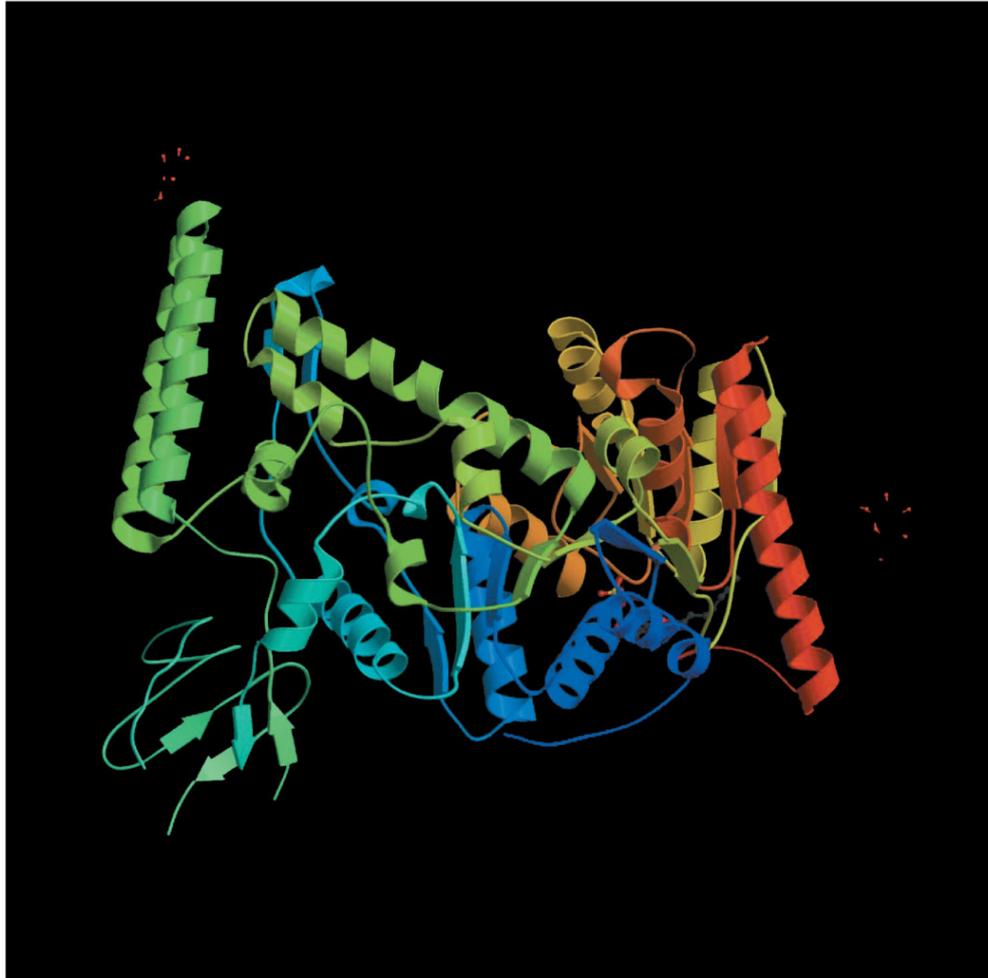


Mutation und Reparatur



© 2010 Pearson Education, Inc.
Ein Nukleotid Exzision Reparatur Enzym: UvrB

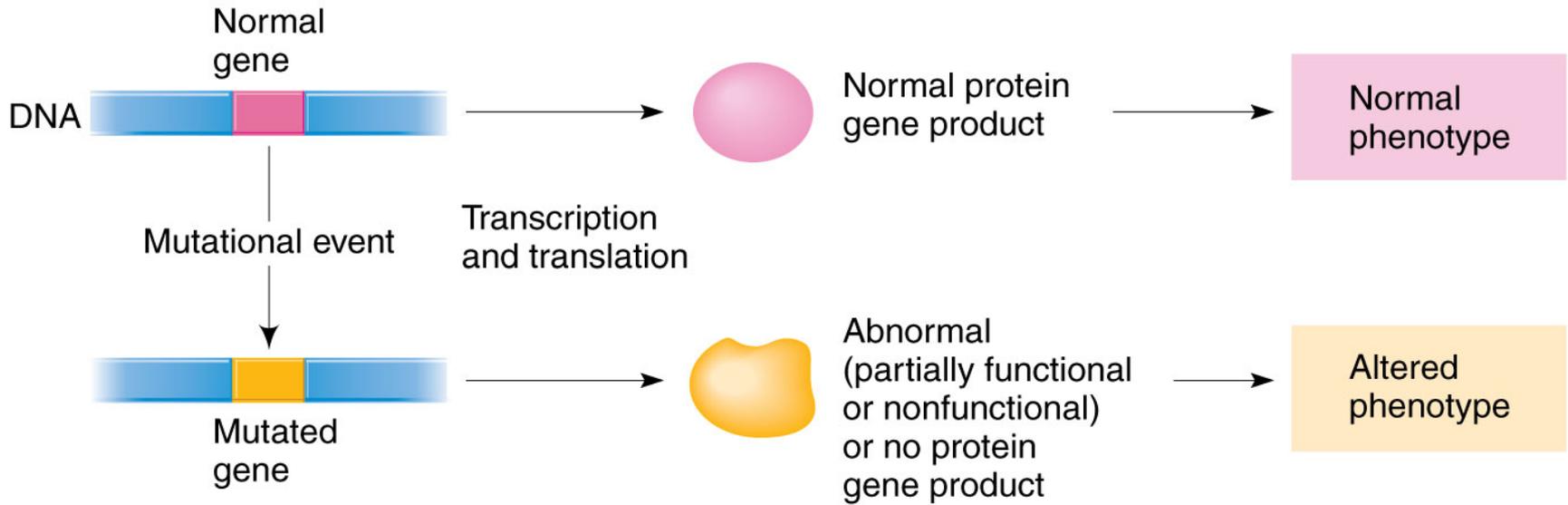
Arten an Mutationen

Chromosomale Mutationen: Betreffen ganze Chromosomen oder deren Teile. Führt so zum Fehlen mehrerer Gene.

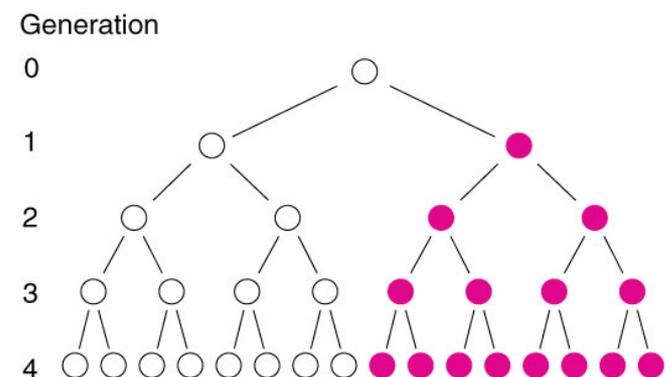
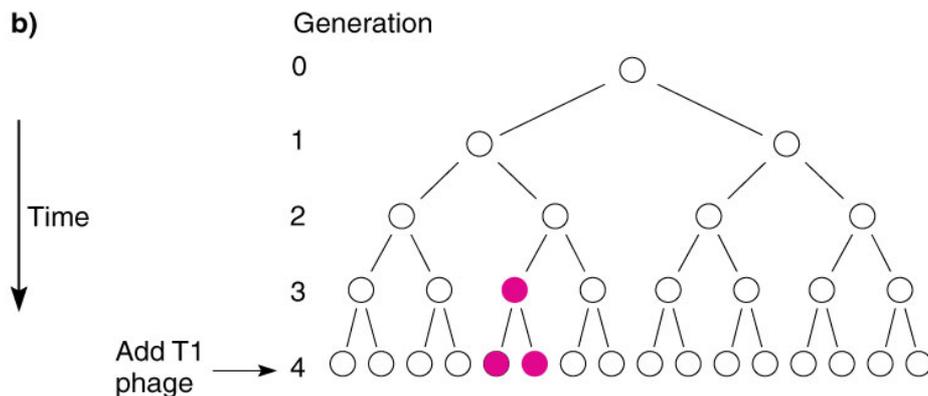
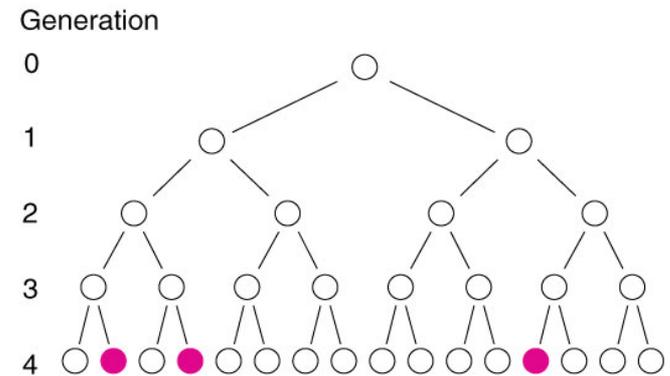
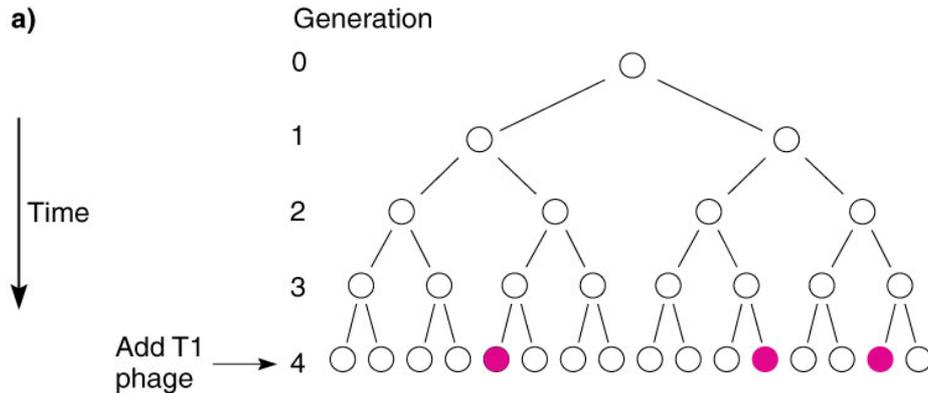
Punktmutation: Betrifft einzelne Gene durch Veränderung, Deletion, oder Insertion einzelner oder weniger Basen.

Mutation durch Transposable Elemente: Mobile DNA

Mutationen können (müssen aber nicht) zur Produktion eines funktionell veränderten Genproduktes führen.



Adaptation (Lamarckismus) vs. Mutation. Treten Veränderungen durch Adaptation auf, so sollte diese Veränderung zahlenmässig konstant bleiben. Ist diese Veränderung jedoch zufällig, durch Mutation aufgetreten, so sollte diese zahlenmässig stark fluktuieren (je nach Generation in welcher diese Mutation aufgetreten ist). Modell B konnte durch Resistenz von Bakterien gegenüber Bakteriophagen T4 experimentell belegt werden. (Luria und Delbrück).



Somatische vs. Keimbahn-Mutation

Somatische Mutationen betreffen nur das Soma und sind somit nicht vererbt.

Keimbahn Mutationen Betreffen alle nachfolgenden Generationen (bringen aber für den Träger keine Veränderung mit sich)

Arten an Mutationen: Transitionen (Purin bzw. Pyrimidindesaminierung)

Häufig, durch **Desaminierung**

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

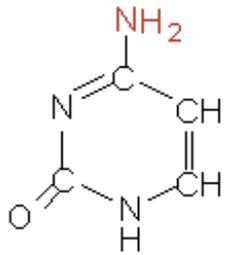
a) Transition mutation (A–T to G–C in this example)

DNA 5' TCTCAA**A**AATTTACG 3'
3' AGAGTT**T**TTAAATGC 5'

5' TCTCAAG**G**AATTTACG 3'
3' AGAGTT**C**TTAAATGC 5'

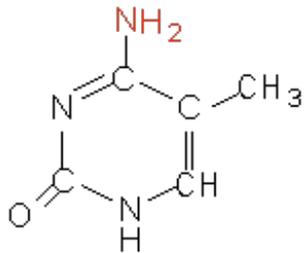
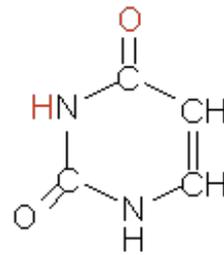
Desaminierungen verändern die Basenidentität

Cytosine

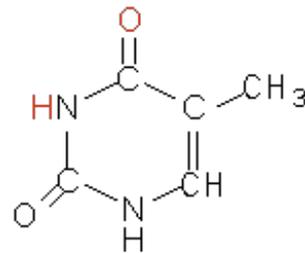


Deamination →

Uracil

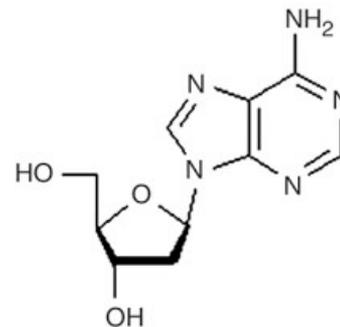


Deamination →

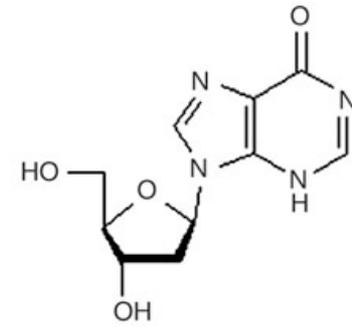


5-methylcytosine

Thymine



2'-Deoxyadenosine



2'-Deoxyinosine

Arten an Mutationen:

Transversion (selten) (Austausch von Purin zu Pyrimidin und vice versa)

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

b) Transversion mutation (C–G to G–C in this example)

5' TCT C A A A A A T T T A C G 3'
3' A G A G T T T T T A A A T G C 5'

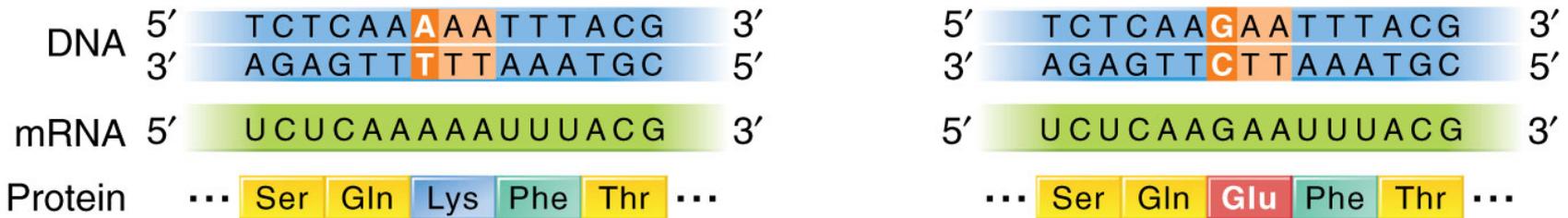
5' TCT G A A A A A T T T A C G 3'
3' A G A C T T T T T A A A T G C 5'

Arten an Mutationen: Missense (Identität des Codons verändert)

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

c) Missense mutation (change from one amino acid to another; here, an AT-to-GC transition mutation changes the codon from lysine to glutamic acid)

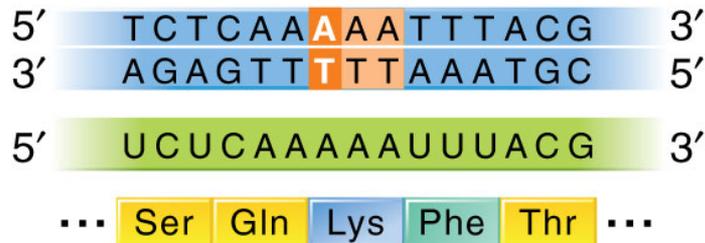


Arten an Mutationen: Nonsense (Coding zu Stop)

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

- d) Nonsense mutation (change from an amino acid to a stop codon; here, an AT-to-TA transversion mutation changes the codon from lysine to UAA stop codon)



Arten an Mutationen:

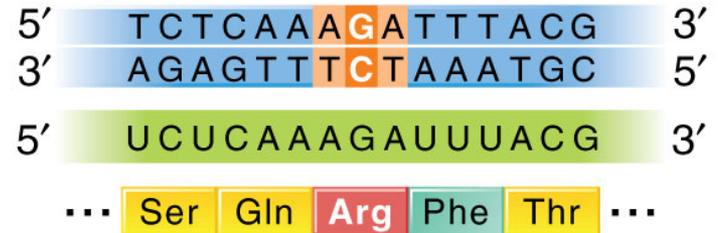
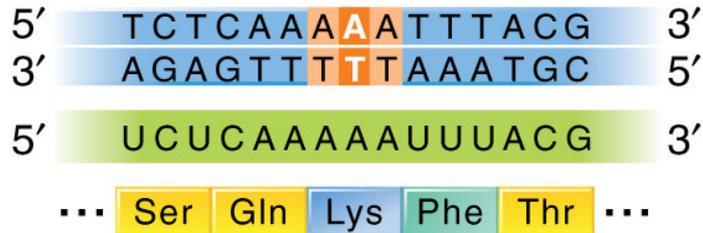
Neutrale (Aminosäure-Charakter bleibt gleich)

z.b. basisch durch basisch, polar durch polar ersetzt

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

- e) Neutral mutation (change from an amino acid to another amino acid with similar chemical properties; here, an AT-to-GC transition mutation changes the codon from lysine to arginine)

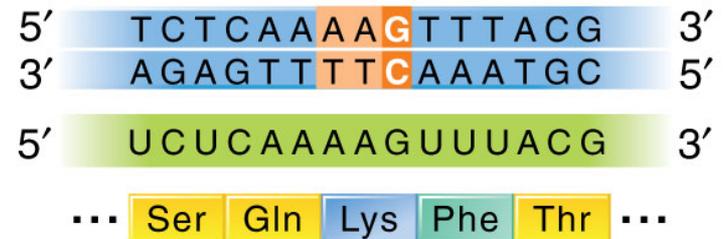
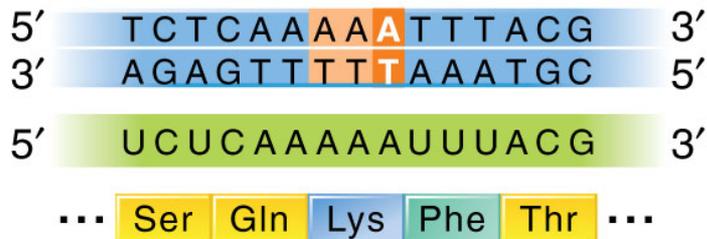


Arten an Mutationen: **Silent** Identität des Codons bleibt erhalten

Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

- f) **Silent mutation (change in codon such that the same amino acid is specified; here, an AT-to-GC transition in the third position of the codon gives a codon that still encodes lysine)**



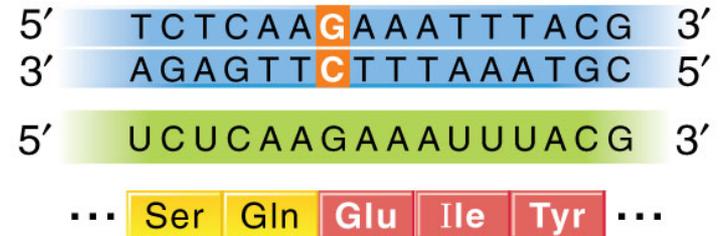
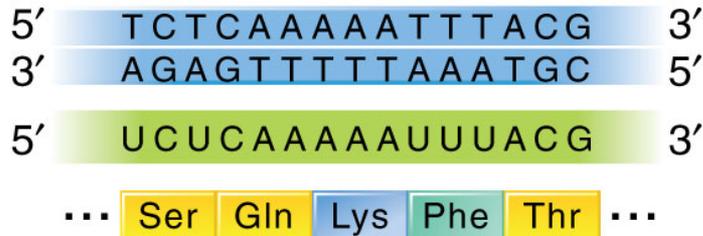
Arten an Mutationen:

Frameshift (Leserahmen wird verändert, führt in der Regel zu einem verkürzten Protein, da ein zufälliges Stop Codon den (falschen) Leserahmen unterbricht)

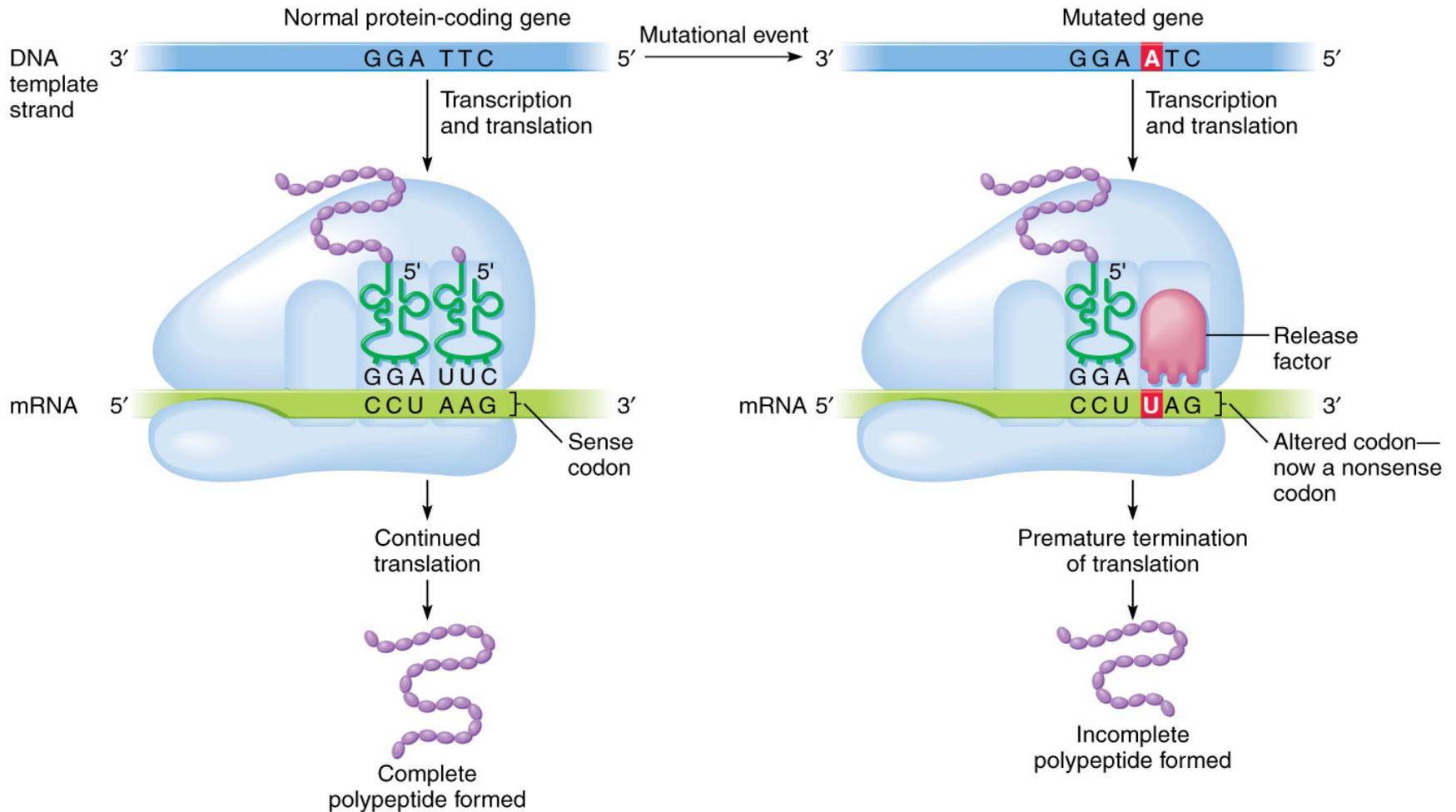
Sequence of part of a
normal gene

Sequence of
mutated gene

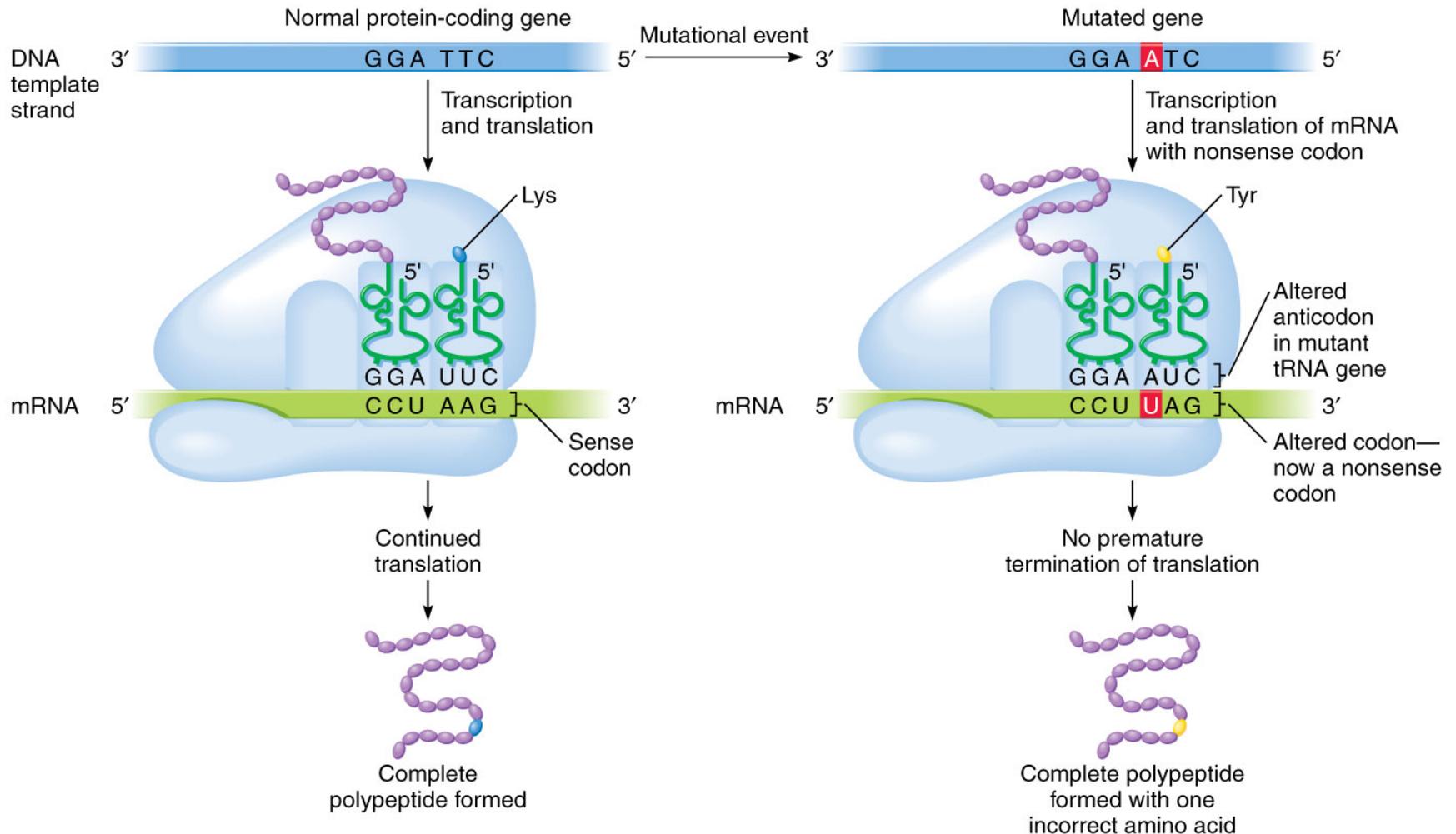
- g) Frameshift mutation (addition or deletion of one or a few base pairs leads to a change in reading frame; here, the insertion of a G–C base pair scrambles the message after glutamine)



