

# Fonti di variabilità genetica: le MUTAZIONI

Cdl Tecnici di Lab. Biomedico  
Aa. 2011-12 Prof.ssa Flavia Frabetti

**EVOLUZIONE  
SOPRAVVIVENZA DELLA SPECIE**



**VARIABILITA' GENETICA**



**SESSUALITA'**  
scambio di materiale genetico  
tra individui di una popolazione  
(Riproduzione sessuata,  
ricombinazione,  
assortimento indipendente)

**MUTAZIONI**  
del patrimonio genetico  
(costante ma bassa frequenza)

# MUTAZIONE

**CAMBIAMENTO EREDITABILE  
DEL PATRIMONIO INFORMATIVO**

**MODIFICAZIONE DEL MESSAGGIO GENETICO:  
cambiamento raro, casuale, permanente  
ed ereditabile del DNA**



**RUOLO NELL'EVOLUZIONE dei GENOMI  
VARIABILITA' TRA INDIVIDUI  
DANNI E DUNQUE MALATTIA**

## Polimorfismo:

(questo termine significa “molte forme” e si riferisce alle differenze ereditarie presenti in una popolazione)

un cambiamento presente in **almeno  
l'1% della popolazione una “variante di  
sequenza trasmissibile”**

**suscettibilità a malattia**

## Mutazione patogena:

un cambiamento di norma raro  $\ll 1\%$ ,  
che causa una patologia

## Le MUTAZIONI

possono essere classificate in diversi modi:

1) <b>Origine delle mutazioni:</b>	MUTAZIONE SPONTANEA MUTAZIONE INDOTTA
2) <b>Tipo di cellule colpite:</b>	MUTAZIONE SOMATICHE MUTAZIONE GERMINALI
3) <b>Effetti biologico delle mutazioni sull'individuo:</b>	MUTAZIONE LETALE MUTAZIONE SUBLETALE MUTAZIONE NEUTRA MUTAZIONE VANTAGGIOSA
4) <b>Estensione della mutazione:</b>	MUTAZIONE GENICA MUTAZIONE CROMOSOMICA MUTAZIONE GENOMICA

## MUTAZIONI: **origine**

- **SPONTANEE: errori di duplicazione o modificazioni chimiche del DNA spontanee**

**Tasso di mutazione spontanea (m. puntiformi)**  
nell'uomo si stima sia di  $1/10^9$  -  $1/10^{11}$

- **INDOTTE**

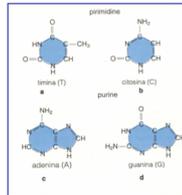
**AGENTI MUTAGENI: CHIMICI e FISICI**

A queste si oppongono a livello molecolare e quindi cellulare i **SISTEMI ENZIMATICI DI REPAIR** che si attivano e di norma eliminano il danno/i, ma possono anche, in alcuni casi, non essere efficaci o portare a danni ulteriori.

Esistono poi meccanismi cellulari di omeostasi come *l'apoptosi* che possono intervenire per eliminare alcuni elementi cellulari senza che il danno si fissi nell'organismo o si espanda.

▪ **MUTAZIONI SPONTANEE**

*da modificazioni chimiche spontanee delle basi*



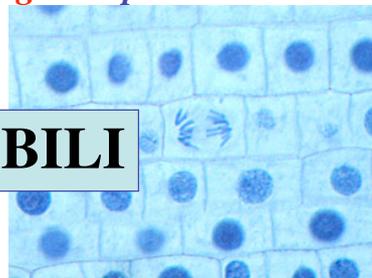
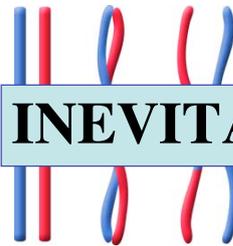
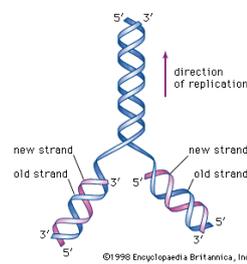
**-DEPURINAZIONE** (perdite spontanee di A e G)

