

РЕПЛИКАЦИЯ.

ПРОКАРИОТЫ

2

РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ

φαγεῖν (*phagein*), греч. – пожирать

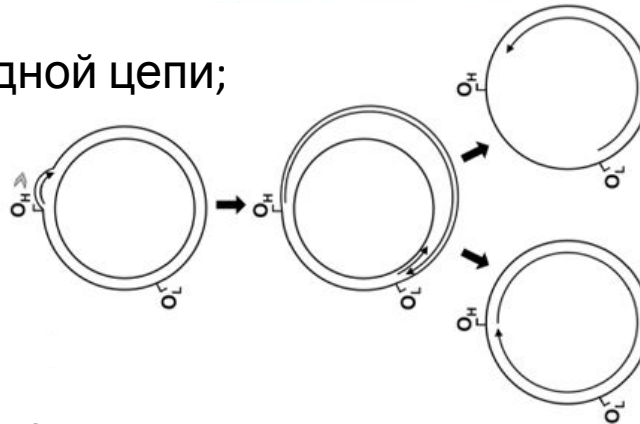
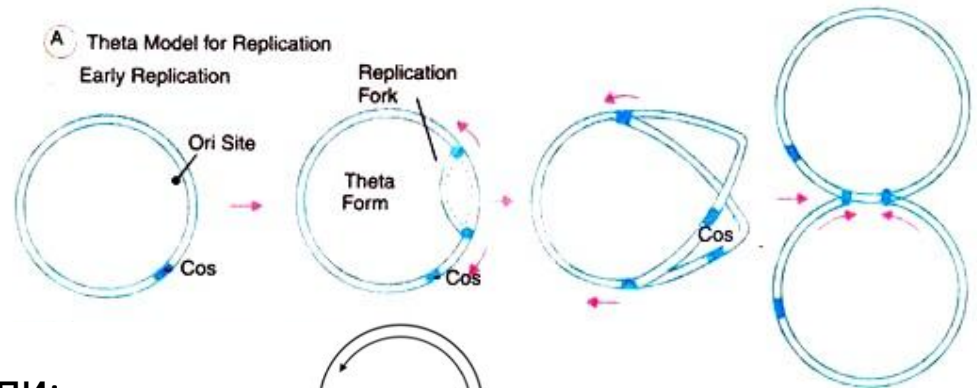
4 механизма репликации фагов:

-) образование тета-структур;

-) механизм с вытеснением одной цепи;

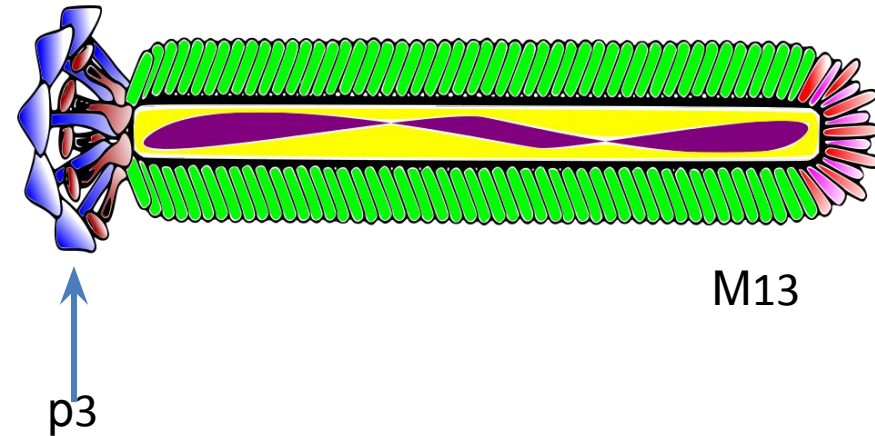
-) праймирование с помощью белка, который ковалентно связан с 5'-концом линейной молекулы фага;

-) модель катящегося колеса.



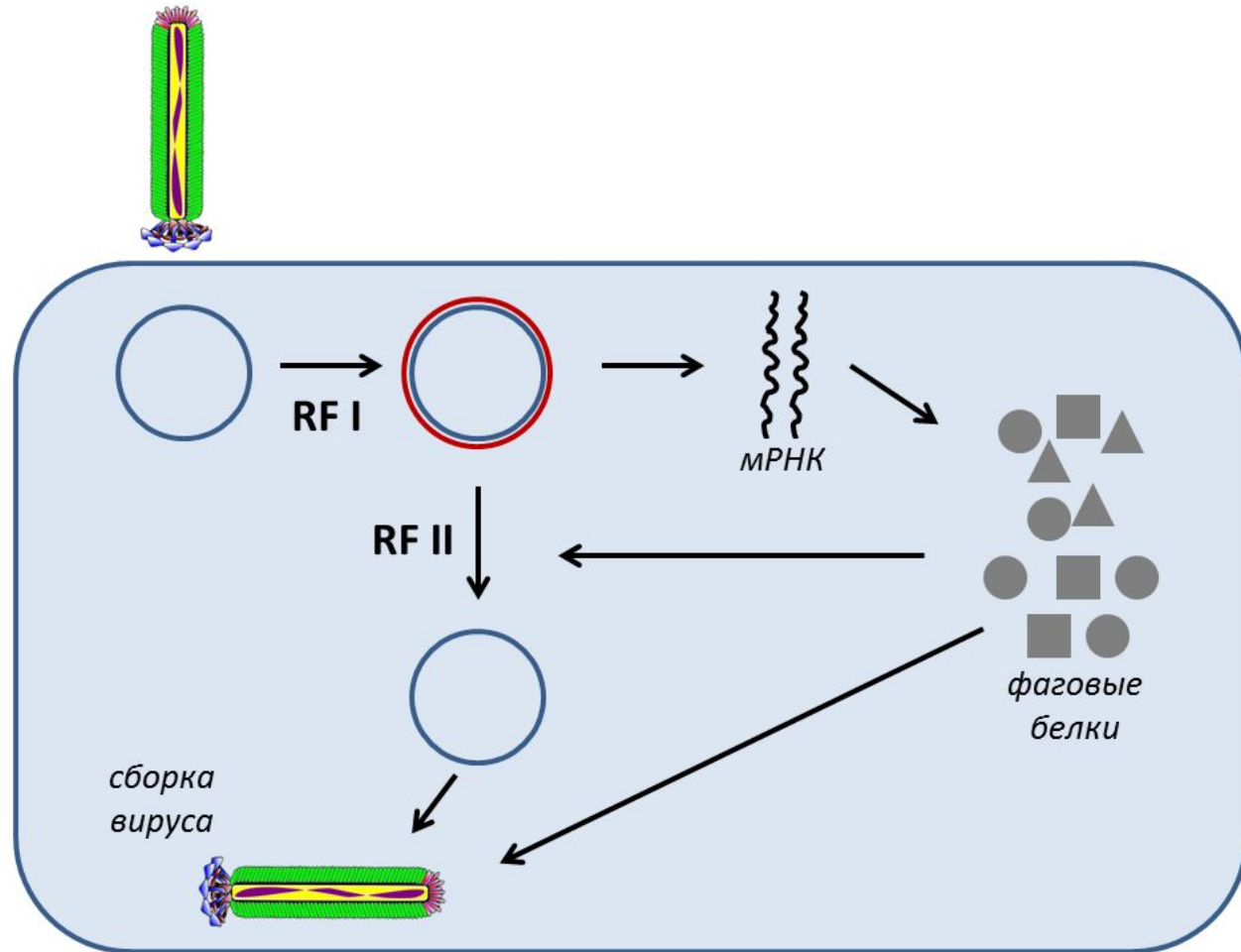
РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: M13

