

11. MUTÁCIÓK, MUTAGÉNEK. REVERZIÓ ÉS REPARÁCIÓ.

Spontán és indukált mutációk. A mutációk típusai és következményei. Reparáció. Reverzió és szuppresszió. Kromoszóma-mutációk és következményeik. Mutagének/karcinogének. Ames teszt.

A fejezetet Szabad János egyetemi tanár állította össze, módosította Lippai Mónika.

BEVEZETÉS

A változás képessége az örökítő anyag fontos jellemzője. A mutációk - az örökítő anyag hirtelen bekövetkező és sejtről sejtre öröklődő változásai - képezik az élőlények változatosságának és az evolúciónak az alapját. Mutációk spontán is bekövetkeznek, ám a környezeti tényezők is indukálnak mutációkat. Minthogy a mutációk hozzájárulhatnak a daganatok kialakulásához is, azaz minden mutagén karcinogén, a környezetszennyező mutagének súlyos egészségügyi problémát jelenthetnek. A mutagéneket/karcinogéneket mutagén tesztekkel mutatják ki.

A mutációk során nemcsak az örökítő anyag minősége, hanem a mennyisége is változhat kromozómatorések következményeként, valamint kromozómavesztés és/vagy nondiszjunkció nyomán. A mutációk következményei legtöbbször hátrányosan befolyásolják a sejtek, élőlények életét.

A sejt reparációs rendszerei ugyan a DNS sok változását kijavítják, de nem mindegyiket. A 11. fejezet a mutációk típusait és következményeit, és a sejt saját javító mechanizmusait tekinti át.

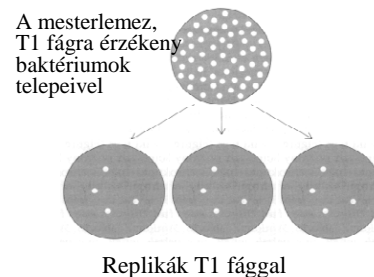
A SPONTÁN MUTÁCIÓK

Vajon a sztreptomycin jelenléte indukálja a sztreptomycin-rezisztenciát, vagy talán a rezisztencia spontán eredetű? A baktériumok fágokkal szembeni rezisztenciája a fágfertőzés hatására alakul ki, vagy spontán eredetű?

Joshua és Esther Lederberg (1952) Petri-csészékben kb. 10^8 *E. coli* telepet növesztett olyan sejtekből, amelyek korábban sohasem találkoztak T1 fágokkal. A replikalemez módszerével a kolónia-készlet másolatait olyan Petri-csészékre vitték, amelyek T1 fágokat tartalmaztak (11.1. ábra). A T1 fágok jelenlétében csak a fagra rezisztens baktériumok szaporodhattak, képezhettek telepeket. Mivel a T1 rezisztens telepek minden replikalemezen ugyanazon a helyen képződtek, Joshua és Esther Lederberg arra következtetett, hogy a mutációk már korábban, spontán, véletlenszerűen képződnek, és nem a T1 fágok indukálták a T1-rezisztenciát. Ez a megállapítás a biológia fontos elve: a mutációk spontán bekövetkezése a DNS, az örökítő anyag egyik fontos belső tulajdonsága. A mutációk nem a célszerűség elve alapján következnek be, hanem „vakon”, véletlenszerűen. A mutánsok (a mutáció fenotípusát mutató élőlények) némelyike túlélheti a változó környezeti feltételeket és biztosíthatja a faj fennmaradását. A megváltozott életfeltételekhez alkalmazkodni nem tudó egyedeket a természetes (vagy a mesterséges, ember által megvalósított) szelekció kirostálja, kiválogatja. Végeredményben a mutációk

biztosítják az élőlények változékonyságát, az evolúció alapját.

A spontán mutációk gyakorisága alacsony, és különböző az élőlények különféle csoportjaiban: a baktériumokban 10^{-10} és 10^{-6} /gén/generáció között változik. Az eukarióták diploid állapota nagyobb mutációs gyakoriságot tesz lehetővé, ami pedig nagyobb genetikai változékonyságot, alkalmazkodóképességet, evolúciós előnyt biztosít. A spontán mutációs gyakoriság a *Neurospora* gombákban kb. 10^{-8} , *Drosophila*-ban 10^{-4} - 10^{-5} , kukoricában kb. 10^{-6} , egérben kb. 10^{-5} , emberben 4×10^{-6} - 10^{-4} /gén/generáció között változik. A diploid élőlények genomjában lassacskán halmozódnak a recesszív mutációk, és el is veszhetnek. A mutációk jelentős hányada letális: homozigóta állapotban nem teszi lehetővé az élőlény életét. Becslések szerint egy ember 3-5 recesszív letális mutációra heterozigóta.



11.1. ábra. A T1 rezisztens baktériumok telepei a replikák azonos helyein képződnek, jelezve, hogy a mutációk már a mesterlemezen jelen voltak - véletlenszerűen, "vakon" következtek be.

A spontán mutációk eredete

1. Tautomer átrendeződések

Szabály szerint az egyik DNS-fonal A bázisai a komplementer szál T bázisaival, a G-k a C-ekkel párosodnak. Ritkán, és csak rövid időre a bázisok tautomer átrendeződésen mennek át, azaz az adenin és a citozin imino, a guanin és a timin enol formává alakul (11.2. ábra). A szokatlan formában az A* C-vel, a T* G-vel, a G* T-vel, a C* A-val párosodik (11.3. ábra). Ha a tautomer átrendeződés a replikáció pillanatában történik, szokatlan bázispárok (ún. mismatch-ek) alakulnak ki a DNS-ben. A szokatlan bázispárok zömét a reparációs rendszerek kijavítják. Ha azonban a szokatlan bázispár megmarad, egy újabb replikáció után egy ún. bázispár-csere (szubsztitúció) következik be. A bázispár-csere a két replikáció során keletkező négy új DNS-szálnak csak az egyikét érinti (11.4. ábra).

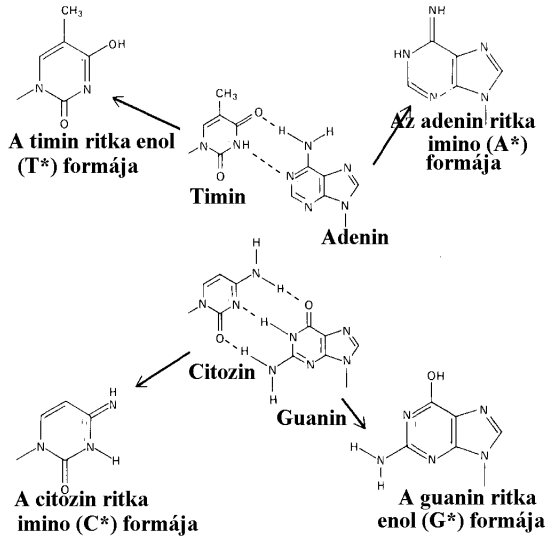
A példában az eredeti A=T bázispár helyét egy G≡C veszi át. Az olyan báziscsere-mutációkat, amelyekben egy purin bázis helyét egy másik purin bázis veszi át (vagy az egyik pirimidinét a másik) *transziciónak* nevezik (A=T → G≡C vagy G≡C → A=T). Az olyan báziscsere-mutációkat, amelyekben egy purin bázis helyére pirimidin bázis kerül (vagy egy pirimidin bázis helyére egy purin bázis) *transzverzióknak* nevezik (pl. A=T → T=A vagy C≡G).

