ГЕНОМ ЛЮДИНИ ТА МЕТОДИ ЙОГО ВИВЧЕННЯ
ЛЕКЦІЯ 5

Тема: Індуковані мутації

План:
1. Дія іонізуючого випромінення
2. Вплив ультрафіолету
3. Хімічні мутагени та їх дія

1. Дія іонізуючого випромінення

Ми повинні усвідомлювати, що коли йде мова про людину та геном людини поняття індукованого мутагенезу трохи відрізняється від індукованого мутагенезу інших живих організмів. Людина проводить штучний цілеспрямований індукований мутагенез коли вона працює з іншими видами організмів. Проте, штучний цілеспрямований індукований мутагенез для людини знаходиться під забороною. Ми не піддаємо цілеспрямовано дії різних мутагенів, ані дорослих особин, ані зародки, ані статеві клітини людини. Однак, і тут, є нюанси та виключення. Роботи з цілеспрямованого штучного мутагенезу проводяться в культурі соматичних клітин для вивчення впливу мутагенів та для розробки засобів захисту людського організму від впливу мутагенів.

Індуковані мутації виникають під впливом певних мутагенів, найчастіше використовують три типи мутагенів: іонізуюче випромінення, ультрафіолетове випромінення та хімічні мутагени різного генезу.

Іонізуюче випромінення було першим мутагеном дію якого зафіксували люди. У 1926 році, майже 100 років тому, Герман Мелер показав, що рентгенівське випромінення призводить до підвищення частоти мутантних фенотипів, які легко реєструвались. За це відкриття мутагенної дії рентгенівських променів він отримав Нобелівську премію. Більш того, він довів, що збільшення кількості мутацій пропорційне збільшенню дози рентгенівського випромінення.

Рентгенівське випромінення це один з видів електромагнітного іонізуючого випромінення, до якого також належать гамма промені, а також альфа- та бета частинки, які виділяються радіоізотопами. Усі ці види випромінення викликають утворення вільних радикалів, це високореагентноспроможні молекули з не спарованними електронами.

Вільні радикали швидко змінюють будь-які інші сполуки. Вільні радикали можуть викликати розриви молекул ДНК, а також призвести до зміни основ в ДНК. Рентгенівські промені утворюють настільки велику кількість вільних радикалів, що можуть виникнути навіть дволанцюгові розриви ДНК. Не зважаючи на досить надійні механізми репарації дволанцюгових розривів, їх відновлення не завжди є повним та правильним. Якщо в клітині утворюються хромосомні фрагменти, які не містять центромерних ділянок, то

при наступному поділі такі фрагменти буде втрачено. Якщо в цих ділянках містились важливі гени, то клітини які утворились в результаті таких поділів будуть позбавлені цих генів. Також, при порушеннях в репарації дволанцюгових розривів можуть утворитись дицентричні (з двома центромерами) хромосоми або виникнути і інші аномальні структури, і це завжди призводить до втрати частини генетичної інформації.

2. Вплив ультрафіолету

Ультрафіолетове випромінення може викликати зміни в основах ДНК різних типів, проте найчастіше спостерігається утворення димерів пірімідинів (тиміну та цитозину). Димери утворюються між двома розташованими поряд пірімідинами на одному й тому самому ланцюгу ДНК. Їх утворення здатнє блокувати як синтез ДНК, так і синтез РНК через те, що основи, які входять у такий димер не здатні приймати участь в нормальному парування основ.

Для людини головним джерелом ультрафіолету є сонячне світло, особливо в гірських регіонах. У більшості організмів існує фермент, який поглинає світло, та витрачає отриману світлову енергію для розриву димерів пірімідінів. Цей процес має назву фотодимерізацією. Проте плацентарні ссавці, включаючи людину, не мають цього ферменту. Проте вони містять ДНК-полімеразу-ета, яка вбудовує дАМФ проти пірімідинових димерів. Якщо димер складається з тимінів, то димер повністю відновлюється до норми. У випадку двох цитозинів чи цитозину та тиміну виникає мутація. Інші дефекти, які викликані впливом ультрафіолету здатні бути виправленими завдяки дії кількох інших ферментів. Особини з дефектами у будь-якому з генів, що кодує ці ферменти страждають спадковим захворюванням – пігментною ксеродермією.

