

MECANISMELE DE REPARARE A LEZIUNILOR ADN

MECANISMELE DE REPARARE A LEZIUNILOR ADN

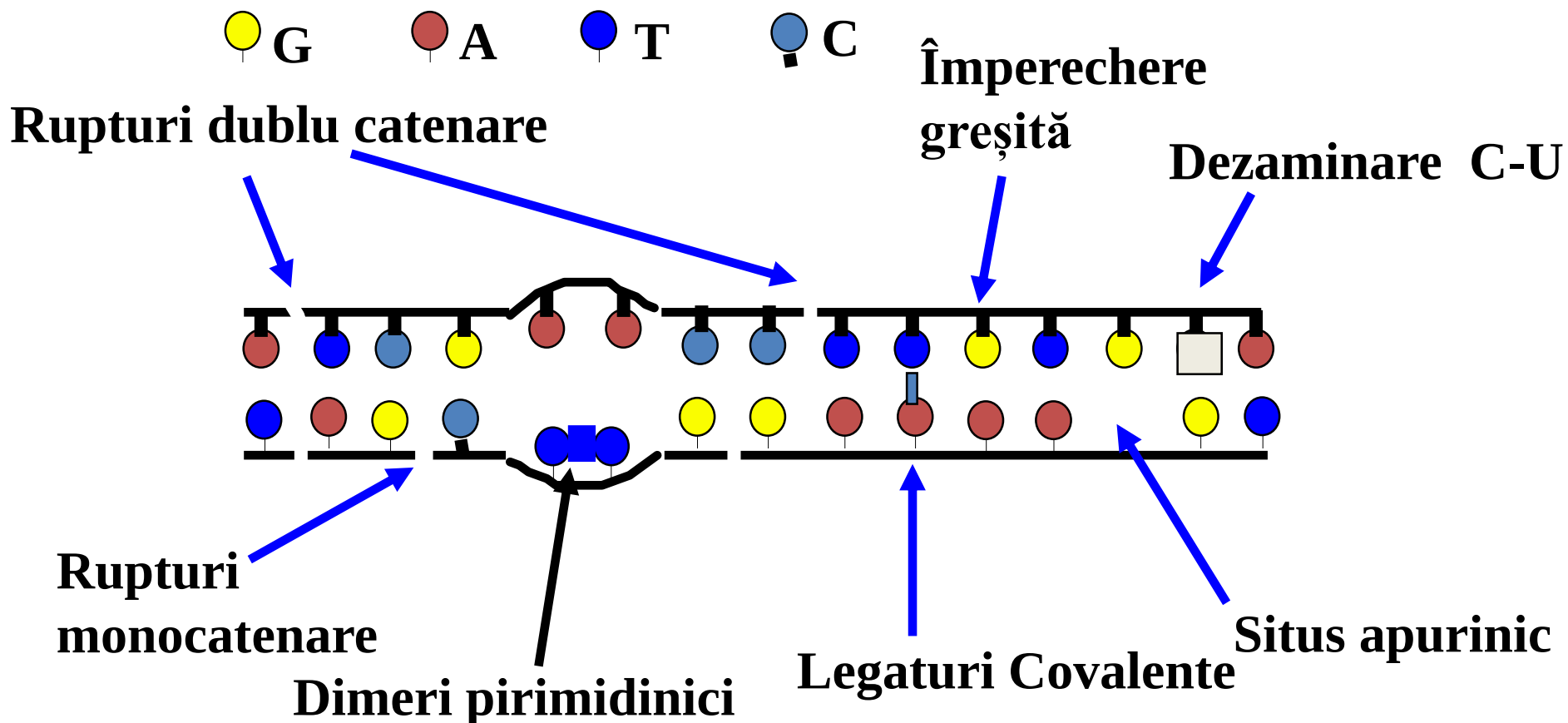
Genomul uman suferă numeroase și variate leziuni, spontane sau induse de agenți externi sau interni.

Totuși, rata mutațiilor este menținută la un nivel scăzut prin intervenția unor sisteme de recunoaștere a leziunilor ADN și de reparare enzimatică, ce realizează fie o restituție fidelă a structurii inițiale, fie o reparare parțială, cu defect.

Exemple de leziuni ADN:

- Baze modificate chimic
- Baze împerecheate greșit
- Dimeri pirimidinici
- Situsuri apurinice
- Rupturi mono/bicatenare

Tipuri de leziuni ADN



SISTEME DE REPARARE

- ☐ **Sistemul de reparare prin excizia bazelor modificate – BER**
- ☐ **Sistemul de reparare prin excizia nucleotidelor – NER**
- ☐ **Sistemul de reparare prin excizia bazelor imperecheate gresit – MMR**
- ☐ **Sistemul de reparare directa monoenzimatica- MGMT**
- ☐ **Sistemul de reparare a rupturilor ADN**

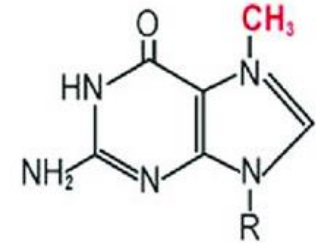
Mecanismul general

- *Recunoașterea situsului lezat*
- *Desfacerea dublului helix*
- *Excizia fragmentului alterat*
- *Îndepărtarea și degradarea fragmentului*
- *Resinteza lacunei*
- *Realizarea legăturii fosfodiester*

