

## MUTAÇÃO E REPARO DO DNA

### **META**

Discutir os principais mecanismos geradores de mutação e suas conseqüências, assim como o papel dos mecanismos de reparo do DNA na manutenção da estabilidade e sobrevivência dos organismos.

### **OBJETIVOS**

Ao final desta aula, o aluno deverá:

compreender a importância da precisão dos processos biológicos para a sobrevivência dos organismos;

compreender a função e importância das mutações gênicas na geração da variabilidade, entender a origem e efeito das mutações sobre o funcionamento celular;

dompreender o funcionamento dos diversos sistemas de reparo do DNA para a manutenção da estabilidade do material genético.

### **PRÉ-REQUISITOS**

Para alcançar os objetivos propostos o aluno deverá recorrer aos seus conhecimentos de sobre estrutura e funcionamento do DNA, consultando as aulas anteriores e a bibliografia indicada.

### INTRODUÇÃO

A continuidade, precisão e fidelidade dos processos biológicos são essenciais para a manutenção da vida. No entanto, o material biológico está inserido no meio ambiente onde os indivíduos sobrevivem e precisam responder a ele.

As respostas geradas pelos organismos ao meio podem causar danos ao material genético e ao funcionamento dos processos biológicos. No entanto, os erros no material genético gerados sejam de maneira espontânea ou induzida, tornam-se o motor da evolução, uma vez que fornecem novas combinações ao genoma das espécies.

Mutações são alterações herdáveis na seqüência no material genético, que fornecem grande variabilidade ao conjunto gênico de uma população. O termo mutação tem 2 significados, pois tanto é o processo quanto o efeito. Como processo descreve os mecanismos geradores de alterações no material genético, como o efeito dessas alterações no organismo afetado.

### IMPORTÂNCIA

Durante o ciclo de vida tanto de células quanto de organismos, a diversidade genética e seus fenótipos são geradas por 2 mecanismos: a recombinação gênica e a mutação. Os dois processos são essenciais para a sua sobrevivência, mas, cada um deles representa um papel na geração da diversidade.

A recombinação é um processo mais ou menos constante durante a formação dos gametas (Meiose) e tem o papel de “rearranjar” o conjunto gênico de um organismo, gerando novas combinações a partir de um material pré-existente, fornecido pelos conjuntos gênicos dos genitores.

Com a mutação, o “repertório” de genes pode ser alterado, gerando novas versões do material pré-existente. Do ponto de vista evolutivo, novas versões gênicas geram novos fenótipos (ou opções), e, conseqüentemente, no número de respostas que um organismo possa dar ao seu meio. Por isso as mutações são o motor da evolução!

É importante lembrar que as mutações são raras e o são por um bom motivo: os processos biológicos, especialmente o funcionamento do material genético, deve ser preciso. Seus efeitos vão depender do período de desenvolvimento, do tipo de célula e de sua dominância.

As mutações podem ocorrer em qualquer célula, somática ou germinativa; a diferença, no entanto, está no efeito a longo prazo. As mutações somáticas ocorrem em células somáticas e o efeito vai depender do período de desenvolvimento: quanto mais cedo, mais divisões essas células sofrerão, levando o defeito para um número maior de células. Se o defeito ocorre em uma célula germinativa, seus efeitos refletem diretamente na prole.

As alterações no material genético podem se dar tanto no numero como na estrutura dos cromossomos (cromossômicas), bem como na estrutura de genes individuais (gênicas). Quando as mutações ocorrem em sítios específicos de genes são denominadas

### MUTAÇÕES DE PONTO (INSERÇÕES E DELEÇÕES DE NUCLEOTÍDEOS)

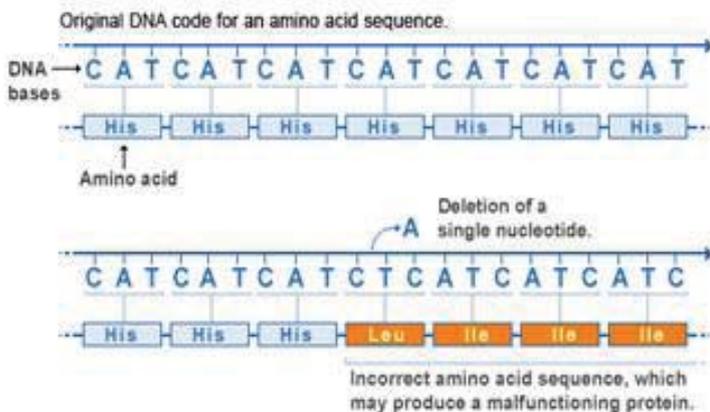
Atualmente, o termo mutação é utilizado apenas para mutações de ponto ou gênicas.

No Quadro 1 estão resumidos os principais tipos de mutação.

Tipos de mutações gênicas	Resultados e exemplos
<b>No DNA</b>	<b>No DNA</b>
Transições	Pu→Pu o Pi→Pi: AT→GC, GC→AT, CG→TA y TA→CG
Transversões	Pu→Pi o Pi→Pu: AT→CG, AT→TA, GC→TA, GC→CG, TA→GC, TA→AT, CG→AT y CG→GC
<b>Na proteína</b>	<b>Na proteína</b>
Mutação silenciosa	Códons que codificam para o mesmo aminoácido: AAG(arg)→CGG(arg)
Mutação neutra	Códons que codificam o mesmo aminoácido: AAA(lis)→AGA(arg). Ambos são aminoácidos básicos
Mutação de sentido errado	Aparece um novo códon que codifica para um aminoácido diferente. A proteína perde sua função.
Mutação sem sentido	Aparece um códon de terminação: CAG(gln)→UAG(FIM)

