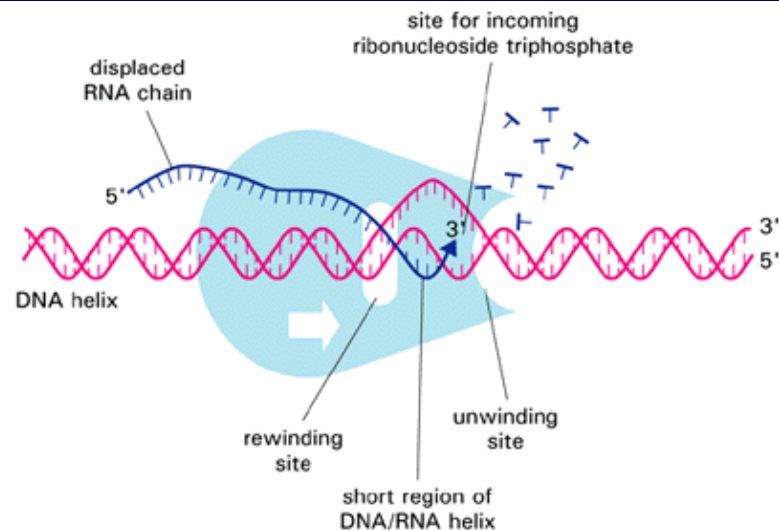


# Реплікація і репарація ДНК

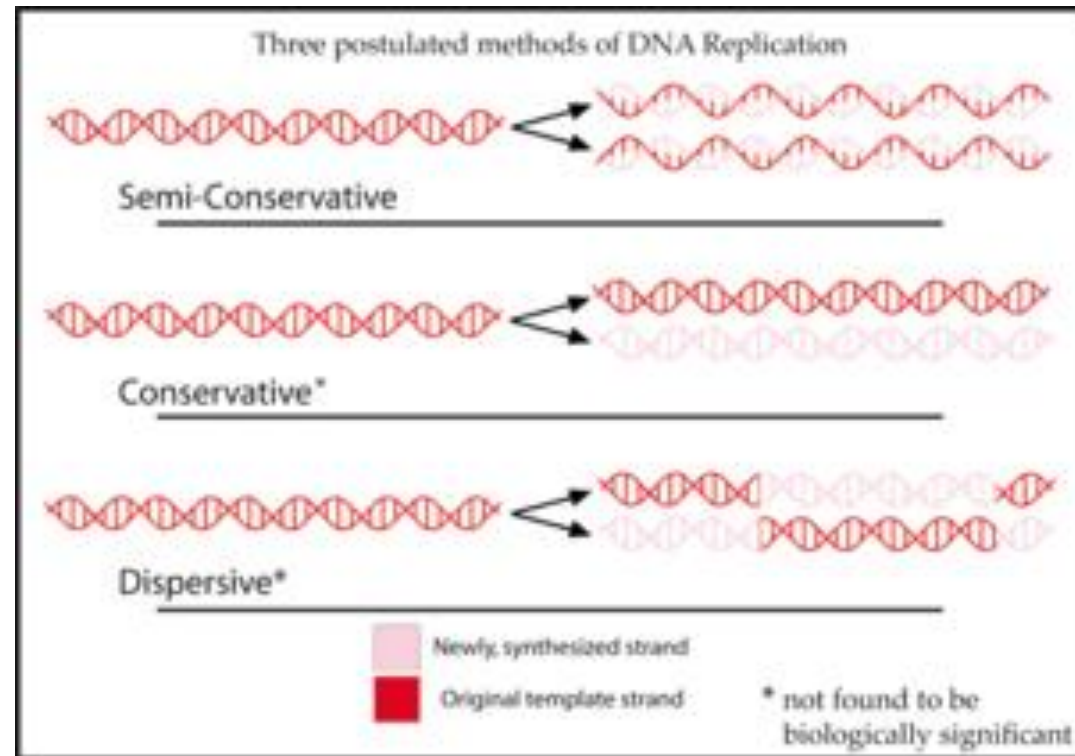


# План лекції

1. Способи реплікації ДНК
2. Експериментальні докази напівконсервативного способу реплікації
3. Ферменти реплікації
4. Реплікони, його характеристика у про- та еукаріотів
5. Репарація ДНК
  - а) фотореактивація
  - б) ексцизійна репарація
  - в) постреплікативна репарація
  - г) SOS-репарація
  - д) ПЛР -діагностика

