

Программа
Спецкурса «МУТАГЕНЕЗ И РЕПАРАЦИЯ»
 Лектор к.б.н. О. И. Сеницына (20 часов)

1.1. МУТАГЕНЕЗ И РЕПАРАЦИЯ. Естественно-научный раздел, вузовская компонента

1.1. Дисциплина *предназначена* для ознакомления студентов с современными представлениями о сохранении и реорганизации генетического материала клетки. *Основной целью* дисциплины является свободная ориентация студентов в проблематике метаболизма ДНК и формировании мутаций. *Для достижения этого* выделяются задачи: а). информировать студентов об основных механизмах действия повреждающих агентов; б). дать представления о действии систем репарации клетки; в). дать представления о действии систем рекомбинации ДНК клетки; в). ознакомить с клеточным ответом на повреждения ДНК у прокариот и эукариот

1.2. По окончании изучения курса студент должен *иметь представление* о проблематике сохранения и изменения генетического материала клетки и *знать* основные закономерности мутационного и репарационного процессов

1.3. Итоговый контроль экзамен

2. Содержание дисциплины.

2.1. Курс основан на самых современных представлениях о молекулярных механизмах метаболизма ДНК в клетке. Аналогичные курсы в России мне не известны

2.2. Тематический план курса

| Наименование разделов и тем | Лекции (часов) | | Самостоятельная работа | Всего часов |
|---|----------------|--|------------------------|-------------|
| <i>Действие основных повреждающих агентов</i> | 5 | | 2,5 | 7,5 |
| <i>Действие систем репарации клетки</i> | 8 | | 4 | 12 |
| <i>Действие систем рекомбинации клетки</i> | 5 | | 2,5 | 7,5 |
| <i>Клеточный ответ на повреждения ДНК</i> | 2 | | 1 | 3 |
| Итого по курсу | 20 | | 10 | 20 |

2.3. Содержание отдельных разделов и тем.

1. Дезаминирование оснований.

Алкилирование оснований. Реакции электрофильного присоединения (рассмотреть один из примеров: MNNG, цис-платина, иприт, псорален).

1. Метаболическая активация мутагенов (рассмотреть один из примеров: бенз[а]пирен, аминифлюорен, афлатоксин, 4-нитрохинолин-1-оксид).

2. Повреждение ДНК ультрафиолетом.

3. Апуринизация ДНК, бета-элиминация АП-сайтов.

4. Окисление оснований, механизмы окисления пуринов и пиримидинов.

5. Окисленные формы АП-сайтов. Реакция Фентона.

6. Антиоксиданты ферментативной и неферментативной природы.

7. Образование этеноаддуктов оснований и пропеналей оснований.

8. Включение урацила при репликации ДНК. Регуляция содержания дУТФ в клетке, роль дезоксиуридинтрифосфатазы.
9. Генетические тесты на возникновение мутаций. Реверс- и форвард-системы. Тест Эймса. Тесты Миллера на основе LacZ и LacI.
10. Системы для тестирования мутагенеза в клетках млекопитающих: шаттл-векторы, трансгенные животные. Горячие точки мутагенеза.
11. Селекция комплементарных оснований ДНК-полимеразами. Таутомерные формы канонических оснований. Механизм корректирующей активности ДНК-полимераз, полимеразы-мутаторы и антимутаторы. Механизмы возникновения микроинсерций и микроделеций при репликации.
12. Транслезиональные ДНК-полимеразы. Механизм переключения полимераз на повреждения, блокирующих репликацию. Регрессия репликативной вилки при блокировании репликации *E. coli*; роль ДНК-полимеразы II.
13. Фотореактивация. Механизм действия фотолиазы бактерий. Роль гомологов фотолиазы в эукариотах.
14. Репарация метилированных оснований белком Ada. Адаптивный ответ на алкилирующие агенты, его регуляция.
15. Эксцизионная репарация оснований. Главные белки, принимающие участие в этом процессе, их роли и механизмы действия. ДНК-гликозилазы, их механизм и субстратная специфичность. Система репарации 8-оксогуанина. Альтернативные пути эксцизионной репарации оснований.
16. **SOS**- индуцируемая система репарации повреждений ДНК у *E.coli*. Регуляция **SOS** ответа. LexA и RecA -белки
17. **Uvr+** зависимая эксцизионная репарация. Свойства белков UvrA, UvrB, UvrC. Субстраты для UvrABC - эксинуклеазы. Белки "Молекулярные Matchmakers", основные критерии.
18. Механизм **Uvr**-зависимой репарации: инцизия (опознование) эксцизия (удаление) ресинтез, лигирование
19. Эксцизионная репарация нуклеотидов у эукариот. Сходство и отличия от прокариотической системы эксцизионной репарации нуклеотидов. Связь эксцизионной репарации нуклеотидов и транскрипции.
20. Заболевания человека, связанные с дефектами в системе эксцизионной репарации нуклеотидов.
21. Репарация односторонних брешей в ДНК или пост-репликативная репарация
22. **SOS**-мутагенез или «ошибочная» репарация. UmuD, UmuC белки, их свойства и функции. Роль RecA белка в **SOS**-мутагенезе. Биологическая роль **SOS**-мутагенеза.
23. Метилзависимая репарация гетеродуплексов у прокариот. Роль белков Dam, MutS, MutL и MutH. Роль репарации гетеродуплексов в предотвращении межвидового переноса генов.
24. Репарация гетеродуплексов у эукариот. Сходство и отличия от прокариотической системы репарации гетеродуплексов.
25. Заболевания человека, связанные с дефектами в системе репарации гетеродуплексов. Возникновение нестабильности микросателлитов.
26. Гомологичная рекомбинация как репарационный процесс. Повреждения ДНК, которые не могут быть репарированы при помощи эксцизионной

