



Репарация ДНК



Причины появления повреждений в ДНК

Повреждение ДНК – любое изменение ДНК, которое вызывает отклонение от двуцепочечной структуры

- Ошибки репликации
- Повреждения ДНК эндогенными агентами
гидролиз
(депуринизация, дезаминирование)
- Повреждения ДНК экзогенными агентами
облучение
повреждение химическими агентами
(например, алкилирование)
- Репликация «через повреждения» с использованием полимераз, отличающихся низкой точностью копирования



Типы повреждений ДНК

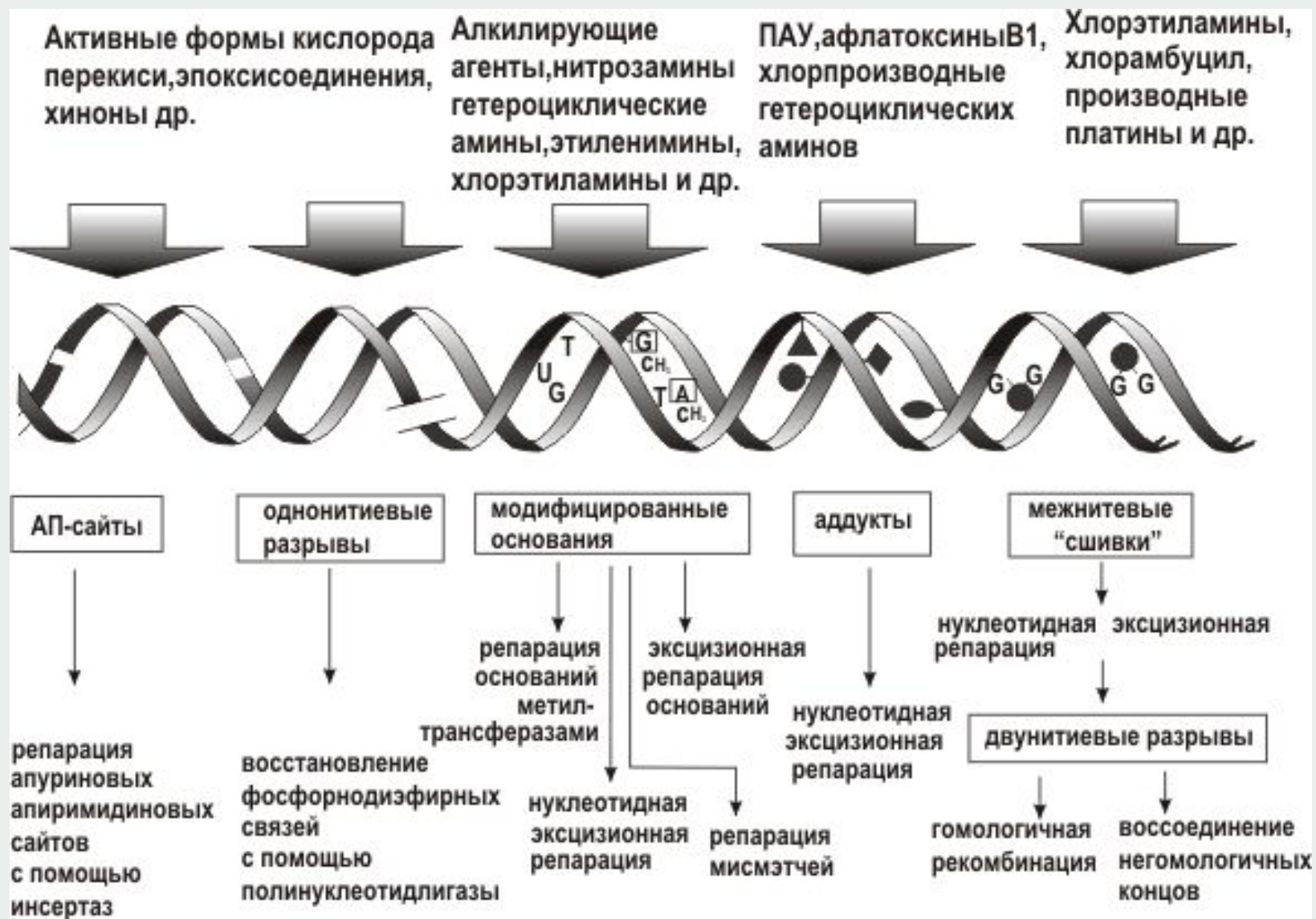
На уровне одного нуклеотида

- Отсутствие основания
- Некомплементарное основание
- Основание с нарушенной структурой

Структурные

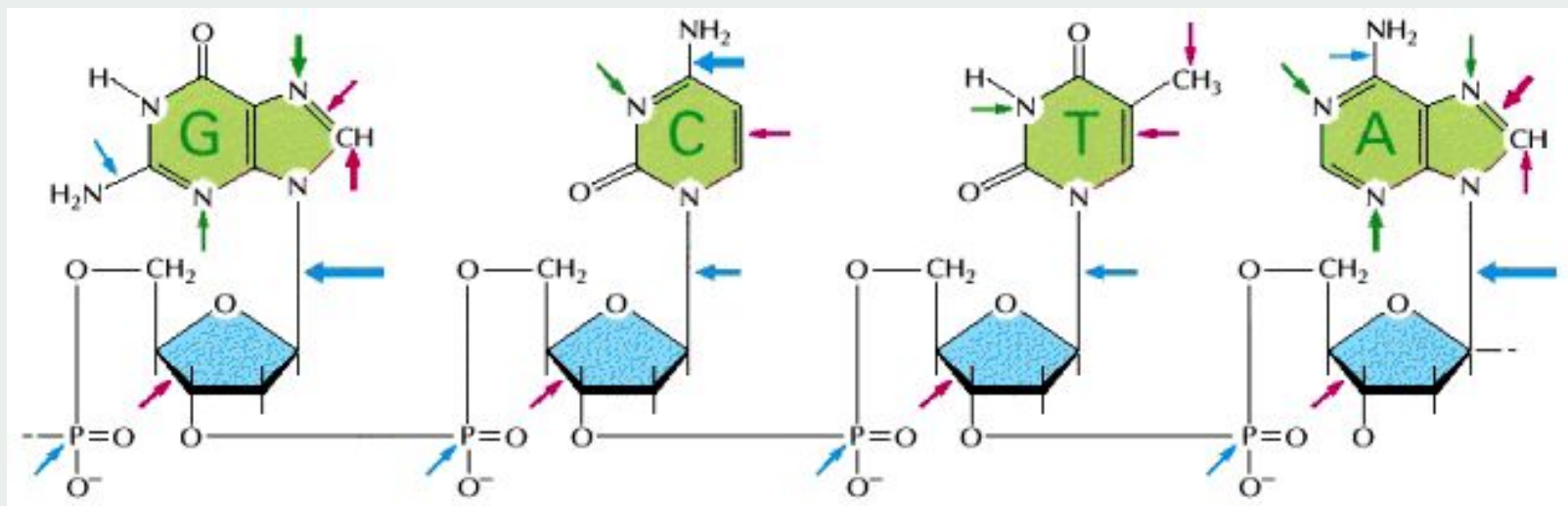
- Одноцепочечные разрывы
- Неспецифические связи между цепями
- Двухцепочечные разрывы

Репарация ДНК



Репарация ДНК

Основные места повреждений



гидролиз



метилирование



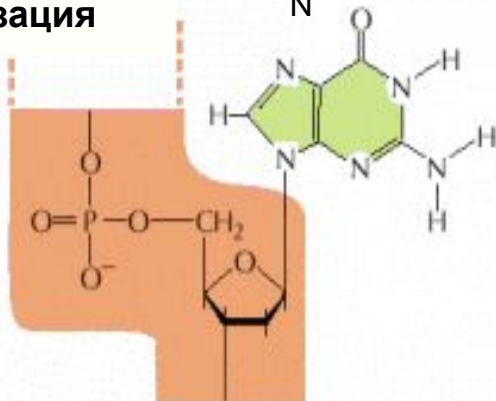
окисление

Гидролиз

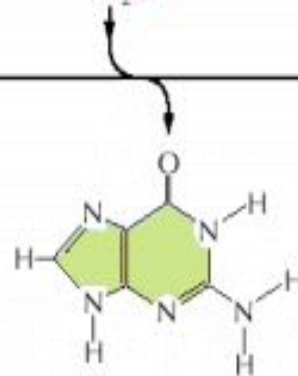
Спонтанная
депуринизация



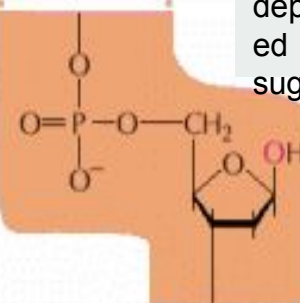
GUANINE



H₂O

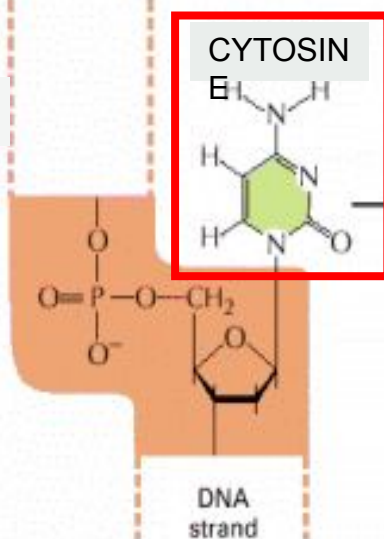


depurinated
sugar



Дезаминирование

CYTOSINE

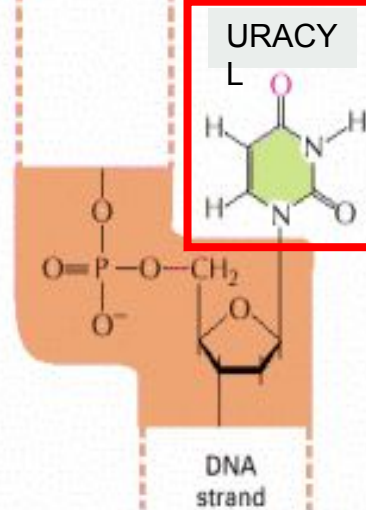


GUANINE

H₂O

NH₃

URACIL



DNA
strand

DNA
strand

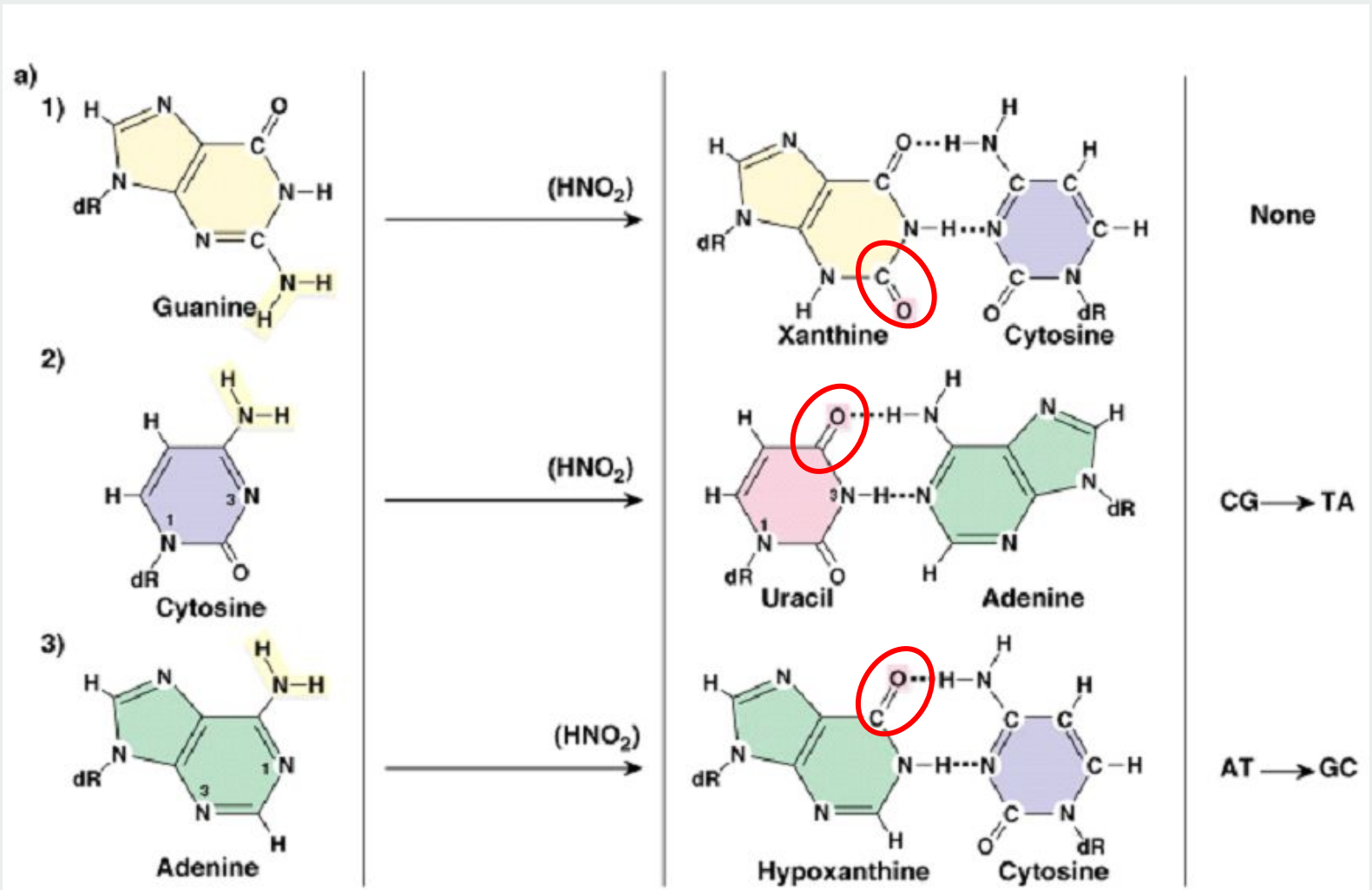
Дезаминирование

основание

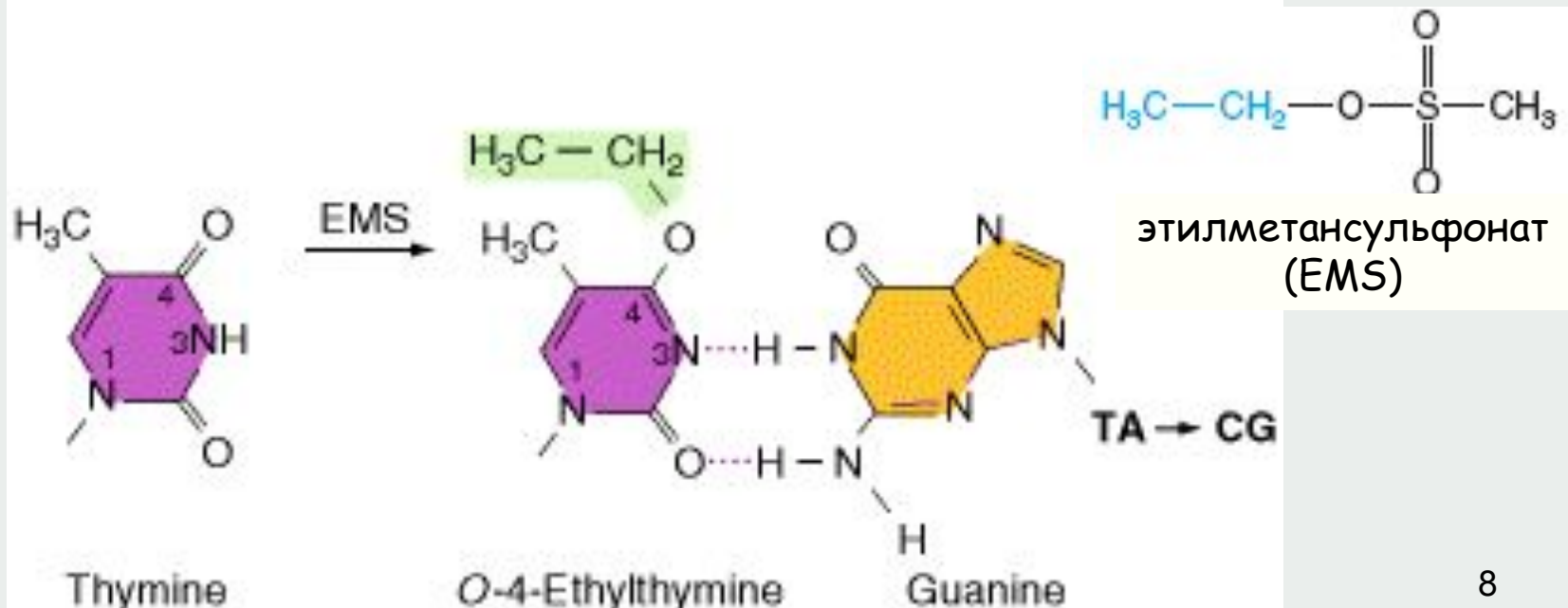
мутаген
(азотистая кислота)

модиф.
основание

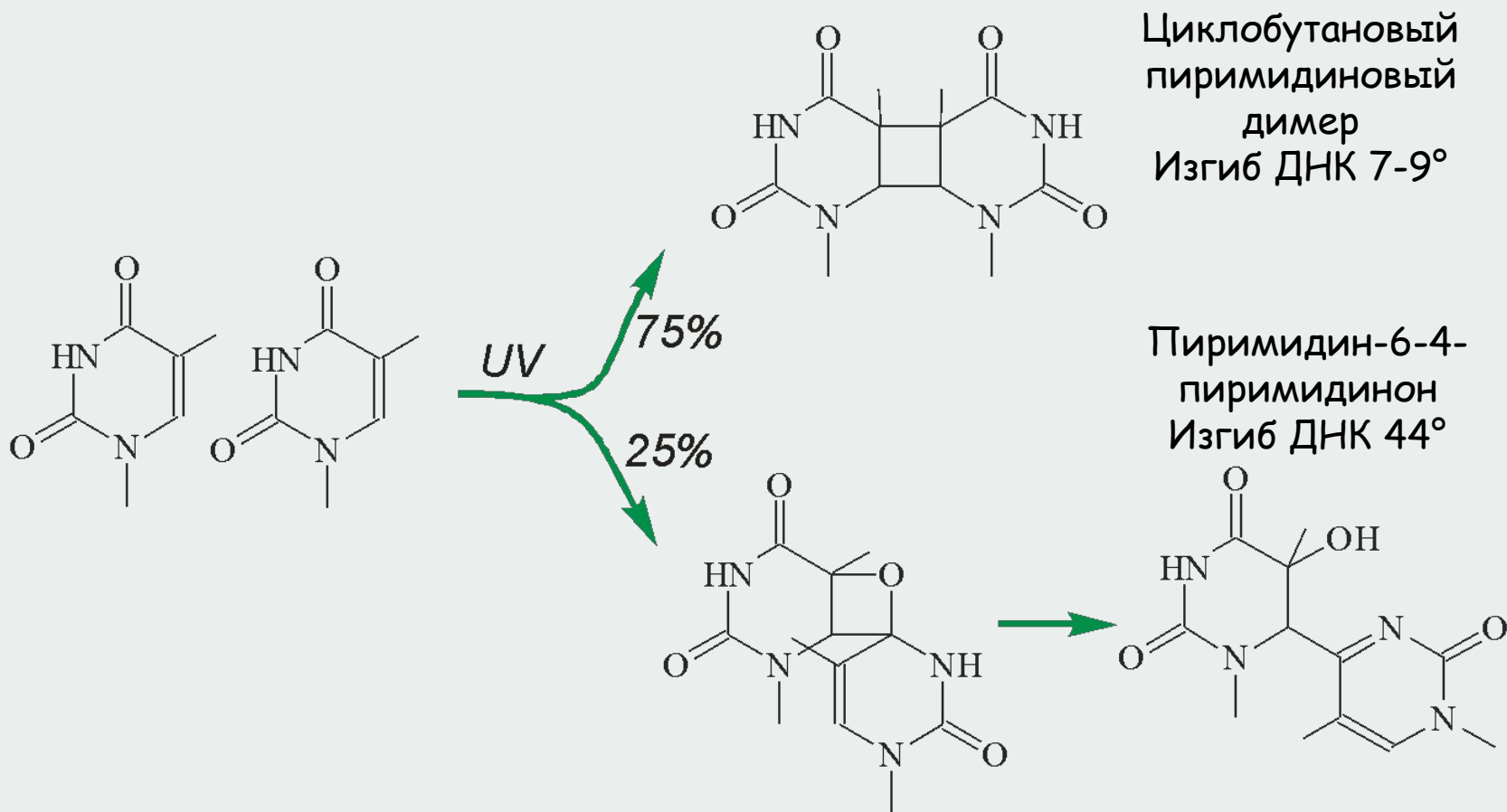
партнер по
спариванию мутагенный
эффект



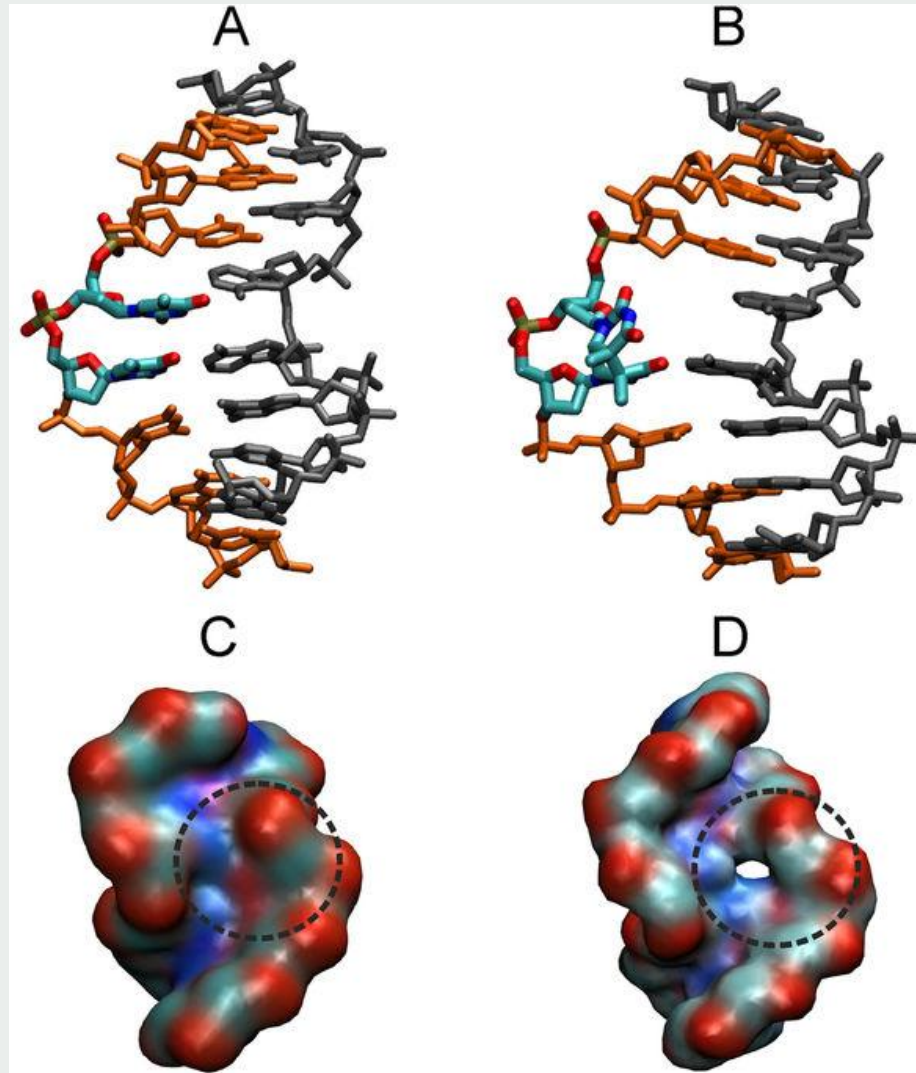
Алкилирование



Образование тиминовых димеров под действием УФ-света

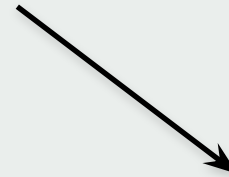
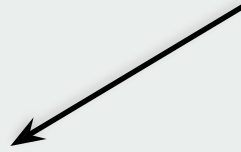


Тиминовые димеры изменяют структуру ДНК



Репарация ДНК

повреждения ДНК



объемные (bulky)

точечные (non-bulky)

несколько повреждений,
расположенных рядом,
межнуклеотидные сшивки,
в том числе,
циклобутановые димеры

повреждения единичных
нуклеотидов (гидролиз,
дезаминирование,
алкилирование и т.д.)



