

Соматические мутации

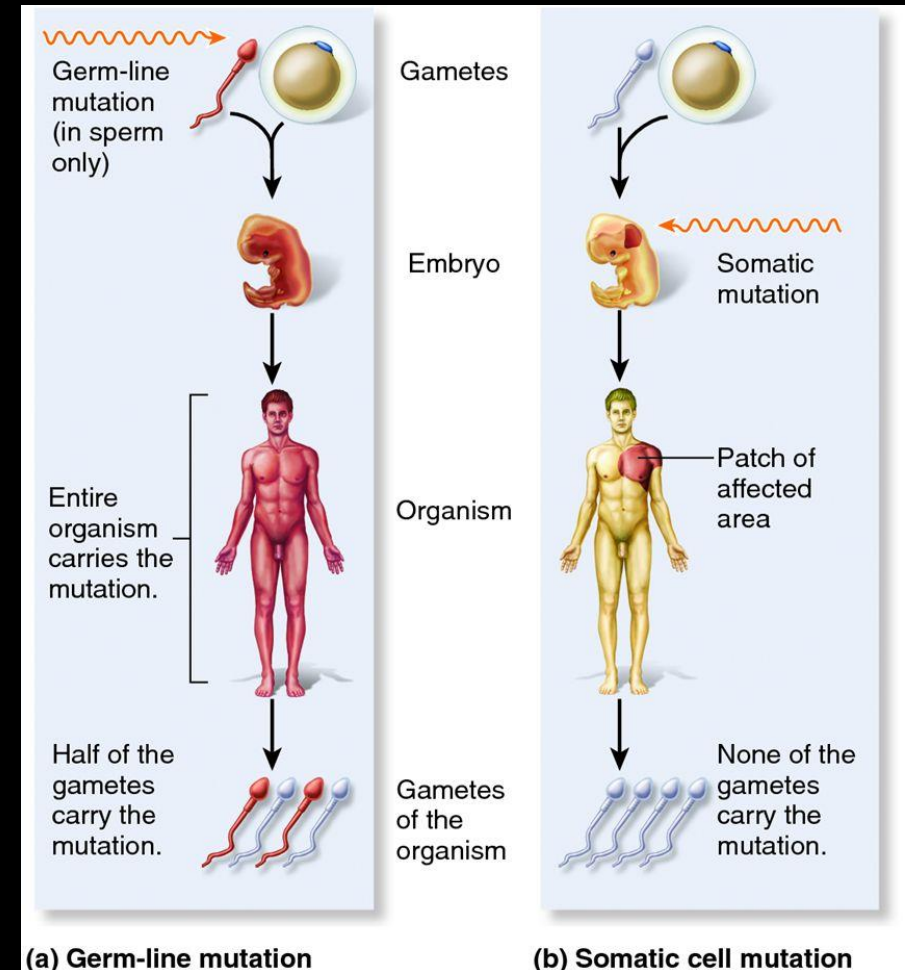
Как померить скорость соматических мутаций в человеке:

1) Секвенирование клональных линий клеток (Koren et al AJHG, 2012; Behjati et al Science, 2014)

2) Здоровые ткани

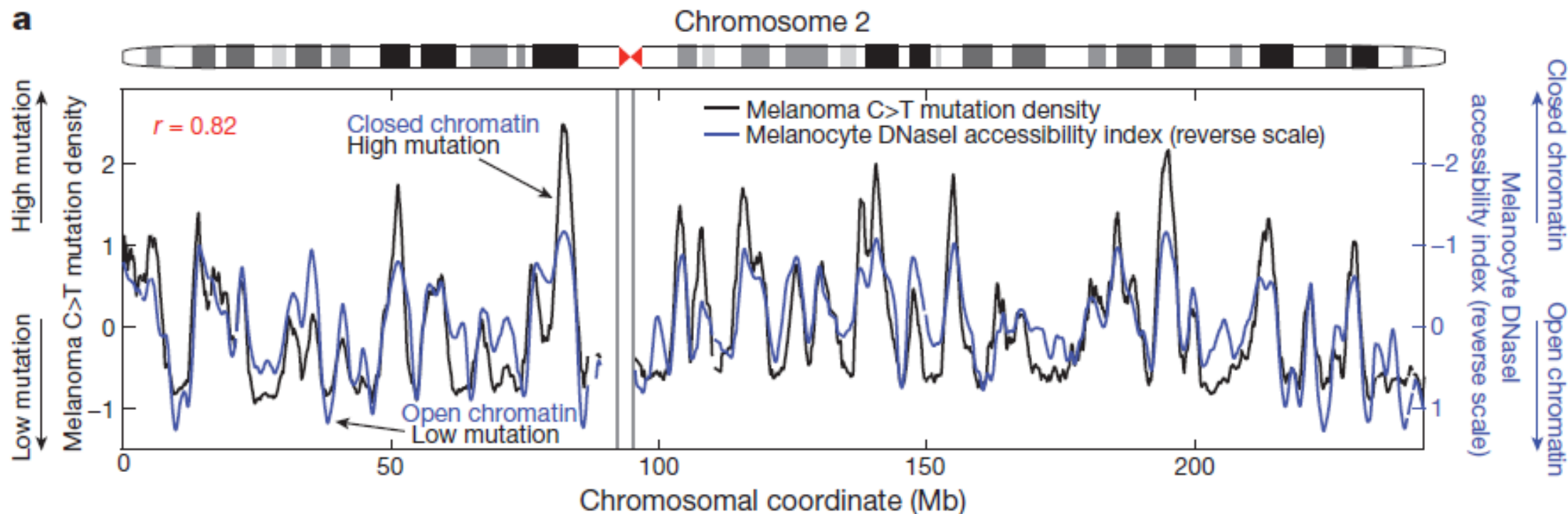
3) Раковые данные

- Single cell секвенирование (Lodato et al Science, 2015)



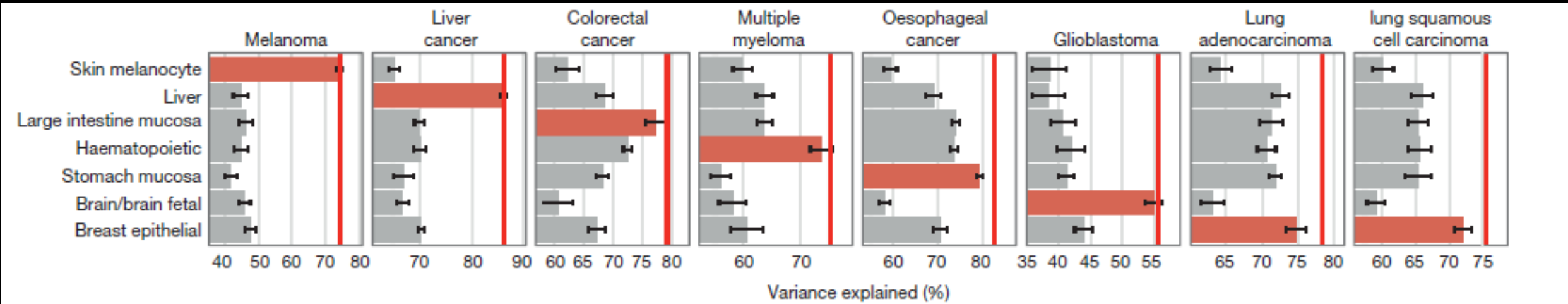
Как соматические мутации распределены вдоль генома

Эпигенетика очень хорошо предсказывает скорость соматического мутагенеза

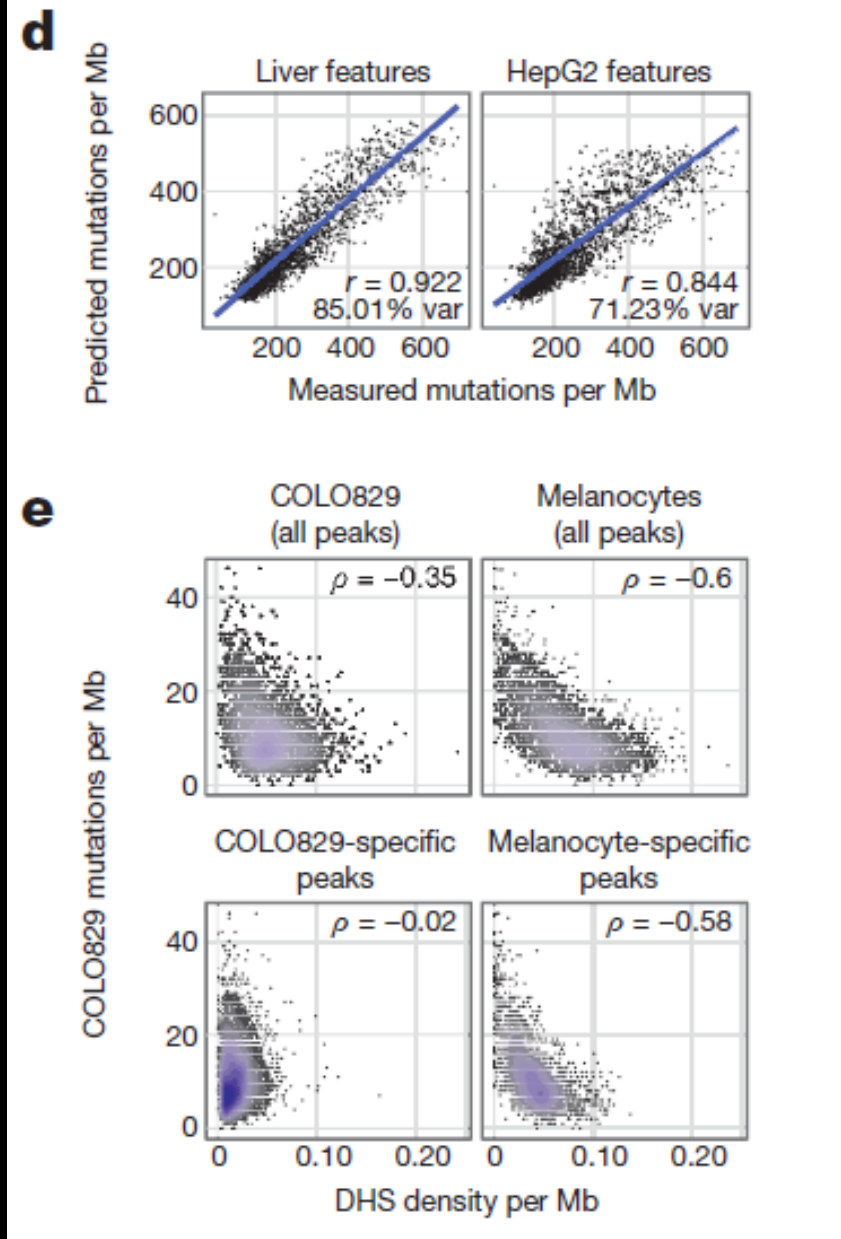


Как соматические мутации распределены вдоль генома

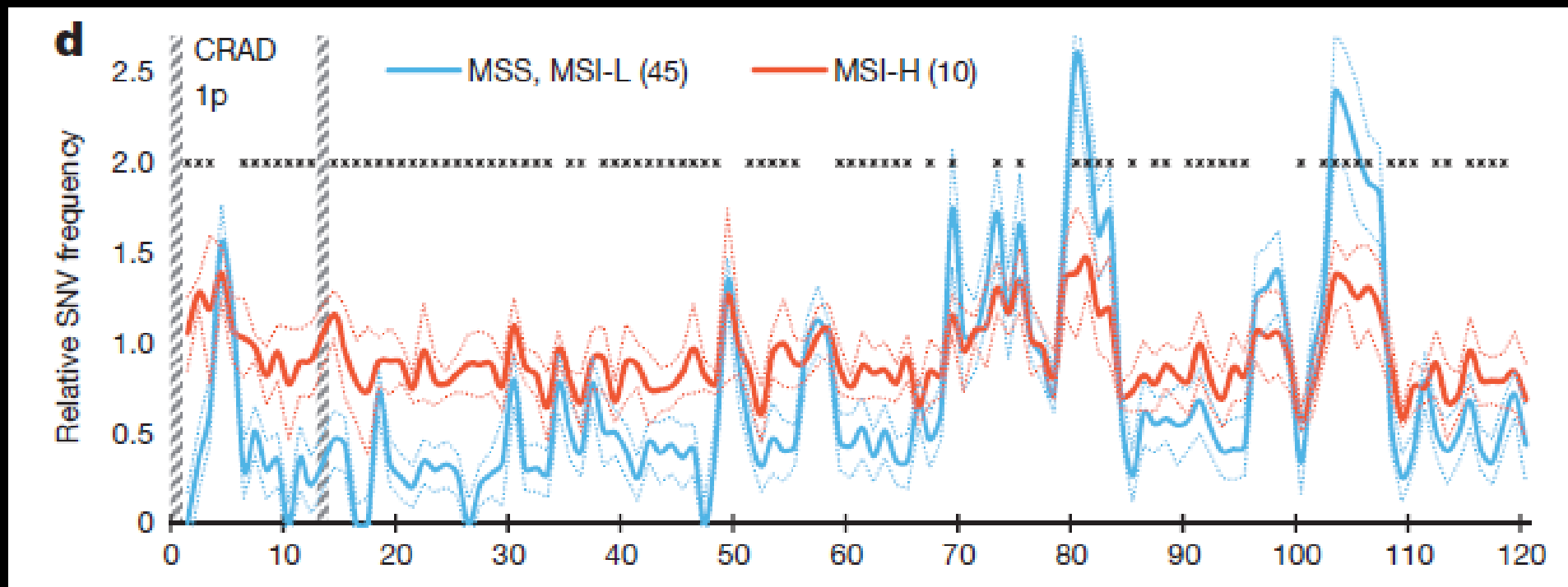
- Разметки ткани происхождения объясняют больше всего
- В сумме эпигенетикой можно объяснить 74-86% вариабильности скорости мутирования



