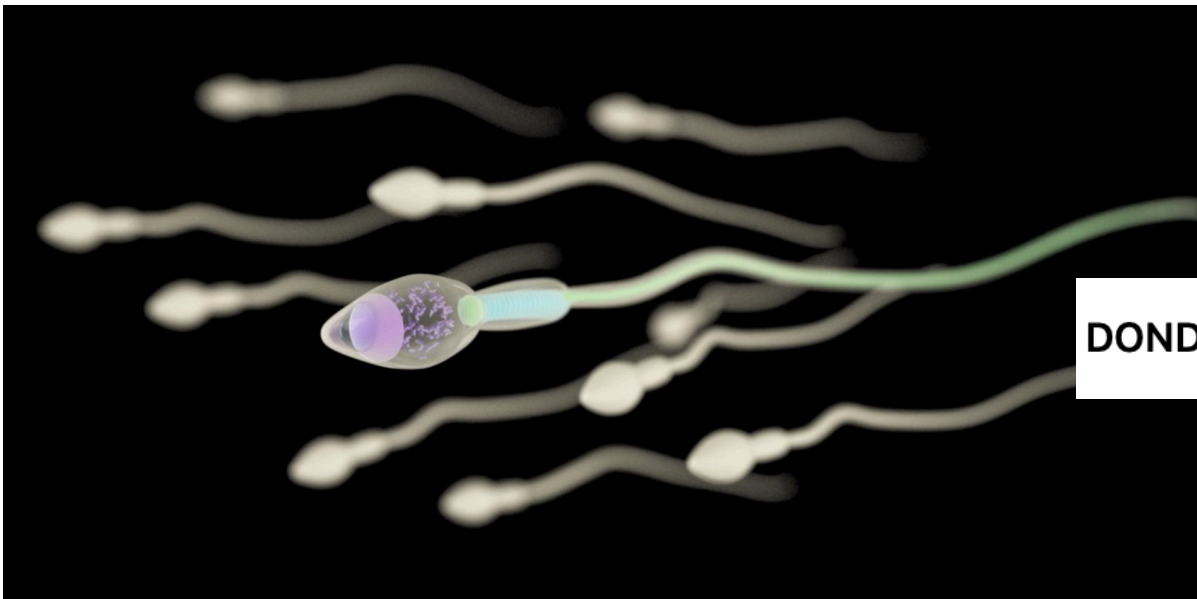


Hfst 14. Mutatie, recombinitie en genomevolutie

Meer of minder mutant: het zit in de familie

We zijn allemaal mutanten. De een en al wat meer dan de ander. De meeste mutaties duiken op bij de vorming van zaadcellen.

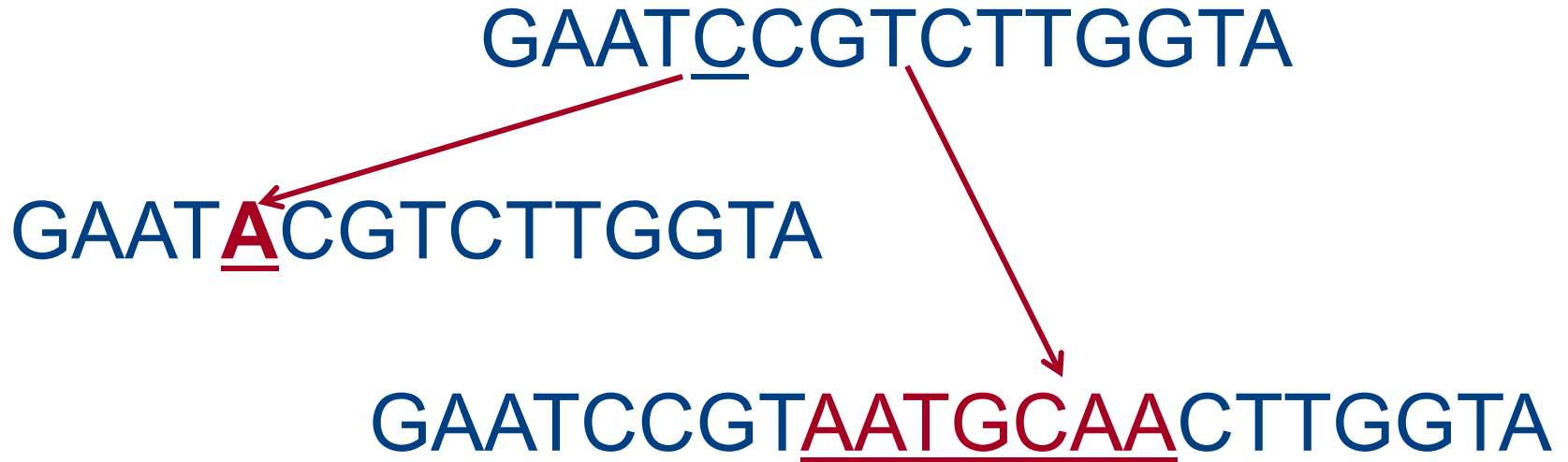
SENNE STARCKX



dS De
Standaard

DONDERDAG 26 SEPTEMBER 2019

Mutaties



- treden spontaan op
(bv. fouten tijdens DNA-verdubbeling, transposons).
- vormen de basis voor evolutie & veredeling.
- en voor onderzoek functie van genen.
- hebben niet altijd een effect op fenotype.

