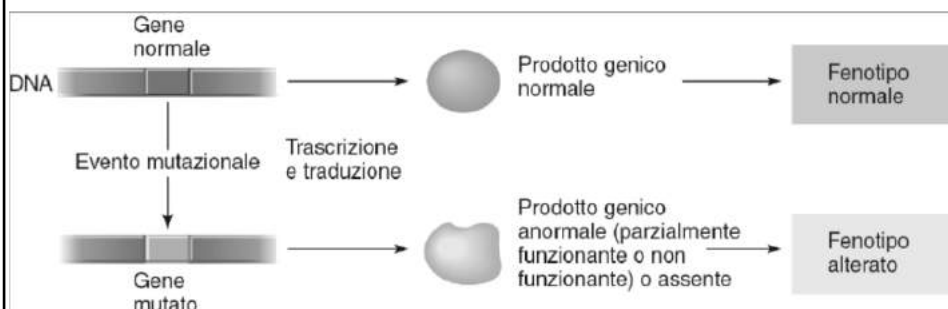


## 9. Le Mutazioni ed i sistemi di Riparazione del DNA

*contiene materiale protetto da copyright, ad esclusivo uso personale; non è consentita diffusione ed utilizzo di tipo commerciale*

## LE MUTAZIONI



Polimorfismi

### Alterazioni fenotipiche

Basi molecolari della variabilità genetica

Mutazioni sporadiche

### Alterazioni funzionali

Basi molecolari delle malattie genetiche

**Le mutazioni possono originarsi da appaiamenti non corretti durante la replicazione.**

**Il tasso di errore è di 1 nucleotide errato su  $10^7$  incorporati**

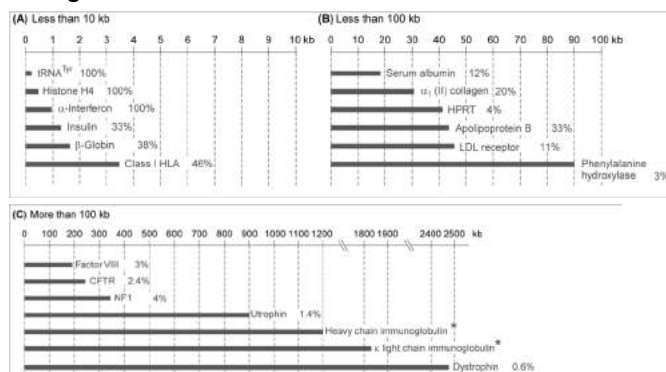
## DISTRIBUZIONE GENOMICA DELLE MUTAZIONI

Le mutazioni non sono distribuite casualmente ed uniformemente nel genoma.

L'incidenza delle mutazioni nei diversi loci dipende da diversi fattori:

- dimensione del locus considerato
- capacità codificante o meno
- caratteristiche di sequenza.

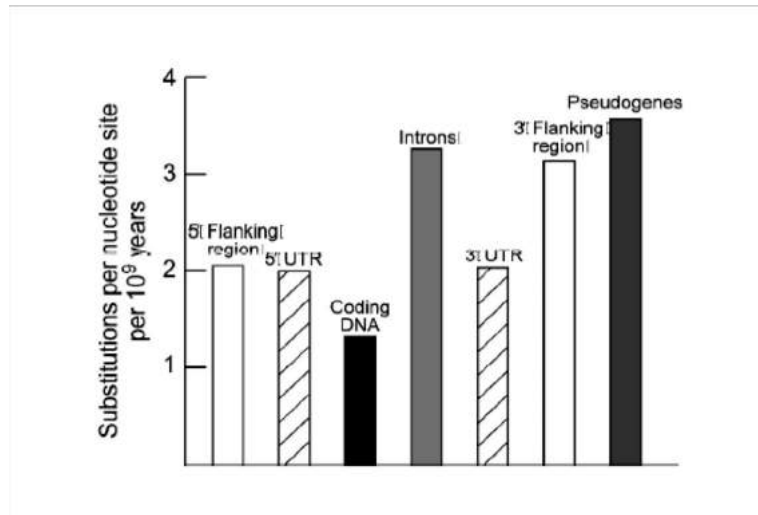
### Grandezza dei geni



ZONE CALDE DI VARIABILITA'

(HOT SPOTS MUTAZIONALI)

Il tasso di mutazione varia in regioni geniche diverse



## Classificazione delle MUTAZIONI

***TIPO CELLULARE DA CUI HANNO ORIGINE***

***ESTENSIONE DELLA REGIONE BERSAGLIO***

***SPONTANEE O INDOTTE***

## **TIPO CELLULARE DA CUI HANNO ORIGINE**

### **Mutazioni somatiche:**

compaiono nelle cellule somatiche (non destinate alla riproduzione gamica)

sono osservabili direttamente

in genere terminano con la morte dell' individuo:

Non trasmissibili (es.: tumori).

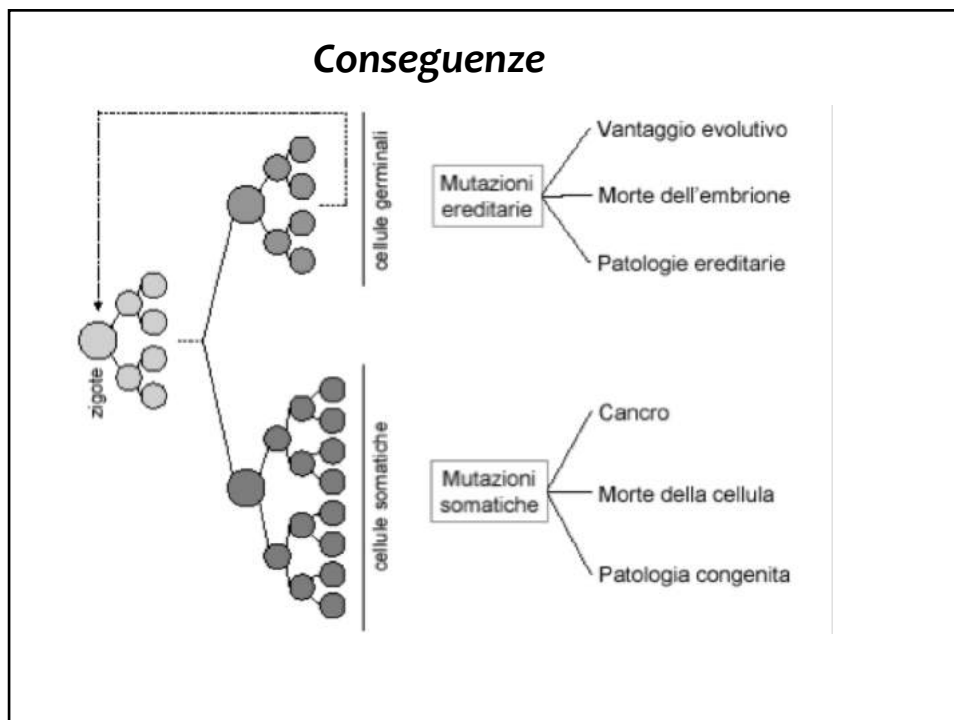
### **Mutazioni ereditarie:**

alterano il patrimonio genetico

vengono trasmesse ai discendenti nei quali si

riscontrano i loro effetti, che colpiscono tutte le

cellule.



