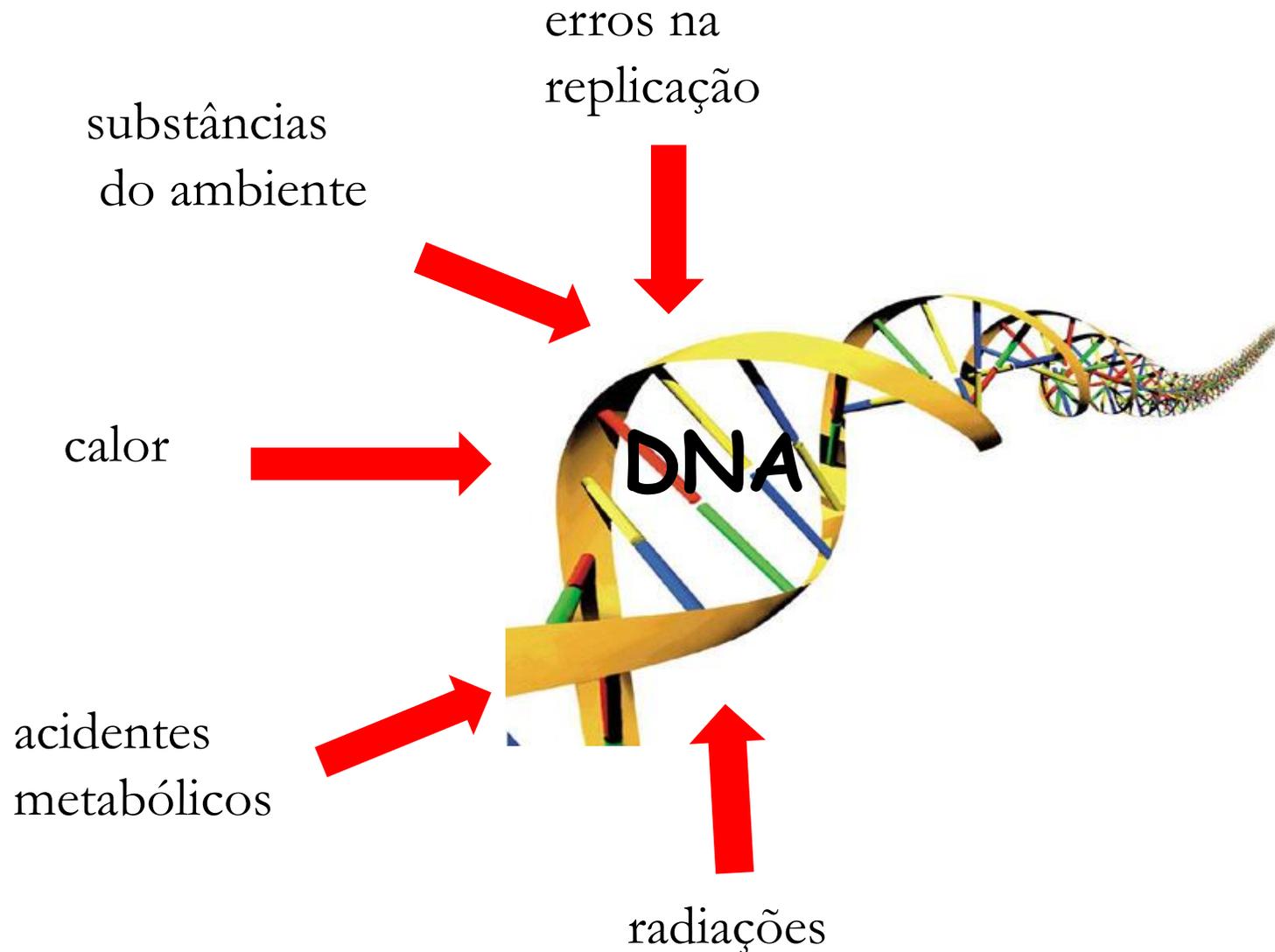


# MUTAÇÃO E REPARO DO DNA

# MUTAÇÃO E REPARO DO DNA

- Danos ao DNA (tipos, locais e frequência)
- Dano ao DNA -> mutação -> doença
- Mutação em regiões controladoras e codificantes
- Mecanismos de Reparo
  - Fita simples (Fotorreparo, Excisão de base, Excisão de nucleotídeos)
  - Fita dupla (Não homólogo, Homólogo)
- Exemplos de Doenças relacionadas a Defeitos nos mecanismos de reparo