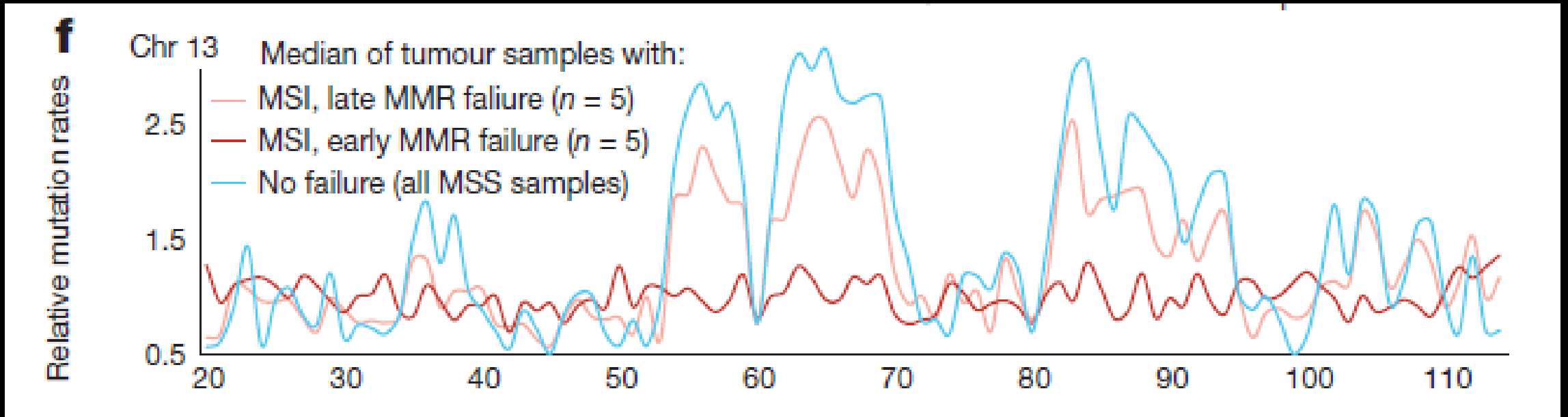
Cell of origin



Многое объясняет система репарации MMR

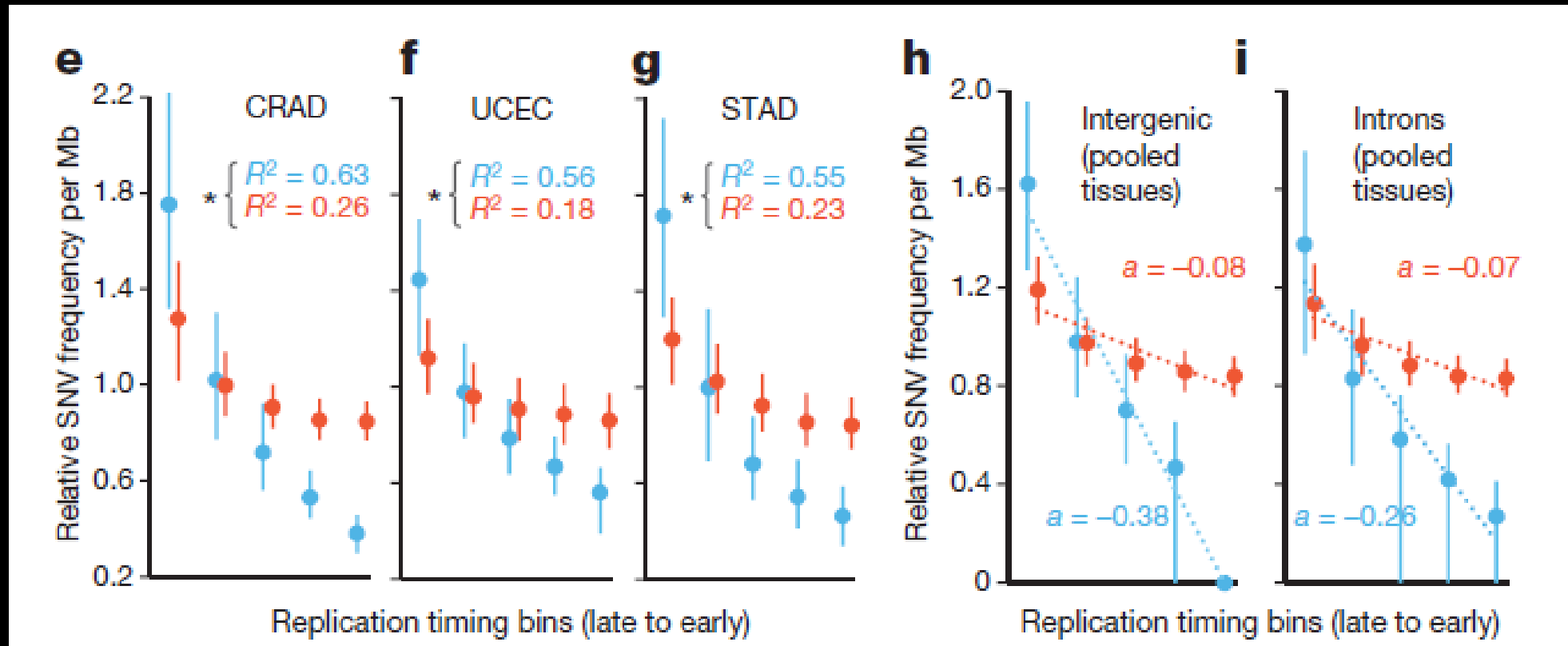


Многое объясняет система репарации MMR

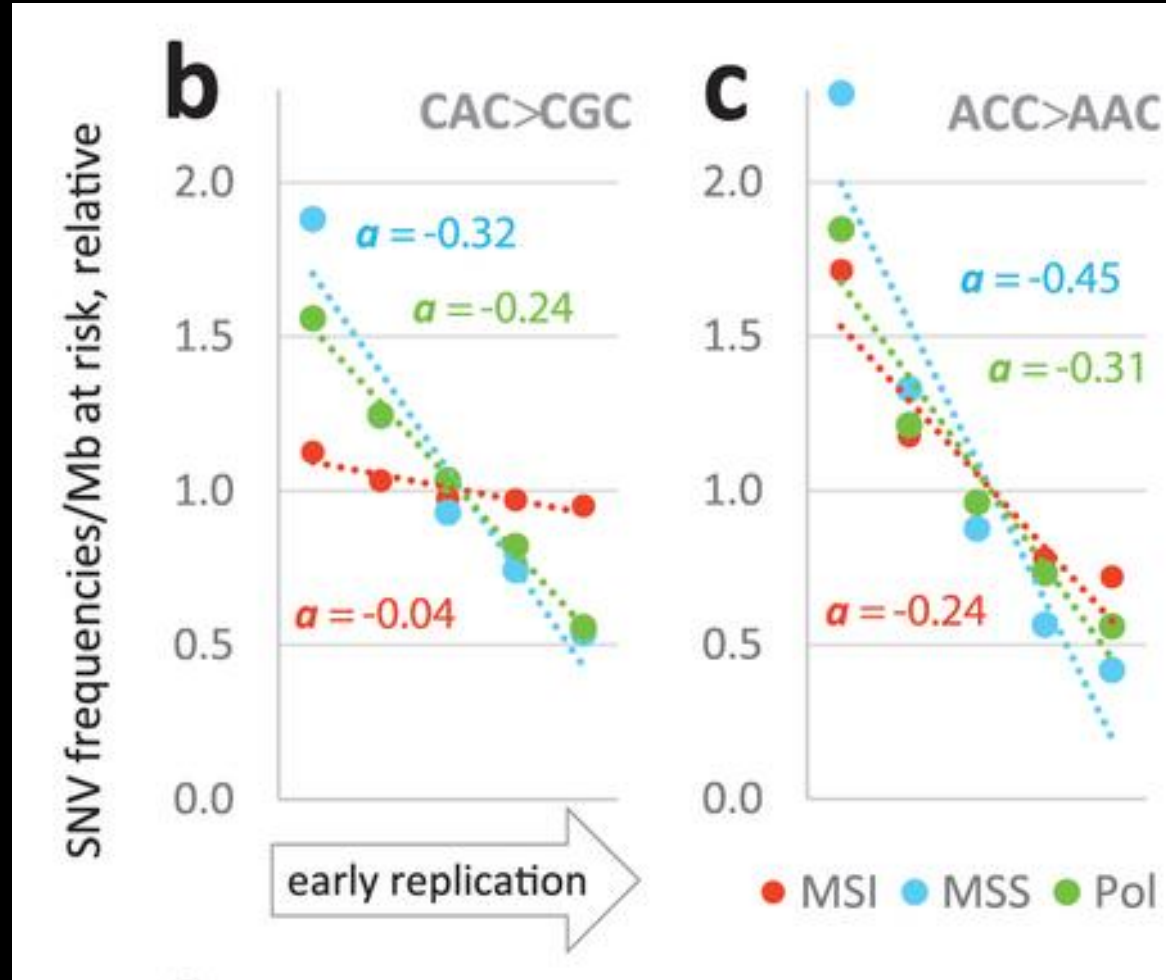


Многое объясняет система репарации MMR

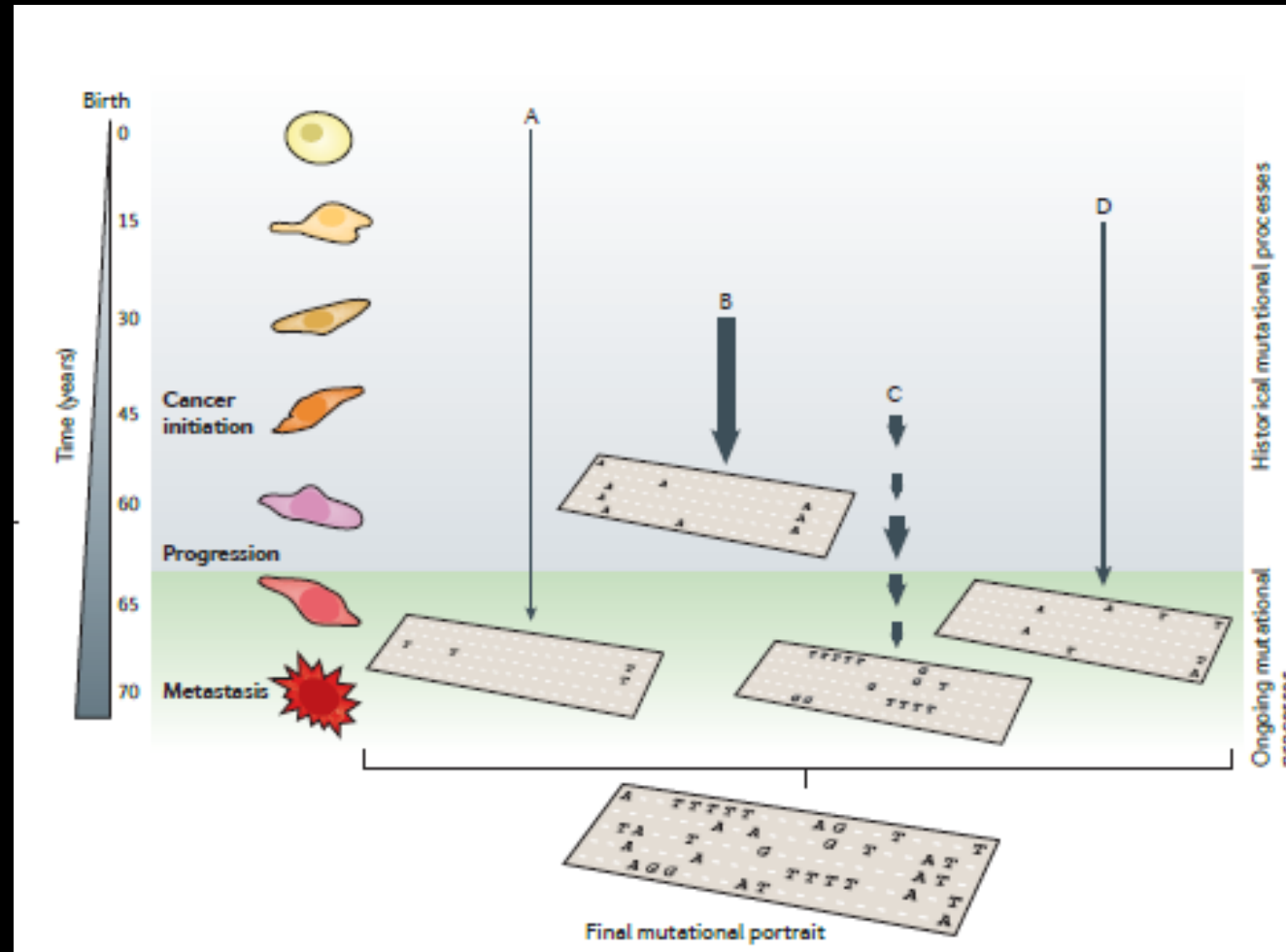
Скорость мутирования в раках с поломкой MMR меньше зависит от тайминга



