17. Mutazione e mutagenesi

DOMANDE

- Qual è la natura molecolare delle mutazioni?
- Qual è la base molecolare delle mutazioni spontanee rispetto a quelle indotte?
- Quali sono i meccanismi biologici di riparazione del DNA?
- Quali malattie genetiche umane sono causate da mutazioni nei meccanismi di riparazione del DNA?

Da dove viene la variabilità genetica?

- **Meccanismi.**
  - Ricombinazione,
  - Riproduzione sessuale
  - Assortimento dei cromosomi nei gameti
  - **Mutazione**



Mutazione



Variabilità genetica

Wild type & mutante





Selezione, adattabilità & evoluzione per sopravvivere in nuovi ambienti

Mutazioni e origine delle variazioni geniche

- **Mutazione:** cambiamento ereditabile nella sequenza di basi del DNA genomico di un organismo.
  - E' il motore che guida la variazione biologica
  - quindi l'evoluzione

- **Mutante:** ceppo che porta tale cambiamento genetico cromosomale.

- Gli esperimenti condotti usando ceppi mutanti probabilmente rappresentano i metodi migliori per analizzare le funzioni cellulari.

- **La tecnologia dei mutanti** si fonda sul confronto fra
  - **ceppi mutanti** (portatori di specifiche mutazioni)
  - **ceppi selvatici** dai quali derivano.

MUTAZIONI
Classificazione: tipologia e estensione

- **I sistemi genetici sono conservativi, ma…**
  - **Mutazioni cromosomiche**:
    alterazioni di **numero o di struttura** dei cromosomi

- **variazioni nella struttura dei cromosomi:** ***mutazioni o aberrazioni cromosomiche;***
- **variazioni del numero dei cromosomi** ***(mutazioni genomiche).***

  - **Mutazioni geniche:** interessano i geni → piccoli cambiamenti del DNA, questi danno origine alle cosiddette **mutazioni geniche o puntiformi;**

TIPO	MECCANISMO	FREQUENZA	ESEMPIO
Genomiche N° cromosomi	Errori di segregazione	10^{-2}/div. cell.	Aneuploidia
Cromosomiche Struttura cromosomi	Errori di ricombinazione	$6X10^{-4}$/div. cell.	Duplicazioni Delezioni
Geniche Poche basi	Errori della duplicazione	10^{-10}/bp/div. cell. 10^{-5-6}/ locus/gen.	Mut. puntiformi

Principali tipi di mutazioni e loro caratteristiche distintive

Basis of classification	Major types of mutations	Major features
Origin	Spontaneous	Occurs in absence of known mutagen
	Induced	Occurs in presence of known mutagen
Cell type	Somatic	Occurs in nonreproductive cells
	Germ-line	Occurs in reproductive cells
Expression	Conditional	Expressed only under restrictive conditions (such as high temperature)
	Unconditional	Expressed under permissive conditions as well as restrictive conditions
Effect on function	Loss-of-function (knockout, null)	Eliminates normal function
	Hypomorphic (leaky)	Reduces normal function
	Hypermorphic	Increases normal function
	Gain-of-function (ectopic expression)	Expressed at incorrect time or in inappropriate cell types
Molecular change	Nucleotide substitution	One base pair in duplex DNA replaced with a different base pair
	Transition	Pyrimidine (T or C) to pyrimidine, or purine (A or G) to purine
	Transversion	Pyrimidine (T or C) to purine, or purine (A or G) to pyrimidine
	Insertion	One or more extra nucleotides present
	Deletion	One or more missing nucleotides
Effect on translation	Synonymous (silent)	No change in amino acid encoded
	Missense (nonsynonymous)	Change in amino acid encoded
	Nonsense (termination)	Creates translational termination codon (UAA, UAG, or UGA)
	Frameshift	Shifts triplet reading of codons out of correct phase

Definizione di genotipo e fenotipo

- **Le mutazioni possone essere classificate in due modi:**

➢ **Cambiamento del Genotipo:** precisa composizione genetica di un organismo

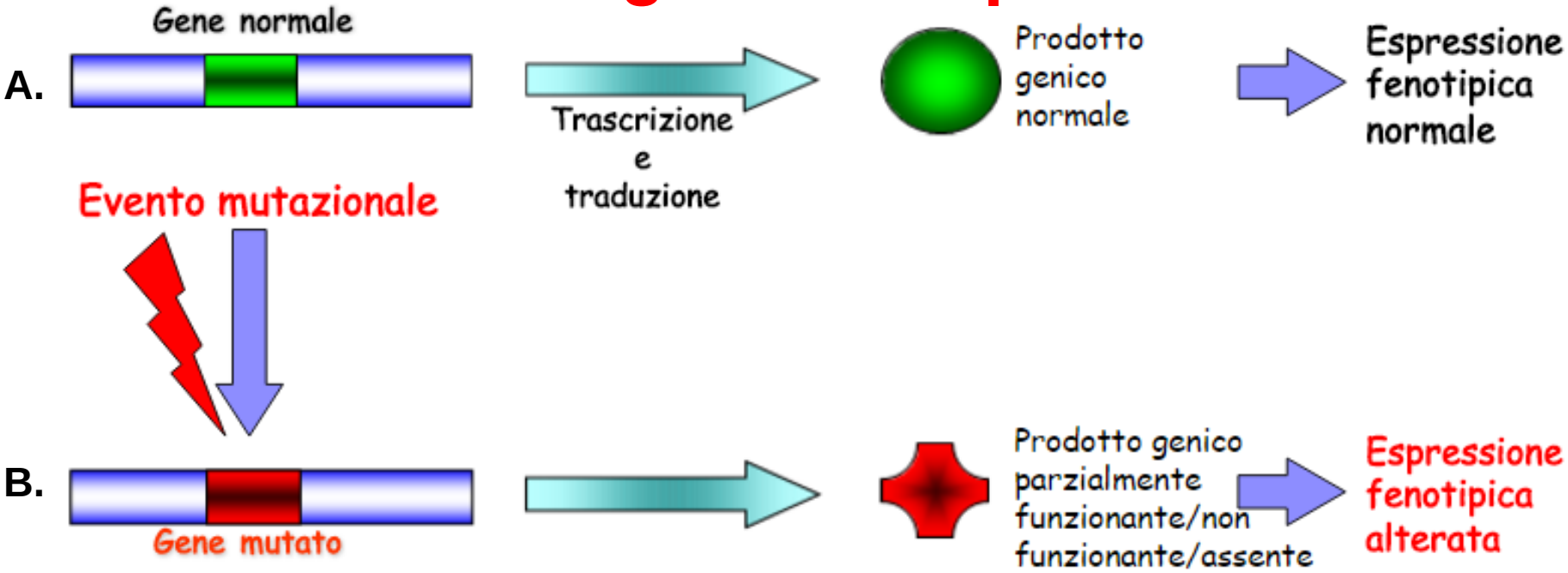
(es. *hisC*----► *HisC*)

Mutazioni del gene *hisC*: *hisCl, hisC2, hisC3, etc.*

➢ **Cambiamento del Fenotipo:**

- Caratteristiche osservabili di un organismo (aspetto esteriore, funzioni)
- (es:
  - un **ceppo *His+*** è in grado di produrre istidina
  - un **ceppo *His-*** non è in grado di produrre istidina)

MUTAZIONE geniche o puntiformi



Effetto

- **MINIMO o NULLO:** nessuna alterazione della proteina.
- **POLIMORFISMI**: se la frequenza è superiore all' 1%
- **LETALE**: proteina anomala → fenotipo anomalo

Teorie sull'origine della variazione genetica

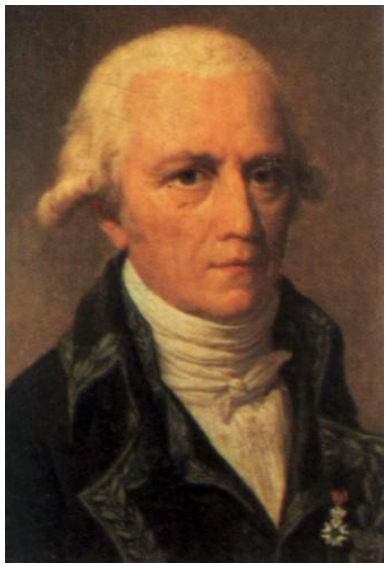
- **1. Teoria genetica o del pre-adattamento**
- **2. Teoria adattativa o del post-adattamento**

➢ Esperimenti in favore della teoria genetica:

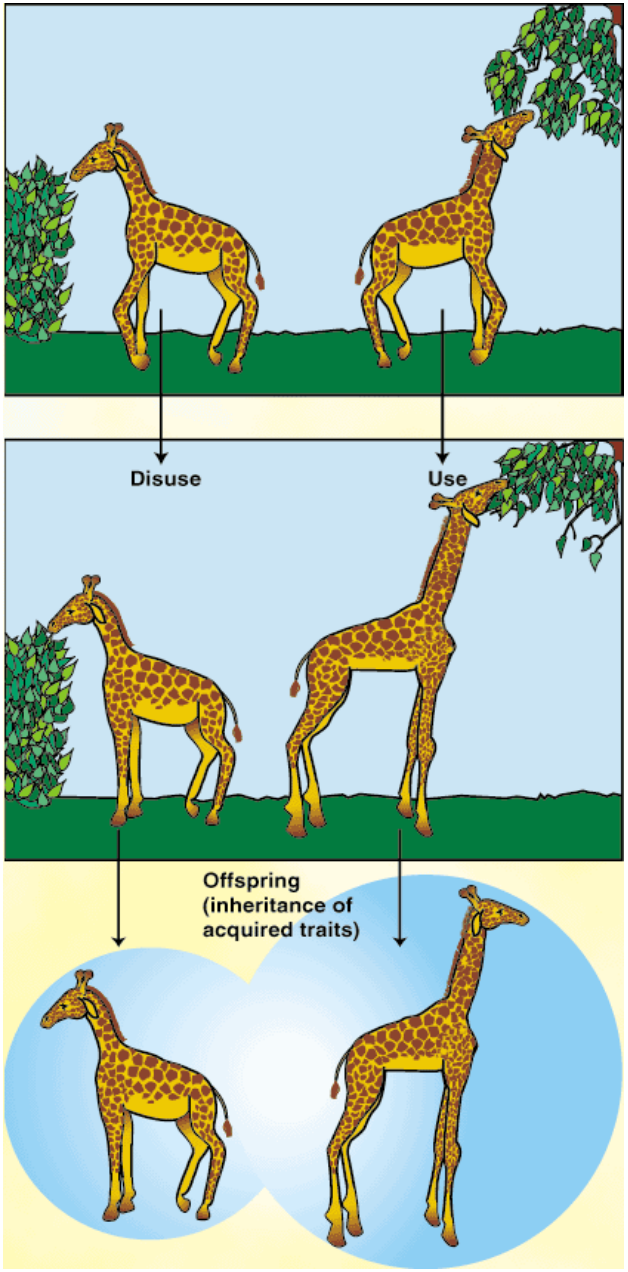
- test di fluttuazione (Luria e Delbrück 1943)
- replica plating (Joshua ed Esther Lederberg 1952)

Mutazioni
pre- o post-adattative?

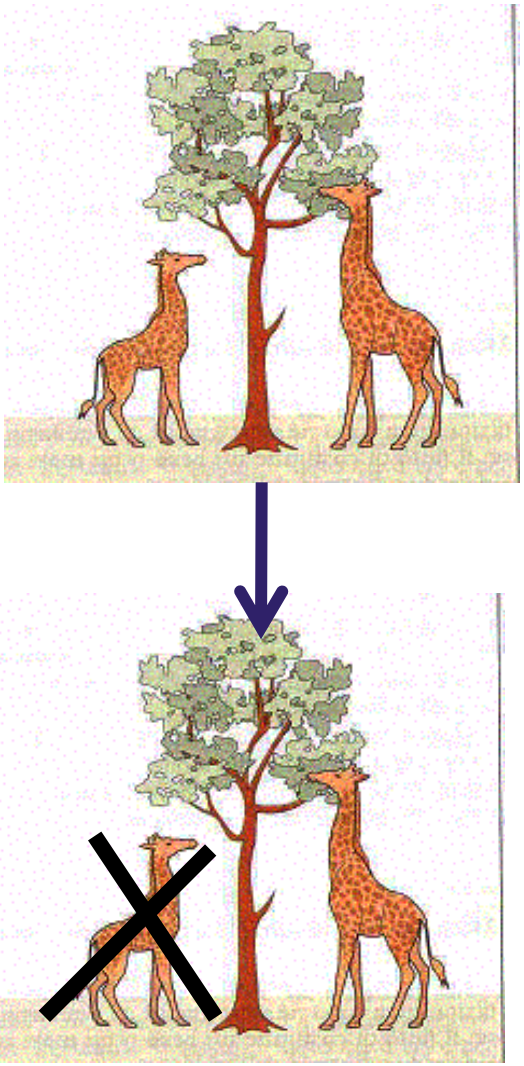
Due ipotesi alternative



1. Lamarck: L'ambiente crea variabilità (mutazione **diretta**)







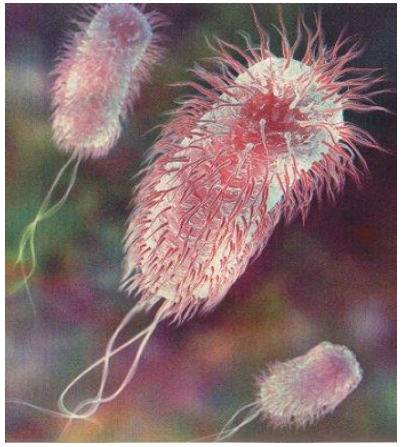
2. Darwin:

la variabilità pre-esiste

all'interazione con i fattori ambientali

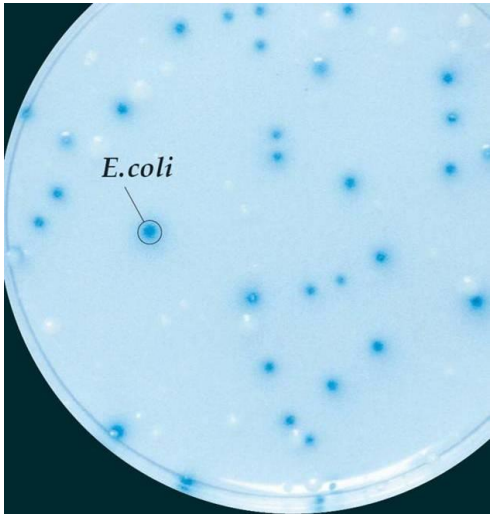
(mutazione **spontanea**)

Come provarlo? Colture del batterio *E. coli*.



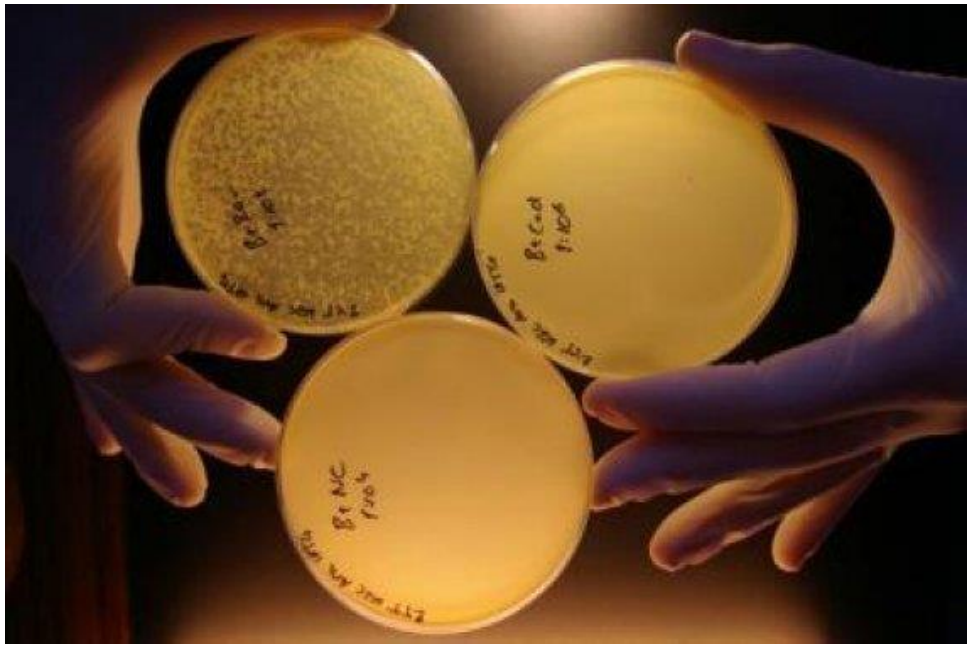
Crescita in brodo di coltura liquido

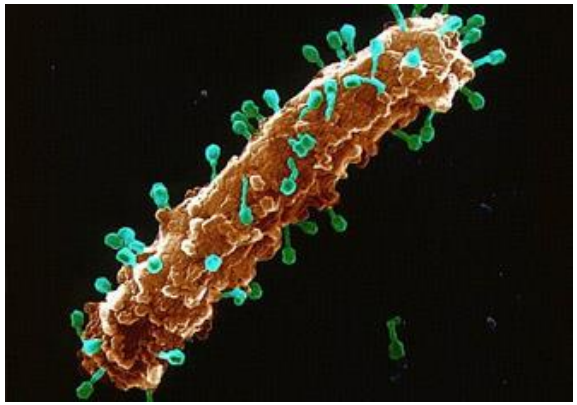


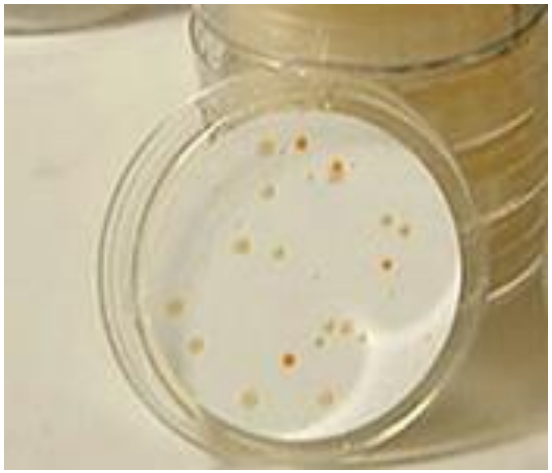


Piastramento su terreno solido

Se nel terreno di coltura è presente il batteriofago T1, un parassita di *E.coli*, non si osserva crescita batterica…

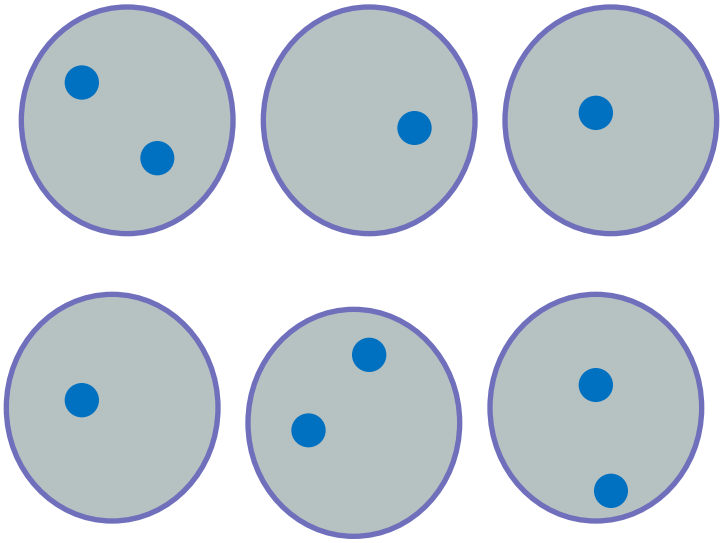






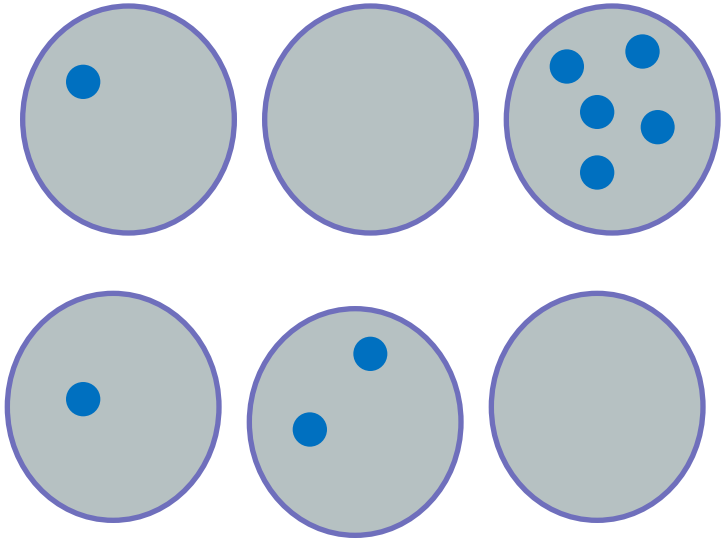
- a meno che qualche batterio abbia acquisito, per mutazione, la resistenza al batteriofago

Se ha ragione Lamarck
(mutazione diretta, post-adattativa)



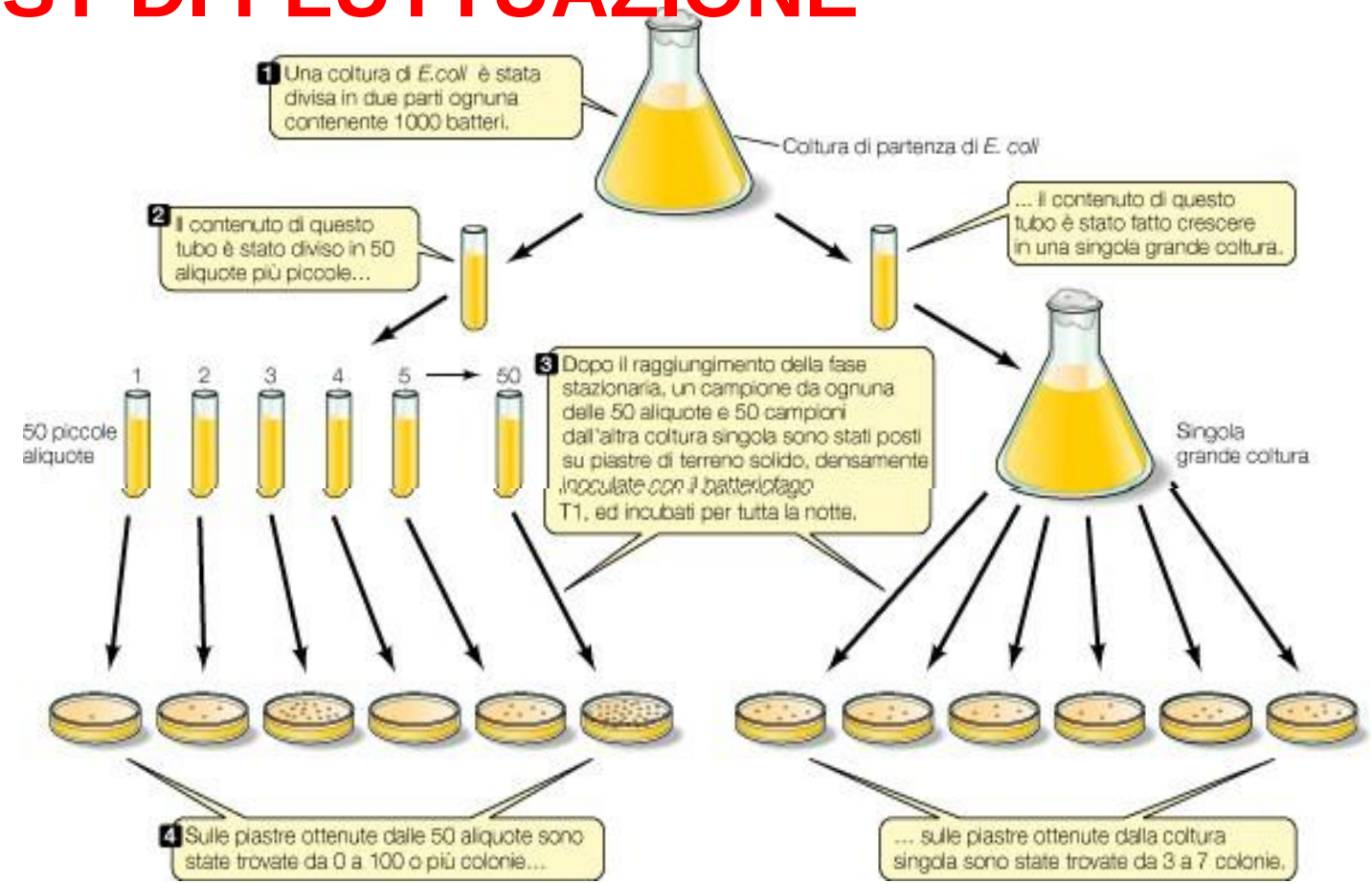
- E' **atteso lo stesso numero di colonie mutanti in ogni esperimento**,
- perché l'esposizione al fattore selettivo è stata simultanea in ogni coltura
- (varianza = media)

Se ha ragione Darwin
(mutazione spontanea, pre-adattativa)



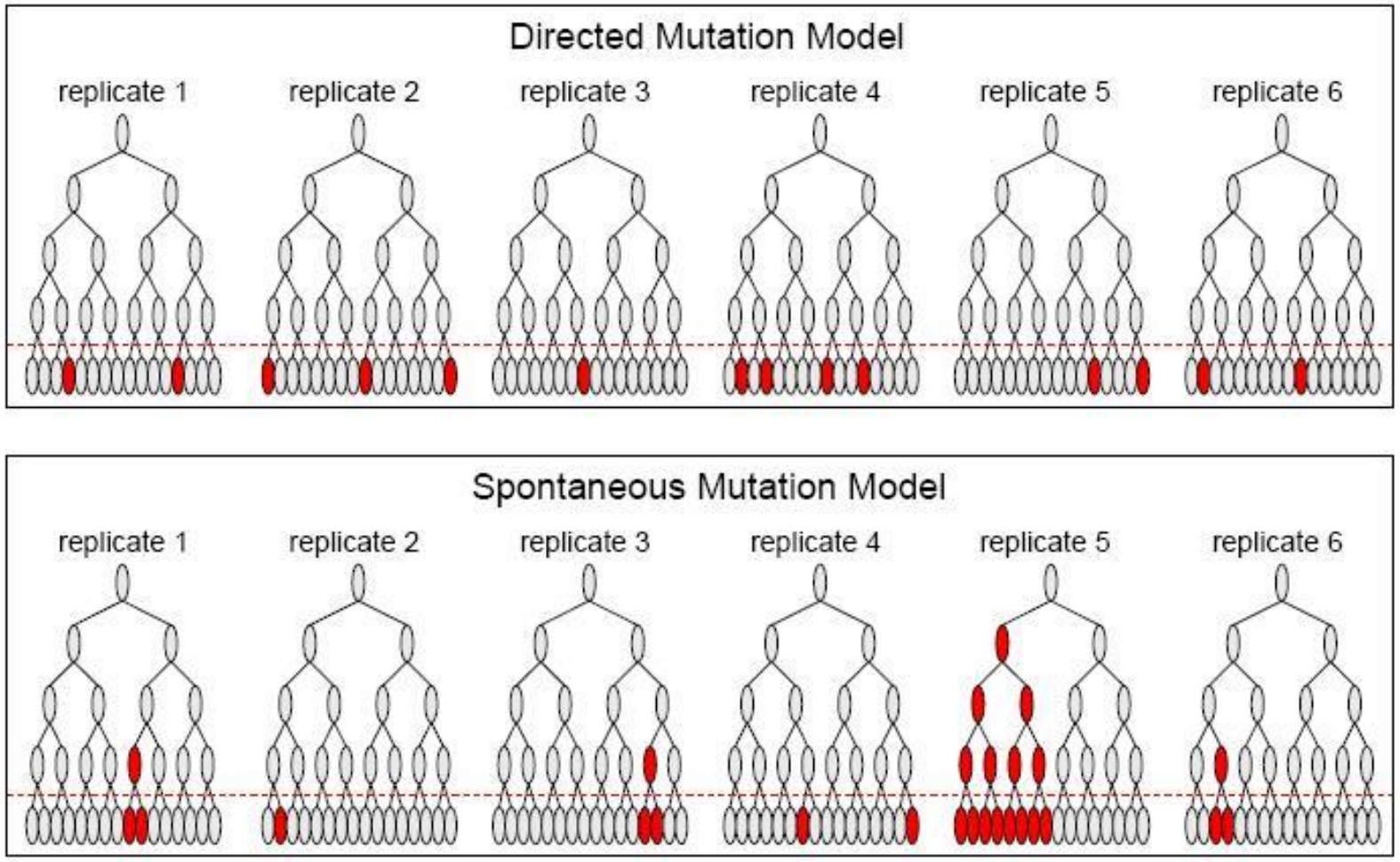
- **E' atteso un numero diverso di colonie mutanti nei diversi esperimenti**,
- perché la **resistenza si è sviluppata in momenti diversi**
- (varianza > media)

TEST DI FLUTTUAZIONE



- Il test di fluttuazione stabilì in modo conclusivo che:
  - **le mutazioni possono avvenire spontaneamente** nei batteri
  - la **presenza di agente selettivo** ha solo la **funzione di evidenziare ogni singolo mutante.**
  - In questo esperimento furono ottenuti, in seguito a mutazione, batteri resistenti all'infezione del fago T1.

