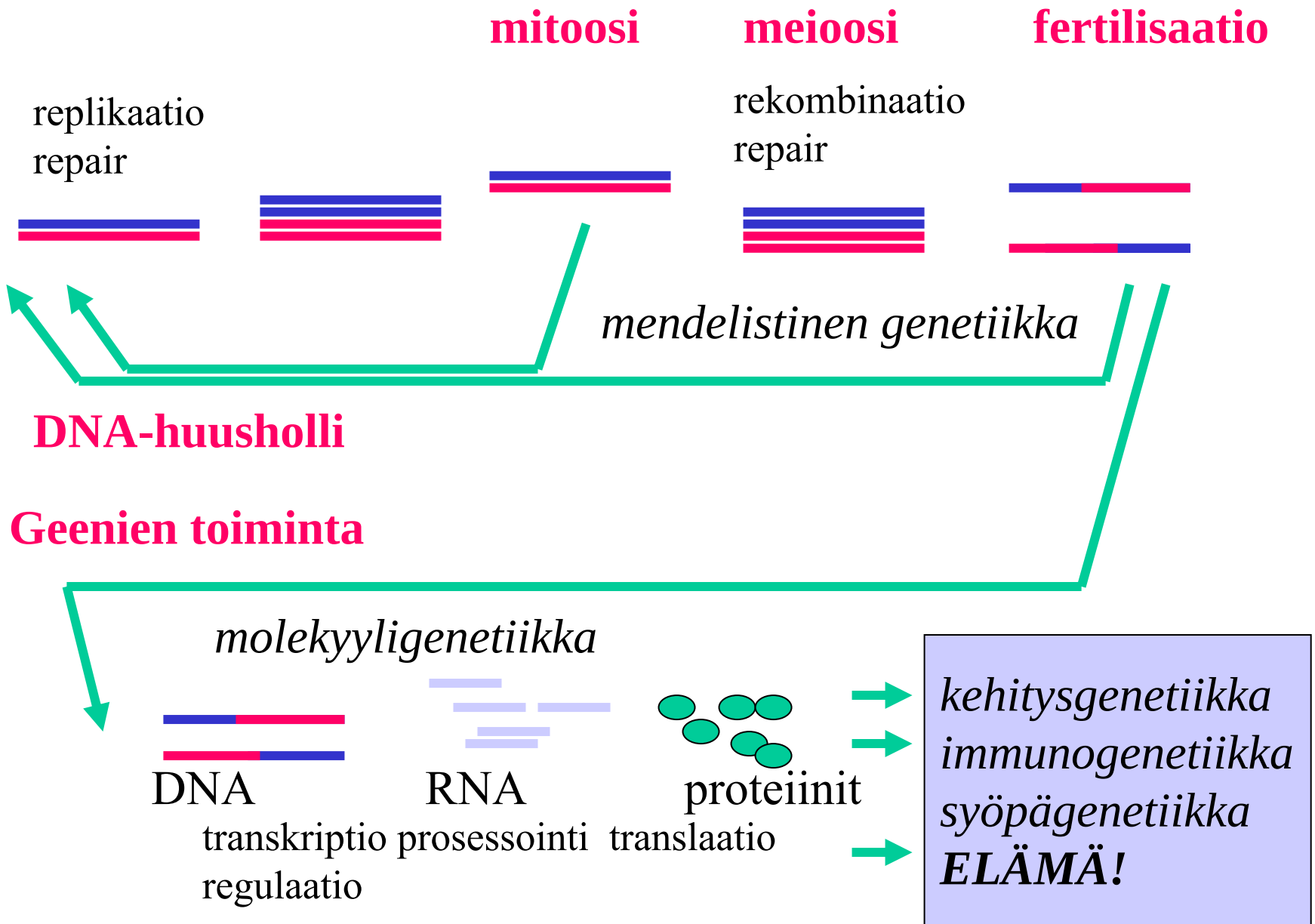




Genetiikan perusteiden miellekartta

CELL 249-, 267-

mitoosi

meioosi

fertilisaatio

replikaatio
repair

rekombinaatio
repair

mendelistinen genetiikka

DNA-huusholli

Geenien toiminta

molekyylogenetiikka

DNA

transkriptio
regulaatio

RNA

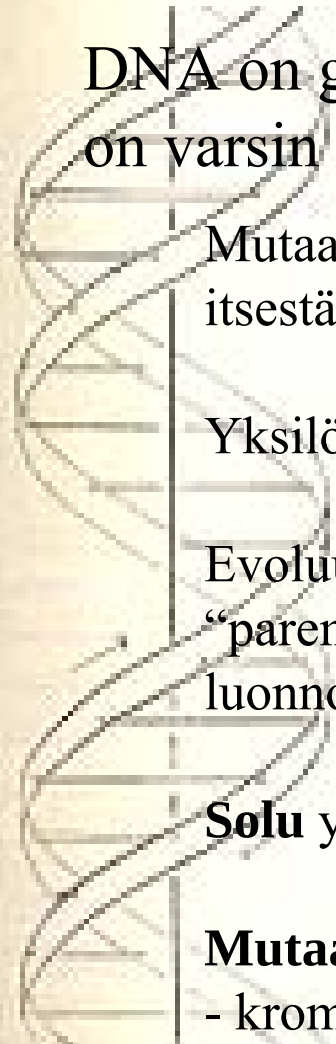
prosessori

proteiinit

translaatio

kehitysgenetiikka
immunogenetiikka
syöpägenetiikka
ELÄMÄ!

Genetiikan perusteiden miellekartta: tänään mutaatiot, korjaus



DNA on geneettisen informaation varastomuoto, koska se on varsin kestävä

Mutaatioita kuitenkin vääjäämättä tapahtuu, somaattisia ja ituradassakin, itsestään ja indusoituna

Yksilön aika-asteikolla mutaatiot ovat neutraaleja tai haitaksi

Evoluution aika-asteikolla on myös hyödyllisiä mutaatioita: geeni muuttuu “paremmaksi”, geenejä saadaan lisää, informaation määrä kasvaa, luonnonvalinnalla ja muilla muutosvoimilla on materiaalia

Solu yrittää kuitenkin kaikin keinoin torjua mutaatioita

Mutaatioluokat

- kromosomistomutaatiot (polyploidiat yms)
- kromosomimutaatiot (järjestysmuutokset)
- geenimutaatiot (insertiot, deleetiot, emäsmuutokset, aminohappomuutokset)

This figure is a schematic diagram of a DNA molecule. The two ribbons represent the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the three axes

Emäs puuttuu	Removal of purines by acid and heat (under physiological conditions $\approx 10^4$ purines/day/cell in a mammalian genome); removal of altered bases (e.g., uracil) by DNA glycosylases
Emäs muuttuu	Ionizing radiation; alkylating agents (e.g., ethylmethane sulfonate)
Väärä pari	Mutations affecting 3' $\rightarrow$ 5' exonuclease proofreading of incorrectly incorporated bases
Ylimääräinen nukleotidi	Intercalating agents (e.g., acridines) that cause addition or loss of a nucleotide during recombination or replication
Pyrimidiini-dimeeri	Cyclotubyl dimers (usually thymine dimers) resulting from UV irradiation
Juosteet vialla	Breakage of phosphodiester bonds by ionizing radiation or chemical agents (e.g., bleomycin) Covalent linkage of two strands by bifunctional alkylating agents (e.g., mitomycin C) Disruption of deoxyribose structure by free radicals leading to strand breaks

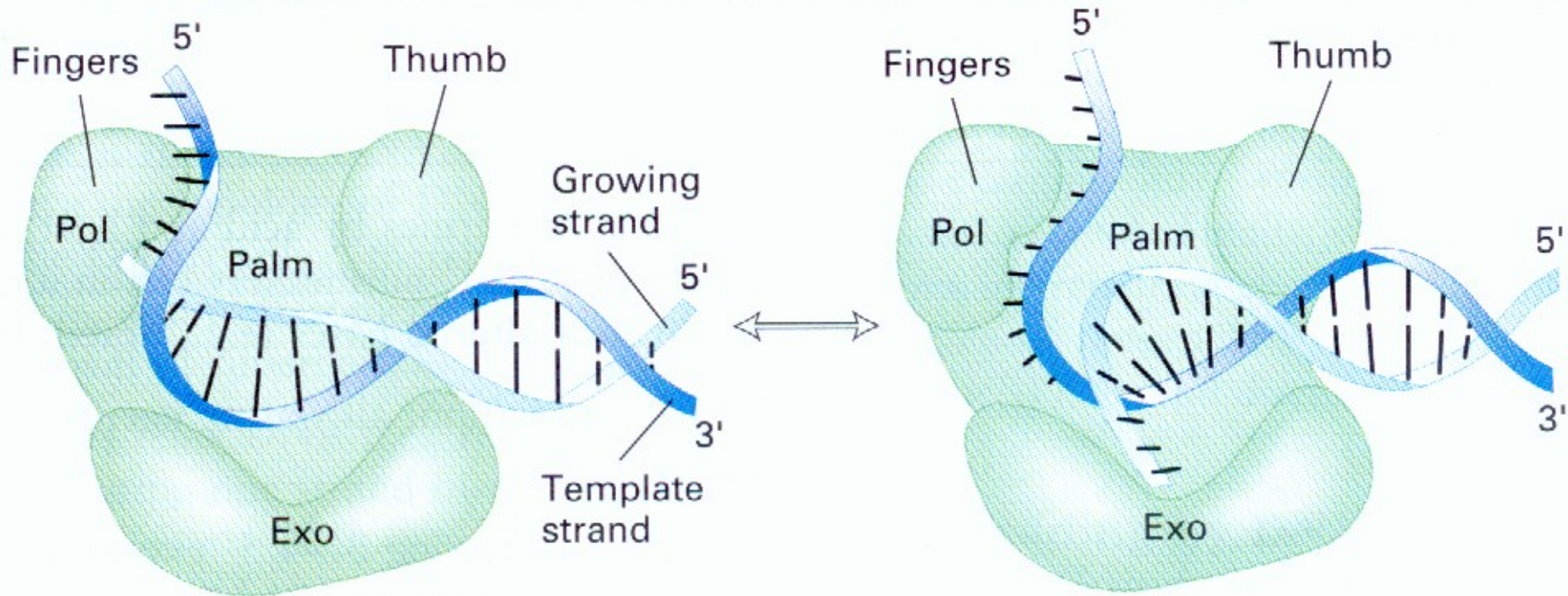
Oikoluku

eli

proofreading kuuluu

replikaatioon automaattisesti

Solu kamppailee omia virheitä vastaan *oikolukemalla*



Jos väärä emäs istuu 3' päähän, se poistetaan heti polymeraasin kämmenen eksonukleaasiaktiolla (alayksikkö ϵ)

Solu kamppailee omia virheitä vastaan *oikolukemalla*

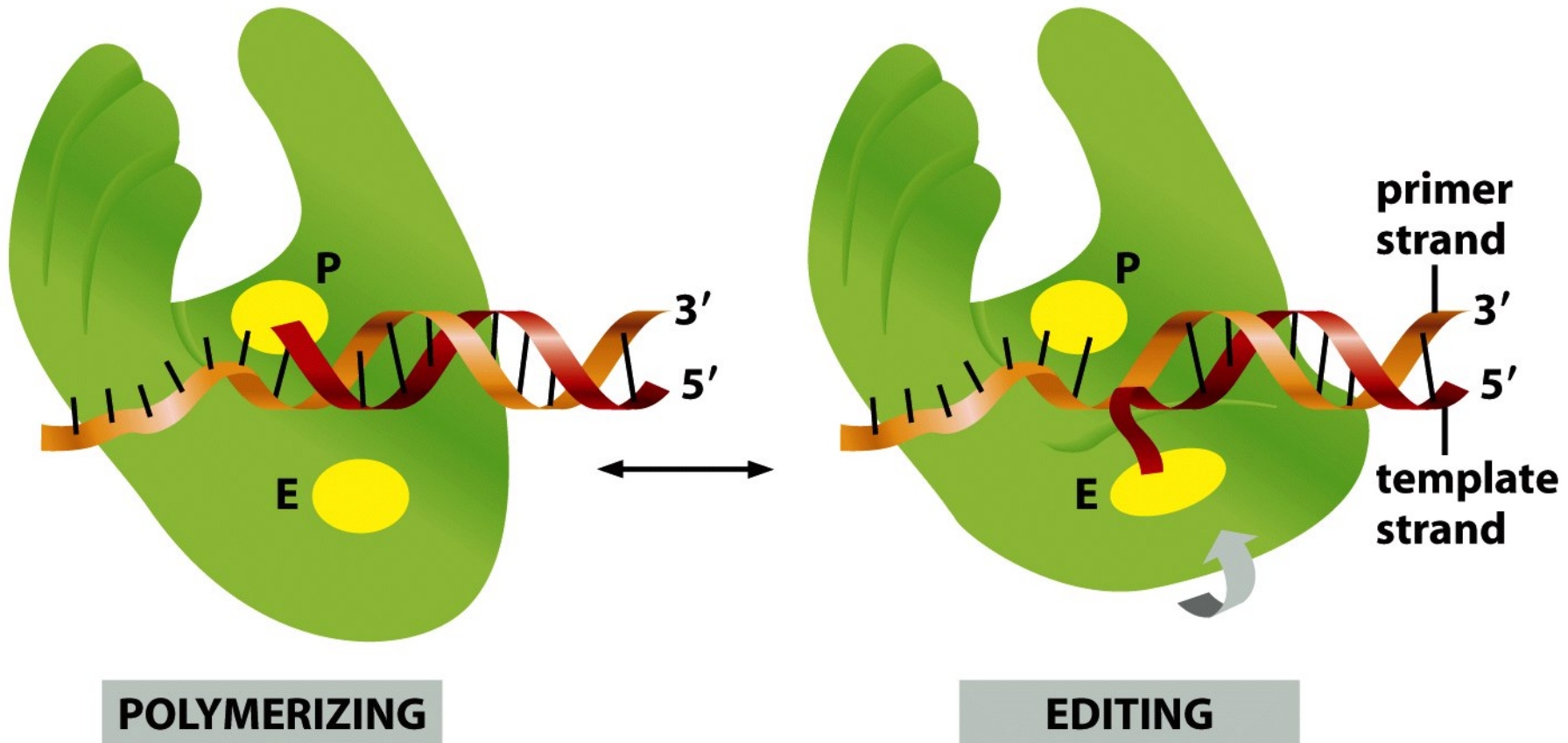


Figure 5-9 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Jos väärä emäs istuu 3' päähän, se poistetaan heti polymeraasin kämmenen eksonukleaasiaktiolla (alayksikkö ϵ)

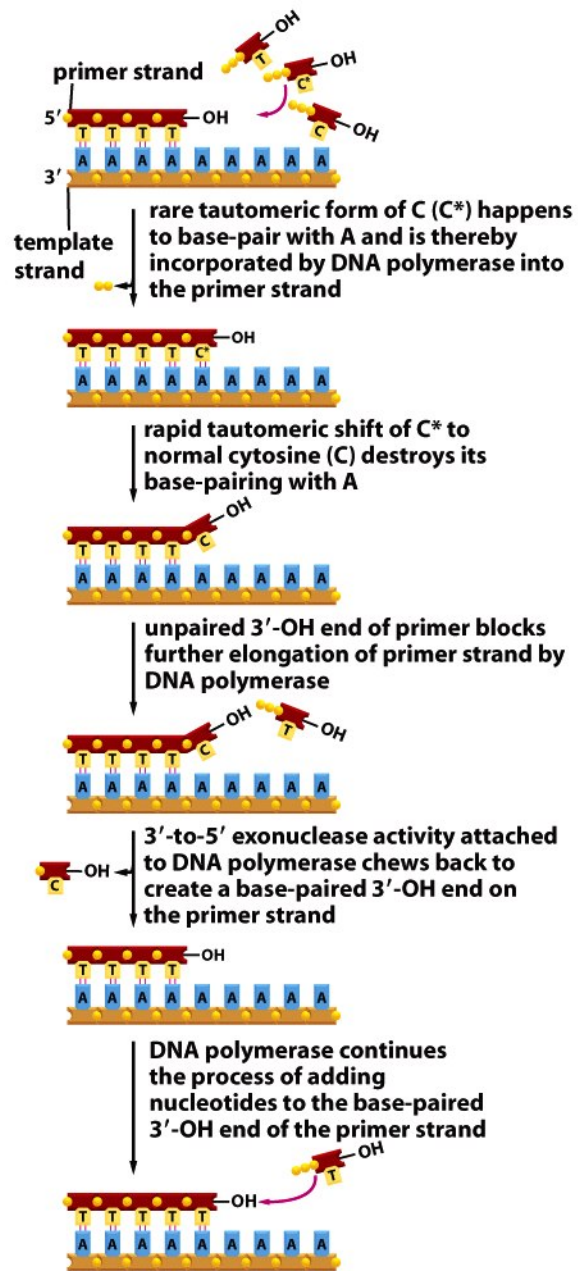


Figure 5-8 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Tämä kuva selittää,
miksi 3' suunta on
parempi oikoluvun
kannalta

