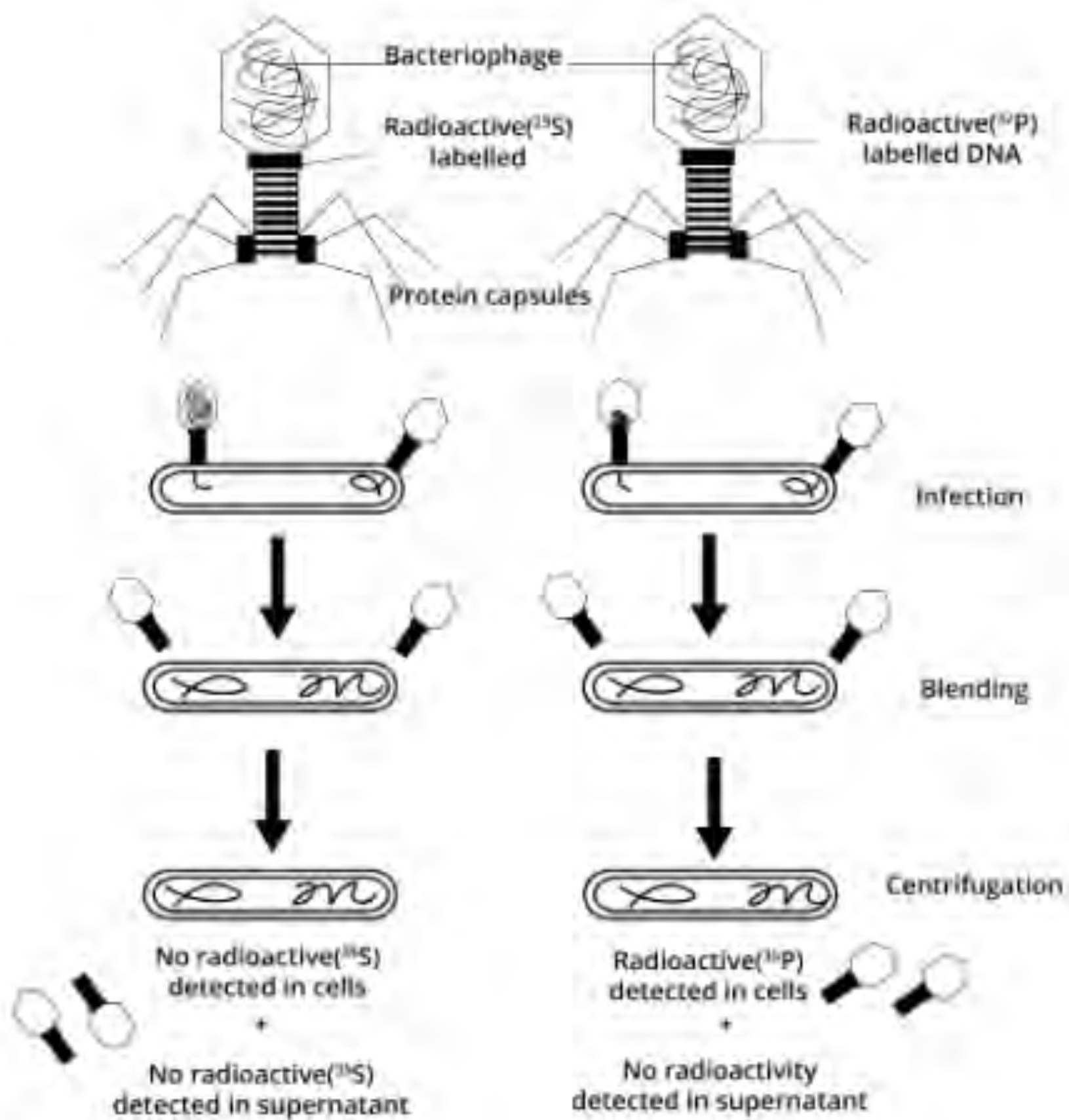


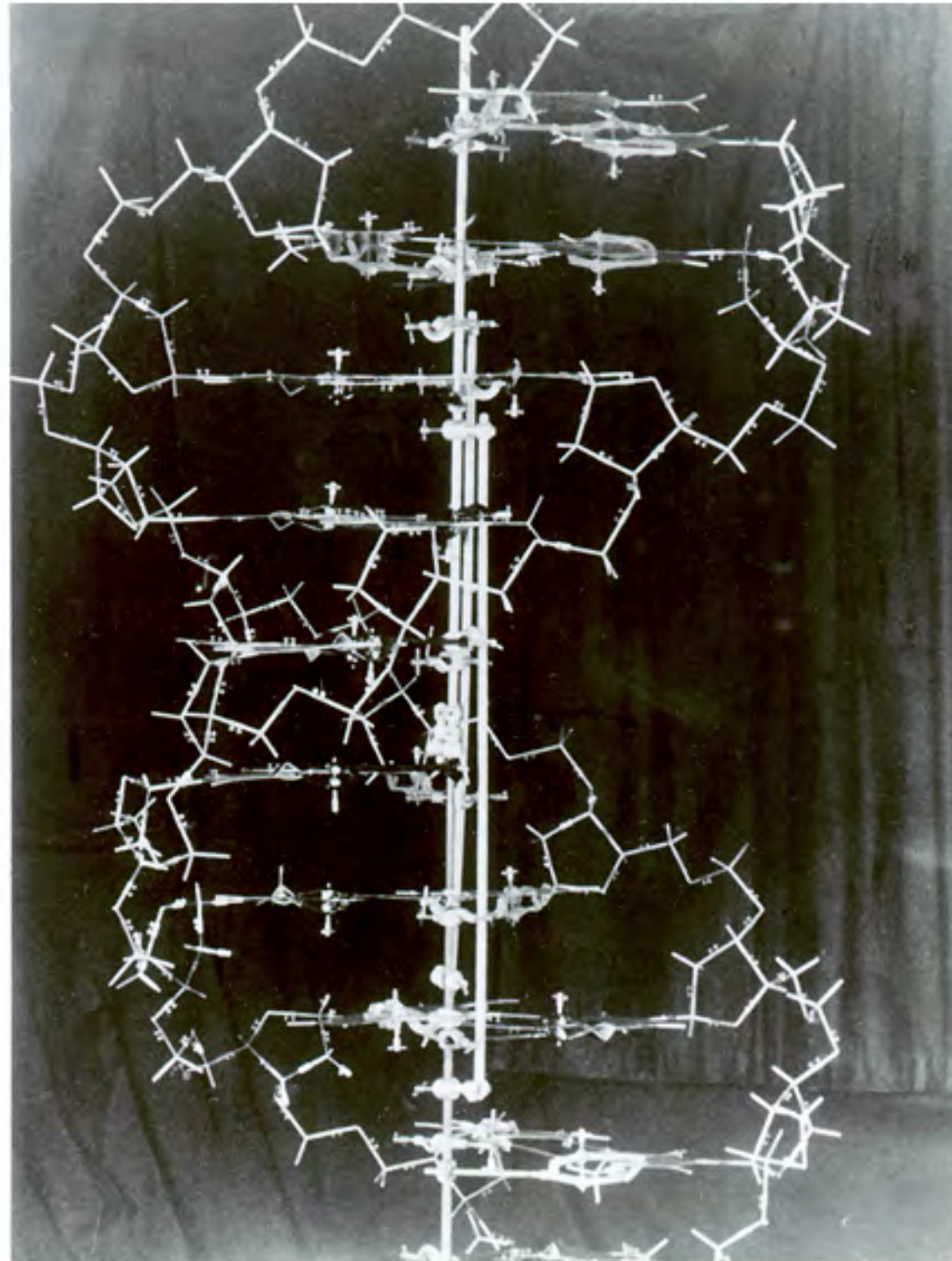
Введение в молекулярную биологию

Лекция 3. Структура ДНК, репликация и репарация



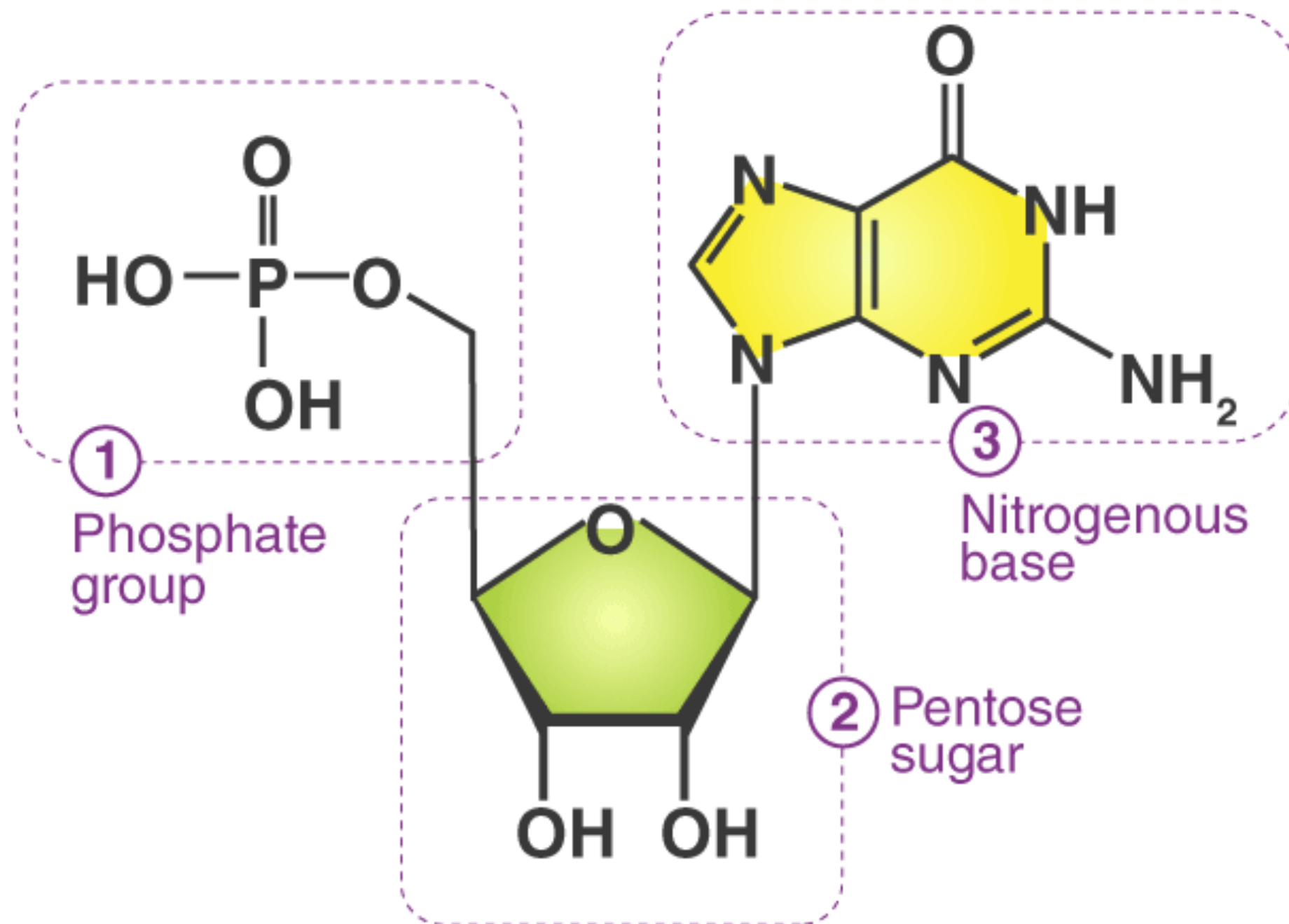
Hershey and Chase Experiment Diagram

Введение в структуру ДНК

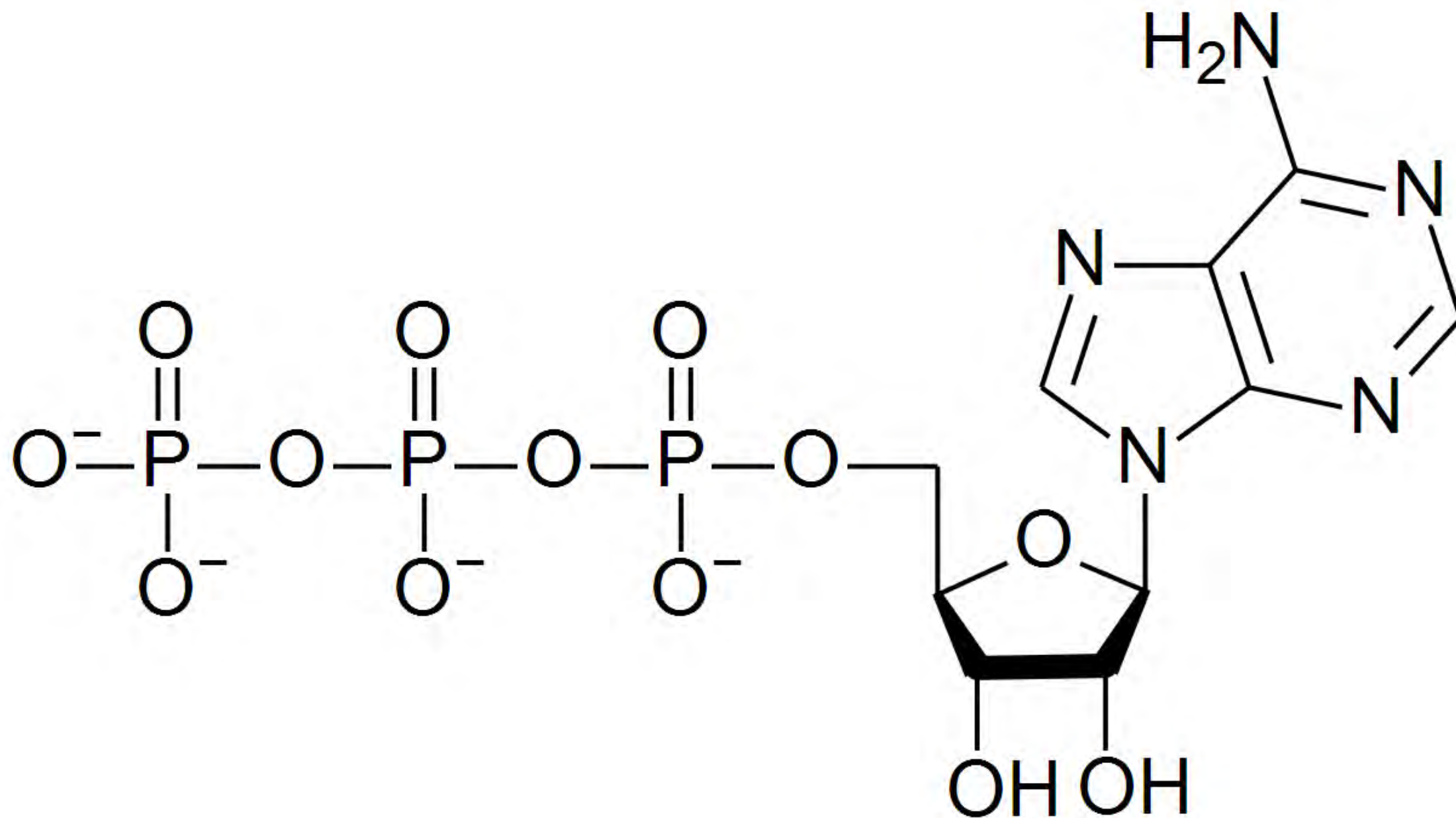


Courtesy of Cold Spring Harbor Archives. Noncommercial, educational use only.