Mutazione diretta e spontanea hanno conseguenze diverse: test di fluttuazione



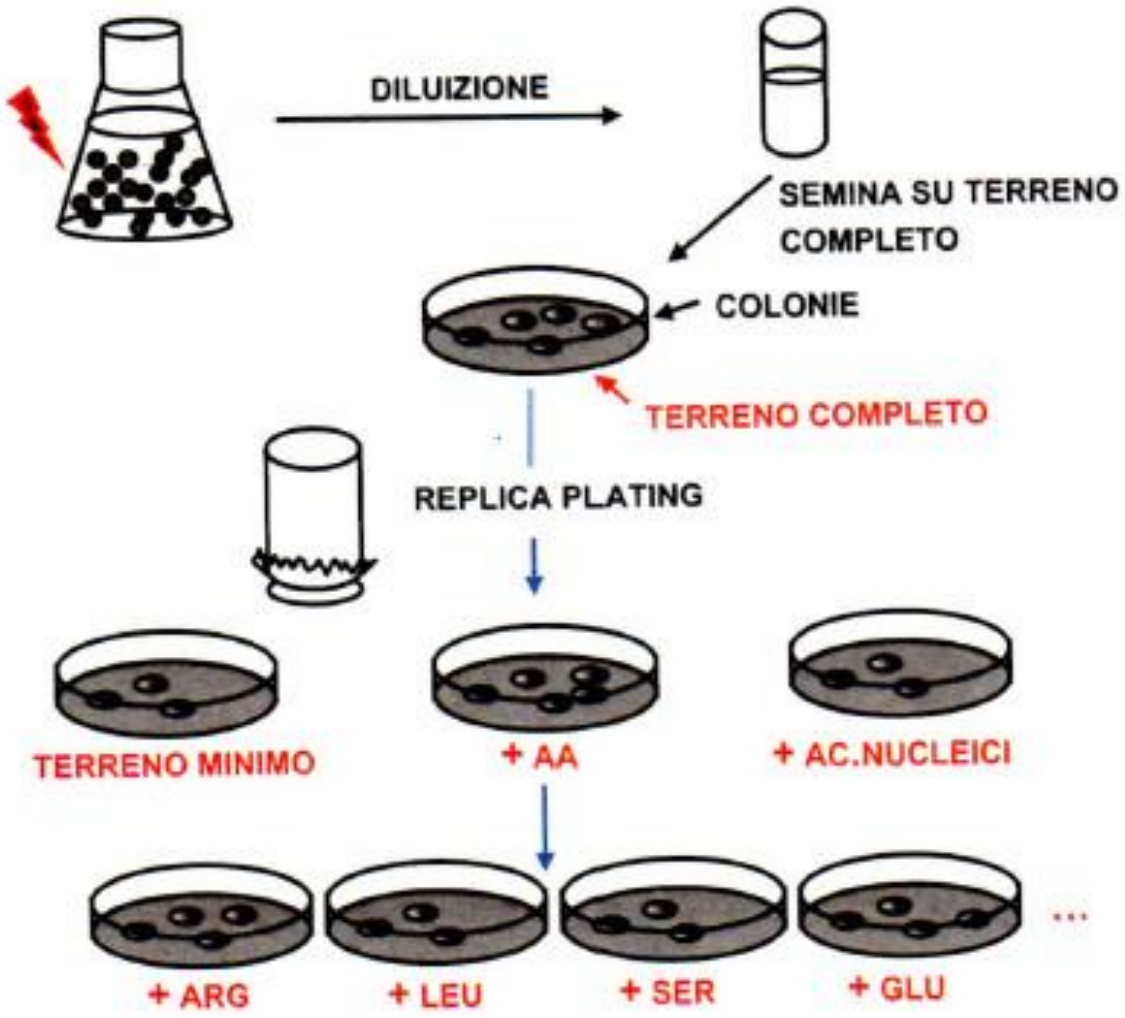
http://evilutionarybiologist.blogspot.com/2008/07/this-weeks-citation-classic-fluctuation.html

Identificazione delle mutazioni

Joshua e Esther Lederberg (1952): Il replica-plating



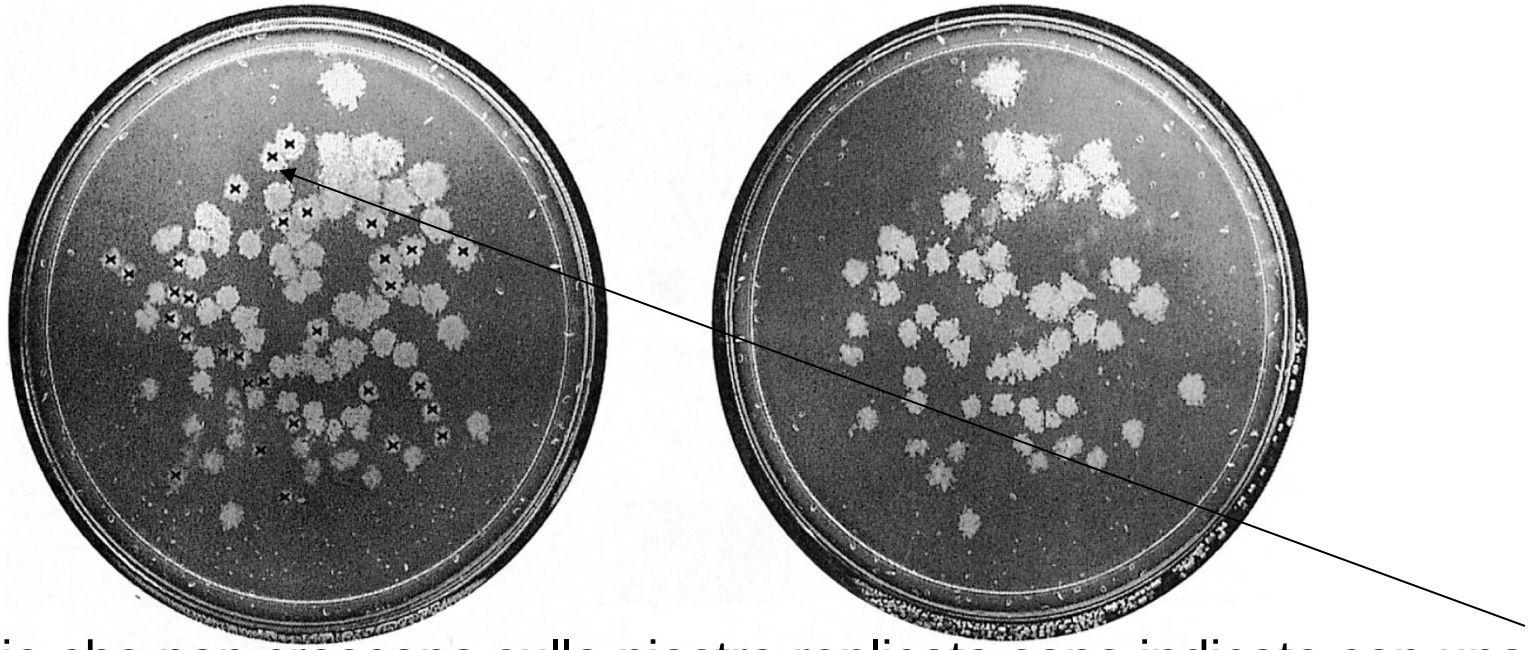




Tecnica del piastramento per replica (*replica plating*) per l'individuazione di mutanti nutrizionali

Piastra madre
con terreno completo

Piastra replicata
con terreno minimo privo di leucina



- Le colonie che non crescono sulla piastra replicata sono indicate con una **X**.
- La piastra replicata manca di un nutriente(leucina) presente sulla piastra madre.
- Le **colonie indicate con la X** si dicono **auxotrofe** per leucina (incapaci di crescere in un terreno di coltura minimo, privo del nutriente).
- Il ceppo selvatico da cui il mutante auxotrofo deriva è detto prototrofo.

Cosa causa le mutazioni?

- **Classificazione in base ……all'origine**

- **Mutazioni spontanee :** insorgono in ***assenza*** di agenti mutageni esterni
- sono prodotte da fenomeni di
  - ricombinazione ***(crossing-over)***
  - replicazione del DNA

- **Mutazioni indotte:** dovute all'azione sul DNA di agenti chimici, fisici o biologici

Differenza principale tra mutazioni spontanee ed indotte: frequenza di mutazione

$$\frac{\text{Numero di eventi mutazionali (cellule o individui)}}{\text{Totale della popolazione}}$$

- **Frequenza di mutazione : numero di volte in cui una certa mutazione** si verifica in una popolazione di cellule/individui

- La **frequenza di mutazioni spontanee** è: **10^{-8}-10^{-11}** per bp/ogni ciclo replicativo

- **Tasso di mutazione: probabilità che una mutazione si verifichi nel tempo**

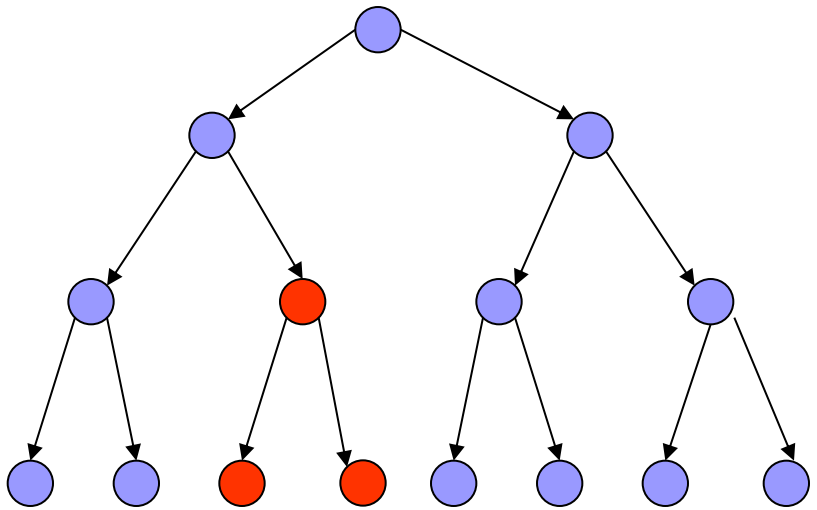
(nell'uomo il tasso di mutazioni spontanee per singoli geni va da 10^{-4} a 10^{-7} gene/generazione)

TASSO E FREQUENZA DI MUTAZIONE

- **Il tasso di mutazione misura la frequenza con cui una mutazione si origina *ex novo* in un'unità di tempo "biologico" (di solito una generazione) Es 1**

- **La frequenza di mutazione misura la frequenza della mutazione in una popolazione nel momento dell'osservazione**

Il tasso di mutazione è di una nuova mutazione ogni 7 divisioni cellulari ($1/10^7$)



La frequenza di mutazione nella 4° generazione è di 2 mutanti su 8 cellule

TASSI DI MUTAZIONE SPONTANEA IN VARI LOCI DI DIVERSI ORGANISMI

Organismo	Carattere	Gene	Tasso	Unità
Batteriofago T_2	Inibizione della lisi	$r \rightarrow r^+$	1×10^{-8}	Per replicazione
	Spettro d'ospite	$h^+ \rightarrow h$	3×10^{-9}	
	Fermentazione del lattosio	$lac^- \rightarrow lac^+$	2×10^{-7}	
	Fermentazione del lattosio	$lac^+ \rightarrow lac^-$	2×10^{-6}	
	Resistenza al fago T_1	$Tl\text{-}s \rightarrow Tl\text{-}r$	2×10^{-8}	
	Richiesta di istidina	$his^+ \rightarrow his^-$	2×10^{-6}	
	Prototrofia per l'istidina	$his^- \rightarrow his^+$	2×10^{-8}	
E. coli	Dipendenza della streptomicina	$str\text{-}s \rightarrow str\text{-}d$	1×10^{-9}	Per divisione cellulare
	Sensibilità alla streptomicina	$str\text{-}d \rightarrow str\text{-}s$	1×10^{-8}	
	Resistenza alle radiazioni	$rad\text{-}s \rightarrow rad\text{-}r$	1×10^{-5}	
	Prototrofia per la leucina	$leu^- \rightarrow leu^+$	7×10^{-10}	
	Protrotrofia per l'arginina	$arg^- \rightarrow arg^+$	4×10^{-9}	
	Prototrofia per il triptofano	$trp^- \rightarrow trp^+$	6×10^{-8}	
Salmonella typhimurium	Prototrofia per il triptofano	$trp^- \rightarrow trp^+$	5×10^{-8}	Per divisione cellulare
Diplococcus pneumoniae	Resistenza alla penicillina	$pen^s \rightarrow pen^r$	1×10^{-7}	Per divisione cellulare
Chlamydomonas reinhardi	Sensibilità alla streptomicina	$str^r \rightarrow str^s$	1×10^{-6}	Per divisione cellulare
Neurospora crassa	Richiesta di inositolo	$inos^+ \rightarrow inos^-$	8×10^{-8}	Frequenza di mutanti tra le spore asessuali
	Prototrofia per l'adenina	$ade^- \rightarrow ade^+$	2×10^{-8}	
Zea mays	Semi collassati	$sh^+ \rightarrow sh^-$	1×10^{-6}	
	Porpora	$pr^+ \rightarrow pr$	1×10^{-5}	Per gamete per generazione
	Incolori	$c^+ \rightarrow c^-$	2×10^{-6}	
	Zuccherino	$su^+ \rightarrow su^-$	2×10^{-6}	
Drosophila melanogaster	Corpo giallo	$y^+ \rightarrow y$	$1{,}2 \times 10^{-6}$	
	Occhio bianco	$w^+ \rightarrow w$	4×10^{-5}	
	Occhio marrone	$bw^+ \rightarrow bw$	3×10^{-5}	Per gamete per generazione
	Corpo ebano	$e^+ \rightarrow e$	2×10^{-5}	
	Senza occhi	$ey^+ \rightarrow ey$	6×10^{-5}	
Mus musculus	Mantello variegato	$s^+ \rightarrow s$	3×10^{-5}	
	Mantello schiarito	$d^+ \rightarrow d$	3×10^{-5}	Per gamete per generazione
	Mantello marrone	$b^+ \rightarrow b$	$8{,}5 \times 10^{-4}$	
	Occhi rosa	$p^+ \rightarrow p$	$8{,}5 \times 10^{-4}$	
Homo sapiens	Emofilia	$h^+ \rightarrow h$	2×10^{-5}	
	Corea di Huntington	$Hu^+ \rightarrow Hu$	5×10^{-6}	
	Retinoblastoma	$R^+ \rightarrow R$	2×10^{-5}	Per gamete per generazione
	Epiloia	$Ep^+ \rightarrow Ep$	1×10^{-5}	
	Aniridia	$An^+ \rightarrow An$	5×10^{-6}	
	Acondroplasia	$A^+ \rightarrow A$	5×10^{-5}	

Le mutazioni non sono distribuite casualmente ed uniformente nel genoma

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

- **dimensioni del locus considerato**
- **capacità codificante o meno**
- **caratteristiche di sequenza**

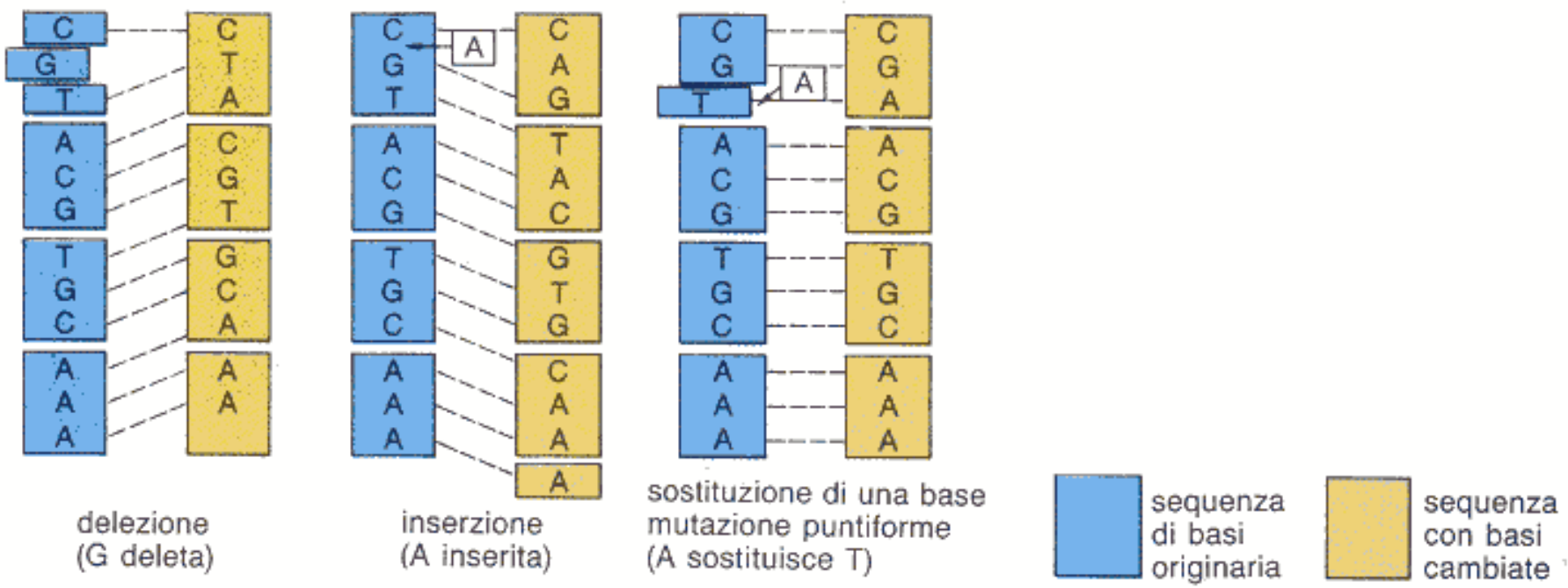
ZONE CALDE DI VARIABILITA'
(hot spots mutazionali)

Fattori che influenzano il tasso di mutazioni spontanee

- **Dimensioni del gene**:
  - Geni di dimensioni grosse hanno un più alto tasso di mutazioni
- **Sequenza Nucleotidica**:
  - Presenza di **nucleotidi ripetuti** sono associati ai più alti tassi di mutazione
- **Cambi chimici spontanei**:
  - coppie di basi C/G hanno una più grande probabilità di mutare che coppie di basi A/T

Varie tipologie di mutazioni geniche

- **Mutazioni puntiformi**
- **Delezioni**
- **Inserzioni**



Mutazioni puntiformi

- Una base azotata è sostituita da un'altra
- Ciò **può** determinare la codifica di un aa in luogo di quello che normalmente dovrebbe esserci nella sequenza AA della proteina.
- Questo può avere un modesto effetto fenotipico (molti alleli recessivi studiati da Morgan derivavano da mut. puntiformi)
- A volte si hanno però gravi effetti:
  - La sostituzione dell'Acido Glutammico con la Valina nella emoglobina la rende piuttosto "appiccicosa" .

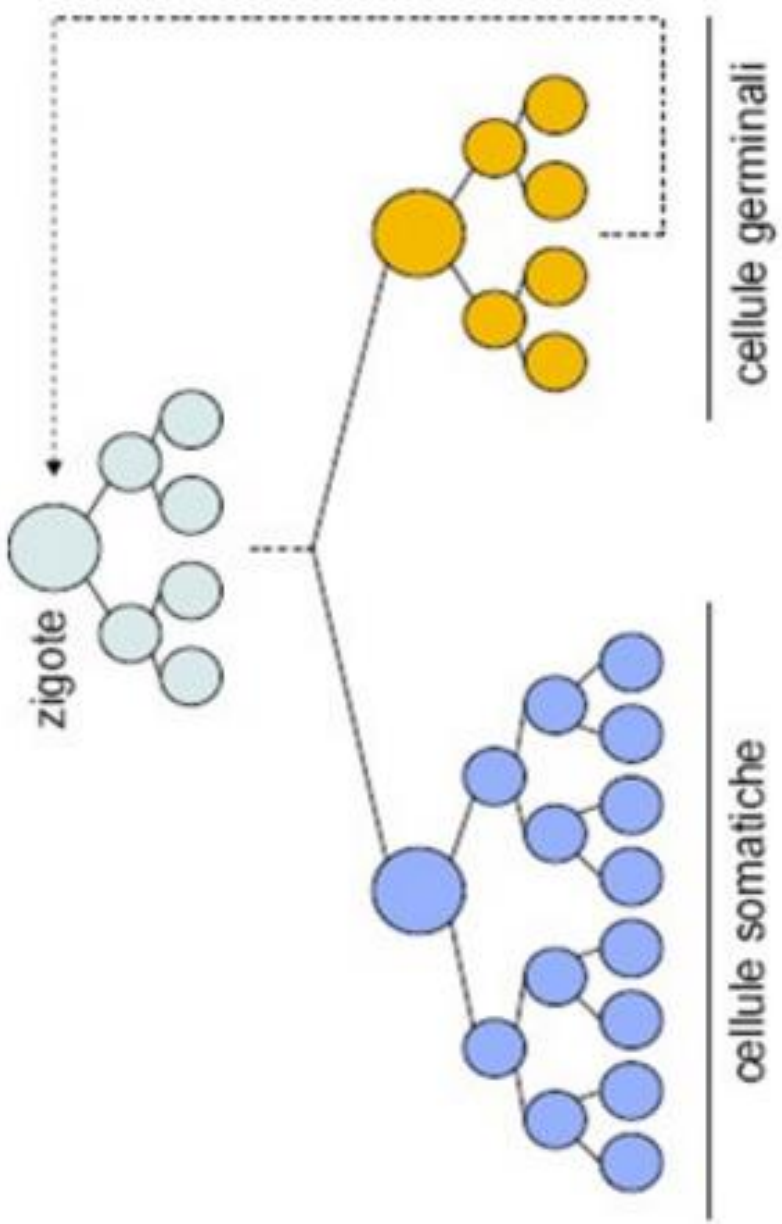
    Per questo essa tende a precipitare determinando una forma a falce del globulo rosso ….**anemia falciforme**

Inserzioni e delezioni

- **Inserzione**: un nucleotide viene erroneamente inserito nella sequenza nucleotidica
  - Sfasamento del modulo di lettura
- **Delezione**: un nucleotide viene perso nella sequenza nucleotidica
  - Sfasamento del modulo di lettura

- Entrambe possono portare ad una proteina inutile oltre che causare la mancata produzione della proteina invece necessaria.
- Problemi (spesso gravi) di vario tipo; es.: se la prot. prevista è un enzima = problemi ai metabolismi

Mutazioni somatiche e germinali



Mutazioni ereditarie

- Vantaggio evolutivo
- Morte dell'embrione
- Patologie ereditarie

Mutazioni somatiche

- Cancro
- Morte della cellula
- Patologia congenita

Valore delle mutazioni

- Molto dipende dalle cellule interessate dalla mutazione:
  - **Cellule somatiche**:la mutazione interessa l'individuo e non la prole. Possibili conseguenze= neoplasie
  - **Gameti:** la mutazione viene trasmessa alla prole. Nel figlio può essere bilanciata dal gene "selvatico" (sano) del cromosoma omologo
- Se alcune mutazioni sono dannose altre hanno scarso o nullo significato: vi sono poi mutazione benefiche che, portando alla comparsa di nuovi caratteri, hanno determinato i processi evolutivi

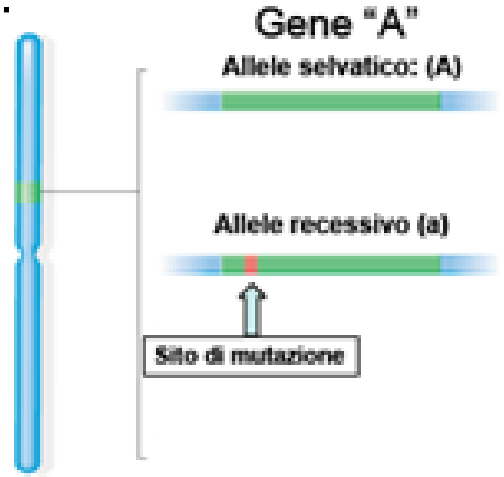
CLASSE DELLA MUTAZIONE E MODALITÀ' IN CUI VIENE ALTERATA L'ESPRESSIONE DEL GENE MUTANTE

➢ Le mutazioni, se cambiano il fenotipo, vengono classificate in due categorie:

❑ **mutazioni con perdita di funzione ‘loss of function’;**
sono per lo più recessive

❑ **Mutazioni con acquisizione di funzione ’gain of function’:**

- Sono molto meno comuni.
- La mutazione deve essere tale da conferire un’attività anomala alla proteina.
- Molte sono in sequenze regolatrici



Dom	Rec
AA Aa	a a

Allele selvatico: la forma allelica più frequente nella popolazione

MUTAZIONI GENICHE E FENOTIPI

- **Mutazione genica**: evento per cui un gene si trasforma da una forma allelica ad un'altra e il nuovo allele è ereditato secondo le leggi di Mendel.
- **Retromutazione**: mutazione da un allele anormale ad un allele standard.
- **Mutazione morfologica**: mutazione che si esprime in un'alterazione della forma dell'organismo.
- **Mutazioni letali, subletali, detrimentali:** mutazioni che determinano la morte, la bassissima sopravvivenza o il danneggiamento dell'organismo.
- **Mutazioni condizionali**: mutazioni il cui fenotipo si manifesta solo in particolari condizioni ambientali.
- **Mutazioni biochimiche**: mutazioni che determinano la perdita o il cambiamento di un passaggio biochimico.
- **Mutazioni nutrizionali**: mutazione per cui microrganismi passano da un genotipo standard con cui è possibile la crescita con terreno minimo (prototrofi) a un nuovo genotipo in cui è richiesta la somministrazione supplementare di specifiche sostanze (auxotrofi).
- **Mutazioni per resistenza**: mutazioni che determinano la capacità di resistere a sostanze tossiche o a organismi patogeni cui invece il genotipo standard è sensibile.

Mutageni

- In natura le mutazioni sono estremamente rare
- Esistono però agenti di varia natura che possono aumentarne la frequenza
- Questi agenti sono detti mutageni e sono di più tipi:
  - **Agenti fisici**: alte temperature, radiazioni ionizzanti
  - **Agenti chimici**: sostanze varie
  - **Agenti biologici**: alcuni virus (modalità complesse, non sempre certe e non sempre chiare) elementi trasponibili

Mutazioni geniche o puntiformi: origine

- Molti fattori fisici e chimici, endogeni ed esogeni, tendono se permanenti ad alterare il DNA genomico.
- Spesso le lesioni sono prodotte da:
  - **rottura di una catena**
  - creazione di **legami covalenti tra** basi contigue o complementari
  - escissione di una o più basi
  - errore di replicazione
- Sono riconosciute e riparate dai sistemi enzimatici deputati a *riparare* il DNA.
- Se **ciò non avviene**, l'alterazione che si verifica su una catena può essere fissata al momento della replicazione:
  - si tratta allora di una mutazione puntiforme che si trasmetterà nelle generazioni cellulari successive.





Cause delle mutazioni

- **Mutazioni spontanee**:
- **Mutazioni indotte:**

1. Mutazioni spontanee: origine

- **Avvengono casualmente senza una causa nota**
- La maggior parte avviene durante la replicazione del DNA
- Tasso di errore nella replicazione del DNA: 10^{-8} a 10^{-11} per bp /ogni replicazione
- **Tautomerizzazione, deaminazione , e depurinazione**



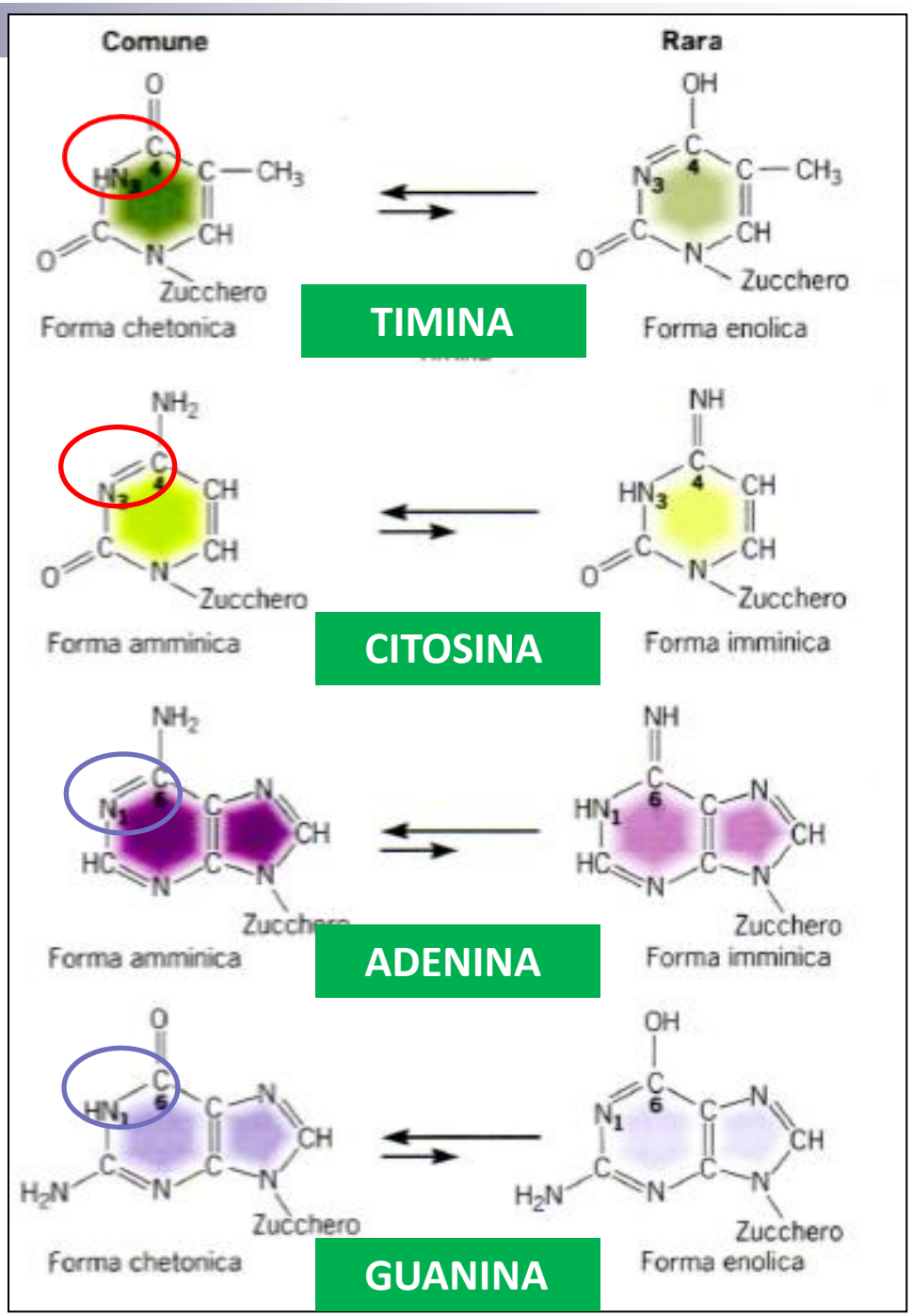
Basi molecolari della mutazione spontanea

1.Tautomerizzazione

- Forme tautomeriche delle 4 basi del DNA.
- Le basi possono passare da forma
  - **chetonica normale → enolica rara:**
  - **amminica normale →imminica rara**

- **Le transizioni degli atomi di H tra le posizioni**
  - **n°3 e n° 4 delle pirimidine**
  - **n°1 e n°6 delle purine**

cambiano la loro potenziale specificità di appaiamento.



