

Chương 3

Đột biến gene

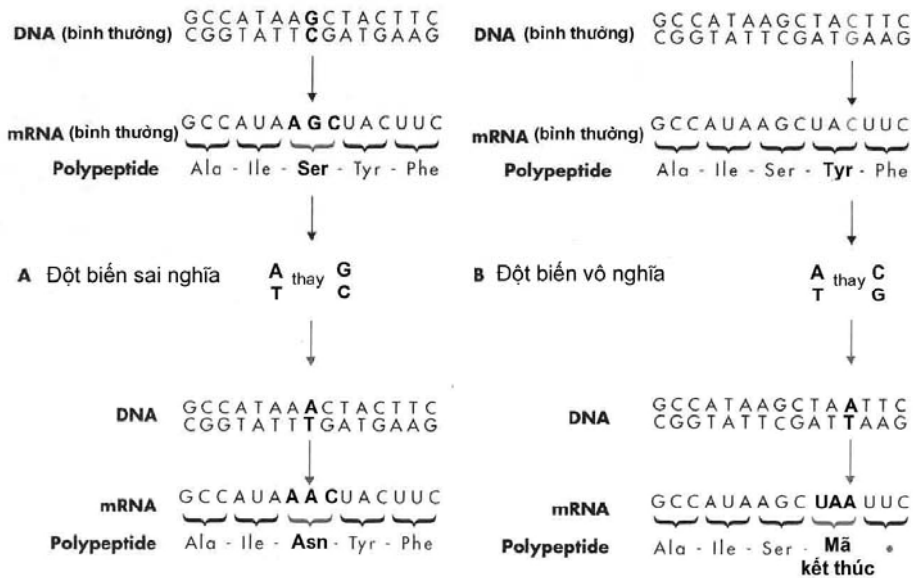
Đột biến gene (gene mutation) xảy ra khi có sự thay đổi trong trình tự của các nucleotide trên DNA. Chúng có thể xảy ra ở các tế bào dòng sinh dục (germline cell) hoặc các tế bào sinh dưỡng (somatic cell). Chương này tập trung vào các đột biến xảy ra trên các gene đơn (single gene), trong các tế bào dòng sinh dục và nằm trên các vùng DNA mang mã di truyền hoặc trên các đoạn tham gia vào quá trình điều hòa sự biểu hiện của gene vì các đột biến xảy ra trên các vùng khác của genome thường không gây ra các hậu quả về mặt lâm sàng.

I. Các loại đột biến đơn gene (single - gene mutation)

1. Đột biến thay cặp nucleotide (base pair substitution)

Một cặp nucleotide trong cấu trúc của gene bị thay bởi một cặp nucleotide khác. Tùy theo hậu quả của nó trên chuỗi polypeptide mà được chia làm ba loại:

1.1. Đột biến im lặng (silent substitution)



Hình 1: Đột biến sai nghĩa và đột biến vô nghĩa

Do tính chất thoái hóa của mã bộ ba nên đột biến làm thay đổi bộ ba mã hóa nhưng không làm đổi nghĩa do đó không làm thay đổi trình tự của các amino acid trong chuỗi polypeptide do đó không gây hậu quả trên kiểu hình.

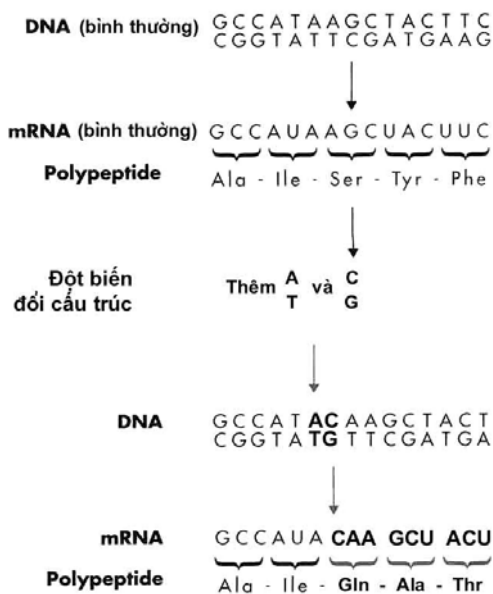
1.2. Đột biến sai nghĩa (missense mutation)(hình 1)

Đột biến chỉ làm thay đổi một amino acid trong chuỗi polypeptide.

