

Повреждающие
факторы

Канцерогенез



*Повреждения в ДНК
сводятся к минимуму
благодаря существованию
систем, которые узнают эти
нарушения и исправляют
их.*

Репарация ДНК

**Под *повреждением* понимают
любое изменение ДНК, которое
вызывает отклонение от
обычной двухцепочечной
структуры**

Типы повреждений ДНК

На уровне одного нуклеотида:

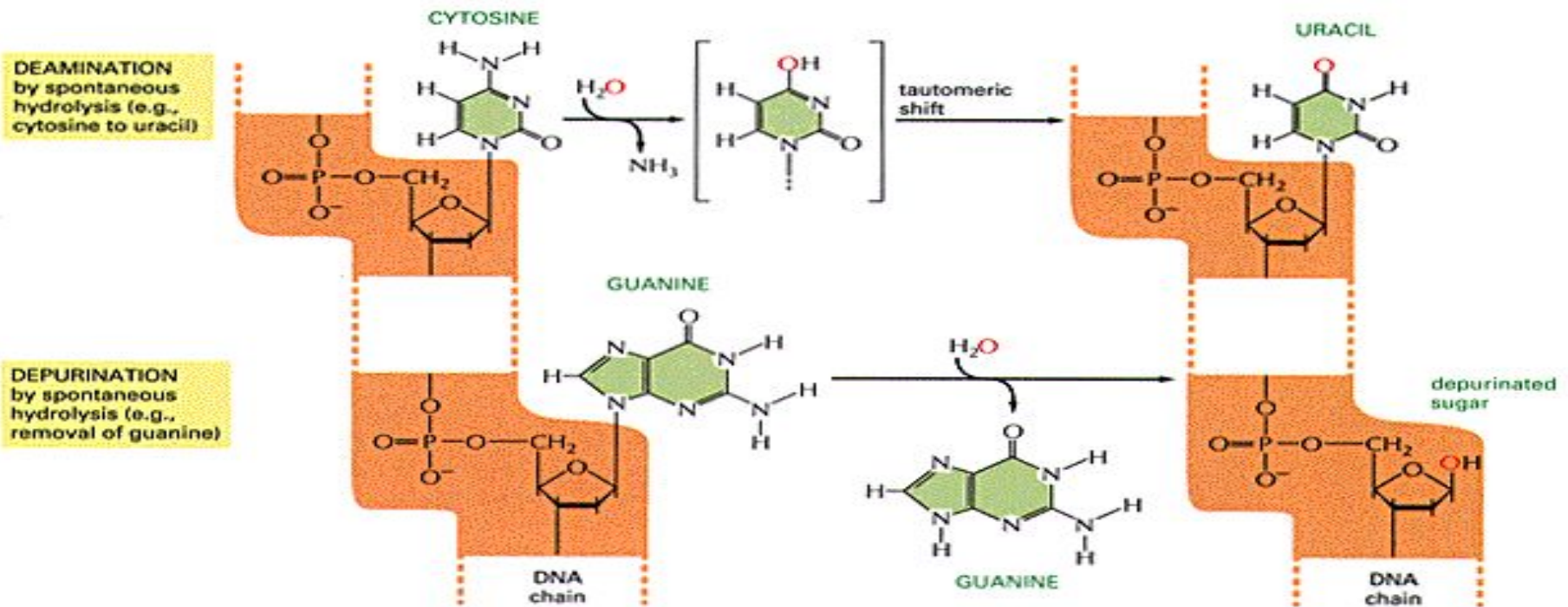
- **Отсутствие основания**
- **Некомплементарное основание**
- **Нарушенное основание**

Структурные:

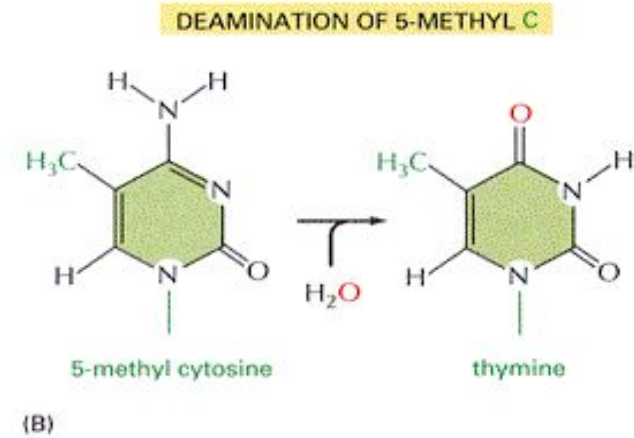
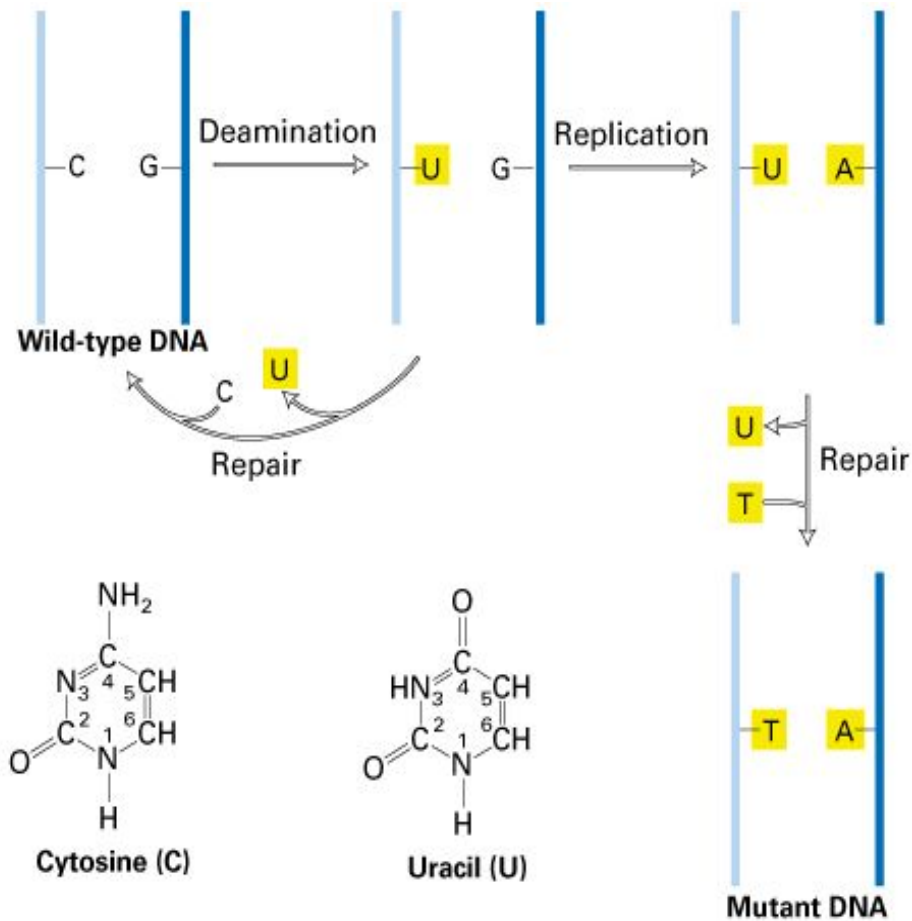
- **Одноцепочечные разрывы**
- **Образование неспецифических связей между цепями (тиминовые димеры и поперечные сшивки)**
- **Двухцепочечные разрывы**