# Способи реплікації ДНК

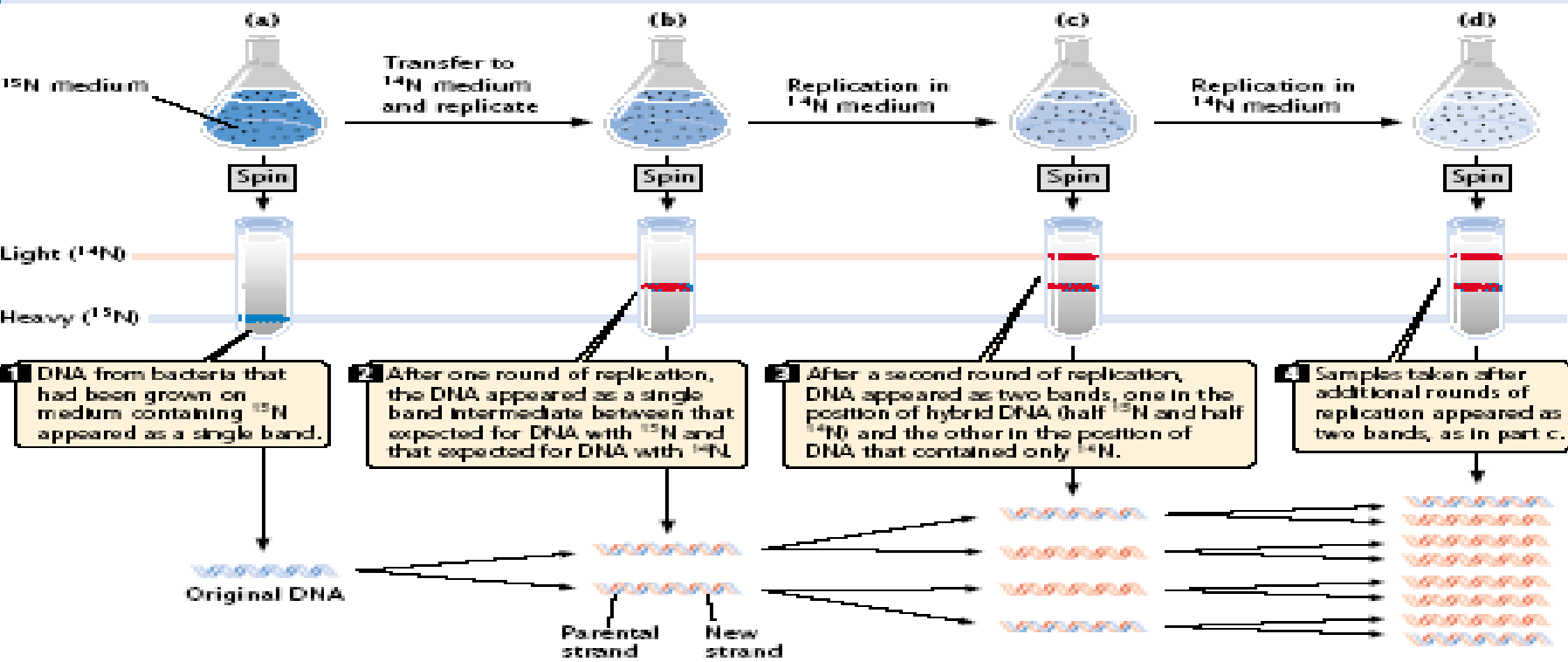
- Напівконсервативний
- Консервативний
- Дисперсний



# Експерименти Мезелсона і Сталя



**Experiment**  
Question: Which model of DNA replication—conservative, dispersive or semiconservative—applies to *E. coli*?



Conclusion: DNA replication in *E. coli* is semiconservative.

# ДНК-полімерази у прокаріотів

**Table 12.3** Characteristics of DNA Polymerases in *E. coli*

DNA Polymerase	5' → 3' Polymerization	3' → 5' Exonuclease	5' → 3' Exonuclease	Function
I	Yes	Yes	Yes	Removes and replaces primers
II	Yes	Yes	No	DNA repair; restarts replication after damaged DNA halts synthesis
III	Yes	Yes	No	Elongates DNA
IV	Yes	No	No	DNA repair
V	Yes	No	No	DNA repair; translesion DNA synthesis