**-DEAMINAZIONE**

**-TAUTOMERIA DELLE BASI: la stessa molecola assume configurazioni chimiche diverse**

**OSCILLAMENTO ATOMICO**

*da errori dei meccanismi biologici implicati:*



**INEVITABILI**

*-nella replicazione*

*-nel crossing over*

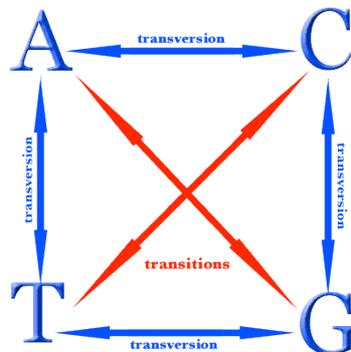
*-nella segregazione dei cromosomi*

**Transizione:** purina-purina; pirimidina-pirimidina

**A -> G, G -> A      C -> T, T -> C**

**Transversione:** purina-pirimidina e viceversa

**A -> C/T      C -> A/G**  
**G -> C/T      T -> A/G**



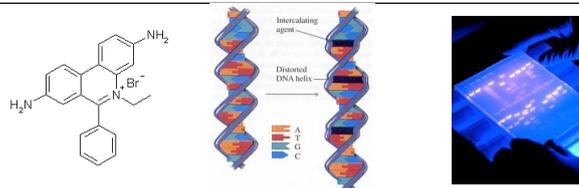
## ▪ MUTAZIONI INDOTTE

**Mutàgeni:** agenti ambientali che fanno aumentare il tasso di mutazione spontanea



### MUTAGENI CHIMICI:

- ✓ analoghi delle basi (5-bromouracile analogo T, ma il suo tautomero si appaia con G (mutazione T:C)
- ✓ agenti alchilanti (aggiunta di etili, metili)
- ✓ agenti intercalanti (arancio di acridina, bromuro di etidio)



**MUTAGENI CHIMICI molto spesso sono CANCEROGENI...**



### MUTAGENI FISICI:

- ✓ radiazioni non ionizzanti (UV)

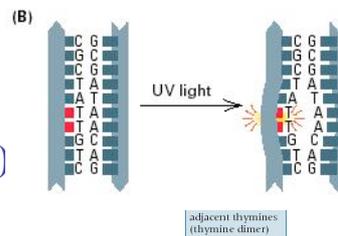
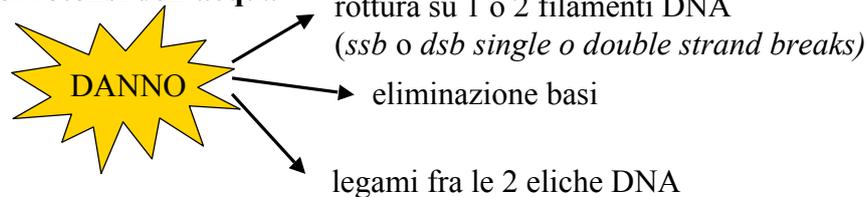
dimeri di timina

- ✓ radiazioni ionizzanti

(raggi X, raggi gamma)

Alterazioni della struttura del materiale genetico per:

- **effetto diretto** delle radiazioni sul DNA
- **effetto indiretto** dovuto alla produzione di ioni e radicali liberi per fotolisi dell'acqua



## **MUTAZIONI: cellule colpite**

### **a) MUTAZIONI SOMATICHE**

**INDIVIDUO:  
MOSAICO  
GENETICO**  
es: tumore  
Oppure  
colore occhio  
azzurro e scuro

Individui che le subiscono possono presentano 2 o più tipi cellulari geneticamente distinti derivati da un unico zigote.

### **b) MUTAZIONI GERMINALI**

Trasmessa alla progenie se non impedisce la fertilità sarà trasmessa di generazione in generazione

## **MUTAZIONI: effetto a vari livelli !!!**

**MUTAZIONE LETALE  
MUTAZIONE SUBLETALE  
MUTAZIONE NEUTRA  
MUTAZIONE VANTAGGIOSA**

**MUTAZIONE MISSENSO  
MUTAZIONE NONSENSO  
MUTAZIONE SILENTE**

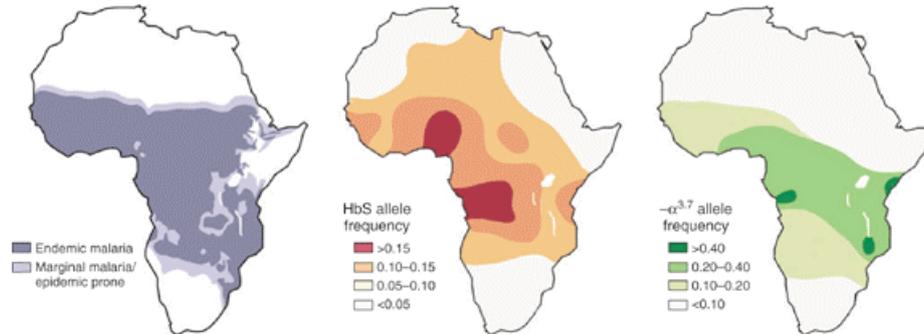
**MUTAZIONE IN AVANTI  
MUTAZIONE INVERSA (RETROMUTAZIONE)**

**MUTAZIONE CON ACQUISTO DI FUNZIONE  
MUTAZIONE CON PERDITA DI FUNZIONE**

## MUTAZIONE VANTAGGIOSA

quando portata in eterozigosi e ciò fa sì che l'allele mutato si diffonda

MALARIA endemica - **ANEMIA FALCIFORME, TALASSEMIA**



L'agente della MALARIA il plasmodio, non cresce nei globuli rossi degli individui eterozigoti per l'allele recessivo (mutato) della anemia falciforme e della talassemia o anemia mediterranea

L'allele recessivo tende a mantenersi stabile od aumentare nella popolazione africana

