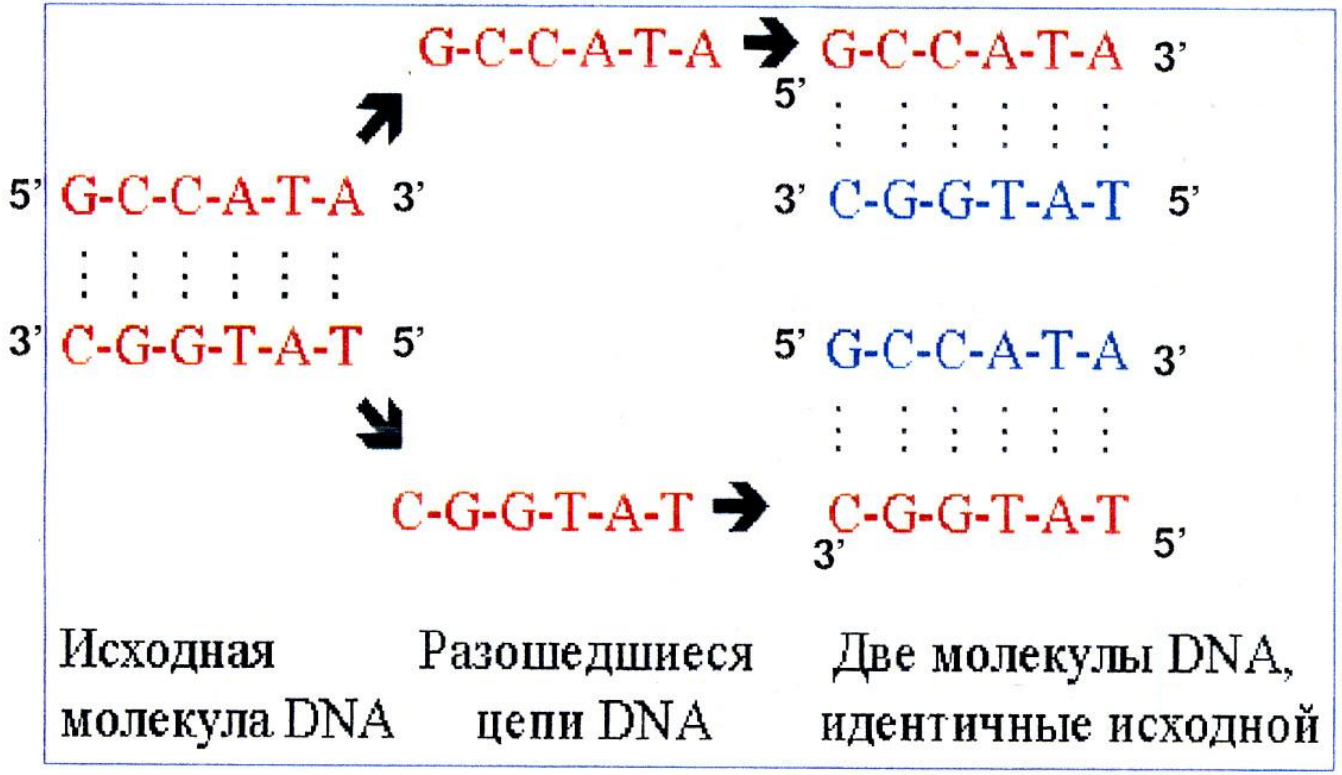
Репликация и репарация ДНК

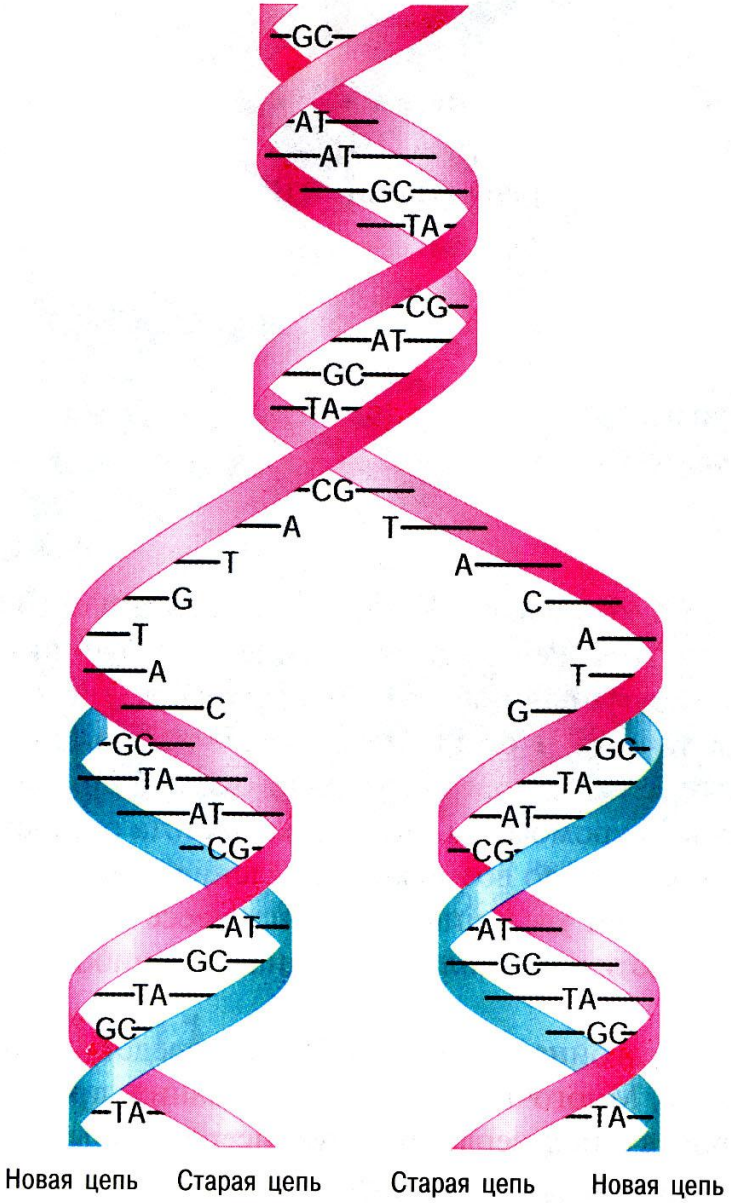
Материалы для самостоятельной работы студентов. Пояснения к рисункам – в лекции.

Составитель доцент Секерина О.А.

Принципы репликации ДНК

1. Комплементарность
2. Антипараллельность
3. Полуконсервативность





Общая модель полуконсервативной репликации ДНК. Вновь синтезированные цепи выделены синим.

Репликация ДНК – процесс образования идентичных копий ДНК, осуществляемый комплексом ферментов и структурных белков

Репликация ДНК лежит в основе:

- воспроизведения генетической информации при размножении живых организмов
- передачи наследственных свойств из поколения в поколение
- развития многоклеточного организма из зиготы.

Общие принципы репликации ДНК применимы, с небольшими модификациями, ко всем организмам.

Различные ферменты и типы ферментативной активности, вовлеченные в биосинтез ДНК

Название фермента (белка)	Функция
Хеликаза	Функция раскручивания двойной спирали
SSB-белок	Белок, связывающийся с одноцепочечной ДНК
Топоизомераза	Удаление супервитков спирали
ДНК-полимераза	Рост цепи ДНК за счет поликонденсации дезоксирибонуклеозид трифосфатов
Праймаза	Синтез РНК-затравки (праймера)
5' → 3'' эндонуклеаза	Удаление РНК-затравки, репарация
3' → 5' эндонуклеаза	Исправление ошибок репликации
ДНК-лигаза одноцепочечного разрыва	Соединение 3'-OH и 5'-PO_4 концов
Эндонуклеаза	Репарация
Гликозилаза	Репарация

Общие свойства ДНК-полимераз

- Не способны расплетать ДНК-дуплекс – нуждаются в однонитевой матрице.
- Могут только удлинять предсуществующую нить ДНК или РНК, но не способны инициировать синтез - потребность в затравке (праймере).
- Однонаправленность (униполярность) синтеза: синтез каждой дочерней цепи ДНК происходит всегда в направлении 5'->3': нуклеотид добавляется к 3'-ОН концу растущей цепи.
- Однонитевая матрица считывается в направлении 3'->5'.