#### Tipos de Mutações de ponto

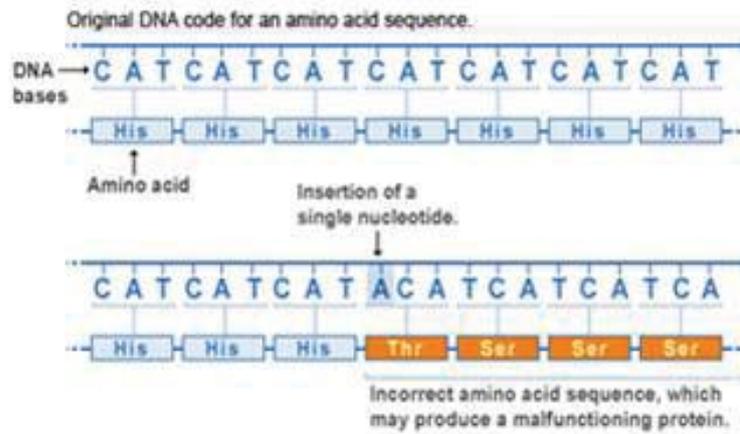
##### Deletion mutation



U.S. National Library of Medicine

Figura 2- Deleção

Insertion mutation

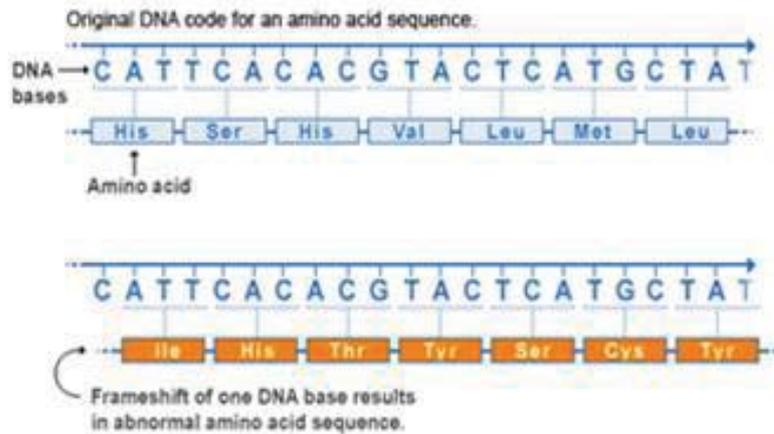


U.S. National Library of Medicine

Figura 3- Inserção

Todas essas mutações de ponto resultam em erros na matriz de leitura das trincas de nucleotídeos no RNAm e seus aminoácidos. Observem que o erro na matriz ocorre a partir da deleção ou inserção do nucleotídeo errado.

Frameshift mutation



U.S. National Library of Medicine

Figura 4- Mutação na Matriz de Leitura

Em relação aos seus efeitos, a mutação pode ser 1) positiva do ponto de vista evolutivo, quando gera novas combinações gênicas; 2) Neutra, quando altera a seqüência de regiões não codificantes não alterando a função gênica; 3) Silenciosa, quando ocorre sobre genes inativos; 4) Negativa, quando prejudica a função de genes ativos; 5) Letal, quando leva a morte celular.

## BASE MOLECULAR DAS MUTAÇÕES

A eficiência na passagem da informação genética durante a replicação do DNA depende do correto pareamento de bases, onde A paira com T e G com C. Quando ocorrem alterações nesse pareamento, a replicação pode conter erros que alteram a seqüência de nucleotídeos.

Varias formas de Mutações espontâneas que podem ocorrer no DNA:

1. Tautomerização, um processo espontâneo e na maioria das vezes reversível, onde os átomos de hidrogênio se movem de sua posição nas bases, gerando pareamentos incorretos. Quando mudanças tautoméricas envolvem a substituição de uma purina (A ou G) por outra purina na fita complementar, ocorre uma transição; quando a substituição envolve uma purina por uma pirimidina (T ou C) temos uma transversão (ver figura 5)

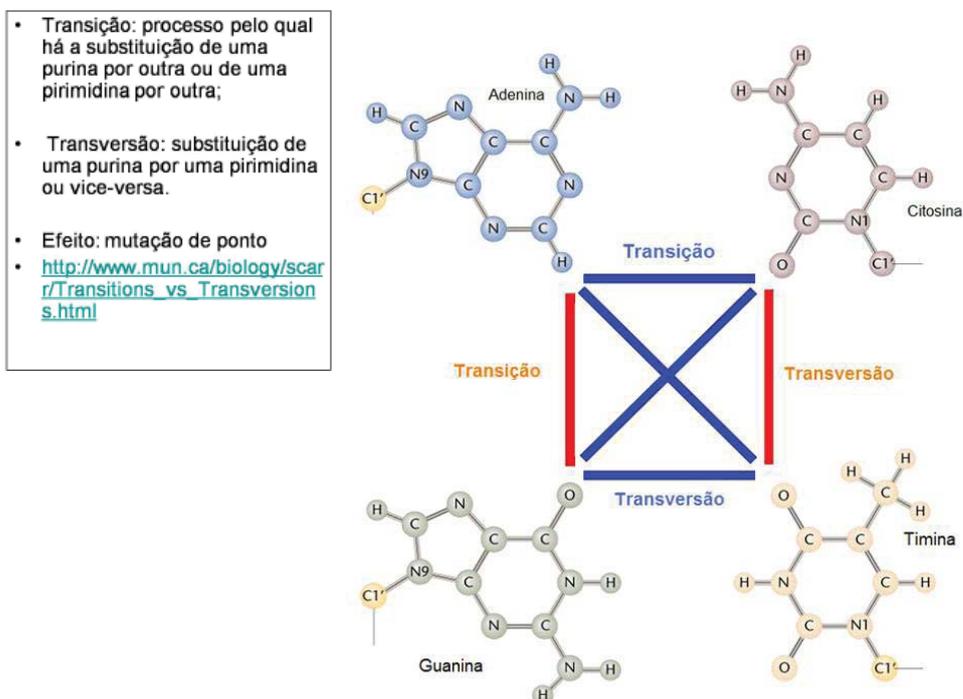
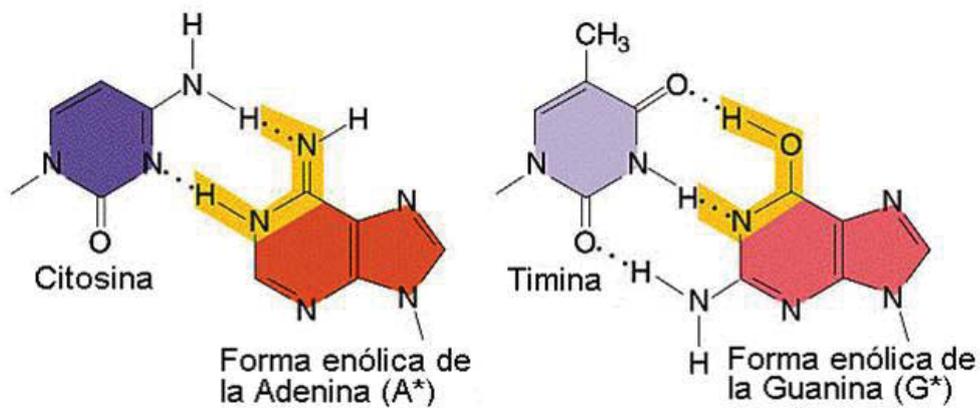