MMR эффективнее чинит транзиции в раннем тайминге

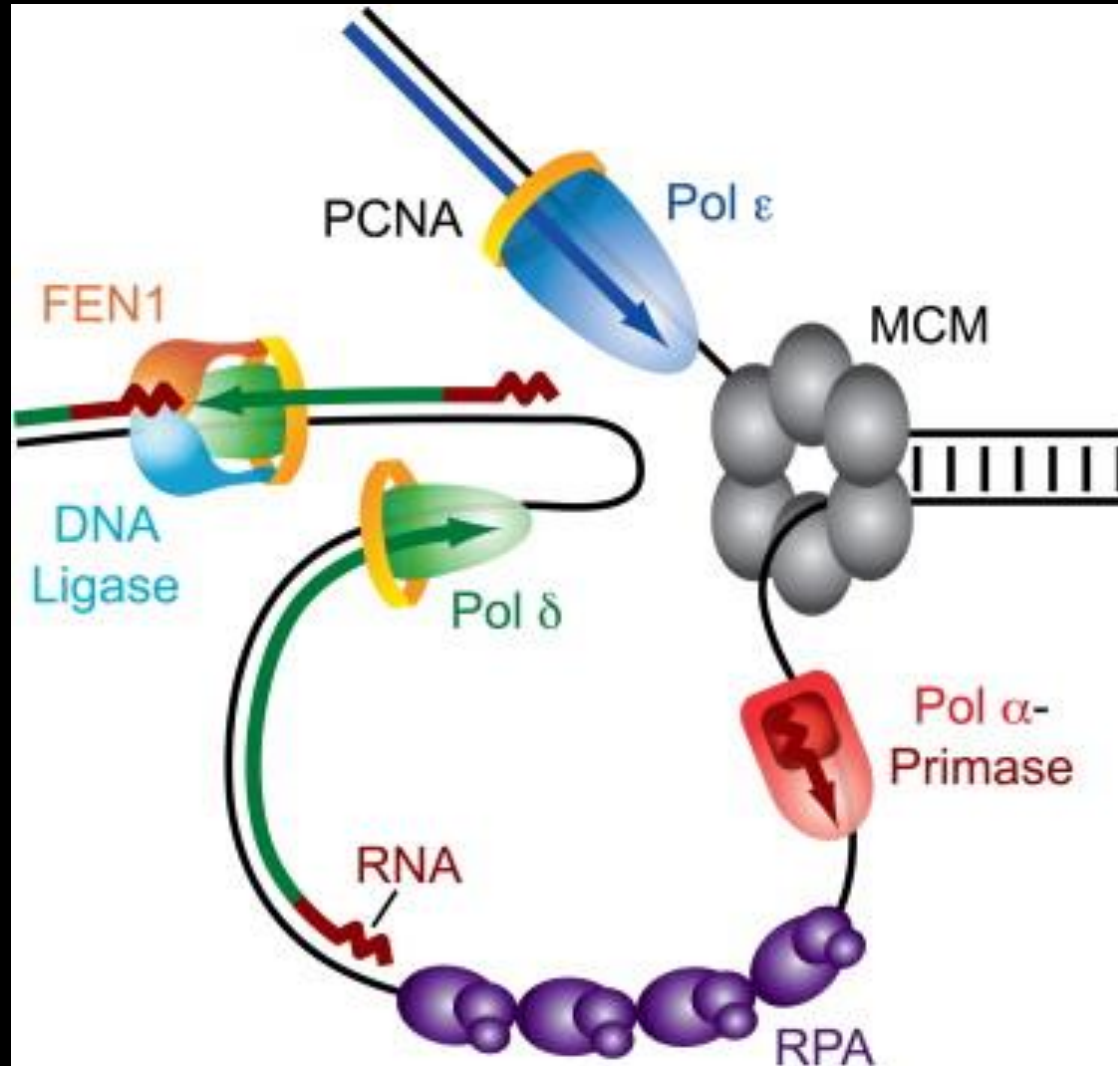


То что мы видим - это смесь мутационных и репарационных процессов



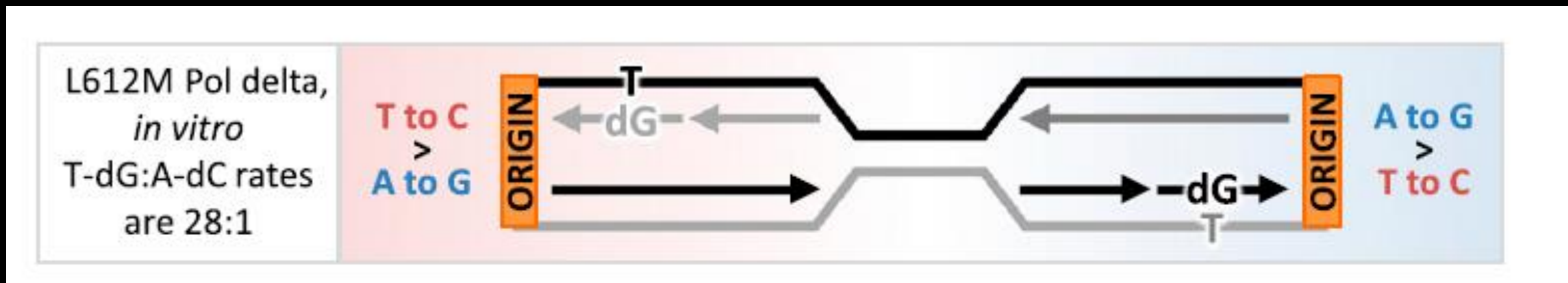
Молекулярные механизмы и наблюдаемые мутации Репликация и MMR

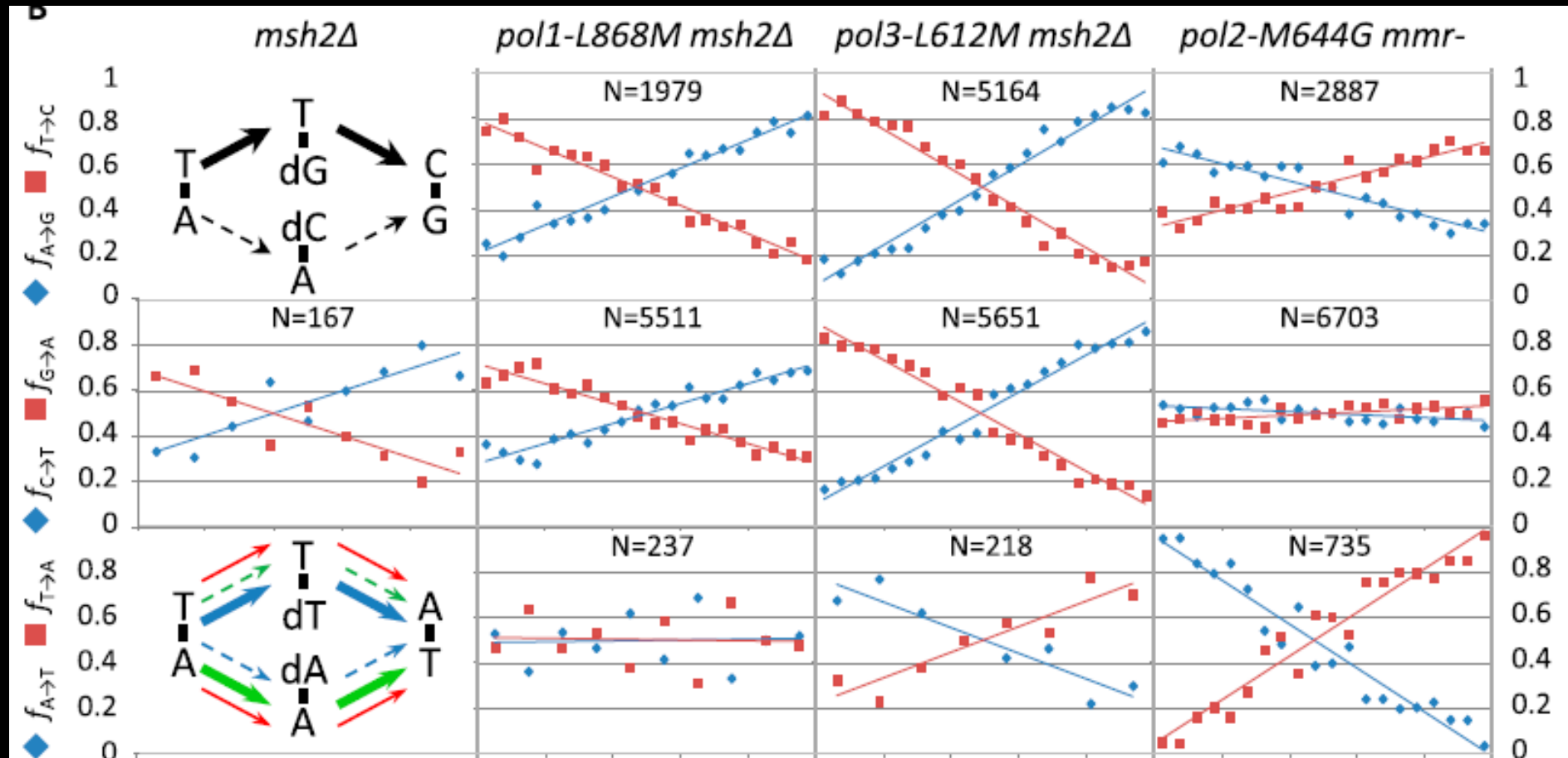
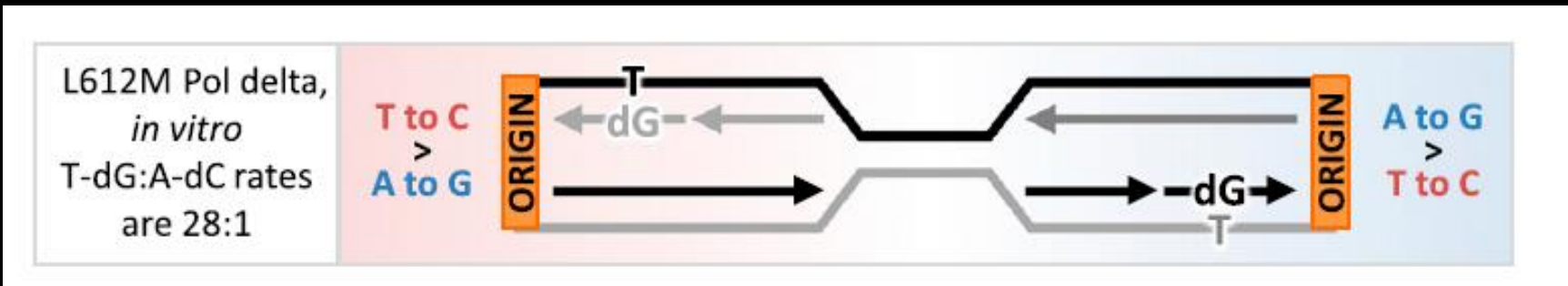
Модель вилки репликации



Как установить модель вилки репликации?

