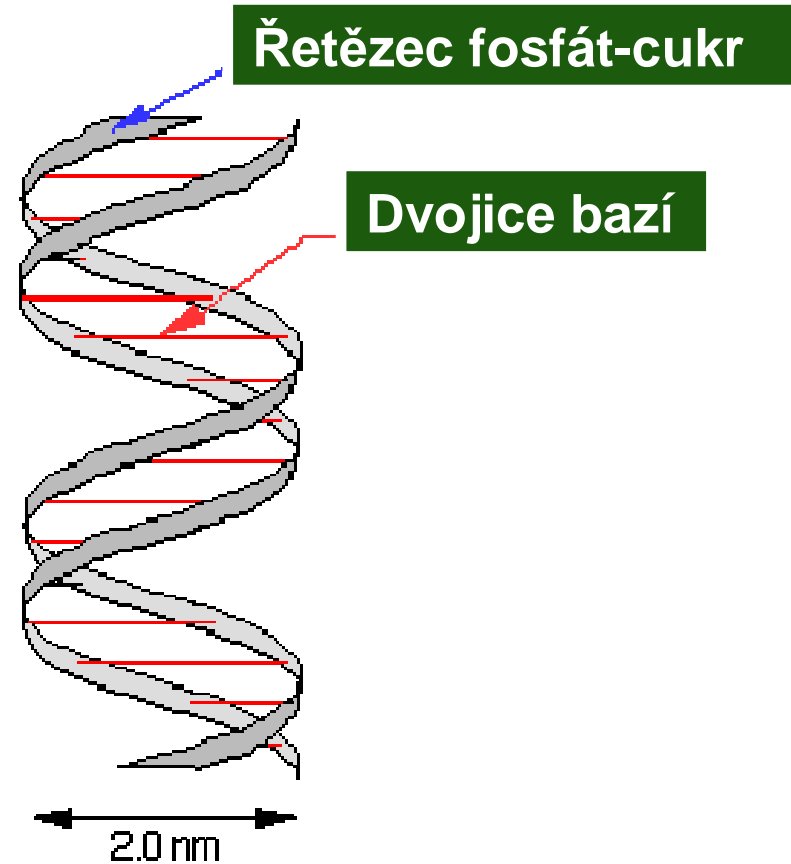
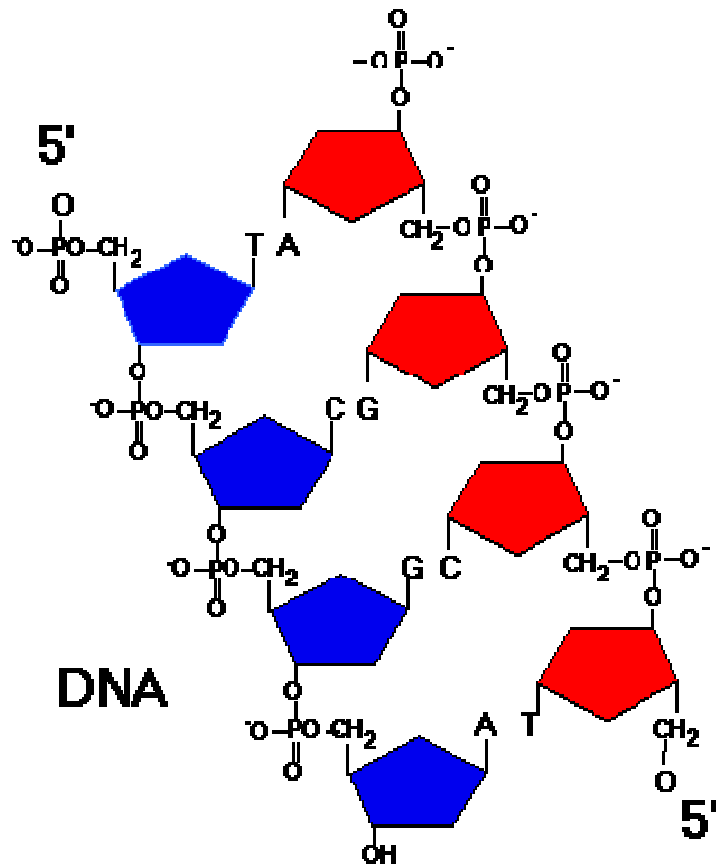
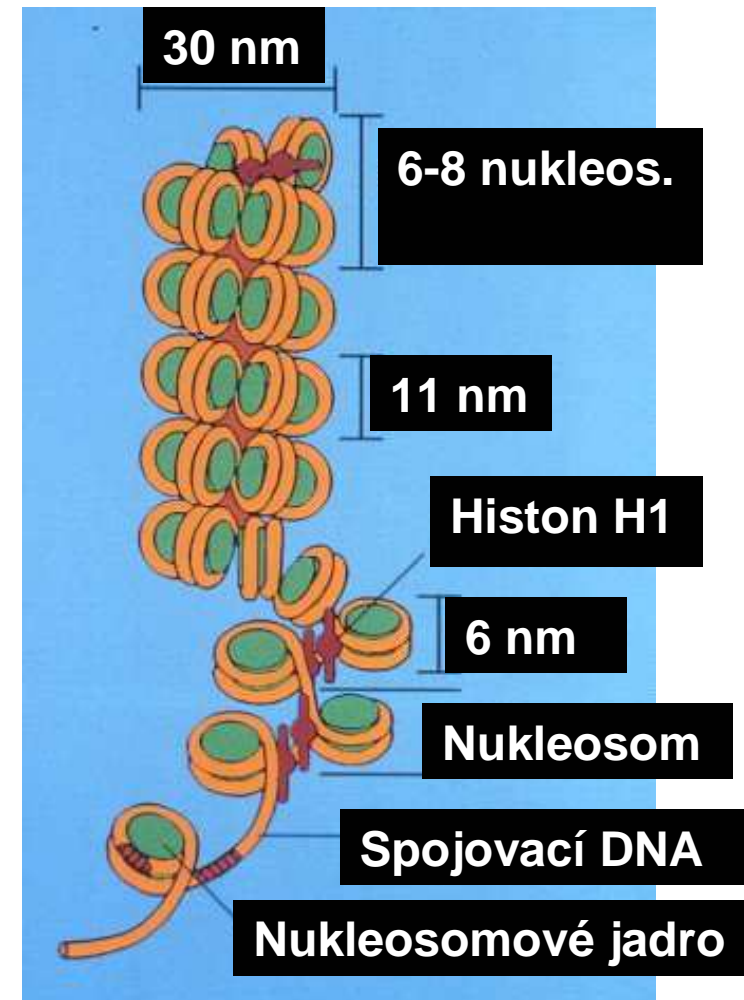
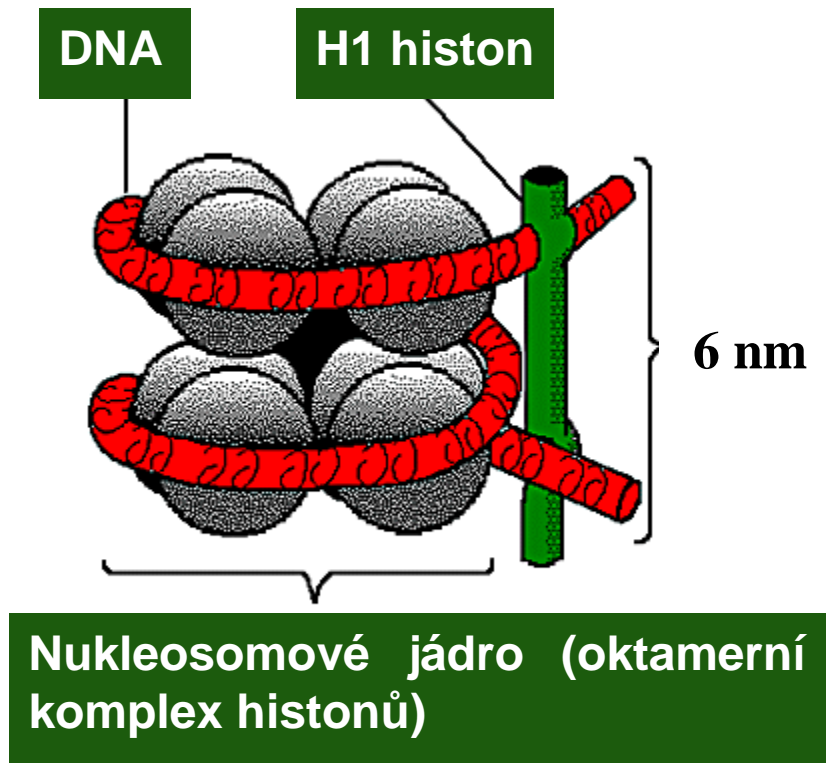


