

Επιδιόρθωση και ανασυνδυασμός του DNA

- Η βλάβη του DNA είναι αναπόφευκτη και οφείλεται σε σφάλματα στην αντιγραφή ή περιβαλλοντικές προσβολές.
- Μπορεί να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο ή ανεξέλεγκτη αναπαραγωγή, όπως όταν τα φυσιολογικά κύτταρα μετασχηματίζονται σε καρκινικά κύτταρα.
- Η απλούστερη πηγή βλάβης του DNA είναι η ενσωμάτωση λάθος βάσεως κατά τη διάρκεια της αντιγραφής που διαφεύγει την διόρθωση της πολυμεράσης του DNA.
- Άλλα σφάλματα περιλαμβάνουν την εισαγωγή, διαγραφή ή διακοπές σε ένα ή και τα δύο σκέλη, που μπορεί να σταματήσει εντελώς τη σύνθεση του DNA.
- Υπάρχουν συστήματα επισκευής για την αναγνώριση και την επιδιόρθωση ζημιών στο DNA.
- Ειδικές DNA πολυμεράσες, που ονομάζονται επιρρεπείς σε σφάλματα πολυμεράσες, μπορούν να συνθέσουν την ολοκλήρωση της κατεστραμμένης αλληλουχίας.

Ενδογενείς αντιδράσεις καταστροφής του DNA

Ορισμένες από τις σημαντικότερες αντιδράσεις καταστροφής του DNA παρουσιάζονται με την κατά προσέγγιση συχνότητα εμφάνισής τους, σε αριθμό αντιδράσεων καταστροφής ανά κύτταρο θηλαστικού ανά ημέρα.

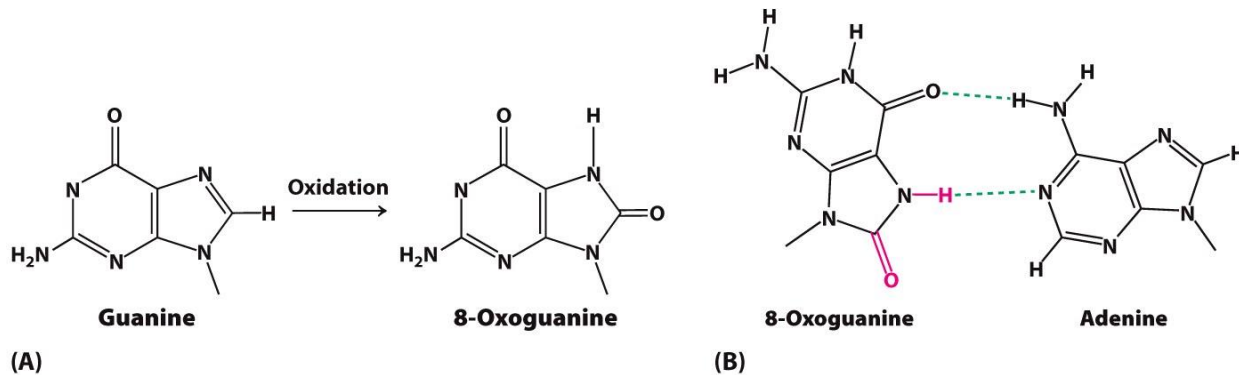
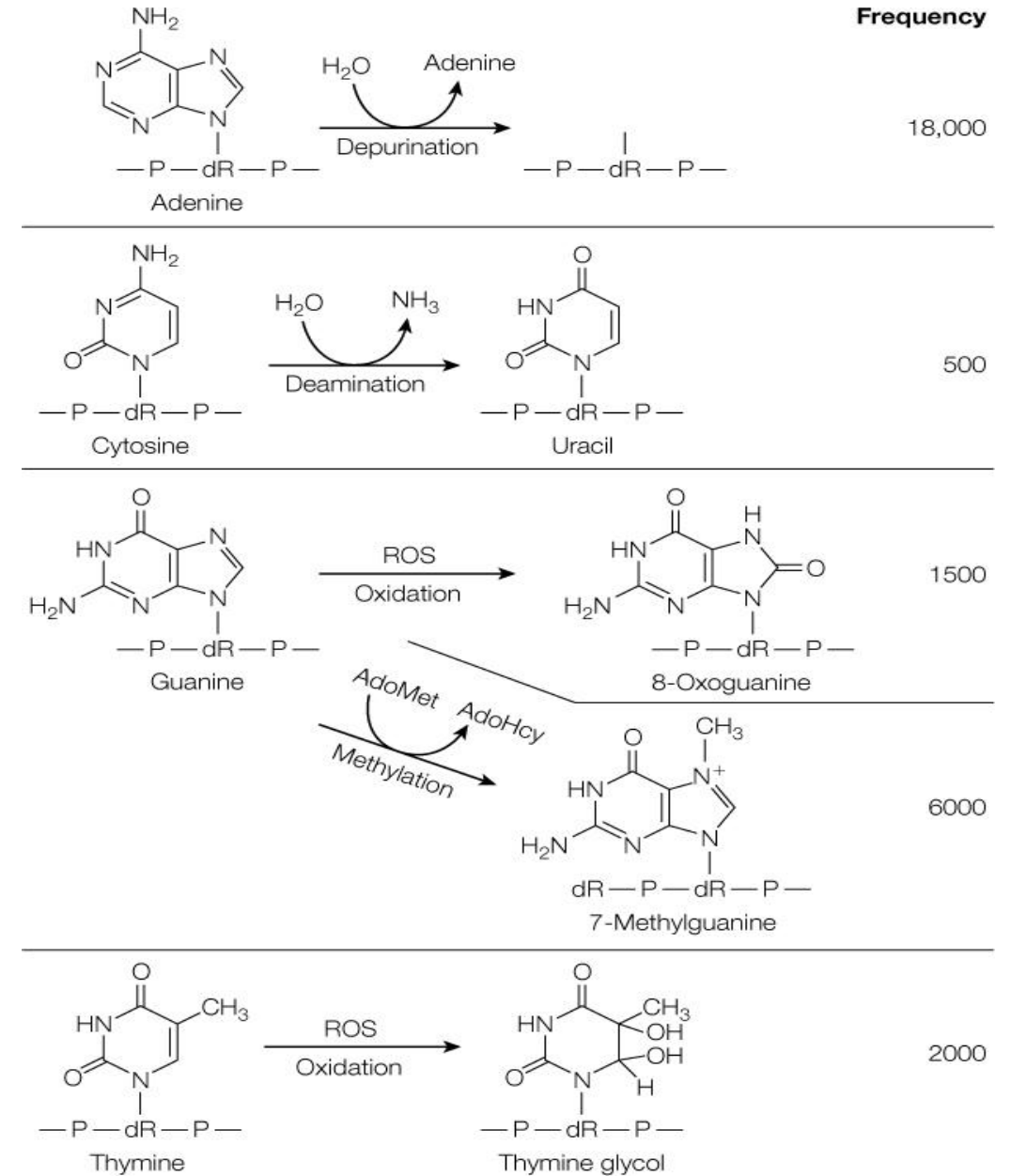


Figure 35.2
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Ρίζες υδροξυλίου οξειδώνουν γουανίνη σε 8-οξογουανίνη, η οποία δημιουργεί ζεύγη βάσεων με αδερίνη αντί της κυτοσίνης κατά τον επόμενο γύρο αντιγραφής.



