

ĐỘT BIẾN GEN

(Bệnh phân tử)

ĐỘT BIẾN GEN

❖ Mục tiêu:

- Trình bày được các nguyên nhân và cơ chế gây nên một số kiểu đột biến gen.
- Giải thích được cơ chế ở mức phân tử một số bệnh đột biến ở người (Hemoglobin, Thalassemia, Xeroderma Pigmentosum).

ĐỘT BIẾN GEN

I. Khái niệm:

- + Là những biến đổi xảy ra bên trong cấu trúc gen.
- + Khi đột biến tạo ra các **allele khác nhau**.
- + Do biến đổi **1 Nu** hay **nhiều Nu**.
- + **Không phát hiện được** khi quan sát tế bào học.
- + Đột biến tự nhiên → Tần số đột biến tự nhiên đối với mỗi gen là ổn định.
 - + **Mức độ đột biến (mutation rate)?**
 - + **Tần số đột biến gen (mutation frequency)?**

Mức độ đột biến gen: Số lượng đột biến trên đơn vị sinh học.

Ví dụ: Tỷ lệ đột biến ở hội chứng loạn sản sụn là khoảng 4 đột biến trên 100.000 giao tử, thường ghi tắt là 4.10^{-5} .

Tần số đột biến: Tỷ lệ của một loại đột biến cụ thể trong một nhóm các sinh vật riêng lẻ.

Ví dụ : đối với hội chứng loạn sản sụn, tần số đột biến trong Hoa Kỳ là khoảng 2.10^{-4} có nghĩa là khoảng 1 / 20.000 người trong dân số Mỹ mang đột biến.

I. Phân loại đột biến gen

1. Ảnh hưởng lên cấu trúc của gen
2. Ảnh hưởng lên cấu trúc của protein
3. Nguồn gốc các đột biến

1. Ảnh hưởng lên cấu trúc của gen

Đột biến gen hay đột biến điểm (point mutations)

❖ Thay thế Nu

❖ Mất Nu

❖ Thêm Nu

Đột biến gen hay đột biến điểm

Biến đổi rất nhỏ trên một đoạn **DNA**, thường liên quan đến **1 Nu** hay **1 cặp Nu**.

Đột biến thay thế

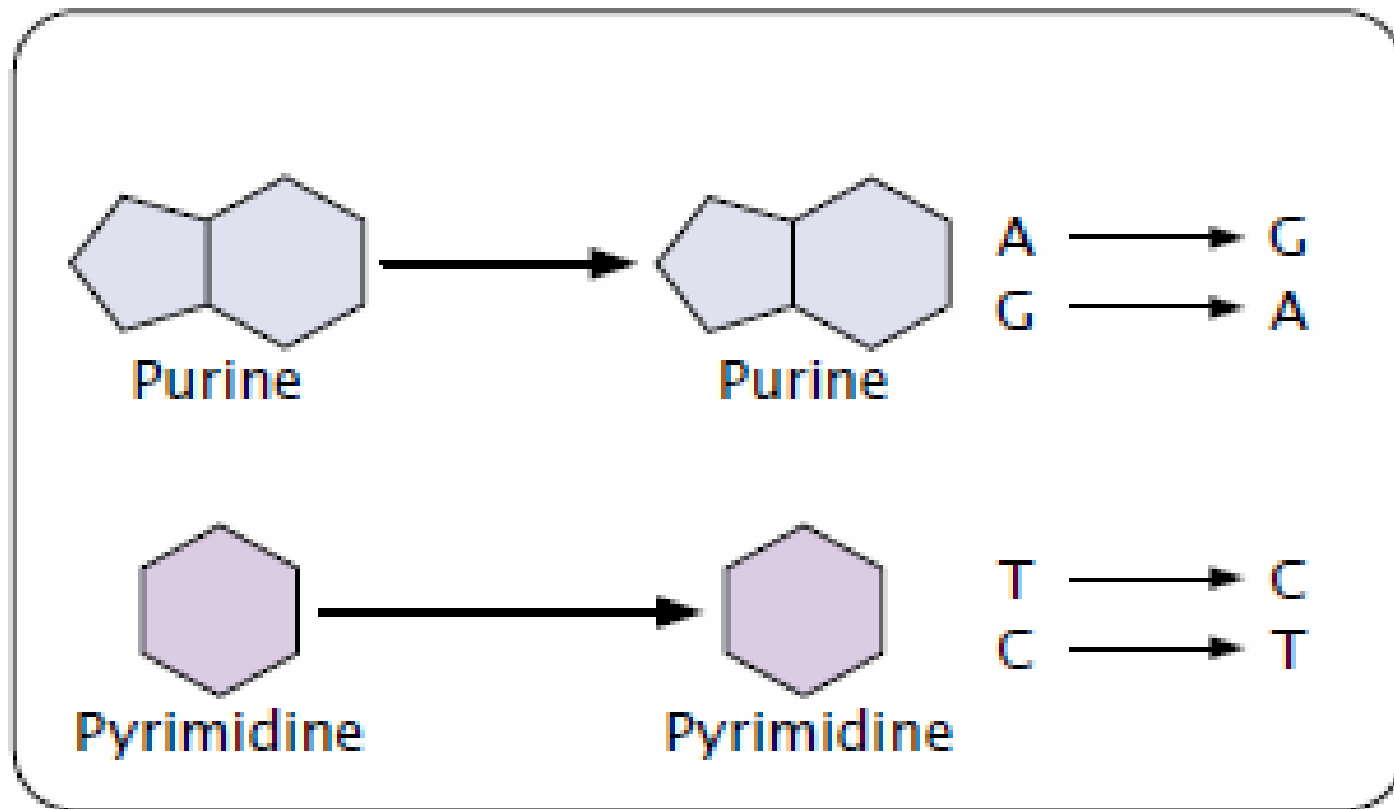
Thay một Nu này bằng một Nu khác

+ **Đồng chuyển (Transition)**

pyrimidine \rightarrow pyrimidine : **C** \leftrightarrow **T**

purine \rightarrow purine: **A** \leftrightarrow **G**

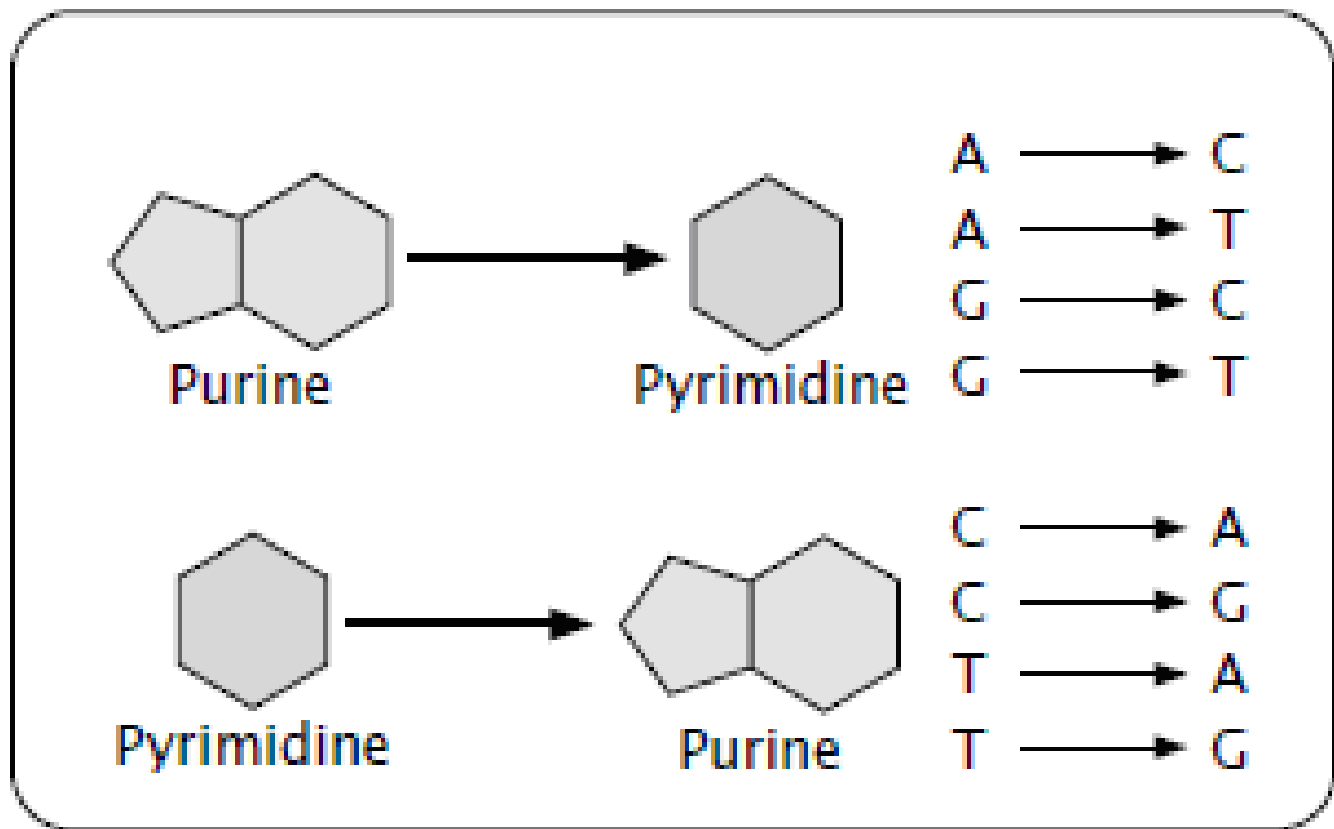
+ Đồng chuyển (Transition)



Đột biến gen hay đột biến điểm

+ Đảo chuyển (Transversion):

Khi pyrimidine được thay thế bởi purine hay purine bởi pyrimidine: $C/T \leftrightarrow A/G$



Đột biến gen hay đột biến điểm

+ Mất Nu (Deletions):

Mất 1 Nu của gen

+ Thêm Nu (Insertions):

Thêm 1 Nu vào gen.

I. Phân loại đột biến gen (tt)

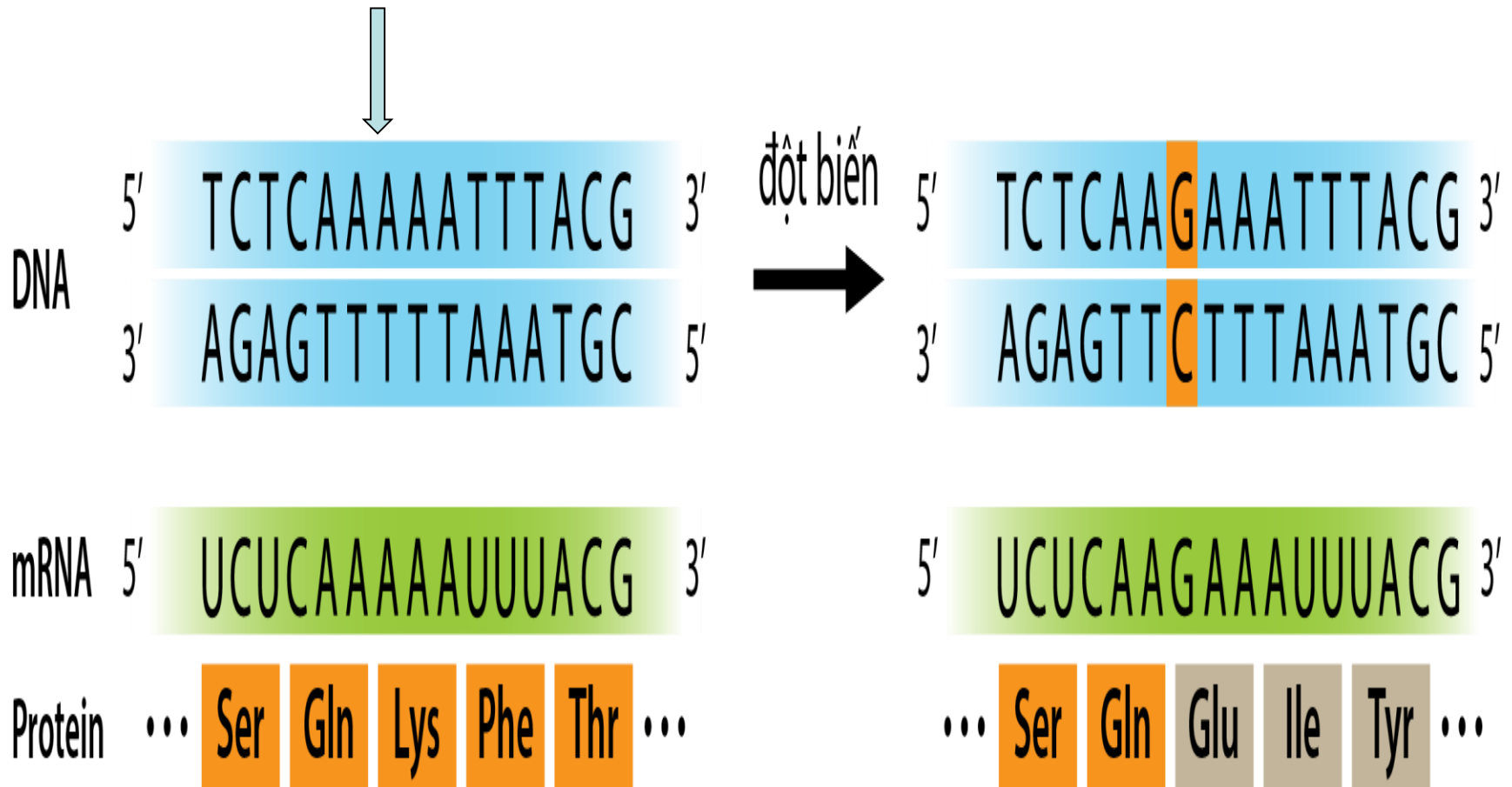
1. Ảnh hưởng lên cấu trúc của gen

2. Ảnh hưởng lên cấu trúc của protein

2.1. Đột biến lệch khung

Sự thêm một base hay làm mất một base → các codon sai nghĩa hay vô nghĩa so với codon tương ứng ban đầu từ điểm biến đổi về sau.

2.1. Đột biến lệch khung



Hình 4. 5. Đột biến thêm cặp base G-C trên DNA

2.1. Đột biến lệch khung (tt)

T  **Mất Nu (Deletion)**

GGG AGT GTA GAT CGT

GGG AGT GAG ATC G TC


Codon bị thay đổi

2.2. Đột biến đồng nghĩa (synonymous mutation) - Đột biến im lặng (silent)

Khi **codon** mã hóa cho một amino acid bị **biến đổi**, thường ở **base thứ 3** nên **vẫn mã hóa cho amino acid** đó (do tính suy thoái của mã di truyền) hay sự **đột biến xảy ra ở vùng không mã hóa**.

2.3. Đột biến vô nghĩa (Non - sense):

Khi codon có Nu bị biến đổi → các codon kết thúc UAA, UAG, UGA.

