

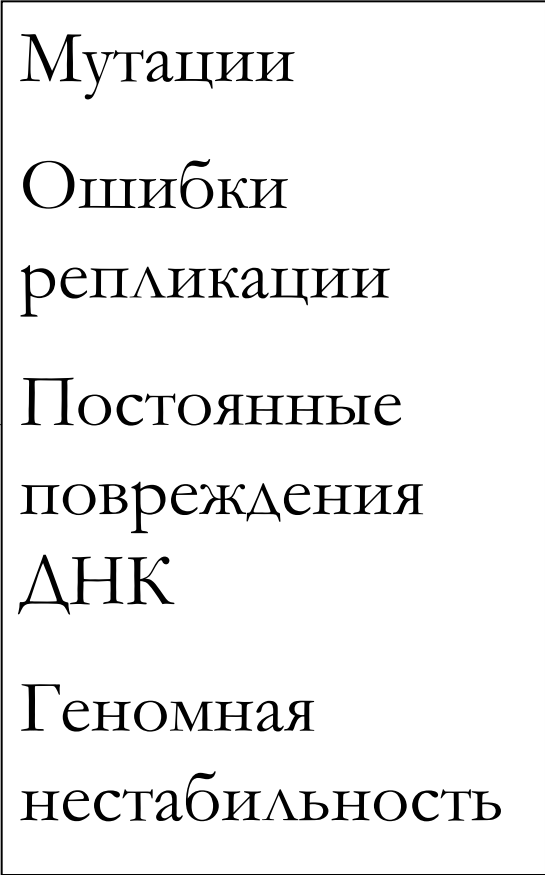
Повреждающие  
факторы



Репликация



Репарация  
ДНК



Канцерогенез



Старение

*Повреждения в ДНК  
сводятся к минимуму  
благодаря существованию  
систем, которые узнают эти  
нарушения и исправляют  
их.*

# Репарация ДНК

**Под *повреждением* понимают  
любое изменение ДНК, которое  
вызывает отклонение от  
обычной двухцепочечной  
структуры**

# Типы повреждений ДНК

На уровне одного нуклеотида:

- **Отсутствие основания**
- **Некомплементарное основание**
- **Нарушенное основание**

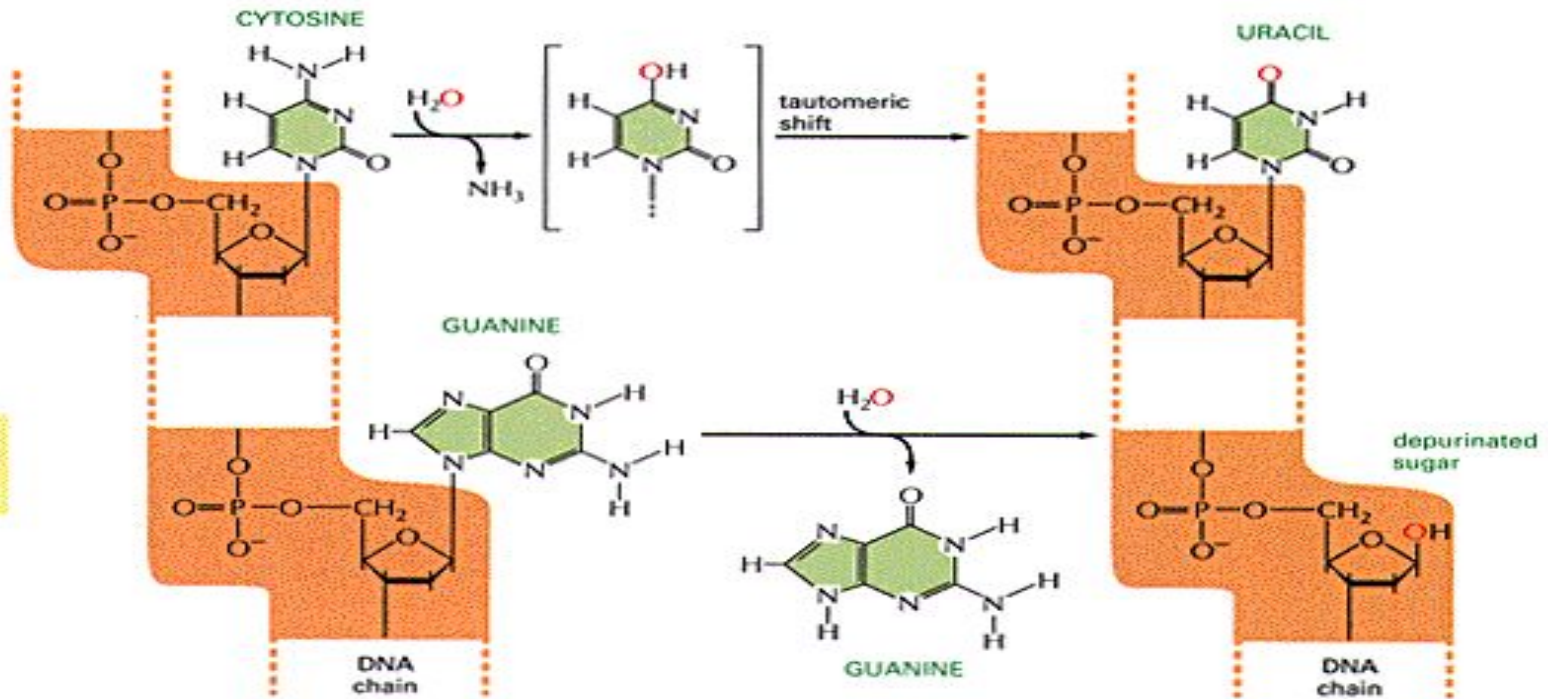
Структурные:

- **Одноцепочечные разрывы**
- **Образование неспецифических связей между цепями (тиминовые димеры и поперечные сшивки)**
- **Двухцепочечные разрывы**

