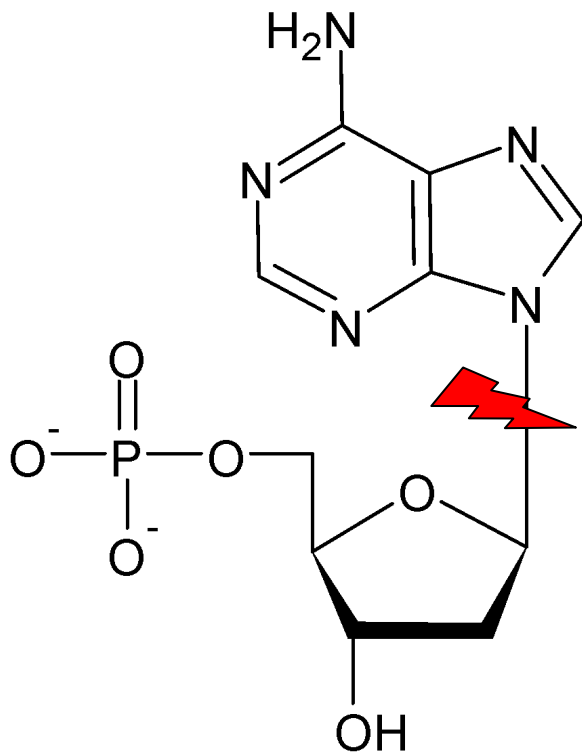


# РЕПАРАЦИЯ ДНК

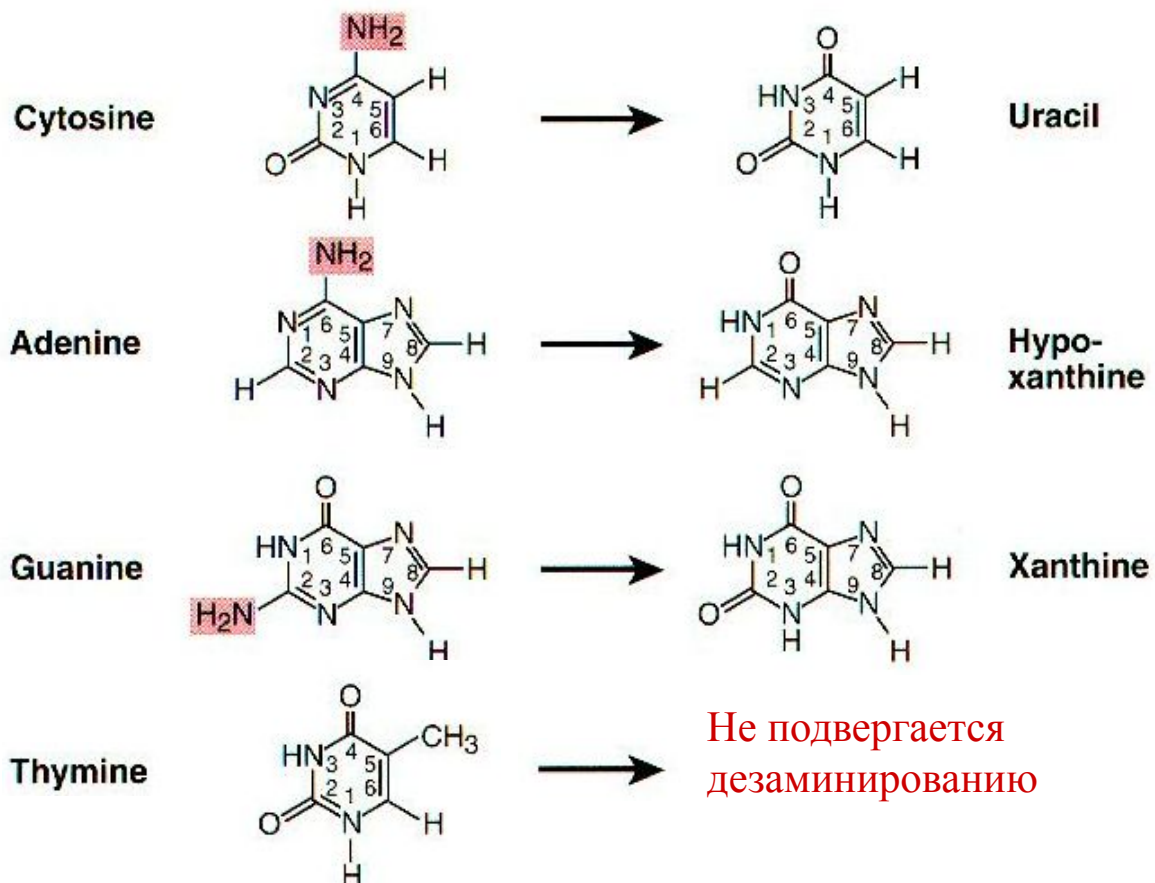
## Спонтанные мутации

### Депуринизация

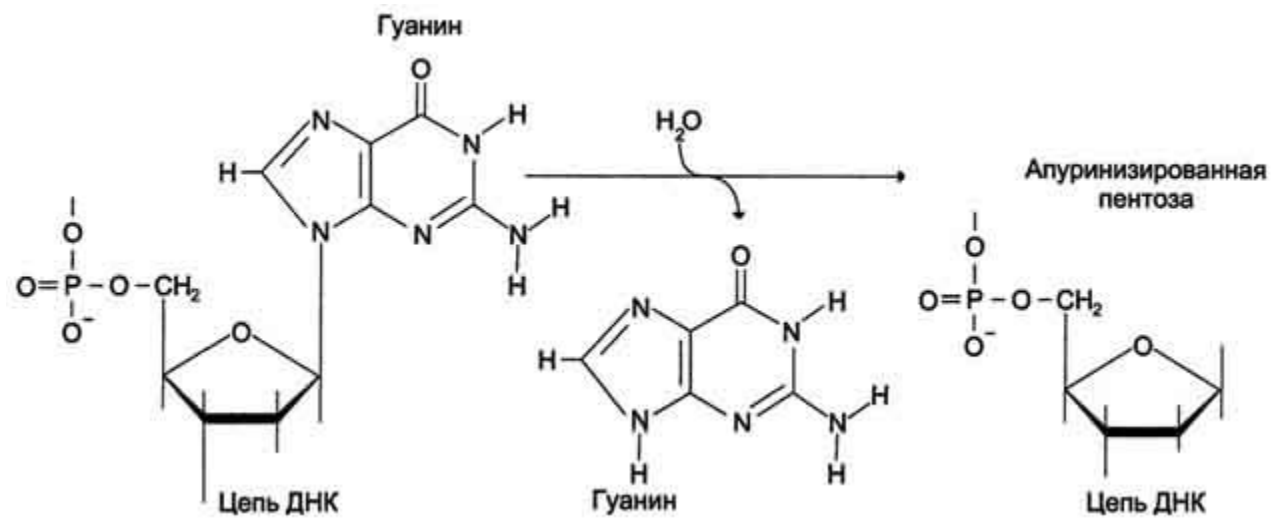


В каждой соматической  
клетке человека происходит  
за сутки от 5000 до 10000  
актов депуризации

### Дезаминирование



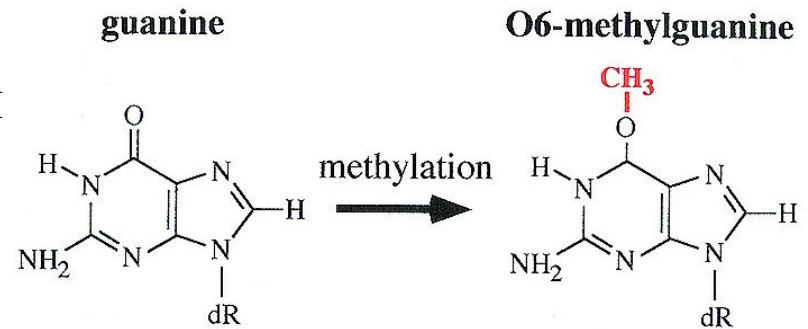
Около 100 событий на геном в сутки



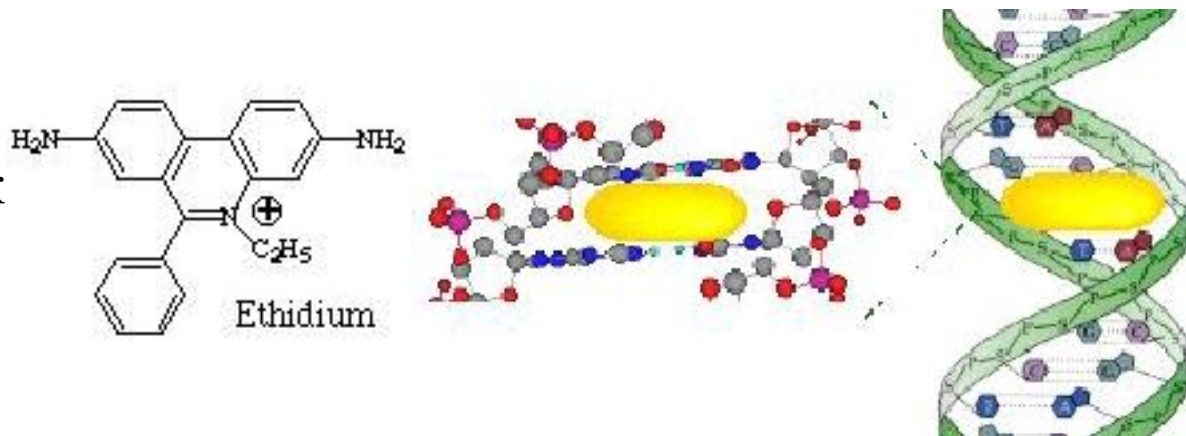
# РЕПАРАЦИЯ ДНК

## Химические мутагены

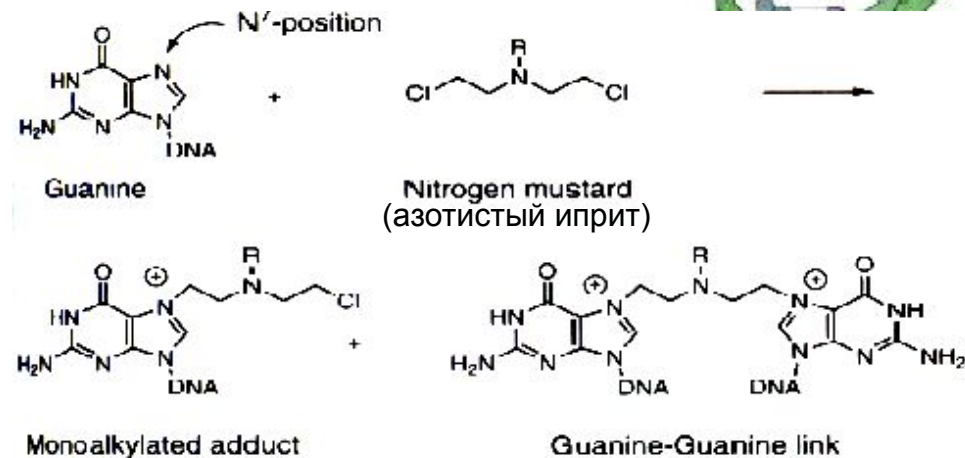
Алкилирующие агенты (например, азотистые соединения, алкилсульфонаты и нитрозомочевина), которые модифицируют предпочтительно гуаниновые остатки



