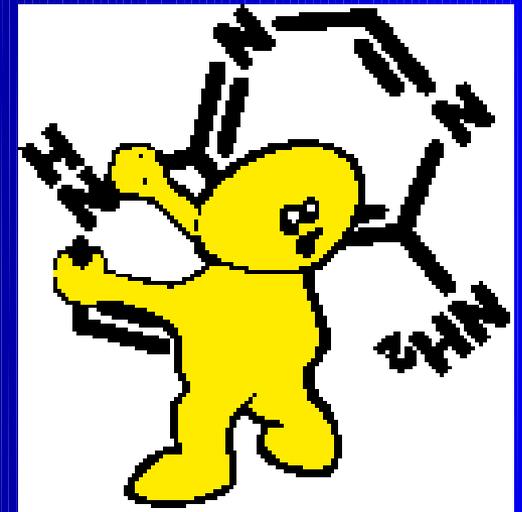


Репарация ДНК

Репарация ДНК

- Первичная структура ДНК является динамичной и подвергается постоянным изменениям.



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

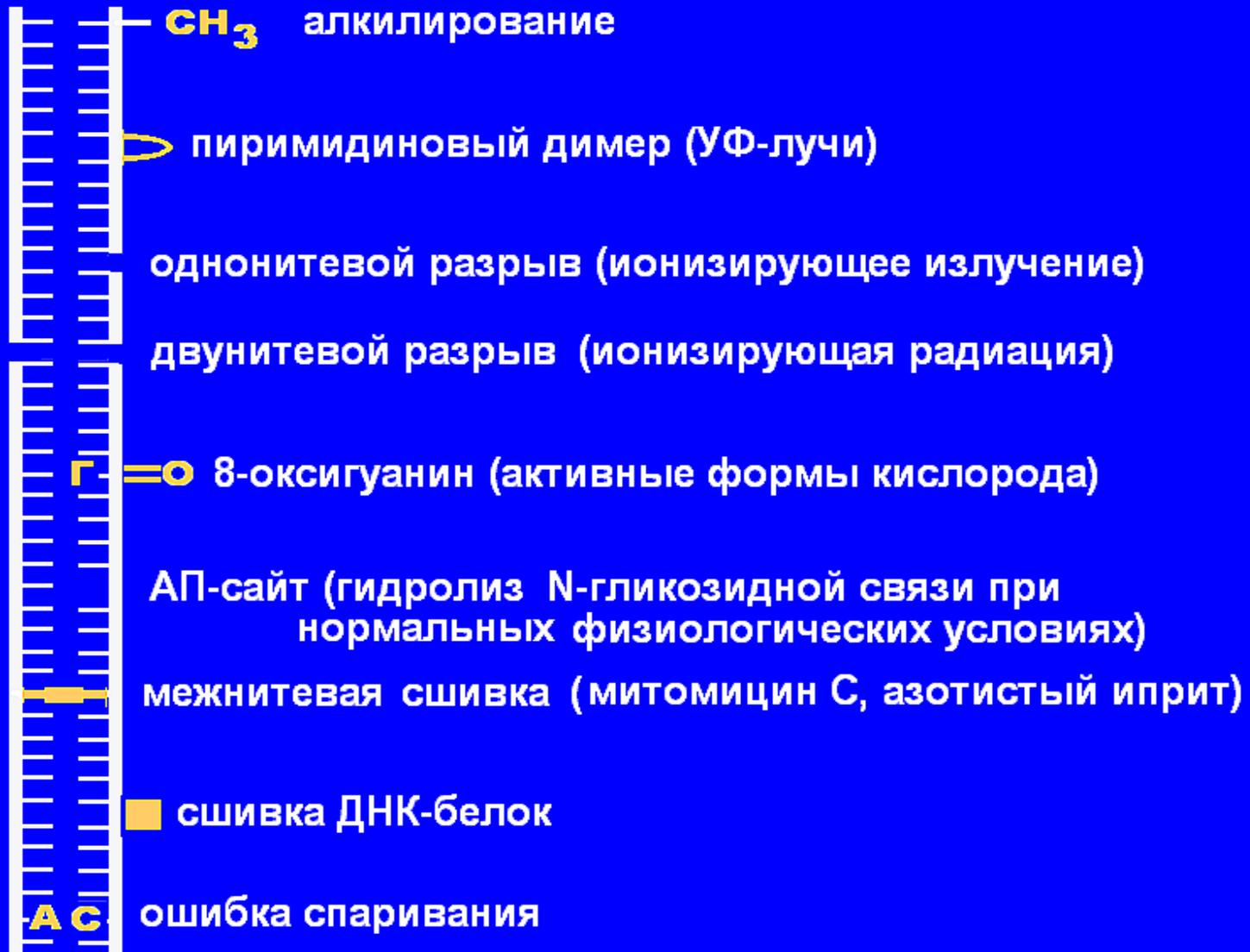
- Повреждение ДНК – это не мутация.
- Мутация – это наследственное изменение в нуклеотидной последовательности генома организма.

- 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



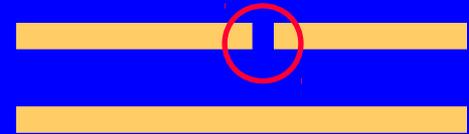
Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

Эндонуклеазы

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



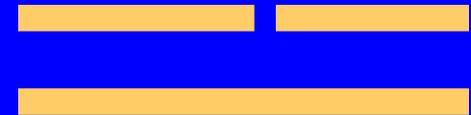
Некоторые ферменты, участвующие в репарации

Фермент

Свойства

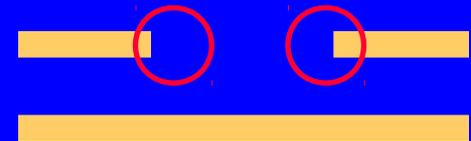
Эндонуклеазы

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

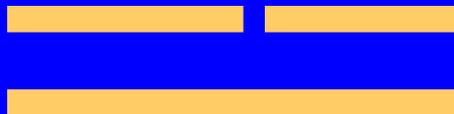


Экзонуклеазы

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 
Эксонуклеазы	Удаляют нуклеотиды по одному с 3'- или 5'-конца полинуклеотидной цепи 
ДНК-полимеразы	Заполняют бреши, образованные эксонуклеазами 

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. Эксцизионная 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



Механизмы репарации

1. Восстановление исходной структуры
2. Эксцизионная репарация
 - а) Вырезание оснований
 - б) Вырезание нуклеотидов
3. Пострепликативная репарация
 - а) Рекомбинационная репарация
 - б) Репарация неспаренных оснований
 - в) 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.

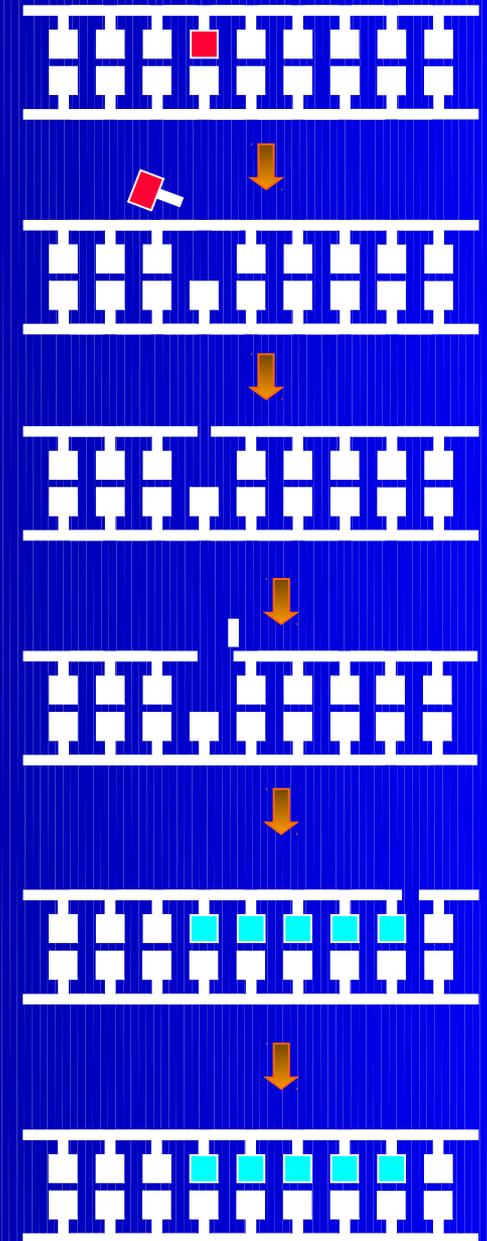
АП-сайт распознается АП-эндонуклеазой, которая вводит в нить ДНК разрыв.

