

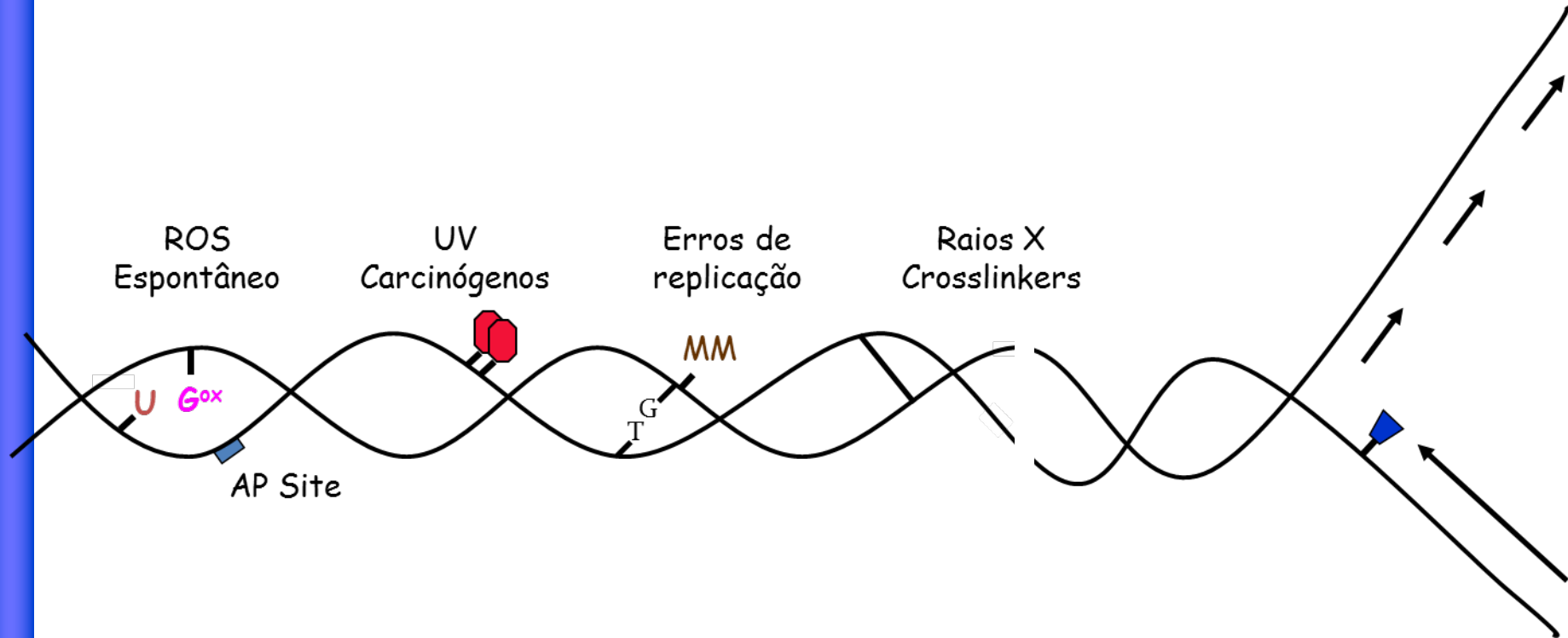


Universidade de São Paulo
Instituto de Química

QBQ317 – Aula 3 - 2019

Mutações, Danos no DNA e Mecanismos de Reparo

DNA está sujeito a danos



Danos no DNA podem gerar **mutações** ou bloqueio da replicação e morte celular

Portanto, os danos precisam ser removidos → **Reparo**

Se os **sistemas de reparo** não funcionam adequadamente, aparecem as

MUTAÇÕES:

modificações na sequência de bases no DNA

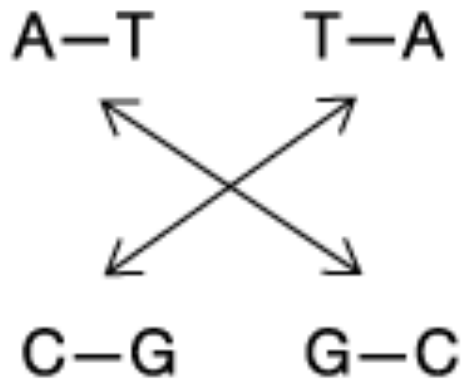
Podem ser classificadas de acordo com diferentes critérios

Mutações: modificações na sequência de bases no DNA

Classificação quanto à troca/adição/perda de nt:

- Mutação de ponto
 - Um nucleotídeo alterado
- Inserção
 - Nucleotídeos a mais no DNA
- Deleção
 - Nucleotídeos retirados do DNA

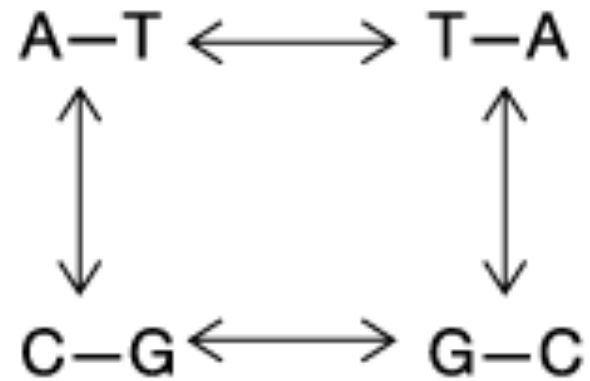
Mutações: modificações na sequência de bases no DNA



Transições

purina x purina

pirimidina x pirimidina



Transversões

purina x pirimidina

pirimidina x purina

Classificação quanto à substituição de bases

Mutações: modificações na sequência de bases no DNA

Outras classificações:

- espontâneas x induzidas
- somáticas x germinativas
- autossômicas x ligadas ao X (ou Y)
- dominantes x recessivas
- perda x ganho de função

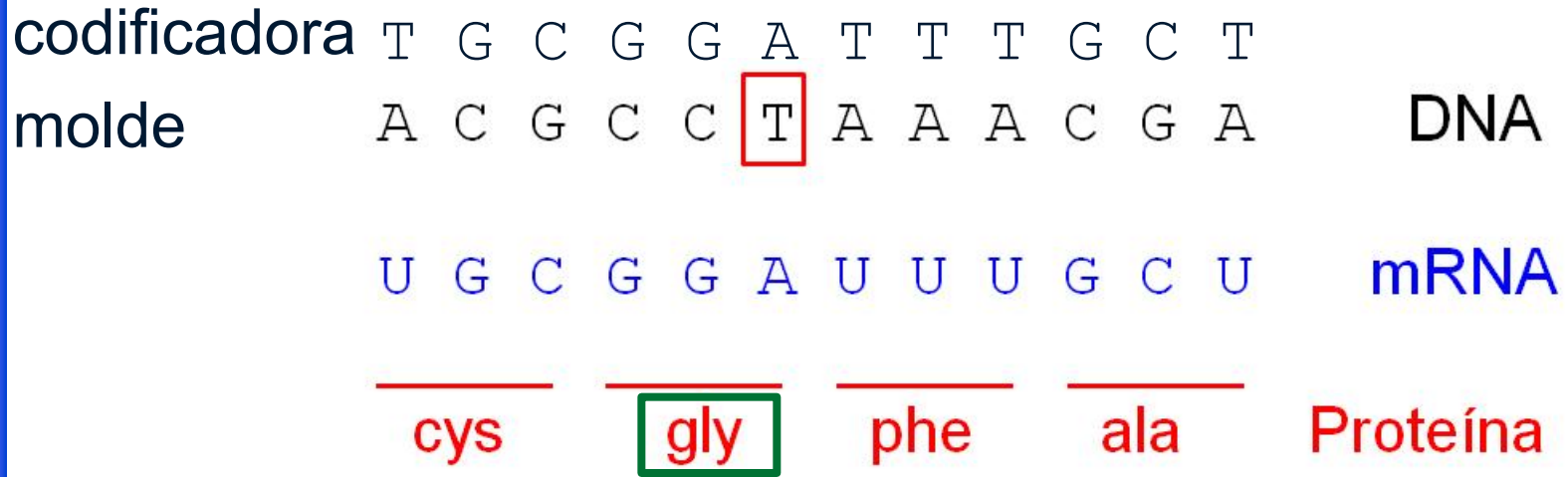
Mutação: classificação quanto ao efeito na proteína codificada

- Silenciosa
 - Não afeta o aminoácido codificado
- Missense
- Nonsense
- Mudança de fase (“frameshift”)

