

MUTAZIONI

1

LE MUTAZIONI

Le mutazioni sono **cambiamenti ereditabili nella sequenza/struttura del DNA**.

COME VENGONO INTRODOTTE?

Sono generate da **errori del "sistema"**.

Questi "errori" sono avvenuti nel tempo, avvengono e avverranno.

"Errore" significa **VARIAZIONE** rispetto all'originale **NON PEGGIORAMENTO**.

CHE RUOLO HANNO?

Sono la **sorgente dell'evoluzione**. Se l'evoluzione è legata al "cambiamento nel tempo", le mutazioni sono il punto di partenza di questo cambiamento.

2

ORIGINE delle MUTAZIONI

Tutti i seguenti eventi avvengono “normalmente”

- errori commessi dalla **DNA polimerasi** durante la replicazione (spesso riparati da sistemi di “correzione”, qualche volta no)
- errori introdotti da **reazioni spontanee** (p.e. deaminazione della 5mC)
- alterazioni della **struttura dei cromosomi** (p.e. rottura e ricongiunzione dei cromosomi)
- errori durante la **mitosi e la meiosi** (p.e. non disgiunzione dei cromosomi)

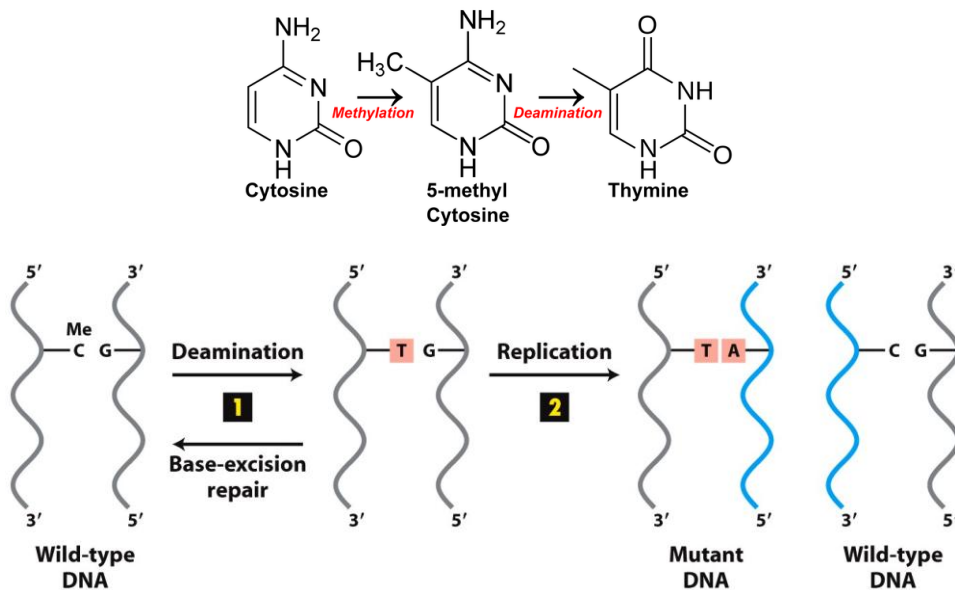
Agenti mutageni

aumentano la probabilità di introdurre mutazioni

- Alcuni agenti chimici
- Radiazioni

3

Esempio: deaminazione della 5mC



4

CLASSIFICAZIONE delle MUTAZIONI

Le mutazioni si possono classificare da vari punti di vista INDIPENDENTI

- TIPO di CELLULA
- DIMENSIONE
- FUNZIONE
- FITNESS
- CAMBIAMENTO della SEQUENZA AMINOACIDICA

5

TIPO DI CELLULA e DIMENSIONE

TIPO di CELLULA

- Mutazioni somatiche:

Nascono nelle cellule somatiche, sono trasmissibili alle cellule figlie, ma NON sono trasmissibili alla progenie.

- Mutazioni germinali:

Nascono o sono già presenti nelle cellule germinali, sono trasmissibili ai gameti e quindi sono anche trasmissibili alla progenie.