Αλλαγές

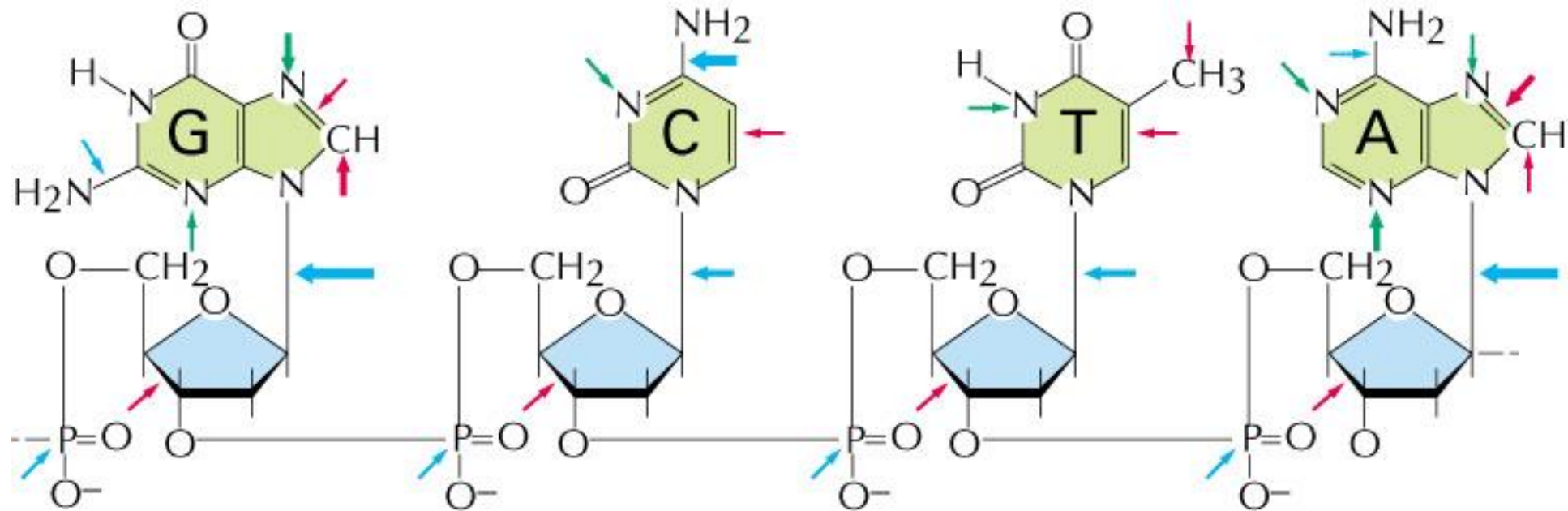


Figure 5-46. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

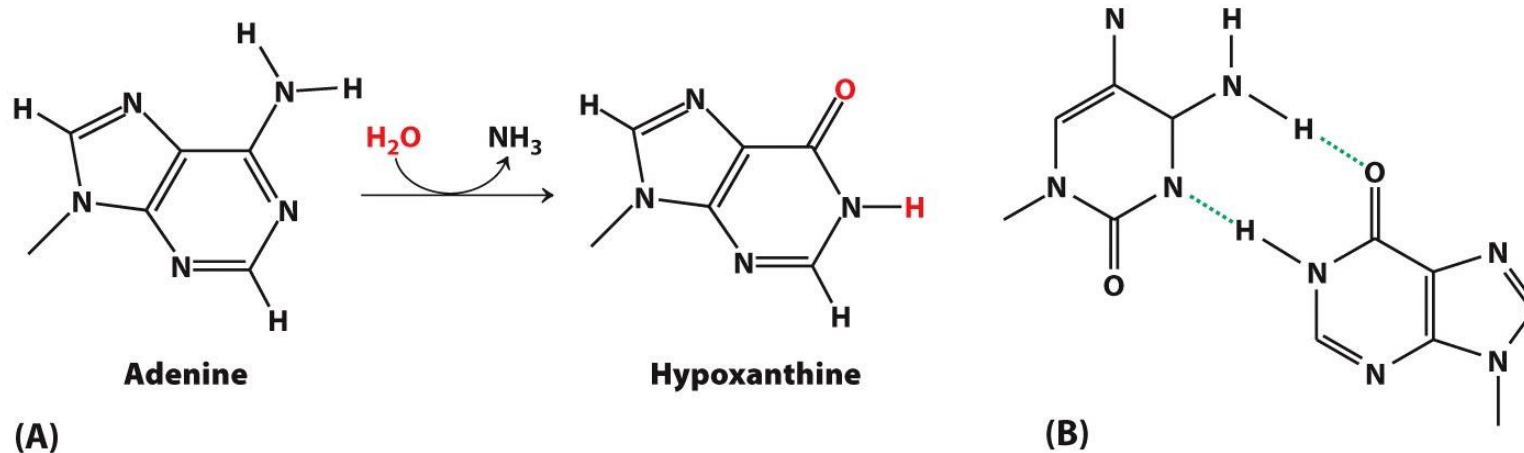
Οξειδωτική βλάβη

Υδρόλυση

Μη ελεγχόμενη μεθυλίωση

Λάθη στην αντιγραφή του DNA

Bases Can Be Damaged by Oxidizing Agents, Alkylating Agents, and Light



(A)

Figure 35.3

Biochemistry: A Short Course, Second Edition

© 2013 W. H. Freeman and Company

(B)

Μεταλλαξιγόνα: χημικές ουσίες που αλλοιώνουν συγκεκριμένες βάσεις μετά την αντιγραφή

Αποαμινίωση: Αδενίνη μπορεί να αποαμινωθεί, σχηματίζοντας υποξανθίνη, η οποία ζευγαρώνει με την κυτοσίνη αντί της θυμιδίνης.

Λάθη στο DNA

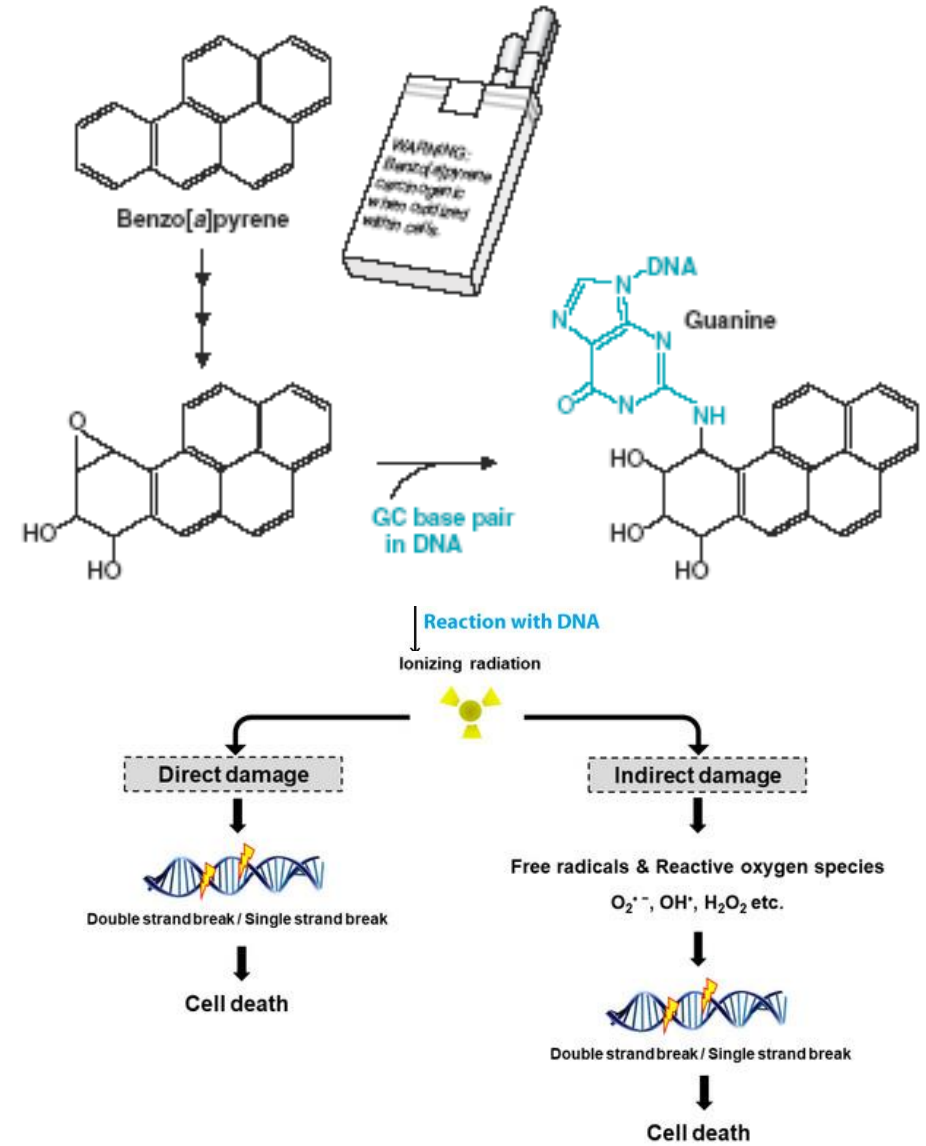
Bases Can Be Damaged by Oxidizing Agents, Alkylating Agents, and Light

Βάσεις μπορούν επίσης να αντιδράσουν με υδρογονάνθρακες σε μία αντίδραση αλκυλιώσεως.

Αφλατοξίνη μετατρέπεται σε ένα ιδιαίτερα δραστικό εποξειδίο που αντιδρά με γουανίνη σχηματίζουν μια ένωση η οποία, κατά τη διάρκεια της αντιγραφής, μετατρέπει ένα ζεύγος βάσεων GC σε ένα ζεύγος βάσεων AT.

Χημικές ουσίες στον καπνό του τσιγάρου και καυσαέρια των αυτοκινήτων μπορούν να μετατραπούν σε δραστικά εποξειδία επίσης.

Υψηλής ενέργειας ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία, όπως ακτίνες-X, μπορεί να προκαλέσει διάσπαση στους κλώνους του DNA.



Επισκευή DNA σε δράση

Starting genome
Irradiated genome
(fragmented)
Spontaneously
Reassembled genome

C 0 1.5 3

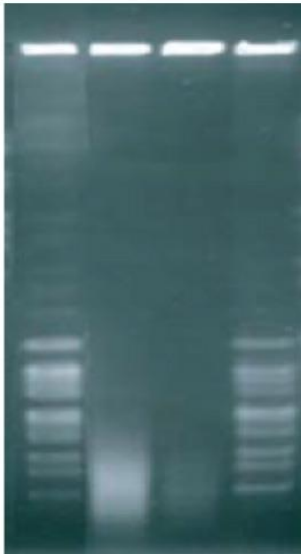
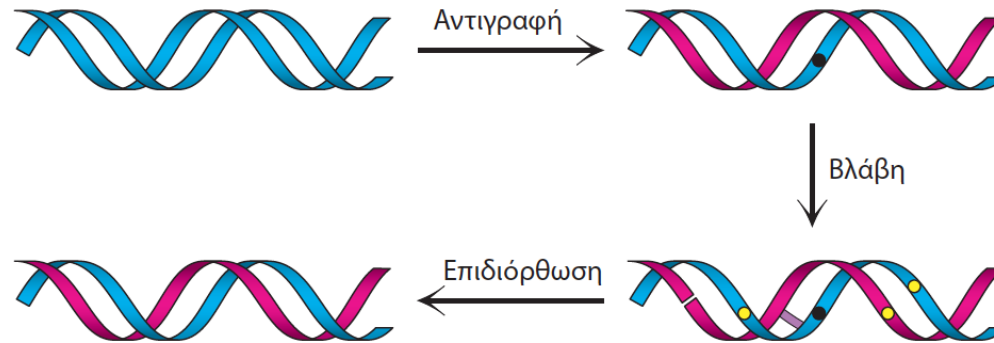