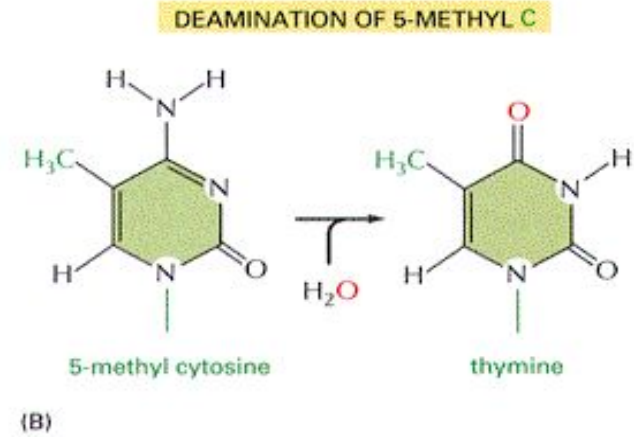
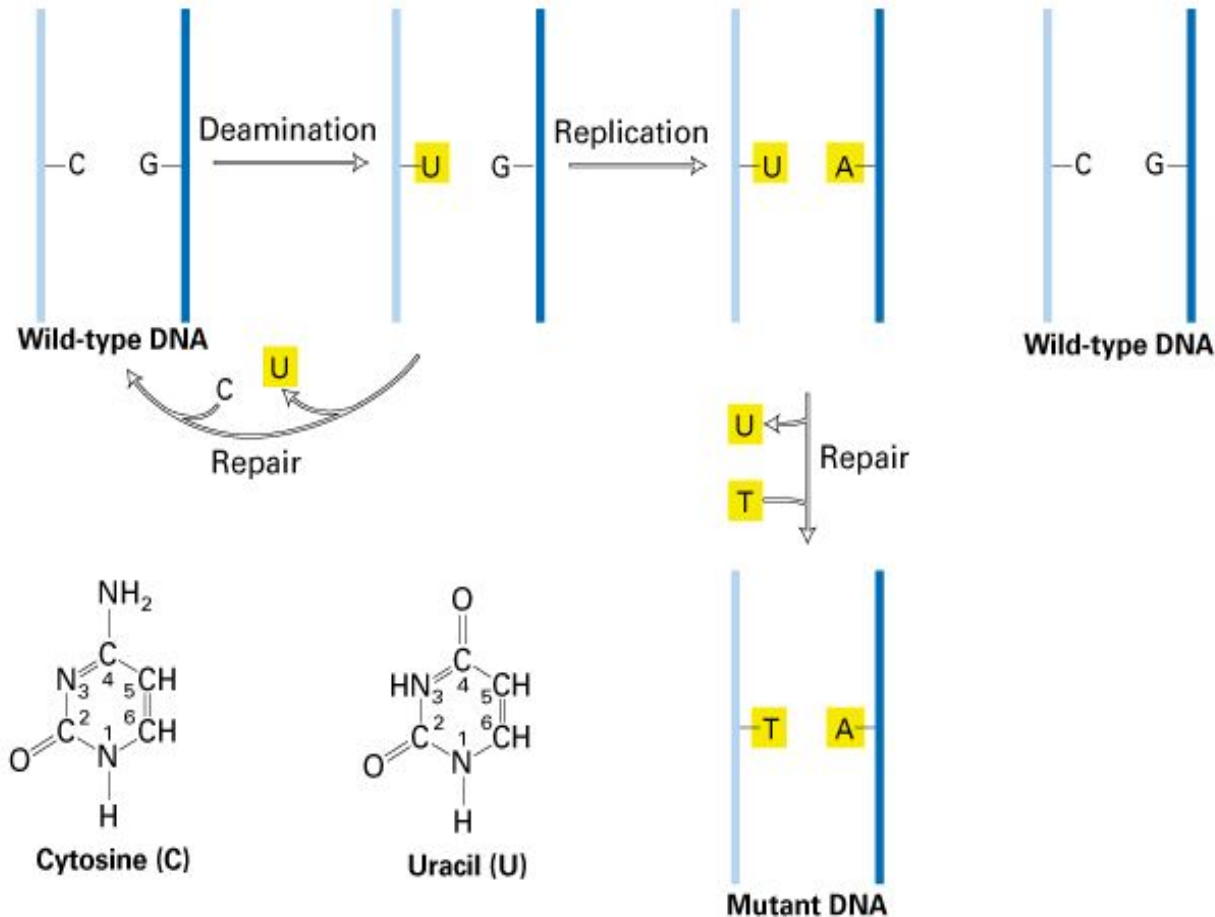
| Тип повреждения        | Причина                                       |
|------------------------|---|
| Отсутствие основания   | Кислотная или тепловая апуринизация           |
| Неправильное основание | Спонтанное или индуцированное дезаминирование |
| Нарушенное основание   | Ионизирующая радиация, алкилирующие агенты    |
| Димеры                 | УФ-облучение                                  |
| Неспецифические связи  | Митомицин С                                   |
| Разрывы                | Ионизирующая радиация, перекиси, нуклеазы     |

# Дезаминирование и апуринизация

DEAMINATION  
by spontaneous  
hydrolysis (e.g.,  
cytosine to uracil)



# Дезаминирование



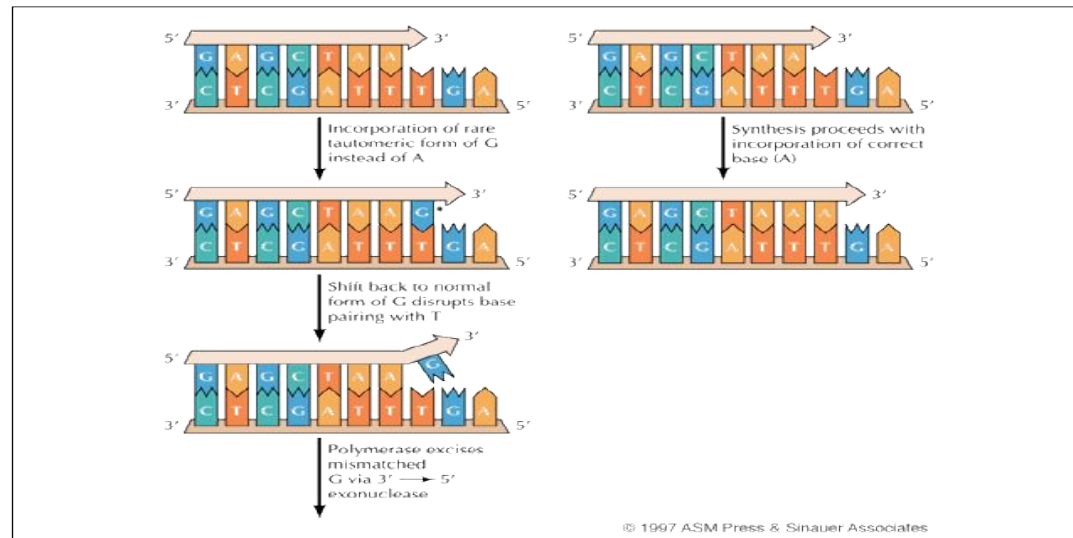


# Неверное основание в результате ошибки репликации

- при репликации на 10 млрд оснований происходит одна ошибка, т.е. около 3-х замен на гаплоидный геном (у млекопитающих)