***ESTENSIONE DELLA REGIONE BERSAGLIO***

**3 tipi di mutazioni:**

**mutazioni geniche**

**mutazioni cromosomiche**

**mutazioni genomiche**

**Mutazioni geniche (o puntiformi)**

cambiamenti nella sequenza delle basi con conseguente alterazione dell' informazione genetica ivi residente.

dovute in gran parte alla **sostituzione** di una singola base nucleotidica del DNA con un'altra

Altri tipi di mutazione si originano in seguito alla perdita (**delezione**) o alla **inserzione** di una base nel filamento del DNA

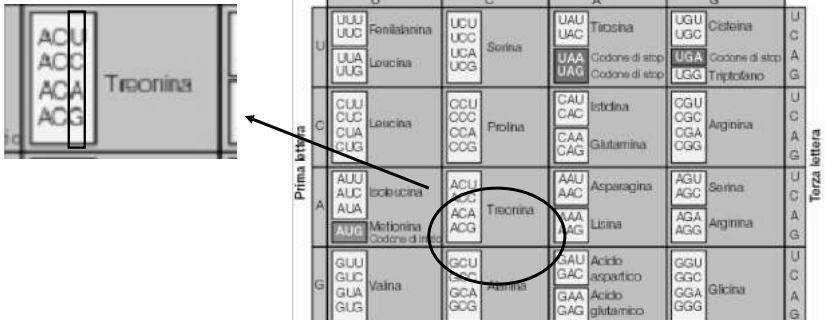
## Sostituzione di una base nucleotidica con un' altra

La sostituzione di una base può avere conseguenze più o meno grandi sul prodotto finale (la proteina specificata da quel gene). In base alle conseguenze se ne distinguono tre tipi

- **mutazioni silenti**
- **mutazioni di senso**
- **mutazioni non senso**

**Mutazioni silenti.** Se in seguito alla sostituzione di una base si ottiene una tripletta che specifica per lo stesso aminoacido la proteina prodotta sarà la stessa

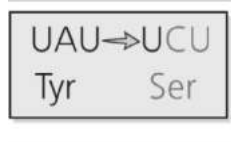
*Fino a quattro diverse triplette specificano lo stesso aminoacido (il codice genetico è degenerato)*



		Seconda lettera						
		U	C	A	G			
U	UUU	Fenilalanina	Serina	UAU	Tirosina	UGU	Cisteina	
	UUC			UAC		UGC		
	UUA	Leucina		UAA	Codone di stop	UGA	Codone di stop	
C	CUU	Leucina	CCU	Prolina	CAU	Istidina	CGU	Arginina
	CUC			CAC		CGC		
	CUA			CAA	Glutamina	CGA	Arginina	
A	AUU	Isoleucina	ACU	Treonina	AAU	Asparagina	AGU	Serina
	AUC		ACC		AAAC		AGC	
	AUA		ACA		AAA	Lisina	AGA	Arginina
G	AUG	Metionina Codone di inizio	ACG		UAG	Codone di stop	AGG	Arginina
	GUU	Valina	CCU	Prolina	GAU	Acido aspartico	GGU	Glicina
	GUC			GAC		GGC		
GUA			GCA	Alanina	GAA	Acido glutamico	GGG	
G	GUG		GCG		GAG			

Le sostituzioni silenti riguardano la **terza base del codone**, quella che varia tra codoni diversi che specificano lo stesso aminoacido

**Mutazioni di senso.** Nella maggior parte dei casi la nuova tripletta codifica per un diverso aminoacido

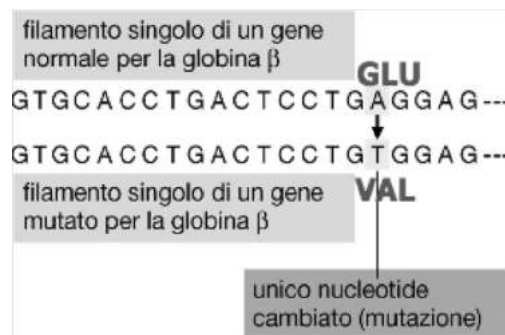


La proteina avrà quindi lo stesso numero di aminoacidi ma una sequenza che differisce per un aminoacido

la gravità degli effetti di una sostituzione dipenderà dalla **somiglianza** tra l' aminoacido sostituito e il nuovo e dalla **posizione** della sostituzione

*valina al posto di glutammato in posizione 6*

**anemia falciforme**



### Mutazioni nonsense.

Se il nuovo codone che si forma dalla sostituzione codifica per il segnale di stop avremo una proteina più corta della precedente (dipende dal punto in cui è avvenuta la sostituzione)

