

Классификация мутаций

II. В зависимости от размеров сегментов генома, подвергающихся преобразованиям, мутации разделяют на геномные, хромосомные и генные.

1. При геномных мутациях происходит внезапное изменение числа хромосом, кратное целому геному.

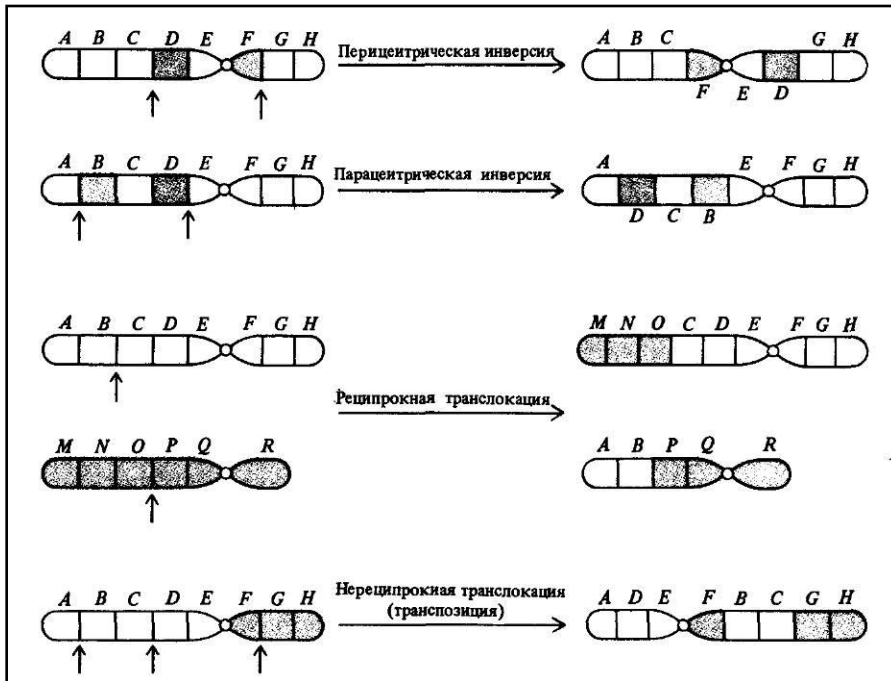
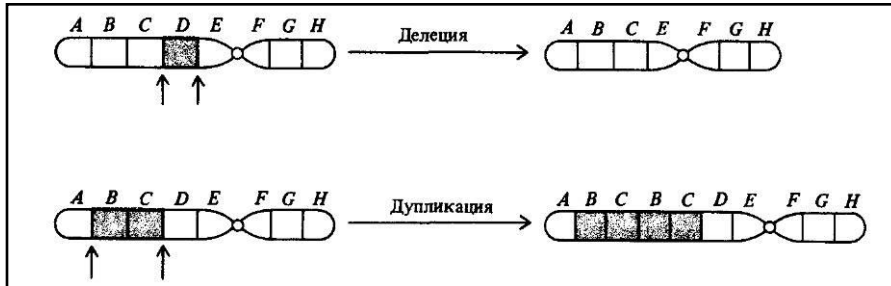
а) Полиплоидизация – умножение наборов хромосом, при котором происходит образование полиплоидных организмов, геном которых представлен $4n$, $6n$ и т.д. В зависимости от происхождения хромосом в полиплоидах различают

□ Аллополиплоидию в результате которой происходит объединение при гибридизации *целых неродственных* геномов.

□ Аутополиплоидию для которой характерно адекватное увеличение числа хромосом *собственного генома*, кратное $2n$.

Классификация мутаций

2.



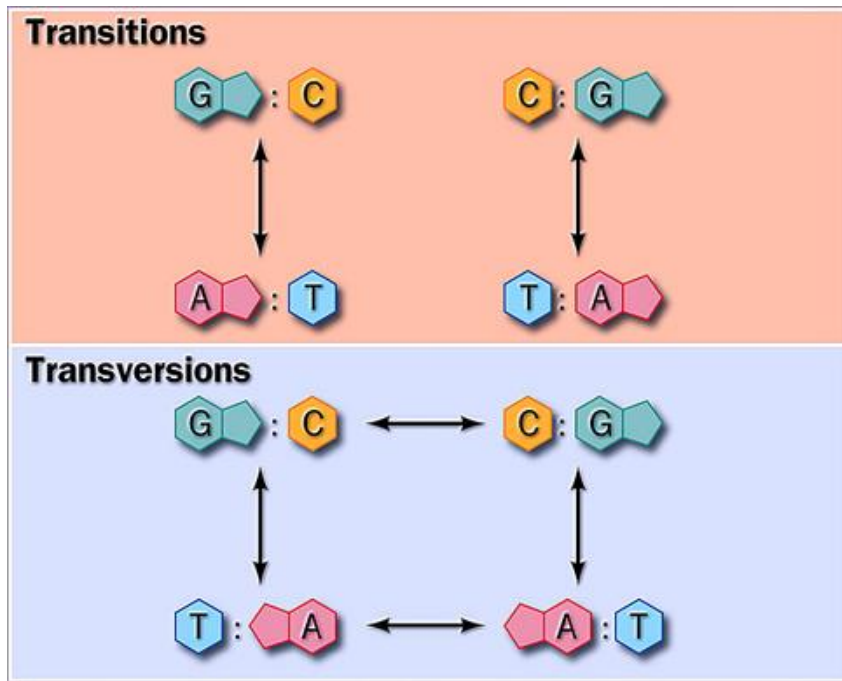
При хромосомных мутациях происходят как изменение числа отдельных хромосом в геноме (анеуплоидия), так и крупные перестройки структуры отдельных хромосом (хромосомные aberrации):

- Деления - потеря части генетического материала.
- Дупликация - удвоение части генетического материала.
- Инверсия - изменение ориентации сегментов хромосом в отдельных хромосомах.
- Транслокация - перенос части генетического материала с одной хромосомы на другую.

Классификация мутаций

3. **Генные мутации** - изменения первичной структуры ДНК генов под действием мутагенных факторов (встречаются более часто, чем предыдущие два типа мутаций).

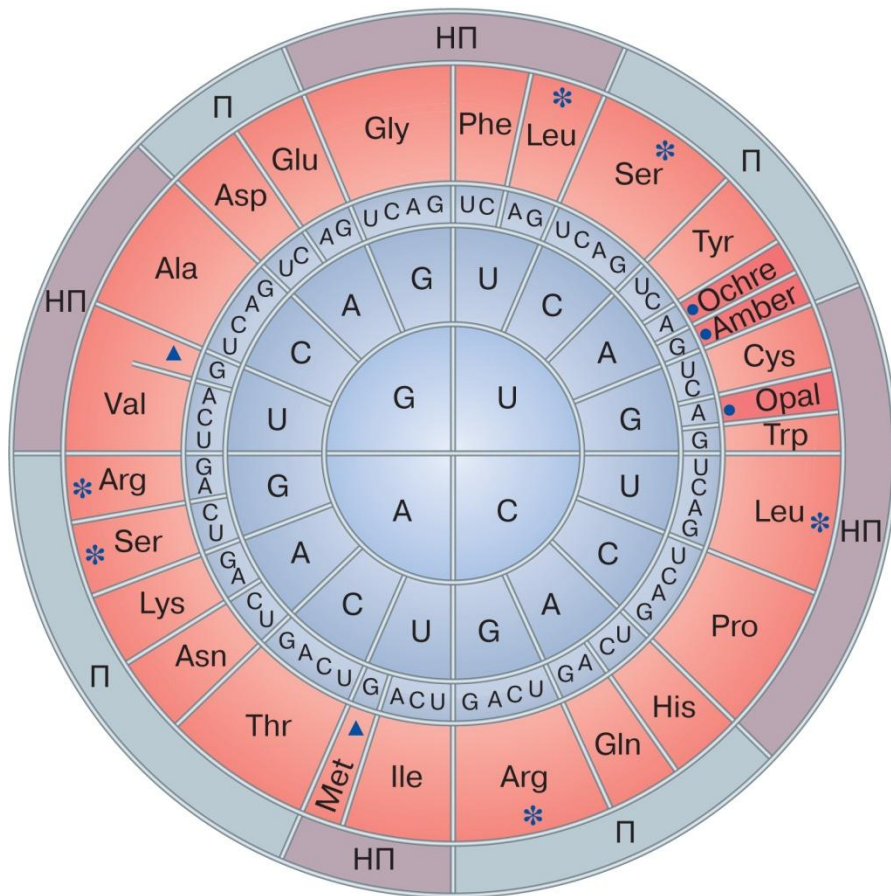
а) В результате генных мутаций происходят замены, делеции и вставки одного или нескольких нуклеотидов, транслокации, дупликации и инверсии различных частей гена.



б) Если изменяется лишь один нуклеотид, говорят о точковых мутациях. Точковые мутации с заменой оснований разделяют на два класса:

- транзиции (замена пурина на пурин или пиримидина на пиримидин)
- трансверсии (замена пурина на пиримидин или наоборот).

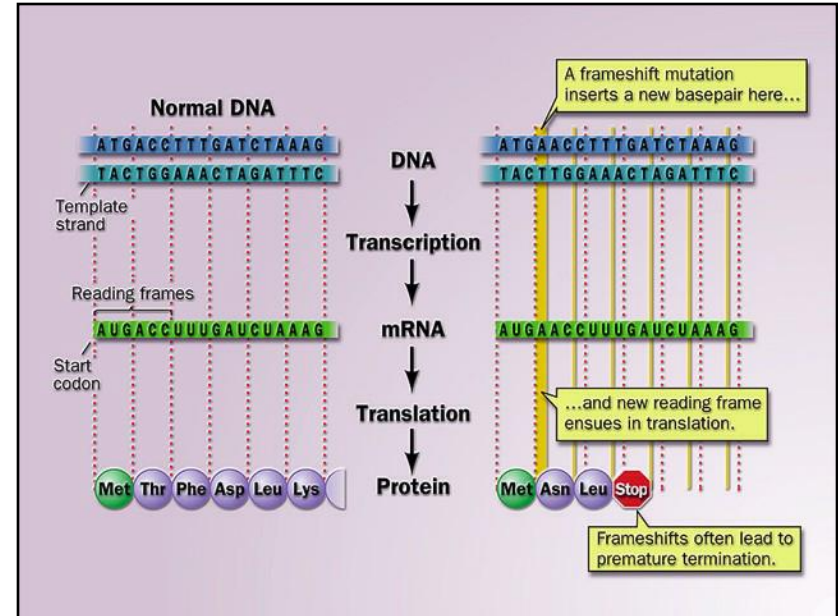
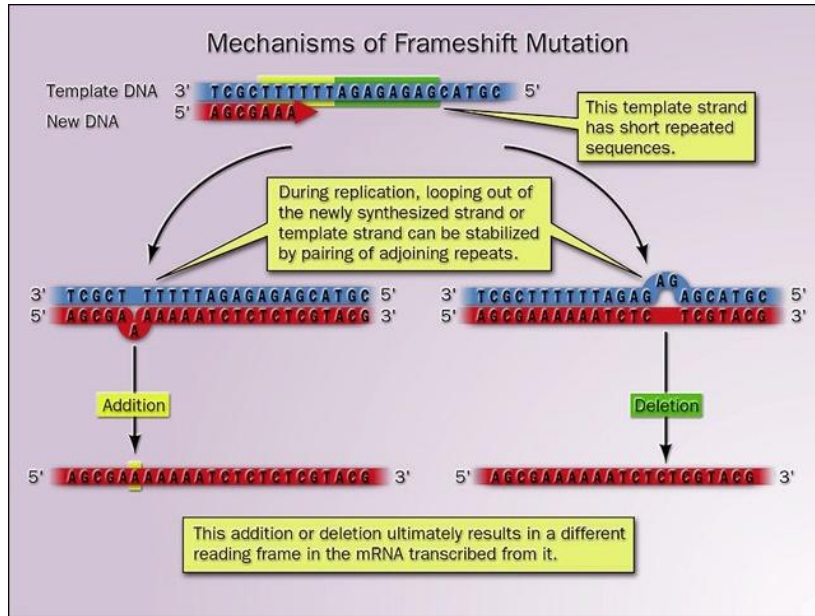
Классификация мутаций



Из-за вырожденности генетического кода могут быть три генетических последствия точковых мутаций:

- Синонимическая замена нуклеотида с сохранением смысла кодона.
- Миссенс-мутация - изменение смысла кодона, приводящее к замене аминокислоты в соответствующем месте полипептидной цепи.
- Нонсенс-мутация - образование бессмысленного кодона с преждевременной терминацией трансляции.

Классификация мутаций



IV. По влиянию на экспрессию генов мутации разделяют на две категории:

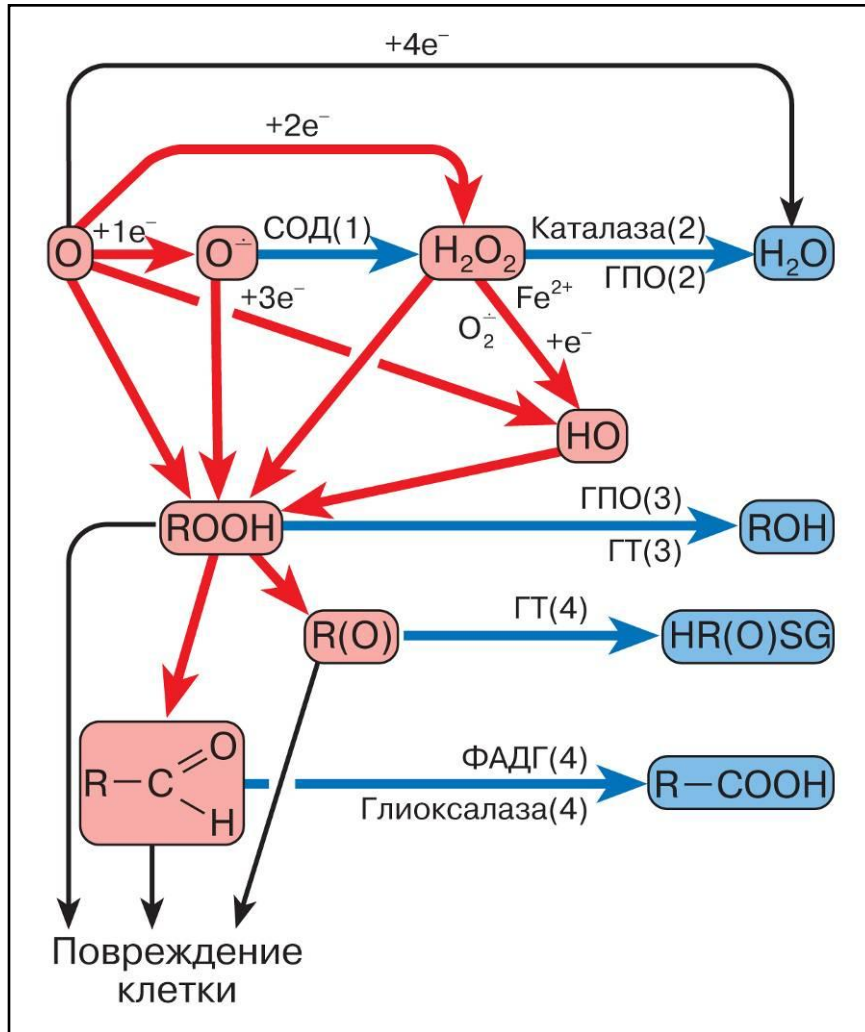
1. Мутации замен пар оснований
2. Мутации сдвига рамки считывания (frameshift), т.е. делеции или вставки нуклеотидов, число которых не кратно трем, что связано с триплетностью генетического кода.

