



### Indukowanie i wykorzystanie mutacji

- Mutacje jako źródło zmienności**
  - Definicja i podział
  - Uszkodzenia DNA
  - Naprawa DNA
- Mutageny**
  - Mutageny indukowane
  - Mutageny fizyczne
  - Mutageny chemiczne
- Efekty działania mutagenów**
  - Chimery
  - Efekty genetyczne
- Mutacje a dieta**
  - Dostępność żywności
  - Rola mutacji w poprawie jakości żywności



The image shows a bowl of green wheat sprouts (microgreens) submerged in a yellow liquid, likely a broth or oil, with some white foam on top. The sprouts are fresh and vibrant green. In the bottom right corner of the slide, there is a small logo of a stylized 'G' and 'E'.

## 1. Mutacje jako źródło zmienności: definicja

**Mutacje to zmiany dziedziczne w materiale genetycznym, które dostarczają nowej zmienności genetycznej niezbędnej do ewolucji.**

- 1901: Hugo de Vries – mutacja to nagła zmiana dziedziczna, która nie wynika z rekombinacji.
- Mutacje są źródłem zmienności genetycznej. Bez mutacji geny istniałyby tylko w jednej postaci (jeden allel w locus). Organizmy nie mogłyby ewoluować.
- Mutacje są losowe tzn. nie wiadomo kiedy i gdzie mutacja zajdzie.
- Mutacje zachodzą u wszystkich grup organizmów żywych.



*Oenothera lamarckiana* – obiekt badań H. de Vries.



Kosodrzewina (*P. mugo*) prawdopodobnie powstała jako mutant karłowaty sosny błotnej (*P. uliginosa*).



Pokolenie M<sub>1</sub> owsa szorstkiego (*Avena strigosa*). Albinizm jest częstą mutacją u roślin.



Mutant grochu (*Pisum sativum*) o wydłużonych liściach.

**Mutagenеза to proces, który prowadzi do powstawania mutacji. Mutant to organizm, u którego występuje mutacja.**



## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

**Mutacje mogą wystąpić w dowolnej komórce i na dowolnym etapie rozwoju organizmu wielokomórkowego.**

### Miejsce powstania mutacji:

- Mutacje w komórkach szlaku płciowego:
  - nie występują u rodziców;
  - przekazywane są następnym pokoleniom;
  - mogą wystąpić na dowolnym etapie wytwarzania komórek rozrodczych.
- Mutacje somatyczne:
  - występują w komórkach somatycznych;
  - nie są przekazywane potomstwu;
  - prowadzą do powstania chimer.



Mutacje szlaku płciowego u grochu i jęczmienia (wst).



Mutacje somatyczne u grochu i owsa szorstkiego. Tylko część rośliny, np. fragment liścia, jest zmutowana.

**Tylko mutacje w komórkach szlaku płciowego są przekazywane kolejnym pokoleniom.**



## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

Mutacje somatyczne są wykorzystywane w hodowli zwierząt, zwłaszcza koni, u których decydują o unikalności.



Mutacja somatyczna u psa.



Umaszczenie koni będące wynikiem mutacji somatycznych.

Mutacje somatyczne u świni domowej.

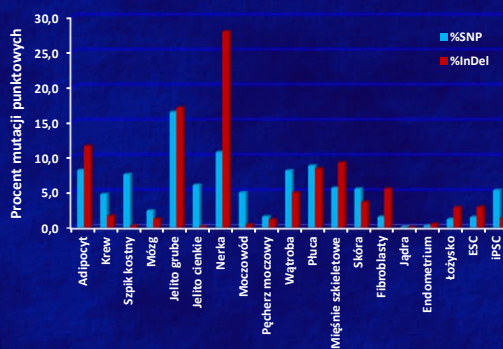


## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

U człowieka wraz z wiekiem wzrasta liczba mutacji somatycznych w komórkach zdrowych tkanek.

### Spektrum mutacji somatycznych w zdrowych tkankach człowieka

- W większości są to mutacje punktowe typu SNP (96%), rzadziej typu insercji/delecji - indel (4%).
- Wynikają z błędów w replikacji i naprawie DNA.
- Częstość w zdrowych tkankach jest znacznie niższa niż w nowotworowych, co utrudnia ich identyfikację.
- Każda komórka ma własne spektrum unikalnych mutacji, co wymaga stosowania metod analizy pojedynczych komórek.



Średnio 14 438 mutacji somatycznych występuje w różnych tkankach danej osoby. Najczęściej mutacje punktowe obserwuje się w jelicie grubym - 16% wszystkich SNP oraz 17% wszystkich InDel. Nerki charakteryzują się stosunkowo wysokim udziałem insercji i delecji - 28% wszystkich mutacji typu indel.

Częstość mutacji somatycznych, punktowych jest znacznie wyższa u osób palących oraz wystawionych na długotrwałe działanie UV.

Sun et al., 2021

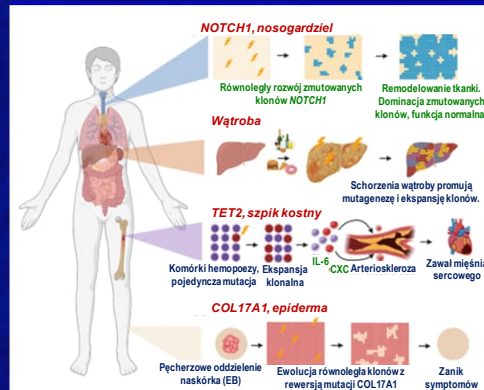


## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

Większość mutacji somatycznych nie ma wpływu na organizm, niektóre jednak mogą prowadzić do powstania chorób.

### Ewolucja somatyczna i równoległa

- **Ewolucja somatyczna:** akumulacja mutacji wpływających na przystosowanie zmutowanych komórek somatycznych.
- **Ewolucja równoległa:** klonów komórek z różnymi mutacjami mogą występować w danym organie jednocześnie.
- **Mutacje sterujące** występują w komórkach zdrowych tkanek, np. w 5% komórek jelita grubego, wątroby i prostaty.
- **Procesy te** mogą prowadzić do remodelowania tkanki i rozwoju chorób przewlekłych.



Przykłady ewolucji somatycznej dla genu *NOTCH1* (rodzina białek sygnałowych), *TET2* (dioksygenaza metylocytozyny), *COL17A1* (łańcuch kolagenu).

**Mutacje sterujące (driver mutations):** prowadzą do uzyskania przewagi selekcyjnej przez komórkę, często są przyczyną nowotworów.

Olafsson i Anderson, 2021



## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

Mutacje mogą powstawać spontanicznie lub być indukowane za pomocą czynników fizycznych lub chemicznych.

### Podział mutacji ze względu na czynnik wywołujący:

- **Mutacje spontaniczne** są wynikiem błędów naturalnych procesów biologicznych, np. replikacji DNA.
- **Mutacje indukowane** powstają pod wpływem czynników fizycznych lub chemicznych, które określa się mianem mutagenów.
- **Mutacje insercyjne** to mutacje wynikające z mobilizacji transpozonów. Mogą one być spontaniczne np. w warunkach stresowych lub indukowane.



*Dreissena polymorpha*: mutacja spontaniczna, punktowa: albinizm.



*Pellia borealis*: mutacja spontaniczna, autopoliploidyzacja.



Insercyjne mutanty *Danio rerio*, brak pigmentu (po lewej) oraz niedorozwój 3-dniowych embrionów (po prawej). (Golling et al., 2002)

**Mutacje indukowane** otrzymuje się najczęściej w warunkach sztucznych, ale mogą też powstawać w środowisku pod wpływem np. zanieczyszczenia.

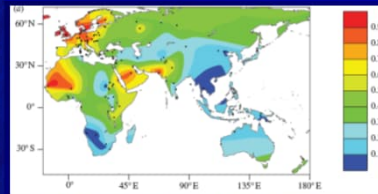


## 1. Mutacje jako źródło zmienności: podział

Mutacje spontaniczne są odpowiedzialne za tolerancję laktozy u człowieka umożliwiającą dorosłym trawienie mleka ssaków.

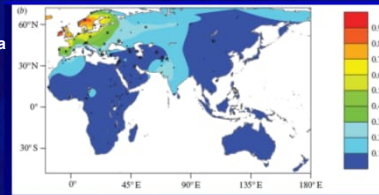
### Tolerancja laktozy

- Cecha dominująca, autosomalna.
- 35% populacji toleruje laktozę, najwyższa częstość jest w Europie:
  - 62-86%: środkowa, zachodnia;
  - 89-96%: północna.
- Wywołana mutacjami punktowymi w genie *MCM6* kodującym wzmacniacz genu *LCT* (laktaza).
- Mutacje prawdopodobnie powstały w neolicie wraz z rozpowszechnieniem się hodowli zwierząt w Europie (rewolucja neolityczna).



Tolerancja laktozy na świecie (%).

Częstość allele 13910T genu *MCM6* związanego z tolerancją laktozy u dorosłych osobników.



Mutacje warunkujące tolerancję laktozy zaszyły wielokrotnie w różnych regionach świata. W Europie tolerancja laktozy jest uwarunkowana allelem 13910T.

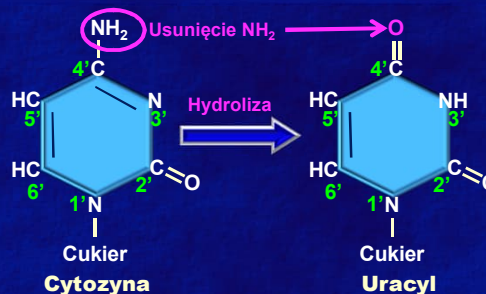
Gerbault et al., 2011



## 1. Mutacje jako ...: uszkodzenia DNA

Uszkodzenia DNA to błędy w strukturze chemicznej DNA, które powstają pod wpływem środowiska i procesów metabolicznych.