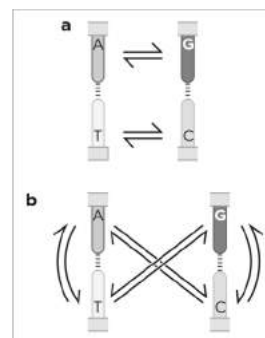


### Mutazioni Puntiformi

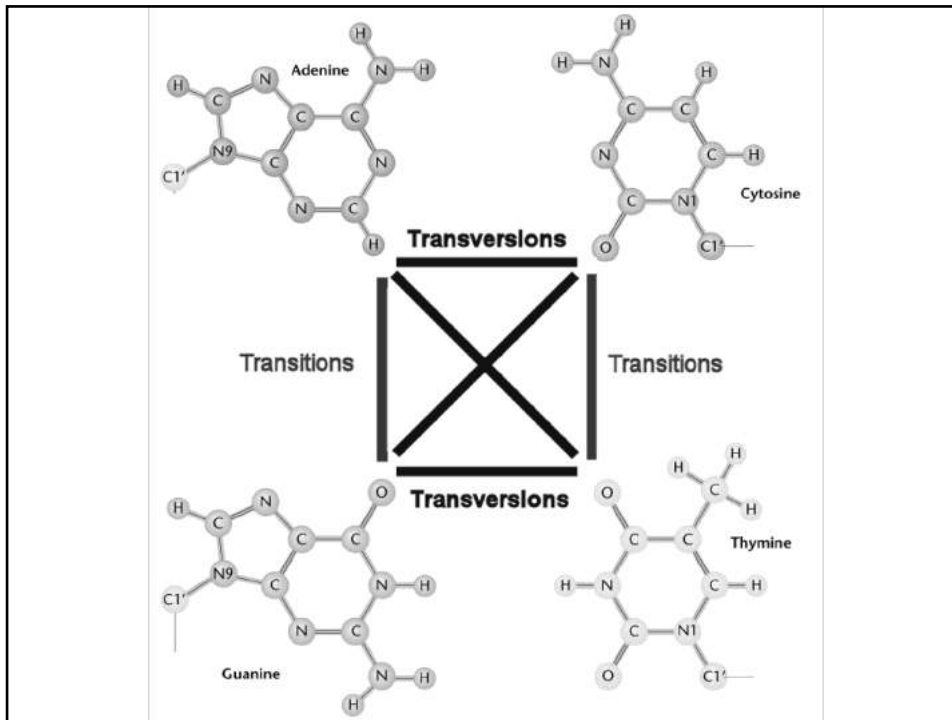
**TRANSIZIONI** → Primidina/Primidina T → C  
Purina/Purina A → G

**TRANSVERSIONI** → Purina/Primidina T → G o A  
A → T o C

**INSERIMENTO O DELEZIONE DI UNA BASE**







### Delezione o inserzione di una base

(mutazioni per spostamento della griglia di lettura)

**Errore per inserzione di una base in più nella sequenza del DNA.**

**Errore per perdita di una base** (durante la replicazione o durante la riparazione del DNA)

In entrambi i casi la lettura di **tutta la sequenza che segue** viene **completamente alterata**

↖ A (inserzione)

A U G	A G G	A C U	C C C	G G A	U U A
Met	Arg	Thr	Pro	Gly	Leu

A U G	A G G	A A C	U C C	C G G	A U U	A
	Asp	Ser	Arg	Iso		

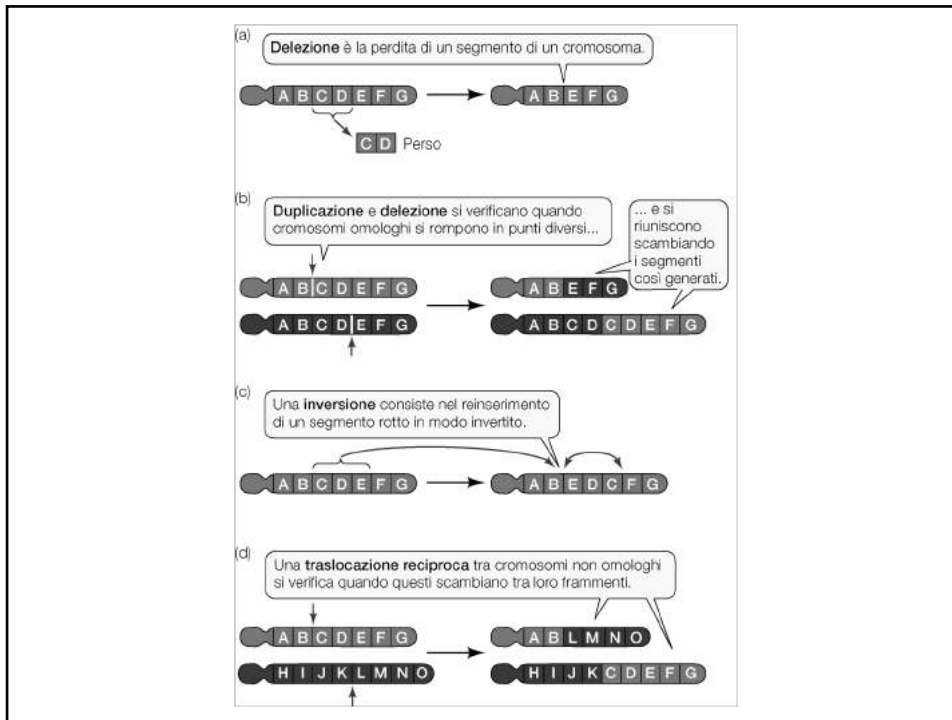
#### (D) Mutazione frameshift

<b>Sequenza normale delle basi:</b>	ATG AAA GAG UAU Met Lys Glu Tyr
<b>Aggiunta di una base:</b>	ATG AAG AGA GUA U Met Lys Arg Val
<b>Delezione di una base (manca una A):</b>	ATG AAG AGU AU Met Lys Ser

### Mutazioni cromosomiche

Esistono 4 tipi principali di mutazione della struttura dei cromosomi

- **delezione**
- **duplicazione**
- **inversione**
- **traslocazione**



**Delezione.** Parte del cromosoma (e quindi delle basi del DNA) viene perduta. Tutti i geni contenuti nella parte interessata dalla delezione vanno persi e quindi non possono esprimersi nel fenotipo

1) **abcdefghijklmnopqrstuvz**

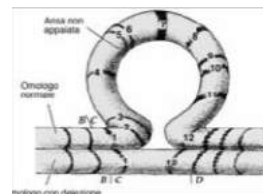
2) **abcdefghijklmnopqrstvz**

**tu**

Cromosomi più corti

Formazione di un'ansa alla meiosi di una delezione eterozigote


La delezione di un segmento cromosomico contenente il centromero causa in meiosi la perdita dell'intero cromosoma



**Duplicazione.** Parte del cromosoma viene duplicata. I geni contenuti nella parte interessata sono duplicati. La cellula contiene tre o quattro copie di ciascun gene. Danni alla cellula: sistemi di regolazione alterati

- 1) **abcdefghijklmnopqrstuvz**
- 2) **abcdefgefghilmnopqrstuvz**

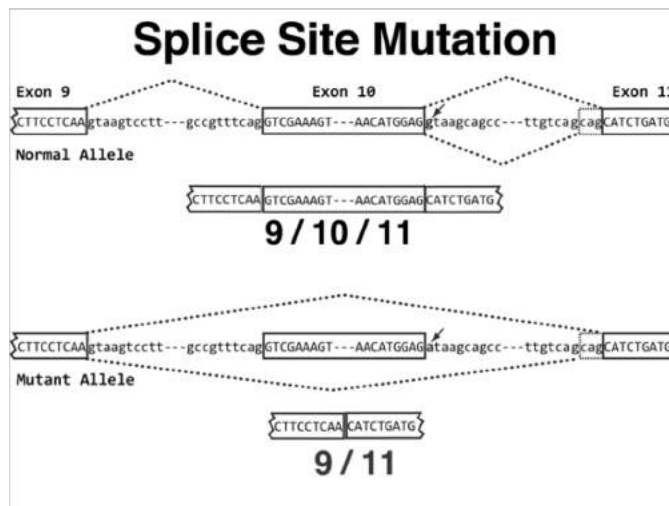
**Inversione.** In seguito ad una rottura, una parte del cromosoma viene riunita in posizione invertita. Non ci sono gravi conseguenze per la cellula. **Ma non può avvenire crossing over:** non si appaia con cromosoma omologo

