

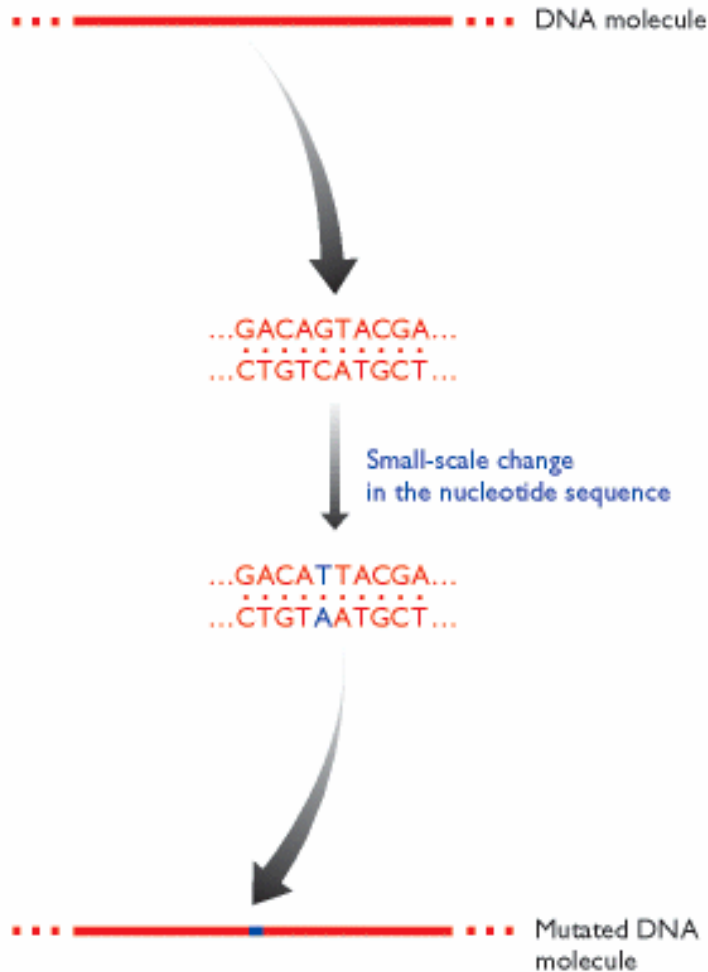
CCM0121

Danos ao DNA e Mecanismos de Reparo



Mutações e Reparo de DNA

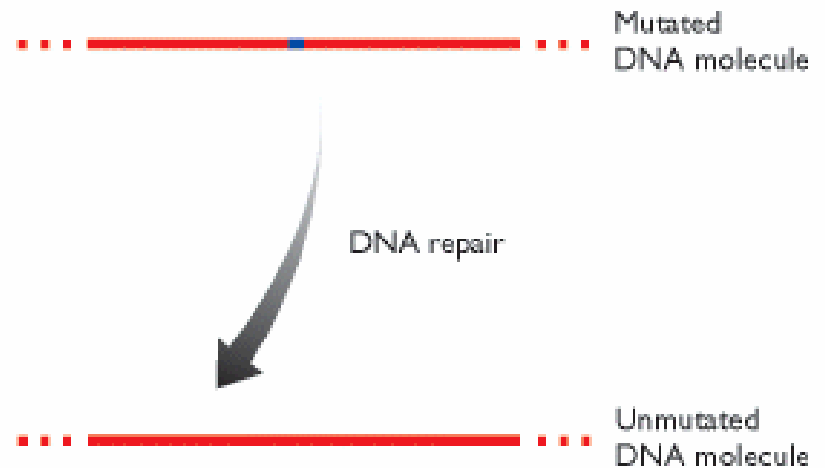
A mutation



Mutações:

modificações na sequência de bases no DNA

DNA repair



Danos no DNA podem gerar **mutações** ou bloqueio da replicação e morte celular
Portanto, os danos precisam ser removidos
→ **Reparo**

É necessário haver pelo menos uma rodada de replicação para que a mutação 'se fixe', portanto o reparo deve ocorrer antes que o DNA seja replicado.

Fontes de mutações no DNA

Mutações espontâneas:

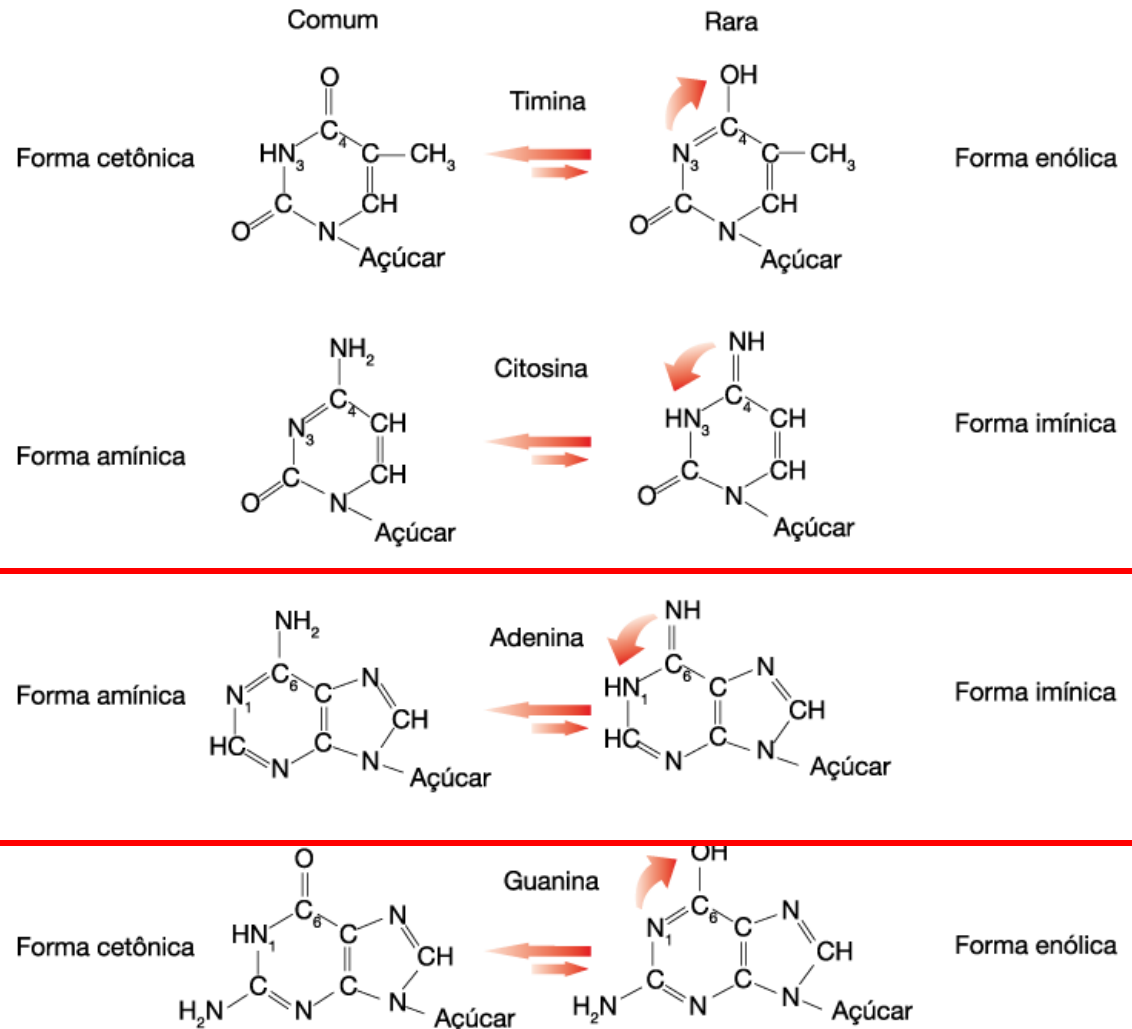
- Erros durante a replicação pela DNA polimerase (ex: causadas pelas formas tautoméricas das bases do DNA).
- Lesões hidrolíticas: desaminação e depurinação.
- Lesões oxidativas: causadas por espécies reativas de oxigênio.

Mutações induzidas (causadas por agentes do meio ambiente):

