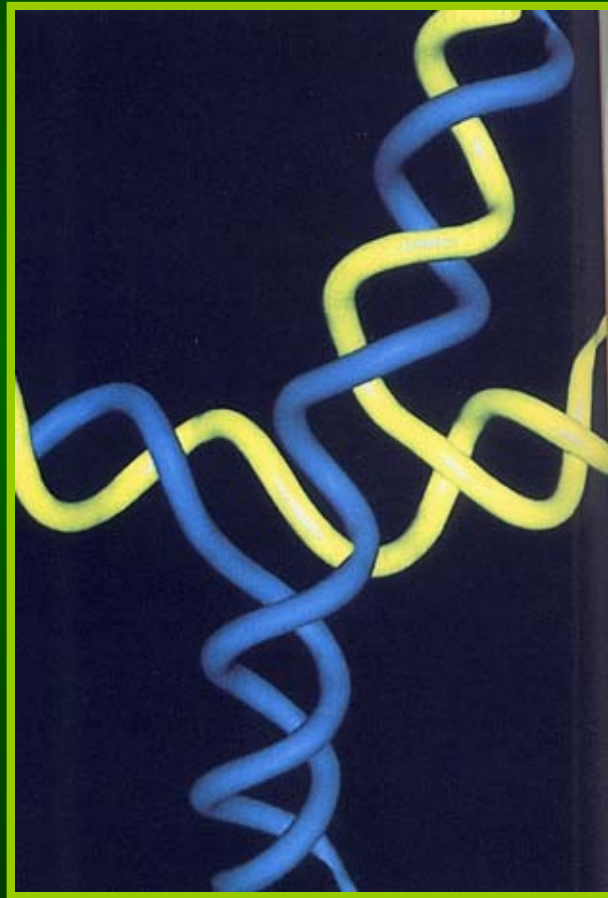


# Генетическая рекомбинация



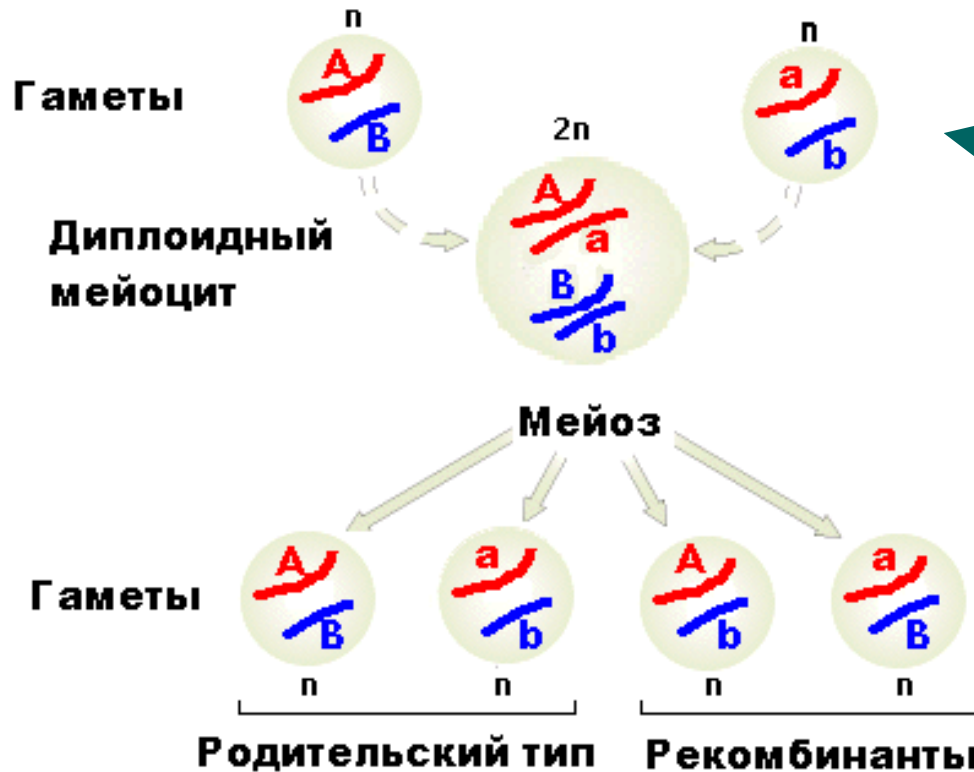
# Генетическая рекомбинация

- Генетическая рекомбинация включает несколько связанных между собой процессов, в результате которых в клетках или организмах, где они происходят, создаются новые комбинации элементов – носителей генетической информации.
- Генетическая рекомбинация – это перераспределение генетического материала (ДНК или РНК), приводящее к появлению новых комбинаций генов или других нуклеотидных последовательностей.

# Генетическая рекомбинация

- Генетическая рекомбинация в широком смысле слова включает в себя не только рекомбинацию между молекулами ДНК, но и перекомбинацию (сортировку) генетического материала на уровне целых хромосом или ядер, а также обмен плазмидами между клетками.

# Мейотическая рекомбинация

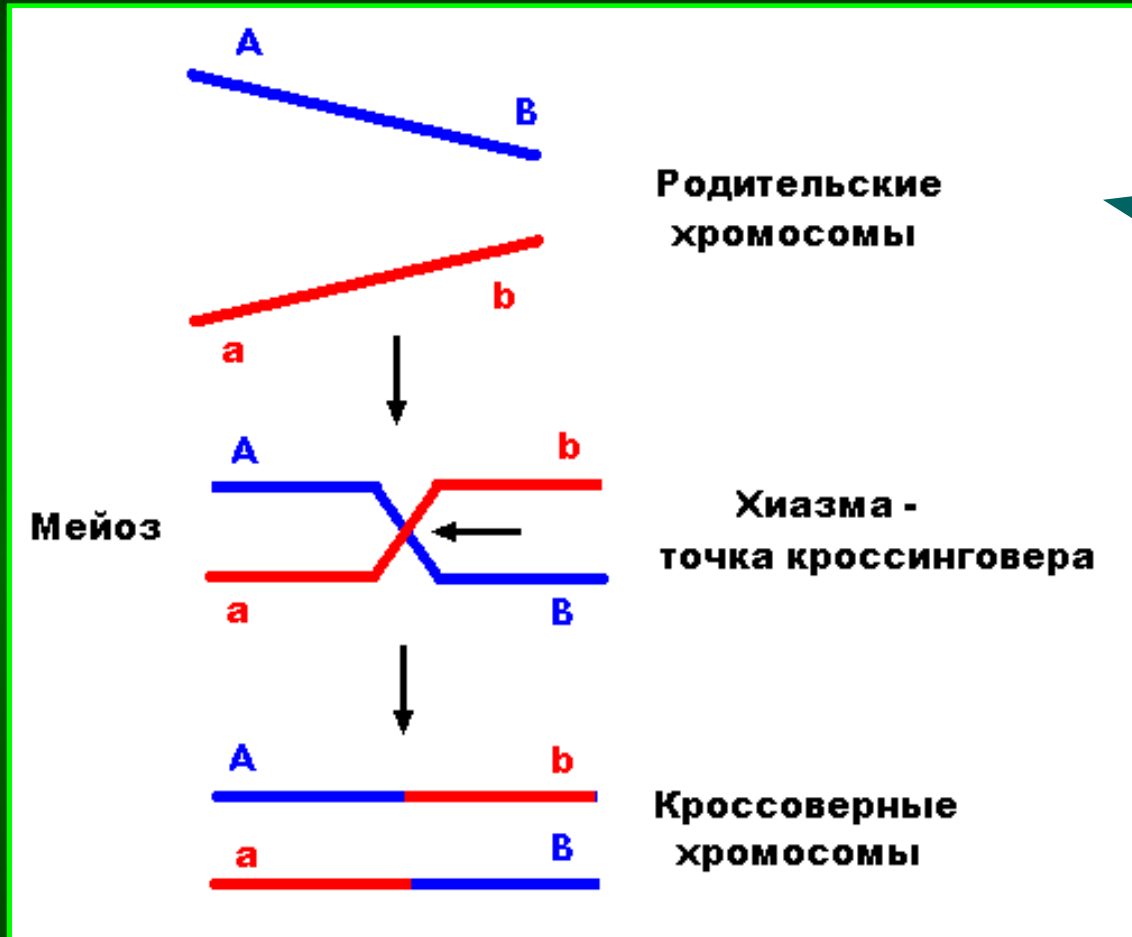


Гены A и B  
находятся на  
негомологичных  
хромосомах.

При мейозе происходит  
редукция числа  
хромосом, при этом  
гомологи из разных  
бивалентов расходятся  
в анафазе I  
независимо.

Мейотическая рекомбинация может происходить за счет  
перекомбинации (независимой пересортировки) негомологичных  
хромосом

# Мейотическая рекомбинация



Гомологичные хромосомы содержат разные аллели двух генов

Мейотическая рекомбинация может происходить за счет обмена участками гомологичных хромосом в результате кроссинговера, который включает в себя разрывы и воссоединение хромосом

- Рекомбинация между молекулами ДНК – это набор процессов, различающихся по генетическому контролю и молекулярным механизмам.
- В отличие от других генетических процессов (репликация, репарация, мутагенез) для рекомбинации необходим физический контакт между рекомбинирующими участками ДНК – ***синапсис***.

# Типы рекомбинации

1. Гомологичная или общая рекомбинация (кроссинговер).
2. Сайт-специфическая.
3. Транспозиция.
4. Незаконная рекомбинация.

# Гомологичная рекомбинация

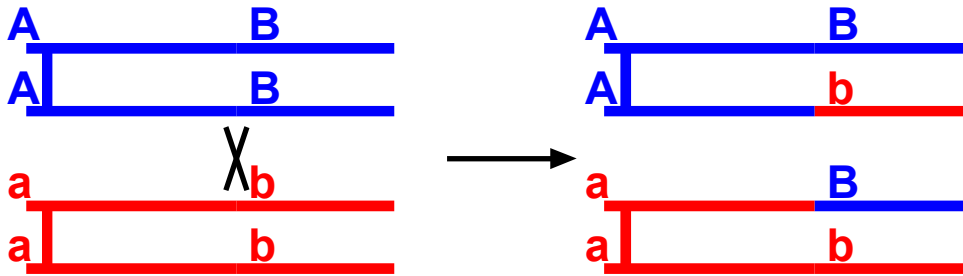
- Основана на спаривании комплементарных оснований и поэтому требует протяженной гомологии между рекомбинирующими последовательностями.
  - Контролируется большим числом генов.
- Остальные процессы рекомбинации не нуждаются в гомологии. Здесь синапсис основан на взаимодействии белок-ДНК и (или) белок-белок.



# Кроссинговер в профазе I-го деления мейоза

## Общая схема кроссинговера

В мейозе



Сестринские  
хроматиды

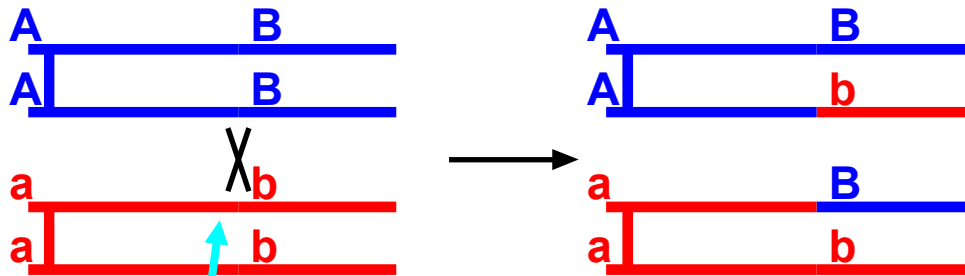
4 дуплекса соответствуют  
хроматидам.

Сестринские хроматиды  
соединены центромерой.  
Все хроматиды вместе  
составляют тетраду.

# Кроссинговер в профазе I-го деления мейоза

## Общая схема кроссинговера

В мейозе



Сестринские  
хроматиды

Конечным результатом рекомбинации является обмен равными частями гомологичных молекул.

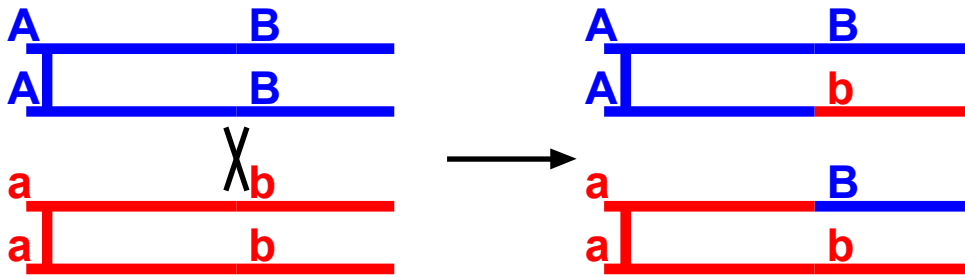
4 дуплекса соответствуют хроматидам.

Сестринские хроматиды соединены центромерой. Все хроматиды вместе составляют тетраду.

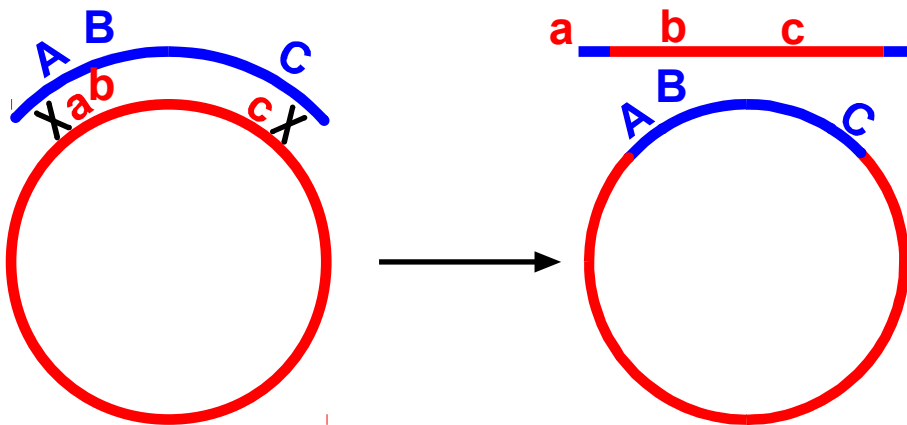
В каждом акте кроссинговера участвуют две хроматиды из четырех. Продукты кроссинговера - 2 рекомбинантные и 2 нерекомбинантные хроматиды.

# Общая схема кроссинговера

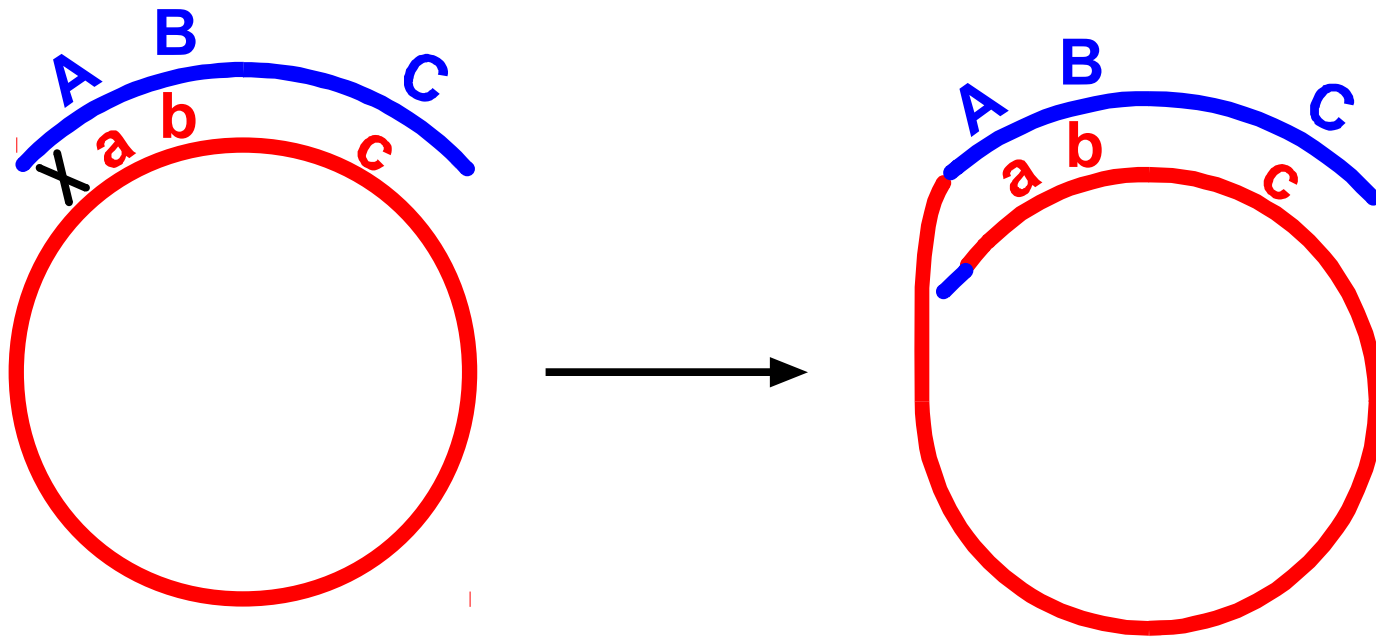
В мейозе



Г При конъюгации у E.coli



Клетка-реципиент имеет кольцевую хромосому и получает от донора линейный фрагмент двуцепочечной ДНК. Большая часть донорного фрагмента замещает гомологичный участок в хромосоме. Кроссинговер происходит дважды.

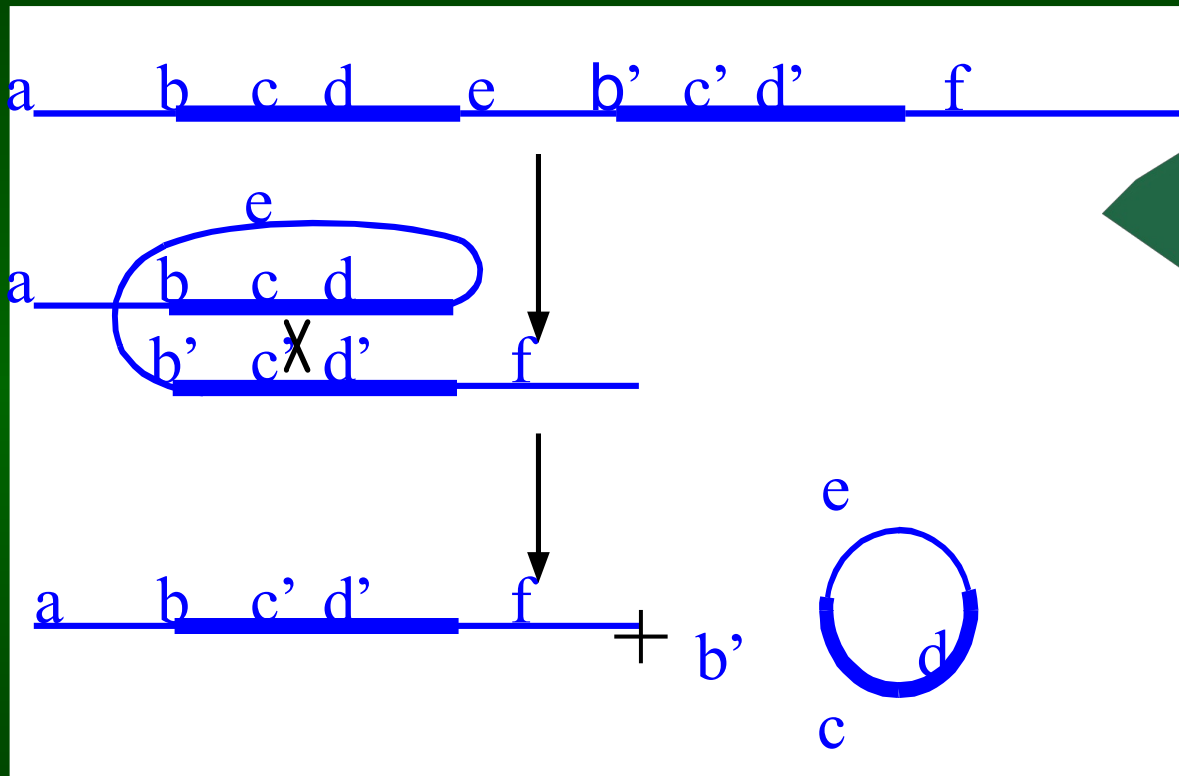


- Одиночный кроссинговер привел бы к образованию линейной молекулы и гибели клетки

# Эктопическая рекомбинация

- **Эктопическая рекомбинация** – частный случай гомологичной рекомбинации.
- Она осуществляется между идентичными или сходными последовательностями, разбросанными по геному, что приводит к разнообразным хромосомным перестройкам.
- К таким последовательностям относятся подвижные элементы, гены транспортных и рибосомных ДНК, гены гистонов и другие повторяющиеся последовательности.

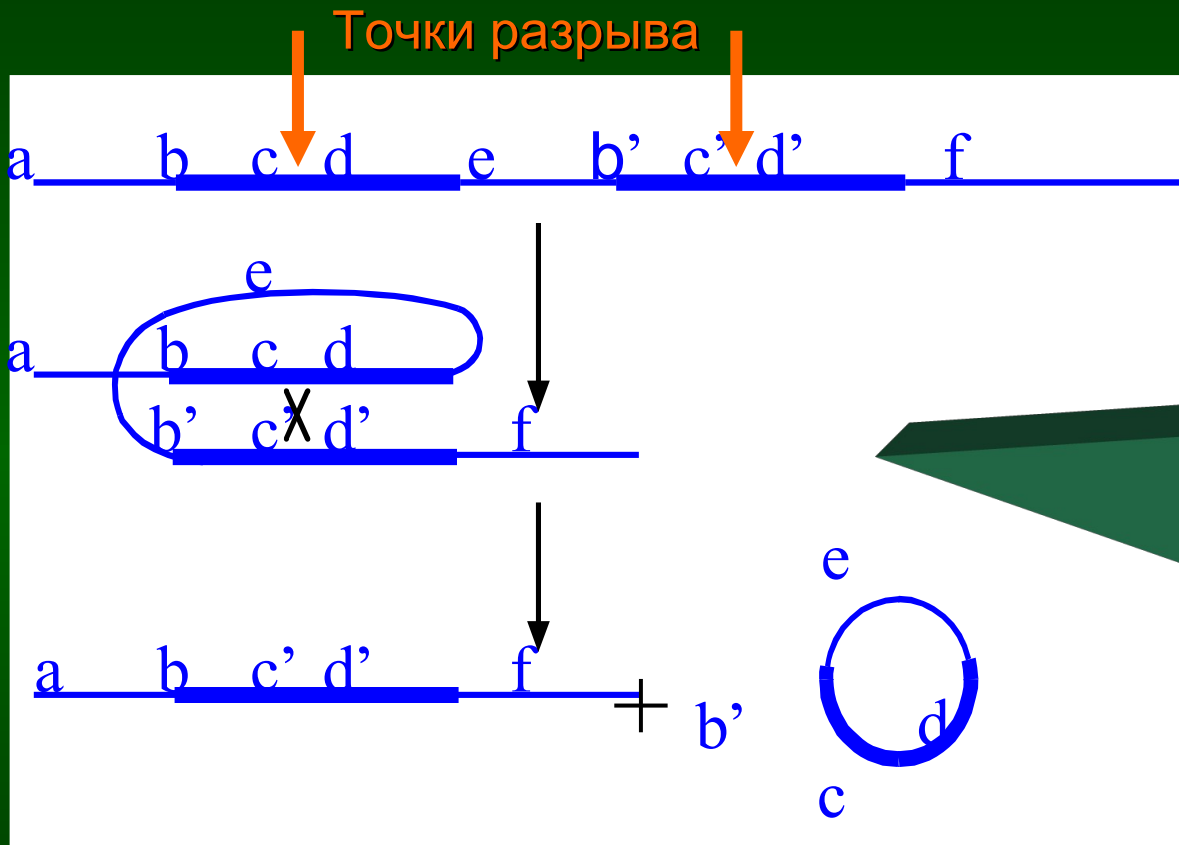
# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации



Молекула ДНК  
содержит  
повторяющиеся  
последовательности  
в прямой ориентации  
(два прямых повтора  
, обозначенные как  
bcd и b'c'd')

Схема образования делеций в результате  
*внутримолекулярной рекомбинации*

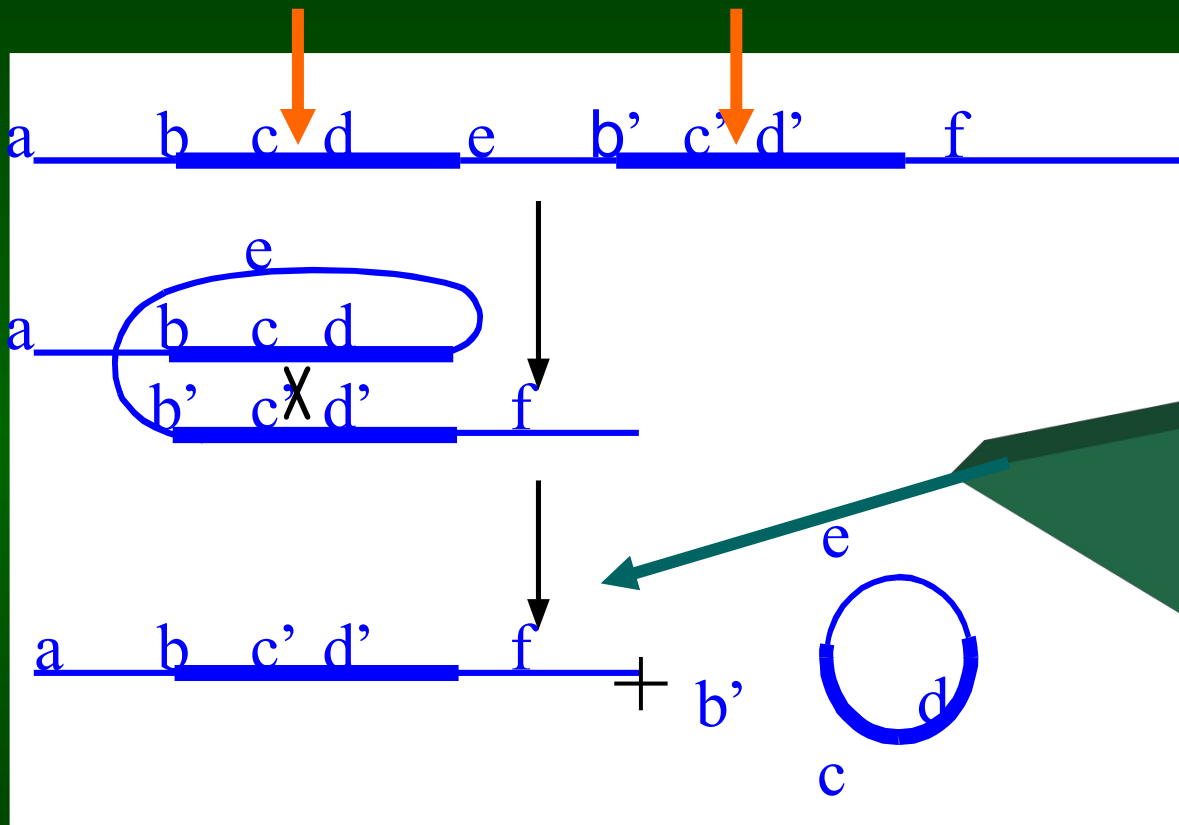
# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации



Для вхождения прямых повторов в синапс дуплекс должен образовать петлю. Кроссинговер произошел на участке между  $b$  и  $c$ .

