

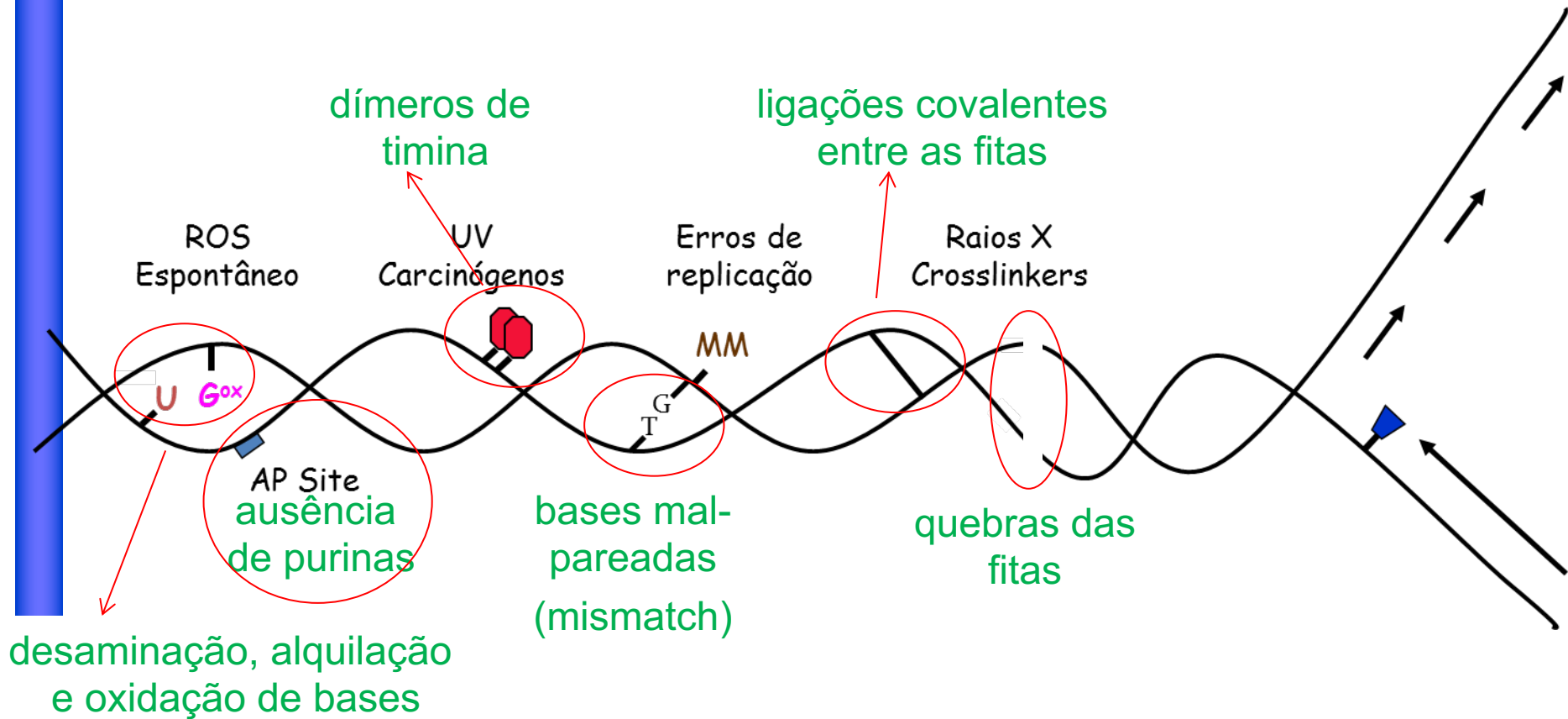


Universidade de São Paulo
Instituto de Química

QBQ0317 – Aula 7 - 2020

Mecanismos de Reparo do DNA

DNA está sujeito a danos



Diferentes agentes mutagênicos alteram o DNA e ocasionam diferentes tipos de danos.

Cada dano pode levar a um tipo de mutação.

Como as células evitam que um dano no DNA origine uma mutação?

Sistemas de reparo

I later came to realise that DNA is so precious that probably many distinct repair mechanisms would exist. Nowadays one could hardly discuss mutation without considering repair at the same time.