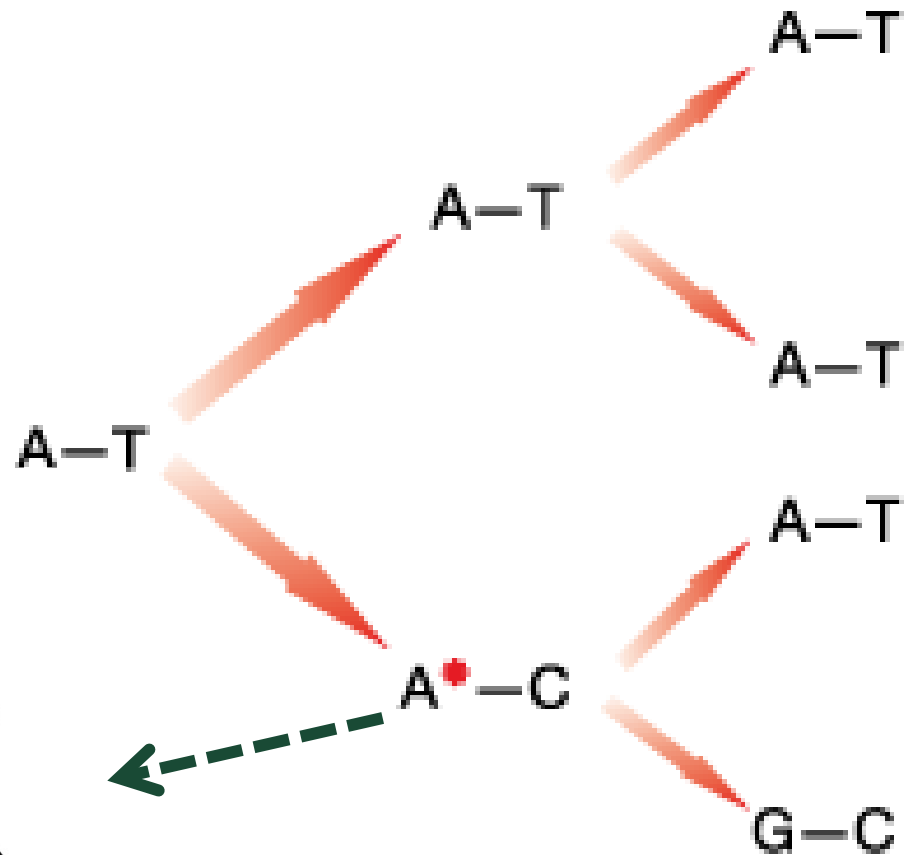
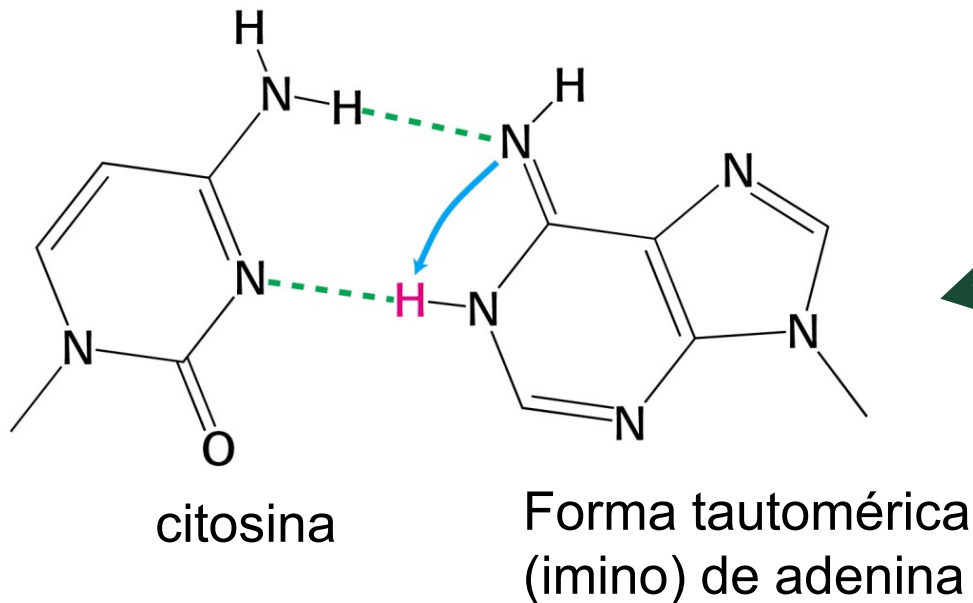
- Produtos químicos: agentes mutagênicos, análogos de bases, substâncias intercalantes, etc.
- Radiações: Raio X, Raio gama, luz UV.

Mutações espontâneas: pareamento errôneo na replicação causado por modificações tautoméricas das bases

Formas tautoméricas das bases do DNA (formas instáveis)



Pareamento errôneo na replicação implica em mutações nas próximas gerações



Mutações espontâneas: depuração e desaminação

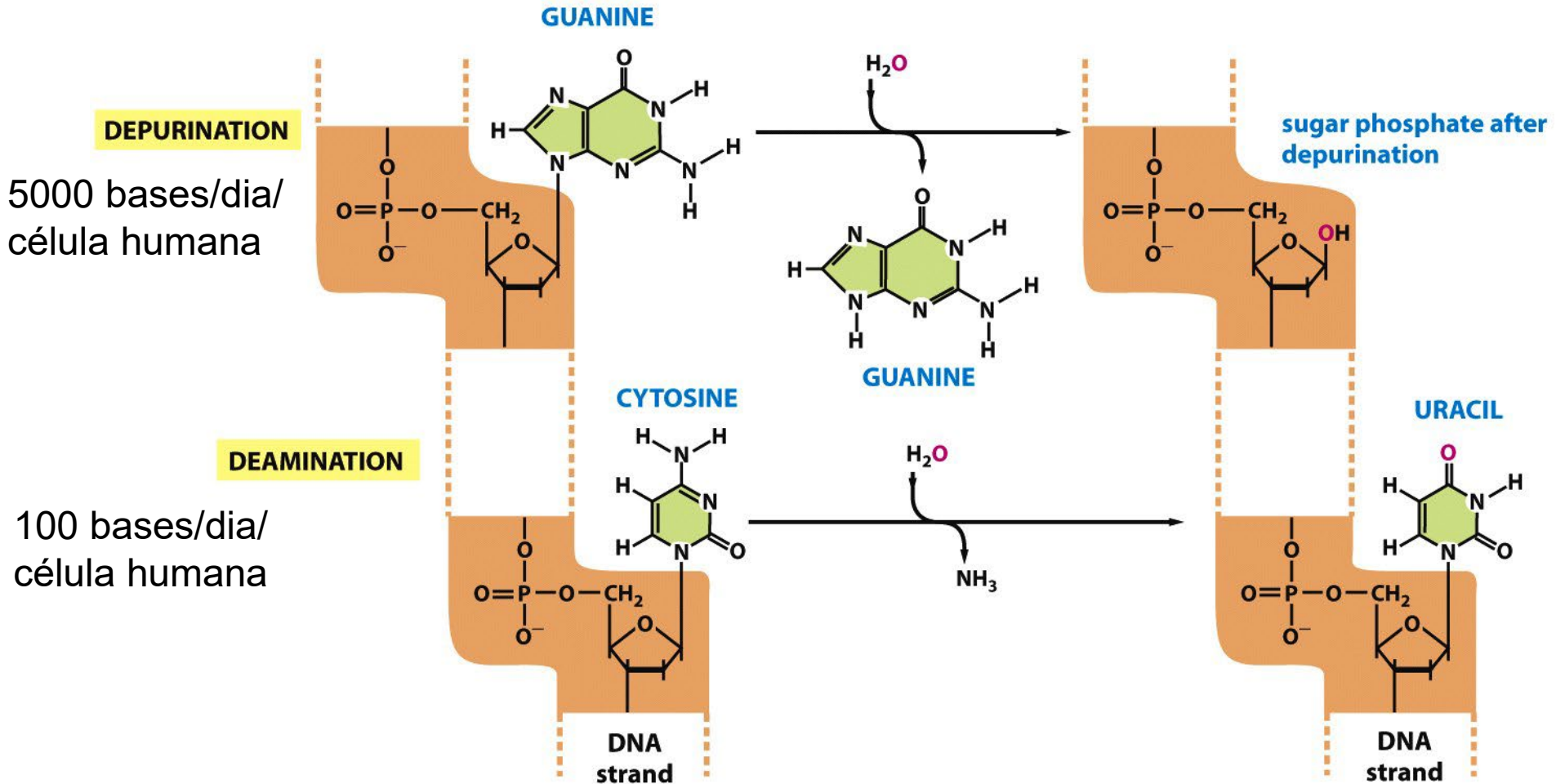
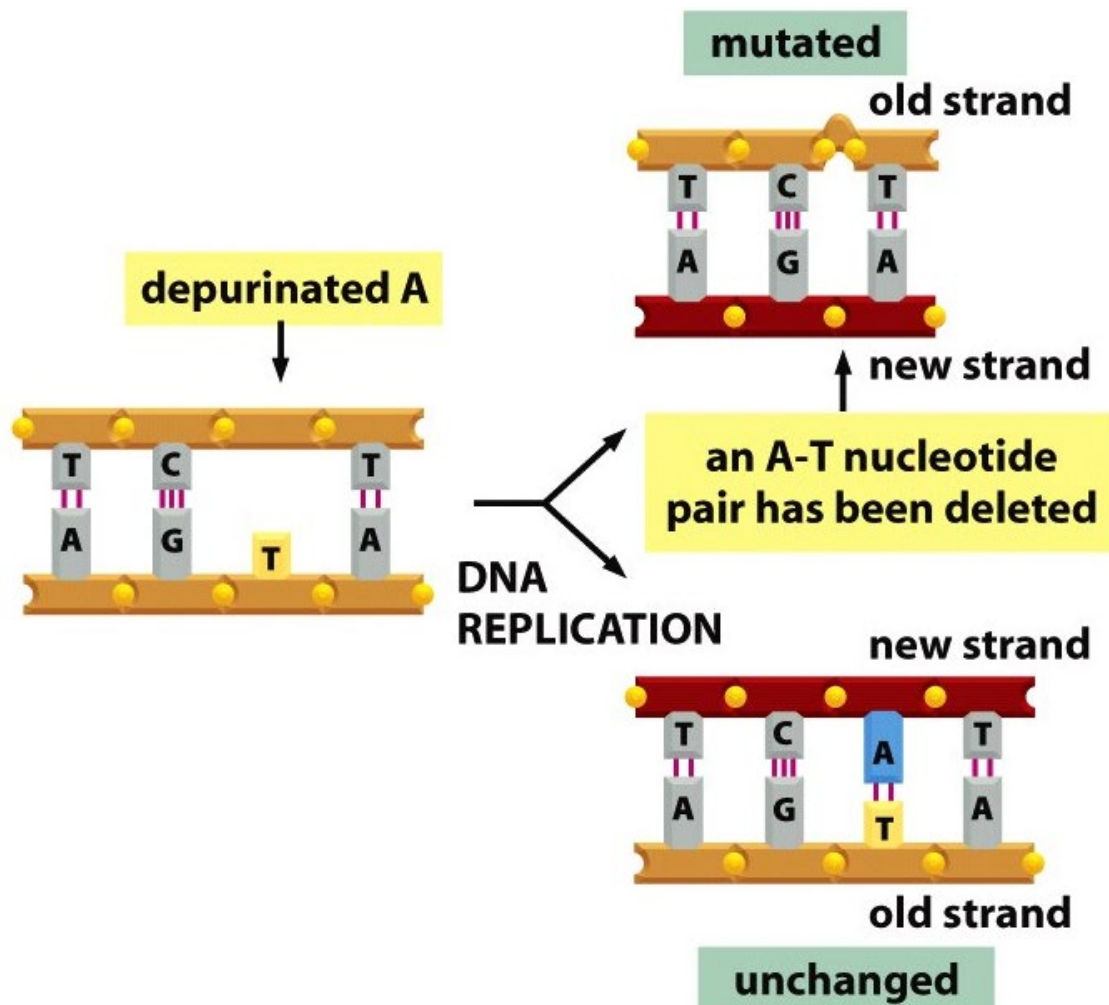
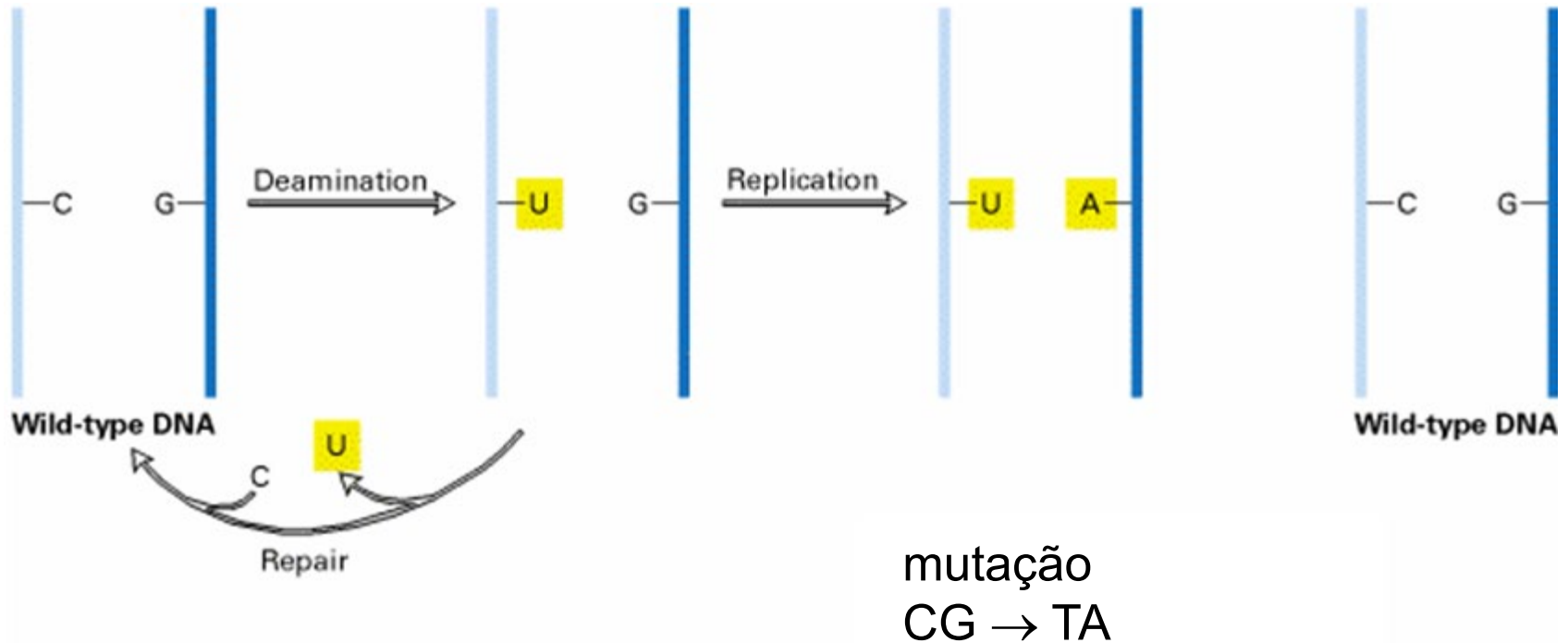
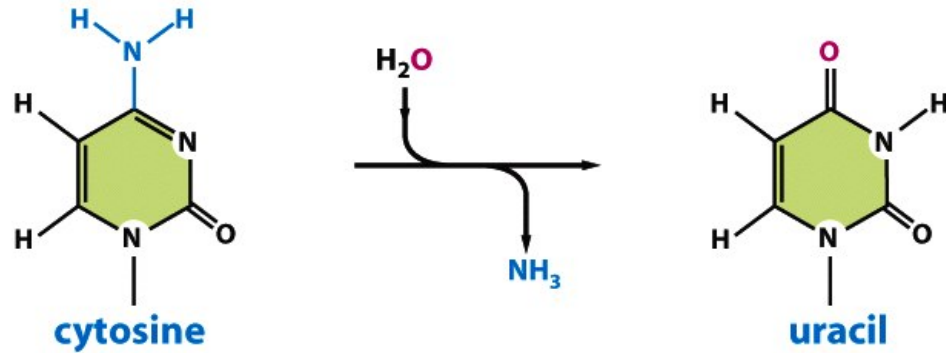


