

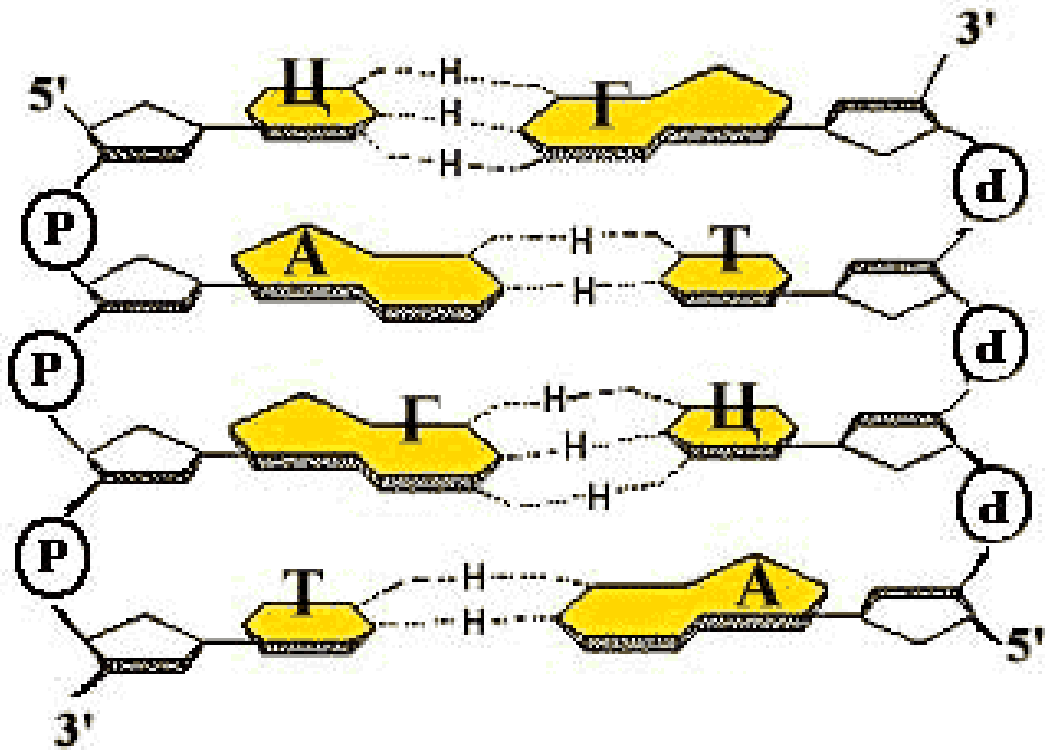
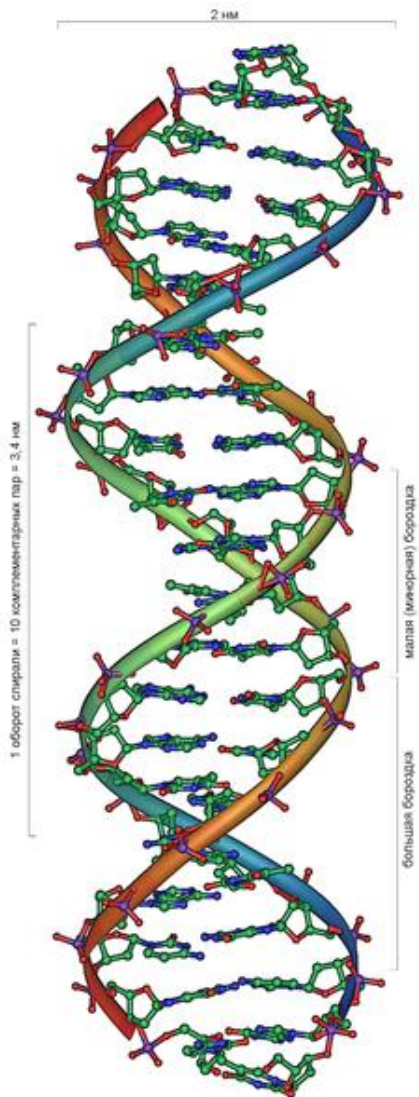
Генетическая рекомбинация - это перераспределение генетического материала (ДНК), приводящее к возникновению новых комбинаций генов.

Рекомбинация может происходить путем обмена клеточными ядрами, целыми молекулами ДНК или частями молекул.

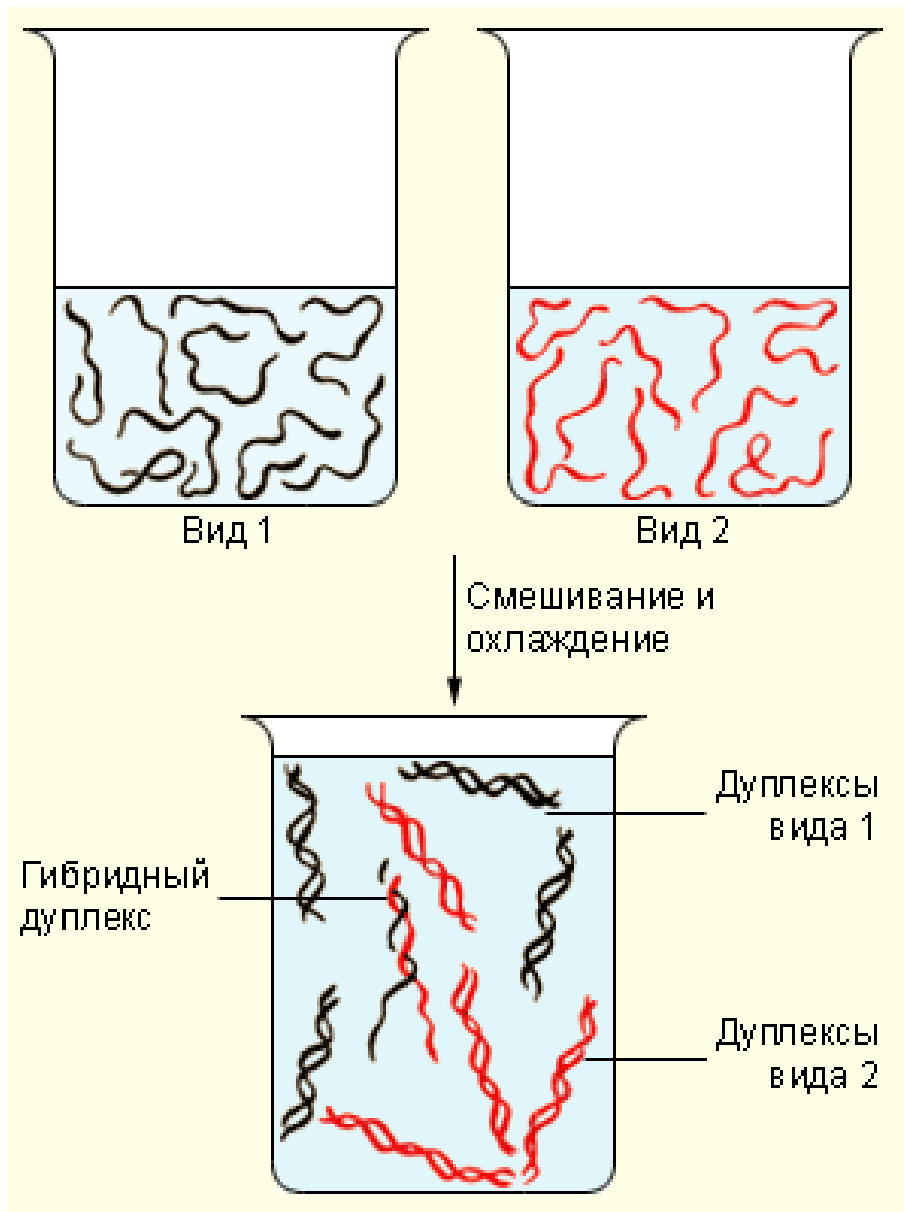
Понятие "рекомбинация" включает большой набор разных по своей природе явлений.

Для всех рекомбинационных процессов характерен этап, на котором молекулы ДНК вступают в контакт в участке, где произойдет обмен полинуклеотидными цепями. Этот этап получил название "**синапсис**".

Однако механизм синапсиса при разных типах рекомбинации принципиально различен. Более того, он является одним из критериев при классификации рекомбинационных явлений.