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

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

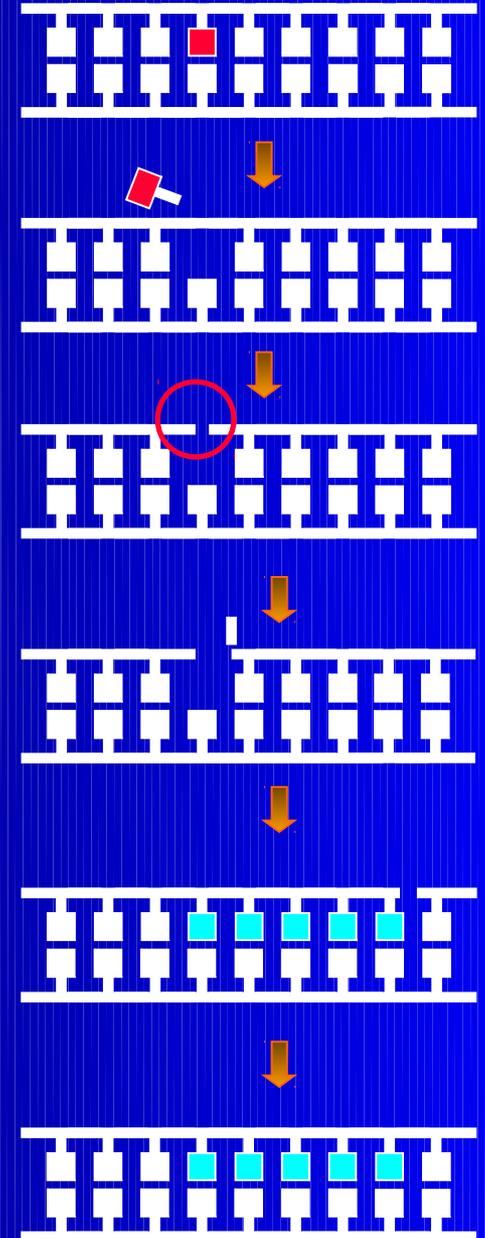
Вырезание поврежденных оснований

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



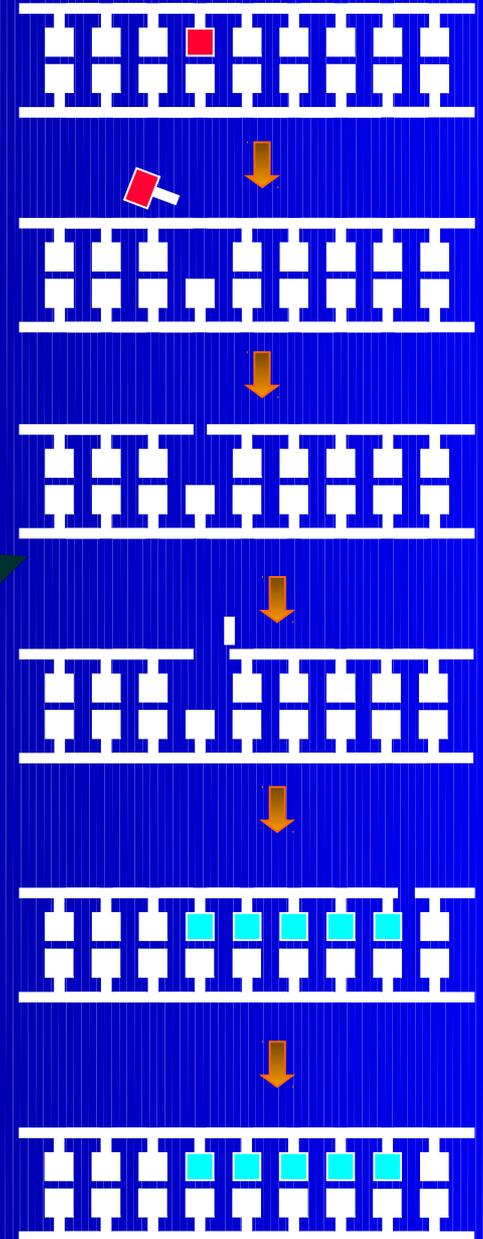
Вырезание поврежденных оснований

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



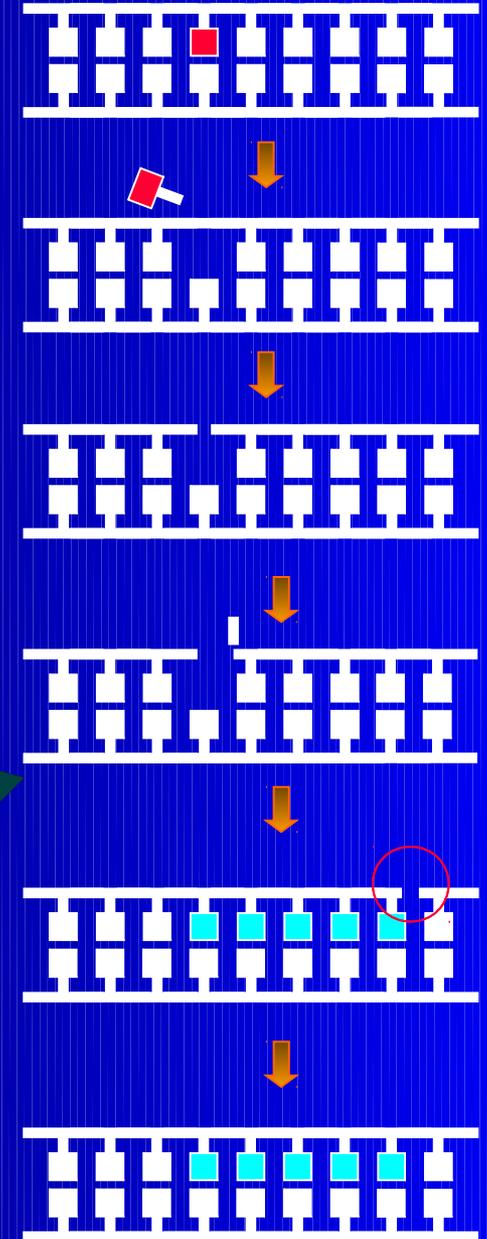
Вырезание поврежденных оснований

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



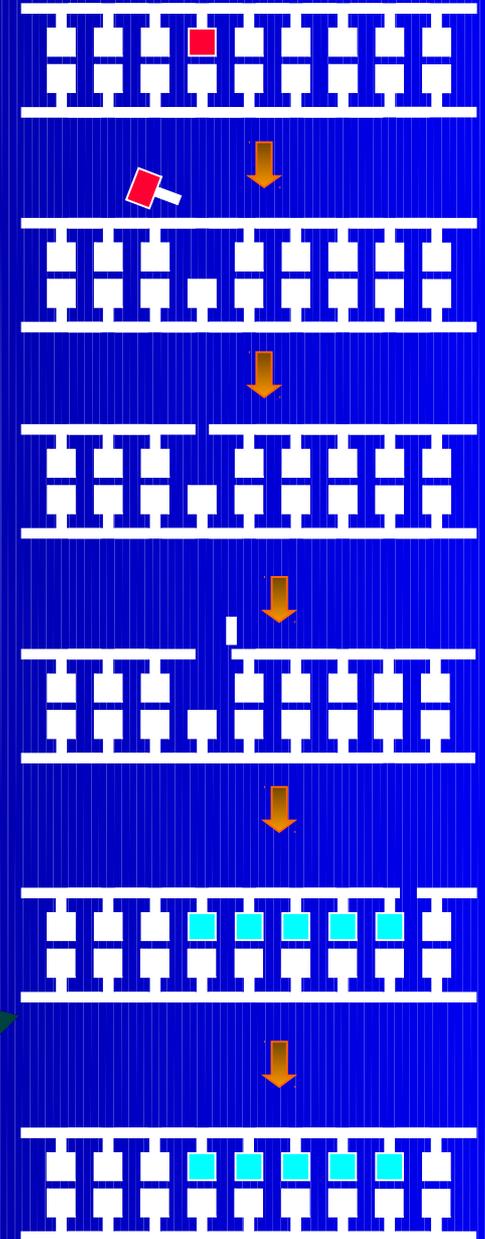
Вырезание поврежденных оснований

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



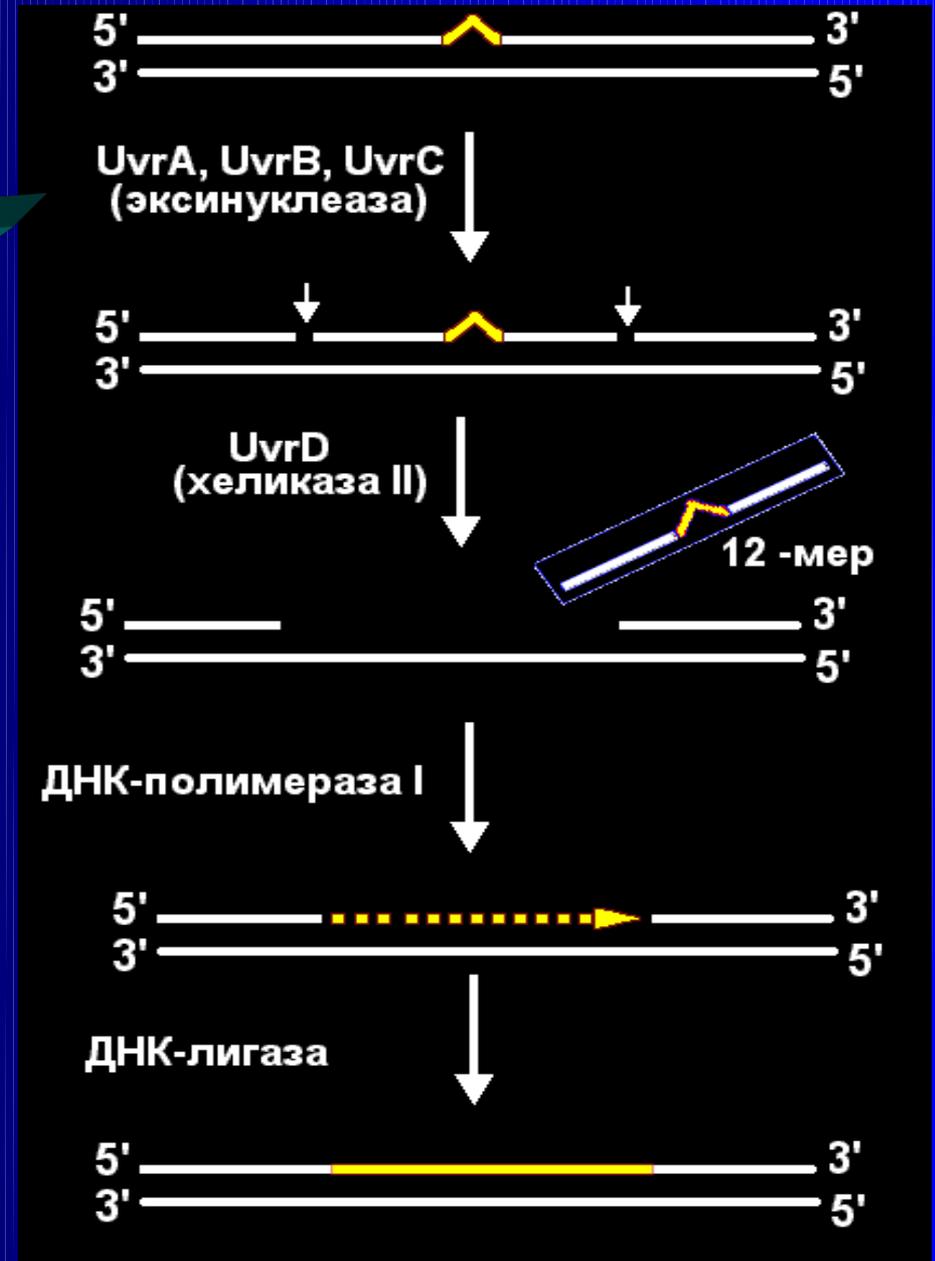
Вырезание поврежденных оснований

ДНК-лигаза
зашивает разрыв.



