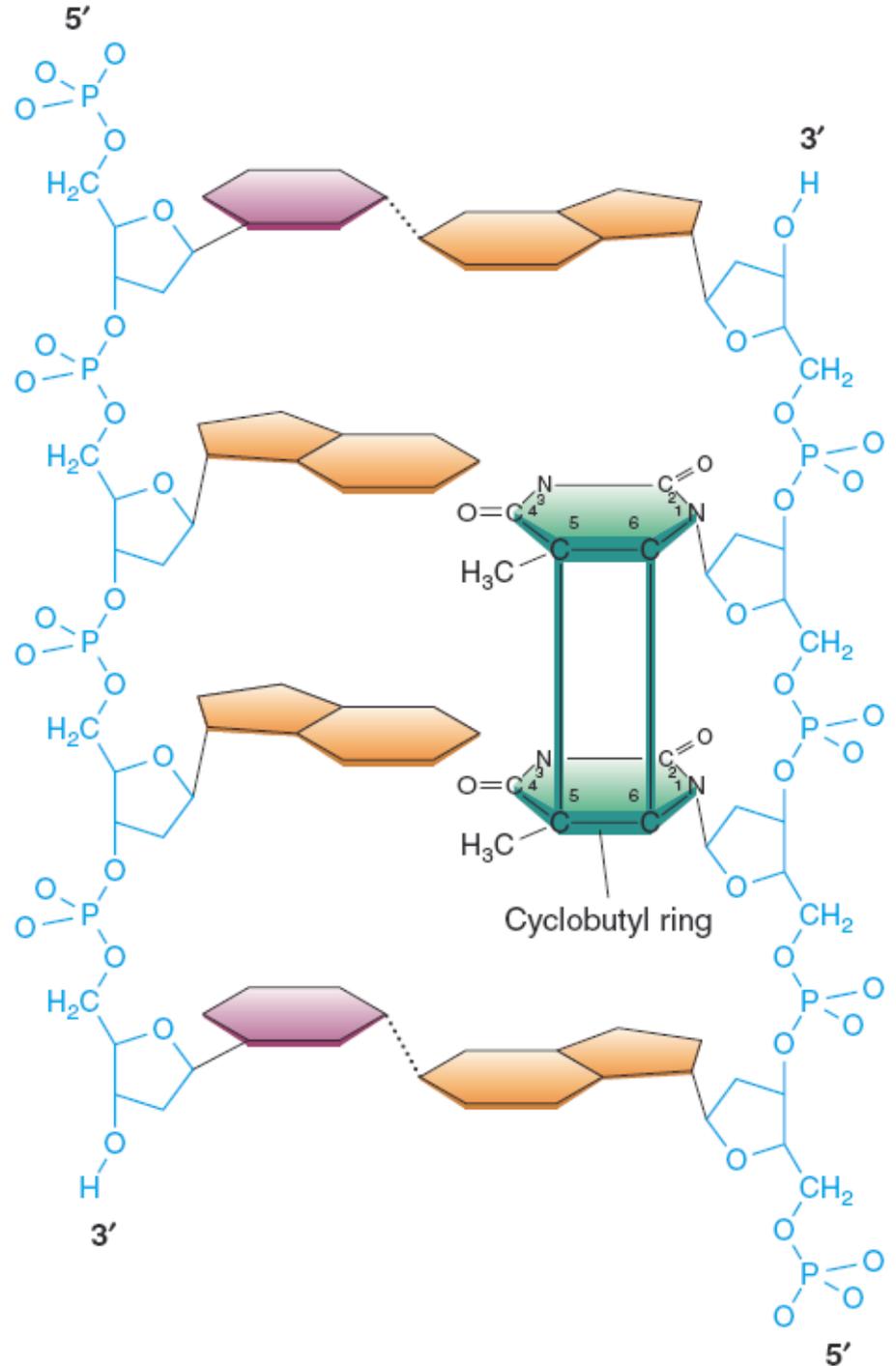
CH₃ алкилирование



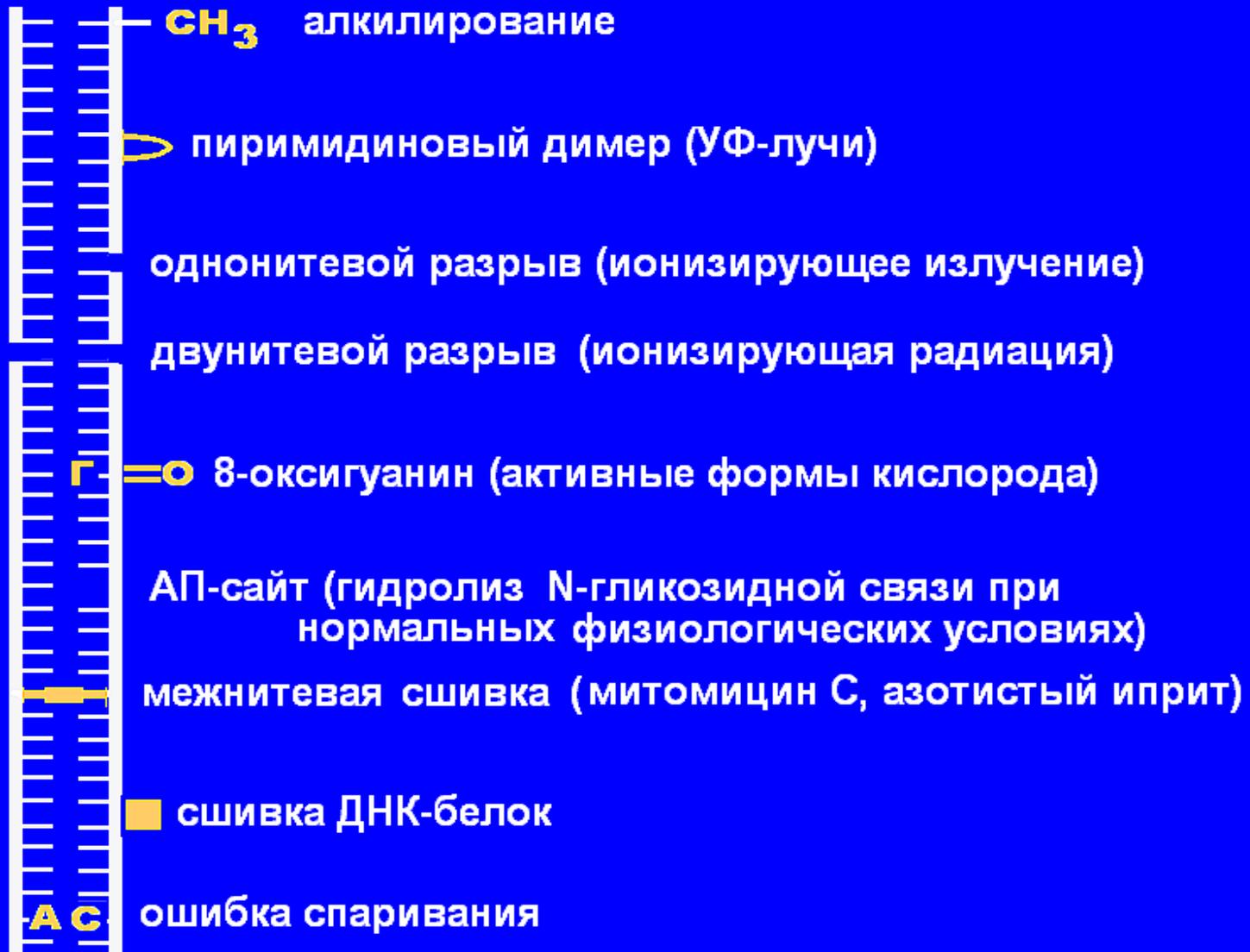
пиримидиновый димер (УФ-лучи)