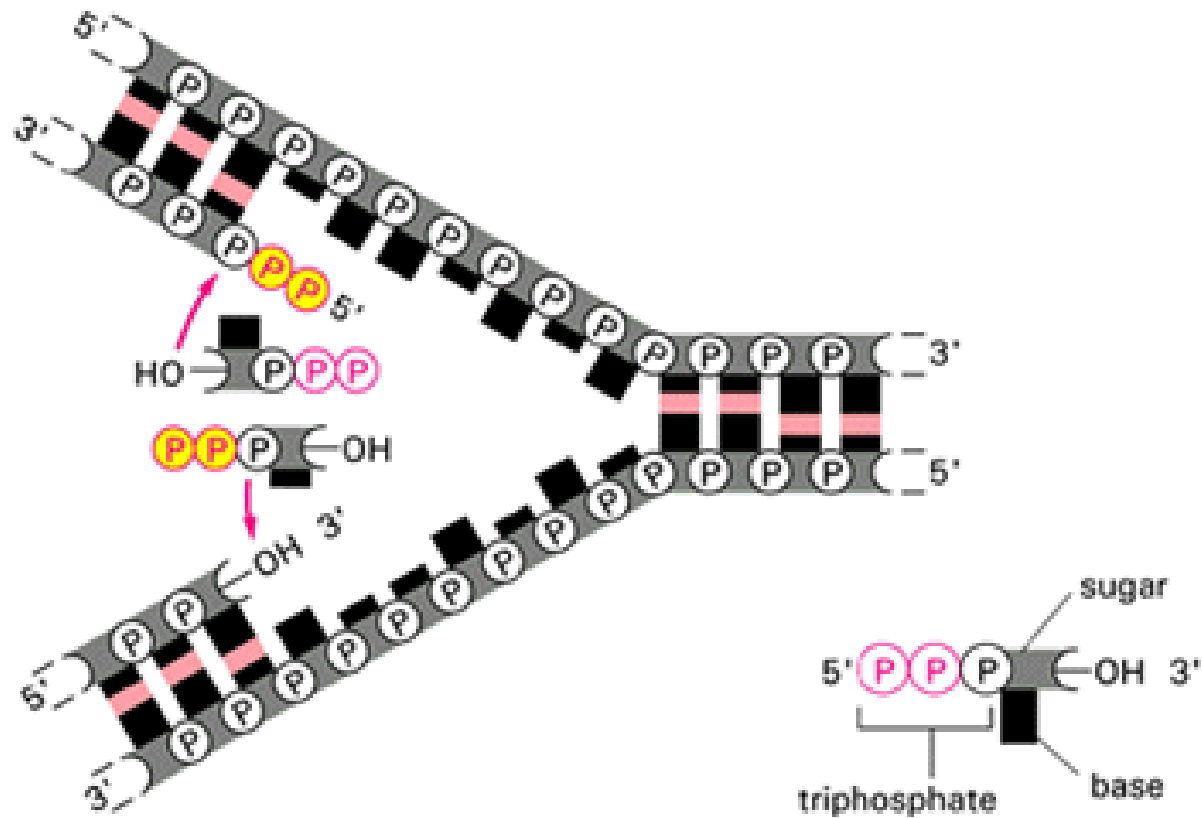
# ДНК-полімерази у еукаріотів

- ДНК-полімерази: **альфа, бета, дельта, епсілон** – беруть участь в реплікації в ядрі
- ДНК-полімераза **гама** бере участь в реплікації мітохондріальної ДНК

# Реплікація ДНК. Етапи

- **Ініціація** – утворення реплікативної вилки
- **Елонгація** – синтез дочірніх ланцюгів
- **Вилучення праймерів**
- **Термінація** – завершення синтезу дочірніх ланцюгів