- Uszkodzenia struktury DNA:
  - przerwanie pojedynczej nici pod wpływem aktywnych form tlenu;
  - przerwanie podwójnej helisy.
- Zmiany chemiczne w DNA:
  - metylacja zasad (alkilacja) przez tworzenie metyloguaniny;
  - hydroliza, która prowadzi do deaminacji (usunięcia  $\text{NH}_2$ ), depurynacji i depirymidynacji.
- Zmiany sekwencji DNA:
  - wstawienie błędnego nukleotydu podczas replikacji.



Deaminacja cytozyny: prowadzi do powstania uracylu, który nie jest akceptowany w DNA. Jeżeli DNA nie jest naprawione to łańcuch pęka.

Uszkodzenia DNA najczęściej obejmują przerwanie łańcucha DNA, brak zasady azotowej lub jej chemiczną zmianę.



## 1. Mutacje jako ...: uszkodzenia DNA

U ssaków uszkodzenia w DNA powstają z częstością  $10^4$ - $10^6$  uszkodzeń w komórce w ciągu doby.

Typ uszkodzenia	Liczebność
Pęknięcie jednej nici DNA	50 000
Depurynacja	10 000
Alkilacja zasad	5 000
Uszkodzenie oksydacyjne	2 000
Deaminacja	600
Sieciowanie (cross-linking)	10
Pęknięcie podwójnej nici	10

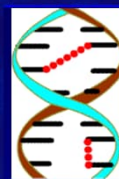
Ambekar et al., 2017

U człowieka obserwuje się średnio  $5 \times 10^4$  wszystkich uszkodzeń w komórce w ciągu dnia, czyli 2000 ~uszkodzeń w ciągu godziny.

**Sieciowanie (DNA cross-linking): tworzenie wiązań kowalencyjnych pomiędzy nukleotydami jednego łańcucha DNA lub pomiędzy dwoma komplementarnymi łańcuchami DNA (interstrand cross-linking, ICL).**



Przykład sieciowania (cross-linking) między dwoma guaninami: G-G.



Sieciowanie (cross-linking) między dwoma łańcuchami DNA.

Sieciowanie (cross-linking) w obrębie jednego łańcucha DNA.



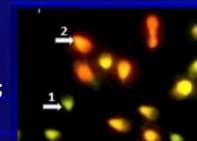
## 1. Mutacje jako ...: uszkodzenia DNA

Organizmy mają zdolność naprawy uszkodzeń w DNA. Jeżeli uszkodzenia nie są naprawione to prowadzą one do mutacji.

**Niektóre czynniki egzogenne wywołujące uszkodzenia w DNA:**

- **Akroleina:** przyłącza się do guanozyny w DNA tworząc 3-pierścieniowy produkt i powodując pęknięcie łańcucha.
- **1,3-butadien:** redukuje metylację DNA i histonów.
- **Formaldehyd:** powoduje sieciowanie (cross-linking) w DNA.
- **Akrylonitryl:** powoduje stres oksydacyjny i deaminację.

Sperma palacza: DNA barwione akrydynowym: barwa zielona - DNA prawidłowy; czerwona - uszkodzony.



Zawartość czynników uszkadzających DNA w papierosach.

**W papierosach zidentyfikowano 5 300 różnych związków, z których 150 uszkadza DNA.**

na podstawie Bernstein i Prasad, 2013



## 1. Mutacje jako ...: naprawa DNA

Naprawa DNA obejmuje różnorodne mechanizmy, które identyfikują i naprawiają uszkodzenia w DNA.

**Mechanizmy naprawy DNA**

**Naprawa bezpośrednia:**

- nie zależy od matrycy DNA,
- zachodzi pod wpływem światła (fotoreaktywacja).

**Naprawa uzależniona od matrycy DNA**

**W trakcie replikacji:**

- przez wycinanie zasad (BER),
- przez wycinanie nukleotydów (NER)
- naprawa niesparowanych zasad (mismatch repair, MMR).

**Po replikacji:**

- naprawa dwuniciowych pęknięć (DSBR).

## 1. Mutacje jako ...: naprawa DNA

Fotoreaktywacja: mechanizm usuwania dimerów pirymidynowych, które powstają pod wpływem światła UV, wymaga światła.

Dimer tyminowy

**Fotoliza**

DNA

UV

Powstają dimery pomiędzy pirymidynami.

Przyłącza się enzym fotoliza, który rozpoznaje dimery.

Światło 310-450 nm

Absorpcja światła fioletowo-niebieskiego i aktywacja enzymu.

**Fotoliza**

Trawienie wiązań pomiędzy pirymidynami.

Odtworzenie struktury DNA i oddysocjowanie fotolazy.

**Fotoliza**

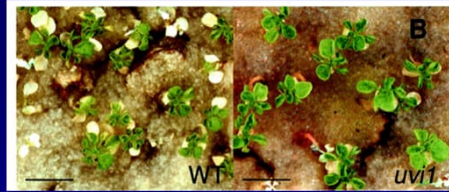
**Fotoreaktywacja nie zależy od matrycy DNA ponieważ dimery pirymidynowe nie zmieniają sekwencji DNA. Zmieniona jest jedynie struktura przestrzenna.**

## 1. Mutacje jako ...: naprawa DNA

U ssaków fotoreaktywacja nie występuje. Dimery usuwane są głównie przez wycinanie nukleotydów (NER).



**Xeroderma pigmentosum:** wrażliwość na światło słoneczne związana jest z mutacjami w genach szlaku NER odpowiadających za rozpoznanie dimerów (XPA), wycinanie (XPF, XPG) oraz usuwanie oligomeru (XPB, XPD).



Przykład mutantu (po prawej) *Arabidopsis thaliana* odpornego na promieniowanie UV dzięki zwiększonej aktywności enzymów NER rozpoznających dimery.

Mutacje w genach szlaku naprawy DNA u człowieka prowadzą do zwiększonej wrażliwości na promieniowanie słoneczne.



## Indukowanie i wykorzystanie mutacji

### 1. Mutacje jako źródło zmienności

- Definicja i podział
- Uszkodzenia DNA
- Naprawa DNA

### 2. Mutageny

- Mutageneza indukowana
- Mutageny fizyczne
- Mutageny chemiczne

### 3. Efekty działania mutagenów

- Chimery
- Efekty genetyczne

### 4. Mutacje a dieta

- Dostępność żywności
- Rola mutacji w poprawie jakości żywności





## 2. Mutageny: mutageneza indukowana

**Mutageneza indukowana: technika indukowania mutacji za pomocą czynników fizycznych lub chemicznych.**



H. J. Müller

**1927, H. J. Müller: promieniowanie X indukuje mutacje u *D. melanogaster*.**



Lokalizacja mutacji otrzymanych przez Müllera na chr. X. Częstość mutacji zależała od dawki i temperatury, wynosiła 1,06-2,96 % na miesiąc.



Mutanty kukurydzy otrzymane przez Stadlera ( po lewej: forma paskowana, po prawej: mutant z mozaikowym endospermem).

**1928, L. J. Stadler: traktował nasiona kukurydzy i jęczmienia promieniami X otrzymując mutanty z częstością 0,04–0,05% w zależności od dawki.**



L. J. Stadler

**Pierwotnie mutagenezę indukowaną uważano tylko za narzędzie badawcze. Uważano, że indukowane mutacje są zawsze niekorzystne dla organizmu.**



## 2. Mutageny: mutageneza indukowana

**Indukowanie mutacji u roślin uprawnych pokazało, że wiele z nich nadaje roślinom cechy korzystne w hodowli.**



H. Nilsson-Ehle

**1937: Ake Gustafsson oraz Nilsson-Ehle otrzymali pierwsze mutanty o znaczeniu użytkowym. A. Gustafsson: „ojciec” hodowli mutacyjnej.**



**1957: powołanie FAO/IAEA rozpoczęło rozwój hodowli mutacyjnej na świecie.**

A. Gustafsson prowadził badania nad wykorzystaniem mutagenezy indukowanej w hodowli pomimo sceptycyzmu H. J. Müllera i L. J. Stadlera, którzy uważali, że wszystkie mutacje są niekorzystne.



6-rzędowe mutanty jęczmienia o zwiększonym plonie.



**Prof. Miroslaw Maluszyński:**

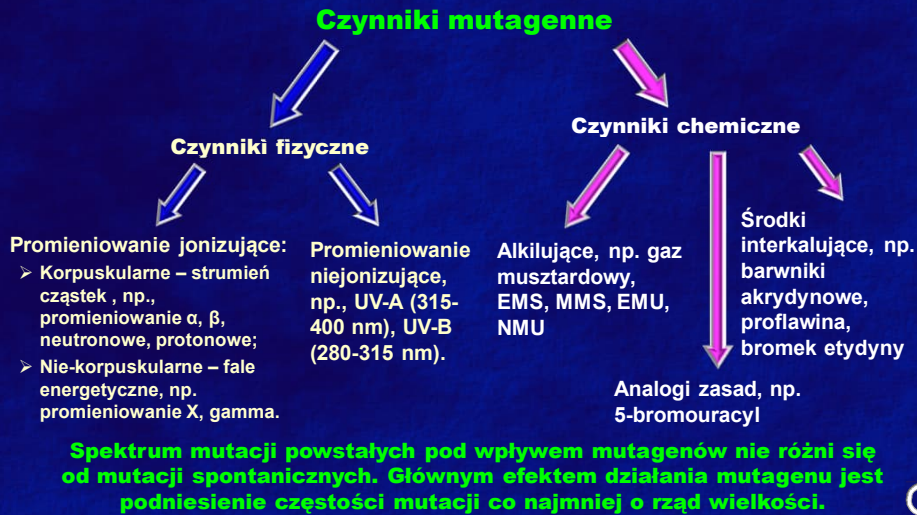
Dyrektor Sekcji Hodowli Mutacyjnej Roślin i Genetyki FAO/IAEA w latach 1984-2001 oraz otrzymane przez niego mutanty jęczmienia o poprawionym plonie.