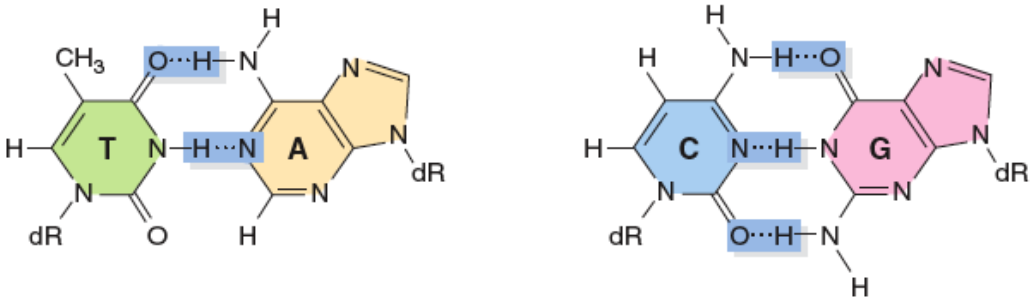
Come avvengono le mutazioni?

Quando una base cambia accidentalmente forma tautomerica, ne derivano appaiamenti anomali:

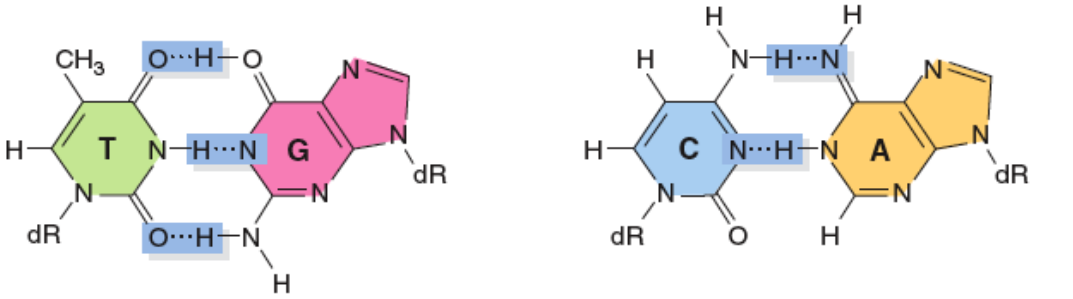
T – G **C – A**

C – A **T – G**

a) Normale appaiamento secondo Watson e Crick tra le forme normali delle pirimidine e delle purine

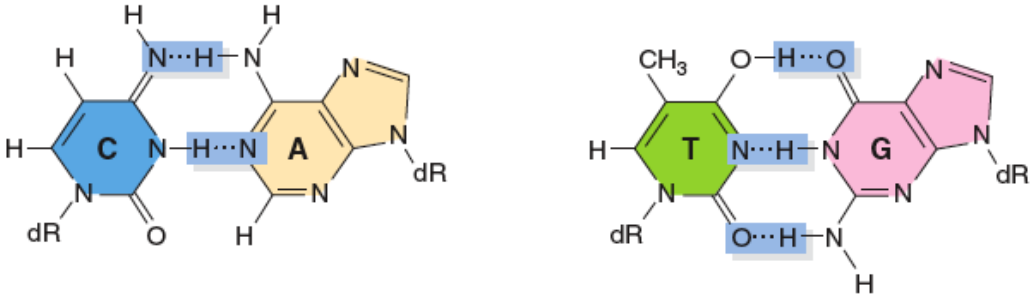


b) Appaiamento che non segue la regola di Watson e Crick tra pirimidine normali e forme rare delle purine



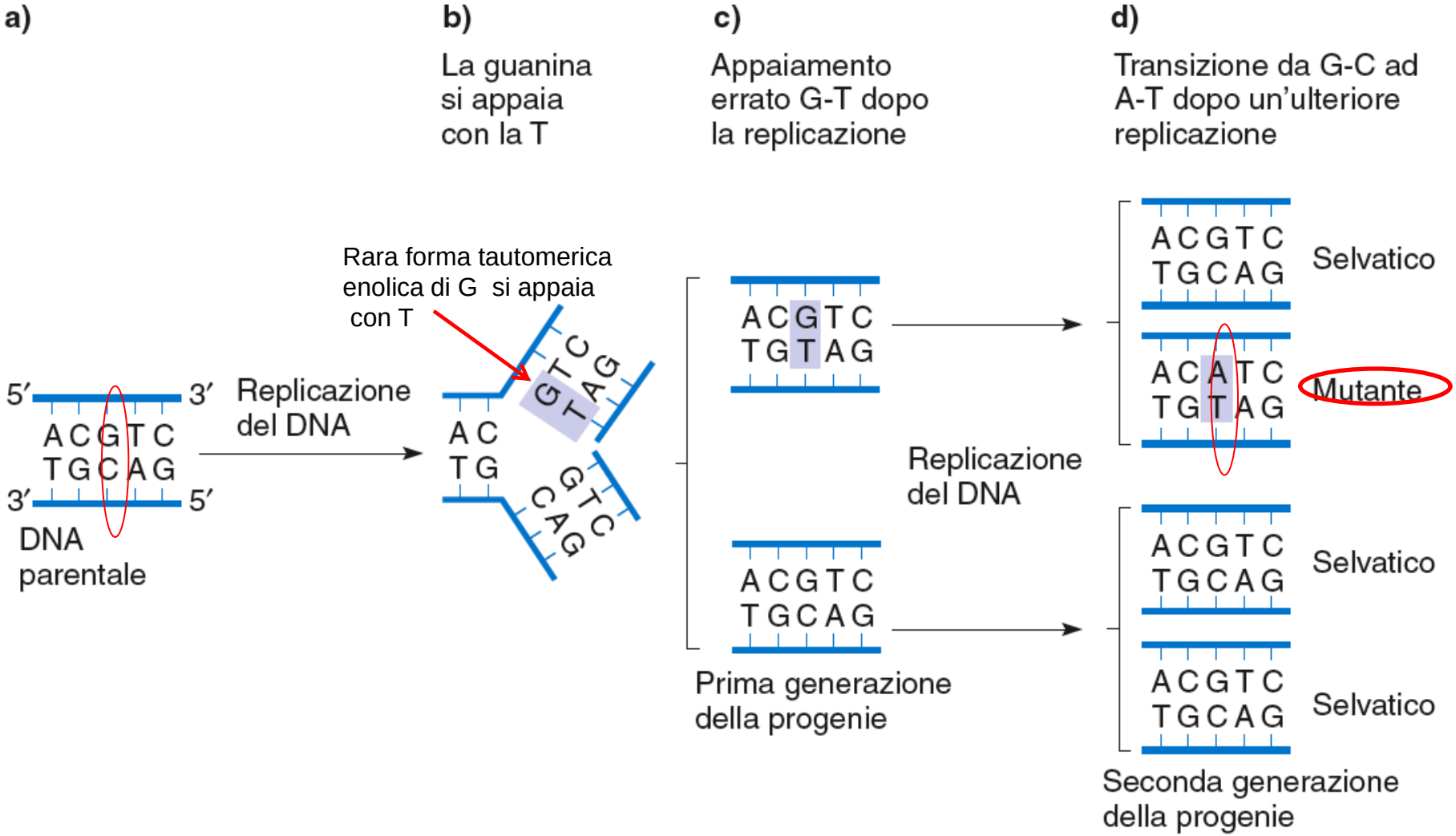
Timina normale | Rara forma enolica della guanina | Citosina normale | Rara forma imminica dell'adenina

c) Appaiamento che non segue la regola di Watson e Crick tra forme rare delle pirimidine e purine normali



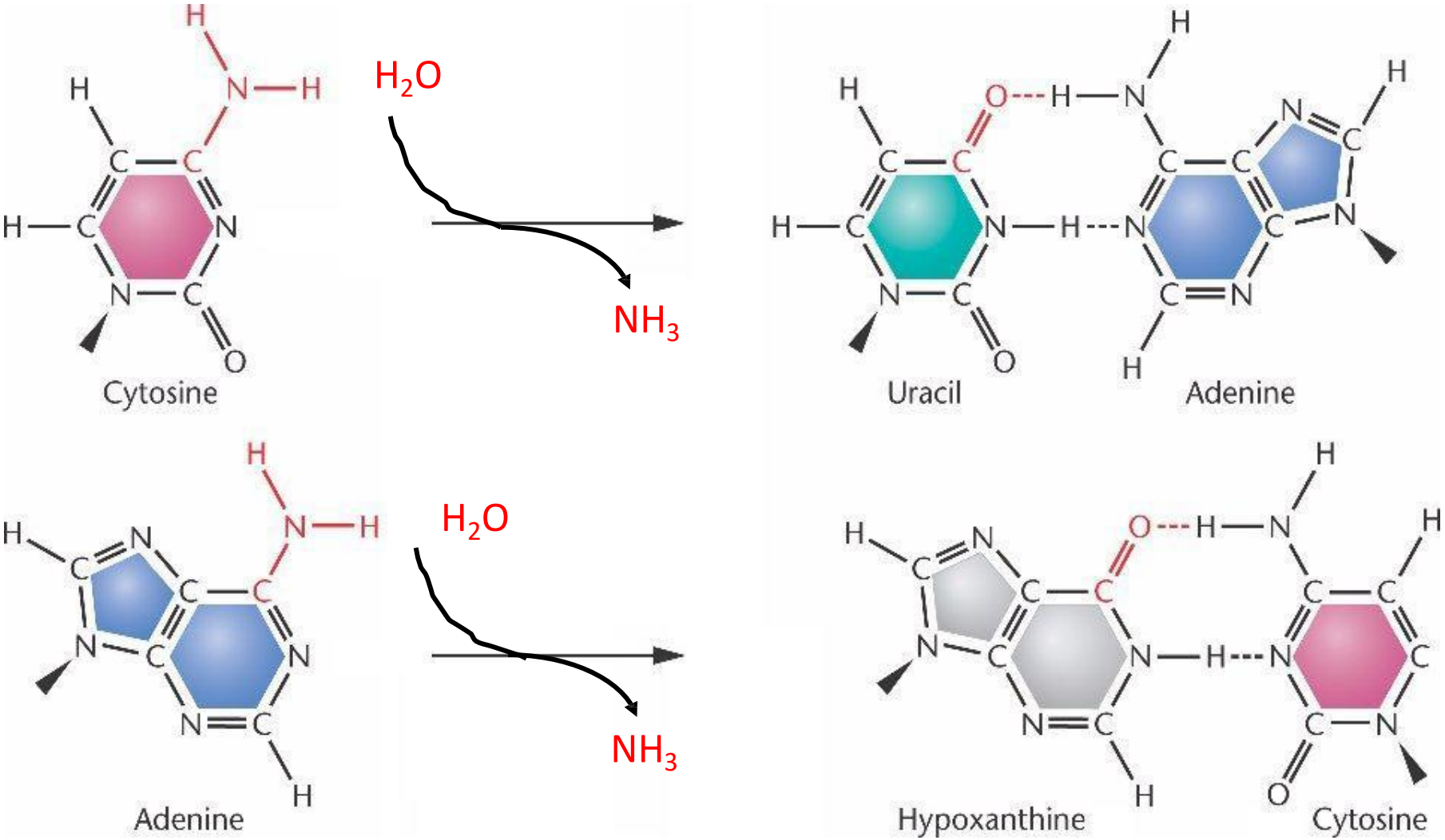
Rara forma imminica della citosina | Adenina normale | Rara forma enolica della timina | Guanina normale

Cosa succede quando nella replicazione un appaiamento errato non viene corretto dalla DNA P?



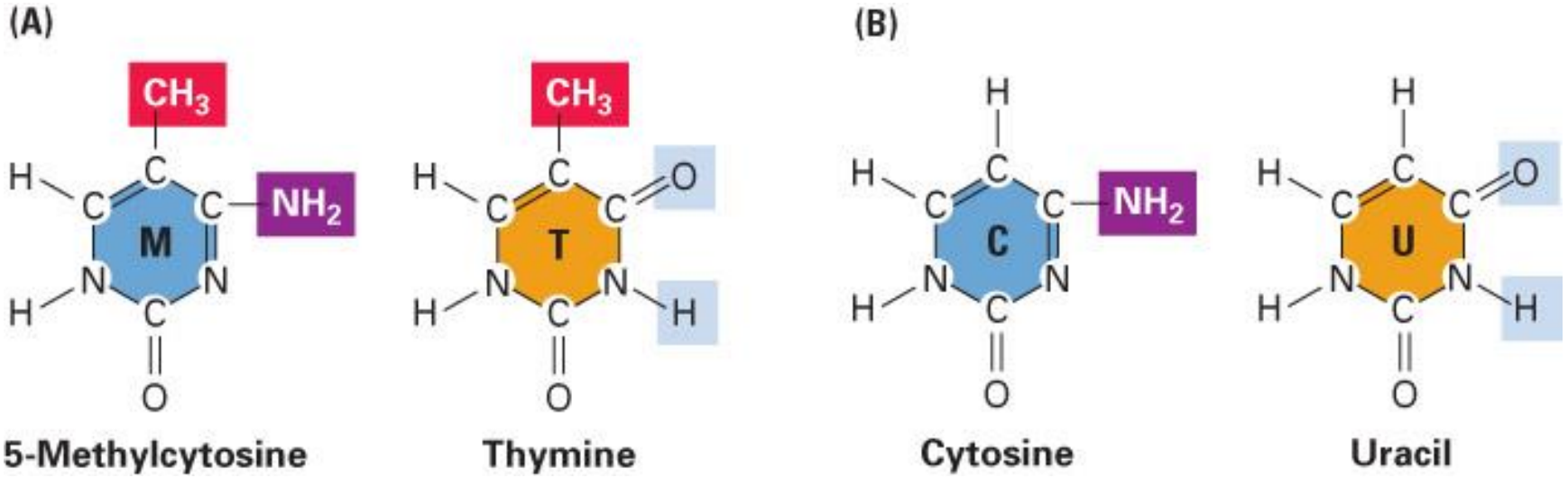
Errori che intervengono durante replicazione

2. Deaminazione

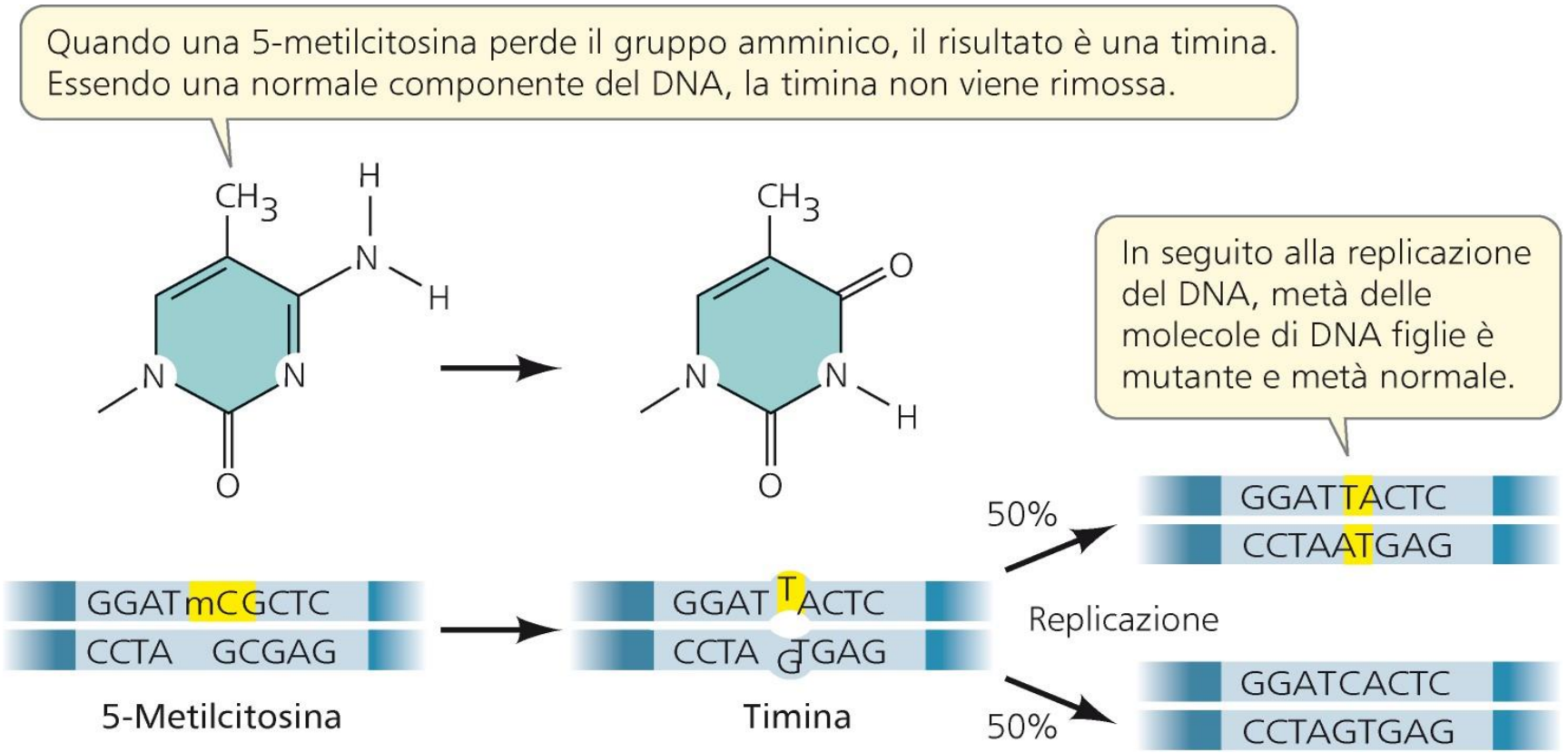


http://bio3400.nicerweb.com/Locked/media/ch15/deamination.html

Perdita spontanea del gruppo aminico



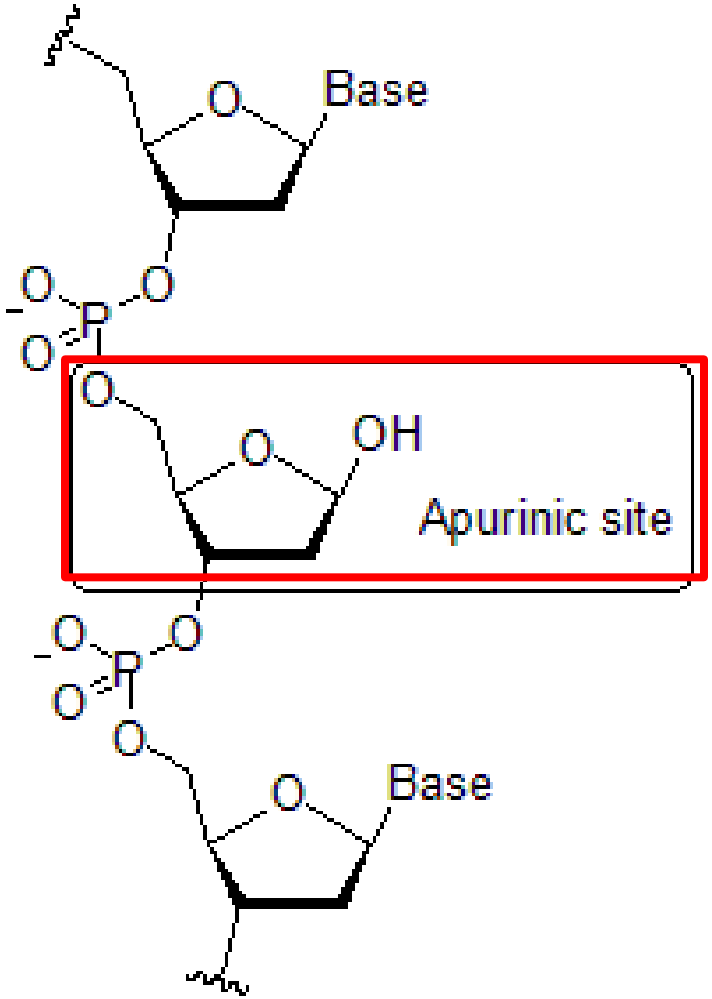
Alcune paia di basi sono più vulnerabili di altre alle mutazioni



3. Depurinazione

- **Perdita di una purina dalla sequenza di DNA**

- Sito apurinico
- Debole legame covalente tra zucchero & purina
- Meccanismo spontaneo o indotto



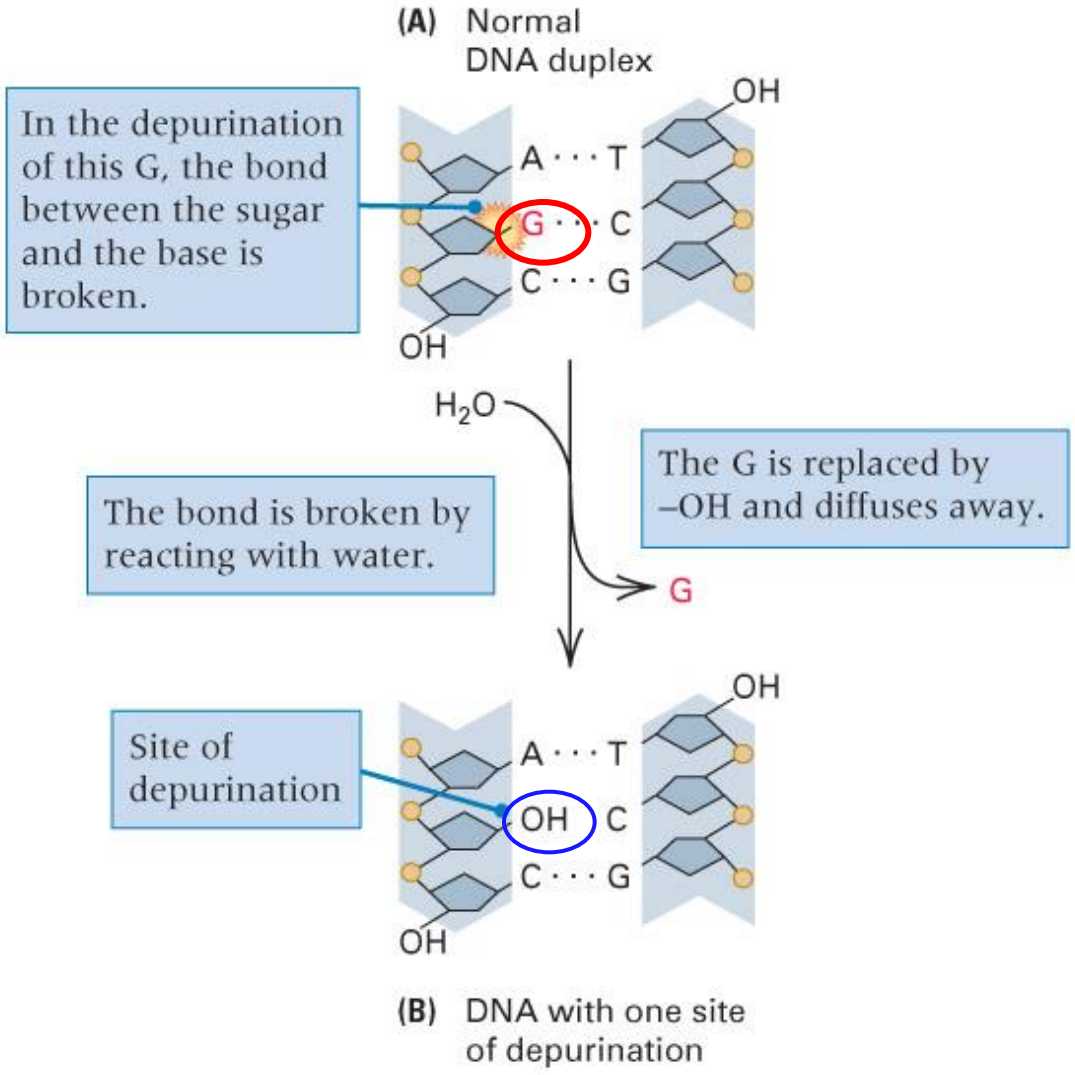
Depurinazione

(A)Parte di una molecola di DNA prima della depurinazione.

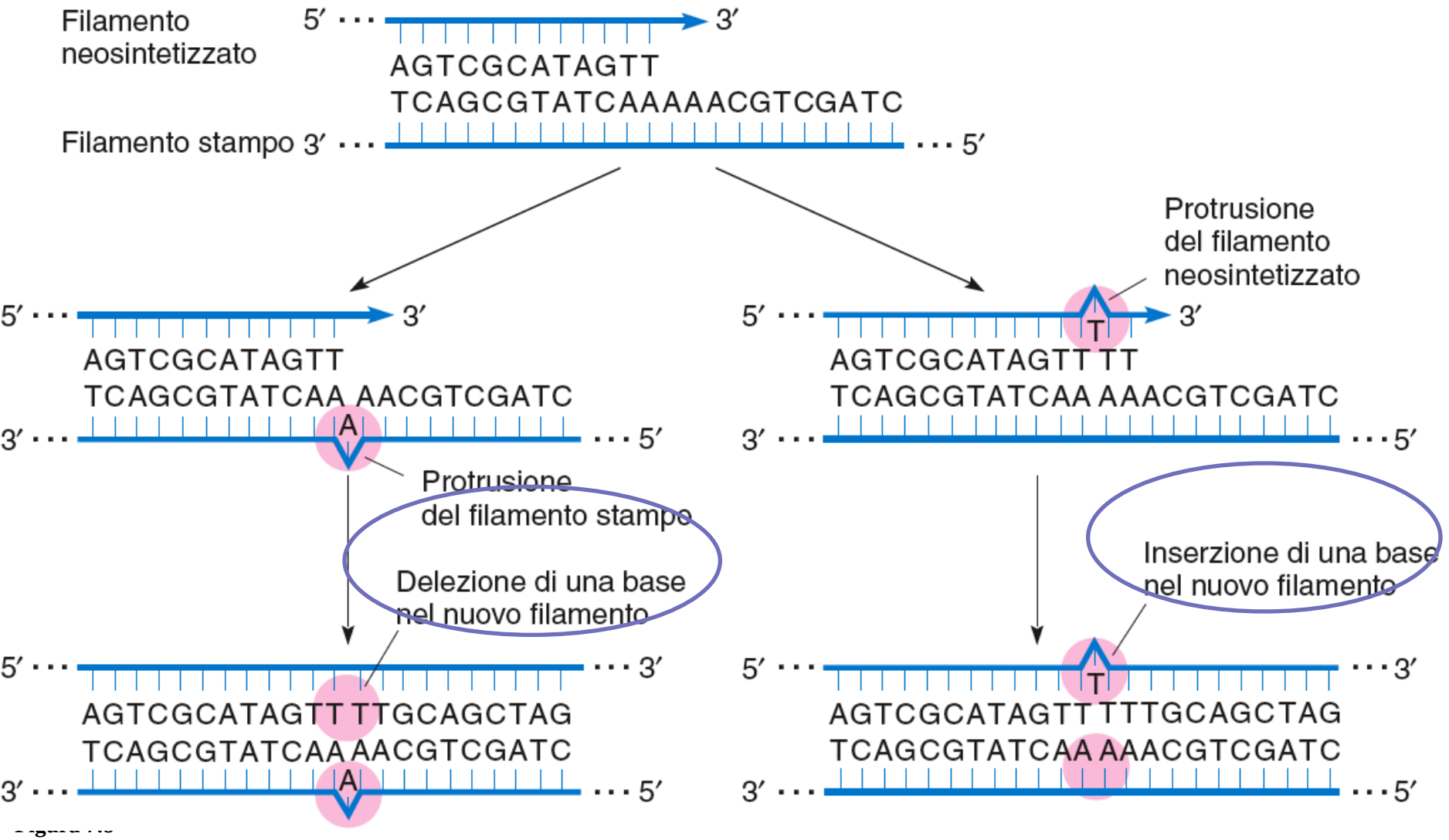
- Il legame tra la **G** marcata e il deossiribosio a cui essa è attaccata è in procinto di essere idrolizzato.