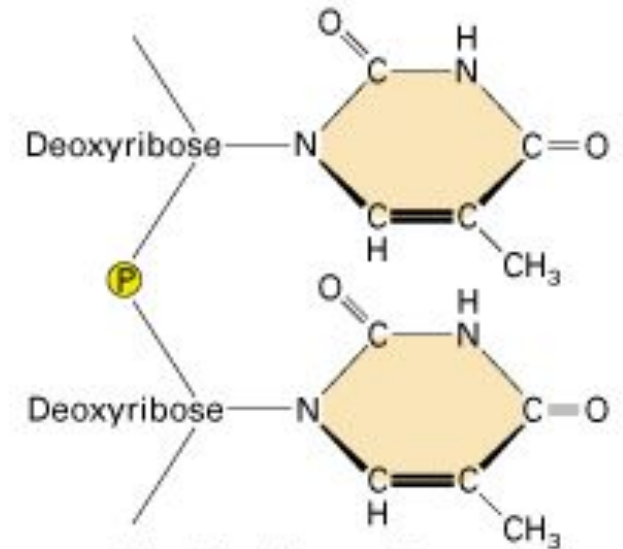
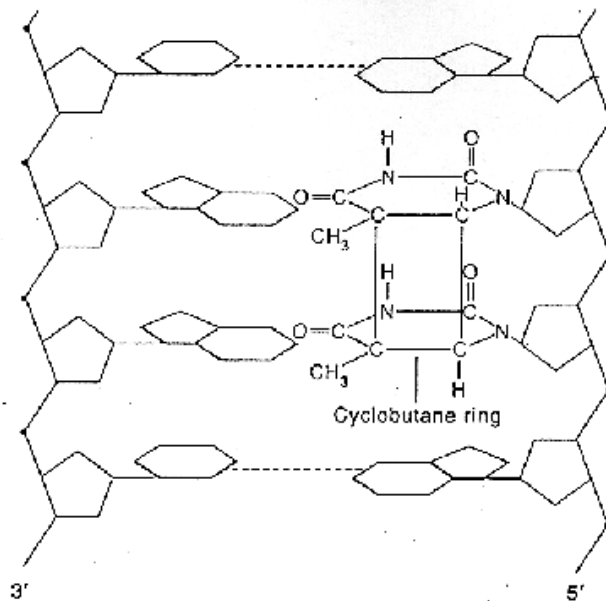
## Proofreading

Cooper Fig 5.13



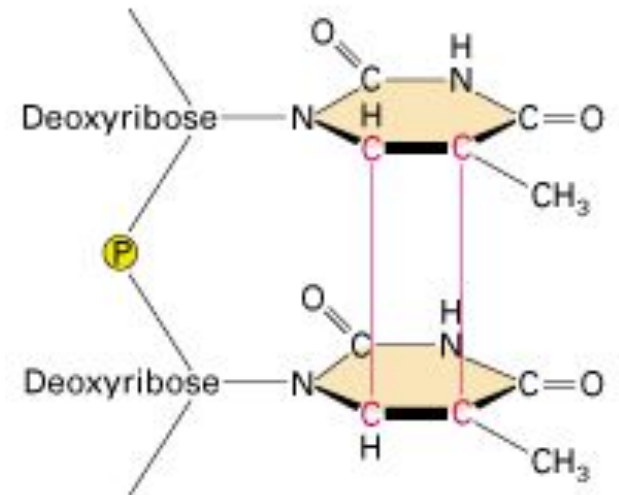
# Образование тиминовых димеров

Thymine dimer formation by UV light



Two thymine residues

UV irradiation



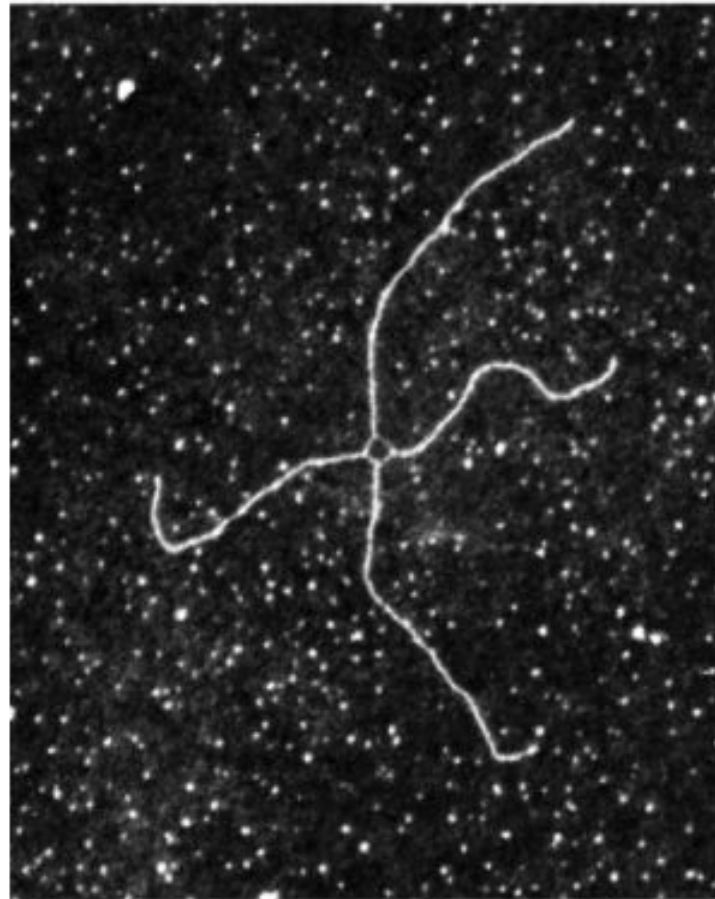
Thymine-thymine dimer residue

# Разрывы в ДНК

(a)



(b)



# Общая характеристика репарации

- Это процесс удаления поврежденного участка и восстановления правильной структуры ДНК
- Характерен только для ДНК и обусловлен особенностями ее структуры, а именно: комплементарностью и антипараллельностью цепей.
- Обеспечивает сохранение генетического материала.
- Происходит при участии специальных

# Ферменты репарации

- **Эндонуклеазы** – расщепляют связи внутри ДНК.
- **Экзонуклеазы** – расщепляют связи с концов, могут быть специфичными для 5' и 3' концов ДНК.
- **ДНК-полимераза** – заполняет брешь, используя комплементарную цепь в виде матрицы.
- **Лигаза** – катализирует образование фосфородиэфирных связей, используя энергию гидролиза АТФ.
- **ДНК-гликозилаза** – расщепляет N-гликозидную связь.
- **AP-эндонуклеаза** – разрезает ДНК в