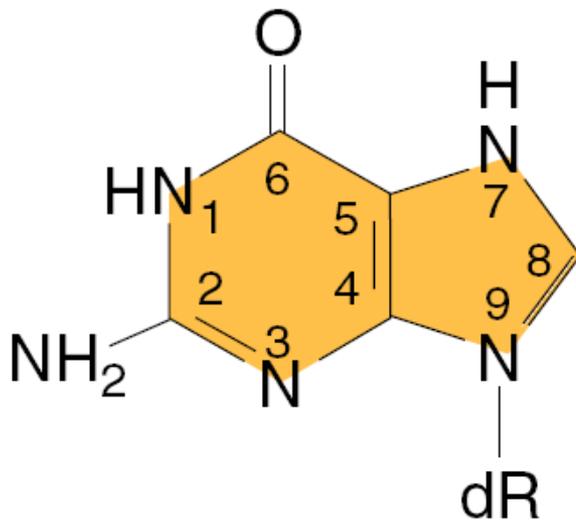


Основные п

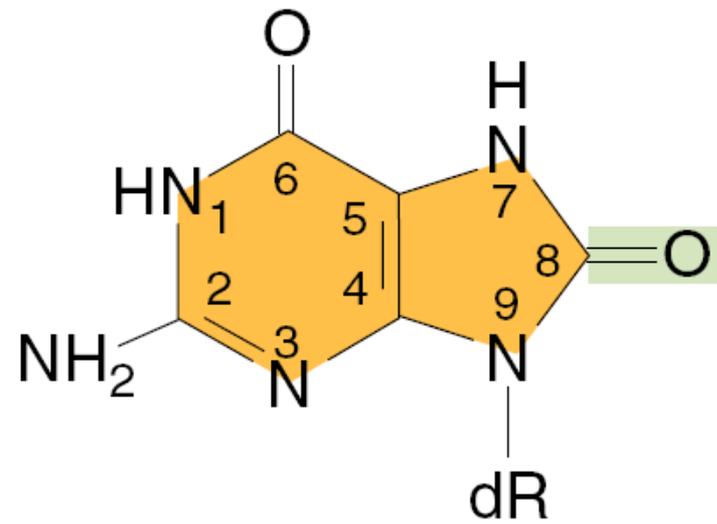


Основные повреждения ДНК

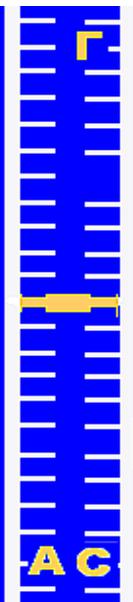




Гуанин



8-оксигуанин



Г = С 8-оксигуанин (активные формы кислорода)

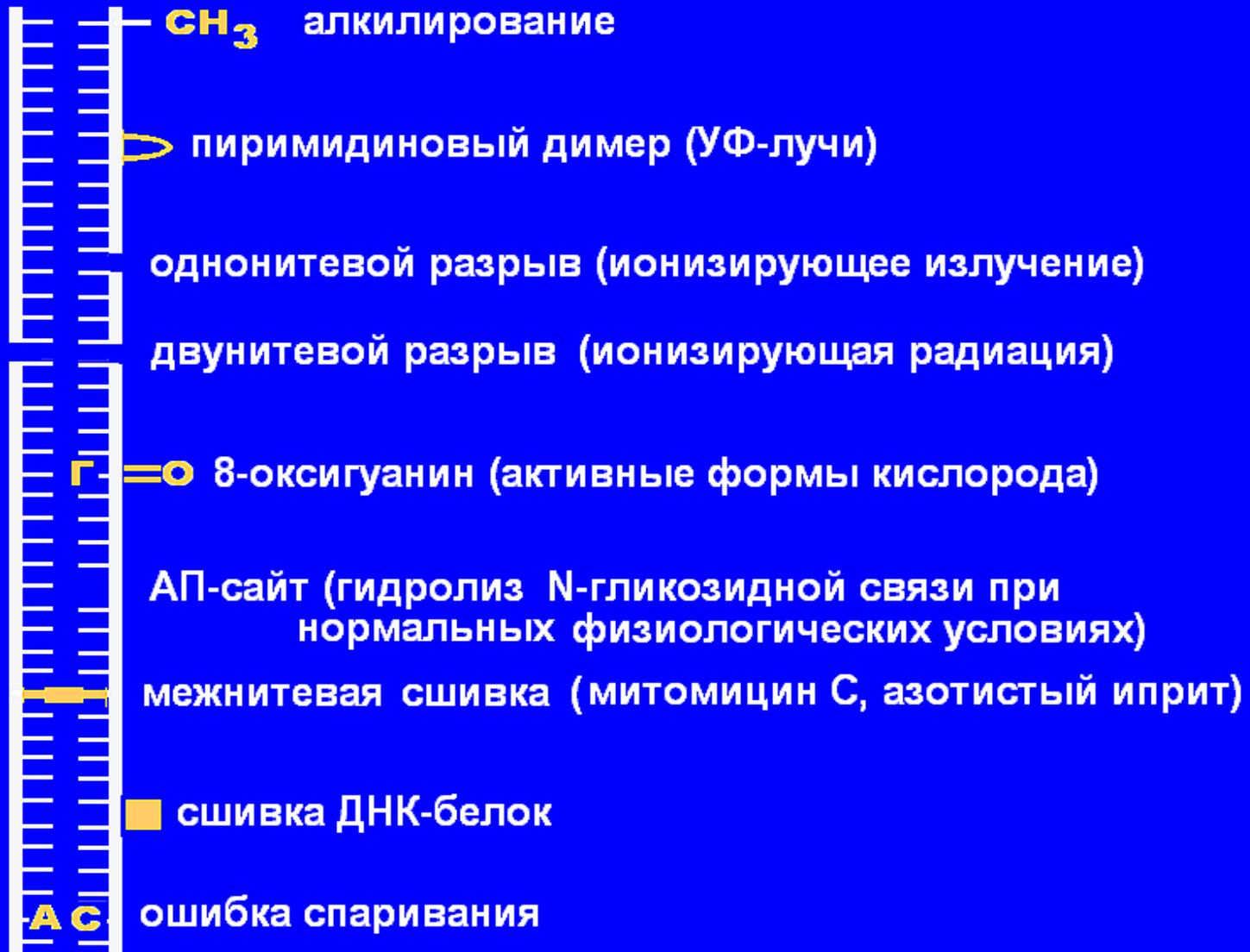
АП-сайт (гидролиз N-гликозидной связи при нормальных физиологических условиях)

межнитевая сшивка (митомицин С, азотистый иприт)

■ сшивка ДНК-белок

А Т ошибка спаривания

Основные повреждения ДНК



- Повреждение ДНК – это не мутация.
- Большая часть повреждений ДНК восстанавливается репаративными системами.

- Мутация – это наследственное изменение в нуклеотидной последовательности генома организма.
- Геном – это совокупность всего генетического материала организма.

Точковые мутации – изменения, включающие одну пару нуклеотидов

А Т G G C T
Т А C C G A

Дикий тип

А Т A G C T
Т А T C G A

А Т C G C T
Т А G C G A

Замена пары нуклеотидов

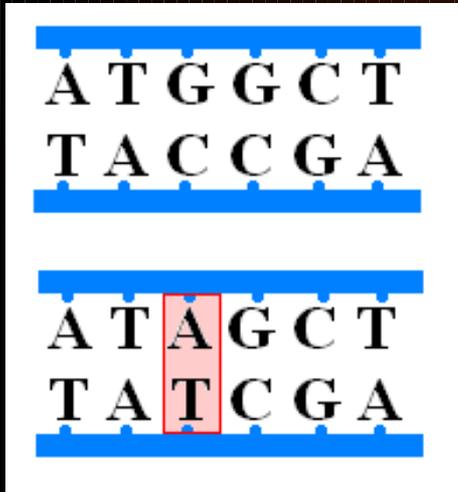
▼
А Т G C T
Т А C G A

Выпадение (делеция) пары нуклеотидов

▼
А Т A G G C T
Т А T C C G A

Вставка пары нуклеотидов

Замены оснований: транзиции и трансверсии



Транзиция – замена одного основания на другое основание той же химической категории:

(пурин заменяется пурином:

A→G или G→A;

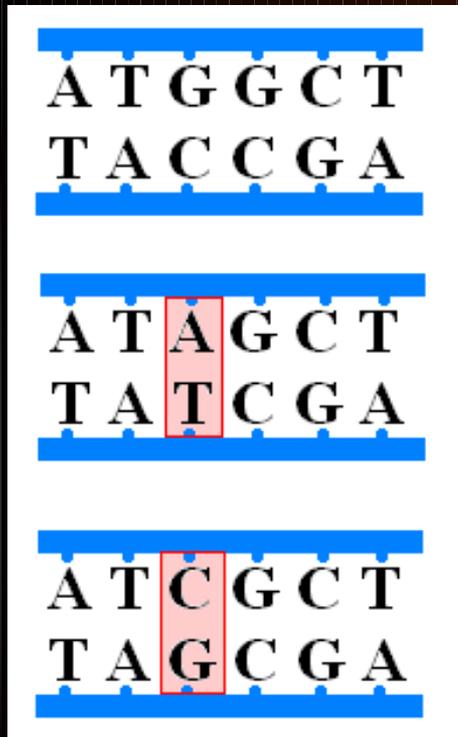
пиримидин заменяется пиримидином:

C→T или T→C)

На уровне двунитевой ДНК эти замены выглядят так:

AT↔GC или TA↔CG

Замены оснований: транзиции и трансверсии



Трансверсия – замена основания одной химической категории на основание другой химической категории:

(пурин заменяется пиримидином:

$C \rightarrow A$, $C \rightarrow G$, $T \rightarrow A$, $T \rightarrow G$;

пиримидин заменяется пурином:

$A \rightarrow C$, $A \rightarrow T$, $G \rightarrow C$, $G \rightarrow T$)

На уровне двунитевой ДНК эти замены выглядят так:

$AT \leftrightarrow TA$, $GC \leftrightarrow CG$, $TA \leftrightarrow GC$,
 $AT \leftrightarrow CG$

Индукцированный мутагенез

Химические мутагены:

Аналоги оснований.