-) кольцевая оцДНК;
-) ~6400 нт (221→120 тнт);
-) 2700 копий р8 (50 ак) → 100 копий;
-) 900 нм;



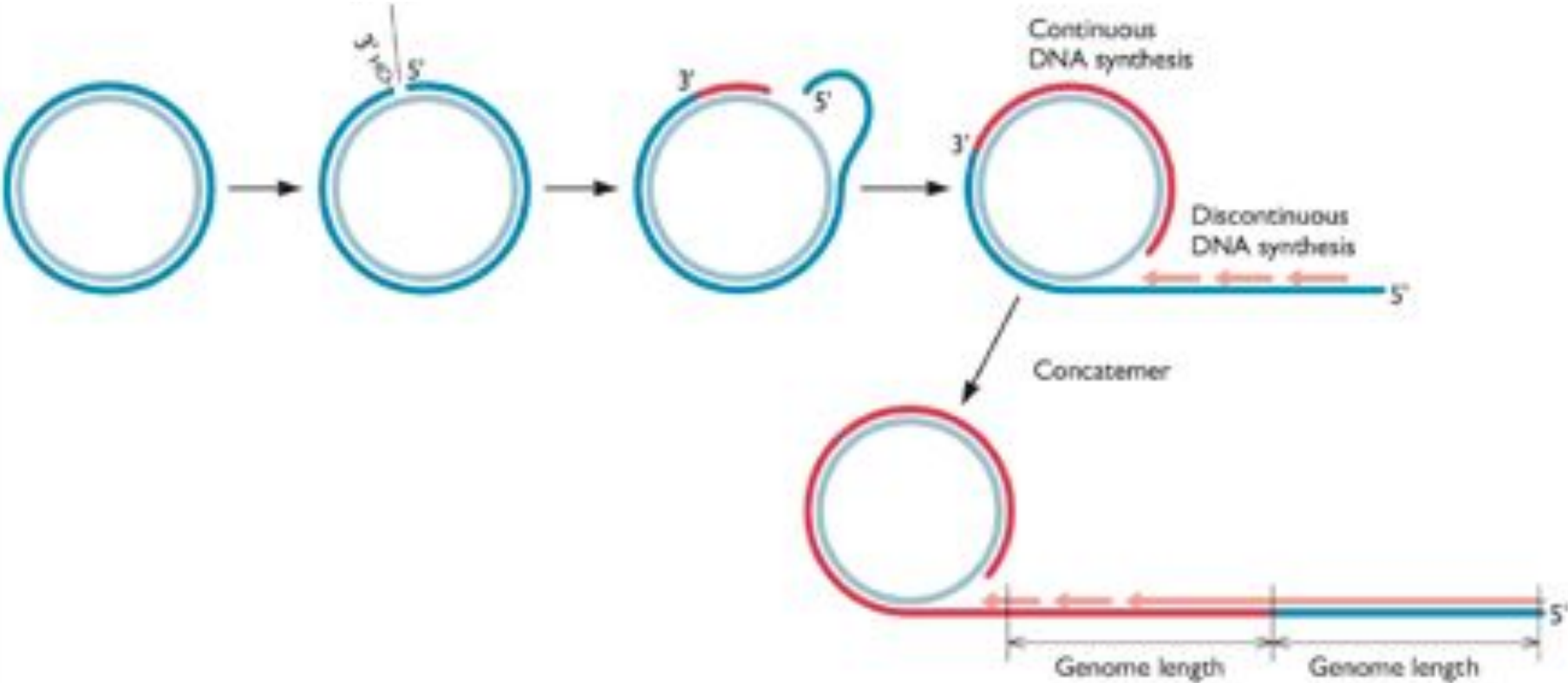
РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: М13

Оказаки, 1974 г.