Повреждение ДНК

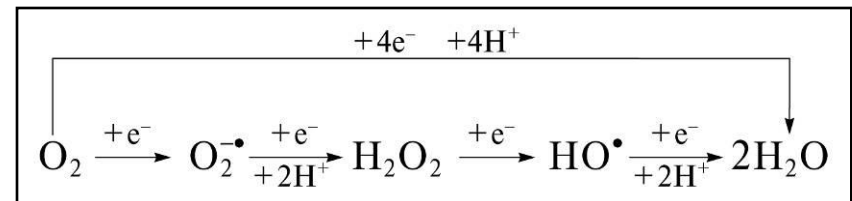
Повреждения ДНК

- **Появление различно модифицированных оснований:**
 - ❖ Пиримидиновые димеры.
 - ❖ Алкилированные производные.
 - ❖ Дезаминированные основания.
 - ❖ Различные таутомерные формы.
- **Появление неспаренных оснований (Mismatch) в результате рекомбинации дуплексов или ошибок в процессе репликации.**
- **Повреждения структуры дуплекса:**
 - ❖ Разрывы фосфодиэфирных связей сахарофосфатного остова молекулы ДНК.
 - ❖ Разрывы β -гликозидных связей между основанием и дезоксирибозой.

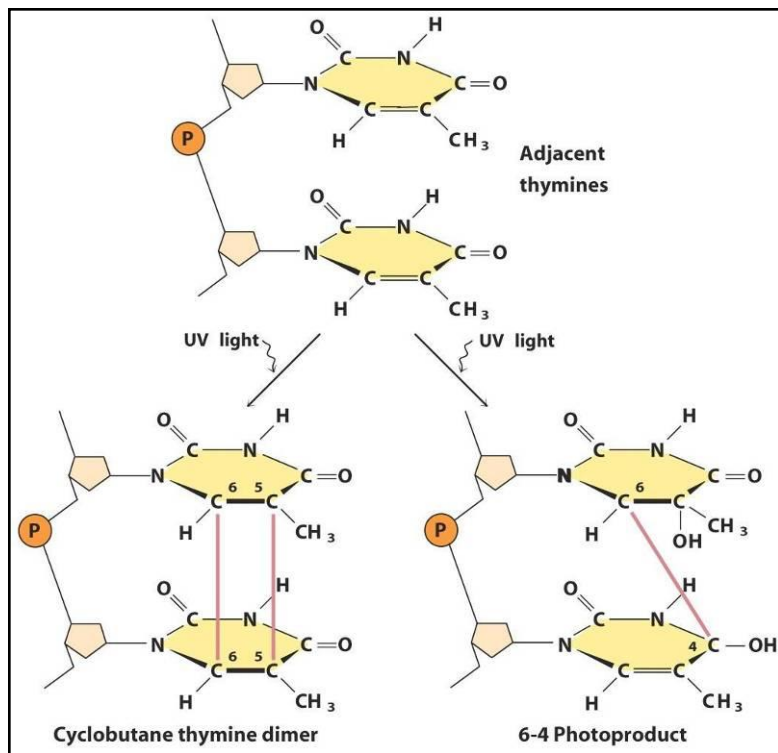
Активные формы кислорода



- В клетках активные формы кислорода (АФК) возникают в реакциях восстановления, в результате которых появляются чрезвычайно реакционноспособные промежуточные соединения.
- Наибольшую опасность для ДНК представляют радикалы гидроксила, супероксид и синглетный кислород, которые образуются в процессе дыхания, фагоцитоза и при повреждении клеток.
- Ежедневно в каждой клетке человека возникает ~ 10000 таких модифицированных АФК нуклеотидов.

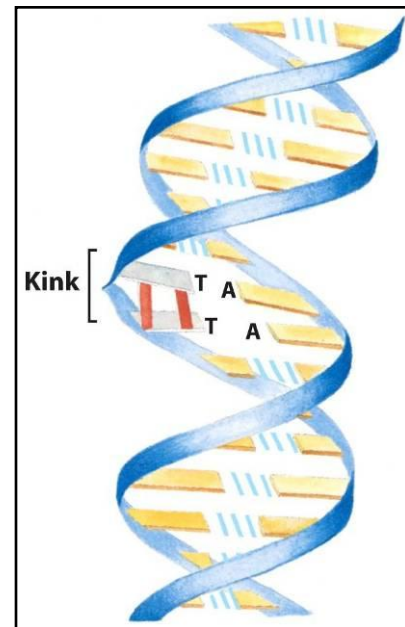


Пиримидиновые димеры



Двойная связь между пятым и шестым атомами углерода в составе пиримидиновых оснований под действием УФ-света может рваться.

Атомы остаются связанными одиночной связью, а в результате разрыва другой связи образуются две свободные валентности.

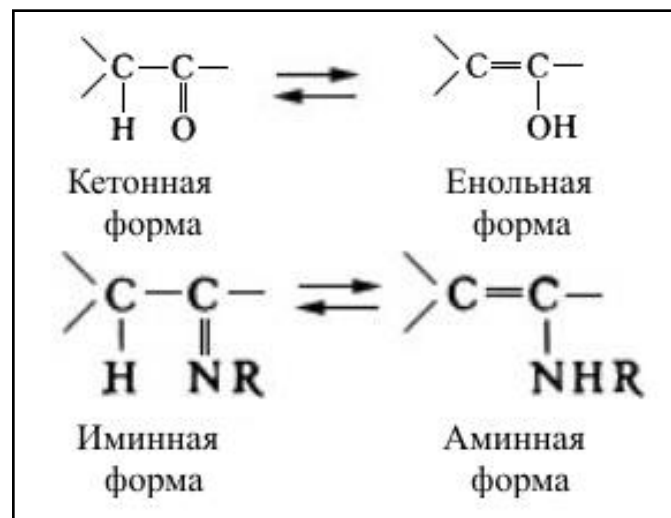
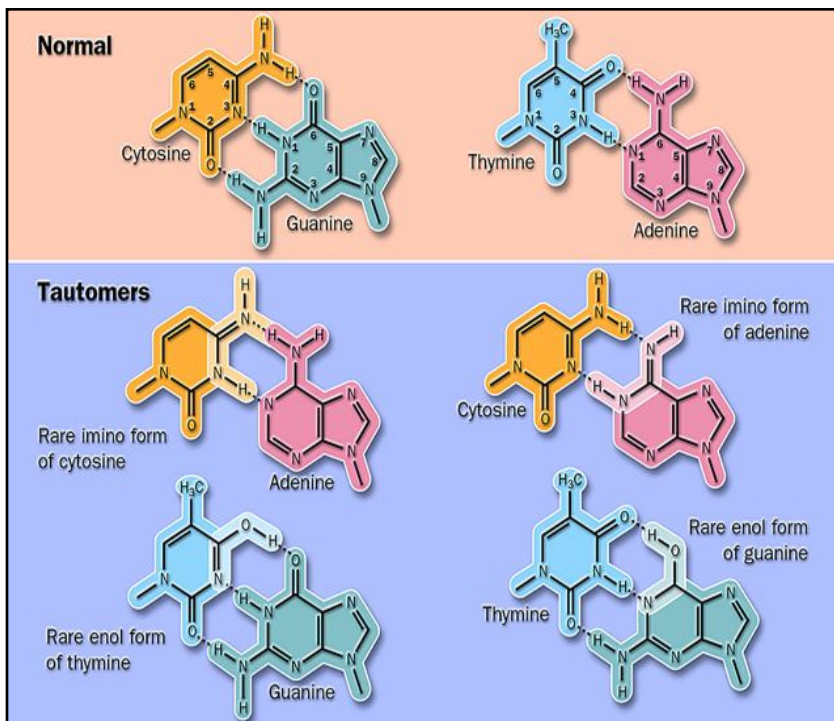


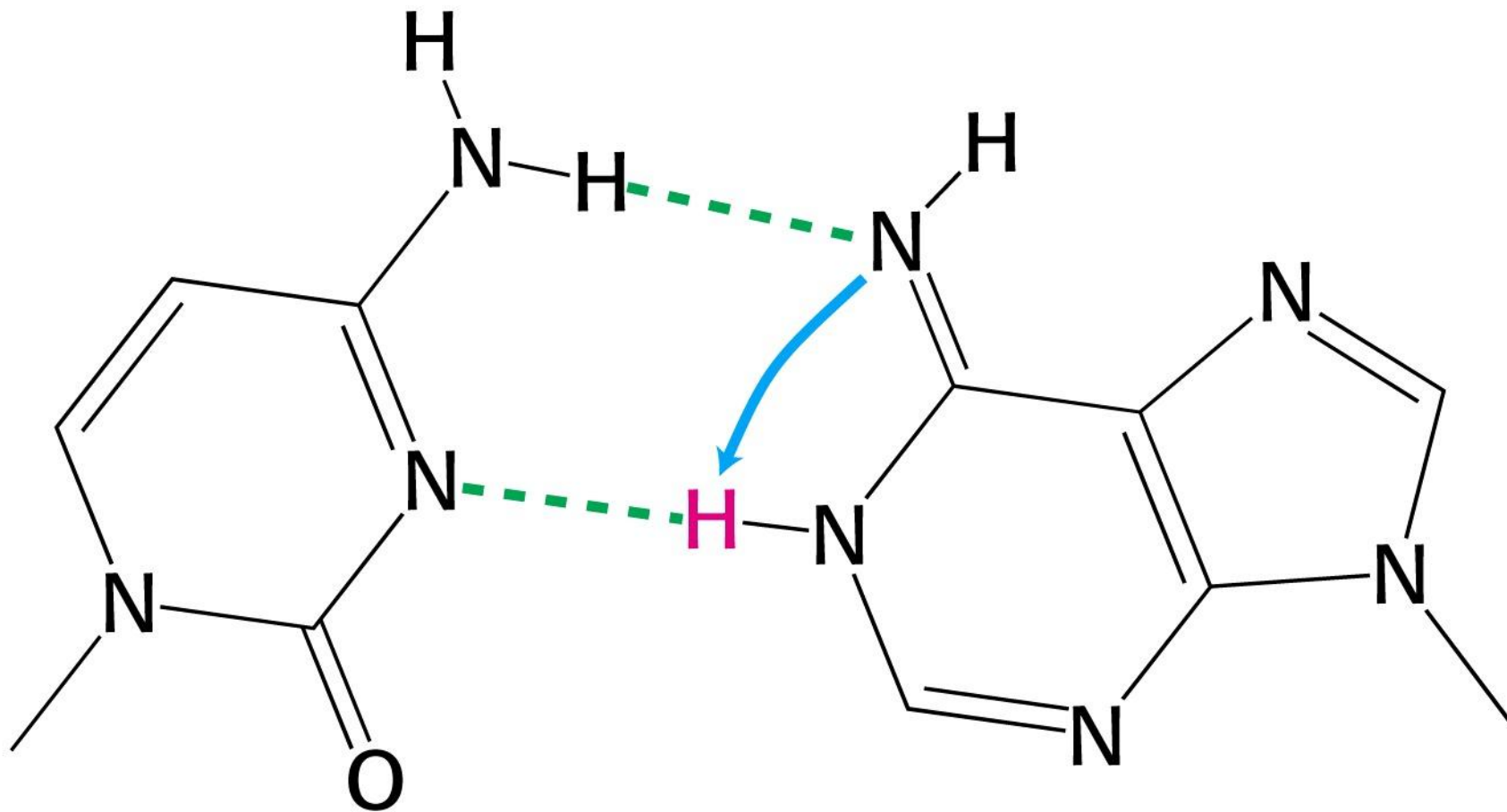
Расстояние между параллельными плоскостями оснований в В-форме оказывается как раз таким, чтобы освободившиеся при УФ-облучении валентности между С5-С6 атомами пиримидиновых оснований, расположенных рядом в цепи ДНК, могли замкнуться друг на друга и сформировать циклобутановое кольцо.

Таутомерные переходы

- **Таутомерия** (от греч. *tautós* — тот же самый и *méros* — доля, часть), быстрая обратимая структурная изомеризация; способные к таутомерии вещества при установившемся равновесии представляют собой смеси двух (или нескольких) взаимопревращающихся изомеров — **таутомеров**.
- Цитозин и аденин имеют при ароматическом гетероцикле аминную группу, а тимин и гуанин кетонную, следовательно есть возможность аминно-иминной кето-енольной таутомерии.

- Образующиеся в момент репликации редкие иминные и енольные формы оснований влекут за собой их ошибочное спаривание, а следовательно понижают точность работы ДНК-полимераз.





Cytosine

Adenine
(rare imino tautomer)

Разнообразие систем репарации

- Существует огромное количество самых различных систем репарации. Все эти системы появлялись в эволюции независимо, в различные её периоды.
- Один тип повреждений, как правило, репарируют несколько различных ферментативных систем, взаимно дополняя друг друга.
- К **прямой репарации** относят процессы в которых происходит узнавание и непосредственное восстановление какого-либо типа повреждений.
- К **непрямой репарации** (опосредованной) относят процессы более универсального характера, позволяющие исправлять широкий набор повреждений с помощью мультиферментных систем.

