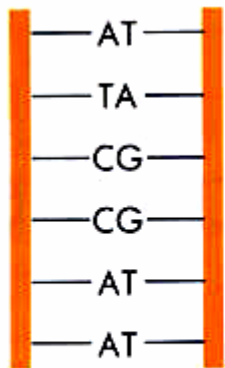
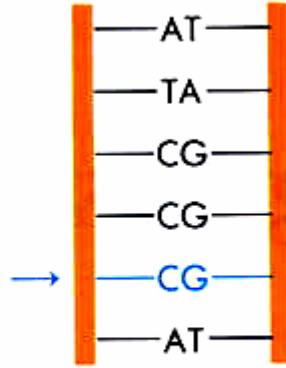


# Mutationen:

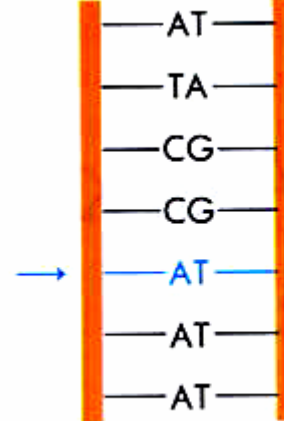
## DNA-Schäden und Reparatur



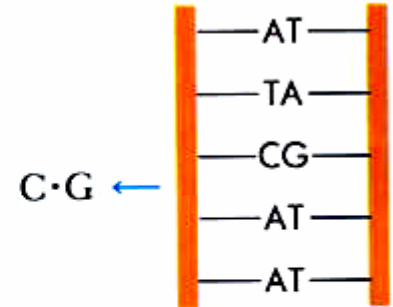
normal  
(Wildtyp)



Substitution



Addition



Deletion

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Arten der Mutation:

Mutationen sind vererbare Veränderungen des Erbgutes.

Wechselwirkung, Weitergabe des Erbgutes, Mutationen, Reparaturmechanismen, Evolution

Man unterscheidet:

**Genommutationen:** Veränderungen des gesamten Genoms, z.B.: Anzahl der Chromosomen (Trisomie 21)

**Chromosomenmutationen:** Veränderung der Form und Struktur von Chromosomen

- **Translokation:** Verlagerung eines Chromosomenstücks innerhalb des oder auf ein anderes Chromosom
- **Deletion:** Verlust eines Chromosomen-Abschnittes
- **Insertion:** Einbau eines DNA-Stücks in ein Chromosom
- **Inversion:** Verdrehung eines Chromosomen-Abschnittes um 180°

**Gen-Mutationen:** intragenische Mutationen, Gen- oder Punktmutationen entstehen spontan oder induziert durch Umwelteinflüsse



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Arten von Nucleotid-Austauschen:

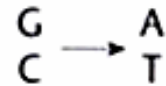
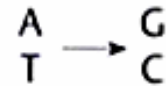
### Transition:

Austausch einer Purin- gegen eine Purin-, oder einer Pyrimidin- gegen eine Pyrimidin-Base

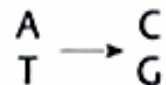
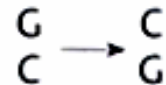
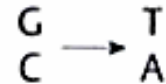
### Transversion:

Austausch einer Purin- gegen eine Pyrimidin, oder einer Pyrimidin gegen eine Purin-Base

#### Transitionen



#### Transversionen



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Leserahmen-Mutationen:

Durch **Addition** oder Verlust (**Deletion**) von ein oder zwei Nucleotid-Paaren kommt es zu einer Verschiebung des Leserahmens (*frame shift*)

Durch Kombinationen aus Additionen und Deletionen kann in den alten Leserahmen zurückgesprungen werden

Addition oder Deletion von drei oder einem Vielfachen von drei Nucleotid-Paaren verändern den Leserahmen nicht

Wildtyp	AC A A A A A G T C C A T C A C T T A A C G C C T G T T T T T C A G G T A G T G A A T T G C G G	DNA
	AC A A A A A G U C C A U C A C U U A A C G C C	mRNA
	Thr · Lys · Ser · Pro · Ser · Leu · Asn · Ala	Protein
Addition eines AT-Paares	↓ <sup>+</sup>	
	AC A A A A A A G T C C A T C A C T T A A C G C C T G T T T T T T C A G G T A G T G A A T T G C G G	DNA
	AC A A A A A A G U C C A U C A C U U A A C G C C	mRNA
	Thr · Lys · Lys · Ser · Ile · Thr · Stop-Codon	Protein
Deletion eines AT-Paares	↓ <sup>-</sup>	
	AC A A A A G T C C A T C A C T T A A C G C C T G T T T T C A G G T A G T G A A T T G C G G	DNA
	AC A A A A G U C C A U C A C U U A A C G C C	mRNA
	Thr · Lys · Val · His · His · Leu · Thr · Pro	Protein
Deletion eines AT-Paares und Addition eines GC- Paares	↓ <sup>-</sup>	
	AC A A A A G T C C A T C A C T T A A C C G C C T G T T T T C A G G T A G T G A A T T G G C G G	DNA
	AC A A A A G U C C A U C A C U U A A C C G C C	mRNA
	Thr · Lys · Val · His · His · Leu · Thr · Ala	Protein

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

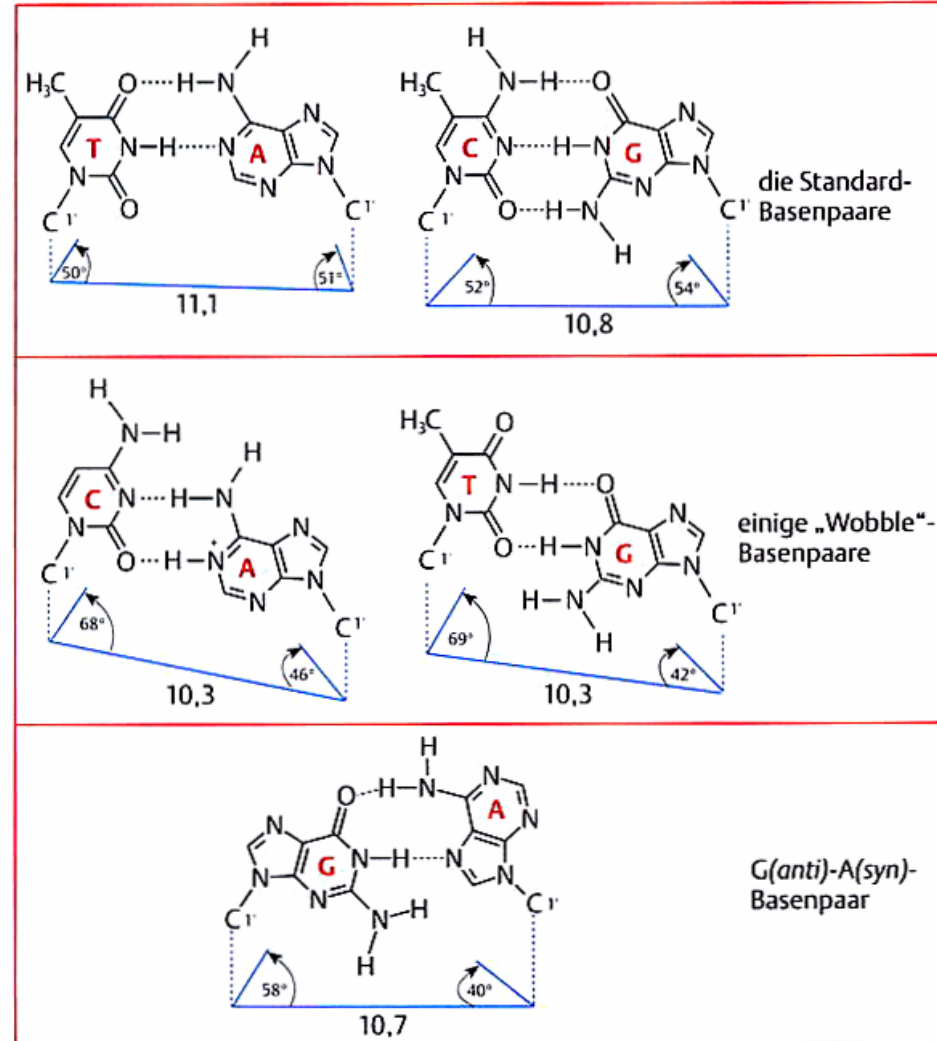
## Spontane Mutationen:

### Falscheinbauten:

Ursache sind ungewöhnliche Basenpaare an der Replikationsgabel:  
**C-A**, **T-G** am häufigsten, **G-A** selten.  
Entgegenwirken durch **DNA-Polymerase** und **3'-5' Exonuclease**

Falsche Paarung löst öfters die H-Bindungen, 3'-5' Exo kann wirken, Falschpaarungen bremsen Synthese, längere Wirkzeit von 3'-5' Exo