# Danos ao DNA



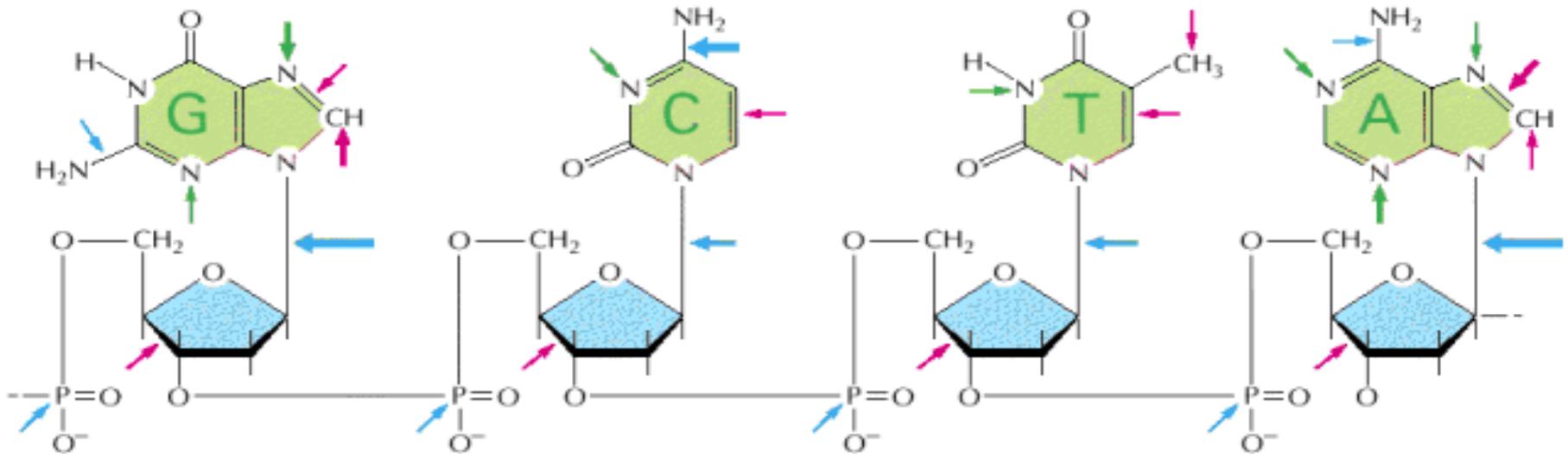
1000 alterações  
acidentais no DNA

**SISTEMA DE REPARO DO DNA**



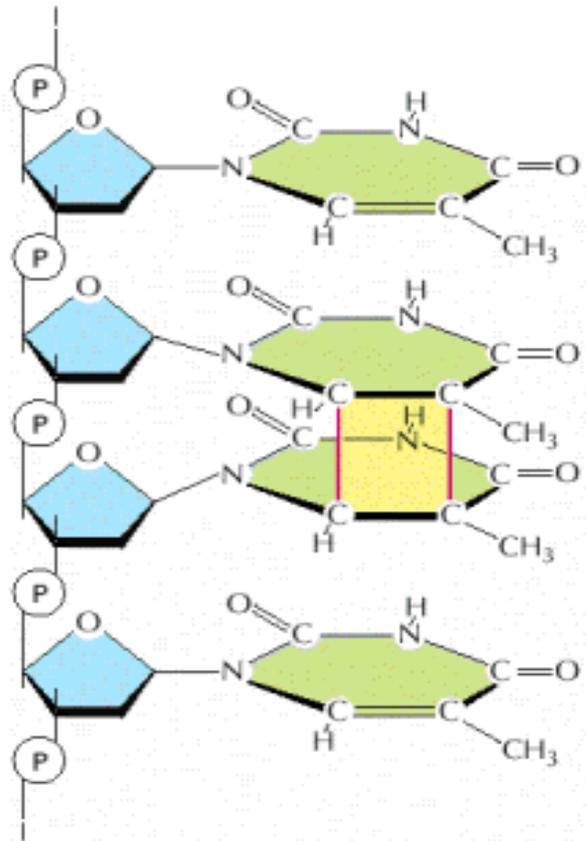
1 mutação  
permanente

# Pontos passíveis de danos no DNA



- danos oxidativos
- ataques hidrolíticos
- Metilação não controlada

# A radiação UV pode produzir dímeros de pirimidina

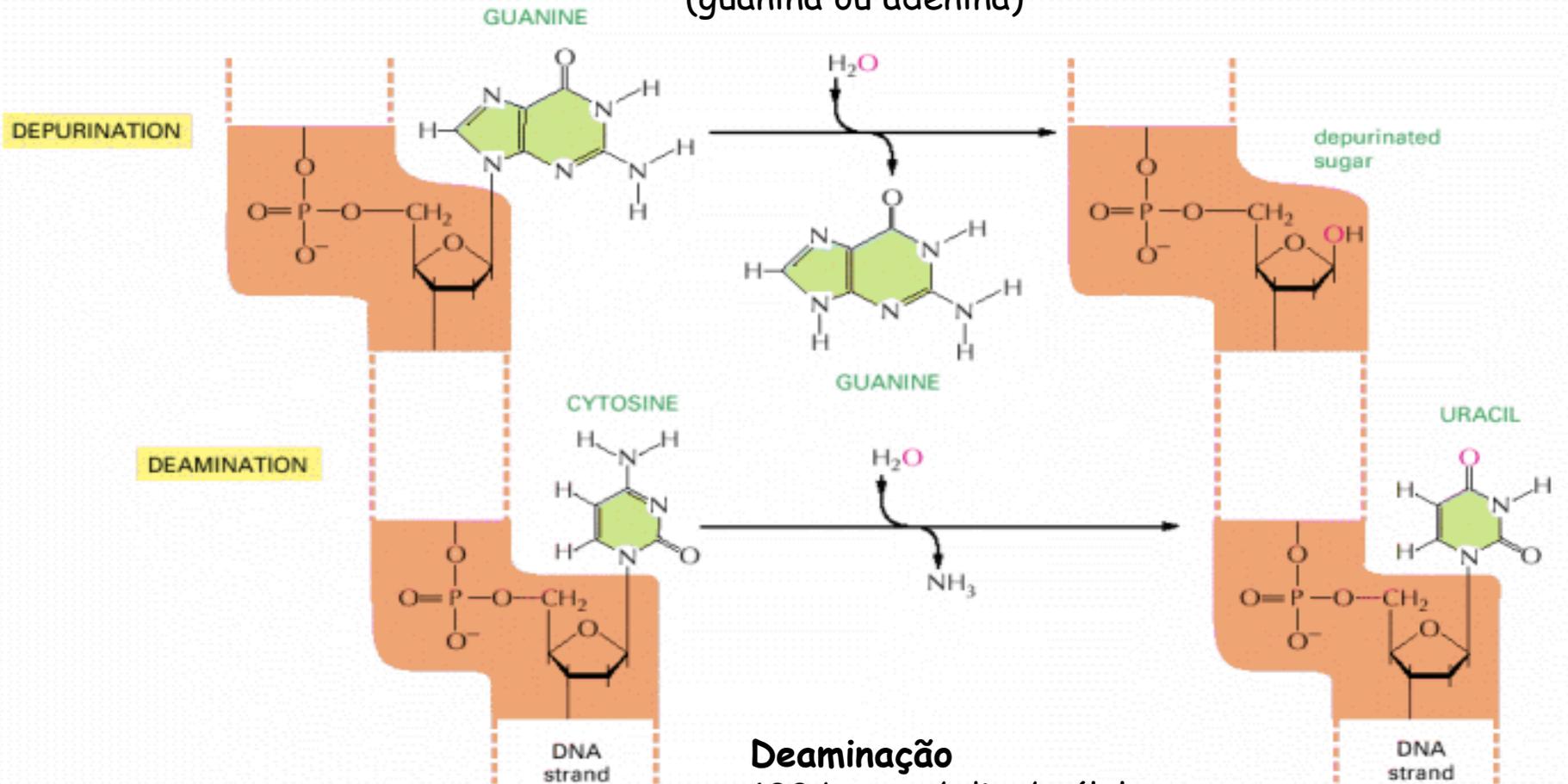


**Figure 5-48. The thymine dimer.** This type of damage is introduced into DNA in cells that are exposed to ultraviolet irradiation (as in sunlight). A similar dimer will form between any two neighboring pyrimidine bases (C or T residues) in DNA.

# Reações espontâneas que danificam o DNA

## Depurinação

5.000 bases purínicas perdidas / dia / célula humana  
(guanina ou adenina)

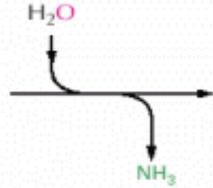
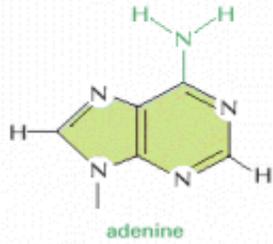


## Deaminação

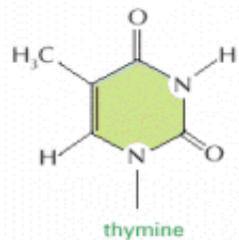
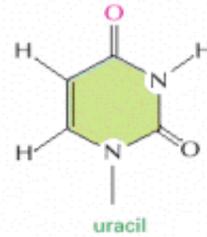
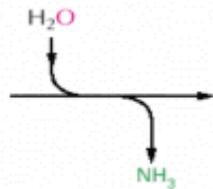
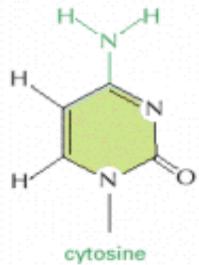
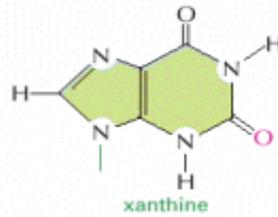
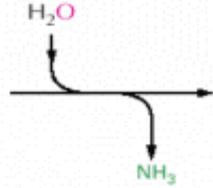
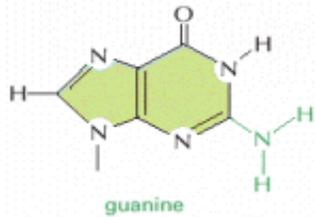
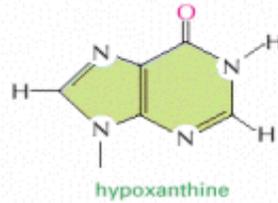
100 bases / dia / célula humana

# Desaminação

## NATURAL DNA BASES



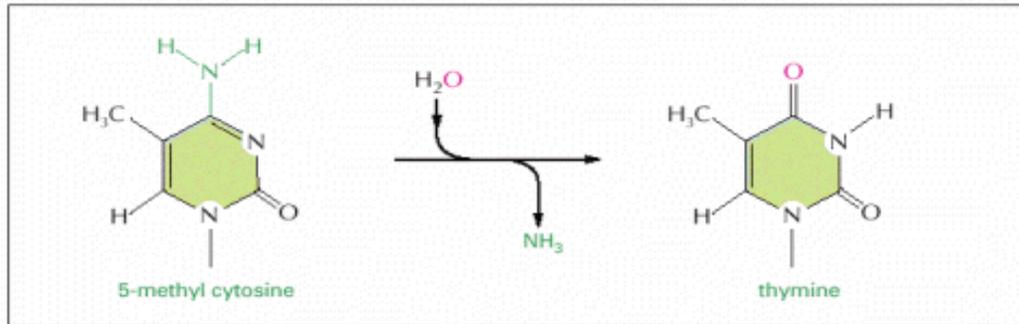
## UNNATURAL DNA BASES



(A)

↪ Os produtos da desaminação espontânea de A, G e C são reconhecidos como não-usuais, quando ocorrem no DNA.

# Metilação e Desaminação sequencial (C → T)



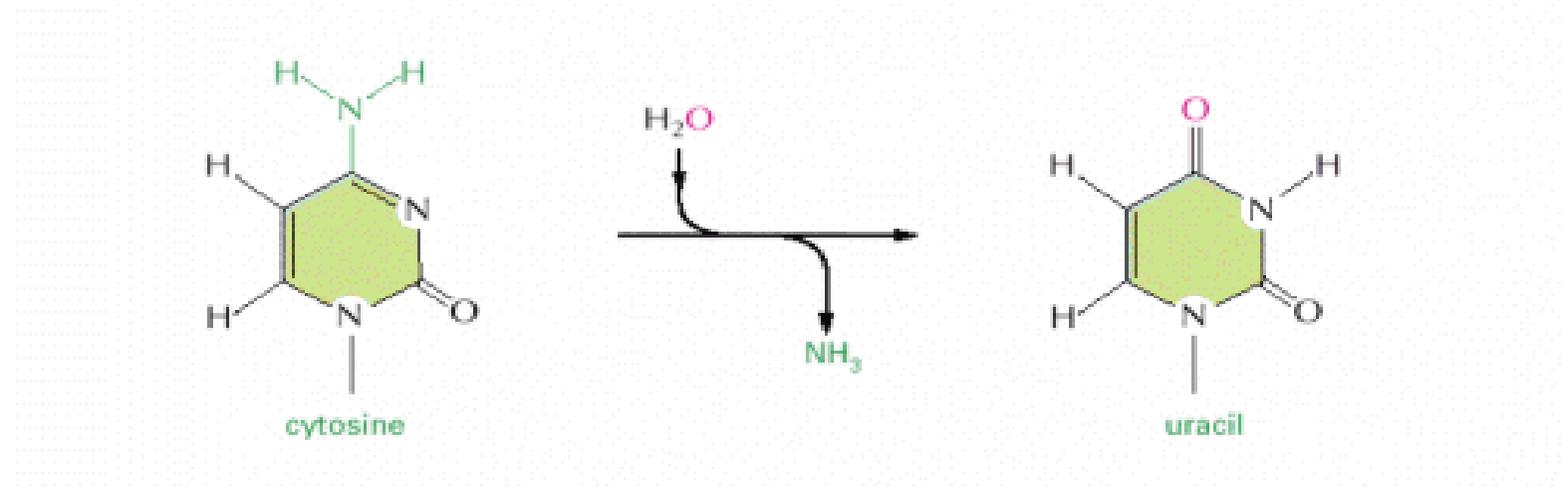
(B)

As mutações em “C” metiladas correspondem a cerca de 1/3 das mutações de ponto observadas nas doenças hereditárias humanas.

↳ Cerca de 3% dos “C” no DNA de vertebrados são metilados, gerando “5-metil-C”.