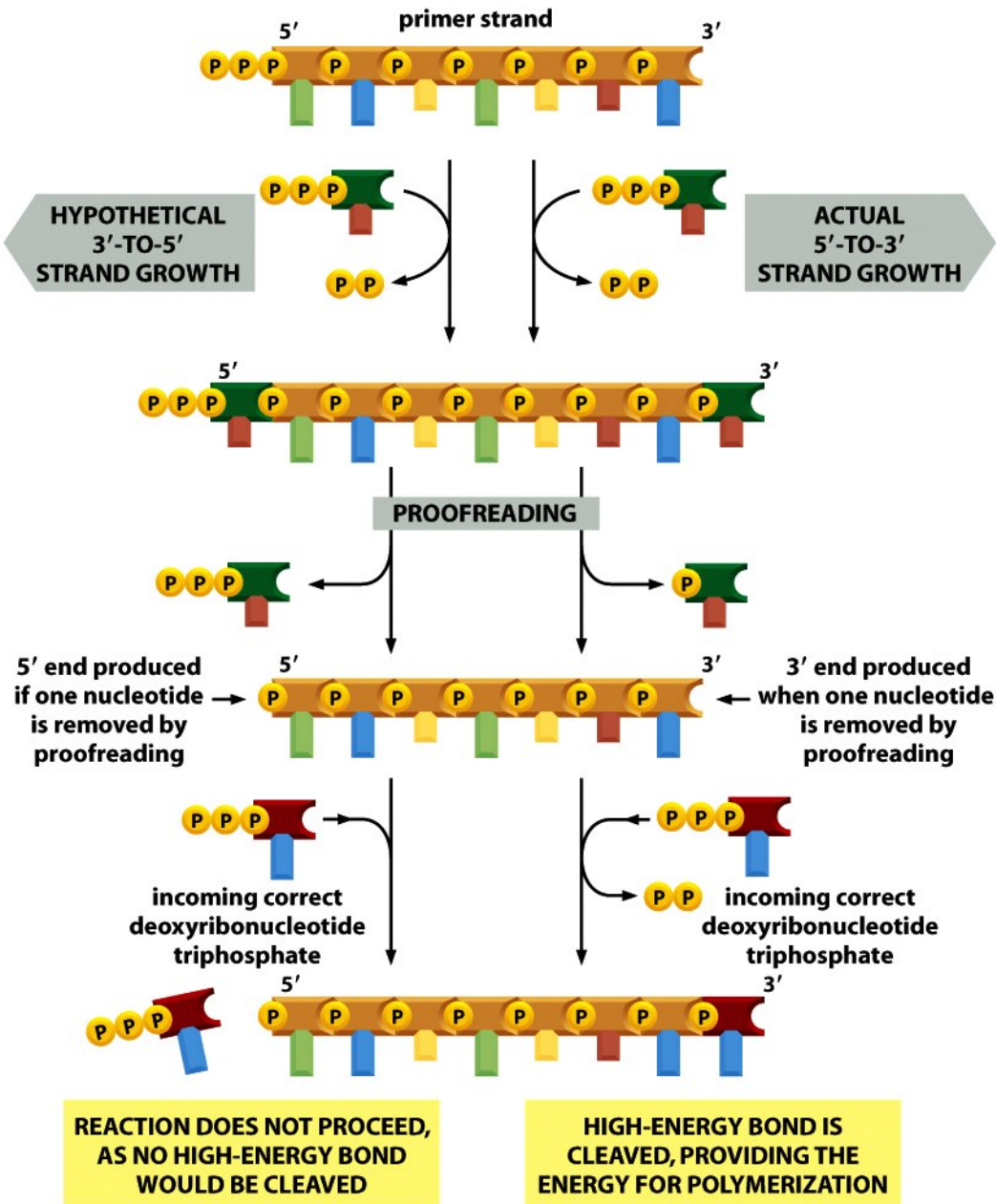
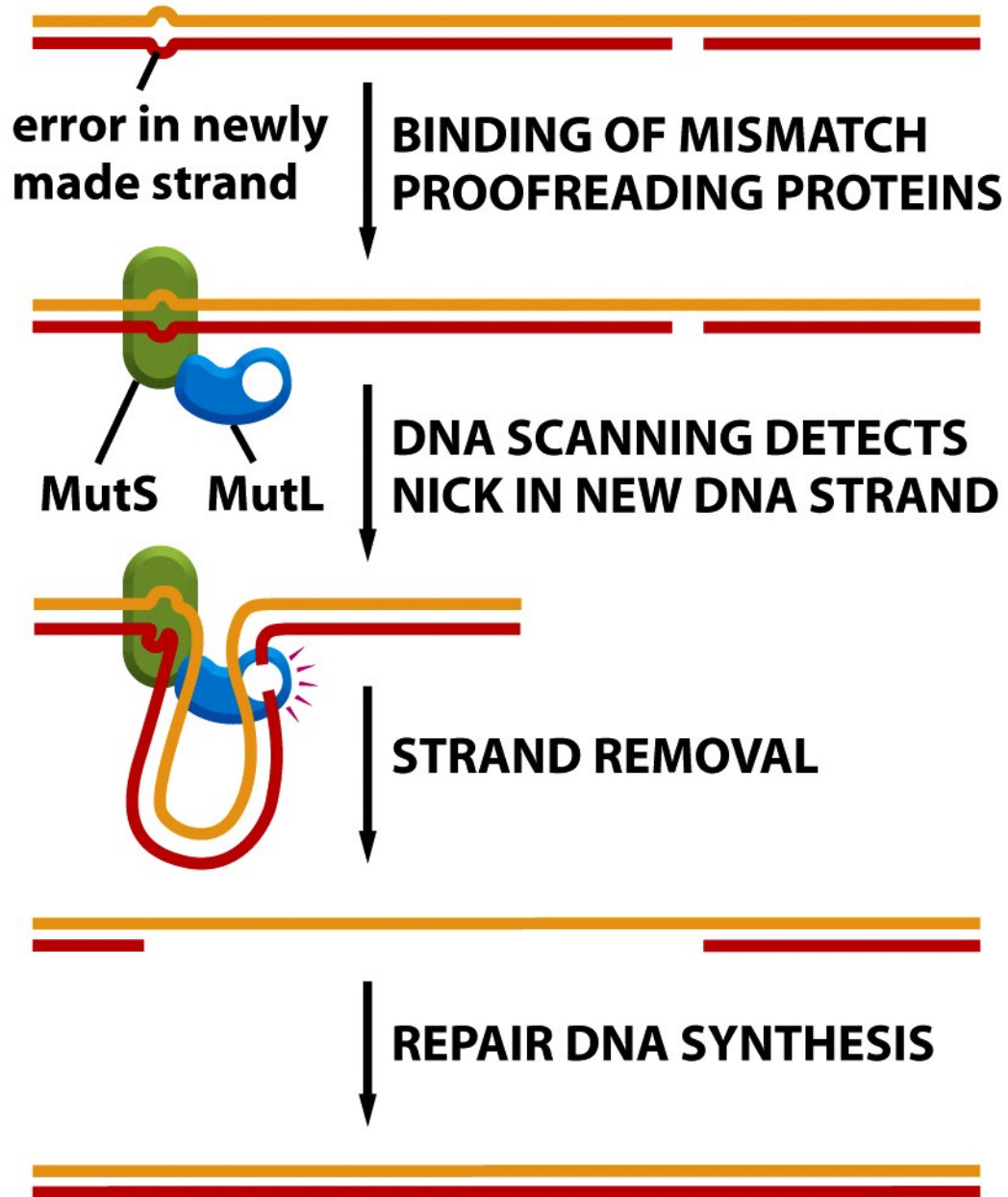


Figure 5-10 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Yhteensopimattomuustestaus ja
-korjaus
eli
mismatch repair suoritetaan rutiininomaisesti



CELL 277

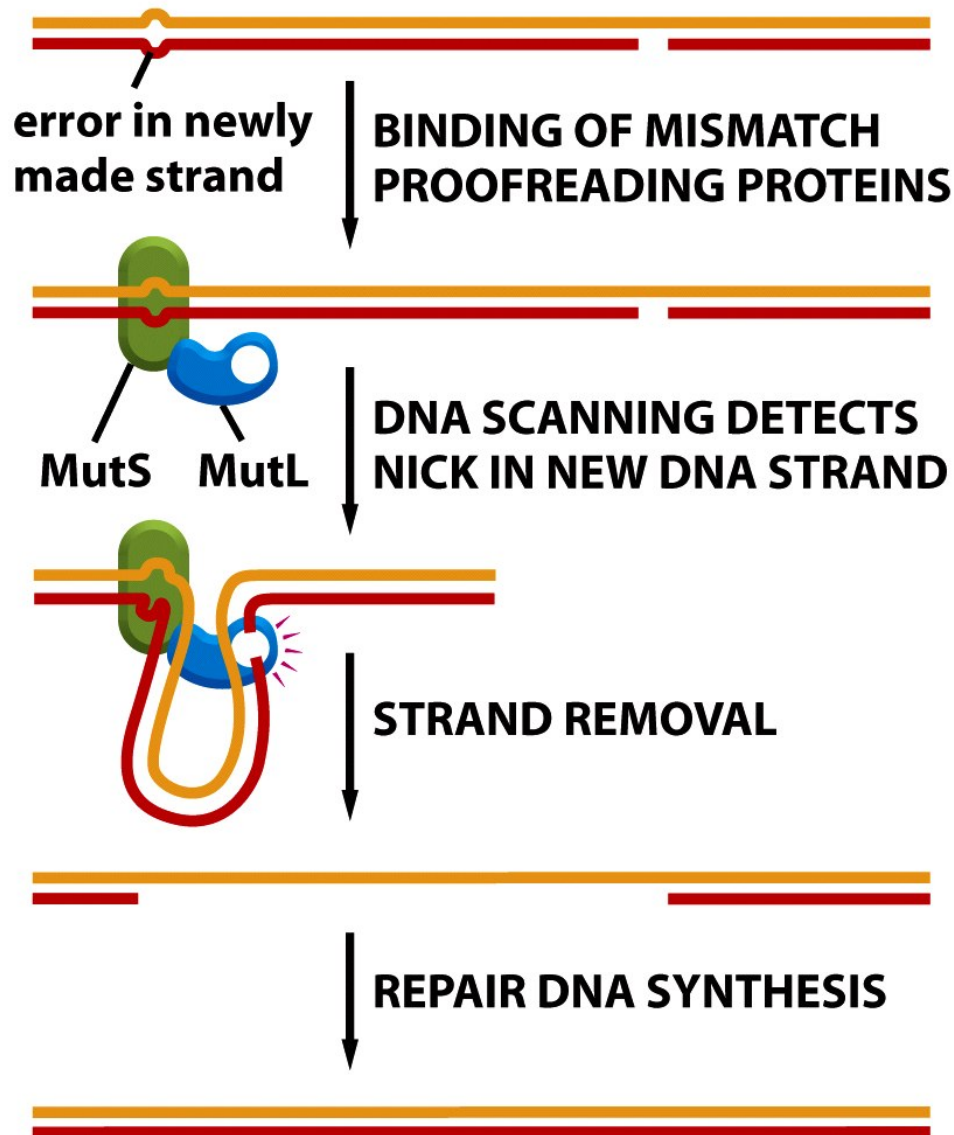


Figure 5-20a Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

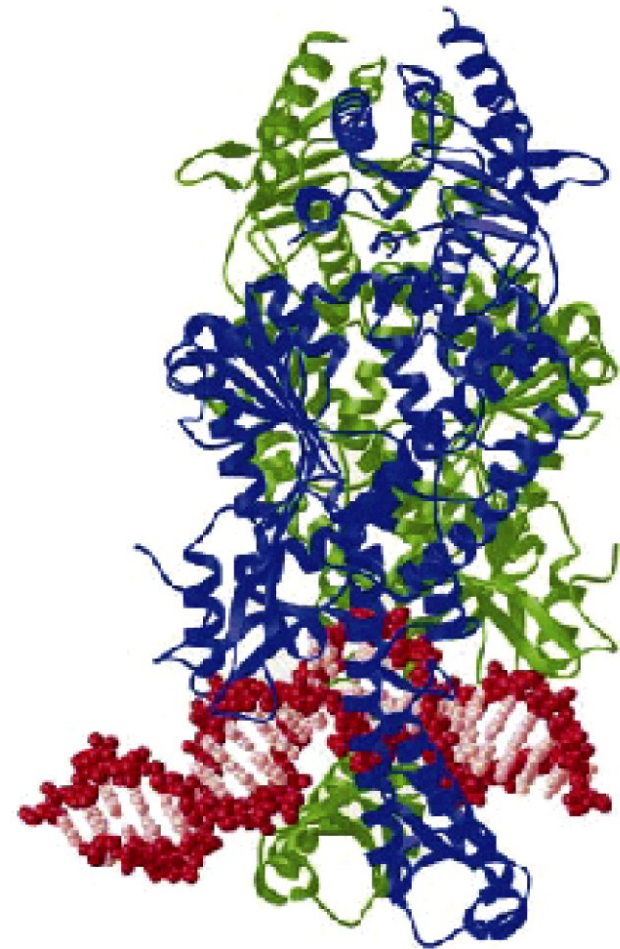


Figure 5-20b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

The Chemistry of the DNA Bases Facilitates Damage Detection

The DNA double helix seems to be optimally constructed for repair. As noted above, it contains a backup copy of the genetic information, so that if one strand is damaged, the other undamaged strand can be used as a template for repair. The nature of the bases also facilitates the distinction between undamaged and damaged bases. Thus, every possible deamination event in DNA yields an unnatural base, which can therefore be directly recognized and removed by a specific DNA glycosylase. Hypoxanthine, for example, is the simplest purine base capable of pairing specifically with C, but hypoxanthine is the direct deamination product of A (Figure 5–52A). The addition of a second amino group to hypoxanthine produces G, which cannot be formed from A by spontaneous deamination, and whose deamination product is likewise unique.

