

Genové mutace, typy a manifestace

Sekvence DNA podléhá **změnám**, které jsou vyvolány působením chemických, fyzikálních a biologických **činitelů** nebo vznikají jako vzácné chyby při replikaci (endogenní mutace) - v důsledku toho vznikají **alelické variace**.

Některé varianty DNA se nemusí ve **fenotypu projevit**, jiné se mohou projevit jen v závislosti na místě, kde se **DNA nachází**. V některých případech je **obtížné rozhodnout**, zda je sekvenční variace patogenní či nikoliv.

Mutace lze **klasifikovat dle**:

Velikosti

- **malé** mutace postihující jeden nebo několik málo nukleotidů v sekvenci DNA
- **rozsáhlé** mutace včetně mutací chromosomálních a genomových (polyploidisace)

Typu postižených buněk

- **somatické mutace**: postihují potomstvo mutované buňky, nikoli jedince potomky
- **zárodečné mutace**: postihují zárodečné buňky a mohou se přenést z rodičů na potomky

Mechanismu vzniku

- **spontánní mutace**: není znám vyvolávající faktor
- **indukované mutace**: navozené známými mutagenními faktory

Rozdělení genových mutací z hlediska:

Změn v sekvenci DNA

- **substituce**: záměna jednoho nukleotidu za nukleotid nesoucí jinou bázi, nejčastější mutace, jedná se o **transici** (purin-purin, pyrimidin-pyrimidin) nebo **transversi** (purin-pyrimidin a naopak)
- **delece**: ztráta jednoho nebo více nukleotidů v sekvenci DNA
- **inserce**: do sekvence DNA je zařazen jeden nebo více nukleotidů

Účinku na genový produkt

- mutacím mohou podléhat **kódující i nekódující sekvence** lidského genomu
- vážné následky mají ale hlavně **mutace kódující DNA**
- ty se dělí podle efektu na **synonymní a nesynonymní**
 - **synonymní**: tiché mutace, nemění sekvenci genového produktu
 - **nesynonymní**: mění sekvenci produktu (proteinu či RNA) s různými důsledky
- substituce lze z tohoto hlediska rozdělit na **tiché, missense, nonsense**

Tiché substituce

- následkem je vznik **nového kodonu**, který ale kóduje tutéž amk jako **kodon předešlý** (samesense mutace)
- mutace se většinou vyskytují na **třetí pozici kodonu** (degenerace genetického kódu) a jsou známy jako **polymorfismy DNA**, jež přispívají k **variabilitě jedince**
- v některých případech ale tyto mutace mohou ovlivnit **sestřih RNA** - aktivace **kryptického sestřihového místa**, postižení signálních sekvencí sestřihových míst nebo **nukleotidů** v sekvenci sousedící s konzervovanými **signálními sekvencemi**
- pak mohou měnit **fenotyp** jedince

Missense mutace

- mění kodon s důsledkem **záměny amk v proteinu**
- postihují většinou **první dvě báze** v kodonu
- důsledek pro organismus závisí na tom, jaké místo v **proteinu** je zasaženo - někdy jsou změny v proteinu **tolerovány** a nemají vliv na jeho funkci
- změny v částech **funkčně a strukturně** důležitých vedou k tvorbě mutantního, nefungujícího nebo špatně **fungujícího proteinu**
 - **missense** se dělí na mutace **konzervativní** (záměna za chemicky podobnou amk) a **nekonzervativní** (odlišná amk, vliv na vlastnosti proteinu)

Nonsense mutace

- mění **kodon** pro určitou amk na **terminační kodon**

- zásadním způsobem ovlivňují **fenotyp**, protože způsobují předčasné ukončení translace a vznik **zkráceného**, většinou nefunkčního, proteinu

Posunové (frameshift) mutace

- vznikají delecí nebo insercí jednoho nebo **více nukleotidů** v sekvenci DNA genu
- dojde k **posunu čtení informace** (čtecího rámce) a na ribosomu se překládá odlišná sada tripletů
- v důsledku toho často vzniká **předčasný STOP kodon** a vzniká změněný, zkrácený protein – **mutantní fenotyp**
- odlišný efekt má ztráta nebo vložení **3 nukleotidů** nebo násobku trojice nukleotidů – dojde ke ztrátě nebo přidání amk a **fenotypový projev** je podobný **substituci**

Mutace se závažnými důsledky se mohou vyskytnout i v **nekódujících sekvencích genu**