Francis Crick, *Nature*, 26 April 1974

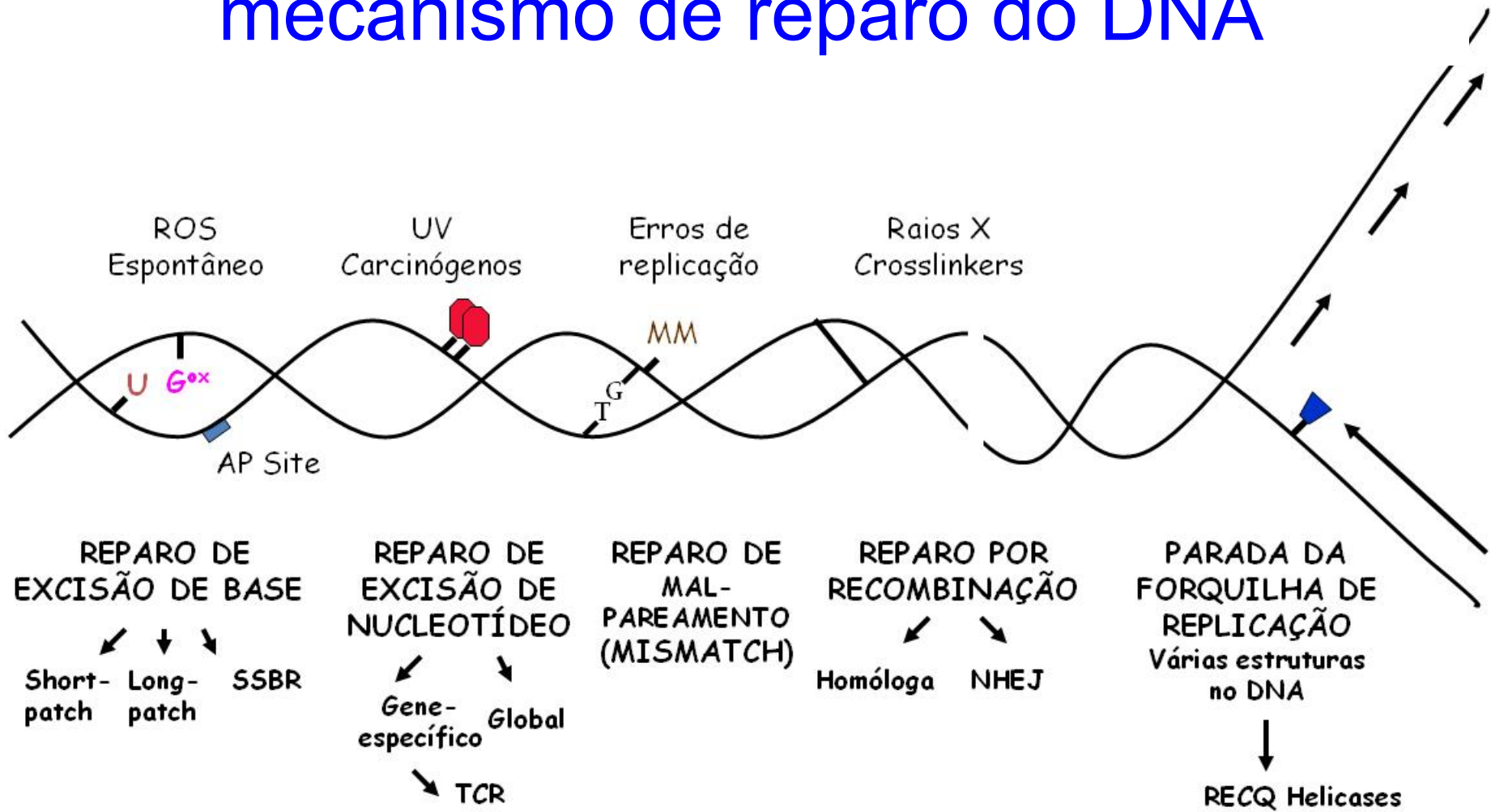
Metabolismo do DNA

Replicação

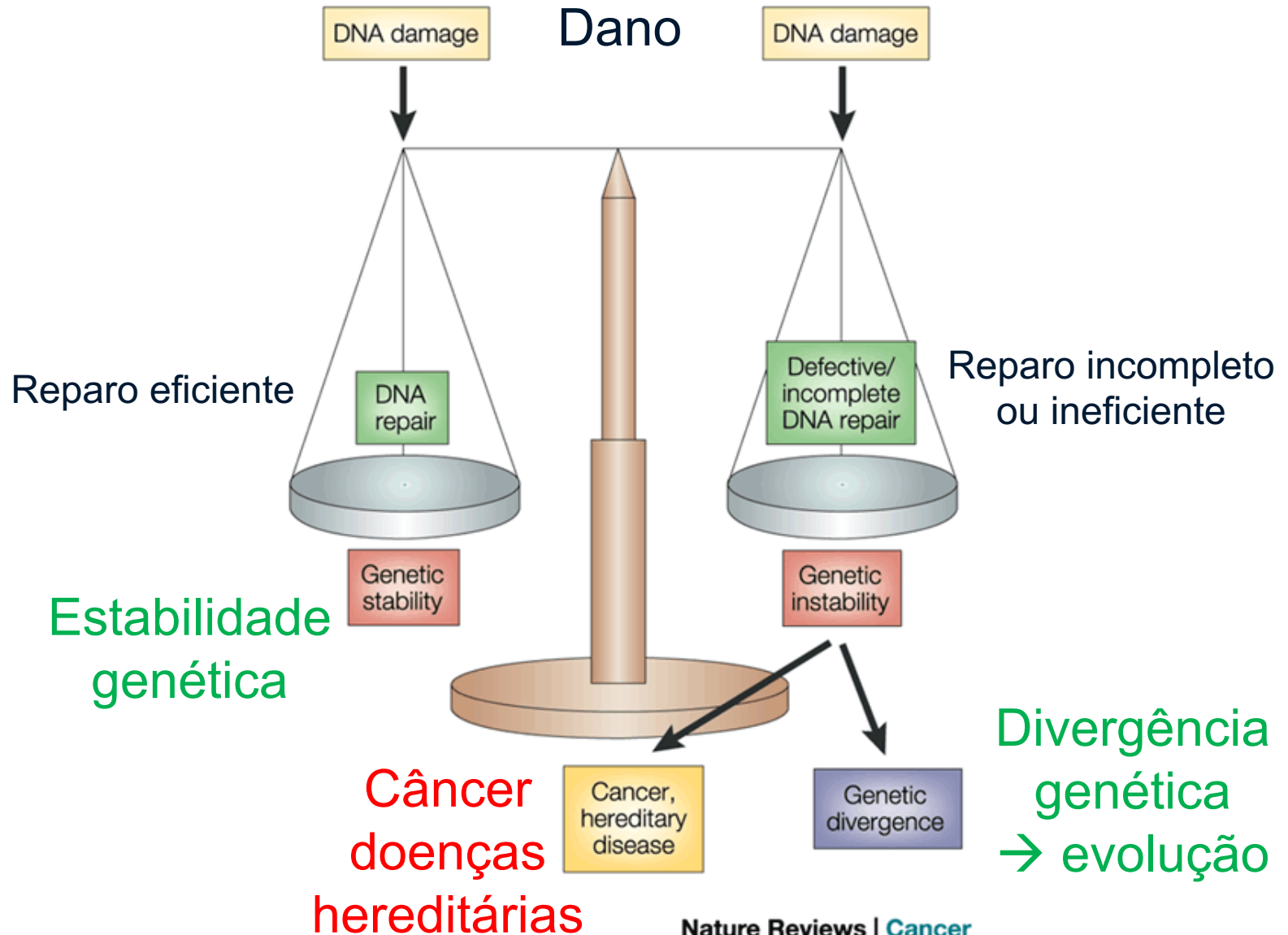
Reparo

Recombinação

Cada tipo de dano requer um mecanismo de reparo do DNA



Consequências dos danos no DNA



Deficiências no reparo do DNA associadas a câncer, imunodeficiência e outras síndromes

REPARO DE EXCISÃO DE BASE

Short-patch Long-patch SSBR

Câncer
Imunodeficiência
Síndrome de Cockayne

REPARO DE EXCISÃO DE NUCLEOTÍDEO

Gene-específico Global
TCR

Xeroderma Pigmentoso
Síndrome de Cockayne

REPARO DE MAL-PAREAMENTO (MISMATCH)

