ӘЛ-ФАРАБИ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ УНИВЕРСИТЕТІ
БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ ФАКУЛЬТЕТІ
МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНЕТИКА
КАФЕДРАСЫ

Пән атауы: Молекулалық биология

Дәріс 11

ДНҚ репарациясына жалпы түсінік, мутагенді механизмдер

Лектор: к.б.н., Алтыбаева Н.А.

Дәрістің мақсаты: ДНҚ зақымдануының себептері мен негізгі түрлерін сипаттау, зақымның мутацияға айналу механизмдерін және репарация жүйелерінің геном тұрақтылығын сақтаудағы рөлін түсіндіру.

Оқыту нәтижелері

Дәрісті меңгеру нәтижесінде білім алушы

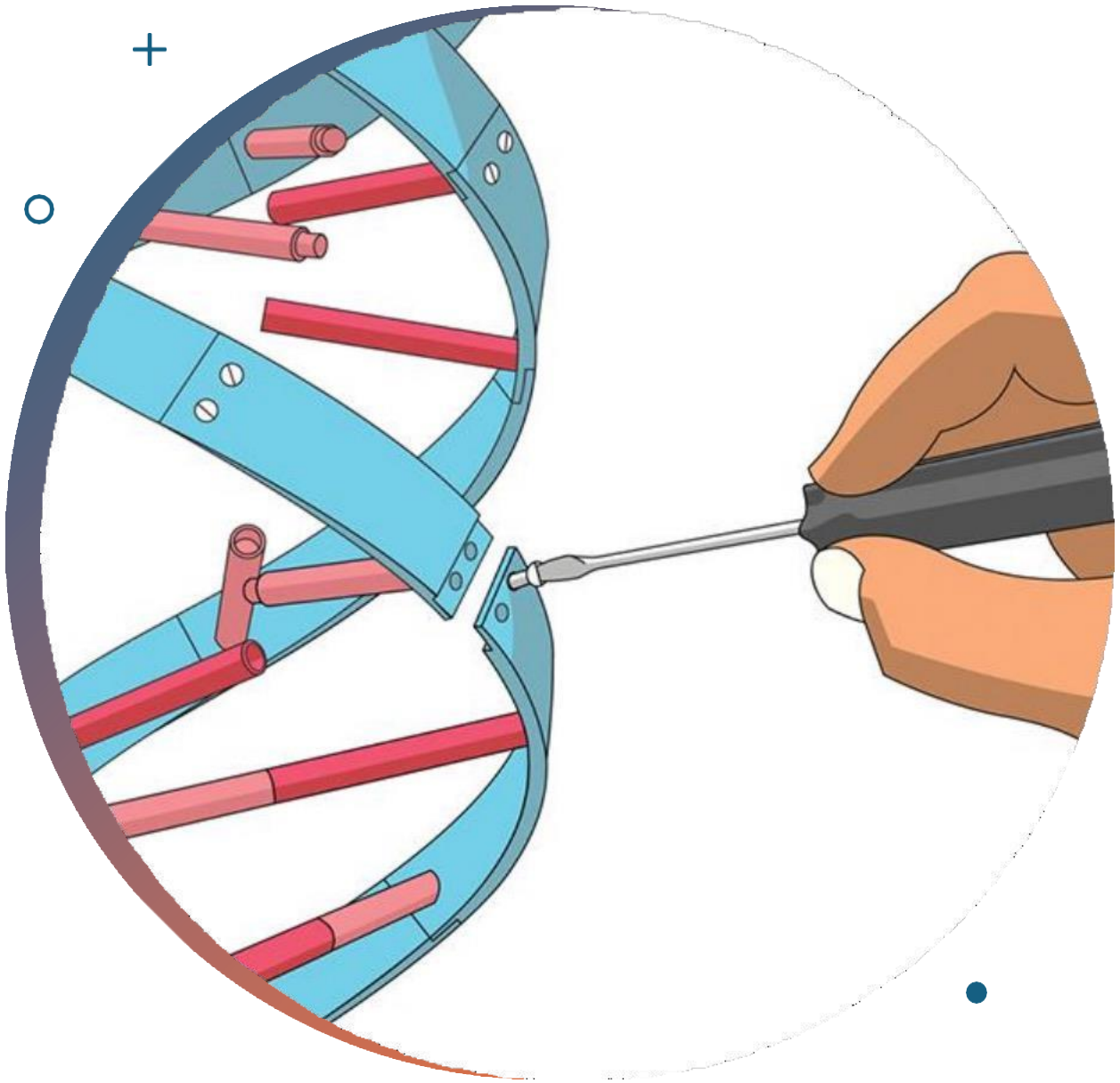
1. ДНҚ зақымдануының себептерін (ультракүлгін сәулелену, радиация, химиялық заттар, репликация қателері) және олардың түрлерін сипаттай алады.
2. Тура репарация, эксцизиялық репарация (негіздер мен нуклеотидтерді жою) және қате жұптасқан негіздерді түзету механизмін талдай алады.
3. ДНҚ-ның бір және қос тізбекті үзілістерін қалпына келтіру жолдарын, соның ішінде гомологиялық рекомбинация процесін салыстыра алады.
4. Бактериялардың ДНҚ зақымына қарсы SOS-жауабының маңызын және оған қатысатын компоненттердің (RecA, SSB ақуыздары) қызметін түсіндіре алады.
5. Репарация жүйелерінің бұзылуынан туындайтын тұқым қуалайтын аурулардың (Пигментті ксеродерма, Линч синдромы т.б.) клиникалық маңызын анықтай алады.

Дәріс жоспары

1. **Кіріспе**
2. **Негізгі бөлім**

a. ДНҚ-ны зақымдайтын факторлар, зақымдану түрлері және мутациялардың қалыптасуы.
b. Тікелей репарация, негіздер мен нуклеотидтердің эксцизиялық репарациясы және қате жұптасқан негіздерді түзету.
c. ДНҚ-ның бір және қос тізбекті үзілістерін қалпына келтіру механизмдері.
d. Бактериялардың ДНҚ зақымына SOS-жауабы және адамдағы репарация жүйелері бұзылыстарының клиникалық маңызы.

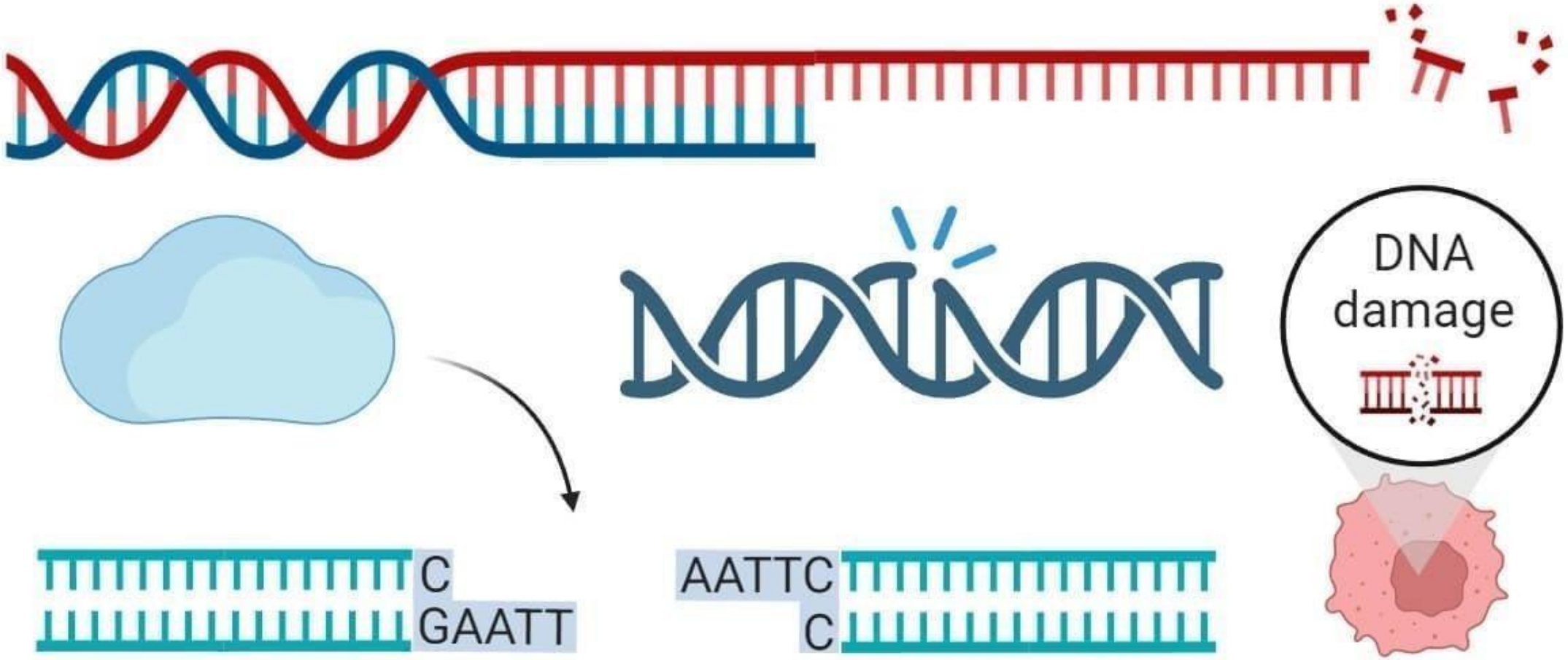
3. **Қорытынды**
4. **Қолданылған әдебиеттер**