Репарация ДНК

Стратегии коррекции повреждений

- Ошибки репликации:
 - исправление ошибок ДНК полимеразой (3'-5' экзонуклеаза),
 - репарация неспаренных оснований (**mismatch repair**)
- Повреждение ДНК эндогенными и экзогенными агентами:
 - Прямое удаление повреждений
 - Вырезание (эксцизия) оснований (**base excision repair**)
 - Вырезание (эксцизия) нуклеотидов (**nucleotide excision repair**)
 - Рекомбинация
 - [Черезблочный синтез особыми полимеразми (не удаляет ошибок но позволяет продолжить репликацию)]

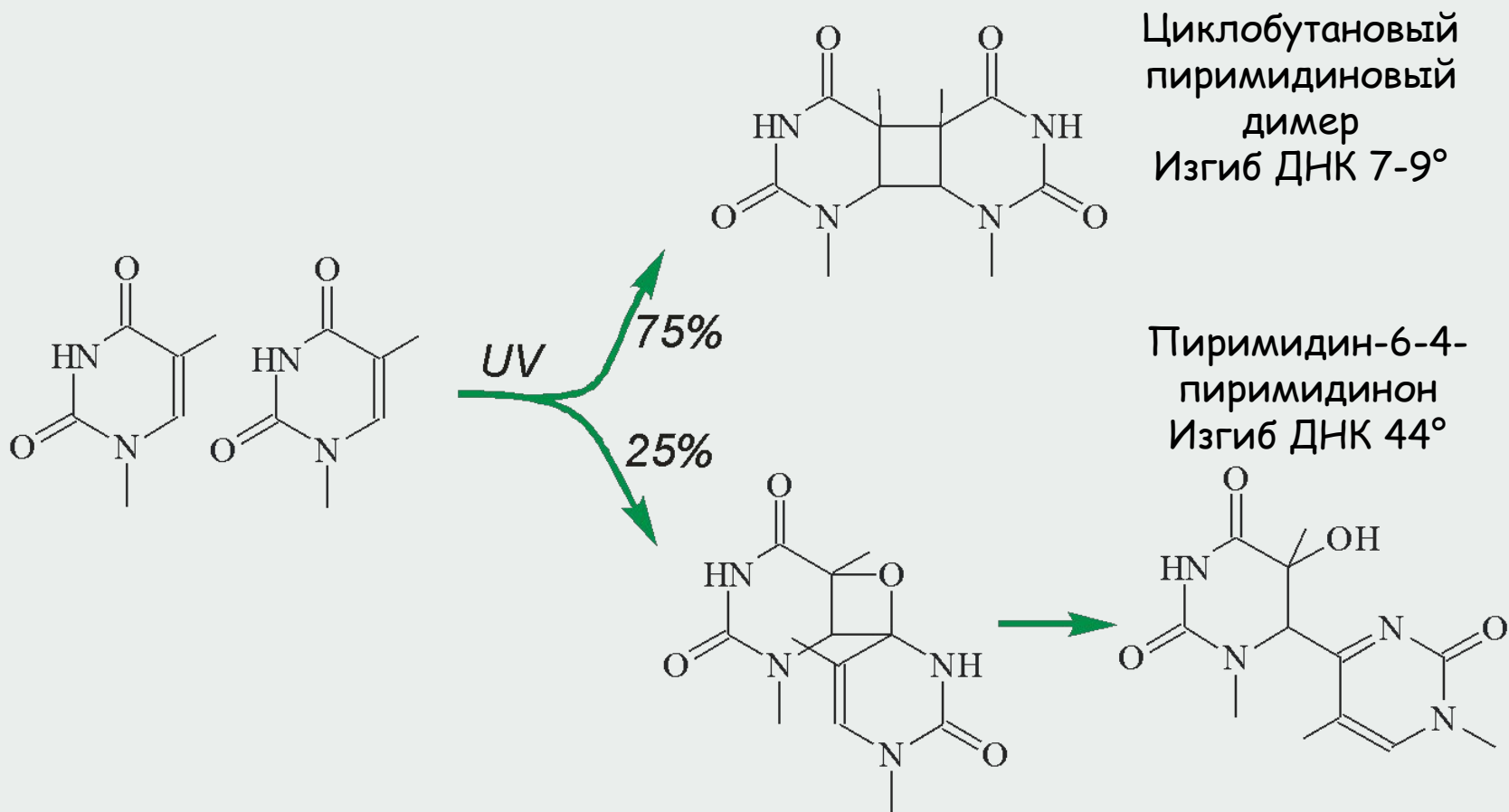


Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. **Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)**
2. **Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)**
3. **Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)**
4. **Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)**
5. **Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))**
6. **Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)**
7. **Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)**

Образование тиминовых димеров под действием УФ-света





Репарация ДНК

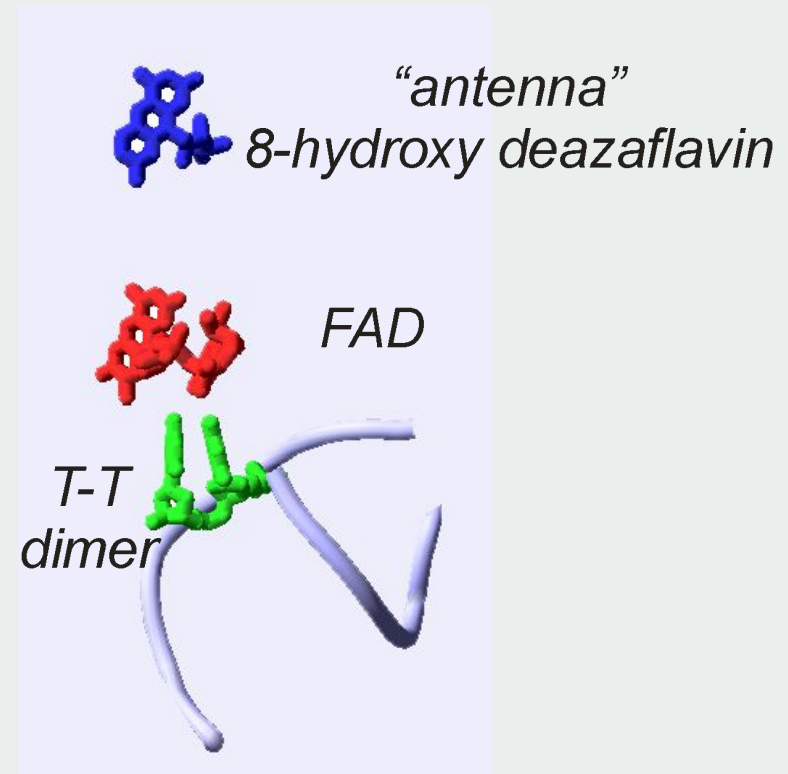
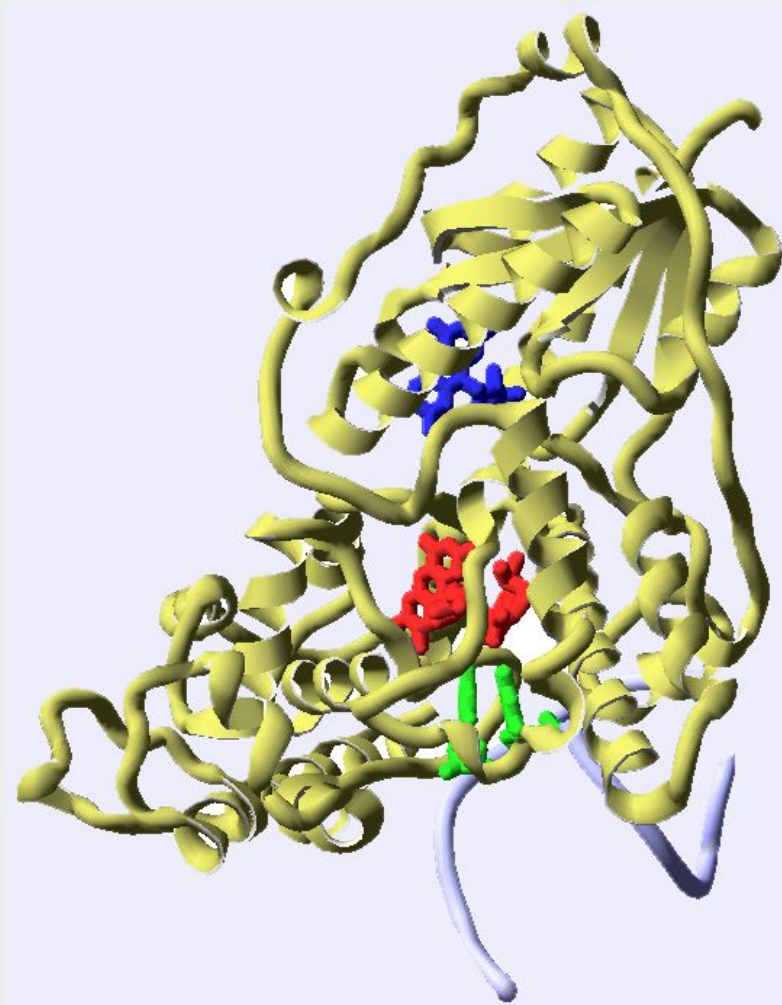
прямое исправление повреждений - фотореактивация

- ДНК-фотолиазы, мономерные флавин-зависимый ферменты
- Кофакторы : FADH^- и 5,10-метенилтетрагидрофолат (5,10-MTHF)
- Фотолиаза связывается в темноте с димерами ТТ
- На свету кофактор (5,10-MTHF) поглощает фотон и передает энергию возбуждения на FADH^-
- Возбужденный FADH^- отдает электрон пиримидиновому димеру, устраняя повреждение
- Фотолиаза освобождает ДНК

В клетках млекопитающих не найдены!

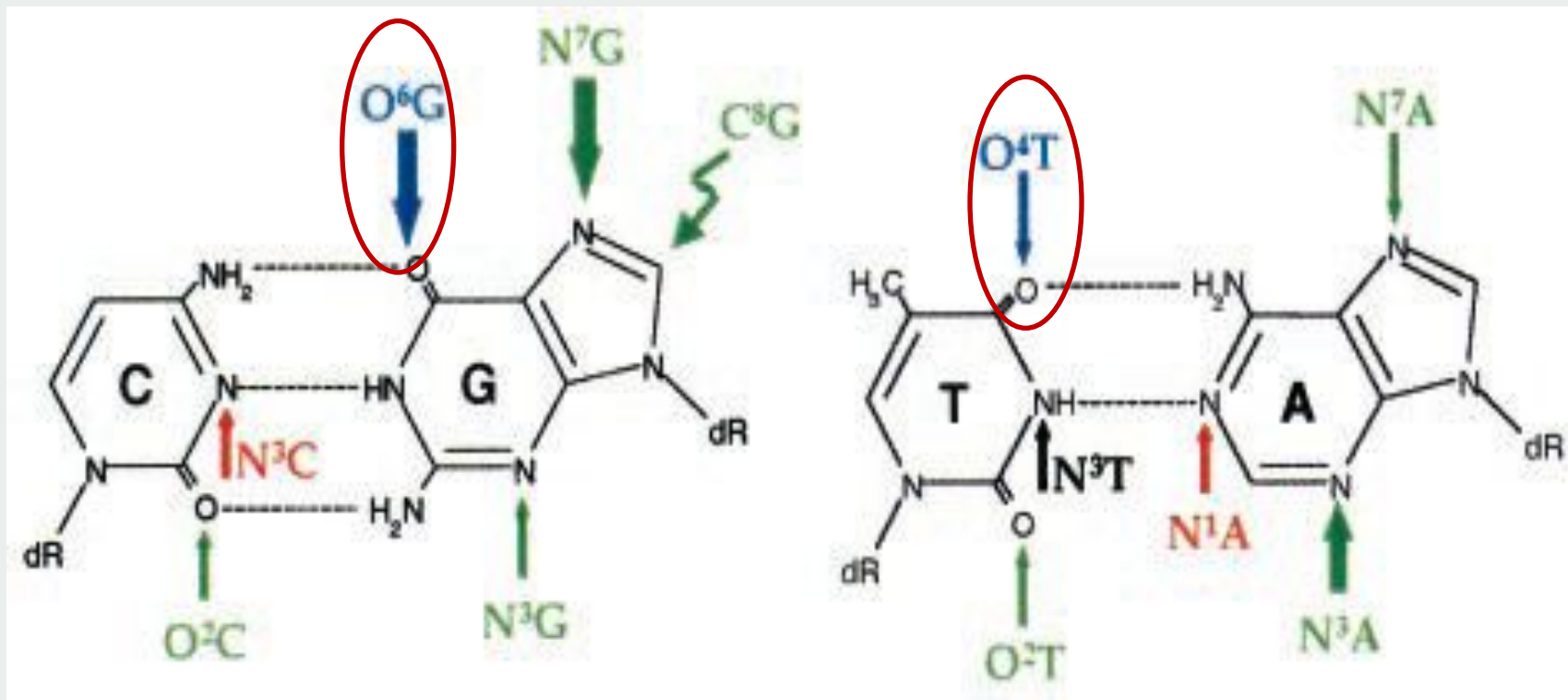
Репарация ДНК

прямое исправление повреждений –
фотореактивация



Репарация ДНК

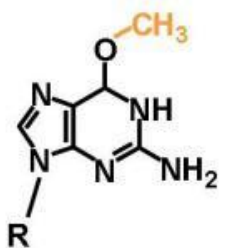
Алкилирование нуклеотидов



Репарация ДНК

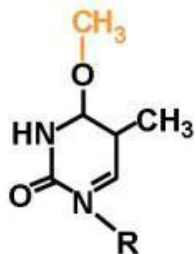
прямое исправление повреждений -
Об-метилгуанин метил трансфераза

(A)



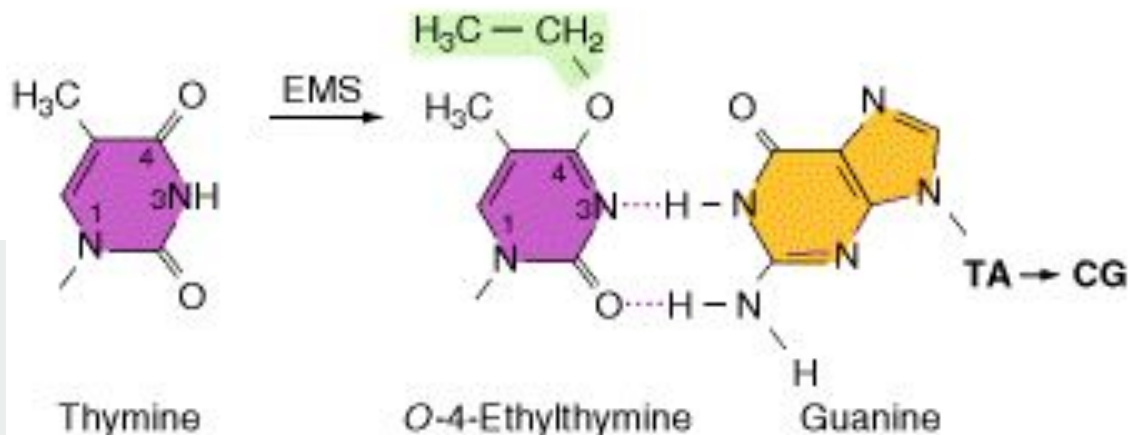
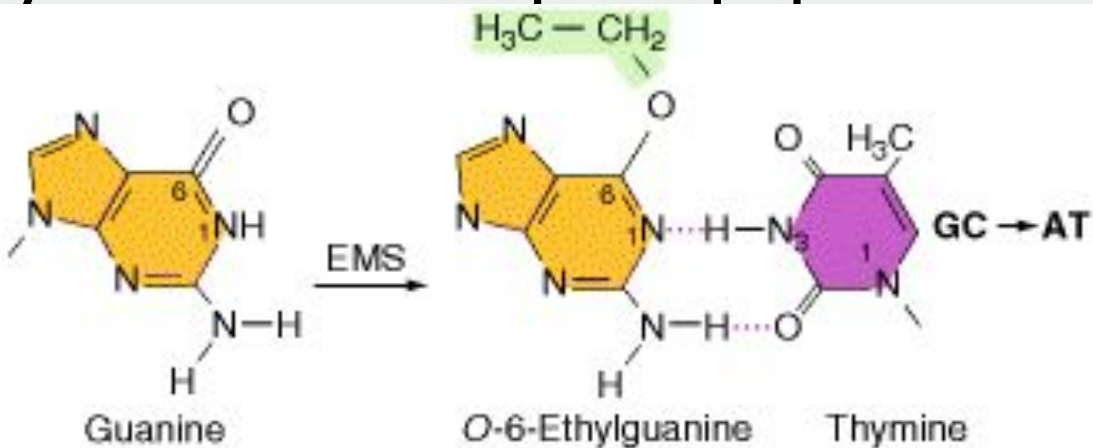
O⁶-methylguanine

GC → AT



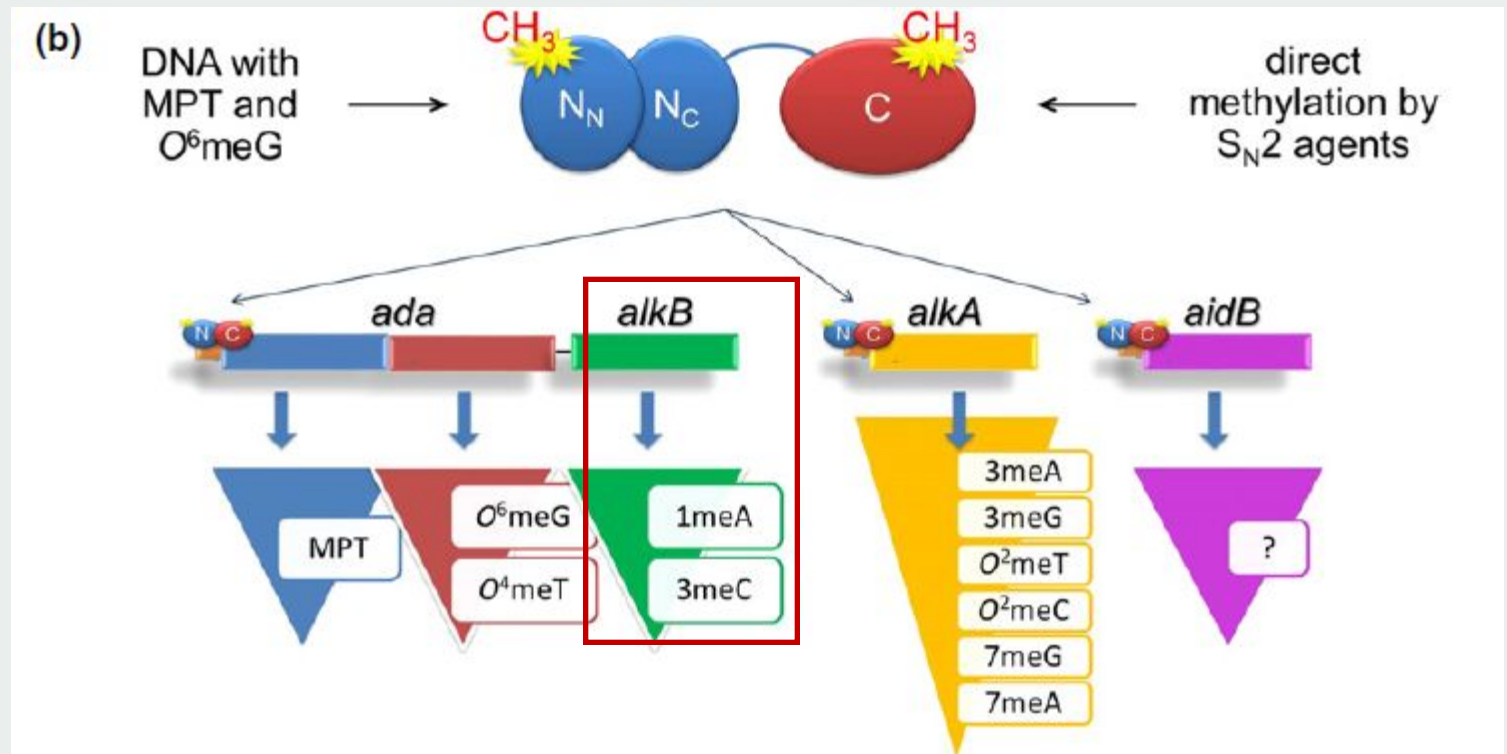
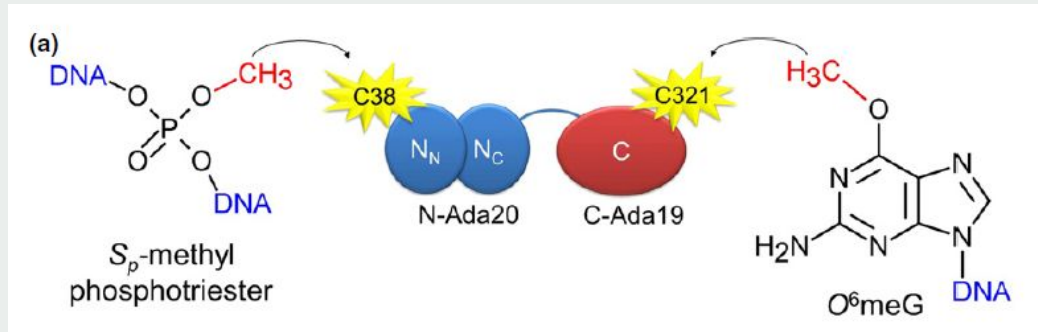
O⁴-methylthymine