Figura 5 - Tautomerização



EX: Figura 6 – tautômeros

Embora os tautômeros sejam reversíveis, seus efeitos se refletem nas próximas replicações, como mostra a figura abaixo:

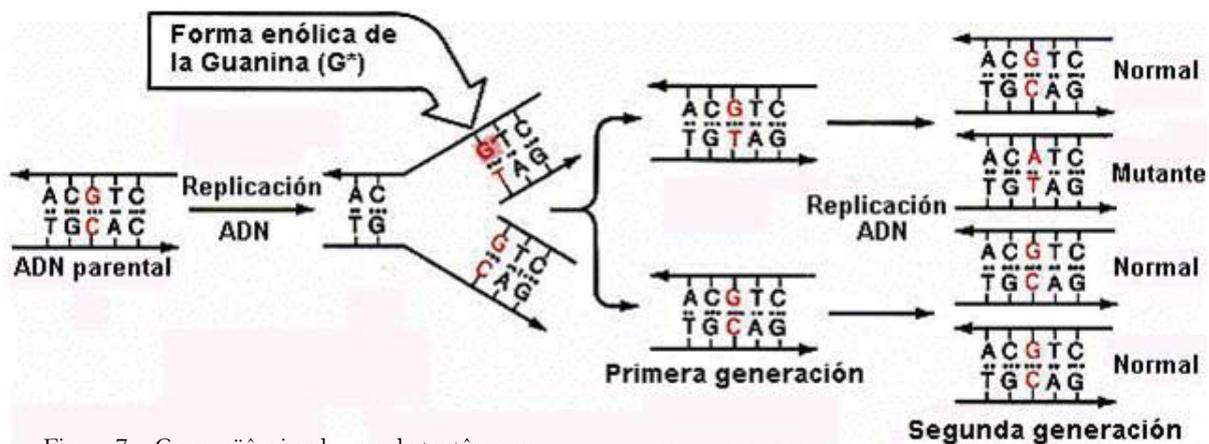
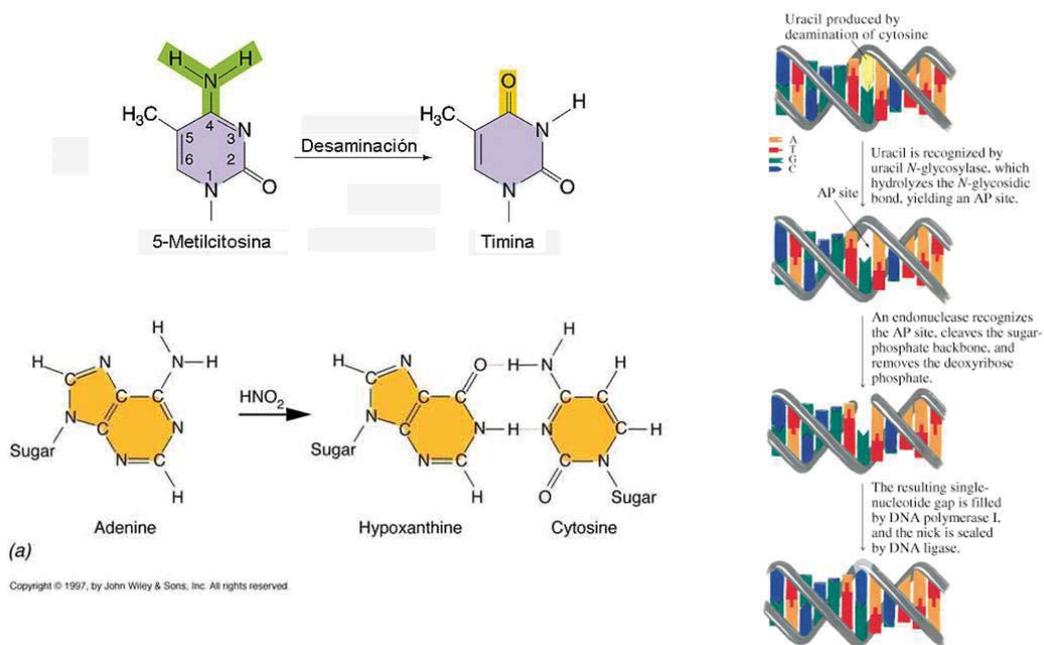


Figura 7 – Conseqüências do uso de tautômeros

2. Desaminação das bases, são alterações nas bases do DNA por substituir um grupamento amina (-NH<sub>2</sub>) por uma hidroxila (-OH). Da mesma forma que na tautomerização, as bases desaminadas comportam-se como bases não usuais e fazem pareamentos errôneos (ex: H – C), como mostra a figura 8 ao lado:



3. Depurinação: erro na replicação do DNA forma sítios sem a presença purinas. Essas lesões são resultantes de radiação ionizante, radicais livres ou ação de agentes alquilantes que desestabilizam a ligação N-glicosídica, causando mutagênese e carcinogênese.

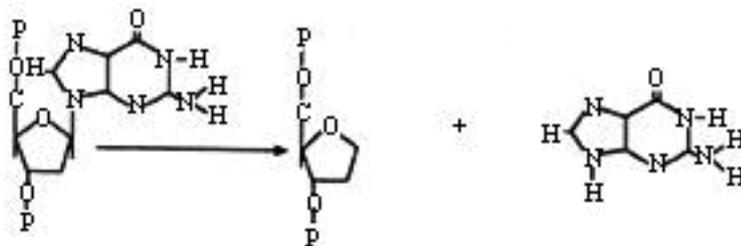
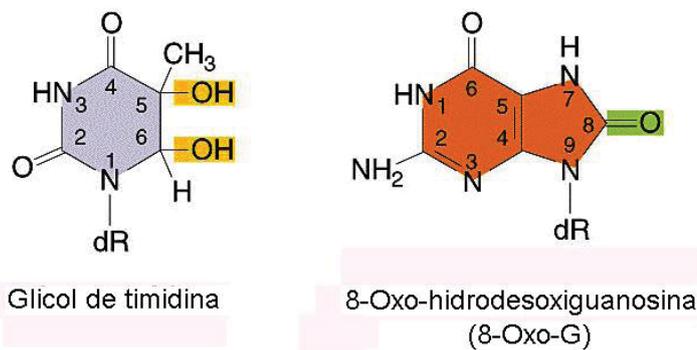


Figura 9 - depurinação

### DANO OXIDATIVO NO DNA

Espécies reativas de oxigênio (EROs) são formadas e degradadas por organismos aeróbicos. No entanto, quantidades excessivas levam ao aumento do estresse oxidativo.