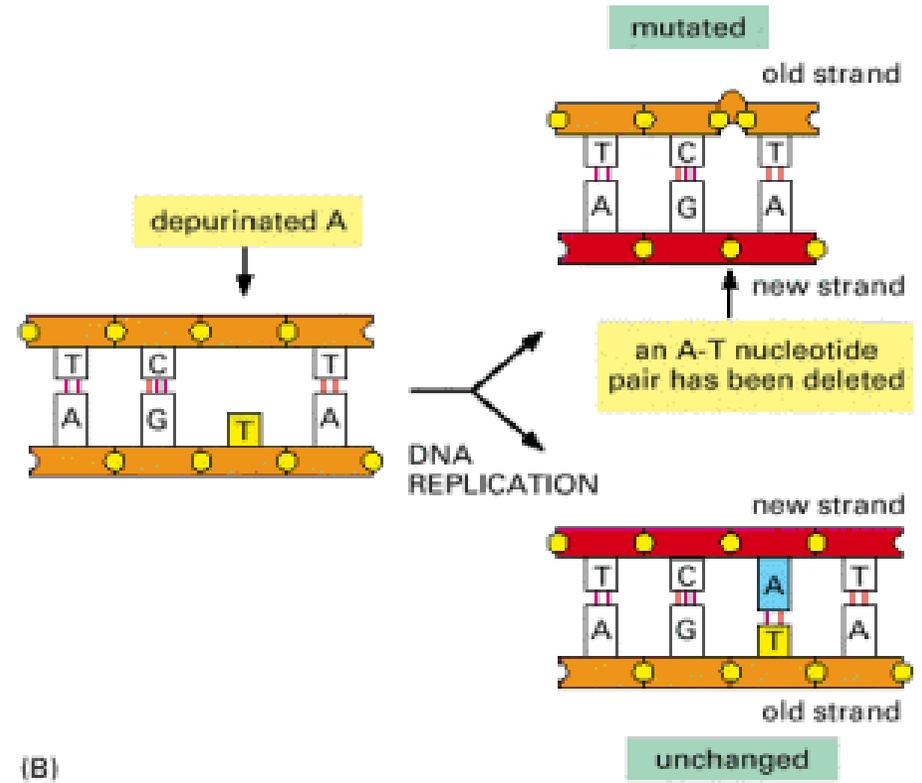
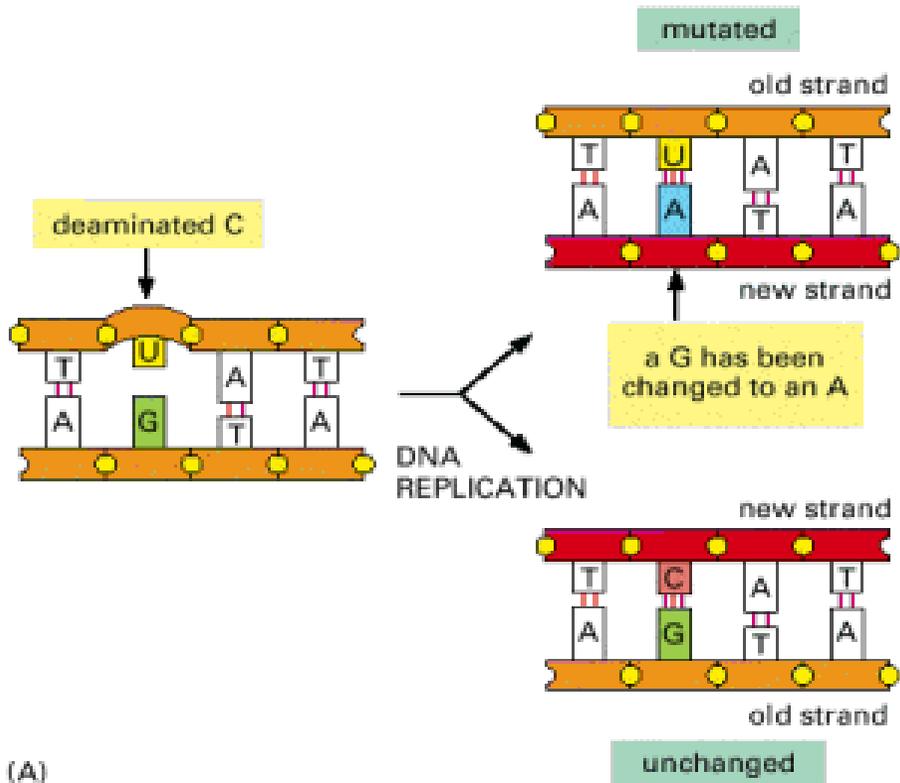
↳ “5-metil-C” são desaminados formando “T” em um pareamento incorreto com “G”.

# Por que o U do RNA foi trocado pelo T no DNA?



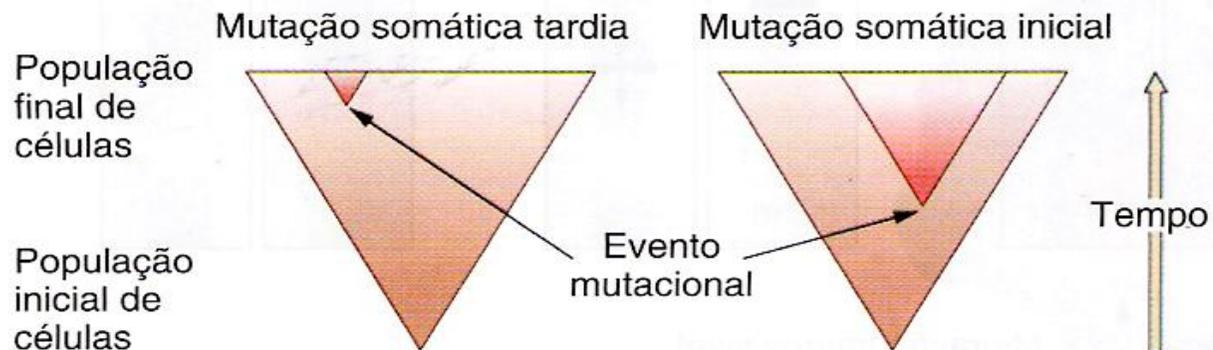
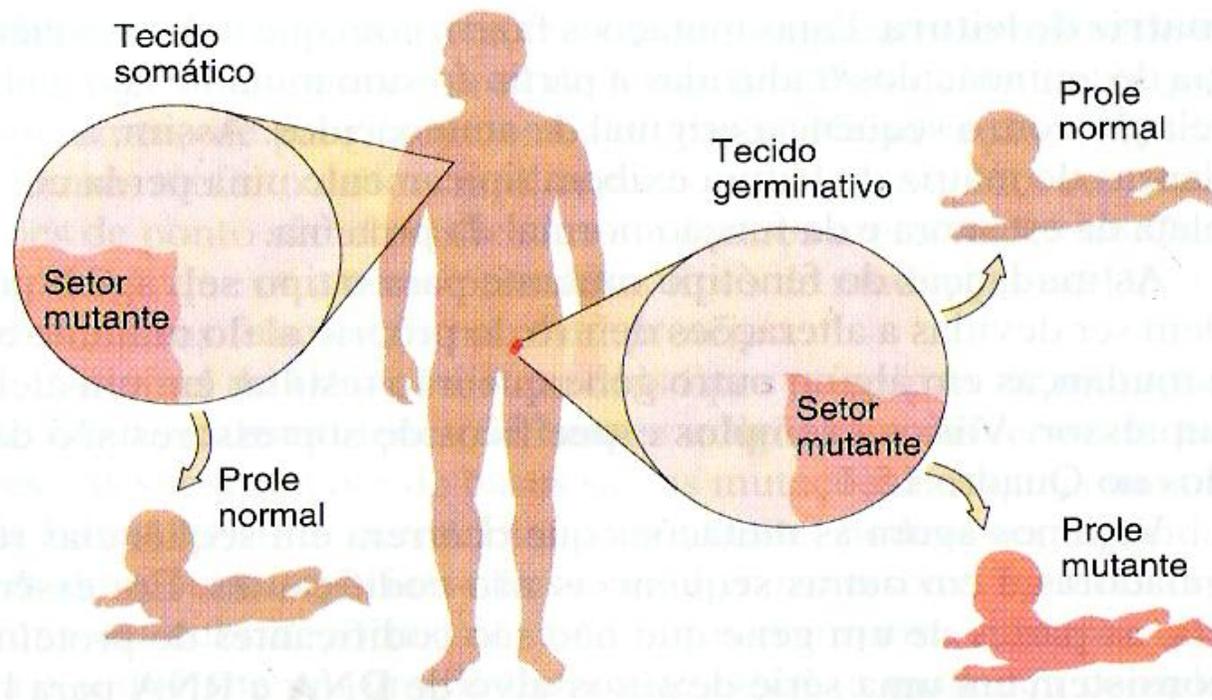
↪ O sistema de reparo seria incapaz de distinguir um C desaminado de uma base U de ocorrência natural.

# Mutações derivadas de erros no DNA

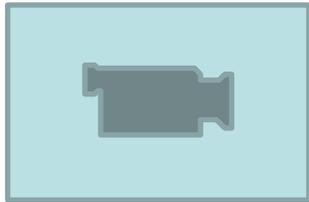


Se não forem corrigidas, grande parte das alterações levam a deleção de 1 ou mais pares de bases do DNA ou à substituição de um par de bases na cadeia filha do DNA.

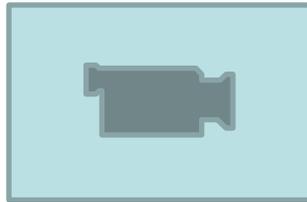
# Locais e idade das Mutações



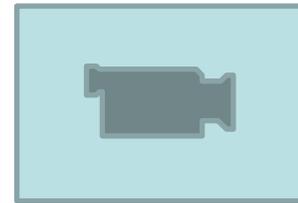
# Exemplo de consequências de mutações em regiões controladoras de um gene (Lac-operon)



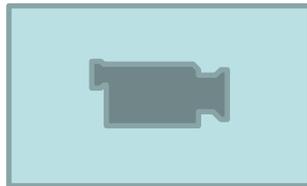
Selvagem (normal)



Operador mutado ( $O^c$ )



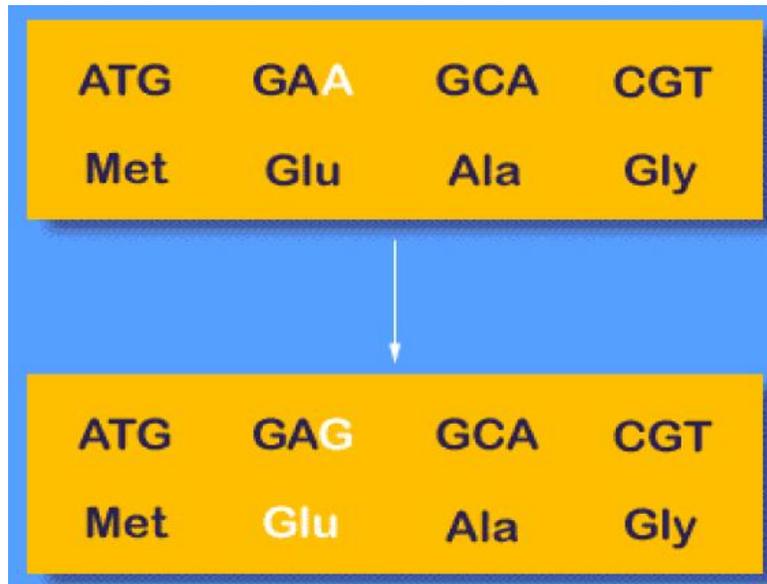
Indutor Mutado ( $I^-$ )  
e Indutor extra normal



