

Генные мутации.

1. Определение.
2. Классификация генных мутаций.
3. Номенклатура генных мутаций.
4. Значение генных мутаций.
5. Биологические антимутационные механизмы.
6. Свойства гена.

Реакции с участием ДНК

- Репликация (самоудвоение ДНК)
- Рекомбинация (обмен участками между молекулами ДНК)
- Репарация (самовосстановление ДНК)
- Транскрипция (синтез РНК на ДНК)
- Обратная транскрипция (синтез ДНК на РНК – у некоторых вирусов)
- Мутирование (изменение строения ДНК)

- Нарушения в одной из цепей ДНК – это еще не мутация!
- Мутон – наименьшая единица мутации – равен паре комплементарных нуклеотидов.

Генные мутации. Определение .

Генные мутации – любые изменения последовательности нуклеотидов гена



- **Гены**

**уникальные – одна
копия на геном**

**структурные – кодируют
белок или тРНК или рРНК**

**регуляторные – регулируют работу
структурных**

повторяющиеся

Классификация мутаций

По причине

- **Спонтанные** – причина не ясна
- **Индукцированные** – вызваны мутагенами
 - **Мутагены** – факторы, вызывающие мутации:

физические – например, температура, радиация
химические – например, HNO_2 , иприт
биологические - например, вирусы

По уровню

- **Генные** – изменения в пределах одного гена
- **Хромосомные** – изменения строения хромосом
- **Геномные** – изменения количества хромосом

«Мутации транскрипции» и «мутации трансляции»

Виктор Маккьюсик

мутации, изменяющие последовательность аминокислот в белке ответственны за **50-60%** случаев моногенных болезней. Остальные **40-50%** приходятся на долю **мутаций, затрагивающих экспрессию гена**.

Изменение а/к состава белка “**качественный**” уровень в виде в выраженных клинических фенотипах, таких как метгемоглобинемия или серповидно-клеточная анемия при мутациях гена бета-глобина.

Мутации, нарушающие нормальную экспрессию гена приводят к изменению **количества** генного продукта и проявляются фенотипами, связанными с недостаточностью того или иного белка.

Мутации транскрипции:

- мутации в области промотора
- мутации сплайсинга РНК, в том числе мутации в 5'-донорном сайте интрона, мутации в 3'-акцепторном сайте интрона и мутации, приводящие к возникновению новых сайтов сплайсинга.
- мутации расщепления мРНК (мутации полиаденилирования).
- мутации кэп-сайта.
- делеции активирующих районов или энхансеров.

Мутации трансляции:

- мутации в иницирующем кодоне (ATG) или вблизи него
- мутации сдвига рамки считывания (результат делеций или инсерций)
- **миссенс-мутации** - замены одного аминокислотного остатка в молекуле белка на другое.

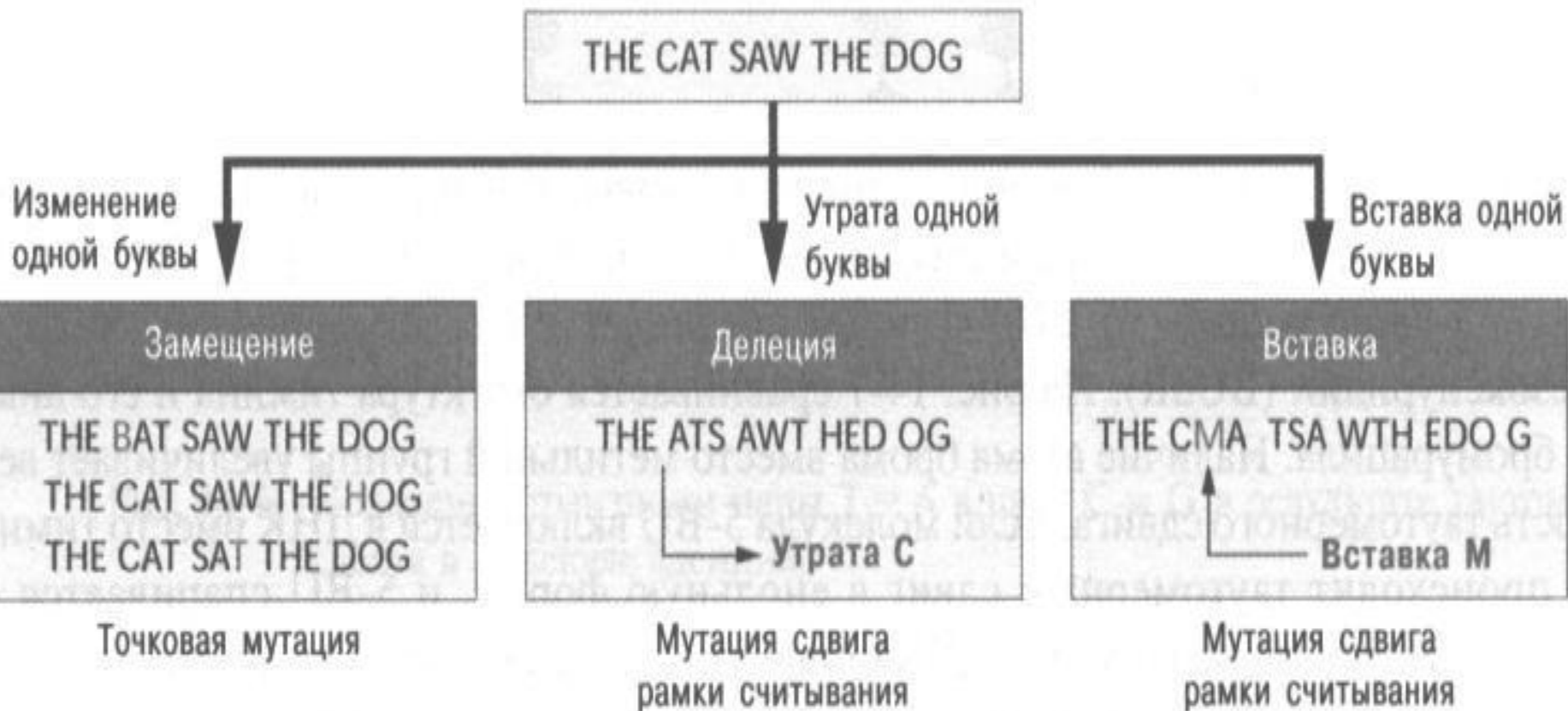
Миссенс-мутации тоже могут приводить к нарушению экспрессии гена, поскольку новая структура РНК или белка может оказаться нестабильной.

- **нонсенс-мутации** (“стоп”-мутации) - мутирование кодона в терминирующий кодон, что приводит к образованию укороченного белка.
- мутации в терминирующих кодонах (TAA, TAG или TGA), которые приводят к синтезу длинных (длиннее нормального) белковых продуктов.