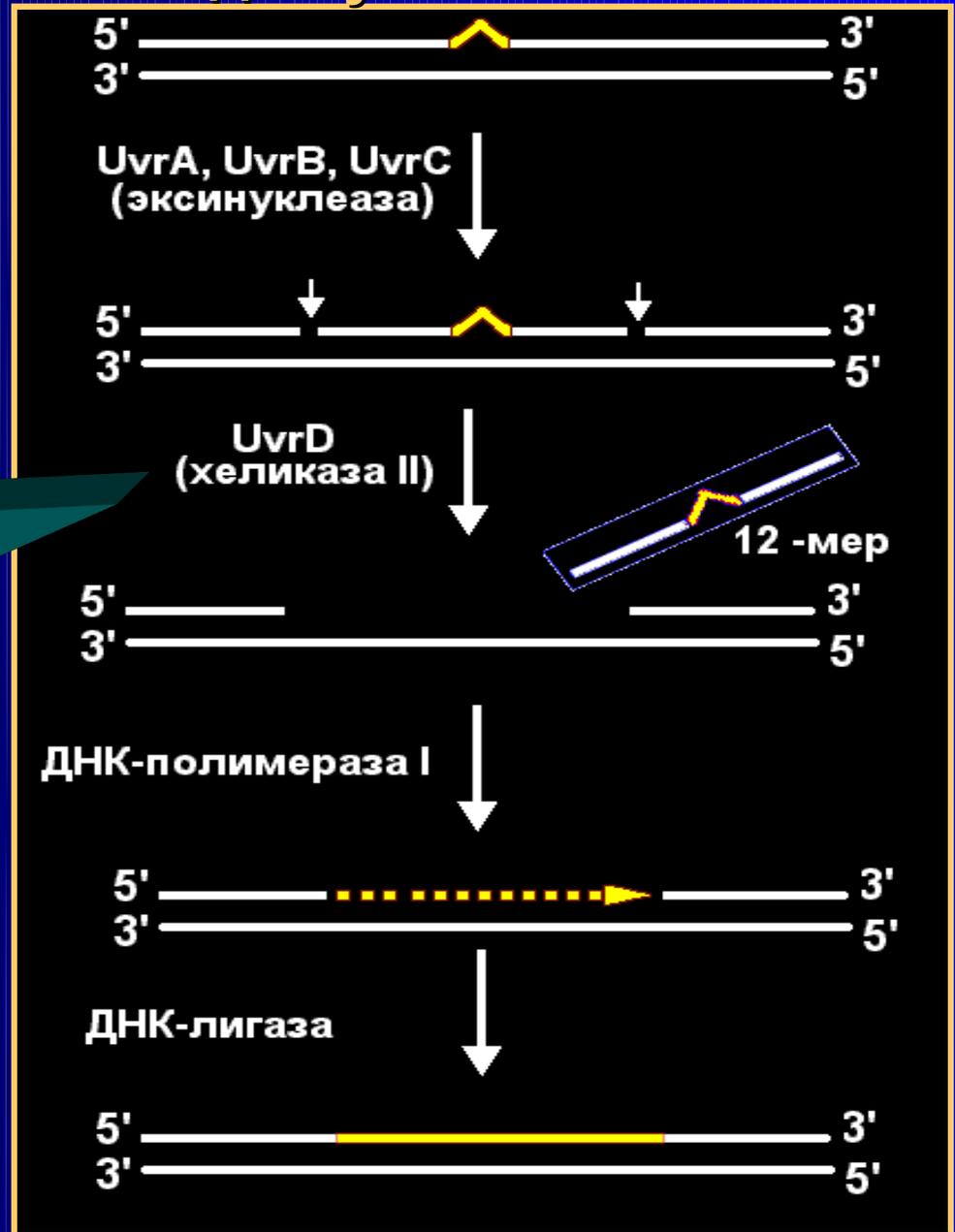
Вырезание нуклеотидов у E.coli

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



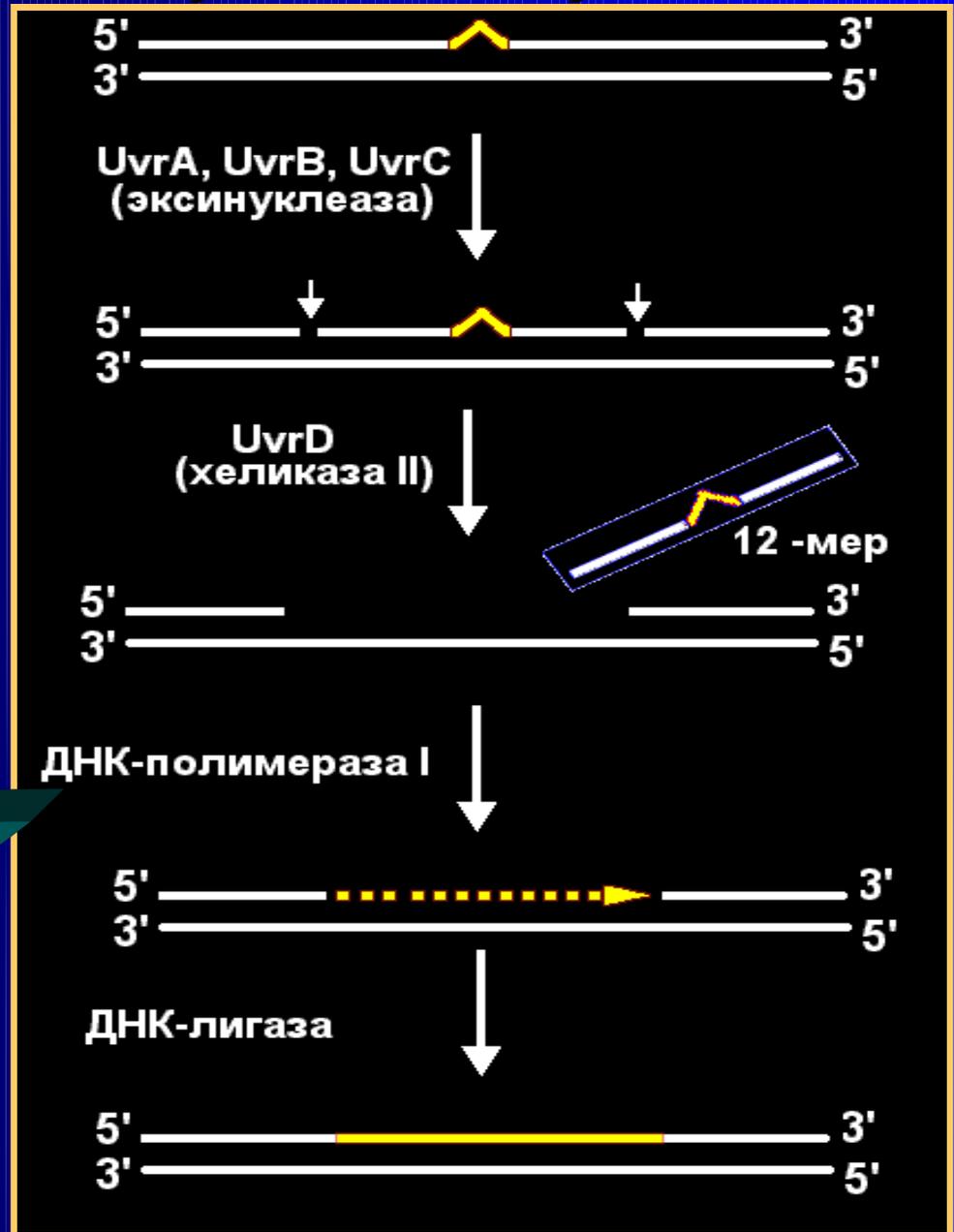
Вырезание нуклеотидов у E.coli

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

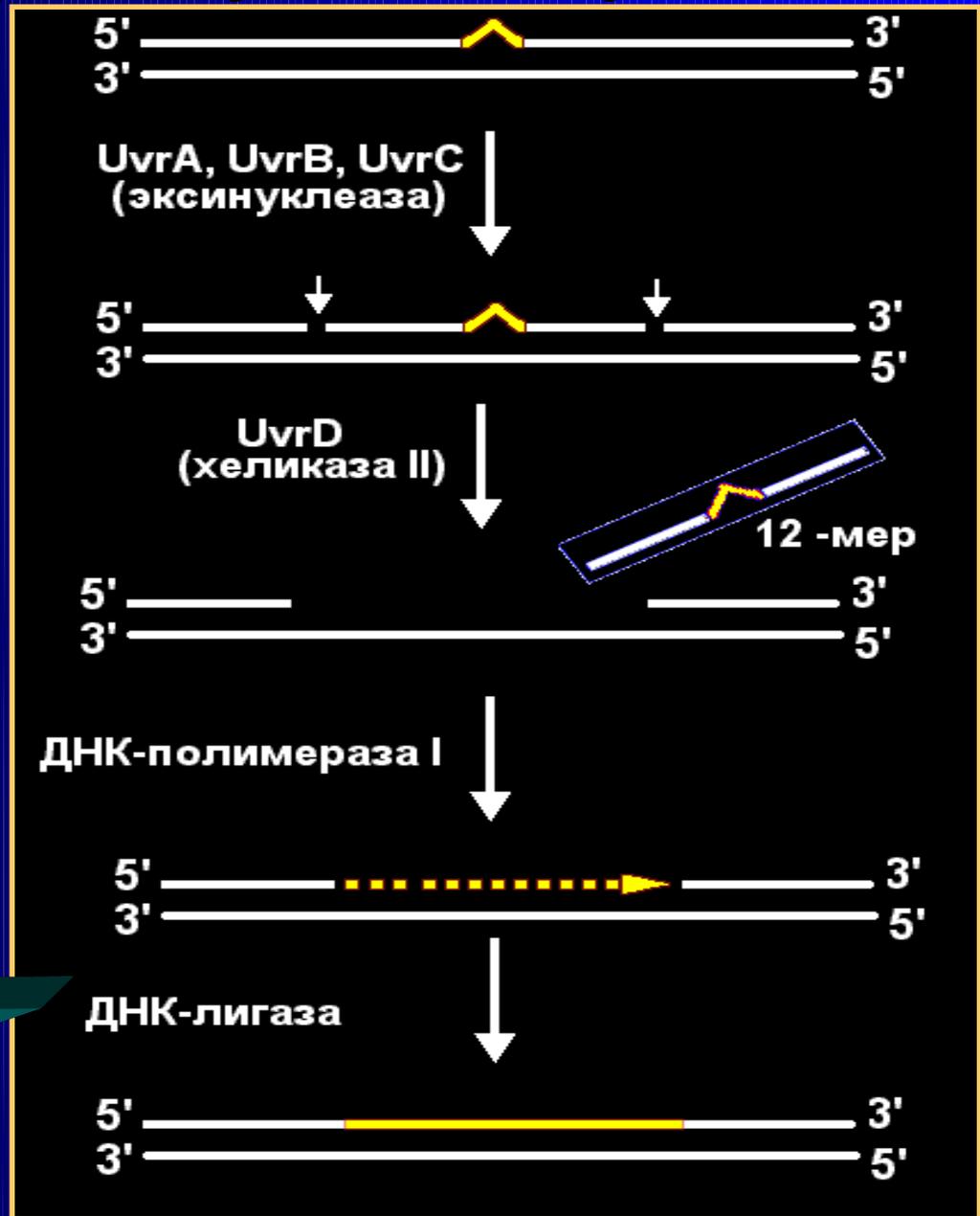


Экцизионная репарация нуклеотидов у E.coli

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

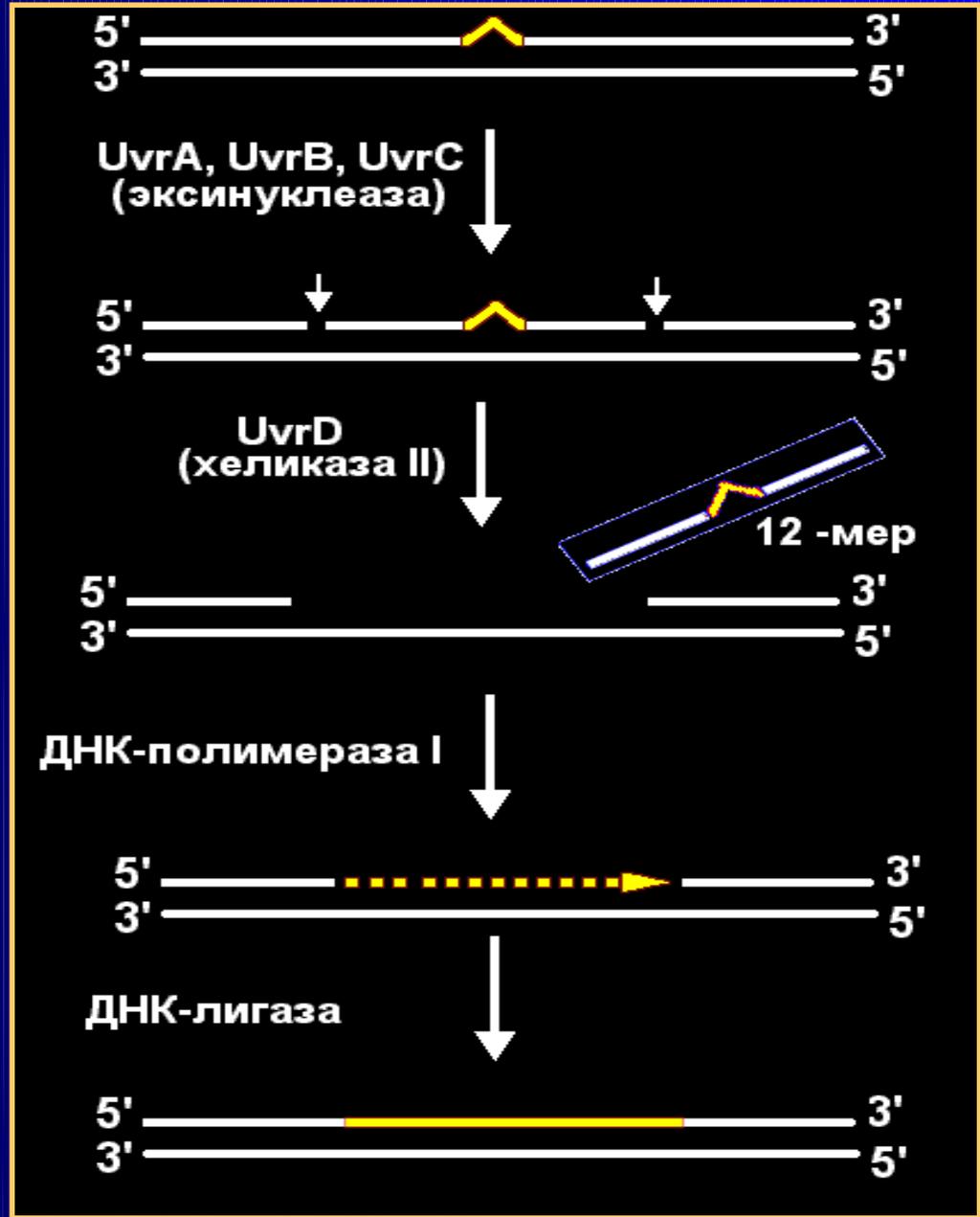


Эксцизионная репарация нуклеотидов у E.coli



Лигаза соединяет концы.

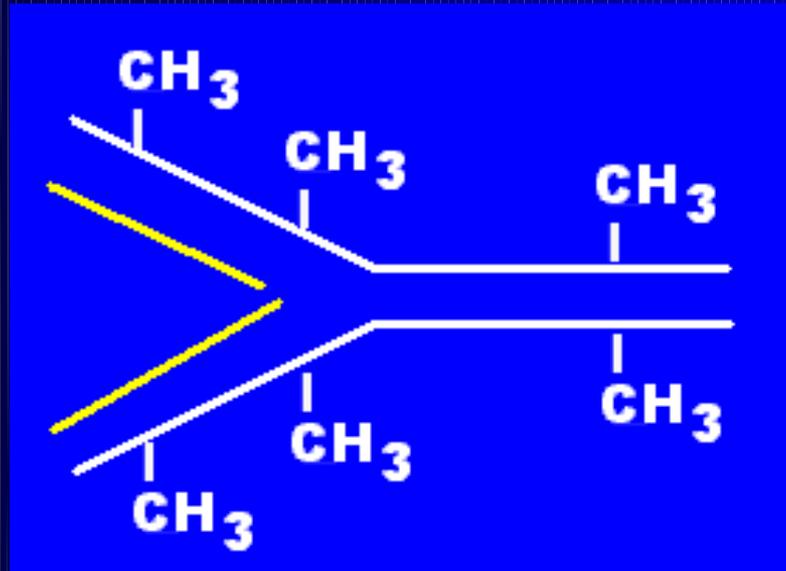
Экцизионная репарация нуклеотидов у E.coli



uvrA, uvrB, uvrC и uvrD - мутаторы

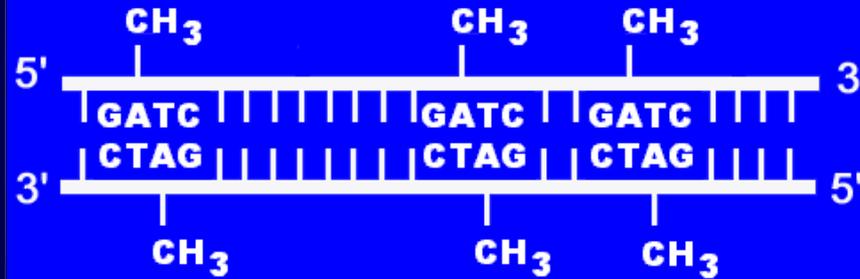
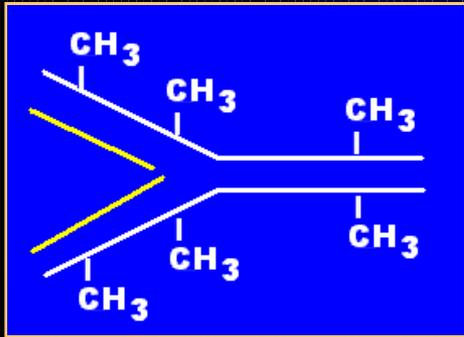
Репарация неспаренных оснований