2.4. Đột biến sai nghĩa (Mis - sense):

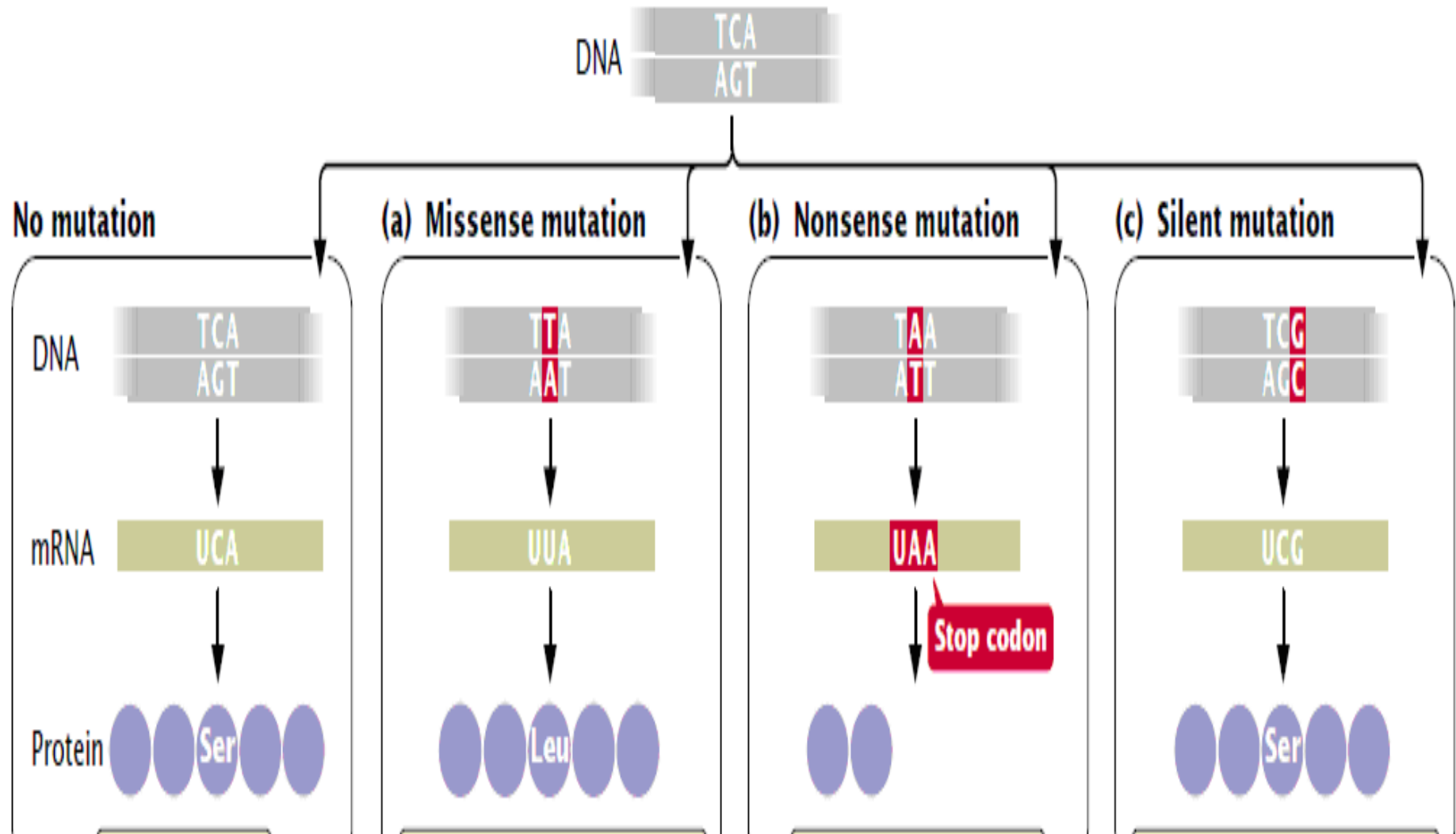
Khi codon của amino acid này biến thành codon mã hóa cho amino acid khác → thay đổi amino acid tương ứng trên phân tử protein.

2.5. Đột biến trung tính (Neutral)

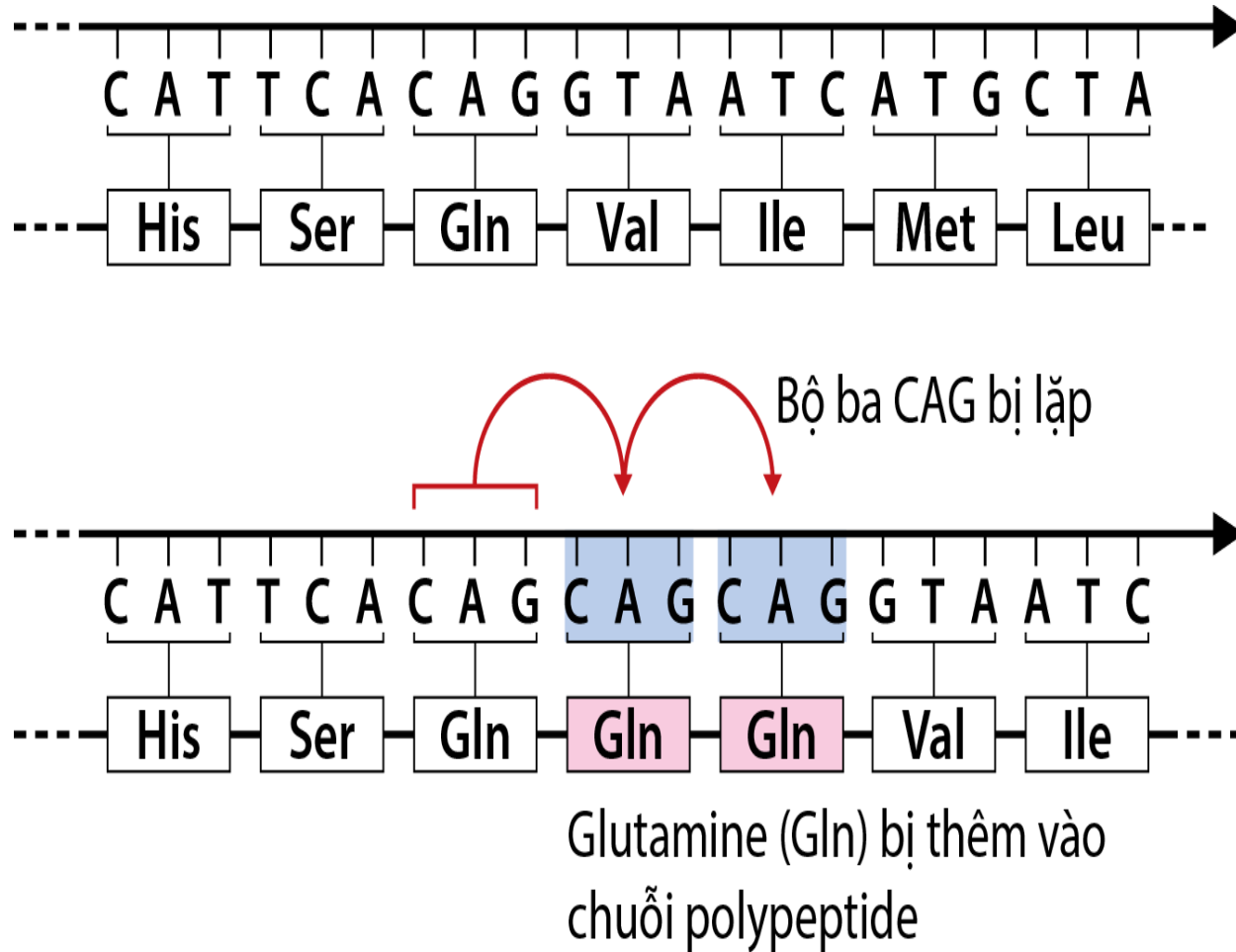
Một acid amin bị thay thế bằng một acid amin khác tương tự về mặt hóa học hay acid amin bị thay thế này ít có ảnh hưởng đến chức năng của protein.

AAA (arginine) → AGA (lysine)

Ảnh hưởng lên cấu trúc của protein



2.6. Sự gia tăng những trình tự trinucleotide lặp lại:



Hội chứng NST X dễ bị gãy (fragile - X syndrom).

**NST đồ, Kết
quả DT
phân tử
(DNA)**



Chậm phát triển tâm thần trung bình ở trẻ nam, hiếu động, có biểu hiện của tự kỷ. Chậm phát triển tâm thần nhẹ ở trẻ nữ

Sự gia tăng những trình tự trinucleotide lặp lại: (ĐB lặp lại)

ĐB gia tăng CGG ở gen FMR -1 ở Xq27.3 (mã hóa Protein FMRP nhiều ở neuron) → gây nên hội chứng NST X dễ bị gãy (fragile - X syndrom).

Đầu mút của NST X bị xoắn lại (fragile site) → chậm phát triển trí tuệ.

Một nhà nghiên cứu về Hb dự đoán rằng histidin trong protein có vai trò quan trọng trong việc kết hợp với oxy. Cô ta sử dụng tác nhân gây đột biến trực tiếp vào một vị trí để thay đổi codon mã hóa cho histidin (CAU) thành codon mã hóa cho lysine (AAA). Tuy nhiên Hb bị đột biến vẫn mang oxy giống như bình thường. Loại đột biến này được gọi là:

- A.Đột biến ức chế
- B.Đột biến đồng nghĩa
- C.Đột biến vô nghĩa
- D.Đột biến trung tính
- E.Đột biến lệch khung

3. Nguồn gốc các đột biến

3.1. Đột biến ngẫu nhiên: (spontaneous mutations)

- Xảy ra trong tự nhiên một cách ngẫu nhiên
- Tần số nhất định
- Không xác định được nguồn gốc

Ví dụ: các sai sót trong quá trình sao chép DNA

3.1. Đột biến ngẫu nhiên: (spontaneous mutations)

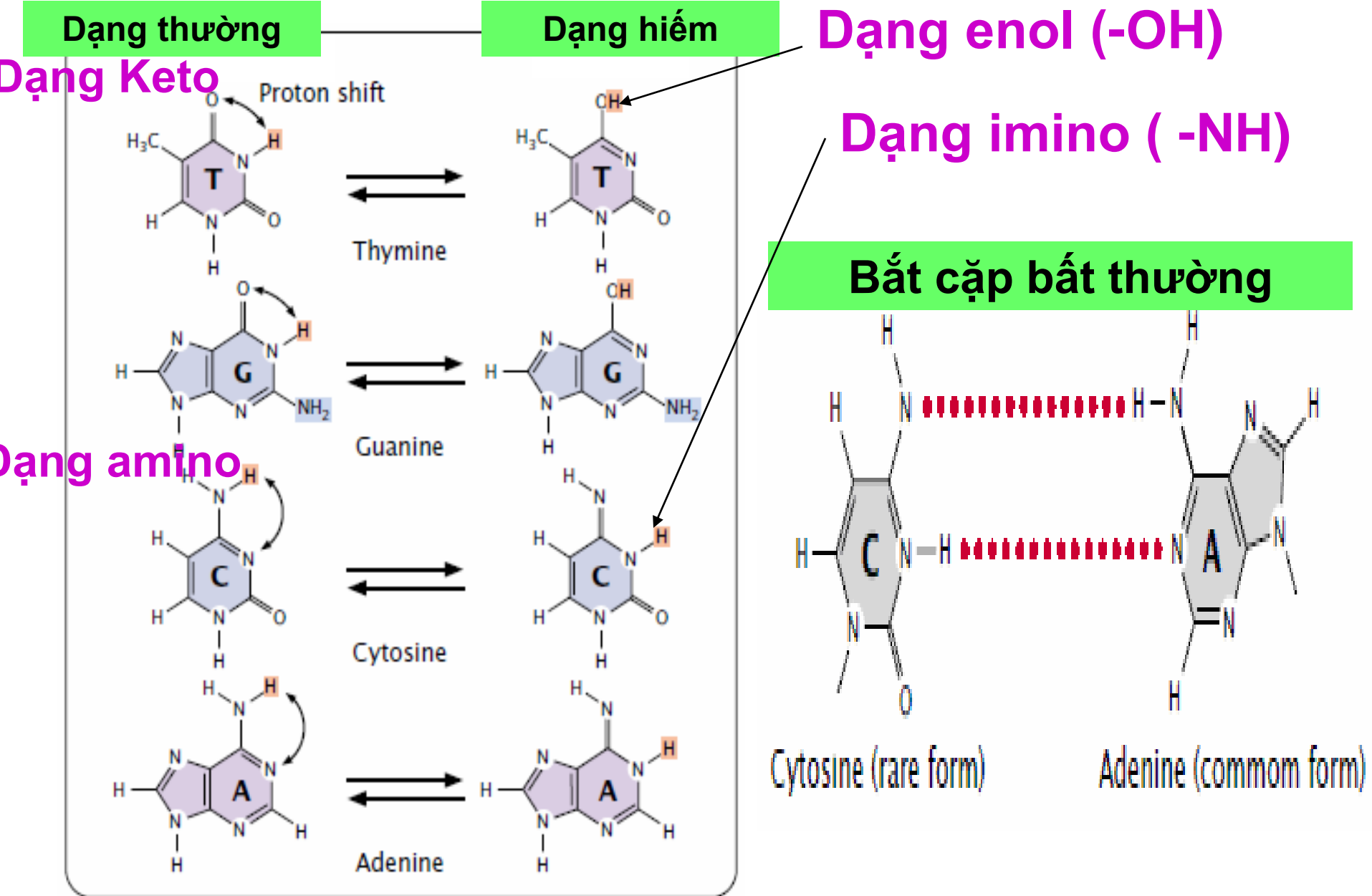
➤ Nguyên nhân:

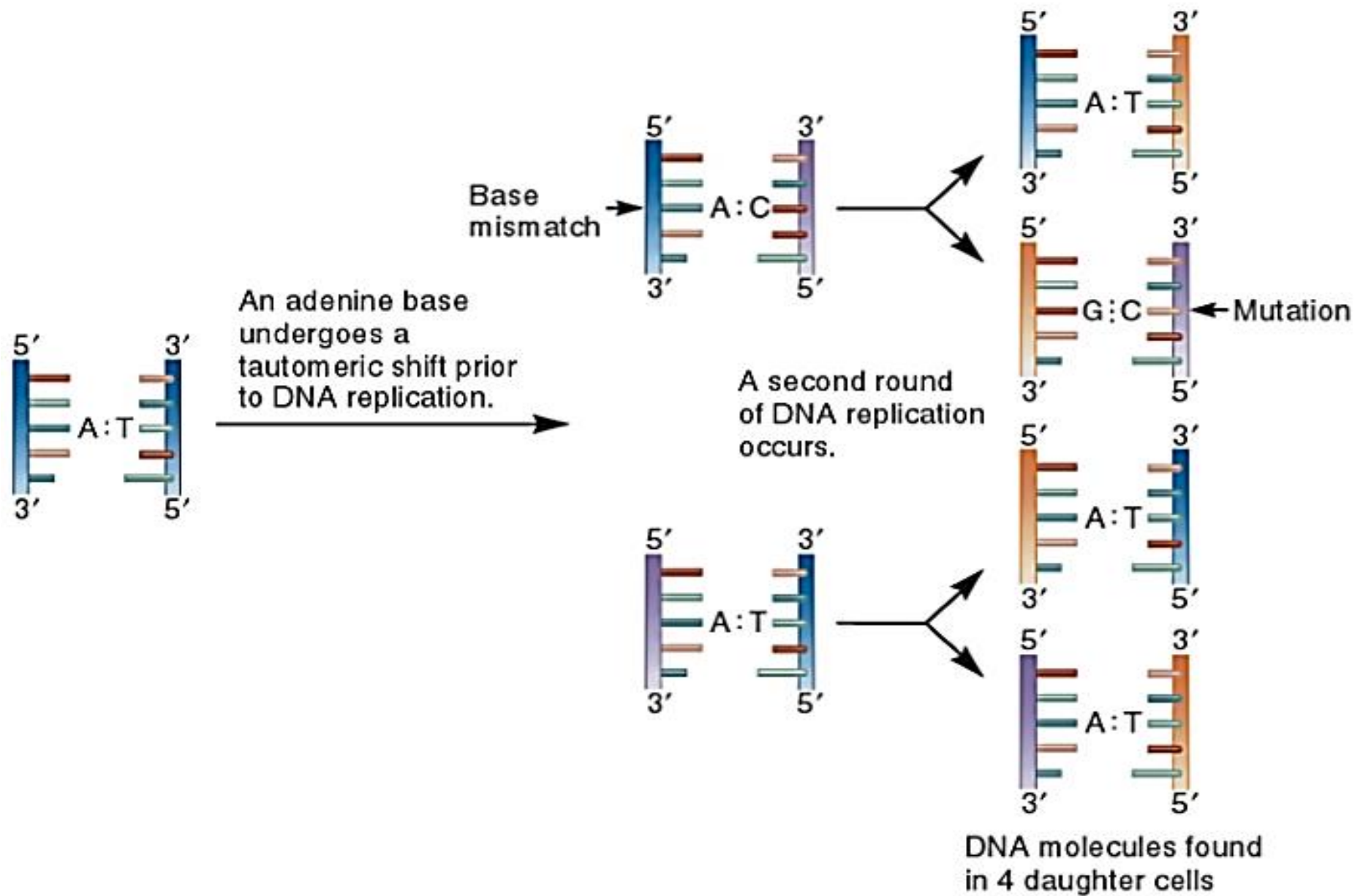
❖ Hổ biến (tautomerism)

Một base bị thay đổi bằng sự thay đổi vị trí của nguyên tử hydrogen → thay đổi liên kết hydro → sự bắt cặp sai → tạo đột biến qua sao chép DNA

Base bình thường → base hiếm

❖ Hiện tượng tautomer





Dạng hiếm enol của thymine bắt cặp với guanine. Nếu một thymine được enol hóa trong suốt quá trình nhân đôi, sự kiện nào sau đây sẽ xảy ra?