- 1) **abcdefghijklmnopqrstuvz**
  - 2) **abcdefghijklmnop   stuvz**
  - 3) **abcdefghijklmnopqrstuvz**
- 

**Traslocazione.** In seguito ad una rottura, una parte del cromosoma si stacca e viene inserito in un cromosoma diverso. Le traslocazione possono rendere complicato l' **appaiamento dei cromosomi** durante la meiosi



**MUTAZIONI CHE ALTERANO LO SPLICING**



## **SPONTANEE O INDOTTE**

*spontanee:*

### **Duplicazione**

3 miliardi di coppie di basi devono essere replicate ad ogni divisione cellulare, in un periodo di 2-3 ore.

**Con una velocità di circa 100.000 bp/sec.**

Avvengono casualmente degli errori

### **Ricombinazione**

Processo fondamentale per generare “diversità biologica”, a causa della struttura di particolari regioni genomiche, è un'altra fonte di possibili errori.

### **Segregazione**

Processo finale della mitosi e della meiosi.

Avvengono casualmente degli errori che portano ad una errata ripartizione dei cromosomi

**indotte da agenti mutageni di natura fisica o chimica:**

**1) Radiazioni ionizzanti:** secondo intensità e durata possono causare mutazioni

- cromosomiche (**traslocazioni e delezioni**)

- geniche (alleli mutati dannosi, attivazione di alleli letali, ...)

- somatiche (tumori, ...)

**1) Raggi ultravioletti** (UV, spec. tipo B e C): causano fenomeni di inserzione-delezione, alterando il codice (es. sterilità e neoplasie maligne).

**2) Agenti alchilanti:** composti chimici con azione mutagena efficace, causano **aploidizzazioni** e mutazioni genomiche (es. iprite, azoiprite, e i solfonati di etile ⇒ impiego bellico).

**3) Agenti alteranti della mitosi** (colchicina, idrato di cloralio, ...): intervengono nella mitosi provocando **poliploidizzazione**. Sostitutori di N-basi (bromuracile, acido nitroso, etasolfonato di etile, NH<sub>2</sub>OH): causano sostituzioni di N-basi.

## DANNI AL DNA



Type of Damage: Double-strand break

- Common Causes:
- Normal cellular activity
  - Ionizing radiation (including X-rays)
  - Chemotherapeutic drugs
  - DNA repair of other types of damage

Chemical bond between neighboring nucleotides

- Ultraviolet (UV) light

Chemical modification of a nucleotide

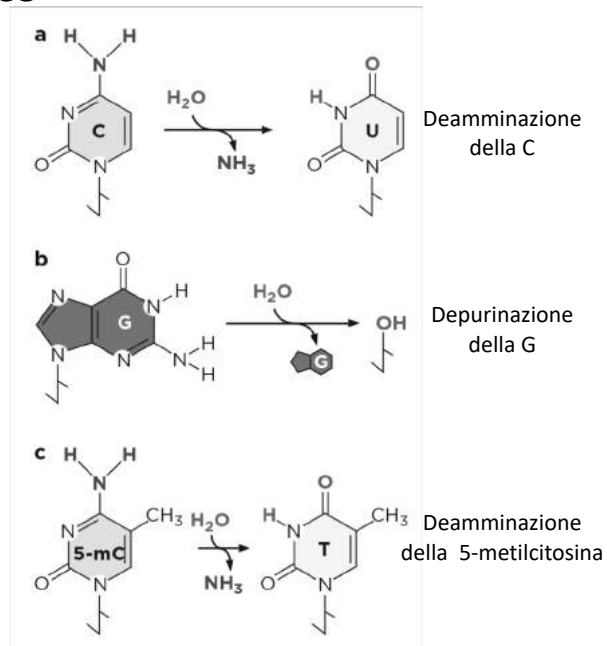
- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals
- Normal modifications that regulate what genes are active

Chemical Linkage of Two Strands

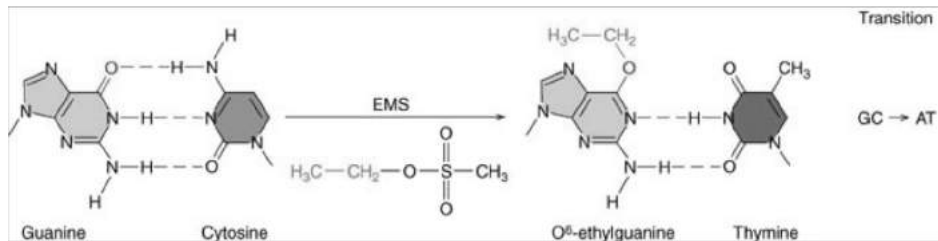
- Reactive oxygen species (ROS)
- Chemotherapeutic drugs
- Other cellular and environmental chemicals