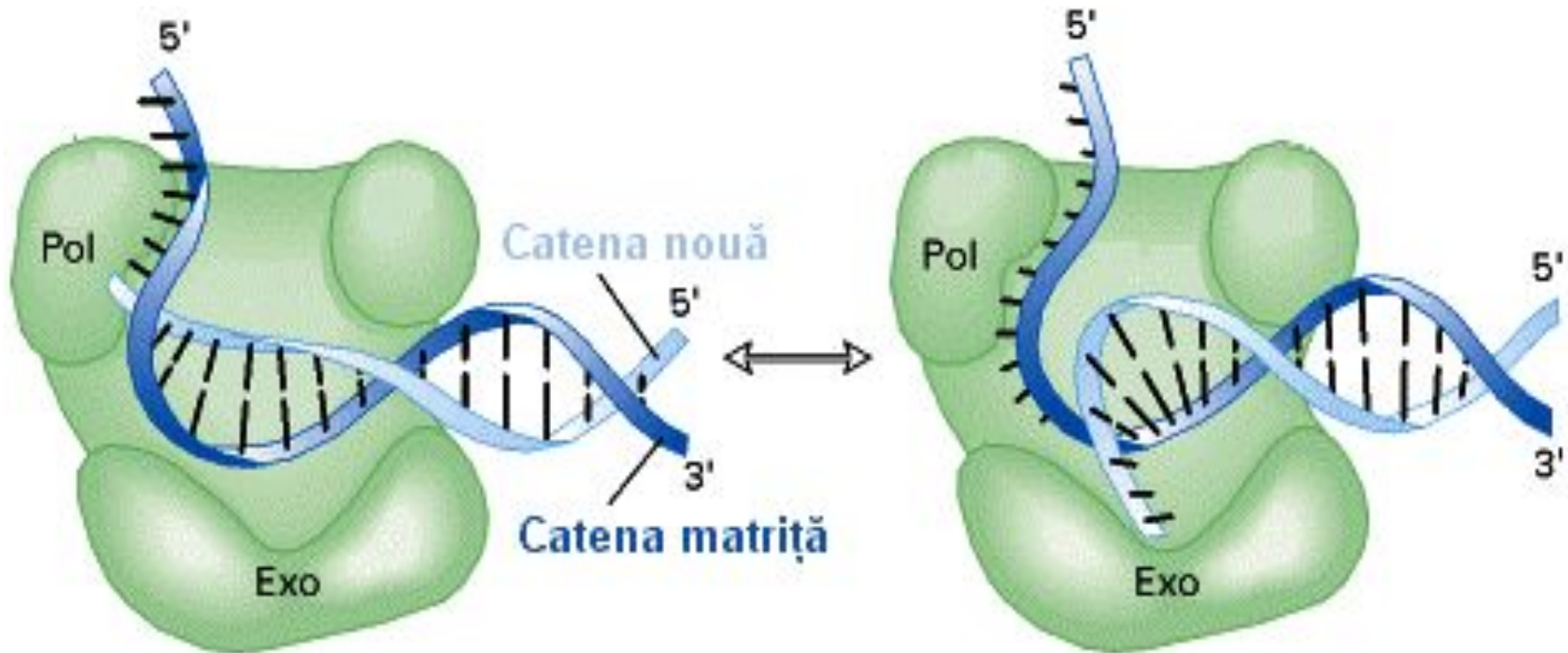
# По времени различают два типа репарации

- Репликативная
- Пострепликативная

Для каждого из этих типов  
характерны определенные  
молекулярные механизмы.

# Репликативная репарация

- неправильно встроенные в ходе репликации нуклеотиды узнаются и удаляются ДНК-полимеразой за счет ее экзонуклеазной (3'-5') активности.



# Mismatch (MMR)-репарация

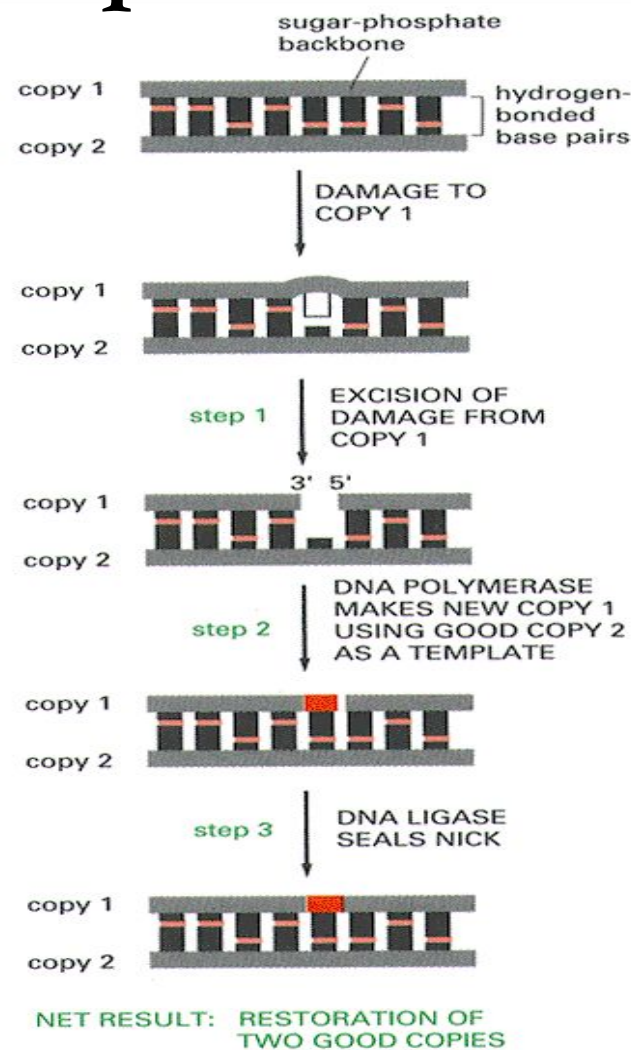
происходит в ходе репликации и обеспечивает исправление неверных спариваний, аномальных гетеродуплексов и палиндромов.

## Этапы:

Узнавание и удаление неверных нуклеотидов эндонуклеазами;

Заполнение бреши при помощи ДНК-полимеразы;

Сшивание концов лигазами.