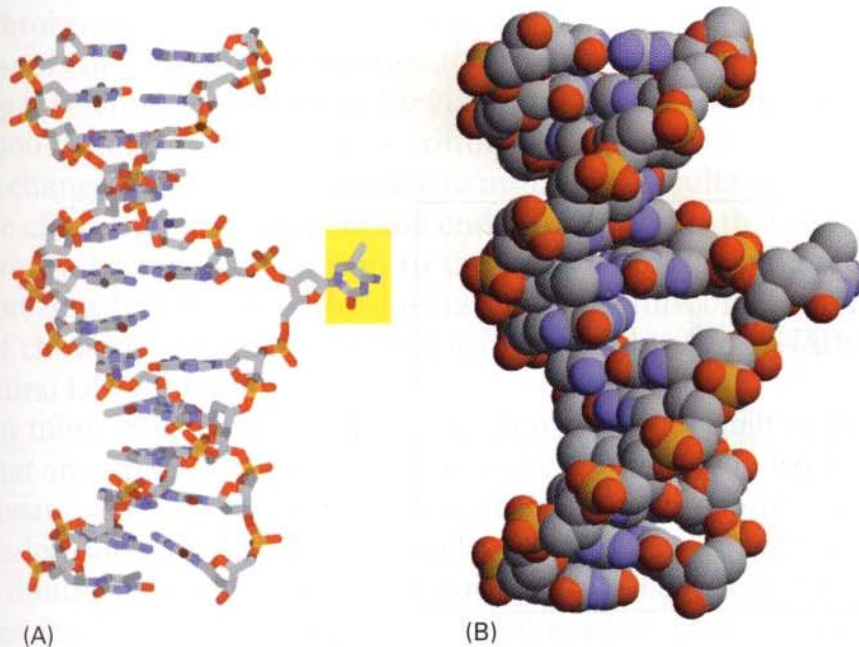
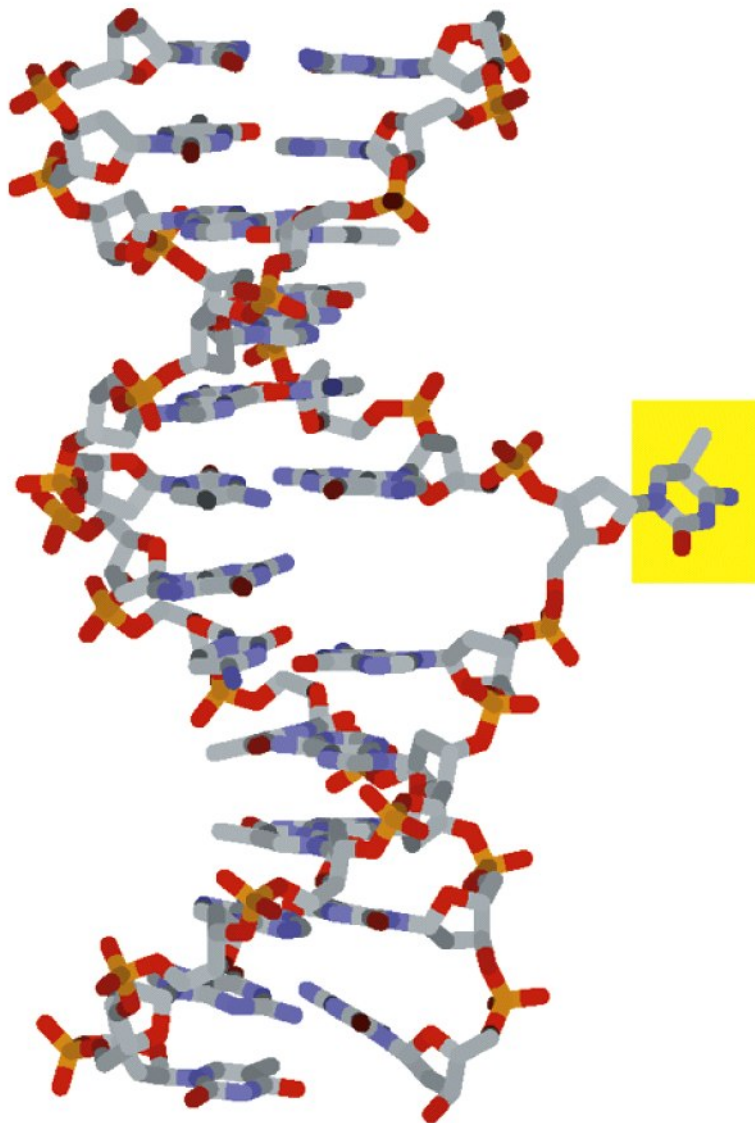
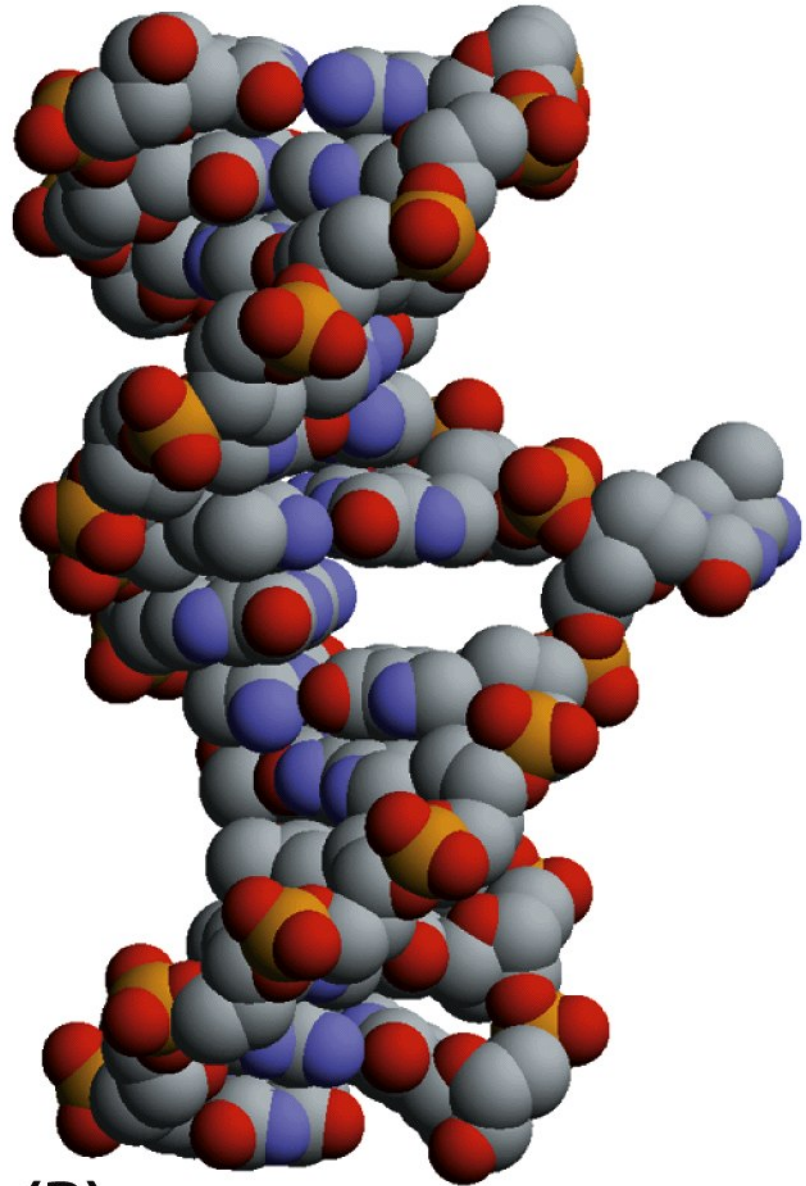


Figure 5–51 The recognition of an unusual nucleotide in DNA by base-flipping. The DNA glycosylase family of enzymes recognizes specific bases in the conformation shown. Each of these enzymes cleaves the glycosyl bond that connects a particular recognized base (yellow) to the backbone sugar, removing it from the DNA. (A) Stick model; (B) space-filling model.

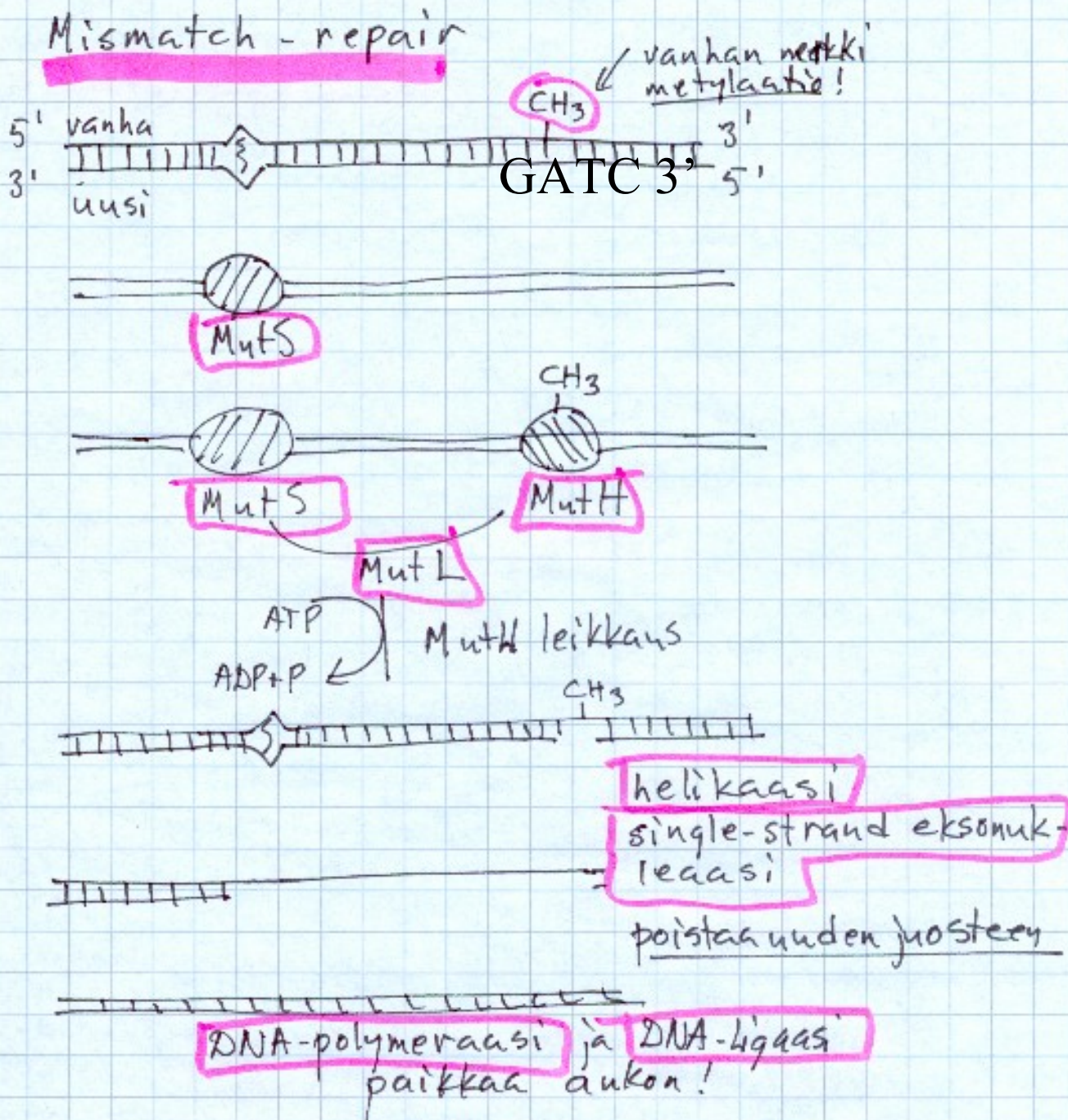


(A)



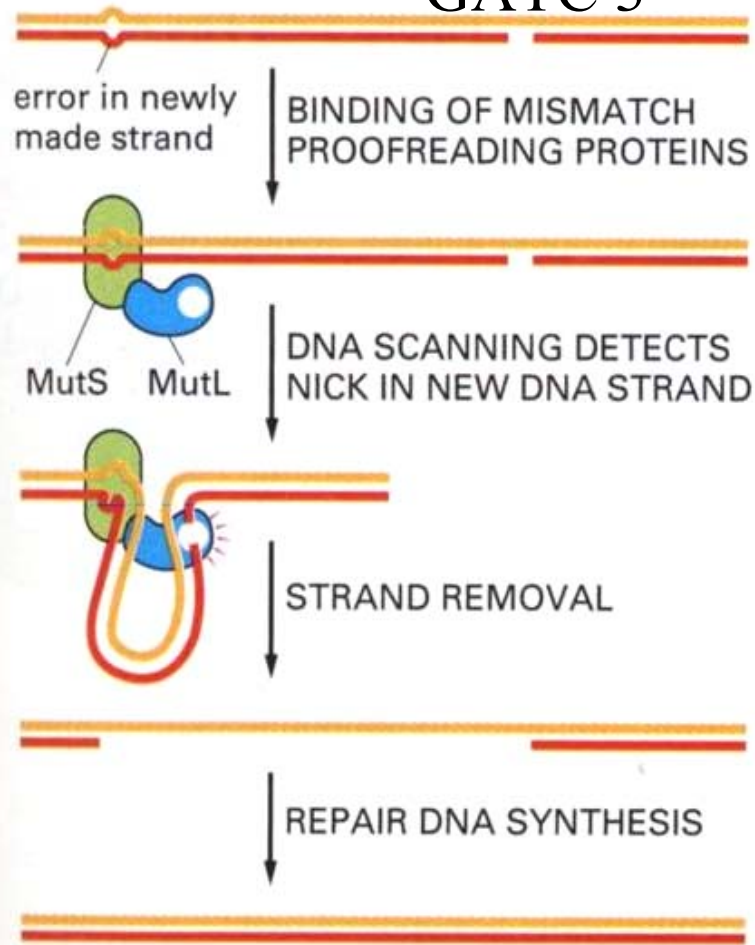
(B)

Mismatch - repair

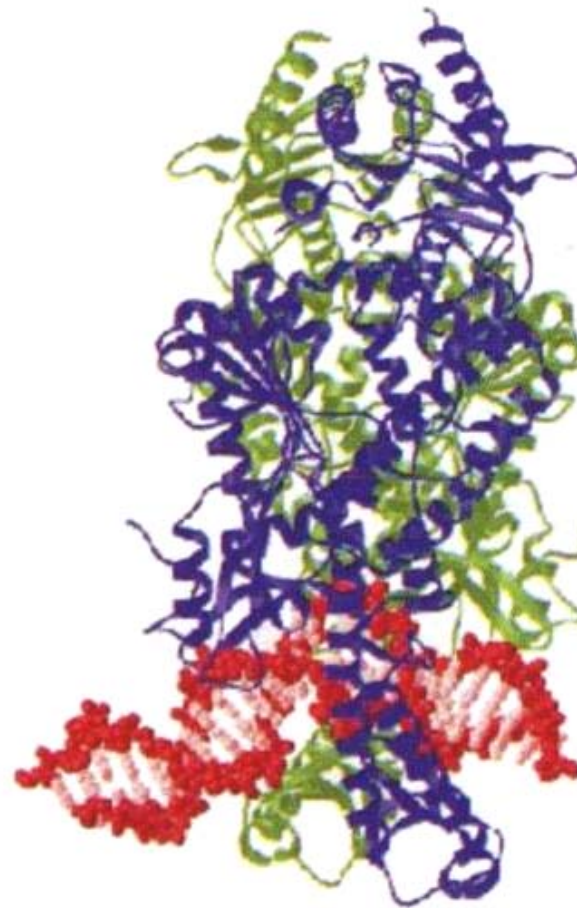


Juuri replikoitu
DNA tarkastetaan
ja korjataan yhteen
sopimattomat
nukleotidit

GATC 3'



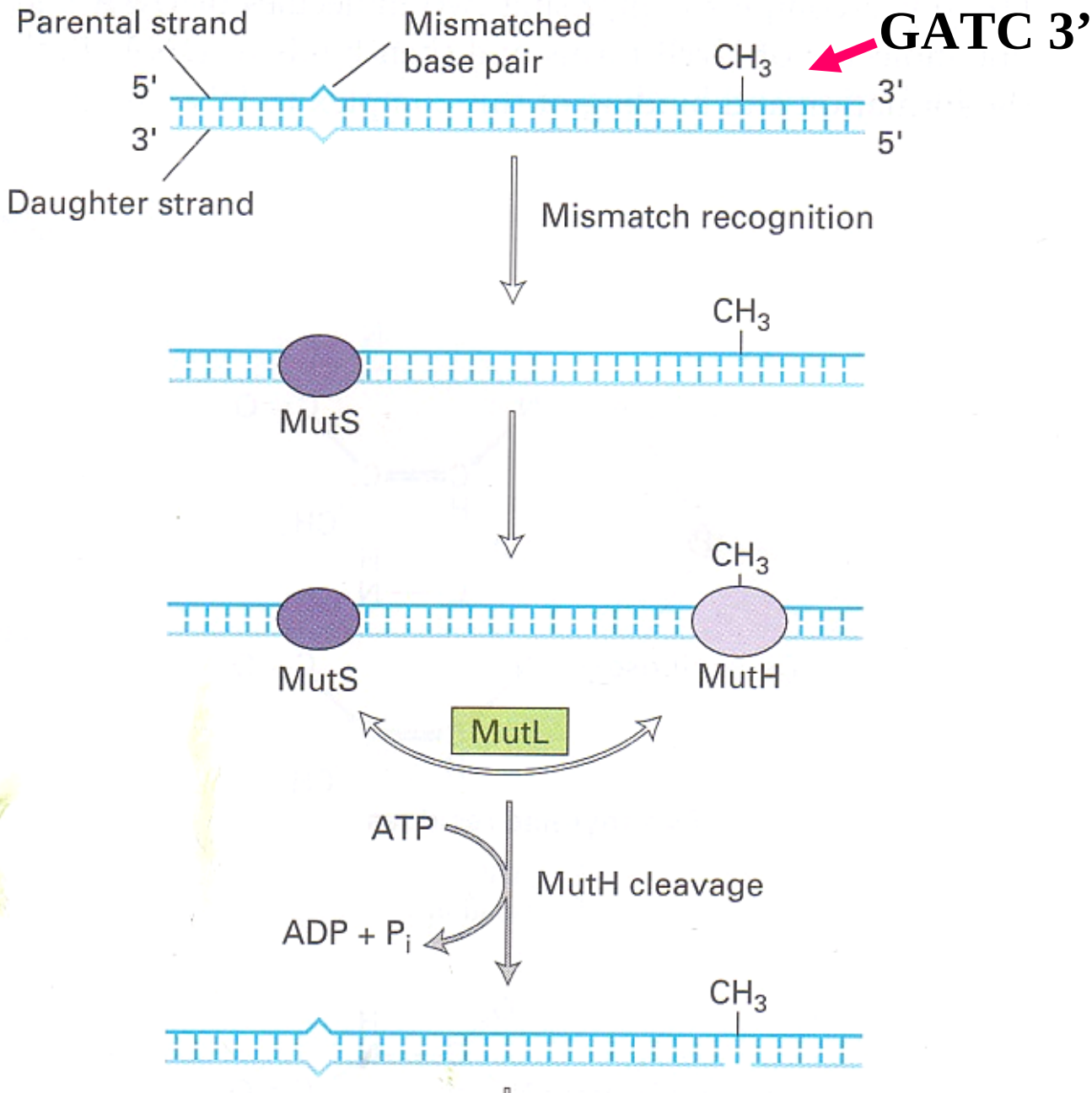
(A)



MutS

DNA

(B)

