

ДНК как самая главная молекула

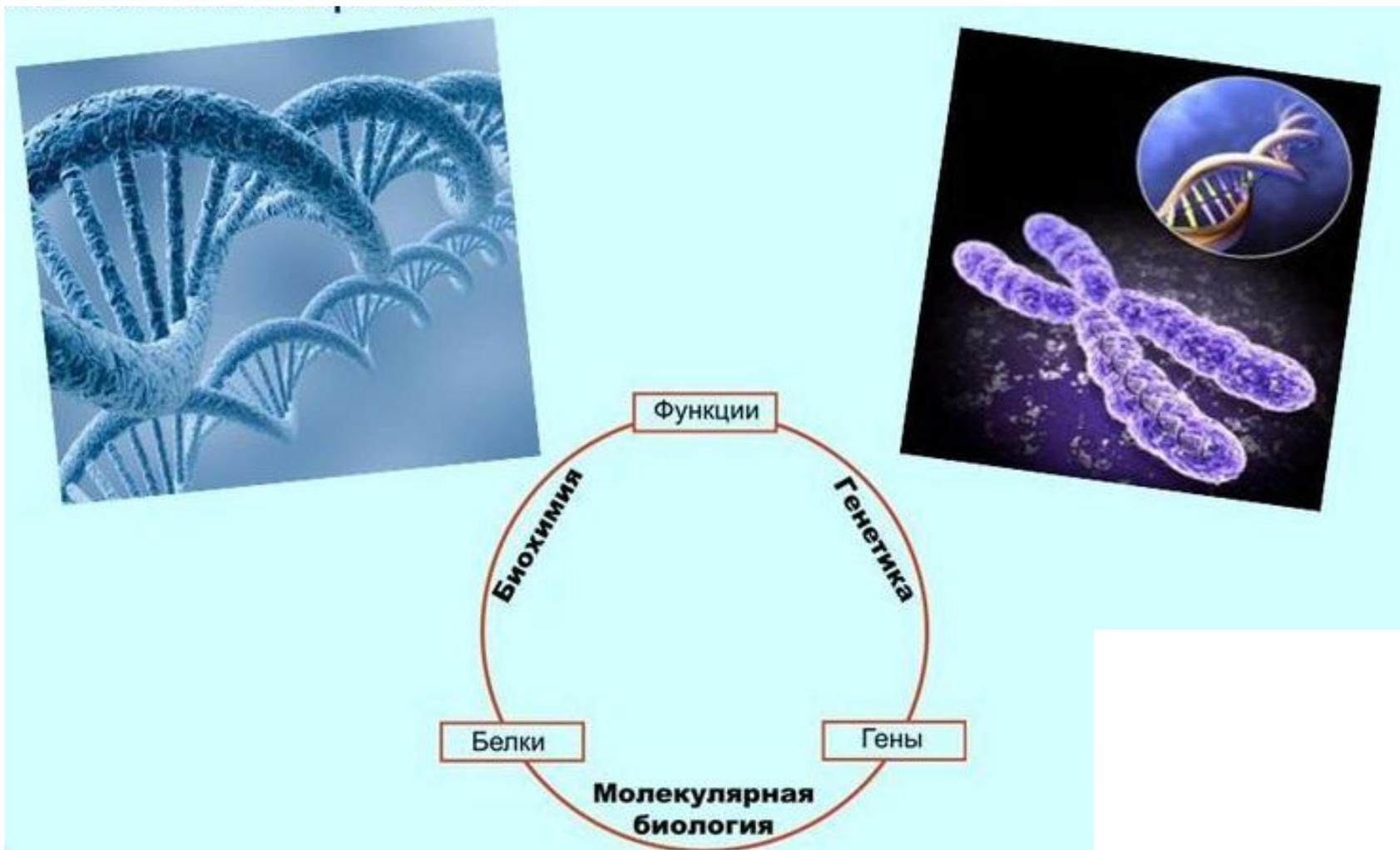
Молекулярная биология – комплекс биологических наук, изучающих механизмы *хранения*, *передачи* и *реализации* генетической информации

Центральная догма молекулярной биологии

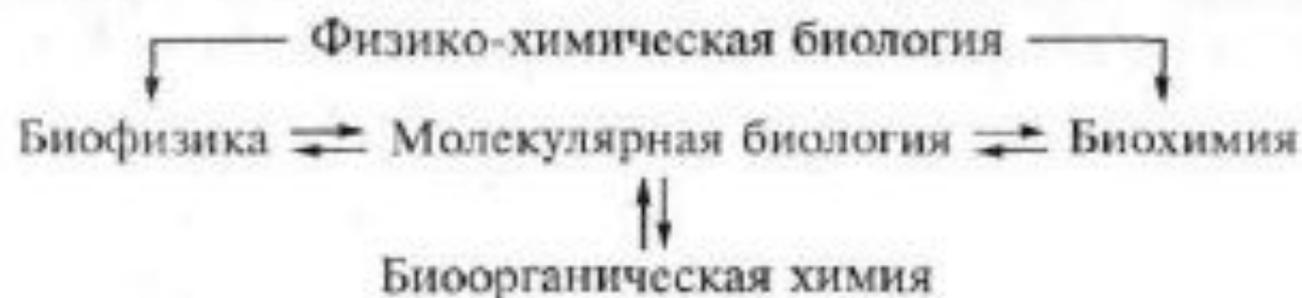


Молекулярная биология – это наука о биополимерах: белках и нуклеиновых кислотах (ДНК и РНК) и их взаимоотношениях

Взаимосвязь молекулярной биологии с другими близкими науками



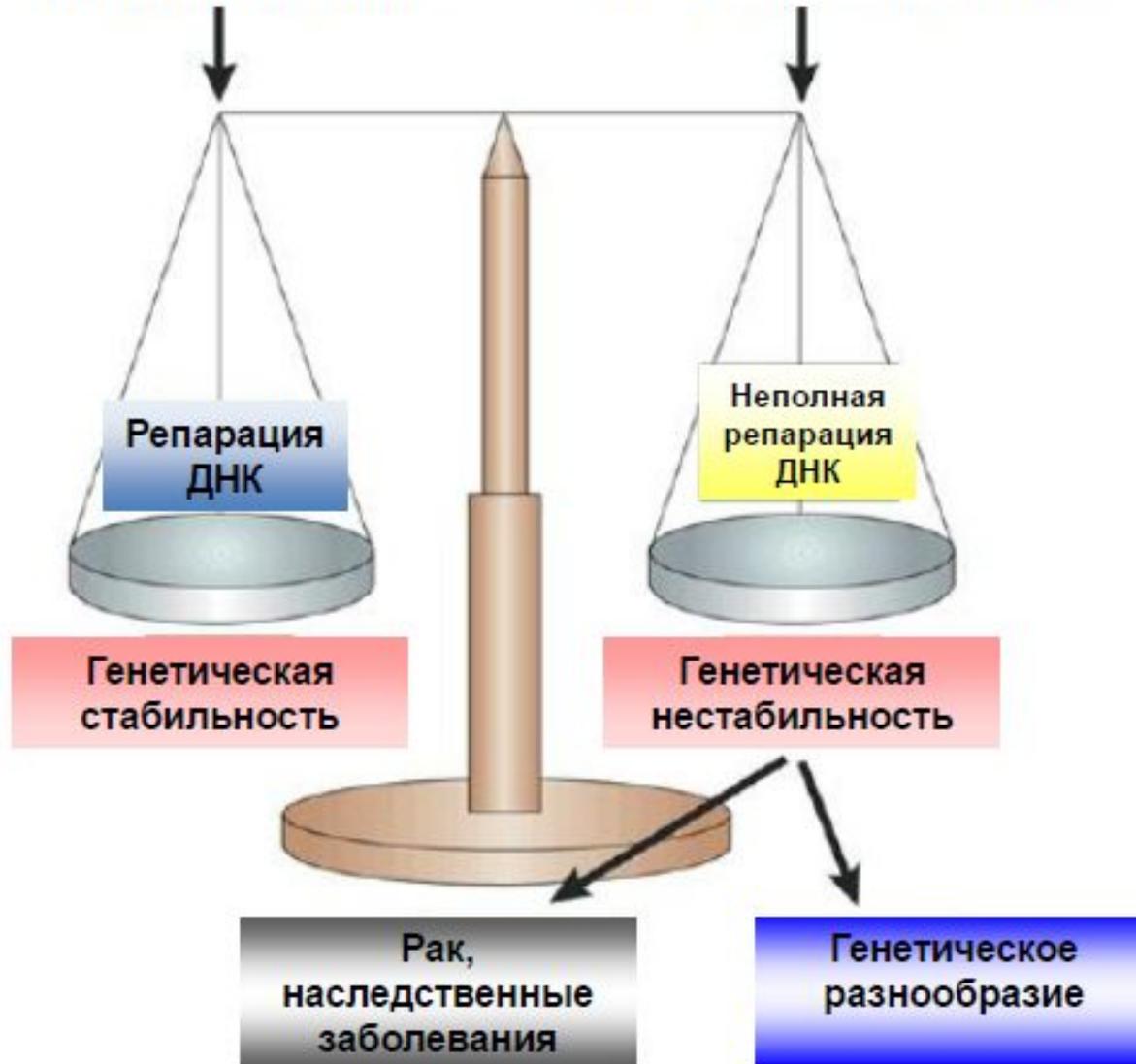
Постепенно молекулярная биология становится в центре наук, составляющих современную физико-химическую биологию:



Системы защиты клеточной ДНК

Повреждения ДНК

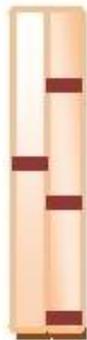
Повреждения ДНК



80-90% случаев

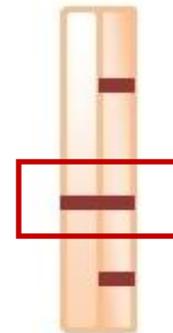
Особенности повреждений ДНК

Возможные повреждения DNA



Случайные повреждения, не совпадающие в обеих цепях.