A.CG thành AT

B.GC thành TA

C.AT thành TA

D.TA thành CG

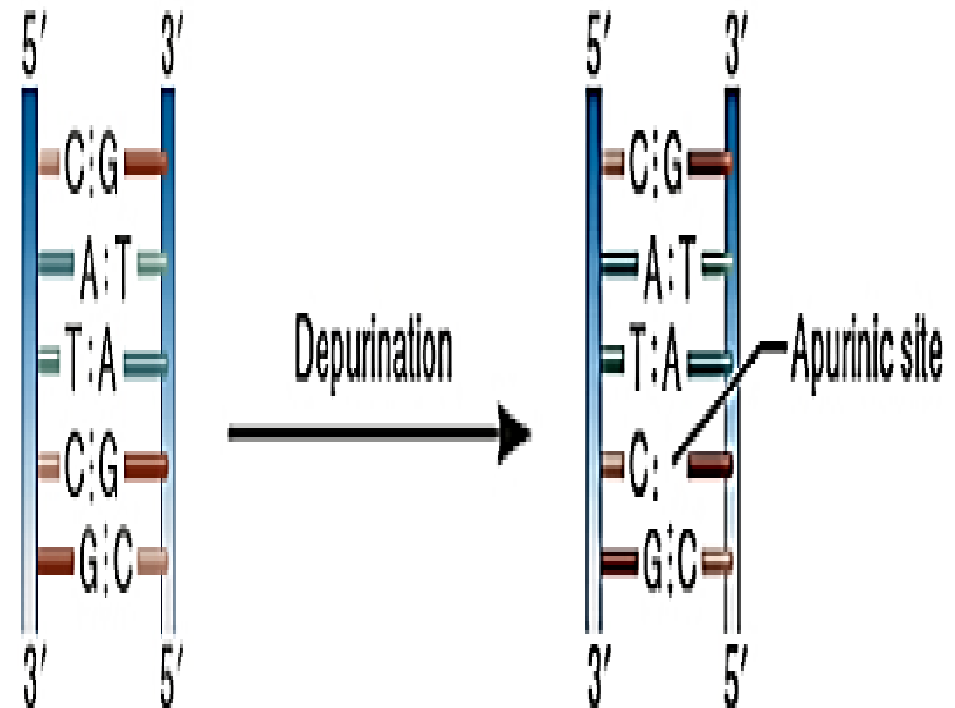
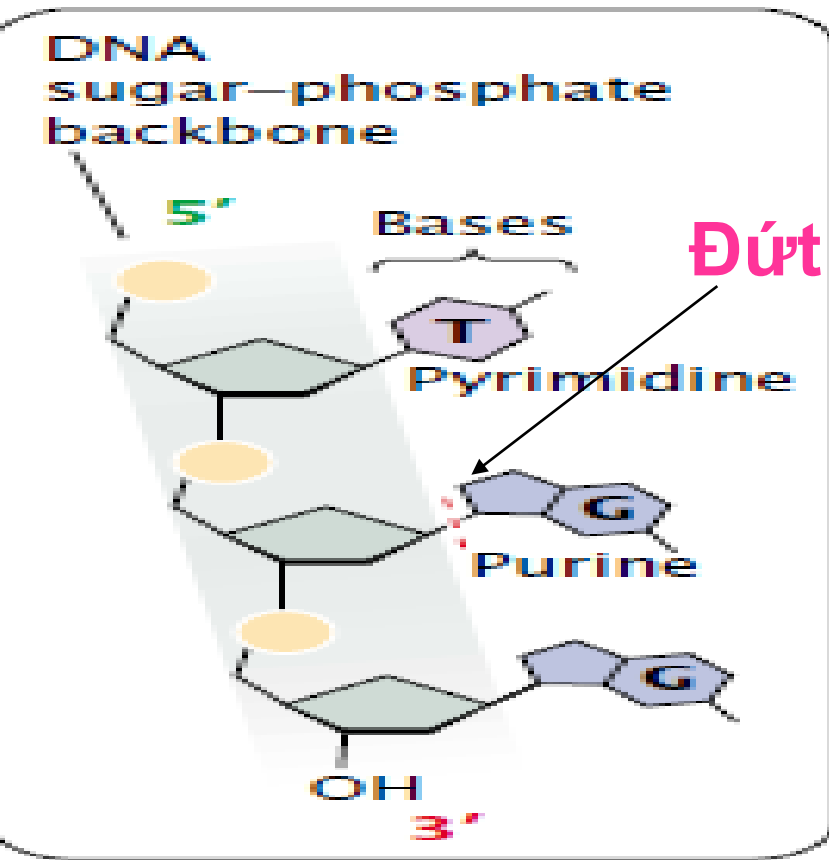
3.1. Đột biến ngẫu nhiên: (spontaneous mutations)

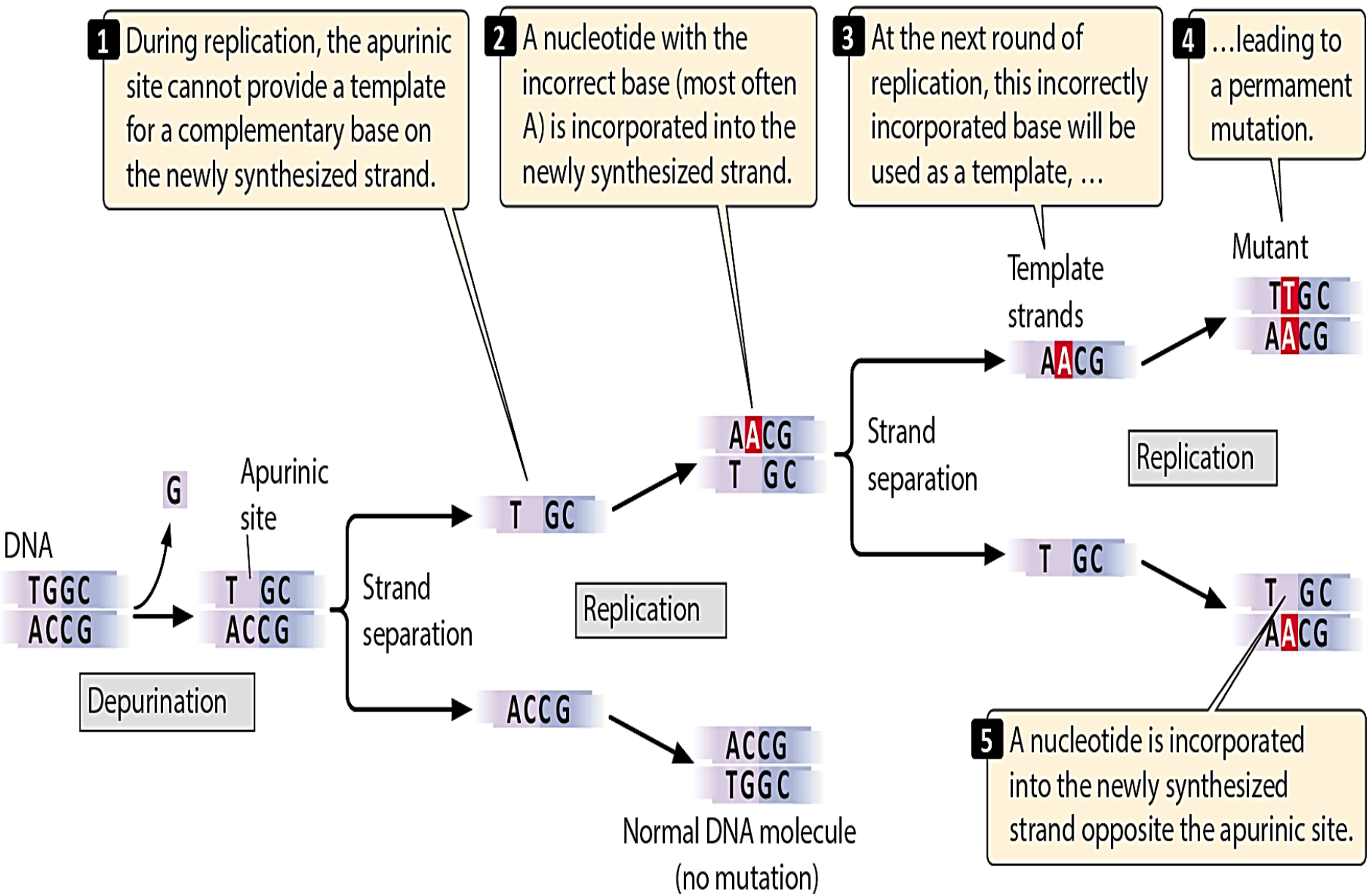
❖ Khử purin (Depurination):

- Liên kết glycoside giữa C₁ của pentose và base bị đứt → mất A hoặc G.
- Thường xảy ra.
- Không có bắt cặp bổ sung ở điểm mất → dễ tạo ra đột biến qua sao chép.

3.1. Đột biến ngẫu nhiên: (spontaneous mutations)

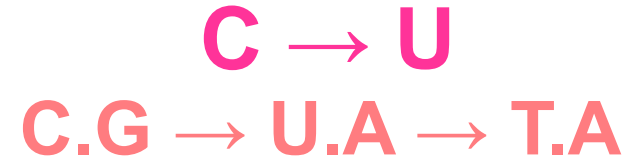
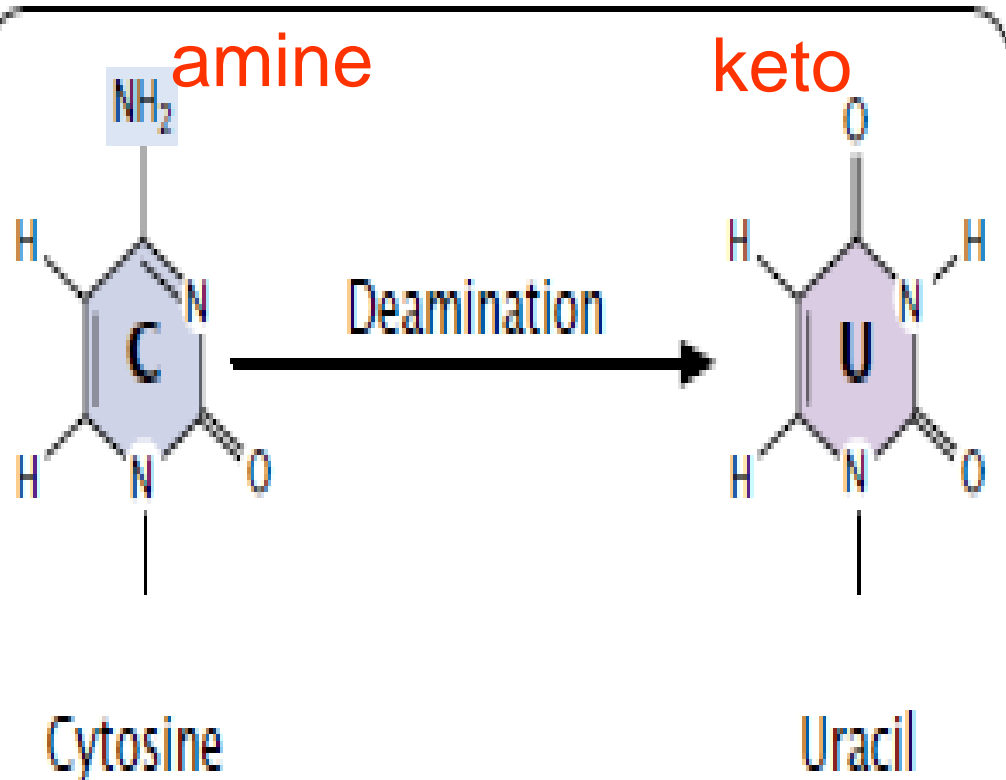
❖ Mất purin (Depurination):





