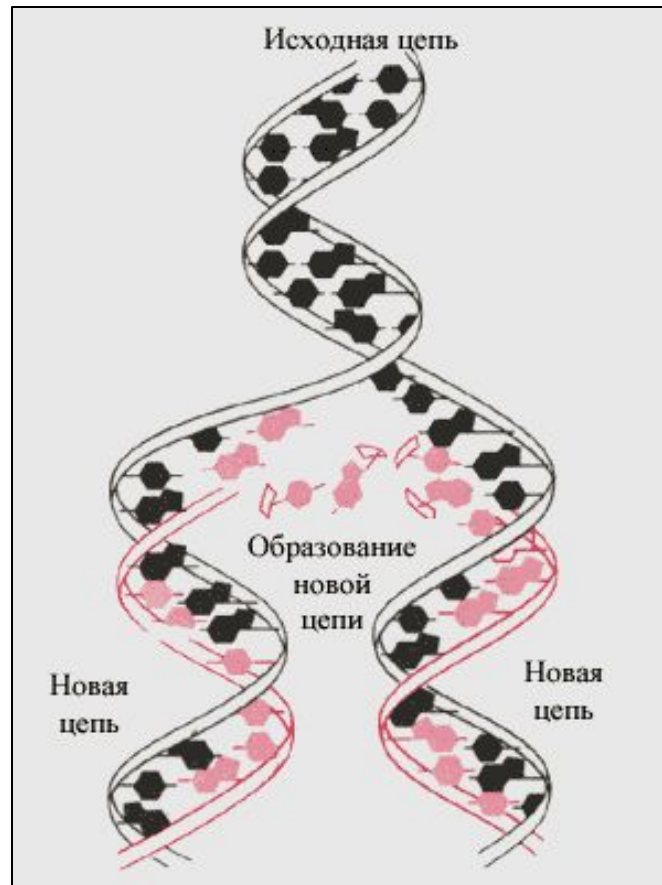


РЕПЛИКАЦИЯ ДНК МУТАЦИИ

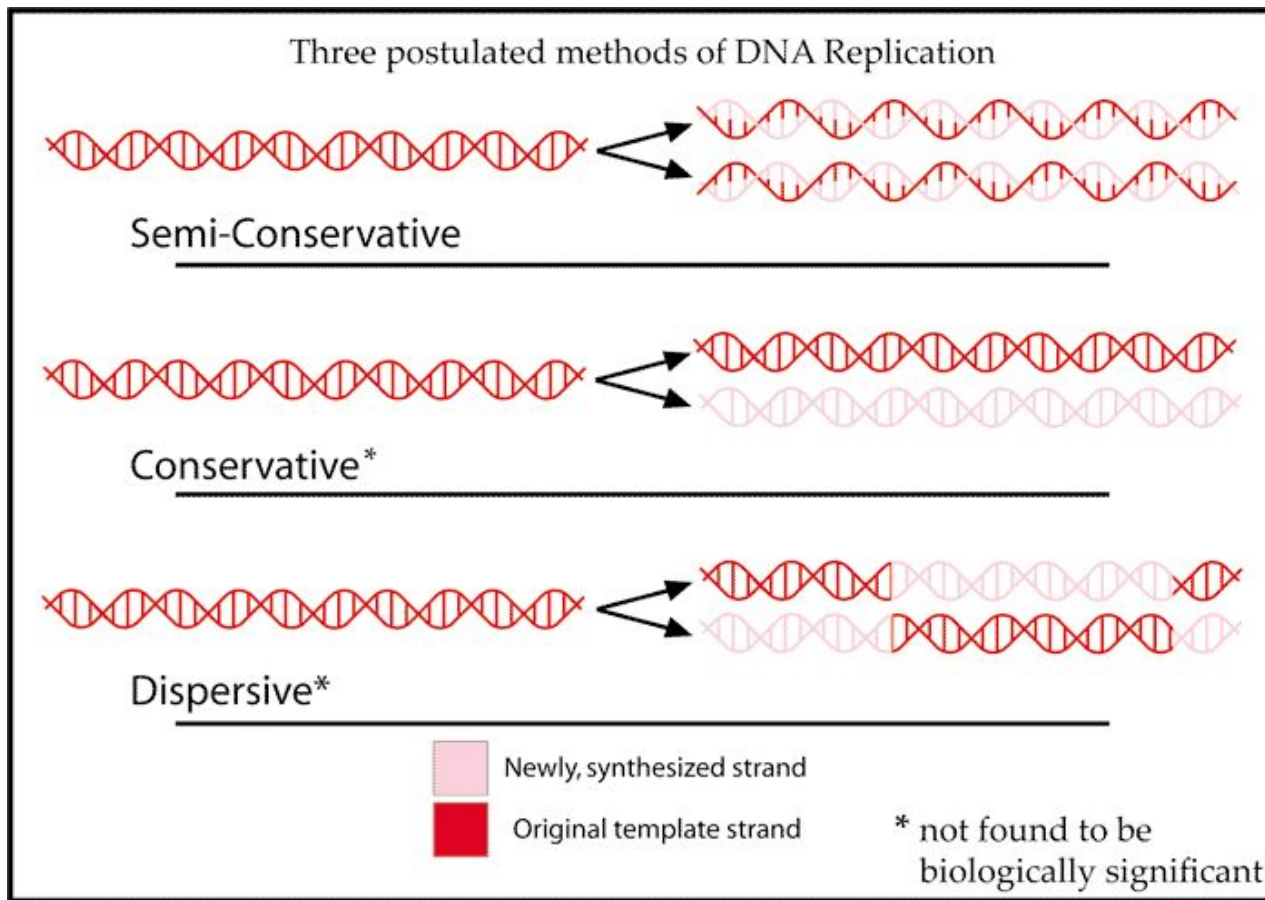


Репликация ДНК

Реплика́ция ДНК — это процесс синтеза дочерней молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты, который происходит в процессе деления клетки на матрице родительской молекулы ДНК. При этом генетический материал, зашифрованный в ДНК, удваивается и делится между дочерними клетками. Репликацию ДНК осуществляет фермент ДНК-полимераза.