Тип повреждения	Причина
Отсутствие основания	Кислотная или тепловая апуринизация
Неправильное основание	Спонтанное или индуцированное дезаминирование
Нарушенное основание	Ионизирующая радиация, алкилирующие агенты
Димеры	УФ-облучение
Неспецифические связи	Митомицин С
Разрывы	Ионизирующая радиация, перекиси, нуклеазы

Дезаминирование и апуринизация



Дезаминирование

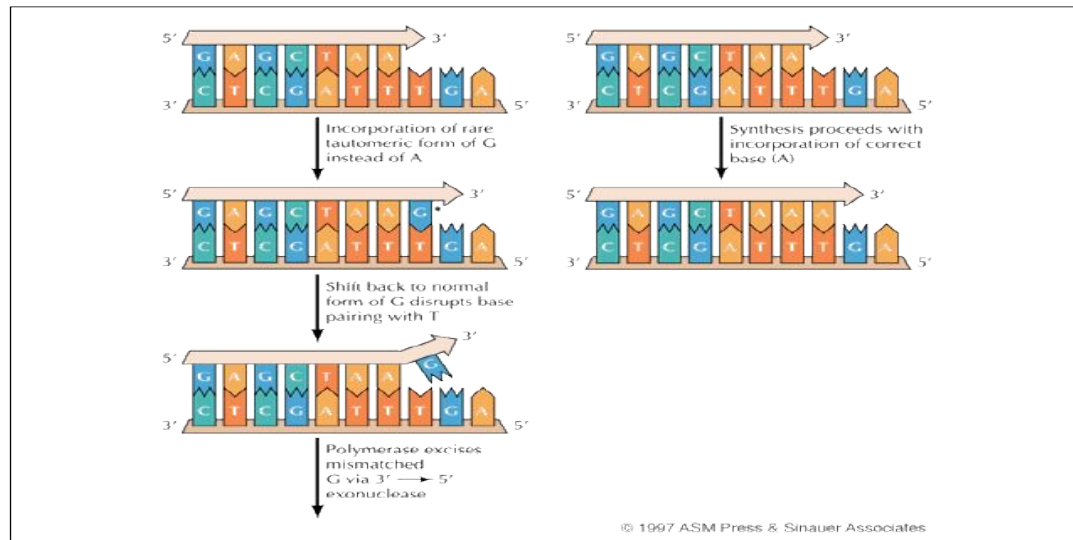


Неверное основание в результате ошибки репликации

- при репликации на 10 млрд оснований происходит одна ошибка, т.е. около 3-х замен на гаплоидный геном (у млекопитающих)

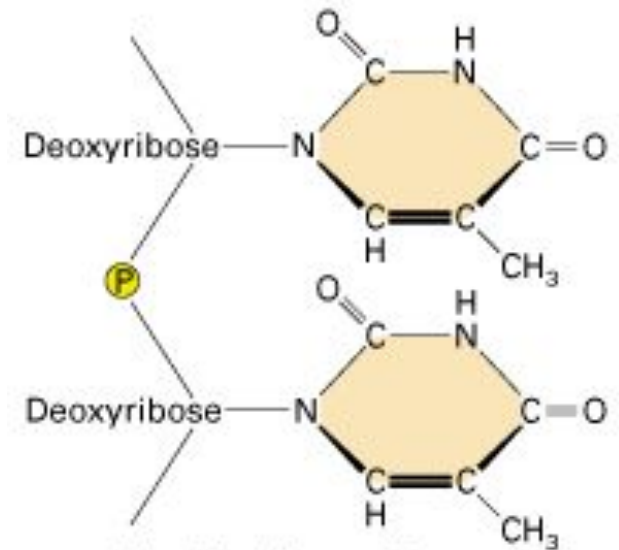
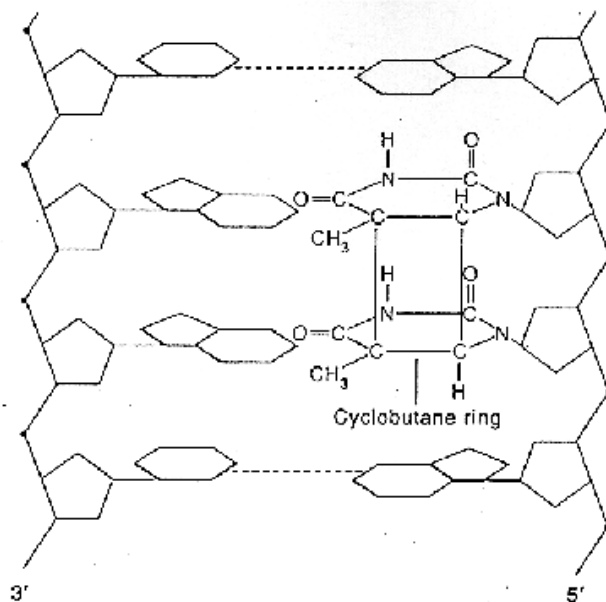
Proofreading