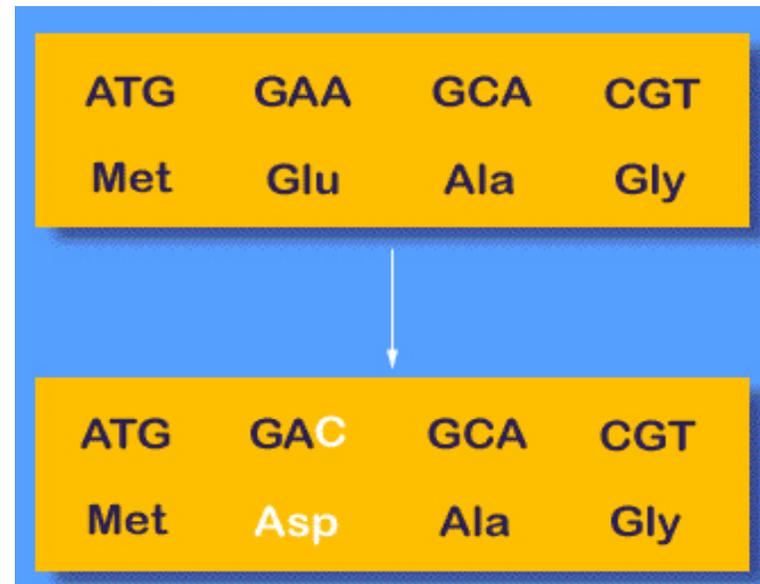
Indutor mutado ( $I^s$ ) e Indutor extra normal

# Tipos de mutações e consequências funcionais das mutações

Mutação silenciosa

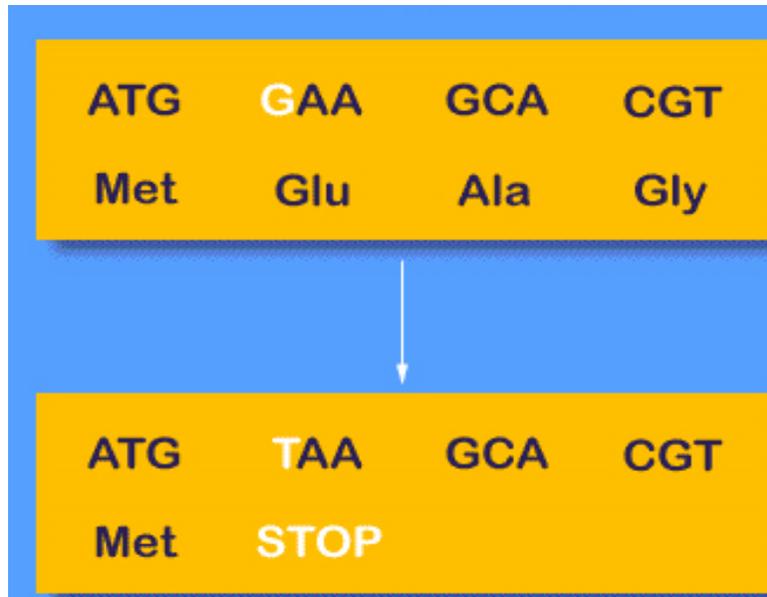


Mutação de sentido trocado

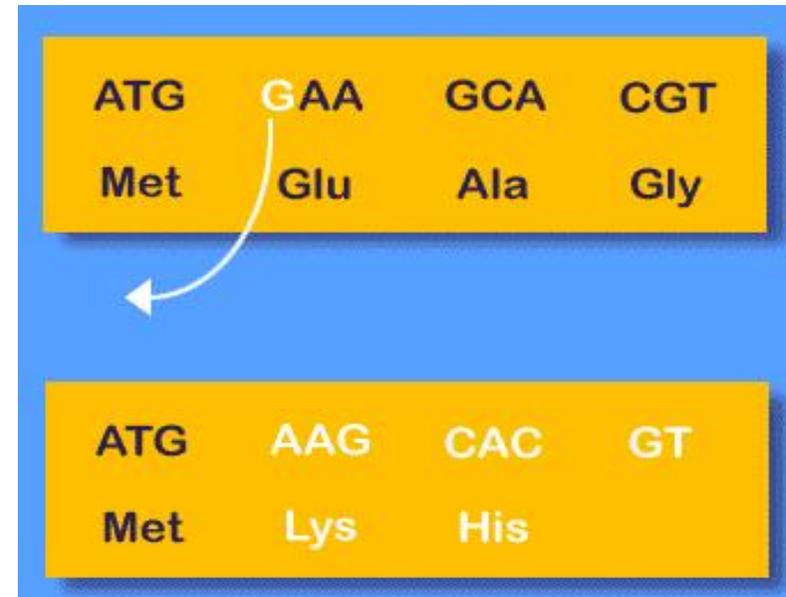


# Tipos de mutações e consequências funcionais das mutações

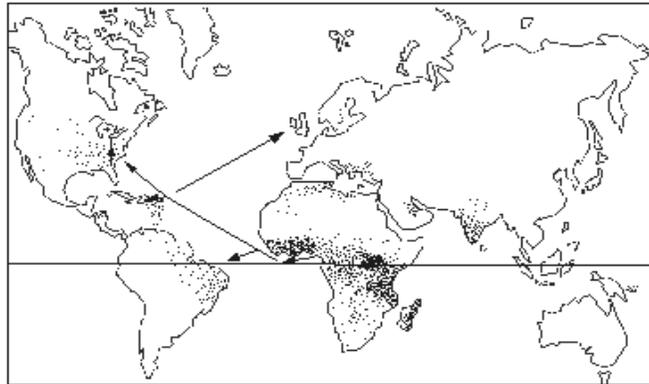
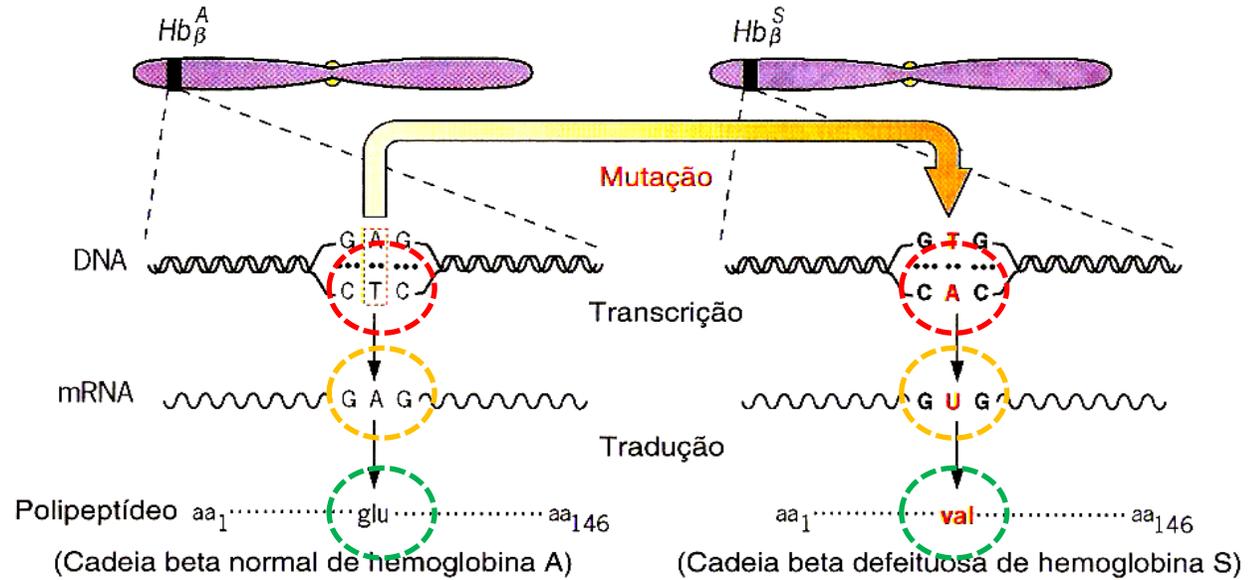
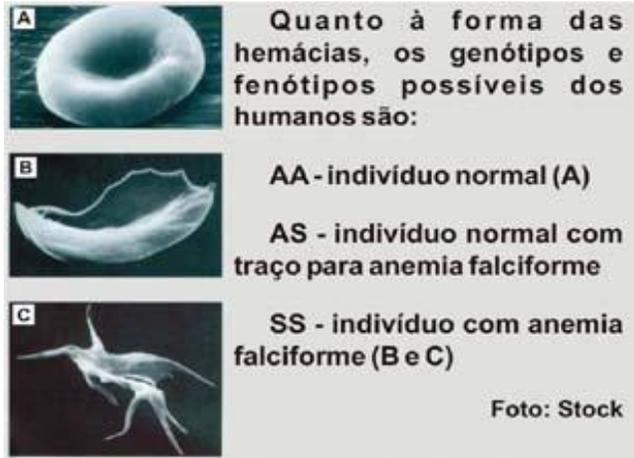
Mutação sem sentido



Alteração no frame de leitura (deleção)



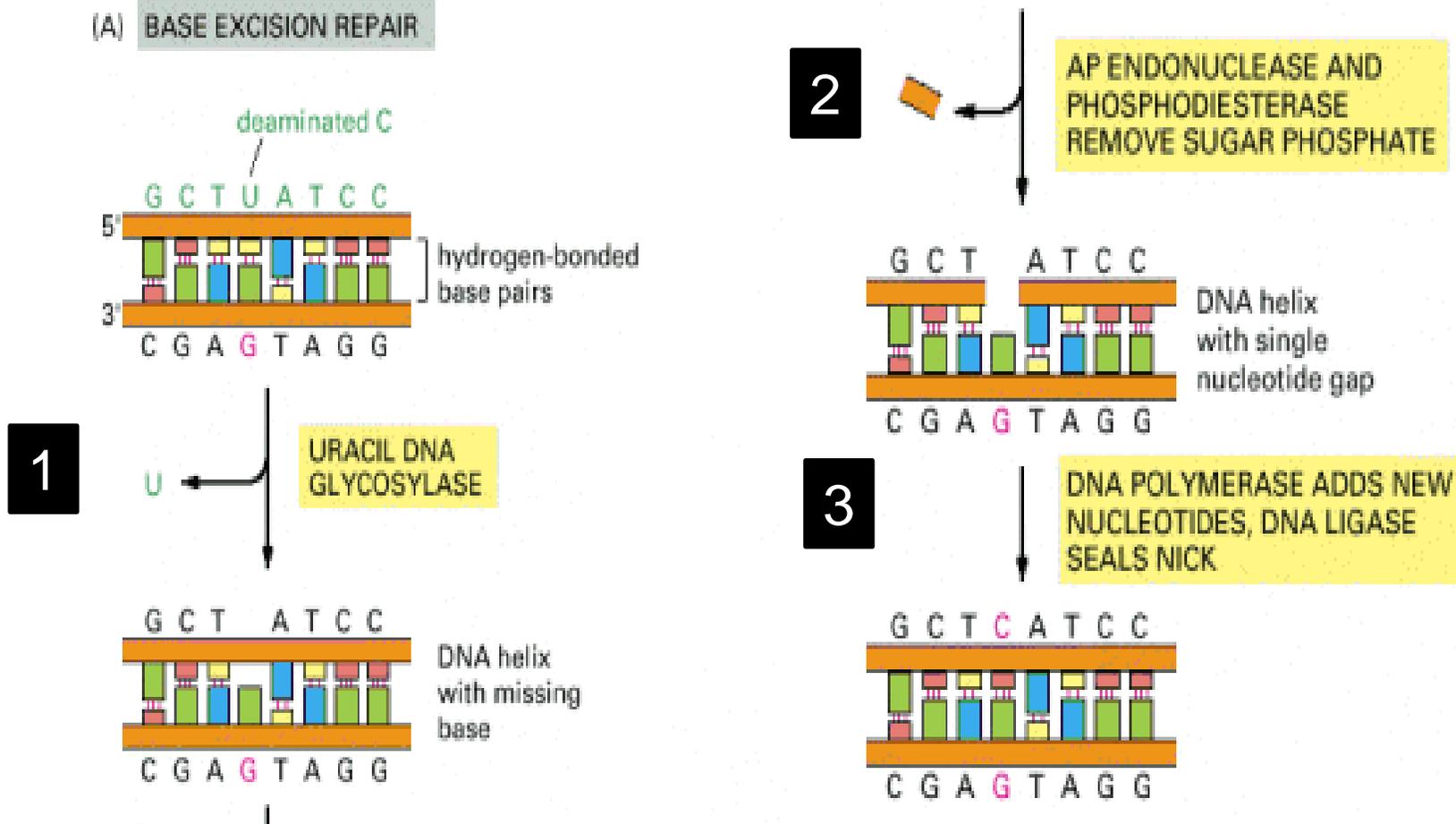
# Um exemplo de mutação de sentido trocado: **Anemia Falciforme**