Схема образования делеций в результате внутримолекулярной рекомбинации

# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации



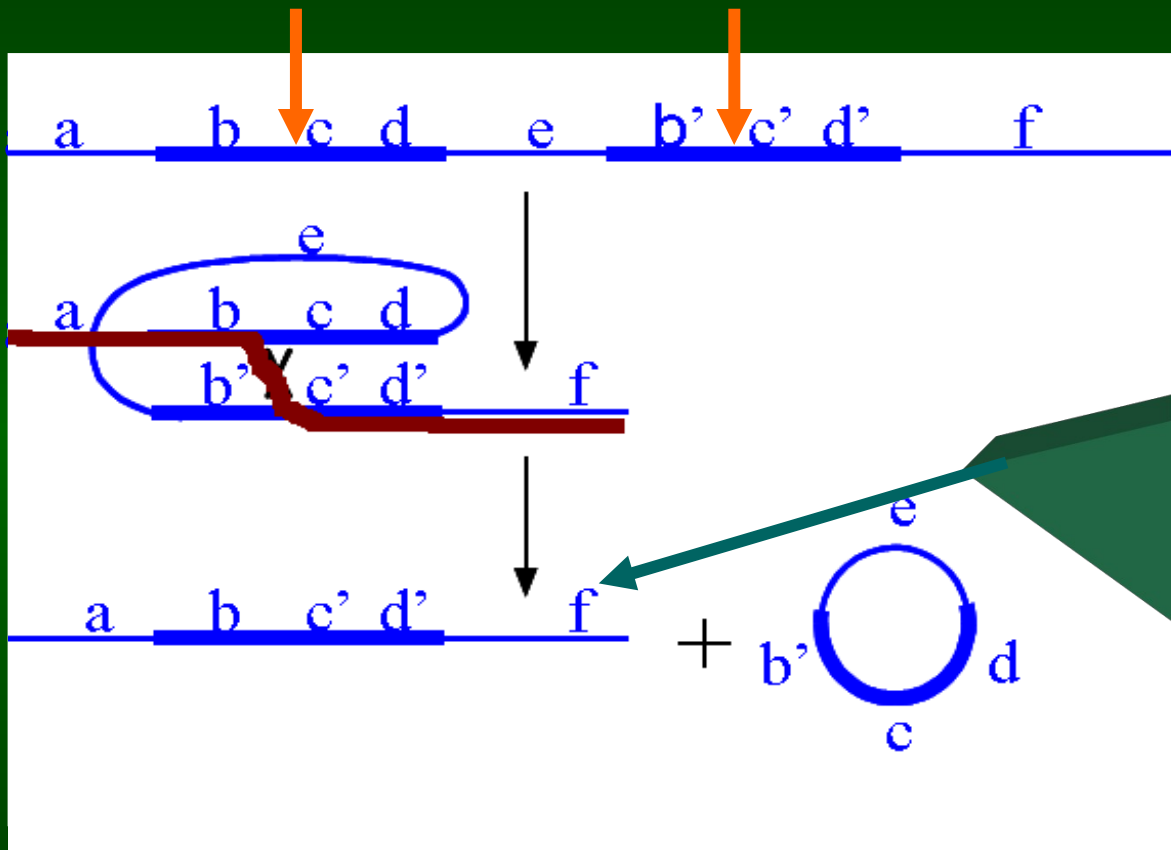
Продукты рекомбинации:

1 — линейный дуплекс с делецией участка, содержащего одну копию повтора *b'cd*, а также расположенной между повторами последовательности *e*

Схема образования делеций в результате внутримолекулярной рекомбинации



# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации

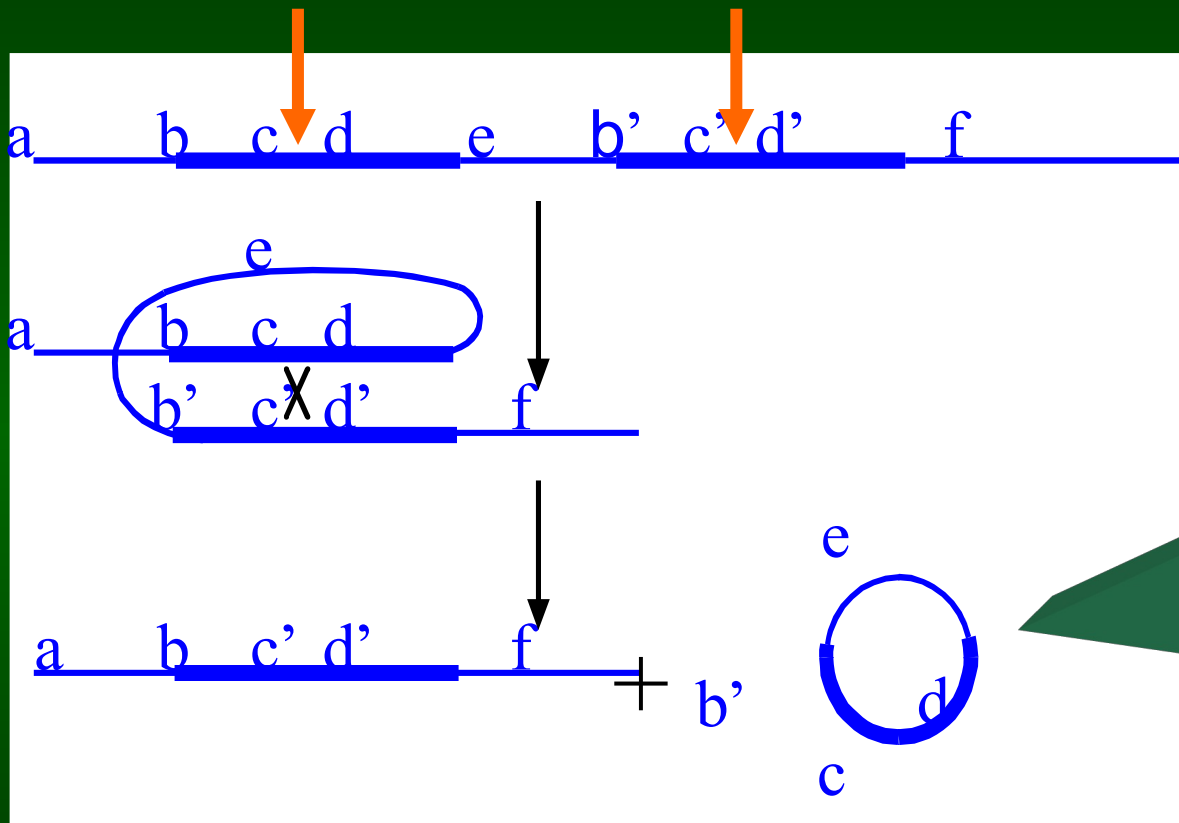


Продукты рекомбинации:

1 — линейный дуплекс с делецией участка, содержащего одну копию повтора b'cd и всю расположенную между повторами последовательность

Схема образования делеций в результате внутримолекулярной рекомбинации

# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации

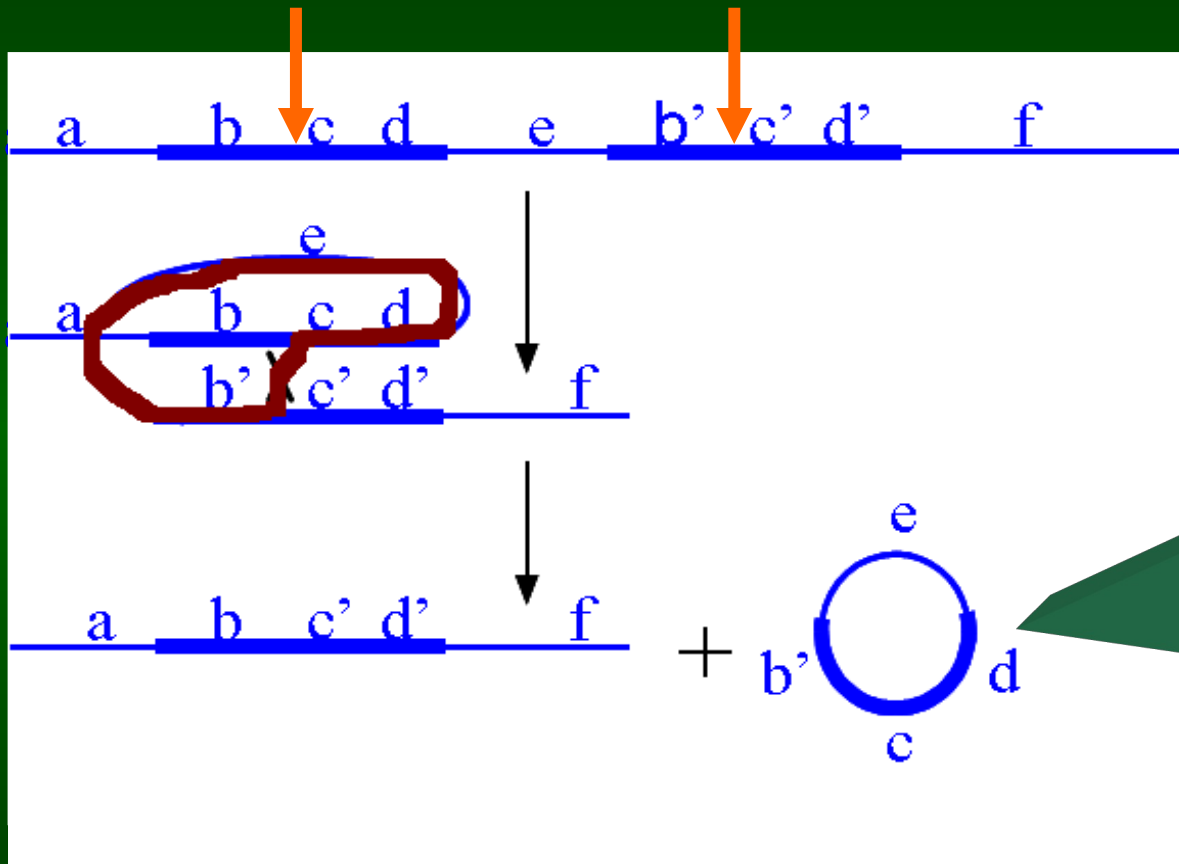


Продукты  
рекомбинации:

2 — кольцевой  
дуплекс, состоящий  
из делетированного  
материала

Схема образования делеций в результате  
*внутримолекулярной рекомбинации*

# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации

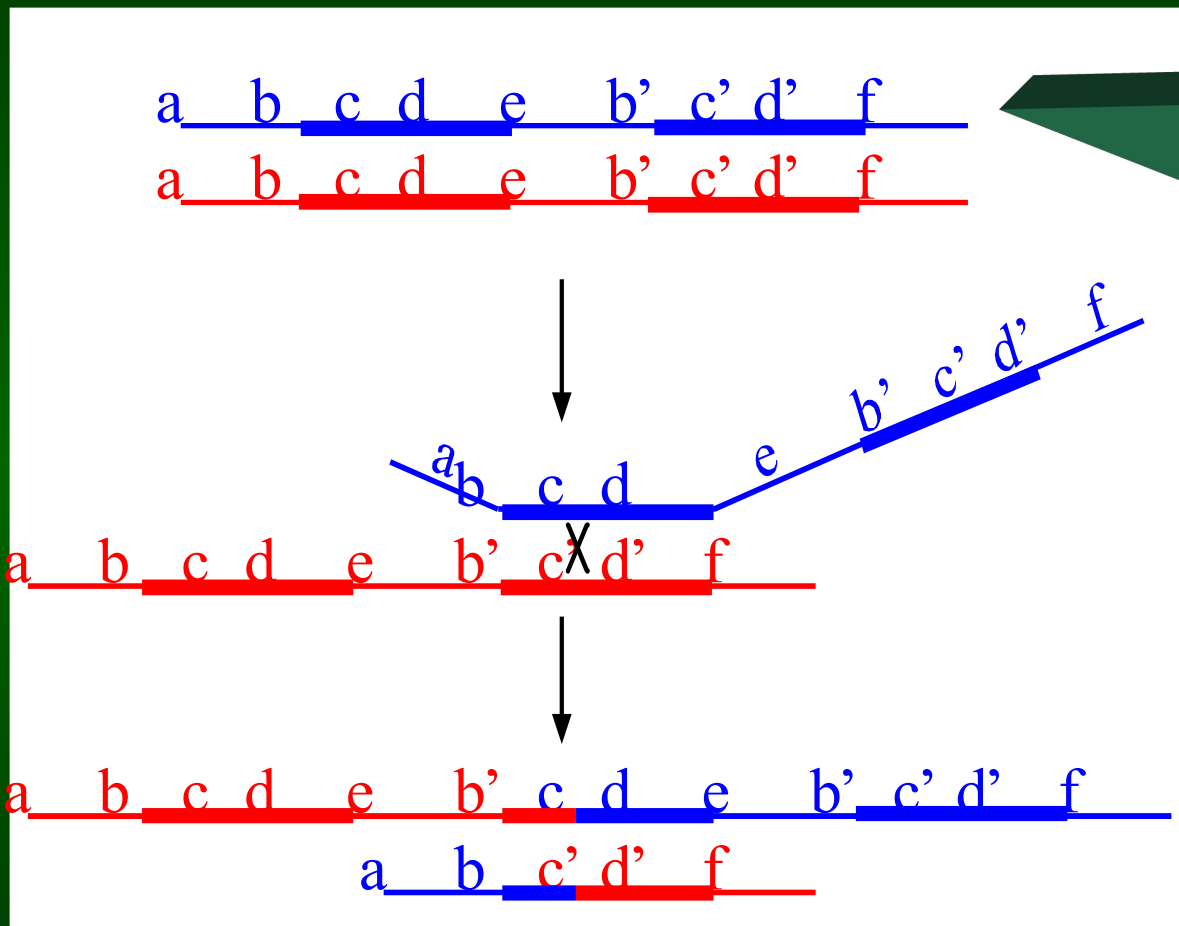


Продукты рекомбинации:

2 — кольцевой дуплекс, состоящий из делетированного материала

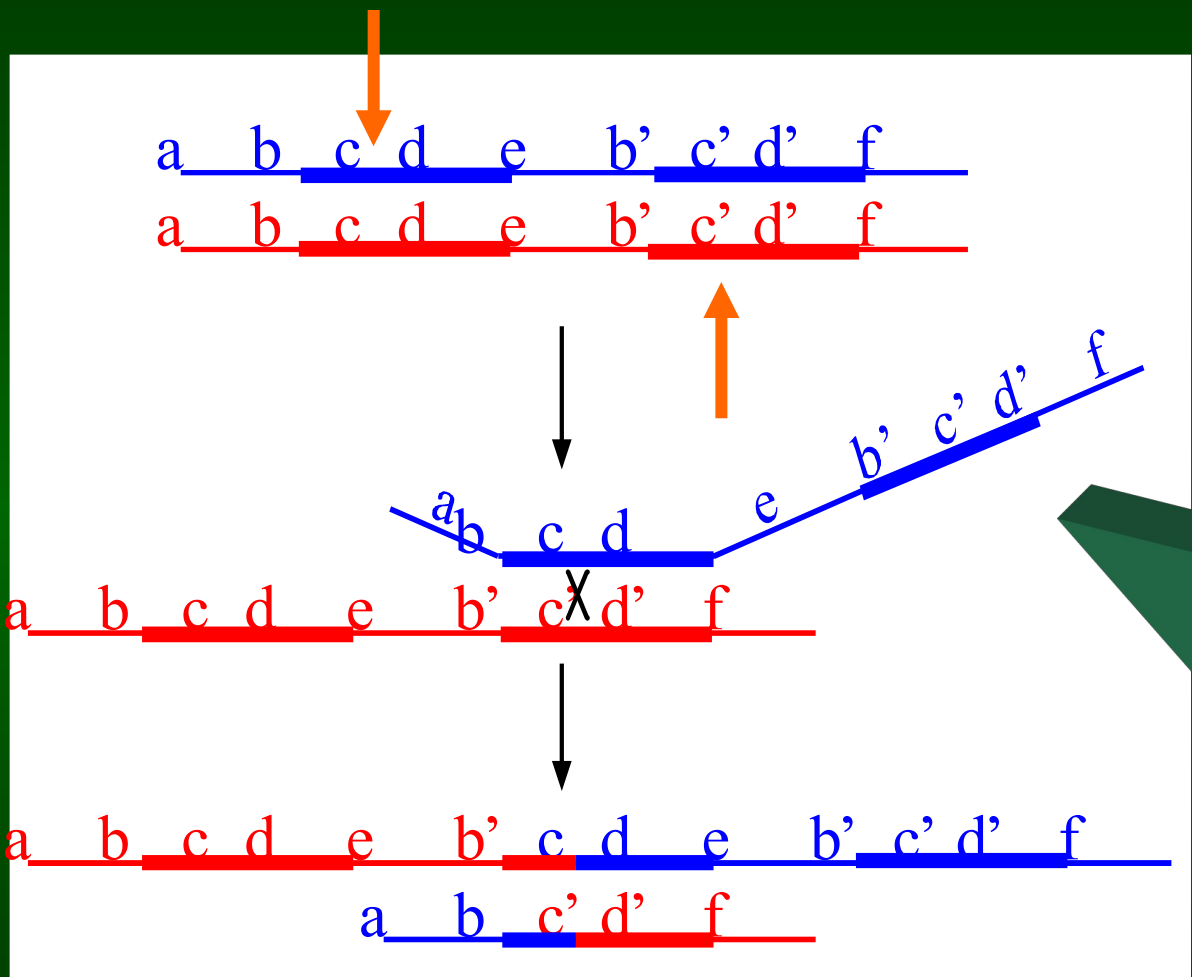
Схема образования делеций в результате внутримолекулярной рекомбинации

# Образование делеций и дупликаций в результате эктопической рекомбинации



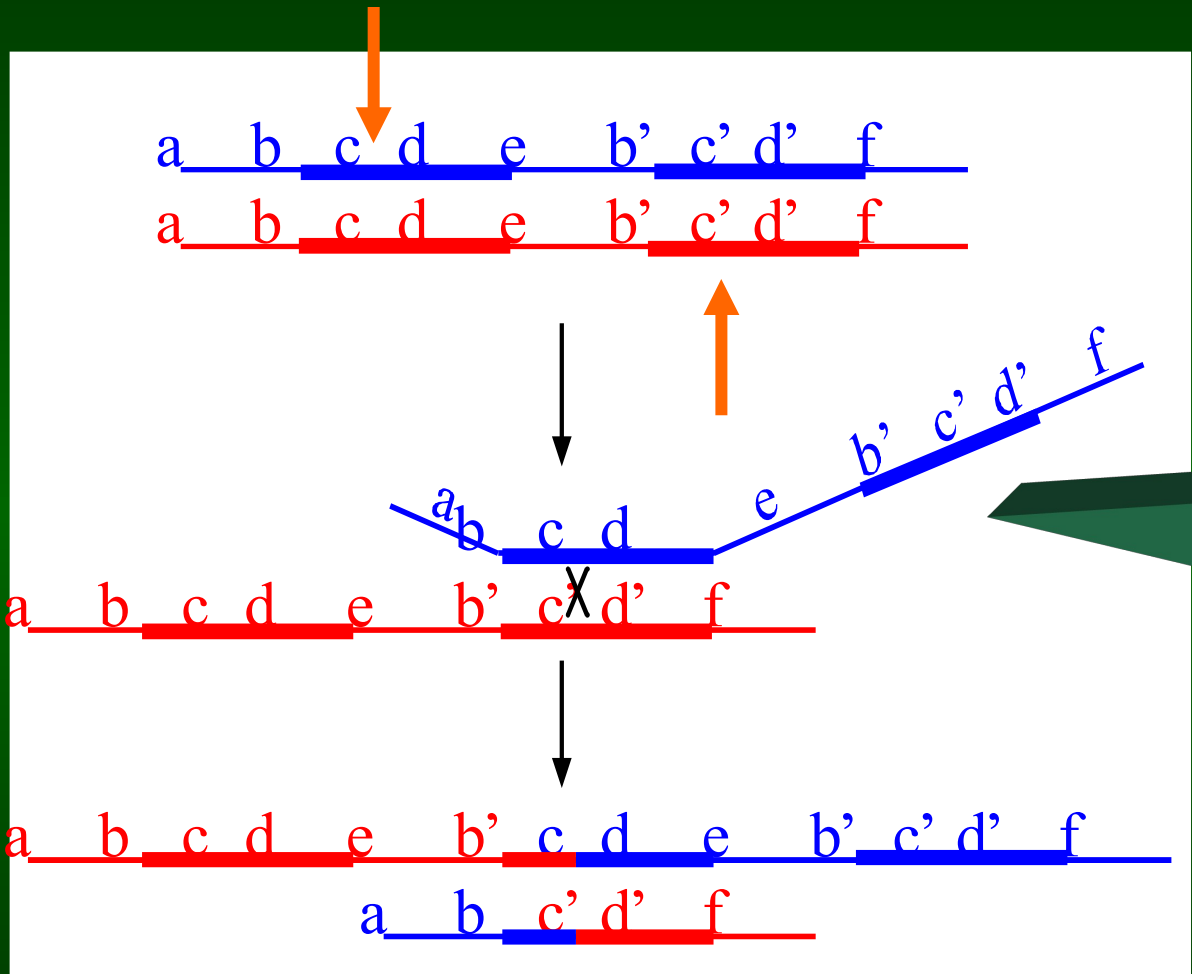
Гомологичные хромосомы (или хроматиды) содержат прямые повторы  $bcd$  и  $b'c'd'$

Схема образования дупликаций и делеций в хромосомах при *межмолекулярной рекомбинации*



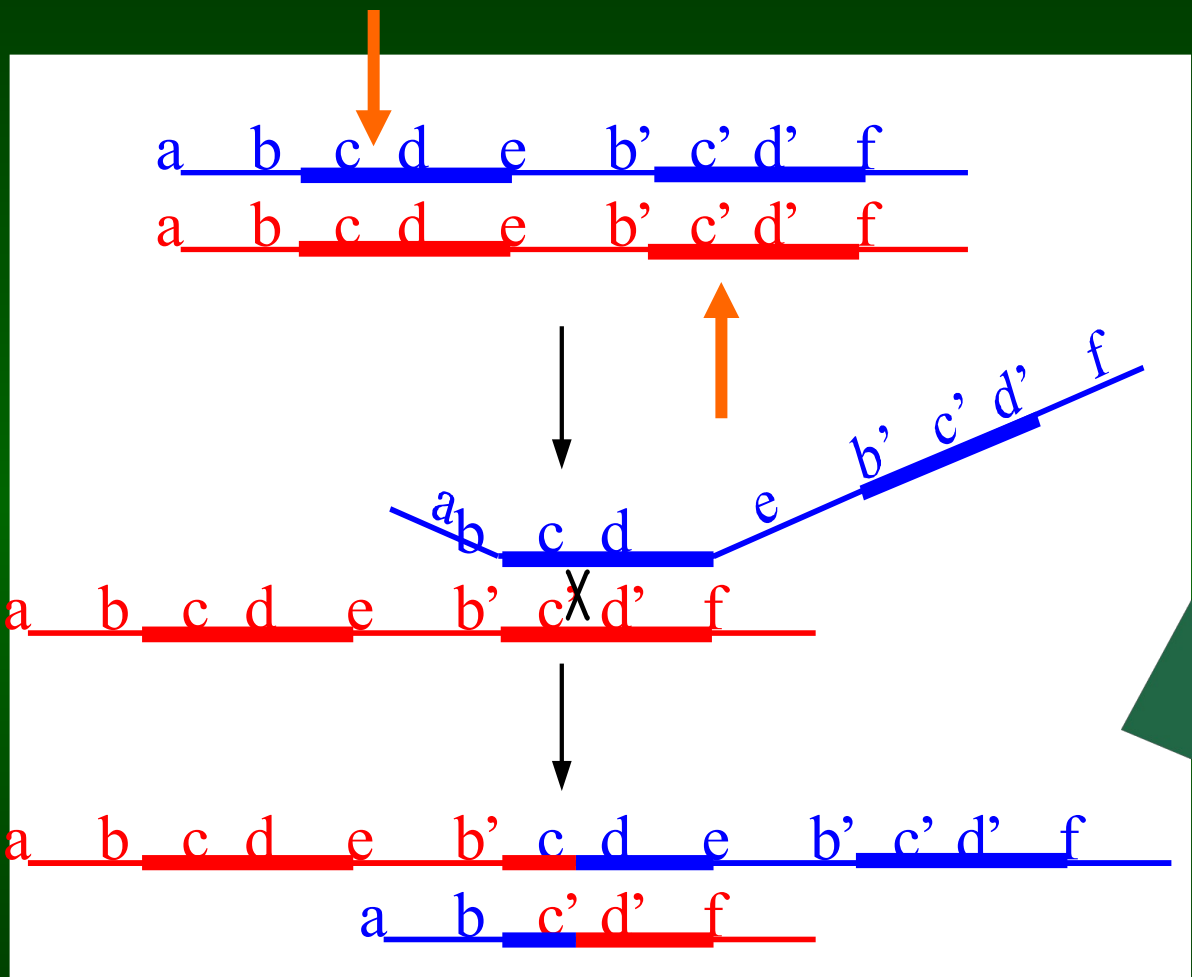
Рекомбинация может осуществляться между прямыми повторами, расположенными в разных участках гомологичных хромосом.

