

Metabolismo del DNA

DNA: mutazioni e riparazione

Stabilità metabolica del DNA

- Replicazione ad altissima fedeltà
- Meccanismi di riparazione post-replicativi

Le mutazioni sono modificazioni ereditarie della sequenza del DNA

Cause di mutazioni

- Errori della DNA polimerasi
- Eventi spontanei
- Agenti intracellulari e ambientali

TIPI DI MUTAZIONI

Types of base pair mutations

normal sequence
CATTCACCTGTACCA
GTAAGTGGACATGGT

transition (T-A to C-G)
CAT**C**CACCTGTACCA
GTA**G**GTGGACATGGT

transversion (T-A to G-C)
CAT**G**CACCTGTACCA
GT**A**CGTGGACATGGT

base pair substitutions

transition: pyrimidine to pyrimidine
transversion: pyrimidine to purine

deletion
CATCACCTGTACCA
GTAGTGGACATGGT

insertion
CAT**G**TACACCTGTACCA
GT**A**CAGTGGACATGGT



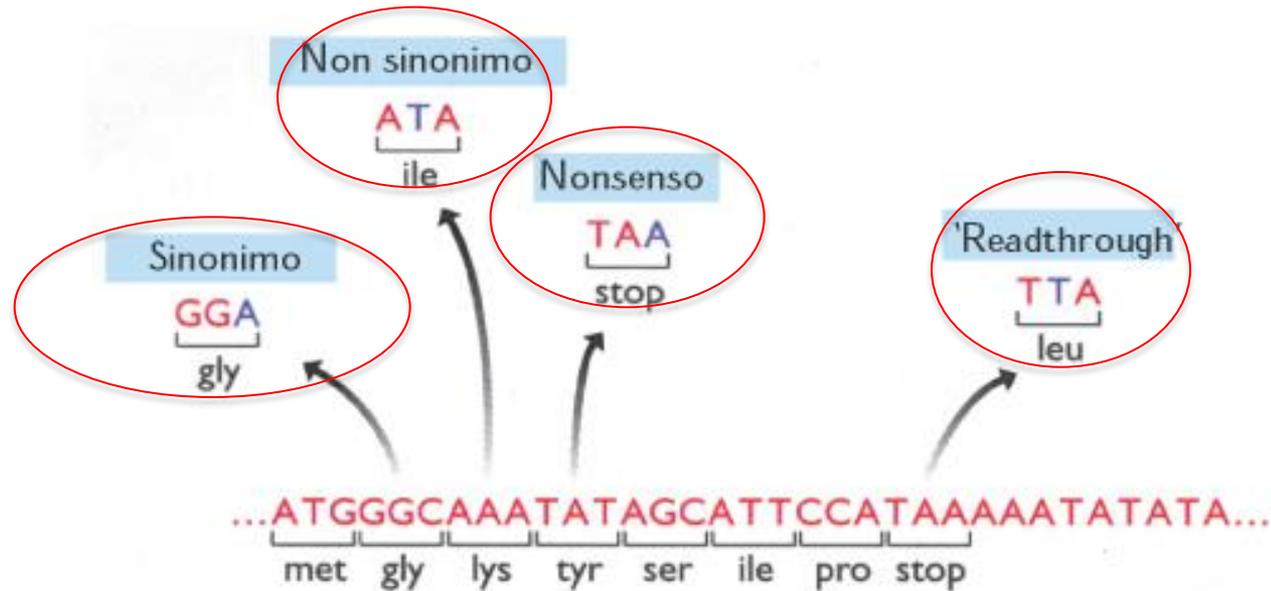
deletions and insertions can involve one
or more base pairs

LE CONSEGUENZE DELLE MUTAZIONI SULL'INFORMAZIONE GENETICA SONO DIVERSE A SECONDA DELLA LORO POSIZIONE

- **Mutazioni in sequenze non codificanti**
sequenze regolatrici
 - ✓ promotori
 - ✓ sequenze di splicing

- **Mutazioni in regioni codificanti**

EFFETTI DELLE MUTAZIONI PUNTIFORMI NELLA REGIONE CODIFICANTE DI UN GENE.



MUTAZIONI SINONIME (silenti) non modificano la sequenza del prodotto genico. Sono le mutazioni più frequenti

MUTAZIONI MISSENSO modificano la sequenza del prodotto genico; possono avere un effetto negativo, un effetto positivo oppure non avere alcun effetto:

conservative -> cambiamento di un aa con uno chimicamente simile

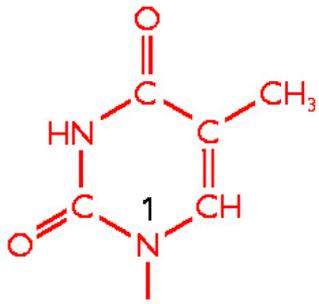
non conservative -> cambiamento di un aa con uno chimicamente diverso

MUTAZIONI NON SENSO

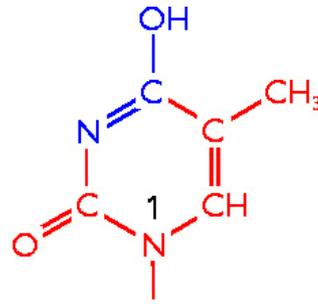
sostituzione di un codone che specifica per un aa con un codone di terminazione. Mutazioni rare

