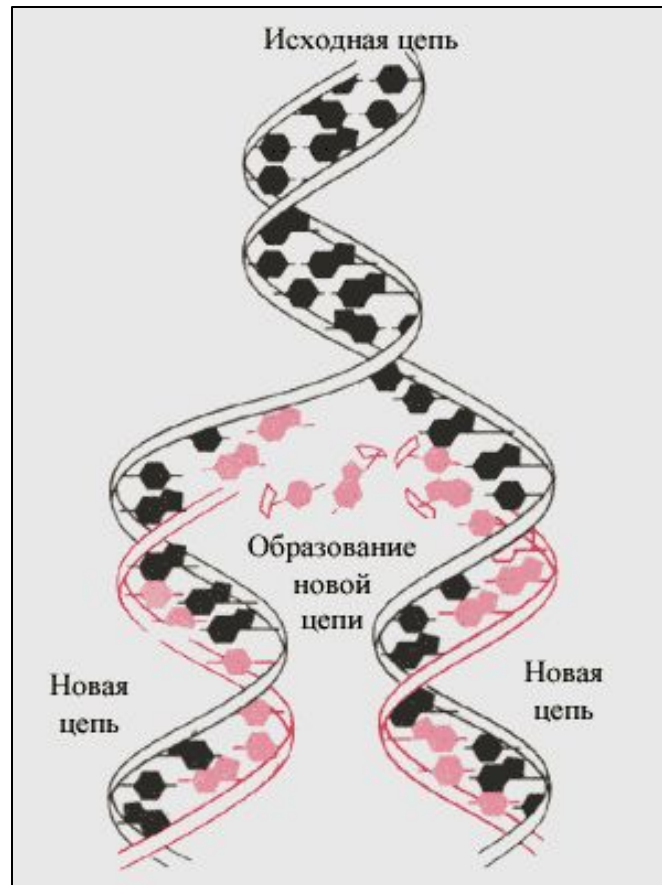


# РЕПЛИКАЦИЯ ДНК МУТАЦИИ

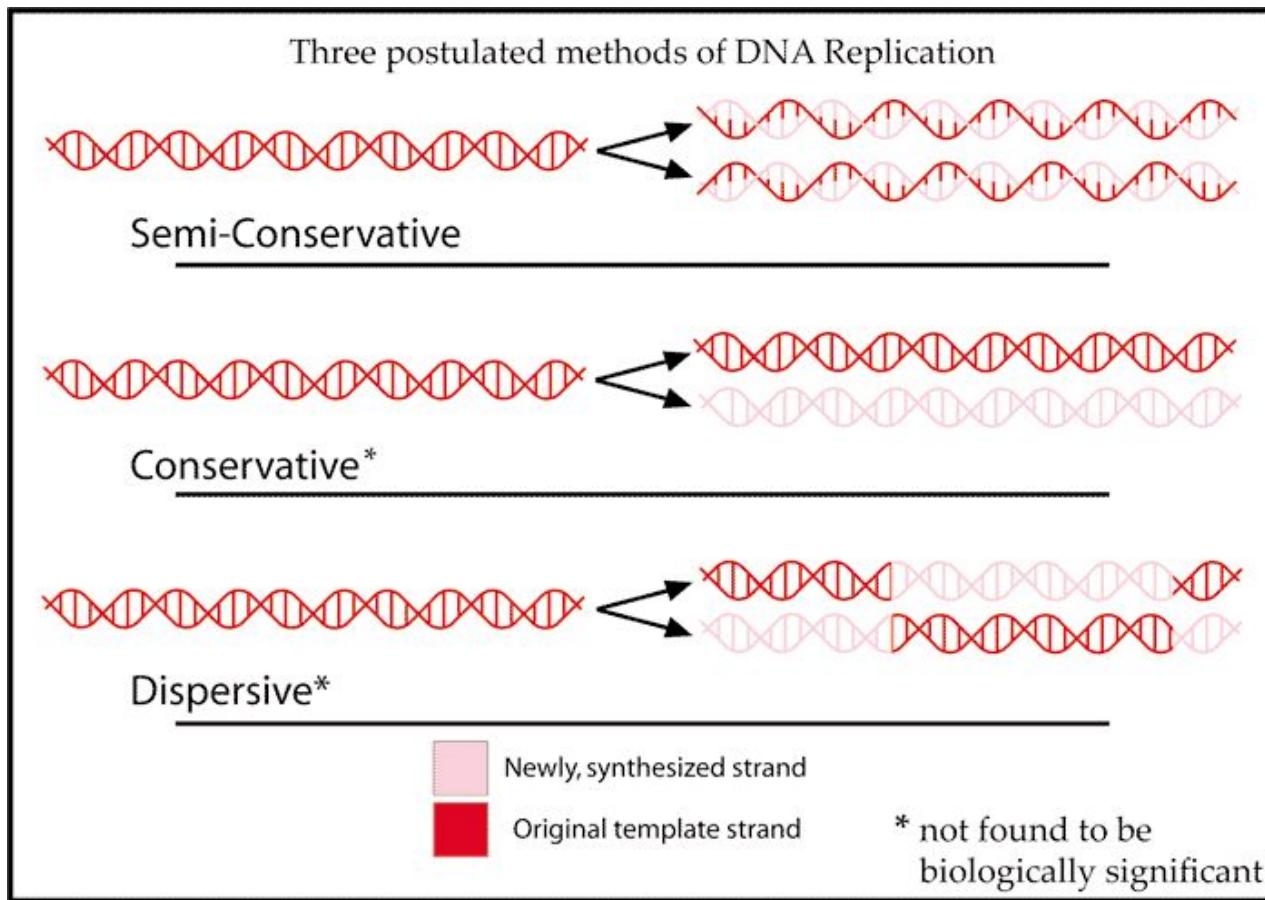


# Репликация ДНК

**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

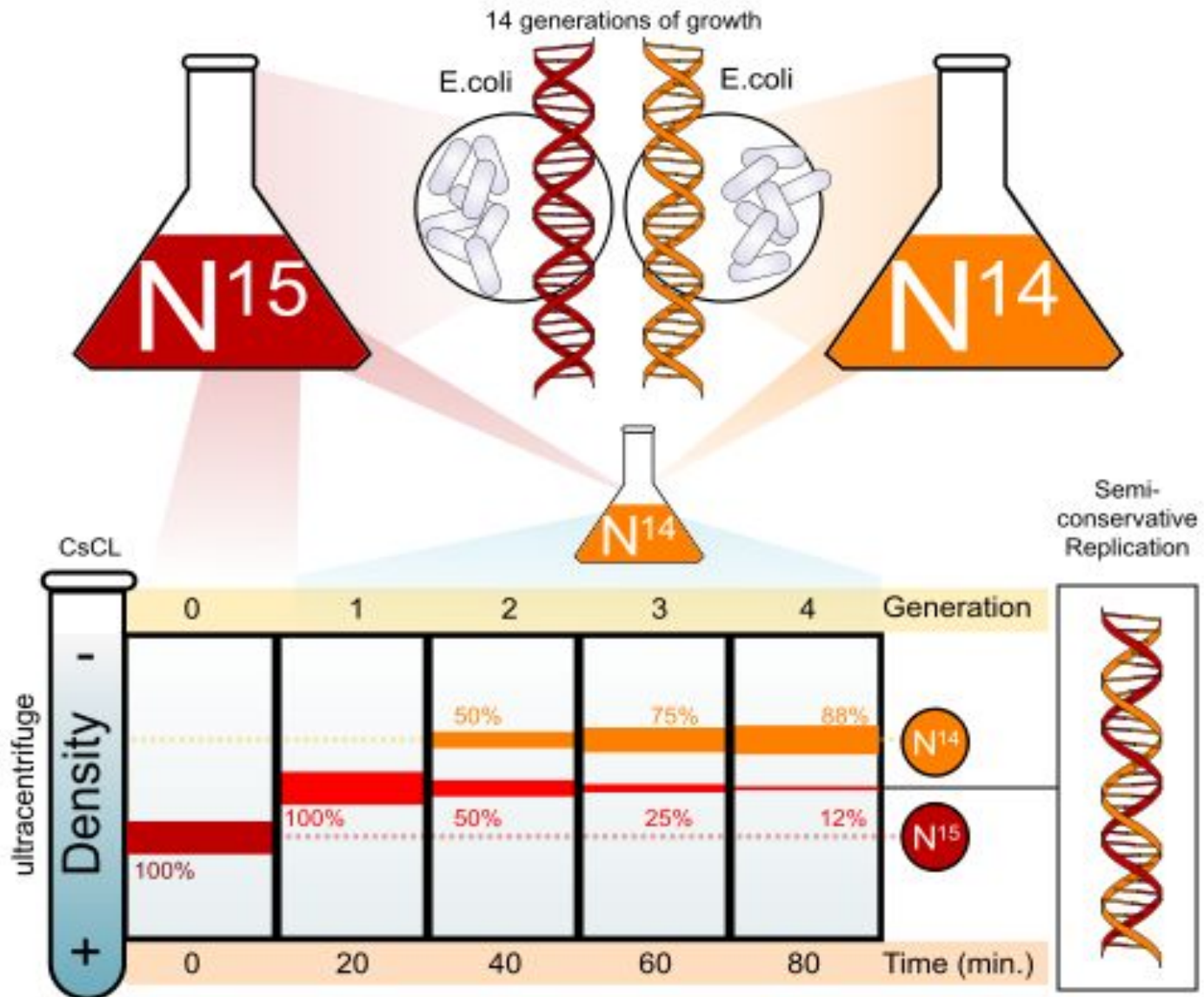


Полуконсервативный способ

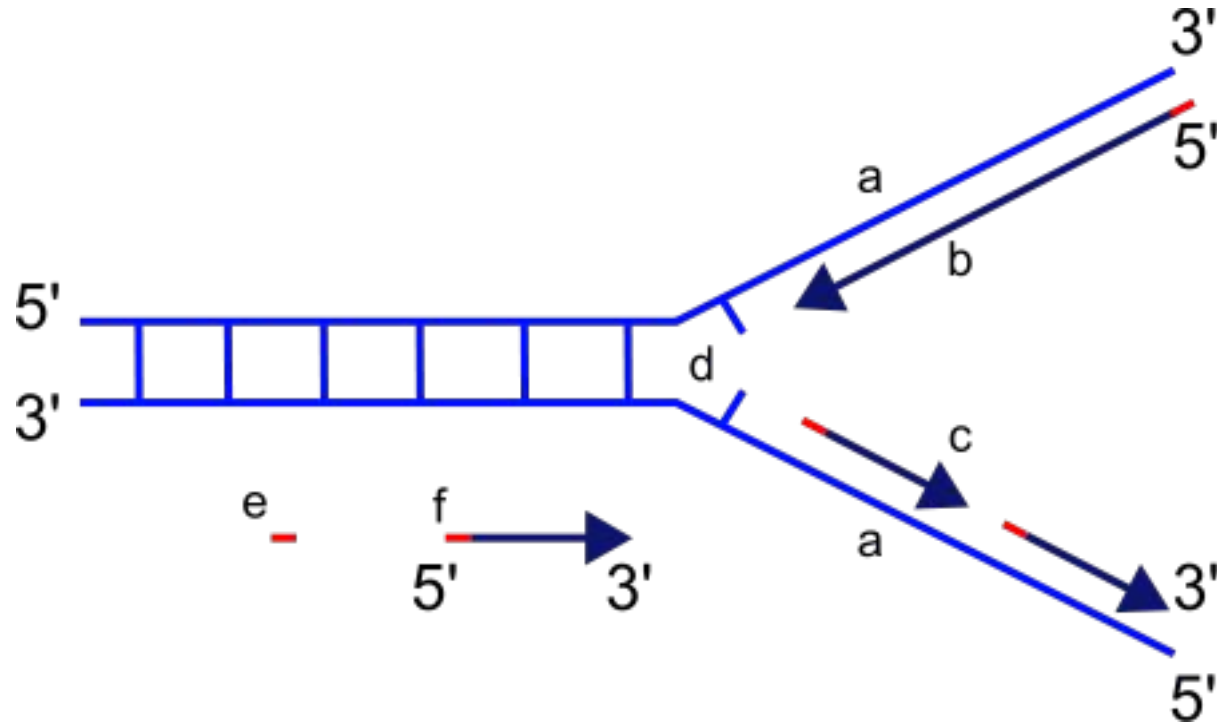
Консервативный способ