14.1. Mutaties en hun herstel

Meestal nadelig → herstelmechanismen nuttig

Vaak onopgemerkt en/of niet overerfbaar

Soms voordelig → selectie

14.1.1. Fouten tijdens DNA-synthese

14.1.2. Spontane schade aan basen

14.1.3. Mutagene stoffen of straling

14.1.4. Herstel dsDNA-breuk



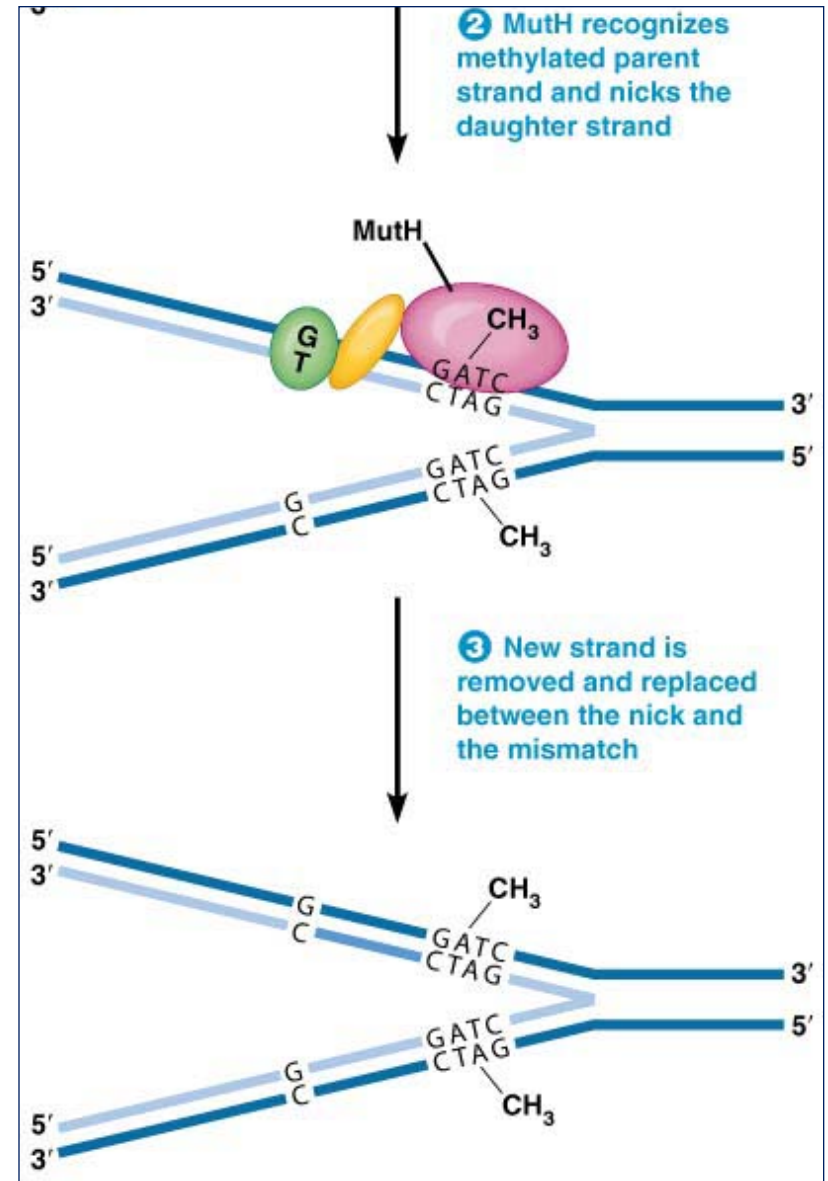
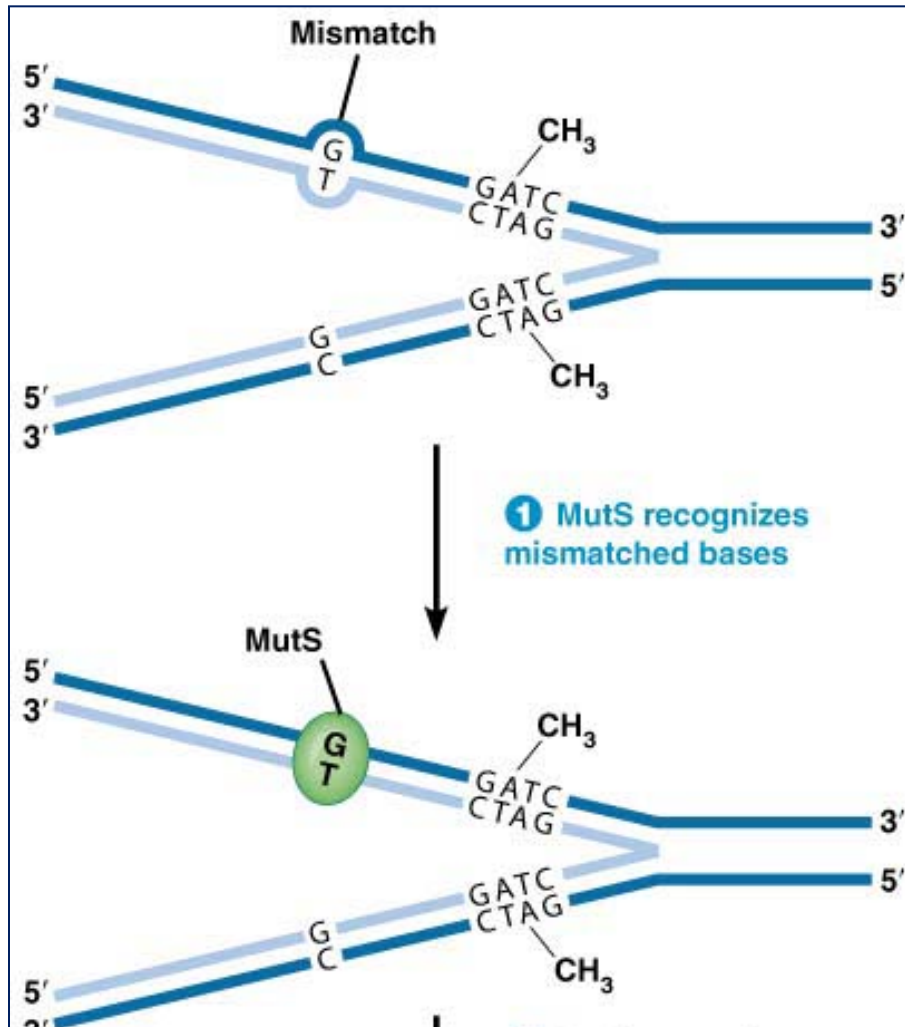
14.1.1. Fouten bij DNA-synthese

Meestal onmiddellijk hersteld door 3'-5' exonuclease activiteit van DNA-polymerase (proofreading, Hfst. 11)

Later mogelijk via “mismatch repair”:
welke base is fout?

Identificatie van de oude streng in bacteriën via methylatie → vervanging base in nieuwe streng.

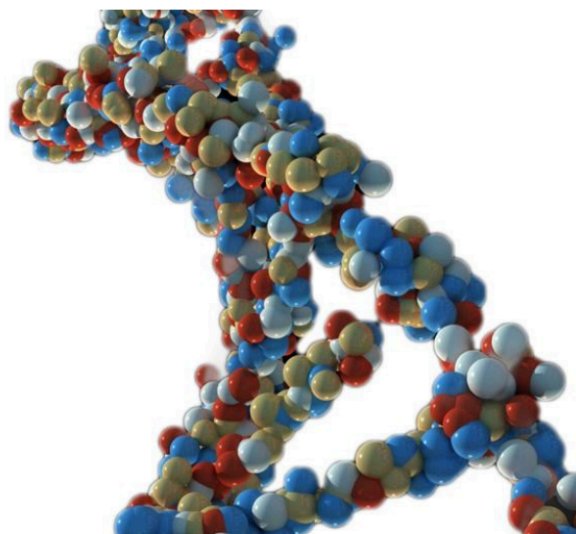
Mismatch herstel



Hoe ons leven duizend maal per dag gered wordt

08 OKTOBER 2015 OM 03:00 UUR | [Pieter Van Dooren](#)

Tomas Lindahl, Paul Modrich en Aziz Sancar krijgen de Nobelprijs scheikunde 2015 voor hun ontsluiting van de manier waarop onze cellen hun DNA ongelooflijk intact weten te houden.