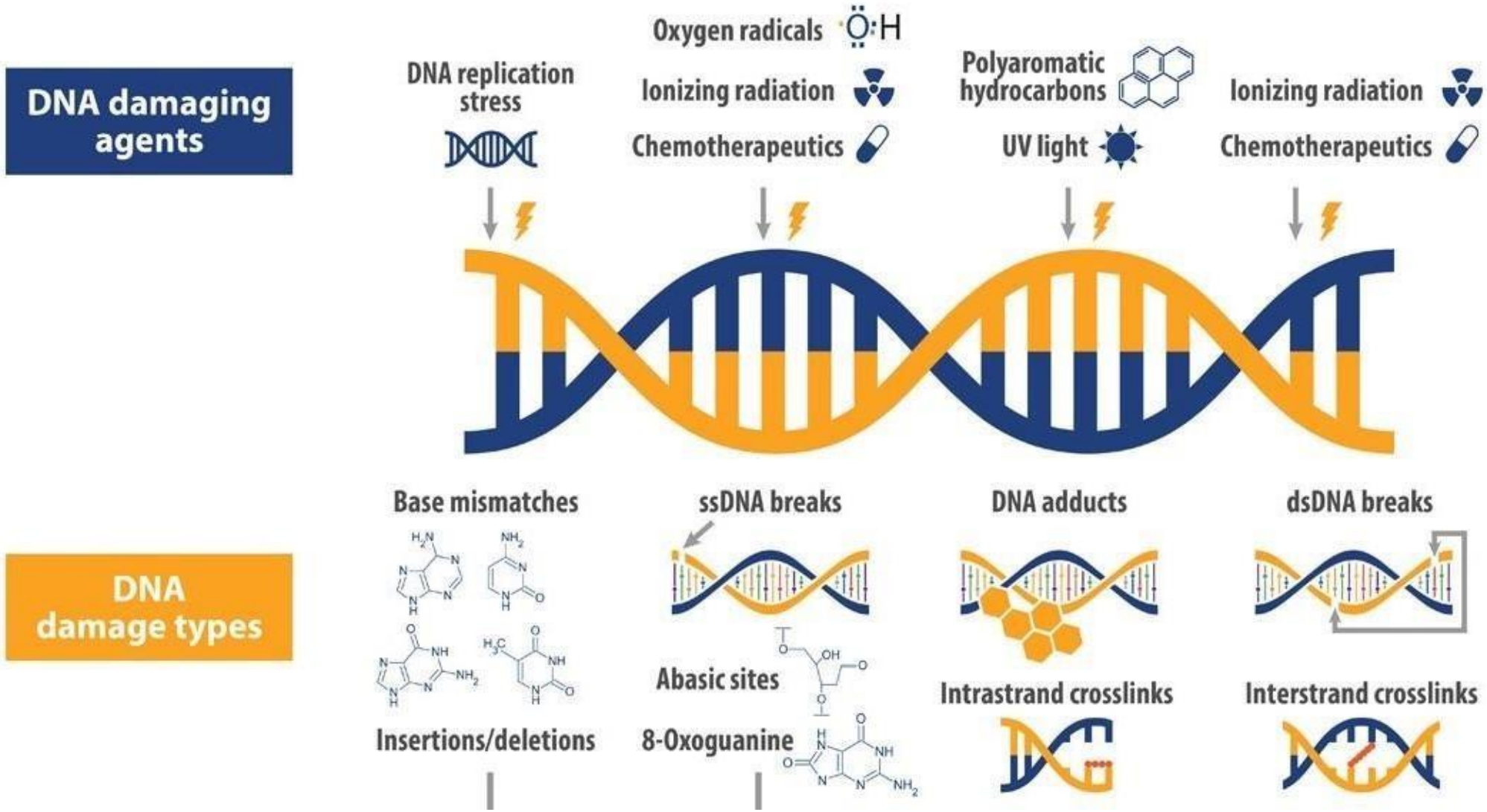


Кіріспе

ДНҚ тірі организмнің генетикалық ақпаратын сақтайтын негізгі молекула. Бірақ ол үнемі эндогендік (ішкі) және экзогендік (сыртқы) факторлардың әсеріне ұшырайды: ультракүлгін сәуле, иондаушы радиация, химиялық мутагендер және метаболизмнің жанама өнімдері. Бұл әсерлер ДНҚ құрылымында мутациялар мен зақымданулар тудырады. Егер олар дер кезінде түзетілмесе, генетикалық ақпарат бұзылып, жасуша қызметі нашарлайды немесе қатерлі ісік дамуы мүмкін. ДНҚ-ның тұрақтылығын сақтау үшін жасушаларда күрделі **репарация жүйелері** қалыптасқан. Олар зақымданған нуклеотидтерді таниды, алып тастайды және дұрыс нуклеотидтермен алмастырады. Репарация процесі жасушаның генетикалық тұтастығын сақтауда және тұқым қуалайтын тұрақтылықты қамтамасыз етуде шешуші рөл атқарады.

DNA Damage and DNA Repair




DNA damaging agents
DNA replication stress
Oxygen radicals
Ionizing radiation
Chemotherapeutics
Polyaromatic hydrocarbons
UV light
Ionizing radiation
Chemotherapeutics
DNA damage types
Base mismatches
ssDNA breaks
DNA adducts
dsDNA breaks
Abasic sites
Intrastrand crosslinks
Interstrand crosslinks
Insertions/deletions
8-Oxoguanine

ДНҚ зақымдаушы факторлар

- Ультракүлгін сәулелену, Радиация
- Химиялық заттар
- ДНҚ репликациясының қателері
- Апуринизация – қантты-фосфатты негіздерден азотты негіздерді жою
- Дезаминдену – азотты негізден амин тобын алу

ДНҚ зақымдануының негізгі түрлері

- Бір нуклеотидтің зақымдануы
- Нуклеотидтер жұбының зақымдануы
- Екі және бір тізбекті ДНҚ тізбегі үзіледі
- ДНҚ-ның бір тізбегі немесе әртүрлі тізбектерінің негіздері арасында айқаспалы байланыстардың түзілуі
- Тимин димерлерінің түзілуі



Репарация (латын тілінен reparatio - қалпына келтіру) жасушадағы қалыпты ДНҚ биосинтезі кезінде немесе физикалық, химиялық мутагендердің әсерінен зақымдалған ДНҚ молекулаларының зақымдануы мен үзілуін түзету қабілетінен тұратын жасушалардың ерекше қызметі. Оны жасушаның арнайы ферменттік жүйелері жүзеге асырады.

Репарацияның рөлі

Генетикалық ақпаратты мүмкіндігінше дәл сақтау үшін организмде күрделі ДНҚ репарация механизмдері бар. Көп жағдайда ДНҚ өзгерістері фенотиптік өзгерістер ретінде көрінбейді және ағзаға жағымсыз әсер етпейді.

Бірақ кейбір мутациялар өлімге әкелуі мүмкін, бірақ оларды қалпына келтіру механизмдерінің, соның ішінде күрделі ферментативті жүйелердің көмегімен болдырмауға болады.

Хромосомалардың тұрақсыздығы синдромдары деп аталатын адамның кейбір аурулары және қатерлі ісіктің кейбір түрлері ДНҚ репарация жүйелеріндегі сәтсіздіктермен байланысты.

ДНҚ зақымдануы өздігінен пайда болуы мүмкін немесе мутагендік агенттердің әсерінен туындауы мүмкін. Дезаминдену, депуриндеу және азотты негіздердің тотығу зақымдануы ДНҚ-да өздігінен пайда болатын зақымдарға жатады.

ДНҚ репарация жылдамдығы көптеген факторларға байланысты, соның ішінде клетка түрі, клетка жасы және жасушадан тыс орта.

ДНҚ зақымдануының көп мөлшерін жинақтаған жасуша немесе ДНҚ-ның зақымдануын бұдан былай тиімді қалпына келтіре алмайтын жасуша үш ықтимал күйдің біріне кіре алады:

- қартаю деп аталатын қайтымсыз тыныштық күйі
- жасушалық суицид, апоптоз
- клетканың реттелмеген бөлінуі, бұл ісіктің пайда болуына әкелуі мүмкін

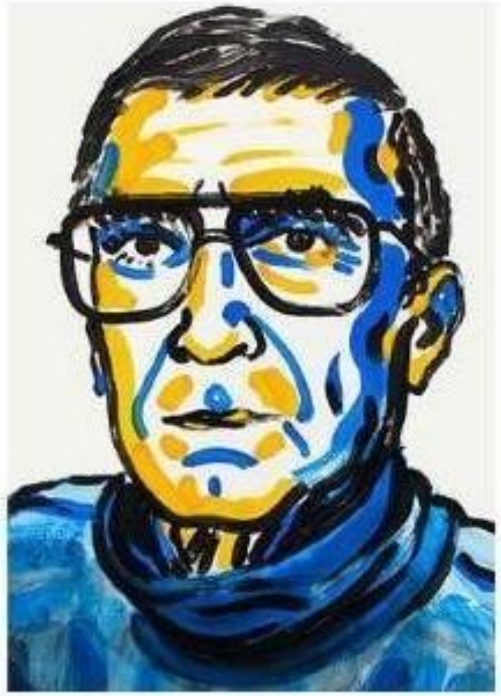
ДНҚ зақымдануы мутация емес.
E. coli-де 50-ден астам гендер қалпына келтіру процесін бақылайды
Күн сайын адам жасушасында 100 мыңнан астам ДНҚ байланыстары бұзылады
1000-нан 1зақымдану мутацияға айналады.