Дисперсный способ

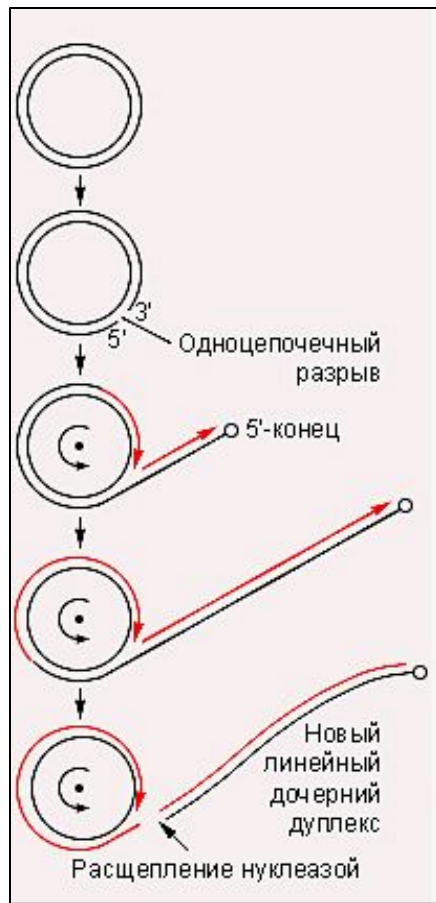
Схема эксперимента Мезельсона и Сталя, доказывающего полуконсервативный способ репликации ДНК.



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**.



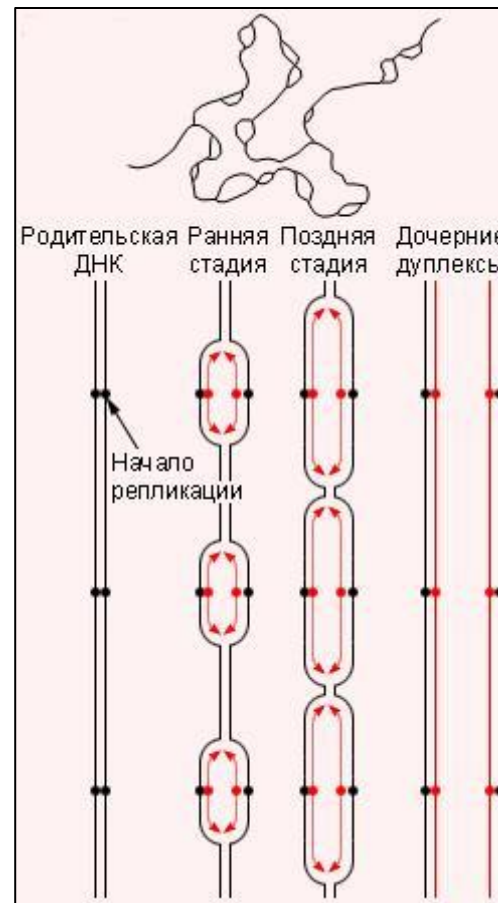
У вирусов и прокариот репликация ДНК начинается с О- пункта (origin) и продолжается в двух направлениях. Полное удвоение молекулы ДНК происходит за 40 минут. Кроме того, у прокариот действует механизм «вращающегося кольца». По которому репликационная вилка движется вокруг кольца. Скорость репликации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