Nonsense Mutationen führen zur Bildung von verkürzten Proteinen



Suppressor Mutations (z.B. in der tRNA) können dies wieder kompensieren (suprimieren)

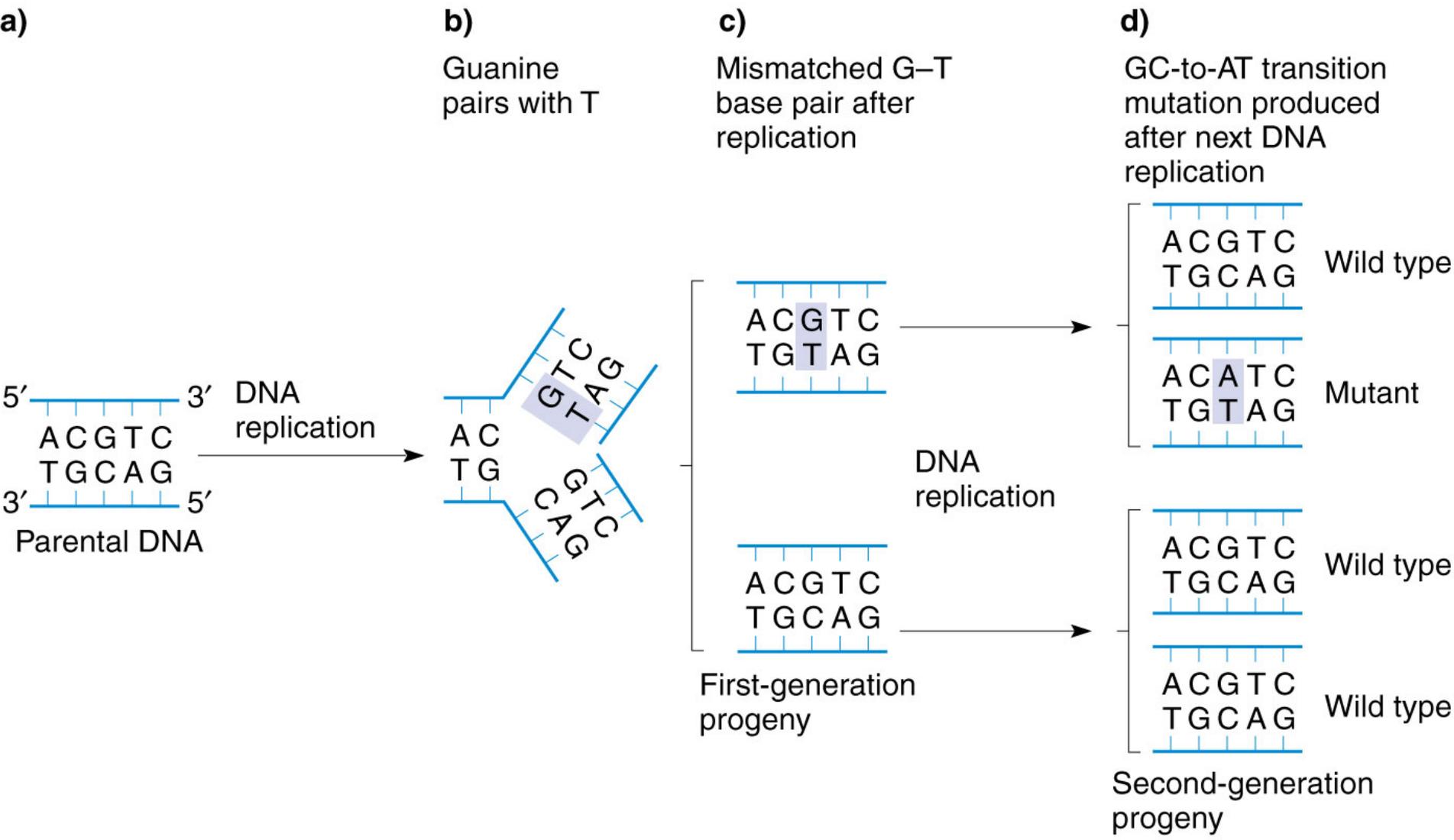


Supressormutationen können Intra- und Extragenisch auftreten

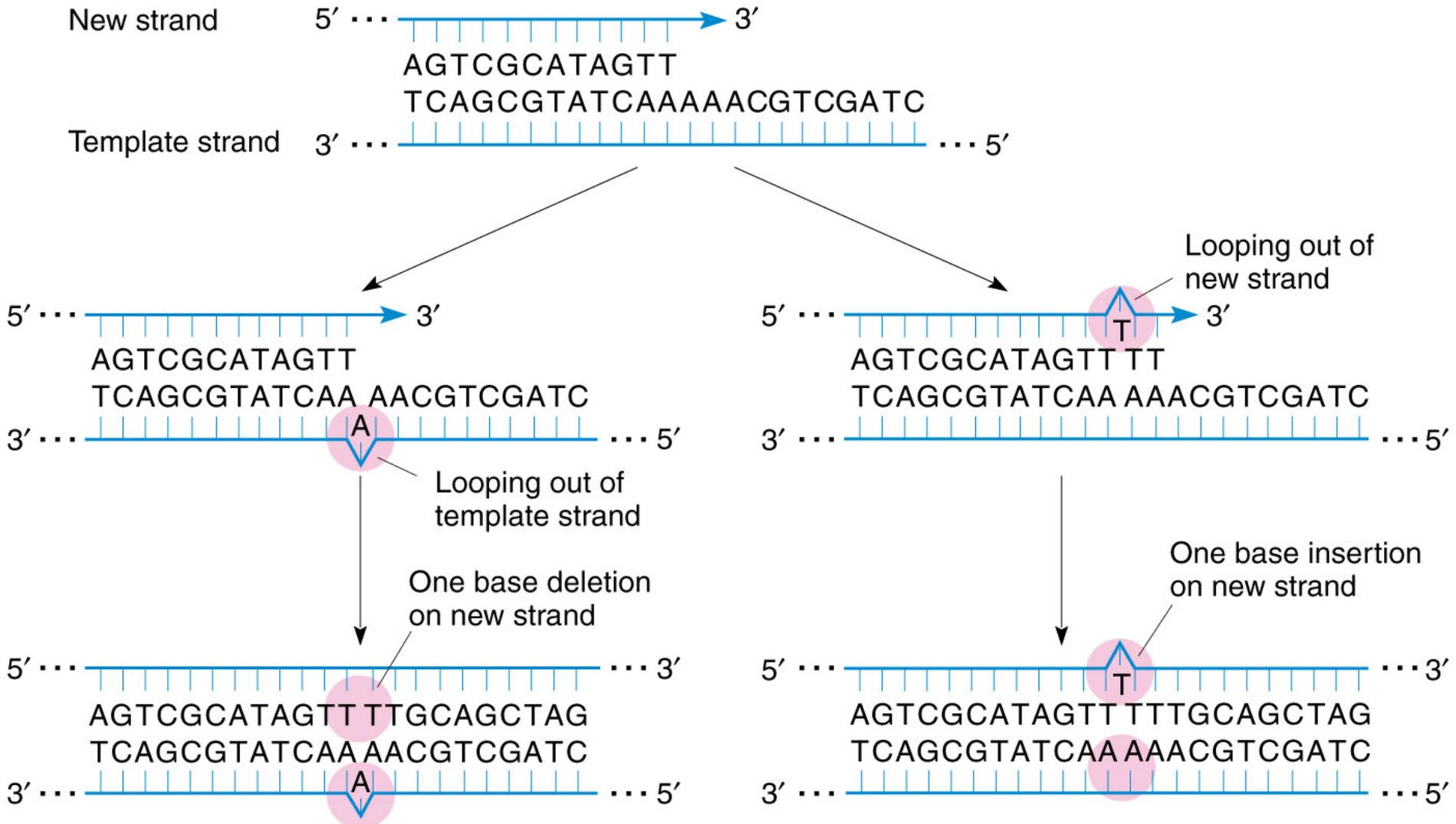
Mutationsraten:

Spontane Mutationen treten im Menschen mit einer Häufigkeit von 10^{-4} bis 10^{-6} pro Gen und Generation auf. In Prokaryoten mit 10^{-5} bis 10^{-7} pro Gen und Generation.

Mutationen können während der Replikation durch tautomere Basenpaarungen entstehen



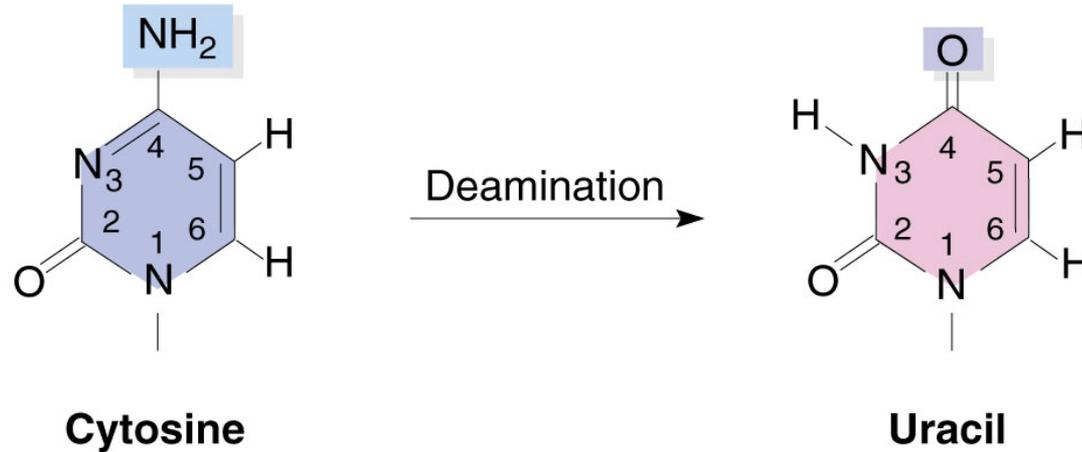
Replikationsfehler können zur Inkorporation zusätzlicher Basenpaare führen (slippage)



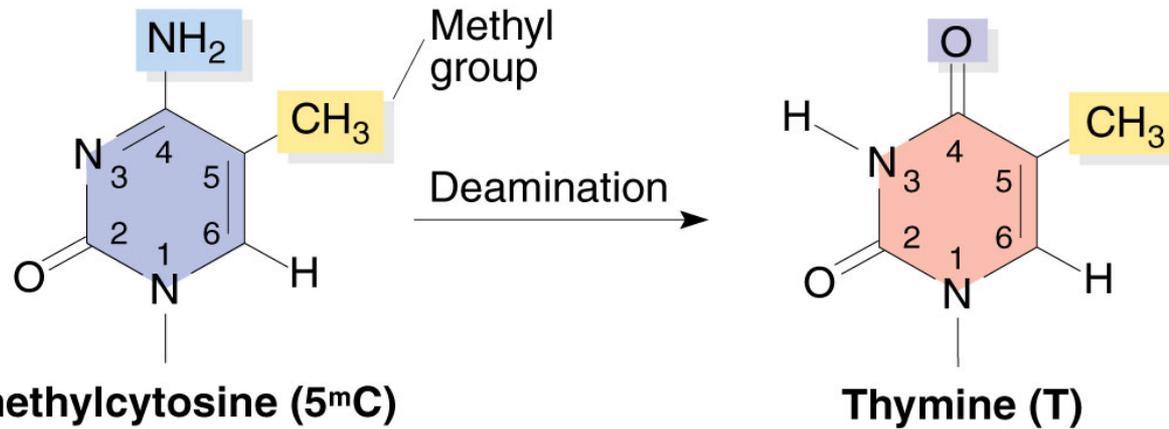
Depurinierung kann zum Verlust von
Purinen führen