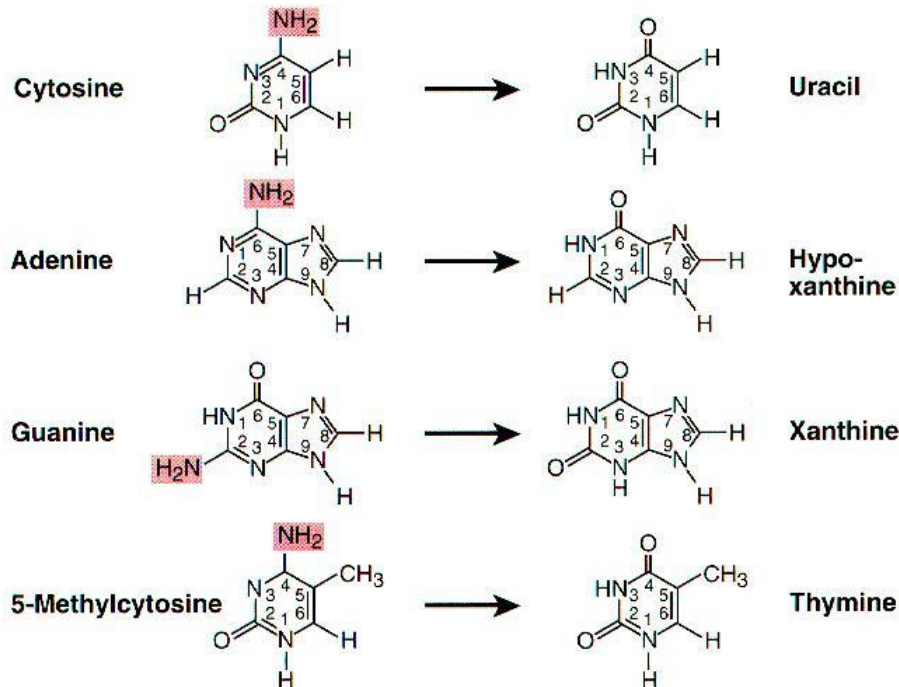
Sistemul BER = sistemul de reparare prin excizia bazelor modificate

Leziuni reparate:

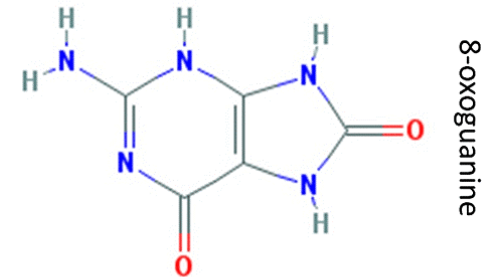
- baze modificate chimic prin dezaminare (ex. dezaminarea citozinei → uracil; dezaminarea adeninei → hipoxantina), alkilare (7-metil-guanozina), oxidare (8-oxoguanina, 8-oxoguanina)