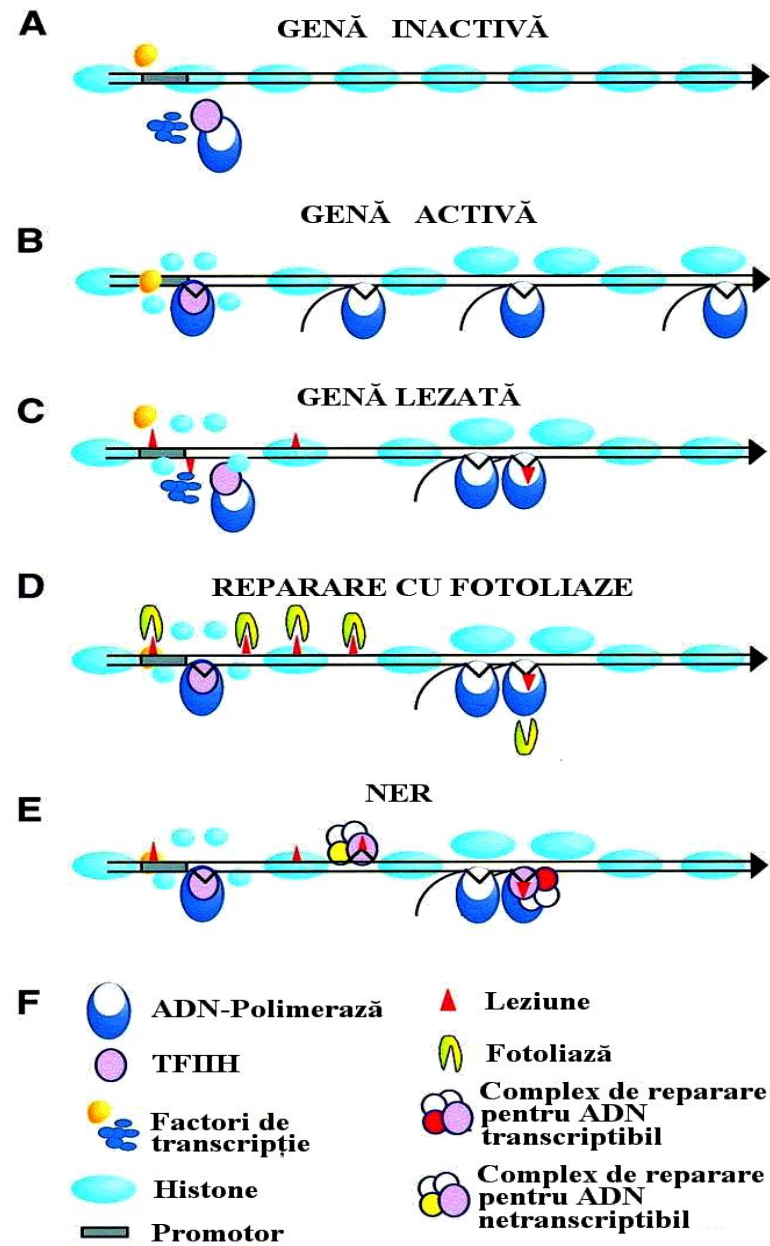


# Механизмы пострепликативной репарации

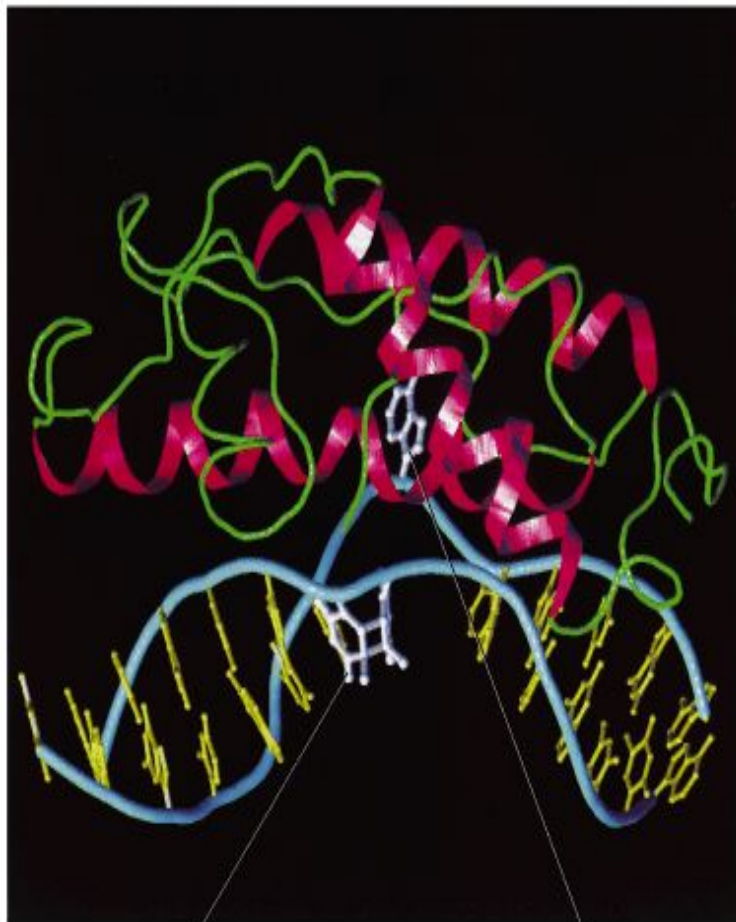
- Прямая репарация
- Репарация путем удаления оснований
- Репарация больших фрагментов
- Репарация двухцепочечных разрывов путем гомологичной рекомбинации
- Репарация двухцепочечных разрывов путем соединения концов

# Фотореактивация

- прямая репарация, происходит у бактерий на свету при участии специального фермента – фотолиазы,
- Фотолиаза активируется под действием света путем дестабилизации электронов и ослабления связи с пентозой, а освободившиеся основание заменяется на новое – правильное.

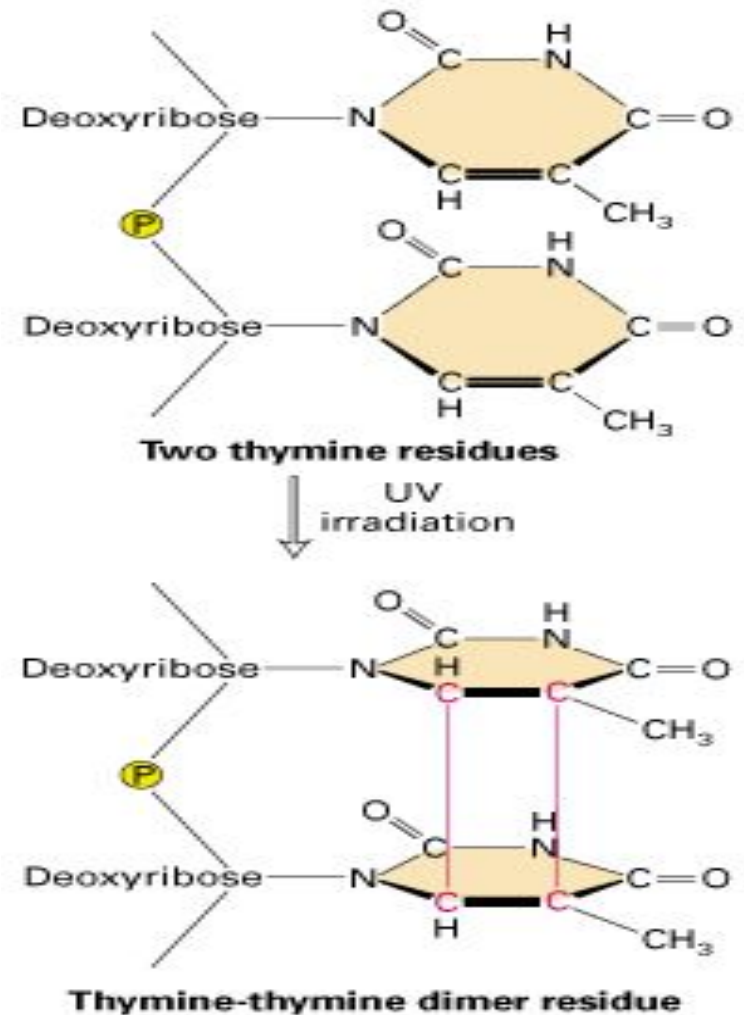


# Путем фотореактивации удаляются ТИМИНОВЫЕ ДИМЕРЫ



Thymine-thymine dimer

Adenine dimer



# Прямая репарация при участии MGMT

- Репарация при помощи **MGMT** – O6-метил-гуанил-ДНК-метилазы( у человека), которая восстанавливает повреждения в результате алкилирования
- Механизм заключается в переносе алкильной группы с ДНК на активный центр фермента.

! 20% раковых опухолей характеризуются недостаточной активностью фермента MGMT.