Desaminierung führt zur höchsten Mutationsrate (Thymin wird nicht als defekt erkannt)

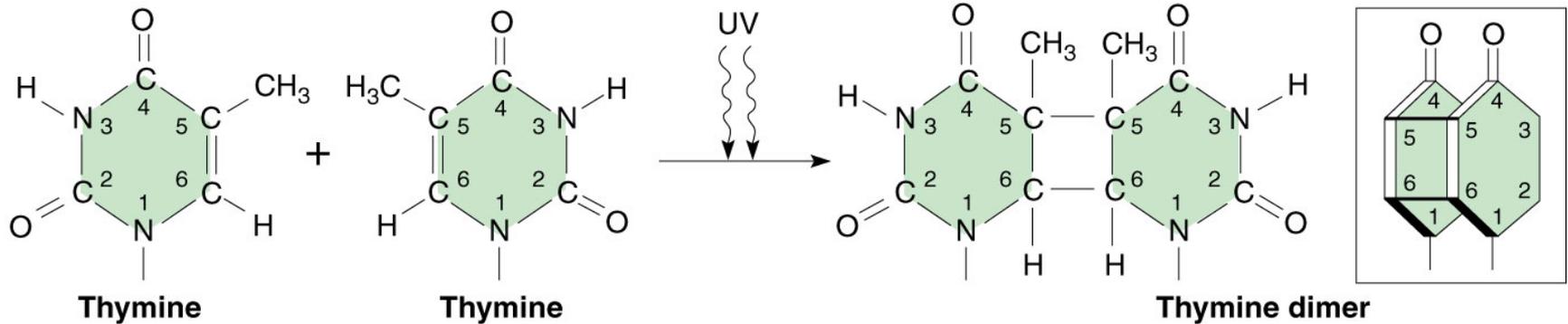
a) Deamination of cytosine to uracil



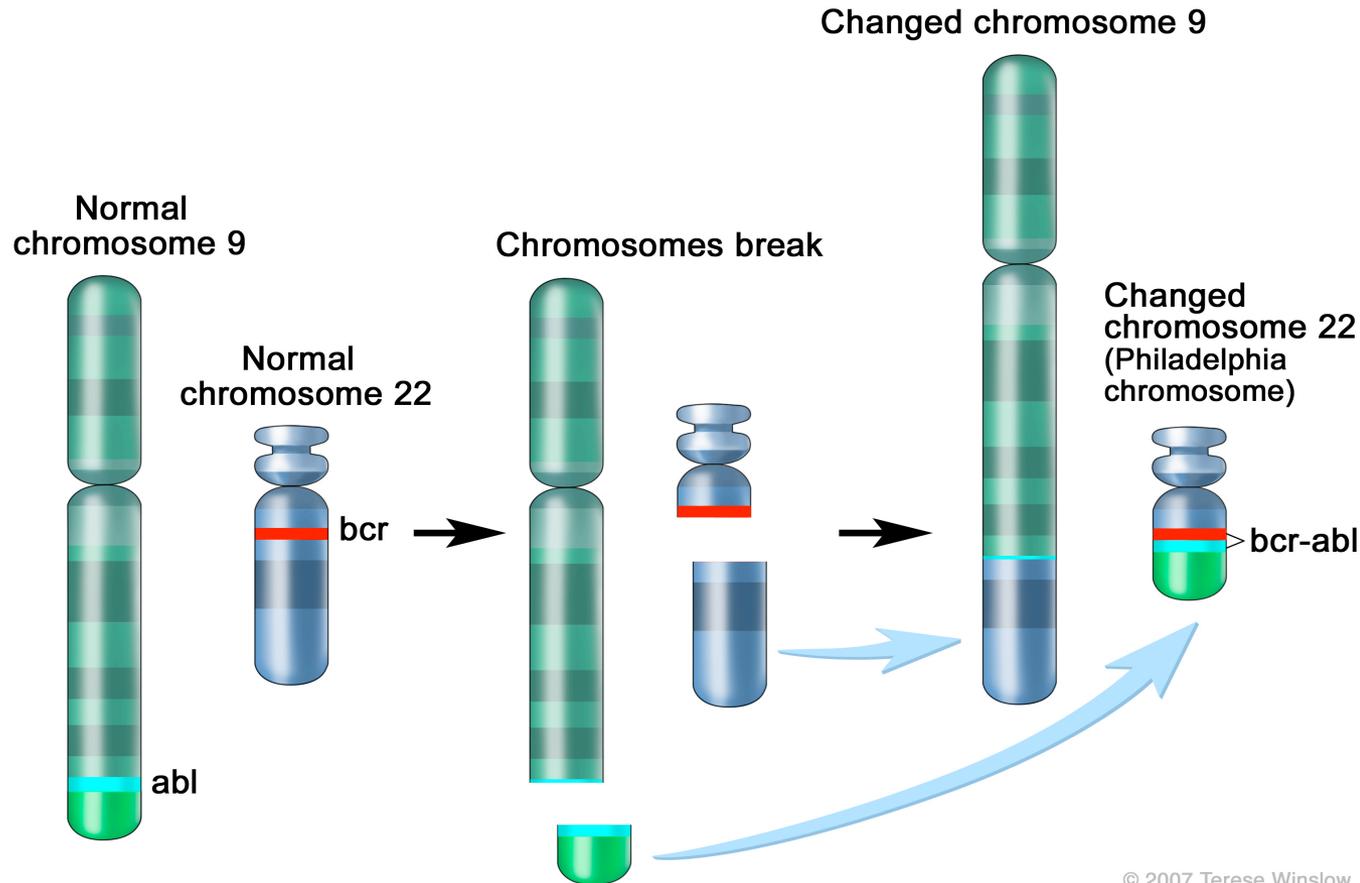
b) Deamination of 5-methylcytosine (5^mC) to thymine



UV-Strahlung induziert die Bildung von Nukleotid-Dimeren (präferentiell Thymin). Replikation kann diese Transläsion nicht korrigieren und arretiert an dieser Stelle.

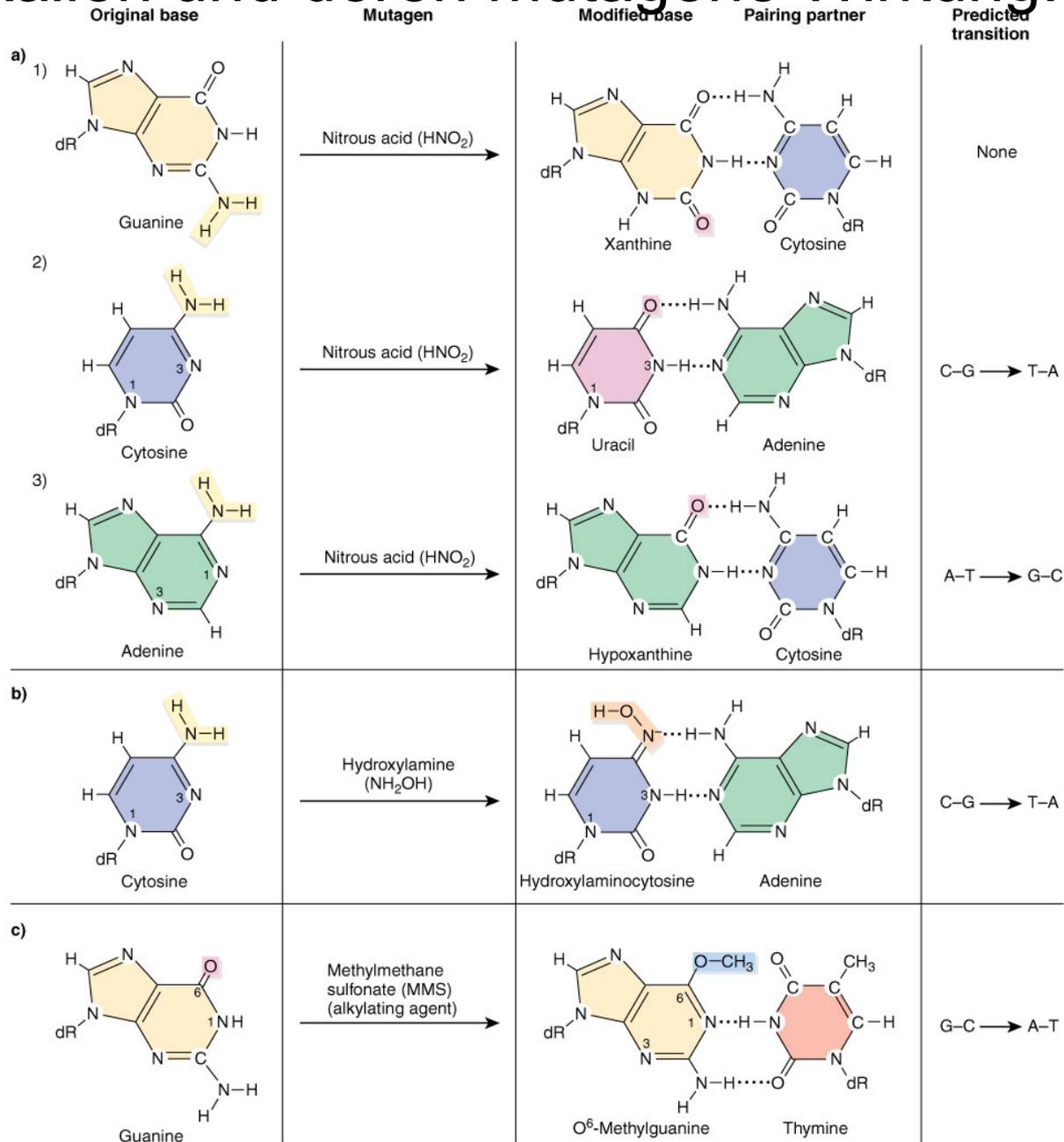


Ionisierende Strahlung (Röntgen) oder Radioaktivität erzeugt Punktmutationen in niedriger Konzentration, Hohe Konzentrationen erzeugen Chromosomenbrüche.



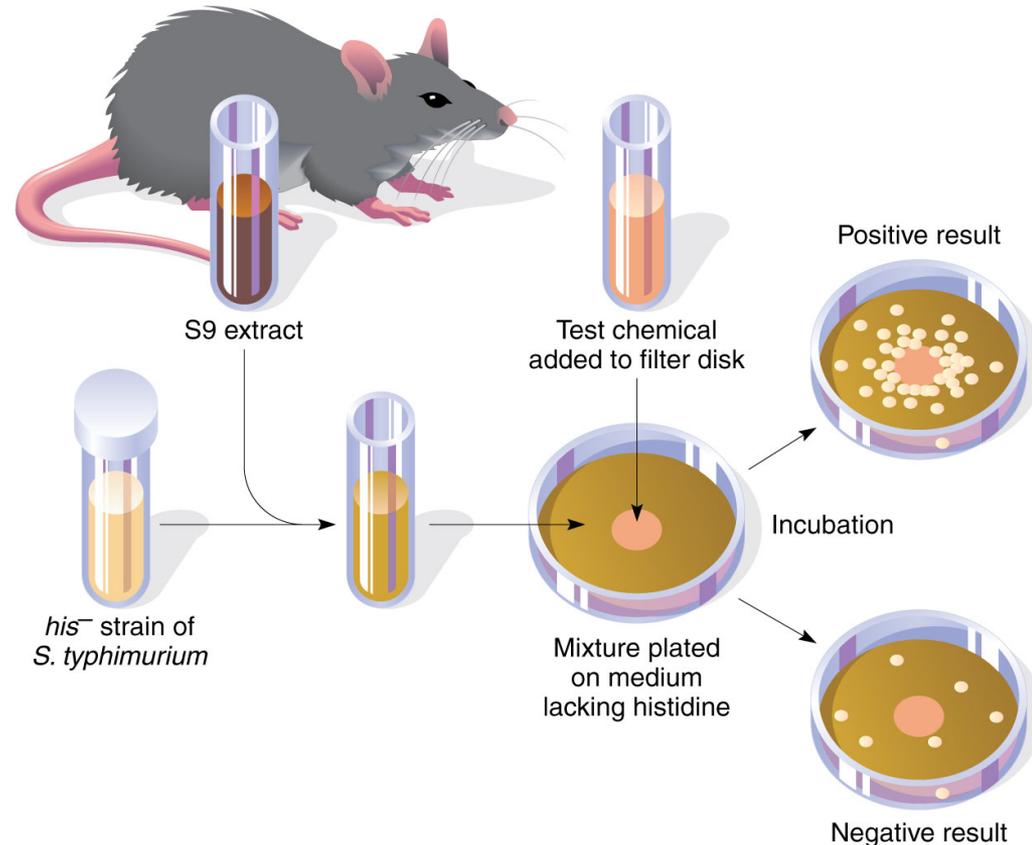
BCR-ABL fusion führt zu einer konstitutiv aktiven Kinase

Chemikalien und deren mutagene Wirkung:

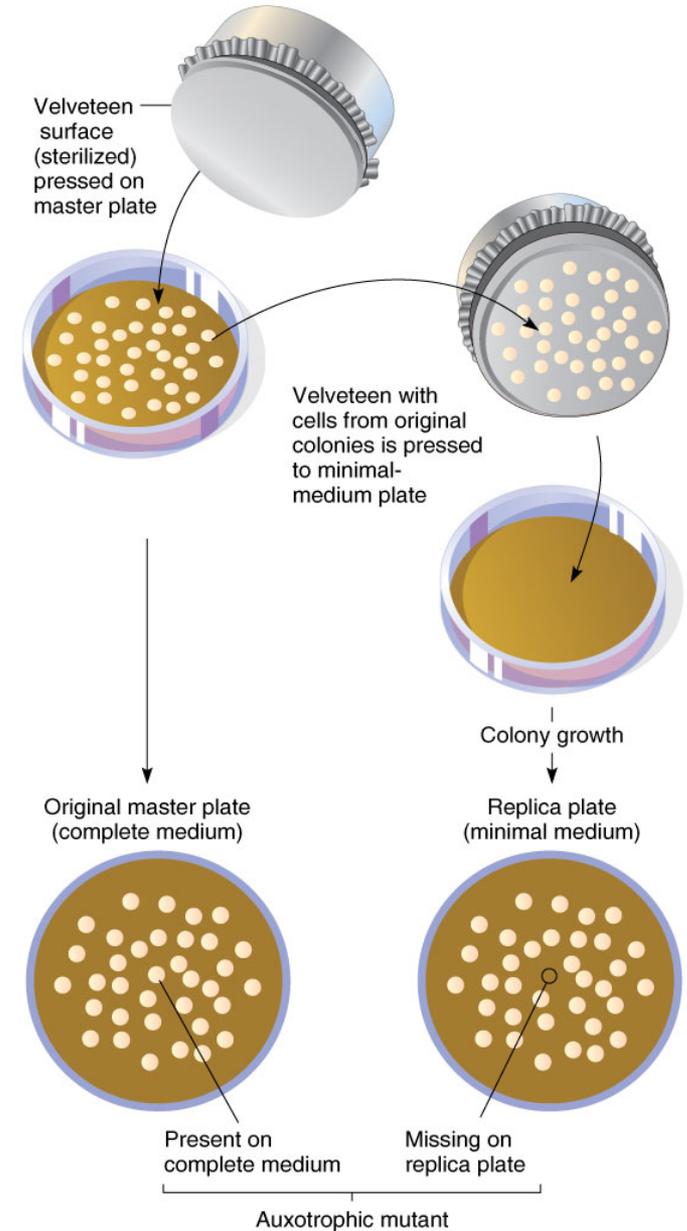


Der Ames Test: Test auf mutagene Wirkung chemischer Komponenten.

Nicht toxische Komponenten werden oft erst durch deren metabolische Veränderung toxisch. Dies wird in vitro durch Zugabe von Leberextrakt-Enzymen simuliert. Durch Verwendung verschiedener *S. typhimurium* Mutanten kann auf die Art der induzierten Mutationen geschlossen werden.



Mikrobielle Screens zur Identifizierung von Mutanten. Da Bakterien Haploid sind, können primäre Mutationen zu einem Phänotyp führen.



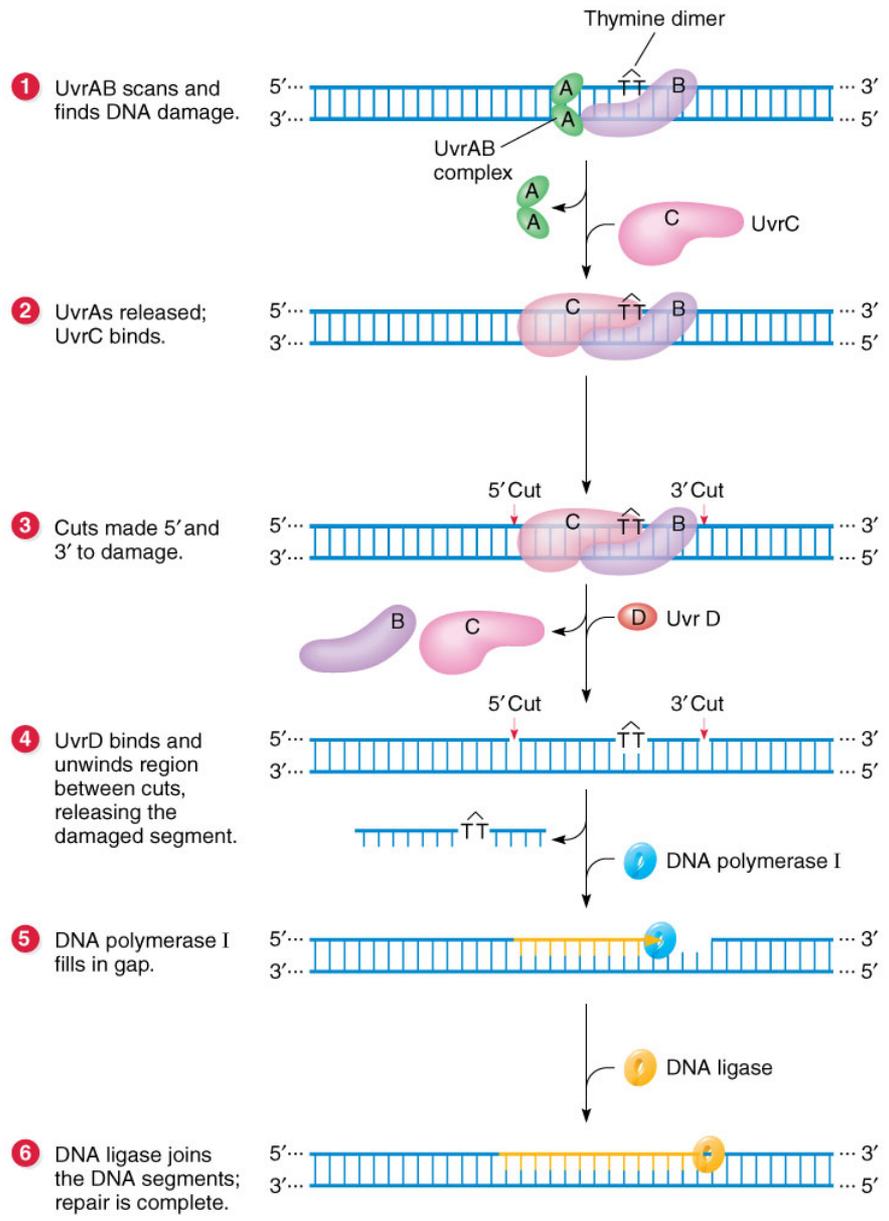
Reparatur von Mutationen:

Nukleotide excision repair.

Existiert in fast allen Organismen.

Thymin Dimere werden erkannt.

Der defekte Strang wird geschnitten und eine Helikase entwindet den Strang. Nach Reparatur durch Pol 1 wird die Stelle durch Ligation versiegelt.

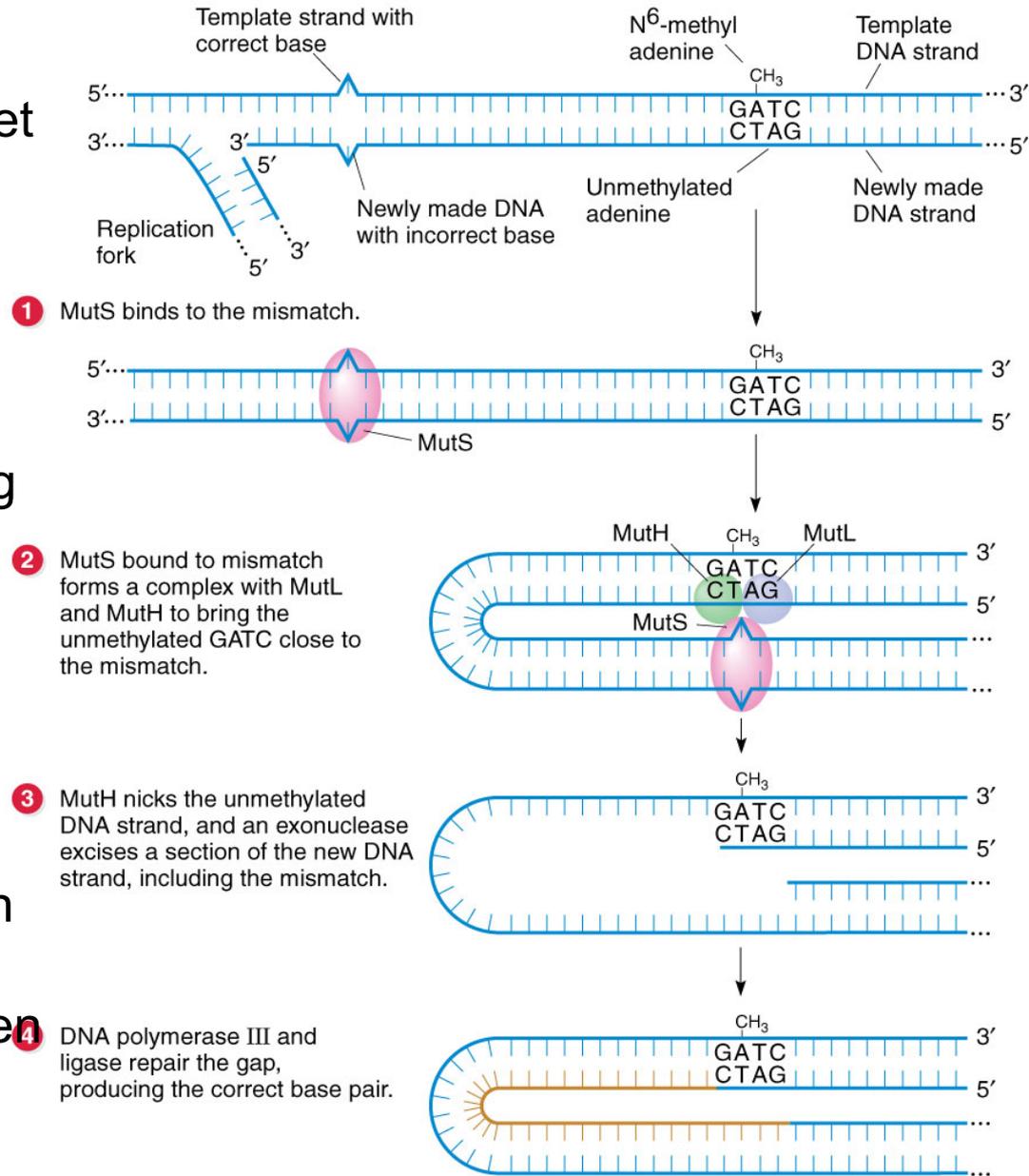


Methylation-Dependent Mismatch Repair in Bacteria:

mutS erkennt den Mismatch.
MutH und *MutL* bestimmen den unmethylierten Strang.
MutH spaltet diesen.
 Exonuklease entfernt die falsch eingebauten Nukleotide. Pol III repariert den Strang.

In Eukaryoten (keine Methylierung an GATC)
 Vier Gene MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 werden für mismatch repair benötigt.

Mutationen in jedem dieser Gene kann zu vererbtem non.polyptatösen Colon-Carzinom führen.(Erhöhte Mutationsrate in stark replizierenden Geweben)



Defekte in Repair Enzymen sind Auslöser von Erbkrankheiten und Tumorprädisposition

Table 7.1 Some Examples of Naturally Occurring Human Cell Mutants That Are Defective in DNA Replication or Repair

Disease and Mode of Inheritance	Symptoms	Functions Affected	Chromosome Location ^a and OMIM number
Xeroderma pigmentosum (XP)—autosomal recessive	Sensitivity to sunlight, with skin freckling and cancerous growths on skin; lethal at early age as a result of the malignancies	Repair of DNA damaged by UV irradiation or chemicals	9q34.1—278700
Ataxia-telangiectasia (AT)—autosomal recessive	Muscle coordination defect; propensity for respiratory infection; progressive spinal muscular atrophy in significant proportion of patients in second or third decade of life; marked hypersensitivity to ionizing radiation, cancer prone, high frequency of chromosome breaks leading to translocations and inversions	Repair replication of DNA	11q22.3—208900
Fanconi anemia (FA)—autosomal recessive	Aplastic anemia; ^b pigmentary changes in skin; malformations of heart, kidney, and limbs; leukemia is a fatal complication, genital abnormalities common in males; spontaneous chromosome breakage	Repair replication of DNA, UV-induced pyrimidine dimers, and chemical adducts not excised from DNA; a repair exonuclease, DNA ligase, and transport of DNA repair enzymes have been hypothesized to be defective in patients with FA	16q24.3—227650
Bloom syndrome (BS)—autosomal recessive	Pre- and postnatal growth deficiency; sun-sensitive skin disorder, predisposition to malignancies; chromosome instability; diabetes mellitus often develops in second or third decade of life	Elongation of DNA chains intermediate in replication: candidate gene is homologous to <i>E. coli</i> helicase Q	15q26.1—210900
Cockayne syndrome (CS)—autosomal recessive	Dwarfism; precociously senile appearance; optic atrophy; deafness; sensitivity to sunlight; mental retardation; disproportionately long limbs; knee contractures produce bowlegged appearance, early death	Precise molecular defect is unknown, but may involve transcription-coupled repair	5—216400
Hereditary nonpolyposis colon cancer (HNPCC)—autosomal dominant	Inherited predisposition to non-polyp-forming colorectal cancer	Defect in mismatch repair develops when the remaining wild-type allele of the inherited mutant allele becomes mutated; homozygosity for mutations in any one of four genes (<i>hMSH2</i> , <i>hMLH1</i> , <i>hPMS1</i> , and <i>hPMS2</i> , known as mutator genes) has been shown to give rise to HNPCC	2p22-p21—114500

^aIf multiple complementation groups exist, the location of the most common defect is given.