Томас Линдаль



Пол Модрич



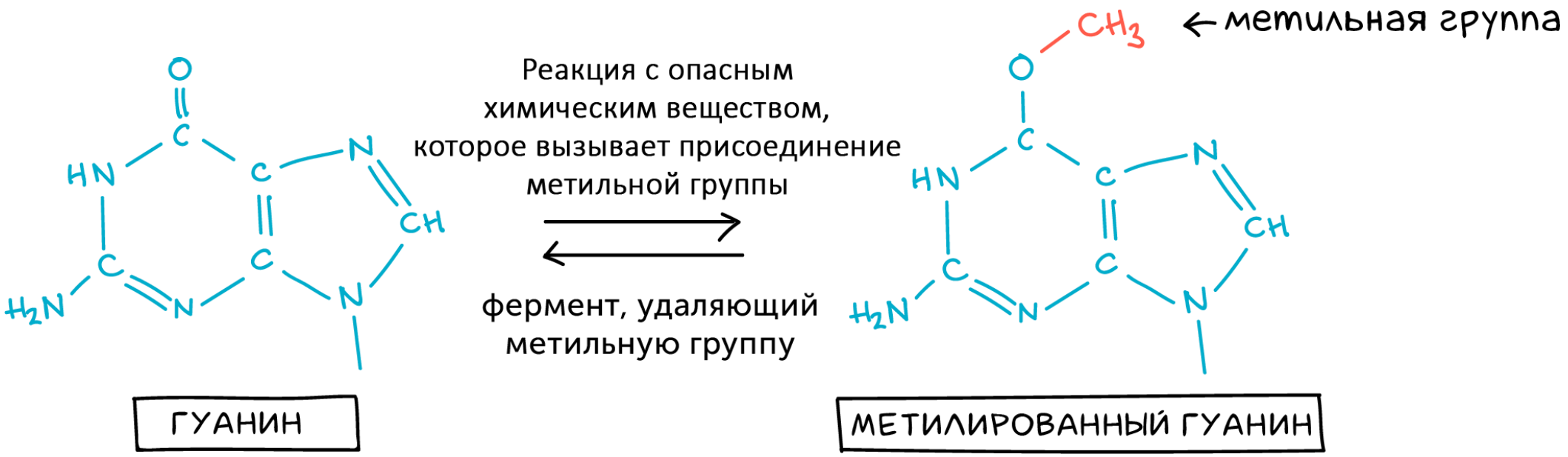
Азиз Санкар

Химия бойынша 2015 жылғы Нобель сыйлығы ДНҚ репарация процестерінің молекулалық механизмдері бойынша жұмысы үшін Томас Линдаль, Пол Модрич және Азиз Санкарға берілді.

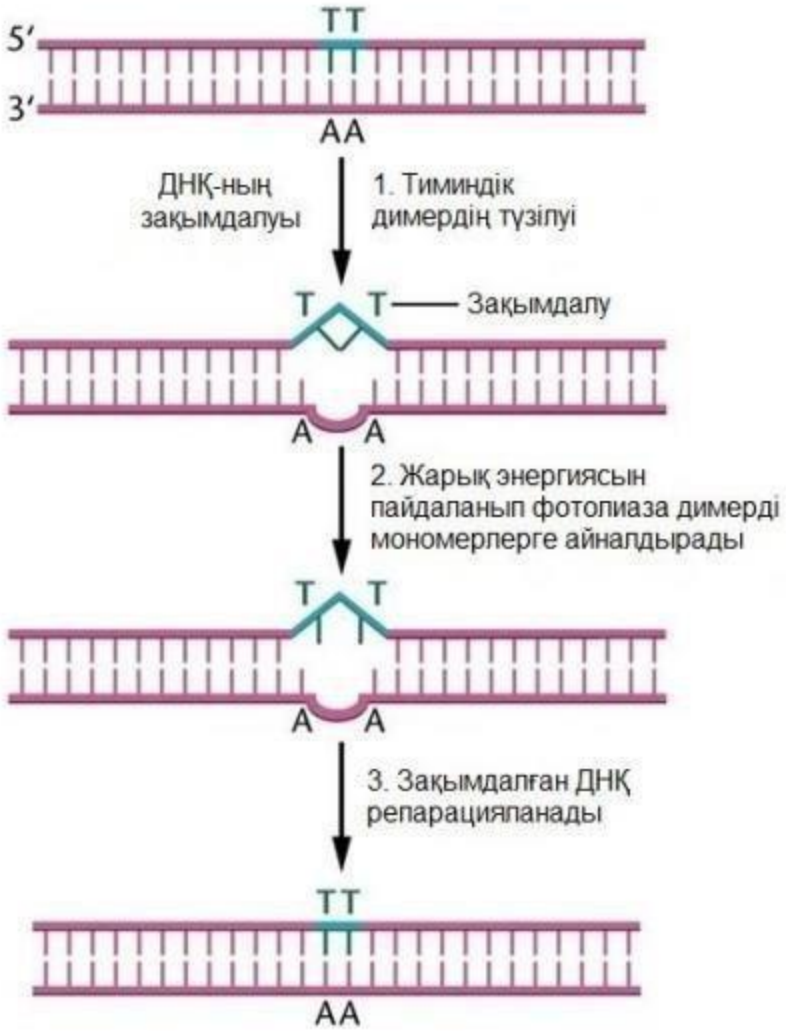

Репарация түрлері
Тура репарация
Фотореактивті
Алкилгуанин трансфераза
Экзиционды
Негіздер репарациясы
Нуклеотидтер репарациясы
Сәйкессіздікті түзету

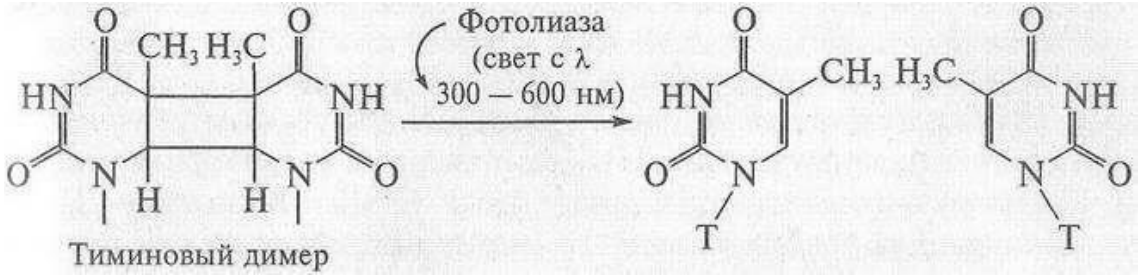
Тура репарация

Кейбір жағдайларда жасуша оны тудырған реакцияны кері қайтару арқылы ДНҚ зақымдануын қалпына келтіре алады. Өйткені, «ДНҚ зақымдануы» әдетте химиялық реакция нәтижесінде оған қосымша топтың қосылуы болып табылады.