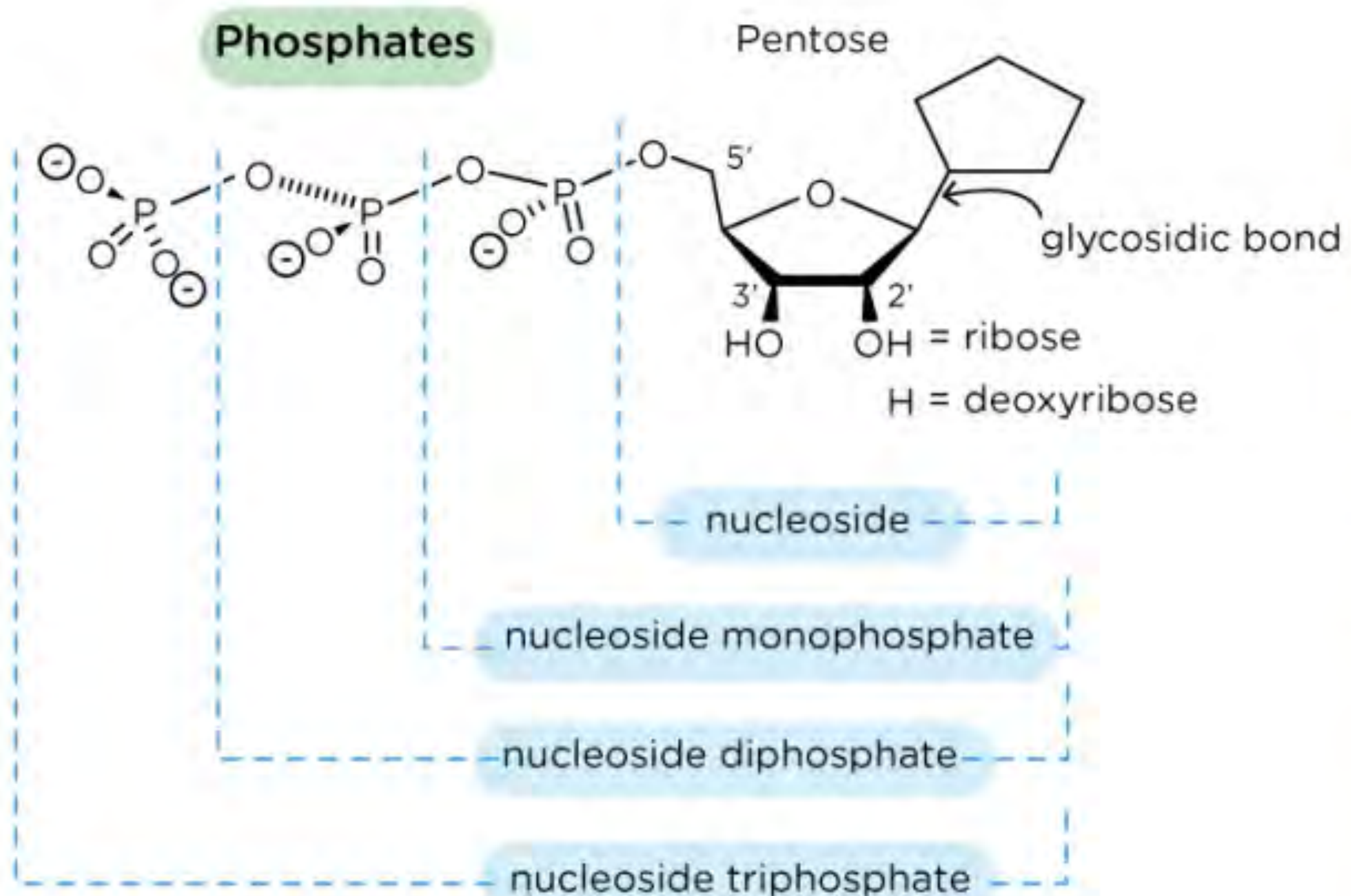
Нуклеотиды: основные строительные блоки



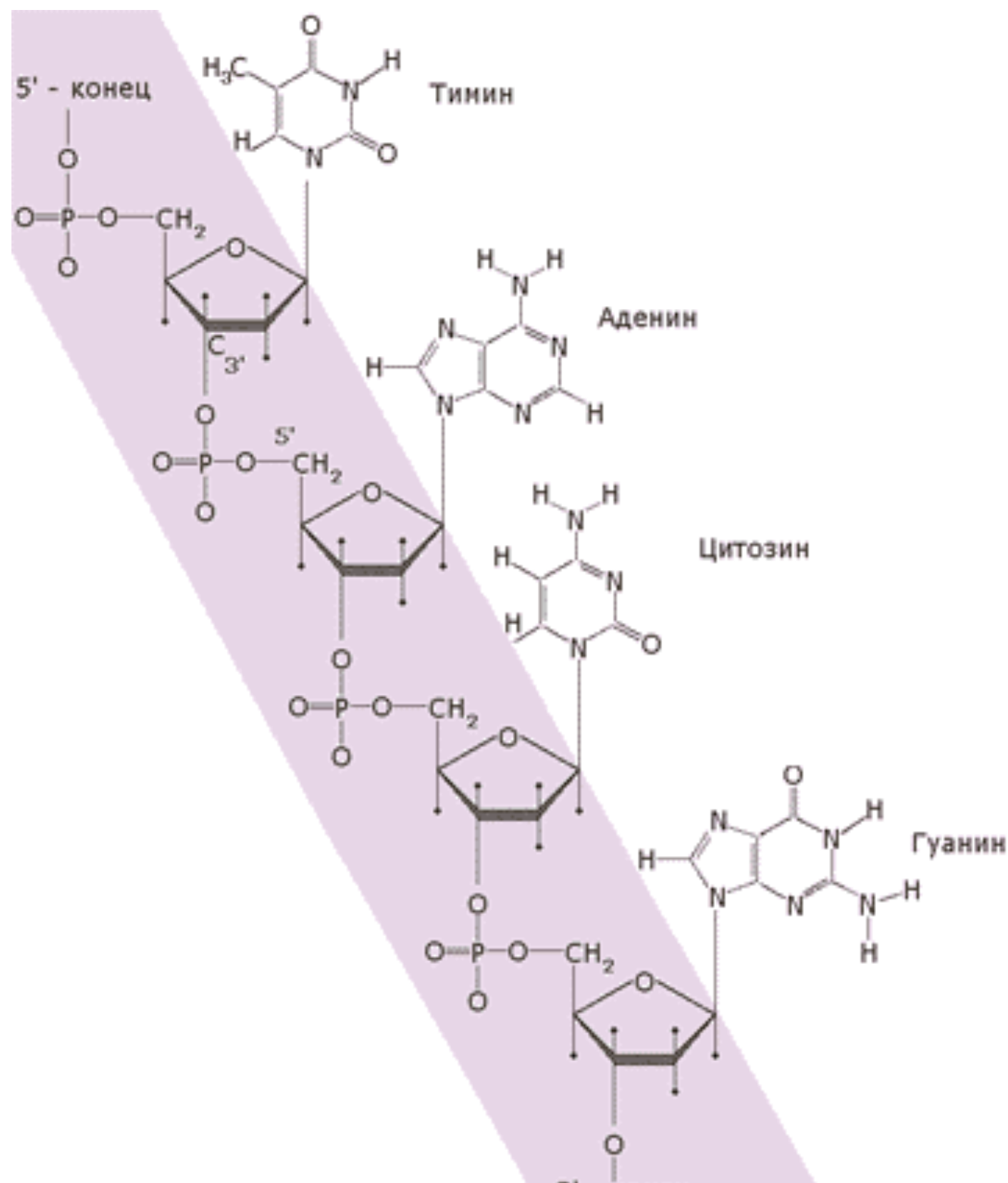
Химическое строение нуклеотидов



Химическое строение нуклеотидов

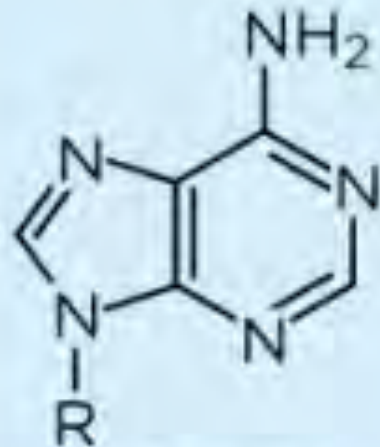


Сахарно-фосфатный остов ДНК

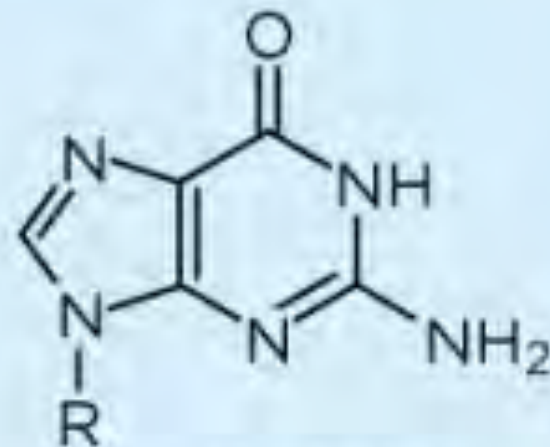


Химическое строение нуклеотидов

Purines

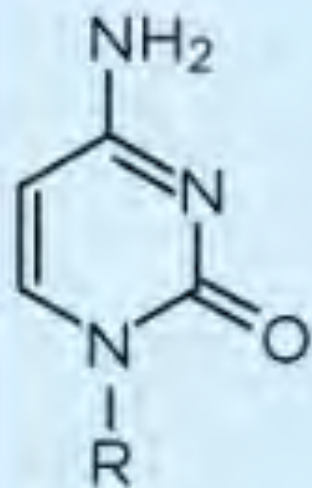


Adenine

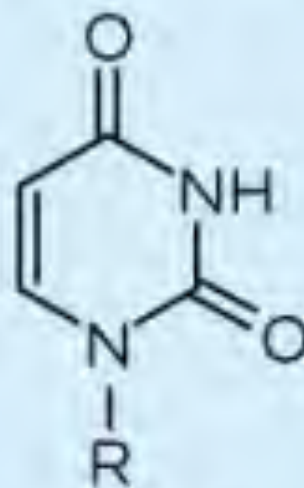


Guanine

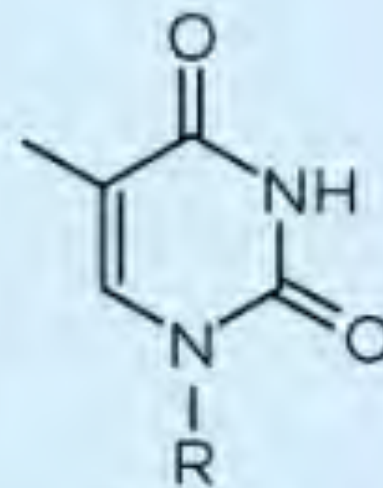
Pyrimidines



Cytosine



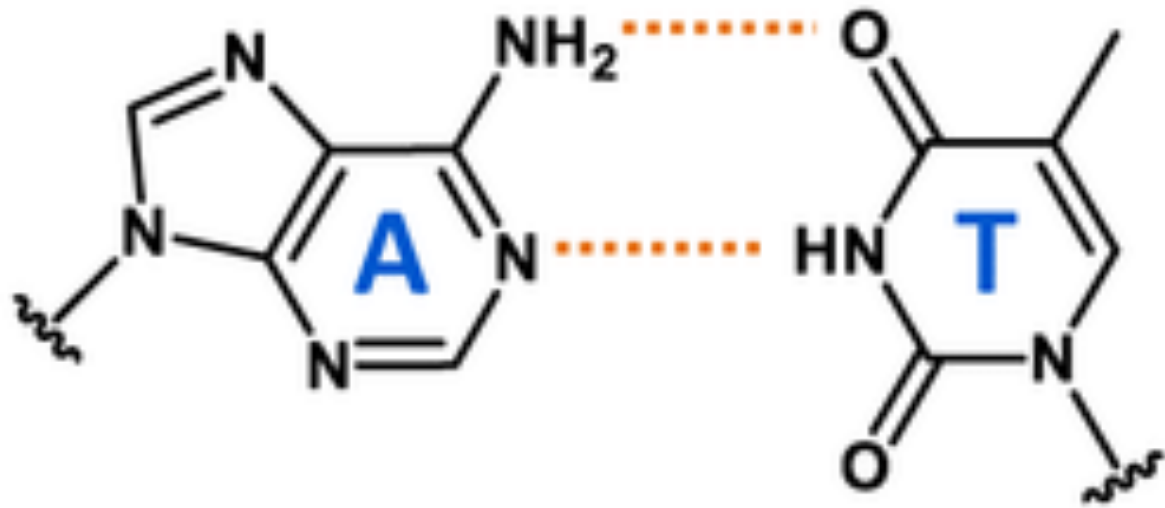
Uracil



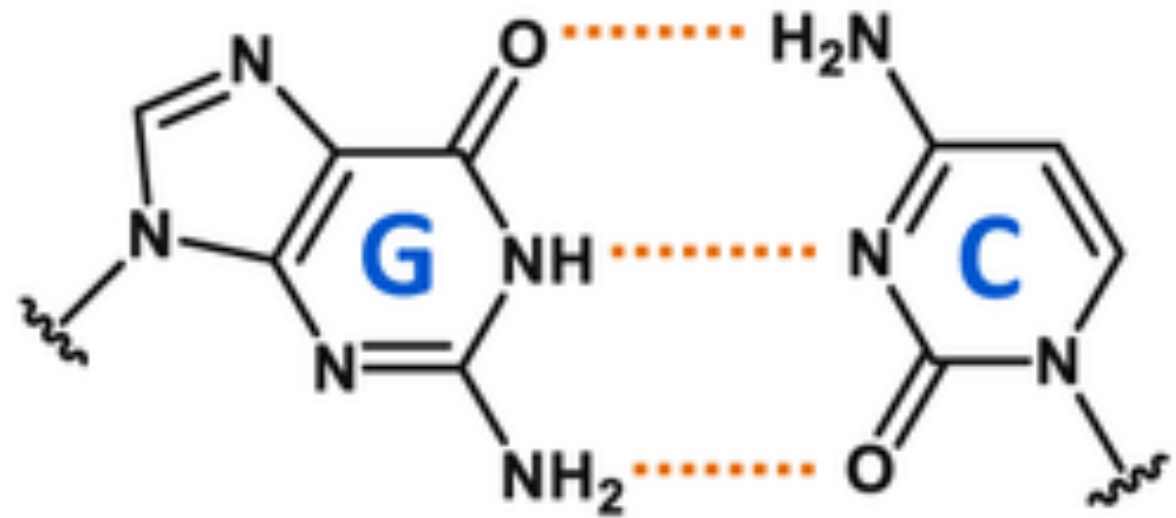
Thymine

Азотистые основания и комплементарность

a



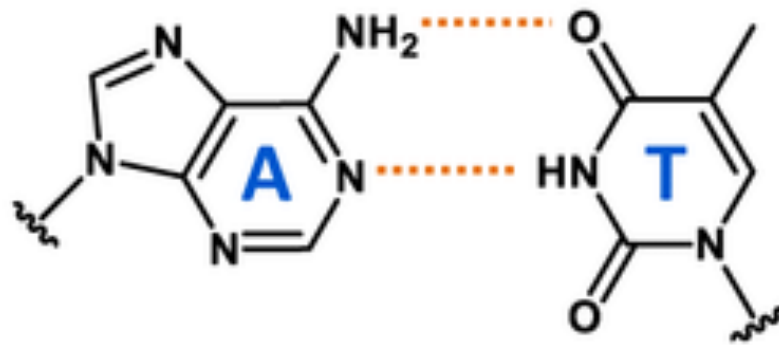
adenine : thymine



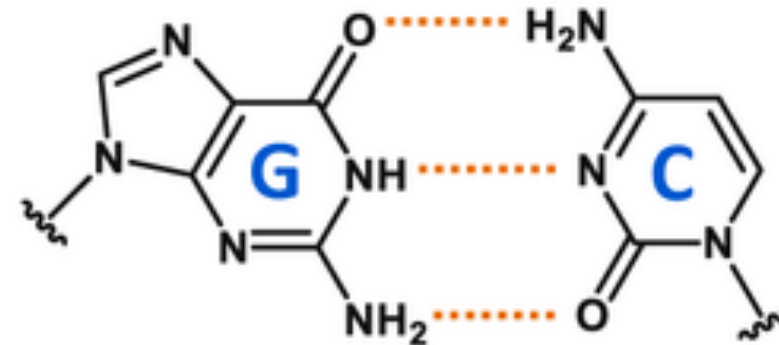
guanine : cytosine

Азотистые основания и комплементарность

a

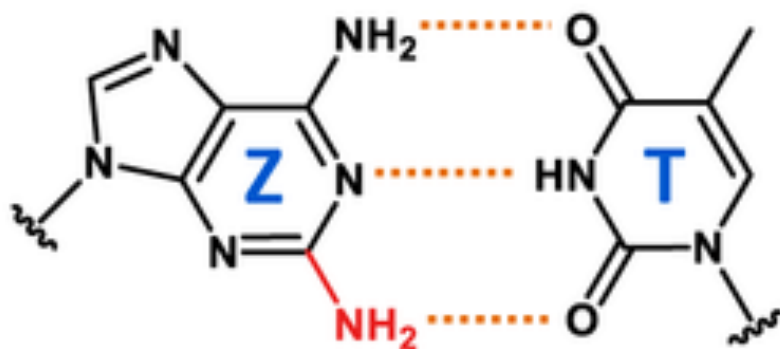


adenine : thymine

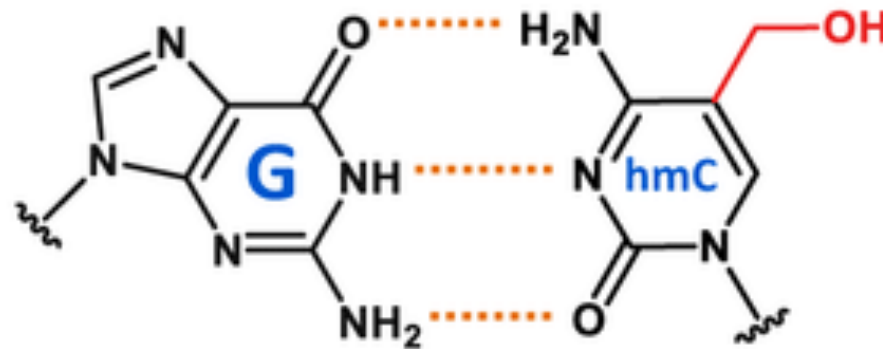


guanine : cytosine

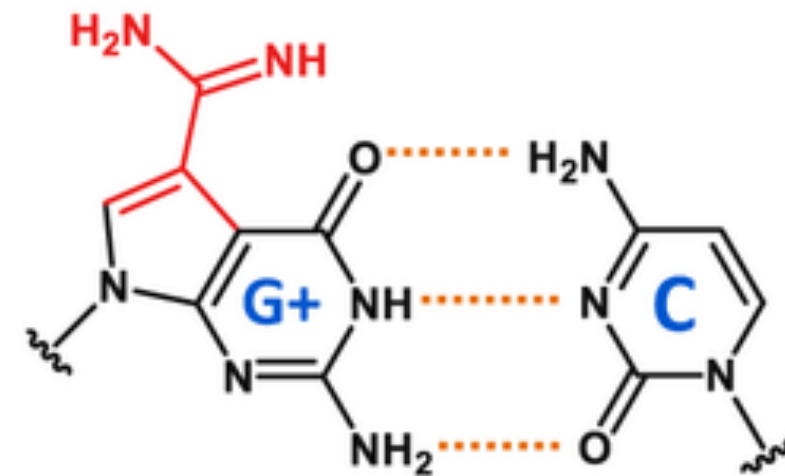
b



2-aminoadenine : thymine
pre-replicative modification



guanine : 5-hydroxymethylcytosine
pre- and post-replicative modification



archaeosine : cytosine
pre-replicative modification

Правило Чаргаффа

Erwin Chargaff (1953)
 $\%G = \%C$ and $\%A = \%T$

Source	%A	%T	%G	%C	%G+C
Virus Phage T2	33	33	18	17	35
Bacteria <i>E. coli</i>	26	24	25	25	50
Fungi <i>S. cerevisiae</i>	32	33	18	17	35
Higher Eukaryote human	30	30	20	20	40