Distribuição do gene HbS

# Mecanismos de reparo: Reparo por excisão de base (pré-replicação)

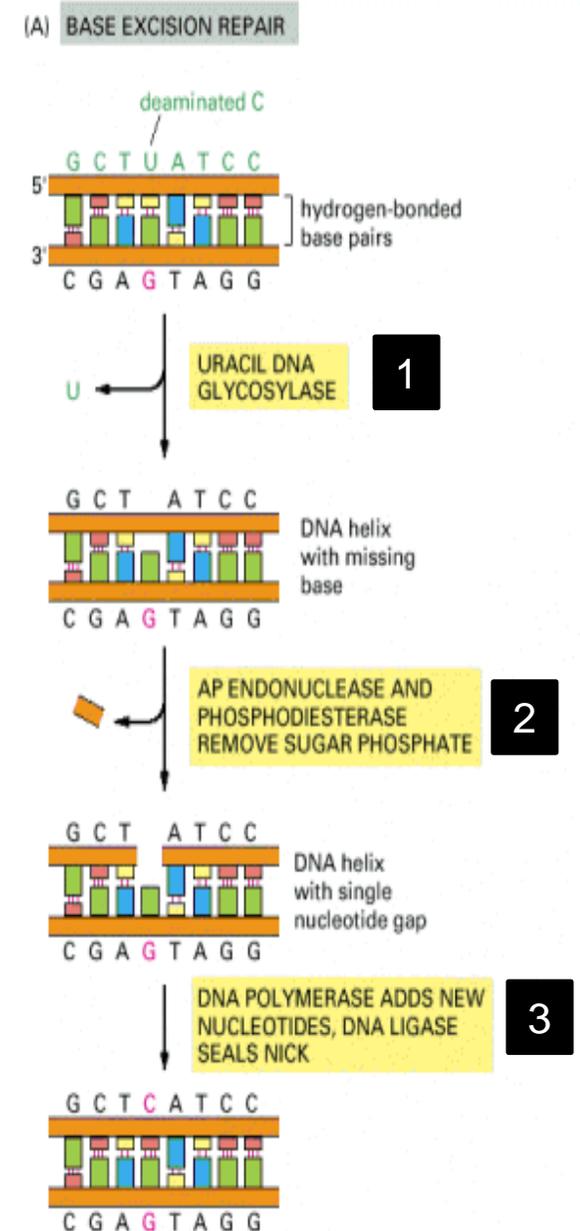
(A) BASE EXCISION REPAIR



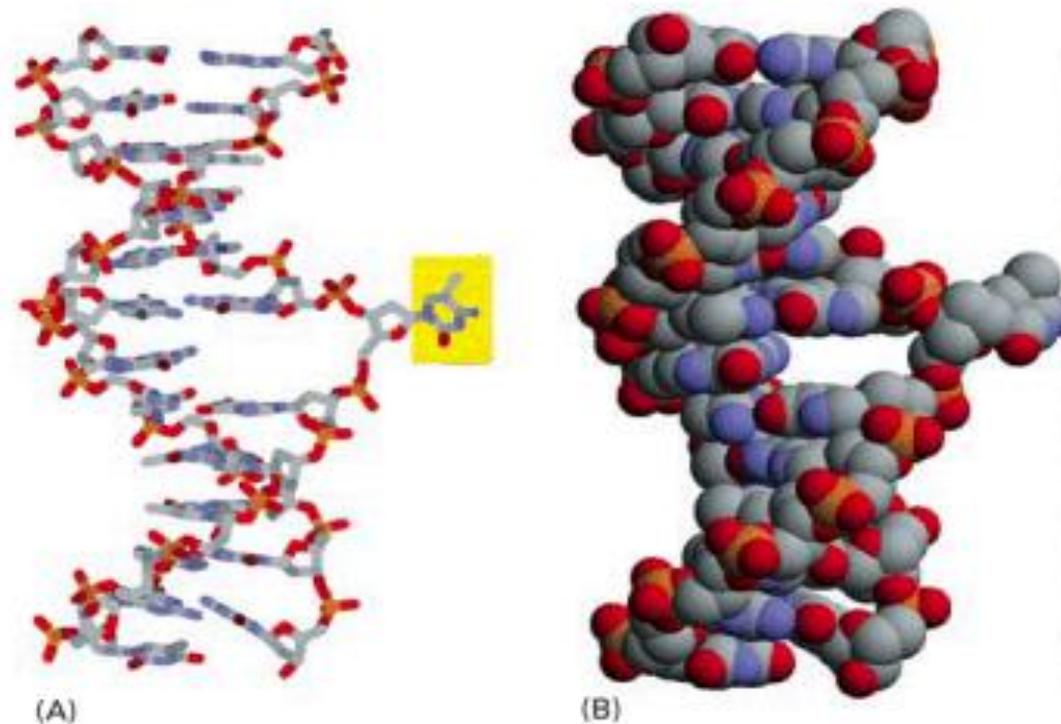
# Reparo por excisão de base (pré-replicação)

1. DNA glicosilases reconhecem e retiram as bases mal pareadas.
2. A ausência de base é reconhecida pela AP endonuclease, que cliva a ligação fosfodiéster.
3. A DNA pol adiciona o novo nt e a DNA ligase sela o espaço.

As depurinações iniciam a correção no passo 2

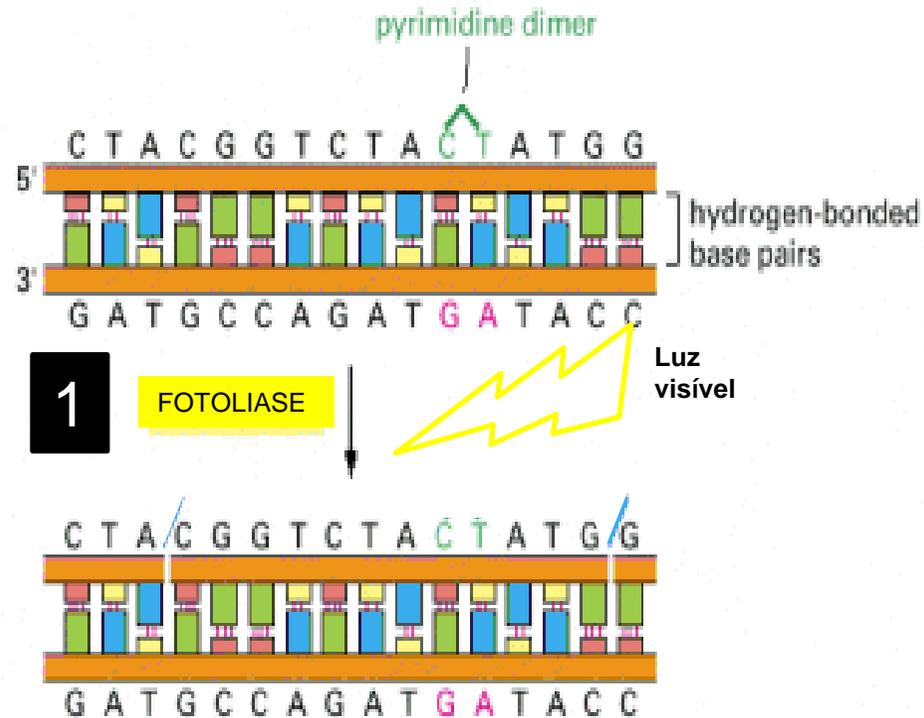


# Reparo por excisão de base: Glicosidases (etapa 1)



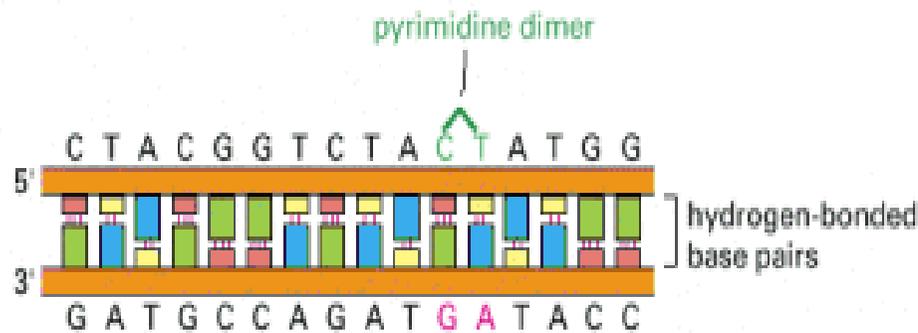
**Figure 5-51. The recognition of an unusual nucleotide in DNA by base-flipping.** The DNA glycosylase family of enzymes recognizes specific bases in the conformation shown. Each of these enzymes cleaves the glycosyl bond that connects a particular recognized base (*yellow*) to the backbone sugar, removing it from the DNA. (A) Stick model; (B) space-filling model.