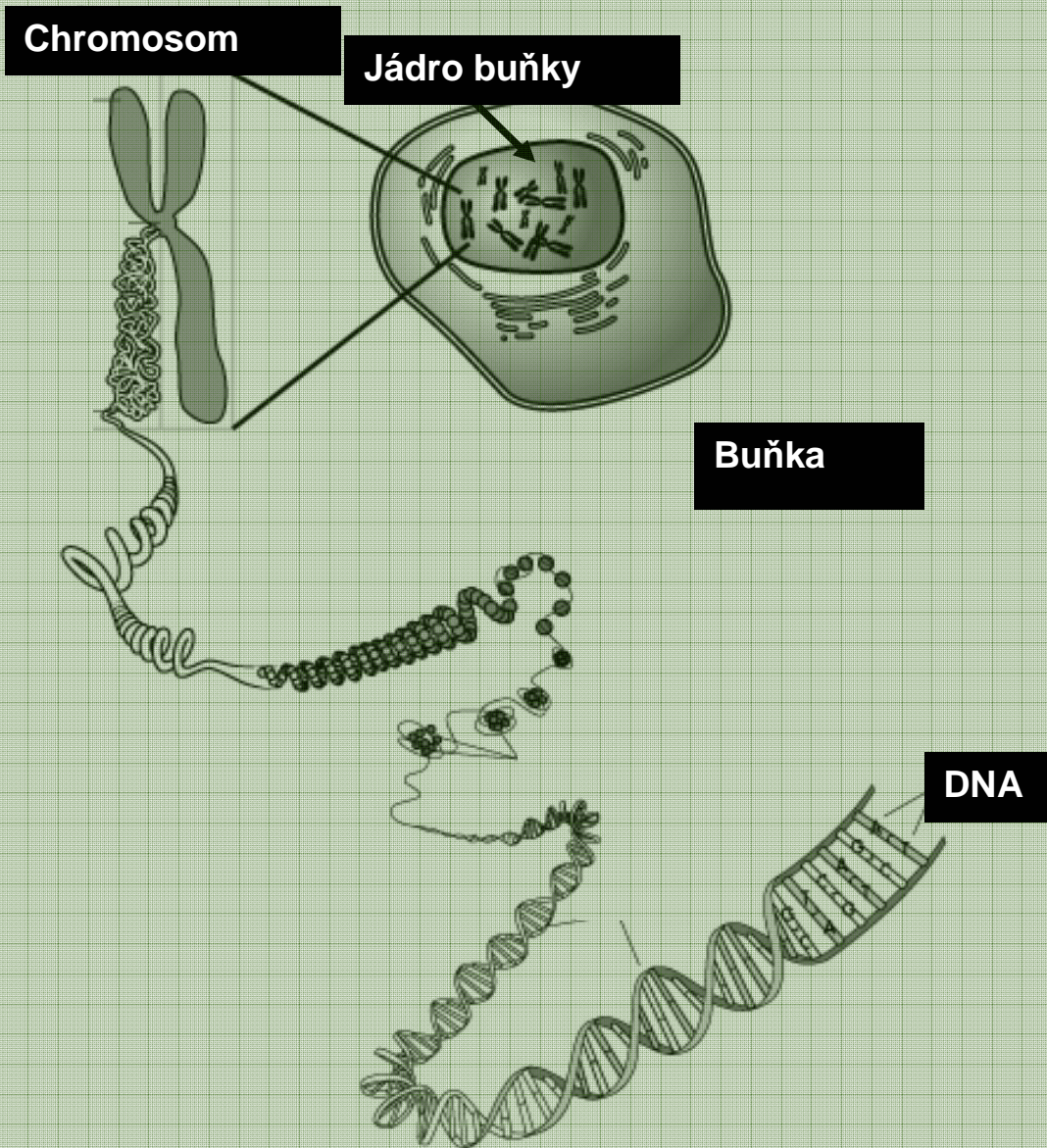
Primární a sekundární struktura DNA



Nukleosom a chromatinové vlákno



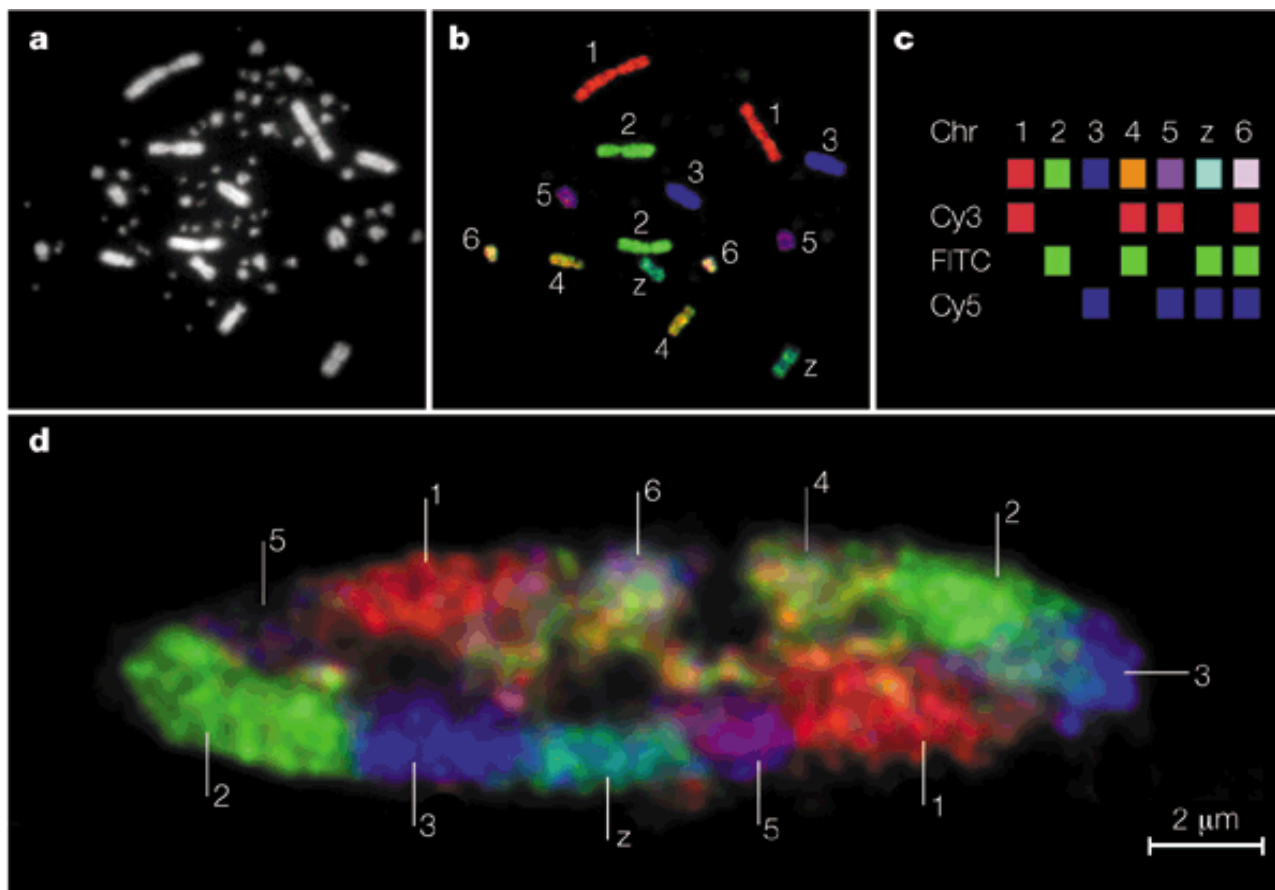
Vyšší struktura chromatinu



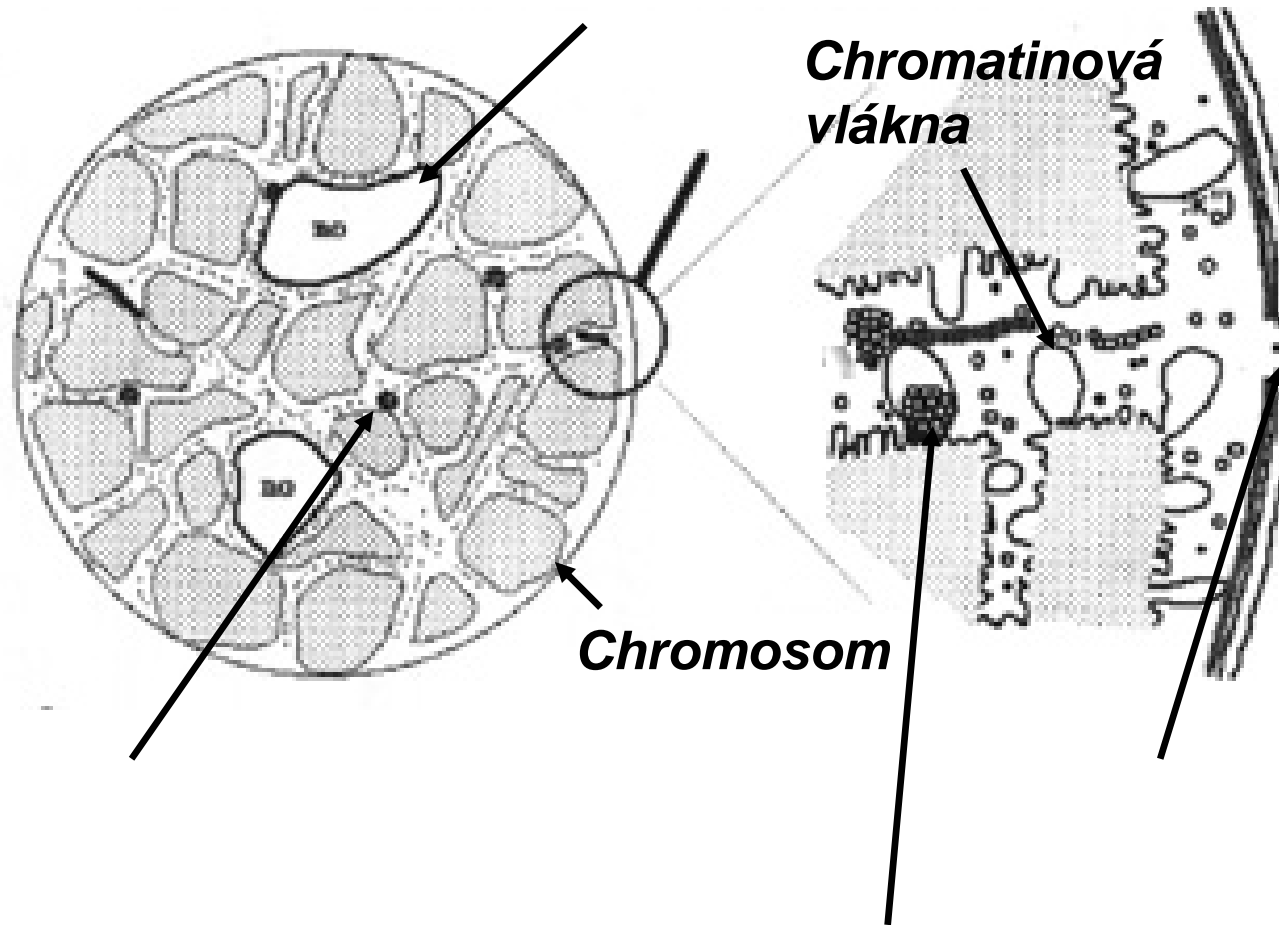


Chromosomová teritoria

První experimenty, které vedly k závěru, že chromosomy se nacházejí v jádře v podobě ohraničených domén, byly pokusy T. Cremera v letech 1982-1984. Zavedení FISH podstatně urychlilo poznání chromosomů jak v mitóze, tak v interfázi.



Chromosomové domény (teritoria)



Poškození DNA zářením

Jednoduché zlomy

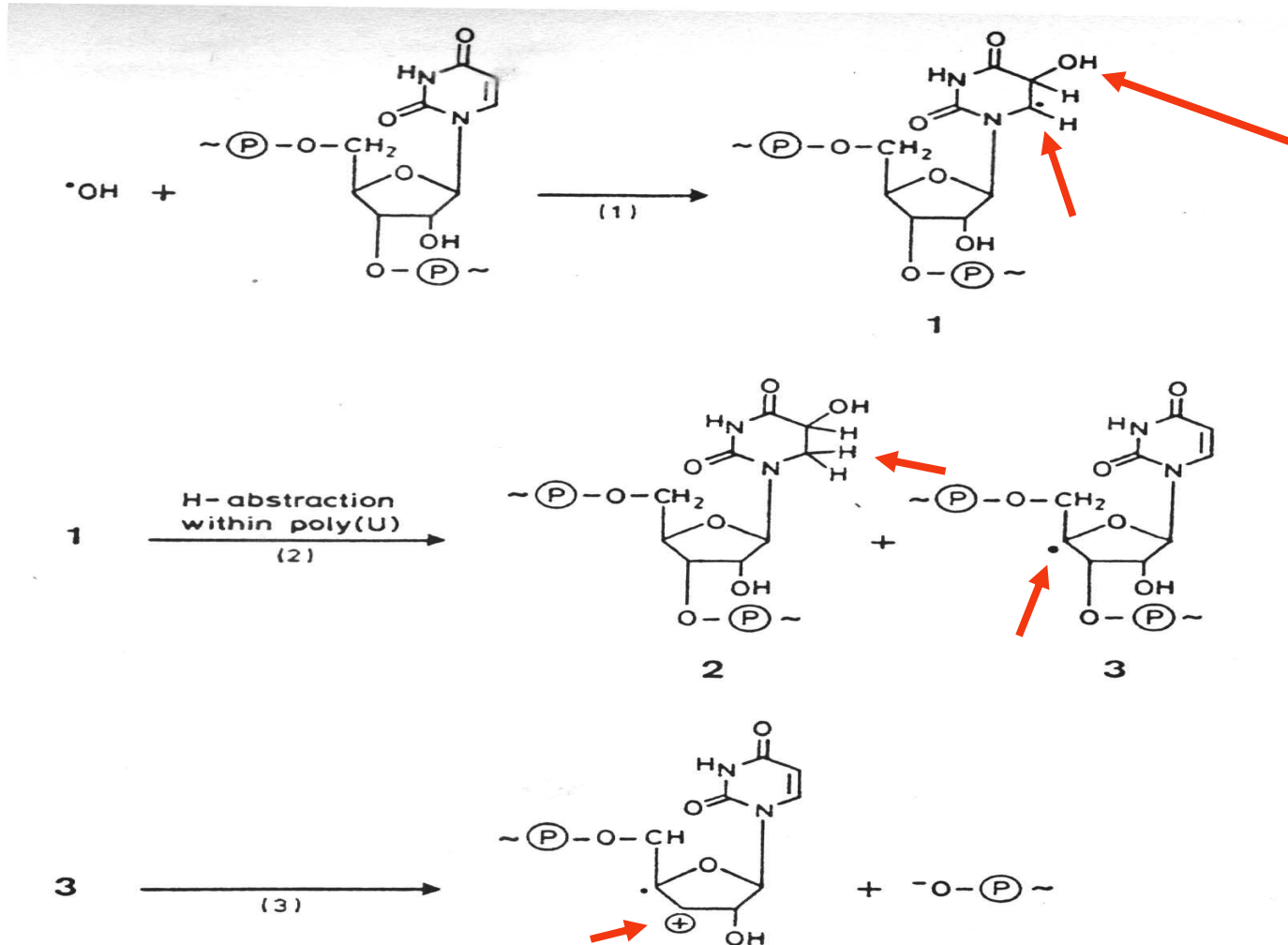
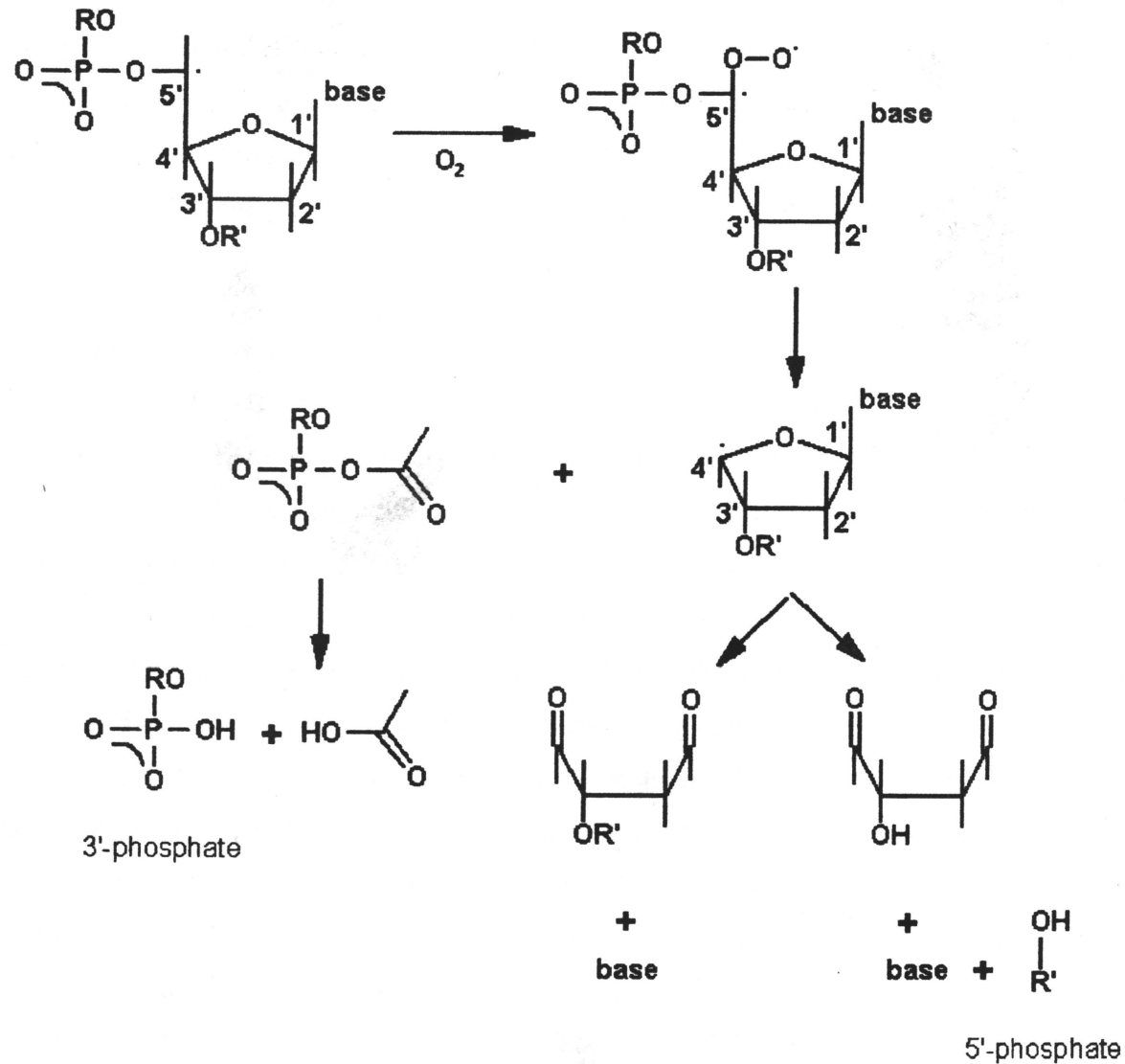


Figure 6.9. Suggested pathway for strand break formation in polyuridylic acid (from VON SONNTAG 1987, with permission)