Cooper Fig 5.13

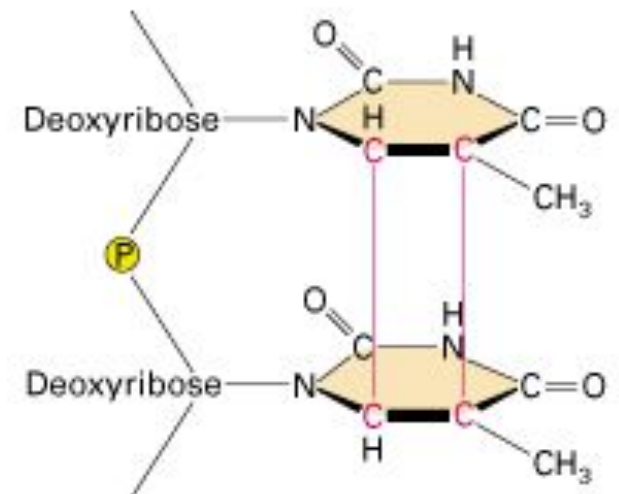


Образование тиминовых димеров

Thymine dimer formation by UV light



UV
irradiation



Thymine-thymine dimer residue

Разрывы в ДНК

(a)



(b)



Общая характеристика репарации

- Это процесс удаления поврежденного участка и восстановления правильной структуры ДНК
- Характерен только для ДНК и обусловлен особенностями ее структуры, а именно: комплементарностью и антипараллельностью цепей.
- Обеспечивает сохранение генетического материала.
- Происходит при участии специальных

Ферменты репарации

- **Эндонуклеазы** – расщепляют связи внутри ДНК.
- **Экзонуклеазы** – расщепляют связи с концов, могут быть специфичными для 5' и 3' концов ДНК.
- **ДНК-полимераза** – заполняет брешь, используя комплементарную цепь в виде матрицы.
- **Лигаза** – катализирует образование фосфородиэфирных связей, используя энергию гидролиза АТФ.
- **ДНК-гликозилаза** – расщепляет N-гликозидную связь.
- **AP-эндонуклеаза** – разрезает ДНК в

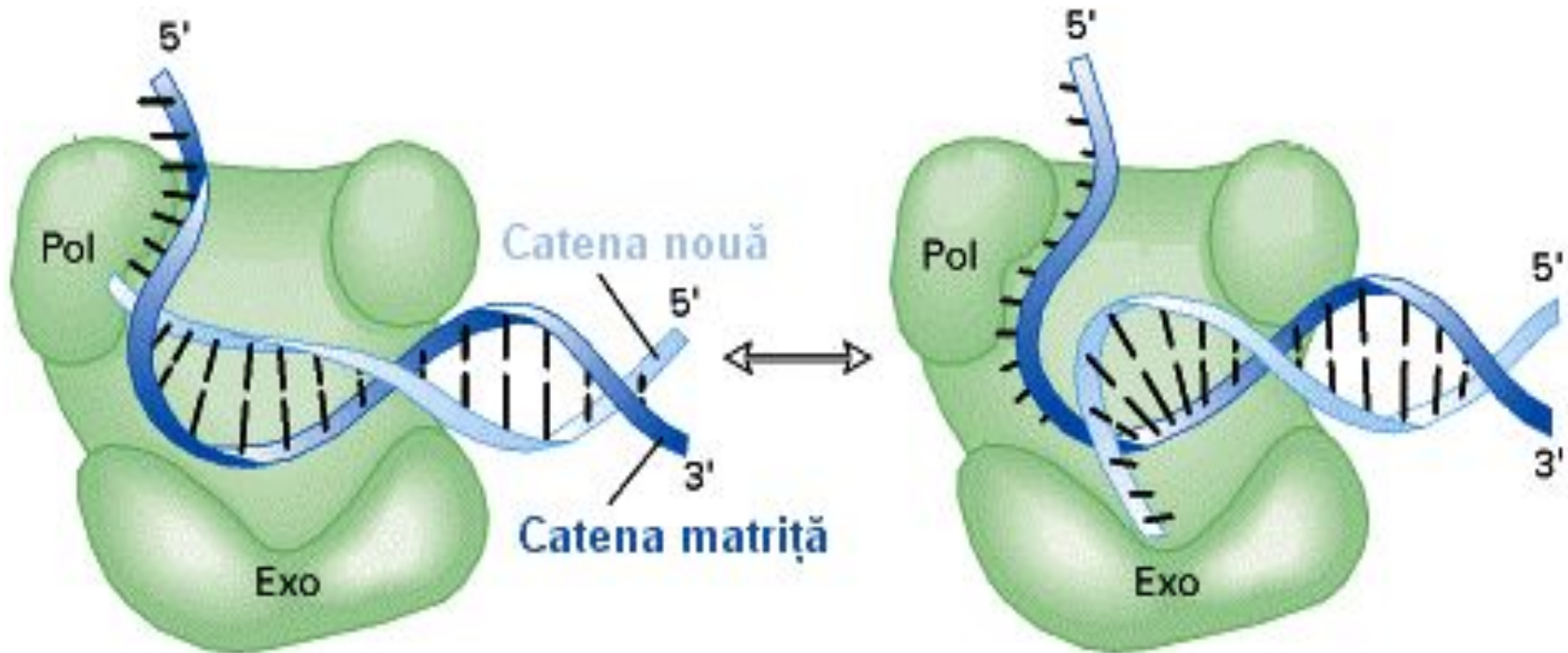
По времени различают два типа репарации

- Репликативная
- Пострепликативная

Для каждого из этих типов
характерны определенные
молекулярные механизмы.

Репликативная репарация

- неправильно встроенные в ходе репликации нуклеотиды узнаются и удаляются ДНК-полимеразой за счет ее экзонуклеазной (3'-5') активности.