## Estensione della mutazione

MUTAZIONI GENICA

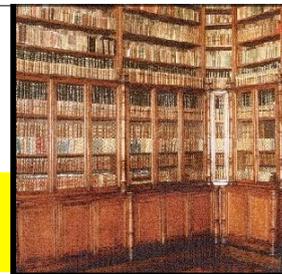
*(errori di battitura)*

MUTAZIONI CROMOSOMICA DI STRUTTURA

*(errori nel confezionamento di un volume)*

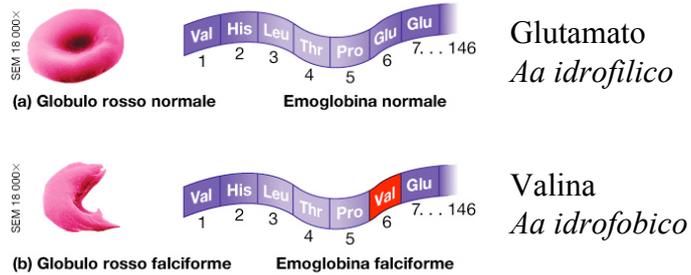
MUTAZIONI GENOMICA o MUTAZIONE CROMOSOMICA DI NUMERO

*(mancanza di 1 o più volumi o eccesso di volumi dell'enciclopedia)*



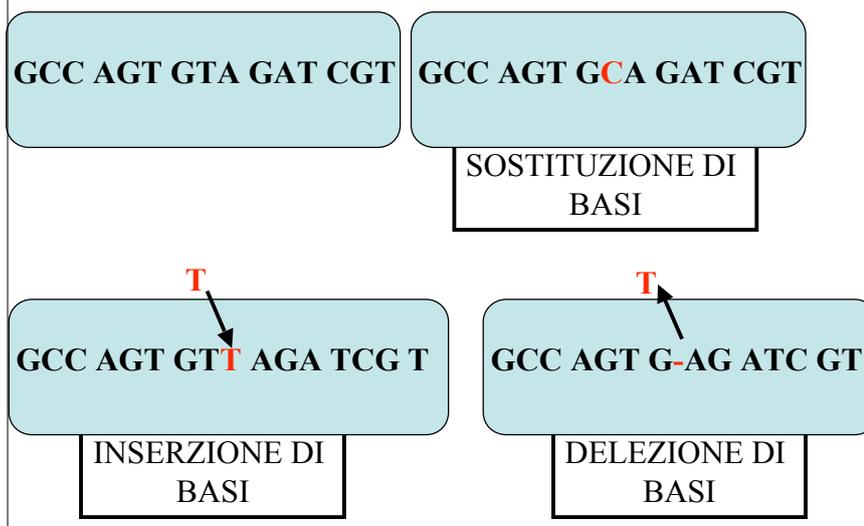
## MUTAZIONI GENICHE: alterazioni di un singolo gene

Minimo cambiamento nella sequenza  
può variare la conformazione  
e quindi la funzione



## MUTAZIONI GENICHE: meccanismi

spesso “mutazioni puntiformi”



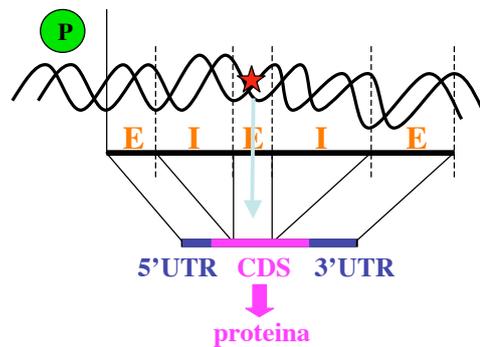
## Domande.....

Quale sarà l'effetto biologico?

A quale livello lo analizzo? Molecolare, cellulare o sull'organismo

Dove è caduta la mutazione, ovvero in quale parte del *genoma*?  
In quale parte del *gene eucariota*?

Partiamo per semplicità considerando che la mutazione colpisca la **CDS** di un gene



## SOSTITUZIONE NUCLEOTIDICA

GCC AGT **GCA** GAT CGT

*effetto*

### **Mutazione di sense o missense, senso errato =**

l'aa specificato dal nuovo codone è diverso, ciò causa un malfunzionamento più o meno significativo

### **Mutazione non senso o nonsense =**

nessun aa specificato dal nuovo codone perché è un codone di STOP o codone NON SENSO, proteina tronca rispetto alla normale

### **Mutazione silente o sinonima =**

l'aa specificato dal nuovo codone è lo stesso (ridondanza del codice), la proteina non cambia e non vi sono effetti funzionali

### **Mutazione neutra =**

l'aa specificato dal nuovo codone è simile chimicamente o ha una scarsa rilevanza per la funzionalità proteica

## Neutralità: reale o apparente?

1. Minore quantità di prodotto proteico per minore efficienza del tRNA per il codone mutato
2. Possibile introduzione di un sito di *splicing* prima non presente
3. Possibile introduzione di una sequenza che crea una struttura terziaria nel mRNA che rende meno facile l'accesso per la traduzione

