

## **Репарация ДНК**

Процесс восстановления исходной нативной структуры ДНК называют репарацией ДНК, или генетической репарацией, а системы, участвующие в нем – репарационными. Репарация ДНК - один из важнейших генетических процессов в клетке, обеспечивающих её жизнедеятельность и сохранение вида в целом.

## **Нарушения первичной структуры ДНК**

Главный поставщик ошибок в нуклеотидной последовательности – репликация ДНК. Длина её молекулы у человека составляет более 3 млрд. нуклеотидов. Нарушения в первичной структуре ДНК могут быть обусловлены:

- . ошибками спаривания (основание в матричной цепи ДНК в течение короткого времени может находиться в другой таутомерной форме, позволяющей присоединить в комплементарной цепи неверное основание: наиболее частая ошибка такого типа - встраивание аденина вместо цитозина с образованием пары AG,
- . спонтанным отщеплением основания от цепи ДНК (например, депуринизация - отщепление пуринов),
- . дезаминированием цитозина (и, как результат – превращением его в урацил),
- . присоединением метильных или этильных групп к основаниям (это приводит к изменению свойств основания и, как результат, к образованию неверной пары).

Поврежденная ДНК могут индуцироваться внешними воздействиями: ультрафиолетом, рентгеновскими лучами, химическими соединениями и т.д. Например, ультрафиолетовое облучение (УФО) вызывает сшивку соседних тиминовых оснований в цепи ДНК. Образующиеся при этом тиминовые димеры препятствуют нормальной репликации. Митомицин С, некоторые иприты и псоралены приводят к сшивке двух цепей ДНК.

Воздействие рентгеновского излучения, может вызывать одноцепочные разрывы. Более жесткое излучение, такое как,  $\alpha$ -частицы, приводит к образованию двуцепочечных разрывов ДНК.

### **Классификация репарации ДНК**

#### **1. По отношению к процессу репликации различают**

А) дорепликативную репарацию - протекает в G1 периоде клеточного цикла (пример - фотореактивационная репарация, эксцизионная репарация)

Б) пострепlicative репарацию (осуществляется с помощью механизмов, участвующих в процессах рекомбинации и репликации ДНК).

#### **2 По характеру протекающих процессов**

**!!! Внимание!!! Нужно обращать внимание на название ферментов и характер их действия.**

##### **А) Фотореактивация**

В 1949 г. А. Кельнер и в 1950 г. Р. Дульбекко установили, что жизнеспособность актиномицетов и бактерий, подвергнутых УФО в летальных дозах, восстанавливается, если затем воздействовать на них видимым светом. Явление было названо фотореактивацией. Восстановительный эффект при фотореактивации связан с действием фермента – дезоксирибозидпиримидинфототиазы (далее – фототиаза), представляющего собой полипептид, ассоциированный для его активности с небольшой молекулой РНК (10-15 нуклеотидов). Этот фермент расщепляет димеры двух соседних пиримидинов циклобутанового типа в одной цепи ДНК, образующиеся под влиянием УФ-лучей. **Фермент присоединяется к ним и в темноте, и на свету, но реакция расщепления связей, объединяющих две молекулы пиримидинов, энергетически зависит от действия видимого света с большей длиной волны. На свету пиримидиновые димеры расщепляются за счет разрыва ковалентных связей, происходит**

мономеризация и, таким образом, восстанавливается нативная структура ДНК. К эффективному диапазону (365-490 нм) относятся наиболее длинноволновые УФ-лучи (365-390нм) и примыкающие к ним видимые синие лучи (435-495 нм). Наибольшая эффективность фотореактивации отмечена для голубой части видимого спектра.

Эта почти пока единственная известная ферментная реакция, в которой фактором активации служит не химическая энергия, а энергия видимого света. Дезоксирибозидпиримидинфотолиаза широко распространена у разных органических форм и представлена даже у таких примитивных микроорганизмов, как микоплазмы. Она есть у всех изученных бактерий, кроме *Micrococcus radiodurans*, которые чрезвычайно устойчивы к действию УФ-лучей и выдерживают дозы в 1000 раз более высокие, чем те, летальны для *E. coli*. **Фототлиаза обнаружена в клетках многих растений и животных, в том числе и у человека.**

### **Б) Эксцизионная репарация ДНК**

Существуют системы генетической репарации, при действии которых поврежденные участки вырезаются из цепи ДНК, отсюда происходит и термин «эксцизионная репарация» (анг. Excision - вырезание).