TA → CG



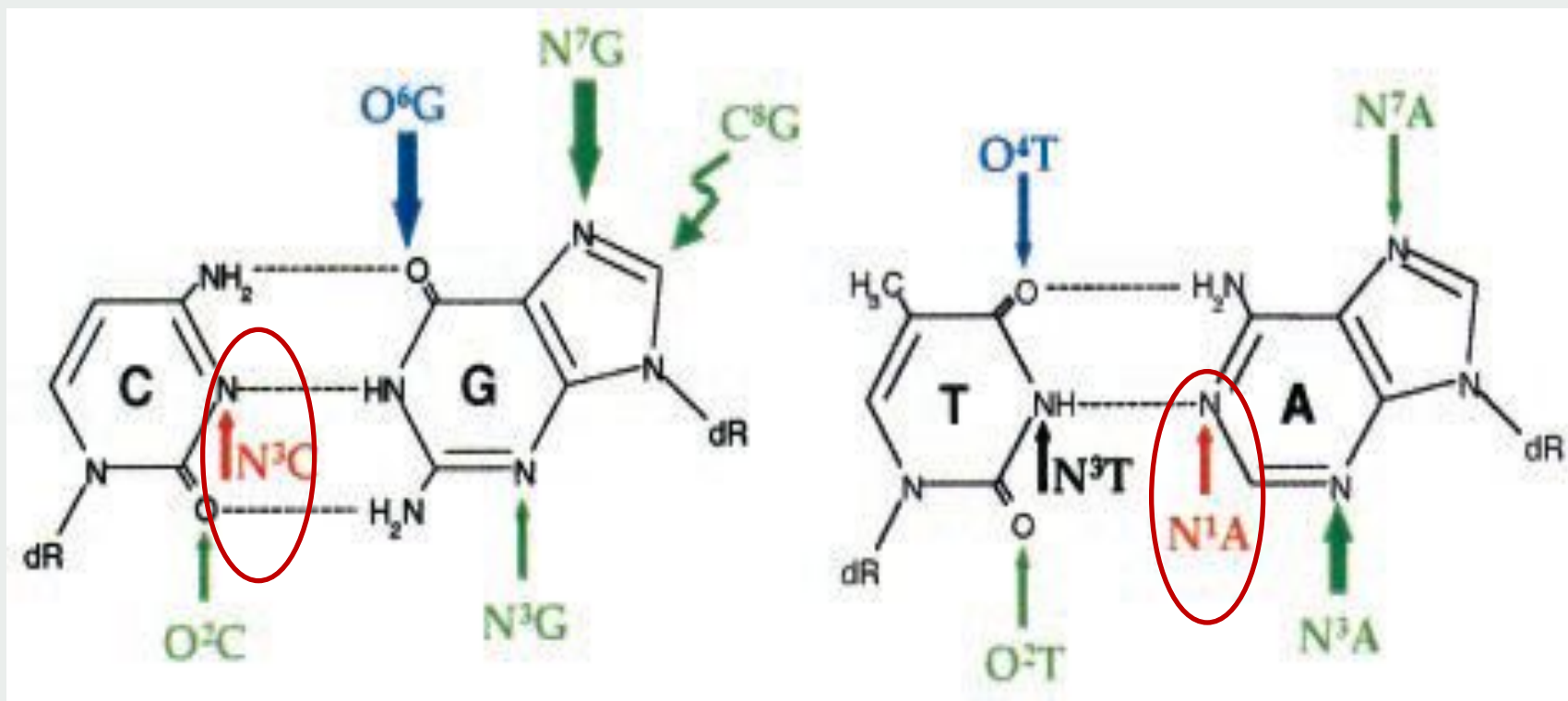
Репарация ДНК

прямое исправление алкилированных нуклеотидов



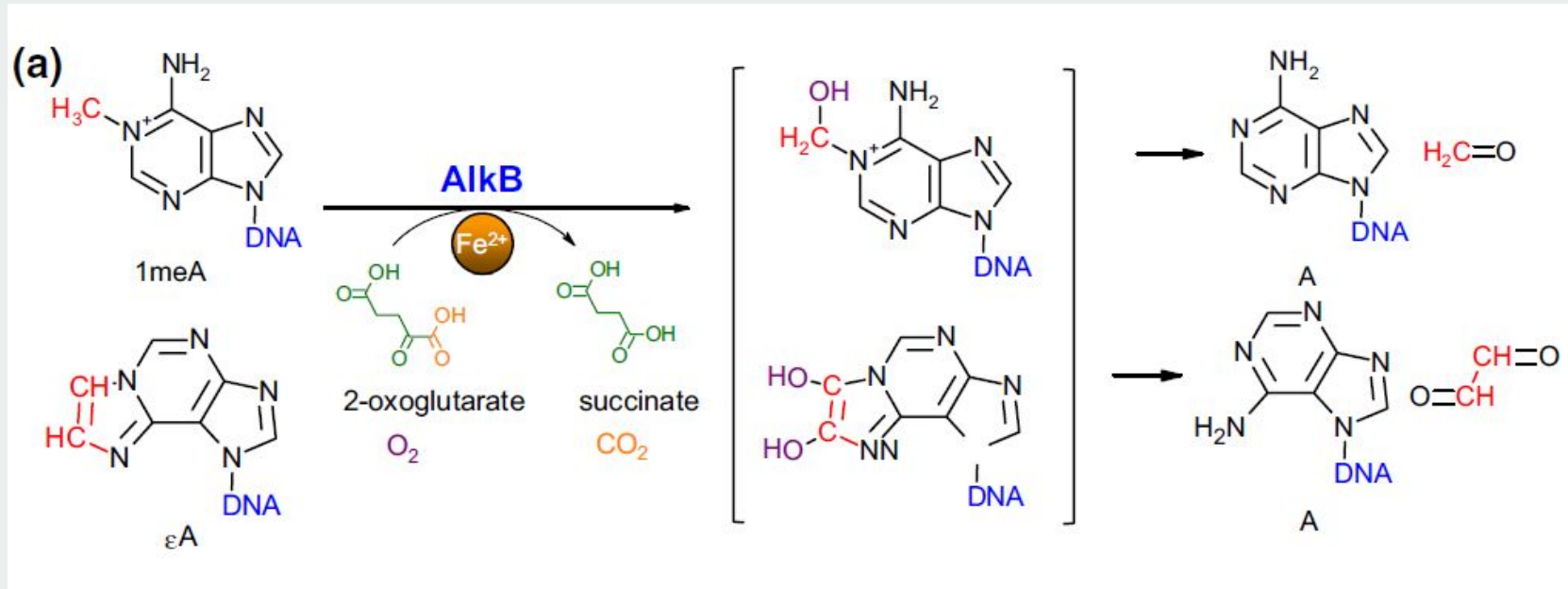
Репарация ДНК

Алкилирование нуклеотидов



Репарация ДНК

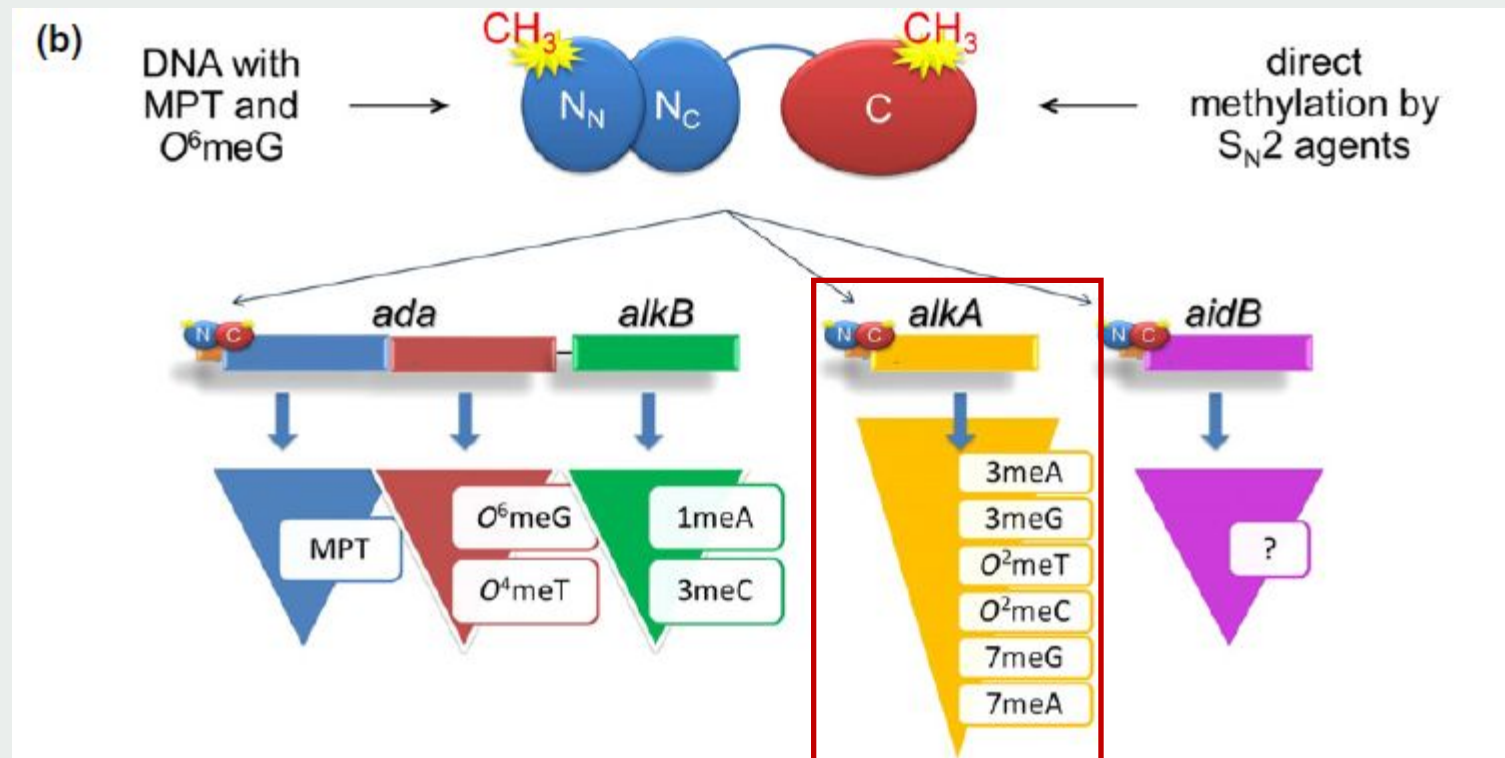
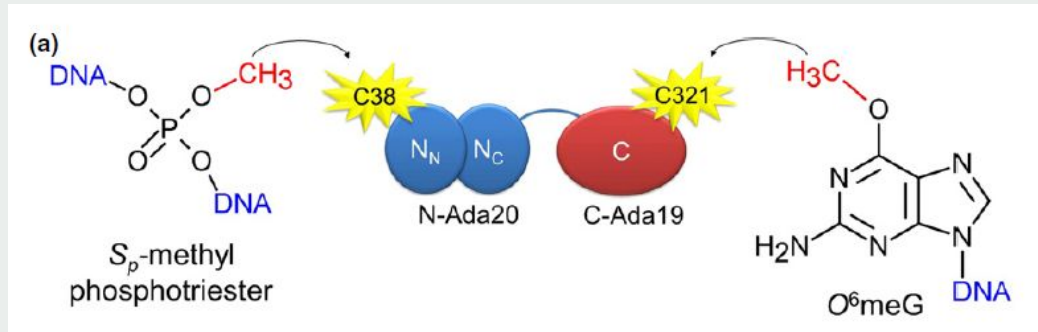
прямое исправление алкилированных нуклеотидов



- Оксидоредуктазы: Alk B (*E. coli*), hABH2 и hABH3 (Human) относятся к кетоглутарат/ Fe(II) -зависимому суперсемейству диоксигеназ, в процессе репарации протекает совместно декарбоксилирование кетоглутарата и окислительное деметилирование поврежденного основания
- Субстрат: 1meA, 3meC

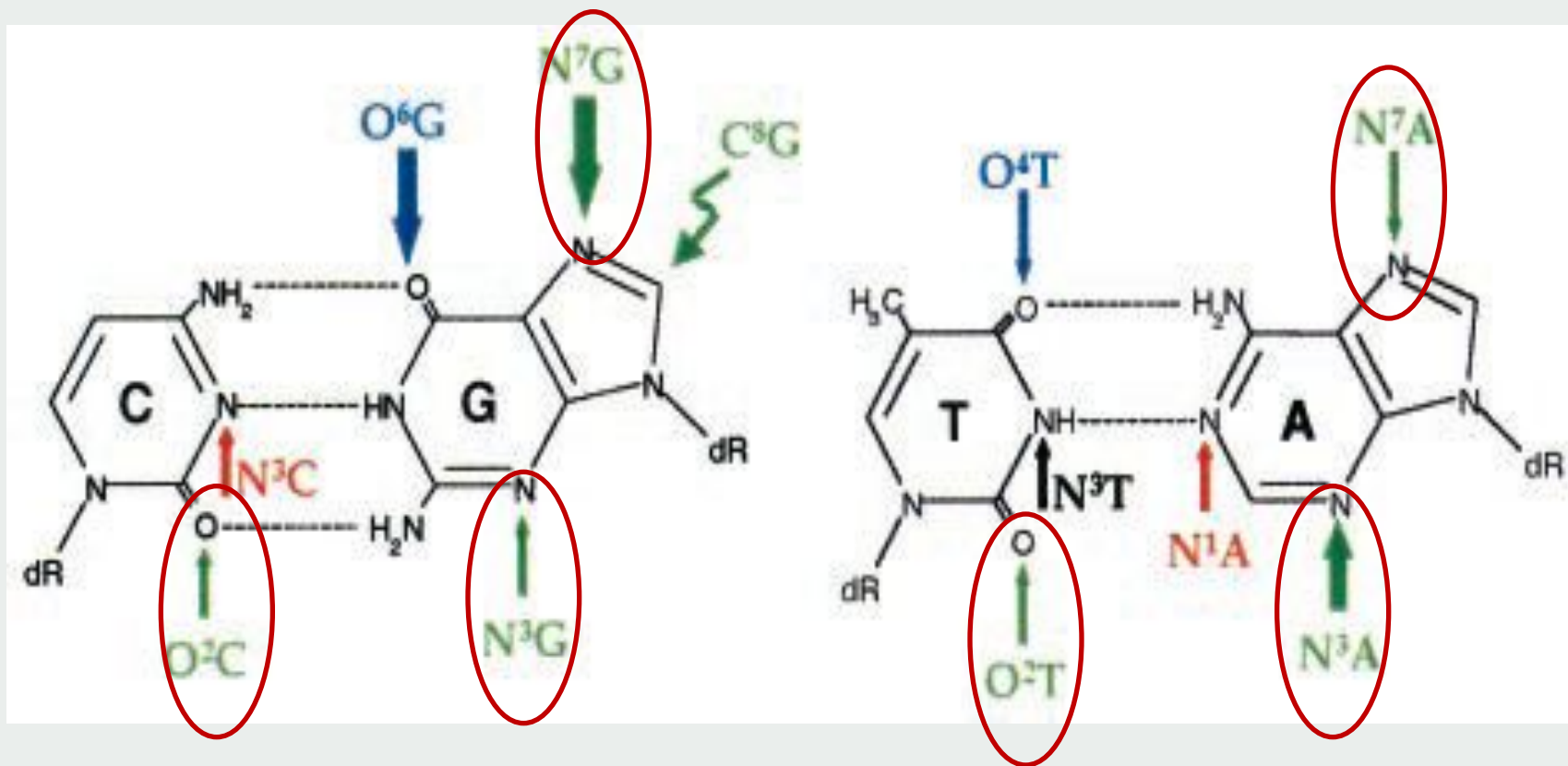
Репарация ДНК

прямое исправление алкилированных нуклеотидов



Репарация ДНК

Алкилирование нуклеотидов





ДНК-гликозилаза AlkA

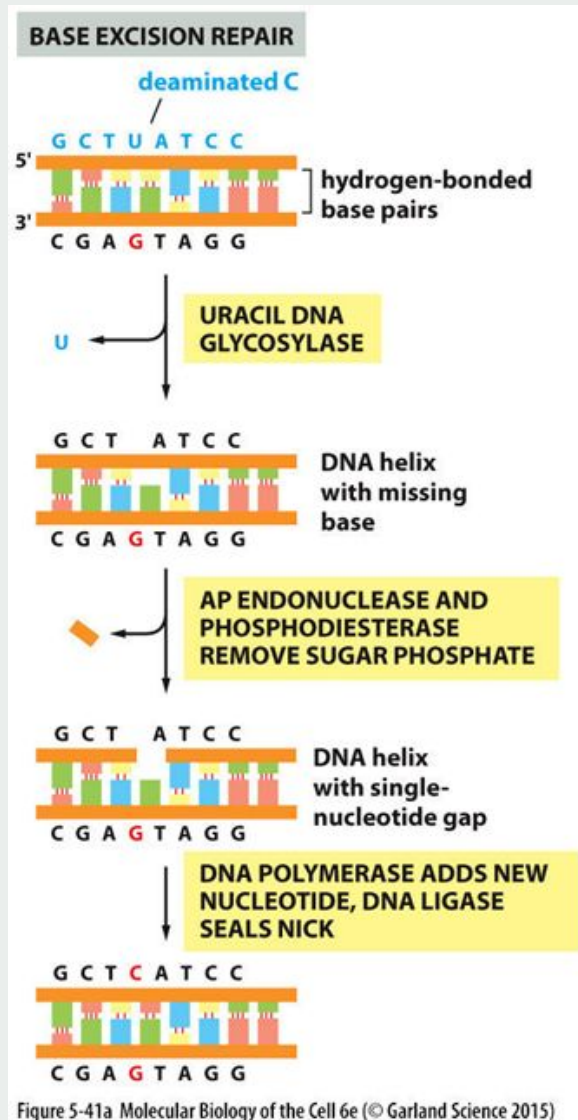


Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)

Репарация ДНК (BER)



- Различные ДНК-гликозилазы адресно узнают поврежденные основания и удаляют их, разрезая гликозидную связь. При этом возникает AP (апуриновый/апиримидиновый) сайт.
- В клетке существует несколько AP эндонуклеаз, которые разрезают фосфодиэфирный остов ДНК рядом с AP сайтом
- AP нуклеотид удаляется экзонуклеазой/дезоксирiboфосфодиэстеразой и «брешь» застраивается ДНК полимеразой

Репарация ДНК

ДНК гликозилазы «выворачивают» модифицированное основание наружу и отщепляют его от сахарофосфатного остова

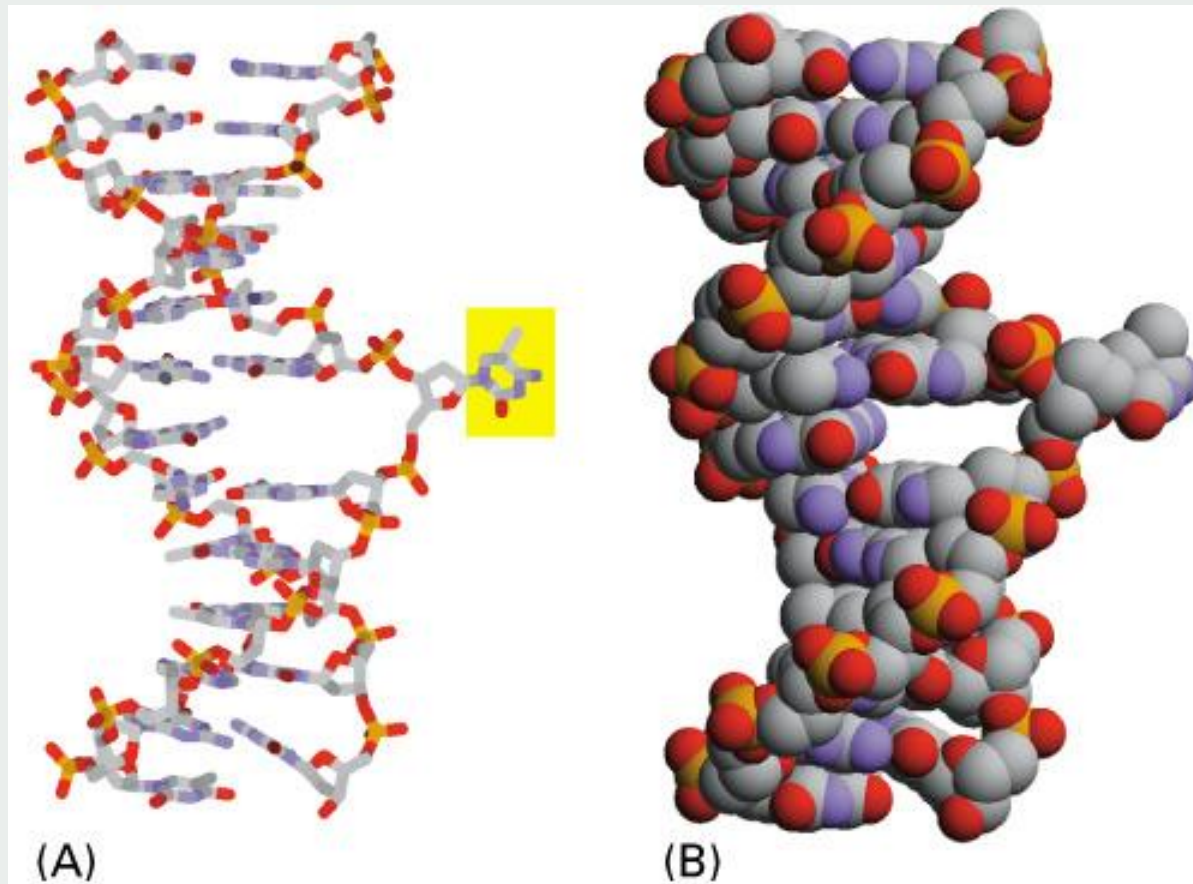
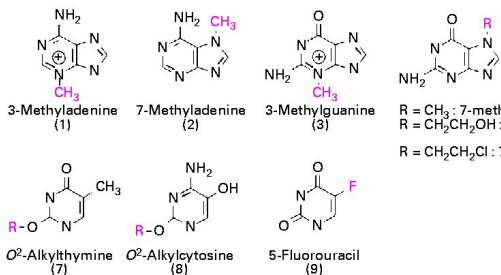
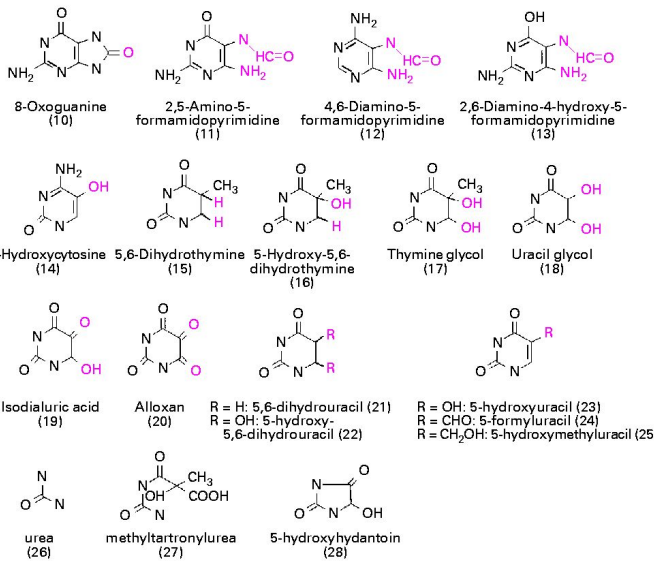
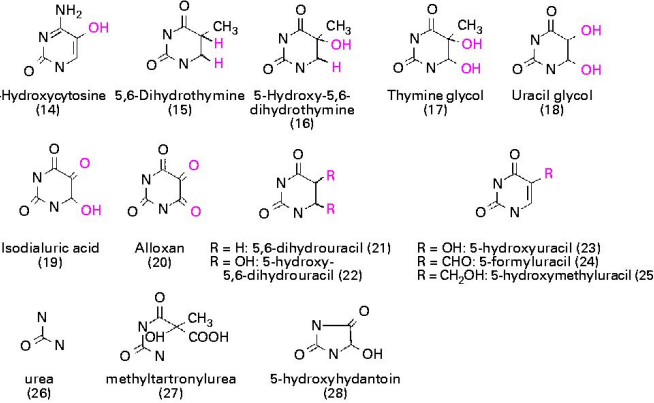
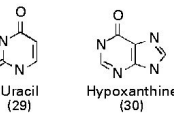
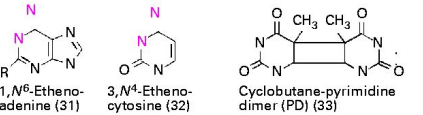
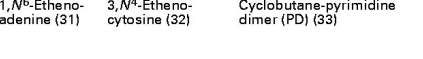


Figure 5-51. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Репарация ДНК (ДНК-гликозилазы)

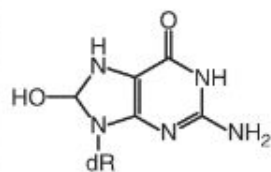
Alkylated and halogenated bases		Enzyme	Source/gene	Reported DNA substrates	β -Lyase activity
 3-Methyladenine (1) 7-Methyladenine (2) 3-Methylguanine (3) R = CH₃: 7-methylguanine (4) R = CH₂CH₂OH: 7-hydroxyethyl-guanine (5) R = CH₂CH₂Cl: 7-chloroethyl-guanine (6) O²-Alkylthymine (7) O²-Alkylcytosine (8) 5-Fluorouracil (9)		Uracil-DNA glycosylases (UDGs)	Viral Bacterial (<i>ung</i>) <i>S. cerevisiae</i> (<i>UNG1</i>) Plants Human (<i>UNG</i>)	29 9, 19, 23, 29 29 19, 20, 23,	No No No No No
Oxidized and ring-fragmented bases		G/T(U)mismatch-DNA glycosylases	<i>M. thermoautotrophicum</i> Insects Human	, G/G, A/G, T/C, U/C 29 T, 29	No No No
 8-Oxoguanine (10) 2,5-Amino-5-formamidopyrimidine (11) 4,6-Diamino-5-formamidopyrimidine (12) 2,6-Diamino-4-hydroxy-5-formamidopyrimidine (13) 5-Hydroxycytosine (14) 5,6-Dihydrothymine (15) 5-Hydroxy-5,6-dihydrothymine (16) Thymine glycol (17) Uracil glycol (18) Isodialuric acid (19) Alloxan (20) R = H: 5,6-dihydrouracil (21) R = OH: 5-hydroxyuracil (23) R = OH: 5-hydroxy-5,6-dihydrouracil (22) R = CHO: 5-formyluracil (24) R = CH₂OH: 5-hydroxymethyluracil (25) urea (26) methyltartronylurea (27) 5-hydroxyhydantoin (28)		Alkylbase-DNA glycosylases	<i>E. coli</i> (<i>tag</i>) <i>E. coli</i> (<i>alkA</i>) <i>S. cerevisiae</i> (<i>MAG</i>) <i>S. pombe</i> (<i>mag1</i>) <i>A. thaliana</i> (<i>MPG</i>) Rodent/human (<i>MPG</i>)	, 3 -8, 24, 25, 30-32 (G, A) -6, 30, 31 1 1 -6, 10, 30, 31	No No No ? ? No
 5-Methylcytosine (14) Adenine-specific mismatch-DNA glycosylases DNA glycosylases removing oxidized pyrimidines (EndoIII-like) EndoVIII EndoIX Hydroxymethyl-DNA glycosylase Formyluracil-DNA glycosylase		5-Methylcytosine-DNA glycosylase	Chick Human	5-MeC, T in G/T	No No
 Uracil (29) Hypoxanthine (30)		Adenine-specific mismatch-DNA glycosylases	<i>E. coli</i> (<i>mutY</i>) Bovine, human (<i>MYH</i>)	A in G/A, A in , 10/A, C/A	Yes/no Yes?
 1,N⁶-Etheno-adenine (31) 3,N⁴-Etheno-cytosine (32) Cyclobutane-pyrimidine dimer (PD) (33)		DNA glycosylases removing oxidized purines	<i>E. coli</i> (<i>fpg</i>) <i>S. cerevisiae</i> (<i>OGG1</i>) <i>S. cerevisiae</i> (<i>OGG2</i>) <i>D. melanogaster</i> S3	10-13 10 (opposite or T) 10 (opposite or A) 10	Yes Yes Yes Yes
 T4 <i>M. luteus</i> (<i>pdg</i>) <i>N. mucosa</i>		Pyrimidine-dimer-DNA glycosylases	T4 <i>M. luteus</i> (<i>pdg</i>) <i>N. mucosa</i>	, 12 33 33	Yes Yes Yes