Falscheinbau selten, aber möglich



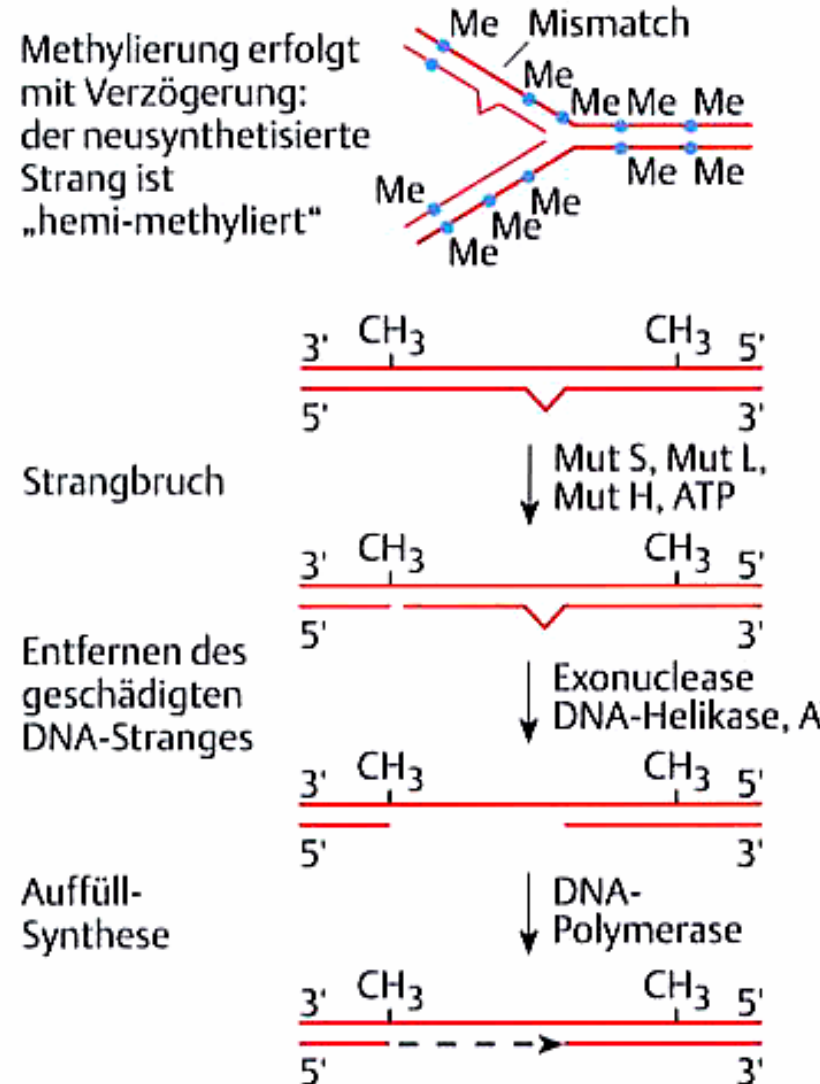
# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### Postreplikative oder Mismatch Reparatur in *E. coli*:

- In *E. coli* ist das A in GATC methyliert
- Neusynthetisierter DNA-Strang ist noch unmethyliert und wird so erkannt
- **Mut S-Protein** erkennt und bindet eine Mismatch-Stelle
- **Mut L** erweitert den Komplex und bildet Plattform für Mut H
- **Mut H** setzt Schnitt in nichtmethyliertem DNA-Strang
- **DNA-Helikase II** entwindet DNA
- Einzelstrangspezifische **Exonuclease I** baut überhängenden DNA-Strang ab
- Neusynthese durch **DNA Pol III**
- **Ligase** schließt letzte Phosphodiesterbindung

Auch bei **Heteroduplex-Reparatur** wirksam  
(keine Strangspezifität)



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### AP-Stellen als Ursache für Mutationen:

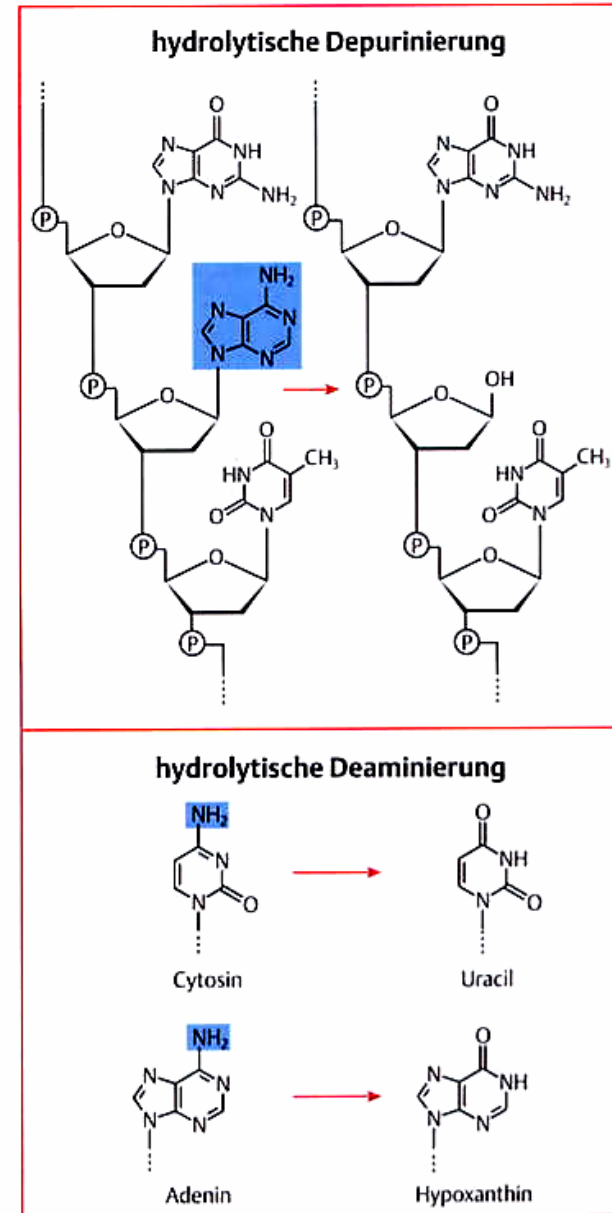
#### hydrolytische Depurinierung,

die glykosidische Bindung zwischen Purin-Base und Deoxyribose wird getrennt = Apurin-Stelle  
2000-10000 mal in einer Säugetierzelle/Tag

#### hydrolytische Deaminierung:

verändert Cytosin zu Uracil und in geringem Umfang Adenin zu Hypoxantin  
Ohne Reparatur: Mutationen, da Uracil mit Adenin und Hypoxantin mit Cytosin Basenpaarungen eingeht

Reparatur durch Uracil-DNA-Glykosylase:  
Spaltet glykosidische Bindung zwischen Pyrimidin-Base und Deoxyribose = Apyrimidin-Stelle





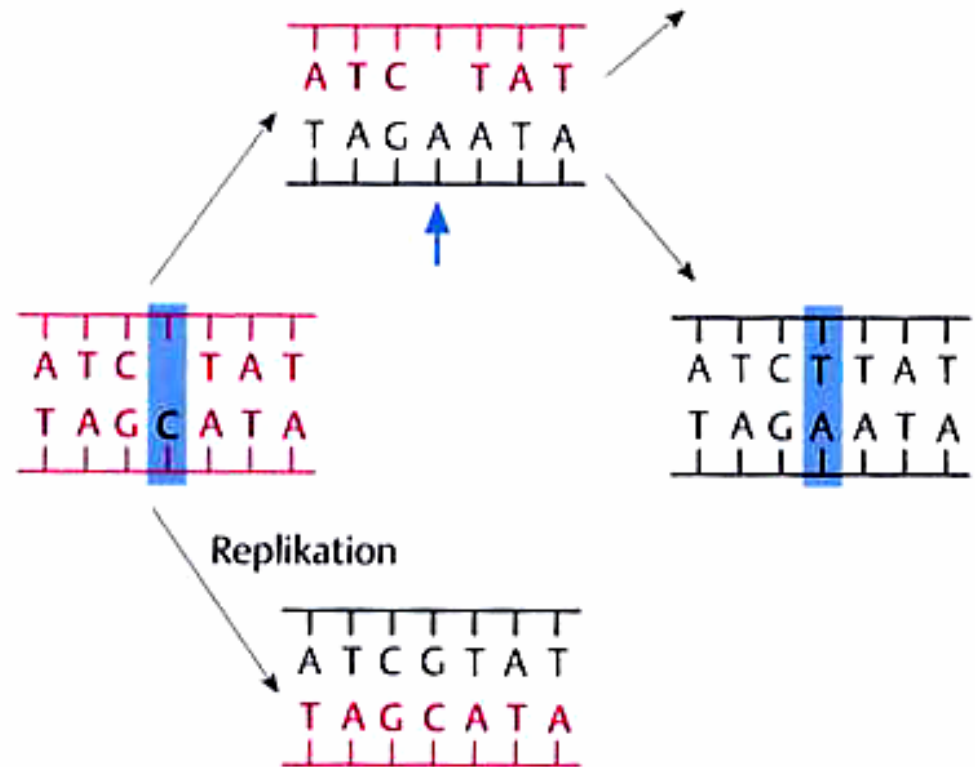
# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

In unreparierte AP-Stellen kann während der Replikation jedes Nucleotid eingebaut werden