Три теории репликации ДНК

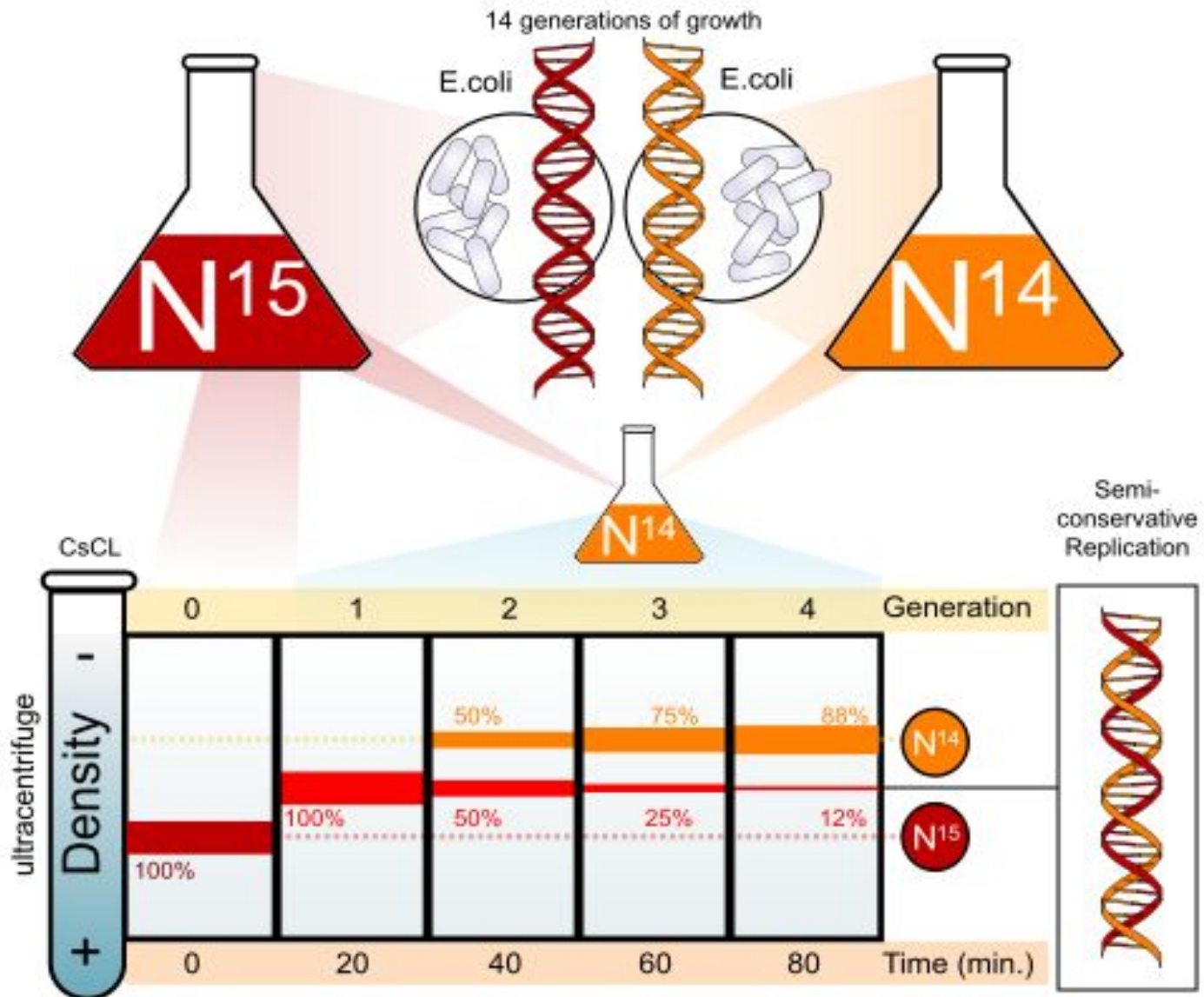


Полуконсервативный способ

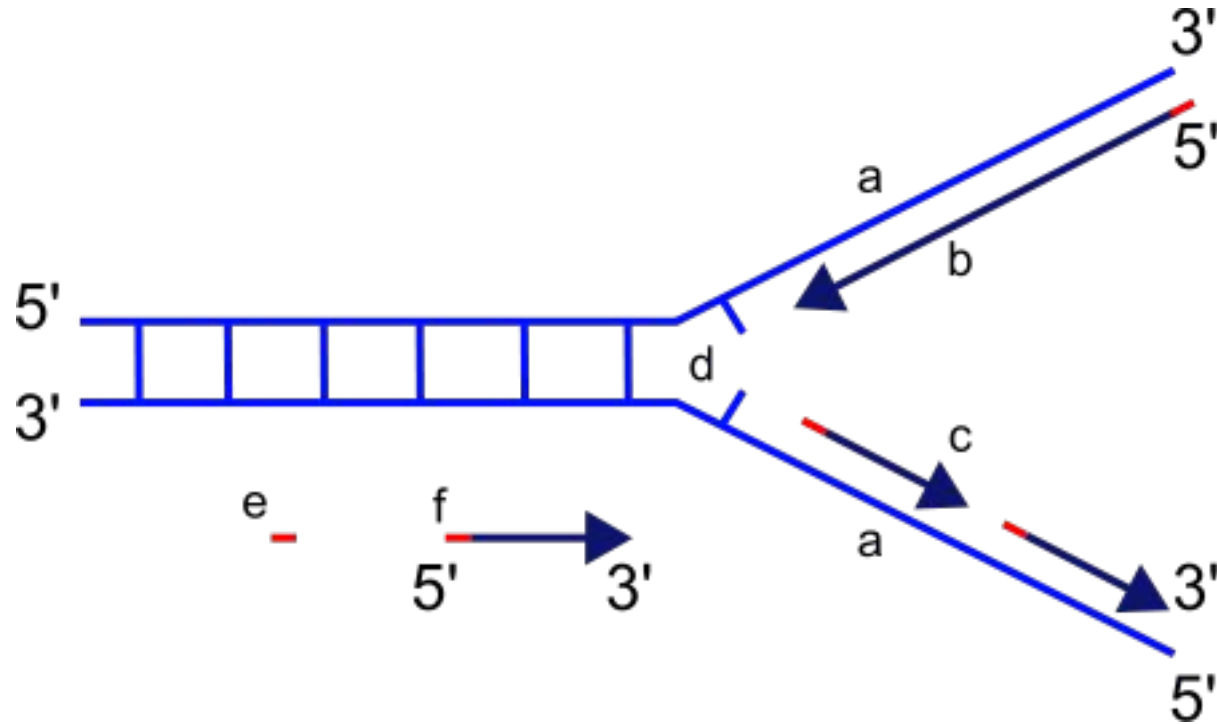
Консервативный способ

Дисперсный способ

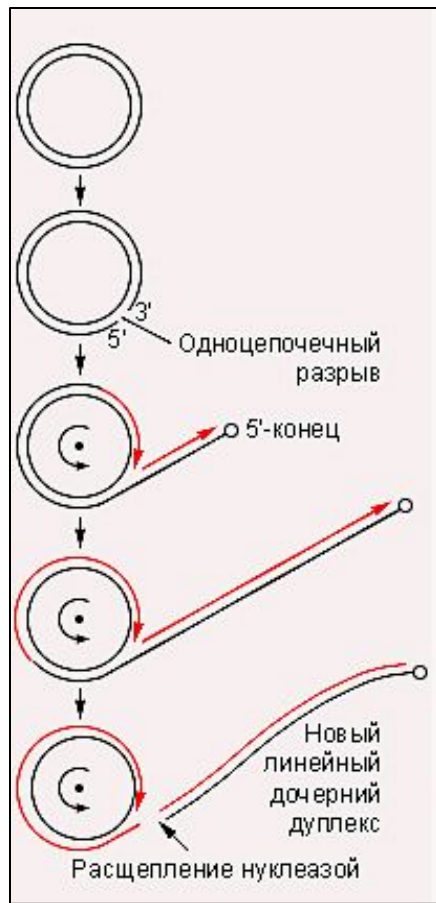
Схема эксперимента Мезельсона и Сталя, доказывающего полуконсервативный способ репликации ДНК.



Цепи молекулы ДНК расходятся и каждая из них становится матрицей, на которой синтезируется новая комплементарная цепь. В результате образуются новые двуспиральные молекулы ДНК, идентичные родительской молекуле. Четко ограниченная область, перемещающаяся вдоль родительской спирали ДНК, характеризующаяся местным расхождением двух ее цепей из-за своей Y-образной формы названа **репликационной вилкой**. В результате репликации каждая новая молекула ДНК состоит из одной старой цепи и одной новой. Такой способ репликации ДНК называется **полуконсервативный**.