По механизмам

- Мутации без сдвига рамки считывания и со сдвигом рамки считывания.
- Основные типы генных мутаций:
 - **замена нуклеотидов**
 - **вставка или выпадение нуклеотидов**
 - **переворот нуклеотидов на 180°**
(везде имеются в виду пары нуклеотидов)

Последствия замен или вставок/ выпадений одной пары
нуклеотидов (на примере простого текста)



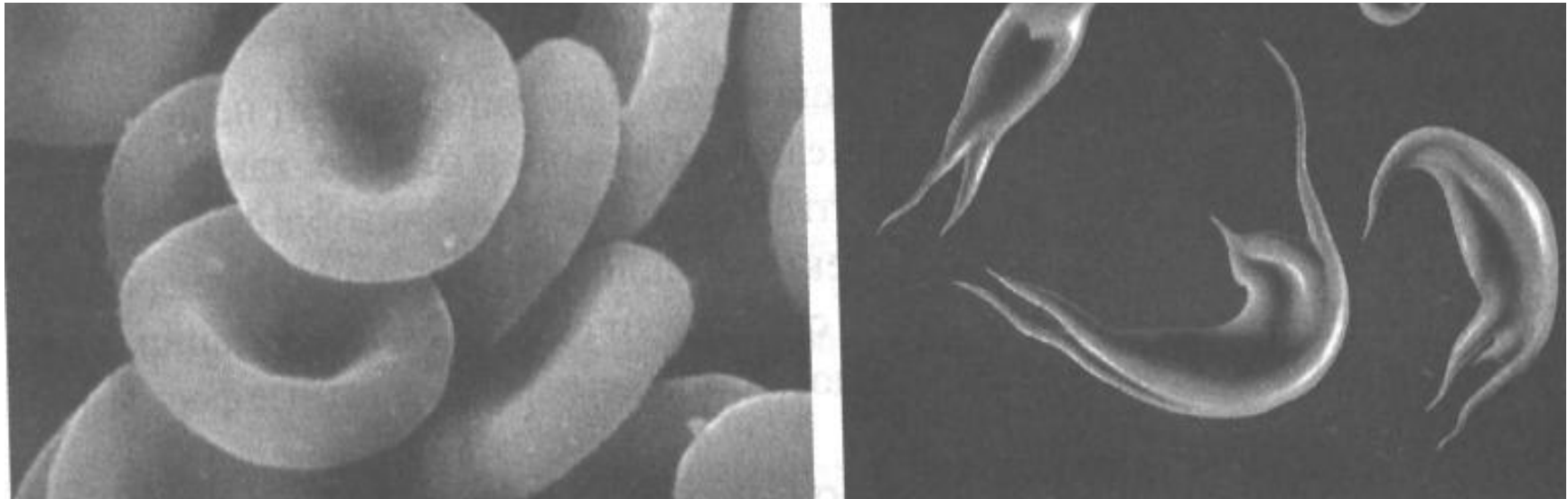
Замены нуклеотидов не обязательно ведут к изменению смысла генетической информации

- Миссенс (missense)-изменяется аминокислота в белке
- Сайлент (silent)- аминокислота не меняется
- Нонсенс (nonsense)- вместо кодона для аминокислоты появляется стоп-кодон

Примеры генных мутаций у человека

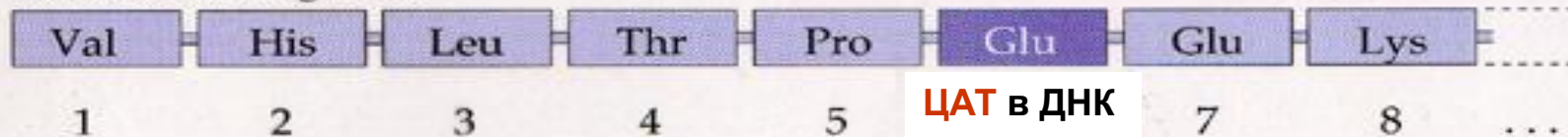
• Миссенс мутация. Пример – серповидно-клеточная анемия.

- Замена пары нуклеотидов привела к замене аминокислоты в белке, т.е. изменилась первичная структура, что повлекло изменение вторичной, третичной и четвертичной и формы эритроцитов.



(a)

Normal hemoglobin



(b)

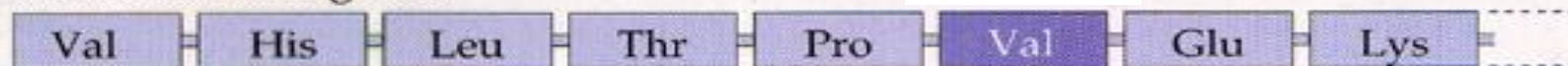
ЦТТ в ДНК

ГАА в РНК

ЦАТ в ДНК

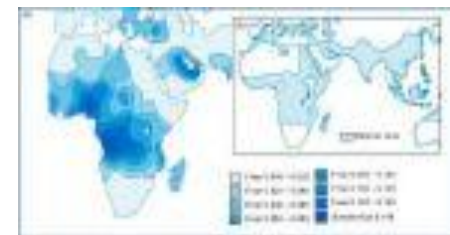
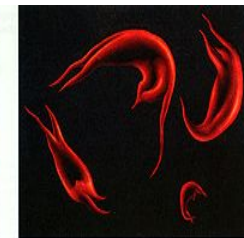
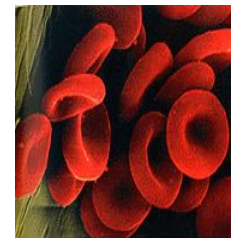
ГУА в РНК

Sickle-cell hemoglobin



(c)

Дефект гена *HBB* (*141900, 11p15.5). HbS образуется в результате замены валина на глутаминовую кислоту в положении 6 b-цепи молекулы Hb. В венозном русле HbS полимеризуется с формированием длинных цепей, эритроциты становятся серповидными. Это вызывает увеличение вязкости крови, стаз; создается механическая преграда в мелких артериолах и капиллярах, что приводит к тканевой ишемии (с чем связаны болевые кризы).



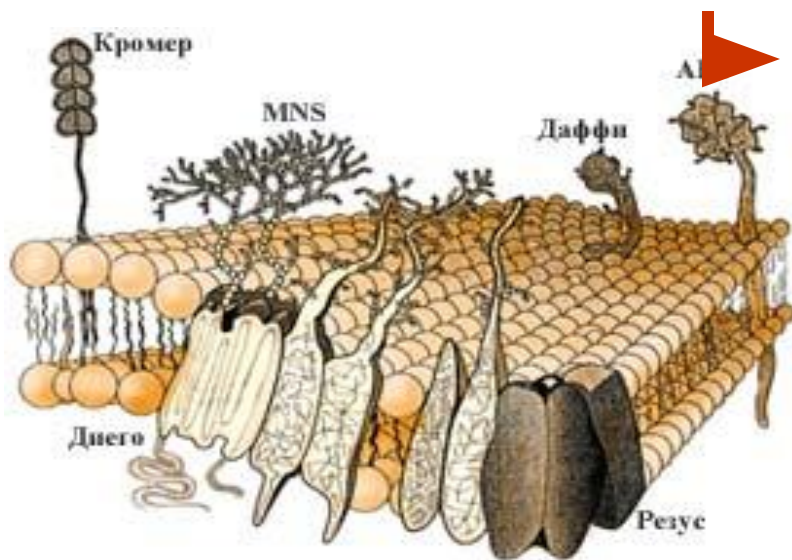
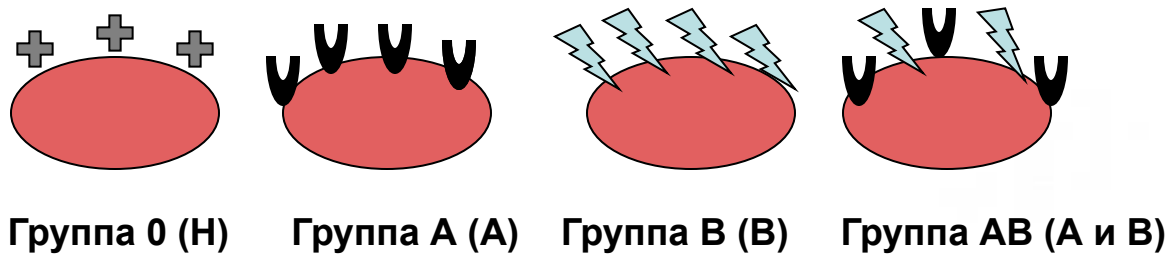
- **Нонсенс** мутация может возникнуть как в результате замены нуклеотида, так и при сдвиге рамки считывания.