- репарации (двунитевые разрывы ДНК, протяженные одонитевые бреши в ДНК). Происхождение таких повреждений.
27. Пресинаптическая стадия рекомбинации. Роль RecBCD фермента, его структура, свойства, функции.
 28. Структура и свойства χ - сайтов.
 29. ДНК-геликазы и экзонуклеазы в пресинаптической стадии рекомбинации. Свойства и функции RecQ, RecJ, RecE, RecT, белков.
 30. Синаптическая стадия гомологичной рекомбинации. Роль RecO, RecF, RecR, SSB -белков
 31. RecA белок *E.coli*. Его свойства, функции. RecA филамент. Реакция обмена нитей. АТФ как аллостерический модификатор RecA белка.
 32. Холидеевский перекрест. Миграция Холидеевского перекреста.
 33. Постсинаптическая стадия гомологичной рекомбинации.
 34. Белки RuvA, RuvB, RuvC. Их свойства, функции.
 35. Молекулярные механизмы разрешения Холидеевского перекреста. Роль RecG гена.
 36. Репарация двунитевых разрывов ДНК у эукариот. Роль ДНК-зависимой протеинкиназы и комплекса Mre11/Rad50/Nbs.
 37. Основные функции гомологичной рекомбинации.
 38. Клеточный ответ на повреждения ДНК у прокариот. Механизмы регуляции транскрипции генов в регулонах SoxRS и OxyR.
 39. Сенсоры повреждений ДНК в эукариотических клетках. Механизмы действия комплекса 9-1-1 и BRCA-ассоциированного комплекса.
 40. Роль и функции поли(АДФ-рибозо)полимеразы в регуляции репарации ДНК. Регуляция событий клеточного цикла при блокировании репликативной вилки.
 41. Заболевания, связанные с дефектами в основных системах репарации ДНК. (рассмотреть один из примеров: пигментная ксеродерма, наследственный неполипозный рак толстого кишечника, синдром Вернера, нарушения соматического гипермутагенеза, телангиэктатическая атаксия).
 42. Современные представления о природе старения

2.4. 1. Генетические тесты на возникновение мутаций.

3. Учебно-методическое обеспечение дисциплины

3.3. образец билета

Билет № 1

1. Дезаминирование оснований. Апуринизация ДНК, бета-элиминация АП-сайтов.
2. Гомологичная рекомбинация как репарационный процесс. Репарация двунитевых разрывов ДНК у про и эукариот. Основные функции гомологичной рекомбинации.

3.4. 1. E. Friedberg. Mechanisms of DNA Repair and Mutagenesis. NY Freeman&Co 1998

2. Correcting the Blueprint of life. CSHL Press 1997

Русскоязычной литературы не существует.