Разнообразие систем репарации

- **Прямая репарация:**

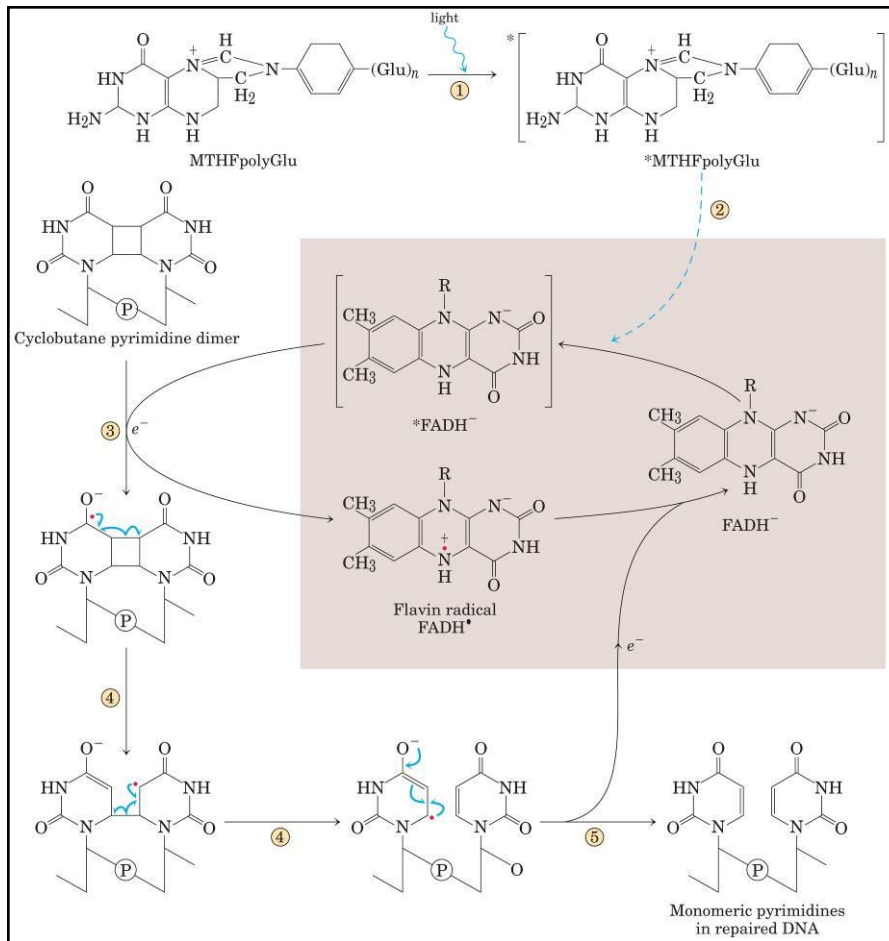
- Фотореактивация.
- Дезалкилирование модифицированных нуклеотидов.
- Сшивание однонитевых разрывов.
- Прямая вставка оснований в АП-сайт.

- **Непрямая репарация:**

- Эксцизионная репарация ДНК путем удаления поврежденных азотистых оснований (BER).
- Эксцизионная репарация ДНК путем удаления нуклеотидов (NER).
- Репарация ошибочно спаренных нуклеотидов (MMR).
- Пострепликативная (рекомбинационная) репарация.
- SOS-репарация.

Фотореактивация

- В фотолиазе есть участок, служащий светочувствительным центром, который способен адсорбировать фотоны.

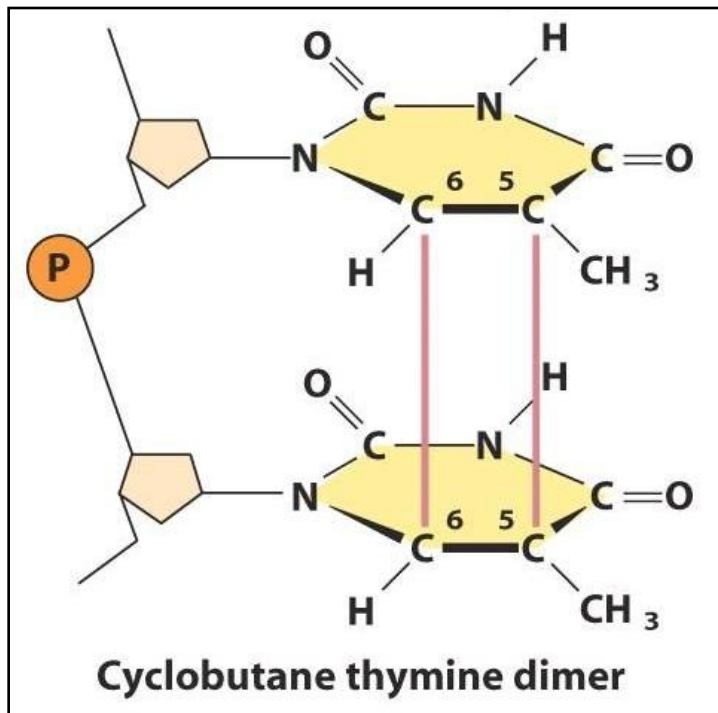


Метенилтетрагидрофолатное производное выполняет роль светочувствительной антенны для квантов синего света ($\lambda=300-500$ нм).

Энергия возбужденного квантом света фолата передается на FADH⁻ в активный центр фермента.

Возбужденный флаavin отдает электрон пиридиновому димеру, который в результате этого превращается в нестабильный свободный радикал, распадающийся с образованием двух свободных пиридиновых оснований.

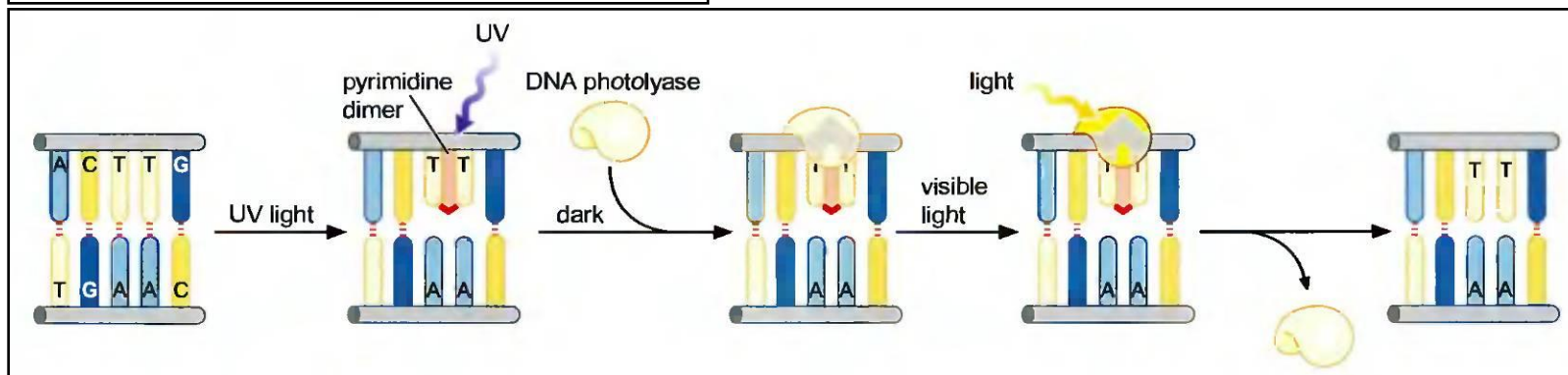
Фотореактивация



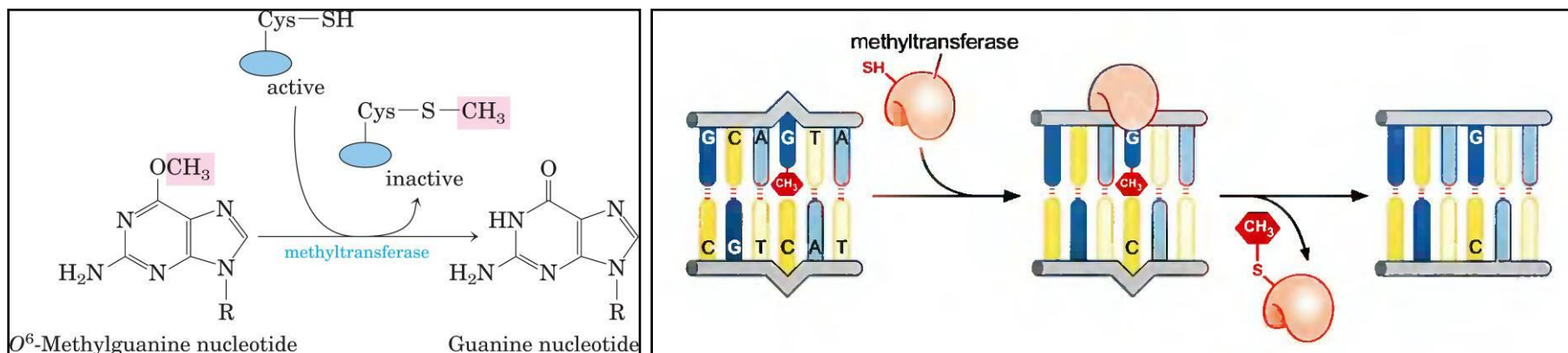
Система ферментативной фотореактивации ДНК (photoreactivation – РНР), основным компонентом которой является **ДНК-фотолиаза**, разделяет пиримидиновые димеры, превращая их в нормальные пиримидиновые основания.

Фотолиаза непосредственно взаимодействует с поврежденным участком ДНК.

Видимый свет абсолютно необходим для работы фотолиазы.

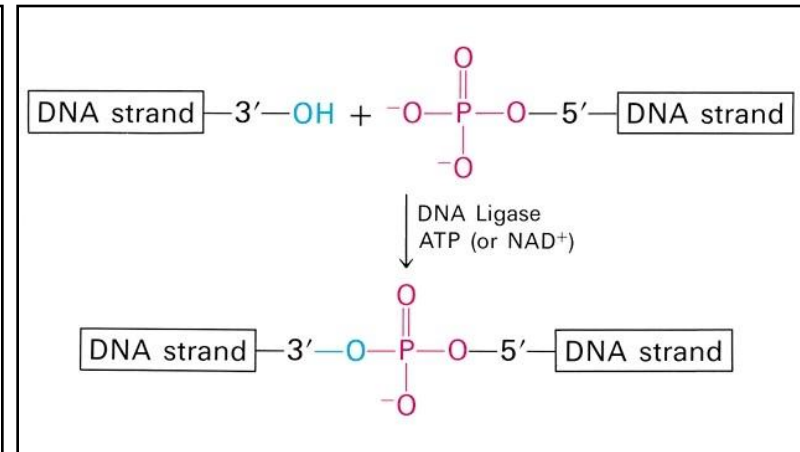
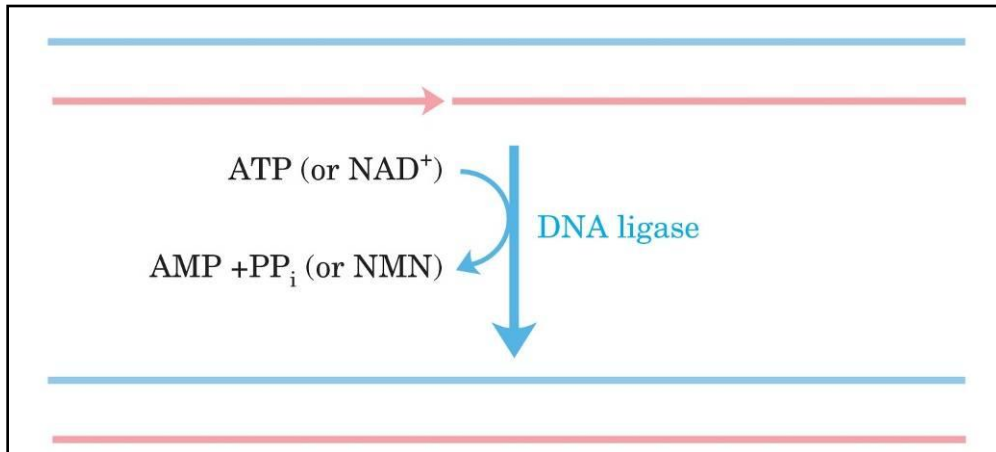


Репарация алкилированных оснований



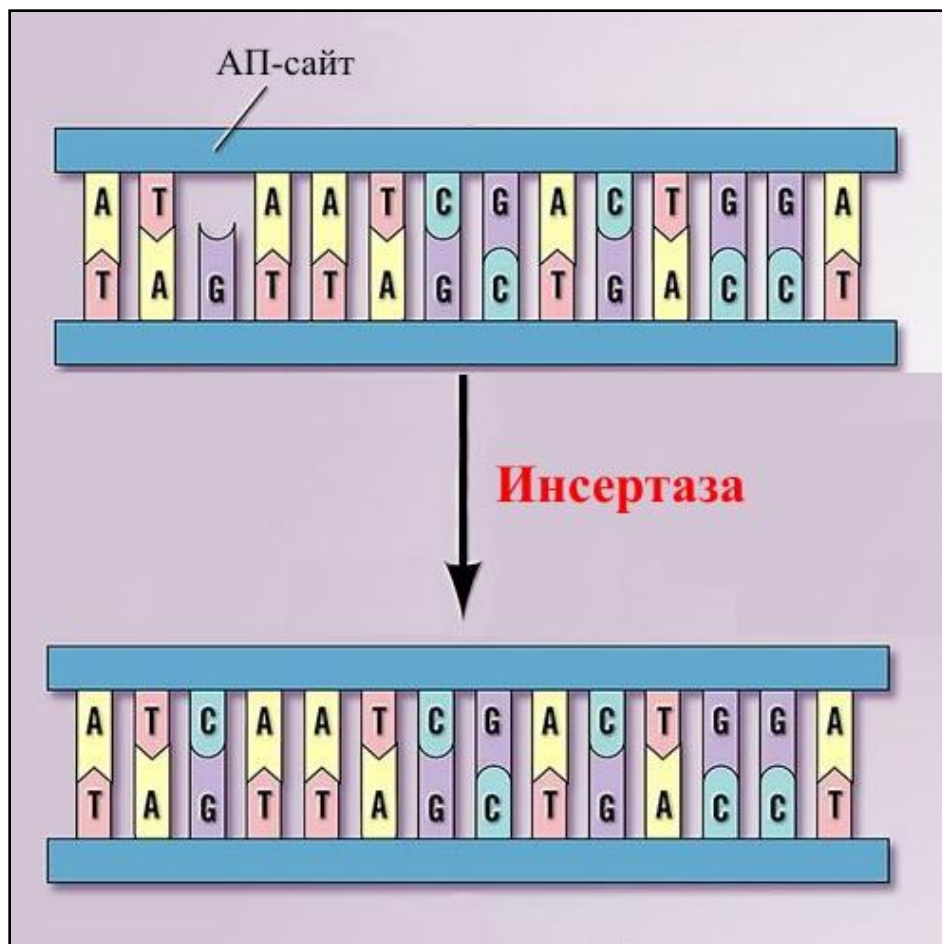
- В клетках синтезируются белки метилтрансферазы, которые могут захватывать метильные группы от модифицированного основания и благодаря этому восстанавливать исходную структуру ДНК.
- Важно отметить, что метилтрансфераза, захватив метильную группу, не может от нее освободиться. Тем самым в прямом смысле эти белки не ферменты, так как последние не изменяются в ходе реакций.
- Внутри клетки метилтрансфераз накапливается несколько тысяч, чтобы обеспечить нужды репарации: по одной молекуле уходит на одно повреждение.

Сшивание однонитевых разрывов:



- Этот тип реакций прямой репарации был обнаружен для однонитевых разрывов ДНК, индуцируемых ионизирующим излучением.
- При этом с помощью фермента ДНК - полинуклеотидлигазы (от англ. *ligase* - соединять, связывать) происходит прямое воссоединение разорванных концов в молекуле ДНК.