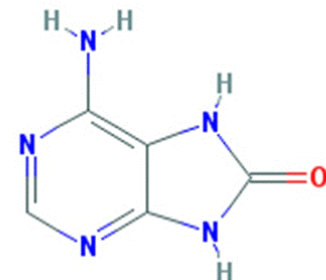
m⁷G



Oxidation

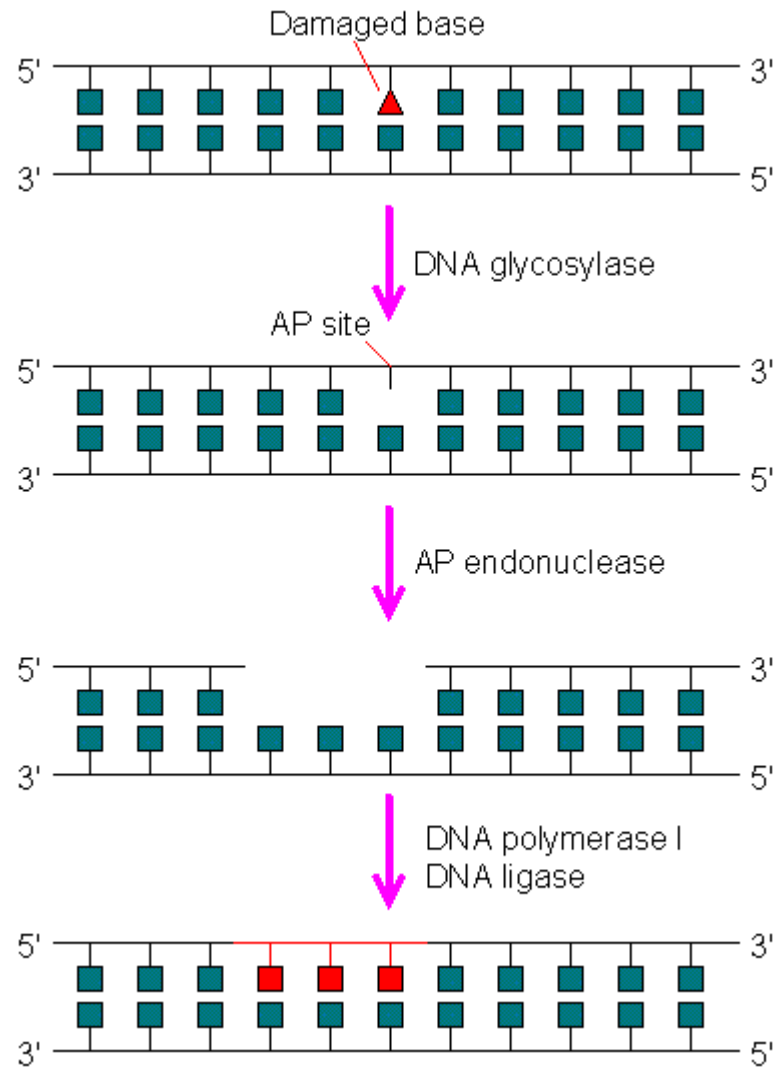


8-oxoguanine



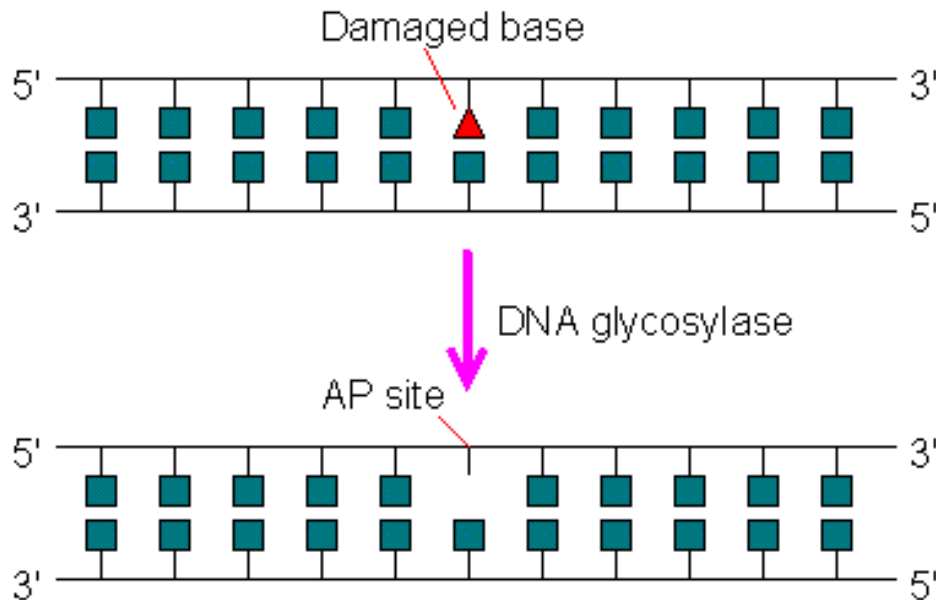
8-oxoadenine

Sistemul BER



Sistemul BER

1. Recunoașterea leziunii și crearea unui situs abazic

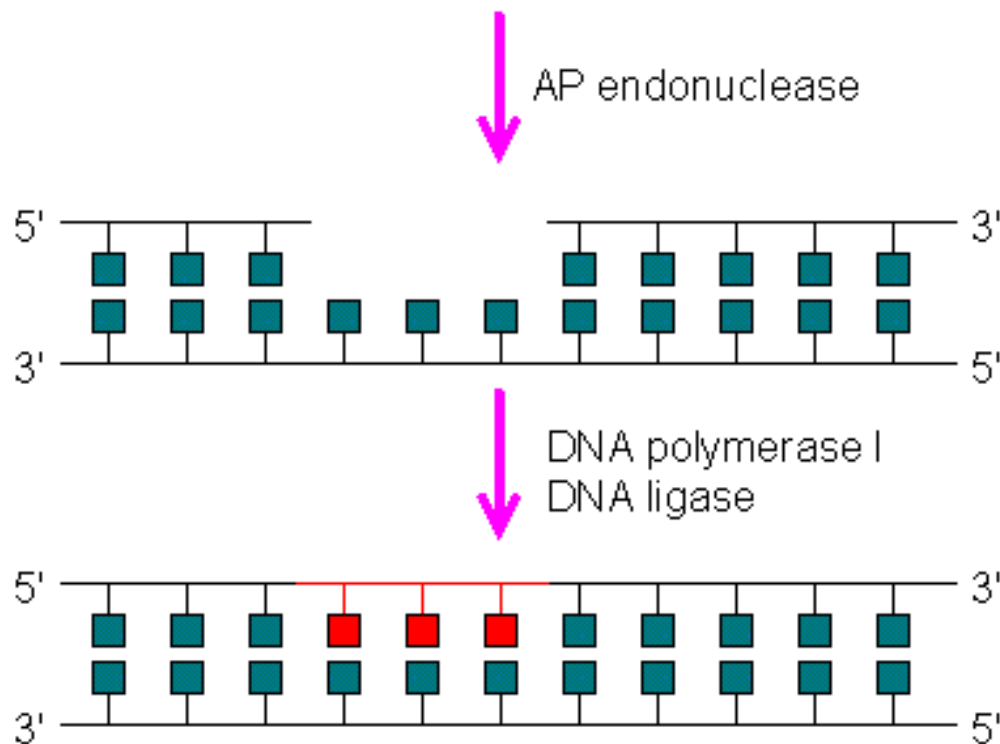


Baza modificată chimic este recunoscută de enzima **ADN glicozilaza** ce creează un situs abazic.

Sistemul BER

2. Îndepărtarea fragmenului lezat

3. Sinteza fragmentului



Endonucleaza
produce o
monocatenară.

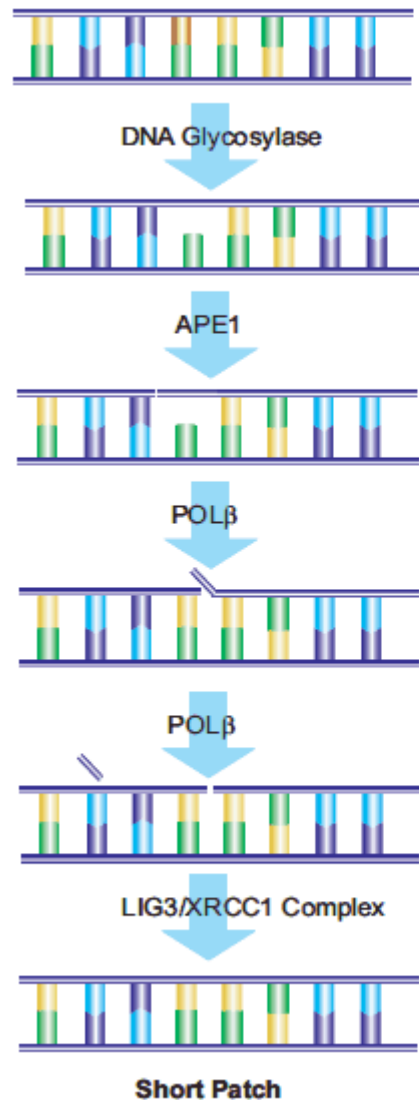
APE1
ruptură

Enzima ADN polimeraza β (calea scurtă) sau ADN polimeraza δ sau ϵ (calea lungă) adaugă nucleotide, restabilind structura inițială.