Mismatch (MMR)-репарация

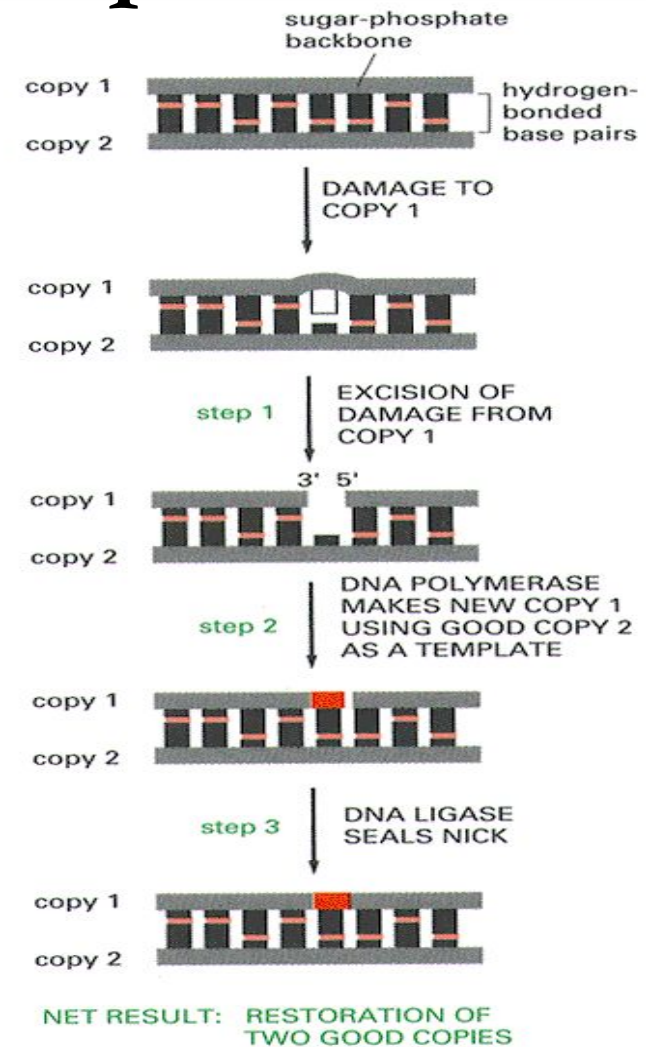
происходит в ходе репликации и обеспечивает исправление неверных спариваний, аномальных гетеродуплексов и палиндромов.

Этапы:

Узнавание и удаление неверных нуклеотидов эндонуклеазами;

Заполнение бреши при помощи ДНК-полимеразы;

Сшивание концов лигазами.

