

## Mutácie – ako vznikajú a čo s nimi?

Doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, PhD.

### Ukážka z pripravovaných učebných textov

Genetika je veda o dedičnosti a premenlivosti. Jej základy položil augustiniánsky mních pôsobiaci v neďalekom Brne (pozri <https://mendelmuseum.muni.cz/>), Johann Gregor Mendel. Jeho experimenty s krížením hrachu mu umožnili postulovať zákony dedičnosti. Jeho práca publikovaná v roku 1865 nebola počas jeho života ocenená, pričom svoju úlohu tu zohrala práve úloha premenlivosti.

#### Dedičnosť a premenlivosť

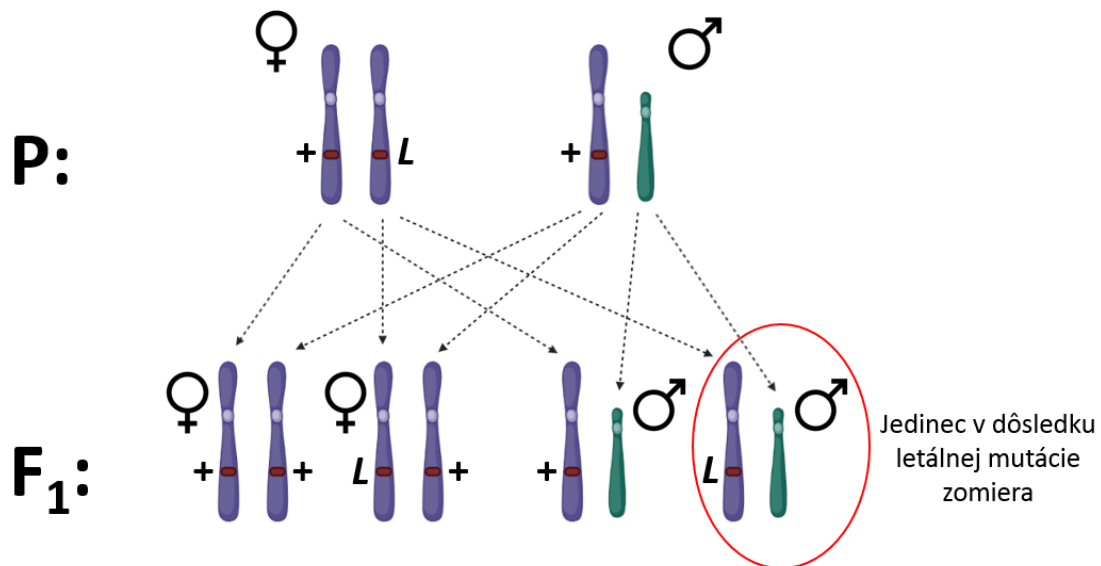
Premenlivosť rozlišujeme dedičnú a nededičnú. Pri nededičnej sú rozdiely medzi jedincami spôsobené vplyvom podmienok vonkajšieho prostredia a tieto zmeny sa neprenášajú na potomkov. Ide o zmeny vo fenotype. Mnohými z nich sa dnes zaoberá vedný odbor epigenetika. Dedičná premenlivosť predstavuje zmeny na úrovni genetickej informácie, t. j. ide o zmeny v genotype organizmu.

Pojem „mutácia“ zaviedol do genetiky jeden zo znovuobjaviteľov Mendelových zákonov Hugo de Vries, ktorý pozoroval vznik nových fenotypov pupalky dvojročnej. Keďže sa výrazne odlišovali od svojich rodičov, predpokladal, že ide o nové druhy. Aby mohol opísať ich vznik, zaviedol v roku 1901 pojem „mutácia“ a postuloval mutačnú teóriu, ktorá sa však neukázala ako úplne správna (predpokladal, že mutácie vznikajú skokovo – diskontinuitne – na rozdiel od Darwinovej predstavy o postupnej akumulácii nových odchýlok, z ktorých selekcia vyberá reprodukčne najzdatnejšie varianty). Experimenty uskutočnené v nasledujúcich rokoch ukázali, že u pupaliek nešlo o vznik nových druhov, ale pozorované odlišnosti boli spôsobené veľkými zmenami v štruktúre chromozómov.

#### Mullerov experiment

Významný míľnik v skúmaní mutácií však priniesla práca Hermanna Josepha Mullera z roku 1927. Muller (bol členom laboratória ďalšieho významného genetika Thomasa Hunta Morgana) vďaka svojim experimentom ukázal, že frekvenciu mutácií je možné zvýšiť externým agensom, v tomto prípade ionizačným žiarením. Jeho experimenty mali pre ďalšie štúdium genetiky revolučný význam, pretože vďaka nim bolo možné získať mutantov nevyhnutných pre štúdium dedičnosti rôznych znakov.