2. Depurináció, deamináció

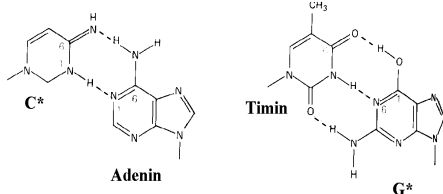
A spontán mutációk közül a leggyakoribb a *depurináció*, a dezoxi-ribóz és a purinbázisok közötti N-

glikozidos kötés hidrolízise (egy emberi sejt átlagosan naponta ~5000 adenint vagy guanint veszít el).

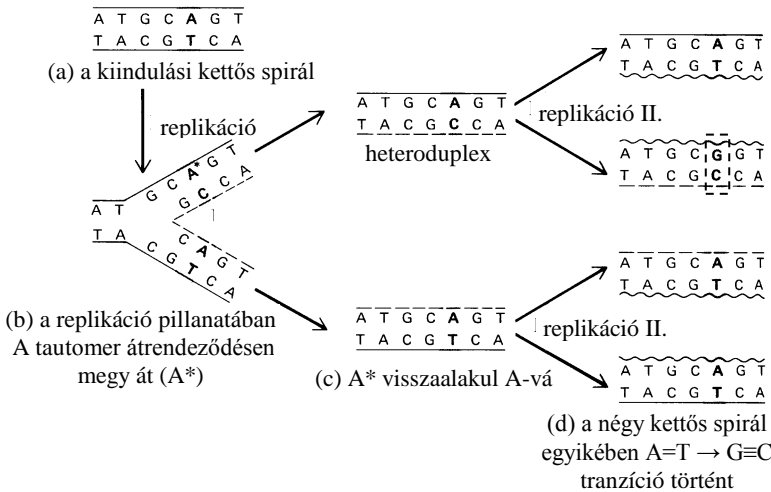
Szintén nem ritka jelenség a *deamináció*, amelynek következményeként a DNS-ben egyébként elő nem forduló bázisok keletkeznek. (Kivételet képez a gerinces gének kifejeződésének szabályozásában fontos szerepet játszó metilált citozin deaminációja: ekkor ugyanis timin, egy „normális” DNS-bázis keletkezik, ami gondot is jelent a mutációkat észlelő és javító rendszer számára!).



11.2. ábra. A tautomer átrendeződések hatására szokatlan szerkezetű bázisok képződnek.



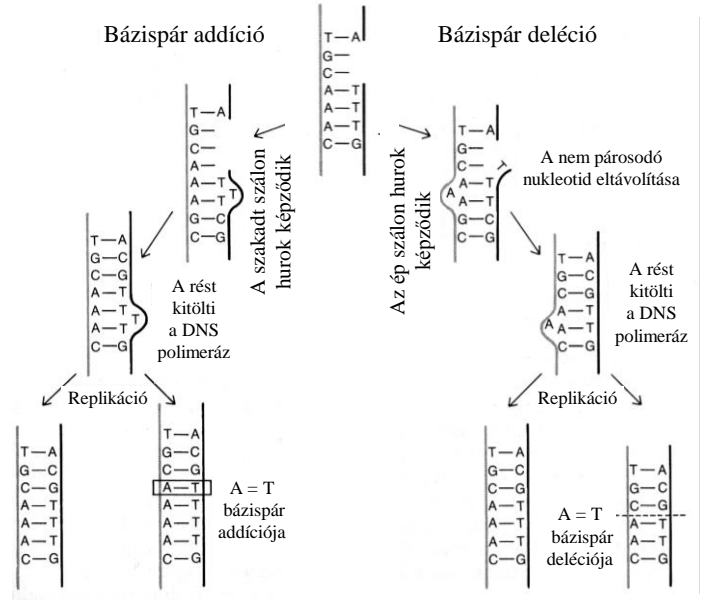
11.3. ábra. A tautomer átrendeződések szokatlan bázispárok kialakulásához vezetnek.



11.4. ábra. Bázispár csere típusú mutáció kialakulása tautomer átrendeződés és két replikáció után.

3. Bázispárok deléciója, addíciója

A komplementer DNS fonalak téves párosodása ún. extrahelikális hurkok képződéséhez vezethet: a DNS rövid szakaszán az egyik fonál kitéremkedik (11.5. ábra). Az extrahelikális hurkok többnyire az egyik DNS-szál szakadása után képződnek. Ez többféle esemény során is kialakulhat: ionizáló sugárzás, replikáció, rekombináció, reparáció, vagy a DNS szerkezetének egyéb változásai hatására is.



11.5. ábra. A szálszakadás után a komplementer DNS-szalak téves párosodása az egyik kettős spirálban bázispár(ok) deléciójához, a másikban addíciójához vezet.

Ha a DNS-szalak téves párosodása a replikációig fennmarad, a másolás után olyan kettős spirálok képződhetnek, amelyek egyikéből néhány bázispár hiányzik, *deléció* alakul ki; vagy éppen a szokásosnál több bázispár képződik, *addíció* következik be (11.5. ábra). A bázispár(ok) deléciójának és addíciójának eredményeként a genetikai információ sorrendje eltolódik. Ha mindez ráadásul egy gén kódoló régiójában, egy exonban történik, a képződő mRNS-en megváltozhat az aminosavak leolvasási kerete - ezeket a delécióval és addícióval létrejött mutációkat *kereteltolódásos (frame shift) mutációknak* nevezik.

Minthogy a bázispárok típusának, illetve számának fenti változásai a DNS-nek csak igen kis részét érintik, az ilyen típusú mutációkat *pontmutációknak* nevezik. A mutációk osztályozását a 11.1. táblázat mutatja be.

AZ INDUKÁLT MUTÁCIÓK

Az ún. interkalálódó (a DNS kettős szála közé beemelkedni képes) vegyületek stabilizálják a 11.5. ábrán bemutatott extrahelikális hurkokat, így növelik az addíció/deléció, azaz a kereteltolódásos típusú mutációk bekövetkeztének esélyét. Az interkalálódó vegyületek közül az akridinek, és közülük is a proflavin, a legismertebb (11.6. ábra). A proflavin az ún. **mutagének** jellegzetes példája: olyan hatás, amely képes a mutációk indukciójára.

Mutációk tehát nem csak spontán történnek, hanem indukálhatóak is, fizikai (ionizáló sugárzások, UV), kémiai (különböző vegyületek), vagy biológiai (transzpozonok, retrotranszpozonok) tényezőkkel.

Számos mutagén a természet része. A legismertebbek közülük az ionizáló és az UV-sugárzás, valamint néhány gomba és növényi anyagcsere-melléktermék, mint például az aflatoxin (12.7. ábra). Sok mutagén azonban mesterséges, az emberi civilizáció "terméke".

A *direkt mutagének* közvetlenül a DNS-re hatva fejtik ki hatásukat. Az *indirekt mutagének* (mint pl. a benzpirén a cigarettafüstben) a szervezetben úgy alakulnak át, hogy a belőlük képződő származékok lesznek mutagének (12.8. ábra).