Figure 5-45 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

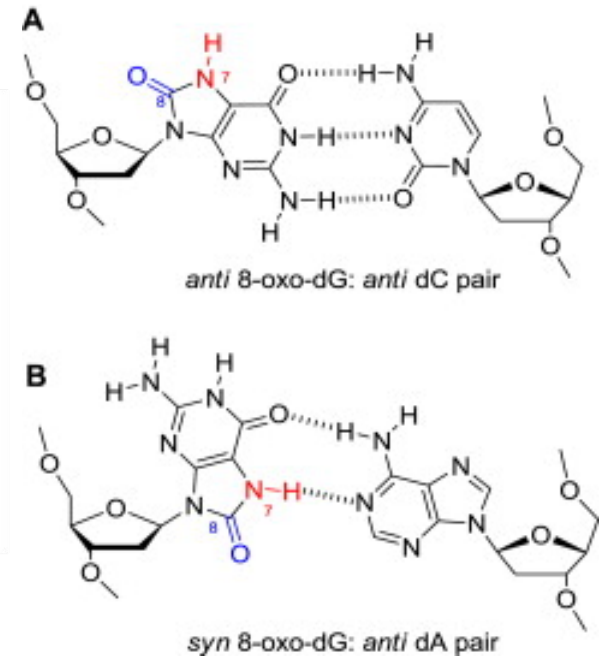
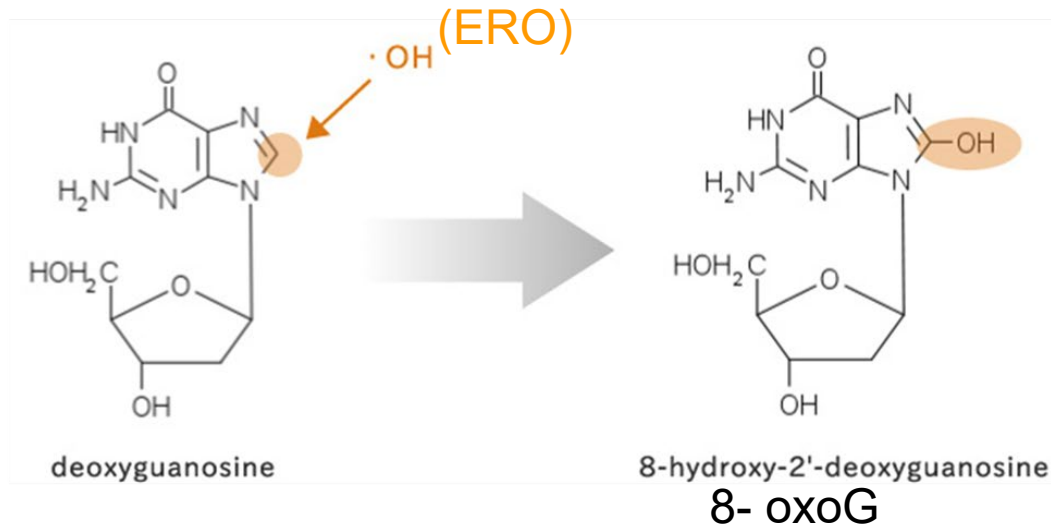
A depurinação pode levar à perda de um par de nucleotídeos



A deaminação da citosina pode levar à substituição de uma base



Mutações espontâneas: lesão oxidativa



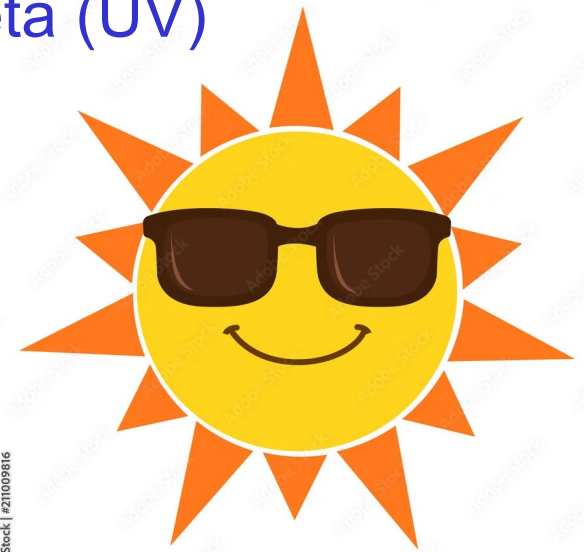
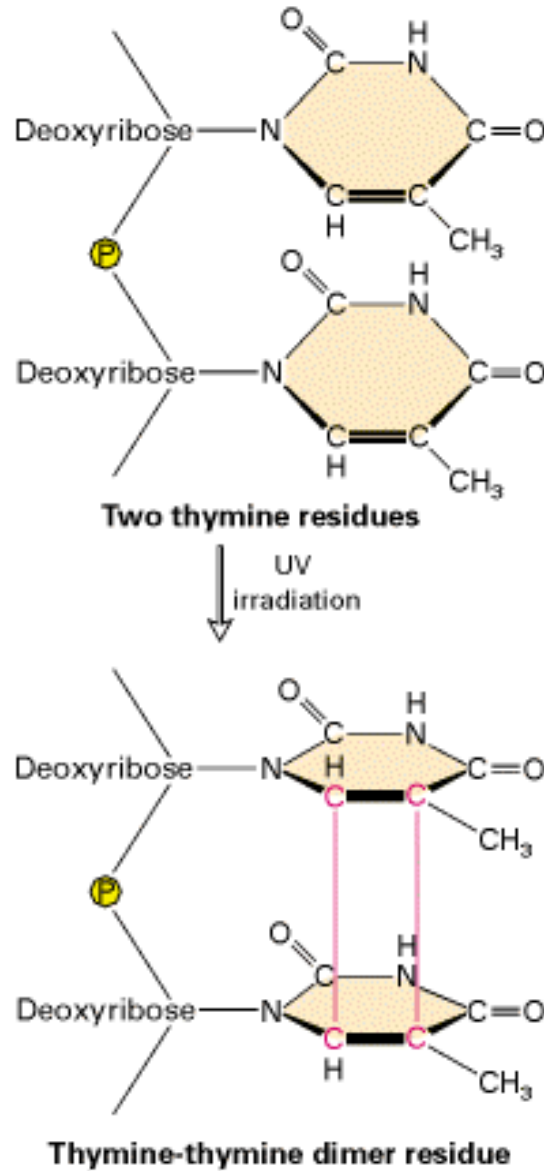
mutação
CG → TA