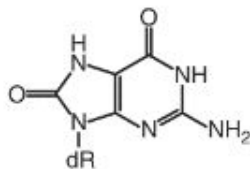
Основные типы повреждений, которые удаляются посредством BER (большая часть не блокирует репликацию)

- Окисленные основания, в том числе 8-окси-G, который спаривается с A, вызывая GC --> TA трансверсии
- Дезоксиурацил
- Различные продукты алкилирования оснований (например, 3-meA)
- Спонтанно возникающие апуриновые сайты

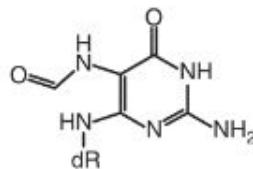
Репарация ДНК (субстраты BER)



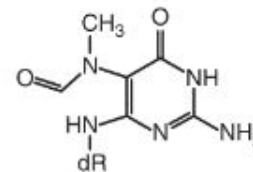
8-OHG



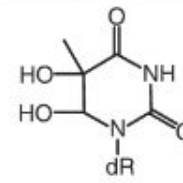
oxoGua



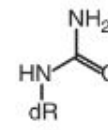
FapyGua



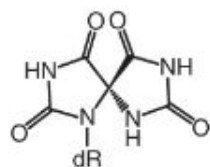
mFapyGua



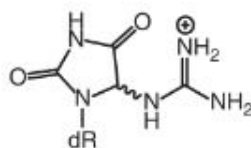
Tg



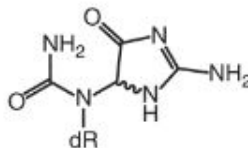
urea



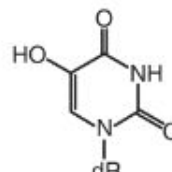
Sp



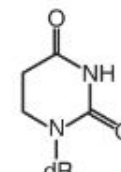
Gh



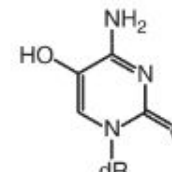
Ia



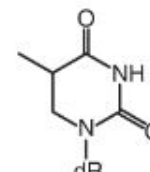
5-OHU



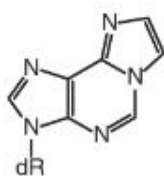
DHU



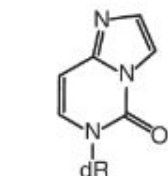
5-OHC



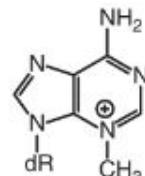
DHT



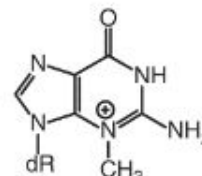
1,N⁶-εA



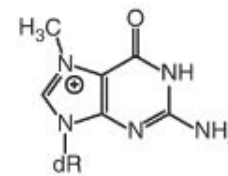
3,N⁴-εC



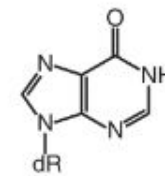
3mAde



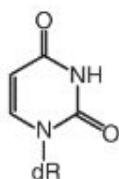
3mGua



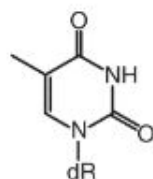
7mGua



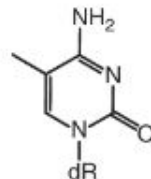
Hx



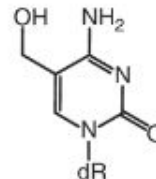
Ura



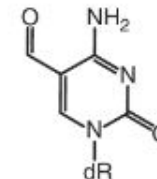
Thy



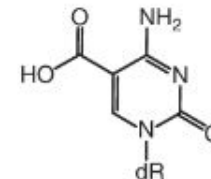
5mCyt



5hmCyt

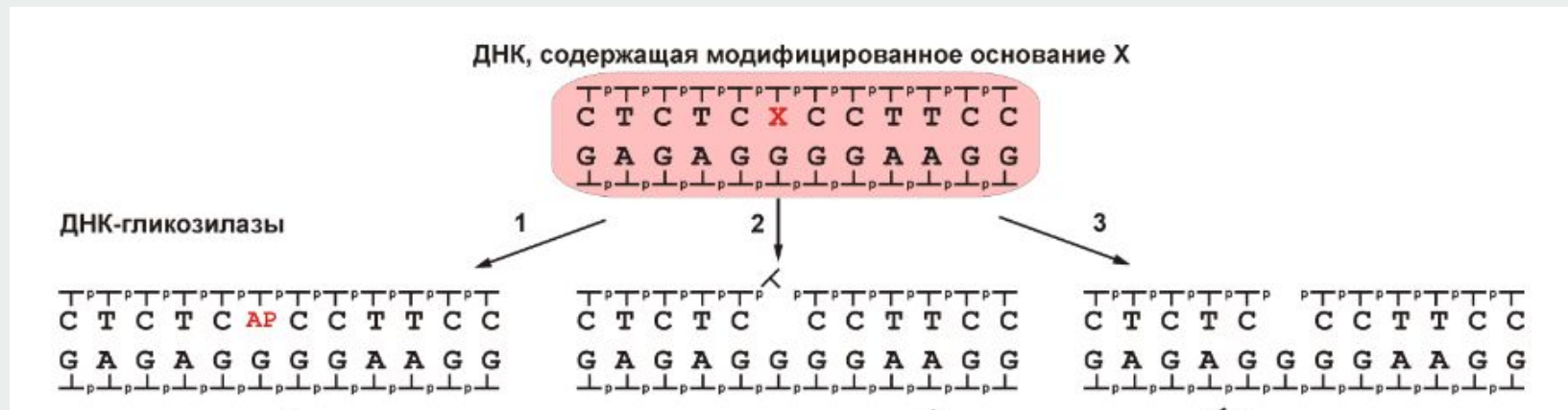


5fCyt



5caCyt

Репарация ДНК (BER)

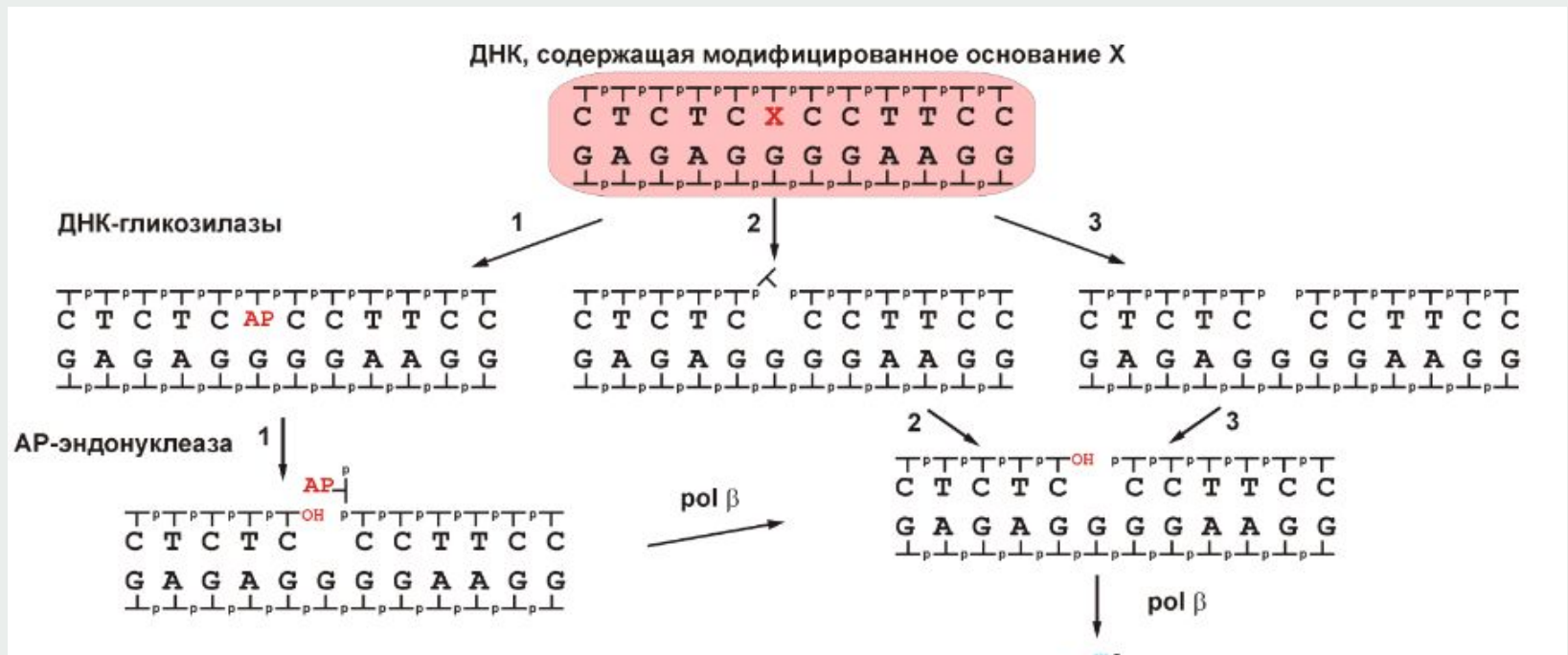


Монофункциональные ДНК-гликозилазы расщепляют N-гликозидную связь с модифицированным основанием и приводят к образованию AP-сайта.

Бифункциональные ДНК-гликозилазы кроме расщепления N-гликозидной связи с модифицированным основанием способны удалять 3'-фосфатную группу путем бета-элиминирования, образуя в ДНК одноцепочечный разрыв.

Некоторые бифункциональные ДНК-гликозилазы способны осуществлять вторую реакцию бета-элиминирования, приводящую к разрыву связи с 5'-фосфатной группой.

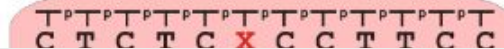
Репарация ДНК (BER)



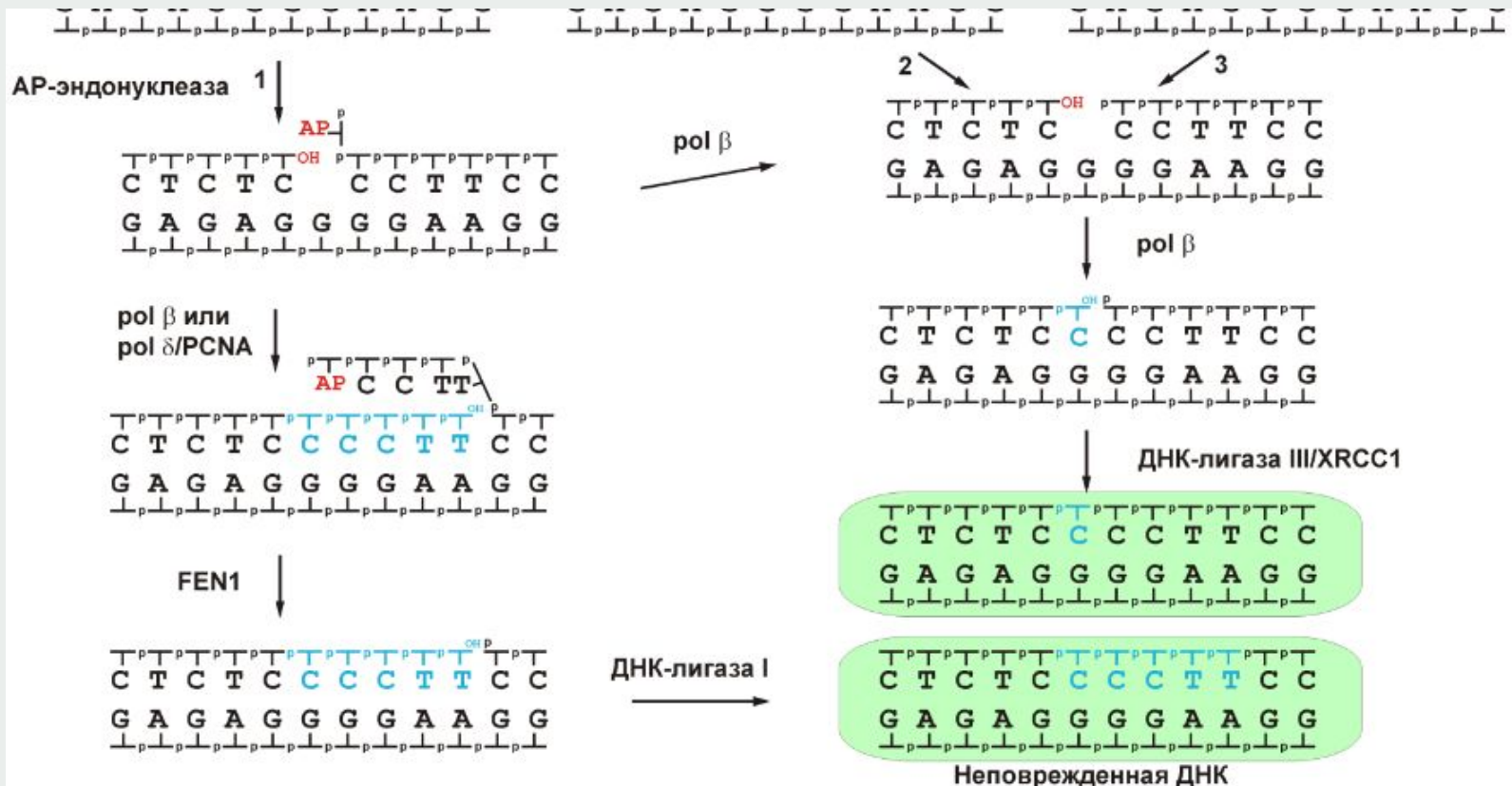
Все три варианта продуктов ДНК-гликозилаз являются субстратами апуриновой/апириимидиновой эндонуклеазы, которая путем гидролиза фосфодиэфирной связи, расположенной с 5'-стороны от AP-сайта, вносит разрыв в рибозофосфатный остов, либо удаляет оставшийся дезоксирибофосфатный остаток, или фосфатную группу. В результате действия AP-эндонуклеазы на 3'-конце разрыва образуется гидроксильная группа.

Репарация ДНК (BER)

ДНК, содержащая модифицированное основание X



На следующих этапах по этому 3'-концу происходит присоединение комплементарного нуклеотида репарационными ДНК-полимеразы, и, затем, ДНК-лигаза заканчивает процесс, восстанавливая целостность дезоксирибофосфатного остова.

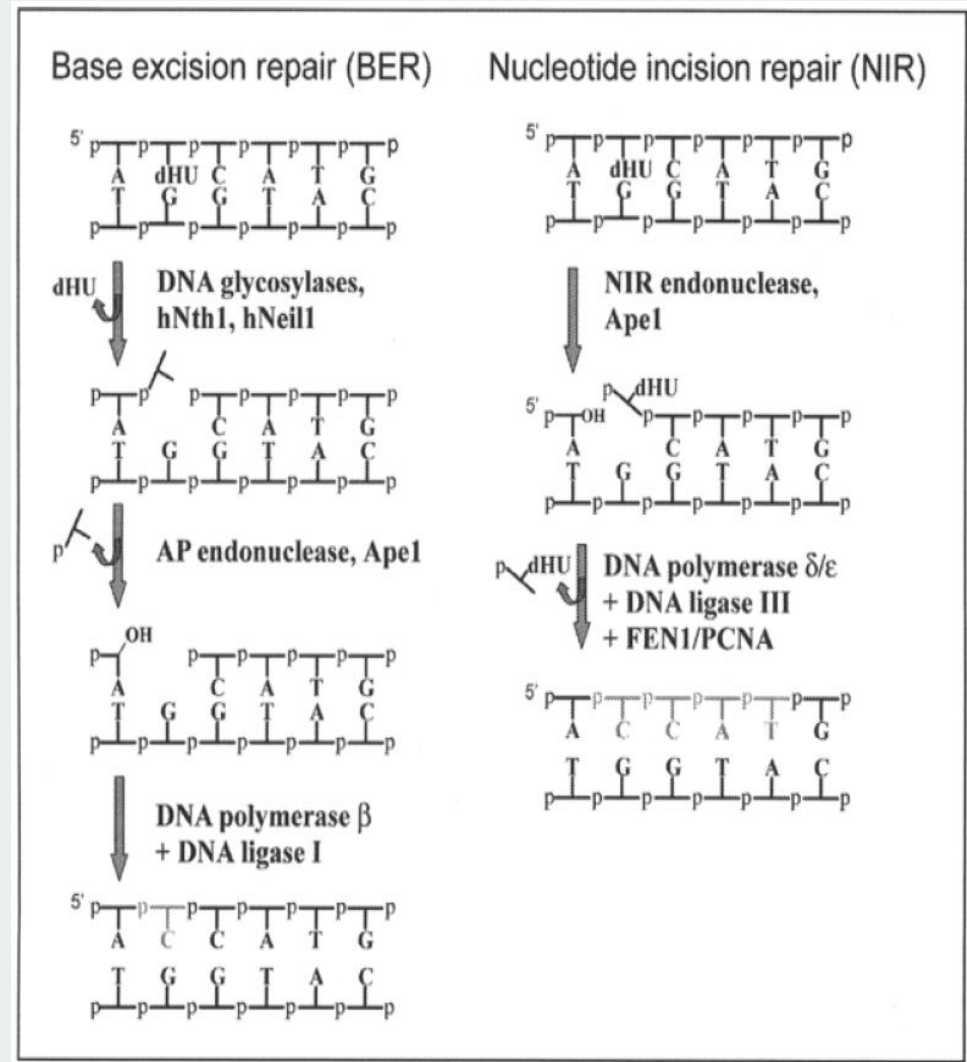


Репарация ДНК (NIR)

Некоторые AP эндонуклеазы (например, APE1) могут работать как сенсор повреждений. Помимо AP сайтов они узнают ряд других повреждений, в том числе окисленные основания.

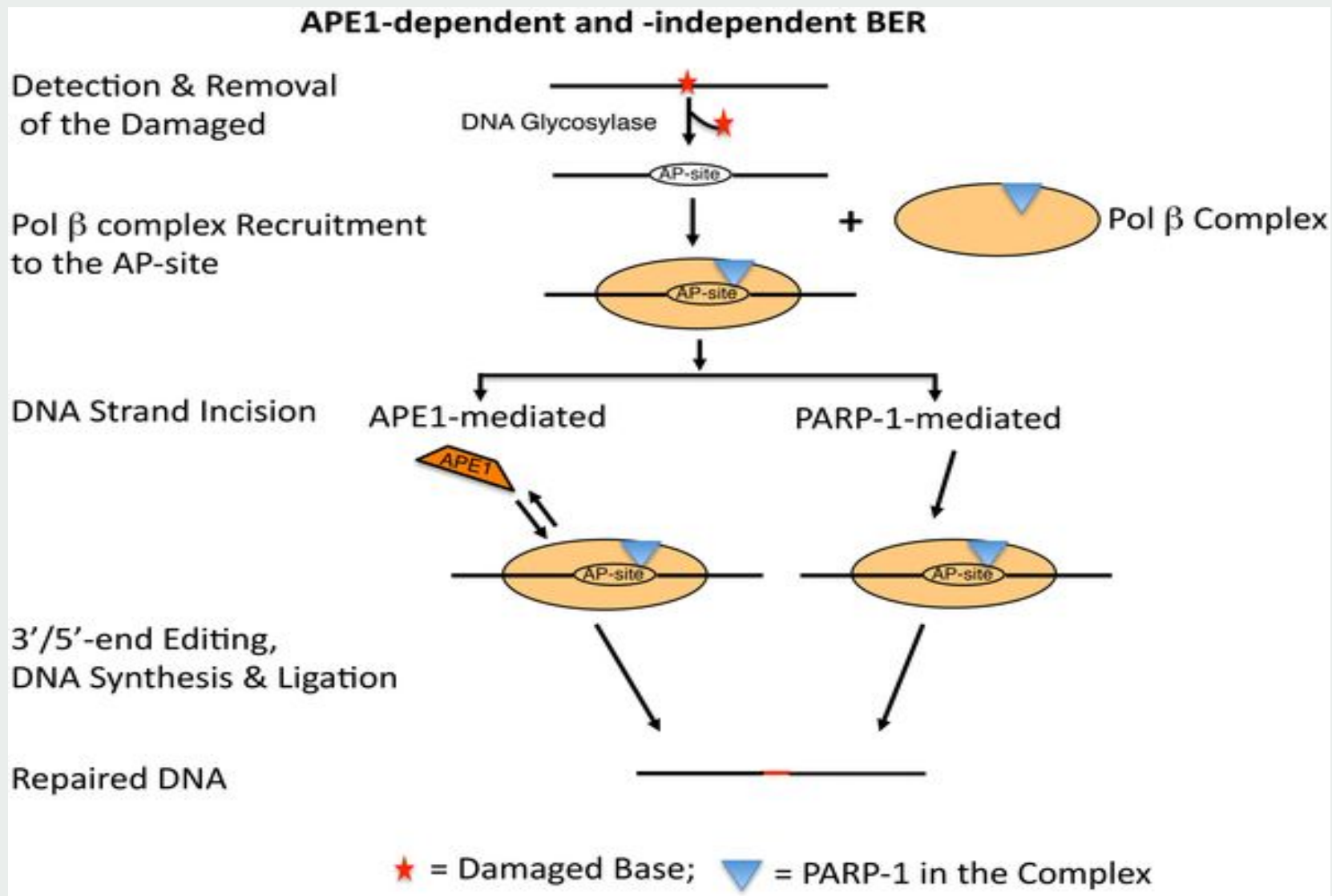
Эта активность важна для альтернативного пути репарации единичных повреждений (nucleotide incision repair, NIR).