# Mecanismos de reparo: Fotorreparo (pré-replicação)

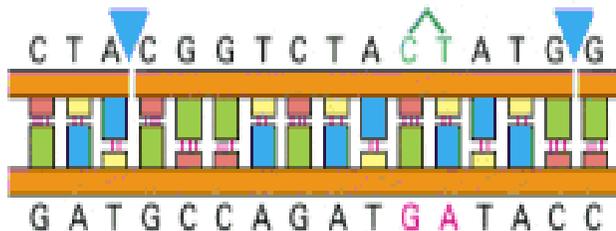


# Mecanismos de reparo: Reparo por excisão de nucleotídeos (pré-replicação)

(B) NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR

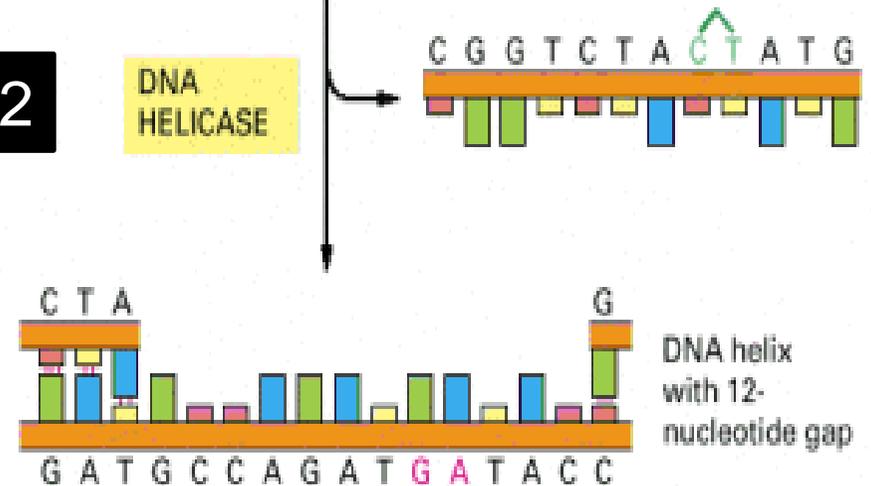


1 NUCLEASE



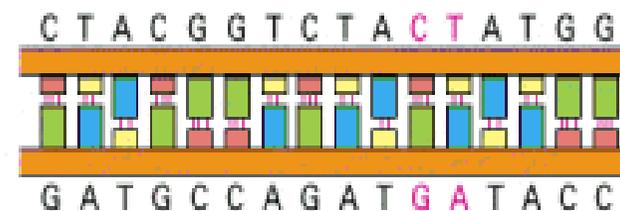
2

DNA  
HELICASE



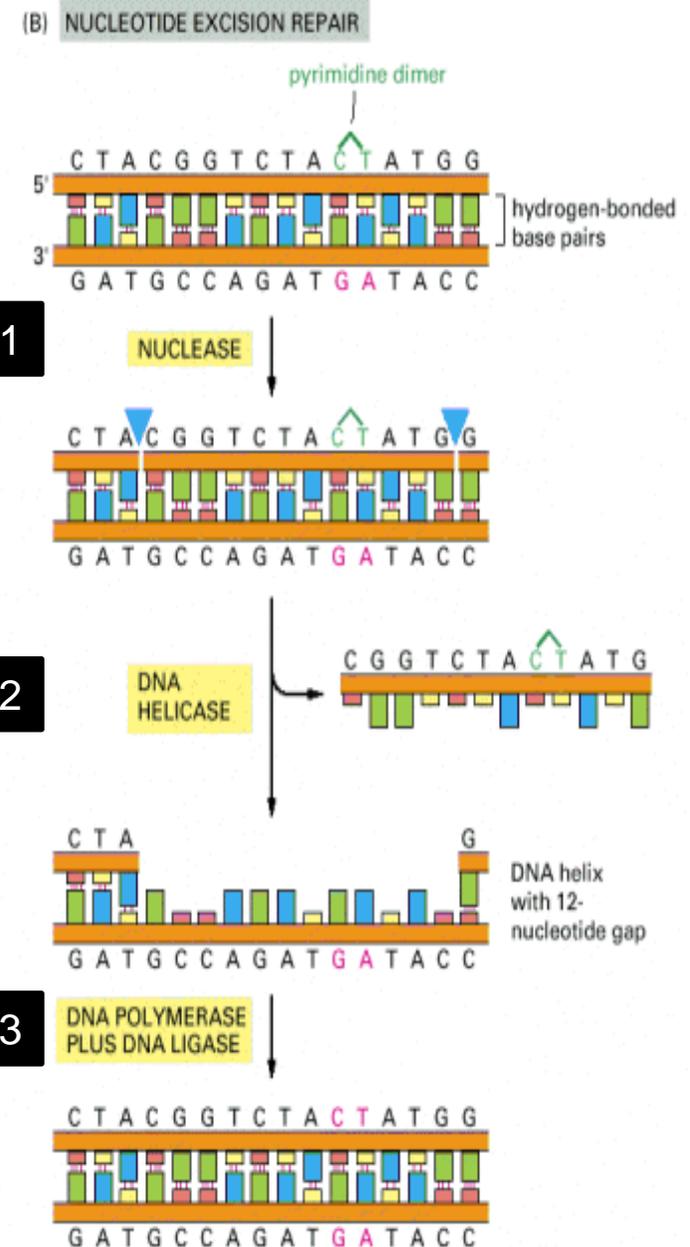
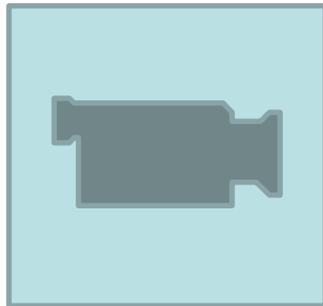
3

DNA POLYMERASE  
PLUS DNA LIGASE



# Reparo por excisão de nucleotídeos (pré-replicação)

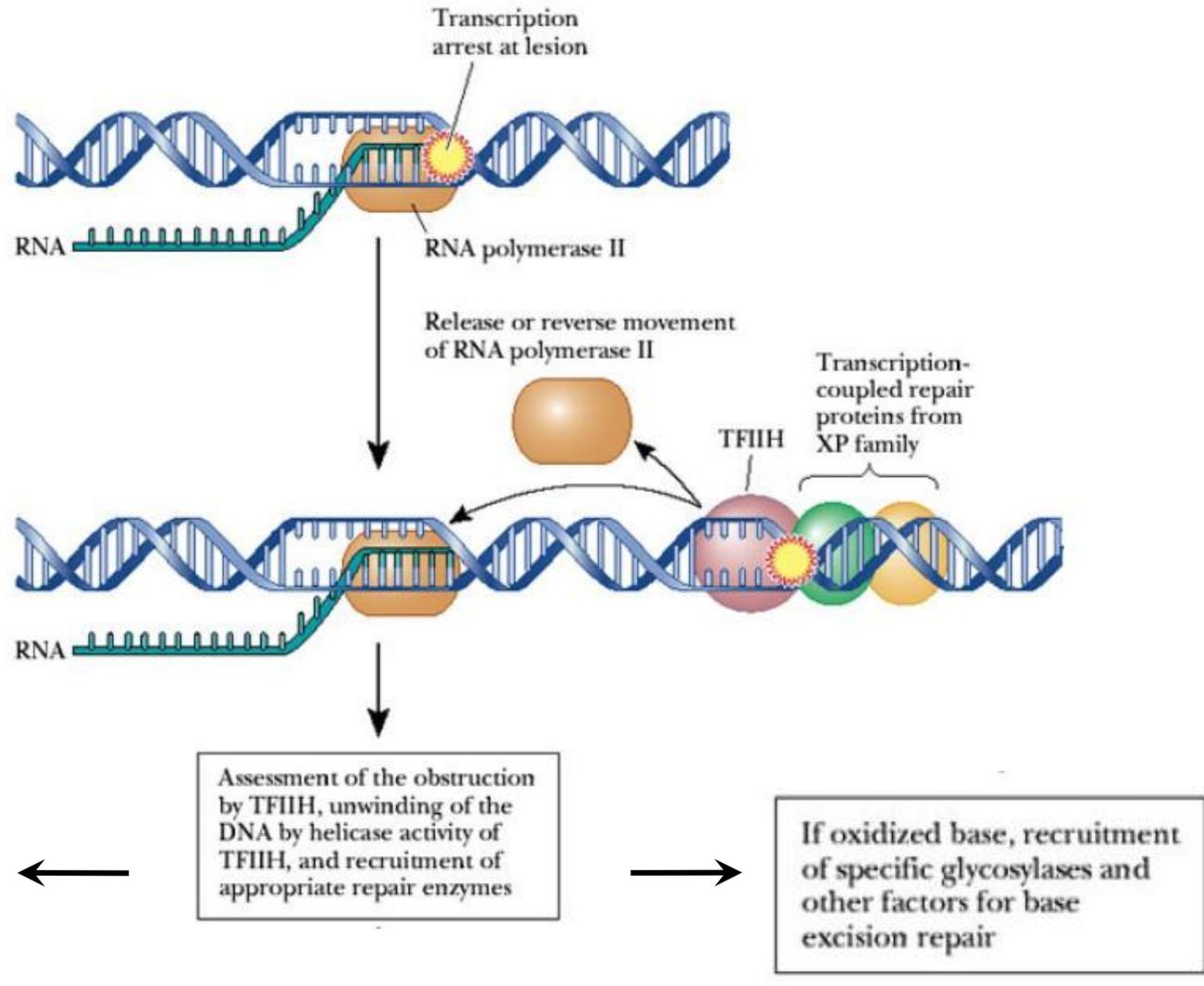
1. Um enorme complexo enzimático verifica o DNA à procura de distorções na dupla hélice. Encontrada a lesão, a ligação fosfodiéster da fita anormal é clivada nos dois lados da distorção.
2. O oligonucleotídeo contendo a lesão é retirado pela DNA helicase.
3. O intervalo produzido na hélice é reparado pela DNA pol e ligado pela DNA ligase.



