

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ВЫСШАЯ ШКОЛА ЭКОНОМИКИ

Факультет физики

Экзамен

«Введение в молекулярную биологию»



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Москва
2021

Содержание

1.	3
2.	4
3. Репликация ДНК: репликация линейных и кольцевых молекул ДНК, Затравка для ДНК-полимеразы, праймирование, фрагменты Оказаки. Ферменты, необходимые для репликации ДНК (полимеразы I и III, топоизомеразы, хеликаза, лигаза, праймаза, ssb). Теломеры и центромеры эукариот. Ориджины репликации бактерий. Белки определяющие начало репликации бактерий (DnaABC, ssb, SeqA, dam) Репликация кольцевых молекул ДНК по Тета –типу и по типу катящегося колеса	5
3.1. Общее описание механизма репликации	5
3.2. Общее описание механизма репликации	5
3.3. Ферменты, необходимые для репликации ДНК	6
3.4. Теломеры и центромеры эукариот	7
3.5. Ориджины репликации у бактерий	9
3.6. Белки, определяющие начало репликации у бактерий	9
3.7. Репликация кольцевых молекул ДНК по тета-типу	9
3.8. Репликация кольцевых молекул ДНК по типу катящегося колеса	9
4.	10
5.	11
6. Репликоны. Инициация раунда репликации ДНК Escherichia coli. Белки участвующие в регуляции инициации репликации (DnaABC, ssb, SeqA, dam). Топологические проблемы репликации. Сегрегация репликонов по бактериальным клеткам. Репликация плазмид, мобильных элементов, фагов и вирусов. Особенности репликации в эукариотах. Теломеры и центромеры. Сегрегация хромосом.	12
6.1. Репликоны	12
6.2. Инициация раунда репликации ДНК Escherichia coli. Белки участвующие в регуляции инициации репликации (DnaABC, ssb, SeqA, dam).	12
6.3. Топологические проблемы репликации.	13
6.4. Сегрегация репликонов по бактериальным клеткам.	14
6.5. Репликация плазмид, мобильных элементов, фагов и вирусов.	15
6.6. Особенности репликации в эукариотах. Теломеры и центромеры. Сегрегация хромосом.	15
7.	16
8. Гомологичная рекомбинация. Модель Холлидея. Гены рекомбинации (recA, ssb, ruvABC). RecA и SOS-ответ. Сайт-специфическая рекомбинация. Рекомбинация в эукариотах. Кроссинговер.	17
8.1. Гомологичная (общая) рекомбинация, модель Холлидея	17
8.2. Гены рекомбинации	18
8.3. SOS-ответ и recA	19
8.4. Сайт-специфическая рекомбинация	19

8.4.1. Транспозиция	20
9. Рекомбинация в эукариотах	21
10.	24
11.	25
12.	26
13.	27

1.

2.

3. Репликация ДНК: репликация линейных и кольцевых молекул ДНК, Затравка для ДНК-полимеразы, праймирование, фрагменты Оказаки. Ферменты, необходимые для репликации ДНК (полимеразы I и III, топоизомеразы, хеликаза, лигаза, праймаза, ssb). Теломеры и центромеры эукариот. Ориджины репликации бактерий. Белки определяющие начало репликации бактерий (DnaABC, ssb, SeqA, dam) Репликация кольцевых молекул ДНК по Тета –типу и по типу катящегося колеса

Репликация ДНК - процесс создания двух дочерних молекул ДНК на основе одной родительской молекулы ДНК.

Двухцепочечная молекула ДНК может быть линейной (у эукариот, организмов, клетки которых имеют клеточное ядро) или свернутой в кольцо (у прокариот, клетки которых не имеют ядра).

Про особенности репликации двухцепочечных линейных и кольцевых молекул см. ниже.

3.1. Общее описание механизма репликации

Двухцепочечная молекула ДНК может быть линейной (у эукариот, организмов, клетки которых имеют клеточное ядро) или свернутой в кольцо (у прокариот, клетки которых не имеют ядра).

Про особенности репликации двухцепочечных линейных и кольцевых молекул см. ниже.

3.2. Общее описание механизма репликации

Что имеем в начале: клетка, у клетки есть ДНК. Клетка собирается делиться, ей надо **реплицировать** (скопировать) свою ДНК для двух дочерних клеток.

- Репликация начинается в определенном месте материнской ДНК с расплетания топоизомеразой двойной спирали (см. рис. 1, 2).
- Хеликаза садится на выпрямленную двойную цепь ДНК и разделяет ее на две одиночные цепи ДНК. При этом формируется **репликационная вилка**.
- SSB-белки (белки, связывающие одиночную цепь ДНК, англ. single-strand binding protein) удерживают две материнские цепи ДНК от связывания обратно. Получившаяся на этом этапе конструкция из ДНК и белков называется **репликационной вилкой**.
- К каждой из получившихся одиночных цепей ДНК теперь будет синтезироваться комплементарная цепь из плавающих вокруг дезоксирибонуклеотидов.
- **Процесс на лидирующей цепи 3'-5'.** Праймаза ставит на цепь 3'-5' (относительно направления расплетания двойной цепи) праймер - РНК-затравку для посадки ДНК-полимеразы. Садится ДНК-полимераза и едет по материнской цепи ДНК, синтезируя комплементарную ей цепь из свободно плавающих нуклеотидов. ДНК-полимераза умеет

присоединять только 5' конец предыдущего дезоксирибонуклеотида к 3' концу следующего дезоксирибонуклеотида.

- **Процесс на отстающей цепи 5'-3'.** Праймаза ставит праймер для полимеразы. ДНК-полимераза садится на него и синтезирует небольшой фрагмент ДНК (**фрагмент Оказаки**) в обратном направлении относительно расплетания материнской ДНК. Фрагменты Оказаки сшиваются лигазой.
- В итоге имеем две дочерние двунитевые молекулы ДНК вместо одной материнской.

Репликационная вилка движется со скоростью порядка 100 000 пар нуклеотидов в минуту у прокариот и 500—5000 — у эукариот.



Рис. 1. Схема репликационной вилки (выше) и репликационного глазка (ниже). Репликационная вилка на втором рисунке - область, где материнская двухцепочечная молекула расходится на две. Стрелочками обозначено то, что вилки удаляются друг от друга, двигаясь по материнской (шаблонной) ДНК в направлении от 3' к 5' концам.

3.3. Ферменты, необходимые для репликации ДНК

- **Топоизомераза** - фермент, раскручивающий спираль ДНК. Едет вдоль закрученной двойной спирали ДНК и ставляет за собой две водородно связанные цепочки ДНК, лежащие в одной плоскости. (здесь и далее смотреть на картинку 2).
- **Хеликаза** - фермент, рвущий водородные связи между двумя цепочками ДНК. Едет за топоизомеразой по двум связанным цепям ДНК и оставляет за собой две несвязанные цепи ДНК.

- **Полимераза** (ДНК полимераза) - фермент, полимеризующий молекулу ДНК. Всегда едет по цепи ДНК в направлении 3'-5', смотрит на нее как на шаблон и достраивает комплементарную ей цепь из свободно плавающих дезоксирибонулеотидов.