Соединения, встраивающиеся между соседними парами оснований и приводящие к появлению вставок и делеций во время репликации (Интеркаляция)



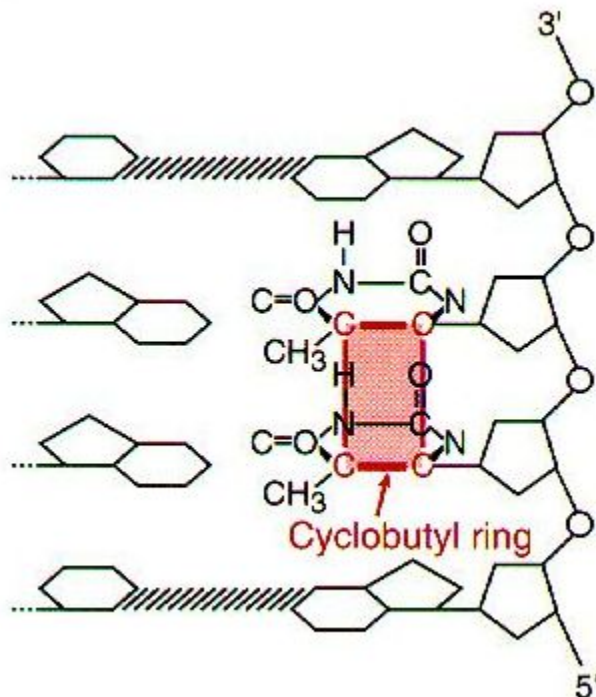
Бифункциональные агенты, способные образовывать ковалентные сшивки между двумя цепями ДНК и блокировать их расхождение при репликации



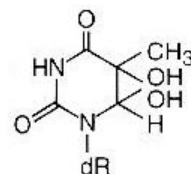
# РЕПАРАЦИЯ ДНК

## Физические воздействия

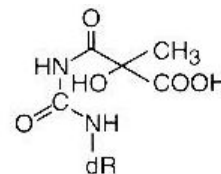
Под действием ультрафиолетового света происходит образование циклобутановых димеров между соседними пиримидинами (Т, С)



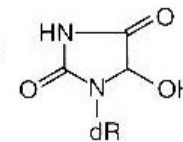
Под действием ионизирующей радиации (например, космических лучей) и рентгеновских лучей, могут образовываться высокорекреационноспособные свободные радикалы, оказывающие на ДНК самые разнообразные воздействия



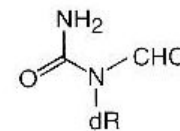
Thymine glycol



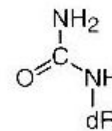
Methyl-tartronylurea



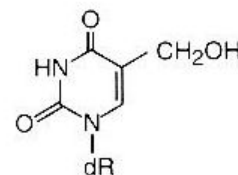
5-Hydroxyhydantoin



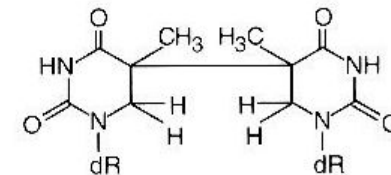
N-Formamido-urea



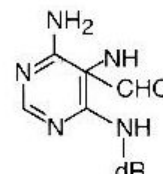
Urea



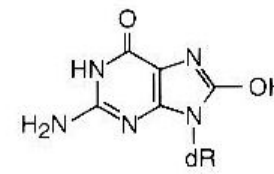
5-Hydroxymethyluracil



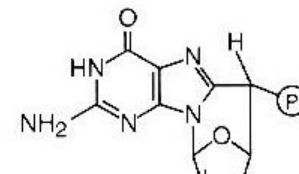
C(5)-C(5) Thymidine dihydrodimer



4,6-Diamino-5-formamidopyrimidine



8-Hydroxy-guanine



8,5'-Cyclo-deoxyguanosine

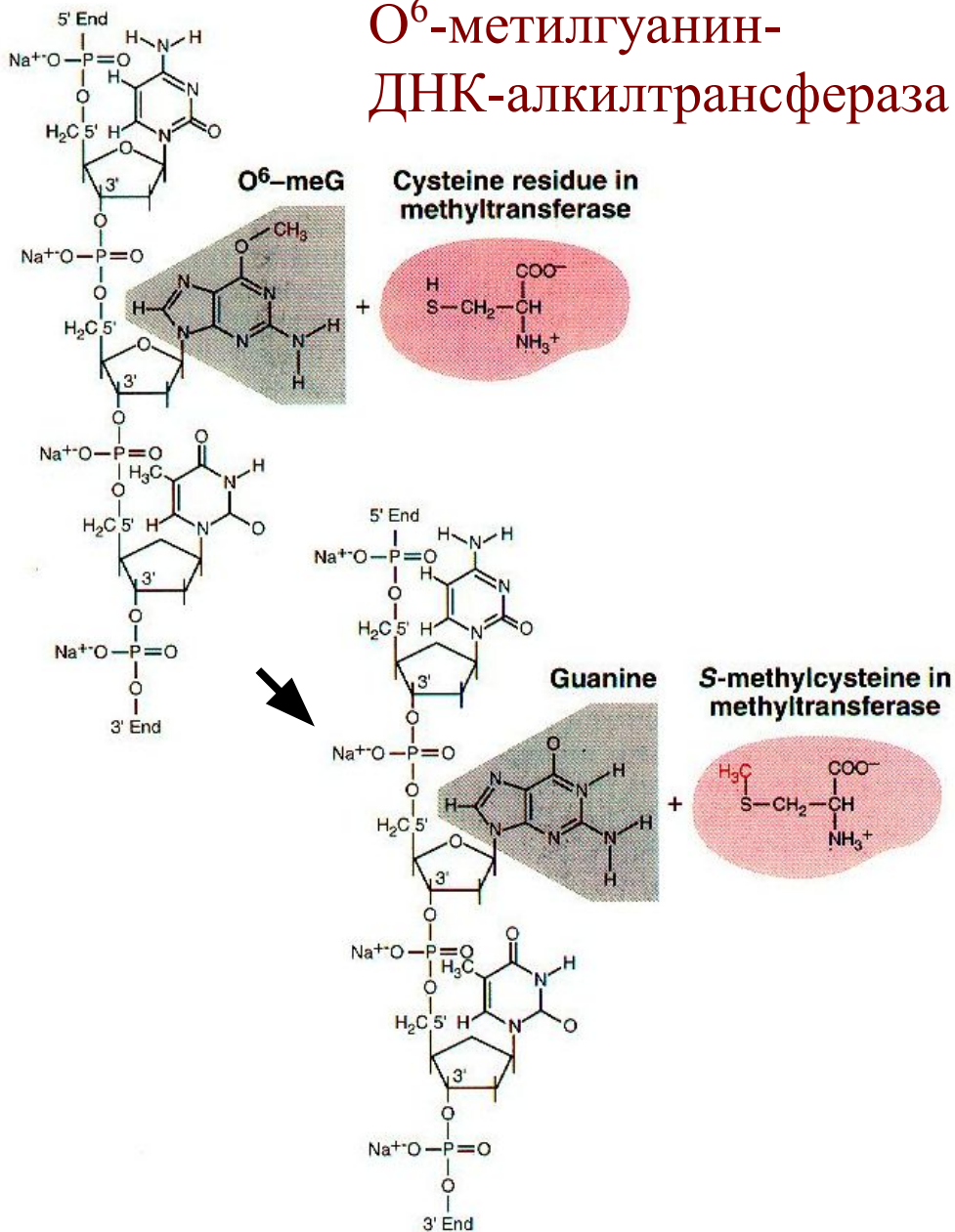
Примеры повреждения оснований ионизирующей радиацией

1) Непосредственное исправление модификаций или неправильных спариваний, не требующее репликации для восстановления исходной структуры

2) Удаление нуклеотидов, окружающих ошибочно спаренные или измененные пары оснований, и ресинтез этого участка путем репликации

# РЕПАРАЦИЯ ПУТЕМ ПРЯМОГО ВОССТАНОВЛЕНИЯ ИСХОДНОЙ СТРУКТУРЫ

## O<sup>6</sup>-метилгуанин- ДНК-алкилтрансфераза



## Фотолиаза

1. Native DNA



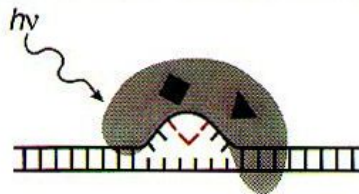
2. Pyrimidine dimer in UV DNA



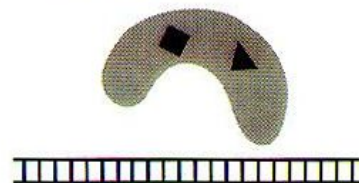
3. Complex of DNA with photoreactivating enzyme



4. Absorption of light (>300nm)

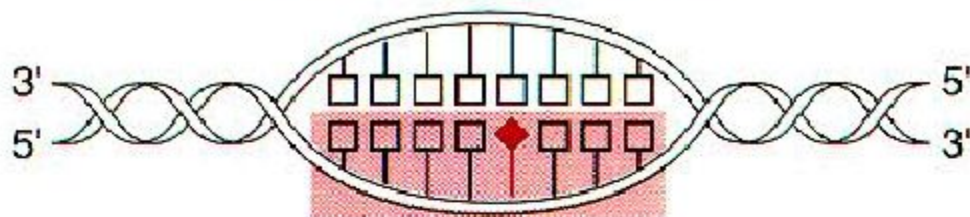


5. Release of enzyme to restore native DNA



# РЕПАРАЦИЯ ПУТЕМ ЗАМЕНЫ (ЭКСЦИЗИИ) МОДИФИЦИРОВАННЫХ ОСТАТКОВ

## BASE EXCISION REPAIR



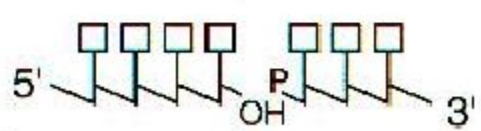
**DNA glycosylase** ↓ ①



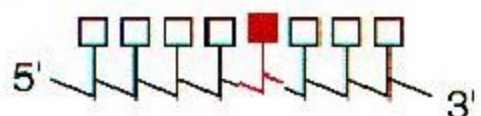
**AP endonuclease** ↓ ②



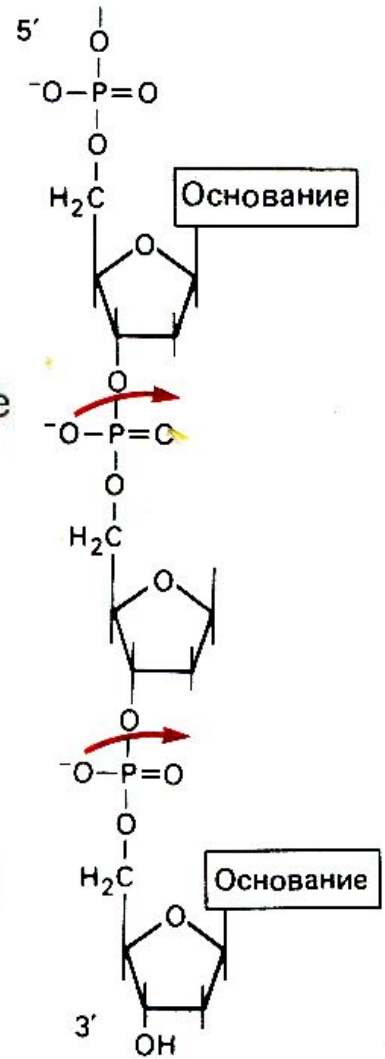
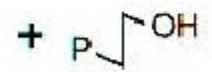
**Phosphodiesterase** ↓ ③