INSERZIONE  
NUCLEOTIDICA

GCC AGT GTT AGA TCG T

A) Inserzione di 1, 2 o più nucleotidi, ma non di un numero multiplo di 3

*effetto*

**Sfasamento della cornice di lettura** dal punto di inserzione in poi.  
Scivolamento del modulo di lettura o *frame-shift*  
**La sequenza aa normale è gravemente alterata e spesso tronca**

B) Inserzione di nucleotidi in un numero multiplo di 3

*effetto*

Aggiunta di un numero ulteriore di aa codificato dalle nuove triplette inserite. **La proteina risulta più lunga e variamente alterata.**

DELEZIONE  
NUCLEOTIDICA

GCC AGT G-AG ATC GT

A) Perdita di 1, 2 o più nucleotidi, ma non di un numero multiplo di 3

*effetto*

Scivolamento del modulo di lettura o *frame-shift*  
**La sequenza aa normale è gravemente alterata e spesso tronca**

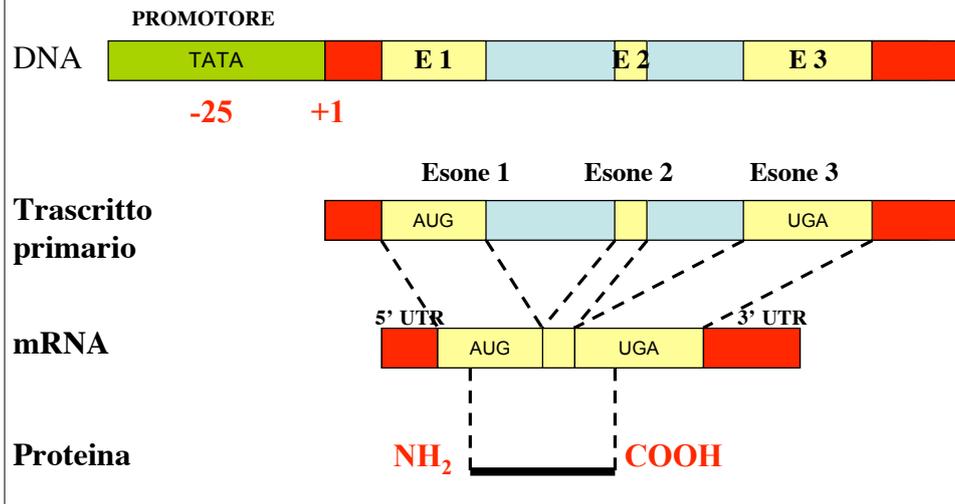
B) Perdita di nucleotidi in un numero multiplo di 3

*effetto*

Perdita di aa. **La proteina risulta più corta e variamente alterata.**

## Effetti delle **mutazioni geniche** in rapporto a **dove** cade la mutazione

### Struttura del gene eucariota



#### MUTAZIONI NEL PROMOTORE

Effetto sulla quantità del prodotto proteico, maggiore o minore efficienza di trascrizione

#### MUTAZIONI NEGLI INTRONI

Effetto possibile sullo *splicing* con introni incorporati o esoni rimossi e regolazione genica

#### MUTAZIONI IN 5' o 3' -UTR

Effetto sulla velocità della traduzione, possibile alterazione delle sequenze di poliadenilazione con conseguenze sulla stabilità del mRNA o sulla sua localizzazione

## DIAGNOSTICA

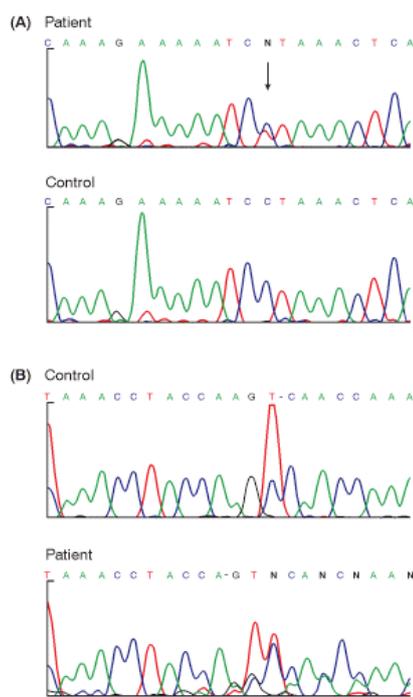
Le mutazioni geniche sono cambiamenti della struttura fine del gene

?

PCR e SEQUENZIAMENTO AUTOMATICO di un gene  
come metodo diagnostico

Fasi operative:

- 1) **Amplificare** parte di interesse con PCR partendo da DNA o RNA (RT-PCR)
- 2) **Sequenziare** gli amplificati ottenuti e verificarne la correttezza di sequenza