## 1. DANNO IDROLITICO

H<sub>2</sub>O può provocare delle mutazioni spontanee del DNA

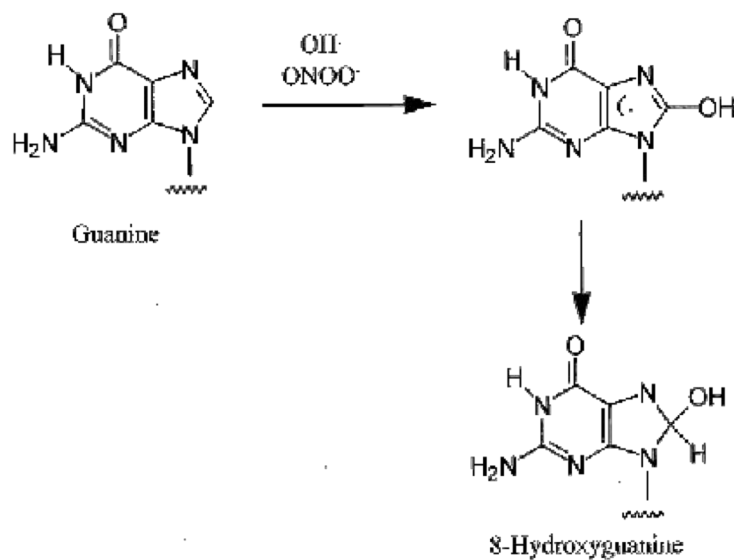


## 2. ALCHILAZIONE



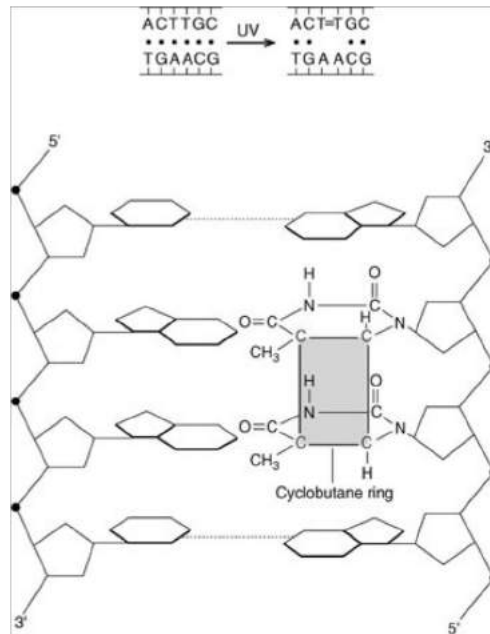
**Ossidazione:** Il DNA viene attaccato da forme di ossigeno reattive ( $O_2^{\cdot -}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$ ) Sono generati da radiazioni ionizzanti e da agenti chimici che generano radicali liberi.

## 3. OSSIDAZIONE



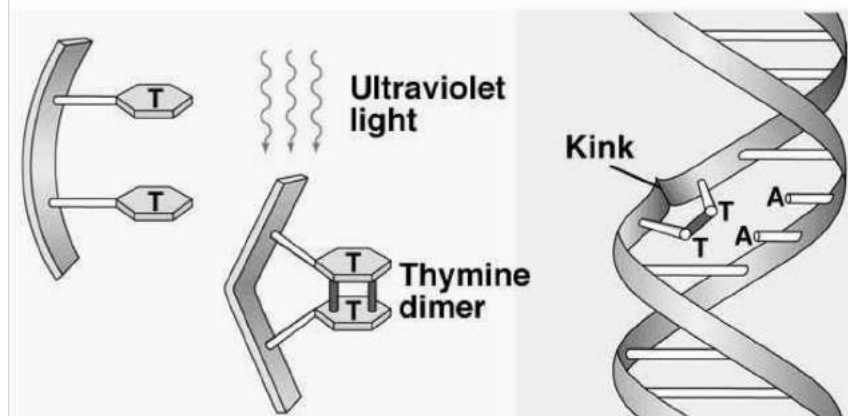


#### 4. RADIAZIONI

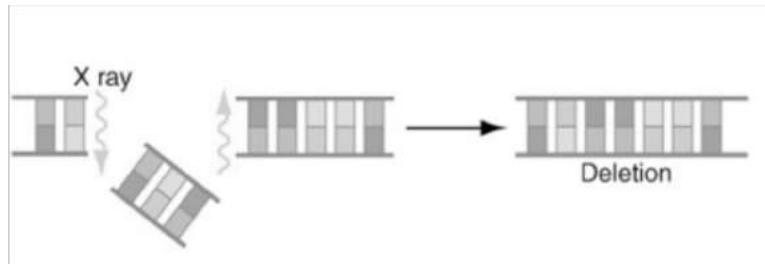


**RADIAZIONI UV**

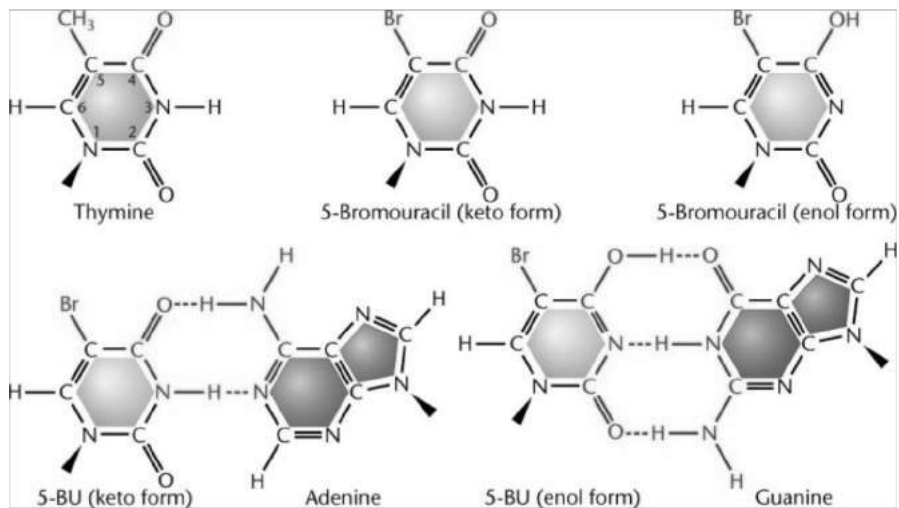
#### Pyrimidine Dimer



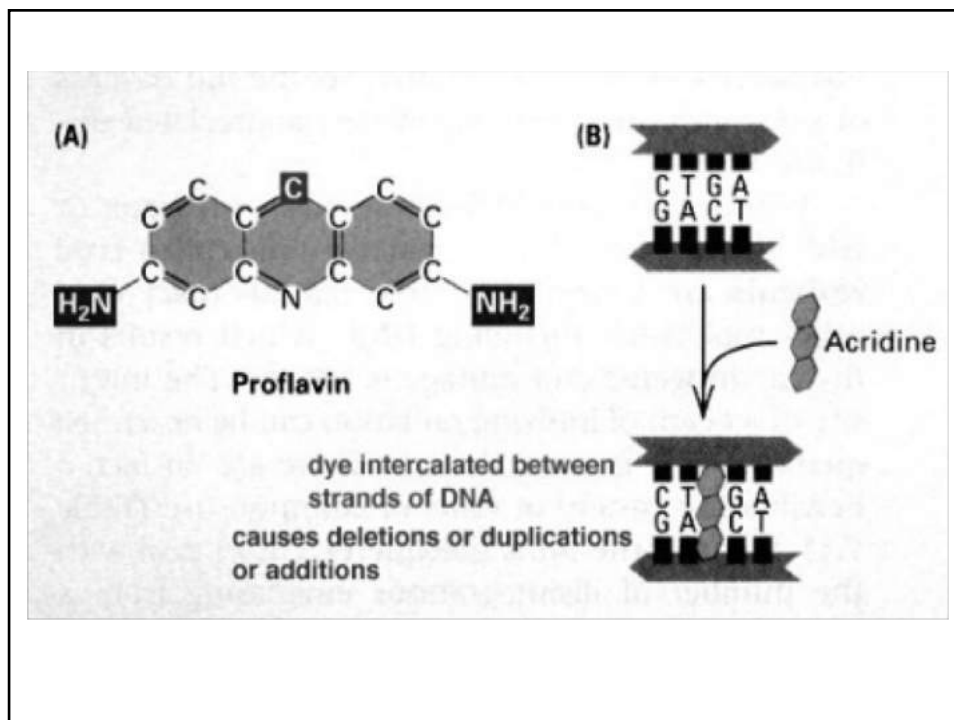
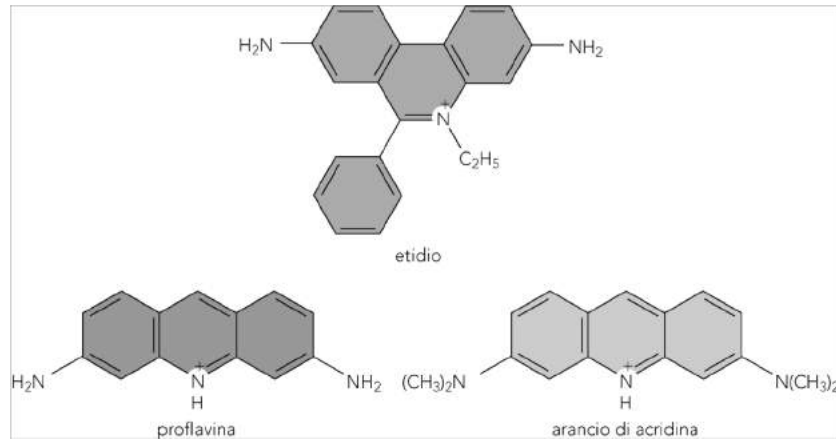
## RAGGI X