Пример: группа крови 0.

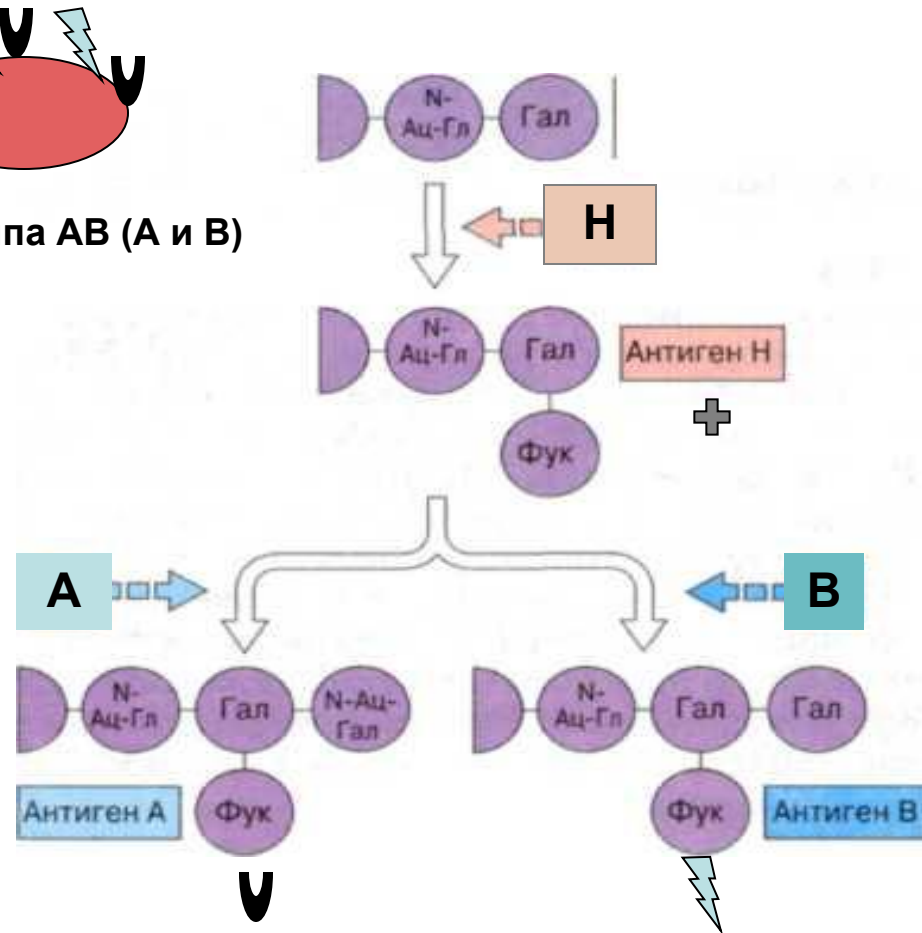
У людей с данной группой крови в гене произошло выпадение (делеция) одного нуклеотида – в результате возник стоп-кодон.

Синтезируется короткий и неактивный белок-фермент.

Антигены A^U и $B^{\text{⚡}}$ – олигосахариды, синтезируются из антигена H^+ под действием белков-ферментов A (аллель I^A) или B (аллель I^B). Мутация «0» в гене (аллель I^0) привела к образованию неактивного белка.



Мембрана эритроцита с разными антигенами



- **Выпадения и вставки** большого числа нуклеотидов часто являются нарушением рекомбинации (неравный кроссинговер).
Примеры: синдром Мартина-Белл (умственная отсталость, с фрагильной X хромосомой)

Мутации со вставкой большого числа нуклеотидов – болезни экспансии тринуклеотидных повторов

	Тринуклеотидные повторы	Число в норме	Число у больных	Тип наследования
Болезнь Гентингтона	CAG	6-35	36-120	аутосомно-доминантный
Миотоническая дистрофия	CTG	5-35	>200	аутосомно-доминантный
Синдром ломкой X-хромосомы	CGC	6-50	>200	X-сцепленный доминантный
Спинобульбарная мышечная атрофия	CAG	10-30	35-60	X-сцепленный доминантный

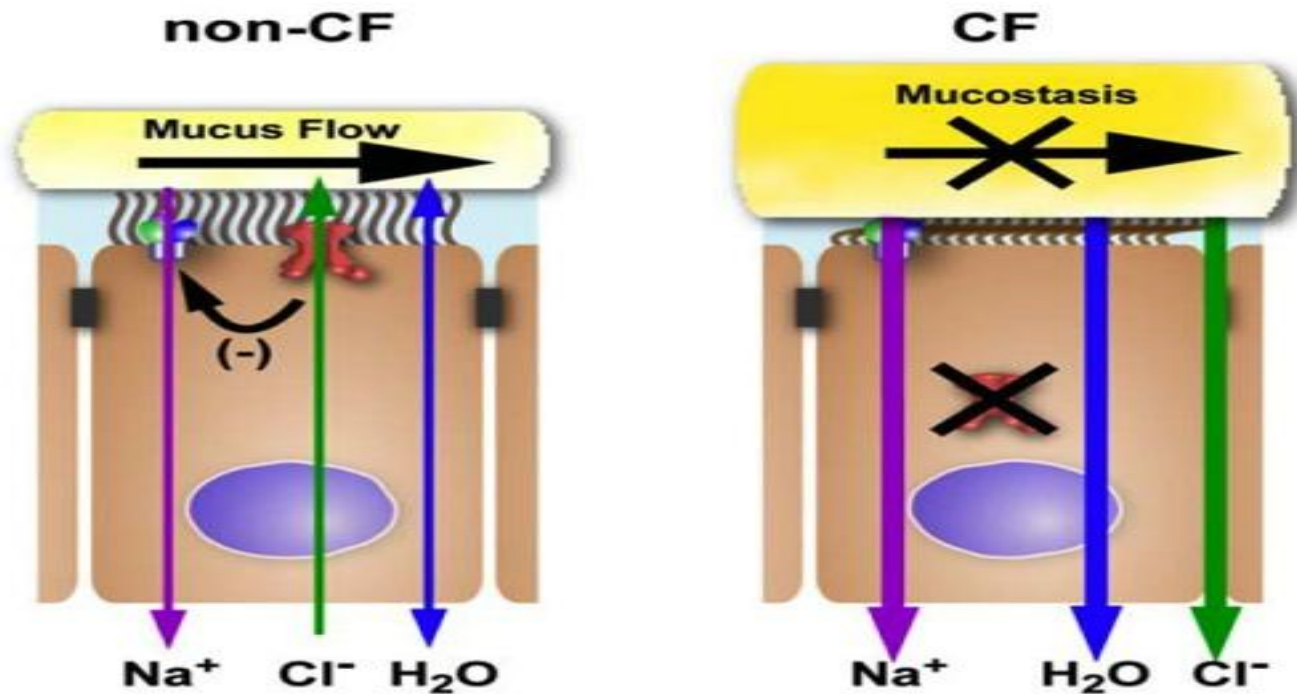
Синдром ломкой X хромосомы (синдром Мартина-Белл). Степень снижения интеллекта тем выше, чем больше вставка ЦГГ повторов.