Общая схема эксцизионной репарации, включает несколько этапов:

1. Узнавание повреждения **УФ-эндонуклеазой**
2. Инцизия (надрезание) цепи ДНК **этим ферментом** по обе стороны от повреждения;
3. Эксцизия (вырезание и удаление) фрагмента ДНК, содержащего повреждение, происходит при участии **геликазы** - фермента, расплетающего молекулу ДНК для высвобождения концов после первичных надрезов;

4. Ресинтез, в ходе которого **ДНК-полимераза** заполняет образовавшийся дефект в ДНК благодаря своей 5-3-полимеразной активности. Другими словами – ДНК-полимераза проводит синтез недостающего участка ДНК в соответствии с принципом комплементарности.

5. **ДНК-лигаза** ковалентно присоединяет вновь синтезированный участок ДНК к ранее синтезированной ДНК.

В целом, эксцизионная репарация обычно распознает нарушения вторичной структуры ДНК (двойной спирали) и ликвидирует их.

### **В) Исправление ошибок спаривания (мисмэтч-репарация) как конкретный вариант эксцизионной репарации**

Мисмэтч-репарация исправляет ошибки, возникающие в результате нарушения комплементарности пар А-Т или Г-Ц в дочерней цепи при включении в них некомплементарных нуклеотидов. Особенность данного механизма, состоит в том, что он способен отличить «старую» цепь ДНК от «новой» и исправить именно вновь синтезированную. В основе данного феномена лежит то важное свойство, что материнская цепь несёт в последовательностях GATC аденины с присоединенными к ним сразу после окончания репликации метильными группами. Вследствии этого во время следующего цикла репликации материнская и дочерняя цепи становятся структурно различными, так как до окончания данного цикла дочерняя цепь остаётся неметилованной. Именно в этот временной промежуток и должны быть исправлены ошибки спаривания оснований. Генетическая репарация неспаренных оснований обнаружена в клетках и человека, и дрожжей.

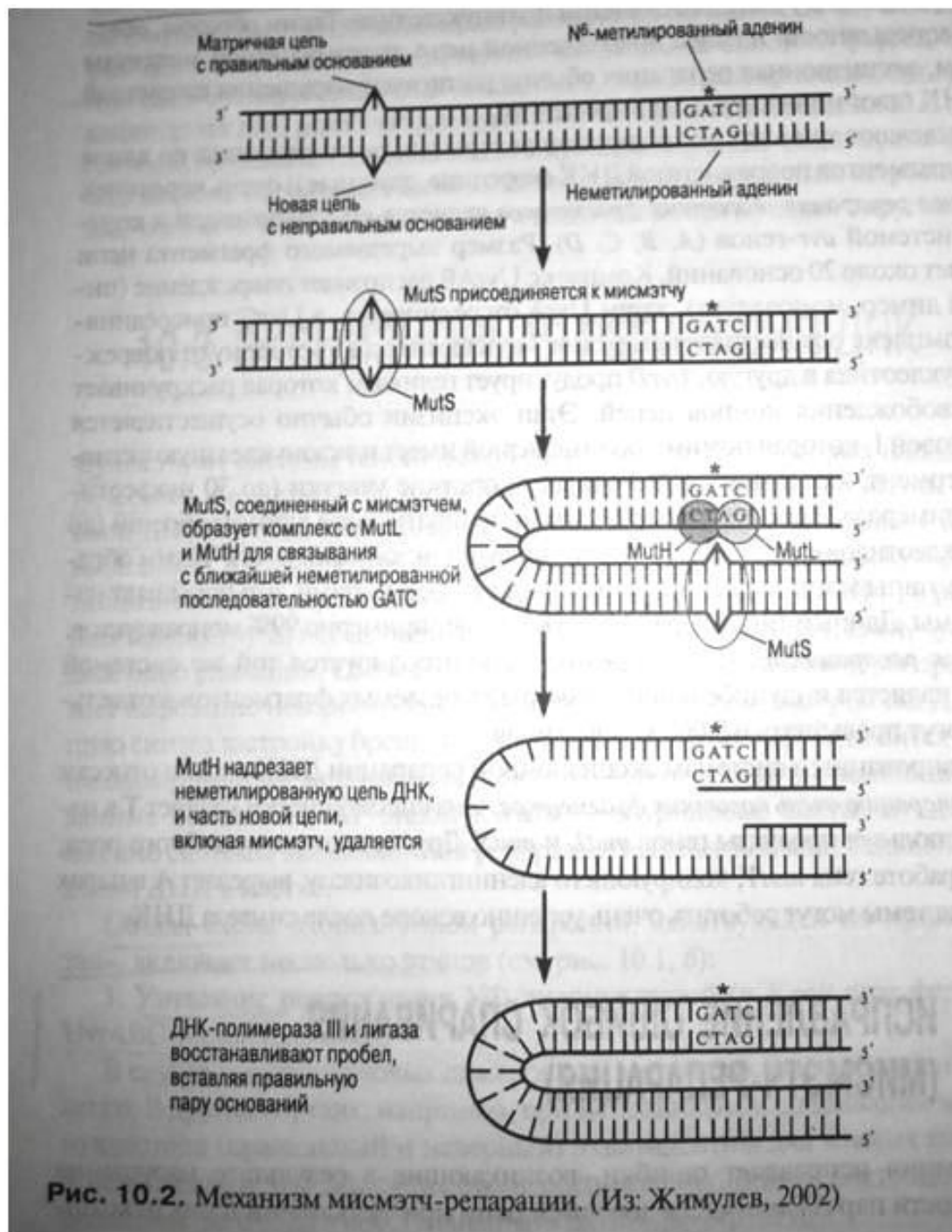
Этапы процесса:

- к паре некомплементарных оснований прикрепляется белок MutS, затем к этому комплексу присоединяется белок MutL.
- сформированный трехкомпонентный комплекс активирует

белок mutH (который находится в клетке в неактивном, латентном состоянии) и происходит связывание с ближайшей неметилированной последовательностью GATC.

- активный mutH надрезает дочернюю цепь ДНК около аденина, активируется другая эндонуклеаза. В результате удаляется фрагмент новой цепи, содержащий мисмэтч.

- см. пункты 4 и 5 эксцизионной репарации.



### Г) SOS-Репарация

Существуют системы генетической репарации, при которых точность синтеза невысока. Они являются **индуцибельными**, и, очевидно, обусловлены необходимостью синтеза ДНК даже на матрице, содержащей повреждения. При этом синтез ДНК на матрице, оставшейся неповрежденной, будет сопровождаться большим количеством ошибок. Хотя такая ДНК и содержит значительное количество ошибок, поврежденные клетки действительно «спасаются» на каком-то этапе, если только жизненно важные функции не оказались безнадежно нарушенными. В связи со спасательными функциями этой системы репарации ДНК она была названа SOS-репарацией.

Таким образом, важная особенность прокариотических и эукариотических клеток состоит в их способности увеличивать эффективность генетической репарации при высокой дозе повреждений. Это возможно в результате индукции новой или модификации одной из пресуществующих ДНК-полимераз за счет белковых продуктов генов, **активизируемых повреждающими агентами**. Например, появление таких ферментов в случае УФ-облучения обеспечивает трансдимерный синтез ДНК, в результате которого **напротив тиминового димера будет находиться не брешь, а какой-либо нуклеотид**. Разумеется, такая произвольная подстановка нуклеотида во вновь образующуюся цепь ДНК часто приводит к ошибкам репликации. По-видимому, непосредственным стимулом к запуску механизмов SOS-репарации служит накопление одноцепочечных разрывов ДНК.

### Болезни, связанные с нарушением репарации ДНК

Пигментная ксеродерма

Синдром Коккейна

Трихотриодистрофия

Атаксия-телеангиэктазия (синдром Луи-Бар)

Анемия Фанкони

Синдром Хатчинсона-Гилфорда (прогерия!)

Синдром Вернера (прогерия!)

Источник:

Генетика. Учебник для вузов / Под ред. Академика АМН В.И. Иванова. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2006.- 638 с.