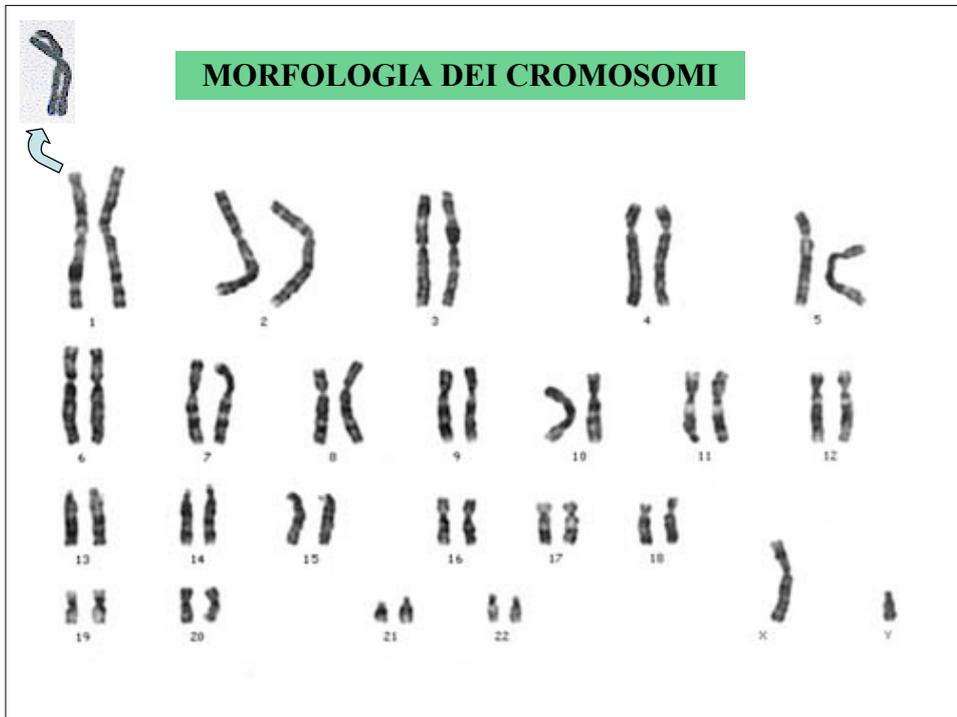
**Fibrosi cistica:**

es. di mutazione in eterozigosi  
332C>T (sostituzione aa. P67L)

es.:Una delezione di una singola base  
3659 del C nell'esone 19.

La sequenza che segue la delezione  
risulta confusa poiché riflette la  
sovrapposizione delle sequenze dei  
due alleli in eterozigosi (gli stampi  
sono sfasati nella lettura). **La**  
**mutazione andrebbe confermata**  
**sequenziando anche il filamento**  
**antisenso.**

Da Strachan e Read: *Genetica umana molecolare*



## MUTAZIONI CROMOSOMICHE

Comportano anomalie o aberrazioni della **struttura** dei cromosomi

↓

**1. CAUSE CHIMICHE**

**2. CAUSE FISICHE**

}

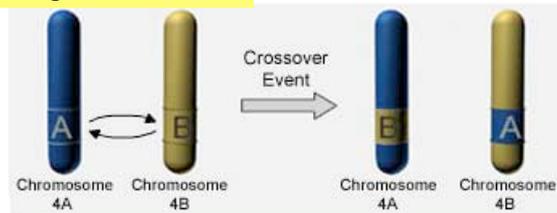
Rotture (spontanee o indotte) seguite da riparazione errata o assente che non ripristina la corretta forma

I livelli di rottura sono:  
DNA e cromosoma

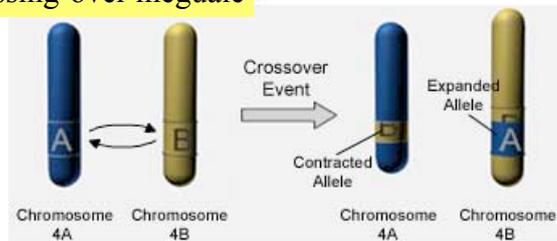
→

**3. ERRORI NELLA MEIOSI** es. **alterato crossing over, scambi di materiale non uguale**

### Crossing-over



### Crossing-over ineguale :



## MUTAZIONI CROMOSOMICHE

**Riarrangiamenti BILANCIATI o SBILANCIATI:** il dosaggio genico complessivo rimane inalterato anche con modificazione nella struttura oppure la mutazione è accompagnata da perdita o aggiunta di materiale informativo.

### Anomalie INTRAcromosomiche

**delezioni** = perdita di un segmento cromosomico

**duplicazioni** = una porzione del crom. viene raddoppiata

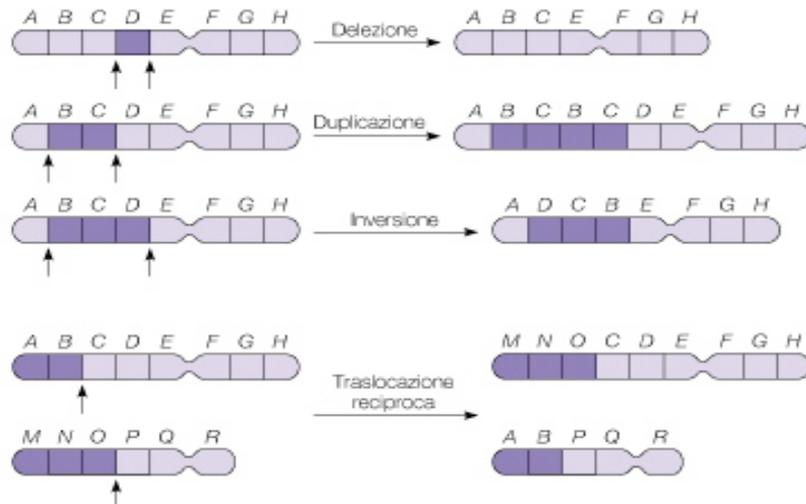
**inversioni** = un segmento viene invertito, ruotato di 180°, (divise in **paracentriche** e **pericentriche**)