Интеркалирующие агенты.

Алкилирующие агенты.

Соединения, реагирующие с ДНК непосредственно или после метаболических превращений.

Физические мутагены:

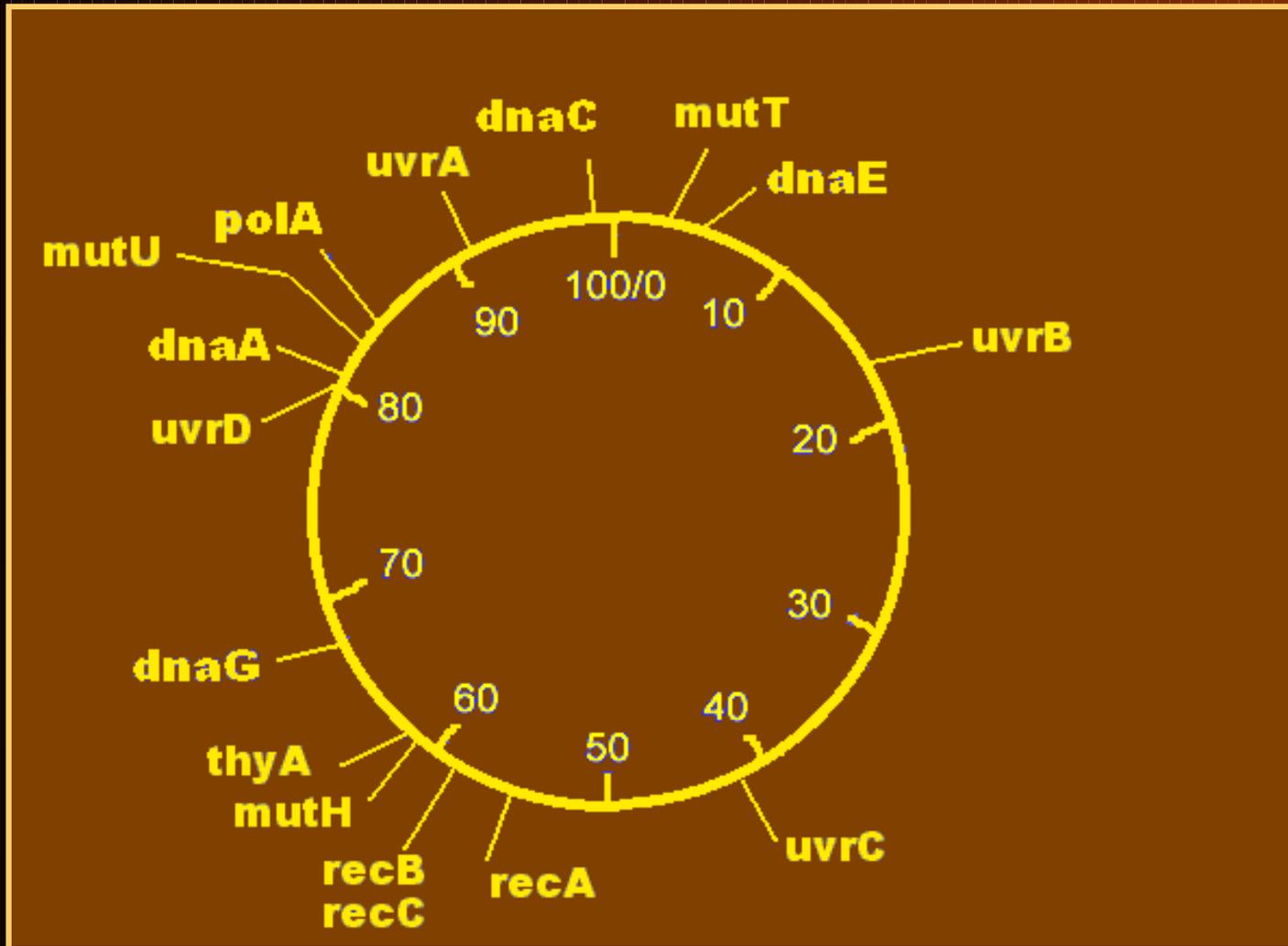
Ионизирующее излучение.

УФ-излучение.

Спонтанный мутагенез

Спонтанные мутации возникают в естественных условиях в результате нормальных клеточных процессов или при взаимодействии клеток с окружающей средой.

Локализация генов-мутаторов у *E.coli*



Эти гены контролируют синтез предшественников ДНК, синтез самой ДНК или процессы репарации

Темпы спонтанного мутирования

| Организм | Частота возникновения мутаций | |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| | На 1 п.н. на репликацию | На геном на репликацию |
| Бактериофаги | $(2-70) \cdot 10^{-8}$ | $\sim 4 \cdot 10^{-3}$ |
| <i>Escherichia coli</i> | $5 \cdot 10^{-10}$ | $2,5 \cdot 10^{-3}$ |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | $2 \cdot 10^{-10}$ | $2,7 \cdot 10^{-3}$ |
| <i>Drosophila melanogaster</i> | $3 \cdot 10^{-10}$ | $6 \cdot 10^{-2}$ |
| <i>Mus musculus</i> | $2 \cdot 10^{-10}$ | $5 \cdot 10^{-1}$ |
| <i>Homo sapiens</i> | $5 \cdot 10^{-11}$ | $2 \cdot 10^{-1}$ |

Темп спонтанного мутирования

May be I am wrong
 equals to one m
 million. Human
 divided by 3×10^8
 generati

Y-rated

Curr. Biol. doi:10.1016/j.cub.2009.07.032 (2009)
 DNA sequencing of the human
 Y chromosome suggests that humans carry
 100–200 genetic mutations not seen in their
 parents. This direct measurement of the

family members. Twelve mutations were confirmed in
 ~10.15 Mb; eight of these had occurred in vitro and four
 in vivo. The latter could be placed in different positions on
 the pedigree and led to a mutation-rate measurement of
 3.0×10^{-8} mutations/nucleotide/generation (95% CI: $8.9 \times$
 10^{-9} – 7.0×10^{-8}), consistent with estimates of 2.3×10^{-8} –
 6.3×10^{-8} mutations/nucleotide/generation for the same
 Y-chromosomal region from published human-chimpanzee
 comparisons [5] depending on the generation and split times
 assumed.

out to the 6-billion-odd base pairs of the
 complete human genome, that translates to
 roughly one mutation per 30 million base
 pairs per generation on average.

For a longer story on this research,
 see <http://tinyurl.com/nv9u59>

Бакт

Esch

Sacc

cerevisiae

Drosophila melanogaster

Mus musculus

Homo sapiens

nucleotide

airs, not 30

во время

one

На геном

ацию

10^{-3}

10^{-3}

10^{-3}

$6 \cdot 10^{-2}$

$5 \cdot 10^{-1}$

$2 \cdot 10^{-1}$

$5 \cdot 10^{-11}$

Частоты некоторых мутаций, вызывающих значительное изменение фенотипа

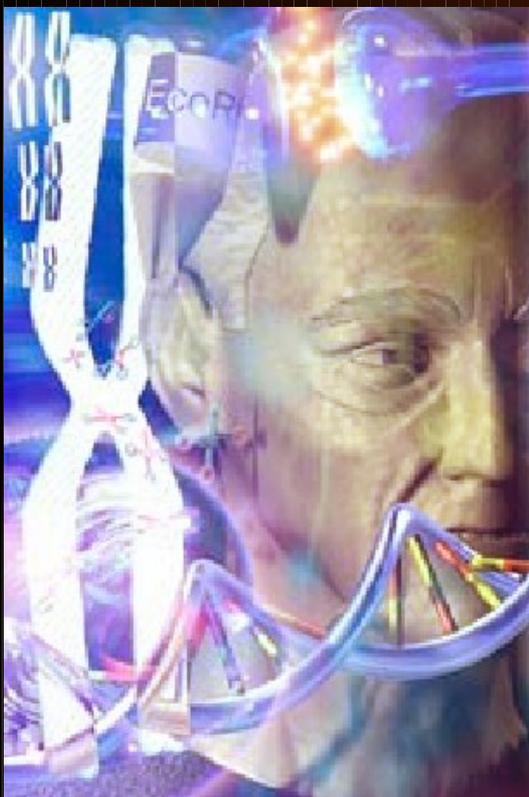
| Организм | Частота мутаций на гамету на одну генерацию |
|---|--|
| <u><i>Escherichia coli</i></u> Устойчивость к стрептомицину | 10^{-9} * |
| <u><i>Drosophila melanogaster</i></u> Коричневые глаза | $3 \cdot 10^{-5}$ |
| <u><i>Homo sapiens</i></u> Ахондроплазия Ретинобластома Мышечная дистрофия | $\sim 1 \cdot 10^{-5}$ |

* на клетку на одну генерацию

Спонтанный мутагенез

Уровень спонтанного мутагенеза специфичен для каждого вида и контролируется на генетическом уровне.