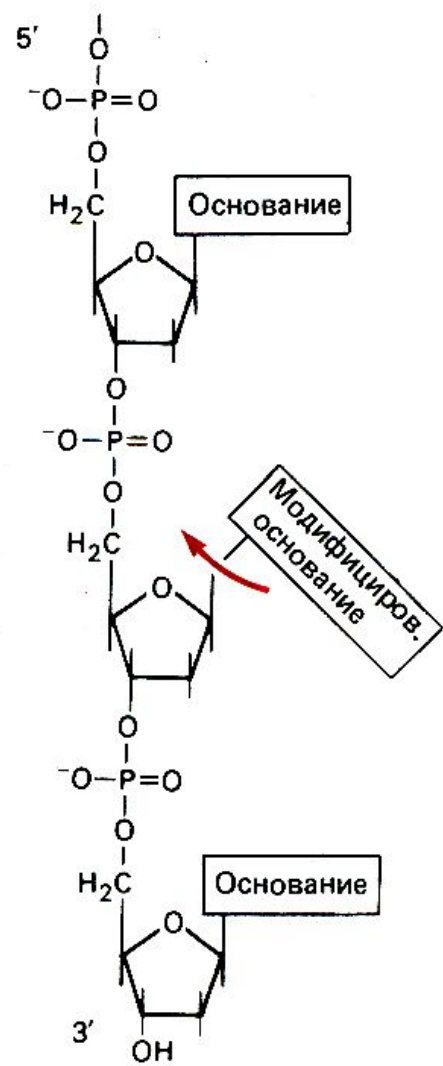
**DNA polymerase + DNA ligase** ↓ ④



Free base excised



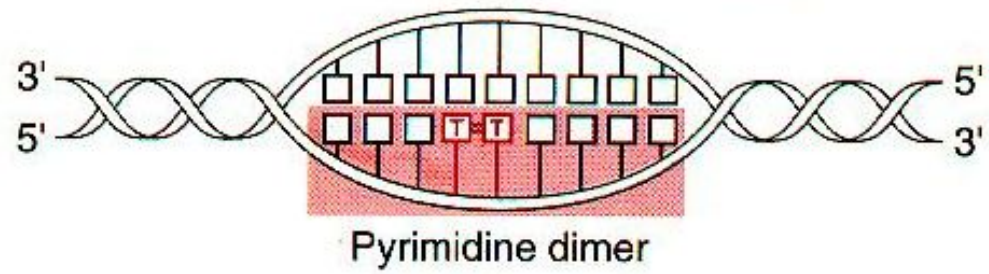
AP-ДНК-эндонуклеазы



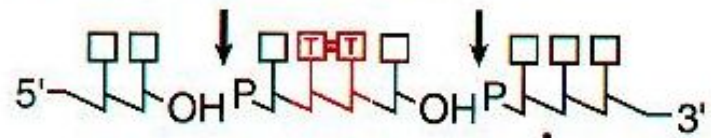
ДНК-гликозилазы

# РЕПАРАЦИЯ ТИМИНОВЫХ ДИМЕРОВ

## NUCLEOTIDE EXCISION REPAIR



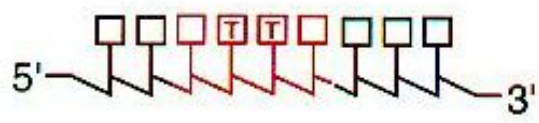
**Damage-specific DNA incising activity (2 nicks)** ↓ ①



**Oligonucleotide excision** ↓ ②

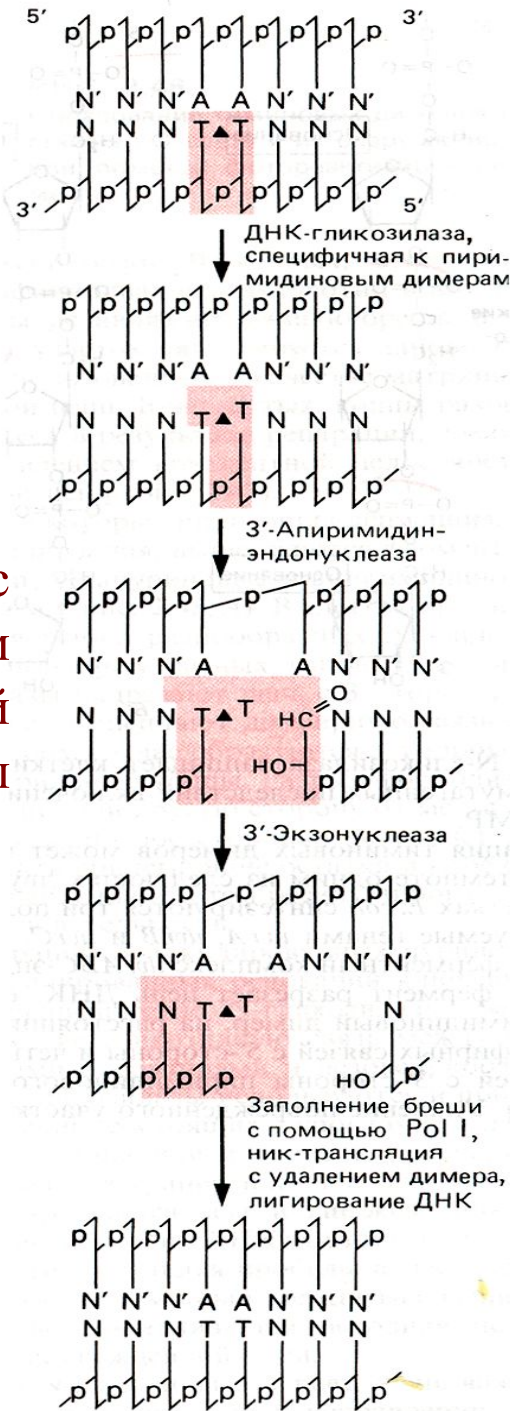


**DNA polymerase + DNA ligase** ↓ ③

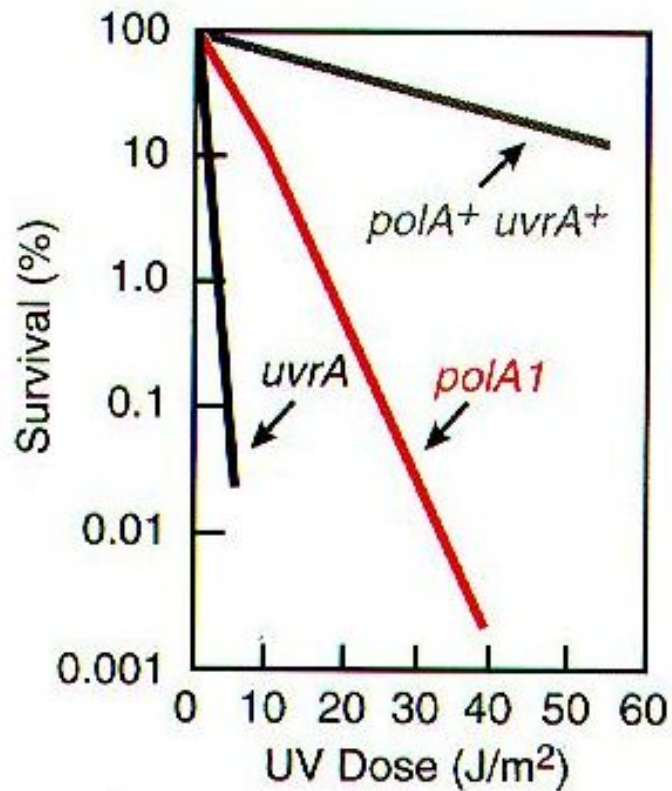


Репарация с участием цитАВС-эндонуклеазы

Репарация с участием специфической N-гликозилазы







Влияние нарушений в системе репарации на чувствительность клеток *E. coli* к УФ свету

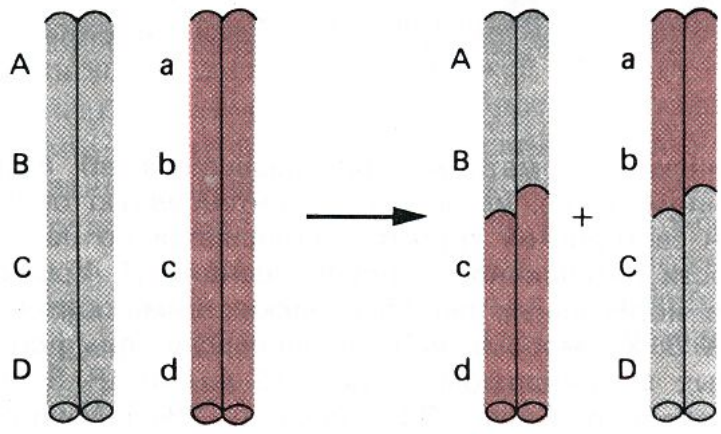


**ПИГМЕНТНАЯ КСЕРОДЕРМА**  
 Люди, страдающие пигментной ксеродермой, очень чувствительны к ультрафиолетовому свету, и у них развиваются разные формы рака кожи даже при очень слабом воздействии солнечного света.