Вставка оснований в АП-сайт



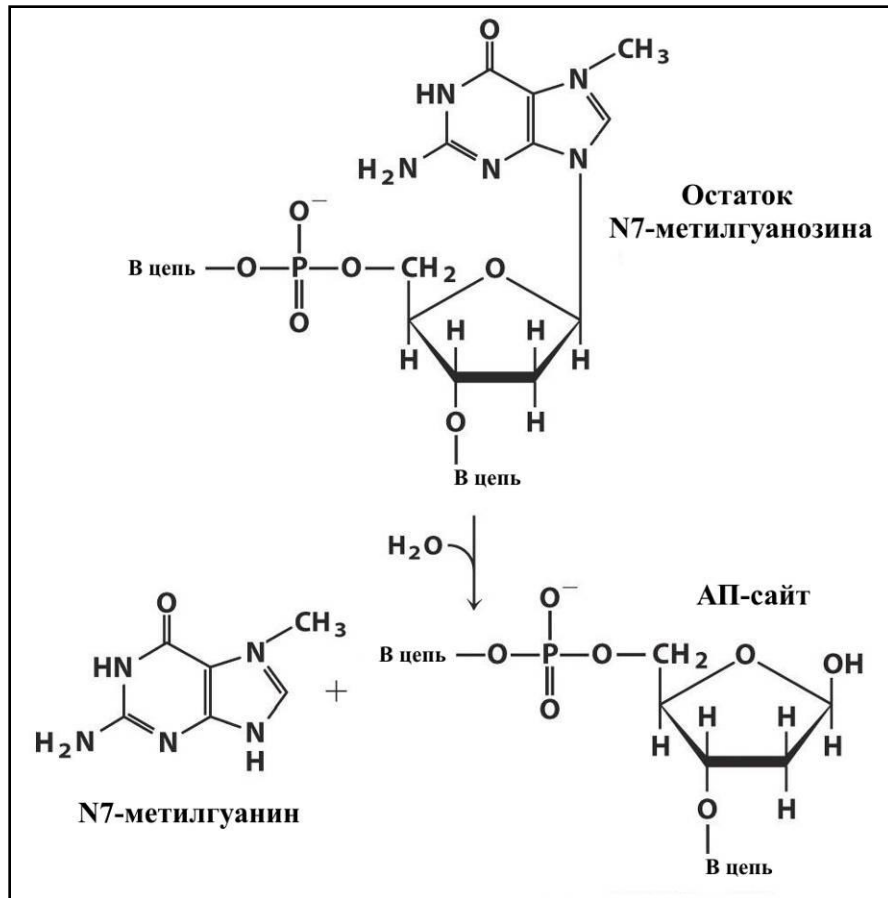
Ковалентная связь между основанием и сахаром (β -гликозидная связь) может рваться. Тогда в молекуле ДНК на месте этих оснований образуется брешь, названная АП-сайтом.

Описаны ферменты, названные инсертасами (от англ. insert - вставлять), которые могут вставлять в брешь такое же основание, какое было до поражения, и соединять его с дезоксирибозой.

Структура ДНК приобретает исходный неповрежденный вид.

***Эксцизионная репарация ДНК
путем удаления
поврежденных азотистых
оснований (BER)***

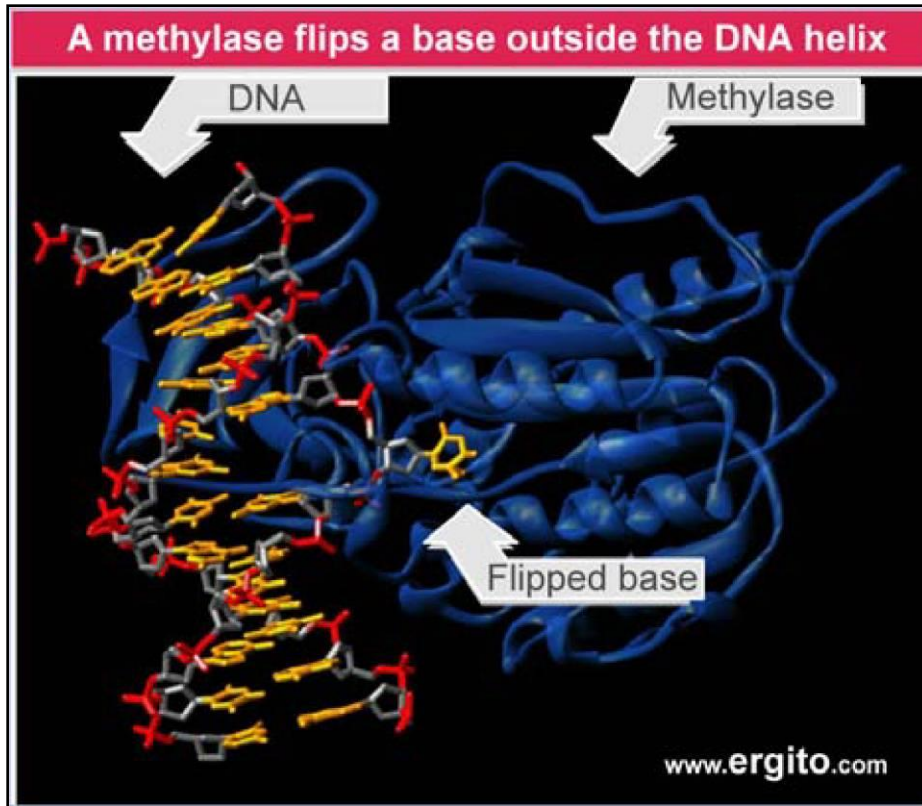
Base excision repair – BER



Система BER обеспечивает защиту геномной ДНК от повреждений, вызываемых главным образом алкилирующими агентами, а также эндогенными генотоксическими соединениями, включая внутриклеточные радикалы кислорода и другие реакционноспособные метаболиты

BER начинает функционировать с отщепления ошибочно включенных или модифицированных оснований от дезоксирибозы под действием ключевого фермента – ДНК-гликозилазы, обладающего способностью отщеплять большое число модифицированных оснований ДНК

Механизм работы гликозилаз



Механизм связывания поврежденного основания гликозилазой имеет много сходных моментов с механизмом захвата метилазами своих субстратов.

Метилаза выворачивает модифицируемое основание из цепи наружу от фосфодиэфирного остова молекулы. Это вывернутое основание входит в особую щель фермента, где расположен его активный центр, в котором на него переносится метильная группа.

Затем модифицированное основание возвращается обратно в цепь. Все описанные выше реакции не требуют дополнительного притока энергии.

ДНК гликозилазы «выворачивают» модифицированное основание наружу и отщепляют его от сахара-фосфатного остова

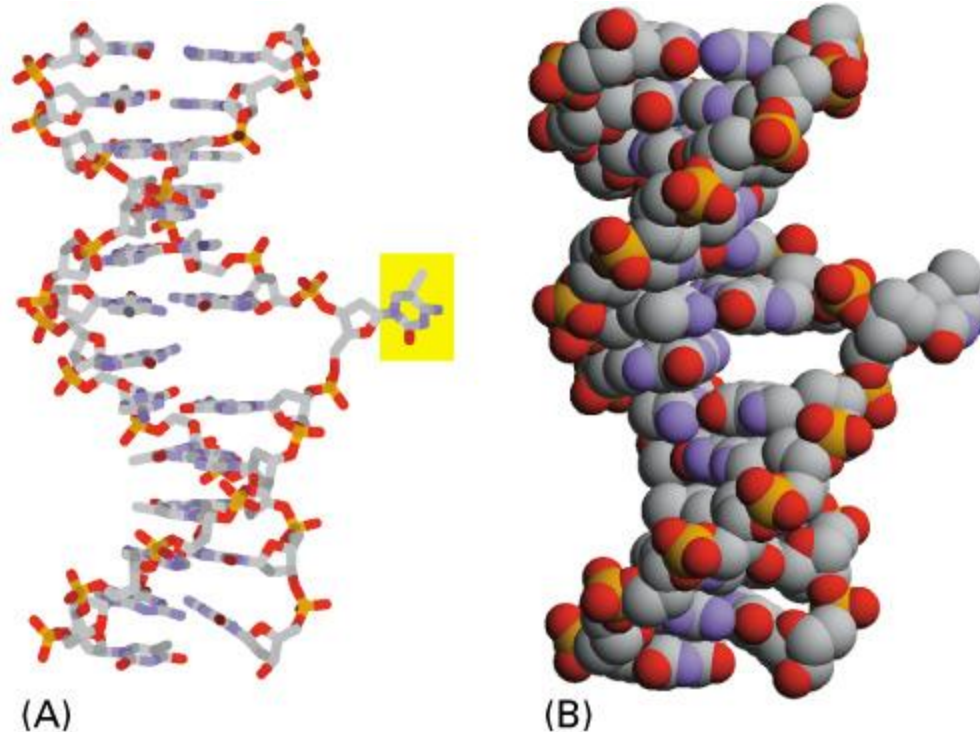
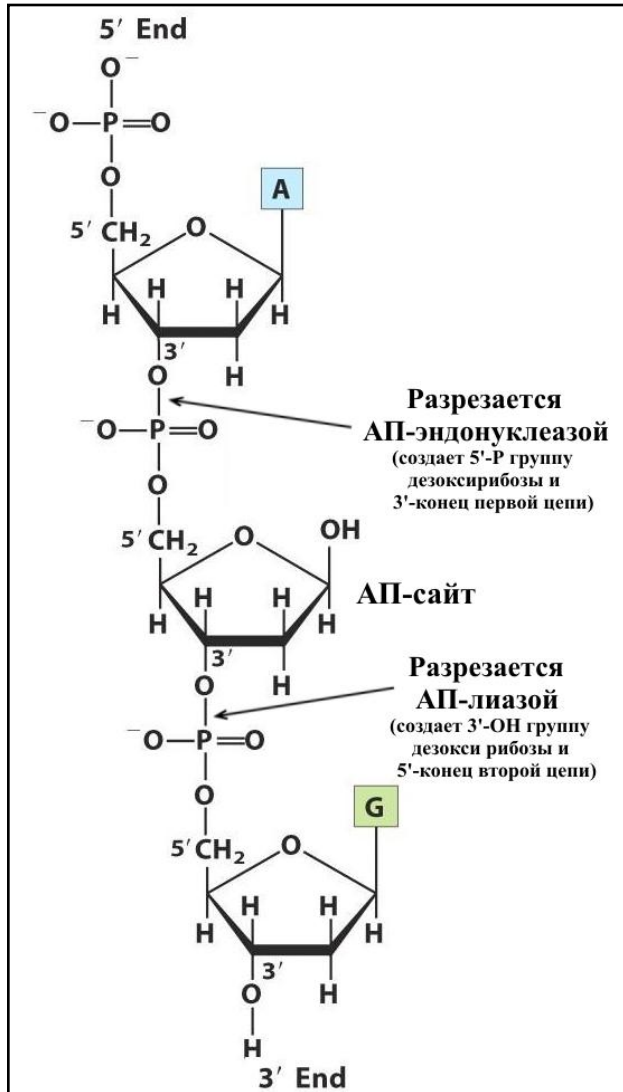


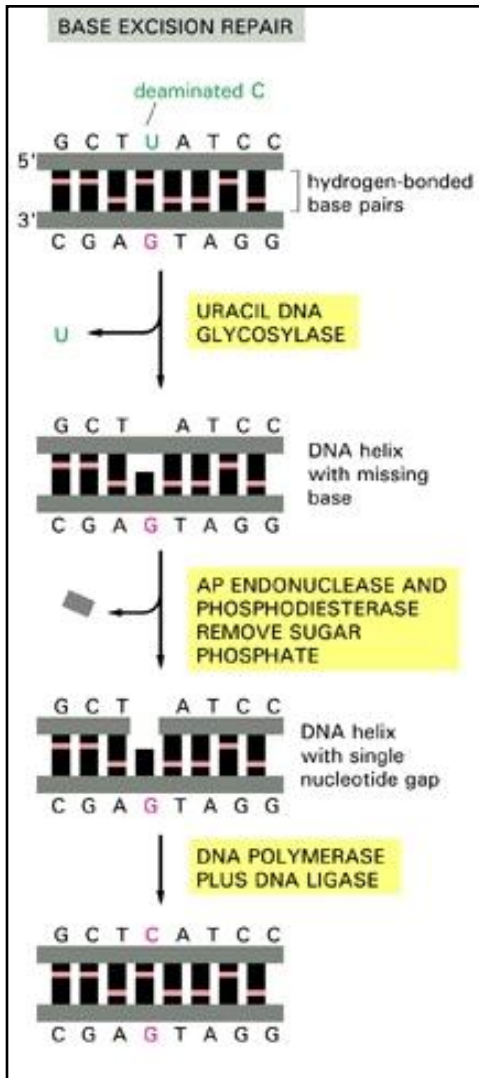
Figure 5-51. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Base excision repair – BER



- Гликозилазы присоединяются модифицированным основаниям и гидролизуют β -N- гликозидные связи между основанием и сахаром дезоксирибозой, за счет чего образуется АП-сайт.
- Образовавшаяся АР-дезоксирибоза далее вырезается с помощью АР-лиазы, которая освобождает ее 3'-конец, и АР-эндонуклеазы, гидролизующей ее 5'-концевую фосфодиэфирную связь в АР-сайте.

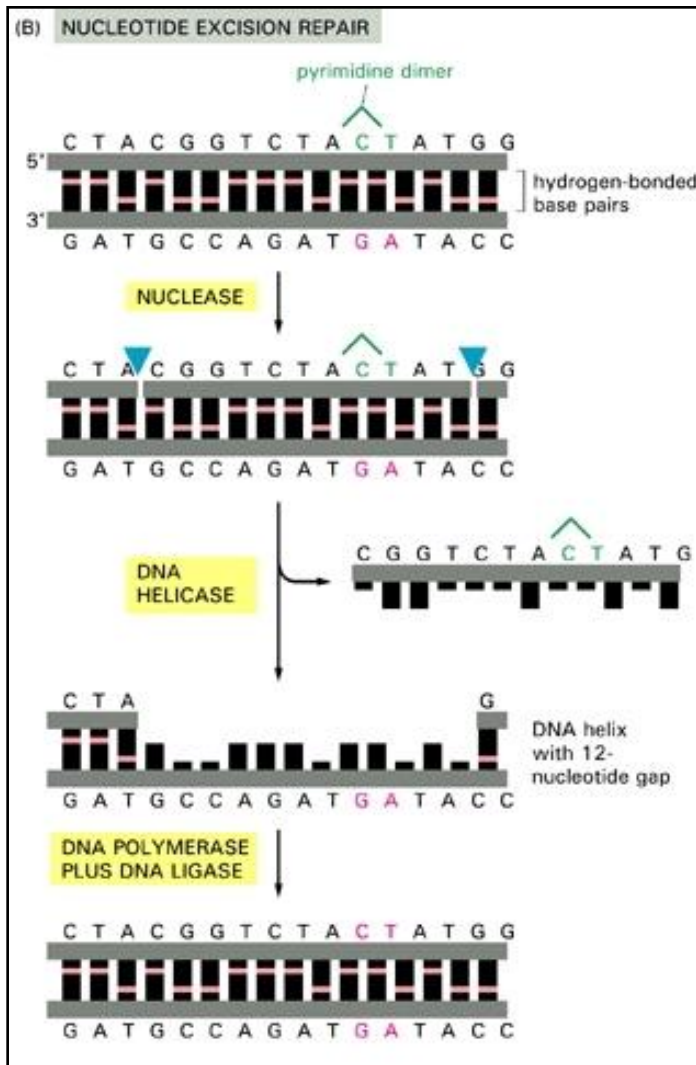
Base excision repair – BER



- Появившаяся брешь в одной цепи ДНК размером в один нуклеотид застраивается с участием фермента ДНК - полимеразы I. Она вставляет в брешь комплементарный ему нуклеотид, присоединяя его к свободному 3 'ОН-концу.
- Для соединения одноцепочечного разрыва в фосфодиэфирном остове вступает в действие еще один фермент — ДНК-лигаза.