### Anomalie INTERcromosomiche

**traslocazioni** = movimento di materiale genico da un cromosoma ad un altro

Possono essere **RECIPROCHE** o **NON-RECIPROCHE**

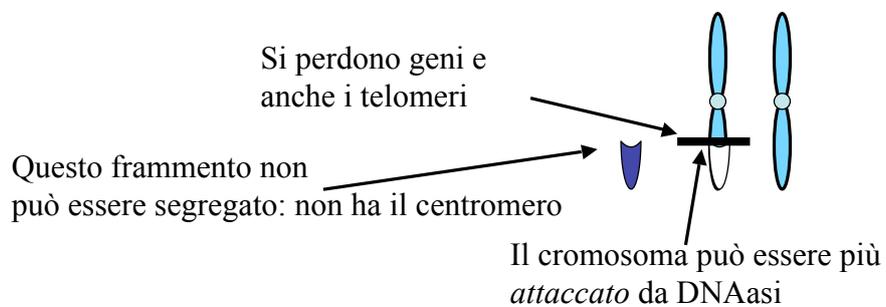
## ALTERAZIONI NELLA STRUTTURA DEI CROMOSOMI



[link animazioni MUTAZIONI CROMOSOMICHE](#)

### ***EFFETTI***

- Sulla **dose genica**: sbilanciamento del dosaggio genico
- sulla **struttura genica**: “rottura” di un gene, più raro, o anche effetto di **posizione**, vedi inversioni e/o traslocazioni
- sulla **stabilità e segregazione dei cromosomi**



## DELEZIONI

Causa:

1. nuove mutazioni
2. segregazione sfavorevole di anomalie bilanciate presenti nel genitore

### terminali

Es. 46, XY, del(18) (q21 → qter)  
46 XX, 5p<sup>-</sup>

### interstiziali

Es. 46, XY, del(12) (p13.1 → p13.3)

### *Effetto principale*

Sbilanciamento del dosaggio genico e pseudodominanza  
Complessivamente, nell'organismo, ridotta capacità riproduttiva  
ritardo nell'accrescimento, ritardo mentale, difetti congeniti

L'effetto dipende sicuramente dalla estensione della del.,  
se molto estese generalmente letali

Es. sindrome polimarformativa detta cri-du-chat del  
eterozigote del crom. 5

## Sindrome di Williams



Elastina del tess connettivo:  
problemi vascolare  
ritardo mentale

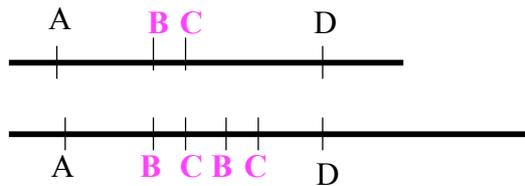


## DUPLICAZIONI

In genere meglio tollerate rispetto alle delezioni

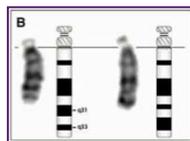
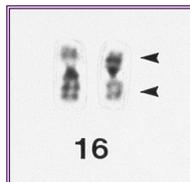
Causa:

In genere in seguito a *crossing over* ineguale in meiosi



## INVERSIONI

Cambio nell'orientamento di segmenti cromosomici



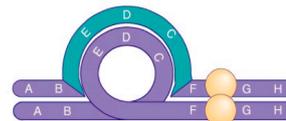
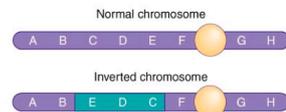
**pericentriche**

Es. 46, XY, inv (1) (p31q43)

**paracentriche (+ comuni)**

Es. 46, XY, inv (1) (q23q42)

Le rotture sono sullo stesso braccio



Appaiamento fra cromosomi normali e con inversione

Copyright 2010 John Wiley and Sons, Inc.

### Effetto principale

Di solito no effetti nel portatore

Effetto di posizione (scarsi)

**Errori alla meiosi** nel *crossing over*

**Errori alla meiosi se avviene *crossing over* nei tratti invertiti, ci possono essere più conseguenze che vanno da:**

-alterazioni gravi che non comportano sopravvivenza del gamete o dello zigote che la porta (anomalie letali), per cui i figli nasceranno solo quando avrà partecipato alla fecondazione uno dei gameti che hanno ricevuto il cromosoma normale.

