Genetics

Subject : Mutations part 2 +
DNA damage & repair part 1

Lec no : 19

Done By : Noor Zamel

وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

للوصول الى guidance الجينيتكسو تفاريغ المادة كاملة :

تجدون في guidance مادة الجينتكس على موقع النادي :

GUIDANCE SLIDES NOTES RECORDS

تجدون هنا شرح المادة كاملة

GENITICS ALAA AL-GAZZAR

شرح الدكتورة ولاء الجزار للمادة

تجدون هنا شرح الفريق العلمي للمادة كاملة

شرح قديم (السلايدات مختلفة) ، يمكن الاستفادة منها لفهم المواضيع

OLD GENETICS

يمكن الاستفادة من تفاريغ الدفع السابقة

ATHAR BATCH

YAQEEN BATCH

VEIN BATCH

كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة التيليغرام

Manifestations of Mutations

بدايةً رح نناقش اخر جزء من ال mutations
وهوه تقسيم للطفرات حسب شدتها لاربع انواع

A. Lethal Mutations

The term “incompatible with life” is often used in medical contexts to describe conditions or anomalies that are severe and usually fatal

أول نوع lethal (مميتة) وأكيد هاي الطفرة ما بتكون موجودة من قبل ومن الامثلة عليها الطفرة اللي بتصير عند الام الحامل وبتنتقل للجنين وبتأدي لوفاته

- The alteration is incompatible with life of the cell or the organism. For example, mutation producing alpha-4 Hb is lethal, and so the embryo dies.

B. Silent Mutations

هدول الطفرات ما بأثروا ... بس سميناهم طفرات لانه صار في تغيير بال nucleotides مع عدم تغير ال A.A بالتالي اعطانا نفس البروتين

- Alteration at an insignificant region of a protein may not have any functional effect.

Manifestations of Mutations

C. Beneficial Mutations

- Although rare, beneficial spontaneous mutations are the basis of evolution.
- Such beneficial mutants are artificially selected in **agriculture**. Normal maize is deficient in tryptophan. Tryptophan rich maize varieties are now available for cultivation.
- Microorganisms often have antigenic mutation. These are beneficial to micro-organisms (but of course, bad to human beings).

من الامثلة ع الطفرات المفيدة هيه الطفرات اللي بتصير لتكيّف الكائن الحي حسب البيئة اللي بتواجد فيها ومثال عليها لون العيون

ومن الطفرات اللي احنا بنعملهم على الخضراوات

الذرة 🌽 مافيها A.A ال treptophan

ومن الطفرات اللي احنا بنعملها انه بنضيف هاد ال A.A (اكيد مش بشكل طبيعي وتلقائي) عن طريق انه بنعمل فيها genetic modification حتى تصير مفيدة

مثال ع الطفرات المفيدة كمان الطفرات اللي بتعملها البكتيريا حتى تزيد ال resistant تبعها واكيد هاد الاشي مفيد للبكتيريا نفسها بس مو مفيد النا

Manifestations of Mutations

D. Carcinogenic Effect

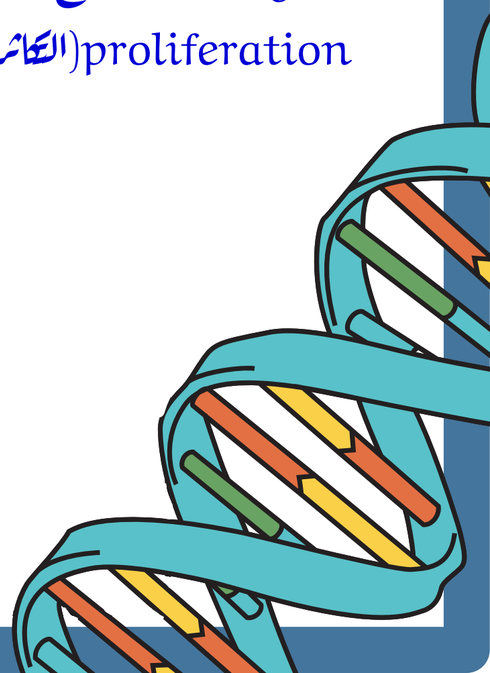
- The mutation **may not be lethal** but may alter the regulatory mechanisms.
- Such a mutation in a **somatic cell** may result in **uncontrolled cell division leading to cancer**.
- Any substance causing increased rate of mutation can also increase the probability of cancer. **Thus, all carcinogens are mutagens.**

الطفرات المسببة للسرطان

رح نتعمق بهاد الموضوع في ال cell cycle
بس في عنا بروتينات بتنظم ال cell cycle واذا
صار بهدول البروتينات اي طفره اكيد رح تاثر ال
cell cycle ومارح تشتغل بشكل طبيعي و حيزيد ال
proliferation(التكاثر)