Espécies reativas de oxigênio produzem diferentes tipos de modificações às bases nitrogenadas, que podem causar mal pareamentos durante a replicação

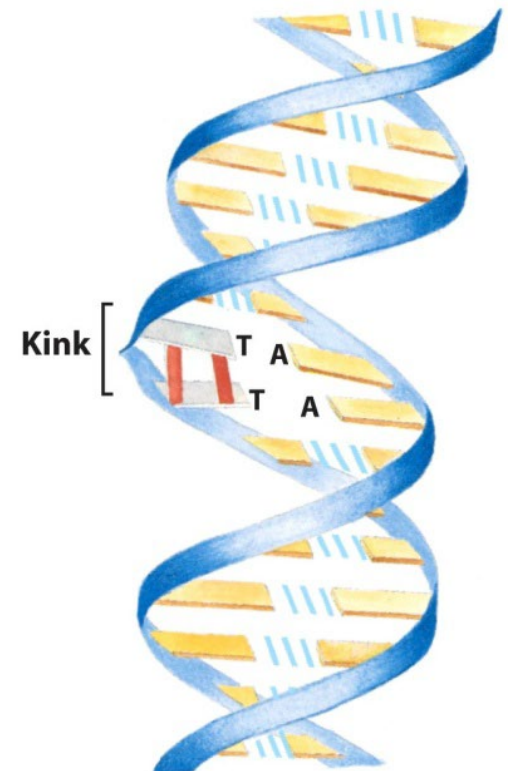
ERO = espécie reativa de oxigênio

Mutações induzidas: radiação ultravioleta (UV)

UV produz dímeros de pirimidina no DNA

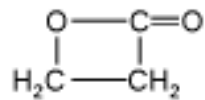


Adobe Stock | #211009816

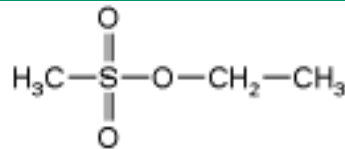


Mutações induzidas: por carcinógenos

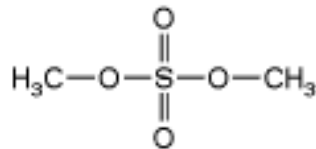
DIRECT-ACTING CARCINOGENS



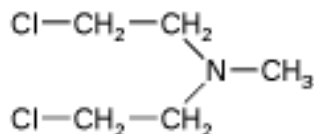
β-Propiolactone



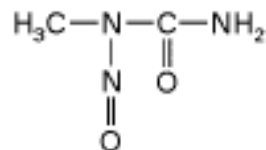
Ethylmethane sulfonate (EMS)



Dimethyl sulfate (DMS)

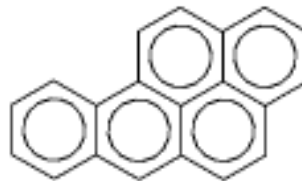


Nitrogen mustard

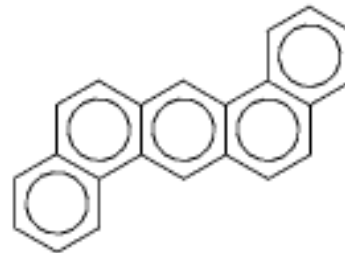


Methyl nitrosourea (MNU)

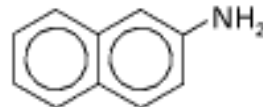
INDIRECT-ACTING CARCINOGENS



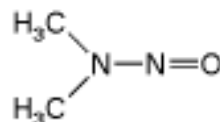
Benzo(a)pyrene
(3,4-benzopyrene)



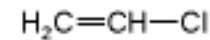
Dibenz(a,h)anthracene



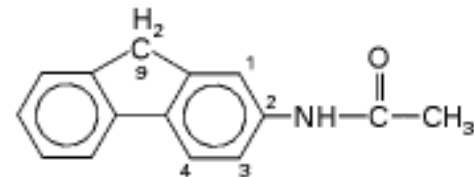
2-Naphthylamine



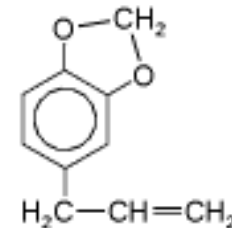
Dimethylnitrosamine



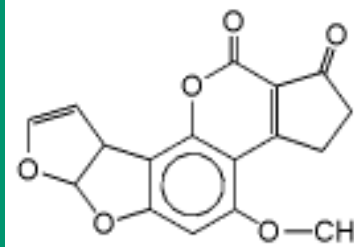
Vinyl chloride



2-Acetylaminofluorene

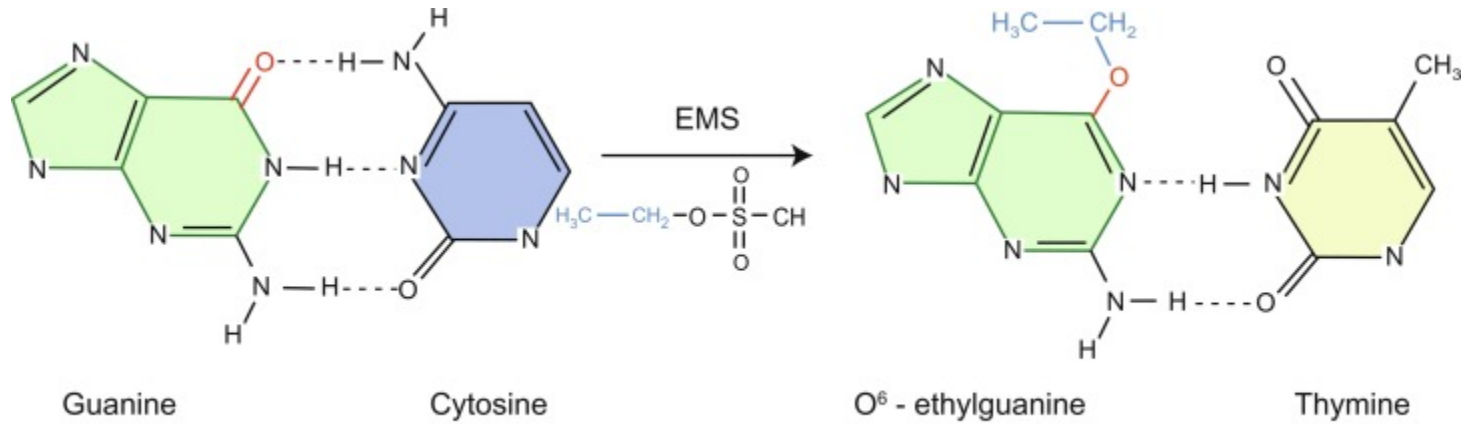


Safrole
(sassafras)

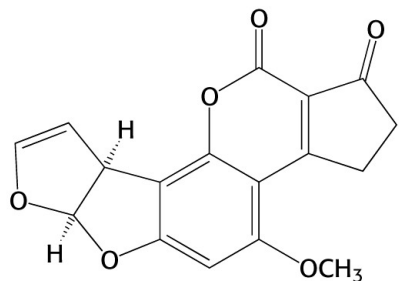


Aflatoxin B₁
(*Aspergillus flavus*)

Alquilação por ethylmethane sulfonate (EMS)

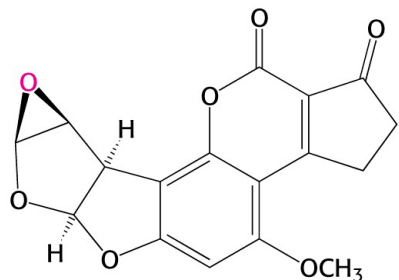


Moléculas que intercalam no DNA também são agentes mutagênicos: inserção ou deleção de bases



Aflatoxin B₁

Cytochrome P450



Aflatoxina é produzida por fungo (*Aspergillus flavus*) que contamina sementes e cereais

Metabolização no fígado gera um composto altamente reativo que alquila bases do DNA ou intercala-se no DNA

UOL notícias Ciência e Saúde

ÚLTIMAS - CIÊNCIA E SAÚDE - ECONOMIA - INTERNACIONAL - JORNAIS - POLÍTICA - TECNOLOGIA

Anvisa proíbe venda de paçoca por alto teor de substância cancerígena

20

ESTADÃO conteúdo
20/03/2017 | 20h27



Ouvir texto Imprimir Comunicar erro

Reprodução



A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) interditou nesta segunda-feira (20) um lote de paçoca rolha da marca Dicol, produzida em Goiânia (GO). Os produtos interditados excediam o limite permitido de aflatoxinas, substâncias tóxicas produzidas por fungos que podem causar câncer.