***Экцизионная репарация ДНК
путем удаления нуклеотидов
(NER)***

Nucleotide excision repair – NER



Если в системе BER происходит удаление отдельных поврежденных азотистых оснований ДНК путем разрыва соответствующих N-гликозид-ных связей между азотистыми основаниями и остатками дезоксирибозы, то в системе NER поврежденные азотистые основания вырезаются в составе олигонуклеотидов.

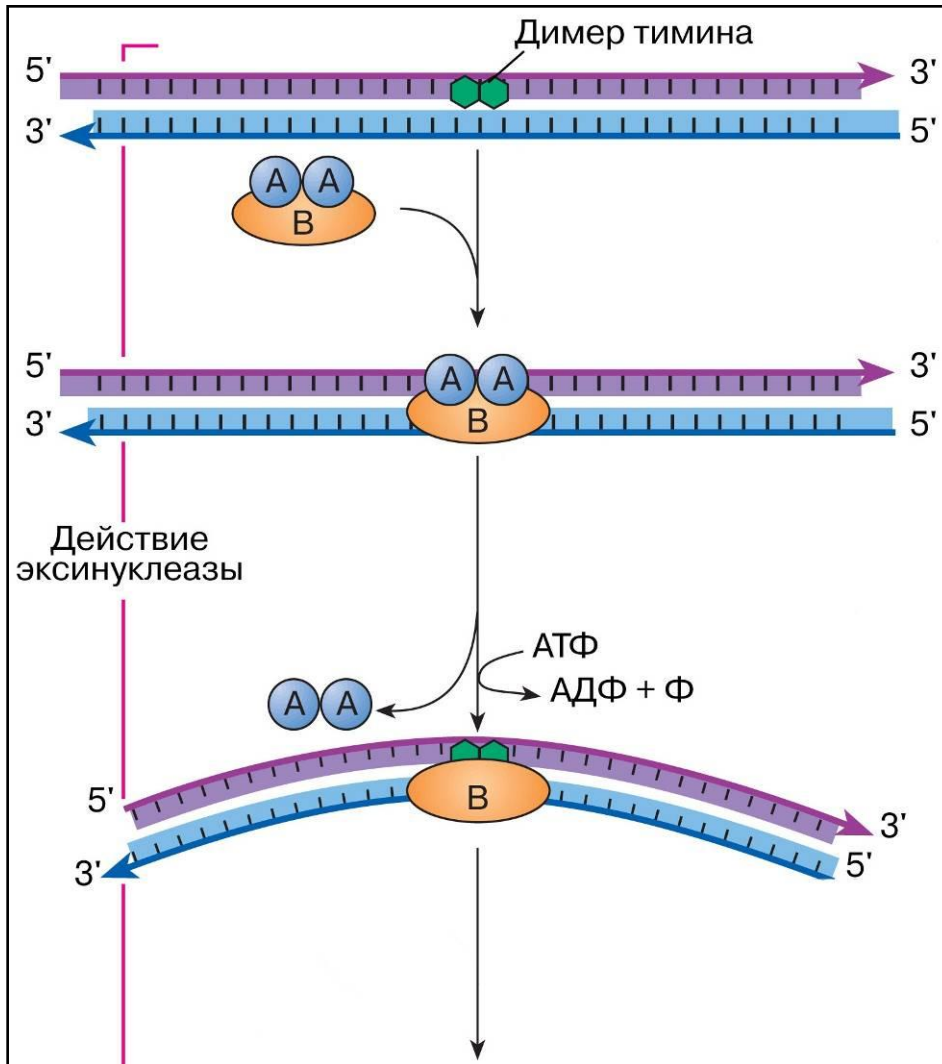
Процесс NER условно можно разделить на четыре этапа:

1. Распознавание поврежденного участка ДНК;
2. Двойное надрезание (инцизия) цепи ДНК по обеим сторонам поврежденного участка и его удаление (эксцизия);
3. Заполнение брешы в процессе репаративного синтеза;
4. Лигирование оставшегося одноцепочечного разрыва ДНК.

Nucleotide excision repair – NER

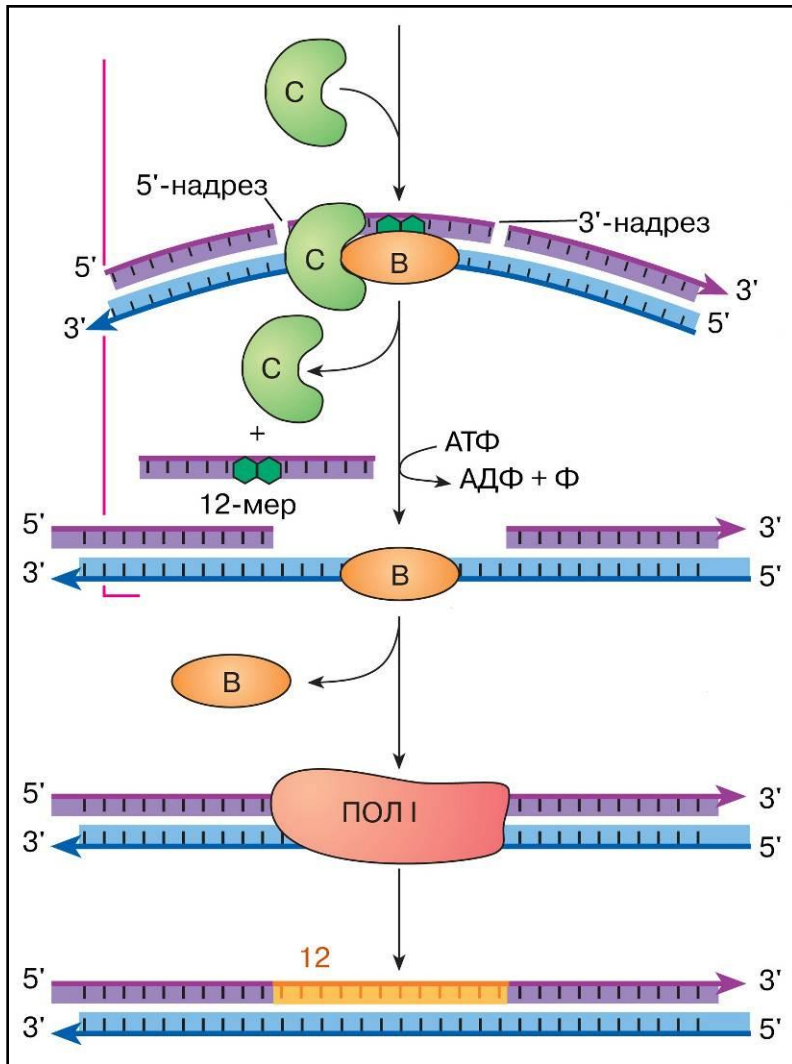
- В отличие от **BER**, субстратами системы **NER** являются не только поврежденные (модифицированные) основания, но и одиночные ошибочно спаренные нуклеотиды, а также петли длиной в 1–3 нуклеотида.
- Но в отличие от системы **MMR**, удаляющей неправильно спаренные основания, **NER** не может идентифицировать, нуклеотид какой цепи ДНК оказывается правильным. В результате происходит вырезание неспаренных нуклеотидов из любой цепи случайным образом.
- Главными участниками **NER** в клетках *E. coli* (но не у человека) является мультиферментный комплекс, содержащий эндонуклеазы, кодируемые тремя генами: **uvrA**, **uvrB** и **uvrC** (названия генов даны по первым буквам слов *ultra violet repair*).
- Комплекс получил название "эксинуклеаза".

Механизм работы



- Белковые ножницы, содержащие две копии белка UvrA и одну копию UvrB, узнают поврежденный участок и присоединяются к нему.
- Энергия АТФ используется, чтобы изогнуть молекулу ДНК и изменить конформацию белка UvrB; димер UvrA отсоединяется.

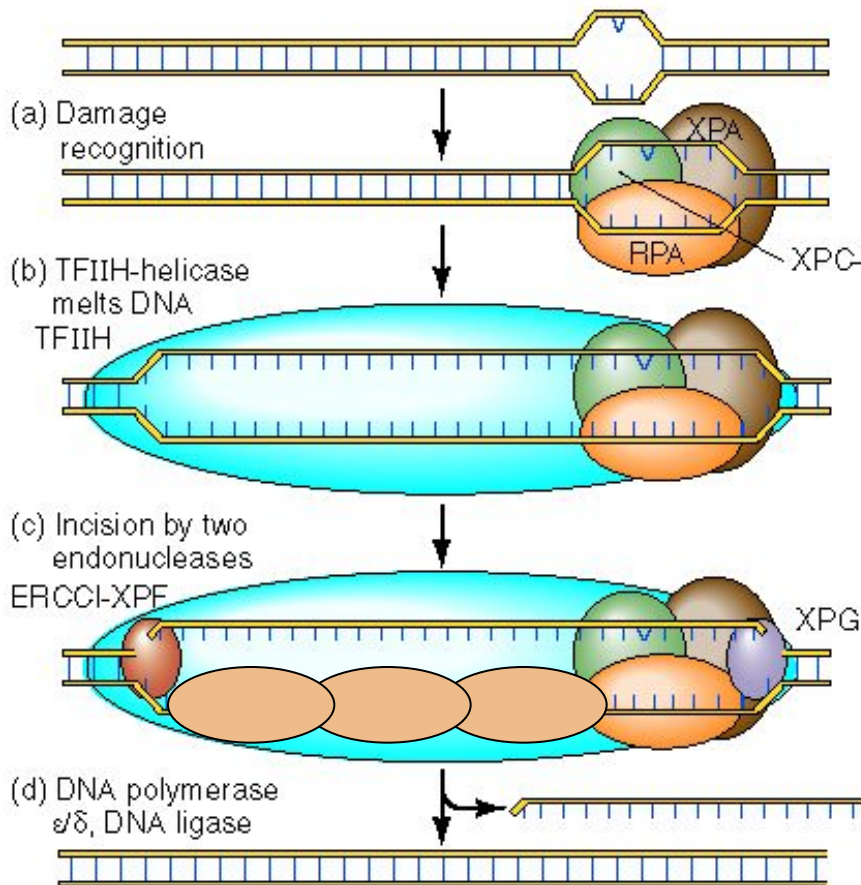
Механизм работы



- Белок UvrC присоединяется к комплексу UvrB – ДНК; белок UvrB делает 3'-надрез, а UvrC вносит 5'-надрез вблизи повреждения.
- UvrD хеликаза отсоединяет вырезанный олигомер.
- ДНК-полимераза I замещает UvrB белок и застраивает образовавшуюся брешь, комплементарно противоположной нити.
- ДНК лигаза соединяет свободные концы, оставленные полимеразой.

У эукариот механизм эксцизии нуклеотидов в общих чертах схож с прокариотическим, но существенно отличается в деталях

Повреждения в ДНК могут узнаваться либо особой группой белков (global NER) либо РНК-полимеразой (transcription-coupled NER)



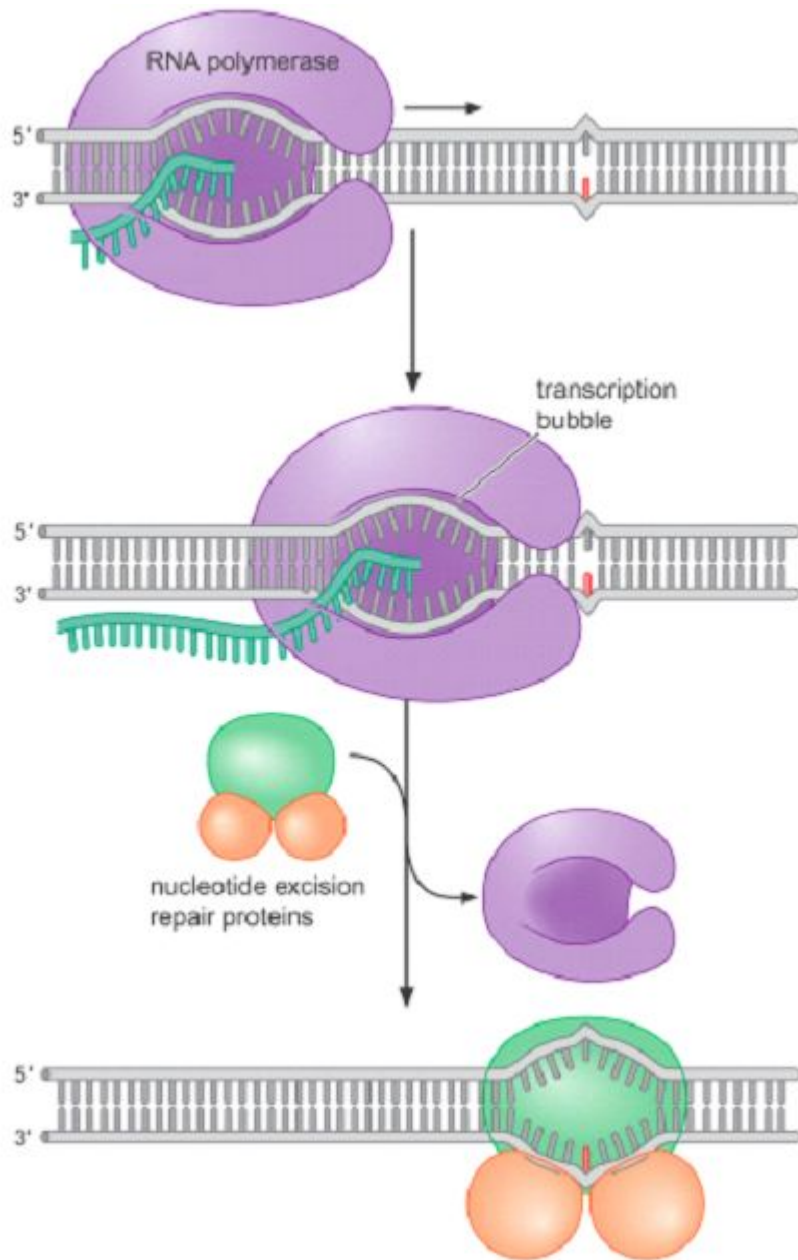
XPC в комплексе с hHR23B узнают повреждения и вызывают локальную денатурацию ДНК. **XPA** стабилизирует комплекс и привлекает другие белки