Схема образования дупликаций и делеций в хромосомах при *межмолекулярной рекомбинации*



Кроссинговер произошёл на участке между b и c

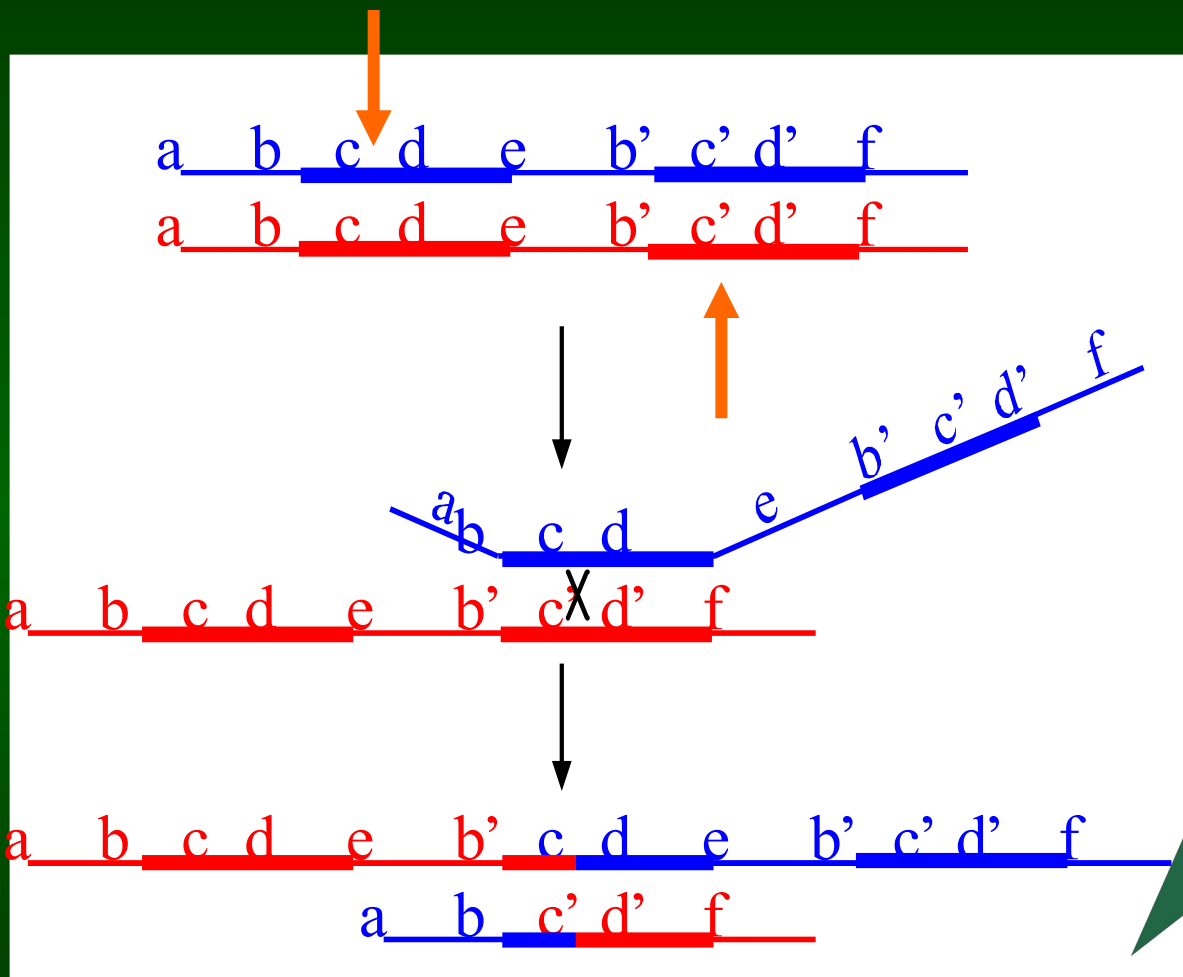
Схема образования дупликаций и делеций в хромосомах при *межмолекулярной рекомбинации*



Продукты рекомбинации:

1 — дуплекс, получивший дополнительную копию повтора b'cd и расположенную между повторами последовательность e

Схема образования дупликаций и делеций в хромосомах при *межмолекулярной рекомбинации*



Продукты рекомбинации:

2 — дуплекс, утративший последовательность cde b', вошедшую в первый дуплекс

Схема образования дупликаций и делеций в хромосомах при *межмолекулярной рекомбинации*





# Биологическое значение гомологичной рекомбинации

- Лежит в основе репарации двуцепочечных разрывов хромосом - самого тяжелого типа повреждений ДНК, вызываемых ионизирующими излучениями или возникающих спонтанно.
- Вносит вклад в генетическую изменчивость, лежащую в основе эволюции.
- Необходима для правильного расхождения хромосом в мейозе и для самого мейоза.
- Участвует в поддержании генетической стабильности повторяющихся генов.

# Биологическое значение гомологичной рекомбинации

## Эктопическая рекомбинация

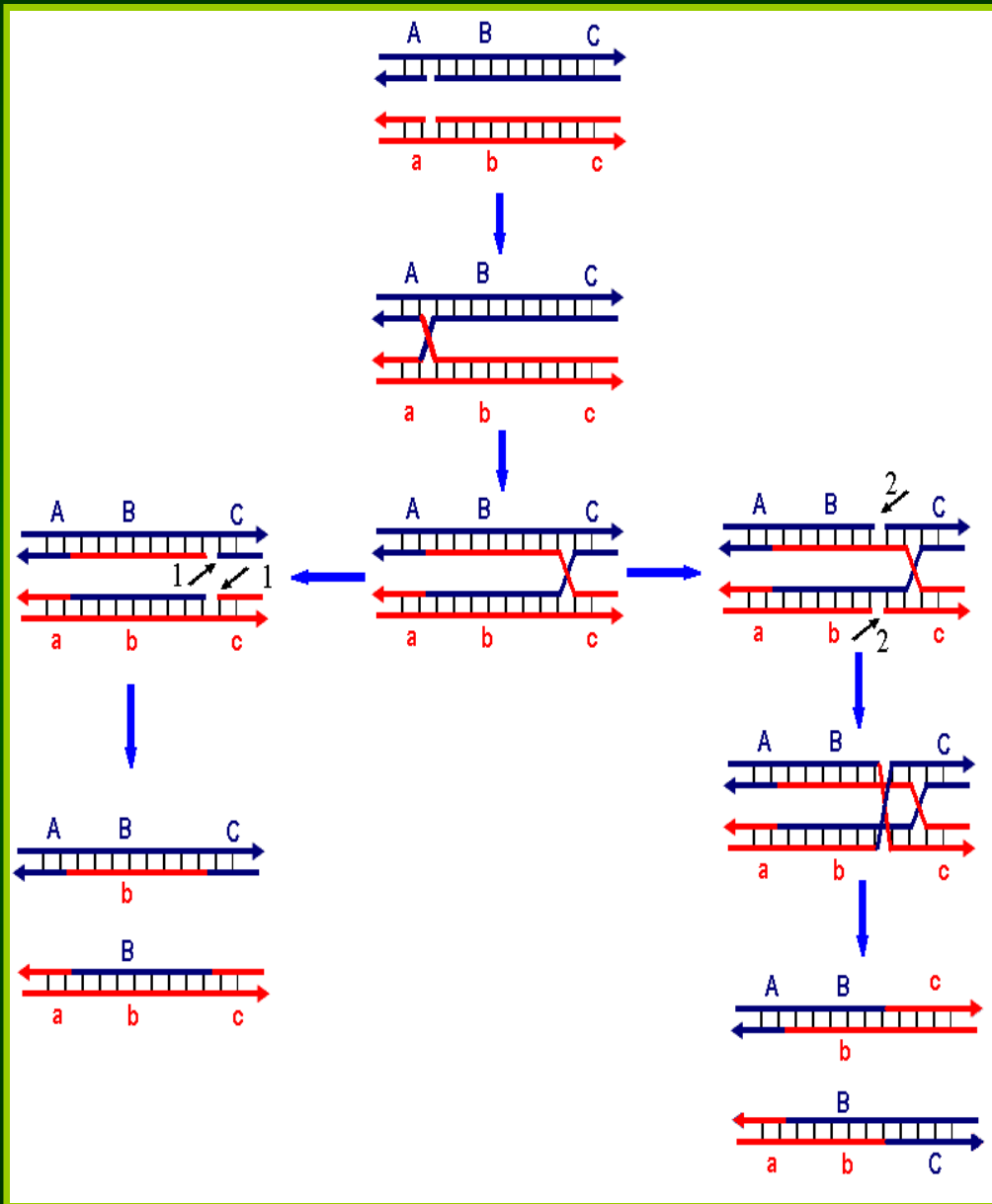
- Вносит существенный вклад в возникновение перестроек хромосом.
- Является одним из основных источников дупликаций генов и других последовательностей ДНК – это один из процессов, лежащий в основе эволюции генетического материала.
- Участвует в регуляции экспрессии генов путем онтогенетических перестроек генетического материала.

# Молекулярные механизмы рекомбинации

Модель кроссинговера Холлидея  
1964 г.

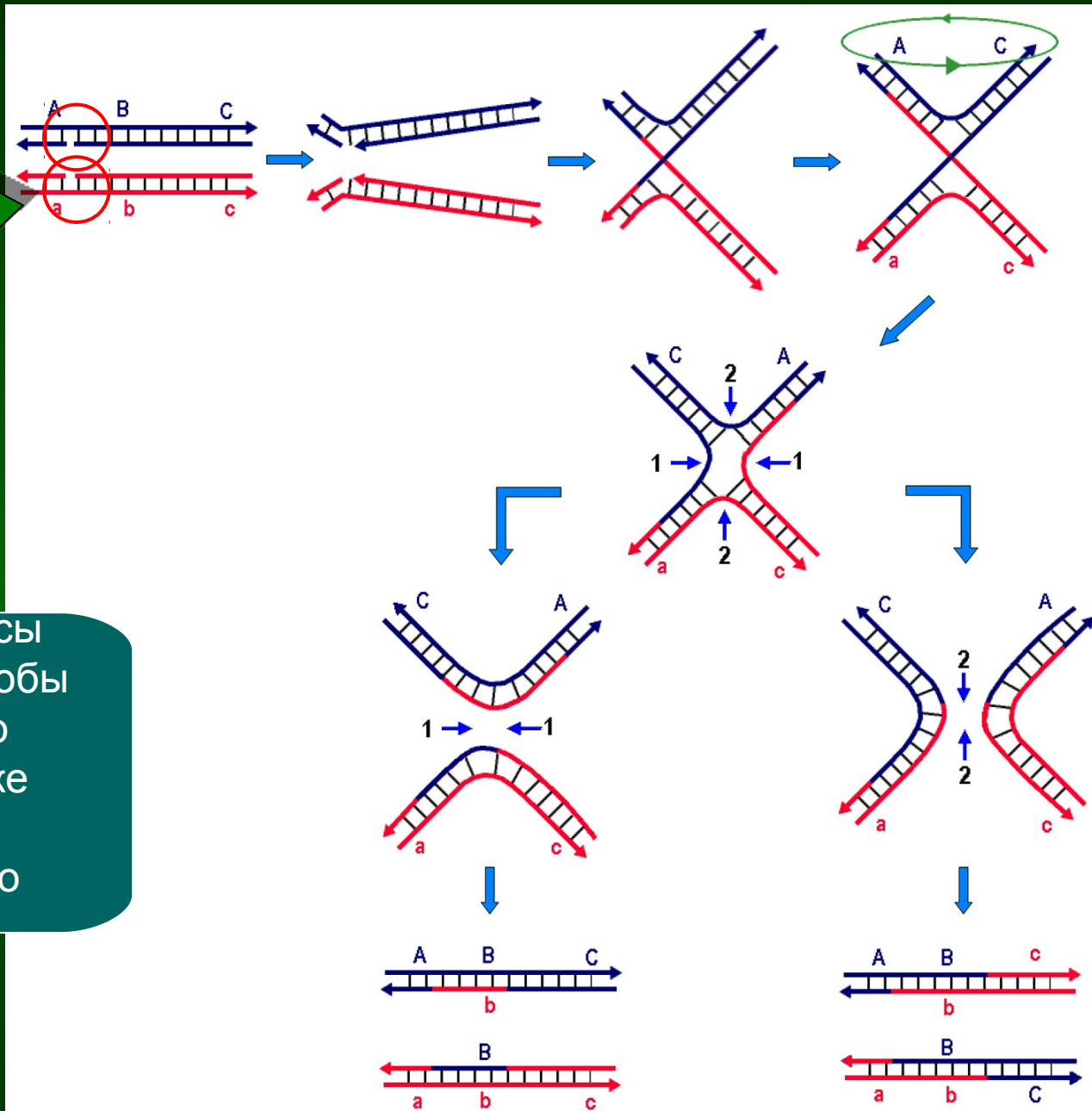
- Гомологичная рекомбинация начинается с возникновения в одном или обоих дуплексах участков из одиночных цепей ДНК.
- Затем эти участки с помощью специальных белков находят комплементарные последовательности в гомологичном дуплексе и образуют с ними гетеродуплекс – ключевой промежуточный продукт рекомбинации.
- Конечным результатом рекомбинации является обмен равными частями гомологичных молекул.

# Модель Холлидея

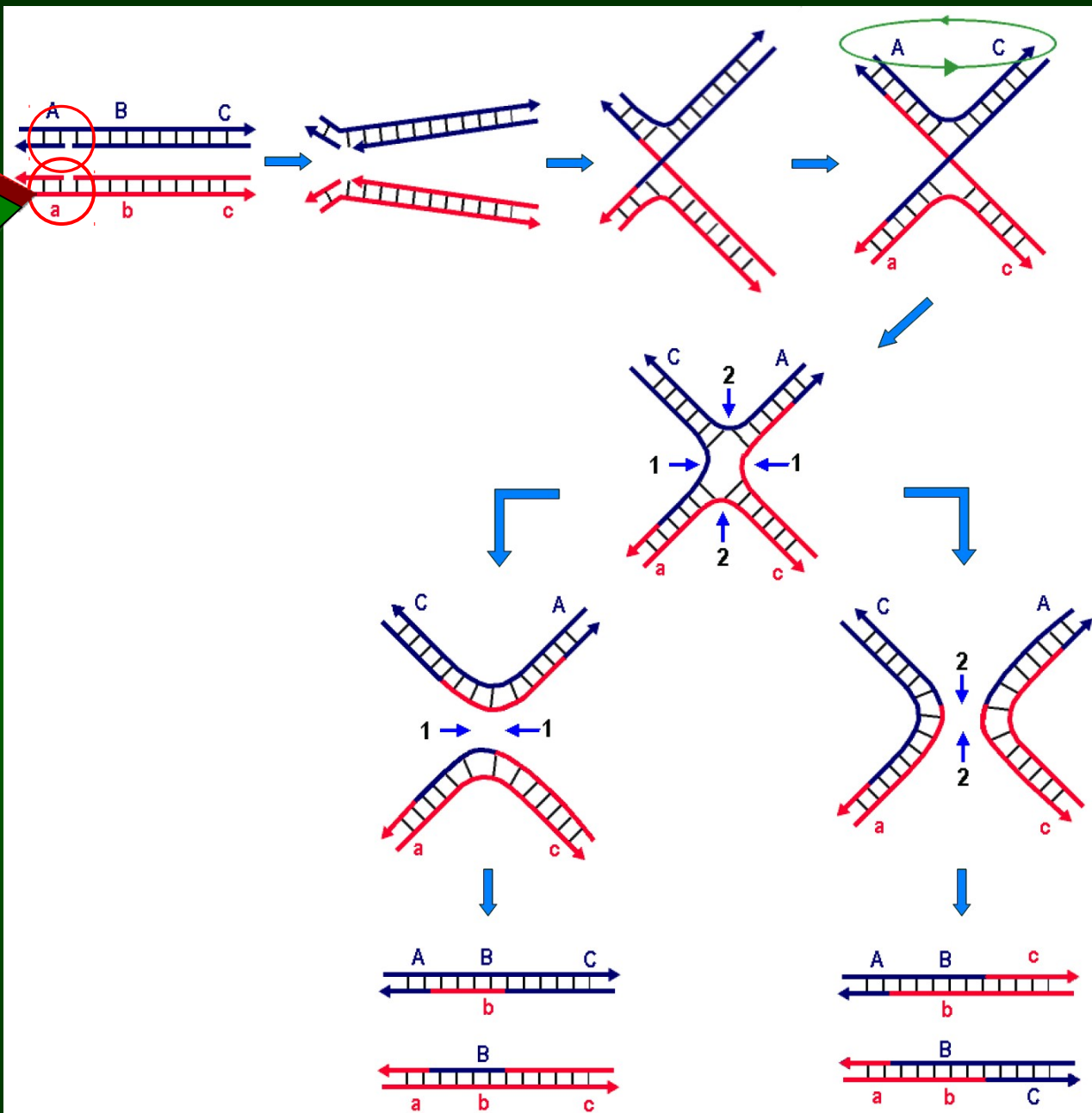
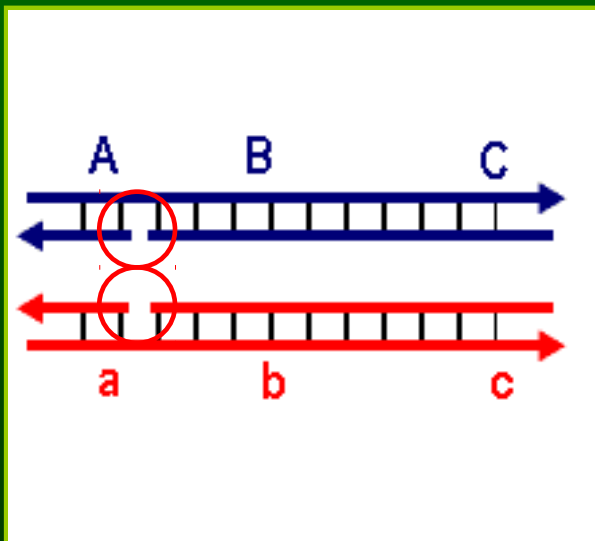


1. Две дуплексные молекулы ДНК сближаются и в две цепи одинаковой полярности вносятся однонитевые разрывы

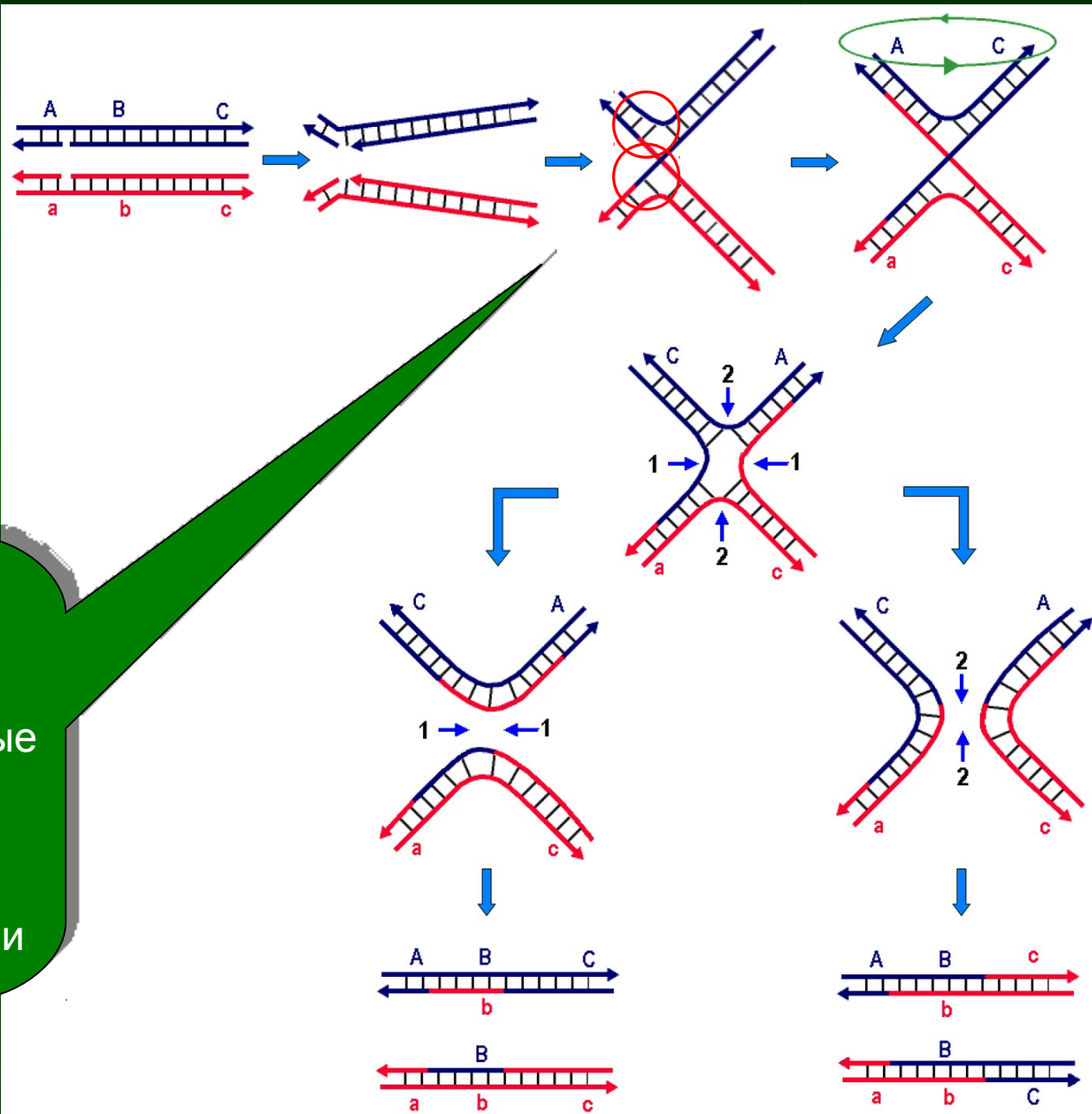
На рисунке дуплексы перевернуты так, чтобы нижняя нить первого дуплекса имела ту же полярность, что и верхняя нить второго дуплекса



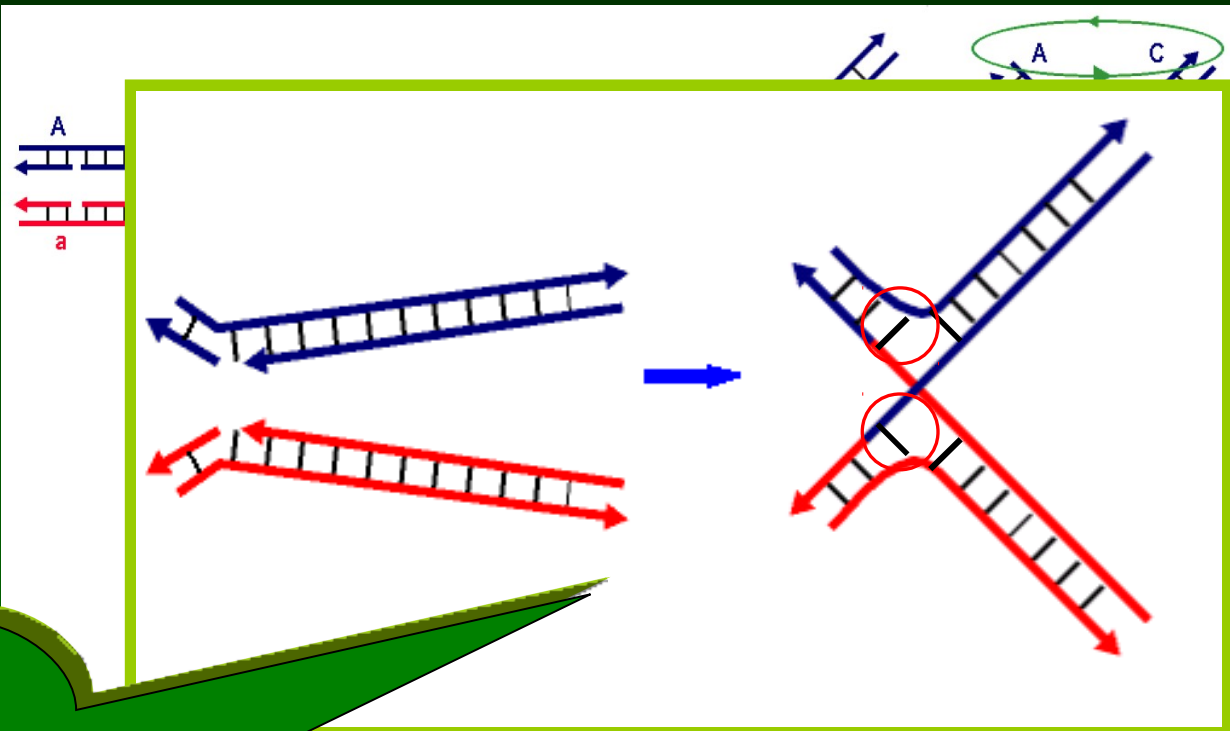
1. Две дуплексные молекулы ДНК сближаются и в две цепи одинаковой полярности вносятся однонитевые разрывы



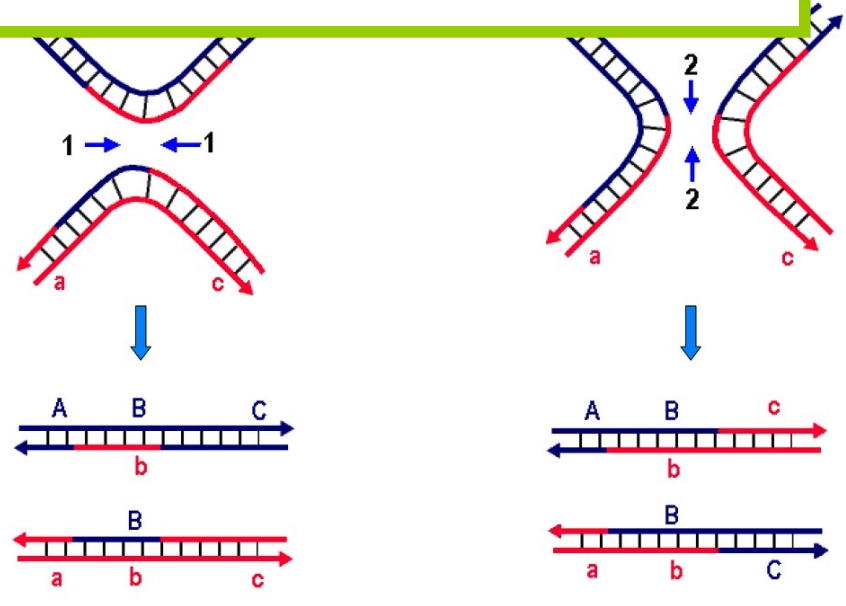
2. Обмен цепями между дуплексами.  
Т.е. свободные концы покидают комплементарные цепи и происходит образование водородных связей между комплементарными цепями гомологичных дуплексов.