Como testar se um composto é mutagênico?

Teste de Ames

On an otherwise ordinary day in 1964, **Bruce Ames** picked up a box of potato chips and read the list of ingredients. A biochemist at the National Institutes of Health (NIH) in Bethesda, Maryland, Ames spent his days studying mutations in strains of *Salmonella*, so it wasn't unusual that he began to wonder if any of the preservatives or chemicals on that long list of ingredients might mutate DNA. Ames decided to use his *Salmonella* to try to detect genetic damage caused by chemicals. "I figured the world needed some quick, easy test to detect mutagens," says Ames.



Junho 2014

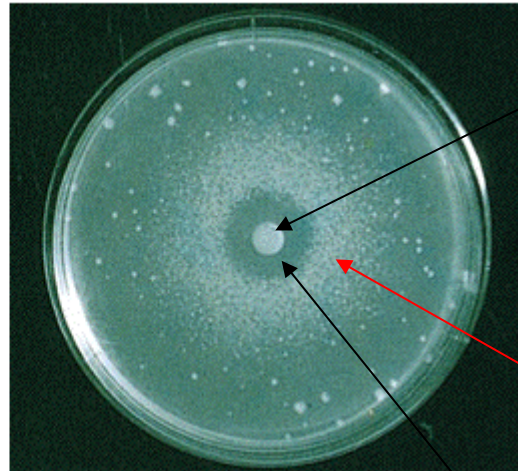
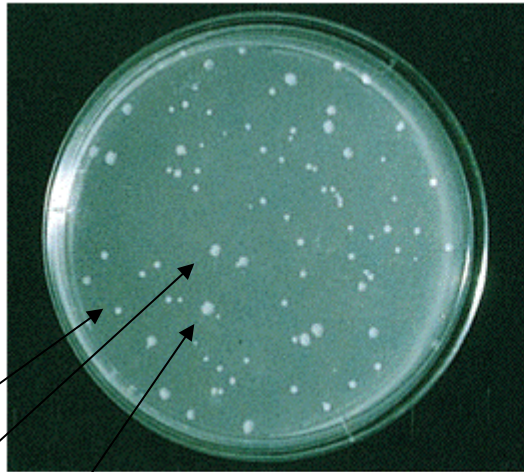
<http://www.the-scientist.com/?articles.view/articleNo/40054/title/Mutagens-and-Multivitamins/>

Teste de AMES

Um teste para identificar a potencialidade mutagênica de um composto químico

Placa controle

Placa experimental



Composto químico
em papel de filtro

Mutantes
revertentes
induzidos

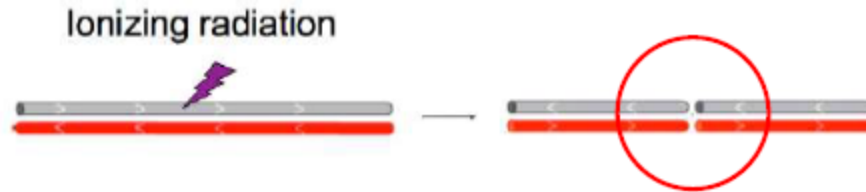
Zona de inibição

Bactérias Salmonella his-
Meio sem histidina

Homogeinato de fígado
pode ser adicionado ao ensaio

Mutantes
revertentes
espontâneos

Radiações ionizantes (Raio X, Raio gama)



Quebras duplas no DNA (DSB)

Quebra no esqueleto fosfodiéster das duas cadeias da hélice na mesma posição.

Podem ser causadas por agentes externos, mas podem ocorrer também em consequência da replicação de um DNA lesionado.

Cada tipo de dano requer um mecanismo de reparo do DNA

Tipos de reparo de DNA:

1-Reparo de mal pareamento (*mismatch repair*) - corrige os erros da polimerase que escaparam revisão

2-Reparo direto – (fotoliase) (reverte um tipo específico de lesão: dímeros de pirimidina)

3-Reparo por excisão de base (BER) (corrige bases danificadas)

4- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER) (corrige lesões que causam mudanças estruturais no DNA)

5- Reparo de quebra das duas fitas (restaura a integridade das fitas)

6-Reparo por síntese translesão (sujeito a erro)

Etapas básicas dos processos de reparo:

1) Reconhecimento

2) Excisão

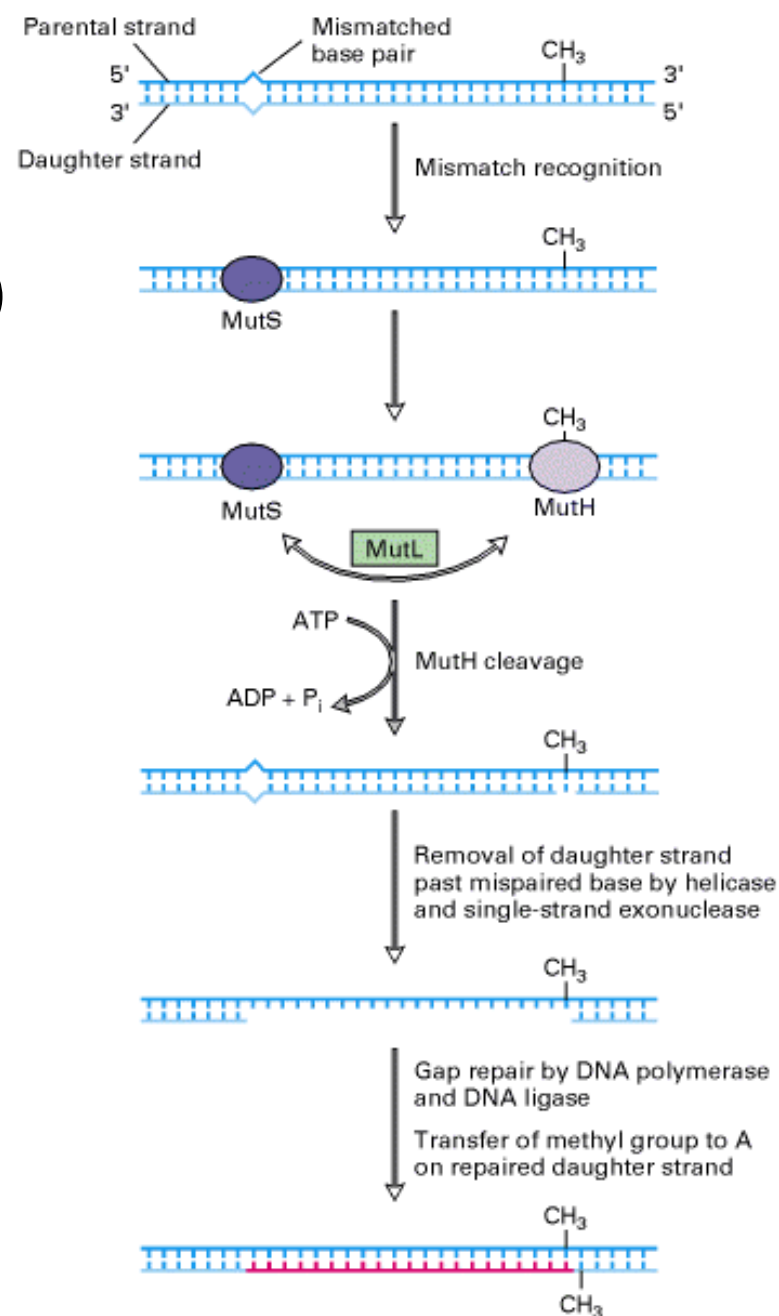
3) Síntese

4) Ligação

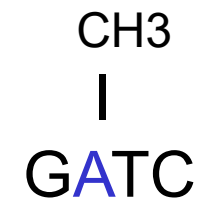
Comuns a quase todos os sistemas ! É a lógica geral destes processos ! Exceção é o reparo direto

1-Reparo de mal pareamento (*mismatch repair*) (repara erros de replicação)