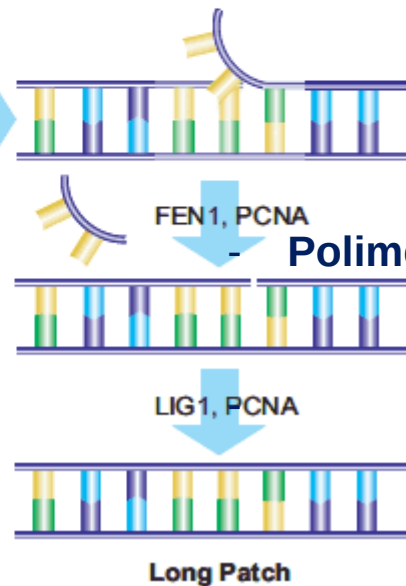
ADN ligaza 3/1 realizează sudarea capetelor.

Calea scurtă (1 nucleotid)

Calea lungă – pt. bazele oxidate (2 -10 nucleotide)



POL δ/ϵ , PCNA



Polimeraza delta/epsilon

Ligaza 1

- Polimeraza beta

- Ligaza 3

Sistemul NER – Sistemul de reparare prin excizia nucleotidelor

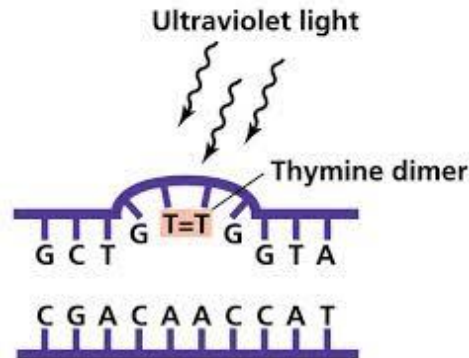
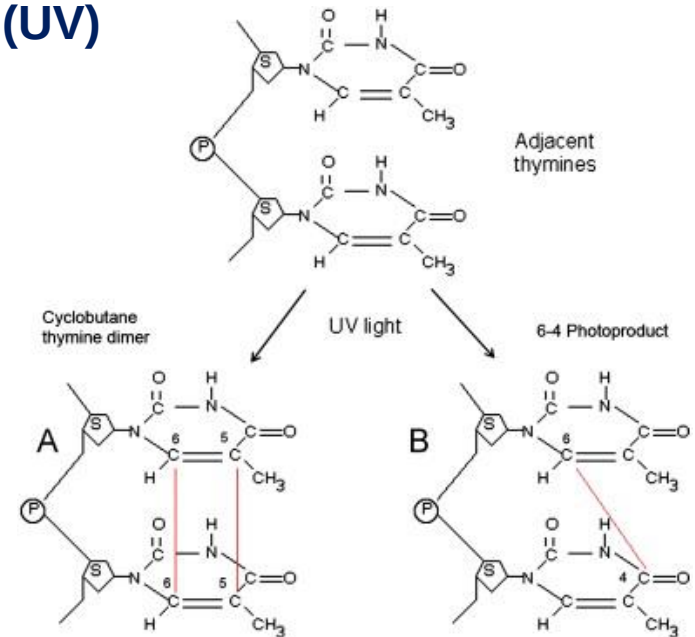
Leziuni reparate:

❑ Produși generați de radiațiile ultraviolete (UV)

- 6,4-fotoprodușii
- dimerii pirimidinici

❑ Unele substanțe chimice

- cisplatin
- benzpiren, oxidul de nitroquinolină



Copyright © 2009 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

UV - dimerul de ciclobutan pirimidină (CPD) și 6-4 pirimidină – pirimidonă

Sistemul NER – Sistemul de reparare prin excizia nucleotidelor

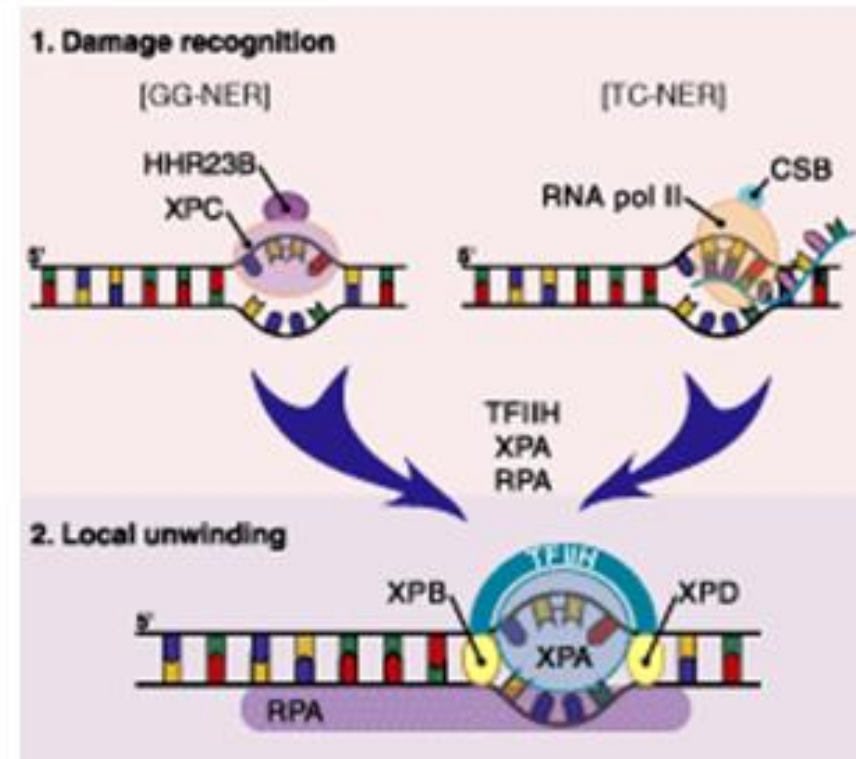
1. Recunoașterea leziunii

2. Desfacerea dublului helix

1. Sistemul implică gene și proteine ce recunosc leziunea:

- XPC și hHR23B - pentru sistemul global genomic de reparare
- CSB/ ERCC6 – pentru sistemul cuplat transcripției