ДНК-полимераз существует несколько типов. У бактерий **ДНК-полимераза I** удаляет РНК-фрагменты на отстающей цепи и ставит на их место ДНК, **ДНК-полимераза II** участвует в репарации (восстановлении сломанных кусочков) ДНК, **ДНК-полимераза III** просто основной фермент (именно она делает почти всю работу в синтезировании ДНК с лидирующей и отстающей цепей).

- **Лигаза** (ДНК-лигаза) - фермент, ковалентно спивающий цепи ДНК в местах разрыва. Едет по отстающей цепи ДНК и спивает фрагменты ОКазаки.
- **Праймаза** - фермент, синтезирующий РНК-затравку (праймер) — короткий фрагмент РНК, которая является инициатором в работе ДНК-полимеразы (полимераза не способна синтезировать ДНК с нуля, но может добавлять нуклеотиды к уже имеющимся).
- **SSB-белки** - ферменты, предотвращающие диссоциацию полимеразы от матрицы ДНК и повышающие эффективность ее работы. Окружают кольцом ДНК и «скользят» по ней вместе с продвигающимся вперед ферментом ДНК-полимеразы.

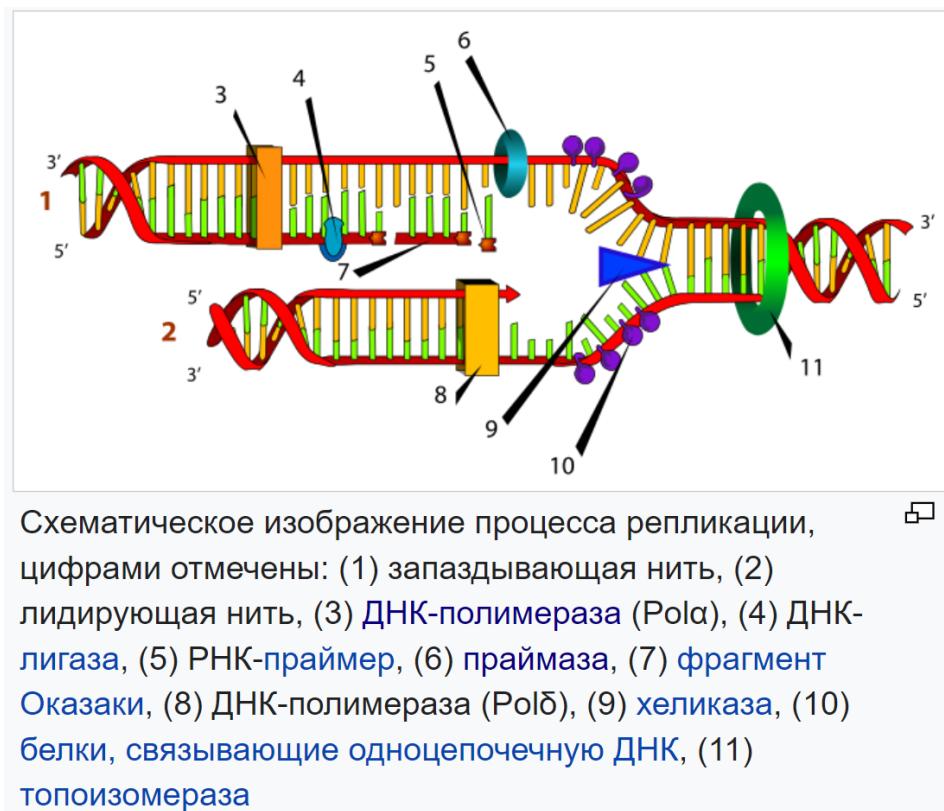


Рис. 2. Белки, участвующие в процессе репликации

3.4. Теломеры и центромеры эукариот

Теломеры - концевые участки хромосом. Теломерные участки хромосом характеризуются отсутствием способности к соединению с другими хромосомами или их фрагментами и выполняют защитную функцию.

В каждом цикле деления теломеры клетки укорачиваются из-за неспособности ДНК-полимеразы синтезировать копию ДНК с самого конца. Она в состоянии лишь добавлять нуклеотиды к уже существующей 3'-гидроксильной группе. Данный феномен носит название концевой недорепликации и является одной из важнейших причин биологического старения.

Тем не менее, вследствие этого явления теломеры должны укорачиваться весьма медленно — по несколько (3-6) нуклеотидов за клеточный цикл.

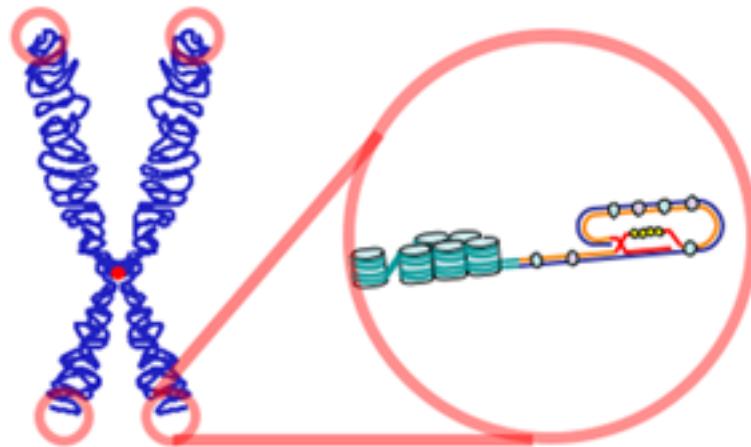


Рис. 3. Концевые участки хромосом, теломеры

Центромеры — участок хромосомы, который связывает сестринские хроматиды, играет важную роль в процессе деления клеточного ядра и участвует в контроле экспрессии генов. Характеризуется специфическими последовательностью нуклеотидов и структурой.

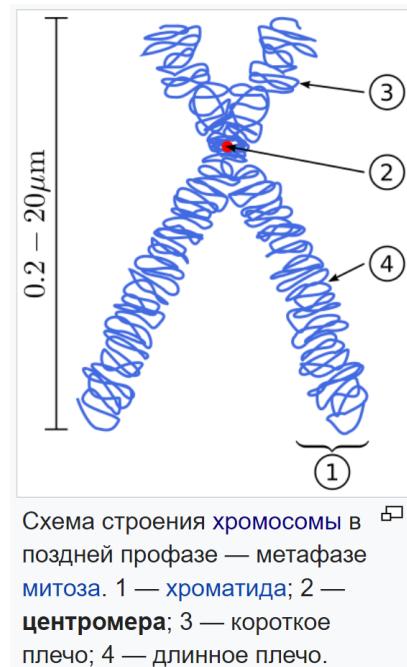


Рис. 4. Центральные участки хромосом, центромеры

3.5. Ориджины репликации у бактерий

Точка начала репликации (англ. origin of replication) — это фрагмент молекулы нуклеиновой кислоты, с которого начинается её репликация. Точка начала репликации и прилегающие к ней фрагменты нуклеиновой кислоты, не отделённые сайтами терминации, составляют единицу репликации — репликон. Репликация ДНК может начинаться от точки начала репликации в одном или двух направлениях.