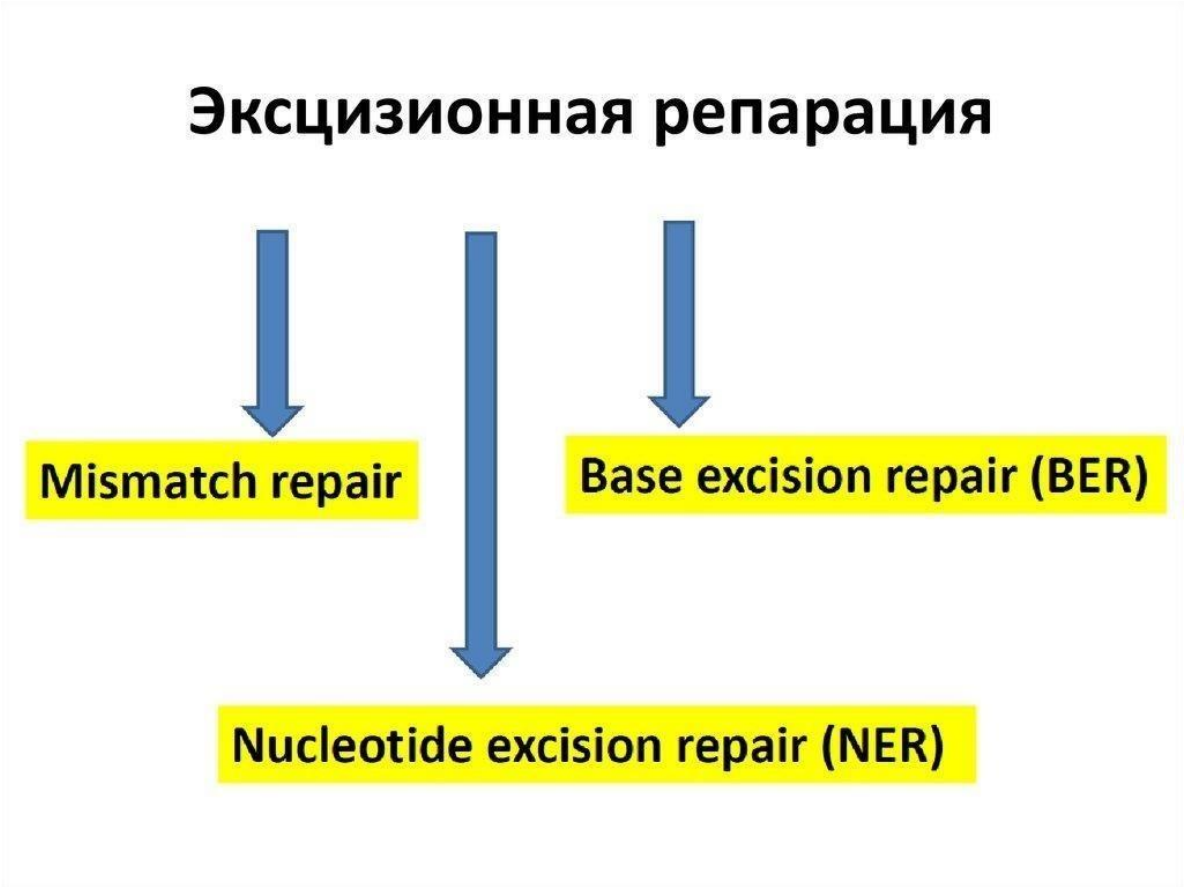


Фотореактивті репарация

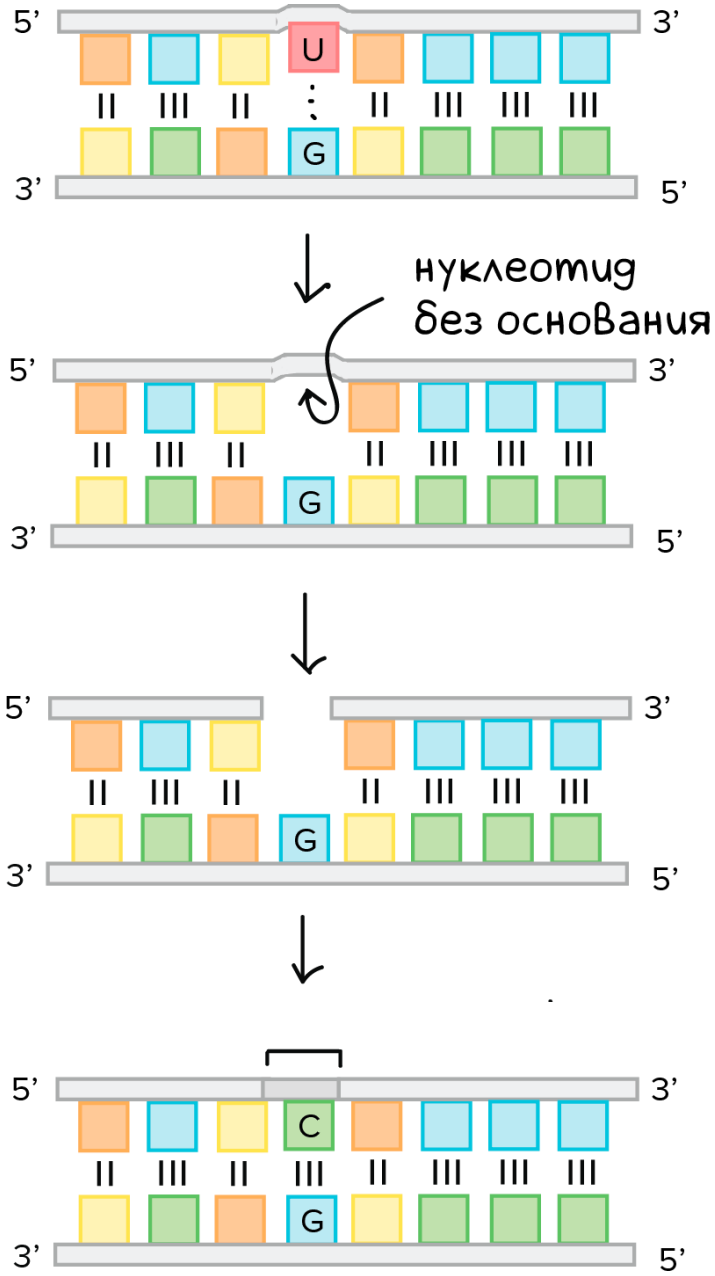




- Эксцизиялық репарация ДНҚ-дан зақымданған азоттық негіздерді жоюдан және кейін молекуланың қалыпты құрылымын қалпына келтіруден тұрады. Эксцизиялық репарацияда бірнеше ферменттер қатысады, мұнда бұл репарация тек зақымданған нуклеотидтерге ғана емес, сондай-ақ көршілес жатқан нуклеотидтерге де әсер етеді. Эксцизиялық репарация үшін ДНҚ-ның екінші (комплементарлы) тізбегі қажет.



Негіздердің экзиционды репарациясы



В результате реакции дезаминирования цитозин превращается в урацил

Урацил определяется и удаляется, оставляя нуклеотид без азотистого основания

Нуклеотид без основания удаляется, остается однонуклеотидный пробел в цепи ДНК

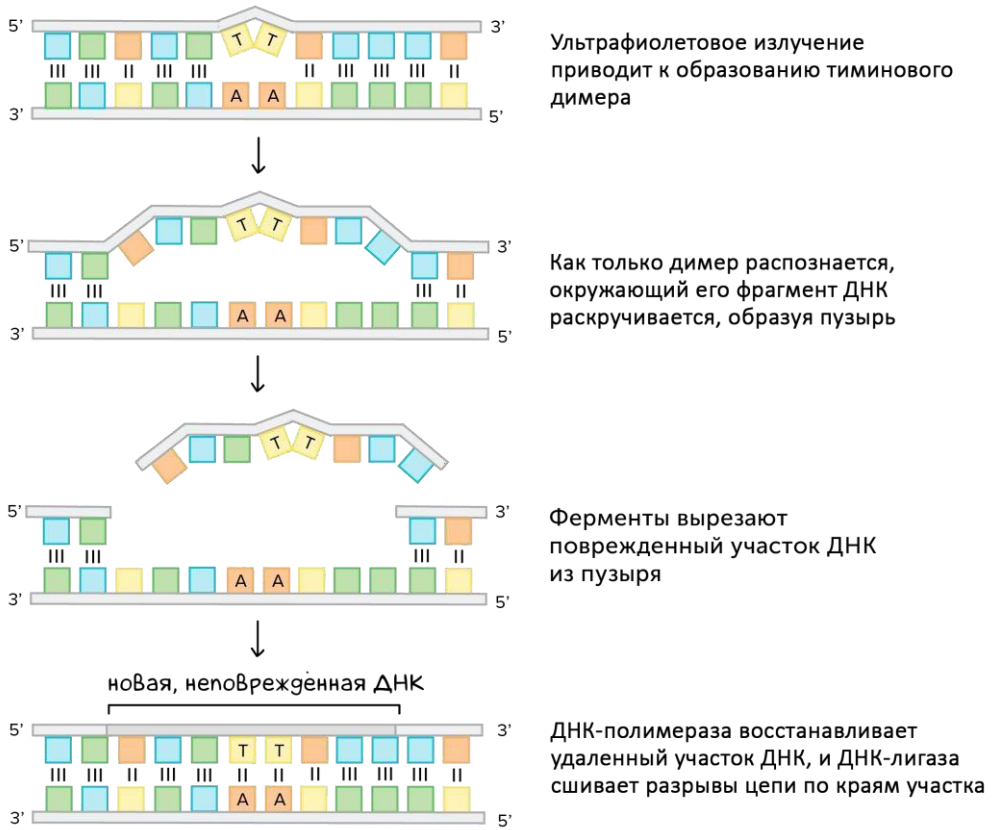
ДНК-полимераза заполняет пробел правильным нуклеотидом, а разрыв сшивается ДНК-лигазой

Адам және микроорганизм клеткасындағы ДНК-гликозилаза және эндонуклеазалық ферменттерді кодтайтын гендер

Фермент	Источник	Ген
Урацил-ДНК-гликозилаза	*E. coli* *S. cerevisiae* Человек	ung UNG UDG
3-Метиладенин-ДНК-гликозилаза	*E. coli* *S. cerevisiae* Человек	tag MAG MPG