Кольцевая вирусная ДНК

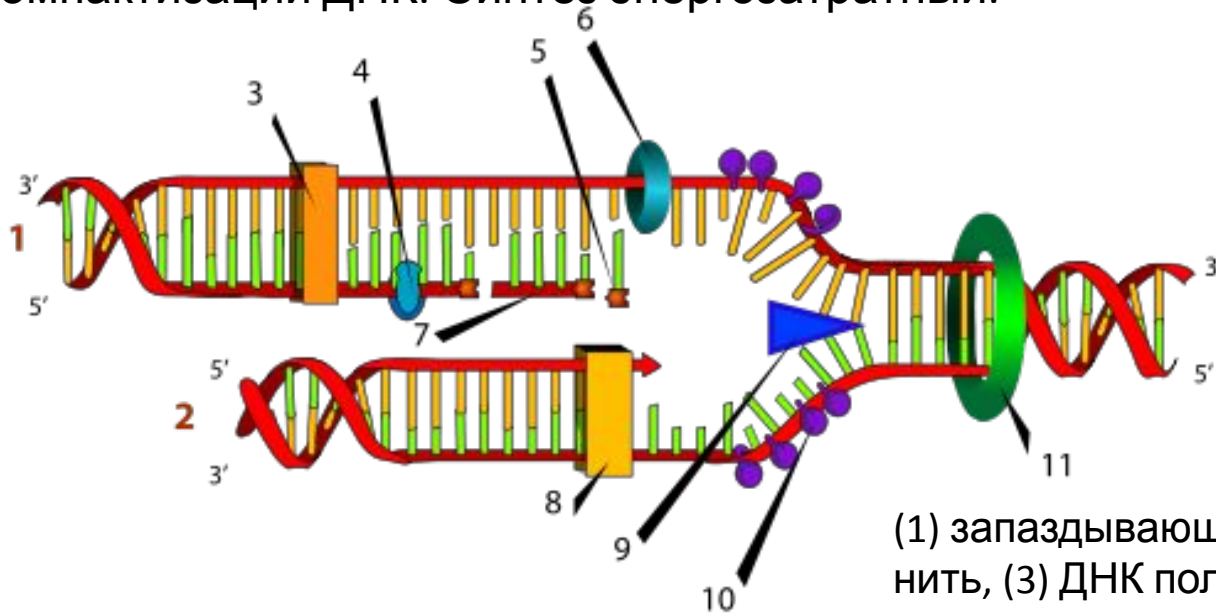


Кольцевая бактериальная ДНК

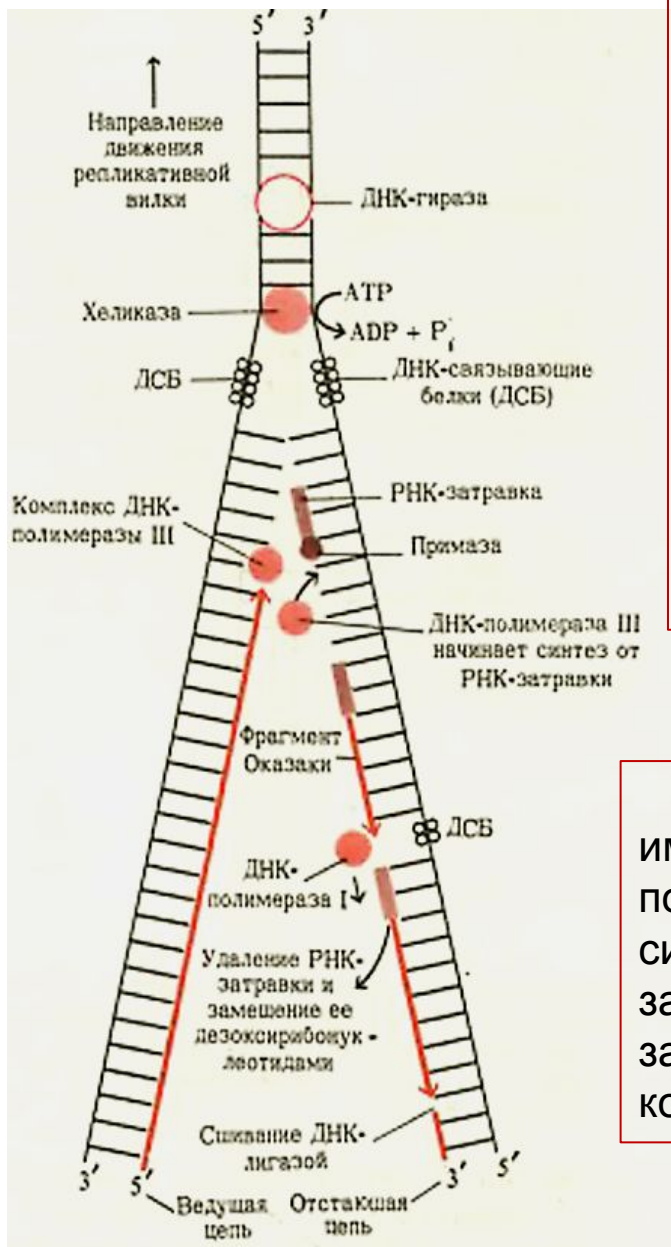


Эукариотическая ДНК

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 $\delta$ ), (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



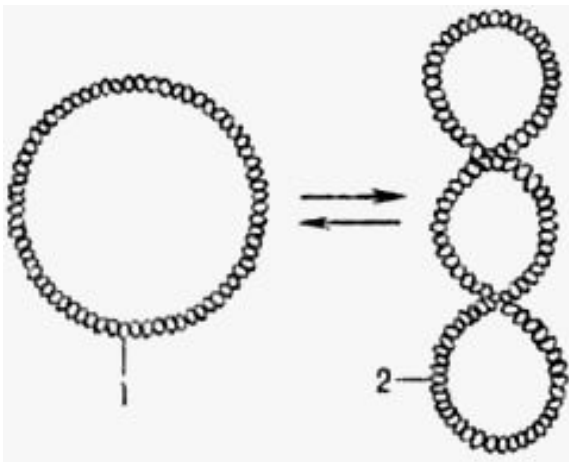
ДНК-топоизомеразы (гиразы) осуществляют раскручивание и скручивание спиралей ДНК.