Уровень спонтанного мутагенеза является результатом баланса между возникновением и исправлением ошибок.



Геном человека содержит
 3×10^9 пар нуклеотидов.

Организм человека состоит
из 10^{14} клеток.

Ко взрослому возрасту в
клетках организма человека
накапливается 10^{15} мутаций.

Продолжительность жизни
человека $\sim 2 \times 10^9$ с.

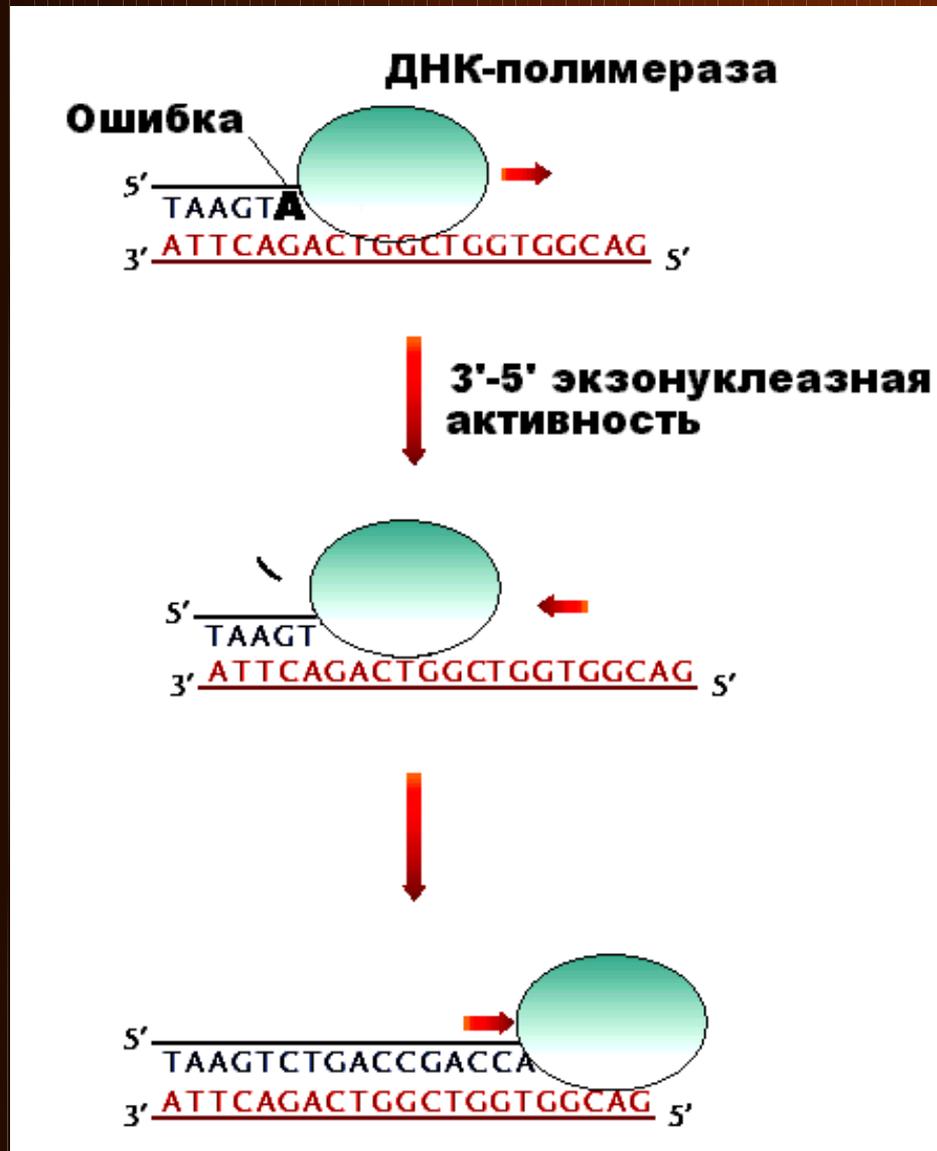
Наша планета
существует $\sim 10^{17}$ с.

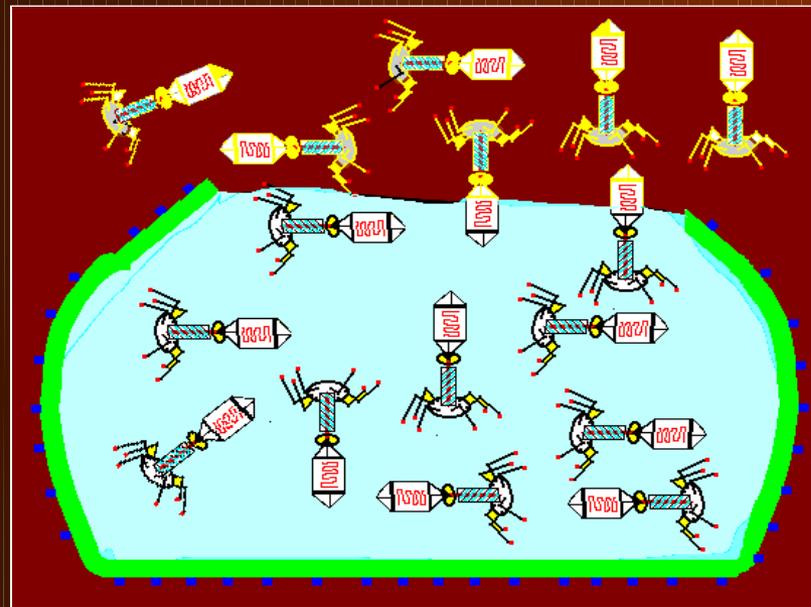
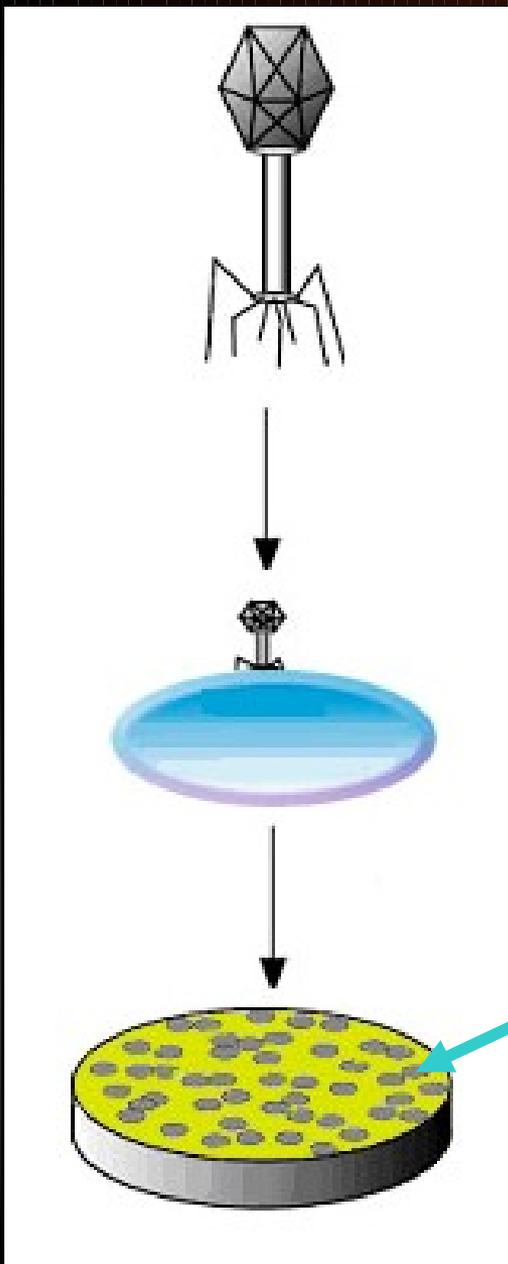
Причины возникновения спонтанных мутаций

- **Генетические процессы – репликация, репарация и рекомбинация.**
- **Химическая модификация оснований ДНК и их утрата.**
- **Окислительные нарушения ДНК (активные формы кислорода - перекись водорода, супероксид и др).**
- **Транспозиция мигрирующих элементов.**

- Главным источником спонтанных мутаций являются ошибки ДНК-полимеразы

3'-5'-экзонуклеазная активность ДНК-полимеразы корректирует ошибочно встроенные основания