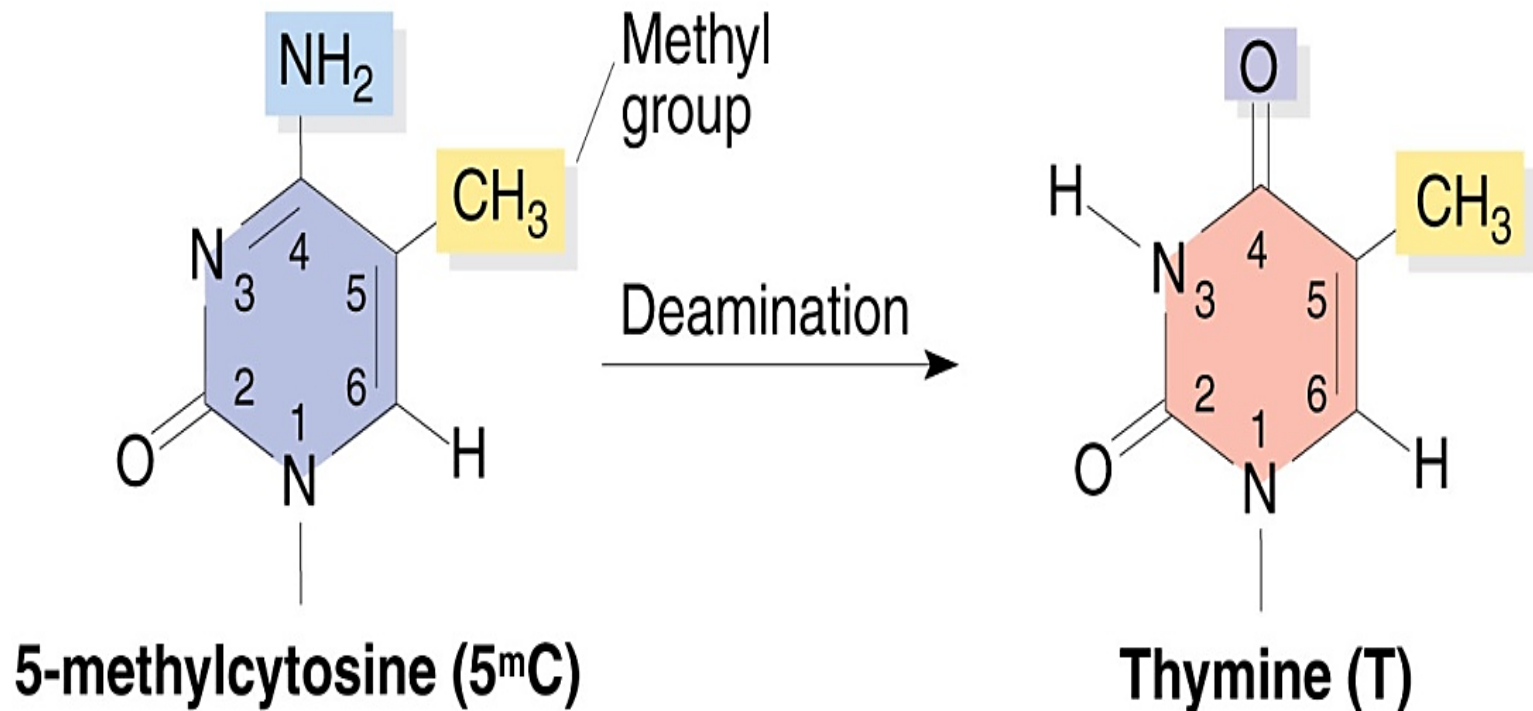
3.1. Đột biến ngẫu nhiên: (spontaneous mutations)

❖ Mất amin (Deamination):



Loại đột biến này luôn luôn được phát hiện và sửa chữa bởi các enzyme (uracil DNA – glycosylase).

b) Deamination of 5-methylcytosine (5^mC) to thymine



3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

- Do các tác nhân gây đột biến (mutagens).
- Các tác nhân này làm tăng tần số đột biến **cao** hơn mức tự nhiên.

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

3.2.1. Các tác nhân hóa học:

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):

Hiện diện trong suốt quá trình sao chép DNA → liên kết sai để tạo DNA mới.

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

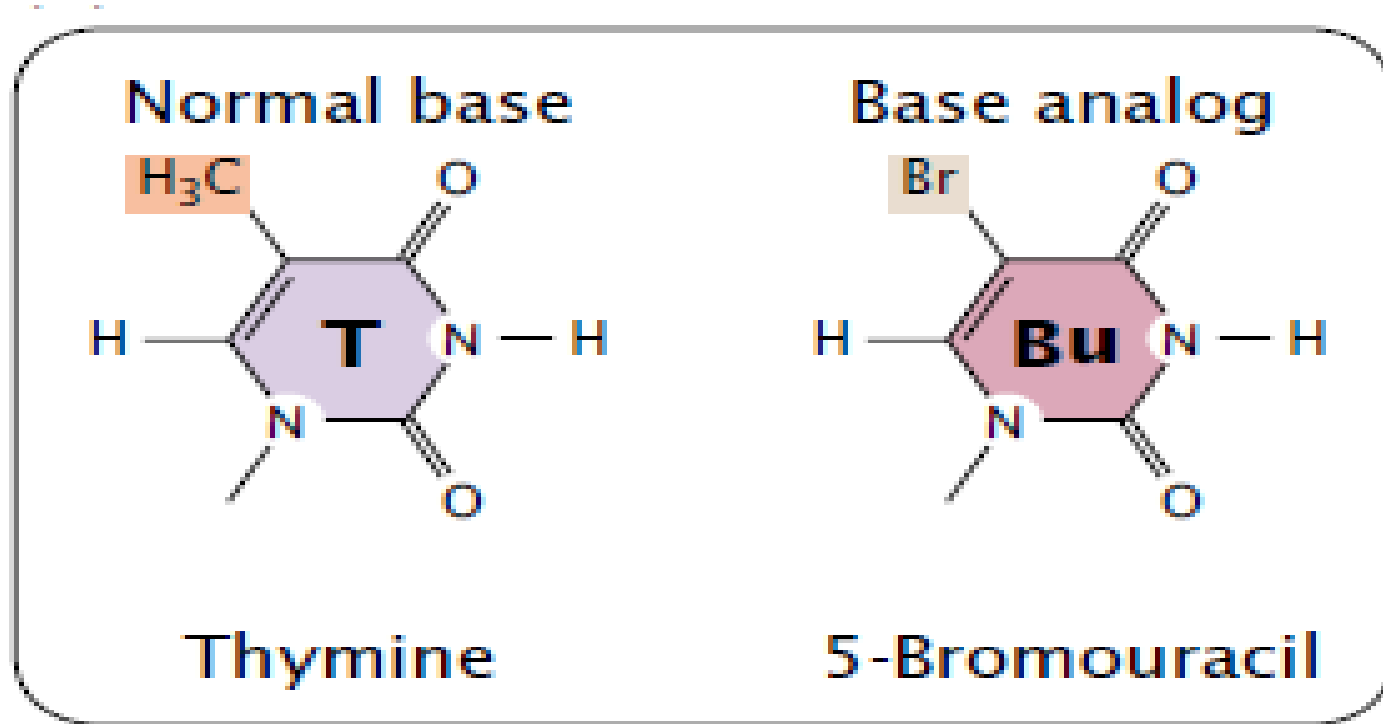
Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):

+ 5 -bromouracil (5BU) là một đồng đẳng của thymine.

+ 5BU.A hoặc 5BU.G

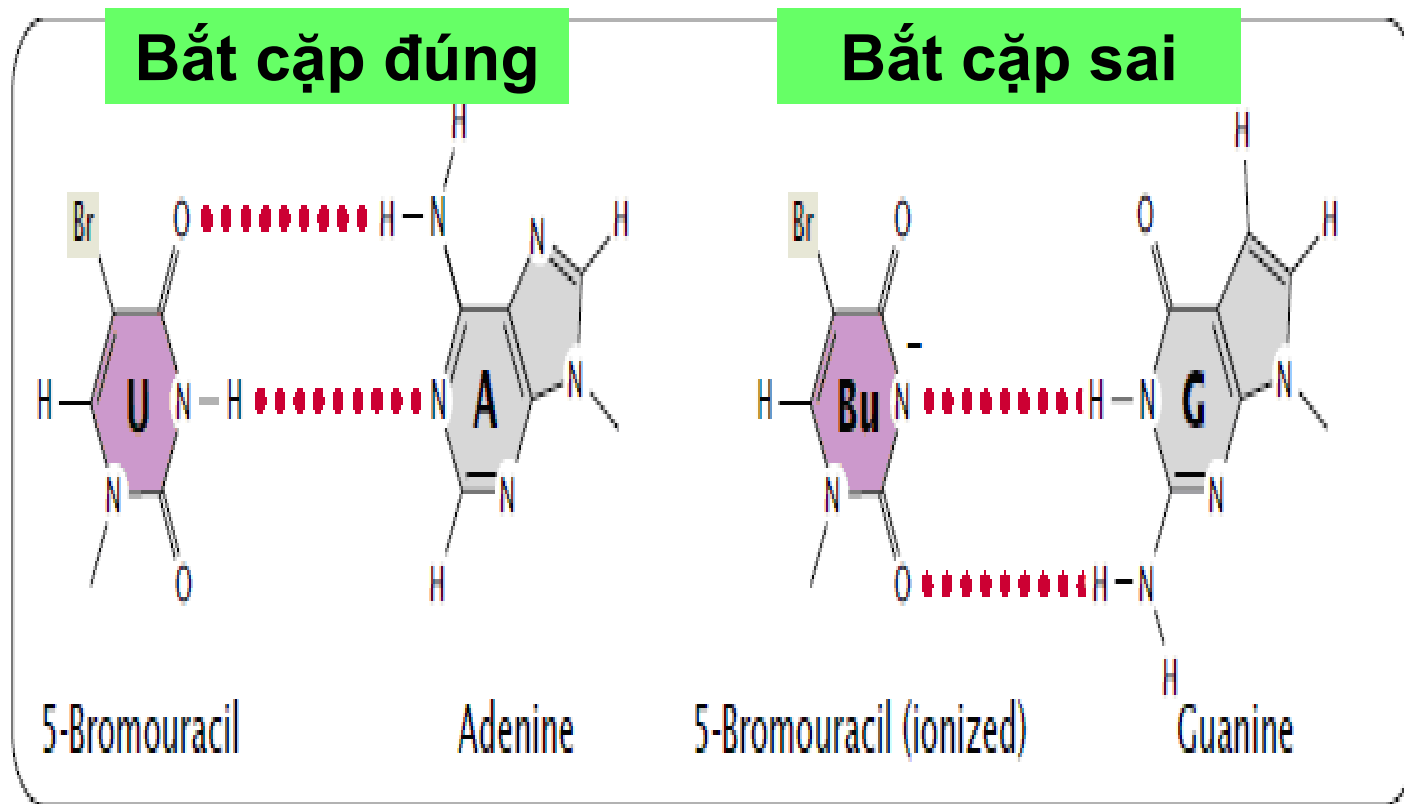
3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):



3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):



3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):

T.A \rightarrow 5BU.A \rightarrow 5BU.G \rightarrow C.G

G.C \rightarrow G.5BU \rightarrow A.5BU \rightarrow A.T

3'T	3' 5BU	3' 5BU	3'C
5'A	5' A	5' G	5'G

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base- analogs):

+ 2 – aminopurine (2AP) đồng đẳng của adenine.

+ 2AP.T hoặc 2AP.C (*bất cặp sai*)

T.A \rightarrow T.2AP \rightarrow C.2AP \rightarrow C.G

C.G \rightarrow C.2AP \rightarrow T.2AP \rightarrow T.A

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Nhóm 1- Các chất đồng đẳng của base (base-analogs)

**Nhóm 2- Các chất ức chế tổng hợp base :
coffein, ethyl uretan...**

**Nhóm 3- Các chất alkyl hóa (cho nhóm alkyl)
như: ethyl methanesulfonate (EMS), methyl
methanesulfonate (MMS), khí ngạt nitrogen...**

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

❖ EMS:

+ cộng nhóm ethyl vào guanine → 6 – ethylguanine → bắt cặp với thymine.

C.G → T.A

+ cộng nhóm ethyl vào thymine → 4 – ethylthymine → bắt cặp với guanine.

T.A → C.G

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

❖ Nitrous acid

+ mất amin của cytosine → uracil → bắt cặp với adenine

C.G → T.A

+ mất amin của adenine → hypoxanthine → bắt cặp với cytosine

T.A → C.G

+ mất amin của guanine → xanthine → bắt cặp với cytosine hoặc guanine hoặc thymine.

C.G → T.A

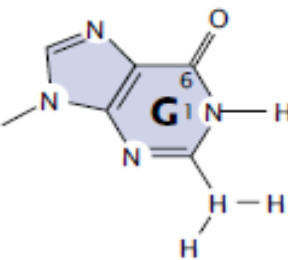
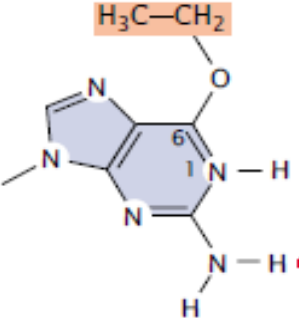
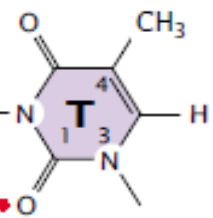
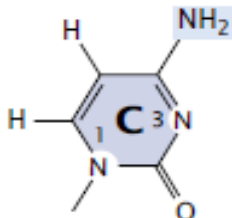
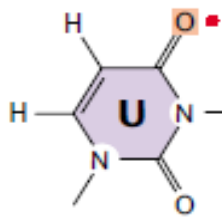
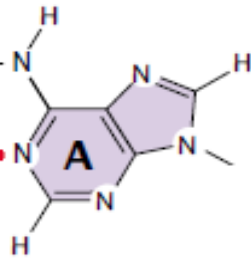
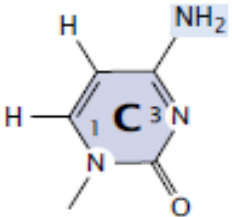
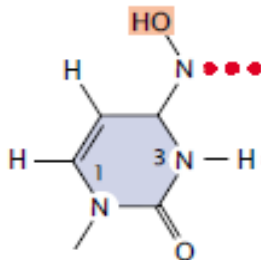
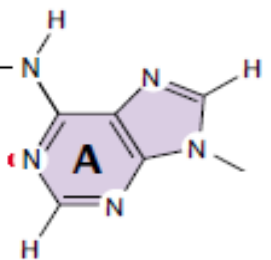
3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

❖ Hydroxylamine:

+ Thêm nhóm hydroxyl vào cytosine → hydroxylaminocytosine → bắt cặp với adenine

C.G → T.A

+ Tác động chỉ trên cytosine.