**Hodowla mutacyjna udowodniła, że wiele mutacji indukowanych może być korzystnych dla organizmu.**



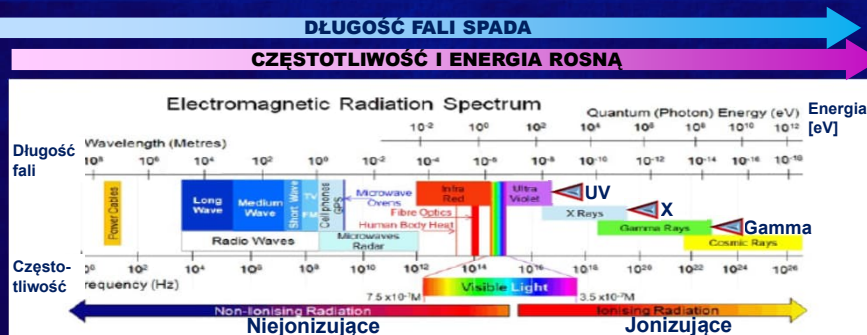
## 2. Mutageny: podział

**Mutagen: czynnik, który indukuje uszkodzenia w DNA i w ten sposób podnosi częstość mutacji ponad poziom typowy dla organizmu.**



## 2. Mutageny: fizyczne

**Promieniowanie: emisja energii w formie fal lub cząstek, które przemieszczają się w przestrzeni lub ciele fizycznym.**



**Promieniowanie niejonizujące:** nie wywołuje powstawania jonów, energia zbyt mała aby oderwać elektron od atomu.

**Promieniowanie jonizujące:** wywołuje jonizację przez oderwanie elektronu od atomu lub cząsteczki.

**IAEA uznaje światło UV za granicę pomiędzy typami promieniowania. UV-A (315-400 nm) i UV-B (280-315 nm) zalicza się do promieniowania niejonizującego, a UV-C (100-280 nm) o energii >10 eV – do jonizującego.**

## 2. Mutageny: fizyczne, cechy

**Promieniowanie jonizujące charakteryzuje się dużą energią, wysoką częstotliwością i krótkimi falami.**



**Słońce jest źródłem promieniowania jonizującego, które na obszarach górskich może być kilkakrotnie wyższe niż nad poziomem morza.**



**Roczne dawki promieniowania kosmicznego w Europie.**

**Promieniowanie jonizujące występuje na Ziemi naturalnie i organizmy żywe dostosowały się do niewielkich dawek promieniowania w trakcie ewolucji.**

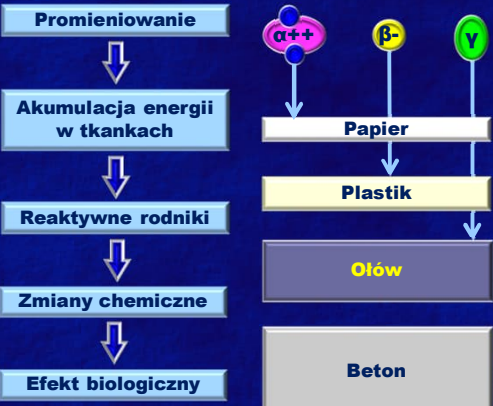
European Commission, 2016

## 2. Mutageny: fizyczne, cechy

**Wpływ promieniowania na organizm ocenia się na podstawie dawki, czyli ilości energii pochłoniętej przez jednostkę masy.**

**Jednostki promieniowania**

- **Grej (ang. Gray, Gy):** jednostka układu SI określająca ilość energii promieniowania pochłoniętej przez kilogram materii:
  - $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J/kg} = 1 \text{ m}^2 \text{ s}^{-2}$
  - $1 \text{ Gy} = 100 \text{ rad}$ ów (rad nie jest jednostką SI)
- **Siewert:** jednostka pochodna w układzie SI, odnosi się do organizmów żywych, zwłaszcza człowieka:
  - $1 \text{ Sv} = 1 \text{ J/kg} = 1 \text{ m}^2 \text{ s}^{-2} = 1 \text{ Gy}$



Przenikanie promieniowania

**Grej to jednostka opisująca efekty fizyczne promieniowania natomiast Siewert to jednostka opisująca efekty biologiczne promieniowania.**

## 2. Mutageny: fizyczne, cechy

**Siwert (Sv) to jednostka SI określająca wpływ promieniowania na organizmy żywe. Najczęściej używa się mili- i mikrosiwertów.**

- Ekspozycja człowieka na promieniowanie naturalne to 2–3 mSv na rok (≈30 000 BED).
- 0.02 mSv: zdjęcie rentgenowskie (X) klatki piersiowej (≈ 200 BED).
- 0.01 mSv: zdjęcie rentgenowskie zębów (≈ 100 BED).
- 15-30 mSv absorbuje badany organ podczas tomografii komputerowej (≈ 150 000 – 300 000 BED).
- 68 mSv: dawka, którą otrzymali jednorazowo mieszkańcy w pobliżu elektrowni w Fukushima (≈ 680 000 BED).



0.000 098 mSv (98 nSv) dostarcza jeden banan, który jest naturalnym źródłem radioaktywnego izotopu potasu. Ilość tę określa się jako **BED: ekwiwalent bananowy**.

250 mSv dostarcza 6-miesięczna podróż na Marsa (2,5 mln. BED).



**Siwert określa ilość promieniowania pochłoniętego przez komórki i tkanki organizmów żywych. Dawka śmiertelna to 4-5 Sv.**

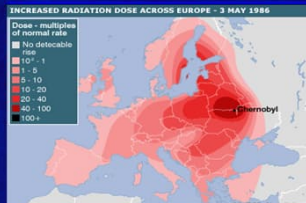


## 2. Mutageny: fizyczne, Czarnobyl

**Wybuch reaktora atomowego w elektrowni w Czarnobylu (Ukraina) w 1986 r. był najpoważniejszą katastrofą jądrową w historii.**

**Efekty bezpośrednie katastrofy:**

- 30 osób zginęło natychmiast;
- 237 osób napromieniowanych dawką 1 Sv, u których rozwinął się zespół popromienny;
- 4500 osób napromieniowanych w promieniu 30 km oraz 7 mln. zagrożonych;
- akumulacja izotopów  $^{131}\text{J}$  (jod) i  $^{137}\text{Cs}$  (cez) w środowisku, skażenie gleby i żywności;
- 1986–2005: ludność zamieszkująca tereny skażone otrzymywała 50 mSv rocznie (por. 68 mSv w Fukushima, ale tylko jednorazowo).



W całej Europie dawki promieniowania były wyższe 5-50 razy, a w Europie Wschodniej do 100 razy.



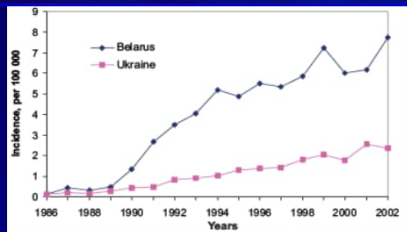
Reaktor trzy dni po eksplozji oraz budowa sarkofagu.

**Katastrofa w Czarnobylu doprowadziła do skażenia znacznych obszarów całej Europy, zwłaszcza Wschodniej, Środkowej i Północnej.**



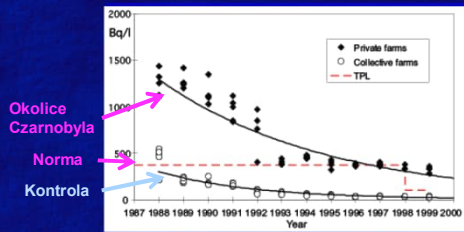
## 2. Mutageny: fizyczne, Czarnobyl

Największym zagrożeniem było skażenie izotopem jodu,  $^{131}\text{J}$ , który przyczynił się do wzrostu zachorowań na raka tarczycy.



Wzrost zachorowań na raka tarczycy u dzieci 0-14 lat w okresie 5-15 lat po wybuchu na skutek pobrania dużej dawki promieniotwórczego jodu ( $^{131}\text{J}$ ).

- Częstość raka tarczycy 0.5-3/1 mln. dzieci; na terenach po katastrofie 100/1 mln. dzieci.



Zawartość izotopów promieniotwórczych ( $^{131}\text{J}$ ,  $^{137}\text{Cs}$ ) w mleku po katastrofie była 3-krotnie wyższa niż dopuszczalna. Do roku 2000 ilość izotopów promieniotwórczych sukcesywnie spadała.

Nie obserwowano wzrostu zachorowań na białaczkę, jak również istotnego wzrostu częstości wad rozwojowych.

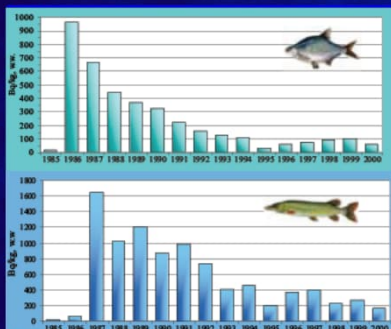
Tarczycza akumuluje jod znajdujący się w krwi. Jedząc skażoną żywność, zwłaszcza produkty mleczne, mieszkańcy wchłonęli radioaktywny materiał.

AEA 2016

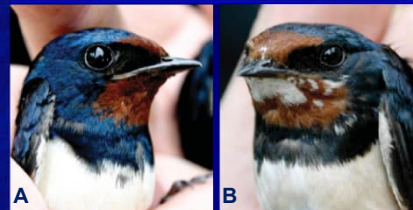


## 2. Mutageny: fizyczne, Czarnobyl

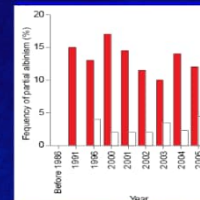
Po katastrofie w Czarnobylu fauna i flora europejska zakumulowały najwyższą zanotowaną dawkę radioaktywnego ceszu,  $^{137}\text{Cs}$ .