Репарация неспаренных оснований

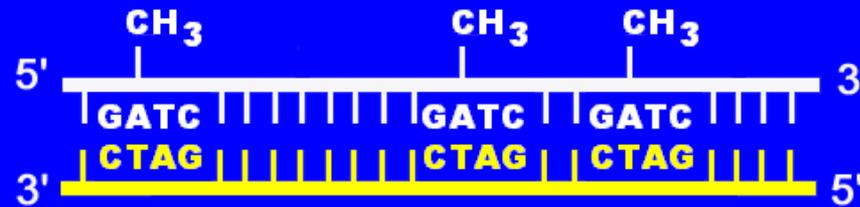


Перед репликацией ДНК находится в метилированной форме, вновь синтезированная цепь - неметилирована

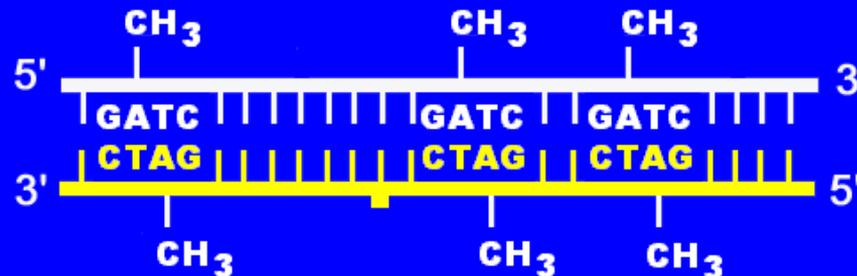
Основная роль в метилировании ДНК у *E.coli* принадлежит метилазе Dam