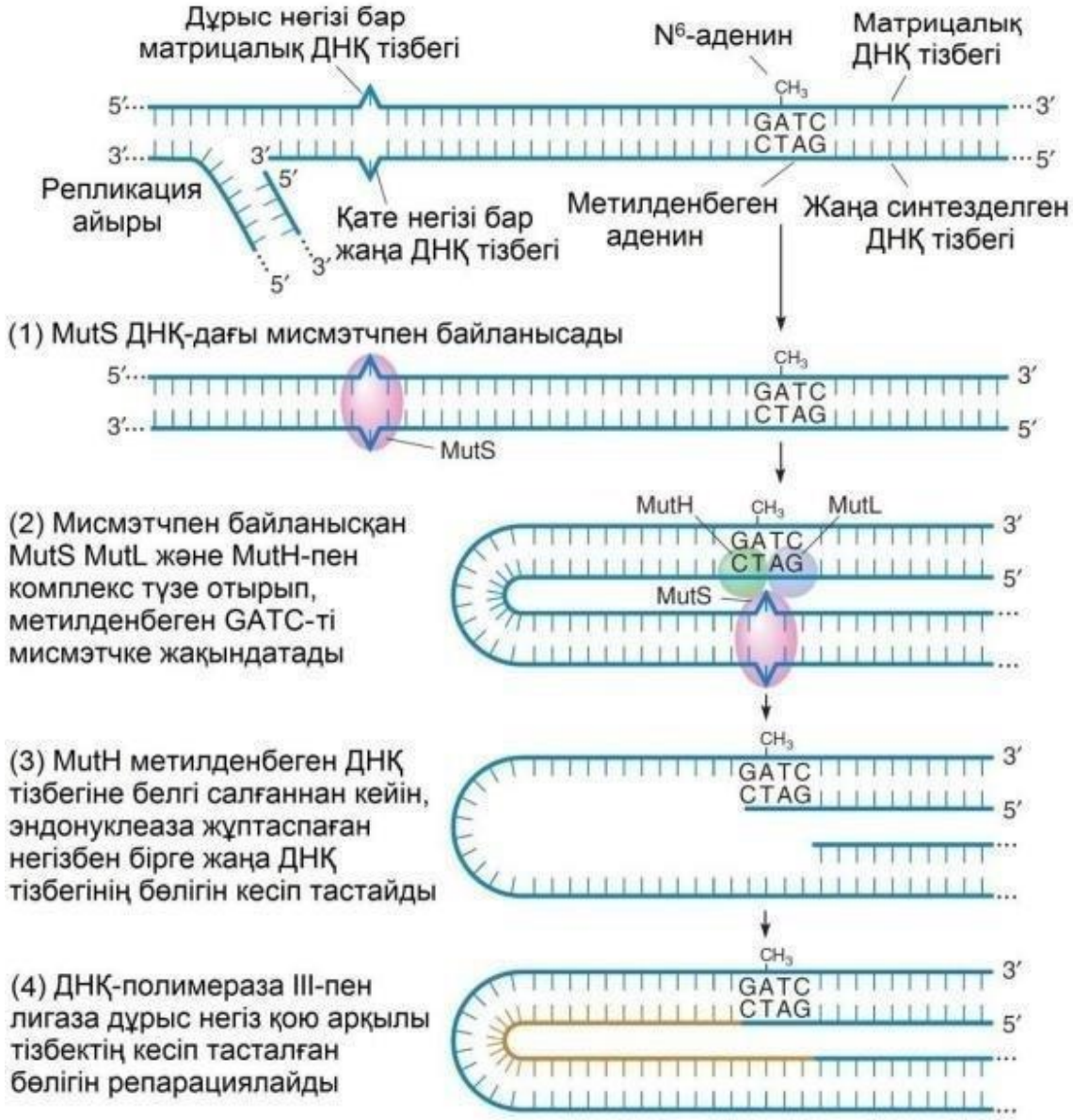
Нуклеотидтердің эксцизиялық репарациясы

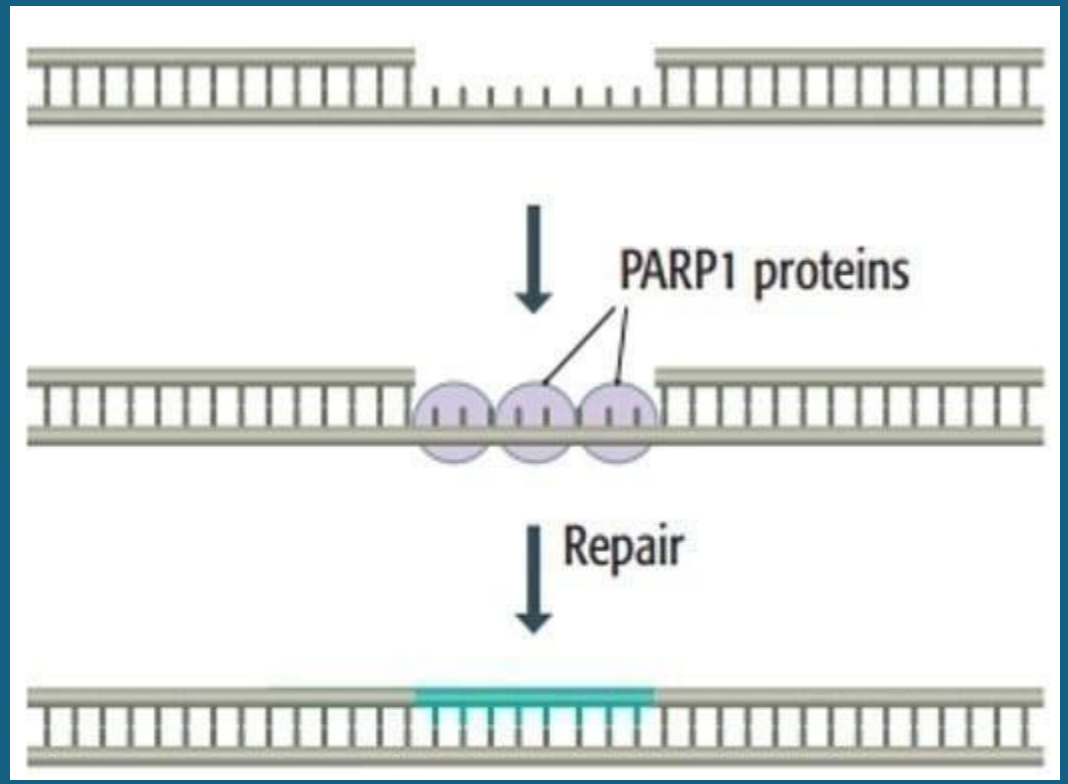
- зақымдалған негіздерді жоюдың және жөндеудің тағы бір әдісі. Нәтижесінде ДНҚ қос тізбегі пішінін бұзатын зақым анықталады және түзетіледі. Мысалы, азотты негіздер, әсіресе темекі түтініндегі химиялық заттардың әсерінен атомдардың үлкен топтарын қосу үшін өзгеруі мүмкін.



ДНҚ репликациясы қателігінің репарациясы

- ДНҚ репликациясы кезінде жұптасудағы қателіктер жиі кездеседі, нәтижесінде нуклеотидтердің комплементарлы жұбы A-T немесе G-C-ның орнына жаңадан түзілетін ДНҚ тізбегіне матрицалық тізбектегі нуклеотидтерге комплементарлы емес (mismatch- дұрыс таңдалмаған) нуклеотидтер еніп кетеді. Мұндай қателіктер репарацияның мисмэтч – жүйесінің көмегімен түзетіледі.