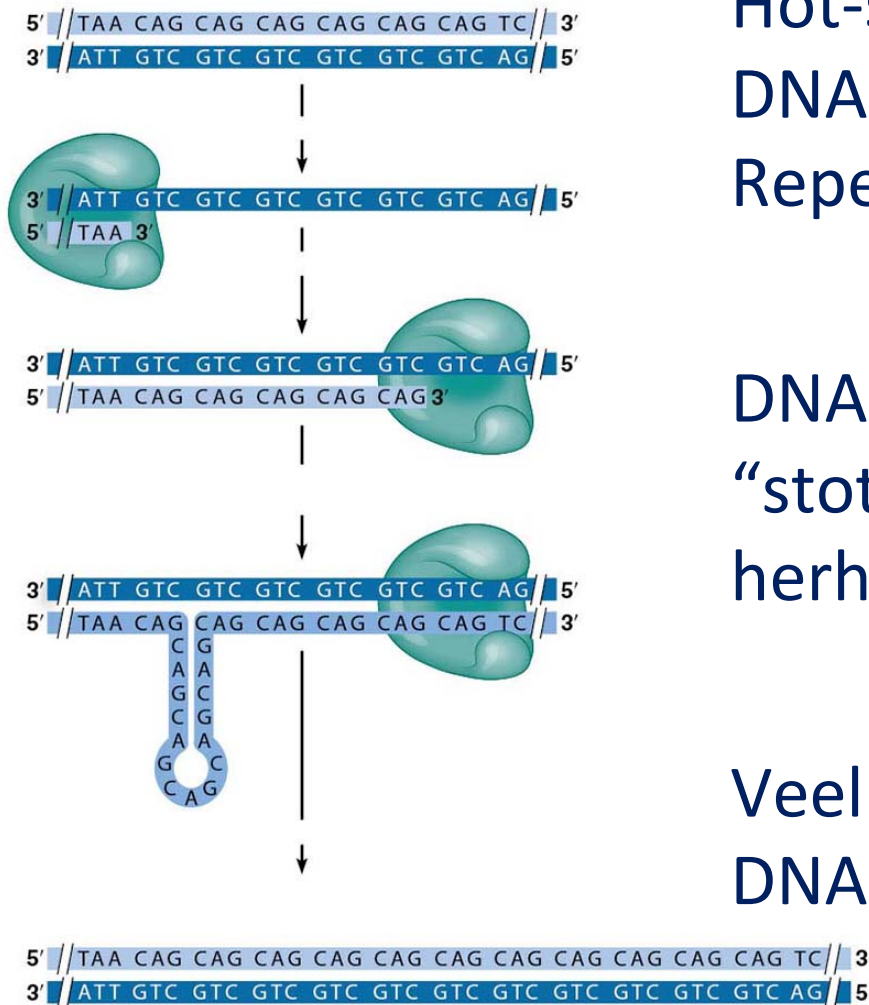

GATCCGTTAGT**G**TG
CTAGGCAATC**A**GAC

De mismatch in dit stukje DNA
zal hersteld worden naar

A GATCCGTTAGT**C**TG
CTAGGCAATC**A**GAC

B GATCCGTTAGT**G**TG
CTAGGCAATC**A**CAC

Fouten bij DNA-synthese: STR



Hot-spots voor mutatie tijdens DNA-synthese: Short Tandem Repeat of STR bv. $[GTC]_n$

DNA-polymerase “slipt” of “stottert” → meer of minder herhalingen van motief.

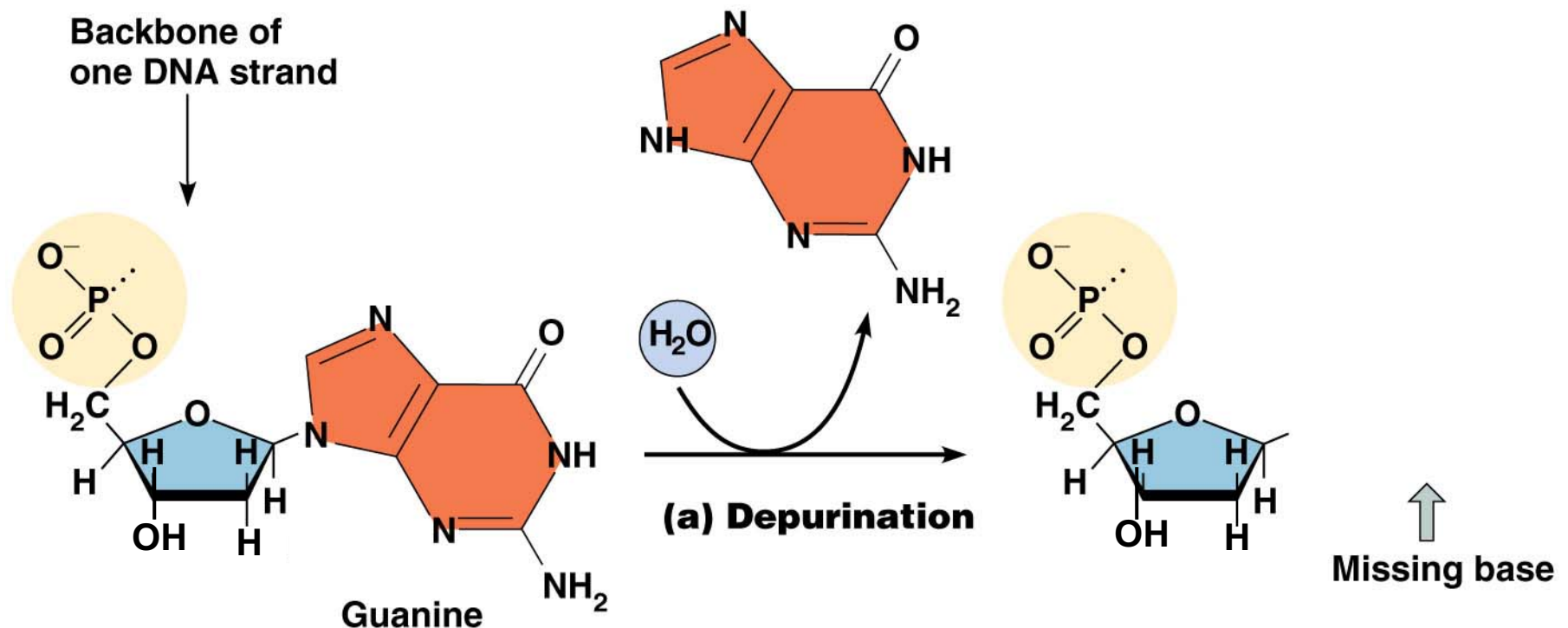
Veel variatie in populatie → DNA-fingerprints.

14.1.2. Spontane schade aan basen

Depurinatie =

verlies van A of G door spontane hydrolyse.