^bIndividuals with aplastic anemia make no or very few red blood cells.

Xeroderma Pigmentosum: Defekt im Nucleotide Excision repair

Mondscheinkinder:

Sonnenlicht führt zur
Hautschädigung und zur
Bildung von Tumoren



Mechanistic studies of DNA repair_Nobelprize 2015

$3,7 \times 10^{13}$ Mutationen im Leben eines Menschen
100-200 Mutationen pro Verdopplung eines humanen Genoms



DNA: Oxidation, Hydrolyse, Deaminierung, Methylierung, Fehler bei Replikation;
externe Faktoren (UV, Chemikalien, Strahlung)

DNA Läsionen: Problem bei Replikation, Transkription, genomische Instabilität
Läsionen können zu Mutationen führen—veränderte Genprodukte



Sancar: Entdeckung des Mechanismus des NER
(Nucleotide excision repair)



Modrich: Mismatch Repair: Insertion einer falsche Base während Replikation (non-Watson-Crick basepair)
Zeigte dass Reparaturaktivität ATP, Methylierung des originalen Stranges und diverse mismatch Reparaturproteine (mutH, mutL, mutS, uvrD), PolIII, Exonuclease und Ligase

Alle 3 arbeiten zunächst in Bakterien---dann wurden Eukaryoten untersucht/oft sehr ähnlicher Mechanismus

Mendel'sche Genetik



© 2010 Pearson Education, Inc.



© 2010 Pearson Education, Inc.

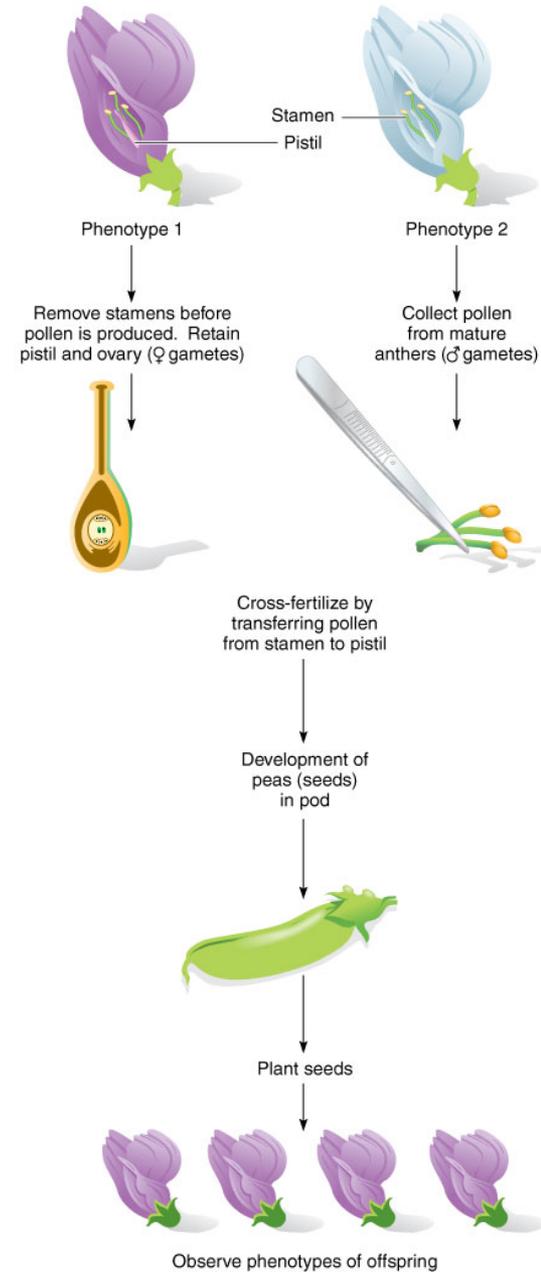
Merkmale (traits) werden durch Gene und Umwelteinflüsse beeinflusst und ergeben so den Phänotyp eines Individuums

Genotype
(genetic
constitution)

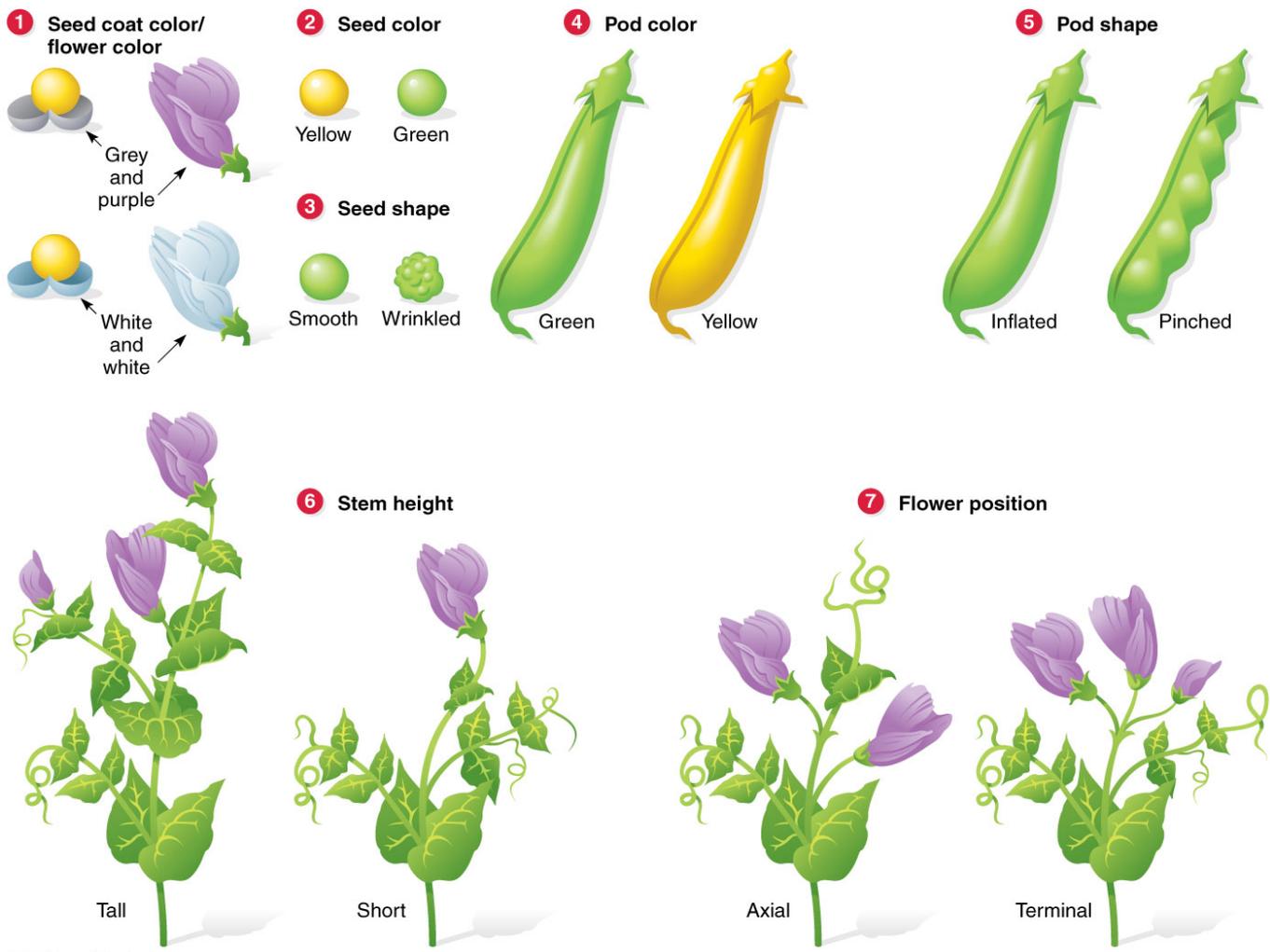
Environmental
influences and
random develop-
mental events

Phenotype
(expression of
physical trait)

Gregor Mendel studierte Merkmale der Erbse, welche gezielt gekreuzt wurden.



Hierbei wurde auf 7 Merkmale geachtet:
 Durch Inzucht einzelner Linien wurde sichergestellt dass diese in Bezug auf diese Merkmale reinerbig (homozygot) waren.



Uniformitätsregel:

Werden reinerbige Linien, welche sich in einem Merkmal unterscheiden, miteinander gekreuzt, so sind alle Nachkommen dieser Kreuzung in Bezug auf dieses Merkmal uniform.

P: Parental

P generation



×



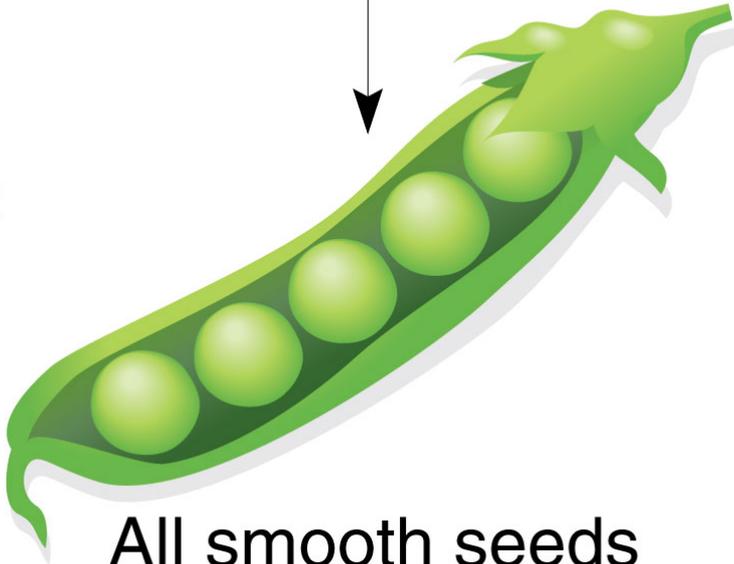
Smooth seeds

Wrinkled seeds

Es spielt keine Rolle von welchem Elternteil welches Merkmal kommt, die Kreuzung kann also auch **reziprok** angesetzt werden