Viel häufiger als alle anderen Möglichkeiten wird ein Adenin eingebaut

An AP-Stellen erfolgt daher oft die Umwandlung eines GC-Paars in ein AT-Paar



Hydrolytische Depurinierung

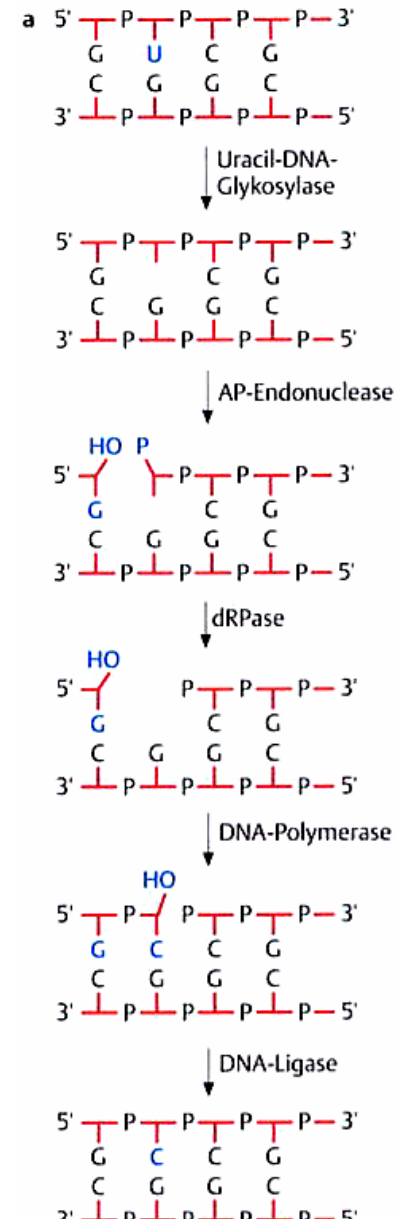


# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### Erfolgreiche Reparatur von AP-Stellen:

- AP-Stelle entsteht durch Einwirken der Uracil-DNA-Glykosylase
- AP-Endonuclease schneidet Deoxyribose-Phosphat-Rückgrat 5' der AP-Stelle
- Phosphodiesterase (dRPase) entfernt basenfreien Deoxyribose-Ribose-Rest
- DNA-Polymerase schließt entstandene Lücke
- Ligase schließt Phosphatrückgrat



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### Oxidative Schäden an der DNA:

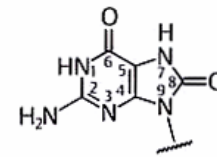
Schäden entstehen durch freie Hydroxyl-Radikale

Entstehen einerseits über  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Nebenprodukt der Atmungskette) oder durch Radiolyse von Wasser

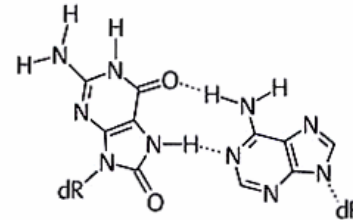
Wichtigstes Produkt **8-Oxo-Guanin** (8-OxoG). Bis zu 10000 8-OxoG pro pflanzlicher oder tierischer Zelle auch ohne Strahleneinwirkung. Neben Cytosin paart 8-OxoG bevorzugt mit Adenin (GC zu AT Transversion).

Es entsteht auch freies **8-OxodGTP**, dies wird bevorzugt an Adenin gebunden (AT zu GC Transversion)

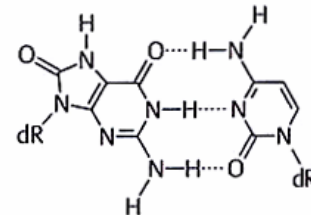
a 8-Oxoguanin



b

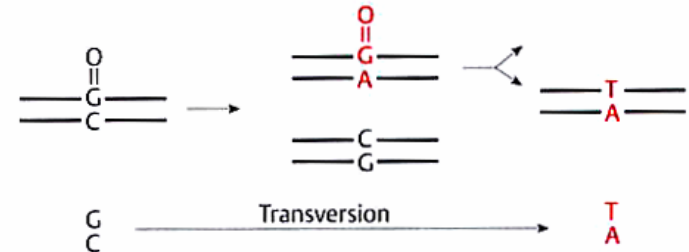


8-OxoG(syn) · dA(anti)

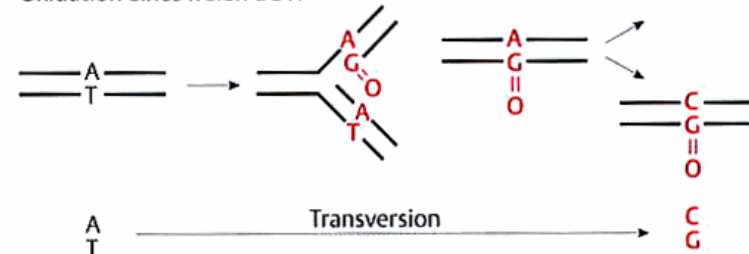


8-OxoG(anti) · dC(anti)

c Oxidation eines DNA-Guanin-Bausteins



d Oxidation eines freien dGTP



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### Die Reparatur von 8-Oxo-Guanin bedingten AP-Stellen durch die Reparaturmaschinen Mut T, Mut M und Mut Y:

#### **Mut T-Protein:**

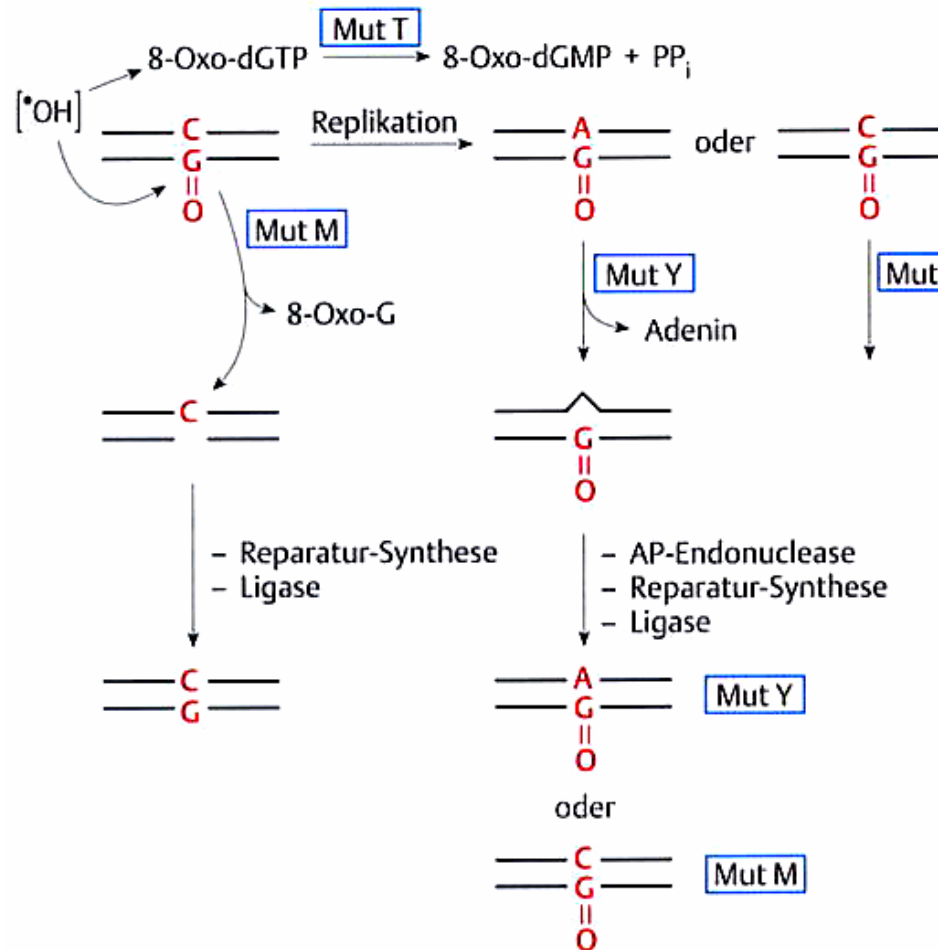
Entfernt 8-Oxo-dGTP als Nucleosidtriphosphat, aus den dNTPs der Zelle

#### **Mut M-Protein:**

8-OxoG-DNA-Glykosylase  
AP-Lyase (nichthydrolytische Spaltung des Deoxyribose-Phosphat-Bands)

#### **Mut Y-Protein:**

Adenin-DNA-Glykosylase,  
entfernt falsch gepaartes Adenin in 8-OxoG-A Basenpaaren



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

### Entstehung spontaner Leserastermutationen:

Leseraster (*frame-shift*) Mutationen:

**Addition** oder **Deletion** von Nucleotid-Paaren ist notwendig (nicht 3 oder ein Vielfaches)

Modell: Basepaare „verrutschen“ oder es treten extrahelikale Nucleotide auf.