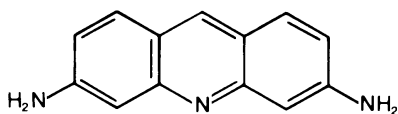
11.1. táblázat. A mutációk osztályozása.

Eredetük szerint

Spontán	Tautomer átrendeződés Depurináció, deamináció Téves bázispárosodás	
Indukált	Természetes mutagének	
	Kémiai	Direkt mutagén
	Fizikai	Indirekt mutagén
	Biológiai	
	Mesterséges mutagének	
	Kémiai	Direkt mutagén
Fizikai	Indirekt mutagén	
Biológiai		

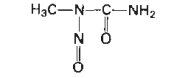
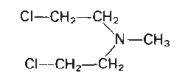
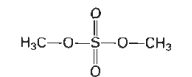
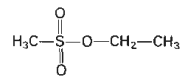
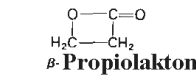
Típusaik szerint

Minőségi (kvalitatív) mutációk	pontmutációk	Bázispár szubsztitúció	Tranzíció
		Kereteltolódásos (frame shift) mutáció	Tranzverzió
	kromoszóma-mutációk	Szerkezeti változások (átrendeződések)	Deléció
			Addíció
Mennyiségi (kvantitatív) mutációk	kromoszóma-mutációk	Szerkezeti változások	Inverzió
			Tranzlokáció/inszerció
	kromoszóma-mutációk	Számbeli változások (kromoszómavesztés, és/vagy nondiszjunkció következtében)	Tranzpozíció
			Deficiencia
Mennyiségi (kvantitatív) mutációk	kromoszóma-mutációk	Szerkezeti változások	Duplikáció
			Euploidia (pl. triploidia)
			Aneuploidia (pl. monoszómia)



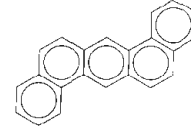
11.6. ábra. Egy interkaláló vegyület, a proflavin molekula szerkezeti képlete.

Közvetlenül a DNS-re ható, direkt mutagén



Metilnitrozourea

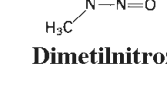
A DNS-re átalakulása után ható, indirekt mutagén



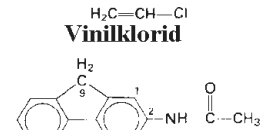
Dibenzantracén



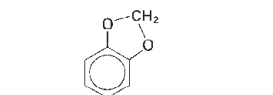
2-Naftilamin



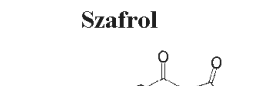
Dimetilnitrozamin



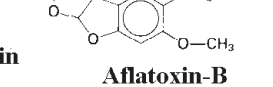
Vinilklorid



2-Acetilaminofluorén



Szafrol



Aflatoxin-B

11.7. ábra. Néhány ismert mutagén szerkezeti képlete.

A következőkben négy ismert direkt mutagén hatásmechanizmusát mutatjuk be röviden.

Salétromossav (HNO₂)

A HNO₂ a bázisok aminos-csoportjait keto-csoportokká alakítja: a citozint uracillá, az adenint hipoxantinná (11.9a ábra). Két replikáció után az A=T bázispár helyén G ≡ C képződik, a bázispár csere tranzíció típusa játszódik le.

Etil-metánszulfonát (EMS)

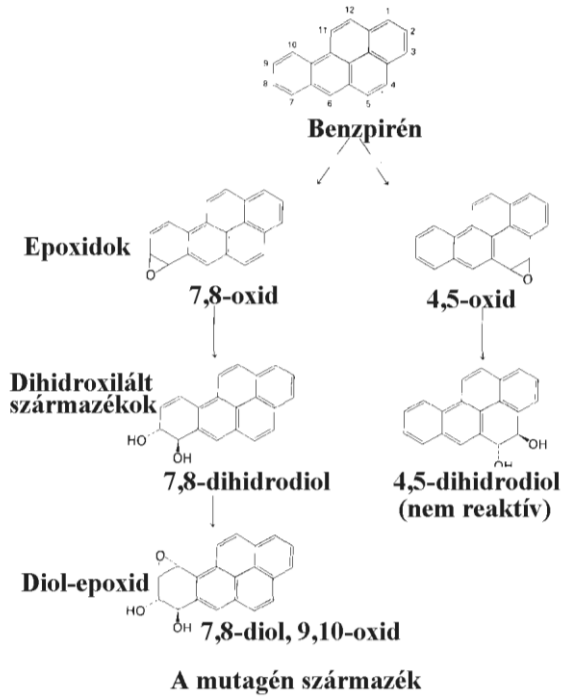
Az egyik legismertebb alkiláló vegyület. Az EMS a guanint etilguaninná (EG) alakítja. Az EG timinnel párosodik. Két replikációt követően egy G≡C → A=T tranzíció következik be (11.9b ábra). Az EMS hatására képződött etilimin guaninnal párosodik, és végeredményben T=A → C≡G tranzíciót eredményez.

Brom-dezoxiuridin (BrDU)

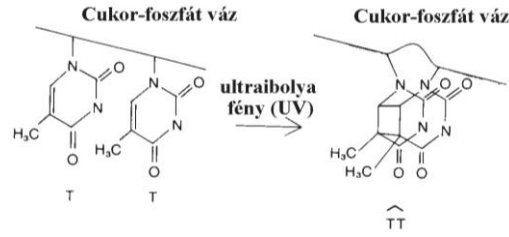
A BrDU egy timin-analóg (11.9c ábra). Úgy okoz tranzíciókat, hogy fokozza a tautomer átalakulások gyakoriságát.

Ultraibolya- (UV-) sugárzás

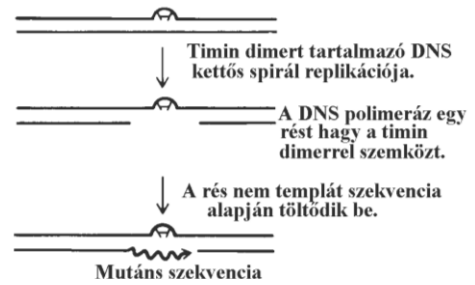
Az UV közvetve okoz bázispár-cseréket. UV hatására az egyik DNS-szálon két szomszédos pirimidin bázis (többnyire timinek) között kovalens kötések képződhetnek (11.10. ábra). A timin dimerek nem értelmezhetőek a DNS-polimeráz számára: nem szolgálnak templátként a replikáció folyamán, velük szemben véletlenszerűen épülnek be nukleotidok, végeredményben bázispár szubsztitúciók következnek be (11.11. ábra).