Молекула ДНК -
дуплекс



ГЕТЕРОДУПЛЕКС

Гомологичная, или общая рекомбинация (кроссинговер)

Основана на спаривании
комплементарных цепей ДНК

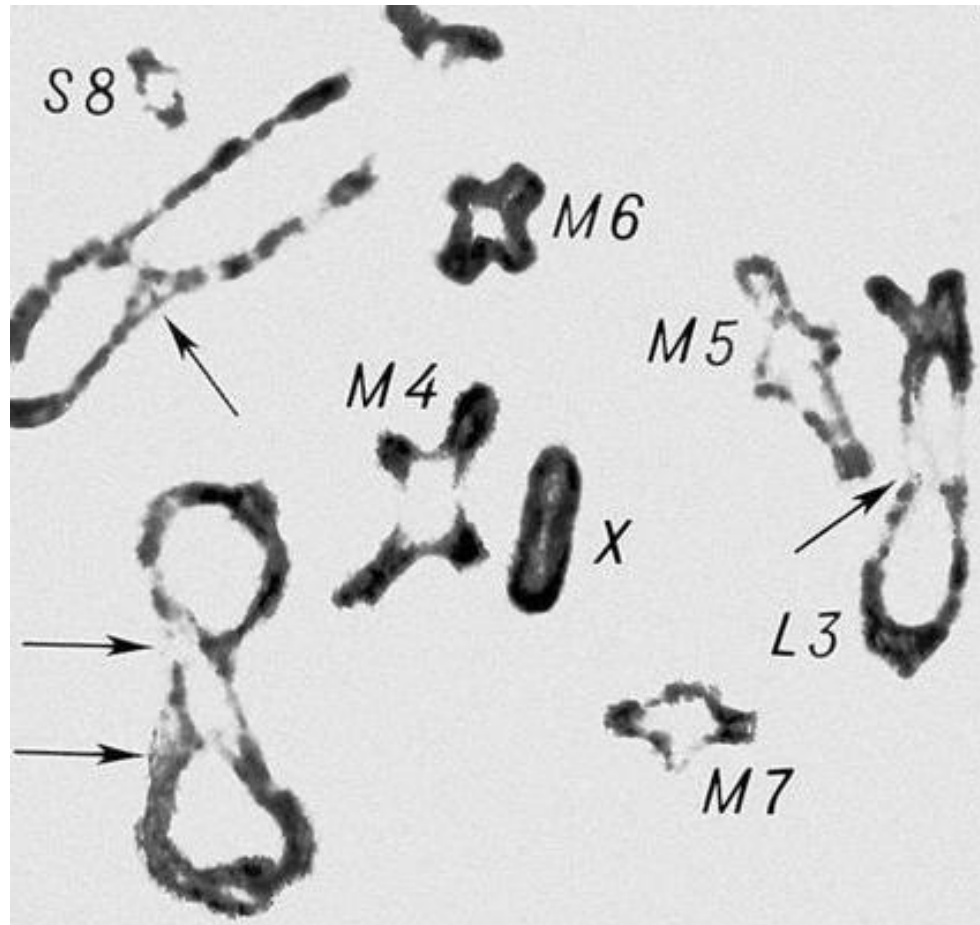
Условие: необходимость в
общей (по всей длине молекул)
гомологии между
рекомбинирующими ДНК.

Результат: обмен равными
частями гомологичных молекул.

В процессе участвует большой
набор специальных белков

Негомологичная рекомбинация

1. Сайт-специфическая
рекомбинация
2. Транспозиции
3. Незаконная
рекомбинация

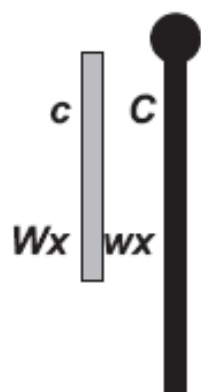


Хиазмы в диплотене у кузнечика

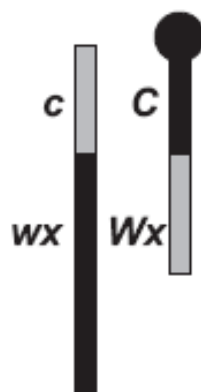
Хромосома дикого
типа имеет *c* и *Wx*



Мутантная хромосома
имеет "кноп" около *C*,
транслокацию около *wx*

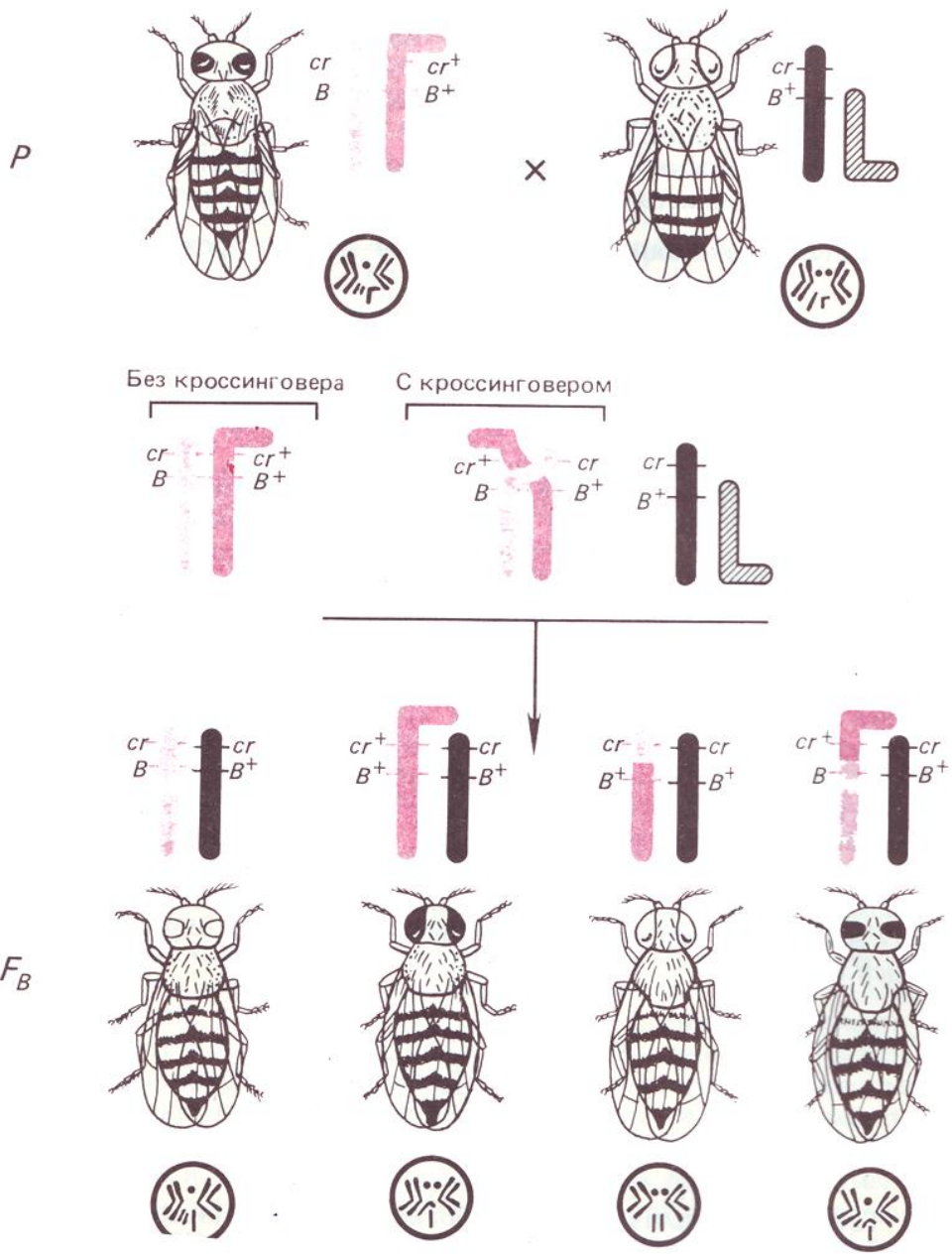


Родительские
хромосомы

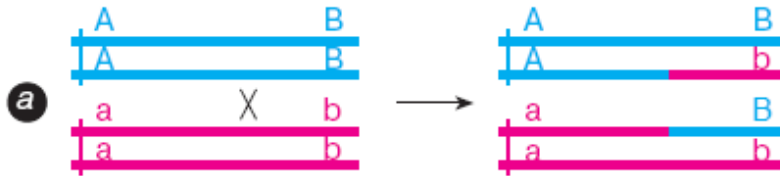


Кроссоверные
хромосомы
потомков

Рис 3.3. Схема кроссинговера в IX паре хромосом кукурузы в опытах Крейтона и МакКлинток (из: Lewin, 1994, p. 68)