(B) L'idrolisi del legame rilascia la purina Questa diffonde via dalla molecola

- e lascia un idrossile (-OH) al suo posto nel sito del DNA depurinato



Inserzioni e delezioni dovute a ripiegamenti dell'elica stampo durante la riparazione del DNA



Errori che intervengono durante riparazione

Velocità del danno del DNA in cellule di mammifero

Table 11.5 Rates of DNA Damage in a Mammalian Cell

Damage	Events/Hour
Depurination	580
Depyrimidation	29
Deamination of cytosine	8
Single-stranded breaks	2,300
Single-stranded breaks after depurination	580
Methylation of guanine	130
Pyrimidine (thymine) dimers in skin (noon Texas sun)	5×10^4
Single-stranded breaks from background ionizing radiation	10^{-4}

Mutazioni geniche: tipi

- La mutazione genica consiste in una variazione della sequenza delle basi del DNA che operativamente costituisce un gene

- Le **mutazioni geniche o puntiformi** sono dovute in gran parte alla **sostituzione** di una singola base nucleotidica del DNA con un'altra.

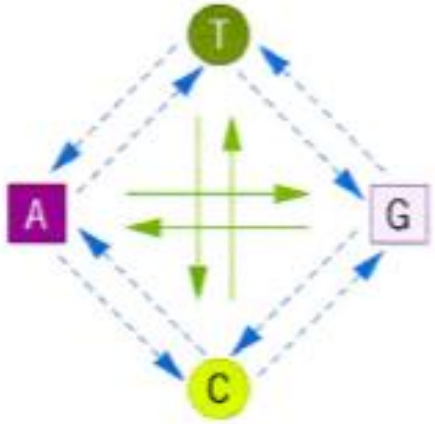
- La sostituzione di una base può avere conseguenze più o meno grandi sul prodotto finale (la proteina specificata da quel gene).
- In base alle conseguenze se ne distinguono vari tipi
- Altri tipi di mutazione si originano in seguito alla perdita (**delezione**) o alla **inserzione** di una base nel filamento del DNA

- **Sostituzione**
- **Delezione**
- **Inserzione**

Tipi di mutazioni puntiformi che si verificano nel DNA

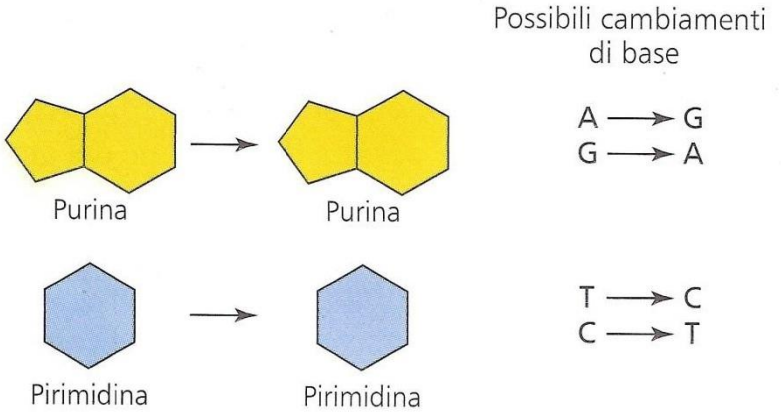
1. Sostituzioni di basi



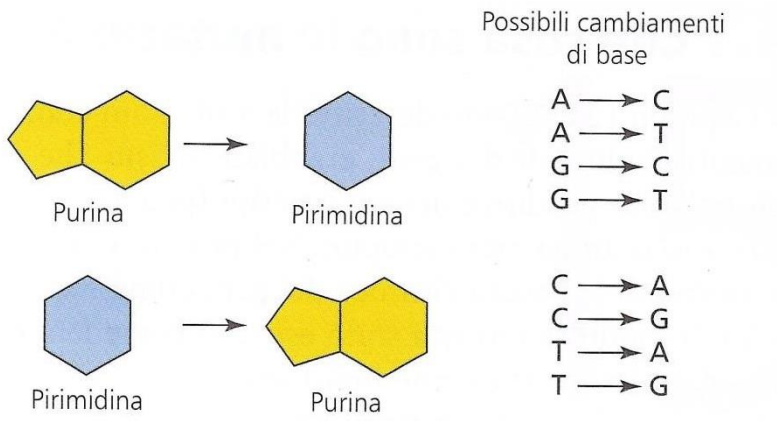


Ci sono 2 tipi di sostituzioni di basi

Transizioni



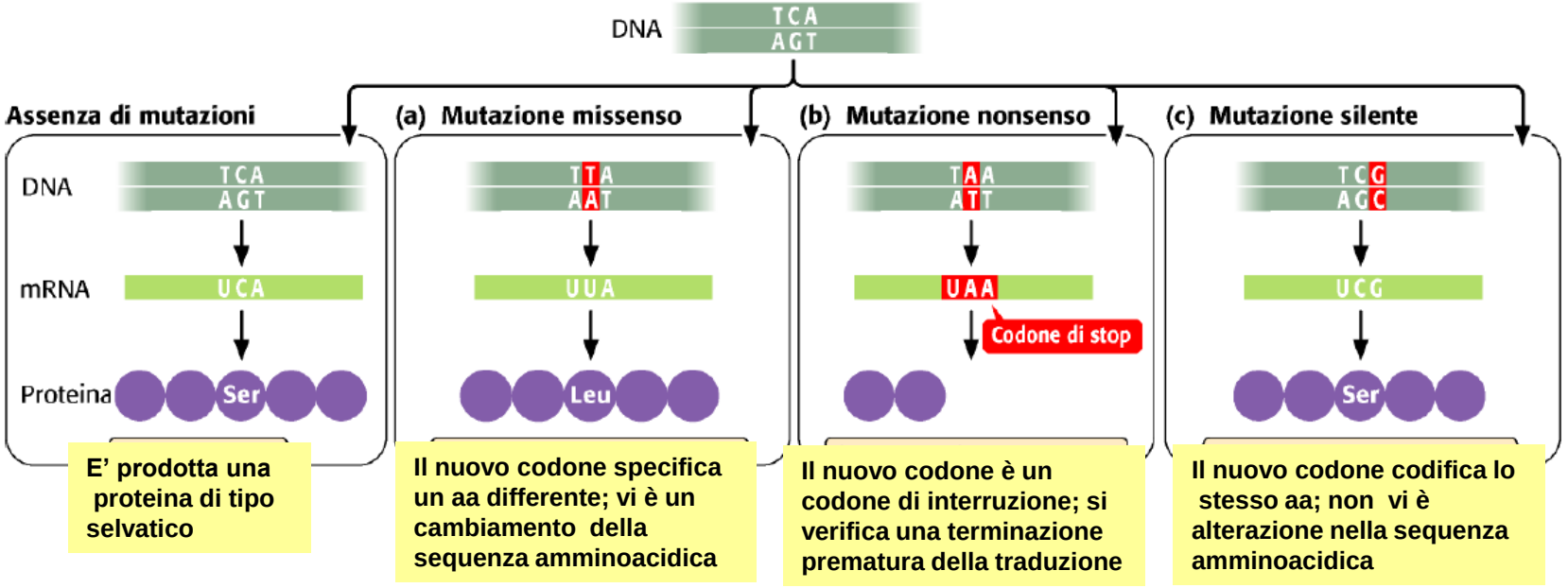
Transversioni



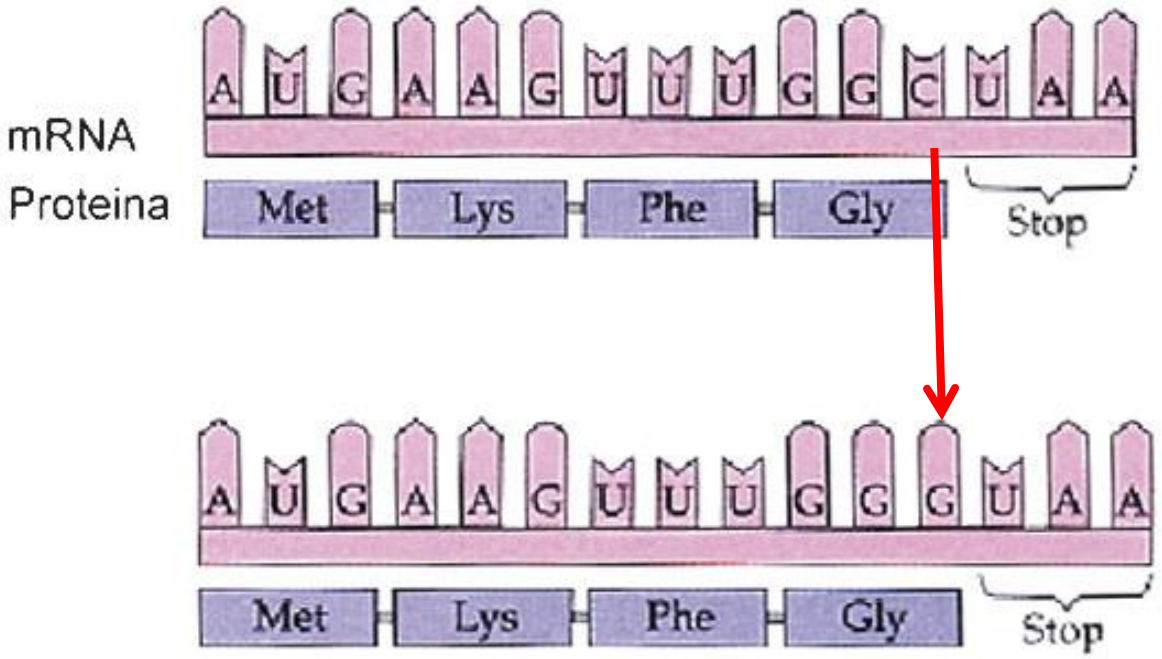
Nel DNA si possono verificare dodici differenti sostituzioni di basi.

Tipi di mutazioni:sostituzioni

- **Mutazione nonsenso (amber)**: mutazione puntiforme che converte un codone qualsiasi in un **codone di stop**
  - quindi si produce **l'interruzione prematura della catena polipeptidica**.
  - A volte può essere **eliminata da geni soppressori**
  - questi codificano per tRNA mutanti. Affinché' le cellule sopravvivano devono pero' essere presenti anche i tRNA normali.
- **Mutazione missenso:** a seguito di una sostituzione viene **inserito un AA differente.** A volte però la funzione della proteina non viene compromessa (mutazione neutra).
- **Mutazione silente:** la sostituzione nucleotidica non varia l'AA codificato



MUTAZIONI puntiformi:
1. Sostituzioni Stesso Senso/Silenti

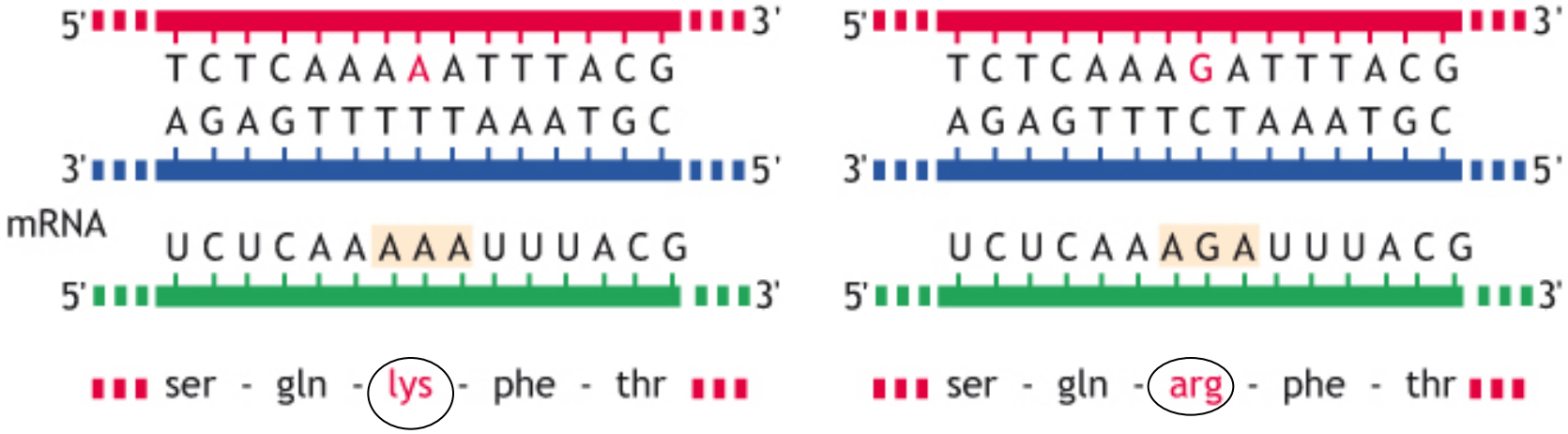


Esempi di sostituzione nucleotidica: mutazione silente o stesso-senso.

La sostituzione di un nucleotide, e quindi la comparsa di un nuovo codone, non determina cambiamenti nella sequenza aa

Mutazione neutra

- **La sostituzione di una base che determina un codone per un aa con caratteristiche simili al precedente.**
- La funzionalità della proteina non cambia



- **La sostituzione di una lisina con una arginina non altera la struttura della proteina**

2. Mutazione puntiforme: missenso

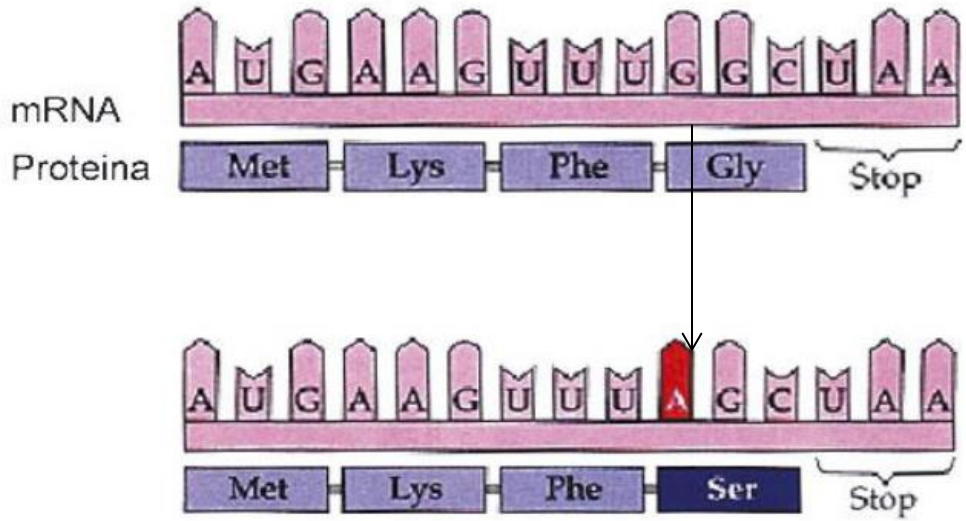
➢ **Sostituzioni di basi che determinano cambiamento di un aa nella proteina finale**

- Modificano il significato di un codone

Nella maggior parte dei casi la nuova tripletta codifica per un diverso aminoacido

GGC → **AGC**
Glicina → **Serina**

Mutazione puntiforme: sostituzione mis-senso

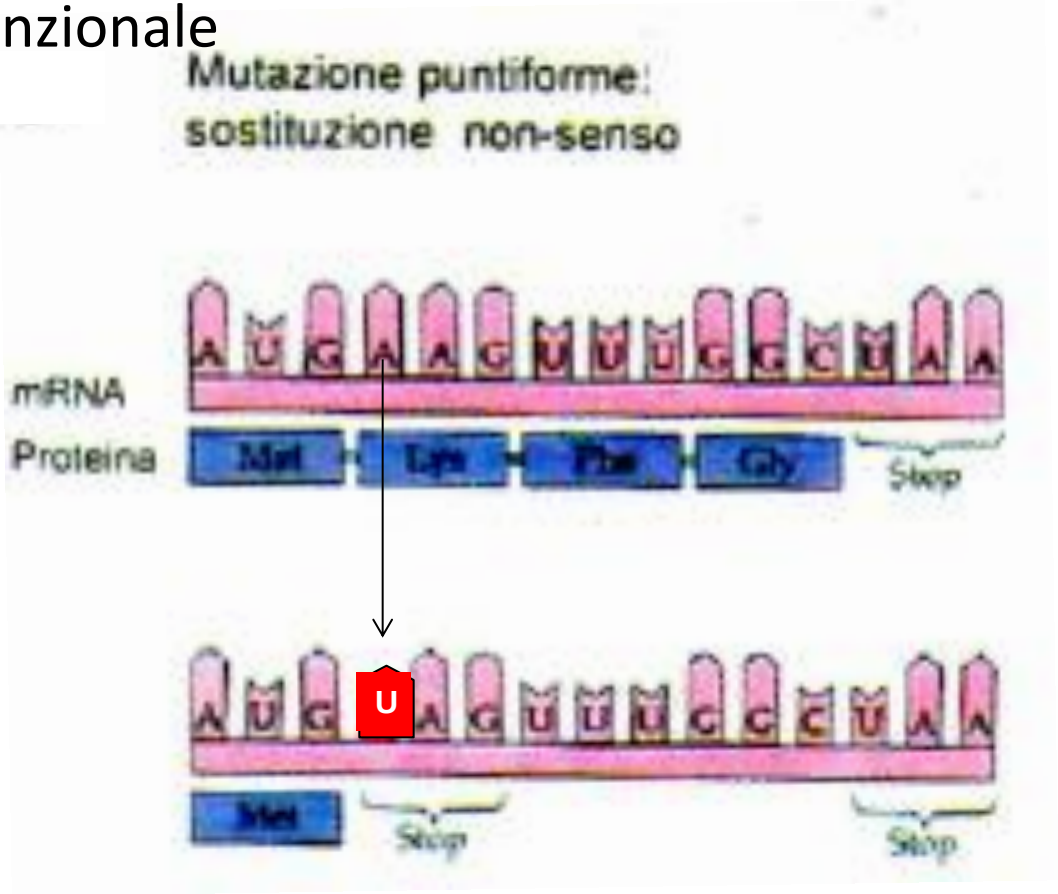


Esempi di sostituzione nucleotidica: mutazione missenso.

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

3. MUTAZIONI GENICHE : NON SENSO

- **Sostituzione di base che produce un codone di stop**
- Si forma quindi una proteina più corta, generalmente non funzionale



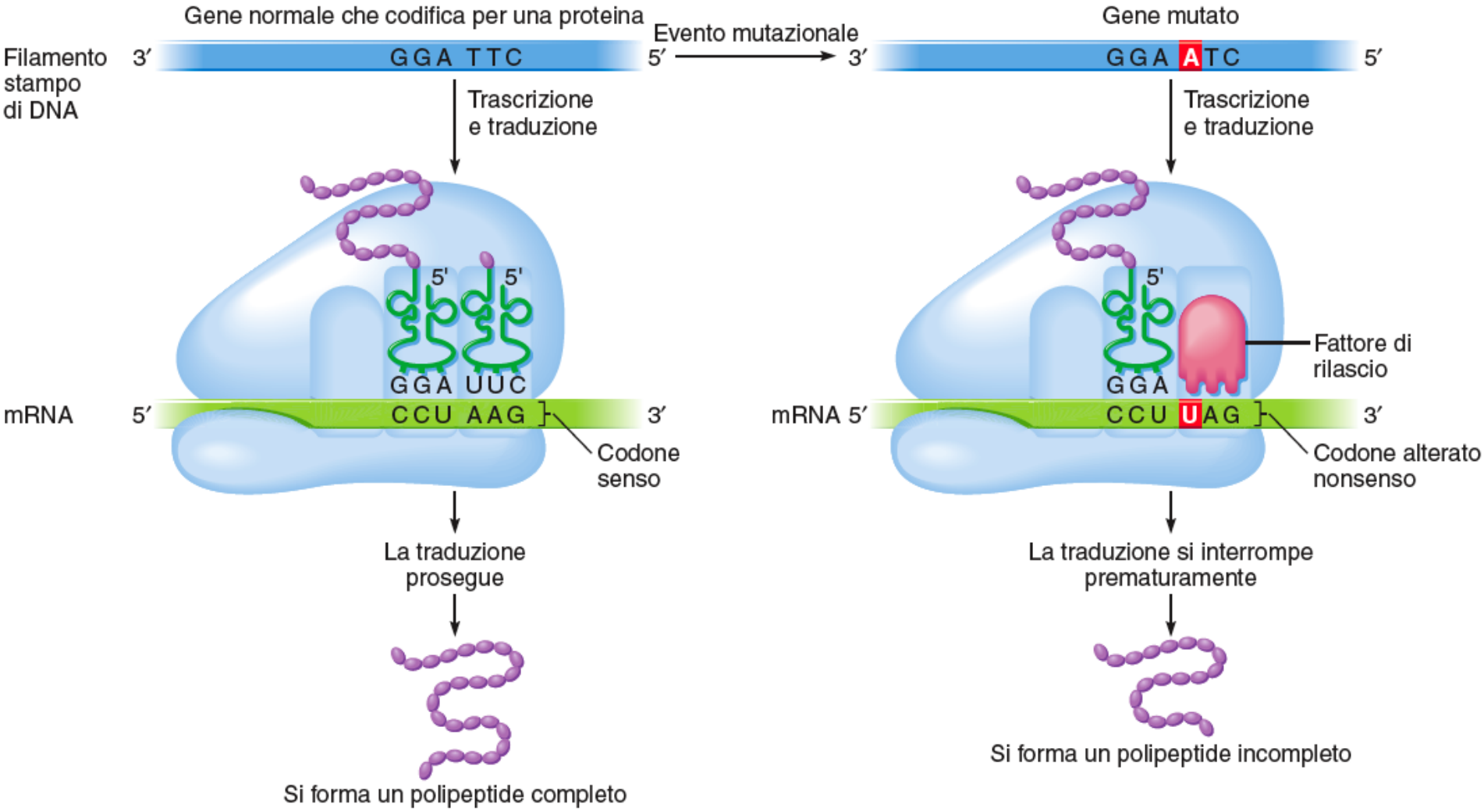
AAG → **UAG**

Lisina → **Codone di stop**

- **Esempi di sostituzione nucleotidica: mutazione non-senso.**

- 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 nonsenso e loro effetto sulla traduzione



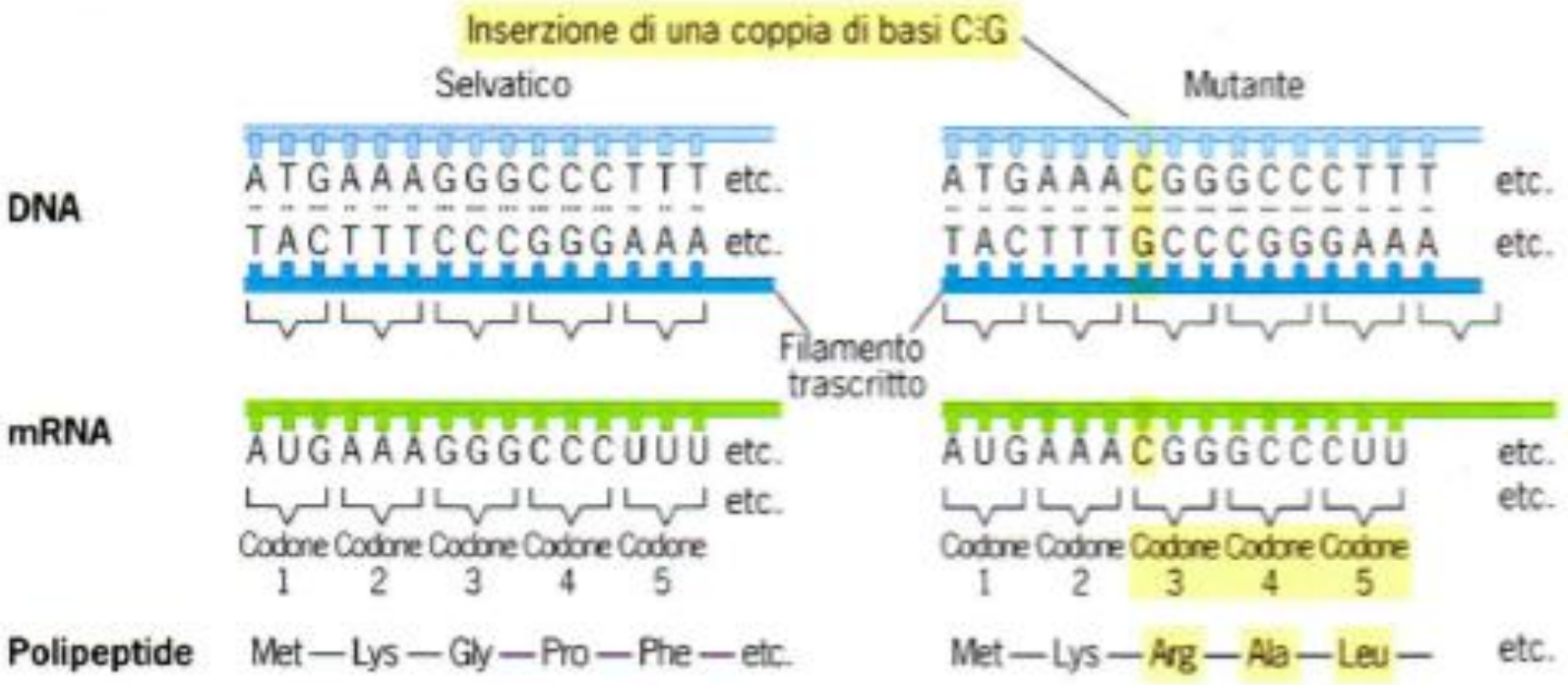
Tipi di mutazioni puntiformi che si verificano nel DNA:

2. *INSERZIONI E DELEZIONI:*

scivolamento dello schema di lettura (*frame- shift*).

- L'inserzione o la delezione di uno, o più, nucleotidi **determina lo scivolamento del quadro di lettura in** cui i codoni sono letti durante la traduzione.
- Questo genera la sintesi di una proteina diversa per la sequenza a valle della mutazione.
- **Mutazioni *frame-shift* portano** sempre alla produzione di **proteine non funzionali**
- **Nell'esempio è riportata l'inserzione di una G**

Inserzioni o delezioni di una o due coppie di basi modificano lo schema di lettura del gene a valle del sito della mutazione.