Такие события – частые.



Случайные повреждения, совпадающие в обеих цепях.

Такие события – редкие и называются точечными мутациями.



Повреждения ДНК бывают:

1. Репарируемые и нерепарируемые.
2. Спонтанные и индуцированные.
3. Индуцируемые экзогенными факторами.
4. Индуцируемые эндогенными факторами.

1. **Репарируемые повреждения** удаляются собственными системами клеток, например, возникающие под действием УФ-лучей. Подавляющее большинство повреждений ДНК репарируются.
2. **Нерепарируемые повреждения** возникают редко.

2. **Спонтанные повреждения** возникают без каких либо направленных воздействий, а индуцированные – под действием физических, химических или биологических факторов.



Индукцированные повреждения вызывают:

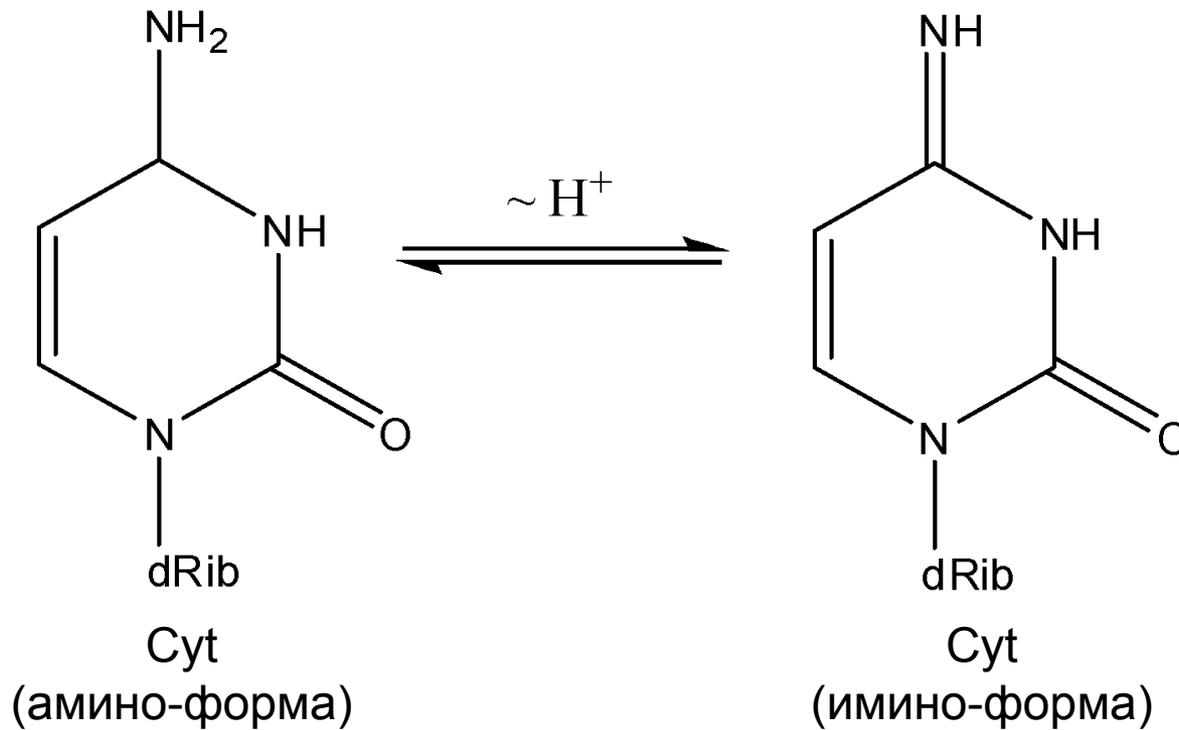
Физические факторы – все виды радиации, ультрафиолетовый свет (УФ-свет), СВЧ, температура.

Химические факторы – полициклические и гетероциклические ароматические углеводороды, ароматические амины, мутагены (нитрозогуанидин и этилметансульфонат и др.), уретан, формальдегид, азотистая кислота и др.

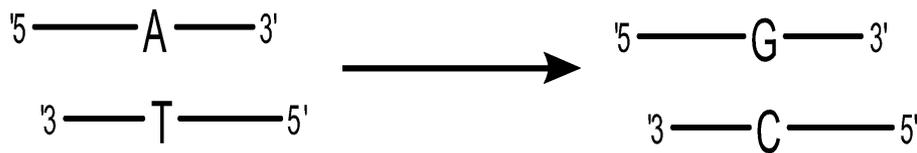
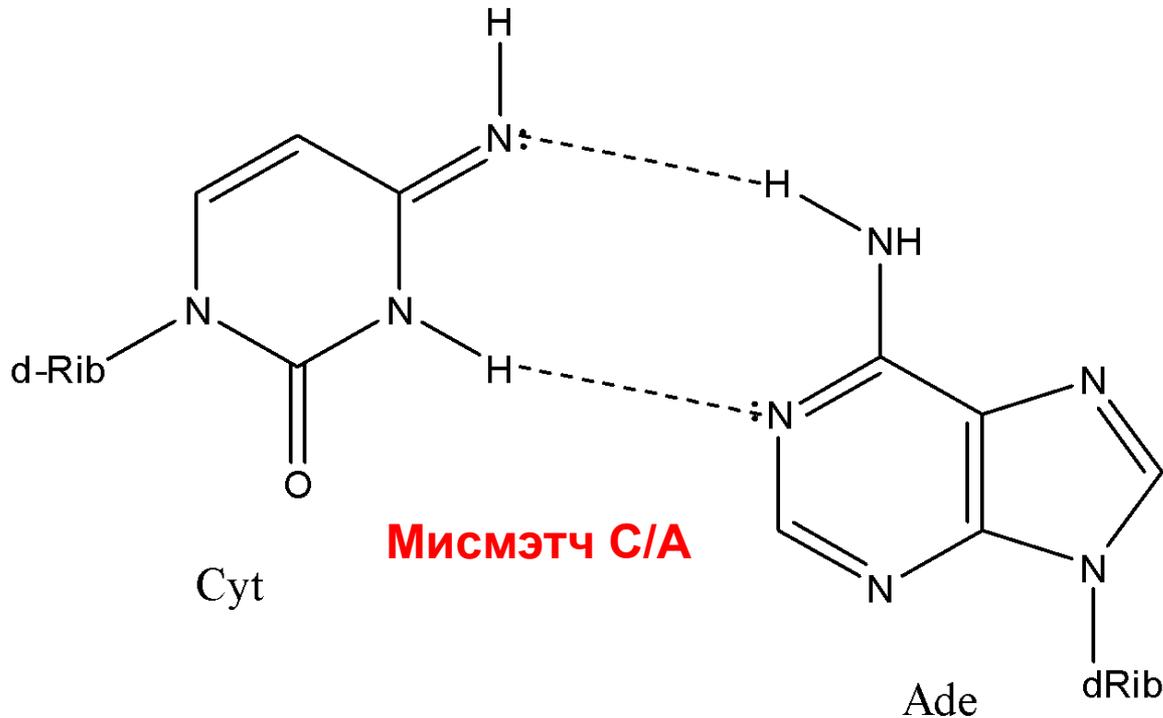
Биологические факторы: афлатоксин и другие эндо- и экзотоксины, активные формы кислорода и др.

Молекулярные основы мутаций и повреждений DNA.

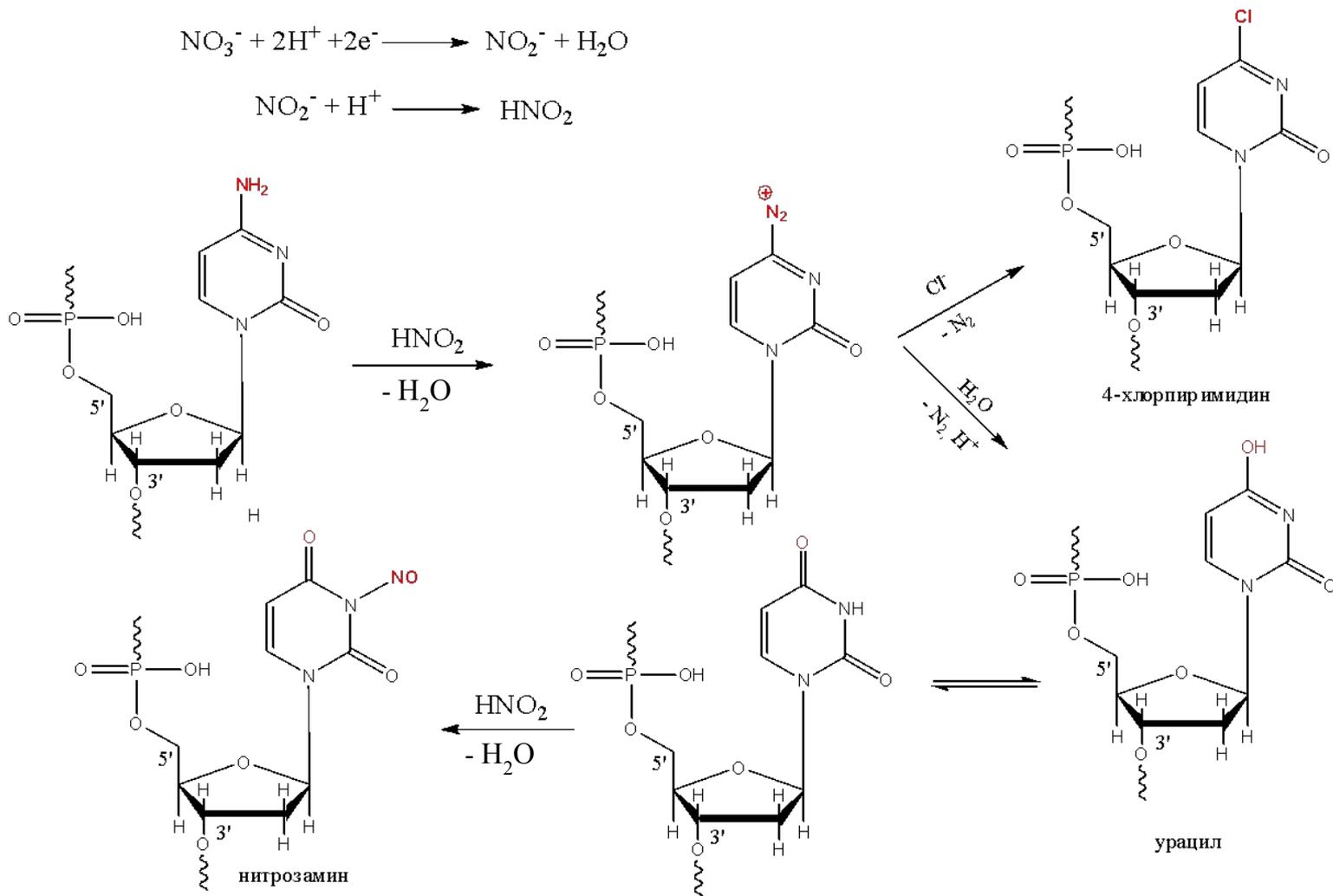
1) Ошибки репликации, не исправленные DNA-Pol