Преимущество: нет апуринового сайта, который сам по себе может быть опасным для клетки

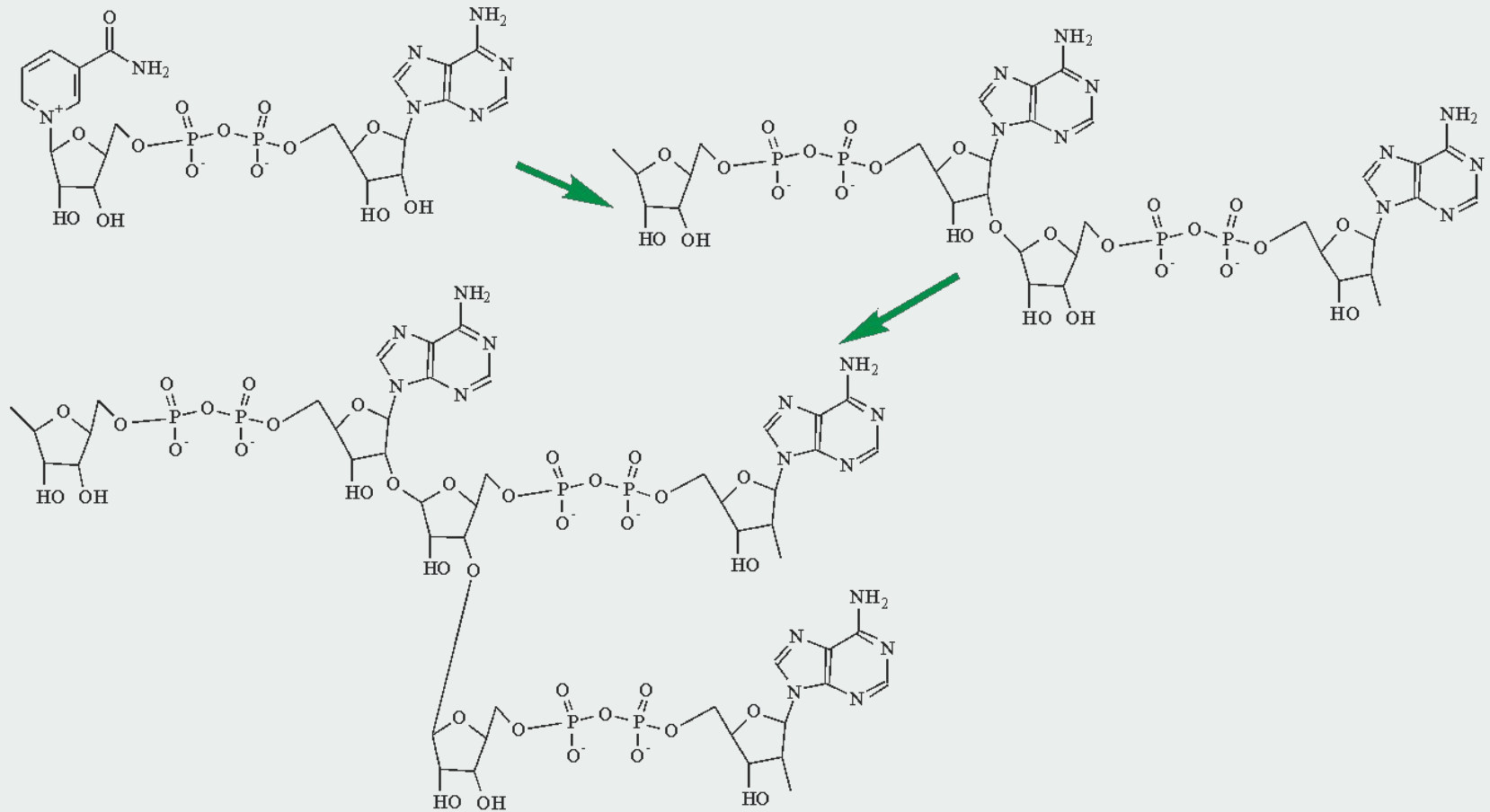


Репарация ДНК (BER)

роль белка PARP1 (Поли(АДФ-рибоза)-полимераза 1)

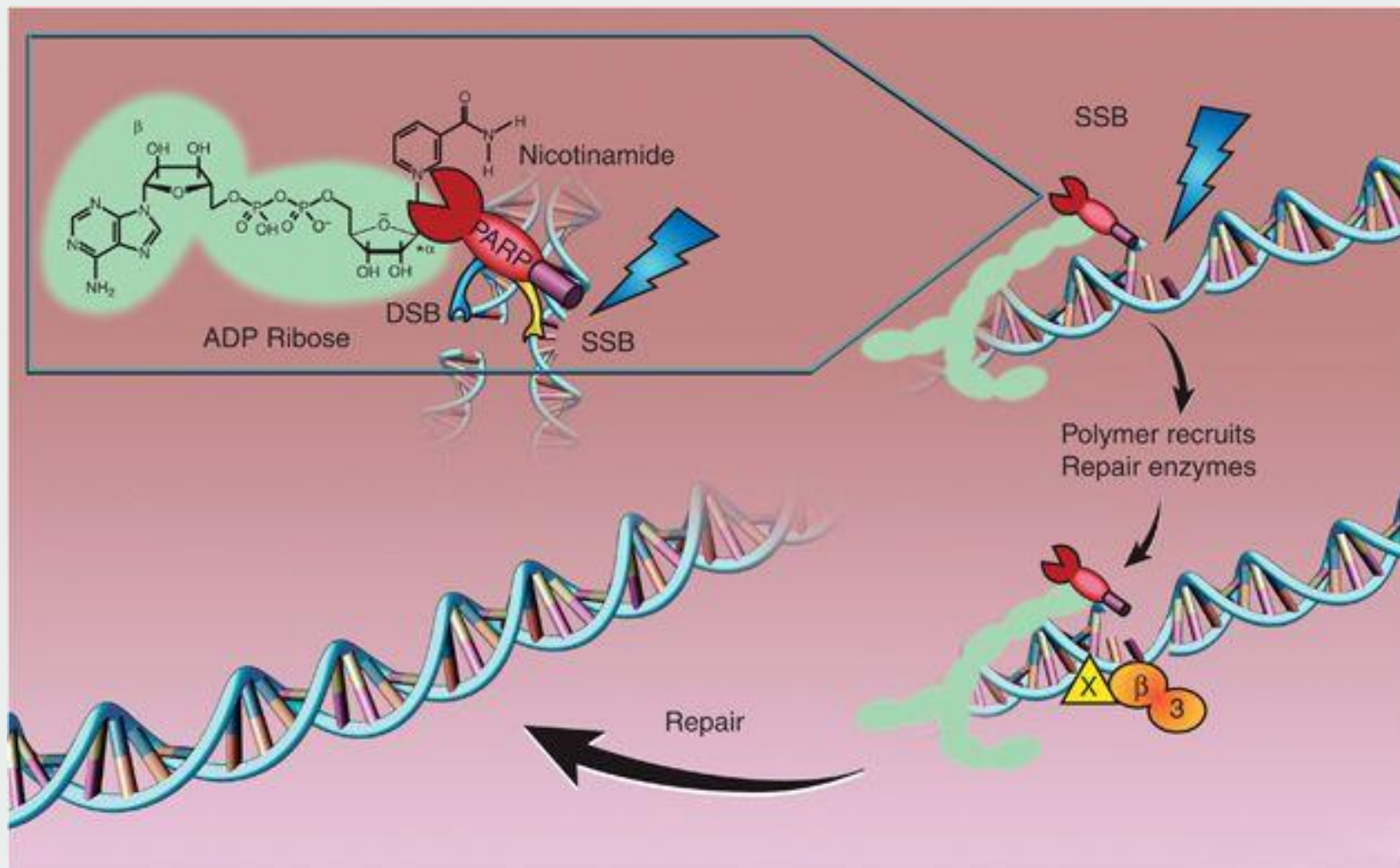


Поли(АДФ-рибоза)-полимеразы катализируют поли-АДФ-рибозилирование



Репарация ДНК

роль белка PARP1



Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)



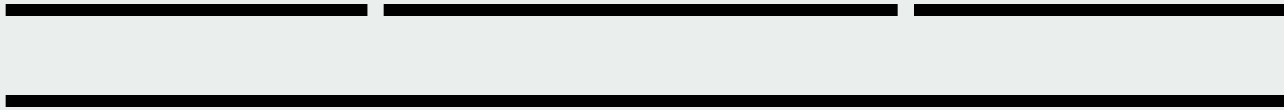
Репарация ДНК (NER)

Используется для коррекции «серьезных» повреждений, которые блокируют репликацию (например, у человека – тиминовые димеры).

1. Специальные белки узнают поврежденные участки ДНК и привлекают специальные нуклеазы, которые вносят разрывы *на некотором расстоянии перед повреждением и на некотором расстоянии после него.*

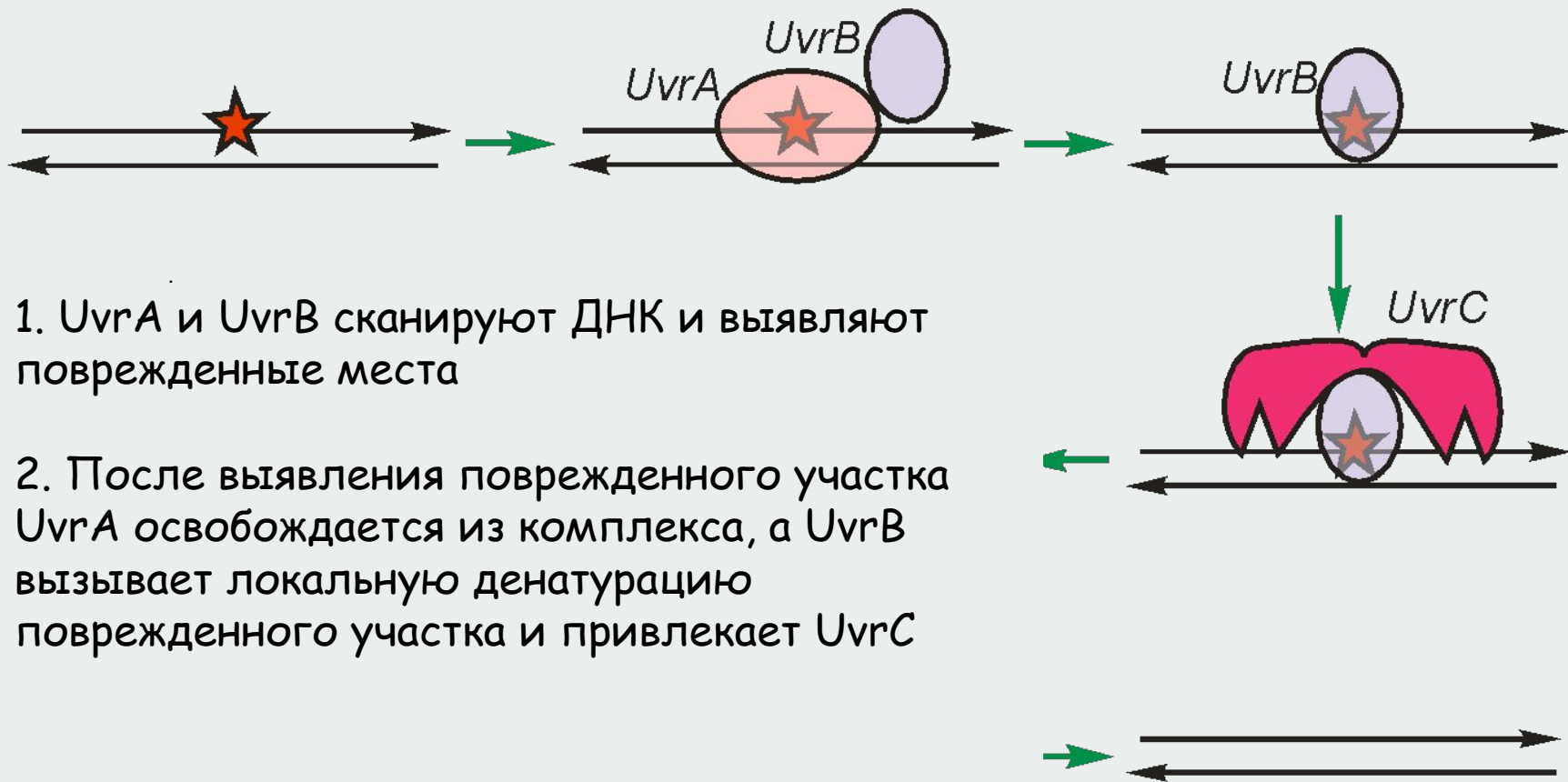
2. Фрагмент ДНК, содержащий повреждение, удаляется, и образовавшаяся брешь застраивается ДНК полимеразой

Репарация ДНК (NER)



Репарация ДНК

NER в клетках *E. Coli* : UvrA, UvrB, UvrC, UvrD



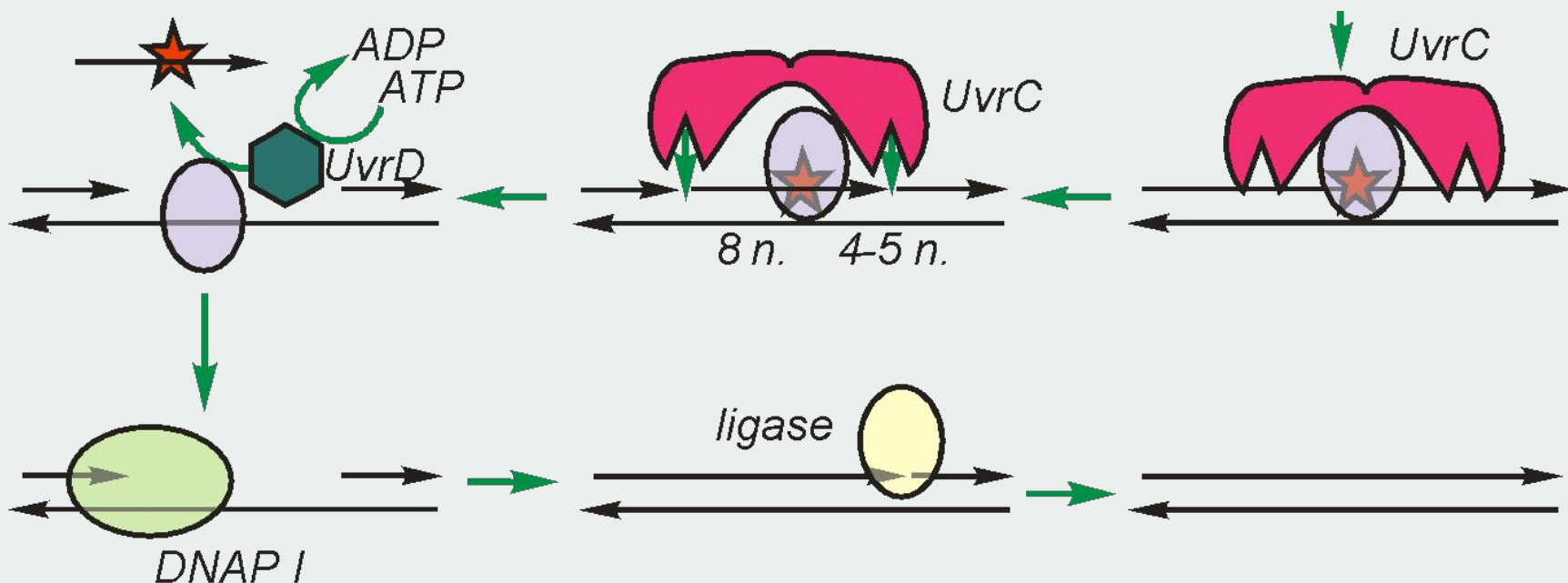
Репарация ДНК

NER в клетках *E. Coli* : UvrA, UvrB, UvrC, UvrD

3. Комплекс UvrBC вносит односторонние разрывы с 5'- и 3'- конца от повреждения.

4. DNA-хеликаза UvrD обеспечивает удаление из дуплекса фрагмента ДНК, содержащего повреждение.

5. DNA Pol I застраивает брешь и лигаза «зашивает» односторонний разрыв.





Репарация ДНК

NER в клетках *E. Coli* : UvrA, UvrB, UvrC, UvrD

Практически вся эксцизионная репарация в клетках *E.coli* проходит за счет UvrABC

В 99% случаев длина «заплатки» 12 н.о. -
ремонт короткими «заплатками»

1% - примерно 1500 н.о. (бывает > 9000 н.о.) -
ремонт длинными «заплатками»

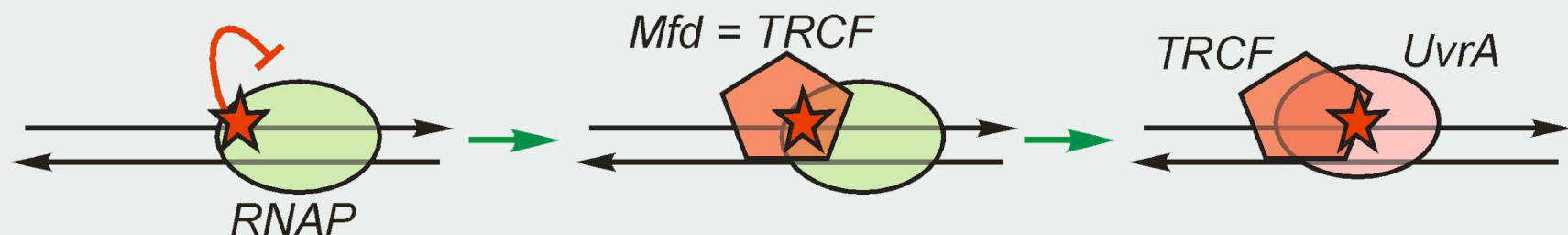
Репарация ДНК

NER в клетках *E. Coli* : UvrA, UvrB, UvrC, UvrD

При повреждении ДНК в первую очередь репарируются транскрибируемые участки:

Белок Mfd (TRCF)

1. распознает остановившуюся РНК-полимеразу,
2. вытесняет ее из комплекса
3. привлекает на место повреждения UvrAB



Mutation Frequency Decline (Mfd)
= Transcription Repair Coupling Factor (TRCF)

Репарация ДНК

NER в эукариотических клетках

Основной принцип NER в клетках эукариот такой же, как и в бактериальных: репарируются крупные повреждения, полученные под действием УФ-света, сшивающих агентов, химических канцерогенов, путем вырезания фрагмента ДНК

Два пути NER:

1. Система глобальной геномной репарации (GG-NER)
2. Репарация ДНК, связанная с транскрипцией (TC-NER)

Нарушения работе NER ведут к серьезным заболеваниям.

Пигментная ксеродерма (Xeroderma Pigmentosum) (XP)

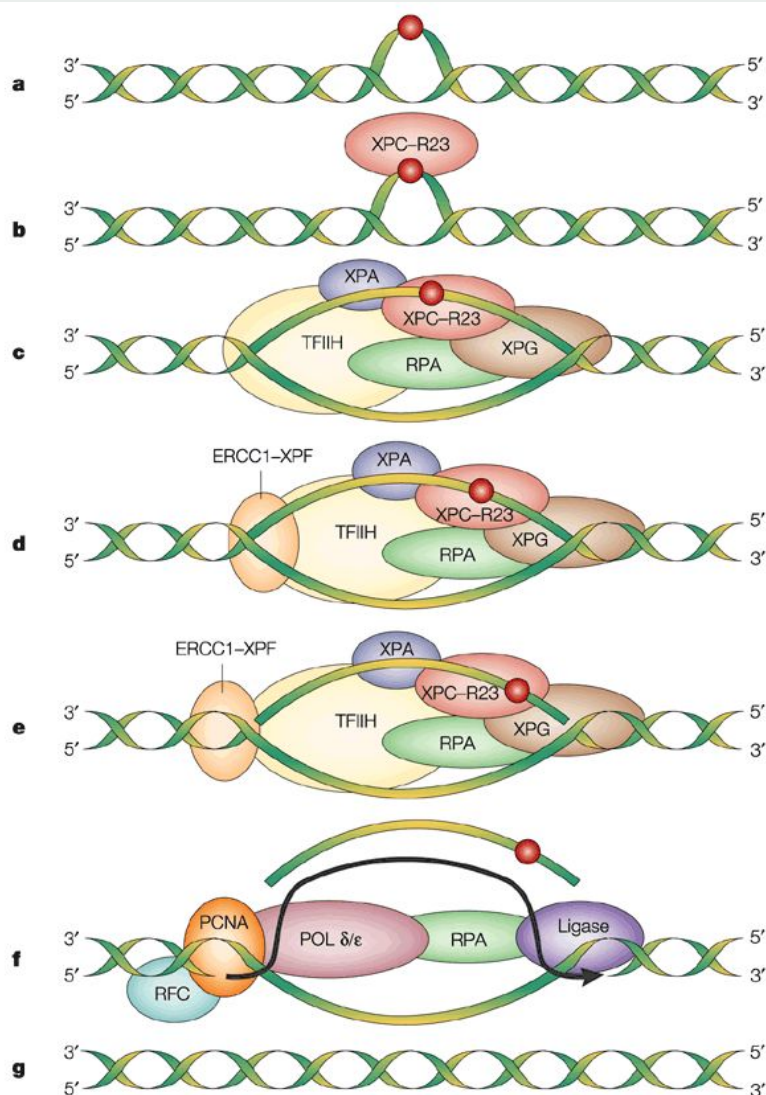
рецессивное заболевание, семь генов (XPA-XPG)

1-4 случая на 1 000 000 человек

чувствительность к солнечному свету, особенно к УФ,
дефекты в работе ранних этапов NER

Репарация ДНК

GG-NER в эукариотических клетках



а, б) Белок XPC в комплексе с HR23B и цетрином 2 распознает повреждение

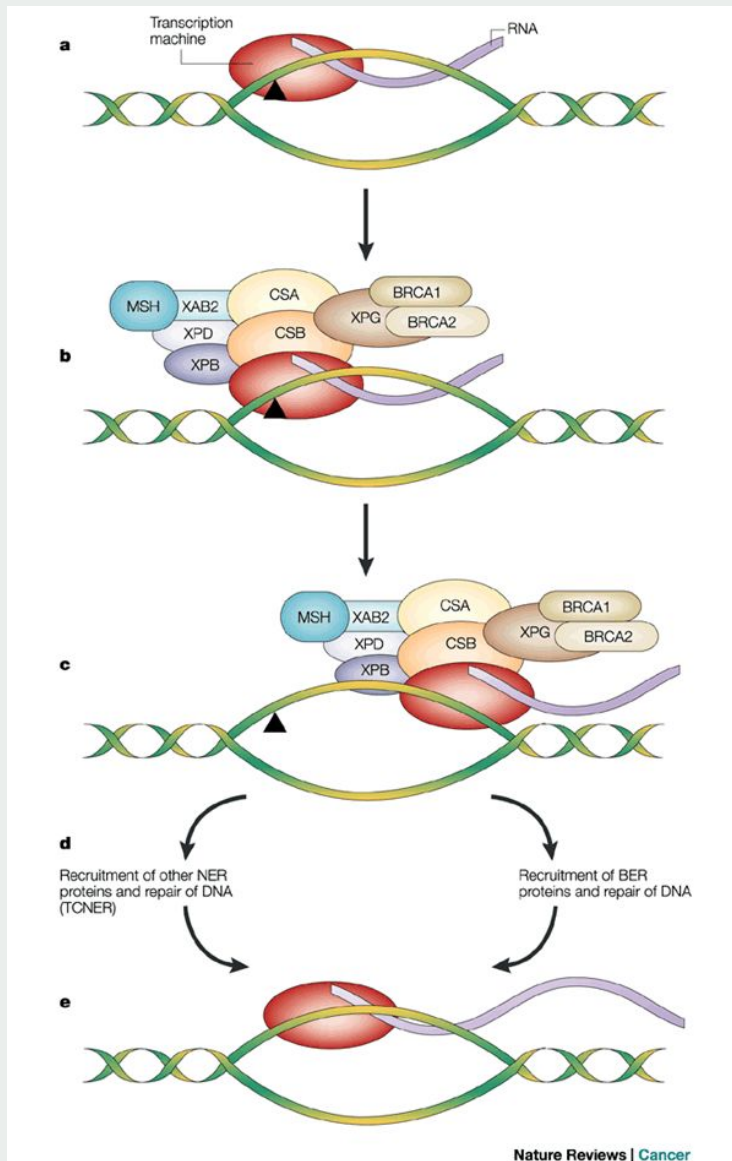
с) и привлекает фактор транскрипции TFIIH, который за счет хеликазной активности расплетает двойную спираль ДНК. TFIIH - большой комплекс, в состав которого входят XPB (хеликаза и АТФ-аза, расплавляет промотор при транскрипции) и XPD (хеликаза, необходимая для репарации)

д, е) Эндонуклеазы XPG (=FEN1) и XPF вносят разрывы с двух сторон

ф) поврежденный участок (25-30 нуклеотидов) замещается за счет синтеза. Одноцепочечный разрыв зашивает лигаза.

Репарация ДНК

TC-NER в эукариотических клетках



а) Транскрипционный комплекс остановился на повреждении. TFIIH уже в его составе, поэтому репарация транскрибируемых участков идет с большей эффективностью

б, с) Белки CSA и CSB распознают такую остановку и освобождают поврежденное место от полимеразы

д) Выбор пути репарации

е) Возвращение полимеразы и продолжение транскрипции

Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)



Репарация ДНК (MMR)

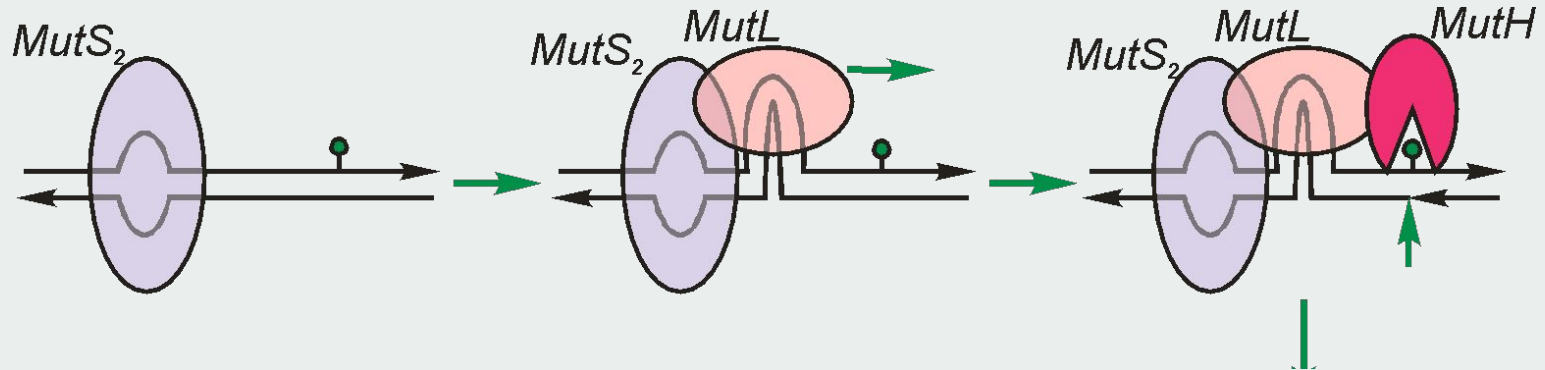
ДНК полимеразы (даже те, у которых есть корректирующая активность) все равно делают ошибки, которые надо исправлять

Система репарации ошибок репликации должна

1. Быстро находить ошибки
2. Различать родительскую и новосинтезированную цепь с тем, чтобы в неспаренном участке заменить ошибочно включенный нуклеотид

Репарация ДНК (MMR)

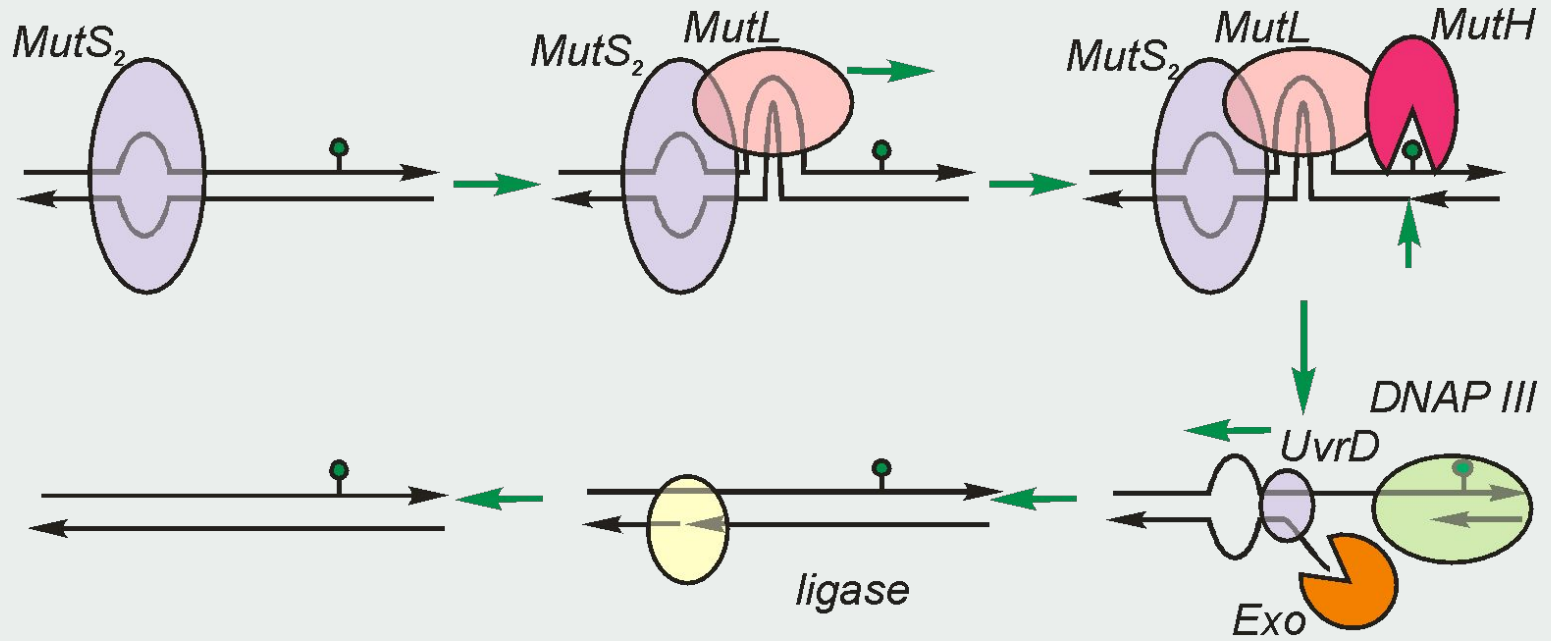
В клетках *E. Coli*



1. MutS₂ сканирует ДНК. Ошибки индуцируют нарушения в правильной структуре двойной спирали.
2. Найдя ошибку, MutS₂ изменяет конформацию, что закрепляет его на цепи ДНК.
3. В комплекс привлекается 2 молекулы MutL. MutS₂L₂ протягивает ДНК до обнаружения метилированного сайта GATC
4. Узнавание метилированного GATC заставляет эндонуклеазу MutH связаться с MutS₂L₂.