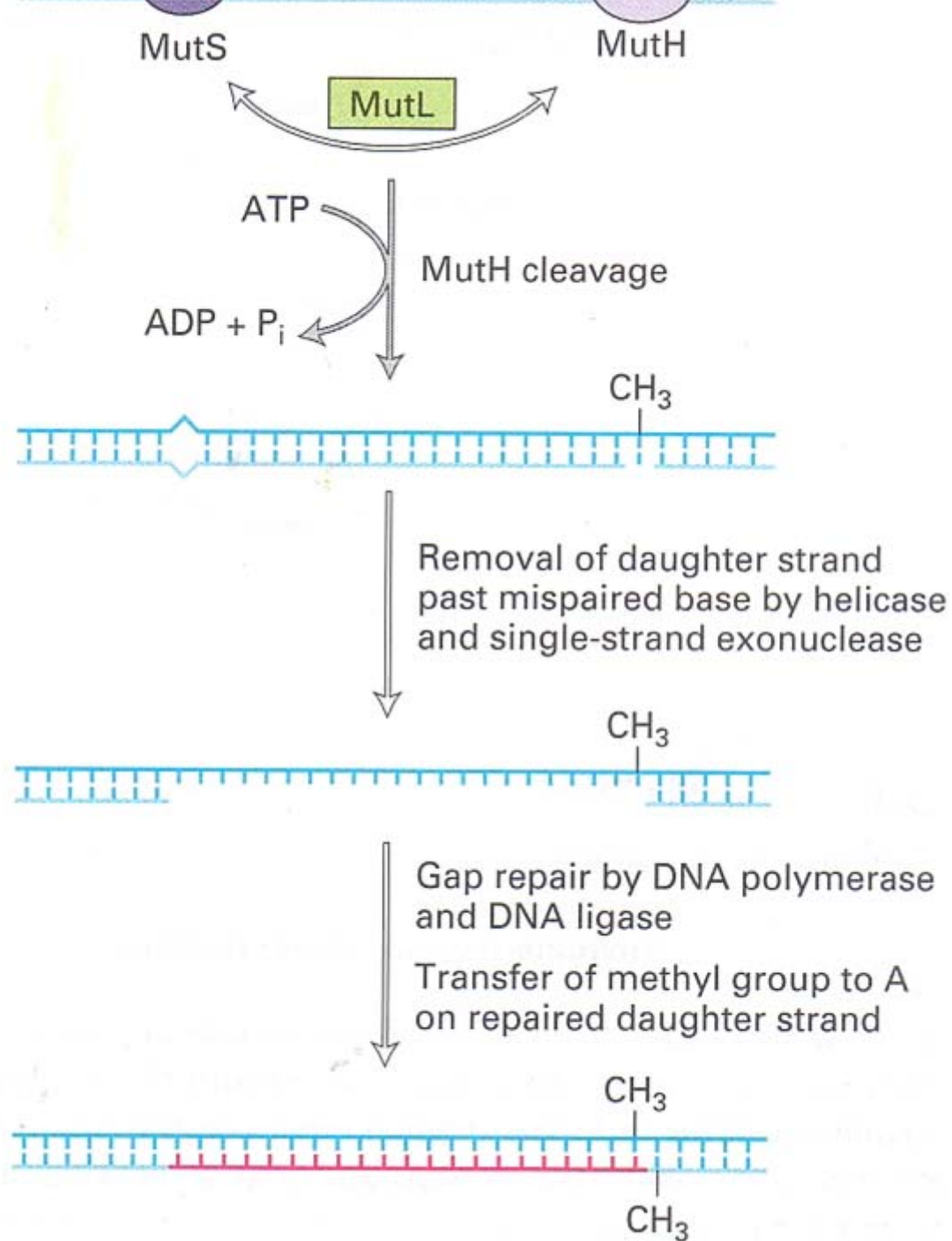


Vasta replikoitu DNA tarkastetaan ja korjataan yhteen sopimattomat nukleotidit

Koneisto tietää, että metyloimaton DNA-puoli on uusi

MutS, MutH ovat entsyymejä, joiden viat (mutaatiot) aiheuttava

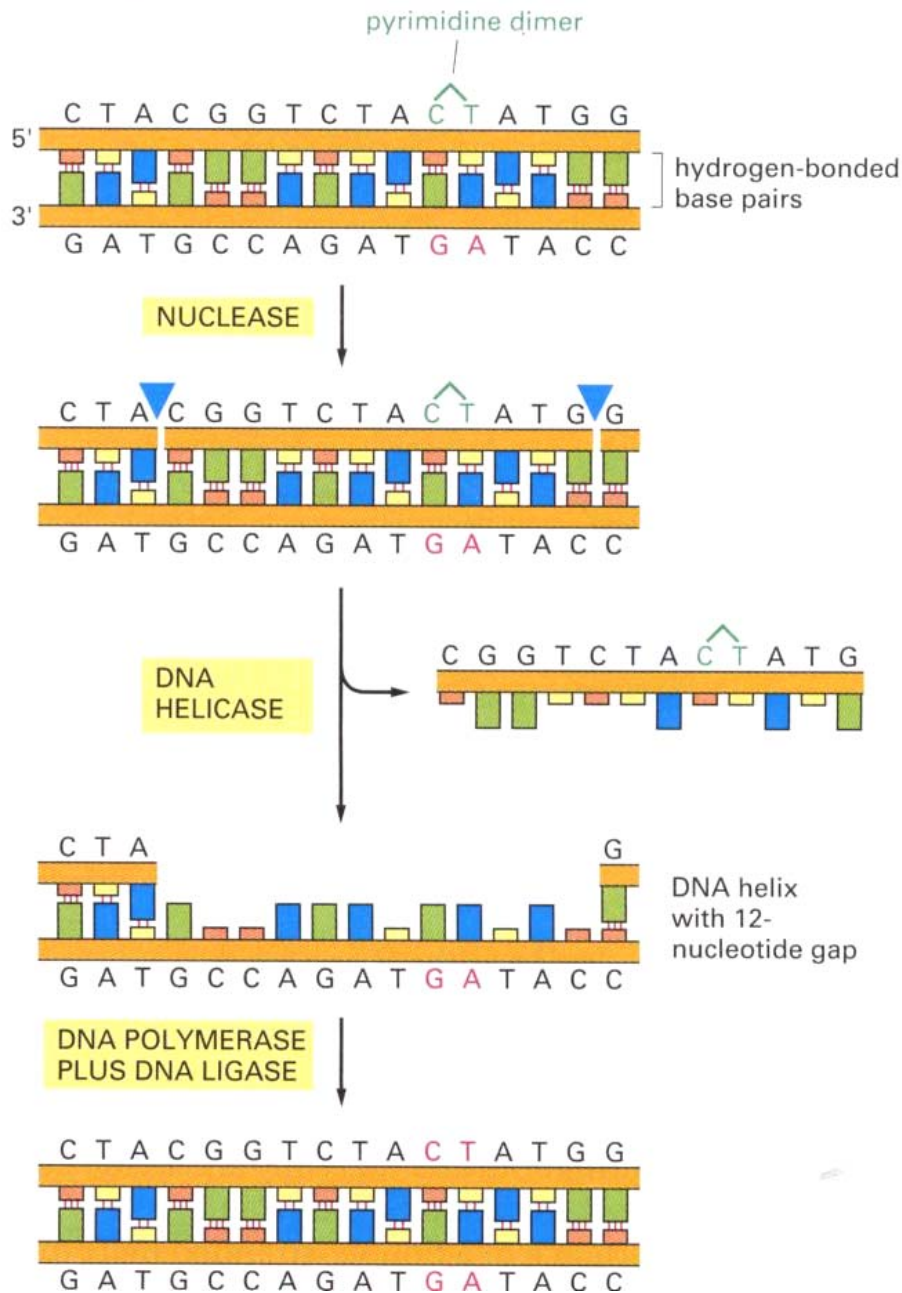
CELL 277



Virheen löydyttyä
poistetaan pitkä
pätkä uutta
juostetta ja
replikoidaan se
sitten uudestaan

CELL 277

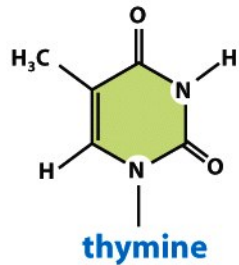
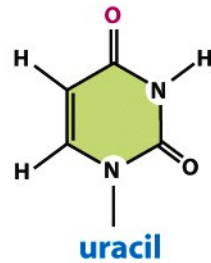
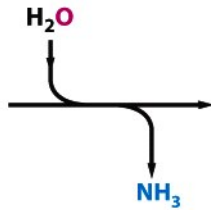
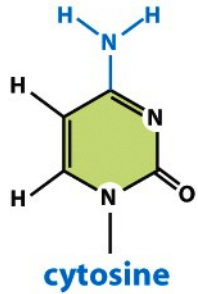
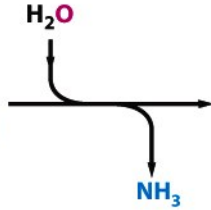
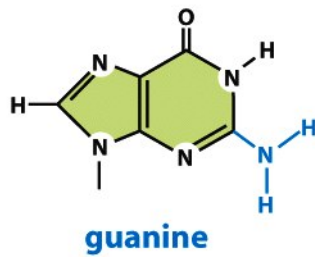
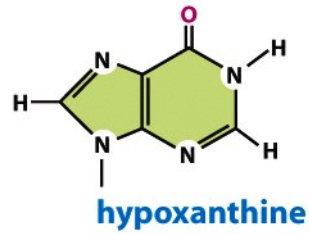
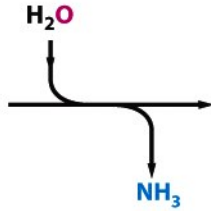
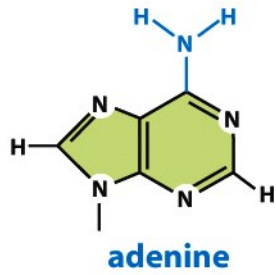
(B) NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR



Mutaatit

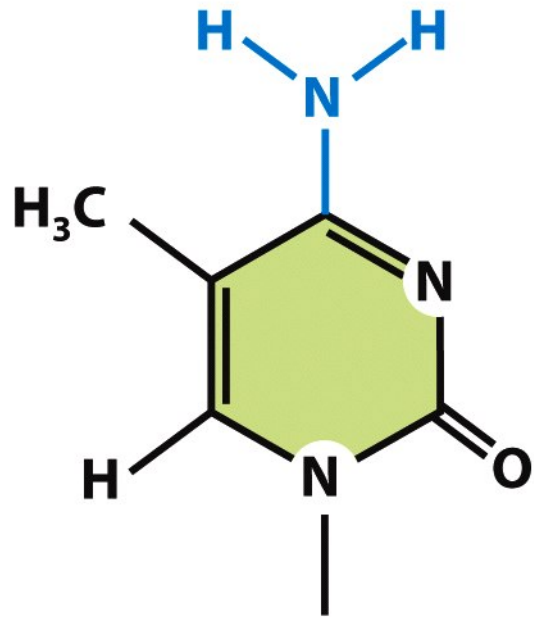
NATURAL DNA BASES

UNNATURAL DNA BASES

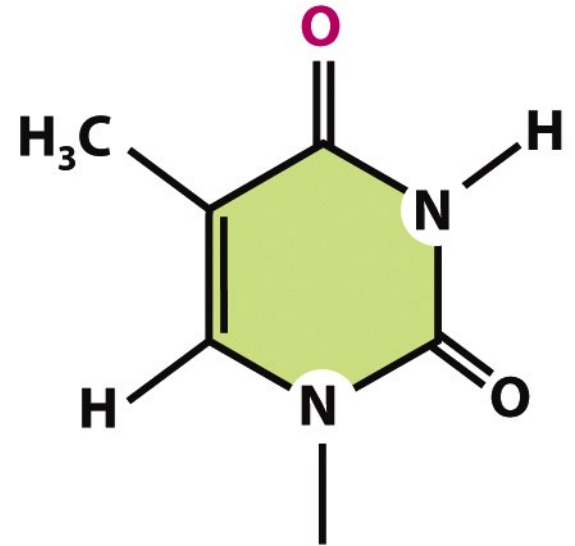
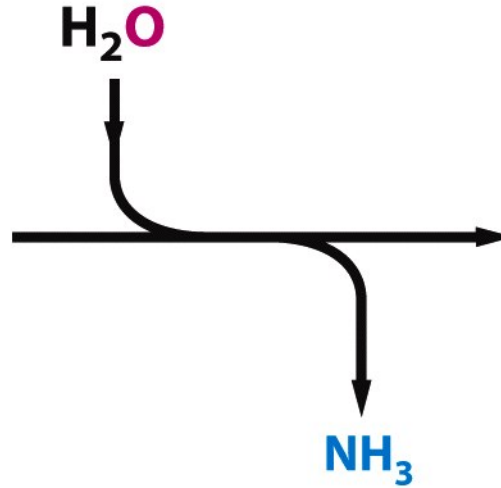


NO DEAMINATION

CELL 301



5-methyl cytosine



thymine

Figure 5-50b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

CELL 301

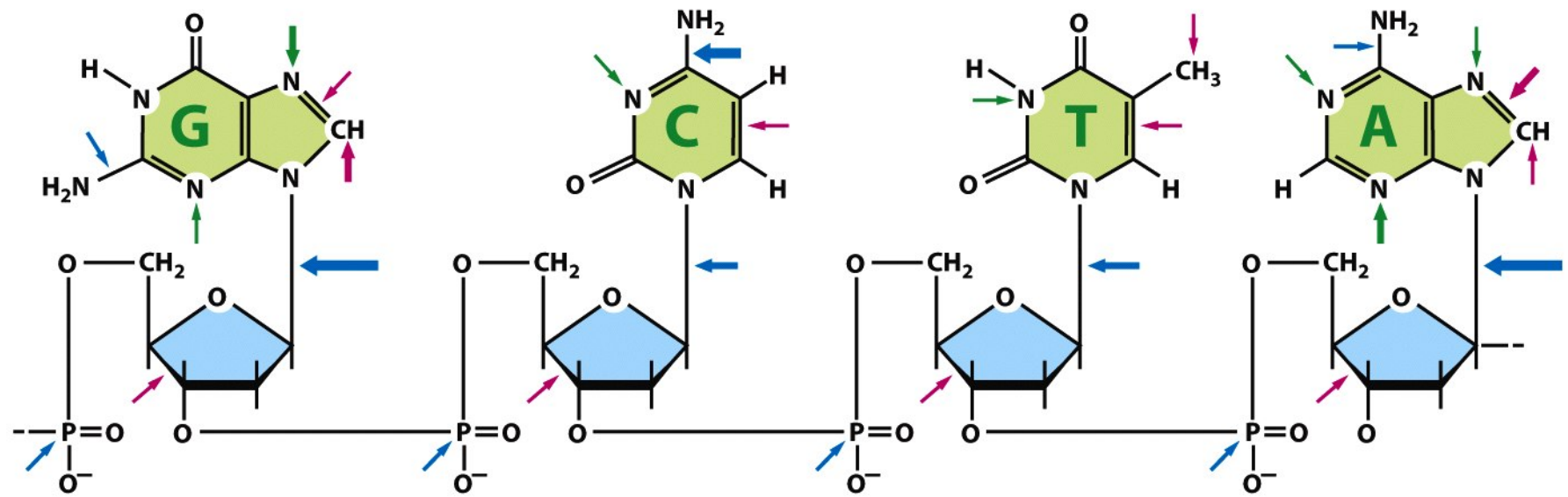
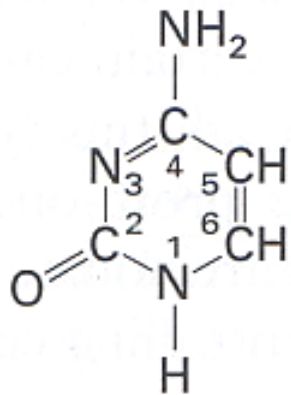


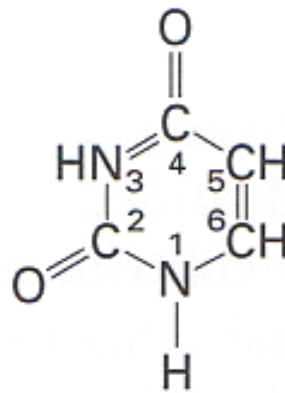
Figure 5-44 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Eriväriset nuolet osoittelevat kohtia, joihin kemialliset iskut voivat kohdistua. Mitä paksumpi nuoli, sitä yleisempi vaurio. Paksuimmat ovat **depurinaatio** ja **deaminaatio** (C > U)

Urašiiliongelma



Cytosine (C)



Uracil (U)

spontaani deaminaatio

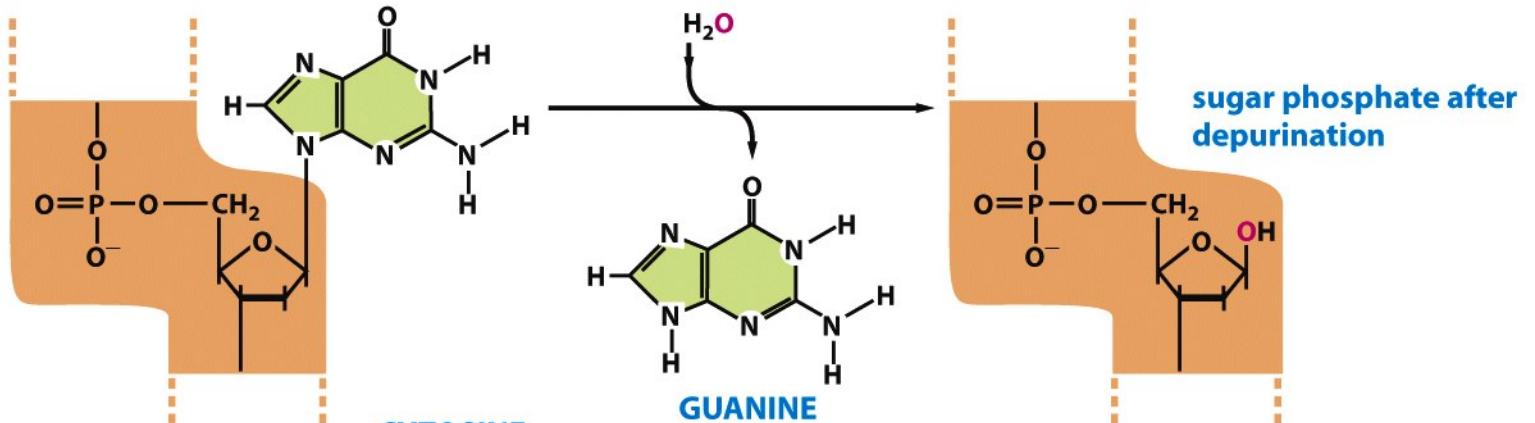
DNA:han syntyy 200 kpl urasiilia päivässä (meidän solussa)

Helpoimmin yksijuosteiseen, esim transkription tai replikaation aikana

U kuuluu RNA:han!