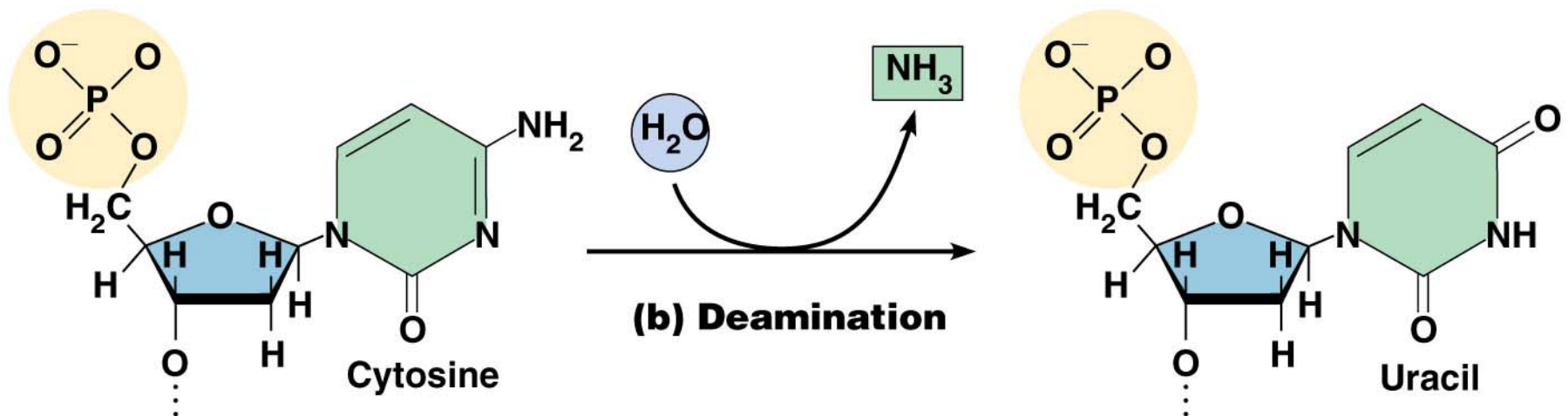
Bv. menselijke cel 1000s /dag



Spontane schade aan basen

Deaminatie =

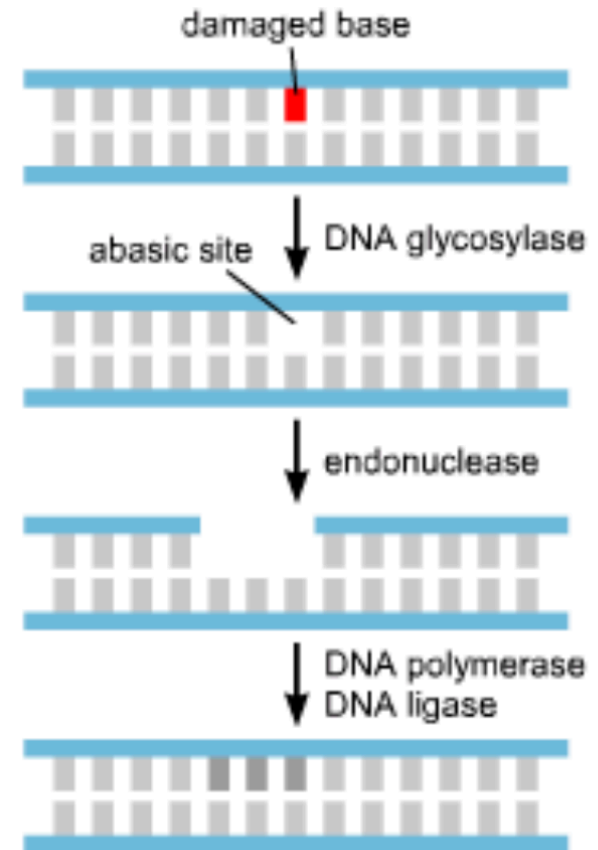
verlies van NH_3 door spontane hydrolyse bij A,G en
vnl. $\text{C} \rightarrow \text{U}$



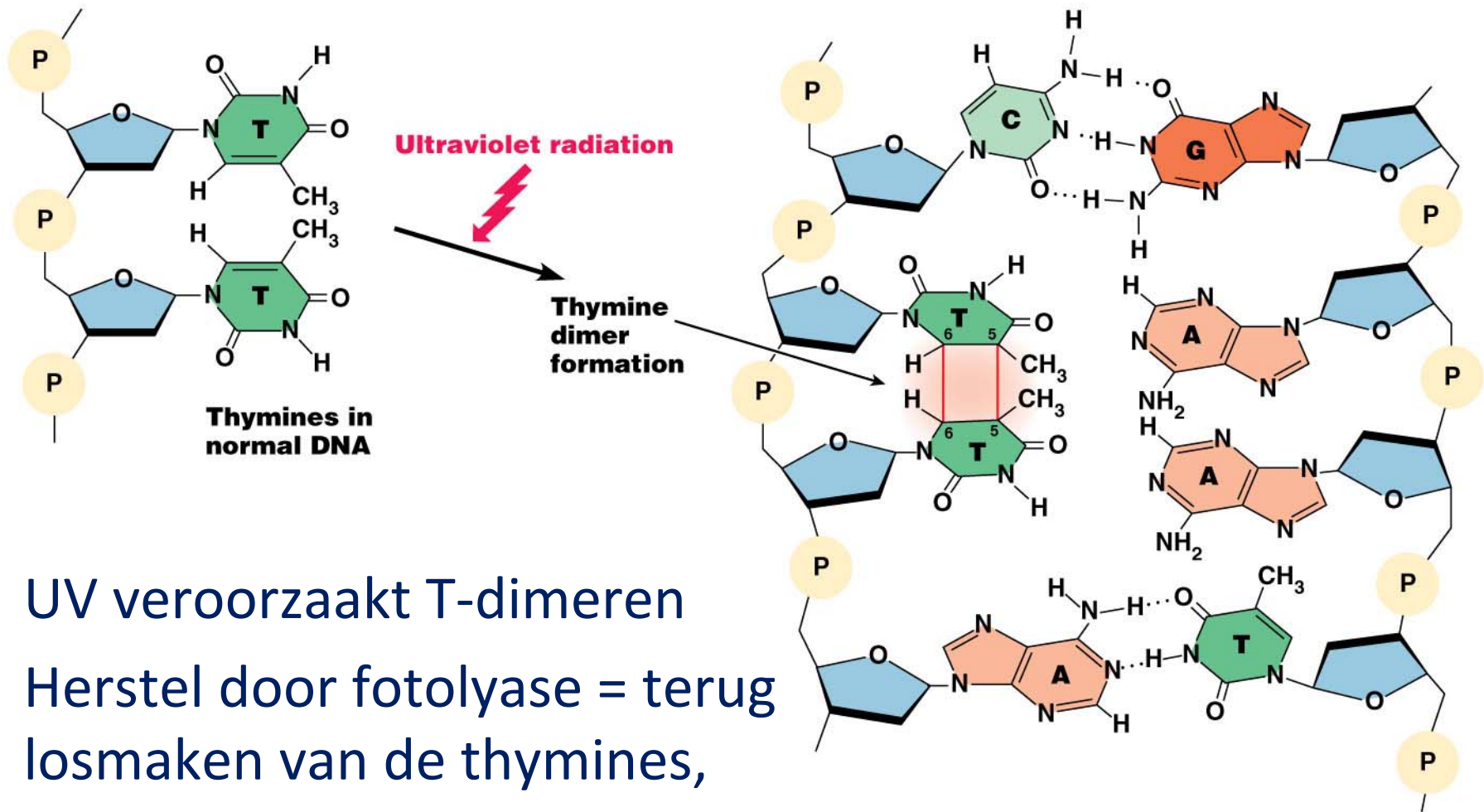
Hypothese: T onstond in DNA (ipv U in RNA) om
deze schade te kunnen onderscheiden van de
normale basen.

Base excision herstel

- Verwijderen beschadigde base.
- AP-endonuclease (AP=apurinic) knipt streng.
- DNA-pol.: DNA-synthese.
- DNA-ligase: herstel knip.



14.1.3. UV-schade aan DNA



UV veroorzaakt T-dimeren

Herstel door fotolyase = terug
losmaken van de thymine,
met behulp van lichtenergie.

Nucleotide excision herstel (NER)

Thyminedimeren kunnen ook hersteld worden door een meer algemeen DNA-herstelsysteem: nucleotide excision repair (NER).