- mohou postihnout **regulační oblast** genu a ovlivnit jeho expresi
- mutace v promotoru, postihující **signální sekvenční**, může snížit afinitu RNA-polymerasy a redukovat **produkci mRNA**
- podobný efekt mohou mít i **mutace genů pro RF a enhancery**
- mutace se mohou uplatnit i v **intragenových nekódujících sekvencích**
- zejména, jestliže postihují **hranice exon-intron**
- jedná se o **sestřihové mutace** (splice site mutations), které postihují signální sekvenci GT na 5' konci (donor site) nebo signální sekvenci AG (acceptor site) na 3' konci nebo sekvence v blízkosti těchto oblastí – **aberrantní sestřih**
- důsledkem je **retence intronu** nebo jeho části či **vystřížení exonu** nebo jeho části (intronisace exonu) v mRNA – systém užívá aberrantní či **kryptické sestřihové místo**

Dynamické mutace

- u člověka popsán tento **specifický typ** mutací
- některé krátké **repetitivní sekvenční**, zejména trinukleotidové (CAG, CTG, CGG, GAA) jsou uloženy v genu nebo jeho **sousedství** a mohou tak expandovat do **značné délky** a ovlivnit tak expresi genu
- **expanze** (amplifikace) se odehrává při přenosu alely z rodičů na potomky dosud ne zcela známým **mechanismem**
- existuje určitá **prahová délka** trinukleotidové sekvence, která je v průběhu mitosy a meiosis stabilní
- při překročení tohoto prahu se stávají **repetitivní sekvenční** vysoce nestabilními a v průběhu přenosu na **potomka expandují**
- tyto změny v počtu repetitiv se mohou **kumulovat** postupně v průběhu generací
- nejprve **vzniká premutace**, z níž se po další expanzi stává plná mutace – může být příčinou **onemocnění**
- **povaha mechanismu** expanze stále není zcela jasná, ale nejspíš je součástí tohoto procesu sklouzávání **DNA-polymerasy** v oblasti repetitivního úseku v průběhu **replikace DNA**

Mutace jako příčina onemocnění

Nové mutace se mohou vyskytnout v **somatických i zárodečných buňkách** (germline) a poškodit svého nositele.

Zárodečná mutace se s určitou pravděpodobností může přenést do další generace – může způsobit **dědičné onemocnění** (není-li letální před obdobím reprodukce nebo nepoškozuje plodnost).

Somatická mutace se nepřenáší a může vzniknout v kterékoli buňce, kdy za normálních okolností 1 mutovaná buňka organismus **nepoškodí** (buňky jsou stále obměňovány).

Jsou ale situace, kdy mutace v **genech regulujících** např. buněčný cyklus mohou vést k nebezpečnému nádorovému bujení a ohrozit **život jedince**.

Mutovaný gen může mít za **následek**:

- **ztrátu funkce produktu**
- **redukci funkce**
- **abnormální funkci proteinu**
- **aktivaci či posílení funkce** produktu genu (gain of function)
- **ztráta funkce** (loss of function)
 - znamená **redukci funkce** produktu nebo výsledný protein vůbec nefunguje – takové mutace mají za následek většinou **fenotyp**, která se jeví jako **recesivně dědičný**
 - v **heterozygotním stavu** nemusí být snížené množství produktu zásadní a nemusí se projevit ve **fenotypu**
 - pro některé geny to však neplatí a **50% snížení hladiny**, haploinsuficience, způsobuje **abnormální fenotyp**

Mutace v mitochondriálním genomu

mt genom je sice mnohem **menší než jaderný**, ale v každé somatické buňce jsou tisíce kopií mitochondriálních genů, zvláště v těch buňkách, které mají **vysoké energetické nároky** (mozkové či svalové buňky).

Molekuly mtDNA jsou u normálního jedince z 99,9% identické – **homoplasmie**.

Frekvence mutací v mt genomu je ale dosti vysoká a jestliže se **nová mutace rozšíří** v populaci mtDNA, jsou výsledkem dva mt genotypy (eventuálně více) – **heteroplasmie**.