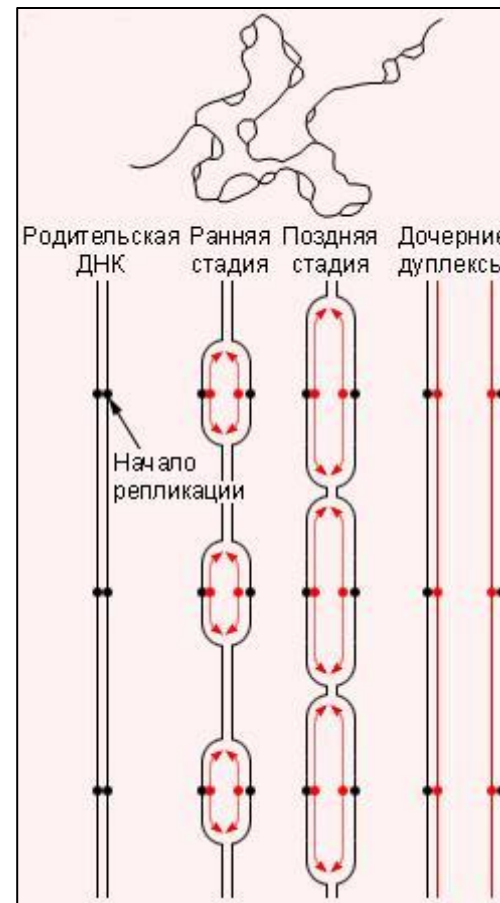
У вирусов и прокариот репликация ДНК начинается с О- пункта (origin) и продолжается в двух направлениях. Полное удвоение молекулы ДНК происходит за 40 минут. Кроме того, у прокариот действует механизм «вращающегося кольца». По которому репликационная вилка движется вокруг кольца. Скорость репликации ДНК эукариот несколько ниже, чем у прокариот, поэтому репликация начинается сразу в нескольких местах хромосомы.



Кольцевая вирусная ДНК

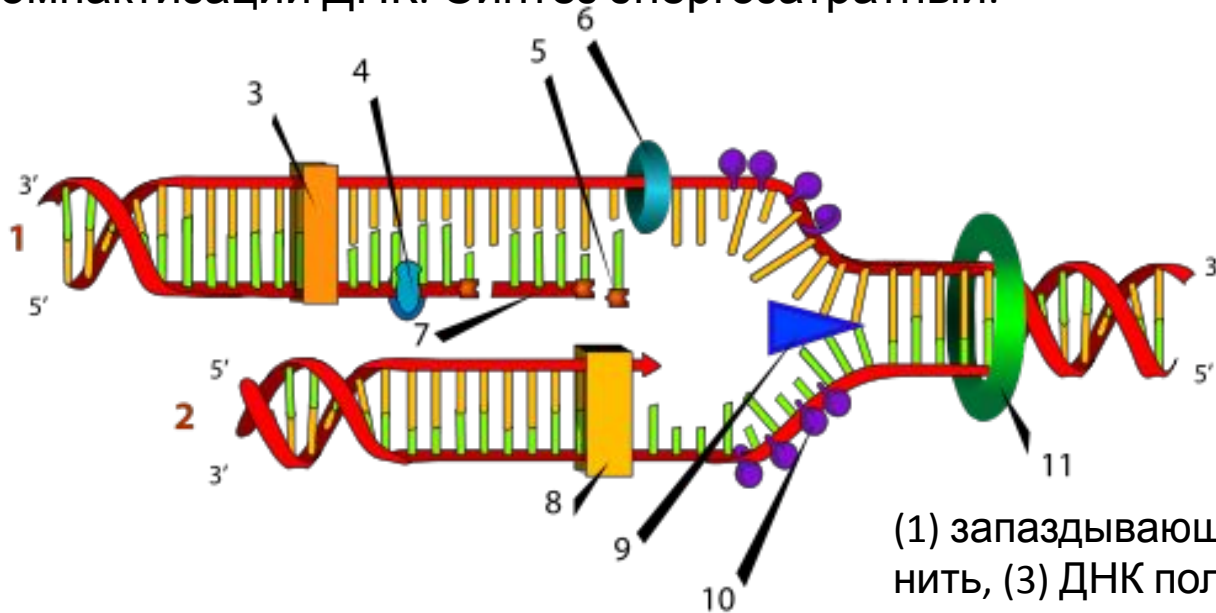


Кольцевая бактериальная ДНК

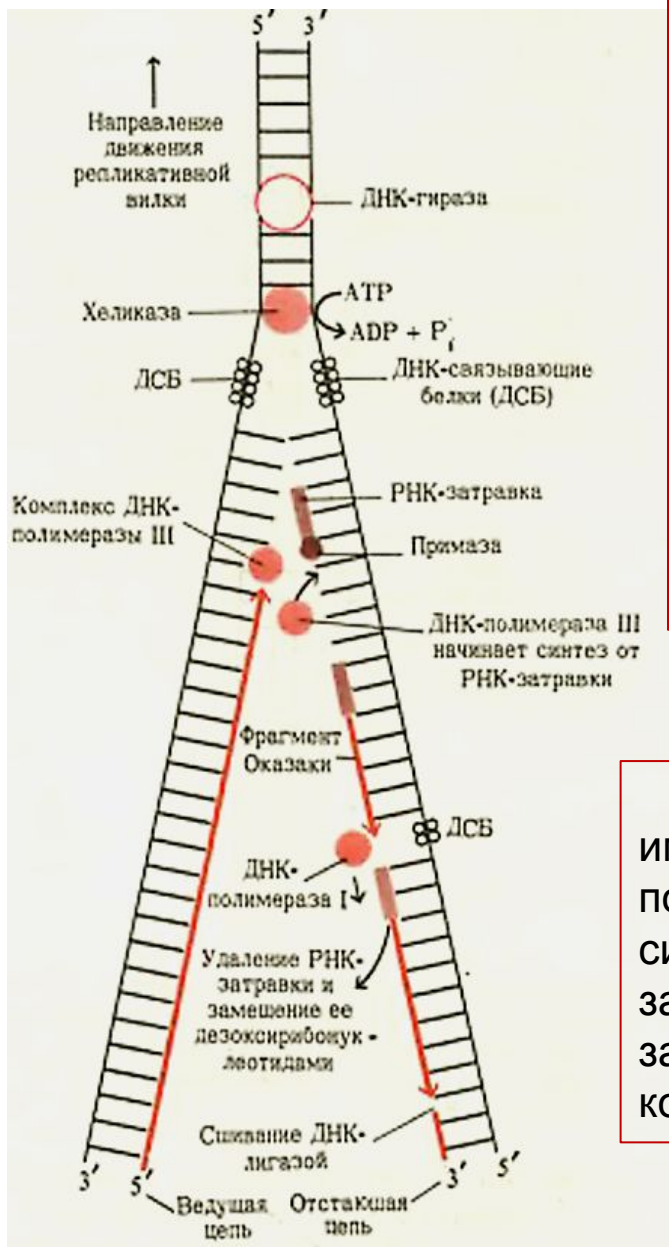


Эукариотическая ДНК

В репликация участвует комплекс специфических ферментов. **Хеликаза, топоизомераза и ДНК-связывающие белки**, которые расплетают ДНК, удерживают матрицу в разведённом состоянии и вращают молекулу ДНК. Правильность репликации обеспечивается точным соответствием комплементарных пар оснований и активностью **ДНК-полимеразы**, способной распознать и исправить ошибку. Репликация у эукариот осуществляется несколькими разными ДНК-полимеразами. Далее происходит закручивание синтезированных молекул по принципу суперспирализации и дальнейшей компактизации ДНК. Синтез энергозатратный.