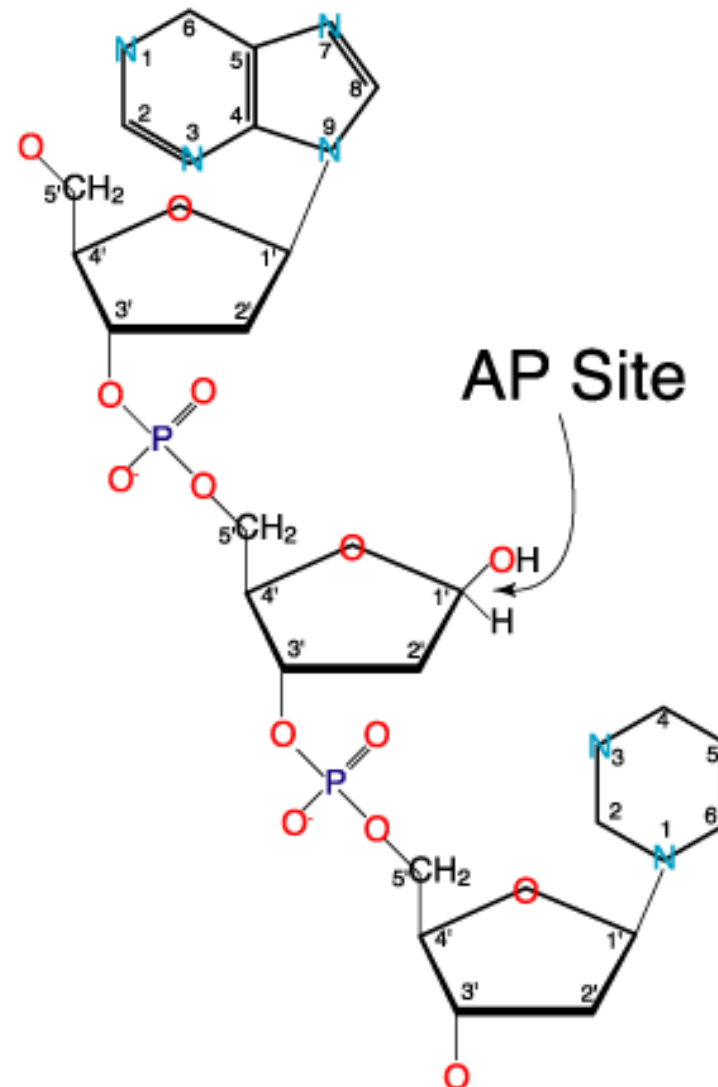
Poškození DNA zářením

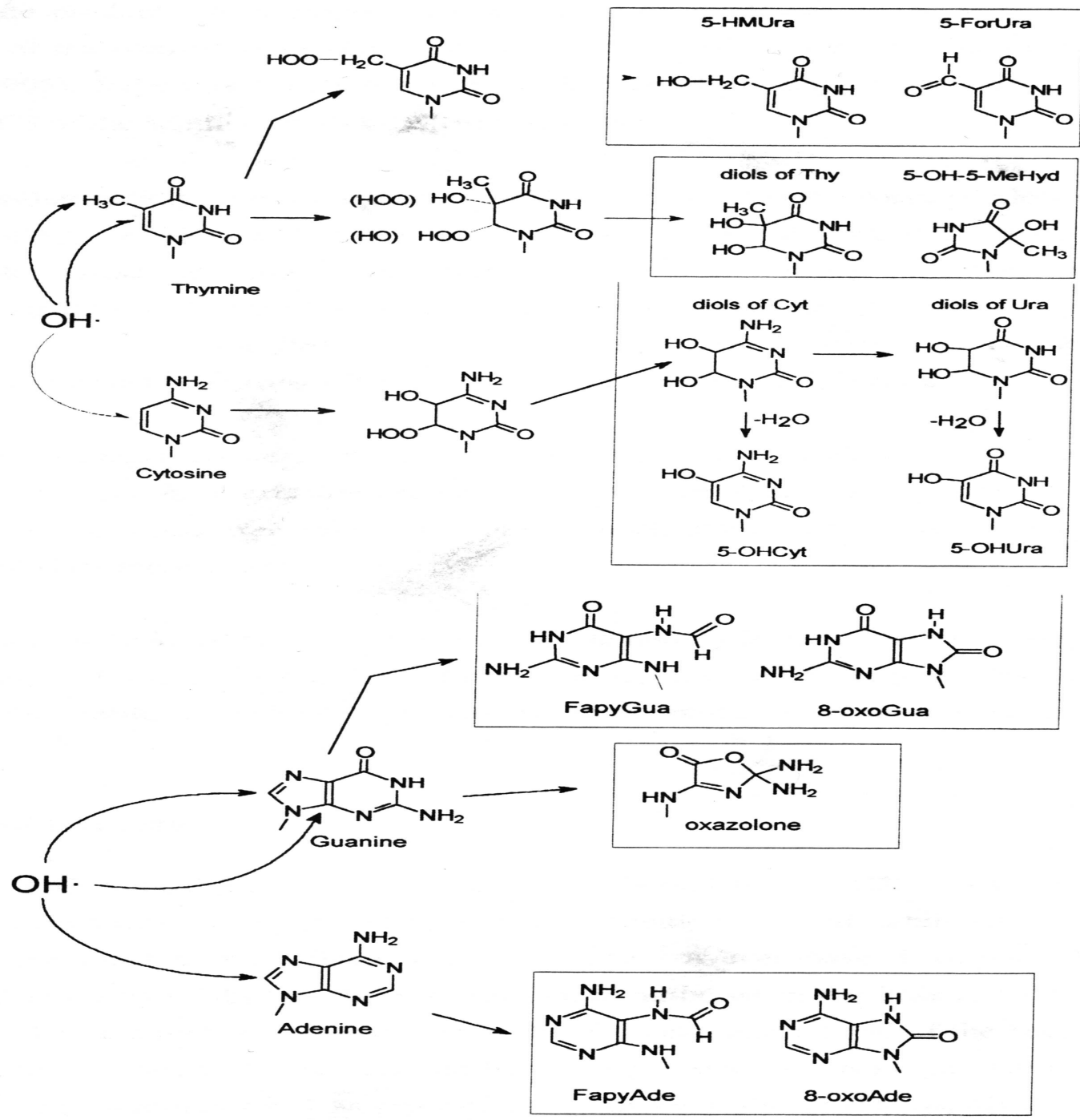
Jednoduché zlomy



Typy poškození bází

Ztráta báze –





Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Modelování DNA –

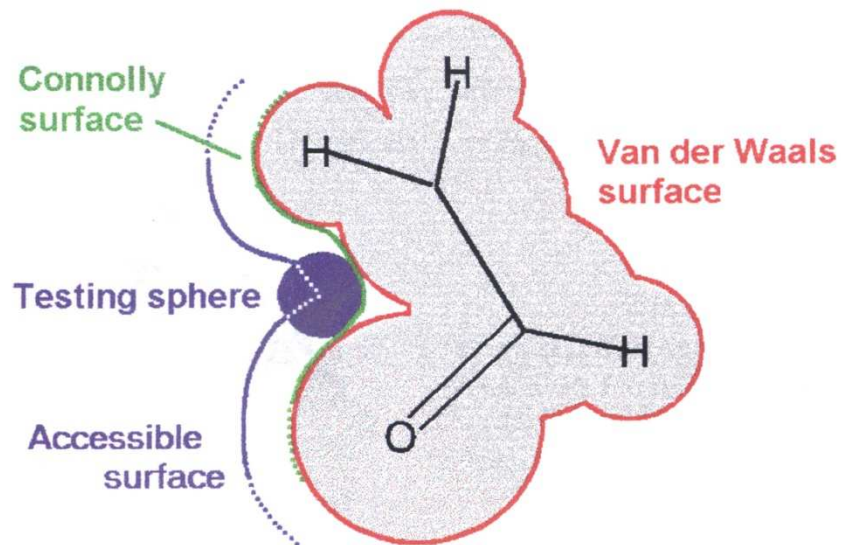
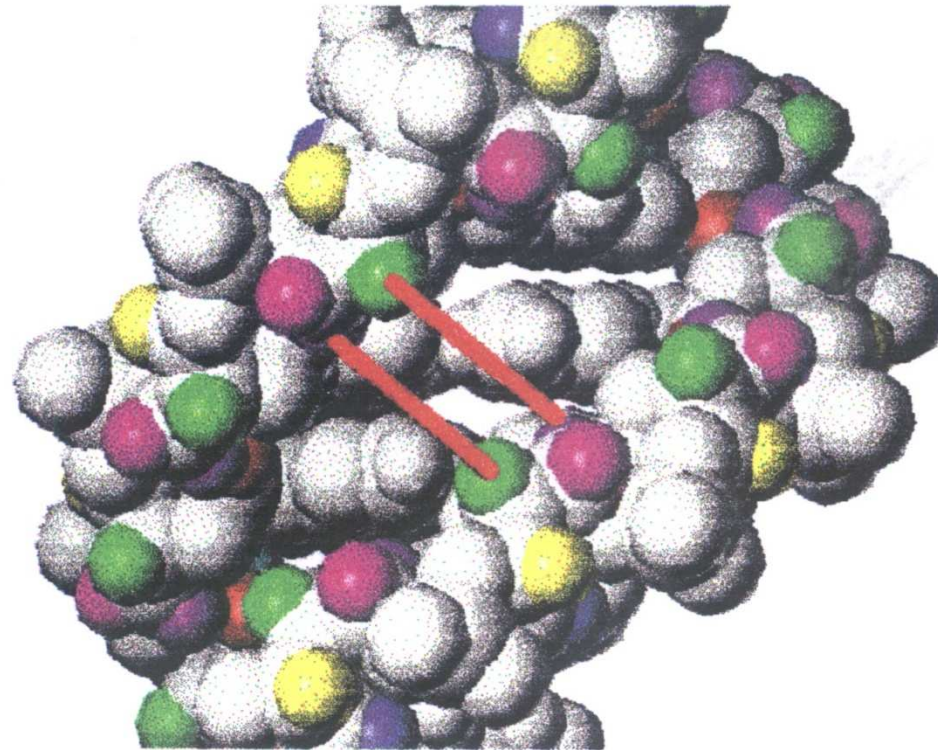


Figure 2.6: Different types of molecular surfaces (drawn after <http://scsg9.unige.ch/fln/eng/partie1b.html#a2>).

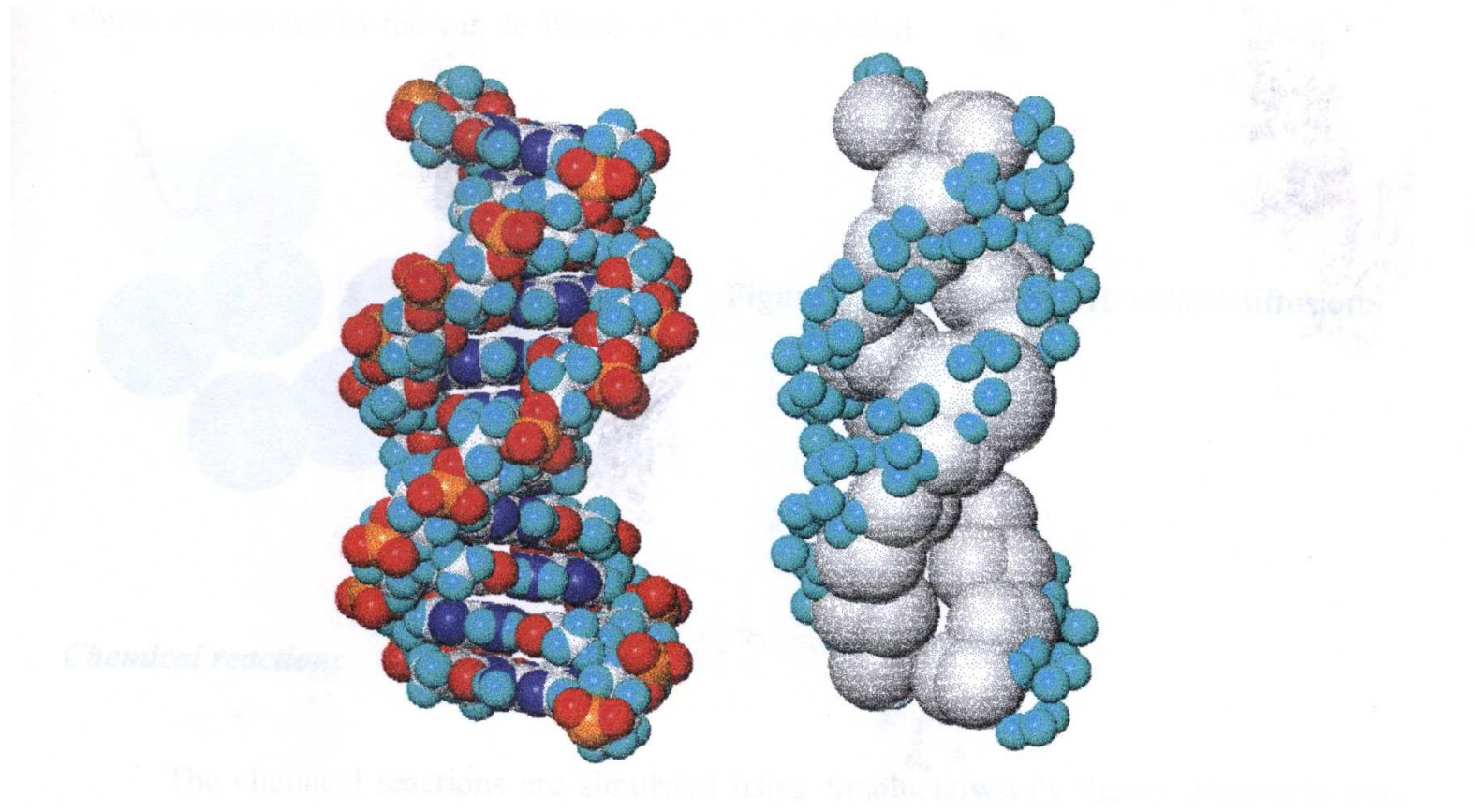
Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Modelování DNA –



Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Modelování DNA –



Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Modelování působení OH radikálu na DNA –

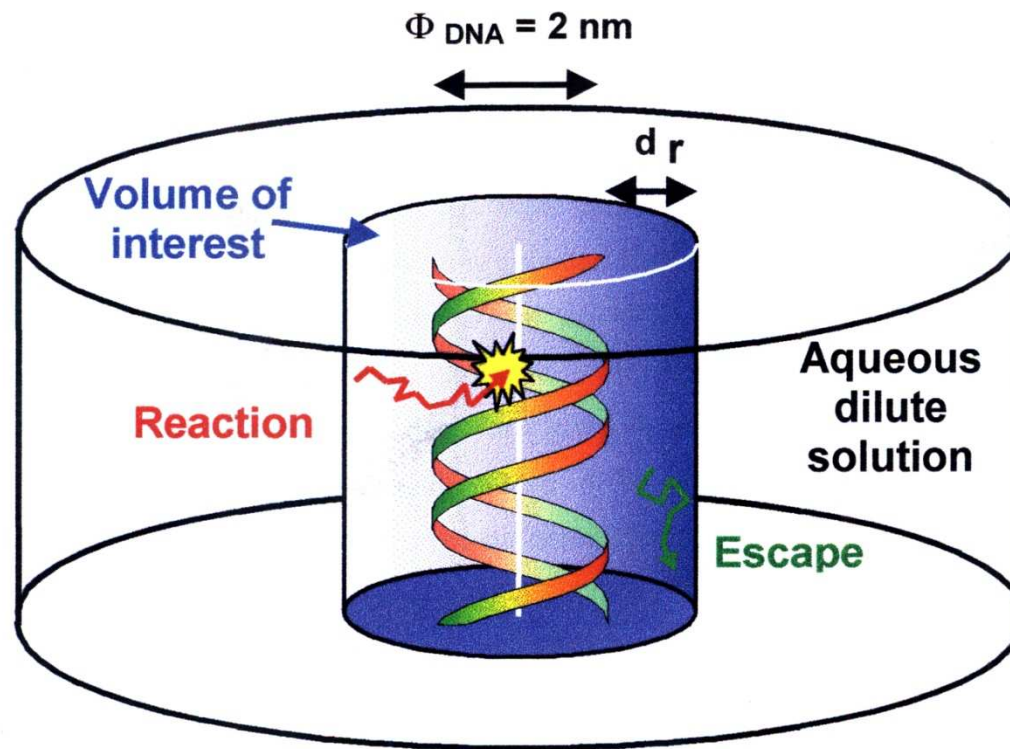
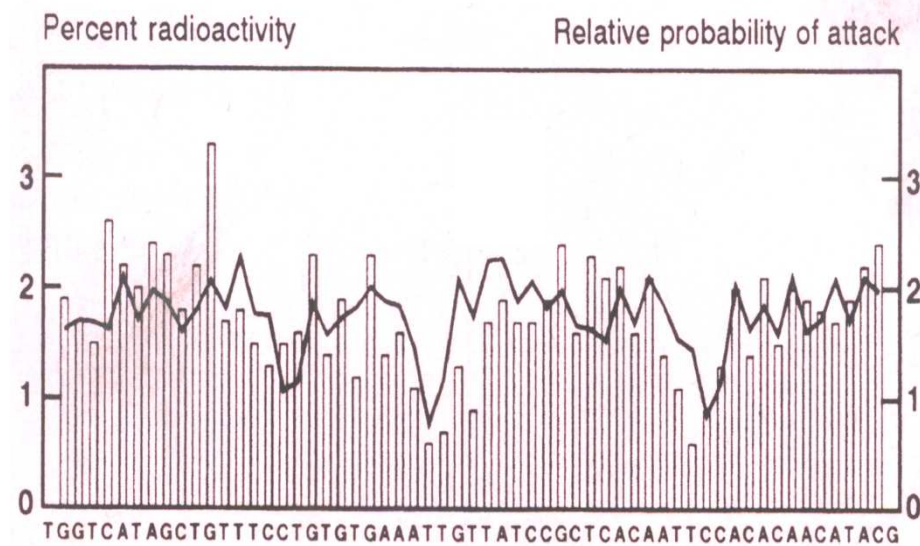


Figure 2.10: Scheme describing the theoretical model RADACK.

Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Závislost pravd. vzniku zlomu na složení DNA –



Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Vznik zlomů DNA v tetraplexech –

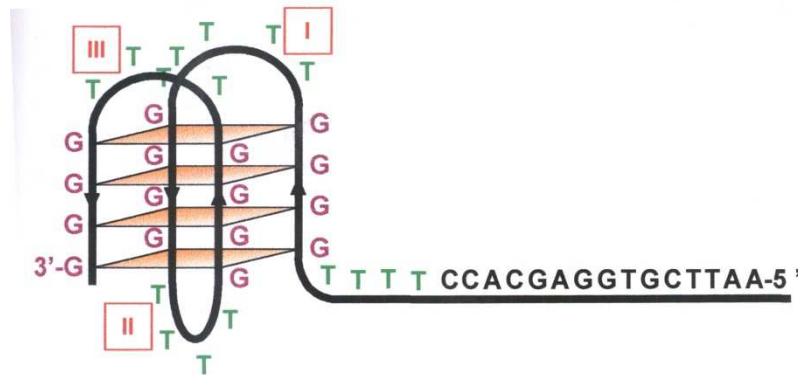
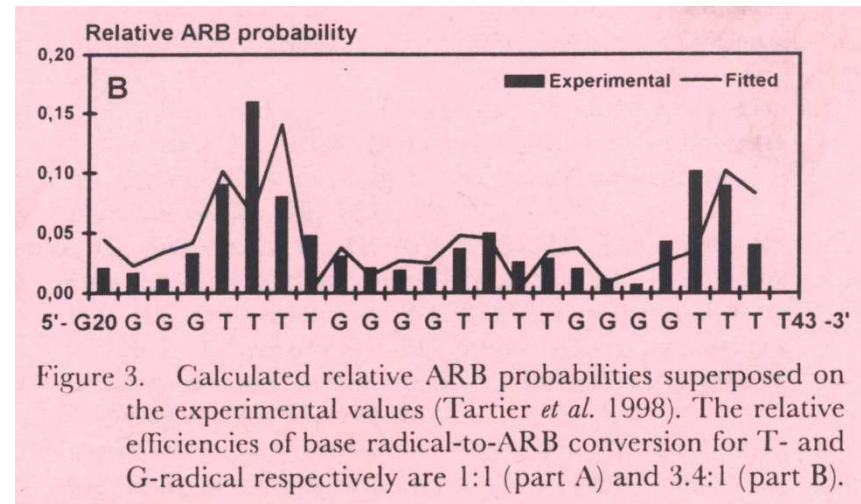
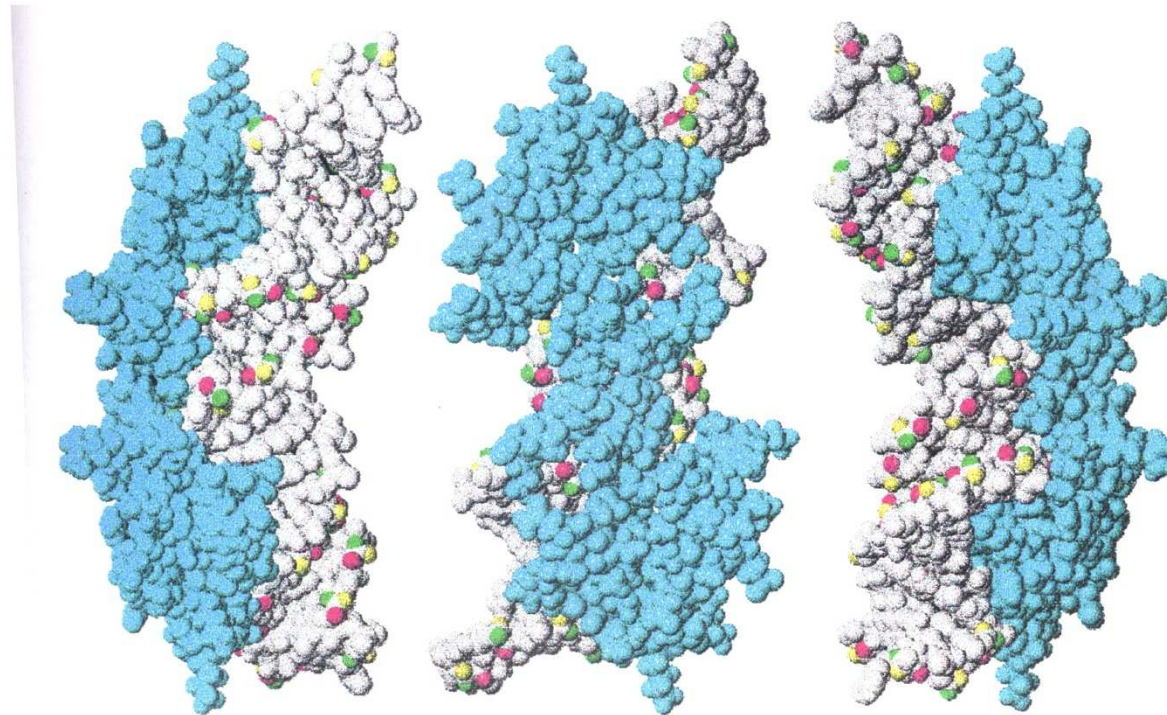


Figure 3.9: Schematic drawing of the unimolecular oligonucleotide with the $(G_4T_4)_4$ sequence in quadruple helix structure (Tartier *et al.* 1998).



Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Vznik zlomů DNA v komplexu s proteinem –



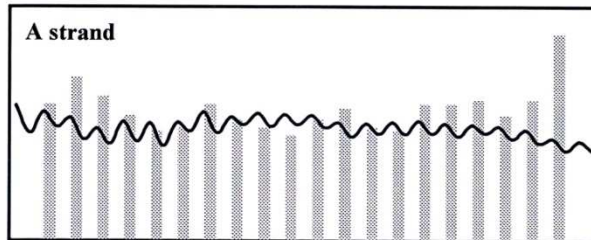
Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Vznik zlomů DNA v komplexu s proteinem –

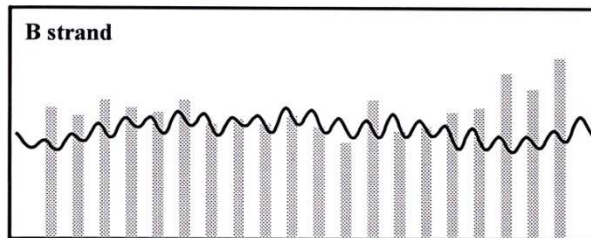
FSB

Naked DNA

G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T



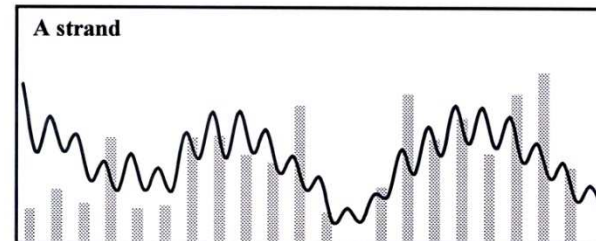
G A A T T G T G A G C G C T C A C A A T T
C T T A A C A C T C G C G A G T G T T A A



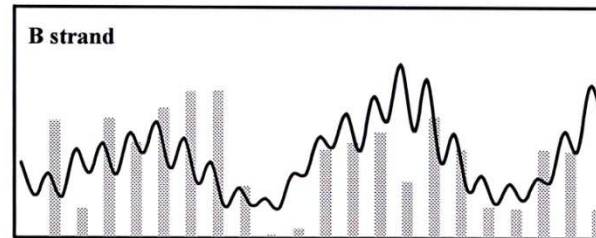
C T T A A C A C T C G C C T A T T G T T A A

DNA-protein complex

G A A T T G T G A G C G G A T A A C A A T T



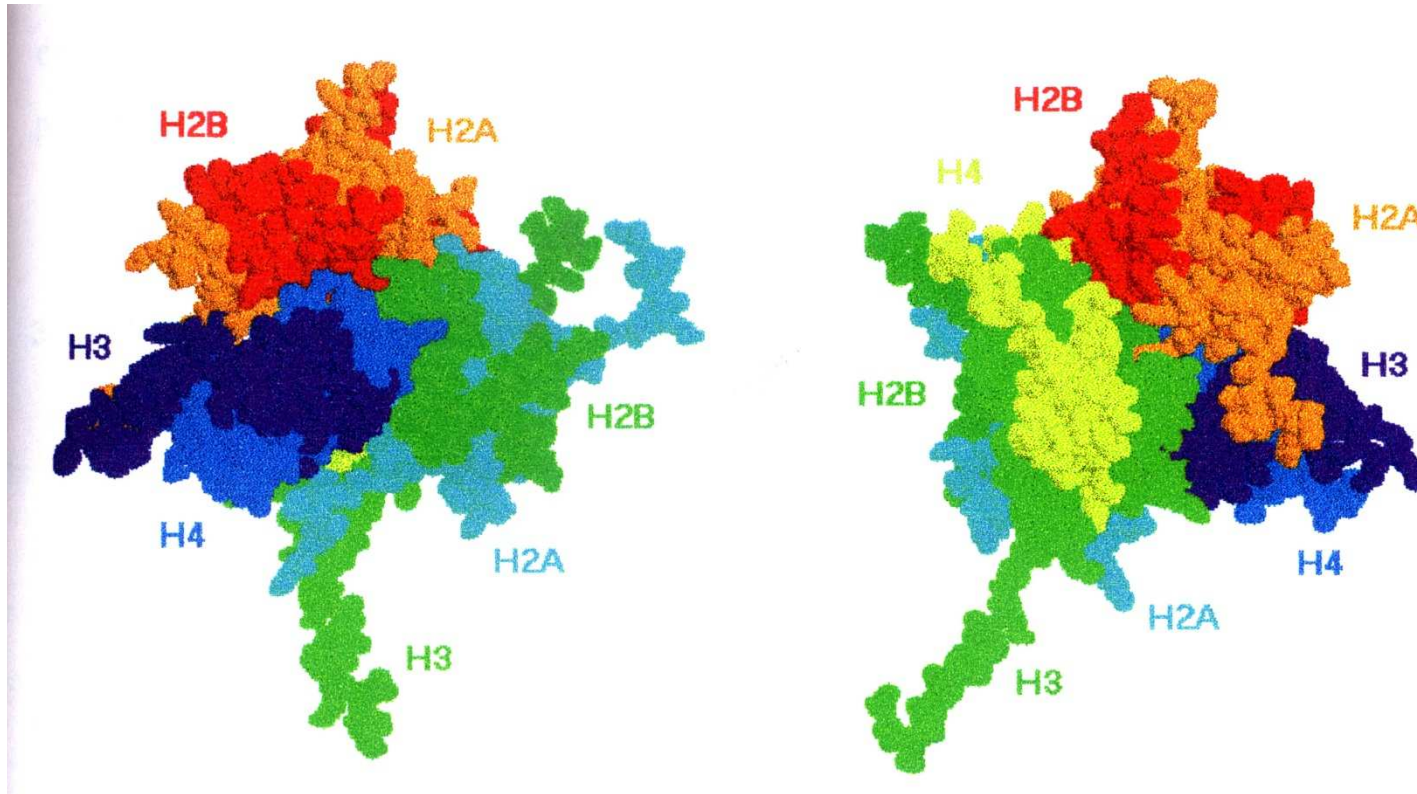
G A A T T G T G A G C G C T C A C A A T T
C T T A A C A C T C G C G A G T G T T A A



C T T A A C A C T C G C C T A T T G T T A A

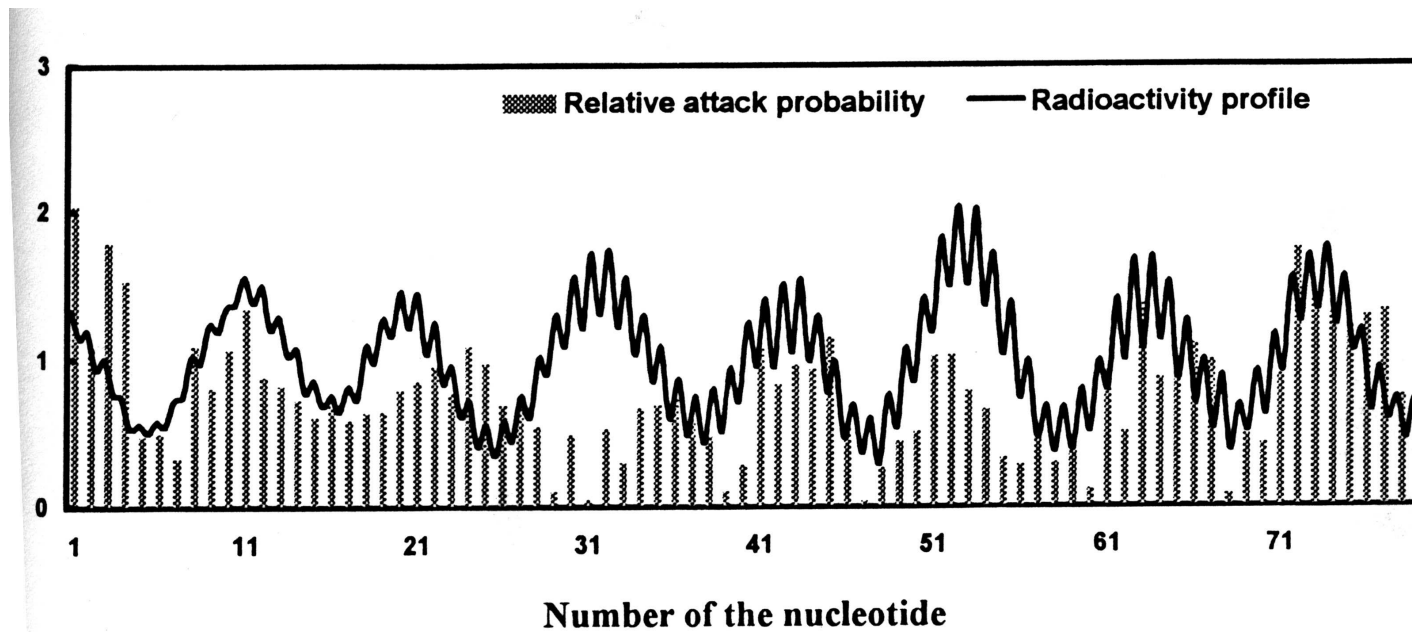
Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Vznik zlomů DNA v komplexu s histony (nukleosomy) –