F₁ generation

F1: Erste Filialgeneration

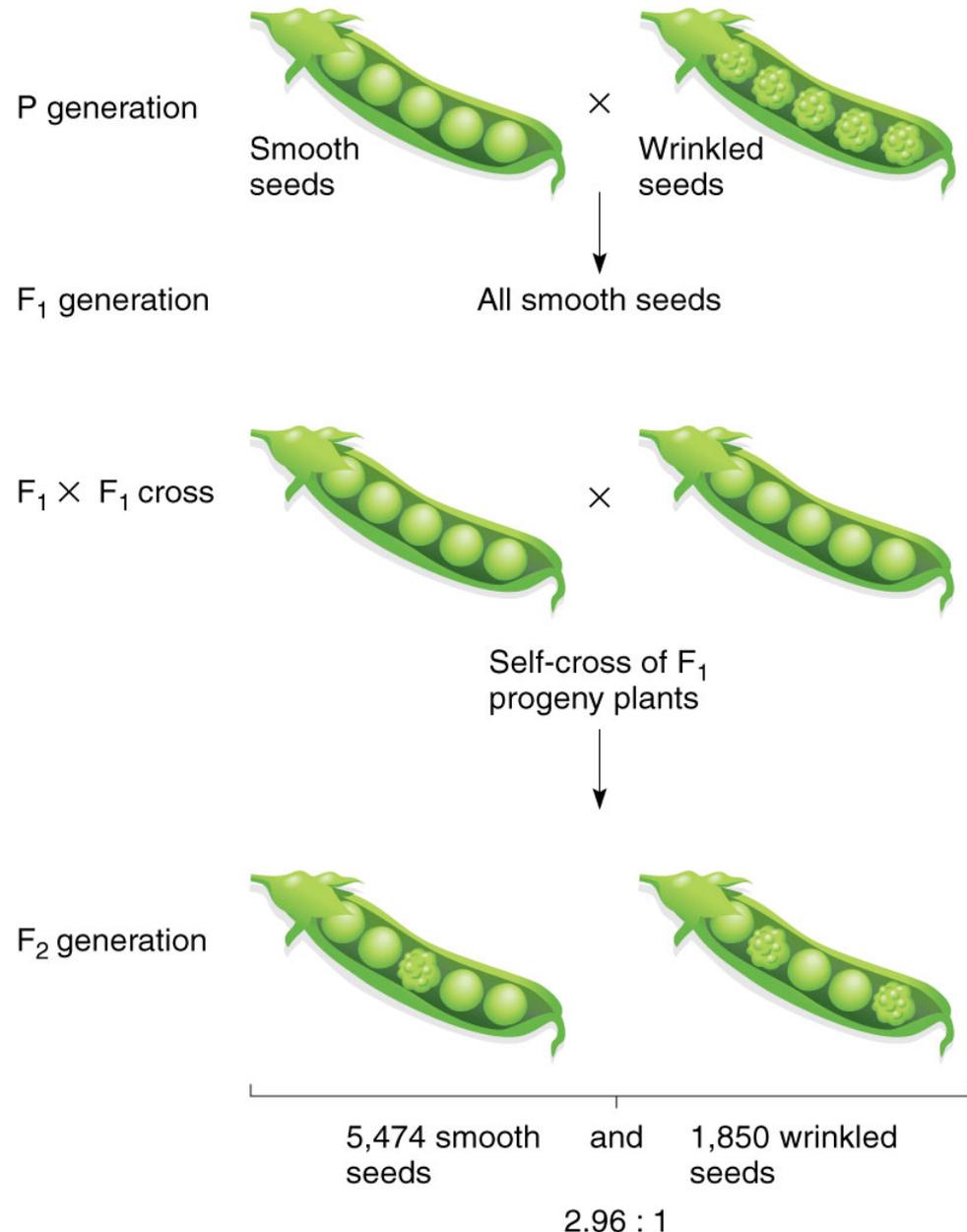


All smooth seeds

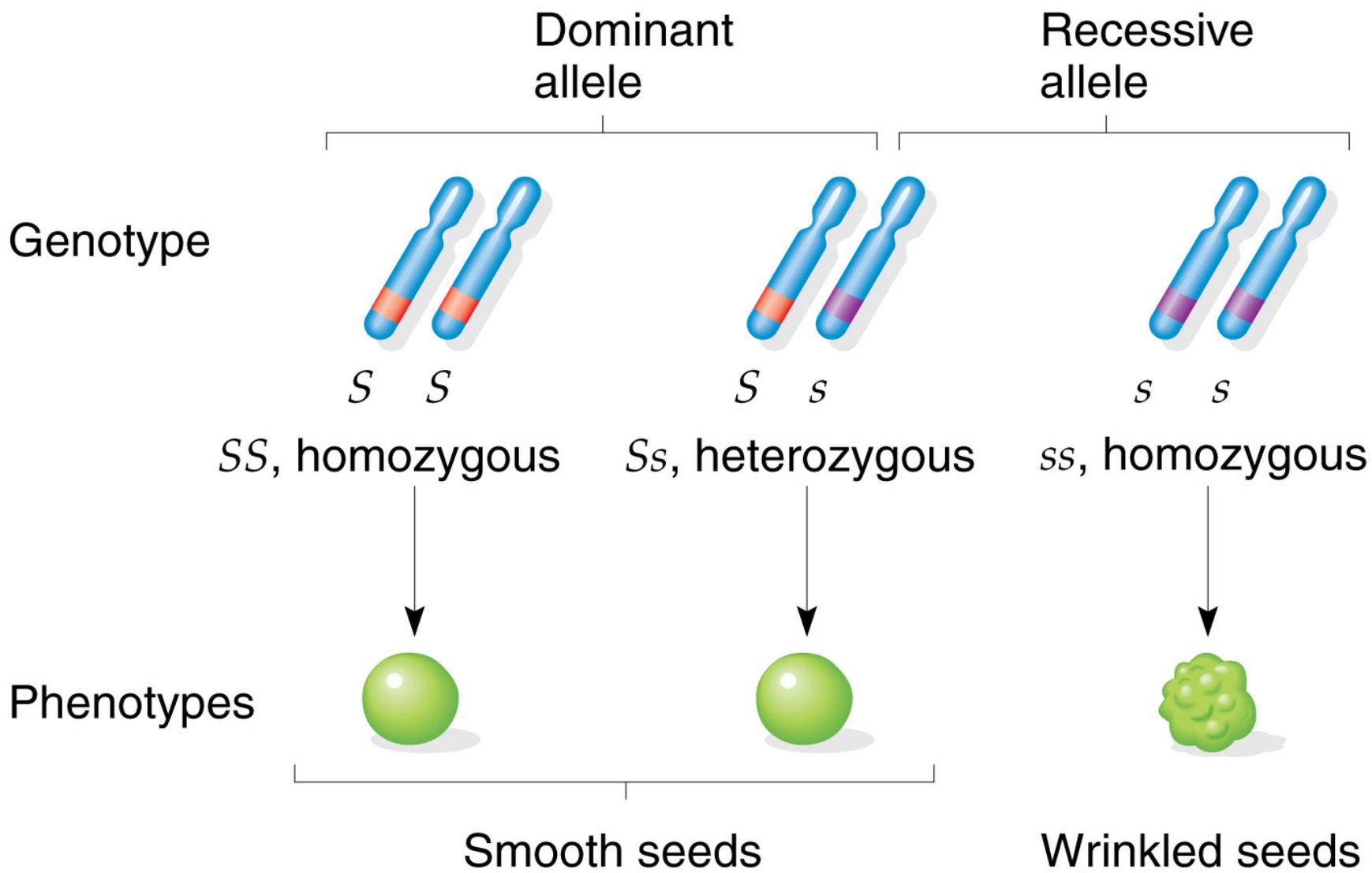
Spaltungsregel:

Wird die Monohybride F1 mit sich selbst gekreuzt (bei zweigeschlechtlichen Organismen ge-selfed) so spaltet sich das Merkmal in der F2 in einem bestimmten Verhältnis auf. Hier: 3:1 Da glatt über runzelig dominant ist.

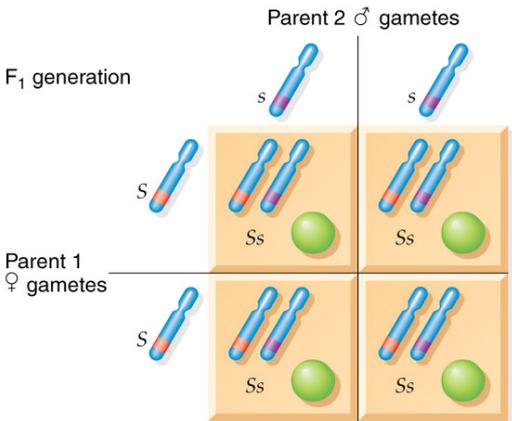
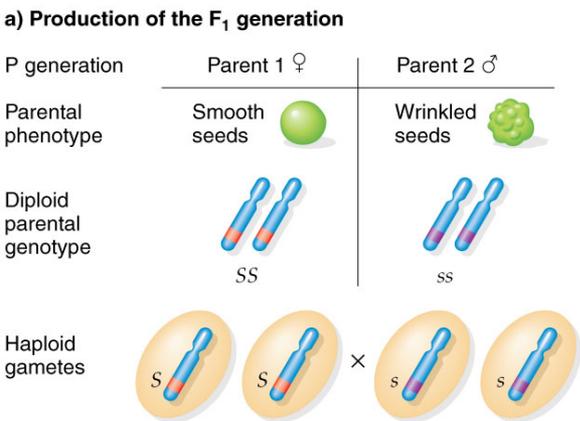
Die verschiedenen Varianten eines Gens, werden als **Allele** bezeichnet.



DOMINANTE ALLELE werden in der Regel mit GROSSBUCHSTABEN oder einem + markiert



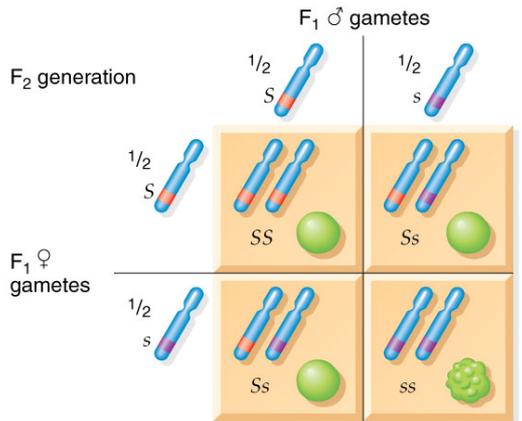
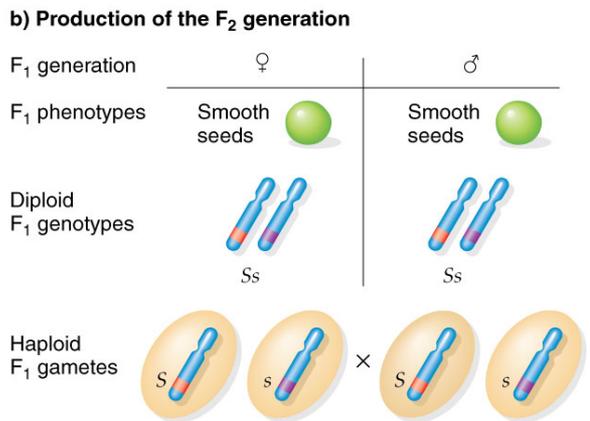
Jeder **diploide** Organismus erzeugt **haploide** Gameten. Jede Keimzelle erhält somit nur ein mögliches Allel. Die Kreuzung möglicher Keimzellkombinationen (Allel-Kombinationen) wird am einfachsten in Form eines Punette-Diagramms dargestellt:



F₁ genotypes: all Ss
 F₁ phenotypes: all smooth (smooth is dominant to wrinkled)

© 2010 Pearson Education, Inc.

Uniformitätsregel



F₂ genotypes: $\frac{1}{4}$ SS, $\frac{1}{2}$ Ss, $\frac{1}{4}$ ss
 F₂ phenotypes: $\frac{3}{4}$ smooth seeds, $\frac{1}{4}$ wrinkled seeds

Spaltungsregel

Das Verhältnis der 7 von Mendel Verwendeten Merkmale war immer 3:1 (da er immer dominant-rezessive Merkmale betrachtete!)

Table 11.1 Mendel's Results in Crosses between Plants Differing in One of Seven Characters

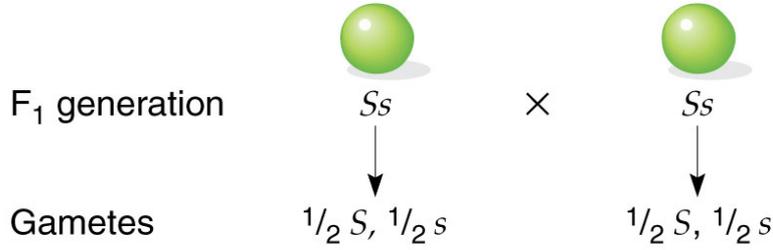
Character ^a	F ₁	Dominant	F ₂ (Number) Recessive	Total	F ₂ (Ratio) Dominant : Recessive
Seeds: smooth versus wrinkled	All smooth	5,474	1,850	7,324	2.96:1
Seeds: yellow versus green	All yellow	6,022	2,001	8,023	3.01:1
Seed coats: grey versus white ^b	All grey	705	224	929	3.15:1
Flowers: purple versus white	All purple				
Flowers: axial versus terminal	All axial	651	207	858	3.14:1
Pods: inflated versus pinched	All inflated	882	299	1,181	2.95:1
Pods: green versus yellow	All green	428	152	580	2.82:1
Stem: tall versus short	All tall	787	277	1,064	2.84:1
Total or average		14,949	5,010	19,959	2.98:1

^aThe dominant trait is always written first.

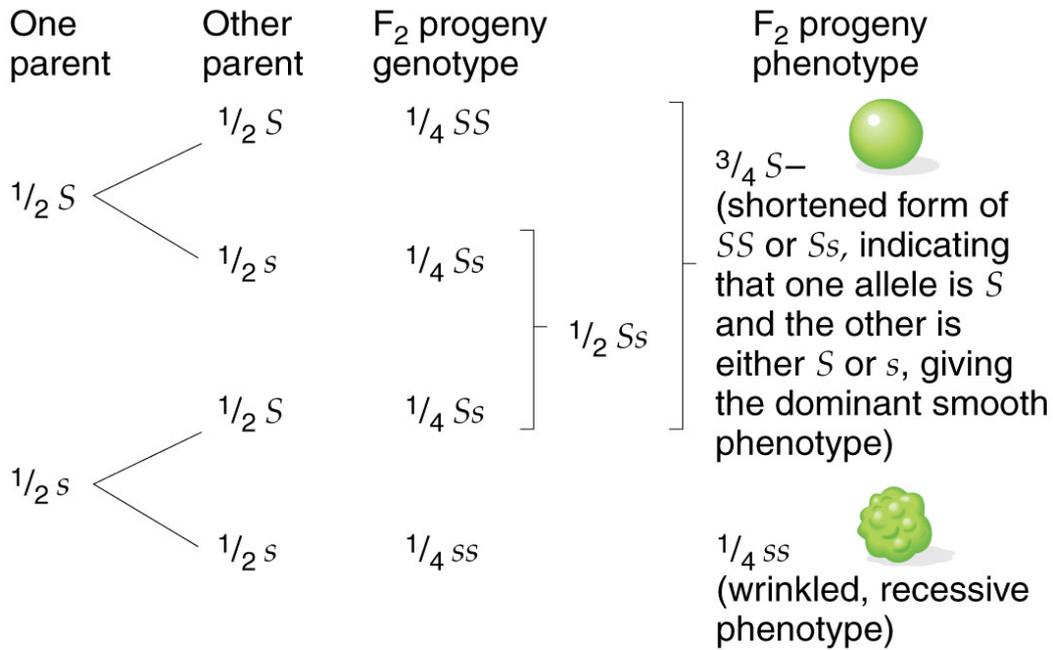
^bA single gene controls both the seed coat and the flower color trait.