Еще примеры мутаций с выпадением разного количества нуклеотидов

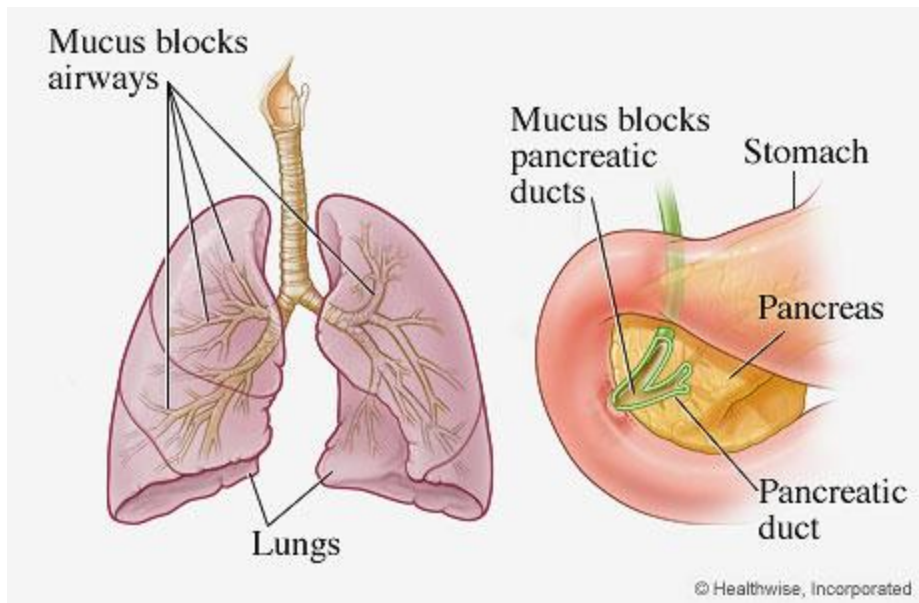
- Делеция 3 нуклеотидов – муковисцидоз
- Делеции или инсерции (вставки) большого числа нуклеотидов – МДД и МДБ – мышечные дистрофии Дюшенна (ранняя и тяжелая) или Беккера (поздняя и более легкая)

Муковисцидоз (cystic fibrosis), наследуется аутосомно-рецессивно. Самая частая мутация – выпадение 3 нуклеотидов (триплет 508)



Нарушается выделение секретов железами

Органы, страдающие при муковисцидозе (CF)

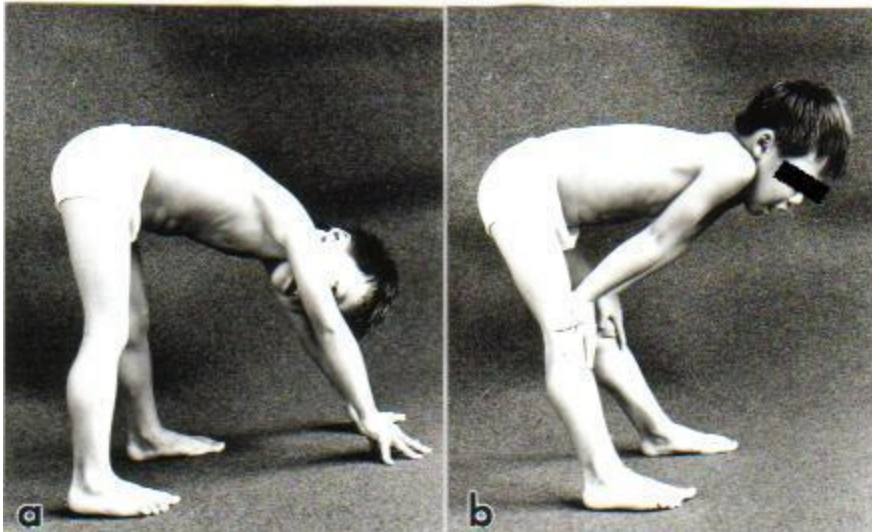
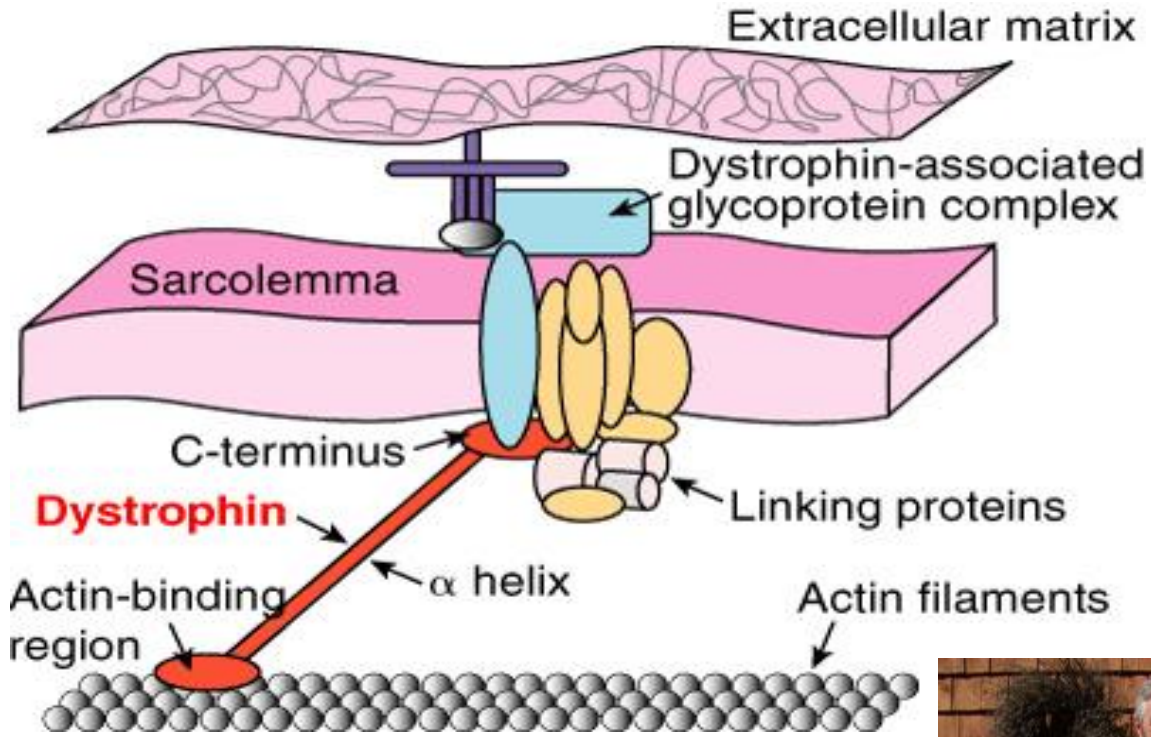