MUTAZIONI READTHROUGH

Sostituzione di un codone di stop con un codone per un aa, allungamento proteina

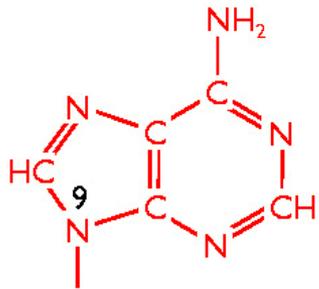


keto-thymine

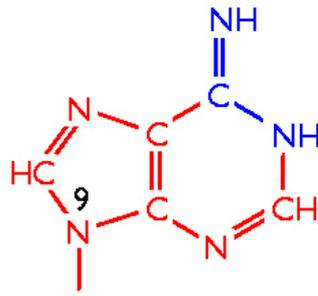


enol-thymine

Si appaia con
G e non con **A**



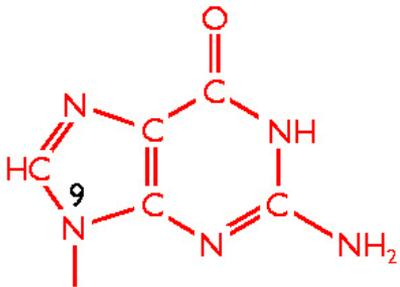
amino-adenine



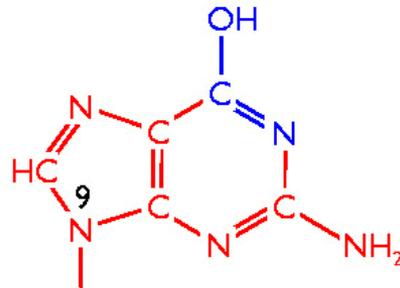
imino-adenine

Si appaia con **C** e
non con **T**

APPAIAMENTI ERRATI
CAUSATI DA FORME
TAUTOMERICHE
DELLE BASI AZOTATE



keto-guanine

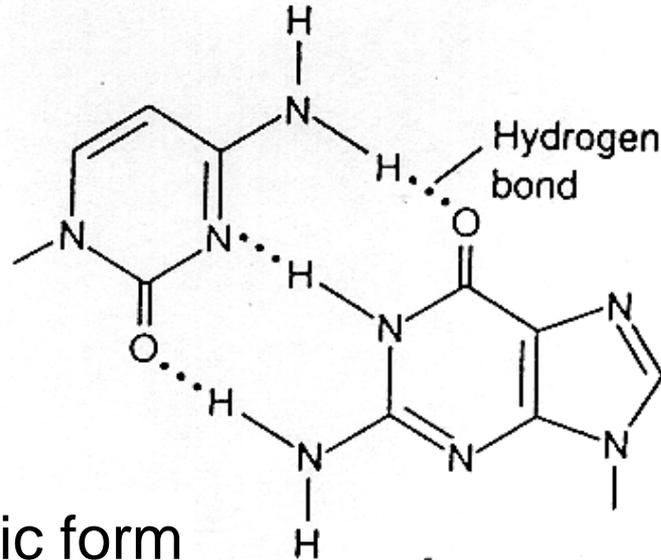


enol-guanine

Si appaia con **T** e
non con **C**

Mutation caused by tautomer of cytosine

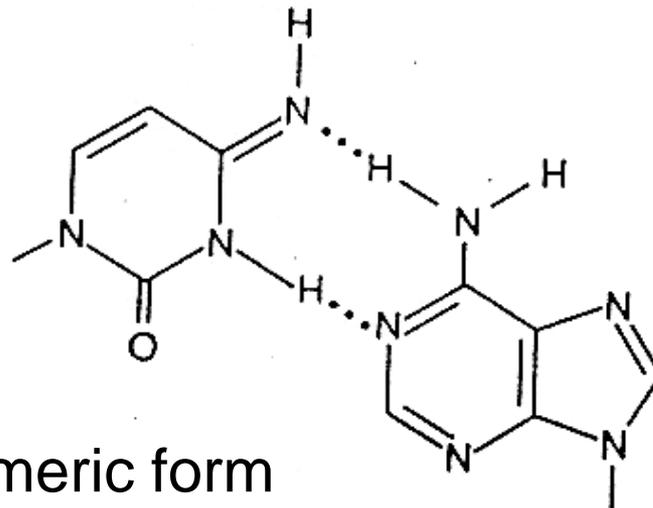
Cytosine



Normal tautomeric form

Guanine

Cytosine

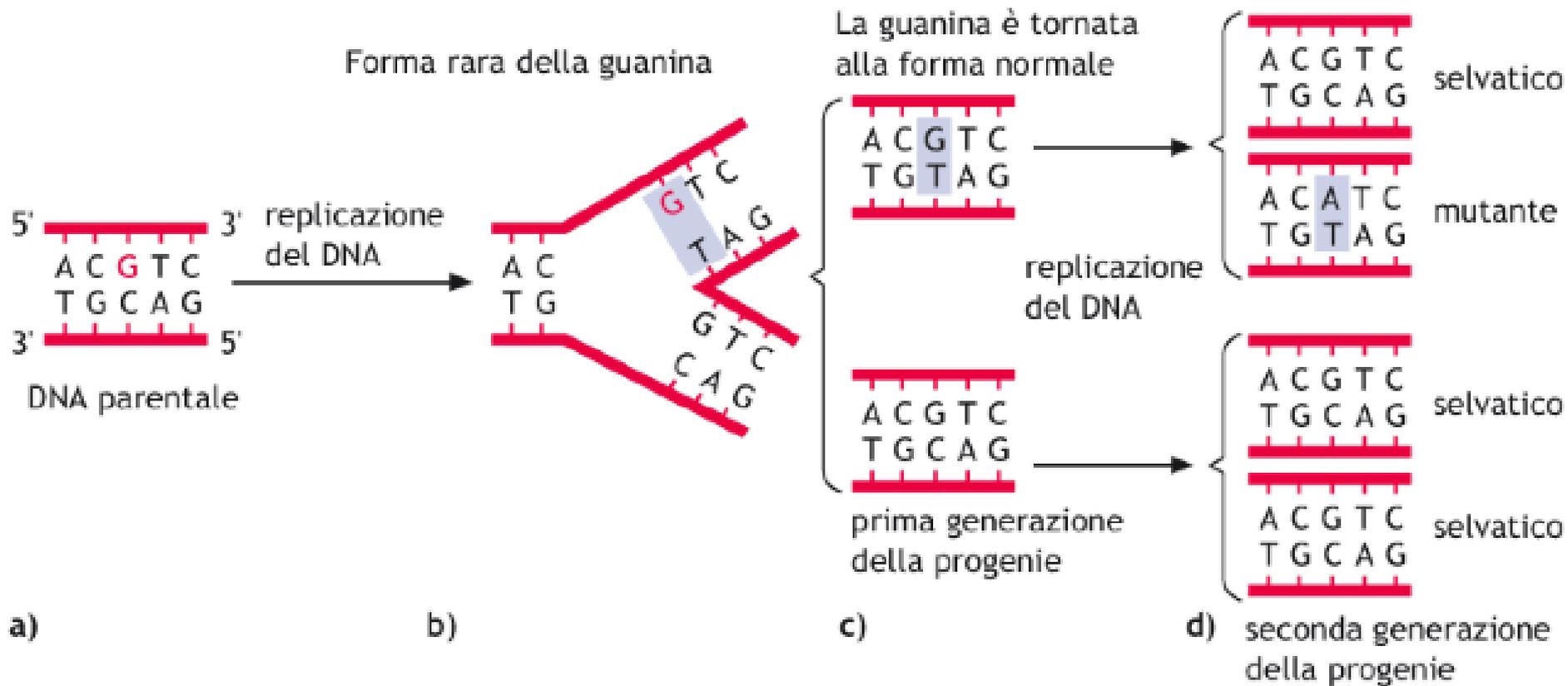


Rare imino tautomeric form

Adenine

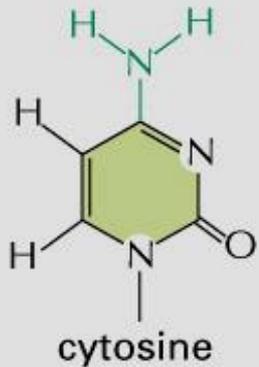
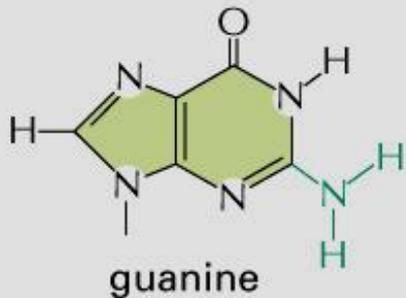
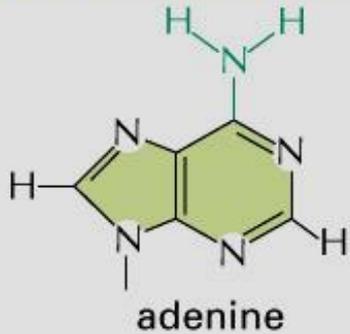
- cytosine mispairs with adenine resulting in a transition mutation