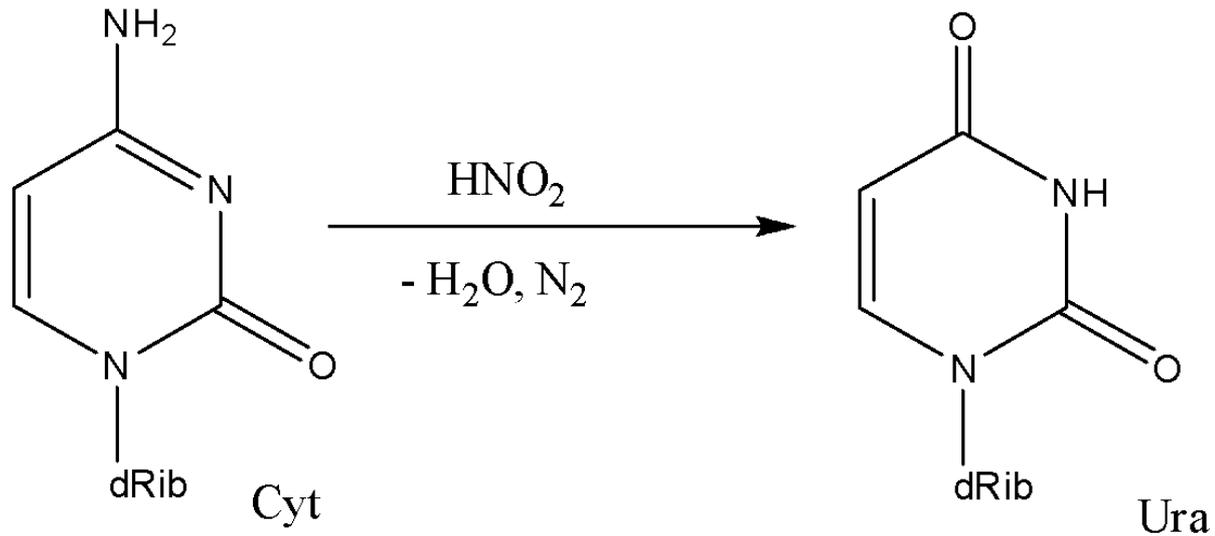
Таутомерная имино-форма Cyt вызывает трансцизию за счёт образования неканонических пар



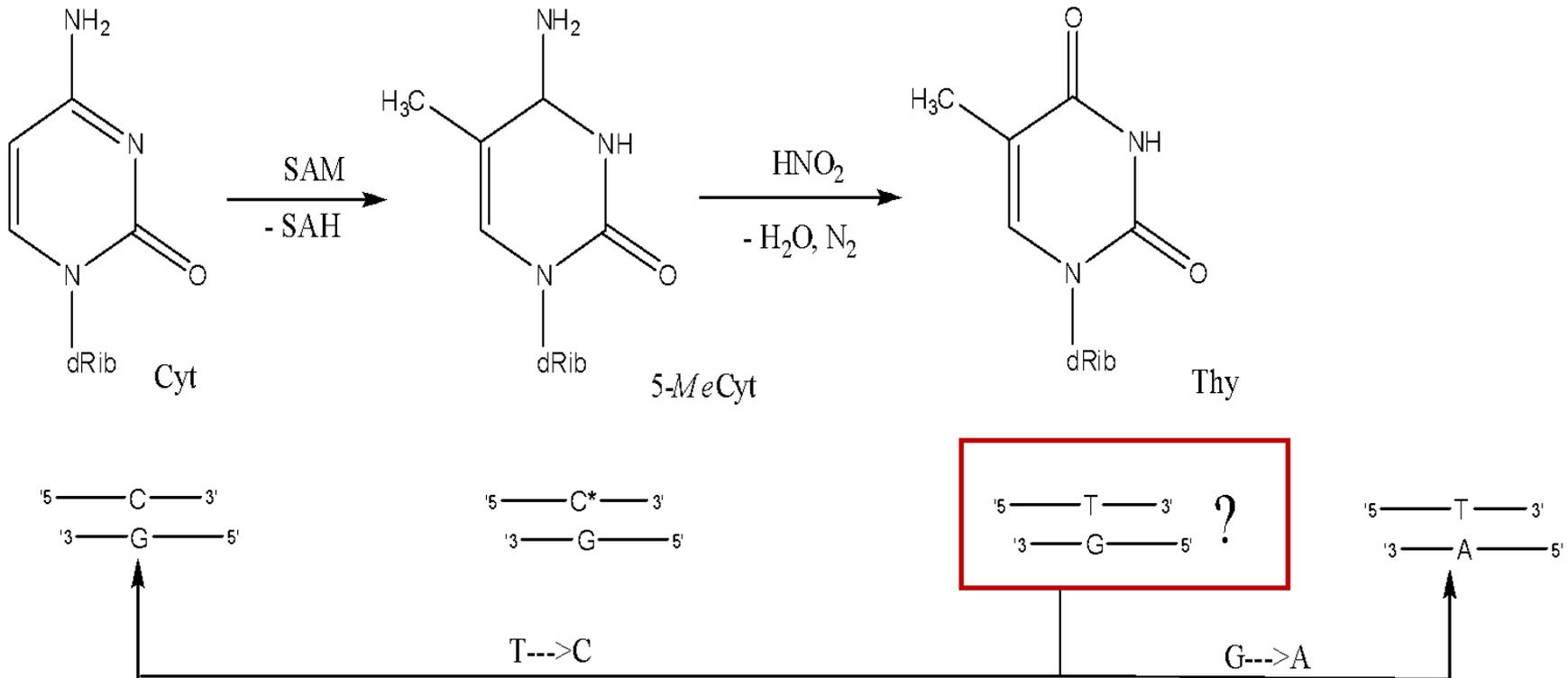
Дезаминирование



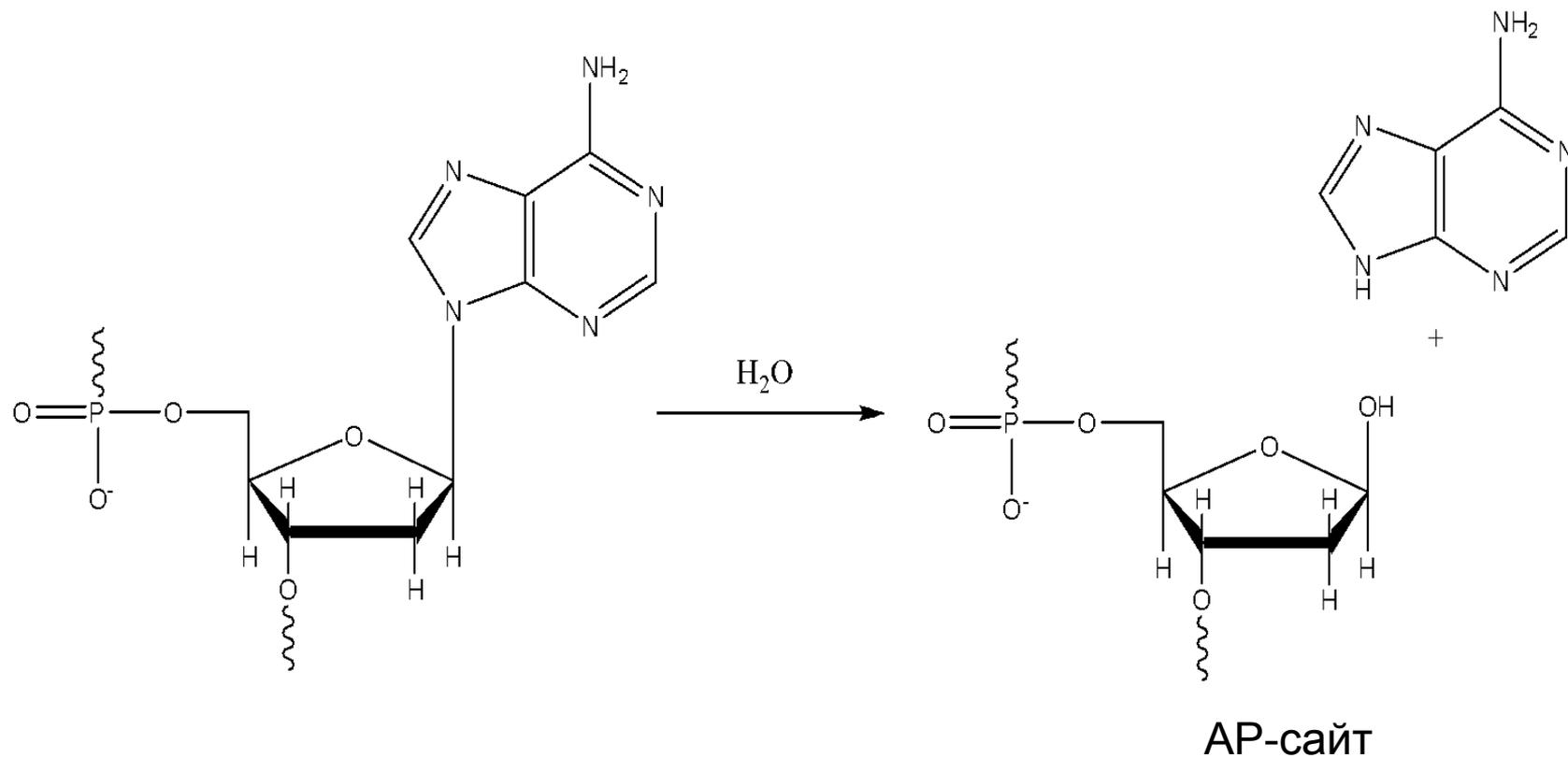
Причины возникновения Thy у молекулы ДНК в эволюции живого мира