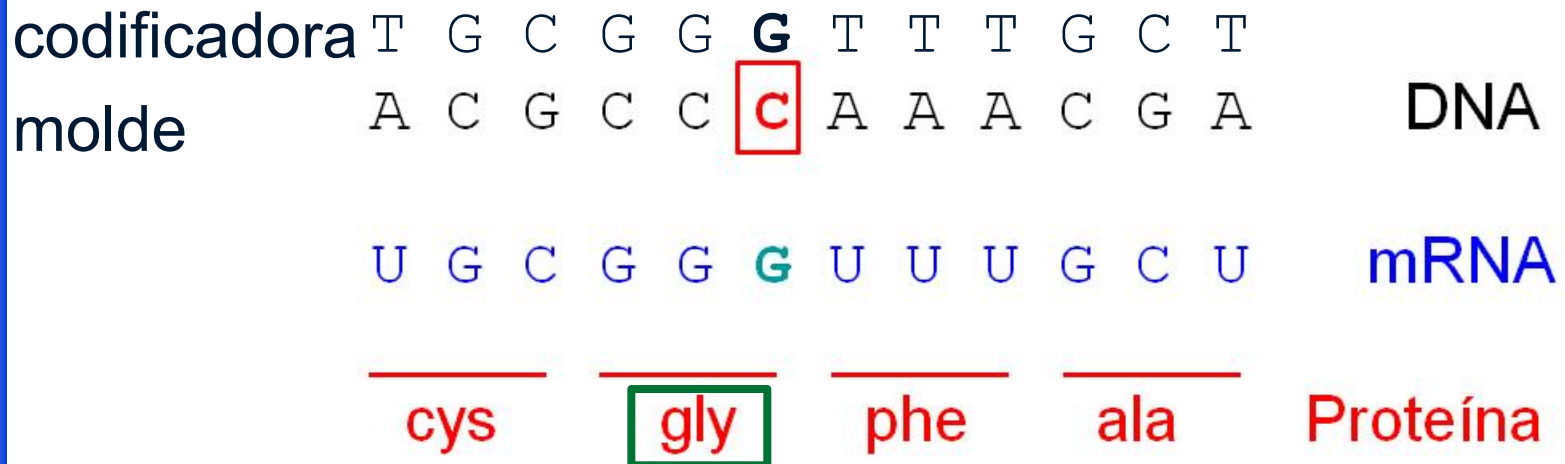
First letter of codon (5' end)
 ↓
 Second letter of codon
 →

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp
	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
	CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg
	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
G	GUA Val GUG Val	GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly

Mutação Silenciosa



substituição T→C



Mutação: classificação quanto ao efeito na proteína codificada

- Silenciosa

- Missense

➤ troca de aminoácido

- Nonsense

- Mudança de fase (“frameshift”)

First letter of codon (5' end)
 ↓
 Second letter of codon
 →

	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys	
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp	
	C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
		CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg
A		AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg	
	G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
GUA Val GUG Val		GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly	

Mutação Missense

codificadora T G C G G A T T T G C T
molde **A** C G C C T A A A C G A DNA

U G C G G A U U U G C U mRNA

cys gly phe ala Proteína

substituição A→T

codificadora A G C G G A T T T G C T
molde **T** C G C C T A A A C G A DNA

A G C G G A U U U G C U mRNA

ser gly phe ala Proteína

Mutação: classificação quanto ao efeito na proteína codificada

- Silenciosa

- Missense

- Nonsense

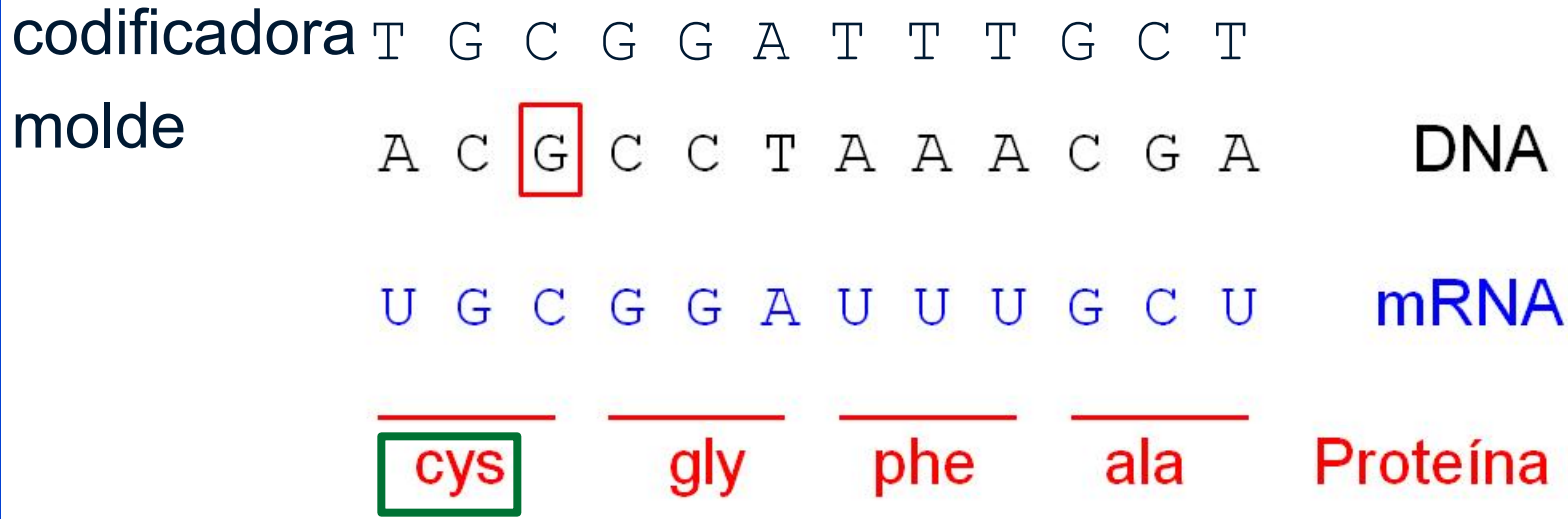
 - troca aminoácido por códon de parada

- Mudança de fase (“frameshift”)

First letter of codon (5' end)
↓
Second letter of codon →

	U	C	A	G
U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC Cys UGA Stop UGG Trp
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile AUG Met	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly

Mutação Nonsense



substituição G→T



Classificação quanto ao efeito na proteína codificada

- Silenciosa
- Missense
- Nonsense

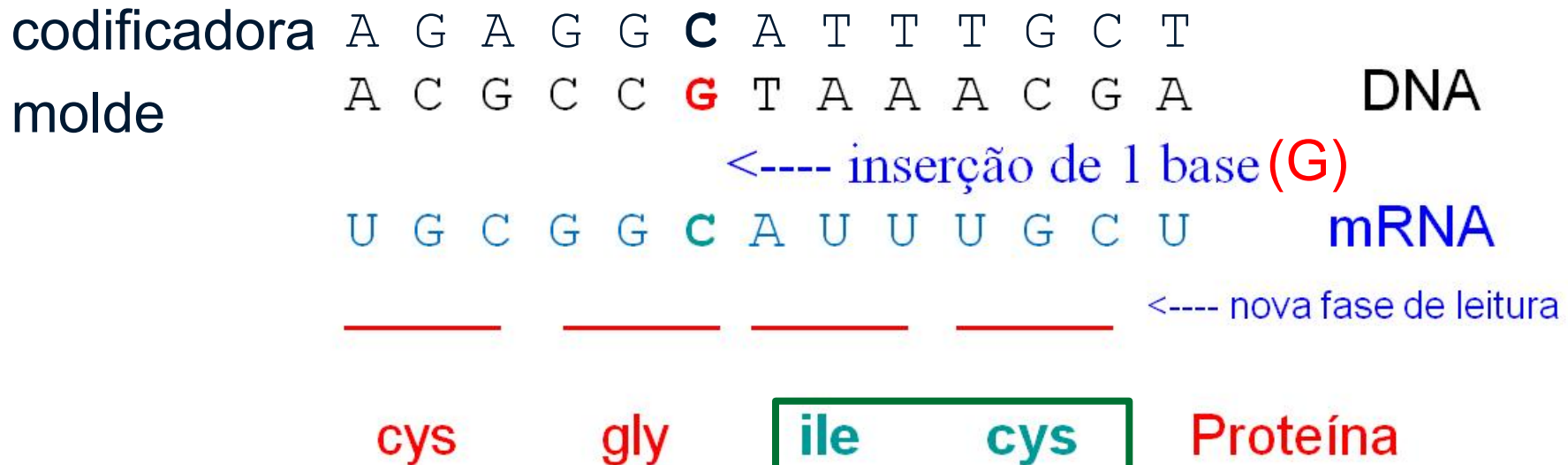
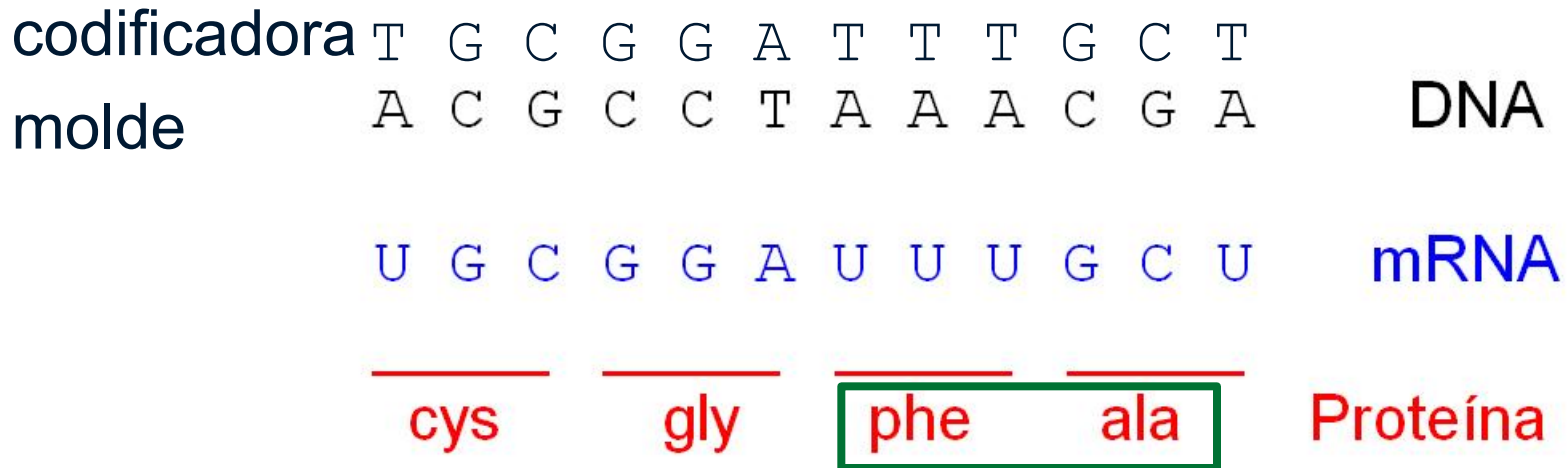
First letter of codon (5' end)