بالتالي كل مسبب للسرطان
هو أكيد مؤثر ومحفز للطفرات

اي مؤثر بزيد من الطفرات
عملن بأدي لزيادة فرصة الاصابة
بالسرطان



طيب اذا صار في طفرة والجسم بدو يصححها كيف رح يصير الصحيح

DNA Damage & Repair

Nebras Melhem

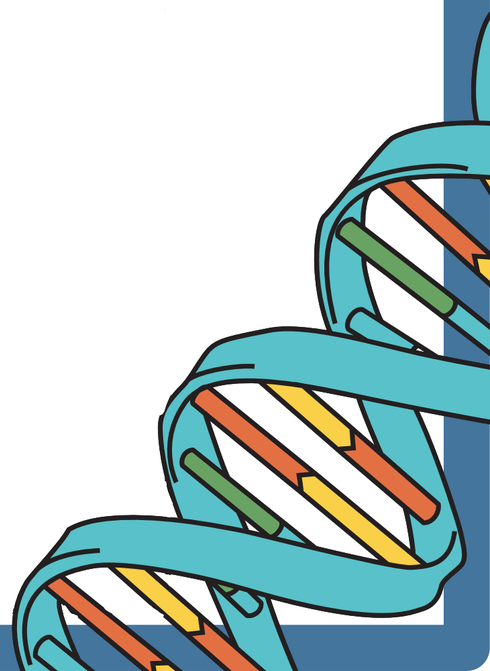
بهاي المحاضرة رح ناخد اول طريقه من ال repair بتحتاج كتير انه تكونو متخيلين كيف بينكسر ال DNA واتجاه الكسر ،حاولت اوضح بالتفصيل كل اشي ...ان شاء الله يكون مفهوم 🙏🏻

Introduction

- Most cells have only one or two sets of genomic DNA.
- Damaged proteins and RNA molecules can be quickly replaced by using information encoded in the DNA, but DNA molecules themselves are irreplaceable.
- Maintaining the integrity of the information in DNA is a cellular imperative, supported by an elaborate set of DNA repair systems.
- DNA can become damaged by a variety of processes, some spontaneous, others catalyzed by environmental agents.
- Replication itself can very occasionally damage the information content in DNA when polymerase errors create mismatched base pairs (such as G paired with T).

سلايدات ال introduction اللي
همه ال ٤ سلايدات الجايين الدكتورة حكت
ما فيهم اشي جديد مكررين من قبل بس
اقرأوهم

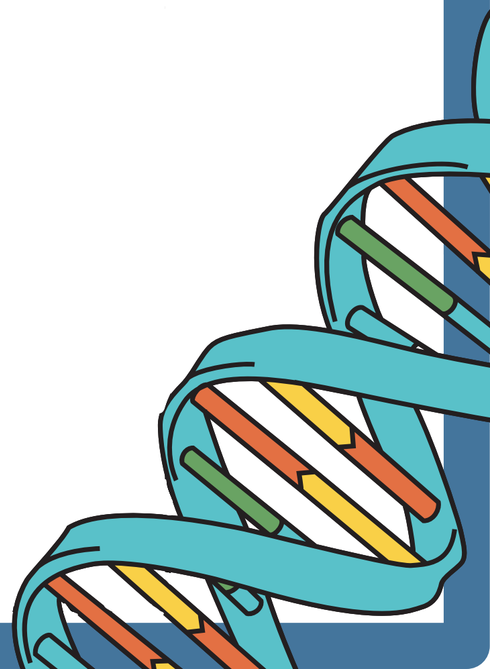
وانا بحكيلكم فيهم معلومات زيادة أقرأوهم
للإحتياط (ما تعملو skip)



Introduction

- The genomic DNA in a typical mammalian cell accumulates many thousands of lesions during a 24-hour period. However, as a result of DNA repair, fewer than 1 in 1,000 become a mutation.

- DNA is a relatively stable molecule, but in the absence of repair systems, the cumulative effect of many infrequent but damaging reactions would make life impossible.

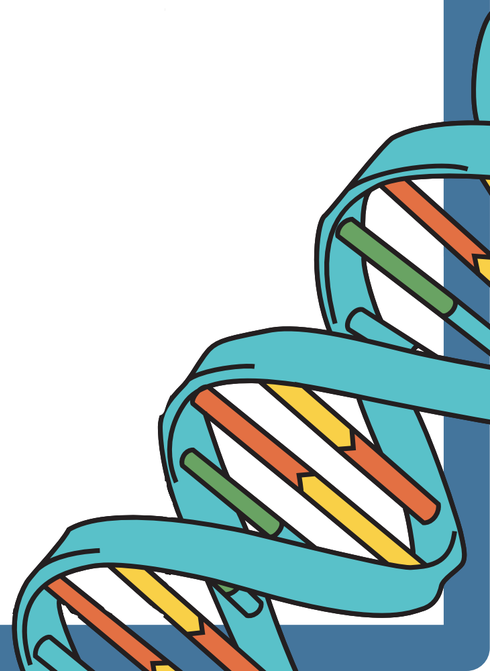


Introduction

- The number and diversity of repair systems reflect both the importance of DNA repair to cell survival and the diverse sources of DNA damage.