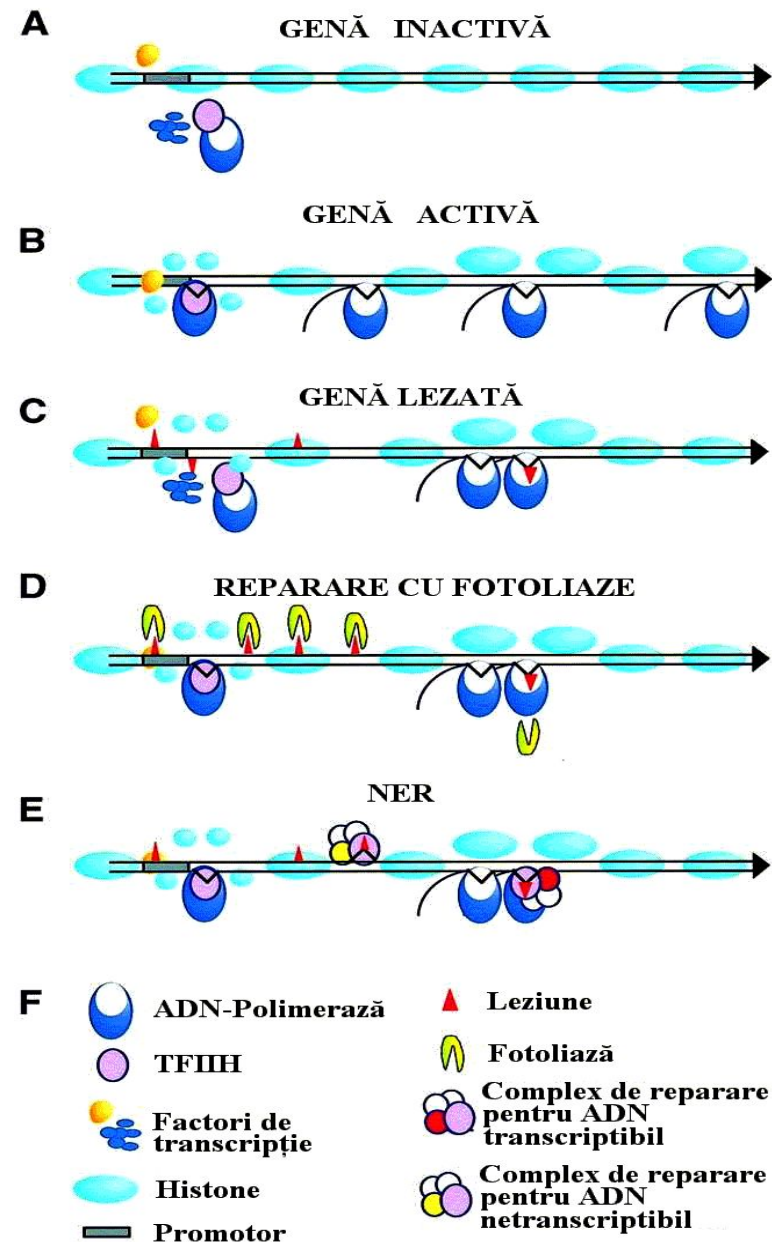


Механизмы пострепликативной репарации

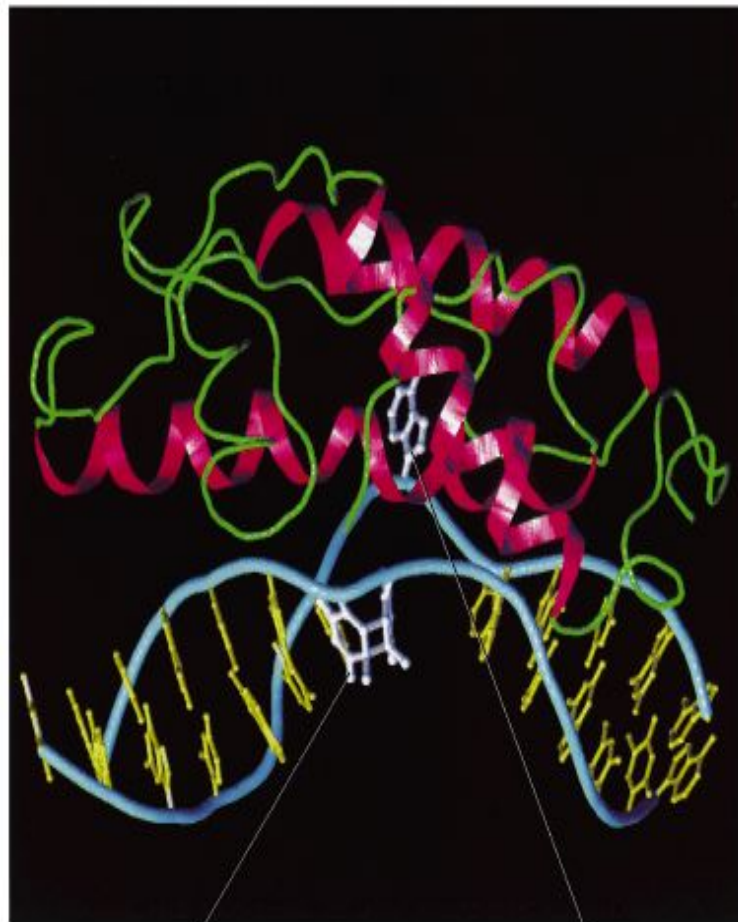
- Прямая репарация
- Репарация путем удаления оснований
- Репарация больших фрагментов
- Репарация двухцепочечных разрывов путем гомологичной рекомбинации
- Репарация двухцепочечных разрывов путем соединения концов

Фотореактивация

- **прямая репарация**, происходит у бактерий на свету при участии специального фермента – фототелиазы,
- Фототелиаза активизируется под действием света путем дестабилизации электронов и ослабления связи с пентозой, а освободившиеся основание заменяется на новое – правильное.

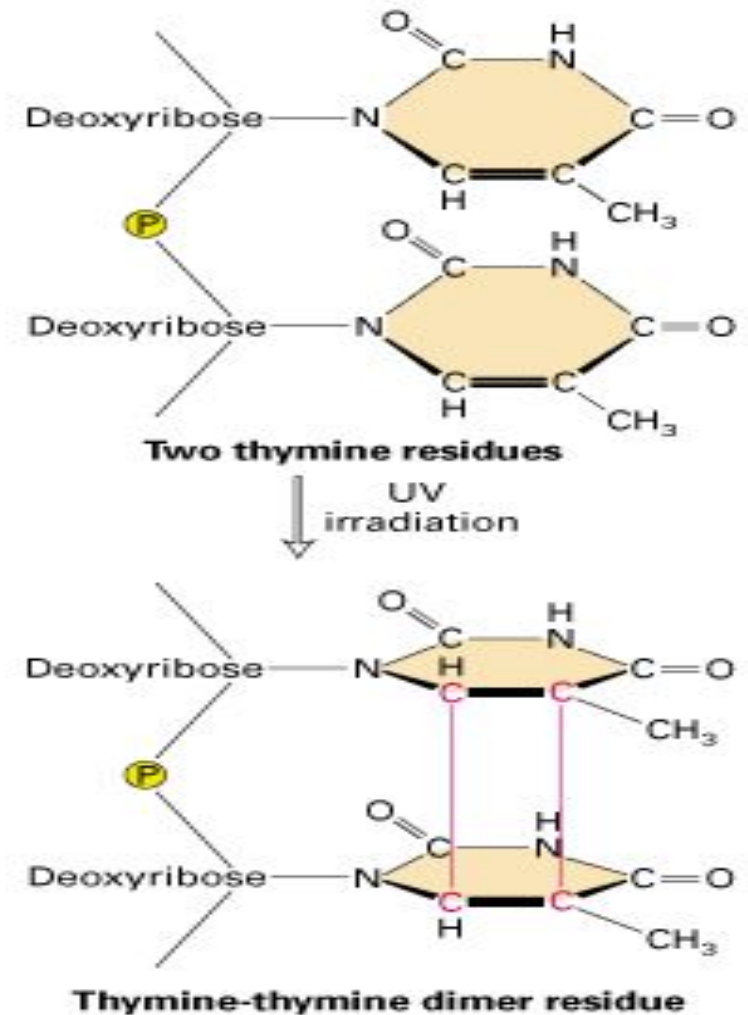


Путем фотореактивации удаляются ТИМИНОВЫЕ ДИМЕРЫ



Thymine-thymine
dimer

Adenine



Прямая репарация при участии MGMT

- Репарация при помощи **MGMT** – O6-метил-гуанил-ДНК-метилазы(у человека), которая восстанавливает повреждения в результате алкилирования
- Механизм заключается в переносе алкильной группы с ДНК на активный центр фермента.

! 20% раковых опухолей характеризуются недостаточной активностью фермента MGMT.