GUANINE

DEPURINATION



CYTOSINE

DEAMINATION

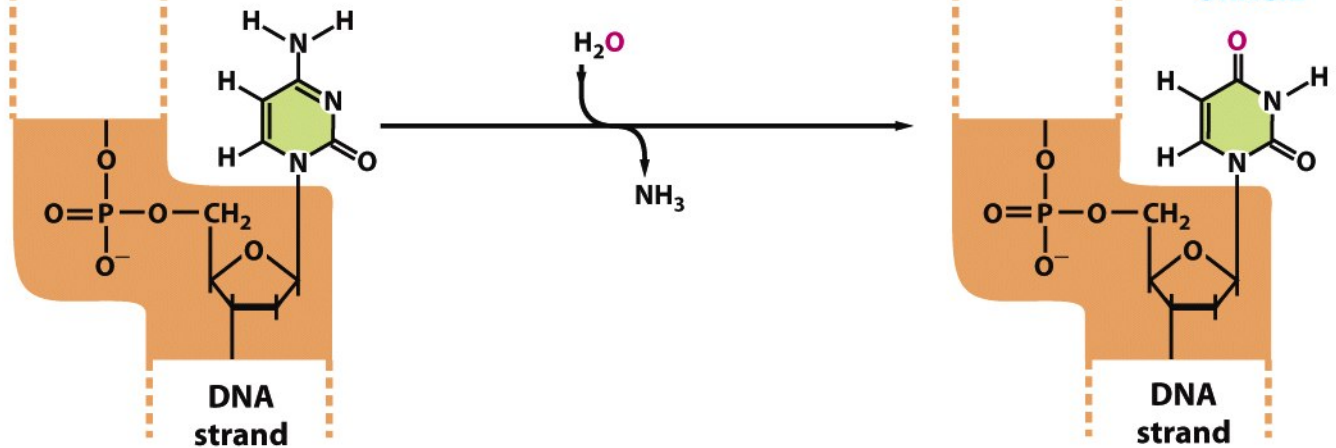
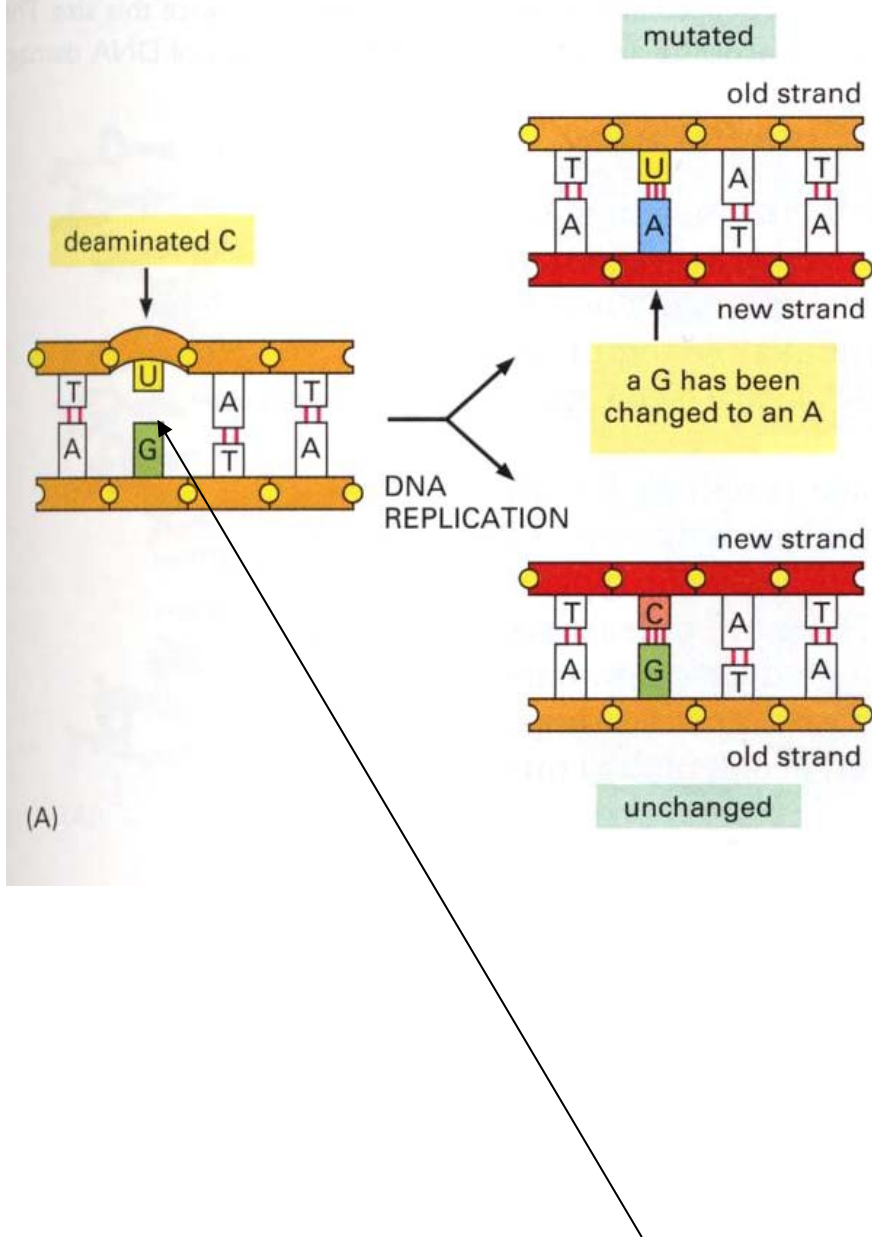


Figure 5-45 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Jos U jää korjaamatta, sen pariksi replikaatiossa tulee A, ja solu jatkaa elämää.

Jos GA –transitio muuttaa aminohappoa, muutos arvostellaan sitten evoluution teatterissa

Neutraalit eli synonyymiset GA –transitiot (ja CT –transitiot) ovat hyvin yleisiä nukleotidimuutoksia (lisää geneettisen koodin kohdalla)

Uraasilin poisto ja aukon paikkaus

G C T C A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T U A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T A T C C

C G A G T A G G

G C T C A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

spontaani deaminaatio
 $C \rightarrow U$

uracil-DNA-glycosylaasi
poistaa U:n kuin mädän
happaan

AP-endonukleaasi poistaa
sokerin ja fosfaatin

DNA-polymeraasi ja
DNA-ligaasi korjaavat
aukon

Tarvitaan vakituinen
korjausmekanismi:

urasiilin poisto,

juosteen katkaisu,

juosteen paikkaus

Base excision repair (emäksenpoistokorjaus)

CELL 298-9

Puriinikato-ongelma

Depurinaatio voi poistaa guaniinin tai adeniinin ihan noin vain

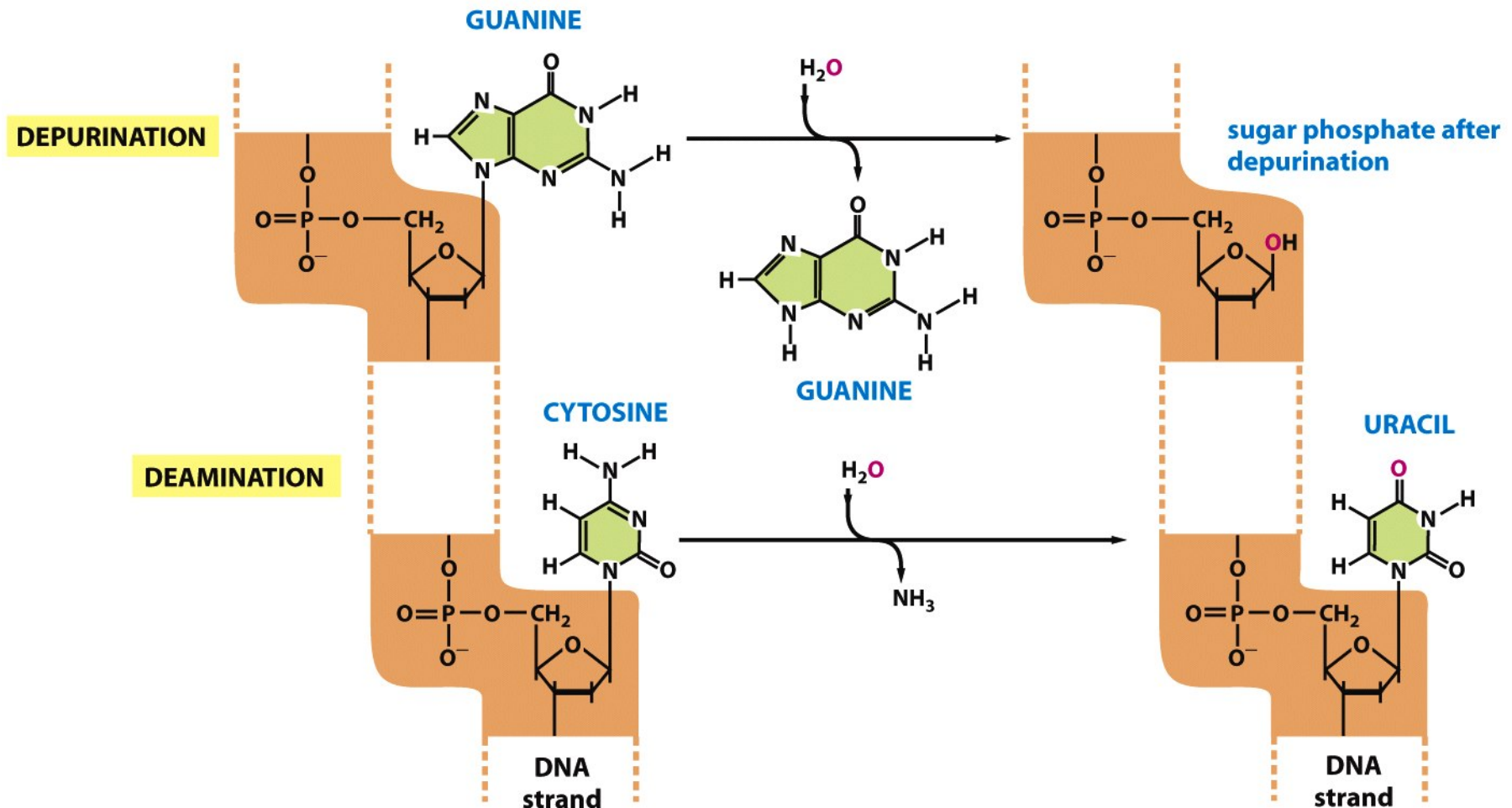
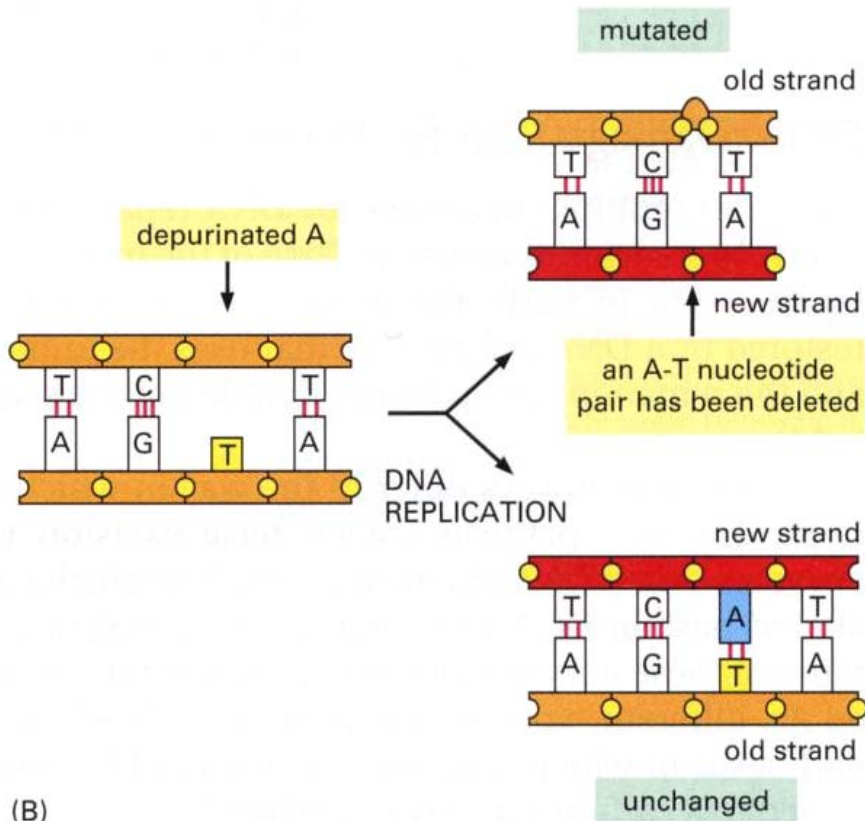


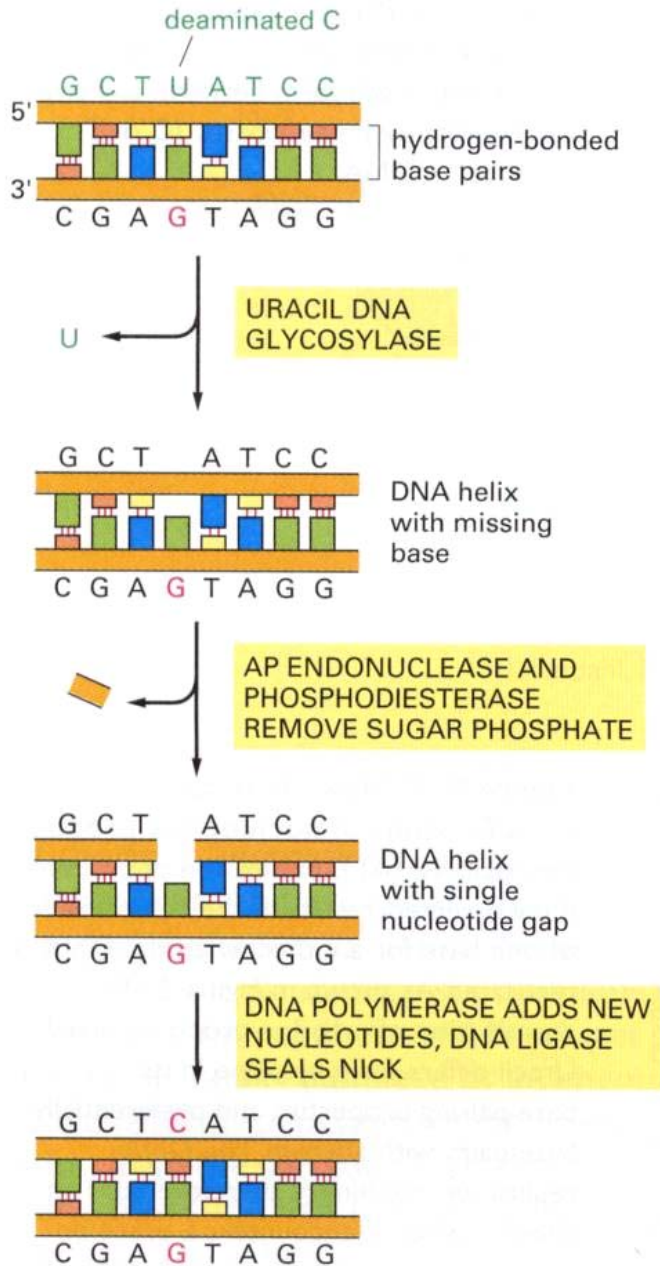
Figure 5-45 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



Jos deleetio sattuu proteiinia koodaavaan jaksoon, se on hyvin todennäköisesti tuhoisa (frameshift eli lukukehyksen siirtymä), sillä siitä eteenpäin kaikki aminohapot luettaisiin väärin (lisää ORF-jutun kohdassa)

Tällaisia varten on AP-endonukleaasi, joka löytää sekä **apurinic-** että **aprimidinic** virheet

(A) BASE EXCISION REPAIR



Uraasilin poisto ja aukon paikkaus

G C T C A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T U A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

G C T A T C C

C G A G T A G G

G C T C A T C C
||| ||| ||| ||| ||| ||| |||
C G A G T A G G

spontaani deaminaatio
 $C \rightarrow U$

uracil-DNA-glycosylaasi
poistaa U:n kuin mädän
happaan

AP-endonukleaasi poistaa
sokerin ja fosfaatin

DNA-polymeraasi ja
DNA-ligaasi korjaavat
aukon

Tarvitaan vakituinen
korjausmekanismi:

urasiilin poisto,

juosteen katkaisu,

juosteen paikkaus

Base excision repair (emäksenpoistokorjaus)

CELL 298-9

Dimeeriongelma

Pyrimidiinidimeeri

TT (tässä, yleisin)