- Some common types of lesions, such as pyrimidine dimers, can be repaired by several distinct systems.

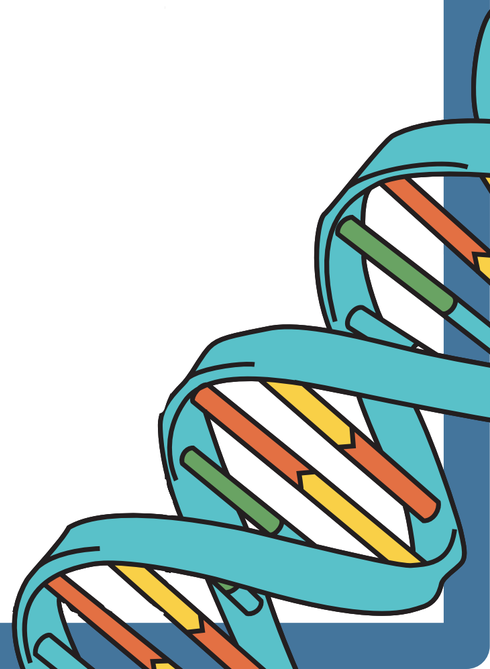
- Nearly 200 genes in the human genome encode proteins dedicated to DNA repair. In many cases, the loss of function of one of these proteins results in genomic instability and an increased occurrence of oncogenesis.



Introduction

- Accurate DNA repair is possible largely because the DNA molecule consists of two complementary strands.
- Damaged DNA in one strand can be removed and replaced, without introducing mutations, by using the undamaged complementary strand as a template.
- We consider here the principal types of repair systems, beginning with those that repair the rare nucleotide mismatches that are left behind by replication.

إنه يصير أخطاء بعملية الـ replication هوه إشي Rare لكن ممكن يصير
عشان هيك لازم يكون في repair System يصحح هاي الاخطاء عشان نضمن
إنهم ما ينتقلوا للأجيال القادمة



بس نعمل repair احنا عم نعمله عم مستوى ال DNA

DNA repair هلا رح نبلش بال

Mechanisms of DNA repair

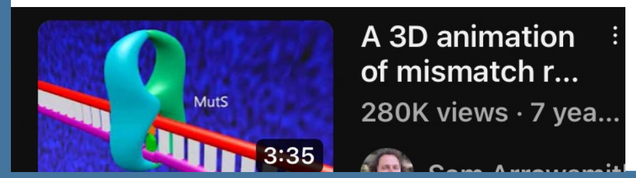
تذكرو بال replication كان عنا single strand عم يصيرله replication ف بكون عنا parent strand و daughter strand الطفرة لما بتصير بتصير بال daughter strand موبال original strand

عشان نتخلص من هاي الطفرة بكل بساطه بنعمل degradation للجزء اللي فيه طفرة من ال daughter strand و بنبني غيره عن طريق ال DNA polymerase وهاد هوه مبدأ ال mismatch repair انه بدور بال daughter strand ع mutation وبعرفها من ال parent strand عن طريق انه بقارنهم ببعض مثلاً شفنا A بال parent ولقينا قبالها G معناها هون في mismatch ف بنعمللها delete وبندخل ال DNA polymerase يلي بداله ورح نعرف بالتفصيل كيف كمان شوي

1. Mismatch repair ⤳ هاي رح نناقشها بهاي المحاضرة
2. Base excision repair
3. Nucleotide excision repair
4. Double strand break repair

The defective region in one strand can be repaired relying on the complementary information stored in the unaffected strand.

فيديو بفيدكم تفهموا فكرة ال mismatch كيف بتصير



https://youtu.be/p3MXIKWAi2w?si=7I8WdXvWHWVy8BnY

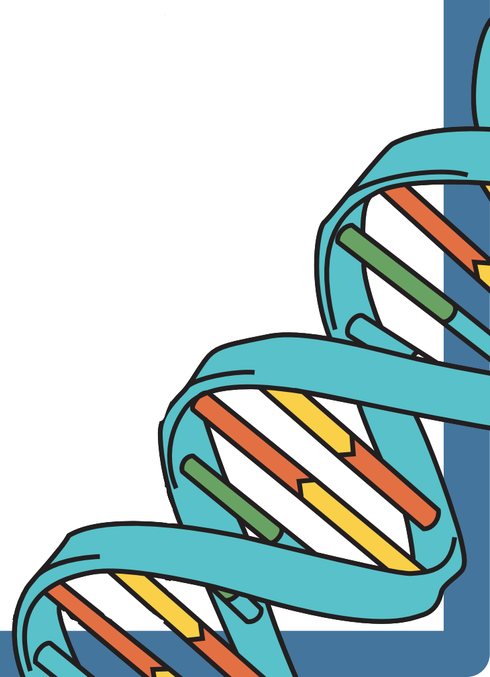
حتى نتعرف ع ال mismatch لازم يكون في methyl group ع ال DNA
والشرح كله رح يكون ع مثال اللي هوه ال E coli مع العلم انه العملية نفسها بكل
الكائنات الحية لكن الفرق انه اسماء البروتينات اللي رح تساعد بالعملية مختلف