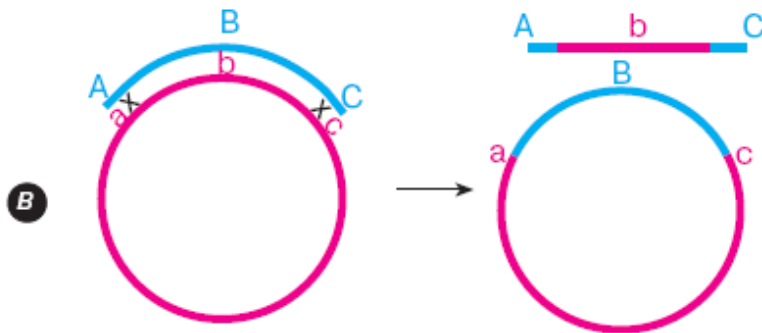
Схемы гомологичной рекомбинации



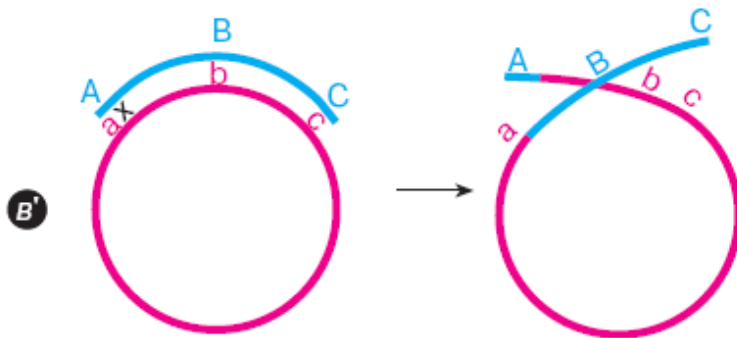
Кроссинговер в профазе I
деления мейоза



Кроссинговер в соматической
клетке на стадии G1
клеточного цикла

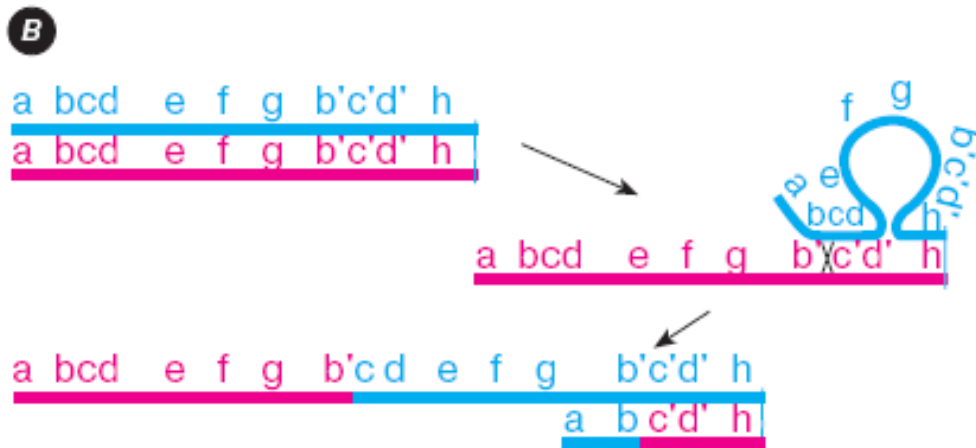
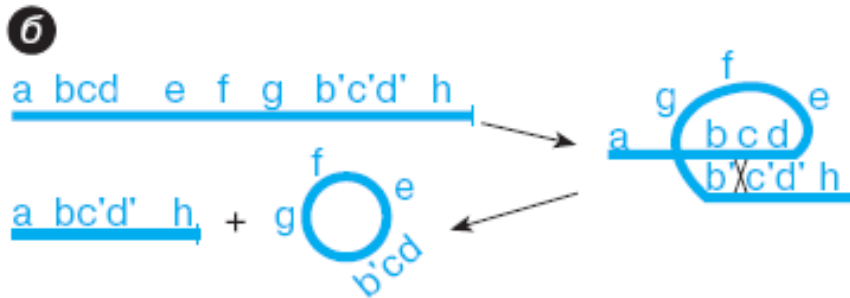
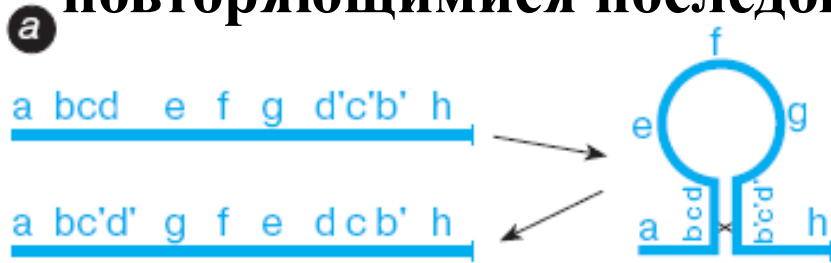


Кроссинговер в клетке кишечной
палочки *Escherichia coli*



Эктопическая рекомбинация

Схемы возможных перестроек хромосом между повторяющимися последовательностями ДНК



Молекулярный механизм кроссинговера

Модель Холлидея (1964)

Разработана для мейотического кроссинговера

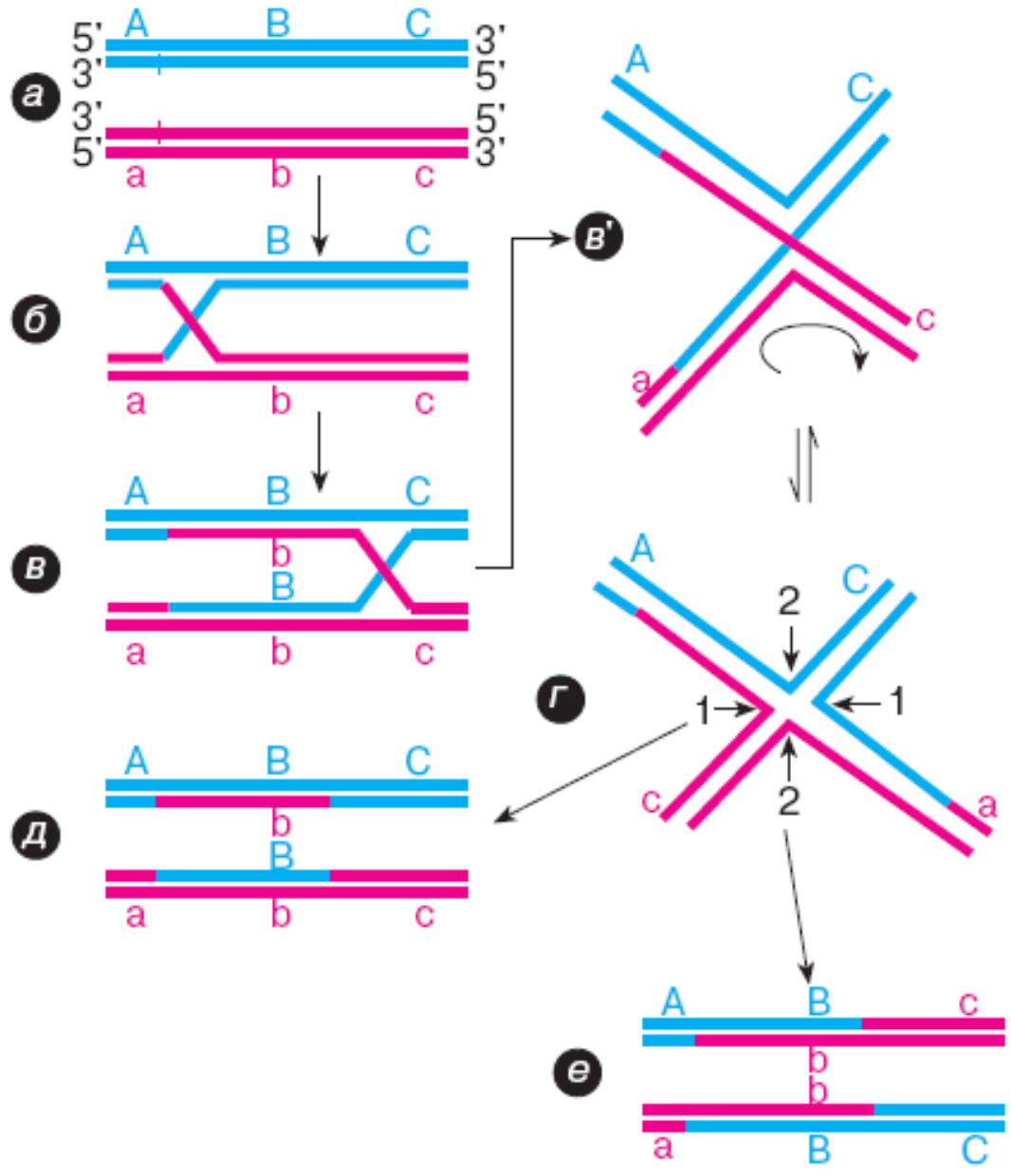
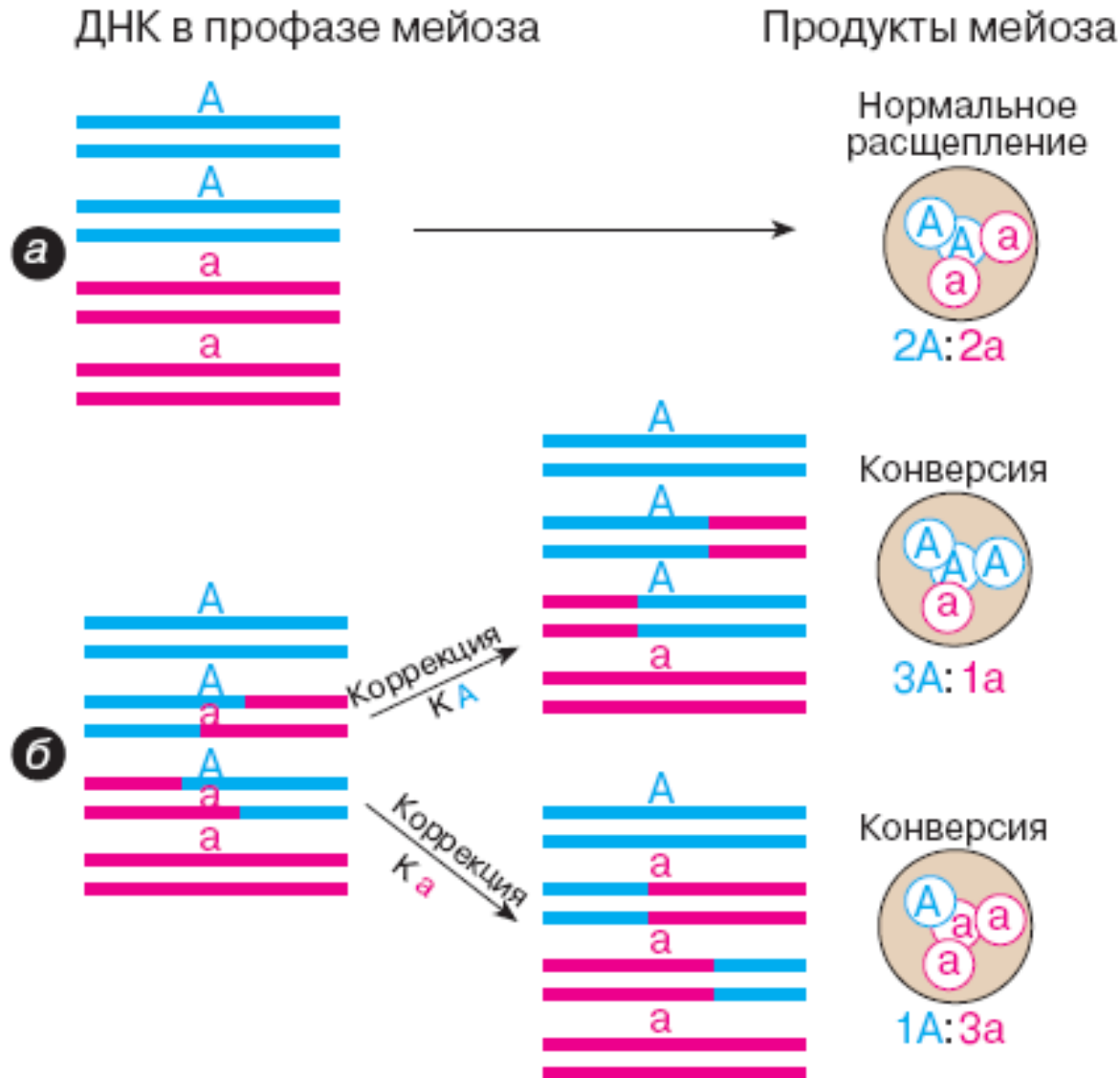
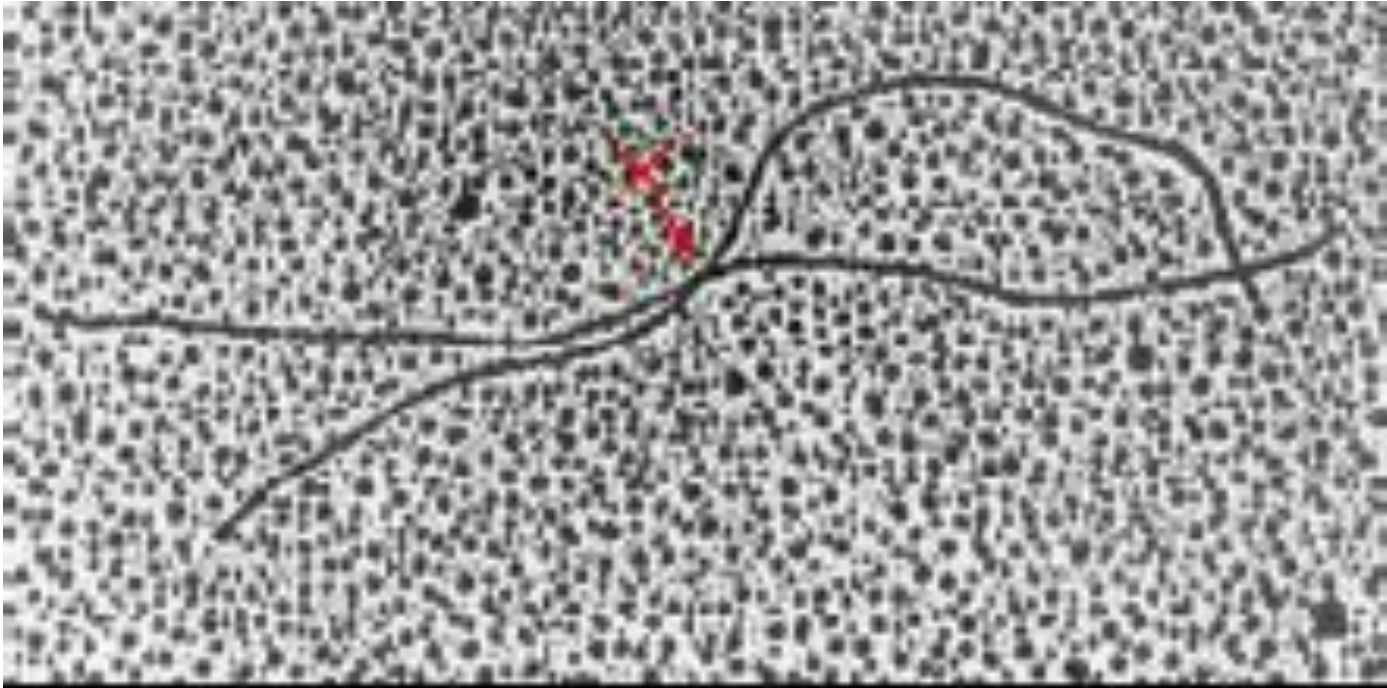