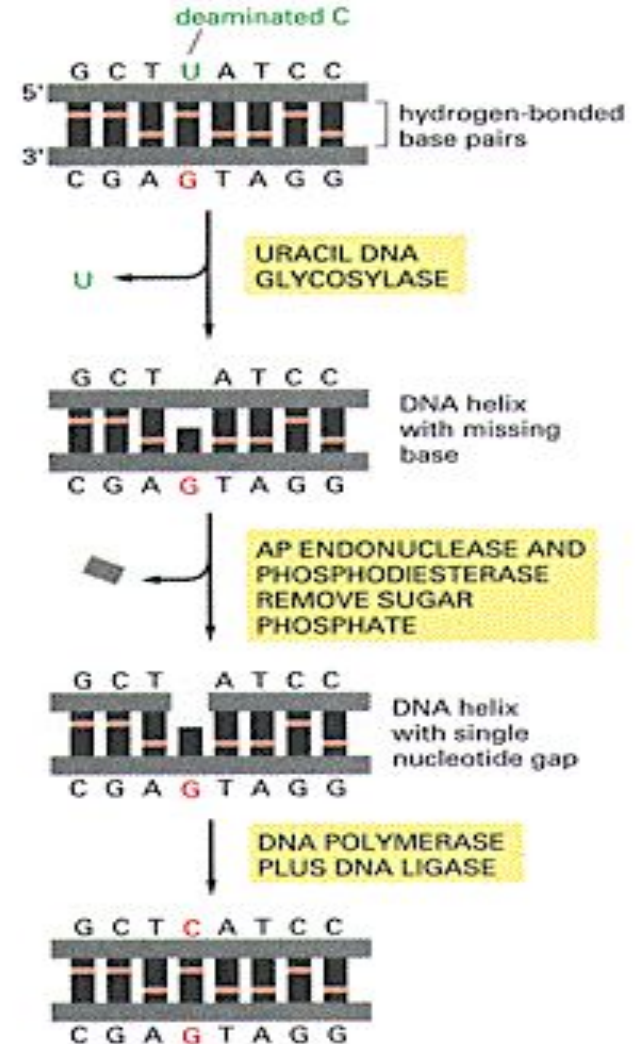
Репарация путем удаления оснований (BER)

- восстановление одного нуклеотида.

Этапы:

- ДНК-гликозилаза удаляет неверное основание;
- Нуклеазы расщепляют участок, в котором не достает основания;
- ДНК-полимераза заполняет брешь;
- ДНК-лигаза сшивает концы.

(A) BASE EXCISION REPAIR

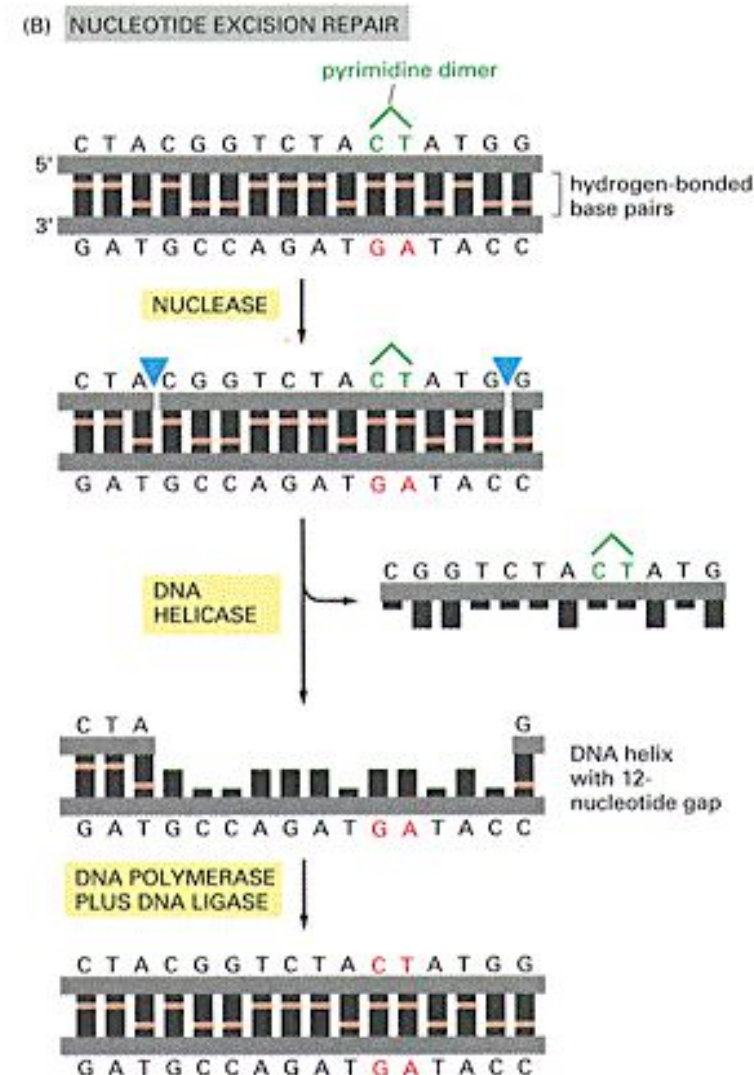


Репарация путем удаления нуклеотидов - NER

- восстановление достаточно длинных фрагментов ДНК.

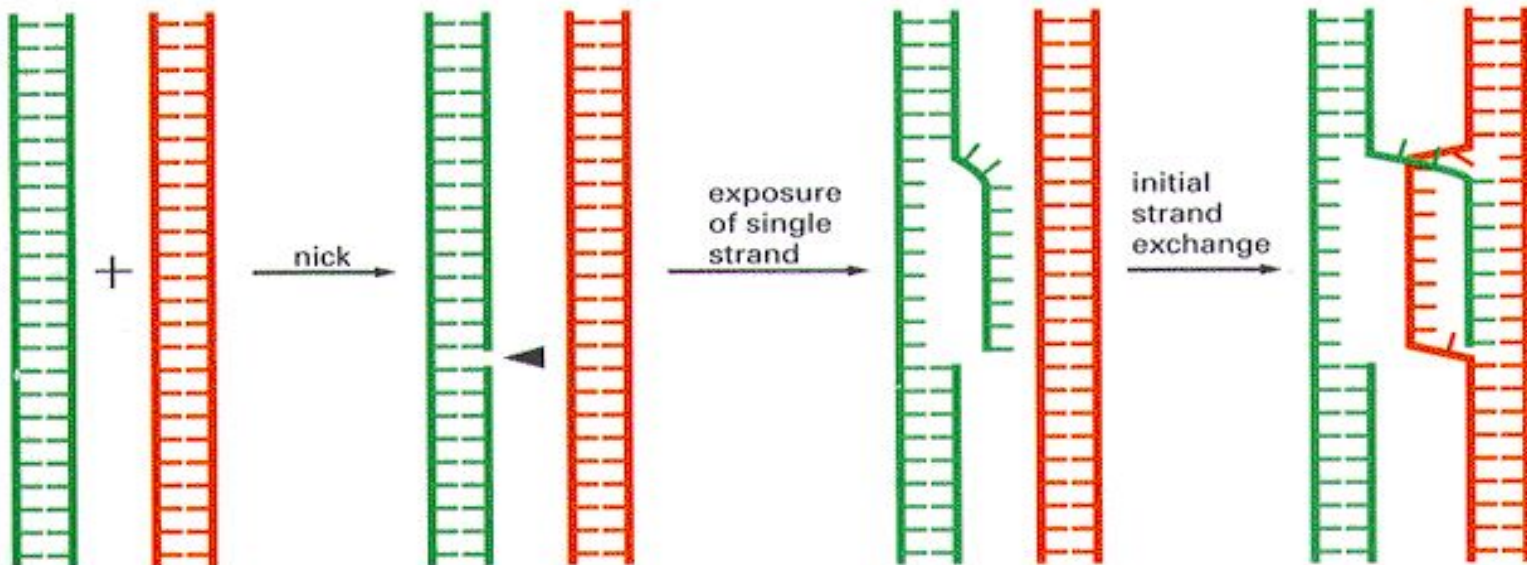
Этапы:

- Белковый комплекс (ХРА-РРА) распознает дефектный участок;
- Нуклеаза производит разрыв на расстоянии 5 пн от 3' конца и 8 пн от 5' конца;
- Образованная брешь заполняется при помощи ДНК-полимераз δ и ϵ ;
- ДНК-лигаза сшивает концы.



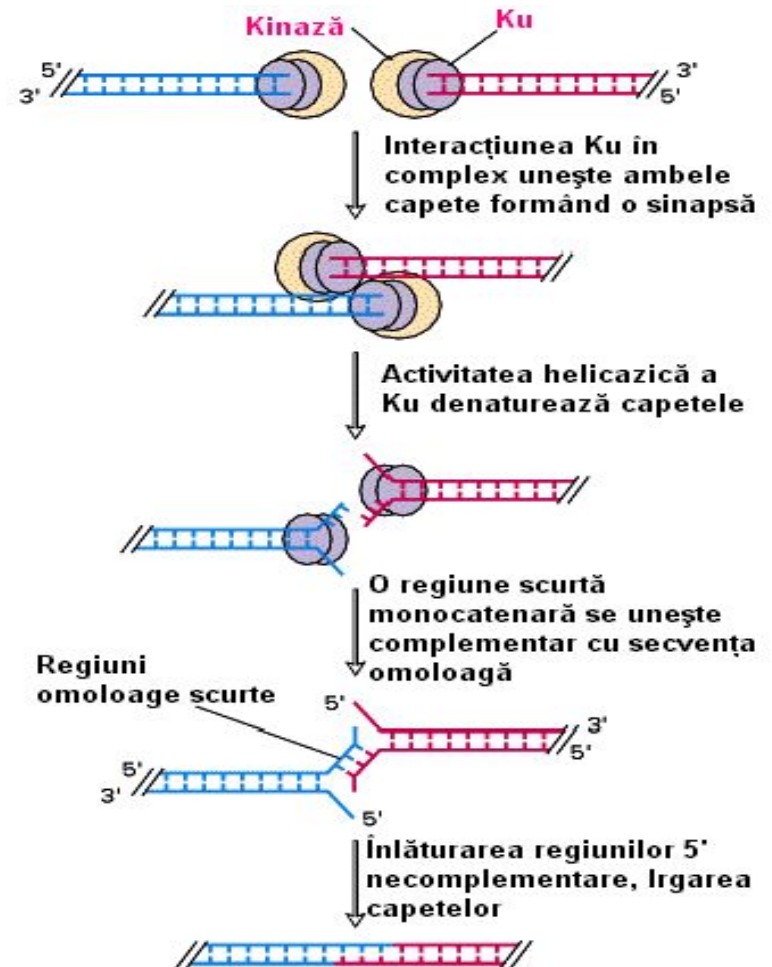
Рекомбинативная репарация

- Репарация во время рекомбинации
- Заключается в удалении поврежденного фрагмента и замене его нормальным гомологичным участком



Репарация двухцепочечных повреждений

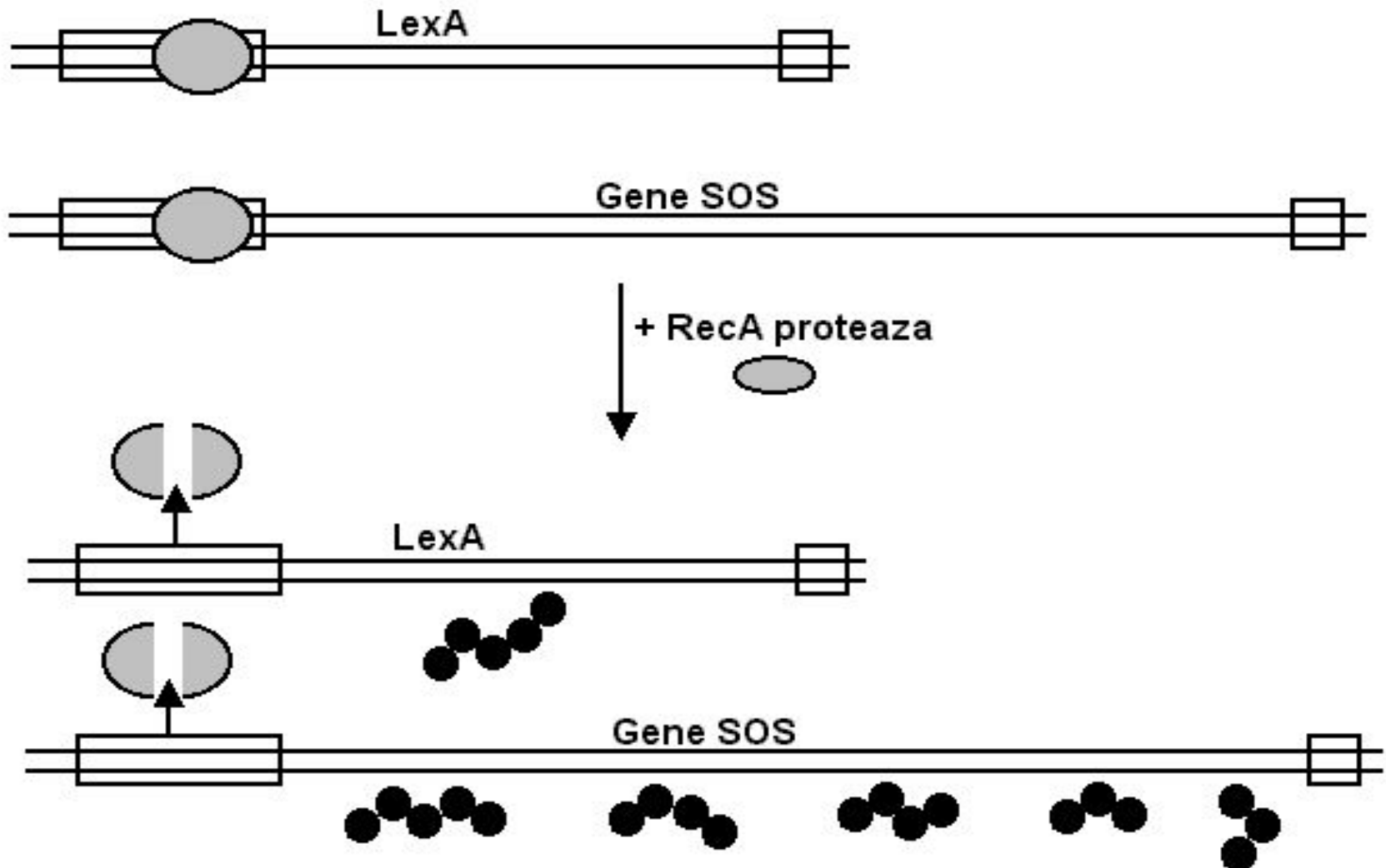
- Происходит при участии протеинкиназы Ku,
- Механизм заключается в следующем: протеинкиназа узнает разрыв и предотвращает действие эндонуклеаз, после чего катализирует соединение при