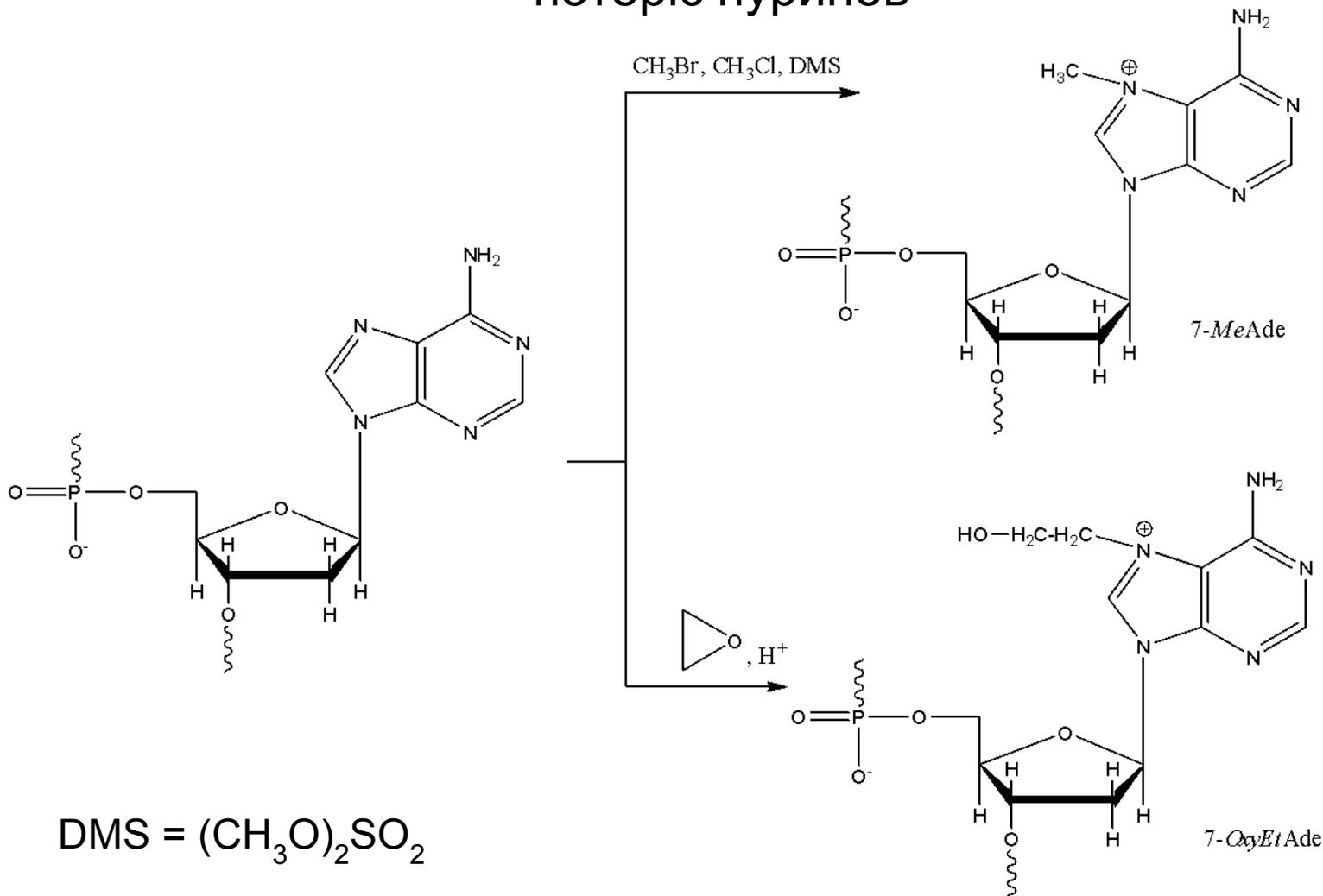
Причиной сбоя репарации служат минорные основания



Апуринизация



Метаболические яды и химические отравляющие вещества с алкилирующим действием (бромистый метил, этиленоксид, метилхлорид, диметилсульфат) вызывают дополнительную потерю пуринов

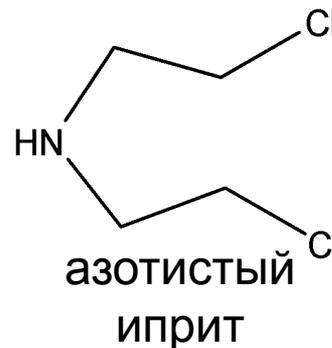
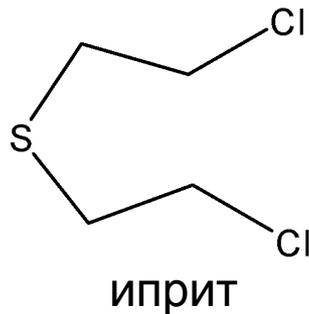


4) Химические мутагены

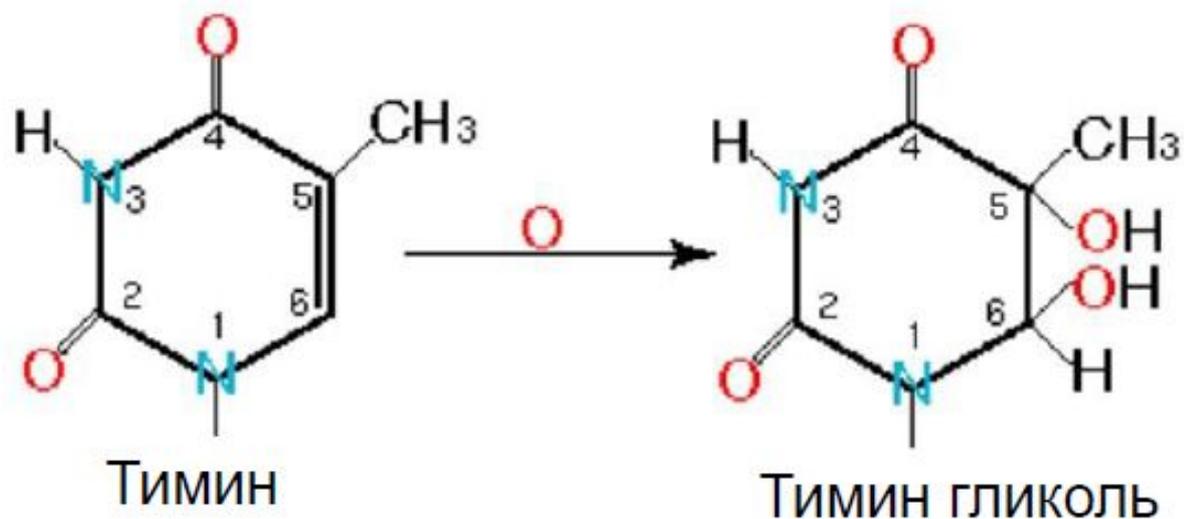
а) Алкилирующие агенты

Алкилирование – это добавление алкильных боковых групп (метилы, этилы, пропиловы или бутиловы) в пуриновые или пиримидиновые основания молекулы ДНК под действием ряда химических мутагенов (алкилирующих агентов).

Такой способностью обладают сернистый и азотистый иприты, многие промышленные токсиканты, лекарственные противоопухолевые препараты, являющиеся производными дихлорэтиламина (циклофосфамид, мелфалан), нитрозомочевины (кармустин, ломустин), а также алкилсульфонаты (бисульфан, цисплатин) и др.