Câncer de cólon

REPARO POR RECOMBINAÇÃO

Homóloga NHEJ

Câncer de mama
Anemia de Fanconi

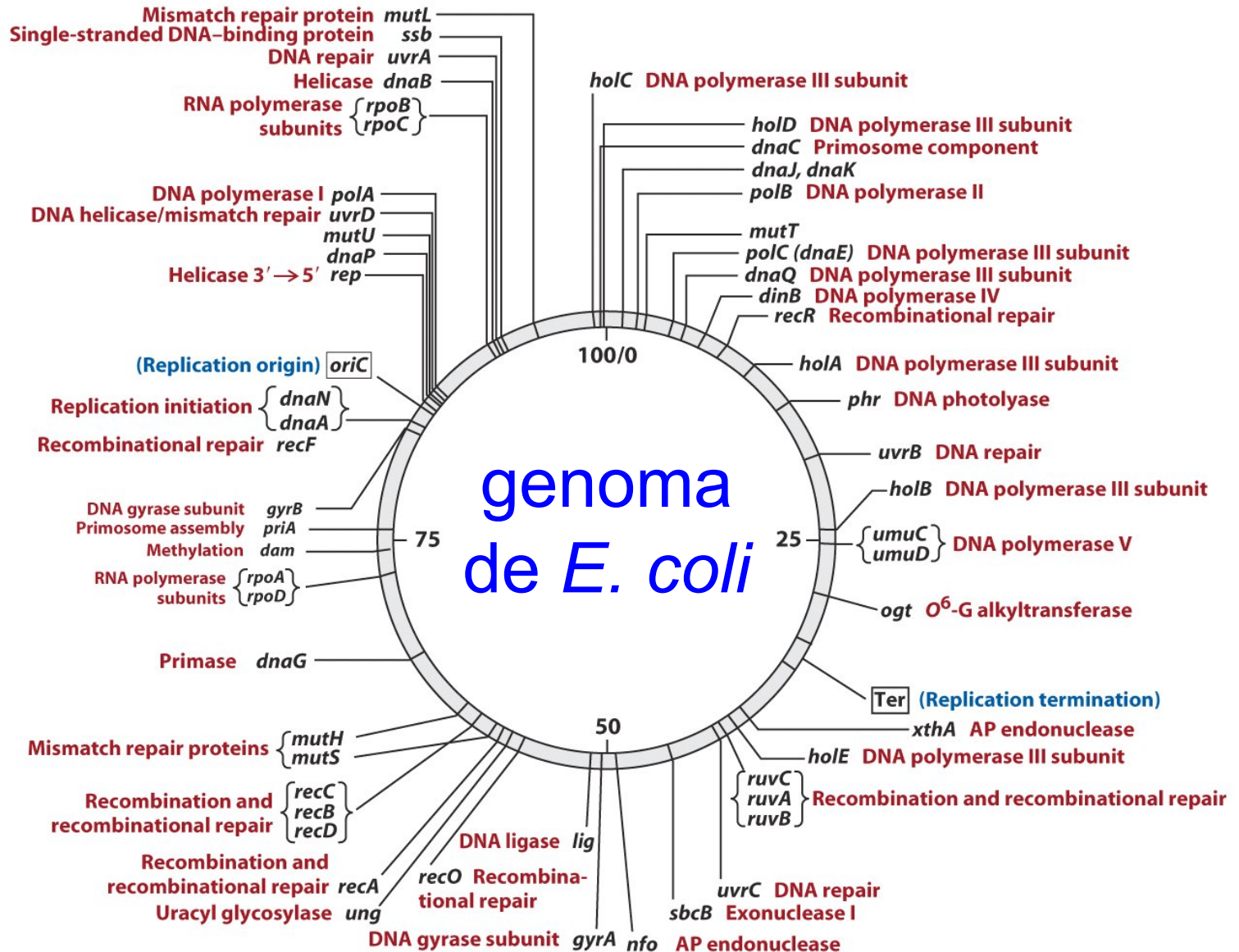
PARADA DA FORQUILHA DE REPLICAÇÃO

Várias estruturas no DNA

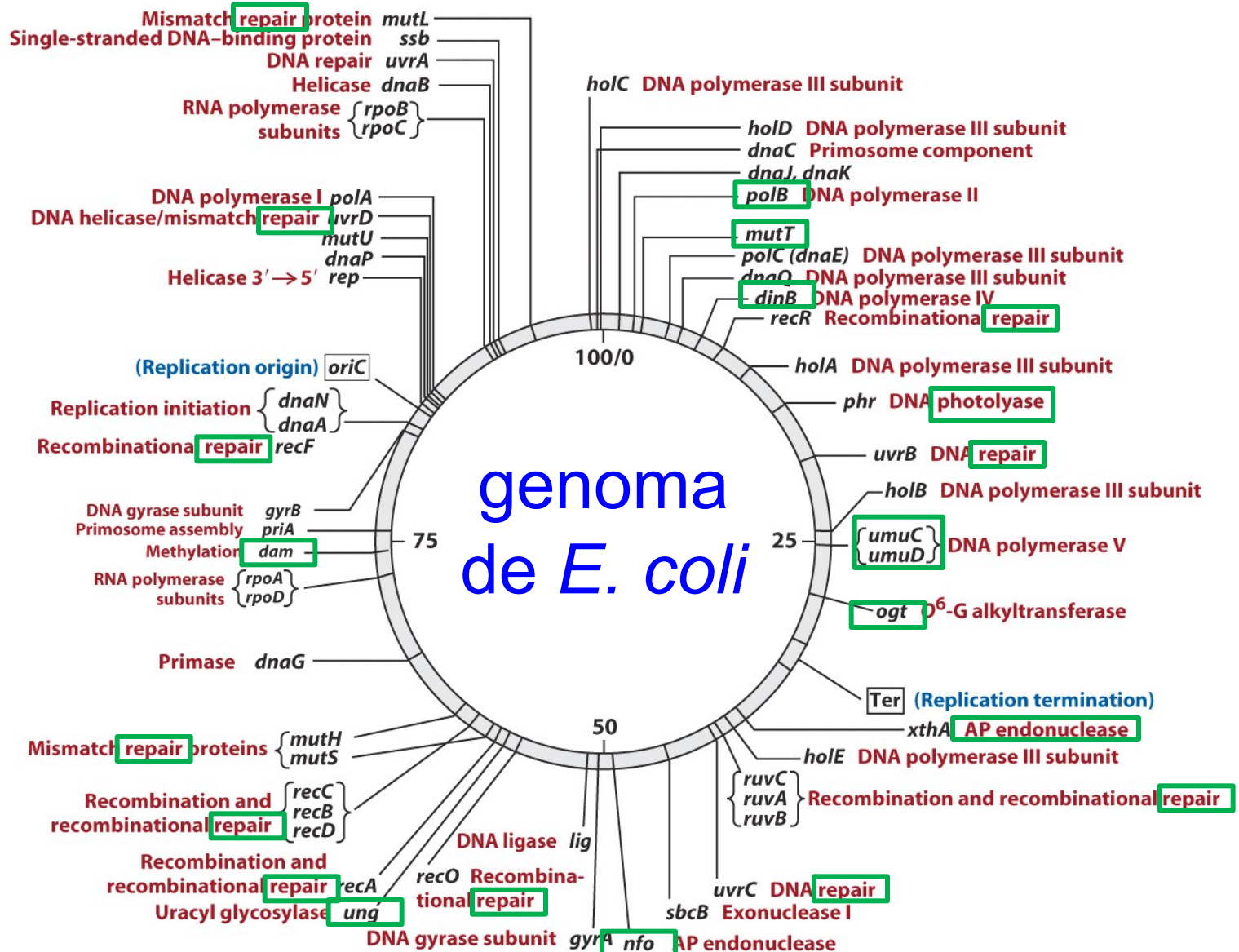
RECQ Helicases

Doenças relacionadas a Helicase RecQ
Envelhecimento prematuro

Genes relacionados ao metabolismo de DNA em *E. coli*



Genes relacionados ao reparo de DNA em *E. coli*



Atividades enzimáticas importantes para o reparo de DNA

- Nucleases:
 - cortam uma ligação fosfodiéster
 - Quebra no interior de uma das fitas
 - Endonuclease: no interior da fita de DNA
 - Exonuclease: a partir das extremidades
 - $5' \rightarrow 3'$ ou $3' \rightarrow 5'$
 - Retira um nucleotídeo por vez
- Helicases
 - Separam as fitas do DNA
 - Quebram ligações de hidrogênio

Atividades enzimáticas importantes para o reparo de DNA

- DNA polimerases
 - adicionam nucleotídeos
 - DNA polimerases I e III podem ser usadas, dependendo do mecanismo
- DNA ligase
 - Religam quebras (ligação fosfodiéster) em uma fita de DNA

Atividades enzimáticas importantes para o reparo de DNA

- DNA glicosilases
 - Quebram a ligação glicosídica entre base e desoxiribose
 - Específicas para cada base

- DNA ligase

Tipos de sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão (SOS)
- Reparo por recombinação

Revisão de prova pela DNA pol III não é reparo...

Reparo para correção de mal-pareamento *mismatch repair* (MMR)

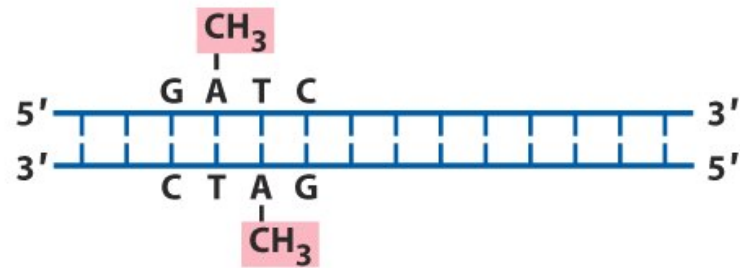
- Logo após replicação
- Corrige erros que escaparam da atividade revisora da DNA polimerase
- Repara a fita “nova” e mantém o molde

Como ocorre a discriminação entre as fita nova e velha?

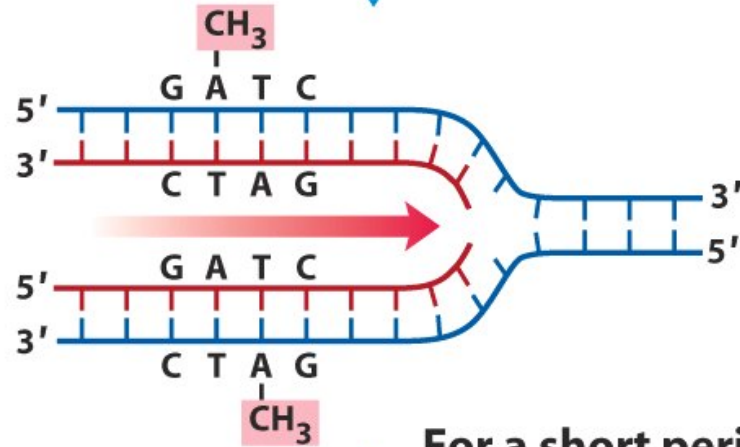
DNA de *E. coli*
é metilado em
sítios GATC

Fita não
metilada:

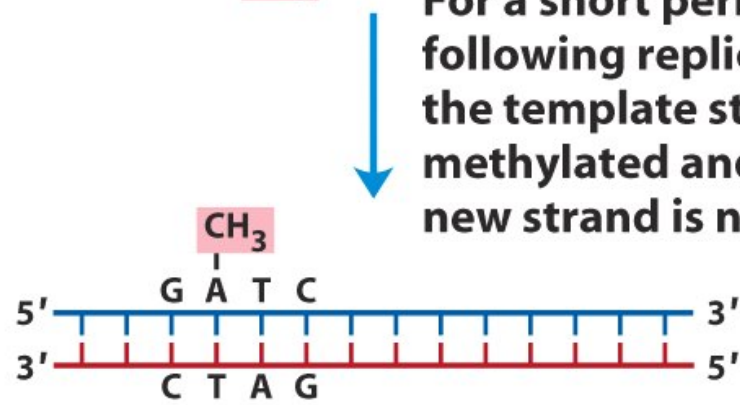
Fita “nova”,
que contém o
erro



replication

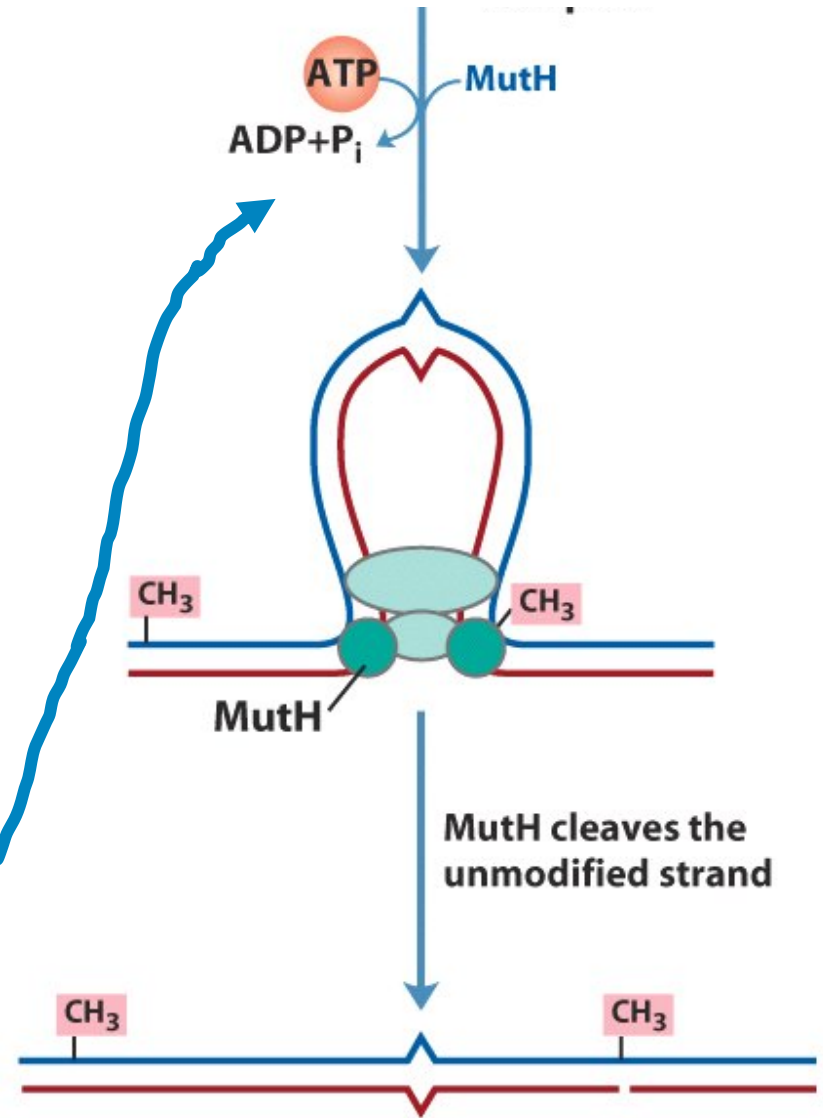
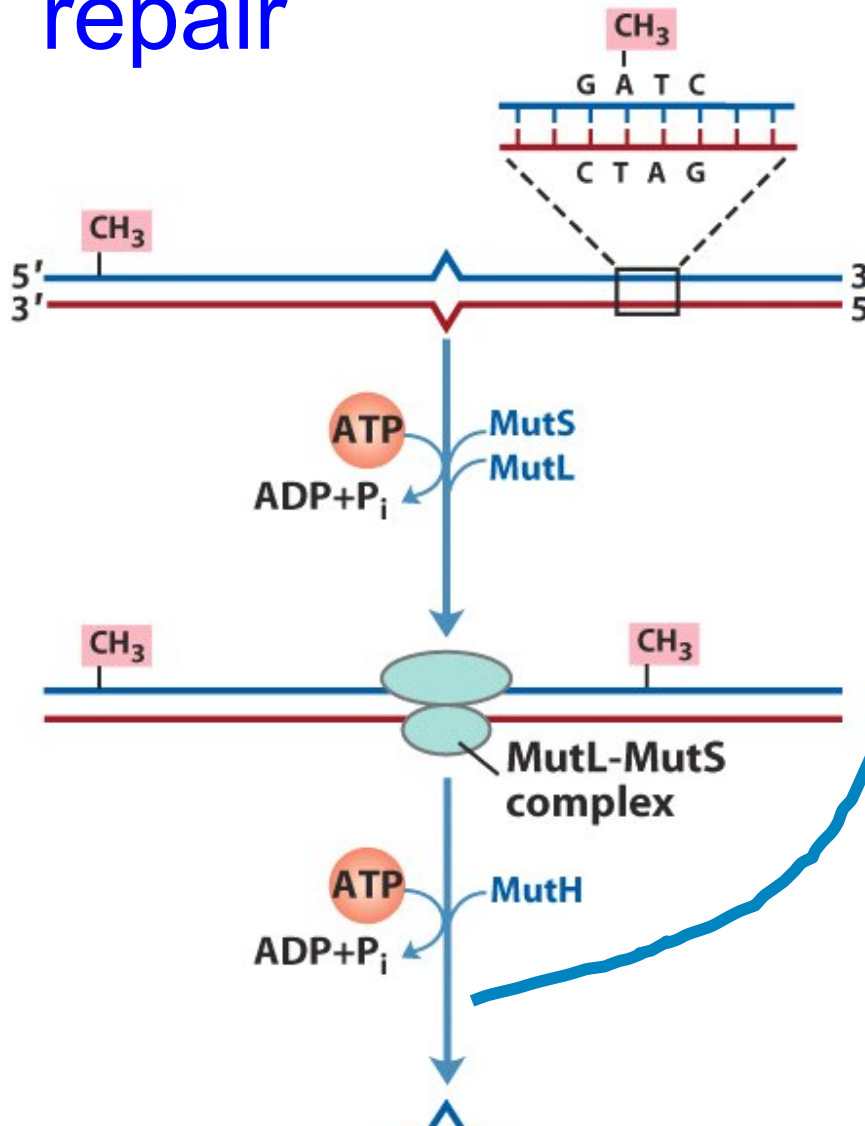