Хромосомы и плазмиды (внекромосомный самовоспроизводящийся генетический элемент, специфичен для прокариот) прокариот (в частности, бактерий) содержат одну, реже несколько точек начала репликации ДНК (хромосомы эукариот имеют множество таких точек).

3.6. Белки, определяющие начало репликации у бактерий

Проиллюстрируем на примере *Escherichia coli*.

Генетический локус, содержащий единственную точку начала репликации хромосомы *Escherichia coli* (кишечной палочки), получил название oriC. OriC состоит из 245 пар оснований и включает две функциональных области: область специфичного связывания фактора инициации репликации DnaA (англ.) и область первичного раскручивания спирали ДНК — DUE (англ. DNA unwinding element).

3.7. Репликация кольцевых молекул ДНК по тета-типу

Репликация по тета-механизму включает в себя следующие этапы:

- расплетание двух родительских цепей;
- синтез праймерной РНК (пРНК) на каждой из них;
- инициация репликации при помощи ковалентного нарастания пРНК на каждой из них;
- синтез комплементарной цепи ДНК на каждой из родительских цепей. Одна из цепей при этом выступает лидирующей, другая — отстающей, хотя синтез цепей происходит одновременно.

Тета-репликация может начинаться одновременно с одной или нескольких точек и быть при этом одно- или двунаправленной. В электронный микроскоп репликационная структура выглядит как греческая буква θ , отчего и называется тета-структурой (см. рис. 5).

3.8. Репликация кольцевых молекул ДНК по типу катящегося колеса

Сущность этого механизма заключается в следующем. Вначале инициаторный белок Rep совершаet одноцепочечный разрыв в цепи ДНК. Появившаяся при этом свободная 3'-ОН-группа служит праймером для синтеза ДНК ДНК-полимеразой III клетки-хозяина. Синтезируется лидирующая цепь и восстанавливается двухцепочечная структура исходной ДНК. Содержащая разрыв цепь ДНК при этом удаляется, и происходит её репликация ДНК-полимеразой III, сопровождающаяся созданием праймера РНК-полимеразой. После полной репликации ДНК-полимераза I заменяет праймер на ДНК, а ДНК-лигаза спивает концы, образуя тем самым окончательную двухцепочечную ДНК (см. 6).

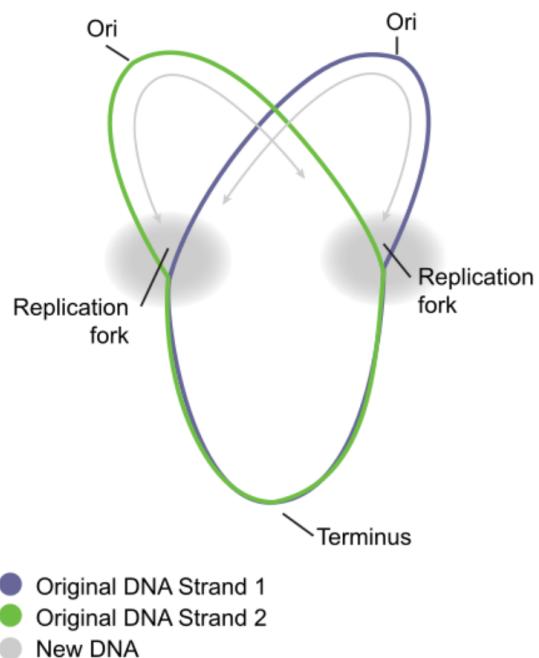


Рис. 5. Этап репликации по тета-типу. Видно две репликационные вилки, разъезжающиеся друг от друга (показано стрелочками). Ori - место начала репликации (ориджин).

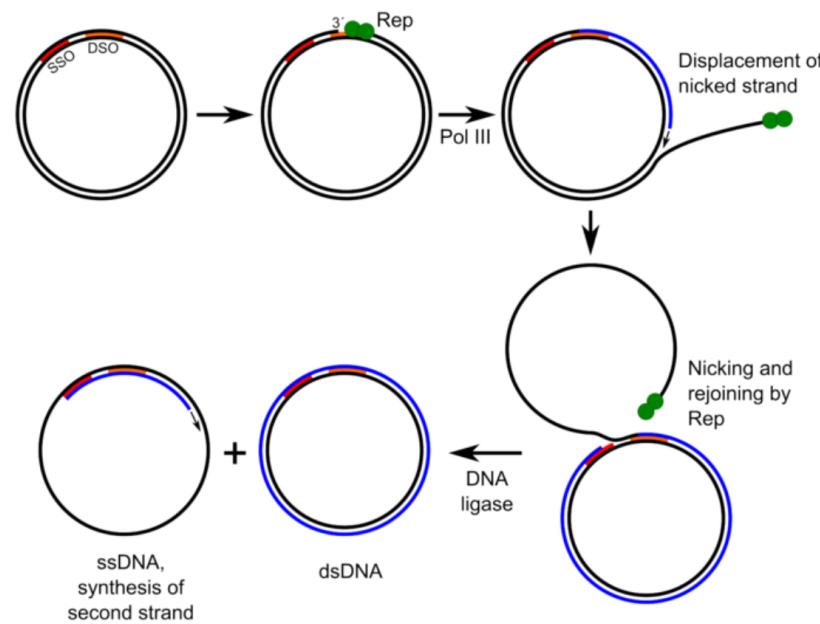


Рис. 6. Этапы репликации по типу катящегося колеса

4.

5.

6. Репликоны. Инициация раунда репликации ДНК Escherichia coli. Белки участвующие в регуляции инициации репликации (DnaABC, ssb, SeqA, dam). Топологические проблемы репликации. Сегрегация репликонов по бактериальным клеткам. Репликация плазмид, мобильных элементов, фагов и вирусов. Особенности репликации в эукариотах. Теломеры и центромеры. Сегрегация хромосом.

6.1. Репликоны

Репликон — молекула или участок ДНК или РНК, реплицирующийся из одного места начала репликации.

Задача: реплицировать ДНК.

Как ее можно решать: посадить белки в одном месте и проехать ими по всей ДНК (бактерии) или распараллелить процесс, посадив много белков в разных местах (эукариоты).

Например, у прокариот кольцевая ДНК имеет одну точку начала репликации, таким образом, она вся - репликон (см. рис. 7). У эукариот длинная линейная ДНК имеет множество точек начала репликации, то есть у нее много репликонов (см. рис. 7, ??).

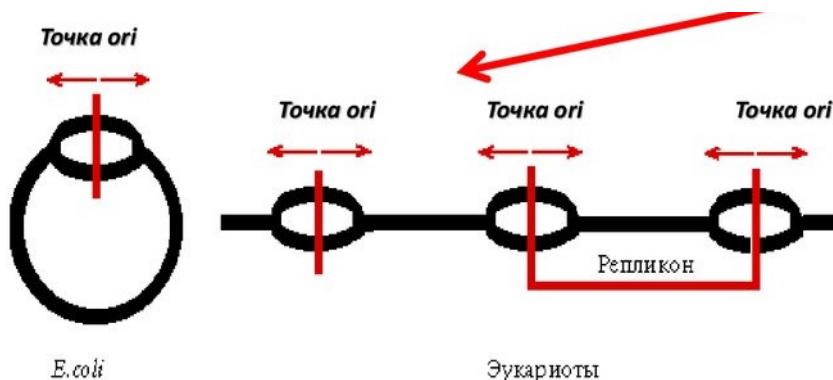


Рис. 7. Иллюстрация репликонов бактерий и эукариотов. Слева - кольцевая ДНК кишечной палочки, у нее одно место начала (*ori*) репликации и она сама один репликон. Справа - линейная ДНК эукариот со множеством репликонов. Стрелочками обозначены движения репликационных вилок.