Mismatch repair

الدكتورة بعد هيك كملت الشرح سلايد ١٦ ع الرسمه
شوفوا الشرح هناك وارجعو اقرأوا السلايدات من ١٢ ل ١٥

- The mismatches are nearly always corrected to reflect the information in the old (template) strand, which the repair system can distinguish from the newly synthesized strand by the presence of methyl group tags on the template DNA.

- The methyl-directed mismatch repair system of E. coli efficiently repairs mismatches up to 1,000 bp from a hemimethylated GATC sequence.

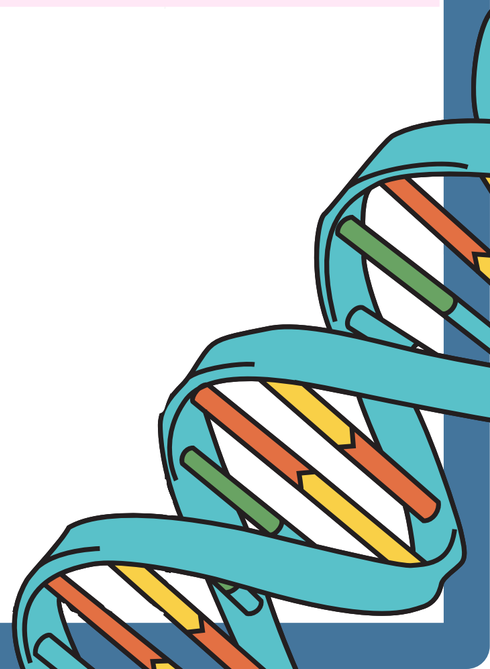


Mismatch repair

- In bacteria, strand discrimination is based on the action of Dam methylase, methylates DNA at the N^6 position of all adenines within (5')GATC sequences.

Dam methylase هوه انزيم اسمه A لل methylation الانزيم اللي رح يعمل

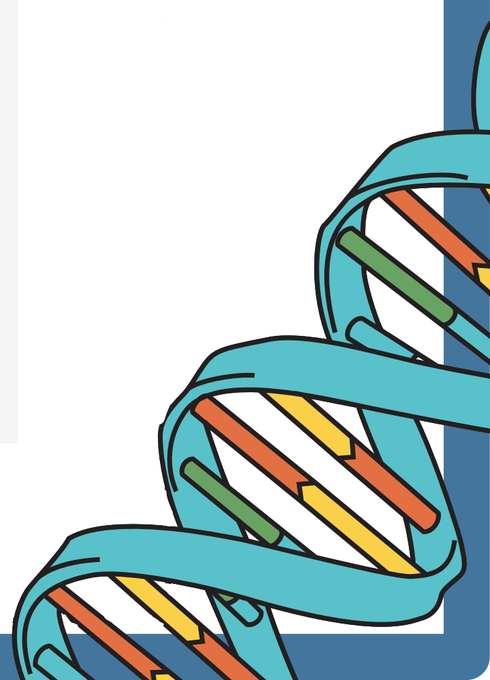
- Immediately after passage of the replication fork, there is a short period (a few seconds or minutes) during which the template strand is methylated but the newly synthesized strand is not.



Mismatch repair

- The transient unmethylated state of GATC sequences in the newly synthesized strand permits the new strand to be distinguished from the template strand.

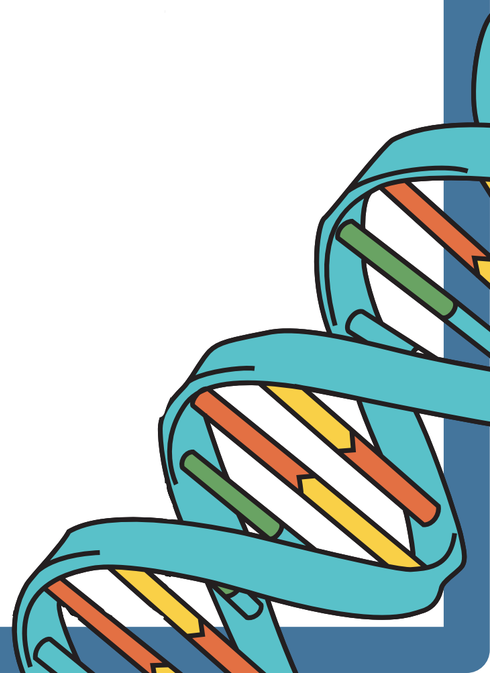
- Replication mismatches in the vicinity of a hemimethylated GATC sequence are then repaired according to the information in the methylated parent (template) strand.