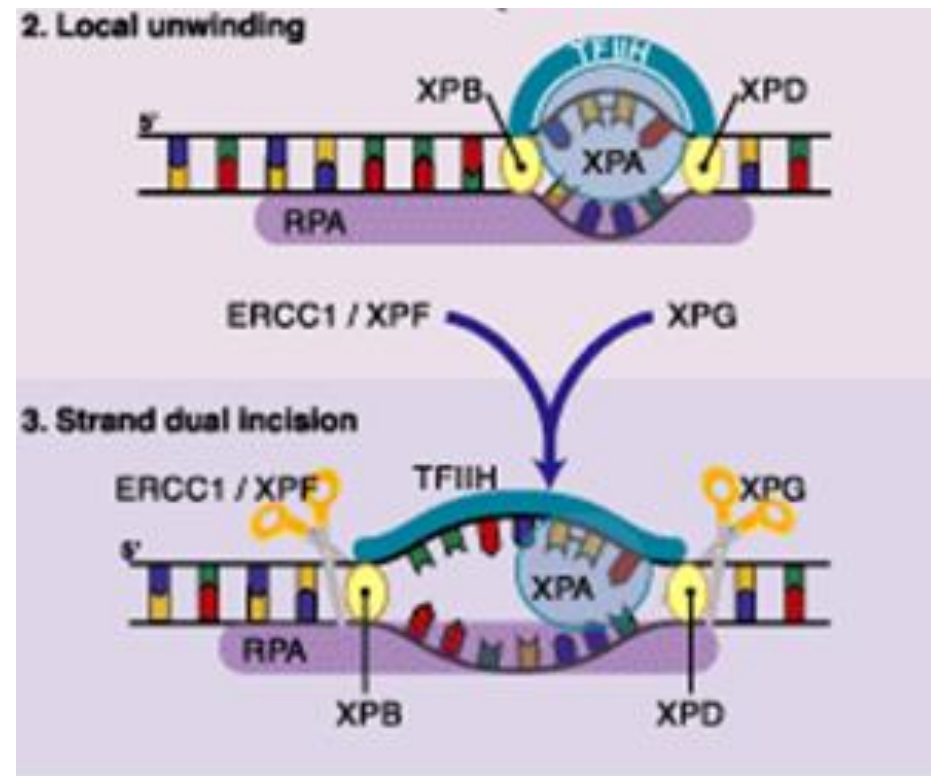
2. XPD și XPB, componente ale TFIIH, separă catenele de ADN în porțiunea în care este localizată leziunea, realizând o buclă de 30 de nucleotide



Sistemul NER

3. Secționarea catenei ce conține leziunea

Enzimele XPG și XPF/ERCC1 cu activitate endonucleazică, secționează catena pe care se afla leziunea, îndepărtând o secvență de aproximativ de 30 nucleotide ce conține leziunea.



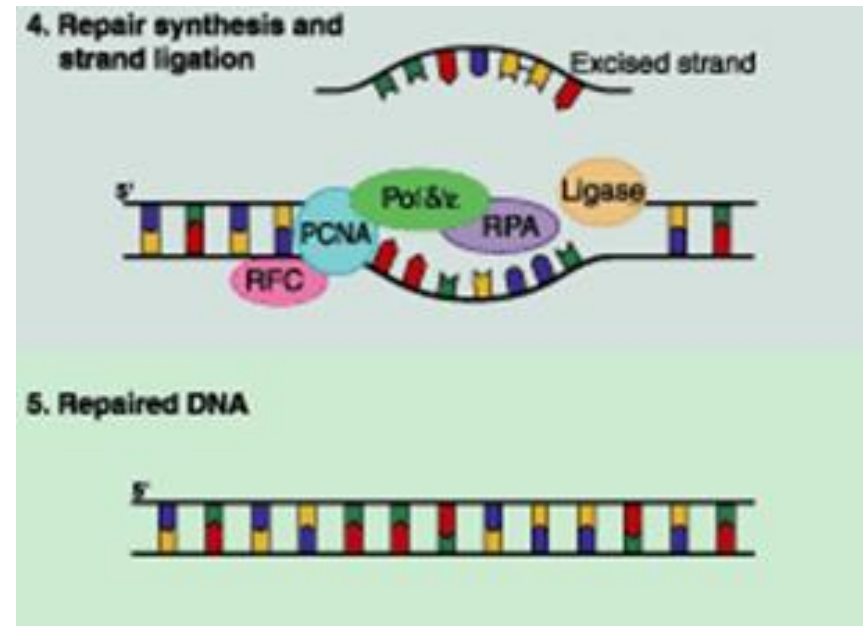
Sistemul NER

4 .Sinteza fragmentului îndepărtat

5. Sudarea fragmentului și repararea leziunii

ADN polimeraza δ sau ϵ sintetizează secvența fragmentului excizat, în prezența PCNA, RPA, RFC.

ADN ligaza 1/3 reface legăturile fosfodiesterice, realizând integrarea fragmentului nou sintetizat.



Boli cauzate de deficiențe ale sistemul de reparare prin excizia nucleotidelor -NER

☐ **Xeroderma pigmentosum**

- afecțiune cauzata de mutații ale genelor XPC



**Hipersensibilitate la
expunerea solară
(UV)**

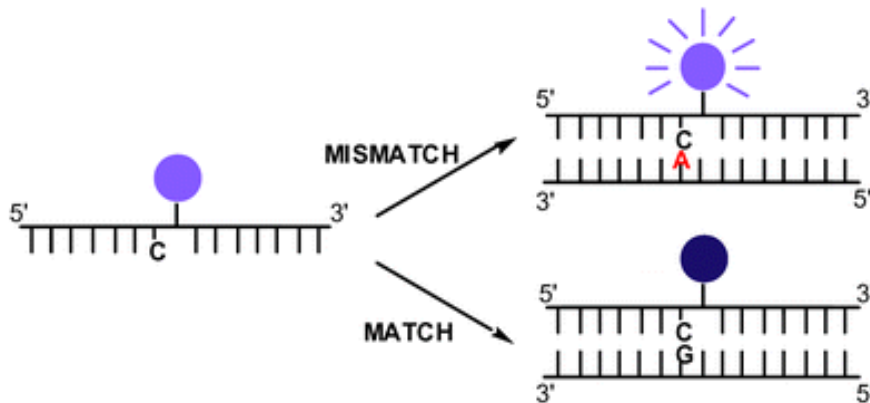
- ☐ **Sindromul Cockayne**
- ☐ **Tricothiodistrofia**