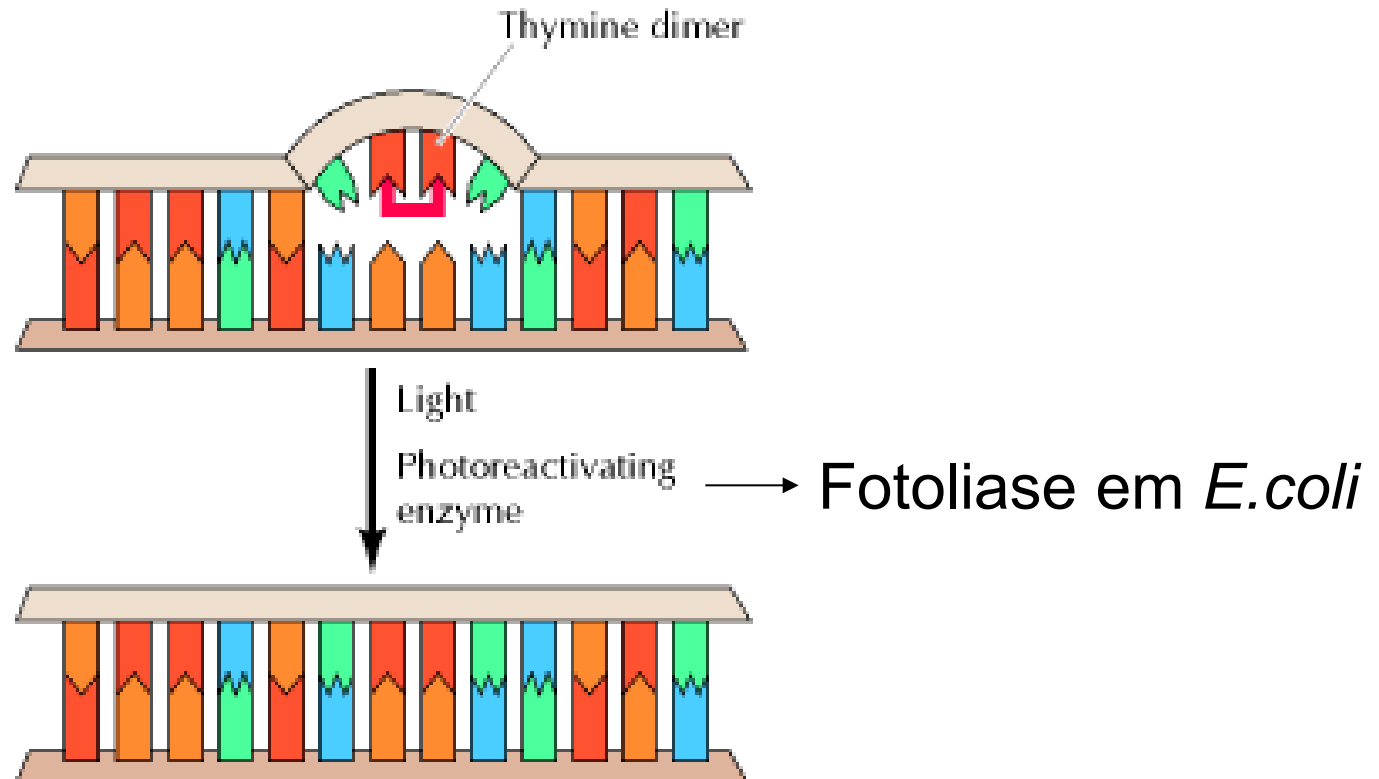
Sistema *MutHLS*



Seqs. GATC
são metiladas
em *E.coli* pela
Dam metilase



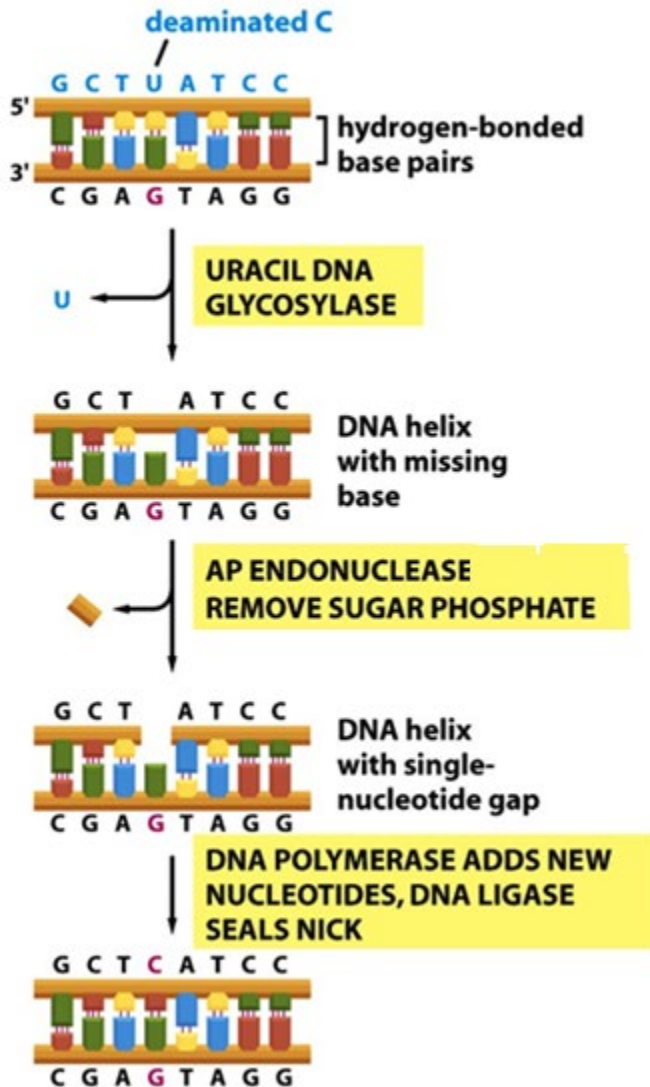
2- Reparo direto



Curiosidade: humanos não possuem essa via de reparo...

3-Reparo por excisão de base (BER)

(A) BASE EXCISION REPAIR



DNA glicosilases-Retiram a **base** modificada específicas para cada modificação

AP endonuclease/exonuclease -Quebra ligação fosfodiéster e remoção do açúcar e fosfato

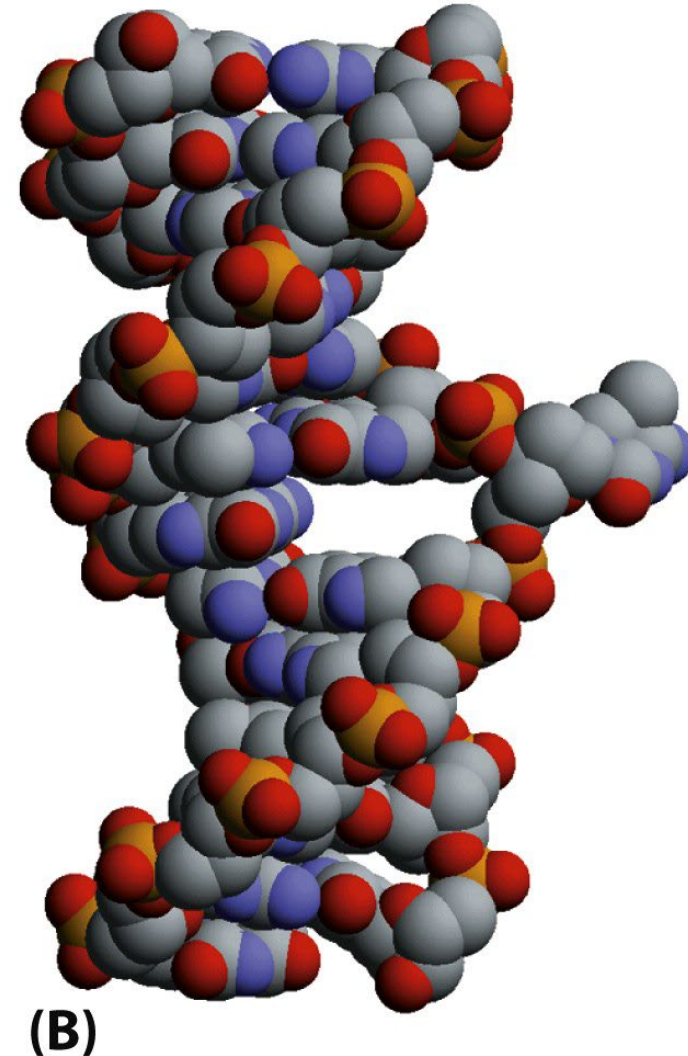
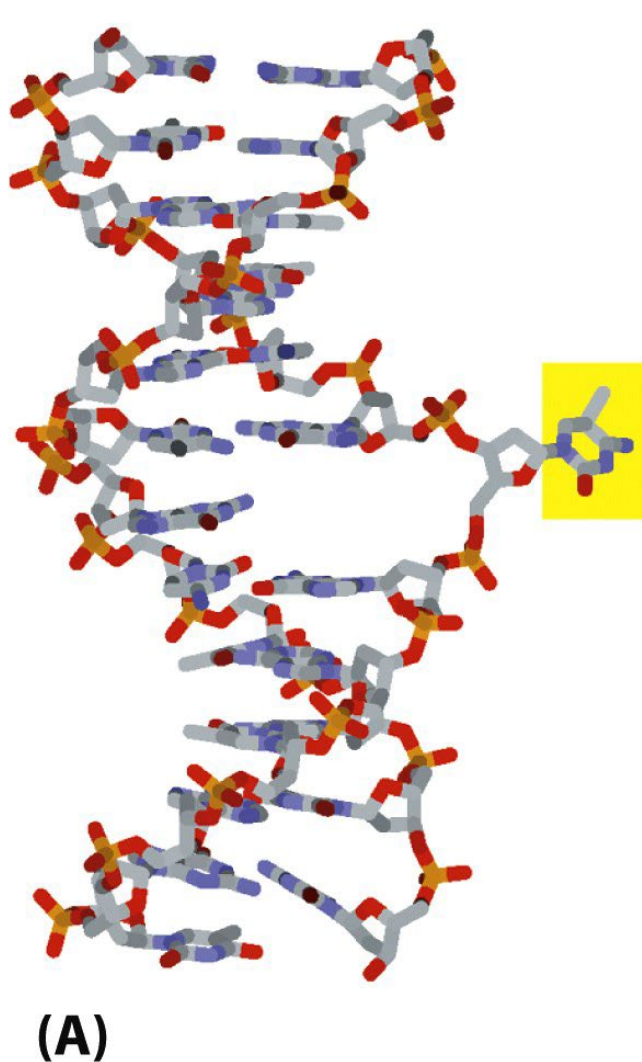
DNA polimerase I-Adiciona novos nucleotídeos
DNA ligase-Sela a fita

DNA glicosilase reconhece nucleotídeos não usuais (através de *base-flipping*)