INSORGENZA DI UNA MUTAZIONE PER LA PRESENZA DI UNA FORMA TAUTOMERICA INSOLITA

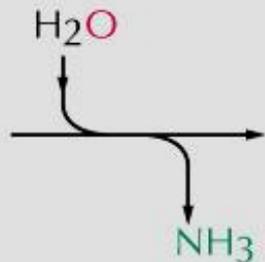
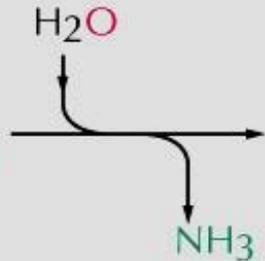
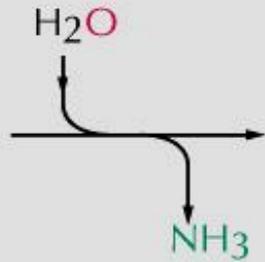
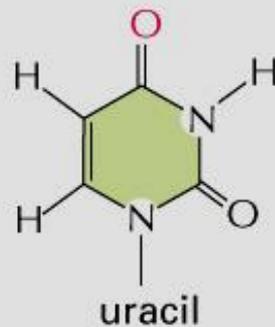
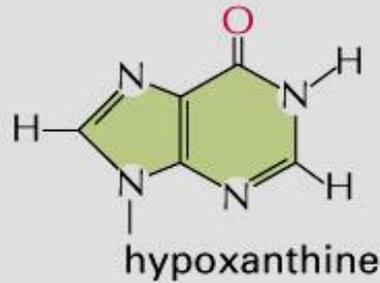


DEAMMINAZIONE DELLE BASI

NATURAL DNA BASES

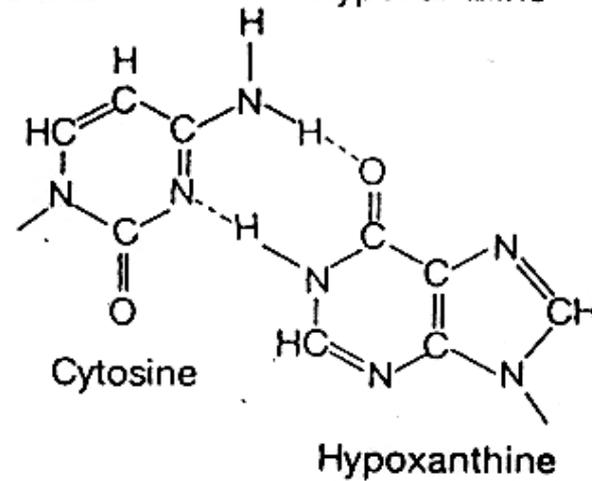
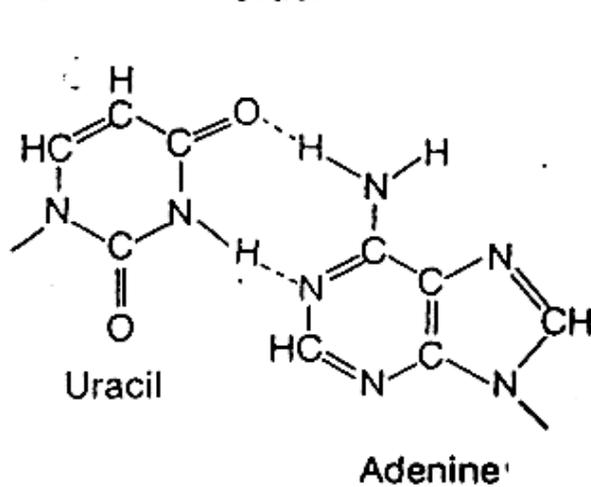
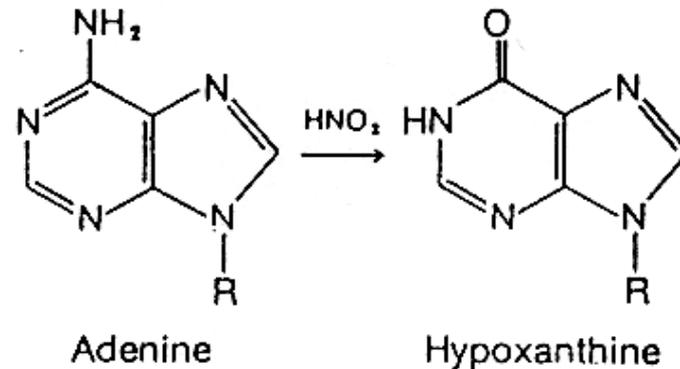
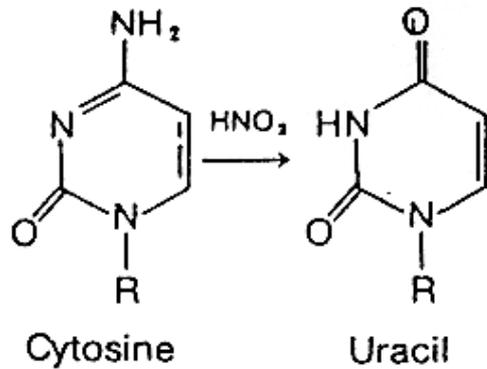