«Барабанные палочки» и «часовые стекла» – проявления хронической легочной инфекции



Мекониальный илеус – проявление CF

Крупные делеции (выпадения) в гене дистрофина дают МДД (мышечная дистрофия Дюшенна), инсерции (вставки) – МДБ (мышечная дистрофия Беккера),
Наследуются X-сцепленно рецессивно



По локализации в гене. Если мутация происходит

- **в кодирующей части** – синтез белка может измениться качественно
- **в регуляторной части** – например, в промоторе – измениться количественно
- **в интронах** – ничего не будет – нейтральная (сайлент) мутация

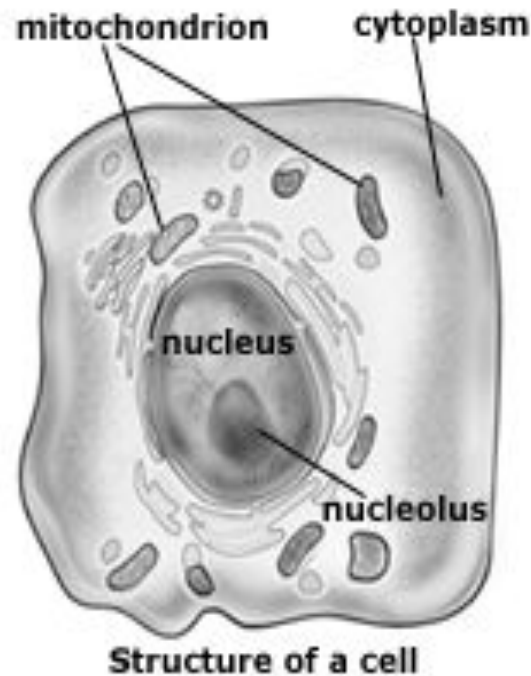
По локализации в хромосоме

- **Аутосомные – в аутосомах
(неполовых хромосомах)**
- **X-сцепленные (в X хромосоме)**
- **Y-сцепленные (в Y)**

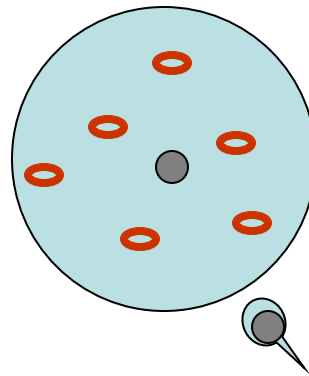
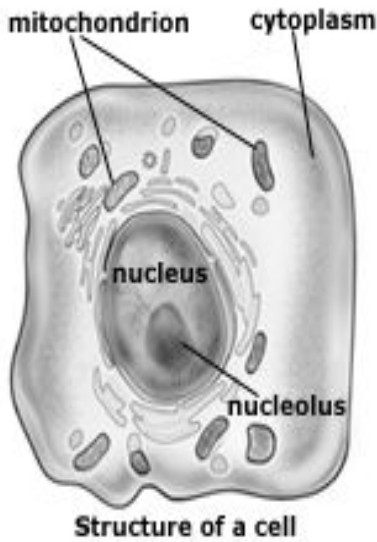
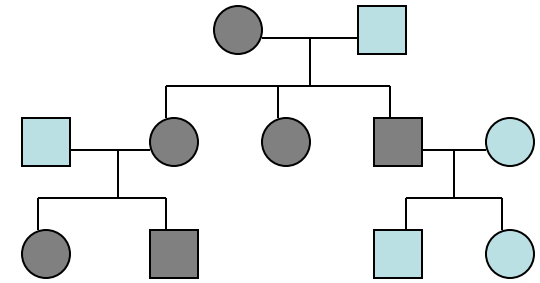
По локализации в клетке

- **Ядерные**
- **Цитоплазматические** (немногочисленные, но тяжелые митохондриальные болезни)

Митохондрии имеют
свою кольцевую
ДНК



Митохондриальные болезни передаются по материнской линии и затрагивают, мышцы, зрение, нервную систему



Все наши клеточные органеллы от мамы, папы привносят только хромосомы



По локализации в организме

- **Соматические** (в клетках тела, чаще всего – рак), не передаются детям
- **Генеративные** (в половых клетках и проявятся только у потомков)

По последствиям

- Вредные
- Полезные
- Нейтральные

По проявлению в фенотипе

- **Доминантные** (проявляются в фенотипе сразу как в гомо-, так и в гетерозиготном состоянии)
- **Рецессивные** (проявляются только в гомозиготном состоянии)

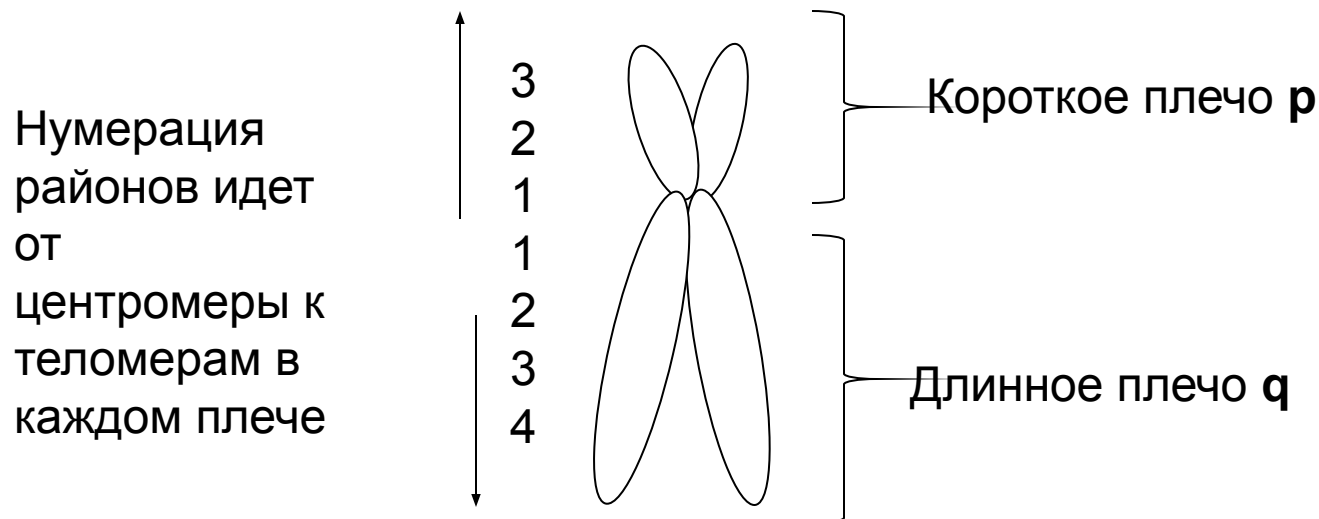
Множественный аллелизм

- Чем длиннее ген, тем больше у него может быть мутантных аллелей.
- Так, выявлено около 1000 мутаций гена муковисцидоза, большинство редкие.
- Самая частая мутация (50% случаев) – del 508 – приводит к выпадению фенилаланина в положении 508 белка и нарушает его работу.