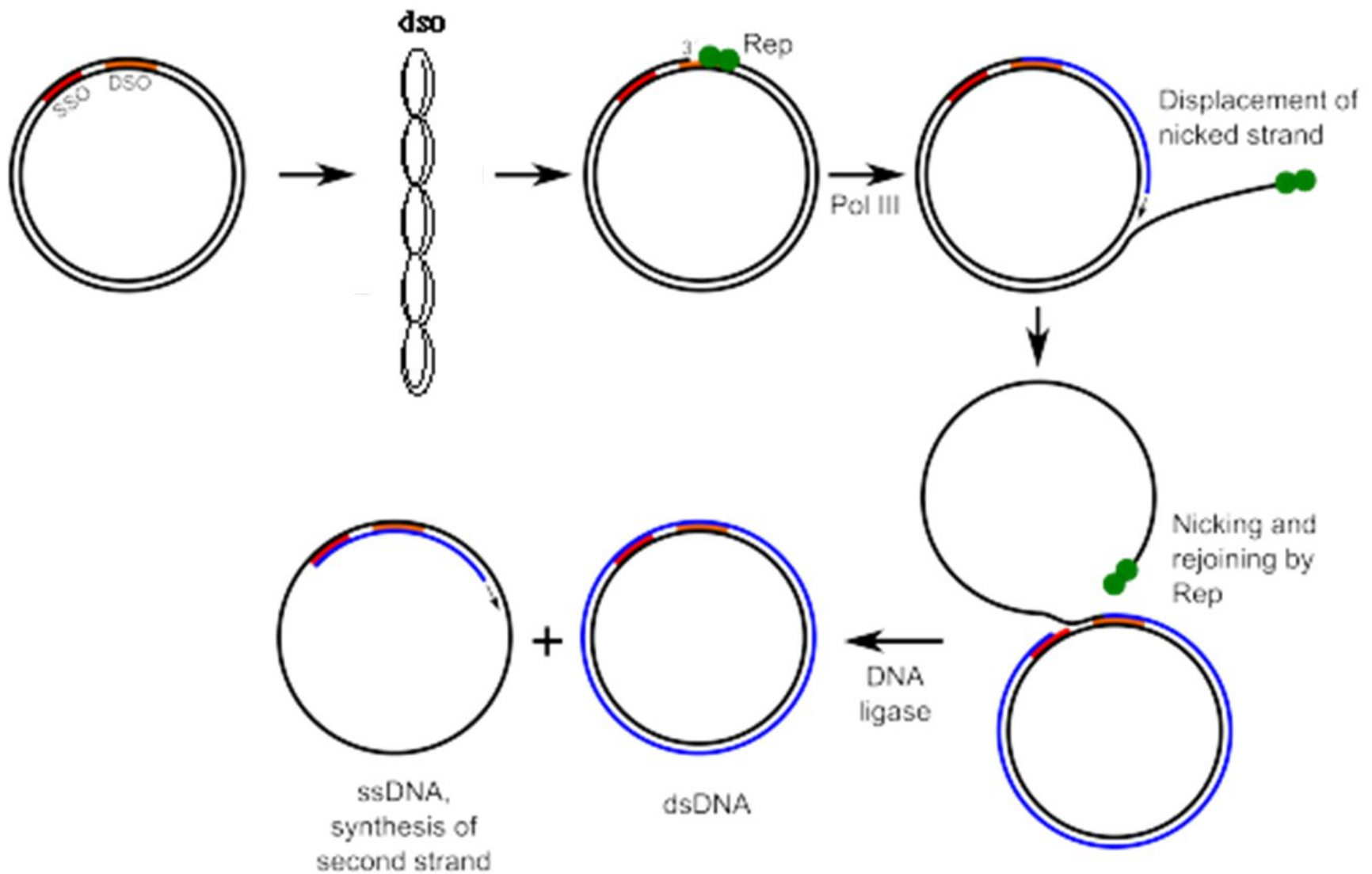


-) рифмпицин – ингибитор бактериальной РНК-полимеразы на стадии инициации;
-) хлорамфеникол – ингибитор трансляции на бактериальных хромосомах.

МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА

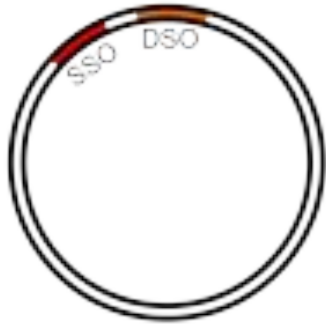


МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА



[Espinosa et al., FEMS Microbiology Letters, 1995, 130, 111-120]

МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА

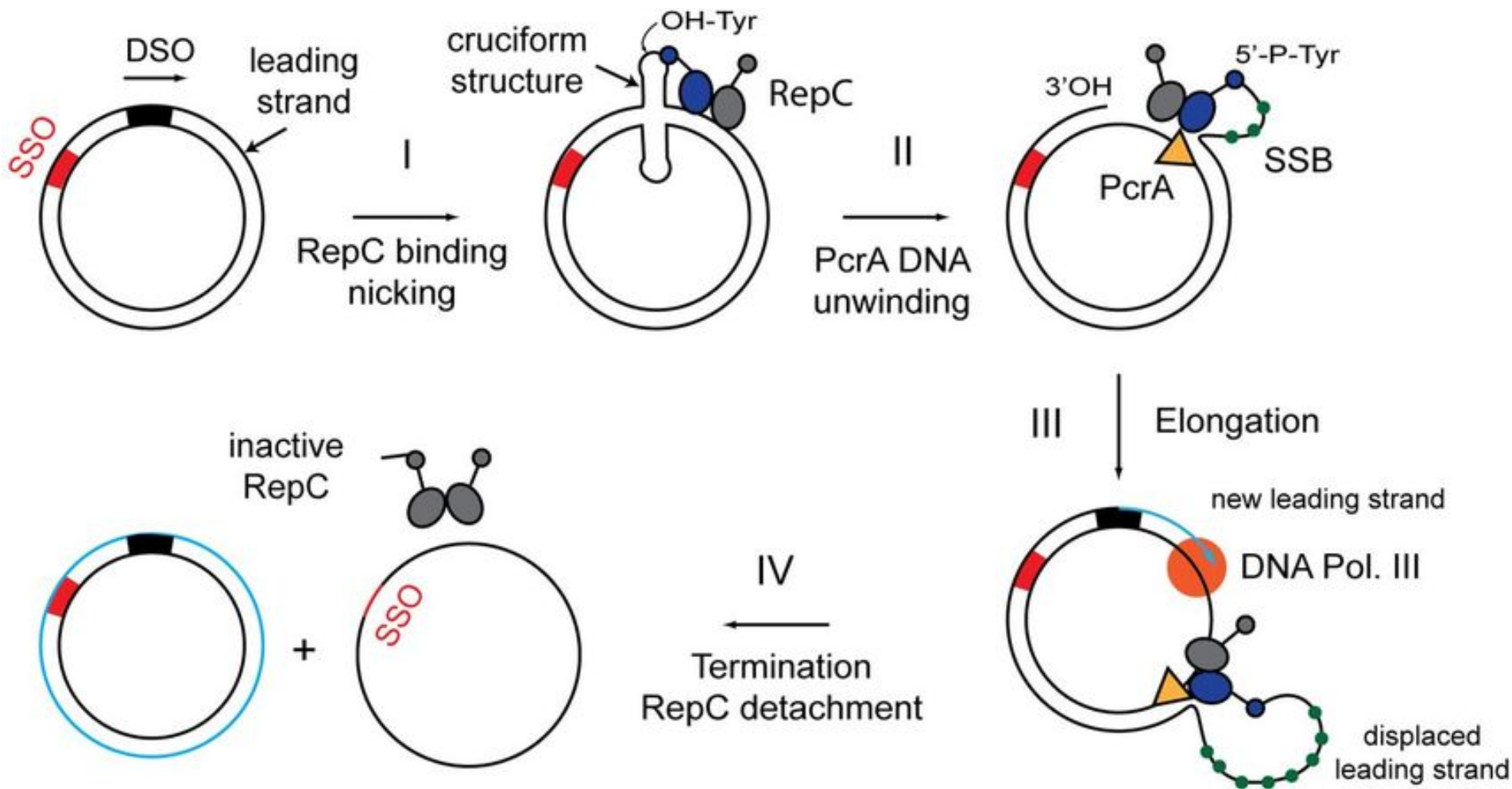


DSO: - сайт связывания с Rep, сиквенс-специфичен;