Mismatch repair

- An endonuclease cuts the strand containing the mutation at GATC site adjacent to the defective site.
- An exonuclease then digests this strand from the site of the cut through the mutation, removing the mismatch area.
- A repair DNA polymerase then fills the gap and the DNA ligase seals the nick in the DNA.

قص صغير

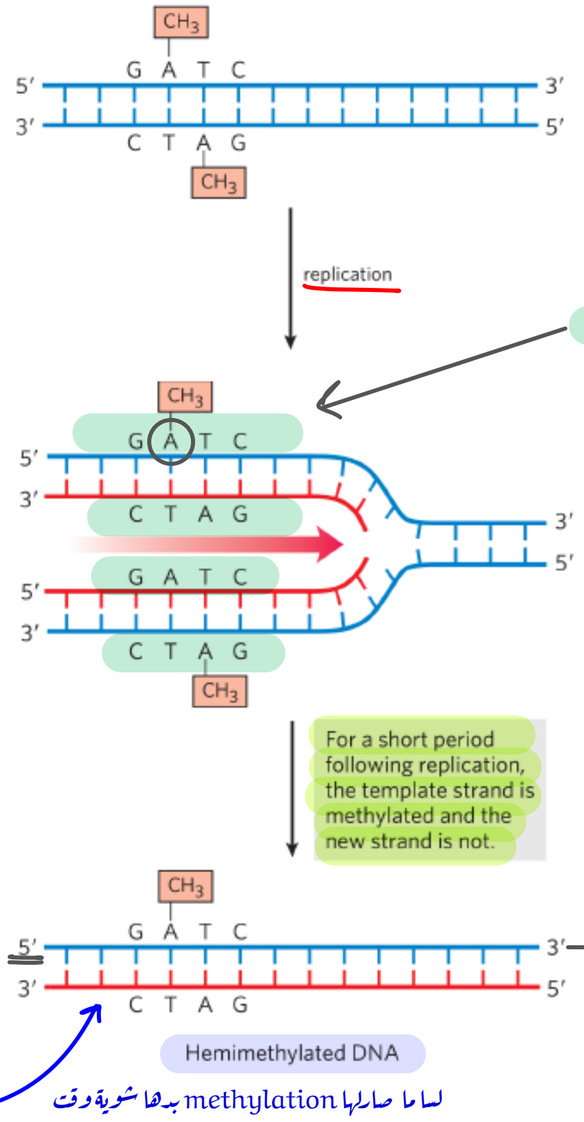


هاد ال sequence يعتبر ك marker نبدأ منه نتأكد من ال sequence اذا فيه mutations بين ال GATC الأولى وال GATC التانيه اللي رح تيجي بعد ١٠٠٠ نيوكليوتيد

طيب كيف رح نميز هاد ال sequence ؟
من ال methyl group الموجودة على ال A والانزيم اللي رح يضيفها هوه ال Dam methylase