Mullerov objav bol možný vďaka tomu, že vyvinul jednoduchú metódu, umožňujúcu sledovať frekvenciu recesívnych letálnych mutácií viazaných na chromozóm X. Ako modelový organizmus použil drozofilu, pričom u drozofily je pohlavie determinované prítomnosťou pohlavných chromozómov X a Y, samička nesie dva X chromozómy a samček dva rôzne chromozómy X a Y. Vďaka takejto determinácii pohlavia je zabezpečené, že po krížení samičky so samčekom získame v potomstve pomer pohlaví 1:1. Recesívna mutácia sa prejaví len v prípade, že sa v genotype nenachádza štandardná alela, t.j. napríklad u samčekov, ktorí majú len jeden X chromozóm s recesívnou alelou (lebo na Y chromozóme sa nachádzajú iné gény). Princíp Mullerovho experimentu spočíval v tom, že recesívna letálna mutácia na chromozóme X bude viesť k zníženému výskytu samčekov v potomstve, t.j. dôjde k zmene v pomere pohlaví (Obr. 1).



Obr. 1: Princíp testu na recesívne letálne mutácie viazané na pohlavný chromozóm. Ak u samičky v parentálnej generácii dôjde k vzniku recesívnej letálnej mutácie, v ďalšej generácii k zníženiu frakcie samčekov, t.j. dôjde k zmene v pomere pohlaví.

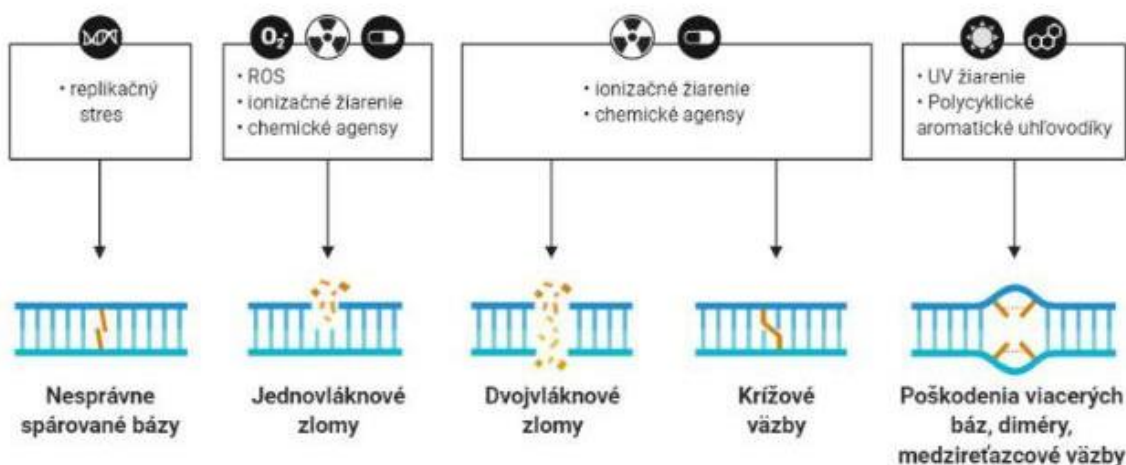
Genialita tohto experimentu spočíva v jeho jednoduchosti: pri vyhodnocovaní frekvencie recesívnych letálnych mutácií stačí počítať skúmavky, v ktorých chýbajú samčekovia. Muller vďaka svojim experimentom vyzdvihol fakt, ktorý sa nám dnes možno zdá triviálny, ale v tom čase bol revolučný, a to že v evolúcii nezohrávajú úlohu dedičnosť a premenlivosť, ale dedičná premenlivosť. Je tiež dôležité uvedomiť si, že Muller vo svojej práci veľmi presne popísal základné vlastnosti génu bez toho, že by mal akékoľvek vedomosti o jeho chemickom základe!

Hoci hmotný nositeľ genetickej informácie v tom čase ešte nebol známy, vedci predpokladali, že makromolekula, v ktorej je zakódovaná genetická informácia, by mala byť výnimočne stabilná. V čase, keď Muller uskutočňoval svoje experimenty, už bolo jasné, že genetická informácia bude spojená s chromozómami. Ešte sa však nevedelo, či budú hmotným nositeľom proteíny alebo nukleová kyselina. Nukleová kyselina sa vedcom zdala byť chemicky príliš jednoduchá a málo variabilná na to, aby v nej mohla byť uložená genetická informácia a predpokladali, že genetickú informáciu treba hľadať predovšetkým v štruktúre proteínov, pre ktoré DNA len vytvára lešenie.

Až do 40. rokov minulého storočia tak bola za základ dedičnosti väčšinou vedcov považovaná proteínová zložka chromozómov, nakoľko, na rozdiel od 4 nukleotidov v DNA, proteíny pozostávajú až z 20 rôznych aminokyselín, ktorých kombinácia pre úschovu genetickej informácie poskytuje oveľa väčšie možnosti. Presvedčiť vedeckú komunitu o dôležitosti DNA ako nositeľky genetickej informácie nebolo práve preto rýchle a jednoduché a vyžadovalo to množstvo experimentálnych dôkazov, ktoré vedci postupne získavali. Kľúčový význam pre výskum mutácií však malo objavenie štruktúry DNA v polovici 20. storočia Watsonom a Crickom, ktorí molekulu DNA opísali ako dvojzávitnicu a navrhli semikonzervatívny spôsob jej replikácie, ktorý je založený na špecifickom párovaní báz zaisťujúcom presný prenos genetickej informácie z generácie na generáciu.