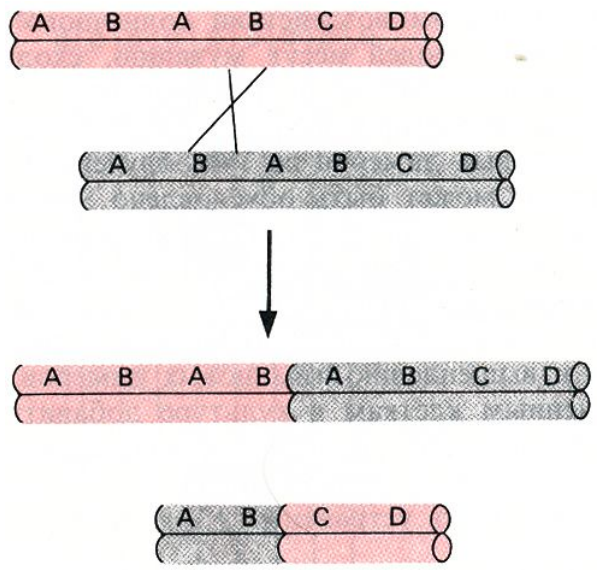
# РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК

## Типы рекомбинации

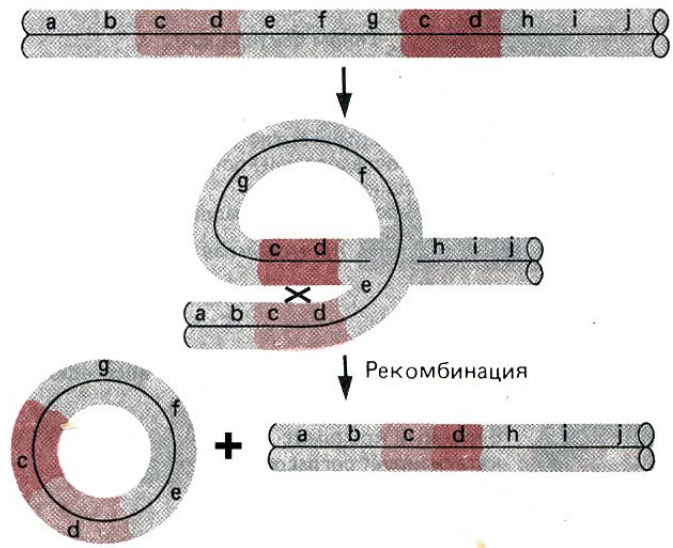
### 1. ОБЩАЯ ИЛИ ГОМОЛОГИЧНАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ (КРОССИНГОВЕР)



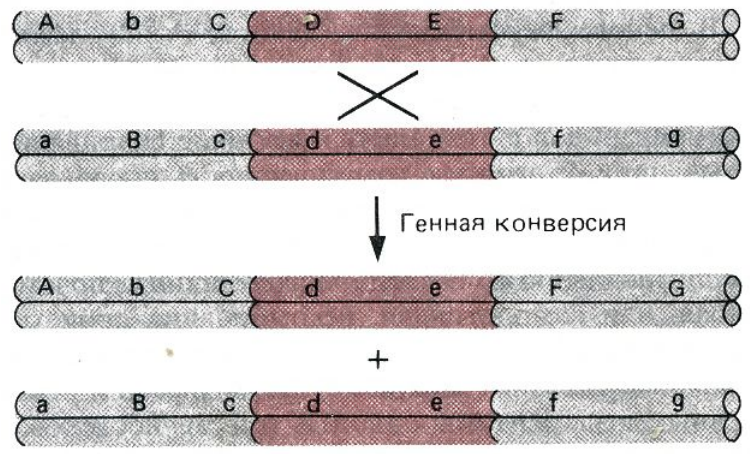
Гомологичная рекомбинация



Неравный кроссинговер



Внутримолекулярная рекомбинация

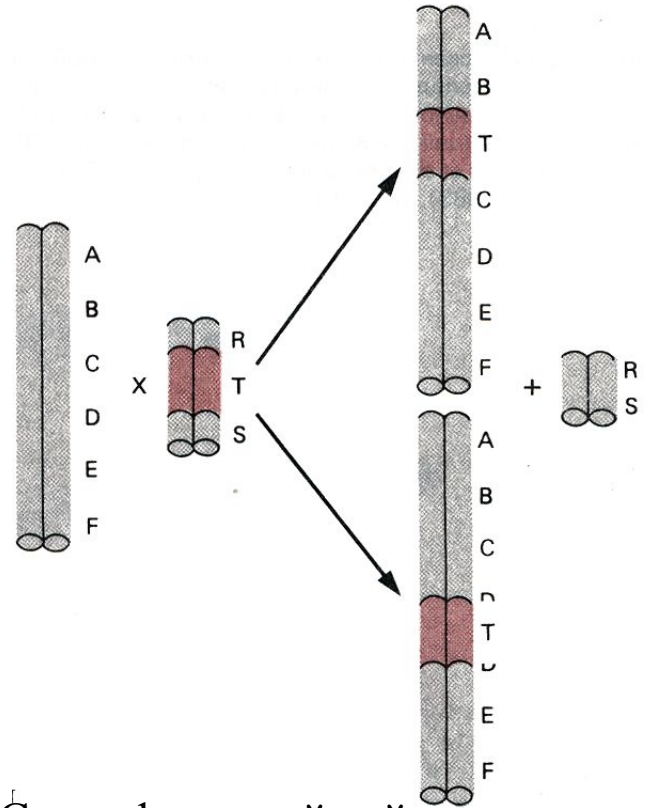


Нереципрокная рекомбинация, или генная конверсия

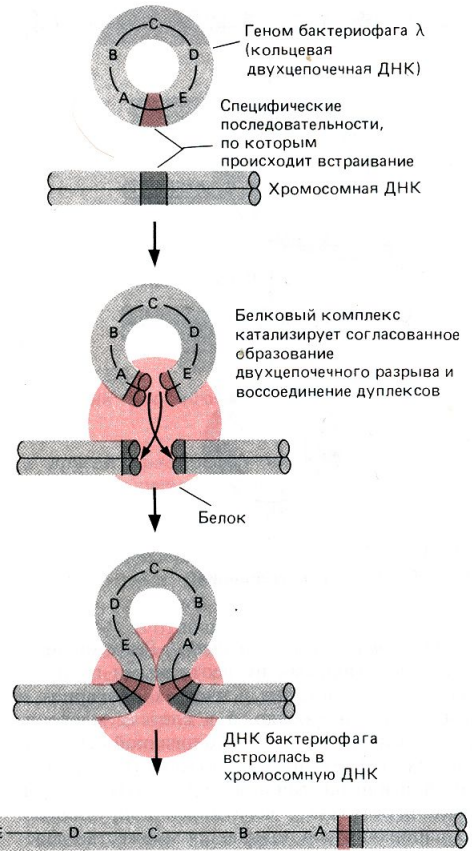
# РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК

## Типы рекомбинации

### 2. САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ



Специфический сайт имеется только в одном участвующем в рекомбинации фрагменте

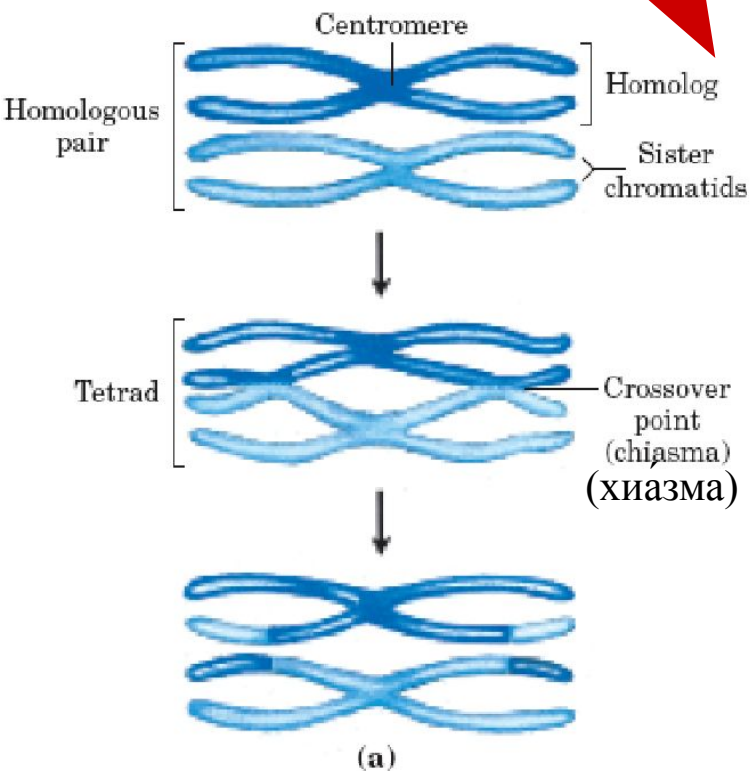


Специфические последовательности есть в обеих ДНК, участвующих в рекомбинации

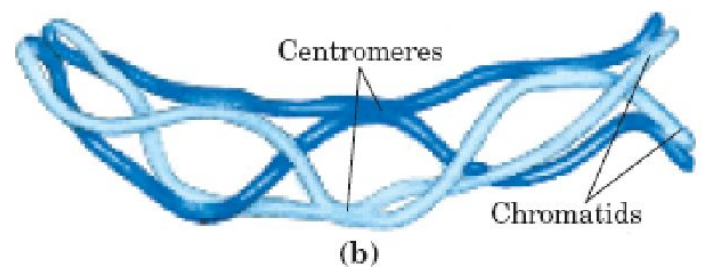
### 3. СЛУЧАЙНАЯ ИЛИ НЕГОМОЛОГИЧНАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ

Рекомбинация между негомологичными нуклеотидными последовательностями происходит в клетках прокариот и дрожжей достаточно редко, а в клетках млекопитающих весьма часто. К негомологичной рекомбинации можно отнести процесс случайного встраивания вирусной или плазмидной ДНК в ДНК клеток животных.

# ГОМОЛОГИЧНАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ ПРИ МЕЙОЗЕ

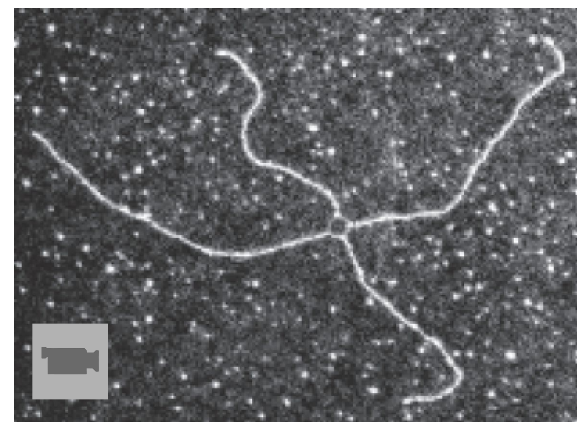
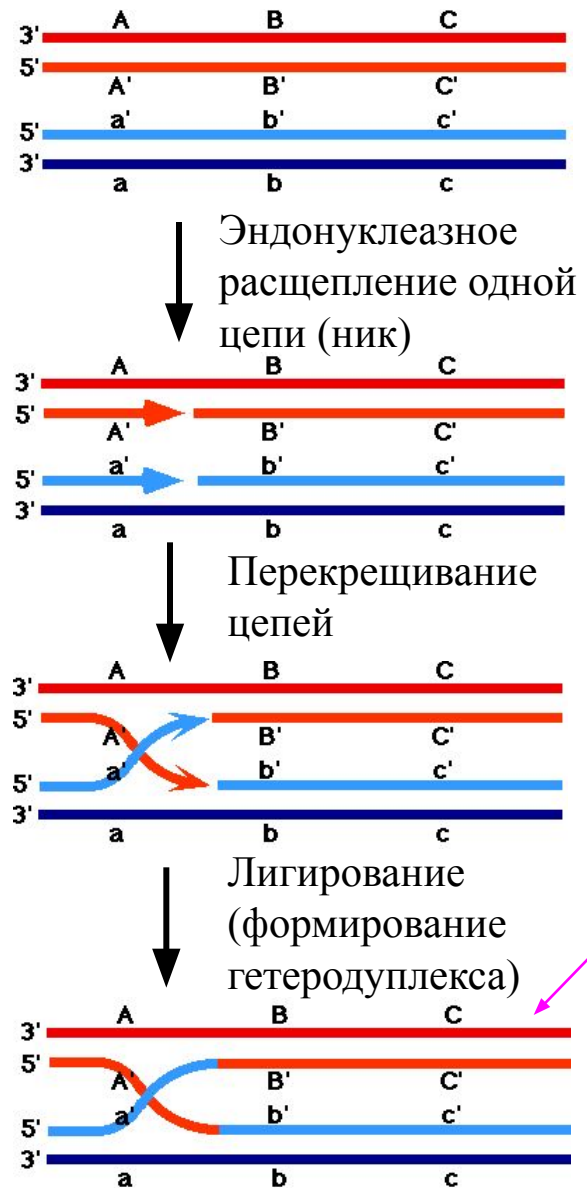


2 μm

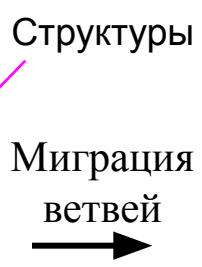
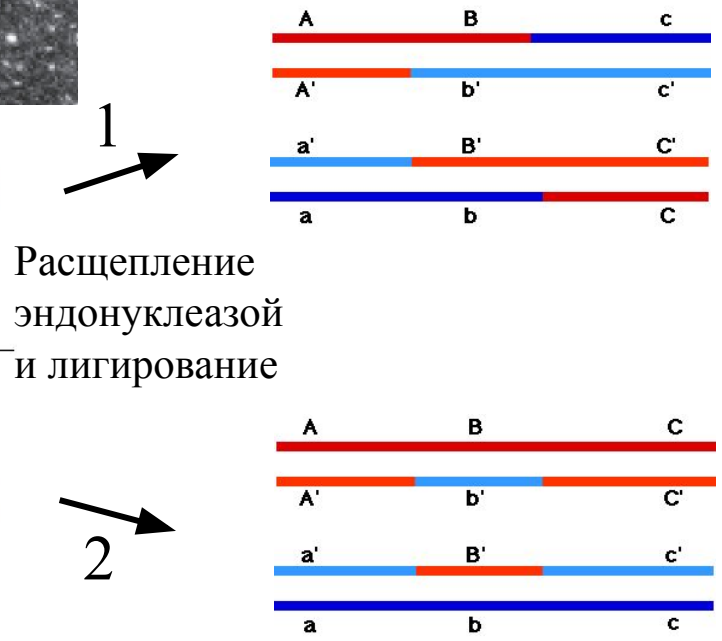
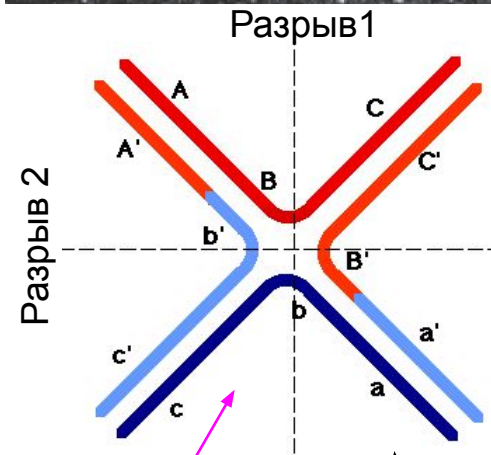


The homologous chromosomes of a grasshopper are shown during prophase I of meiosis. Many points of joining (chiasmata) are evident between the two homologous pairs of chromatids. These chiasmata are the physical manifestation of prior homologous recombination (crossing over) events.

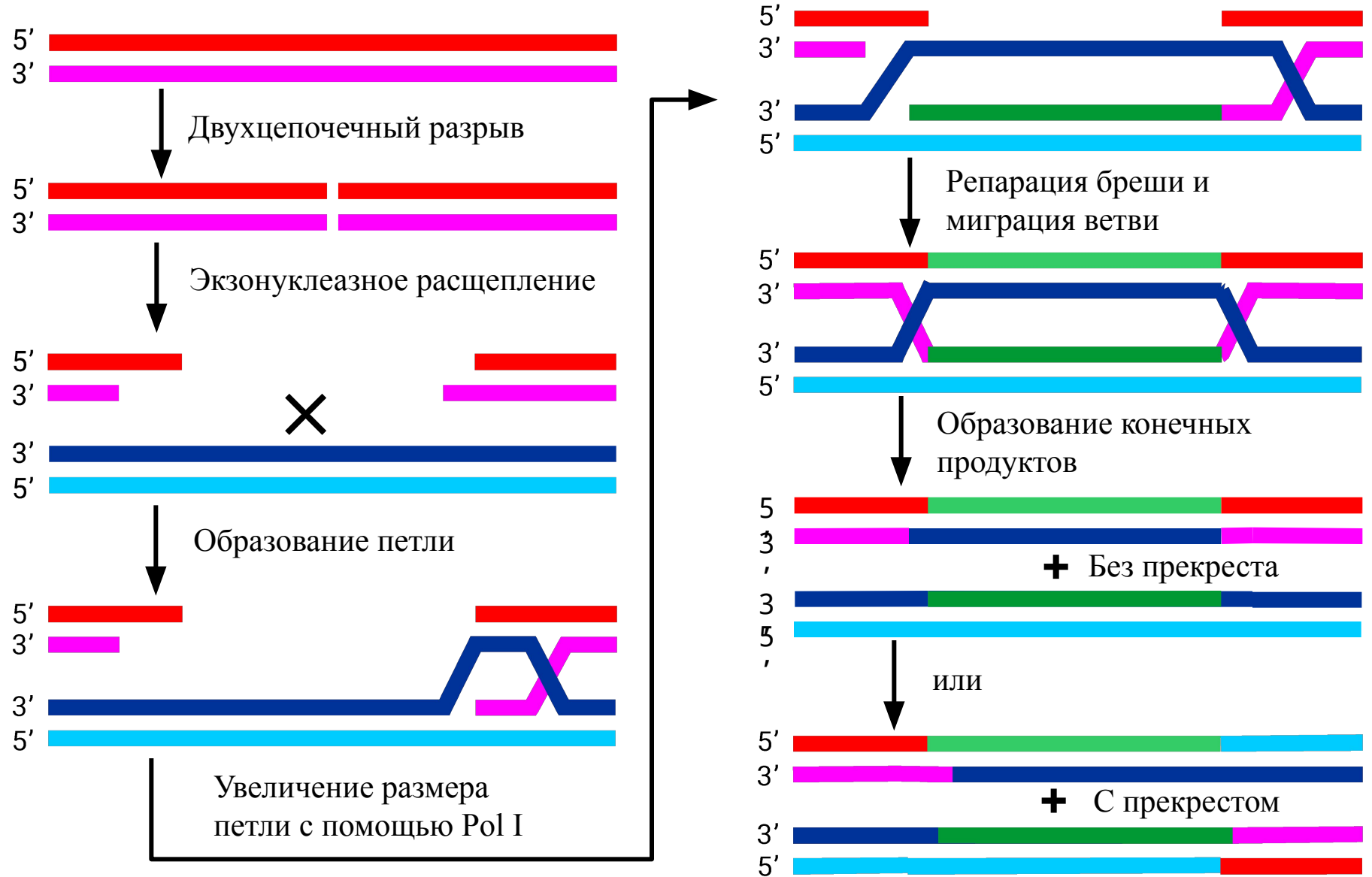
# ОБЩАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ ПРИ СОГЛАСОВАННОМ ВНЕСЕНИИ РАЗРЫВОВ И ВОССОЕДИНЕНИИ ЦЕПЕЙ ДВУХ СПИРАЛЕЛЕЙ ДНК С ОБРАЗОВАНИЕМ ПРОТЯЖЕННЫХ ГЕТЕРОДУПЛЕКСНЫХ ОБЛАСТЕЙ (МОДЕЛЬ ХОЛИДЕЯ)



Структура названа по имени Робина Холлидея, который предположил ее существование в 1964 г.