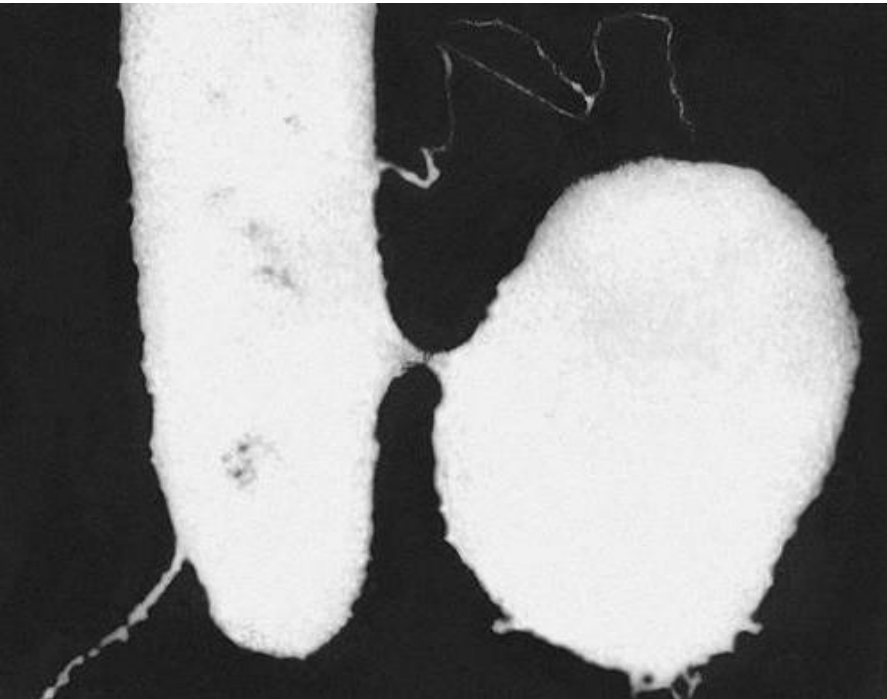
Схема конверсии гена у дрожжей





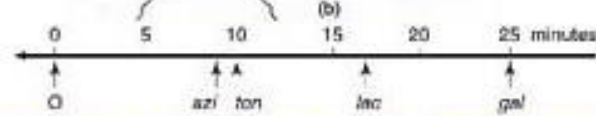
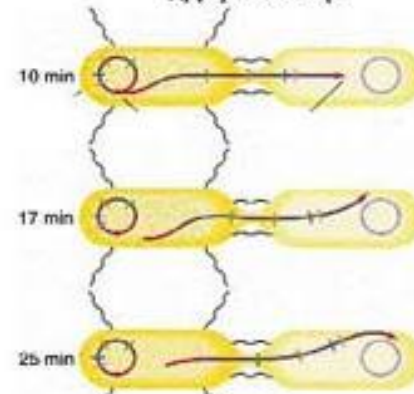
Электронно-микроскопическая
фотография полухиазмы Холлидея

Рекомбинация у *Escherichia coli*: генетический контроль и молекулярный механизм



Электронномикроскопическое изображение **конъюгации** у кишечной палочки; удлинённая клетка — донор, круглая — реципиент.

Чем дольше клетки конъюгируют, тем большая часть хромосомы (и большее число генетических маркеров) успевает перейти в другую клетку.



Генетическая карта участка генома *E. coli*, построенная на основе конъюгативного переноса маркеров