Výpočet produkce zlomů DNA po ozáření

Vznik zlomů DNA v komplexu s histony (nukleosomy) –

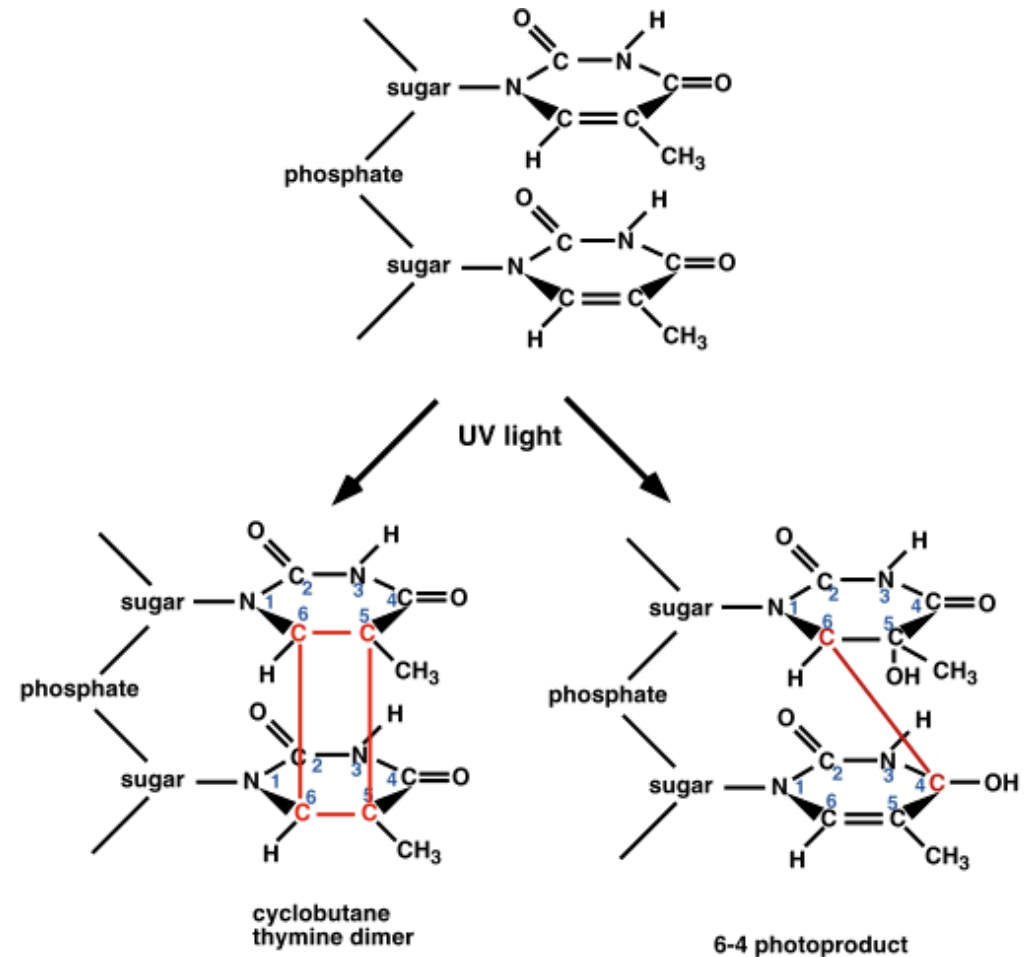


Poškození DNA působením UV-zářením

6-4

dimerů a
fotoproduktů.

špatné párování
při replikaci nebo zastavení
replikace.



Systemy reparace DNA

DNA

unikátní molekula

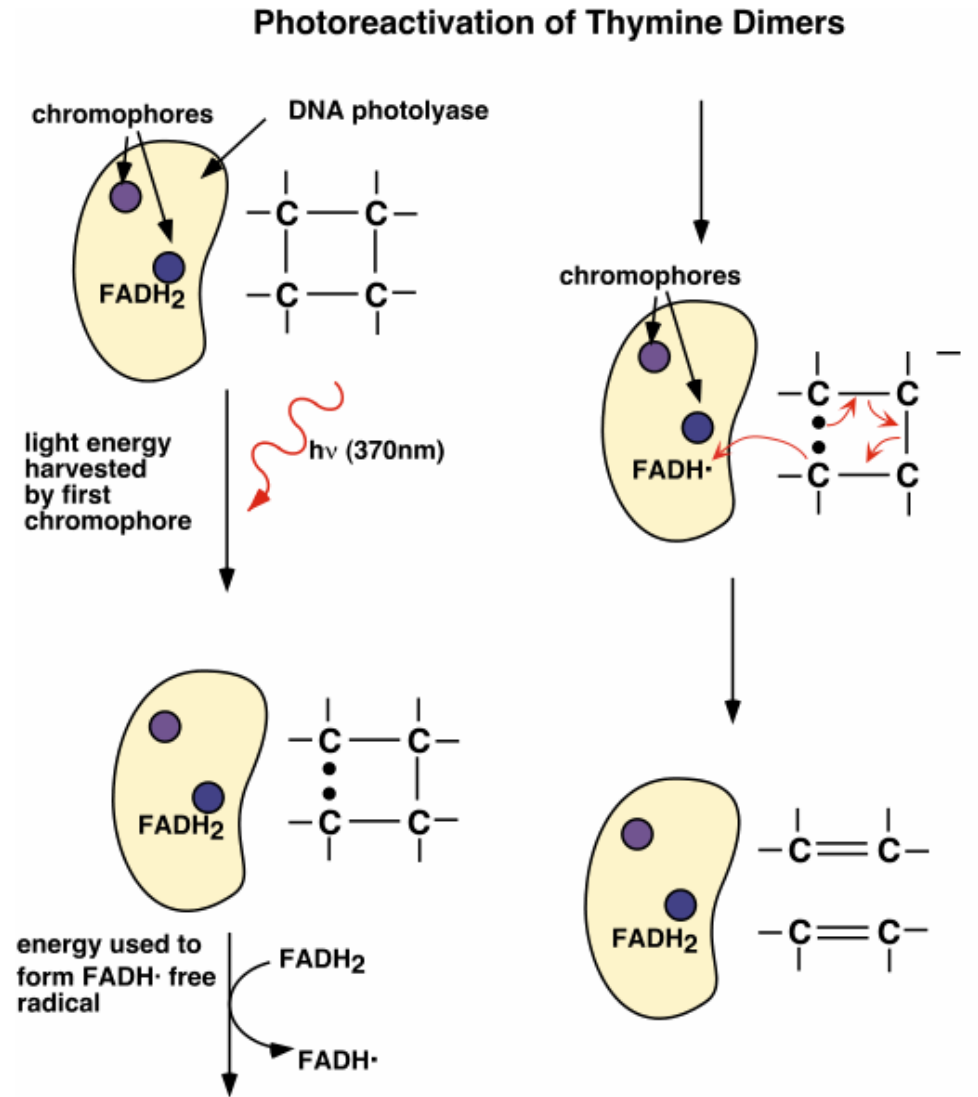
existuje řada reparačních systémů DNA

- 1) Teplota**
- 2) UV záření**
- 3) Ionizující záření**
- 4) Chemické modifikace**

UV záření.

Fotoreaktivace – prokaryotní i eukaryotní buňky

DNA-
fotoliázy.
pohlcením světla



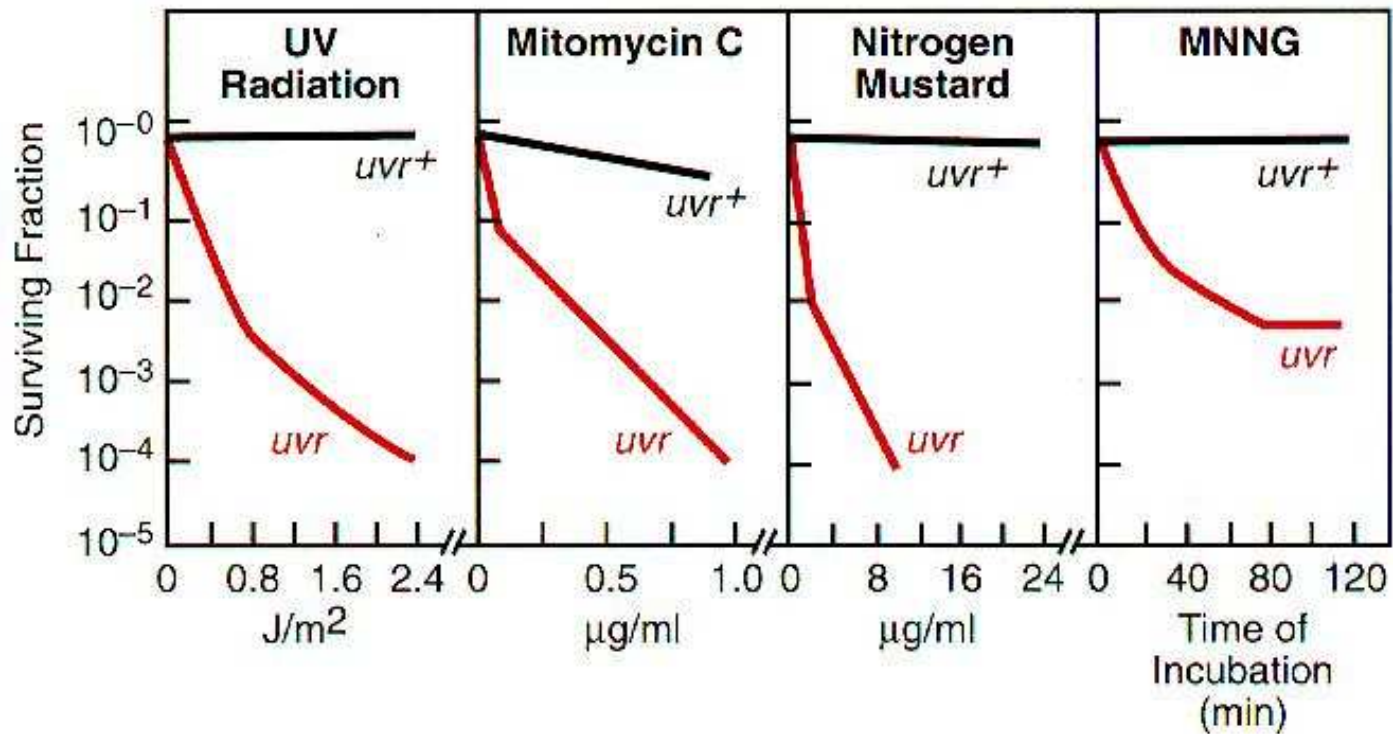
Fotoreaktivace – prokaryotní i eukaryotní buňky