Die Vererbung unterschiedlicher Allele wird durch deren Häufigkeit bestimmt. Das unabhängige Zusammenkommen einzelner Allele lässt sich daher leicht in Wahrscheinlichkeiten ausdrücken.

(Unabhängige Wahrscheinlichkeiten können multipliziert werden; $0,5 \times 0,5 = 0,25$)



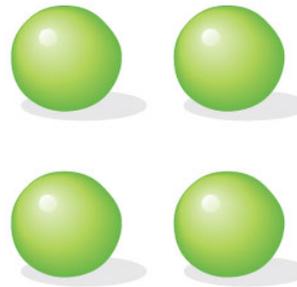
Random combination of gametes results in:



Testkreuzungen (selfing) oder mit einem reinerbig rezessiven Partner gibt Aufschluss über den Genotyp der F₂.

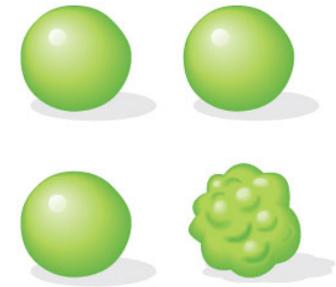
F₂ × F₂ self-fertilizations

SS × SS



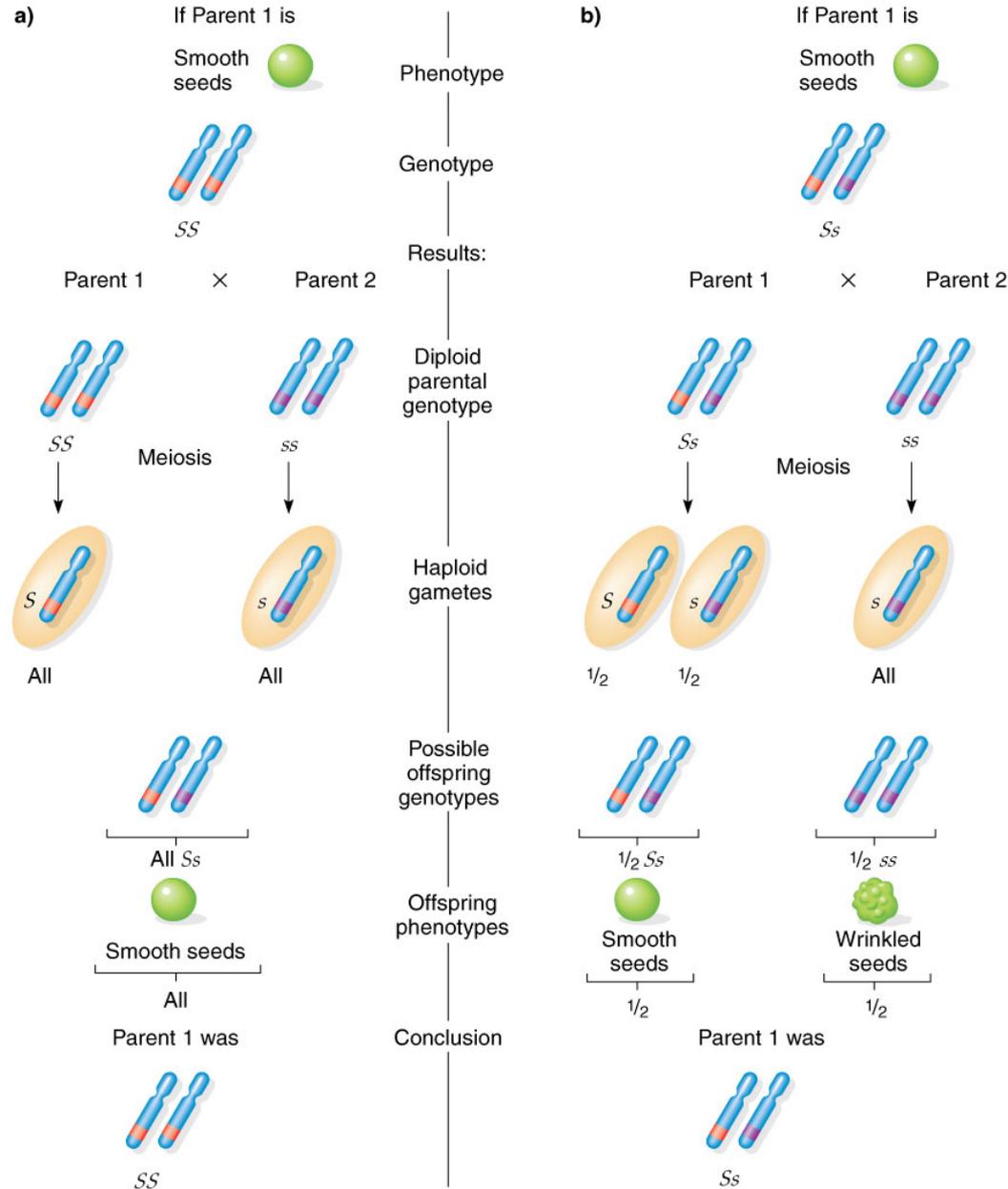
All SS (smooth)
progeny

Ss × Ss



$\frac{3}{4}$ S- (smooth)
 $\frac{1}{4}$ ss (wrinkled)
(i.e., both kinds
of progeny)

Testkreuzungen und deren mögliche Resultate



Was erklärt den rezessiven Phänotyp (wrinkled)?

S (smooth) Erbsen besitzen zumindest ein funktionelles Allel des SBE1 (starch branching enzyme 1) welches Sucrose in Stärke umwandelt.

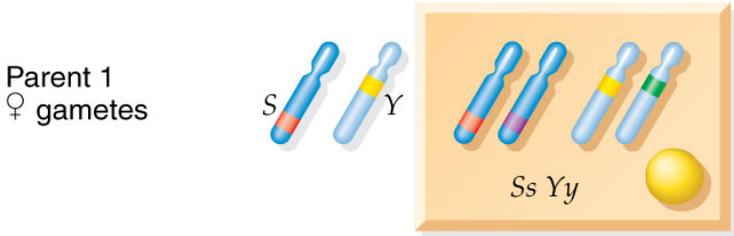
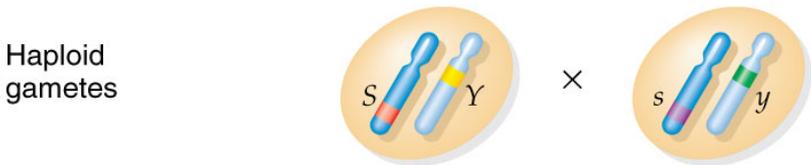
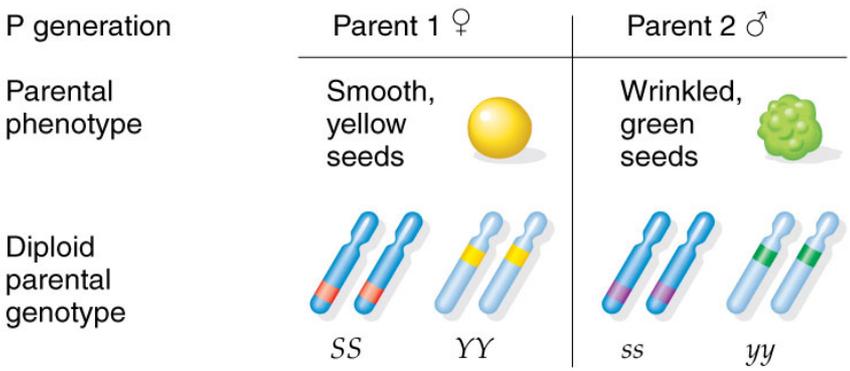
Runzelige Erbsen besitzen zwei Allele welche für ein defektes SBE1 Protein kodieren. Defekte Allele werden als “**loss of function**” bezeichnet. Diese können leicht durch ein funktionelles Allel ausgeglichen werden. Der Höhere Sucrose Anteil der runzeligen Erbsen lässt diese Anfangs mehr Wasser speichern, wenn dieses verdunstet, werden die Erbsen runzelig.

Unabhängigkeitsregel: Allele, welche unabhängige Merkmale beeinflussen werden unabhängig voneinander vererbt.

Dies gilt natürlich nur, wenn diese auf unterschiedlichen Chromosomen liegen.

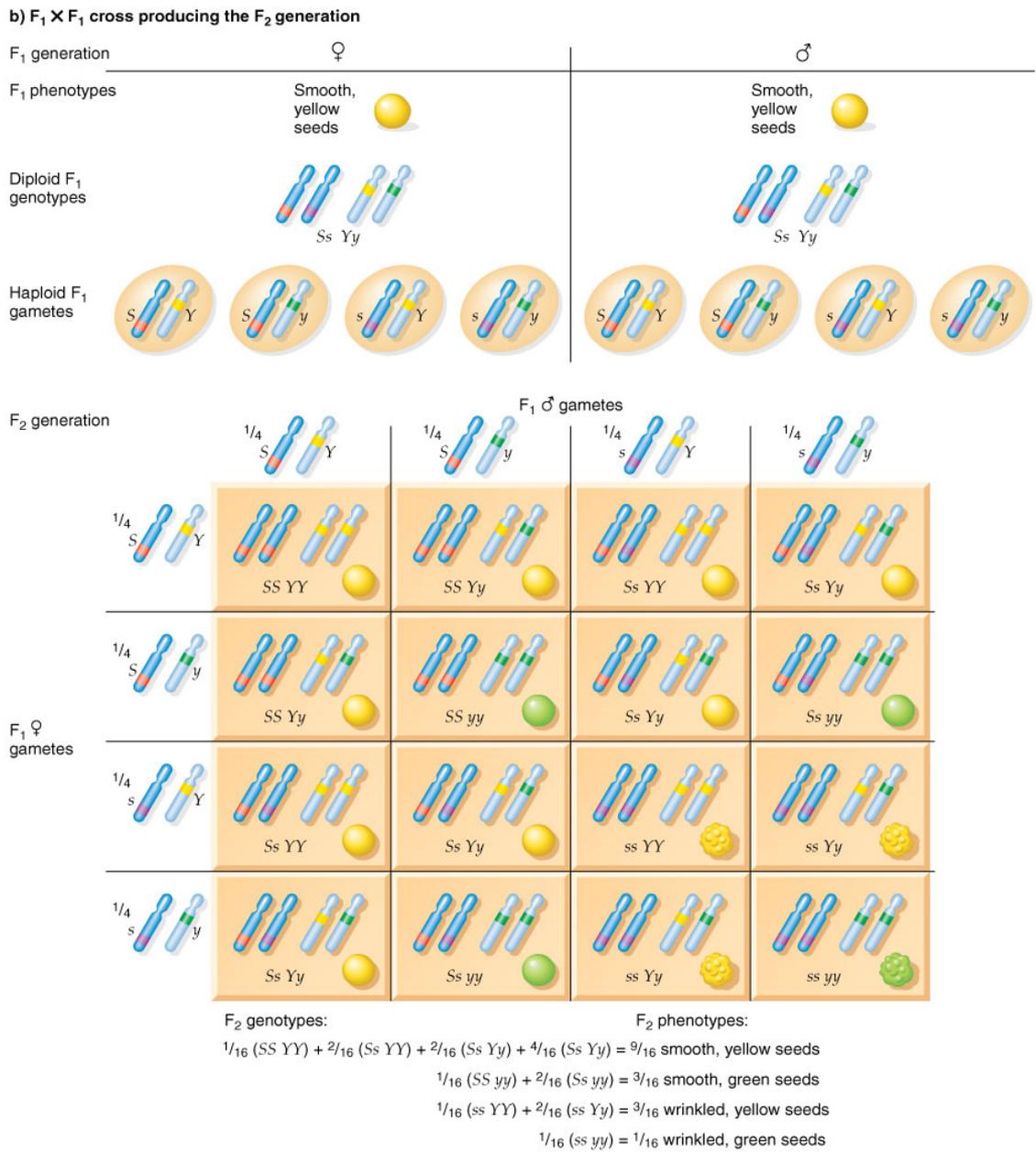
Die F1 einer solchen **Dihybriden Kreuzung** ist wieder uniform.

a) Production of the F₁ generation



F₁ genotypes: all Ss Yy
 F₁ phenotypes: all smooth, yellow seeds

Die F2 einer solchen Kreuzung segregiert Merkmale im Verhältnis 9:3:3:1 (nach selfing)



AUCH HIER FOLGT DAS ERGEBNIS DER KREUZUNG DER UNABHÄNGIGEN VERTEILUNG VON WAHRSCHEINLICHKEITEN.

$F_1 \times F_1$

$Ss Yy$
(smooth,
yellow)

×

$Ss Yy$
(smooth,
yellow)

F_2 phenotypes
for $Ss \times Ss$

F_2 phenotypes
for $Yy \times Yy$

F_2 phenotypic
proportions

 $3/4 S-$
(smooth)

$3/4 Y-$
(yellow)



$9/16 S- Y-$
Smooth, yellow



$1/4 yy$
(green)



$3/16 S- yy$
Smooth, green



 $1/4 ss$
(wrinkled)

$3/4 Y-$
(yellow)



$3/16 ss Y-$
Wrinkled,
yellow



$1/4 yy$
(green)



$1/16 ss yy$
Wrinkled,
green