	Original base	Mutagen	Modified base	Pairing partner	Type of mutation
(a)	 <p>Guanine</p>	EMS	 <p><i>O</i>⁶-Ethylguanine</p>	 <p>Thymine</p>	CG → TA
(b)	 <p>Cytosine</p>	Nitrous acid (HNO ₂)	 <p>Uracil</p>	 <p>Adenine</p>	CG → TA
(c)	 <p>Cytosine</p>	Hydroxylamine (NH ₂ OH)	 <p>Hydroxylamino-cytosine</p>	 <p>Adenine</p>	CG → TA

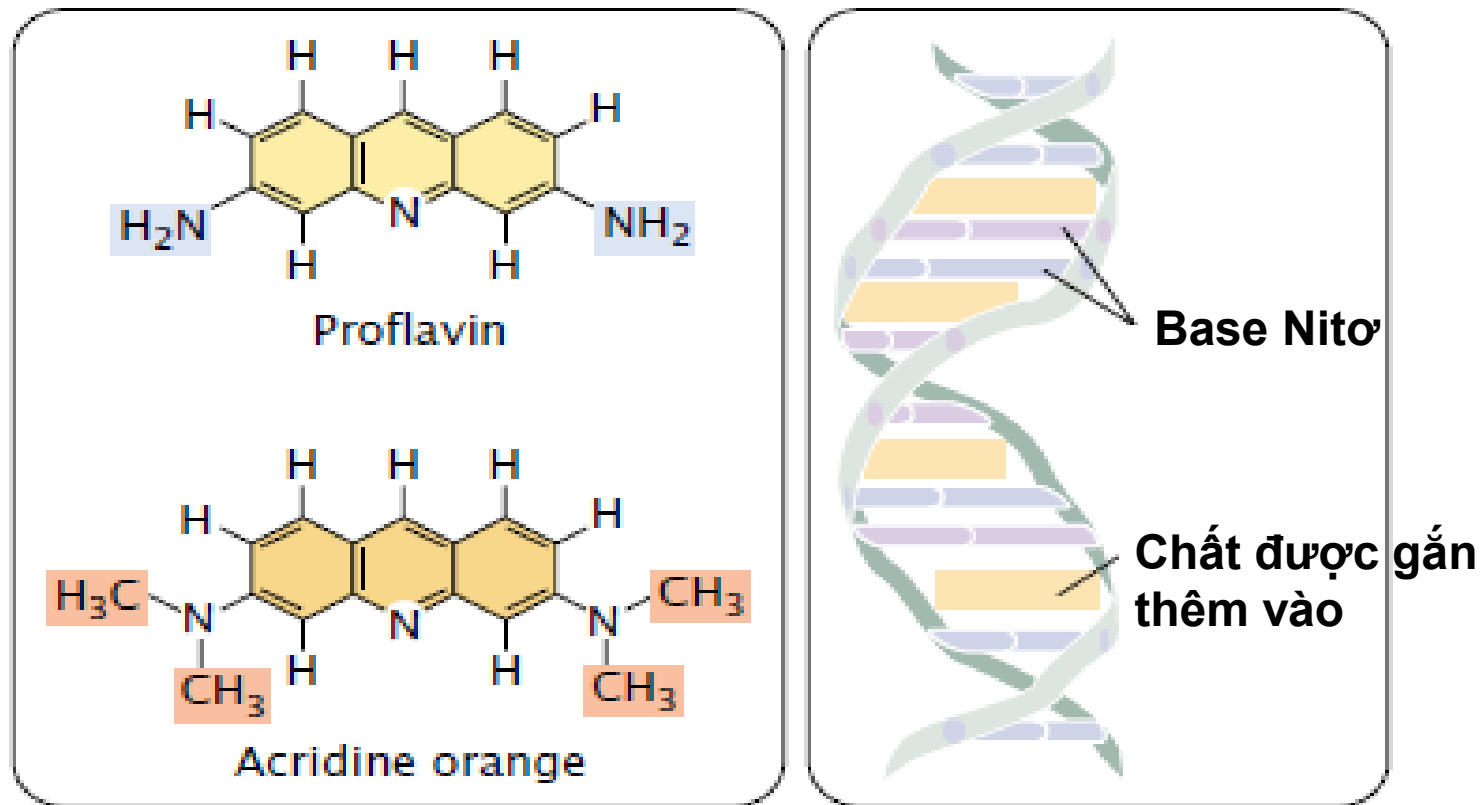
3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Các chất thêm vào DNA: proflavin, màu acridine (acridine organ), ethidium bromide, dioxin...

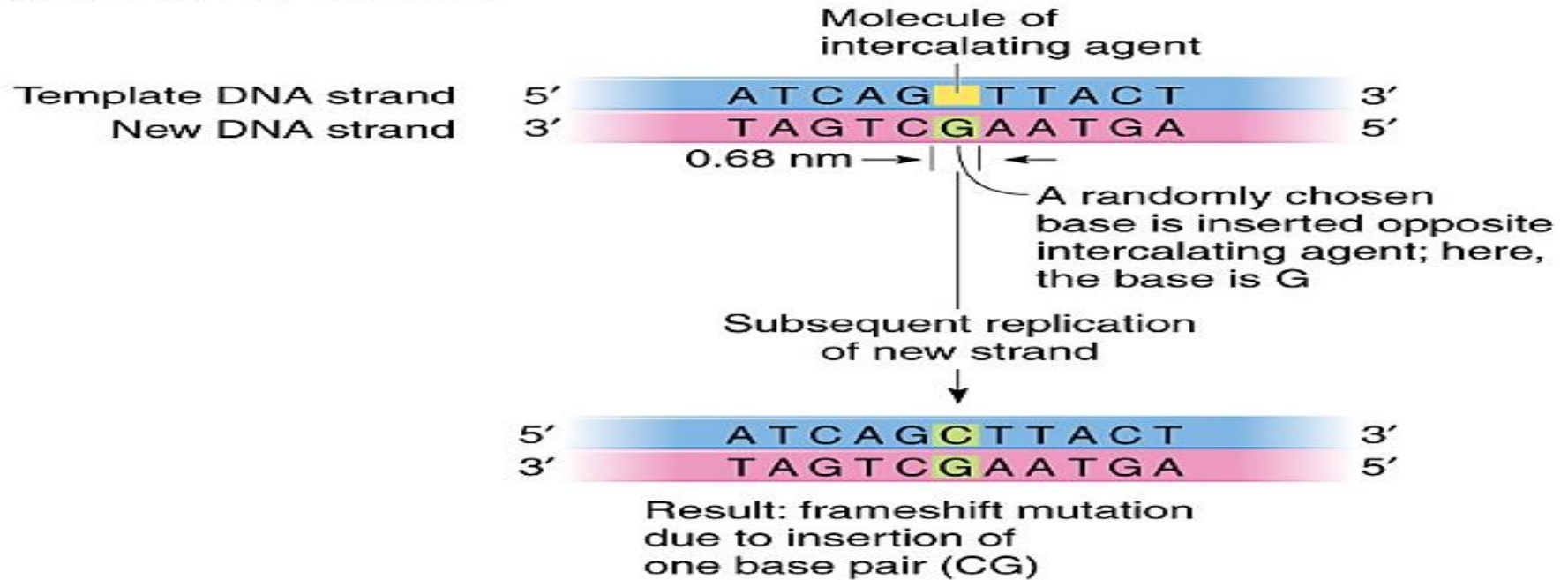
Chúng có thể chèn vào phân tử base kế cận
→ làm móp méo cấu trúc không gian → làm
thêm hoặc mất base → **đột biến lệch khung**

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

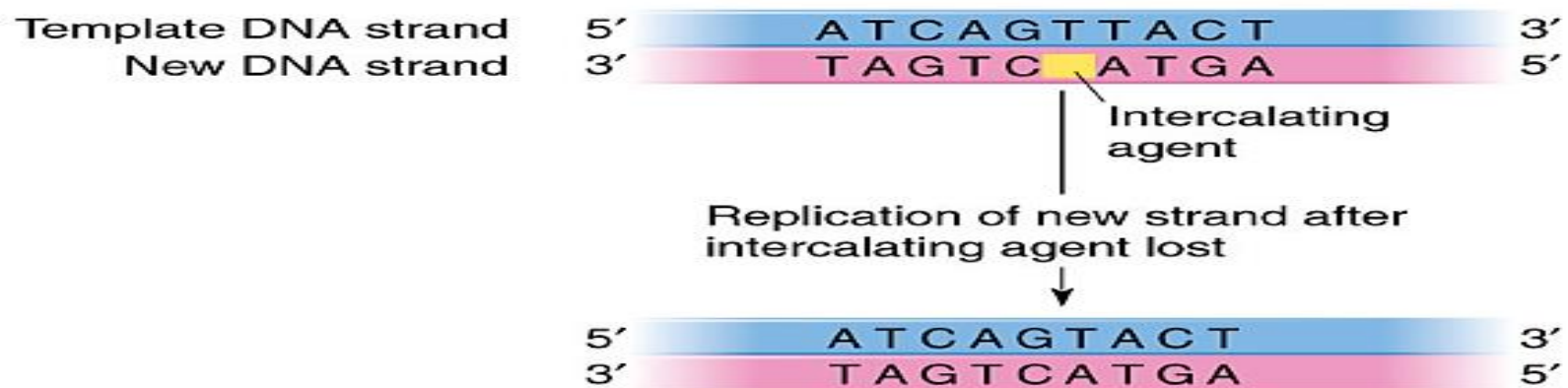
Các chất thêm vào DNA:



a) Mutation by addition



b) Mutation by deletion



3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Tác động gây đột biến của bức xạ :

- Tia X, tia phóng xạ α , β , γ , các neutron và tia tử ngoại đều là các tác nhân gây đột biến.
- Trừ tia tử ngoại có khả năng xuyên thấu yếu nên chỉ tác động lên các sinh vật đơn bào và giao tử, các tia khác đều có tác dụng gây đột biến lên tất cả các dạng sinh vật.

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Tác động gây đột biến của bức xạ :

- 2 đặc điểm:
 - + Không ngưỡng tác dụng.
 - + Số lượng đột biến tỷ lệ thuận với liều lượng phóng xạ, không phụ thuộc cường độ và thời gian chiếu.

3.2. Đột biến nhân tạo hay cảm ứng (induced mutations):

Tác động gây đột biến của bức xạ :

Bức xạ ion hóa:

Tia X, tia phóng xạ α , β , γ là tia bức xạ ion hóa (\rightarrow bức điện tử \rightarrow các phản ứng ion \rightarrow thay đổi cấu trúc của base \rightarrow **bẻ gãy liên kết phosphodiester của DNA hoặc **bẻ gãy mạch** đôi của DNA.**)

Liều càng lớn tần số đột biến càng cao .

Tác động gây đột biến của bức xạ :

Bức xạ không ion hóa: tia UV (320 – 400 nm)

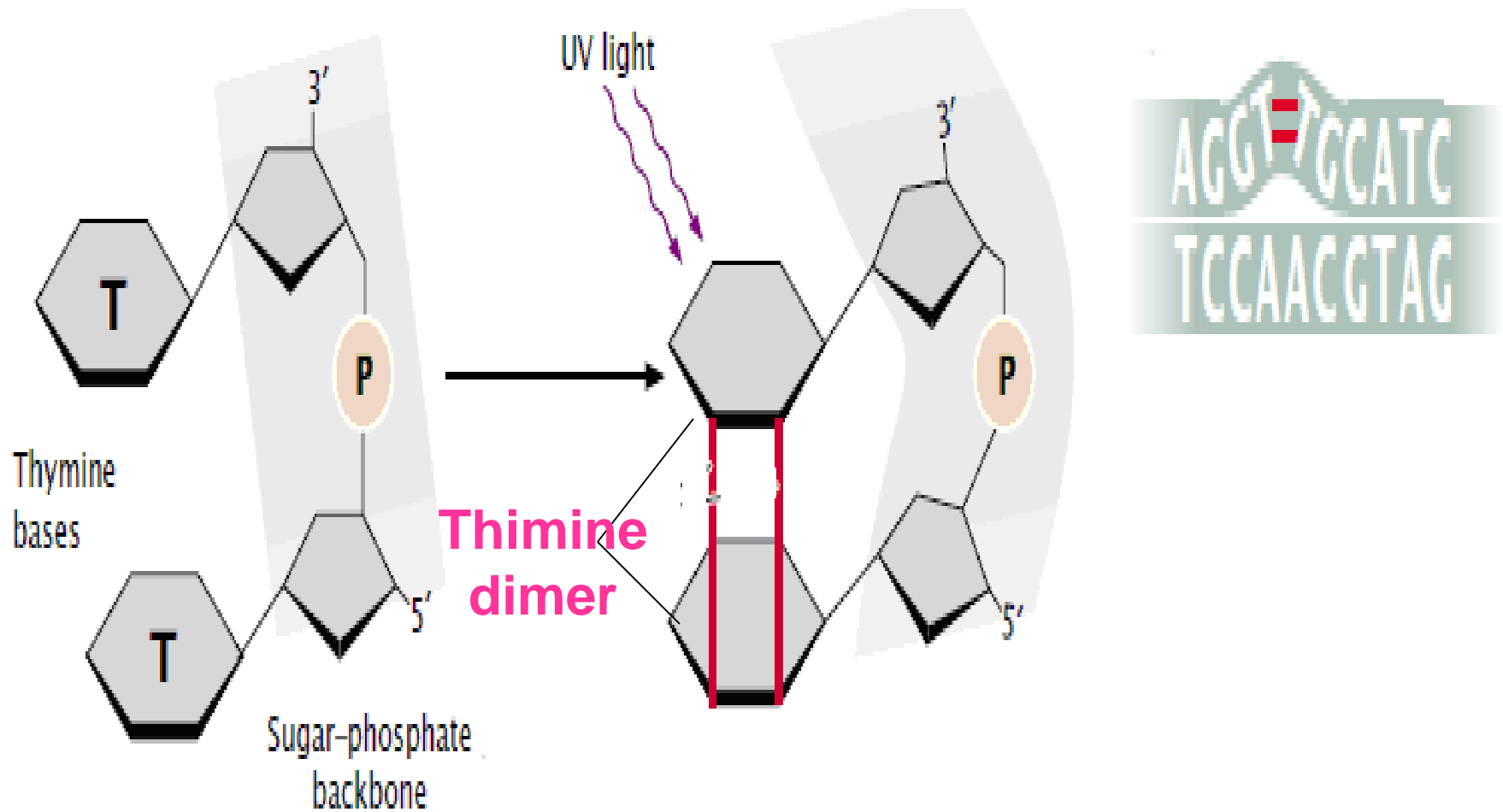
- Purine + pirimidine hấp thu trực tiếp tia tử ngoại → Hình thành những liên kết giữa các **pirimidine** **kề nhau** trên cùng một mạch – **pirimidine dimer**.

(Thymine dimer , cytosine dimer hoặc thymine – cytosine dimer).

- Đa số được sửa sai

Tác động gây đột biến của bức xạ :

Tia UV:



I. Phân loại đột biến gen

3.3. Hướng đột biến

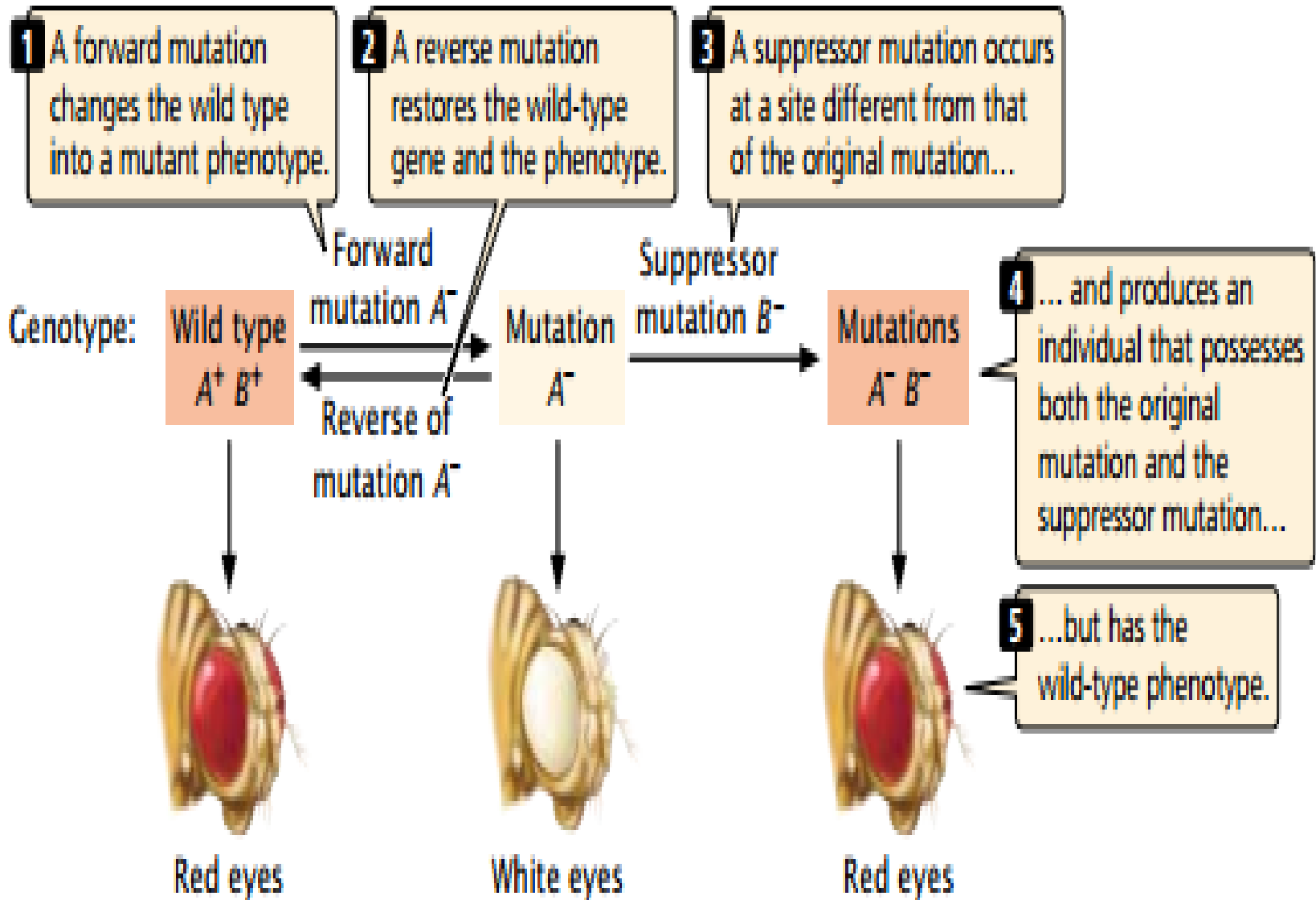
- Đột biến thuận hay trực tiếp hay đột biến tiến (direct mutation hoặc forward mutation):