(1) запаздывающая нить, (2) лидирующая нить, (3) ДНК полимеразы, (4) ДНК лигаза, (5) РНК праймер, (6) ДНК праймаза, (7) фрагмент Оказаки, (8) ДНК полимеразы (Pol δ), (9) хеликаза, (10) одиночная нить со связанными белками, (11) топоизомераза



Изучение ферментативного синтеза показало, одновременно копируются обе цепи ДНК. Полимеризация одной цепи происходит в направлении от 5' – к 3' – концу, тогда как другой идёт в направлении 3' → 5'. Синтез цепи в направлении 5' → 3' является непрерывным (эта цепь ДНК называется **лидирующей**), синтез в направлении 3' → 5' – прерывен поскольку синтезируются короткие сегменты – фрагменты Оказаки. Эта цепь ДНК называется **запаздывающей**. Запаздывание второй цепи связано с тем, что синтез каждого фрагмента Оказаки осуществляется только тогда, когда в результате продвижения лидирующей цепи откроется необходимый участок цепи-шаблона.

В случае синтеза лидирующей цепи у ДНК-полимеразы имеется спаренный 3'-конец. Что позволяет начать полимеризацию новой цепи. Но для ДНК-полимеразы, синтезирующей запаздывающую цепь, необходима затравка, обладающая спаренным 3'-концом. Роль этой затравки выполняют короткие фрагменты РНК. Синтез коротких фрагментов РНК выполняет ДНК-праймаза.

Основные этапы репликации ДНК

1



ДНК-геликаза и ДНК-праймаза в комплексе с дестабилизирующими белками (SSB) на сайте *oriC* расплетают двойную цепь исходной ДНК, образуя её репликационную вилку.

2



ДНК-полимеразы катализируют синтез полинуклеотидной цепи в направлениях $3' \rightarrow 5'$ и $5' \rightarrow 3'$. В последнем случае цепь ДНК синтезируется короткими фрагментами Оказаки. ДНК-праймаза катализирует короткие фрагменты РНК-затравки, которые затем удаляются и замещаются ДНК.

3



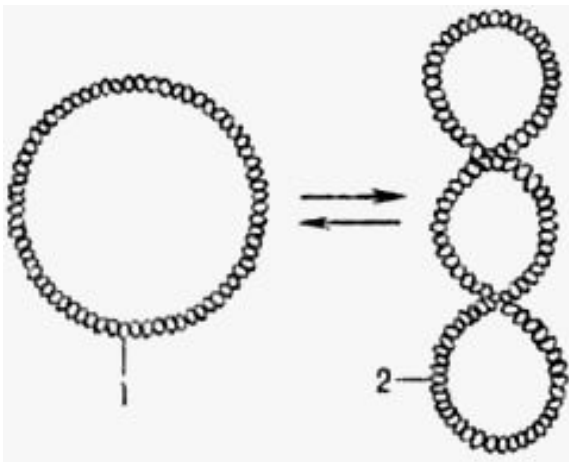
ДНК-топоизомеразы (гиразы) осуществляют раскручивание и скручивание спиралей ДНК.

Раскручивание двойной цепи ДНК происходит с участием трёх разных белков:

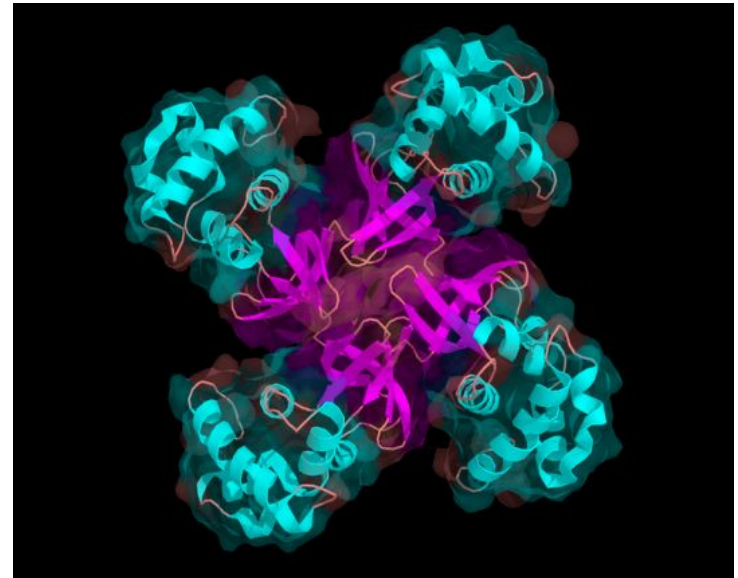
А) белки (SSB) , дестабилизирующие спираль ДНК. Они помогают геликазам раскручивать спираль и обеспечивают протяжённый одноцепочный шаблон для полимеризации.

Б) ДНК-геликазы , раскручивающие спираль ДНК. Они непосредственно вовлечены в катализирование раскручивания.

В) ДНК-гиразы, которые катализируют формирование негативных супервитков в ДНК.