Figure 28.3

Biochemistry, Eighth Edition

Adapted from K. Zahradka et al., *Nature* 445:569–573, 2006

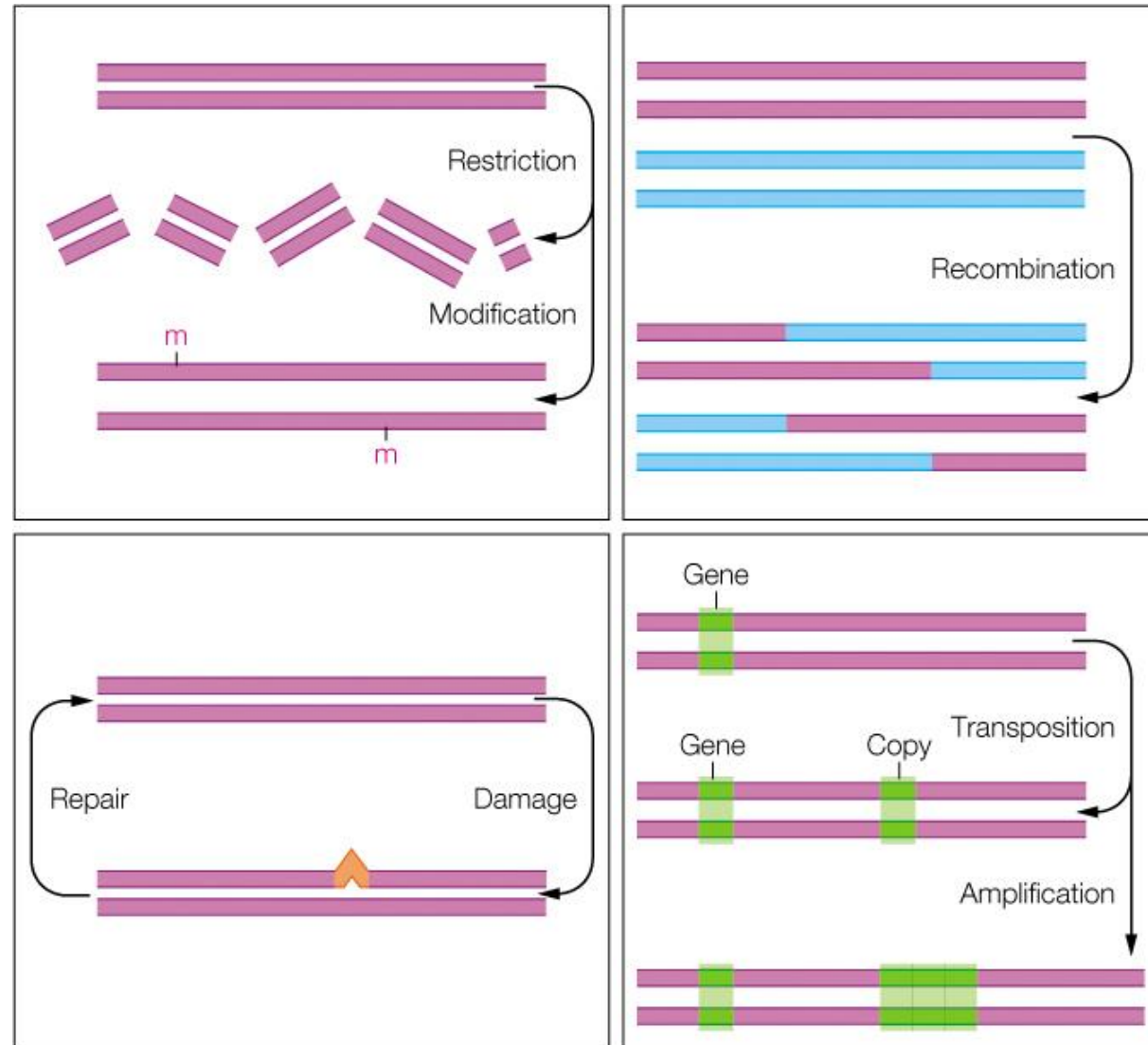


Το DNA μπορεί να καταστραφεί από μια σειρά περιβαλλοντικών παραγόντων. Συνεπώς, απαιτούνται μηχανισμοί επισκευής DNA για την επισκευή του κατεστραμμένου DNA.

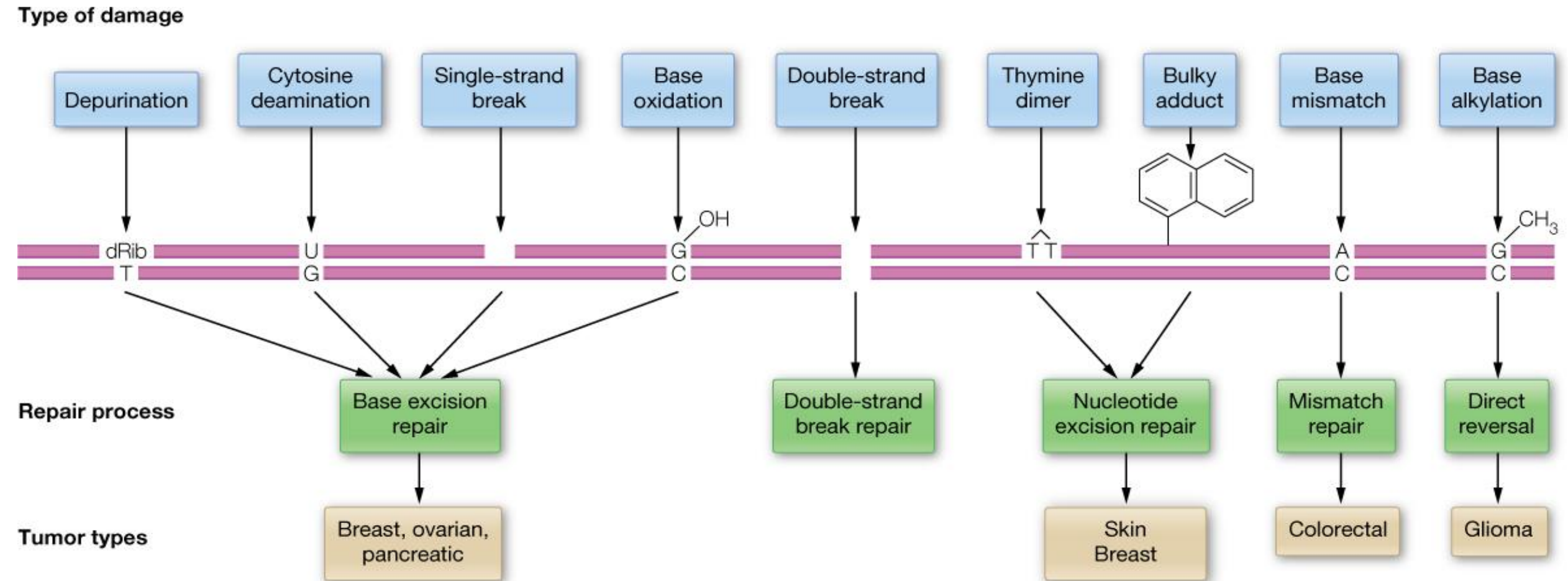
Το βακτήριο *Deinococcus radiodurans* έχει ιδιαίτερα ισχυρούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA

Ανθεκτικό σε δόσεις γ- ακτινοβολίας περισσότερες από 1000 φορές μεγαλύτερες από εκείνες που θα σκότωναν έναν άνθρωπο.

Σημαντικές διεργασίες στην αναδιαμόρφωση πληροφοριών



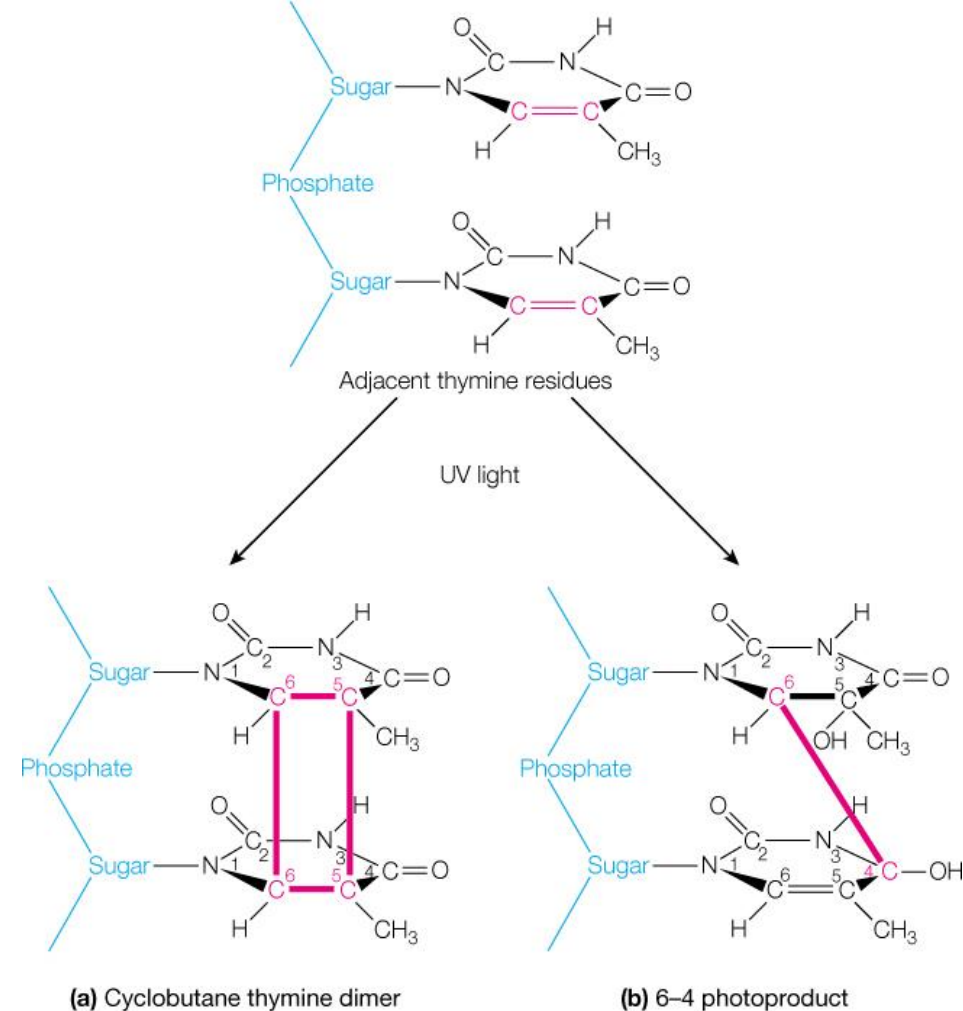
Τύποι βλαβών στο DNA και διαδικασίες επιδιόρθωσης



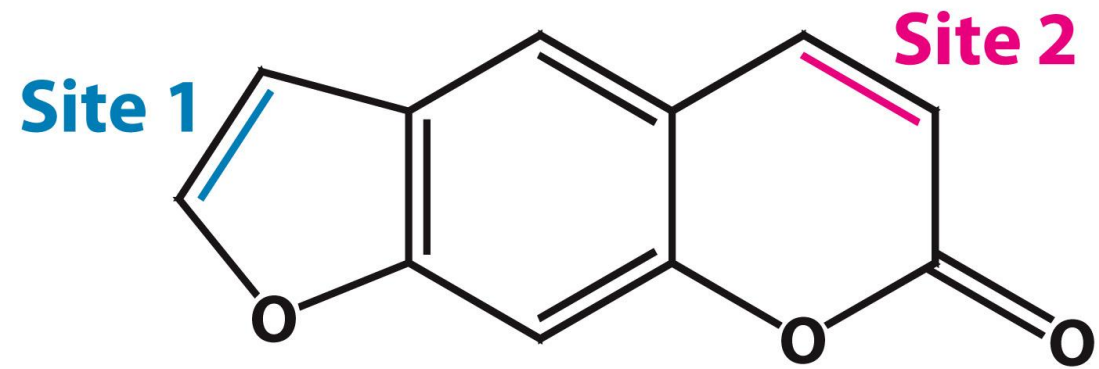
Μαύρισμα



Figure 35.5
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

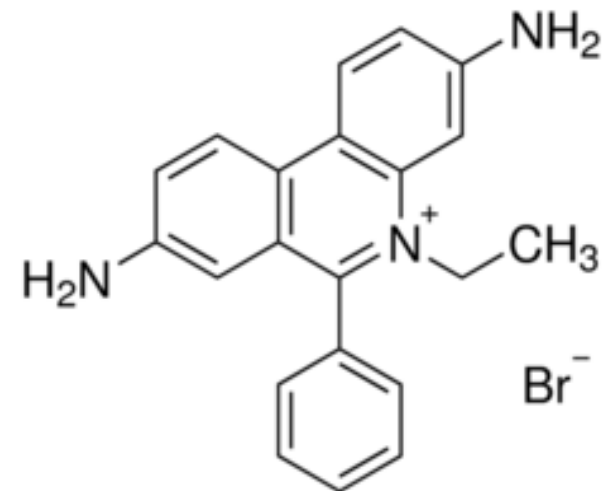
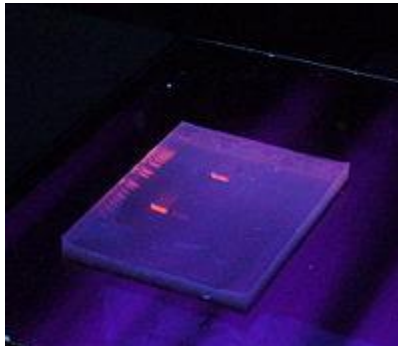


