|  |  |
| --- | --- |
| Слайд | Содержимое |
| 1 | Несмотря на то, что в клетках нашего организма существуют различные способы репарации ДНК, эти механизмы не всегда эффективны или могут не произойти до того, как белки, отвечающие за репликацию или транскрипцию, столкнутся с поврежденными матрицами. Фактически, репликация ДНК может быть заблокирована неисправленными повреждениями, что может привести к гибели клетки. Но до того, как это произойдёт возможно исправление с помощью транслезионного синтеза. |
| 2 | Так данный процесс можно изучить с помощью модели поврежденной ДНК в результате воздействия ультрафиолетового излучения, которое вызывает образование пиримидиновых димеров. Наиболее часто образовываемые димеры – циклобутановые пиримидиновые димеры (CPD) и пиримидин (6-4) пиримидоновые фотопродукты (6-4PP). Так циклобутановые димеры более обильны, в то время как второй вид преставляют лишь 25-30% повреждений, однако пиримидоновые фотопродукты более опасны, так как именно они вызывают большую деформацию двойной спирали ДНК, что даже приводит к нарушению спаривания оснований, по сравнению с циклобутановыми димерами. Эти различия определяют, как каждое повреждение восстанавливается и переносится с помощью транслезионного синтеза.  Также стоит отметить, что первый тип повреждений более устойчив, так как примерно половина из них присутствует через 24ч после повреждений, а пиримидоновые фотопродукты удаляются полностью после 3-6 часов. |
| 3 | А как вообще эти повреждения могут помешать и почему они могут вызвать гибель клетки? Дело в том, что если большие участки были затронуты повреждением, то это может физически заброкировать путь репликативным полимеразам, что приводит к так называемому репликативному стрессу. В то время как полимеразы остановились хеликазы, которые распутывают матричную ДНК, не останавливаются из-за таких повреждений. Такое несовпадение движения этих двух комплексов приводит к образованию натяжений/растяжения одноцепочечной ДНК. В таком состоянии при нарушении целостности или длительном простое репликативной вилки, те могут ломаться, что приводит к двухцепочечным разрывам, что может привести к хромосомным перестройкам или даже гибели клеток. Чтобы этого не произошло, у клеток есть два метода: гомологичная репарация и, собственно, транслезионный синтез.  Если кратко, гомологичная репарация использует идентичную сестринскую хроматиду как образец для репликации поврежденного участка. Однако побольше поговорим про транслезионный синтез, ведь с его помощью повреждённая ДНК может быть напрямую реплицирована специальными полимеразами транслезинного синтеза. И используется данный вид репликации, если повреждения не были исправлены до репликации и стимулируется остановкой ДНК полимеразы. |
| 4 | Структурно TSL-полимеразы имеют более широкий каталитический сайт, в сравнении с репликативными полимеразами и у них нет корректирующей экзонуклеазной активности, которая есть у, скажем так, обычной полимеразы. К чему приводят такие особенности строения – TSL-полимеразы способны размещаться на объёмных поражениях ДНК, что не делает обычная полимераза, и могут реплицировать их, даже если эта репликация подвержена ошибкам и вызывает мутации.  Существует по крайней мере 11 полимераз из 5 семейств. В основном, когда речь идёт про заболевания людей, говорят о полимеразах из Y, A и B семейств, ну и о AEP (архео-эукариотические примазы).  В таблице представлены данные об этих полимеразах, и как вы можете видеть, некоторые из них могут быть как самостоятельными, так и действовать в паре, они могу как проходить через какое-то повреждение, так и не проходить, а синтез может быть как безошибочным, так и подверженным ошибкам. |
| 5 | Как осуществляется транслезионный синтез. Выделяют два основных режима – с помощью одной полимеразы или двух и более полимераз, что иллюстрирует рисунок 4 и 5. Во втором случае, одна полимераза вставляет нуклеотиды непосредственно перед повреждением, а другая или другие добавляет нуклеотиды после повреждения. В первом случае, оба эти шага выполняет одна полимераза. Этот процесс может быть безошибочным или же подверженным ошибкам, в зависимости от того, какие полимеразы участвуют и какого рода повреждения.  На рисунке 5 можно увидеть конкретные примеры исправлений, так, при циклобутановых пиримидиновых димерах Pol eta может проходить без проблем и самостоятельно реплицировать ДНК, а при пиримидин пиримидоновых фотопродуктах уже нужно две полимеразы. |
| 6 | А как вообще TLS-полимеразы отправляются на места повреждений? Один из таких способов – это путь, зависящий от PCNA, гомотримерного кольца, который работает как sliding clamp. Помимо репликации ДНК, как мы уже знаем, он участвует в репарации ДНК, ремоделировании хроматина, в сцеплении сестринских хроматид, контроле клеточного цикла, апоптозе и экспрессии генов. Возвращаясь к рисунку, который был в начале презентации, PCNA может взаимодействовать с большинством полимераз транслезионного синтеза после моноубиквитинирования белками Rad6 и Rad18, таким образом PCNA как бы переключается с обычных полимераз на TLS-полимеразы, и именно моноубиквитинирование служит сигналом для транслезионного синтеза. Но на самом деле это всё не точно, потому что до сих пор некоторые моменты из разряда взаимодействие этих полимераз и PCNA и также необходимость моноубиквитинирования, оспариваются. Ну и после того, как полимеразы транслезионного синтеза были привлечены убиквитинированием sliding clamp’a, они начинают синтезировать ДНК на месте повреждения по механизму, описанному мной ранее. |