$$\%A = \%T$$

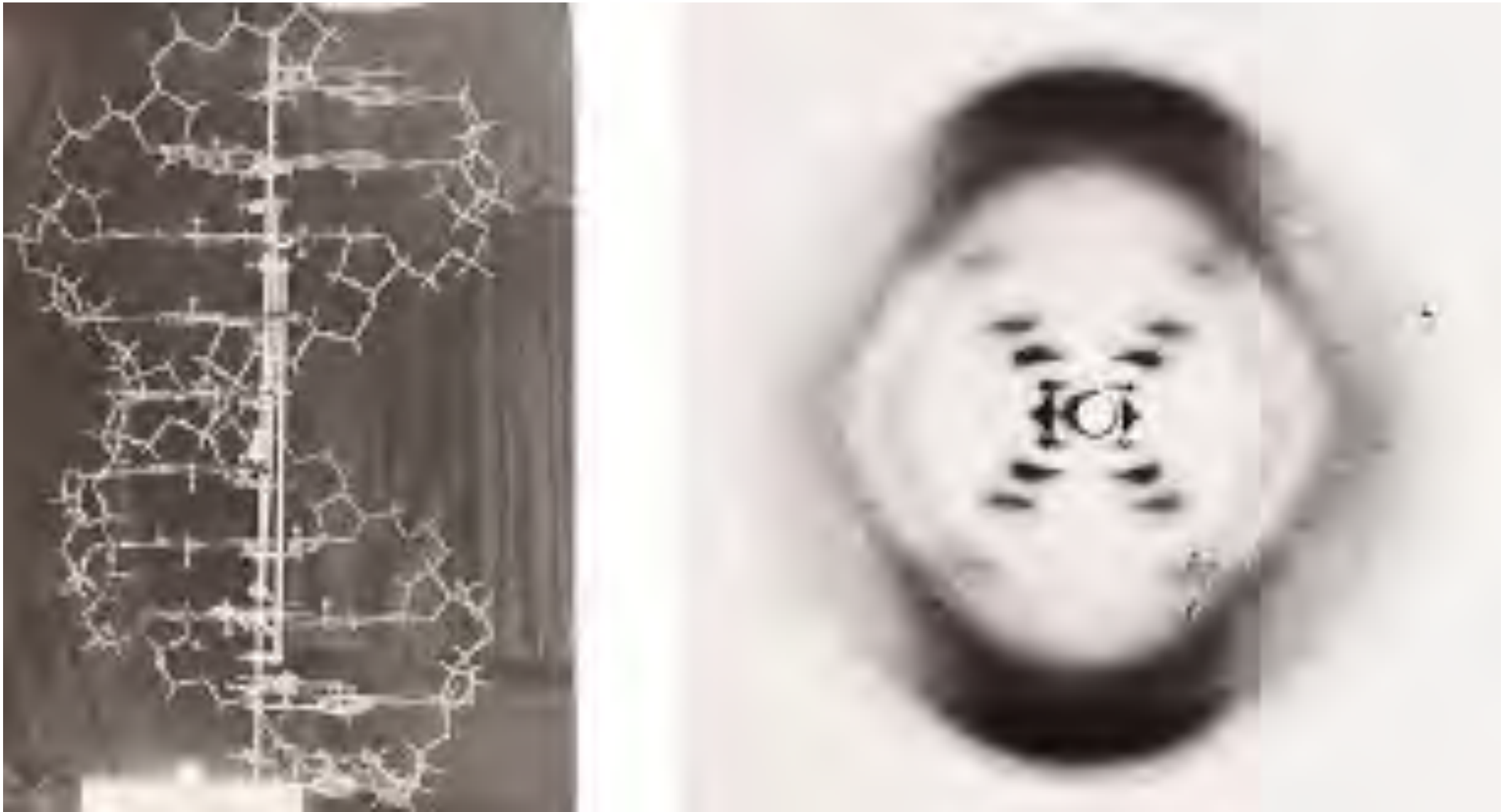
$$\%G = \%C$$

$$\mathbf{A + G = T + C}$$

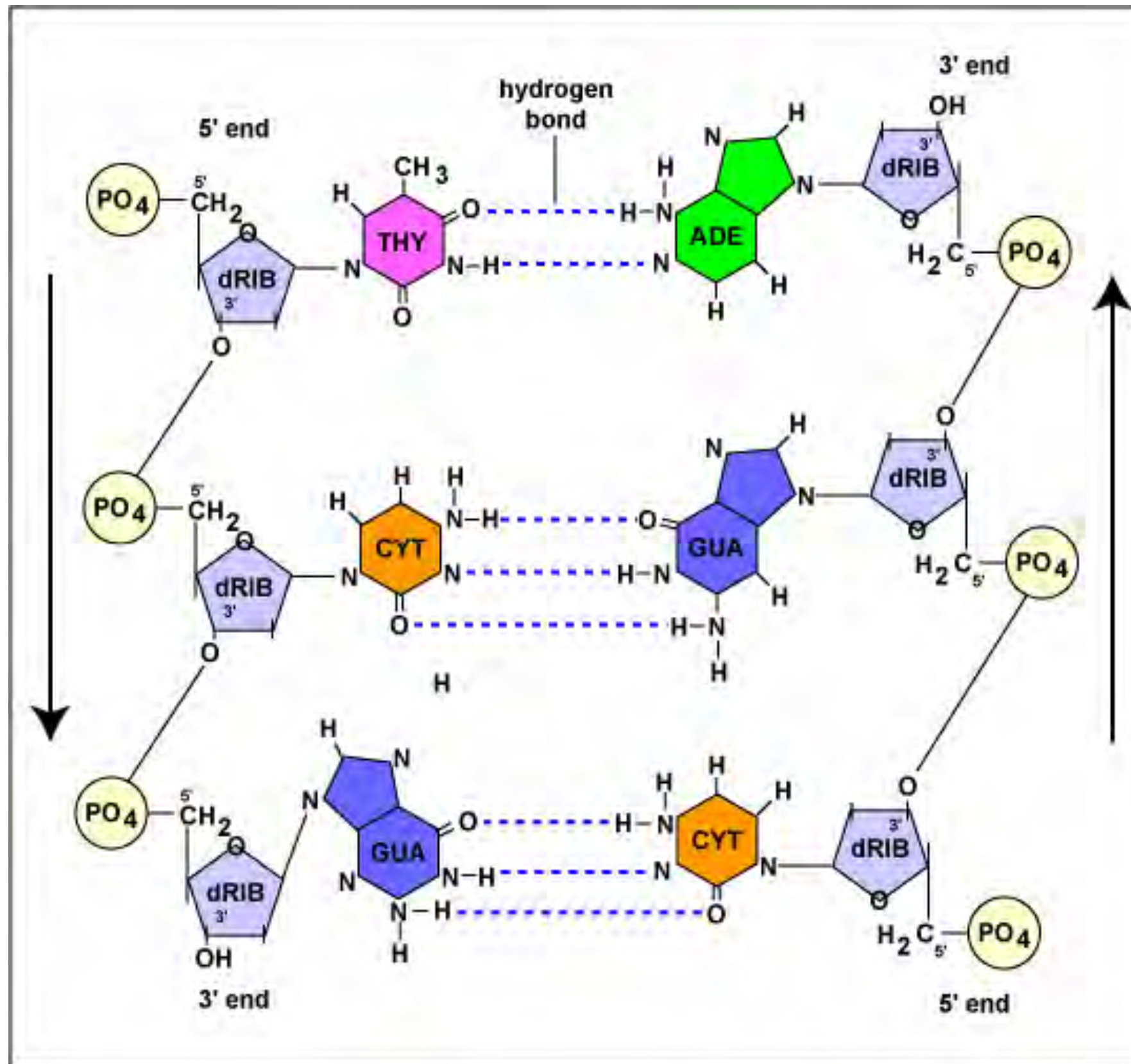
purines = pyrimidines

variable

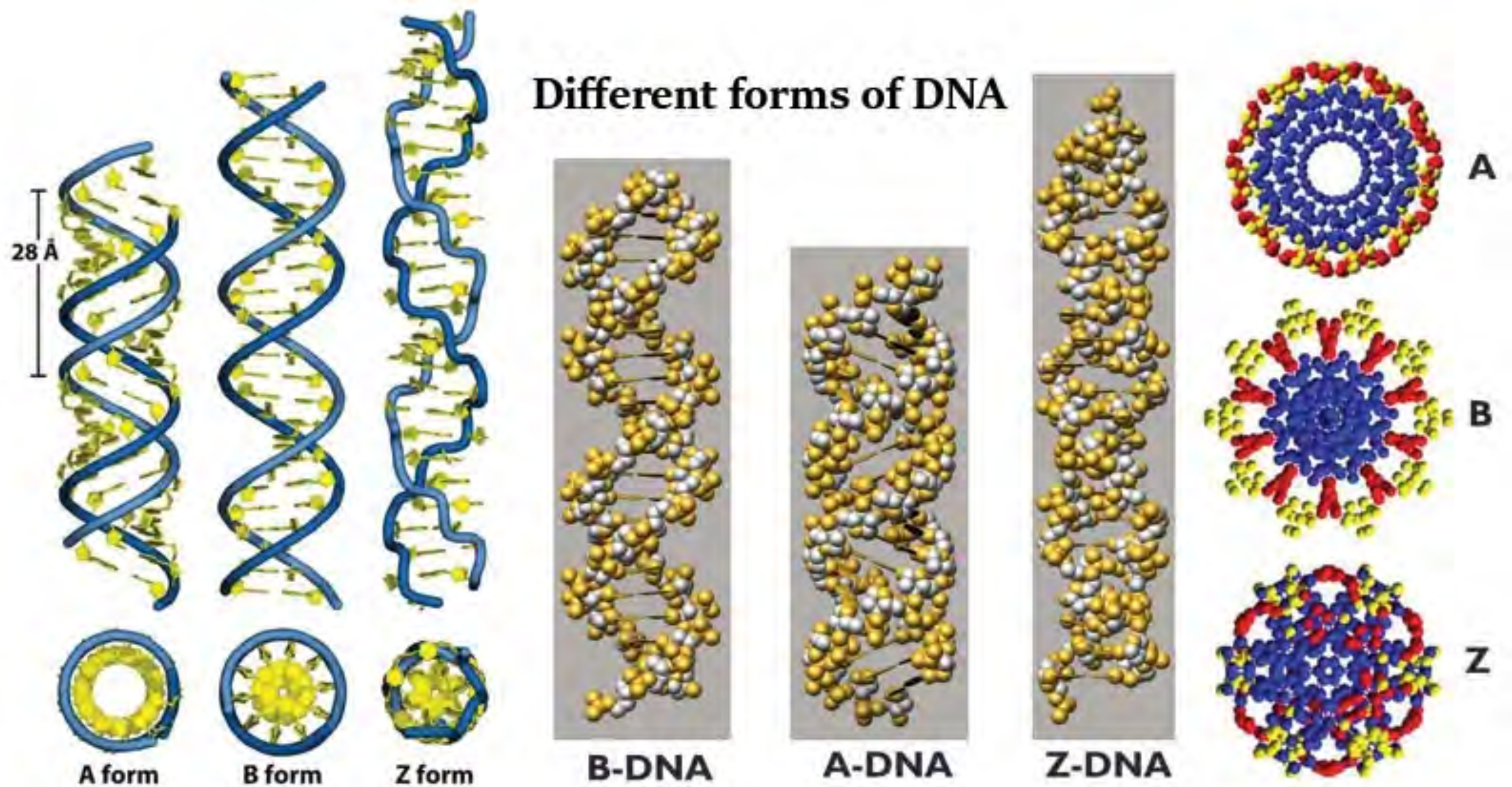
Двойная спираль Уотсона и Крика



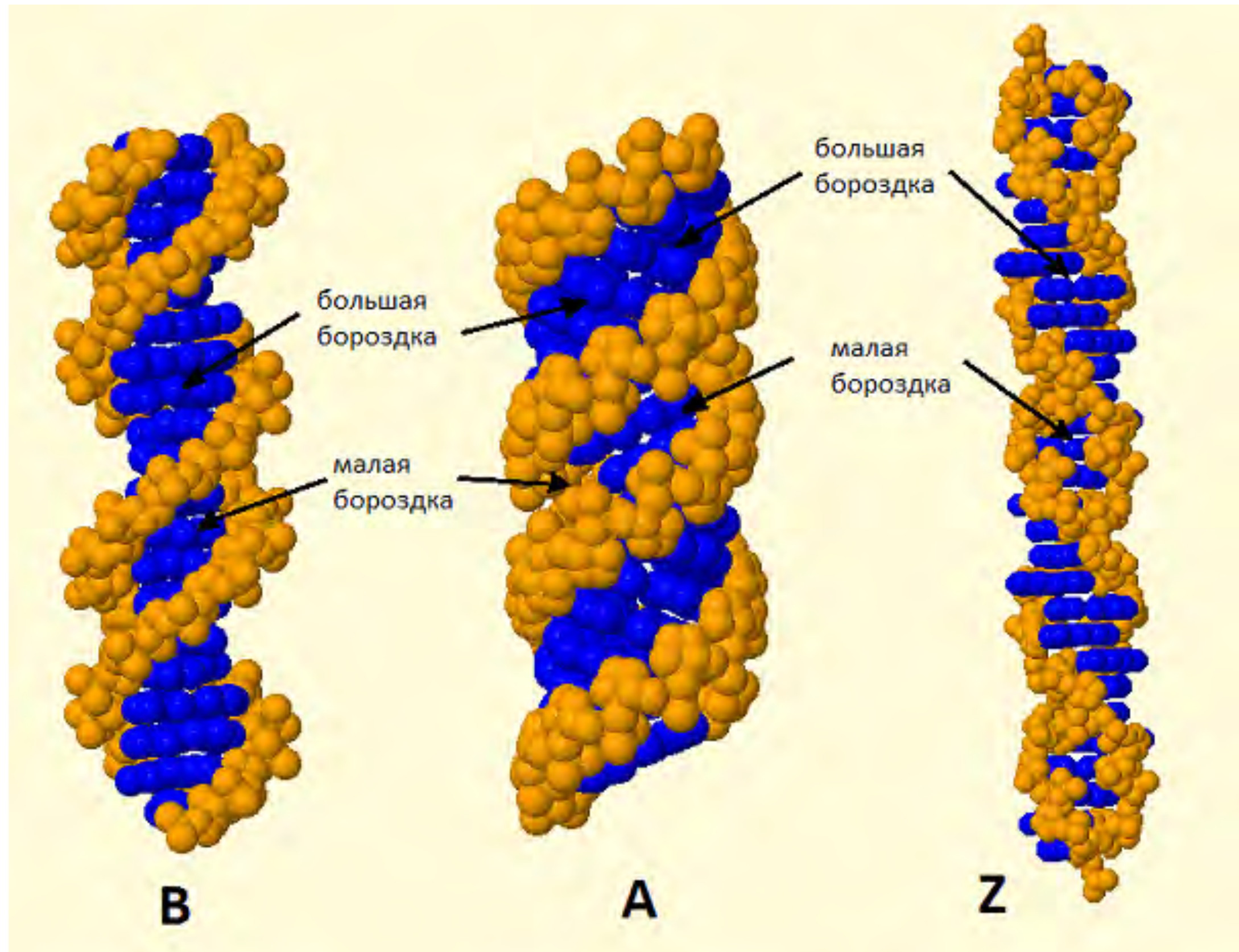
Антипараллельность цепей ДНК



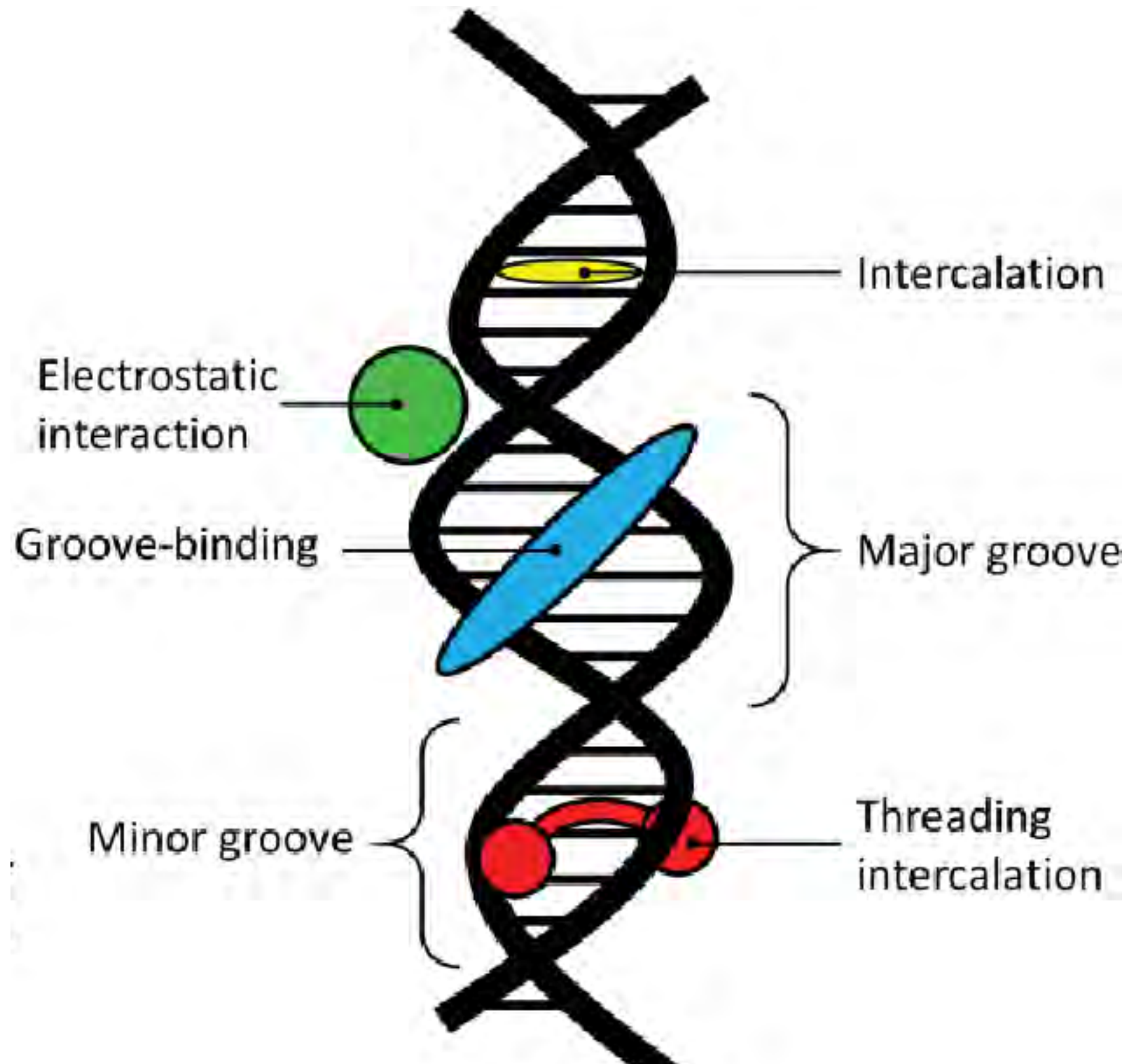
Конформации ДНК: А-, В- и Z-формы



Большая и малая бороздки ДНК



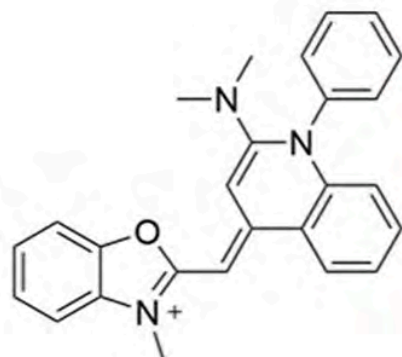
Большая и малая бороздки ДНК



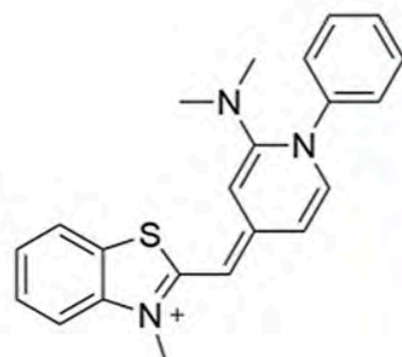
Большая и малая бороздки ДНК



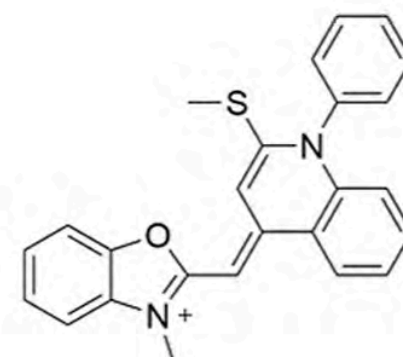
Developing cyanine dyes as fluorescent probes for nucleic acid staining



492 nm



493 nm



503 nm

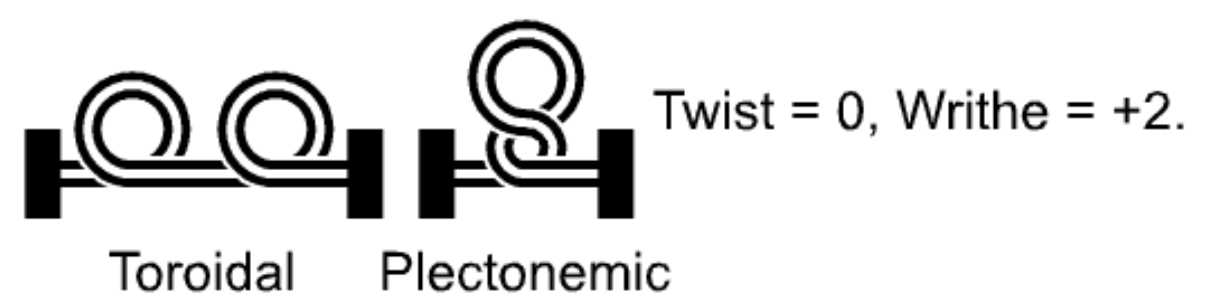
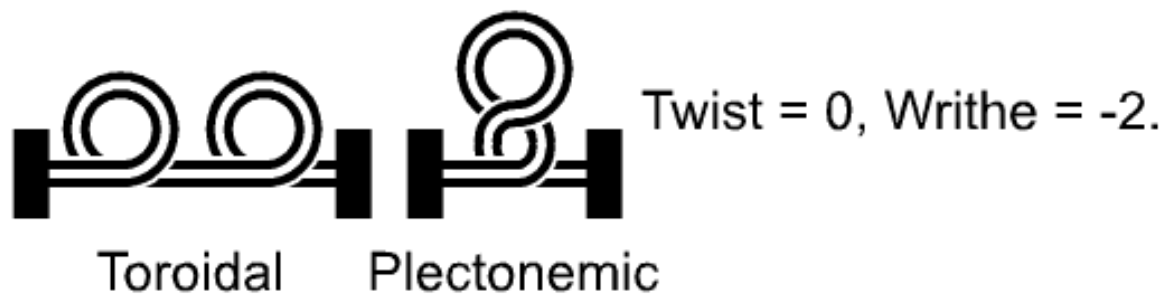
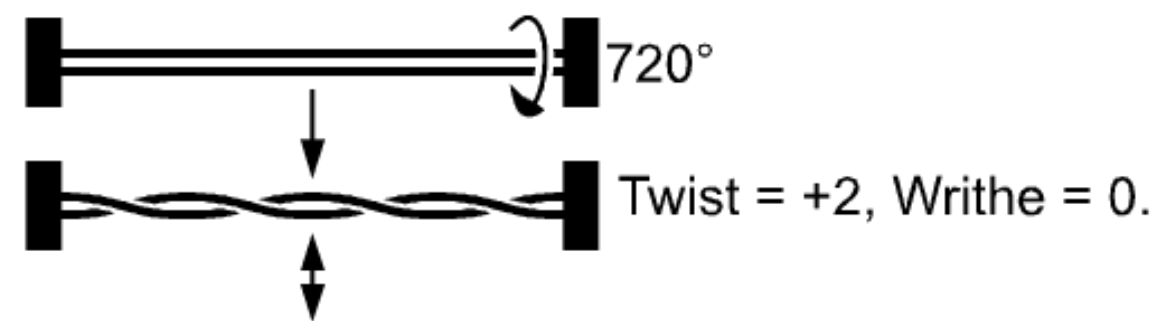
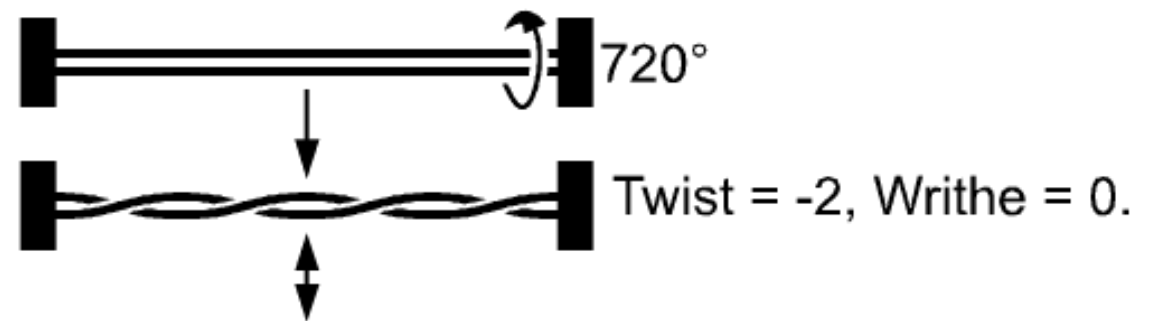
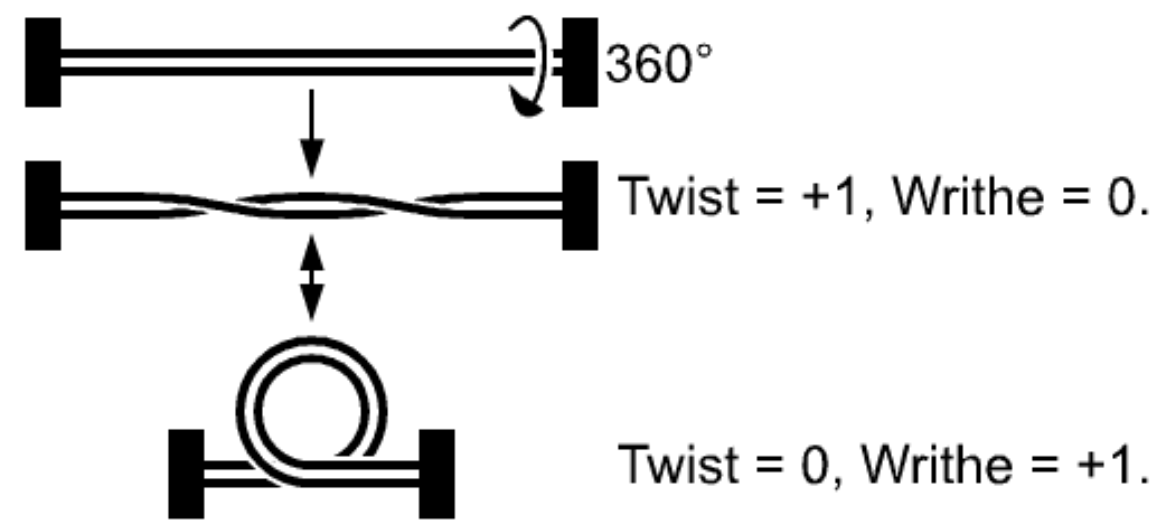
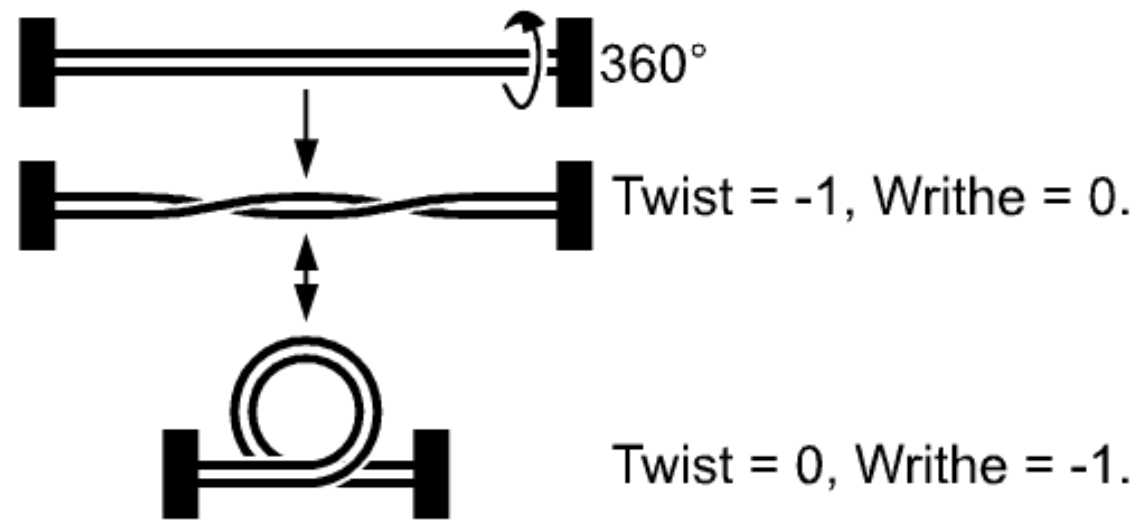
Emission wavelength