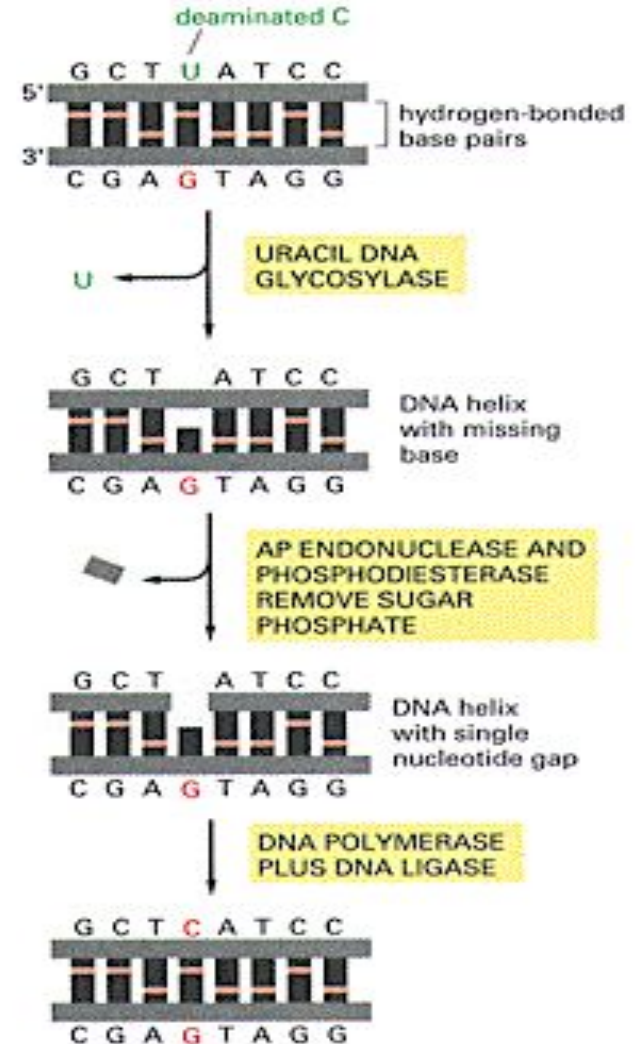
# Репарация путем удаления оснований (BER)

- восстановление одного нуклеотида.

## Этапы:

- ДНК-гликозилаза удаляет неверное основание;
- Нуклеазы расщепляют участок, в котором не достает основания;
- ДНК-полимераза заполняет брешь;
- ДНК-лигаза сшивает концы.

(A) BASE EXCISION REPAIR

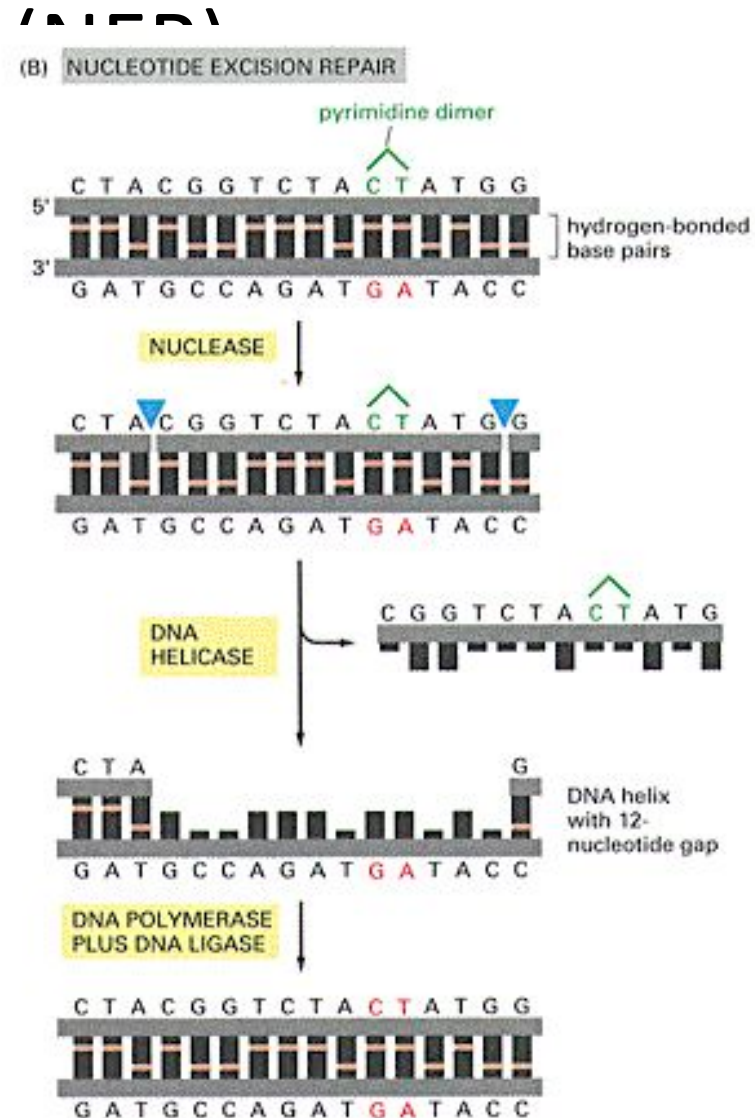


# Репарация путем удаления нуклеотидов - NER

- восстановление достаточно длинных фрагментов ДНК.

## Этапы:

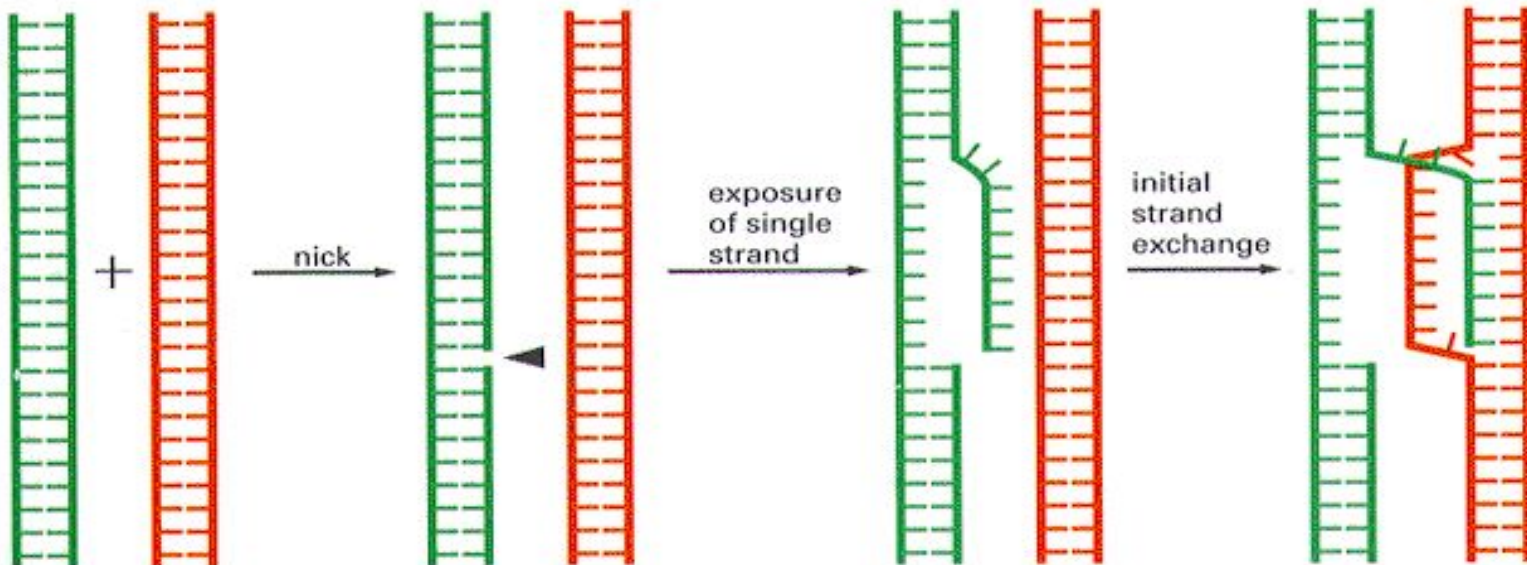
- Белковый комплекс (ХРА-РРА) распознает дефектный участок;
- Нуклеаза производит разрыв на расстоянии 5 пн от 3' конца и 8 пн от 5' конца;
- Образованная брешь заполняется при помощи ДНК-полимераз  $\delta$  и  $\epsilon$ ;
- ДНК-лигаза сшивает концы.