Wzrost zawartości radioaktywnego ceszu u ryb słodkowodnych w okolicach Kijowa po katastrofie w Czarnobylu (góra: roślinożercy, dół: drapieżcy).



Mutacja ubarwienia jaskółek (A) względem kontroli (B). Po katastrofie częstość mutacji (czerwone słupki) wzrosła nawet 5-krotnie.



Efekty genetyczne: wzrost częstości mutacji chromosomowych (2-7 razy) u zwierząt i roślin, wzrost częstości mutacji letalnych u roślin, 20-krotny wzrost częstości mutacji w loci enzymatycznych u sosen.

Moller i Mousseau, 2006



## 2. Mutageny: fizyczne, wykorzystanie

Rodzaje promieniowania jonizującego różnią się energią i mogą wywoływać różne efekty.

Promieniowanie	Źródło	Energia	Cechy	Efekty
X	Aparat Rentgena	1-500 keV	Fale elektromagnetyczne	Pęknięcia DNA, translokacje, inwersje
Gamma	Izotopy $^{60}\text{Co}$ , $^{137}\text{Cs}$	Kilka MeV	Fale elektromagnetyczne	Mutacje punktowe, mikrodelecje
Neutrony	Reaktory atomowe	Kilka MeV	Nieładowane cząstki	Translokacje, duże delecje (kilka kbp)
Beta ( $\beta$ )	Izotopy ( $^{35}\text{S}$ ), akceleratory	Kilka MeV	Elektrony ( $\beta^-$ ), pozytony ( $\beta^+$ )	Mala efektywność, nie przenikają przez nabłonek
Wiązki jonów	Zjonizowane jądra, akceleratory	Kilka GeV	Naładowane cząstki, np. kwarki	Spektrum mutacji punktowych

W mutagenzie indukowanej organizmów wyższych wykorzystuje się promieniowanie jonizujące, a u bakterii –niejonizujące promieniowanie UV.

AEA, 2018



## 2. Mutageny: fizyczne, wykorzystanie

W praktyce preferowane jest promieniowanie gamma ponieważ traktowanie można przeprowadzić w kontrolowanych warunkach.



Źródło „gamma”, FAO/IAEA, Seibersdorf, Austria.

Źródło „gamma” na polu doświadczalnym w Kuala Lumpur, Malezja.



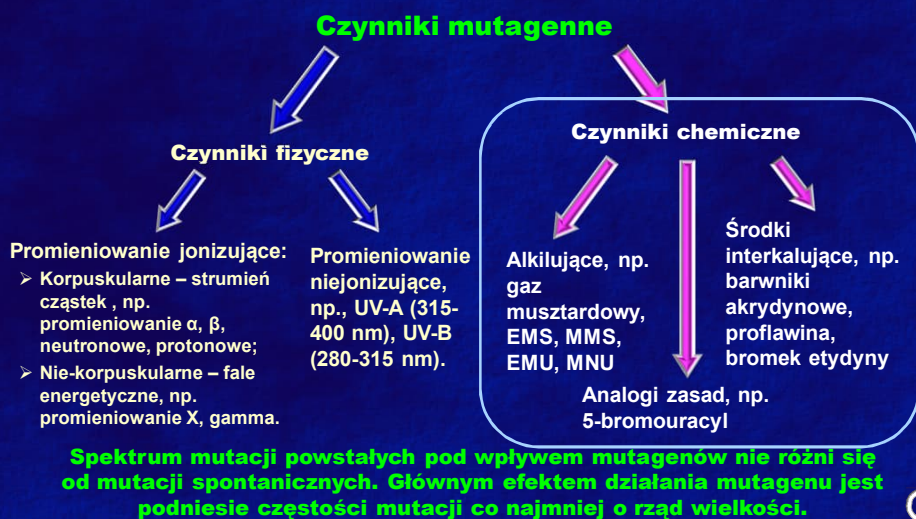
Sposób rozmieszczenia roślin w szklarni ze źródłem gamma.

Około 200 źródeł gamma jest rozmieszczonych na polach doświadczalnych lub w szklarniach w celu indukowania mutacji u roślin uprawnych.



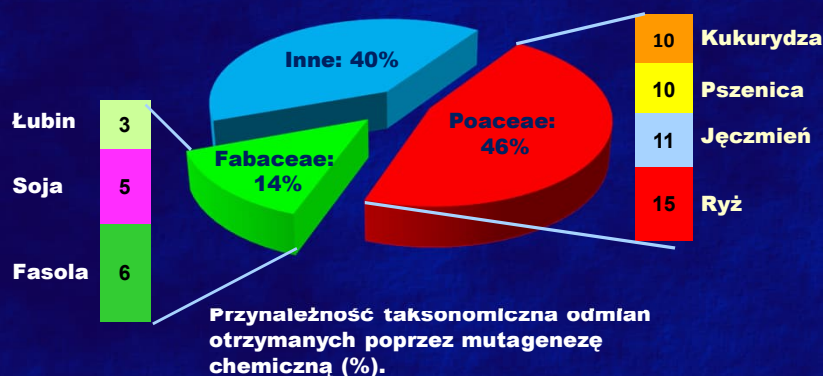
## 2. Mutageny: chemiczne

**Mutagen: czynnik, który indukuje uszkodzenia w DNA i w ten sposób podnosi częstość mutacji ponad poziom typowy dla organizmu.**



## 2. Mutageny: chemiczne

**Mutageny chemiczne wykorzystano do otrzymania 10% odmian roślin uprawnych wyprowadzonych przez mutagenezę.**



**Mutagenezę chemiczną najczęściej wykorzystywano u zbóż (46%). Odmiany roślin strączkowych stanowią 14%, natomiast wśród innych są rośliny ozdobne i uprawne należące do wielu rodzin.**

AEA, 2018

## 2. Mutageny: chemiczne

Mutageny chemiczne wykorzystuje się do tworzenia mutantów z wyłączoną funkcją genów u organizmów modelowych.

### Wyłączanie funkcji genów

- Mutacje knockout lub loss of function: mutacje, które powodują powstanie nieaktywnego produktu genów.
- Wykorzystuje się związki alkilujące (MNU, ENU) ze względu na ich zdolność do indukowania mutacji punktowych w różnych regionach genu, co pozwala na otrzymanie serii zmutowanych alleli.
- Najwyższa efektywność mutagenyzy chemicznej - komórki macierzyste ze spermatogoniów.



Mutagenyza chemiczna w ludzkich liniach komórkowych jest wykorzystywana do badania funkcji genów.

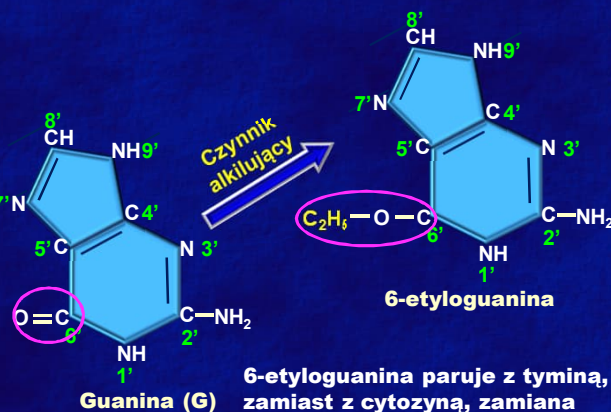
## 2. Mutageny: chemiczne, czynniki alkilujące

Czynniki alkilujące: związki, które przenoszą grupę alkilową na grupę fosforanową lub zasady azotowe w DNA (alkilacja).

**Grupa alkilowa:** jednowartościowa grupa, która powstaje przez oderwanie atomu wodoru od węglowodorów nasyconych zbudowanych wyłącznie z węgla i wodoru (tzw. alkany). Przykłady:

- Grupa metylowa ( $-\text{CH}_3$ ),
- Grupa etylowa ( $-\text{C}_2\text{H}_5$ ).

Grupy alkilowe są głównym budulcem związków organicznych.

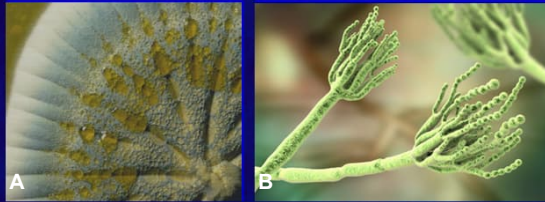


Czynniki alkilujące są silnymi mutagenami i kancerogenami. Ze względu na efekty cytostaticzne wykorzystywane są w terapii nowotworowej.



## 2. Mutageny: chemiczne, czynniki alkilujące

Większość czynników alkilujących jest syntetyczna, w przyrodzie występują u sagowców (*Cycas*), bakterii i grzybów.



*Penicillium notatum* w kulturze (A) oraz konidia (B).

**Penicylina G:** naturalny czynnik alkilujący, pierwszy antybiotyk wyizolowany w 1928 r. przez Aleksandra Fleminga. Występuje u grzybów z rodzaju *Penicillium* (pędzlaki). Grzyby są powszechne w klimacie umiarkowanym, gdzie stanowią główny czynnik powodujący psucie żywności.

**Cykazyna:** kancerogen i neurotoksyna, naturalny czynnik alkilujący w rodzaju *Cycas* i *Zamia*, największa zawartość w nasionach.



*Cycas revoluta* (Sagowiec odwrócony).

**Streptoizotocyna:** czynnik alkilujący występujący u *Streptomyces griseus*. Działa cytostaticznie, wykorzystywany w leczeniu nowotworów trzustki.