Sistemul MMR - Sistemul de reparare prin excizia bazelor împerecheate gresit

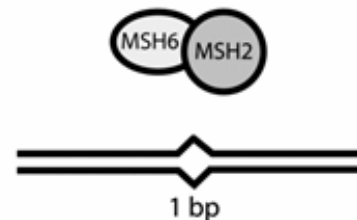
Leziuni reparate:

- Baze împerecheate greșit
- Mici deleții și inserții (bucle)

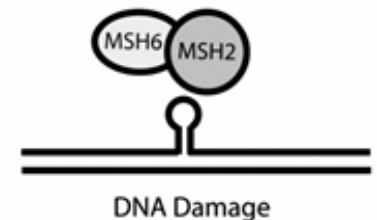
Împerecherea greșita crează o distorsiune în catena nou sintetizată, nemetilată, care va fi recunoscută de o serie de proteine.



a Mismatch Repair



b DNA Damage Signaling

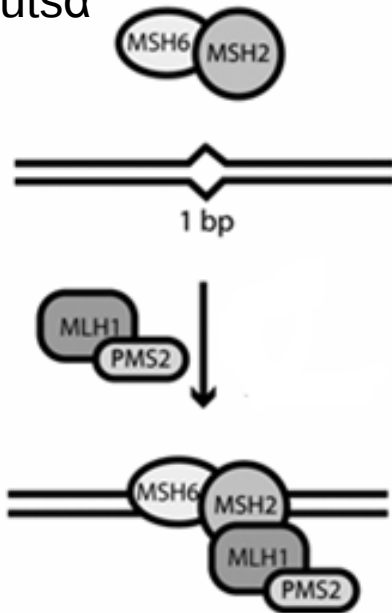


Sistemul MMR - Sistemul de reparare prin excizia bazelor împerecheate gresit

1. Recunoașterea leziunii

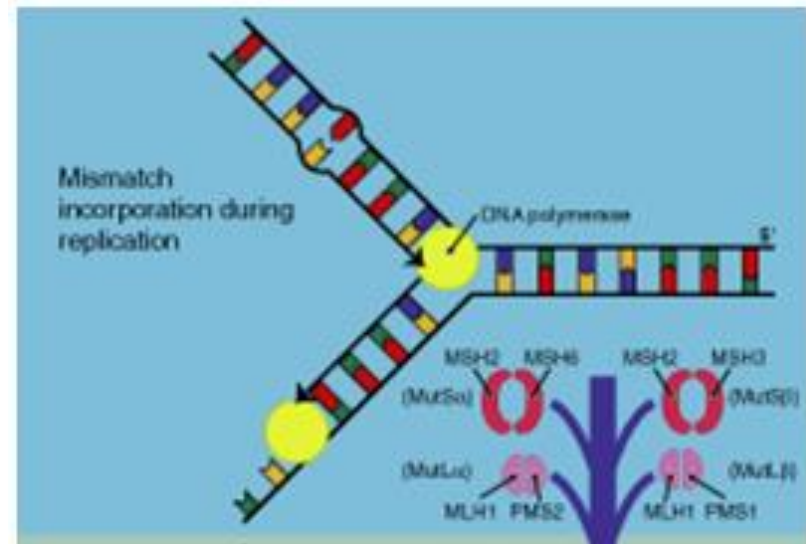
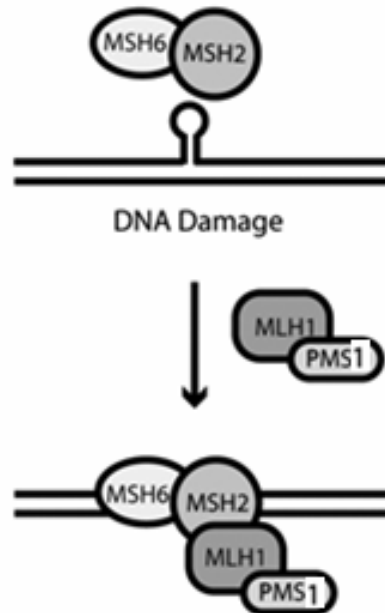
Baze împerecheate gresit

hMutS α



Mici deleții și inserții (bucle)