## Poškodenie DNA – potenciálny zdroj mutácií

Objav štruktúry DNA priniesol jeden neodškriepiteľný fakt, a to že DNA je veľmi dynamická molekula, ktorá neustále podlieha zmenám. Tieto zmeny pramenia z jej chemickej podstaty, ale sú spôsobené aj vodným prostredím, v ktorom sa DNA nachádza a tiež môžu byť vyvolané vonkajšími agensami (Obr. 2). Tieto zmeny označujeme ako poškodenia DNA a sú potenciálnym zdrojom mutácií. Proces, akým sa z poškodenia DNA stane mutácia, je obvykle viackrokový a bunky majú veľa možností ako tento proces zvrátiť a obnoviť integritu molekuly DNA.

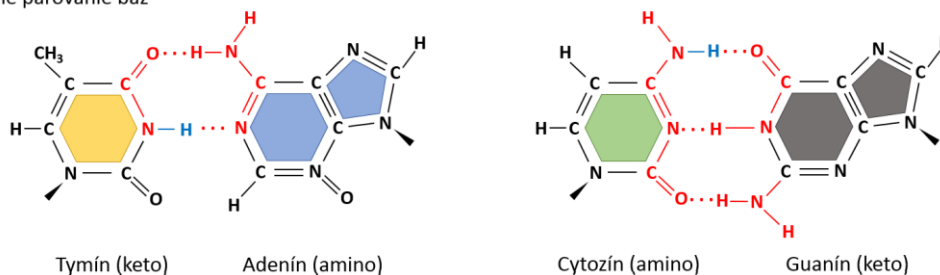


Obr. 2: Zdroje poškodenia DNA.

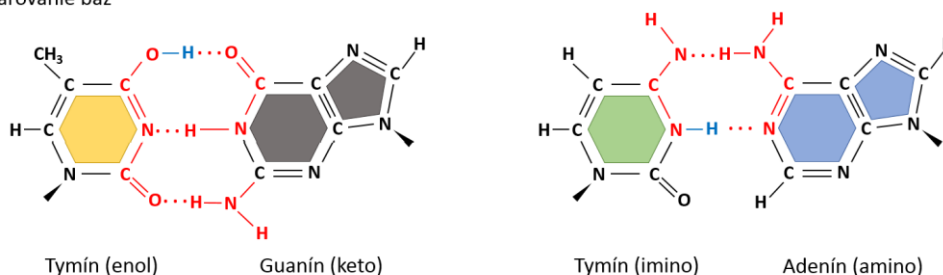
## Endogénne príčiny vzniku poškodenia DNA

Spomedzi zmien, ku ktorým dochádza v dôsledku chemických vlastností DNA, spomenieme tautomérené prešmyky a chyby pri replikácii. Pri tautomérnych prešmykoch ide o presun atómov vodíka v rámci bázy, ktorých dôsledkom môžu byť zmenené párovacie schopnosti takejto bázy. Uvedme si to na príklade cytozínu. Cytozín sa v bežnej aminoforme páruje s guanínom, ak však dôjde v rámci jeho molekuly k tautomérnemu prešmyku a vznikne menej častá iminoforma, tá sa páruje a adenínom (Obr. 3). Takýto chybné spárovaný básový pár ešte nemôžeme považovať za mutáciu a bunka má mechanizmy, ako ho môže eliminovať. Ak sa jej to však nepodarí a prebehne replikácia, po nej už vzniká mutácia, pri ktorej sa pôvodný C-G pár zamenil za T-A pár.

Štandardné párovanie báz



Chybné párovanie báz



Obr. 3: Zmenené párovacie vlastnosti nukleotidov v prípade, ak došlo k tautomérnemu prešmyku: hore štandardné párovanie, dole zmenené párovanie v dôsledku prešmyku.

Podobne môže mutácia vzniknúť aj pri replikácii DNA, kedy enzým DNA polymeráza zaradi nesprávny nukleotid alebo nejaký pridá alebo vynechá. Aj v tomto prípade na začiatku vzniká chybné spárovaný básový pár, ktorý bunka ešte môže opraviť, dokonca samotný enzým DNA polymeráza má takúto korekčnú aktivitu. Ak sa to však nepodarí, po ďalšom kole replikácie vznikne mutácia, pri ktorej dôjde k zámene pôvodnej bázy za inú – tzv. substitúcia báz.

**Aké ďalšie typy poškodení DNA poznáme a aké mutácie tieto poškodenia spôsobujú, sa dozvieme v prednáške „Mutácie – ako vznikajú a čo s nimi?“ a v našej pripravovanej publikácii.**