Репликация

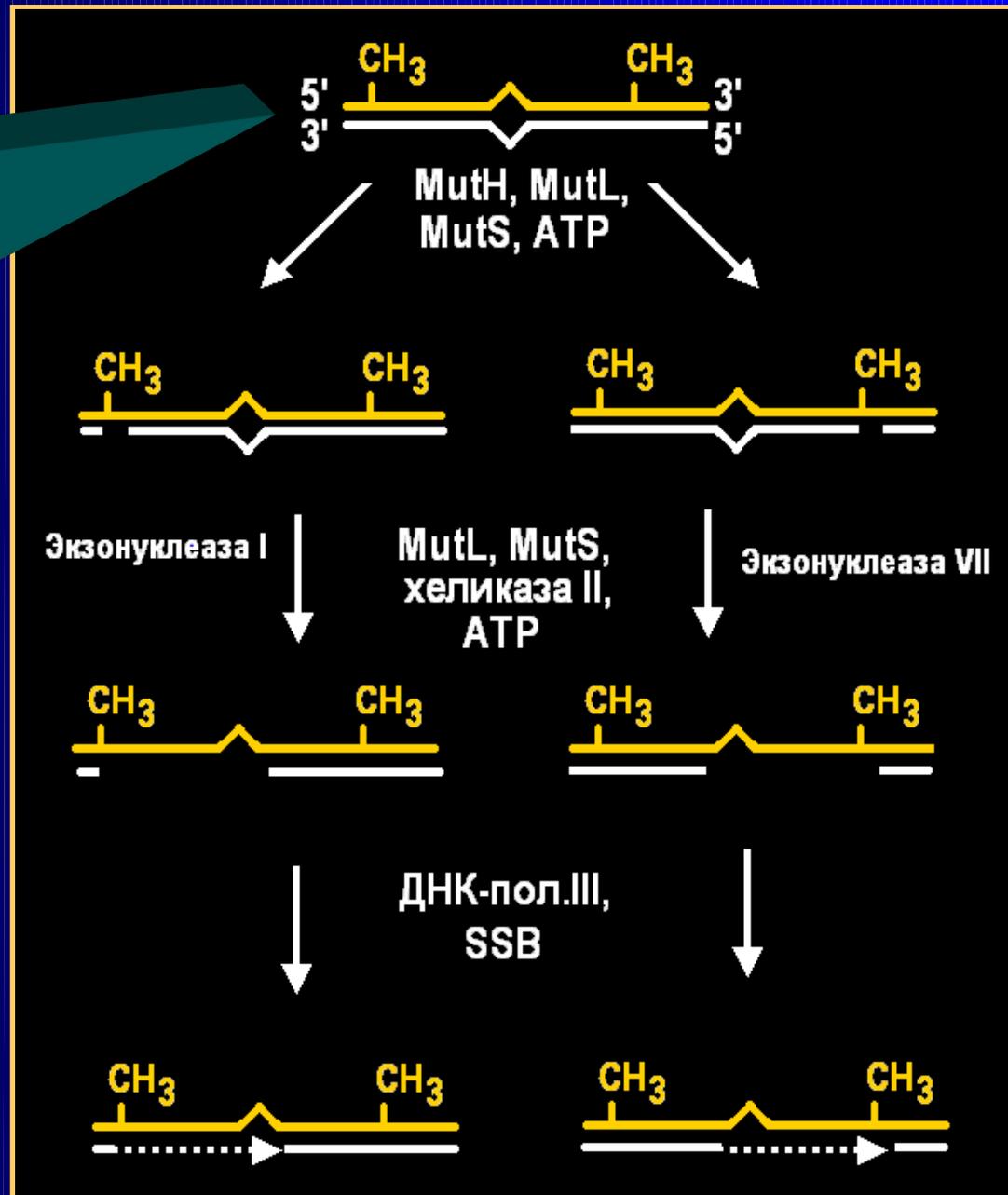


Метилирование



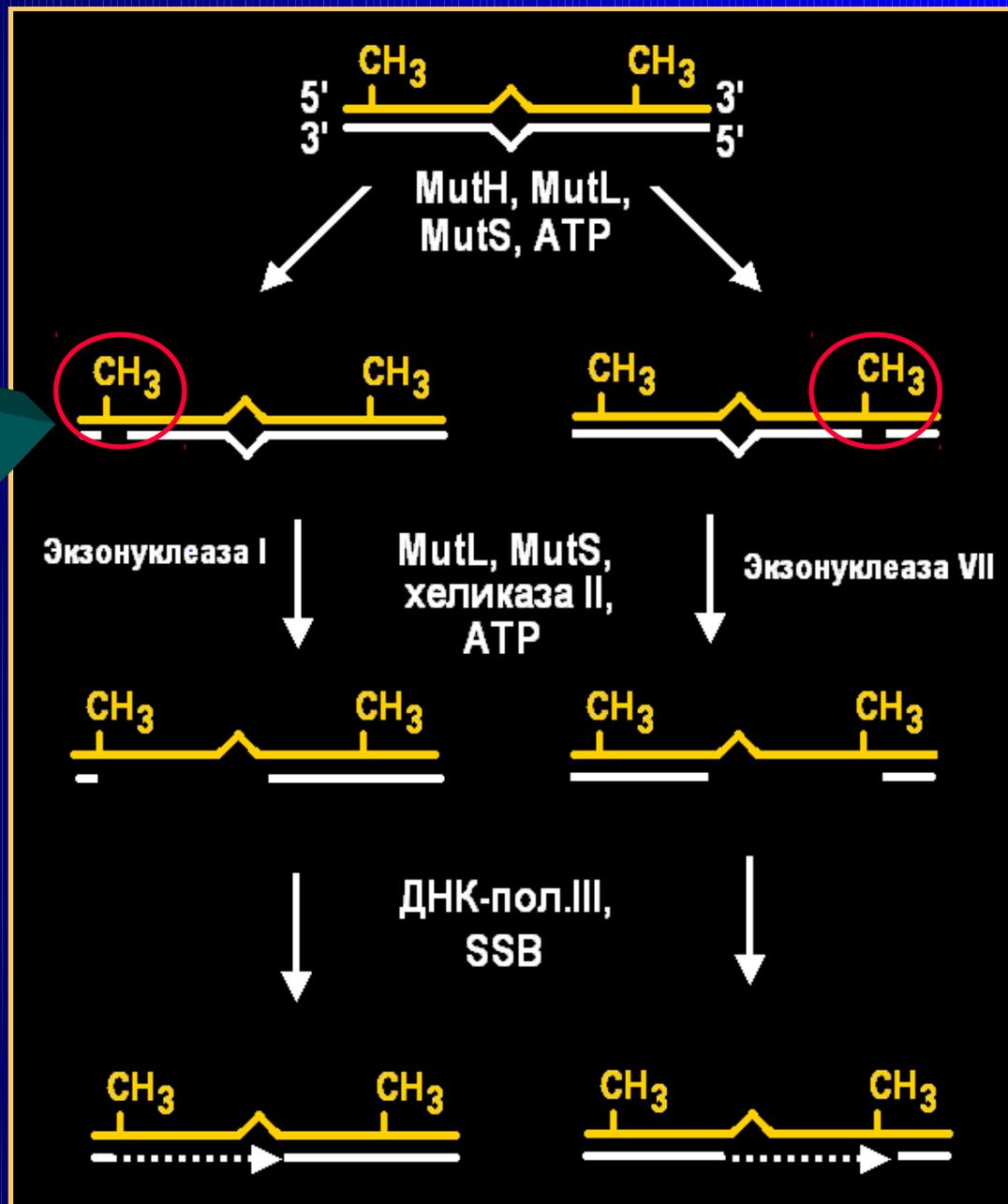
Репарация неспаренных оснований

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



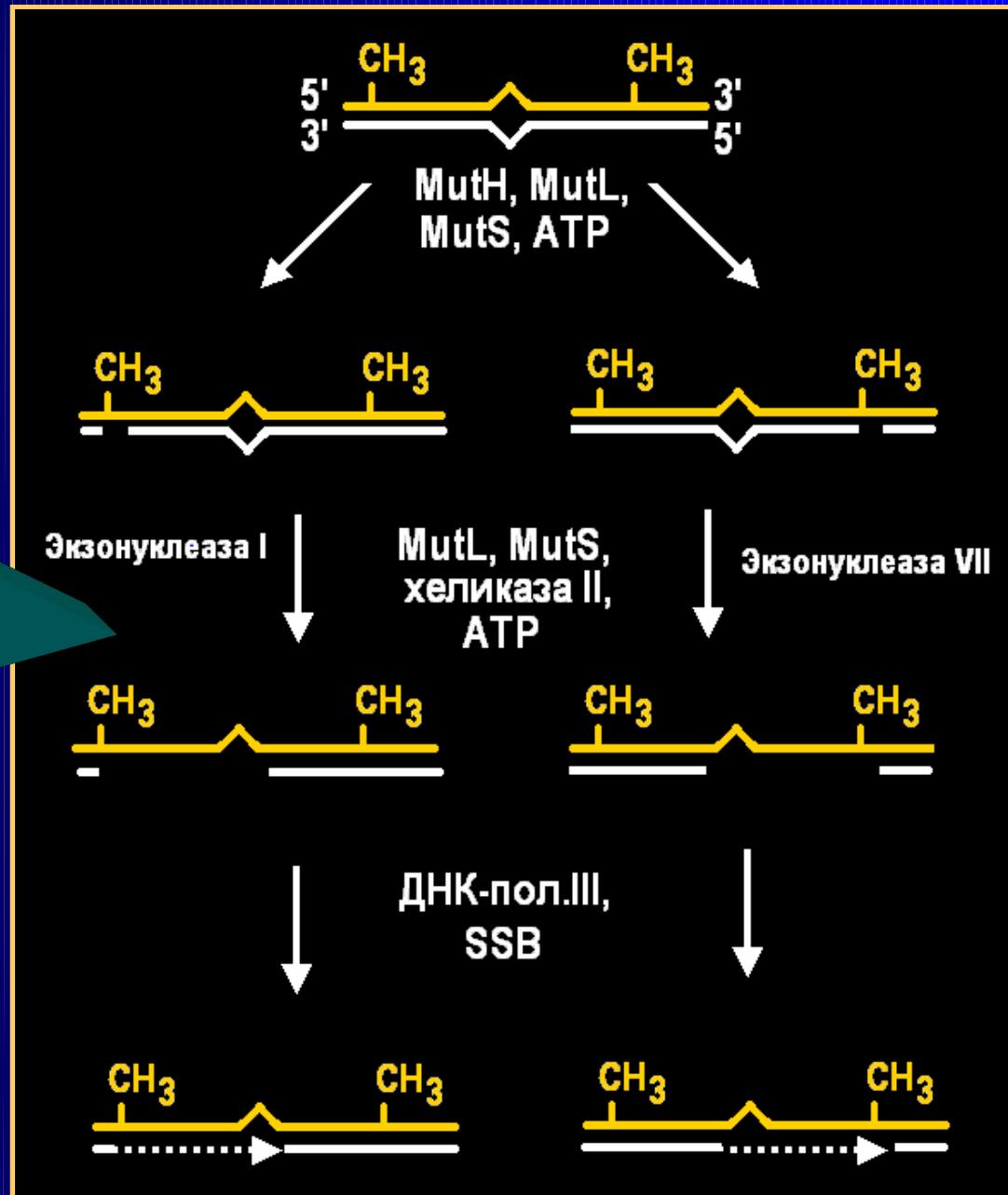
Репарация неспаренных оснований

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



Репарация неспаренных оснований

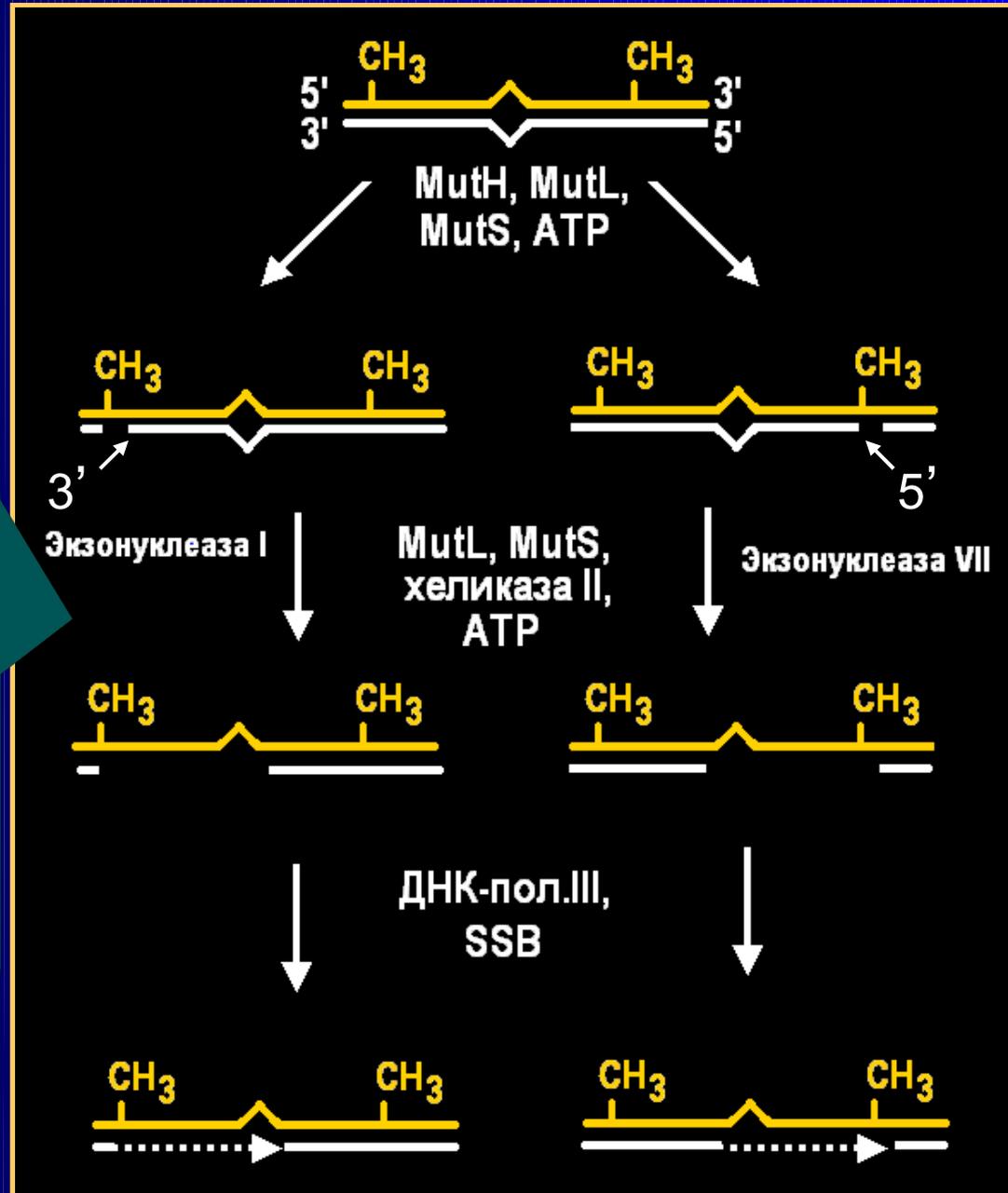
Затем ДНК-хеликаза II (MutU=UvrD) расплетает надрезанную нить ДНК между надрезом и неспаренным основанием (включая его) и вытесняет ее из гетеродуплекса.



Репарация неспаренных оснований

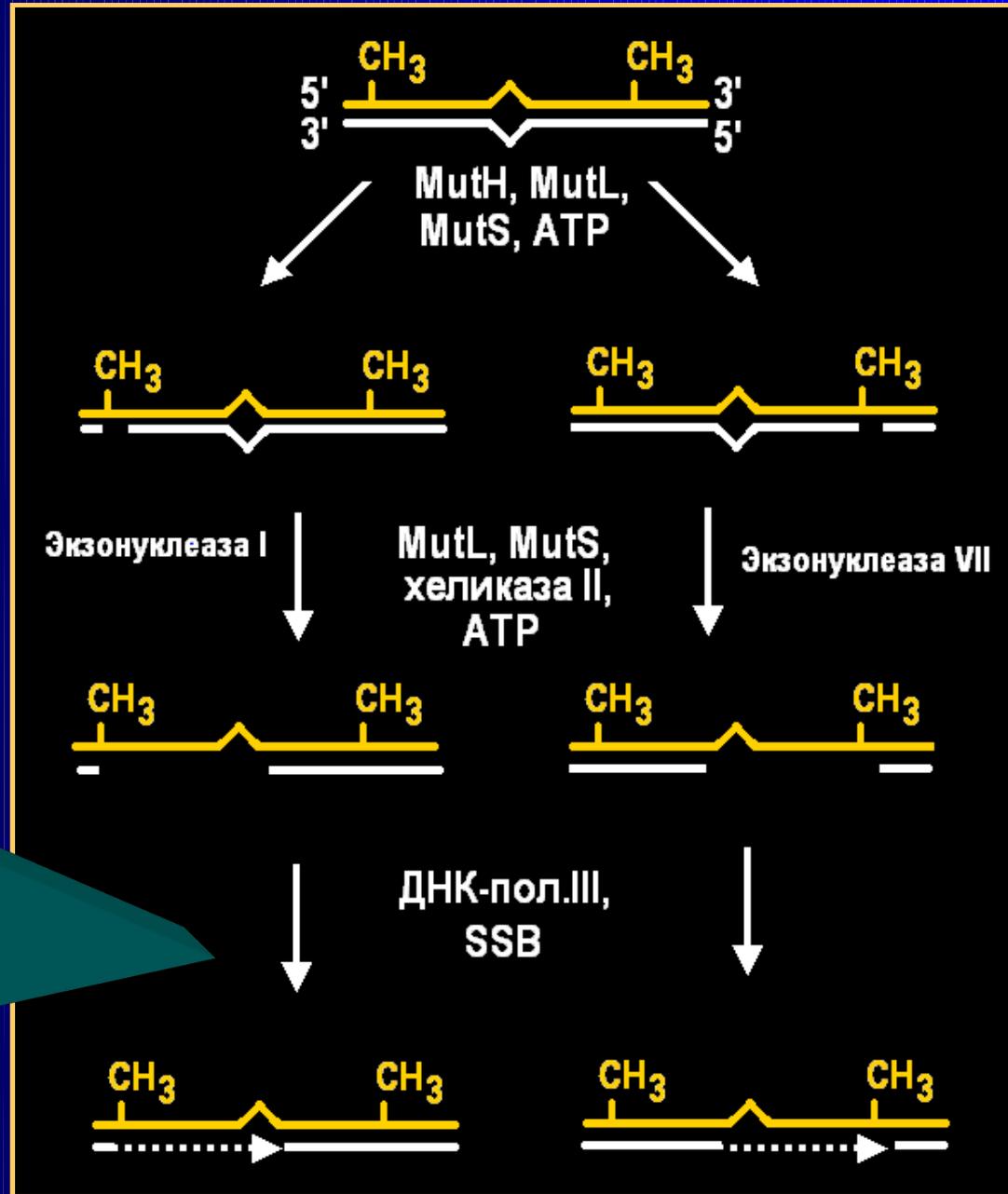
Эксонуклеаза I
(если это 3'-конец)
или эксонуклеаза VII
(если это 5'-конец)
удаляет вытесненную
нить.

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.



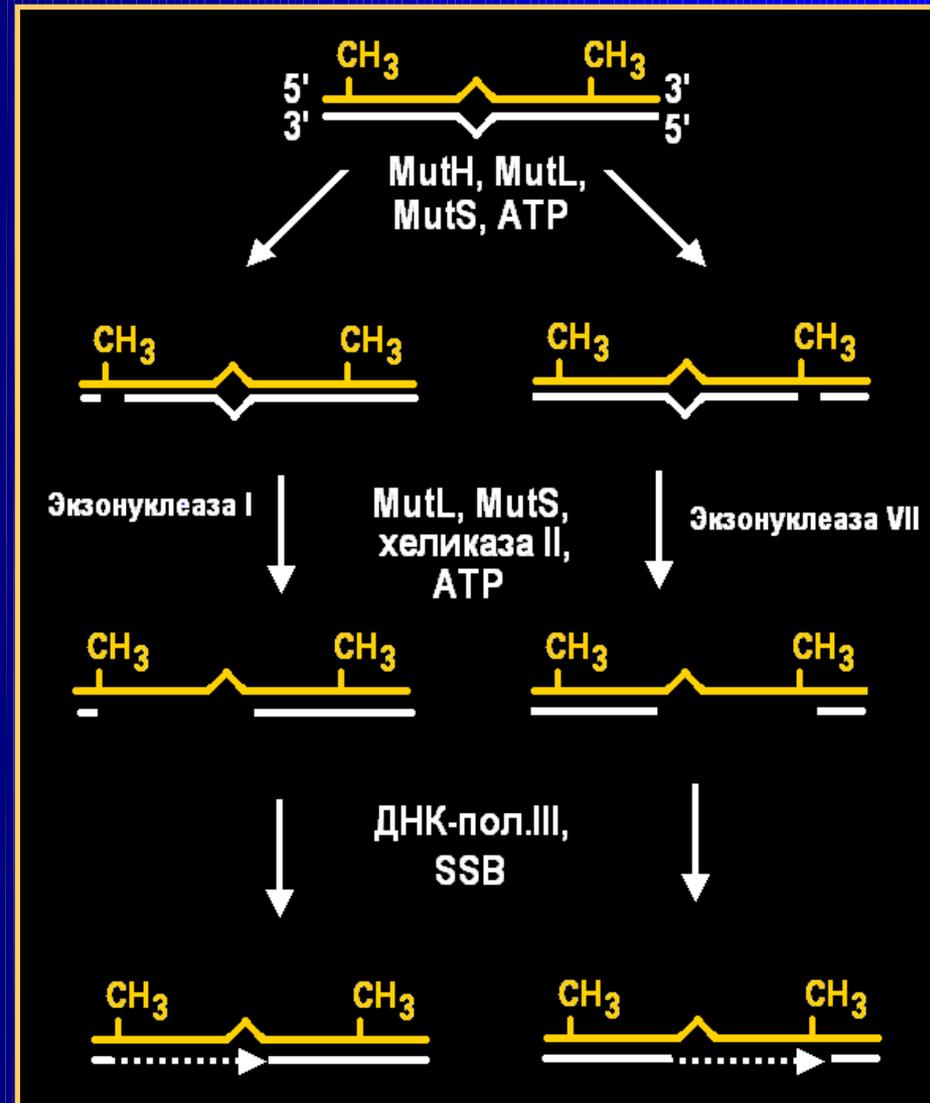
Репарация неспаренных оснований

Эксонуклеаза I – 3'-5'-
активность

Эксонуклеаза VII – 5'-3'-
активность

Хеликаза II =
UvrD=MutU

dam, mutH, mutL, mutS,
uvrD - мутаторы



Механизмы репарации

1. Восстановление исходной структуры
2. Эксцизионная 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



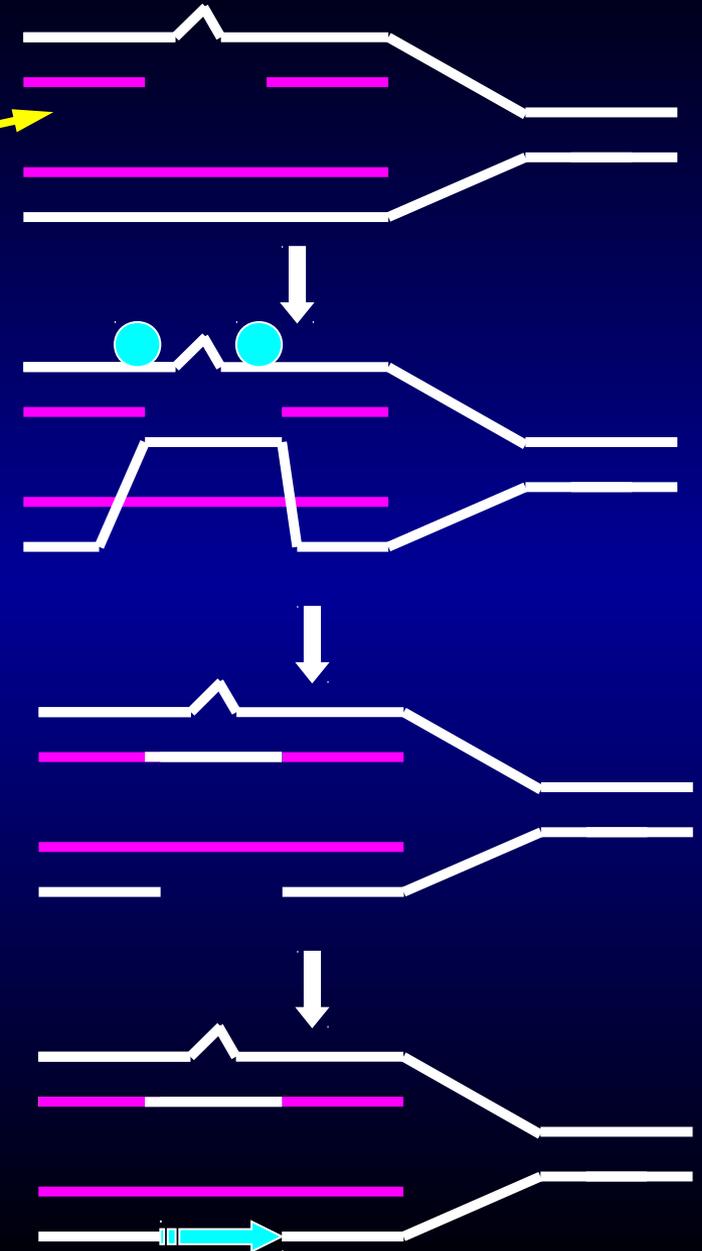
Пострепликативная рекомбинационная репарация

Пострепликативная рекомбинационная репарация

Синтез ДНК (ДНК-пол. III) останавливается перед участком, содержащим повреждение, и возобновляется позади него.