DIMENSIONE della MUTAZIONE

- Mutazioni su piccola scala:

Interessano una piccola porzione di sequenza (mutazioni puntiformi e indels)

- Mutazioni cromosomiche:

Interessano vaste porzioni cromosomiche (struttura e del numero dei cromosomi)

6

FUNZIONE e FITNESS

FUNZIONE

- Mutazioni silenziose:

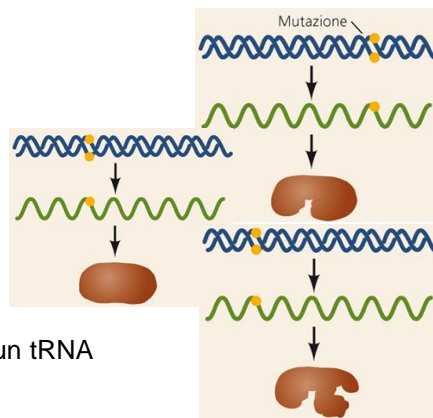
Non influenzano la funzione di quel tratto di DNA (p.e. proteina o l'RNA mantengono la funzione)

- Mutazioni con perdita di funzione

(p.e. il sito attivo di un enzima non funziona più, un rRNA ribosomiale non si associa al ribosoma, un centromero scompare)

- Mutazioni con acquisizione di funzione

(p.e. un enzima acquisisce un nuovo sito attivo, un tRNA riconosce una nuova tripletta)



FITNESS

- Mutazioni neutrale:

Non cambiano la fitness dell'organismo o delle cellule figlie

- Mutazioni deleterie e vantaggiose:

Alterano la fitness (la riducono e la aumentano, rispettivamente)

7

CODICE GENETICO e MUTAZIONI (1)

Il codice genetico mette in relazione una tripletta di basi di DNA/RNA (**codone**) con un **amino acido** di una proteina

		Seconda lettera					
		U	C	A	G		
Prima lettera	U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGU Cisteina UGC UGA Codone di stop UGG Triptofano	Terza lettera	U C A G U C A G U C A G U C A G
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC CAA Glutammina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG		
	A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina; codone d'inizio	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG		
	G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido aspartico GAC GAA Acido glutammico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG		

Quanti codoni codificano per uno stesso amino acido?

Quanti amino acidi sono codificati da un singolo codone?

8

CODICE GENETICO e MUTAZIONI (2)

Il codice genetico è **ridondante** (un amino acido può corrispondere a più codoni)
ma **non è ambiguo** (un codone corrisponde a un solo amino acido)

Si può ricavare la sequenza di RNA/DNA da una sequenza aminoacidica?
Si può ricavare la sequenza aminoacidica da una sequenza di RNA/DNA?

	U	C	A	G
U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Codone di stop UAG Codone di stop	UGU Cisteina UGC UGA Codone di stop UGG Triptofano
C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Istidina CAC CAA Glutammina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG

DNA 5'-TTT**CAT**TCA-3' → 5'-UUU**CAU**UCA-3' RNA
3'-AA**GT**AAGU-5'

Che succede se introduciamo una mutazione? Peptide Nterm-**Phe**-**His**-**Ser**-Cterm

9

CODICE GENETICO e MUTAZIONI (3)

Per la “non ambiguità” del codice genetico, si può predire
se e come una mutazione altera la sequenza aminoacidica

Da questo punto di vista, le mutazioni sono:

- Mutazioni sinonime:

L'aminoacido originale **non cambia**

AUG-**UAU**-CCA → AUG-**UAC**-CCA-
Met - **Tyr** - Pro... Met - **Tyr** - Pro...

- Mutazioni missenso

L'aminoacido originale è **sostituito** da
un **aminoacido** **diverso**

AUG-**UAU**-CCA → AUG-**UGU**-CCA-
Met - **Tyr** - Pro... Met - **Cys** - Pro...

- Mutazioni nonsense

L'aminoacido originale è **sostituito** da
un **codone di stop**

AUG-**UAU**-CCA → AUG-**UAA**-CCA-
Met - **Tyr** - Pro... Met - *

- Mutazioni frame-shift

L'intero **modulo di lettura** “**scivola**” per
inserzione o delezione di una base

AUG-**UAU**-CCA → AUG-**UAU**-GCC-A
Met - **Tyr** - Pro... Met - **Tyr** - **Ala**...