Hoang dại \rightarrow đột biến ($A \rightarrow a$)

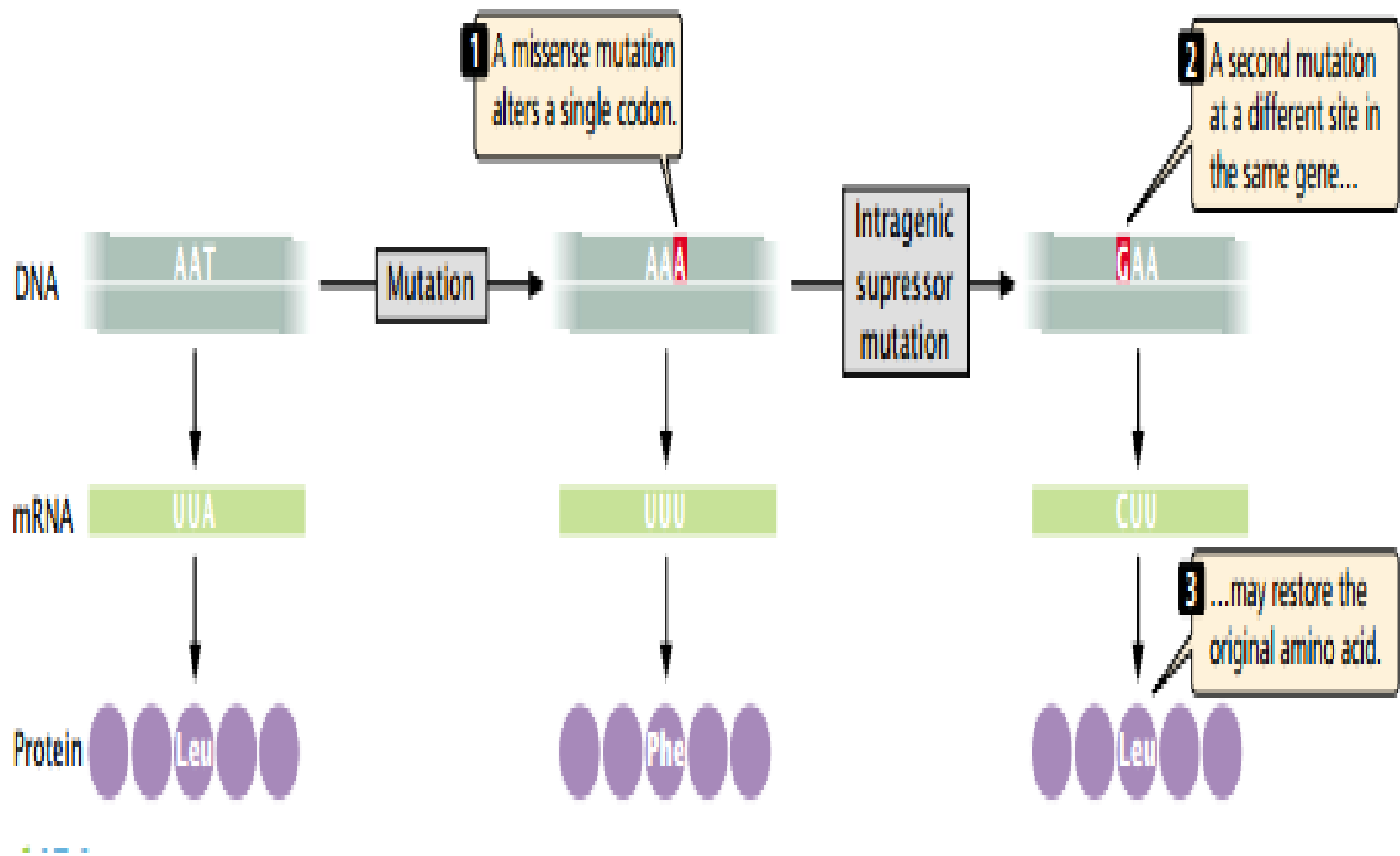
- Hồi biến: (Reversion):

Đột biến ức chế (suppressor mutations)

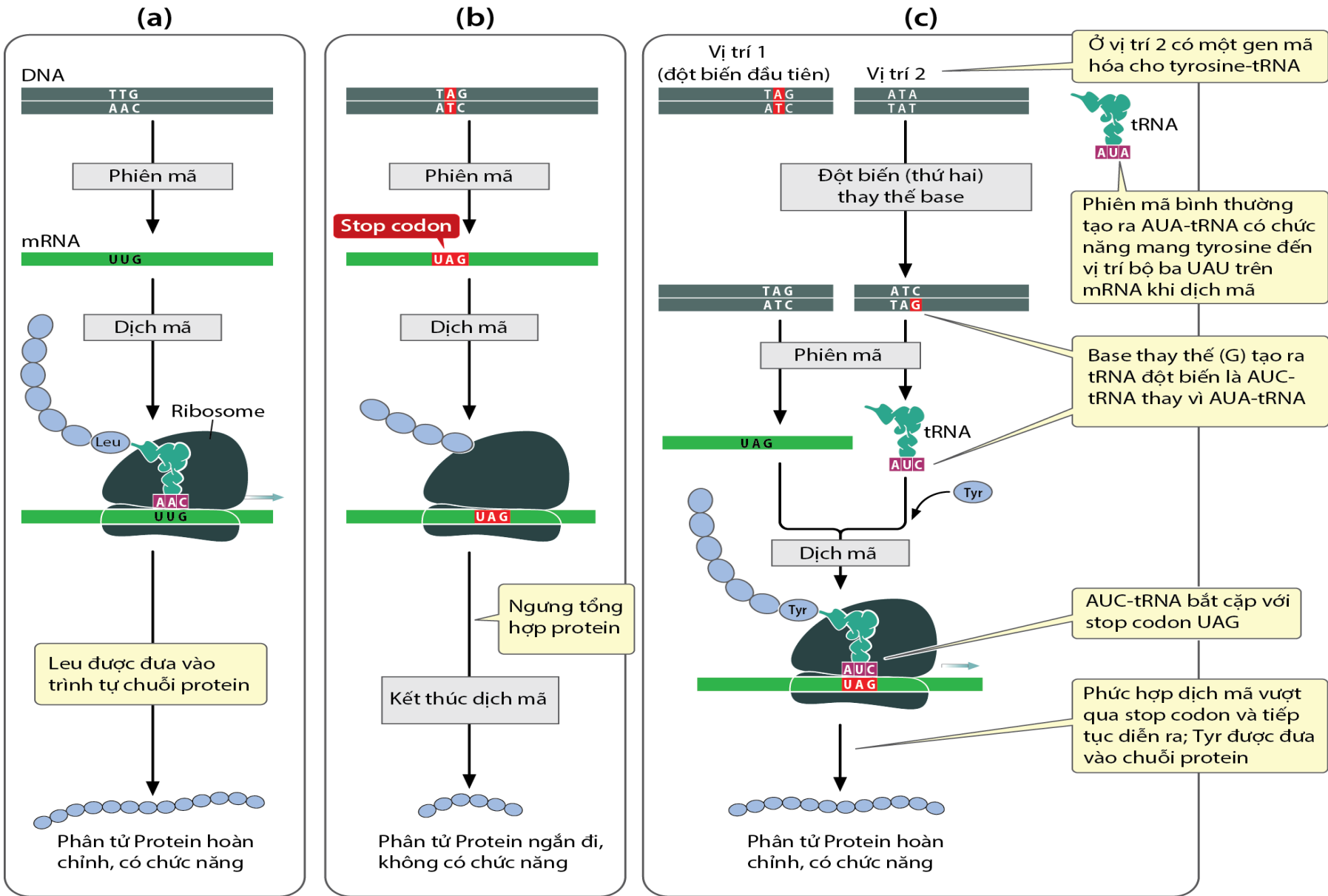
Đột biến \rightarrow hoang dại ($a \rightarrow A$)



Đột biến kìm hãm trong gen: “Intragenic suppressor”



Đột biến kìm hãm ngoài gen “Intergenic suppressor”



I. Phân loại đột biến gen

3.4. Các tế bào bị tác động

3.4.1. Các đột biến soma hay dinh dưỡng:

Đột biến ở tế bào soma → thể khảm.

3.4.2. Đột biến giao tử:

Đột biến ở tế bào sinh dục → biến đổi di truyền

Các cơ chế sửa chữa DNA

4.1. Sửa chữa DNA trực tiếp

- Sửa chữa pyrimidine dimer bằng cơ chế quang phục hoạt.
- Sửa chữa sai hỏng DNA do alkyl hóa.

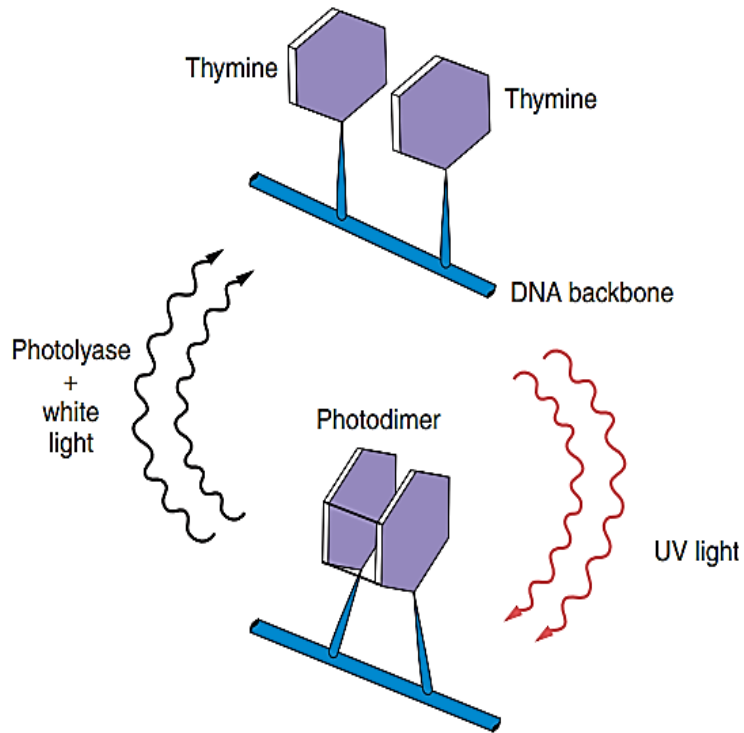
4.2. Các cơ chế sửa chữa cắt bỏ

- Sửa chữa cắt bỏ base (*Base excision repair – BER*)
- Sửa chữa cắt bỏ nucleotide (*Nucleotide excision repair – NER*).

4.3. Sửa chữa lỗi “mismatch” (*Mismatch Repair - MMR*)

4.1. Sửa chữa DNA trực tiếp

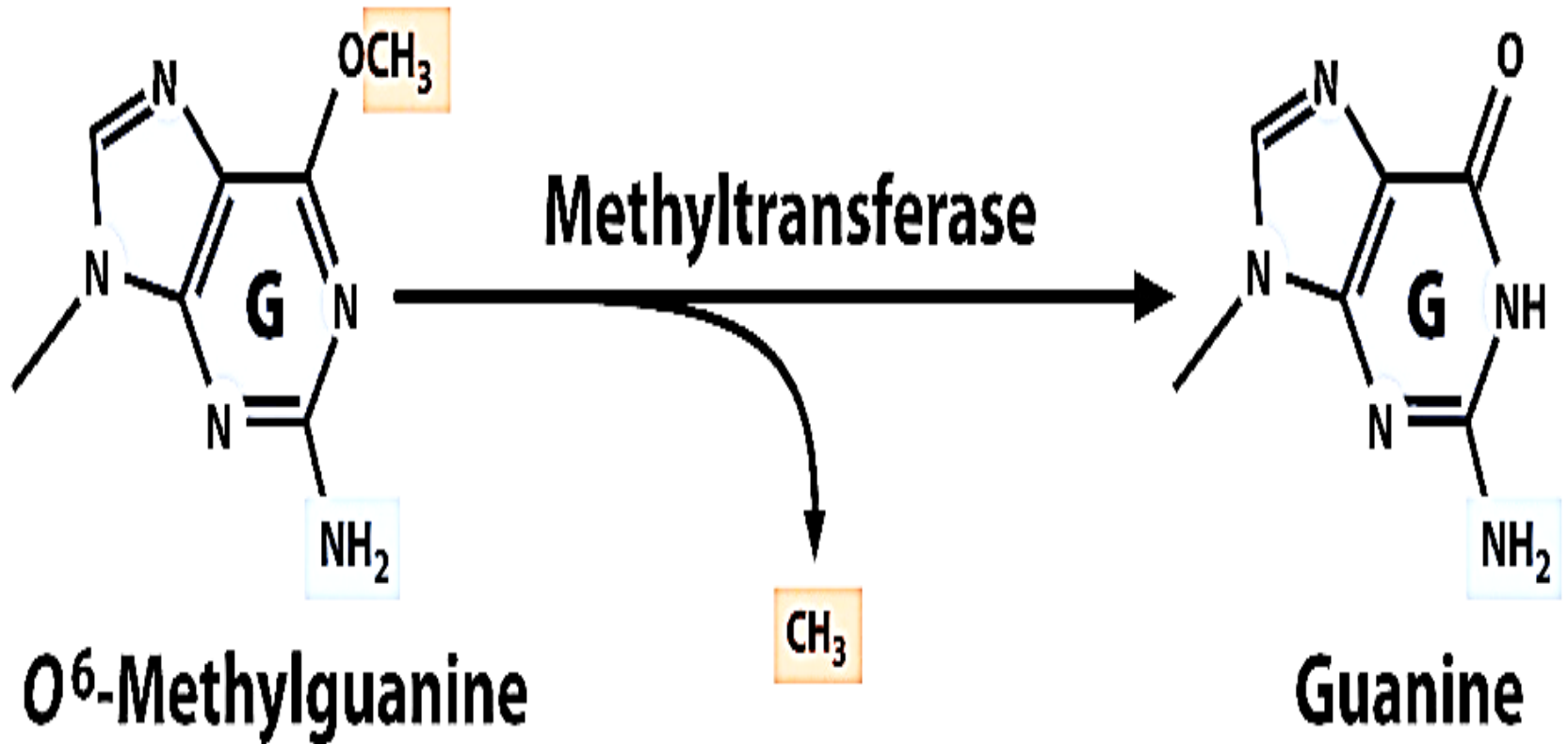
- Sửa chữa pyrimidine dimer (Thymine dimer) bằng cơ chế quang phục hoạt.