For a short period
following replication,
the template strand is
methylated and the
new strand is not.



Hemimethylated DNA

Mismatch repair

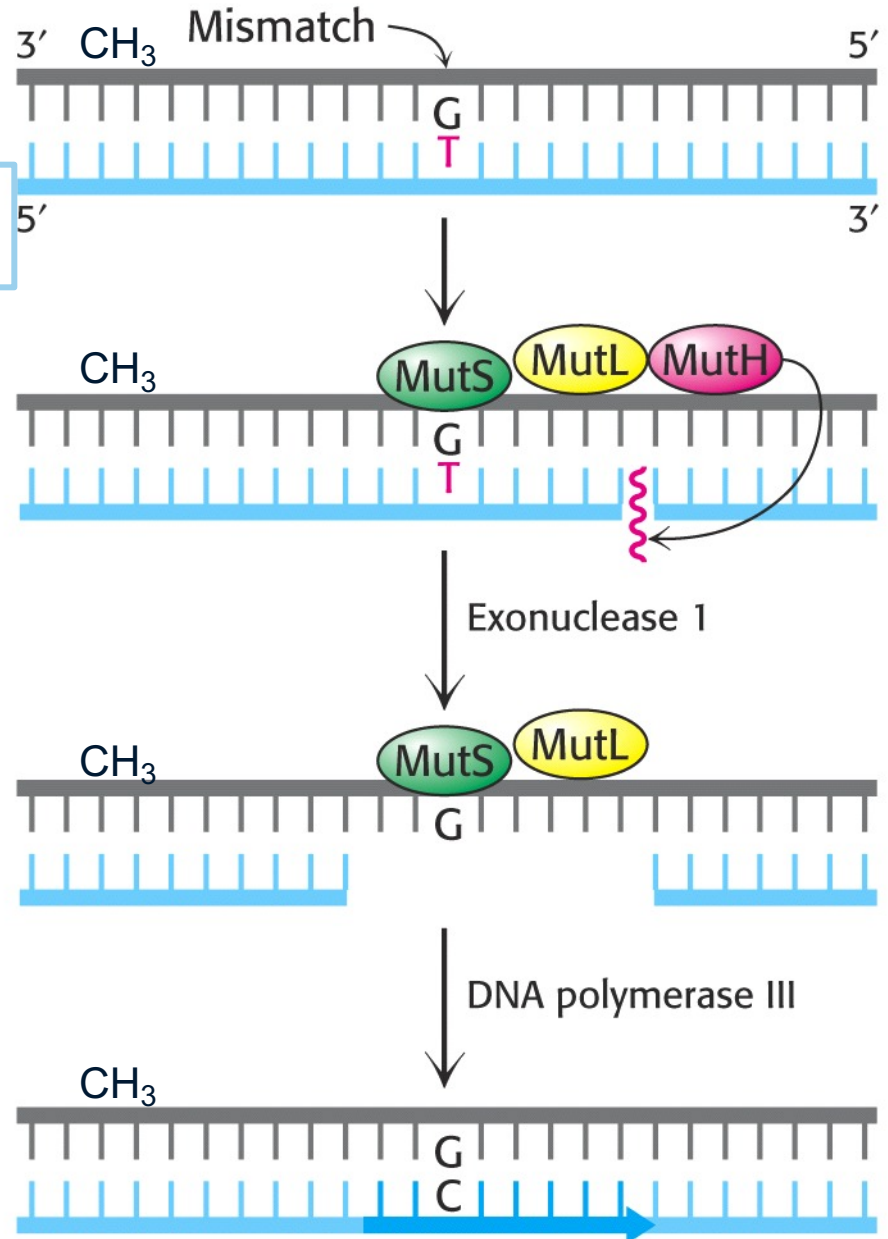


Mismatch repair

Fita nova

- Proteínas envolvidas:

- MutS, MutL, MutH
- Exonucleases
- SSB
- DnaI pol III



Sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão (SOS)
- Reparo por recombinação

Reparo por excisão de bases (BER)

- Remoção da base modificada

➤ ex: **Uracila** no DNA

(a) Deamination

- Proteínas envolvidas:

➤ **DNA glicosilases**

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

➤ **AP endonuclease**

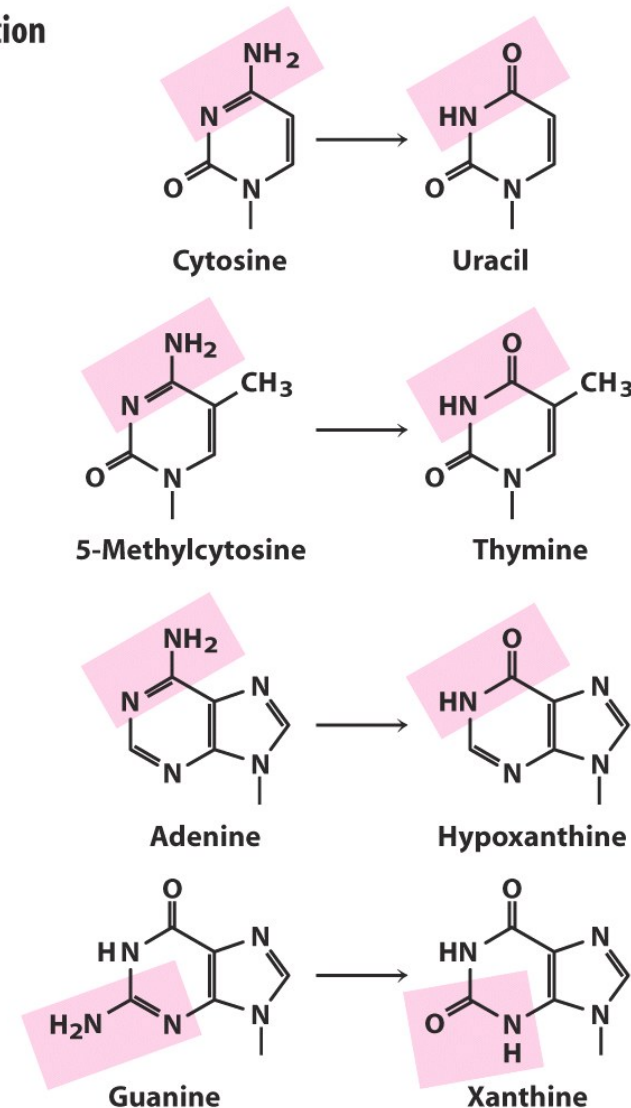
- Quebra ligação fosfodiéster

➤ **DNA polimerase I**

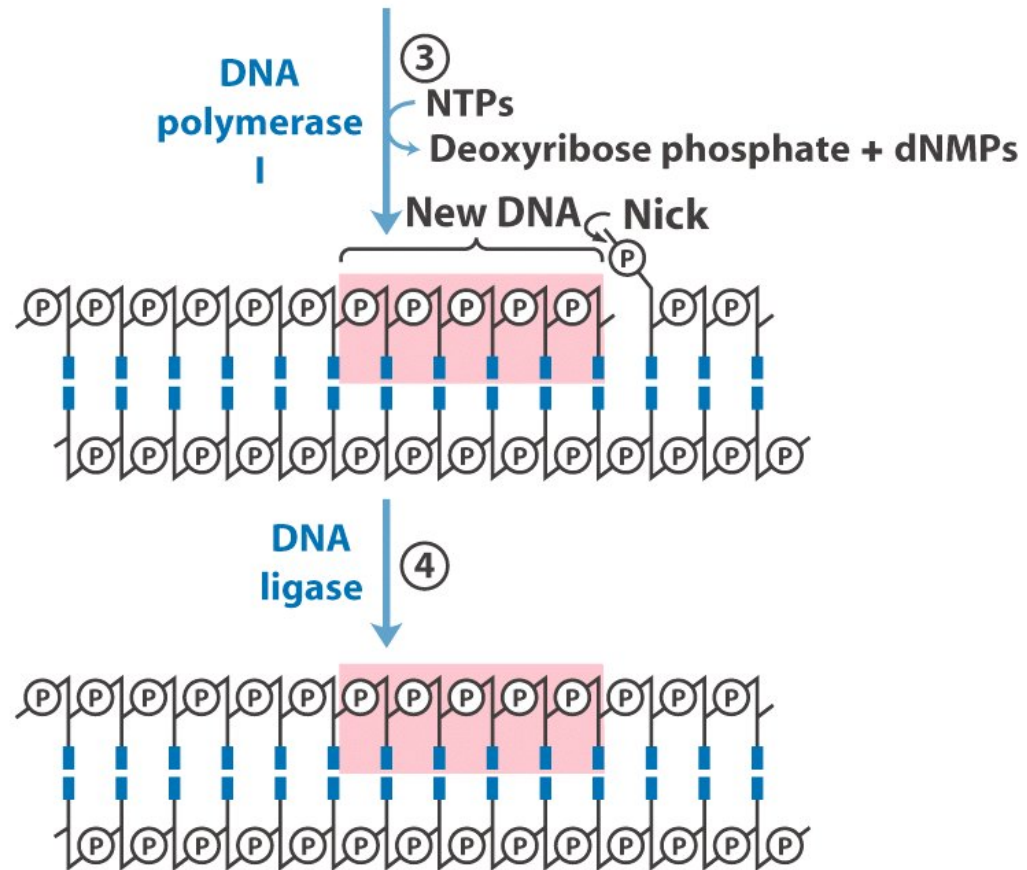
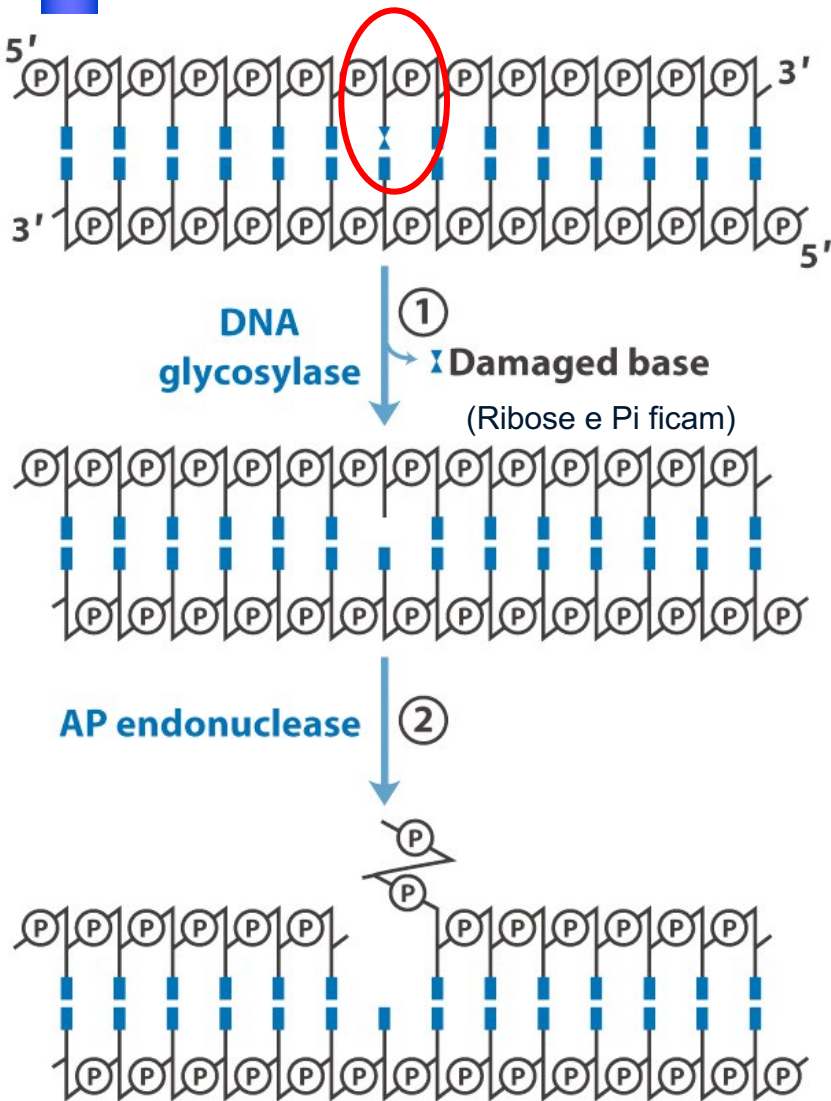
- Adiciona novos nucleotídeos

➤ **DNA ligase**

- Sela a fita



Reparo por excisão de bases (BER)

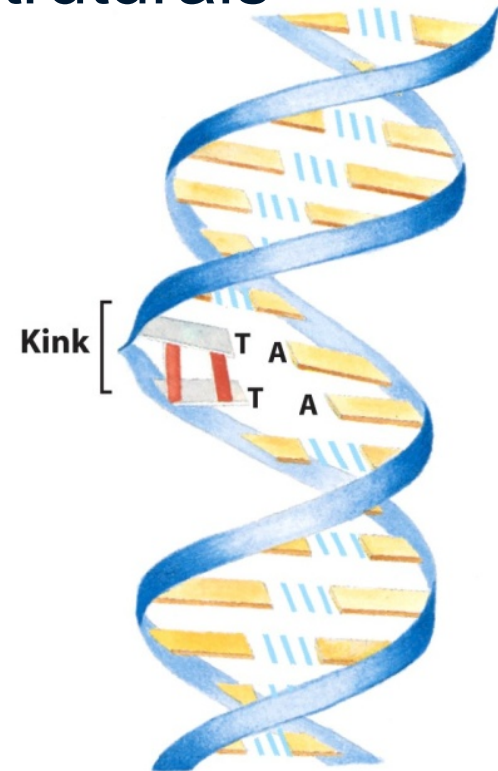


Sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão (SOS)
- Reparo por recombinação

Reparo por excisão de nucleotídeos (NER)

- Lesões que causam mudanças estruturais no DNA
 - ex: dímeros de pirimidina
- ABC exinuclease (UvrABC)
- Helicase (UvrD)
- DNA polimerase I
- DNA ligase