Раскручивание двойной цепи ДНК происходит с участием трёх разных белков:

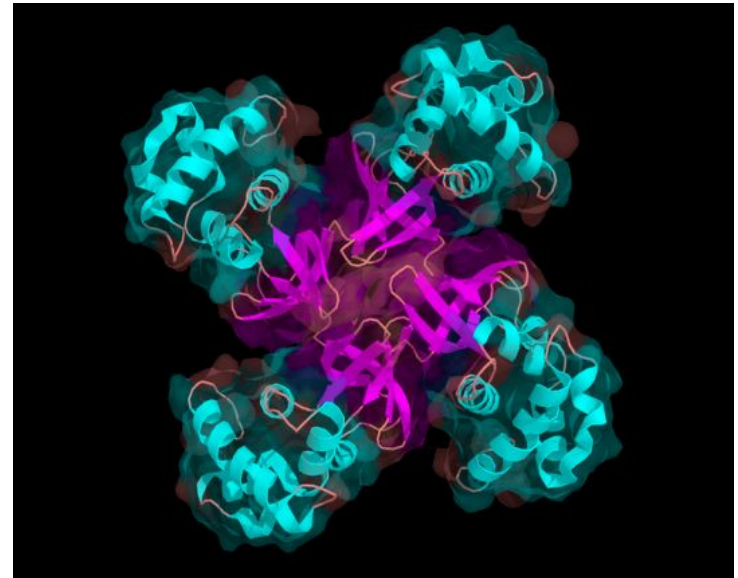
А) белки (SSB) , дестабилизирующие спираль ДНК. Они помогают геликазам раскручивать спираль и обеспечивают протяжённый одноцепочный шаблон для полимеризации.

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

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

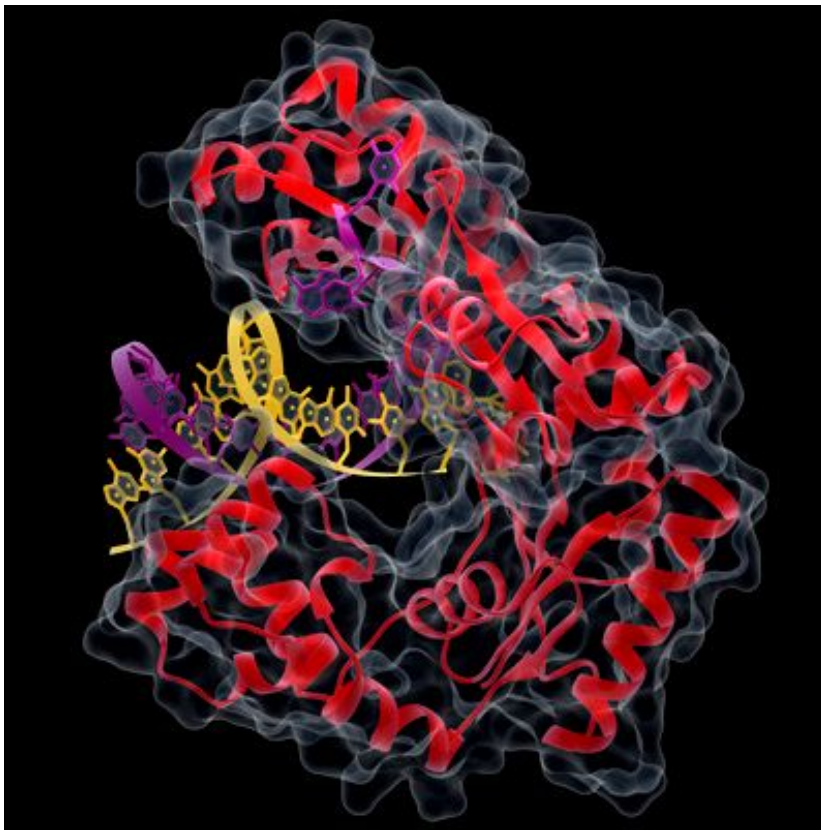


Действие ДНК-гиразы



Структура ДНК-геликазы

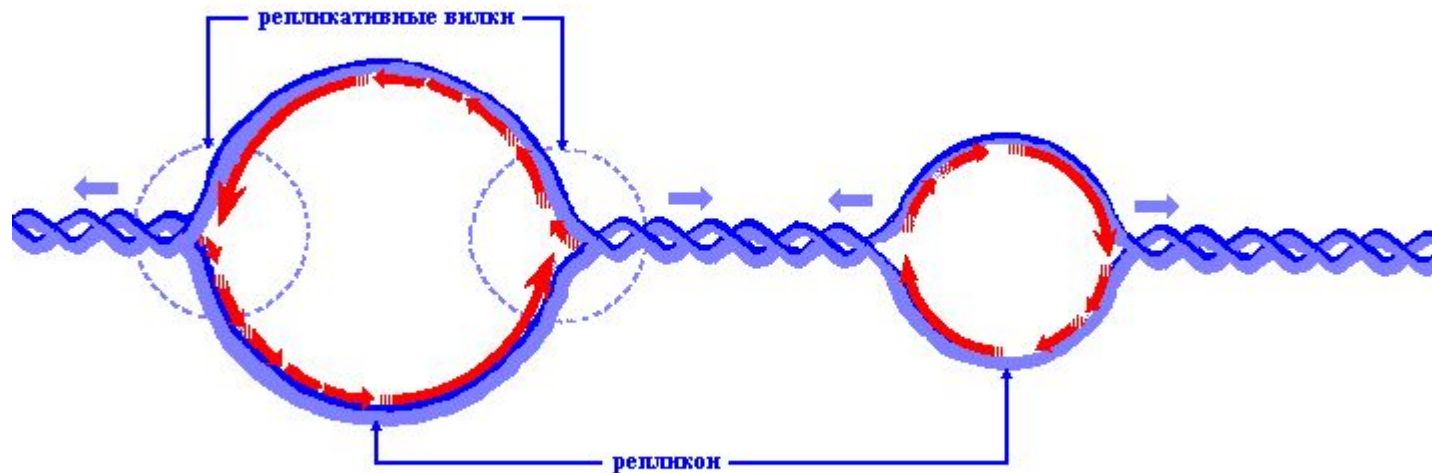
У эукариот известно пять ДНК-полимераз ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ), из которых главную роль в репликации играют  $\alpha$  и  $\delta$ . Альфа- ДНК-полимераза начинает синтез на лидирующей и запаздывающей цепях, поскольку только она обладает «затравочной» активностью. Дальнейшую элонгацию лидирующей цепи осуществляет  $\beta$ -полимераза, а запаздывающей цепи –  $\epsilon$ - и  $\delta$ -ферменты.  $\gamma$ -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 **A<sub>1</sub>A<sub>2</sub>** 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