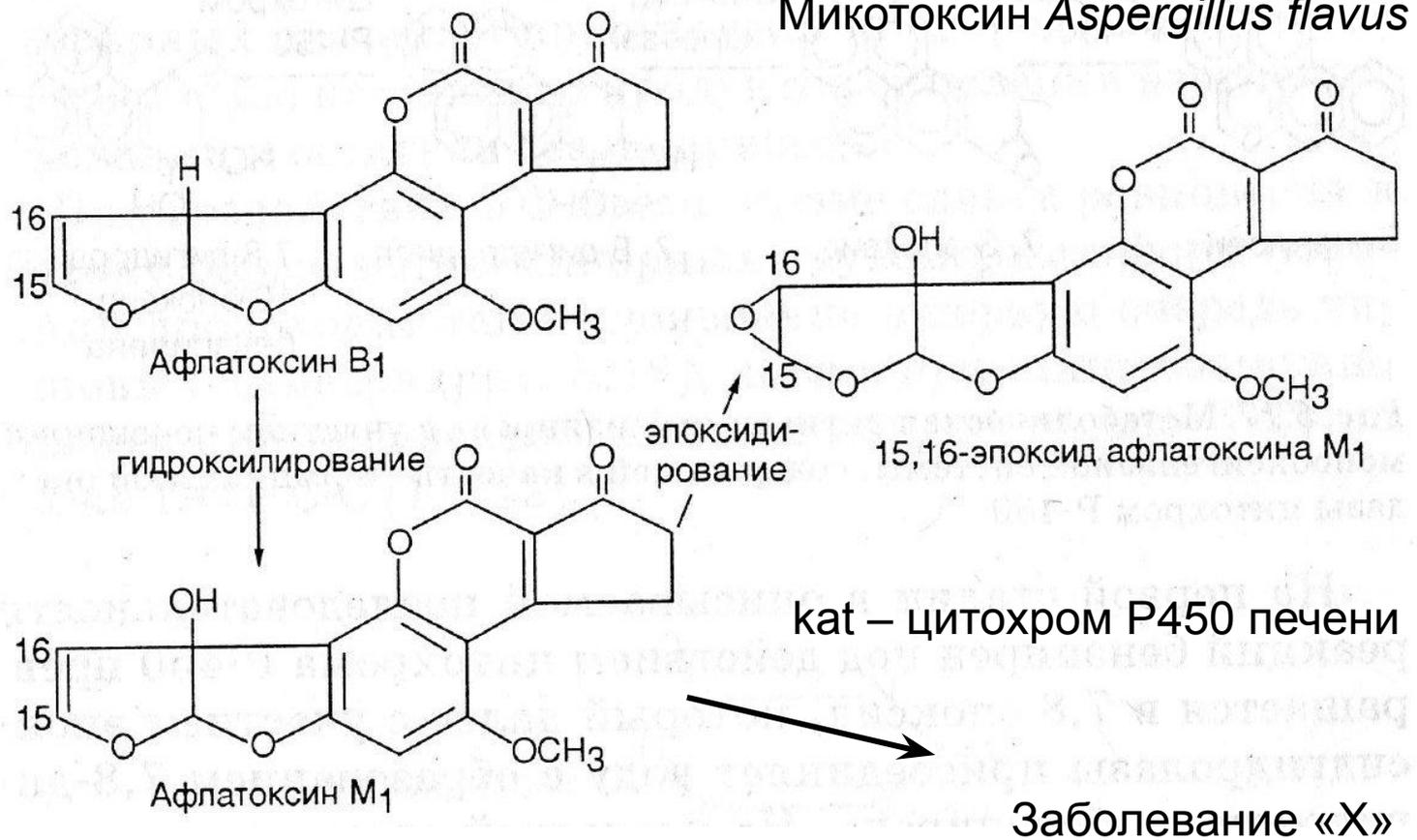


2. Окисление азотистых оснований под действием активных форм кислорода ($O\bullet$, $O-O\bullet$, $HOON$, $\bullet OH$)



При взаимодействии с активными формами кислорода и гидроперекисями образуется тимин, гидроксильированный по 5-му и 6-му положению – тимин гликоль.

ХИМИЧЕСКИЙ канцерогенез



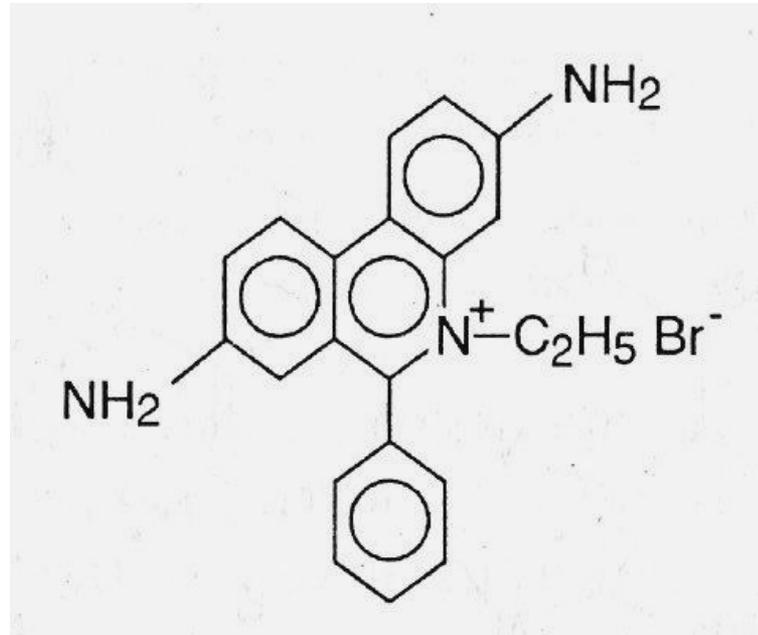
Канцерогены группы бензпирена и бензантрацена

Постоянные компоненты табачного дыма, копчёных продуктов и продуктов, приготовленных на углях, а также выхлопных газов

индукция этанолом

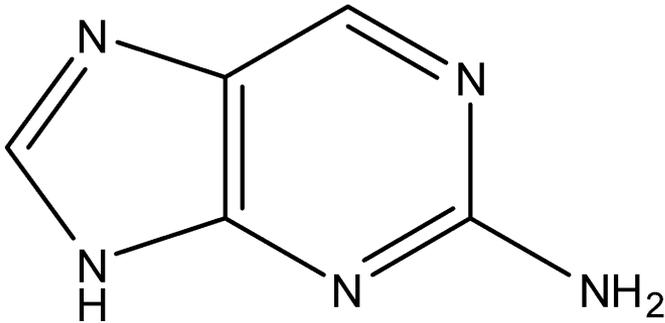


5) Интеркаляция и образование КИНКОВ



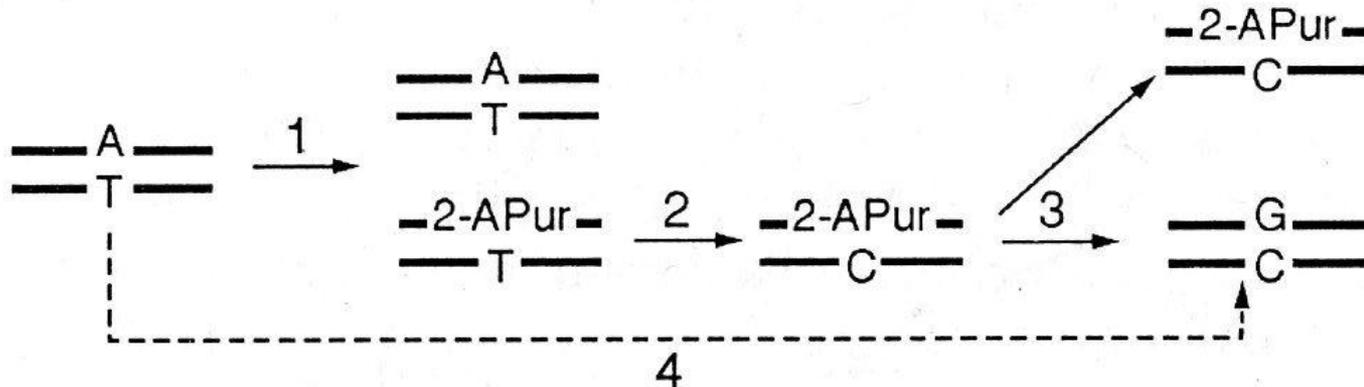
Этидий бромид

6) Ошибки DNA-Pol, связанные с включением аналогов природных и синтетических нуклеотидов