10

ESEMPI di MUTAZIONI PATOLOGICHE

Alla luce di quanto abbiamo visto fin'ora, possiamo fare degli esempi

FIBROSI CISTICA

- **Fenotipo:** secrezioni mucose dense
- **Ereditarietà:** autosomica recessiva
- **Genotipo:** omozigote per l'allele recessivo nel gene CFTR (canale del cloro, eccessivo assorbimento del sodio)

Esempio di una mutazione individuata (>1000 mutazioni note, p.e. ins2566):

- **Per la struttura:** piccola scala/indel (+2bp)
- **Per la proteina:** frame-shift
- **Per la funzione:** perdita di funzione
- **Per il tipo di cellula:** germinale
- **Per la fitness:** deleteria se in omozigosi, vantaggiosa in eterozigosi

ESEMPIO di TUMORE SPORADICO

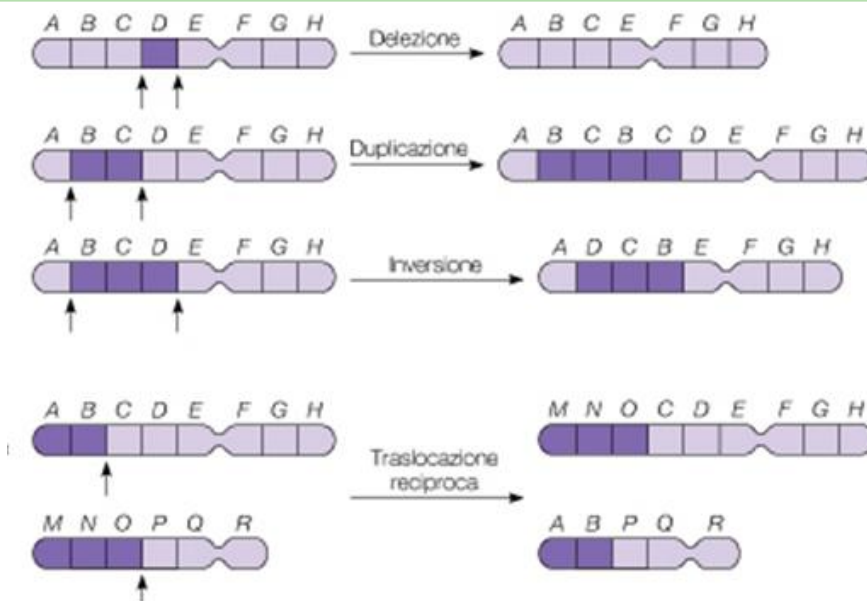
- **Fenotipo:** Iper-proliferazione cellulare
- **Ereditarietà:** non ereditata dalla progenie
- **Genotipo:** eterozigote per l'allele mutato nel gene RET (recettore di membrana, chinasi, proto-oncogene)

Esempio di una mutazione individuata (decine mutazioni note, p.e. C634Y):

- **Per la struttura:** piccola scala, puntiforme
- **Per la proteina:** missenso
- **Per la funzione:** acquisizione di funzione
- **Per il tipo di cellula:** somatica
- **Per la fitness:** vantaggiosa (per le cellule figlie non per la progenie dell'organismo)

11

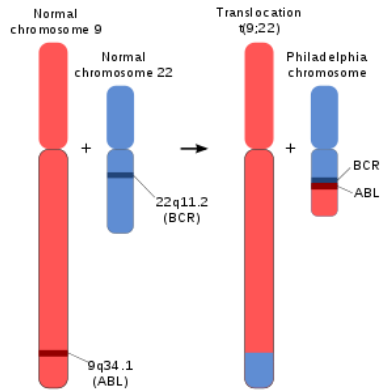
MUTAZIONI nella STRUTTURA dei CROMOSOMI



12

Esempi di ALTERAZIONI STRUTTURALI

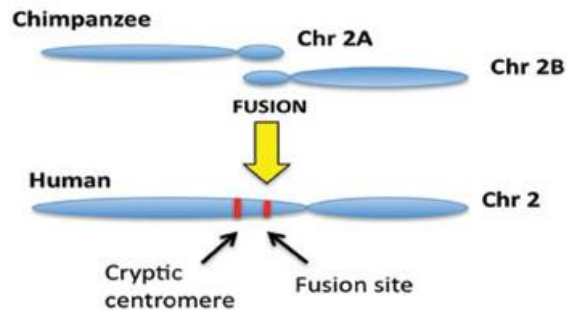
CROMOSOMA PHILADELPHIA



Fenotipo: **leucemia**; Genotipo: **eterozigote** per l'alterazione.
Mutazione: **strutturale, somatica**, da **acquisizione di funzione** (nuovo gene, oncogene)

CROMOSOMA 2 UMANO

Fusione di due cromosomi ancestrali



Fenotipo: **essere umano**; Genotipo: **omozigote** per l'alterazione.
Mutazione: **strutturale, germinale**.