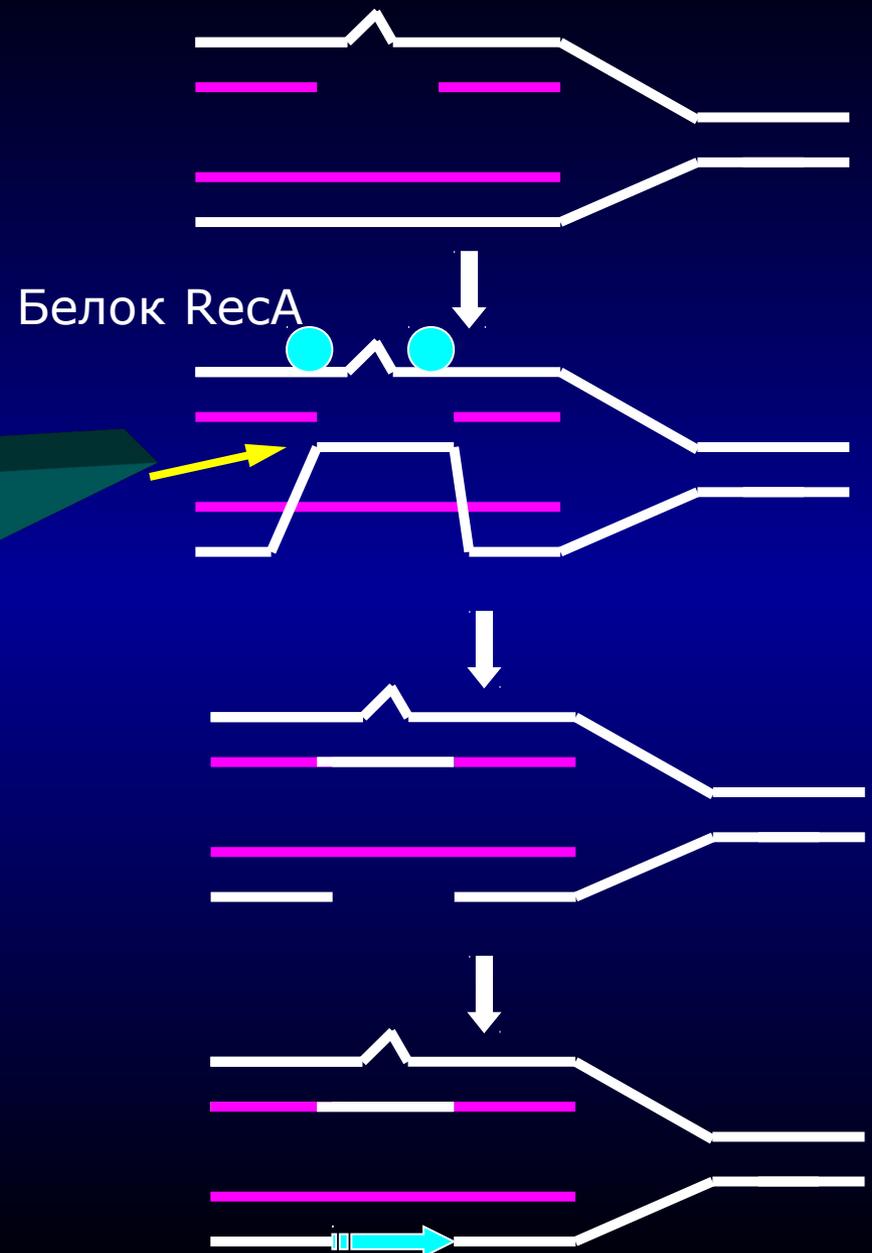
В результате участок дочерней цепи ДНК содержит брешь длиной иногда несколько тысяч нуклеотидов.

Эта брешь залечивается с помощью рекомбинации.

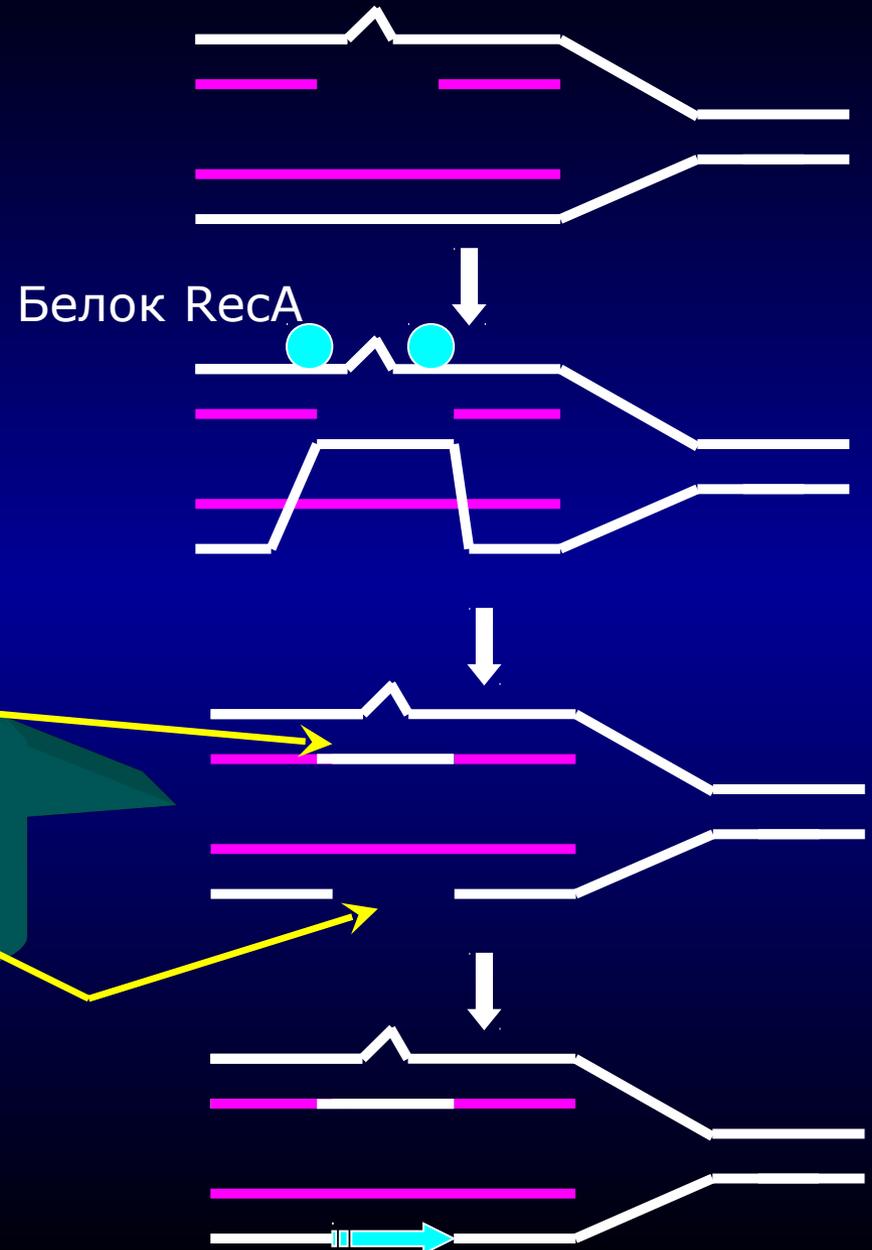


Пострепликативная рекомбинационная репарация

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

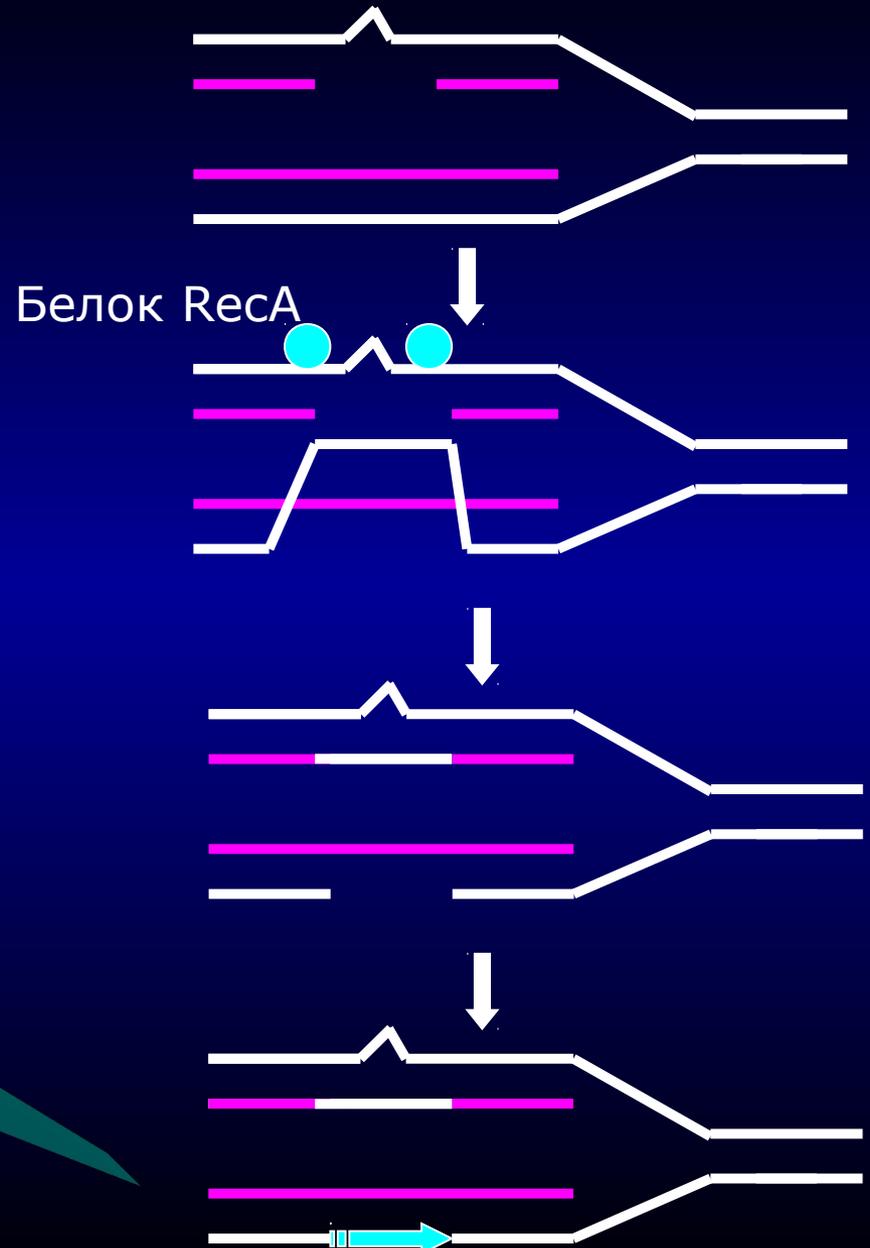


Пострепликативная рекомбинационная репарация



В результате брешь в дочерней нити ликвидируется, но при этом образуется брешь в материнской нити.