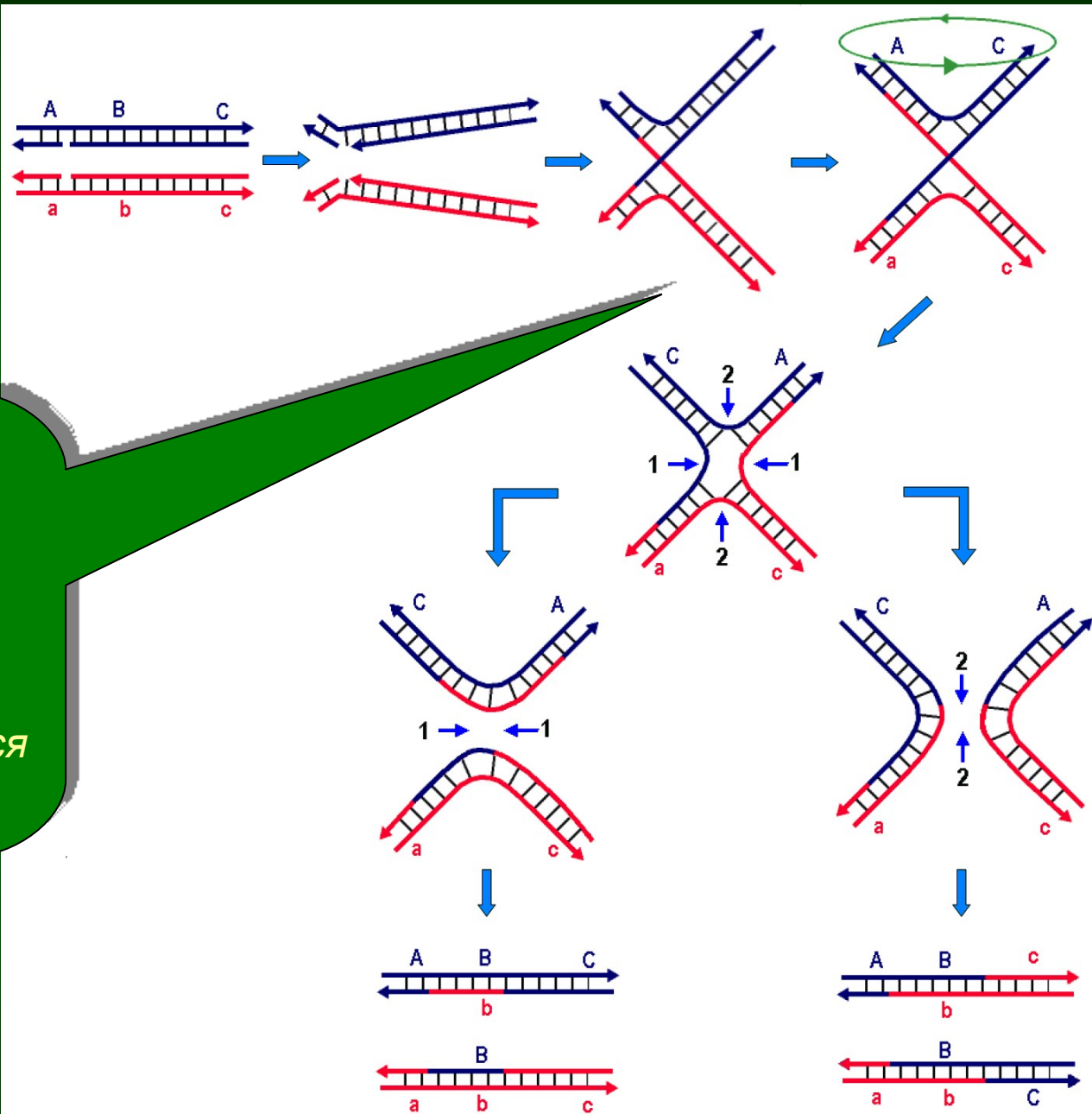


2. Обмен цепями между дуплексами. Т.е. свободные концы покидают комплементарные цепи и происходит образование водородных связей между комплементарными цепями гомологичных дуплексов.

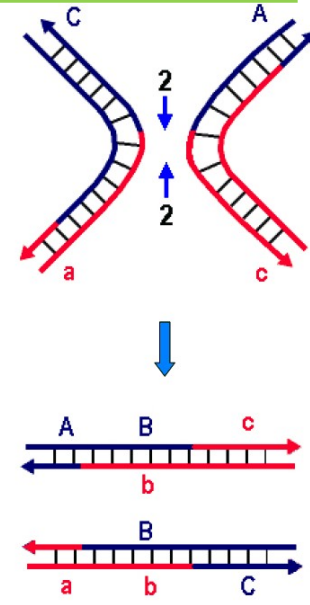
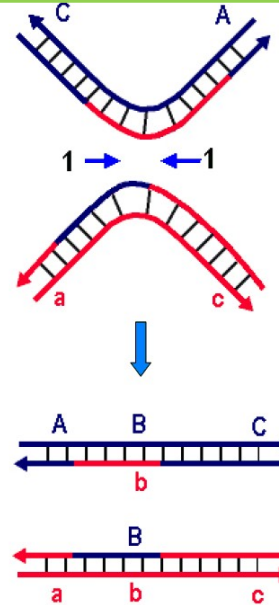
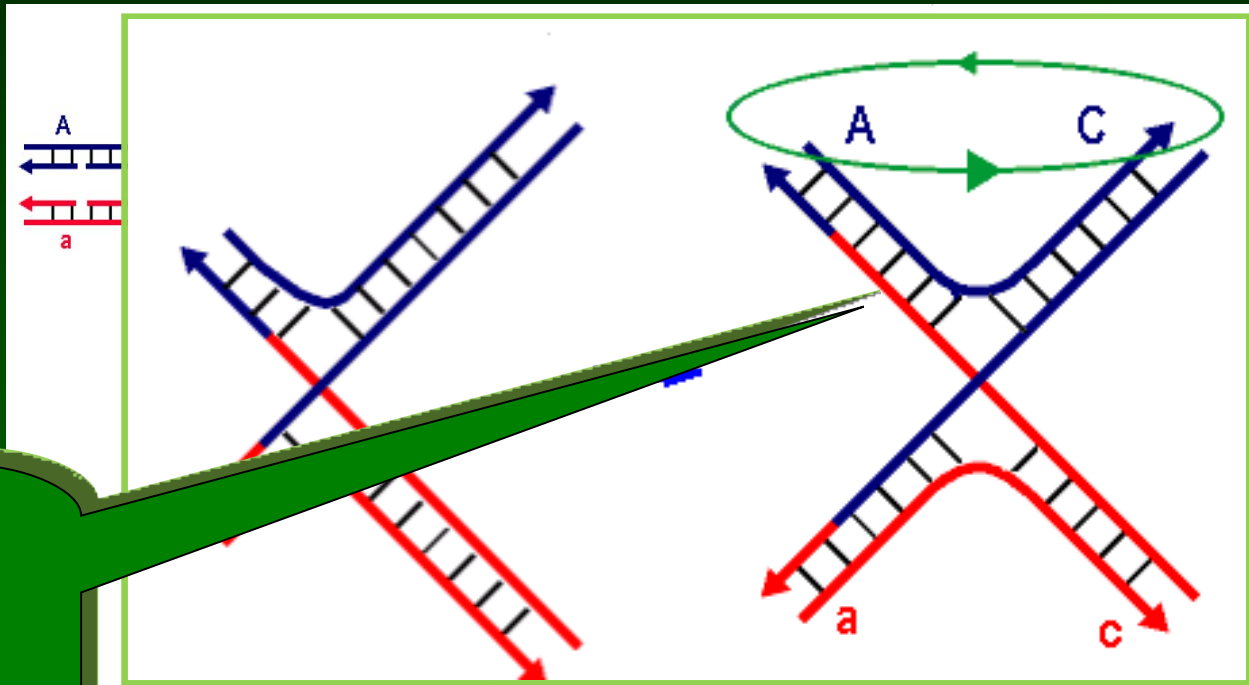


2. В результате лигирования образуются двойные цепи с гетеродуплексными участками (дублекс, состоящий из цепей разных нитей, называется гетеродуплексом).

Крестообразная структура получила название "полушиазмы Холлидея".

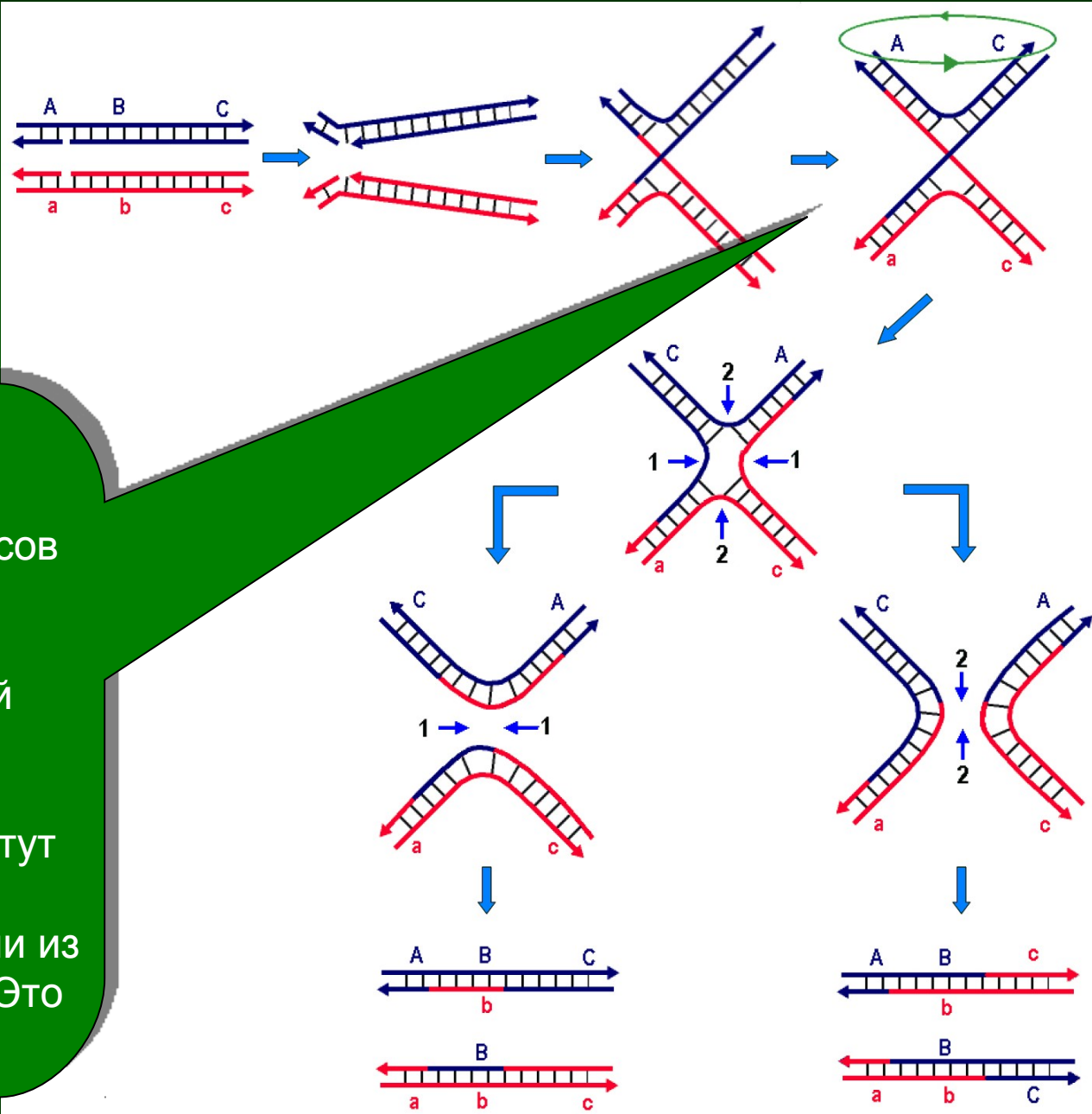


Двойные цепи с гетеродуплексными участками (дублекс, состоящий из цепей разных нитей, называется гетеродуплексом).



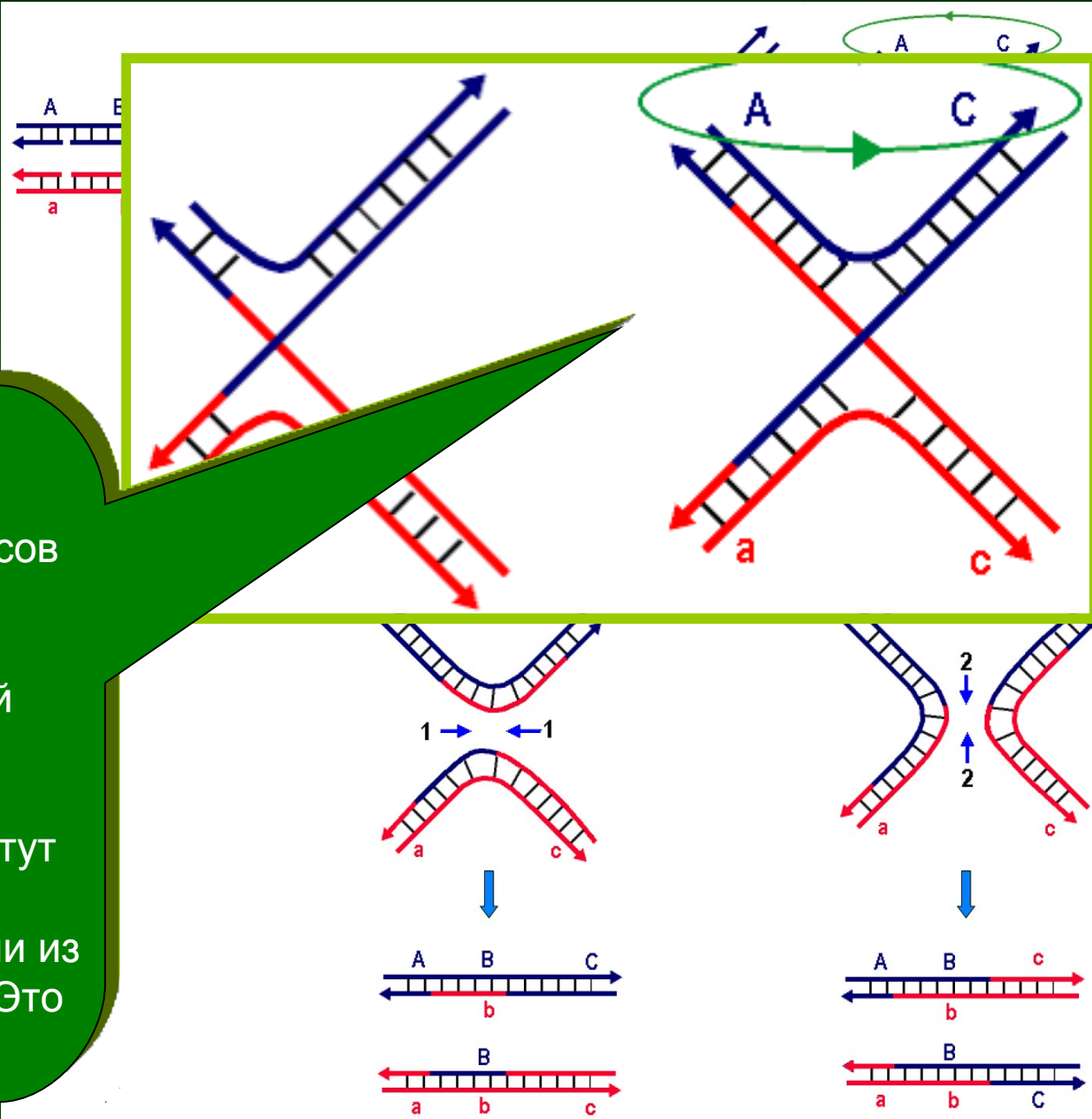
3. Перемещение точки перекреста цепей вдоль рекомбинирующих дуплексов (миграция ветви).

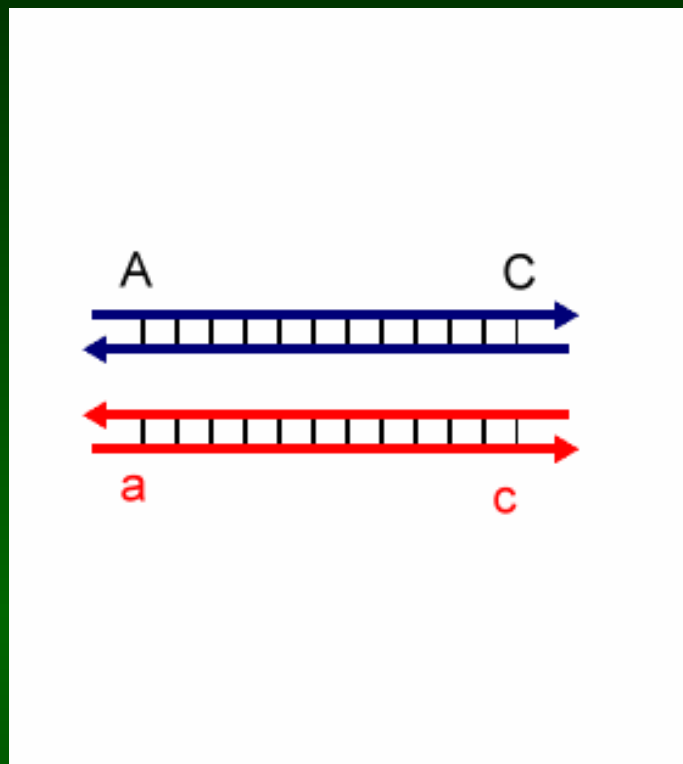
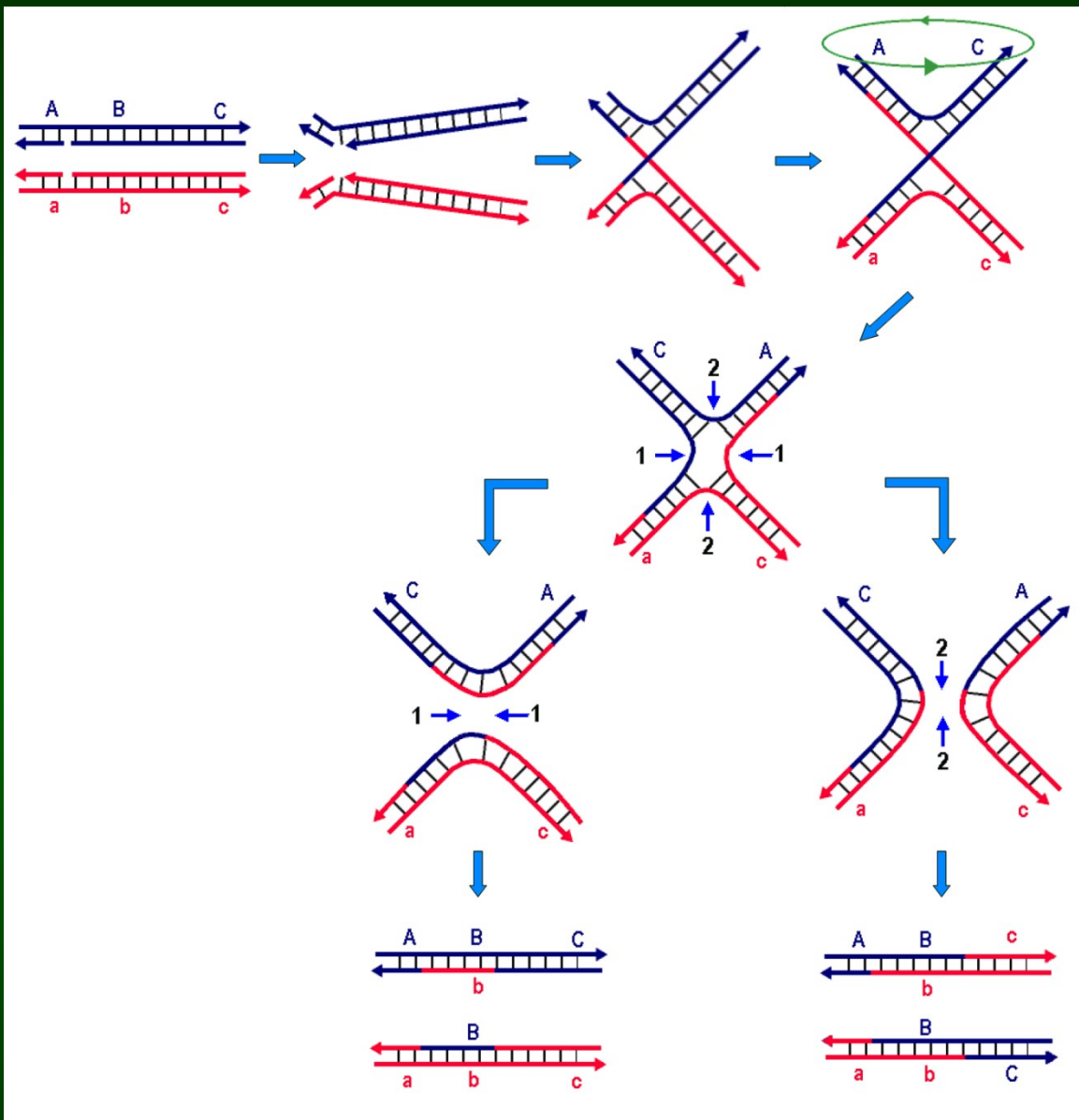
От точки перекреста цепей происходит расплетание исходных дуплексов, и высвобождающиеся цепи тут же ренатурируют с комплементарными цепями из гомологичных дуплексов. Это приводит к удлинению гетеродуплекса.