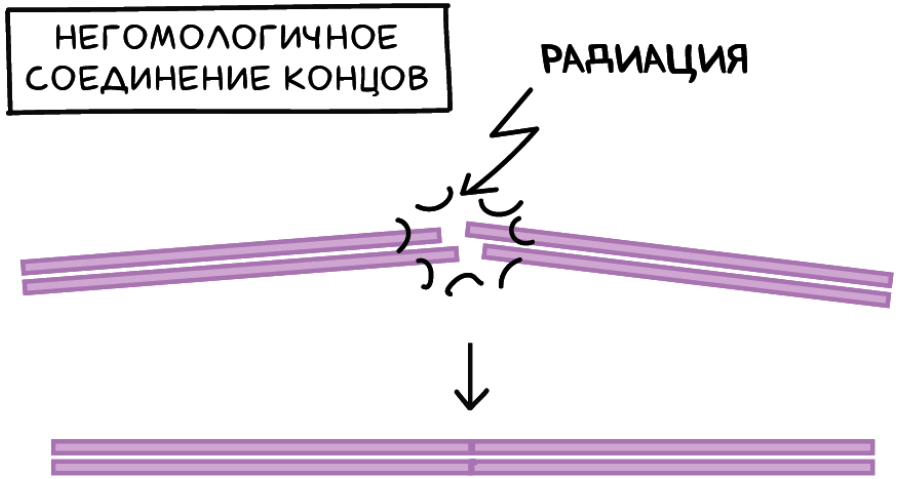


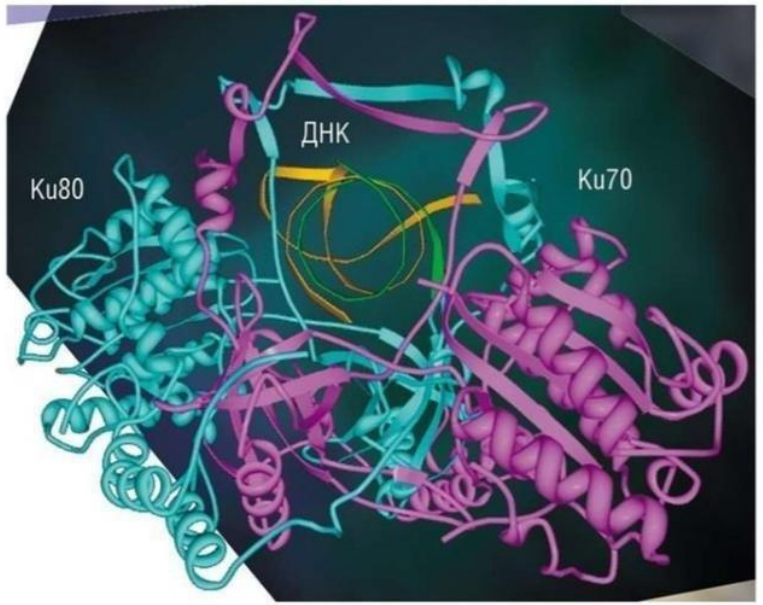


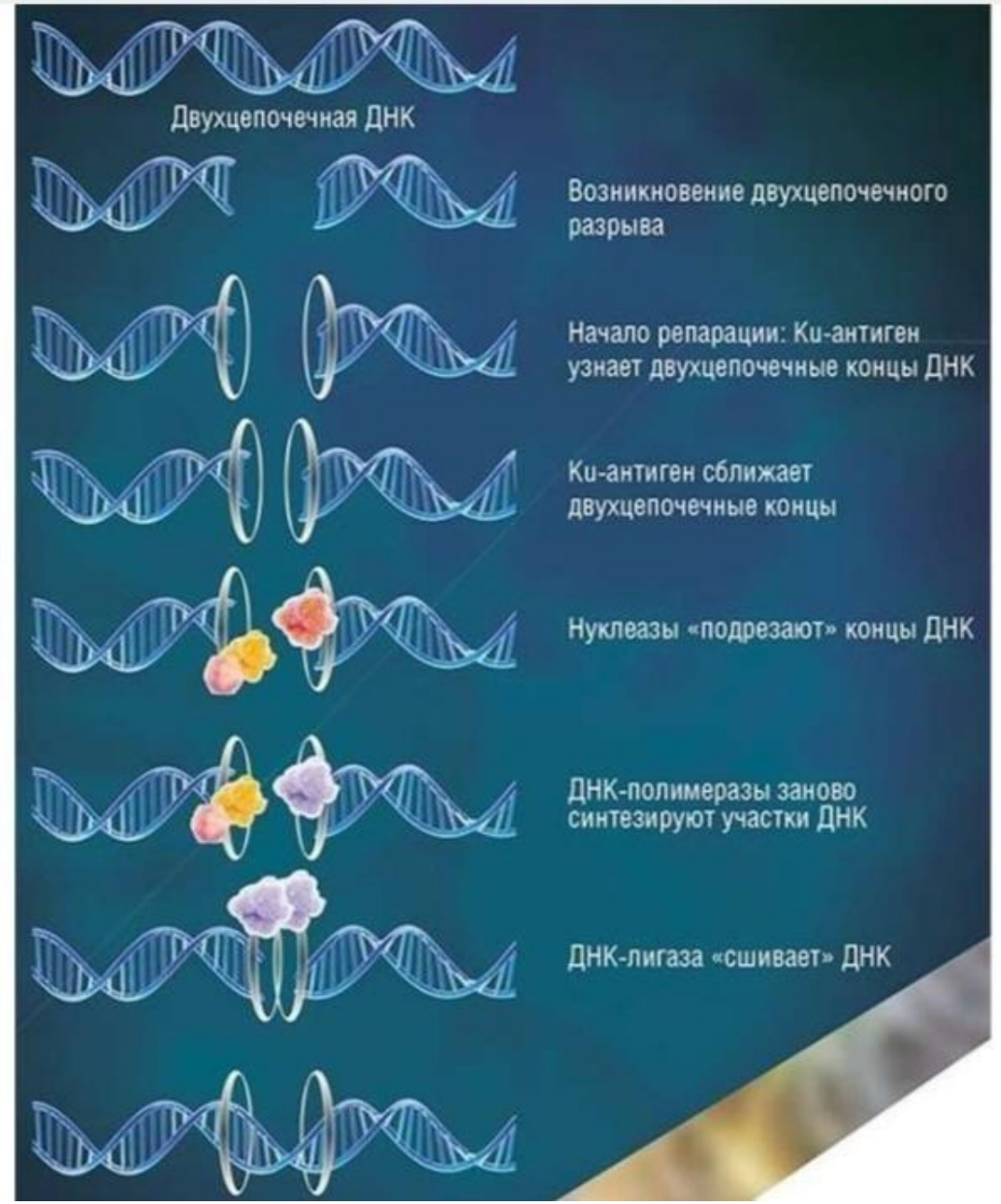
Бір тізбекті үзілістерді жөндеу

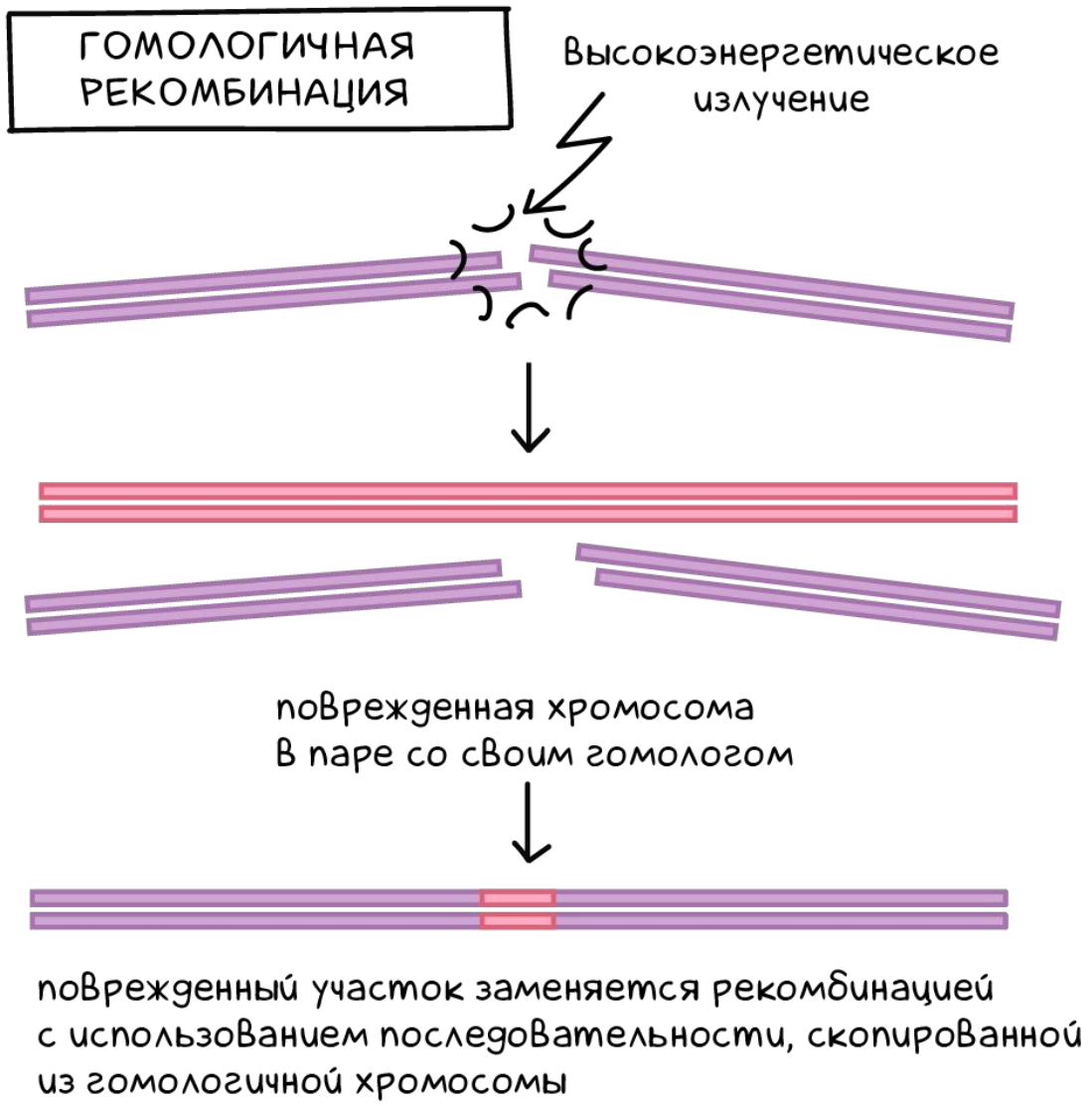
- ДНҚ-дағы бір тізбекті үзілістер тотығу зақымдануы, абаздық учаскелер немесе ДНҚ топоизомераза ферментінің белсенділігіндегі қателіктер салдарынан болуы мүмкін.
- Бұл үзілістер ДНҚ репликациясын бұзуы, транскрипцияны тоқтатуы және жасуша өліміне әкелетін жасушалық процестерді белсендіруі мүмкін.
- Ашық бір тізбекті үзілуден қорғау үшін PARP1 белоктарытізбекпен байланысып, қалқан ретінде әрекет етеді.