Second letter of codon

	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys	
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA Stop UAG Stop	UGA Stop UGG Trp	
	C	CUU Leu CUC Leu	CCU Pro CCC Pro	CAU His CAC His	CGU Arg CGC Arg
		CUA Leu CUG Leu	CCA Pro CCG Pro	CAA Gln CAG Gln	CGA Arg CGG Arg
A	AUU Ile AUC Ile	ACU Thr ACC Thr	AAU Asn AAC Asn	AGU Ser AGC Ser	
	AUA Ile AUG Met	ACA Thr ACG Thr	AAA Lys AAG Lys	AGA Arg AGG Arg	
	G	GUU Val GUC Val	GCU Ala GCC Ala	GAU Asp GAC Asp	GGU Gly GGC Gly
GUA Val GUG Val		GCA Ala GCG Ala	GAA Glu GAG Glu	GGA Gly GGG Gly	

- Mudança de fase (“frameshift”)
 - inserção ou deleção de bases (*exceto múltiplos de 3...*)

Mudança de fase de leitura - *frameshift*



Exemplo de mudança de fase (*frameshift*)

Normal beta chain

ATG GTG CAC CTG ACT CCT GAG CAG AAG TCT GCC GTT ACT GCC CTG TGG GGC AAG GTG AAC GTG GAT GAA GTT GGT GGT GAG GCC CTG GGC
Val His Leu Thr Pro Gln Gln Lys Ser Ala Val Thr Ala Leu Trp Gly Lys Val Asn Val Asp Gln Val Gly Gly Gln Ala Leu Gly

ATG GTG CAC CTG ACT CCT GAG CAG ^{-AA} G TCT GCC GTT ACT GCC CTG TGG GGC AAG GTG AAC GTG GAT GAA GTT GGT GGT GAG GCC CTG GGC

ATG GTG CAC CTG ACT CCT GAG CAG G TCT GCC GTT ACT GCC CTG TGG GGC AAG GTG AAC GTG GAT GAA GTT GGT GGT GAG GCC CTG GGC

HbThalassemia (*frameshift*) -AA

ATG GTG CAC CTG ACT CCT GAG CAG GTC TGC CGT TAC TGC CCT GTG GGG CAA GGT GAA CGT GGA TGA AGT TGG TGG TGA GGC CCT GGG C
Val His Leu Thr Pro Gln Gln Val Cys Arg Tyr Cys Pro Val Gly Gln Gly Gln Arg Ala Stop

missense from the point of deletion/insertion

create an in-frame early termination

Talassemia:

mutações na cadeia β da hemoglobina

Mutações Espontâneas x Induzidas

- **Espontâneas**

- inserção/deleção de bases por deslizes da DNA polimerase
- Modificações tautoméricas das bases
- Modificações químicas espontâneas

- **Induzidas**

- Danos no DNA causadas por agentes físicos (UV, raio-X) ou químicos (espécies reativas de oxigênio, agentes alquilantes, etc)

Acontecem quando os mecanismos de reparo falham

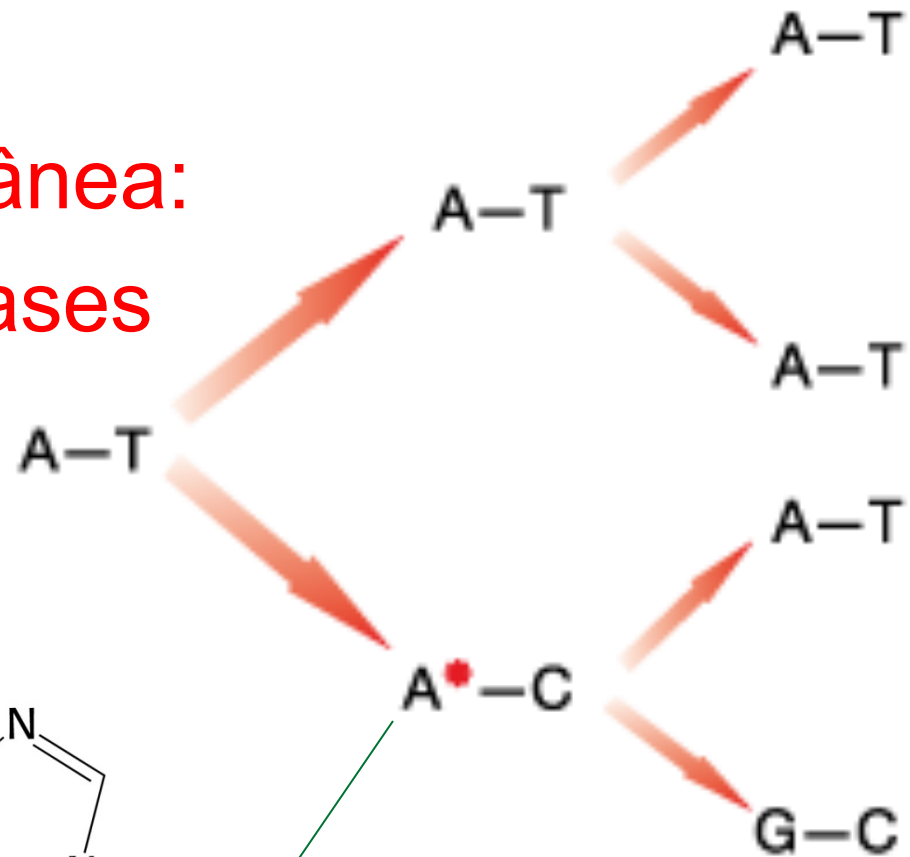
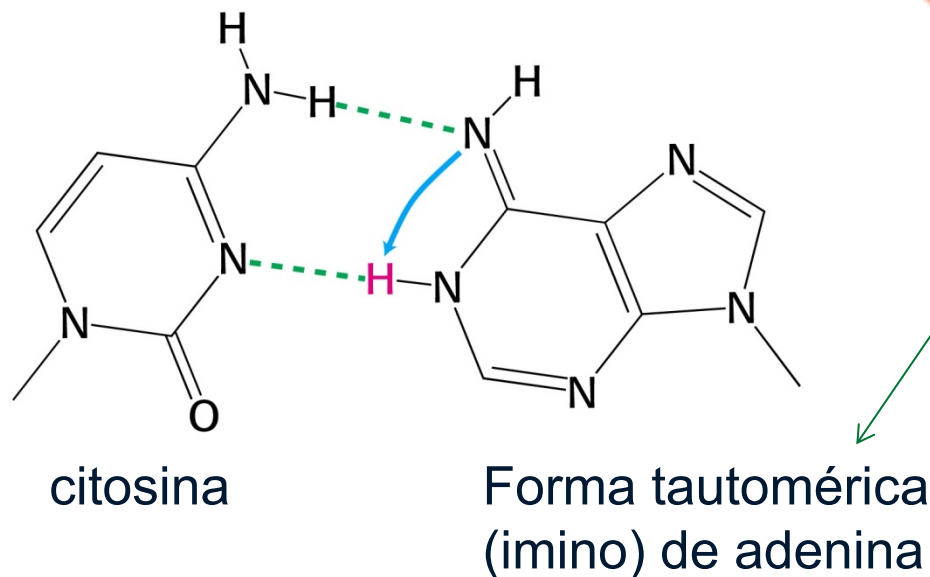
Como as mutações aparecem?

- Erros de replicação
 - inserção/deleção de bases por deslizamentos da DNA polimerase
 - Modificações tautoméricas das bases
- Modificações químicas espontâneas
 - Desaminação e depurinação
- Efeitos de mutágenos (causam danos ao DNA)
 - químicos (espécies reativas de O e N, agentes alquilantes)
 - físicos (UV, raio-X)

