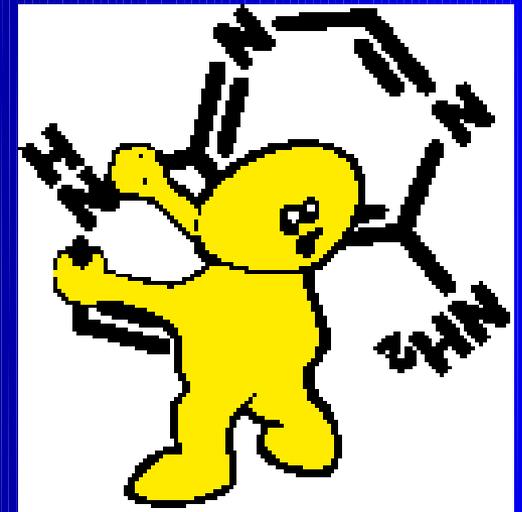


Репарация ДНК

Репарация ДНК

- Первичная структура ДНК является динамичной и подвергается постоянным изменениям.



- Изменения в молекулярной структуре генетического материала являются *повреждениями ДНК.*

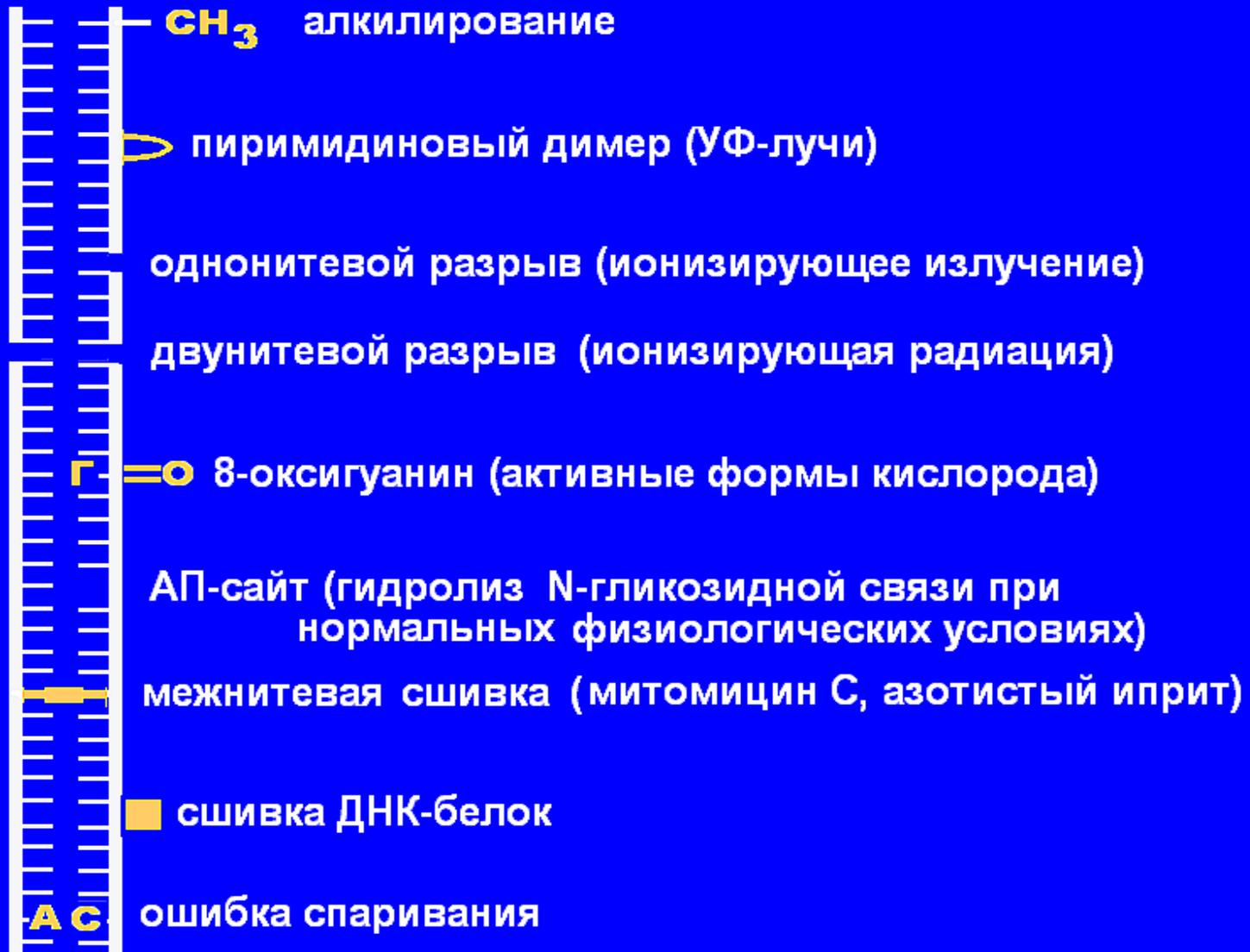
- Повреждение ДНК – это не мутация.
- Мутация – это наследственное изменение в нуклеотидной последовательности генома организма.

- Повреждение ДНК – это неотъемлемый аспект жизни в биосфере.
- Большая часть повреждений ДНК восстанавливается репаративными системами.

- Репарация генетических повреждений – свойство живых организмов восстанавливать повреждения, возникшие в ДНК в результате ошибок репликации, а также при воздействии разнообразных эндогенных и экзогенных мутагенных факторов.

- ДНК- это единственная макромолекула клетки, способная устранять повреждения, возникающие в ее структуре.
- Вся информация о механизмах репарационных процессов, закодирована в ДНК.
- Основой процессов репарации является комплементарное спаривание оснований.

Основные повреждения ДНК



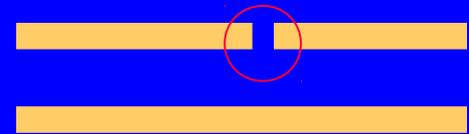
Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

Эндонуклеазы

Гидролизуют фосфодиэфирную связь
внутри одной из цепей ДНК, образуя
однонитевой разрыв



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

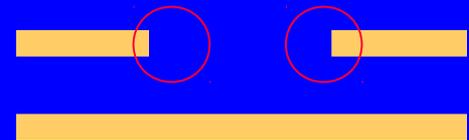
Эндонуклеазы

Гидролизуют фосфодиэфирную связь внутри одной из цепей ДНК, образуя однонитевой разрыв



Экзонуклеазы

Удаляют нуклеотиды по одному с 3'- или 5'-конца полинуклеотидной цепи



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

Эндонуклеазы

Гидролизуют фосфодиэфирную связь внутри одной из цепей ДНК, образуя однонитевой разрыв



Экзонуклеазы

Удаляют нуклеотиды по одному с 3'- или 5'-конца полинуклеотидной цепи



ДНК-полимеразы

Заполняют бреши, образованные экзонуклеазами



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

ДНК-лигаза

**Восстанавливает разорванную
фосфодиэфирную связь**



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

ДНК-лигаза

Восстанавливает разорванную фосфодиэфирную связь



ДНК-хеликазы

Расплетают цепи ДНК



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

ДНК-лигаза

Восстанавливает разорванную фосфодиэфирную связь



ДНК-хеликазы

Расплетают цепи ДНК



ДНК-гликозилазы

Удаляют поврежденное основание с образованием АП-сайта



Механизмы репарации

1. **Восстановление исходной структуры**
2. **Экцизионная репарация**
 - а) **Вырезание оснований**
 - б) **Вырезание нуклеотидов**
 - в) **Репарация неспаренных оснований**
3. **Пострепликативная репарация**
 - а) **Рекомбинационная репарация**
 - б) **SOS-репарация – мутагенный или «ошибочный» путь репарации**



Репарация ДНК путем восстановления нарушений

1. Фотореактивация
пиримидиновых
димеров



2. Деалкилирование



Репарация ДНК путем восстановления нарушений

3. Репарация
однонитевых
разрывов



4. Репарация
АП-сайтов



Эксцизионная репарация у *E.coli*



Эксцизионная репарация у *E.coli*



Некоторые ферменты, участвующие в репарации

**ДНК-
гликозилазы**

**Удаляют поврежденный нуклеотид с
образованием АП-сайта**



Вырезание поврежденных оснований

Осуществляется гликозилазами.

В результате образуется АП-сайт.

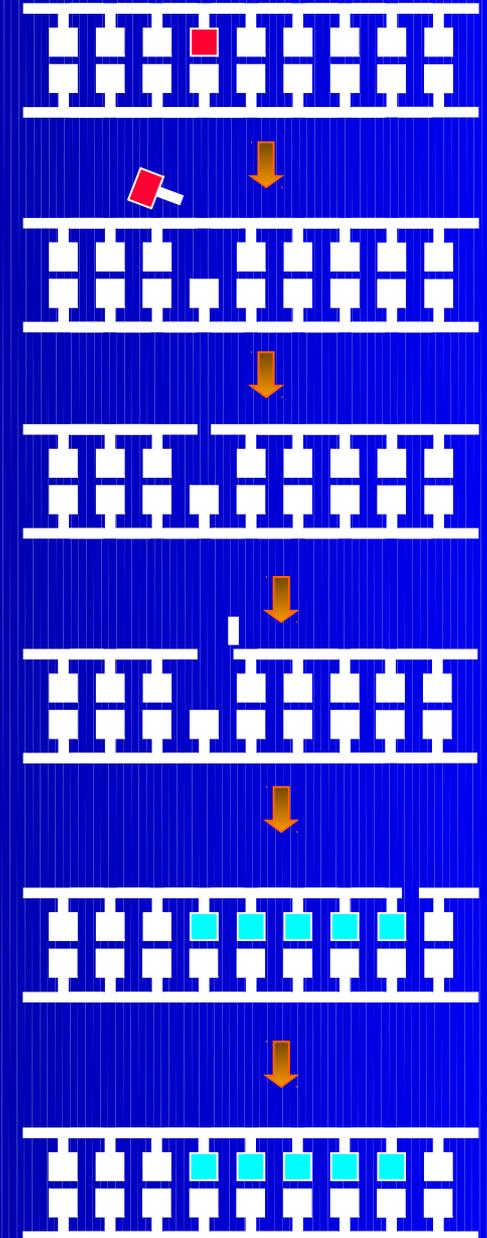
АП-сайт распознается АП-эндонуклеазой, которая вводит в нить ДНК разрыв.

Фосфодиэстераза отщепляет от ДНК сахарофосфатную группу, к которой не присоединено основание.

Бреши размером в 1 н. застраивается ДНК-полимеразой и концы ДНК соединяются ДНК-лигазой.

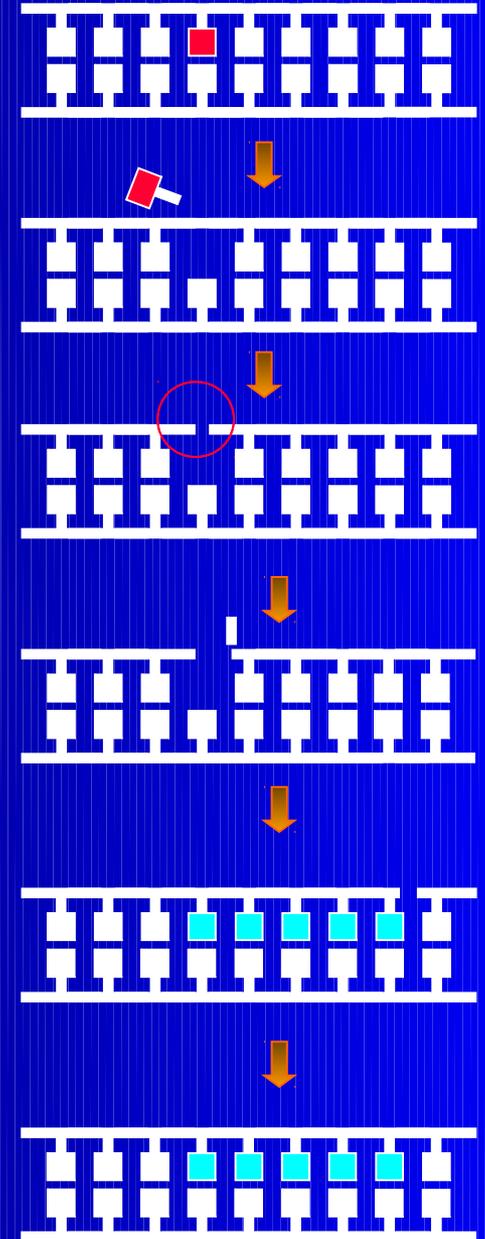
Вырезание поврежденных оснований

ДНК-гликозилаза узнает поврежденное основание и удаляет его. В результате образуется АП-сайт.