Внести в полимеразы мутации, повышающие вероятность ошибок

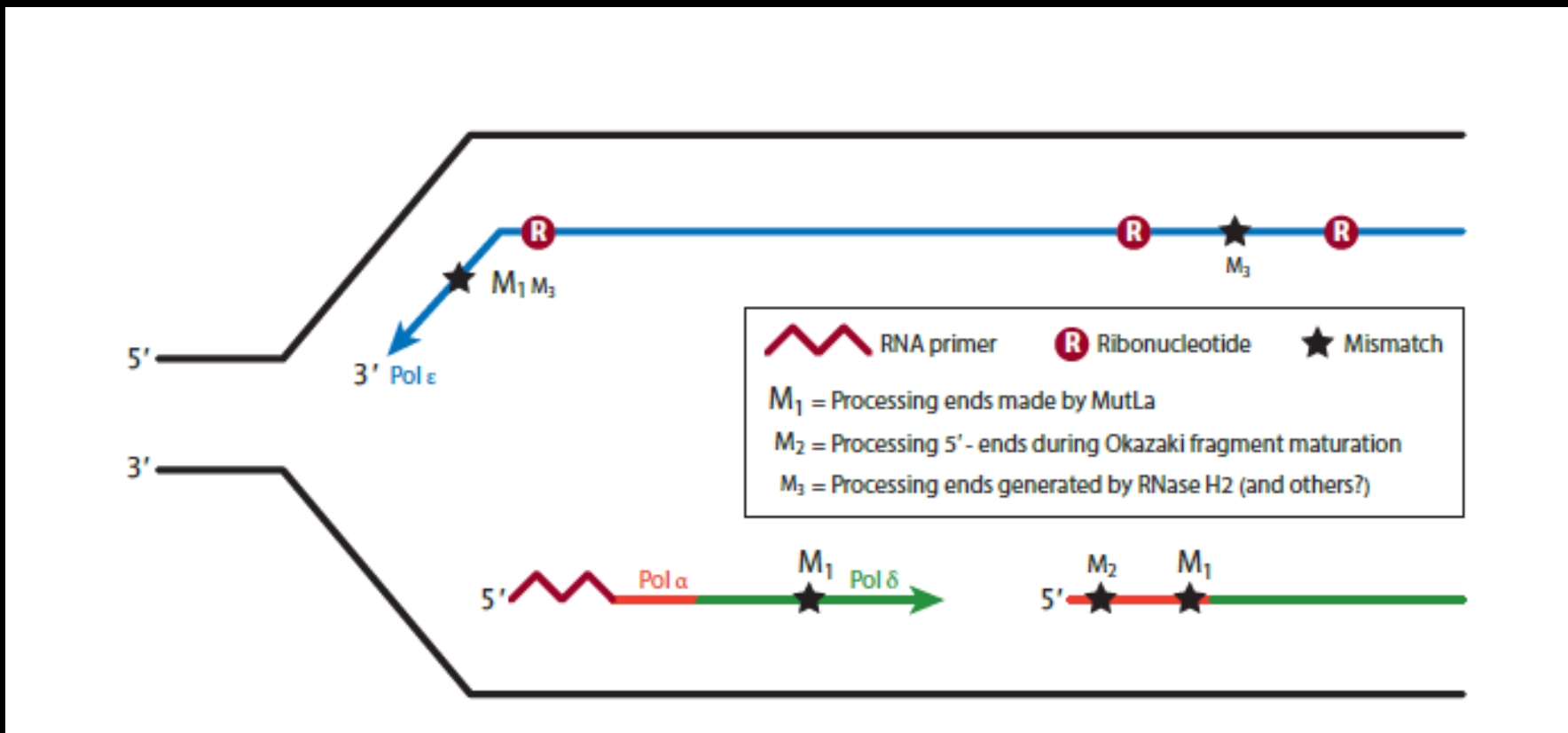




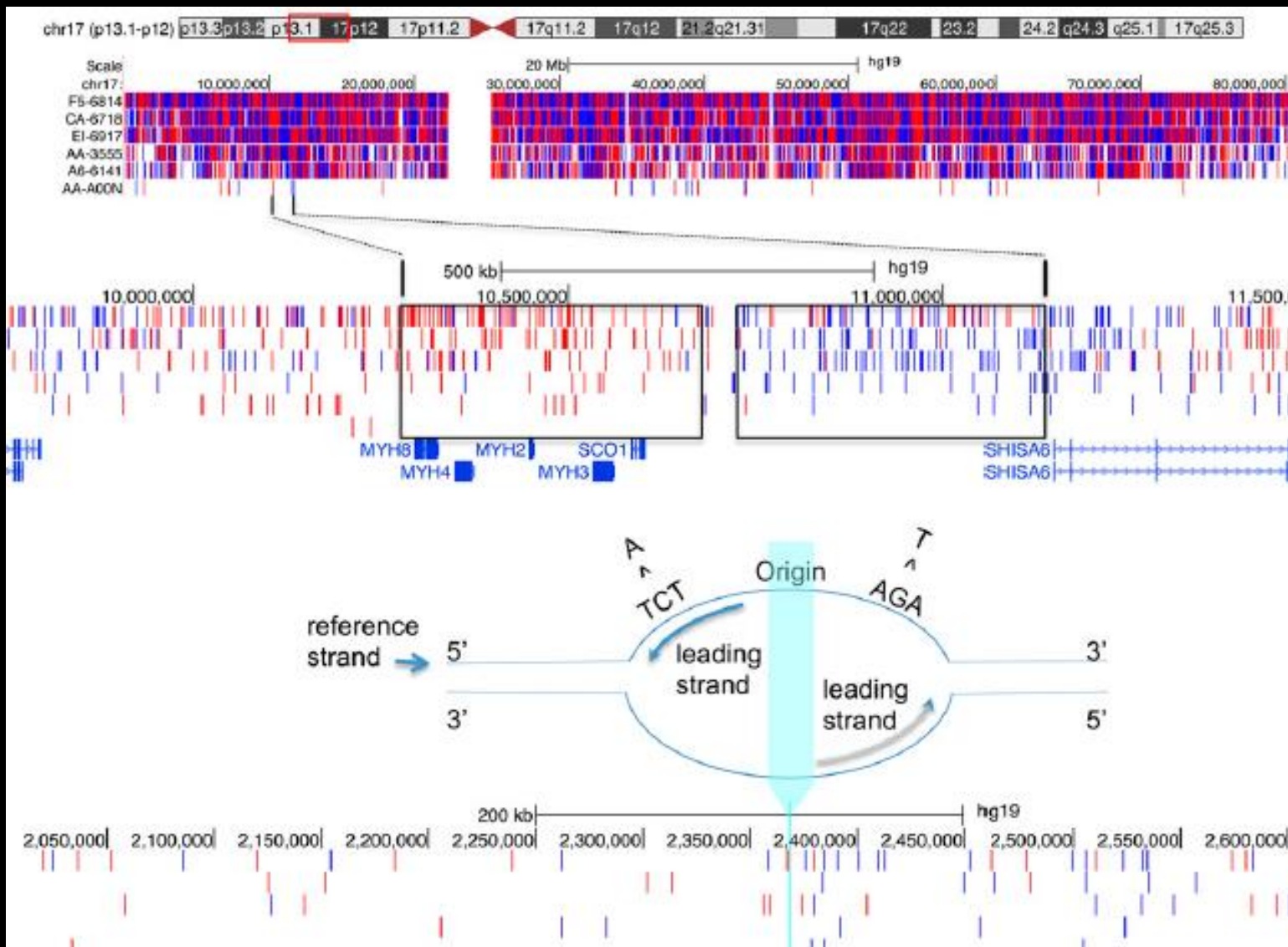
Как установить модель вилки репликации?

Рибонуклеотиды

- Мутация в полимеразе
- Отключение RER (ribonucleotide excision repair)



Это все дрожжи, а что в человеке?

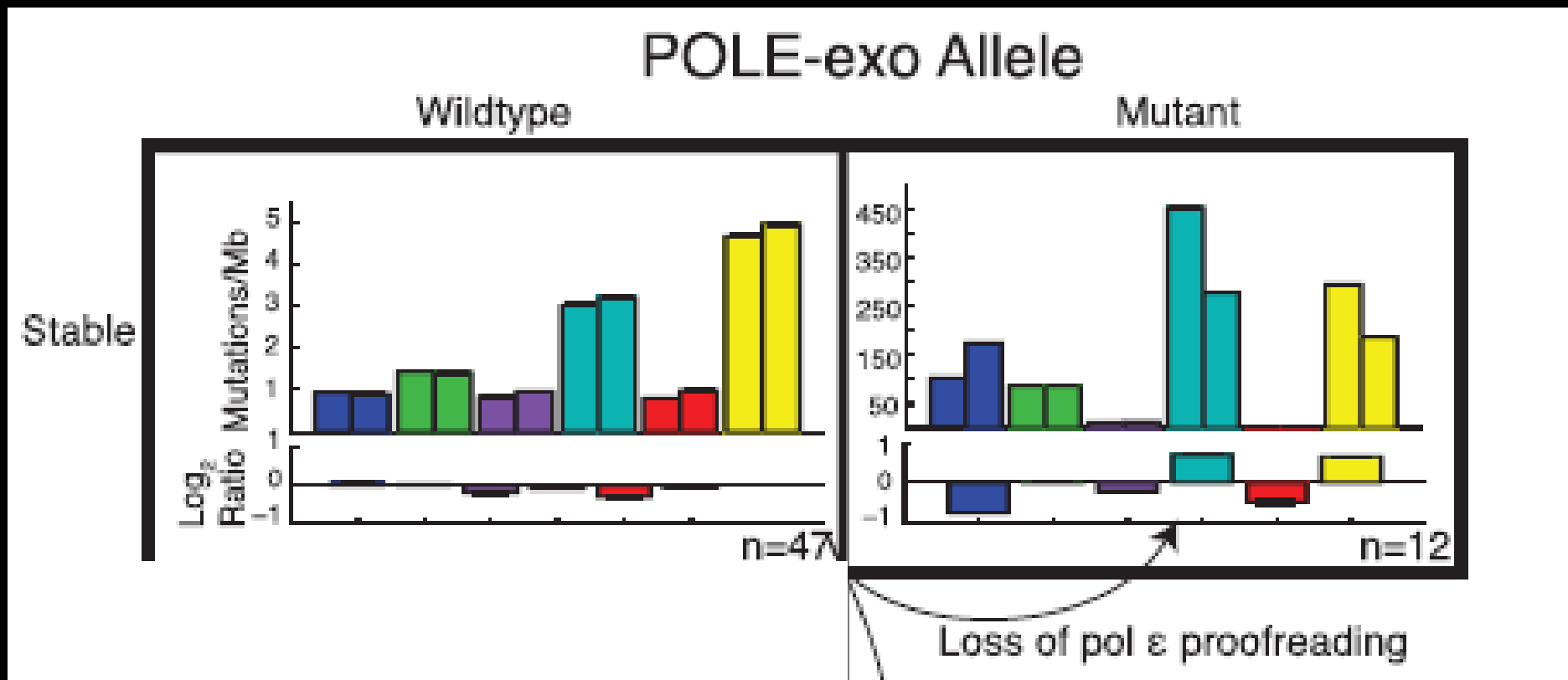


Есть раки с поломками в экзонуклеазных доменах репликативных полимераз

PolE – лидирующая цепь

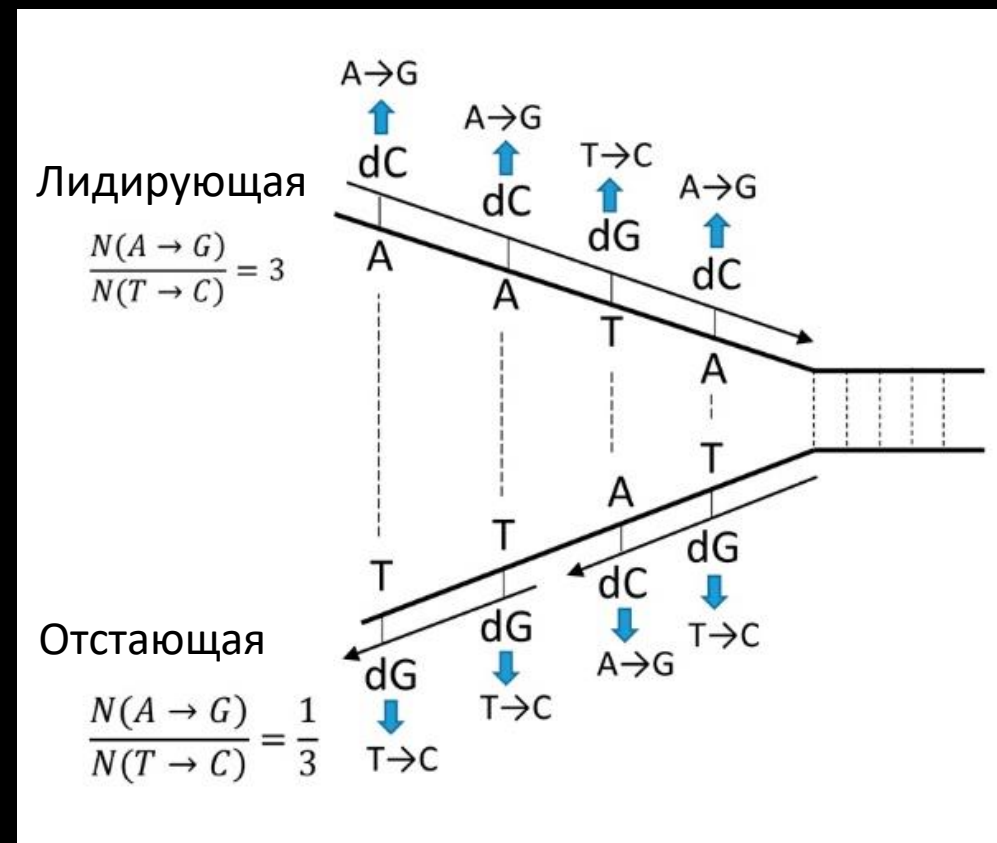
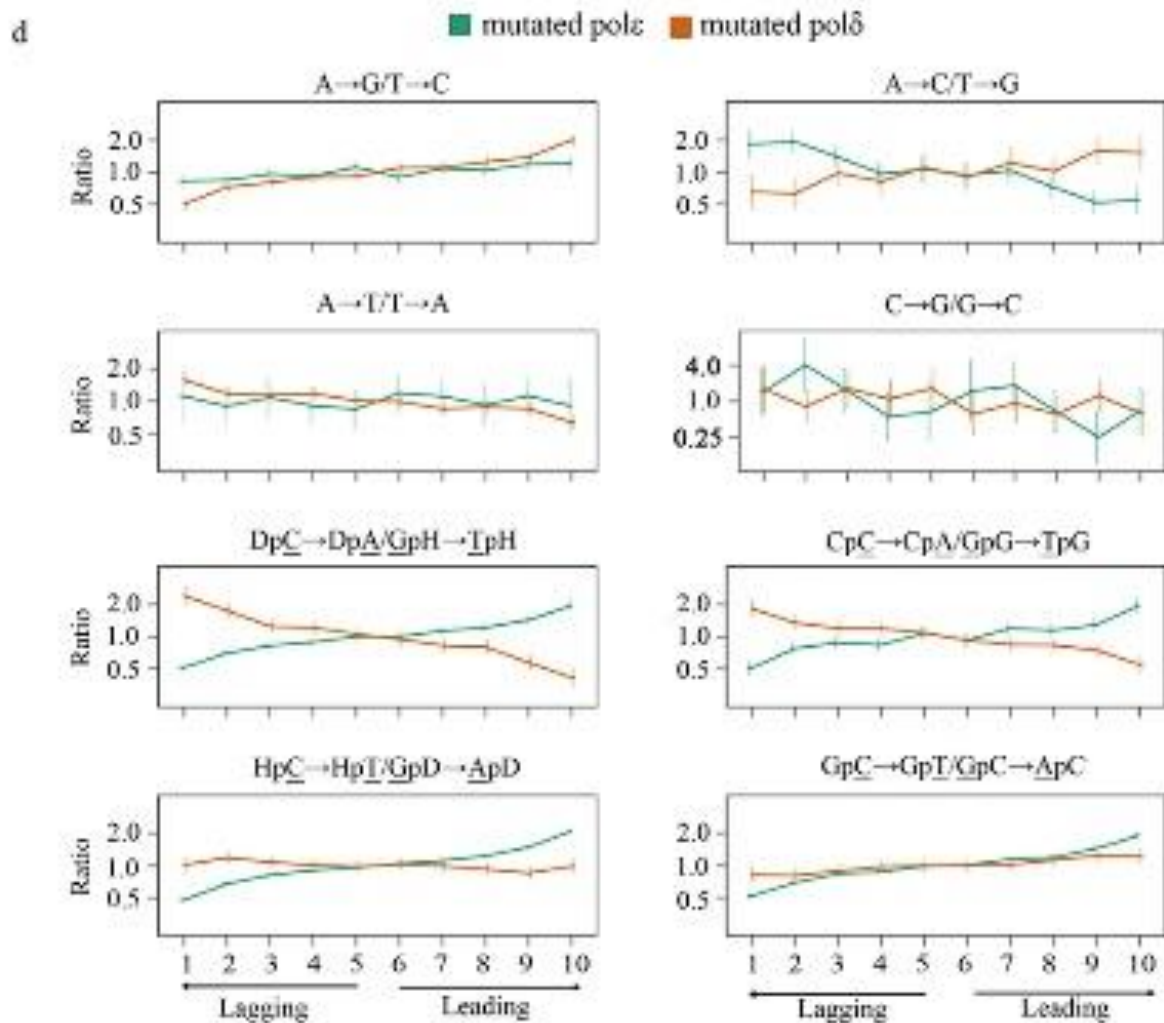
TCT>TAT – red
AGA>ATA - blue

Это все дрожжи, а что в человеке?