Vazba PL (fotoliázy) na DNA

Mechanismus reparace

nebyla nalezena u savců

Citlivost bakterií k záření a dalším činidlům



Nukleotidová excisní reparační

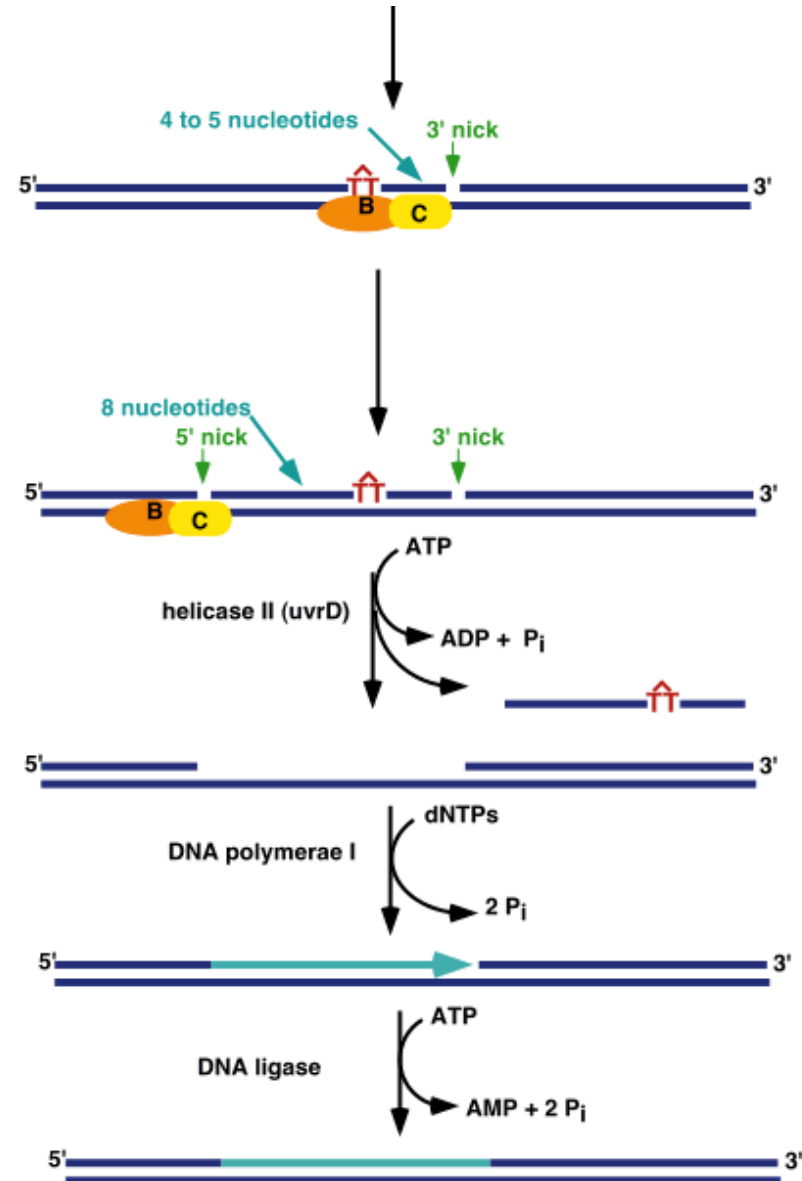
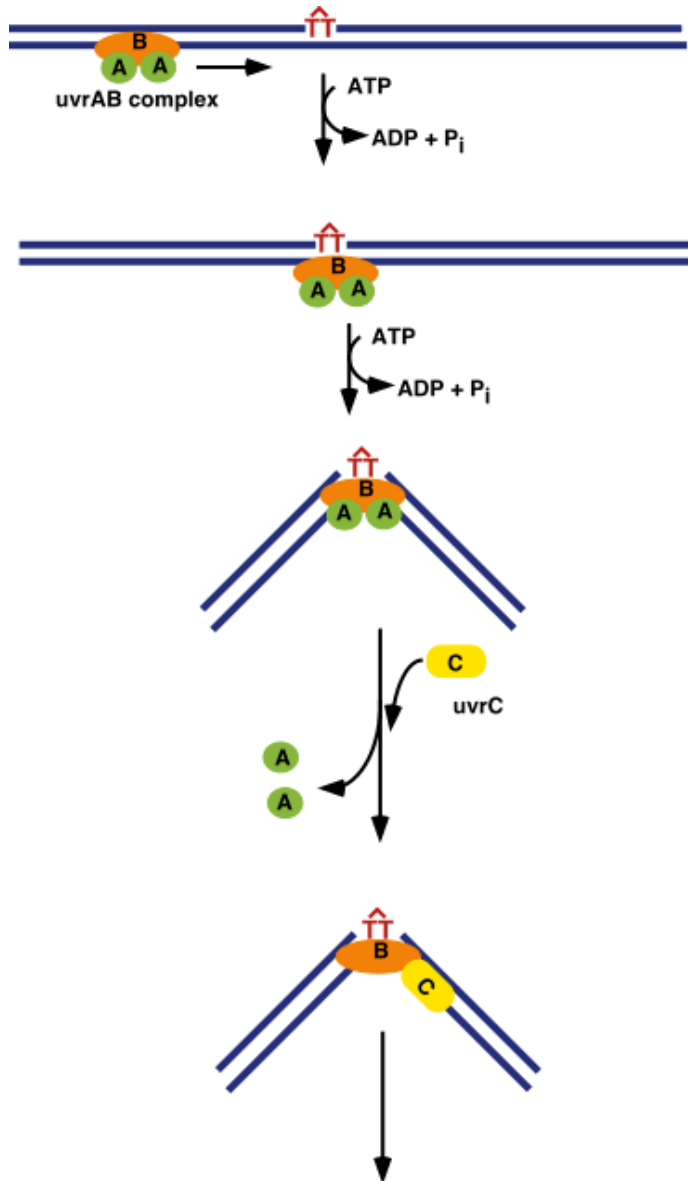
uvrABC systému

uvrBuvrC štípně páteř DNA

helikázou II

prostá syntéza

Nukleotidová excisní reparace



Nukleotidová excisní reparace

UvrA protein

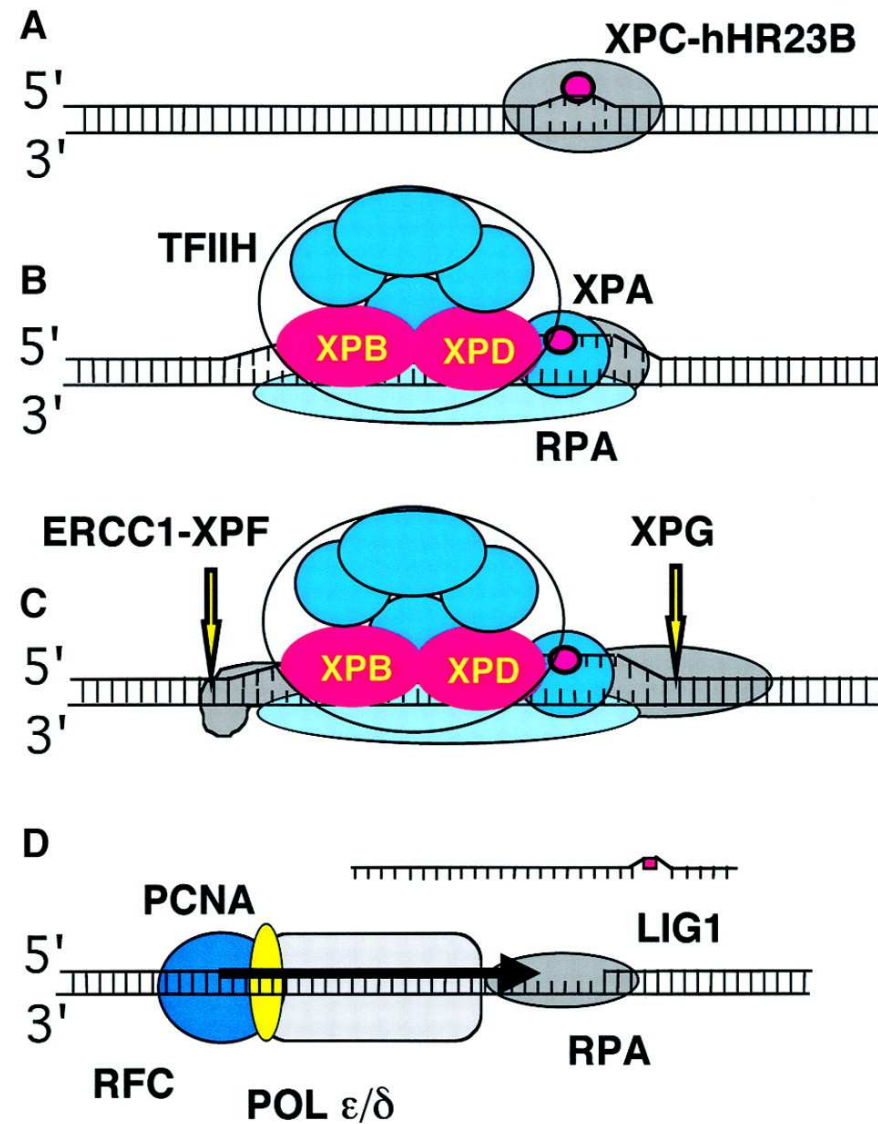
UvrB protein

UvrC protein

člověka

kvasinek

Nukleotidová excisní reparace u člověka

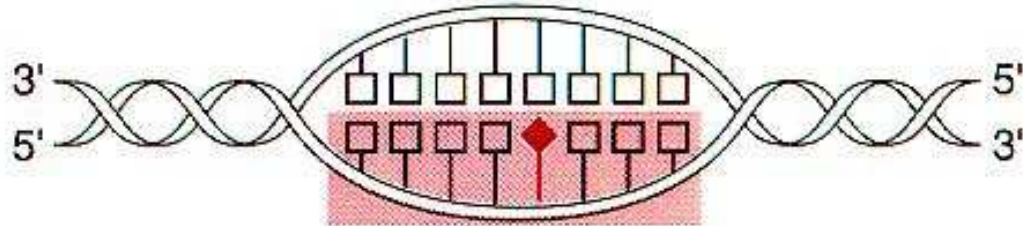


Excisní reparace poškozených bazí

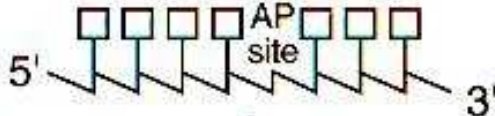
DNA glykosylázy

AP endonukleázy

BASE EXCISION REPAIR

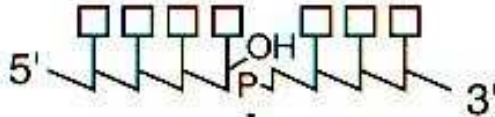


DNA glycosylase ↓ ①

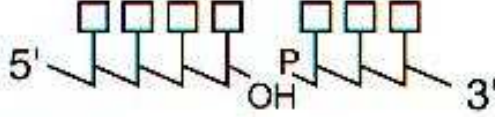


Free base excised

5' AP endonuclease ↓ ②

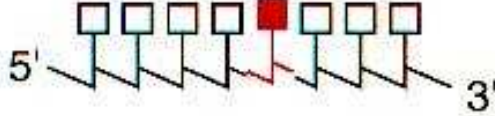


dRpase ↓ ③



+ P-OH

DNA polymerase + DNA ligase ↓ ④

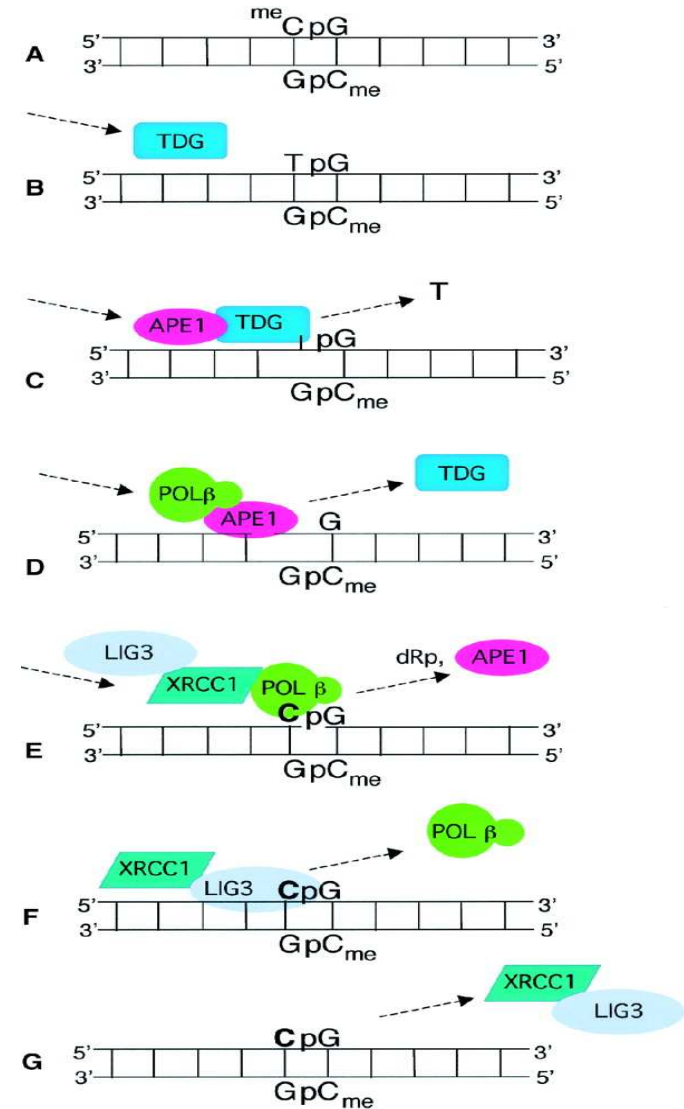


Excisní reparace poškozených bazí u člověka

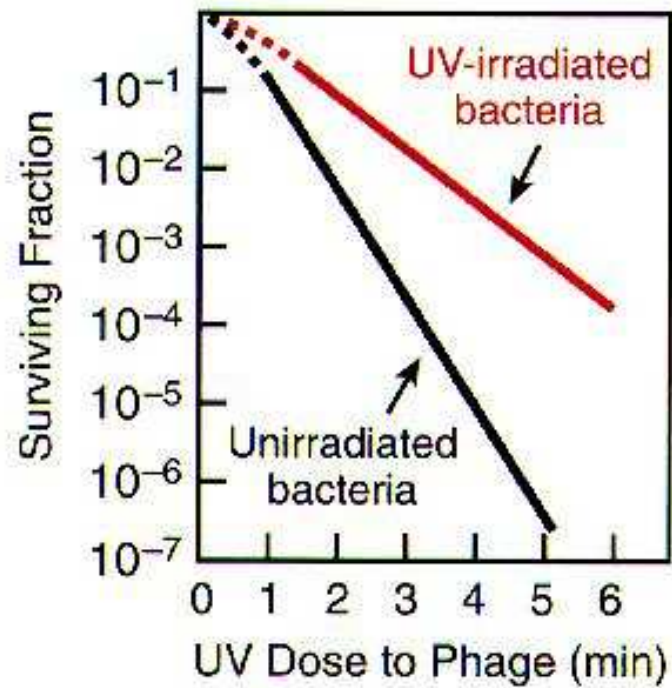
U člověka

glykosylazy

endonukleáza



W-reaktivace fágových částic



SOS systém u E. coli

inducibilní enzymatický systém
reparaci, mutagenezi
lexA a recA proteinech.

lexA represor

SOS box

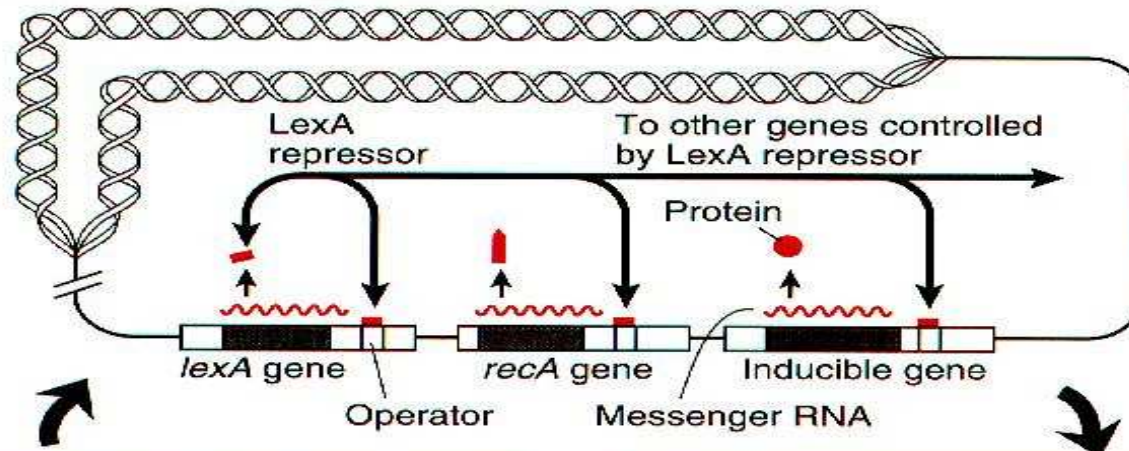
proteáze)

reparace, způsobuje rekombinaci.