As EROs incluem um grande número de moléculas quimicamente reativas e derivadas do oxigênio, como exemplo o ânion radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) e o radical hidroxil (.OH). Figura 10.



## MUTAÇÕES INDUZIDAS

O efeito do meio ambiente sobre os organismos pode ser avaliado por aumentos nas taxas de mutações em organismos expostos a agentes mutagênicos ambientais, tanto físicos (Raios X e radiação UV) quanto químicos (drogas, poluentes ambientais, xenobióticos etc).

Sua ação se dá geralmente por mimetizar a estrutura de bases nitrogenadas, gerando deleções ou inserções, por alteração na estrutura tridimensional do DNA ou por transposição de elementos moveis (Transposons) para diferentes locais no DNA.

## AÇÃO DAS DROGAS SOBRE O DNA

1. Análogo de bases:

Ex: 5- Bromouracila (análogo de Timina)

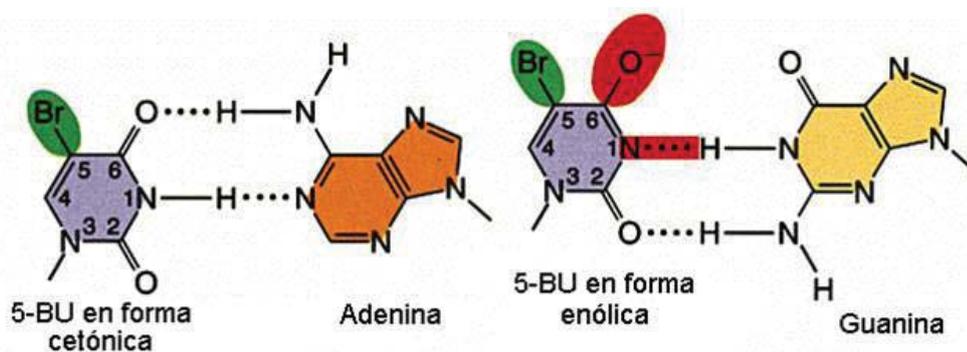


Figura 11

Efeitos sobre a replicação

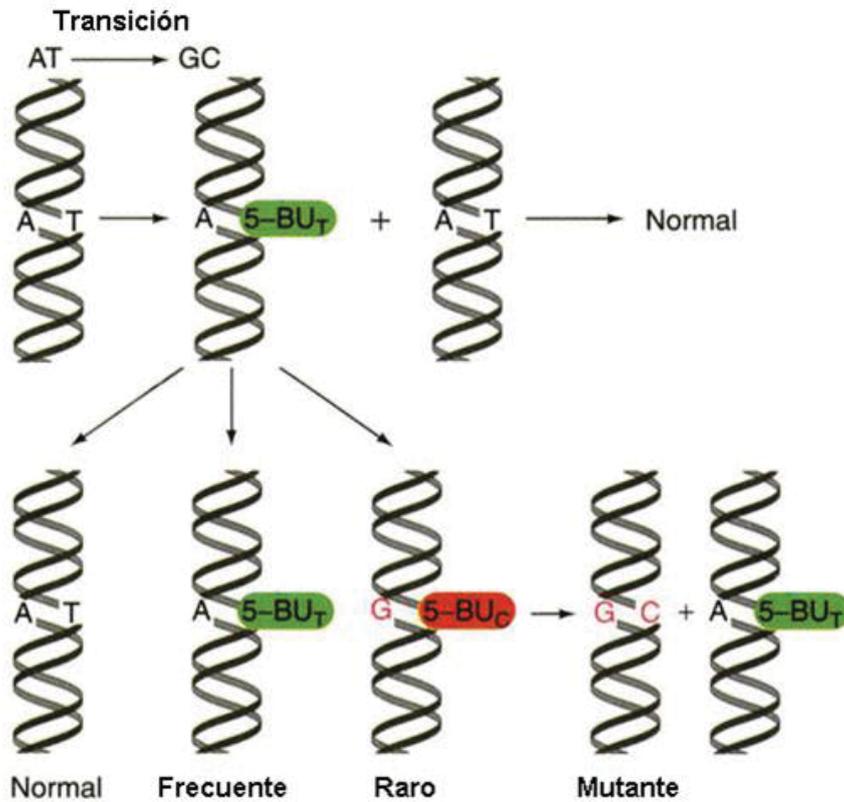
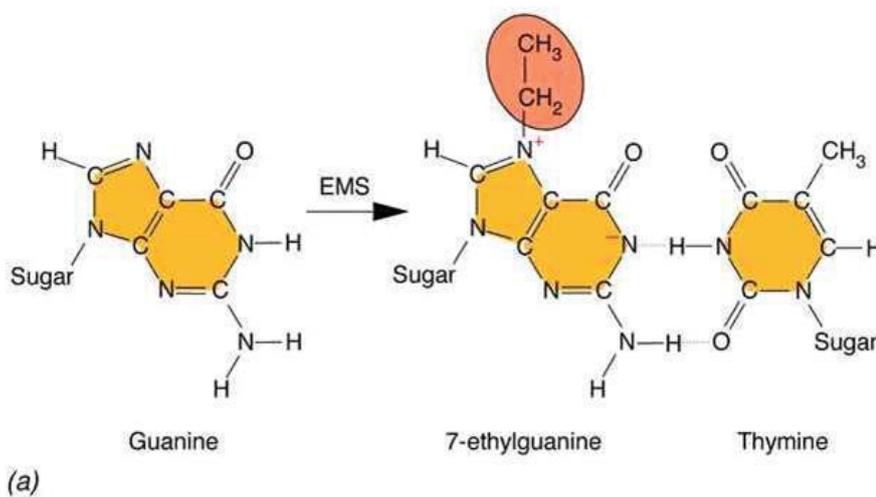


Figura 12

2. Agentes alquilantes: adiciona grupos Etil ou Metil às bases.



Copyright © 1997, by John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.