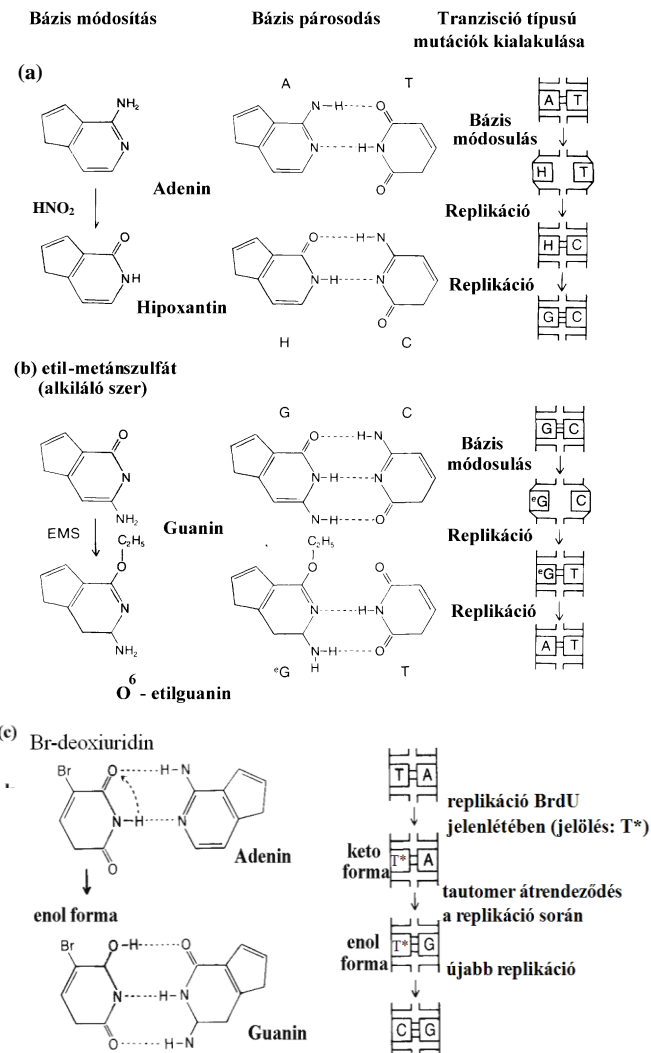
11.8. ábra. Az indirekt mutagén benzpirénből a szervezetben képződik mutagén származék.



11.10. ábra. Az ultraibolya sugárzás pirimidin (többnyire timin) dimerek képződéséhez vezet.



11.11. ábra. Mutáns szekvencia képződése timin dimerral „szemközt”.



11.9. ábra. A salétromossav, az EMS, valamint a BrdU direkt mutagének hatásmechanizmusa.

A MUTÁCIÓK KÖVETKEZMÉNYEI

Ha a pontmutációk a gének kódoló részében történnek, és az általuk okozott változás az érett mRNS-ben is megjelenik, az legtöbbször befolyásolja a gén által kódolt fehérje aminosav-sorrendjét, szerkezetét. A különböző típusú mutációk hatása ebből a szempontból nem egyforma.

A bázispár-cserék következményei

1. A *néma* mutációknak nincsenek következményei, mert ugyanaz az aminosav szintetizálódik az érintett kodon alapján - például mert a kodon „lötyögős” harmadik tagja cserélődik ki a mutáció következtében (lásd a genetikai kódszótárt).

2. A *halk* mutációk esetében a bázispár-csere eredményeként az eredeti aminosav helyére egy azonos jellegű épül be a fehérjébe (pl. egy glutaminsav helyére egy aszparaginsav). A halk mutációk általában nem befolyásolják jelentősen a fehérjék funkcióját. A hasonló jellegű aminosavaknak valamennyire hasonlóak a genetikai kódjaik, egyfajta védelmet biztosítva a túlzottan gyakori mutációk ellen (11.12. ábra). A kódszótár megmutatja, hogy a bázishármasok második helyét érintő mutációk következménye a legsúlyosabb.

3. A *téves* (missense) mutációk esetében a bázispár cserének olyan aminosav-csere a következménye, amely jelentősen megváltoztatja a kódolt fehérje funkcióját. Például a sarlósejtes vérszegénységet okozó autoszomálikusan öröklődő recesszív mutáció, az 5'GAA3' → 5'GTA3' bázispár-csere Glu → Val aminosav-cserét eredményez a β-hemoglobin 6. aminosavában. A Glu→Val csere sarló alakú vörösvérsejtek képződését okozza (oxigénszegény környezetben a heterozigótákban is). A gyorsan pusztuló vörösvérsejtek vérszegénységhez és számos további rendellenességhez vezetnek (11.13. ábra).

Egyetlen mutáció szerteágazó következményeinek összességét *pleiotrópiának* nevezik.

Első bázis	Máso-dik	U	Harmadik bázis				
			U	phe	phe	leu	leu
			C	leu	leu	leu	leu
			A	ilu	ilu	ilu	met
			G	val	val	val	val

Első bázis	Máso-dik	C	Harmadik bázis				
			U	ser	ser	ser	ser
			C	pro	pro	pro	pro
			A	thr	thr	thr	thr
			G	ala	ala	ala	ala

Első bázis	Máso-dik	A	Harmadik bázis				
			U	tyr	tyr	term	term
			C	his	his	gln	gln
			A	asn	asn	lys	lys
			G	asp	asp	glu	glu

Első bázis	Máso-dik	G	Harmadik bázis				
			U	cys	cys	term	trp
			C	arg	arg	arg	arg
			A	ser	ser	arg	arg
			G	gly	gly	gly	gly

Hidrofób
 Semleges
 Hidrofil

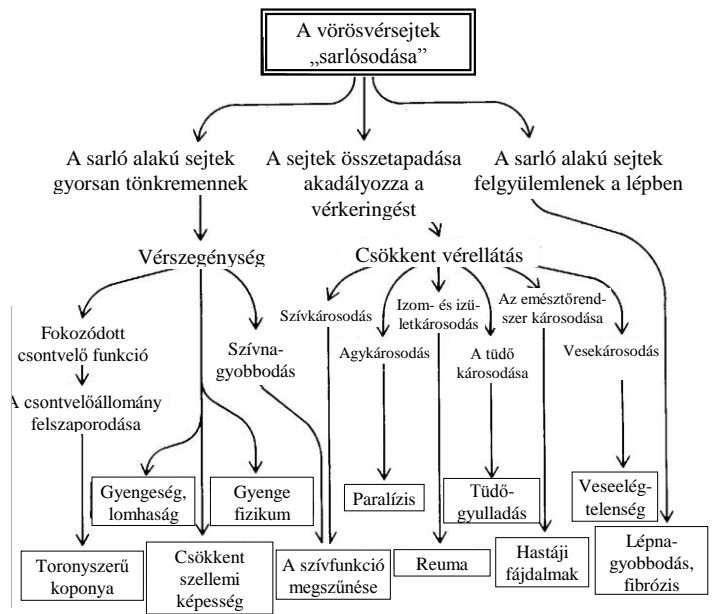
11.12. ábra. A hasonló jellegű (hidrofób, hidrofil vagy semleges) aminosavak kodonjai hasonlóak.



11.13. ábra. A sarlósejtes vérszegénységet egyetlen bázispár csere okozza a β-hemoglobin kódoló génben.

4. Az *értelmetlen* (nonsense) mutációk egy aminosav kodonját a három STOP kodon valamelyikére változtatják. Az értelmetlen mutációk a fehérjeszintézis idő előtti befejeződését, így a szokásosnál rövidebb fehérjék képződését eredményezik. A szokásosnál rövidebb fehérjék általában funkcióképtelenek és gyorsan degradálódnak.