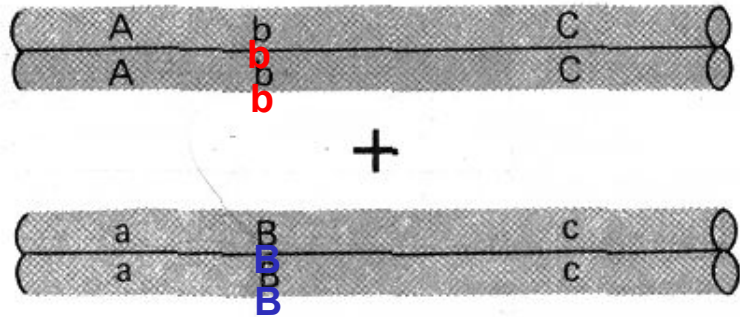


# ОБЩАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ С ОБРАЗОВАНИЕМ ДВУХЦЕПОЧЕЧНОГО РАЗРЫВА

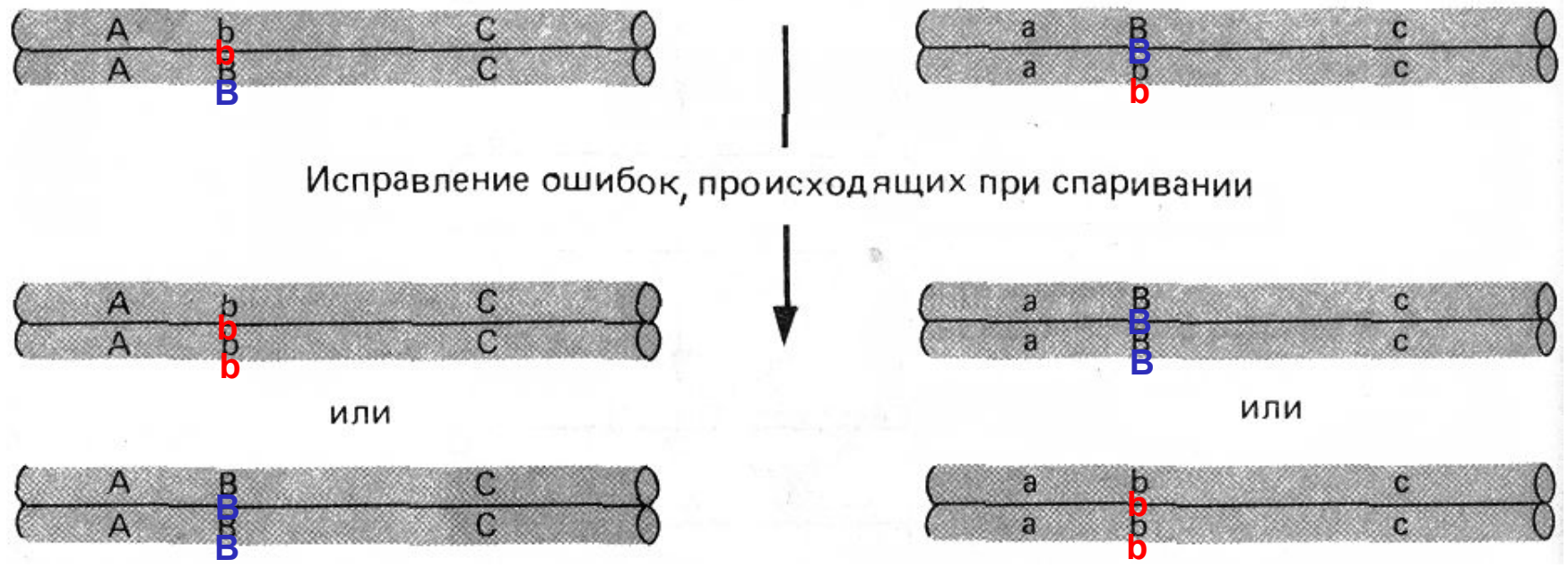


# РЕКОМБИНАЦИЯ ДНК

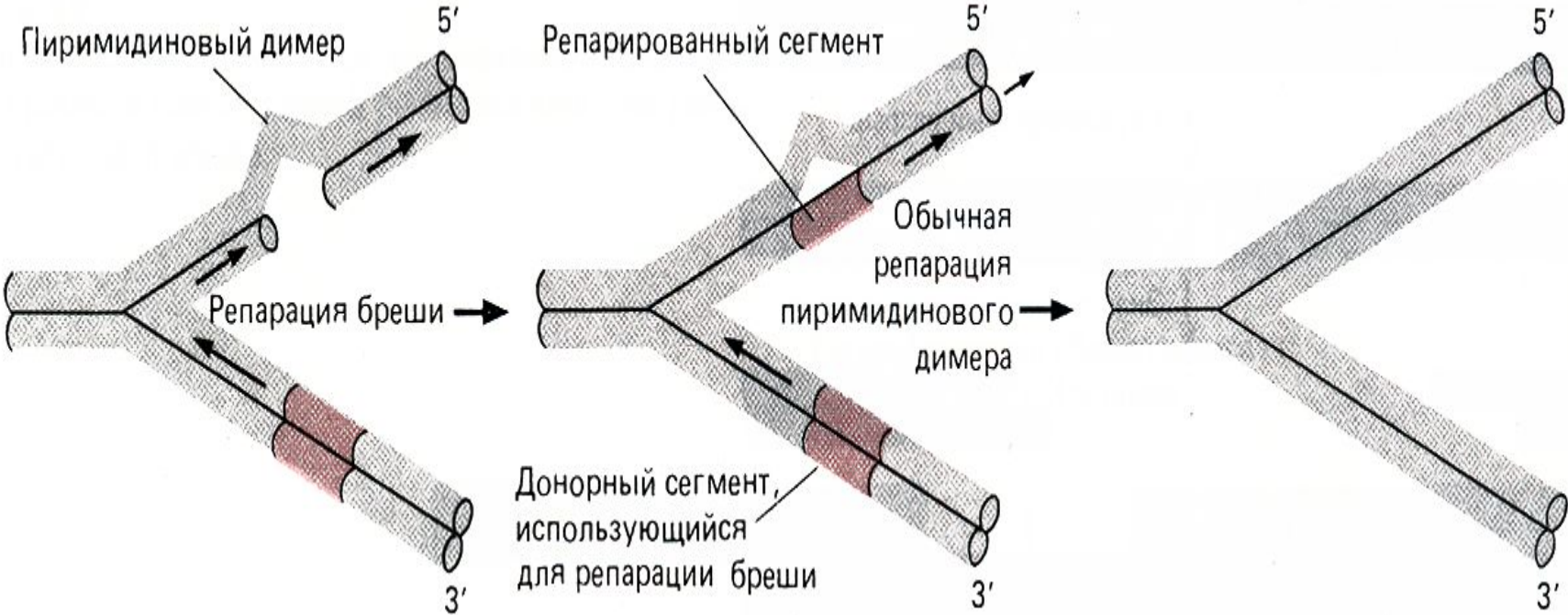
Продукты, образующиеся при неправильном спаривании в процессе гомологичной рекомбинации при репарации гетеродуплексов



Гетеродуплексы, образующиеся из структур Холлидея



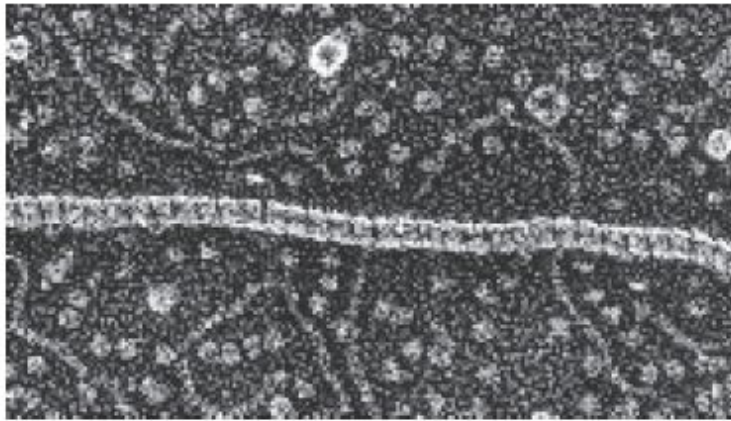
## Нереципрокная гомологичная рекомбинация как один из этапов репарации ДНК в месте образования пиримидиновых димеров



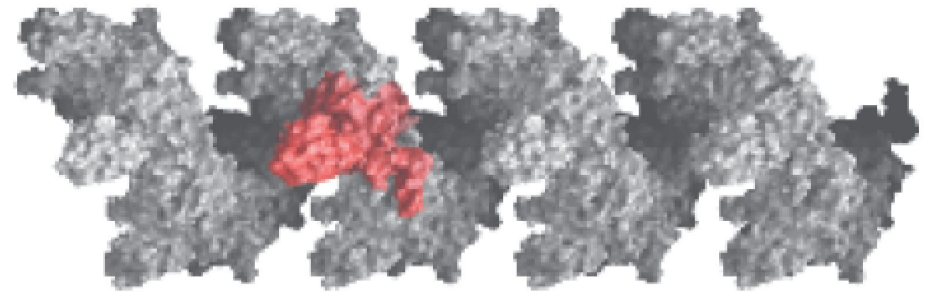


## 54.5 ФЕРМЕНТЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В РЕКОМБИНАЦИИ ДНК

**RecA-белок** катализирует обмен одиночными цепями, используя энергию гидролиза АТФ до АДФ и неорганического фосфата. RecA-зависимое внедрение одноцепочечных ДНК в дуплекс первый этап рекомбинационного процесса в рамках обеих схем: Холлидея и механизма с образованием двуцепочечных разрывов .

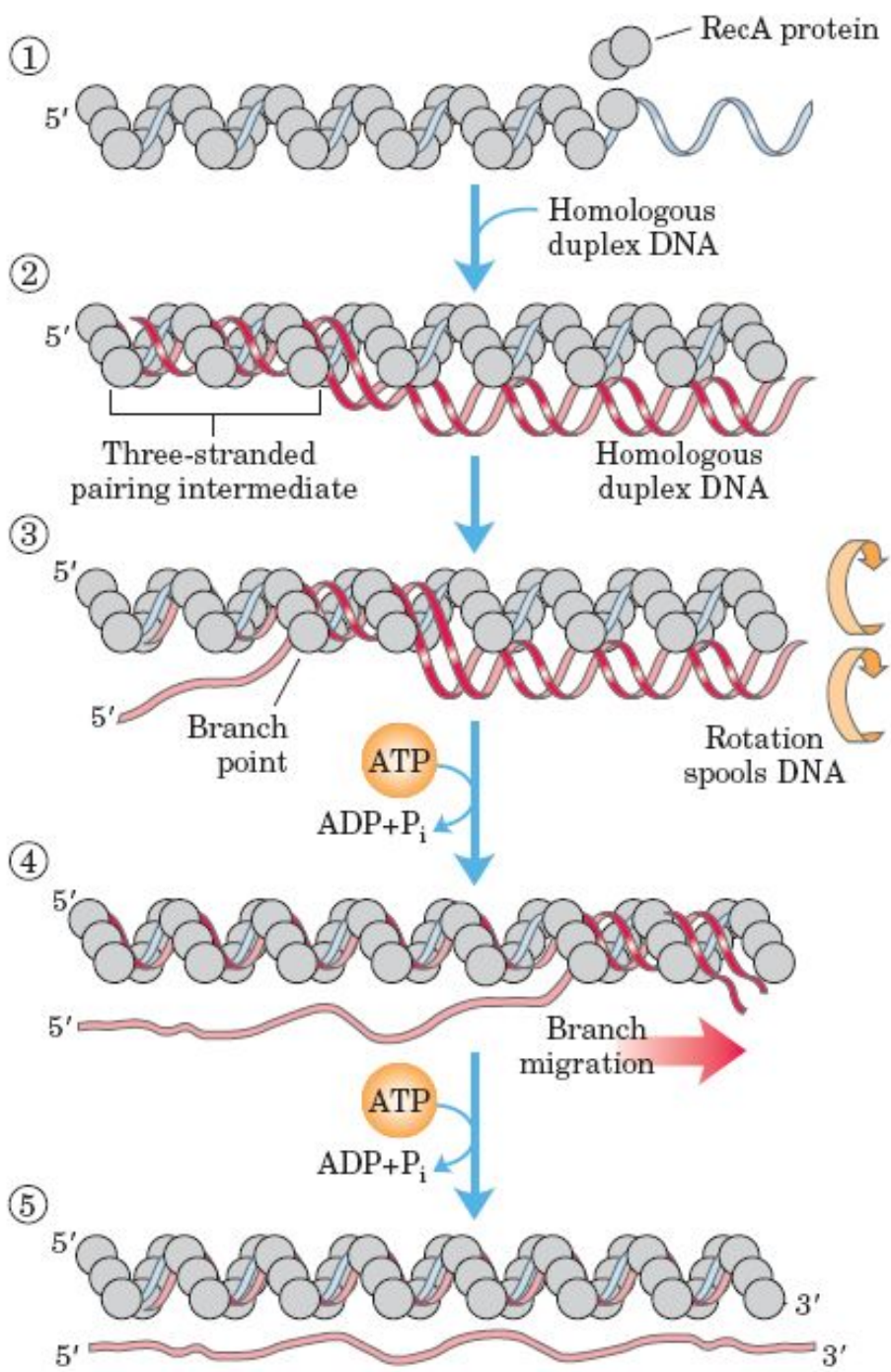


(a)