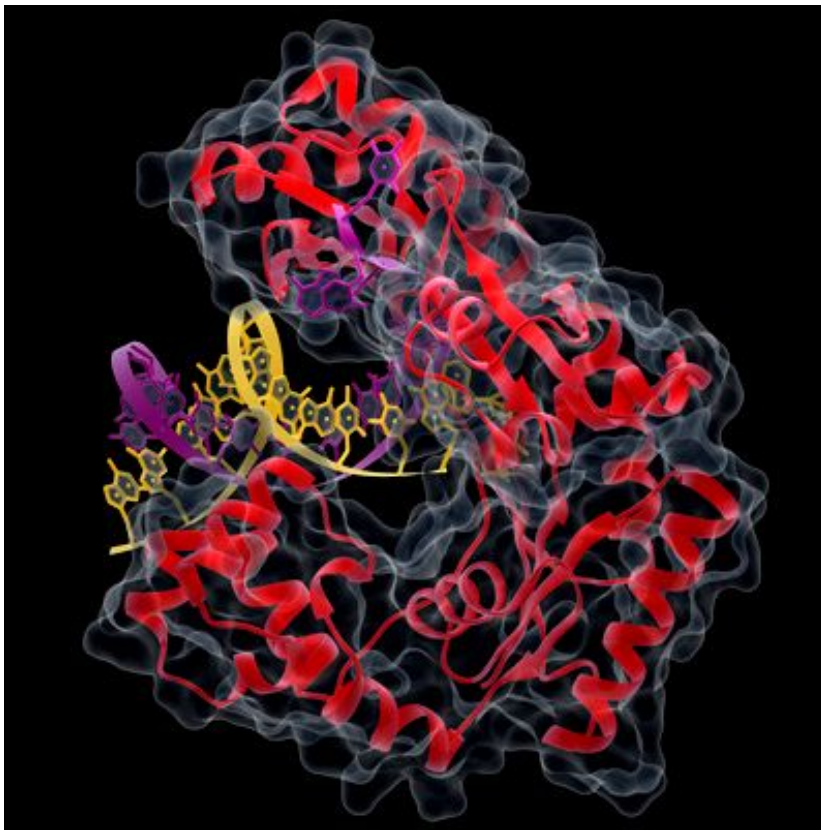


Действие ДНК-гиразы



Структура ДНК-геликазы

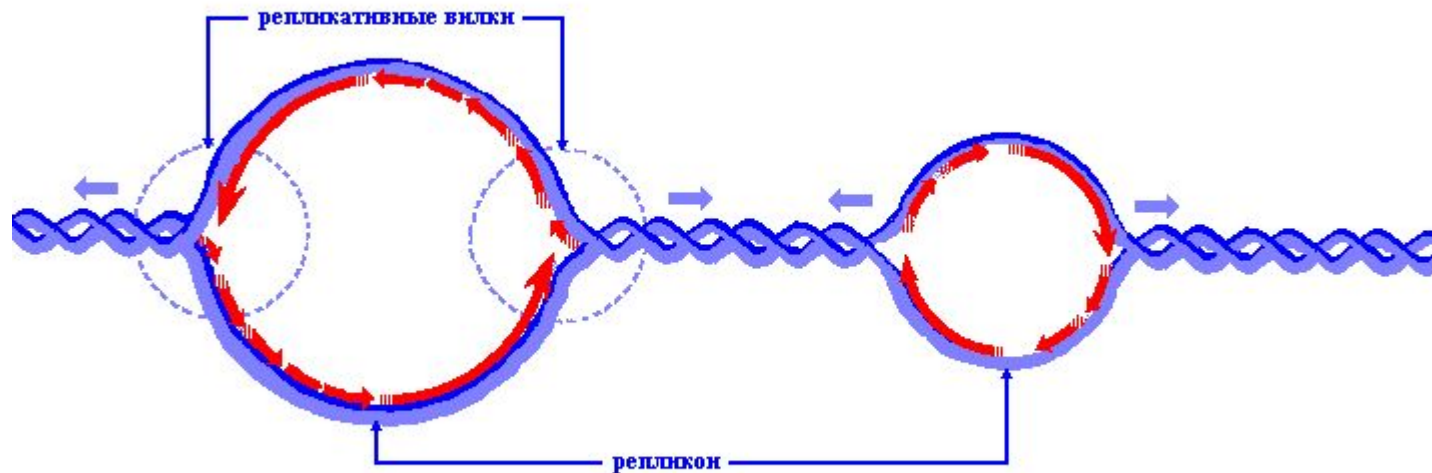
У эукариот известно пять ДНК-полимераз (α , β , γ , δ , ϵ), из которых главную роль в репликации играют α и δ . Альфа- ДНК-полимераза начинает синтез на лидирующей и запаздывающей цепях, поскольку только она обладает «затравочной» активностью. Дальнейшую элонгацию лидирующей цепи осуществляет β -полимераза, а запаздывающей цепи – ϵ - и δ -ферменты. γ -ДНК-полимераза завершает репликацию запаздывающей цепи.



Общая структура фермента ДНК-полимеразы.

Репликационное поведение хромосом основывается на трёх фундаментальных свойствах: 1) непосредственно репликация; 2) сегрегация хромосом при репликации ДНК и делении клетки; 3) репликация и предохранение концов хромосом.

O – пункты репликации существуют в хромосомах во множественном числе. Они и определяют количество репликационных вилок. Расстояние между репликационными вилками определяется в 30 000 пар оснований и называется **репликоном**. На хромосоме эукариот может одновременно существовать много репликационных вилок, которые независимы одна от другой. Множественное существование репликационных вилок основное отличие репликации ДНК эукариот от репликации у прокариот. Репликация хромосом эукариот является сложным процессом, поскольку включает не только синтез ДНК, но и синтез связанных с ДНК гистонов и негистоновых хромосомных белков.



Мутации

Мутации – это изменение генов и хромосом фенотипически проявляющиеся в изменении свойств и признаков организма. Впервые мутации были описаны Гуго де Фризом в 1901 году на ястребинке. Процесс образования мутаций во времени и пространстве называется **мутагенезом**. Абсолютное большинство мутаций являются вредными и их следует рассматривать как нарушение генома. В противоположность мутациям, наборы генов, находимые в природе, называют **дики́м типом**. Дикий тип – это своеобразный эталон, с которым сравнивают мутантные организмы и мутантные гены.



Ястребинка *Hieracium laticeps*

Гуго деФриз, профессор ботаники
Амстердамского университета

Организмы, содержащие в своём геноме одну или несколько мутаций называются мутантными. Они могут отличаться от исходных (организмов дикого типа) по самым различным свойствам – морфологическим, физиологическим, биохимическим и др. Мутации следует отличать от фенотипов, которые продуцируются факторами среды. Мимикрируя действие генов, они не передаются по наследству. Мутации возникают на всех стадиях онтогенеза и поражают гены и хромосомы как в половых клетках, так и в соматических.



Мутация коротколапости у собак



Мутация красноглазости



Мутация бескрылости у дрозифилы

Генеративные мутации происходят в генитальных и половых клетках. Если мутация происходит в генитальных клетках, то мутантный ген могут получить сразу несколько гамет, что существенно увеличивает потенциальную частоту наследования. Если мутация произошла в гамете, то лишь одна особь в потомстве получит этот ген.

Соматические мутации происходят в соматических клетках организма. У животных и человека мутационные изменения будут сохраняться только в этих клетках. Но у растений, из-за их способности к вегетативному размножению, мутация может выйти за пределы соматических тканей.

По типу наследования различают мутации

Доминантные сразу проявляются в фенотипе

Полудоминантные формируют промежуточный фенотип - **Aa**

Кодоминантные – у гетерозигот **A₁A₂** проявляются признаки сразу обоих аллелей

Рецессивные – проявляются лишь в гомозиготном состоянии – **aa**.