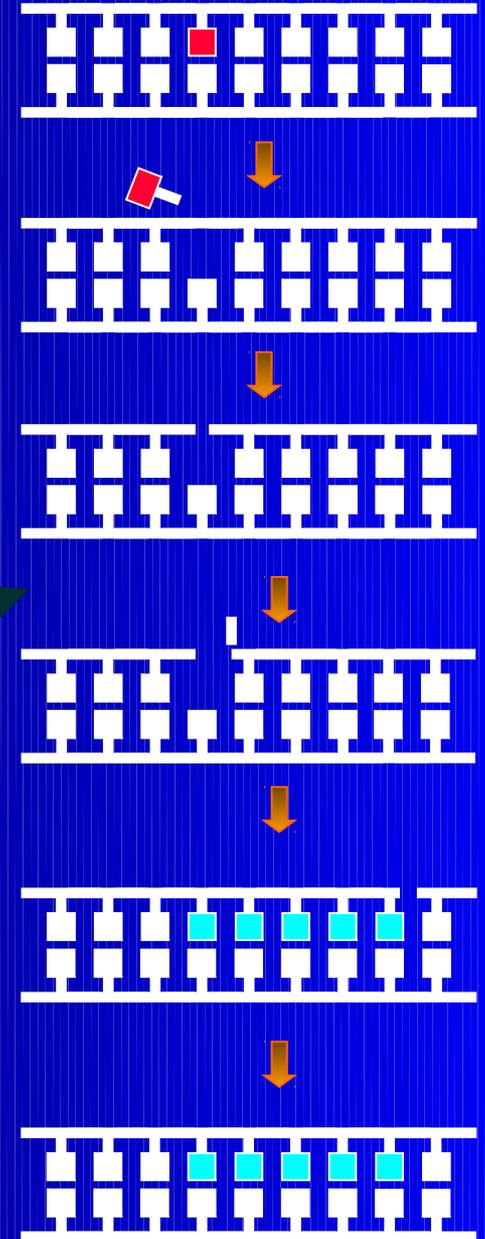
Вырезание поврежденных оснований

АП-сайт распознается
АП-эндонуклеазой, которая
вводит в нить ДНК разрыв.



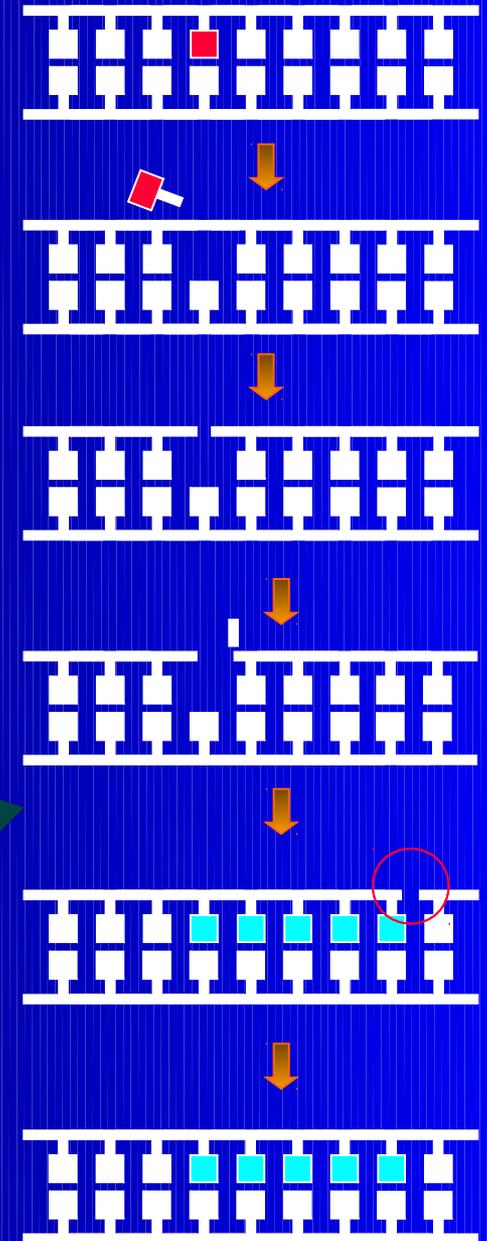
Вырезание поврежденных оснований

Фосфодиэстераза отщепляет от ДНК сахарофосфатную группу, к которой не присоединено основание.



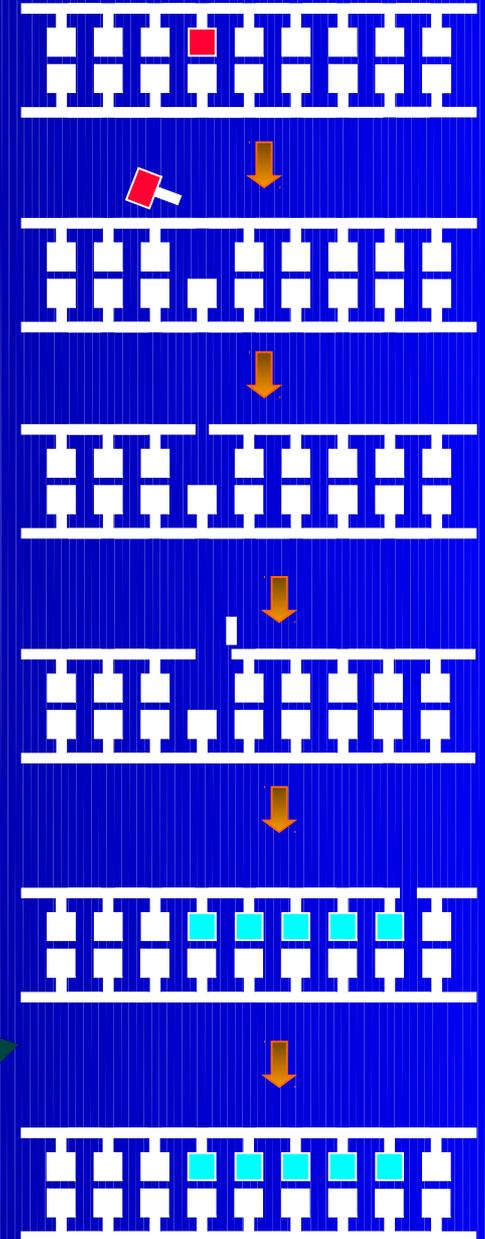
Вырезание поврежденных оснований

ДНК-полимераза инициирует репаративный синтез ДНК, удаляя с помощью 5'-3'-экзонуклеазной активности часть поврежденной цепи.



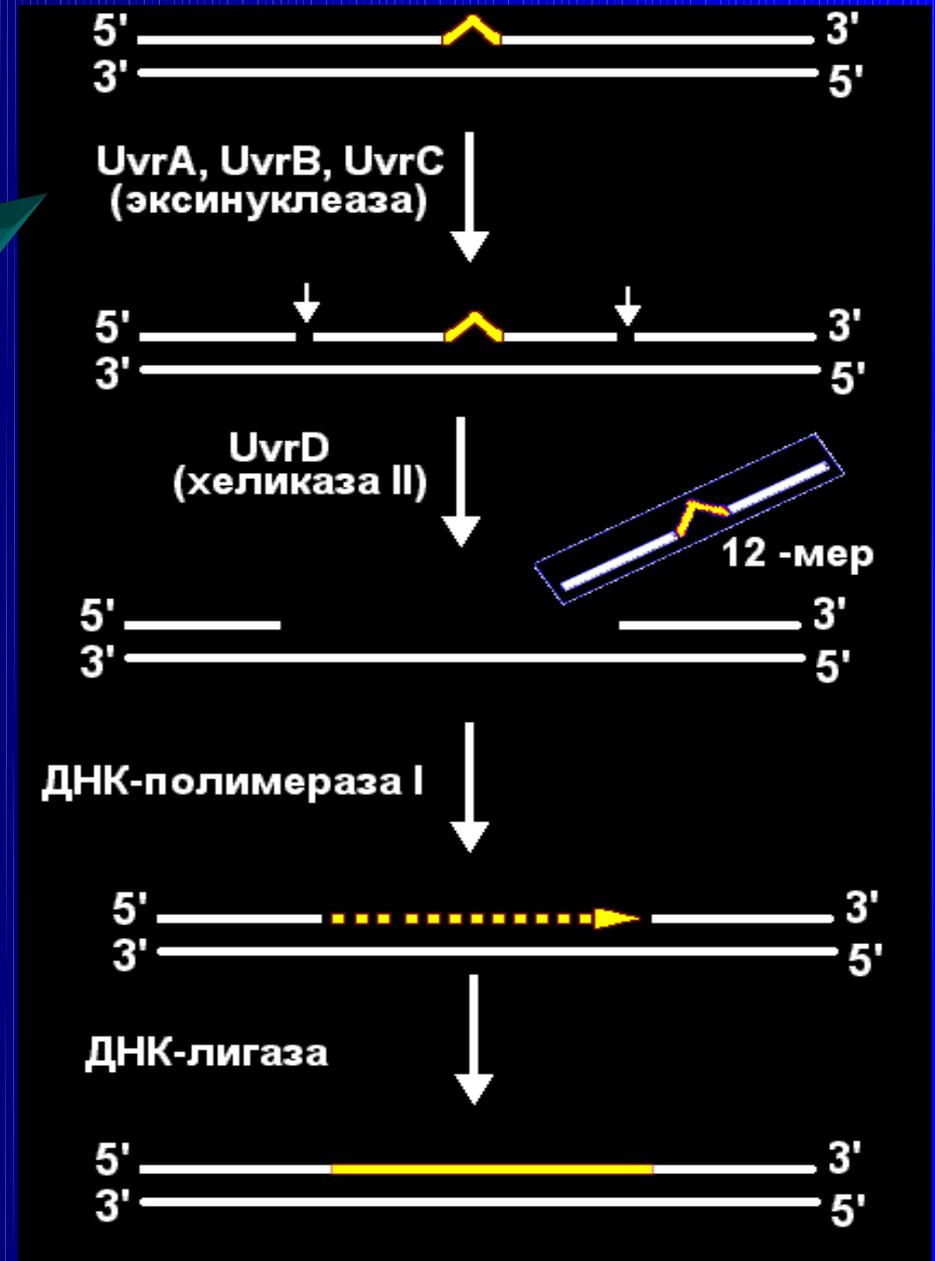
Вырезание поврежденных оснований

ДНК-лигаза
зашивает разрыв.



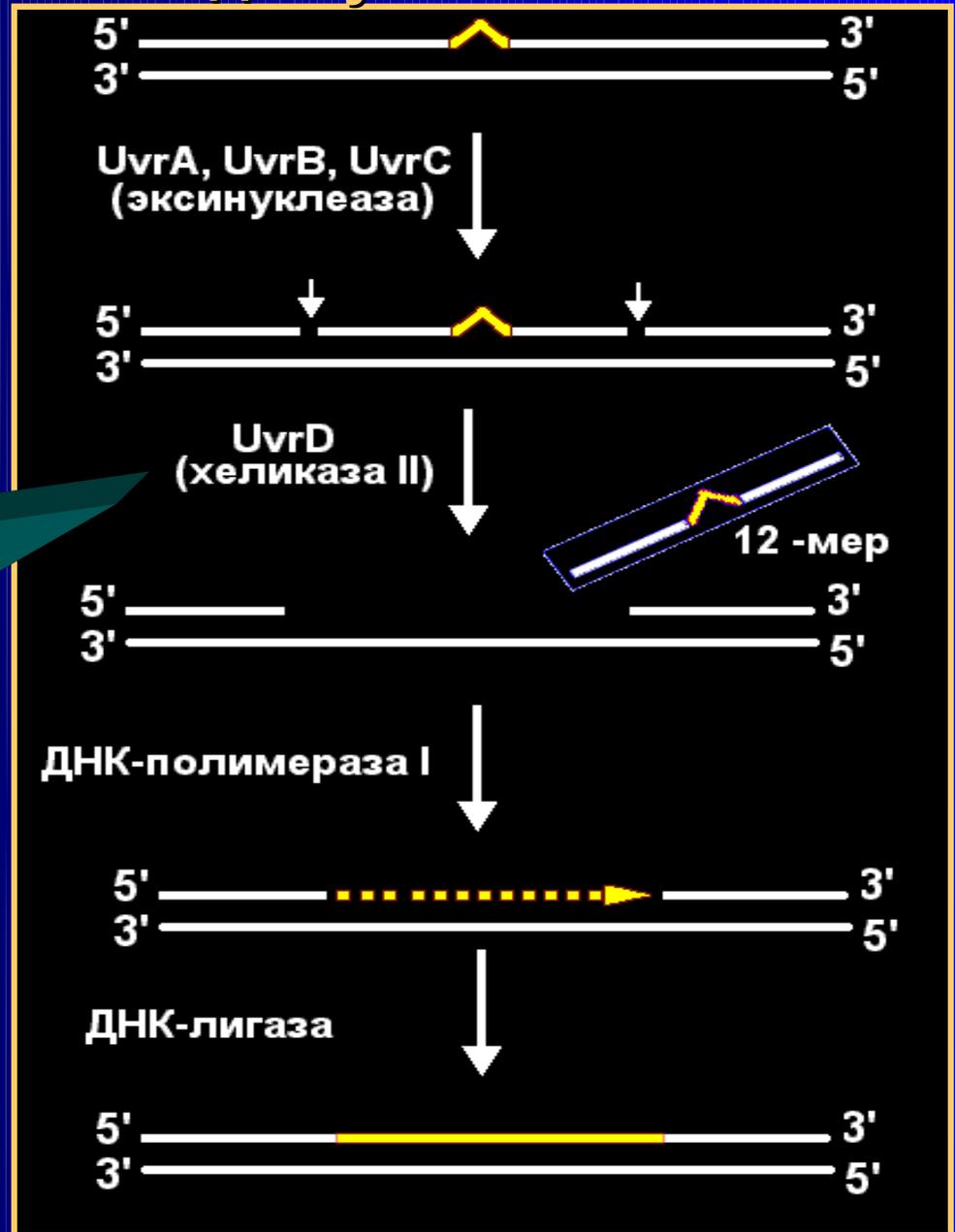
Вырезание нуклеотидов у E.coli

Белковый комплекс UvrA-2UvrB-UvrC (эксисома) узнает поврежденный участок (димер), присоединяется к нему и вносит два однонитевых разрыва с обеих сторон от димера.