CT

TC

CC

CELL 297

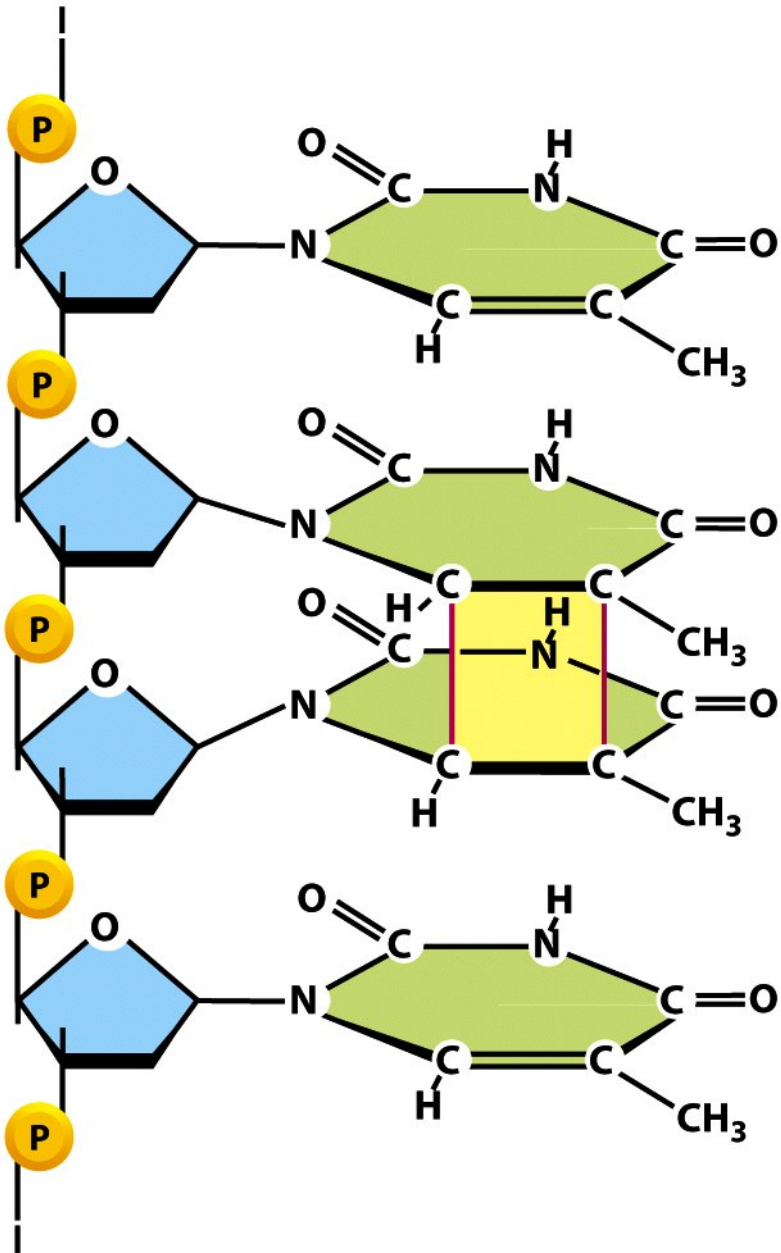
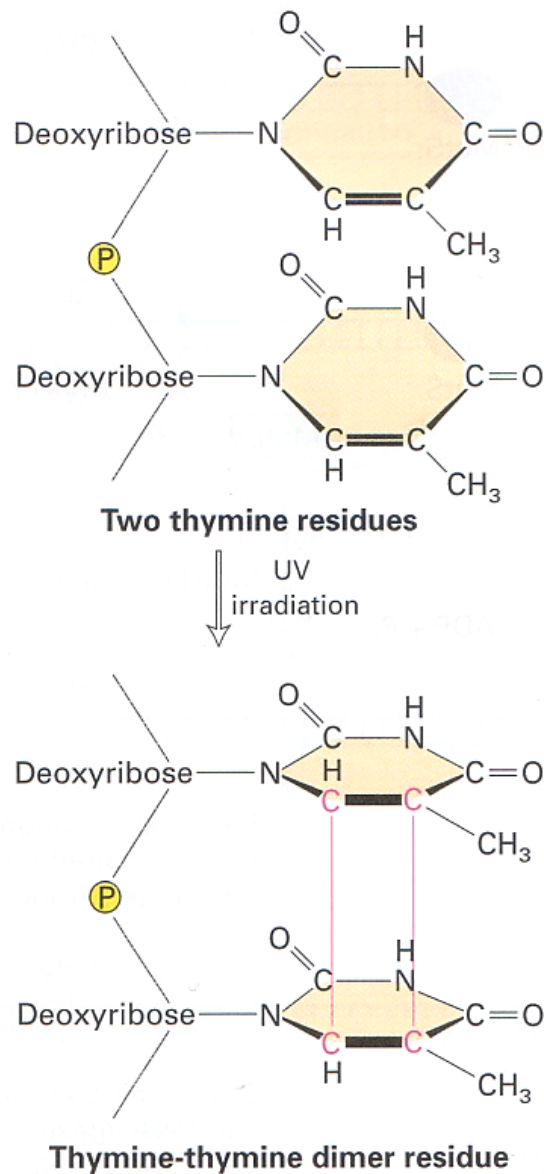


Figure 5-46 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



▲ **FIGURE 12-25 UV irradiation can cause adjacent thymine residues in the same DNA strand to become covalently attached.** The resulting thymine-thymine dimer (cyclobutylthymine) may be repaired by an excision-repair mechanism.

Tämän takia liika
aurionpaiste ja
otsoniaukko on
haitallisia

Naapuritymiinit
liittyvät yhteen eikä
vastinjuosteen
adeniineihin

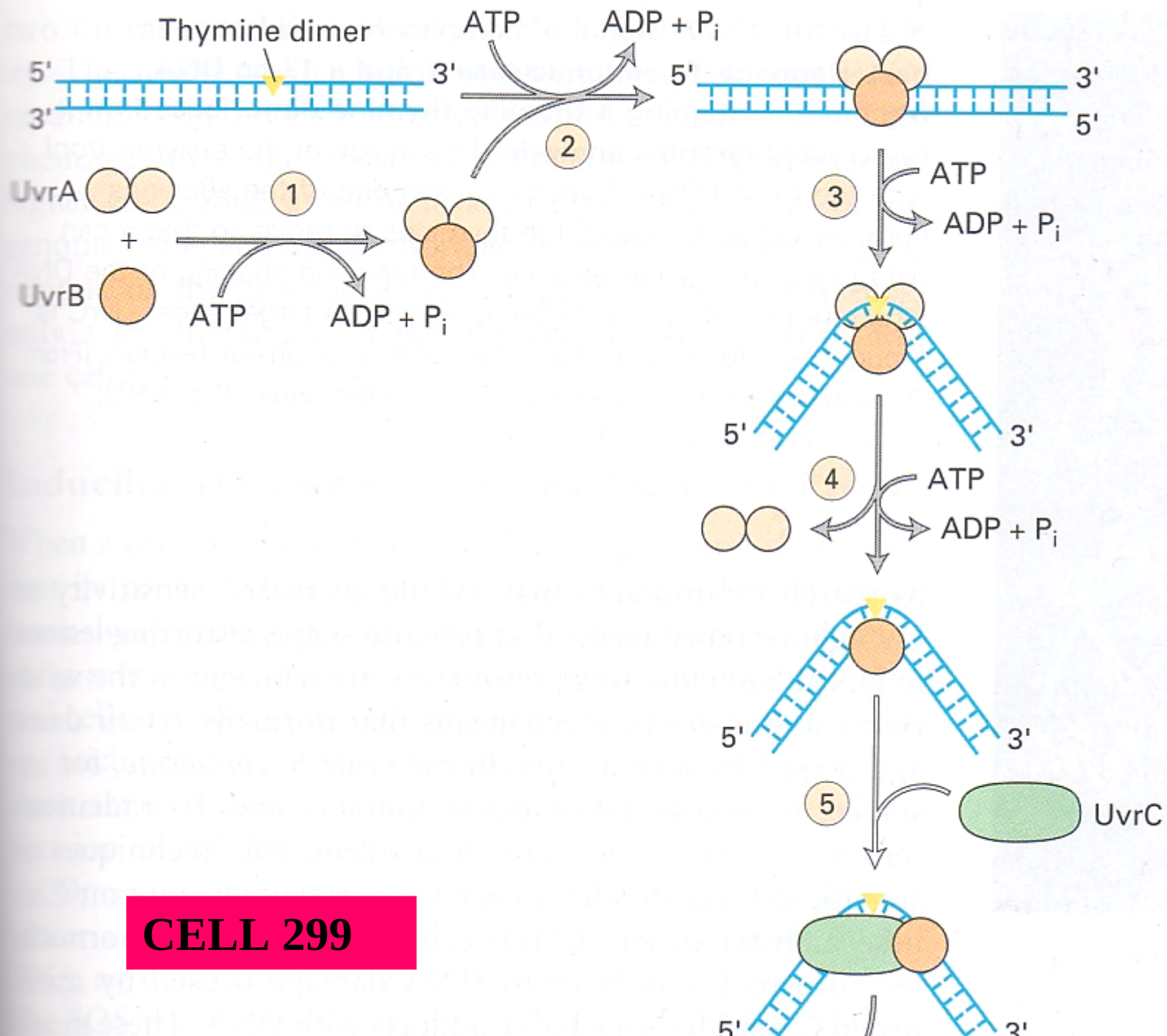
CELL 297



Thymine-thymine
dimer

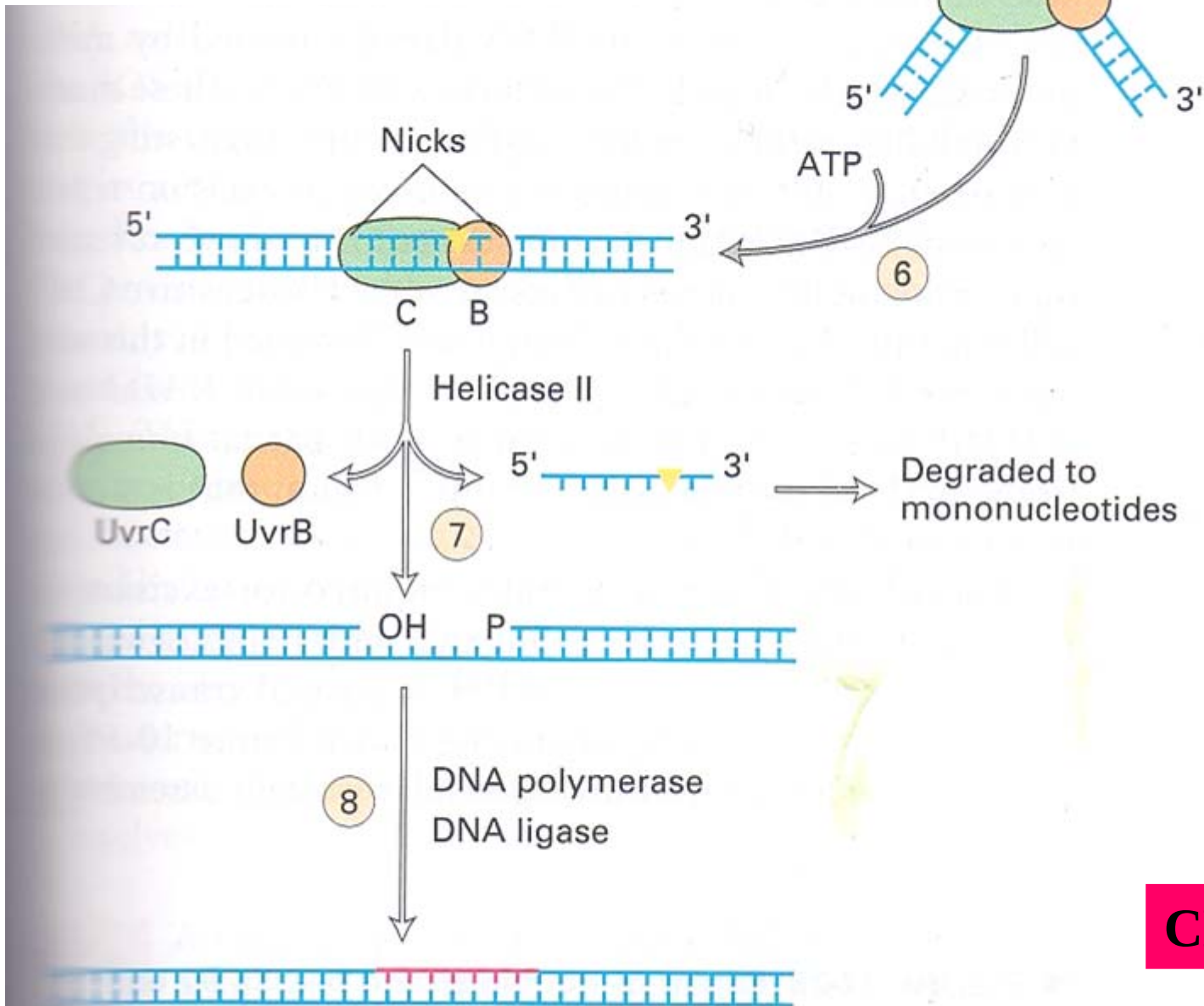
Adenine

Tymiini-dimeerejä syntyy mm. UV-säteilyn vaikutuksesta **usein**. Niiden korjaamiseen on oma laite, joka tarttuu vapaisiin adeniineihin ja vääntää kaksoisjuosteen auki, jolloin yleisemmät korjauskoneistot tulevat paikalle ja laittavat asiat kuntoon



CELL 299

prokaryoottisolu poistaa 12
nukleotidia ja eukaryootti 28



Sama prosessi,
toinen oppikirja

← DNA

toimijat →

CELL 299

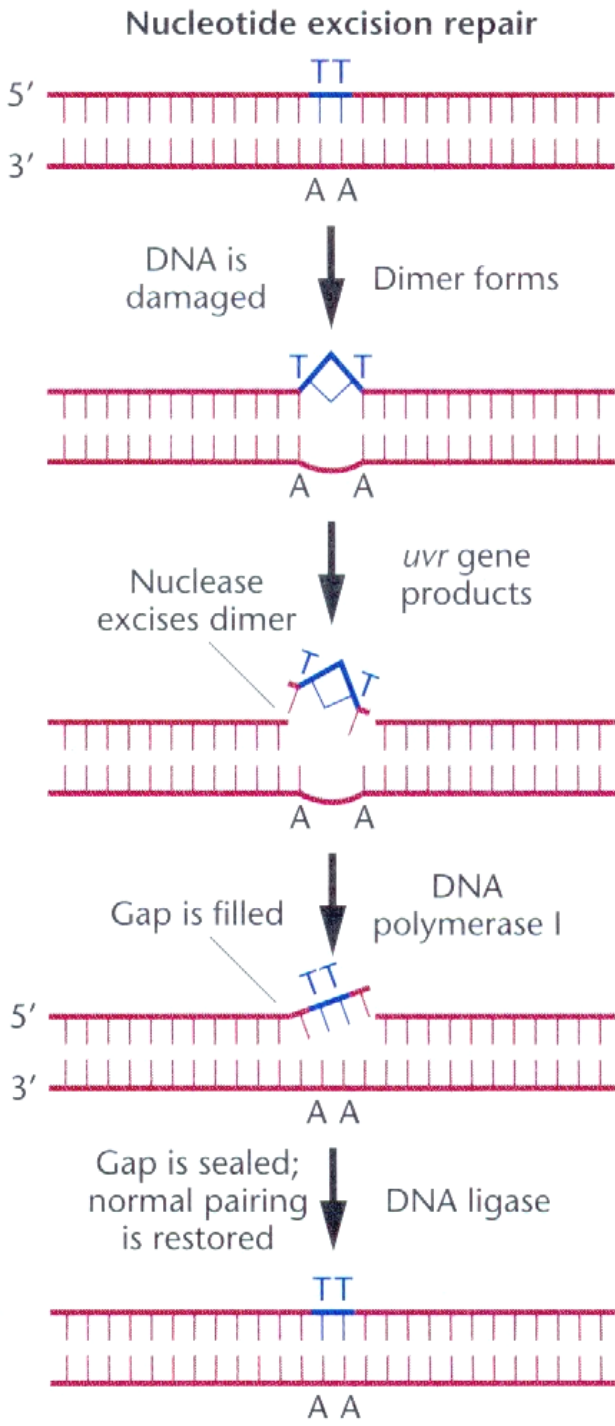
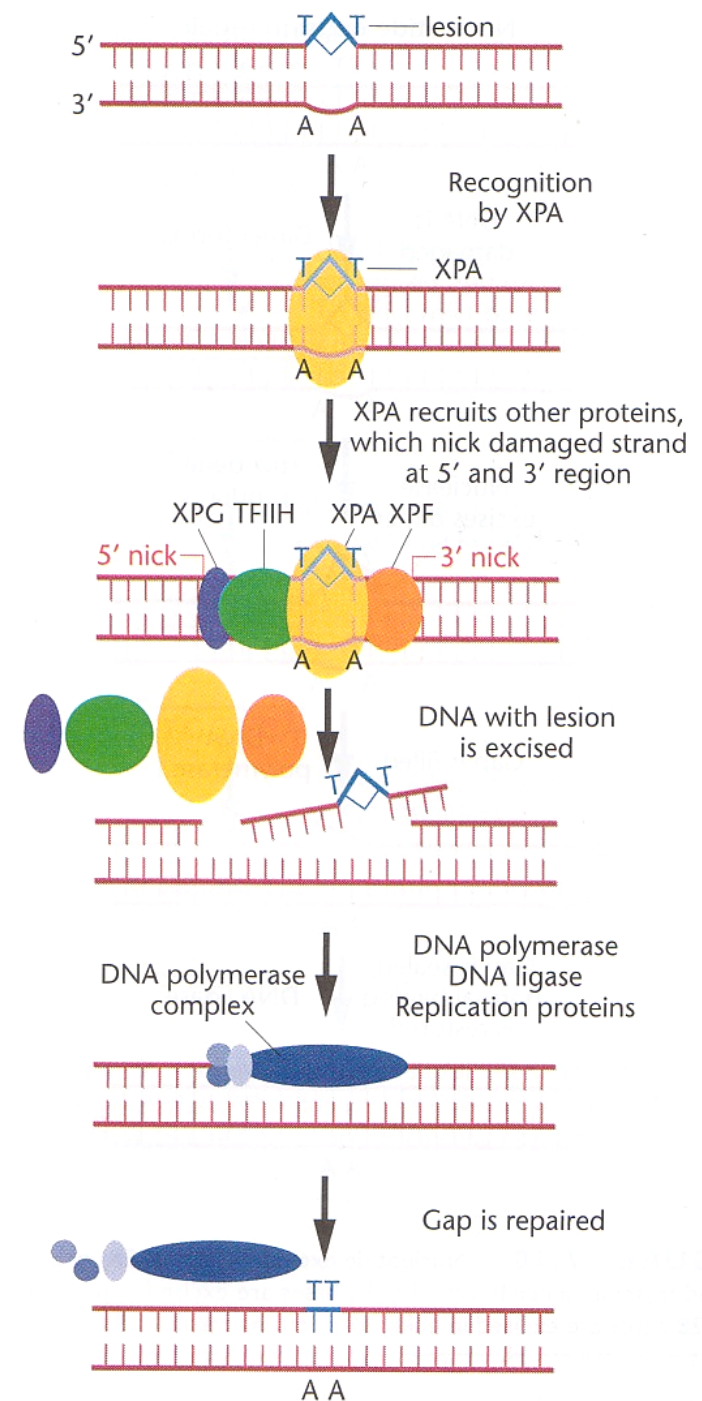




FIGURE 17.21 Two individuals with xeroderma pigmentosum. The 4-year-old boy on the left shows marked skin lesions induced by sunlight. Mottled redness (erythema) and irregular pigment changes that are a response to cellular injury are apparent. Two nodular cancers are present on his nose. The 18-year-old girl on the right has been carefully protected from sunlight since the diagnosis of xeroderma pigmentosum in infancy. Several cancers have been removed and she has worked as a successful model.