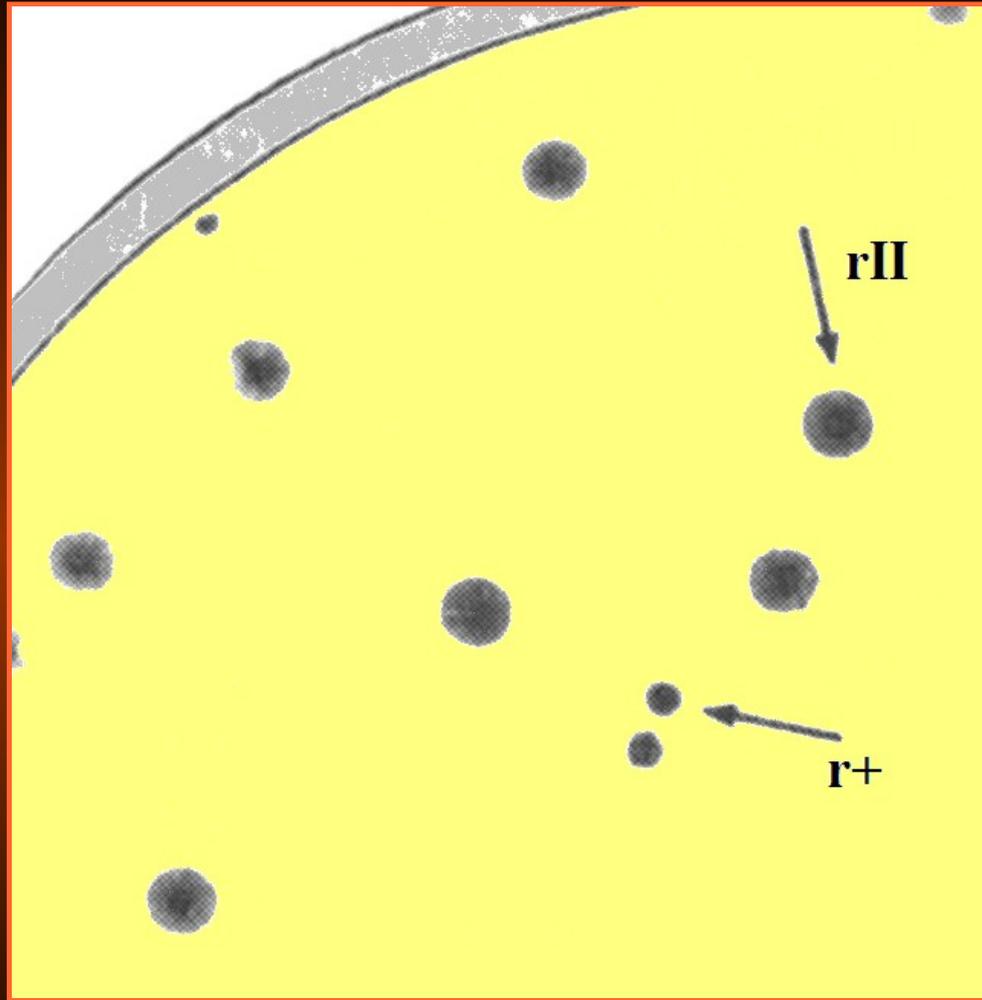




Лизис бактерии и выход фагового потомства

Каждая **негативная колония** (стерильное пятно, бляшка) — результат размножения и лизиса многих бактерий потомством одной фаговой частицы.

Мутанты rII фага T4 образуют на газоне *E.coli* более крупные по сравнению с диким типом негативные колонии



Частота возникновения rII-мутантов составляет около 10^{-4}

Морфология стерильных пятен фага T4 дикого типа (r+) и мутанта rII

Мутаторный и антимутаторный эффект *ts*-мутаций по гену 43 фага T4

1. Были получены температурочувствительные мутанты фага T4, которые характеризовались изменением уровня частот образования крупных стерильных пятен. У одних мутантов был повышен уровень мутабельности по гену *rII*, у других – понижен.
2. У мутантов обоих типов мутации были локализованы в гене 43, который кодирует ДНК-полимеразу.

Мутаторный и антимутаторный эффект ts-мутаций по гену 43 фага T4

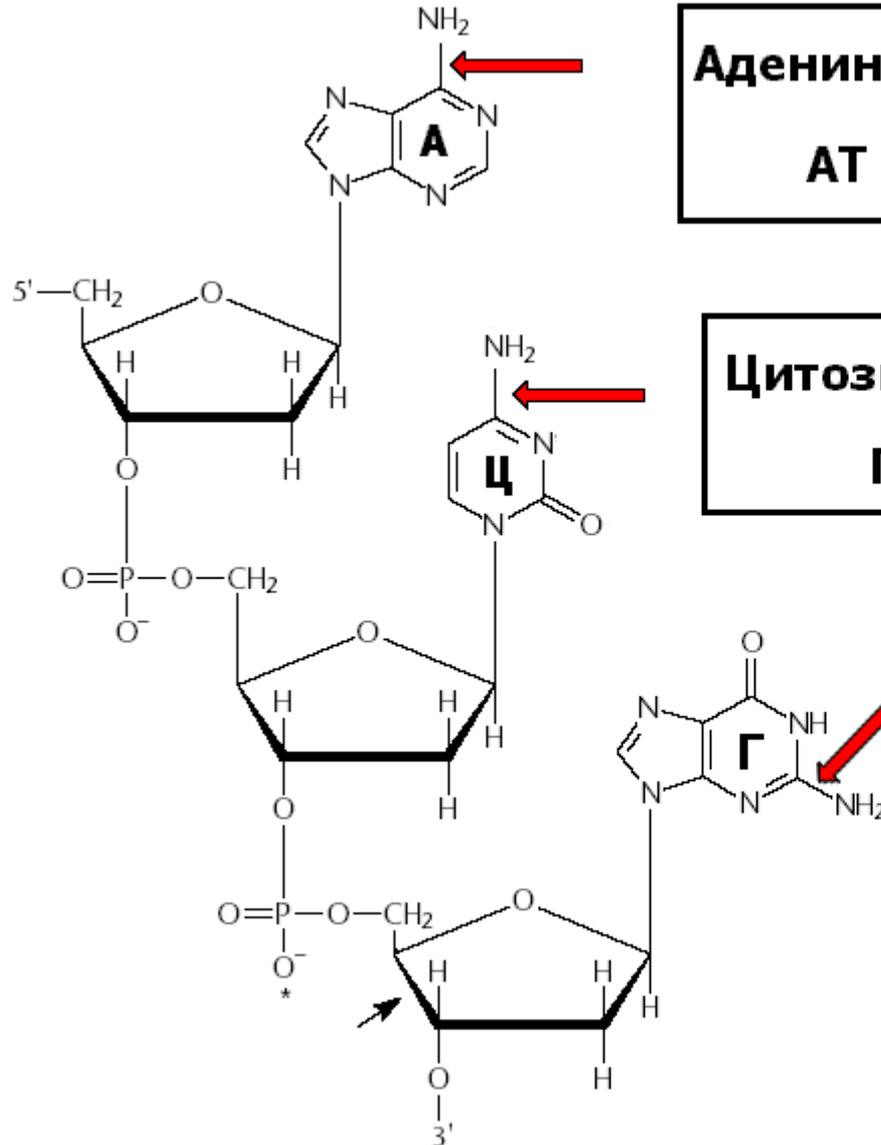
| ts-мутация | Частота мутаций r+→rII (%) | Тип ts-мутации | ДНК-полимеразная активность (%) | 3'-5'-экзонуклеазная активность (%) |
|------------|----------------------------|----------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| L56 | 3000 | мутатор | ~100 | 20 |
| A58 | 20 | анти-мутатор | 25 | ~100 |
| Дикий тип | 100 (10 ⁻⁴) | норма | 100 | 100 |

Механизмы поддержания генетической стабильности, связанные с репликацией ДНК у *E.coli*

| Механизм | Совокупный эффект на частоту ошибок |
|---|--|
| Спаривание оснований | $\sim 10^{-1} - 10^{-2}$ |
| ДНК-полимераза (селекция оснований и 3'-5'-экзонуклеазная активность) | $\sim 10^{-5} - 10^{-6}$ |
| Вспомогательные белки (SSB и другие) | $\sim 10^{-7}$ |
| Пострепликативная коррекция неспаренных оснований | $\sim 10^{-10}$ |