Come facciamo a sapere che si tratta di fusione nell'uomo e non scissione nello scimpanzè?

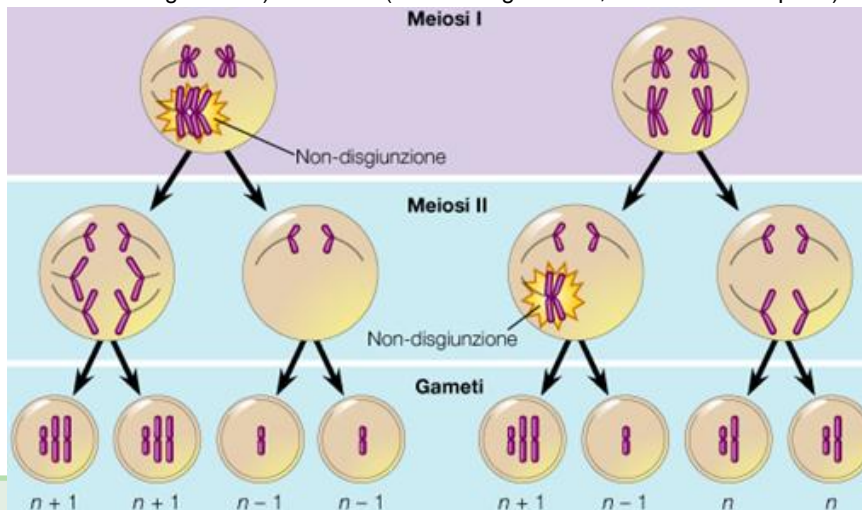
13

MUTAZIONI nel NUMERO dei CROMOSOMI

POLIPLOIDIE: tutto il set cromosomico è presente in più copie (piante)

ANEUPLOIDIE: un solo cromosoma è presente in più o meno copie

La principale causa è la **non disgiunzione dei cromosomi in mitosi** (mutazioni somatiche o germinali) o **meiosi** (mutazioni germinali, ereditabili dalla prole)



14

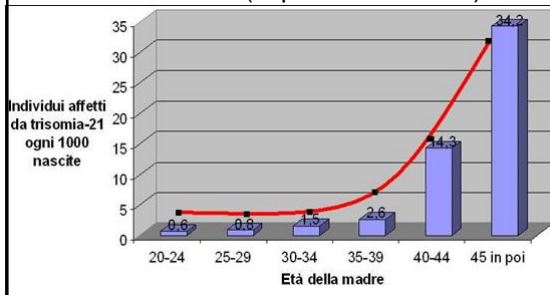
ANEUPLOIDIE degli AUTOSOMI

Tutte le poliploidie nell'uomo sono letali.

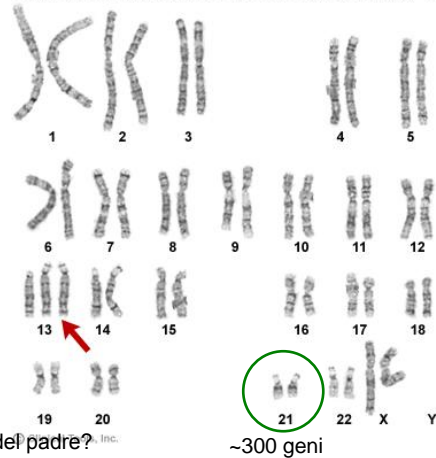
La maggior parte delle aneuploidie autosomiche è letale (aborto spontaneo).

Solo alcune aneuploidie sono compatibili con la vita.

- Trisomia del **13** (sopravv. 3-4 mesi)
- Trisomia del **18** (sopravv. ~9 mesi)
- Trisomia del **21** (sopravv. "normale")



Karyotype From a Female With Patau syndrome (47,XX,+13)



Perché la frequenza aumenta con l'età della madre e non del padre?

15

ANEUPLOIDIE dei CROMOSOMI SESSUALI

Le aneuploidie dei cromosomi sessuali sono spesso compatibili con la vita ed anche in varie combinazioni.