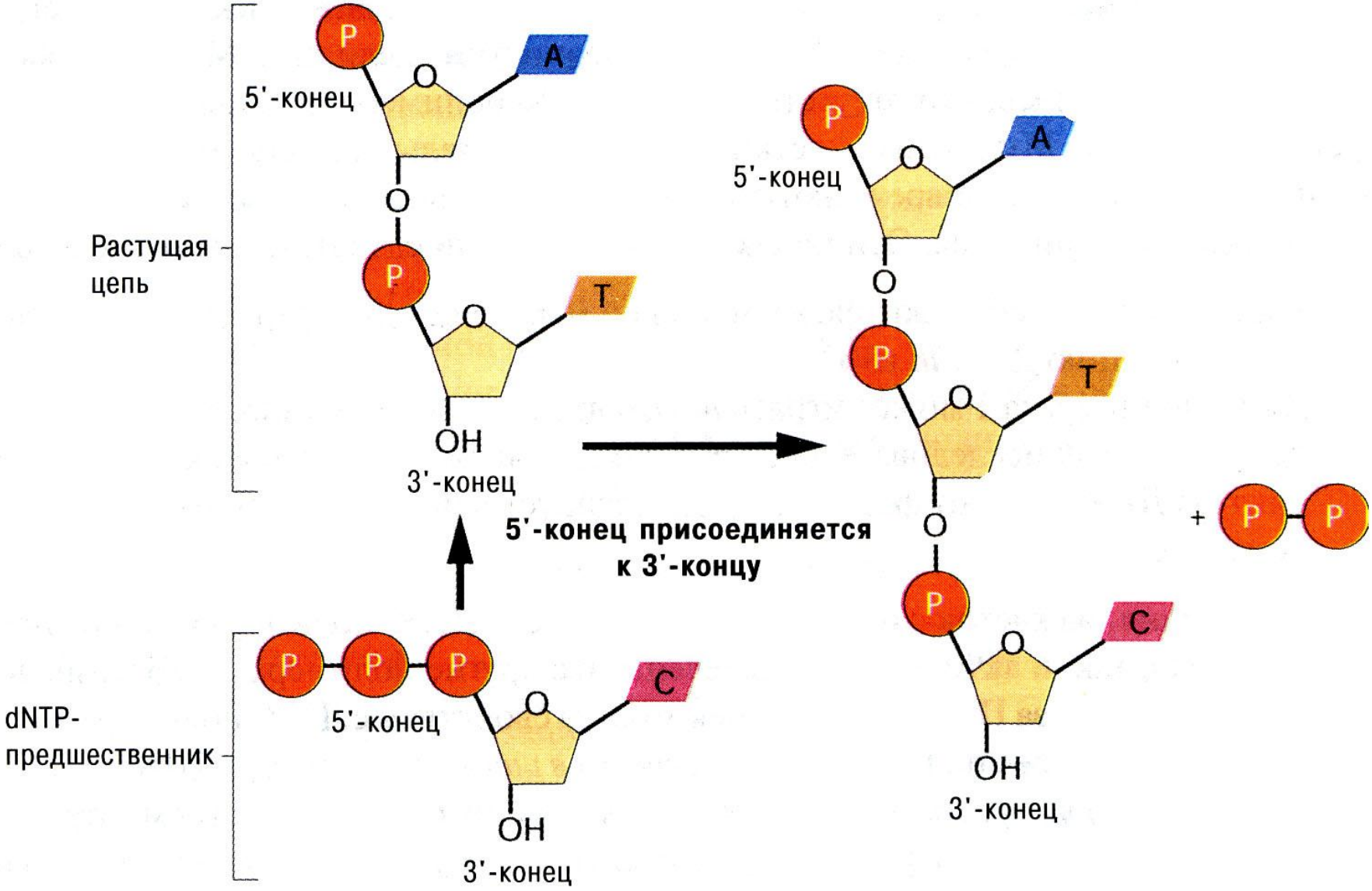