Υπεριώδης ακτινοβολία αυξάνει τη χρώση του δέρματος αλλά προκαλεί και βλάβες στο DNA
Συνδέει ομοιοπολικά γειτονικές πυριμιδίνες εμποδίζοντας έτσι την αντιγραφή.
Το διμερές κυκλοβουτάνιο παραμορφώνει το DNA και εμποδίζοντας την αντιγραφή- είναι το πιο θανατηφόρο
φωτοπροϊόν στους φάγους ή τα βακτήρια.
Το φωτοπροϊόν 6-4 προκαλεί ανακριβή αντιγραφή και είναι το πιο μεταλλαξιογόνο διμερές



Psoralen

Figure 28.36
Biochemistry, Eighth Edition
 © 2015 Macmillan Education



Άμεση επιδιόρθωση

Άμεση επιδιόρθωση διορθώνει τα λάθη χωρίς να χρειάζεται να αφαιρεθεί οποιαδήποτε κομμάτια του DNA.

DNA φωτολυάση χρησιμοποιεί την ενέργεια του φωτός για να διασπαστούν διμερή πυριμιδίνης.

Τα θηλαστικά και οι βάτραχοι δεν διαθέτουν αυτόν τον μηχανισμό επιδιόρθωσης.

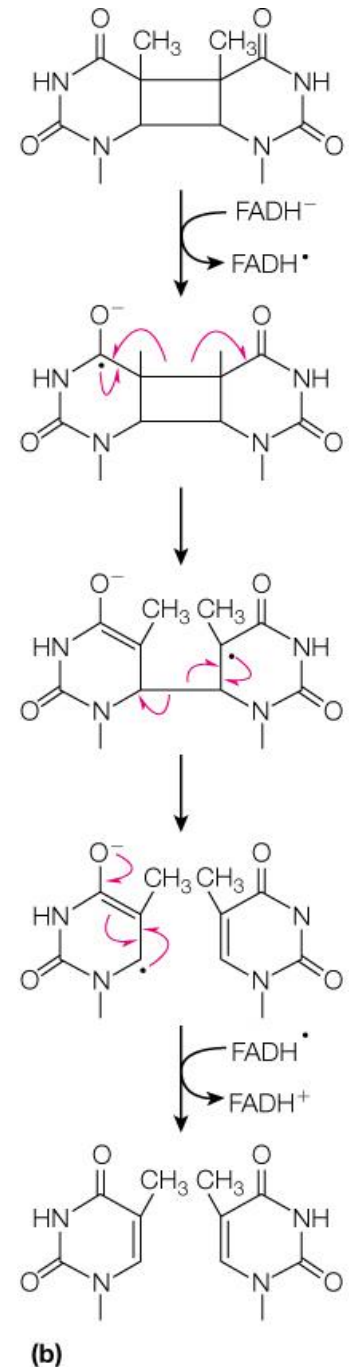


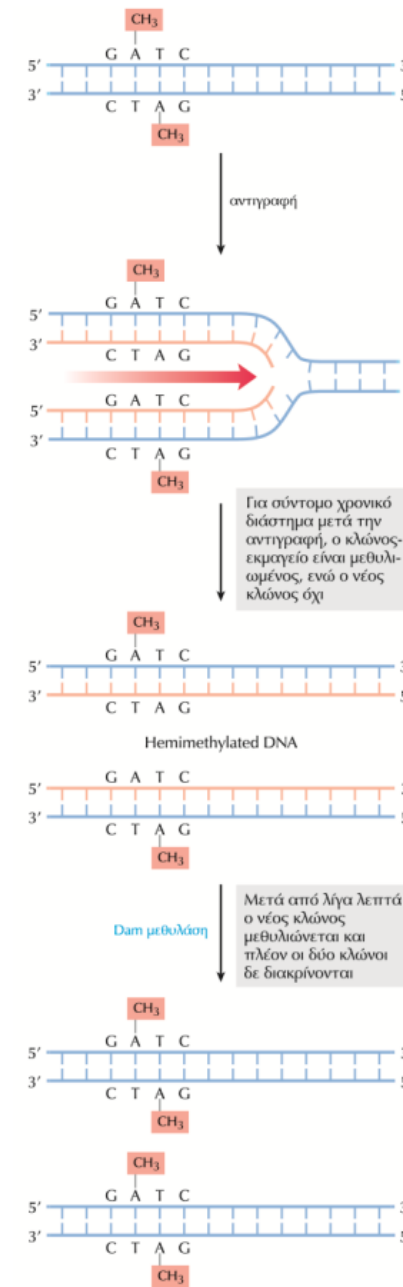
TABLE 25-5	Types of DNA Repair Systems in <i>E. coli</i>
Enzymes/proteins	Type of damage
Mismatch repair Dam methylase MutH, MutL, MutS proteins DNA helicase II SSB DNA polymerase III Exonuclease I Exonuclease VII RecJ nuclease Exonuclease X DNA ligase	Mismatches
Base-excision repair DNA glycosylases AP endonucleases DNA polymerase I DNA ligase	Abnormal bases (uracil, hypoxanthine, xanthine); alkylated bases; in some other organisms, pyrimidine dimers
Nucleotide-excision repair ABC excinuclease DNA polymerase I DNA ligase	DNA lesions that cause large structural change (e.g., pyrimidine dimers)
Direct repair DNA photolyases	Pyrimidine dimers
<i>O</i> ⁶ -Methylguanine-DNA methyltransferase	<i>O</i> ⁶ -Methylguanine
AlkB protein	1-Methylguanine, 3-methylcytosine

Βλάβη στο DNA μπορεί να ανιχνευθεί και να επισκευαστεί

Συστήματα επιδιόρθωσης του DNA ακολουθούν την ίδια διαδικασία:

1. Αναγνώριση της ακατάλληλης βάσης (εξ).
2. Αφαίρεση της ακατάλληλης βάσης (εξ).
3. Συμπλήρωση του κενού με DNA πολυμεράση I και DNA λιγάση.

Ο πρώτος μηχανισμός επιδιόρθωσης DNA εμφανίζεται όταν η DNA πολυμεράση διορθώνει το νέο κλώνο DNA.



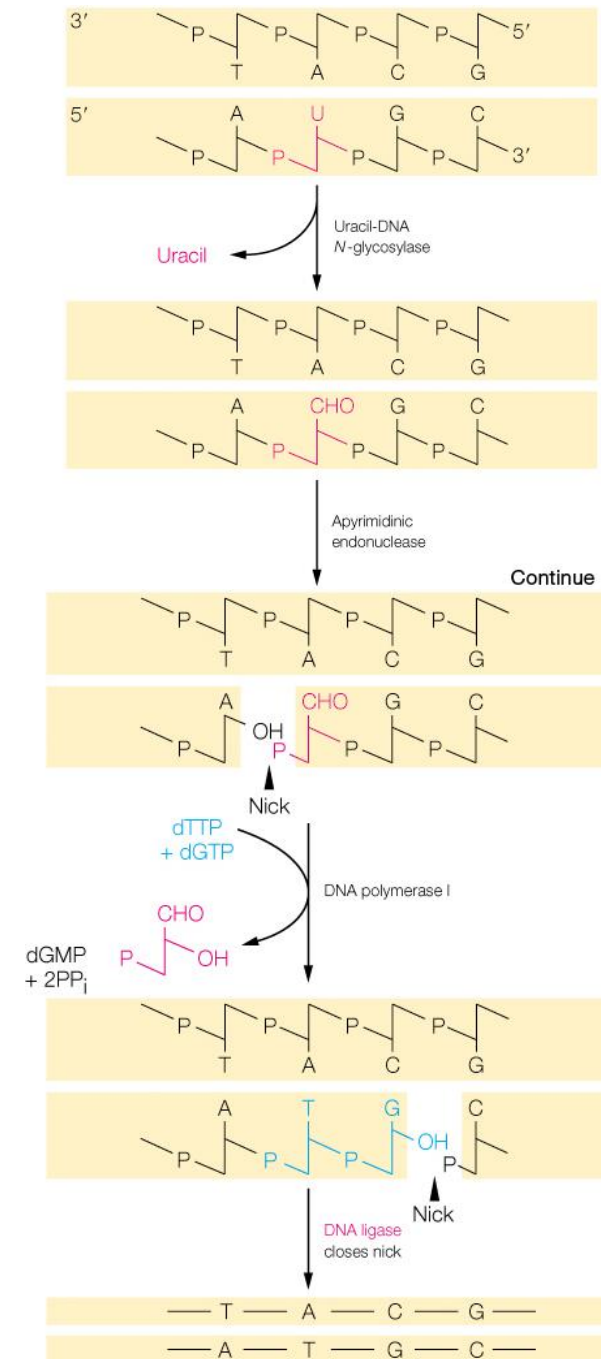
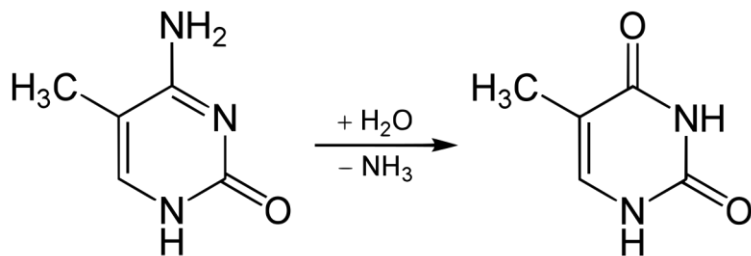
Επιδιόρθωση με εκτομή βάσης

Το ένζυμο AlkA διασπά τη βάση. Το σημείο που λείπει η βάση ονομάζεται AP σημείο.