SOS-репарация

- Механизм быстрого, но не всегда точного реагирования, на стресс.
- Обеспечивается специальными белками – LexA и RecA-протеазой.
- Механизм:
 - в ответ на повреждение происходит активация протеазной активности белка RecA, который расщепляет белок LexA, блокирующий гены ферментов репарации,
 - активированные гены транскрибируются и синтезируются ферменты репарации, которые исправляют повреждение.

Механизм SOS-репарации



Метилирование и его биологическая роль

- Присоединение метильной группы к цитозину и аденину
- Происходит при участии специального фермента метилтрансферазы
- Метилированные участки устойчивы к действию эндонуклеаз
- Биологическая роль:
 - у прокариот: защита собственной ДНК,
 - у эукариот: инактивация генов (в гетерохроматиновых участках много метилированных последовательностей ДНК)

Болезни человека, связанные с нарушениями процесса репарации

- Пигментная ксеродерма
- Атаксия
- Анемия Фанкони
- Синдром Блума
- Синдром Вернера

Пигментная ксеродерма

- Вызвана мутацией гена, участвующего в репарации тиминовых димеров;
- У пациентов наблюдается повышенная чувствительность к УФ облучению и предрасположенность к раку кожи и меланомам;
- к 4-5 годам у больных детей развивается рак кожи, а в 20%-30% случаев наблюдается неврологическая дегенерация.





Атаксия

- повышенная чувствительность к ионизирующей радиации;
- как следствие, частота возникновения рака возрастает в 1200 раз (особенно лейкоemий);
- болезнь проявляется в нарушениях двигательных функции, дегенеративных процессах на уровне мозга и тимуса.



Анемия Фанкони

- образование неспецифических связей между цепями ДНК;
- повышенная чувствительность к химическим факторам;
- болезнь проявляется в виде тяжелой формы анемии и сопровождается отставанием в росте и развитии, а также иммунодефицитом.



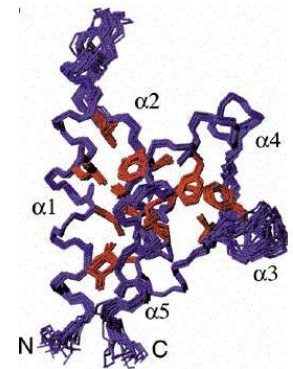
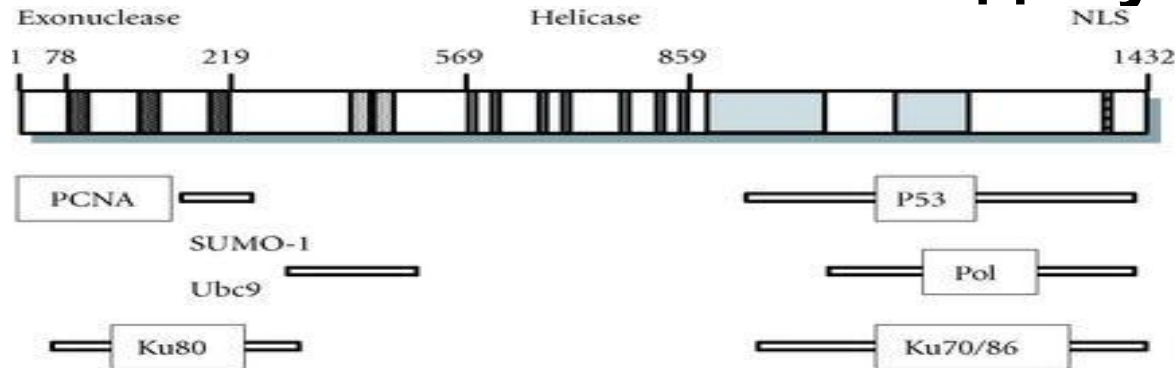
Синдром Блума

- Вызван мутацией в гене геликазы и связан с нарушениями рекомбинативной системы репарации;
- Наблюдается высокая частота хромосомных мутаций;
- Характеризуется повышенной чувствительностью к УФ лучам и проявляется в виде лейкоемий.



Синдром Вернера

- Вызван мутацией гена *Wtn*, кодирующего белок с геликазными и эндонуклазными



- Проявляется в нарушениях в функция органов и организма, в целом, а также преждевременным старением.