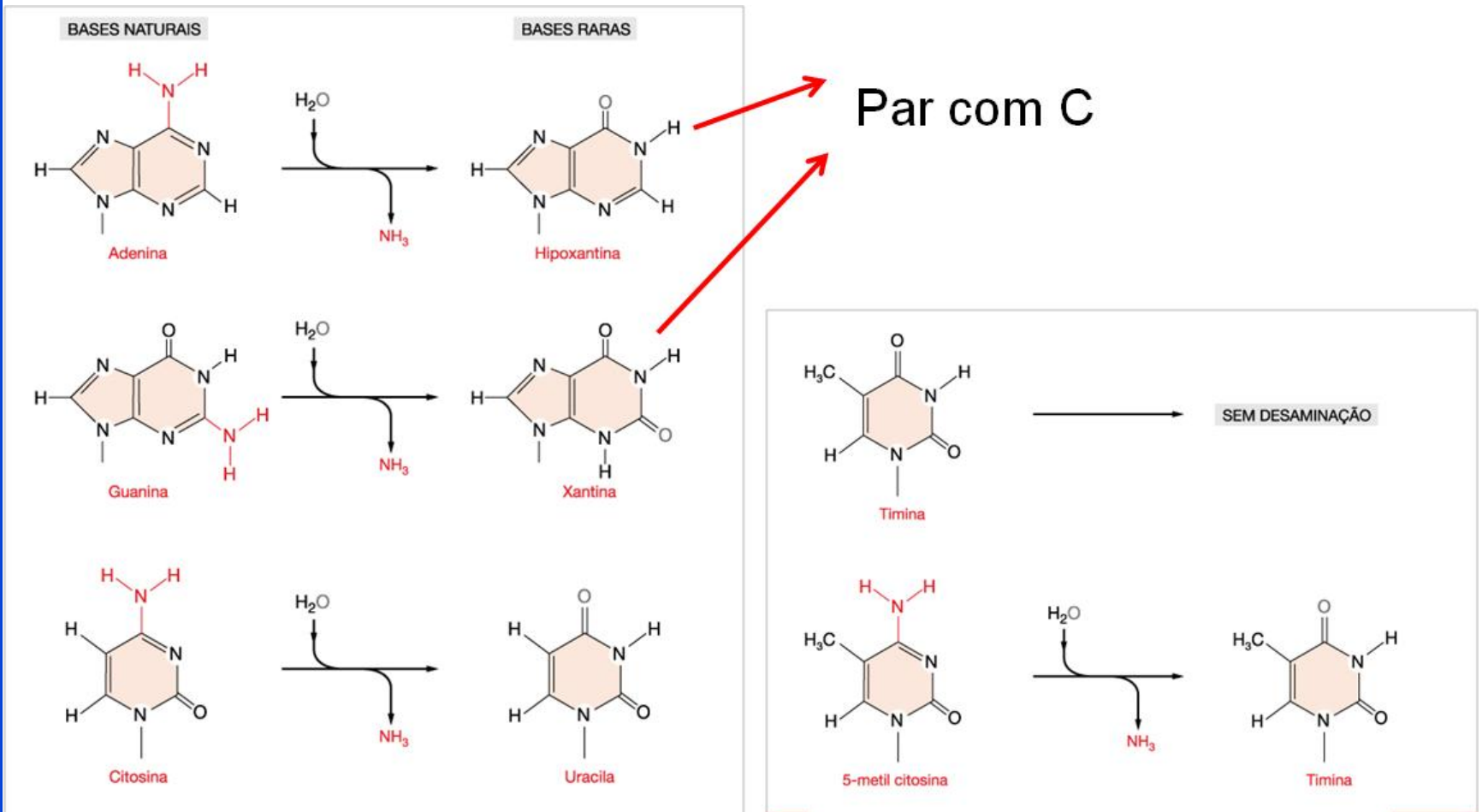
Acontecem quando os mecanismos de reparo falham

Bases alteradas implicam em mutações nas próximas gerações

Alteração espontânea:
Tautômeros de bases

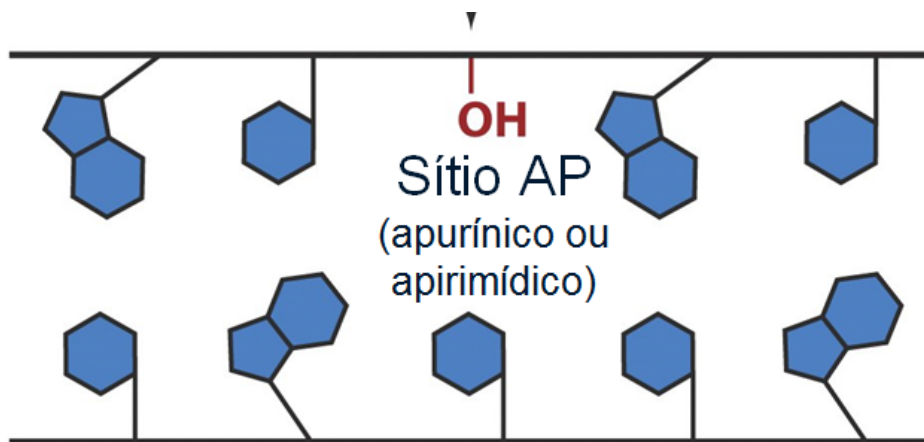
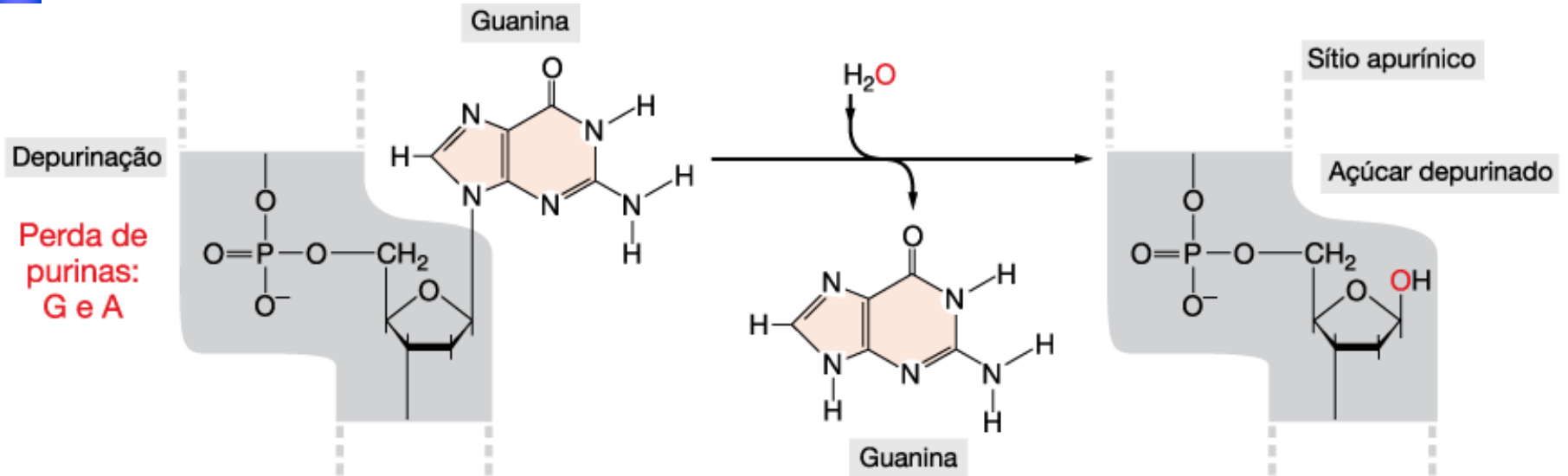


Desaminação (espontânea)



CG \rightarrow AT

De(s)purinação (espontânea) no DNA



Sítioapurínico:

DNA polimerase pode inserir qualquer base na fita filha ou pode haver um bloqueio da replicação

Resumindo: alterações espontâneas

- Formas tautoméricas
 - formas instáveis das bases
- Desaminação
 - hidrólise e perda de um NH_3 de A, C ou G
- Despurinação
 - Hidrolise do nucleotídeo, com perda de A ou G

Danos causados por agentes químicos

- 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.

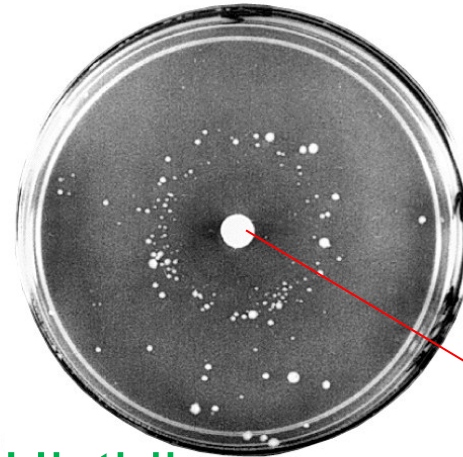


Junho 2014

Teste de Ames para agentes mutagênicos

Salmonella typhymurium his⁻ : Não cresce na ausência de histidina

Revertentes:
Mutações
espontâneas

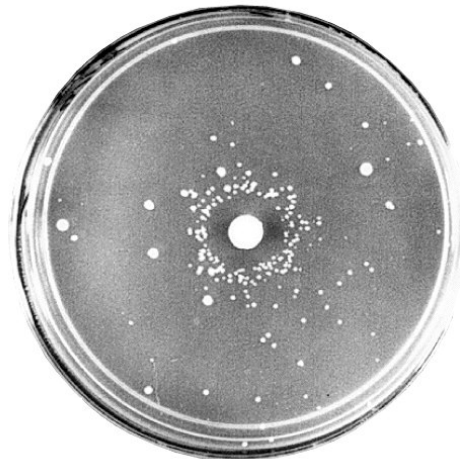


+++

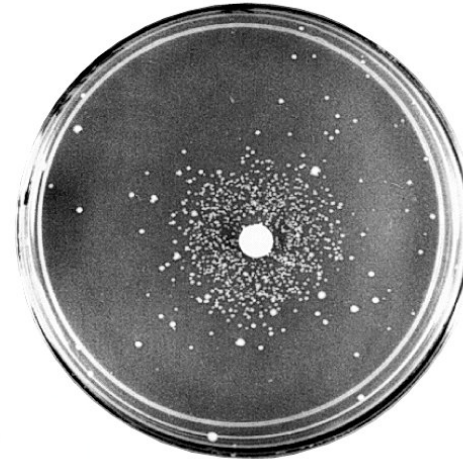
Meio sem Histidina

Disco de
papel com
composto a
ser testado

++



+



Concentrações decrescentes de agente mutagênico

Agentes que causam danos ao DNA

- Químicos:
 - Agentes que causam desaminação de bases
 - Agentes alquilantes
 - Análogos de base
 - Agentes intercalantes
- Físicos:
 - UV
 - Radiação