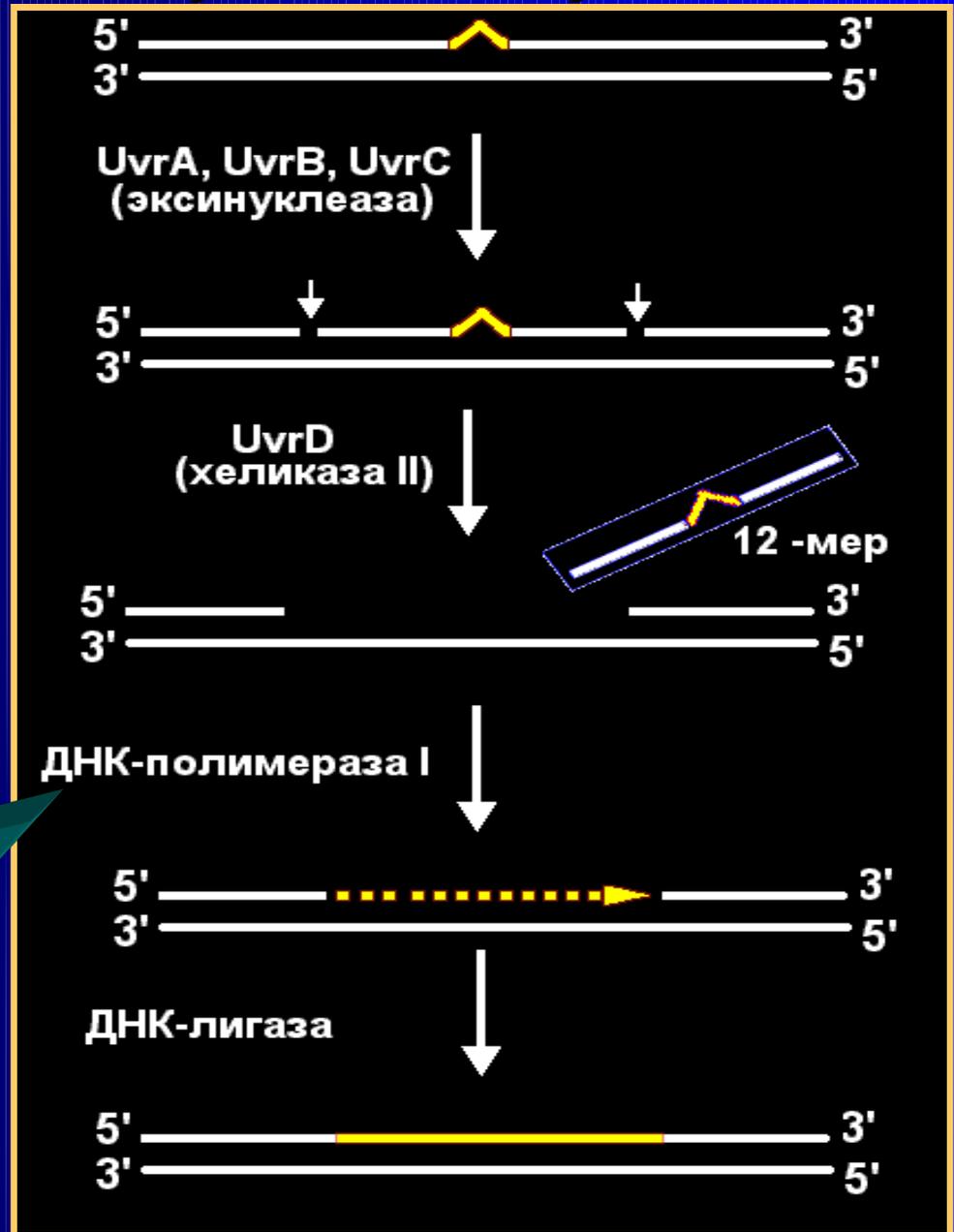
Вырезание нуклеотидов у E.coli

Короткий фрагмент длиной в 12 нуклеотидов расплетается с помощью хеликазы (UvrD) и отсоединяется.

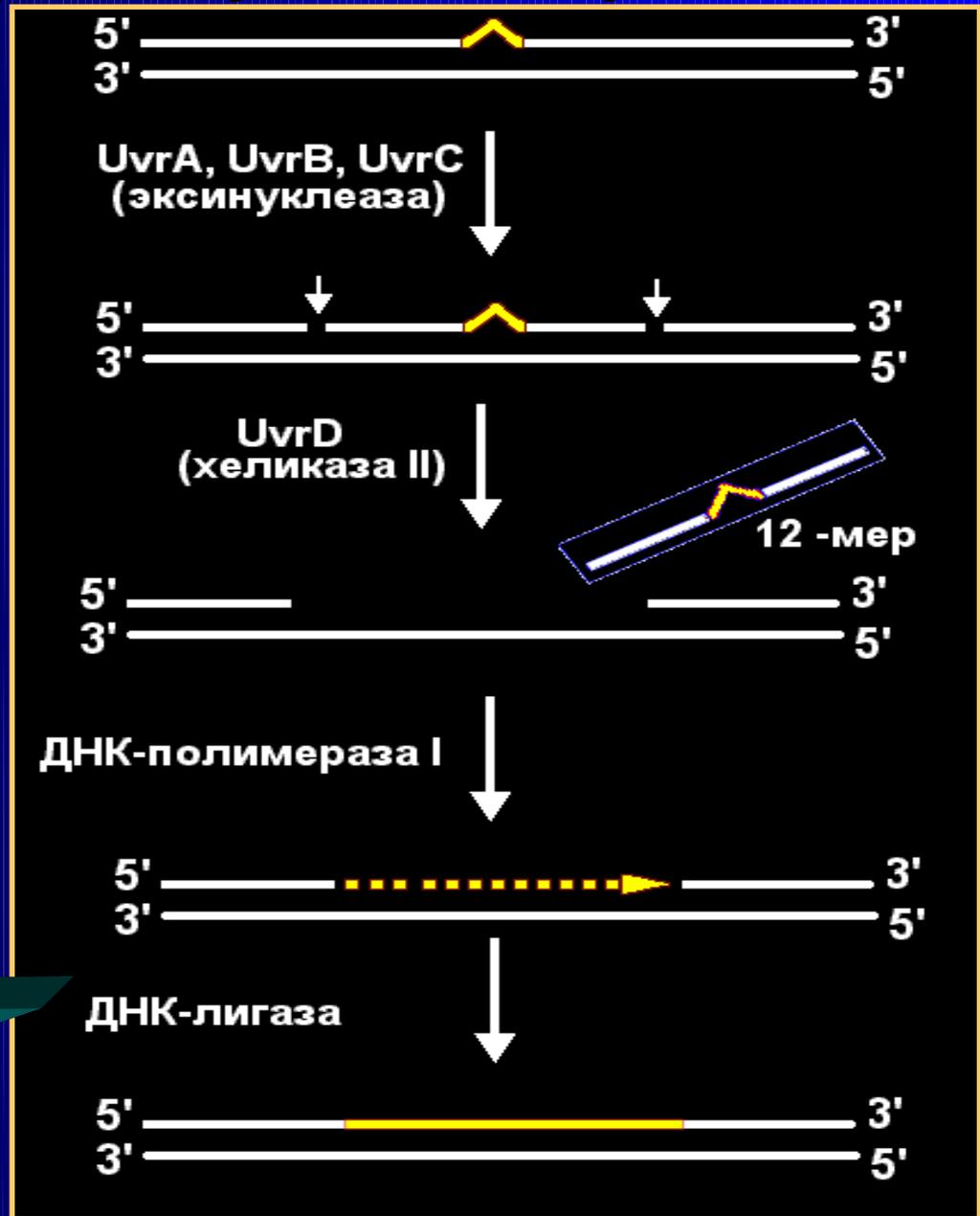


Экцизионная репарация нуклеотидов у E.coli

Образовавшаяся брешь длиной 12 нуклеотидов застраивается ДНК-полимеразой I (репаративный синтез ДНК).



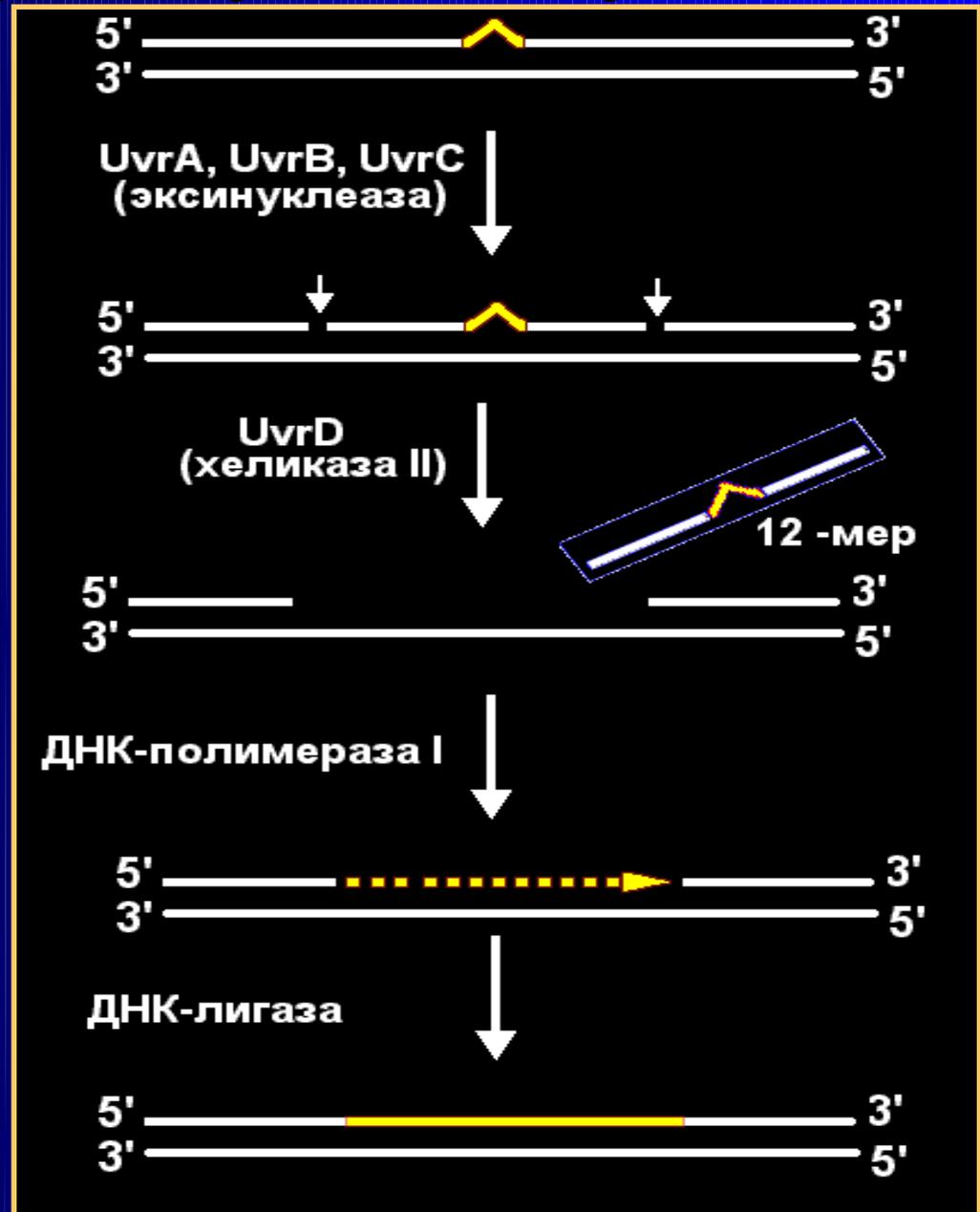
Эксцизионная репарация нуклеотидов у E.coli



Лигаза соединяет концы.