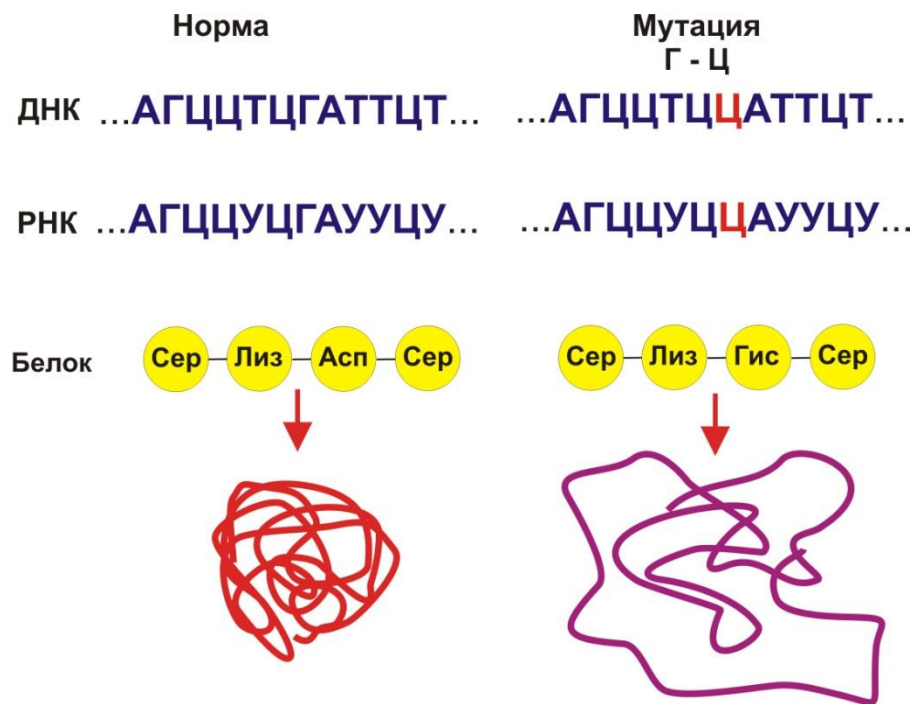
Изменения структуры  
хромосом



Делеции  
Дупликации  
Инверсии  
Транслокации



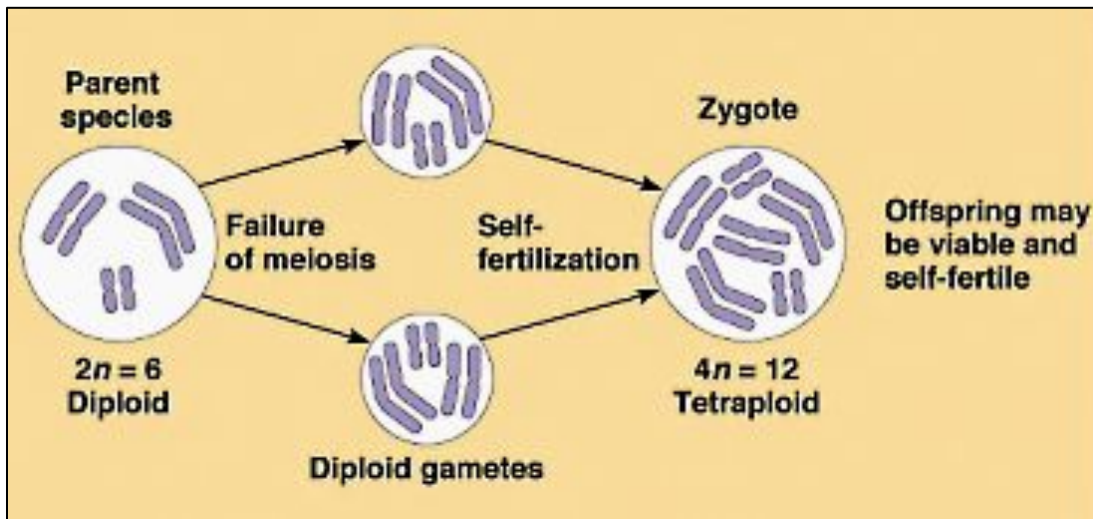
На геномном уровне изменения первичной структуры ДНК генов под действием мутаций менее значительны, чем при хромосомных мутациях, однако генные мутации встречаются более часто. В результате генных мутаций происходят замены, делеции и вставки одного или нескольких нуклеотидов, транслокации, дупликации 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