6.2. Инициация раунда репликации ДНК Escherichia coli. Белки участвующие в регуляции инициации репликации (DnaABC, ssb, SeqA, dam).

Здесь мы рассмотрим подробно процесс запуска репликации ДНК кишечной палочки с перечислением некоторых конкретных белков. (Подробнее о репликации см. билет 3.)

Имеется кольцевая двухцепочечная молекула ДНК со специальной точкой (читай, местом) начала репликации OriC. Клетка набрала достаточную массу для начала деления.

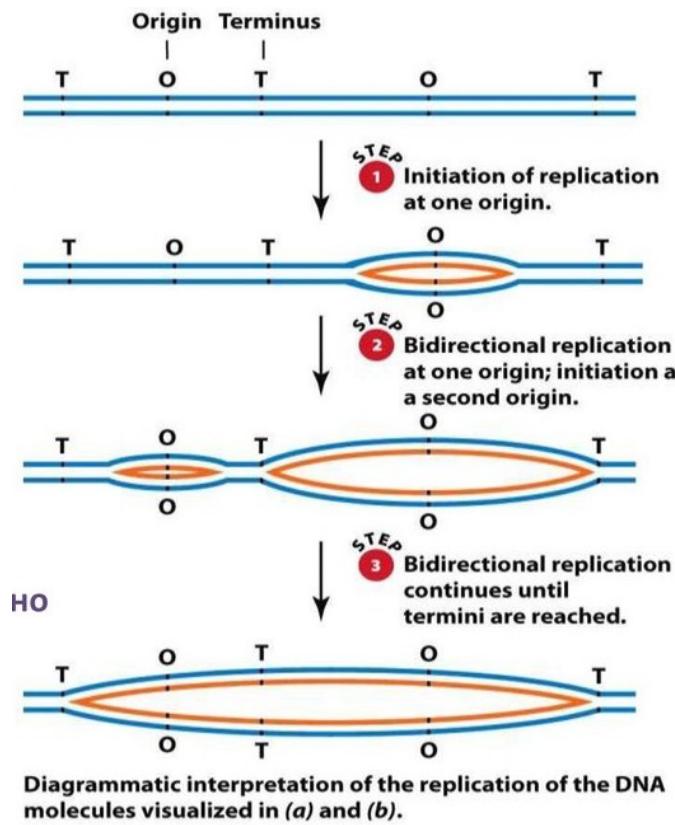


Рис. 8. Репликоны эукариот - участки от О (origin) до Т (termini).

- Белки dnaA узнают OriC, садятся на ДНК и начинают раскручивать его. То есть, если смотреть на принципиальную схему репликации (билет 3, рис. ??), dnaA является топоизомеразой кишечной палочки.
- Белок dnaC помогает белку dnaB сесть на ДНК и начать его разделять на две несвязанные цепи в том месте, где его расплела dnaA. Таким образом, dnaB - хеликаза кишечной палочки.
- SSB-белки удерживают две цепи ДНК, разделенные dnaB, от обратного связывания друг с другом.
- SeqA - белок, который садится на ДНК в области oriC после инициации репликации и не подпускает остальные белки для повторной инициации (потому что задача синтезировать две двухцепочечные молекулы ДНК из одной и распределить их по дочерним клеткам, а не размножать ДНК в геометрической прогрессии, пока у клетки не кончатся ресурсы).
- Dam - приходит на место посадки SeqA и «обрабатывает» (метилирует аденин) новые дочерние цепи ДНК так, чтобы на них dnaA не садилась уже по умолчанию (до тех пор, пока дочерняя клетка не вырастет), а не только пока их область OriC закрыт белками SeqA.

6.3. Топологические проблемы репликации.

При удвоении кольцевой ДНК бактерий могут получиться два кольца, сцепленных друг с другом (см. рис. 9). Их разделение производит топоизомеразу II, или гиразу. Она делает

разрыв, через который проводит двухцепочечную нить ДНК, и снова сшивает.

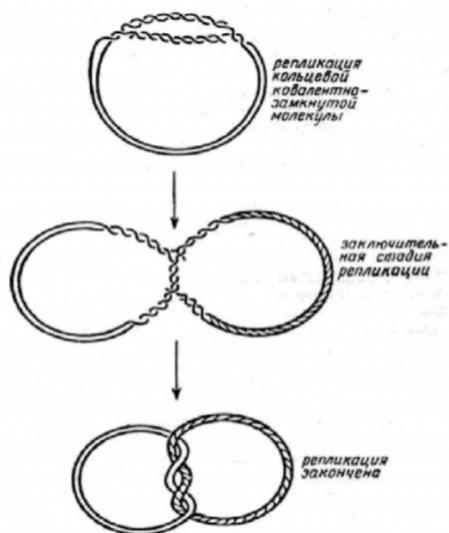


Рис. 9. Топологические проблемы репликации кольцевых молекул ДНК (на две материнских цепи ДНК в кольце тоже переплетены ирл, просто для упрощения восприятия их так нарисовали).

6.4. Сегрегация репликонов по бактериальным клеткам.

Прокариоты, в отличие от эукариот, не имеют такого сложного механизма деления клетки (см. билет про метоз и мейоз и сравнить с картинкой 10). Например, у них не образуется стадии «веретена». Конкретный механизм сегрегации хромосом (одна хромосома у прокариот является также репликоном, см. параграф выше) не описан.

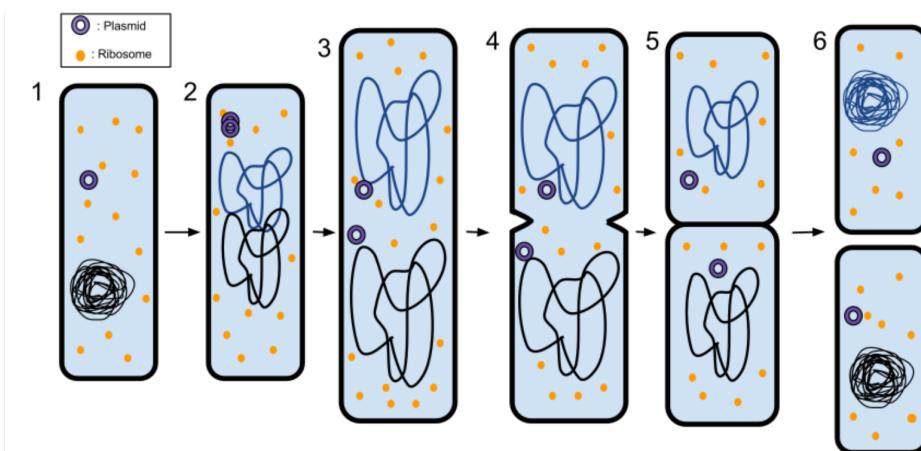


Рис. 10. Деление бактериальной клетки: 1) начальное состояние, 2) репликация ДНК, 3) сегрегация хромосом по клеткам, 4-5) образование перегородки между клетками, 6) финал, две клетки.