# Fotorreparo, excisão de bases e de nucleotídeos

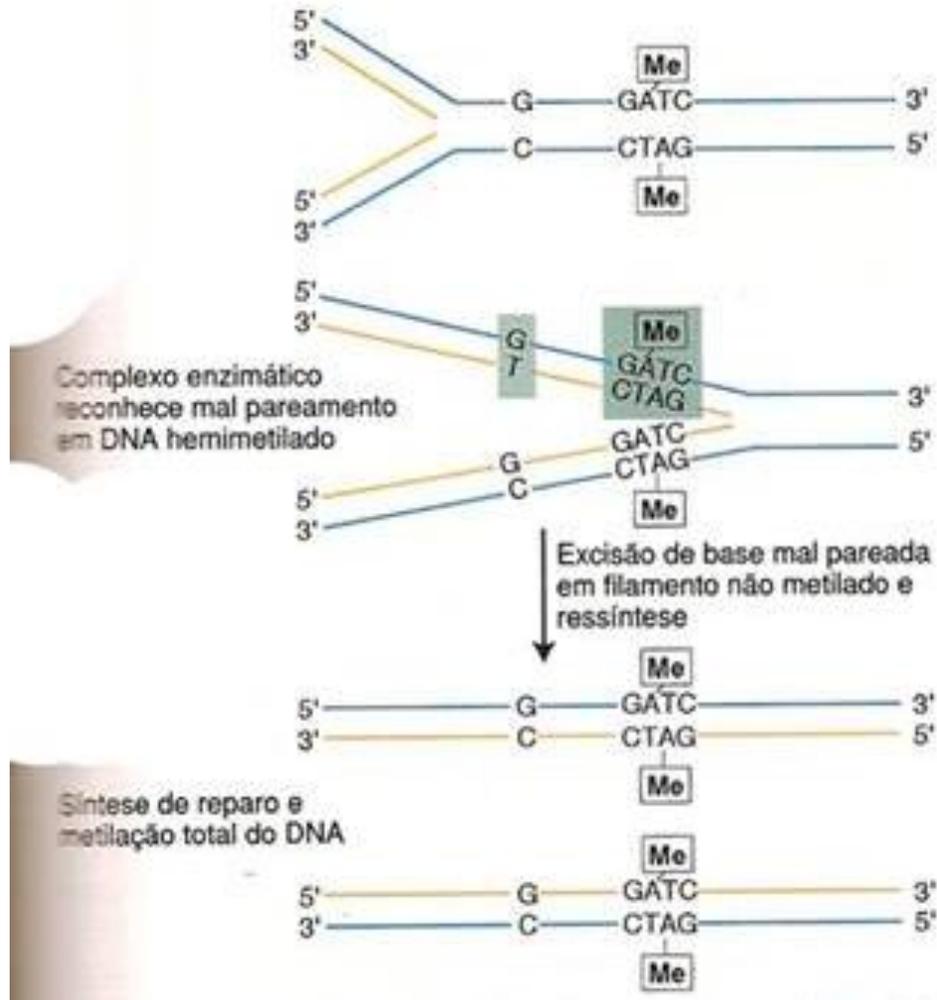
(Podem ser mecanismos co-transcrpcionais)

As doenças Xeroderma Pigmentosa e Cockayne syndrome causam sensibilidade extrema à luz UV e estão, em vários casos, ligadas à mutações no fator de transcrição TFIIH



# Reparo pós replicação (procariotos)

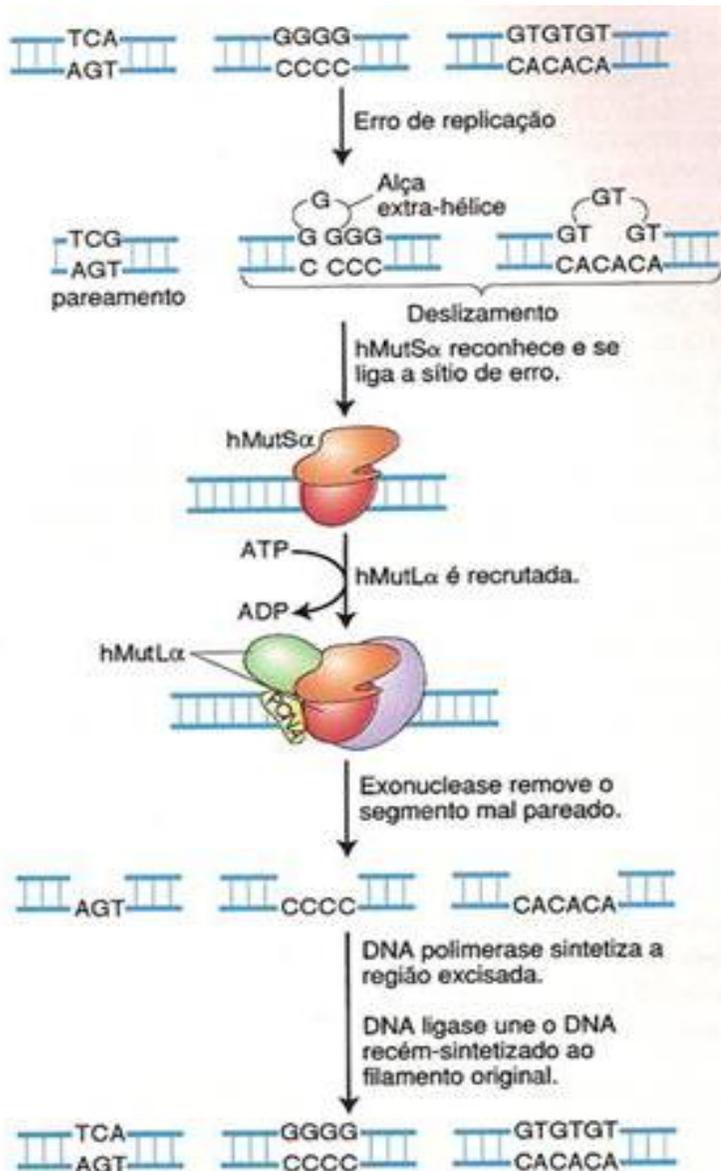
(Reparo por excisão de base dependente de metilação)



O sistema de reparo de mal pareamento corrige erros na replicação que não são corrigidos pela função de revisão da DNA polimerase replicativa. O reparo é restrito ao filamento recém-sintetizado, que é reconhecido pela maquinaria de reparo em procariotes porque não tem um marcador de metilação.

# Reparo pós replicação (eucariotos)

## (Reparo por excisão de nucleotídeos)



Proteína MutS = Reconhece o sítio com erro e se liga a ele

Outras proteínas são recrutadas (MutL)

Endonuclease cliva a fita com erro

# Reparos de quebras na fita dupla de DNA

↳ Se não forem corrigidas resultam na degradação dos cromossomos.



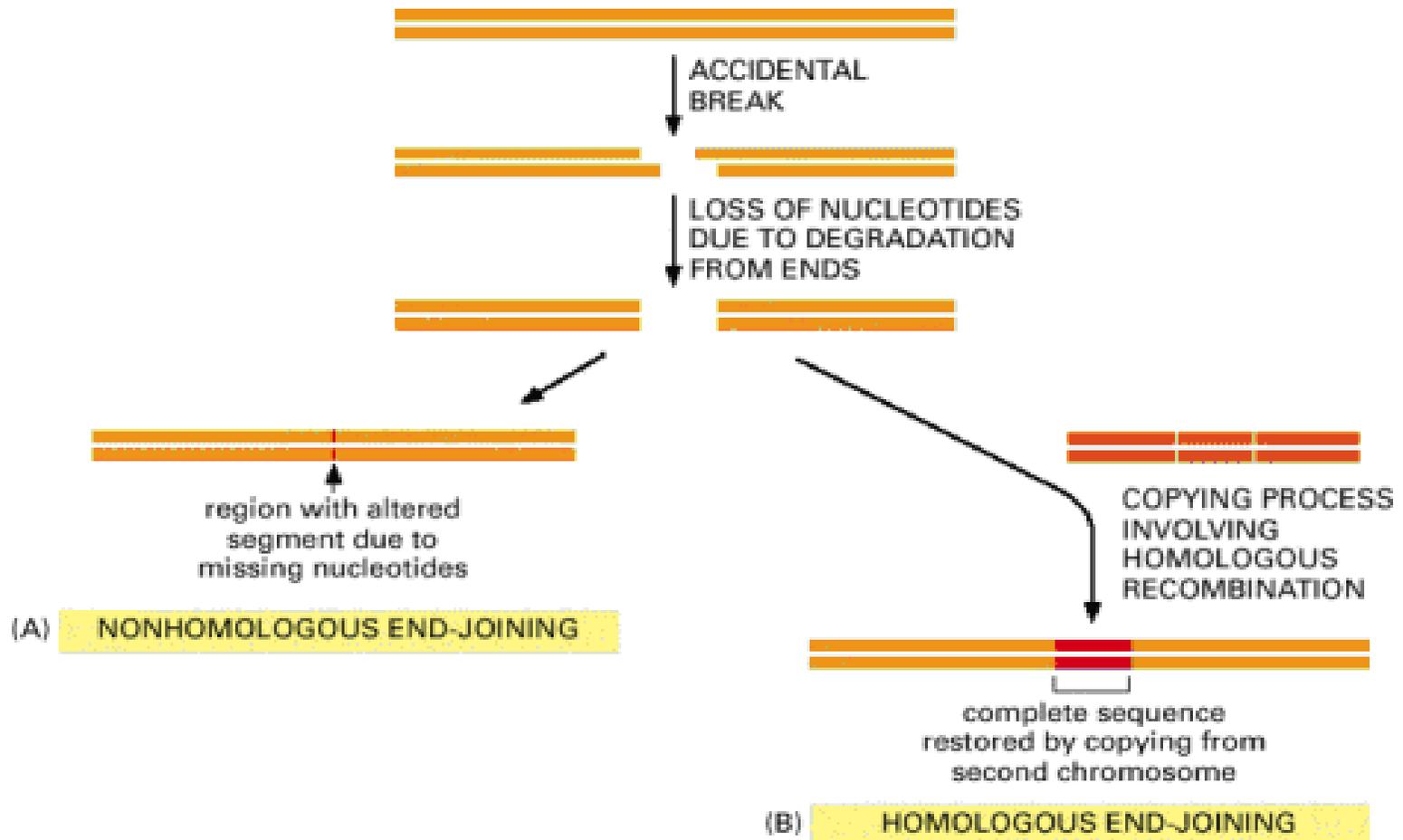
↳ Como corrigir?

↳ Melhor perder um pedaço ou todo o cromossomo?