# Схема реплікації ДНК (а) Знайдіть помилку у схемі!

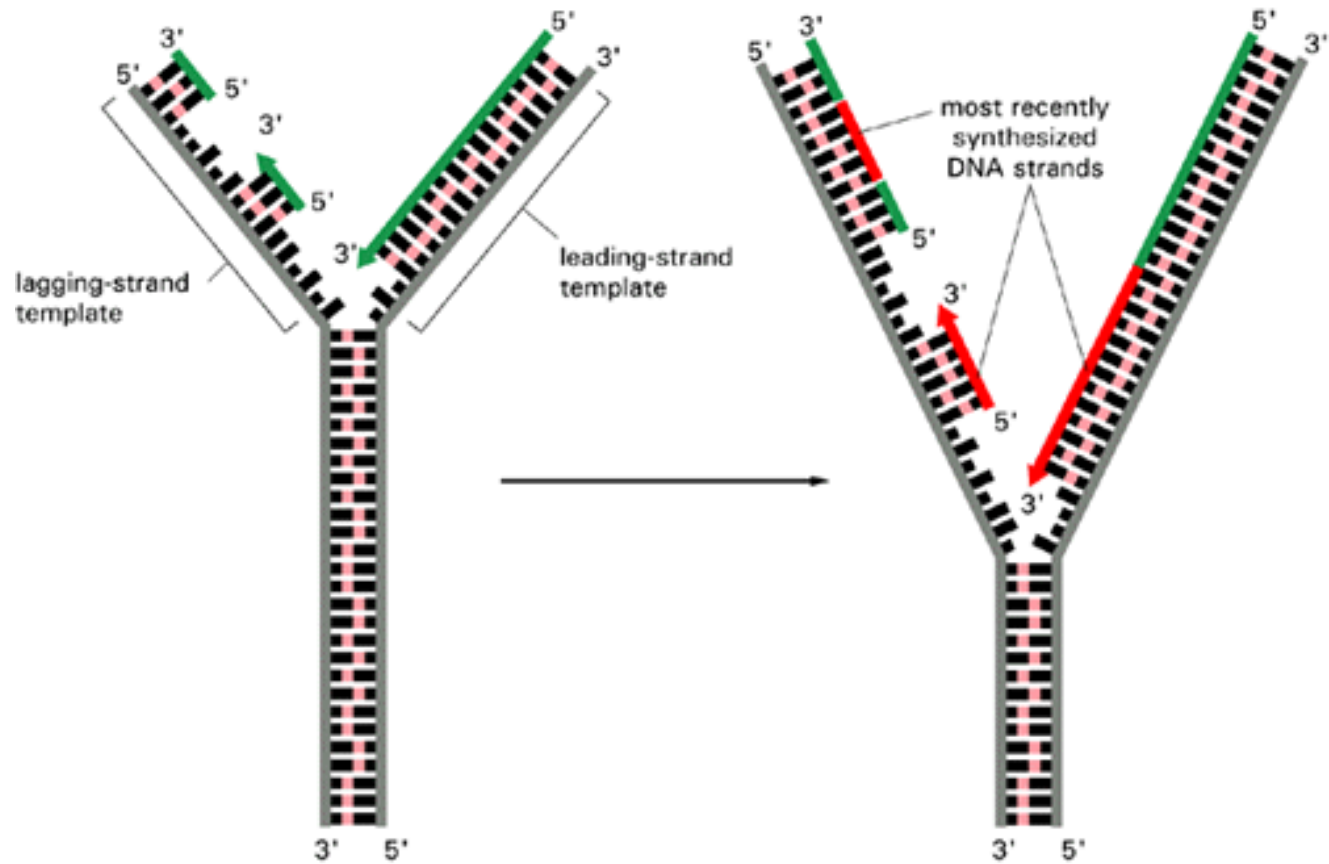




# Схема реплікації ДНК (б)

## Будова реплікативної вилки.

Обидва дочірні ланцюги будуються у напрямку  $5' \rightarrow 3'$ . Один з ланцюгів – провідний, другий – той, що запізнюється. Останній будується фрагментами Оказакі



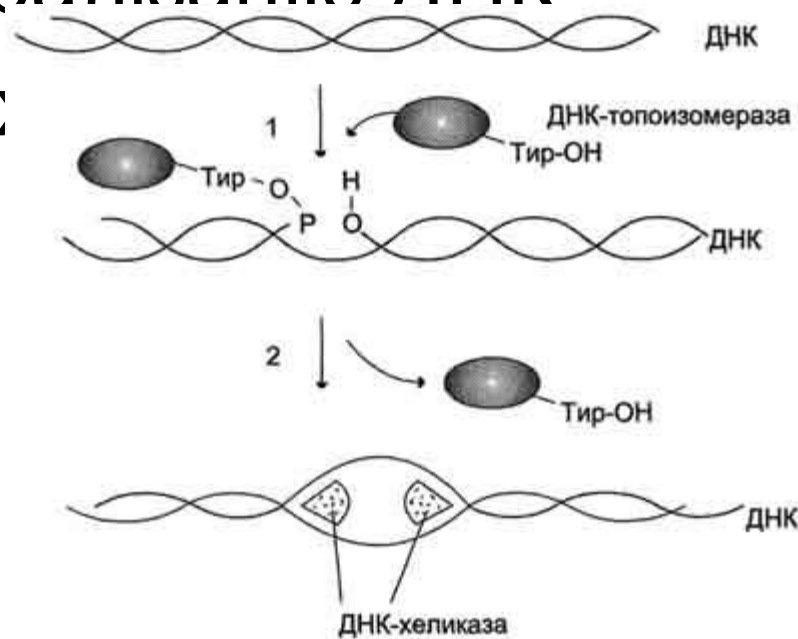
# Основні білки реплікації ДНК

Назва білку	Функція
Топоізомераза	Скидання супервитків ДНК
Геліказа (АТФ-залежна)	Денатурація ДНК
SSB-білок	Дестабілізація подвійної спіралі, стабілізація одноланцюгових ділянок
РНК-полімераза (праймаза)	Ініціація синтезу ДНК
ДНК-полімераза III	Синтез ДНК, коректорські функції
ДНК-полімераза I	Видалення РНК-затравки, заповнення збитків та коректорські функції
ДНК-лігаза	Ковалентне поєднання фрагментів Оказакі

# Ферменти ініціації реплікації

- Родина ДНК-топоізомераз, мають нуклеазну активність, регулюють надспіралізацію ЛНК