**Другие спонтанные нарушения,
приводящие к повреждениям
ДНК**

Образование транзиций в результате дезаминирования оснований

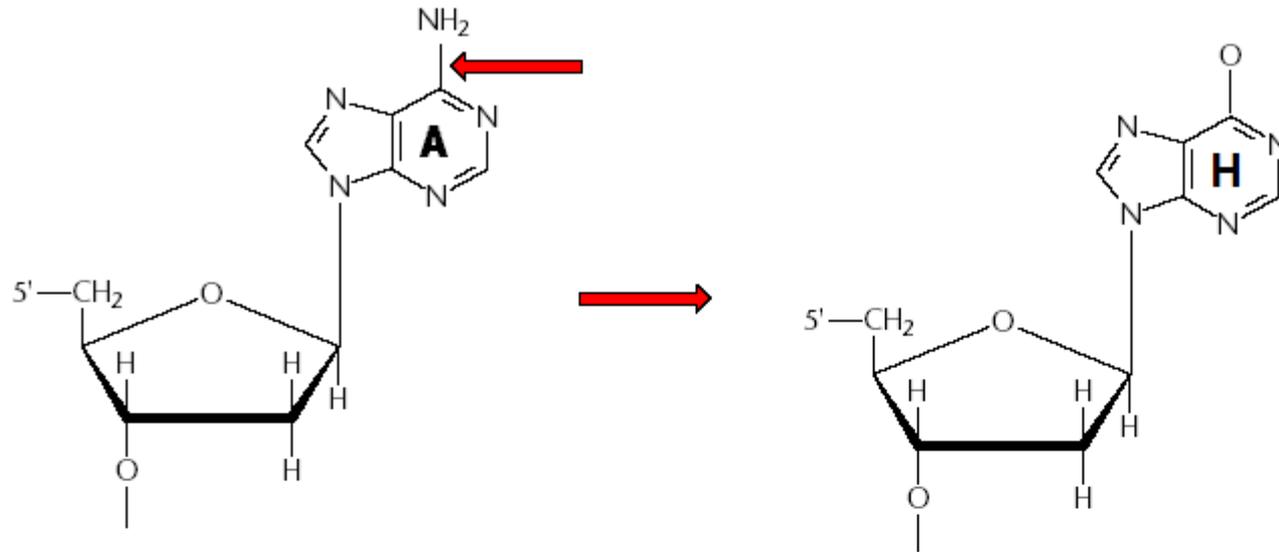


Аденин \longrightarrow Гипоксантин
АТ \longrightarrow ГЦ (транзиция)

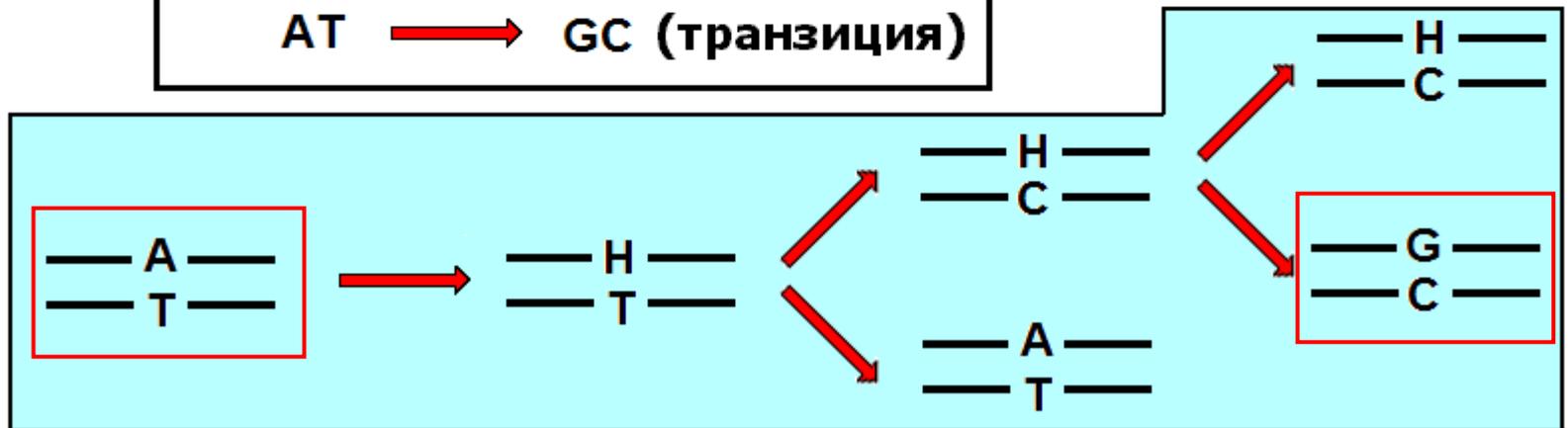
Цитозин \longrightarrow Урацил
ГЦ \longrightarrow АТ (транзиция)

Гуанин \longrightarrow Ксантин
ГЦ \longrightarrow ГЦ

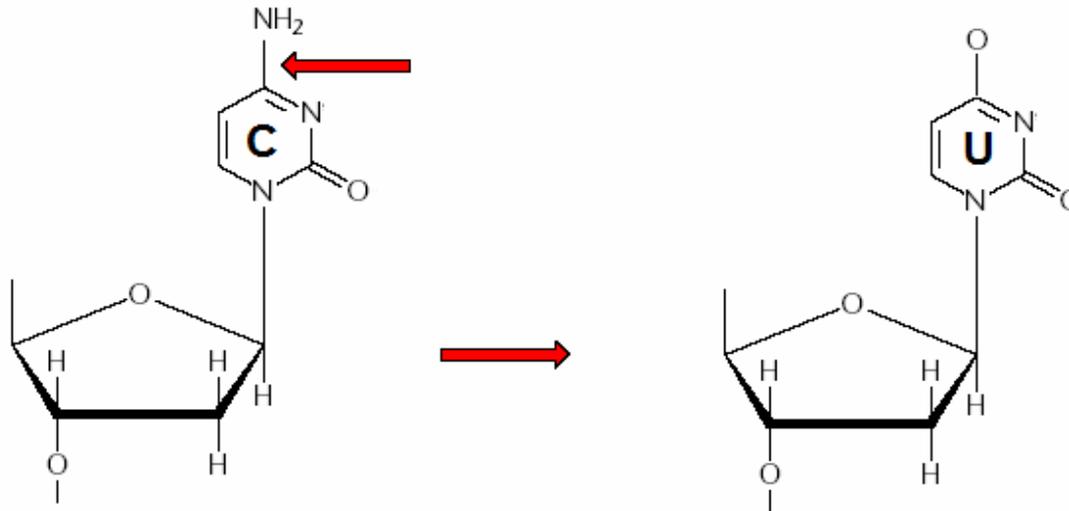
Образование транзиций в результате дезаминирования оснований



Аденин → Гипоксантин
АТ → GC (транзигия)

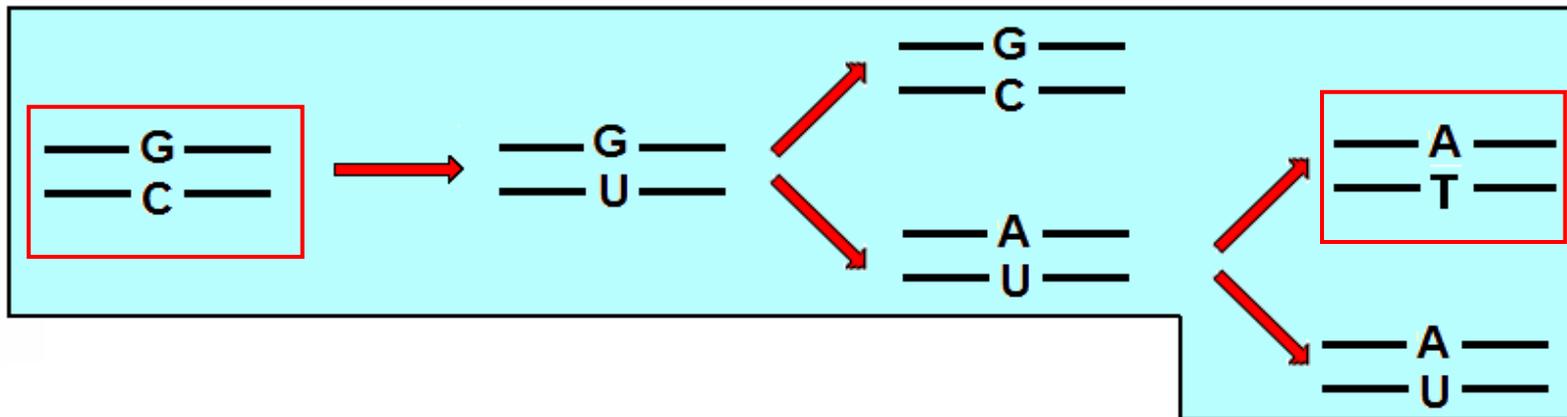


Образование транзиций в результате дезаминирования оснований

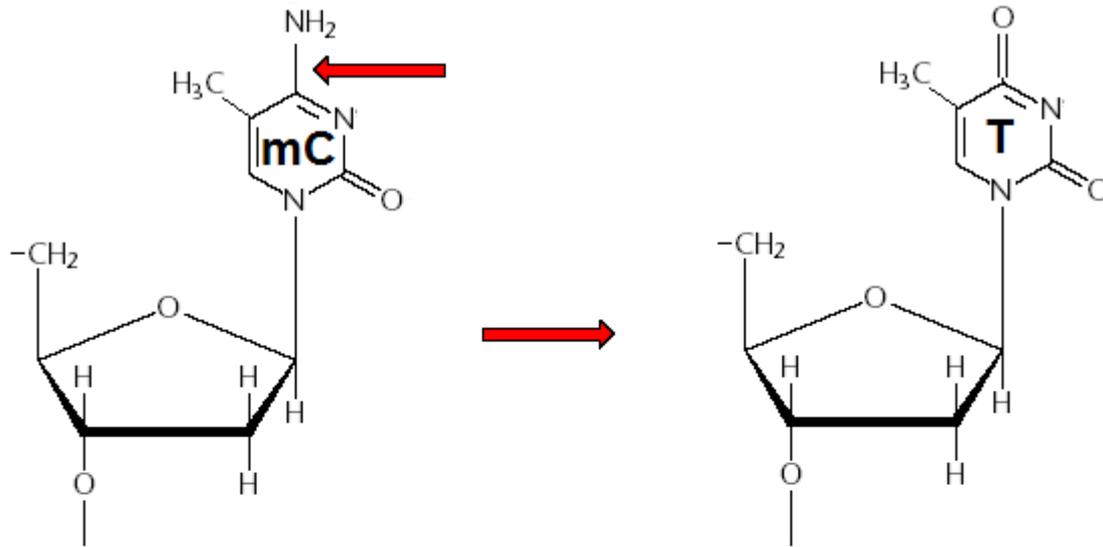


Цитозин → Урацил
GC → AT (транзигия)