Figura 13

3. Agentes desaminantes: Ex: Acido Nitroso

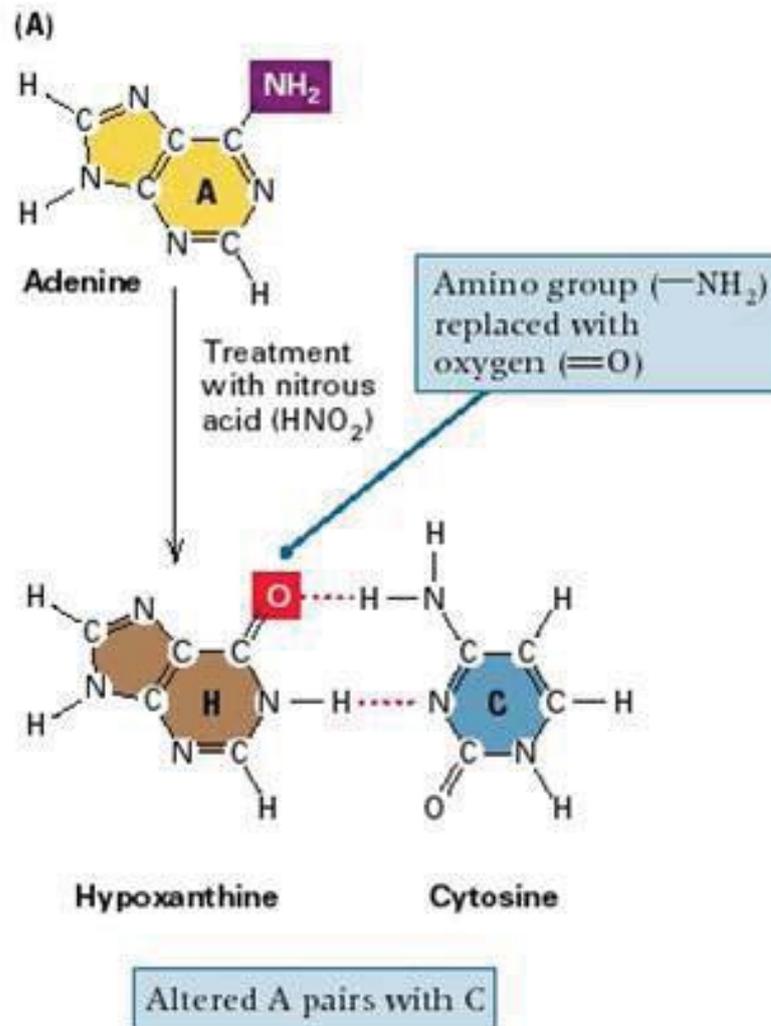


Figura 14

4. Corantes Acridínicos : intercala entre as bases.

São compostos com estruturas planas que se intercalam entre as bases nitrogenadas do DNA, produzindo adições ou deleções de um par de nucleotídeos.



Figura 15

## EFEITO: MUDANÇ A NO QUADRO DE LEITURA, POR INSERÇ ˆO NO DNA

### AÇ ˆO DE AGENTES FÍSICOS SOBRE O DNA

#### 1. Radiaç ˆes ionizantes: raios X, $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ .

Induzem a formaç ˆo de íons reativos e radicais livres, bem como provocam alteraç ˆes nas bases e quebras na cadeia do DNA (de uma ou ambas as fitas) podendo originar aberraç ˆes cromoss ˆmicas.

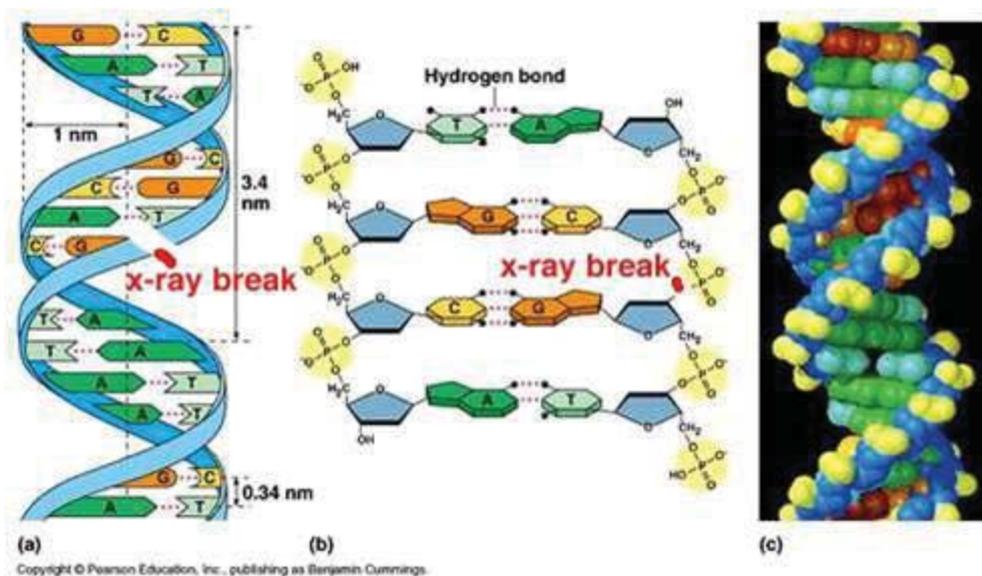
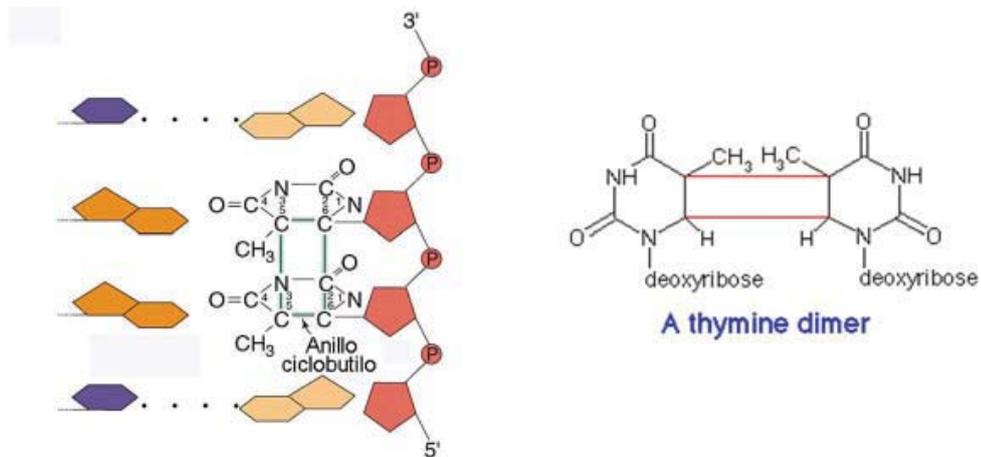