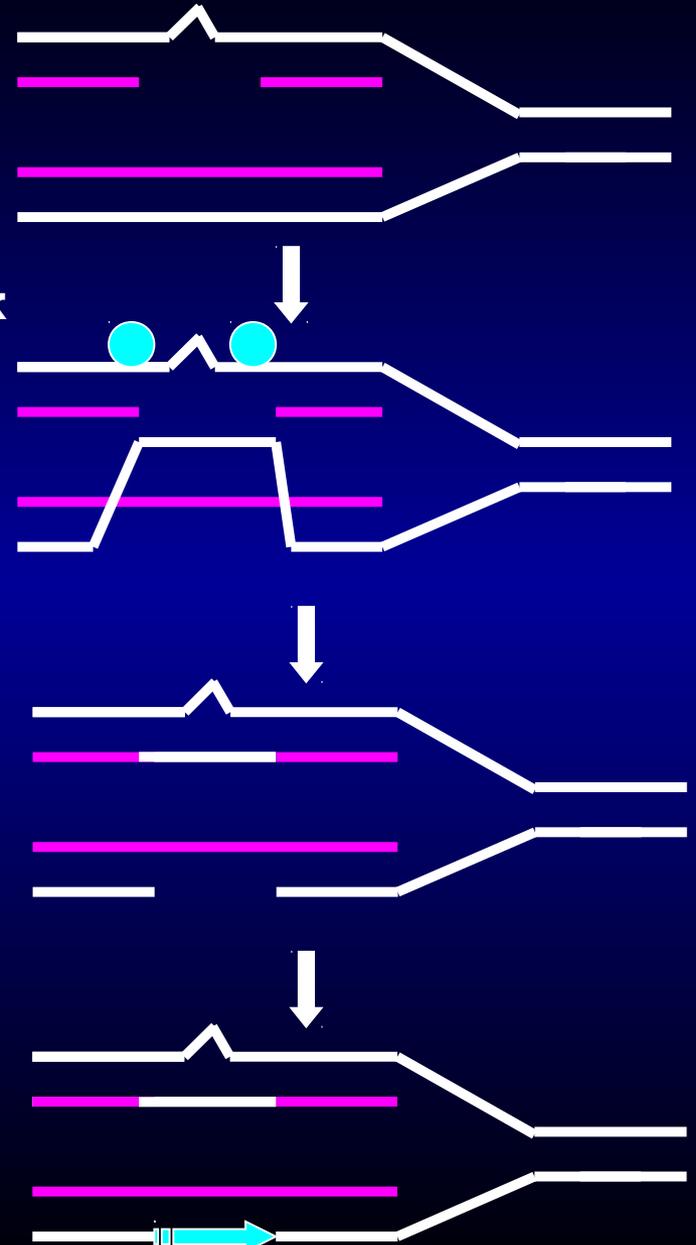
Пострепликативная рекомбинационная репарация



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

Пострепликативная рекомбинационная репарация

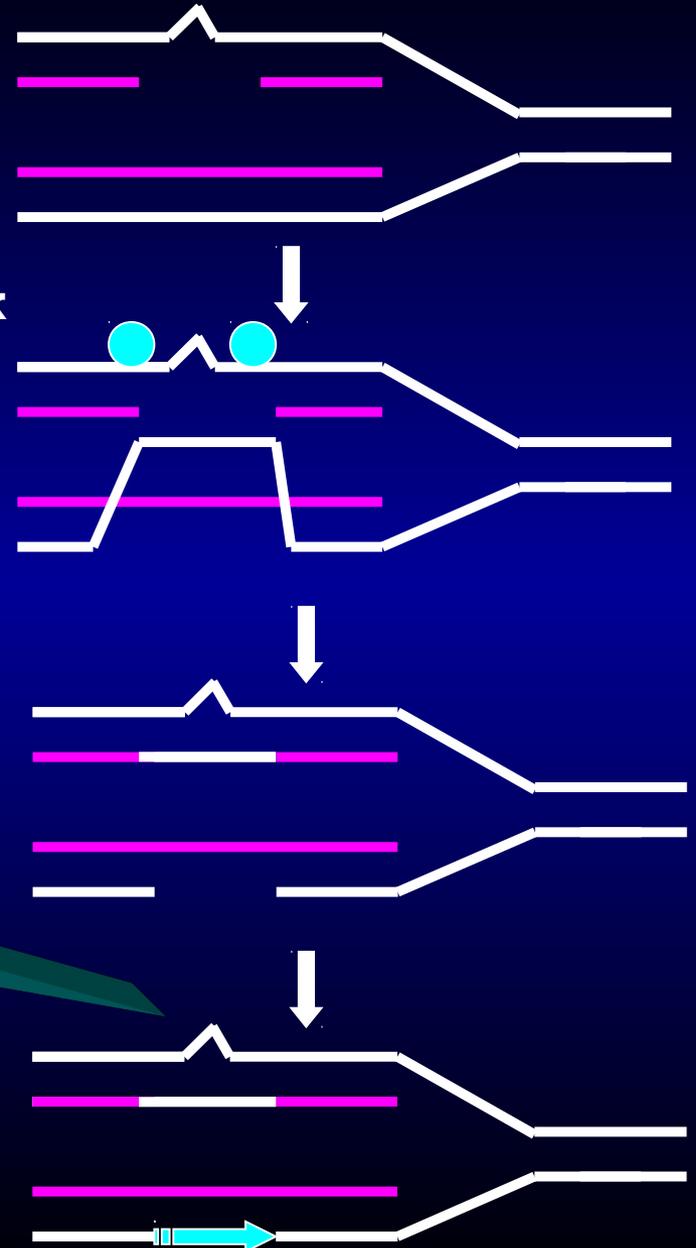
Белок
RecA



Лигаза соединяет концы.

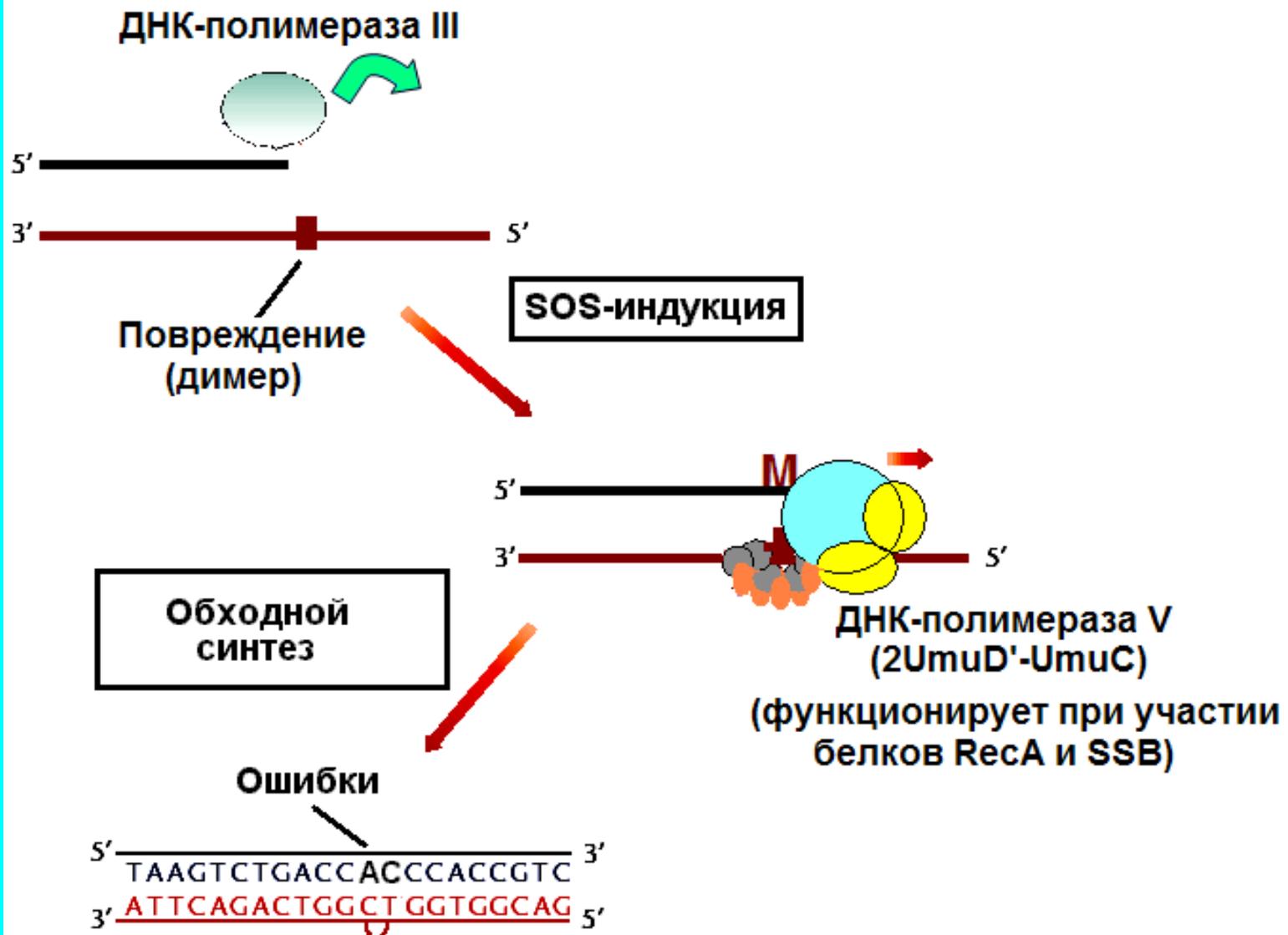
Пострепликативная рекомбинационная репарация

Белок
RecA



Повреждение остается в ДНК.

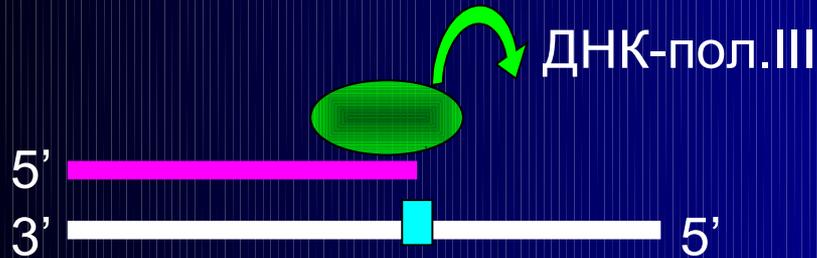
SOS-репарация



BASE DAMAGE A large number of mutagens *damage* one or more bases; so no specific base pairing is possible. The result is a replication block, because DNA polymerase cannot continue DNA synthesis past such a damaged template base. In both prokaryotes and eukaryotes, such replication blocks can be *bypassed* by inserting non-specific bases. In *E. coli*, this process requires the activation of the SOS system. SOS and other mechanisms of biological repair will be described later in this chapter. However, an overview of this repair mechanism will be presented in this section because, somewhat ironically,

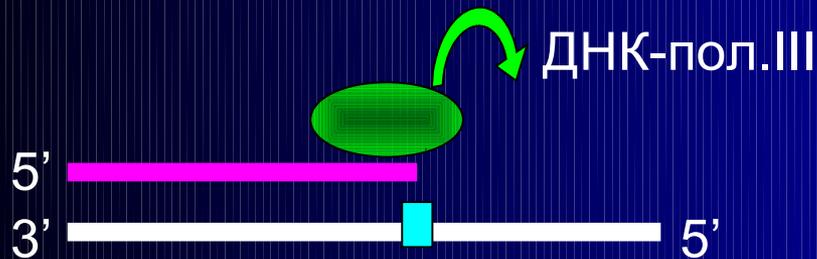
some repair mechanisms are themselves responsible for mutating DNA. The name SOS comes from the idea that this system is induced as an emergency response to prevent cell death in the presence of significant DNA damage. As such, SOS induction is a mechanism of last resort, a form of damage tolerance that allows the cell to trade death for a certain level of mutagenesis.

SOS-репарация



1. Многие мутагены повреждают основания ДНК, что приводит к невозможности специфического спаривания оснований.
2. В результате репликация блокируется.
3. У про- и эукариотических организмов репликационные блоки обходятся с помощью встраивания неспецифических оснований.
4. У *E.coli* этот процесс нуждается в индукции **SOS-системы**.

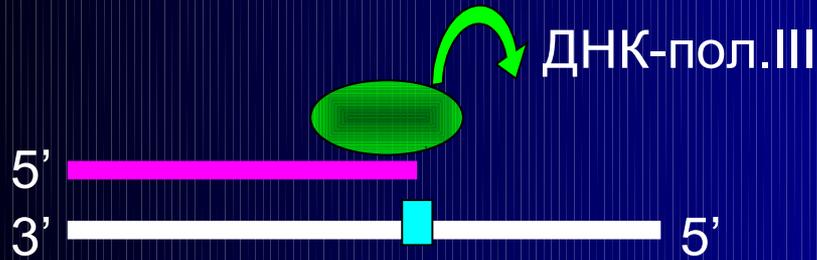
SOS-репарация



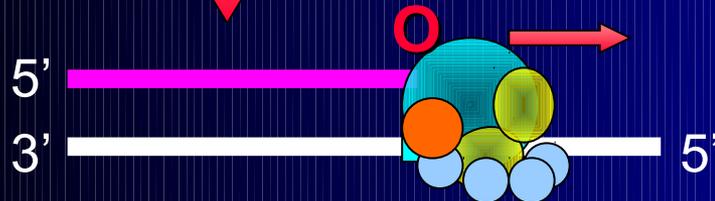
SOS-индукция

1. Ключевая роль в SOS-индукции принадлежит белку RecA. Он связывается с белком SSB и с однонитевой ДНК и образует ДНК-белковые филламенты, представляющие собой активную форму RecA*.
2. RecA* является сигналом, запускающим индукцию SOS-регулона (около 30 генов), продукты которых необходимы для выживания клетки при массивных повреждениях ДНК.
3. В SOS-регулон входят гены UmuD, UmuC и DinB, продукты которых необходимы для «обходной» репликации.
4. Обходная репликация является неточной, склонной к ошибкам. В результате повышается частота мутаций.