hMutS β

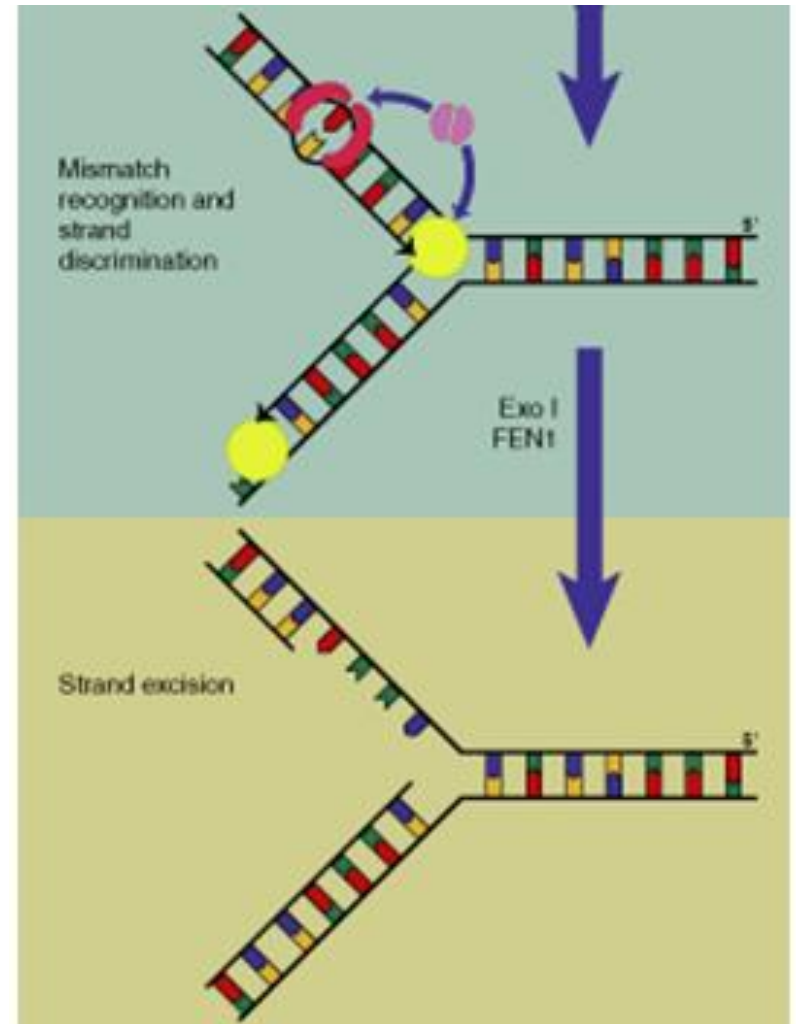


- MSH2 și MSH6 recunosc bazele împerecheate greșit
- MSH2 și MSH3 recunosc micile deleții și inserții
- inițierea procesului de reparare se realizează după interacțiunea complexelor MLH1/PMS2 și MLH1/PMS1 cu complexe proteice de recunoaștere anterioare

Sistemul MMR

2. Îndepărtarea fragmentului lezat

Îndepărtarea fragmentului cu erori, se realizează de către exonucleaza I.