МУТАЦИИ

Генные



Односайтовые
Многосайтовые
Прямые
Обратные
супрессорные

Хромосомны

Изменения количества
хромосом

Полиплоидия
Гаплоидия

Гетероплоиди



Полисомин
Моносомин
Нулеосомин

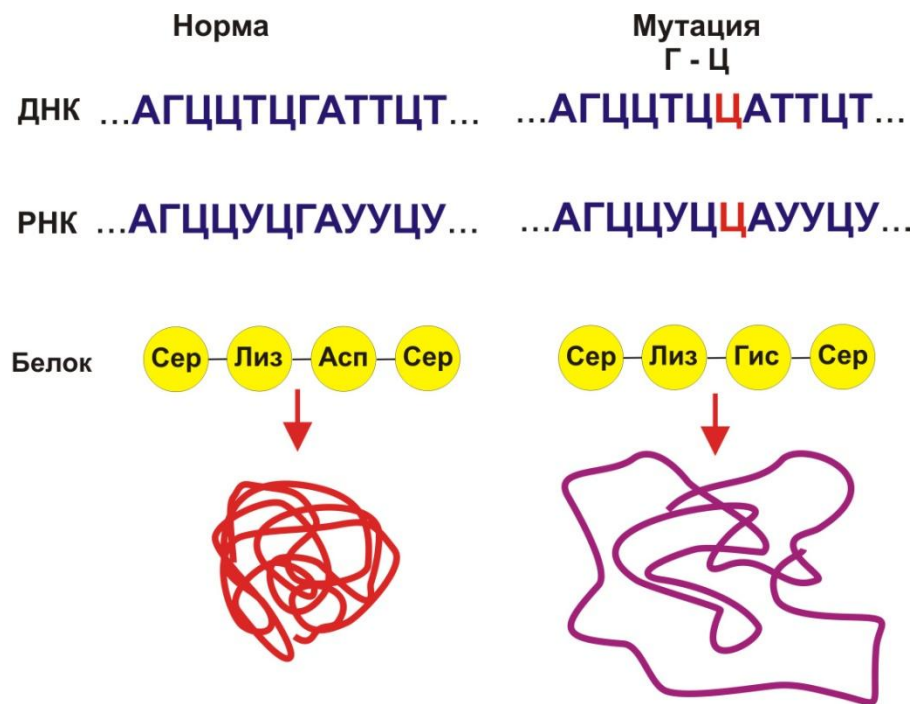
е

Изменения структуры
хромосом



Делеции
Дупликации
Инверсии
Транслокации

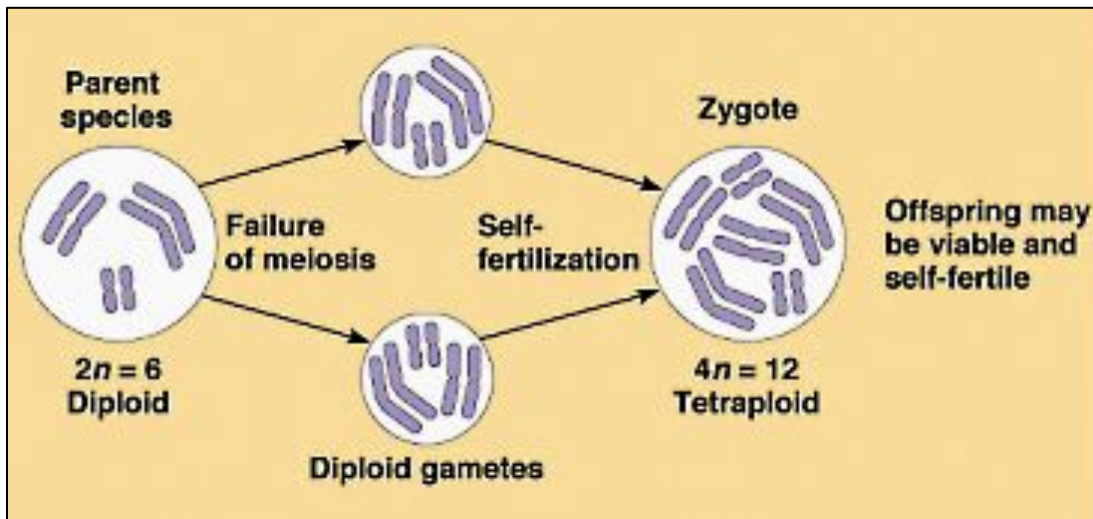
На генном уровне изменения первичной структуры ДНК генов под действием мутаций менее значительны, чем при хромосомных мутациях, однако генные мутации встречаются более часто. В результате генных мутаций происходят замены, делеции и вставки одного или нескольких нуклеотидов, транслокации, дупликации и инверсии различных частей гена. В том случае, когда под действием мутации изменяется лишь один нуклеотид, говорят о точковых мутациях.



Точечная мутация одного нуклеотида

Возможны три генетических последствия точковых мутаций: 1) сохранение смысла кодона из-за вырожденности генетического кода (синонимическая замена нуклеотида), 2) изменение смысла кодона, приводящее к замене аминокислоты в соответствующем месте полипептидной цепи (миссенс-мутация), 3) образование бессмысленного кодона с преждевременной терминацией (нонсенс-мутация).

Полиплоидия – хромосомная мутация в виде увеличения числа полных гаплоидных наборов хромосом. Наблюдается в основном у растений, у животных полиплоидия очень редка. Редкость полиплоидии у животных объясняется тем, что она нарушает соотношение аутосом и половых хромосом. Известна триплоидия ($3n$), тетраплоидия ($4n$), пентаплоидия ($5n$) и т. д. Почти третья часть всех видов диких цветковых растений представлена полиплоидами.



Полиплоидный сорт винограда
«Сильванер»

Гаплоидия - противоположное полиплоидии явление, заключающееся в кратном уменьшении числа хромосом у потомства в сравнении с материнской особью. Гаплоидия, как правило, - результат развития зародыша из редуцированных (гаплоидных) гамет или из функционально равноценных им клеток путём апомиксиса, т. е. без оплодотворения. Гаплоидия редко встречается в животном мире, но распространена у цветковых растений: зарегистрирована более чем у 150 видов растений из 70 родов 33 семейств.



Рапс произошел в результате скрещивания сурепицы ($n=10$, геном AA) с капустой ($n = 9$, геном CC) и последующего удвоения числа хромосом. В его кариотипе 38 хромосом ($n = 19$, геном AACCC), которые имеют следующее сочетание в половых клетках:

AAABBBCCDDDEEEFFFF.

Гетероплоидия. Изменение числа хромосом, не кратное гаплоидному набору. Так, в диплоидном наборе может быть всего на 1 хромосому больше нормы, т. е. $2n+1$ хромосома. Такие формы (имеющие одну из хромосом в тройном числе) получили название трисомики. Если в тройном числе 2 хромосомы, их следует назвать двойными трисомиками, если же утроение у 3 хромосом, - тройными трисомиками. Известна трисомия и у других видов растений и животных, а также у человека. Трисомиками являются, например, люди с синдромом Дауна (см. ниже). Трисомики чаще всего либо совсем нежизнеспособны, либо отличаются пониженной жизнеспособностью и рядом патологических признаков.



Дурман – растения у которого часто обнаруживаются в потомстве трисомики



Трисомия – синдром Дауна

В зависимости от происхождения различают **спонтанные** и **индуцированные** мутации.

Спонтанными называют мутации, которые возникают у организмов в результате естественных процессов происходящих в клетках. Они возникают в условиях природного радиоактивного фона Земли, космического излучения, радионуклидов в клетках организмов. Различают несколько причин возникновения спонтанных мутаций