465 nm

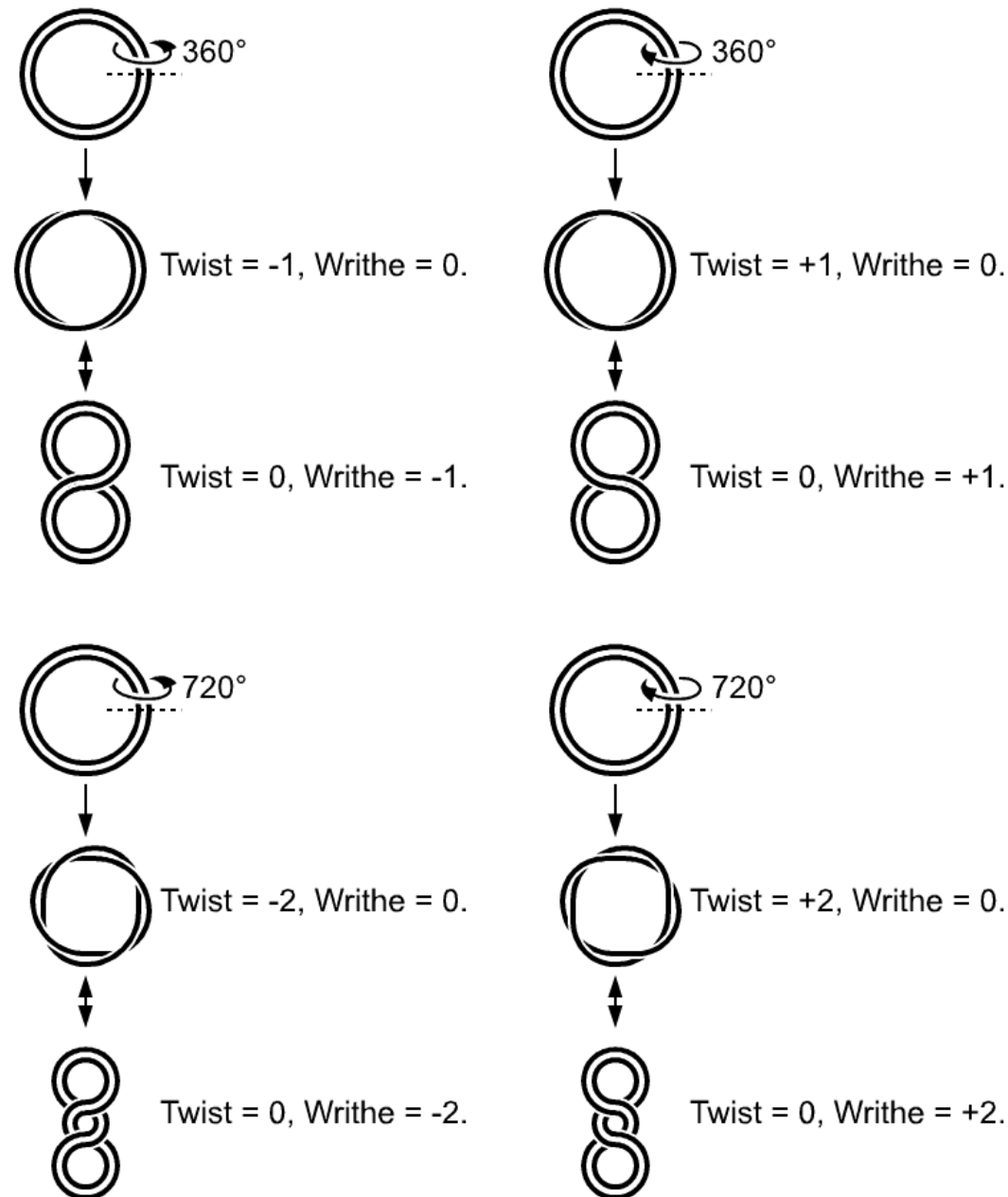
535 nm



Суперспирализация ДНК



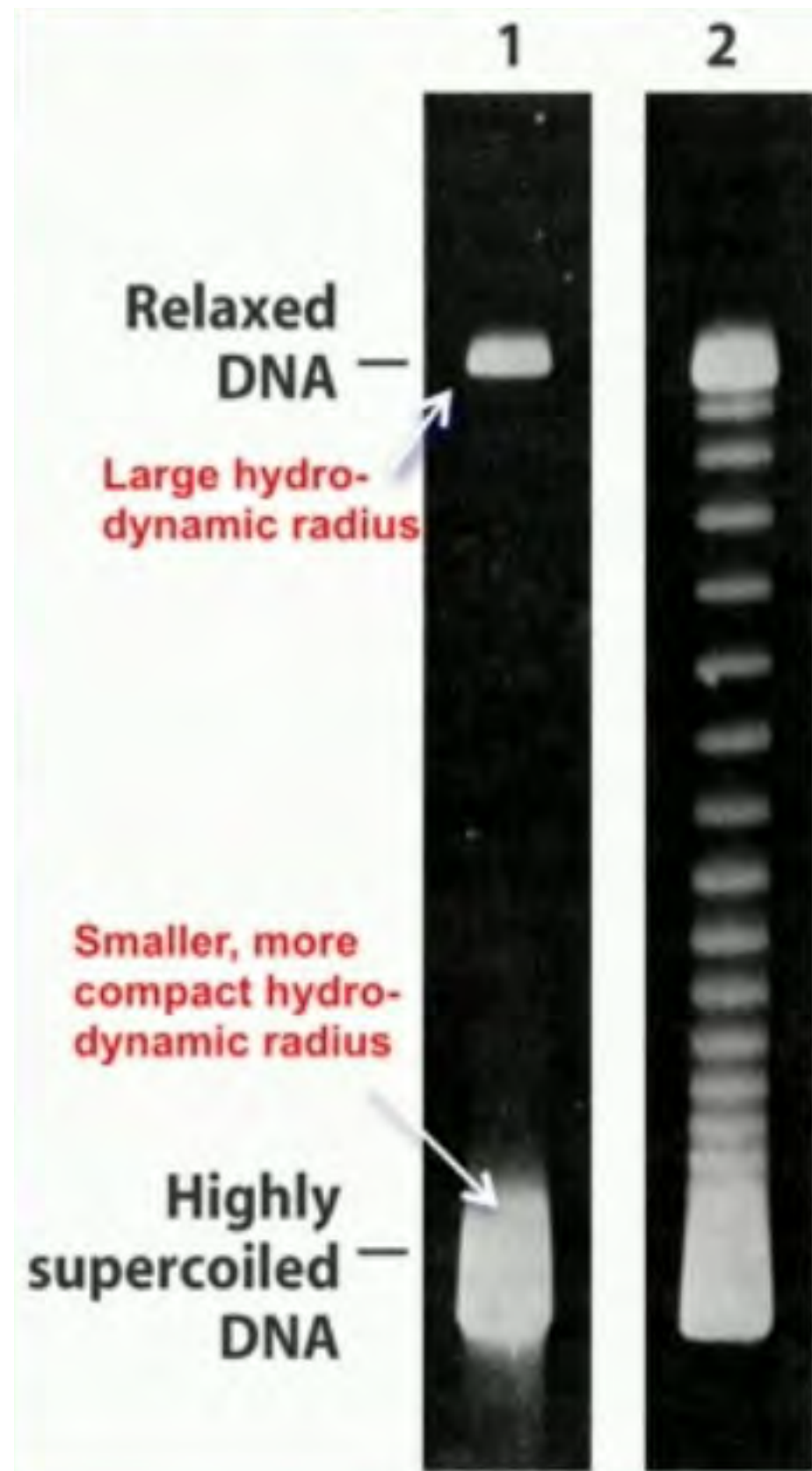
Суперспирализация ДНК



Суперспирализация ДНК



Суперспирализация ДНК



Денатурация и ренатурация ДНК

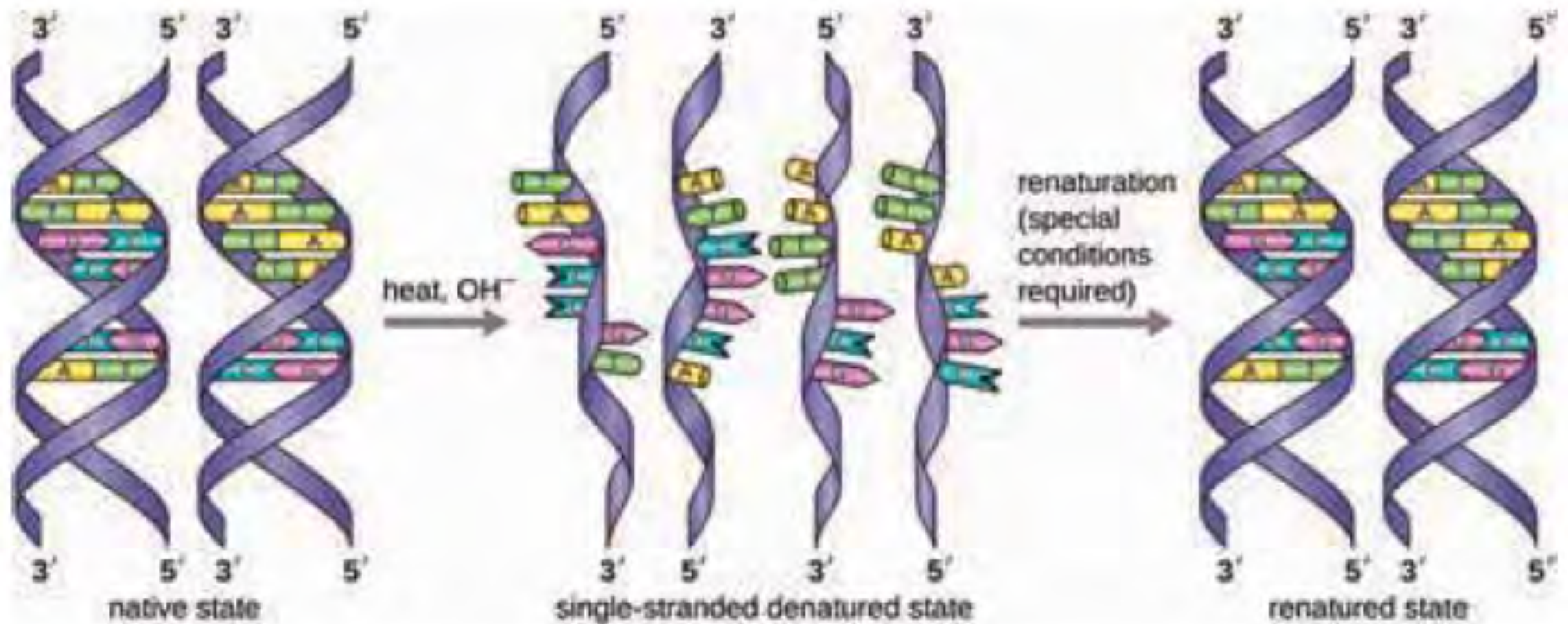
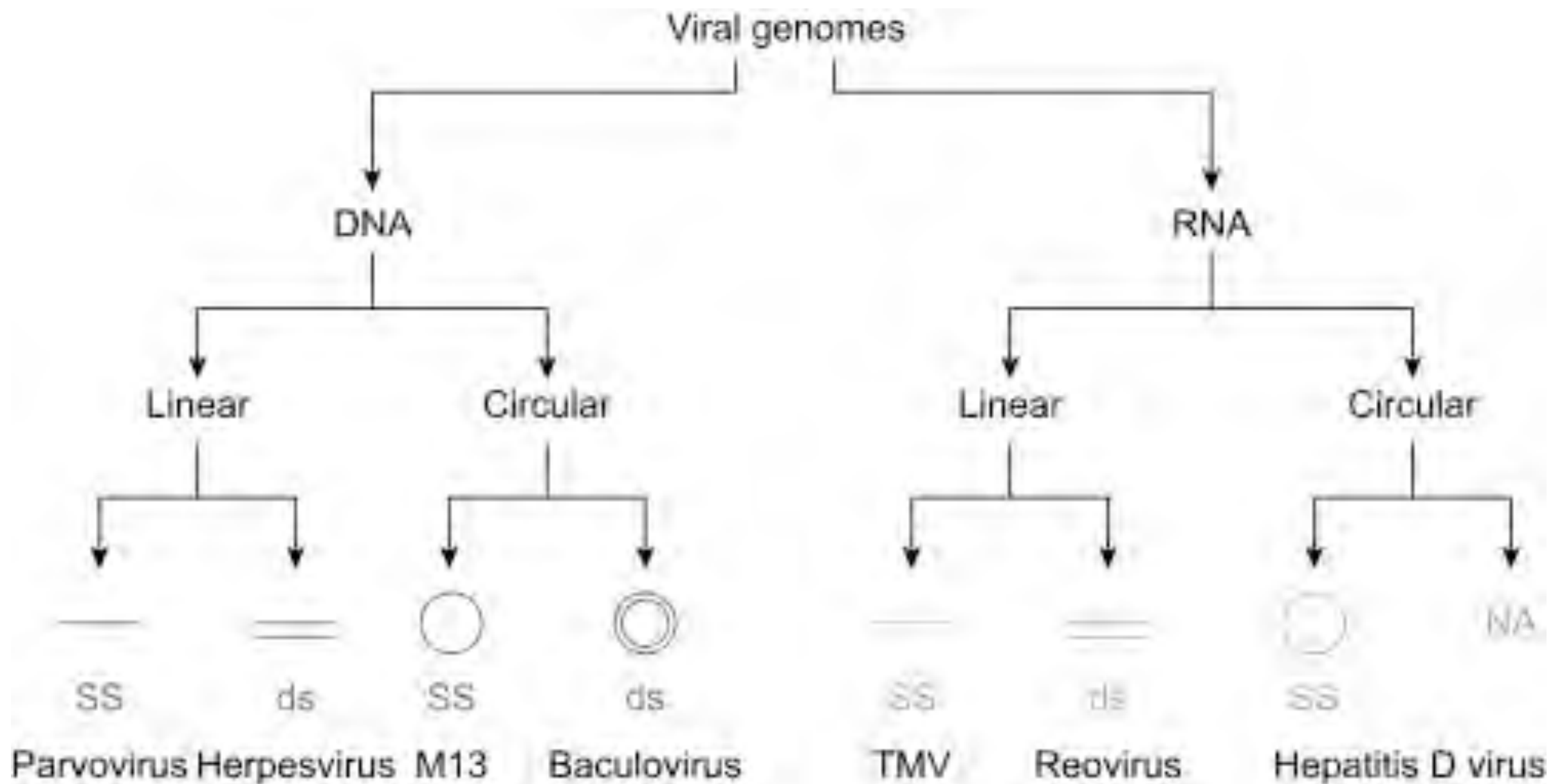
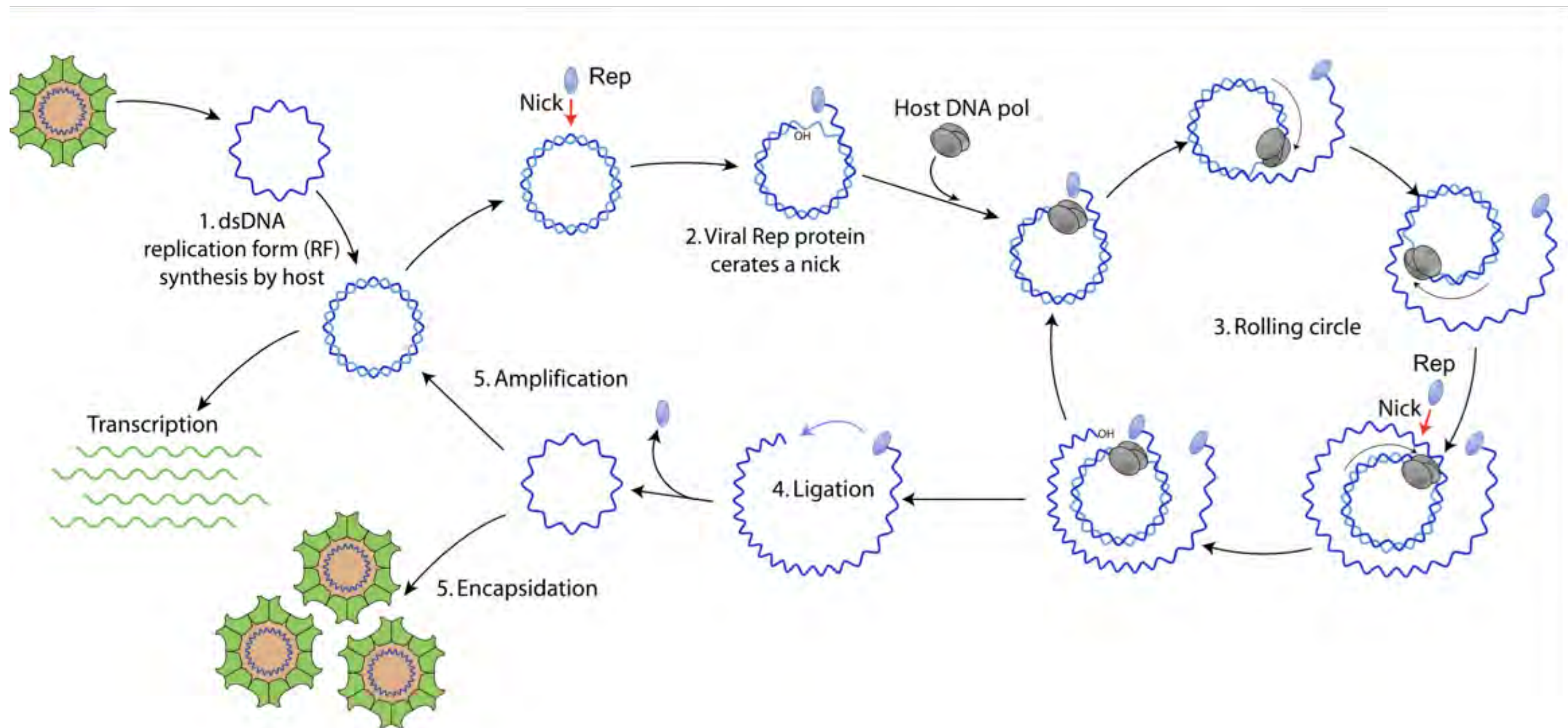


Figure. 7.8 Denaturation and renaturation of DNA

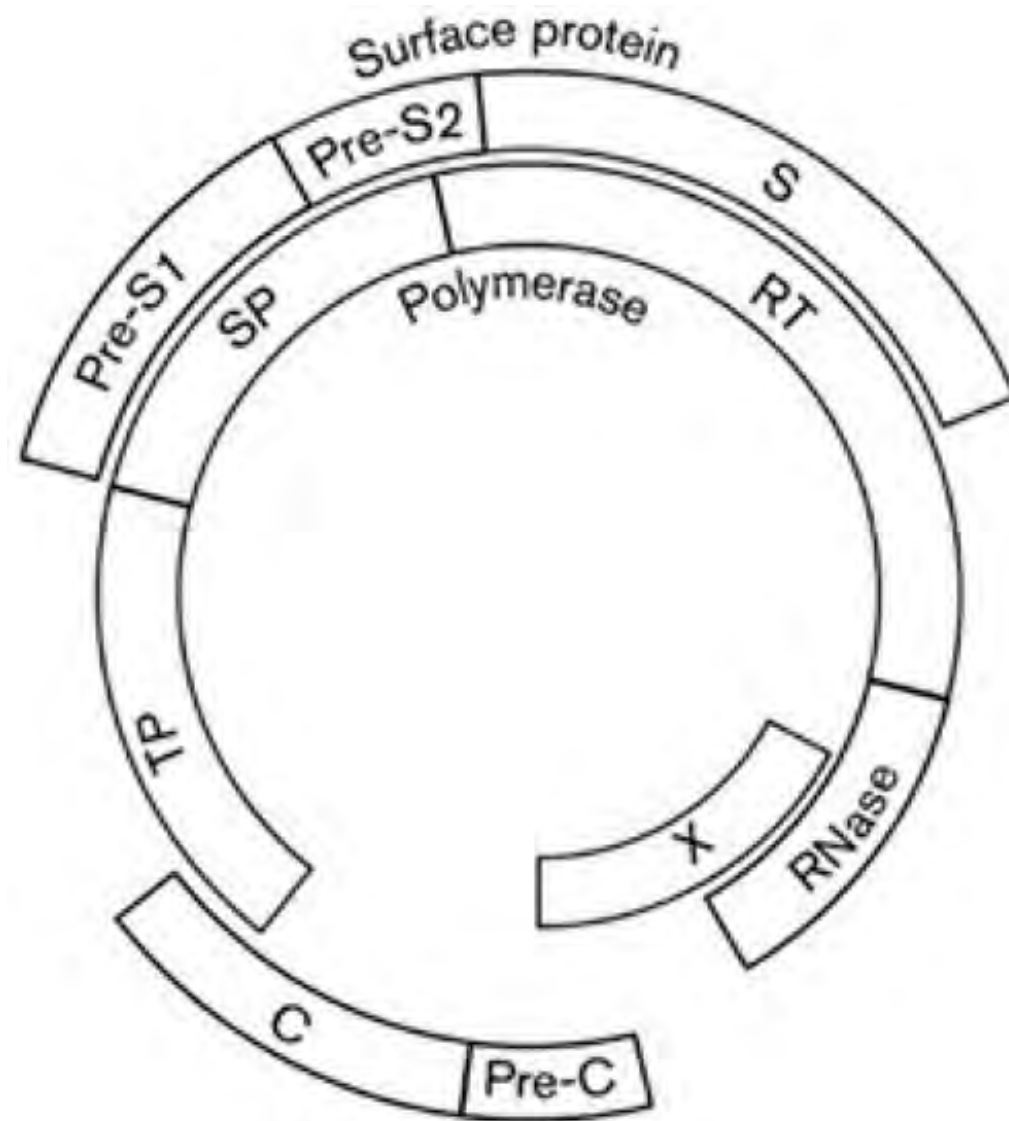
Геномы вирусов: особенности и разнообразие



Жизненный цикл оцДНК (ssDNA)

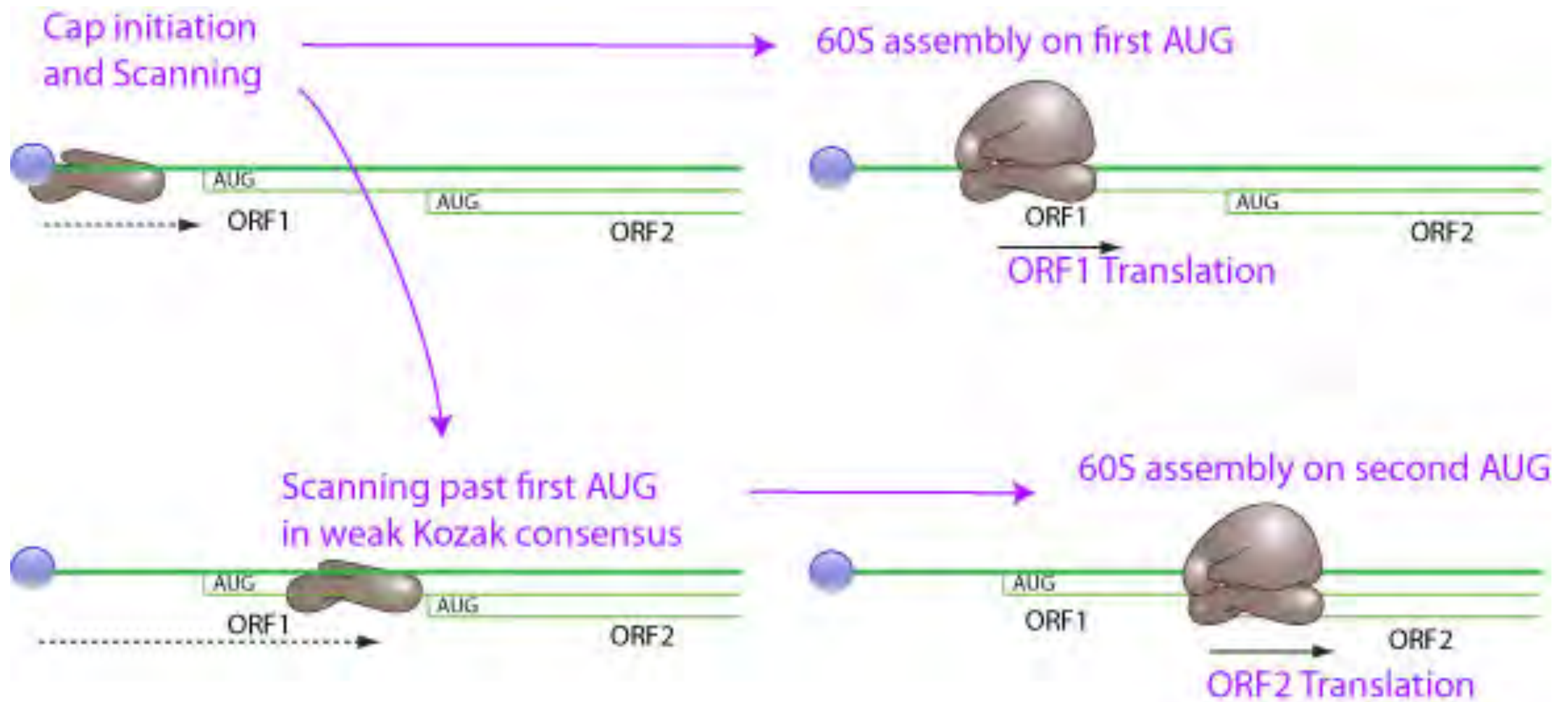


Компактность вирусных геномов и перекрывающиеся гены

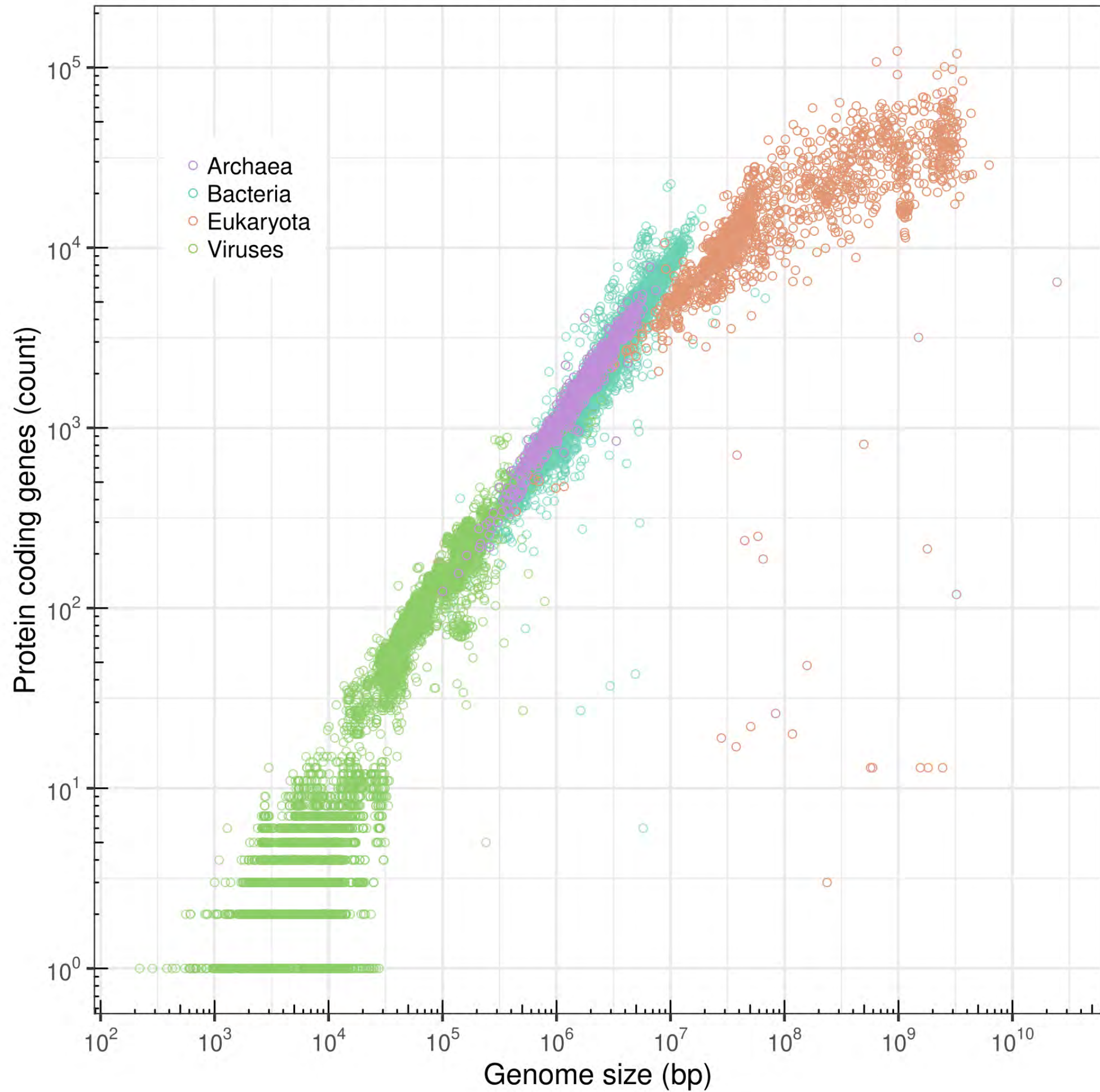


Hepatitis B virus (HBV) DNA 3.2 kb

Leaky scanning

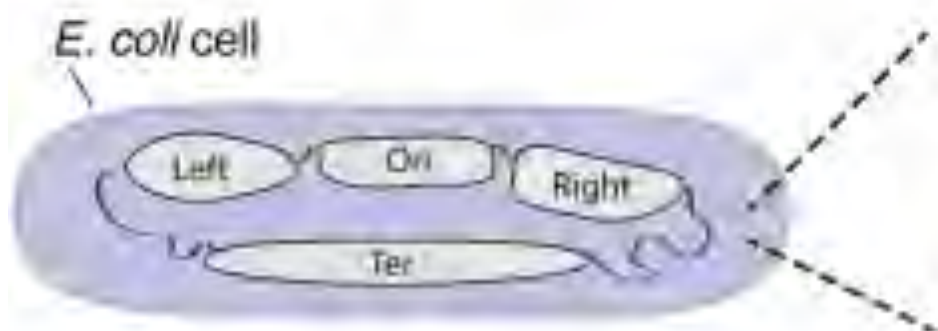


Genome size vs. protein count across NCBI genomes



Бактериальный геном: строение и организация

State of the art



Genome (4.5 Mbp) organized in macrodomains (0.5 - 1.5 Mbp)

Long, highly-transcribed gene



Chromosomal interaction domain (CID, 30 - 500 kbp)



Silenced genes / operons by DNA loops (1 - 10 kbp) ?



growth conditions, cell cycle, signalling molecules

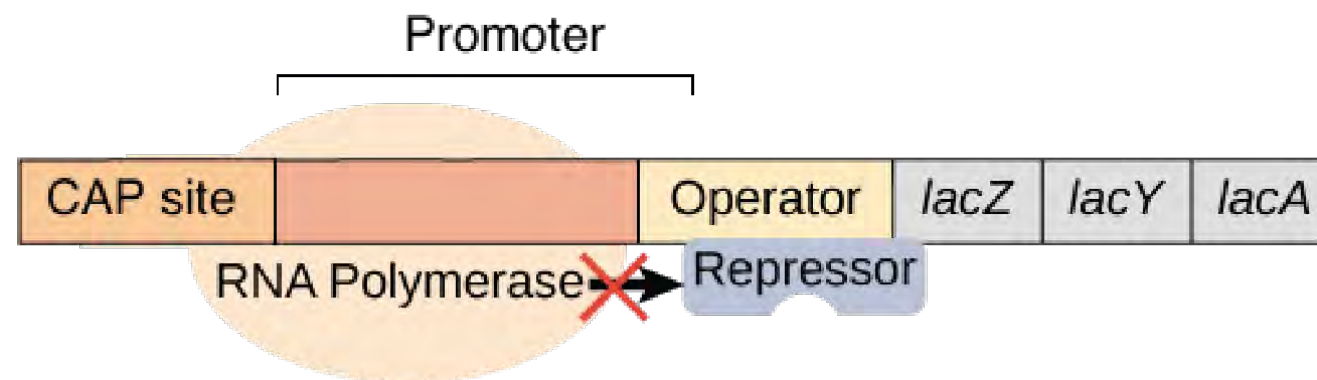
Transcribed genes / operons



Опероны и регуляция генов у прокариот

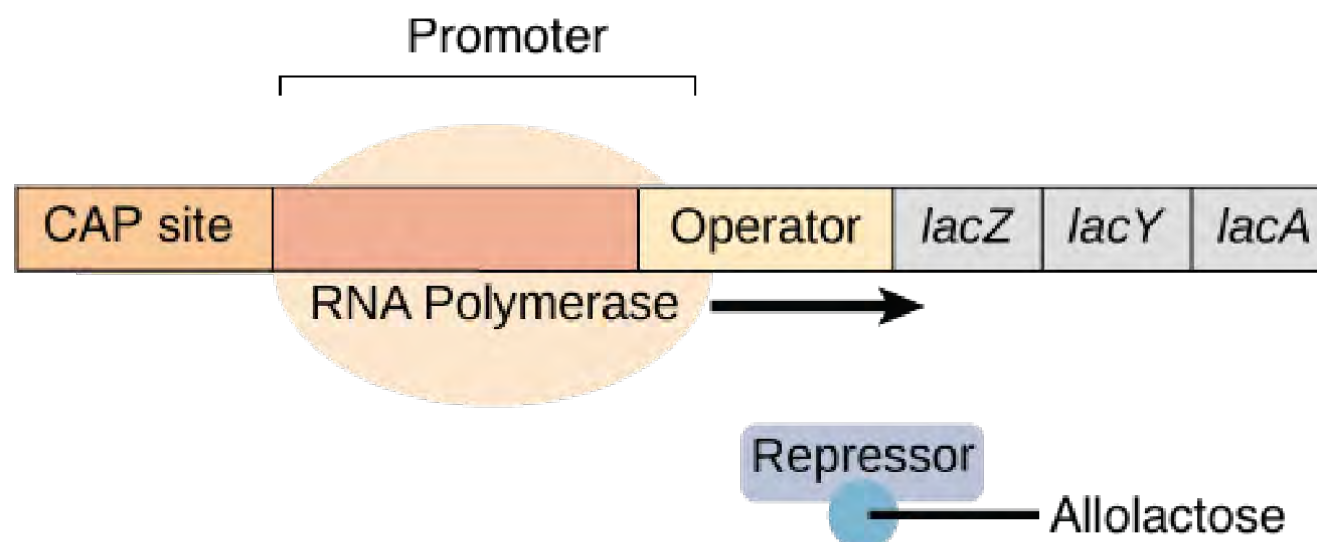
No lactose:

When lactose is absent, the *lac* repressor binds tightly to the operator. It gets in RNA polymerase's way, preventing transcription.