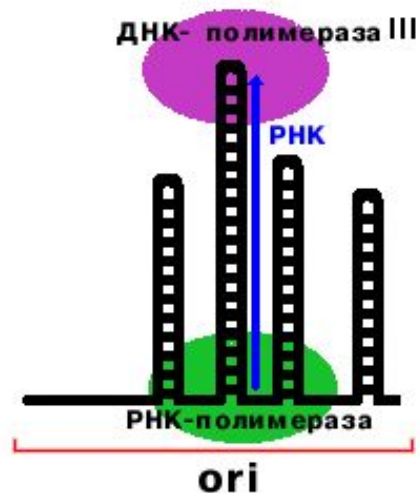
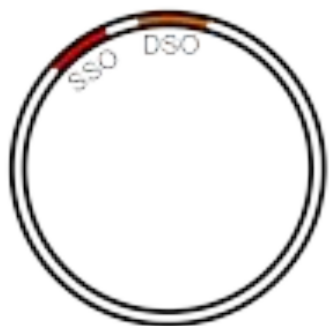
- сайт разрезания, консервативен;

- терминаторный энхансер, имеет четкую позицию относительно 2-го локуса.

МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА



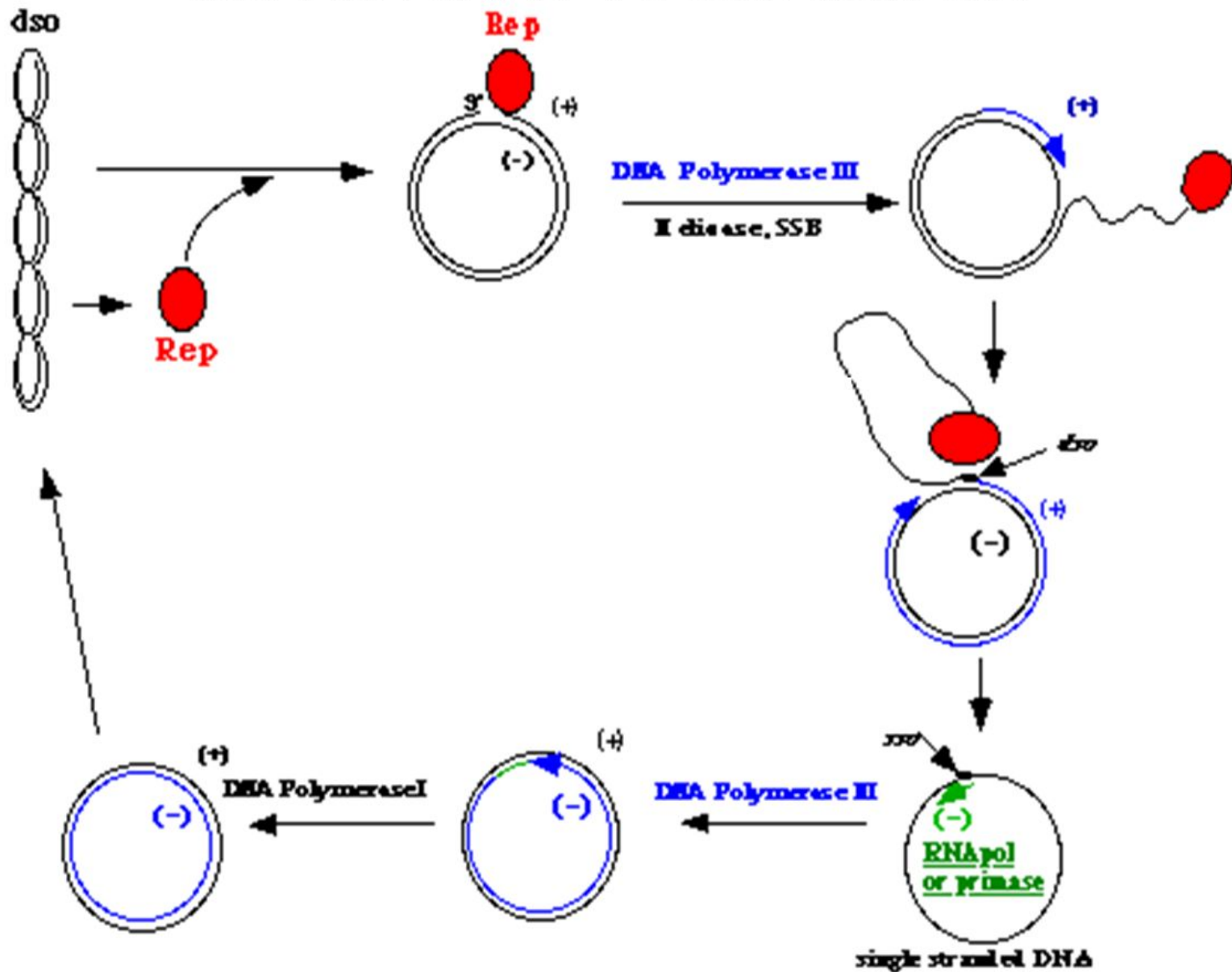
МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА



SSO: - локализован в высокоструктурированном некодирующем регионе;

- сайт связывания с бактериальной РНК-полимеразой.