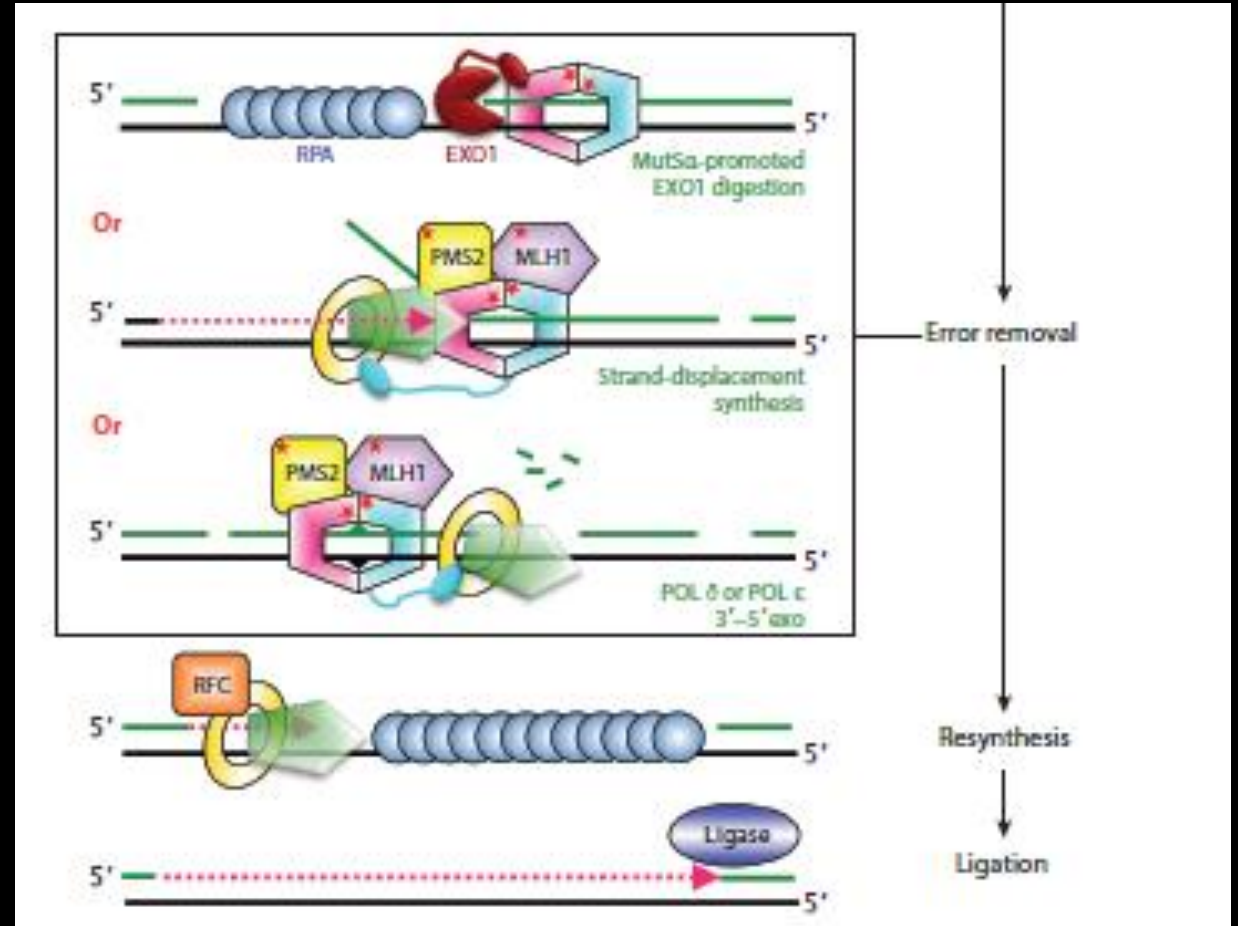
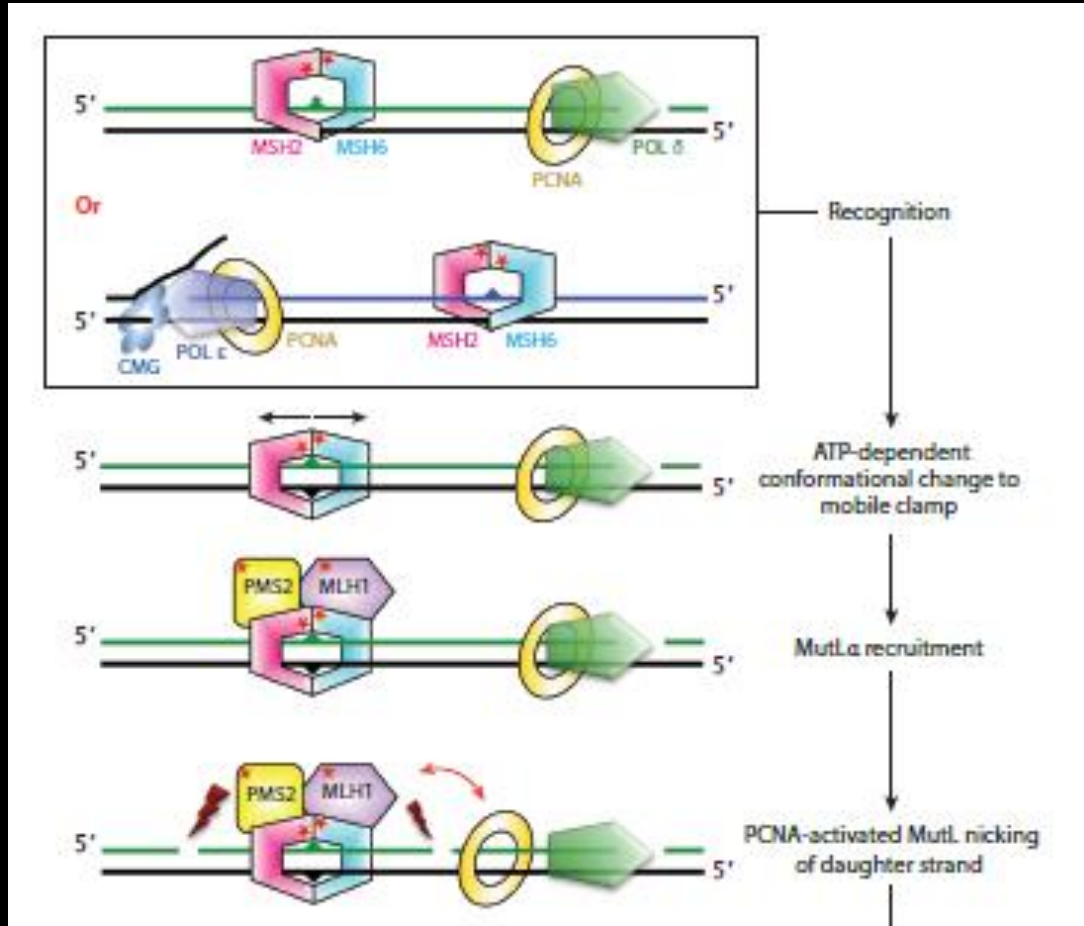


Это все дрожжи, а что в человеке?

Как и в дрожжах
 PolE – лидирующая цепь,
 PolD – отстающая цепь



Репарация неспаренных оснований (MMR)



MMR чинит инделы и мисметчи

- Прежде всего делеции в гомополимерных трактах (поломки в этой системе репарации определяют по стабильности микросателлитов)

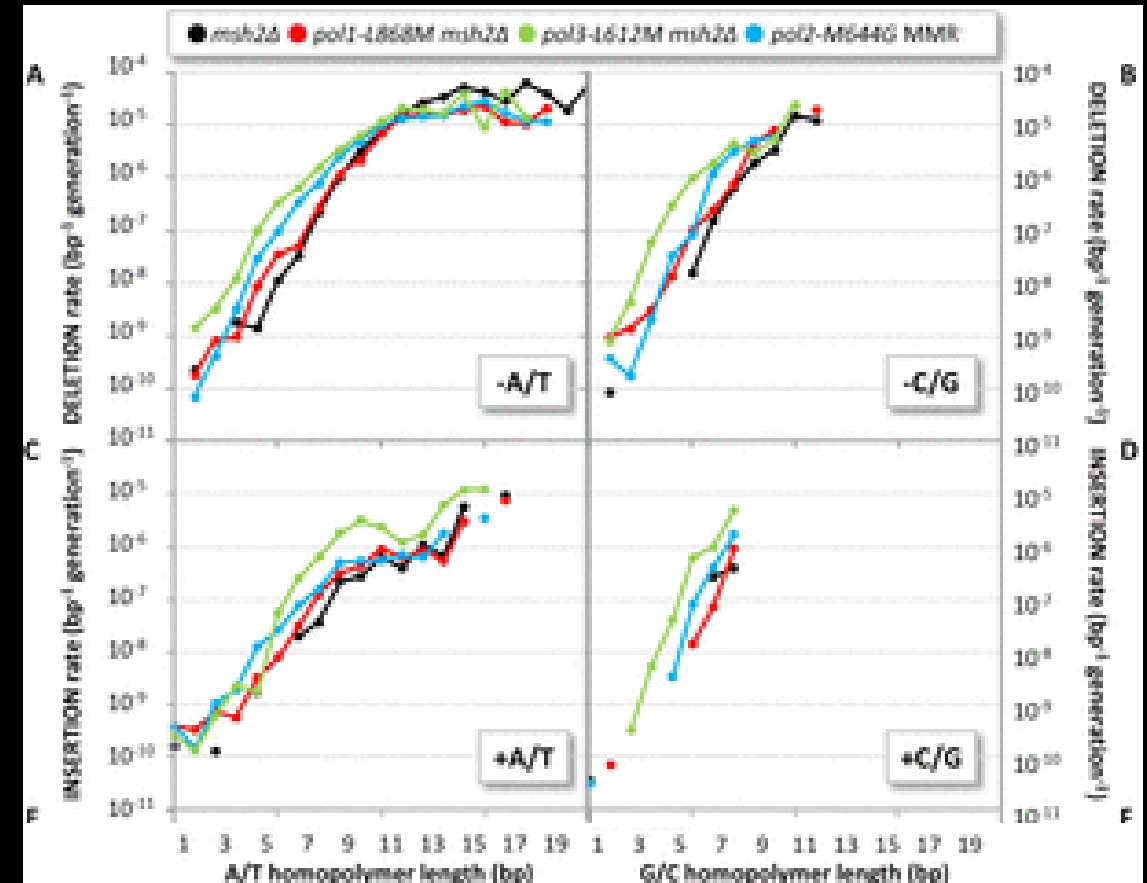
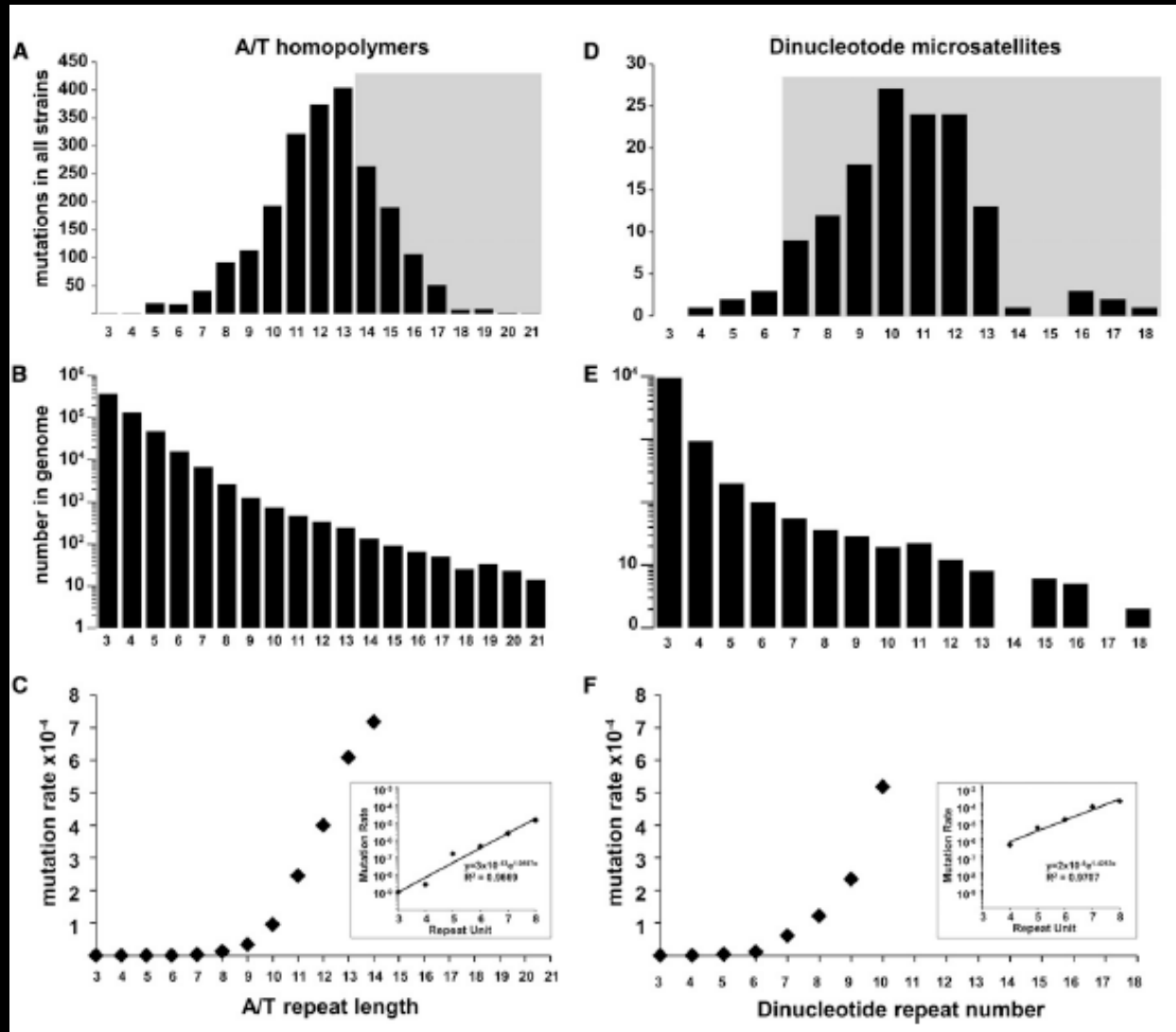
■ Table 3 Summary of genome-wide mutations in mismatch defective cells