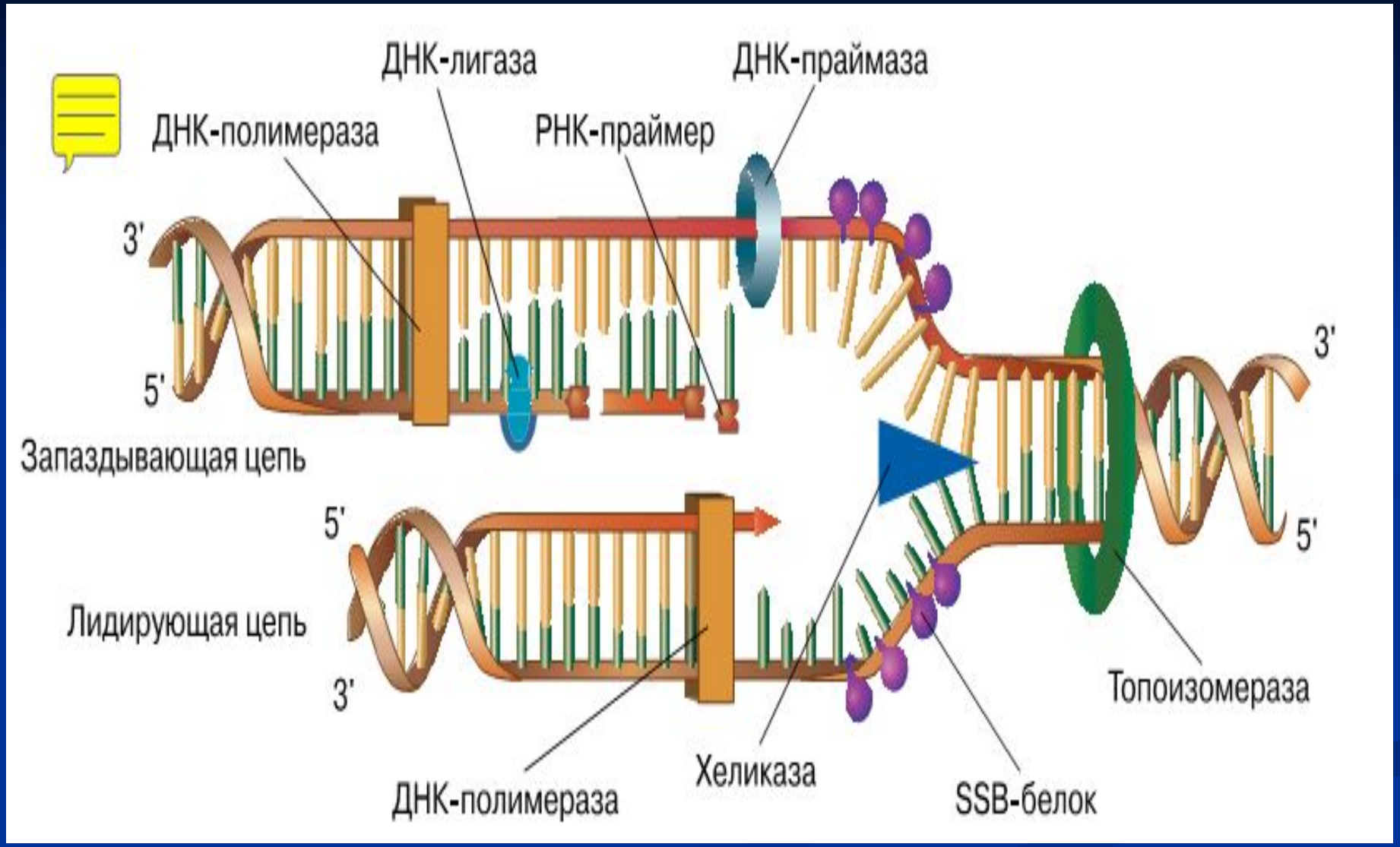
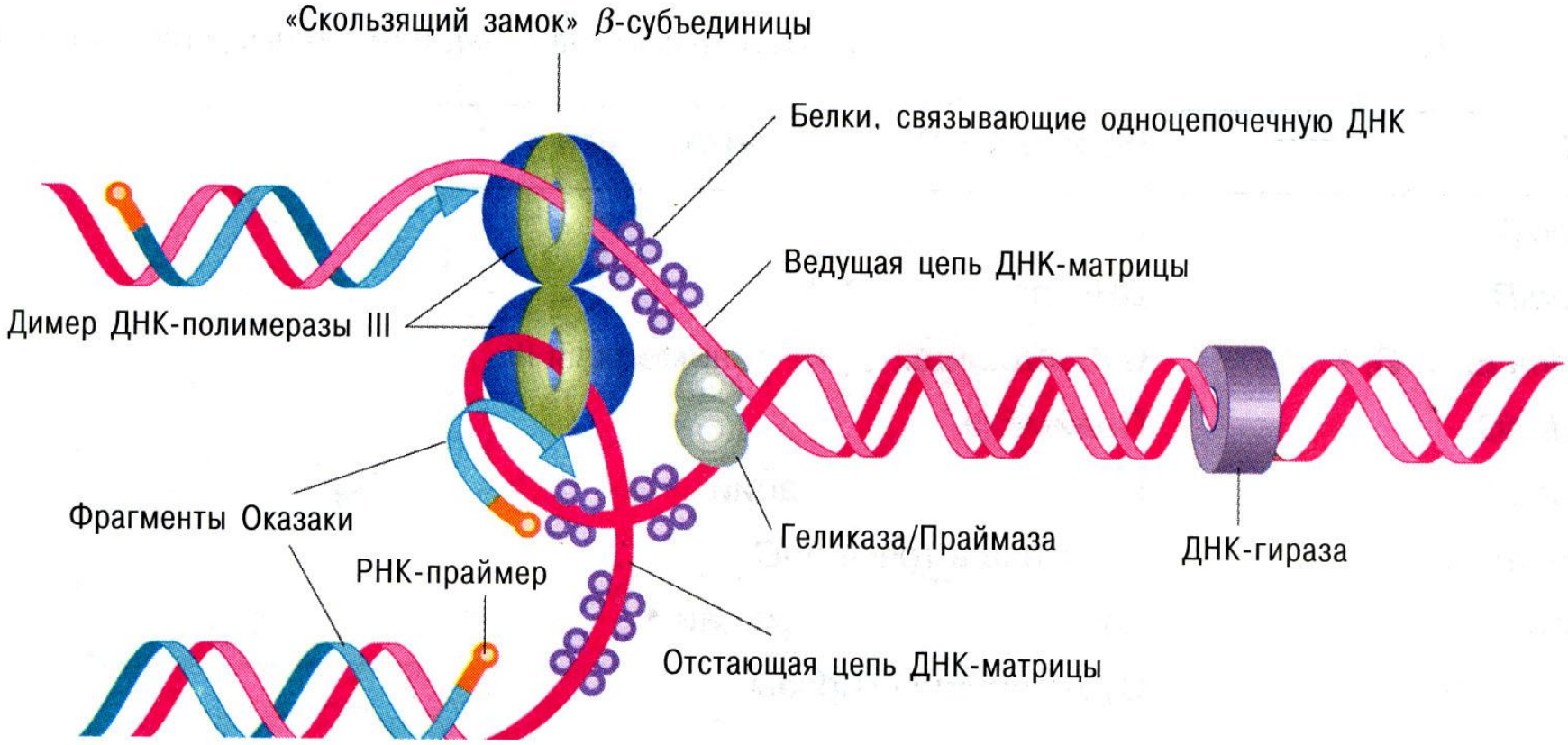