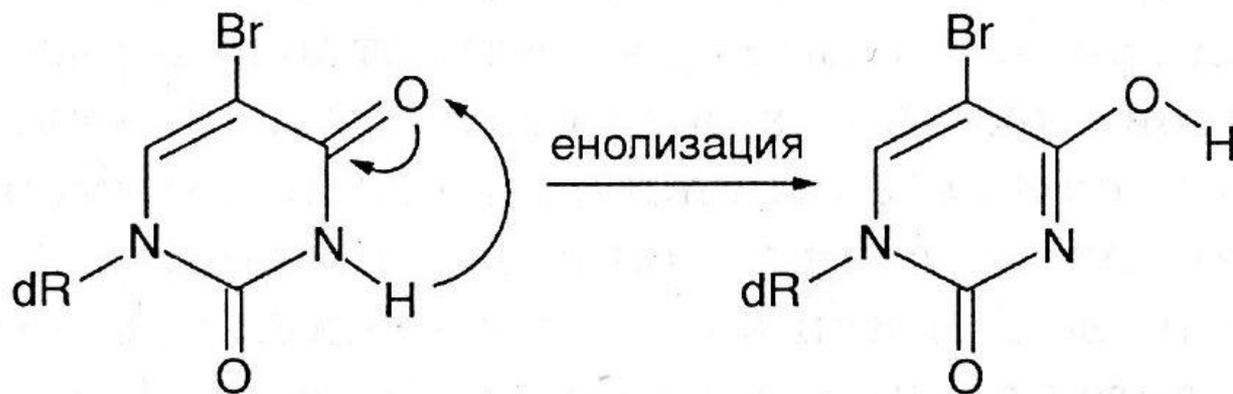


2-аминопурин

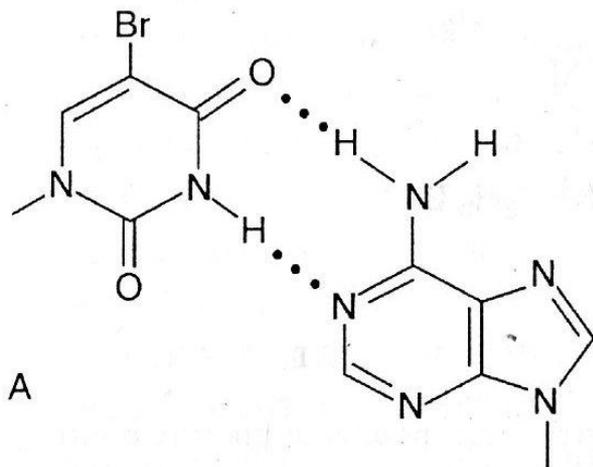
Механизм трансцизии



5-бром-дезоксиуридинтрифосфат как аналог TMP



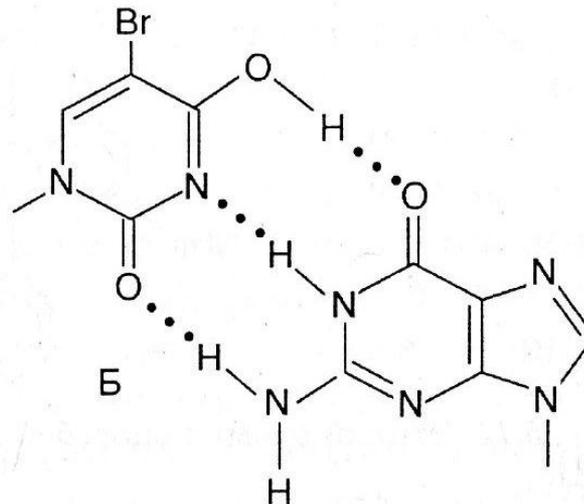
5-BrUra/Ade



Кетон
(лактам)

норма

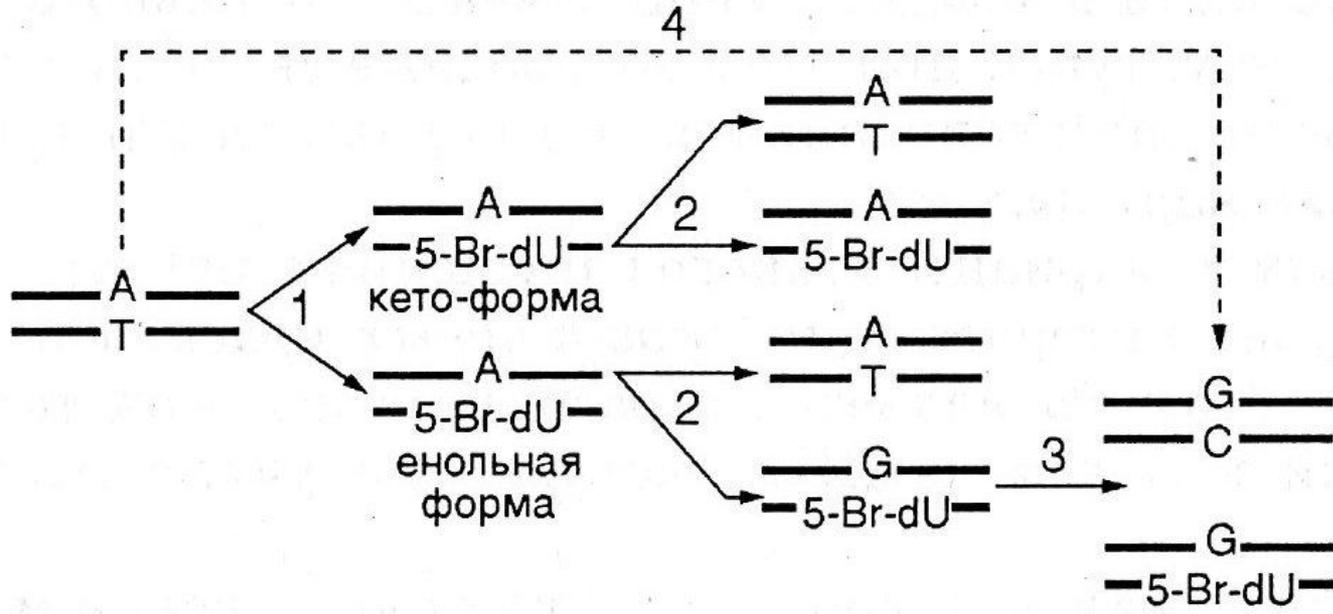
5-BrUra/Gua



Енол
(лактим)

патология

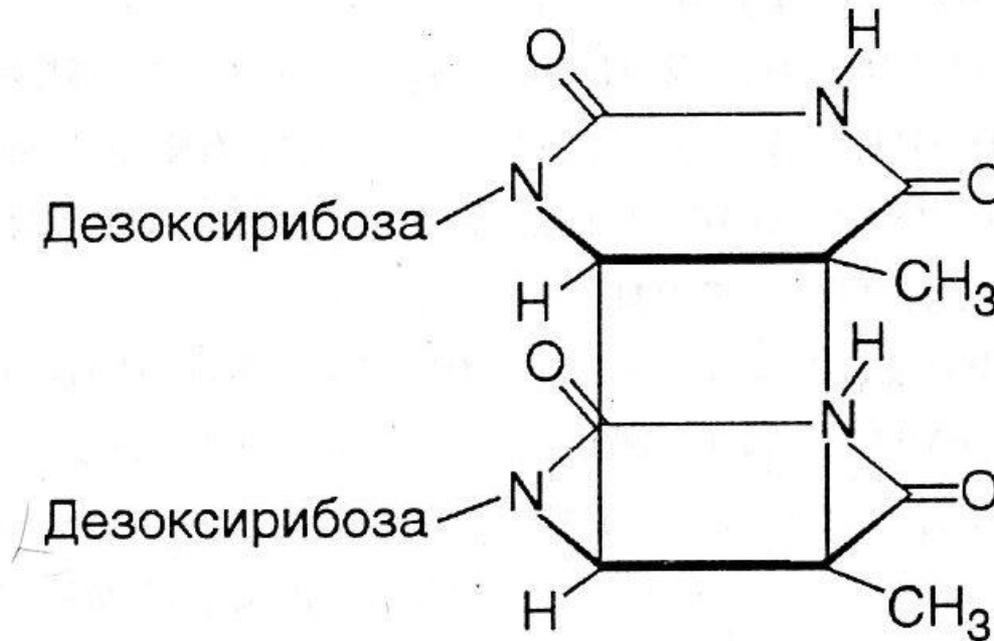
Механизм транзиции A/T → G/C



1, 2, 3 – последовательные стадии репликации
4 – конечный результат транзиции A-T → G-C

7) Физические мутагены (X-, УФ- и γ-лучи)

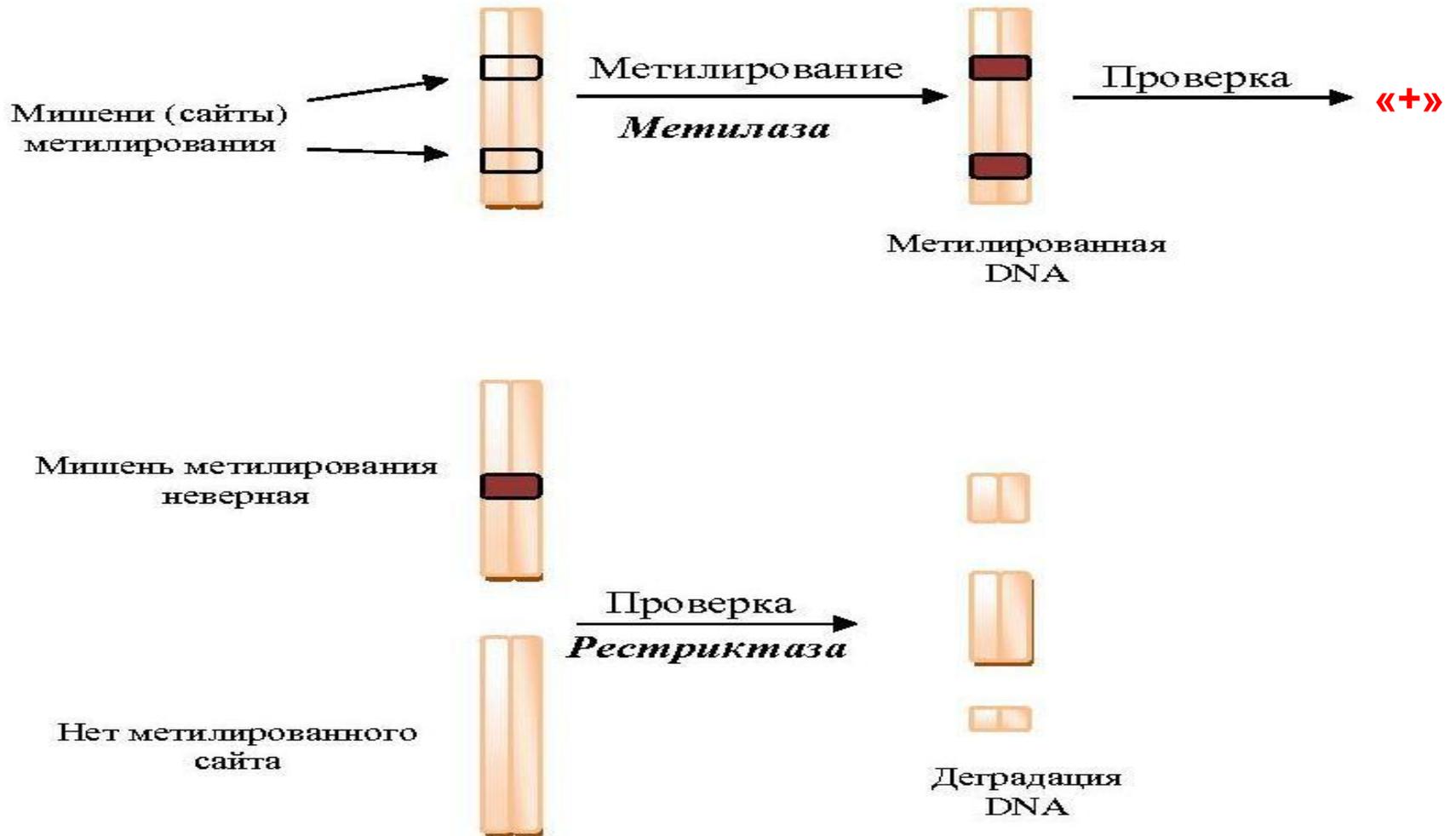
Образование пиримидиновых димеров T/T, T/C и C/C