Mismatch Type	Mutation	Number ^a	% Total
Single-base indel ^b	Deletions at homopolymers	2011	81.2
	Insertions at homopolymers	161	6.5
Subtotal		2175	87.7
Single base substitution	Transitions	112	4.5
	Transversions	46	1.9
Subtotal		158	6.4
Larger indel ^a	Insertions at microsatellites	86	3.5
	Deletions at microsatellites	60	2.4
Subtotal		146	5.9

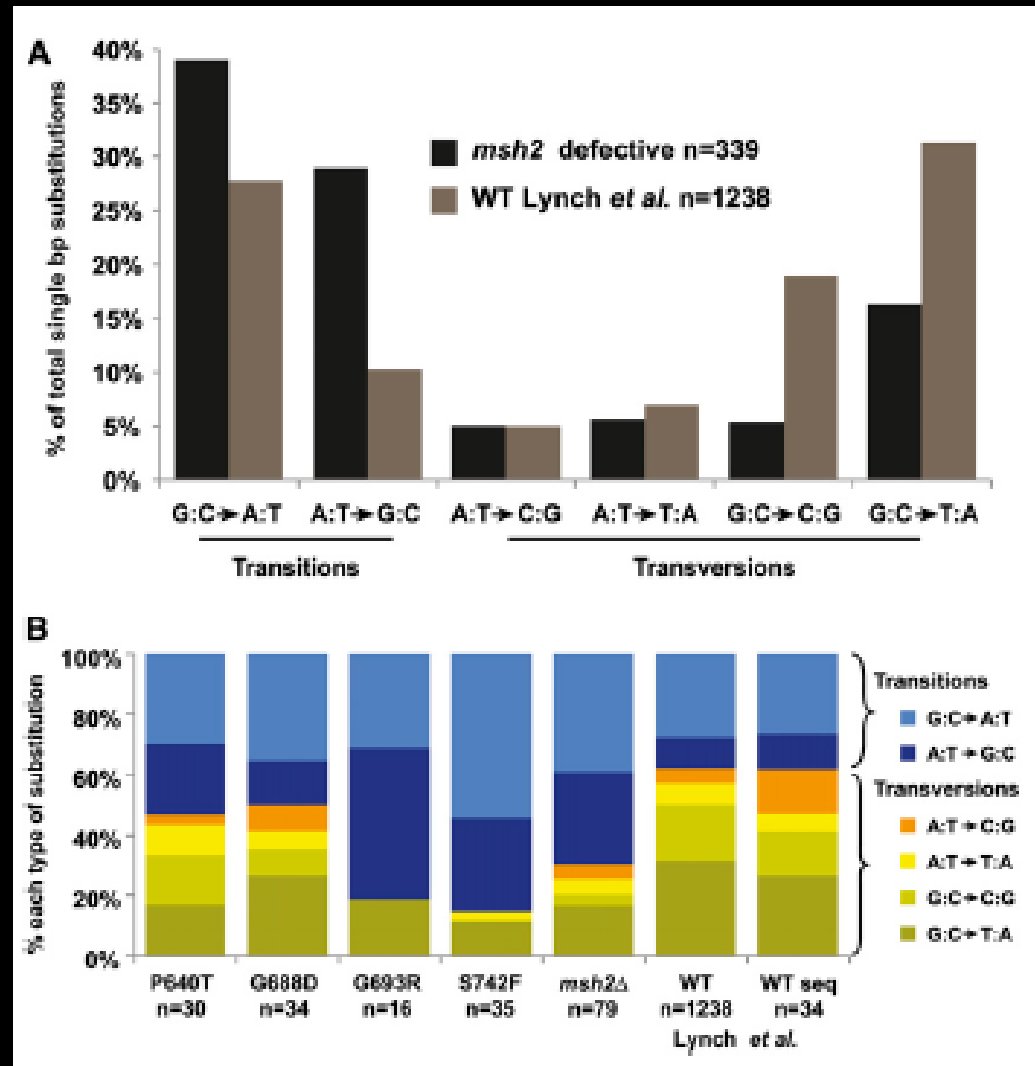
^a Data from all strains defined and *msh2* null.

^b Indel, insertion/deletion, only two indels were not at homopolymers or larger microsatellites.

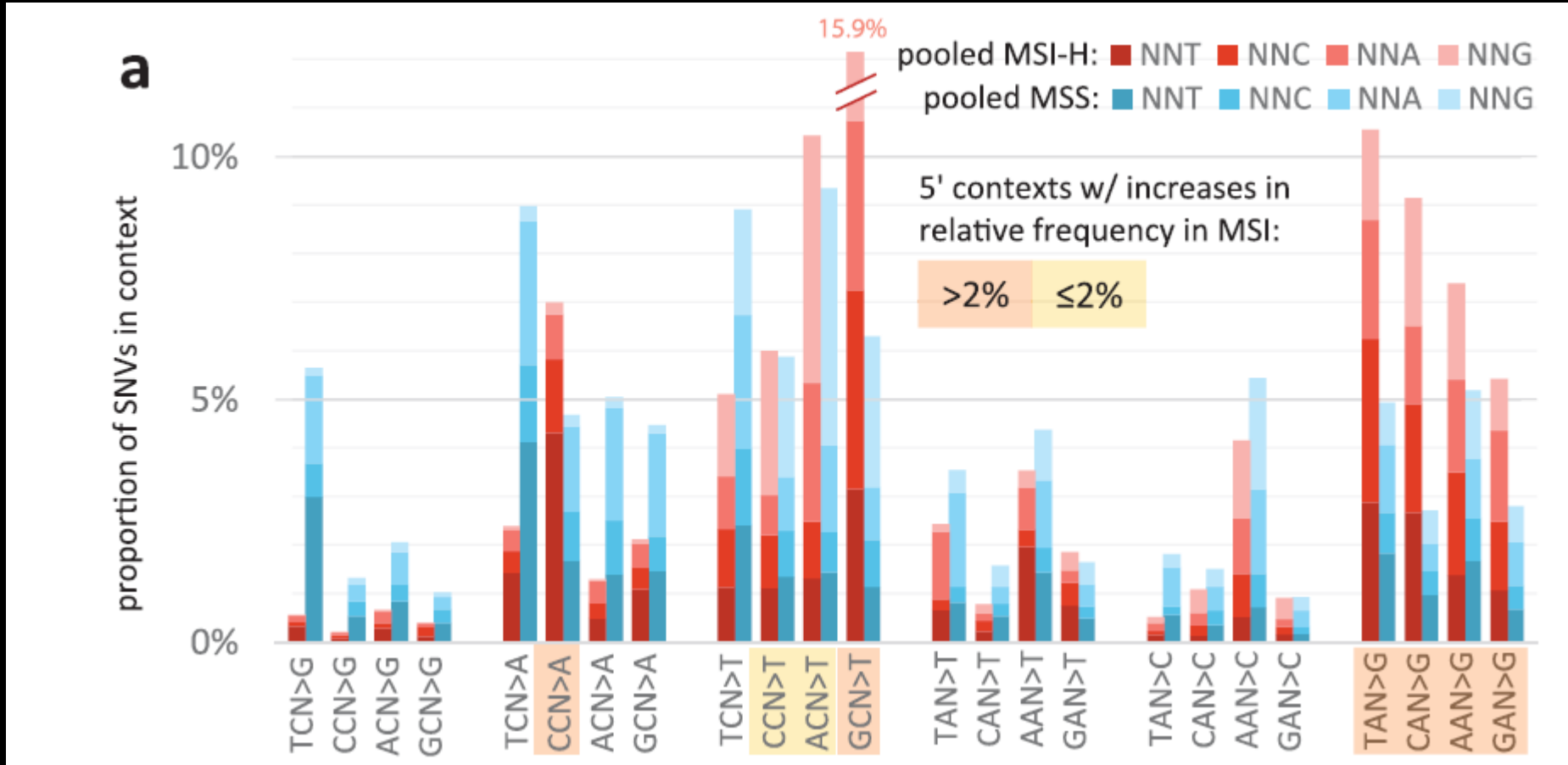
Частота инделов зависит от типа повтора и его длины




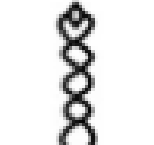


Спектр мутирования в MMR⁻ в дрожжах

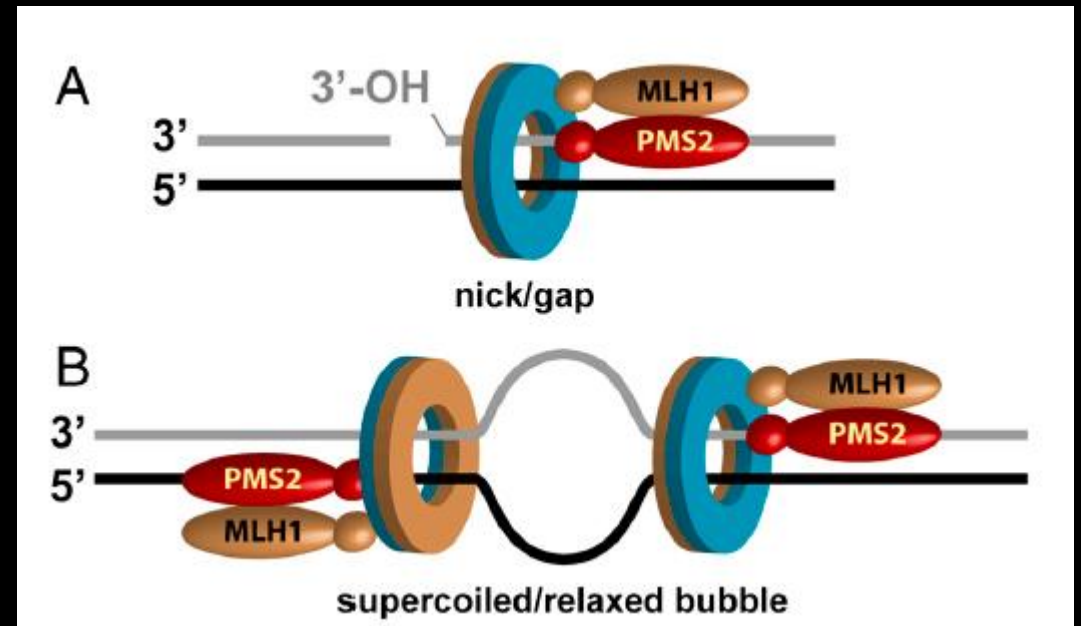


MSI в раках

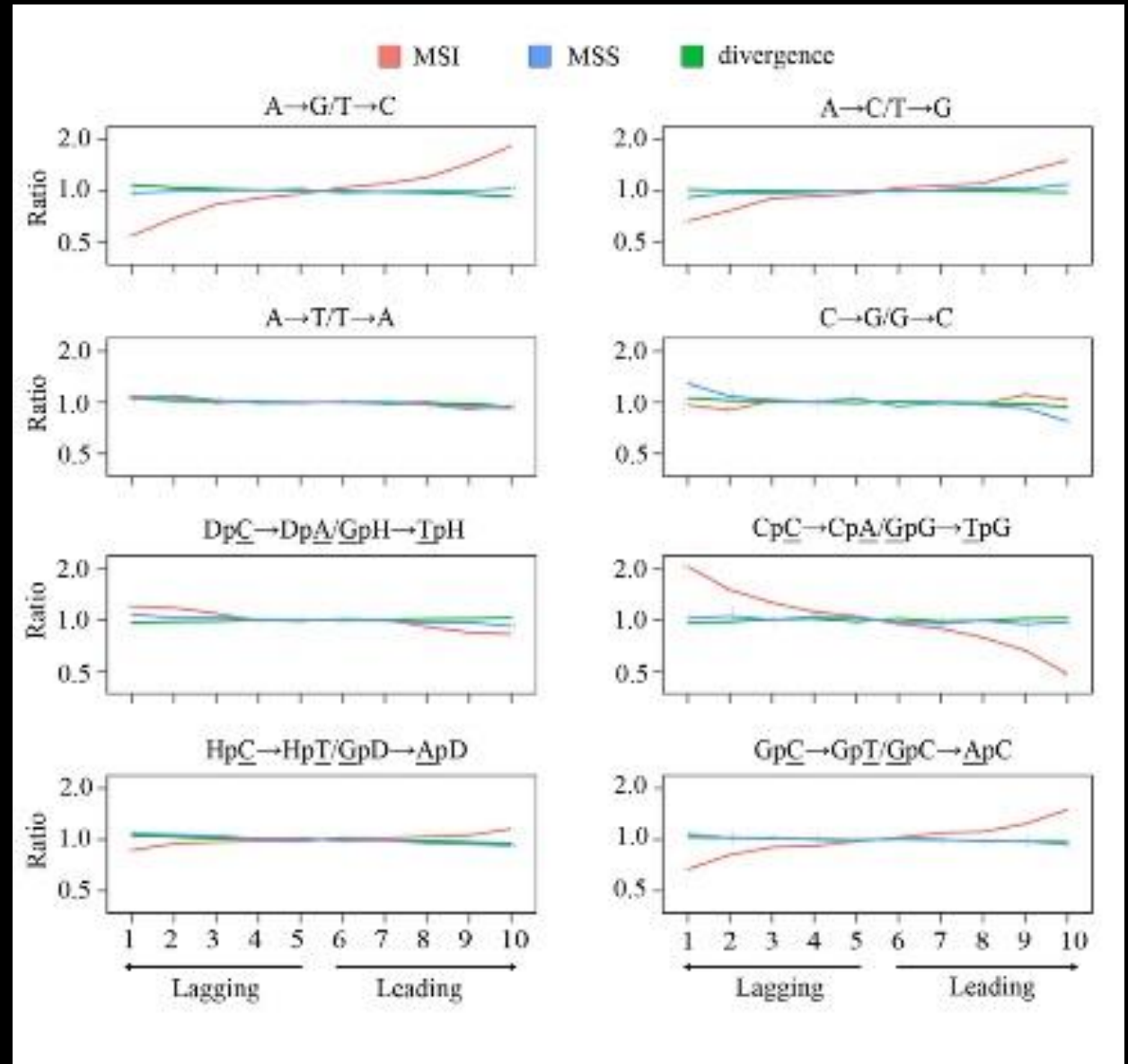
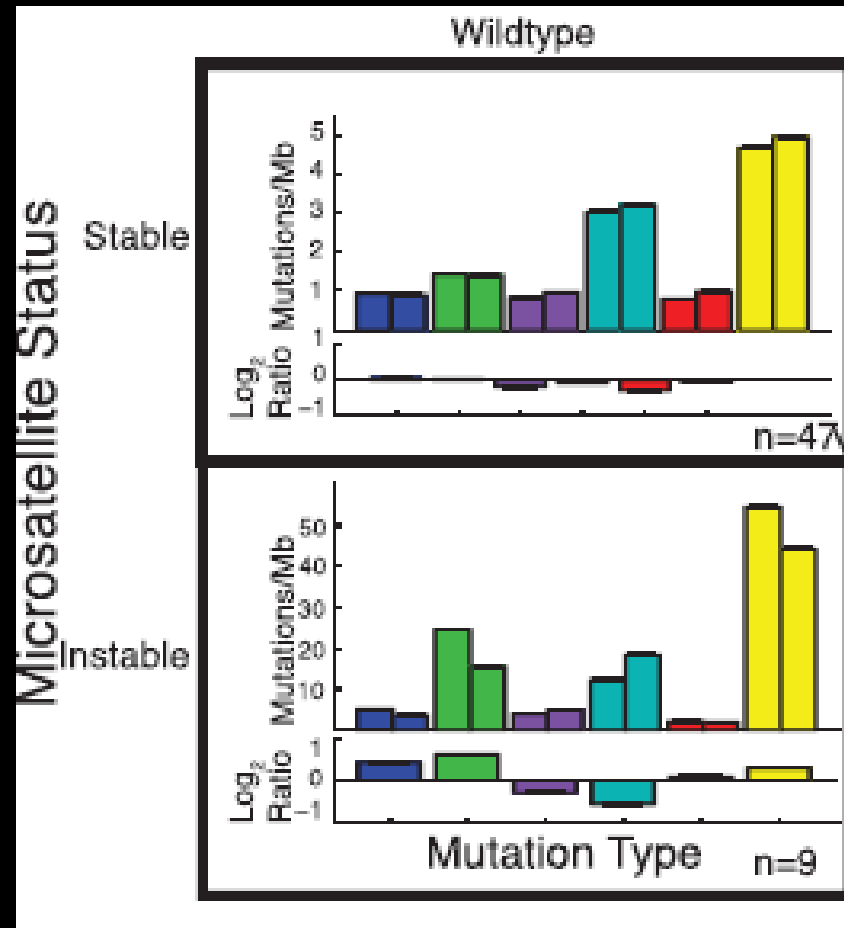