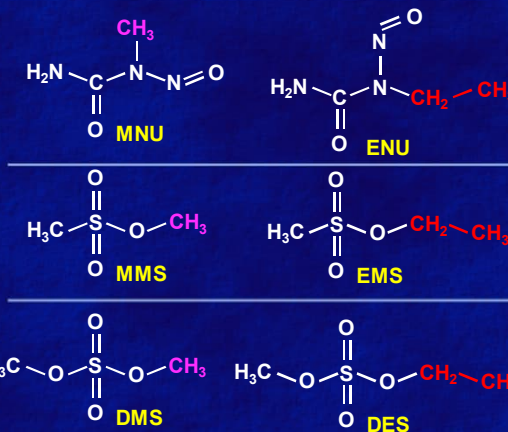


## 2. Mutageny: chemiczne, czynniki alkilujące

W zależności od liczby grup alkilowych wyróżnia się czynniki mono-, bi- i polifunkcyjne.

W mutagenzie indukowanej wykorzystuje się najczęściej:

- pochodne mocznika:
  - N-metylo-N-nitrozomocznik (MNU),
  - N-etylo-N-nitrozomocznik (ENU);
- pochodne kwasu sulfonowego:
  - metanosulfonian metylu (MMS),
  - metanosulfonian etylu (EMS);
- estry kwasu siarkowego:
  - siarczan dimetylu (DMS),
  - siarczan dietylu (DES).



W mutagenzie indukowanej wykorzystuje się tylko czynniki monofunkcyjne. Czynniki bi- i polifunkcyjne indukują tworzenie wiązań w obrębie nici i pomiędzy nimi DNA (sieciowanie), co hamuje replikację.

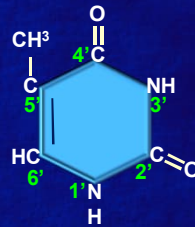


## 2. Mutageny: chemiczne, analogi zasad

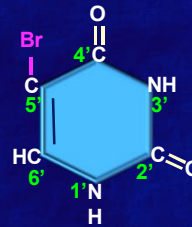
**Analogi zasad: zasady azotowe, które są strukturalnie podobne do zasad występujących w DNA i RNA.**

**Przykłady analogów zasad:**

- 5-bromo-uracyl (5BU): zastępuje T, prowadzi do tranzycji A→G;
- 2-aminopuryna (2AP): analog adeniny i guaniny, może łączyć się z tyminą lub cytozyną:
  - wstawienie w miejsce A w parze A-T i parowanie A-C, tranzycja T→C, para A-T zostaje zastąpiona parą G→C,
  - wstawienie w miejsce G w parze G-C i parowanie G-T, tranzycja C→T, para G-C zostaje zastąpiona parą A-T.



Tymina (T)



5-bromo-uracyl (BU)

5-bromo-uracyl jest analogiem tyminy. Może parować z adeniną (A), ale także z guaniną (G). Wówczas zachodzi tranzycja A→G. Para T-A zostaje zastąpiona parą C-G.

Analogi zasad nie zaburzają replikacji ale powodują substytucje na skutek błędnego parowania. Częstość mutacji jest niska i nie są one powszechnie wykorzystywane w mutagenzie indukowanej.

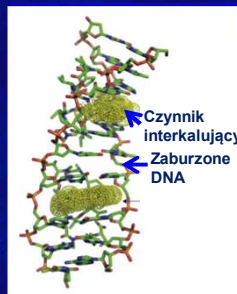


## 2. Mutageny: chemiczne, interkalujące

**Interkalacja: wiązanie małych cząsteczek wewnątrz związków wielocząsteczkowych połączonych np. wiązaniami wodorowymi.**

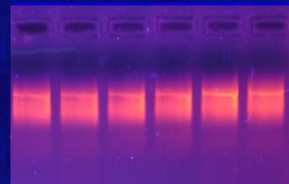
**Przykłady czynników interkalujących:**

- barwniki akrydynowe (np. oranż akrydynowy) powodują pęknięcia chromosomów oraz zmianę fazy odczytu;
- proflawina powoduje delecje i insercje;
- bromek etydydy rozkręca DNA co przejawia się wydłużeniem form liniowych.
- DAPI, barwnik fluorescencyjny, który interkaluje w miejscach bogatych w AT.



Interkalujące właściwości bromku etydydy wykorzystywane są w ujawnianiu DNA na żelu.

Czynnik interkalujący „wsuwa” się pomiędzy zasady w DNA, ale nie tworzy wiązań. Zwiększa on odległości pomiędzy nukleotydami i niciami.



Czynniki interkalujące zaburzają strukturę DNA, powodują pęknięcia chromosomów i prowadzą głównie do delecji i insercji.



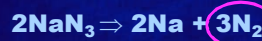
## 2. Mutageny: chemiczne: azydek sodu

**Azydek sodu ( $\text{NaN}_3$ ) jest silnie toksycznym związkiem nieorganicznym. Jest to inhibitor oddychania komórkowego.**



Azydek sodu: biały proszek, toksyczny po rozpuszczeniu w roztworze ponieważ hydrolizuje do azotowodoru  $\text{HN}_3$ . Efektywność mutagenna zależy od pH, najwyższa w buforze fosforanowym o  $\text{pH}=3$ .

$\text{NaN}_3$  jest wykorzystywany do generowania gazu w poduszkach powietrznych ze względu na szybką reakcję – 30 milisekund od kolizji wyprodukowany gaz wypełnia całą poduszkę.



Uwalnia się gaz, azot; 130 g  $\text{NaN}_3$  produkuje 67 litrów azotu.

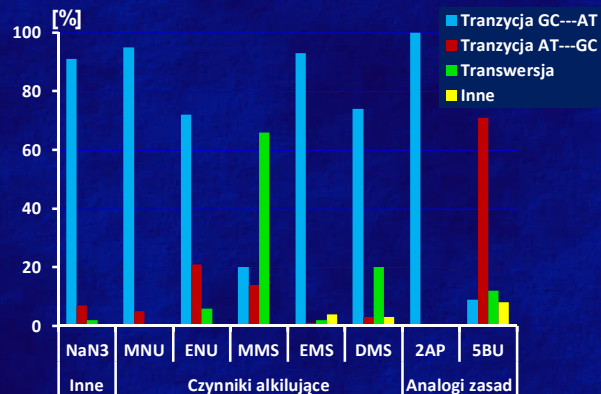
Azydek sodu jest silnym mutagenem często wykorzystywanym w mutageniezie roślin uprawnych, samodzielnie lub w kombinacji z czynnikami alkilującymi.



## 2. Mutageny: chemiczne

**Spektrum mutacji punktowych zależy od uszkodzeń w DNA wywołanych przez mutagen chemiczny.**

- Tranzycje typu  $\text{GC} \rightarrow \text{AT}$  są najczęściej indukowane przez większość mutagenów chemicznych.
- MMS (metanosulfonian metylu) najczęściej indukuje transwersje.
- 5BU (5-bromo-uracyl) najczęściej indukuje tranzycje typu  $\text{AT} \rightarrow \text{GC}$ .



Typy mutacji punktowych (%) indukowane przez różne mutageny chemiczne.

W celu uzyskania zróżnicowanego spektrum mutacji punktowych powinno się stosować kombinację różnych mutagenów.

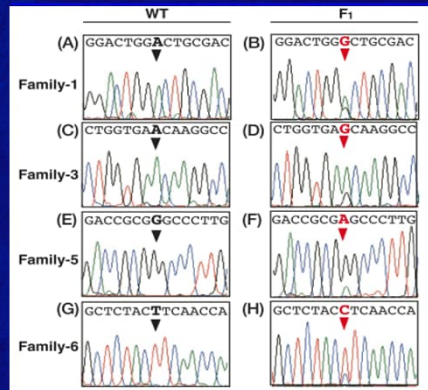


## 2. Mutageny: chemiczne

**Supermutageny: mutageny, które znacznie podnoszą częstość mutacji punktowych (do 20 razy).**

### Supermutageny

- Najczęściej są to czynniki alkilujące, MNU, ENU, EMS. Podczas I wojny światowej były wykorzystywane jako broń biologiczna.
- Wykorzystywane do tworzenia dużych kolekcji mutantów.
- EMS wykorzystano do indukcji mutantów *D. melanogaster*, które umożliwiły wyjaśnienie procesu segmentacji.
- Obecnie wykorzystuje się je w strategii „tilling” u roślin, zwierząt i w ludzkich liniach komórkowych.



Mutacje zidentyfikowane z zmutowanej populacji. WT: forma wyjściowa, F1: forma zmutowana. Mutacje można wykryć w stanie heterozygotycznym.