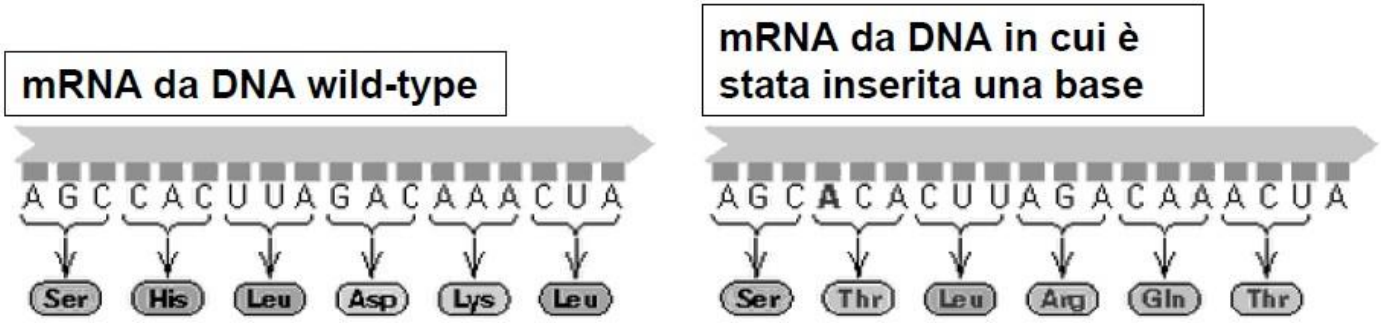
L'inserzione o la delezione di un numero di basi non multiplo di 3 modifica la composizione dei codoni successivi al punto di mutazione… e quindi la sequenza nucleotidica

AHI AHI CHE BEI NEI CHE HAI
↓ delezione di una E
AHI AHI CHE BIN EIC HEH AI

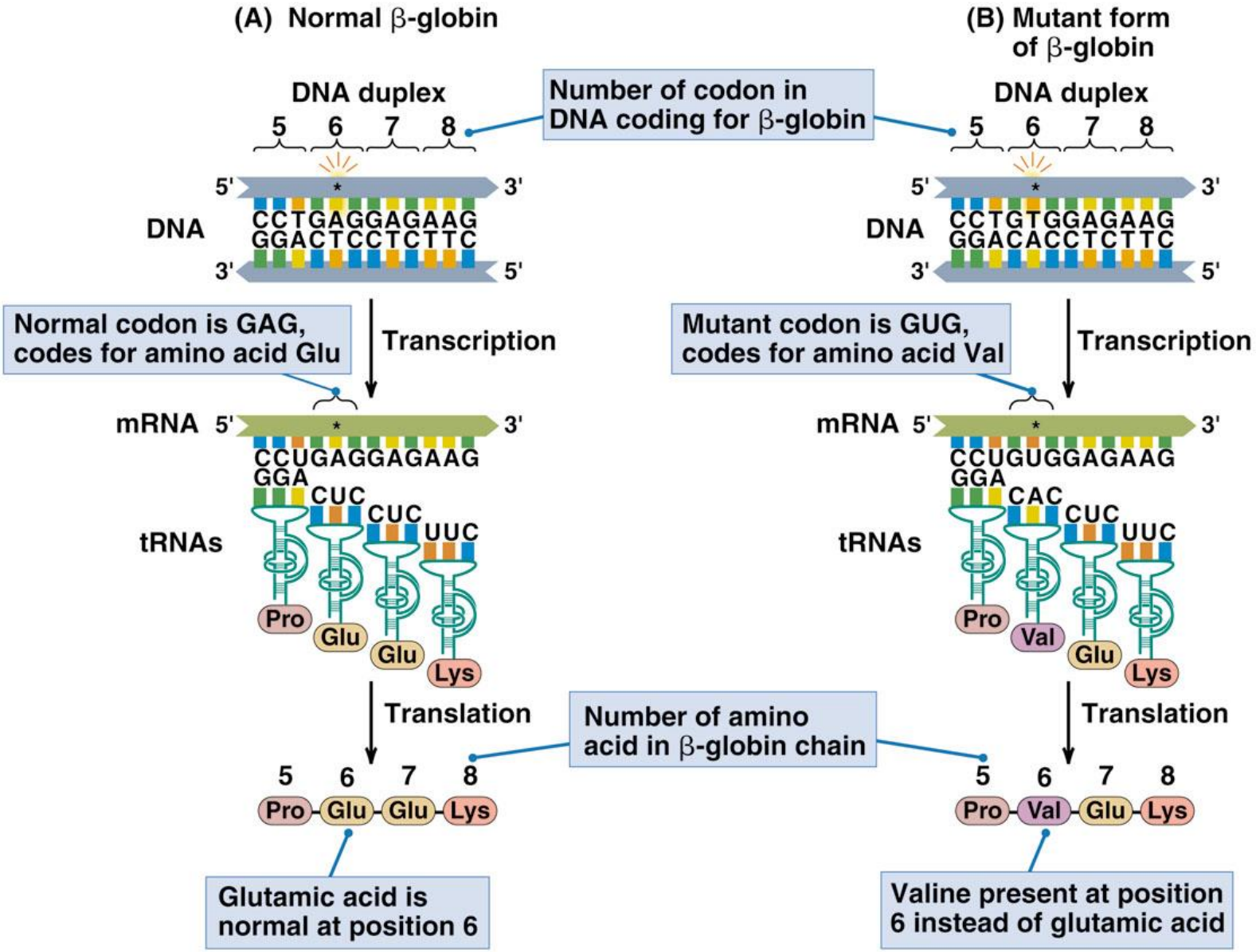
DEL

AHI AHI NON SEI PIU' QUI CON NOI PER FAR TRE BEI GOL
↓ inserzione di una A
AHI AHI NON SEI PIU' QUI CAO NNO IPE RFA RTR EBE IGO L

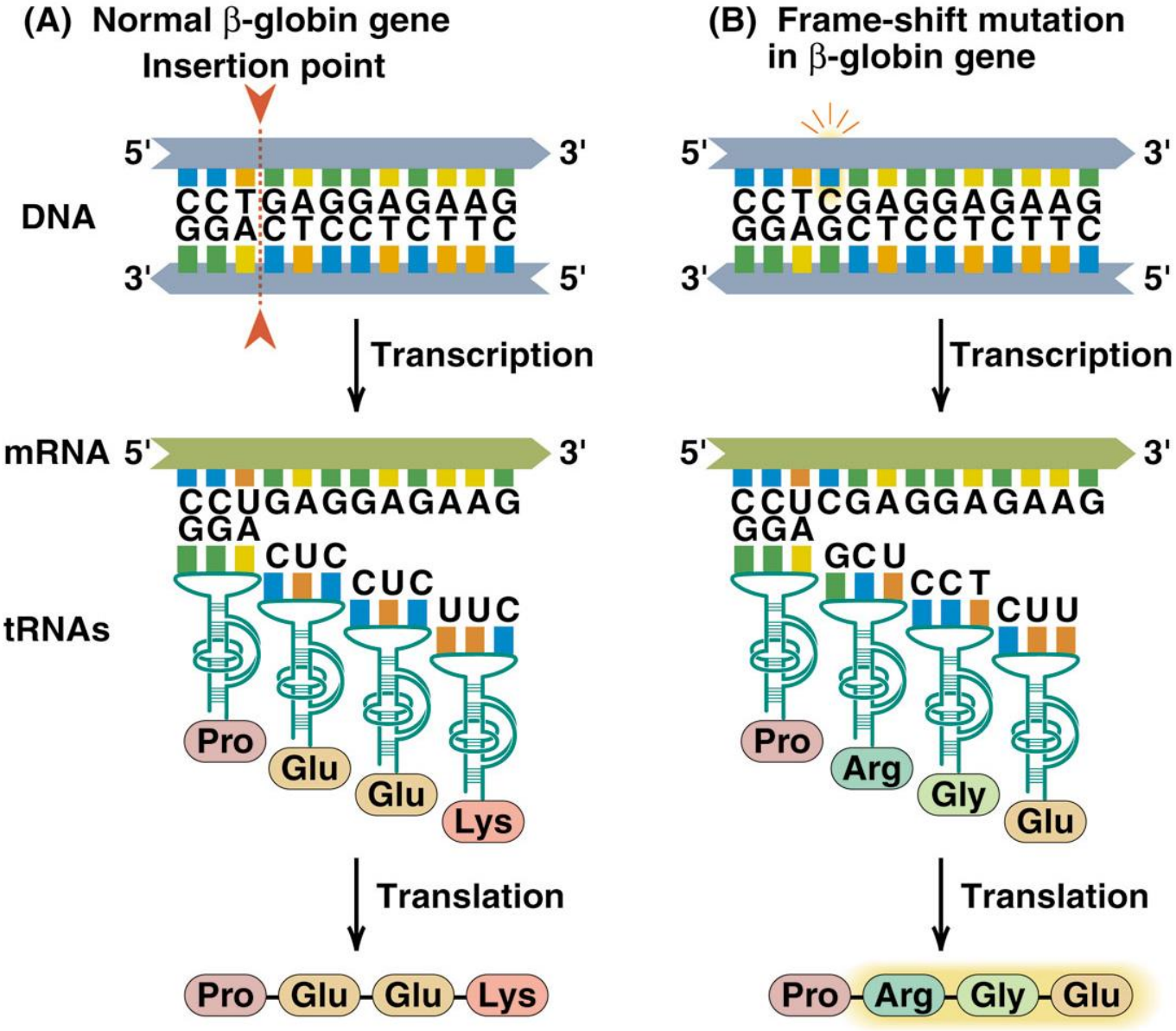
INS



Una singola mutazione in una coppia di basi nel gene della β-globina cambia un aa nella proteina codificata



Una mutazione per addizione/delezione di una coppia di basi (frameshift) determina molteplici cambiamenti di aminoacidi a valle del punto di mutazione

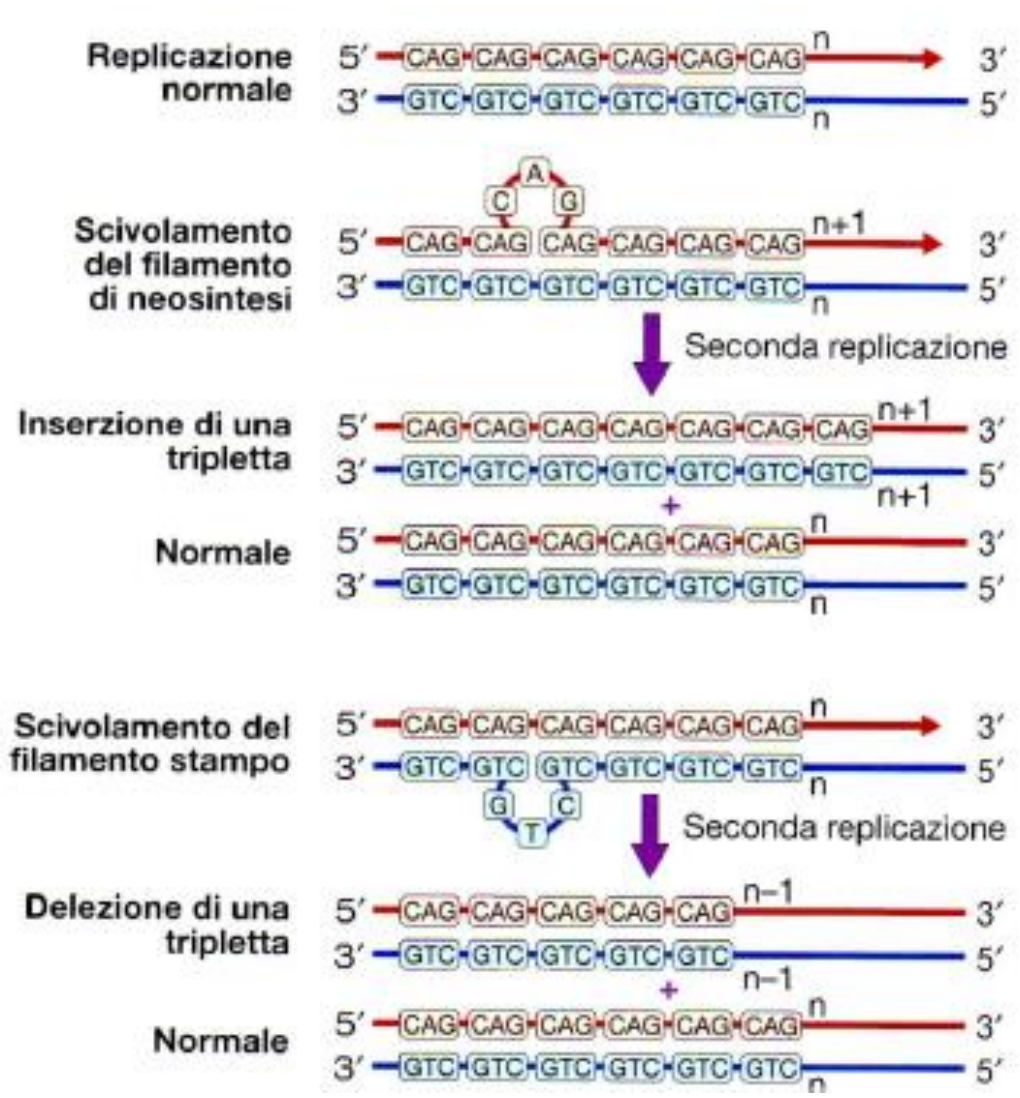


Espansione o contrazioni di triplette durante la replicazione

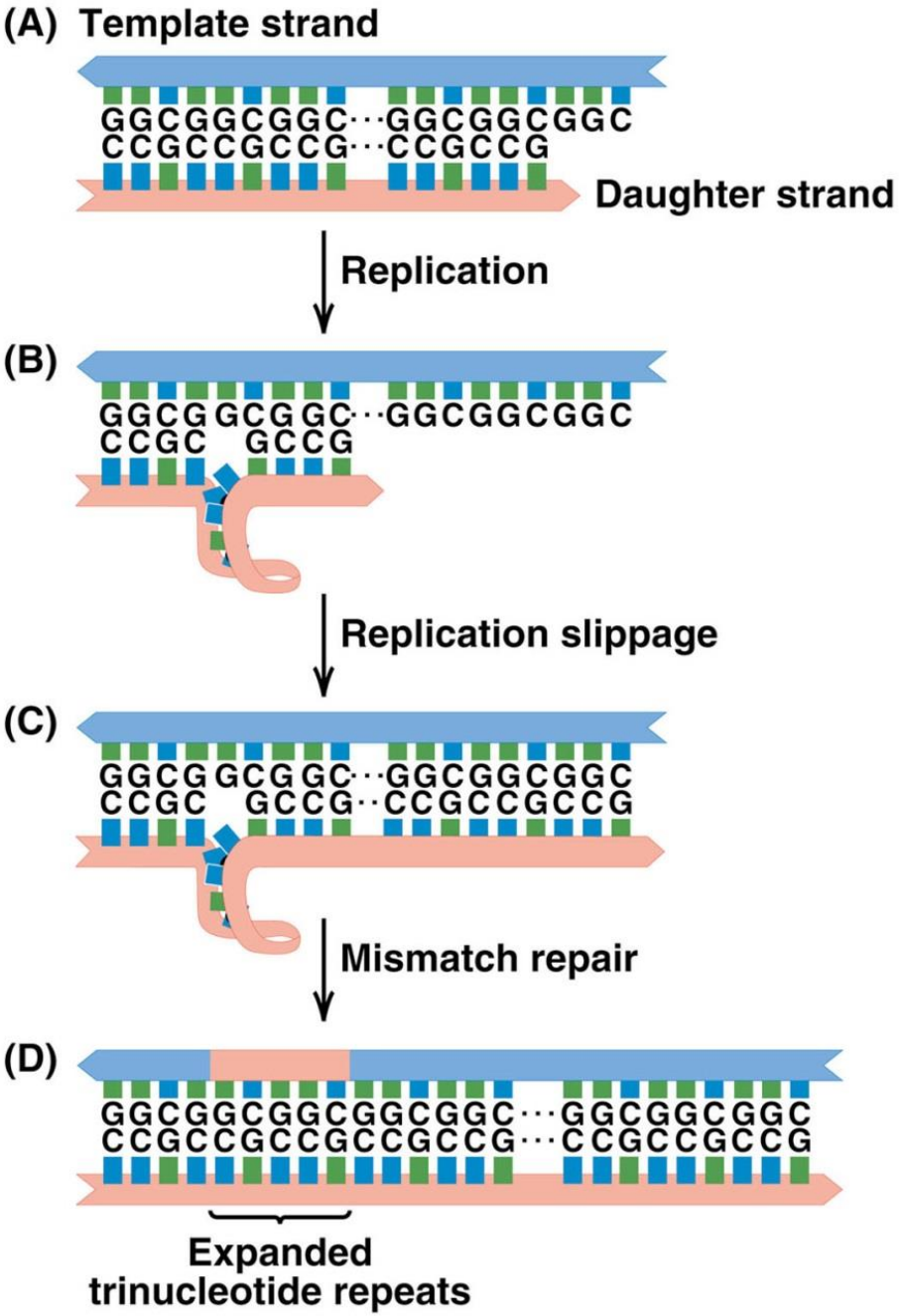
- Alcune regioni sul **DNA** contengono numerose copie di **triplette uguali disposte in serie**

La replicazione di tali regioni normalmente non provoca variazioni nel numero di triplette **(A).**

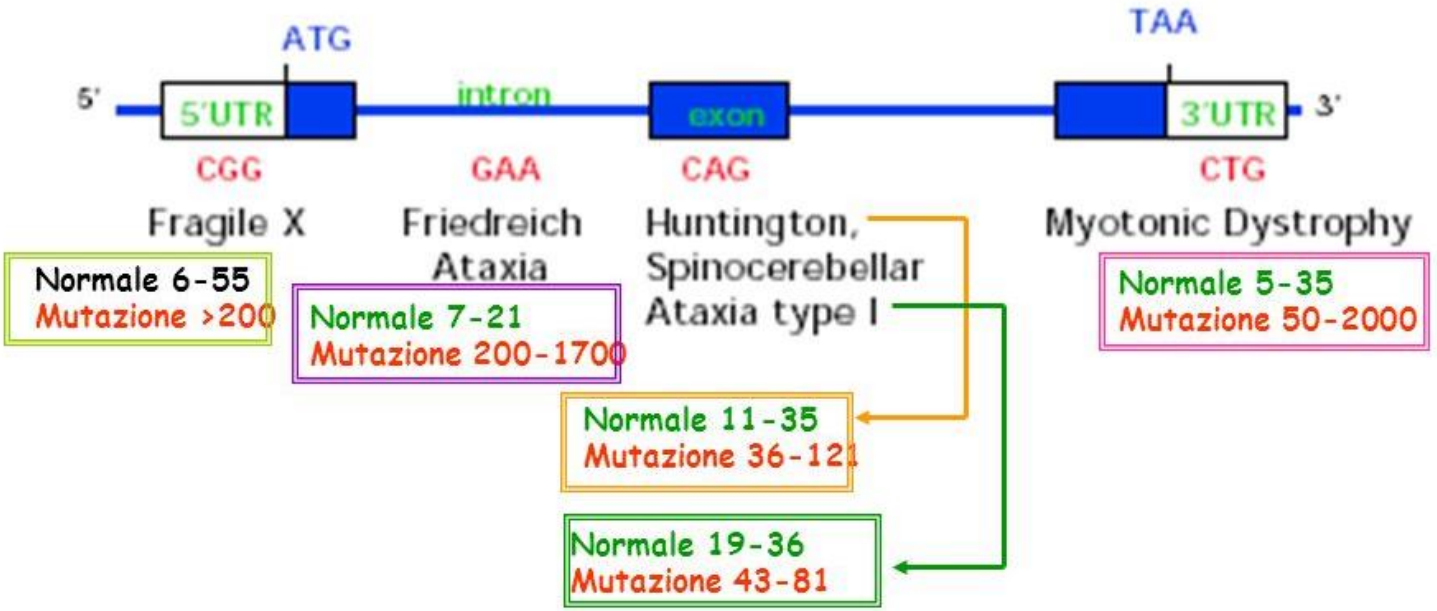
- Tuttavia, può accadere che **durante la replicazione si formino degli appaiamenti .intramolecolari** (che si suppone siano dovuti a degli scivolamenti dell'apparato replicativo
  - in tali regioni) **sul filamento di neosintesi (B)**
  - o sul filamento stampo **(C).**
- Come conseguenza alla seconda generazione, si genera nel **caso (B) l'inserzione di una o più triplette**
  - **nel caso (C) la delezione di una o più** triplette.



Espansione di triplette sono generate dallo slittamento del filamento stampo durante la replicazione del DNA



Malattie associate ad espansioni ripetute di trinucleotidi



Le espansioni ripetute di trinucleotidi interferiscono con l'espressione del gene o della proteina codificata

Le mutazioni di splicing

- ✓ Le maggiori conseguenze fenotipiche d**erivano per lo più da mutazioni puntiformi che avvengono a carico del DNA codificante**.

- ✓ Le **mutazioni a carico del DNA non codificante hanno** di solito conseguenze meno evidenti, a meno che non avvengano in regioni quali
- ✓ il promotore, nelle altre sequenze che regolano l'espressione genica o nelle **sequenze introniche che determinano i siti di splicing**

Le mutazioni di splicing

➢ **Eliminano o introducono un sito di splicing nel trascritto:**

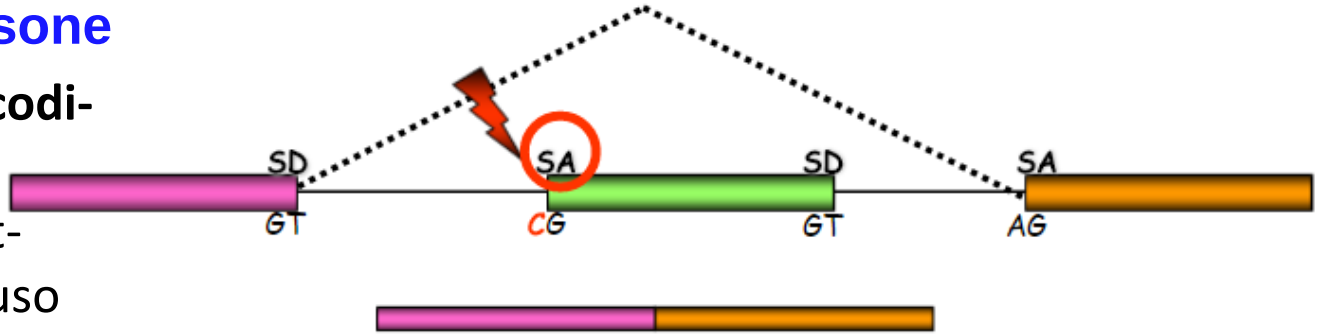
- causano **un'alterazione nel processo di maturazione degli mRNA.**
- pertanto i tradotti possono risultare difettosi

Mutazioni che modificano segnali importanti per i siti dello splicing

A) Omissione di un esone

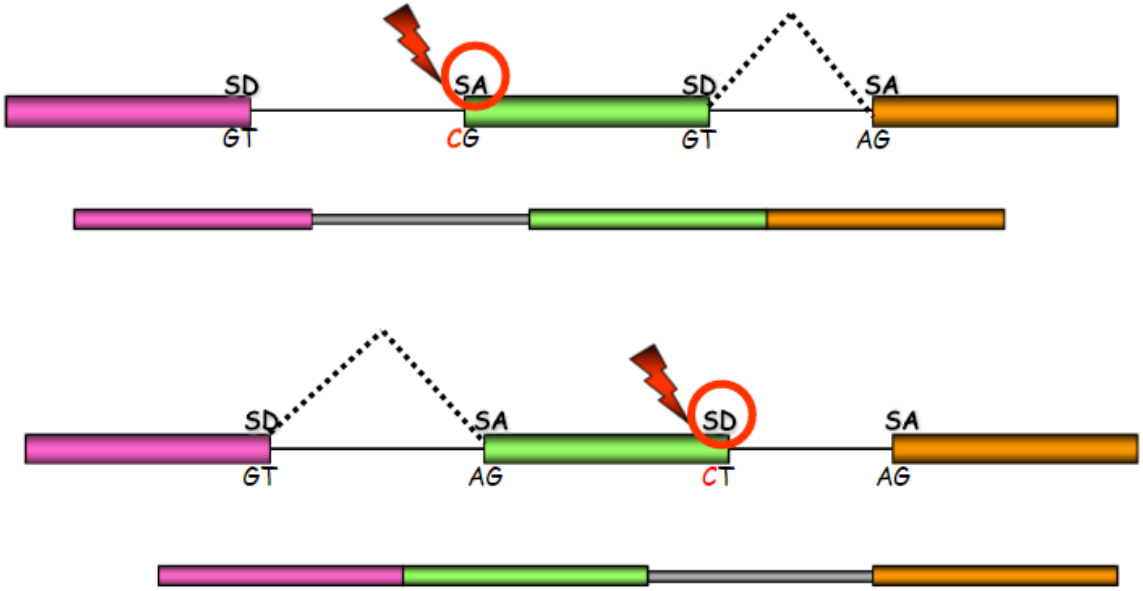
Proteina è priva degli aa codi-gicati dall'esone escluso.

Slittamento cornice di lettura se n° nucleotidi escluso è diverso da 3 o multipli di 3



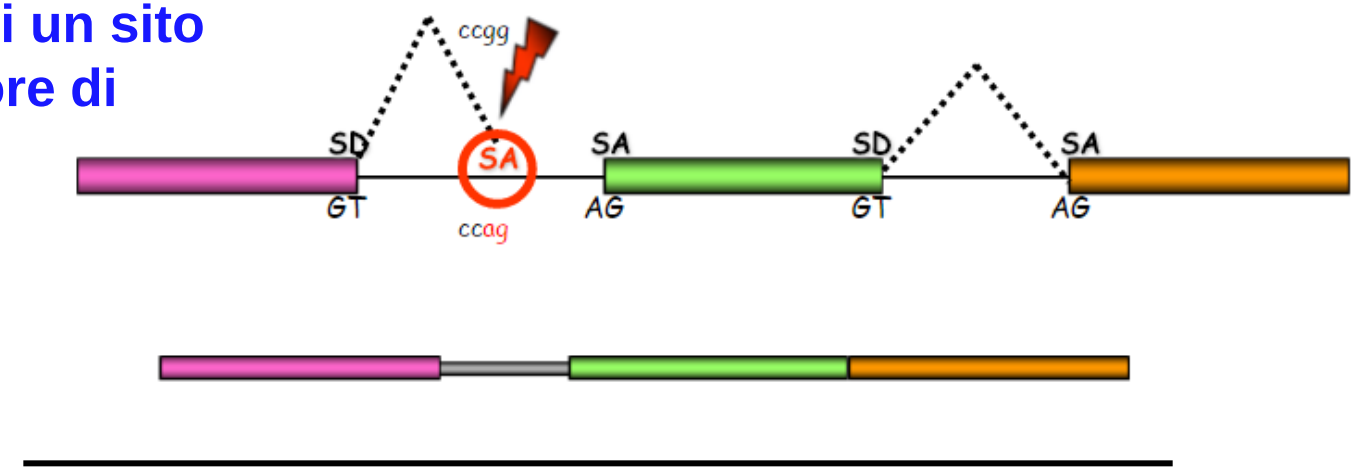
B) Ritenzione di un introne

Sintesi di nuovi aa non presenti nella proteina wt

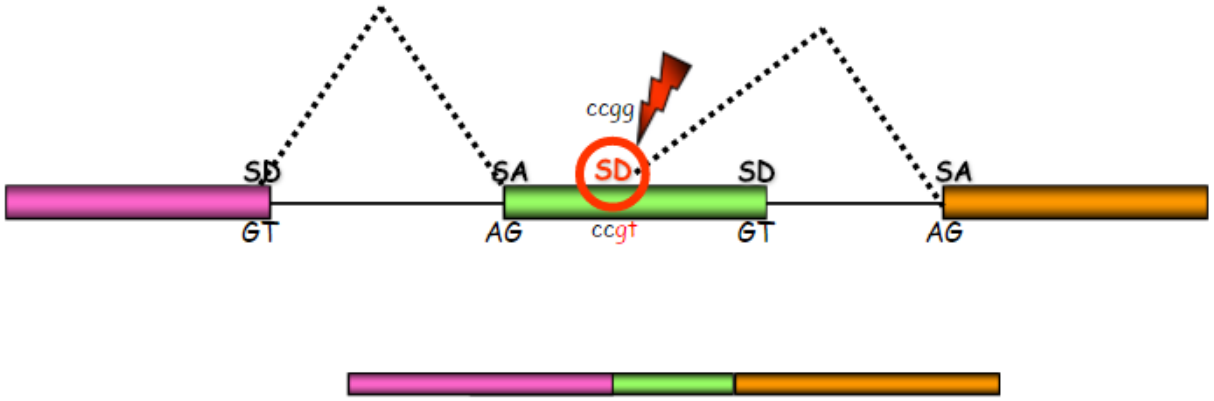


Attivazione di un sito criptico di splicing

a) Attivazione di un sito criptico accettore di splicing nell'introne 1



b) Attivazione di un sito criptico donatore di splicing nell'esone 2

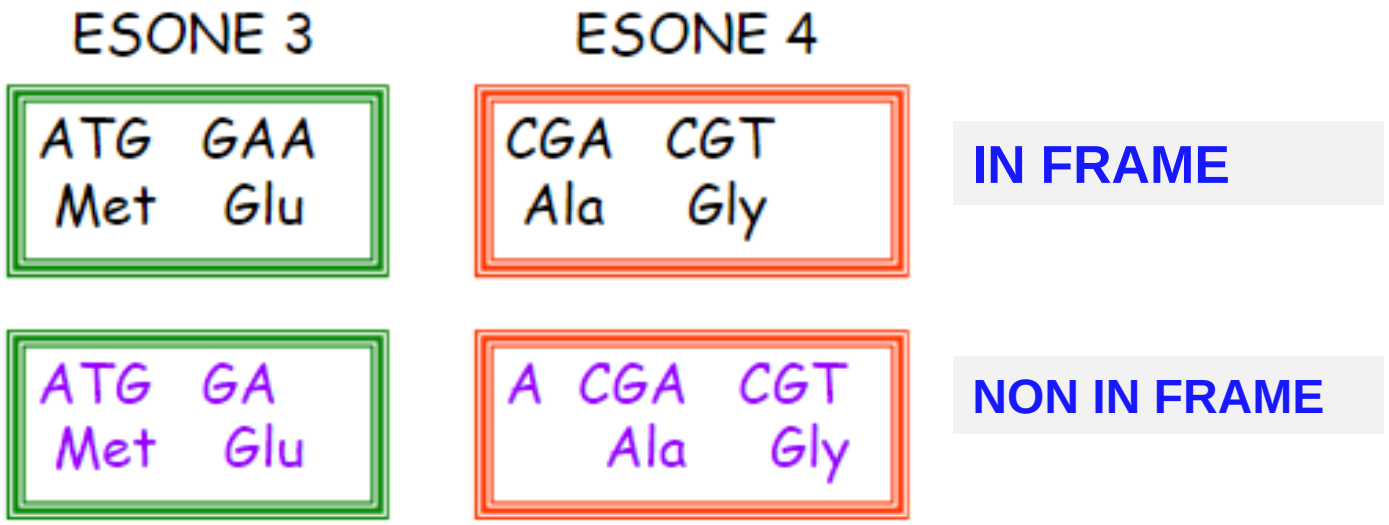


Mancata sintesi di aa presenti nella proteina wt

Mutazioni che alterano lo splicing

- Se gli esoni rimaneggiati **non sono in fase**
  - l'omissione dell'esone altera la fase di lettura
  - quindi provoca un'interruzione prematura della trascrizio**ne**

- Se gli esoni rimaneggiati **sono in fase**
  - non viene interrotta la traduzione;
  - si forma una proteina troncata la cui funzione dipende dall'importanza del dominio mancante



MUTAZIONI INDOTTE: MUTAGENESI

- Gli agenti mutageni inducono mutazioni aumentando la frequenza di mutazione.