МОДЕЛЬ КАТЯЩЕГОСЯ КОЛЕСА



РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: M13

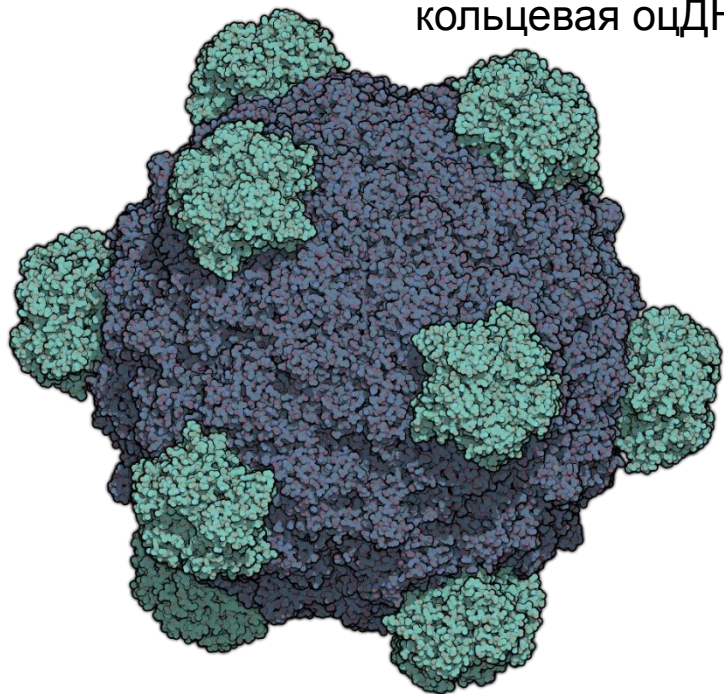
-) проникновение (+)-цепи вирусной ДНК в цитоплазму;
-) синтез второй (-)-цепи бактериальной ферментативной системой;
-) образование отрицательно суперскрученной двухцепочечной ДНК;
-) формирование дц-репликативной форму ДНК, RF;
-) фаговый белок pII вносит одноцепочечный разрыв в (+)-цепь RF-ДНК;
-) с 3'-гидроксильной группы ника стартует репликация для создания новой вирусной дцДНК;
-) pII вытесняет вирусную (+)-цепь ДНК по кругу, делая несколько оборотов;
-) формируется пул RF-дцДНК;
-) с (-)-цепи ДНК вируса идет транскрипция;
-) фаговые белки синтезируются по вирусной мРНК;
-) pV-димеры связывают вновь синтезированную одноцепочечную ДНК и предотвращают ее превращение в RF-ДНК;
-) синтез RF-ДНК продолжается до момента достижения критической концентрации pV;
-) репликация ДНК переключается на синтез (+)-цепи вирусной оцДНК и продолжается до истощения пула pV;
-) pV-ДНК структуры достигают длиной ~800 нм и диаметром ~8 нм;
-) pV-ДНК-комплекс является субстратом для начала сборки фага.

РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: ψ X174 и G4

ψ X174

5386 нт

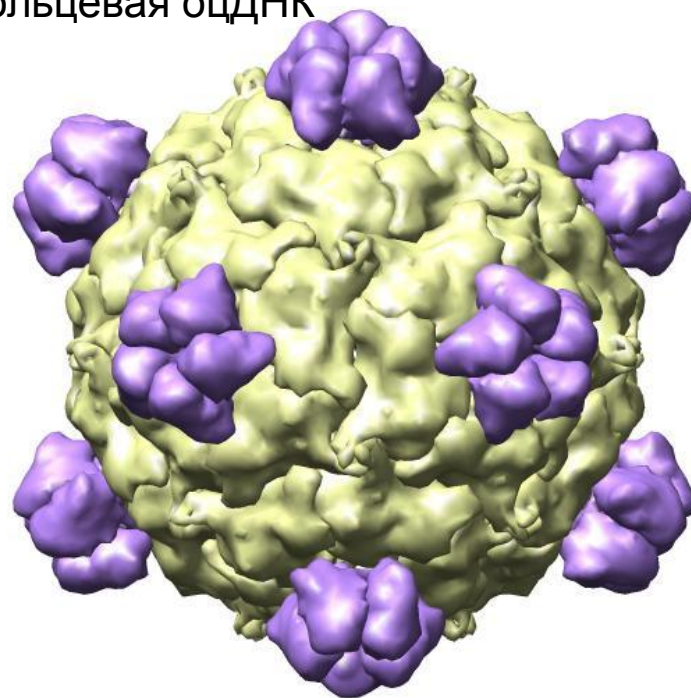
кольцевая оцДНК



G4

~5500 нт

кольцевая оцДНК



Sanger, F et al., **Nucleotide sequence**

of bacteriophage X174 DNA. Nature. 1977. 265 (5596): 687–95

Smith, Hamilton O. et al., **Generating a Synthetic Genome by Whole**

Genome Assembly: Φ X174 Bacteriophage from Synthetic

Oligonucleotides. PNAS. 2003. 100 (26): 15440–5

Godson, G. **Evolution of ϕ X174. Isolation of four new ϕ X-like**

phages and comparison with ϕ X174. Virology. 1974. 58 (1):