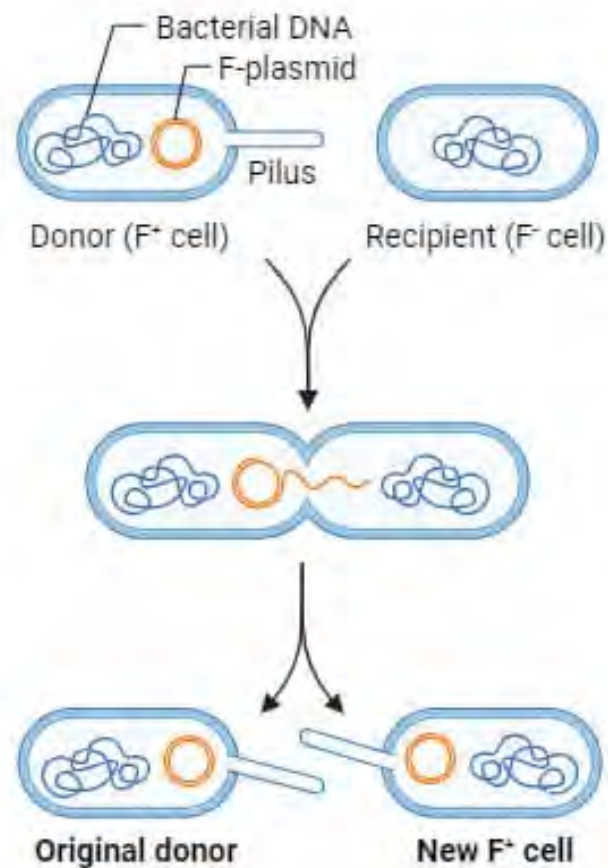
With lactose:

Allolactose (rearranged lactose) binds to the *lac* repressor and makes it let go of the operator. RNA polymerase can now transcribe the operon.

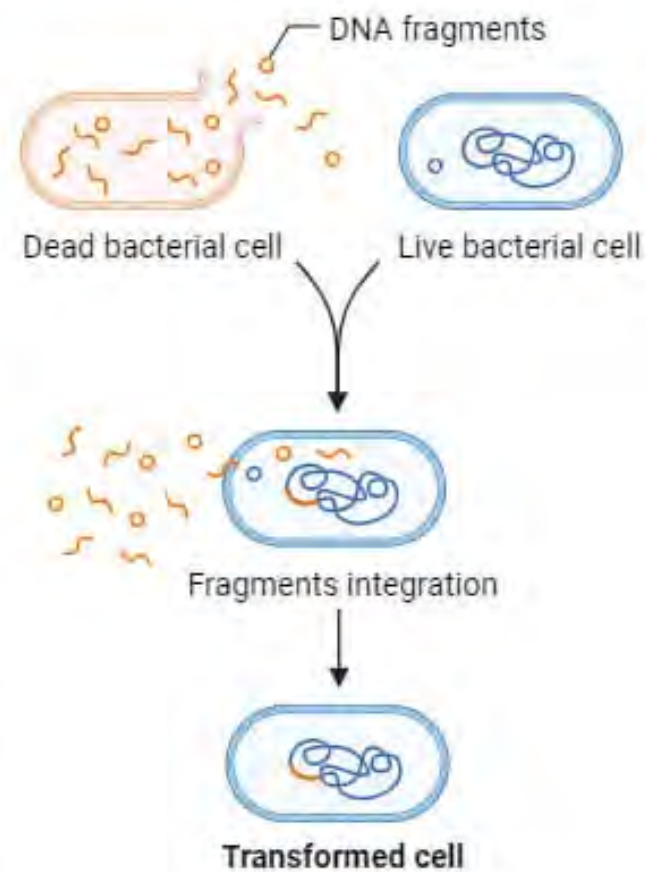


Плазмиды и горизонтальный перенос генов

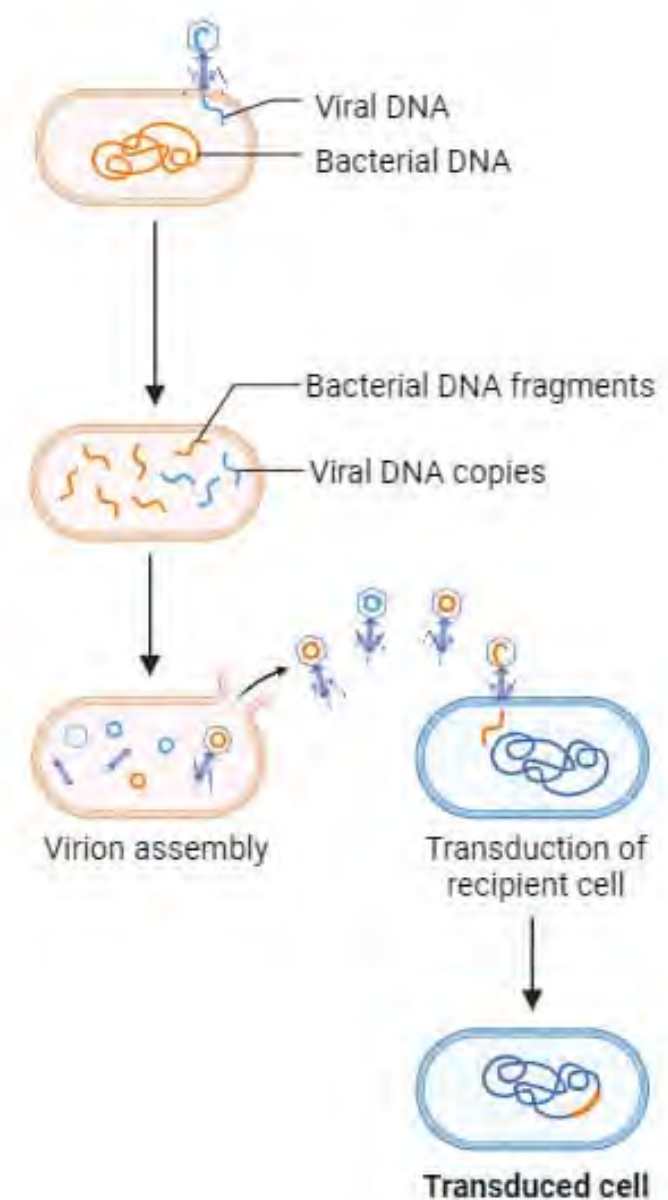
A. Conjugation



B. Transformation



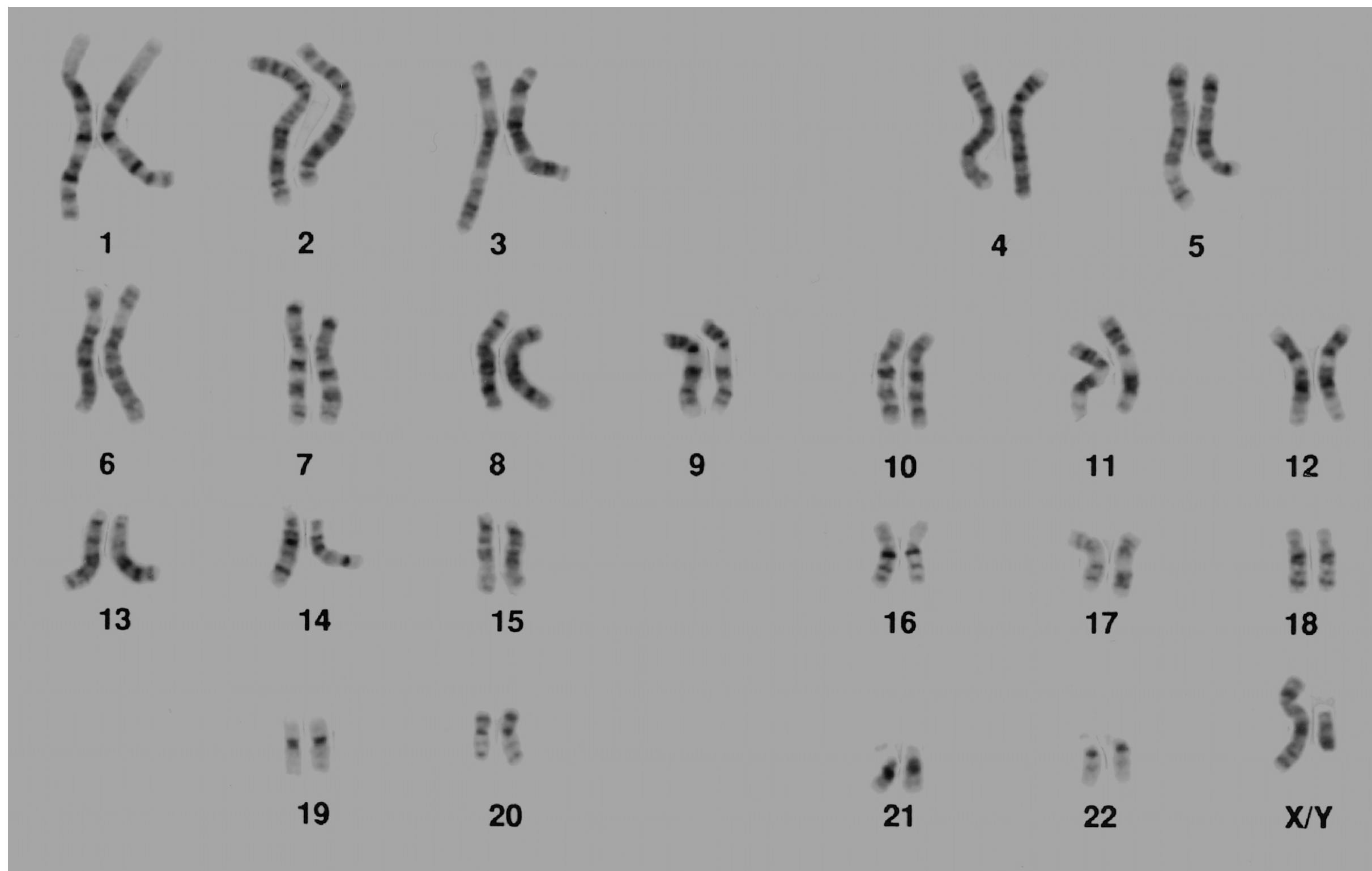
C. Transduction



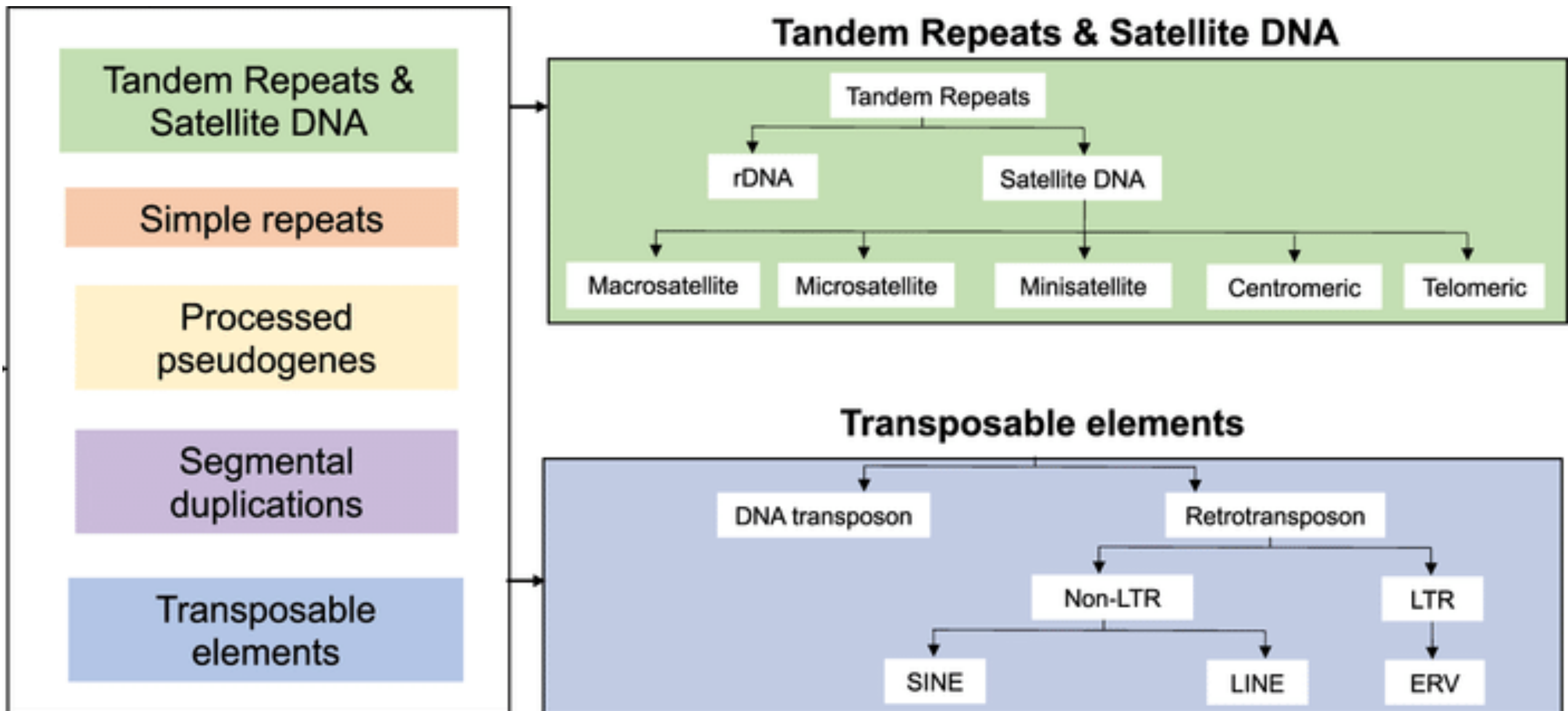
Геном человека

- **Размер генома:** примерно 3 миллиарда пар оснований.
- **Хромосомный набор:** 23 пары хромосом (22 пары аутосом и 1 пара половых хромосом).
- **Количество генов:** около 20 000–25 000 генов, кодирующих белки.
- **Некодирующая ДНК:**
 - Интроны внутри генов.
 - Повторяющиеся последовательности и транспозоны.
- **Генетическая вариабельность:** различия между индивидуумами составляют около 0,1% генома.

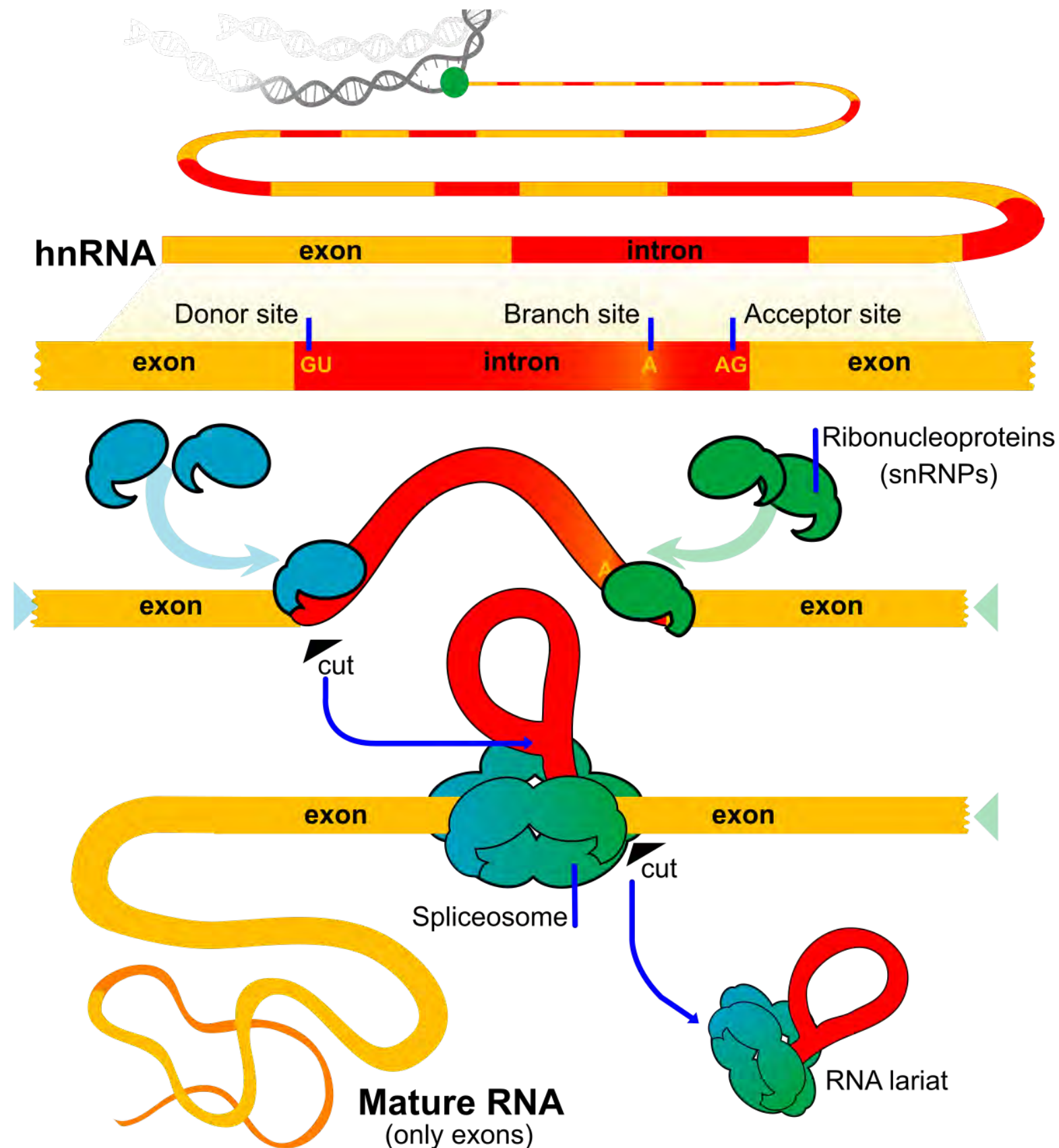
Хромосомная организация у человека



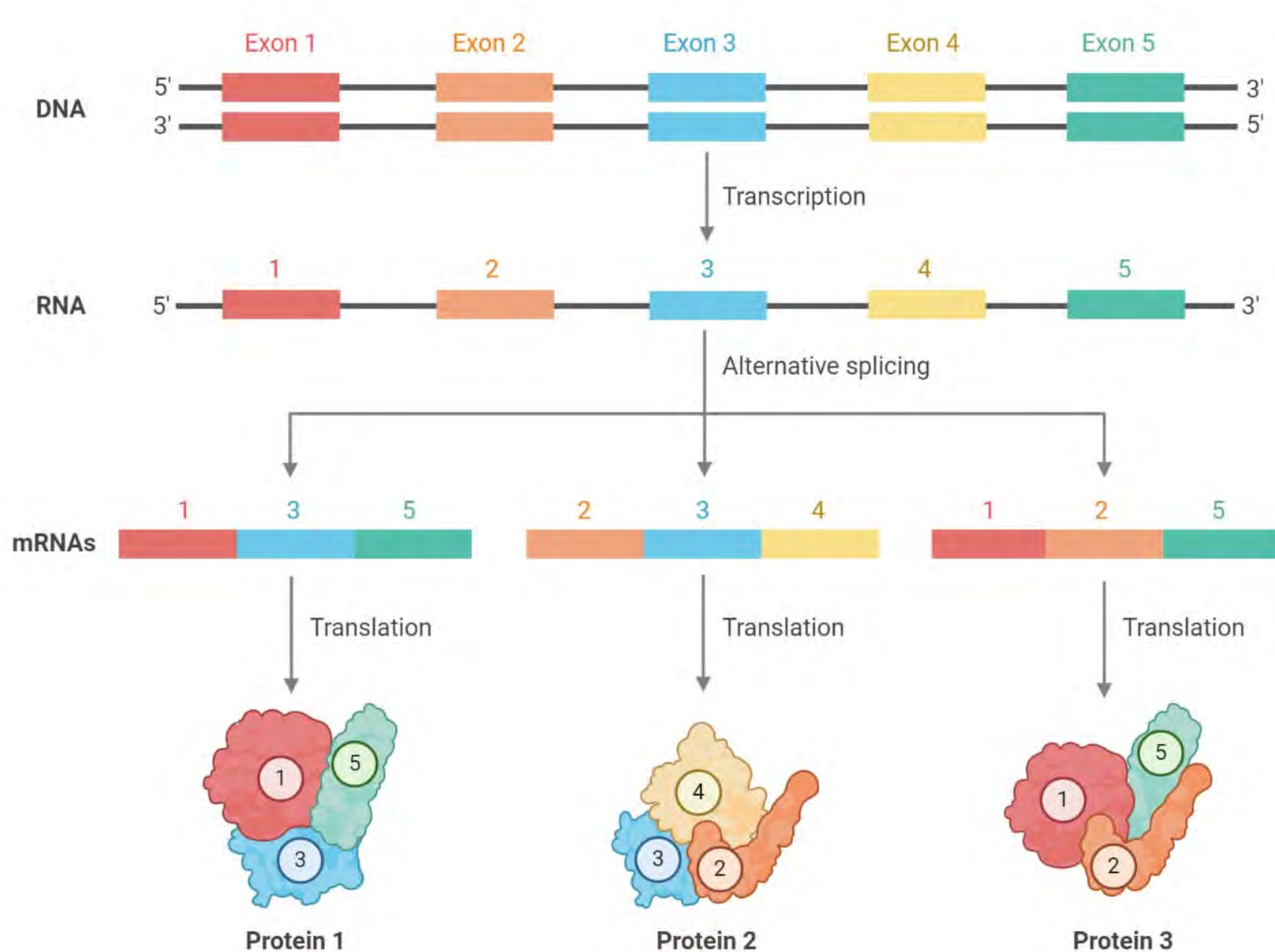
Повторяющиеся последовательности и транспозоны