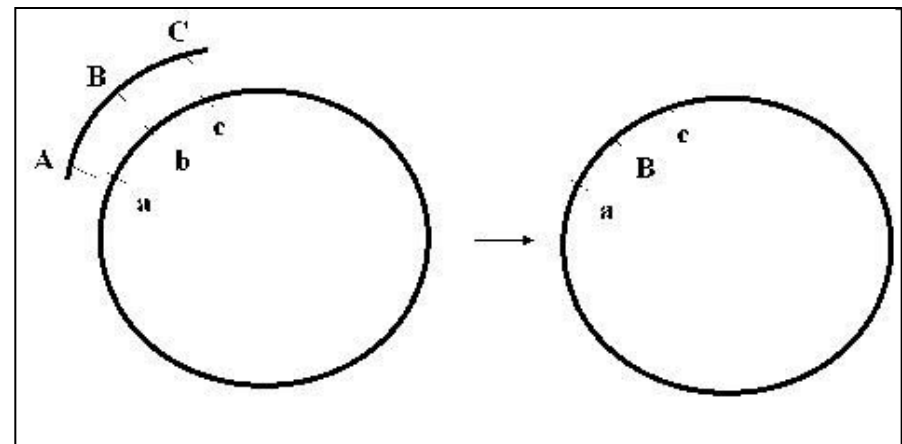


Схема трансдукции у бактерий

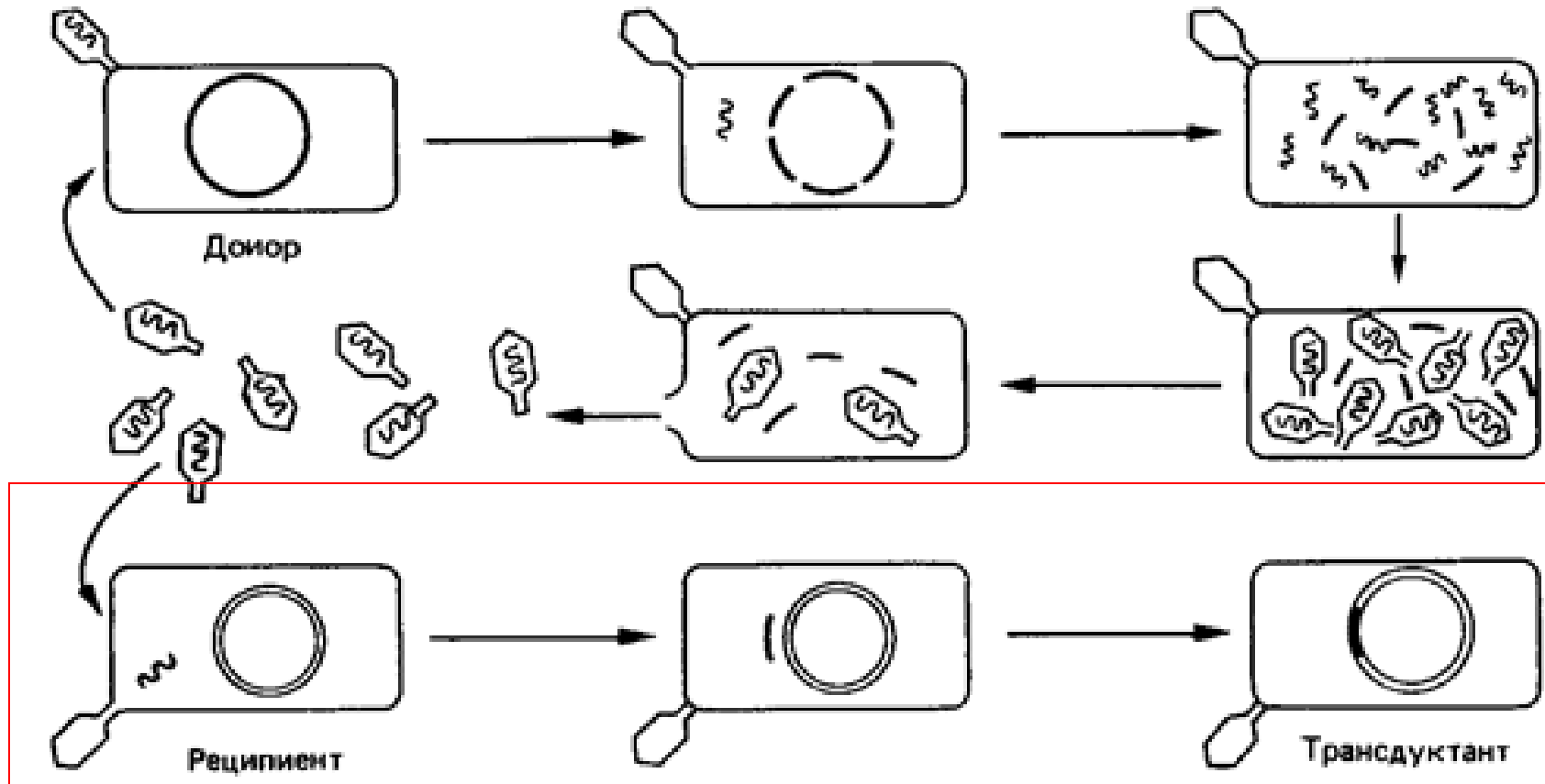
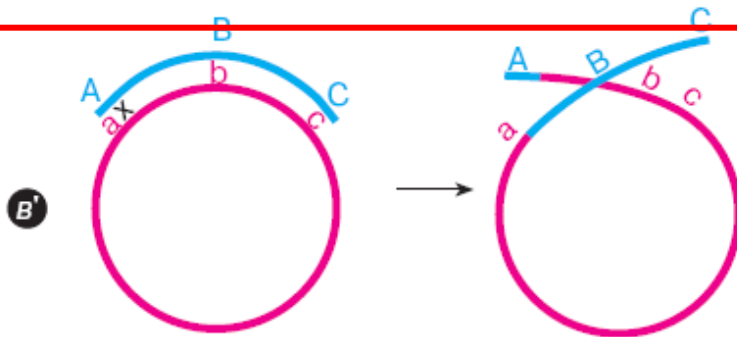
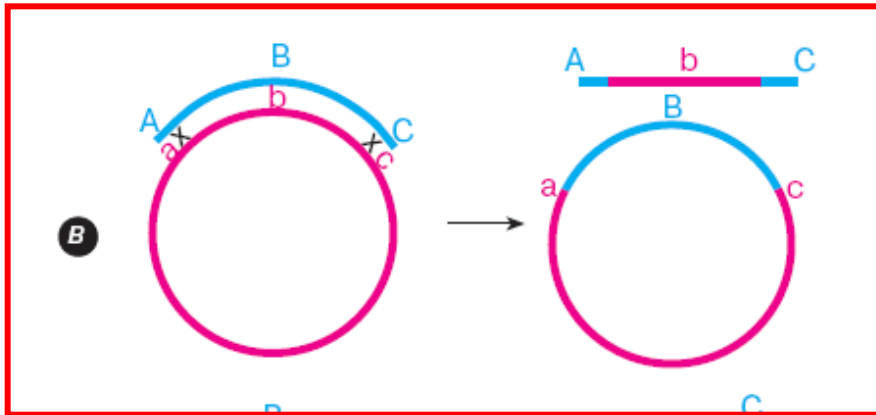
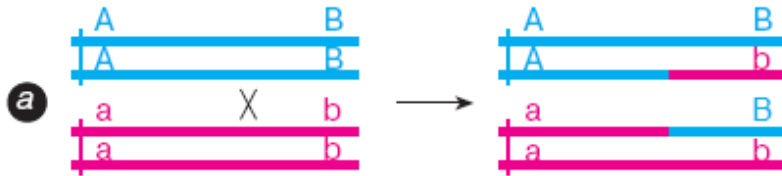
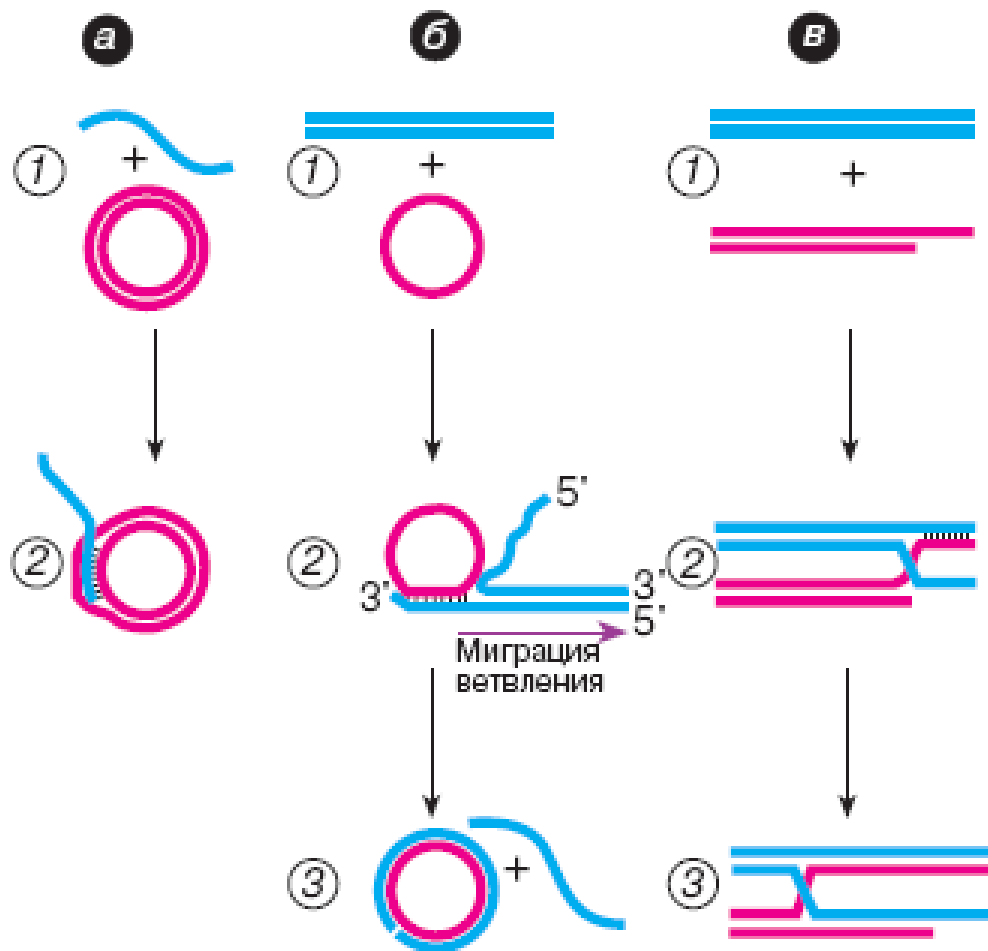


Рис. 15.19. Неспецифическая трансдукция – один из механизмов переноса ДНК из одной бактериальной клетки в другую.

Схемы гомологичной рекомбинации



Схемы трёх рекомбинационных реакций, осуществляемых белком RecA *Escherichia coli in vitro*



А – образование D-петли.

Реакция между кольцевой двухцепочечной ДНК и гомологичной одноцепочечной ДНК

Б – реакция между одноцепочечной кольцевой ДНК и гомологичным линейным дуплексом.

В – реакция между гомологичными дуплексами, один из которых имеет одноцепочечный конец.

Основная функция белка RecA - приводить во взаимодействие одноцепочечную ДНК с гомологичным дуплексом.