**TILLING: identyfikacja mutacji w danym genie przy pomocy sekwencjonowania w populacji otrzymanej przez mutagenozę chemiczną.**



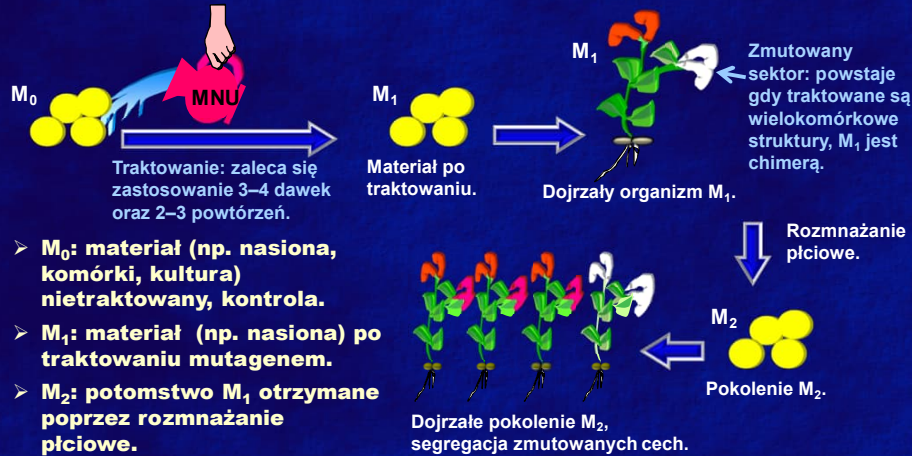
## Indukowanie i wykorzystanie mutacji

1. Mutacje jako źródło zmienności
  - Definicja i podział
  - Uszkodzenia DNA
  - Naprawa DNA
2. **Mutageny**
  - Mutageny indukowane
  - Mutageny fizyczne
  - Mutageny chemiczne
3. Efekty działania mutagenów
  - Chimery
  - Efekty genetyczne
4. Mutacje a dieta
  - Dostępność żywności
  - Rola mutacji w poprawie jakości żywności



### 3. Efekty działania mutagenu: traktowanie

**Selekcja genotypu oraz uzyskanie homozygotycznych lub homogenicznych linii powinny poprzedzać traktowanie mutagenem.**

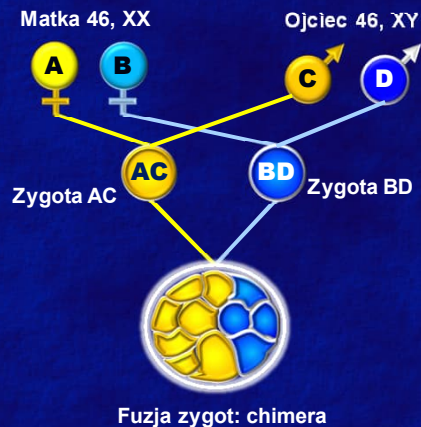


**Dawka optymalna mutagenu: wywołuje stosunkowo wysoką częstość mutacji przy uszkodzeniach somatycznych max. 30–40%.**

### 3. Efekty działania mutagenu: chimery

**Chimera: organizm zbudowany z komórek o różnych genotypach, powstaje w wyniku zaburzeń podziałów i/lub procesu zapłodnienia.**

- Naturalne chimery u człowieka mogą powstać w wyniku:**
- wymiany materiału komórek pomiędzy matką i płodem:
    - u matki znajdowano komórki płodu nawet po 30 latach,
    - komórki matki znajdowano u dorosłych dzieci;
  - chimery bliźniacze – np. u bliźniąt dwujajowych występują dwa typy genetyczne komórek;
  - fuzji dwóch zygot, które powstały z dwóch komórek jajowych i dwóch plemników (tetragametyczny chimeryzm).





**W wyniku fuzji zygot powstaje organizm – tetragametyczna chimera, który ma organy o różnych genotypach. Chimery tetragametyczne pojawiają się u człowieka spontanicznie z częstością około 0,04%.**

### 3. Efekty działania mutagenu: chimery

Traktowanie mutagenem struktur wielokomórkowych zawsze prowadzi do powstania chimer.

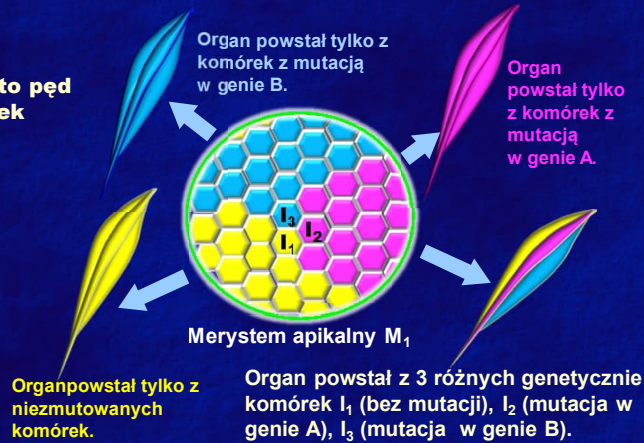
U organizmów wielokomórkowych, pojedynczy organ często pęd powstaje z kilku komórek merystematycznych.

 Komórki niezmutowane, aabb

 Komórki z mutacją w genie A, Aabb

 Komórki z mutacją w genie B, aaBb

I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, I<sub>3</sub>: komórki inicjalne



Chimeryzm pokolenia M<sub>1</sub> powoduje, że rozszczepienia otrzymane w pokoleniu M<sub>2</sub> (potomstwo po zapłodnieniu M<sub>1</sub>) mogą odbiegać od stosunków mendelowskich.



### 3. Efekty działania mutagenu: chimery

U roślin po traktowaniu mutagenem (M<sub>1</sub>) często występują chimery w odniesieniu do mutacji chlorofilowych.



Owies szorstki: albinotyczny sektor liścia.



Groch: sektor albinotyczny i viridis.



Saintpaulia: jaśniejszy sektor na płatkach korony, utrwalona chimera.



Kamelia: albinotyczny sektor płatków korony.



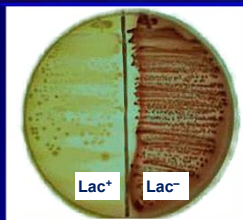
Pomarańcza: różnobarwne sektory owoców.

Chimeryzm dotyczy na ogół części wegetatywnych i nie jest przekazywany następnym pokoleniom. U roślin ozdobnych chimery utrzymuje się przez rozmnażanie wegetatywne.

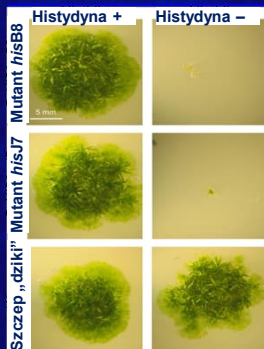


### 3. Efekty działania mutagenu: genetyczne

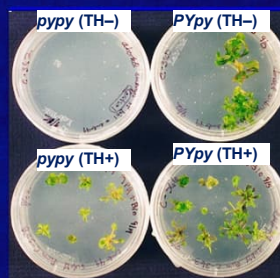
**Efekty genetyczne: ocena częstości łatwo rozróżnialnych mutacji punktowych (auksotroficznych, chlorofilowych) w  $M_1$  lub  $M_2$ .**



Mutacja w operonie laktozowym *E. coli* uniemożliwia rozkład laktozy do glukozy, bakterie nie rosną na pożywce z laktozą ( $Lac^+$ ). Dodanie glukozy ( $Lac^-$ ) umożliwia rozwój bakterii.



*Physcomitrella patens*, mutanty nie wytwarzające histydyny, na pożywce bez histydyny (prawa) nie rosną.



*Arabidopsis thaliana*, mutanty nie wytwarzające tiaminy (*pypy*) oraz heterozygoty (*PYpy*) na pożywce bez tiaminy ( $TH^-$ ) oraz z tiaminą ( $TH^+$ ). Brak tiaminy uniemożliwia wzrost mutantów.

**Mutacje auksotroficzne: mutacje szlaku syntezy związku niezbędnego do życia. Brak danego związku w podłożu uniemożliwia rozwój organizmu.**



### 3. Efekty działania mutagenu: genetyczne

**U roślin efekty genetyczne działania mutagenów ocenia się na podstawie częstości mutacji chlorofilowych w pokoleniu  $M_2$ .**

*Avena strigosa*, owies szorstki



Albina: siewka bezbarwna (biała).



Xantha: siewka żółta.



Viridis: siewka jasnozielona.



Inne: siewka o barwie mieszanej.

**Mutacje chlorofilowe u roślin występują w wielu niezależnych loci, które dotyczą syntezy chlorofilu oraz biogenezy chloroplastów.**

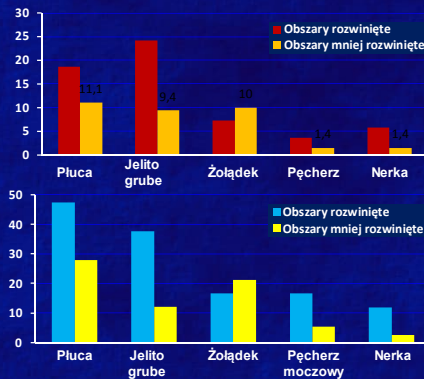


### 3. Efekty działania mutagenu: genetyczne

Mutageny indukują mutacje w komórkach somatycznych człowieka i mogą prowadzić do rozwoju nowotworów.

#### Mutageneza u człowieka

- Większość mutacji jest indukowana przez czynniki wewnętrzne. Akumulacja mutacji w komórkach somatycznych wraz z wiekiem prowadzi do zwiększonego ryzyka nowotworów.
- Mutageny obecne w środowisku odpowiadają za 80-90% nowotworów płuc.
- Mutagenność związków chemicznych bada się w testach bakteryjnych (Ames) oraz u transgenicznych myszy z genem *LacZ* pochodzącym z *E. coli*.



Nowotwory na 100 tys. u kobiet (górze) i mężczyzn (dół). Częstość nowotworów jest wyższa na terenach rozwiniętych, co może wynikać z wyższej ekspozycji na czynniki kancerogenne.

Genotoksyczność: wpływ związku chemicznego na DNA, zdolność do wywoływania uszkodzeń w DNA. Wszystkie mutageny są genotoksyczne.

Prasad i Bernstein 2013

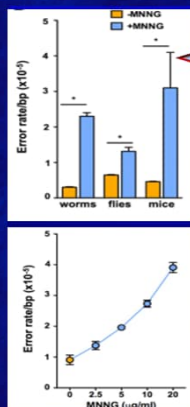


### 3. Efekty działania mutagenu: transkrypcja

Mutageny, obok zmian w DNA, mogą indukować błędy na poziomie transkrypcji. Występują one we wszystkich klasach RNA.

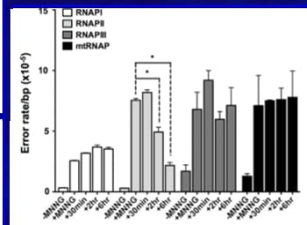
#### Mutageneza transkrypcyjna

- Polimeraza RNA popełnia błędy, gdy w DNA występują uszkodzenia, np. obecność uracylu lub metyloguaniny.
- Częstość błędów zależy od typu polimerazy RNA.
- Większość błędów to zamiana C na U.
- Błędy zależą od typu mutagenu, najczęściej wywoływane są przez czynniki alkilujące, MNNG, MNU, ENU, EMS. Promieniowanie UV nie zwiększa częstości błędów na poziomie transkrypcji.