272–289

Wickner S. **DNA or RNA priming of bacteriophage G4 DNA**

synthesis by Escherichia coli dnaG protein. Proc Natl Acad Sci U S

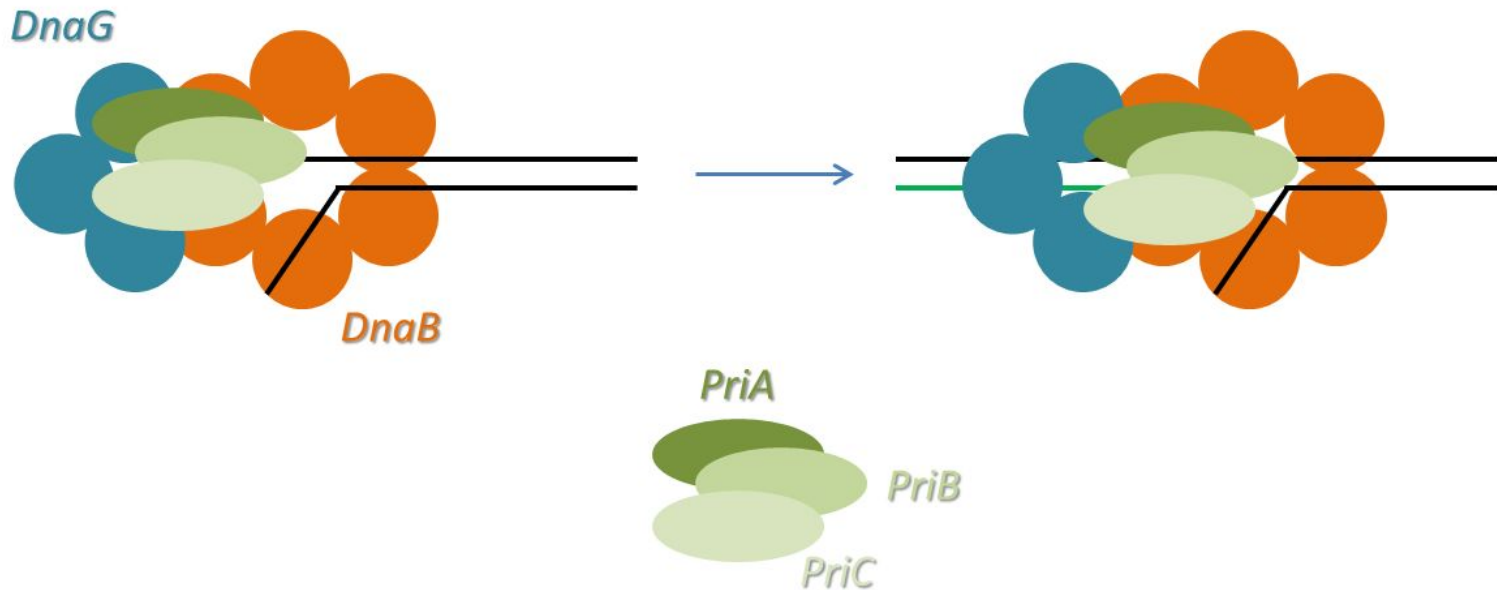
A. 1977 Jul;74(7):2815-9

РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: ψ X174 и G4

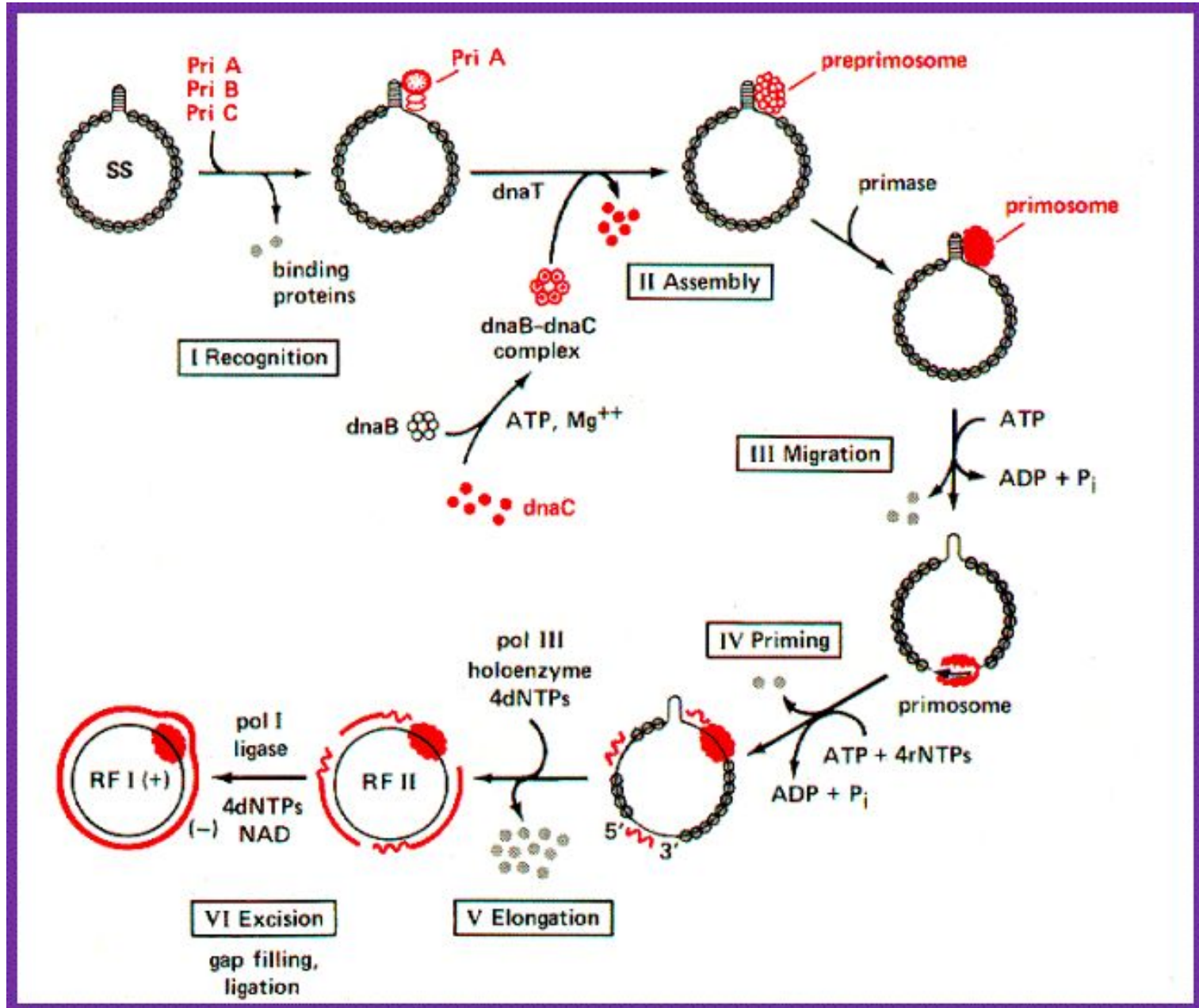
Репликация фага не зависит от действия рифампицина.

РНК-полимераза → праймаза

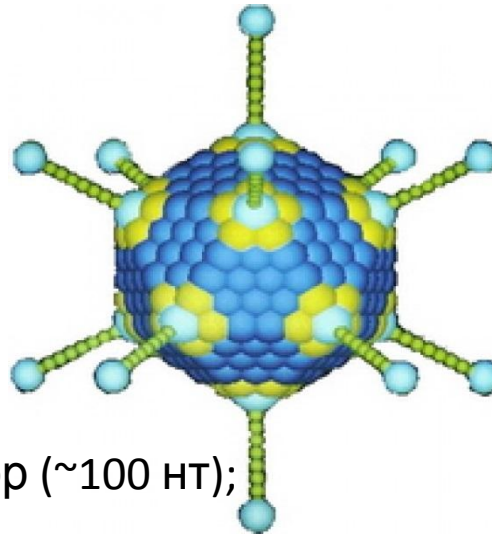
E.coli, *B.stearothermophilus*, *M.tuberculosis*: ген *dnaG*, 581 ак, 65.5 kDa.