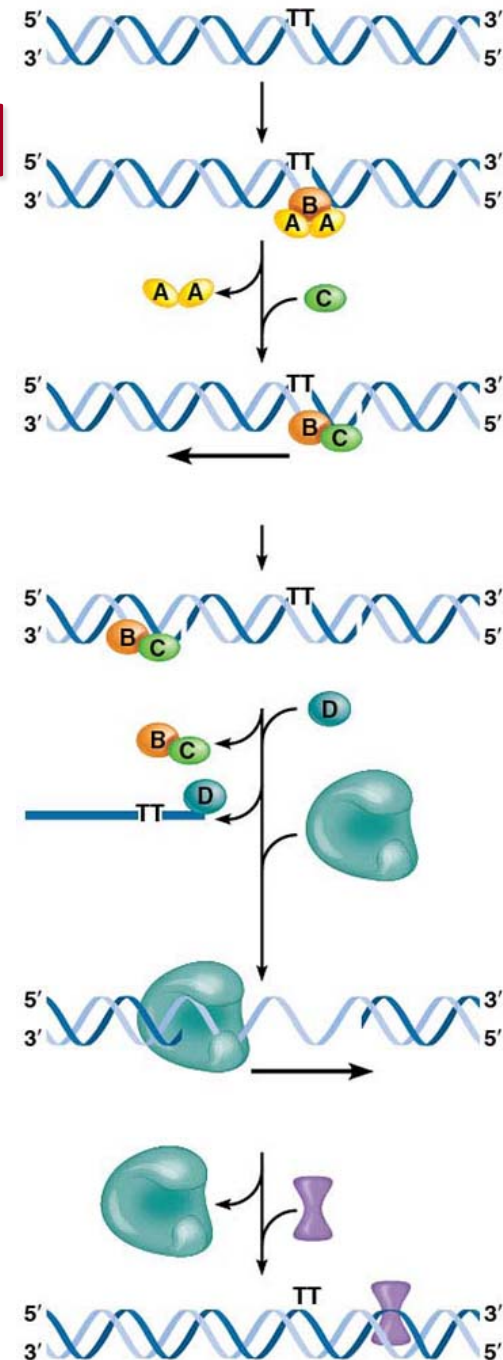
NER kan ook allerlei andere schade aan DNA herstellen bv. veroorzaakt door chemische stof .

Mutaties in NER-enzymes veroorzaken Xeroderma pigmentosum, extreme gevoeligheid aan zonnestralen
→ hoge frequentie huidkankers.



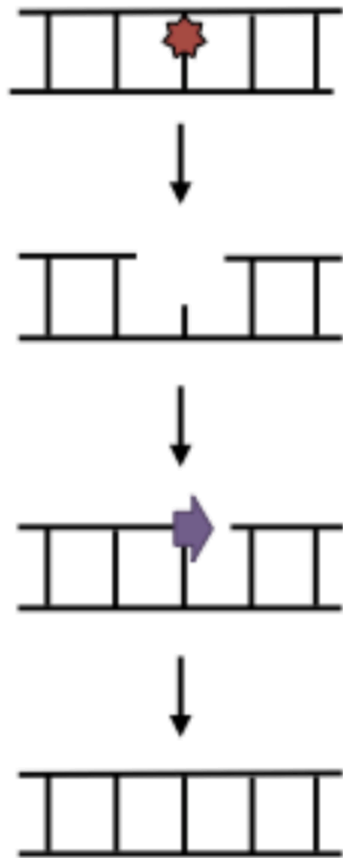
Nucleotide excision herstel

- UVR-enzymes AB herkennen schade
- UVR-enzymes BC knippen rond schade
- Stukje streng wordt verwijderd
- DNA-pol.: synthese
- DNA-ligase: herstel knip