Nucleotide excision repair (NER) systeemin
virhe ihmisellä:
Xeroderma pigmentosum

Klug & Cummings 479

CELL 299



Abb. 29 a

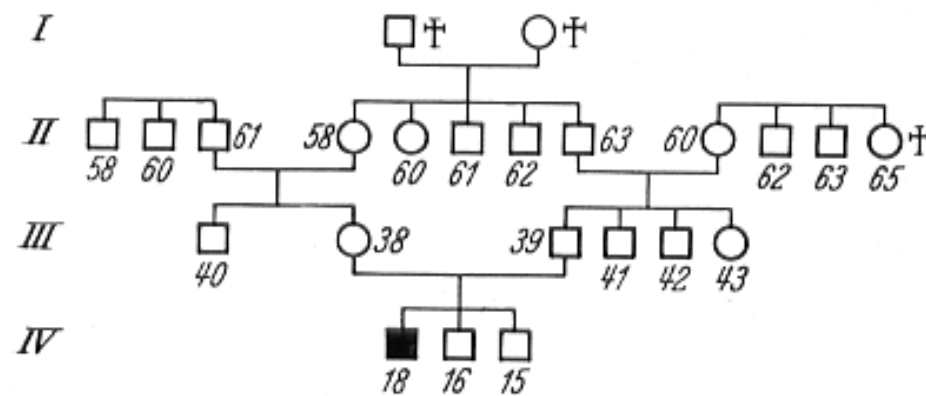


Abb. 29 b

Abb. 29a u. b. a Patienten mit Xeroderma pigmentosum. b Stammbaum mit Xeroderma pigmentosum (n. DORN 1959)

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

Kaksoisjuosteen katkokset

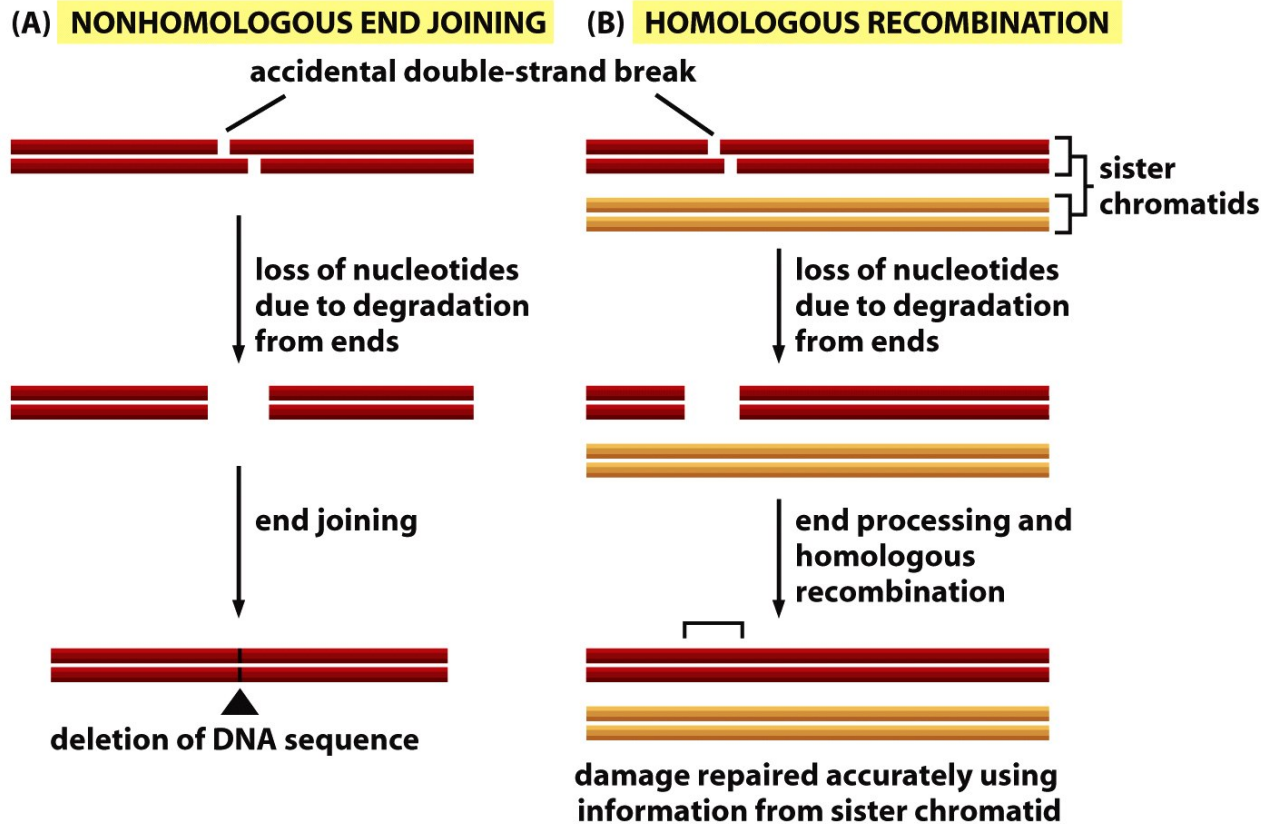
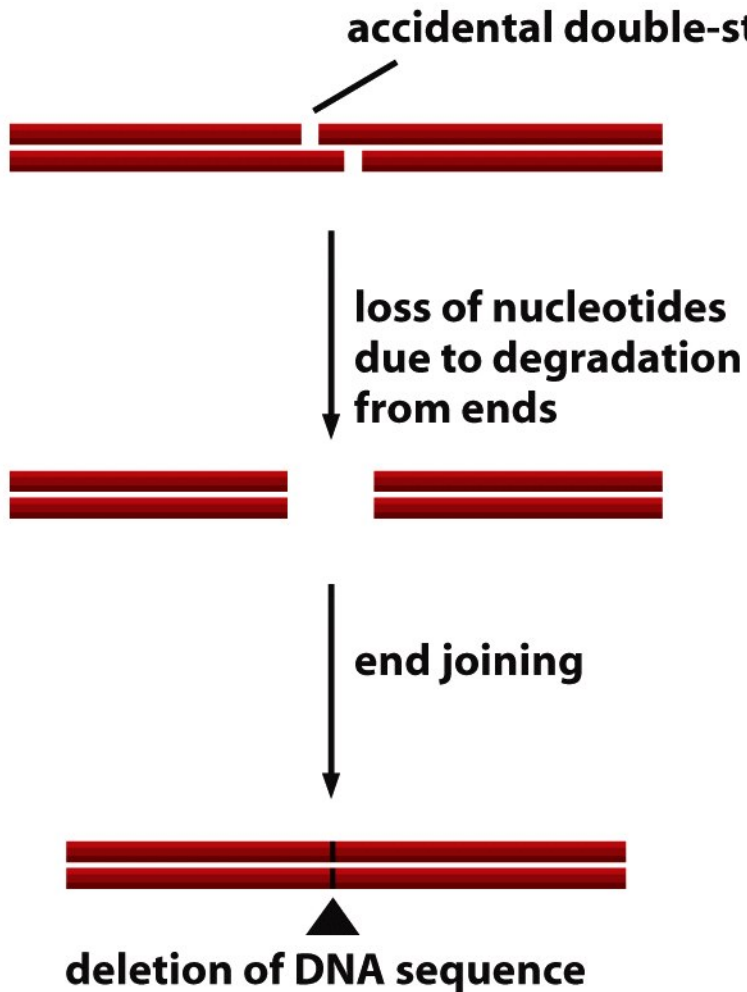


Figure 5-51 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

(A) NONHOMOLOGOUS END JOINING



(B) HOMOLOGOUS RECOMBINATION

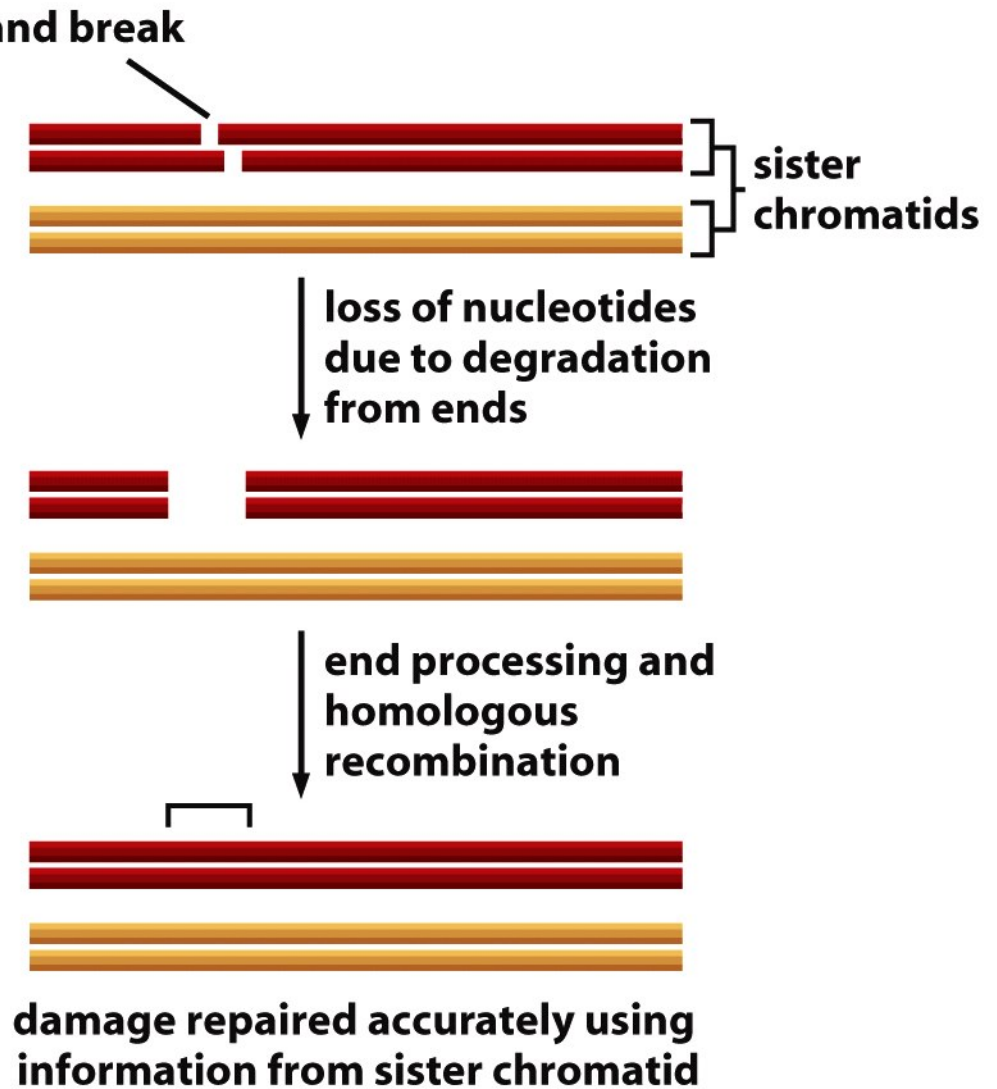
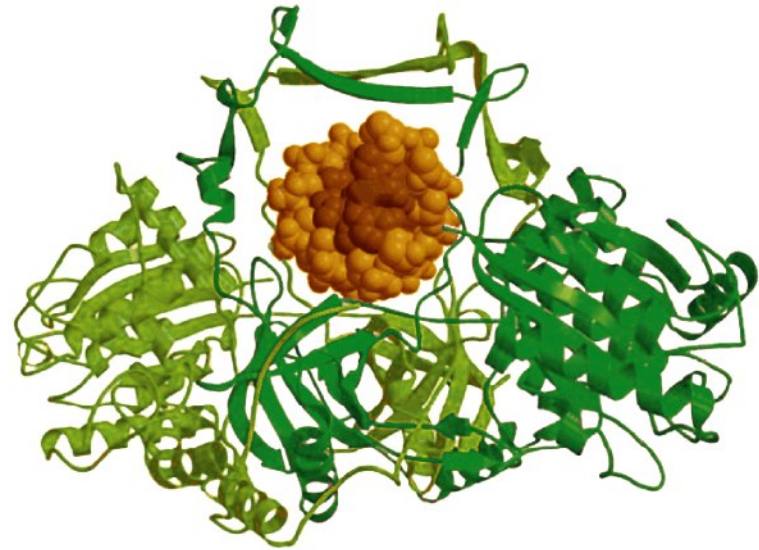
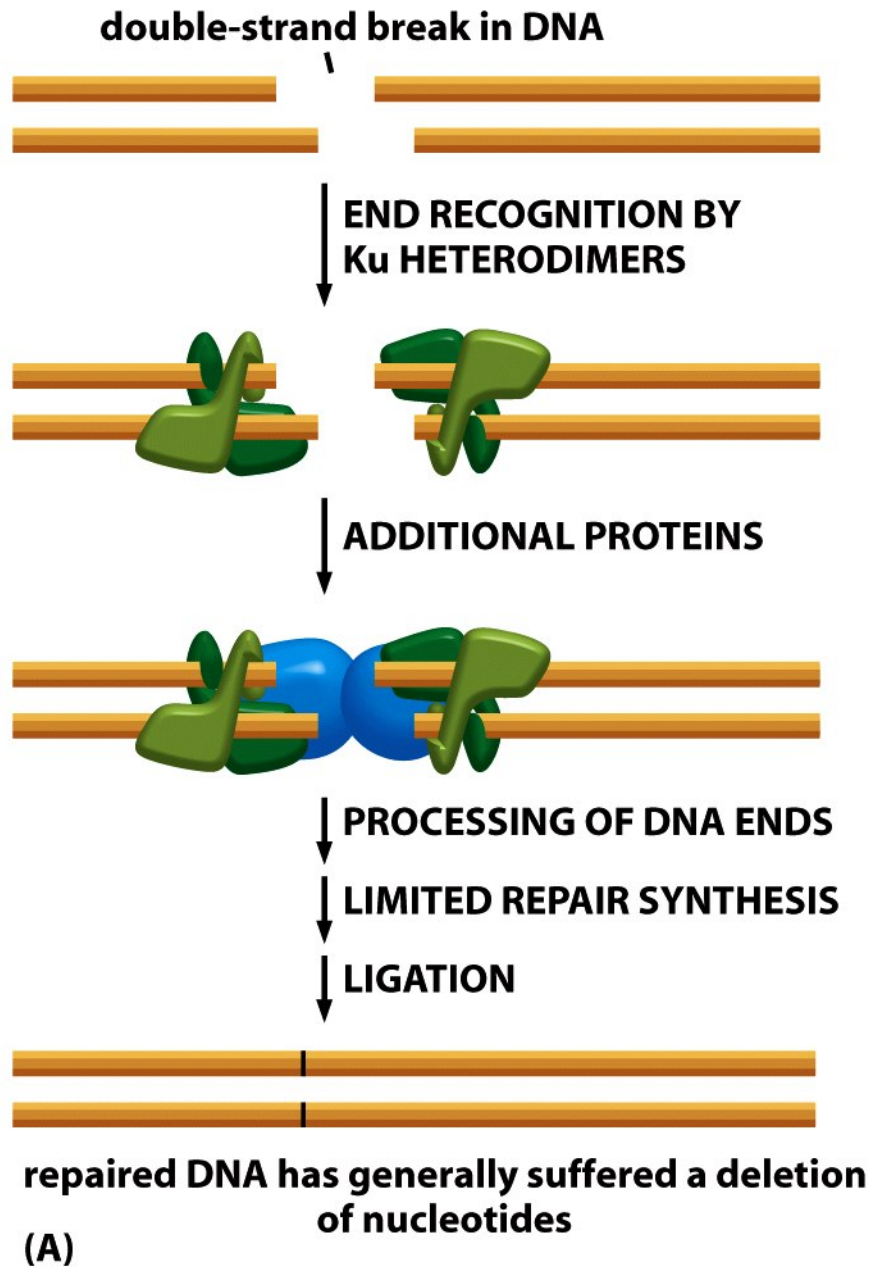
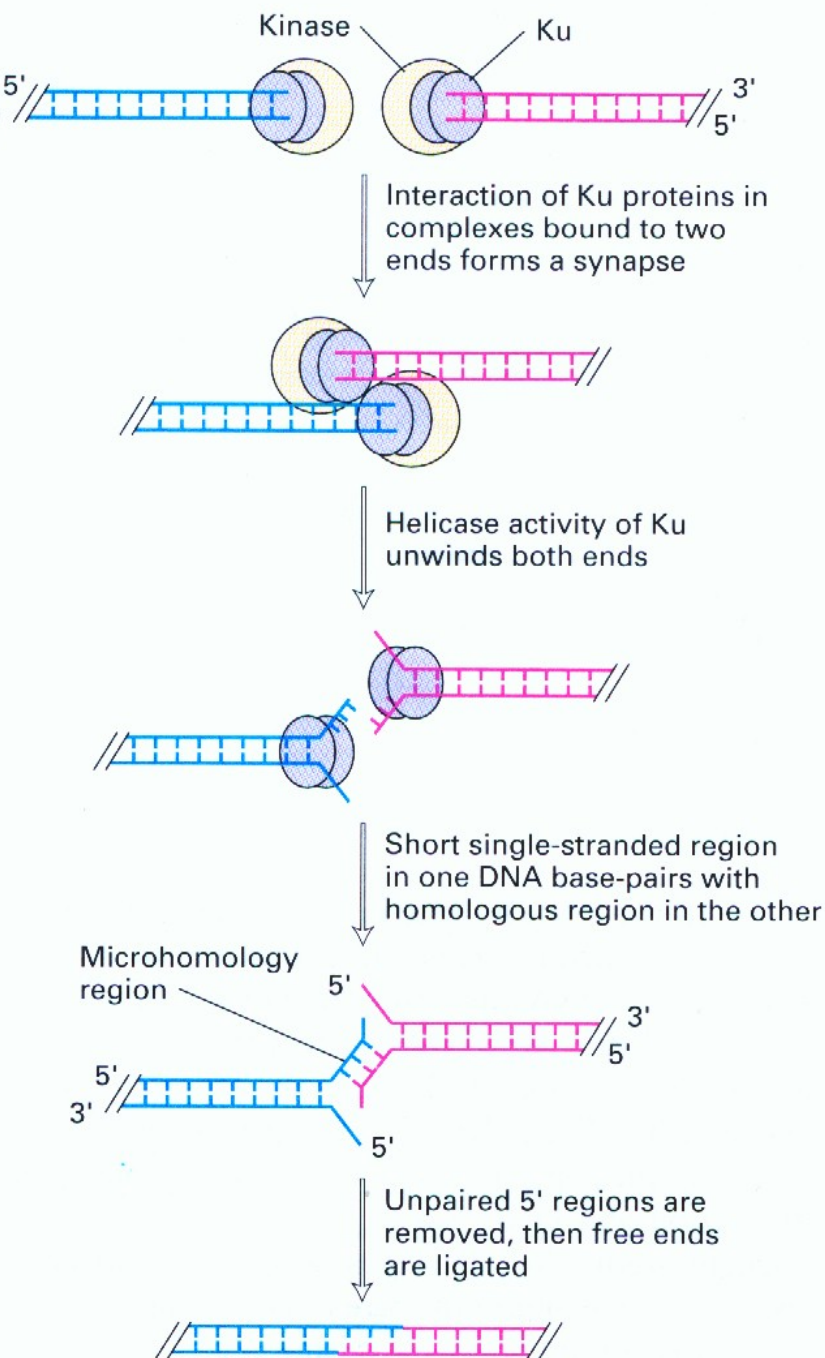