DNA glicosilases

Retiram a **base** modificada

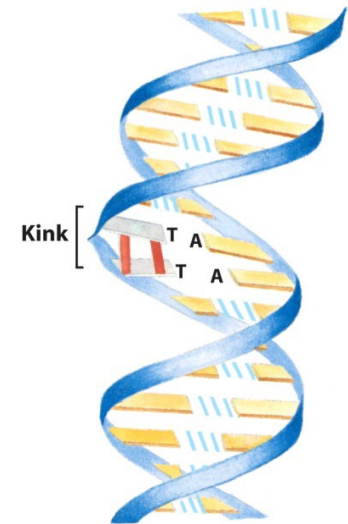
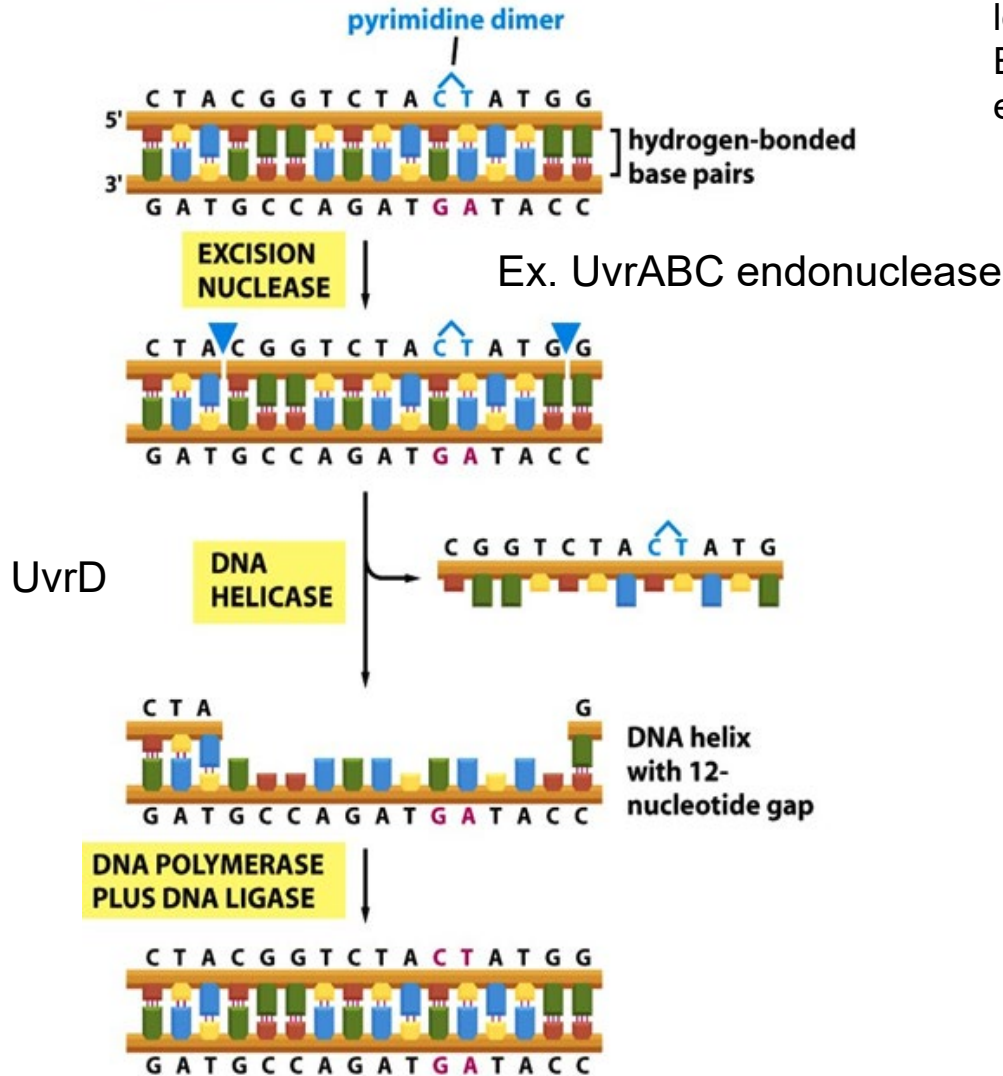
São específicas para cada modificação



4-Reparo por excisão de nucleotídeos (NER)

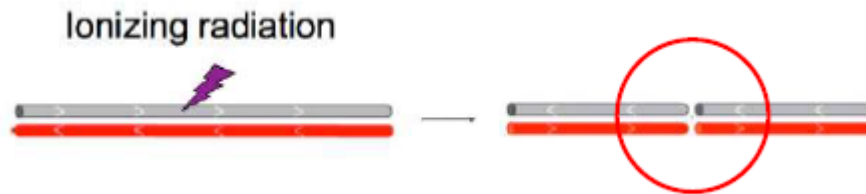
(B) NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR

Remoção de dímeros de timidina e outras lesões que distorcem bastante a dupla hélice. Em humanos, é a principal via que combate o efeito do UV no DNA.



5-Reparo de quebra das duas fitas (*double-strand break repair*)

Quebras duplas oferecem um desafio para o reparo:



Não há como copiar a informação da outra fita porque a lesão ocorreu em ambas as fitas !

Há dois mecanismos de reparo de quebras duplas:

(NHEJ)

(A) **NONHOMOLOGOUS END JOINING**

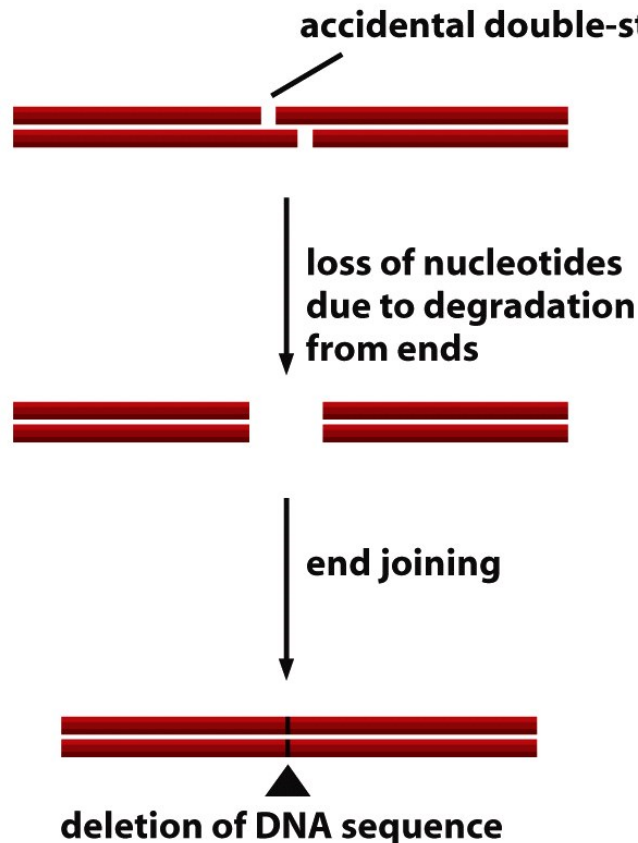
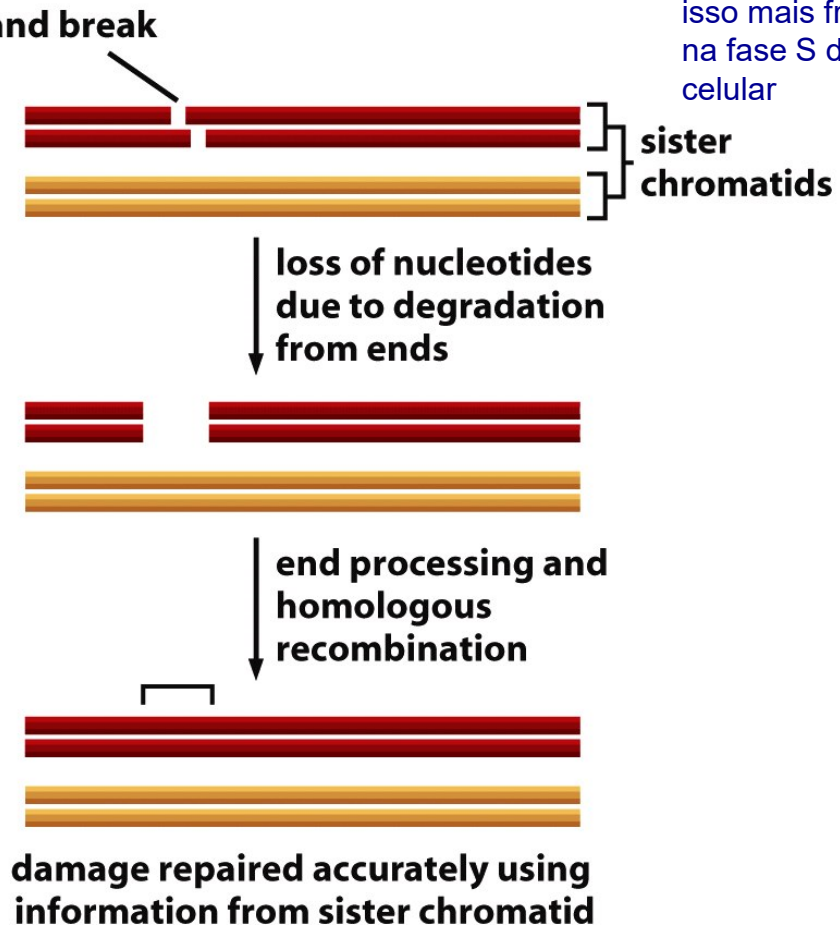


Figure 5-51 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

propenso a erros

(HR)