Figura 16

#### 2. Radiaç ˆes n ˆo-ionizantes: raios ultravioleta.

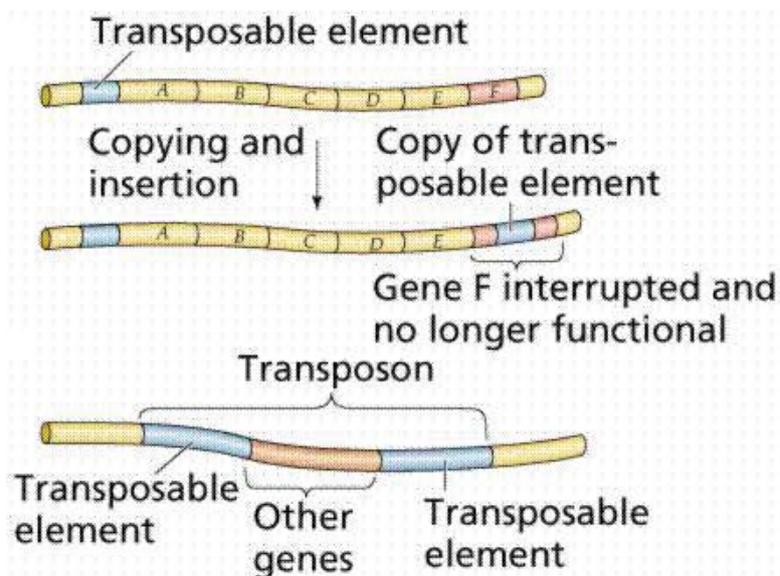
Embora n ˆo possuam energia suficiente para ionizar o DNA, carregam energia suficiente para alterar a mol ˆcula. A mais conhecida aç ˆo da radiaç ˆo UV no DNA   a induç ˆo de dímeros de pirimidina. Trata-se da induç ˆo de ligaç ˆes carbono-carbono entre pirimidinas adjacentes, sendo mais comum com a timina. Isto resulta na distorç ˆo da mol ˆcula ou ligaç ˆes entre mol ˆculas adjacentes, o que temporariamente para a replicaç ˆo do DNA.



### AÇÃO DE ELEMENTOS GENÉTICOS DE TRANSPOSIÇÃO (TRANSPOSONS)

Transposons são seqüências de DNA que tem a propriedade de mover-se de um local para outro dentro do genoma, e são por isso denominados Elementos genéticos moveis. Sua inserção na estrutura de um gene pode causar deleção ou perda de bases. Se o transposons se retira do interior de um gene, este pode recuperar sua função. Do mesmo modo, se ele insere em um gene, nucleotídeos são adicionados a ele tendo como conseqüência a perda de função. Devido a esse modo de ação, os transposons são considerados agentes mutagênicos.

Já foram descritos em bactérias, plantas e em mamíferos. Sua origem, no entanto, ainda é objeto de discussão.



Ex: Figura 18.

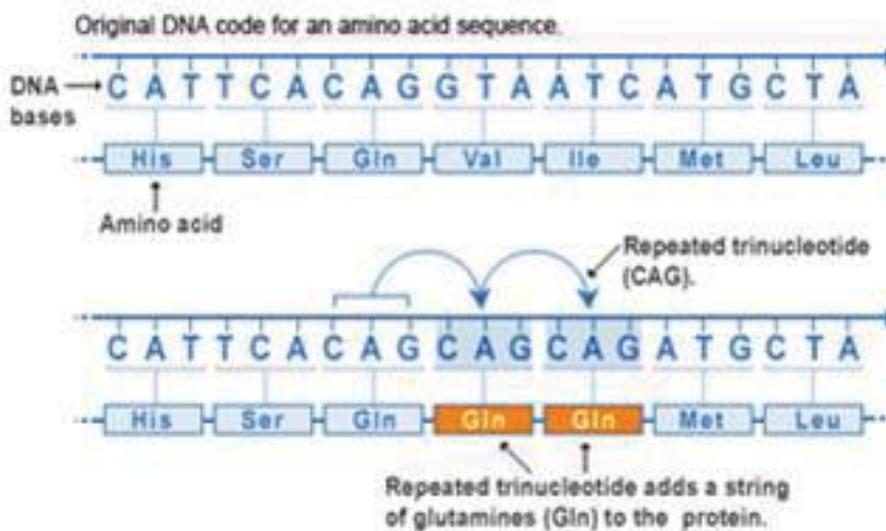
Em humanos, todos os tipos de mutações descritas aqui são possíveis. No entanto, há outros tipos associados especificamente a doenças humanas; uma delas, que tem recebido atenção especial nos últimos anos, é a repetição expandida de trinucleotídeos.

As seqüências repetidas de um a seis vezes são conhecidas como repetições simples em tandem (essas são definidas como uma seqüência de DNA que se repete uma atrás da outra, p. ex. AACT pode se repetir várias vezes: AACTAACTAACTAACTAACT...) e estão dispersas por todo o genoma humano.

As seqüência repetidas três vezes, ou repetições de trinucleotídeos, estão associadas a doenças herdadas e podem se expandir. Já foram encontradas na Síndrome do X frágil e em doenças neurológicas como a Doença de Huntington, Distrofia Miotônica e outras. O número de repetições está associada a gravidade destas, e sua instabilidade em células somáticas e entre gerações, causa o fenômeno da antecipação, onde há aumento da gravidade quanto mais cedo aparecem as repetições em gerações sucessivas.

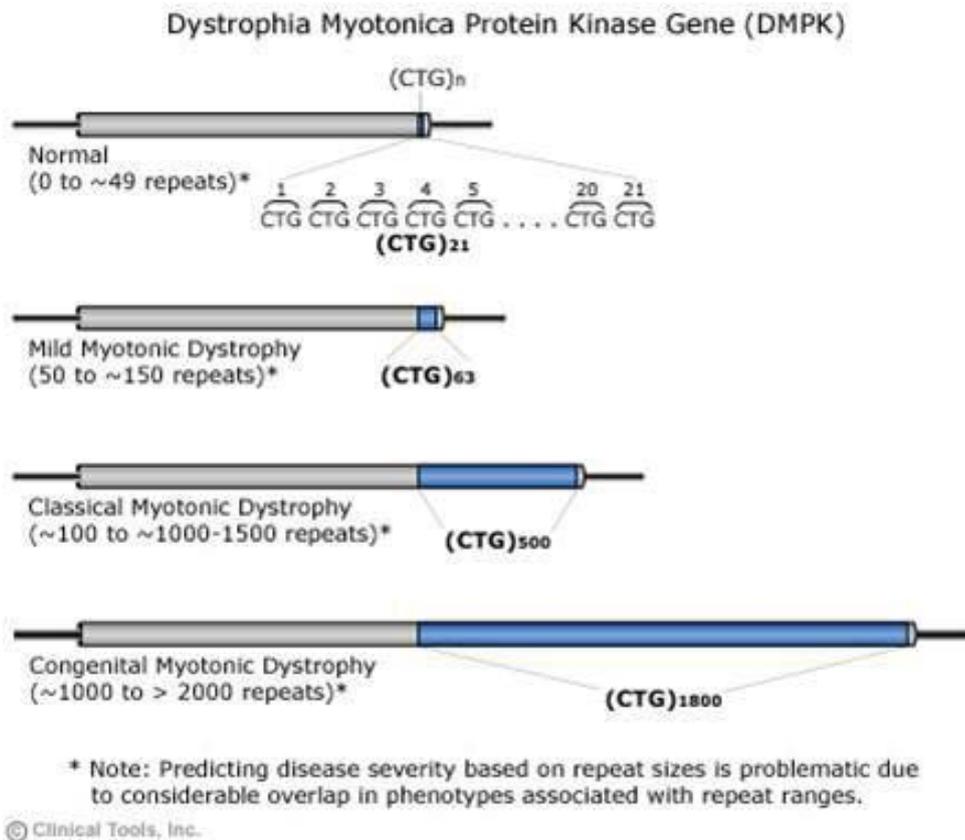
O mecanismo de expansão ainda é desconhecido.