recA-

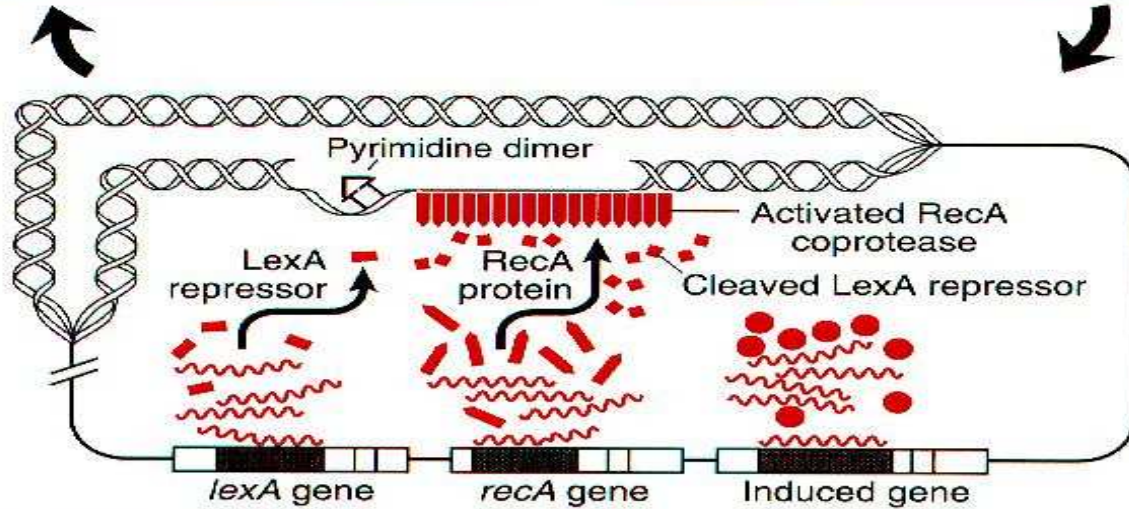
nasedá na DNA a chrání jí v průběhu

UNINDUCED STATE



Repressor accumulates
↑
Drop in RecA coprotease level
↑
Drop in level of signal
↑
DNA repaired

DNA damage
↓
Inducing signal
↓
RecA coprotease activated
↓
LexA repressor cleaved



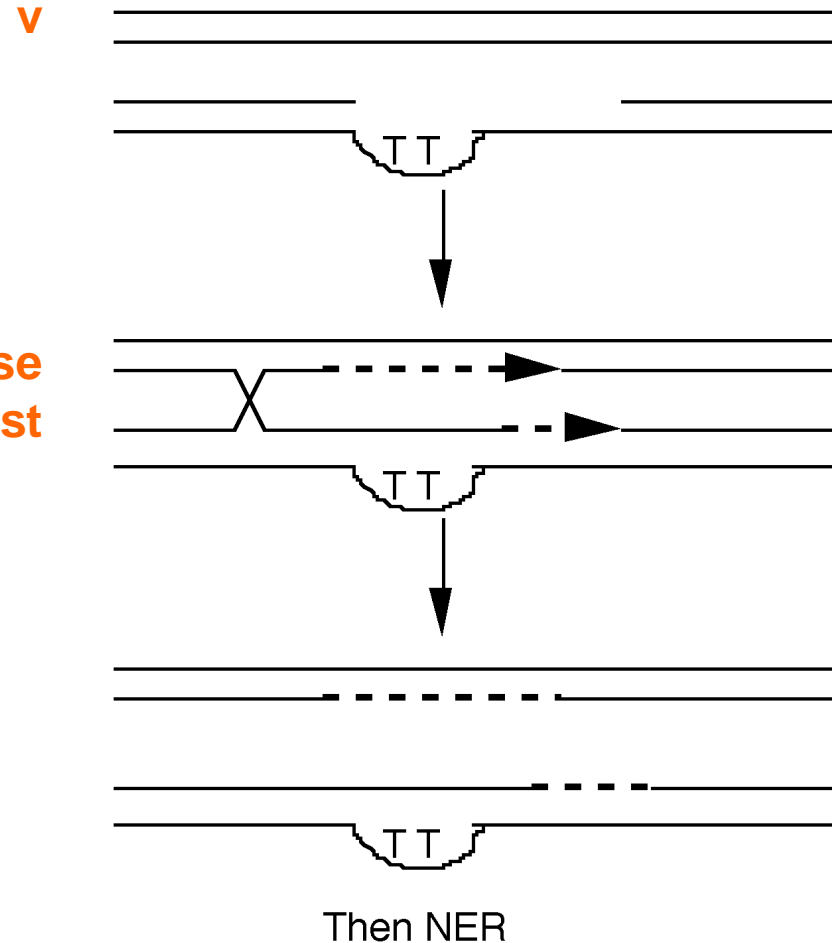
INDUCED STATE

SOS (postreplikativní) reparace

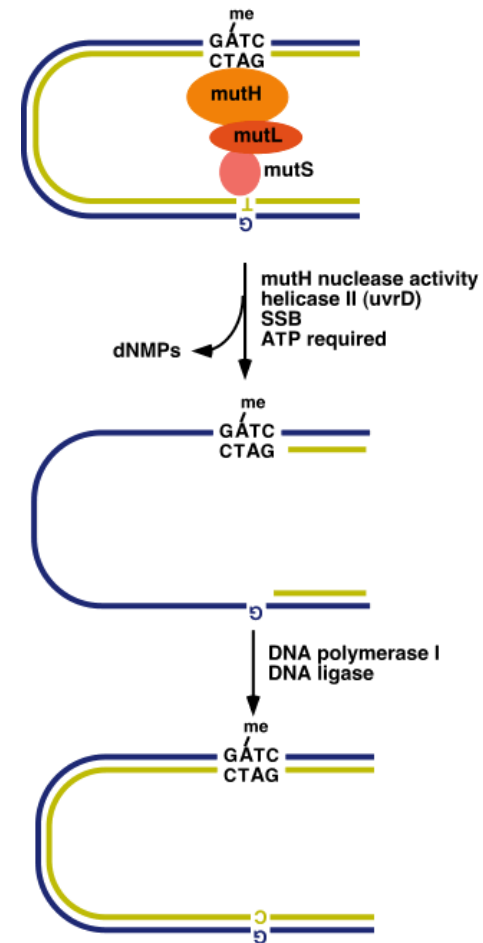
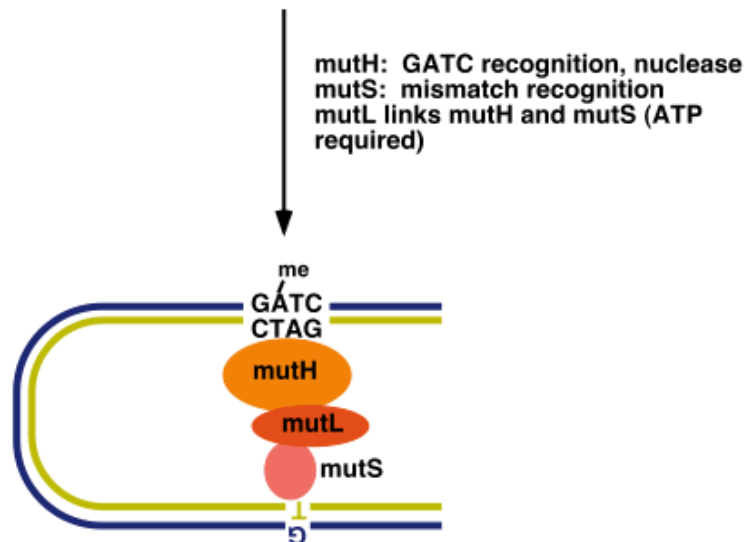
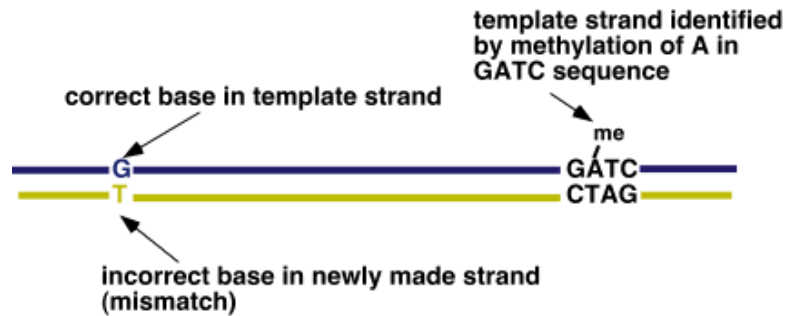
průběhu replikace

RecA protein se váže k ssDNA a má schopnost přenést do této mezery řetězec

Poškození se neodstraní –



Mismatch repair



Reparace zlomů DNA

SSB

DSB

E.coli

savčích buněk

NHEJ-

reparace

rekombinační

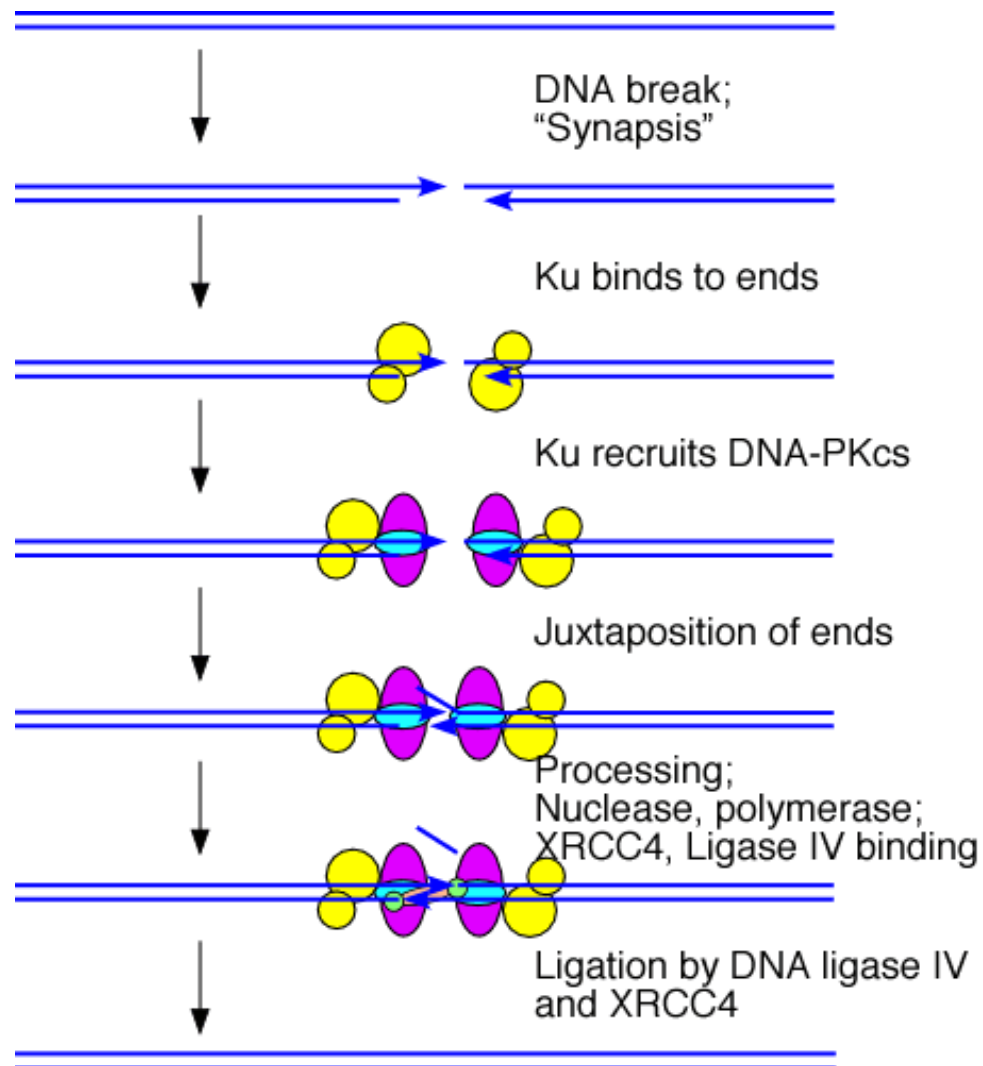
NHEJ reparace

Proteiny, které se účastní

Mechanismus reparace:

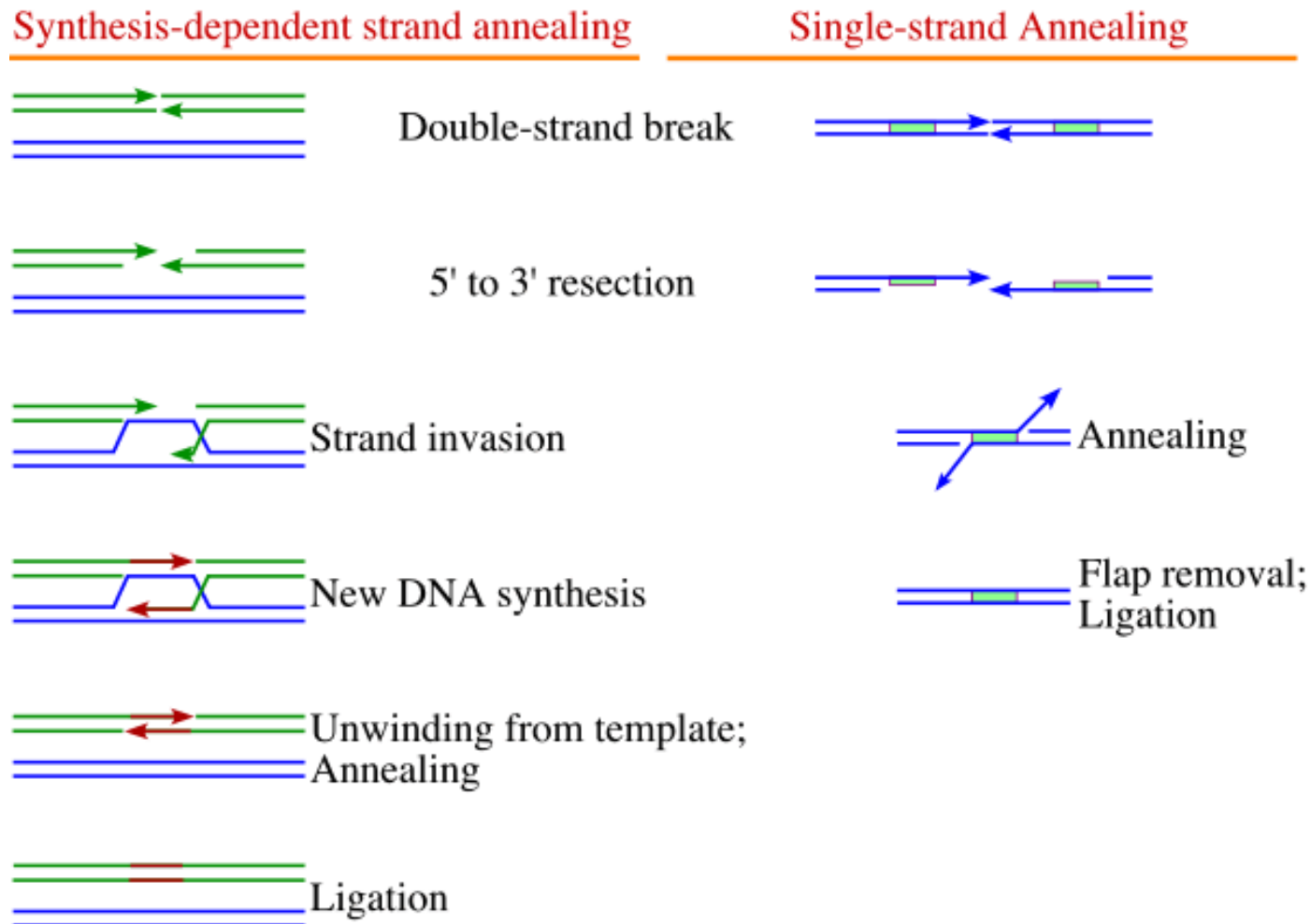
NHEJ reparace

Oba zlomy jsou podrženy pohromadě v tzv. synapsi následujícím způsobem:



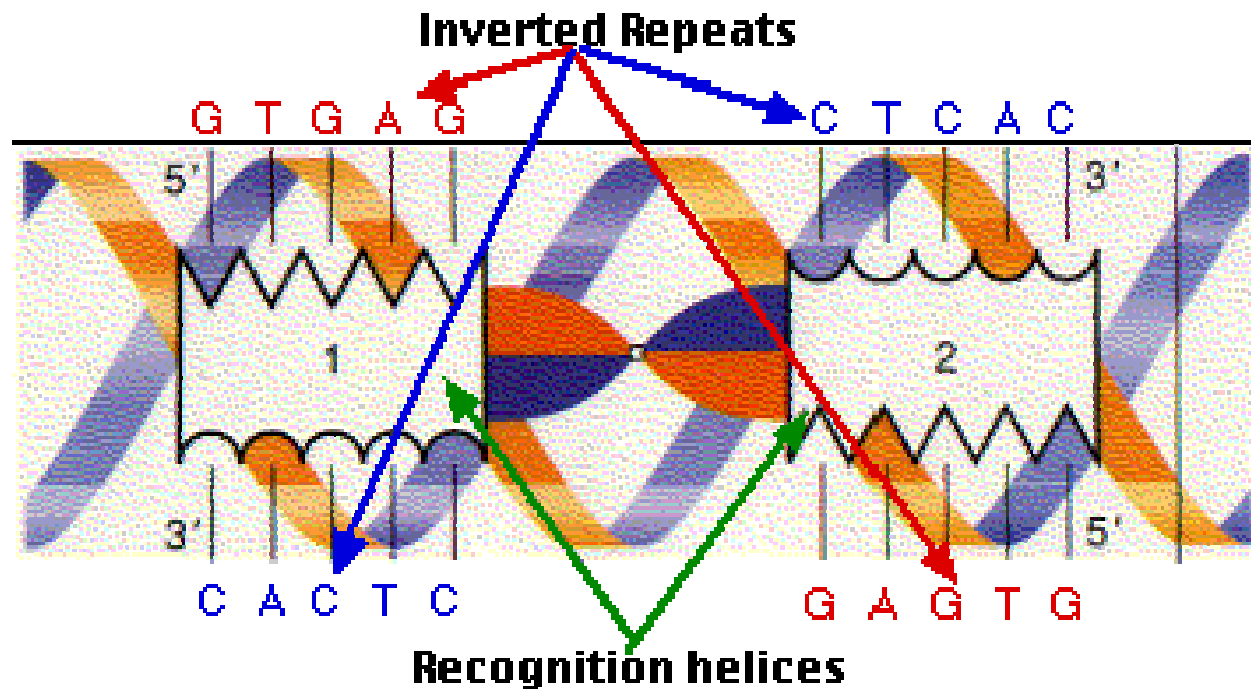
Homologní rekombinace u lidských buněk

Existují dva dobře dokumentované procesy – SDSA a SSA

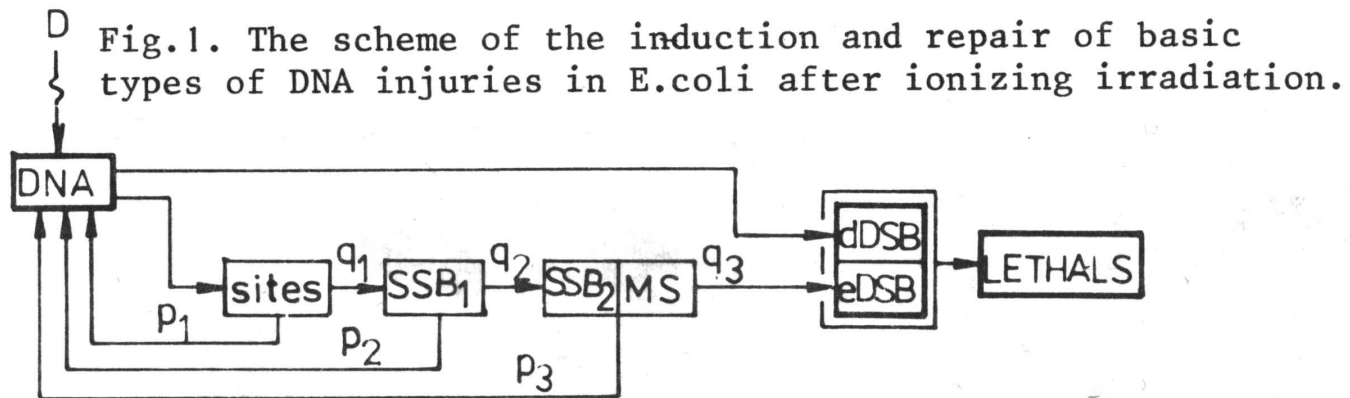


Homologní rekombinace

Rekombinační reparace může nastat tam, kde je k dispozici homologní DNA



Hierarchie reparace zlomů u E. coli



Prvotní zlomy

(SSB1)

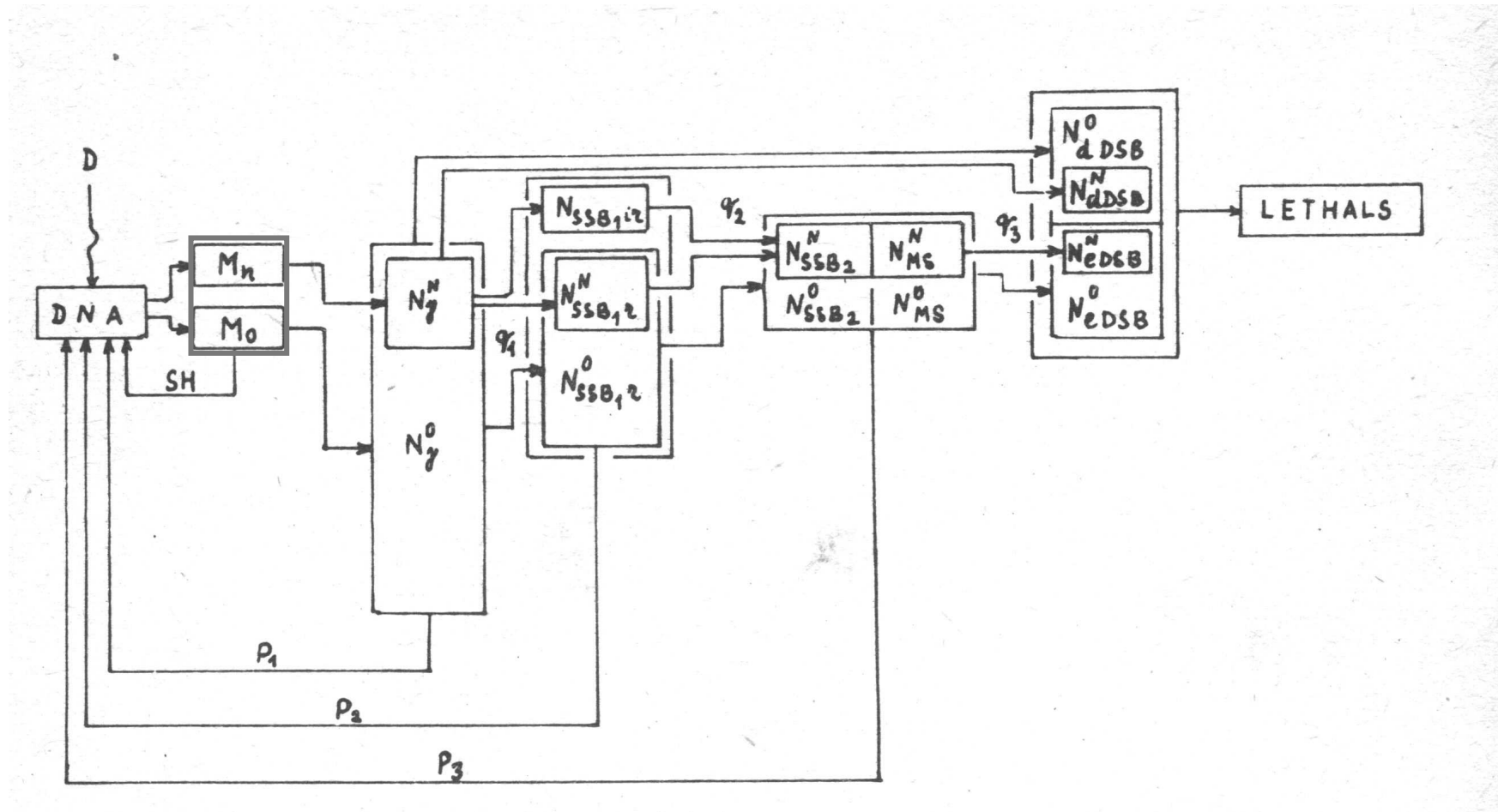
původu

jednoduché zlomy

dlouhé mezery

DSB enzymatického

Kinetika reparace zlomů v N_2 a O_2



radikály DNA

prvotních zlomů

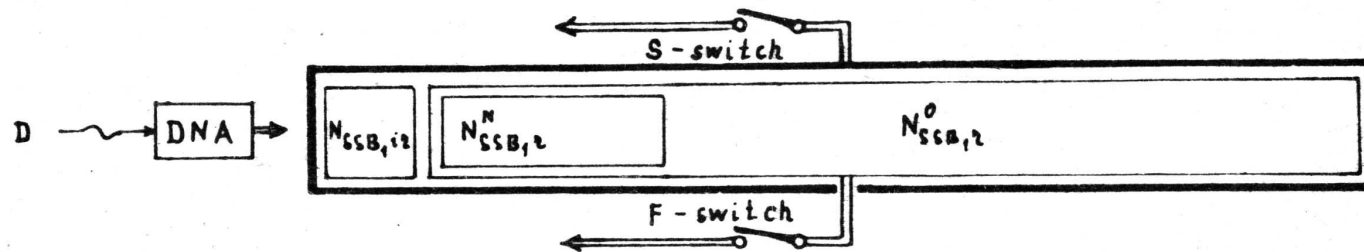
Model reparace zlomů u E.coli

reparačních systémů

excizní

dvou (hlavních)
SOS reparace

nezávislost $N_{ssb,ir}$ na přítomnosti kyslíku



$$N_{let} = \frac{N_{SSB_1r}}{F \cdot S} + \frac{N_{SSB_1ir}}{S}$$

Model reparace zlomů u E.coli

využít experimentálních výsledků

stanovili parametry modelu

Kmen	N_{let}	OER
rec A	0.062	1.8
wild type	0.01	3.4
pol A	0.049	4.6

Model reparace zlomů u E.coli

kyslíkový poměr

$$OER = \frac{N^0_{SSB_{1r}} / F + N_{SSB_{1ir}}}{N^N_{SSB_{1r}} / F + N_{SSB_{1ir}}}$$

OER

polA1- kmen

$$OER^{pol} = 4,6 = \frac{N^0_{SSB_{1r}} + N_{SSB_{1ir}}}{N^N_{SSB_{1r}} + N_{SSB_{1ir}}}$$

počtu nereparovaných DSB

recA kmen

$$N_{let,recA} = 0,062 = N^0_{SSB_{1r}} / F^{rec} + N_{SSB_{1ir}}$$

Model reparace zlomů u E.coli

Kyslíkový poměr pro recA

$$OER^{rec} = 1,8 = \frac{N^0_{SSB_{1r}} / F^{rec} + N_{SSB_{1ir}}}{N^N_{SSB_{1r}} / F^{rec} + N_{SSB_{1ir}}}$$

$$N_{SSB_{1ir}} = 0,026 \cdot \frac{F^{rec}}{F^{rec} - 1}$$

$F^{rec} \gg 1$

$$N_{SSB_{1ir}} = 0,026 \text{ Gy}^{-1} \text{ genom}^{-1}$$

$$N^0_{SSB_{1r}} / F^{rec} = 0,033 \quad F^{rec} = 30 \cdot (N^0_{SSB1} - 0,029)$$

$$S^{pol} = 20 \cdot (N^0_{SSB1})$$

Model reparace zlomů u E.coli

$$F^{rec}=18.9$$

$$S^{pol}=13.2.$$

Pro počet letálních zlomů a OER buněk standardního

kmene

$$N_{let,wt} = 0,01 = \frac{N^0_{SSB_{1r}}}{F^{wt} \cdot S^{wt}} + \frac{N_{SSB_{1r}}}{S^{wt}}$$

$$OER^{wt} = 3,4 = \frac{N^0_{SSB_{1r}} / F^{wt} + N_{SSB_{1ir}}}{N^N_{SSB_{1r}} / F^{wt} + N_{SSB_{1ir}}}$$

$$F^{wt}=3.6 \quad a \quad S^{wt}=21.2$$

Model reparace zlomů u E.coli

Kmen	F	S
rec A	18.9	1
wild type	3.6	21.2
pol A	1	13.2

Model reparace zlomů u E.coli

$$N_{let,uvr} = \frac{N^0_{SSB_1r}}{F^{rec} S^{wt}} + \frac{N_{SSB_1ir}}{S^{wt}} + \frac{N_{PD}}{Q^{uvr}}$$

$$OER^{wt} = \frac{N^0_{SSB_1r} / F^{wt} + N_{SSB_1ir} + N_{PD} \cdot (S^{wt} / Q^{uvr})}{N^N_{SSB_1r} / F^{wt} + N_{SSB_1ir} + N_{PD} \cdot (S^{wt} / Q^{uvr})}$$

$$N_{let,ur} = \frac{N^0_{SSB_1r}}{F^{rec}} + N_{SSB_1ir} + N_{PD}$$

$$OER^{ur} = \frac{N^0_{SSB_1r} / F^{rec} + N_{SSB_1ir} + N_{PD}}{N^N_{SSB_1r} / F^{rec} + N_{SSB_1ir} + N_{PD}}$$

Model reparace zlomů u E.coli

jiné kmeny

pěstovaných v různých podmínkách

větší rychlost SOS

reparace se zmenšuje objem polA-závislé reparace a naopak