Екі тізбекті үзіліс репарациясы









- Гомологиялық рекомбинацияда бұзылған хромосомаға сәйкес келетін гомологиялық хромосоманың фрагменті үзілген жерді қалпына келтіру үшін пайдаланылады.
- Бұл процесте екі хромосома біріктіріліп, гомологиялық хромосоманың немесе хроматидтің зақымдалмаған аймағы зақымдалған аймақты ауыстыру үшін үлгі ретінде пайдаланылады.
- Гомологиялық рекомбинация гомологты емес ұштық қосылуға қарағанда «таза» жұмыс істейді және әдетте мутацияның пайда болуына әкелмейді.
- HR әпкелі хроматидтері болған кезде жасуша циклінің S, G2 және M фазаларында ең белсенді болады.

SOS- репарация

ДНҚ-ны зақымдайтын немесе E.coli бактериясында оның репликациясын бұзатын көптеген әсерлер (УК-сәулелер, алкилдеуші агенттер т.б.) SOS-жауаптар деп аталатын бірқатар фенотиптік өзгерістерді индукциялайды. Мұндай өзгерістерге мысалы, репрессордың инактивациясын қажет ететін профагының индукциясы; УК-сәулелендірілген клеткалардағы қалыпты бөлінуге кедергі келтіру салдарынан бактерияларда ұзын жіпшелердің (филаменттер) пайда болуы; клеткадағы тыныс алудың істен шығуы, мутагенездің индукциясы т.б. жатады.

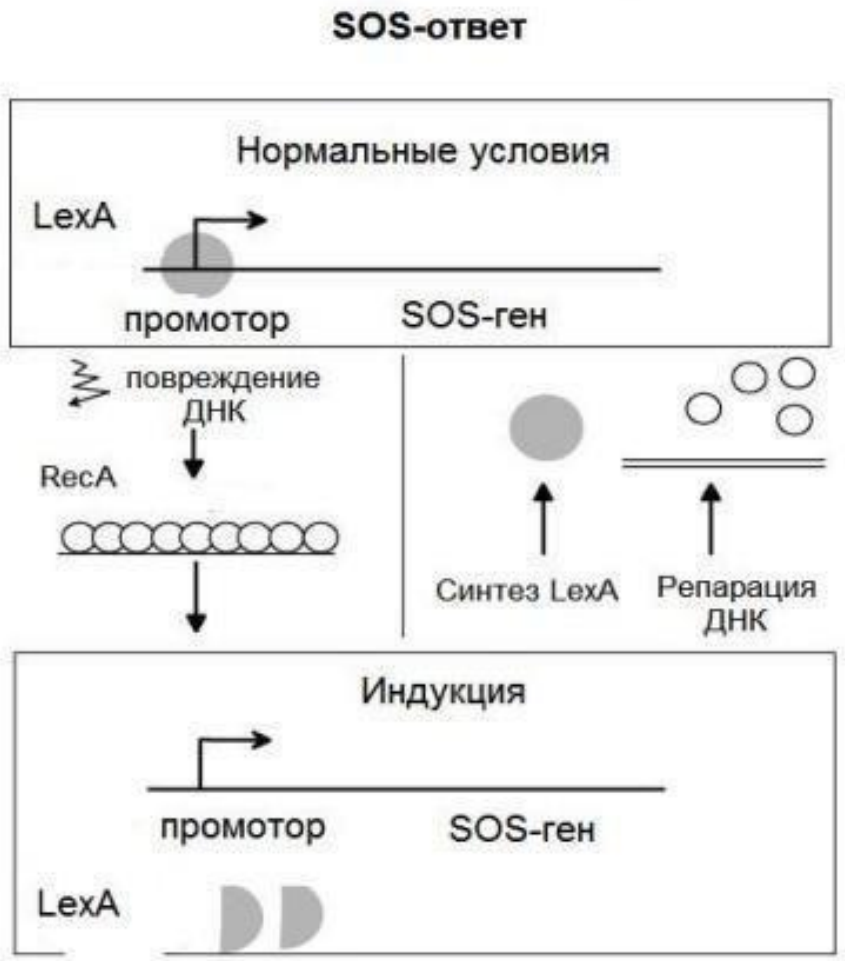
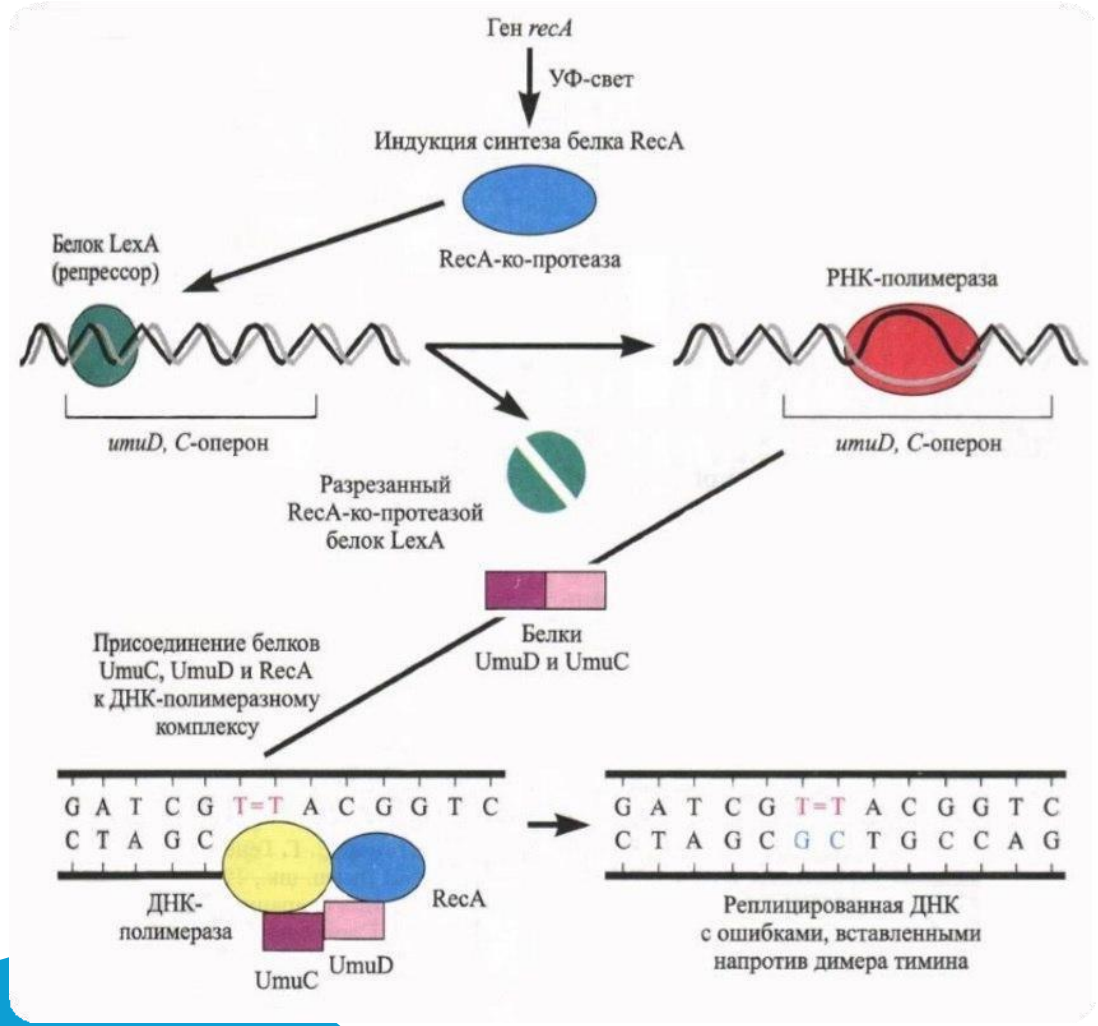
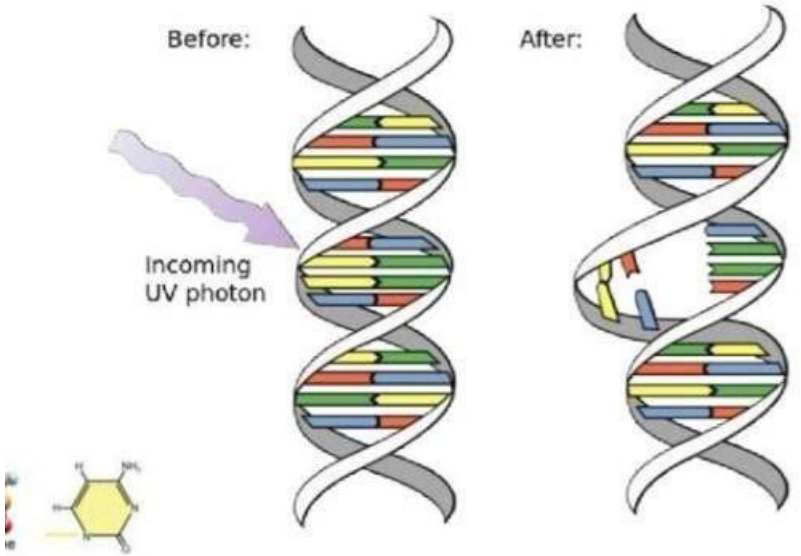