В клетках млекопитающих дезаминирование цитозина происходит со скоростью 1000 оснований на клетку за сутки

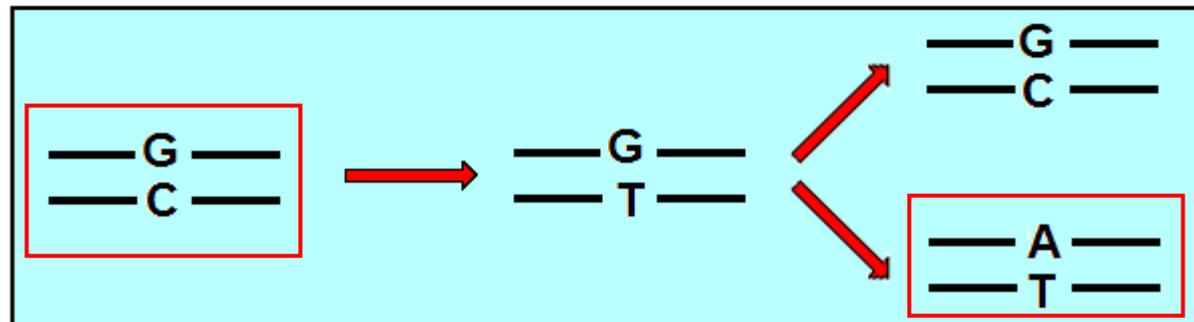


Образование транзиций в результате дезаминирования оснований

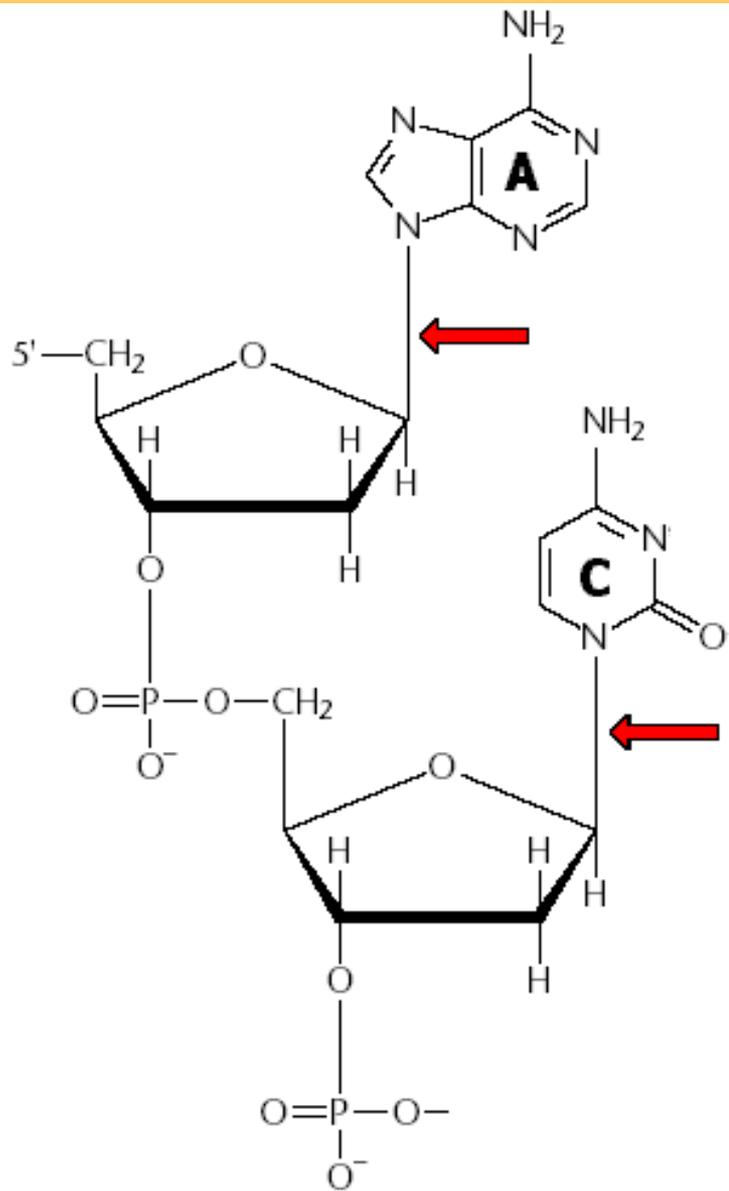


Метилцитозин \longrightarrow Тимин

GC \longrightarrow AT (транзиция)

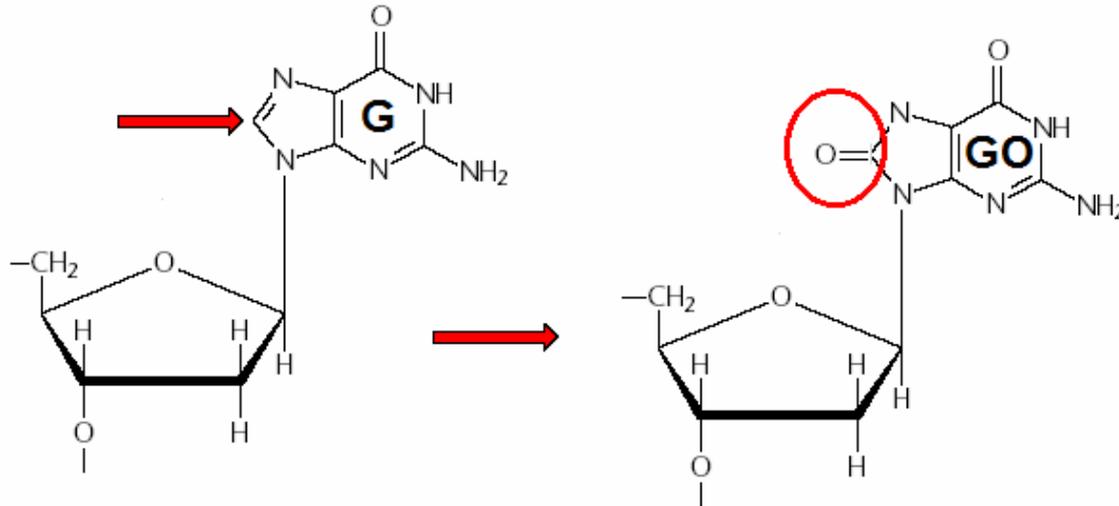


Образование апиридиновых и апуриновых сайтов в результате гидролиза гликозидной связи между основанием и дезоксирибозой



В каждой клетке млекопитающих за одну 20-ти часовую генерацию происходит образование около 10000 апуриновых сайтов и около 500 – апиридиновых.