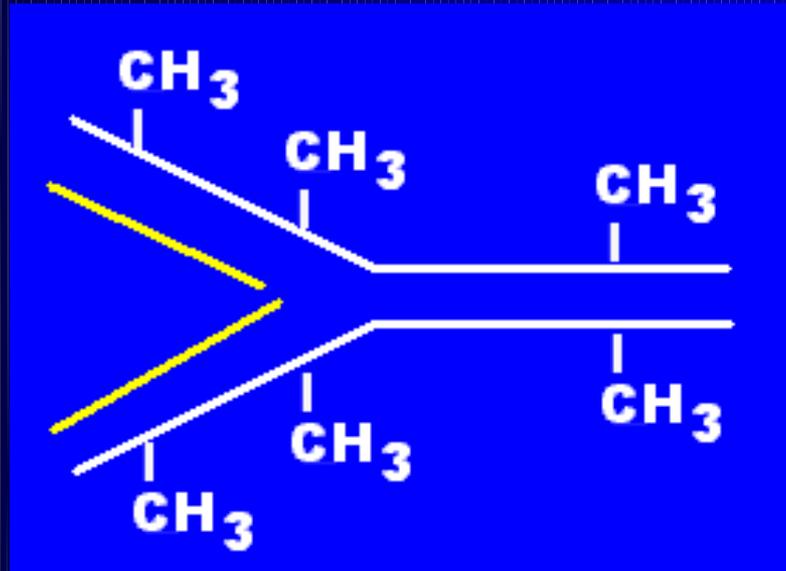
Экцизионная репарация нуклеотидов у E.coli

uvrA, uvrB, uvrC и uvrD - мутаторы



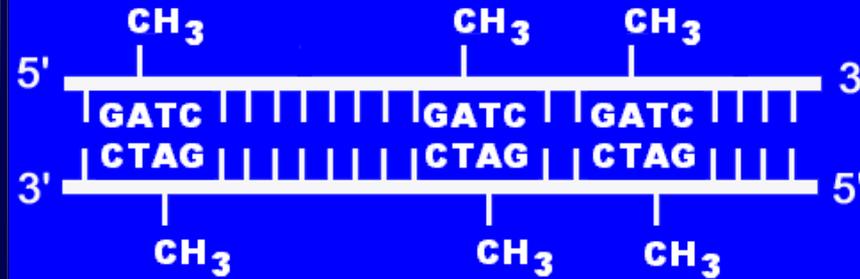
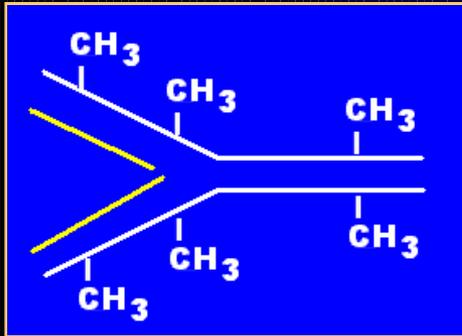
Репарация неспаренных оснований

Репарация неспаренных оснований

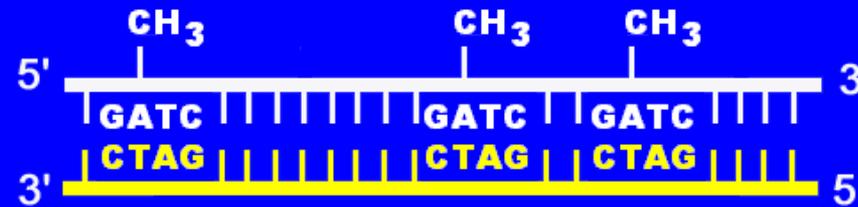


Перед репликацией ДНК находится в метилированной форме, вновь синтезированная цепь - неметилирована

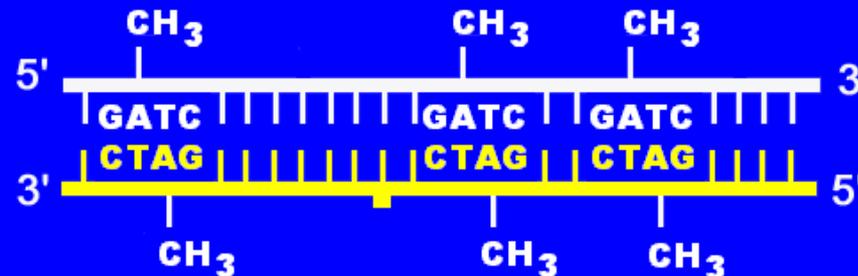
Основная роль в метилировании ДНК у *E.coli* принадлежит метилазе Dam