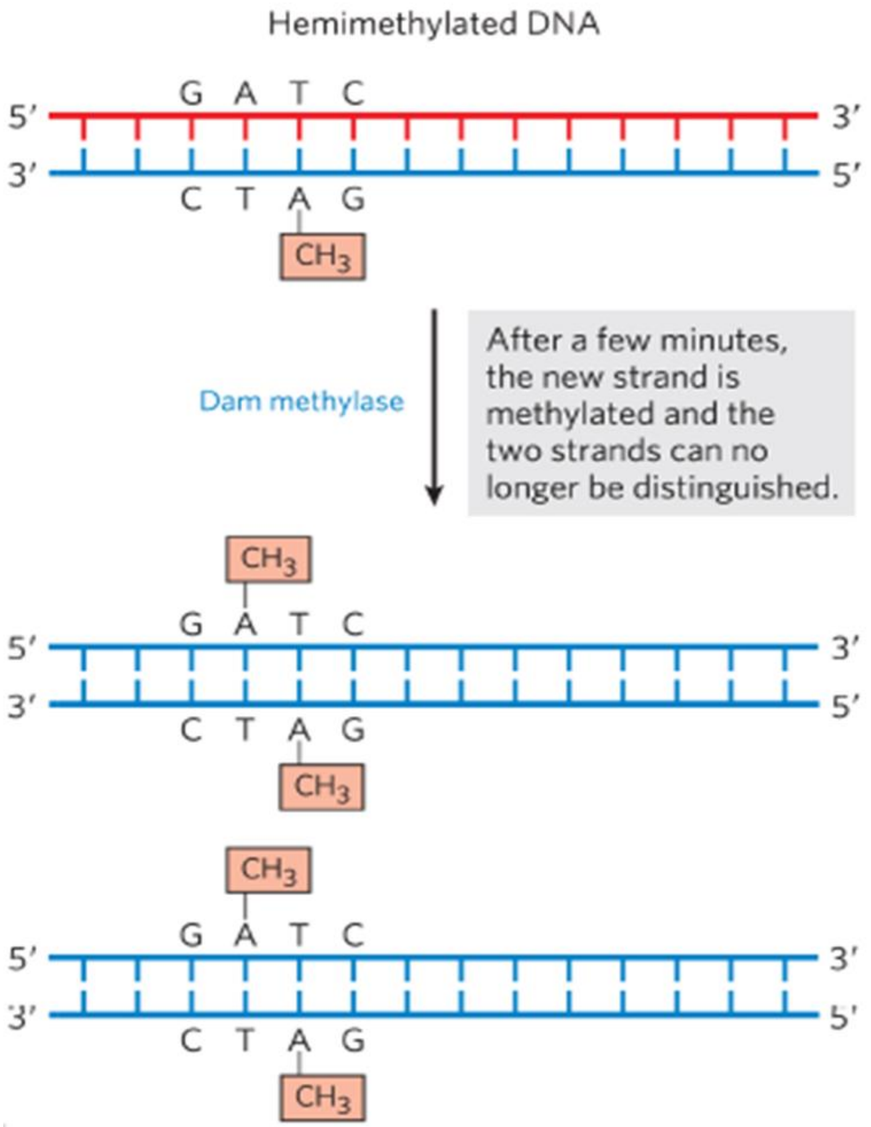
اوك ميزناه وعرفنا وين المطقه اللي فيها mutation بس في نقطة تانيه احنا حكينا انه ال methyl group رح تكون موجودة ع ال A اللي بال parent وال daughter طيب كيف بدنا نميز اي وحدة منهم ال parent اللي بدنا نعتمد عليها بالبناء اذا التنتين عليهم methyl group ؟

السر بالفترة الزمنية
ال parent أول ما يصير replication اله عالسريع رح يصيرله methylation وبعد بوقت بصير لل daughter و بسمي ال daughter بهاي الحالة hemimethylated DNA



بعد كل 1000 nucleotide رح نلاقي هاد ال sequence في ال DNA
وهاد ال sequence بصيرله methylation وتحديداً ع ال A اللي بهاد ال sequence وبصير هاد ال methylation ع ال daughter strand كمان موجود بس ع ال parent لانه ال daughter كان عندها هاد ال sequence

لسا ما صارلها methylation بدها شوية وقت


Hemimethylated DNA
G A T C
5′
3′
3′
5′
C T A G
CH3
Dam methylase
After a few minutes, the new strand is methylated and the two strands can no longer be distinguished.
CH3
G A T C
5′
3′
3′
5′
C T A G
CH3
CH3
G A T C
5′
3′
3′
5′
C T A G
CH3

Mismatch repair

عنا مجموعة بروتينات حيساعدو في تمييز منطقة ال mutations
ويصلحوا هاد ال mismatch وهدول اللي حتختلف تسميتهم بين الكائنات الحية هون المثال ال E coli

- **MutS** scans the DNA and forms a clamplike complex upon encountering a lesion. The complex binds to all mismatched base pairs.
- **MutL** protein forms a complex with MutS protein, and the MutSL complex slides along the DNA to find a hemimethylated GATC sequence.
- **MutH** binds to MutL, and the MutSLH complex moves in either direction at random along the DNA.
- MutH has a site-specific endonuclease activity that is inactive until the complex encounters a hemimethylated GATC sequence.
- At this site, MutH catalyzes cleavage of the unmethylated strand on the 5' side of the G in GATC, which marks the strand for repair.

وظيفتها تشوف وين صار ال mismatch بتطلع ع ال parent و ال daughter strand وبعدها بتوقف يعني بتميز الاثنان بس