6.5. Репликация плазмид, мобильных элементов, фагов и вирусов.

- **Плазмиды** - небольшие кольцевые молекулы ДНК бактерий, физически обособленные от хромосом и способные к автономной репликации (то есть, вне стадии деления клетки). Они реплицируются по двум схемам: по типу катящегося колеса и по тета-типу (см. билет 3).
- **Мобильные генетические элементы** - куски генетического материала, которые могут путешествовать внутри генома и от одного организма к другому (буквально цепочки нуклеиновых кислот, отсоединяющиеся от хромосом в одном месте, диффундирующие, и встраивающиеся в другом)
- **Вирусы** - неклеточный инфекционный агент, который может воспроизводиться только внутри клеток. Вирус фактически представляет собой небольшую белковую машину и генетический материал.

Вирус проникает в организм хозяина. Затем вирус прикрепляется к мембране клетки, специальными белками буравит клеточную мембрану и впускает внутрь свой генетический материал. Белки клетки начинают реплицировать генетический материал вируса и на его основе собирать белки, из которых получаются новые вирусы.

Когда все ресурсы клетки израсходованы, размножившиеся копии вируса разрывает клетку и высвобождаются для заражения новых клеток.

- **Бактериофаги** - вирусы, поражающие бактерии. К ним справедливо все то же самое, что изложено про вирусы.

6.6. Особенности репликации в эукариотах. Теломеры и центромеры. Сегрегация хромосом.

У эукариот молекулы ДНК линейны. Рассмотрим обычную (не половую, важно) клетку эукариот.

- Всю жизнь от рождения от материнской клетки дочерняя клетка живет с хромосомами. Хромосомы - длинные нити ДНК, на которых в некоторых местах еще сидят структурные белки. Число типов хромосом и число копий одного типа варьируется от вида к виду.
- Перед делением клетки ДНК хромосомы реплицируются и из одной материнской хромосомы получается две дочерние, называющиеся **сестринскими хроматидами** (см. рис. 11).
- Хроматиды связаны белками в некоторой области. Эта область называется **центромера** (рис. 12).
- Концевые участки хромосом называются **теломеры**.
- В процессе клеточного деления происходит **сегрегация хромосом**. Каждой из двух дочерних клеток переходит одна из сестринских хроматид (см. подробнее митоз и мейоз). А ОКАЗАВШИСЬ В ДОЧЕРНЕЙ КЛЕТКЕ ХРОМАТИДЫ УЖЕ НАЗЫВАЮТСЯ СНОВА ХРОМОСОМАМИ НЕНАВИЖУ ОБОЗНАЧЕНИЯ БИОЛОГОВ

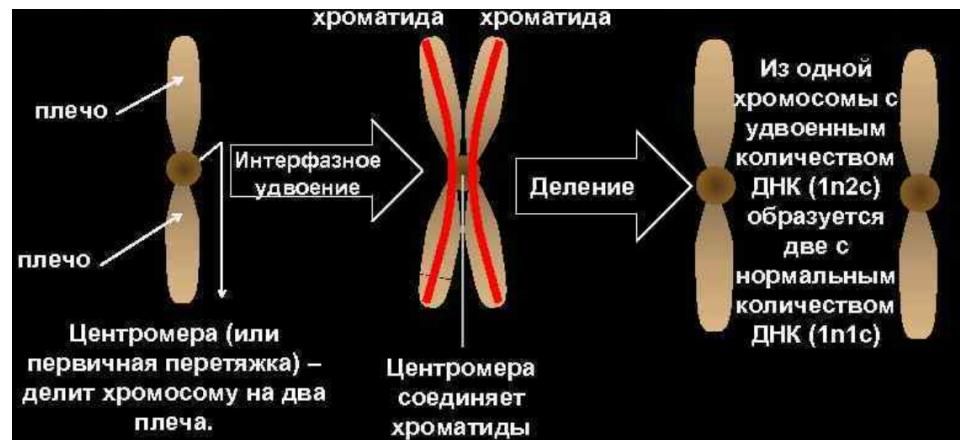


Рис. 11. Хроматиды и хромосомы

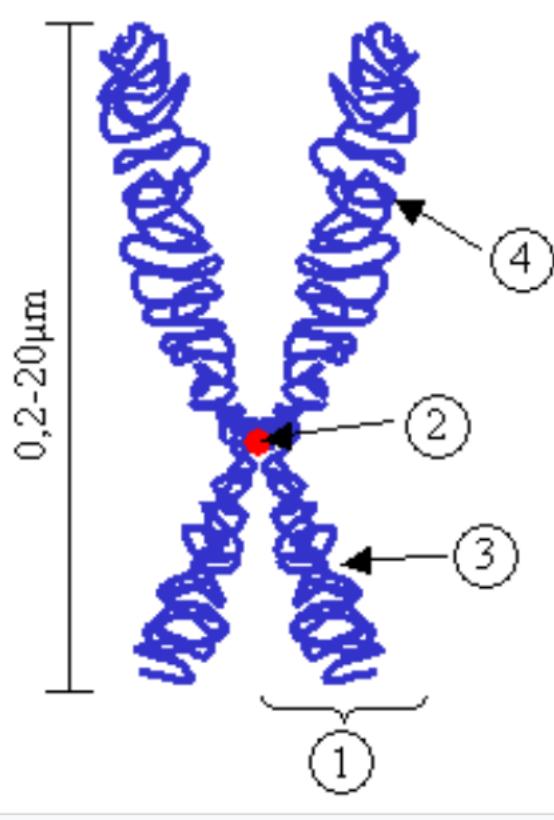


Схема строения хромосомы в метафазе митоза. 1 — хроматида; 2 — центромера; 3 — короткое плечо; 4 — длинное плечо.

Рис. 12. Хромосома, состоящая из двух хроматид

8. Гомологичная рекомбинация. Модель Холлидея. Гены рекомбинации (*recA*, *ssb*, *ruvABC*). *RecA* и SOS-ответ. Сайт-специфическая рекомбинация. Рекомбинация в эукариотах. Кроссинговер.

Рекомбинация – возникновение новых последовательностей ДНК за счёт разрывов и пересоединений уже имеющихся молекул. **Синаптический комплекс** – комплекс из двух ДНК с перекрещивающимися цепями

8.1. Гомологичная (общая) рекомбинация, модель Холлидея

Обмен участками между гомологичными (практически одинаковыми по последовательностям) молекулам ДНК. За счёт гомологичной рекомбинации не создаются новые последовательности, а перемешиваются имеющиеся похожие варианты одной и той же последовательности.