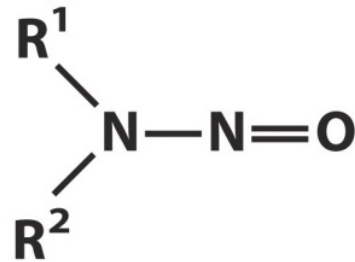
Agentes químicos que causam danos ao DNA



Sodium nitrite



Sodium nitrate



Nitrosamine

Nitrous acid precursors



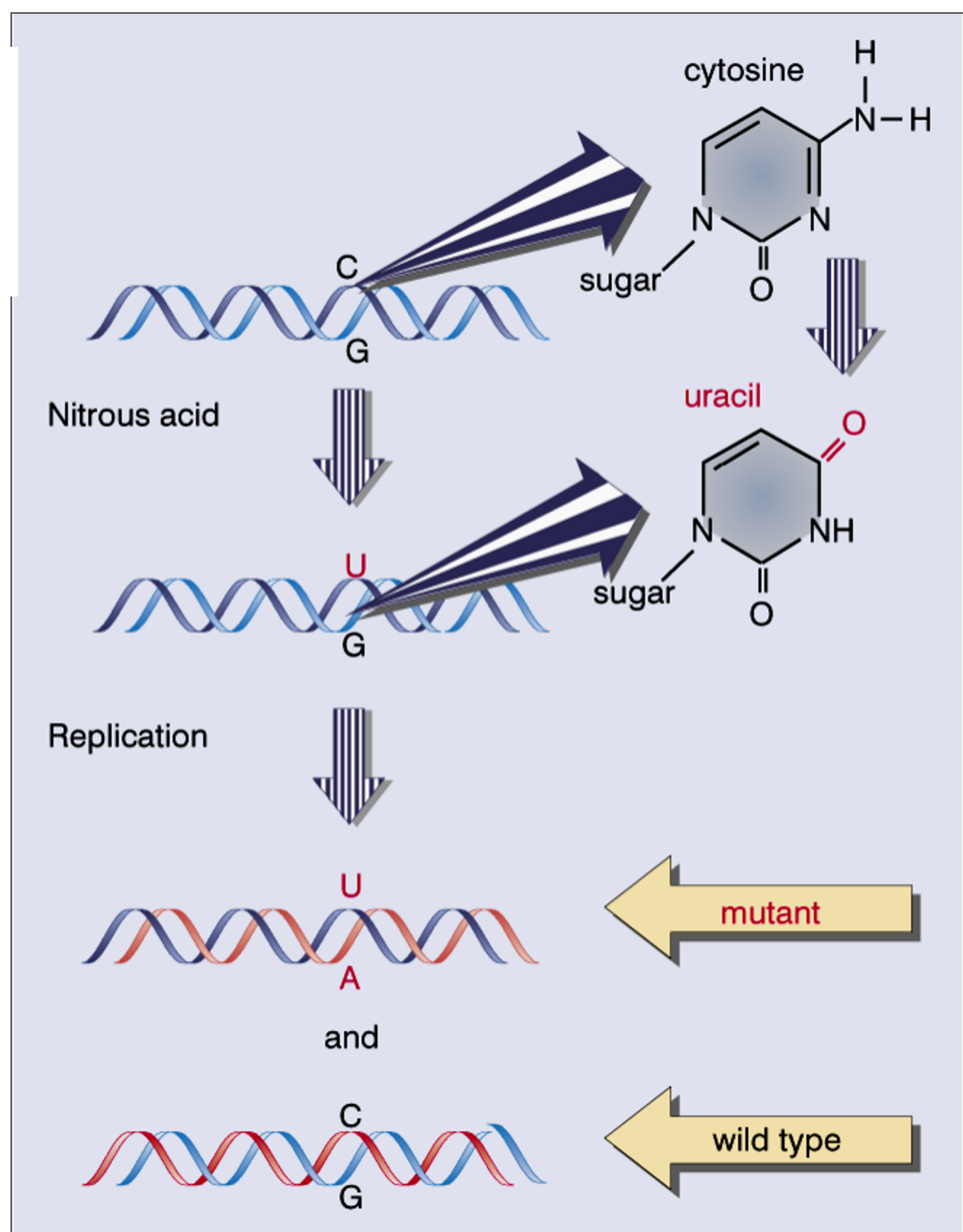
conservantes
de alimentos

HNO_2 – promove desaminação de bases

Desaminação da citosina

Desaminação da **citosina** por **ácido nitroso** origina **uracila**, que pareia com **A**

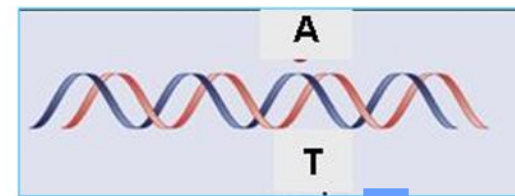
1:10⁷ nt/24h
100 /dia
mutação
CG → TA



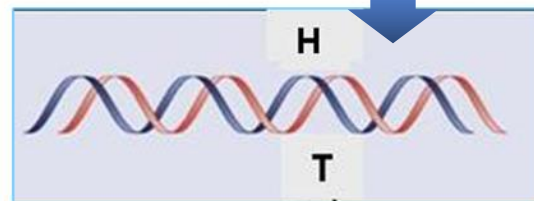
Desaminação da adenina

Desaminação da **adenina** por **ácido nitroso** origina **hipoxantina**, que pareia com **C**

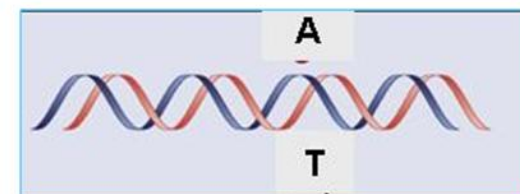
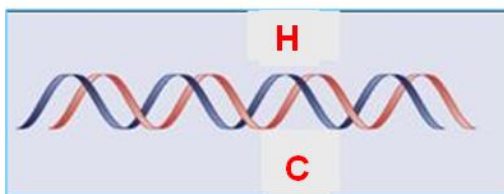
mutação
AT → GC



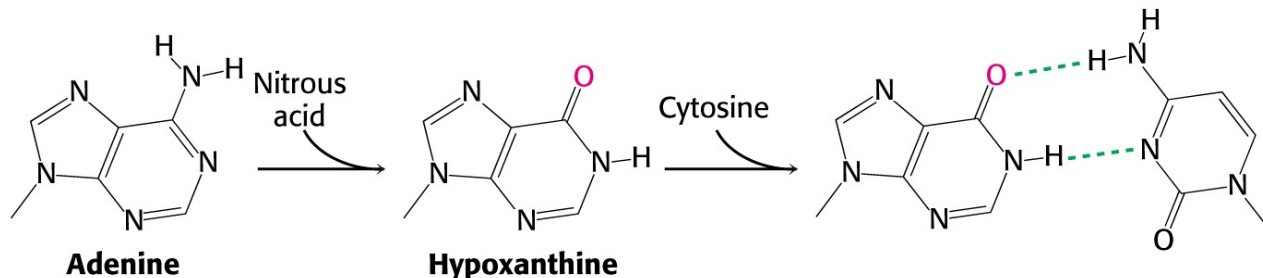
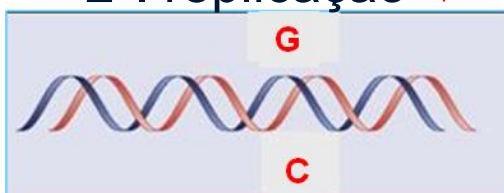
ácido nitroso



1ª. replicação



2ª. replicação

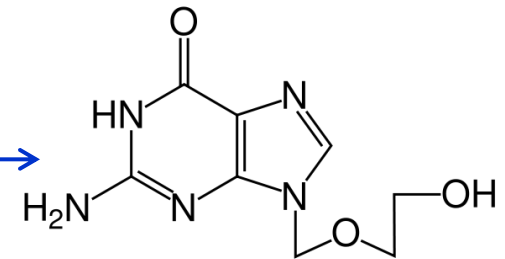


Agentes químicos que causam danos ao DNA

- Análogos de base
 - são moléculas “parecidas” com as bases, que podem ser incorporadas ao DNA
 - Bloqueiam a replicação
 - Impedem pareamento das bases ou
 - Não fornecem 3'OH livre