Repeat expansion mutation



U.S. National Library of Medicine

Figura 19.



Ex: Figura 20.

## MECANISMOS DE REPARO DO DNA

Como já dito no início deste capítulo, a sobrevivência dos organismos depende da estabilidade do seu material genético. Estando os organismos mergulhados em seu meio ambiente, as respostas a ele dependerá de mecanismos que os proteja de danos irreversíveis. Nesse contexto, os mecanismos de reparo têm a função de reparar danos espontâneos ou induzidos, sofridos pelo DNA para que a informação genética seja passada para as próximas gerações de células e de organismos.

Durante a replicação do DNA, as polimerases têm um papel fundamental no reparo de lesões, mas além desse mecanismo geral, inúmeros outros estão presentes na maquinaria celular de bactérias até humanos. São altamente conservados evolutivamente, o que demonstra sua importância na sobrevivência dos organismos. Entre os mecanismos conhecidos, há aqueles dependentes de luz (fotorreativos) existentes somente em bactérias e aqueles existentes também em humanos, como reparo por excisão, reparo pos-replicação e outros.

Reparo por fotorreativação – feito pela enzima DNA-fotoliase, que age quando a luz UV gera dímeros de Timina no DNA de bactérias. A enzima se une ao dímero no escuro e quando a molécula se expõe a luz (por meio de um fóton), desfaz o dímero.

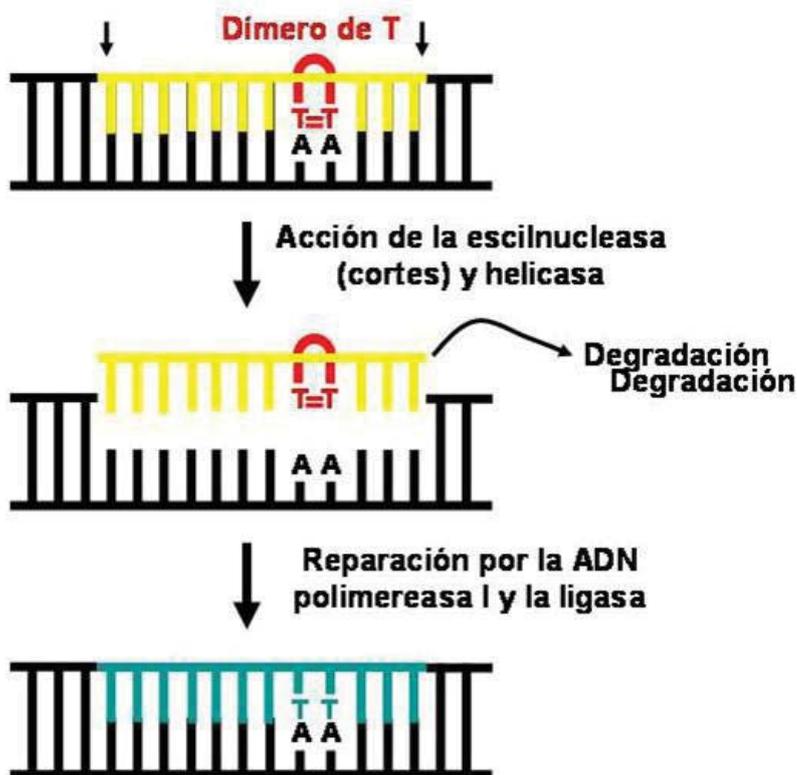


Figura 21.

## REPARO POR EXCISÃO

Nesse caso, o reparo acontece em 3 etapas:

1. uma endonuclease (DNA glicosilases) de reparo reconhece a (s) base (s) danificada, liga-se a ele e a excisa;
2. uma DNA polimerase preenche o espaço usando a fita complementar íntegra como molde;
3. a enzima DNA ligase fecha a falha deixada pela DNA polimerase para completar o processo.



Ex: Figura 22.

## REPARO PÓS-REPLICAÇÃO

Aqui o reparo de pareamentos incorretos se dá depois da replicação e requer a existência de um sistema que seja capaz de reconhecer as bases mal pareadas, determinar quais das bases é a incorreta e, por fim, eliminar a base incorreta e sintetizar o novo segmento sem erro. As enzimas responsáveis por esse tipo de reparo são produtos dos genes *mutH*, *mutL*, *mutS* e *mutU*. Pra distinguir a hélice com erro da íntegra o sistema reconhece a Adenina (A) da sequência GATC da fita íntegra pela presença de metilação (Metilase de Adenina).