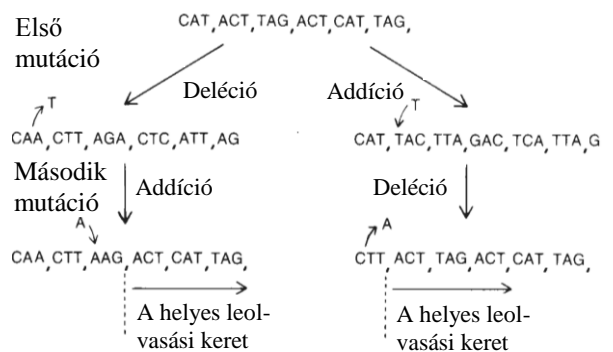
5. A *lánchosszabbító* mutációk valamelyik stop kódot értelmes, aminosavat kódoló kóddá alakítják, pl. UAG (STOP) → UAC (Tyr). A lánchosszabbító mutációk esetében a fehérjeszintézis az mRNS következő STOP kodonjáig folytatódik, így a szokásosnál hosszabb fehérje képződik. A szokásosnál hosszabb fehérje sok esetben nem, vagy csak csökkent mértékben működőképes. A vérszegénység sok típusát lánchosszabbító típusú mutációk okozzák.



11.14. ábra. Egyetlen mutáció szerteágazó következményei (pleiotróp hatás).

A kereteltolódásos mutációk következményei

Egy fehérjekódoló gén exonjában bekövetkező kereteltolódásos mutáció helyétől kezdődően az információ-tartalom az eredetihez képest teljesen más lesz (11.15. ábra). Ezért a kódolt fehérjék szerkezetét érintő pontmutációk közül általában a kereteltolódásosak következményei a legsúlyosabbak. Ráadásul a kereteltolódásos mutációk hatására gyakran a szokásosnál rövidebb vagy hosszabb fehérjék képződnek, mert véletlenszerű lesz a stopkodonok megjelenése is az új leolvasási keretben. (Ugyanakkor egy második mutáció nagyobb eséllyel állítja helyre a fehérje szerkezetét, működését, mint a bázis-cserés mutációk esetében – lásd később; 11.15. ábra.)



11.15. ábra. A kereteltolódásos mutációk következményei (és szuppressziója – lásd később). Az aktuális leolvasási keretet a nukleotidok hármastagolása jelzi.

A pontmutációk esetében az örökítő anyag *minősége* változott, mennyisége nem, vagy csak elhanyagolható mértékben. Az ún. kromoszóma-mutációk esetében azonban változhat az örökítő anyag mennyisége is (11.1. táblázat).

KROMOSZÓMAMUTÁCIÓK

Mutációk a kromoszómák szerkezeti változásai miatt

Elsősorban az ionizáló sugárzások, de sok kémiai és biológiai mutagén is eltörheti a DNS-t. A DNS-töréseknek szerteágazó következményei lehetnek. Az *inverziók* esetében a DNS egy hosszabb darabja megfordul. A *transzlokációk* esetében valamely kromoszóma nagyobb szegmense egy másik kromoszóma részévé válik (a *reciprok transzlokációk* esetében kromoszómáriszek kölcsönösen cserélődnek ki). A *transzpozíció* transzpozon (ugráló gén) áthelyeződését jelenti a genomban. Megjegyzendő, hogy az inverziók, a transzlokációk, és a transzpozíciók esetében a mutációt elszenvedett sejtben nem feltétlenül változik az örökítő anyag mennyisége (11.1. táblázat).

A kromoszóma-átrendeződéseknek, bár az adott sejtben mennyiségi változás nem történik, gyakran súlyosak a következményei. Egy jellegzetes példa az ún. Cri-du-chat (macskanyávogás) szindróma, amelyet az esetek 10-15%-ában az 5. kromoszóma egy darabkájának egy másik kromoszómára történő transzlokációja okoz. Míg abban a (testi vagy ősvivar-) sejtben, amelyben az átrendeződés létrejött, a transzlokáció nem okoz problémát (*kiegyensúlyozott vagy balanszírozott transzlokáció*), addig az érintett ősvivar-sejt haploid utódsejtjeinek felében már genetikai kiegyensúlyozatlanság jön létre (11.16. ábra). (A Cri-du chat szindrómát az esetek 85-90%-ban azonban az 5. kromoszóma „egyszerű” deficienciája – lásd alább – okozza).

Az átrendeződések egyes esetekben gének szerkezetét változtathatják meg. Ha ennek eredménye valamilyen, a sejtosztódásban szerepet játszó gén túlzott aktivitása, az hozzájárulhat daganatok kialakulásához – erre egy későbbi, a daganat kialakulásáról szóló előadásban látunk példákat.

A *deficienciák* esetében nagy DNS-szakaszok vesznek el a kromoszómákból (a már tárgyalt deléciók csak egy, esetleg néhány bázispár elvesztését jelentik). A *duplikációk* esetében már meglévő hosszabb szekvenciákkal bővül a genetikai állomány.

Bármilyen sok káros következménye is legyen a kromoszóma-átrendeződéseknek, jelentőségük kiemelkedő nem csak az evolúcióban, hanem a gének azonosításában, molekuláris szintű vizsgálatában is. A töréspontok ugyanis néha génekben történnek, így fenotípusban is észlelhető mutációkat okoznak. A kromoszómák töréspontjait pedig citológiai és molekulárisan is viszonylag egyszerűen lehet azonosítani.

Mutációk a kromoszómák számbeli változása miatt

A DNS mennyisége a sejtekben/élőlényekben nemcsak deficienciák, duplikációk és transzlokációk miatt változhat, hanem teljes kromoszómák vesztese vagy nyerése következtében is. A kromoszómaszám kromoszómavesztés és/vagy nondiszjunkció következtében változhat, amint azt egy korábbi fejezet áttekintette.

A MUTÁCIÓK HATÁSA A FEHÉRJE SEJTEN BELÜLI FUNKCIÓJÁRA

A fehérjekódoló gének mutációit nemcsak a kódolt fehérje szerkezetében, hosszában bekövetkezett változások alapján lehet osztályozni, hanem aszerint is, hogy hogyan változott meg az eredeti funkció. Az ilyen mutációk nemcsak exonban, hanem a gén szabályozó régiójában is bekövetkezhetnek, kromoszóma-átrendeződés, sőt, a gén sokszorozódása is hatással van egy adott fehérje sejtben betöltött szerepére. A funkció megváltozásán alapul a Hermann J. Müller genetikus által még 1946-ban bevezetett, de máig használatos osztályozás.

Amorf mutációról beszélünk, ha a gén nem funkcionál, azaz egyáltalán nem képződik róla fehérje, vagy ha képződik is, de teljesen működésképtelen. Ezt okozhatja a szabályozó régió hibája, a gén részleges vagy teljes deléciója, vagy például egy korai STOP-kodon kialakulása a leolvasási keretben. Az amorf mutáció a leggyakoribb, nullmutációknak is nevezik.

A szintén gyakori hipomorf mutáció esetében fehérje ugyan képződik, de vagy kisebb mennyiségben (a szabályozó régió hibája miatt), vagy szerkezeti hibája miatt, nem tud elég hatékonyan működni.

Az amorf és hipomorf mutációkat hordozó allélokat *funkcióvesztéses* (angolul *loss-of-function*) alléloknak is nevezik, és legtöbbször recesszívnek.

Ezzel szemben a mutáció hipermorf, ha túl sok vagy túl aktív fehérje termelődik a normálhoz képest. A mennyiségi növekedést akár a géndózis növekedése (például génduplikáció), akár fokozott transzkripció is okozhatja.