Análogos de base são usados como antivirais e quimioterápicos

- Herpes: aciclovir

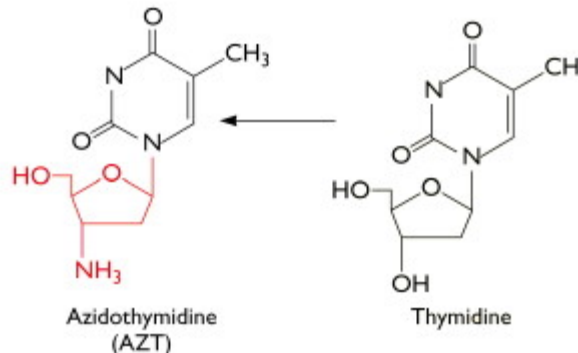


Bloqueio da replicação

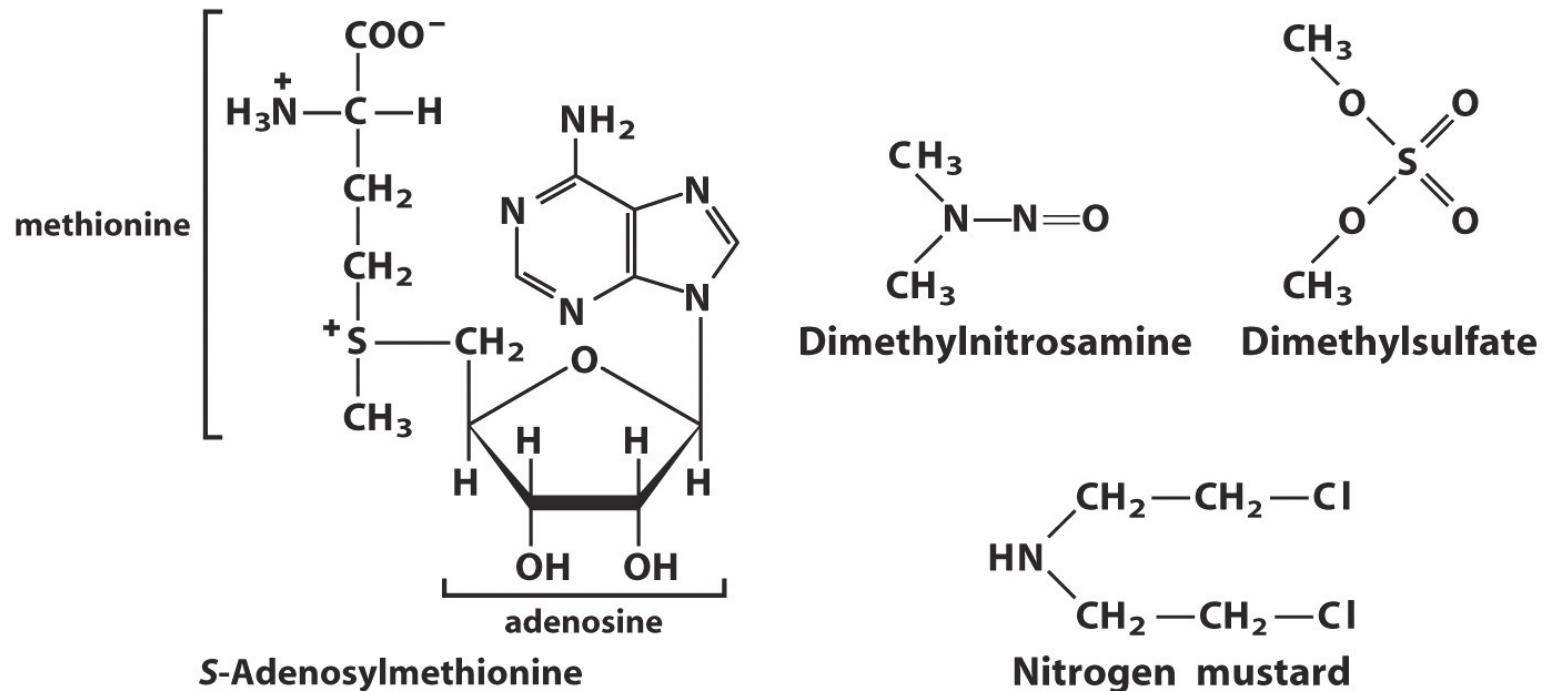
- HIV: AZT



Clube de Compras Dallas

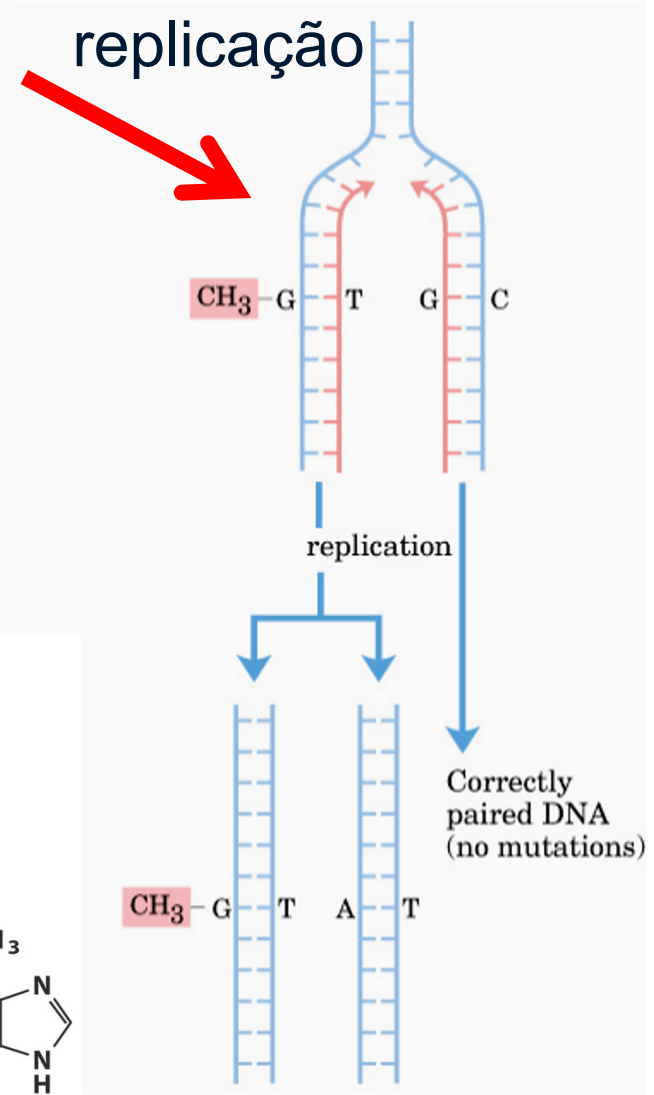
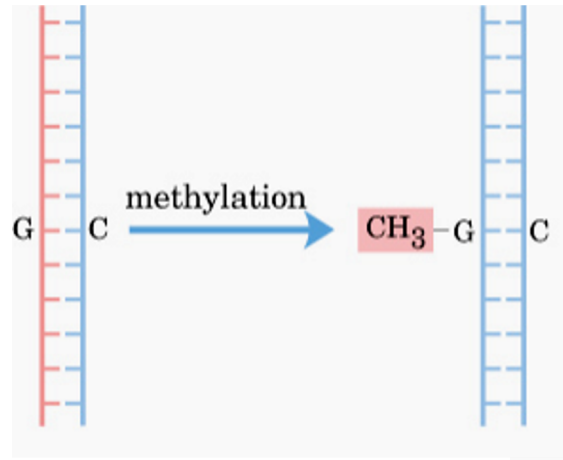


Agentes químicos que causam danos ao DNA



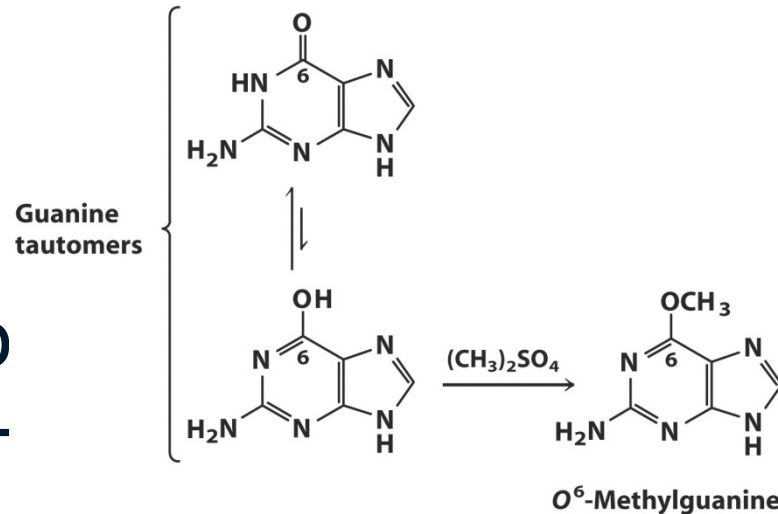
Agentes alquilantes:
Modificação de bases

Metilação da guanina



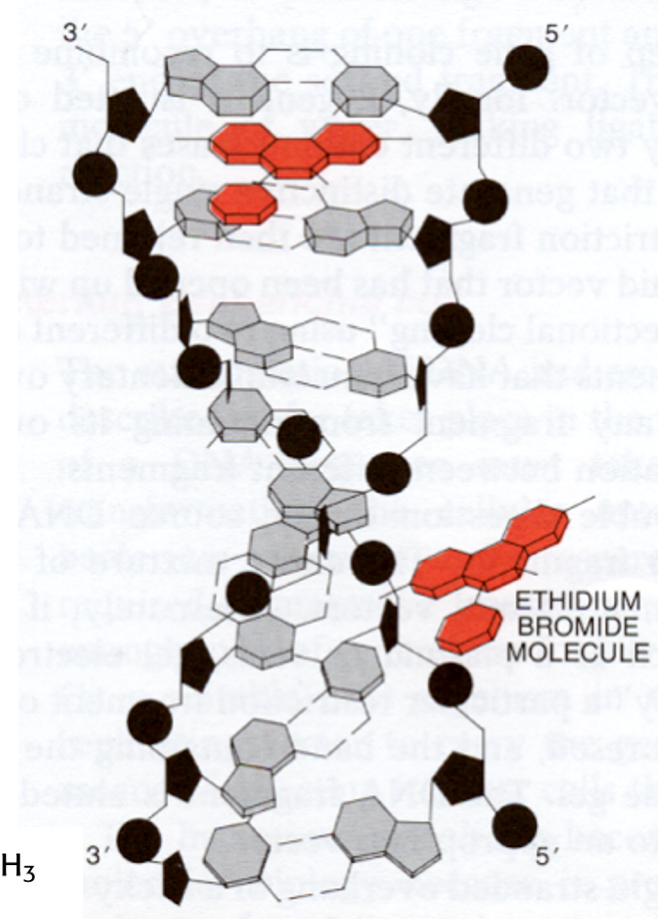
Metilação da **guanina** por agente alquilante origina **O⁶-metilguanina**, que **pareia com T**