Ошибки репликации ДНК, возникающие в результате «неаккуратности» ДНК-полимеразы

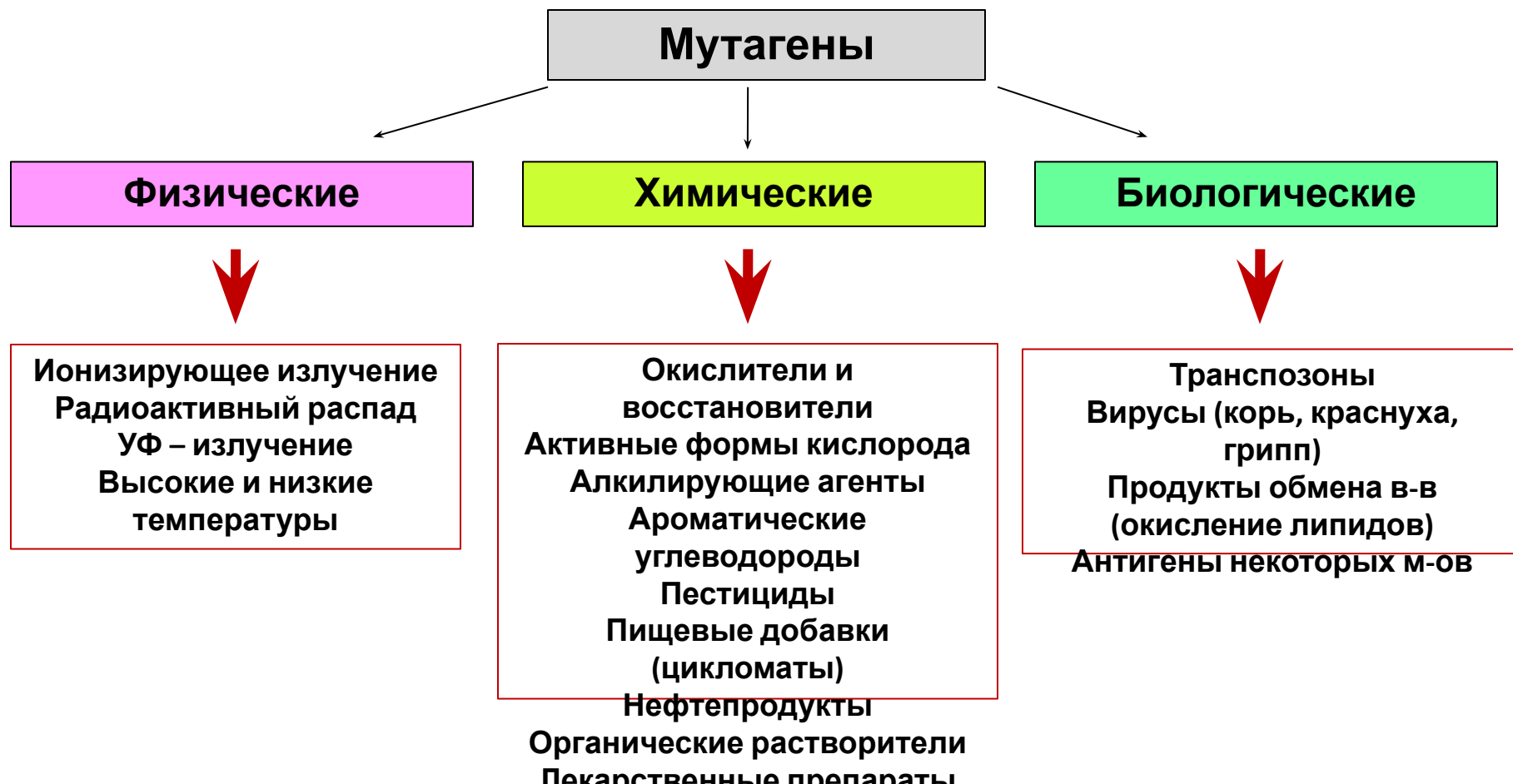
Таутомеризация – спонтанные структурные изменения оснований ДНК

Дезаминирование оснований ДНК

Свободные перекисные радикалы могут повреждать основания ДНК, окисляя их

Индукцированными являются те мутации, которые возникают после обработки клеток (организмов) мутагенными факторами – мутагенами.

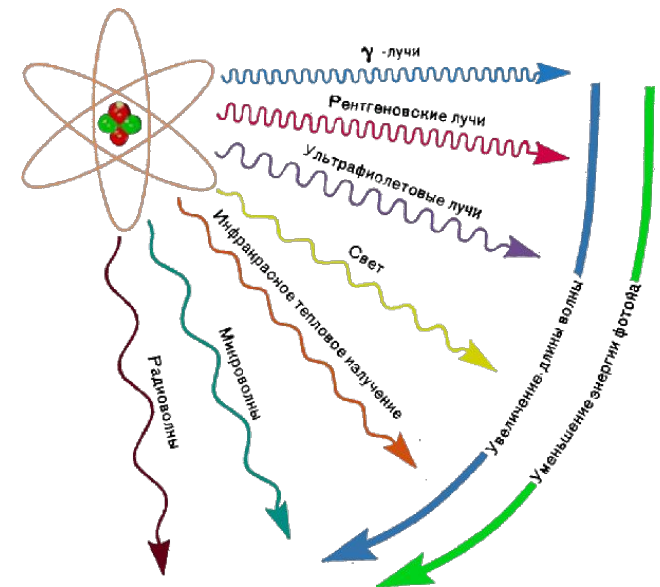
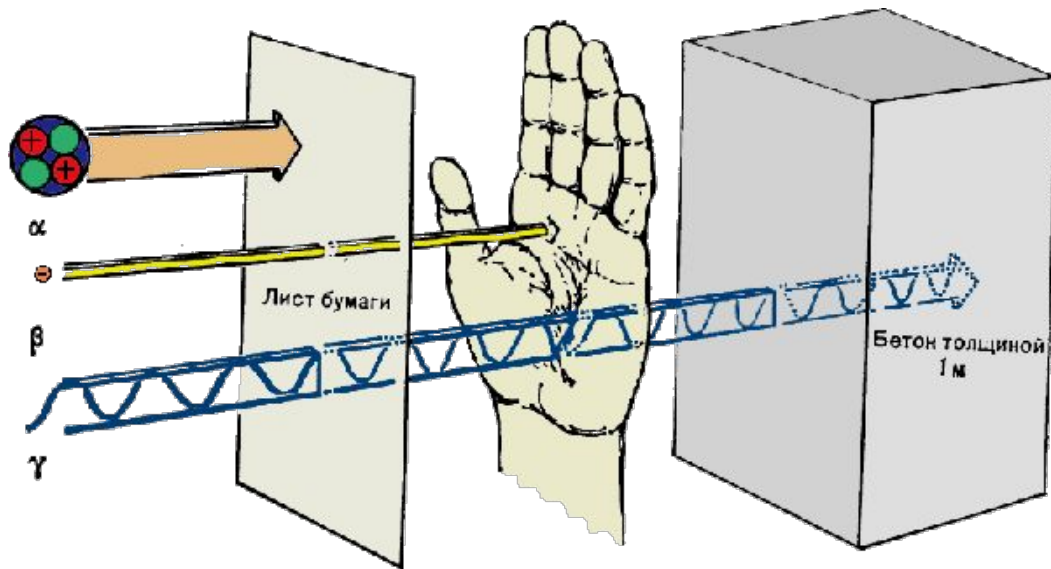
Мутагены - химические и физические факторы, вызывающие наследственные изменения – мутации. Впервые искусственные мутации получены в 1925 году Г. А. Надсеном и Г. С. Филипповым у дрожжей действием радиоактивного излучения радия; в 1927 году Г. Мёллер получил мутации у дрозофилы действием рентгеновских лучей.



Физические мутагены

Среди физических мутагенов наибольшим эффектом обладает ионизирующее излучение и УФ – излучение. Ионизирующее излучение обладает высокой энергией и может проникать в ткани, в которых сталкивается с атомами и вызывает освобождение электронов, оставляя положительно заряженные свободные радикалы и ионы. Для этого вида излучений отсутствует пороговость в дозе и они обладают коммулятивным эффектом.

УФ-излучение характеризуется меньшей энергией, проникает только через поверхностные слои клеток и не вызывает ионизации тканей, но в спектре волн 180-320 нм оно также обладает мутагенным эффектом.



Химические мутагены

1

Аналоги оснований включаются в ДНК вместо нормальных оснований, изменяя её структуру

5-бромурацил (аналог тимина), аминопурин (аналог аденина) и др.

2

Изменяют структуру ДНК, спариваясь с основаниями

Азотистая кислота, нитрозогуанидин, метилметансульфонат и др.

3

Интеркалирующие агенты взаимодействуют с ДНК и включаются между основаниями

Акридин оранжевый, профлавин этидиум бромид и др.

4

Агенты, вызывающие сшивки в ДНК или разрывы цепей

Псоралены и пероксиды

Некоторые химические мутагены нарушают нормальный процесс мейоза, что приводит к нерасхождению хромосом, а также вызывают разрывы хромосом и генные мутации.

Биологические мутагены

Вирусы. Вызывают хромосомные абберации в культивируемых клетках. Такой способностью обладает вирус гриппа, Эпштена-Барра, кори, краснухи, бактериофаги и др.