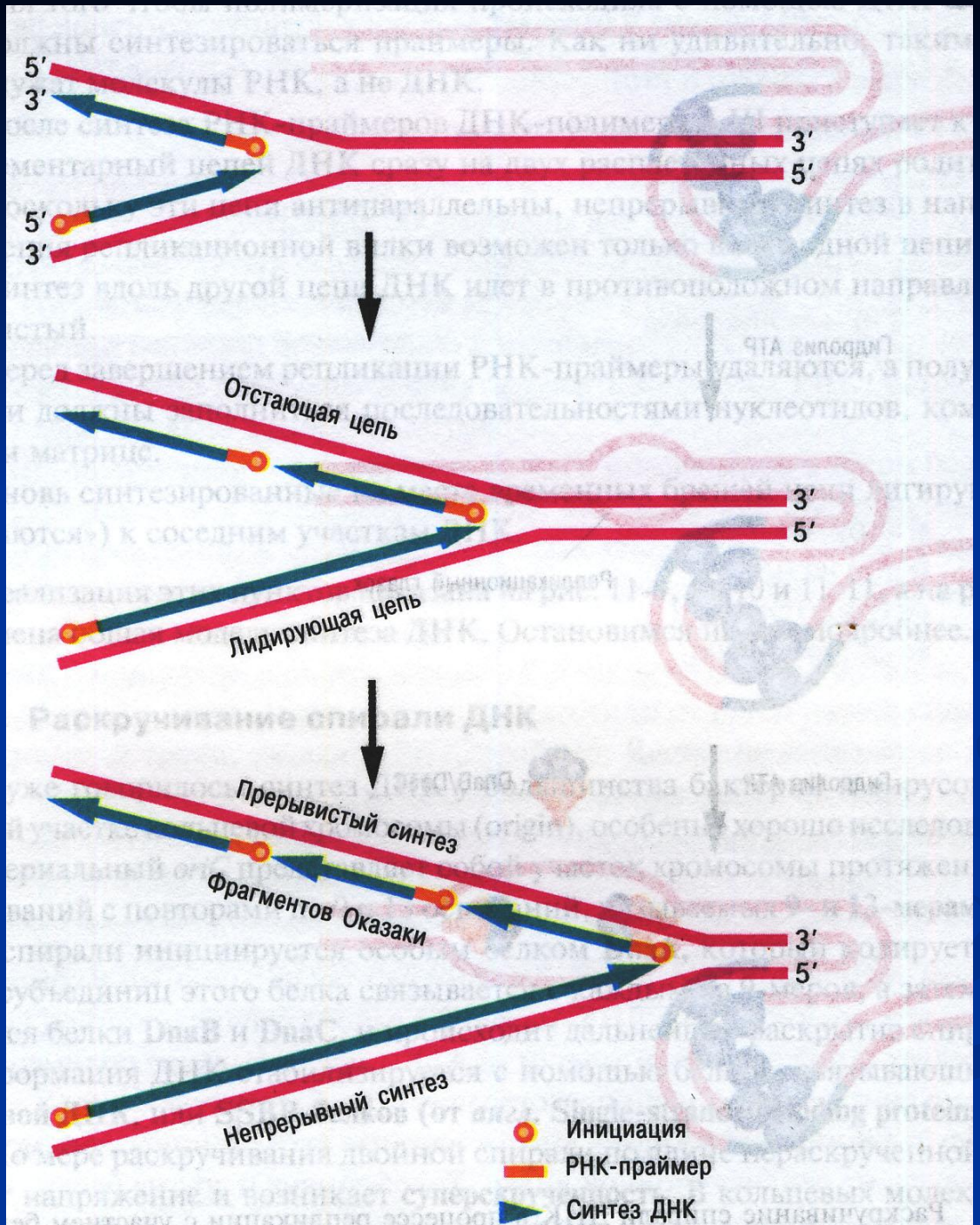