XPB+XPD - субъединицы TFIIH
TFIIH является общим транскрипционным фактором, обладающим хеликазной активностью. В данном случае TFIIH расширяет локально-денатурированный участок

ERCC1-**XPF** – эндонуклеаза, вносящая 5'-разрыв
XPG – эндонуклеаза, вносящая 3'-разрыв

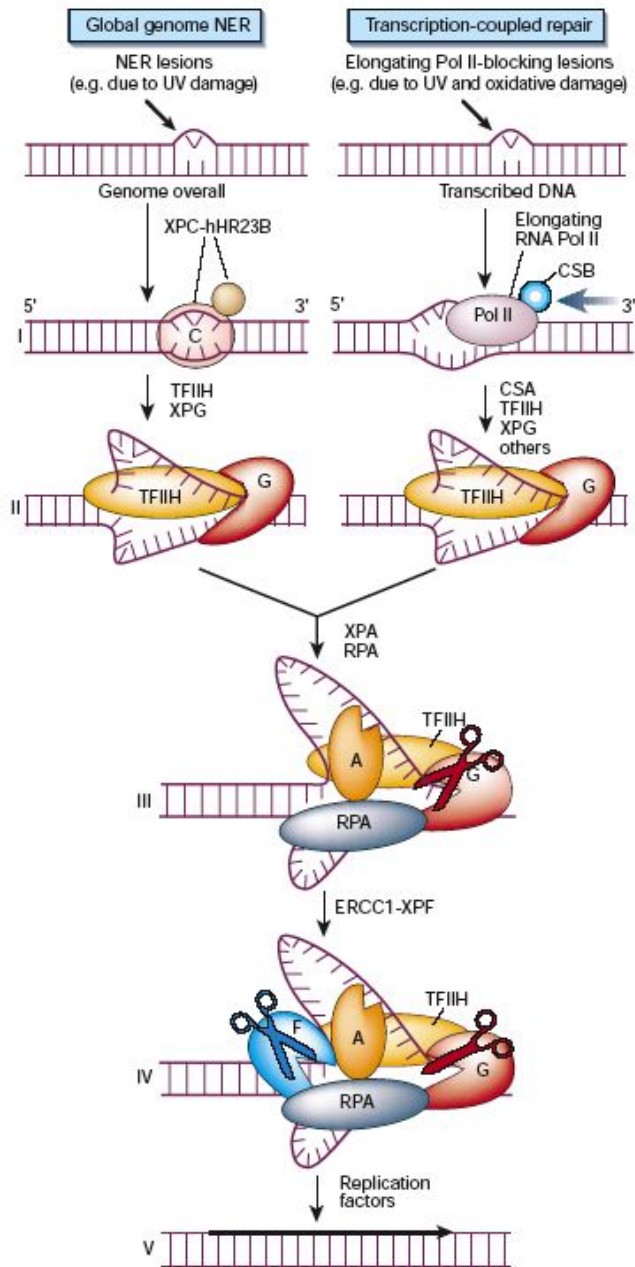
RPA помогает позиционировать нуклеазы по краям расплавленного участка ДНК

Функции **XPE** не понятны. In vitro этот белок не нужен



Повреждения ДНК могут вызвать остановку элонгирующей РНК-полимеразы

Ферменты NER узнают такой задержанный комплекс и процессируют его подобно комплексу XPA-XPC –hHR23B



XPC - damage recognition

XPB & XPD – TFII H DNA helicase

XPA stabilisation of SS DNA fragment

ERCC1-XPF - 5' incision

XPG - 3' incision

(junction specific endonucleases)

CSA & CSB - role in processing RNAP II?

Различия NER у про- и эукариот

1. Гены **NER** у *E. coli* **uvrA**, **uvrB** и **uvrC** не обнаруживают гомологии с соответствующими генами млекопитающих и дрожжей.
2. В универсальном механизме эксцизионной репарации как прокариоты, так и эукариоты гидролизуют 3–5-ю фосфодиэфирную связь с 3'-конца от повреждения. При этом прокариоты гидролизуют также 8-ю связь от 5'-конца измененного нуклеотида, тогда как у эукариотических организмов происходит одноцепочечный разрыв на расстоянии 21–25 нуклеотидов от повреждения со стороны его 5'-конца. Таким образом, прокариоты удаляют измененный нуклеотид в составе 12–13-членных олигомеров, тогда как эукариоты – в составе одноцепочечных фрагментов ДНК длиной в 27–29 нуклеотидов.
3. Млекопитающим требуется в среднем в четыре раза больше ферментов репарации, чем бактериям (эксинуклеаза состоит по крайней мере из 17 белков).

Подавление **NER** ведет к резкому увеличению числа мутаций хромосом, замедлению роста и развития организмов, и к другим нежелательным последствиям.

***Репарация ошибочно
спаренных нуклеотидов (MMR)***

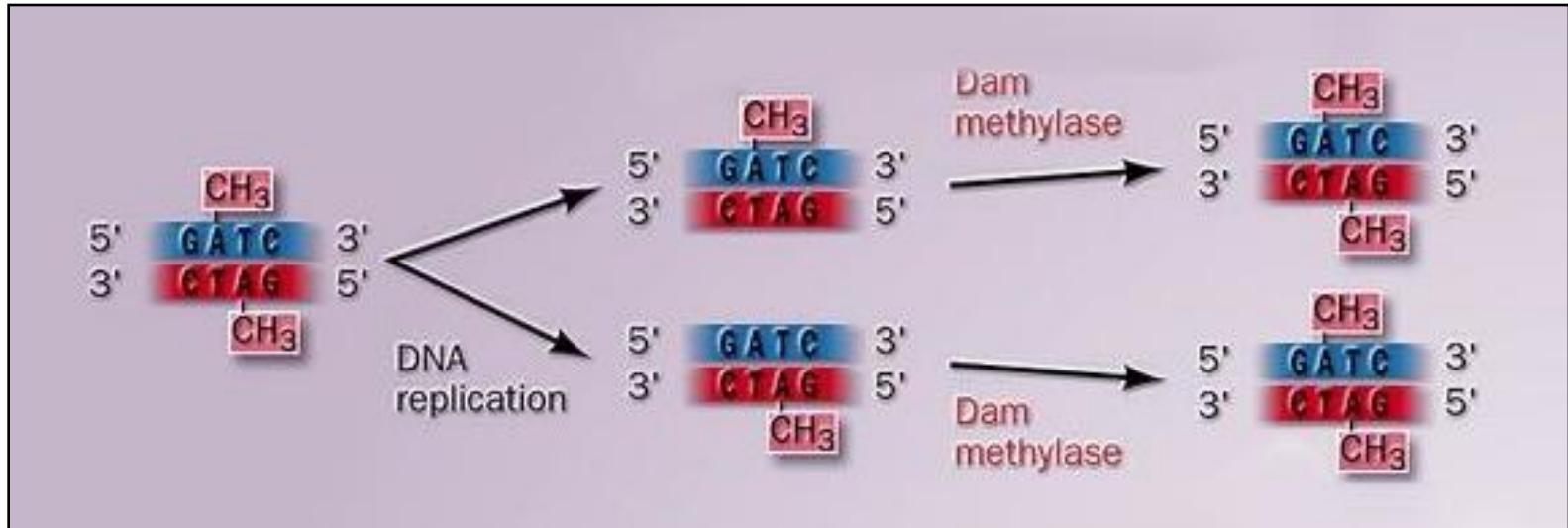
Mismatch repair - MMR

- В отличие от **NER**, так же удаляющей неправильно спаренные основания, **MMR** может идентифицировать нуклеотид какой цепи ДНК является правильным (способна обнаруживать матрицу для репарации).
- Субстратами системы MMR у *E. coli*, использующей белки MutHLS являются все некоплементарные пары оснований за исключением C–C, а также небольшие вставки в одну из цепей ДНК, длина которых не превышает четырех нуклеотидов.

Система MMR выполняет в клетке несколько важных функций:

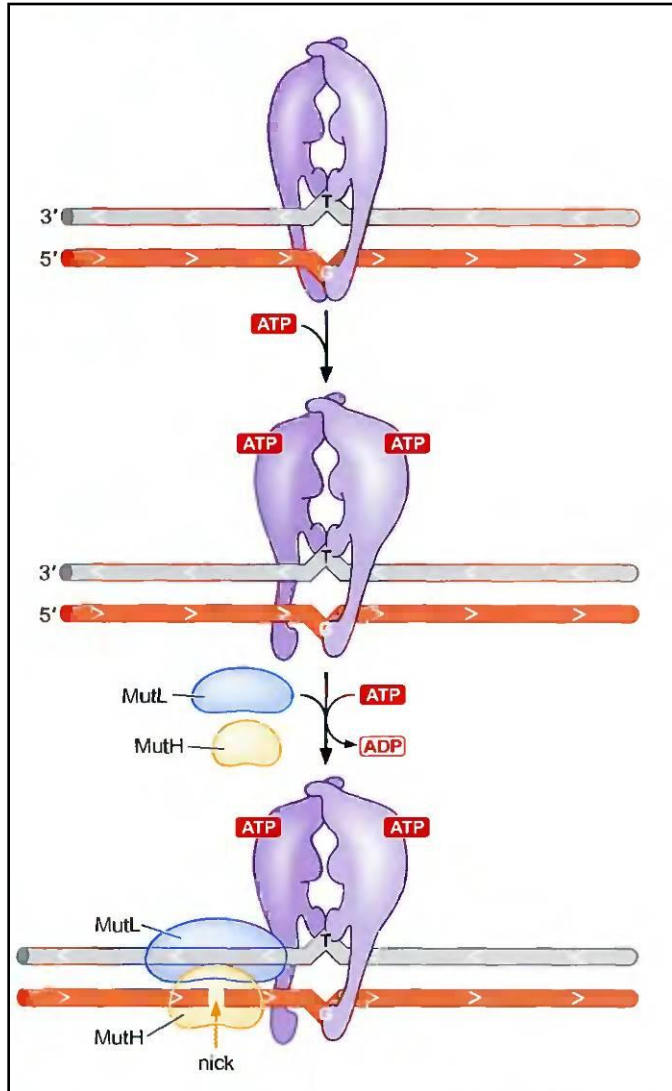
1. Исправляет ошибки репликации ДНК, меняя ошибочно включенные нуклеотиды.
2. Обеспечивает гомологичную рекомбинацию между дивергировавшими последовательностями ДНК, посредством процессинга промежуточных продуктов рекомбинации.
3. Обеспечивает задержку клеточного цикла в ответ на повреждения ДНК.

Метилирование матричных цепей



- Обычно у *E. coli* ДНК метилирована Dam-метилазой по сайтам GATC. После завершения репликации вновь синтезированная дочерняя цепь ДНК некоторое время остается неметилированной. Система MutHLS избирательно репарирует дочернюю цепь ДНК, тем самым значительно повышая точность репликации.
- Если сайты **GATC** полностью метилированы, MutHLS-система репарации *E. coli* изменяет ошибочно спаренные нуклеотиды в обеих цепях ДНК с одинаковой эффективностью.
- Использование Dam-метилазы для распознавания дочерней цепи реплицировавшейся ДНК является уникальным свойством грамотрицательных бактерий. У грамположительных бактерий не происходит метилирование цепей ДНК в целях маркировки.

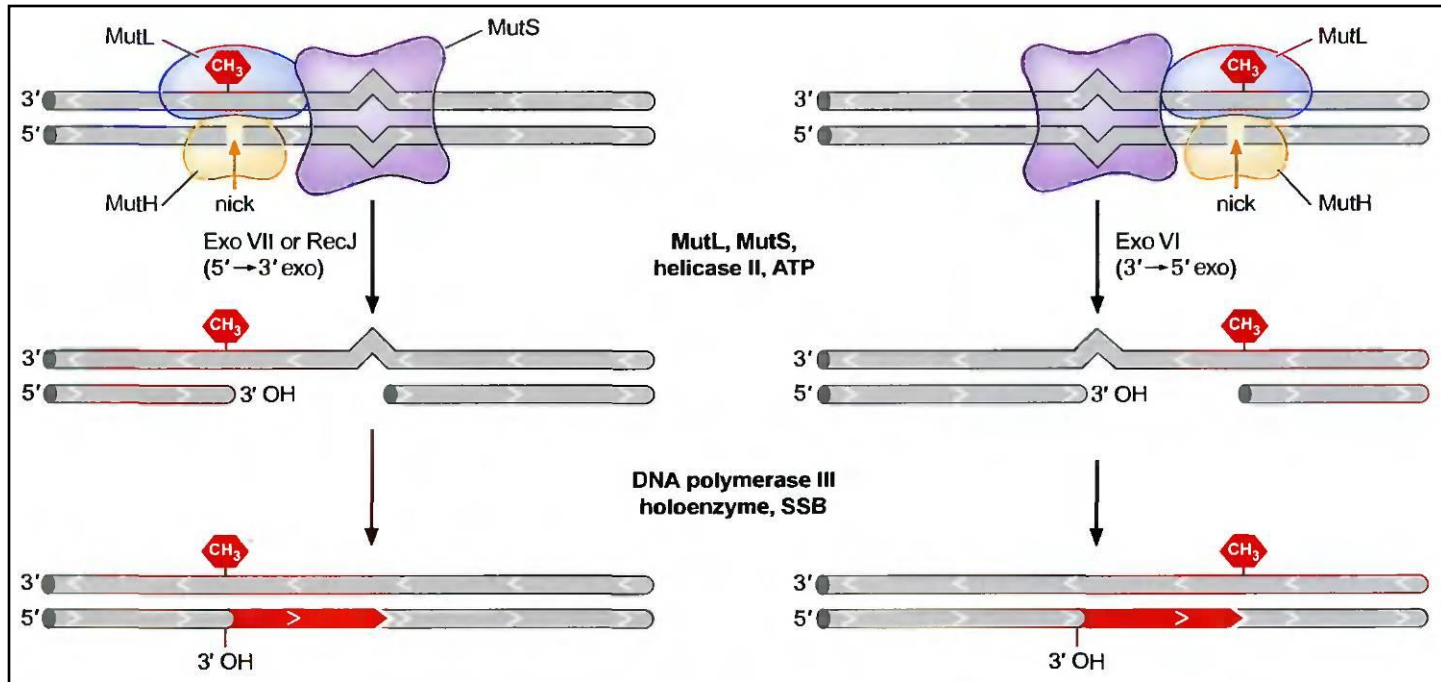
Механизм работы



На начальных этапах система MMR задействует белковые продукты четырех генов: *mutH*, *mutL*, *mutS* и *uvrD* (*mutU*):

1. **Белок MutS** распознает повреждение и связывается с ошибочно спаренными нуклеотидами в виде гомодимера.
2. С каждым мономером MutS связывается **белок MutL**, не обнаруживающий ферментативной активности, но абсолютно необходимый для присоединения и **активации** другого белка – MutH.
3. **Белок MutH** – эндонуклеаза, способная находить участок GATC и предпочтительно вносить одноцепочечный разрыв в неметилованную цепь вблизи аденина последовательности GATC.