Экзоны, интроны и сплайсинг



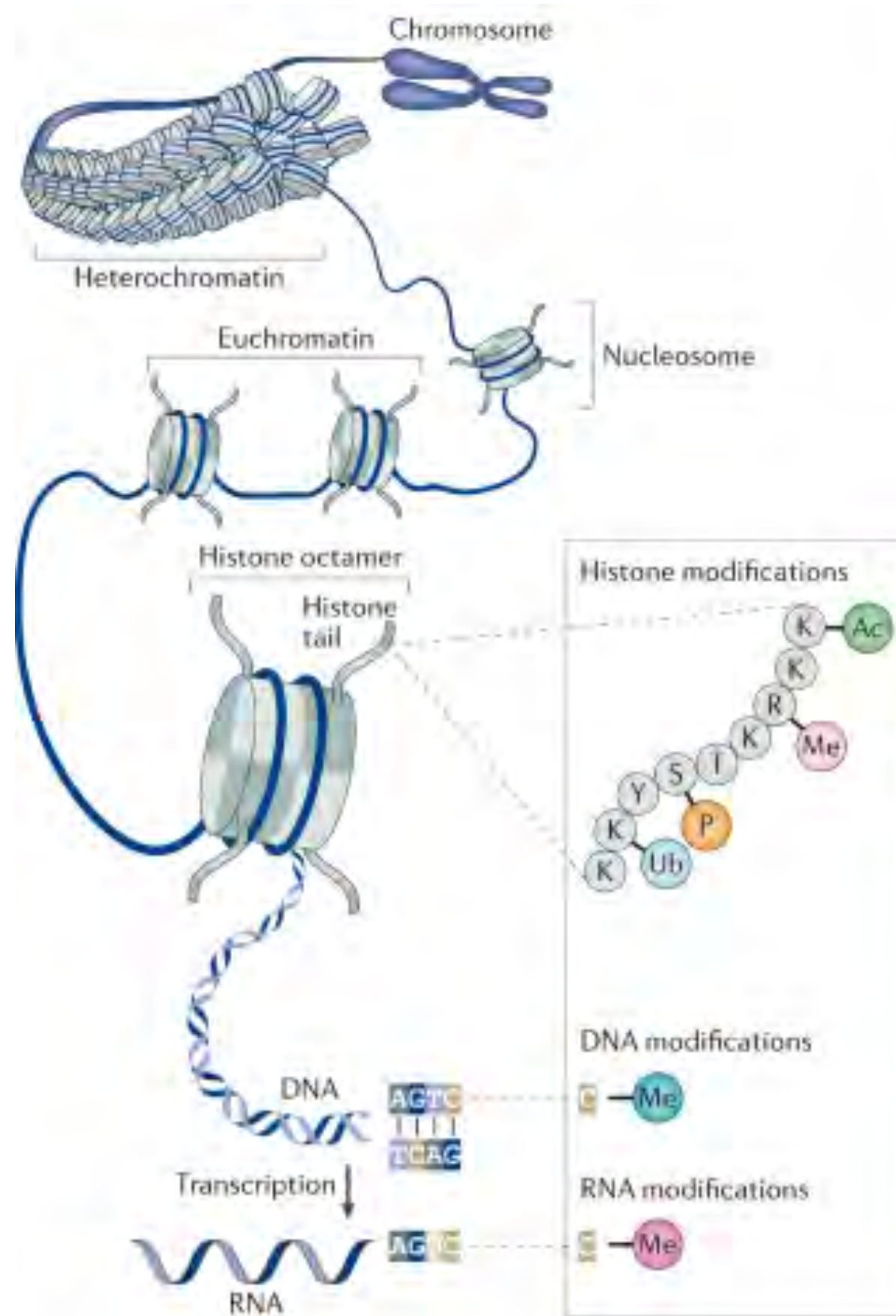
Альтернативный сплайсинг



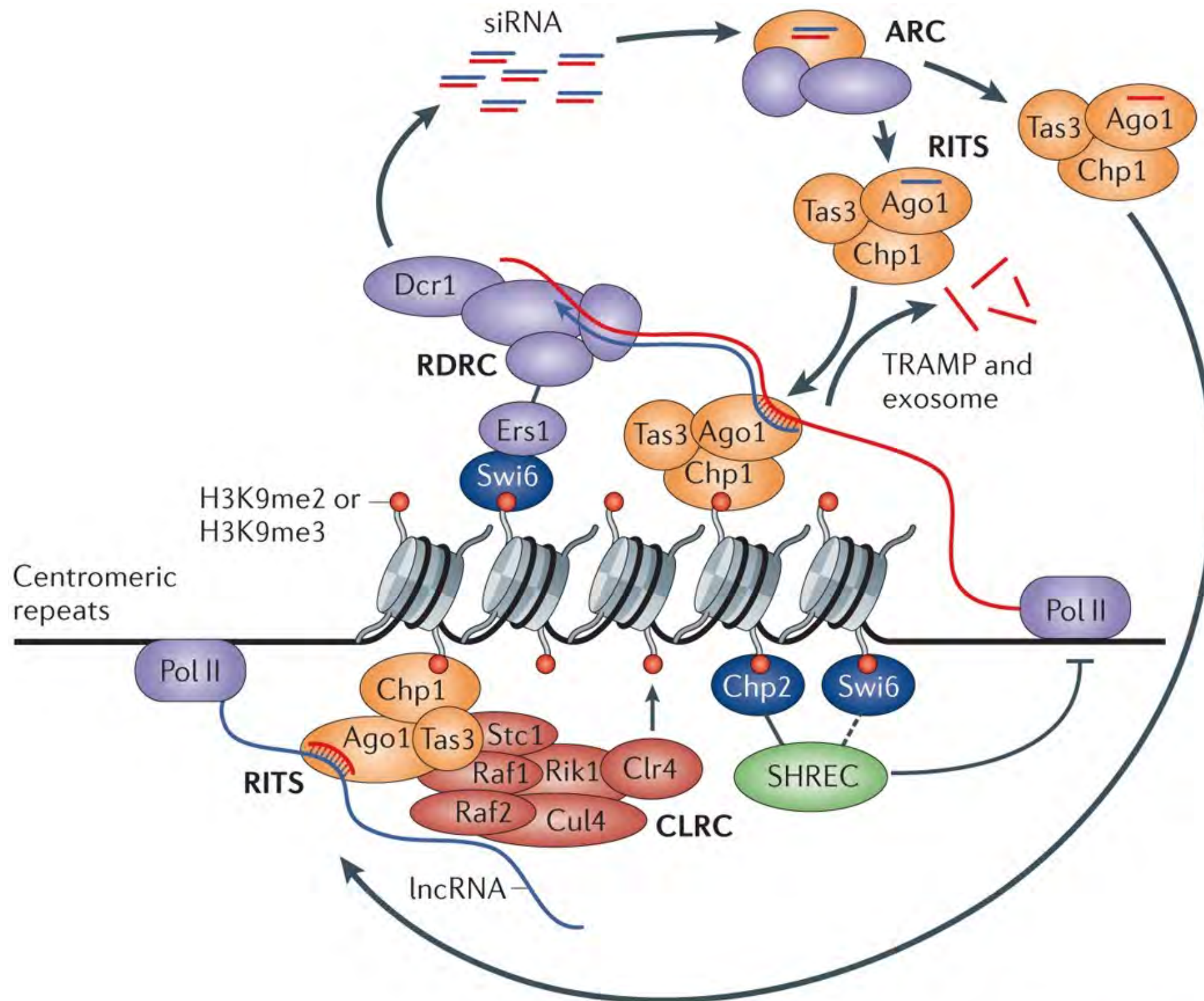
Эухроматин и гетерохроматин



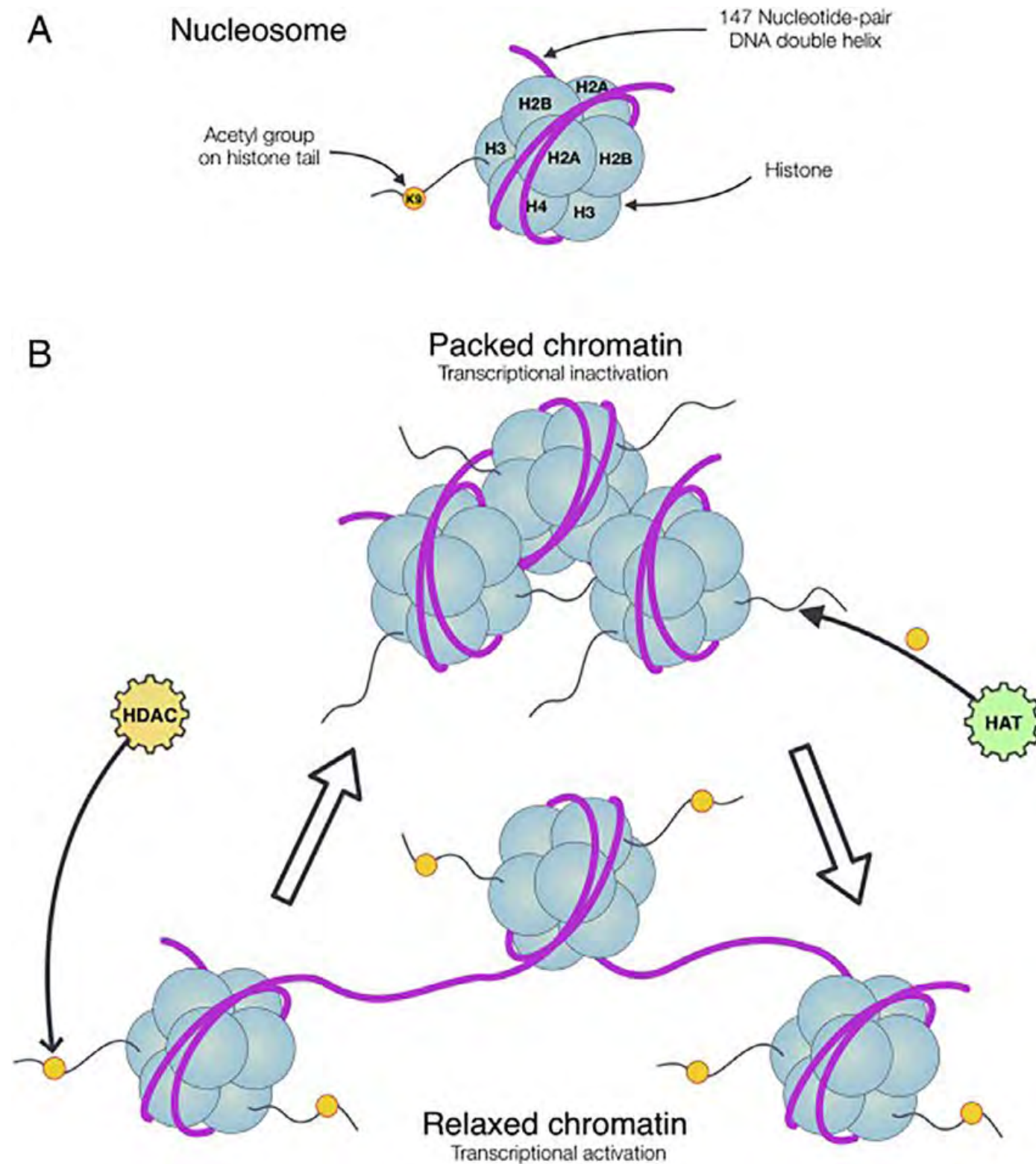
Эпигенетическая регуляция у эукариот



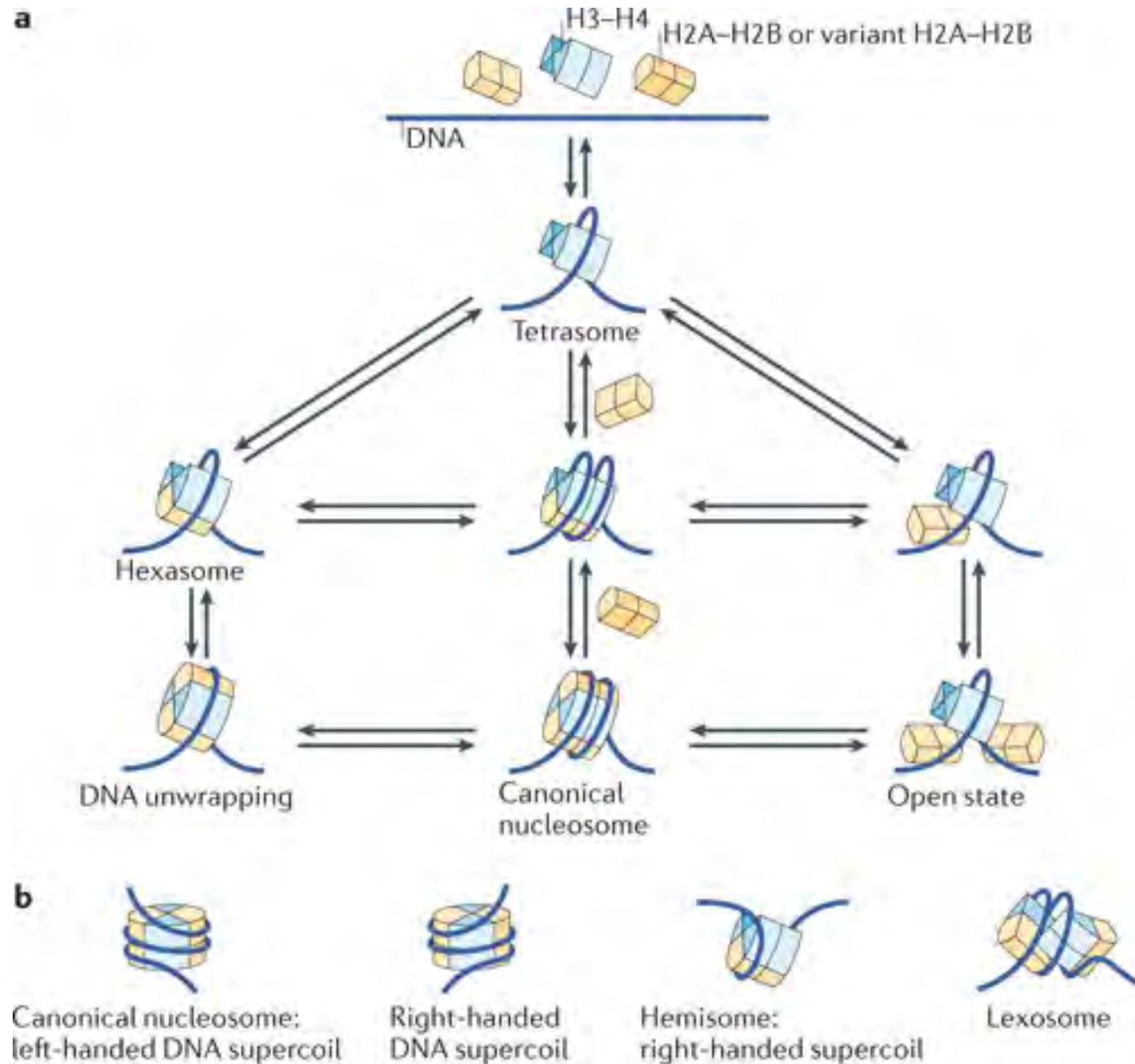
Эпигенетическая регуляция у эукариот



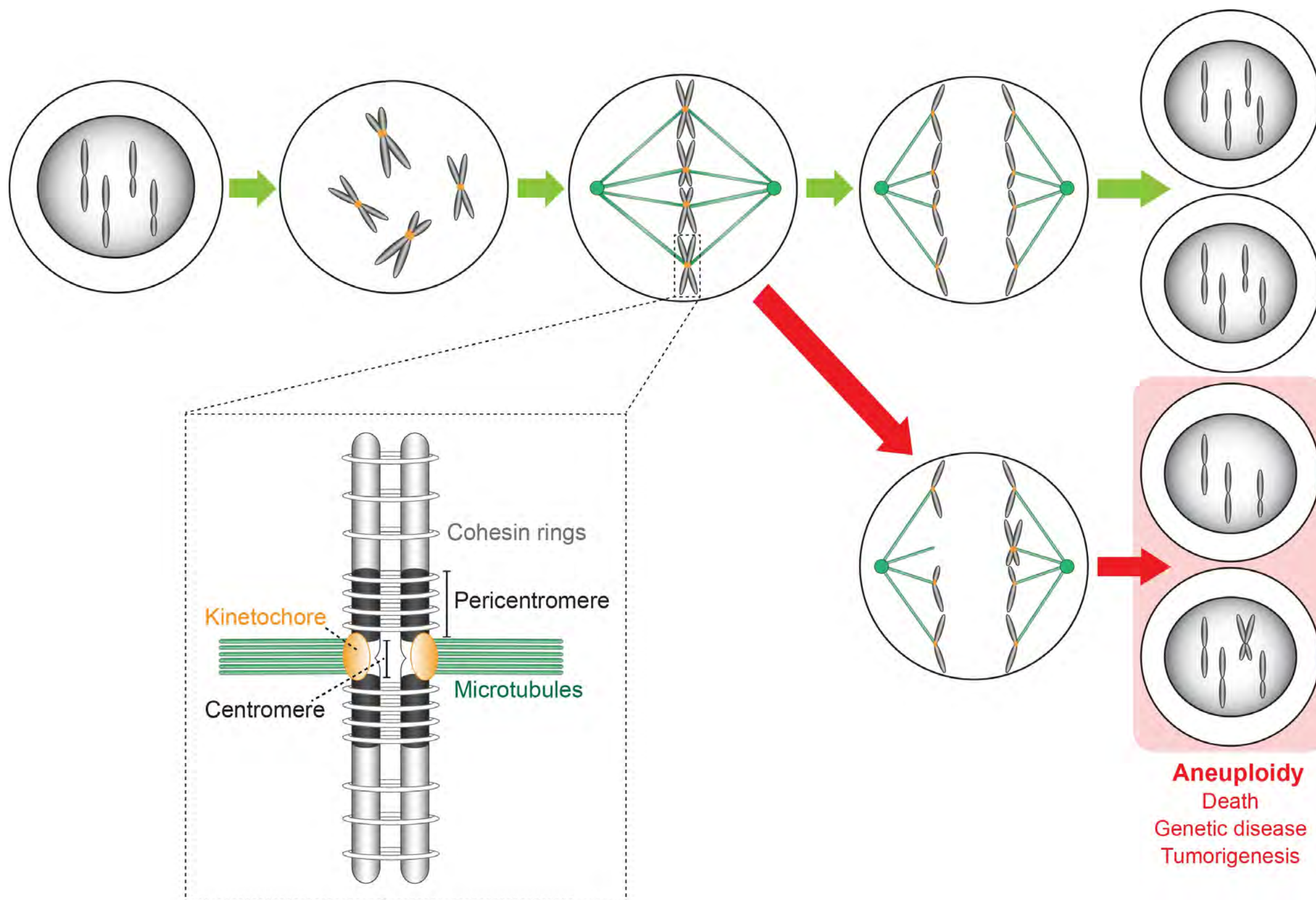
Нуклеосомы и роль гистонов



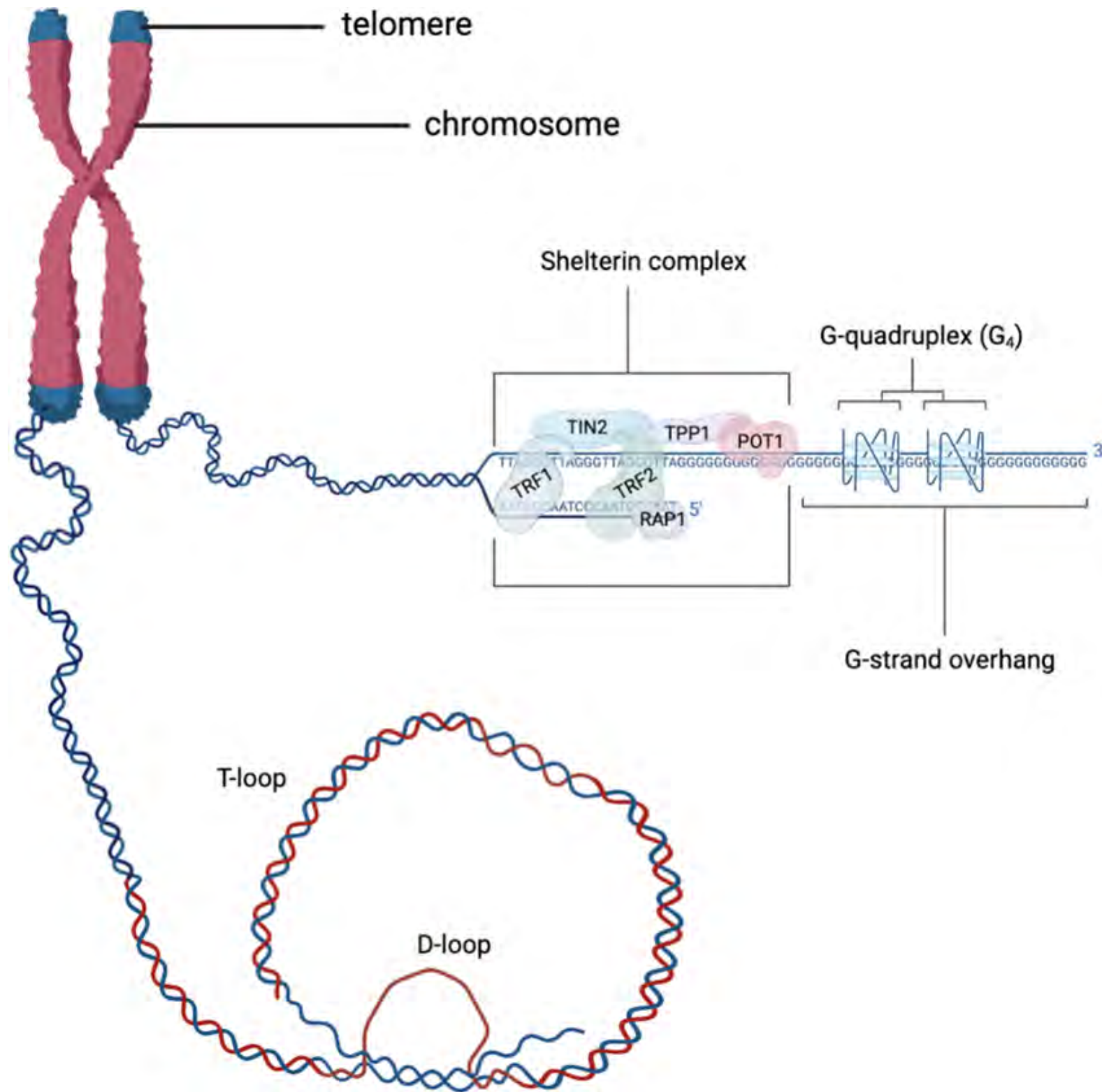
Организация хроматина



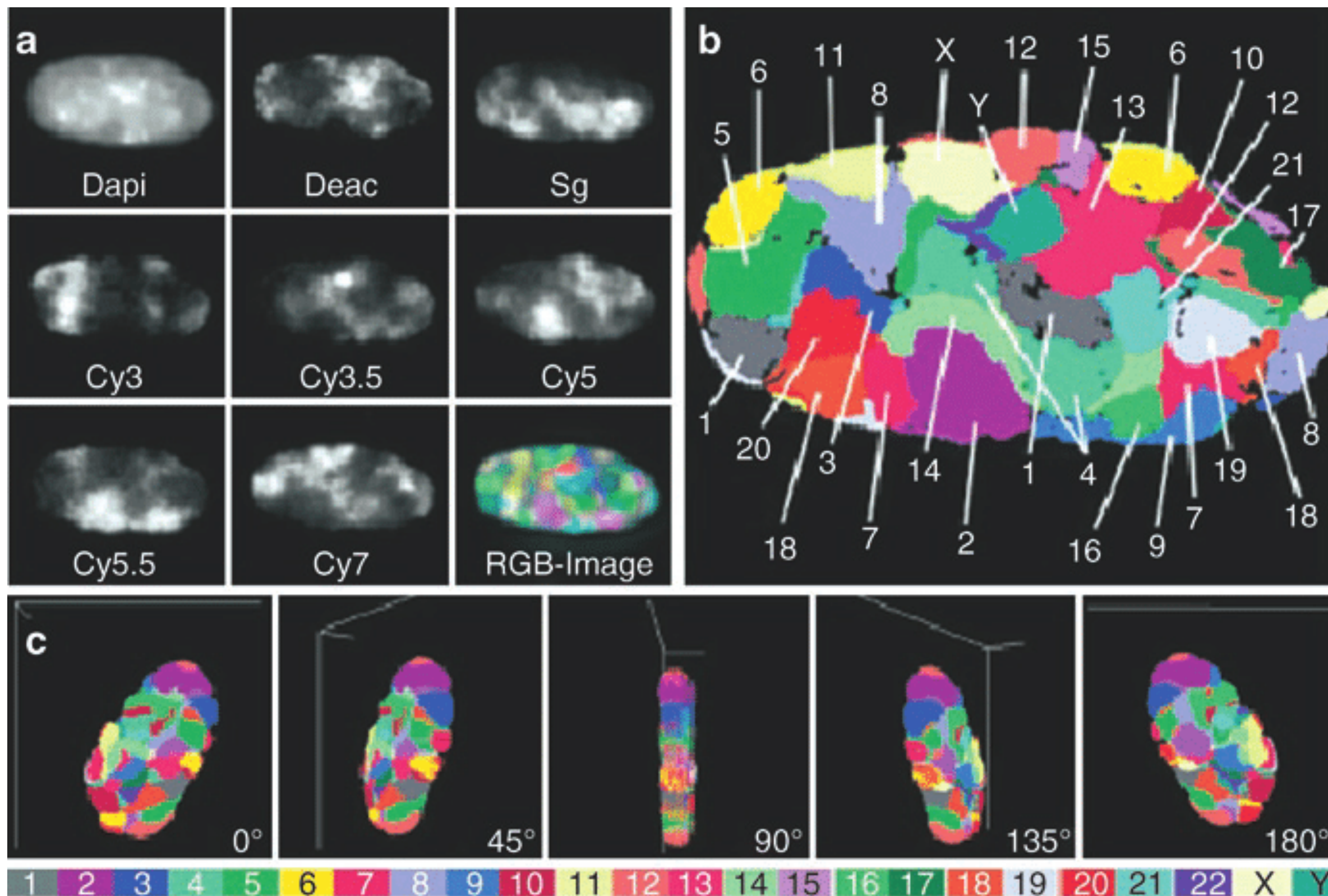
Центромеры