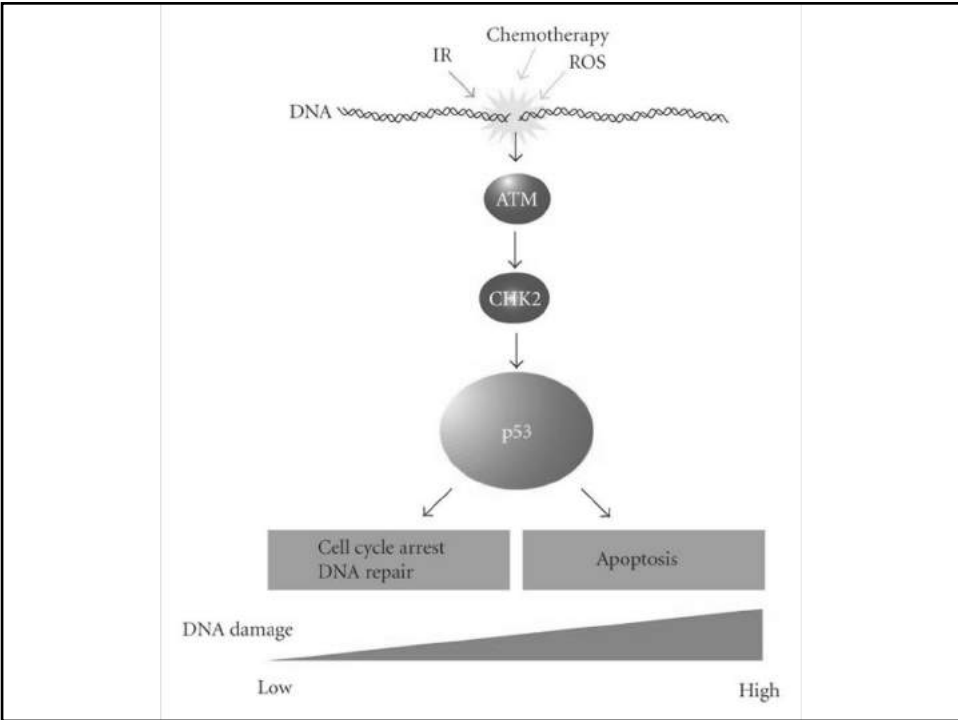
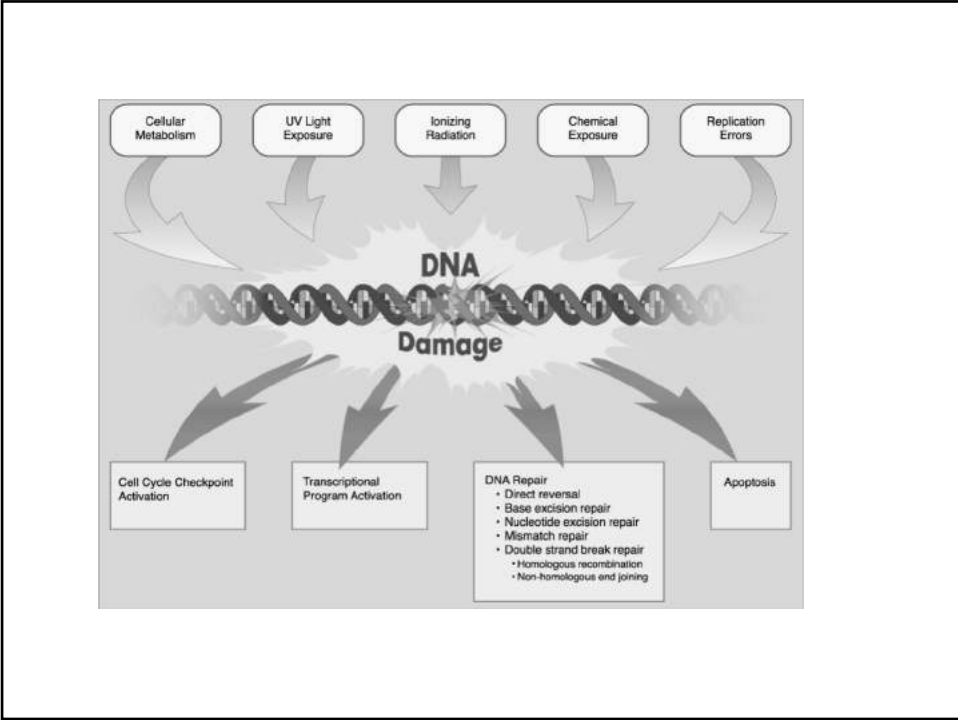