RecBCD-нуклеаза

- субъединицы кодируются генами *recA*, *recB*, *recD*
- активна в присутствии АТФ
- экзонуклеазная активность: гидролизует одно- и двухцепочечную ДНК с обоих концов
- хеликазная активность: расплетает дуплекс ДНК
- работает как сайт-специфическая эндонуклеаза: расщепляет одноцепочечную ДНК около особой 8-нуклеотидной последовательности - **Chi-сайта** (5'-GCTGGTGG-3')
- готовит субстрат для белка RecA

Ферменты репликации

RecA

RecBCD-нуклеаза

RuvA узнает крестообразную полухиазму и нацеливает на нее

RuvB

RuvB узнает комплекс RuvA-полухиазма и осуществляет миграцию полухиазмы (работая как ДНК-хеликаза)

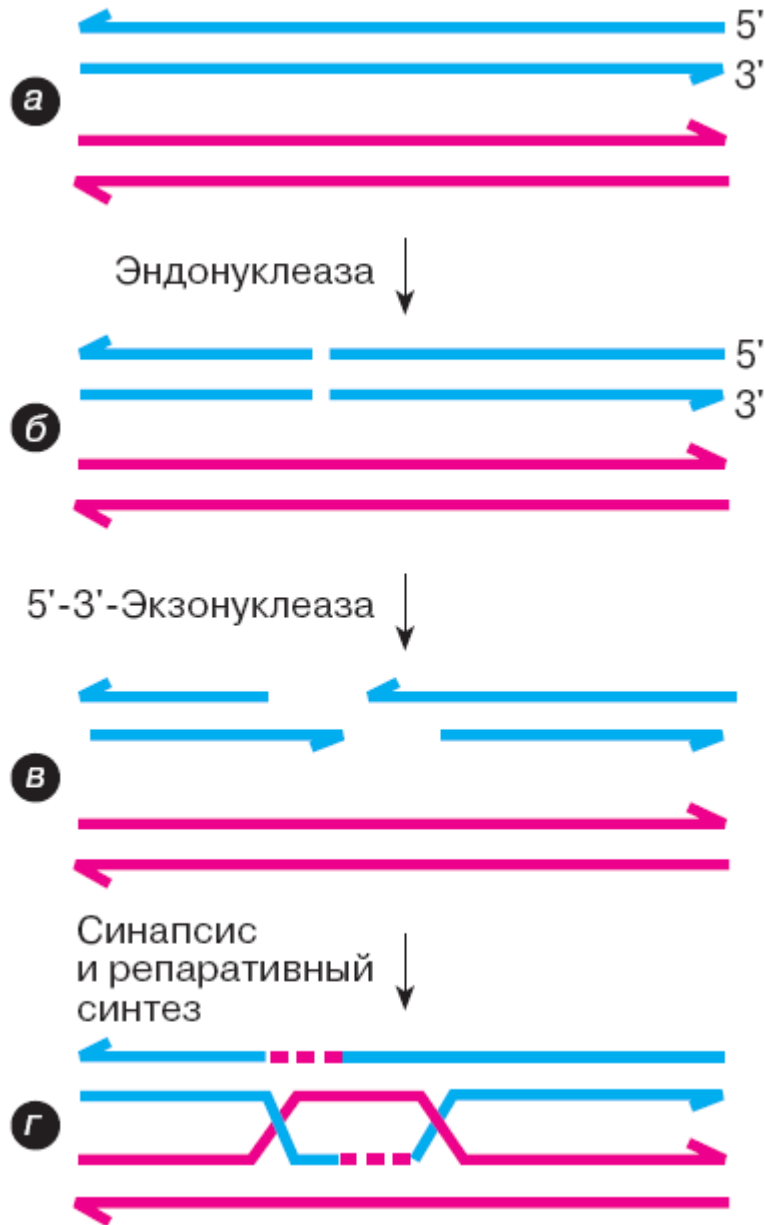
RuvC (резолваза) связывается с комплексом RuvB-полухиазма и в определенный момент разрешает полухиазму

ДНК-лигаза

ДНК-гираза

ДНК-полимераза

МОДЕЛЬ РЕКОМБИНАЦИИ НА ОСНОВЕ РЕПАРАЦИИ ДУЦЕПОЧЕЧНЫХ РАЗРЫВОВ ДНК



Предложена в 1983 году
Дж. Жостаком

а, б - специфическая
эндонуклеаза вводит разрывы в
обе цепи одного из дуплексов

в – 5'-концы цепей в точках
разрывов гидролизуются
эксонуклеазой с образованием
рекомбиногенных 3'-цепей

г – 3'-цепи внедряются в другой
дуплекс. Происходит
репаративный синтез утраченных
участков ДНК

Биологическое значение гомологичной рекомбинации

- вносит большой вклад в генетическую изменчивость (позволяет организмам приспосабливаться к среде обитания, лежит в основе эволюции)
- обеспечивает онтогенетические перестройки генетического материала, участвующие в регуляции работы генов (регуляция активности генов, изменение ассортимента антигенов)

Негомологичная рекомбинация

1. Сайт-специфическая рекомбинация
2. Транспозиции
3. Незаконная рекомбинация

Сайт-специфическая рекомбинация

Происходит между специфическими последовательностями ДНК в пределах очень коротких участков гомологии, обычно 15-30 п.н.

- обеспечивает интеграцию (включение) ДНК умеренных фагов в хромосомы бактерий
- обеспечивает инверсию отдельных участков ДНК в хромосомах бактерий и бактериофагов и в плазмидах дрожжей
- обеспечивает перестройки в последовательностях ДНК, кодирующих иммуноглобулины

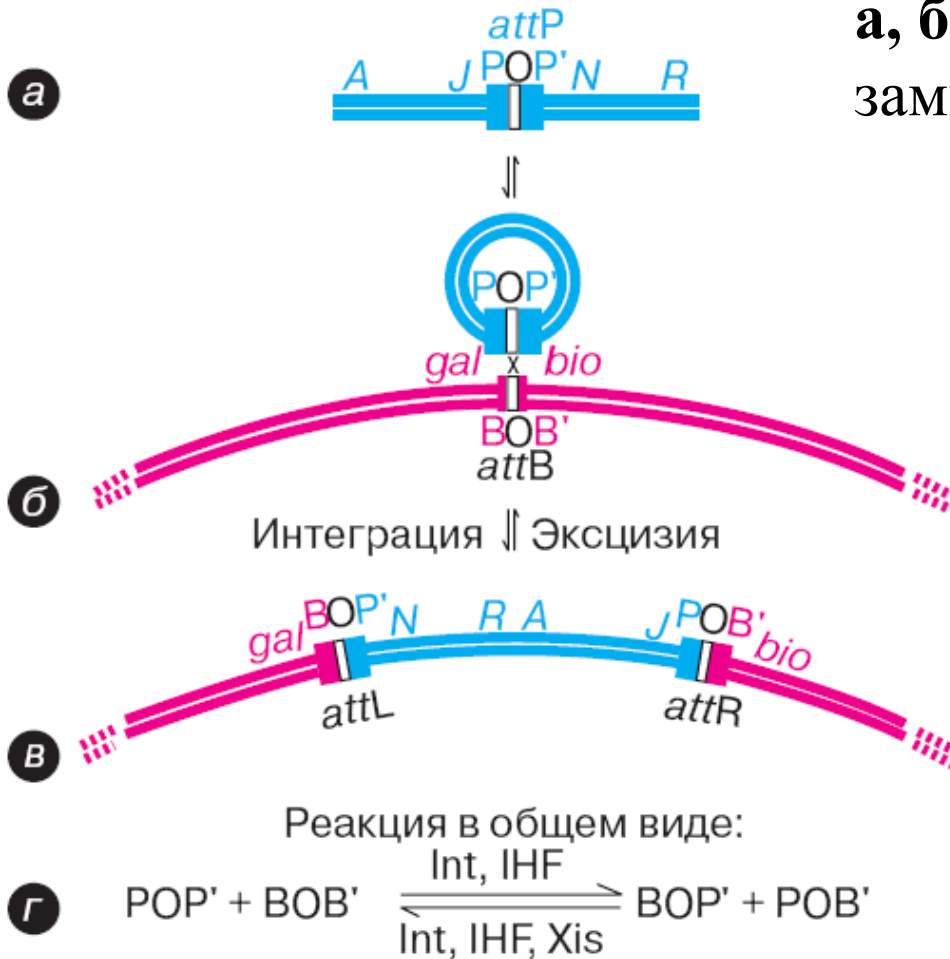
Схема сайт-специфической рекомбинации у фага λ