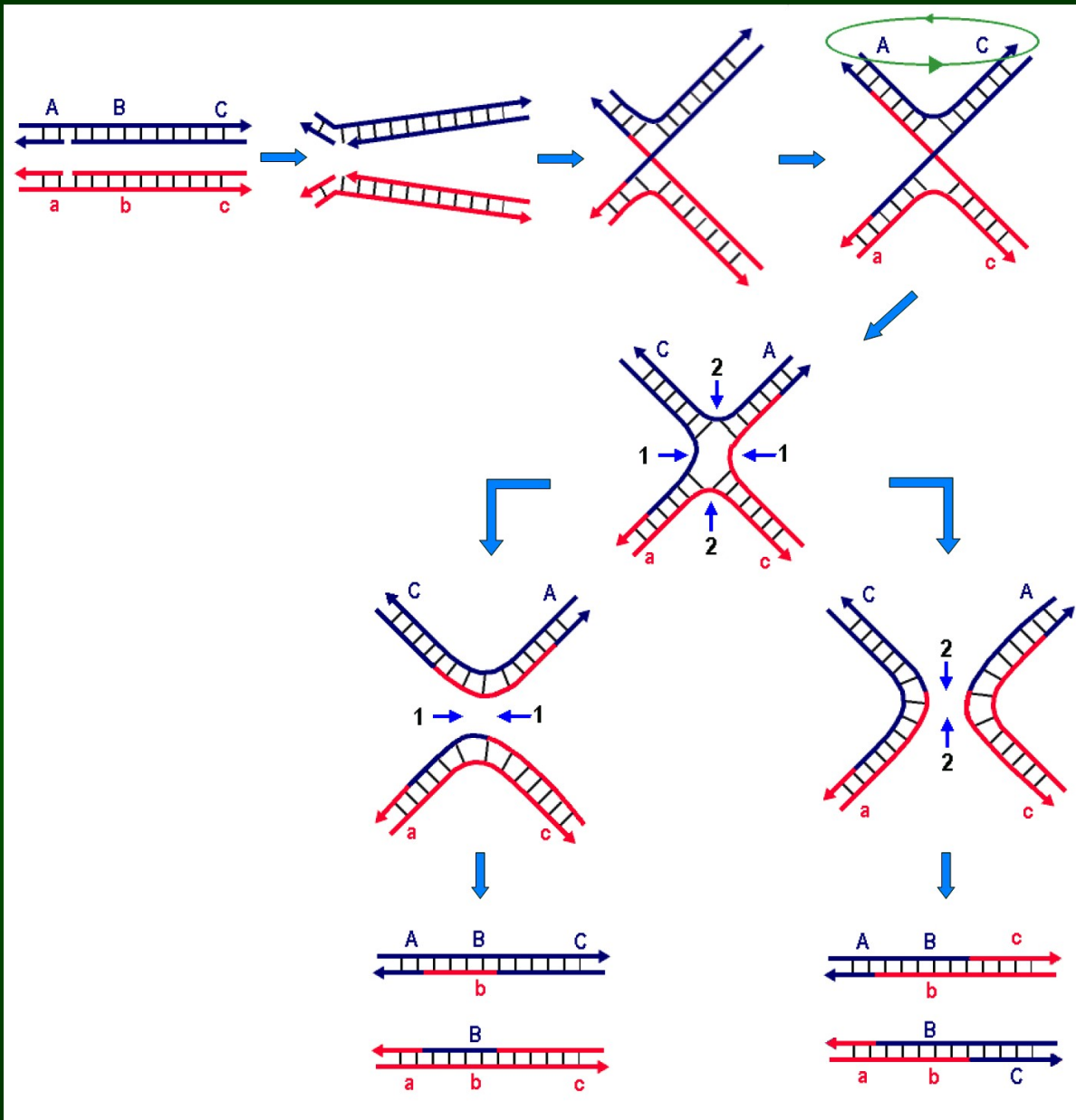
3. Перемещение точки перекреста цепей вдоль рекомбинирующих дуплексов (миграция ветви).

От точки перекреста цепей происходит расплетание исходных дуплексов, и высвобождающиеся цепи тут же ренатурируют с комплементарными цепями из гомологичных дуплексов. Это приводит к удлинению гетеродуплекса.



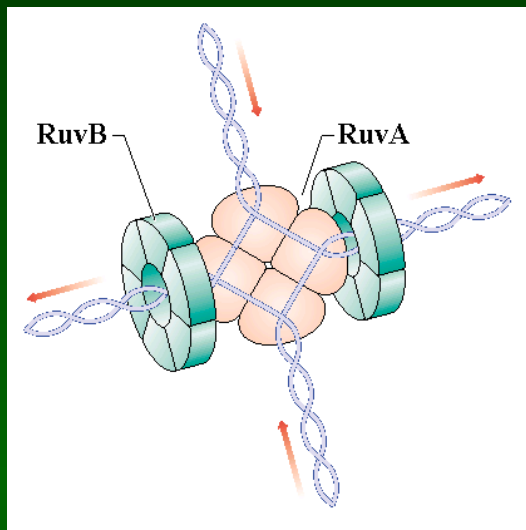


# Модель Холлидея



Электронно-микроскопическая фотография полушиазмы Холлидея

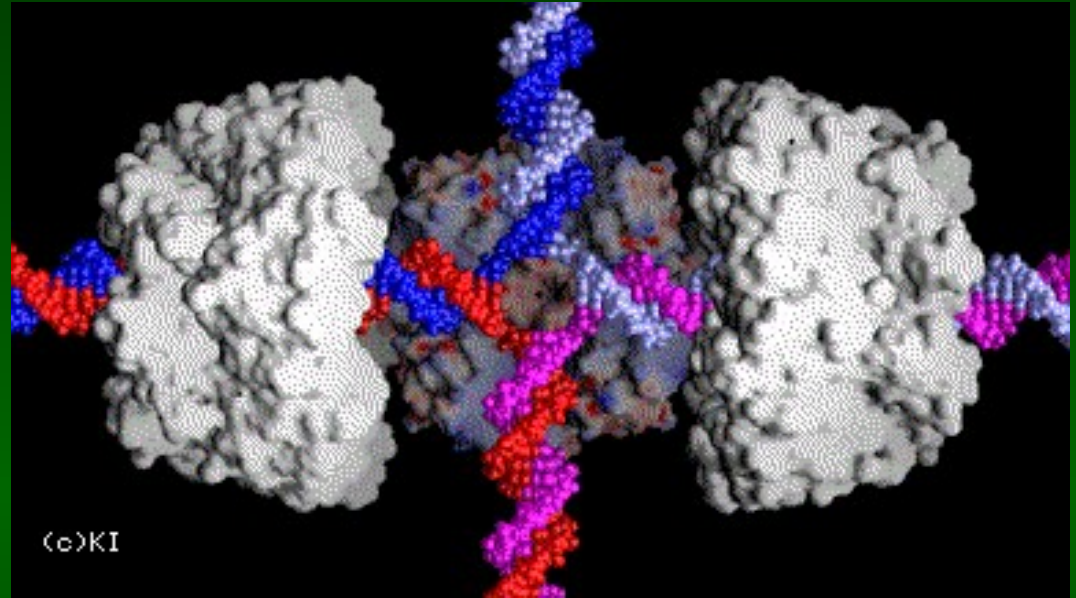
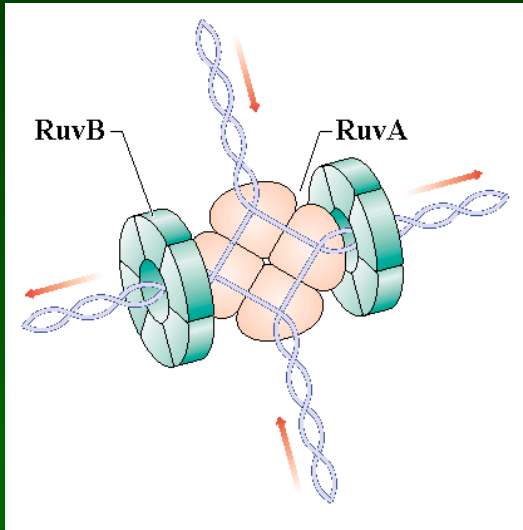
## Миграция ветви осуществляется белками RuvA и RuvB



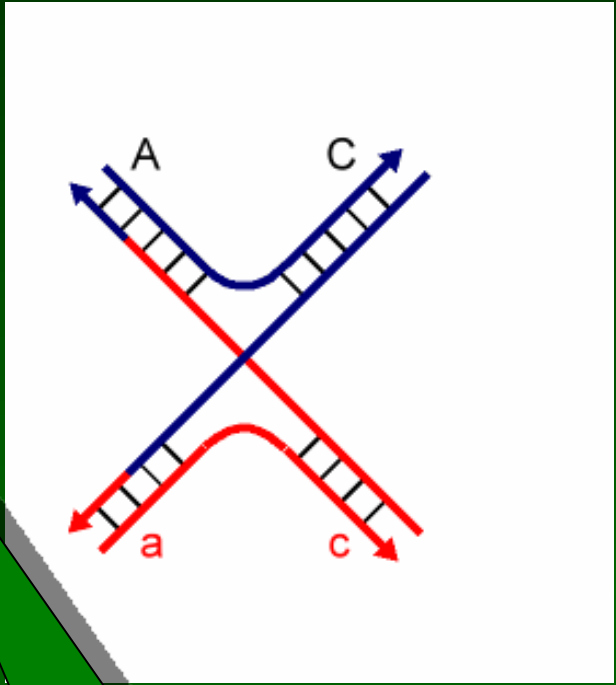
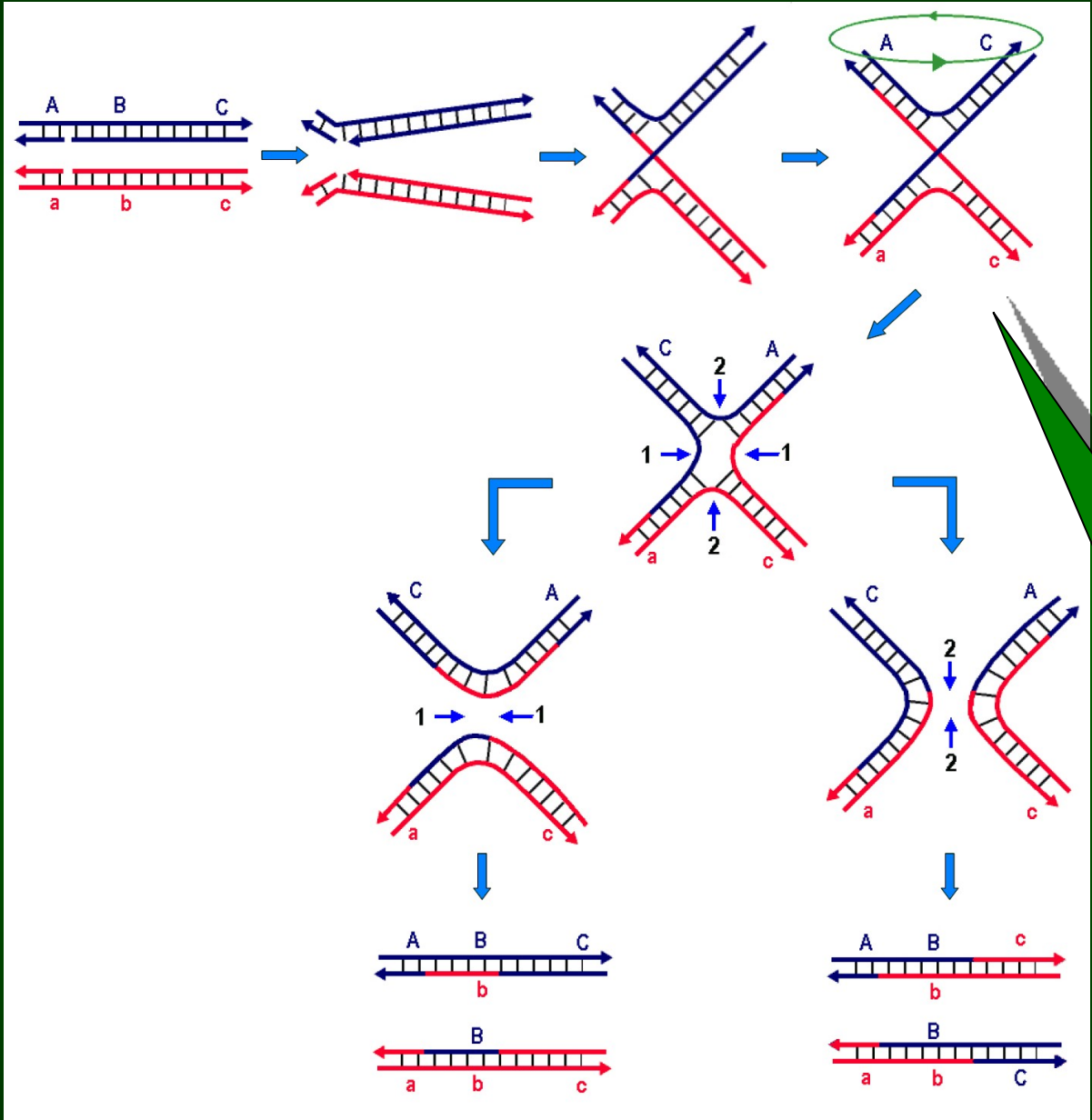
- Белок RuvA связывает точку кроссинговера и затем фланкируется двумя гексамерными кольцами белка RuvB (с АТФазной активностью). Эти кольца лежат в противоположной ориентации и служат моторами, которые перемещают ДНК.



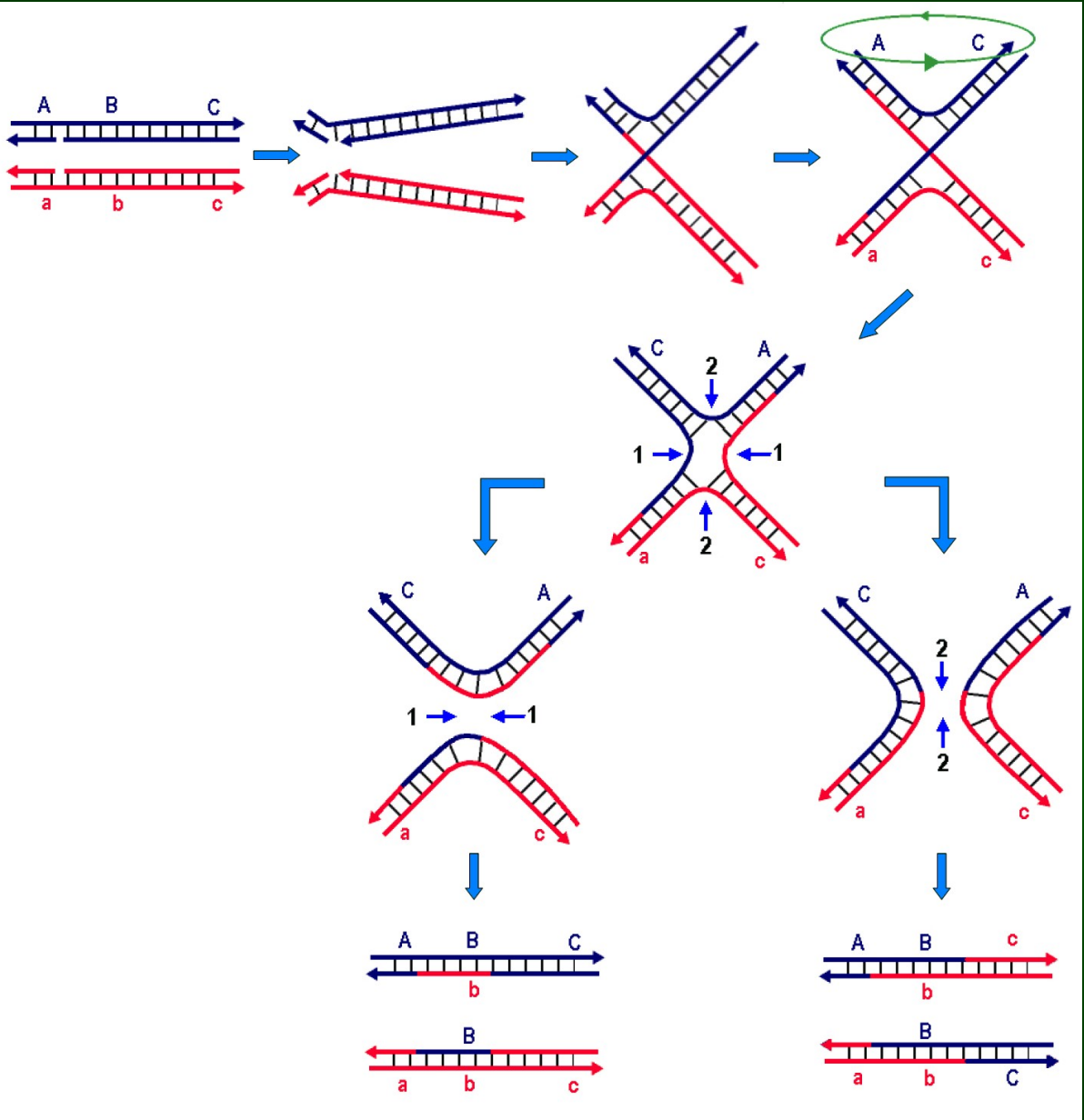
# Миграция ветви осуществляется белками RuvA и RuvB



- Белок RuvA связывает точку кроссинговера и затем фланкируется двумя гексамерными кольцами белка RuvB (с АТФазной активностью). Эти кольца лежат в противоположной ориентации и служат моторами, которые перемещают ДНК.



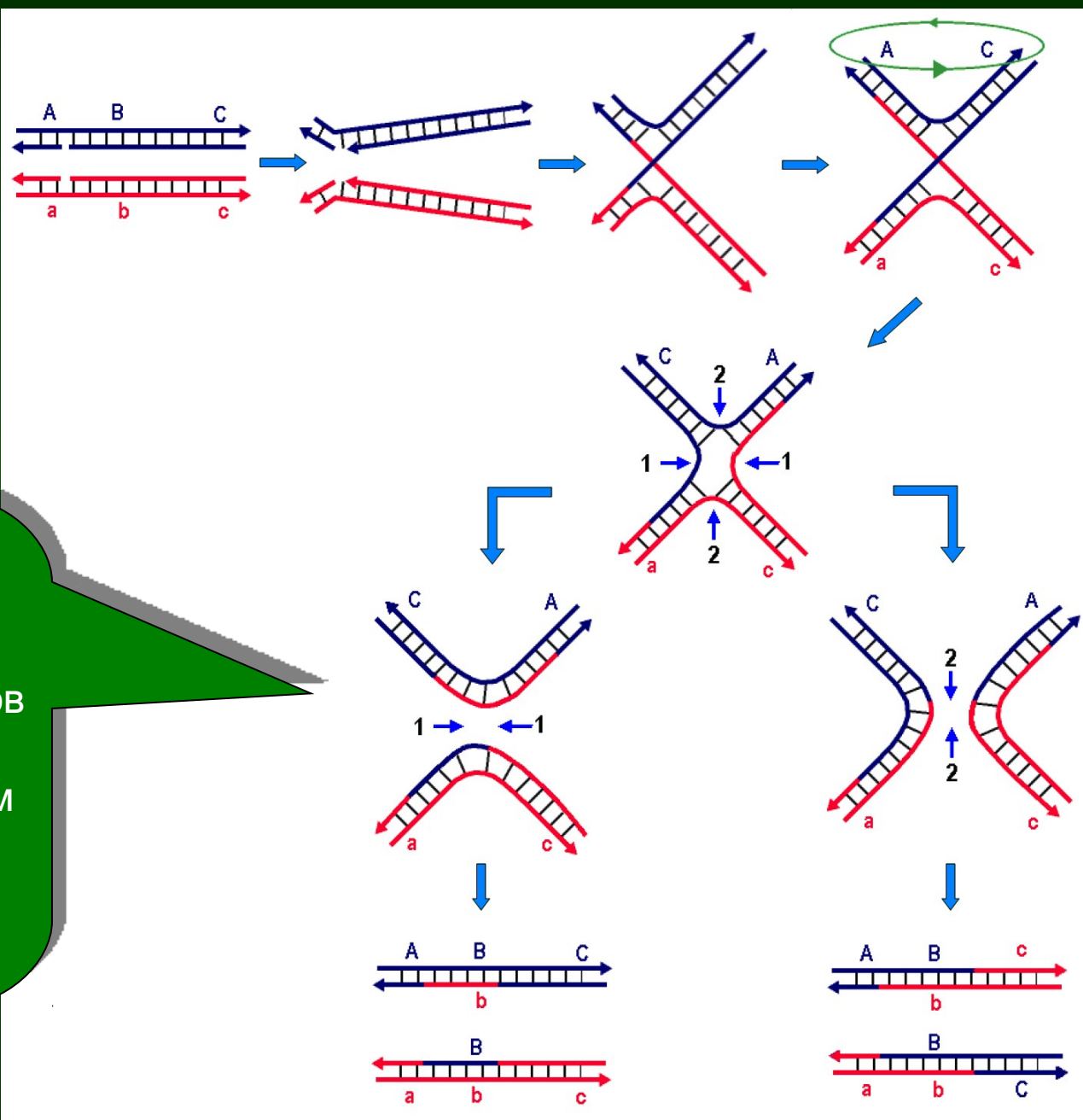
4. Изомеризация  
полухиазмы Холлидея



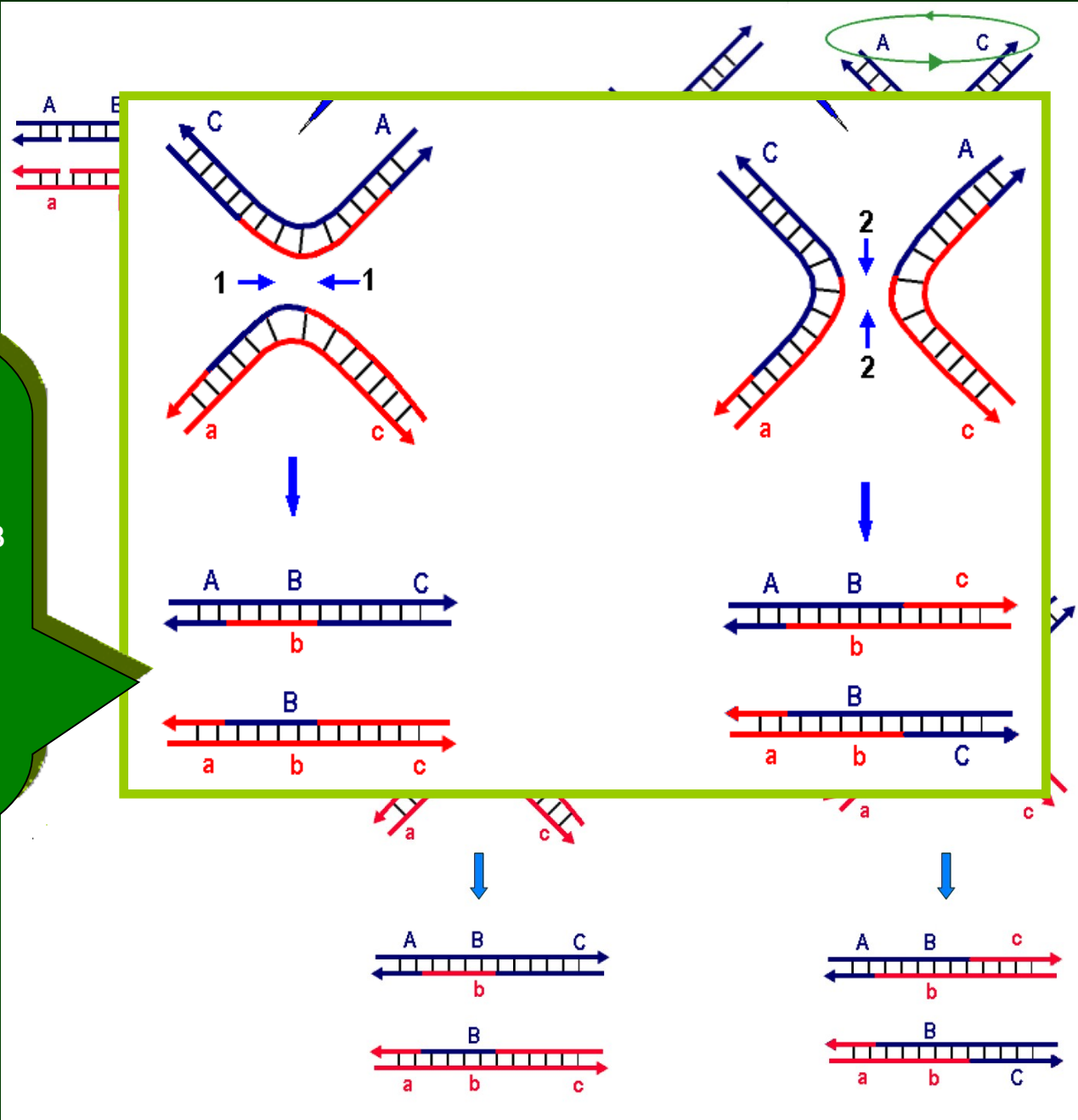
Чтобы гомологи  
разделились  
(разрешение полухиазмы)  
необходимы еще два  
разрыва цепей.