1.3. Đột biến vô nghĩa (nonsense mutation) (hình 1)

Đột biến làm cho một codon có nghĩa trở thành một codon kết thúc (UAA, UAG hoặc UGA trên mRNA). Những codon này báo hiệu chấm dứt quá trình giải mã nên dẫn đến việc ngừng tổng hợp protein sớm và tạo nên các chuỗi polypeptide ngắn hơn bình thường. Ngược lại nếu một codon kết thúc bị đột biến thành một codon có nghĩa thì chuỗi polypeptide sẽ bị kéo dài.

2. Đột biến thêm (insertion) và mất (deletion) một hoặc nhiều cặp nucleotide



Hình 2: Đột biến đổi khung

Những đột biến thuộc loại này thường gây ra các hậu quả nghiêm trọng.

Nếu đột biến làm thừa hoặc mất ba nucleotide thuộc cùng một codon hoặc là một bội số của codon sẽ dẫn đến việc thừa hoặc thiếu 1 hoặc vài amino acid. Nếu số nucleotide thêm hoặc mất không phải là một bội số của codon sẽ làm thay đổi trình tự của các nucleotide từ vị trí đột biến về phía cuối gen, loại đột biến này được gọi là **đột biến đổi khung** (frameshift mutation) (hình 2)

Ví dụ: Đột biến thêm 1 nucleotide Adenine vào vị trí thứ 6 của chuỗi nucleotide sau 5' - ACT - **GAT** - TGC - GTT - 3' sẽ làm thay đổi trình tự của nó thành: 5' - ACT - **GAA** - T TG - CGT - T 3' và do đó trình tự amino acid từ Thr - **Asp** - Cys - Val sẽ trở thành Thr - **Glu** - Leu - Arg.

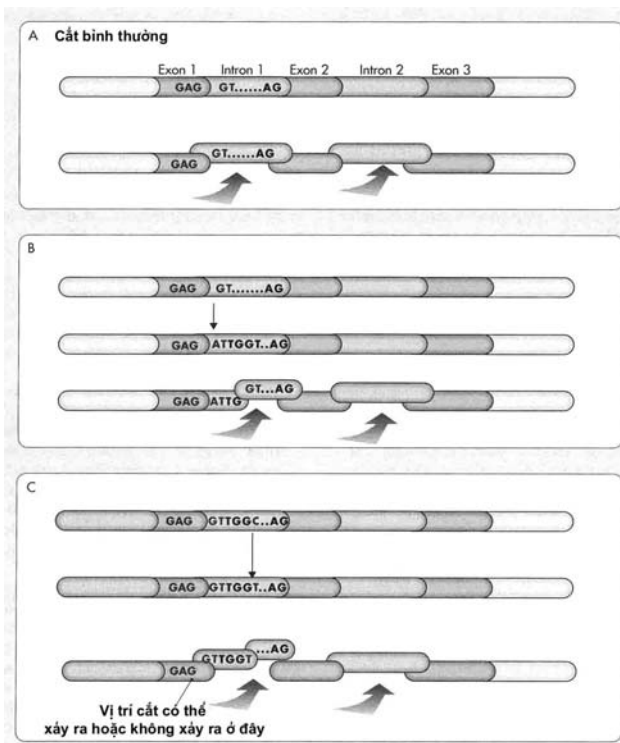
Đột biến đổi khung thường làm xuất hiện một codon vô nghĩa sau vị trí đột biến dẫn đến việc cắt ngắn chuỗi polypeptide.