mutação
GC \rightarrow AT

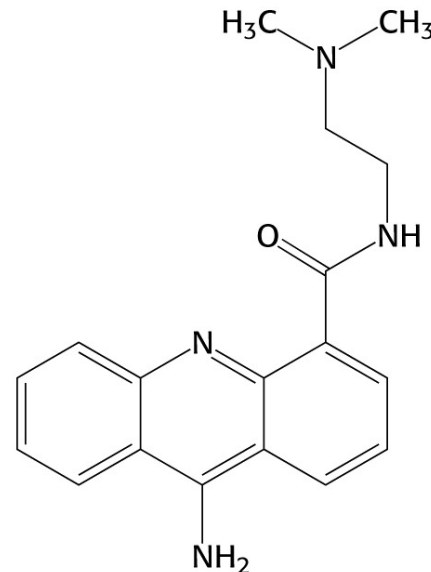
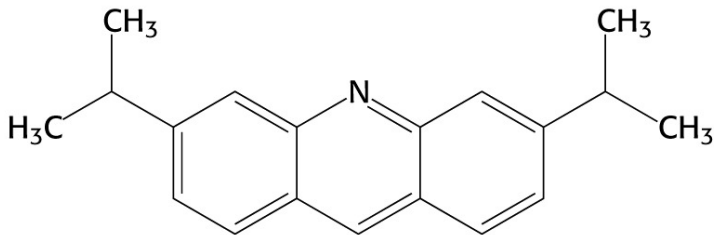


Agentes intercalantes

- Moléculas planas que se intercalam entre as bases
- Causam inserção ou deleção



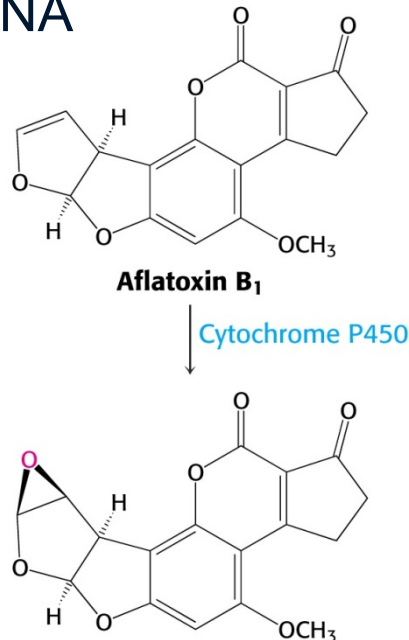
Laranja de acridina



9-amino-(N-(2-dimetilamino etil)acridina-4-carboxamida

Aflatoxina

- Produzida pelo fungo *Aspergillus flavus*, que contamina sementes e cereais, especialmente amendoim
- Composto gerado por sua metabolização no fígado é altamente reativo
 - alquila bases e/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
20/05/2017 | 20h27



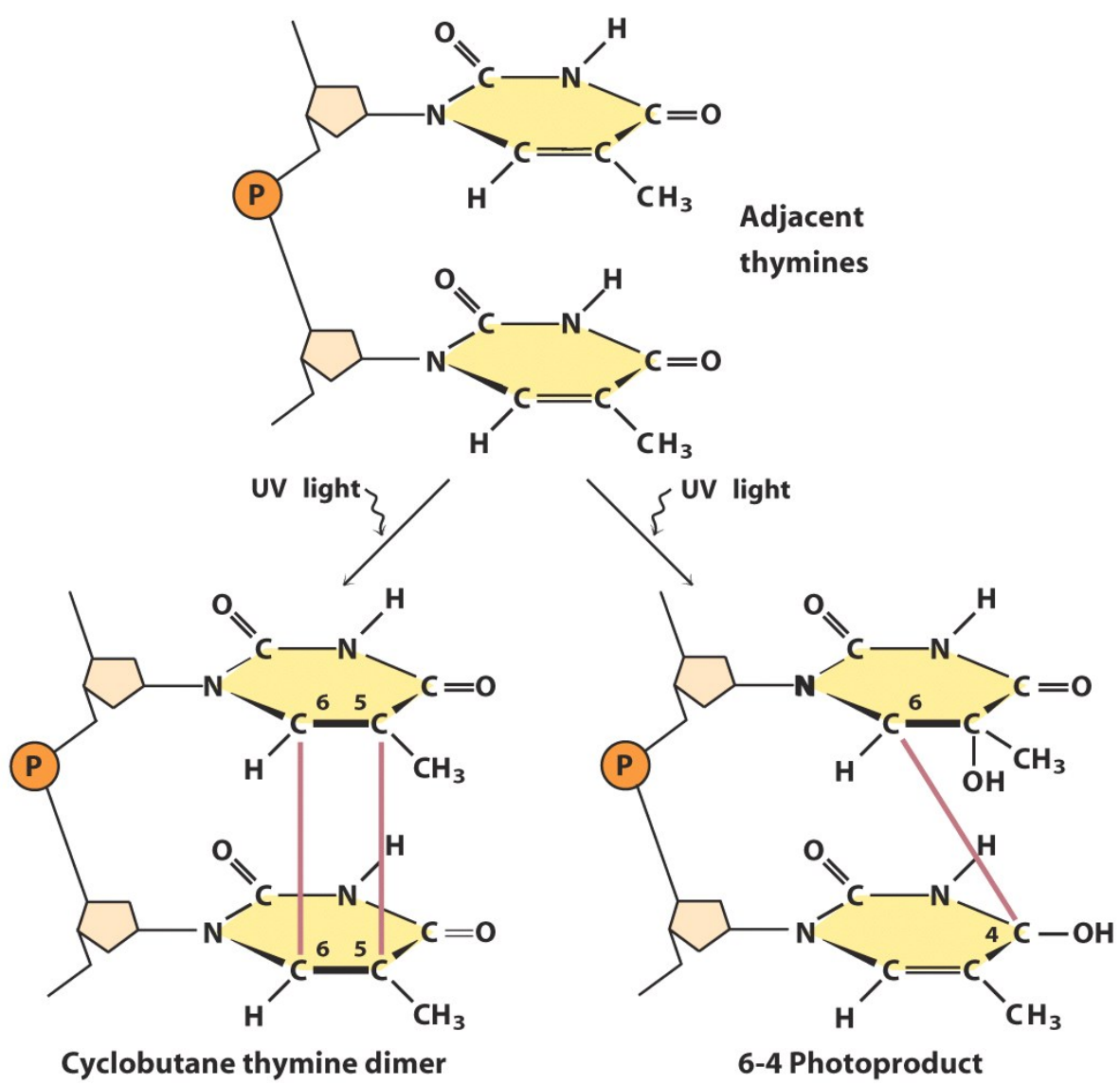
🔊 Ouvir texto 🖨️ Imprimir 📧 Comunicar erro