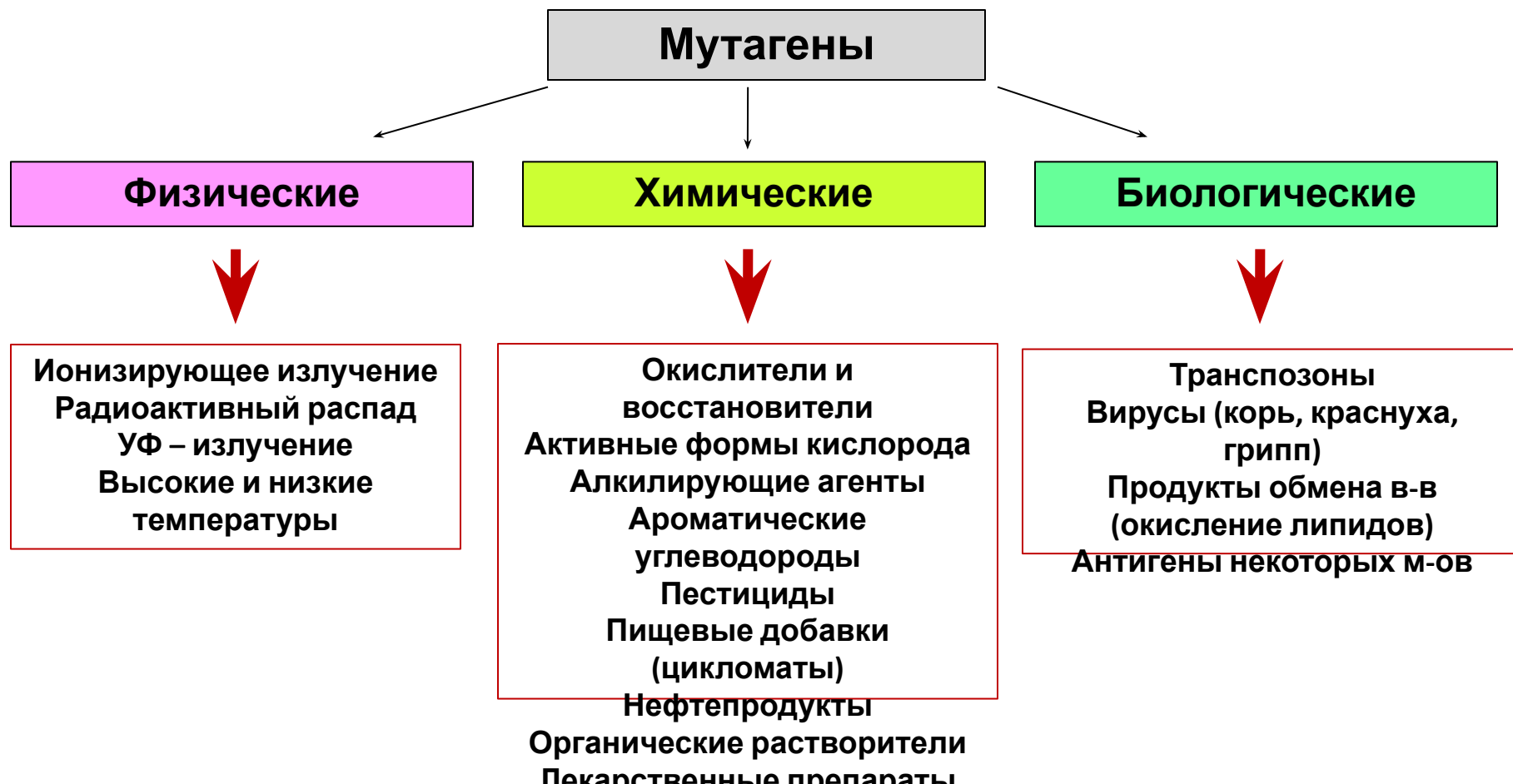
Таутомеризация – спонтанные структурные изменения оснований ДНК

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.

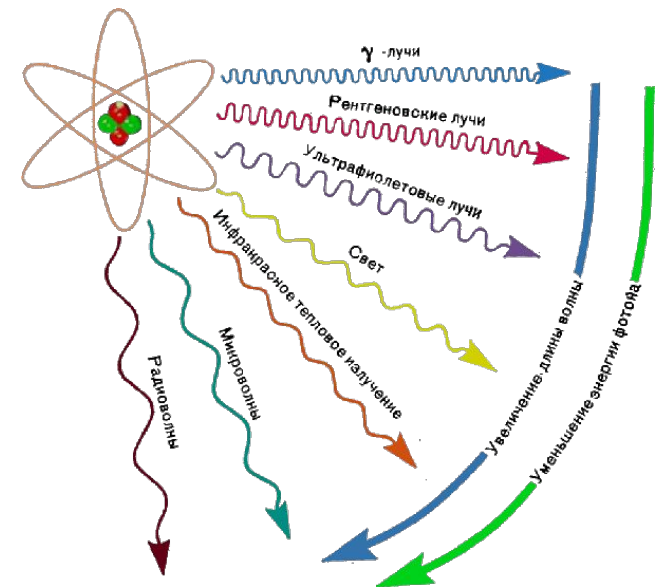
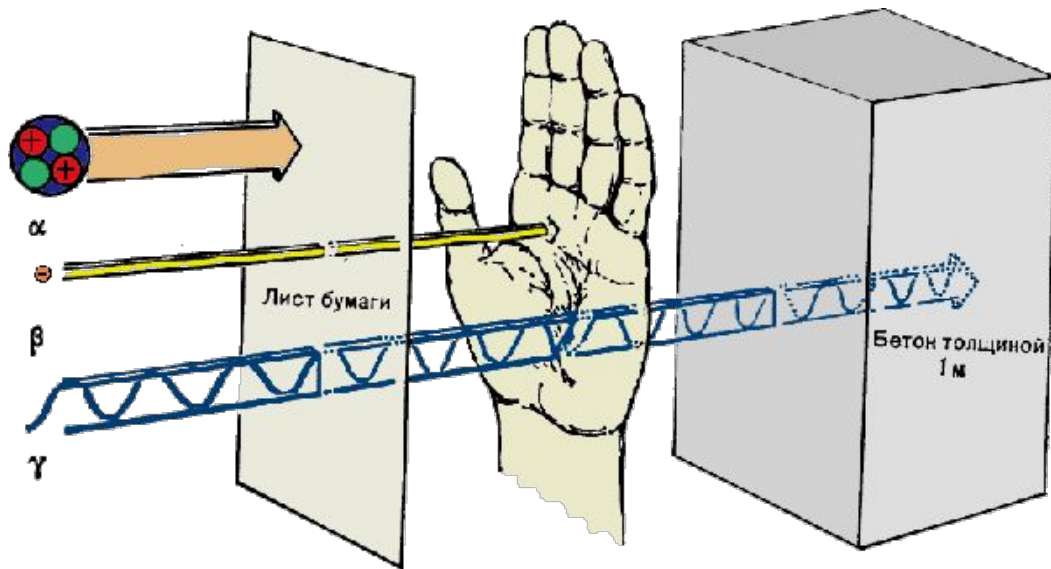
**Мутагены** - химические и физические факторы, вызывающие наследственные изменения – мутации. Впервые искусственные мутации получены в 1925 году Г. А. Надсеном и Г. С. Филипповым у дрожжей действием радиоактивного излучения радия; в 1927 году Г. Мёллер получил мутации у дрозофилы действием рентгеновских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