Репликация

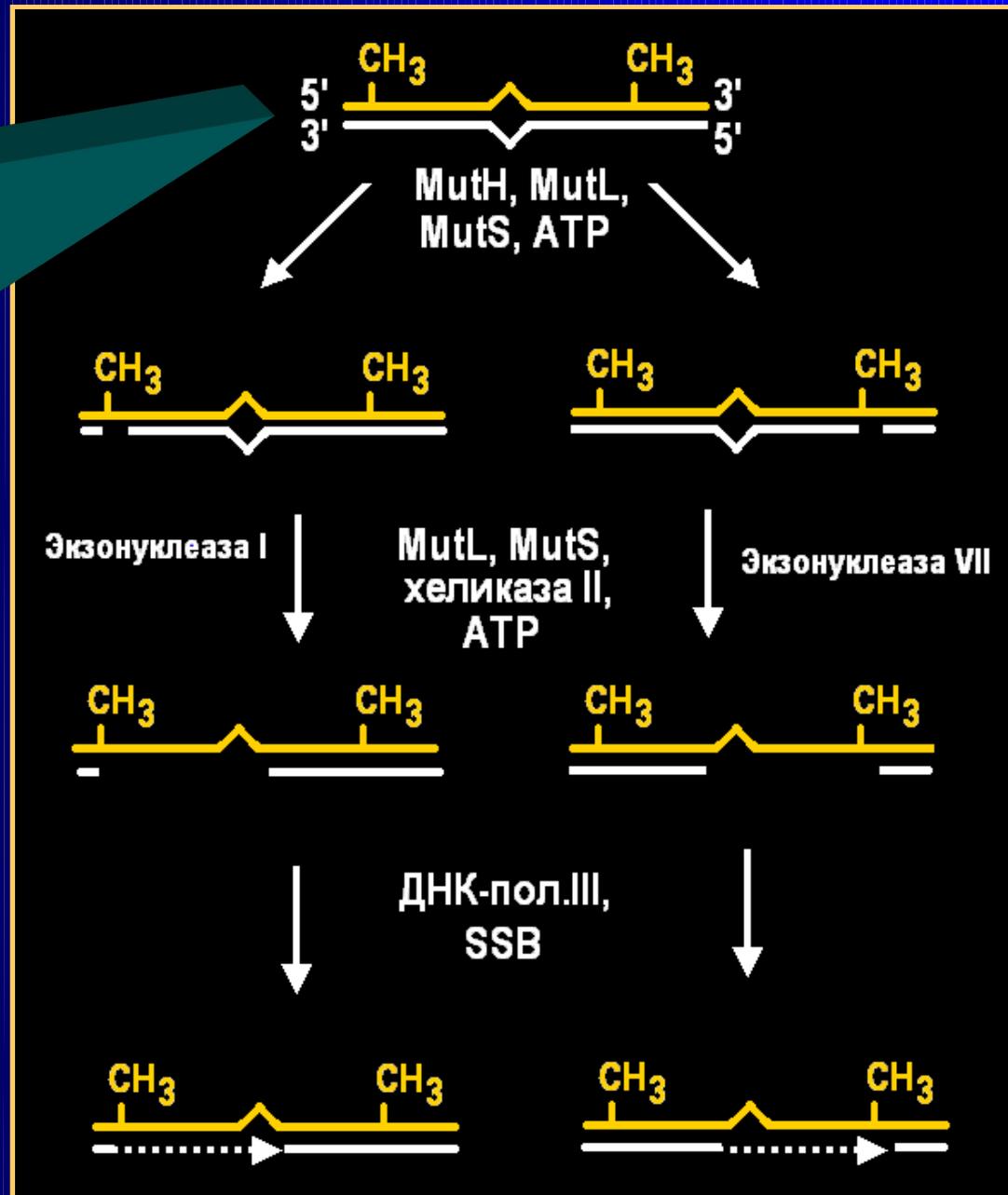


Метилирование



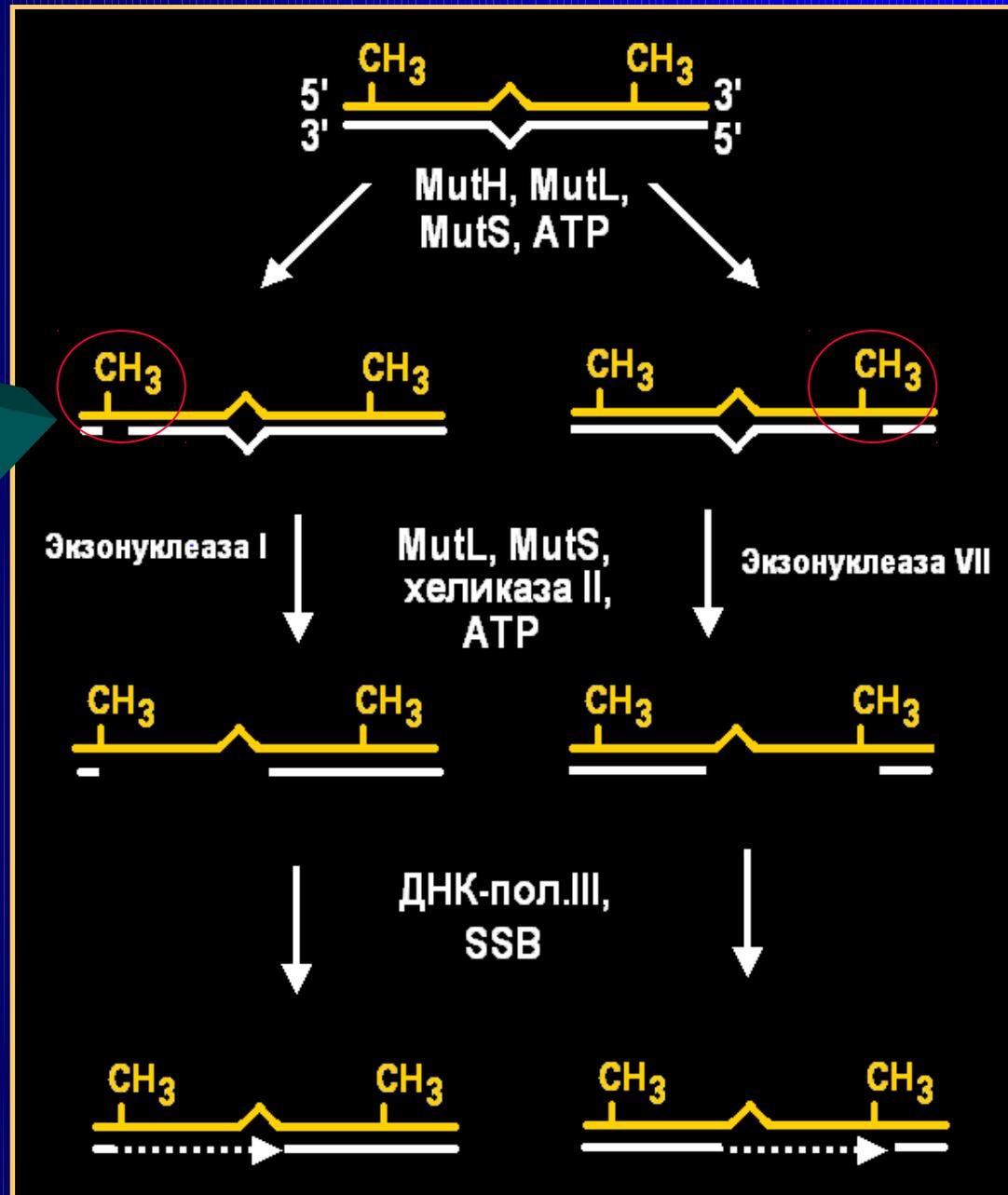
Репарация неспаренных оснований

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



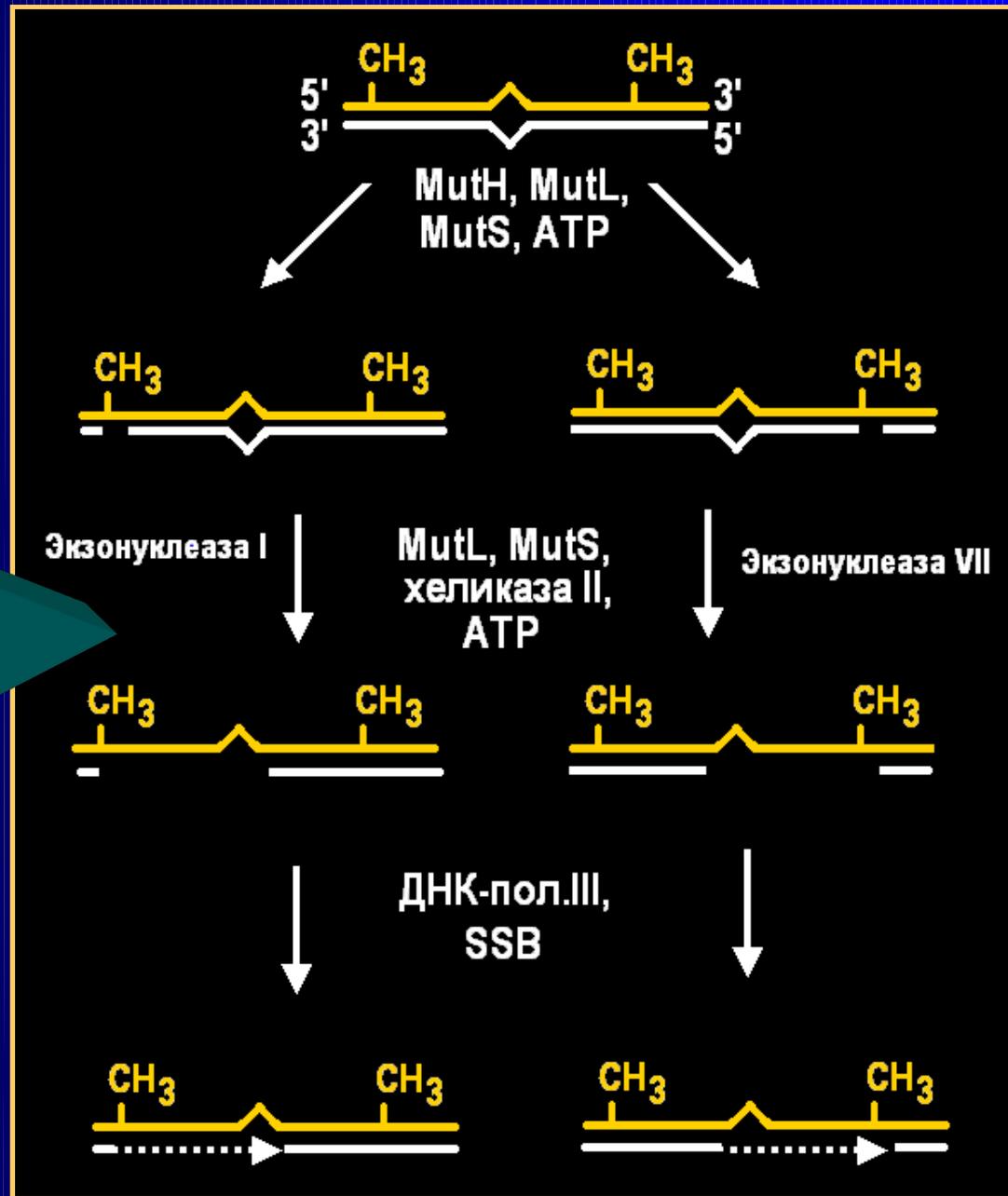
Репарация неспаренных оснований

Белок MutH разрезает неметилованную нить ДНК по сайту GATC, который может располагаться по любую сторону от неправильного основания.



Репарация неспаренных оснований

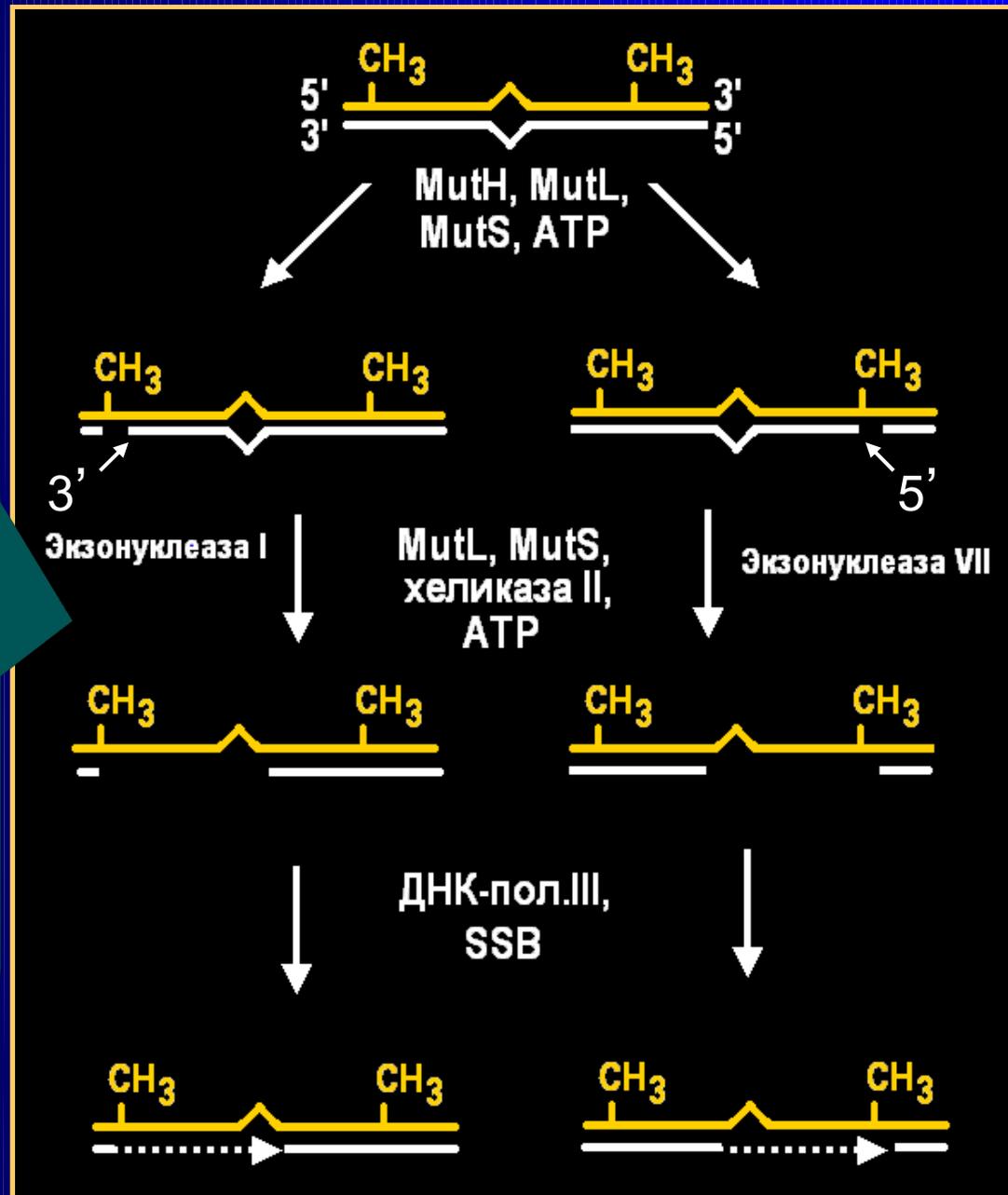
Затем ДНК-хеликаза II (MutU=UvrD) расплетает надрезанную нить ДНК между надрезом и неспаренным основанием (включая его) и вытесняет ее из гетеродуплекса.



Репарация неспаренных оснований

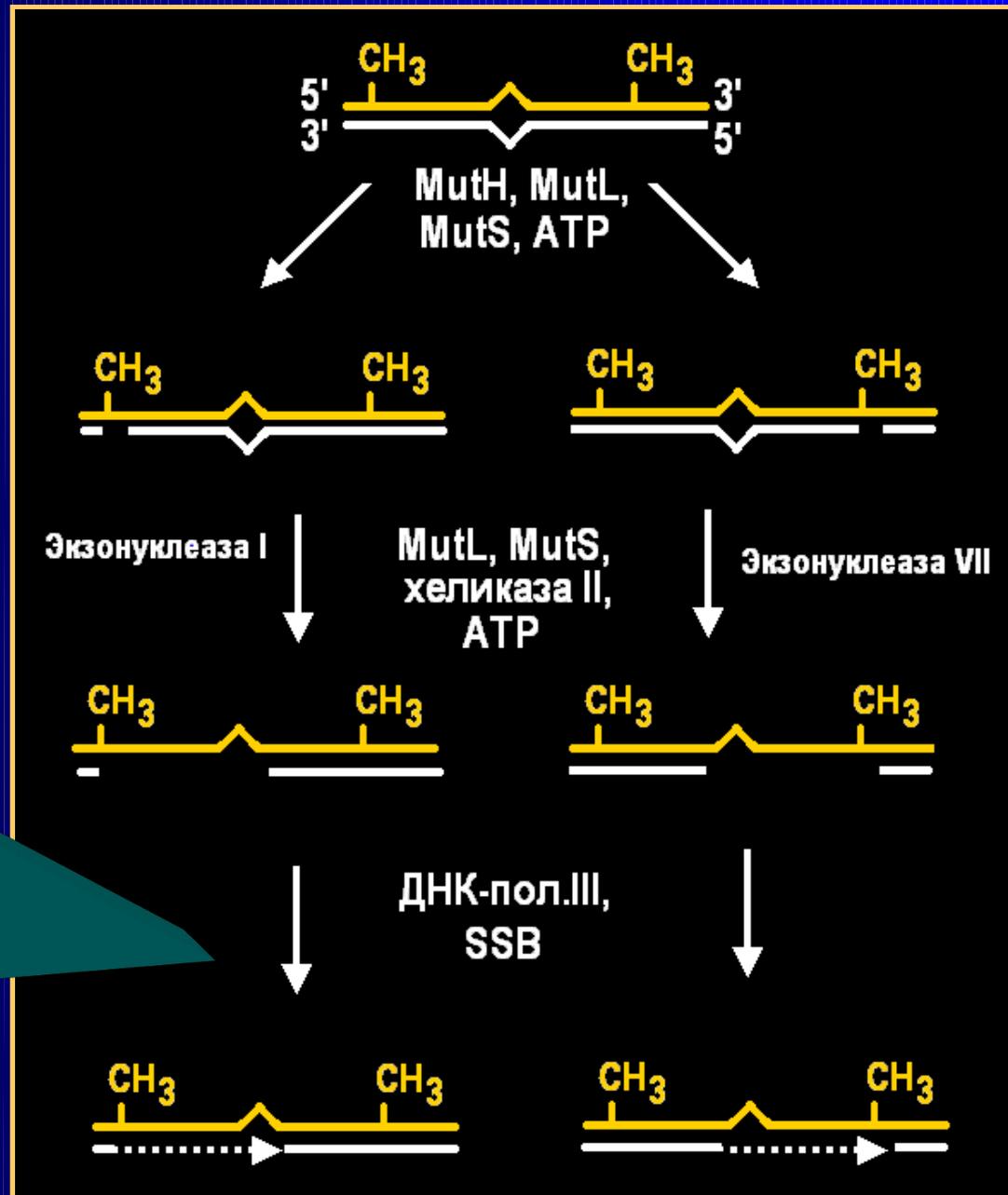
Эксонуклеаза I
(если это 3'-конец)
или эксонуклеаза VII
(если это 5'-конец)
удаляет вытесненную
нить.

Этот процесс нуждается
в MutL и MutS.
Вырезаются фрагменты
до 1000 п.н.



Репарация неспаренных оснований

Затем образовавшаяся брешь застраивается ДНК-полимеразой III в присутствии SSB-белка. Наконец, ДНК-лигаза восстанавливает фосфодиэфирную связь.