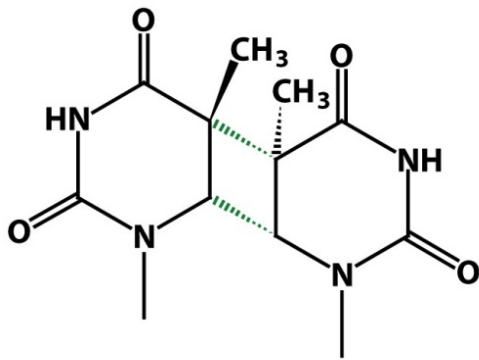
Reprodução



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

Dímeros de Pirimidinas inducidos por UV





Thymine dimer

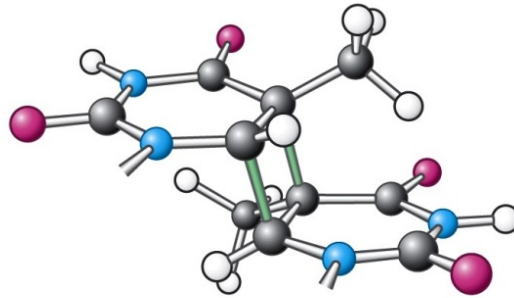
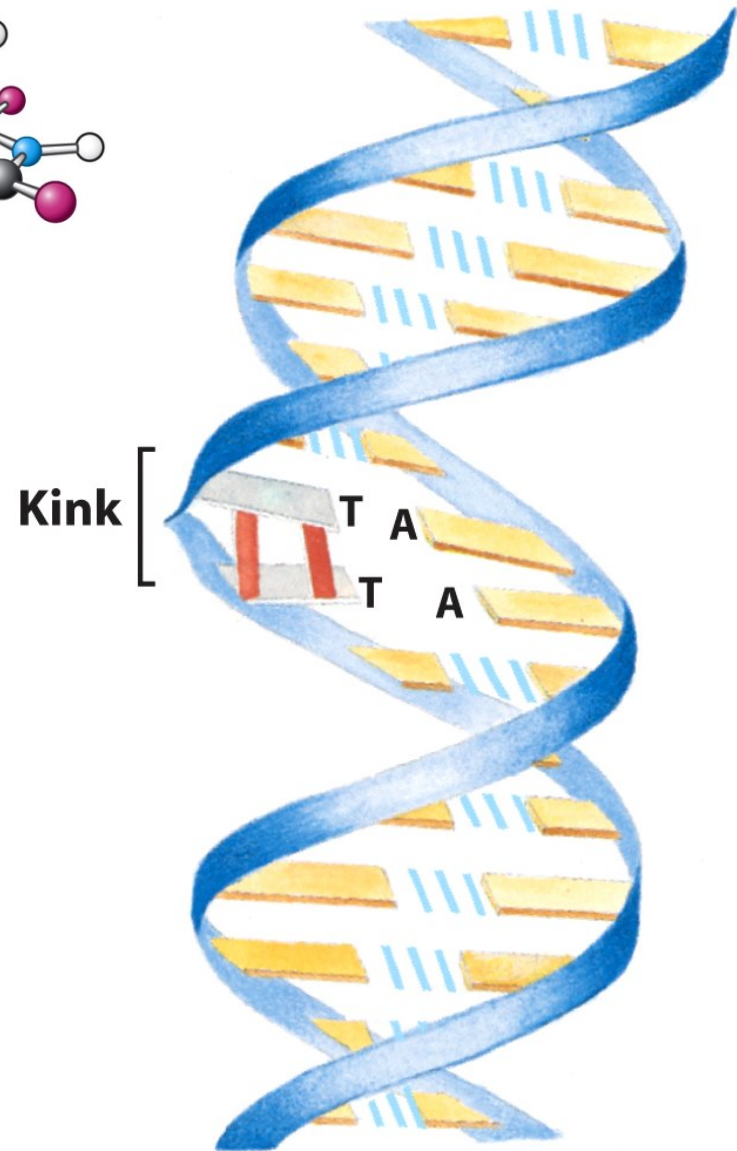
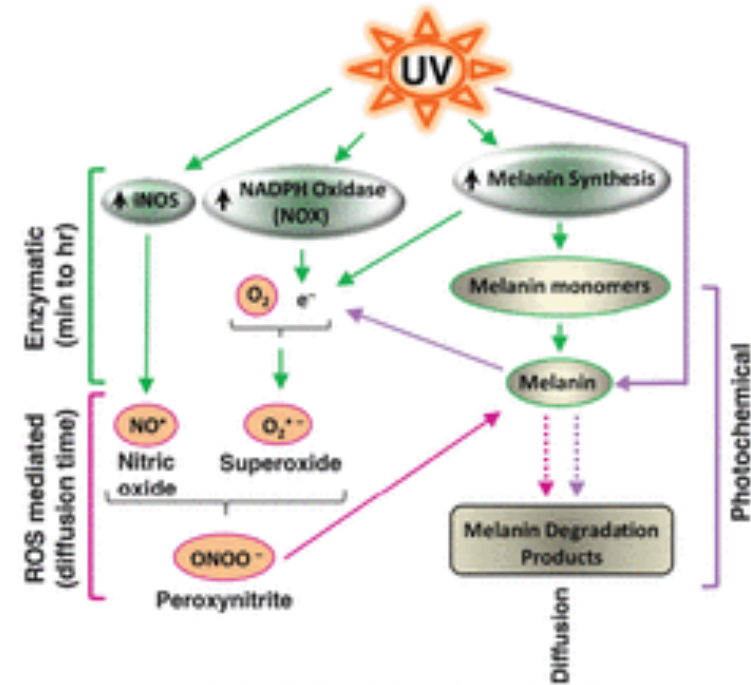


Figure 28-39
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Alteração na estrutura
da dupla-hélice



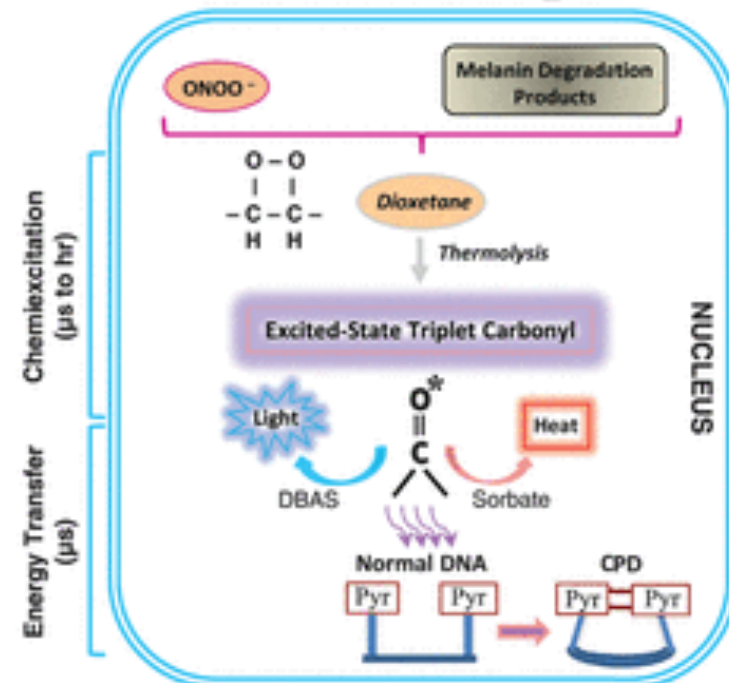
UV pode continuar causando dano horas após a exposição



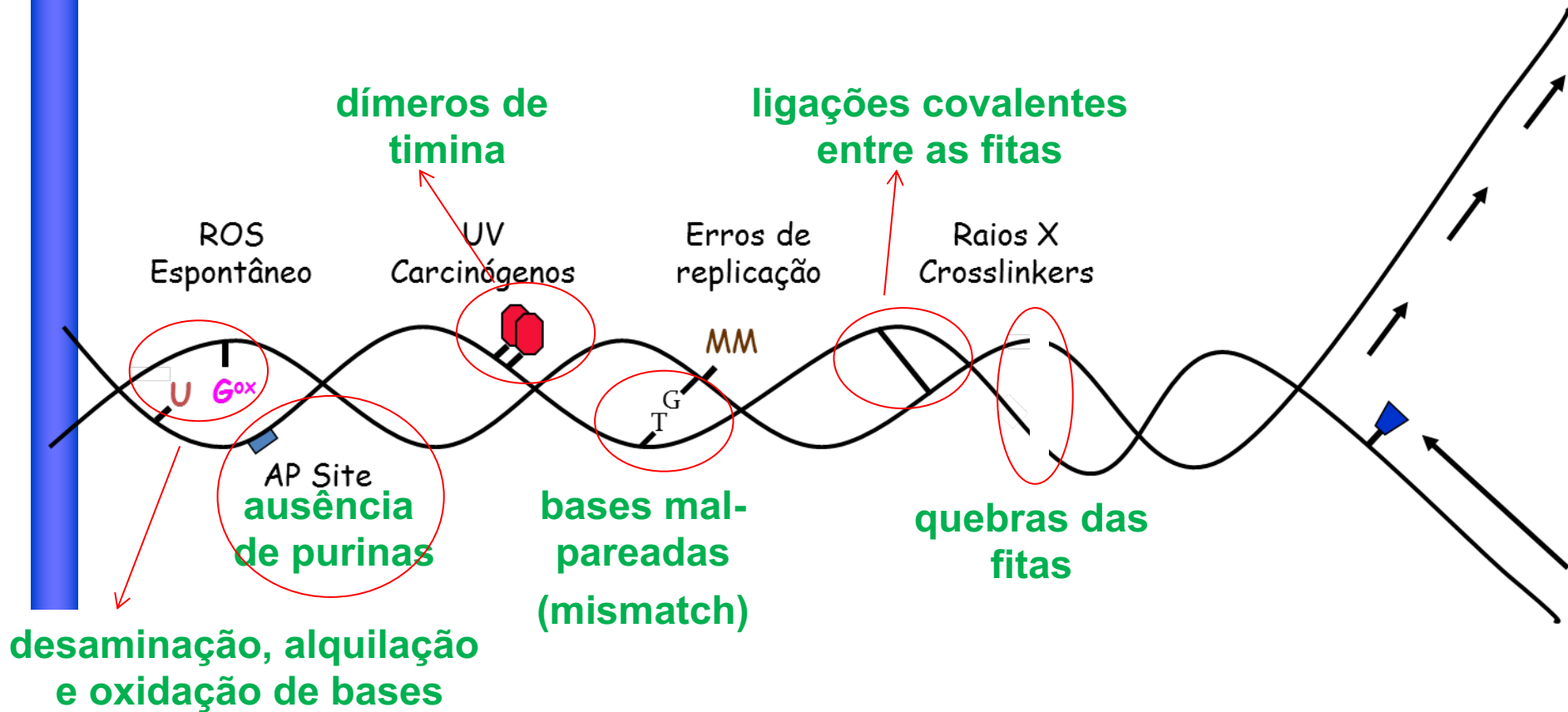
PHOTOCHEMISTRY

Chemiexcitation of melanin derivatives induces DNA photoproducts long after UV exposure

Sanjay Premi,¹ Silvia Wallisch,¹ Camila M. Mano,^{1,2} Adam B. Weiner,^{1*} Antonella Bacchiocchi,³ Kazumasa Wakamatsu,⁴ Etelvino J. H. Bechara,^{2,5†} Ruth Halaban,^{3,6} Thierry Douki,^{7†} Douglas E. Brash^{1,6‡}



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.