- dunque selezione prenatale degli zigoti, che non possono proseguire lo sviluppo in presenza di queste anomalie, o anche sviluppo completo dell'embrione fino alla nascita, con anomalie più o meno gravi dell'individuo (difetti congeniti multipli).

## TRASLOCAZIONI

### traslocazioni reciproche

scambio di segmenti tra 2 cromosomi non omologhi

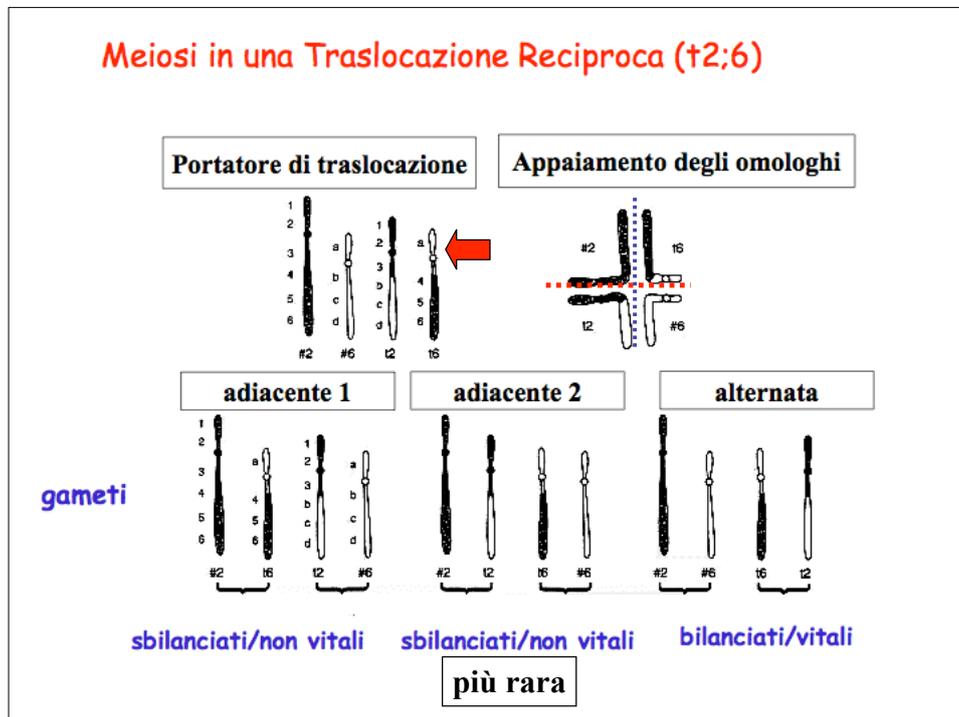
Es. 46, XX, t(4;12) (p16;p13.3)

### ***Effetto***

Di solito per il portatore effetti nulli, a volte di posizione o per rottura gene.

Effetti + tipici: “**semisterilità**” con aborti frequenti per produzione di **gameti sbilanciati**, in seguito alla formazione di strutture alla meiosi note come “quadrivalenti” (4 cromosomi) appaiati per alcuni tratti

## Meiosi in una Traslocazione Reciproca (†2;6)



## TRASLOCAZIONI ROBERTSONIANE

La traslocazione robertsoniana (dal suo scopritore, Robertson) consiste nella **fusione di due cromosomi acrocentrici** a livello del centromero, dopo perdita delle braccia corte.

Di solito interessa cromosomi non omologhi

80% dei casi: gruppo D (13-14)

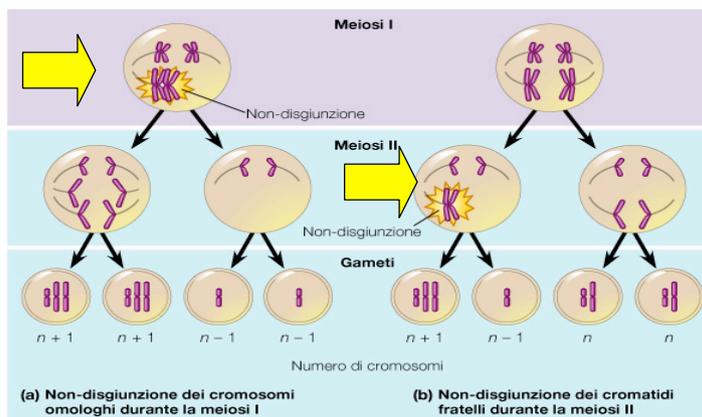
### **Effetto**

Effetti alla meiosi. Selezione pre-zigotica e post-zigotica. Tra gli sbilanciati possibile sopravvivenza di figlio affetto da sindrome di Down, se la traslocazione coinvolge il cr.21 (evenienza rara).