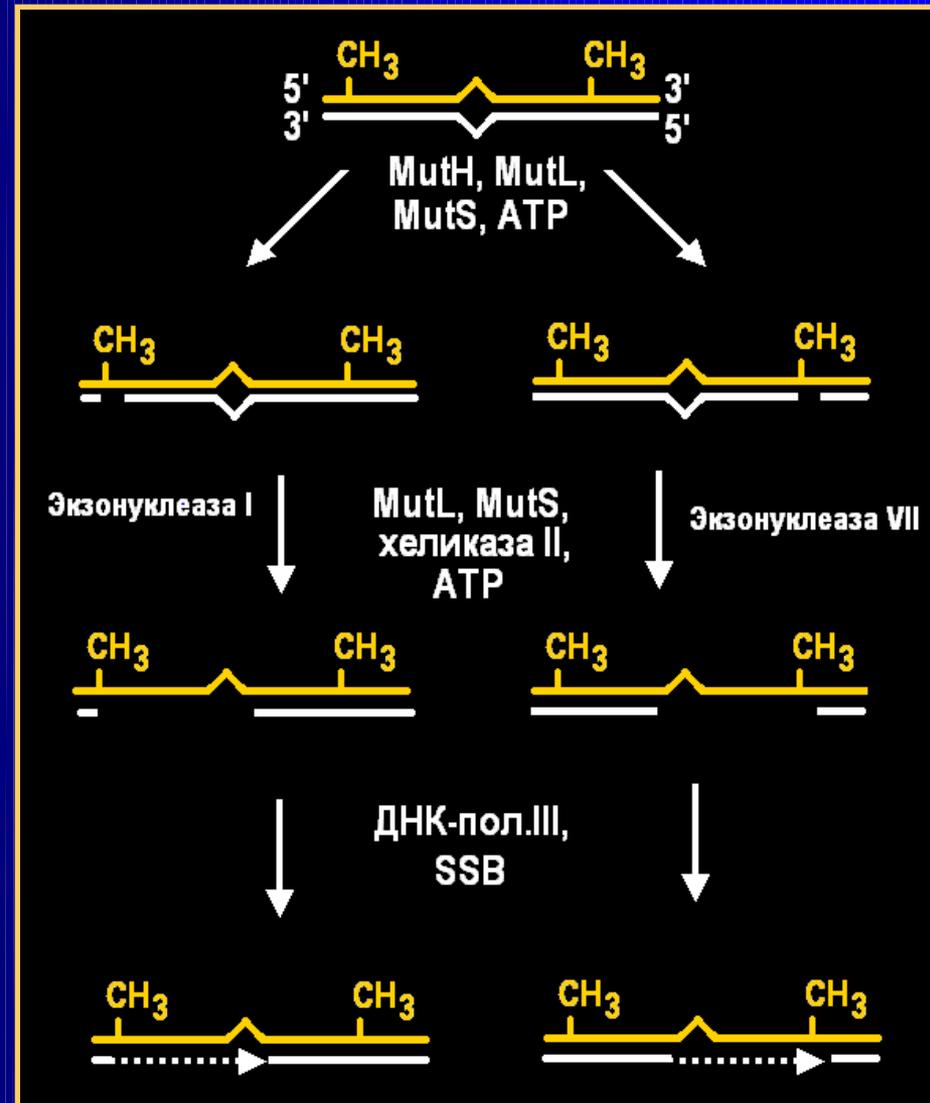
Репарация неспаренных оснований

Эксонуклеаза I – 3'-5'-активность

Эксонуклеаза VII – 5'-3'-активность

Хеликаза II = UvrD=MutU

dam, mutH, mutL, mutS, uvrD -
мутаторы

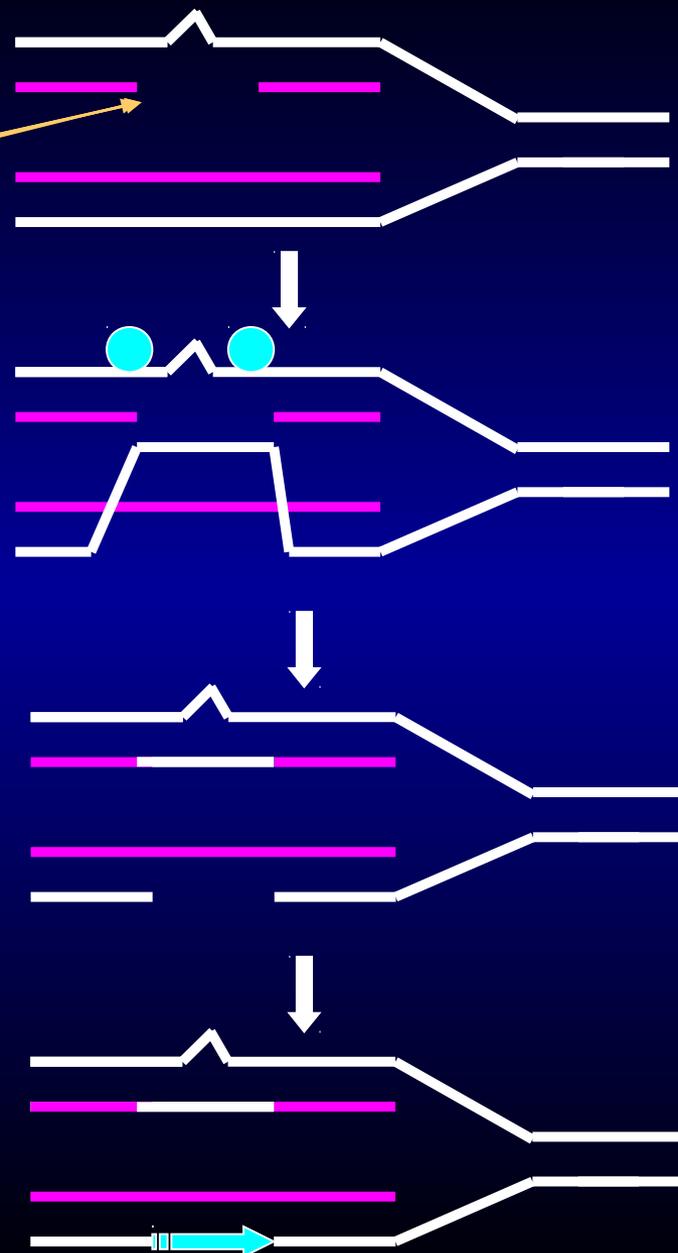


Пострепликативная рекомбинационная репарация

Пострепликативная рекомбинационная репарация

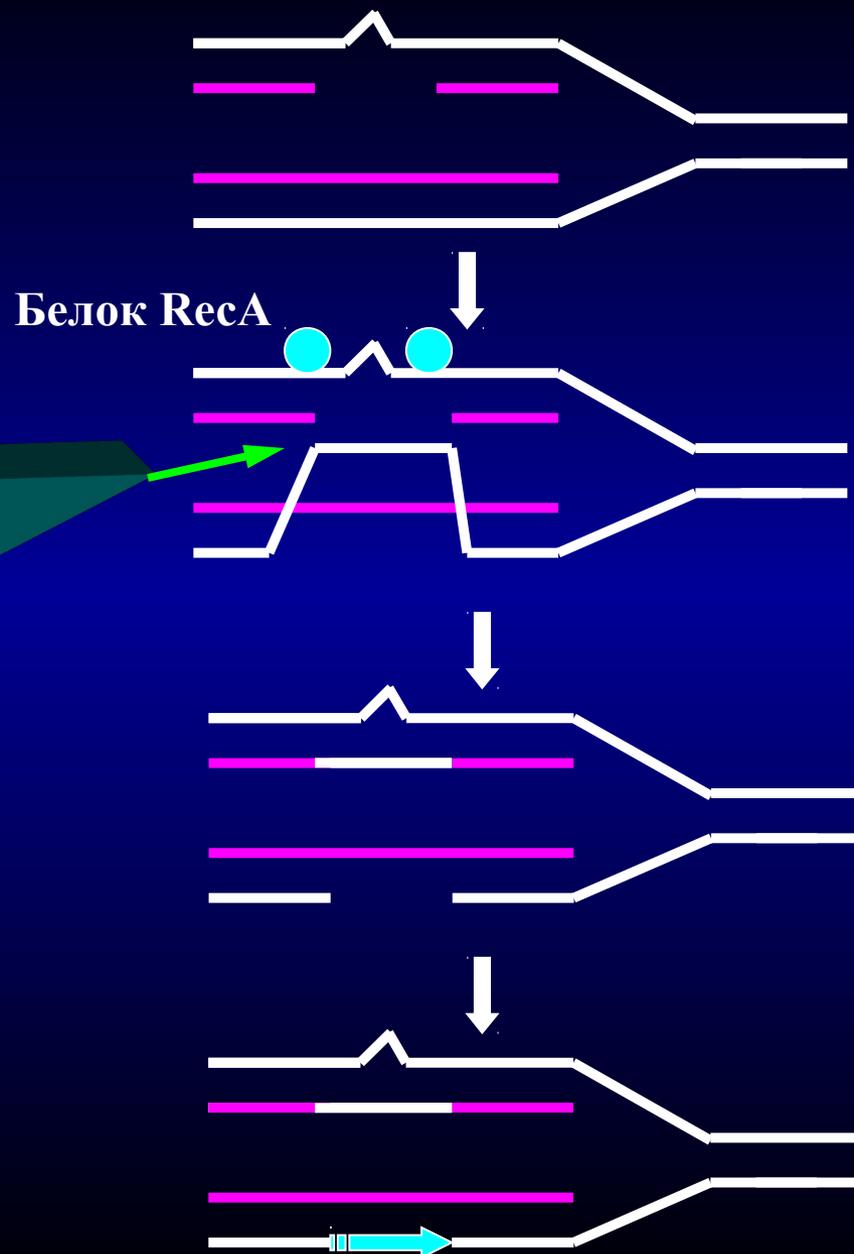
Синтез ДНК (ДНК-полимераза III) останавливается перед участком, содержащим повреждение и возобновляется позади него. В результате участок дочерней цепи ДНК содержит брешь длиной иногда несколько тысяч нуклеотидов.

Эта брешь залечивается с помощью рекомбинации.

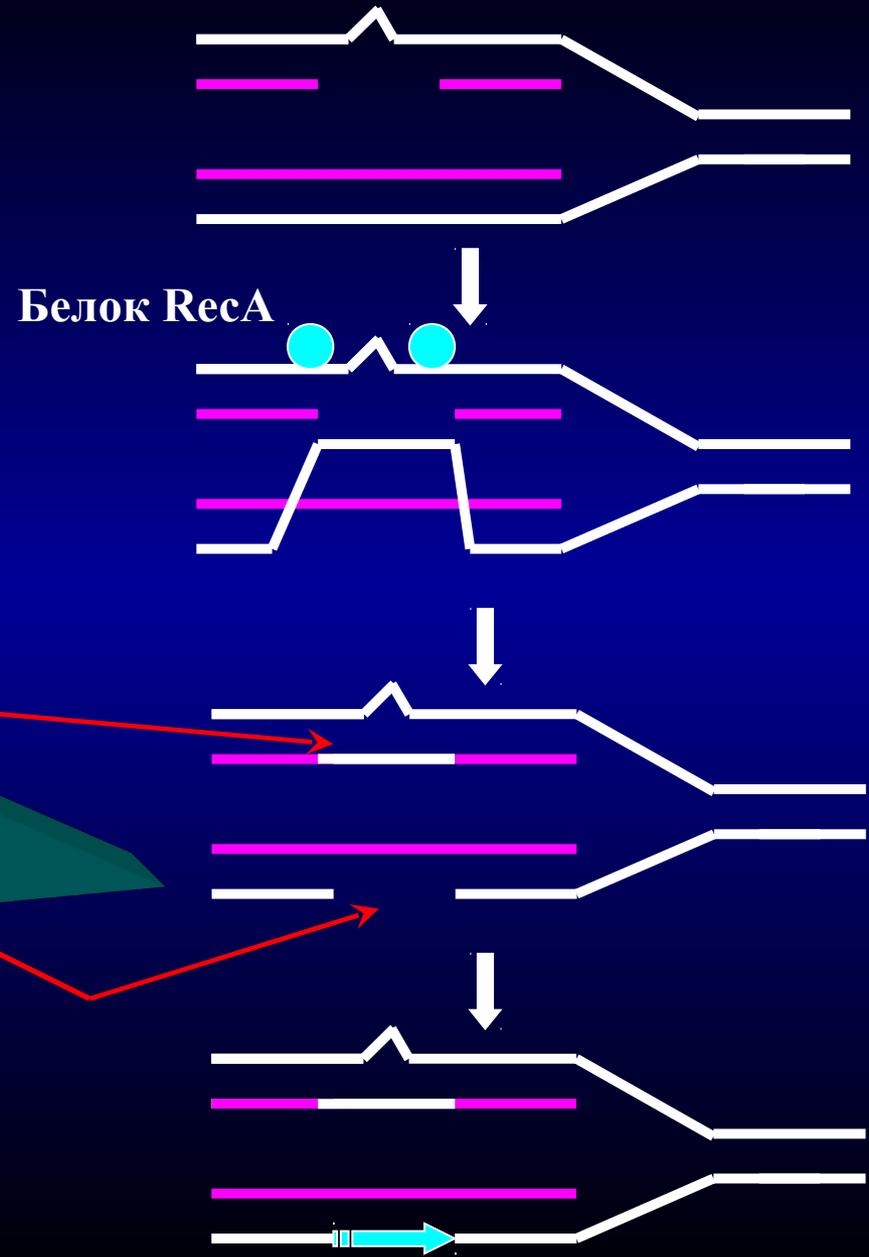


Пострепликативная рекомбинационная репарация

Из матричной (родительской) цепи ДНК с помощью белка RecA вырезается участок равный по длине бреши и встраивается в брешь (рекомбинация).