UNNATURAL DNA BASES

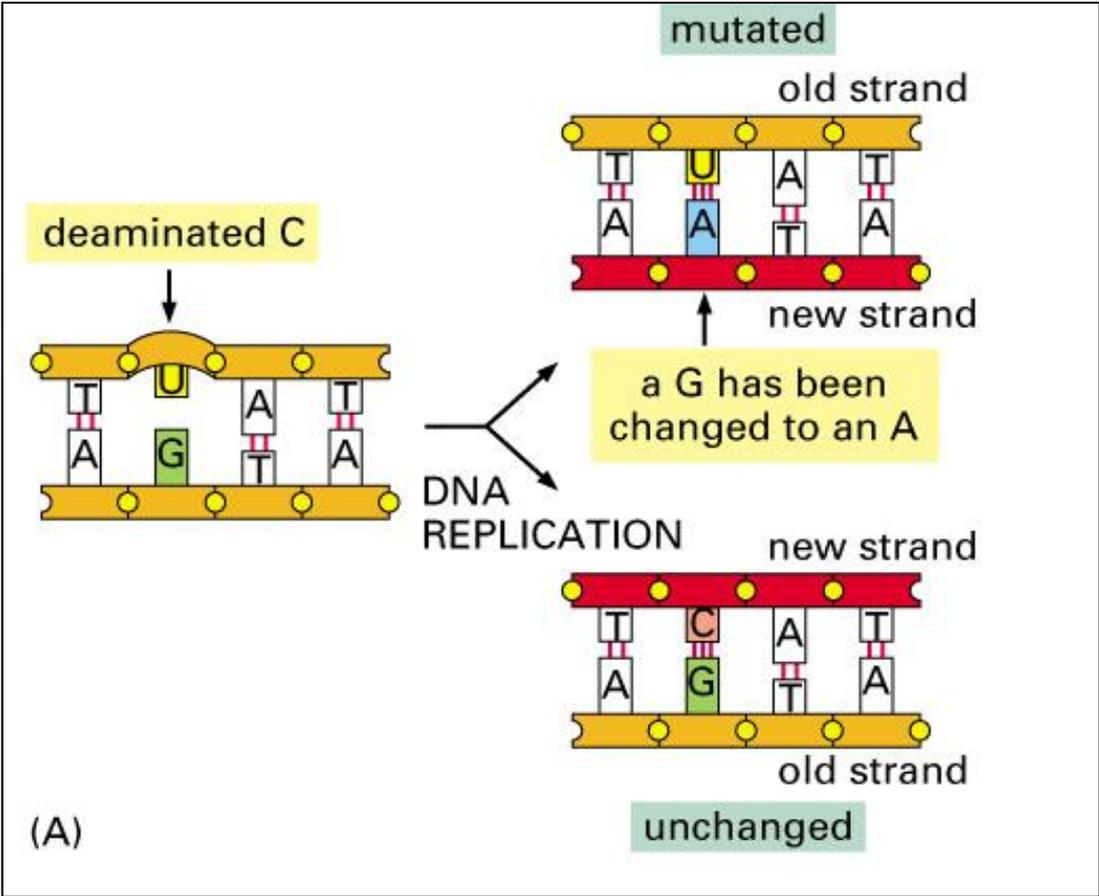


La deamminazione produce basi non-naturali che possono essere riconosciute

Deaminazione indotta da agenti chimici acido nitroso, nitrati, nitriti

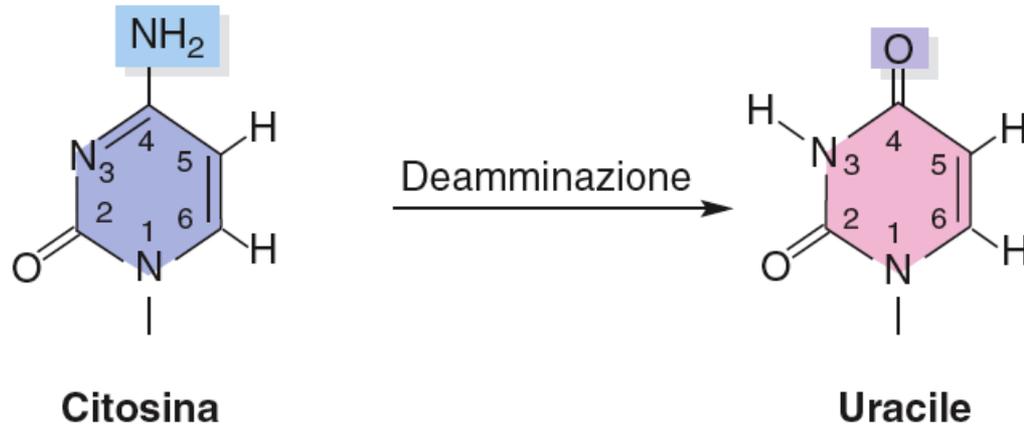


Deamminazione di una base: conseguenze

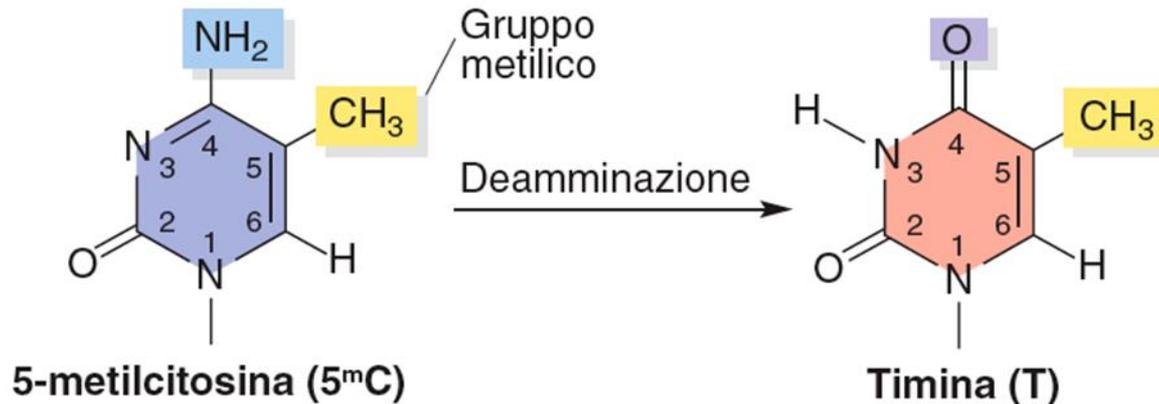


Deaminazione della citosina

a) Deaminazione della citosina a uracile

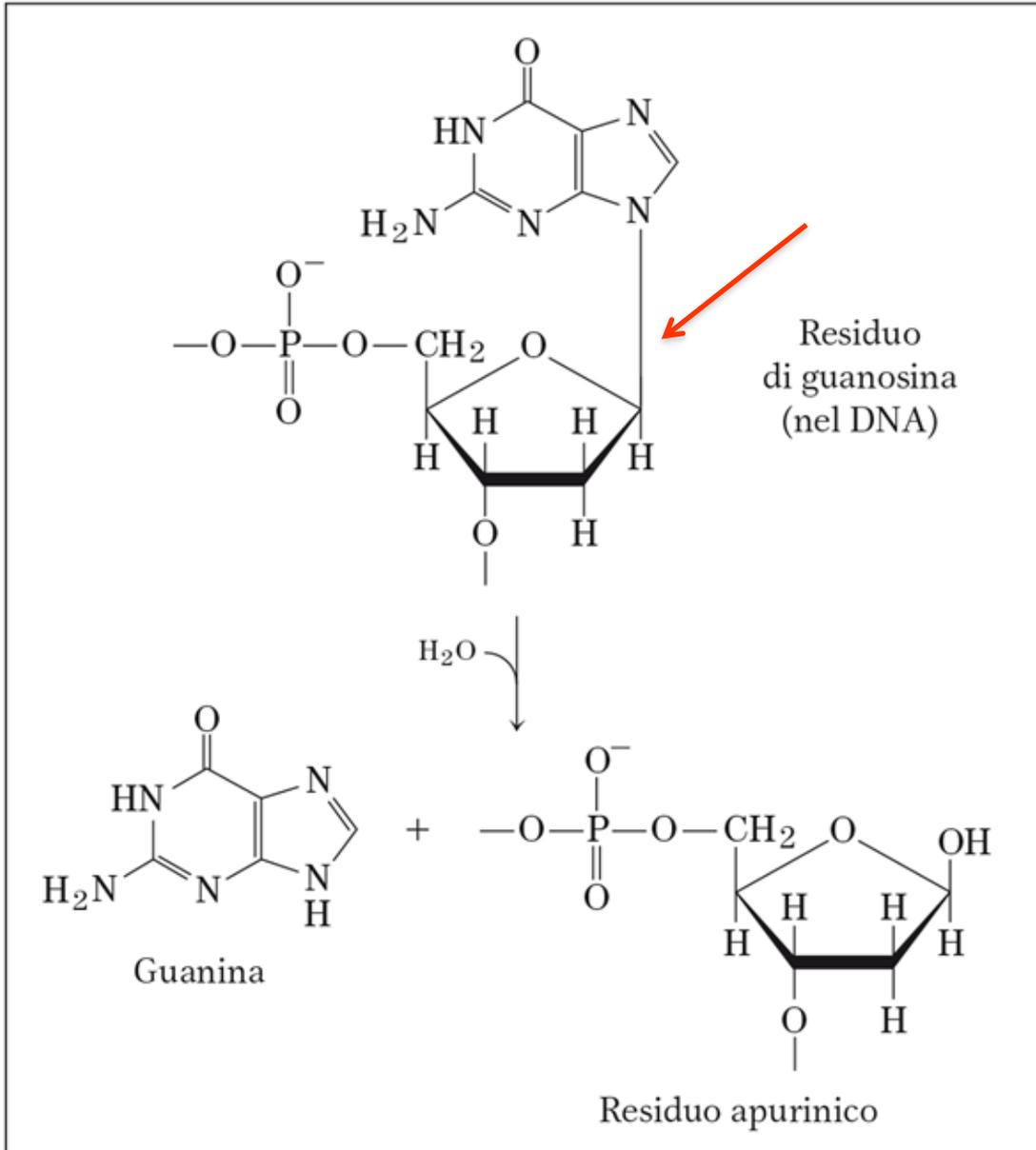


b) Deaminazione della 5-metilcitosina (5^mC) a timina



Piu' del 30% delle mutazioni per sostituzione di basi causative di malattie genetiche sono a livello di 5^mC

Perdita della base:depurinazione



Ogni giorno
circa 5000
adenine o
guanine sono
perse da
ciascuna cellula
nucleata umana
per **rottura
spontanea del
legame N- β -
glicosidico** \rightarrow
sito AP