A neomorf mutációk következtében a fehérje olyan sejtekben is kifejeződik, ahol normálisan nincs jelen (a szabályozó régióban kialakult hiba miatt), vagy valamilyen szerkezeti változás miatt a szokásostól eltérő, új funkciót lesz képes ellátni – például a normálissal szemben képes lesz egy teljesen új fehérjével kölcsönhatásba lépni.

A hipermorf és neomorf mutációkat *funkciónyeréses* (*gain-of-function*) mutációknak is nevezik, és a hordozó allél domináns lesz.

A ritka antimorf mutációk olyan változást okoznak a fehérje szerkezetében, aminek következtében a hibás fehérje képes megakadályozni a sejtben az ép géntermék működését is (mint például a dimer formában működő fehérjék esetében). Ezért az ilyen mutációt hordozó allél *domináns negatív* allélnak nevezik. Az antimorf mutációt hordozó allél heterozigóta formában gyakran hasonló fenotípust okoznak, mint ugyanazon gén funkcióvesztéses (amorf vagy hipomorf) alléljai homozigóta formában.

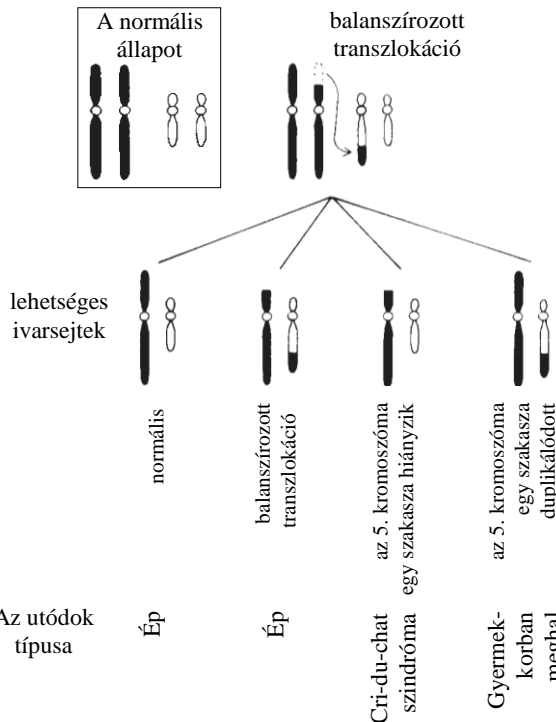
MUTÁCIÓK ÁTÖRÖKÍTÉSE AZ UTÓDRA

Mutációk természetesen az ősvivar-, vagy a testi sejtekben egyaránt bekövetkezhetnek. A testi sejtekben ezek csak a testi sejtek funkcióját érintik (bár ez súlyosan kihat az egyedre, pl. daganatképződés során), de az utódokra nem öröklődhetnek. Az ősvivar-sejtekben kialakult mutációk átöröklődhetnek az utódokra, növelve a faj genetikai változékonyságát.

REVERZIÓ ÉS SZUPPRESSZIÓ

Ritkán, de megtörténhet, hogy **reverzió** következtében visszaáll a normális fenotípus. A reverzió minden esetben egy második mutáció következménye. A nagyon ritka *valódi revertánsok* esetében a bázisok eredeti sorrendje áll helyre. A *szuppresszor mutációk* is második mutációk, amelyek vagy helyreállítják az eredeti fenotípust, vagy csökkentik a mutáns fenotípus erősségét - de mellettük megmarad az első mutáció is.

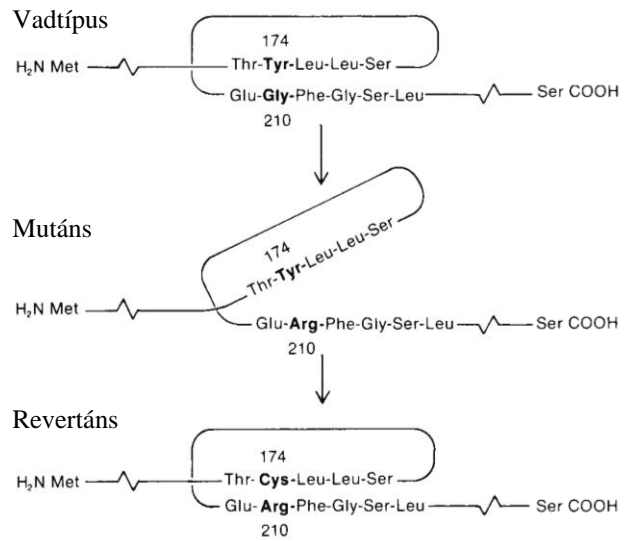
A szuppresszor mutációk sokféle módon kifejthetik hatásukat. Itt egy-egy példát említünk az *intra-* és az *extragénikus szuppresszióra*. A triptofán szintetáz enzimét kódoló génben a 212. aminosavat kódoló helyen történt GGA→AGA mutáció következtében Gly→Arg aminosavcsere történt, ezért megváltozott a fehérje szerkezete, elveszett funkciója. A 174. helyen bekövetkezett második mutáció (TAT→TGT) egy Tyr→Cys aminosavcserét eredményezett, helyreállítva a fehérje eredeti szerkezetét és funkcióját is (11.17. ábra). A triptofán szintetáz mutációinak esete az *intragénikus szuppresszió* klasszikus példája.



11.16. ábra. A Cri-du-chat szindróma alapja sokszor egy transzlokáció: az 5. kromoszóma egy darabkája egy másik kromoszómára helyeződött át.

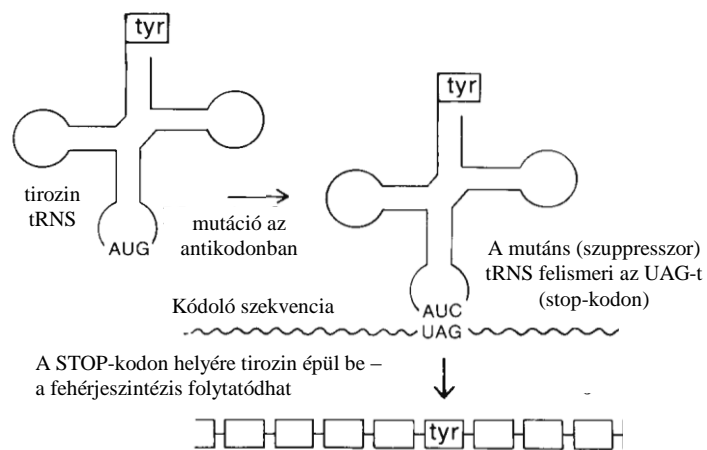
Az *extragénikus szuppressziók* esetében a második (a szuppresszor hatású) mutáció nem ugyanabban a génben következik be, mint az első mutáció. Klasszikus, különleges példa a következő, baktériumokban leírt jelenség. Az első mutáció miatt hibás, a fehérjeszintézis túl korai befejezését előidéző STOP kodon képződött a nyitott leolvasási kereten belül. Azonban egy második, valamely tRNS génjében bekövetkezett szuppresszor mutáció hatására a mutáns tRNS-en a STOP kodonnak megfelelő, azzal komplementer párt képző antikodon jött létre. Ez az első mutáció miatt hibás mRNS-ről képződő fehérje esetében is lehetővé tette aminosav beépülését és a transláció folytatását (11.18. ábra).