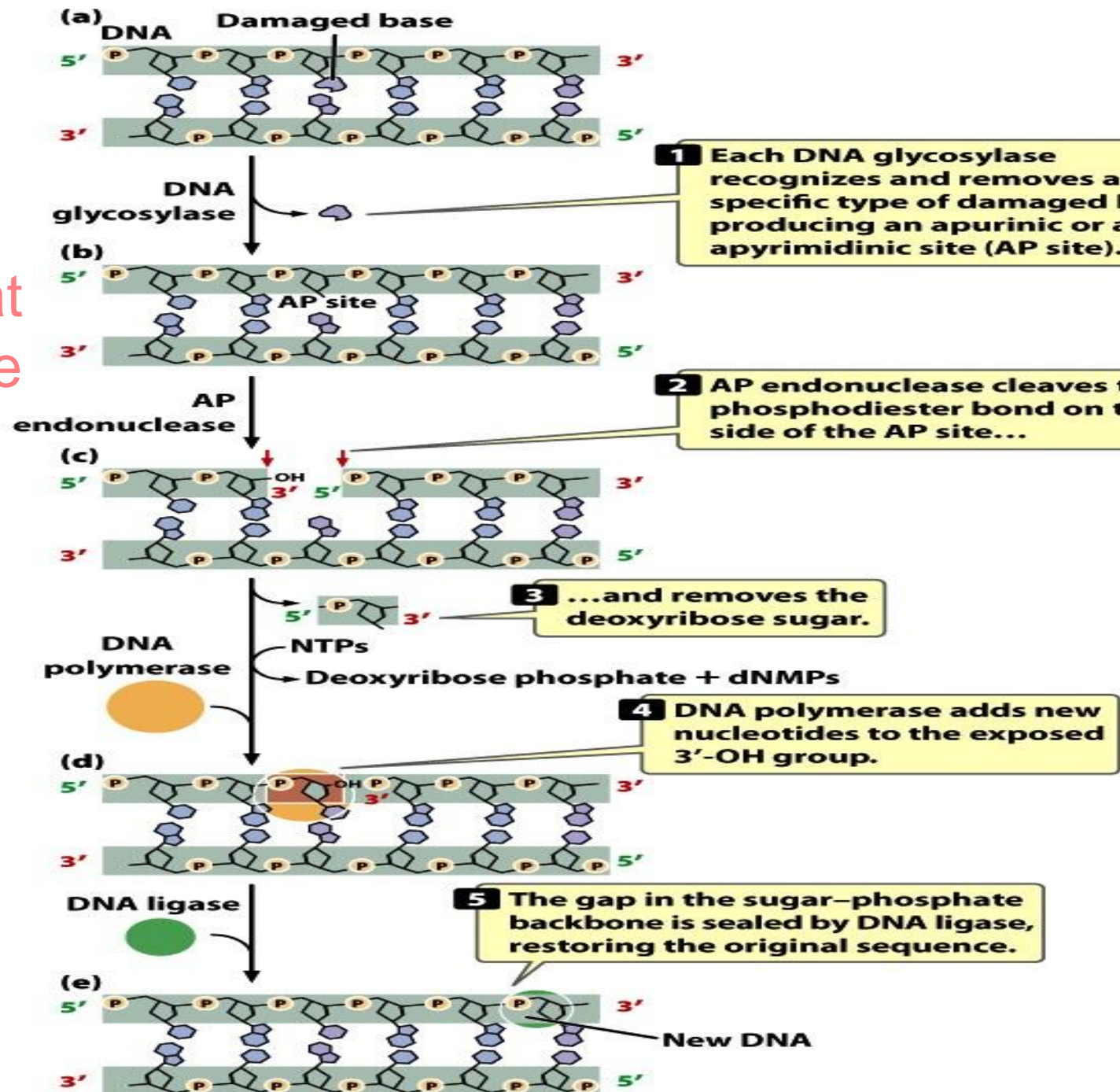
- Dưới tác động của photon ánh sáng, enzyme “photolyase” bị kích hoạt bám vào vị trí của dimer; **phá vỡ mối liên kết dimer.**
- Enzyme “photolyase” được tìm thấy ở prokaryote, một vài loài eukaryote, nhưng **không có ở người**

4.1. Sửa chữa DNA trực tiếp (tt)

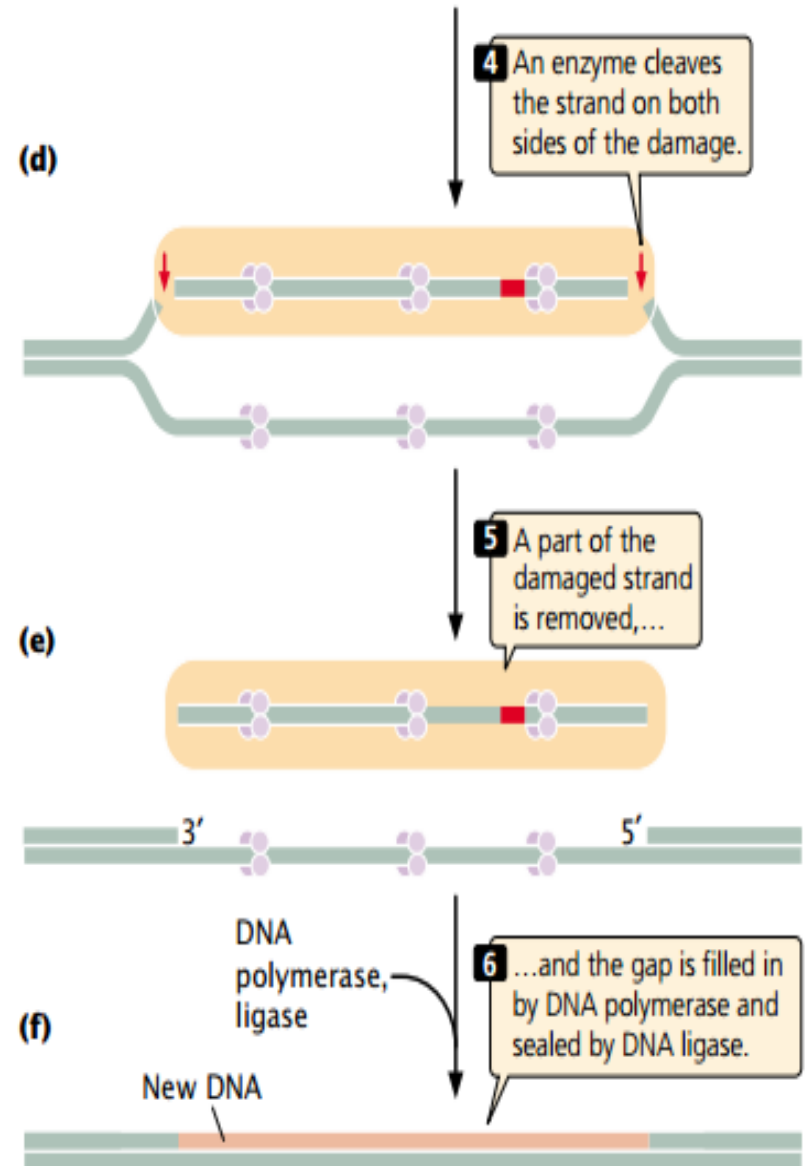
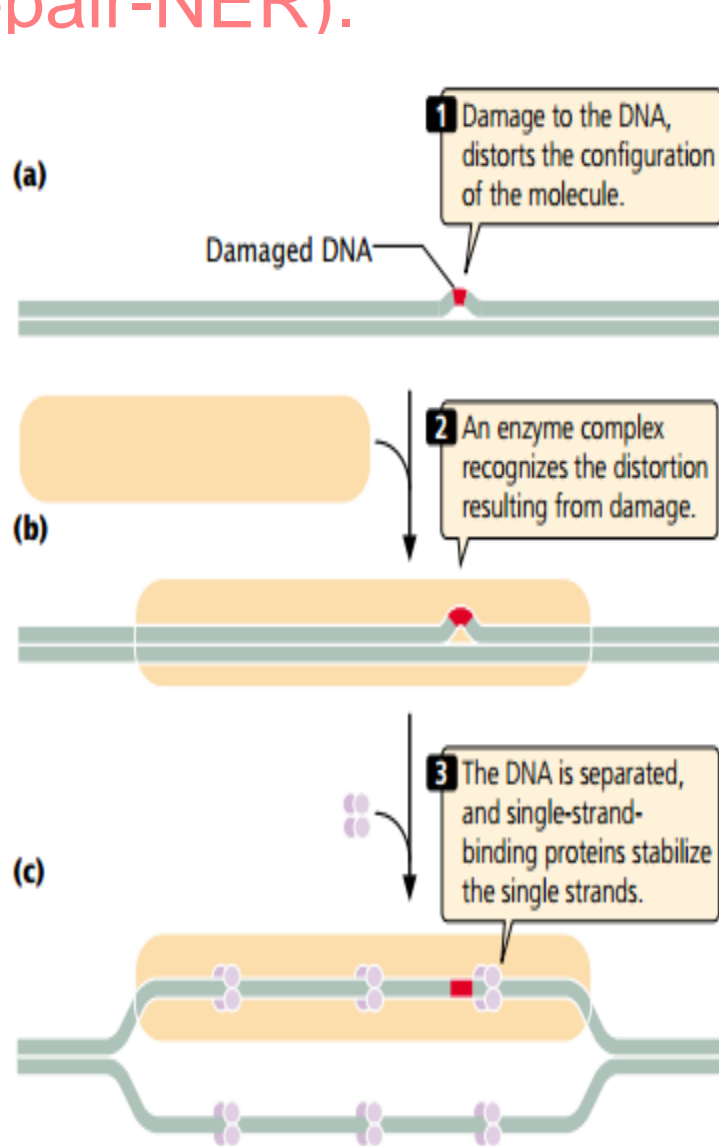
- Sửa chữa sai hỏng DNA do alkyl hóa.



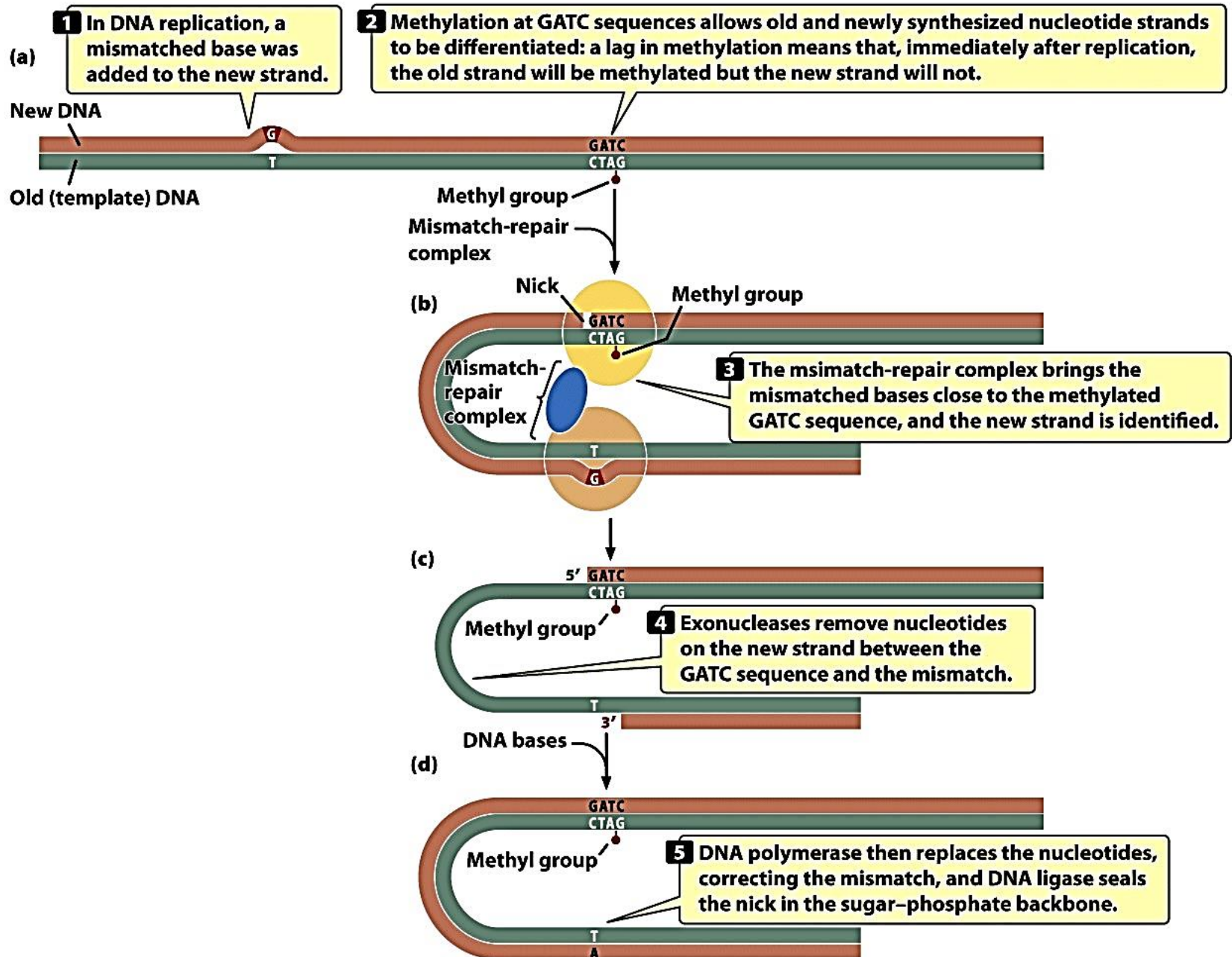
Sửa chữa cắt bỏ base (Base excision repair, BER)



Sửa chữa cắt bỏ nucleotide (Nucleotide excision repair-NER).