Характеризуется следующими стадиями (Рис 13)

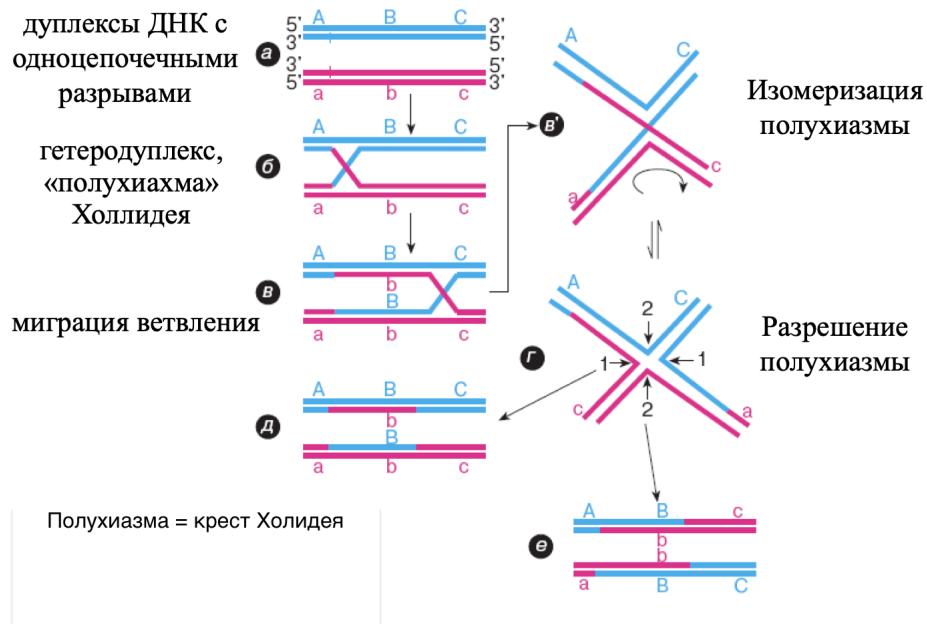
- 1) Делаются два разреза в одинаковых положениях цепи
- 2) Одна цепь высвобождается, за счёт *RecA* ищет гомологичный кусок
- 3) Образуется D-loop, засчёт того, что смещённая цепь вытеснила кусок другой
- 4) D-loop рвётся и образуется структура Холлидея

Крест Холлидея может двигаться при этом в обе стороны рекомбинирующих молекул, при этом сами молекулы врачаются вокруг своей оси, а гетеродуплексный (из разных кусков) участок удлиняется или укорачивается.

При этом цепи ДНК в гетеродуплексе не обязательно комплементарны и в результате рекомбинации могут образовывать разный результат. Если неспаренные основания не репарируются, то каждая цепь даст такой же дуплекс, как у родительской ДНК, если репарация происходит, то часть одной цепи станет совпадать со второй цепью.

Куски при этом можно по разному резать (см 13 д, е)

Таких структур может быть несколько, получаются из-за чего более сложные объекты



8.2. Гены рекомбинации

RecA – консервативный белок, который есть и у прокариотов, и у эукариотов, хотя при этом по нему можно получить мутацию. Важен для эволюции, поэтому как доп функция у бактерий – запускает SOS-ответ.

Умеет связываться с одноцепочечной ДНК (нарастает в сторону 3' конца) и искать гомологию, а потом переносить одноцепочечный фрагмент на двухцепочечный, который после расплетает, после чего формируется гетеродуплекс. Умеет связываться с двухцепочечной ДНК, но реже.

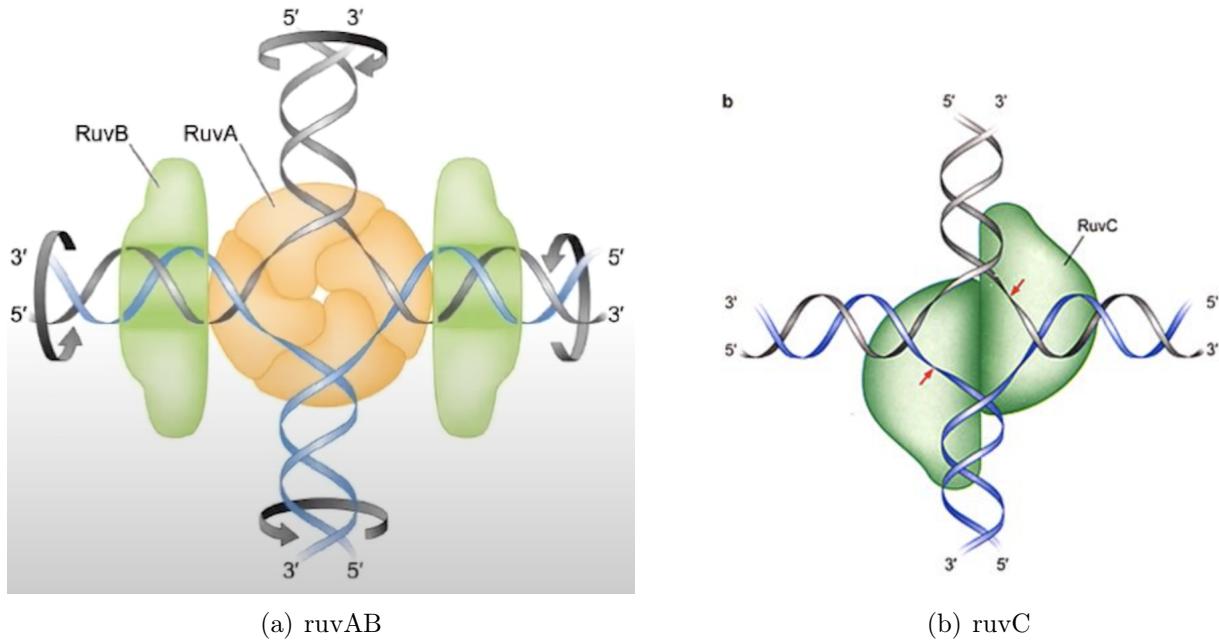
SSB – Связываются с одноцепочечной ДНК и не дают ей связаться в двойную цепь, что препятствовало бы рекомбинации. Также ускоряет среднюю скорость синтеза ДНК бактериальными и архейными полимеразами..

ruvABC

ruvA – связывается со всей структурой Холлидея и стабилизирует её

ruvB – белок, который вращает ДНК для продвижения креста. Тесно связывается с ruvA, поэтому вращение ДНК происходит ещё и относительно ruvA.

ruvC – белок, который разрезает структуру Холлидея симметрично с обеих сторон. У ruvC есть некоторая предпочтительная последовательность, поэтому разрезание происходит только на специфическом сайте.



8.3. SOS-ответ и recA

При малом количестве повреждений увеличивается количество uvrABCD.

При большом блокируется деление клеток и тем самым индуцируется синтез RecA, который нужен для рекомбинационной репарации. В активной конформации RecA стимулирует деградацию LexA (репрессора, в том числе себя и RecA, *umuCD* (ДНК полимераза-5), *uvrABCD*), после чего транскрибируются ген *uvrB*, продукты которого транскрибируются в эксцезионной репарации.

Также RecA может умножаться RecA, оставляя умножающийся

При ещё большем числе повреждений активируются штиCD, продукты которых позволяют полимеразе копировать нарушенный участок матрицы (вероятно позволяют им удлинять затравку), из-за чего больше мутаций.