Tehát a tRNS génjében bekövetkező szuppresszor mutáció következtében nem képződött a szokásosnál rövidebb fehérje, hanem a fehérjeszintézis a következő STOP kodonig folytatódhatott. Miután (az rRNS-ekhez hasonlóan) a tRNS-gének is több kópiában vannak jelen a genomban, egyetlen tRNS-génben bekövetkező antikodon-változás mellett a többi, ugyanazon aminosavat szállító tRNS még felismeri a megfelelő eredeti kodont is. Ugyanakkor, bár ezek az extragénikus tRNS szuppresszor mutációk „kisegítik” a baktériumot, de az ép mRNS-ek esetében az adott STOP helyére beköthetnek és aminosavat szállíthatnak, így a szokásosnál hosszabb fehérjék képződéséhez is vezetnek - és általában csökkentik az életképességet.



11.17. ábra. Az intragénikus szuppresszor mutációk úgy revertálják (állítják helyre) az enzimaktivitást, hogy egy, ugyanabban a génben bekövetkező második mutációval visszaállítják a fehérje eredeti szerkezetét.

A kereteltolódásos mutációk reverziója legtöbbször intragénikus, és további bázispárok deléciójával vagy beékelődésével valósulhat meg (11.15. ábra). Ekkor minél közelebb történnek a szuppresszor mutációk az eredetihez, annál hatékonyabb a szuppresszió, és áll helyre az eredeti fenotípus.



11.18. ábra. A tirozin tRNS génjében az antikodonban történő mutáció extragénikusan szuppresszálhat egy értelmetlen mutációt.

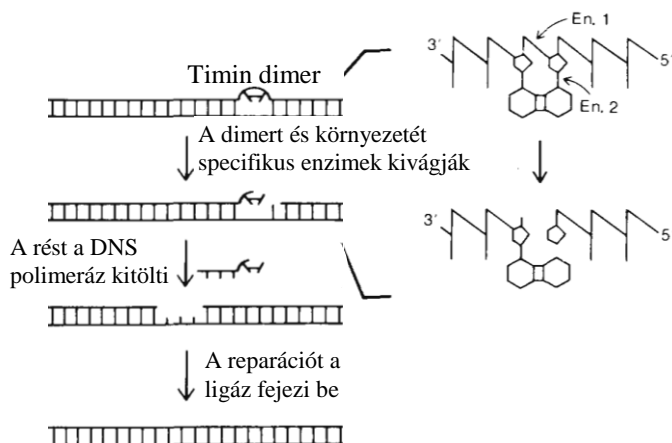
REPARÁCIÓ

A **reparáció** a DNS-hibák enzimatiskus javítását jelenti. Pro- és eukariótákban egyaránt vannak olyan enzimrendszerek, amelyek folyamatosan felügyelik a DNS épségét, és kijavítják hibáikat. A reparációs mechanizmusoknak négy fő típusa ismert.

1. A fotoreaktivációs reparációs rendszer kifejezetten az UV-sugárzás hatására kialakult timin-dimerek közötti kovalens kötéseket hasítva állítja vissza az eredeti állapotot. A fotoreaktivációs reparációs rendszer látható fényvel aktiválható. Ez a mechanizmus méhlepényes emlősökben nem működik.

2. A kivágásos (excíziós) reparációs rendszer kétféle. A **bázis-kivágás** során specifikus glikozidázok ismerik fel a szokatlan (pl. deamináció vagy bázis-csere miatt megjelent) bázisokat, levágják őket a dezoxiribózról, majd a „lyukat” észlelő ún. AP (apirimidin/apurin) endonukleázok vágják ki a hibás szálát egy rövid szakaszon. A hiányt DNS-polimeráz, majd ligáz enzim állítja helyre.

A struktúra nagyobb torzulását okozó timin-dimereket, kémiaiilag módosított bázisokat vagy az interkalálódó molekulák okozta abnormális szerkezetet a sejt **nukleotid-kivágással** javítja (11.19. ábra). Ez a reparációs rendszer először kivágja az egyik DNS-szálból a teljes meghibásodott szakaszt – a kivágott szakasz hossza meghatározott, konzervált - majd az ép szál alapján helyreállítja a nukleotidok eredeti sorrendjét.

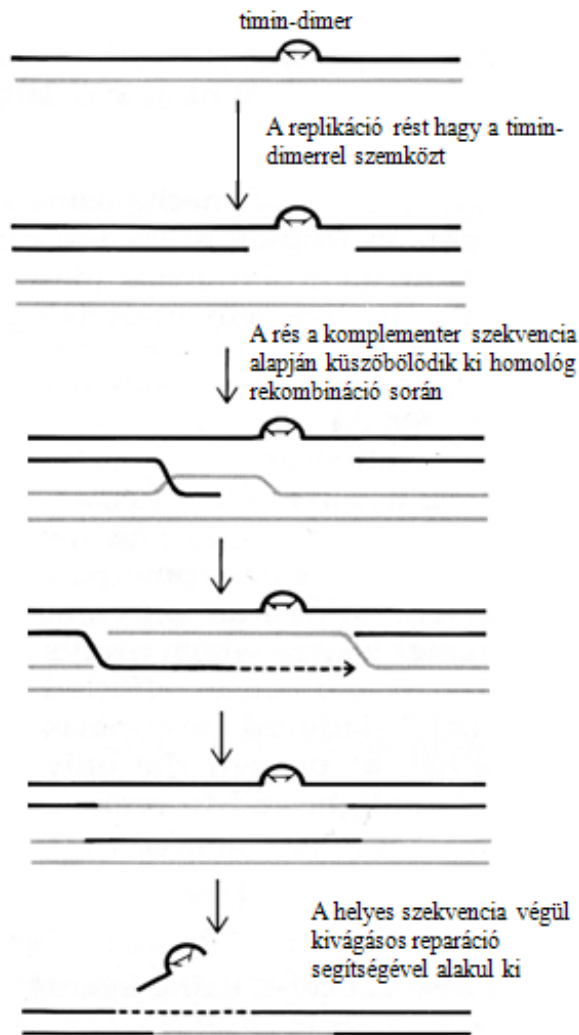


11.19. ábra. A timin dimerek excíziós reparációja.

3. A reparáció rekombinációval egybekötve is megtörténhet (11.20. ábra). A **rekombinációs reparáció** homológ rekombináción alapul. Ha egy hiba a replikáció kezdetéig bennmarad a szekvenciában, vagy a replikáció közben vagy után száltörés következik be, akkor a frissen szintetizálódott, ugyanolyan szekvenciájú, közeli leánykromatidán található komplementer DNS-szál szolgálhat mintául az eredeti DNS szekvencia helyreállításában.

4. A nem-homológ vég-összekapcsolás a kétszálú töréseket javítja, az előbbinél jóval egyszerűbb és gyorsabb folyamat. Ekkor ugyanis a törött DNS kettős spirál végek egymás közelébe kerülnek és köztük új kovalens kötésekkel helyreáll a cukor-foszfát lánc épsége. Ez a mechanizmus óhatatlanul mutációt generál, ugyanis néhány nukleotid ilyenkor elveszik. Mégis, az emlősök testi sejtjeiben általánosan jellemző ez

hatékony, de hibázó javítás. Ez azért van, mert genomjuk méretéhez képest igen kis arányban vannak kódoló szekvenciák. Így a nem-homológ vég-összekapcsolás gyorsasága, amely súlyos genom-sérüléseket előz meg, még mindig előnyösebb az így kialakuló kis pontmutációk ellenére is.