بترتبط بال MutS وبتشكل معها بس complex

بتمسك بال methylated GATC

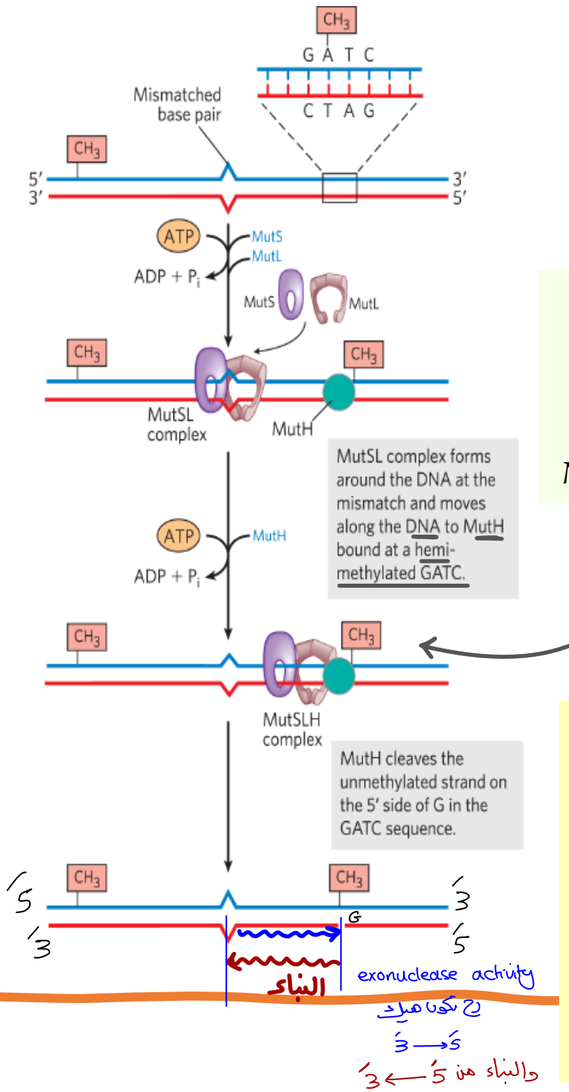
هيك صار عنا بروتين ماسك بال mismatch اللي هوال MutS وبروتين ماسك بال marker اللي هوه ال MutH (GATC)

ال MutH بكون inactive وبصيرله activation لما يرتبط ال MutL مع ال MutS ويكونوا ال complex

ثبتنا ال methyl ع ال GATC في ال parent strand ليه؟
عشان هدفنا نرجع نعمل replication لل parent strand
فهيه الاساس بدنا نثبتها و نحدد وين بالزبط بدنا نرجع نبني
و اكيد ما رح نحذف كل ال daughstrand لانه هاد رح ياخد
كتير وقت نرجع نبنيه

هون ارتبط ال MutS مع ال MutL معناها تكون عنا ال complex وبده يصير activation لل MutH كيف تحديداً ؟
في روايات بتحكي انه ال complex بتحرك وبروح عند ال MutH وبعملها activation وروايات تانيه بتحكي انه ال DNA
نفسه loop around بمعني زي بلتوي الفكرة انه بالطبع يقتين هيلتقوا .... اللي بدنا نعرفه انه ال complex بتحرك لل MutH

هلا ال MutH رح يعمل nick (قص صغير) في ال Daughter strand من جهة ال
5' يعني من جهة ال G و وظيفته لما يقص شوي بتكون (endonuclease) وبعد ما
انقص شوي صار لازم الجزء يلي انقص يصيرله digestion عن طريق
exonuclease ورح نحتاج معه ال DNA pol 3 و ال single strand
binding protien SSB و ال ligase عشان نبني والبناء يكون من ال 5'