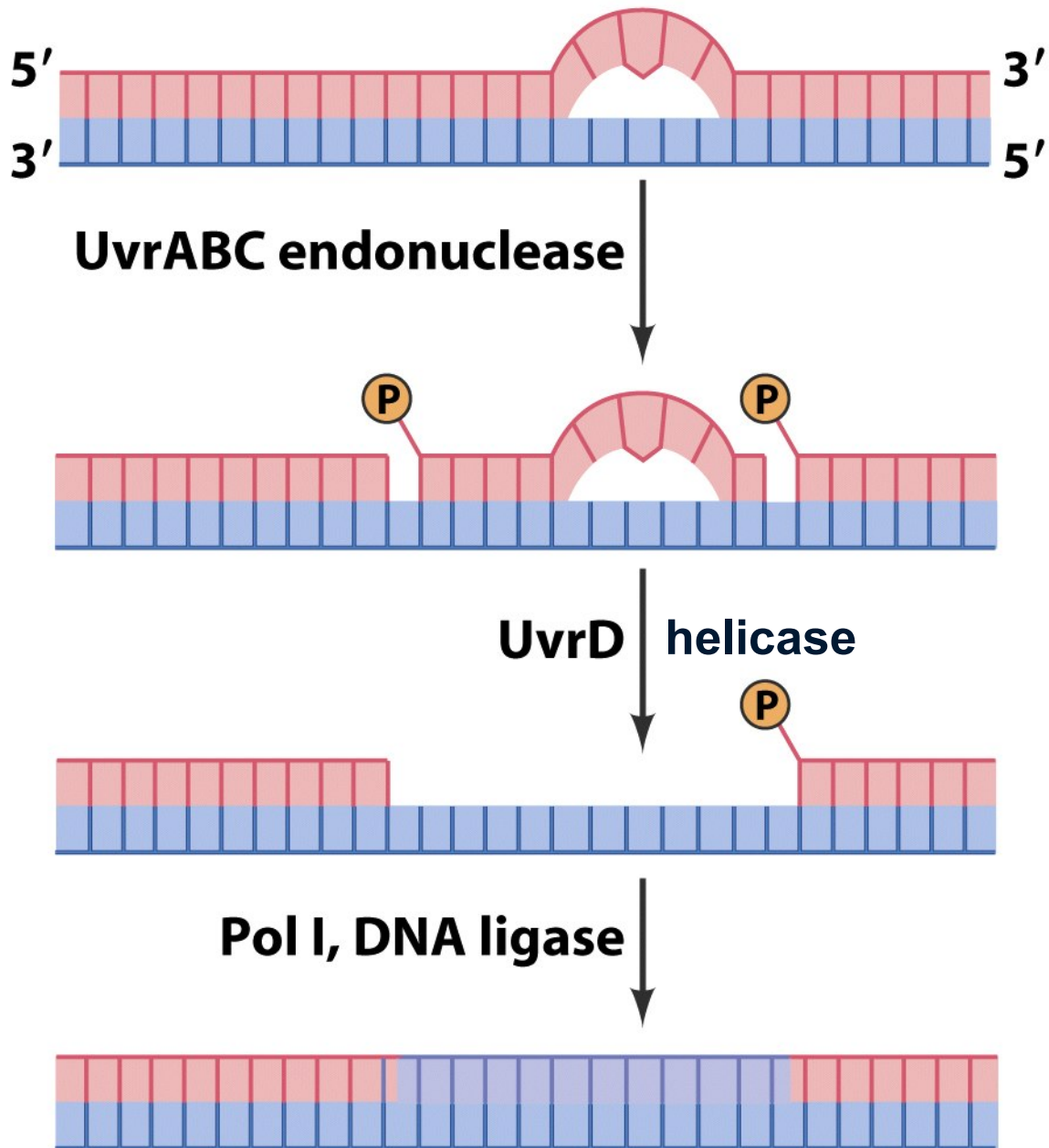
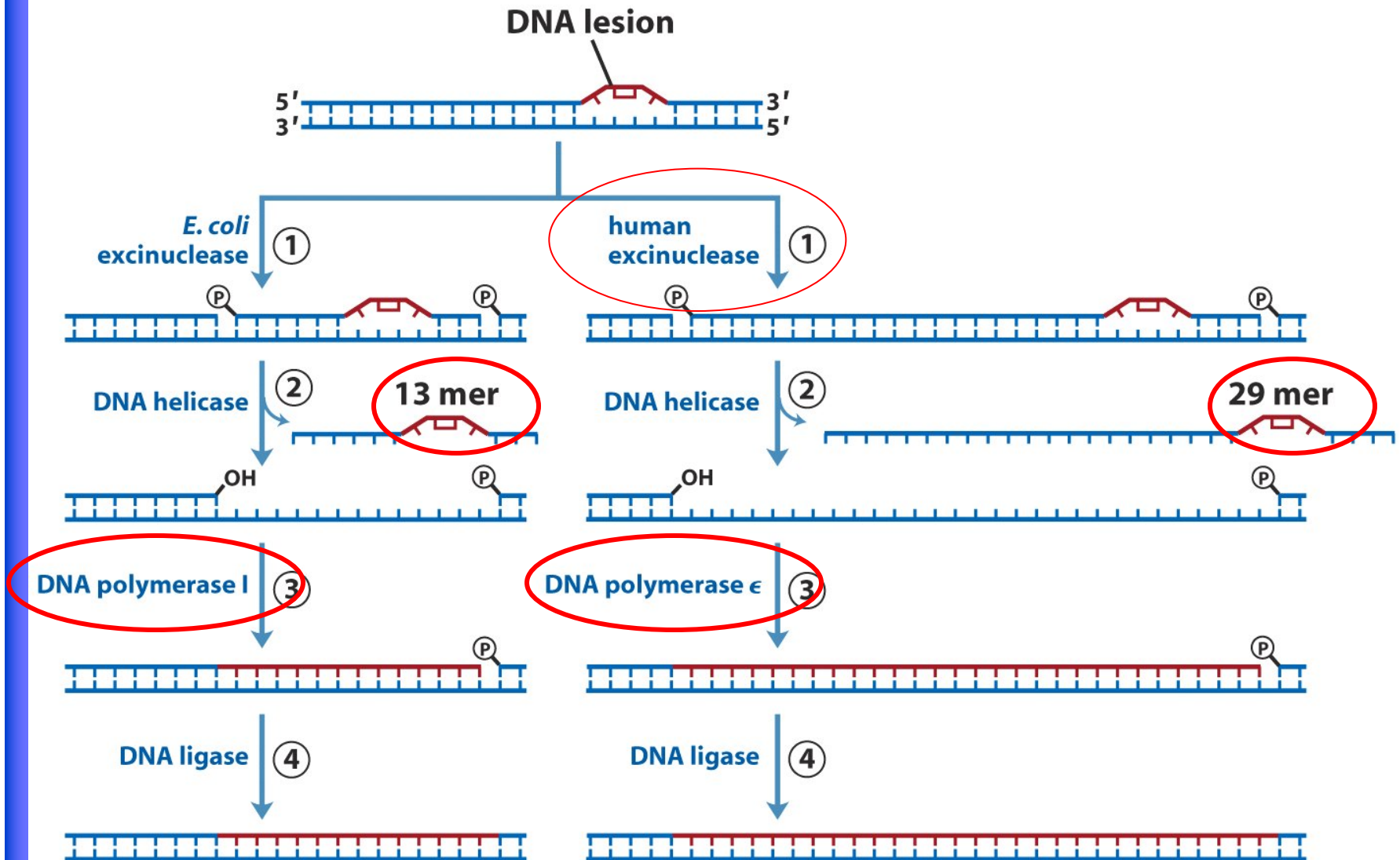


Figure 24-33 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

NER: *E. coli* x humano



Deficiências no NER causam Xeroderma pigmentoso e Síndrome de Cockayne

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

<http://revistapesquisa.fapesp.br/2012/09/14/luta-contr-o-sol/>

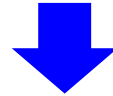
<http://g1.globo.com/goias/noticia/2014/05/povoado-em-goias-tem-maior-taxa-mundial-de-doenca-rara-de-pele.html>

<https://www.bbc.com/portuguese/brasil-45975890>

Mutações em diferentes genes de vias de reparo em XP e SC

Características clínicas			Características de reparação		
Grupos de complementação	Câncer de pele	Anomalias neurológicas	Frequência de ocorrência	Sensibilidade à UV	Observações
XP-A	+	++	Alta	+++	
XP-B	+/-	+++/+	Muito rara	++	XP/SC Combinadas.
XP-C	+	-	Alta	+	Deficiente no sistema de reparação global do genoma.
XP-D	+	++/-	Intermediária	++	Pacientes com PIBIDS e com XP-SC.
XP-E	+/-	-	Rara	+/-	
XP-F	+/-	-	Rara/intermediária	+	Reparação lenta mas prolongada.
XP-G	+/-	+++/+	Rara	++	SC
XP-V	+	-	Alta	+	Deficiente na reparação pós-replicação.
SC-A normal	-	++	Rara	+	Deficiente na reparação fita-seletiva.
SC-B normal	-	++	Alta	+	Deficiente na reparação fita-seletiva.

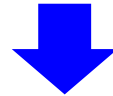
Mutações congênitas em genes de reparo de DNA



Sistemas de reparo deficientes



Lesões não reparadas



Aumento da frequência de mutação em outros genes



Câncer, imunodeficiência

Cosméticos com enzimas de reparo seriam eficientes na prevenção de câncer e envelhecimento?



DNA Total Repair

With Pure DNA Repair Enzymes



1.0 fl. oz

\$89.00

Quantity

Add to Cart

Groundbreaking formula addresses the assaults of environmental and UV stressors that damage skin, its DNA and result in the visible signs of photoaging. **DNA Total Repair, used twice daily, dramatically reduces those signs in a way no other serum can.** Recommended for all skin types. Ideal treatment for fine lines, wrinkles and discolorations to sun inflicted & other environmental damage. Dermatologist tested.

<https://www.wired.com/story/dna-repairing-sunscreen-legit-or-nah/>

<http://www.youtube.com/watch?v=axFJA4-SzYg>

Sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão
- Reparo por recombinação (SOS)

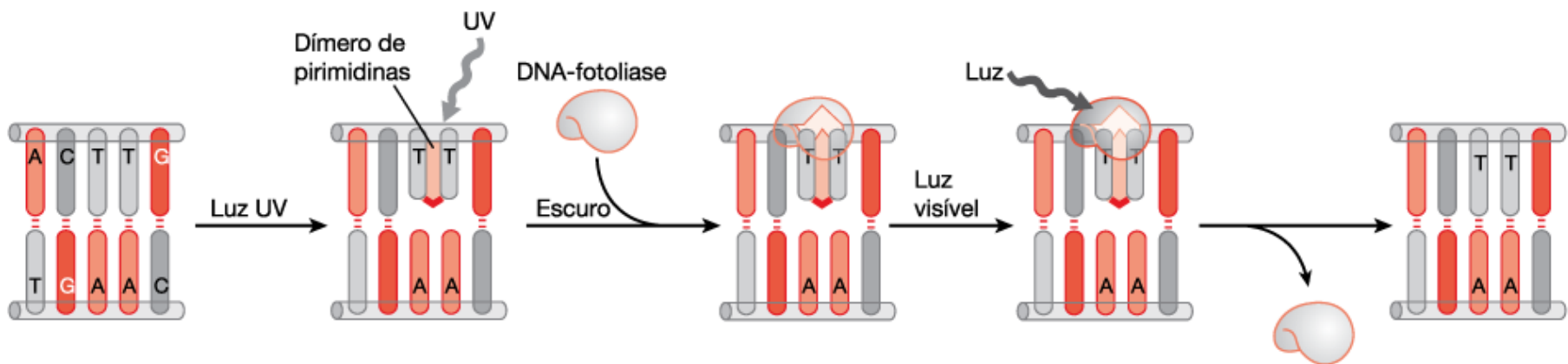
Sistemas de reparo direto em *E. coli*

- Foto-reativação enzimática
 - **Fotolases** reparam dímeros de pirimidina
 - mecanismo conservado em todos os organismos, exceto mamíferos placentários
- Enzimas que removem grupos alquil:
 - O⁶ - metilguanina DNA metiltransferase
 - AlkB (1-metilguanina, 3-metilcitosina)