Effetto di una depurinazione

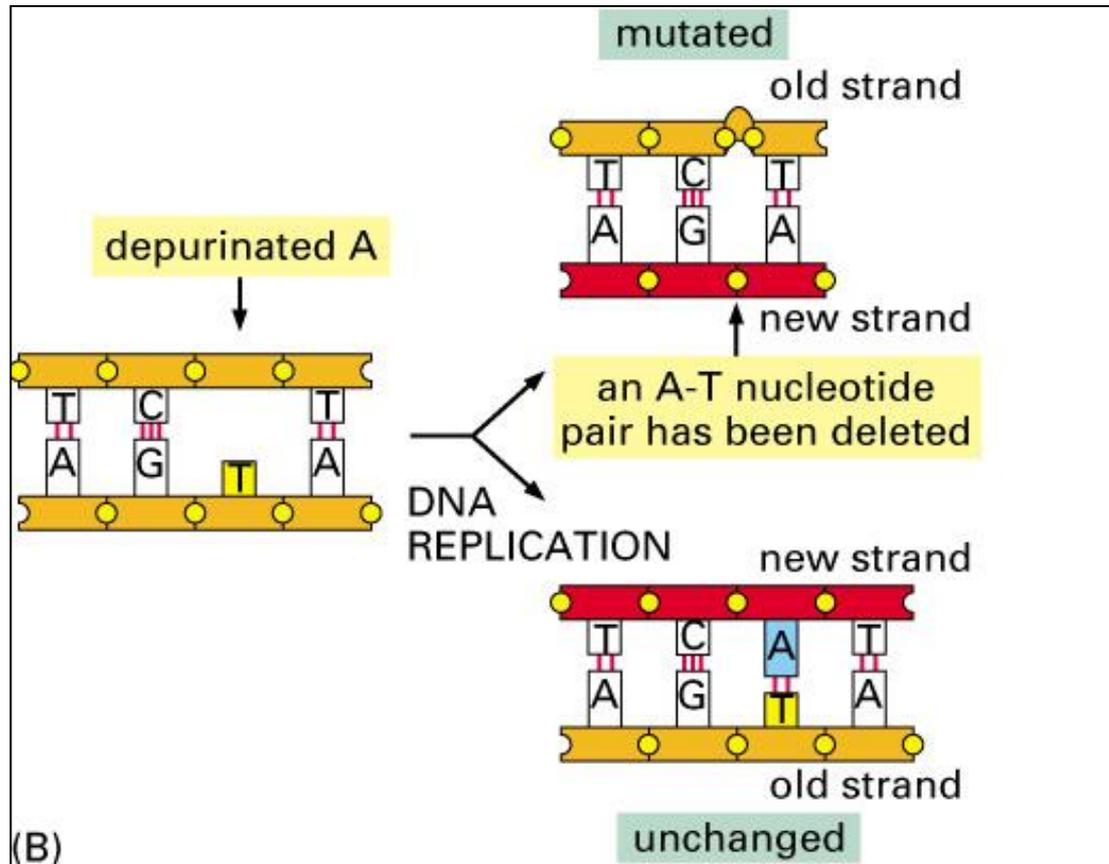
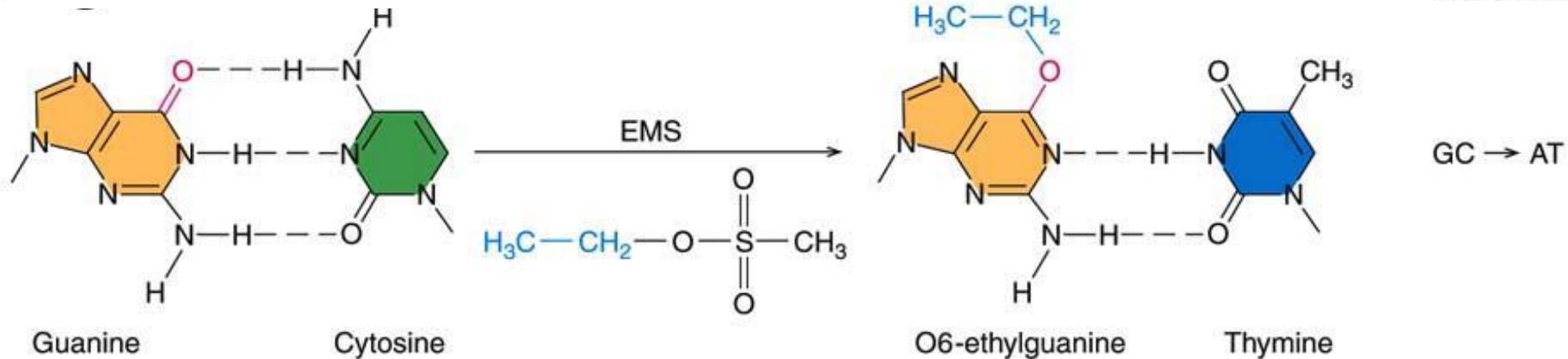


Figure 5-49 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

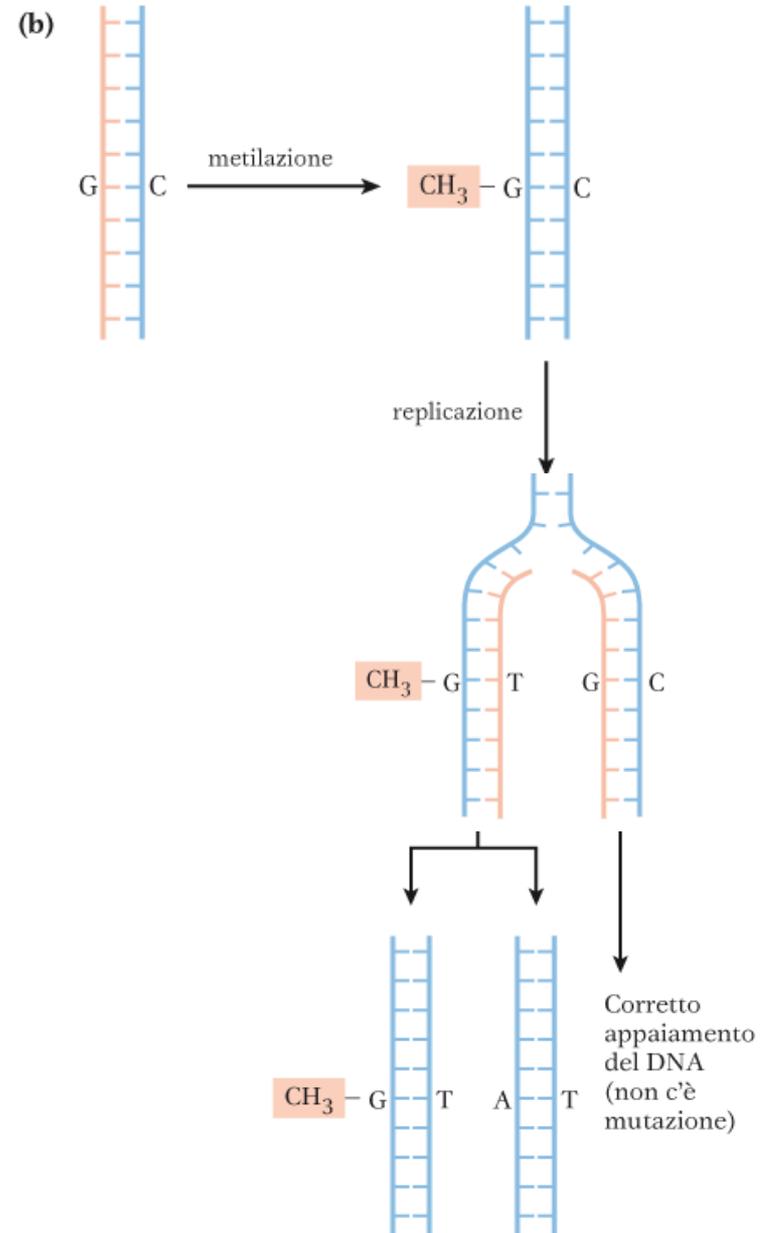
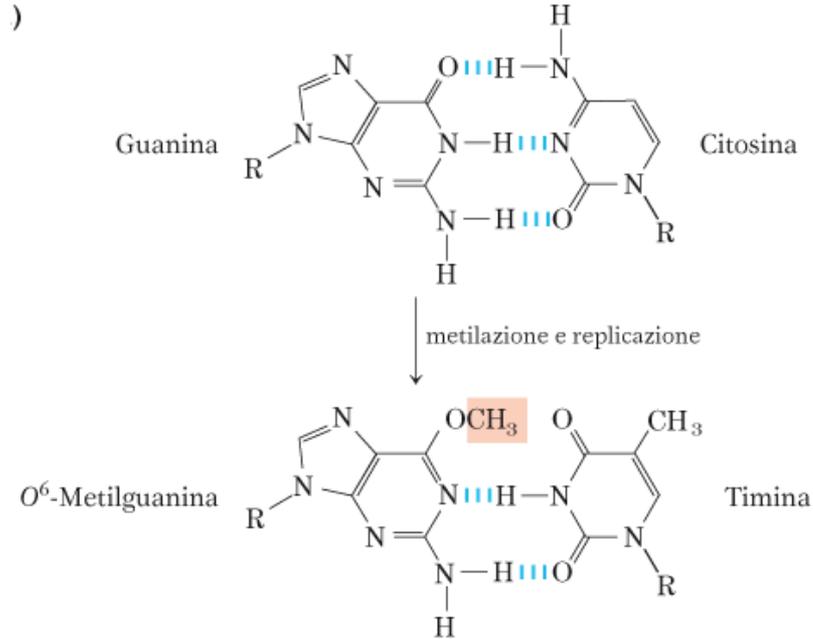
Danni ad opera di agenti chimici