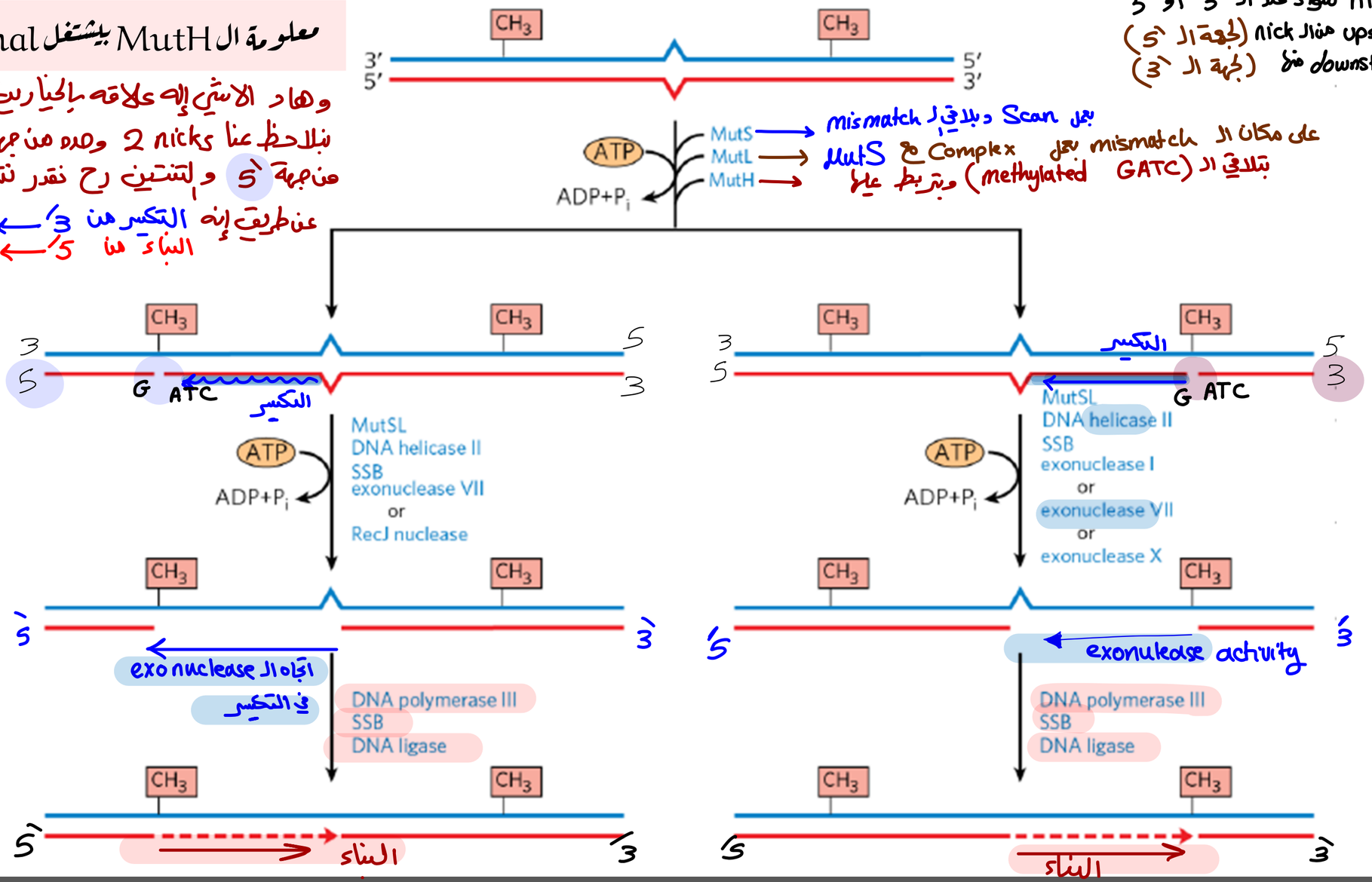


معلومة ال MutH بيشتغل bidirectional

وهاد الاشي إله علاقة بالخيارين اللي عنا إذا بنلاحظ عنا 2 nicks وحده من جهة ال 3` وحدة من جهة 5` و إلتنتين رح نقدر نتعامل معهم وبنفس الطريقة عن طريق إنه التكسير من 3` ← 5` البناء من 5` ← 3`

الاتجاهات بناءً على الـ daughter strand

* وبين هالكانت الـ Nick سواءً عند الـ 3` او 5` الـ G رح يكون upstream Nick هاد (الجهة الـ 5`) و الـ ATC رح يكونوا downstream بهد (الجهة الـ 3`)



Mismatch repair

- When the mismatch is on the 5' side of the cleavage site, the unmethylated strand is unwound and degraded in the 3′ → 5′ direction from the cleavage site through the mismatch, and this segment is replaced with new DNA.

- This process requires the combined action of DNA helicase II (also called UvrD helicase), SSB, exonuclease I or exonuclease X (both of which degrade strands of DNA in the 3′ → 5′ direction) or exonuclease VII (which degrades single-stranded DNA in either direction), DNA polymerase III, and DNA ligase.

التفاصيل وارقام الانزيمات الدكتورة ما نافستهم وحكت بهمنا نعرف اسماء الانزيمات بس

← أكدت الدكتورة نعرف إنه :-

* وظيفة ال MutS/L/H
* نعرف انه في DNA pol 3 وهم helicase و ligase
* ونعرف انه في SSB و
* بهمنا نعرف انه ال MutH بيشتغل ك endonuclease
* وانه ال MutH inactive بدل ما ال MutS+L يوصلو لهنده طالما مافي MutL يعني ال inactive ← MutH

البروتينات اللي ساهموا في ال repair

ما بهمنا نعرف الارقام بهمنا الاسماء

Enzymes/proteins	Type of damage
Mismatch repair	
Dam methylase MutH, MutL, MutS proteins DNA helicase II SSB DNA polymerase III Exonuclease I Exonuclease VII RecJ nuclease Exonuclease X DNA ligase	Mismatches
Base-excision repair	
DNA glycosylases AP endonucleases DNA polymerase I DNA ligase	Abnormal bases (uracil, hypoxanthine, xanthine); alkylated bases; in some other organisms, pyrimidine dimers
Nucleotide-excision repair	
ABC excinuclease DNA polymerase I DNA ligase	DNA lesions that cause large structural change (e.g., pyrimidine dimers)
Direct repair	
DNA photolyases	Pyrimidine dimers
O^6-Methylguanine-DNA methyltransferase	O^6-Methylguanine
AlkB protein	1-Methylguanine, 3-methylcytosine

هيك خلصنا اول طريقة من ال repair