Figure 5-51 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



(B)



Koko kaksoisjuosteen katkeaminen, jonka voi aiheuttaa esimerkiksi kova **säteily**, onkin kinkkinen korjata, eikä siitä hyvää tulekaan

Tällä tavalla suuret, geenien järjestystä koskevat mutaatiot voivat syntyä tapaturman jälkeen hätäkorjauksen seurauksena. Joku geeni voi siinä mennä rikki, mutta eteenpäin päästään!

Kromosomimutaatiot:

- inversiot
- translokaatiot
- deleetiot
- duplikaatiot

Tahalliset mutaatiot

Puolintahalliset

Mutaatioita aiheuttavat tekijät eli ***mutageenit***

ovat usein myös syöpää aiheuttavia eli ***karsinogeenejä***,

joskus myös epämuodostumia aiheuttavia, ***teratogeenejä***

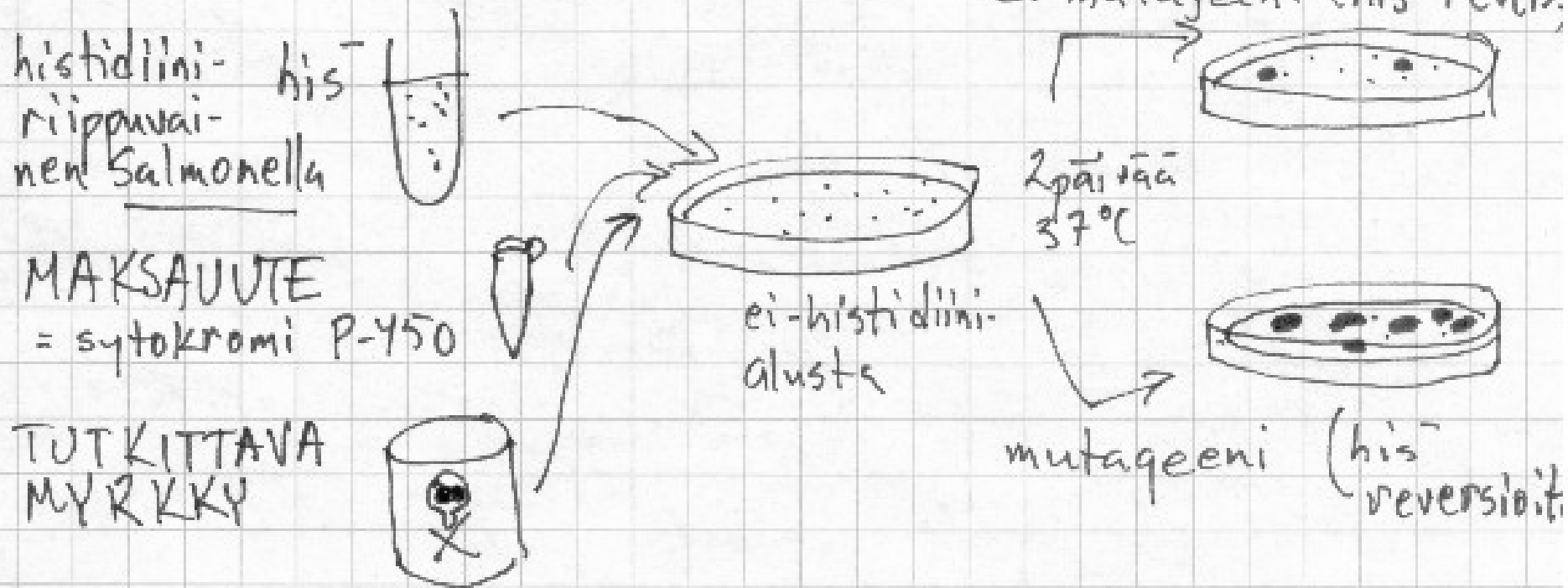
Muta/karsinogeenejä ovat:

- ionisoiva **säteily**: UV-valo, radioaktiivinen säteily)

(pitkäaaltoinen elektromagneettinen säteily, kuten näkyvä valo, IR-valo tai kännykän kantaalto **eivät** aiheuta mutaatioita / syöpää)

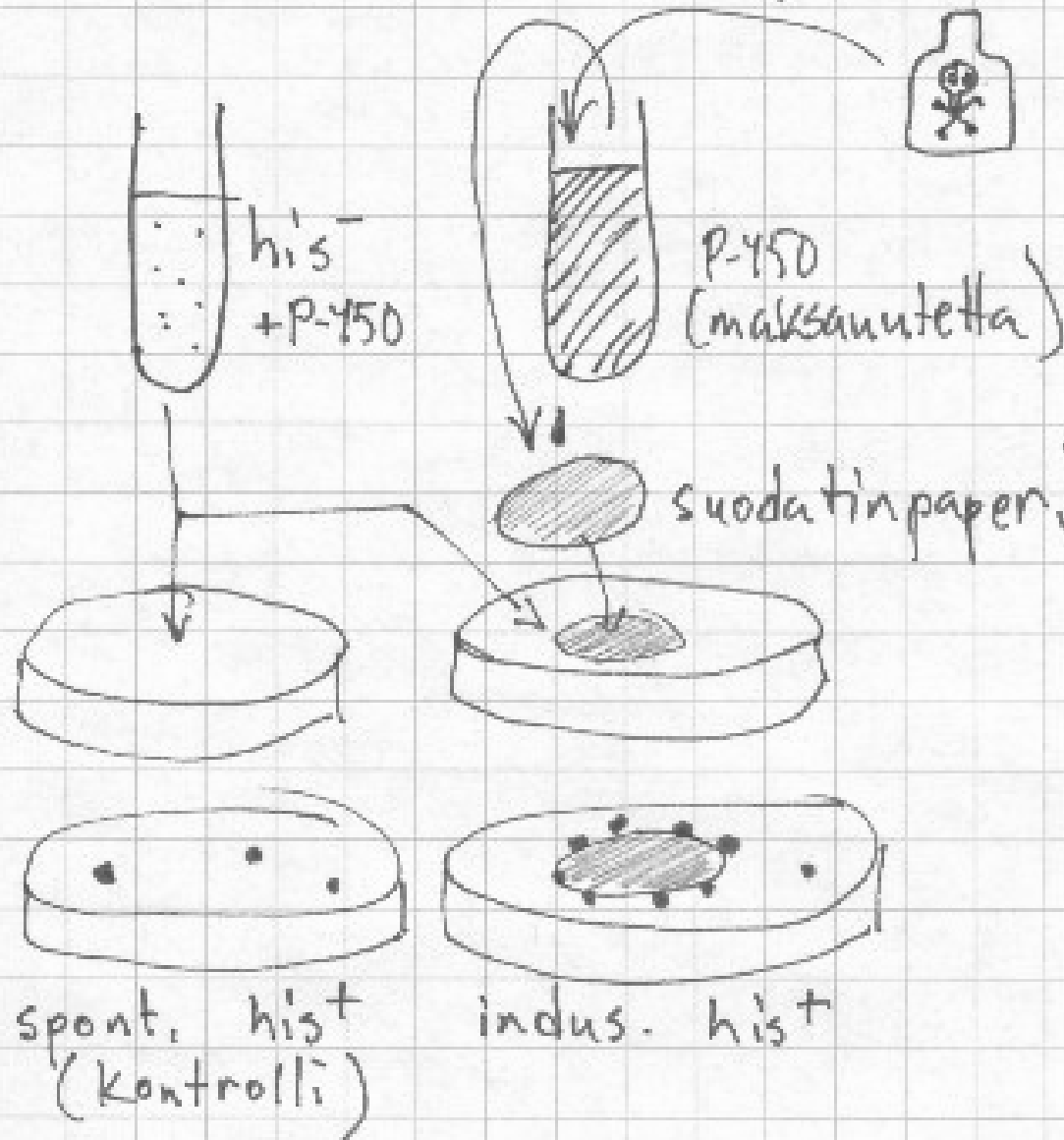
- monet **kemialliset** aineet (alkyloivat tekijät yms.)

Amesin mutagenisuustesti



Salmonellan his⁻ muteeraa his⁺ :ksi ja monet koloniat kasvavat, jos tutkittava aine joko yksin tai sytokromi P-450 muuttamana on mutageeninen (**MCB 474**)

Amesin mutageenisuustesti II



Sama kemia, nokkela
koejärjestely

Kemiallinen mutageneesi (MCB 475)

Suoravaikutteiset

β -propiolaktoni

Etyylimetaanisulfonaatti (**EMS**)

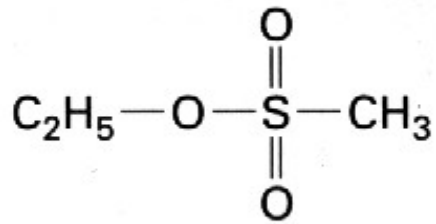
Dimetyylisulfaatti (DMS)

Sinappikaasu

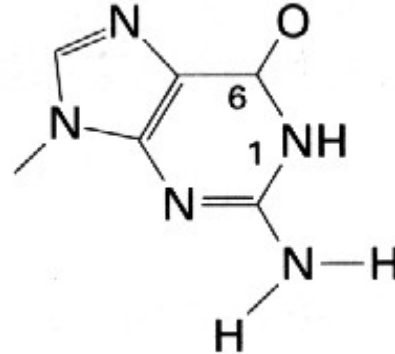
Metyylnitrosourea (MNU)

Seuraavassa slidessä näytetään, kuinka **EMS** alkyloi guaniinin siten että sen vetysilloin liittyväksi pariksi sopiikin tymiini. Seuraava replikaatio liittääkin pariksi tymiinin, ja siten GC muuttuu AT:ksi (transitio)

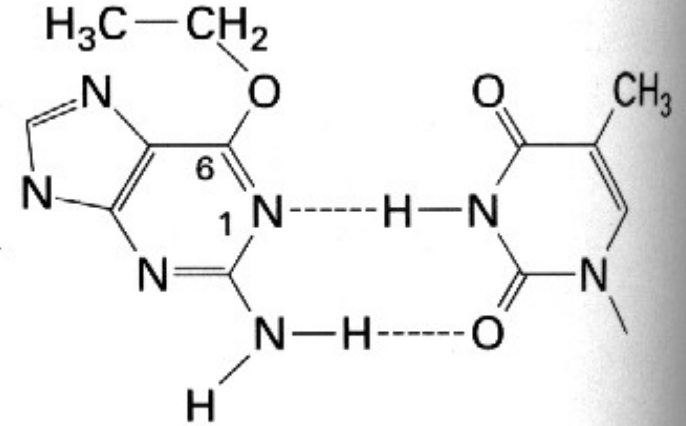
(a)



EMS



Guanine



O⁶-Ethylguanine

Thymine

villi $G \equiv C$

EMSaus >> Et-G = C

Replikaatio

Et-G = T

$G \equiv C$

villi

Replikaatio

Et-G = T

A = T

mutaatio

<http://www.dnalc.org/>

pre 1920s	1920-49	1950-54	1955-59	1960s
JOHANN GREGOR MENDEL The laws of heredity	HERMANN MULLER X-ray mutants	ERWIN CHARGAFF Chargaff's ratios	FRANCIS HARRY COMPTON CRICK The Central Dogma	SYDNEY B. PEARSON Messengers of the gene
FRIEDRICH MIESCHER The discovery of DNA	BARBARA MCCLINTOCK Jumping genes	ROSALIND ELSIE FRANKLIN DNA X-ray diffraction	PAUL CHARLES ZAMECNIK MAHLON HOAGLAND Transfer RNAs	MARSHALL W. NIRENBERG The genetic code
CARL ERICH CORRENS HUGO DE VRIES ERICH VON TSCHERMAK-SEYSENEGG Rediscovery of Mendel's laws	GEORGE WELLS BEADLE EDWARD LAWRIE TATUM One gene, one enzyme	MARTHA CHASE ALFRED DAY HERSHEY The blender experiment	MATTHEW STANLEY MESELSON FRANKLIN WILLIAM STAHL Semi-conservative replication	FRANÇOIS JACQUES MULLER The late 1960s
THOMAS HUNT MORGAN The genetics of fruit flies	JOSHUA LEDERBERG Conjugating bacteria	LINUS PAULING The triple helix	ARTHUR KORNBERG DNA polymerase	ROY JOHN L. MESSING Repetitive DNA
	OSWALD THEODORE AVERY The transforming factor	JAMES DEWEY WATSON FRANCIS HARRY COMPTON CRICK The double helix		
	EVELYN WITKIN DNA repair mechanisms	SEYMOUR BENZER The genetics of phage		

<http://www.dnai.org/timeline/index.html>

Click a decade to discover the history

pre 1920s	1920-49	early 50s	late 50s	1960s	1970s	1980s	1990-2000-
-----------	---------	-----------	----------	-------	-------	-------	------------

Chernobyl



Chernobyl



Chernobyl



Chernobyl