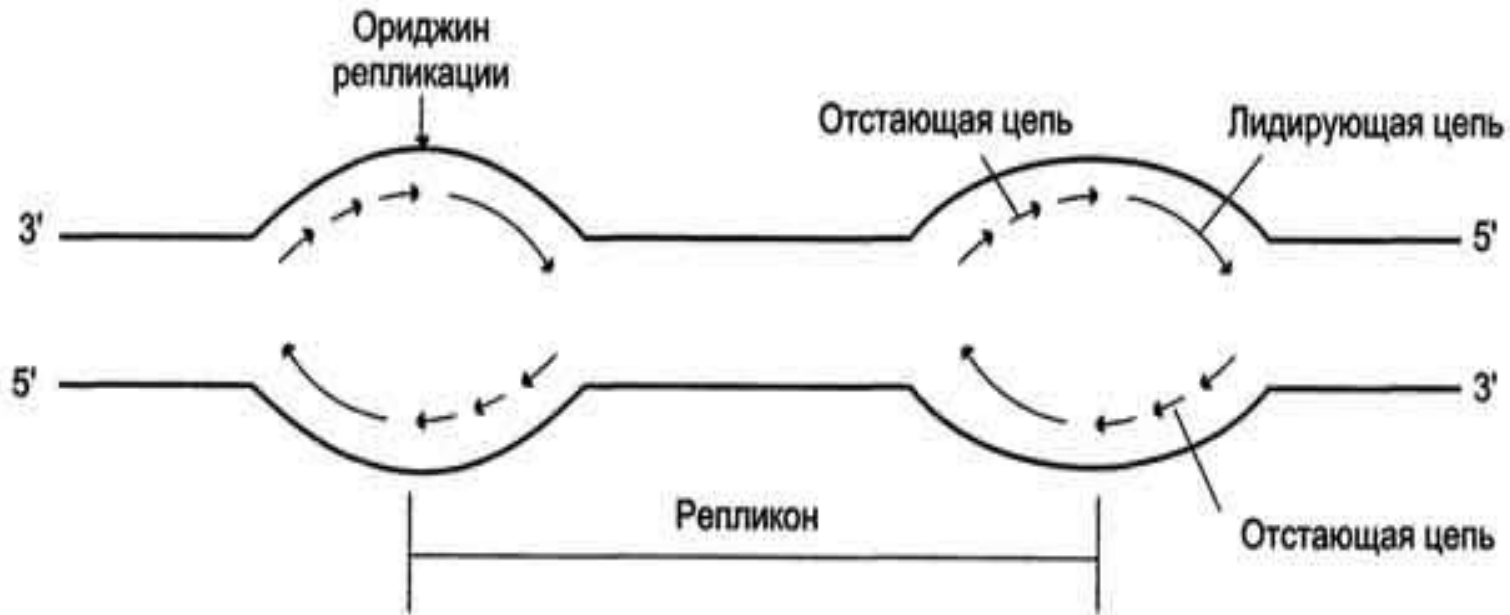
- ДНК – цільянку ДНК



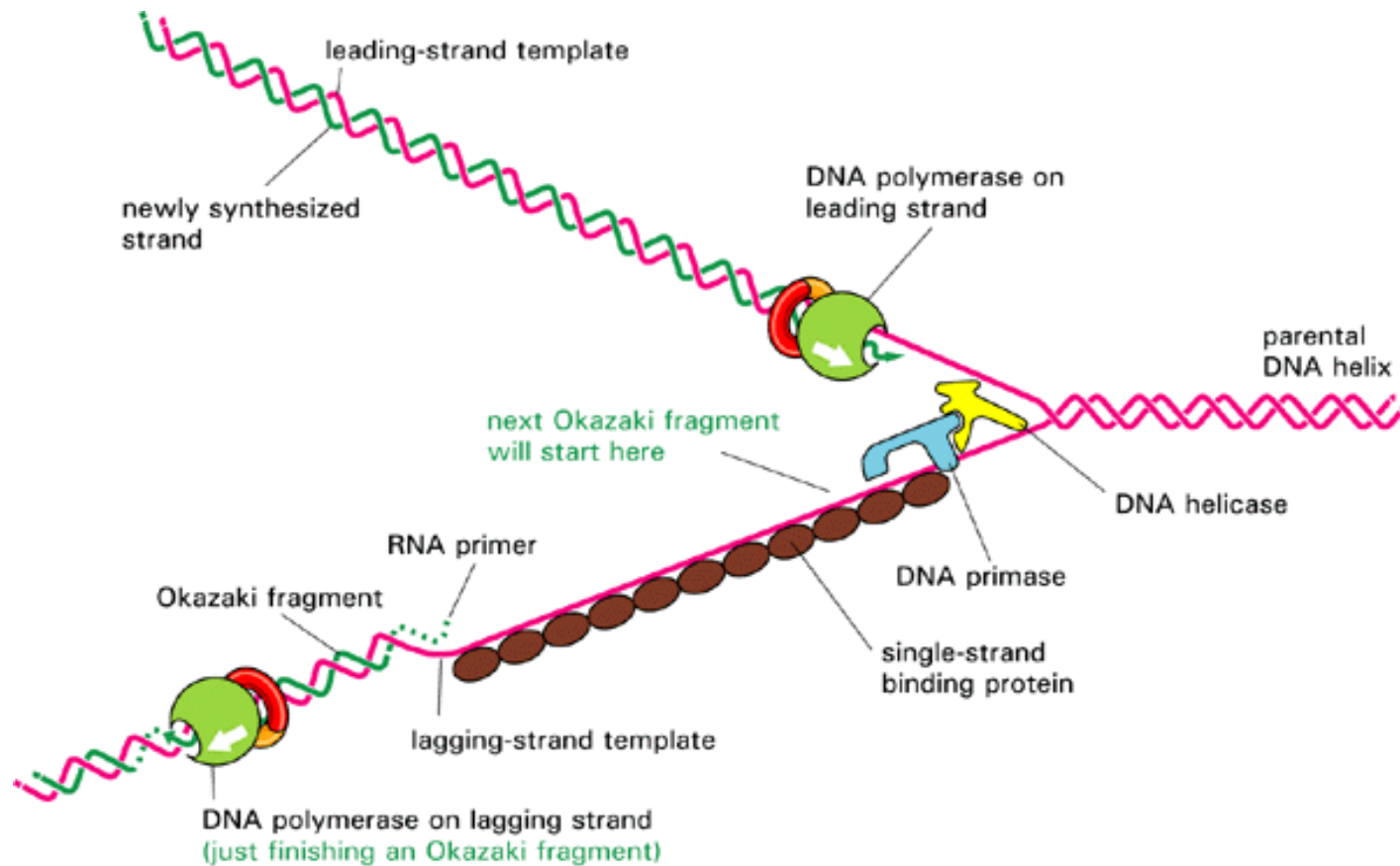
# Ініціація реплікації

- У еукаріотів – починається із впливу на клітину факторів росту.
- **Утворення в клітині відповідного цикліну E.**
- В точці початку реплікації відбувається локальна денатурація ДНК – утворюються 2 реплікативні вилки.