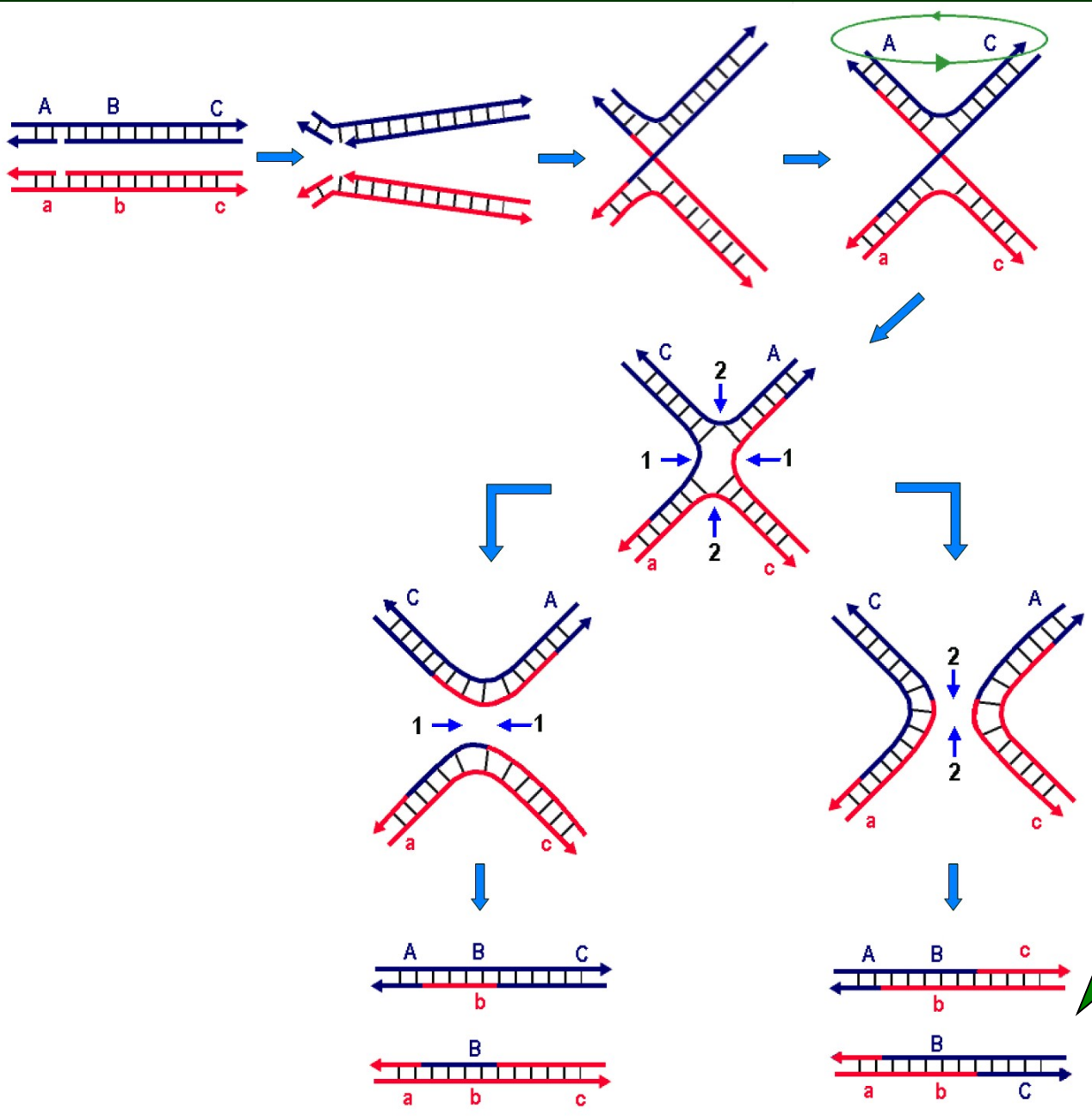
Эти дополнительные  
разрывы могут  
происходить либо в тех  
же цепях, которые  
изначально были  
вовлечены в обмен,  
либо в цепях, которые  
не были вовлечены в  
обмен.

В первом случае две другие цепи остаются интактными. Образуется пара дуплексов (хроматиды) с внутренним гетеродуплесным участком (B/b). В остальном они не отличаются от исходных (некриссоверные хроматиды).

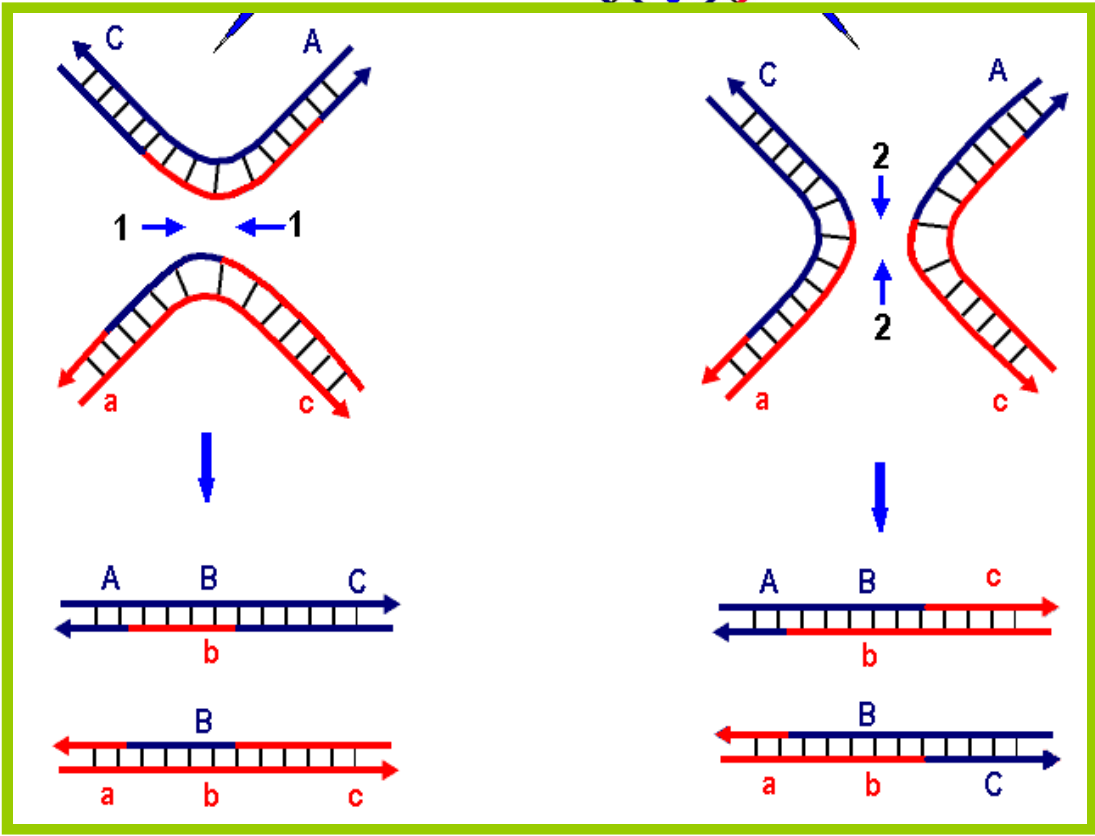
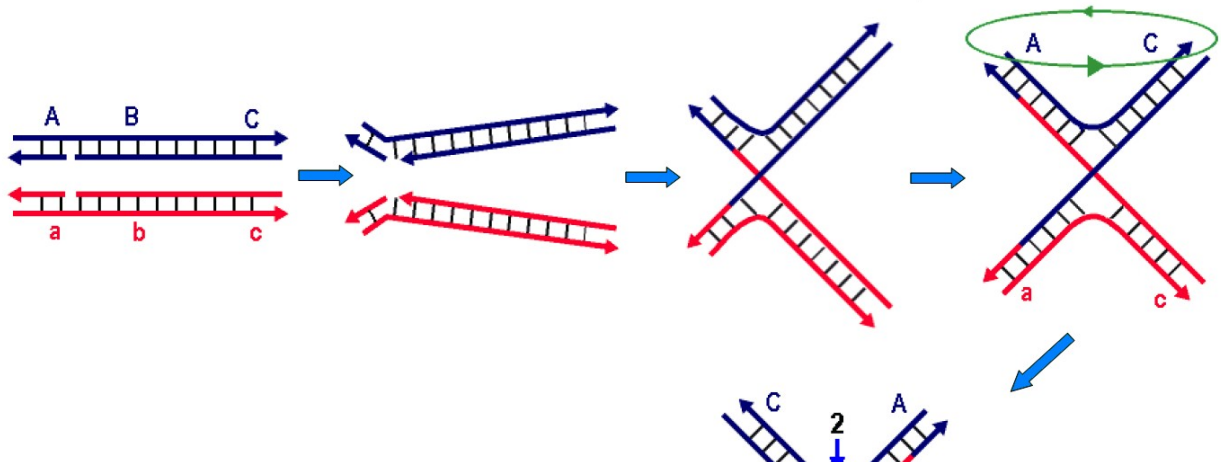


В первом случае две другие цепи остаются интактными. Образуется пара дуплексов (хроматиды) с внутренним гетеродуплесным участком (B/b). В остальном они не отличаются от исходных (некриссоверные хроматиды)



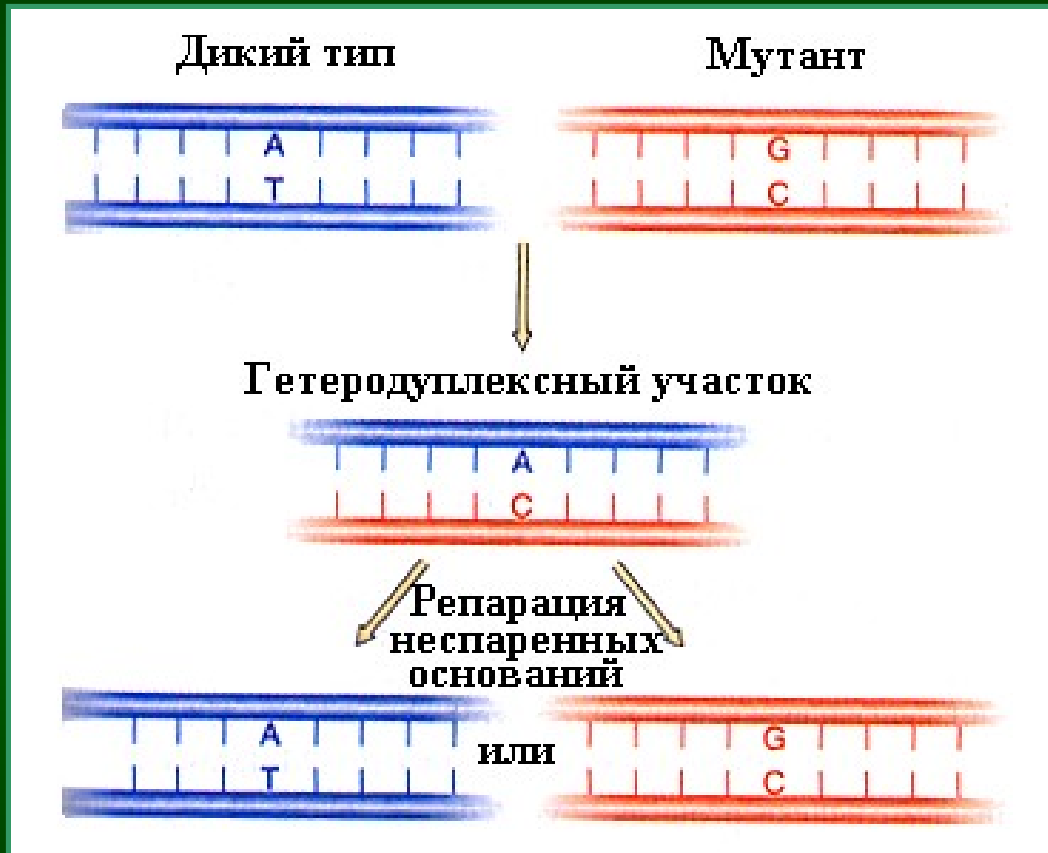


Во втором случае образуются рекомбинантные дуплексы (кроссоверные хроматиды), которые также содержат гетеродуплексный участок



Во втором случае образуются рекомбинантные дуплексы (кроссоверные хроматиды), которые также содержат гетеродуплексный участок

# Конверсия гена

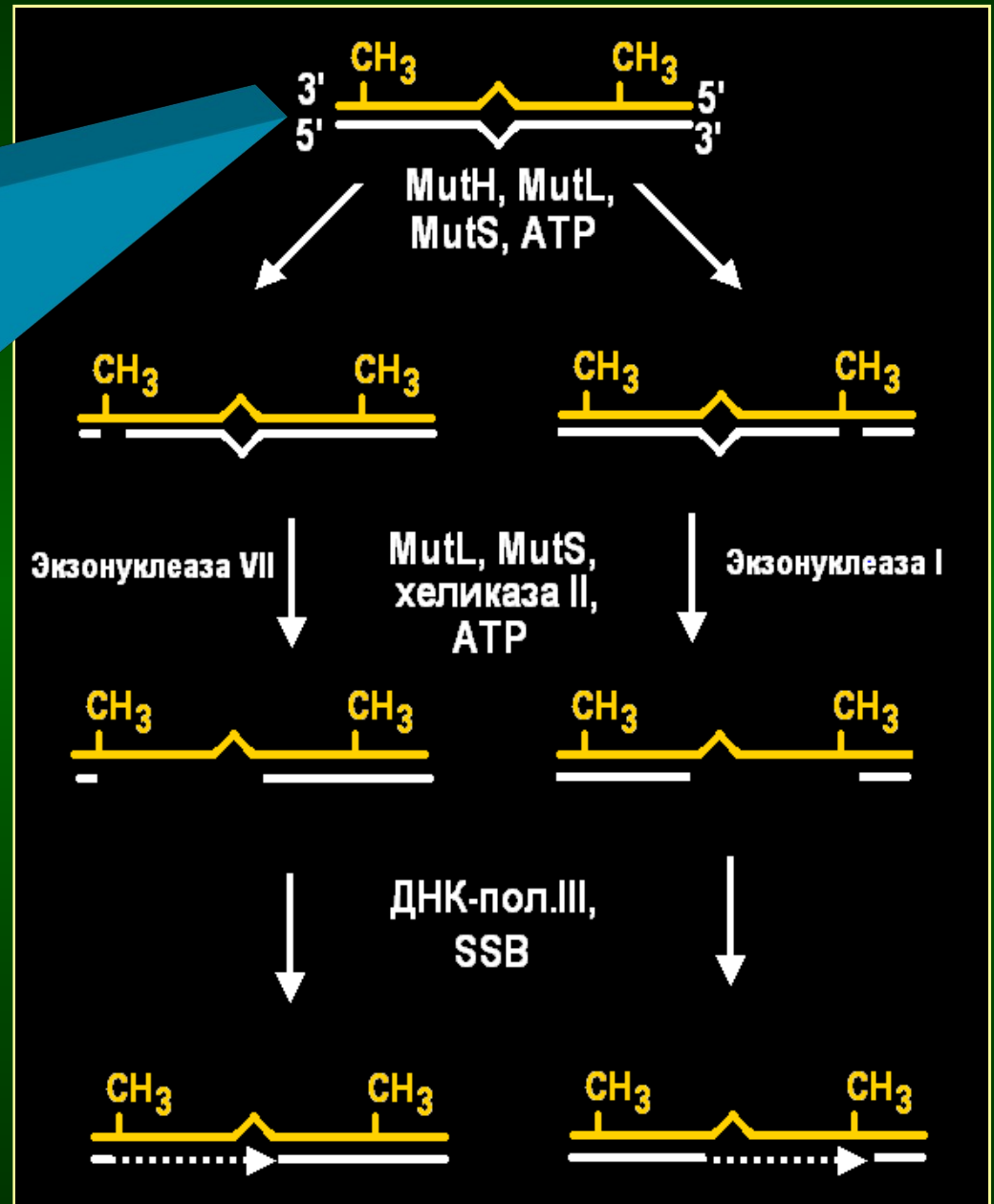


Гетеродуплексные участки могут содержать неспаренные основания. Коррекция неспаренных оснований приводит к превращению одного аллеля в другой (конверсии)



# Репарация неспаренных оснований

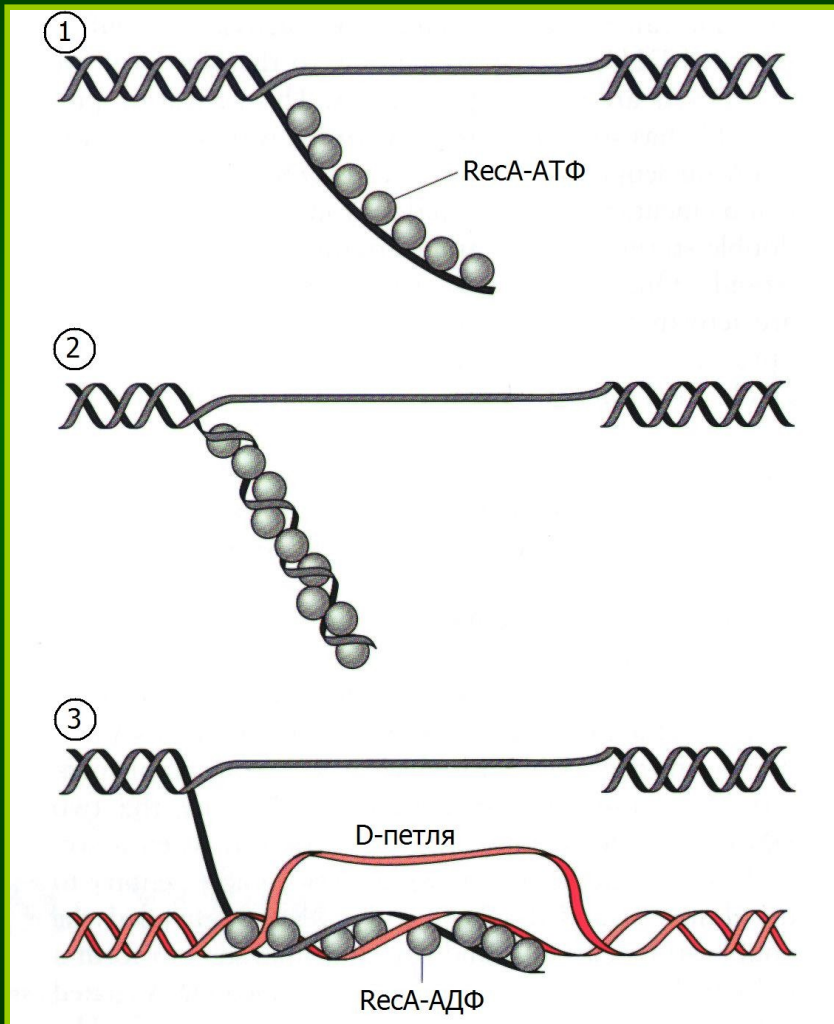
С неправильным основанием связывается белок MutS, с которым затем связываются белки MutL и MutH. Образуется репарационный комплекс с затратой 1 молекулы АТФ.



# Генетический контроль и энзимология общей рекомбинации у *E.coli*

- В общую рекомбинацию вовлечен целый ряд генов (около 15).
- Гомологичная рекомбинация является RecA-зависимой.
- Белок RecA обеспечивает взаимодействие одноцепочечной ДНК с гомологичным дуплексом.

# Белок RecA обеспечивает ассимиляцию внедряющейся цепи



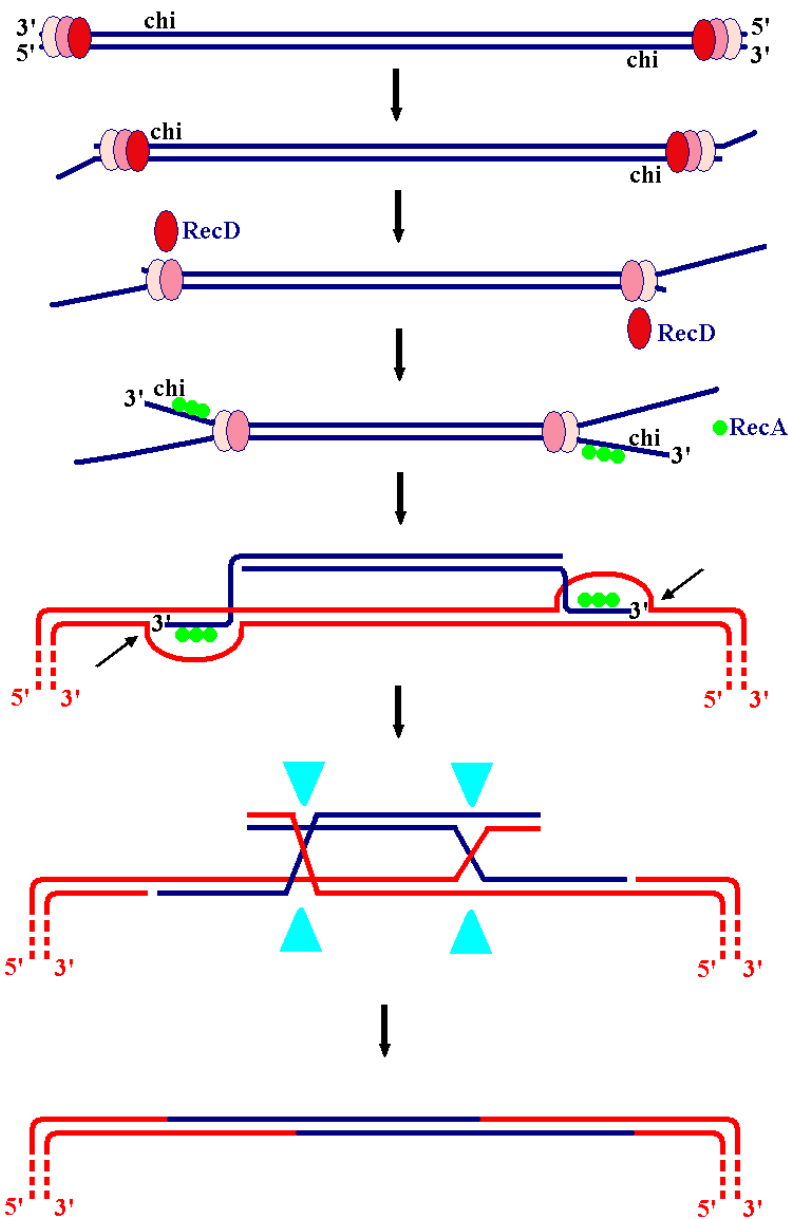
Белок RecA  
связывается с  
одноцепочечной  
ДНК и обеспечивает  
ее внедрение в  
двухцепочечную  
молекулу ДНК

- Для инициации рекомбинации у *E.coli* достаточно присутствия молекулы ДНК со свободным 3'-концом.

- chi-сайт: 5'-GCTGGTGG-3'
- chi-сайты стимулируют рекомбинацию, но не являются необходимыми для нее

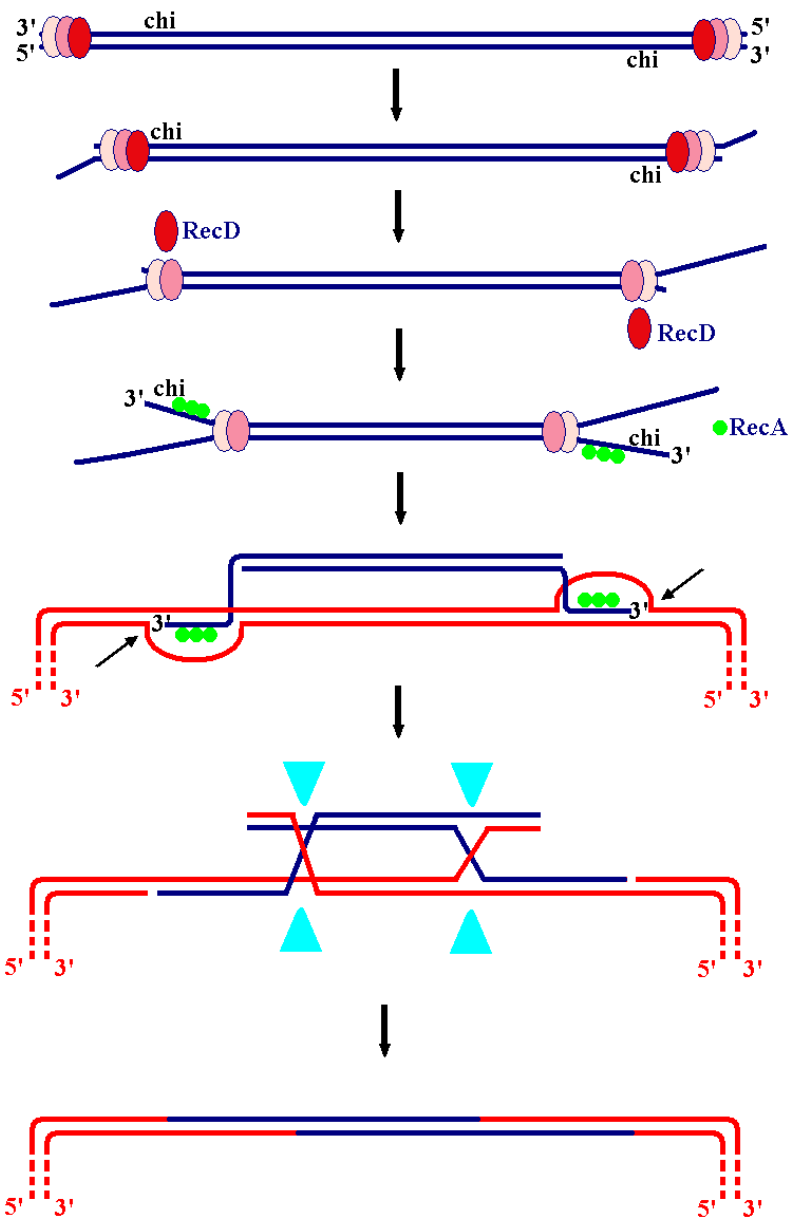
- Начальным этапом в рекомбинации является никирование и раскручивание дуплекса ДНК с помощью белкового комплекса, состоящего из белков RecB, RecC и RecD.
- Роль нуклеазы RecBCD в рекомбинации заключается в подготовке однонитевого участка ДНК со свободным 3'-концом.
- Этот фермент обладает несколькими активностями: экзонуклеазной, эндонуклеазной и хеликазной (АТФ-зависимой).
- chi-сайты являются мишенями для нуклеазы RecBCD.

# Схема рекомбинации у *E.coli*



Процесс рекомбинации активируется в результате возникновения двухцепочечного разрыва в нескольких тысячах пар нуклеотидов от chi-сайта, причем в определенной ориентации.