Рис. 1. Индукция SOS-ответа



- **5’-TACTGTATATATACAGTA-3’ (SOSbox)**
- SOS механизмін белсендірудегі бірінші әрекет ДНҚ-ның зақымдануы және бір тізбекті ДНҚ (ssDNA) жинақталуына әкелетін репликацияның уақытша тоқтауы болып табылады. Бұл ATP қатысуымен ssDNA бар филаменттер түзетін және протеаза белсенділігін алатын RecA-ға әкеледі.
- Мұндай филаменттердің in vitro түзілуінің максималды жылдамдығы секундына 30–40 мономерді құрайды.
- SOS реакциясы кезінде АТФ деңгейі бірнеше есе артады. Филаменттегі әрбір RecA мономері бір АТФ молекуласын байланыстырады және гидролиз жылдамдығы бір мономерге минутына шамамен 30 АТФ молекуласын құрайды. С
- онымен қатар, жіптердің түзілуін бастау үшін бір тізбекті ДНҚ-ны тұрақтандыратын және Mg2+ иондарының қатысуымен ssDNA-дағы RecA ақуызының полимерленуін жеңілдететін SSB ақуыздарының болуы қажет.

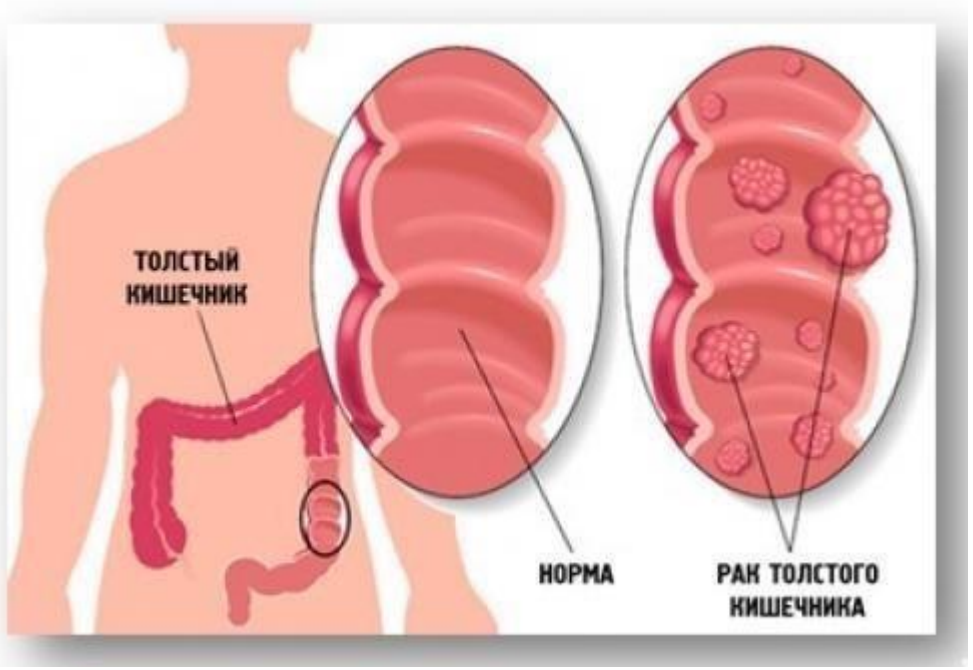
- Репарациямен байланысты аурулар
- Пигментті ксеродерма, Блум синдромы
- Атаксия-телангиэктазия немесе Луи-Бар
- Трихотиодистрофия
- Фанкони анемиясы
- Балалардың прогериясы,





Меланома — одна из злокачественных опухолей кожи

Тұқым қуалайтын полипозды емес колоректальды қатерлі ісік (Линч синдромы деп те аталады) сәйкессіздікті қалпына келтіруге қатысатын белоктарды кодтайтын гендердегі мутациялардан туындайды. Мұндай нуклеотидтер қалпына келмейтіндіктен, бұл синдроммен ауыратын адамдарда мутациялар сау адамдарға қарағанда әлдеқайда жылдамырақ жиналады. Бұл тоқ ішек ісіктерінің дамуына әкелуі мүмкін.





Пигментті ксеродермамен ауыратын адамдар ультракүлгін сәулеленуге өте сезімтал. Бұл нуклеотидтерді жоюға қатысатын ақуыздардағы мутациялардан туындайды. Олар жұмыс істемесе, тимин димерлері және ультракүлгін сәулеленуден туындаған басқа зақымдар бұдан былай қалпына келтірілмейді. Пигментті ксеродермамен ауыратын адамдар күн астында бірнеше минуттан кейін қатты күйіп қалуы мүмкін және олардың жартысына жуығы күн сәулелерінен аулақ болмаса, 10 жасқа дейін тері қатерлі ісігіне шалдығады.

Қорытынды

ДНҚ репарациясы — жасушаның генетикалық тұрақтылығын қамтамасыз ететін ең маңызды қорғаныс жүйелерінің бірі. Әр секунд сайын жасушаларда мыңдаған зақымдар пайда болады, алайда тиімді репарациялық механизмдердің арқасында олардың басым бөлігі қалпына келеді. Репарация жүйелері – тура, экцизиялық, мисматч және рекомбинациялық жөндеу – өзара тығыз байланыста жұмыс істейді және жасушаның тіршілік ету қабілетін сақтайды. Бұл жүйелердің ферменттері жоғары дәлдікпен зақым орнын таниды, дұрыс нуклеотидтерді енгізіп, геномның тұтастығын қалпына келтіреді. Репарацияның бұзылуы қатерлі ісік, нейродегенеративті және тұқым қуалайтын аурулардың дамуына себеп болуы мүмкін. ДНҚ жөндеу процестерін зерттеу қазіргі биомедицинада, онкологияда және қартаю биологиясында ерекше маңызға ие. Геномның репарациясын түсіну арқылы ғалымдар мутацияларға төзімді организмдер құру, тиімді терапиялық стратегиялар әзірлеу және жасушалық қартаю механизмдерін басқару бағытында жаңа мүмкіндіктерге ие болуда.

Өзін-өзі тексеруге арналған сұрақтар:

1. ДНҚ-ны зақымдайтын негізгі факторлар қандай және олардың әсерінен туындайтын зақымдану түрлеріне (апуринизация, дезаминдену, тимин димерлері) сипаттама беріңіз.
2. Тура репарация мен эксцизиялық репарацияның (негіздер мен нуклеотидтердің эксцизиялық репарациясы) атқаратын қызметі мен өзара айырмашылықтары неде?
3. ДНҚ репликациясы кезінде жіберілген қателіктерді түзететін мисмэтч (сәйкессіздікті түзету) репарациясы қалай жүзеге асады?
4. ДНҚ-ның қос тізбекті үзілістерін қалпына келтіруде гомологиялық рекомбинацияның маңызы қандай және ол жасуша циклінің қай фазаларында ең белсенді болады?
5. Бактериялардың ДНҚ зақымына қарсы SOS-жауабының пайда болу механизмі мен ондағы RecA пен SSB ақуыздарының атқаратын рөлін түсіндіріңіз.
6. ДНҚ репарация жүйелерінің бұзылуынан туындайтын тұқым қуалайтын ауруларға (Пигментті ксеродерма, Линч синдромы) мысал келтіріп, олардың клиникалық маңызын сипаттаңыз.
7. Жасушада ДНҚ зақымдануы тым көп жиналып, оны толық қалпына келтіре алмаған жағдайда қандай үш ықтимал күйге (жағдайға) ұшырауы мүмкін?

Қолданылған әдебиеттер

1. Берсімбаев РІ Молекулалық биология – 2016, Қазақ университеті, Алматы
2. Льюин Б. Гены. – М.: Бином. Лаборатория знаний. 2012. – 896 с.
3. Harvey Lodish, Arnold Berk, Chris A. Kaiser, Monty Krieger. - Molecular Cell Biology. – 2021
4. Т. А. Муминов, Е. У. Куандыко. Основы молекулярной биологии: курс лекций // Алматы: ССК, 2017. - 222 с.

Ғаламтор ресурстары:

1. http://elibrary.kaznu.kz/ru
2. http://molbiol.ru/
3. http://gene-quant:fication.info/