Оріджини – сайти ініціації реплікації. Реплікони – одиниці реплікації

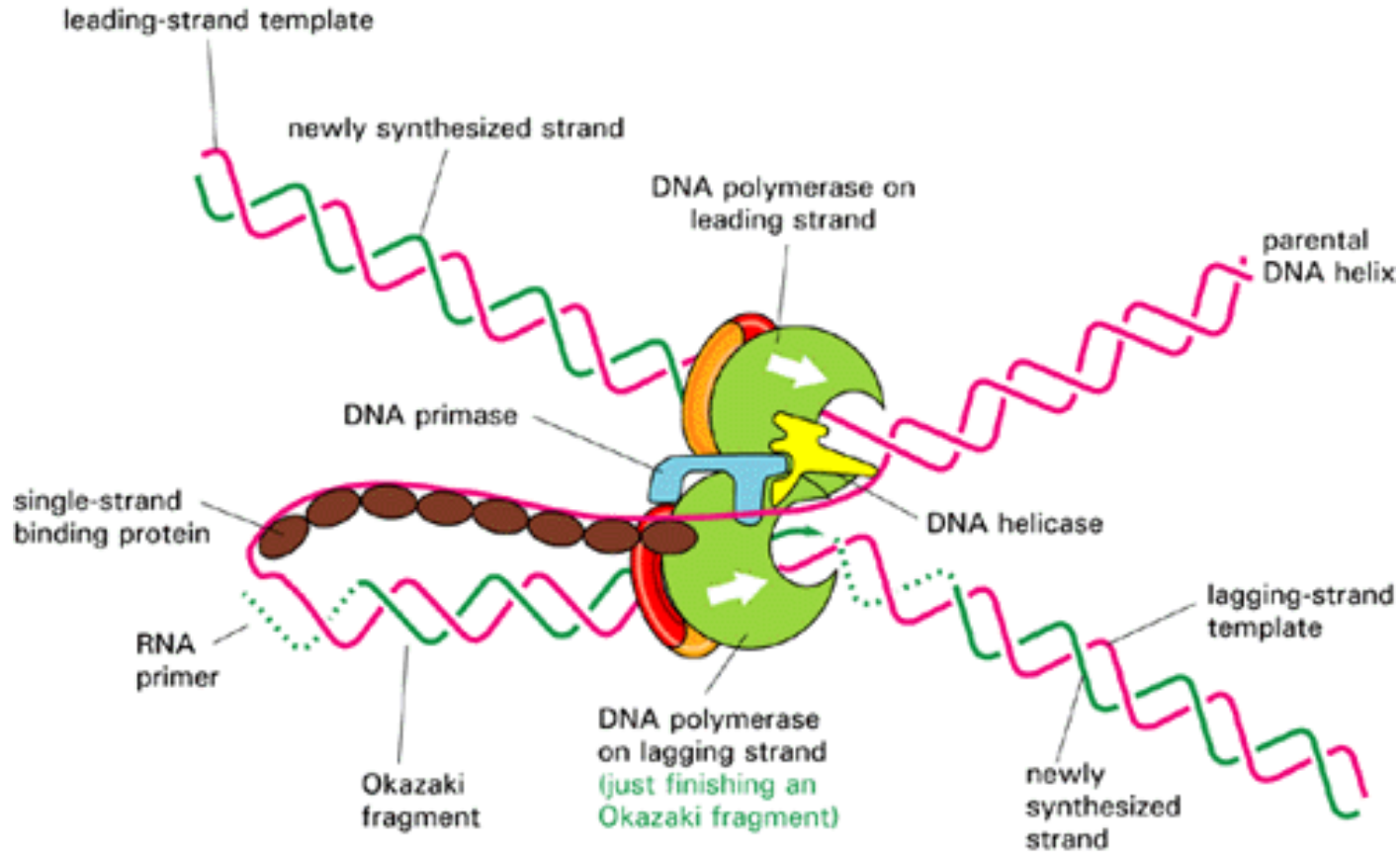


# Праймосома (а)



Комплекс ДНК-праймази та ДНК-гелікази називається **праймосомою**

# Праймосома (б)



Сучасні уявлення про розташування білків реплікації під час руху реплікативної вилки

# Реплікон

- Реплікон – ділянка ДНК, в межах якої реплікація розпочинається і закінчується

Organism	Number of Replication Origins	Average Length of Replicon (bp)
<i>Escherichia coli</i> (bacterium)	1	4,200,000
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	500	40,000
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	3,500	40,000
<i>Xenopus laevis</i> (toad)	15,000	200,000
<i>Mus musculus</i> (mouse)	25,000	150,000