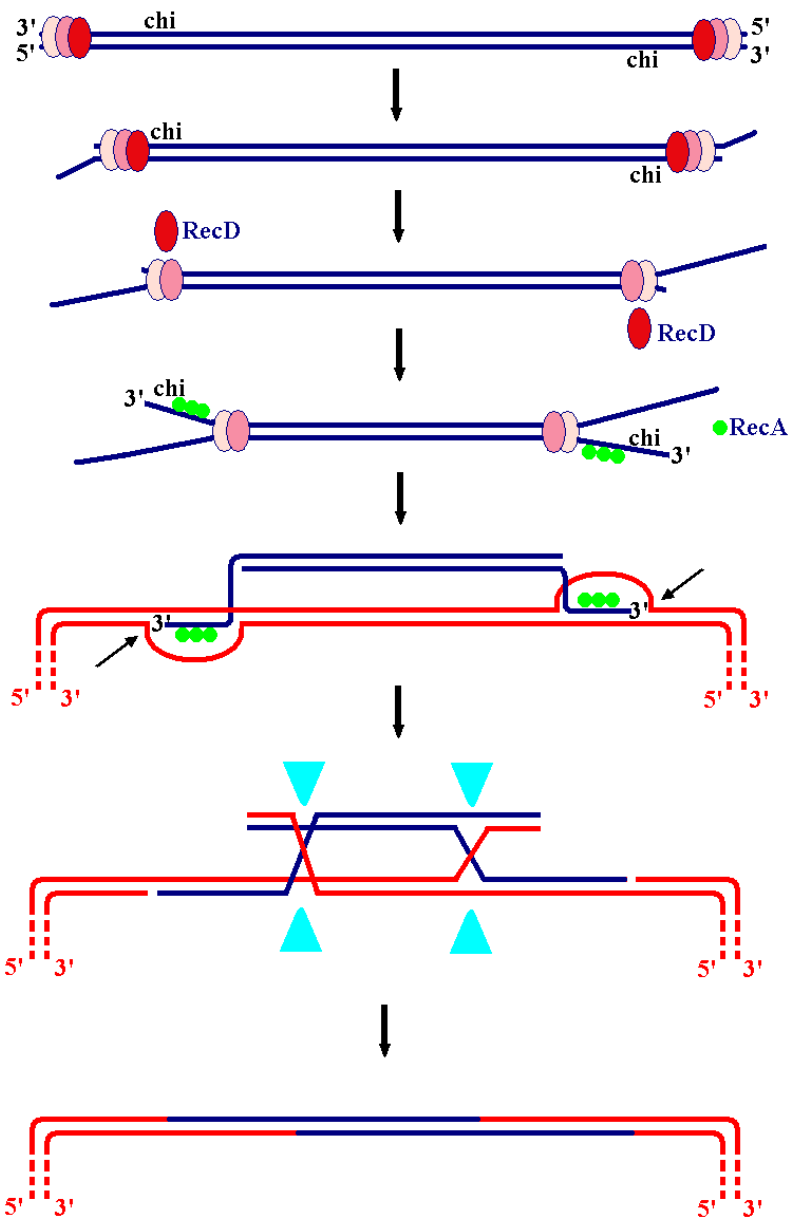
# Схема рекомбинации у *E.coli*



RecBCD-нуклеаза  
связывается с  
двунитевым  
разрывом

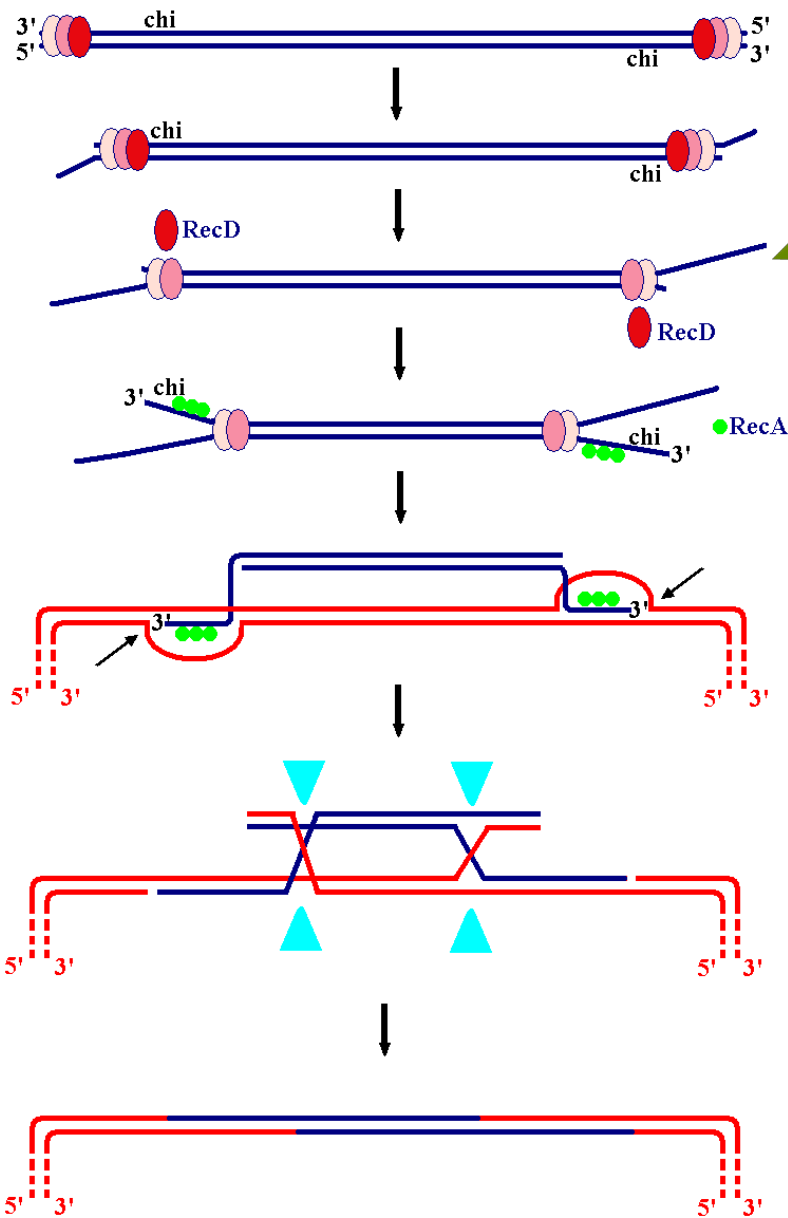


# Схема рекомбинации у *E.coli*



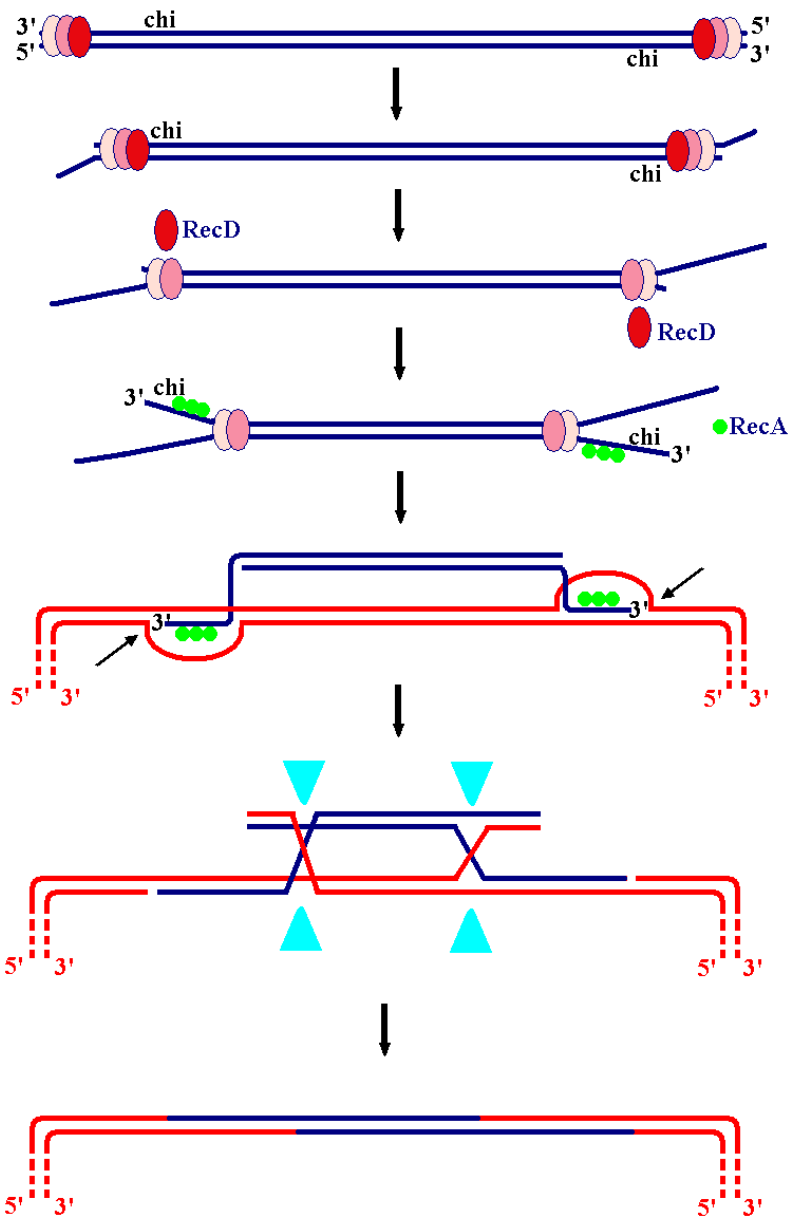
Комплекс перемещается, расплетает ДНК и деградирует ее (эксонуклеазная активность)

# Схема рекомбинации у *E.coli*



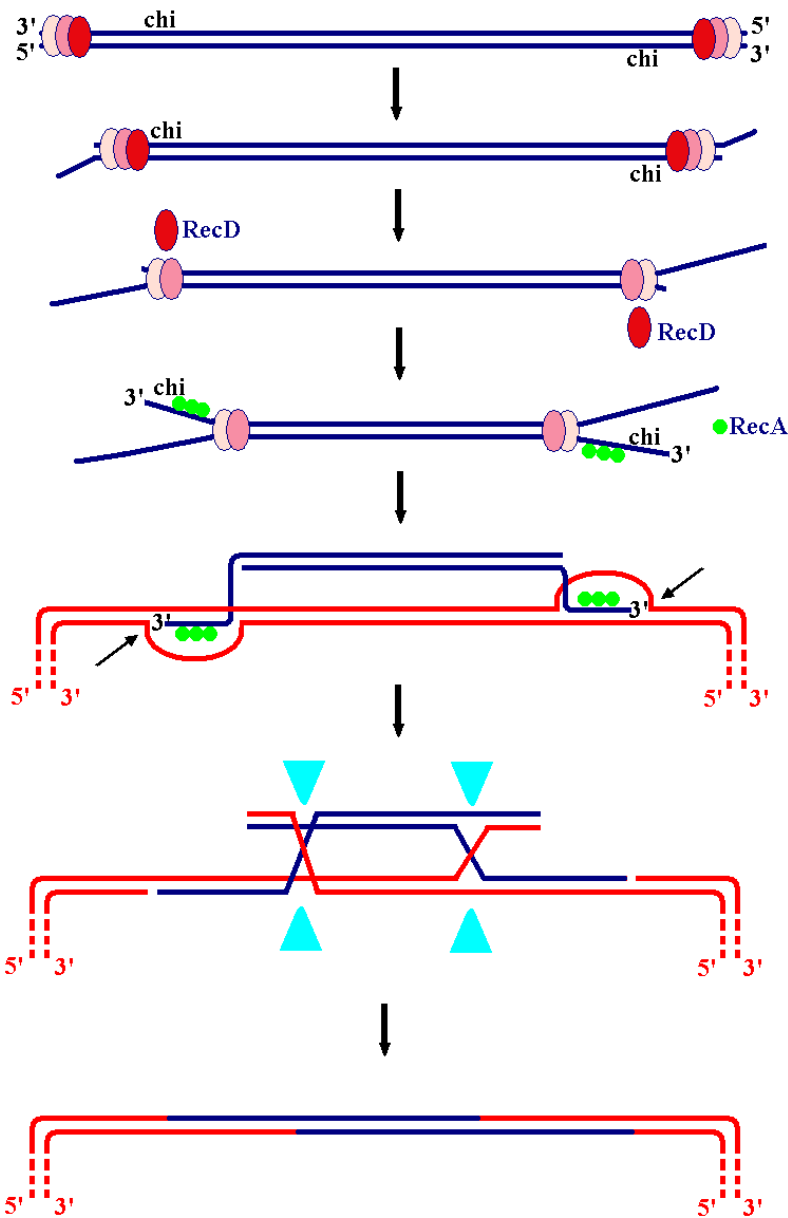
RecD диссоциирует в последовательности chi.  
Это приводит к утрате экзонуклеазной АКТИВНОСТИ.

# Схема рекомбинации у *E.coli*



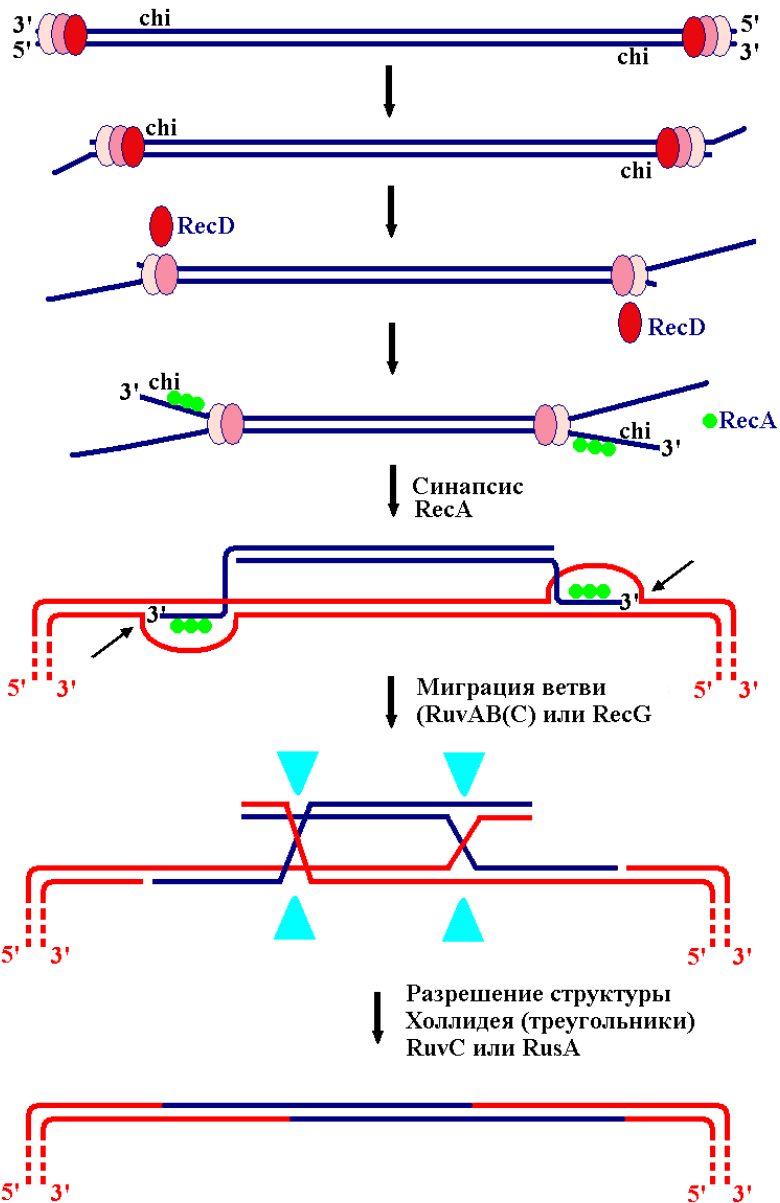
RecBC продолжает функционировать как хеликаза (комплекс продолжает расплетать ДНК)

# Схема рекомбинации у *E.coli*



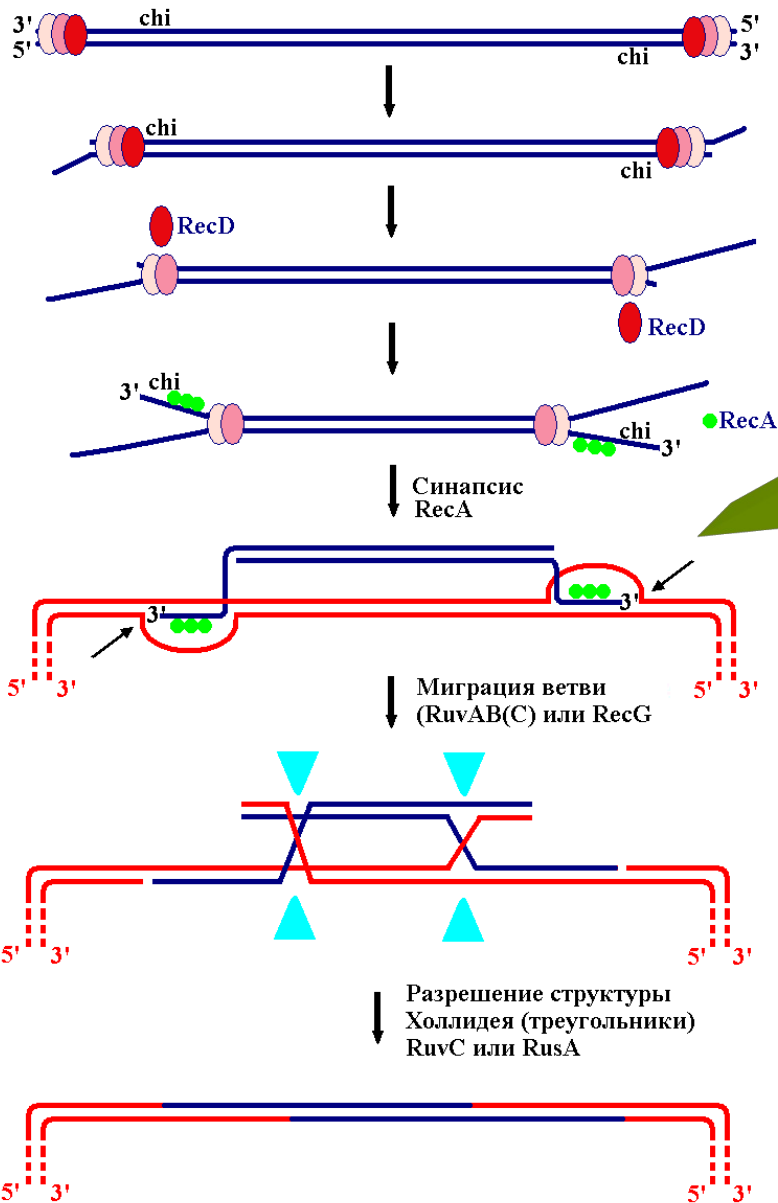
В результате образуется рекомбиногенная 3'-цепь с chi-сайтом на конце – субстрат для белка RecA

# Схема рекомбинации у *E.coli*



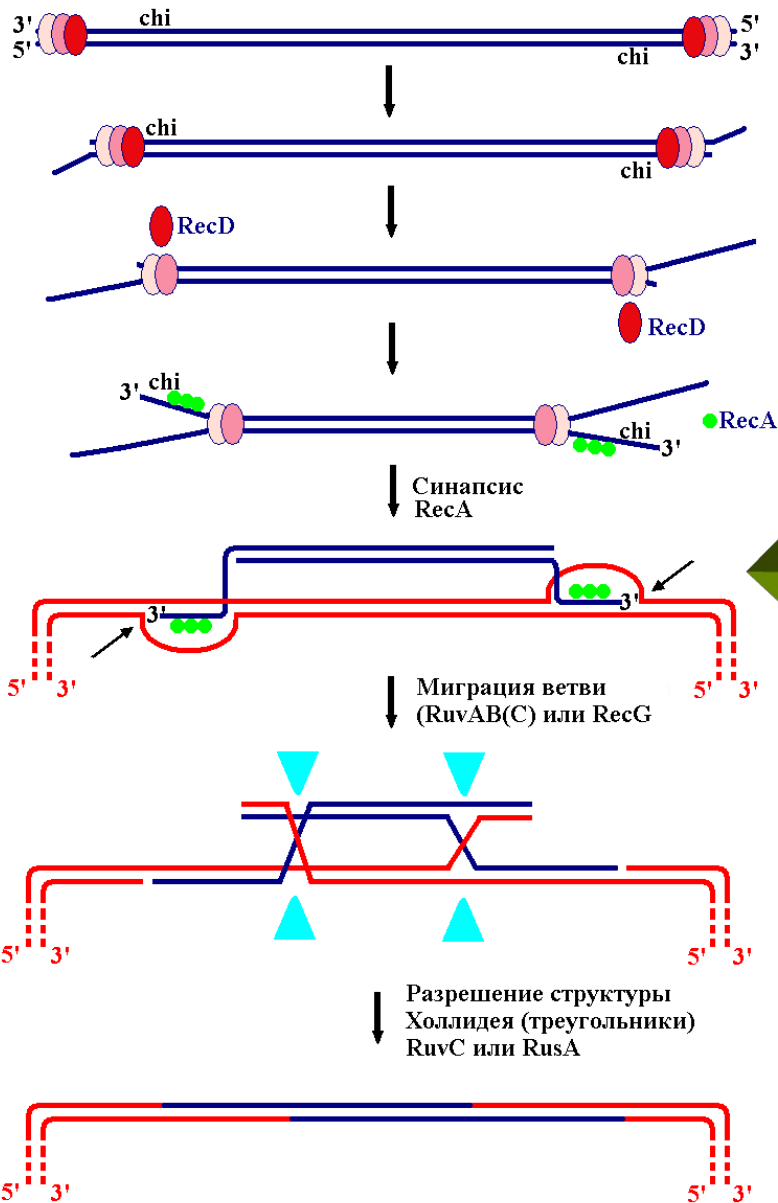
Белок RecA  
связывается с  
одноцепочечной  
ДНК и обеспечивает  
ее внедрение в  
двуцепочечную  
молекулу ДНК

# Схема рекомбинации у *E.coli*



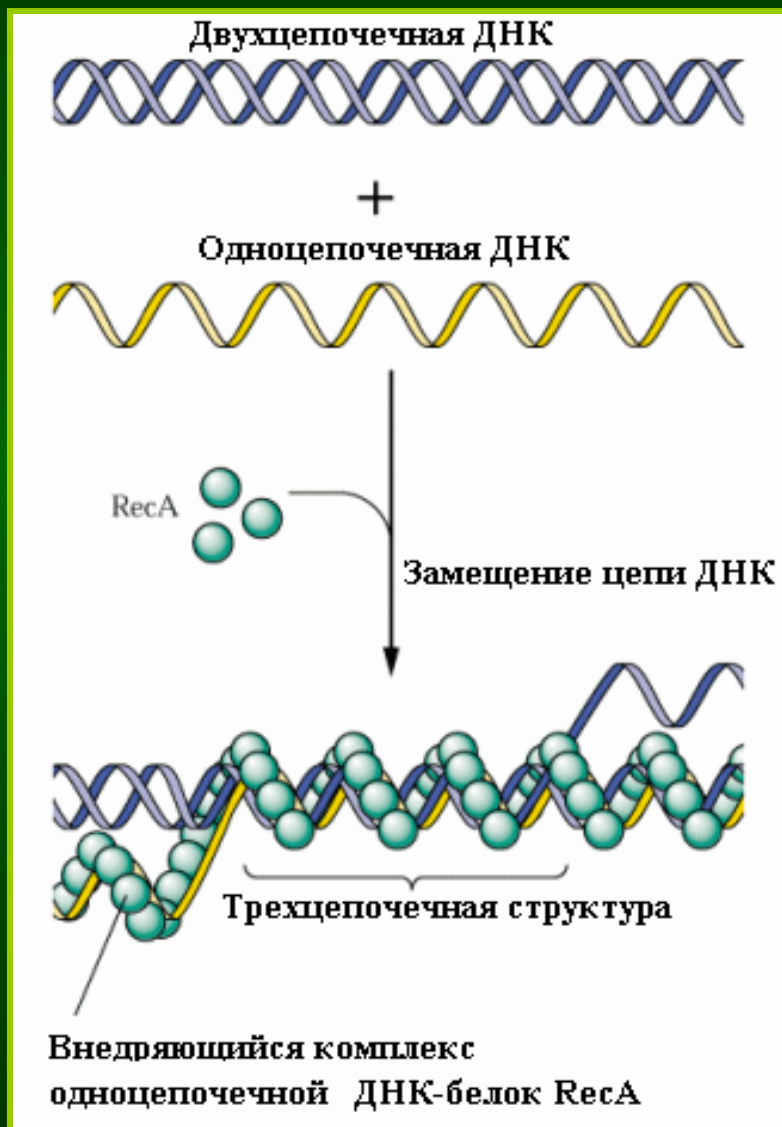
Формирование гетеродуплеса начинается с образования D-петли – структуры, в которой задействованы три цепи ДНК

# Схема рекомбинации у *E.coli*



Это происходит следующим образом:  
одноцепочечная ДНК внедряется в дуплекс, образует гетеродуплекс с одной, комплементарной ей цепью дуплекса, и одновременно вытесняет вторую цепь (это синапсис)