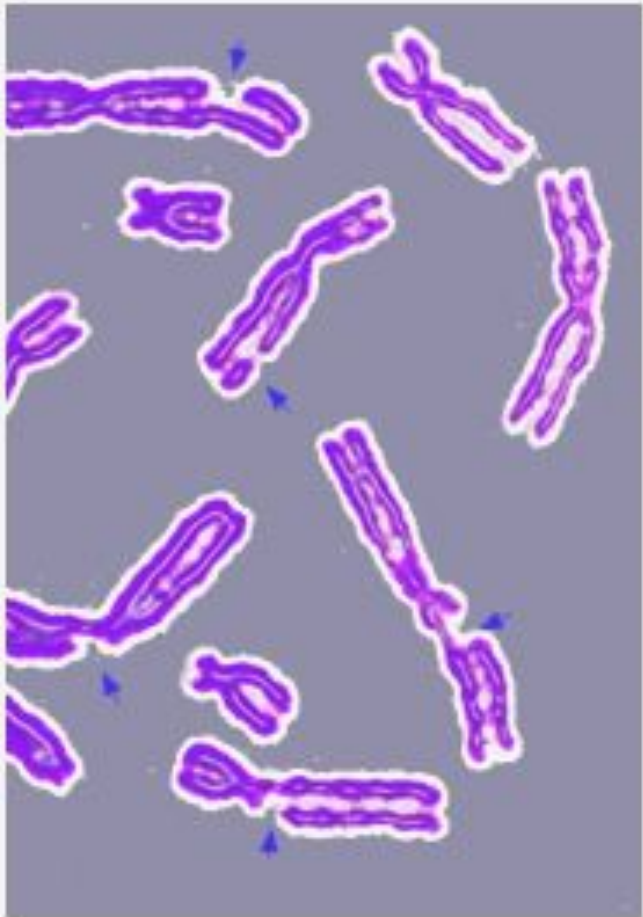
**Транспозоны.** Способны встраиваться в ДНК в любом месте, вызывать как генные мутации так и значительные хромосомные перестройки.

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



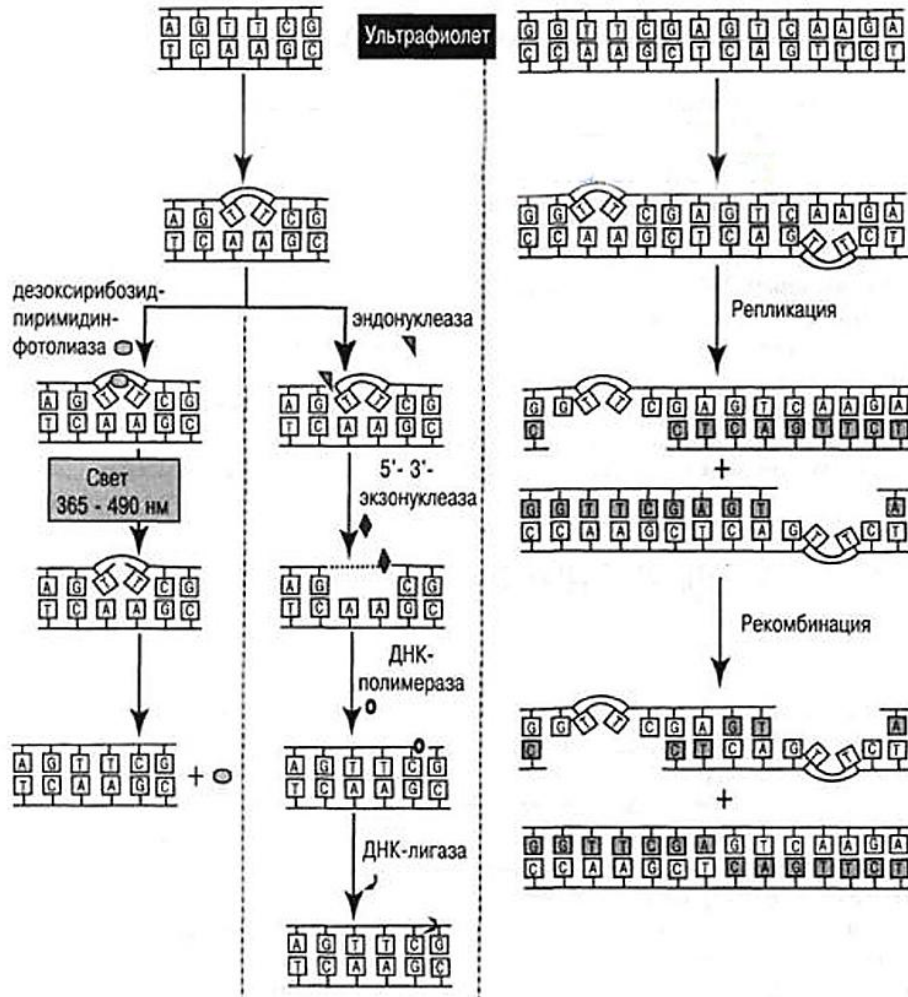
# Репарация повреждений ДНК

**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.