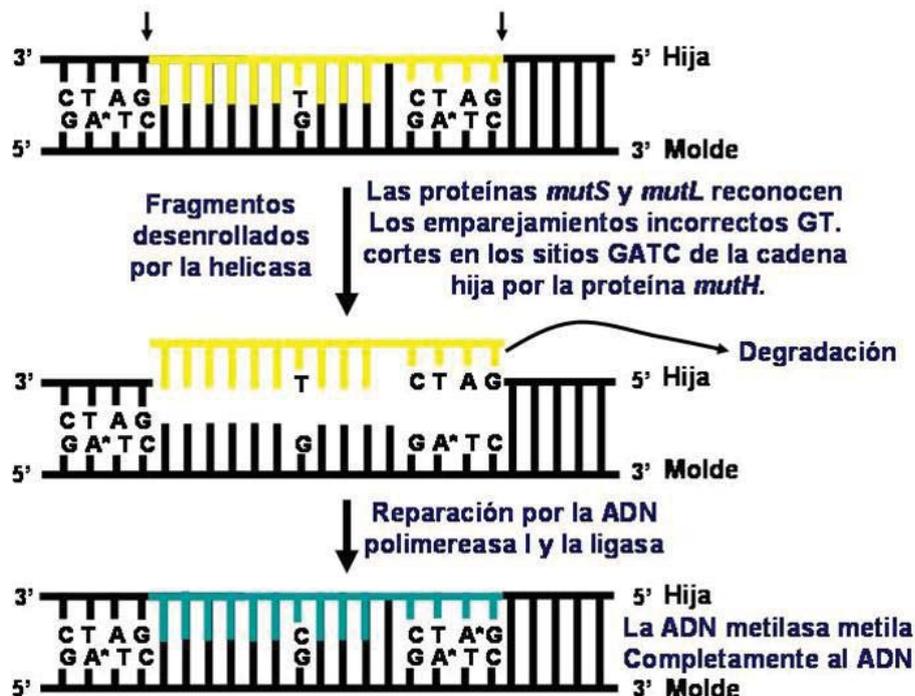


Figura 23.

## CONSEQÜÊNCIA DAS MUTAÇÕES

A maioria das mutações são deletérias e em razão disso nenhuma espécie pode permitir que elas se acumulem em uma frequência alta nas células germinativas. Embora a frequência de mutação observada seja baixa, imagina-se que o número básico de proteínas essenciais que qualquer organismo pode codificar esteja em torno 60.000. Assim, uma frequência de mutação dez vezes maior limitaria um organismo a cerca de 6000 genes essenciais. Neste caso, a evolução provavelmente pararia em um organismo menos complexo que uma mosca de frutas.

A taxa de mutação (aproximadamente 1 mudança de nucleotídeo por  $10^9$  nucleotídeos a cada replicação), é exatamente a mesma seja em bactérias ou em humanos. Devido a esta precisão, a sequência do genoma humano (aproximadamente  $3 \times 10^9$  pares de nucleotídeos) é alterada por

cerca de 3 nucleotdeos a cada ciclo celular, permitindo que a informa o genética passe corretamente de uma gera o para a outra, evitando também mudanças nas células somáticas que levem ao câncer.

Ainda assim, as muta es ocorrem, assumindo seu papel no processo evolutivo, amplificando a variabilidade gen mica e as chances de adapta o das espécies ao seu meio. No seu lado negativo elas estão envolvidas na gera o de muitas doenças, entre elas o câncer.

## CONCLUSÃO

As respostas geradas pelos organismos ao meio podem causar danos ao material genético e ao funcionamento dos processos biológicos. No entanto, os erros no material genético gerados sejam de maneira espontânea ou induzida, tornam-se o motor da evolu o, uma vez que fornecem novas combina es ao genoma das espécies.

## RESUMO

Muta es são altera es herdáveis na seq ncia no material genético, que fornecem grande variabilidade ao conjunto gênico de uma popula o. O termo muta o tem 2 significados, pois tanto   o processo quanto o efeito. Como processo descreve os mecanismos geradores de altera es no material genético, como efeito mostra as altera es no organismo afetado.

A sobrevivência dos organismos depende da estabilidade do seu material genético. Estando os organismos mergulhados em seu meio ambiente, as respostas a ele dependerão de mecanismos que os proteja de danos irreversíveis. Nesse contexto, os mecanismos de reparo têm a fun o de reparar danos espontâneos ou induzidos, sofridos pelo DNA para que a informa o genética seja passada para as próximas gera es de células e de organismos.

## ATIVIDADES

1. Use a tabela do código genético para encontrar a seq ncia do pequeno polipeptídio codificado nesta mensagem:

5'- AUGUUCAAGAUGGUGACUUGGUA AAAUC-3'

- Qual a seq ncia aminoácidos resultante se o 1  G nesta mensagem mudar para A?
- Qual seria a seq ncia aminoácidos se o 1  C fosse mudado para U ?
- E se o 1  C fosse mudado para G?
- E se o último G fosse mudado para A ?

2. Assinale a alternativa correta, levando em conta os ácidos nucléicos, a ocorrência de muta es e as conseqüentes mudanças do ciclo de vida da célula.

- O DNA   constituído por códons, que determinam a seq ncia de bases



do RNA mensageiro, necessária à formação dos anticódons, responsáveis pela produção das proteínas.

b) No caso de uma mutação acarretar a transformação de um códon em outro relacionado ao mesmo aminoácido, não haverá alteração na molécula protéica formada, nem no metabolismo celular.

c) A mutação altera a seqüência de aminoácidos do DNA, acarretando alterações na seqüência de bases do RNA mensageiro e, conseqüentemente, na produção das proteínas.

d) As mutações atuam diretamente sobre as proteínas, provocando a desnaturação dessas moléculas e, conseqüentemente, a inativação delas.

e) Quando algumas proteínas são alteradas por mutações, suas funções no metabolismo celular passam a ser realizadas pelos aminoácidos.

### AUTOAVALIAÇÃO



Após estudar esta aula, consigo:

Definir

1. O que é mutação?
2. Diferenciar a transição e a transversão de bases nitrogenadas.
3. Distinguir as atividades mutagênicas dos seguintes agentes: 5-bromouracila brometo de etídio, calor, e radiação ultravioleta.
4. Descrever as diferenças e as semelhanças entre o reparo por excisão de bases e o mecanismo de fotoreativação.
5. Explicar por que a mutação é um importante mecanismo evolutivo.



### PRÓXIMA AULA

Na próxima aula, o aluno compreenderá os mecanismos que controlam a expressão gênica em eucariotos e procariotos.

### REFERÊNCIAS

ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, et al - Molecular Biology of the Cell. 4th edition. New York: Garland Science; 2002.

GRIFFITS, A. J. F. e Col – Introdução à genética – Editora Guanabara Koogan, 9a edição, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

SNUSTAD, D. P. – Fundamentos de Genética - Editora Guanabara Koogan, 6a edição, Rio de Janeiro, RJ, 2008.

Mutações Gênicas- Eduardo Dias. [http://genetica.ufcspa.edu.br/biomedic/conteudo/genetica\\_molecular/mutacgen.PDF](http://genetica.ufcspa.edu.br/biomedic/conteudo/genetica_molecular/mutacgen.PDF). Texto acessado em 23/01/2010