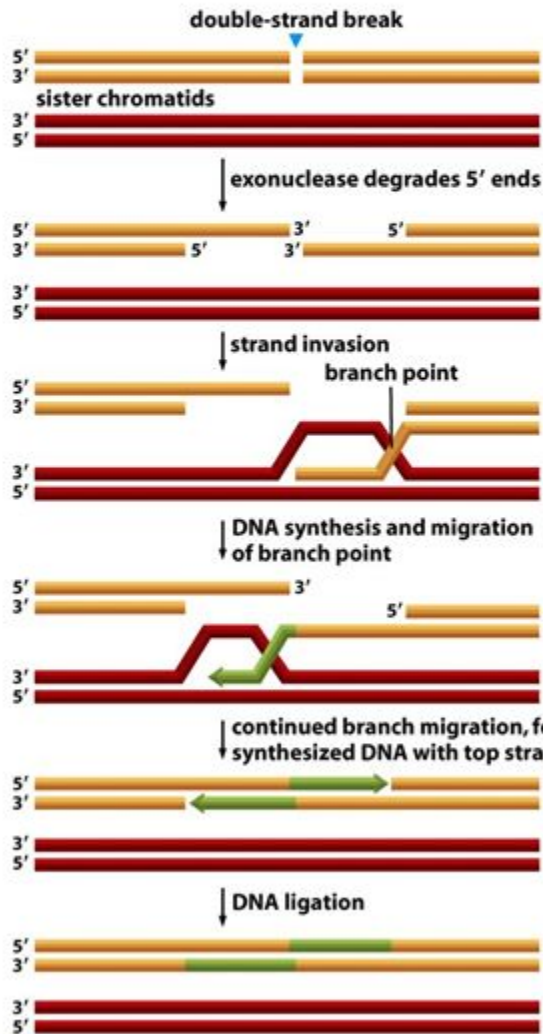
(B) **HOMOLOGOUS RECOMBINATION**



Usa informação de outra cópia da molécula de DNA. Por isso mais frequente na fase S do ciclo celular

livre de erros

Double Strand Break Repair



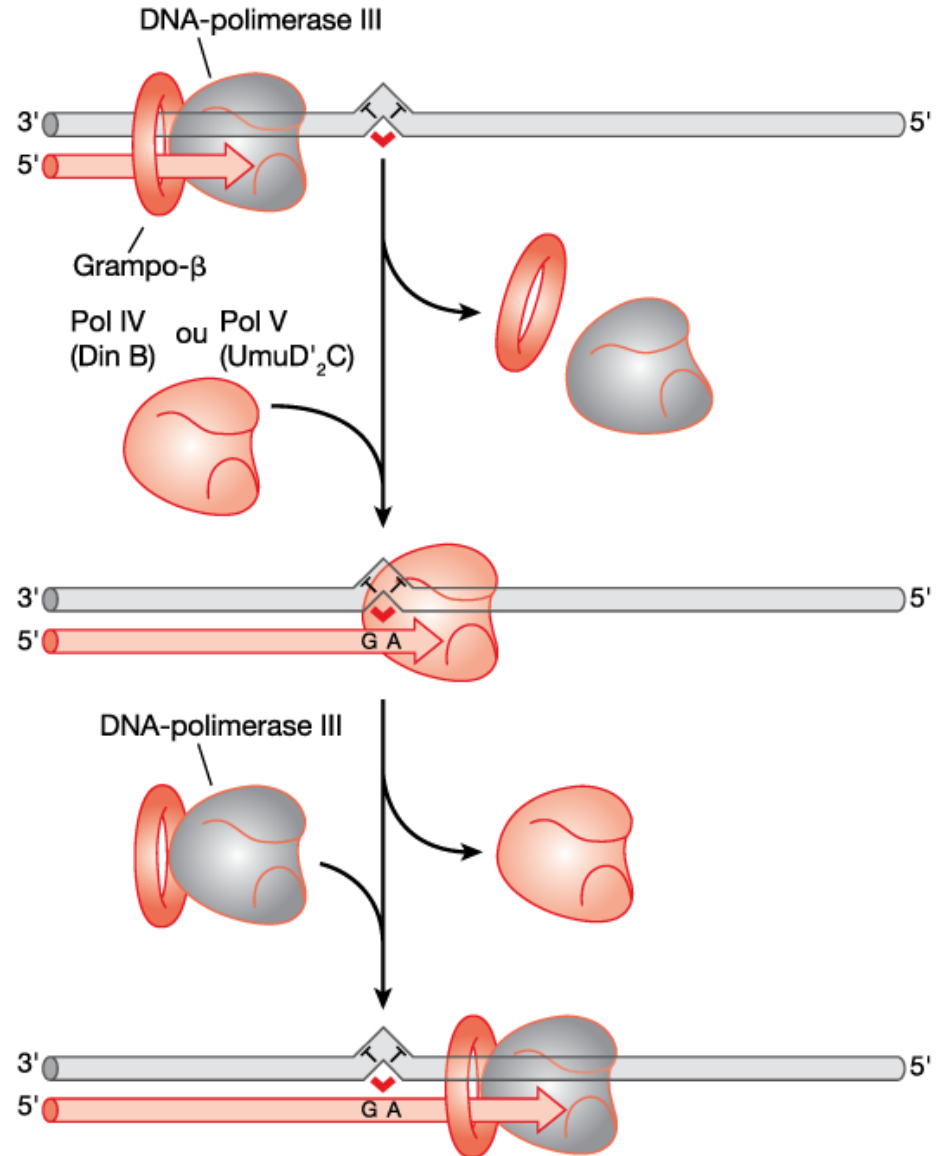
DOUBLE-STRAND BREAK IS ACCURATELY REPAIRED

- Associated sister chromatids
- Strand invasion by broken chromosome
- DNA synthesis using unbroken chromosome as template

6-Reparo por síntese translesão

Síntese translesão pelas
DNA polimerases de desvio
(*by-pass DNA polymerases*:
DNA polimerases IV e V):
permite a retomada da replicação.

Passível de erro
Incorpora nucleotídeos aleatórios



Doenças humanas que resultam de defeito no reparo de DNA

Table 5–2 Some 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, UV sensitivity, neurological abnormalities	nucleotide excision–repair
XP variant	UV sensitivity, skin cancer	translesion synthesis by DNA polymerase η
Ataxia telangiectasia (AT)	leukemia, lymphoma, γ -ray sensitivity, genome instability	ATM protein, a protein kinase activated by double-strand breaks
BRCA2	breast, ovarian, and prostate 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

Table 5-2 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Xeroderma pigmentoso

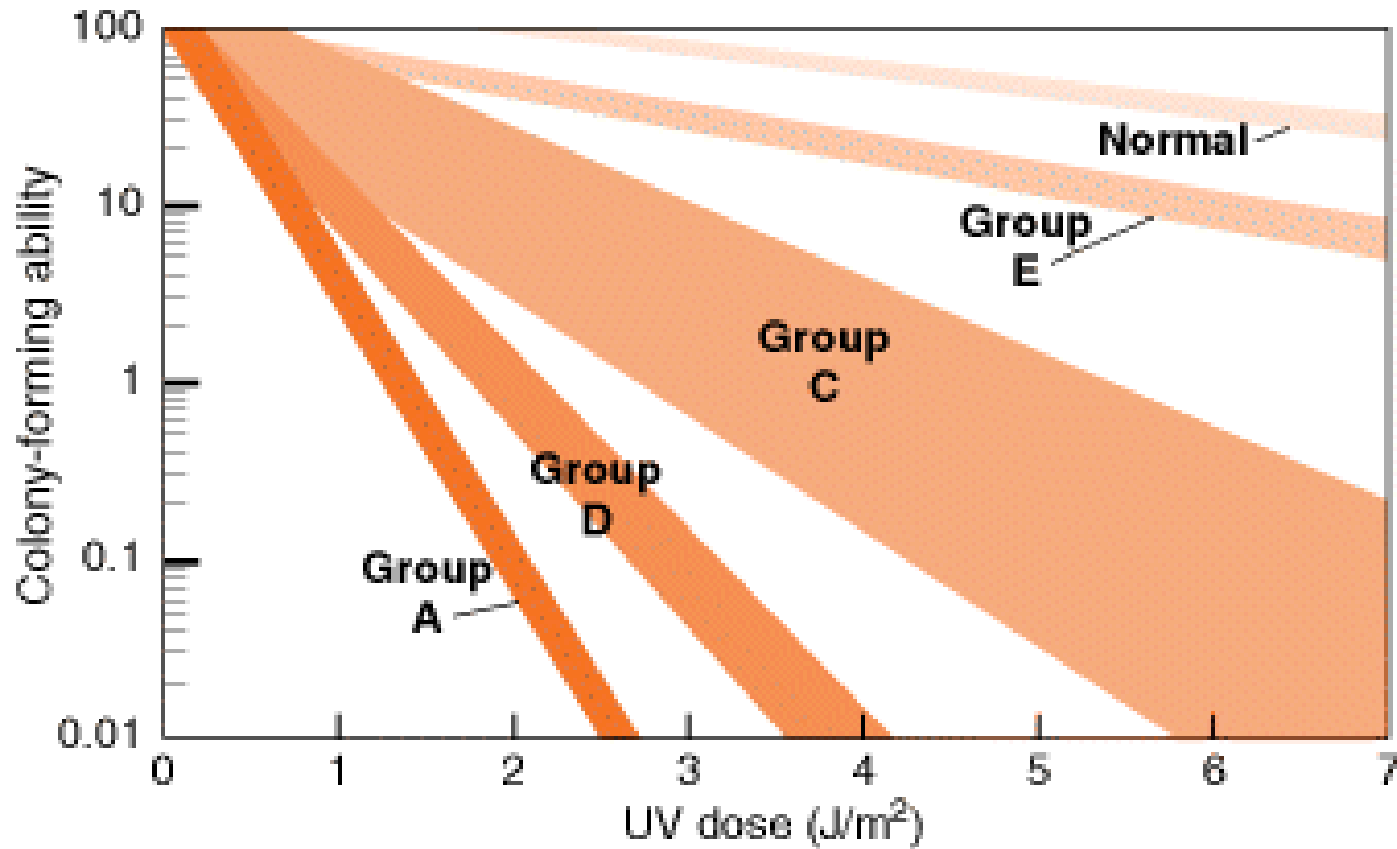
Doença rara, autossômica recessiva, onde os indivíduos afetados apresentam alta sensibilidade da pele à luz UV.



Indivíduos afetados apresentam a **via NER** de reparo de DNA defeituosa, e portanto são incapazes de reparar os dímeros de pirimidinas causados pela luz UV.

- Hipersensibilidade a luz solar (luz ultravioleta)
- Lesões cutâneas, incluindo câncer de pele
- Alterações oftalmológicas
- Alterações neurológicas
- Aumento do risco de neoplasias malignas

Fibroblastos de indivíduos com Xeroderma pigmentoso



Pelo menos 7 genes envolvidos: XPA-XPG