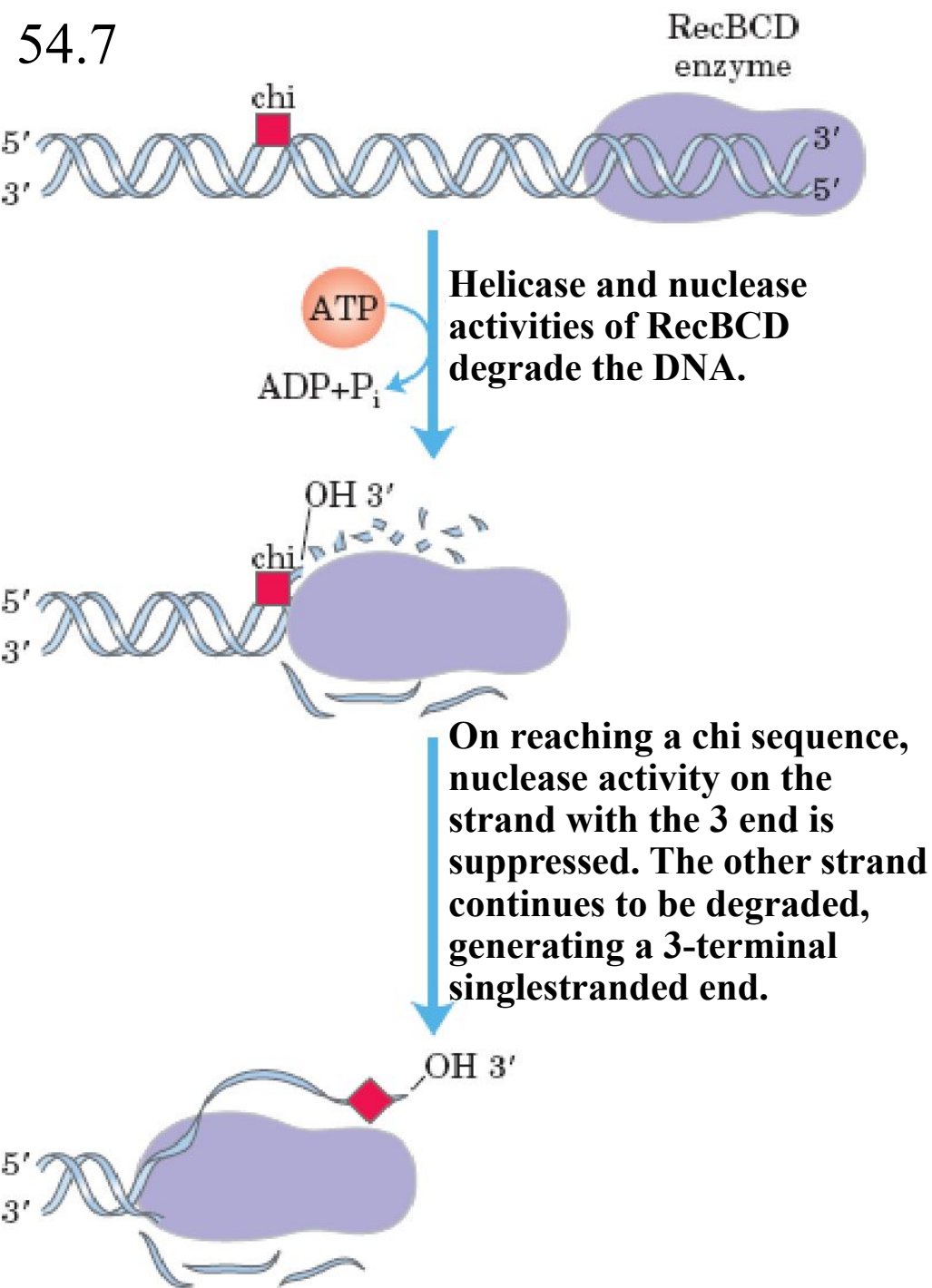
(b)

**RecA.** (a) Nucleoprotein filament of RecA protein on single-stranded DNA, as seen with the electron microscope. The striations indicate the right-handed helical structure of the filament. (b) Surface contour model of a 24-subunit RecA filament. The filament has six subunits per turn. One subunit is colored red to provide perspective (derived from PDB ID 2REB).



### Model for DNA strand exchange mediated by RecA protein

A three-strand reaction is shown. The balls representing RecA protein are undersized relative to the thickness of DNA to clarify the fate of the DNA strands. **1** RecA protein forms a filament on the single-stranded DNA. **2** A homologous duplex incorporates into this complex. **3** As spooling shifts the three-stranded region from left to right, one of the strands in the duplex is transferred to the single strand originally bound in the filament. The other strand of the duplex is displaced, and a new duplex forms within the filament. As rotation continues (**4** and **5**), the displaced strand separates entirely. In this model, hydrolysis of ATP by RecA protein rotates the two DNA molecules relative to each other and thus directs the strand exchange from left to right as shown.

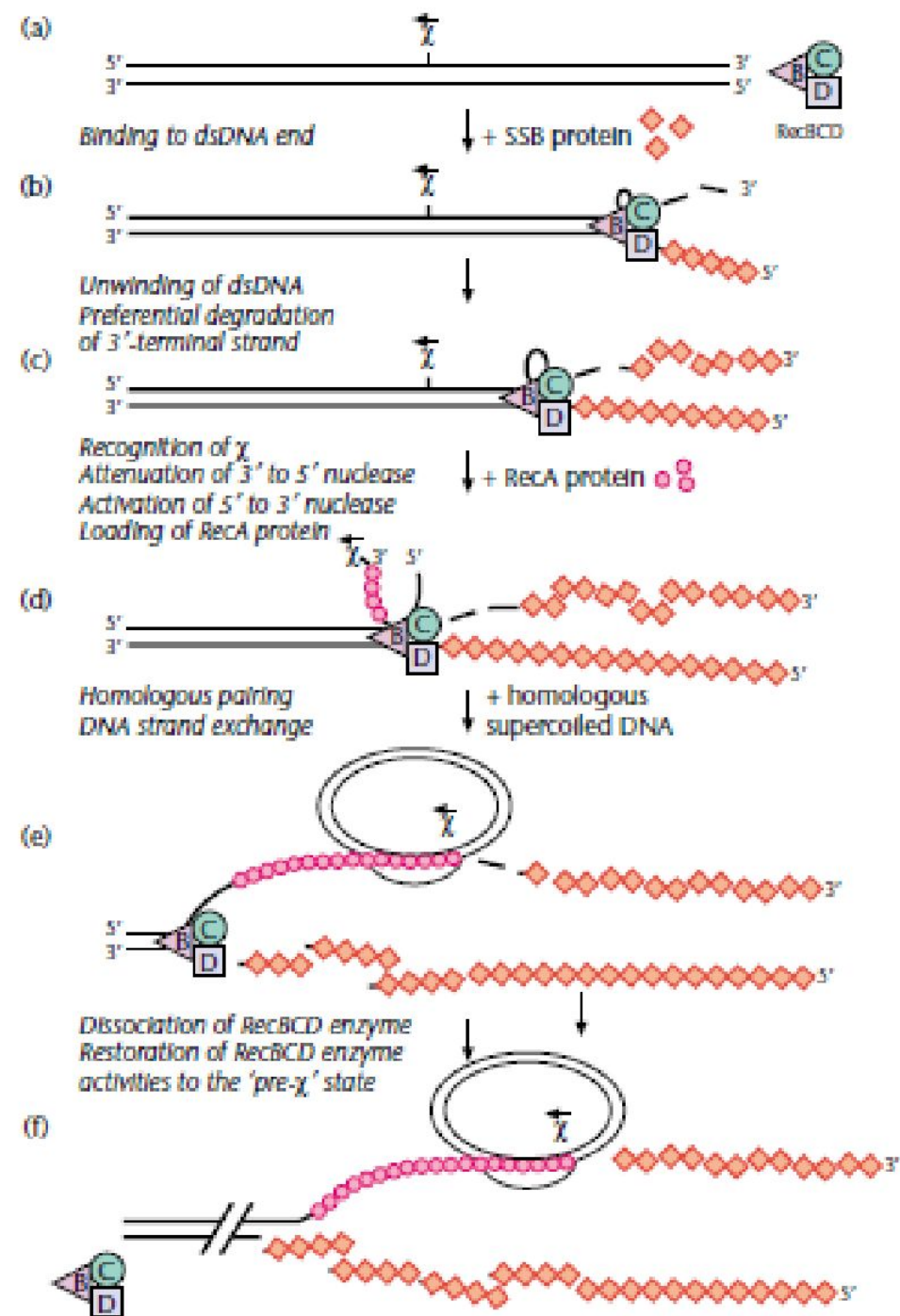


## RecBCD-нуклеаза

состоит из трех отдельных субъединиц (В, С и D). Индуцирует разрывы в дуплексной ДНК и благодаря присущей ей геликазной активности вместе с *recA* инициирует рекомбинационный процесс.

### Helicase and nuclease activities of the RecBCD enzyme

Entering at a double-stranded end, RecBCD unwinds and degrades the DNA until it encounters a chi sequence. The interaction with chi alters the activity of RecBCD so that it generates a singlestranded DNA with a 3'-end, suitable for subsequent steps in recombination. Movement of the enzyme requires ATP hydrolysis. This enzyme is believed to help initiate homologous genetic recombination in *E. coli*. It is also involved in the repair of double-strand breaks at collapsed replication forks.



Initiation of homologous recombination by the coordinated activities of RecBCD enzyme and RecA protein. An in vitro model depicting recombination between a linear  $\chi$ -containing double-stranded DNA (dsDNA) and a supercoiled plasmid is shown. (a–c) First, RecBCD enzyme enters at a dsDNA end and unwinds the duplex while preferentially degrading the strand corresponding to the 3' terminus at the point of entry; SSB protein binds the single-strandedDNA (ssDNA) produced. (d,e) Upon recognition of  $\chi$ , the 3' to 5' nuclease activity is attenuated and a weaker 5' to 3' nuclease activity is activated on the opposite strand. Following the interaction with w, RecBCD enzyme facilitates the loading of RecA protein (to the exclusion of SSB protein) onto the ssDNA produced by continued translocation and unwinding of the DNA molecule. (e,f) This RecA protein–ssDNA filament then invades a homologous duplex DNA molecule, producing a recombination intermediate known as a joint molecule.