**MUTAZIONI GENOMICHE O MUT. CROMOSOMICHE DI NUMERO  
ALTERAZIONI NEL NUMERO DEI CROMOSOMI**

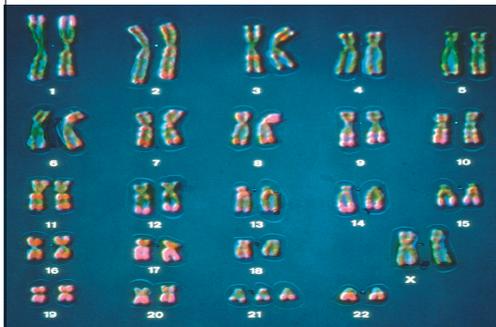
**1- ANEUPLOIDIA**

**Il numero di cromosomi è diverso da un multiplo esatto di n  
NUMERO ANOMALO DI CROMOSOMI  
NON - DISGIUNZIONE (MEIOSI O PRIME MITOSI)  
es. trisomia, monosomia**



**ANEUPLOIDIA**

**Es. TRISOMIA 21: *SINDROME DI DOWN***



trisomia 13 sindrome di Patau  
trisomia 18 sindrome di Edwards

XXY = Sindrome di Klinefelter  
X0 = Sindrome di Turner (unica monosomia nota che non causa aborto spontaneo)

**NON-DISGIUNZIONE DEI CROMOSOMI SESSUALI**

***Effetti Aneuploidie***

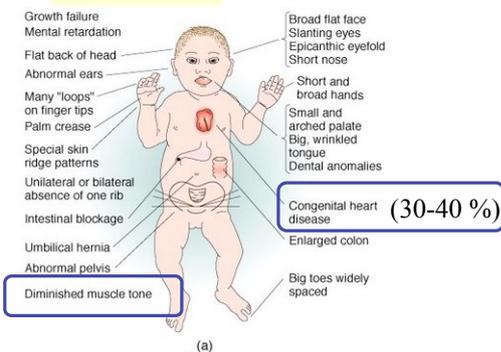
- Dose genica alterata
- Anomalie nella segregazione e formazione gameti
- Disregolazione generale del genoma:  
in ogni caso monosomie incompatibili con la vita (aborti spontanei)  
trisomie (21, 13 e 18)

## Sindrome di Down (Trisomia 21)

John Langdon Down  
1866



Jerome Lejeune  
1958



umentato rischio leucemia

disturbi immunitari ed endocrini

invecchiamento biologico precoce

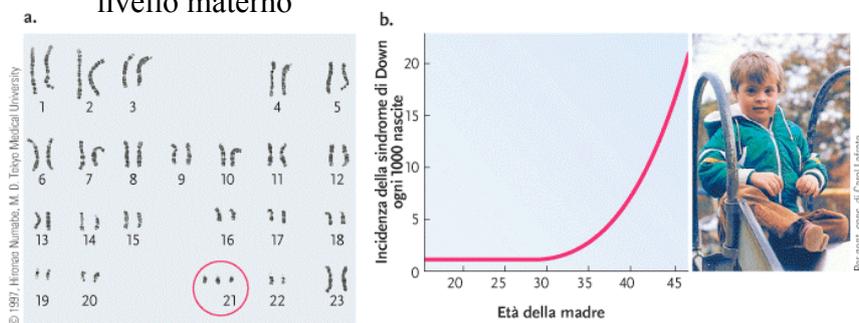
## Sindrome di Down (Trisomia 21)

La più frequente causa costituzionale di ritardo mentale

1/400 concepiti

1/700 nati vivi

Errori di non disgiunzione (95%), soprattutto in meiosi I a livello materno



Sindrome di Down (Trisomia 21)  
Meccanismi

- **95%** dei casi: **non disgiunzione**  
più frequentemente nella **Meiosi I materna**
- **4-5%** dei casi:  
genitore eterozigote per una **traslocazione** che coinvolge il cromosoma 21
- **Mosaicismo di cell normali e trisomiche (anomalie della mitosi dell'embrione)**  
Gemelli monozigoti discordanti

Sindrome di Turner (X0)

- 1% dei concepiti
- **1/8000 nate vive** per alto tasso di aborti spontanei
- Cariotipo: **45,X**
  - **Amenorrea**
  - **Disgenesia ovarica**
  - **Bassa statura**

Sindrome di Klinefelter (XXY)

- **1/1000 nati vivi**
- Età materna
- Cariotipo: **47,XXY**
  - **Anomalie del differenziamento sessuale**
  - **Bassa statura**
  - **Sterilità**
  - **Lieve femminilizzazione dell'aspetto**
  - **Lieve deficit del QI**

## 2. POLIPLOIDIA

**Il numero di cromosomi è multiplo esatto di  $n$  (numero aploide)  
PIU' DI DUE SERIE COMPLETE DI CROMOSOMI  
es. triploidia ( $3n$ ), tetraploidia ( $4n$ )**

### **Cause:**

Anomalie alla fecondazione come **dispermia** ossia fec dello stesso ovocita da parte di 2 spermatozoi (66% di triploidia)

Un anomalo gamete diploide è coinvolto  
(nel 10% dei casi si tratta dell'ovocita, nel 24% dello spermatozoo)

Nella tetraploidia, sempre letale, duplicazione DNA dello zigote senza divisione cellulare

Nell'uomo gli unici esempi di poliploidia **fisiologica** sono:

- Epatociti
- Megacariociti

(per fusione cellulare: fibre muscolari)