Номенклатура генных мутаций

Гены имеют названия и места на хромосомах например:

- 15q21.1 – фибриллин (мутация вызывает синдром Марфана)
- 07q31.2 – трансмембранный регулятор (мутация приводит к муковисцидозу)
- Хр21.2 – дистрофин (мутации - миопатия Дюшенна или Беккера)



Номенклатура генов и генных мутаций основывается на разных подходах:

Подход 1: Генетическая номенклатура (по изменениям в ДНК или белке)

Для генных болезней человека:

Подход 2: Mendelian Inheritance in Man (OMIM)

Подход 3: Названия болезней

Генетическая номенклатура (**подход 1**) основана на описании изменений в ДНК или белке. Примеры

В ДНК

- 3821delT - выпадения тимина в позиции № 3821.
- 2112ins13 kb – после нуклеотида № 2112 вставилось 13 000 нуклеотидов (13 килобаз)

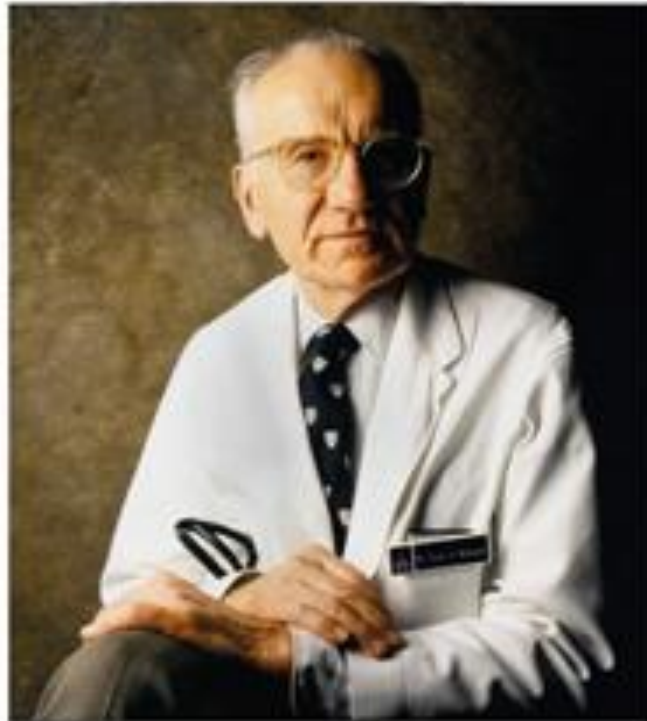
В БЕЛКЕ

- delF508 – выпадение фенилаланина в позиции 508
- N44G – замена аспарагина на глицин в позиции 44
- W128X – замена триптофана на стоп триплет

[Аланин](#) A Ala
[Аргинин](#) R Arg
[Аспарагиновая кислота](#) D Asp
[Аспарагин](#) N Asn
[Валин](#) V Val
[Гистидин](#) H His
[Глицин](#) G Gly
[Глутаминовая кислота](#) E Glu
[Глутамин](#) Q Gln

[Изолейцин](#) I Ile
[Лейцин](#) L Leu
[Лизин](#) K Lys
[Метионин](#) M Met
[Пролин](#) P Pro
[Серин](#) S Ser
[Тирозин](#) Y Tyr
[Треонин](#) T Thr
[Триптофан](#) W Trp
[Фенилаланин](#) F Phe
[Цистеин](#) C Cys
Стоп-триплет X

Огромная роль в собирании и описании генных мутаций у человека принадлежит **Виктору МакКьюсику**. Он начал работу по составлению регистра мутаций.
(подход 2)



(October 21, 1921 – July 22, 2008),

(OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man)

Каждая мутация получает
6-значный номер

Номера генных мутаций
(OMIM)

1	100000–19 9999	Аутосомно-доминантные
2	200000–29 9999	Аутосомно-рецессивные
3	300000–39 9999	X-сцепленные
4	400000–49 9999	Y-сцепленные
5	500000–59 9999	Митохондриальные
6	600000–	Аутосомные, описанные после 15 мая 1994 года

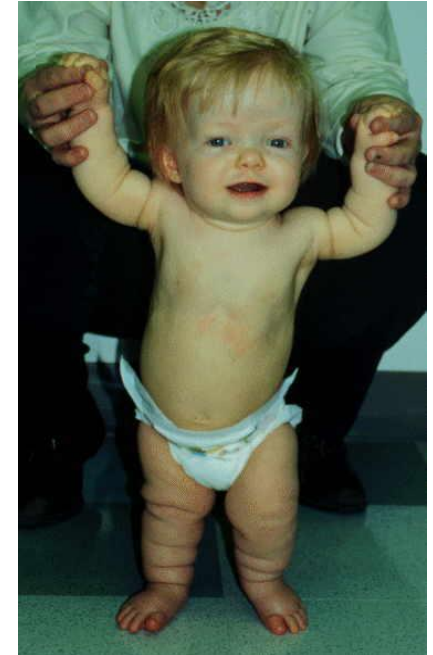
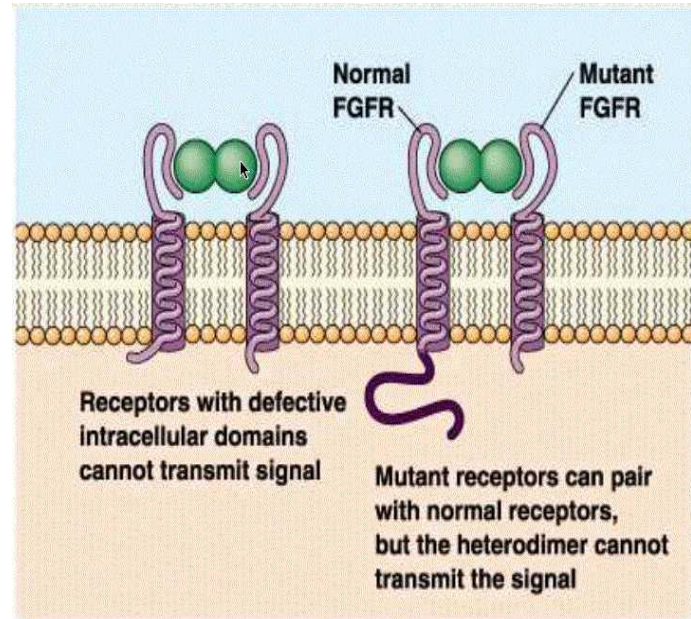
Названия генных болезней не систематизированы (подход 3)

- Это может быть просто название, основанное на проявлении болезни – *ахондроплазия* – «недоразвитие хряща»
- Может быть синдром, названный по имени ученого (чаще) – *синдром Марфана*; или больного (реже)
- Может быть броское и необычное название – *синдром грима Кабуки*, *синдром счастливой куклы*

Ахондроплазия (хондродистрофическая карликовость)