8.4. Сайт-специфическая рекомбинация

Не требует протяжённых участков гомологии, но требуются строго определённые последовательности ДНК и специальный ферментативный аппарат.

Происходит обычно при встраивании бактериофага в геном бактерии.

Общая схема Последовательность, которая, способна к рекомбинации окружена специальными сайтами, которые узнаются рекомбиназой, а потом, например, меняют положение последовательности в последовательности. В зависимости от расположения сайтов рекомбинации получаются разные результаты, так как каждые сайты рекомбинации асимметричны.

Сам сайт при этом выглядит как асимметричный кусок посередине и два куска, которые одинаково читаются при прочтении с разных сторон (палиндромы). Каждые куски-палиндромы связываются с рекомбиназой, после чего вносятся разрывы в ДНК. (см Рис. 14). Сначала отрывается одна цепь, потом соединяется, формируя структуру, похожую на Холидеевский крест, а потом вторая нитка разрывается и перестраивается.

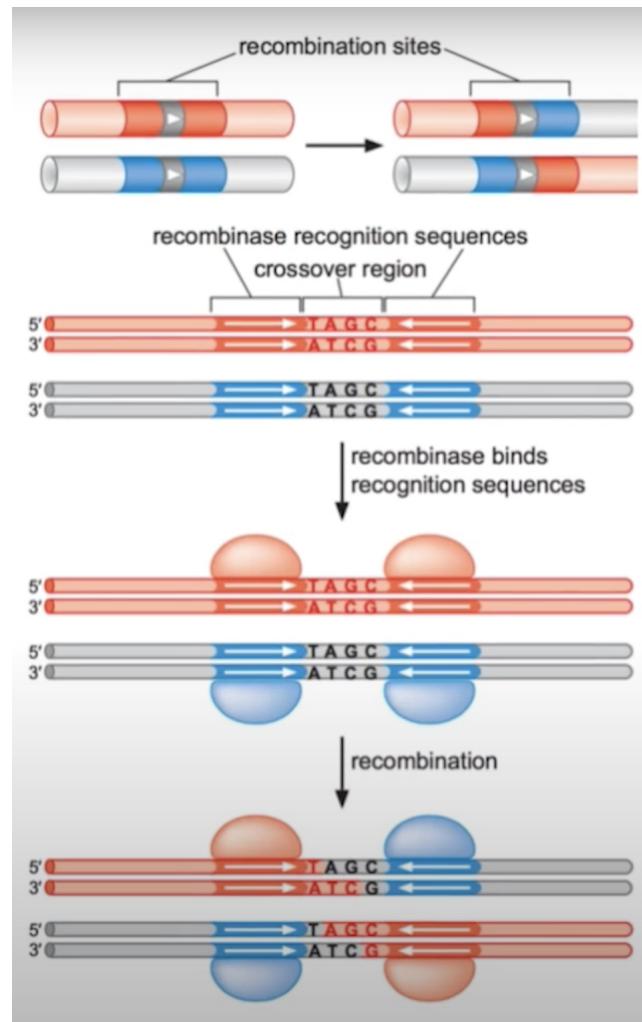


Рис. 14. Сайт-специфическая рекомбинация в общем виде

8.4.1. Транспозиция

Я не верю в адекватность пахома, так что пусть это тут тоже будет на всякий

Бывает нерепликативная и репликативная. Транспозоны (переезжающие куски) окружены похожими сайтами, как у сайт-специфической рекомбинации.

ДНК транспозоны Ген, необходимый для транспозиции (транспозон) окружён инвертированными концами. Дальше концов идут инвертированные концы (как палиндромы)

Инвертированные концевые повторы связываются, после них вносятся разрывы, а далее 3' концы встраиваются в ДНК, в которую будут вставляться транспозоны

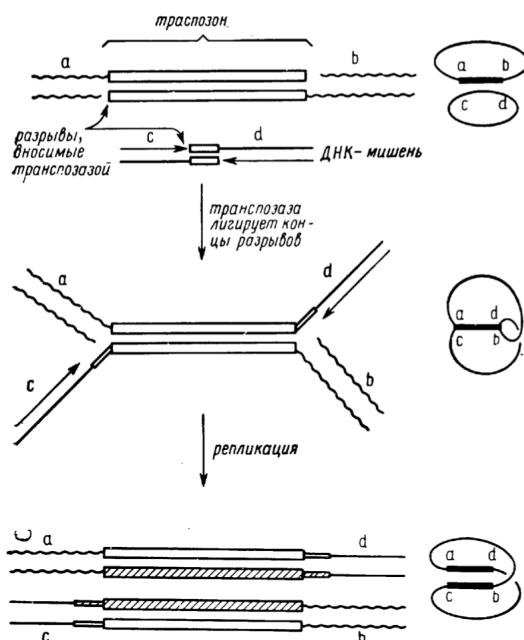


Рис. 77. Механизм репликативной транспозиции
 [Транспозаза вносит одноцепочечные разрывы точно по концу транспозона и «косой» двуцепочечный разрыв в ДНК-мишень. Затем транспозаза объединяет концы разрыва мишени с концами транспозона. Возникает промежуточное соединение, напоминающее две направленные навстречу друг другу репликативные вилки. Репликация приводит к удвоению транспозона и, если транспозон и ДНК-мишень находились на разных репликонах, к образованию коннотрегата (слева)]

Рис. 15. Сайт-специфическая рекомбинация в общем виде

Вирус-подобные ретропозоны Длинные концевые повторы, потом посередине интеграза (встраивает в геном) и обратная транскриптаза.

Сначала в ретропозоне в крайнем промоторе транскрибируется полная копия генома, потом обратной транскрипцией РНК переходит в ДНК, в котором образуются повторы, которые также, как и в случае транспозонов встраиваются в ДНК

9. Рекомбинация в эукариотах

Мейотическая Перед первым делением мейоза хроматиды удерживаются вместе, но из-за кроссинговера гомологичные хромосомы тоже оказываются связаны (для правильной ориентации). Как правило рекомбинация начинается с одноцепочечного разрыва и происходит по модели Мезелсона Рэддинга (Рис 16)