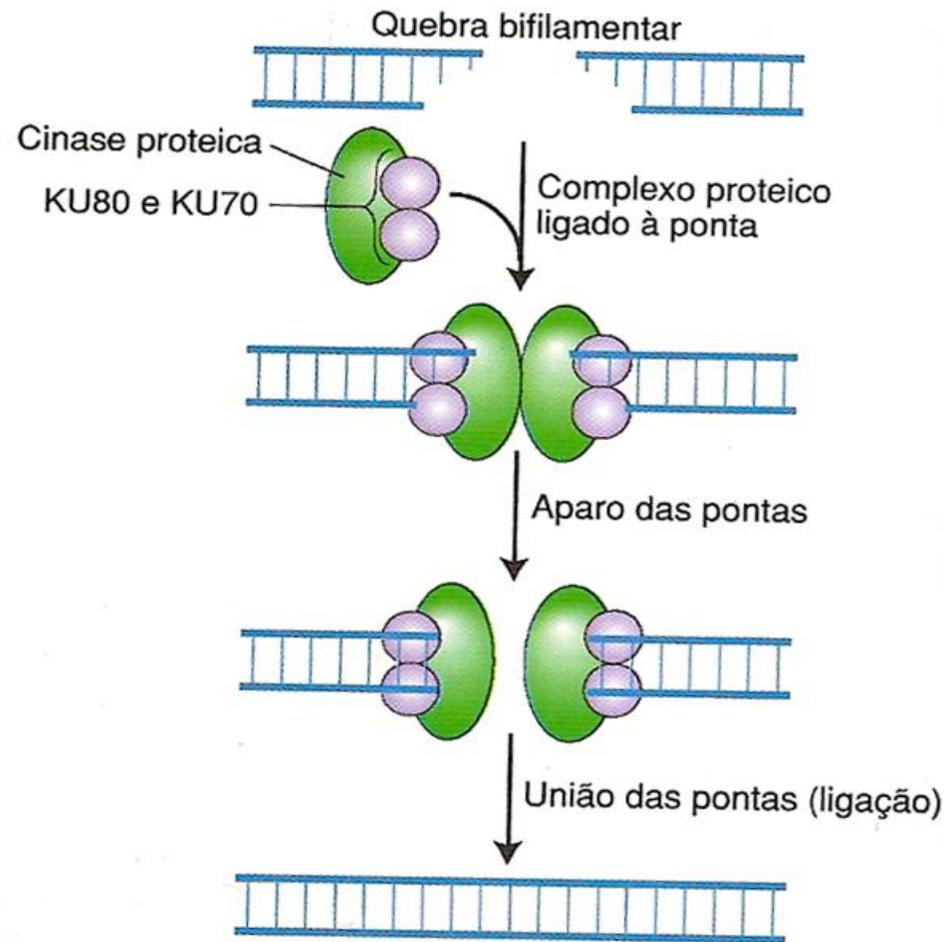
↳ Quem servirá de molde?

# Reparos de quebras na fita dupla de DNA

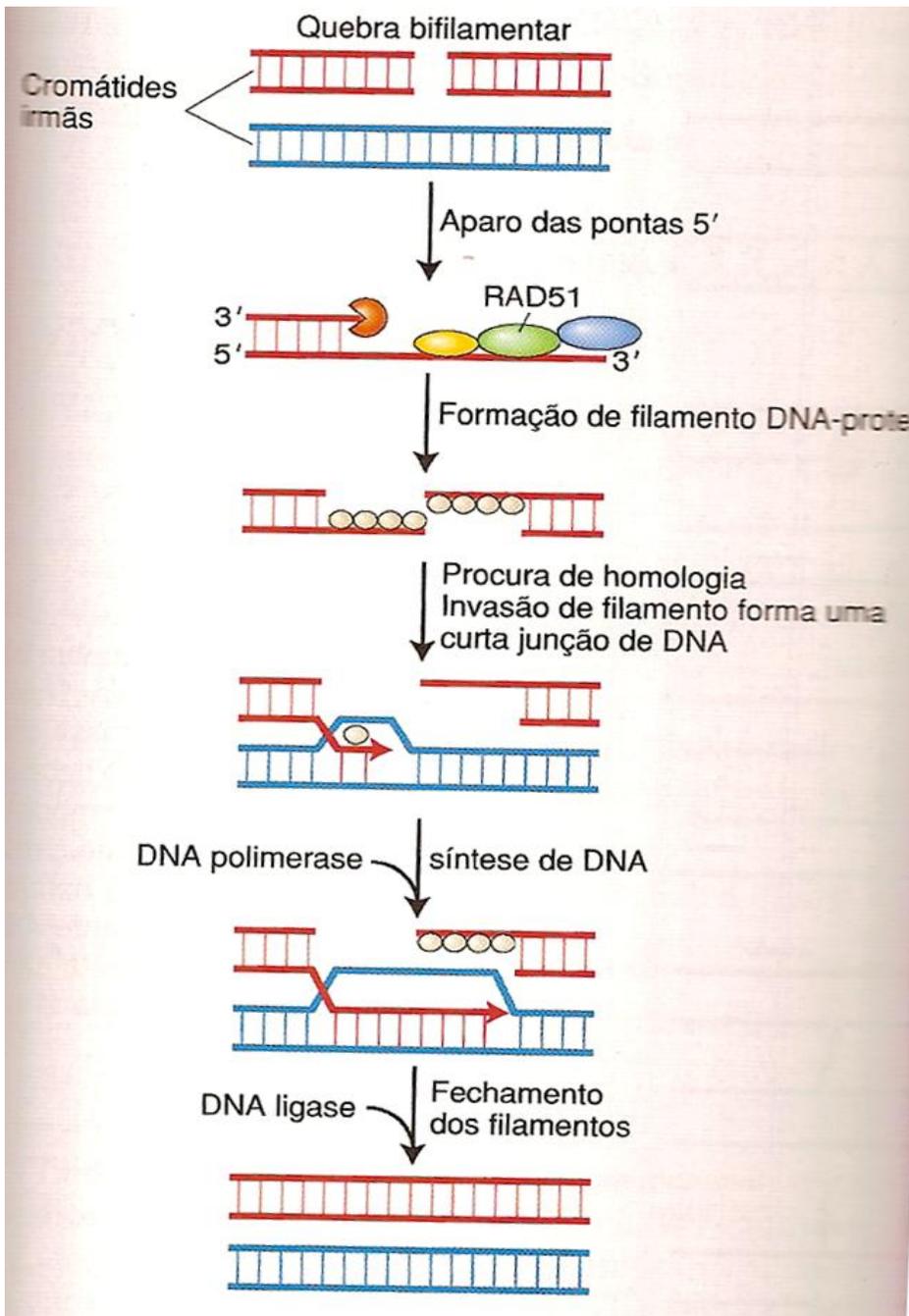
Existem dois mecanismos de correção:



# Reparo Não-homólogo



**Fig. 14.32 Mecanismo de junção de pontas não homólogas de quebras bifilamentares.** Este é um mecanismo propenso a erros.



# Reparo Homólogo

Aparo das pontas do DNA e capeamento das pontas livres

Uso do mesmo trecho de outro cromossomo como molde em um DNA híbrido

Reparo semelhante ao de excisão de nucleotídeos (DNA polimerase e DNA ligase)

# Síndromes hereditárias relacionadas a defeitos no reparo de DNA

**Table 5-2. Inherited Syndromes with Defects in DNA Repair**

NAME	PHENOTYPE	ENZYME OR PROCESS AFFECTED
MSH2, 3, 6, MLH1, PMS2	colon cancer	mismatch repair
Xeroderma pigmentosum (XP) groups A–G	skin cancer, cellular UV sensitivity, neurological abnormalities	nucleotide excision-repair
XP variant	cellular UV sensitivity	translesion synthesis by DNA polymerase $\delta$
Ataxia–telangiectasia (AT)	leukemia, lymphoma, cellular $\gamma$ -ray sensitivity, genome instability	ATM protein, a protein kinase activated by double-strand breaks
BRCA-2	breast and ovarian cancer	repair by homologous recombination
Werner syndrome	premature aging, cancer at several sites, genome instability	accessory 3'-exonuclease and DNA helicase
Bloom syndrome	cancer at several sites, stunted growth, genome instability	accessory DNA helicase for replication
Fanconi anemia groups A–G	congenital abnormalities, leukemia, genome instability	DNA interstrand cross-link repair
46 BR patient	hypersensitivity to DNA-damaging agents, genome instability	DNA ligase I

# Mutações em genes relacionados a reparo do DNA

## Xeroderma pigmentosa

- ↳ Incapazes de reparar dímeros de pirimidina causados pela radiação UV.
- ↳ Um dos locos relacionados ao reparo dos dímeros de pirimidinas está no cromossomo X.
- ↳ Maior suscetibilidade a determinados tipos de câncer.

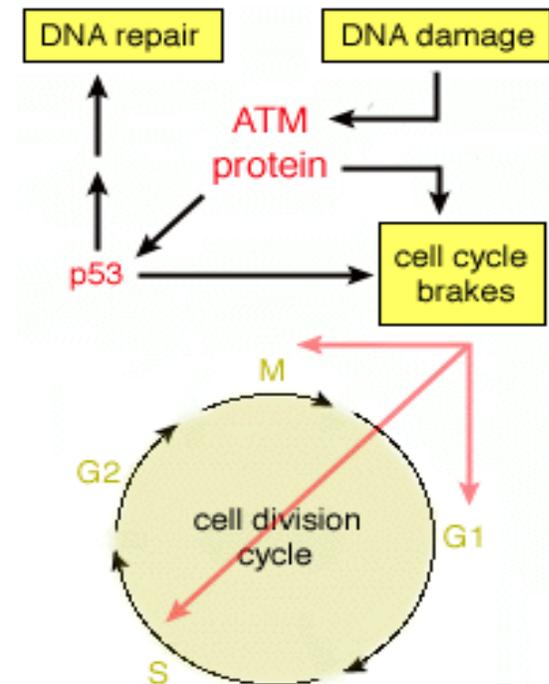


# Mutações em genes relacionados a reparo do DNA

## Ataxia-telangiectasia

↳ Defeitos no gene *ATM* que codifica uma proteína essencial para gerar os sinais intracelulares produzidos em resposta a lesões no DNA.

↳ Hipersensibilidade a raios-x e predisposição à linfomas.



The ATM protein mediates responses to DNA damage, in particular those that control progression through the cell cycle.