Genotipo	Fenotipo	Origine della non-disgiunzione	Frequenza nella popolazione
XO	Sindrome di Turner (femmina)	Meiosi nella formazione dell'uovo o dello sperma	1/5000
XXX	Metafemmina	Meiosi nella formazione dell'uovo	1/1000
XXY	Sindrome di Klinefelter (maschio)	Meiosi nella formazione dell'uovo o dello sperma	1/2000
XYY	Maschio normale	Meiosi nella formazione dello sperma	1/2000

Perché sopravvivono?

Una copia dell'X è inattiva anche in femmine normali.

X sovrannumerari sono inattivati.

X sovrannumerari sono inattivati.

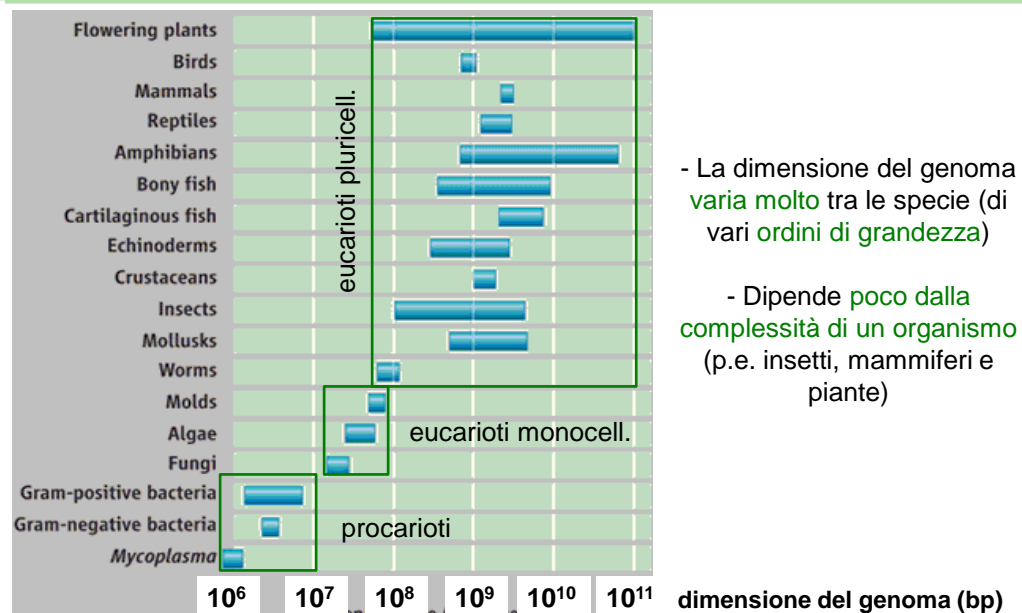
Y contiene pochissimi geni.

16

GENOMI

17

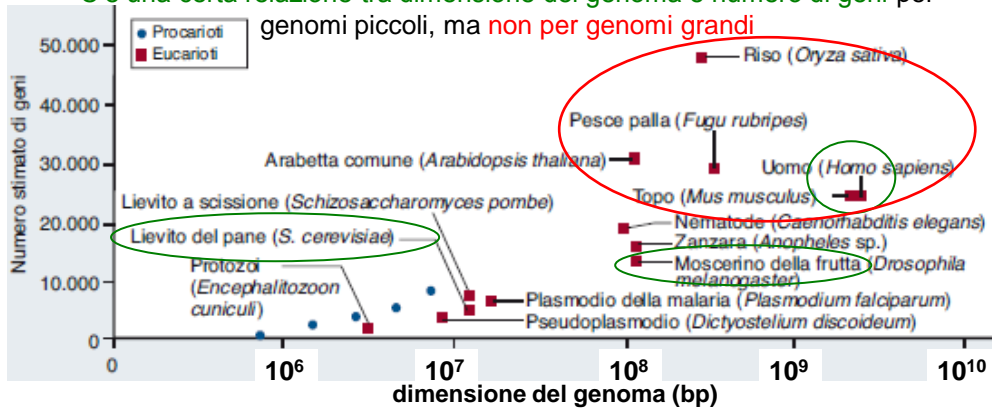
DIMENSIONI del GENOMI



18

DIMENSIONE GENOMI e NUMERO DI GENI

C'è una certa relazione tra dimensione del genoma e numero di geni per genomi piccoli, ma **non per genomi grandi**



In ogni caso **la relazione non è proporzionale**

Lievito: ~6000 geni in ~1x10⁷ bp -> 1 gene ogni 1600 bp

Drosophila: ~14000 geni in ~1x10⁸ bp -> 1 gene ogni 7000 bp

Uomo: ~25000 geni in ~3x10⁹ bp -> 1 gene ogni 120000 bp

Se il genoma aumenta
a prescindere dal
numero di geni,
cos'altro contiene?