Leserastermutationen treten häufig in DNA-Abschnitten auf in denen sich **gleiche Nucleotid-Paare** wiederholen

Leserastermutationen treten bevorzugt in DNA-Strängen auf die **Lücken** aufweisen  
(Replikationsgabel, Rekombination, Reparatur)

ATGACGCGCGCGCGTAGTC  
TACTGCGCGCGCGCATCAG

DNA-Abschnitt mit Wiederholungen von GC-Folgen

ATGACGCGCGCGCGTAGTC  
TACTGC GCGCATCAG

Lücken, die bei der Replikation der Rekombination oder der Reparatur auftreten können

ATGACGCGCGTAGTC  
TACTGCGCGCATCAG

bei der Replikation des unteren Stranges entsteht eine **Deletion** von vier Basenpaaren:

TACTGCGCGCATCAG  
ATGACGCGCGTAGTC

ATGACGCGCGCGCGTAGTC  
TACTGC

beim Auffüllen der Lücke durch Reparatur-Synthese kommt es zur **Addition** von zwei Basenpaaren:

TACTGCGCGCGCGCGCATCAG  
ATGACGCGCGCGCGCGTAGTC

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Spontane Mutationen:

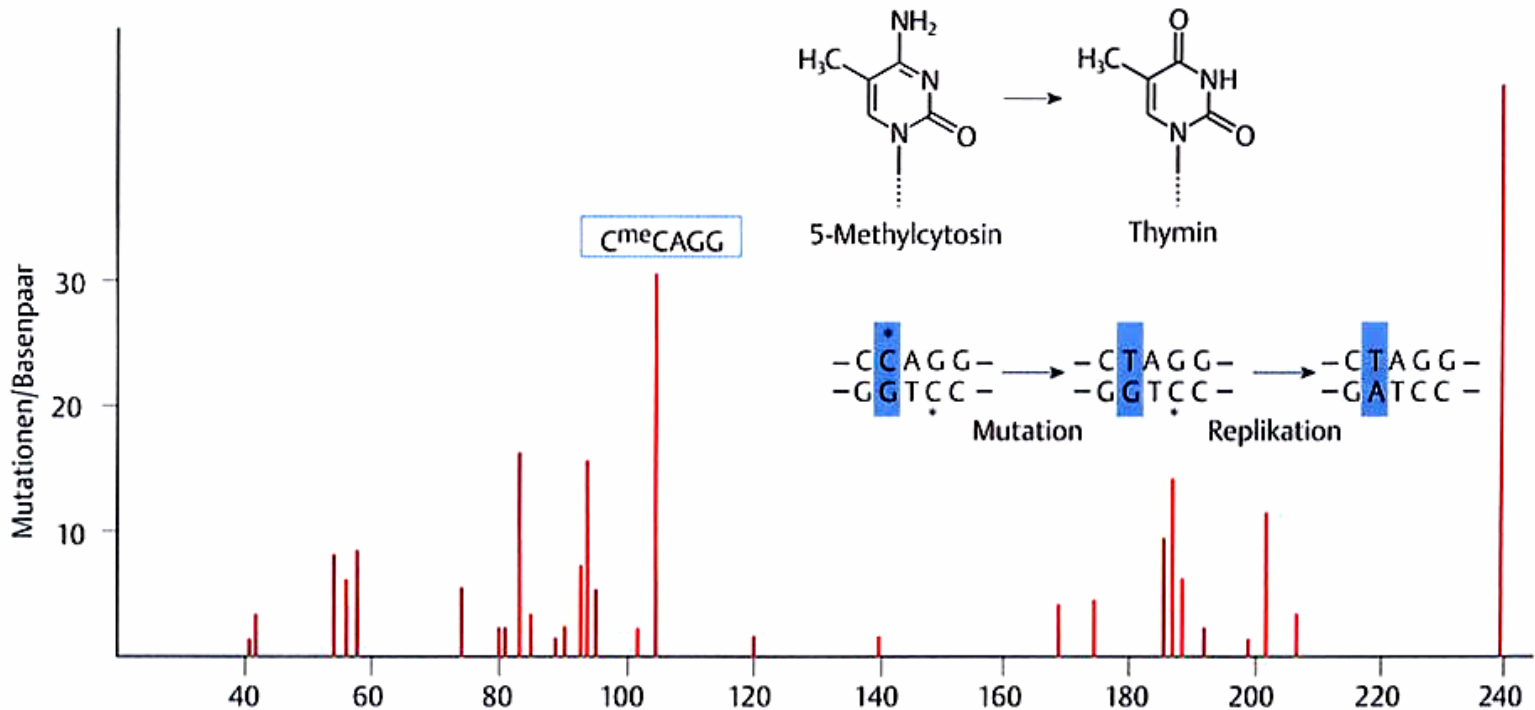
### Mutationen sind nicht zufällig im Genom verteilt:

Leserasterverschiebungen, sequenzspezifisch (Basenwiederholungen)

Auch Nucleotid-Austausche sind nicht zufällig:

Beispiel: Transition von GC zu AT auf Position 104

CCAGG: zweites Cytosin ist methyliert; wird Methylcytosin hydrolytisch deaminiert, so entsteht Thymin; keine DNA-Glykosylase Reparatur da reguläre Base.



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

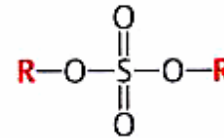
## Induktion von Mutationen:

Alkylierende Verbindungen verändern die DNA an allen potentiell für Methylierung oder Ethylierung zugänglichen Resten

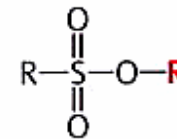
Die häufigsten Produkte sind 7-Alkylguanin (70-80%) und 3-Alkyladenin (6-10%)

Es wird angenommen, dass einige 100 spontane Methylierungen in der DNA einer Zelle stattfinden.

### Alkyl-Sulfate

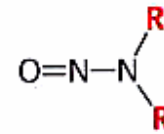


Dialkylsulfat  
Beispiel:  
Dimethylsulfat

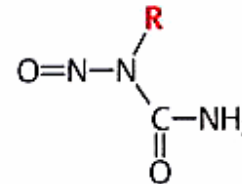


Alkyl alkansulfonat  
Beispiele:  
Methyl methansulfonat (MMS);  
Ethyl methansulfonat (EMS)

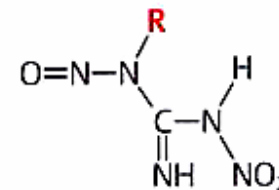
### N-Nitroso-Verbindungen



Dialkylnitrosamine  
Beispiel:  
Dimethylnitrosamin



N-Nitrosoharnstoff-Derivate  
Beispiel:  
N-Methyl-N-nitrosoharnstoff (MNN)



N-Alkyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidin  
Beispiel:  
N-Methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidin (NNG)

**Mutagene Chemikalien: Einige alkylierende Verbindungen.** Der Rest (R) wird durch  $-\text{CH}_3$  oder  $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$  ersetzt.

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

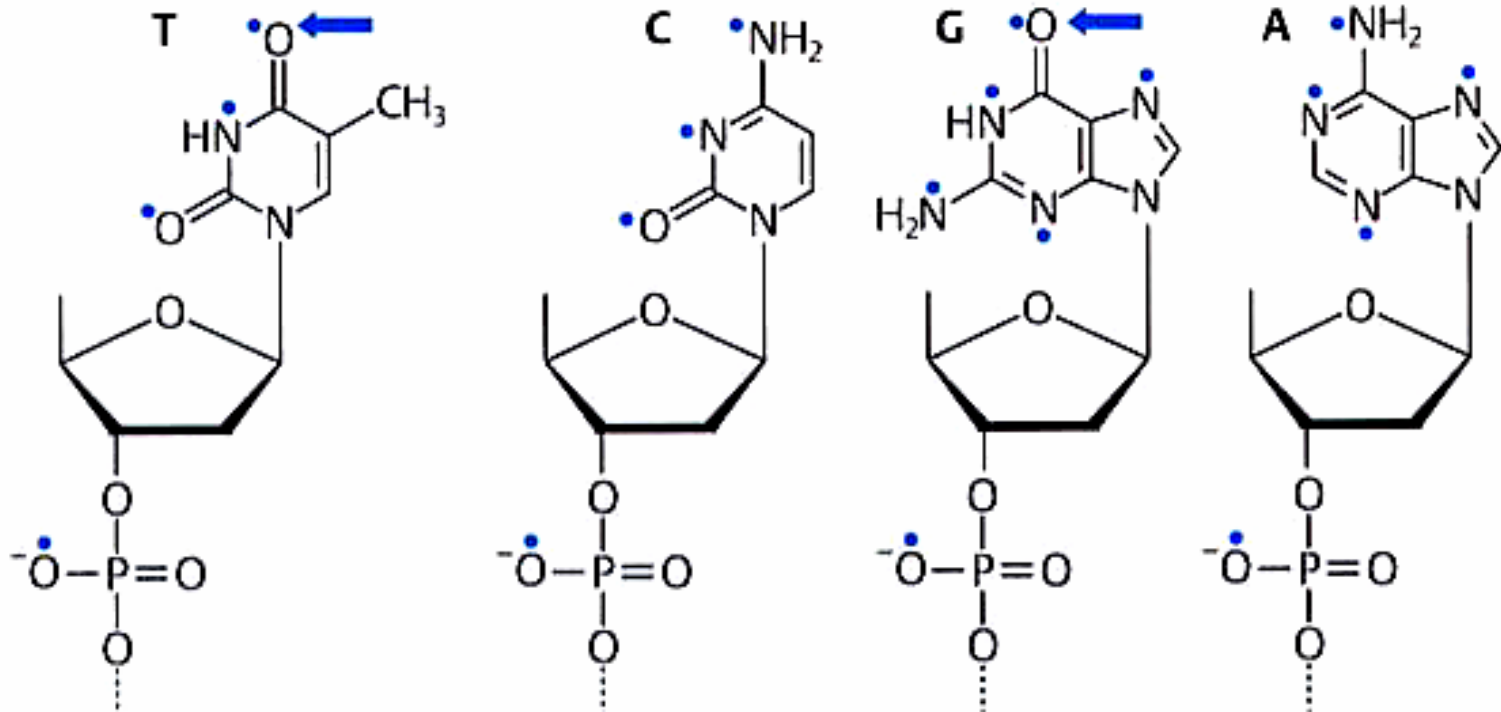
## Induktion von Mutationen:

### Direkte Mutationen:

Entstehen durch O<sup>6</sup>-Methylguanin und O<sup>4</sup>-Methylthymin durch Veränderung der Basenpaarungs-Eigenschaften

O<sup>6</sup>-Methylguanin paart mit Thymin

O<sup>4</sup>-Methylthymin paart mit Guanin





# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### Indirekte Mutationen:

Werden hervorgerufen durch das Einwirken alkylierender Chemikalien, was in Folge zu fehlerhafter Reparatur im Zuge der SOS-Antwort führt oder zur Ausbildung von AP-Stellen.