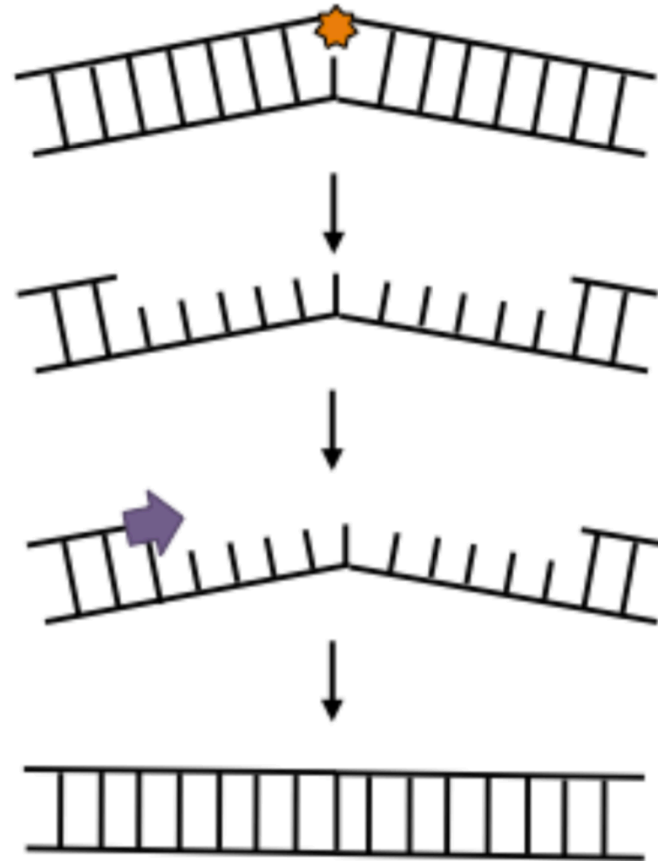


Herstel DNA-schade: vergelijking

Base Excision Repair

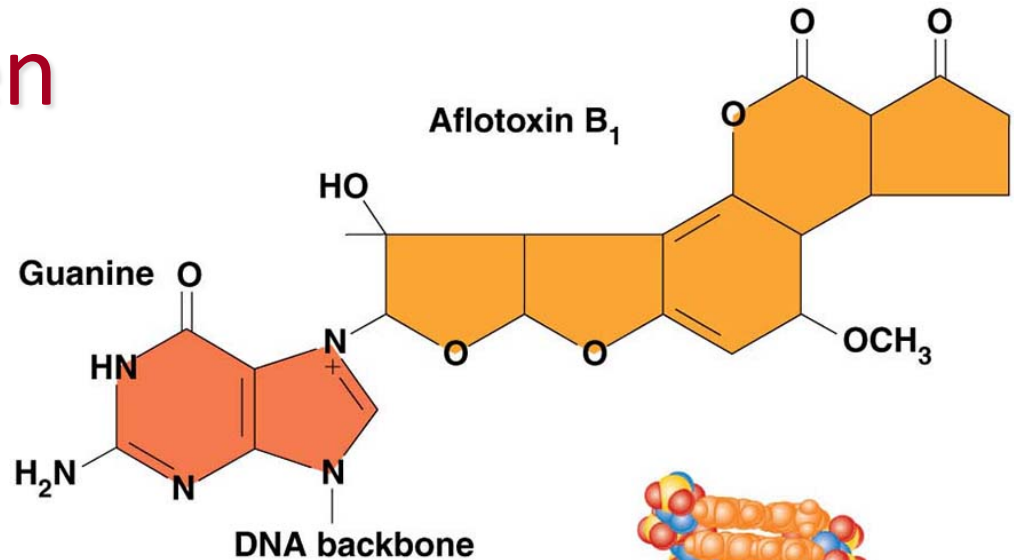


Nucleotide Excision Repair



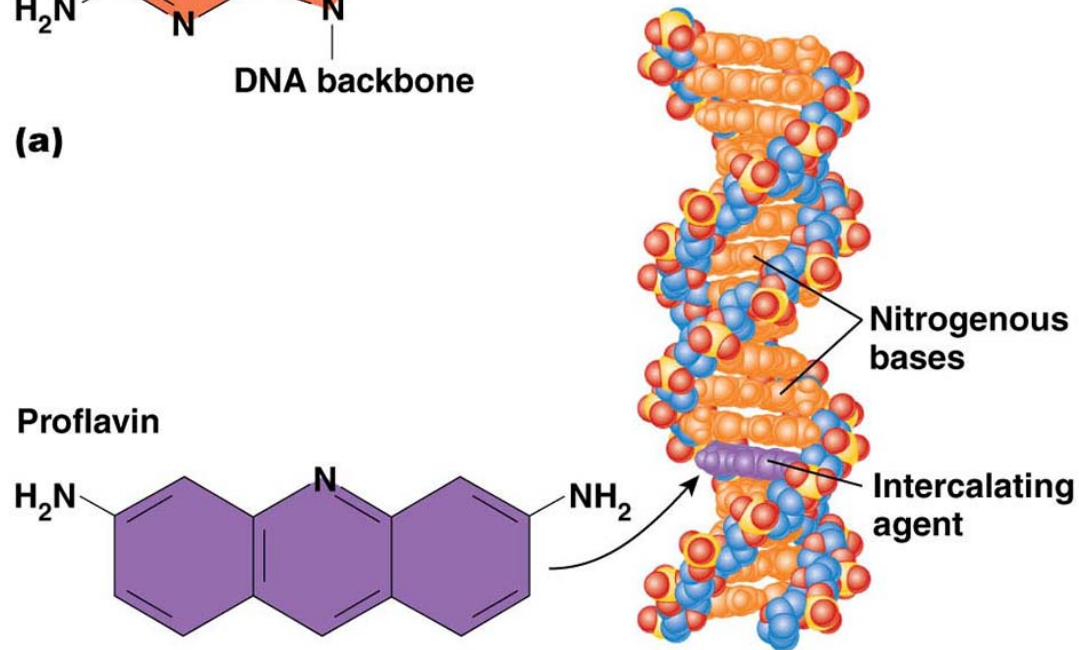
Mutagene stoffen

Voegen iets toe aan DNA
waardoor foute
basenparing of
basenverwijdering gebeurt.
Bv. schimmel-toxine van
Aspergillus flavus
(aflatoxine).



(a)

Of intercaleren tussen de
basen waardoor breuk
ontstaat bv. proflavine,
ethidiumbromide.



(b)

14.1.4. Herstel dubbelstrengige (ds) DNA-breuk

1. NHEJ: Non-Homologous End Joining = aan elkaar plakken van niet-homologe DNA-uiteindjes.

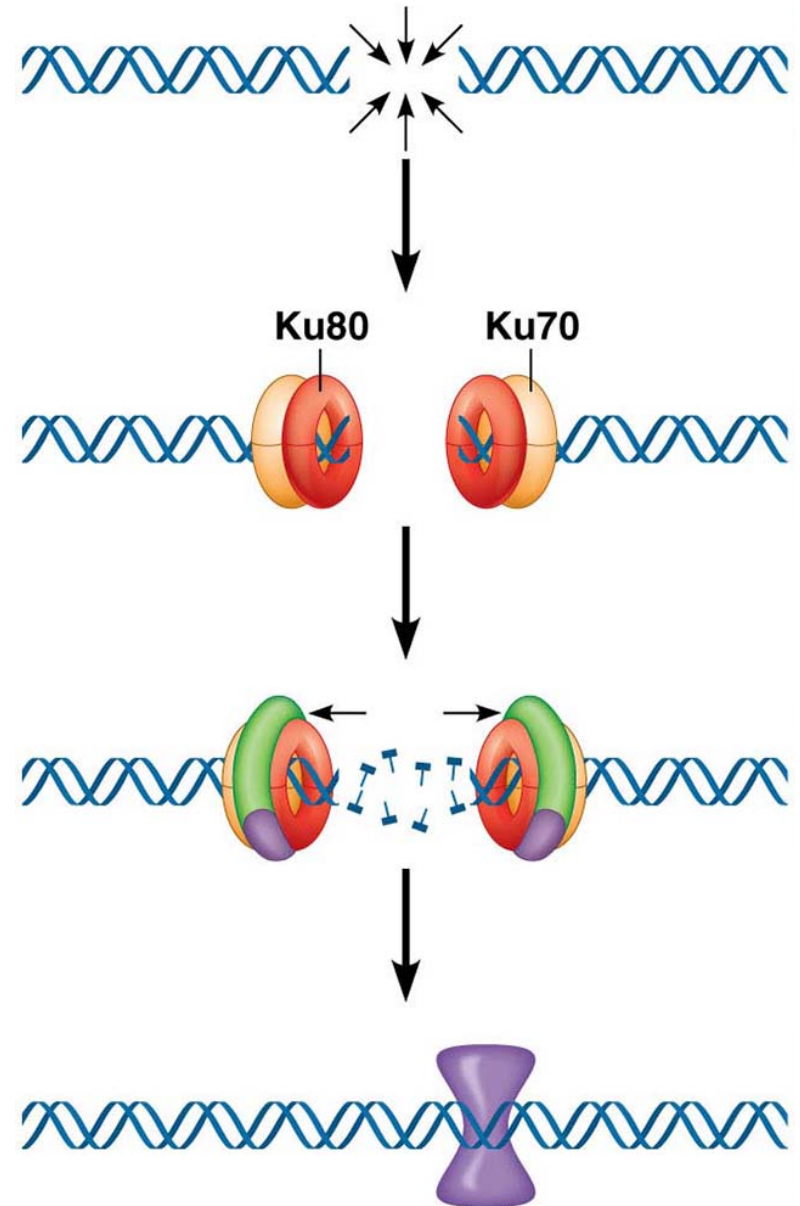
Heel efficiënt in somatische cellen van eukaryoten.

2. Homologe recombinatie: DNA-synthese op basis van homologe sequentie, maar beide strengen betrokken, kan leiden tot DNA-uitwisseling tussen chromosomen (of tot genconversie).