Reparo de dímeros de pirimidinas por foto-reativação

- Fotoliase

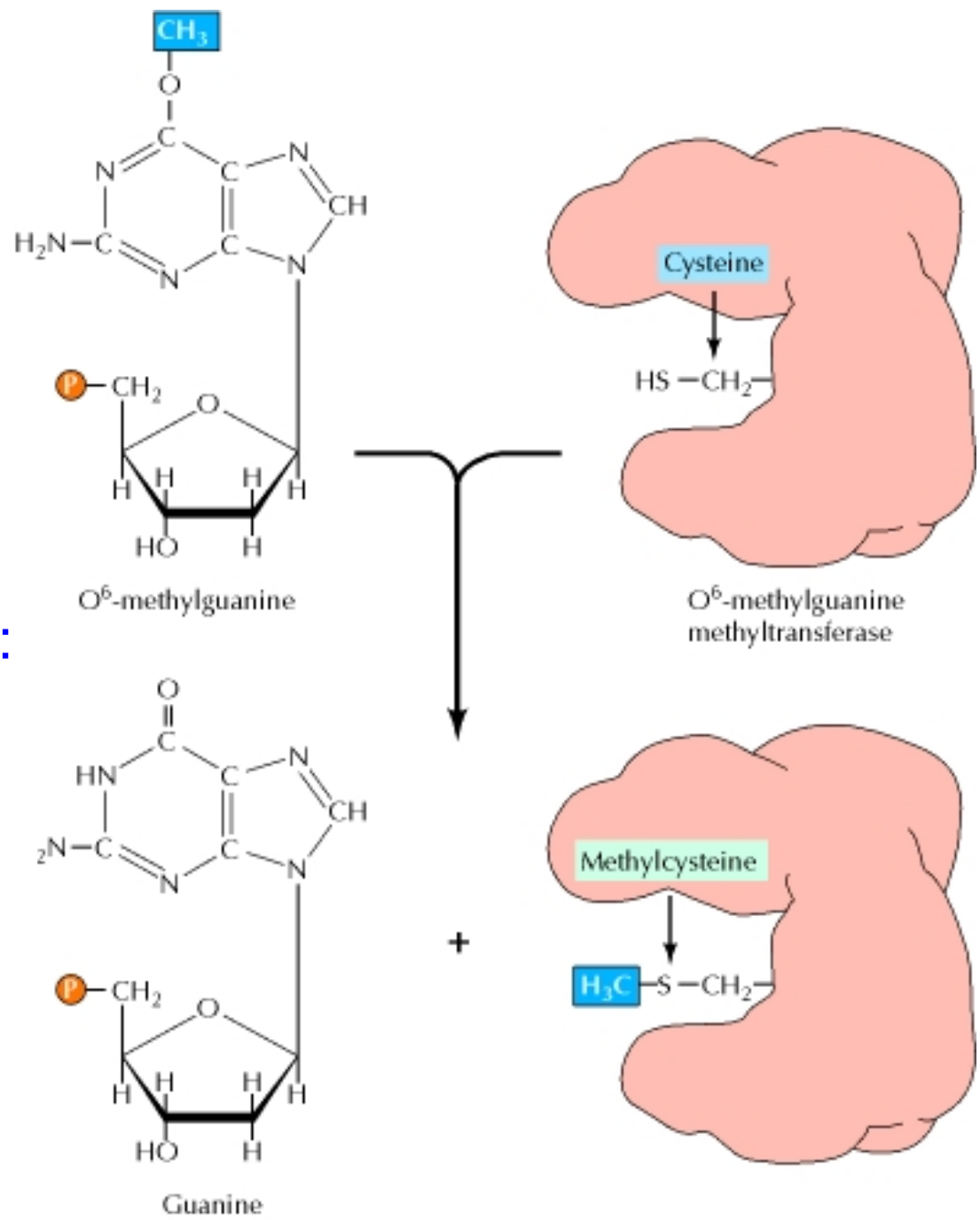
- Quebra as ligações entre os dímeros
- Enzima ativada por luz visível
- Ausente apenas em mamíferos placentários



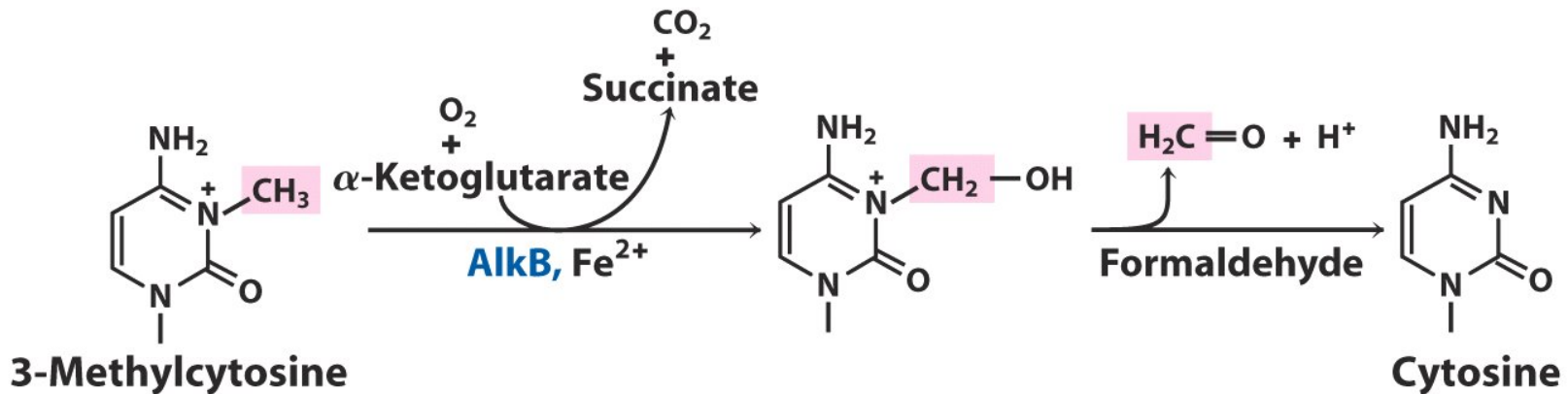
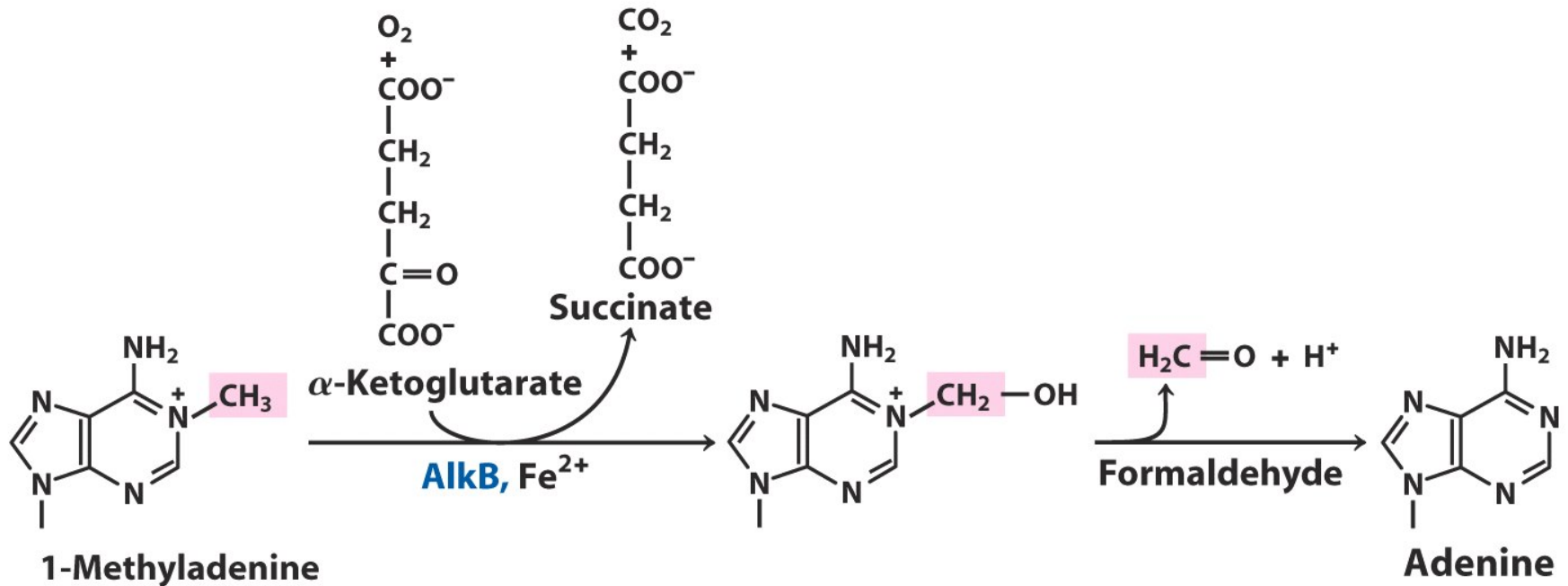
Reparo de bases alquiladas

O⁶ – metilguanina
DNA metiltransferase:

“enzima” não se recupera e é degradada



Reparo de bases alquiladas por AlkB

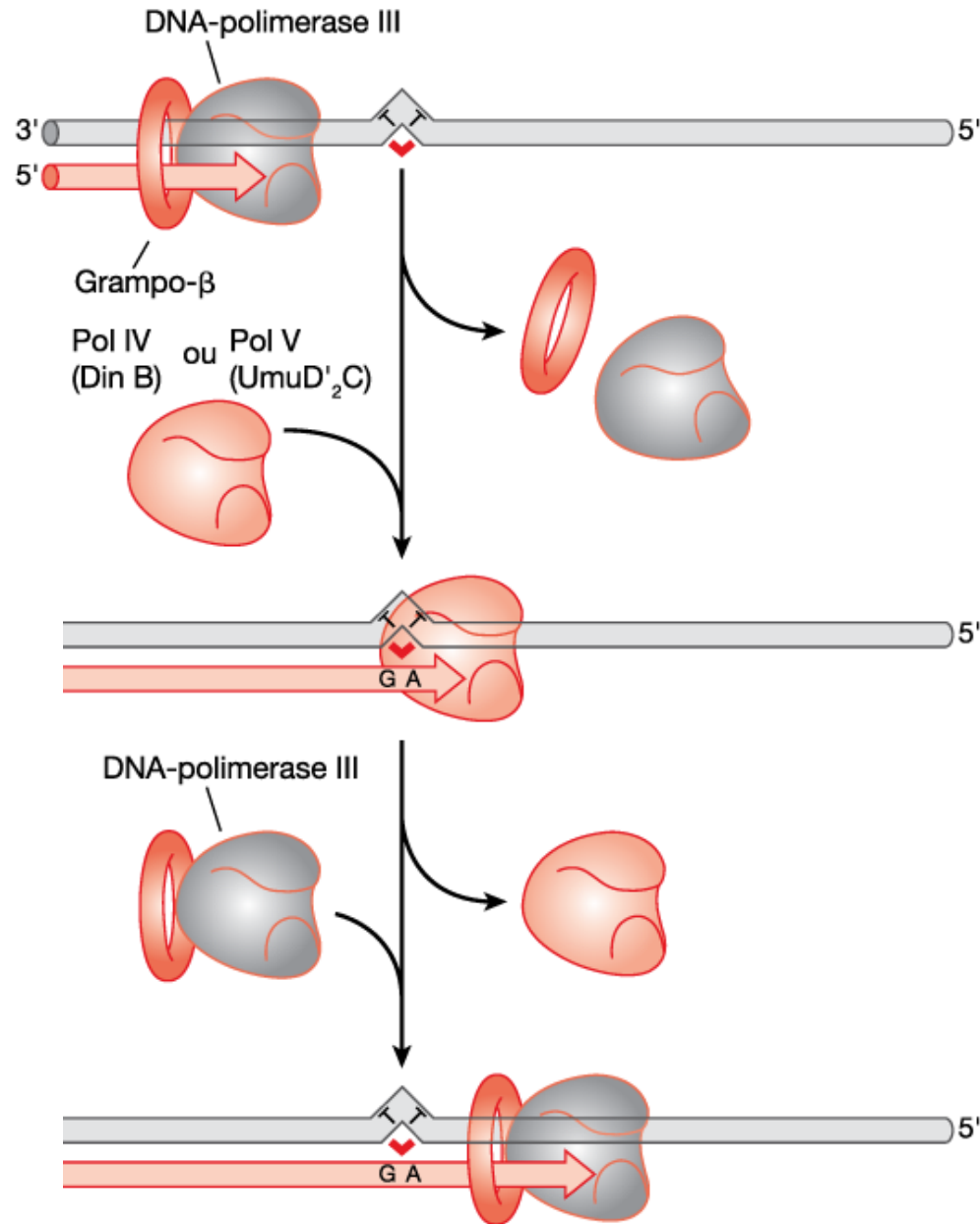


Sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão (SOS)
- Reparo por recombinação

Reparo por síntese translesão

- Resolve bloqueio da replicação
- DNA polimerase IV
 - Passível de erro
 - Incorpora nucleotídeos aleatórios
- Fonte de variabilidade genética?



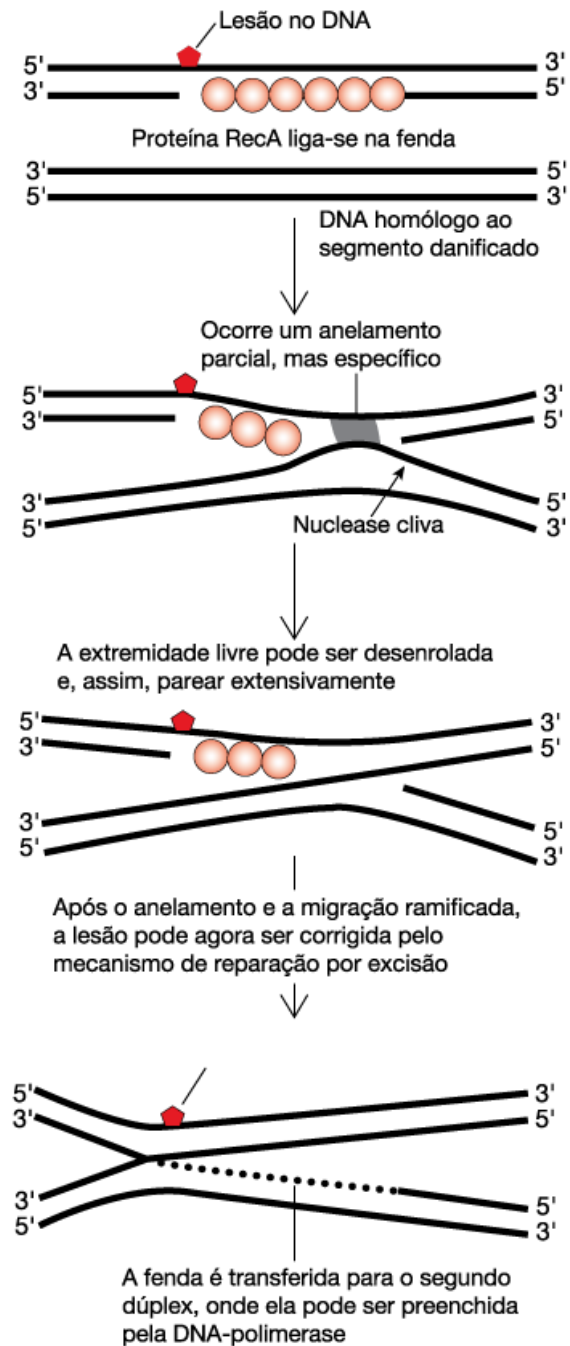
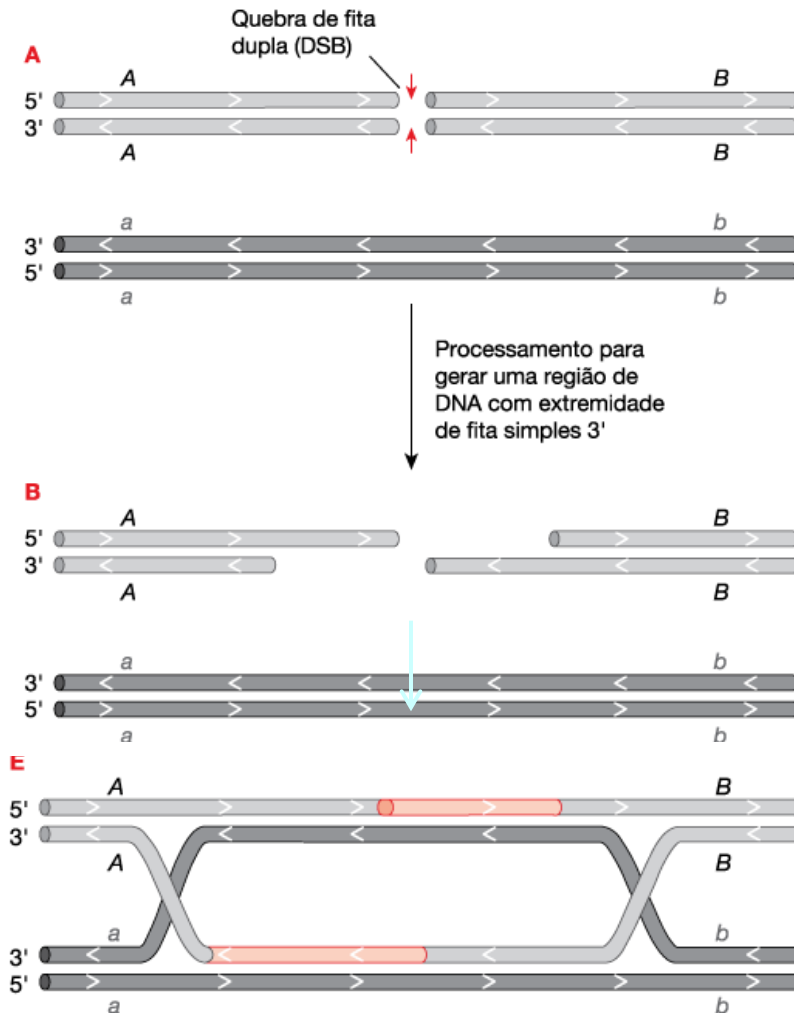
O sistema SOS pode contribuir para o aumento da resistência de bactérias a antibióticos

- Algumas classes de antibióticos geram condições de estresse que ativam o SOS
- Aumento da taxa de mutações e de recombinação
 - mudanças nos alvos dos antibióticos
 - alterações na expressão de genes que contribuem para a resistência

Sistemas de reparo em *E. coli*

- Mismatch repair (“reparo de pareamento errado”)
- Reparo por excisão de base (BER)
- Reparo por excisão de nucleotídeo (NER)
- Reparo direto
- Reparo por síntese translesão (SOS)
- Reparo por recombinação

Reparo por recombinação homóloga



O reparo de DNA é mais ativo durante o sono

Anaesthesia

Peri-operative medicine, critical care and pain



Association
of Anaesthetists

Original Article |  Free Access |

The effect of sleep deprivation and disruption on DNA damage and health of doctors

V. Cheung, V. M. Yuen, G. T. C. Wong, S. W. Choi ✉

First published: 23 January 2019 | <https://doi.org/10.1111/anae.14533>

nature
COMMUNICATIONS 

Article | OPEN | Published: 05 March 2019

Sleep increases chromosome dynamics to enable reduction of accumulating DNA damage in single neurons

D. Zada, I. Bronshtein, T. Lerer-Goldshtein, Y. Garini & L. Appelbaum ✉

Nature Communications **10**, Article number: 895 (2019) | [Download Citation](#) ↓

Células têm vários sistemas de reparo de DNA:

- Reparo de **pareamento errado (MMR)** é dirigido pela não metilação transitória de sequências GATC na fita recém sintetizada.
- Sistemas de reparo por **excisão de bases (BER)** reconhecem e reparam danos causados por agentes ambientais, como radiação e agentes alquilantes.
- Reparo por **excisão de nucleotídeos (NER)** retira um segmento da fita de DNA que inclui a lesão, deixando um intervalo que é preenchido pela DNA polimerase e depois ligado (DNA ligase).
- Alguns danos são reparados por **reversão direta** da lesão, por enzimas específicas.
- A **síntese translesão (resposta SOS)** permite a retomada da replicação, mas adiciona bases “erradas” e pode ser um mecanismo de aumento de diversidade em condições de estresse