Механизм работы



4. После полной сборки комплекса MutHLS, активации эндонуклеазной активности MutH и внесения разрывов в GATC-сайты дочерней цепи, происходит **экзонуклеазное выщепление** участка поврежденной цепи от первичного разрыва до мисмэтча.
 - Надрезы могут быть внесены как с 5'-, так и с 3'-стороны относительно неправильно включенного в дочернюю цепь нуклеотида.
5. Затем в обоих случаях бреши должны быть застроены **ДНК-полимеразой**, а концы воссоединены с помощью **ДНК-лигазы**.

Другие системы

У *E. coli* существуют два других специфических пути репарации ошибочно спаренных нуклеотидов:

- **Система VSP** (very short patch repair pathway) репарирует некомплементарные пары G–T, заменяя их на G–C. Считается, что такие пары образуются в результате дезаминирования 5-метилцитозина в сайтах, где остатки C метилированы Dcm-метиلاзой.
- **MutY-система** репарации специфически ликвидирует последствия окислительных повреждений гуанина. Если dGTP окисляется с образованием 8-оксо-dGTP и остается в составе ДНК неотрепарированным, в следующем раунде репликации он спаривается с А, и в итоге может произойти трансверсия G–C→T–A. В этом случае белок MutY действует как ДНК-гликозилаза, удаляющая остаток А из некорректной пары, и как AP-лиаза, вносящая одноцепочечный разрыв по соседству с AP-сайтом.

Механизмы рекомбинации днк у эукариот.

- **ГЕНЕТИЧЕСКАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ** – перераспределение материала между молекулами или внутри молекулы ДНК, приводящее к появлению новых комбинаций генов.
- **ГОМОЛОГИЧНАЯ** или **ОБЩАЯ Р**, или **КРОССИНГОВЕР**

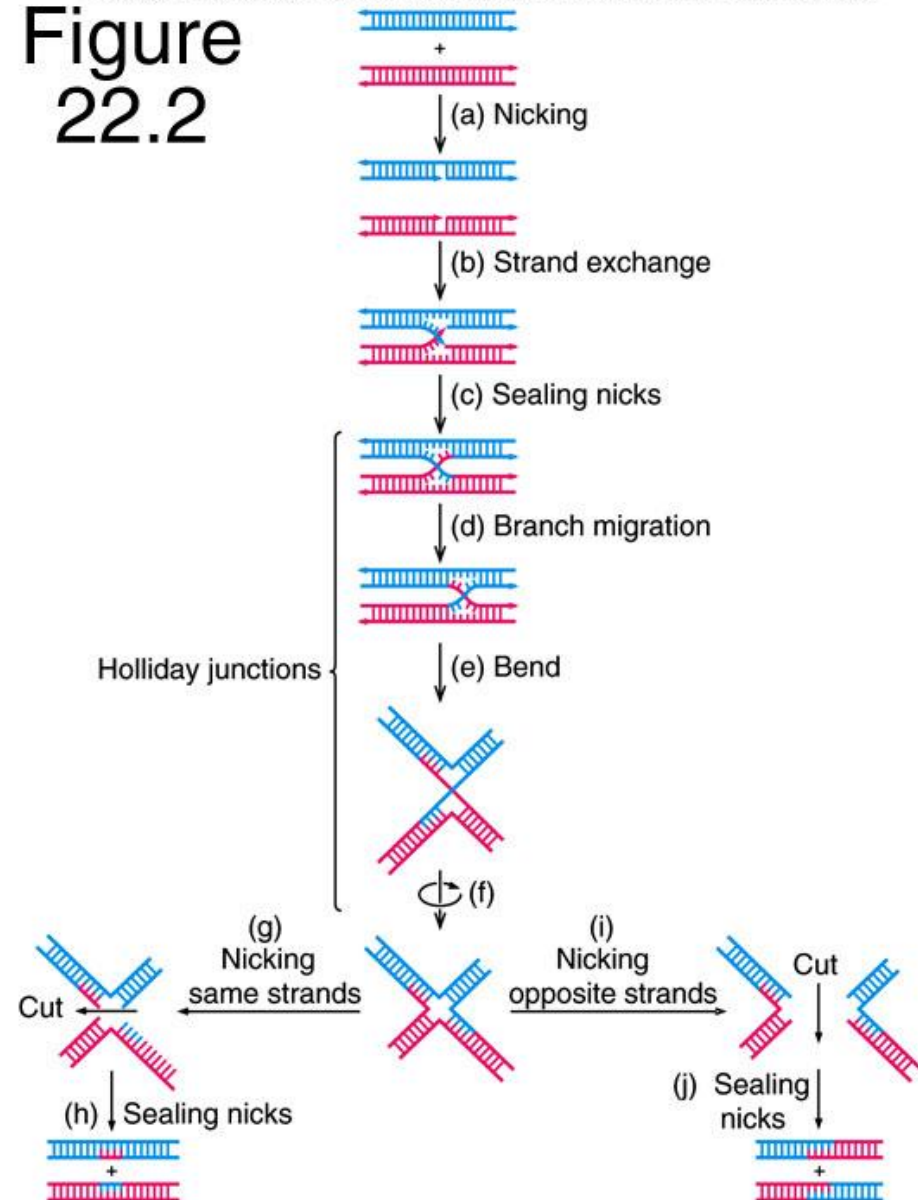
Здесь синапсис основан на спаривании цепей ДНК с комплементарными основаниями, для чего необходимо наличие протяженной гомологии между рекомбинирующими последовательностями. Чтобы обнажить комплементарные (однонитевые) участки для синапсиса, необходимы разрывы и определенная деградация цепей ДНК.

Модель Холлидея

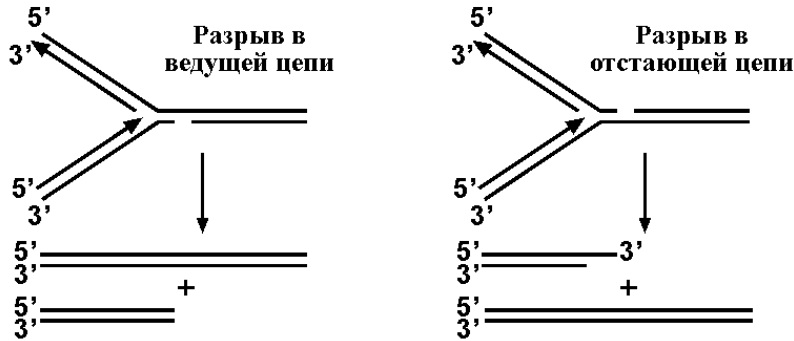
Модель, описывающая механизм кроссинговера между хроматидами, в соответствии с ней 2 несестринских двухцепочечных молекулы ДНК, между которыми происходит рекомбинация, выстраиваются друг против друга, и возникают одноцепочечные разрывы, каждая из расщепленных цепей спаривается с комплементарным участком нерасщепленной цепи противоположного дуплекса, что после лигирования приводит к образованию точки ветвления, которая может перемещаться вдоль цепей ДНК; при этом в каждой из рекомбинирующих молекул ДНК происходит замена сегмента цепи ДНК на цепь рекомбинирующего партнера, после изомеризации комплекса с образованием Х-образной структуры (структура Холлидея) происходит разделение молекул ДНК путем внесения эндонуклеазных разрывов и лигирования

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Permission required for reproduction or display.

Figure 22.2



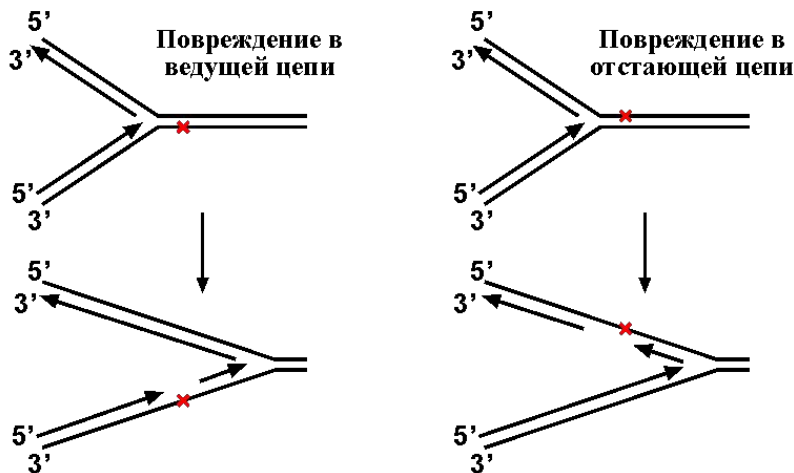
Образование двунитевых разрывов в процессе репликации ДНК (с разрушением вилки репликации)



В клетках эукариот любая рекомбинация, кроме транспозиций, инициируется ДНР ДНК.

Репарация ДНР осуществляется по рекомбинационному механизму, и поэтому называется рекомбинационной репарацией.

Образование однонитевых брешей в процессе репликации ДНК (повреждение обеих цепей)



Гомологичная рекомбинация в соматических клетках происходит, в основном, на стадии репликации ДНК с участием сестринских хроматид, часто в поврежденных вилках репликации.

Сначала рассмотрим пути репарации ДНР ДНК, основанные на гомологичной рекомбинации.

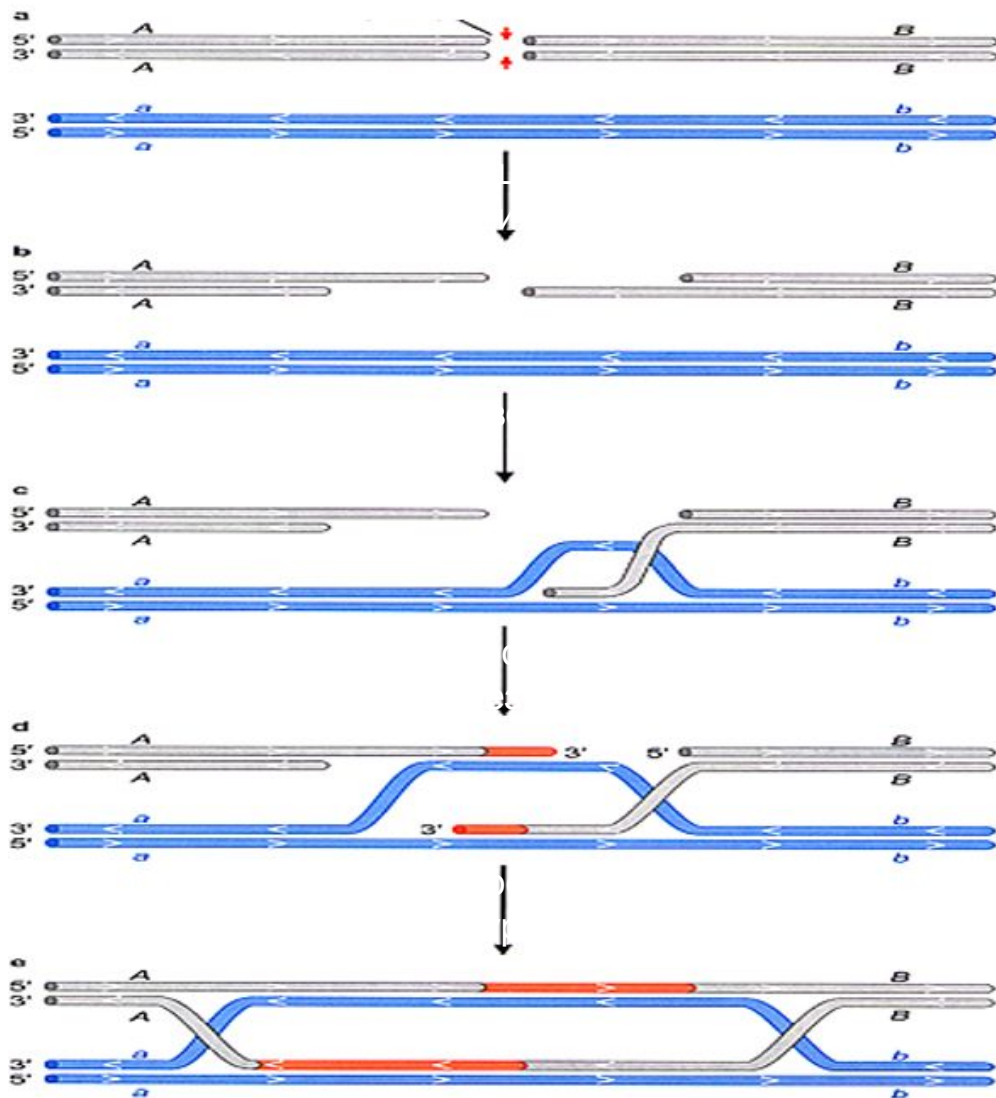
Репарация двуникового разрыва посредством гомологичной рекомбинации

Для репарации двуниковых разрывов с использованием системы гомологичной рекомбинации необходимы:

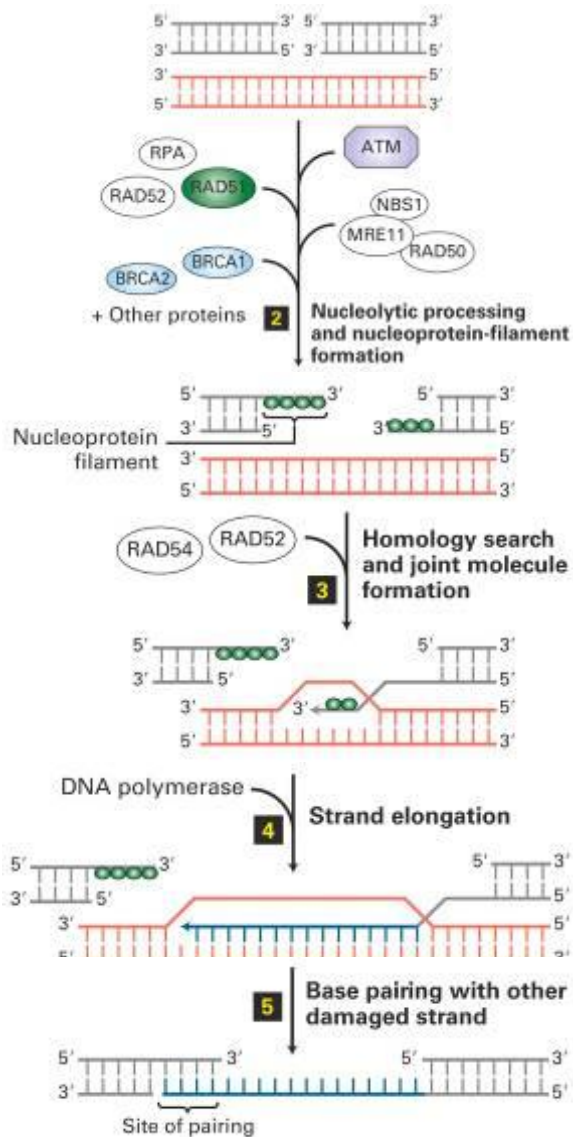
Донор гомологии
(например гомологичная хромосома или сестринская хроматида)

Белок, облегчающий инвазию цепи, и другие компоненты системы гомологичной рекомбинации

DSB



Homologous Recombination Repairs ds Breaks



Покрытая Rad51 однонитевая ДНК внедряется в гомологичный участок сестринской хроматиды с образованием D петли

3'-конец внедрившейся цепи достраивается ДНК полимеразой и отжигается с 3'-концом комплементарной цепи исходного дуплекса

Бреши застраиваются и однонитевые разрывы лигируются

- **К НЕЗАКОННОЙ РЕКОМБИНАЦИИ** относят рекомбинационные процессы, происходящие либо вообще без гомологии между рекомбинирующими участками ДНК, либо с минимальной гомологией (2-5 п.н.).
- У эукариотических организмов широко распространен особый механизм незаконной рекомбинации non-homologous end joining (NHEJ) – соединение негомологичных концов ДНК. Основное назначение этого типа рекомбинации – репарация ДНР ДНК.