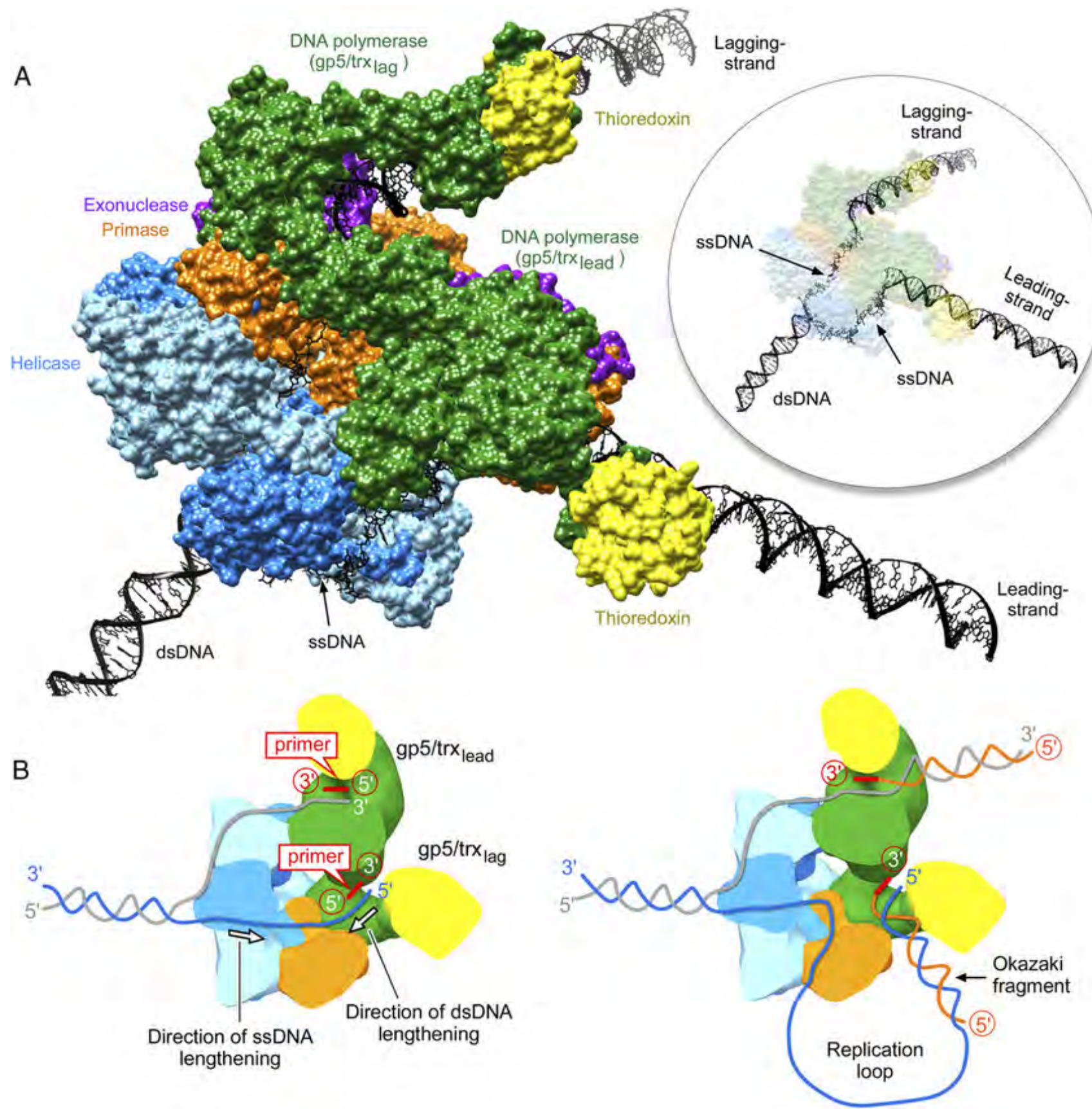
Теломеры



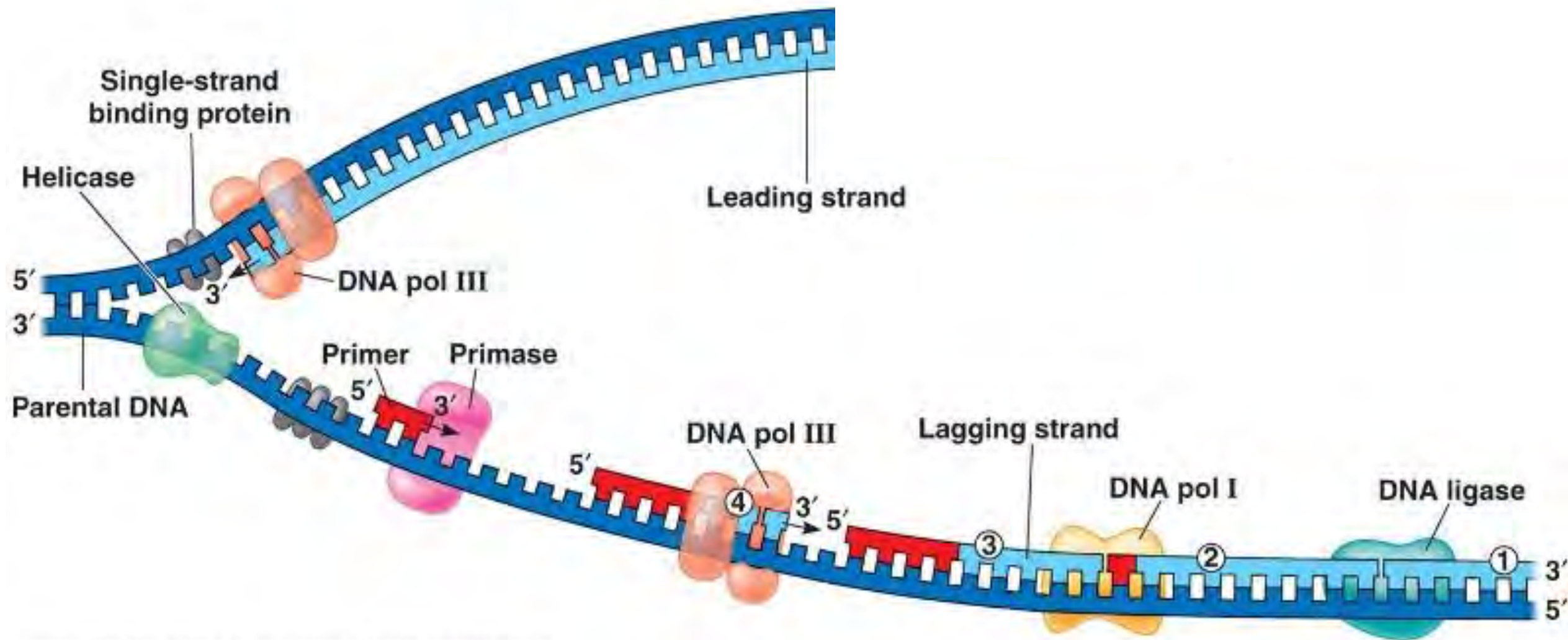
Хромосомные территории в ядре



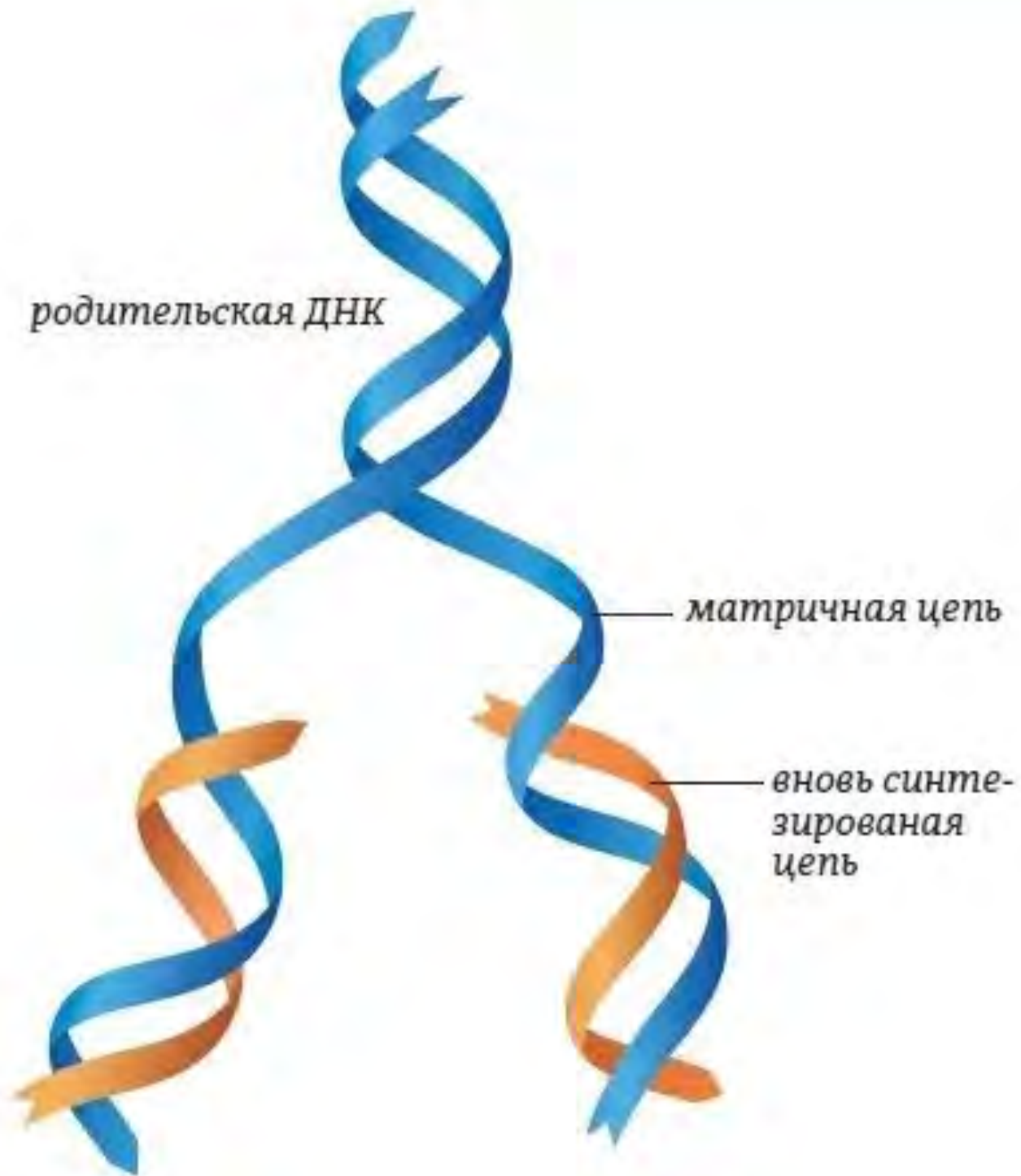
Общий обзор репликации ДНК



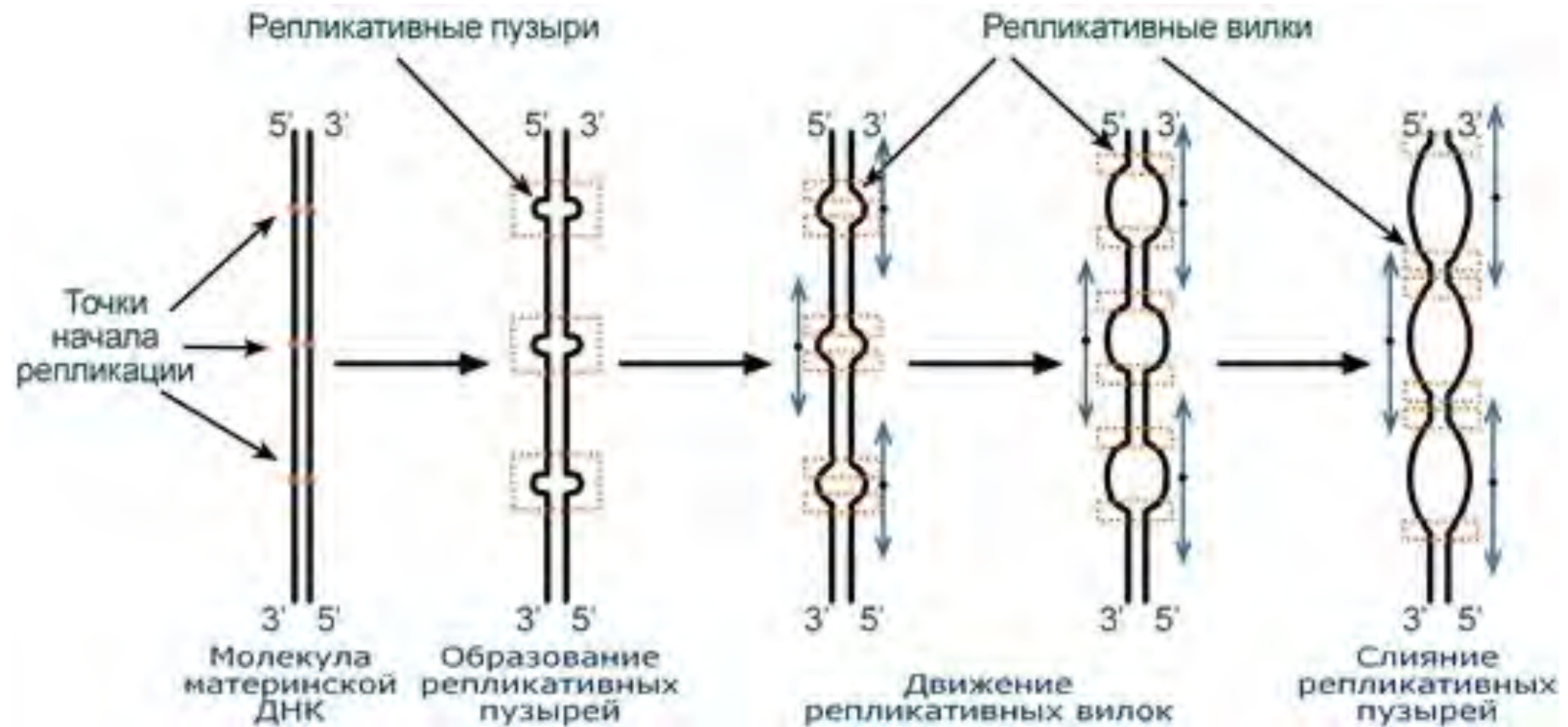
Общий обзор репликации ДНК



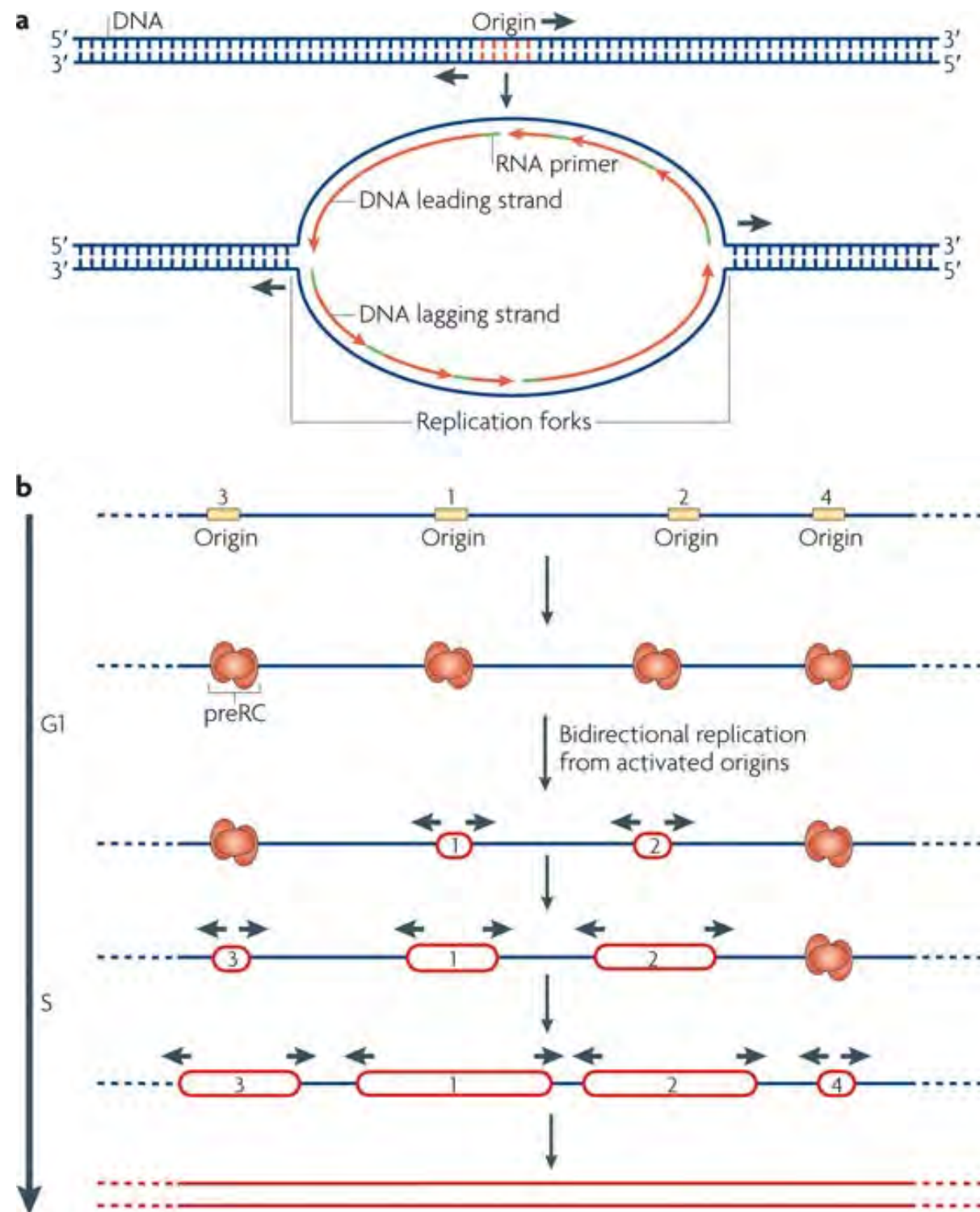
Полуконсервативная репликация



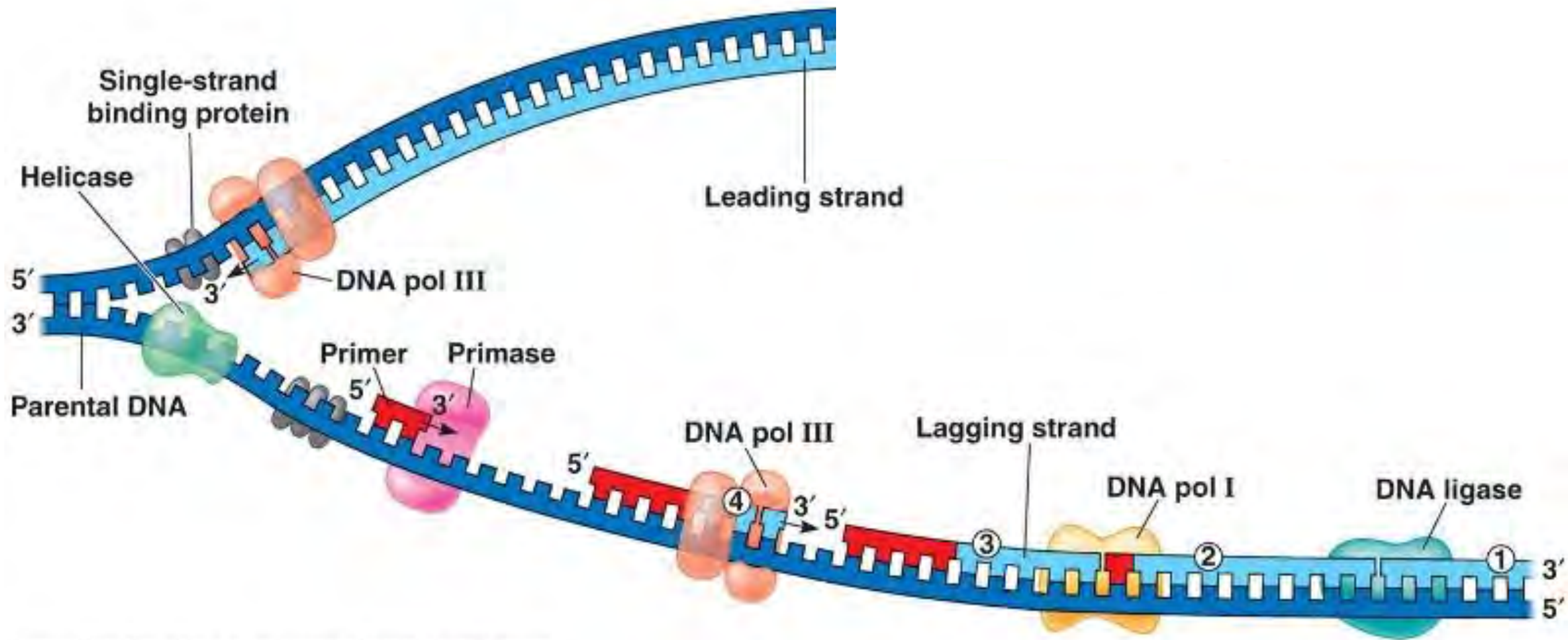
Точки начала репликации (Ori)



Точки начала репликации (Ori)



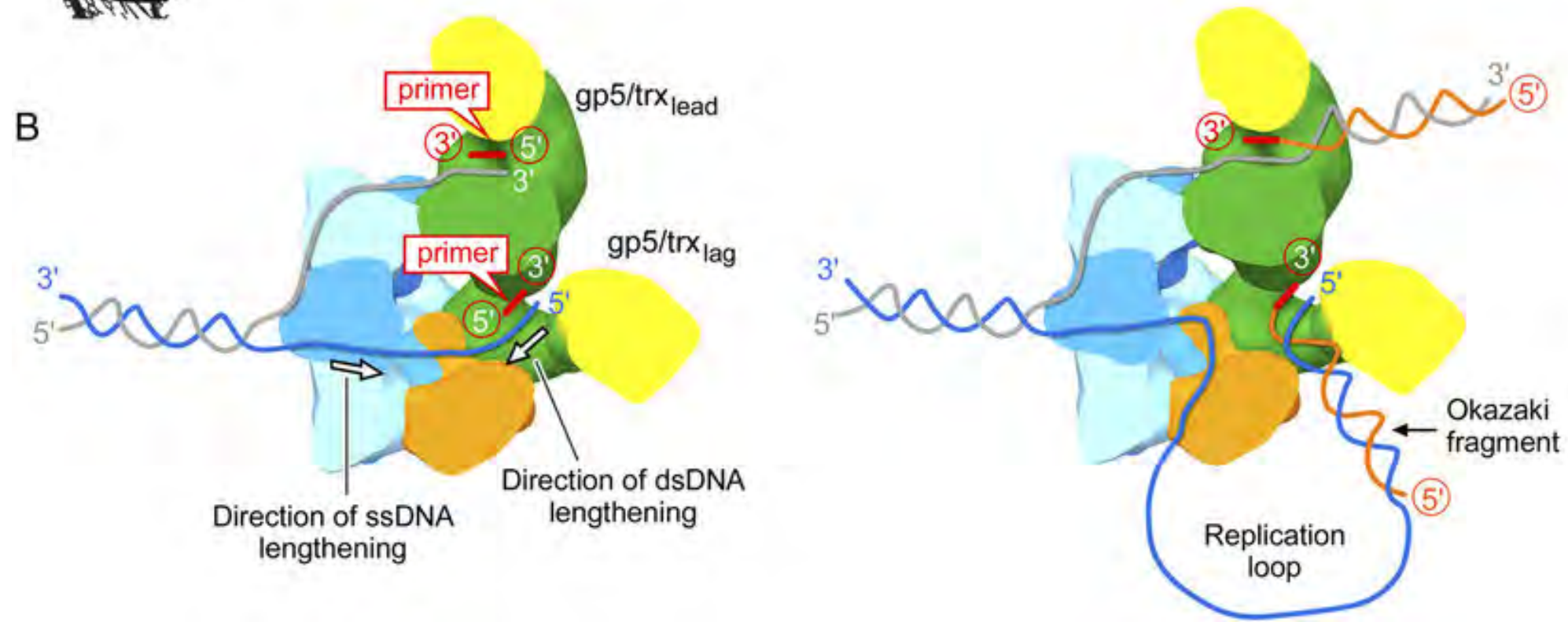
Репликационная вилка и репликационный пузырь