- **Chimici:** analoghi delle basi, agenti alchilanti, agenti intercalanti, specie reattive dell'ossigeno, ecc.
- **Fisici**: radiazioni
- **Biologici:** trasposoni

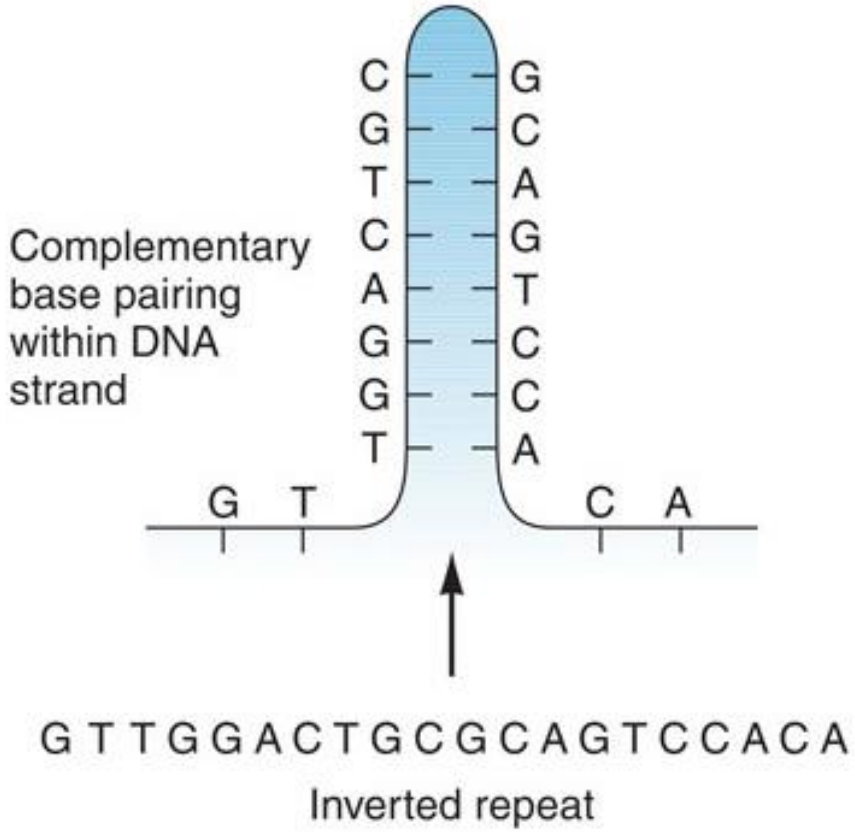
Mutazioni non sono casuali in relazione alla posizione in un gene o genoma

- **Certe sequenze sono hotspots mutazionali:**
regioni del DNA dove le mutazioni avvengono più frequentemente
  - **Generalmente sequenze ripetitive**
- **Siti di metilazione a C : altamente mutabili**
C-G -->AT
transizione

Repeat of a nucleotide A A A A A A A A A

Direct repeat of a dinucleotide G C G C G C G C

Direct repeat of a trinucleotide T A C T A C T A C



Palindrome GAATTC
CTTAAG

MUTAGENI CHIMICI: Definizione

- I mutageni chimici si riferiscono al gruppo di sostanze chimiche presenti in natura e sintetiche,
- essi causano mutazioni chimiche nel DNA modificando la **composizione chimica e la struttura del DNA.**
- Generalmente inducono errori nel meccanismo di replicazione del DNA, nella **trascrizione genica** e nei meccanismi di traduzione.
- Inducono mutazioni in diversi modi:

1. **Sostituisce la normale sequenza nucleotidica** del DNA imitando le basi originali del DNA.
2. **Modifica le normali basi del DNA** introducendo agenti alchilanti, deaminanti e idrossilanti.
3. **Interrompe il legame idrogeno tra le basi azotate** introducendo mutageni intercalanti.

Mutageni

- La maggior parte delle mutazioni inducibili da un mutageno possono avvenire anche spontaneamente,
- tuttavia, i mutageni favoriscono i tipi di mutazione che si generano in accordo con il tipo di danno al DNA che essi producono

Principali agenti mutageni e loro meccanismi di azione

Agent of mutation	Examples	Principal mechanism of mutagenesis
Water	Hydrolysis	Depurination (A or G detached from its deoxyribose sugar)
Oxidizing agent	Nitrous acid	Deamination ($-NH_2 \rightarrow = O$): C → U, 5-MeC → T, A → Hypoxanthine
Base analog	5-Bromodeoxyuridine	Increased rate of base mispairing
Alkylating agent	Ethylmethane sulfonate Nitrogen mustard	Bulky attachments made to side groups on bases
Intercalating agent	Proflavin	Causes topoisomerase II to leave a nick in DNA strand; misrepair results in the insertion or deletion of one or a few nucleotides
Ultraviolet light	Natural sunlight UV lamps	Forms pyrimidine dimers (covalent bonds between adjacent pyrimidines, primarily T) present in the same DNA strand
Ionizing radiation	X rays Radon gas Radioactive materials	Single- and double-stranded breaks in DNA; damage to nucleotides

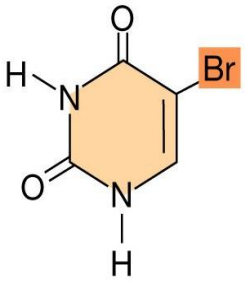
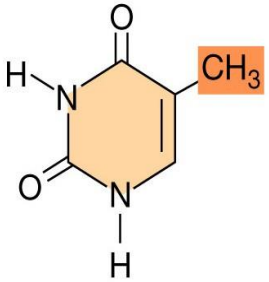
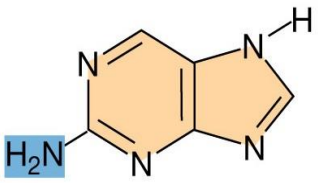
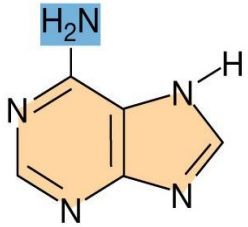
Agenti Mutageni Chimici

- **Esistono tre tipi di agenti chimici mutageni, a seconda di come interagiscono con il DNA.**



I. Mutageni chimici: a. Analoghi delle basi

- **Hanno una struttura simile alla purine e alle pirimidine,**
  - **ma si dimostrano difettosi**

Analog	Substitutes for
 5-Bromouracil	 Thymine
 2-Aminopurine	 Adenine

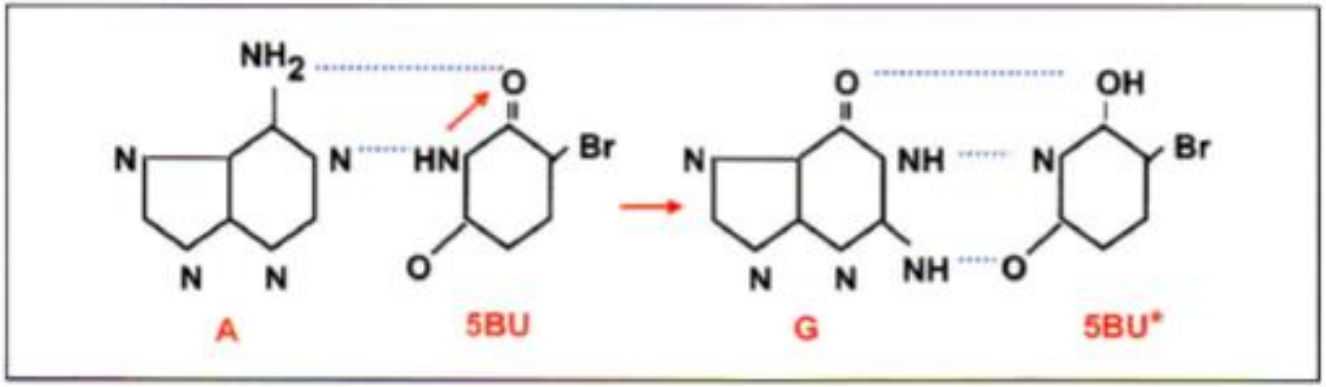
(b)

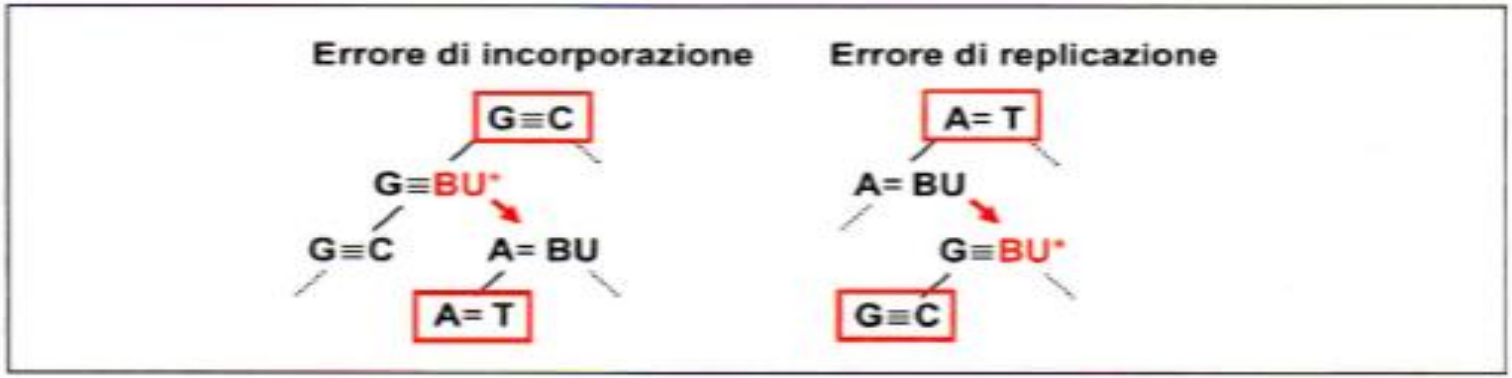
- **Il 5-Bromouracile** viene incorporato come T,
  - Pertanto può erroneamente appaiarsi con una G,
    ciò causa la **transizione da AT→ GC**

- **La 2-Aminopurina** viene incorporata come **A,**
  - quindi può erroneamente appaiarsi **con una C**,
  - ciò causa **la transizione da AT→ GC**

Analoghi delle basi

*Il BU nello stato chetonico si appaia con A, nello stato **enolico** (BU*) con G*





- ***Errore di incorporazione*** *(G = C → A=T)*
- *o di **replicazione** (A=T → G = C)*

La freccia indica lo shift tautomerico. BU: BU nello stato **enolico***

b. Agenti mutageni che reagiscono con il DNA

- **Acido nitroso (HNO_2):** provoca **deaminazione** (altera la specificità dei legami H di ciascuna base) di A e C, causando la transizione da AT→ GC oppure da GC → AT

- **Agenti alchilanti** (es. nitrosoguanidina, sulfonato di etil- o metil-metano- EMS, MMS)
  determinano la **formazione di legami crociati tra le eliche** del DNA, causando diversi tipi di mutazioni (puntiformi, delezioni, etc.).

- **Coloranti intercalanti** (acridine, bromuro di etidio):
  - si **inseriscono tra due paia di basi del** DNA;
  - provocano microinserzioni e microdelezioni con sfasamento schema di lettura.

b1. Reattivi acidi nucleici: acido nitroso

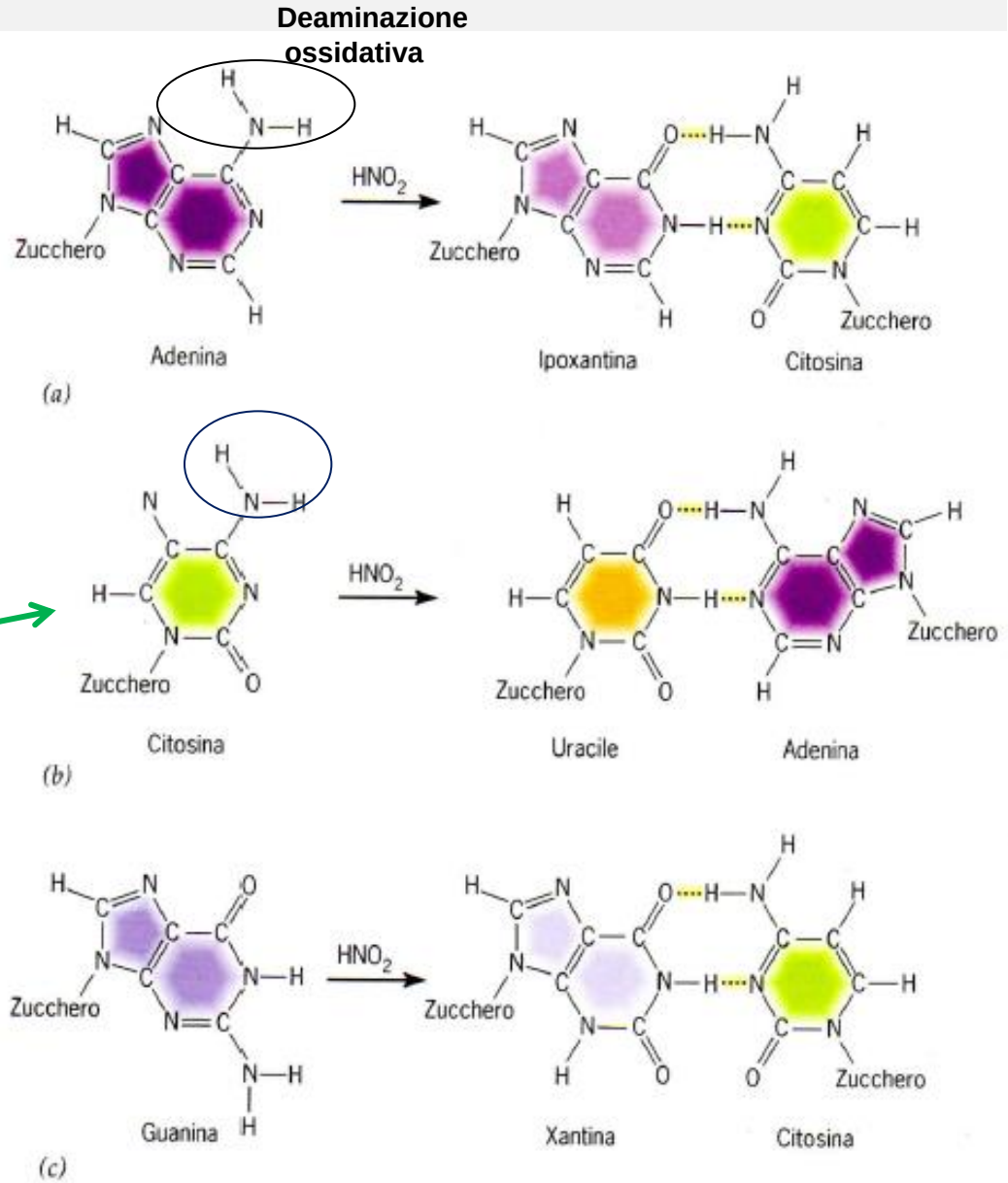
- **Produce mutazioni per deaminazione ossidativa delle basi del DNA.**

L'acido nitroso deamina i gruppi amminici liberi e converte:

(a) adenina in ipoxantina, transizioni A : T -> G : C,

(b) la citosina in uracile con transizioni G : C —> A : T

(c) la guanina in xantina, che non provoca mutazioni.

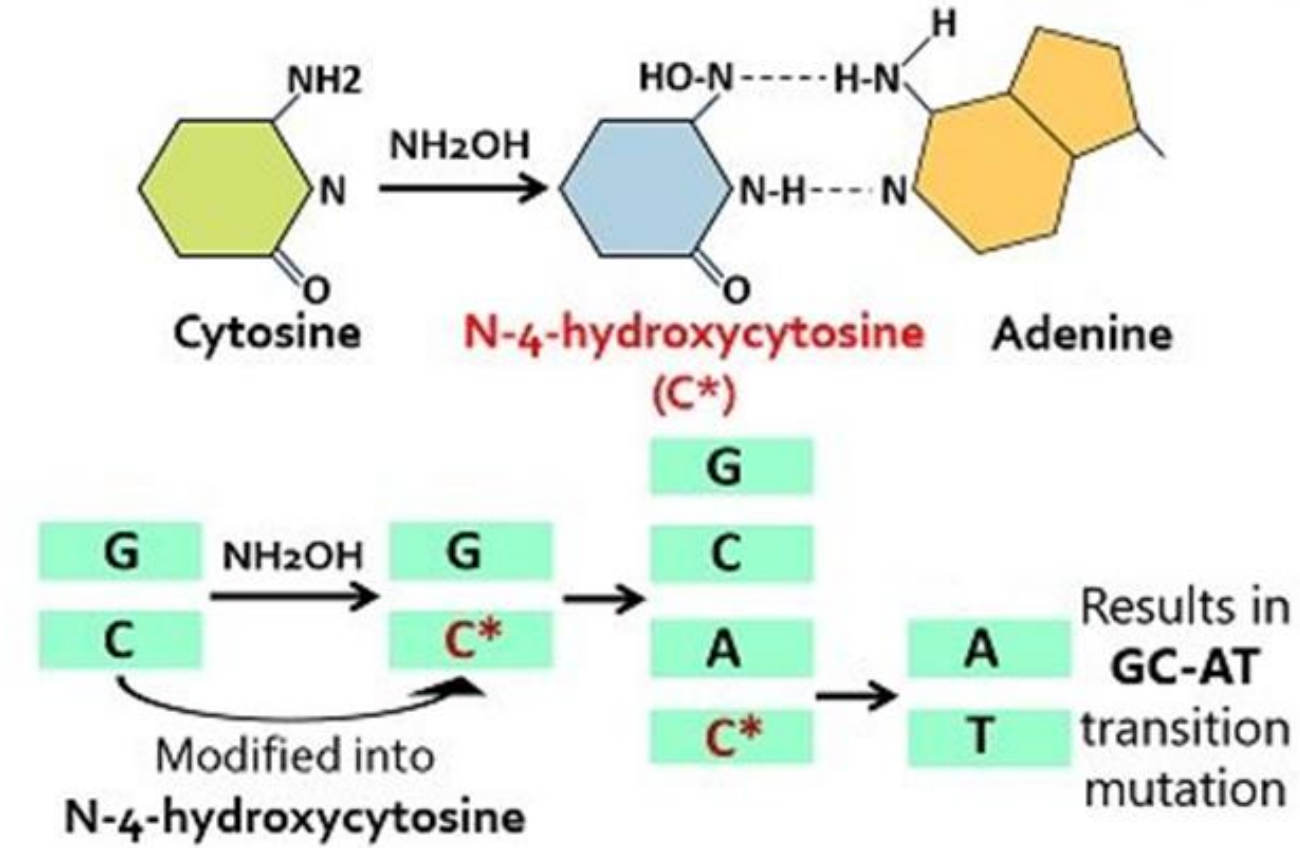


- Gli effetti dell'acido nitroso su A e C spiegano la sua capacità **di indurre transizioni in entrambe le direzioni, A : T <-> G : C**

b2. Agenti idrossillanti

- Essi idrossilano l'azoto del C-4 della citosina.
- Idrossilamina o NH_2OH modifica la citosina in idrossi-citosina tramite l'aggiunta di OH.
- Quindi, l'idrossicitosina si appaia con l'adenina invece che con la guanina e causa una tipo di mutazioni di transizione GC→AT
- Tale mutazione da appaimento di basi non reverte con un secondo trattamento con idrossilamina

Meccanismo da agenti idrossillanti (NH_2OH)

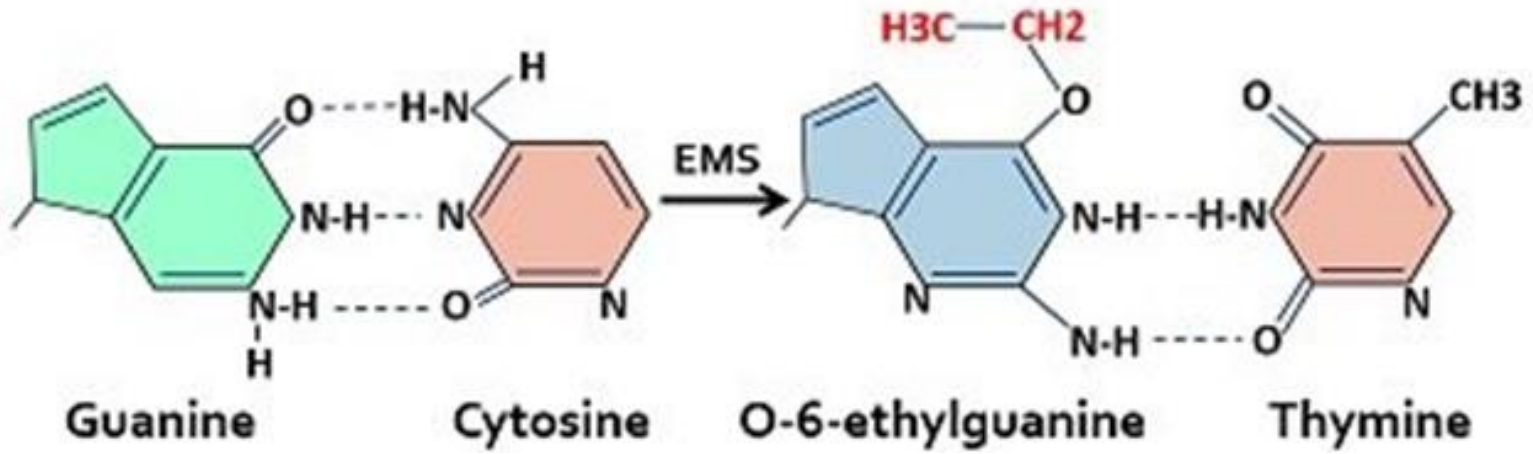


b2. Agenti Alchilanti

- queste sostanze chimiche aggiungono il gruppo alchilico all'ossigeno della guanina (in posizione N7) e dell'adenina (in posizione N3).

Sostanze chimiche come il dimetil solfato e l'etil metan solfonato sono gli

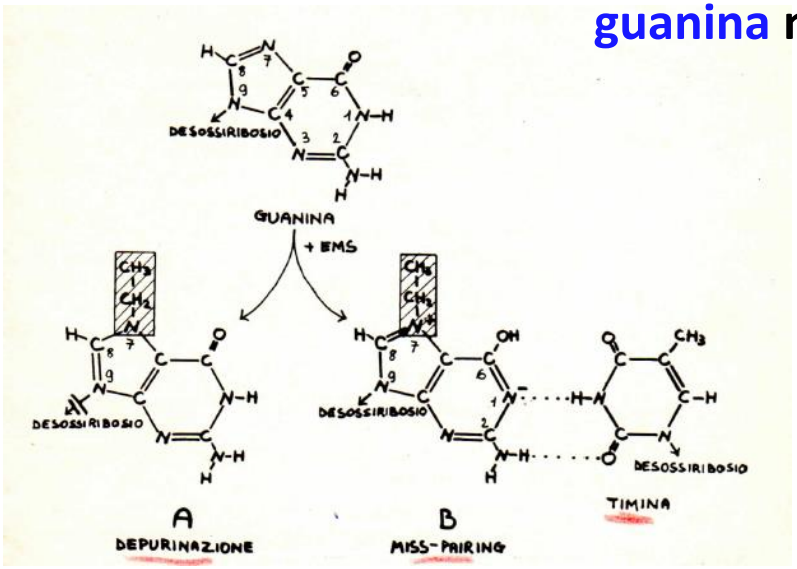
Agenti Alchilanti (EMS)



- Quindi, il gruppo alchilico aumenta la ionizzazione delle basi azotate, con conseguenti errori di accoppiamento delle basi che alla fine portano alla depurinazione o lacune nel polinucleotide del DNA.
- L'etil metan solfonato (EMS) possiede un'elevata specificità per rimuovere G e C. L'EMS alchila la guanina in O-6-etilguanina.
- Nel secondo round di replica, viene colmata una lacuna. L'inserimento della base corretta non altera la normale sequenza del DNA. Al contrario, l'inserimento di basi errate provoca transversione o mutazione di transizione.

Reattivi acidi nucleici: Agenti Alchilanti

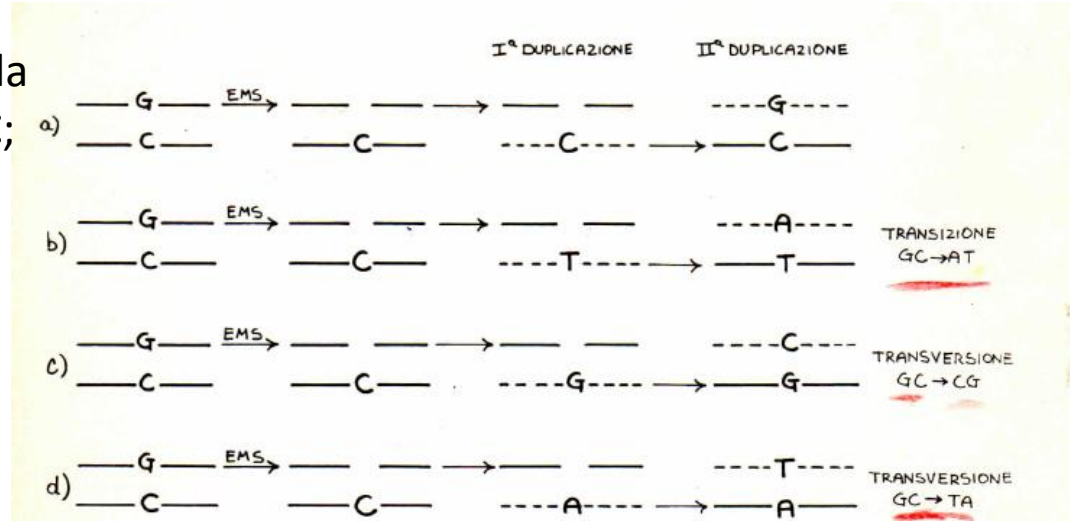
- **Effetti: alchilazione purine → in posizione 7 della guanina mediante etil-metan-solfonato.**



- **Meccanismo mutageno di un agente alchilante (EMS) dopo depurinazione.**
- Dopo il distacco della Guanina, alla **I** duplicazione del DNA di fronte al 'vuoto' della base mancante si può inserire una base a caso.
- Alla II duplicazione ognuna delle basi nuove inserite si accoppia correttamente con la sua complementare.

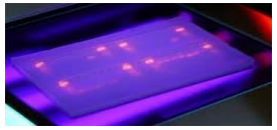
a) di fronte al vuoto si è inserita una C e alla II duplicazione si ricostituisce la coppia GC;

b) si è inserita una T e alla II duplicazione questa si accoppia con A (= transizione GC—> A T) ;
analogamente in c) e i n d) si producono due transversioni.



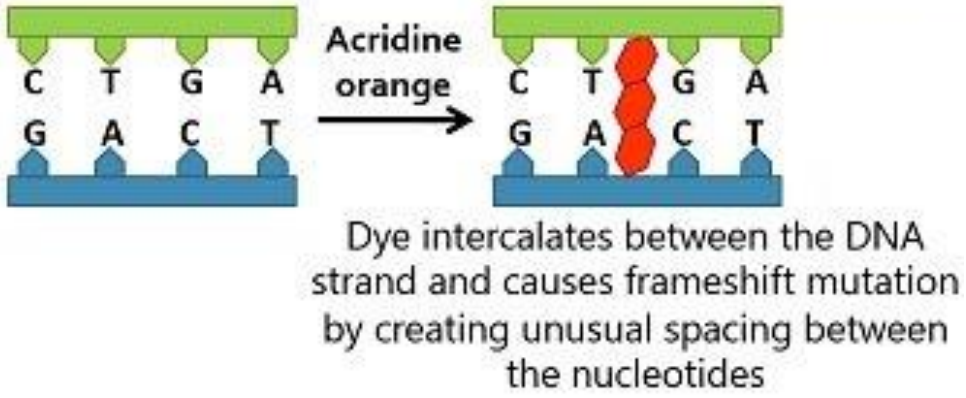
b3. Agenti Intercalanti

- Questi includono **coloranti di acridina**, proflavina e bromuro di etidio , che possiedono un anello eterociclico idrofobo.



- Si legano ai solchi maggiori e minori del DNA.
- Gli agenti intercalanti imitano anche le basi azotate e si intercalano tra le basi nucleotidiche del DNA.

Agenti intercalanti (arancio di acridina)



- Ciò si riflette in una spaziatura atipica tra i nucleotidi e distorce l'elica del DNA.
- L'insolita spaziatura nell'elica del DNA provoca **l'inserimento o la delezione di basi in una catena di DNA in crescita.**
- Di conseguenza, il normale frame di lettura delle basi cambia, causando così muta-**zioni frameshift**, e alla fine porta a aberranti replicazione e trascrizione del DNA.