Wraz ze wzrostem dawki rośnie ilość błędów.

Mutagen powoduje wzrost częstości błędów na poziomie transkrypcji (niebieskie) u *C. elegans* (worms), *D. melanogaster* (flies) i w kulturze fibroblastów myszy (mice).



Jednorazowa ekspozycja na mutagen prowadzi do wydłużenia czasu, w którym popełniane są błędy przez polimerazy RNA I, II, III i mtRNA. Pierwszy słupek po lewej (-MNNG) oznacza kontrolę.

Błędy na poziomie transkrypcji mogą przyczyniać się do chorób neurodegeneracyjnych, nowotworów, chorób prionowych.

Fritsch et al., 2021





## Indukowanie i wykorzystanie mutacji

### 1. Mutacje jako źródło zmienności

- Definicja i podział
- Uszkodzenia DNA
- Naprawa DNA

### 2. Mutageny

- Mutageneza indukowana
- Mutageny fizyczne
- Mutageny chemiczne

### 3. Efekty działania mutagenów

- Chimery
- Efekty genetyczne

### 4. Mutacje a dieta

- Dostępność żywności
- Rola mutacji w poprawie jakości żywności

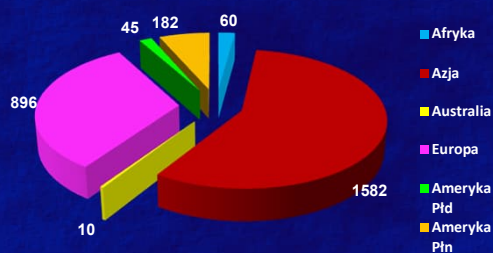


## 4. Mutacje a dieta: dostępność żywności

Indukowana mutageneza odgrywa istotną rolę w zapewnieniu dostępu do żywności i jej wysokiej jakości.

**Żywność musi być bezpieczna i mieć odpowiednią jakość**

- **Bezpieczeństwo żywności:** (food safety) żywność wprowadzana do obrotu nie zawiera substancji szkodliwych, obejmuje produkcję pierwotną oraz przetwarzanie żywności.
- **Dostęp do żywności** (food security): oznacza dostęp fizyczny i ekonomiczny wszystkich ludzi do żywności zaspokajającej potrzeby dietetyczne pod względem ilości i jakości żywności.



Najwięcej odmian otrzymano z mutantów indukowanych w Azji, głównie w Chinach, Indiach i Japonii.

**Jeżeli w zasobach genowych nie ma dostatecznej zmienności danej cechy wówczas alternatywą jest mutageneza indukowana.**

FAO 2021



## 4. Mutacje a dieta: rola mutacji

Mutacje spontaniczne i indukowane wykorzystano w hodowli w celu ulepszenia cech użytkowych roślin uprawnych.



1590, Florencja: pierwszy opis mutacji spontanicznej u glistnika jaskółcze ziele; kwiaty miały postrzępione płatki korony; hodowano jako roślinę ozdobną.



1927: *Datura stramonium*. A.F. Blakeslee pierwszy raz otrzymał trisomiki Poinsettia w wyniku działania promieni X.



1667, Florencja: pierwszy opis mutacji somatycznej, chimery, „bizzaria-orange” otrzymanej przez szczepienie pomarańczy na podkładkach cytronu.



1934, Indonezja: zarejestrowano pierwszą odmianę otrzymaną z mutantą tytoniu.

1930: w Szwecji, Niemczech i USA powstały pierwsze programy hodowlane, w których wykorzystano mutagenzę indukowaną.



## 4. Mutacje a dieta: rola mutacji

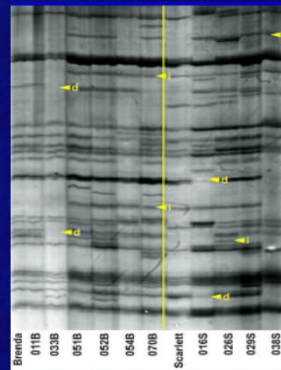
Mutagenza indukowana umożliwia zwiększenie zróżnicowania genetycznego gatunków uprawnych oraz analizę funkcji genów.

Zakres wartości podobieństwa genetycznego Nei'a pomiędzy mutantami i odmianą wyjściową.



Podobieństwo genetyczne pomiędzy mutantami a odmianą, z której je wyprowadzono wynosiło od 0,912 do 0,809. Podobny poziom podobieństwa genetycznego obserwuje się pomiędzy półgatunkami (semispecies). Podobieństwo pomiędzy populacjami w obrębie jednego gatunku przeciętnie wynosi >0.925, a u człowieka nawet 0,99.

Różnice genetyczne pomiędzy mutantami jednego gatunku mogą być porównywalne z różnicami pomiędzy różnymi gatunkami na początkowym etapie dywergencji (półgatunki, podgatunki).



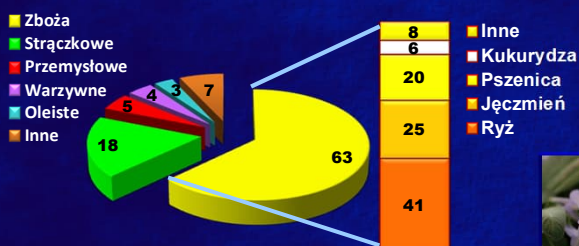
Nowe insercje i delekcje retrotranspozonu *BARE-1* u mutantów jęczmienia.

Polok i Zielinski, 2011.



## 4. Mutacje a dieta: rola mutacji

Około 3 222 odmian otrzymanych z mutantów zarejestrowano w bazie FAO/IAEA. Pochodzą one z 232 gatunków roślin.



➤ Najwięcej odmian pochodzących z mutantów zarejestrowano u zbóż (63%).

➤ Wśród zbóż 86% stanowią ryż (41%), jęczmień (25%) i pszenica (20%).

Wśród roślin ozdobnych najwięcej odmian z mutantów otrzymano u chryzantemy (34%), 6% u skrzętnika (*Streptocarpus*) oraz po 5% u dali i alstremerii (krasnowica, *Alstroemeria*).

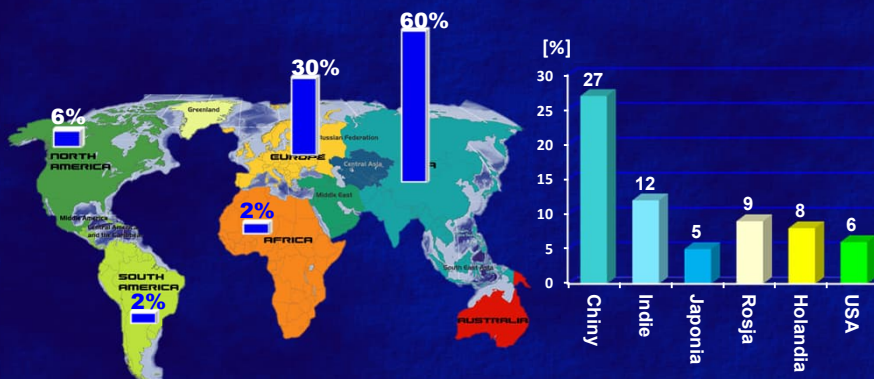
Większość odmian mutacyjnych, 75% otrzymano u roślin uprawnych, natomiast 25% odmian wprowadzono u roślin ozdobnych.

FAO/IAEA 2016



## 4. Mutacje a dieta: rola mutacji

Hodowla mutacyjna jest najczęściej wykorzystywana w Azji (60% odmian) oraz w Europie (30% odmian).



Geograficzny rozkład odmian mutacyjnych w procentach (kontynenty i państwa).

W Chinach wprowadzono większość komercyjnych odmian mutacyjnych, między innymi ryżu, pszenicy, kukurydzy i prosa.

FAO/IAEA, 2016



## 4. Mutacje a dieta: zielona rewolucja

Zielona rewolucja: wprowadzenie do uprawy półkarłowych mutantów zbóż, głównie ryżu i pszenicy, w krajach rozwijających się.

Gatunek	Państwo	Odmiany/mutanty	Wartość w mln. USD/rok
Ryż	Tajlandia	RD6, RD15	1 990 (1989-1998)
Ryż	Japonia	18 odmian	937 (1997)
Ryż	Indie	PNR-102, PNR-381	1 748 (1970-2004)
Pszenica	Pakistan	Jauhar-78, Kiran 95	87 (1991-1999)
Pszenica durum	Włochy	Creso	180 (1983-1993)
Jęczmień	Europa	Diamant, Golden Promise	417 (1977-2001)
Bawełna	Pakistan	NIAB-78	300 (1983-1993)
Cieciora	Pakistan	CM88, CM98	10 (do 2004)

Odmiany wyprowadzone z półkarłowych mutantów umożliwiły podwojenie produkcji zbóż i wzrost rentowności upraw w ciągu 10 lat.

Oladosu et al.



## 4. Mutacje a dieta: rola, zielona rewolucja

Wzrost produkcji po wprowadzeniu półkarłowych mutantów związany był z ich odpornością na wyleganie.

- Czynniki limitującymi produkcję zbóż były:
  - słaba i wiotka słoma, która powodowała wyleganie i uniemożliwiała zbiór mechaniczny,
  - słaba odpowiedź na nawożenie.
- Pierwsze półkarłowe mutanty ryżu otrzymano w Japonii w wyniku napromieniowania odmiany Fujimonori dawką 20-30 kR.
- Z 13 linii półkarłowych wybrano 2 linie, które dały początek odmianom
  - Reimei
  - Akikari (Norin 238).



Wyleganie wysokiej odmiany ryżu w porównaniu z odmianą niewylegającą, półkarłową.