3. Đột biến trên vị trí khởi động (*promotor mutation*)

Đột biến xảy ra trên vị trí khởi động của gen có thể làm giảm ái lực của RNA polymerase tại vị trí này và dẫn đến kết quả là giảm sản xuất mRNA và qua đó làm giảm sản lượng protein.

Đột biến xảy ra trên các gene mã hóa cho các yếu tố sao mã (*transcription factor gene*) hoặc trên các đoạn thúc đẩy (*enhancer*) của gene cũng gây ra hậu quả tương tự.

4. Đột biến ở vị trí cắt (*splice site mutation*)



Hình 3. (A) vị trí cắt bình thường. (B) Đột biến vị trí cắt xảy ra trên đoạn cho, GT bị thay bởi AT. (C) Đột biến làm xuất hiện một vị trí cho GT mới trong đoạn intron đầu tiên dẫn đến việc tạo nên các mRNA hoàn chỉnh bình thường và bất thường.

cắt tại những vị trí cắt bí ẩn sẽ làm mất đoạn một phần exon hoặc đôi khi mất nguyên cả một exon. Đột biến này cũng có thể làm cho một phần hoặc

Đột biến xảy ra ở ranh giới của các đoạn exon và intron do đó làm thay đổi các vị trí báo hiệu cho việc cắt chính xác các đoạn intron. Những đột biến này có thể xảy ra trên đoạn GT có chức năng xác định vị trí cho 5' (5' donor site) hay ở vị trí nhận 3' (3' acceptor site), hoặc có thể xảy ra ở những vùng lân cận các vị trí này (hình 3).

Khi đột biến này xảy ra, việc cắt có thể sẽ được thực hiện ở trong exon tiếp theo. Vị trí cắt mới này có trình tự nucleotide hơi khác so với ở vị trí bình thường, thường không được dùng đến và được “dấu” trong đoạn exon. Chúng được gọi là các **vị trí cắt ẩn** (*cryptic splice site*). Việc

toàn bộ một intron có mặt trong mRNA hoàn chỉnh.

II. Transposon (các yếu tố cơ động: mobile element)

Các transposon là các đoạn DNA có thể tự tạo ra bản sao của chính mình và cài vào các vị trí khác trên các nhiễm sắc thể và do đó có thể gây ra đột biến đổi cấu trúc. Đây là hiện tượng đã được chứng minh trên các súc vật thí nghiệm như ruồi giấm nhưng trước đây không rõ là có xảy ra ở người hay không. Hiện nay người ta đã phát hiện được ở một số bệnh như bệnh u xơ thần kinh (neurofibromatosis) type I, bệnh ung thư vú có tính gia đình, ung thư ruột kết (colon cancer) và bệnh máu khó đông A và B (hemophilia) ở người có liên quan đến hiện tượng này.

III. Đột biến của các đoạn DNA lặp (tandem repeated DNA sequence)

Đây là loại đột biến mới được khám phá gần đây. Đột biến ảnh hưởng lên các đoạn DNA lặp nằm ở trong hoặc ở cạnh các gene bệnh. Các đơn vị lặp có chiều dài ứng với ba cặp nucleotide như CAGCAGCAG chẳng hạn. Ở người bình thường có số lượng đoạn DNA lặp này tương đối nhỏ (ví dụ khoảng từ 20 đến 30 đoạn lặp) ở tại một vị trí đặc hiệu trên nhiễm sắc thể.

Vì một lý do chưa rõ số đoạn này bị tăng lên một cách đáng kể trong giảm phân hoặc trong giai đoạn sớm của quá trình phát triển phôi làm cho trẻ có số lượng đoạn lặp lên tới hàng trăm hoặc thậm chí hàng ngàn lần. Khi hiện tượng này xảy ra tại một số vùng nhất định trên genome sẽ gây ra các bệnh di truyền. Giống như các đột biến khác chúng có thể được truyền cho thế hệ sau. Hiện nay người ta đã biết khoảng độ hơn mười bệnh liên quan đến loại đột biến này.