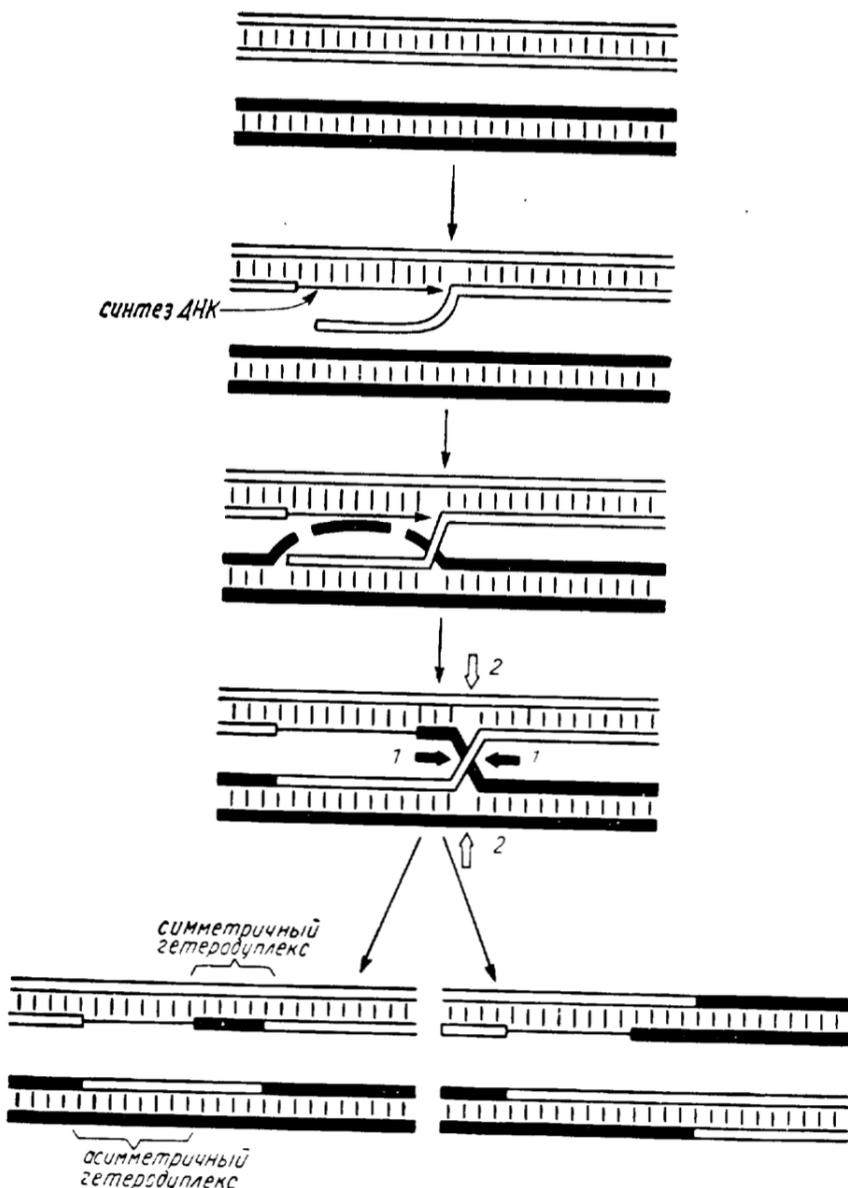


Рис. 67. Модель рекомбинации Мезелсона и Рэддинга

[Согласно этой модели, протяженной гетеродуплексный участок возникает лишь на одной из рекомбинирующих молекул (асимметричный гетеродуплекс), что позволяет объяснить многочисленные генетические данные по рекомбинации в мейозе у аскомицетов. При рекомбинации возникает одна структура Холидея. Если ее разрезать по стрелкам 1, то обмена флангами рекомбинирующих молекул не происходит и наблюдается лишь генная конверсия (если гетеродуплекс репарируется) или постмейотическая сегрегация (слева внизу). При разрезании полухиазмы по стрелкам 2 происходит кроссинговер (справа внизу)]

Рис. 16. Мейотическая рекомбинация. Хиазм – область связывания засчёт кроссинговера, похожая на Холидеевский крест

Митотическая Рекомбинация происходит между гомологичными генами соматических клеток многоклеточных или при вегетативном росте одноклеточных. Большинство случаев рекомбинации связаны с репарацией. Притом стимулирует рекомбинацию не только разрыв, но и двуцепочечная брешь (Рис. 17). Характерно образование двух холидеевских крестов. Брешь при этом застраивается по образу и подобию неповреждённой молекулы. Центральную роль снова играет белок, похожий на RecA.

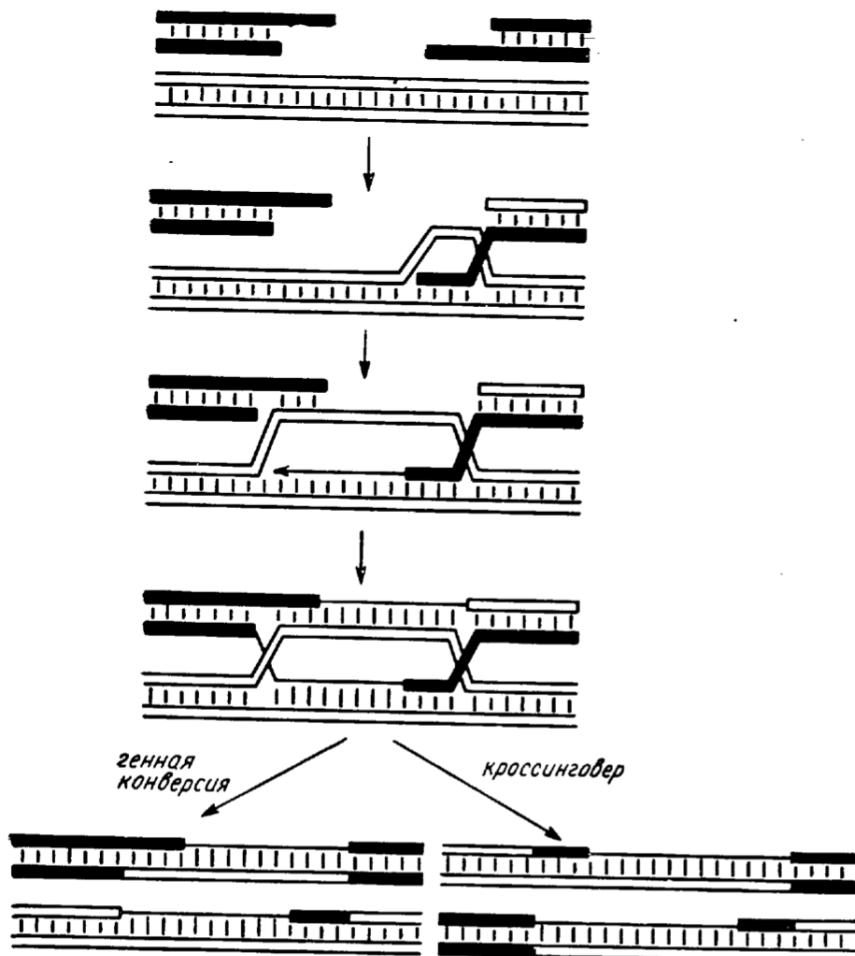


Рис. 64. Модель рекомбинации, инициируемой двуцепочечным разрывом одного из взаимодействующих дуплексов
 (Считается, что разрыв может расширяться до бреши за счет действия экзонуклеаз. Согласно этой модели, в ходе рекомбинации возникает промежуточное соединение с двумя холидеевскими структурами. Если обе полухиазмы разрезать одинаково, то рекомбинационное взаимодействие не будет сопровождаться кроссинговером, если же полухиазмы разрезать по-разному, то произойдет кроссинговер фланговых маркеров)

Рис. 17. Митотическая рекомбинация

Кроссинговер – рекомбинационный обмен участками гомологичных хромосом во время коньюгации (их спаривание) в профазе первого деления мейоза. (Разрыв и переклеивание родительских хромосом).

10.

11.

12.

13.