AP-Stellen entstehen als Folge der Wirkung von 3-Methyladenin-DNA-Glykosylasen. Blockiert die Replikation, daher gibt es wirkungsvolle Reparaturmechanismen in Form von DNA-Glycosylasen (in *E. coli* spezifische Typ I und unspezifische Typ II)

**Typ I:** ist konstitutiv gebildet

**Typ II:** seine Expression wird durch Einwirkung von alkylierenden Chemikalien stark gesteigert; **adaptive Antwort** (*adaptive response*)

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

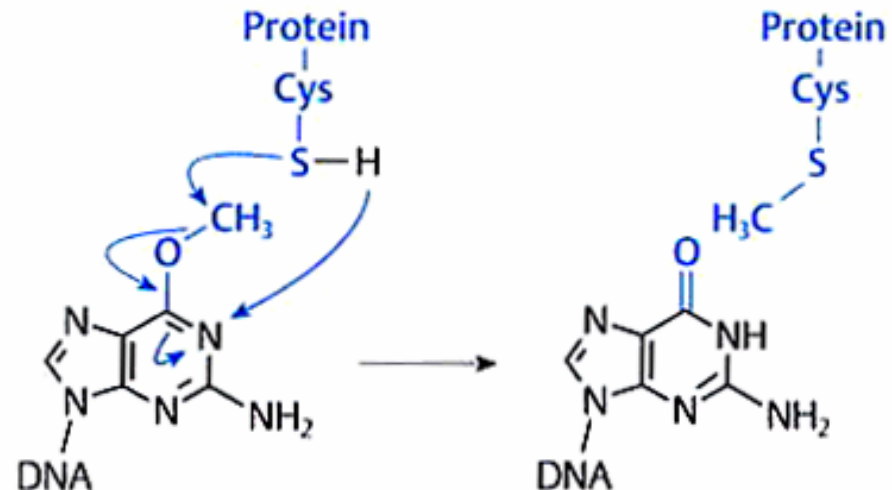
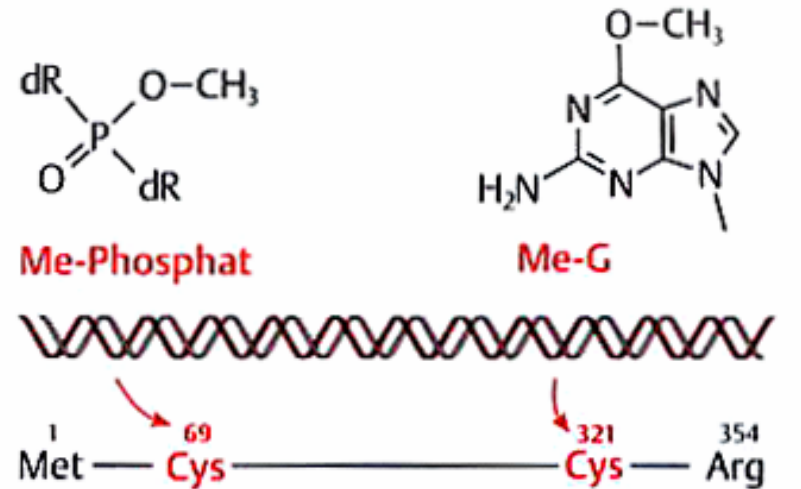
### Reparatur von alkylierten DNA-Basen und die adaptive Antwort:

Wirkendes Enzym:

O6-Methylguanin-DNA-Transferase,  
Überträgt Methylgruppen von DNA auf  
Cystein-Seitenketten. Es entstehen intakte  
Guanine und Thyminine

Übernommene Methylgruppen bleiben an  
Cys-Seitenketten gebunden, das Enzym  
verliert seine Funktion

Durch das Einwirken von alkylierenden  
Substanzen wird die Zahl der Transferase-  
Moleküle von ca. 20 auf bis zu 10.000 pro  
Zelle gesteigert:



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

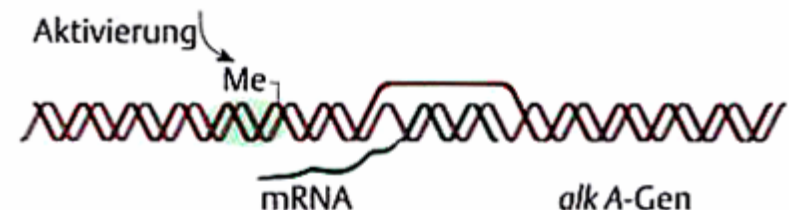
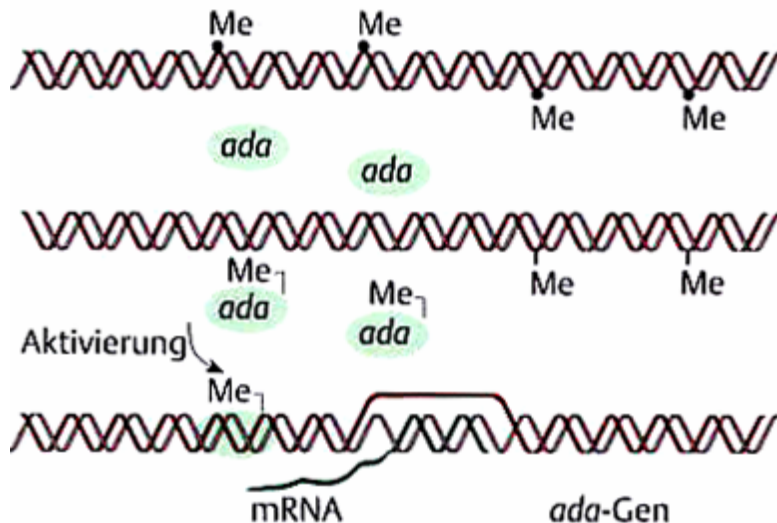
## Induktion von Mutationen:

### Reparatur von alkylierten DNA-Basen und die adaptive Antwort:

Die adaptive Antwort ist ein selbstregulierendes System

Die Transferase übernimmt Methylgruppen von der DNA

Dadurch kann sie an den Promotor des eigenen Operons binden und die Expression der *alk* Gene einleiten; *alkA* kodiert für die TypII 3-Methyladenin-DNA-Glykosylase



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

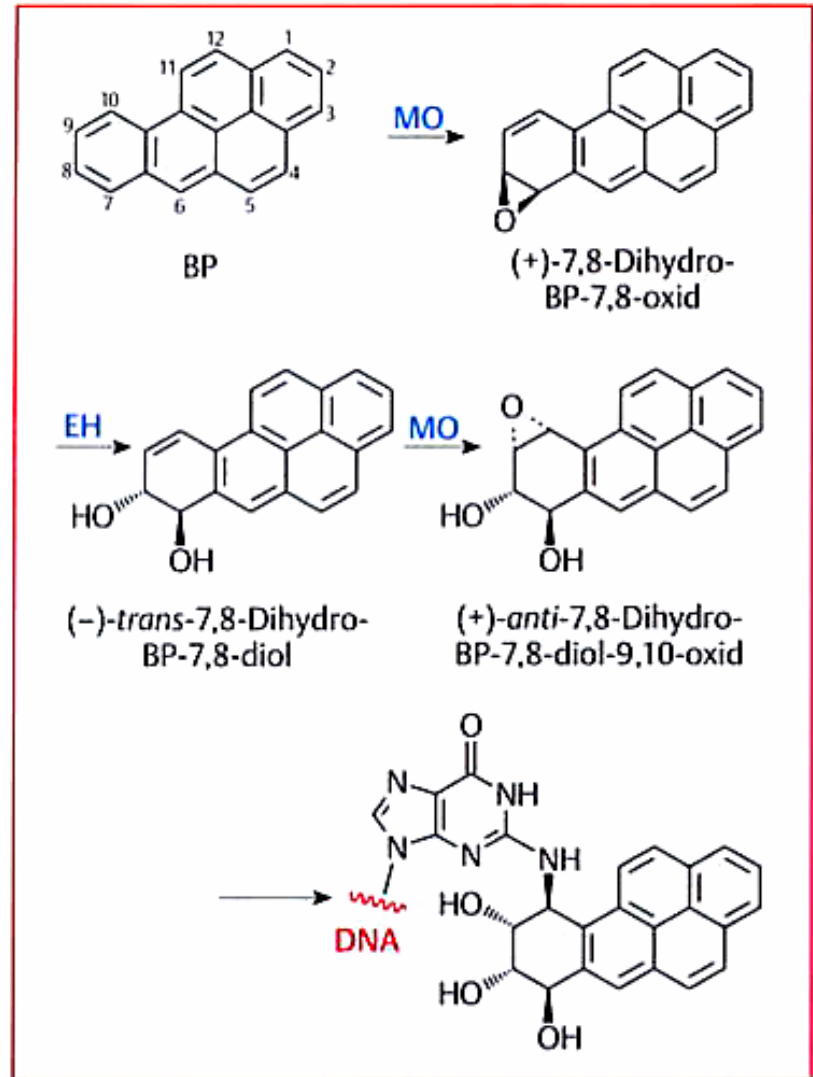
### Polycyclische Kohlenwasserstoffe:

Kanzerogene Wirkung:

Beispiel Benzol (a) pyren, wird über eine Kette von Reaktionen (in der Leber) in eine „aktivierte“ Form überführt die bevorzugt mit Guanin reagiert

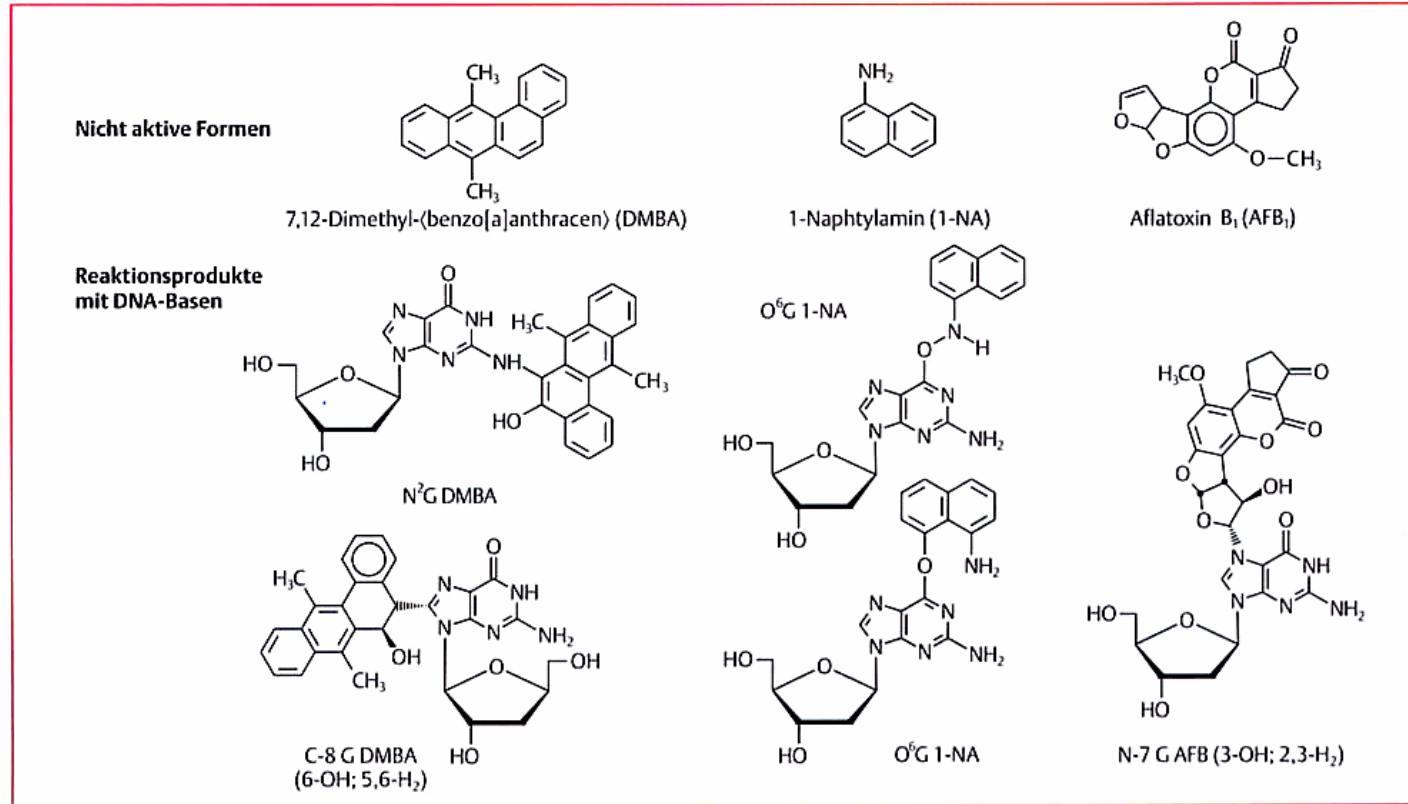
MO: Monooxygenase

EH: Epoxidhydrolase



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:



Gegenüberstellung von Ausgangsverbindungen und ihren Produkten mit DNA-Bausteinen. Anheftung führt zu einer erheblichen Verzerrung der DNA-Struktur (*bulky adducts*) Mutationen: durch Bildung von AP-Stellen, oder blockierte Replikation und folgender fehlerhafter SOS- Reparatur.

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

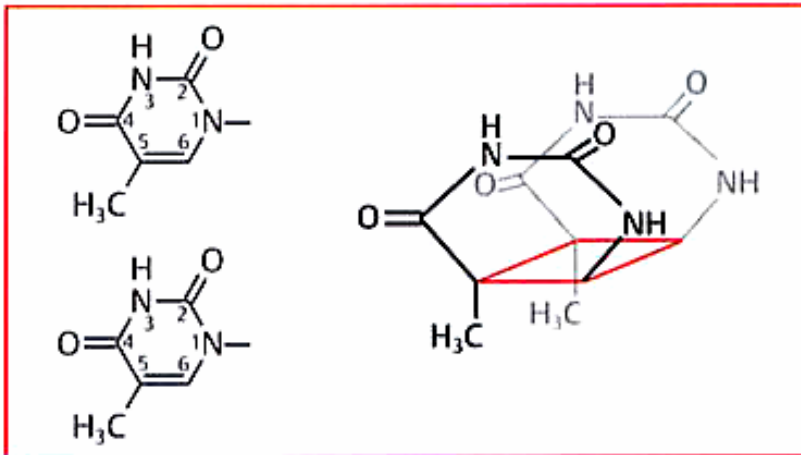
## Induktion von Mutationen:

DNA-Schäden durch Ultraviolettes Licht:

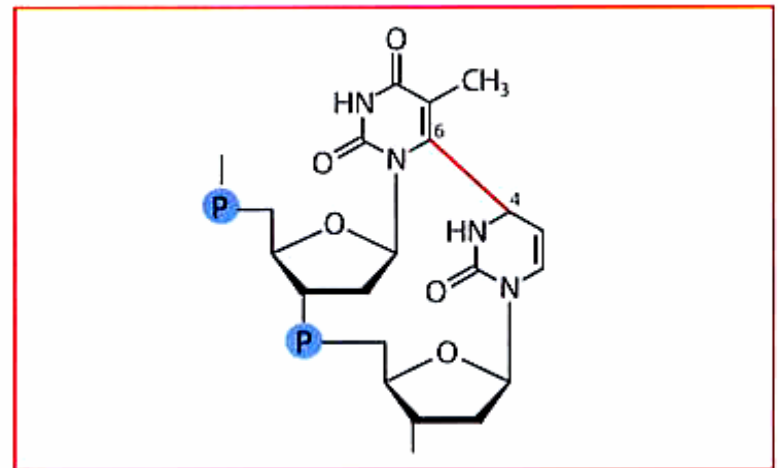
UV erzeugt Veränderungen an den Nucleotid-Bausteinen der DNA

Reaktionen zwischen benachbarten Pyrimidinen, bevorzugt zwischen Thyminen (85% der UV-Schäden), seltener ist das TC(6-4) Produkt (ca. 10%)

Thymin-Dimer



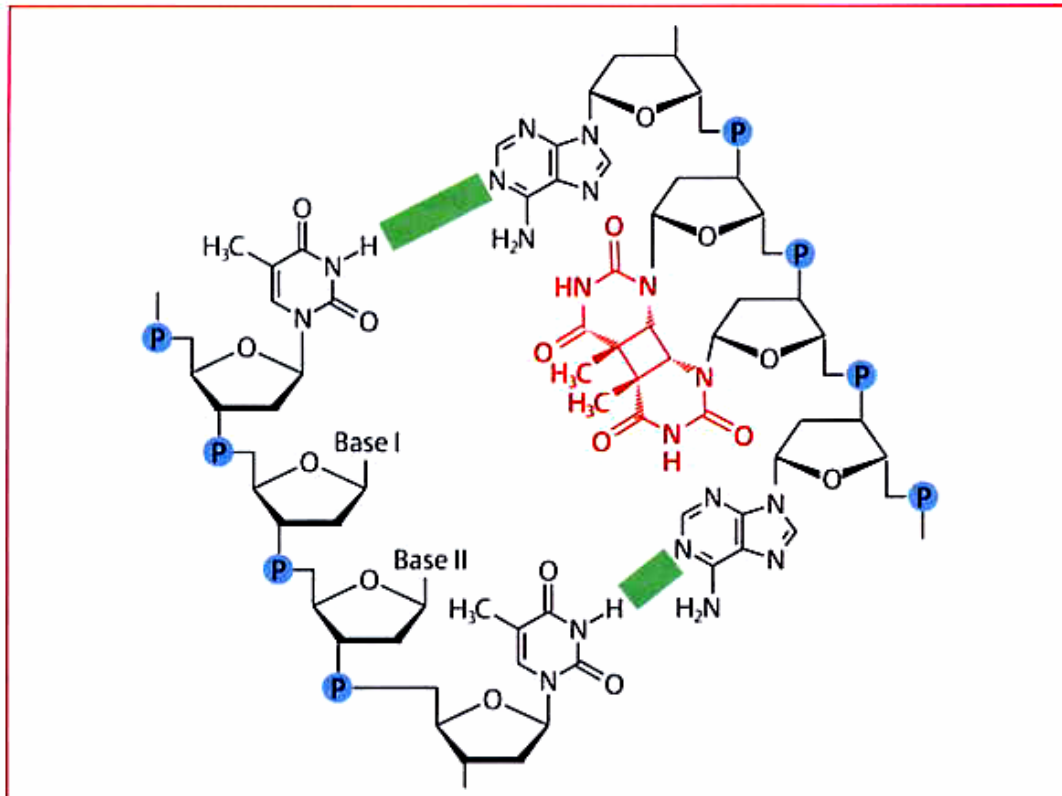
TC(6-4) Produkt



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

Beispiel für ein Thymin-Dimer in der DNA, die beiden Thymine sind kovalent über einen Cyclobutan-Ring verbunden  
Benachbarte Thymine sind *hot spots* der UV-Mutagenese