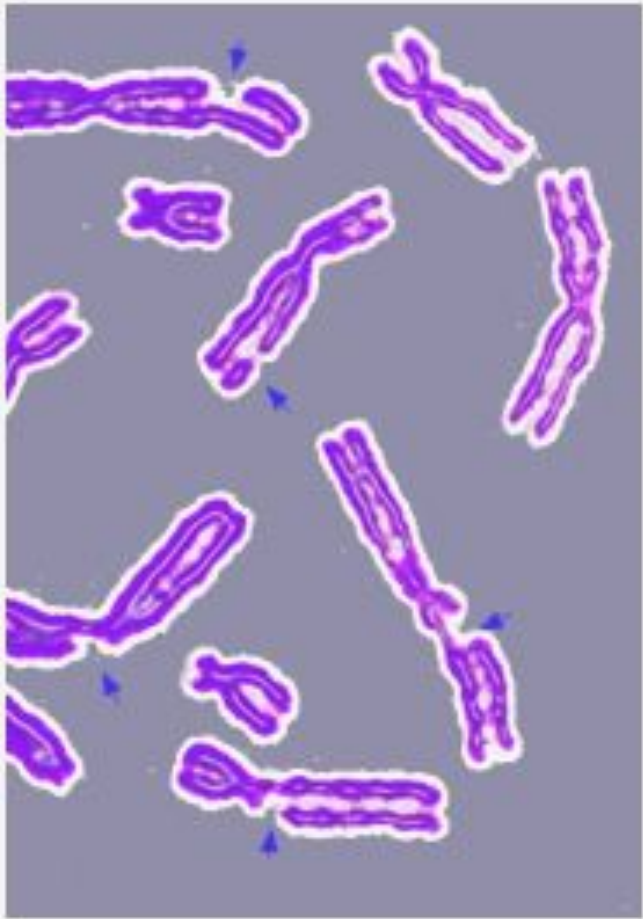
Транспозоны. Способны встраиваться в ДНК в любом месте, вызывать как генные мутации так и значительные хромосомные перестройки.

Антигены микроорганизмов. Белки или полисахариды, а также их комплексы с нуклеиновыми кислотами. Могут необратимо связываться с ДНК и регулировать работу генов.



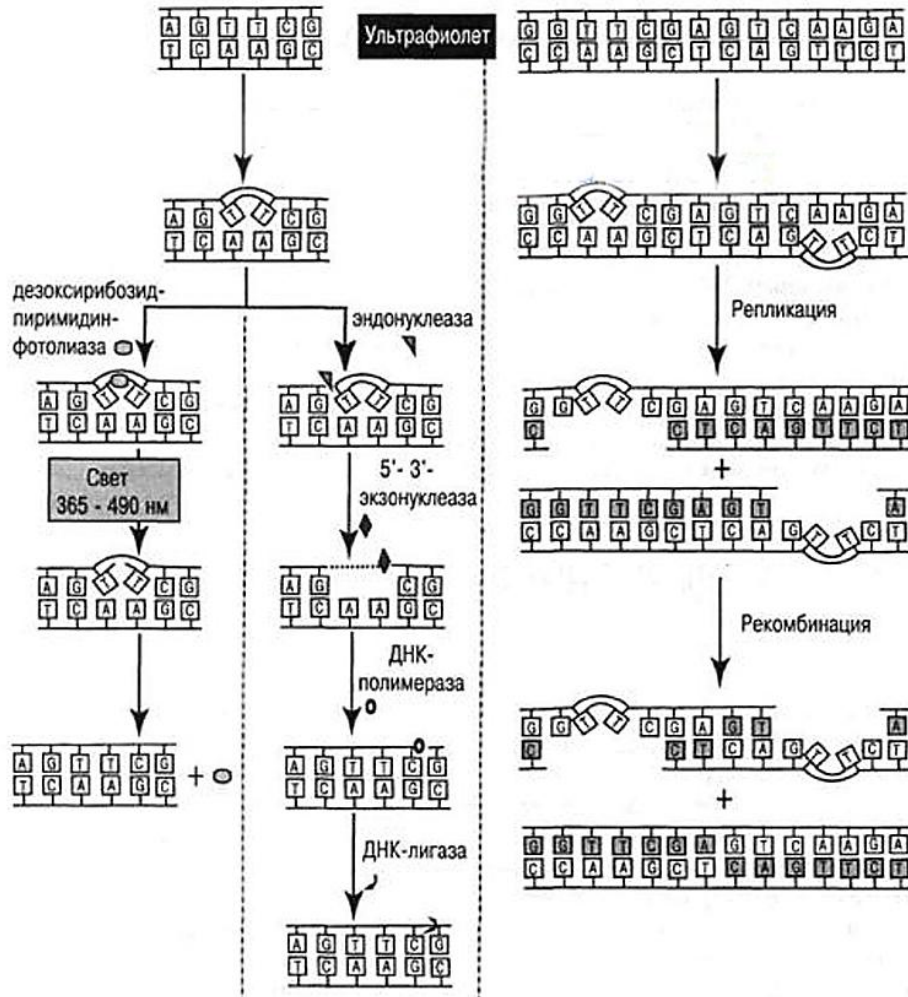
Репарация повреждений ДНК

Репарация — особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённой при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физическими или химическими агентами. Осуществляется специальными ферментными системами клетки.



Начало изучению репарации было положено работами А. Келнера (США), который в 1948 обнаружил явление фотореактивации (ФР) - уменьшение повреждения биологических объектов, вызываемого ультрафиолетовыми (УФ) лучами, при последующем воздействии ярким видимым светом (световая репарация).

Р. Сетлоу, К. Руперт (США) и др. установили, что фотореактивация - фотохимический процесс, протекающий с участием специального фермента и приводящий к расщеплению димеров тимина, образовавшихся в ДНК при поглощении УФ-кванта. Позднее при изучении генетического контроля чувствительности бактерий к УФ-свету и ионизирующим излучениям была обнаружена темновая репарация - свойство клеток ликвидировать повреждения в ДНК без участия видимого света.



Ферменты репарации

1 - фермент, "узнающий" химически изменённые участки в цепи ДНК и осуществляющий разрыв цепи вблизи от повреждения
 2 - фермент, удаляющий повреждённый участок
 3 - фермент (ДНК-полимераза), синтезирующий соответствующий участок цепи ДНК взамен удалённого
 4 - фермент (ДНК-лигаза), замыкающий последнюю связь в полимерной цепи и тем самым восстанавливающий её непрерывность

Общие выводы

1. Репликация ДНК — это процесс синтеза дочерней молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты, который происходит в процессе деления клетки на матрице родительской молекулы ДНК. В результате репликации каждая новая молекула ДНК состоит из одной старой цепи и одной новой. Такой способ репликации ДНК называется **полуконсервативный**.
2. В репликация участвует комплекс специфических ферментов. Хеликаза, топоизомераза и ДНК-связывающие белки, которые расплетают ДНК, удерживают матрицу в разведённом состоянии и вращают молекулу ДНК.
3. Мутации — это изменение генов и хромосом фенотипически проявляющиеся в изменении свойств и признаков организма. Мутации могут быть спонтанными в результате ошибок репликации и индуцированными, возникающими под влиянием мутагенов.
4. Мутагены — физические, химические и биологические факторы индуцирующие мутации.
5. Репарация — особая функция клеток, заключающаяся в способности исправлять химические повреждения и разрывы в молекулах ДНК, повреждённой при нормальном биосинтезе ДНК в клетке или в результате воздействия физическими или химическими агентами.