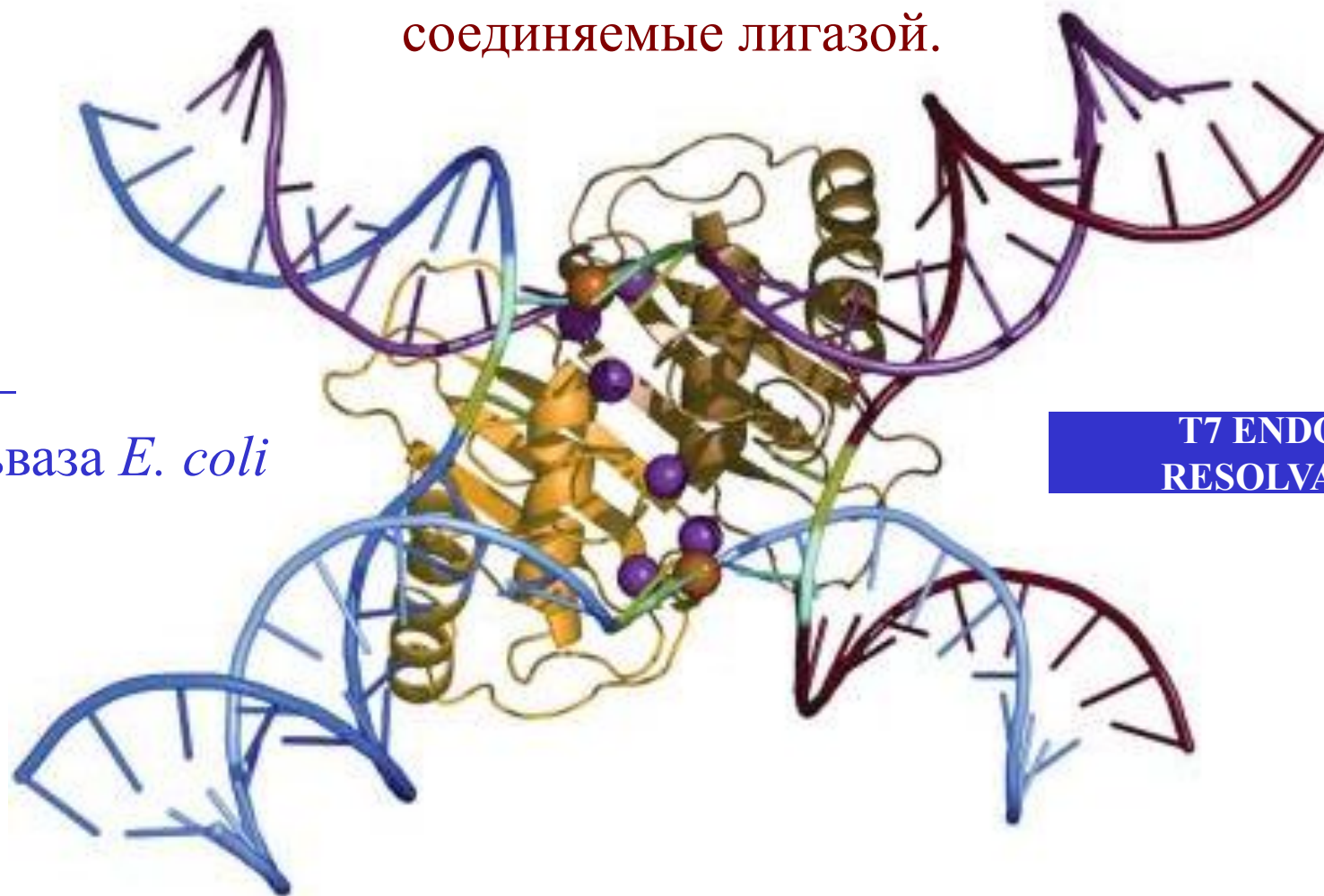
# Chi site

The sequence of the Chi site is unique to each group of closely related organisms; in *E. coli* and other enteric bacteria, such as *Salmonella*, the sequence is 5'-GCTGGTGG-3'. The existence of Chi sites was originally discovered in the genome of bacteriophage lambda, a virus that infects *E. coli*, but is now known to occur about 1000 times in the *E. coli* genome.

**Chi =  $\chi$  (XII)**

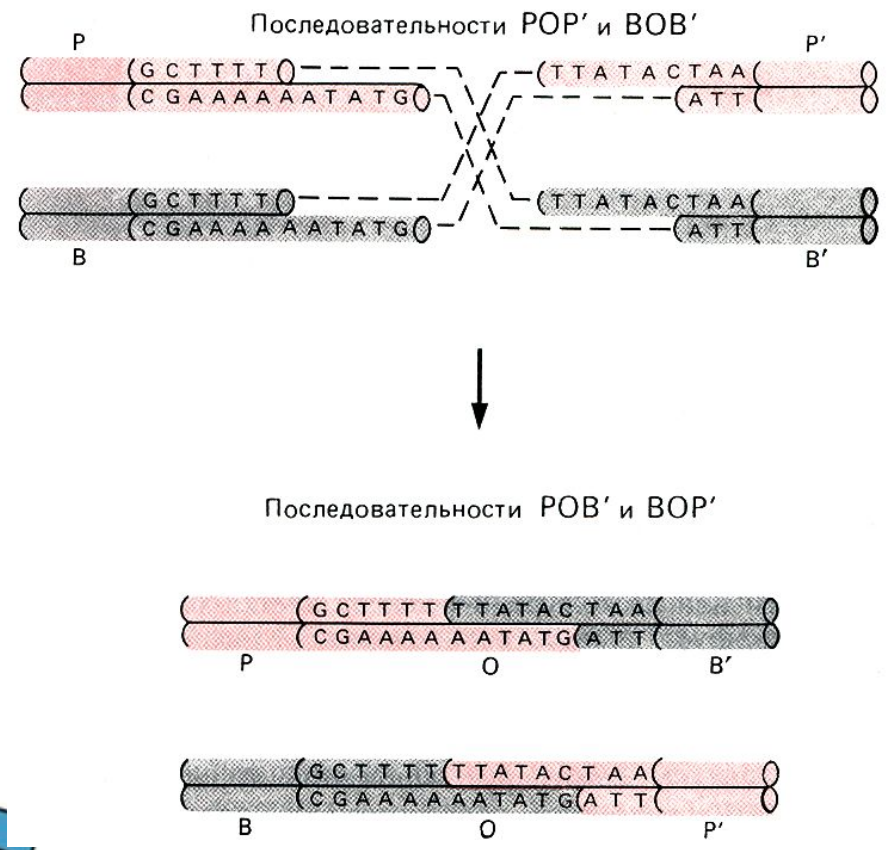
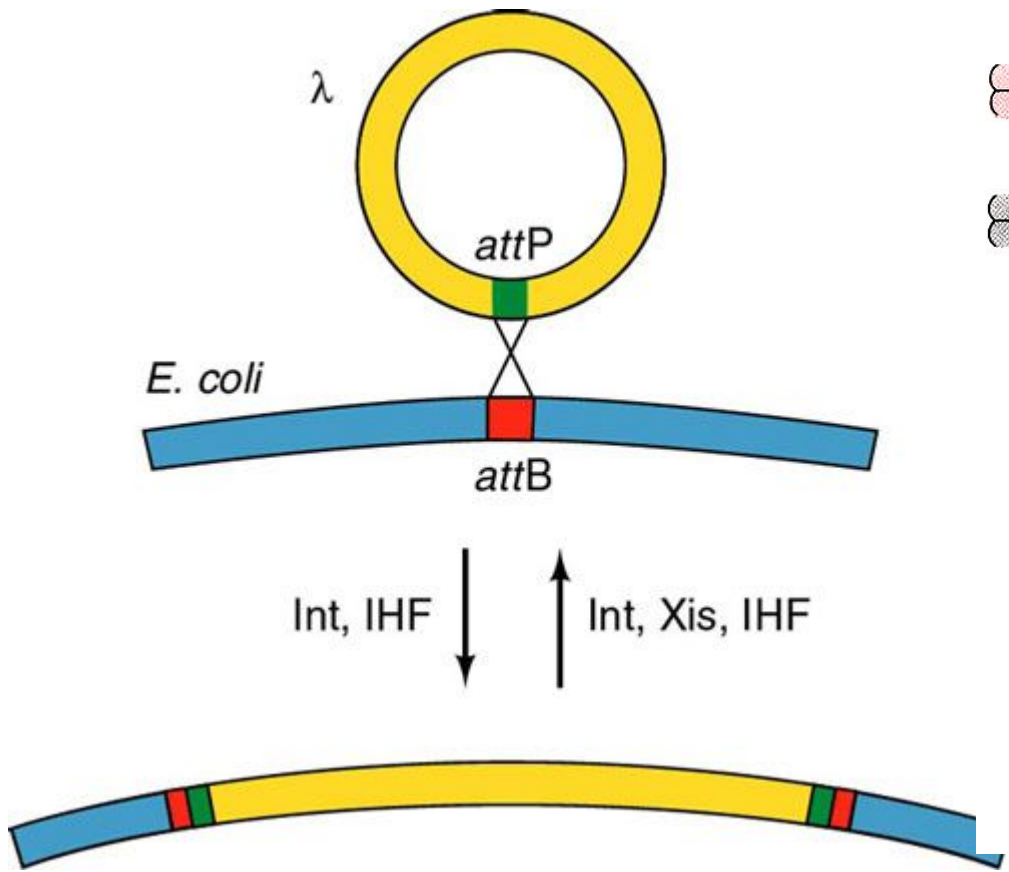
54.8 **Резольваза** - фермент, разрешающий узлы в структурах Холлидея; при его участии образуются липкие концы, соединяемые лигазой.

RusA –  
резольваза *E. coli*



Model of RusA in complex with a DNA HJ. View down the 2-fold axis of the protein dimer with the locations of the DNA scissile bonds and catalytically critical residues marked with orange and pink spheres, respectively, and the cytidines from the CC dinucleotide sequence recognized during sequence specific cleavage highlighted in green (unpaired base) and cyan. The partner guanosine of the unpaired base is also shown in green.

# САЙТ-СПЕЦИФИЧЕСКАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ



Интеграция кольцевой ДНК фага  $\lambda$  в хромосому *E. coli*. Для встраивания необходимы интеграза (Int), кодируемая фаговым геномом и бактериальный белок IHF. В выщеплении принимает участие еще один фаговый белок Xis.

Нуклеотидные последовательности attP и attB сайтов