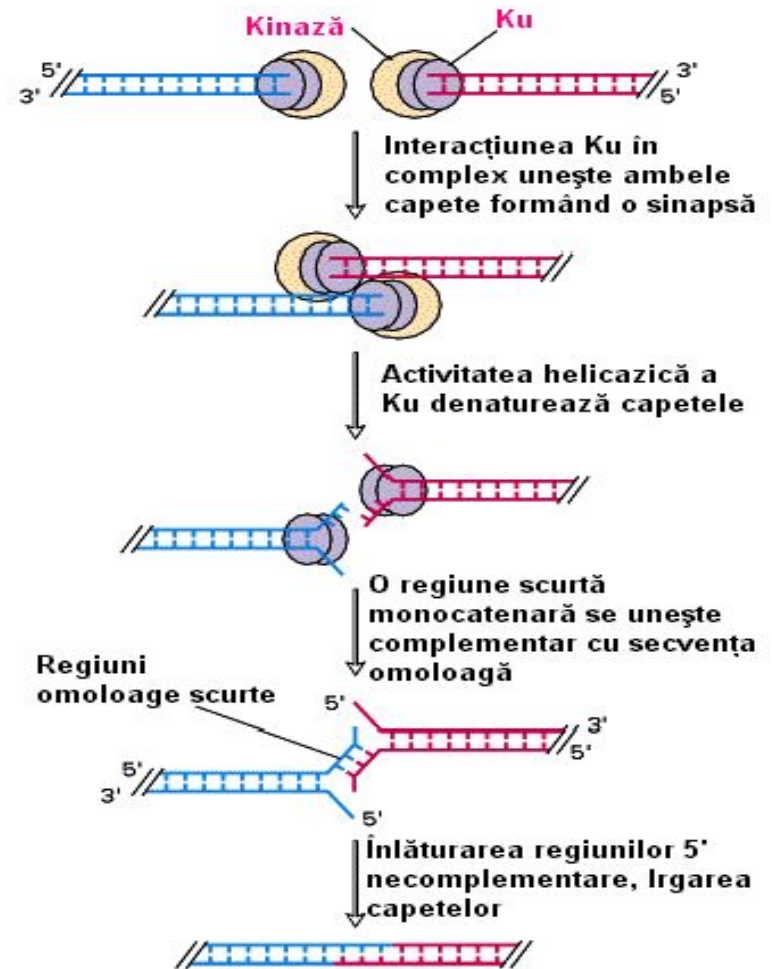
# Рекомбинативная репарация

- Репарация во время рекомбинации
- Заключается в удалении поврежденного фрагмента и замене его нормальным гомологичным участком



# Репарация двухцепочечных повреждений

- Происходит при участии протеинкиназы Ku,
- Механизм заключается в следующем: протеинкиназа узнает разрыв и предотвращает действие эндонуклеаз, после чего катализирует соединение при

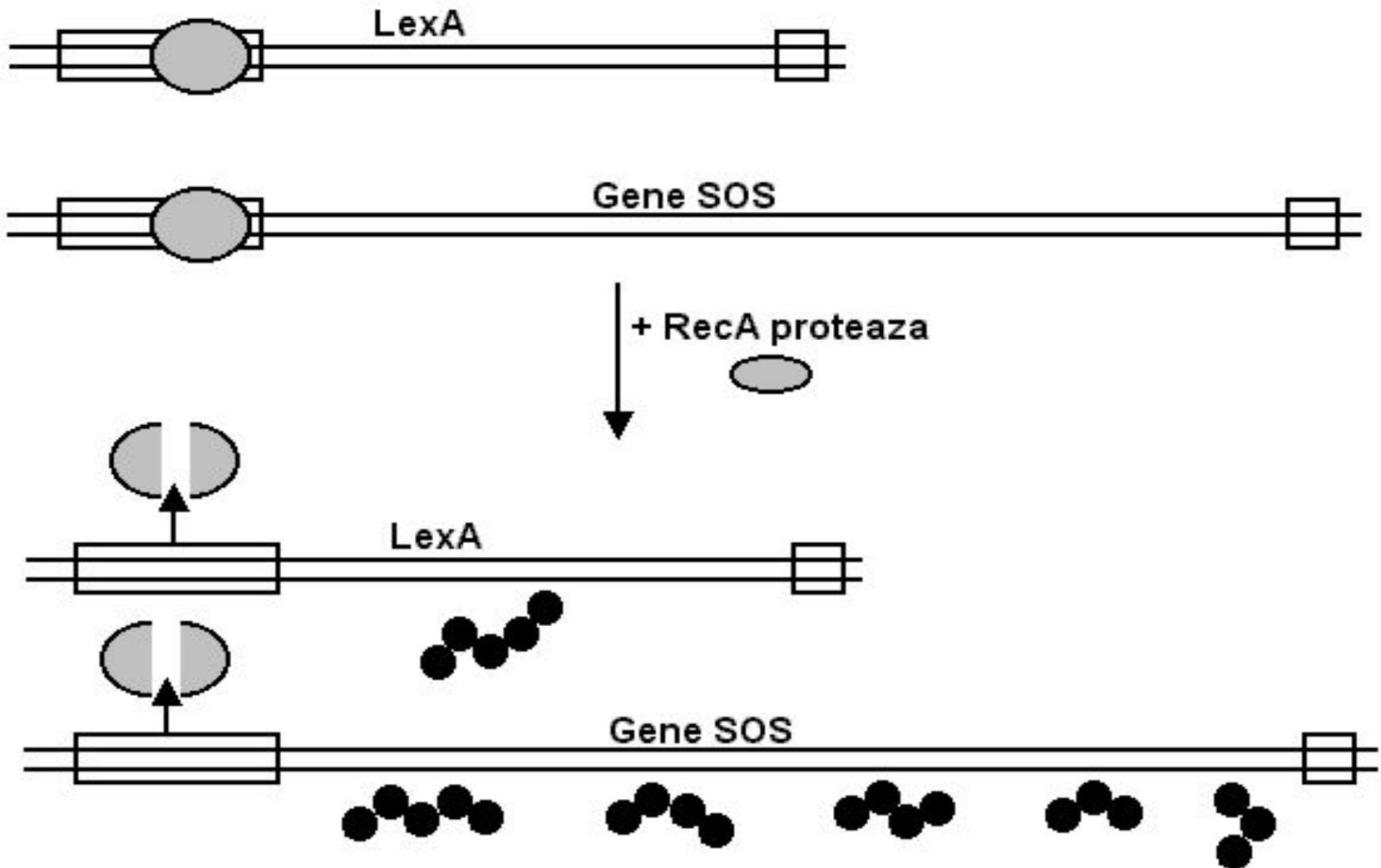




# SOS-репарация

- Механизм быстрого, но не всегда точного реагирования, на стресс.
- Обеспечивается специальными белками – LexA и RecA-протеазой.
- Механизм:
  - в ответ на повреждение происходит активация протеазной активности белка RecA, который расщепляет белок LexA, блокирующий гены ферментов репарации,
  - активированные гены транскрибируются и синтезируются ферменты репарации, которые исправляют повреждение.