РЕПЛИКАЦИЯ ФАГОВ: ψ X174 и G4

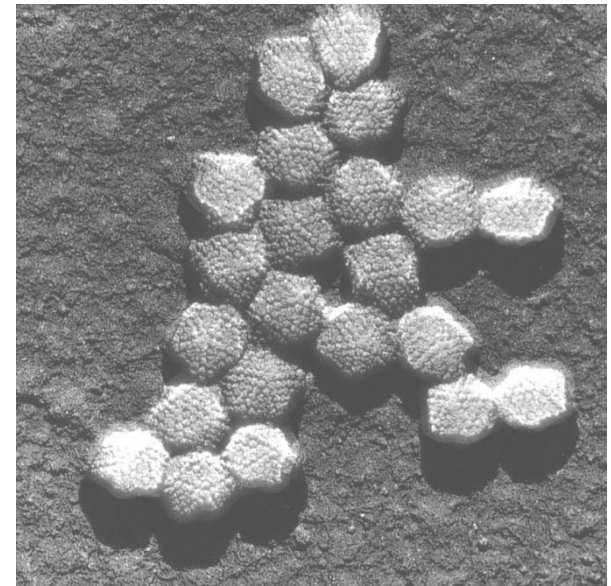


РЕПЛИКАЦИЯ АДЕНОВИРУСОВ



-) линейная дцДНК;
-) 26-48 тнт (36 тнт);
-) содержит 5'-концевой повтор (~100 нт);
-) 150 MDa;
-) 70-90 нм;
-) 40 h – 10^6 копий вирусного генома

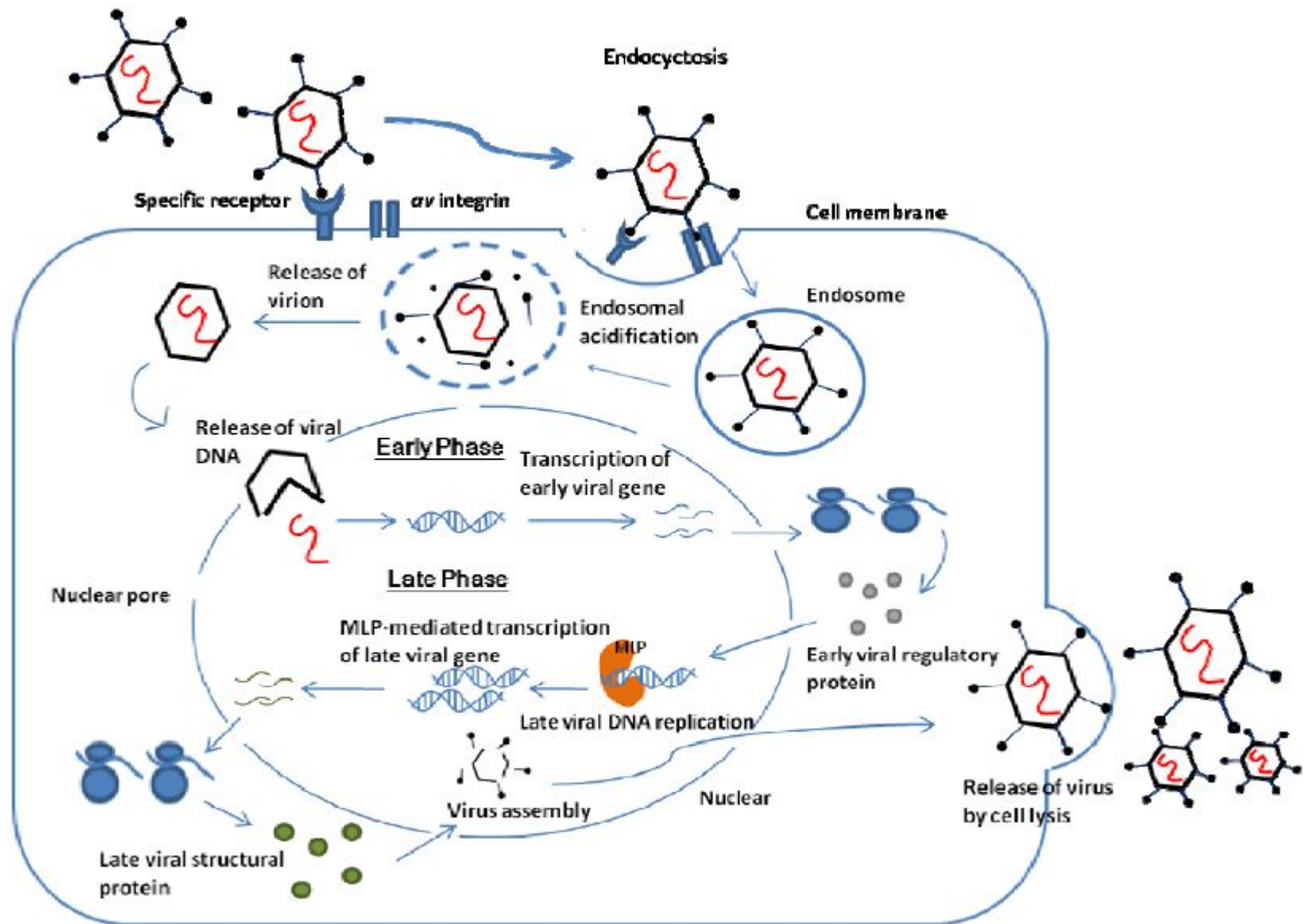
птичий аденовирус



Rowe WP, Huebner RJ, Gilmore LK, Parrott RH, Ward TG. **Isolation of a cytopathogenic agent from human adenoids undergoing spontaneous degeneration in tissue culture.** Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1953. 84 (3): 570–573

Ken Garber **China Approves World's First Oncolytic Virus Therapy For Cancer Treatment.** Journal of the National Cancer Institute. 2006. 98. 5. P. 298–300