19

COMPOSIZIONE del GENOMA UMANO

Solo una minuscola parte del genoma umano codifica per esoni (tradotti in proteine).

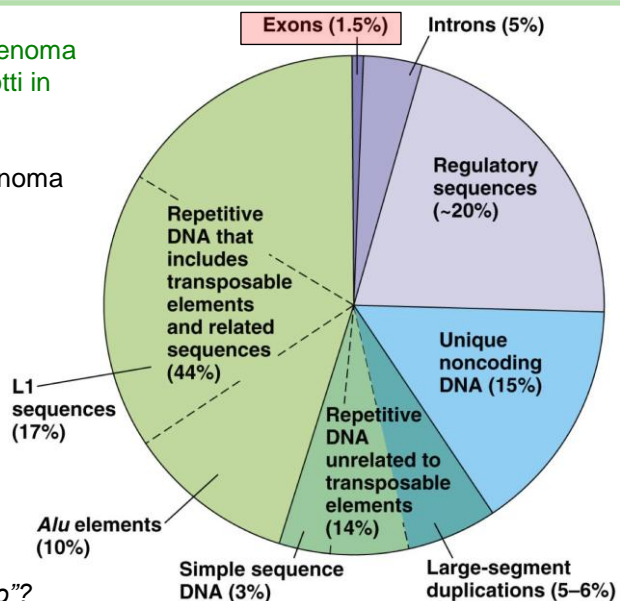
Tutto il rimanente 98.5% del genoma fa "altro" e detta le dimensioni complessive

La sequenza del genoma umano è il **punto di partenza**:

- per individuare i geni e comprenderne la funzione

- per capire la funzione di "tutto il resto"

Il genoma umano è "uno"?



20

L'ERA dei "GENOMI UMANI"

Il genoma umano non è "uno"...ogni essere umano ha il proprio genoma.
Gli studi sulla variabilità dell'intero genoma tra individui è stata fin'ora bloccata da un **LIMITE TECNOLOGICO**

Anno 2000 (completamento del "progetto genoma umano"):

- viene sequenziato il primo genoma umano (mix di individui)
- tempo impiegato: 10 anni
- costo complessivo: 3 miliardi di dollari

Negli ultimi 15 anni (nasce e si sviluppa il "sequenziamento massivo"):

- viene sequenziato il genoma di migliaia di individui
- tempo impiegato per individuo: un paio di settimane
- costo complessivo: <1000 dollari per individuo

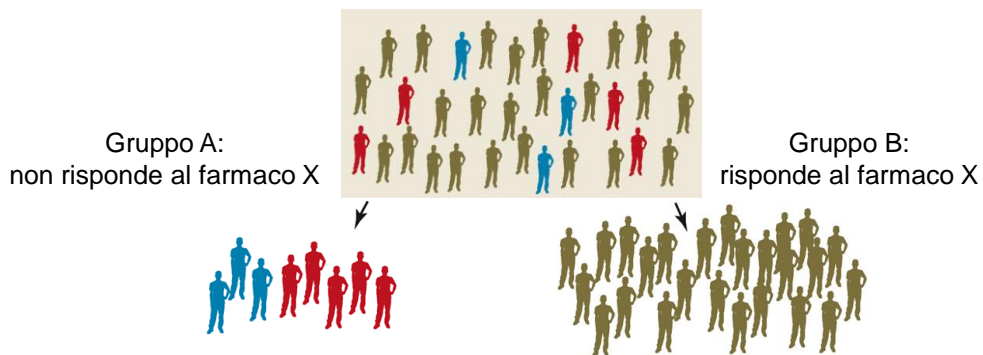
Le applicazioni sono infinite....

21

FARMACOGENOMICA

Come la variabilità del genoma altera la risposta individuale ad un farmaco

Pazienti con la stessa patologia



- Sequenziare il genoma degli individui nei due gruppi
- Confrontare i genomi dei due gruppi
- Individuare le mutazioni presenti solo nel gruppo A rispetto a B
- Individuare i geni e gli alleli responsabili del fenotipo "non responsivo"

22