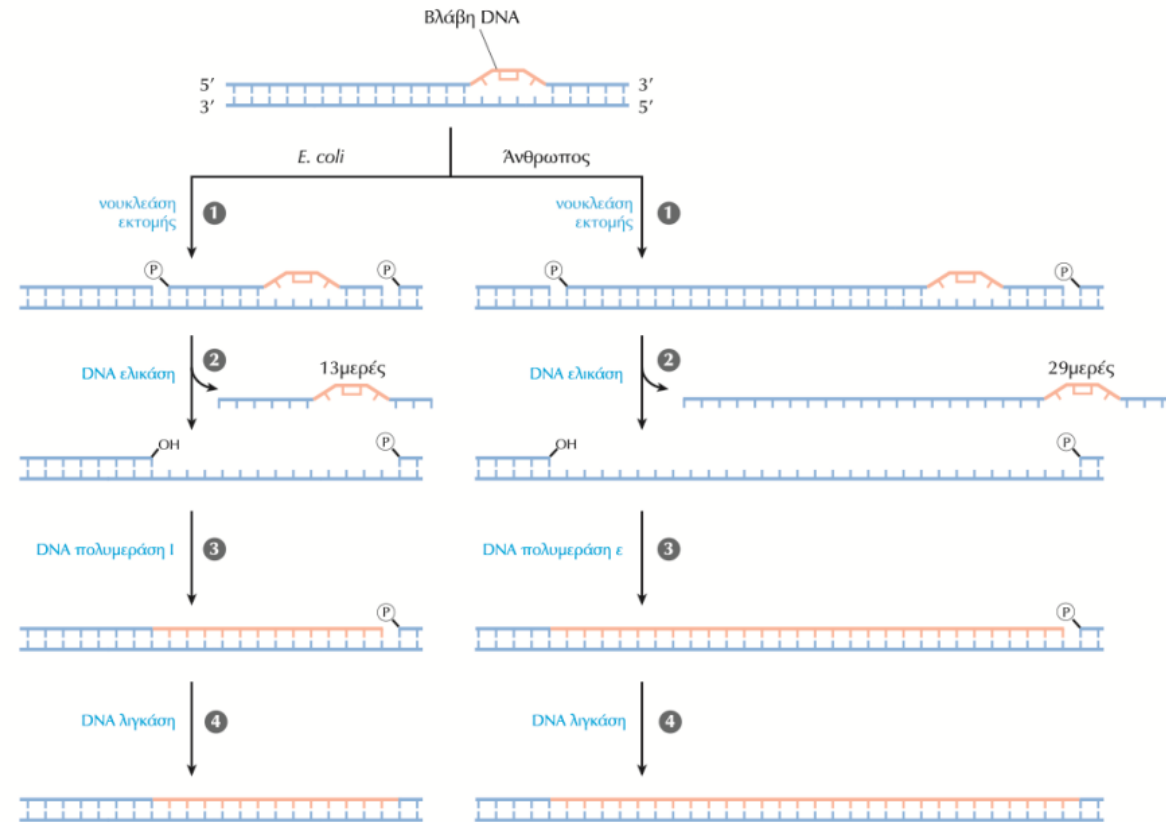
Διασπάση του DNA στην θέση AP από την AP ενδονουκλεάση και μια φωσφοδιεστεράσης αποκόπτει την φωσφορική δεοξυριβόζη.

DNA πολυμεράσης I και DNA λιγάσης.

Επιδόρθωση με εκτομή βάσης διορθώνει την πιο κοινή μετάλλαξη σημείου στον άνθρωπο, την **απαμίνωση της μεθυλο κυτοσίνης σε θυμίνη**.



Επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίων



Εάν η εκτομή βάσης αποτυγχάνει, η μετάλλαξη μπορεί να διορθωθεί από το σύστημα επιδιόρθωσης εκτομής νουκλεοτιδίων.

Ένα σύμπλοκο ένζυμο αναγνωρίζει την παραμόρφωση του DNA που προκαλείται από λαθος βάση.

Η **UvrABC excinuclease** διασπά το DNA σε δύο θέσεις (4/3' 8/5')

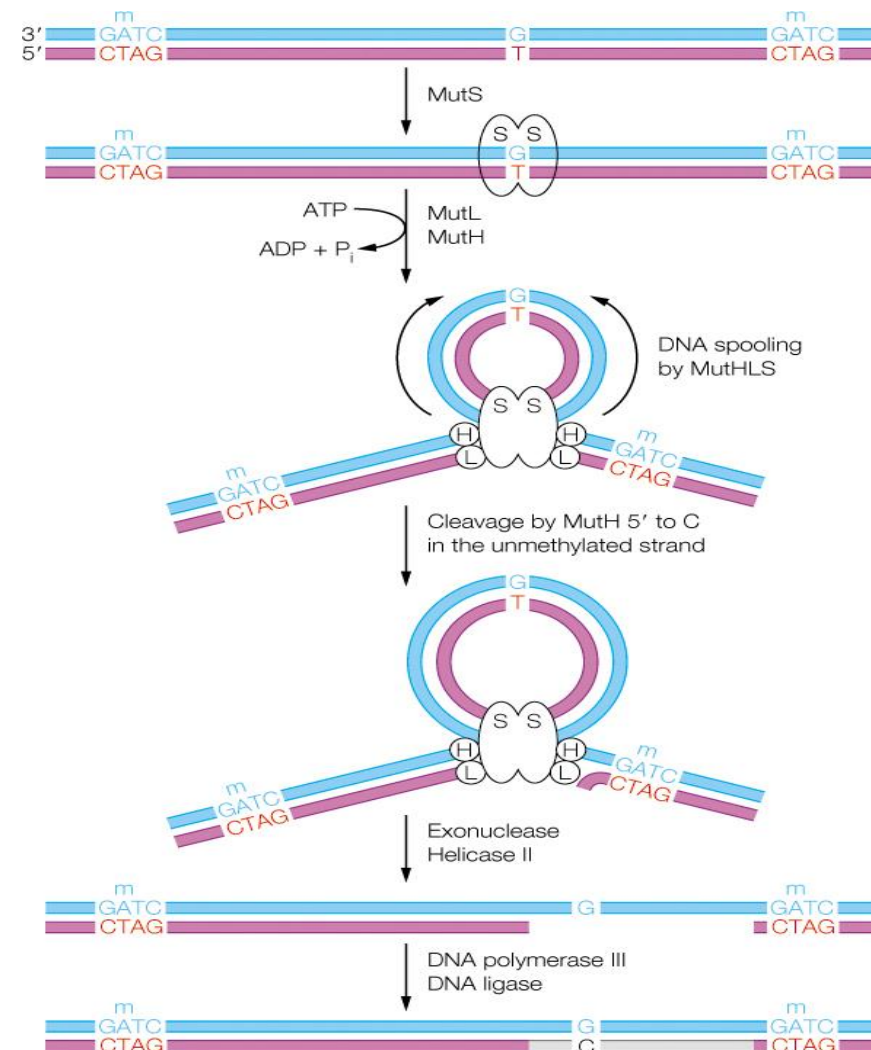
Επιδόρθωση με εκτομή βάσεων

Mismatch repair systems ερευνά την διπλή έλικα του DNA για λάθος βάσης, αποκοπή της περιοχής και αντικατάσταση

Στην *E. coli*, τα ένζυμα επιδιόρθωσης αναντιστοιχιών αναγνωρίζουν τη νέα αντιγραφόμενη αλυσίδα από την έλλειψη μεθυλίωσης στις θέσεις -GATC- από το MutS

Το σύμπλοκο MutHLS σαρώνει το DNA για την πλησιέστερη αλληλουχία 5'-GATC, διασπά στο 5' του G στο μη μεθυλιωμένο σκέλος και αποκόπτει το DNA πίσω από την αναντιστοιχία.

Επειδή η μεθυλίωση συμβαίνει μετά την αντιγραφή, οι πρωτεΐνες επισκευής αναγνωρίζουν το μεθυλιωμένο ινίδιο ως το μητρικό και αντικαθιστούν τις βάσεις από το άλλο



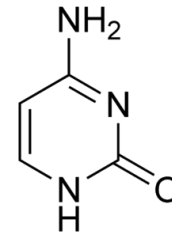
Σπουδαιότητα της θυμίνης στο DNA

The Presence of Thymine Instead of Uracil in DNA Permits the Repair of Deaminated Cytosine

Θυμίνη στο DNA χρησιμοποιείται αντί της ουρακίλης για να διατηρηθεί η ακεραιότητα της γενετικής πληροφορίας,

Ουρακίλη ζεύγεται με αδενίνη A-U

Κυτοσίνη απαμινώνει αυθόρμητα για να σχηματίσει ουρακίλη.



Χρήση της θυμιδίνης αντί ουρακίλη επιτρέπει την ανίχνευση απαμίνωσης της κυτοσίνης.

Αν ουρακίλη ανιχνεύεται στο DNA, αφαιρείται με ουρακίλη DNA γλυκοζυλάση και το προκύπτον AP επισκευάζεται με την εισαγωγή της κυτοσίνης.

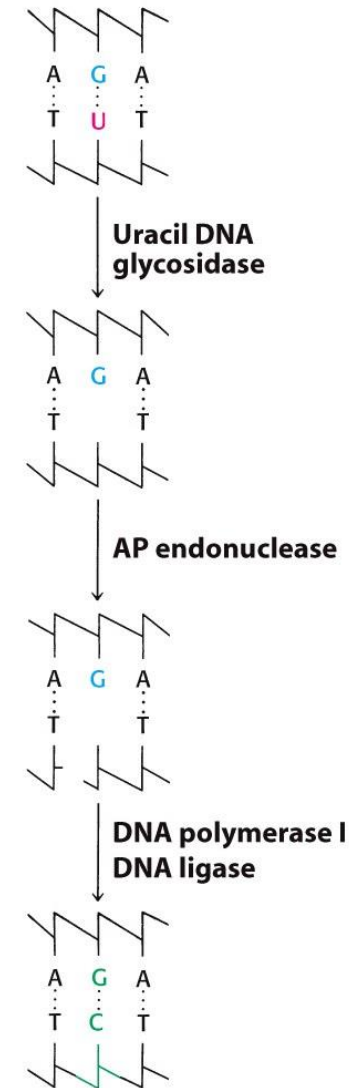


Figure 35.11
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Καταστρέφοντας το DNA-αναστολή ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων

Many cancers are caused by the defective repair of DNA

Οι καρκίνοι προκαλούνται από μεταλλάξεις σε γονίδια που ελέγχουν την ανάπτυξη.