Типы защиты ДНК

- **1) Структурная** (оформленное ядро; наличие белков гистоновой и негистоновой природы в хроматине).
- **2) Функциональная:**
 - 2.1.) особенности работы DNA-Pol,
 - 2.2.) R-M-защита,
 - 2.3.) Молекулярный аппарат для исправления ошибок в DNA – репарация.

R-M-защита. Общая схема.

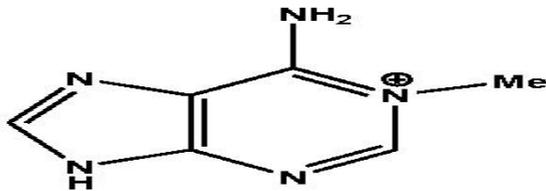


Минорные нуклеотиды необходимы для проверки «подлинности» DNA на уровне молекулярного узнавания ферментами системы рестрикции-модификации.

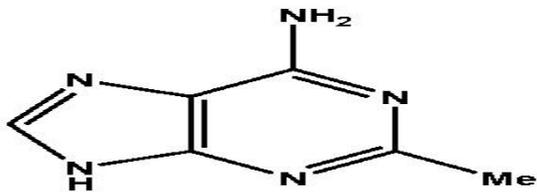
Минорные нуклеотиды

**пуринового
ряда**

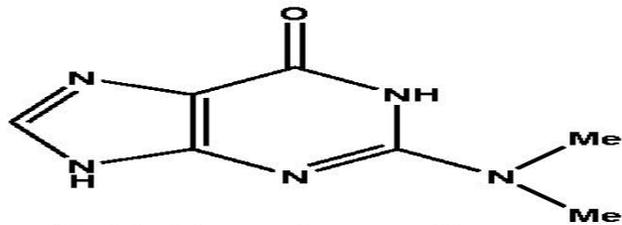
**пиримидинового
ряда**



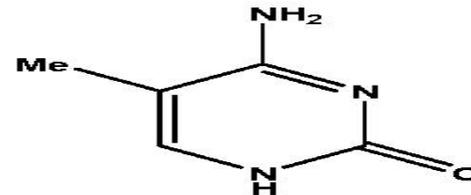
1-метиладенин



2-метиладенин



2-N, N-диметилгуанин



5-метилцитозин

РЕПАРАЦИЯ

Биологический смысл репарации

Устраняет повреждения в молекулах ДНК, предотвращая образование наследственно закрепленных нарушений генетического материала – мутаций.

Приблизительно каждые 9 секунд ДНК повреждается в процессе жизнедеятельности. Каждое из повреждений быстро ликвидируется, если клетке, в которой оно произошло, не предназначено погибнуть.

Более 150 генов участвуют в репарации ДНК.

Одной из причин возникновения целого ряда наследственных заболеваний и раковых опухолей является нарушение репарации ДНК.

Репарация повреждений в молекуле ДНК (по классической схеме) идет в несколько этапов:

- **первый этап** – это идентификация повреждения и определение его типа;
- **второй этап** – это активация ферментов, которые или напрямую преобразуют повреждение до исходного состояния, или (если прямое восстановление невозможно) вырезают поврежденный участок, формируя брешь.

В последнем случае прибавляются еще 2 этапа:

- **третий этап** - синтез нового участка молекулы ДНК (взамен поврежденного)
- **четвертый этап** - его встраивание в брешь.

Виды репарации

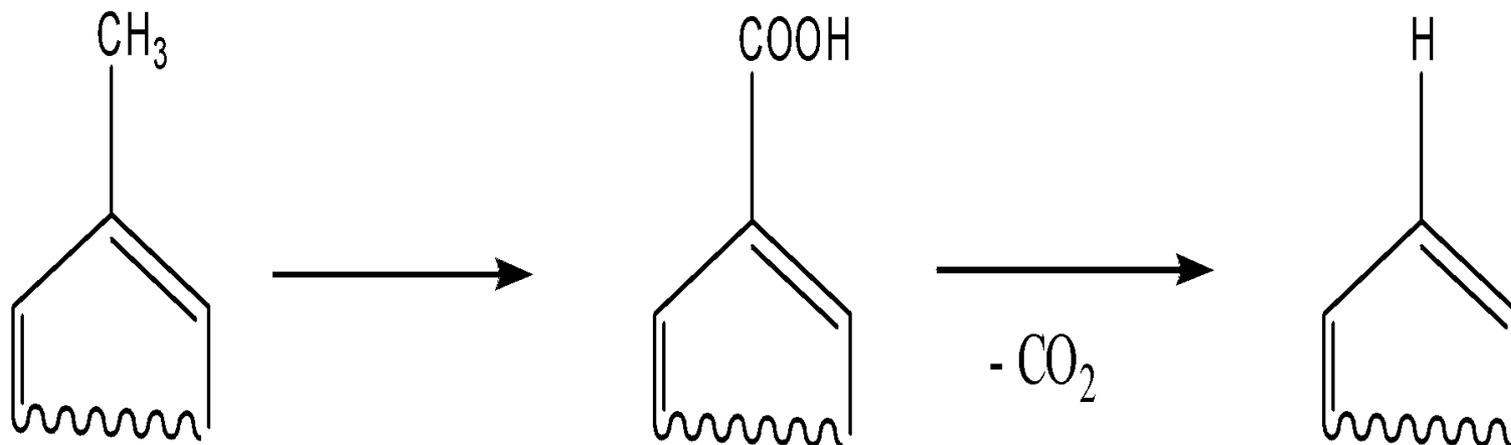
- 1. Прямая (исправление ошибок) – механизм обращения ошибок



Примеры прямой репарации повреждений в ДНК:

А — метилированное основание (O^6 -mG) деметируется ферментом метилтрансферазой, которая переносит метильную группу на один из своих остатков цистеина; **Б** — фототилаза присоединяется к тиминовому димеру, и после облучения этого комплекса видимым светом (300—600 нм) димер расщивается

Оксидоредуктазы AlkB (E.coli), hABH2 и hABH3 (Homo sapiens)



2. Экцизионная (удаление ошибок)