Sửa chữa lỗi “mismatch” (Mismatch Repair - MMR)



Các bước chung của cơ chế sửa chữa DNA

1. Phát hiện sai hỏng
2. Loại bỏ
3. Sự polymer hóa
4. Nối

Sai khác căn bản giữa 3 cơ chế MMR, BER, NER

MMR	BER	NER
Điểm cắt đơn ở phía của chuỗi bị hư hỏng	Điểm cắt đơn ở phía của chuỗi bị hư hỏng	Điểm cắt đơn ở phía của chuỗi bị hư hỏng

Bệnh khô da sắc tố Xeroderma Pigmentosum (XP)

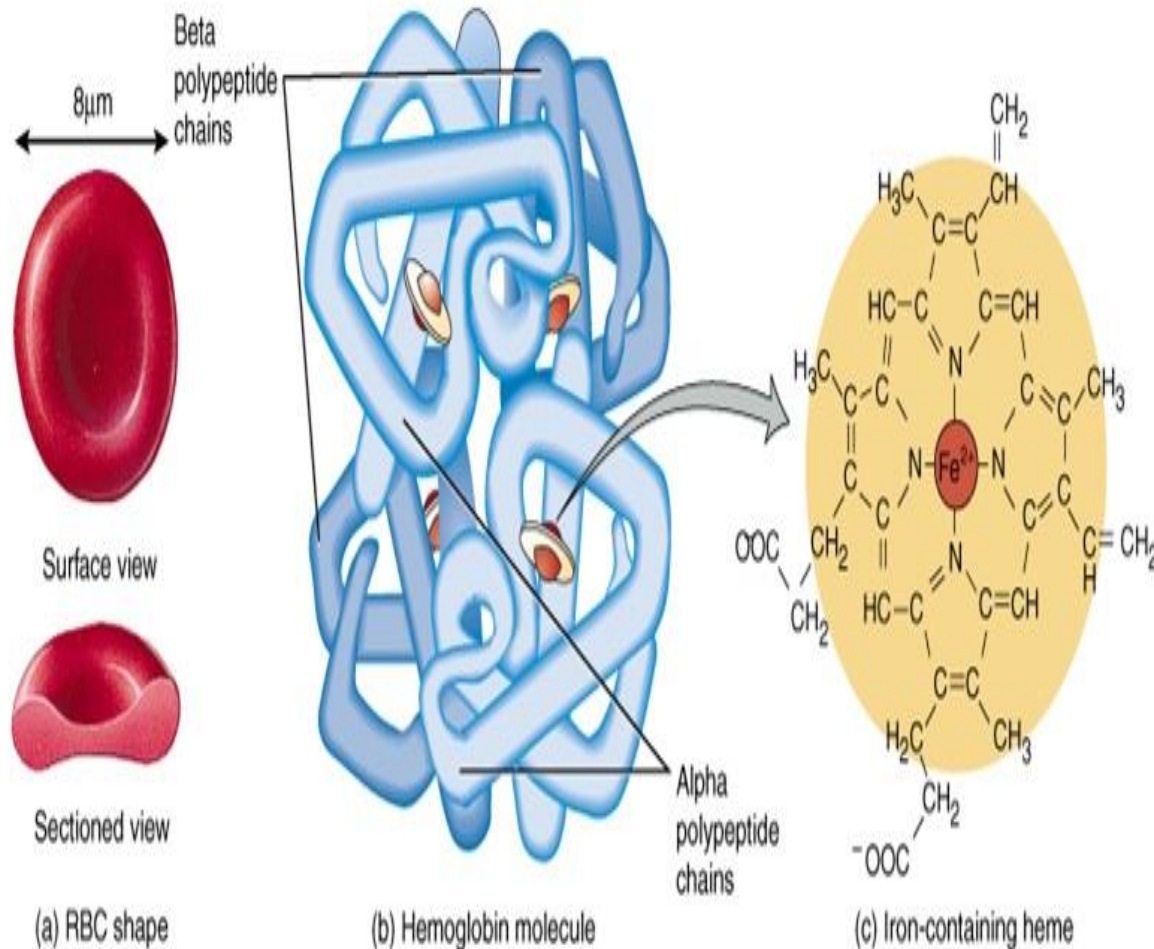


Bệnh nhân XP có biểu hiện khô da với nhiều khu vực giảm sắc tố và tàn nhang với các cường độ khác nhau của các sắc tố, loét giác mạc và có nguy cơ phát triển khối u ác tính trên da khi phơi nắng.

Lỗi cơ chế sửa chữa DNA sai hỏng do tia UV gây ra (cơ chế sửa lỗi bằng cắt bỏ nucleotide-NER)

CƠ CHẾ ĐỘT BIẾN GENE GÂY BỆNH HEMOGLOBIN VÀ THALASSEMIA.

Cấu trúc của phân tử Hb



Hb là một tetramer gồm 2 chuỗi α và 2 chuỗi β .

CƠ CHẾ ĐỘT BIẾN GENE GÂY BỆNH HEMOGLOBIN VÀ THALASSEMIA.

Bệnh của Hb:

- Ở bào thai + sơ sinh (HbF)

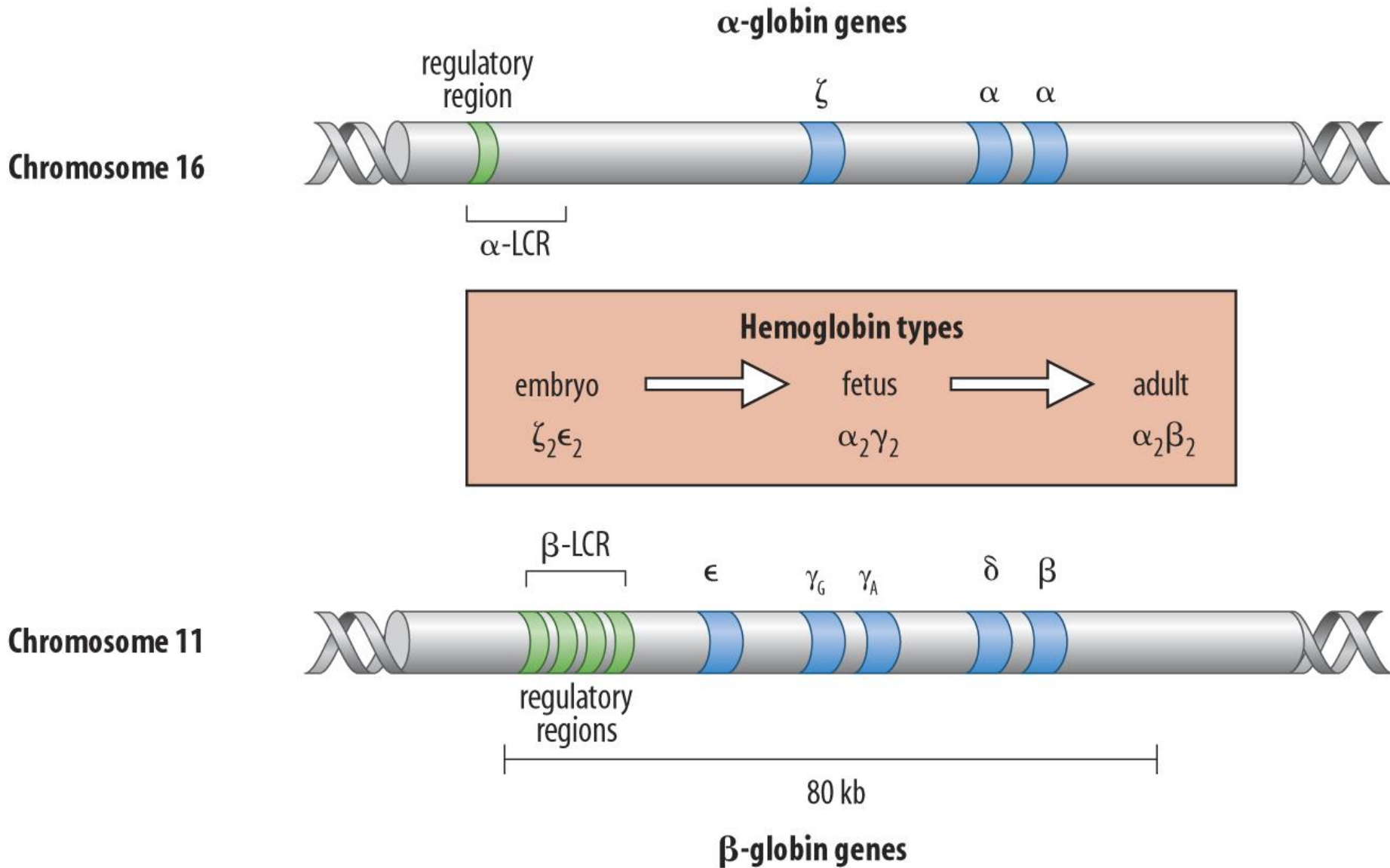
HbF : 2 chuỗi α + 2 chuỗi γ ($\alpha_2\gamma_2$)

→ tháng thứ 6 HbF giảm dần, thay bằng HbA

- Ở người trưởng thành (98% HbA₁)

HbA₁ : 2 chuỗi α + 2 chuỗi β ($\alpha_2\beta_2$)

HbA₂: 2 chuỗi α + 2 chuỗi δ ($\alpha_2\delta_2$)



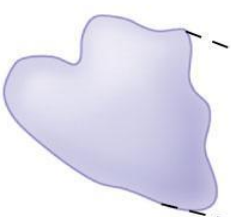
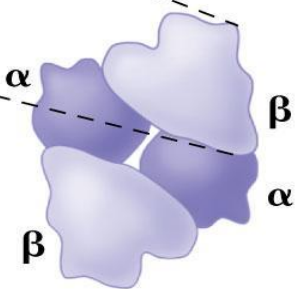
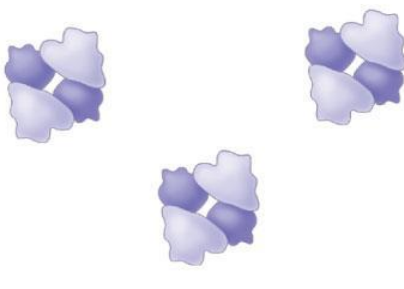
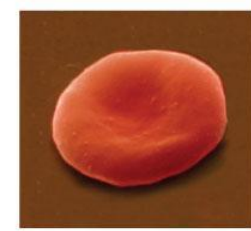
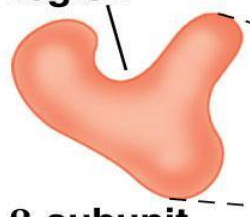
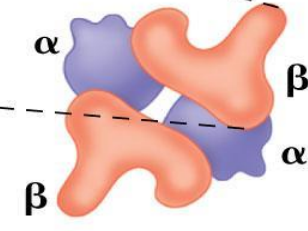
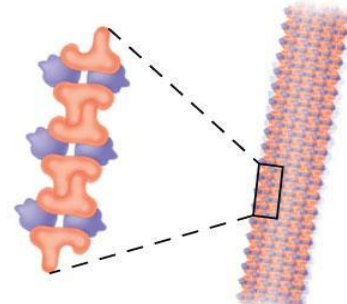

LCR: locus control region

NHÓM CÁC HEMOGLOBIN BẤT THƯỜNG

Do có sự thay thế 1 amino acid ở vị trí bình thường bằng 1 amino acid khác làm thay đổi cấu trúc của chuỗi globin polypeptide.

Sự thay thế này đa số hay **gặp ở chuỗi β** . Các Hb bất thường hay gặp là: hemoglobin S ($\alpha_2\beta_2$ $^{6\text{Glu}} \rightarrow \text{Val}$), hemoglobin C ($\alpha_2\beta_2$ $^{6\text{Glu}} \rightarrow \text{Lys}$), hemoglobin E ($\alpha_2\beta_2$ $^{26\text{Glu}} \rightarrow \text{Lys}$).

Bệnh hồng cầu hình liềm

	Primary Structure	Secondary and Tertiary Structures	Quaternary Structure	Function	Red Blood Cell Shape
Normal hemoglobin	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Glu 7 Glu	 β subunit	 Normal hemoglobin	Molecules do not associate with one another; each carries oxygen. 	 10 μm
Sickle-cell hemoglobin	1 Val 2 His 3 Leu 4 Thr 5 Pro 6 Val 7 Glu	 β subunit	 Sickle-cell hemoglobin	Molecules crystallize into a fiber; capacity to carry oxygen is reduced. 	 10 μm

Bệnh hồng cầu hình liềm

- Thể dị hợp tử ký hiệu là HbA/HbS, với lượng HbS là 20-45% hồng cầu hình lưỡi liềm.
- Thể đồng hợp tử HbS/HbS, cả hai bố mẹ đều mang HbS, lượng HbS có từ 80-100%.

BỆNH THALASSEMIA

Có sự giảm hay không tổng hợp một hay nhiều chuỗi globin bình thường. Thalassemia có nhiều loại:

- Alpha thalassemia: giảm tổng hợp chuỗi α .
- Beta thalassemia: giảm tổng hợp chuỗi β .
- Beta Thalassemia – Hemoglobin E: kết hợp beta thalassemia và HbE.

Cơ chế sinh bệnh beta thalassemia

Sau sinh, HbA tăng dần và chiếm chủ yếu. Các đột biến gene β globin gây mất hay giảm số lượng chuỗi β globin làm cho chuỗi α thừa (các chuỗi này tạo các hạt không tan, gắn vào màng hồng cầu ở máu ngoại biên làm hồng cầu bị phá hủy sớm, gắn vào hồng cầu lưới ở tủy xương làm hồng cầu lưới chết trước khi trưởng thành khiến tạo hồng cầu không hiệu quả và tăng hoạt động tạo hồng cầu ở tủy xương).

Khi chuỗi β giảm, các chuỗi γ và δ tăng để bù trừ, làm tăng HbF ($\alpha_2\gamma_2$) và HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$).

Đặc điểm phân tử bệnh beta thalassemia

Đột biến gene beta globin (HBB gene) trên NST 11 có 3 exon và 2 intron, mã hóa cho chuỗi β globin dài 141 amino acid - Lặn trên NST thường.

Đột biến làm giảm số lượng chuỗi β globin: β^+ thalassemia. (ĐB thay thế Nu, mất đoạn nhỏ, thêm Nu)

Đột biến gây mất tổng hợp hoàn toàn chuỗi β globin: gồm các đột biến vô nghĩa, lệch khung: β^0 thalassemia

+ **Đột biến vô nghĩa:** xảy ra khi thay thế 1 nucleotide này bằng 1 nucleotide $\rightarrow \beta^0$ thalassemia.

+ **Đột biến lệch khung** khi mất hoặc thêm 1 hoặc vài nucleotide ở vùng mã hóa của gene β globin không hoàn chỉnh. Đây là đột biến nghiêm trọng, gây kiểu hình β^0 thalassemia

Đặc điểm di truyền bệnh beta thalassemia

(i) Thể nặng (Cooley): do đồng hợp tử 1 đột biến hay dị hợp tử kép 2 đột biến β^0 . Bệnh biểu hiện sớm khi trẻ mới sinh ra vài tháng đến vài tuổi. Đặc trưng lâm sàng là thiếu máu nặng, cần phải truyền máu thường xuyên để duy trì sự sống, vàng da, gan lách to, biến đổi về xương và mặt. Biến chứng ảnh hưởng đến đời sống là quá tải sắt gây rối loạn chức năng các cơ quan, đặc biệt là cơ tim, gây tử vong.

Đặc điểm di truyền bệnh beta thalassemia

(ii) **Thể trung gian:** thường do sự kết hợp 2 đột biến β^+ hoặc 1 đột biến β^+ với 1 β^0 . Thiếu máu nhẹ hơn và biểu hiện muộn hơn thể nặng, không cần phải truyền máu thường xuyên và sống được lâu hơn đến trưởng thành. Beta thalassemia–HbE được coi là thalassemia trung gian.

(iii) **Thể nhẹ (thể ẩn):** thường do dị hợp tử 1 đột biến, hiếm khi có triệu chứng lâm sàng, phát hiện khi xét nghiệm máu hoặc khi mang thai, nhiễm trùng nặng.