Окислительные повреждения ДНК

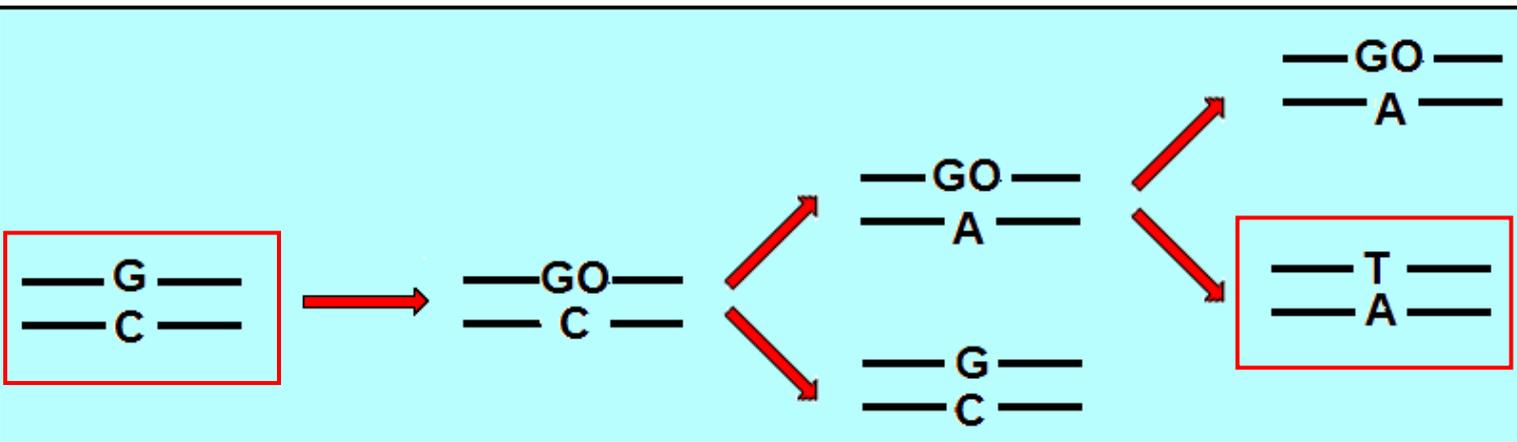


Гуанин

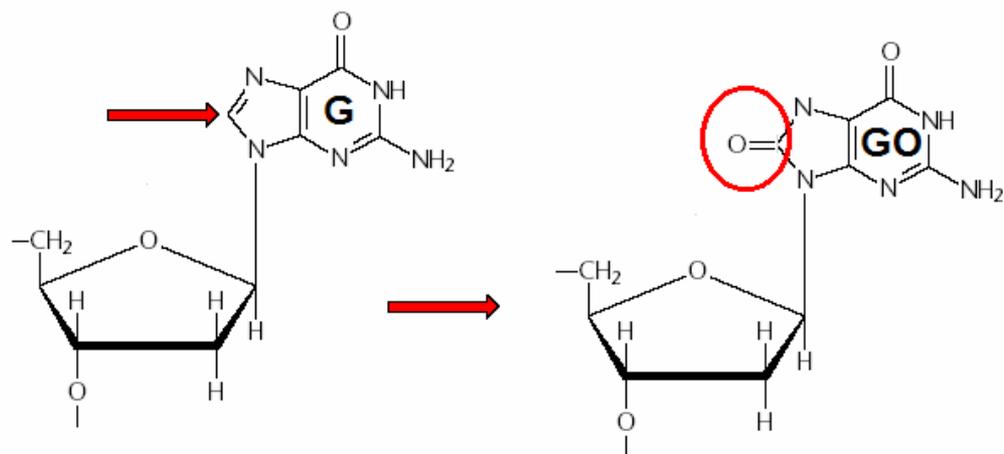


8-оксигуанин

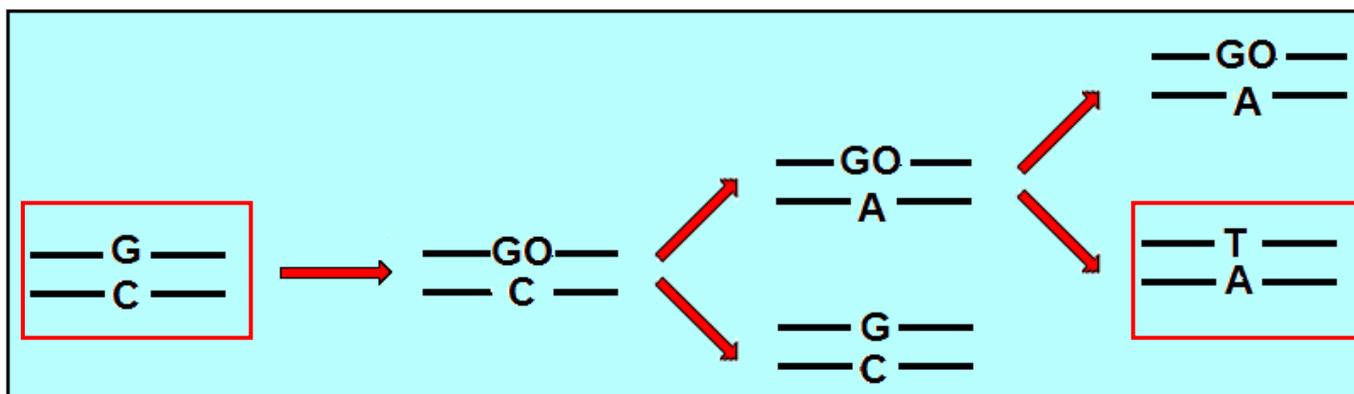
GC → TA (трансверсия)



Окислительные повреждения ДНК



Гуанин \longrightarrow 8-оксигуанин
GC \longrightarrow TA (трансверсия)



Количество окислительных повреждений ДНК составляет от нескольких сотен до нескольких десятков тысяч на клетку (млекопитающих) за сутки.

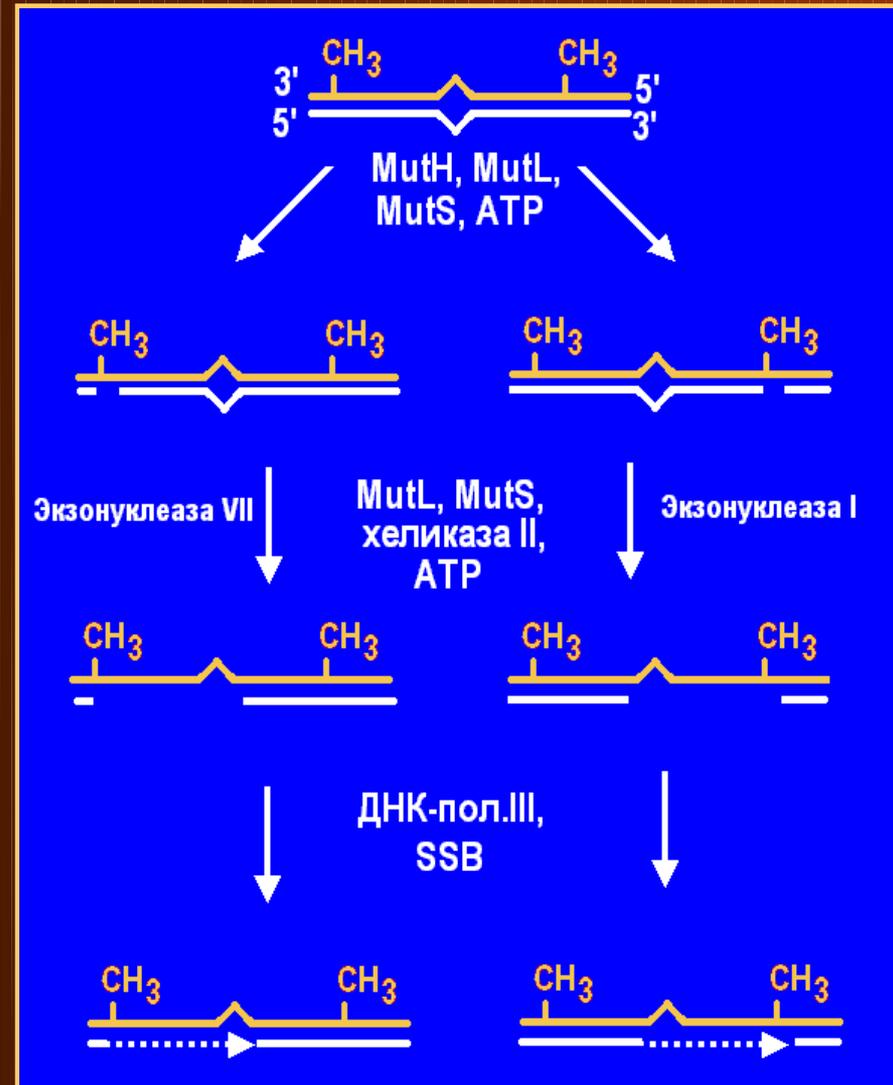
Репарация неспаренных оснований

Хеликаза II = UvrD=MutU

Эксонуклеаза I – 3'-5'-активность

Эксонуклеаза VII – 5'-3'-активность

dam, mutH, mutL, mutS,
mutU - мутаторы



Мутагенность и канцерогенность

- Большая часть канцерогенов является также и мутагенами.
- Эти агенты вызывают рак в соматических клетках, индуцируя в них мутации.

Мутагенность и канцерогенность

- У человека есть набор генов, так называемых генов-супрессоров опухолей (например ген p53).
- Эти гены кодируют белки, подавляющие образование опухолей.
- У значительной части больных раком гены-супрессоры опухолей содержат мутации.

Мутагенность и канцерогенность



Рекомендуемая литература

Дополнительная

**Блохин Д.Ю. Как убить бессмертную клетку.
Химия и жизнь, 2009, 3: 20-25.**