Рис. 11-8. Синтез ДНК в направлении от 5'- к 3'-концу.


ДНК-лигаза
ДНК-праймаза
ДНК-полимераза
РНК-праймер
3'
5'
Запаздывающая цепь
5'
3'
5'
Лидирующая цепь
3'
Топоизомераза
ДНК-полимераза
Хеликаза
SSB-белок



Общая схема синтеза ДНК в одной репликационной вилке. Показаны различные ферменты и белки, участвующие в синтезе.

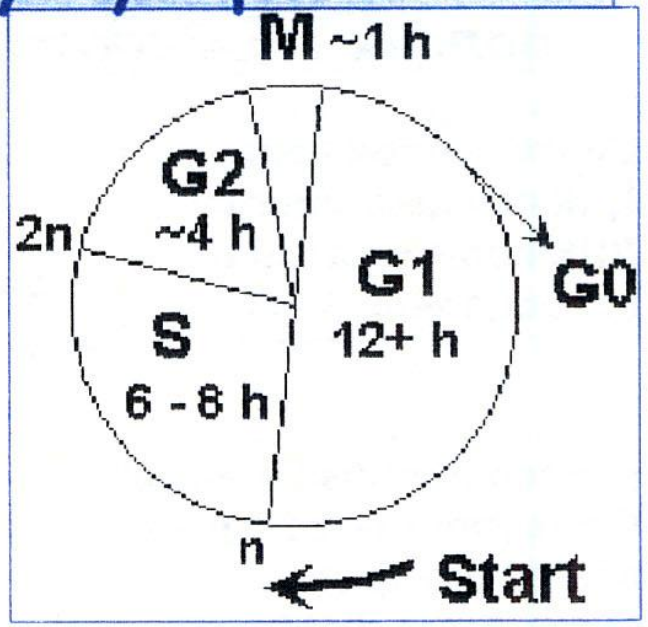

5′
3′
3′
5′
5′
3′
Отстающая цепь
3′
5′
Лидирующая цепь
Прерывистый синтез
Фрагментов Оказаки
3′
5′
Непрерывный синтез
Инициация
РНК-праймер
Синтез ДНК

Согласованность репликации и клеточного деления у эукариот

• Каждый репликон должен реплицироваться один – и только один - раз за клеточный цикл.

• Группы репликонов эукариот (т.н. репликационные единицы, содержащие 20-80 репликонов) инициируются и проходят репликацию упорядоченно, примерно в течение 1 час.

• Удвоение генома (репликация всей ДНК) происходит в S-фазе цикла, а разделение пополам – в митозе (М-фазе).