Conclusioni

- Pertanto, l'interazione di mutageni chimici (inclusi prodotti chimici naturali e sintetici) induce mutagenesi chimica provocando
- **cambiamenti genetici nella**
  - nella sequenza genica
  - struttura del DNA

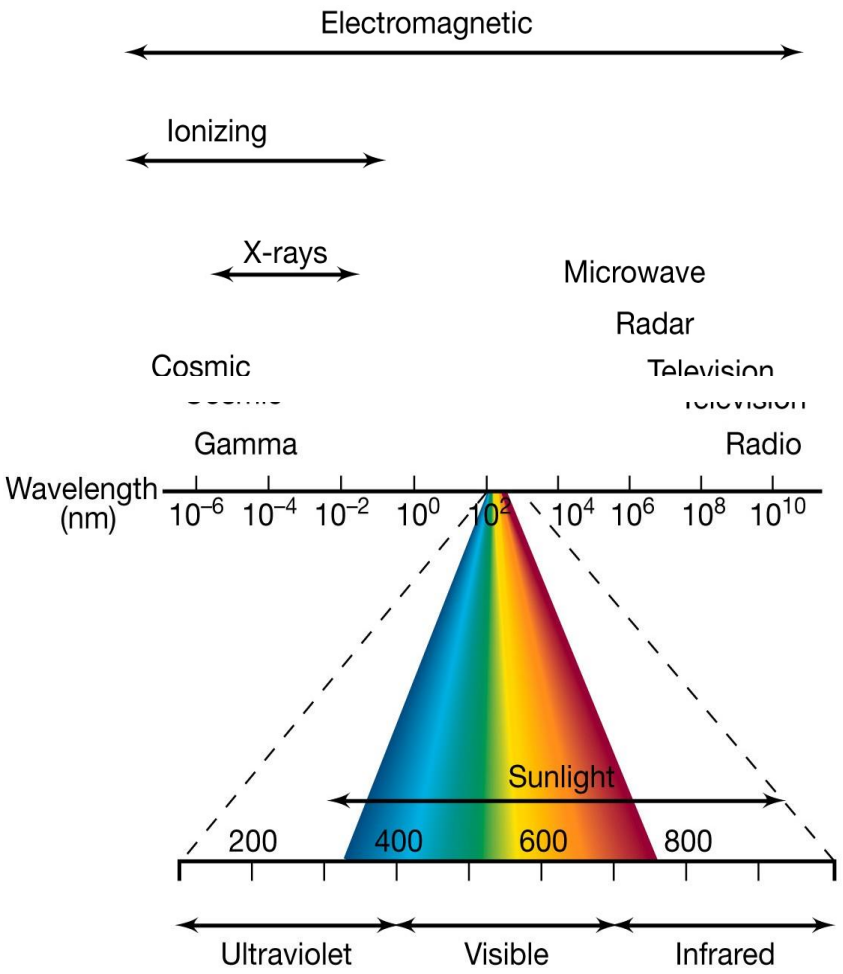
Esposizione a mutageni chimici

- Aflatossine – in arachidi
- Nitrofenolo, anisoli, toluene – coloranti capelli
- Furilfofuramide – additivi alimentari
- Nitrosamine – pesticidi, erbicidi, fumo sigarette
- Sodio nitriti – carni affumicate
- PBDE (etere di difenile polibromurato) – ritardanti della fiamma

II. Mutageni fisici: radiazioni ionizzanti

- Comprendono:
  - **radiazioni di natura elettromagnetica** (raggi X, raggi gamma, raggi cosmici), caratterizzate da frequenze elevate e bassa lunghezza d'onda
  - **radiazioni di natura corpuscolata** (particelle alfa, elettroni, neutroni, protoni)
- Possono causare alterazioni della struttura del materiale genetico:
  - per effetto **diretto** delle radiazioni sul DNA
  - per effetto **indiretto** dovuto alla produzione di ioni e radicali liberi a carico di altri componenti cellulari
- **Tipo di danno:**
  - rottura di uno o di entrambi i filamenti del DNA
  - eliminazione di basi
  - formazione di legami fra le due eliche del DNA

2. Mutageni fisici: Le radiazioni



Le radiazioni mutagene:

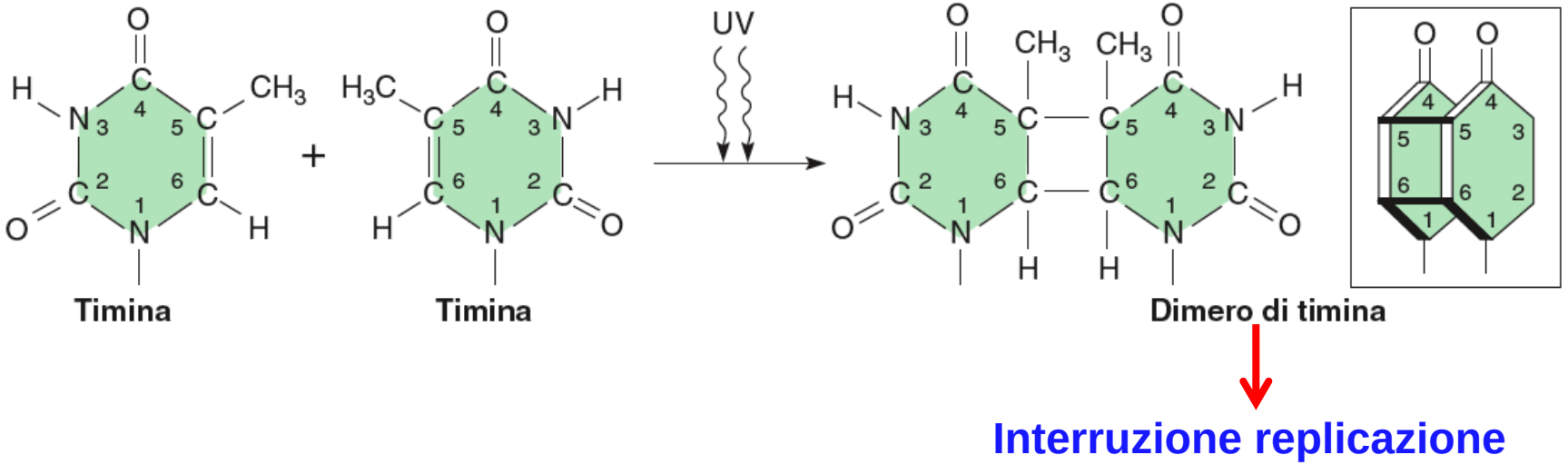
1. **Ionizzanti** (raggi X, raggi gamma e raggi cosmici)
2. **Non ionizzanti** (radiazioni UV)

- **Gli acidi nucleici (DNA, RNA) assorbono efficientemente le radiazioni UV:** max assorbimento a 269 nm.
- **Le radiazioni UV inducono nel DNA la formazione di dimeri di pirimidine:** la formazione di legami covalenti tra due pirimidine adiacenti (C o T) durante la replicazione.

- **Le radiazioni UV sono usate per l'isolamento di mutanti nelle colture microbologiche**
  - Per la **mutagenesi** è utilizzata lampada germicida che emette radiazioni UV nella regione a 260 nm.
  - Viene utilizzata una dose di UV che porta alla morte il 90-95% della popolazione cellulare, cercando i mutanti tra le cellule sopravvissute

II. Mutageni fisici
a. radiazioni non ionizzanti: raggi UV

- Le radiazioni UV possono provocare **la formazione di legami covalenti fra pirimidine adiacenti (**generalmente: dimeri di timina) che **interrompono la replicazione**



- **I danni causati dai raggi UV vengono riparati attraverso la foto-riparazione**

b. Radazioni ionizzanti

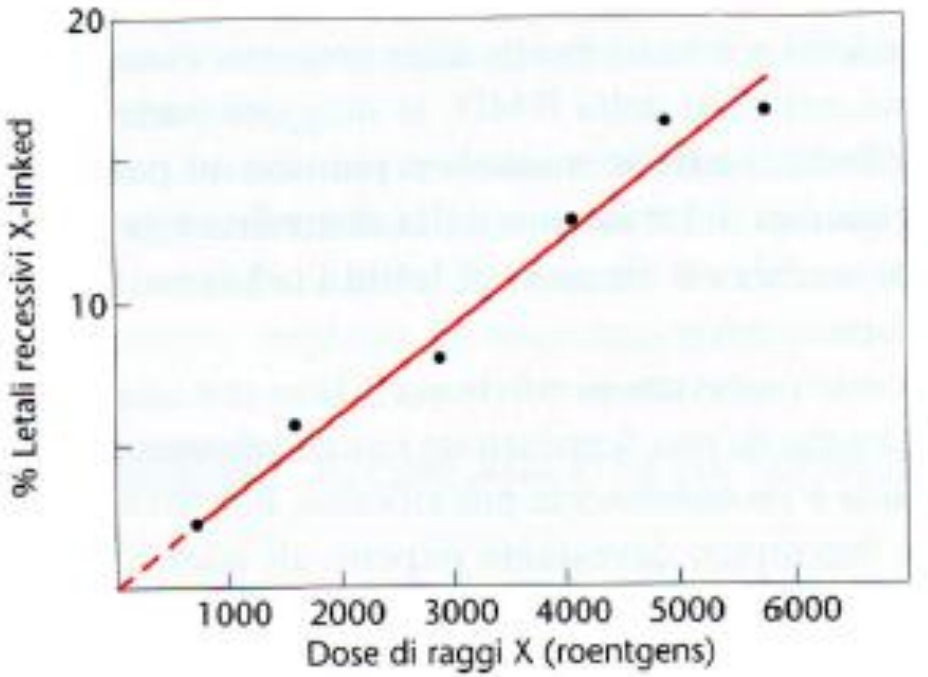
- **effetto deleterio diretto o indiretto**

su materiale genetico,

- alterano purine e pirimidine nel DNA → mutazioni puntiformi.
- possono rompere i legami fosfodiesterici → distruzione

integrità dei cromosomi e aberrazioni cromosomiche:

- delezioni,
- traslocazioni
- frammentazione cromosomica.



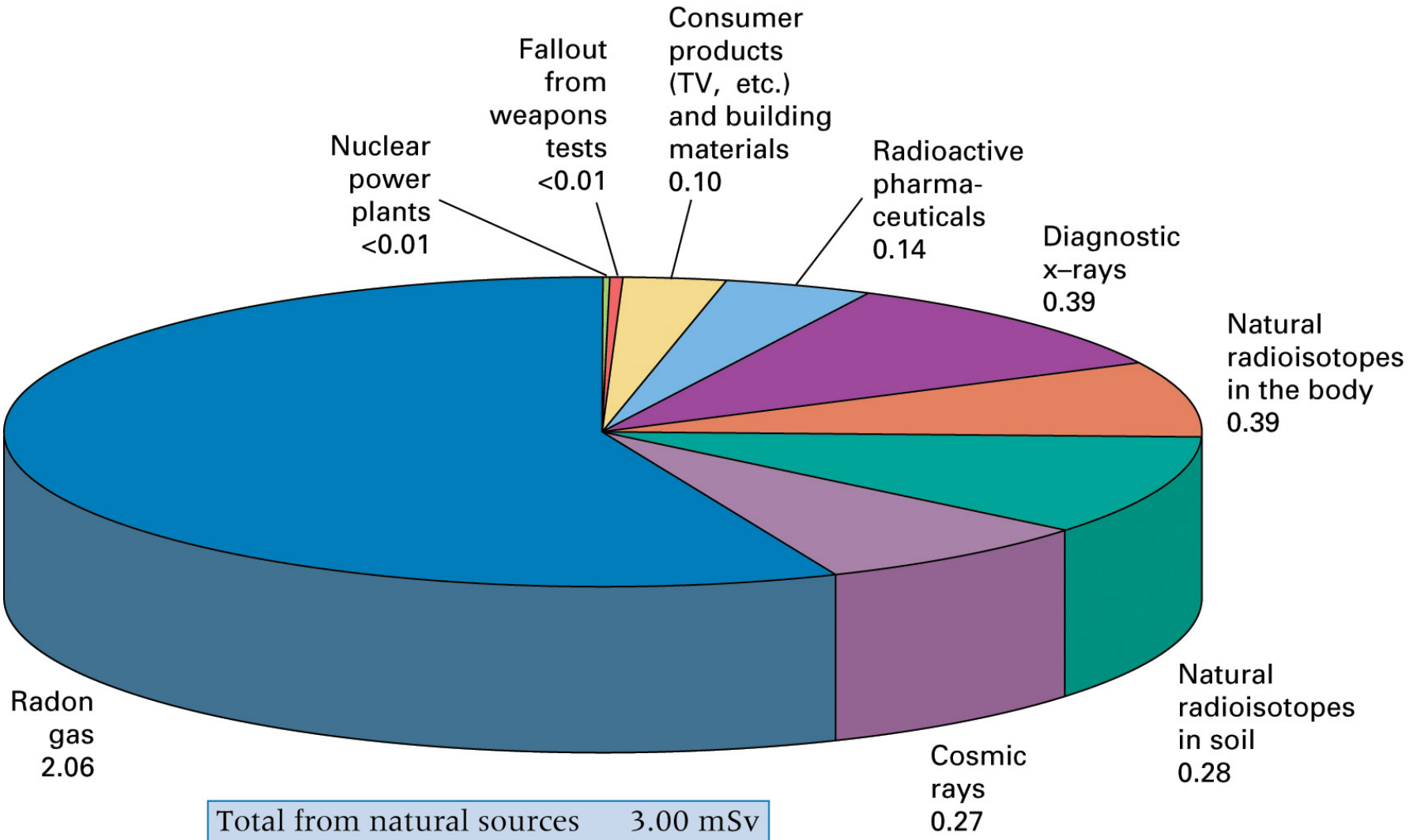
Percentuale di mutazioni recessive legate al sesso indotte da dosi crescenti di raggi X.

- Una persona è, in media, esposta a circa 360 mrem/anno, di cui l'81% proviene da fonti naturali (raggi cosmici, luce solare, terreno e rocce)
- Una dose **di 5.000 mrem è** sufficiente per causare **mutazioni cellulari** ed **aumentare la suscettibiità di sviluppare tumori**

Unità di misura delle radiazioni

Gray	MISURA LA DOSE ASSORBITA	Gy = J × Kg^{-1} (UNITA' S.I.)
Sievert	MISURA DEL DANNO	Sv = J × Kg^{-1} (UNITA' S.I.)
Röntgen	MISURA RADIAZIONE IONIZZANTE	(NO S.I.)
Bequerel	MISURA DELL' ATTIVITA' DEL RADIONUCLIDE	Bq = 1dis × s^{-1} (UNITA' S.I.)
Curie	MISURA DELL'ATTIVITA' DEL RADIONUCLIDE	Ci = 3,7 × 10^{10} Bq (NO S.I.)
Rutherford	MISURA DELL'ATTIVITA' DEL RADIONUCLIDE	Rd = 10^{6} Bq (NO S.I.)
Rad	MISURA LA DOSE DI RADIAZIONE ASSORBITA	Rad = 0,01 Gy (UNITA' S.I.)
Rem	MISURA LA DOSE DI RADIAZIONE EQUIVALENTE	Rem = Rad × Q (UNITA' S.I.)

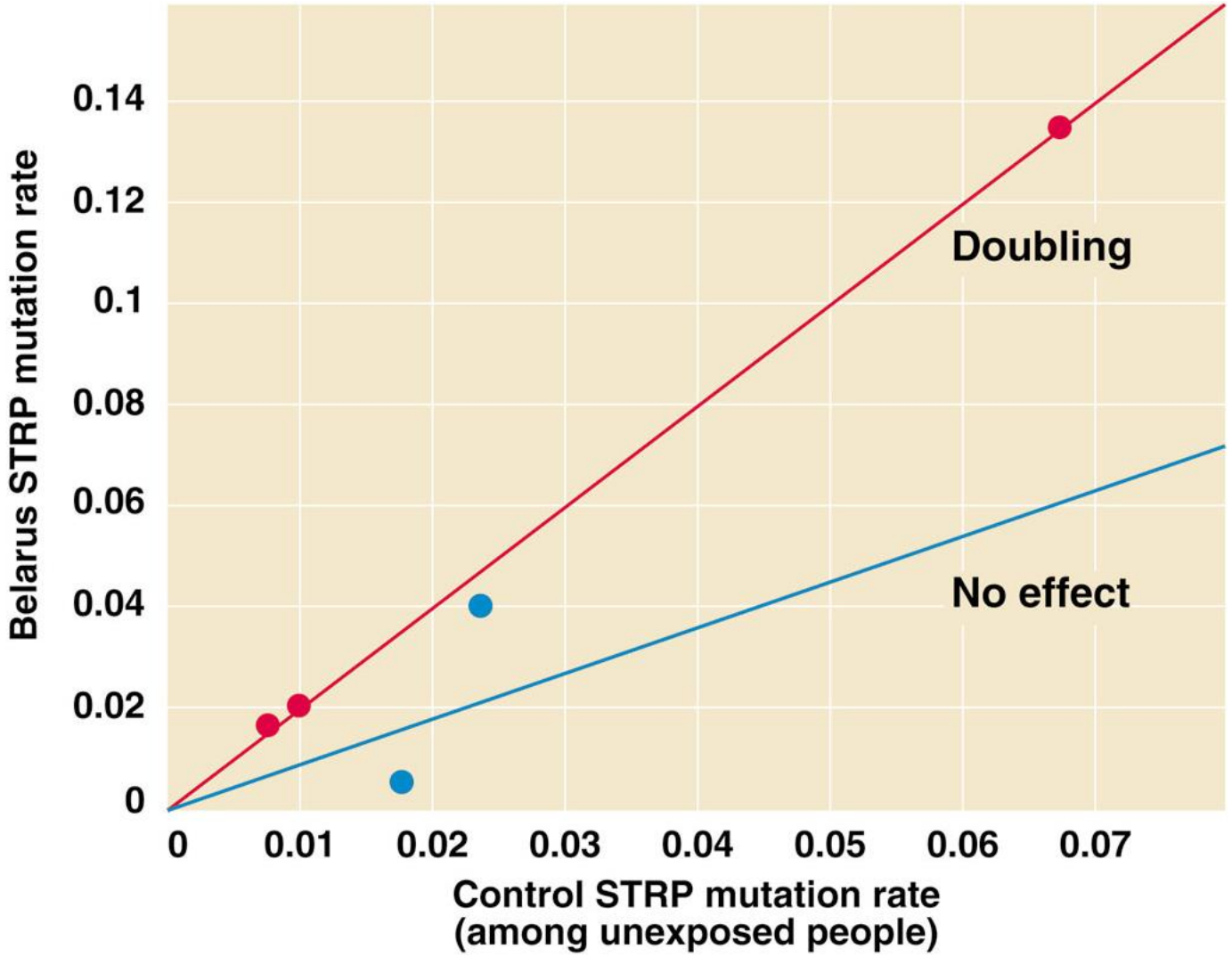
Esposizione annual di esseri umani ngli USA
United States a varie forme di radiazioni ionizzanti



Total from natural sources	3.00 mSv
Total from other sources	0.63 mSv
Total from all sources	3.63 mSv

(1 mSv = 1 millisievert = 0.1 rem)

Persone esposte a radiazioni crescenti, in seguito a incidente di Chernobyl, mostrano un tasso di mutazione raddoppiato

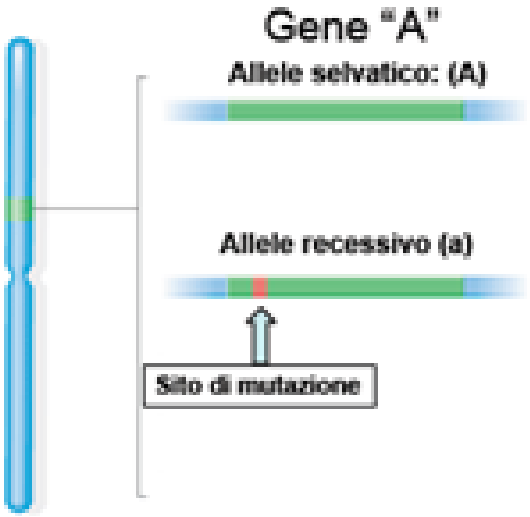


III. CLASSE DELLA MUTAZIONE E MODALITÀ' IN CUI VIENE ALTERATA L'ESPRESSIONE DEL GENE MUTANTE

- Le mutazioni, se cambiano il fenotipo,
- vengono classificate in due categorie:

- **mutazioni con perdita di funzione "loss of function";**
  sono per lo più recessive

- **Mutazioni con acquisizione di funzione '' gain of function'':**
  - Sono molto meno comuni.
  - La mutazione deve essere tale da conferire un'attività anomala alla proteina.
  - Molte sono in sequenze regolatrici

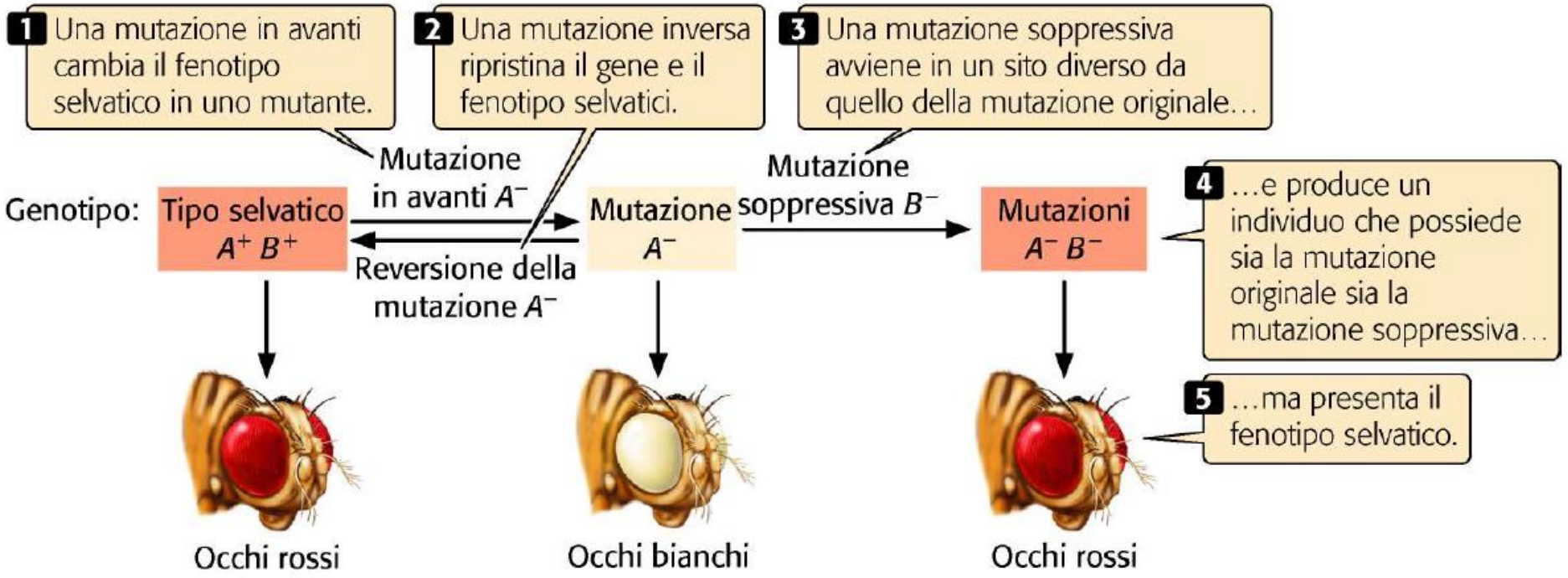


Dom	Rec
AA Aa	a a

Allele selvatico: la forma allelica più frequente nella popolazione

Tipologia della mutazione

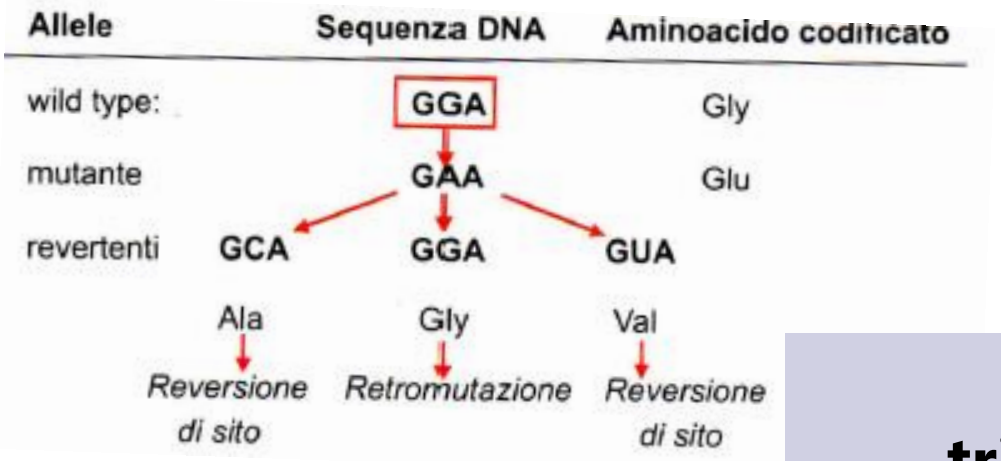
- **Mutazioni in avanti**: altera il fenotipo selvatico
- **Mutazione inversa** (retromutazione) ripristina il fenotipo selvatico
- **Mutazione soppressiva**: ripristina il fenotipo selvatico con una seconda mutazione



a. Reversione

1. ***retromutazione***: nuova mutazione che riporta al fenotipo normale; questo a seguito di un **processo inverso a quello** che ha originato la mutazione in avanti.

2. ***reversione di sito***

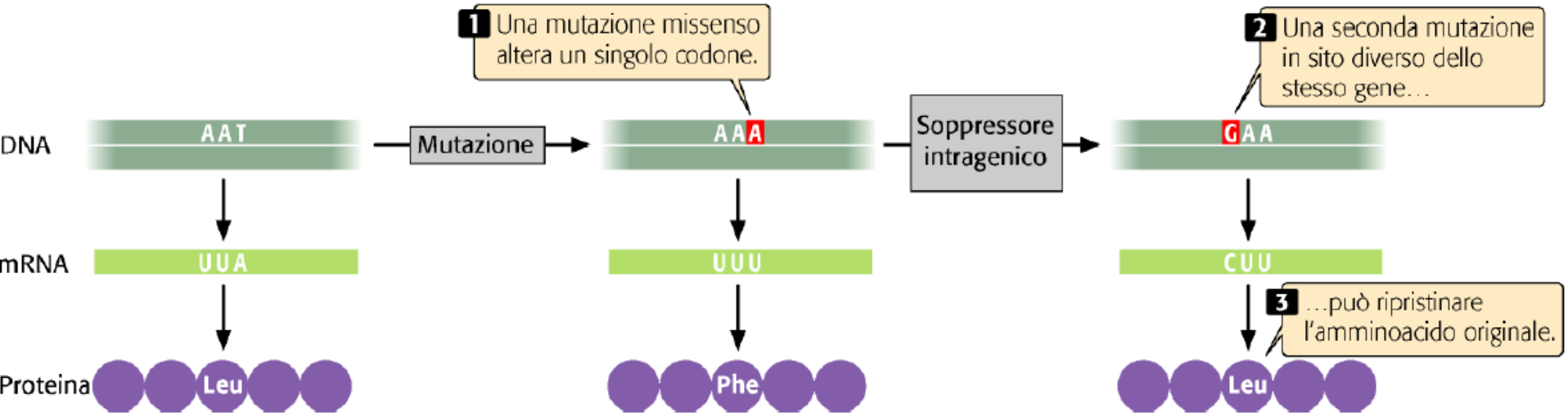


Sequenza aa mutante triptofansintetasi- di E. *coli*

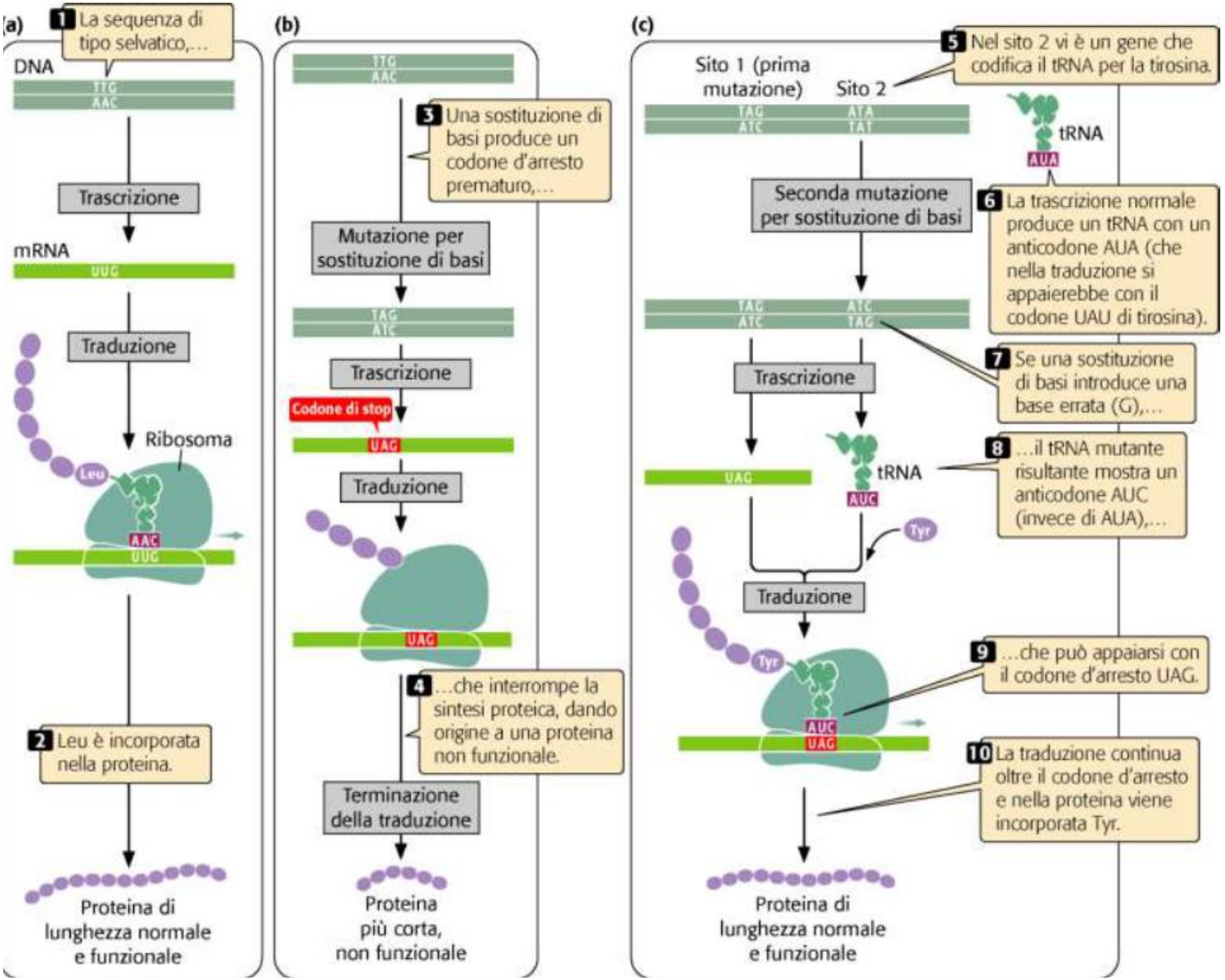
ALLELE	SEQUENZA AMINOACIDICA			PROTEINA
wt	tyr – leu – leu -	33 aminoacidi	gly – phe –gly	attiva
mutante	tyr – leu – leu -	33 aminoacidi	**glu** – phe –gly	inattiva
revertente	**cys** – leu – leu -	33 aminoacidi	**glu** – phe –gly	attiva