Alkylation



Es. Composti utilizzati in chemioterapia sono agenti alchilanti

BASE ALCHILATA E SUE CONSEGUENZE

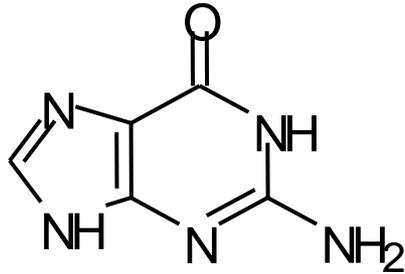


Attack by oxygen free radicals leading to oxidative damage

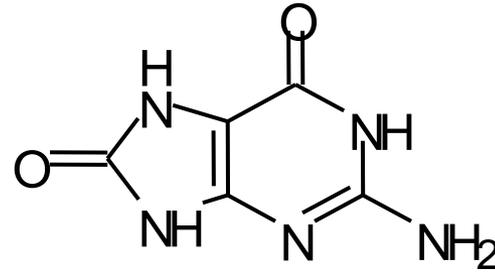
- many different oxidative modifications occur, by smoking, inflammation etc.

- **8-oxyG can pair with either dC or dA**

If paired with dA → a G•C to T•A transversion results



guanine

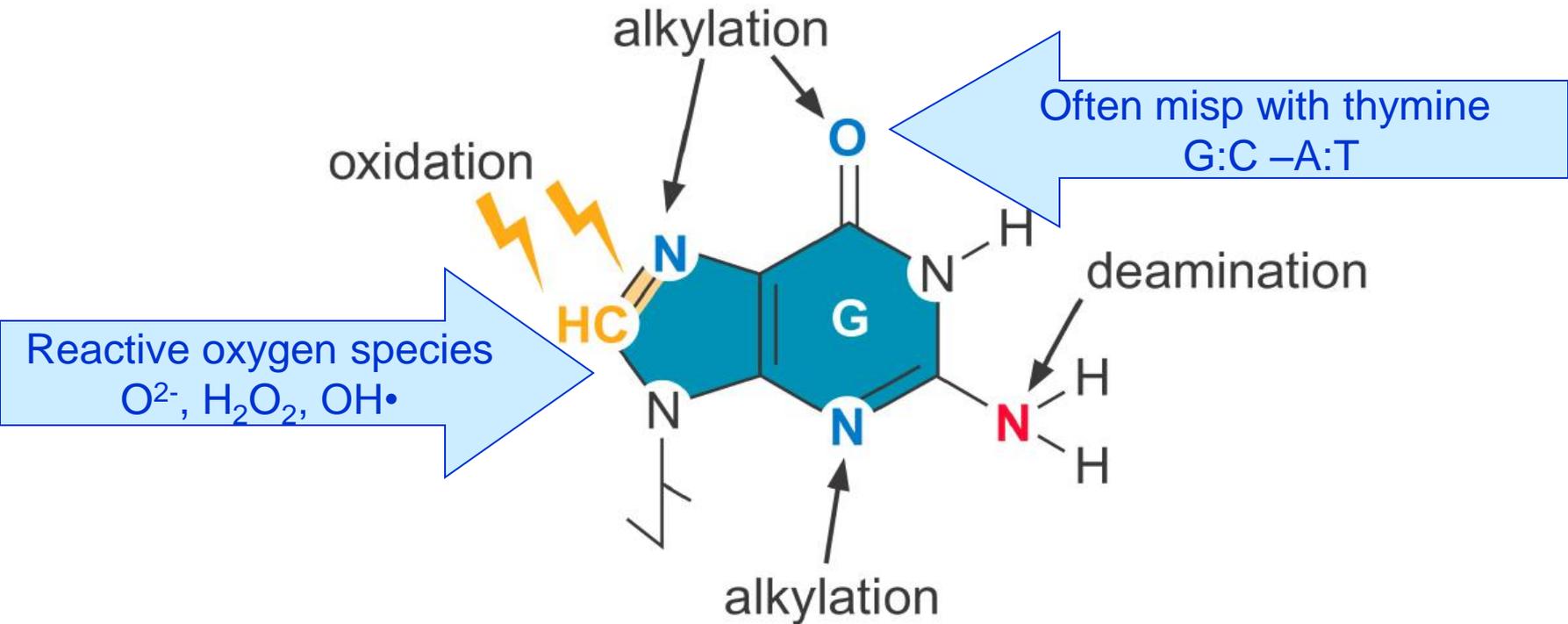


8-oxyguanine (8-oxyG)

Evidences:

- the MTH1 protein degrades 8-oxy-dGTP preventing misincorporation
- mutations of the MTH1 gene cause increased tumor formation in mice

G modification (alkylation & oxidation)