Основу NHEJ составляют два белковых комплекса:

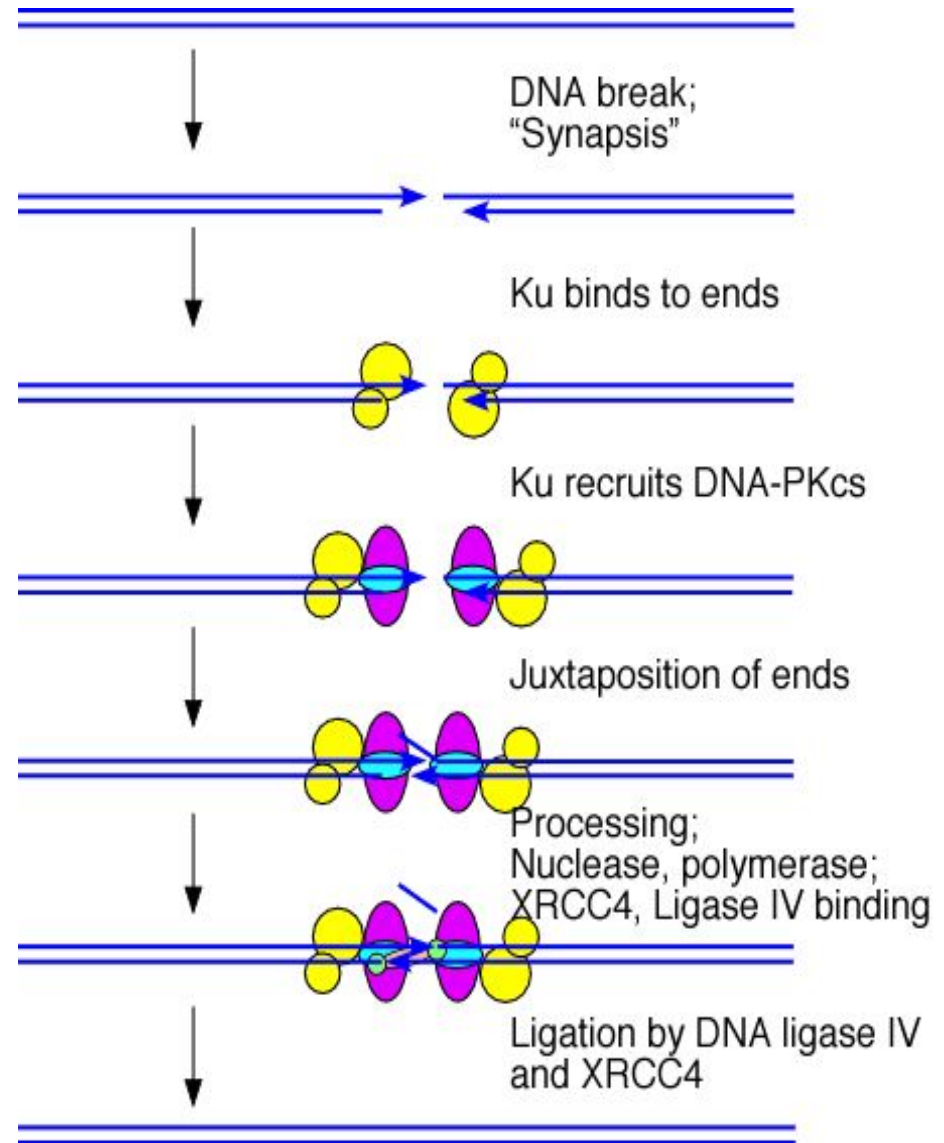
ПЕРВЫЙ комплекс включает белки Ku70 и Ku80, формирующие гетеродимер в виде полого внутри кольца.

Ku-гетеродимер образует комплекс с каталитической субъединицей ДНК-протеинкиназы – DNA-PKcs. Этот комплекс называют ДНК-зависимой протеинкиназой – DNA-ПК. Активность DNA-ПК необходима для посадки Ku на ДНК, когда комплекс Ku-DNA-ПКcs собирается на ее концах. Связывание Ku с концами ДНР стимулирует киназную активность DNA-ПК.

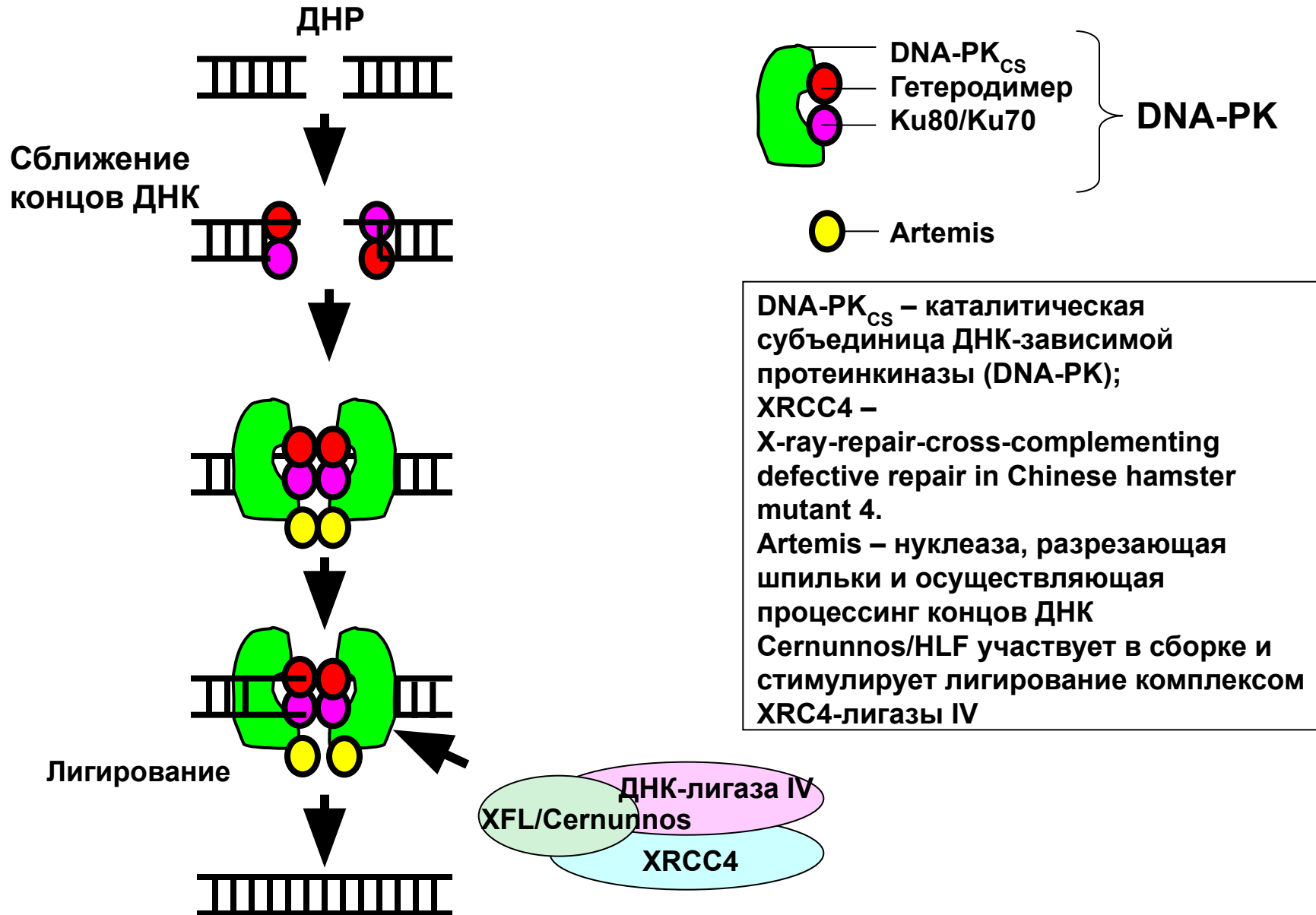
Таким образом, роль комплекса заключается в узнавании и сближении концов ДНР.

ВТОРОЙ (лигазный) комплекс состоит из каталитической субъединицы ДНК-лигазы IV, ее кофактора XRCC4, участвующего в этапе лигирования, а также недавно (2006 год) открытого белка XLF(Цернун). Функция комплекса – ковалентное замыкание концов ДНК.

Non-Homologous End Joining (Double Strand Breaks)



Репарация ДНР ДНК путем non-homologous end joining (NHEJ) у млекопитающих

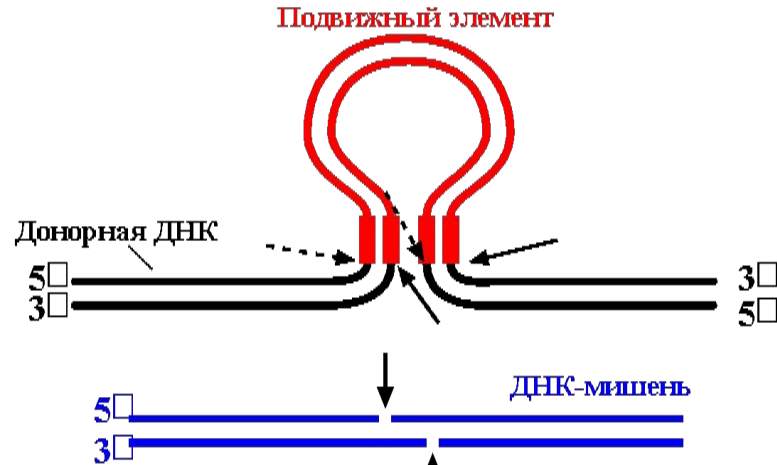


Транспозиции.

- В геномах эукариот широко распространены особые генетические элементы, способные перемещаться из одного участка генома в другой - мобильные элементы.
- Разнообразные рекомбинационные процессы, лежащие в основе перемещений мобильных элементов, объединены под общим названием «транспозиции».
- Транспозиции осуществляются особыми белками, гены которых, в основном, локализованы в самих мобильных элементах. Гомология между мобильным элементом и последовательностью ДНК, в которую он перемещается (ДНК-мишень), как правило, отсутствует.
- Встраивание элементов, как правило, происходит в случайные сайты ДНК-мишени.

Схема, демонстрирующая общий принцип реакций транспозиции

1) 2 молекулы транспозазы соединяются с концами подвижного элемента, сводят концы вместе и генерирует в них разрывы. Затем транспозаза делает в обеих цепях ДНК-мишени ступенчатые разрывы.

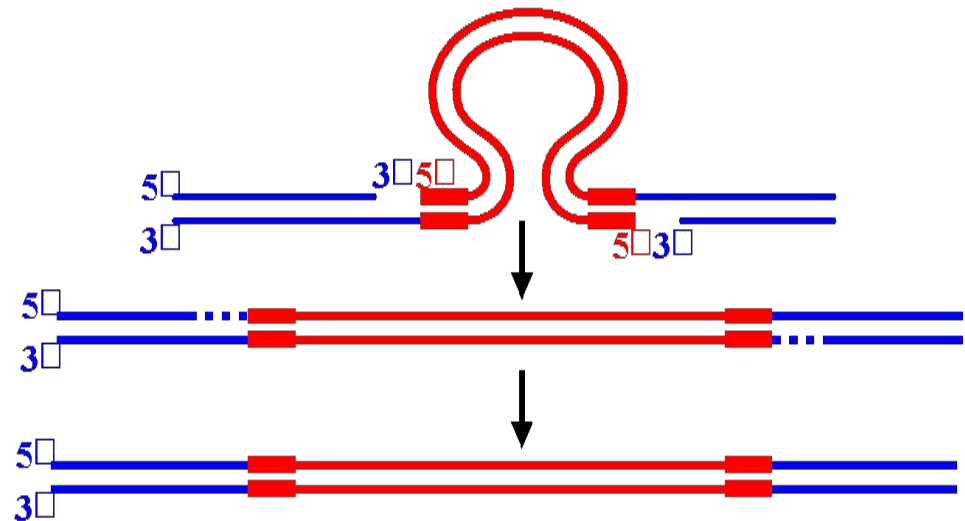


2) обмен цепями, приводящий к рекомбинации между ДНК оставляя, за счет ступенчатости разрывов, бреши между 5'-Р-концами элемента и 3'-ОН-концами мишени.

репликативная транспозиция

нерепликативная транспозиция

3) происходит репаративный синтез брешей, формирующий ДПП, а иногда еще и репликация элемента.



Нерепликативная транспозиция

Нерепликативная транспозиция заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место.

При этом 2 молекулы транспозазы связываются с концами мобильного элемента и делают разрывы одновременно в обеих цепях ДНК на концах мобильного элемента и в ДНК-мишени.

Далее транспозаза сводит вместе концы мобильного элемента и ДНК-мишень, 3'-ОН-концы элемента соединяются с 5'-Р-концами ДНК-мишени, а между 3'-ОН-концами ДНК-мишени и 5'-Р-концами элемента образуется брешь, которая заполняется с помощью репаративного синтеза ДНК, в результате чего на концах мобильного элемента возникают ДПП строго фиксированной длины.

В исходном репликоне остается ДНР. Будет ли он репарирован – зависит хозяйской клетки.

Ретротранспозоны.

- У эукариот часто встречаются ретротранспозоны, в транспозициях которых задействован фермент обратная транскриптаза (ревертаза) и РНК-копия элемента в качестве интермедиата. Ретроэлементы делят на две группы: ретротранспозоны с длинными прямыми концевыми повторами и без повторов на конце(ретротранспозоны)
- У ретроэлементов с длинными концевыми повторами транспозиция идет согласно схеме, включая РНК-интермедиат. С ДНК элемента транскрибируется РНК-копия, имеющая короткие концевые повторы, с помощью обратной транскрипции с нее синтезируется ДНК-копия с длинными концевыми повторами, встраивающаяся на новое место при помощи интегразы. Интеграция ретротранспозонов с длинными концевыми повторами идет по механизму нерепликативной транспозицией. Интегразы ретротранспозонов полностью соответствуют транспозазам.