b. Mutazione soppressiva intragenica

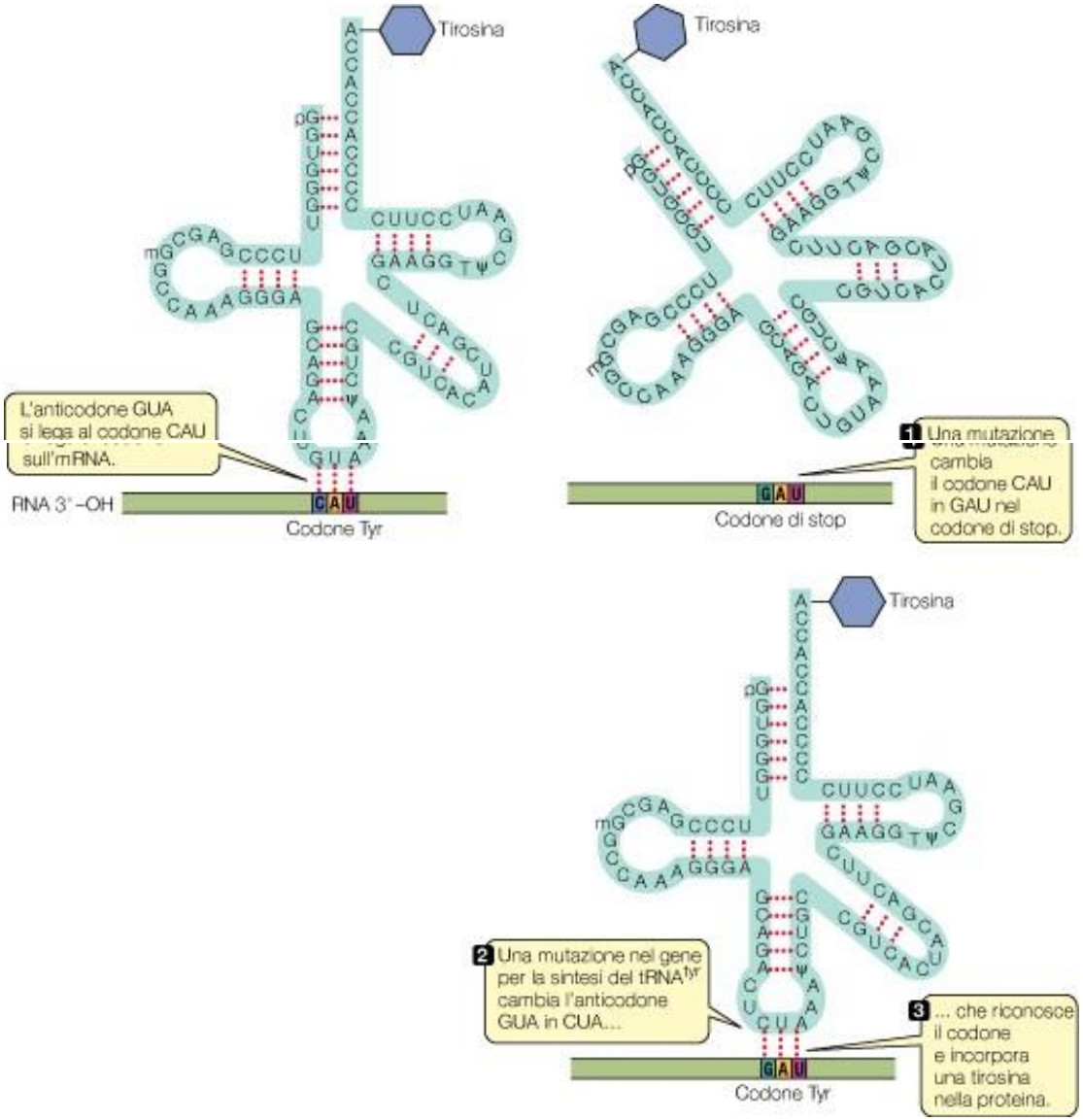
- Sopprime il fenotipo dovuto ad un'altra mutazione, così che le due insieme **danno il fenotipo normale**.
- Entrambe le mutazioni sono a carico dello stesso gene



c. Mutazione soppressiva intergenica



Mutazione soppressiva



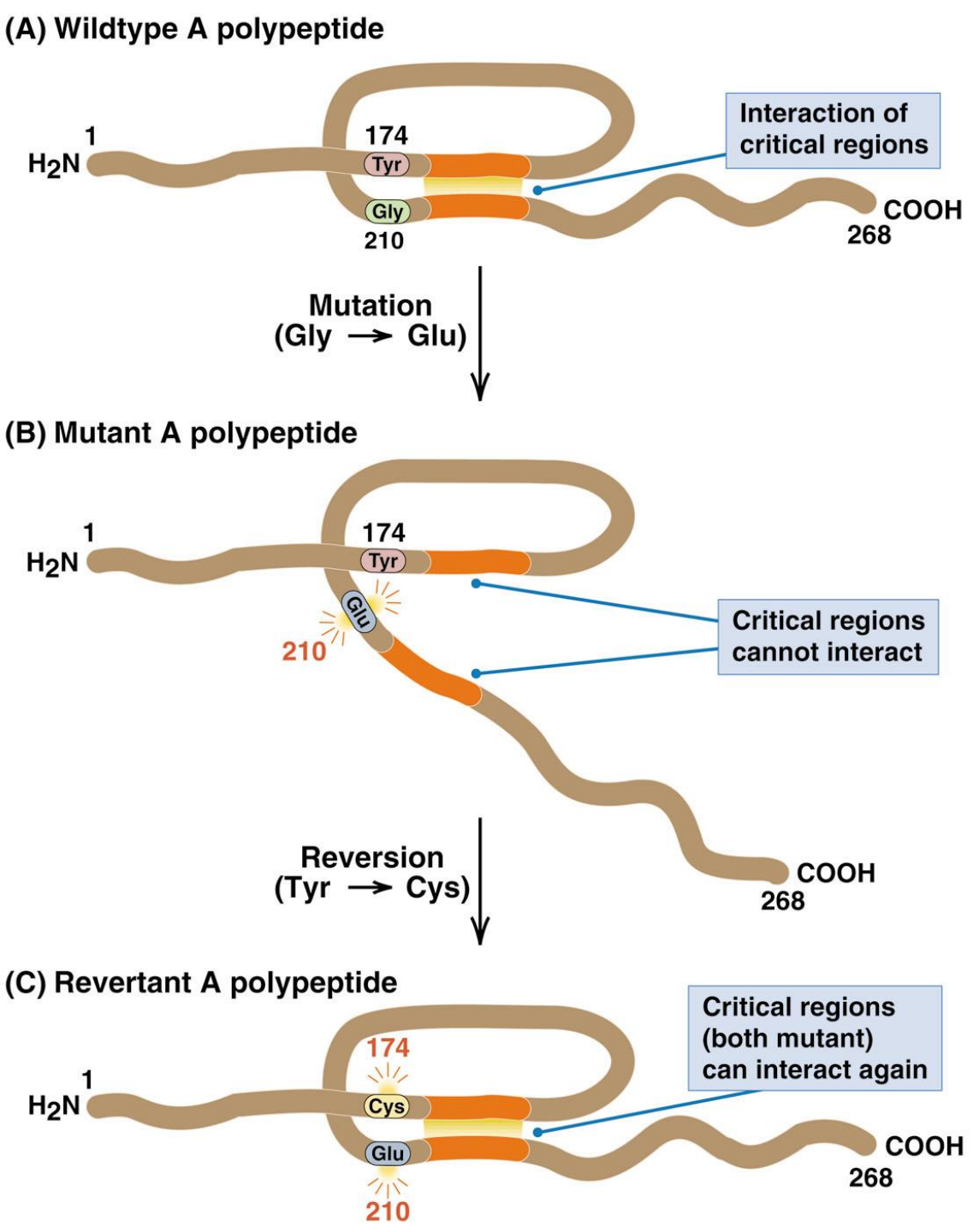
- Poiché le mutazioni causano spesso un'alterazione del metabolismo cellulare e non permettono il funzionamento ottimale delle strutture della cellula, vi è
- ***una pressione selettiva verso la comparsa di nuove mutazioni***

che compensino il difetto causato dalle precedenti.

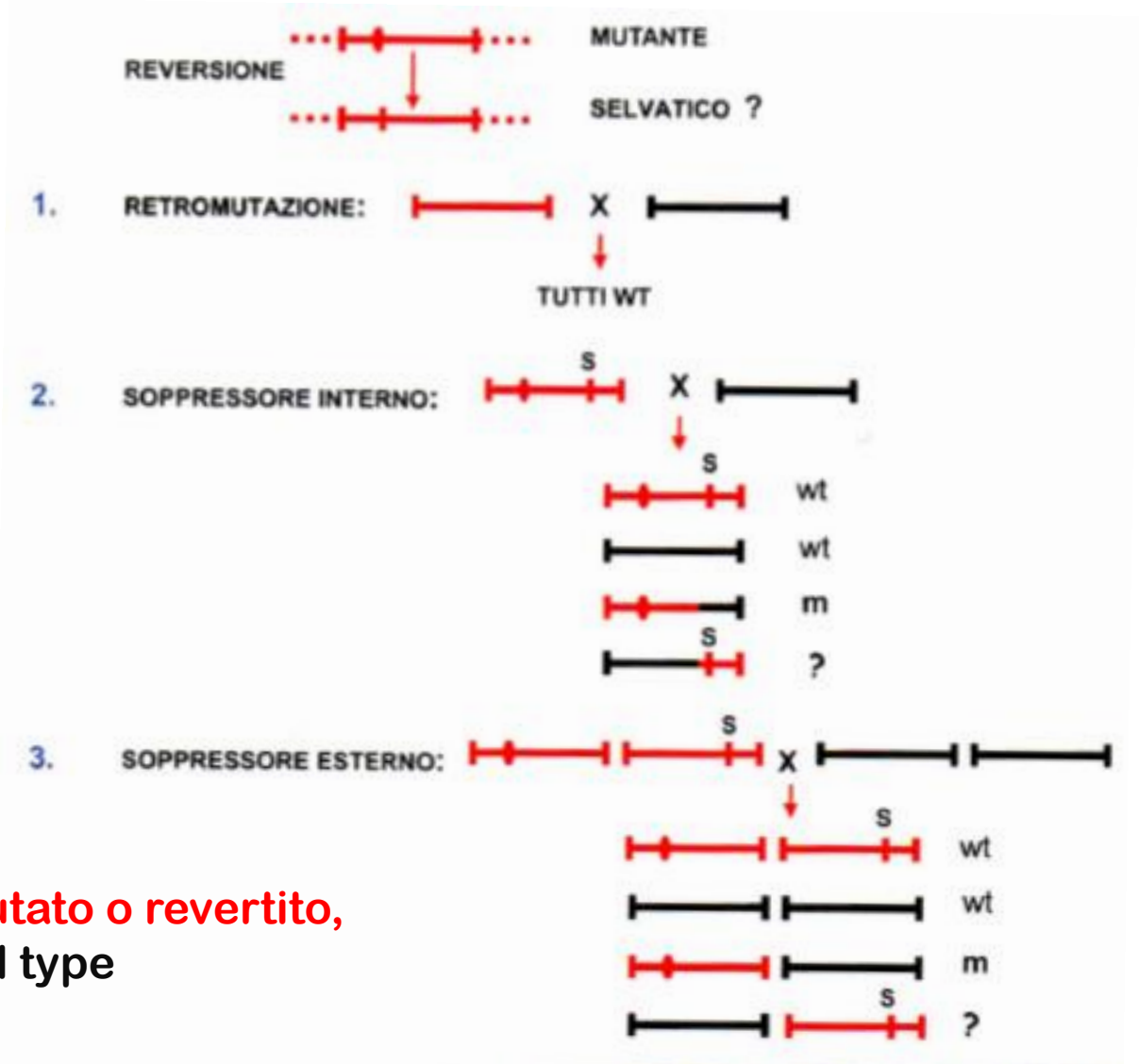
- Questo tipo di compensazione, mediante mutazioni soppressive, che riparano agli errori causati da altre mutazioni, viene definito **soppressione.**

Ripristino del fenotipo wild type tramite una seconda mutazione che compensa la prima mutazione

- Una mutazione che sopprime un'altra mutazione è chiamata **mutazione soppressiva**



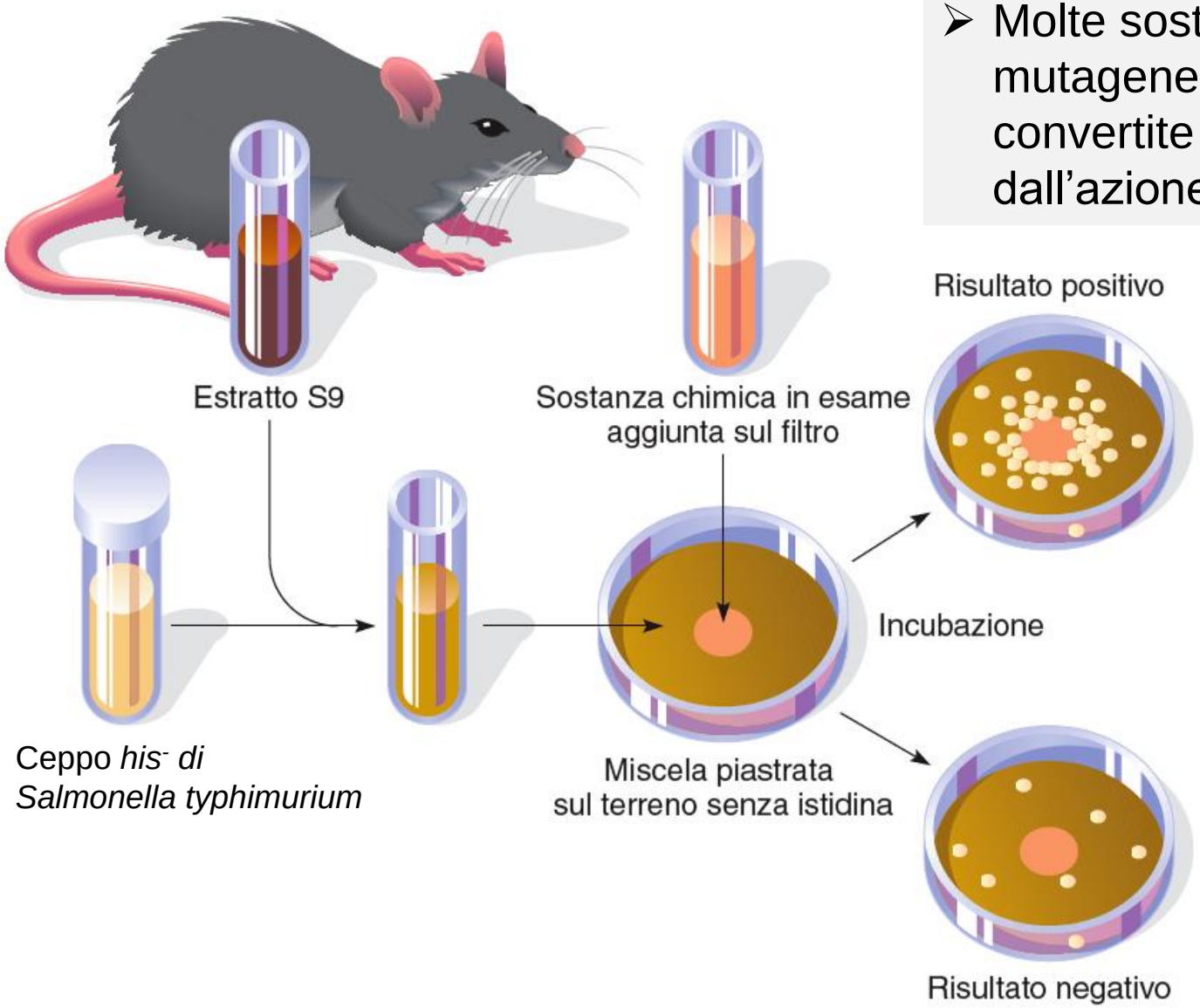
Analisi genetica per identificare l'evento che ha generato la reversione.



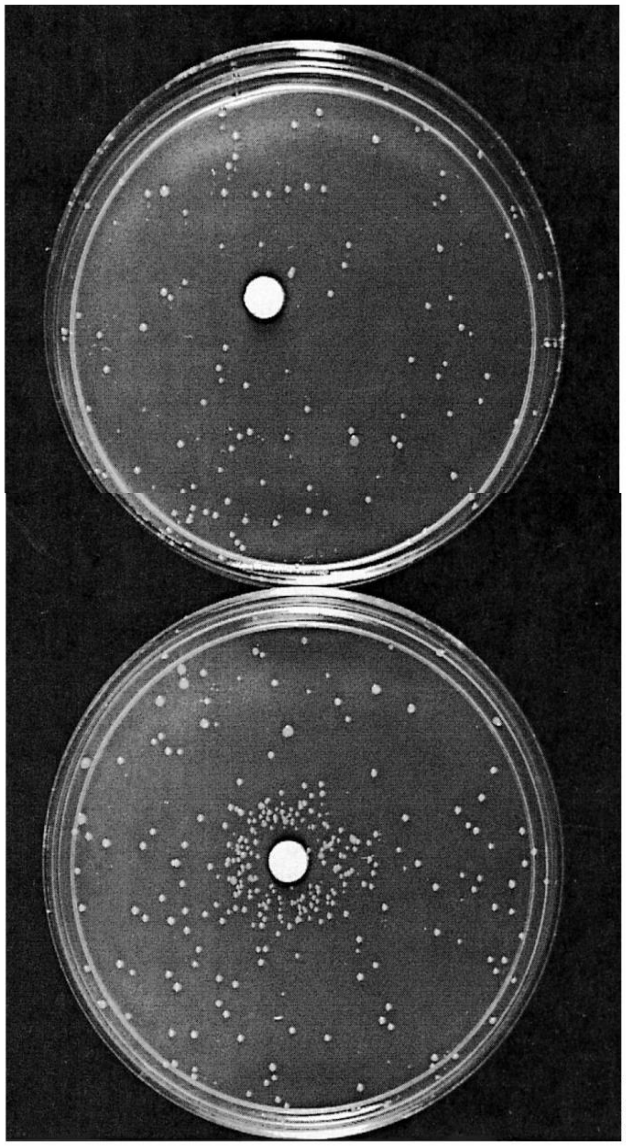
- In rosso: allele mutato o revertito,
- in nero: allele wild type

Il test di Ames per agenti cancerogeni: si basa sulla capacità dei mutageni chimici di indurre retromutazione

- Molte sostanze non sono mutagene di per sé, ma sono convertite in mutageni dall'azione di enzimi epatici



Il test di Ames...in solido

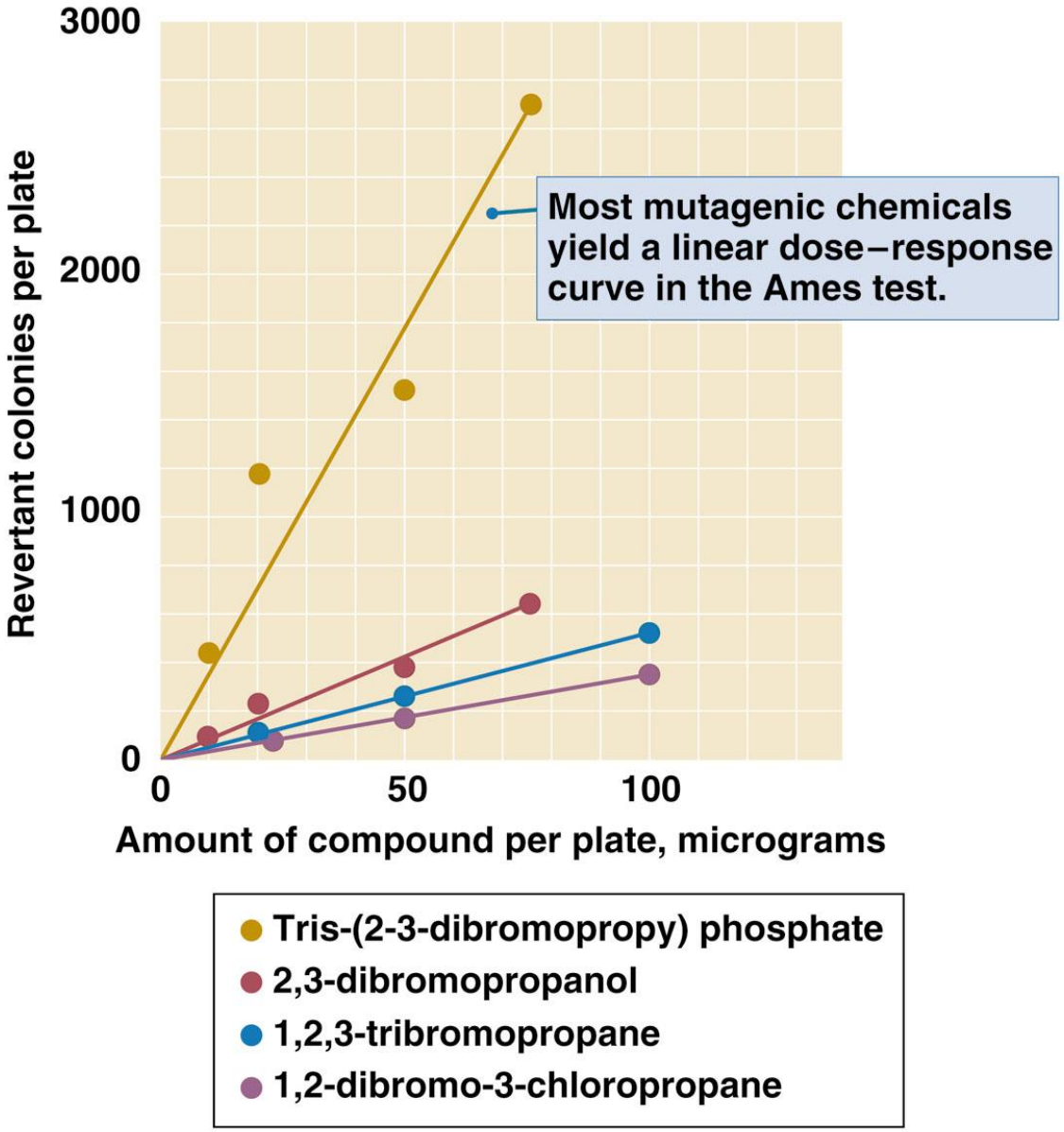


- Entrambe le piastre sono state inoculate con una coltura di un mutante di ***Salmonella enterica*** **che richiede istidina (auxotrofo *His*$^{-}$).**

- **Il terreno non contiene istidina** per cui solamente le cellule che retro-mutano a selvatiche possono crescere.
- I retro-mutanti spontanei appaiono su ambedue le piastre, ma la sostanza chimica nel disco di carta della piastra in basso, ha determinato un aumento della frequenza di mutazione, come dimostrato dal gran numero di colonie che circondano il disco.

- Non si osservano revertenti in stretta vicinanza del disco perché la concentrazione del mutageno è così alta da risultare letale.

Il test di Ames per identificare un mutageno chimico



- La maggior parte di sostanze chimiche che agiscono come mutageni in batteri
- Causano cancro in animali

Il fenotipo mutatore

- Un ceppo con una frequenza elevata di mutazioni, viene definito “**ceppo mutatore”.**

- Spesso il fenotipo mutatore è **conseguenza di difetti nei sistemi di riparo**, che risulta selezionato in ambienti complessi e molto variabili.

- In alcuni casi questo fenomeno rappresenta un vantaggio selettivo per il microrganismo che può generare mutazioni adattative, che portano ad un fenotipo che può sopravvivere a particolari stress

I SISTEMI DI RIPARARAZIONE DEL DNA

- Alcuni processi sono però *errore-prone,* per cui è lo stesso processo di riparo che introduce mutazioni (DNA mutasi: polimerasi IV eV)
- Le cellule posseggono diversi sistemi per correggere gli errori e riparare i danni del DNA

Cinque meccanismi di riparazione del DNA

1. **Sistemi di riparazione post replicativi**
2. **Sistemi di riparazione luce-dipendenti /F o t o r i a t t i – v a z i o n e**
3. **Riparazione per escissione.**
4. **Riparazione di Mismatch (MMR).**
5. **Risposta SOS.**

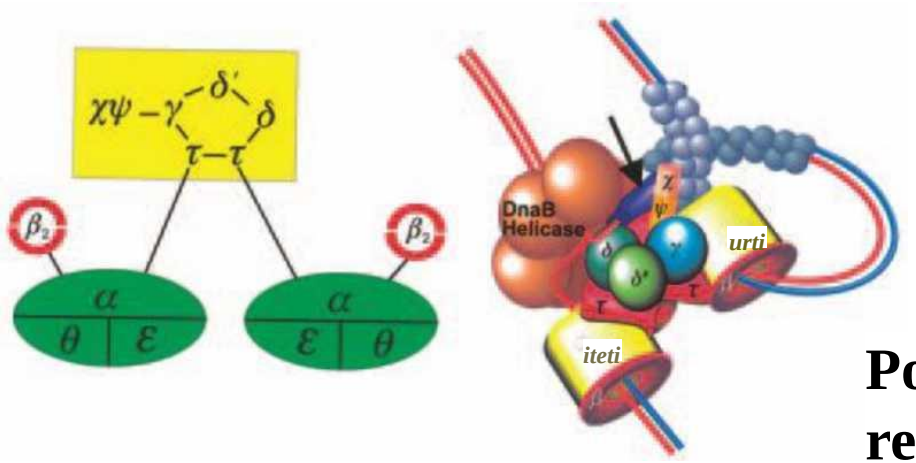
Types of DNA damage and mechanism of repair

Types of DNA Damage and Mechanism of Repair

Type of damage	Major mechanism of repair
Nicks in DNA strand	Repaired by DNA ligase
Chemically modified base	Base excision (removal by base-specific DNA glycosylase)
Mismatched bases	Corrected by mismatch repair (excision and resynthesis)
Apurinic or apyrimidinic site	Fixed by AP endonuclease repair system
Damaged region of DNA	Nucleotide excision repair (excision and resynthesis across partner strand)
Pyrimidine dimers (from UV light)	Enzymatically reversed
Damaged region of DNA	DNA damage bypass (sequence in damaged region recovered via recombination)

I sistemi di riparo

- **Le cellule posseggono diversi sistemi per correggere gli errori e riparare i danni del DNA**



PolIII: replicasi batterica

Alcuni processi sono però *errore-prone*, per cui è lo stesso processo di riparo che introduce mutazioni.
(DNA mutasi: polimerasi II, IV e V)

Sintesi

- Le mutazioni sono cambiamenti ereditari della sequenza del DNA
- Si possono classificare le mutazioni in base alle cellule interessate, all'entità del cambiamento, alla loro origine e alle loro conseguenze sul fenotipo
- Gli esperimenti di Luria e Delbrück e di Lederberg hanno dimostrato che la mutazione è spontanea e pre-adattativa
- Le mutazioni possono insorgere per un errato appaiamento in fase di replicazione del DNA, o per danni al DNA causati da fattori chimici e fisici
- Le sostituzioni di una singola coppia di basi possono creare codoni missenso o codoni nonsenso (terminazione della traduzione).
- Una purina sostituita da un'altra purina (o una pirimidina sostituita da un'altra pirimidina) è una **transizione**.

  Una purina sostituita da una pirimidina (o viceversa) è una trasversione.
- Aggiunte o delezioni di singole coppie di basi (indel) producono mutazioni *frameshif*
- Nella cellula esistono meccanismi per la riparazione del DNA

Thank you for your attention, we hope you enjoyed it :)