Półkarłowe mutanty dodatkowo charakteryzowały się wczesnością, zwiększonym plonem, odpornością na choroby i niskie temperatury.

Alhloowalia et al., 2004



## 4. Mutacje a dieta: rola mutacji, jakość

Mutageny indukowane umożliwiają zmianę zawartości metabolitów wtórnych poprawiając jakość produktów roślinnych.



Fasola, *Phaseolus* sp.: obniżenie zawartości kwasu fitowego w odmianach jadalnych. Zbyt duża ilość tego związku zmniejsza wchłanianie żelaza.



Groszek siewny, *Lathyrus sativus*: obniżenie zawartości neurotoksyny, kwasu 2-N-oksalodwuamino propionowego.

Czarna porzeczka, *Ribes nigrum*: zwiększenie zawartości witaminy C.



Mięta polna, *Mentha arvensis*: zmiana składu olejku miętowego.



## Zagadnienia: 1-2

### 1. Mutageny indukowane

- Proszę podać definicję mutageny indukowanej.
- Czy mutacje powstałe w wyniku mutageny indukowanej są zawsze niekorzystne dla organizmu? Uzasadnij odpowiedź.
- Jakie wydarzenie zapoczątkowało rozwój hodowli mutacyjnej na świecie?

### 2. Mutageny: podział

- Proszę podać definicję mutagenu?
- Co jest głównym efektem działania wszystkich mutagenów?
- Czy w wyniku działania mutagenów otrzymamy takie same mutacje jak w przypadku mutageny spontanicznej?
- Podaj rodzaje mutagenów fizycznych.
- Jaka jest różnica pomiędzy promieniowaniem korpuskularnym i nie-korpuskularnym?
- Jaki typ mutagenu najczęściej wykorzystywano w hodowli nowych odmian?
- Jeżeli mamy nową odmianę powstałą w wyniku mutageny to jaki typ mutagenu najprawdopodobniej zastosowano?



## Zagadnienia: 3-4

### 3. Mutageny: fizyczne

- Jak definiujemy promieniowanie?
- Jakie typy promieniowania wyróżniamy?
- Czym charakteryzuje się promieniowanie jonizujące? Podaj przykłady.
- Co to jest promieniowanie niejonizujące?
- Jak zmienia się energia i częstotliwość promieniowania wraz ze spadkiem długości fali?
- Na podstawie klasyfikacji IAEA podaj do jakiego typu promieniowania (jonizujące, niejonizujące) zaliczymy: promieniowanie X, fale radiowe, promieniowanie gamma, mikrofałe, promieniowanie UV-A i UV-B?



### 4. Mutageny: fizyczne, cechy

- Wymień trzy cechy promieniowania jonizującego?
- Czy organizmy żywe w środowisku naturalnym są narażone na promieniowanie jonizujące? Uzasadnij odpowiedź.
- Co jest najważniejszym źródłem promieniowania naturalnego w naturalnym środowisku?
- Gdzie jest wyższe promieniowanie jonizujące: w Tatrach czy nad Bałtykiem, w Radomiu czy w Oslo?



## Zagadnienia: 5-6

### 5. Mutageny: fizyczne, cechy, c.d.

- Co oznacza Siwert?
- Jaka dawka promieniowania jonizującego jest śmiertelna dla organizmów żywych?
- Jaka jest dawka naturalnego promieniowania, którą otrzymuje człowiek w ciągu roku?
- Co to jest ekwiwalent bananowy?
- Jaką dawkę promieniowania otrzymała osoba, która zjadła 100 bananów?
- Czy dawka promieniowania otrzymana podczas wykonywania zdjęcia rentgenowskiego klatki piersiowej jest niebezpieczna? Jak duża jest to dawka w porównaniu z dawką naturalną otrzymywaną przez człowieka?



### 6. Mutageny: fizyczne, Czarnobyl

- Co oznacza termin „Czarnobyl”?
- Jaki obszar został skażony w wyniku wybuchu reaktora w elektrowni atomowej w Czarnobylu?
- Jaki czynnik stanowił największe zagrożenie dla mieszkańców Europy po wybuchu w Czarnobylu?
- Dlaczego izotop jodu,  $^{131}\text{J}$  jest niebezpieczny dla człowieka?
- W jaki sposób izotop jodu dostał się do organizmu człowieka po wybuchu w Czarnobylu?



## Zagadnienia 7-9

### 7. Mutageny: fizyczne, Czarnobyl, c.d.

- Jaki typ nowotworów był najczęstszy po wybuchu w Czarnobylu?
- Jak katastrofa w Czarnobylu wpłynęła na faunę i florę europejską?
- Jaki pierwiastek był akumulowany przez zwierzęta i rośliny po wybuchu w Czarnobylu?
- Jakie efekty genetyczne obserwowano u zwierząt i roślin po wybuchu w Czarnobylu?
- Z czego wynikał wzrost częstości mutacji chromosomowych, letalnych i punktowych (np. u sosn) w latach 1987-1992 na terenie Europy, zwłaszcza Wschodniej?



### 8. Mutageny: fizyczne, hodowla

- Jaki typ promieniowania jonizującego preferowany jest w hodowli roślin?
- Dlaczego w hodowli roślin preferuje się promieniowanie gamma do indukcji mutacji?

### 9. Mutageny: chemiczne

- Jakimi wyróżniamy główne grupy mutagenów chemicznych?
- U jakich roślin najczęściej wykorzystuje się mutageny chemiczne?
- Do jakiej grupy mutagenów zaliczamy: MNU, EMS, DMS, NaN<sub>3</sub>, 5-bromouracyl, 2-aminopuryna, proflawina, bromek etyldyny, oranż akrydowy.



## Zagadnienia: 10-12

### 10. Mutageny: chemiczne, czynniki alkilujące

- Podaj definicję czynników alkilujących.
- Podaj definicję grupy alkilowej.
- Podaj przykłady grup alkilowych.
- Czy związki alkilujące występują w przyrodzie? Uzasadnij odpowiedź.
- Do jakiej grupy związków chemicznych zaliczamy penicylinę, cyklosporynę i streptozotocynę?
- Czy związki alkilujące mają zastosowanie jako leki? Uzasadnij odpowiedź.
- Jakie typy związków alkilujących wykorzystuje się w mutageniezie?
- Dlaczego związków bi- i polifunkcyjnych nie wykorzystuje się w mutageniezie indukowanej?



### 11. Mutageny: chemiczne, analogi zasad

- Podaj definicję analogów zasad.
- Na jakiej zasadzie działają analogi zasad?
- Dlaczego analogi zasad są rzadko wykorzystywane w mutageniezie indukowanej?

### 12. Mutageny: chemiczne, związki interkalujące

- Co to jest interkalacja?
- Jak działają związki interkalujące?
- Który związek interkalujący jest powszechnie wykorzystywany w analizie DNA?



## Zagadnienia: 13-15

### 13. Mutageny: chemiczne, azydek sodu

- Jak działa azydek sodu?
- Jakie właściwości azydku sodu są wykorzystywane w samochodach?
- Co powoduje wypełnienie poduszki powietrznej w samochodzie gazem?

### 14. Mutageny: chemiczne

- Od czego zależy spektrum mutacji wywoływanych przez mutagen chemiczny?
- Dlaczego w mutagenezie indukowanej zaleca się stosowanie kombinacji różnych mutagenów?

### 15. Efekty działania mutagenu: traktowanie

- Proszę wyjaśnić pojęcia  $M_0$ ,  $M_1$ ,  $M_2$ .
- Czy wybór genotypu do traktowania mutagenem powinien być przypadkowy?
- Co oznacza pojęcie „dawka optymalna”?



## Zagadnienia: 16

### 16. Efekty działania mutagenu: chimery

- Proszę podać definicję chimery?
- Jakie procesy prowadzą do powstania naturalnych chimery u człowieka?
- Czy ciąża może doprowadzić do powstania chimery u matki? Uzasadnij odpowiedź.
- W krwi pewnego 30-letniego mężczyzny stwierdzono występowanie komórek matki. Wyjaśnij przyczynę tego zjawiska?
- Kiedy pojawiają się chimery bliźniacze?
- Jaki genotyp powstanie jeżeli dojdzie do fuzji zygoty AA z zygota aa?
- Jak powstaje tetragametyczna chimera u człowieka?
- Dlaczego traktowanie mutagenem nasion prowadzi do powstania chimery w pokoleniu  $M_1$ ?
- Dlaczego stosunki rozszczepień w pokoleniu  $M_2$  względem nowo powstałych mutacji często odbiegają od stosunków mendelowskich?





## Zagadnienia: 17-18

### 17. Efekty działania mutagenu: genetyczne

- W jaki sposób ocenia się efekty genetyczne działania mutagenu?
- Proszę podać definicję mutacji auksotroficznych?
- U *E. coli* otrzymano mutant, który nie rośnie na pożywce z laktozą, dodanie glukozy umożliwia normalny wzrost. Jakiego typu mutantu otrzymano?
- Proszę podać przykłady mutacji auksotroficznych u roślin.
- Jaki typ mutacji wykorzystuje się najczęściej do oceny efektów genetycznych działania mutagenu u roślin?



### 18. Hodowla mutacyjna: rola mutacji

- Proszę zdefiniować hodowlę mutacyjną.
- Podaj przykład trisomików, które osiągnęły znaczny sukces komercyjny?
- W jaki sposób mutageneza indukowana wpływa na zróżnicowanie genetyczne roślin uprawnych?
- Czy traktowanie mutagenem może doprowadzić do zróżnicowania porównywalnego z różnicowaniem populacji lub gatunków w wyniku procesów ewolucyjnych? Uzasadnij odpowiedź.



## Centre for Evolution, Genomics and Biomathematics, e-Gene



[polokkornelia@gmail.com](mailto:polokkornelia@gmail.com)

<https://www.matgen.pl>