IV. Hậu quả của đột biến gene ở mức phân tử

Đột biến gene có thể làm tăng (gain of function) hoặc mất chức năng (loss of function) của phân tử protein do nó mã hóa.

1. Đột biến làm tăng chức năng của protein

Đột biến làm xuất hiện một phân tử protein mới hoàn toàn hoặc làm biểu hiện quá mức bình thường chức năng của một phân tử protein hoặc làm phân tử protein biểu hiện không phù hợp (được tổng hợp ở không đúng loại mô hoặc không đúng giai đoạn). Đột biến làm tăng chức năng gây ra những bệnh di truyền trội (dominant disorder) (Vd: Bệnh Huntington).

2. Đột biến làm mất chức năng của protein

Đột biến làm mất 50% sản phẩm protein của gene nhưng 50%

protein bình thường còn lại vẫn đủ cho hoạt động chức năng bình thường do đó gây ra những bệnh di truyền lặn (recessive disorder). Người mang gene đột biến ở trạng thái dị hợp sẽ không có biểu hiện bệnh. Tuy nhiên trong một số trường hợp 50% sản phẩm protein bình thường vẫn không đủ cho chức năng bình thường khi đó sẽ làm xuất hiện bệnh ở trạng thái dị hợp (có biểu hiện trội), tình trạng này được gọi là **haploinsufficiency**.

Một loại đột biến làm mất chức năng của protein khác là **đột biến âm tính trội** (dominant negative mutation), loại đột biến này tạo ra sản phẩm protein không những không có chức năng mà còn ức chế chức năng của phân tử protein được tổng hợp bởi allele bình thường trong kiểu gene dị hợp. Hiện tượng này thường được thấy ở các gene mã hóa cho các phân tử protein được cấu tạo từ hai hoặc nhiều tiểu đơn vị.

V. Nguyên nhân của đột biến

Về mặt nguyên nhân đột biến được chia làm hai loại:

(1) *Đột biến cảm ứng (induced mutation)* xảy ra do tác động của các tác nhân có trong môi trường sống. Các tác nhân gây ra dạng đột biến này được gọi là tác nhân đột biến (mutagen).

(2) *Đột biến tự nhiên (spontaneous mutation)* xảy ra trong quá trình nhân đôi của DNA.

Các nghiên cứu trên súc vật thí nghiệm cho thấy phóng xạ (radiation) là một tác nhân đột biến quan trọng. Các tác nhân phóng xạ ion hoá (ionizing radiation) như tia X và bụi phóng xạ có thể làm tách các electron ra khỏi các nguyên tử do đó tạo nên các ion bị thay đổi điện tích. Khi các ion này nằm cạnh hoặc trong cấu trúc của DNA chúng có thể thúc đẩy các phản ứng hóa học làm thay đổi các base của DNA. Tác nhân phóng xạ ion hóa này cũng có thể làm phá vỡ cấu trúc xoắn kép của DNA. Dạng phóng xạ này có thể có thể tác động trên mọi loại tế bào của cơ thể bao gồm cả các tế bào mầm sinh dục.

Các tác nhân phóng xạ không ion hóa (nonionizing radiation) không làm thay đổi điện tích của các nguyên tử nhưng làm cho các electron có thể nhảy từ quỹ đạo trong ra quỹ đạo ngoài của nguyên tử làm những nguyên tử này trở nên không hằng định về mặt hóa học. Tia cực tím (UV: ultraviolet) có mặt tự nhiên trong ánh sáng mặt trời là một ví dụ cho loại phóng xạ này. Tia cực tím tạo nên các liên kết cộng hóa trị giữa các base pyrimidine nằm cạnh nhau như thymine và cytosine sẽ tạo nên các pyrimidine dimers (dimers là các phân tử có 2 tiểu đơn vị), những dimers này không thể bắt cặp chính xác với các base purine trong quá trình nhân đôi của DNA, dẫn đến kết quả là gây ra thay thế một cặp base. Vì tia cực

tím chỉ được hấp thu bởi lớp biểu bì nên chỉ có thể gây ra ung thư da mà không thể đến được các tế bào mầm sinh dục.