# Репарація – відновлення пошкодженої структури ДНК

Фотореактивація

Ексцизійна репарація

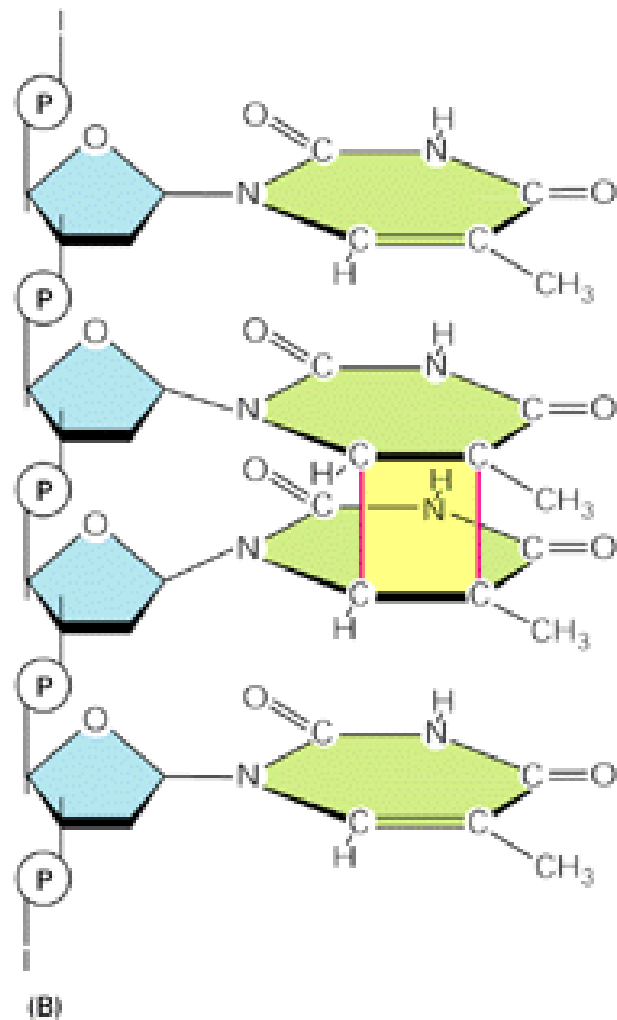
Постреплікативна репарація

SOS - репарація

# Фотореактивація

**Тиміновий димер** – найбільш поширене пошкодження ДНК під впливом ультрафіолетових променів.

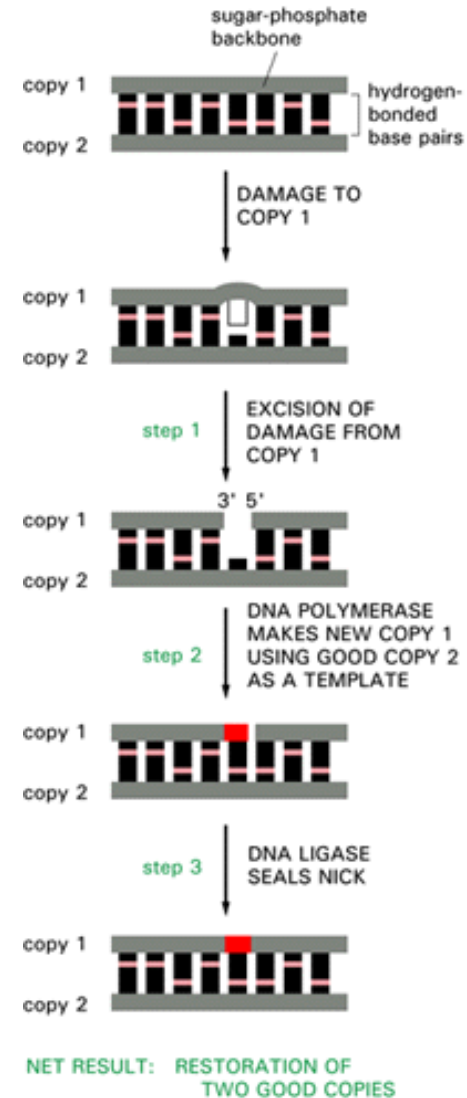
Розривання додаткових зв'язків між двома послідовними тимінами може здійснюватись за допомогою дезоксирибоніридинфотоліази



# Ексцизійна репарація

Ексцизійна репарація здійснюється за участю ферментів:

1. УФ-ендонуклеаза
2. АТР-залежна ДНКаза
3. ДНК-полімераза I або II
4. ДНК-лігаза



# Ексцизійна репарація і патологія

- Дефекти системи ексцизійної репарації призводять до розвитку пігментної ксеродерми, синдрому Коккейна, трихотіодистрофії.
- Спадковий неполіпозний рак товстої кишки може викликатись мутаціями деяких генів системи репарації гетеродуплексів.
- Багато синдромів схильності до онкологічних захворювань – ретинобластома, родинний аденоматозний поліпоз пов'язані з порушеннями систем відповіді на пошкодження ДНК

# Хворий на пігментну ксеродерму та хворі на синдром Коккейна



© 1117824k MUST CREDIT PHOTOS BY: Gary Roberts / Rex Features  
Teen couple with rare premature ageing disorder: face race against time to wed, Wirral, Merseyside, Britain - Jan 2010 Amy Hughes, 18, and her American fiance Nick Jaminet, 17, when they first met in 2006 This is the teen couple with face a race against time, and the rare premature ageing disorder they both suffer from, in order to wed. Amy Hughes, 18, and Nick Jaminet, 17, both suffer from a rare condition that causes them to age prematurely. Though they are both only in their teens, their bodies...