а, б - двуцепочечная ДНК фага замыкается в кольцо

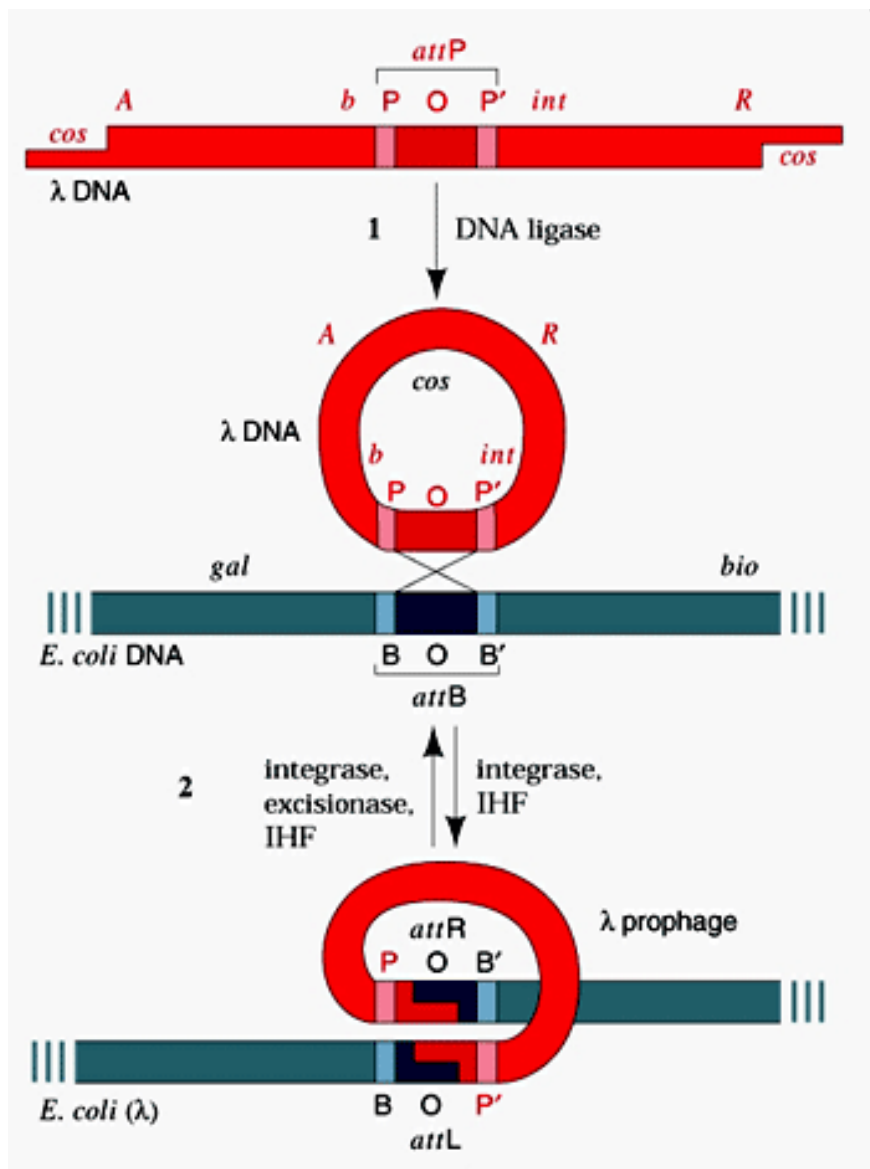
б, в - интеграция ДНК фага в хромосому бактерии между генами *gal* и *bio*, путем рекомбинации между особыми *att* (attachment)-сайтами

в – профаг

г – запись процесса рекомбинации в общем виде

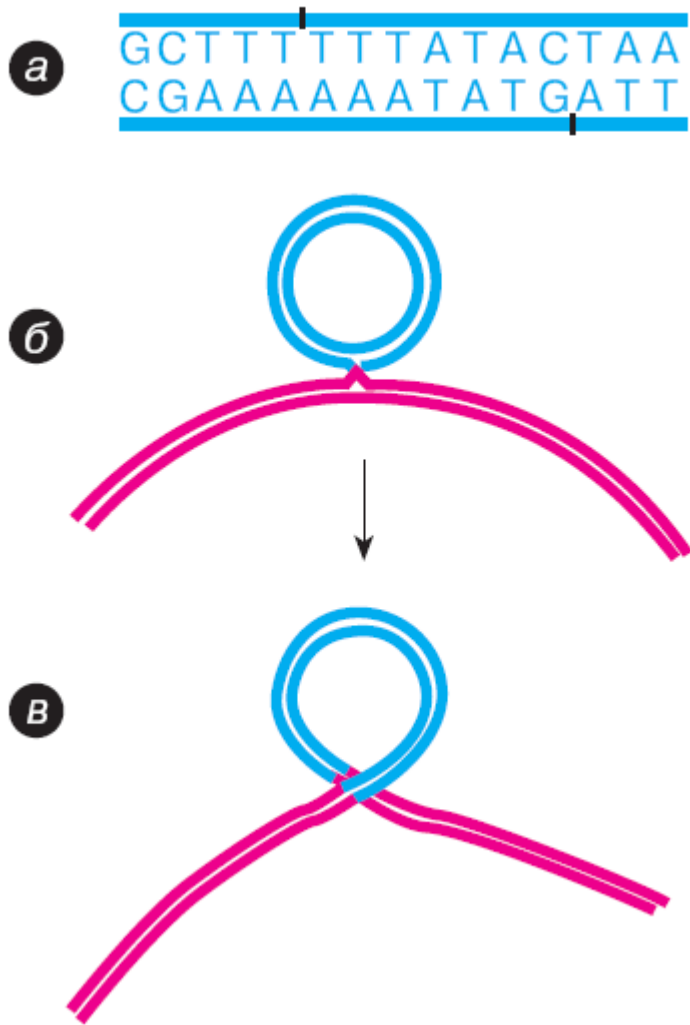


Сайт-специфическая рекомбинация



Встраивание кольцевой ДНК фага λ в хромосому *E. coli* и ее обратное выщепление

Схема двух основных этапов интегративной рекомбинации у фага лямбда

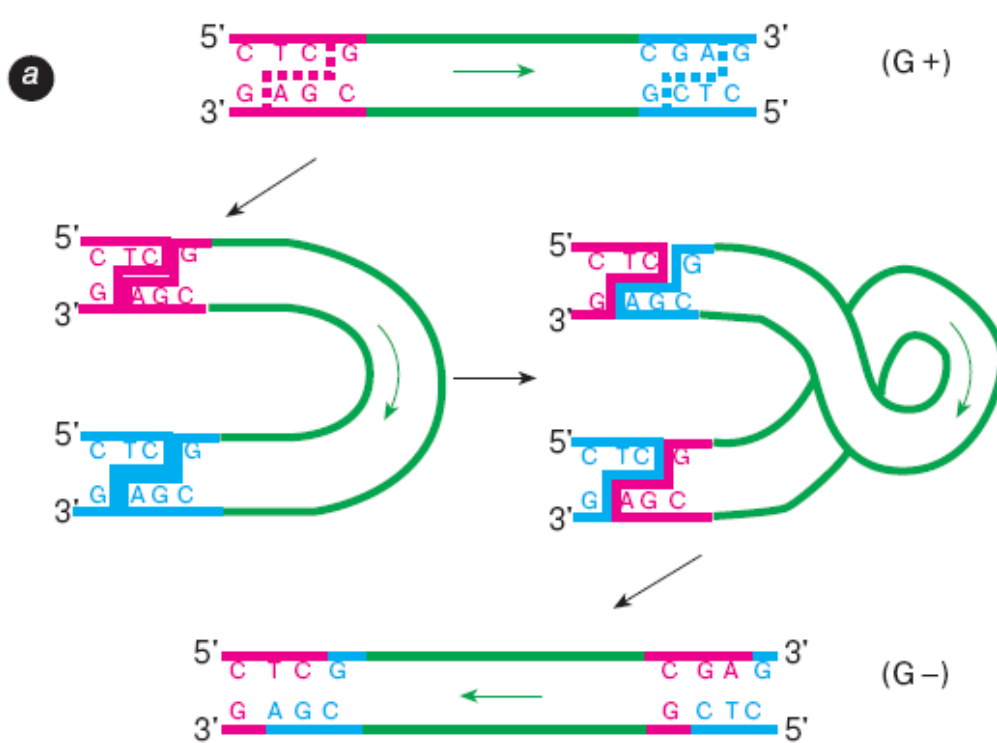


а - нуклеотидная последовательность att-сайтов в центральной части O

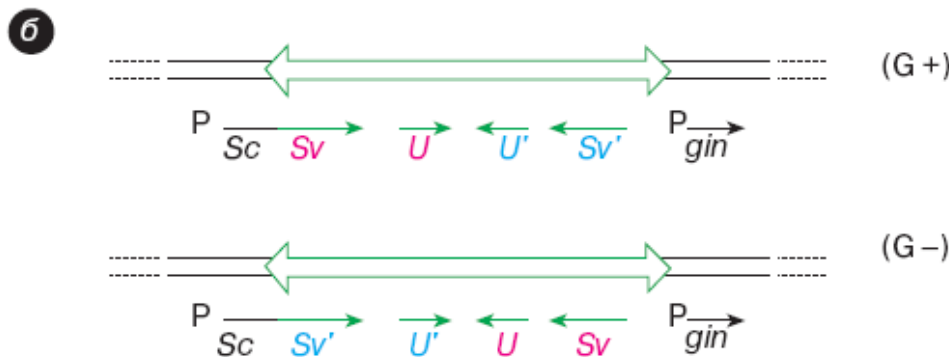
б – промежуточная структура, образовавшаяся после обмена двумя цепями ДНК одинаковой полярности в att-сайтах

в – продукт завершенной рекомбинации

Схема сайт-специфической инверсии сегмента G в ДНК фага Му



а - сегмент G содержит инвертированные повторы со специфическими рекомбинационными сайтами. Инвертаза проводит рекомбинацию между этими сайтами.



б - G-сегмент содержит четыре гена: U, U', Sv и Sv'. При одной ориентации сегмента (G+) транскрибируются гены Sv и U, при противоположной ориентации (G-) функционируют гены Sv' и U.

Транспозиции

Лежат в основе передвижения подвижных (мобильных) генетических элементов.