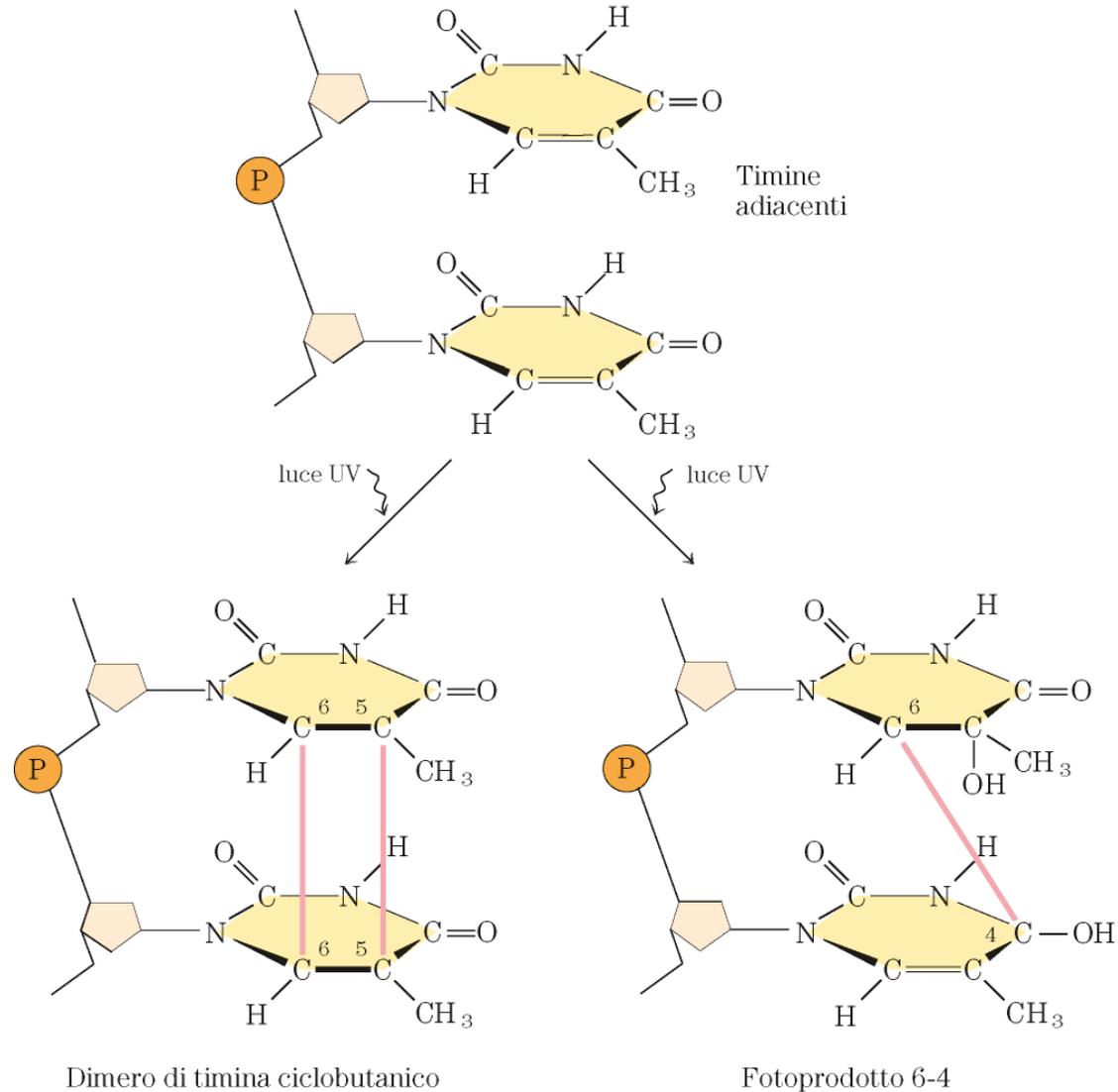
DNA e danno ossidativo

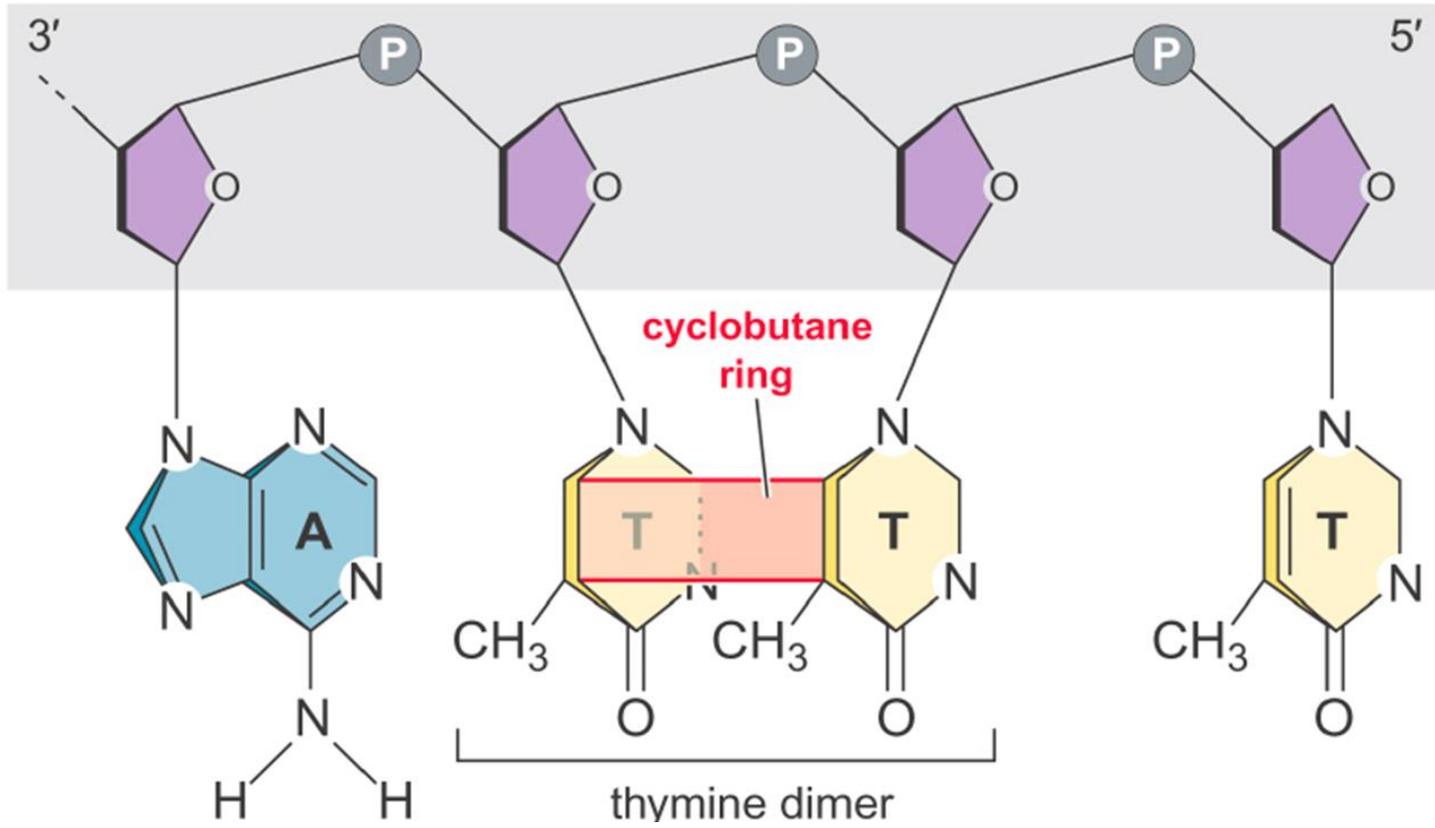
Il DNA mitocondriale è particolarmente suscettibile al danno ossidativo ad opera di radicali dell'ossigeno (ROS):

- è privo della *protezione* degli istoni e cromatina;
- è spazialmente vicino ad un "generatore" di radicali dell'ossigeno, la catena respiratoria;
- il processo riparativo per escissione di basi è meno efficiente

Ci sono numerose evidenze che **danni al DNA** mitocondriale siano responsabili di **disfunzione mitocondriale** e che questa sia alla base di molte **malattie degenerative** legate all'età:
es. morbo di Parkinson, morbo di Alzheimer, aterosclerosi, cardiomiopatie