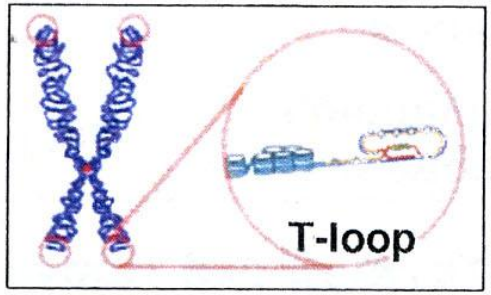


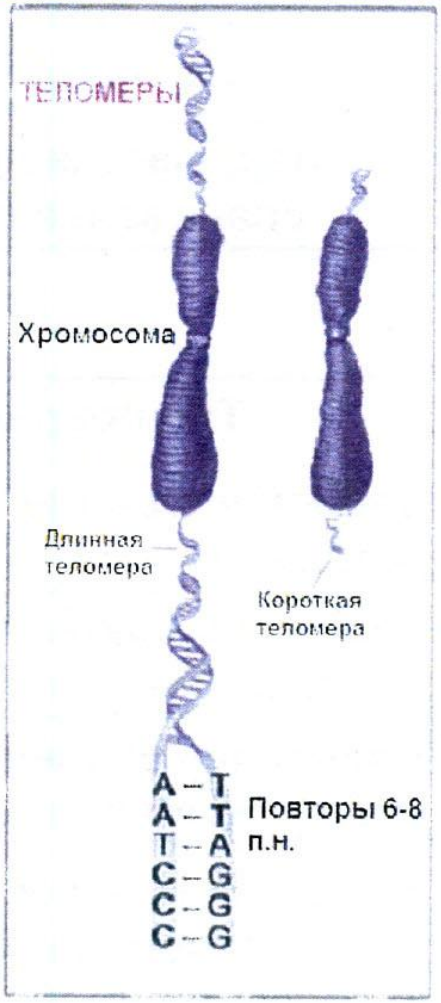
Контроль репликации ядерной ДНК

• Позитивный: переход G1/S;

• Негативный: переход - G2/M.

Проблема репликации теломер – концов эукариотических хромосом





- Репликация конца запаздывающей цепи не может пройти полностью: после удаления РНК-затравки ни одна ДНК-полимераза **не сможет восстановить ее 5'-конец**. В хромосоме остаются выступающие 3'- концы.
- В каждом цикле деления **теломеры клетки укорачиваются**. Этот феномен носит название концевой недорепликации и является одним из важнейших факторов биологического старения.
- Теломеры имеют особое строение: они содержат простые некодирующие **G-богатые повторяющиеся последовательности** из 6-8 п.о. с выступающим 3'-концом, способные сворачиваться с образованием петли (T-loop).

Репарация, или исправление повреждений в ДНК

- Репарация генетических повреждений - способность живых организмов восстанавливать повреждения, возникшие в ДНК уже после ее синтеза.
- От того, как клетки справляются с повреждениями, зависят такие кардинальные процессы, как появление наследственных болезней и раковых опухолей, старение.
- Ферментативные системы репарации по сложности приближаются к репликационному ферментативному аппарату.
- Системы репарации и репликации имеют много общих компонентов.
- Ферменты репарации исправляют ошибки, возникшие при репликации в уже синтезированной ДНК (первичный и редактирующий отбор допускают примерно 1 ошибку на 10^9 включенных в ДНК нуклеотидов).
- Ферменты репарации исправляют также ошибки, не зависящие от репликации.

Репарация повреждений одной цепи ДНК

Прямая реактивация повреждений

Эксцизионная репарация (excision – отсекание, вырезание):

- Вырезание основания (base excision repair)
- Вырезание нуклеотидов (nucleotide excision repair) (в случае повреждений, заметно нарушающих вторичную структуру).

При увеличении количества повреждений в ДНК блокируется деление клеток и происходит индукция дополнительных репаративных ресурсов клетки.

Индуцируемая репарация с исправлением ошибок:

- Например, индукция SOS–системы при УФ-облучении

Индуцируемая репарация с мутагенным эффектом.

- Именно она определяет мутагенный эффект УФ-облучения и химического мутагенеза: мутагенез – активный процесс.

Общие принципы репарации:

- чем серьезнее повреждение, тем большее количество ресурсов клетки привлекается на исправление ошибки;
- Принцип «меньшего из зол»: репарация ценой жертв, например, с мутагенным эффектом

Вопросы для самоконтроля

1.Дайте характеристику ферментами репликации ДНК.

2. В какую фазу клеточного цикла происходит репликация ДНК?

3. Какая нить ДНК при репликации считается ведущей или лидирующей?

4.Что представляют собой фрагменты Оказаки и какова их роль в репликации ДНК.