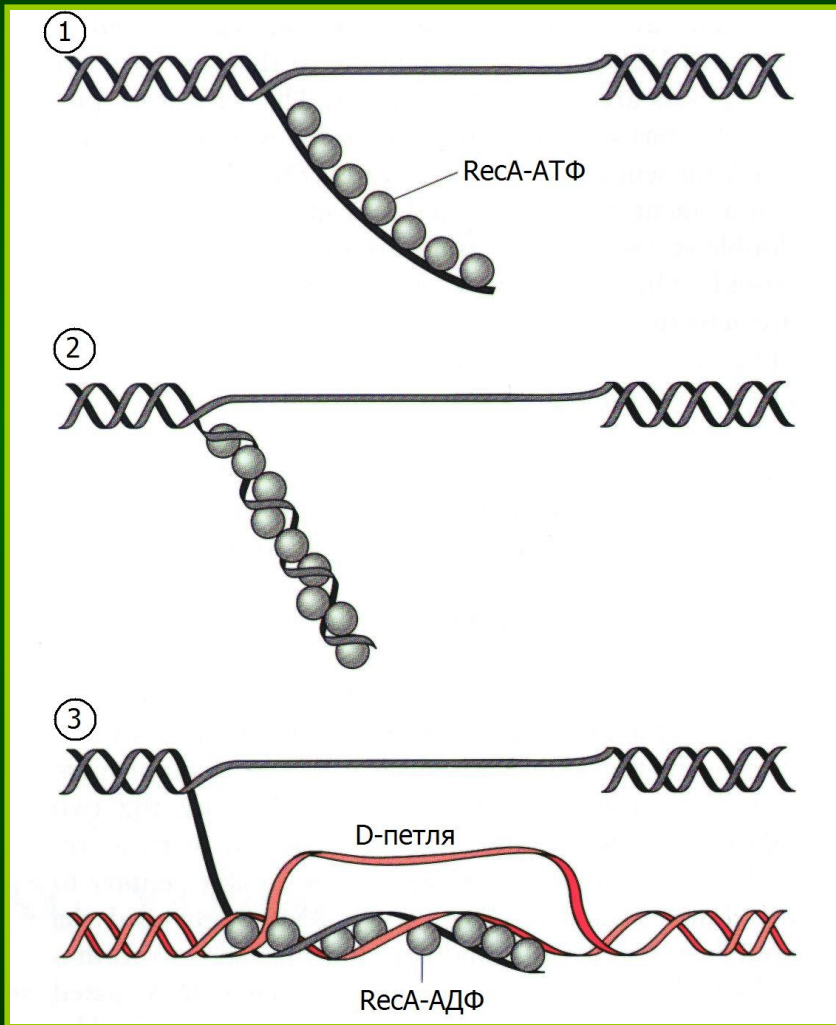
# RecA белок обеспечивает ассимиляцию внедряющейся цепи



Белок RecA  
связывается с  
одноцепочечной  
ДНК и обеспечивает  
ее внедрение в  
двухцепочечную  
молекулу ДНК

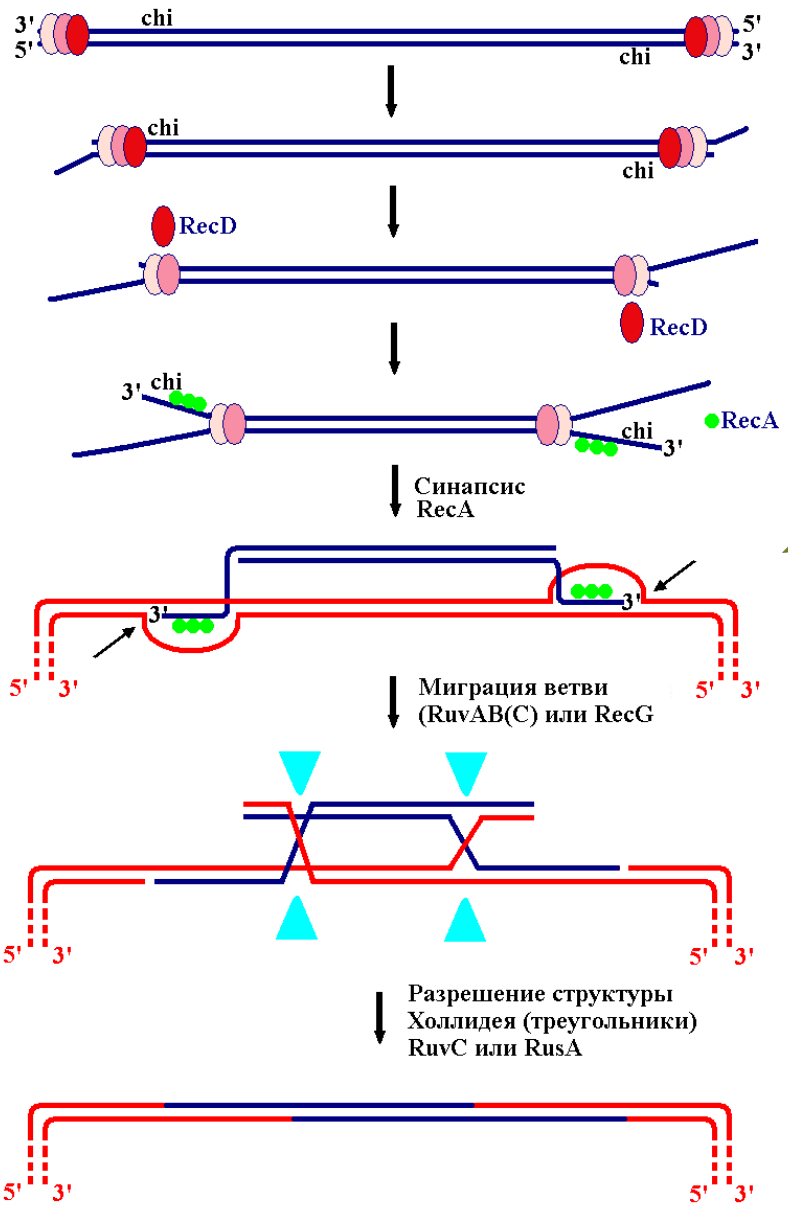


# Белок RecA обеспечивает ассимиляцию внедряющейся цепи



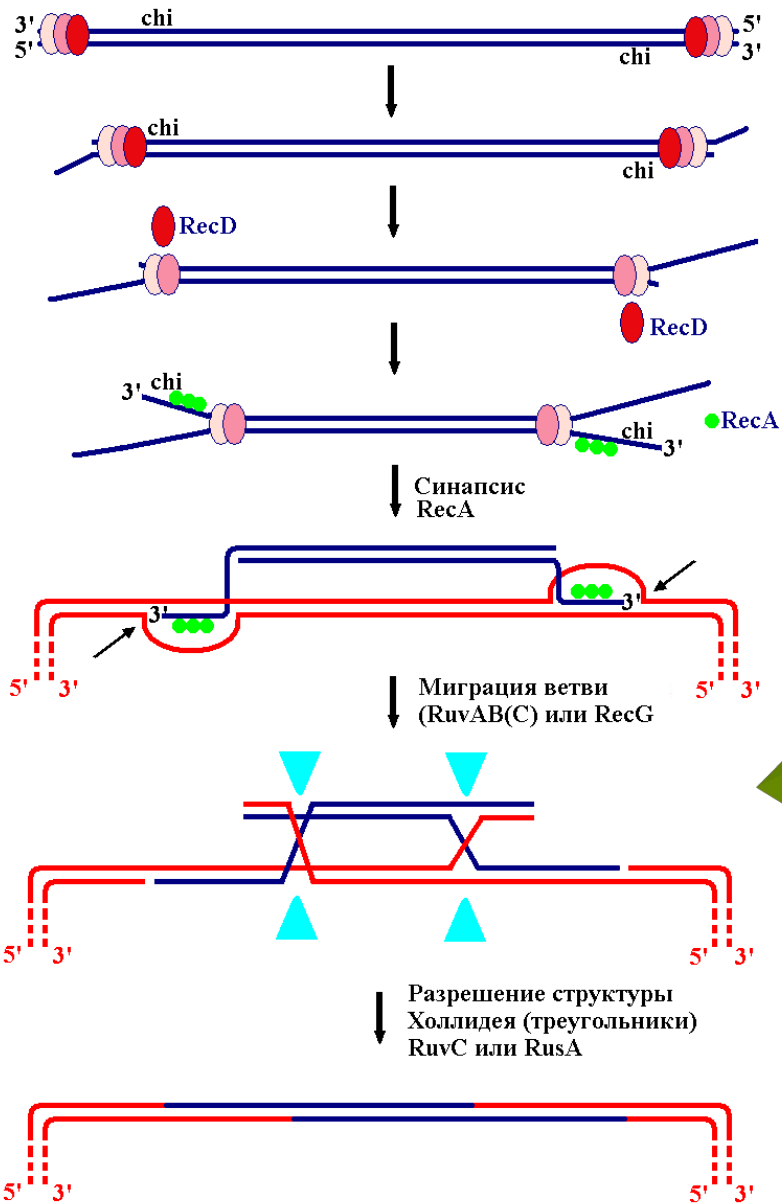
Белок RecA  
связывается с  
одноцепочечной  
ДНК и обеспечивает  
ее внедрение в  
двуцепочечную  
молекулу ДНК

# Схема рекомбинации у *E.coli*



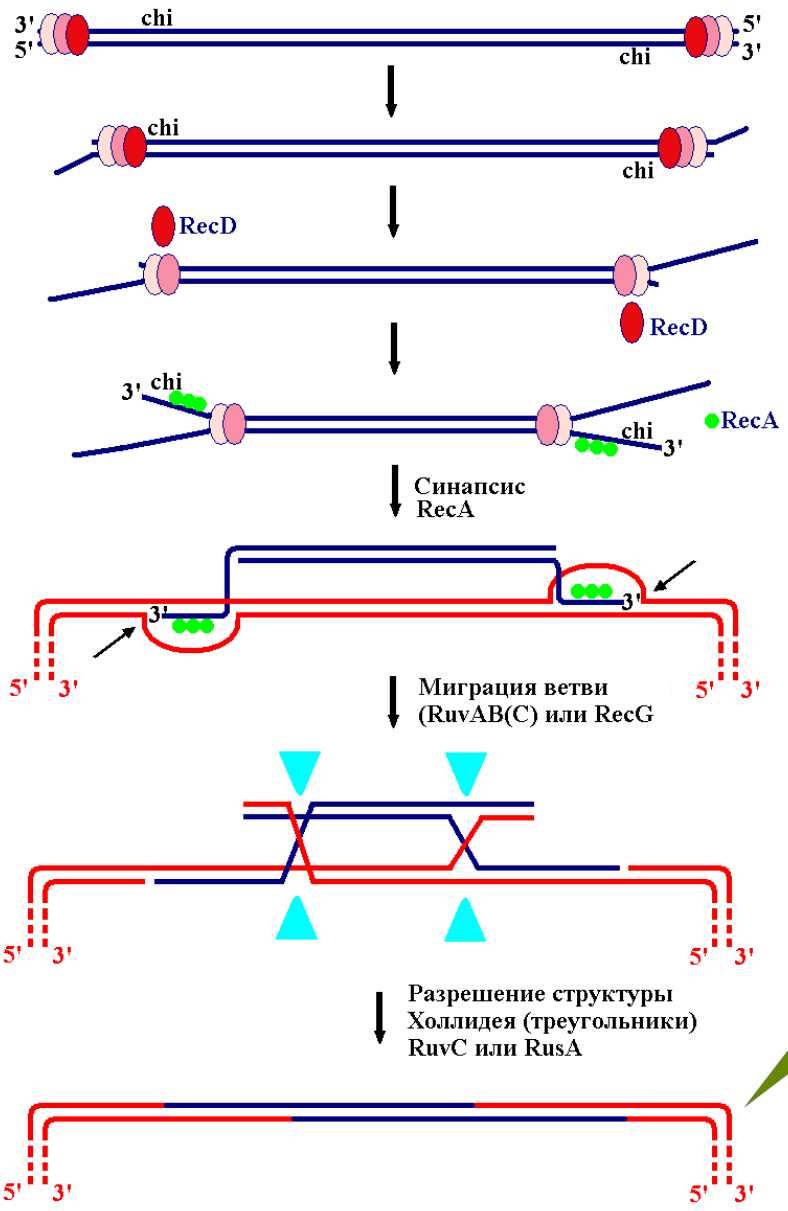
Затем D-петля  
разрезается с  
помощью одной из  
эндонуклеаз, что  
приводит к  
полухиазме  
Холлидея

# Схема рекомбинации у *E.coli*



Миграция ветви увеличивает длину гетеродуплексной ДНК. Миграция ветви осуществляется белками RuvA и RuvB. Аналогичную активность проявляет хеликаза RecG.

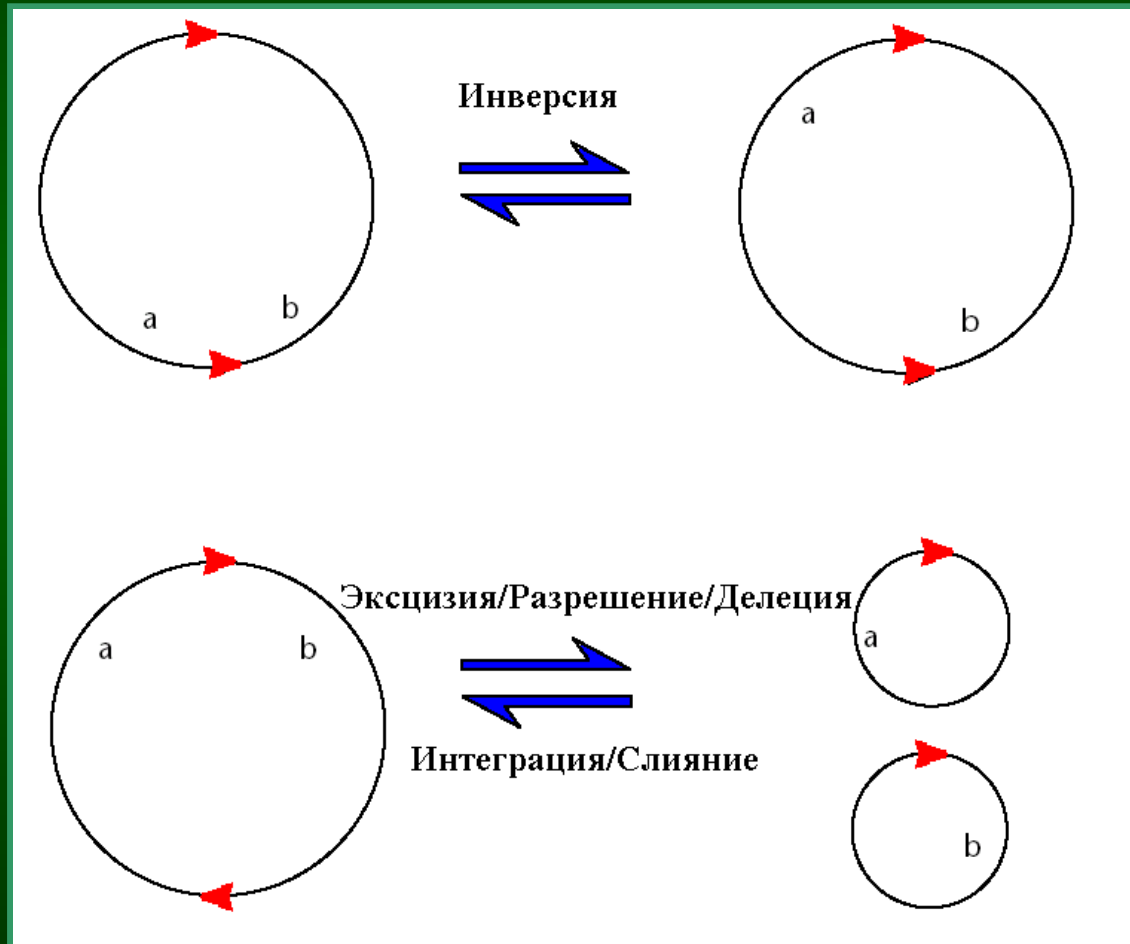
# Схема рекомбинации у *E.coli*

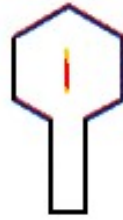


Разрешение структуры Холлидея осуществляют белки RuvC или RusA (эндонуклеазы)

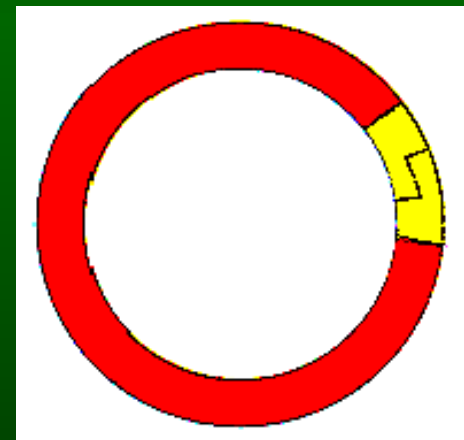
- **Сайт-специфическая рекомбинация** осуществляется в специфических последовательностях ДНК (рекомбинационных сайтах) в пределах очень коротких участков гомологии (15-30 п.н.) и является RecA-независимой.
- Ключевыми ферментами этой рекомбинации являются рекомбиназы (сайт-специфические топоизомеразы I).

# Последствия сайт-специфической рекомбинации

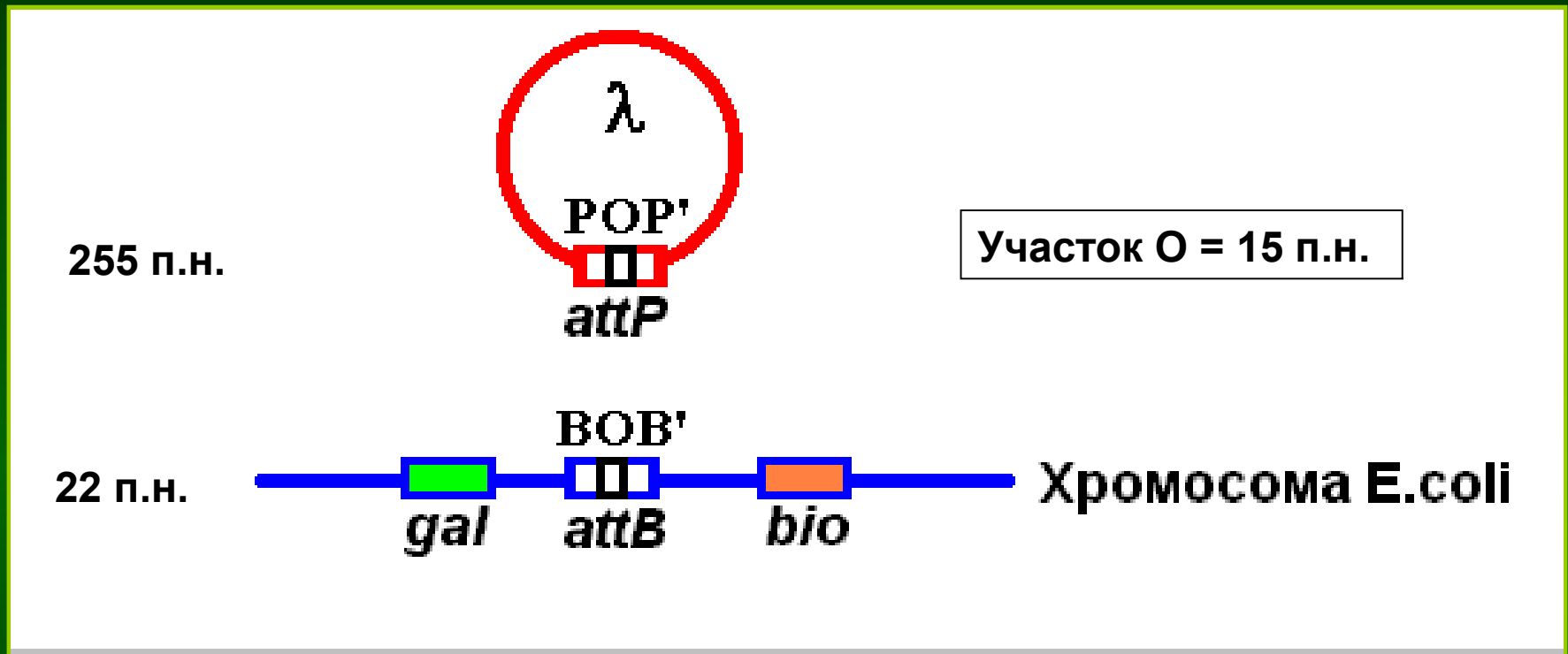




После проникновения в клетку линейная ДНК фага □ замыкается в кольцо за счет имеющихся на ее концах комплементарных одноцепочечных последовательностей и превращается в ковалентно-замкнутую кольцевую молекулу



# Схема сайт-специфической рекомбинации у фага лямбда

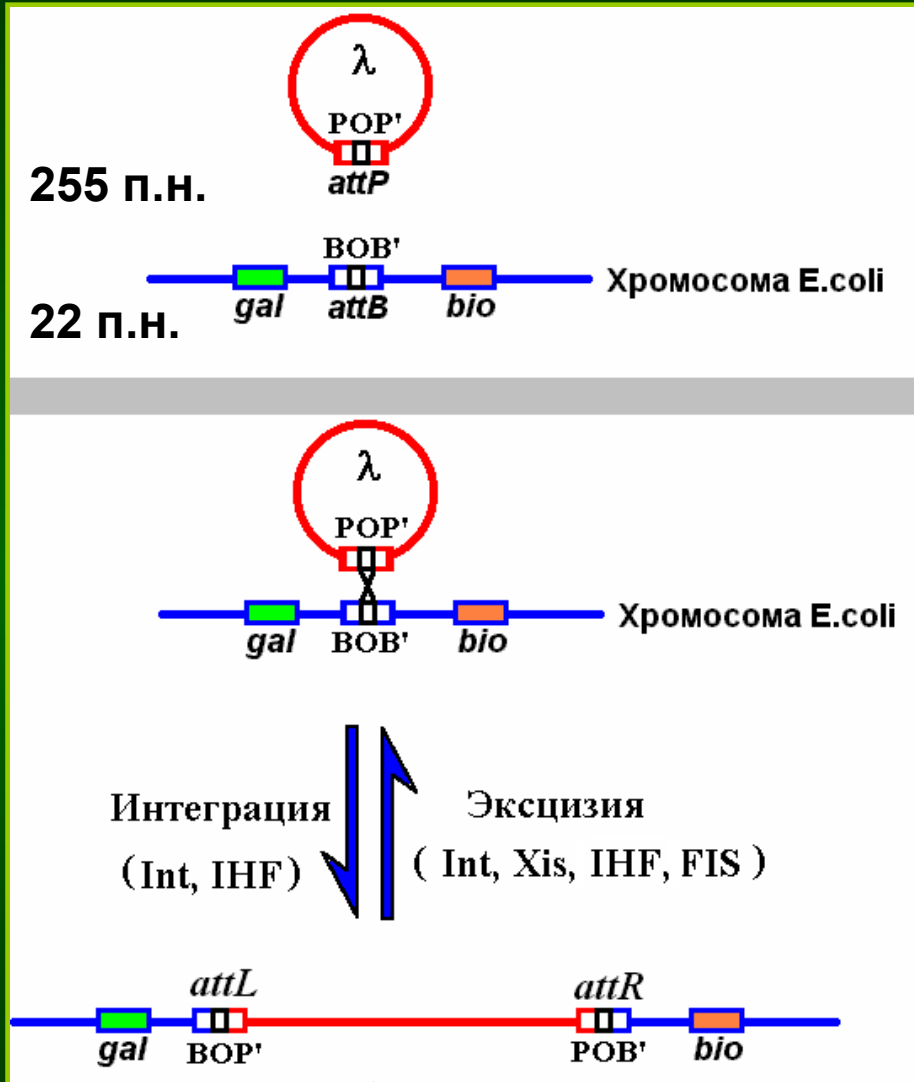


*attB* (attachment site on the bacterial chromosome)

*attP* (attachment site on the bacteriphage)



# Схема сайт-специфической рекомбинации у фага лямбда

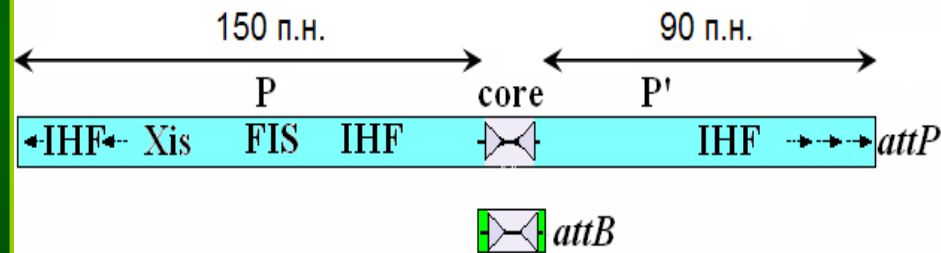


Профаг

Нуклеотидная последовательность коровой части сайтов attP и attB

GCTTTTTTATACTAA  
CGAAAAAATATGATT

Структурная организация сайтов attP и attB



→ сайты связывания рекомбиназы (интегразы)

Int и Xis – фаговые белки

IHF и FIS – бактериальные белки

- **Транспозиция** – обширная группа рекомбинационных процессов, связанных с перемещением по геному специфических последовательностей ДНК (подвижных генетических элементов)

- **Незаконная рекомбинация** – сборная группа процессов, где рекомбинация происходит без гомологии между молекулами ДНК.
- По своим механизмам эта рекомбинация отличается от сайт-специфической рекомбинации и транспозиции.
- Играет важную роль в хромосомных перестройках.



# Рекомендуемая литература

## Дополнительная

**1. Глазер В.М. Гомологичная генетическая рекомбинация.**

Современное естествознание. Энциклопедия. Т.8, 41-51.

**2. Глазер В.М. Генетическая рекомбинация без гомологии:  
процессы, ведущие к перестройкам в геноме.**

Современное естествознание. Энциклопедия. Т.8, 52-59.