# Механизм SOS-репарации



# Метилирование и его биологическая роль

- Присоединение метильной группы к цитозину и аденину
- Происходит при участии специального фермента метилтрансферазы
- Метилированные участки устойчивы к действию эндонуклеаз
- Биологическая роль:
  - у прокариот: защита собственной ДНК,
  - у эукариот: инактивация генов (в гетерохроматиновых участках много метилированных последовательностей ДНК)

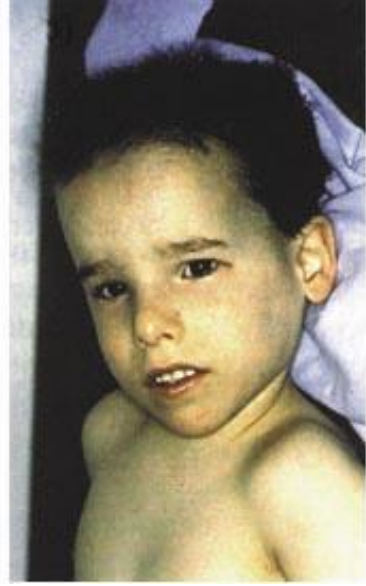
# Болезни человека, связанные с нарушениями процесса репарации

- Пигментная ксеродерма
- Атаксия
- Анемия Фанкони
- Синдром Блума
- Синдром Вернера

# Пигментная ксеродерма

- Вызвана мутацией гена, участвующего в репарации тиминовых димеров;
- У пациентов наблюдается повышенная чувствительность к УФ облучению и предрасположенность к раку кожи и меланомам;
- к 4-5 годам у больных детей развивается рак кожи, а в 20%-30% случаев наблюдается неврологическая дегенерация.





# Атаксия

- повышенная чувствительность к ионизирующей радиации;
- как следствие, частота возникновения рака возрастает в 1200 раз (особенно лейкозий);
- болезнь проявляется в нарушениях двигательных функции, дегенеративных процессах на уровне мозга и тимуса.

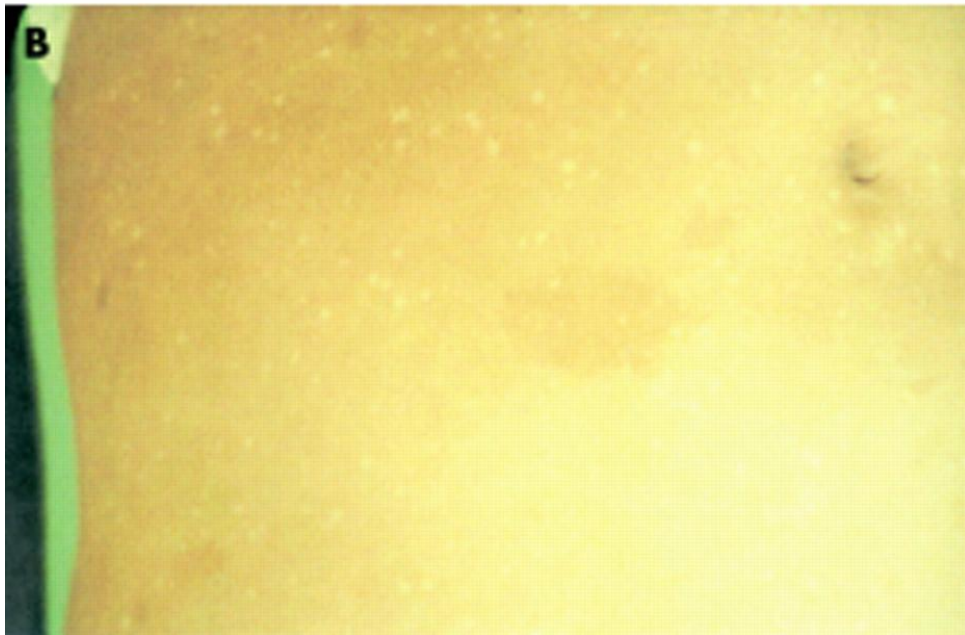






# Анемия Фанкони

- образование неспецифических связей между цепями ДНК;
- повышенная чувствительность к химическим факторам;
- болезнь проявляется в виде тяжелой формы анемии и сопровождается отставанием в росте и развитии, а также иммунодефицитом.



# Синдром Блума

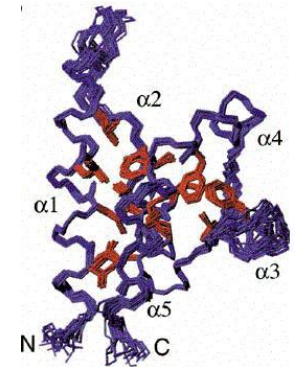
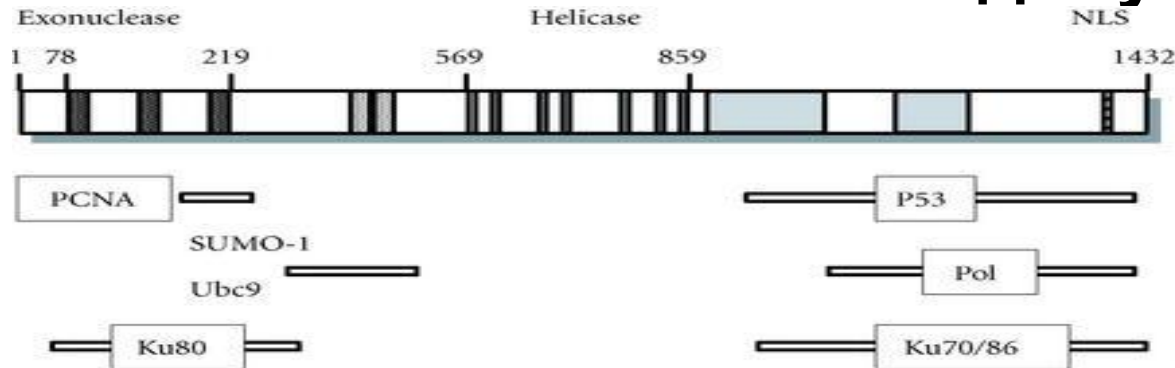
- Вызван мутацией в гене геликазы и связан с нарушениями рекомбинативной системы репарации;
- Наблюдается высокая частота хромосомных мутаций;
- Характеризуется повышенной чувствительностью к УФ лучам и проявляется в виде лейкемий.





# Синдром Вернера

- Вызван мутацией гена *Wrn*, кодирующего белок с геликазными и эндонуклазными



- Проявляется в нарушениях в функция органов и организма, в целом, а также преждевременным старением.