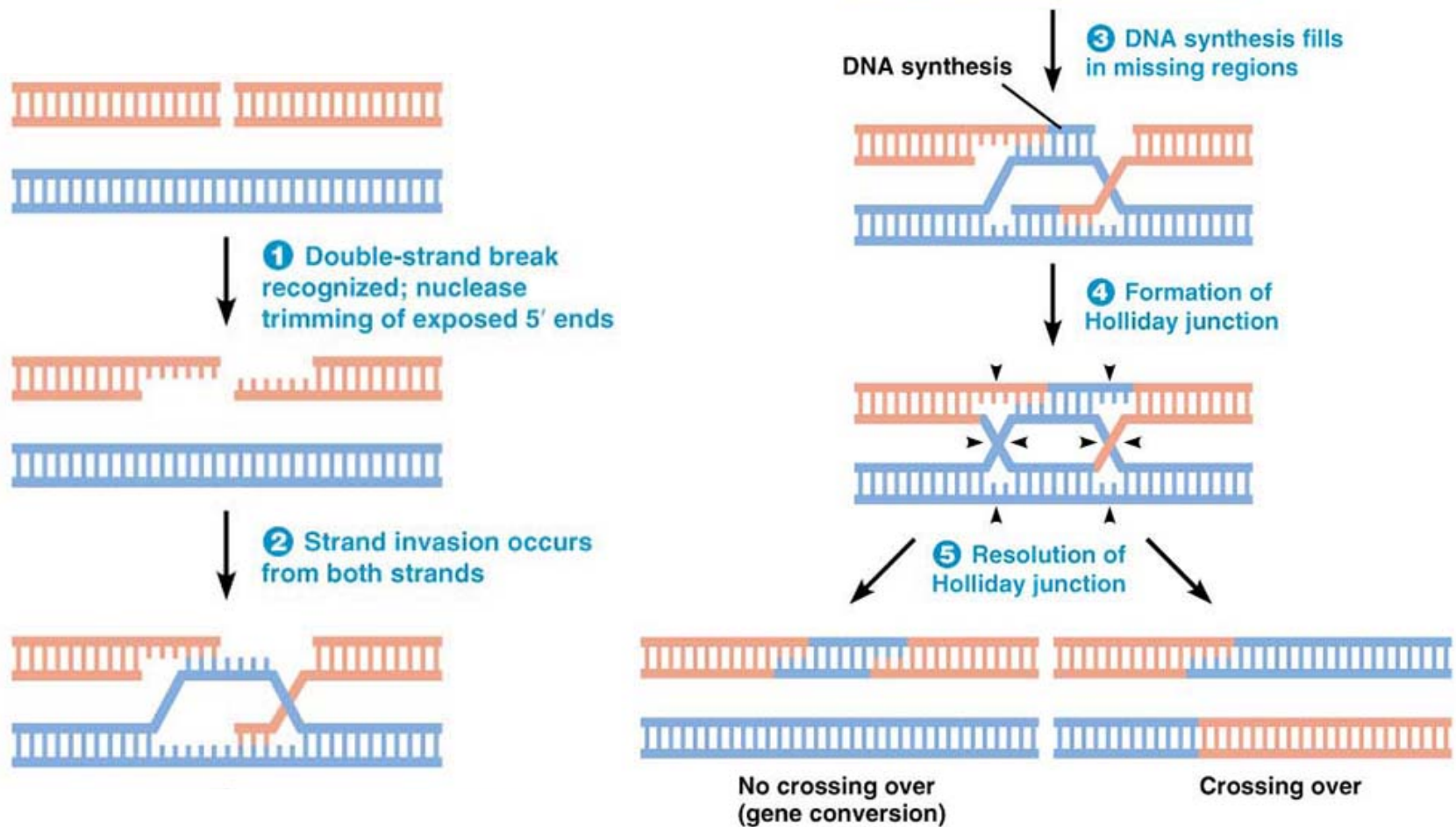
Minder efficiënt in meercellige eukaryoten.

Herstel dubbelstrengige DNA-breuk via NHEJ

- Breuk door X-straling of oxidatieve schade
- Ku-eiwitten binden op eindjes
- DNA-nucleasen trimmen eindjes
- DNA-ligase: herstel knip



Herstel dsDNA-breuk via homologe recombinitie



“Mutanten” in onze voeding

Om de variatie aan genotypes te vergroten, zijn in het midden van de vorige eeuw heel wat mutagenese-experimenten uitgevoerd op plantenzaden

o.a. via γ -straling van een radio-actieve bron.

Deze planten vallen niet onder de ggo-regelgeving.

14.2. Grote DNA-herschikkingen

Wanneer dsDNA-breuken hersteld worden via NHEJ

- kunnen verkeerde stukken aan elkaar gezet worden bv. van verschillende chromosomen (translocatie);
- kunnen grote stukken DNA tussengevoegd worden (insertie) of een groot stuk verdwijnen (deletie).

Transposons of springende genen kunnen niet alleen zelf bewegen in het genoom maar door de breuken die ze veroorzaken ook andere DNA-herschikkingen teweegbrengen.

Transposons = “jumping genes”

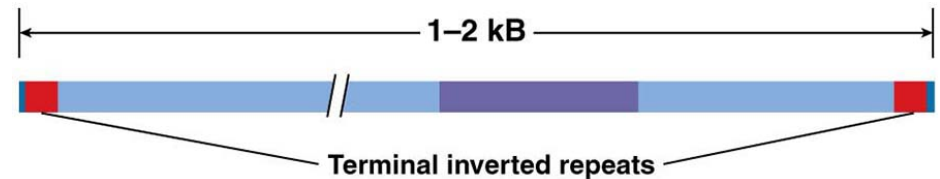
- ontdekt in maïs door Barbara McClintock midden vorige eeuw (Nobelprijs 1983)
- “Parasitair DNA”, van eenvoudig tot complexe structuur.
- In prokaryoten en eukaryoten.
- Springen via DNA (cut&paste of copy&paste) of via RNA dat in DNA omgezet wordt (retrotransposons).



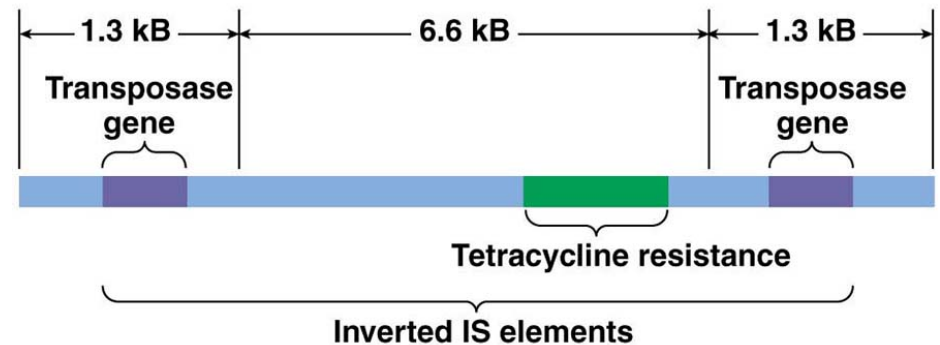
Transposons: van simpel tot complex

IS = insertiesequentie:
bevat enkel het gen voor
transposase en de
uiteinden die erdoor
herkend worden.

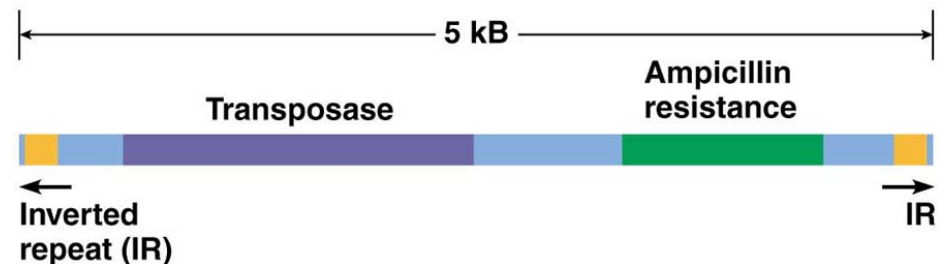
Tn3 & Tn10: Let op de
antibioticumresistentie die
via het transposon zeer
snel kan overgezet worden
bv. tussen verschillende
plasmieden.



(a) IS element



(b) *Tn10* (composite)



(c) *Tn3* (non-composite)

14.3. Genoomanalyse: meer inzicht

- Van *E. coli* en vele andere bacteriën is alle DNA gesequeneerd.
- Achtereenvolgens werden ook enkele genomen van eukaryoten in kaart gebracht en gesequeneerd: gist, *C. elegans*, *Drosophila*, mens, *Arabidopsis thaliana*, rijst,....
- **Human Genome Project (HUGO):**
bepalen van de sequentie en functie van het menselijk genoom.
- Internationale **computerdatabanken** met literatuur, sequenties, mutatie- en andere gegevens.