Ένζυμα επισκευής DNA δρουν ως καταστολείς όγκου.

Αν αντίγραφα ενζύμου επιδιόρθωσης DNA είναι μεταλλαγμένο, ο καρκίνος είναι πιο πιθανό να αναπτύχθει (ξηροδερμία).

Επειδή οι όγκοι δεν διαθέτουν συστήματα επισκευής DNA, βλάβες του DNA με χημικά όπως η κυκλοφωσφαμίδη και σισπλατίνη είναι μια στρατηγική για την πρόληψη της ανάπτυξης του καρκίνου.

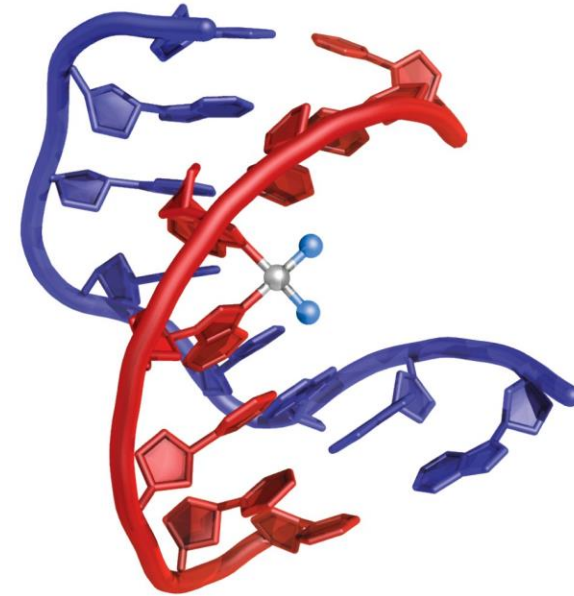
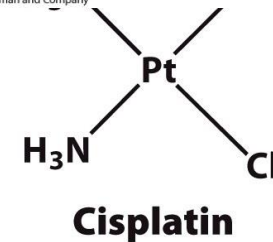


Figure 33.29
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company



Ελατώματα στον DNA

TABLE 28.2

Disease

Xeroderma pigmentosum (sl

Lynch syndrome (colon canc

Breast and ovarian cancer

Renal and lung cancer

Table 28.2

Biochemistry, Eighth Edition

© 2015 Macmillan Education

Repair Pathway

Nucleotide excision repair

Mismatch repair

Double-strand break repair

Base excision repair

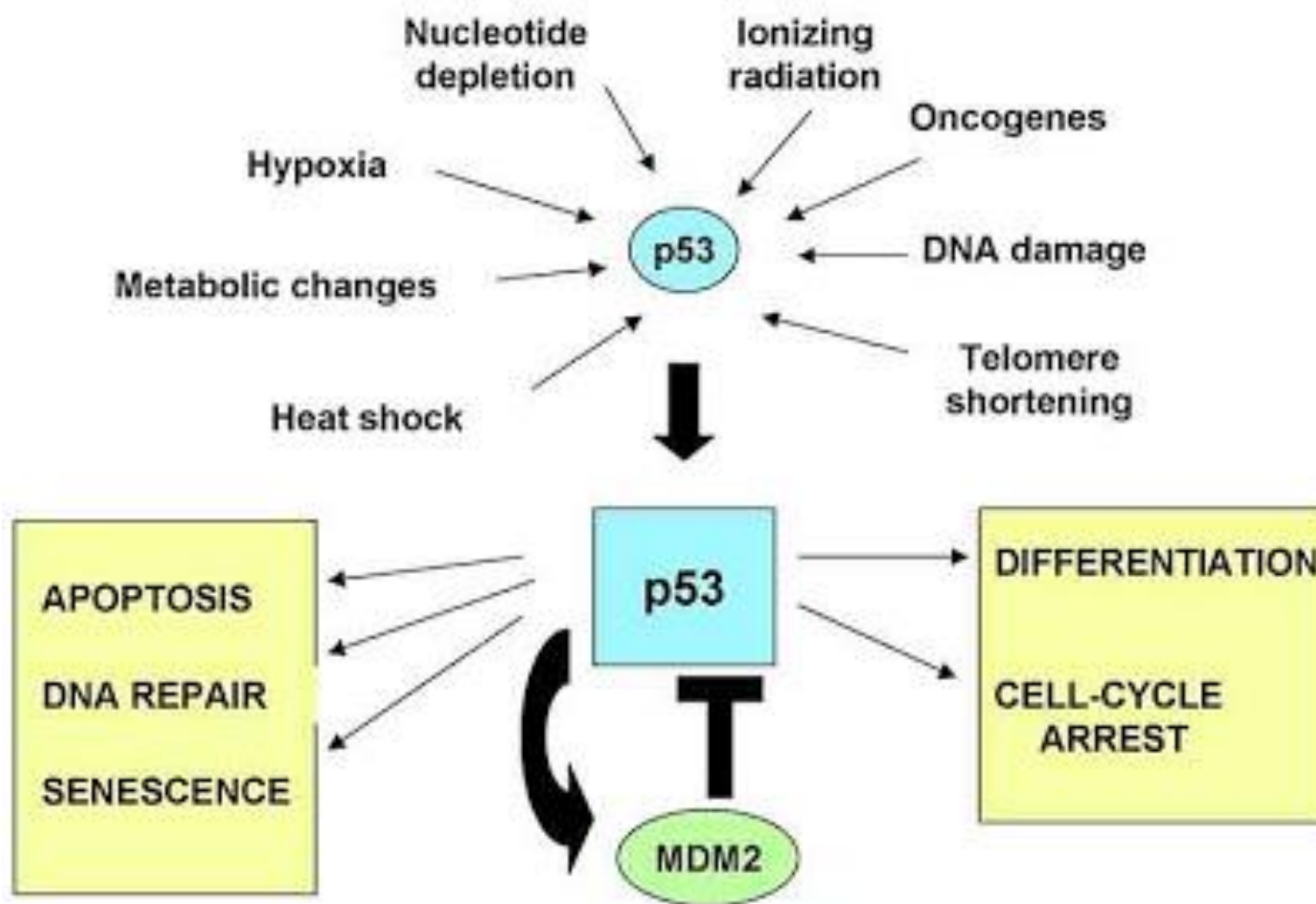


Figure 35.12

Biochemistry: A Short Course, Second Edition

© 2013 W. H. Freeman and Company

Απόκριση της p53



Λάθη στην αντιγραφή του DNA

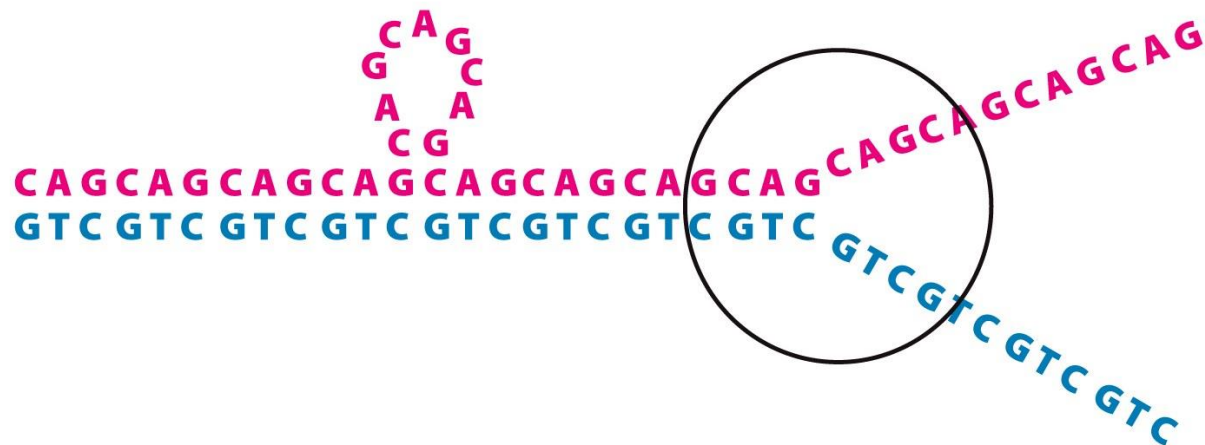


Figure 35.1
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Τα γονίδια που περιέχουν ακολουθίες τρινουκλεοτιδικών πολλαπλών επαναλήψεων είναι ευαίσθητα σε σφάλματα.

Αυτές οι αλληλουχίες των επαναλήψεων μπορεί να επεκταθεί κατά την επιδιορθωση.

Στην περίπτωση της νόσου του Huntington, η αλληλουχία CAG, η οποία κωδικοποιεί γλουταμίνη, επεκτείνεται με αποτέλεσμα την παθολογική κατάσταση.

Επειδή οι συστοιχίες επεκτείνει κατά την αντιγραφή, τα παιδιά των γονέων με την ασθένεια μπορούν να παρουσιάζουν την κατάσταση νωρίτερα και πιο σοβαρά.

Ο ανασυνδυασμός του DNA παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή και επισκευή



Figure 28.43
Biochemistry, Eighth Edition
© 2015 Macmillan Education

Ανασυνδυασμός είναι η ανταλλαγή γενετικών πληροφοριών μεταξύ των δύο μορίων DNA.

Δύο θυγατρικά μόρια του DNA σχηματίζονται από την ανταλλαγή των δύο γονικών κλώνων.

Ο ανασυνδυασμός του DNA παίζει σημαντικό ρόλο στην αντιγραφή και επισκευή

Double-Strand Breaks Can Be Repaired by Recombination

Ανασυνδυασμός απαιτεί πολλές πρωτεΐνες

Το διπλό σπάσιμο κλώνου αναγνωρίζεται και στα 5' άκρα δημιουργείται μονής έλικος όπου δεσμεύονται ειδικες πρωτεΐνες.