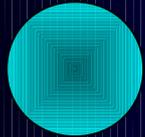
SOS-репарация



SOS-индукция



0 - ошибка



UmuC



UmuD'



RecA-ATP



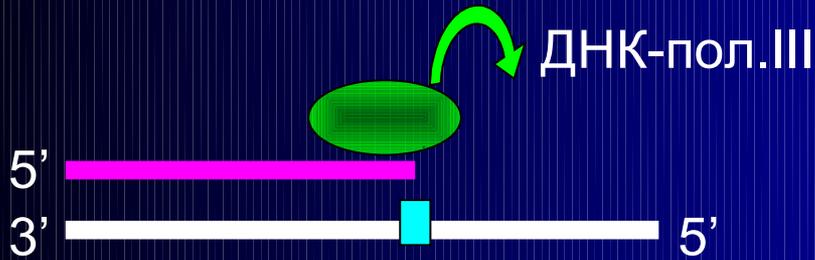
SSB

ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC-RecA-ATP)

Функционирует при участии
белка SSB

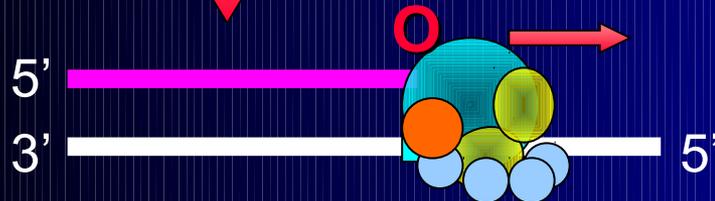
ДНК-полимераза IV
(DinB)

SOS-репарация



SOS-индукция

○ - ошибка

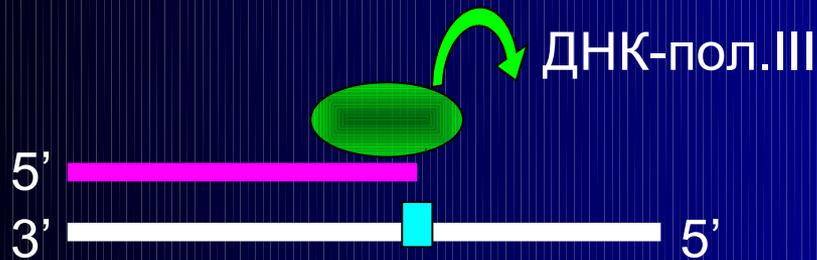


Ошибки

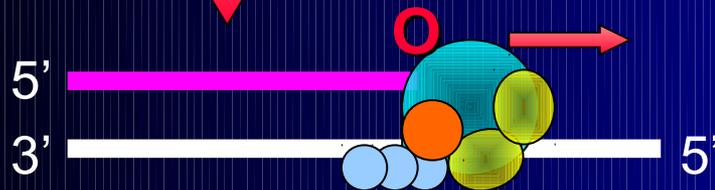


ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC-RecA-ATP)
Функционирует при участии
белка SSB
ДНК-полимераза IV
(DinB)

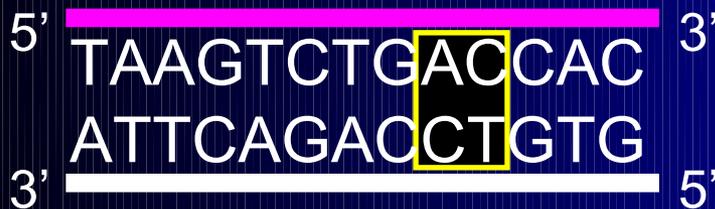
SOS-репарация



SOS-индукция



Ошибки



ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC-RecA-ATP)
Функционирует при участии
белка SSB
ДНК-полимераза IV
(DinB)

SOS-репарация

ДНК-полимераза V
(2UmuD'-UmuC-RecA-ATP)
Функционирует при участии
белка 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:

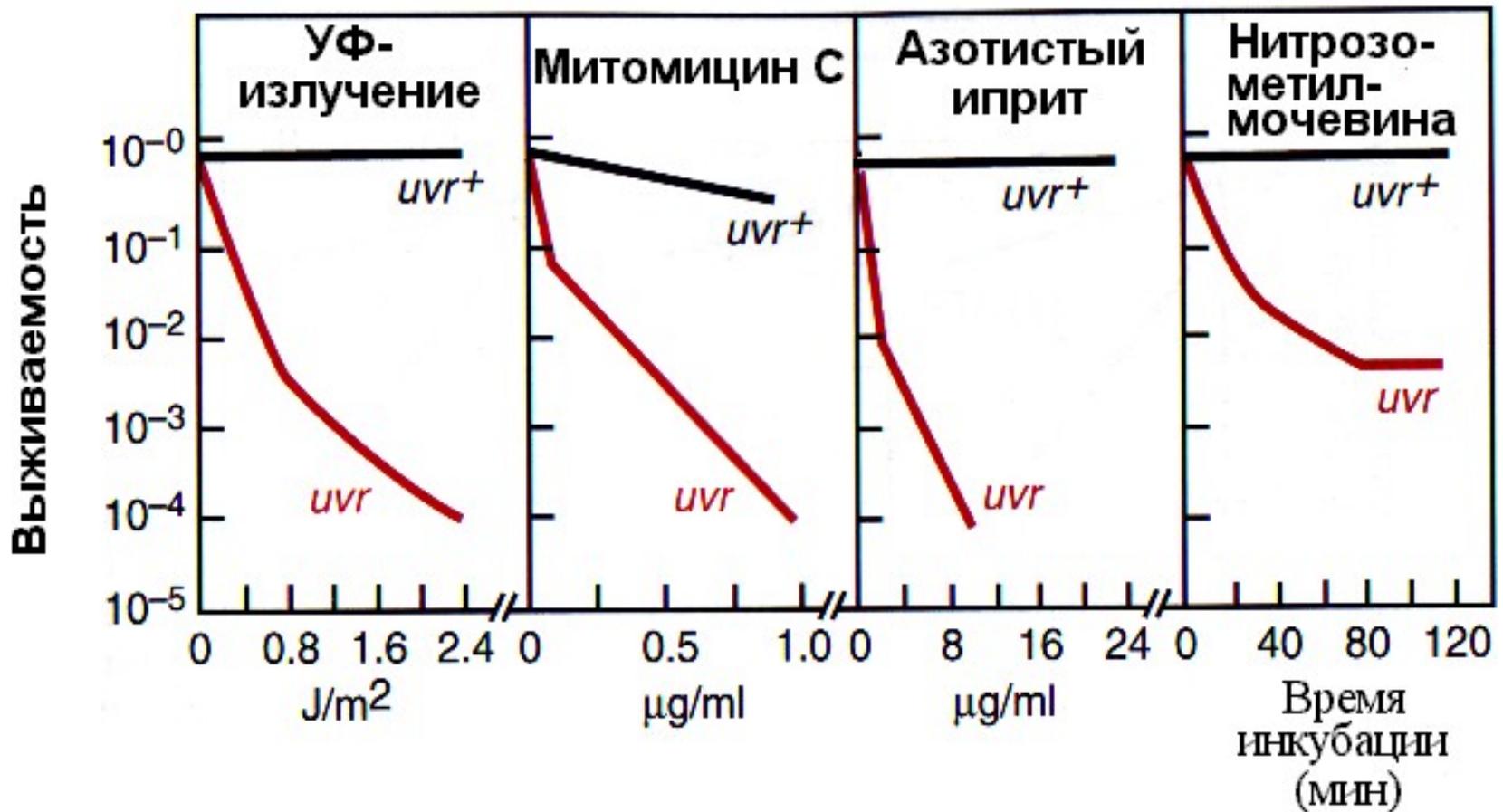
- Процессы репарации являются одним из важнейших механизмов поддержания стабильности генетического материала

Факт:

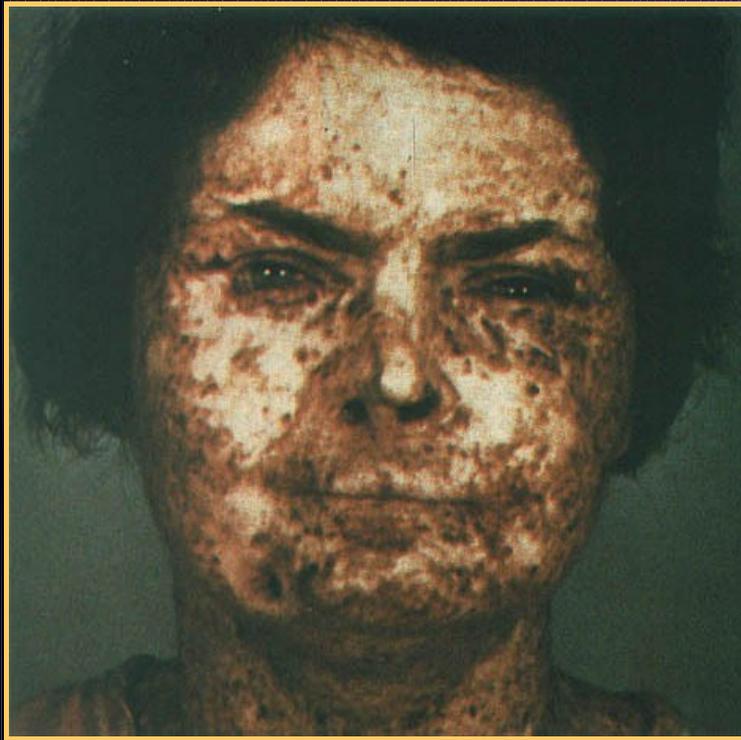
- Системы репарации не функционируют со 100% эффективностью.
- В результате часть предмутационных повреждений реализуется в мутации.

- 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



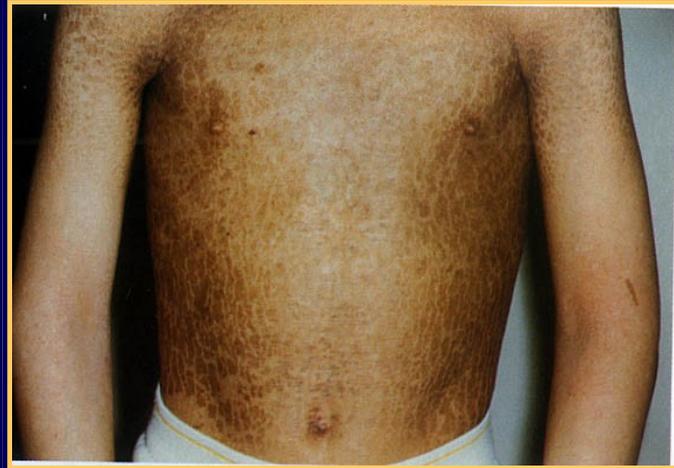
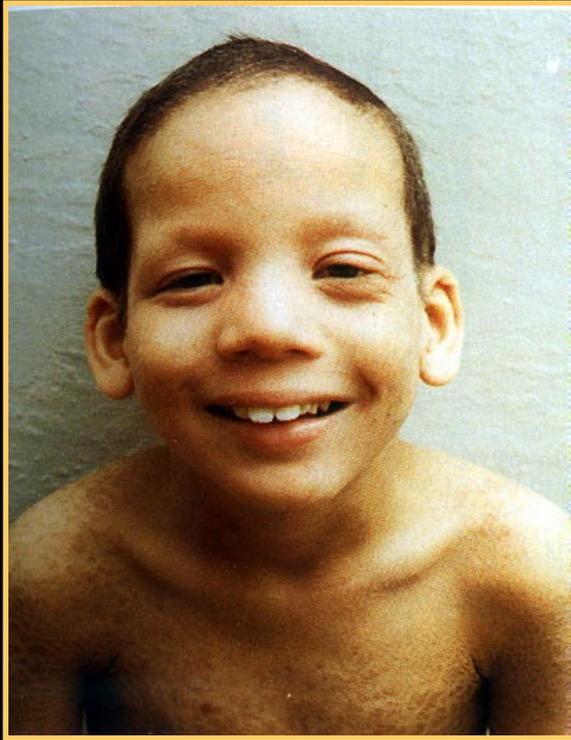
Пигментная ксеродерма

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

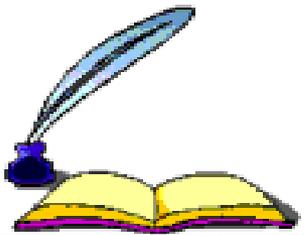
Подавлен репаративный синтез.

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.**