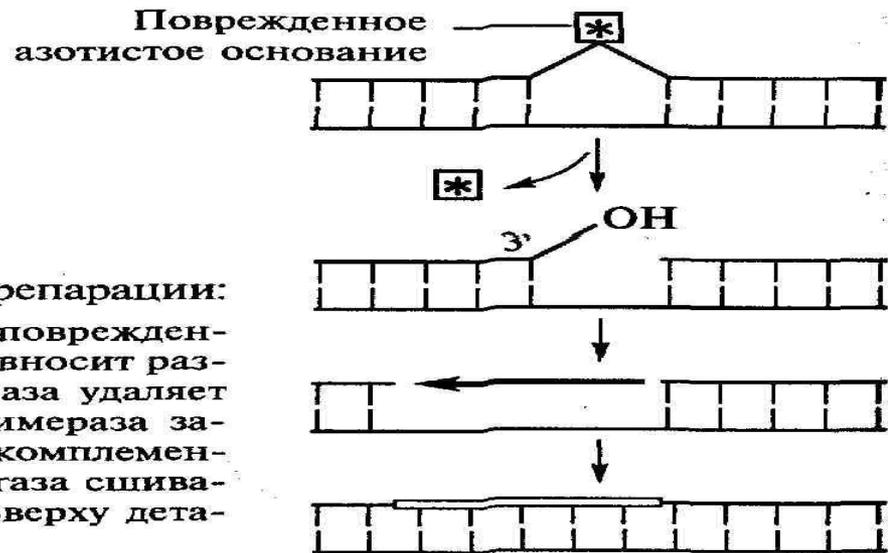
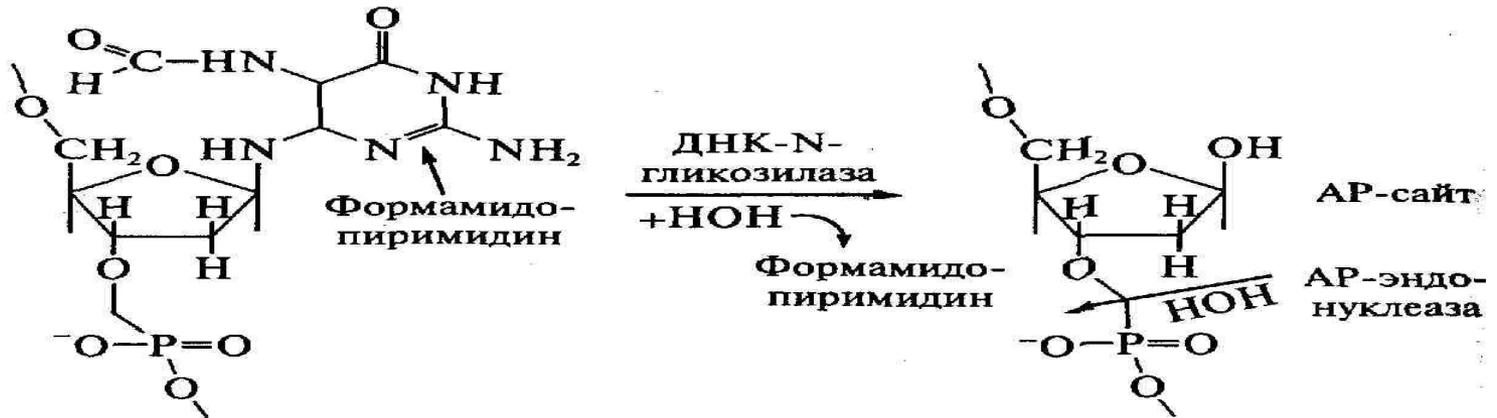
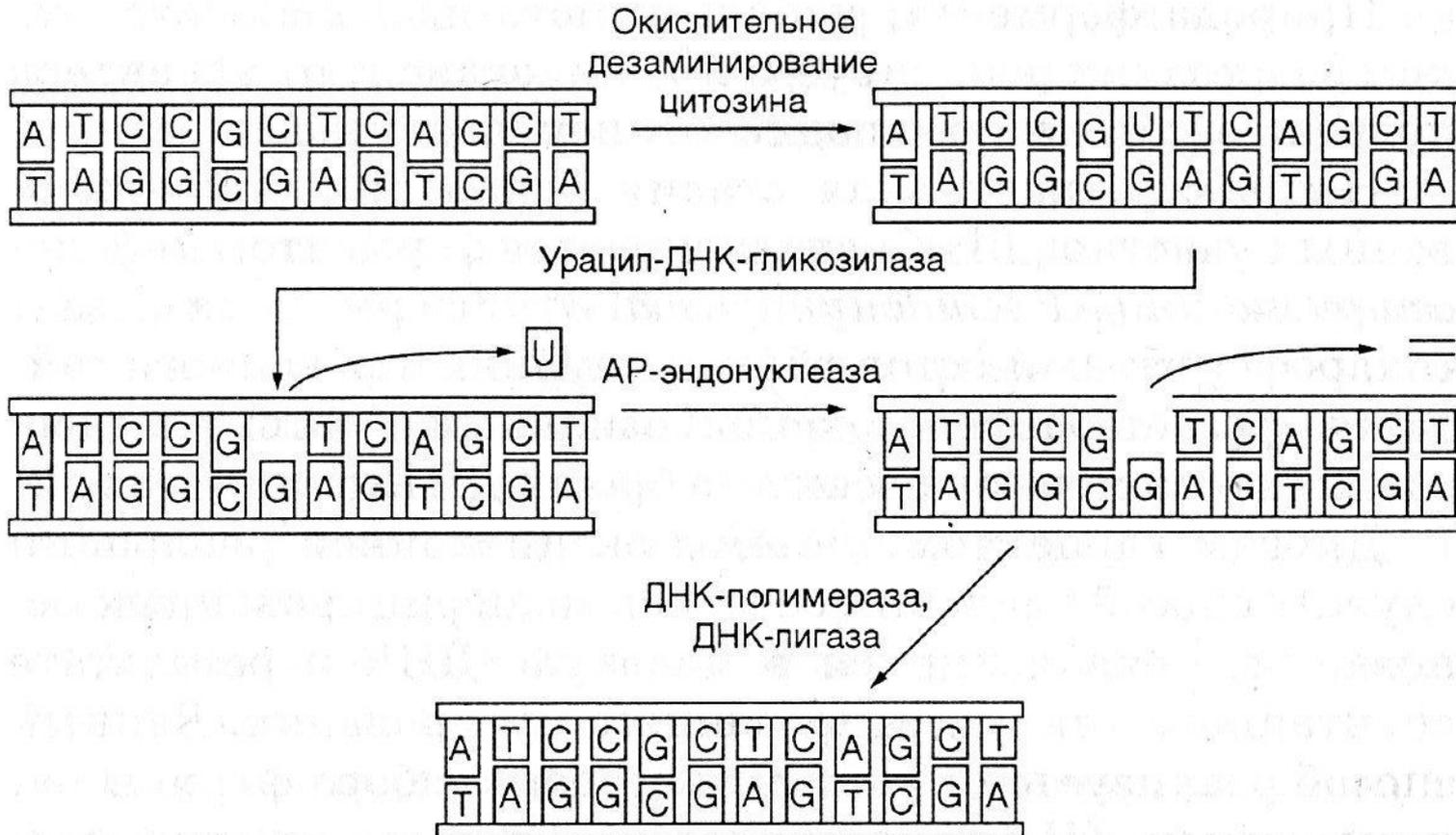


Схема эксцизионной репарации:

1 — ДНК-N-гликозилаза удаляет поврежденное основание, AP-эндонуклеаза вносит разрыв в цепь ДНК; 2 — экзонуклеаза удаляет ряд нуклеотидов; 3 — ДНК-полимераза заполняет освободившийся участок комплементарными нуклеотидами, ДНК-лигаза сшивает репарированную цепь ДНК. Вверху детализирована стадия 1

Молекулярный механизм удаления неканонического нуклеотида ДНК - UMP



SOS-репарация как крайне рискованный механизм

В ходе этого механизма индуцируется синтез белков, присоединяющихся к ДНК-полимеразному комплексу и «загрубляющих» его работу таким образом, что подпорченный комплекс становится способным строить дочернюю нить ДНК напротив дефектных звеньев матричной нити, и при этом в дочерней нити появляется много ошибок (мутаций).

В результате SOS – репарации клетка спасается от гибели на этом этапе, и теперь может произойти клеточное деление. ДНК клетки удвоится, хотя и с ошибками и с высоким риском угрозы для последующей жизни клетки.

SOS-ответ определяется взаимодействием белков **RecA** и **LexA**

Спонтанный аборт как механизм сохранения генофонда

- 1. Собственно спонтанный аборт (СА).** Характеризуется самопроизвольным отторжением из полости матки прекратившего развитие более или менее сформированного эмбриона, не имеющего заметных признаков внутриутробной задержки развития. Такой СА происходит до 20-24 недели беременности.
- 2. Неразвивающаяся беременность (НБ),** при которой развитие зародыша прекращается в эмбриогенезе (со 2-ой до 7-ой недели), но по неизвестным причинам не происходит отторжение эмбриона из полости матки (вплоть до 10-14-ой недели беременности).
- 3. Анэмбриония (АЭ).** Характеризуется развитием экстраэмбриональных оболочек без развития эмбриона. При АЭ развитие эмбриона прекращается в раннем эмбриогенезе на стадии дифференциации внутренней клеточной массы (2-4 недели), и зародыш представлен пустым плодным мешком.

Некоторые наследственные заболевания человека
связана с дефектом эксцизионной репарации ДНК:

Пигментная ксеродерма,
Синдром Кокэйна,
триходистрофия и др.

Заболевания связаны с неспособностью удалять
тиминовые димеры из ДНК, один из симптомов -
онкологическое заболевание кожи.

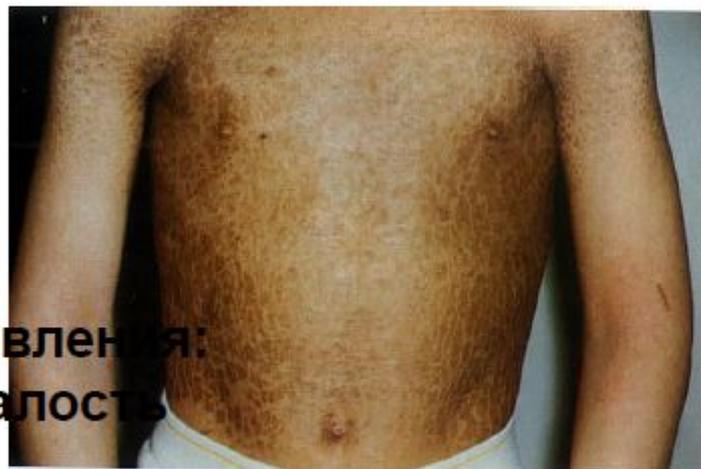


4-х летний ребенок,
больной пигментной
ксеродермой.
Новобразования –
предшественники рака
кожи.



Трихотриодистрофия

Нарушена эксцизионная
репарация



Клинические проявления:

- умственная отсталость
- повышенная
фоточувствительность
- ихтиоз (чешуйчатая кожа)
- неврологические
нарушения
- дефекты роста и развития



Синдром Блюма

Подавлен репаративный синтез.

Дефект ДНК-хеликазы.

Высокая частота хромосомных аббераций

Клинические проявления:

- задержка роста и развития
- нарушения иммунной системы
- предрасположенность к раковым заболеваниям
- предрасположенность к инфекционным заболеваниям
- свето-индуцируемое поражение капилляров кожи

ВОТ

И

ВСЁ!!!