Пострепликативная рекомбинационная репарация



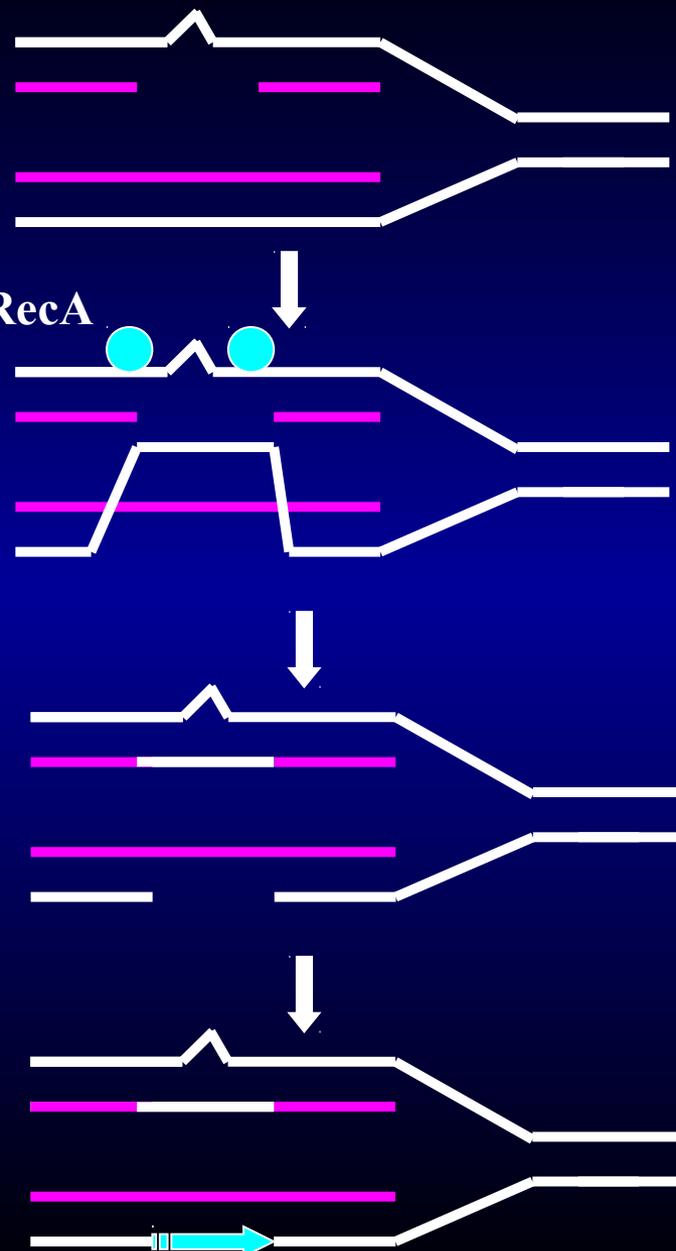
Белок RecA

Таким образом ликвидируется брешь в дочерней нити, но при этом образуется брешь в материнской нити.

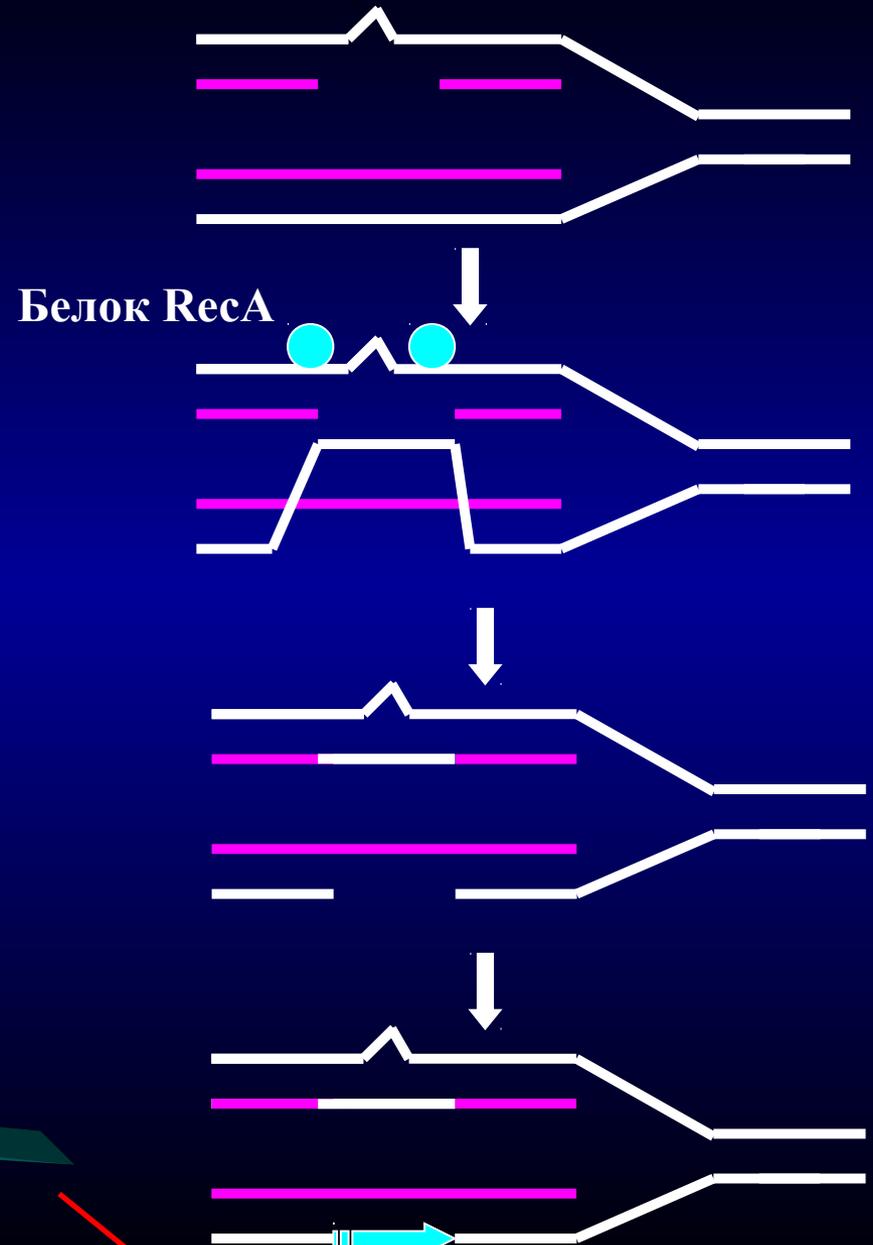
Пострепликативная рекомбинационная репарация

Белок RecA

Брешь, оставшаяся после вырезания участка из материнской нити застраивается ДНК-полимеразами I и II (репаративный синтез).



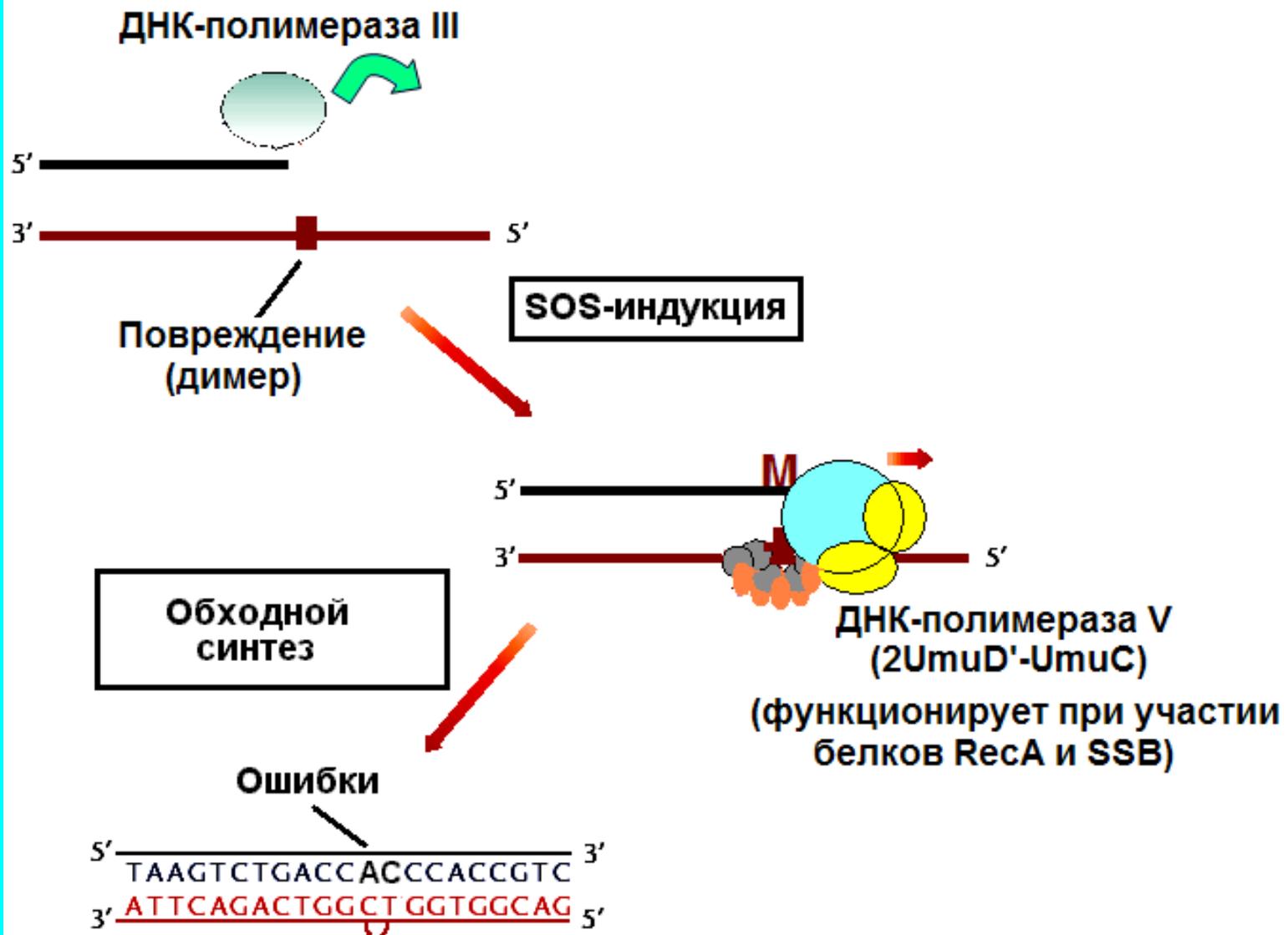
Пострепликативная рекомбинационная репарация



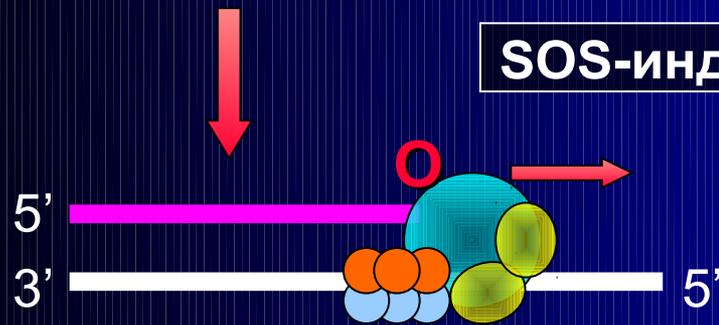
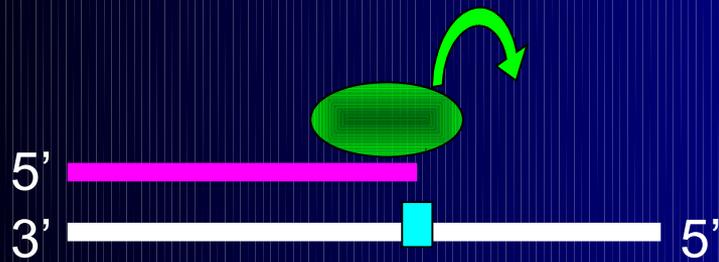
Лигаза соединяет концы



SOS-репарация



SOS-репарация



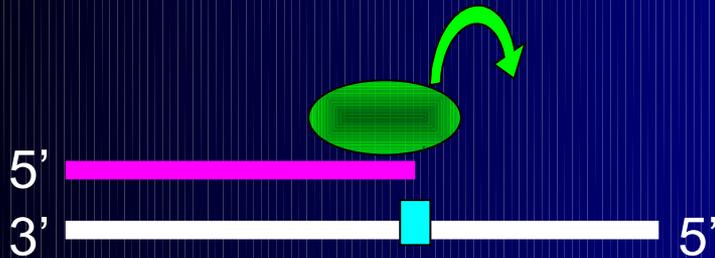
○ - ошибка

ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC)

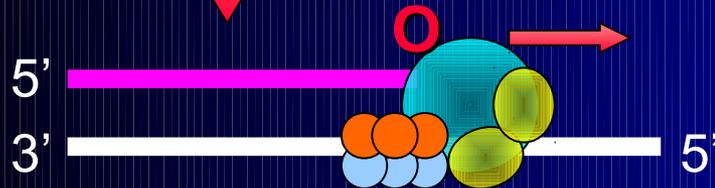
Функционирует при участии
белков RecA и SSB

ДНК-полимераза IV
(DinB)