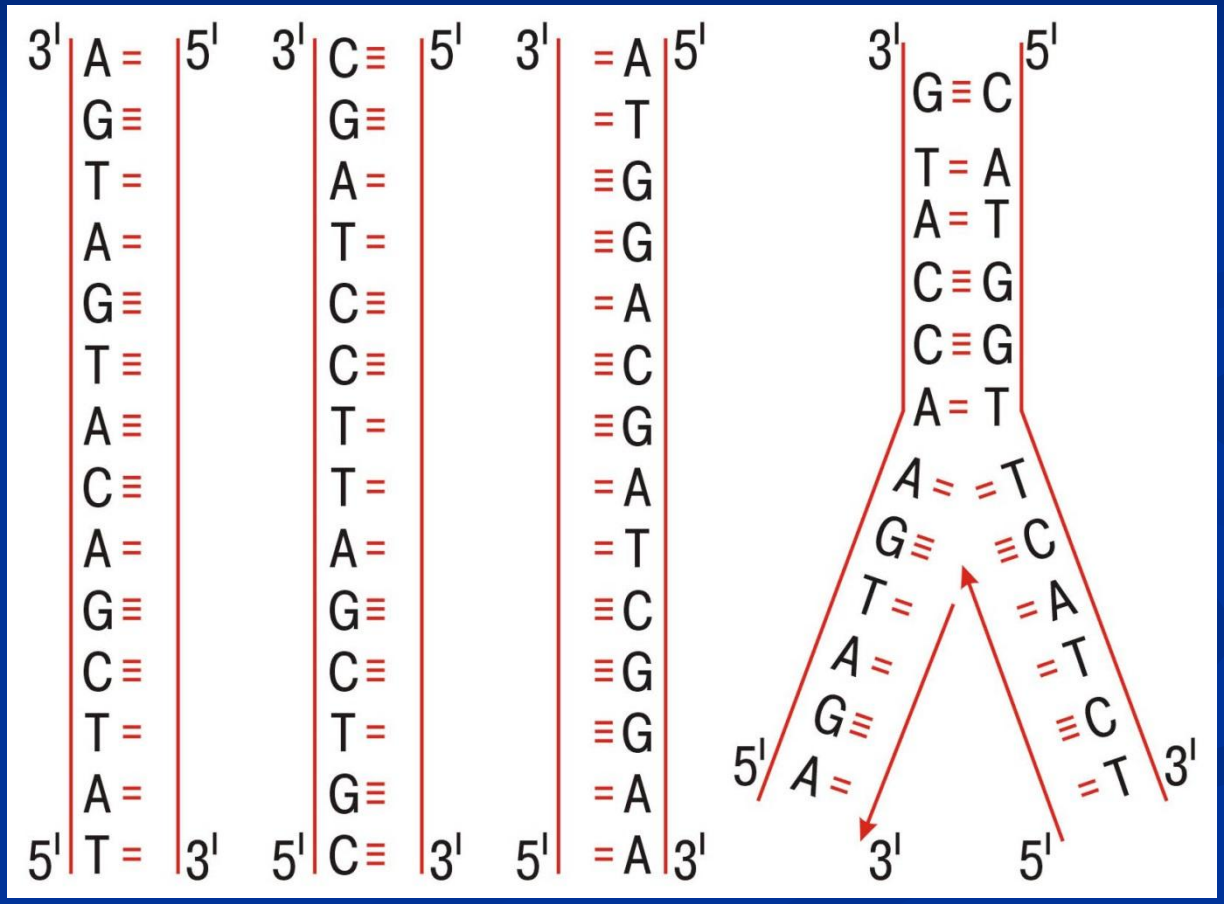
5. Укажите роль в синтезе ДНК фермента хеликазы и SSB белков.

6. Почему для инициации синтеза ДНК необходим праймер?

7. В чем заключается репарация ДНК?

Задание 1

- Достройте комплементарные цепи в материнской молекуле ДНК и дочерних молекулах ДНК при полуконсервативном способе репликации

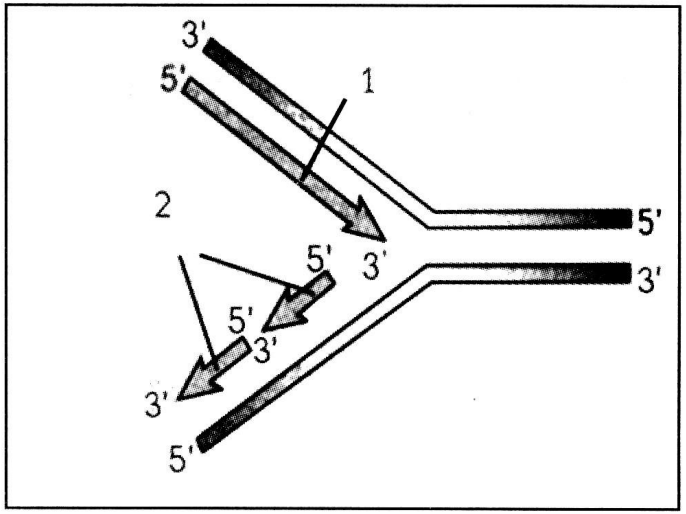


Задание 2

Заполните таблицу «Ферменты репликации»

Название фермента	Функции
Геликаза	
ДНК-полимераза	
Топоизомераза	
SSB-белок	
ДНК-лигаза	
Праймаза	

Задание 3



Укажите название изображенной на схеме структуры –

_____

Назовите указанные на схеме элементы:

1- _____

2- _____