OMIM 100800

Мутация в белке-рецепторе к фактору роста фибробластов



(b) Dominant negative mutation

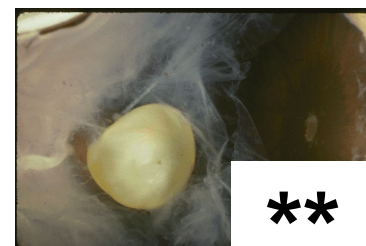
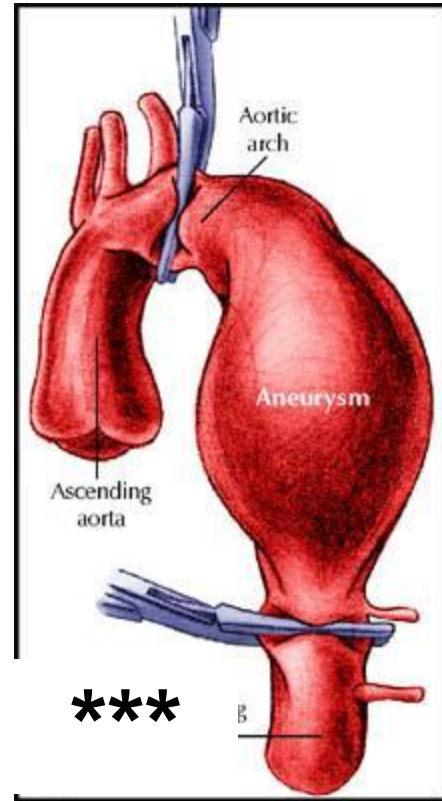
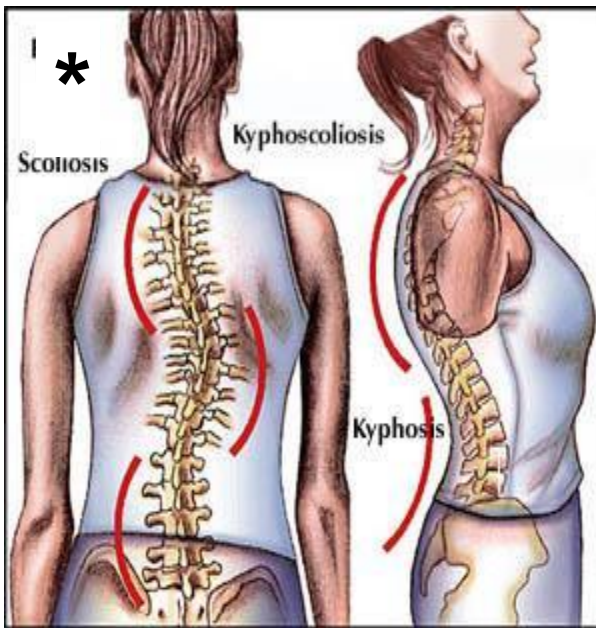
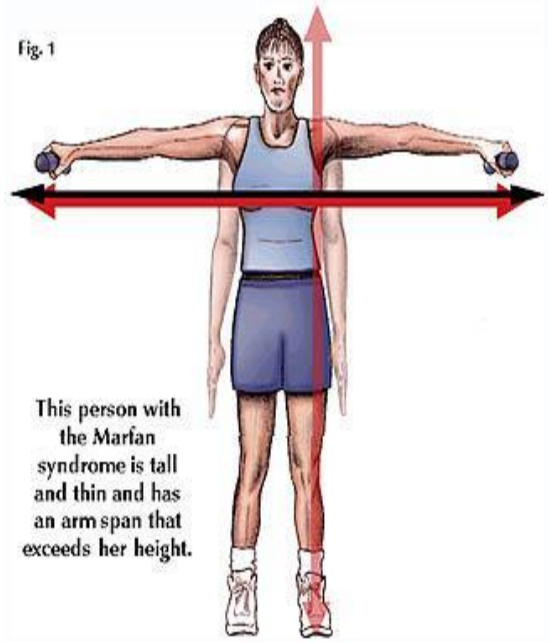


Синдром Марфана

OMIM 154700

Мутация в важном белке соединительной ткани – фибриллине.

Проявления – высокий рост, длинные конечности, растяжимая соединительная ткань. Как следствие – сколиоз, подвывих хрусталика*, аневризма аорты**.



Синдром «грима Кабуки» OMIM 147920, в чем состоит генетический дефект, пока не известно



Некоторые распространенные генные болезни

Синдромы, номер по Мак-Кьюсику	Хромосомная локализация гена, размеры (тыс. п.о.), экзоны	Встречаемость, белок, размеры в аминокислотах	Типы и количество мутаций, мажорные мутации (в скобках указаны частоты аллелей у больных)
Муковисцидоз, врожденное отсутствие vas deferens 219700	7q31. 2 CFTR. 500 260 27 экзонов	1:2500 – Европа 1:3800 – Россия CF-трансмембранный регулятор 1480	Точковые-преобладающие; небольшие делеции и дупликация; мажорные: de LF508 – 30-90%, W1272X-2-33%, 3732delA – 4%, 394delTT, G542X, R117H
Миопатия Дюшенна, Беккера, кардиомиопатия делеционная 310200	Xp21. 2 DMD. 21 2000 73 экзона	1:3500 мальчиков Дистрофин 3685	Делеции протяженные – 60%; дупликации – 6-7%; делеции нескольких нуклеотидов – 7; нонсенс – 9; сплайсинг – 3; миссенс – 1; инсерция – 1
Гемофилия А, фактора VIII дефицит 306700	Xq28 F8C. 66 186 26 экзонов	1:6500 мальчиков Фактор VIII свертываемости 2351	Делеции экзонов – 31; миссенс – 21; нонсенс – 8; мажорные; инверсия 26 – 25 экзонов – 45% семей
Гемофилия В, Кристмаса, фактора IX дефицит 306900	Xq27. 1–q27. 2 F9. 400 34 8 экзонов	1:20000 мальчиков Фактор IX свертываемости крови 461	Миссенс и нонсенс более 60%; спайсинг – 10%; регулятор – 3,5%; делеции – до 40% при тяжелых формах
Фон Виллебранда болезнь 193400	12pter-p12 F8VWF. 22 178 52 экзона	1:5 – 20000 Фактор V111R свертываемости крови	Тип I и II – миссенс; мажорные: R543W, R545C, V553M, R578Q. Тип III – делеция 1 нуклеотида в 28 экзоне; нонсенс – 4
Фенилкетонурия; гиперфенилаланинемия, мягкая 261600	12q24. 1 PAH. 70 90 13 экзонов	1:10 – 15000 Фенилаланингидроксилаза 452	Миссенс – 62%; нонсенс – 13%; спайсинг – 13%; делеций – 9%; мажорные: IVS12+1, R408W, R261Q, R158Q, IVS10
Леш-Нихана синдром, HPRT-родств. подагра 308000	Xq26–q27. 2 HPRT. 100 44 9 экзонов	Гипоксантинфосфорибозилтрансфераза 217	Миссенс – 53%; небольшие структурные перестройки – 40%; спайсинг – 5%; нонсенс – 2%; мажорные: R170TER (15%)
Гепатоленгликулярная дегенерация Вильсона-Коновалова 277900	13q14. 3–q21. 1 ATP7B. 34	Медь-транспортирующая АТФаза Р тип 1434	Миссенс-15; делеции/инсерция-14; мажорные- H714Q-31% в Америке, 22% в России; 1 нуклеотид делеции H1070G1-28%; G11267L-10%