Однак, слід зазначити, що вільні радикали в організмі людини здатні утворитись і в процесах звичайного метаболізму. Наприклад, під час функціонування мітохондрій може утворитись радикал супероксиду. Вважається, що супероксид та низка подібних сполук відповідальні за підвищену частоту мутацій у мітохондріальній ДНК, і, накопичення мутацій у мітохондріальній ДНК викликає зниження ефективності роботи мітохондрій, що, в свою чергу, призводить до старіння. Вільні радикали продукуються також лизосомами макрофагів і нейтрофілів як частина процесу руйнування бактерій, мікробів, вірусів та інших шкідливих речовин.

3. Хімічні мутагени та їх дія

Ми постійно підпадаєм під вплив різноманітних хімічних мутагенів. Частина їх має природне походження, а частина є наслідком діяльності людини (антропогенний чинник). Хімічні мутагени оточують нас всюди: в повітрі яким ми дихаємо, у воді яку ми споживаємо (як внутришньо, так і зовнішньо), в їжі яку ми їмо, в одязі, який торкається нашого тіла тощо.

Деякі складні органічні барвники (акридин або бромістий етидій) дуже схожі за своєю будовою на пари пурин-пірімідин. Вони здатні вбудуватись (інтеркаліровать) між парами основ в ДНК і тим самим розтягнути подвійний ланцюг. Коли відбувається реплікація такої ДНК, то у результаті може відбутися або вставка або випадіння пари основ. Якщо це відбувається в кодуючій послідовності ДНК, то виникає мутація зсуву рамки зчитування. Під впливом подібних інтеркалятів частка мутацій зсуву рамки зчитування зростає у рази у порівнянні з частотою виникнення спонтанних мутацій цього типу.

Другий великий клас органічних сполук, які здатні модифікувати основи ДНК в одному чи кількох положеннях це алкілюючі агенти. Однією з таких сполук є етилметансульфонат, який людина широко використовує для цілеспрямованого індукованого мутагенезу. Ця сполука здатна алкілувати гуанін або тимін. Штучний етильований гуанін що утворився здатний утворити незвичну пару з тиміном набагато частіше, ніж природний немодифікований гуанін. При наступних реплікаціях це призводить до заміни пари основ Г=Ц на пару А=Т. Штучний етильований тимін може утворювати незвичну пару з гуаніном набагато частіше, ніж природний тимін, і при подальшій реплікації це викликає заміну пари Т=А на пару Ц=Г. Під впливом ЕМС частота мутацій типу заміна пар основ зростає на кілька порядків у порівнянні з кількістю спонтанних мутацій цього типу.

Основним джерелом хімічних мутагенів це наша їжа. Сирі гриби містять гідразин. Ця сполука відрізняється високою реагентною здатністю та її похідні можуть призвести до різних модифікацій ДНК, включаючи розриви ланцюгів.

Інший важливий клас сполук мутагенів це гетероциклічні аміни. Вони утворюються під час обсмаження м’яса. Їх похідні утворюють продукти приєднання (адукти) до основ ДНК, які під час репарації та наступних актах реплікації сприймаються як мутації.

Водночас, той факт, що в нашому організмі міститься складна ферментативна система, яка покликана знешкоджувати шкідливі речовини, здатен погіршити ситуації, щодо кількості мутацій у геномі людини. Основу цієї складної ферментативної системи складають ферменти (цитохроми) Р450, більшість яких локалізовані у печінці та є продуктами більш ніж 50 генів. Їх основне призначення – перетворювати молекули, які не можуть бути використані організмом або ефективно бути видаленими з нього, у більш розчинні та такі що легше видаляються похідні. Це така система видалення відходів. Проте деякі молекули після модифікації системою Р450 стають мутагенами. Яскравим прикладом є бензапірен, один з основних компонентів тютюнового диму. Складна система ароматичних кілець, які утворюють бензапирен після її модифікації під впливом ферментів Р450 утворює масивний адукт після доєднання до молекули ДНК, та може викликати блокування реплікації цієї молекули ДНК. Іншим яскравим прикладом є афлатоксин – продукт життєдіяльності пліснявих грибів, які часто вражають зерно. Похідна афлатоксину, що утворюються під впливом ферментів Р450 має також дуже велику масу та може блокувати реплікацію ДНК.

Гідразин та ароматичні аміни під впливом ендогенних ферментів стають канцерогенами.