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### Reparatursysteme zur Abwehr von DNA-UV Schäden:

- **Photoreaktivierung:**

Photolyasen binden an das Thymin-Dimer und spalten mit der Energie des sichtbaren Lichts (340-400nm) den Cyclobutan-Ring

- **Rekombinative Reparatur:**

Reparatur durch intensive Rekombination. Diese wird ausgelöst durch Einzelstrang-DNA die wiederum von gestörten Replikationsvorgängen herrührt

- **Exzisions-Reparatur:**

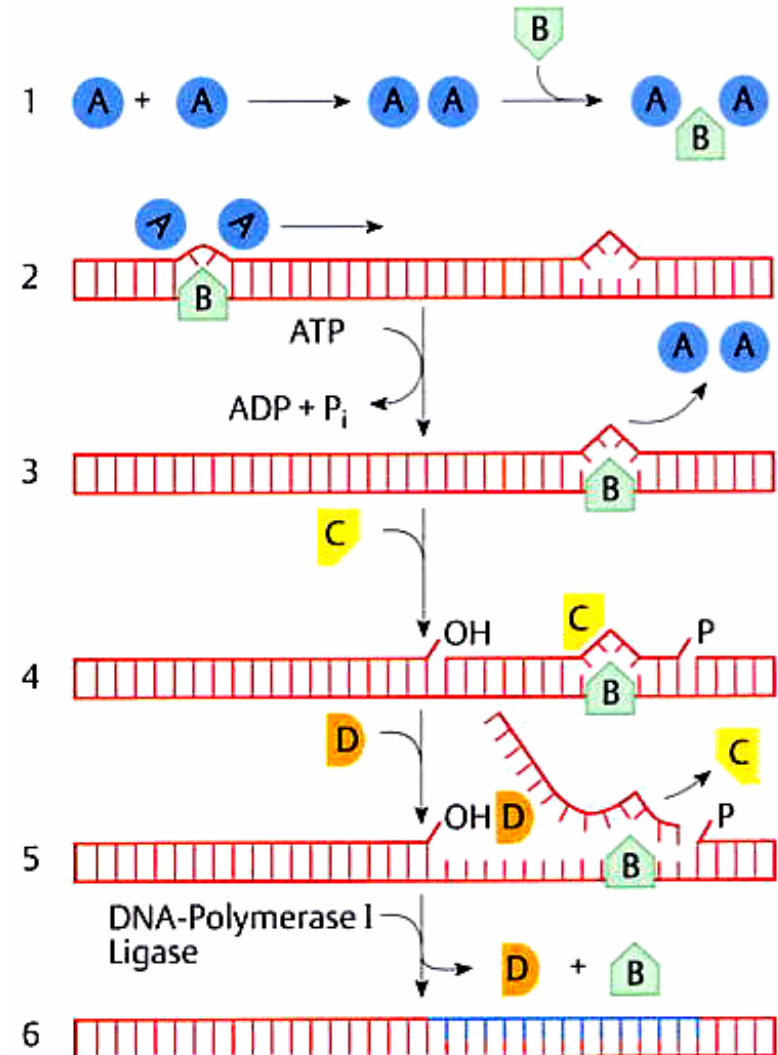


# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### Schritte der Exzisions-Reparatur von *E. coli*:

- Zwei Uvr A- und ein Uvr B-Protein bilden in Gegenwart von ATP einen Dreierkomplex
- Dieser bindet an die DNA und läuft als Helikase einen Strang entlang
- Der Komplex stoppt an einem DNA-Schaden, Uvr A wird durch Uvr C ersetzt
- Dieser Komplex schneidet den DNA-Strang mit der Schädigung 8 Nucleotide 5' und 5 Nucleotide 3' von der geschädigten Stelle
- Uvr D (DNA-Helikase) entfernt den fehlerhaften Strang
- Pol I führt Neusynthese durch
- Ligase schließt den Strang



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### DNA-Schäden durch ionisierende Strahlung:

#### Direkte Wirkung:

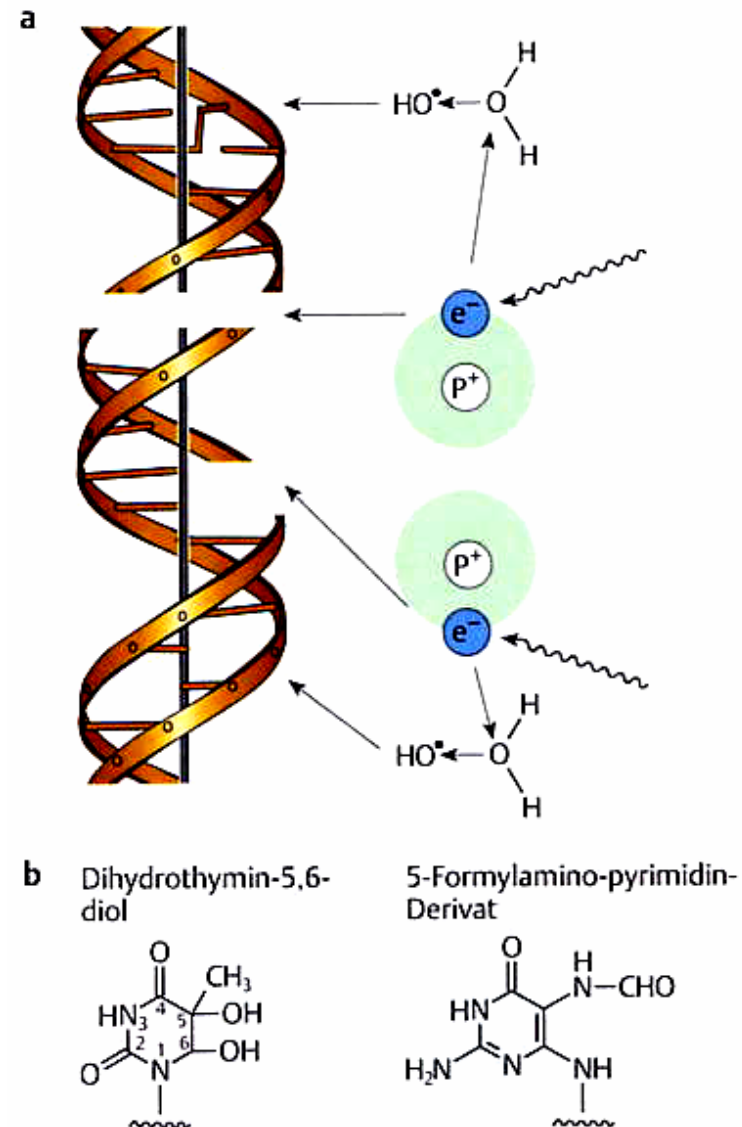
Direkt auf DNA-Makromoleküle

#### Indirekte Wirkung:

Auftreffende Strahlung reagiert zuerst mit Wassermolekülen der Zelle. Hydroxyl-Radikale entstehen und schädigen DNA

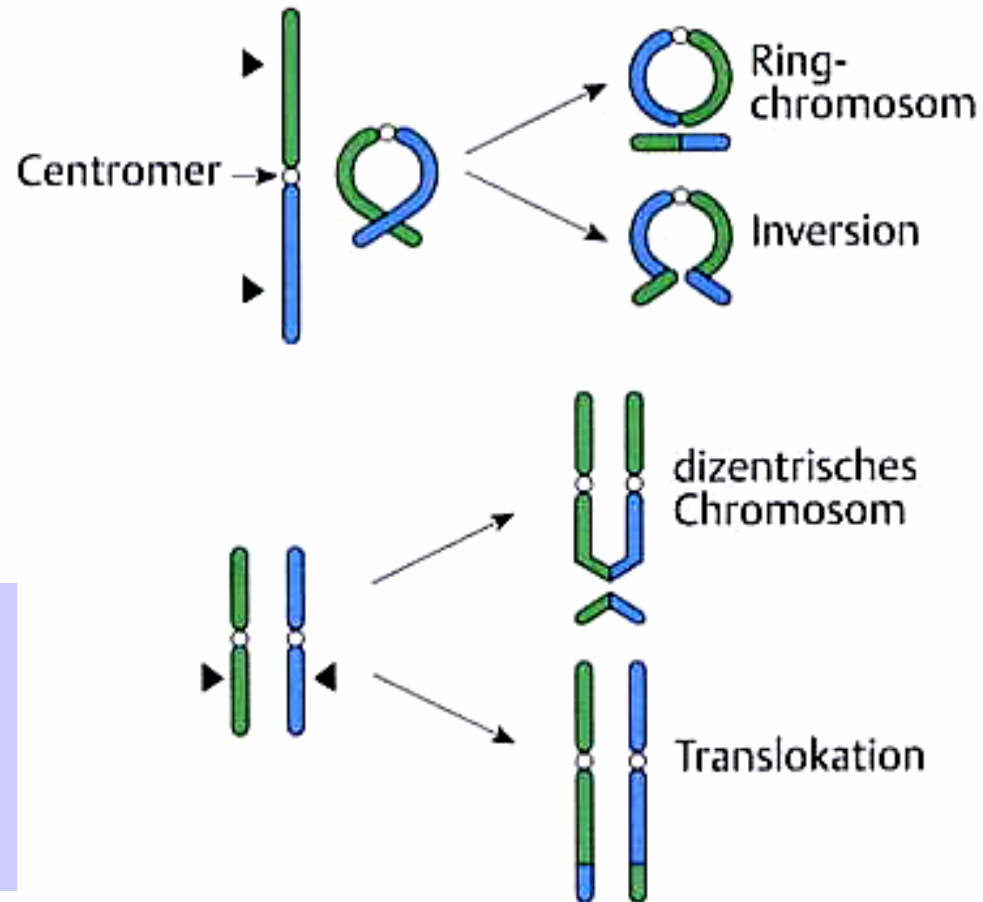
#### Schäden:

- DNA-Strangbrüche
- Kovalente Verknüpfungen zwischen Nucleotiden (*cross link*)
- Zerstörung und/oder Strukturveränderung von DNA-Basen und/oder Deoxyribose-Resten



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:



### Chromosomen-Brüche:

DNA-Schäden in Form von Strangbrüchen werden durch Chromosomenveränderung sichtbar

# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

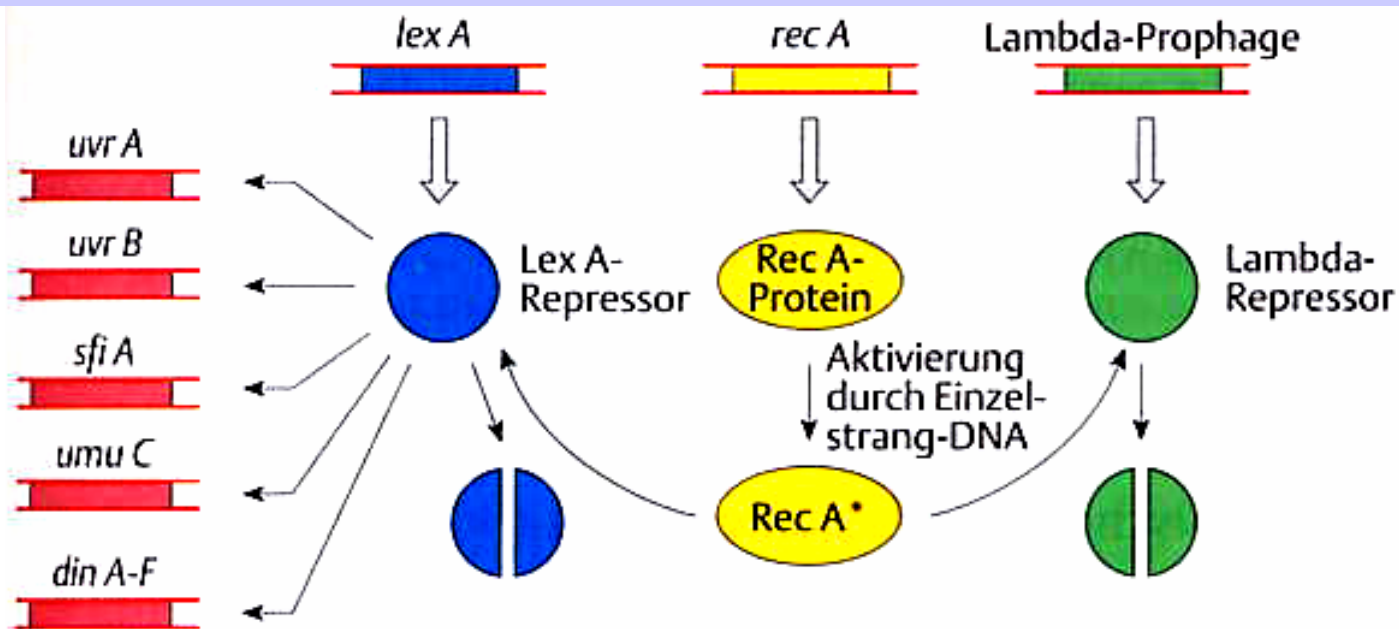
## Induktion von Mutationen:

### Die SOS-Antwort und der Reparaturweg:

Pyrimidin-Dimere, unförmige Basen, strahleninduzierte Cross links und andere Schäden blockieren das Fortschreiten der Replikationsgabel; es entsteht lange einzelsträngige DNA.

### LexA Repressor blockiert die Expression von Genen für die SOS Antwort:

- Das Blockieren der Zellteilung verschafft Zeit für die Reparatur (*sfi A*-Gen)
- Expression der Komponenten der Exzisionsreparatur (*uvr*-Gene)
- Expression von *pol B* (DNA-Polymerase II)
- Die DNA-Replikation verläuft über DNA-Schäden hinweg (Umu C/ Umu D-Komplex)

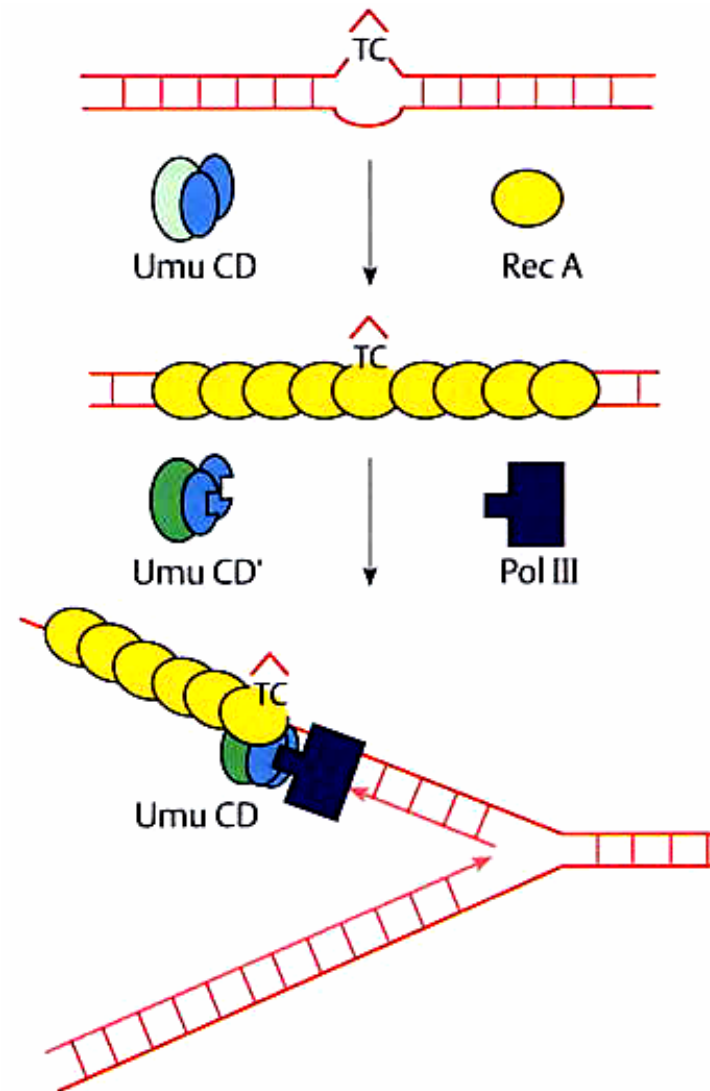


# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### Umu CD-vermittelte Mutagenese:

- Umu D und Umu C bilden einen Komplex
- Umu D wird durch Rec A in Umu D' überführt
- Der funktionelle Umu CD' Komplex tritt mit Polymerase III in Wechselwirkung
- Als Prozessivitäts-Faktor führt Umu CD' die Pol III über geschädigte Stellen hinweg und ermöglicht die Reparatur.
- Folge der SOS-Reparatur sind Falscheinbauten  
z.B.: an Thymin-Dimeren



# Mutationen: DNA-Schäden und Reparatur

## Induktion von Mutationen:

### Suppression von Mutationen, einige Beispiele:

- Reversion der Mutationen am gleichen Ort
- Weitere Mutationen heben Wirkung der ersten Mutation auf, z.B.: Protein/Protein-Wechselwirkungen werden durch eine weitere Mutation wieder möglich
- Durch Mutation eingeführte Unsinn-Codons können durch zusätzliche tRNAs aufgehoben werden

Suppressor-Gen	alternative Gen-Bezeichnung	supprimiertes Unsinn-Codon	eingesetzte Aminosäure
<i>sup D</i>	<i>ser U</i>	UAG	Serin
<i>sup E</i>	<i>gln V</i>	UAG	Glutamin
<i>sup C</i>	<i>tyr T</i>	UAA, UAG	Tyrosin
<i>sup G</i>	<i>lys T</i>	UAA, UAG	Lysin
<i>sup U</i>	<i>trp U</i>	UGA	Tryptophan