11.20. ábra. A DNS-hibák javítása rekombinációs reparációval.

A reparációs rendszerek a DNS legtöbb hibáját kijavítják. A *Xeroderma pigmentosum* betegség esetében az UV-okozta DNS-hibákat is kijavító nukleotid-kivágásos reparációs rendszerek valamelyik eleme hiányzik. Bármelyik ilyen enzimet kódoló gén mutációja homozigóta állapotban *Xeroderma pigmentosum*-hoz vezethet. A mutációra homozigóta emberek sejtjeiben, leggyakrabban az UV sugárzásnak kitett bőrsejtjeiben, halmozódnak a mutációk. A mutációk előbb-utóbb megváltoztatják, vagy megszüntetik a sejtosztódást szabályozó gének némelyikének funkcióját is, gyakran melanómát, a legveszélyesebb típusú bőrrákot okozva, de egyéb rákfajták kialakulásának valószínűsége is nagy.

KARCINOGENÉK; A MUTAGÉN HATÁS TESZTELÉSE

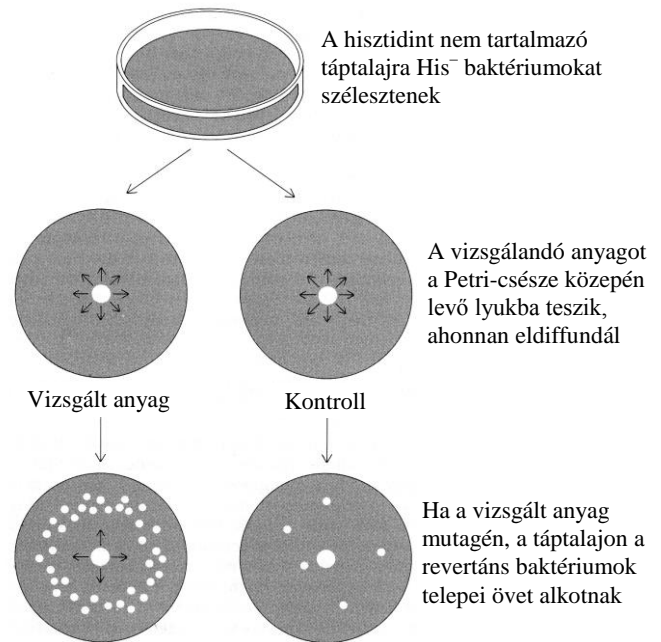
A daganatok képződésének legfontosabb okai a DNS-ben, a mutációkban rejlenek. Mivel a napjainkig megvizsgált mutagének mindegyike képes daganatok képződését indukálni, kijelenthetjük, hogy minden mutagén egyben rákkeltő is (a rákkeltők vagy *karcinogének* olyan fizikai, kémiai és biológiai hatások, amelyek daganatok képződését indukálhatják).

Évente sok ezer olyan vegyületet állítanak elő, amelyek korábban nem léteztek a Földön. Az új vegyszerek némelyikéből gyógyszer lesz, másokból rovarölő, gyomirtó, gombaölő szer, vagy ételadalék, kozmetikum stb. Az élőlényeknek nem volt sem szükségük, sem lehetőségük, hogy alkalmazkodjanak az új vegyszerekhez. Az élőlényekben nem alakult ki olyan vészjelző rendszer sem, amely felhívhatná a figyelmet a mutagénekre.

A mutagén és a rákkeltő hatások közötti szoros kapcsolat lehetőségét biztosít a környezetben levő, mutációt okozó karcinogének kimutatására – hiszen ha egy anyagnak mutagén hatása van, biztos, hogy karcinogén is. Számos. mutagén hatást vizsgáló eljárást dolgoztak ki. A legismertebb, és a leggyakrabban alkalmazott az ún. Ames-teszt, amelyet Bruce Ames fejlesztett ki.

Az Ames-teszt a *Salmonella typhimurium* baktérium olyan mutáns törzseinek használatán alapul, amelyek hisztidinre auxotrófok (van olyan törzsük, ahol a hisztidin szintéziséhez szükséges egyik génjükben kereteltolódásos mutáció van, más törzsükben bázispár-cserén alapul a hisztidin-auxotrófia). Egy további mutáció miatt a baktériumokban nem működik a kivágásos reparációs rendszer, egy másik hatására pedig sejthártyájuk fokozottan permeábilis. A hisztidin-auxotróf baktériumok nem szaporodnak olyan táptalajon, amely nem tartalmaz hisztidint. Ha azonban a vizsgált hatás mutagén, egy általa okozott második mutáció akár revertálhatja a hisztidin-auxotrófiát is. Ekkor minimál (hisztidin-mentes) táptalajon is szaporodásnak indulhatnak, telepeket képezhetnek azok a baktériumsejtek, amelyekben megtörtént a reverzió (11.21. ábra).

Az Ames-teszt kivitelezése során Petri-csészébe nagyon kevés (csak néhány kezdeti osztódást lehetővé tevő) hisztidint tartalmazó táptalajt öntenek, amely felszínére szélesztik a baktériumokat (11.21. ábra). A Petri-csésze közepébe lyukat fúrnak, és behelyezik a vizsgálandó anyagot. A vizsgált anyag diffundál a táptalajban, és különböző koncentrációban érintkezik a baktériumokkal. Ha a vizsgált szer mutagén, mutációkat indukál, néha a hisztidin-auxotrófia reverzióját is, amelynek hatására baktériumtelepek fejlődhetnek. Vagyis a telepek képződése mutagén hatásra utal. Minél több telep képződik, annál erősebb a vizsgált szer mutagén, azaz karcinogén hatása.



11.21. ábra. Az Ames-teszt elvi alapja sematikusán.

A megvizsgált tényezők sokasága bizonyult mutagének: a dohányosok vizelete, sok hajfesték, a DDT... A mutagén-tesztek eredményeként születtek meg azok a törvények, amelyek kötelezővé teszik az új termékek mutagén (tehát rákkeltő) hatásának vizsgálatát.

ÖSSZEFOGLALÁS

Mutációk a kezdetektől fogva folyamatosan történnek, spontán, és a természetes mutagének által indukálva is. Az újonnan képződő mutációk óriási többsége előnytelen hatású. A replikáció során a DNS-polimeráz biztosította ellenőrzés és a különböző reparációs mechanizmusok nagyon alacsony szinten tartják a mutációk bekövetkeztének valószínűségét.

Ugyanakkor, mint tudjuk, a mutációk adják a genetikai variabilitás alapját. Az evolúció során kialakult kényes egyensúly biztosítja azt az éppen elegendő mutációs gyakoriságot, amely lehetővé teszi az élőlények alkalmazkodását a folyamatosan változó környezeti feltételekhez.

A vegyszerek és egyéb mutagének újabb keletű használata fokozhatja a mutációk számát, amire az élőlények szervezete nincs felkészülve. A sejtekben a mutációk kivédését szolgáló mechanizmusok kevésbé tudnak megbirkózni a megemelkedett hibaszámmal, ami jelentősen növelheti a rákos megbetegedések kialakulásának valószínűségét.