MMR различает новую и старую цепи

Heteroduplex	Loaded PCNA trimer/DNA	Strand
 nicked	7.0 ± 0.2	C (nicked) V (closed)
 supercoiled	2.1 ± 0.3	C (closed) V (closed)
 relaxed-bubble	3.9 ± 0.1	C (closed) V (closed)
 relaxed	1.2 ± 0.6	C (closed) V (closed)



R-асимметрия в MSI раках

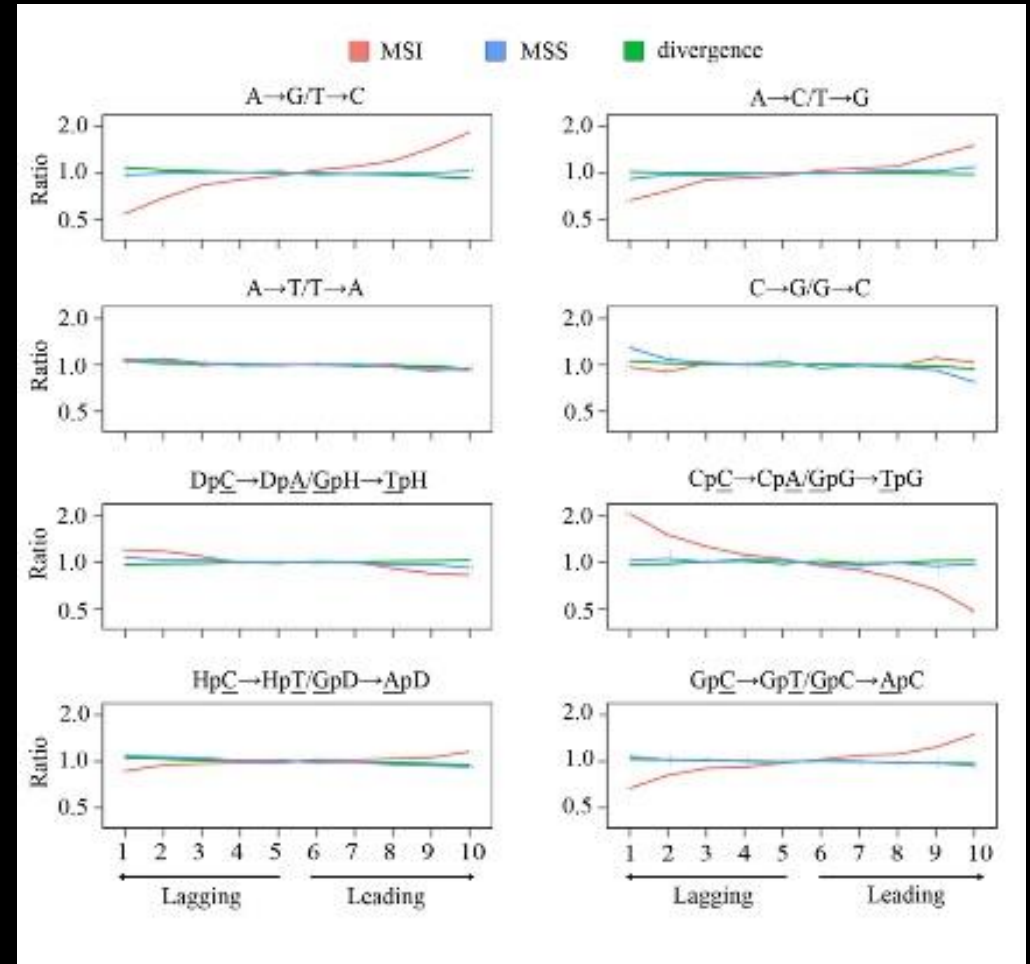
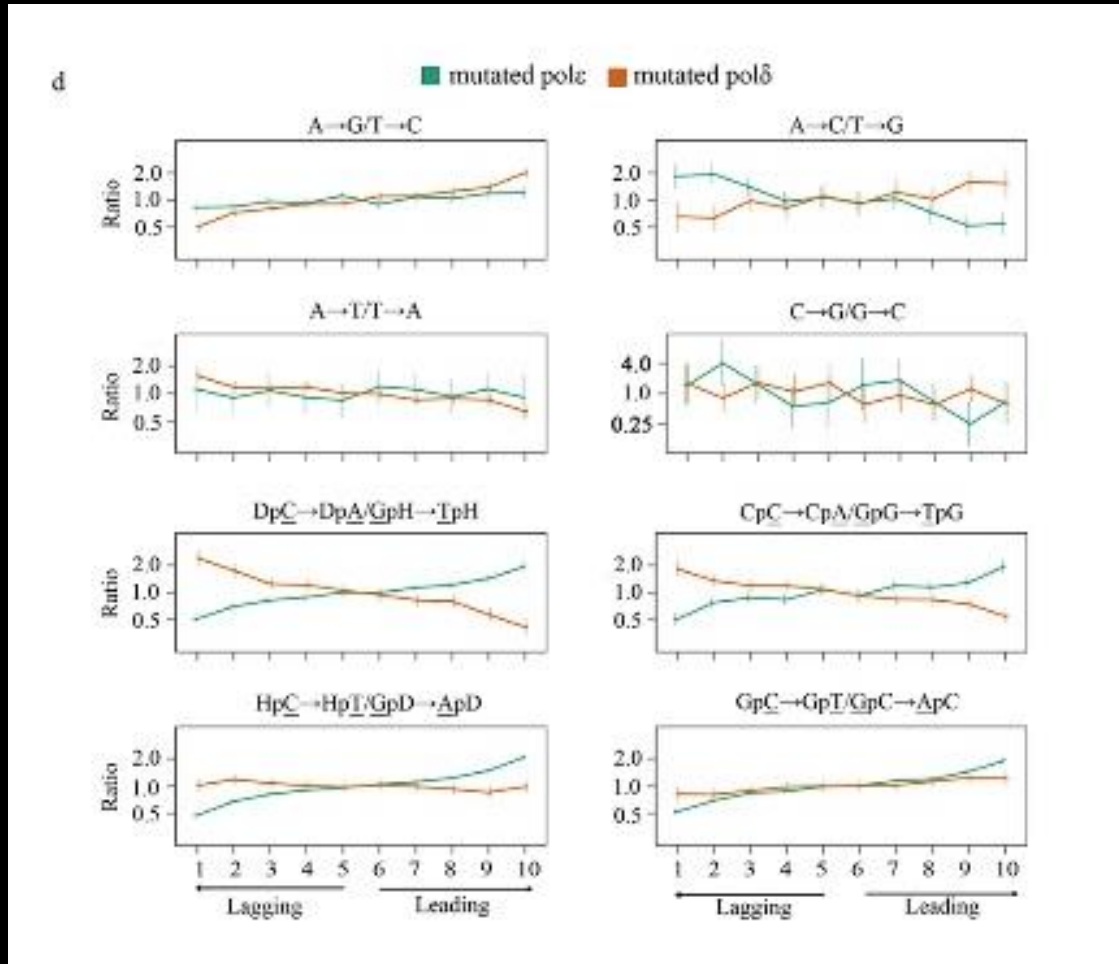


MMR различает лидирующую и отстающую цепи

Mismatch repair balances leading and lagging strand DNA replication fidelity (Lujan et al 2014, Genome Research)

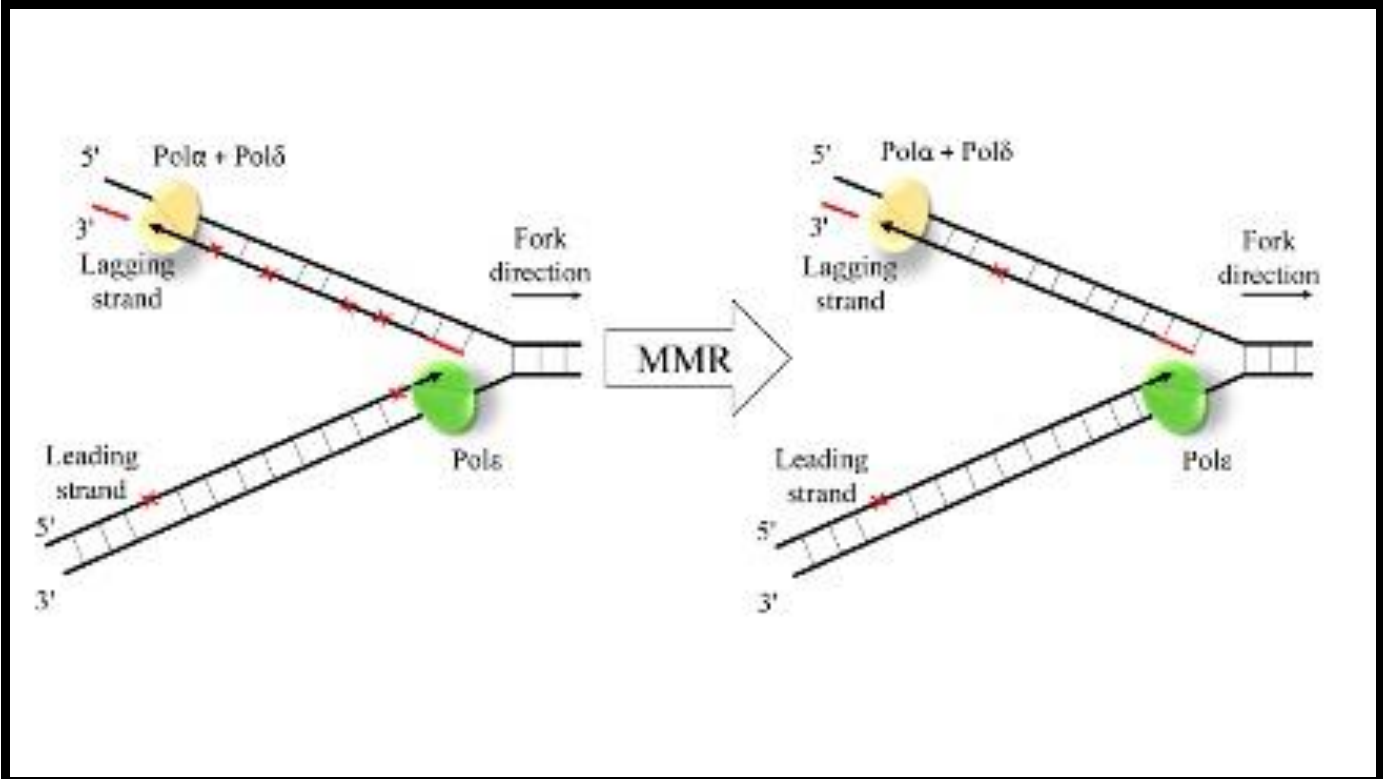
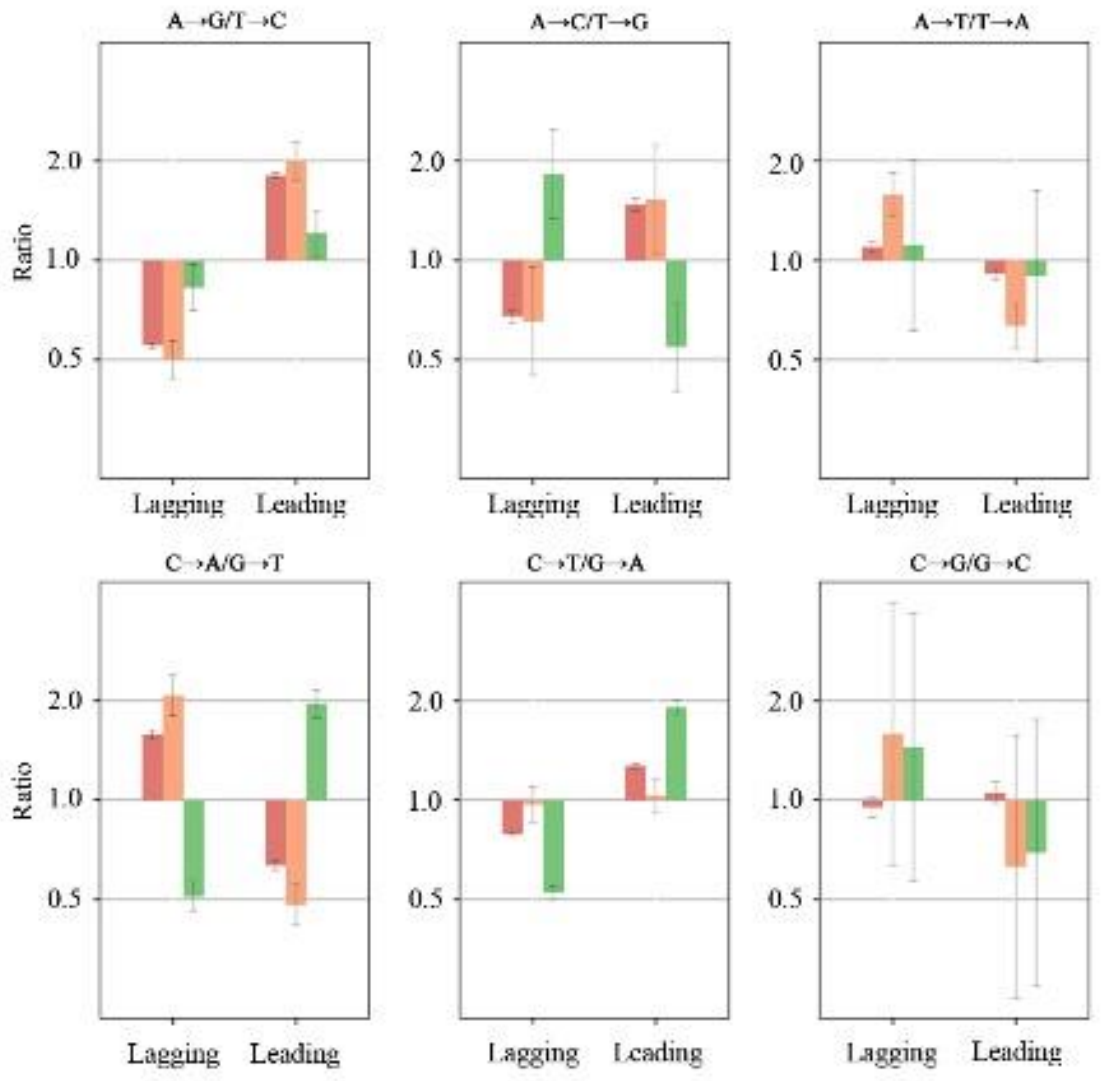
Human mismatch repair system corrects errors produced during lagging strand replication more effectively