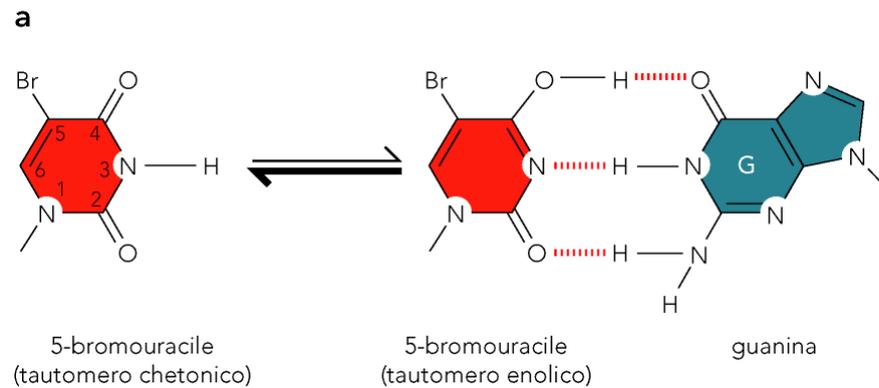
FORMAZIONE DI DIMERI DI PIRIMIDINA INDOTTA DALLA LUCE UV



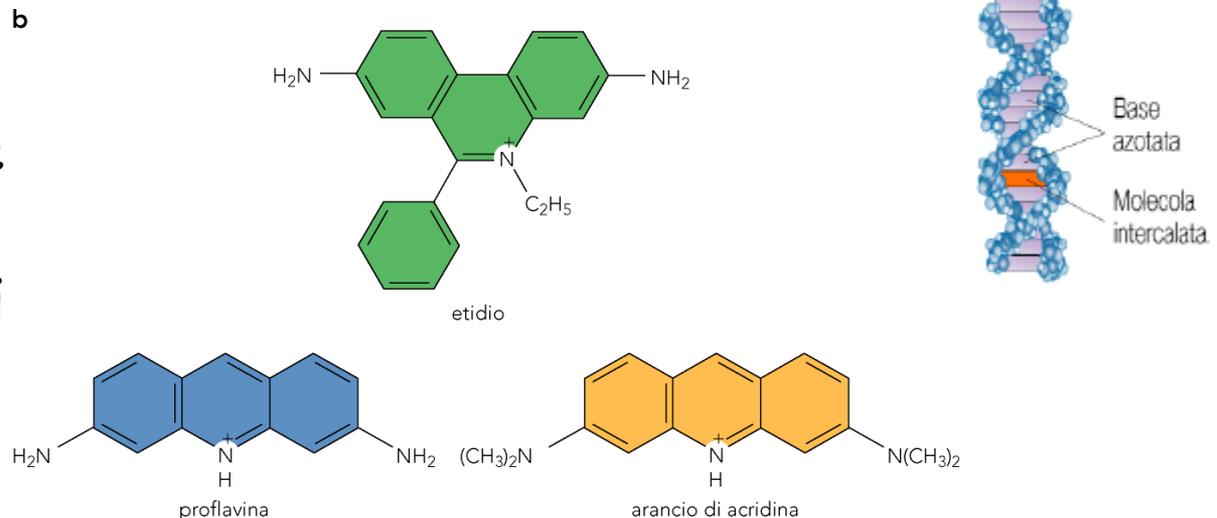


Analoghi ed agenti intercalanti

Il 5-bromouracile nella forma enolica si lega a G



Gli **agenti intercalanti** alterano lo spaziamento tra le basi e inducono inserzioni o delezioni

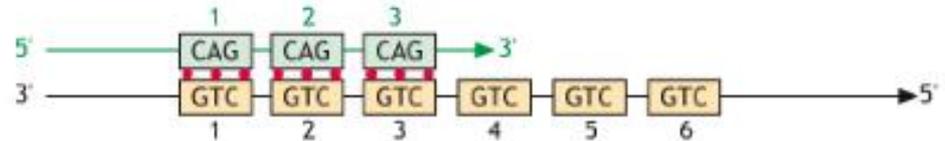


MUTAZIONI SPONTANEE

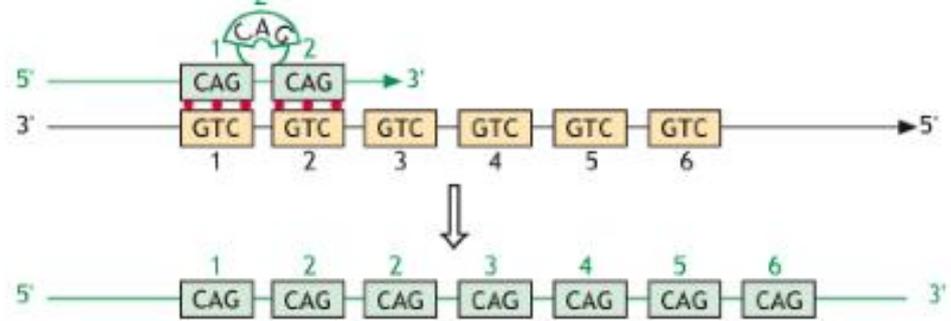
Inserzione/delezione di poche basi

Replicazione normale

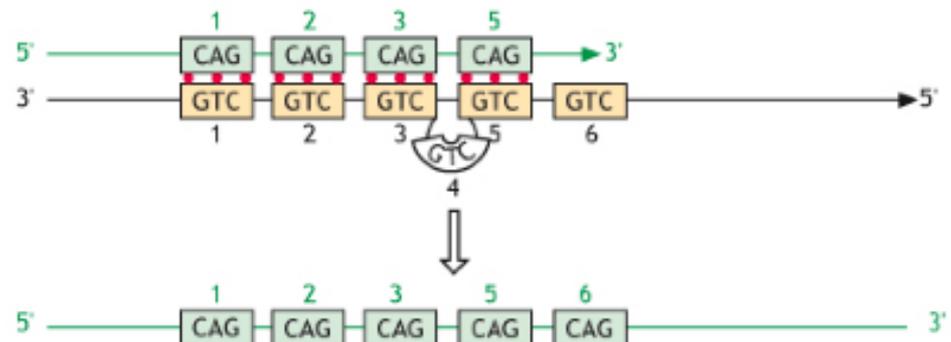
Filamento stampo



Lo slittamento all'indietro del filamento nuovo è causa di inserzione



Lo slittamento all'indietro dello stampo è causa di delezione



Corte
sequenze
ripetute in
tandem

CONSEGUENZE DELL'INSERZIONE/DELEZIONE DI POCHE BASI NELLE REGIONI CODIFICANTI

Delezione di 3 nucleotidi

...ATGGGCTATAGCATTCCATAAAAATATATA...
met gly tyr ser ile pro stop

Perdita di un solo aa

...ATGGGCAAATATAGCATTCCATAAAAATATATA...
met gly lys tyr ser ile pro stop

Slittamento del «frame» di lettura

Delezione di 1 nucleotide

...ATGGGAAATATAGCATTCCATAAAAATATA...
met gly asn ile ala phe his lys asn ile

Summary of DNA lesions

Missing base	Acid and heat depurination (~10 ⁴ purines per day per cell in humans)
Altered base	Ionizing radiation; alkylating agents
Incorrect base	Spontaneous deaminations cytosine to uracil adenine to hypoxanthine
Deletion-insertion	Intercalating reagents (acridines)
Dimer formation	UV irradiation
Strand breaks	Ionizing radiation; chemicals (bleomycin)
Interstrand cross-links	Psoralen derivatives; mitomycin C
Tautomer formation	Spontaneous and transient