SOS-репарация



SOS-индукция



○ - ошибка

Ошибки

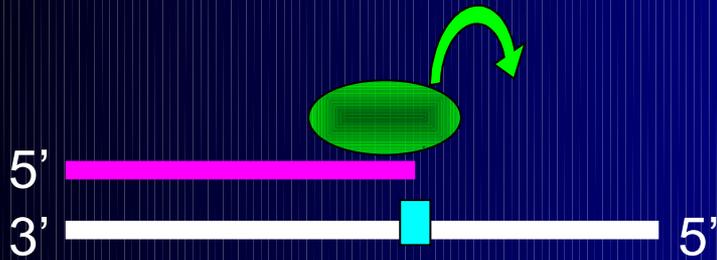


ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC)

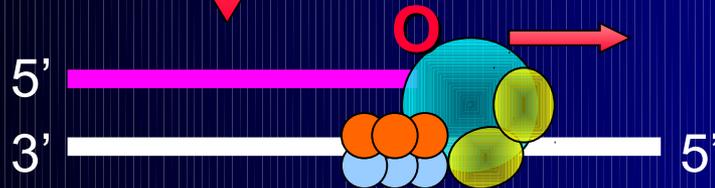
Функционирует при участии
белков RecA и SSB

ДНК-полимераза IV
(DinB)

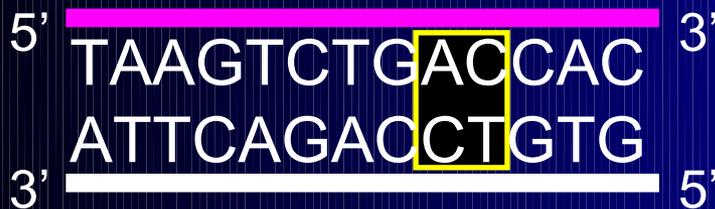
SOS-репарация



SOS-индукция



Ошибки



ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC)

Функционирует при участии
белков RecA и SSB

ДНК-полимераза IV
(DinB)

SOS-репарация

ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC)

Функционирует при участии
белков RecA и SSB

ДНК-полимераза IV
(DinB)

В штаммах *E.coli*, дефектных по генам
umuD', *umuC* или *dinB* УФ-индуцированный
мутагенез отсутствует

SOS-система является комплексной – в неё
вовлечены продукты, по крайней мере,
25 генов

Вывод:

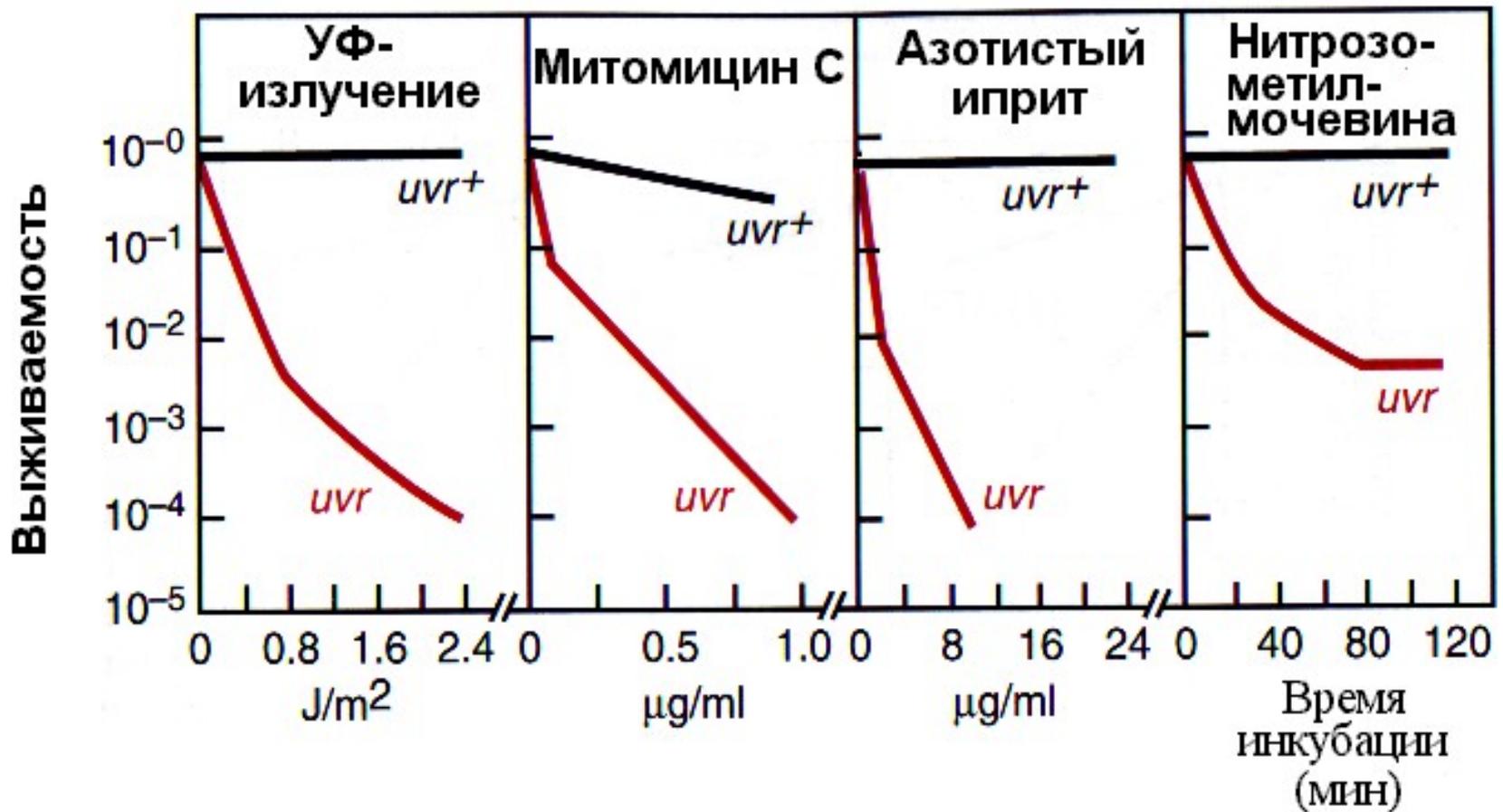
- Процессы репарации являются одним из важнейших механизмов поддержания стабильности генетического материала

Факт:

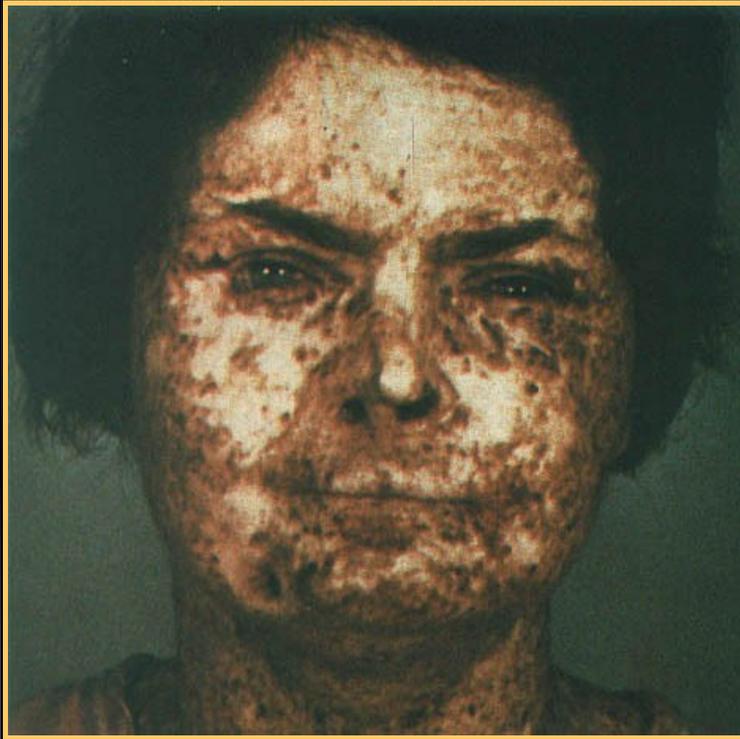
- Системы репарации не функционируют со 100% эффективностью.
- В результате часть предмутационных повреждений реализуется в мутации.

- Поддержание стабильности генетического материала необходимо не только в филогенезе для стабильного сохранения вида, но также и в онтогенезе.

Чувствительность *uvr*-мутантов *E.coli* к летальному действию некоторых мутагенов



Некоторые наследственные заболевания человека, вызванные нарушениями систем репарации



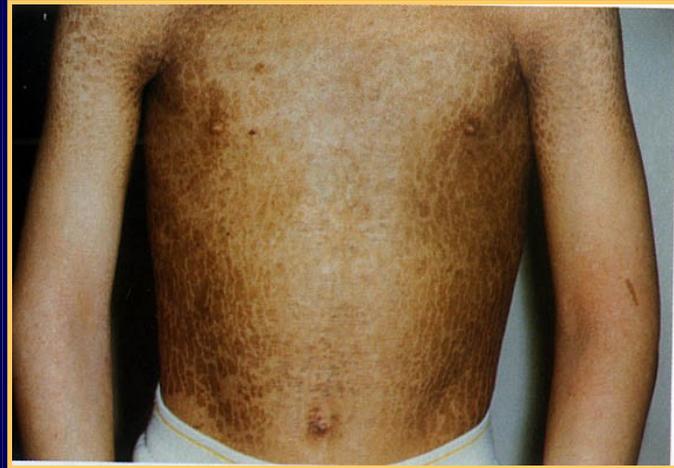
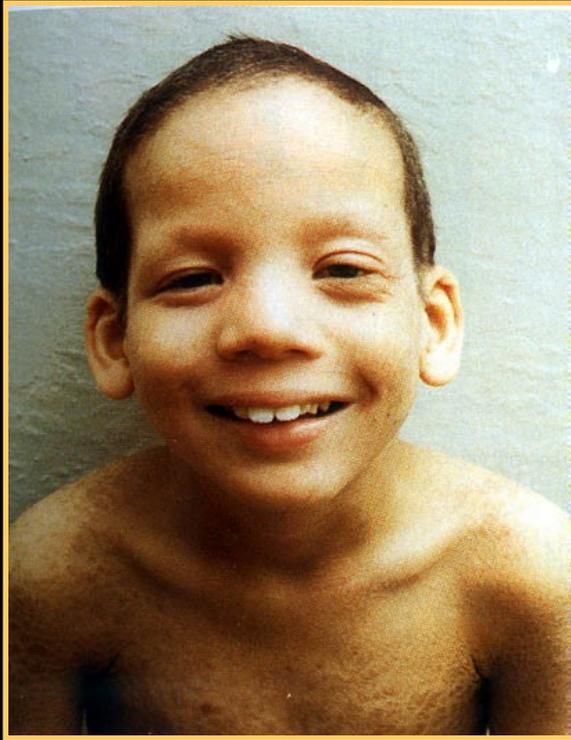
Пигментная ксеродерма

Нарушена эксцизионная
репарация.

Клинические проявления:

- дерматозы под действием солнечного света
- рак кожи
- неврологические нарушения
- дефекты роста и развития
- преждевременное старение различных систем

Некоторые наследственные заболевания человека, вызванные нарушениями систем репарации



Трихотидистрофия

Нарушена эксцизионная репарация.

Клинические проявления:

- умственная отсталость
- повышенная фоточувствительность
- ихтиоз (чешуйчатая кожа)
- неврологические нарушения
- дефекты роста и развития

Некоторые наследственные заболевания человека, вызванные нарушениями систем репарации



Синдром Блума

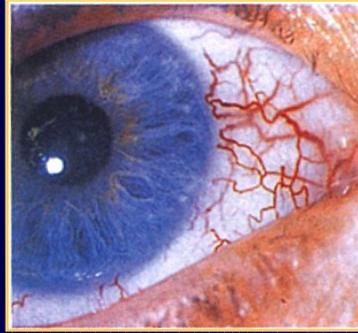
Подавлен репаративный синтез.
Дефект ДНК-хеликазы.

Высокая частота хромосомных
аббераций.

Клинические проявления:

- задержка роста и развития
- нарушения иммунной системы
- предрасположенность к раковым заболеваниям
- предрасположенность к инфекционным заболеваниям
- свето-индуцируемое поражение капилляров кожи

Некоторые наследственные заболевания человека, вызванные нарушениями систем репарации



Телангиэктазия – расширение капилляров.

Атаксия-телангиэктазия

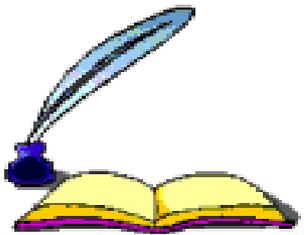
Подавлен репаративный синтез.

Высокая частота хромосомных aberrаций.

Высокая чувствительность к мутагенам.

Клинические проявления:

- неврологические дефекты (церебральная атаксия)
- нарушения иммунной системы
- предрасположенность к раковым заболеваниям
- прогрессирующая умственная отсталость
- спонтанные хромосомные aberrации



Рекомендуемая литература

Сойфер В.Н. Репарация генетических повреждений.

Современное естествознание.
Энциклопедия. Т.8, 32 - 42.