Genoomprojecten: China aan de top!

- <http://www.genomics.org.cn/>

Grootschalig Chinees project in Beijing (sinds juli 1999)

Beijing Genomics Institute:

- 2002: 81 automatische sequentietoestellen, 600 personen
- Toen 20 Mbasen sequentie per dag
- Namen deel aan menselijk genoom-project, waren de eerste om rijst te sequenceren, daarna soja, varken, kip,...
- Nu next-generation sequencing:
Gbasen/dag



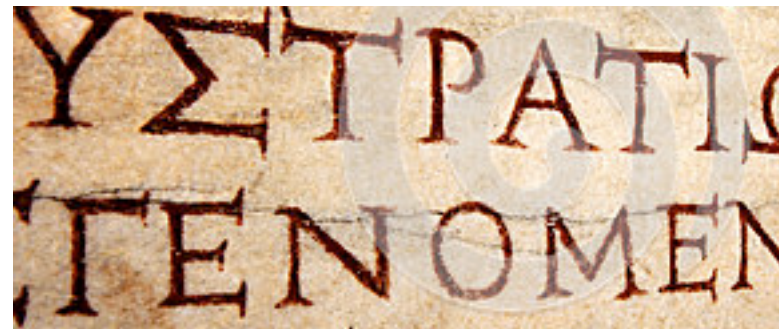
Sequentiedatabanken

- European Molecular Biology Laboratory
European bio-informatics institute
<http://www.ebi.ac.uk/>
- USA: National Center for Biotechnology Information
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Welke bewering is fout?

- A. Bacteriën kunnen enkel DNA doorgeven naar andere bacteriën
- B. Bacteriën kunnen DNA doorgeven naar planten
- C. Bacteriën kunnen DNA doorgeven naar dieren

14.3.1. Genoomevolentie



DNA = stabiel?

- Mutatie bv. SNPs
- Homologierecombinatie -> patchworkchromosomen
- Transposons: springende DNA-stukjes ->
- Duplicaties -> genfamilies
- Niet-homologe recombinatie -> random herschikkingen
- Horizontale of laterale gentransfer.



14.3.2. Vertikale vs. horizontale gentransfer

- Vertikale gentransfer = overdracht van genetisch materiaal binnen een soort, van ouders op nakomelingen
- Horizontal of laterale gentransfer (HGT): gentransfer tussen soorten, heel gewoon. tussen bacteriën, maar nu ook ontdekt bij eukaryoten

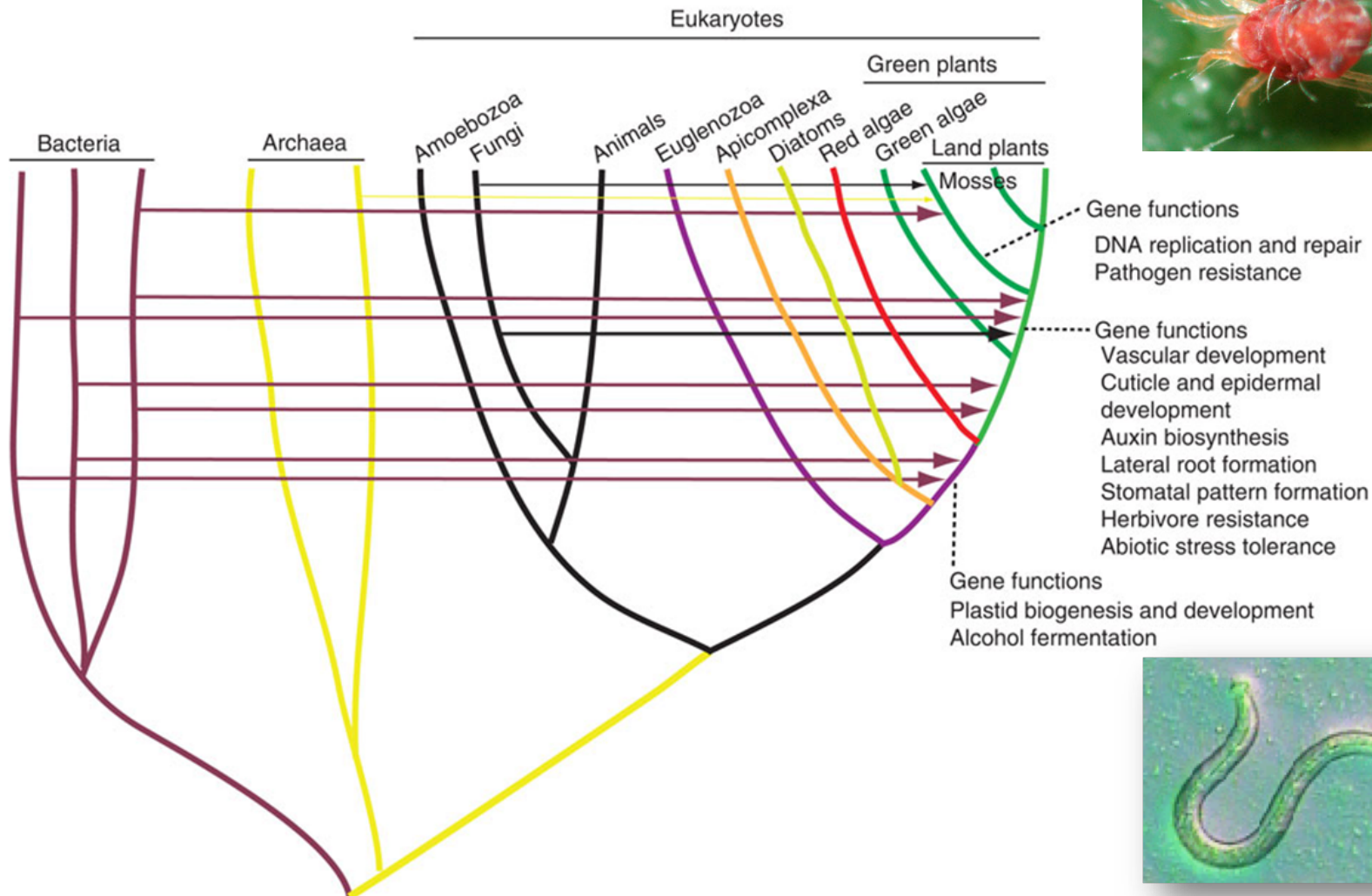


Plant-parasitaire nematoden kregen genen van bacteriën om de plantencelwand te kunnen afbreken bv. cellulase.



Horizontale gentransfer van bacteriën naar eukaryoten

Wybouw et al. eLife 2014;3:e02365. DOI: 10.7554/eLife.02365



Danchin BMC Biology (2016) 14:101 DOI 10.1186/s12915-016-0330-x

Horizontale gentransfer



Alle 300 geteste zoete aardappelrassen van over de ganse wereld bevatten T-DNA van *Agrobacterium*:

- onbekende bacteriestam
- Ook aanwezig in verwante wilde soorten, gebeurde meer dan 1 miljoen jaar geleden?
- natuurlijke GGO?

(Kyndt *et al.*, 2015)



β -cyanoalaninesynthase en cysteinesynthase vanuit **bacterie** naar **mijtgenoom beschermt tegen cyanide-vergiftiging** door de plant (Wybouw *et al.*, 2014).

Horizontale gentransfer

Wat zit er allemaal in
ons DNA??!!



"Let's work with what we've got —
take a few of the more promising
apes, and add some extra memory."