## 5. ANALOGHI DELLE BASI



## 5. AGENTI INTERCALANDTI





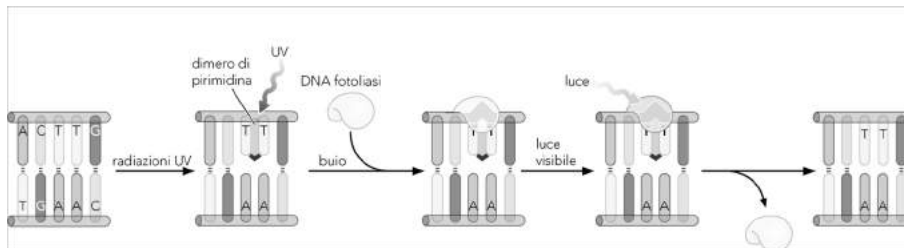
## **SISTEMI DI RIPARAZIONE DEL DANNO AL DNA**

- **Riparazione diretta:**
  - Fotoriattivazione*
  - Rimozione del gruppo metilico*
- **Riparazione per escissione**
- **Riparazione per Ricombinazione**

## Riparazione diretta:

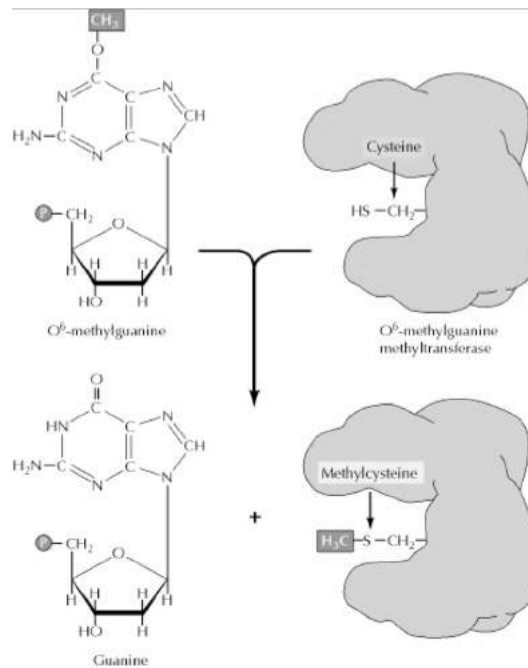
**Fotoriattivazione**

**RISOLUZIONE DEI DIMERI DI  
TIMINA CAUSATI DA UV**

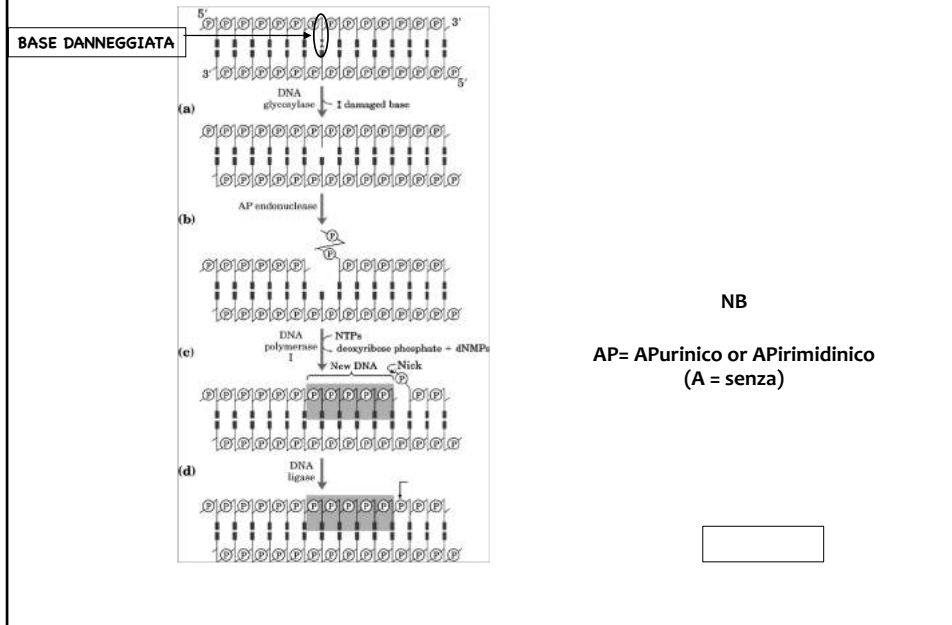


## Riparazione diretta:

**Rimozione del gruppo metilico  
RISOLUZIONE ALCHILAZIONE**



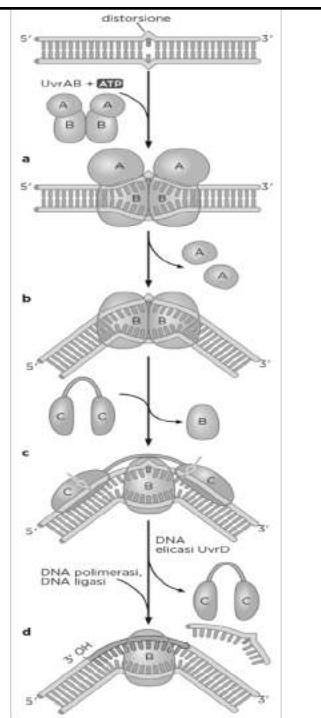
## Riparazione per escissione *delle BASI* BER: Base Excision Repair



## Riparazione per escissione dei **NUCLEOTIDI (NER)**

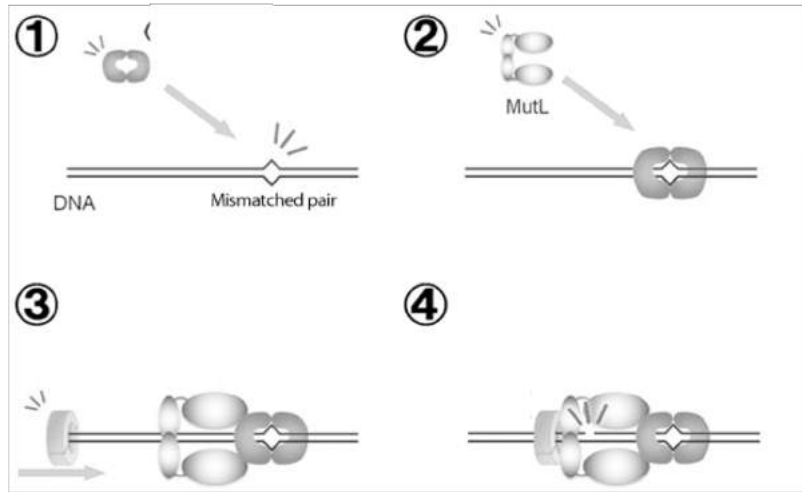
In *E. coli* intervengono 4 proteine:  
**UvrA, UvrB, UvrC e UvrD**