Репарация ДНК (MMR)

В клетках *E. Coli*



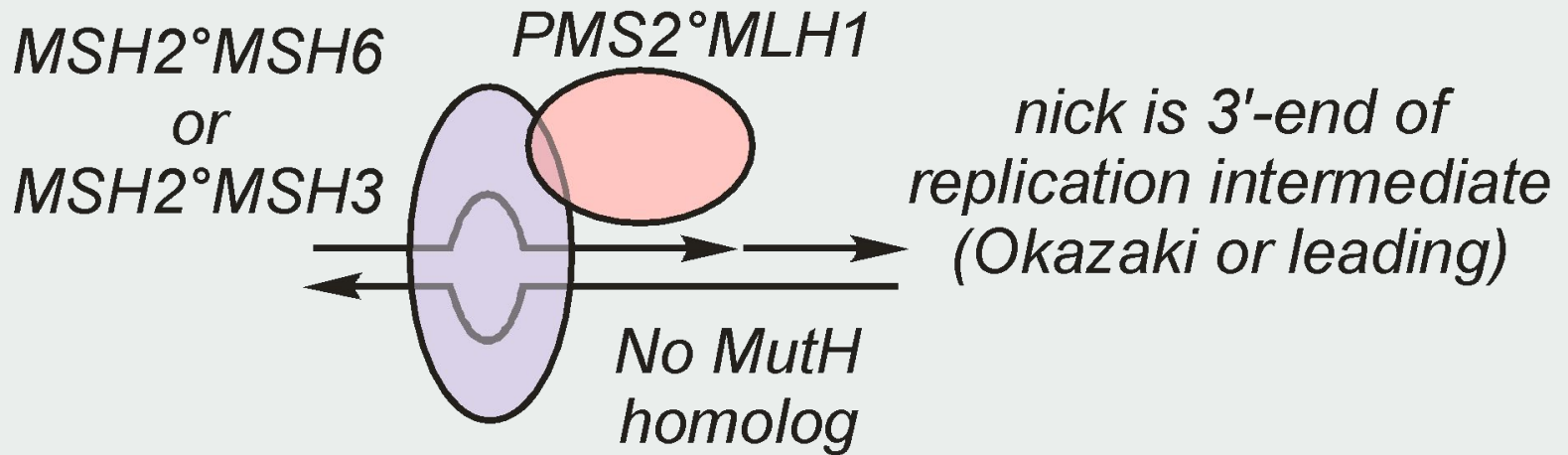
5. MutH разрезает неметилированную цепь.

6. Фрагмент ДНК от сайта метилирования до ошибочного основания вырезается экзонуклеазами при поддержке хеликазы UvrD

7. ДНК-полимераза III застраивает брешь, лигаза зашивает одноцепочечный разрыв.

Репарация ДНК (MMR)

В клетках эукариот



гомологи MutS (MSH — **MutS** homolog) образуют два гетеродимерных комплекса

-- MSH2-MSH6 (MutS α) узнает неспаренные нуклеотиды и короткие «инделлы»

-- MSH2-MSH3 (MutS β) узнает длинные «инделлы»



Репарация ДНК (MMR)

Эксперименты по связыванию с ДНК *in vitro* и репарации гетеродуплексов *in vivo* показали, что MMR узнает все комбинации неспаренных оснований, кроме C:C, а также короткие <4 п.н. делеции и инсерции («инделы»)

Неправильные пары G:T and A:C и инсерции/делеции в 1 п. особенно хорошо узнаются. Эти нарушения являются наиболее частыми ошибками ДНК-полимераз



Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)



Репарация ДНК

SOS ответ в клетках E.coli

Прежде всего об остановке репликации надо сообщить

Rec A

Связывается с однонитевой ДНК и образует ДНК-белковые филаменты
Однонитевые участки ДНК образуются при остановке репликативных вилок
Участвует в рекомбинации и индукции SOS ответа

Lex A (репрессор)

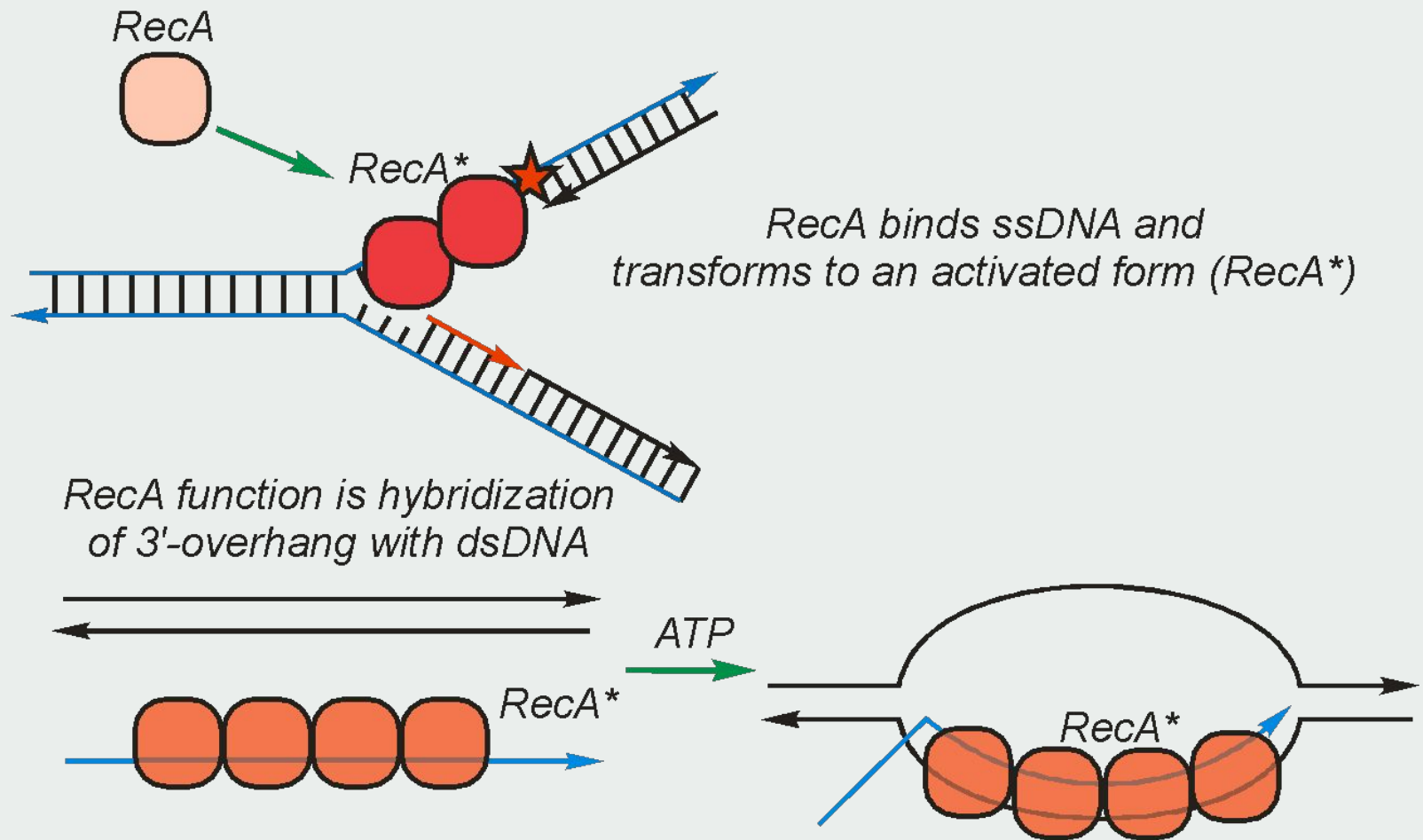
Мастер-регулятор транскрипции генов, кодирующих участвующие в репарации повреждений ДНК белки (31 ген или более)

Димеры Lex A связываются с SOS боксами (20 п.н. консенсусы) в операторах генов репарации и ингибируют транскрипцию

Репарация ДНК

SOS ответ в клетках E.coli

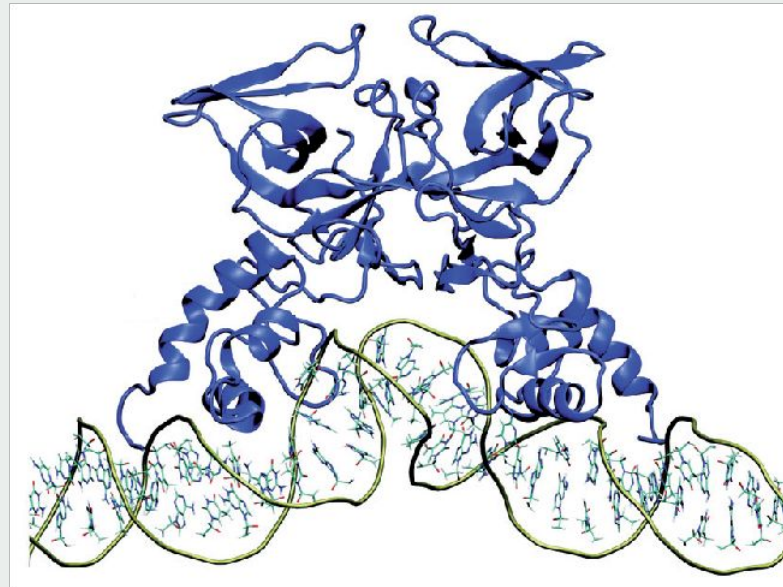
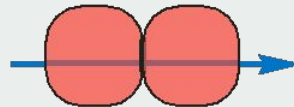
Прежде всего об остановке репликации надо сообщить



Репарация ДНК

SOS ответ в клетках E.coli

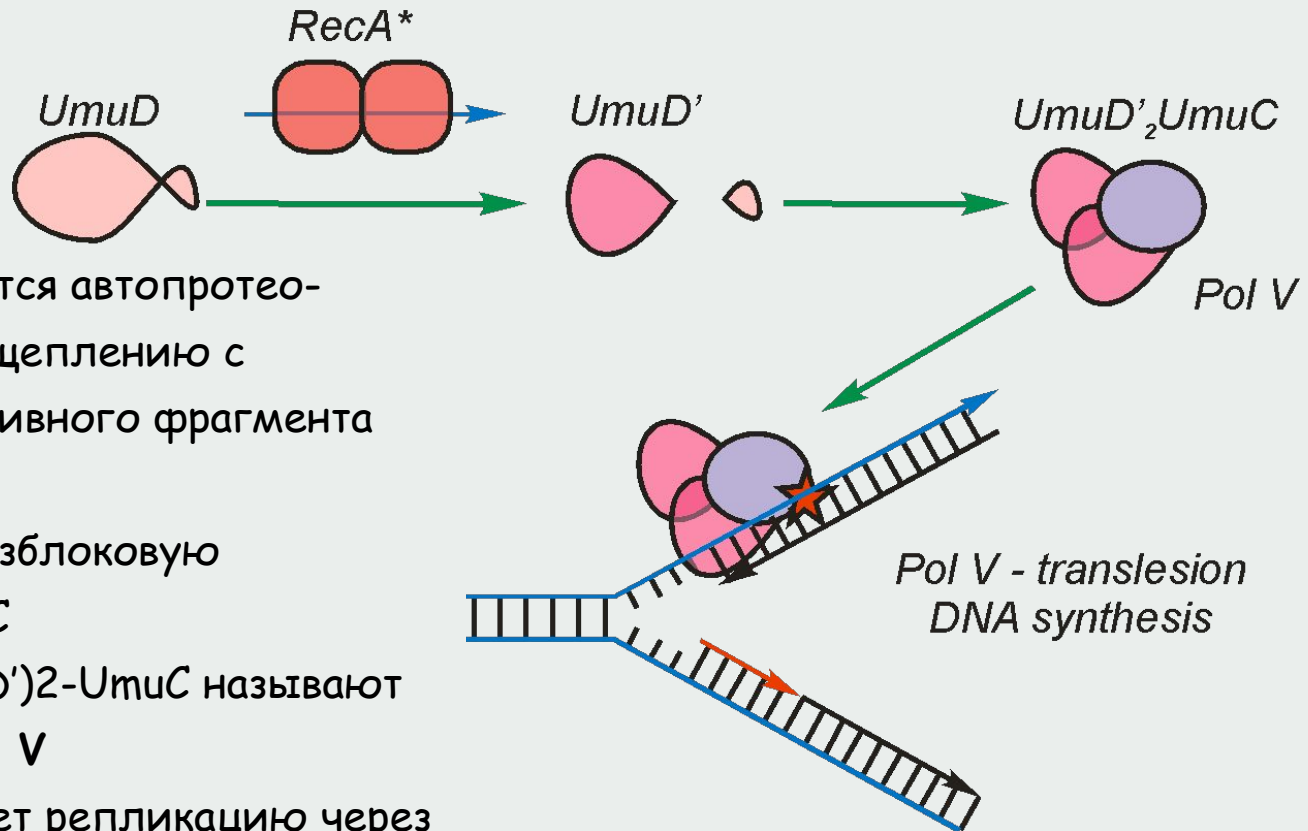
Активированный RecA* разрезает LexA



Репарация ДНК

SOS ответ в клетках E.coli

Среди прочих в ответ на индукцию SOS-ответа синтезируется ДНК-полимераза V, способная синтезировать ДНК через повреждения

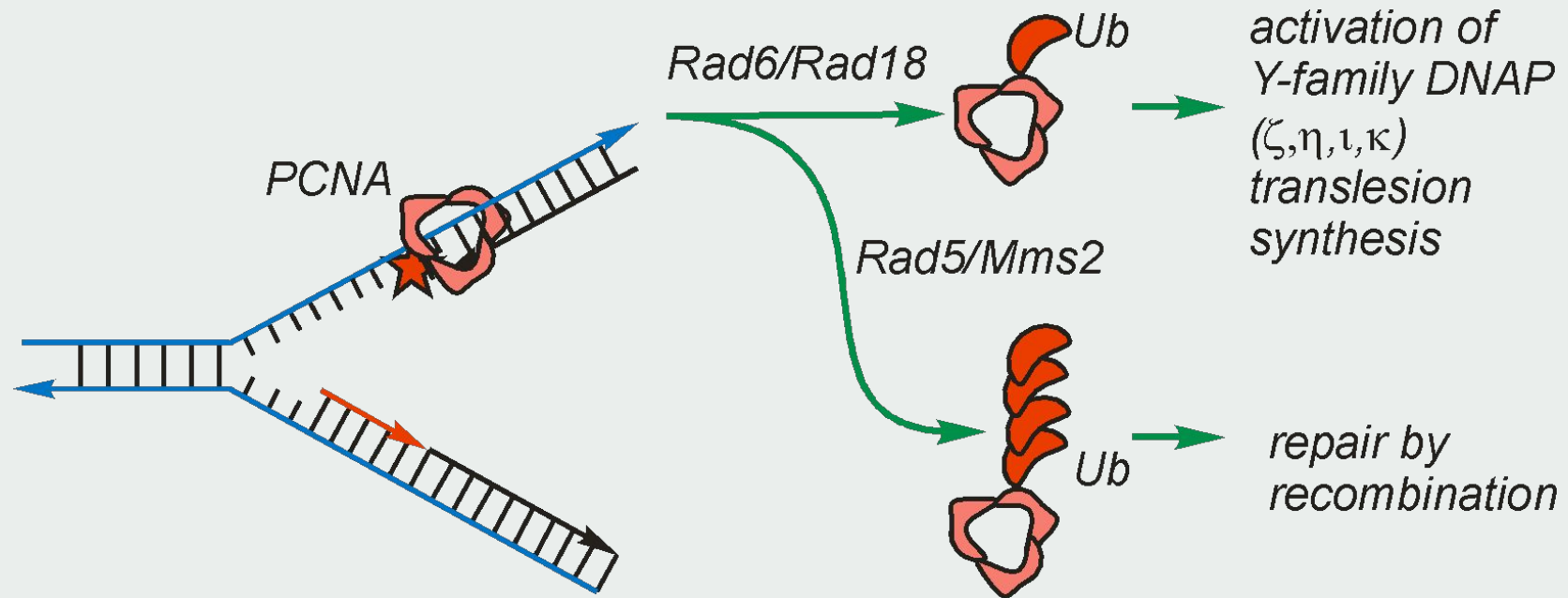


- *UmuD* подвергается автопротеолитическому расщеплению с образованием активного фрагмента *UmuD'*, который
- активирует черезблочную полимеразу *UmuC*
- комплекс (*UmuD'*)₂-*UmuC* называют **ДНК полимеразой V**
- она осуществляет репликацию через AP сайты, тимидиновые димеры и ряд других повреждений

Репарация ДНК

SOS ответ в клетках эукариот

В эукариотических клетках система синтеза ДНК через повреждения активируется в остановившейся репликативной вилке моноубиквитинированием PCNA

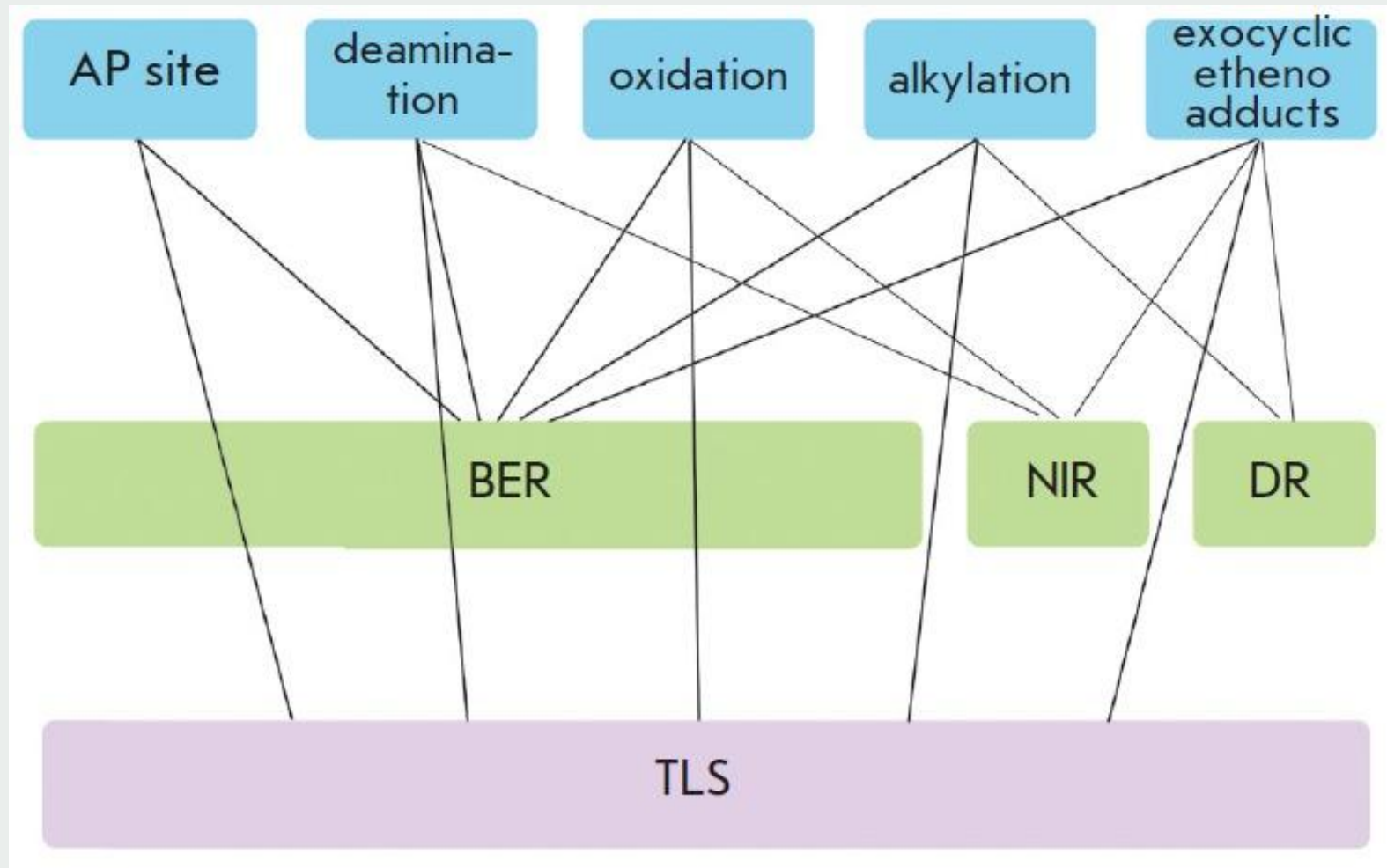


Эукариотические ДНК полимеразы

Greek Name	Human Name	Yeast Name	Proposed Function
α	POLA	<i>POL1</i>	Replication
β	POLB	—	BER; ss break repair
γ	POLG	<i>MIP1</i>	Mitochondrial replication; Mt BER
δ	POLD1	<i>POL3</i>	Replication
ϵ	POLE	<i>POL2</i>	Replication
ζ	POLZ	<i>REV3</i>	Bypass synthesis
η	POLH	<i>RAD30</i>	Bypass synthesis
θ	POLQ	—	Bypass synthesis
ι	POLI	—	Bypass synthesis (?)
κ	POLK	—	Bypass synthesis
λ	POLL	<i>POL4</i>	NHEJ
μ	POLM	—	NHEJ (?)
ν	POLN	—	Bypass synthesis
—	REV1	<i>REV1</i>	Bypass synthesis