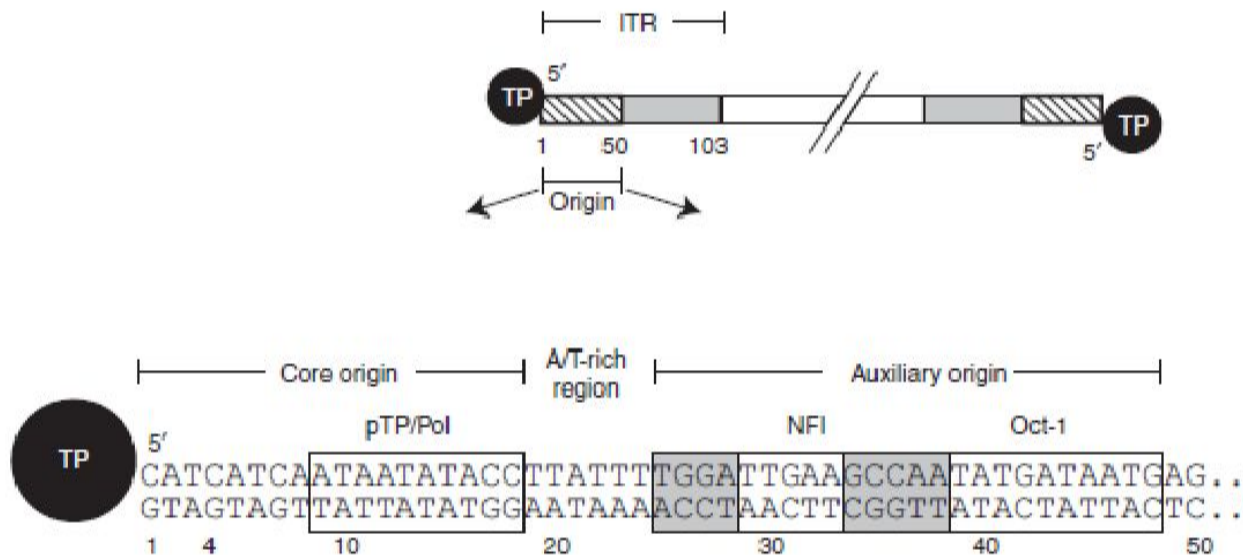
РЕПЛИКАЦИЯ АДЕНОВИРУСОВ



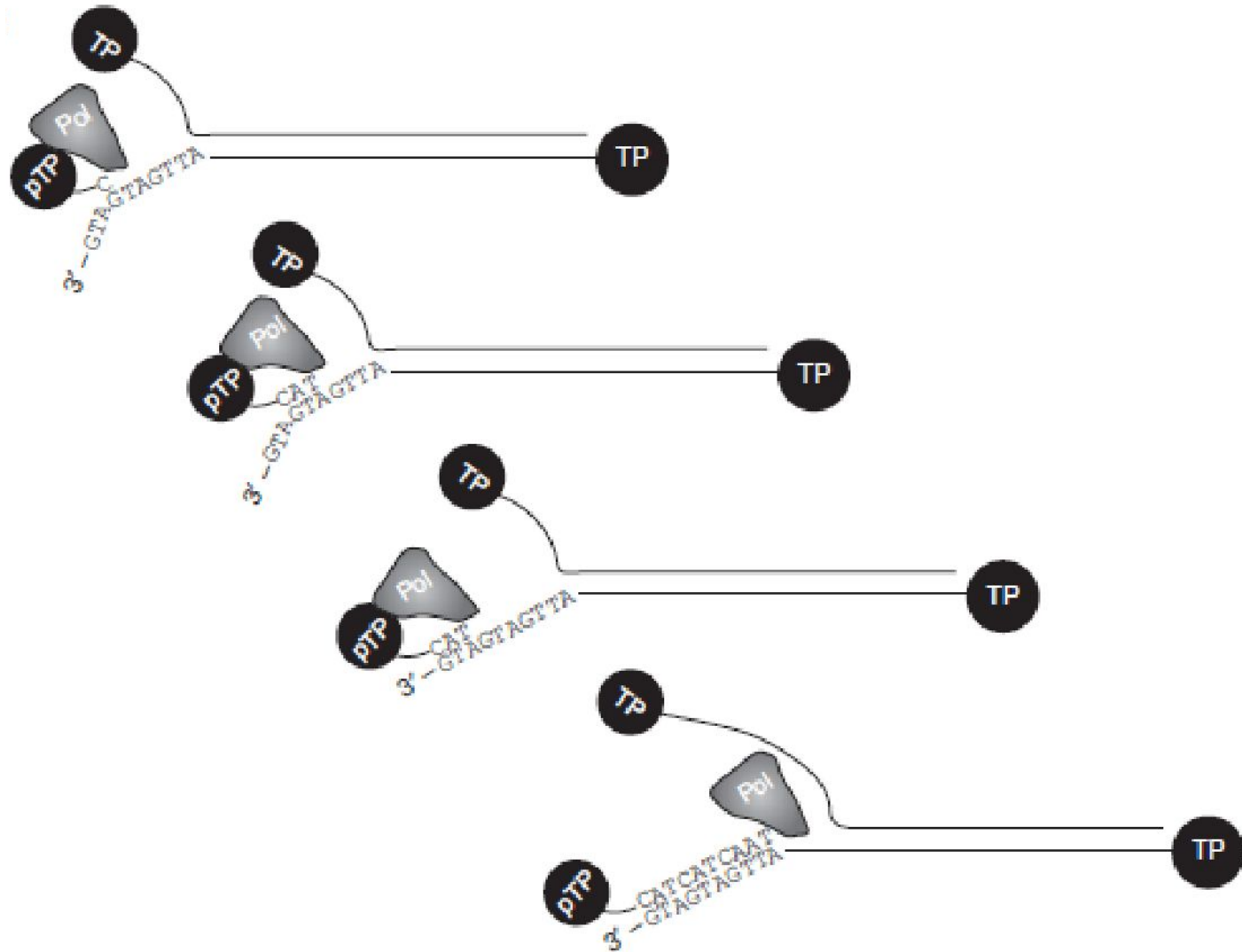
РЕПЛИКАЦИЯ АДЕНОВИРУСОВ

Репликация делит жизненный цикл вируса на раннюю и позднюю стадии.

3 аденовирусных белка – pTp, ДНК-полимераза, SSB.



РЕПЛИКАЦИЯ АДЕНОВИРУСОВ



РЕПЛИКАЦИЯ АДЕНОВИРУСОВ