*negli eucarioti il sistema è simile  
ma intervengono altre proteine!*

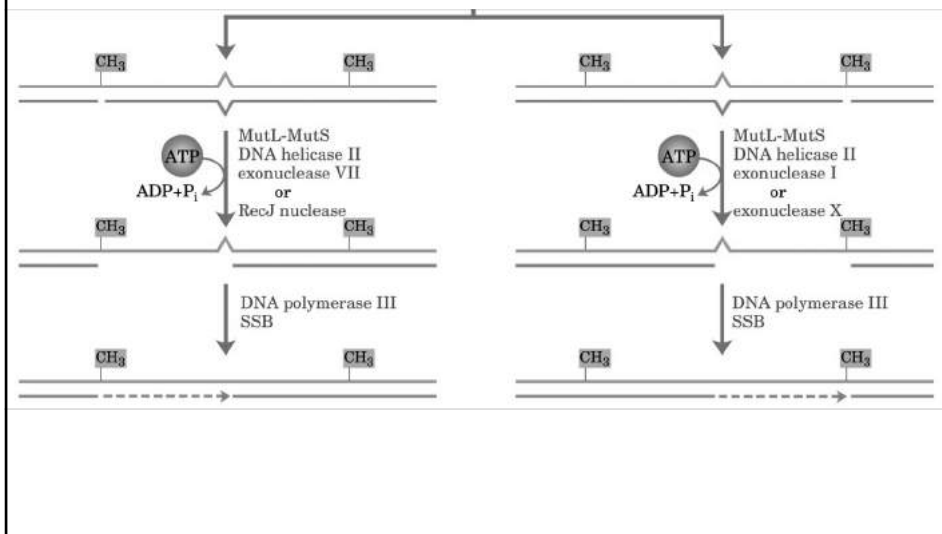


**Riparazione per escissione**  
**Mismatch Repair (MMR)**

**MutS – lega il mismatch**  
**MutL - collega MutH and MutS**  
**MutH - lega GA<sup>CH3</sup>TC**

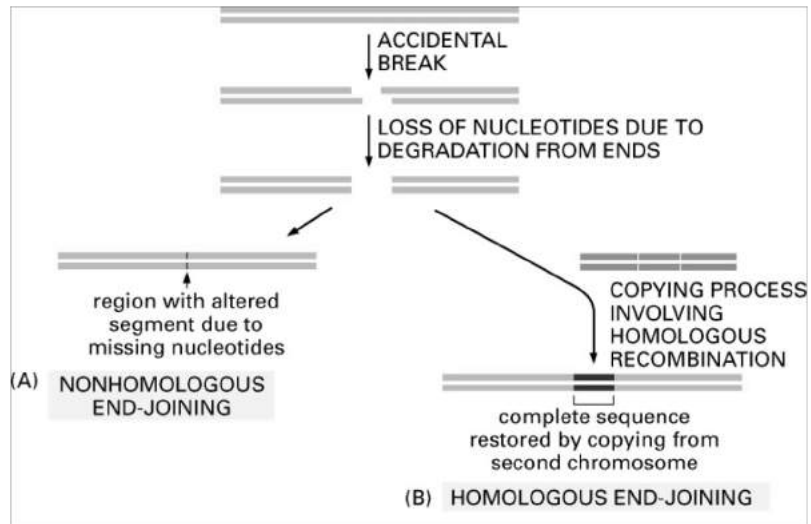


**Risoluzione del mismatch**

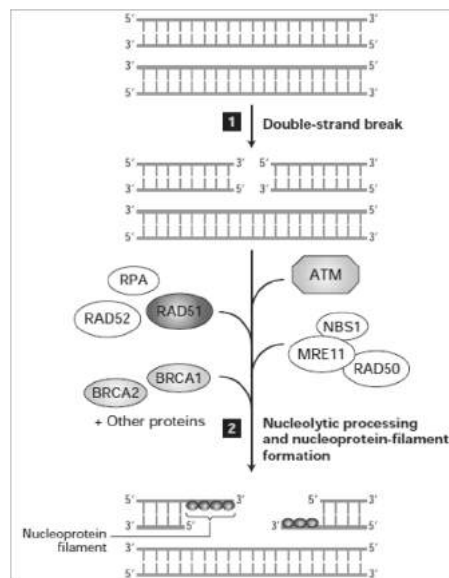




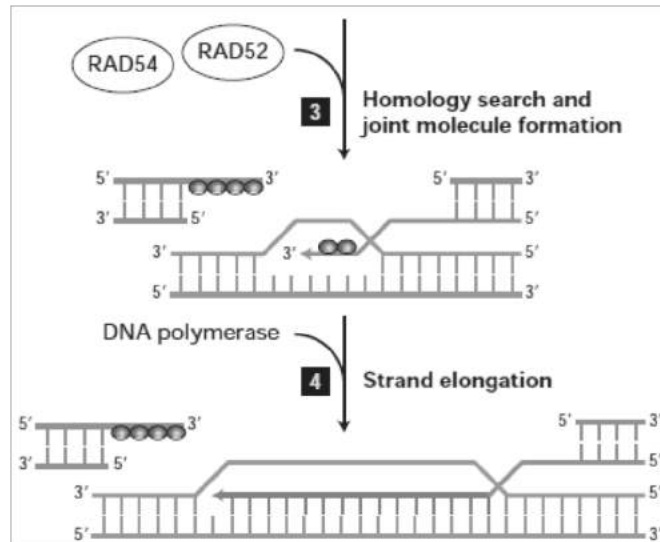
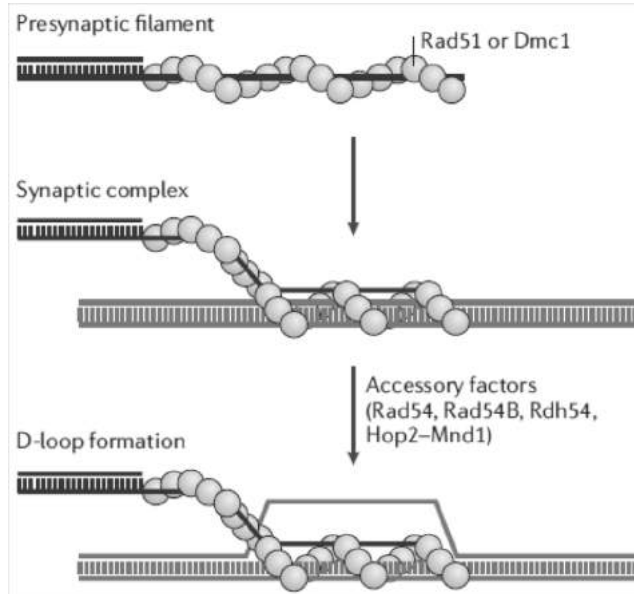
## Riparazione delle rotture a doppio filamento



## Homologous Recombination (HR)



### Inizio della HR



**NHEJ  
(Non-Homologous End Joining)**

**Giunzione diretta delle  
estremità non omologhe**