Andrianova et al 2016 under review

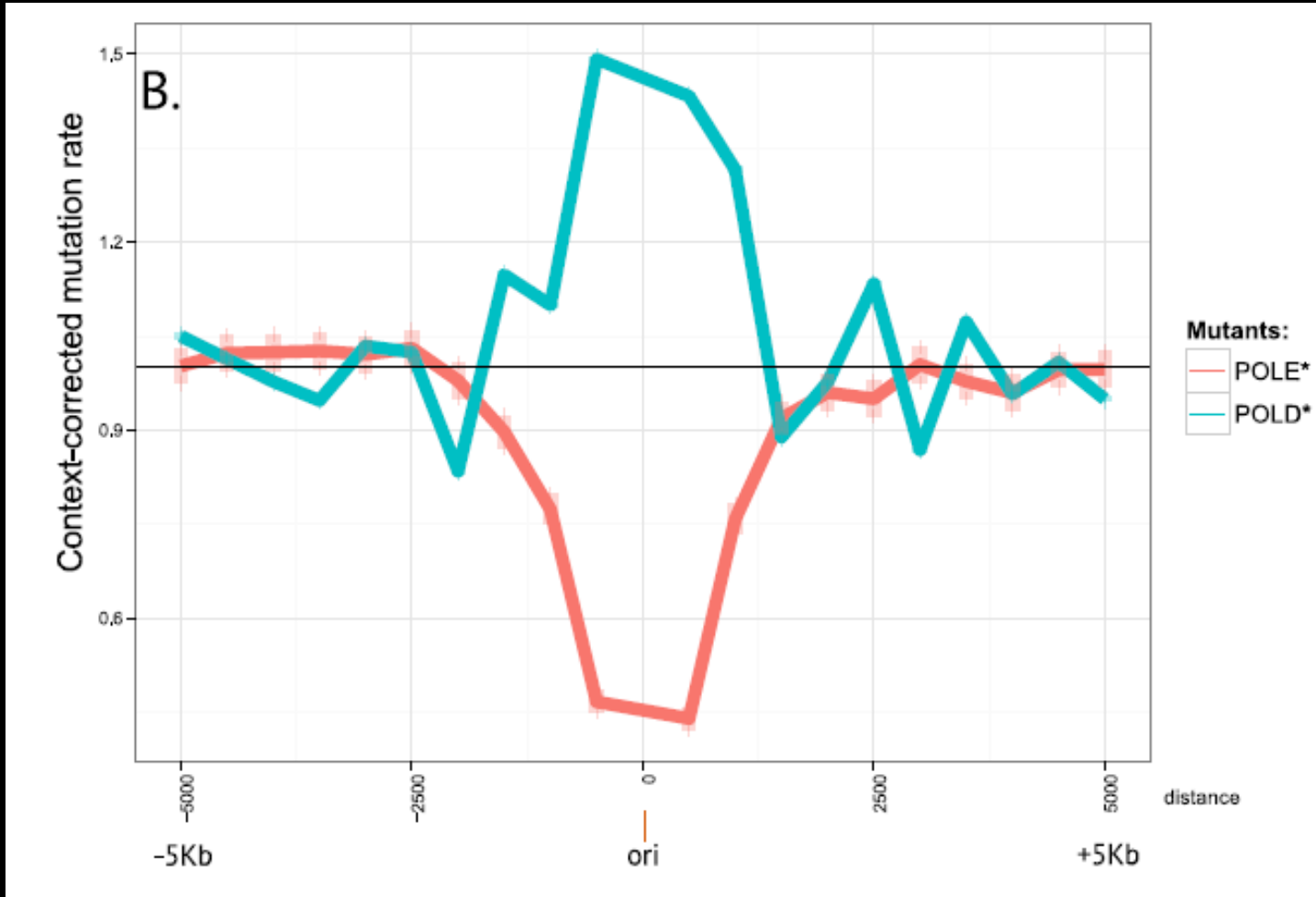


a

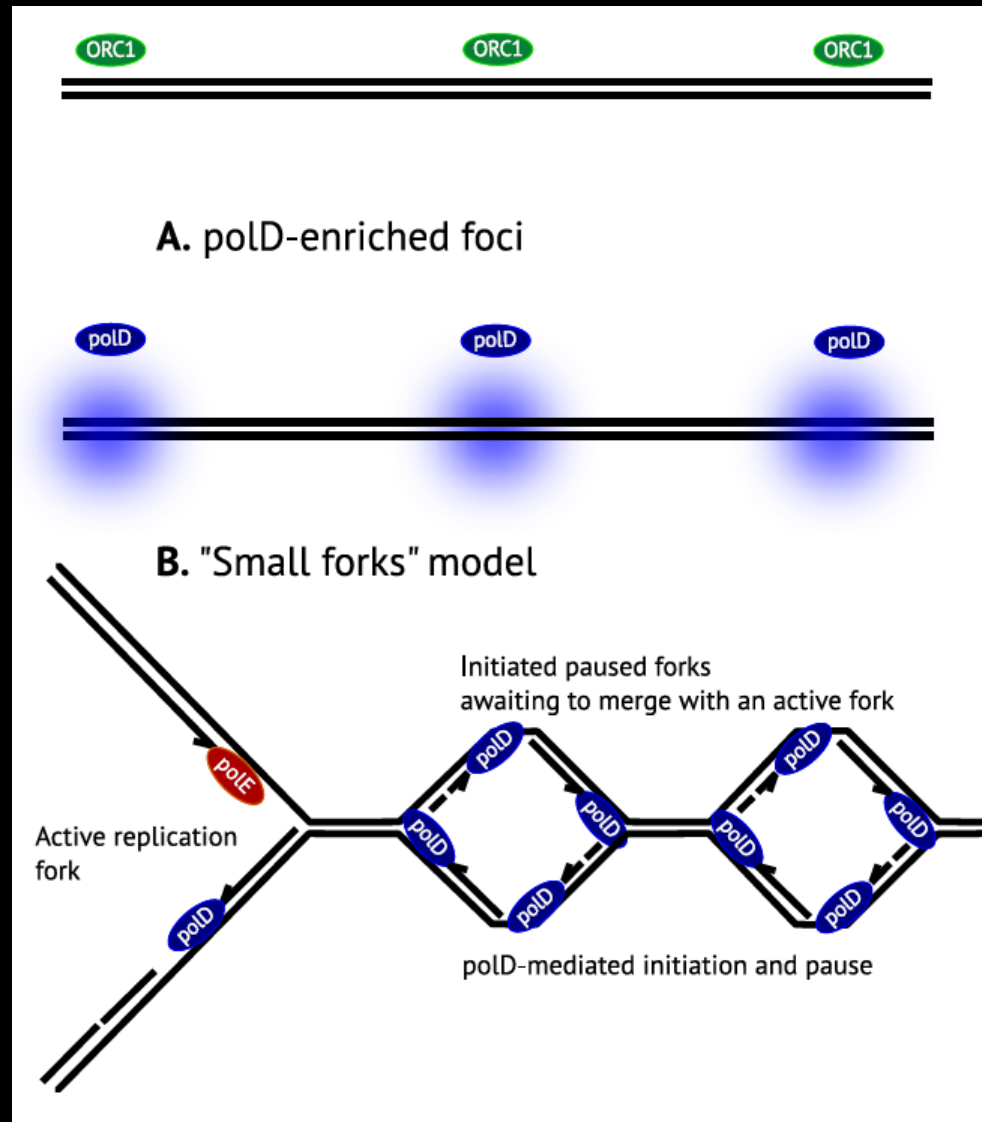
MSI mutated pol δ mutated pol ϵ



Особые участки ДНК. Ориджины.



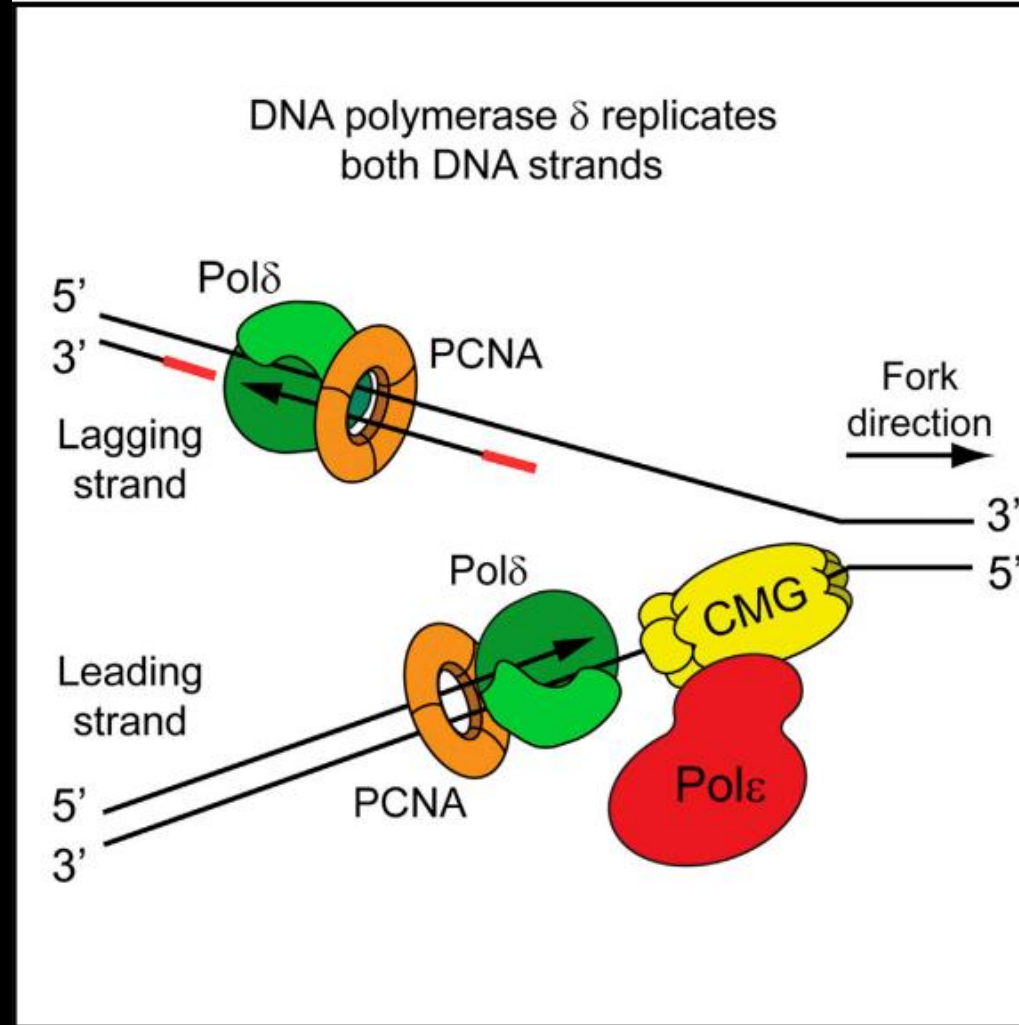
Особые участки ДНК. Ориджины.



Это может объяснить альтернативную модель

A Major Role of DNA Polymerase δ in Replication of Both the Leading and Lagging DNA Strands

(Johnson et al 2015, *Mol Cell*)



Особые участки ДНК. Сайты CTCF.