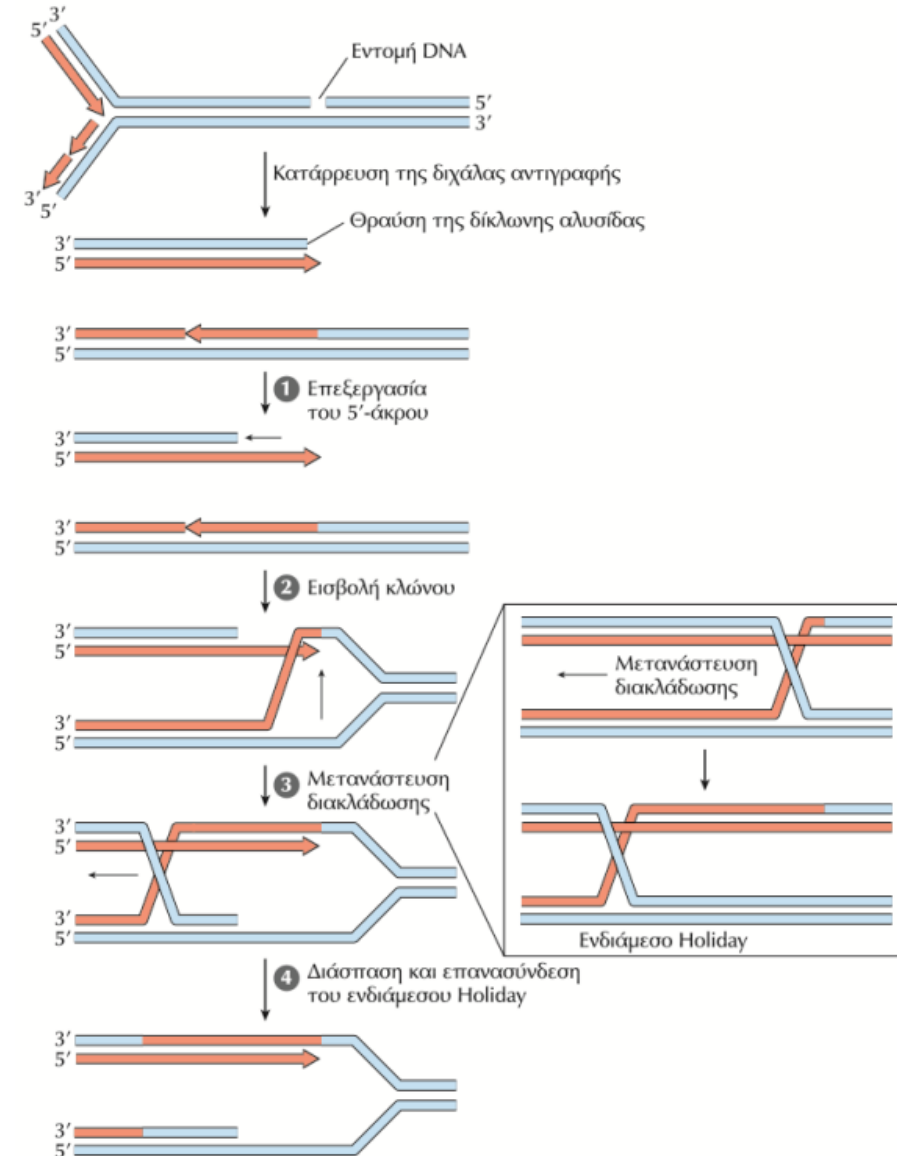
Εισβολή κλώνου συμβαίνει όταν ένα μόνο σκέλος από το κατεστραμμένο DNA αντικαθιστά ένα σκέλος άθικτου DNA.

Σύνθεση του DNA χρησιμοποιώντας το ακέραιο DNA ως εκμαγείο.

Μια δεύτερη εισβολή κλώνου εμφανίζεται, σχηματίζοντας μια δομή που ονομάζεται διασταύρωση Holliday

Ολοκλήρωση της επισκευής.

Διάσπαση και απόδοση δύο ακέραιων έλικων.



Ποικιλομορφία

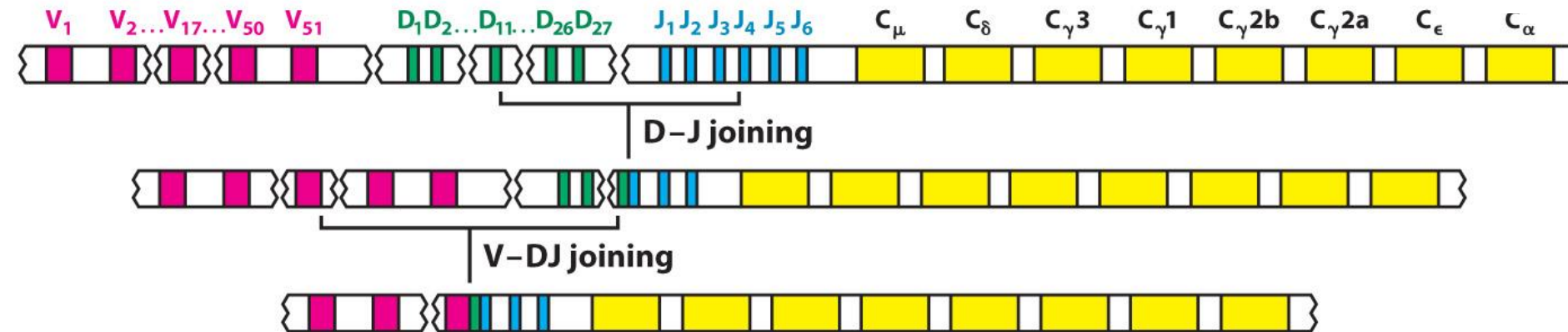
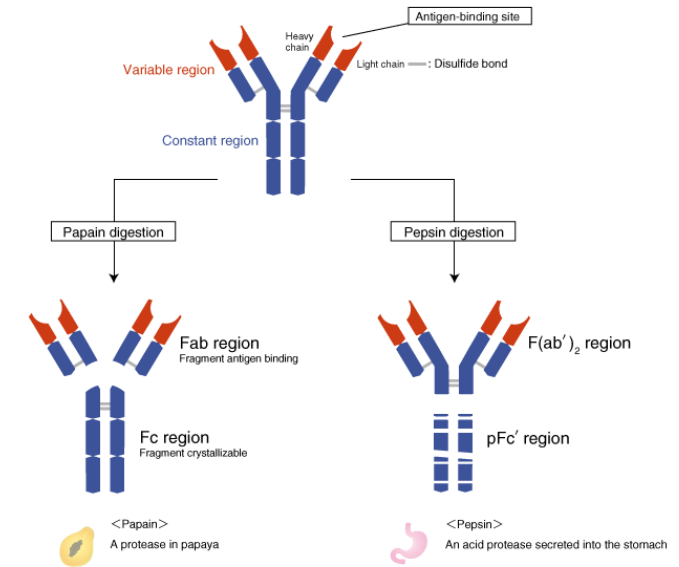


Figure 34.20
Biochemistry, Eighth Edition
 © 2015 Macmillan Education

Ανασυνδυασμός είναι ένα μέσο για τη δημιουργία ποικιλότητας στο ανοσοποιητικό σύστημα.

Οι αλυσίδες H έχουν ένα άλλο τμήμα DNA που συμβάλλει στην περιοχή V, τα γονίδια D.

Οι V περιοχές των αλυσίδων H σχηματίζονται με ανασυνδυασμό V (D) J.

Ποικιλομορφία

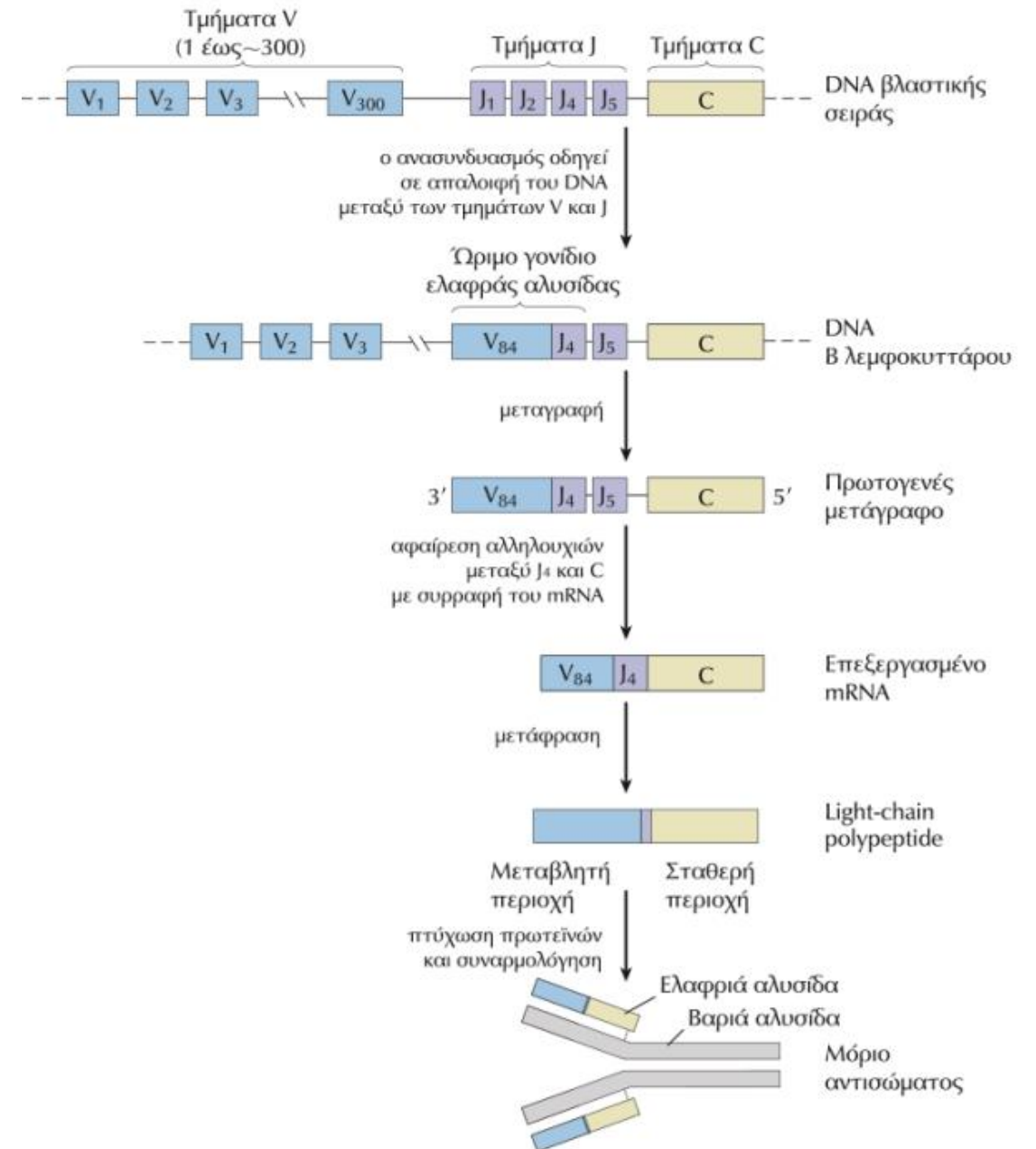
Τα γονίδια που κωδικοποιούν μεταβλητές περιοχές (V) και σταθερές (C) περιοχές βρίσκονται πολύ μακριά στο εμβρυϊκό DNA.