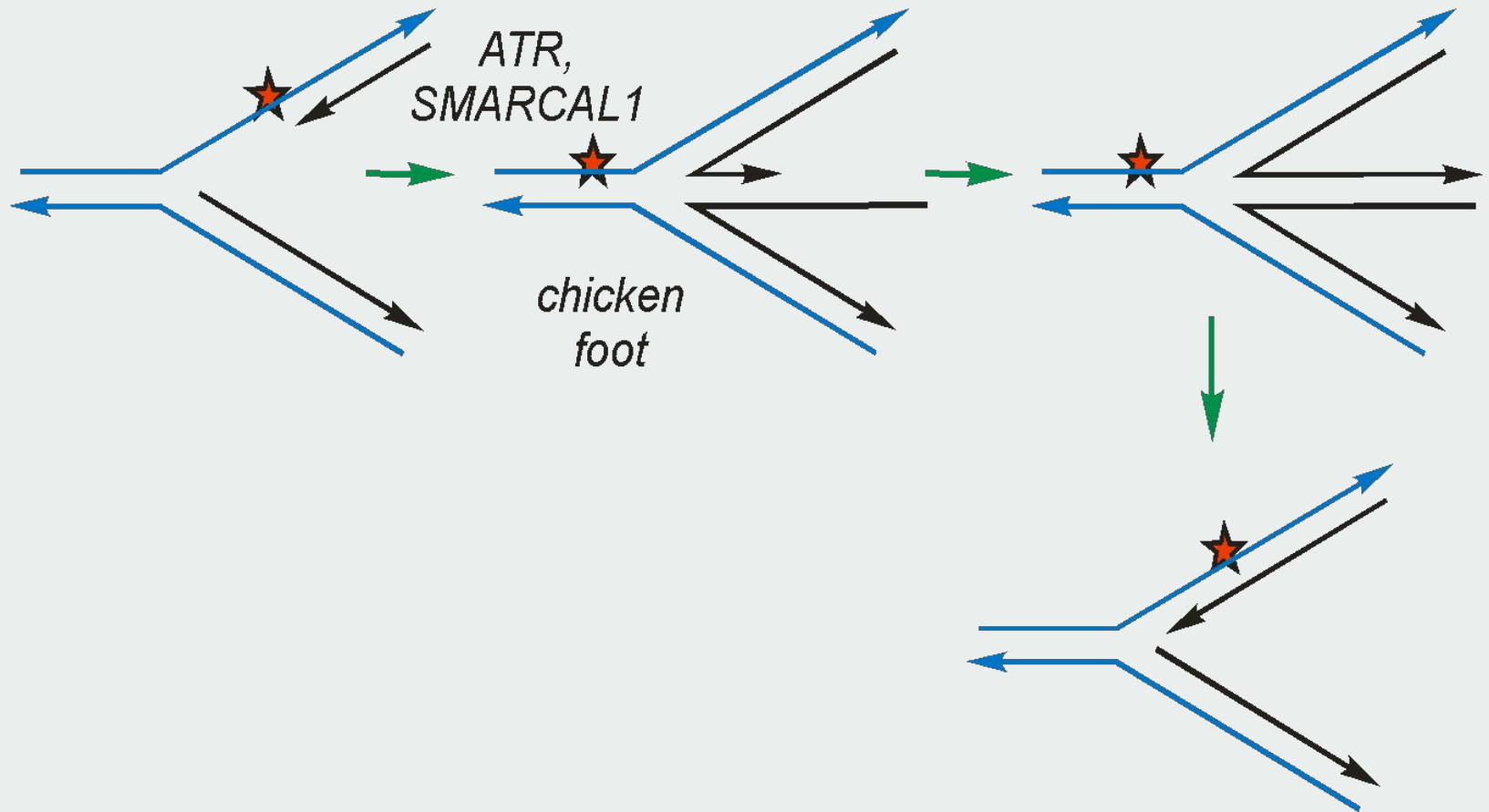
AP сайты
(встраивает A)

Различные системы репарации могут до известной степени заменять друг друга



Репарация ДНК

Еще один способ обхода препятствия - посредством смены матричных цепей (продолжение репликации с сохранением ошибки в одной из родительских цепей)





Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)



Репарация ДНК

Репарации при помощи рекомбинации

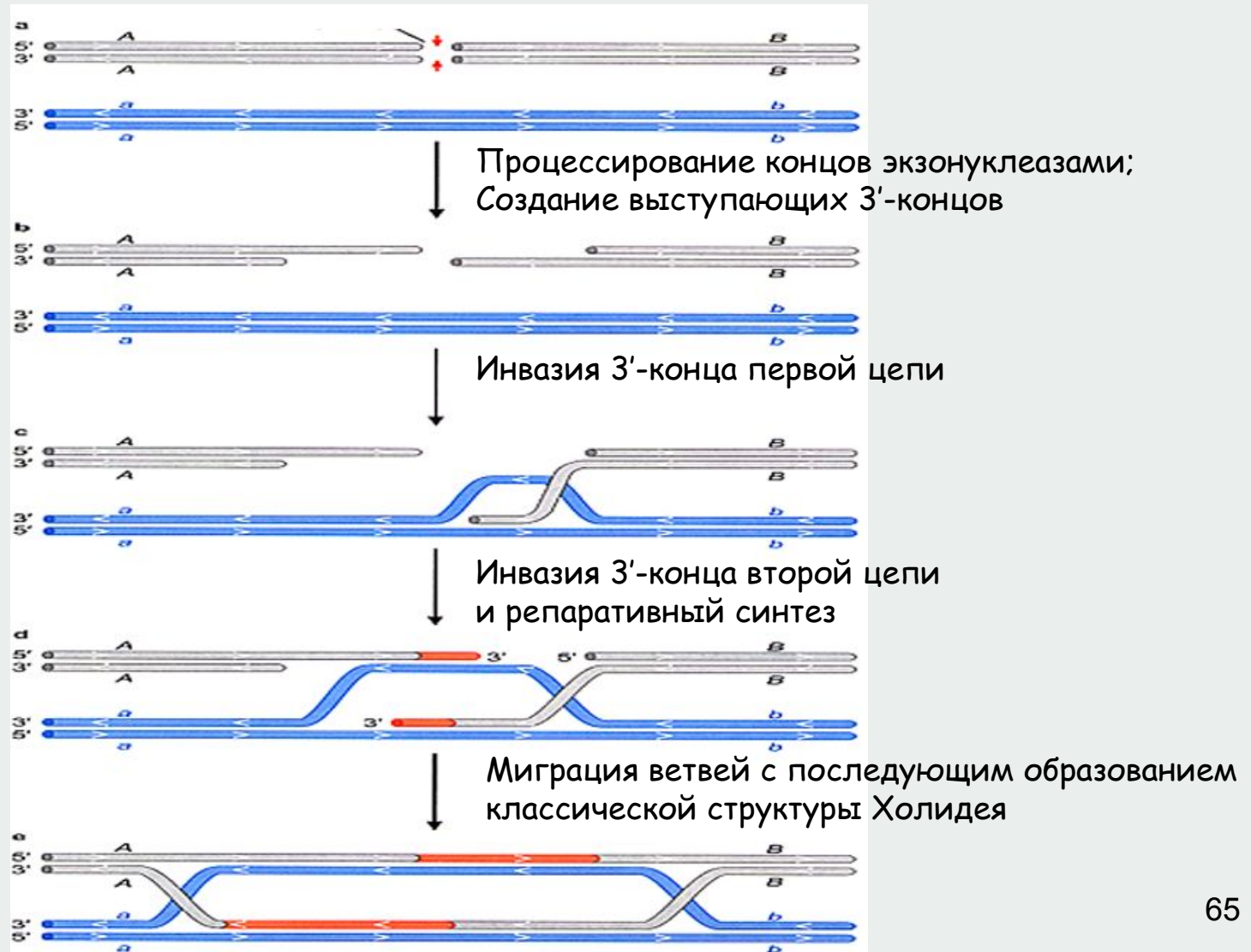
Для репарации двунитевых разрывов с использованием системы гомологичной рекомбинации необходимы

Донор гомологии
(например гомологичная хромосома или сестринская хроматида)

Белок, облегчающий инвазию цепи, и другие компоненты системы гомологичной рекомбинации

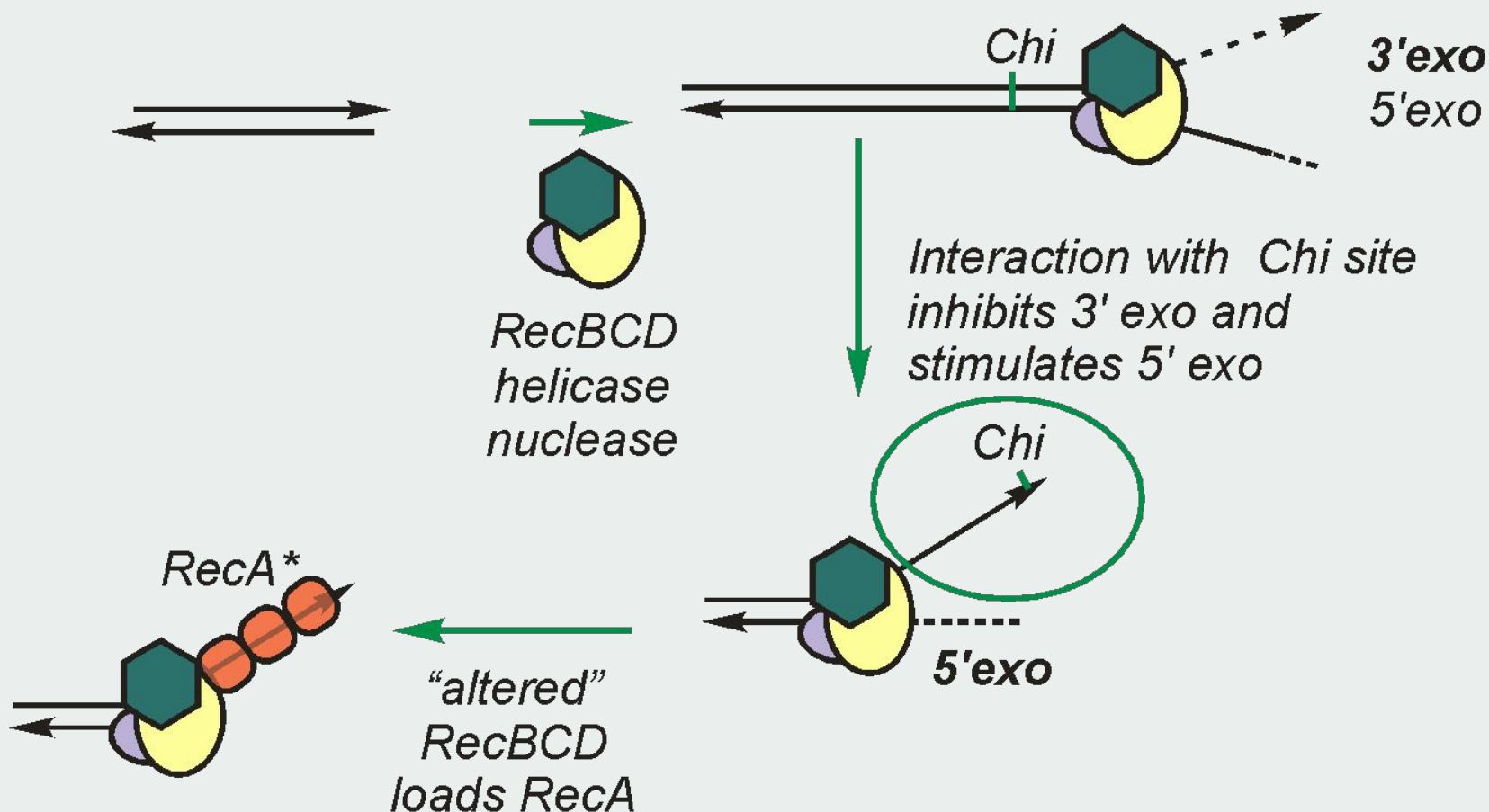
Репарация ДНК

Репарации при помощи рекомбинации



Репарация ДНК

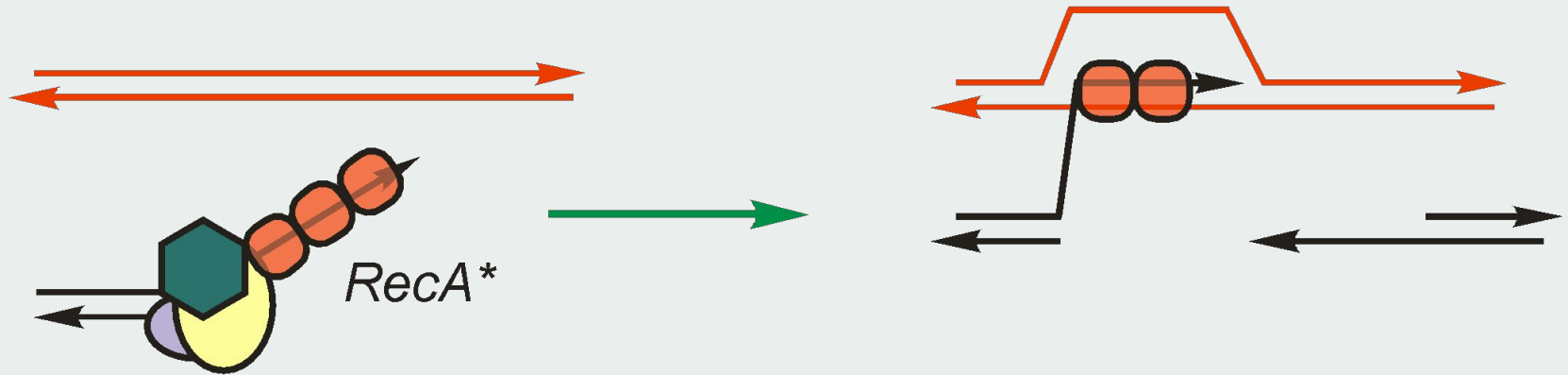
Репарации при помощи рекомбинации



5'GCTGGTGG3'
3'CGACCACC5'
до 10 000 п.н.

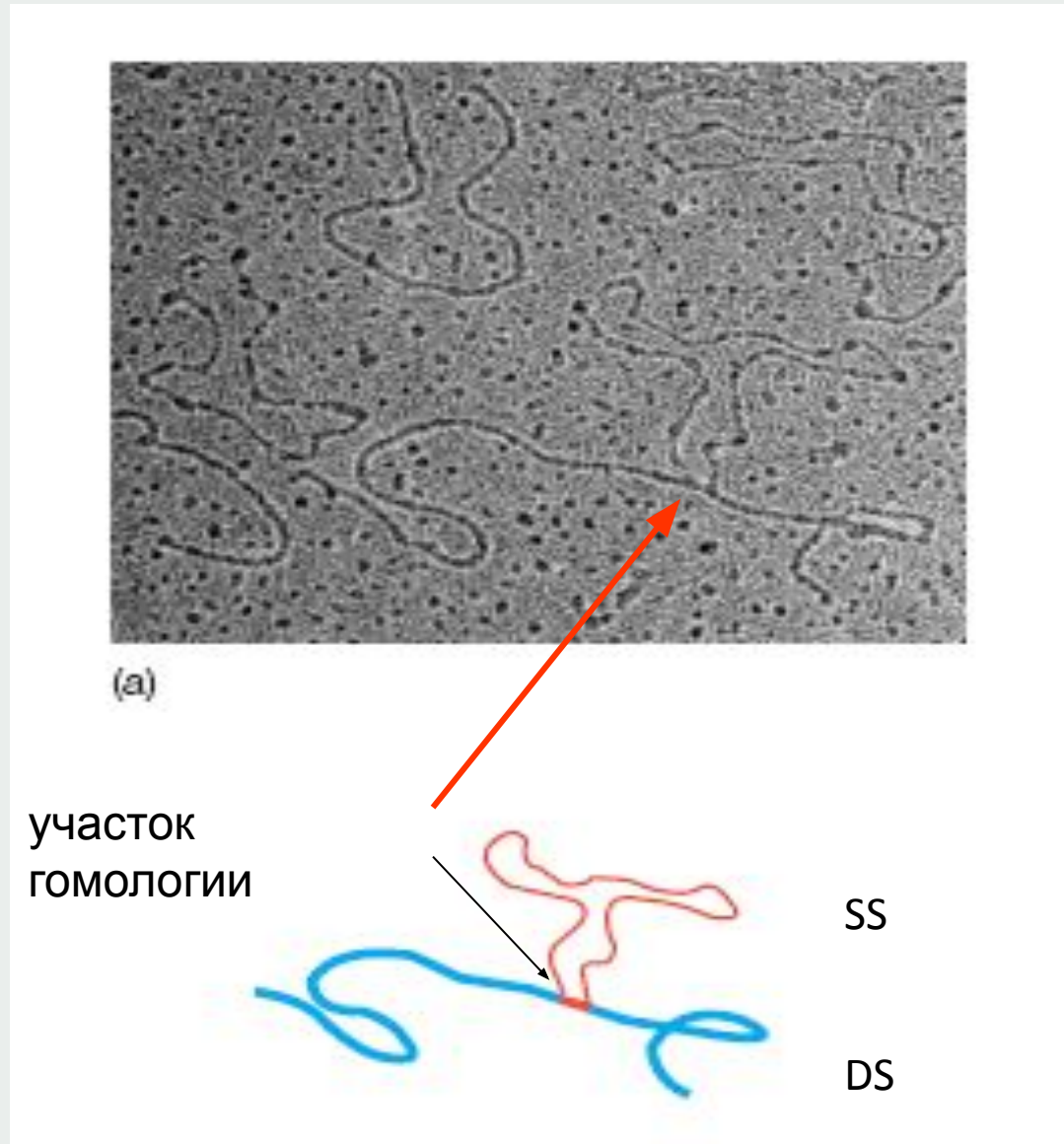
Репарация ДНК

Репарации при помощи рекомбинации



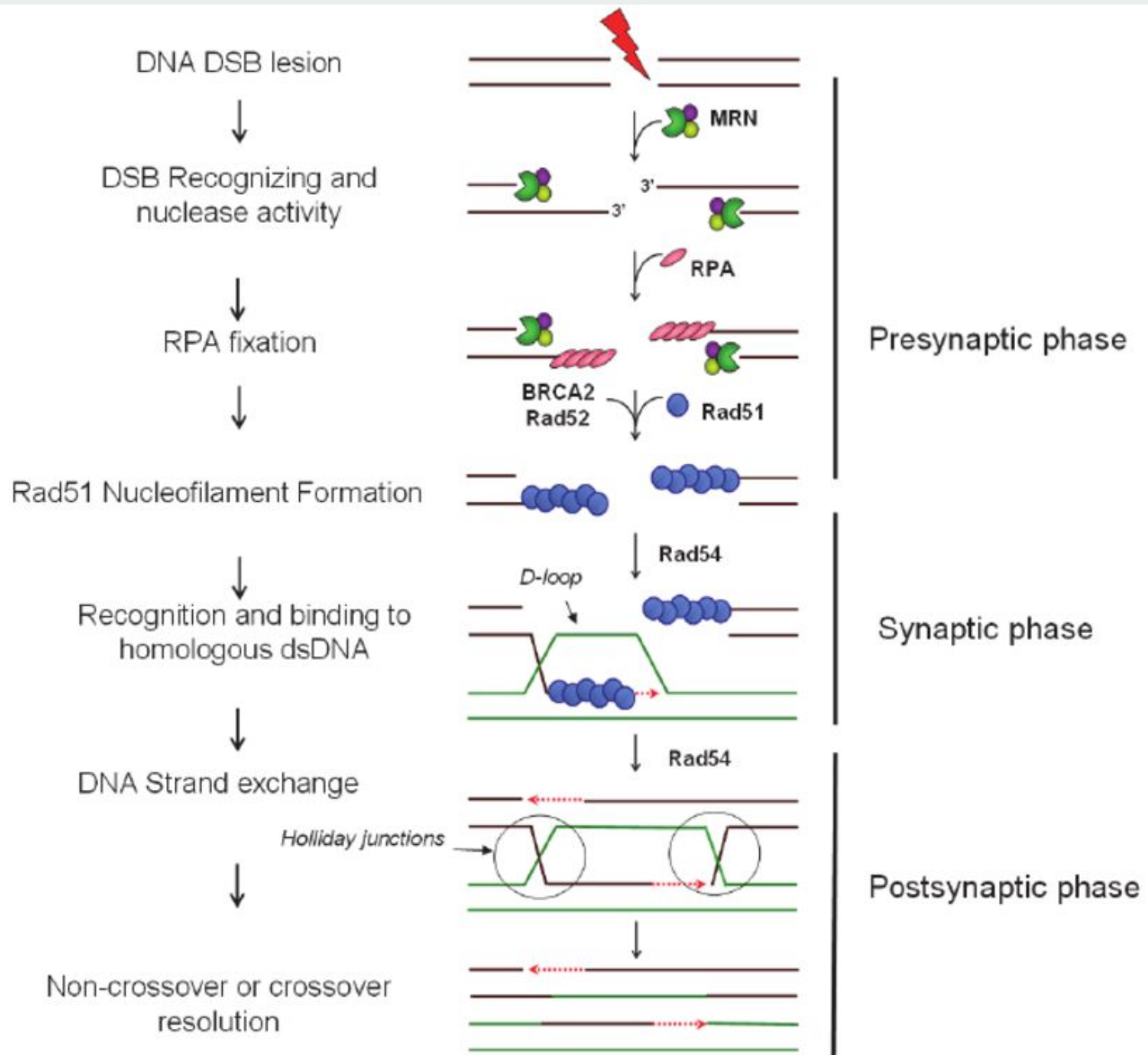
Репарация ДНК

Репарации при помощи рекомбинации



Репарация ДНК

Репарации при помощи рекомбинации





Репарация ДНК

Пути репарации ДНК

1. Прямое исправление повреждений (Direct reversal) (2 и >)
2. Эксцизионная репарация оснований (Base excision repair (BER)) (15)
3. Эксцизионная репарация нуклеотидов (Nucleotides excision repair (NER)) (28)
4. Репарация неправильно спаренных нуклеотидов (Mismatch repair (MMR)) (11)
5. Синтез через повреждения (COC-ответ) (Trans-lesion synthesis (SOS-response))
6. Репарация при помощи рекомбинации (Repair via recombination) (14)
7. Репарация двойных разрывов (Double strand break repair) (5)



Репарация двунитевых разрывов

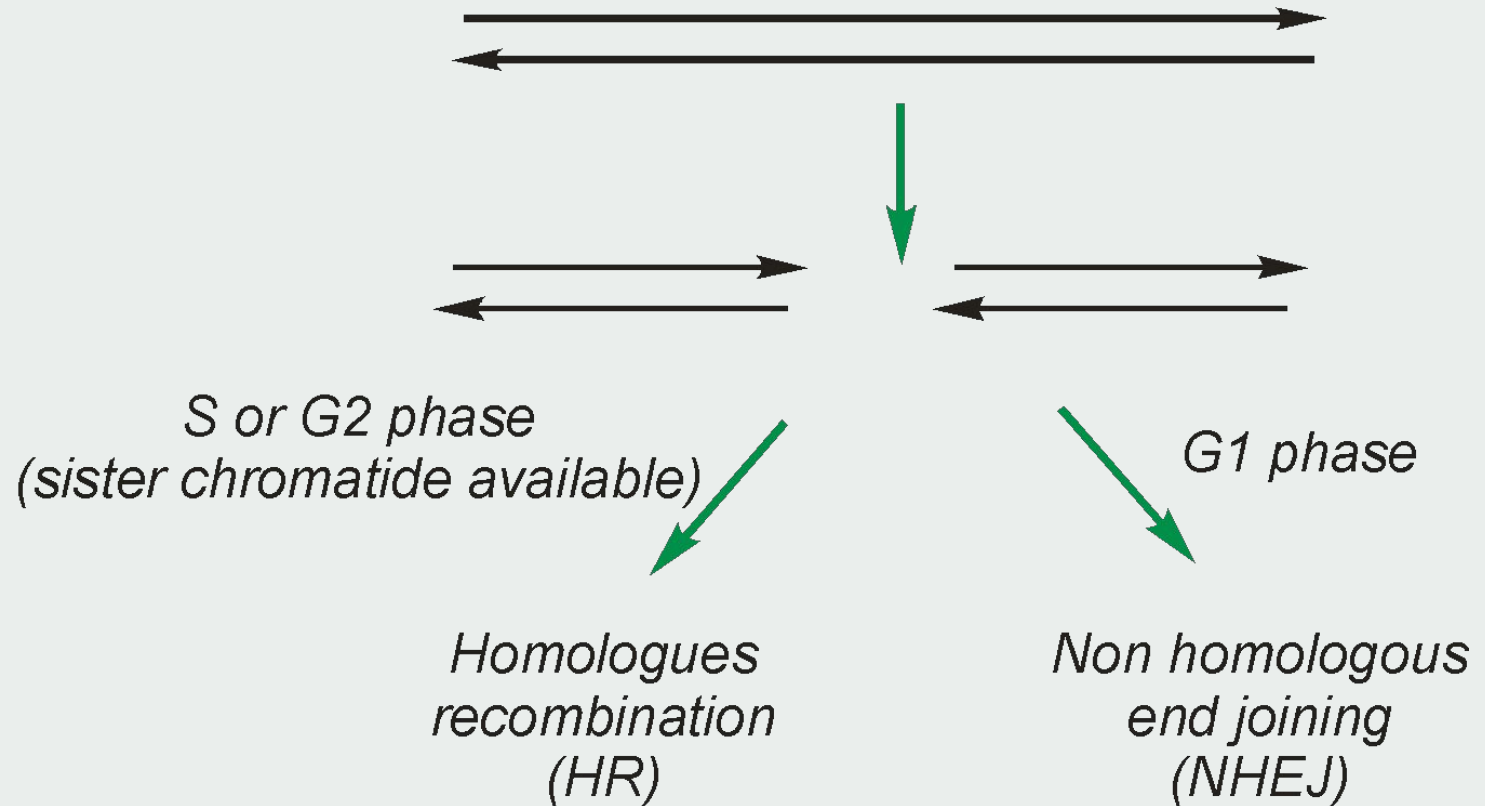
Двунитевые разрывы в ДНК возникают:

- под действием ионизирующего излучения
- под действием некоторых химических агентов, в частности, ингибиторов ДНК топоизомеразы II

Существует два основных пути репарации двунитевых разрывов:

- гомологичная рекомбинация
- нехомологичное соединение концов ДНК

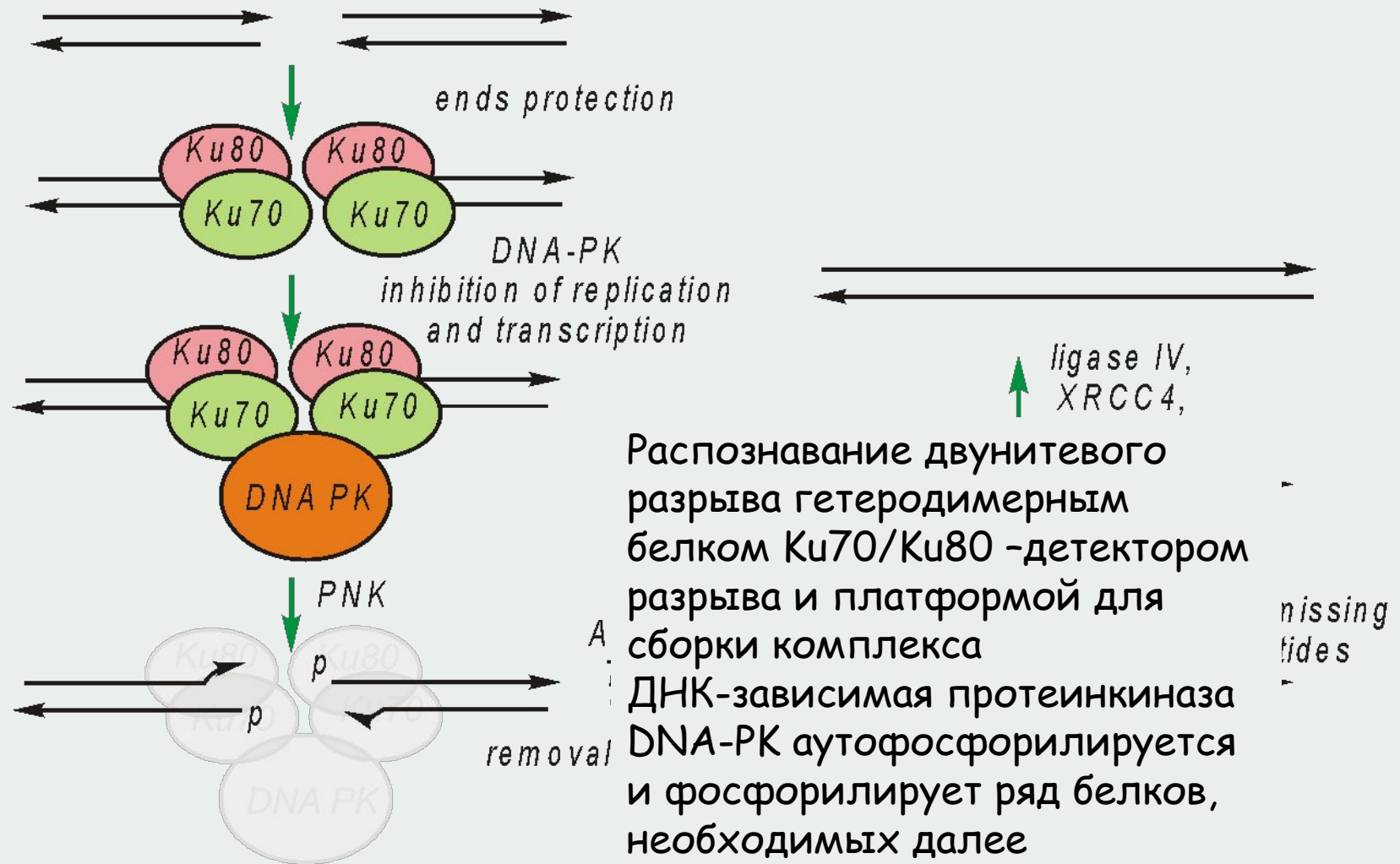
Репарация двуниевых разрывов



Выбор пути определяется, в том числе, процессингом концов. Удаление даже нескольких нуклеотидов подавляет NHEJ. Cdk 1, которая отключается в G1-фазе и активна в S и G2 фазах, фосфорилирует нуклеазу Sae2, которая запускает подравнивание концов

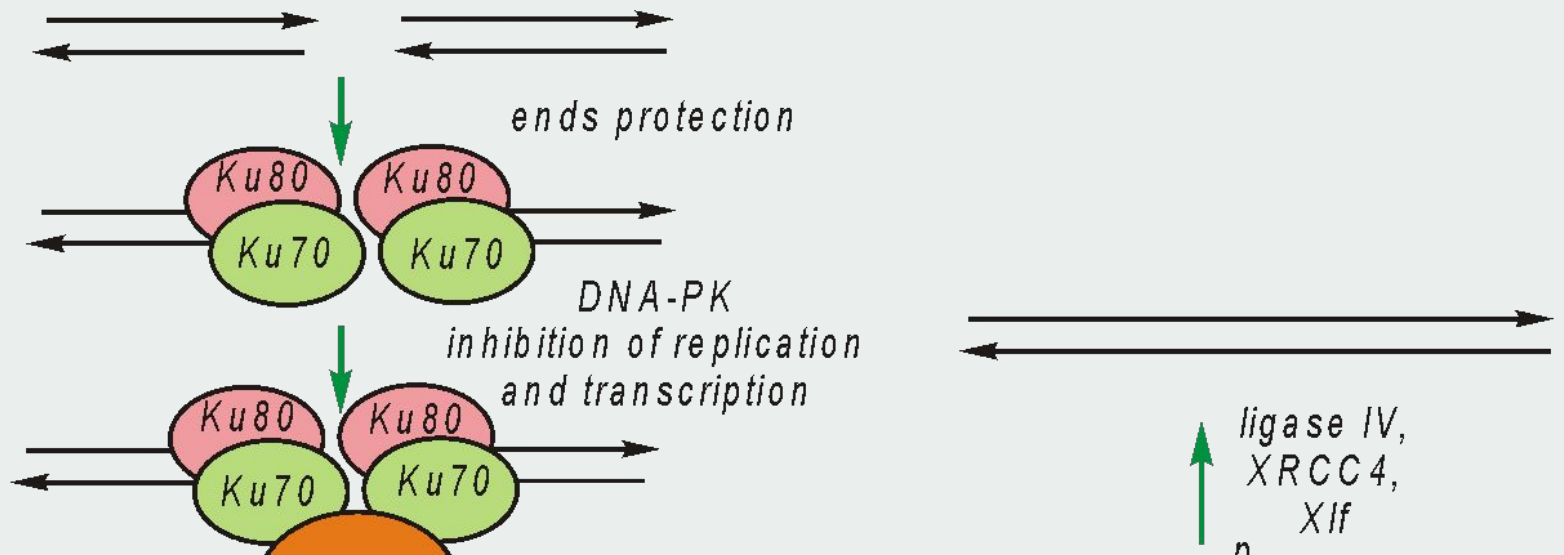
Репарация двуниевых разрывов

Негомологичное соединение концов ДНК

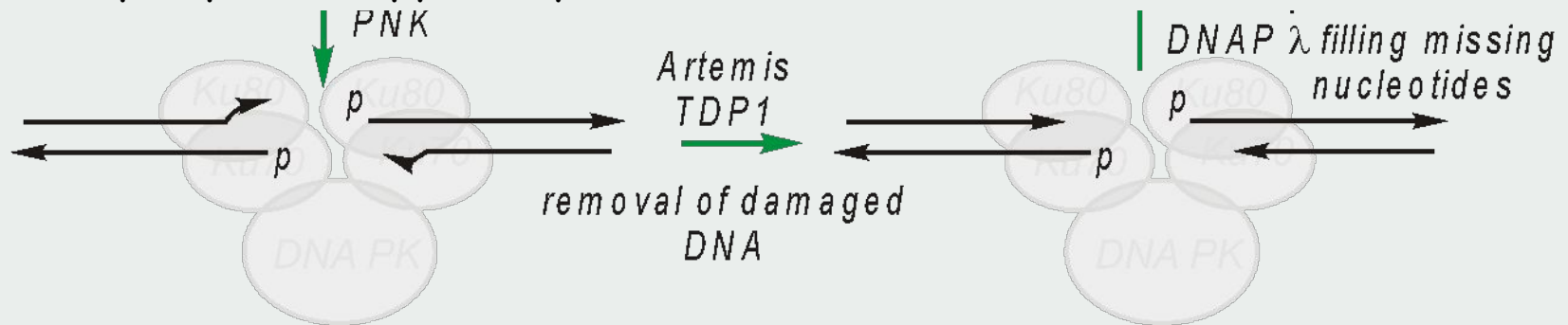


Репарация двунитевых разрывов

Негомологичное соединение концов ДНК

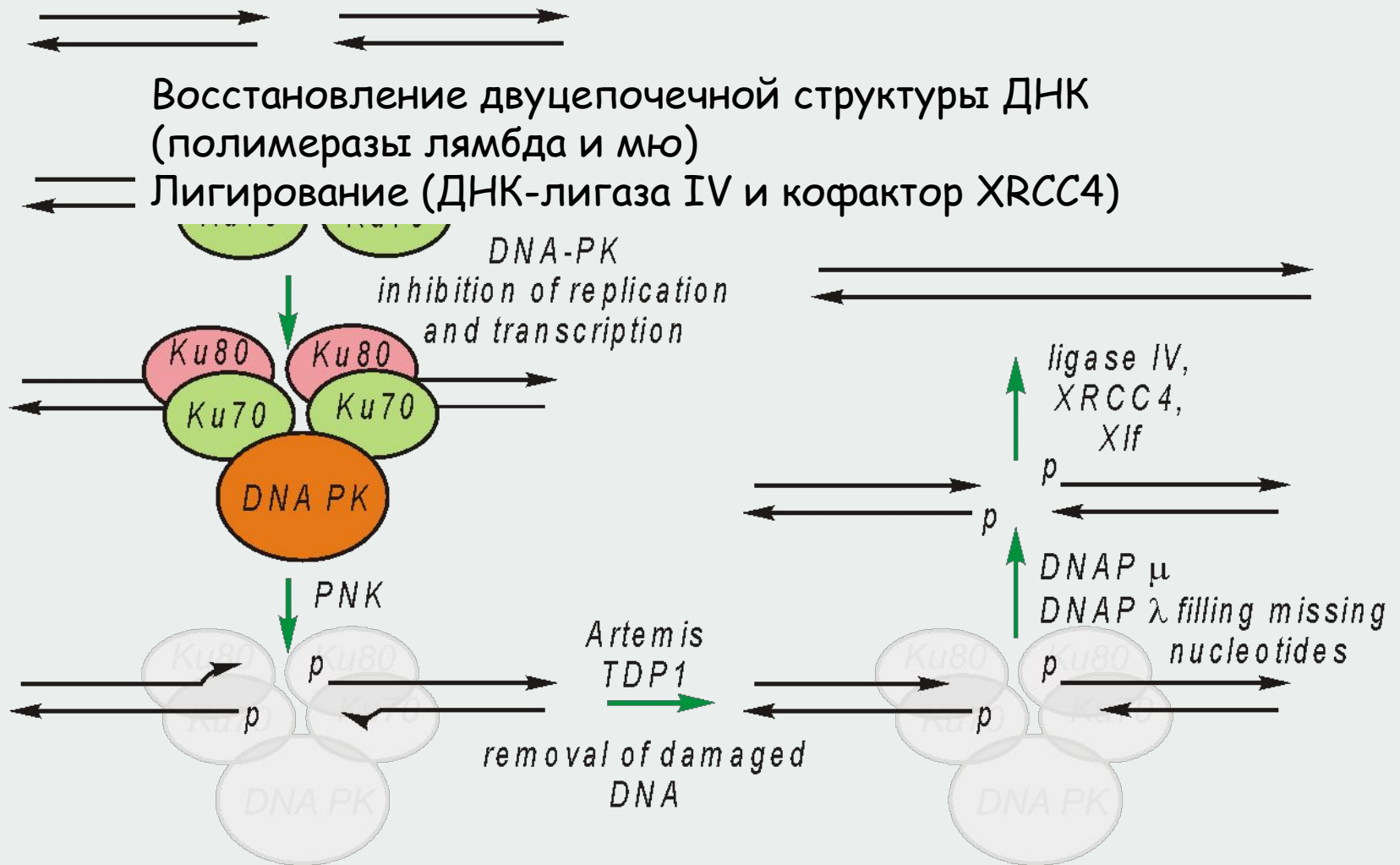


Обработка концов разрыва для создания свободных 3'-гидроксильной и 5'-фосфатной групп (нуклеазы)



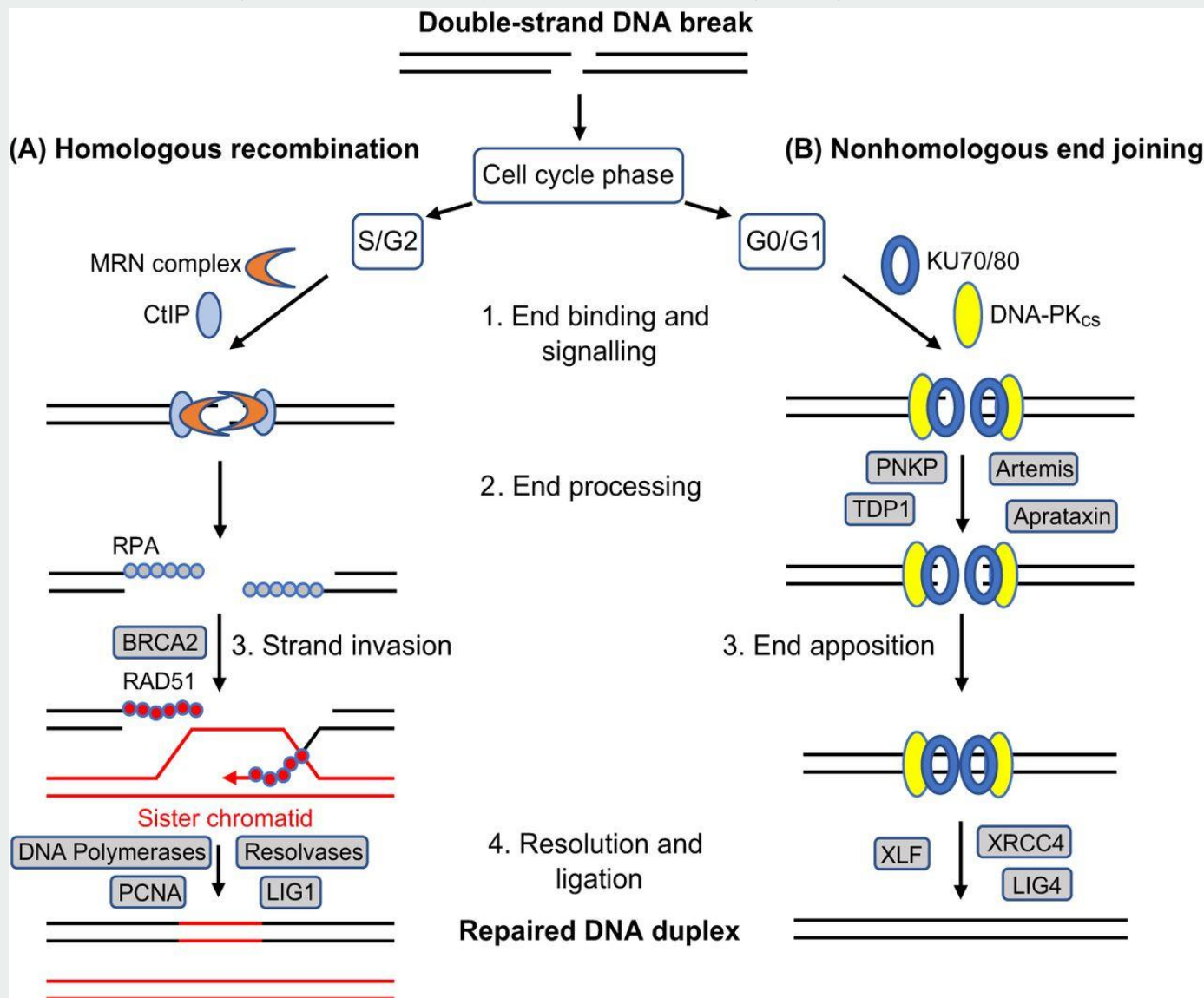
Репарация двуниевых разрывов

Негомологичное соединение концов ДНК

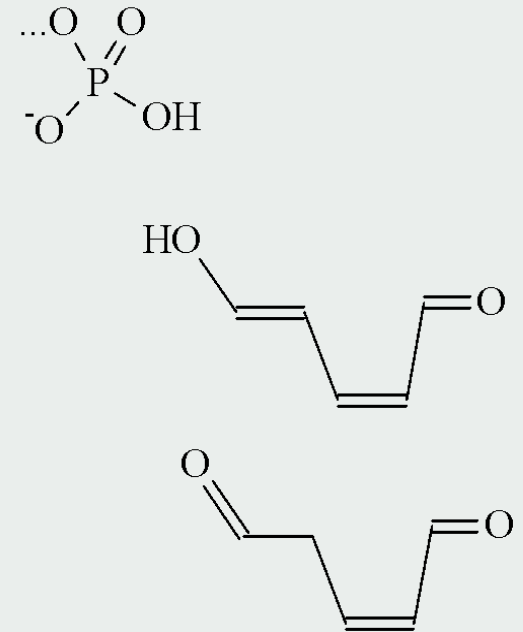
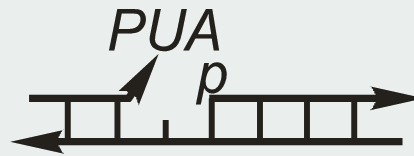
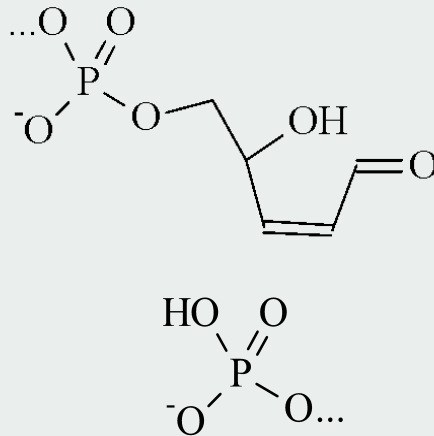
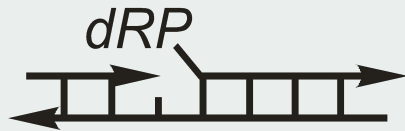
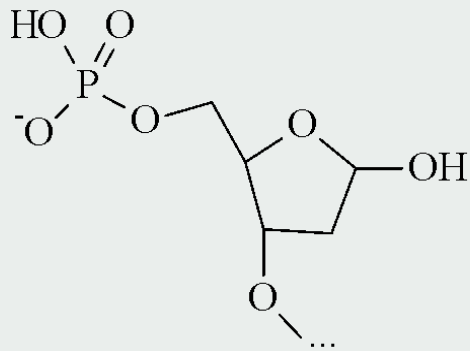


Репарация ДНК

Репарации двунитевых разрывов



Репарация ДНК (BER)



DNA repair

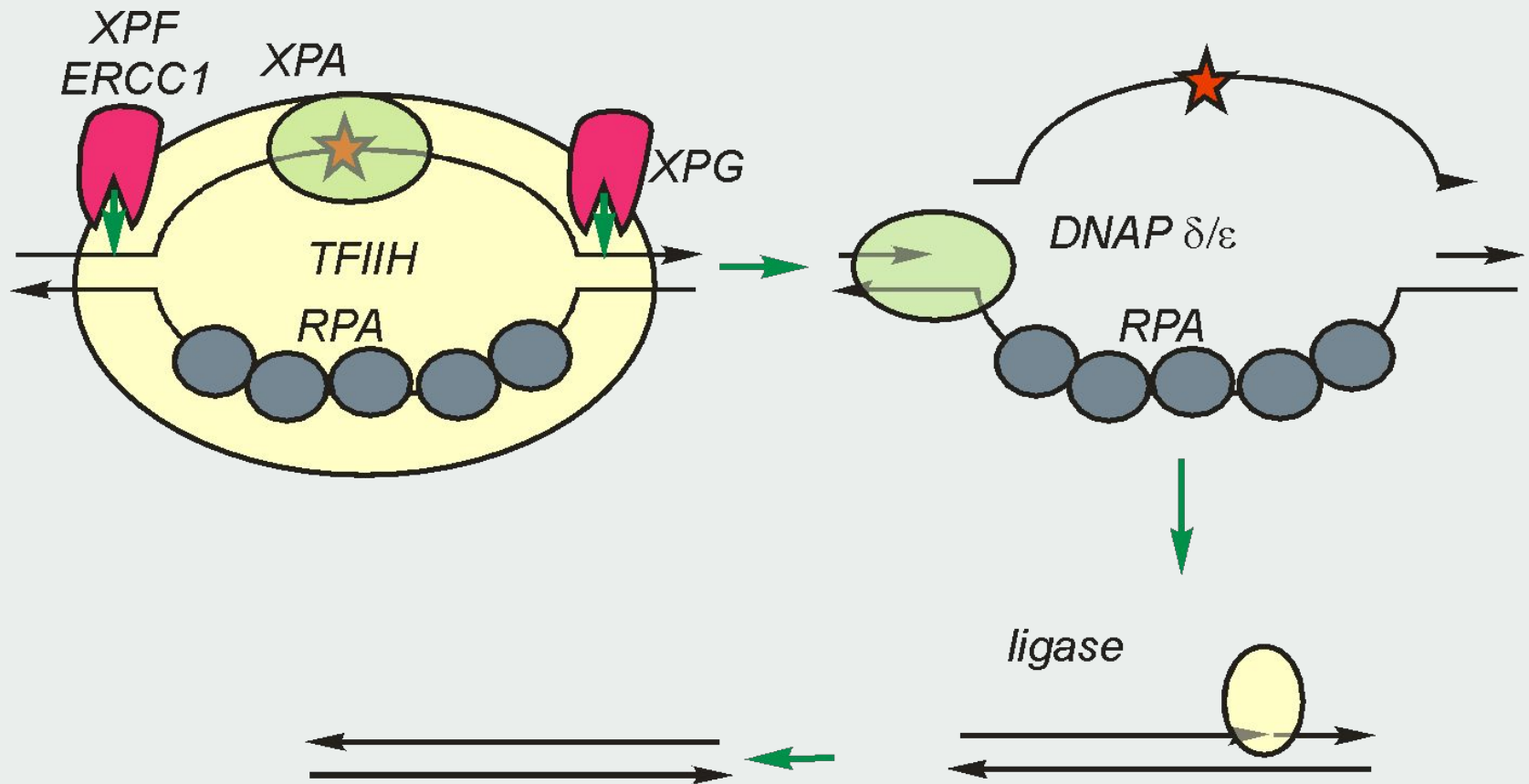
Damaging agent	Prototypical lesions	Major repair mechanism	Prototypical repair enzymes (<i>E. coli</i> /human)
Alkylating agents	O6-mG	DR	Transferases: Ogt/Agt
	1-mA	DR	Oxidoreductases: AlkB/Abh2
	3-mA, 3-mG, 7-mA, 7-mG	BER	Glycosylases: AlkA/Aag
Hydrolysis	Abasic sites	BER	Endonucleases: EndoIV/Ape1
	Deamination (forming uracil)	BER	Glycosylases: Ung
	Deamination (forming hypoxanthine)	NIR	Endonucleases: EndoV
ROS	8-oxoG, faPyA/G, TG, 5-ohC, DHU, DHT	BER	Glycosylases: Fpg, Nth/Ogg1, Nth1
	DHU, DHT, 5-ohC	NIR	Endonucleases: EndoIV/Ape1
Replication errors	(a) Base mismatches	MMR	Mismatch proteins:
	(b) Insertion/deletion loops		MutS, MutL, MutH/MutS α / β , MutL α
UV radiation	Bulky adducts	NER	XPA-XPF+others
	CPDs, 6-4 PDs	DR	Photolyases: CPD and (6-4) photolyases

BER, base excision repair; DR, direct reversal; MMR, mismatch repair; NER, nucleotide excision repair; NIR, nucleotide incision repair; ROS, reactive oxygen species.



Репарация ДНК

GG-NER в эукариотических клетках



Репарация ДНК

TC-NER в эукариотических клетках