Frekvence mutací

- frekvence je zhruba stejná v **kódující a nekódující sekvenci** DNA – při průměrné délce genu 1,65 kb je frekvence spontánních mutací v genech $1,65 \cdot 10^{-6} - 10^{-8}$ na gen a jedno buněčné dělení
- **škodlivé mutace** se ve fenotypu projevují jen jsou-li v kódujících nebo regulačních **sekvencích DNA** (onemocnění nebo letalita)
- v důsledku přirozené selekce tohoto typu mutací je proto jejich **populační frekvence** nižší než u mutací **nekódujících oblastí**
- kódující a regulační oblasti proto vykazují poměrně **velký stupeň evoluční konzervace**
- na úrovni genů je míra výskytu mutací **variabilní** – $10^{-4} - 10^{-7}$ na lokus a dělení – to má několik **důvodů**
 - velikost genů je **velmi rozdílná**
 - určité nukleotidové sekvence jsou **náchylnější k mutacím** – mutation hot spots (dinukleotidové sekvence CG, v 80% methylovány – methylovaný C snadno ztrácí aminoskupinu a konvertuje na T)

Detekce frekvence mutací

- frekvence se sleduje ve **formální genetice**
- u člověka jsou mutace definovány jako **změna genetické informace** při přenosu z generace na generaci
- v oplodněné **zygotě** můžeme najít mutace ve vajíčku i ve spermii
- **přímá detekce mutací** v rodokmenu nebo hybridizačním pokusu je možná v případech, kdy se mutace projeví ve **fenotypu jedince**, jehož rodiče a příbuzní jsou nepostiženi (sporadický výskyt znaku)
- **podstata hodnocení frekvence mutací** je

$$\mu = \frac{\text{počet sporadických postižení určitou odchylkou fenotypu}}{2 \times \text{počet všech vyšetřených jedinců}}$$

- **vlastní realizace** metody je složitější
 - z hodnocení **přímoou metodou** jsou vyloučeny recesivní mutace, které jsou **nejčastější**
 - nové **autosomálně recesivní mutace** jsou skryty v genotypu heterozygotů (jedinci Aa nejsou postiženi, ačkoli nesou postiženou alelu)
 - přímo mohou být hodnoceny jen **dominantní mutace** a dominantní i recesivní mutace vázané na **X chromosom**
 - tady mohou být **sporadická onemocnění** identifikována jako nové mutace při dodržení **určitých podmínek**
 - **vyloučení nonpaternity**
 - nejedná-li se o **genetickou heterogenitu** znaku nebo nevzniká-li znak jako **fenokopie** vlivem prostředí
 - vyloučení **mikroformy znaku u rodičů** (neúplné expresivity)
 - vyloučení neúplné **penetrance znaku**
- touto metodou nelze zjistit mutace, které jsou **letální** již v průběhu **embryogeneze**

Riziko opakování mutací u sourozenců

U gametických mutací předpokládáme **vznik mutace** v gametě a pak ostatní gamety mohou být postiženy mutací s **pravděpodobností odpovídající populačnímu riziku**.

Empirické riziko postižení sourozenců je však vyšší – studie uvádějí empirické riziko pro většinu dominantních mutací 1%, u některých znaků i více

Je to proto, že v **ontogenezi člověka** buňky zárodečné linie prodělají více než jedno dělení a u plodů **ženského pohlaví** se zárodečné buňky dělí nejméně 20x mitoticky než vstoupí do **meiosy**. U mužů je počet **dělení podstatně vyšší**.

Pokud mutace postihne **některou z dělicích se linií** ve vývoji jedince, vzniká mozaika a mutací jsou postiženy buňky **celého segmentu ovaria či testes**.

Proto je **pravděpodobnost postižení sourozenců** osob s de novo vzniklou mutací genu vyšší, než by odpovídalo **náhodě** (podobně je tomu i u de novo vzniklé trisomie).

Vliv věku rodičů na frekvenci mutací

Pravděpodobnost vzniku **aneuploidií** v důsledku nondisjunkce u žen s věkem stoupá, u mužů je závislost **sporná**.

U genových mutací je souvislost **prokazatelná naopak u mužů** – rozdíl v počtu dělení buněk zárodečné linie a v době **prvního zracího dělení**.

U žen **před meiosou 20-22** dělení a pak je vývoj pozastaven do puberty. Vzniknou-li mutace, mají **reparační mechanismy** dost času je opravit. Naopak se ale **poškozuje mechanismus** distribuce chromosomů při meiose

U mužů se odhaduje do puberty **30 dělení** a pak každý **rok 23 dalších** – ve věku 28 let je u muže **dělení 335** = na opravy je **méně času**. Empiricky prokazatelné **zvýšení rizika mutací** s věkem otce – po 40 roku je výskyt mutací 5x vyšší než třeba ve 20-25 letech. Otcové dětí, **postižených novými dominantními mutacemi** (achondroplasie apod.) jsou významně starší než je věkový průměr otců v populaci.