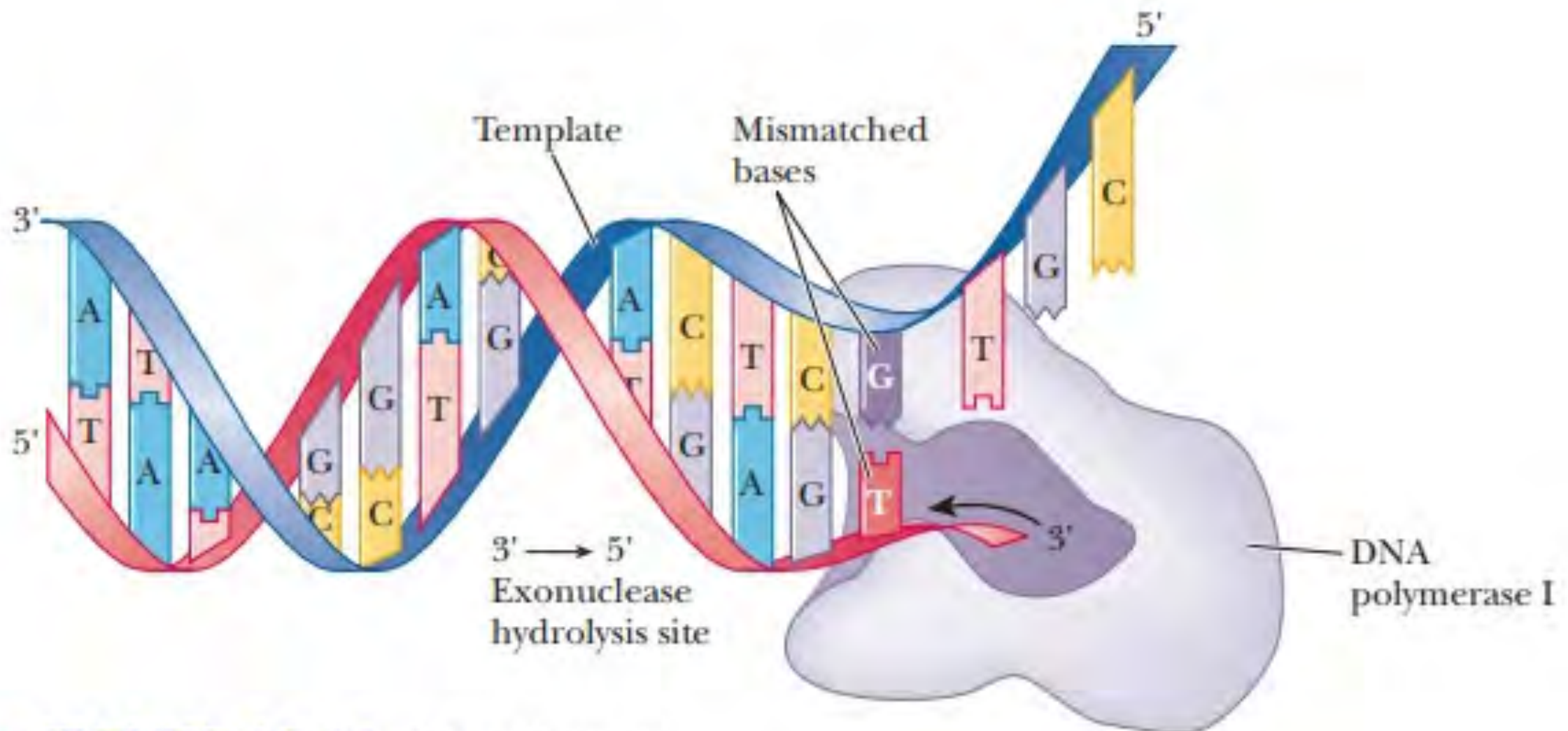
Репликация у про- и эукариот

Разница в репликации ДНК у про- и эукариот

Прокариоты	Эукариоты
Пять полимераз (I, II, III, IV, V)	Пять полимераз (α, β, γ, δ, ϵ)
Функции полимераз: I участвует в репликации, коррекции, репарации и удалении РНК-праймеров II – фермент репарации III – главный фермент репликации IV – V – участвуют в репарации	Функции полимераз: α – синтез праймера β – синтез праймера, застраивание бреши γ – репликация митохондриальной ДНК δ – основной фермент репликации ϵ – фермент, реплицирующий отстающую цепь ДНК
Полимеразы являются также экзонуклеазами	Не все полимеразы обладают экзонуклеазной активностью
Один ориджин репликации	Несколько ориджинов репликации
Фрагменты Оказаки длиной 1000-2000 нуклеотидов	Фрагменты Оказаки длиной 150-200 нуклеотидов
ДНК не связана с белками	ДНК в комплексе с гистонами

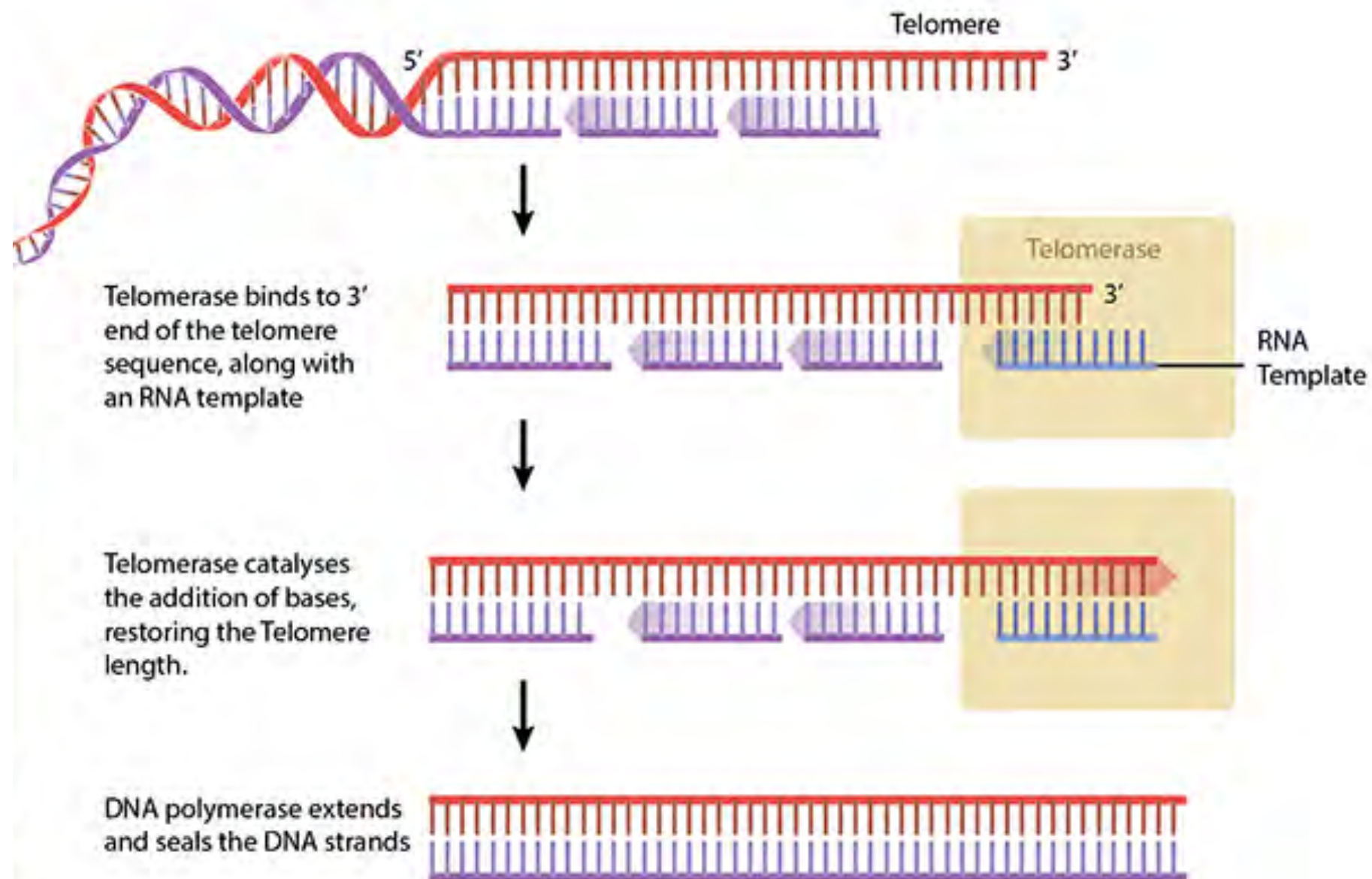


Механизмы коррекции ошибок (proofreading)

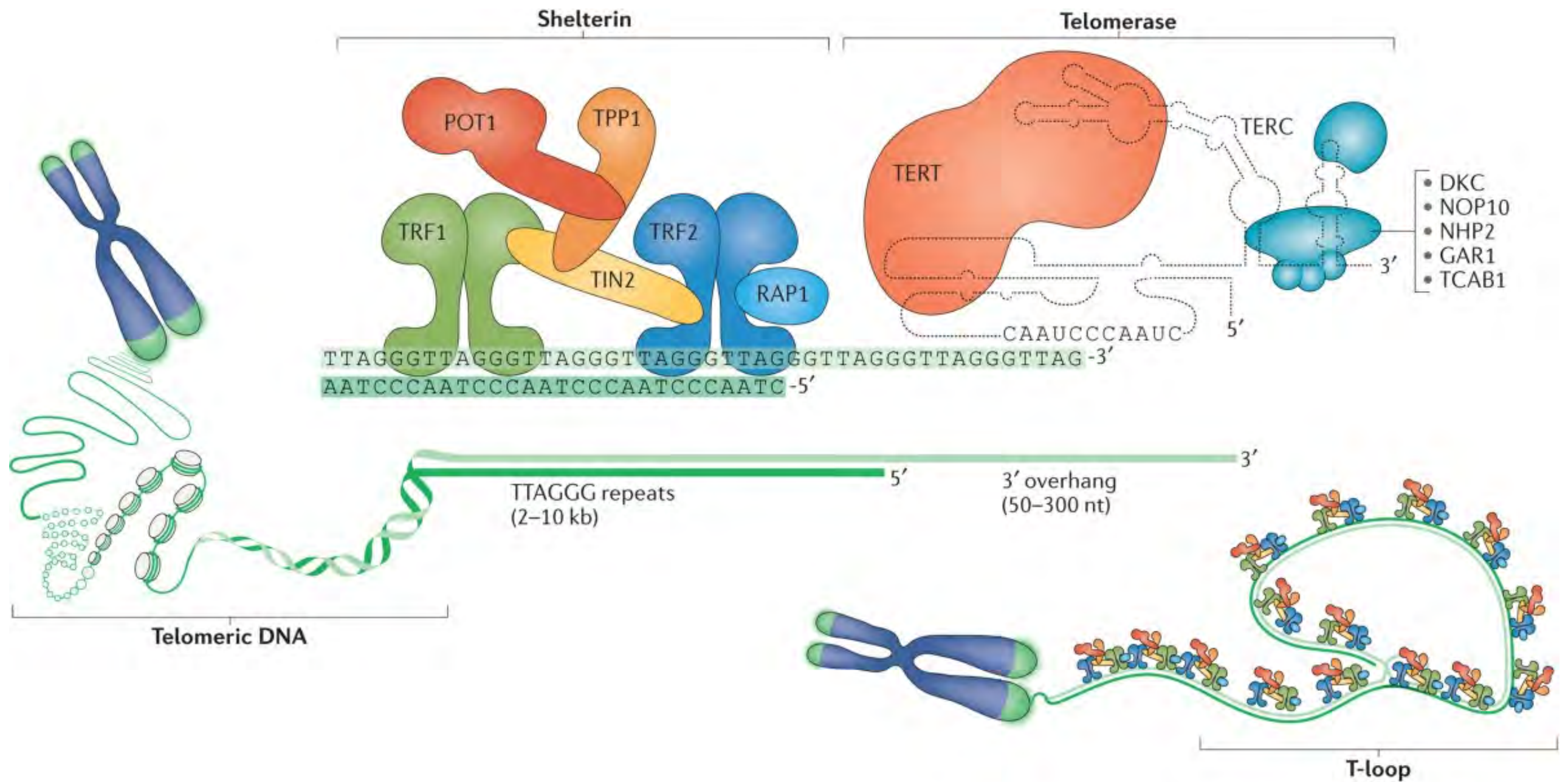


■ **FIGURE 10.10** DNA polymerase proofreading. The $3' \rightarrow 5'$ exonuclease activity of DNA polymerase I removes nucleotides from the 3' end of the growing DNA chain.

Репликация теломер и роль теломеразы



Репликация теломер и роль теломеразы



Виды повреждений ДНК

Ошибки репликации

- Неправильное включение нуклеотидов
- Пропуск или вставка оснований

Алкилирование оснований

- Присоединение алкильных групп
- Образование аномальных пар

Окислительные повреждения

- Влияние активных форм кислорода
- Образование 8-оксогуанина

Дезаминирование

- Превращение цитозина в урацил
- Изменение свойств спаривания

УФ - излучение: тиминовые димеры

- Склеивание соседних тиминов

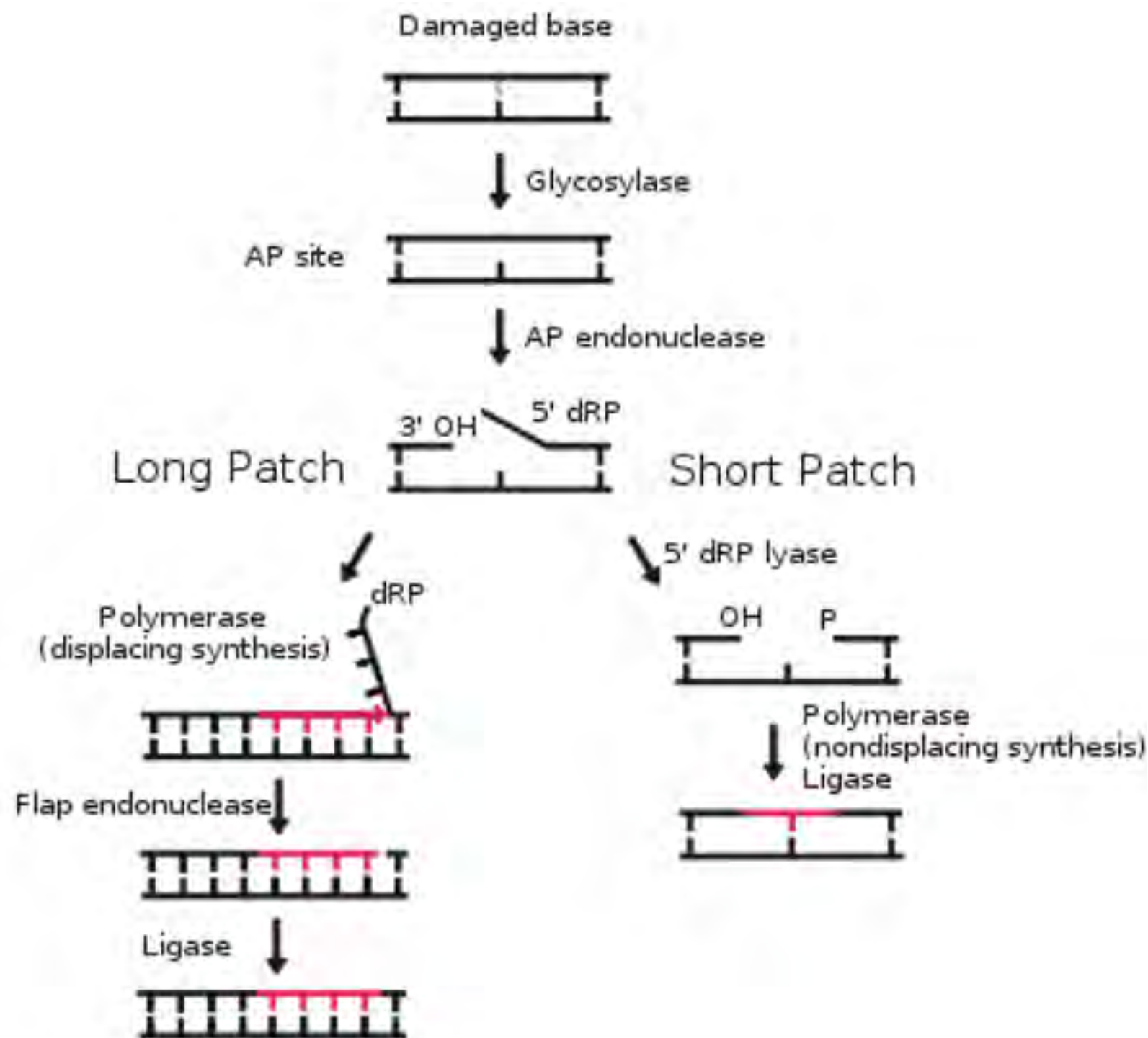
Ионизирующее излучение: разрывы цепей

- Одно- и двуцепочечные разрывы

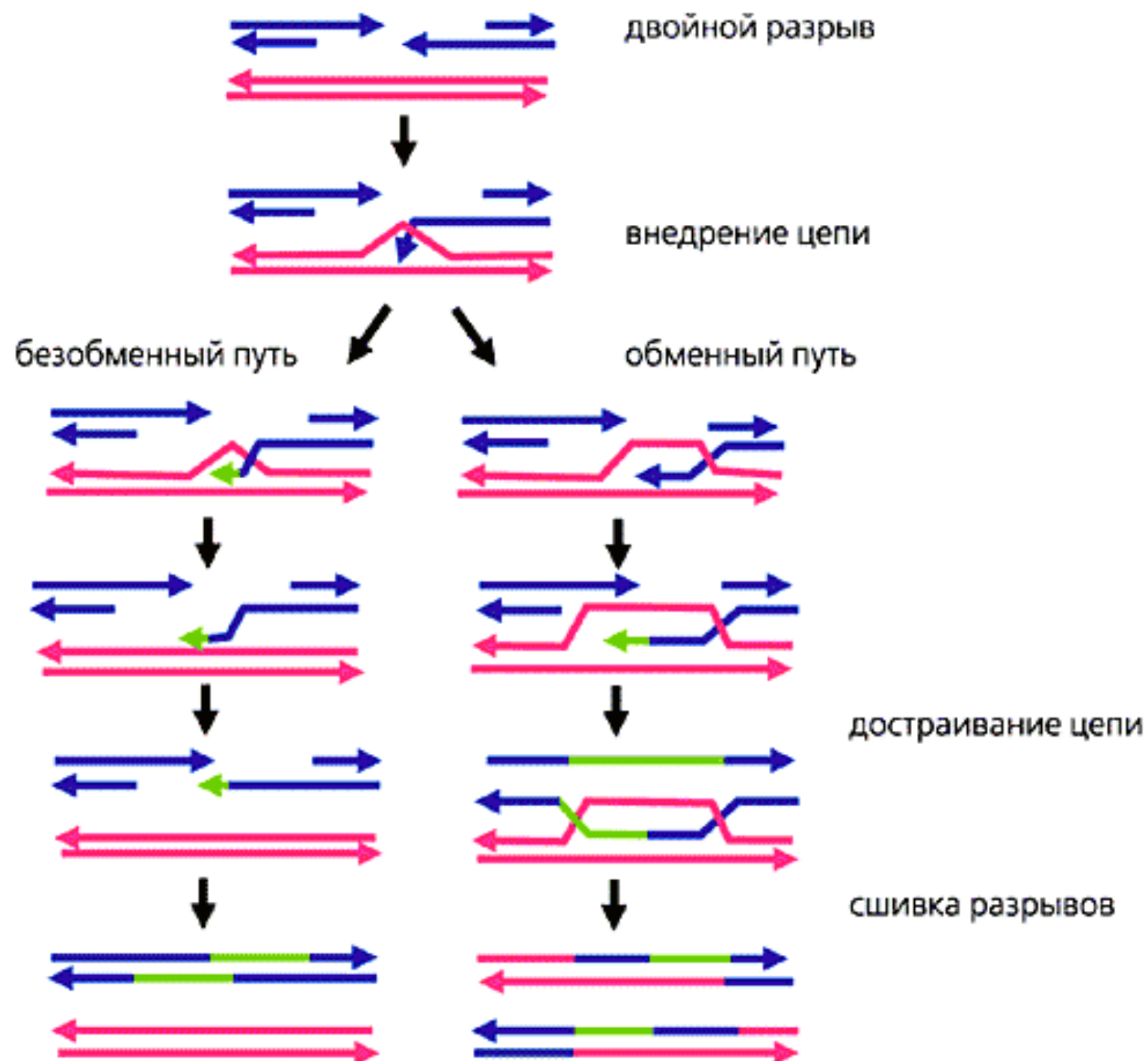
Межцепочечные сшивки

- Ковалентные связи между цепями
- Затруднение репликации и транскрипции

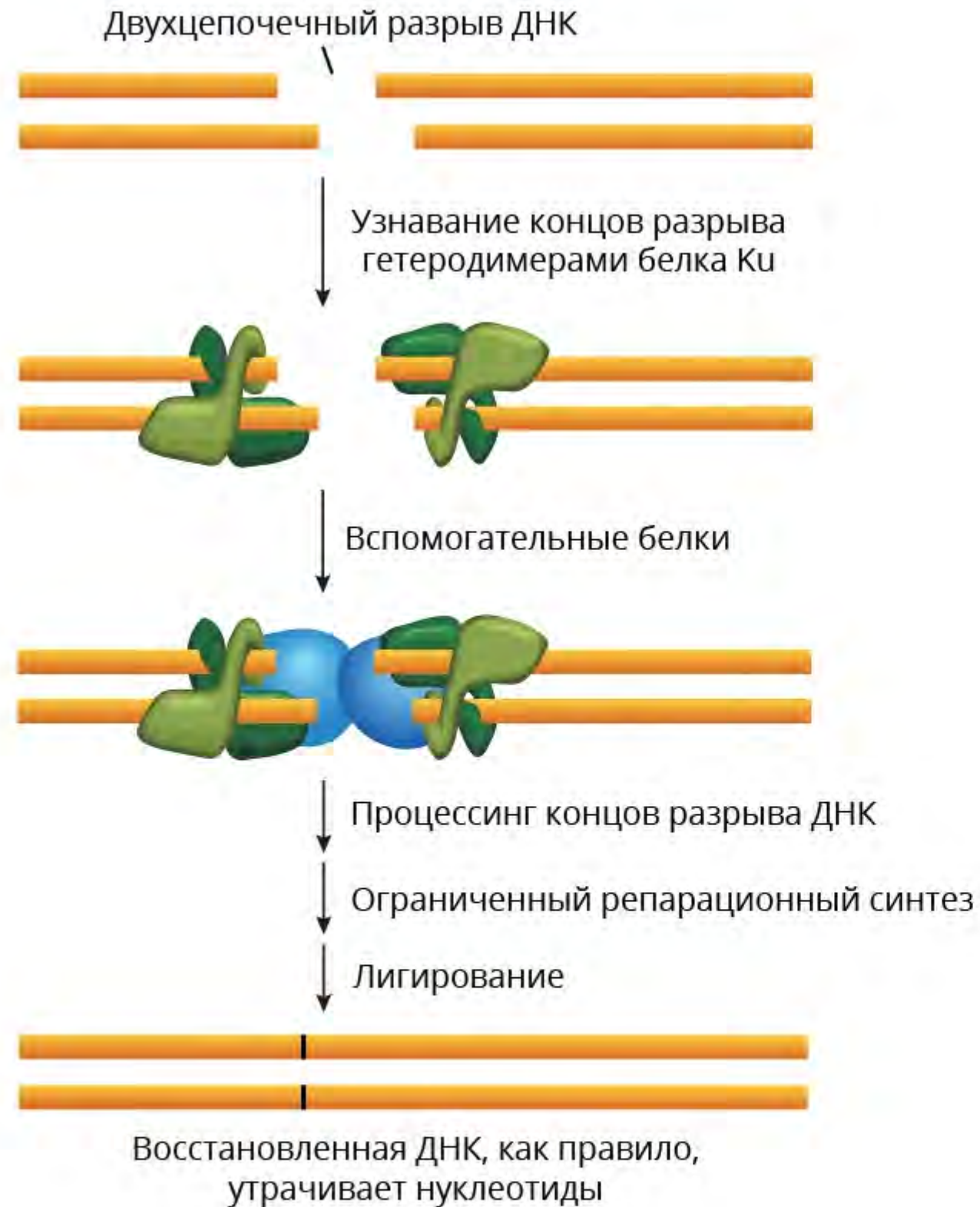
Репарация оснований



Репарация двойных разрывов: гомологичная рекомбинация



Негомولوجичное соединение концов (NHEJ)



Роль белка p53 в ответе на повреждения ДНК

- Активируется при повреждениях ДНК и клеточном стрессе.
- Останавливает клеточный цикл в фазах G1/S и G2/M для репарации.
- Иницирует экспрессию генов, отвечающих за репарацию ДНК.
- При необратимых повреждениях запускает апоптоз.
- Мутации в гене TP53 связаны с развитием многих видов рака.

Вопросы и обсуждение