Значение генных мутаций

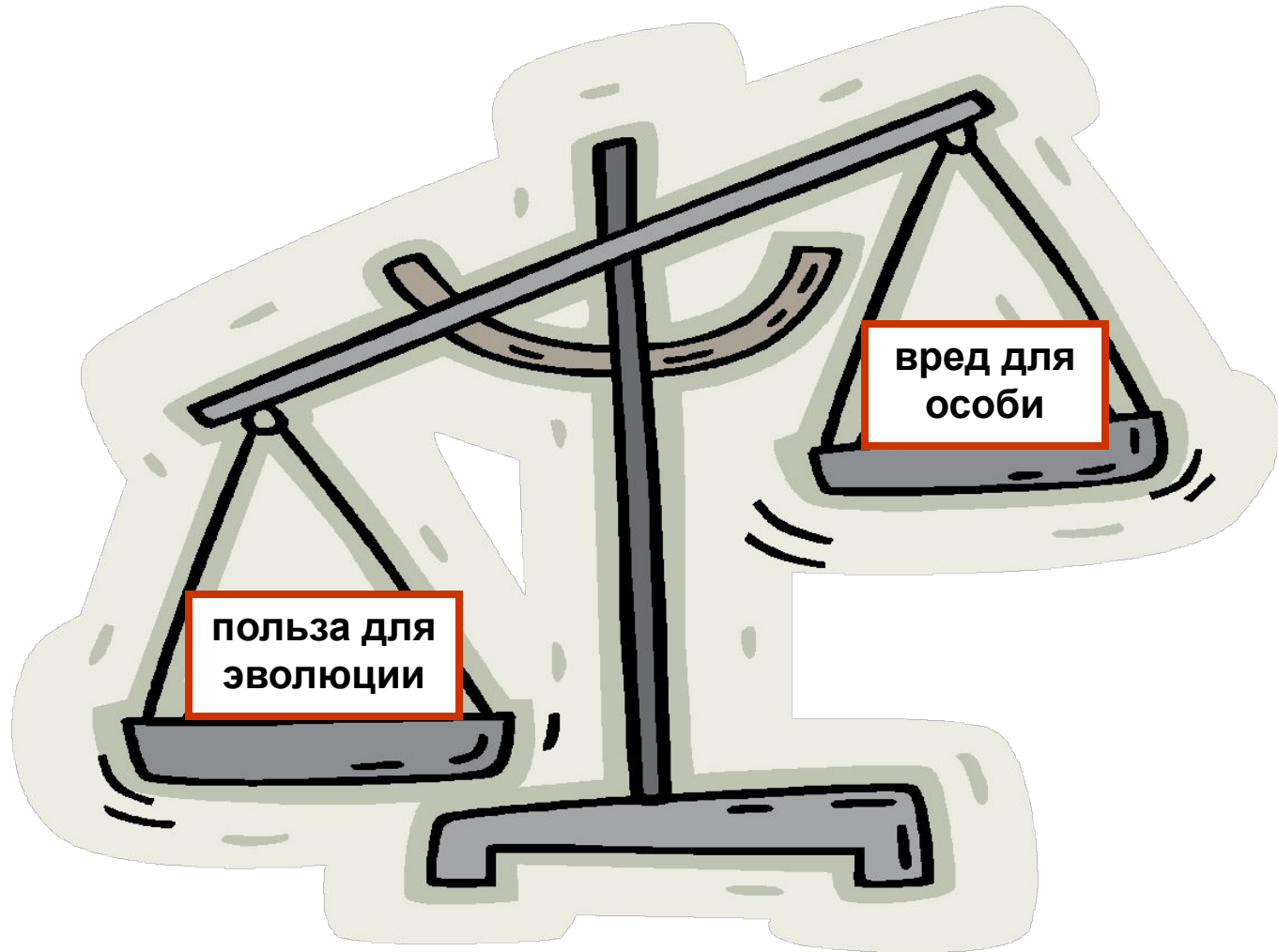
- **Для биологии:** возникают новые аллели генов, что дает материал для естественного отбора и, следовательно, эволюции.
- **Для медицины:** существуют генные (менделирующие) болезни, которых описано несколько тысяч.

Биологические антимутационные механизмы

Поскольку большинство мутаций вредны,
природа выработала
антимутационные механизмы

- **Две цепи ДНК** (запасная цепь)
- **Вырожденность генетического кода**
(запасные триплеты)
- **Наличие повторяющихся генов** (запасные гены)
- **Диплоидность** (запасной набор хромосом)
- **Системы репарации** (следит на уровне ДНК)
- **Иммунная система** (следит на уровне организма)

Но совсем без мутаций нельзя!



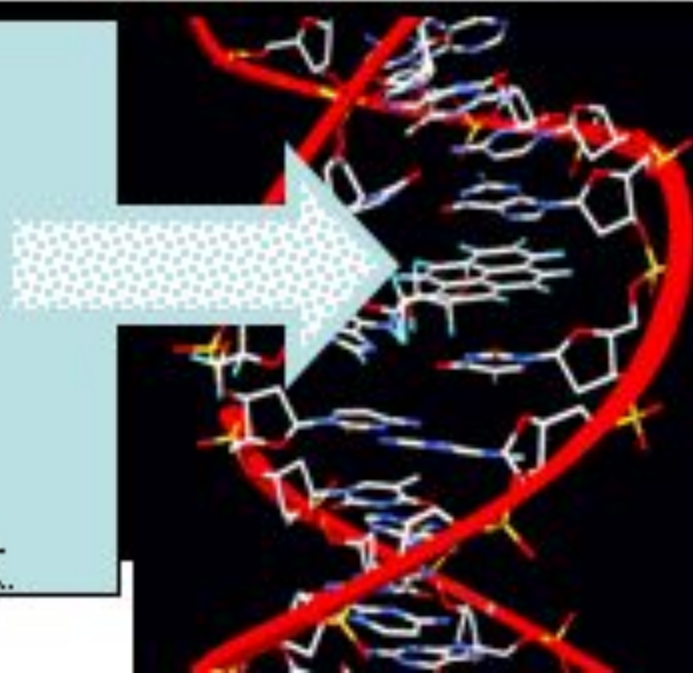
Частота генных мутаций

- Спонтанные мутации возникают самопроизвольно на протяжении всей жизни организма в нормальных для него условиях окружающей среды.
- Метод определения частоты спонтанных мутаций у человека основан на появлении у детей доминантного признака, если у родителей он отсутствует.
- Ученый Холдейн рассчитал среднюю вероятность появления спонтанных мутаций, которая оказалась равна **5×10^{-5} на ген (локус) на поколение.**

Примеры частоты спонтанных мутаций у человека

Характер наследования	Заболевание	Частота спонтанных мутаций	Число мутаций на 10^6 гамет
Аутосомно-доминантный	Туберозный склероз	$8 \cdot 10^{-4}$	800
	Талассемия	$4 \cdot 10^{-4}$	400
	Ретинобластома	$2.3 \cdot 10^{-5}$	23
	Аниридия	$5 \cdot 10^{-6}$	---

Главный мутаген табачного дыма — бензопирен — связанный с одним из нуклеотидов молекулы ДНК.



Рак лёгкого у курильщика — пример **индуцированного мутагенеза**

Свойства гена

Свойства гена

(не путать со свойствами генетического кода!)

- **Дискретность** (имеет определенный размер и позицию - локус)
- **Лабильность** (может мутировать)
- **Стабильность** (однако мутирует редко)
- **Специфичность** (ген кодирует конкретный белок)
- **Аллельность** (в результате мутаций возникают варианты - аллели)
- **Плейотропность** (множественность действия)
- **Дозированность** действия (чем больше экземпляров гена в генотипе (доз), тем сильнее эффект гена)