www.fotodom.ru R039-0709 Rex Features

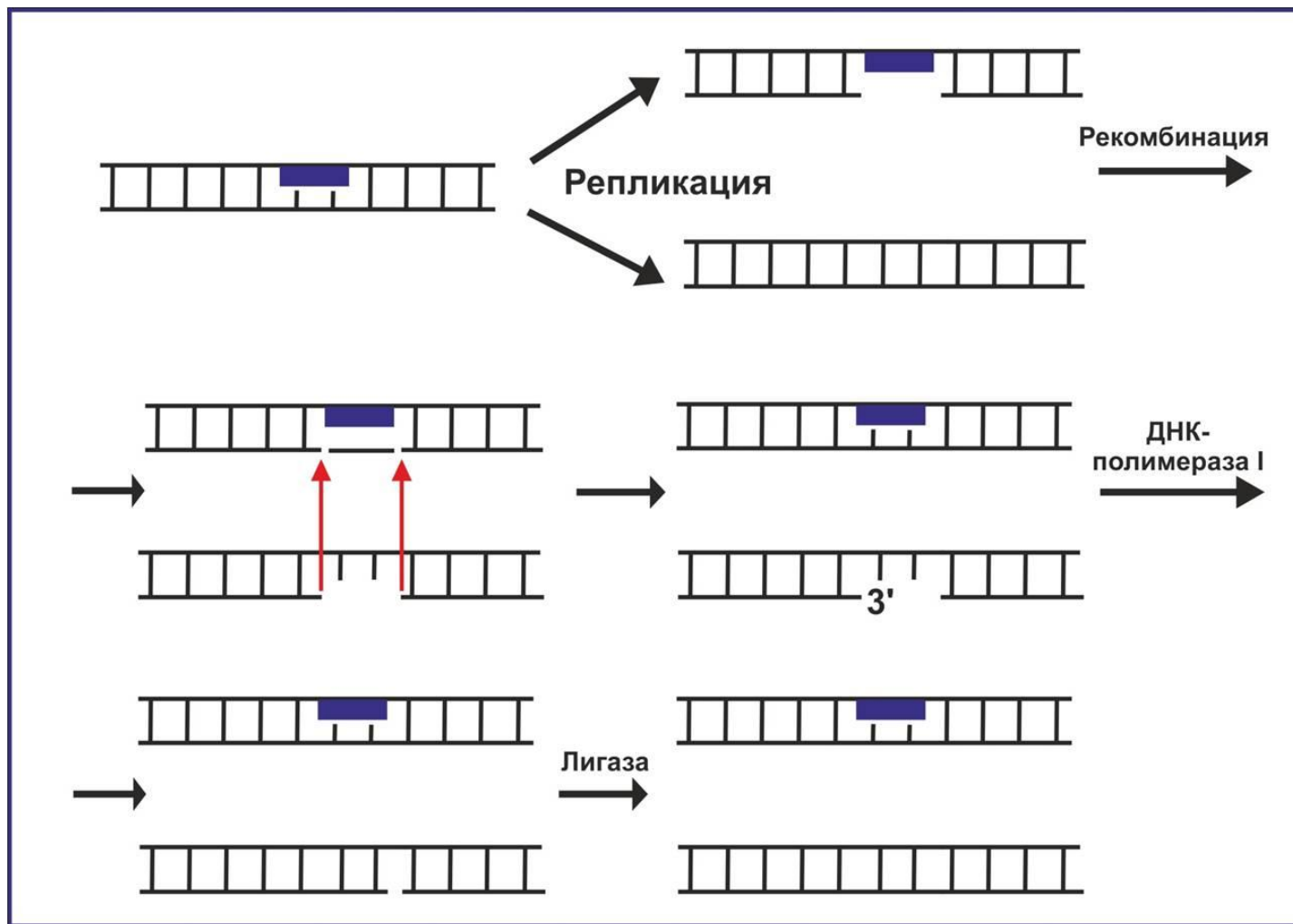
Подростки с синдромом Коккейна (Cockayne syndrome) 18-летняя Эми Хьюз (Amy Hughes) и 17-летний Ник Дженинет (Nick Jaminet) поженились, Великобритания, январь 2010.

# Постреплікативна репарація

Постреплікативна репарація залежить від активності ферменту, що забезпечує рекомбінацію. Однак тимінові димери залишаються у вихідних батьківських нитках ДНК.

Однак ця репарація відбувається швидко.

# Постреплікативна репарація



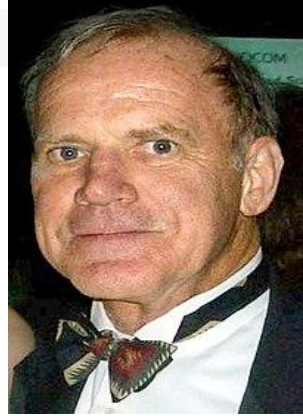
# Постреплікативна репарація

## sos-репарація

Цей тип постреплікативної репарації, яка здійснюється повільно, забезпечується ферментами, яких не було до впливу мутагену. Однак цей тип репарації характеризується неточностями відновлення структури ДНК. Репарація схильна до помилок!



# Полімеразна ланцюгова реакція



- **Полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР або PCR)** — експериментальний метод молекулярної біології, спосіб значного збільшення малих концентрацій бажаних фрагментів ДНК в біологічному матеріалі (пробі).
- Відкрив біохімік Кері Бенкс Малліс – лауреат Нобелівської премії з хімії 1983 року.

# Полімеразна ланцюгова реакція