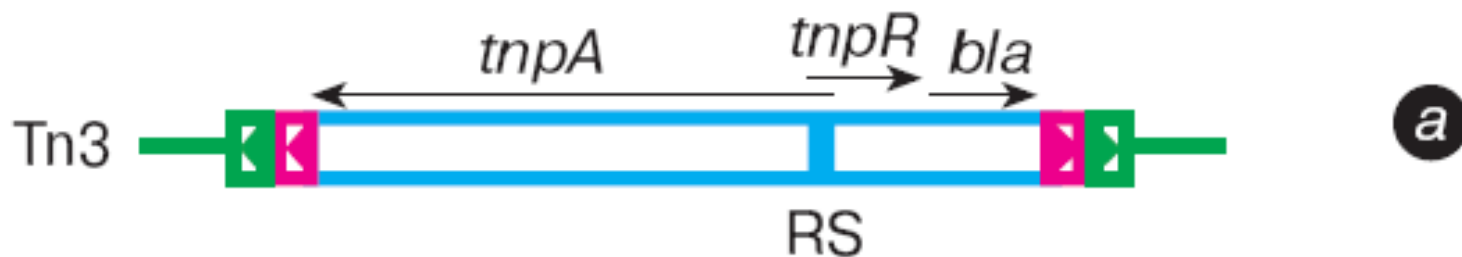
Подвижные элементы - это особые последовательности ДНК, способные к перемещениям из одного участка молекулы ДНК (хромосомы или плазмиды) в другой, или в другую молекулу в той же клетке, или даже в клетки другого организма.

Подвижные элементы, как правило, не существуют автономно, а находятся в составе хромосом или плазмид.

Главный белок транспозиции – транспозаза.

Структурная организация некоторых подвижных элементов

а – бактериальный транспозон Tn3.



б – бактериальный транспозон Tn5.

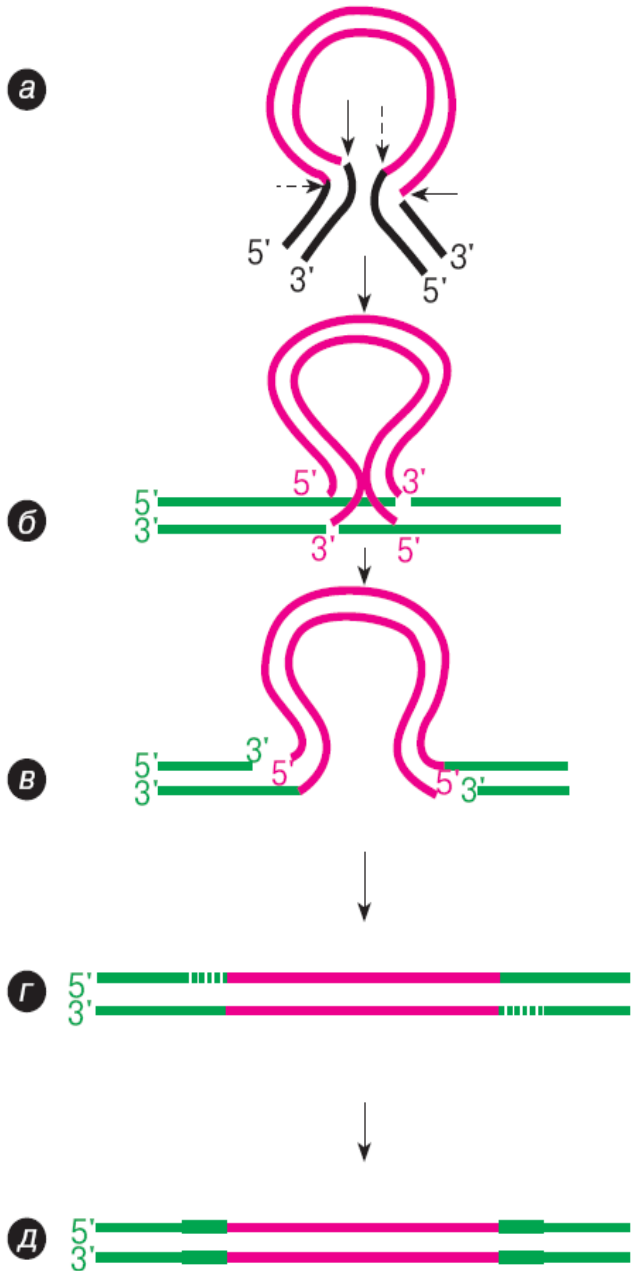


в – дрожжевой ретротранспозон Ty1.



Синим обозначена центральная часть элементов, красным - обращенные концевые повторы бактериальных подвижных элементов, зеленым - прямые повторы ДНК-мишени.

Общая схема рекомбинационных реакций при транспозициях



а - транспозаза (у ретротранспозонов - интеграза) сводит вместе концы подвижного элемента и делает разрывы точно по этим концам

б - транспозаза сводит в контакт концы элемента и дуплекс ДНК-мишени. При этом она делает в обеих цепях ДНК-мишени ступенчатые разрывы

в - обмен цепями, приводящий к рекомбинации между ДНК элемента и мишени, остаются бреши

г - бреши заполняются путем репаративной репликации ДНК по матрице ДНК-мишени

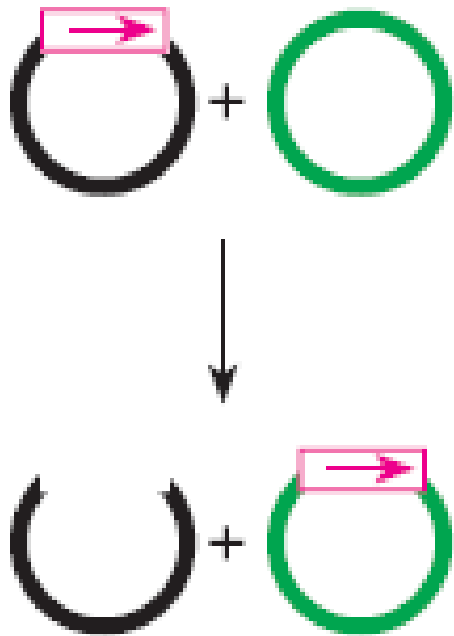
д - возникновение прямых повторов ДНК-мишени на концах элемента

Выделяют три основных механизма рекомбинации при транспозициях:

- репликативная транспозиция
- нерепликативная транспозиция
- перемещение ретротранспозонов

Нерепликативная транспозиция

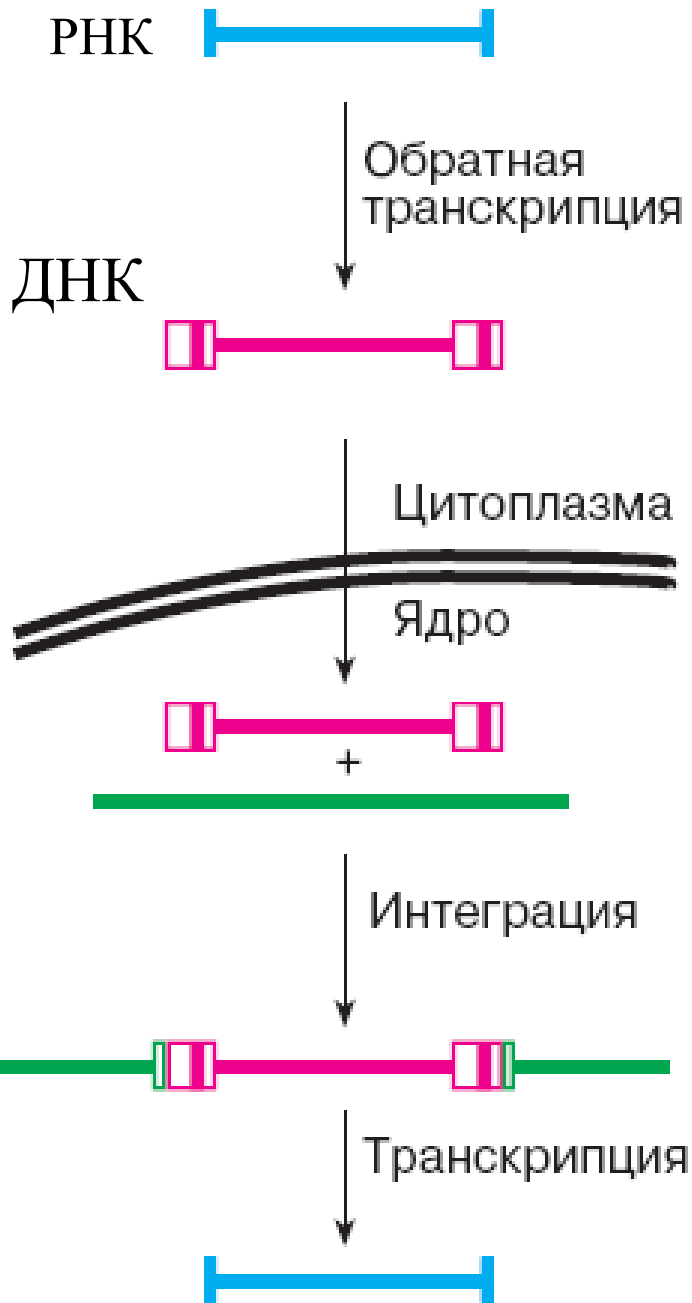
Заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место.



Характерна для большинства подвижных элементов бактерий и эукариотических элементов с короткими обращенными повторами

Перемещение ретротранспозонов

Ген *pol* ретротранспозона кодирует несколько ферментов: интегразу, обратную транскриптазу, РНКазуН и протеазу.



Незаконная рекомбинация

Сборная группа процессов, где рекомбинация происходит без гомологии между молекулами ДНК, и при этом без участия механизмов сайт-специфической рекомбинации или транспозиций. Общим для них является соединение концов негомологичных молекул ДНК.

- захват ретровирусом некоторых клеточных генов при его эксцизии из хромосомы хозяйской клетки
- интеграция фрагментов ДНК, вводимых в клетки позвоночных с помощью микроинъекций

Впервые описана японским исследователем Х. Икедой с сотрудниками в 1982 году.