Một số các hóa chất cũng có thể gây ra đột biến do có cấu trúc tương tự các base của DNA, chúng được gọi là các **base tương đồng** (base analog) như 5 - bromouracyl. Loại base này có thể thay thế cho một base thật sự của DNA trong quá trình nhân đôi. Do cấu trúc của base tương đồng không giống một cách hoàn toàn như base mà nó thay thế do đó nó có thể gây ra sai sót trong quá trình bắt cặp ở những lần nhân đôi tiếp theo.

Hàng trăm loại hóa chất đã được phát hiện là có khả năng gây đột biến ở súc vật thí nghiệm như nitrogen mustard, vinyl chloride, các tác nhân alkyl hoá, formaldehyde, sodium nitrite và saccharin. Khả năng gây đột biến của chúng không giống nhau. Một số tác nhân đột biến được sản xuất bởi con người nhưng cũng có nhiều tác nhân xuất hiện tự nhiên trong môi trường như aflatoxin B1 có mặt phổ biến trong thực phẩm.

VI. Tỷ lệ đột biến

Ở mức độ nucleotide, tỷ lệ đột biến (mutation rate) được ước tính khoảng 10^{-9} cho mỗi cặp base trong mỗi lần phân chia tế bào (những đột biến này đã tránh được quá trình sửa chữa DNA). Ở mức độ gene, tỷ lệ đột biến rất thay đổi, tỷ lệ biến thiên từ 10^{-4} đến 10^{-7} đối với mỗi locus qua mỗi lần phân chia tế bào, sự biến động này là do: (1) Kích thước của các gene hết sức khác nhau; (2) Có một số đoạn nucleotide nhất định đặc biệt nhạy cảm với đột biến được gọi là các điểm nóng đột biến (mutation hot spots).

Tỷ lệ đột biến cũng thay đổi đáng kể theo tuổi của bố mẹ. Một vài bất thường NST gia tăng đáng kể so với sự gia tăng của tuổi mẹ và các đột biến đơn gene có thể gia tăng theo tuổi bố. Sự gia tăng này được thấy trong nhiều bệnh do đột biến đơn gene như hội chứng Marfan và tật loạn sản sụn bẩm sinh (achondroplasia). Nguy cơ sinh một đứa con bị hội chứng Marfan cao khoảng 5 lần hơn ở người nam trên 40 tuổi so với các người nam trong độ tuổi 20 (hình 8). Nguyên nhân của hiện tượng này được cho là liên quan tới hoạt động của các tế bào mầm sinh dục ở người nam đã thực hiện phân chia trong suốt cuộc đời tạo điều kiện cho việc tích lũy các đột biến xảy ra do sai sót trong quá trình nhân đôi.

VII. Sửa chữa DNA

Trong mỗi lần phân chia tế bào sẽ có khoảng 3 tỷ cặp base thực hiện nhân đôi nghĩa là nguy cơ xảy ra sai sót trong quá trình này để dẫn đến đột biến là rất cao tuy nhiên trong thực tế sự nhân đôi của DNA đã diễn ra một cách chính xác đến ngạc nhiên. Nguyên nhân chính của sự chính xác này

là hiện tượng sửa chữa DNA (DNA repair) xảy ra ở mọi tế bào bình thường trong cơ thể của các sinh vật bậc cao. Hàng chục loại enzyme khác nhau đã tham gia vào quá trình sửa chữa các DNA bị tổn thương. Chúng ghi nhận một cách chọn lọc một base bị thay đổi, loại bỏ nucleotide mang nó bằng cách cắt ra khỏi chuỗi DNA, sau đó thay bằng một nucleotide mang base chính xác theo nguyên tắc bổ sung và gắn DNA lại. Người ta cho rằng cơ chế này cho phép sửa chữa tới 99,9% các sai sót.