Αυτές οι περιοχές αναδιατάσσονται σε κύτταρα που παράγουν αντισώματα.

Η μεταβλητότητα της αλυσίδας L των γονιδίων V αυξάνεται όταν ενώνεται με τα γονίδια J, τα οποία βρίσκονται κοντά στα γονίδια C.

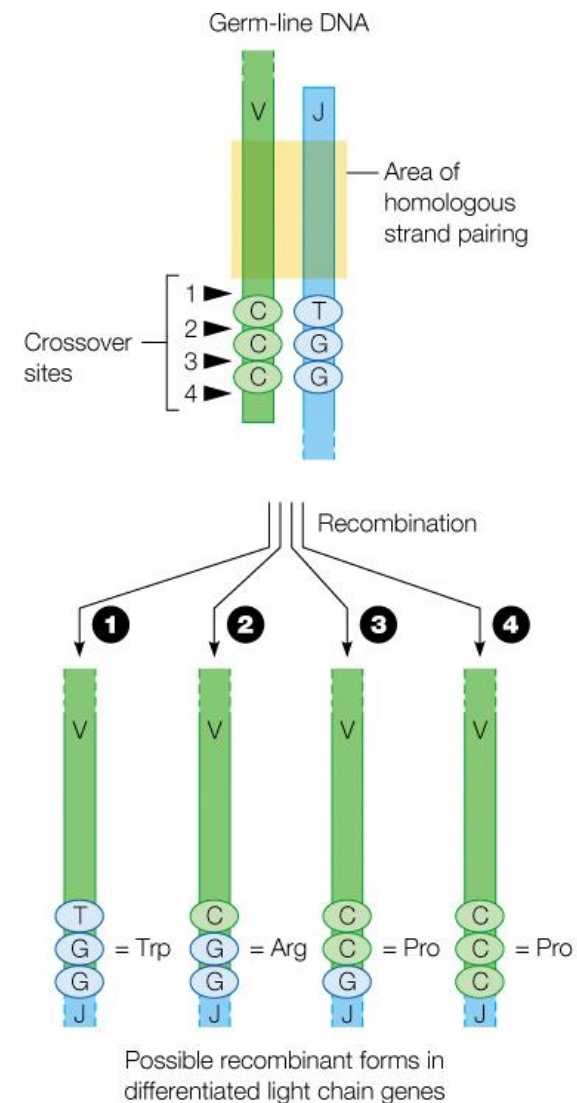
Κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης των κυττάρων που παράγουν αντισώματα, ένα γονίδιο V συνδέεται με ένα γονίδιο J, μια διαδικασία που ονομάζεται ανασυνδυασμός VJ.

Το μάτισμα RNA αποδίδει ένα mRNA για την πλήρη αλυσίδα L.



V-J Joining για την επίτευξη πρόσθετης ποικιλομορφίας

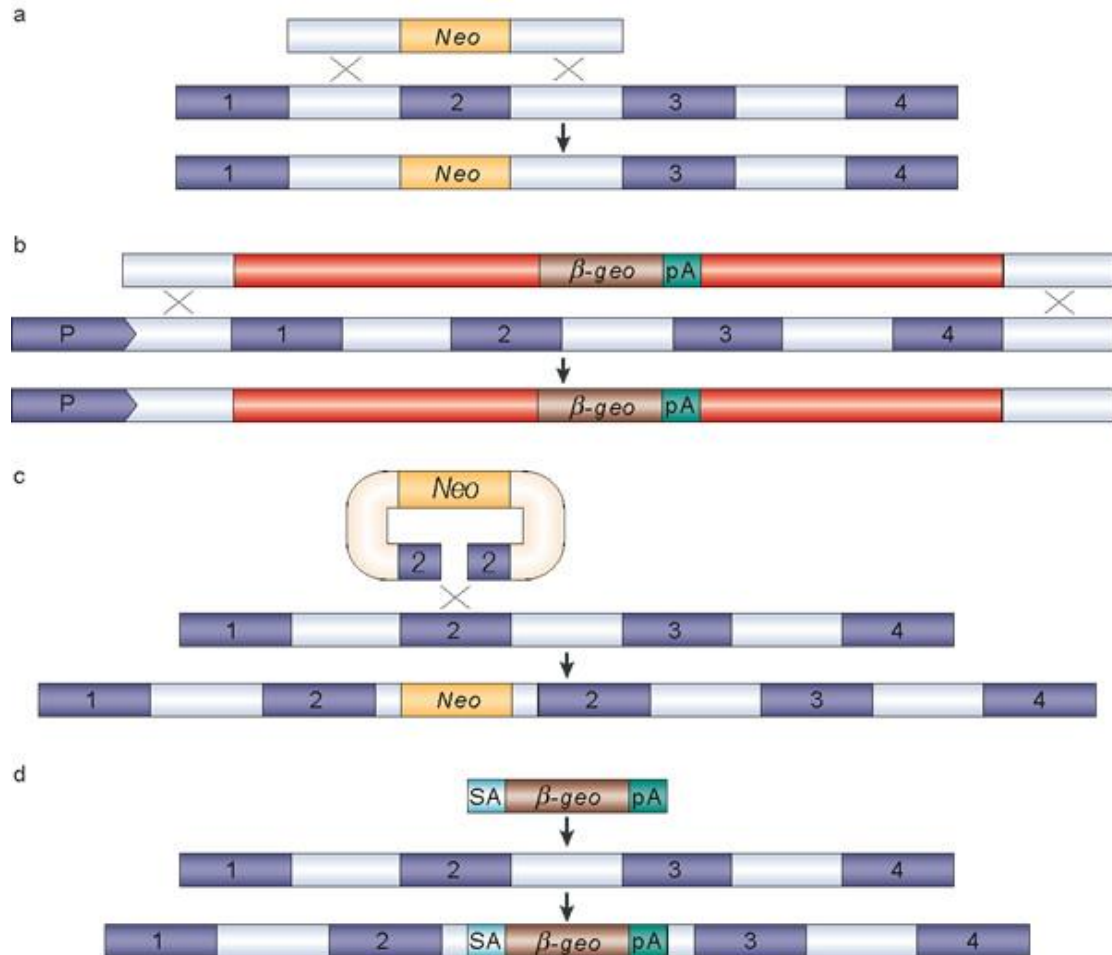
Η κοπή και η ωρίμανση μπορούν να συμβούν οπουδήποτε εντός του τερματικού τρινουκλεοτιδίου και μπορούν να δημιουργήσουν τέσσερις διαφορετικές ανασυνδυασμένες μορφές



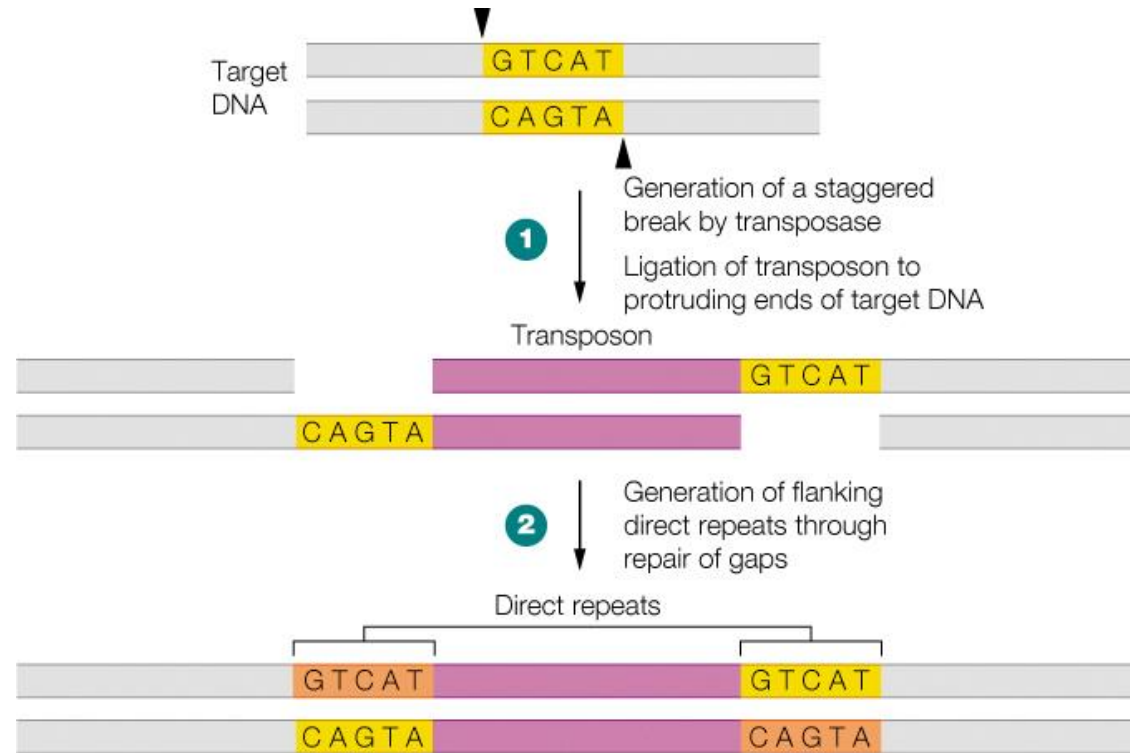
Ανασυνδυασμός

DNA Recombination Is Important in a Variety of Biological Process

Ανασυνδυασμός μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πειραματικό εργαλείο για μετακίνηση, αφαίρεση ή προσθήκη γονιδίων στο γονιδίωμα.



Λειτουργία τρανσποζάσης



Σε ένα απλό τρανσποζόνιο, το DNA μεταξύ της παράπλευρης αλληλουχίας κωδικοποιεί μόνο τη τρανσποζάση

ένα σύνθετο τρανσποζόνιο κωδικοποιεί τη τρανσποζάση και άλλες πρωτεΐνες, όπως η αντίσταση στα αντιβιοτικά.

Οι ρετροϊοί χρησιμοποιούν μακριές τελικές επαναλήψεις (LTR) για την ενσωμάτωση στο χρωμόσωμα του ξενιστή