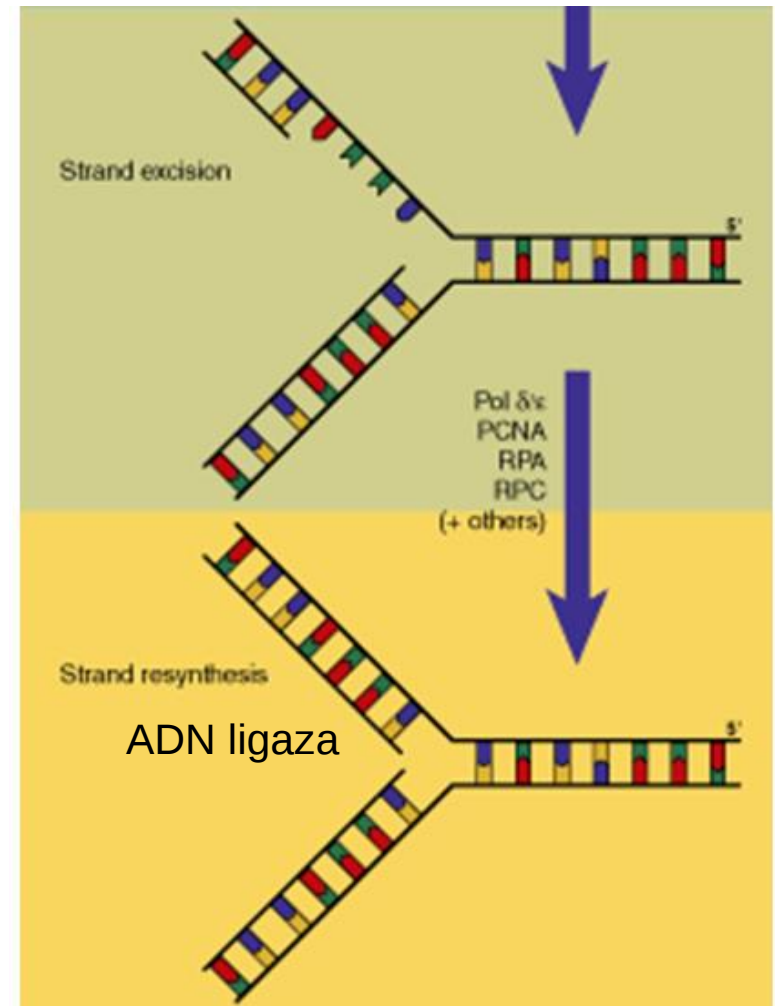
Sistemul MMR

3. Sinteza fragmentului îndepărtat

4. Sudarea fragmentului și repararea leziunii

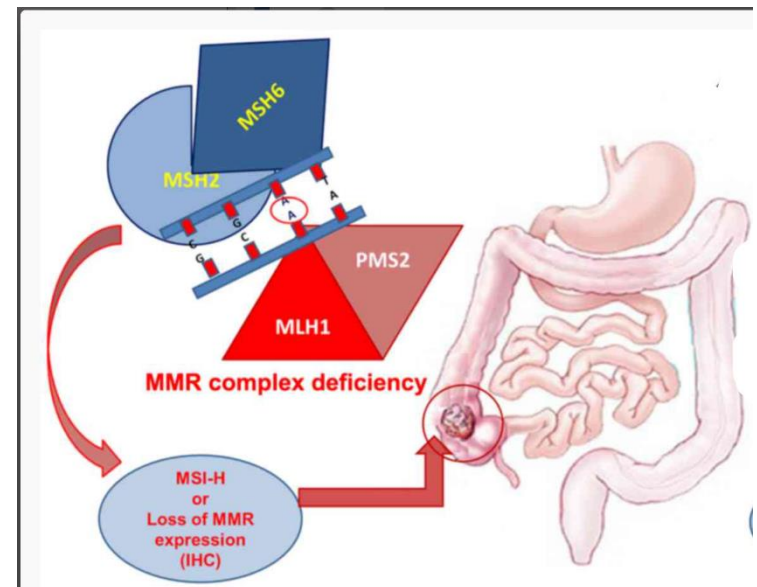
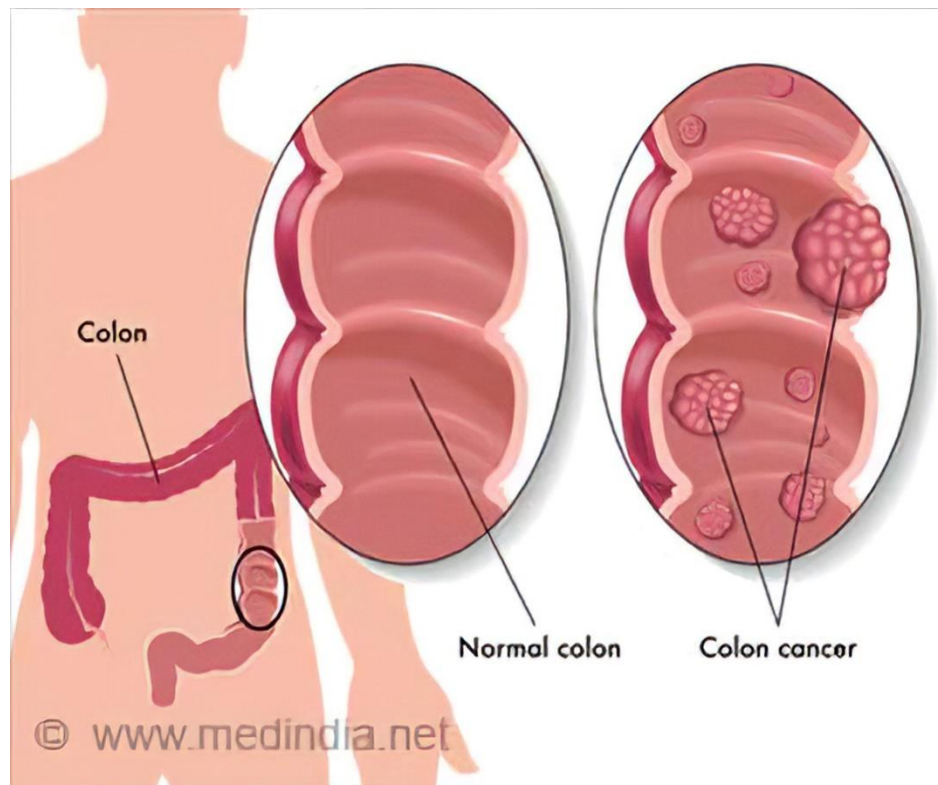
Sinteza fragmentului îndepărtat este realizată de către polimeraza ADN polimeraza δ sau ϵ ce replatează bazele normale.

Refacerea legăturii fosfo-diesterice este realizată de către o ADN-ligază.



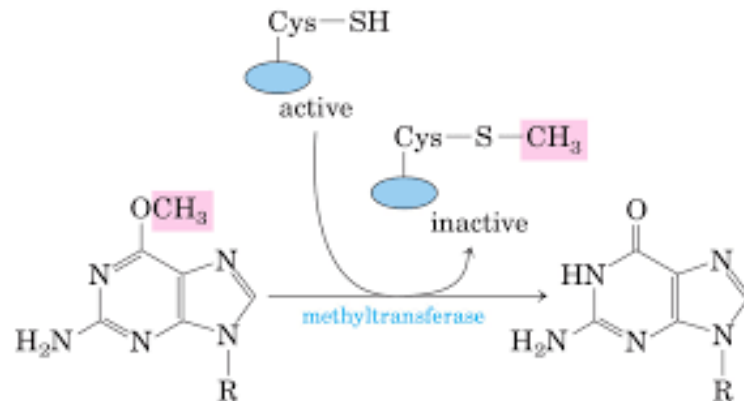
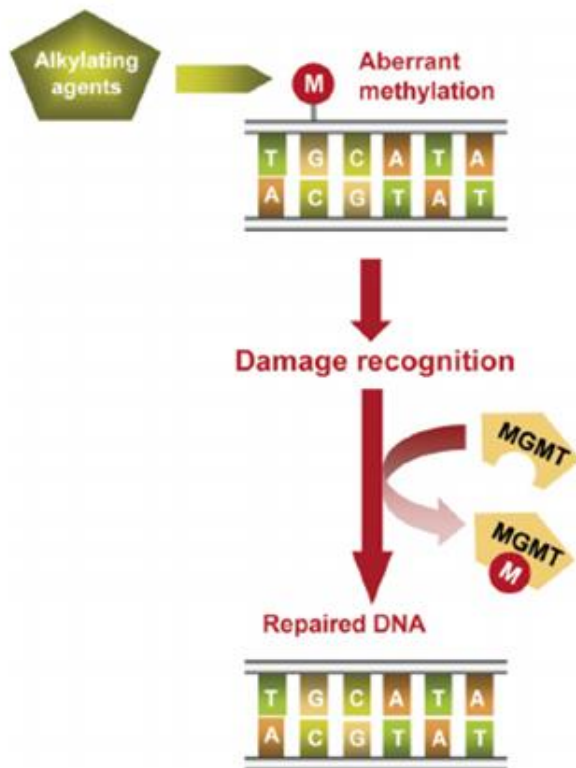
CANCERUL COLORECTAL NONPOLIPOZIC EREDITAR (SD.LYNCH)

- cauzat de mutatii ale genelor MMR



REPARAREA DIRECTĂ MONOENZIMATICĂ

- Leziuni reparate: metil guanina
- enzima : O6- metil guanin metil transferaza - MGMT



Prin intervenția unor cataboliți celulari reactivi se formează O6-metilguanina.

În acest caz, se produce o reparare directă, prin intervenția enzimei metilguanin-metil-transferaza (MGMT).

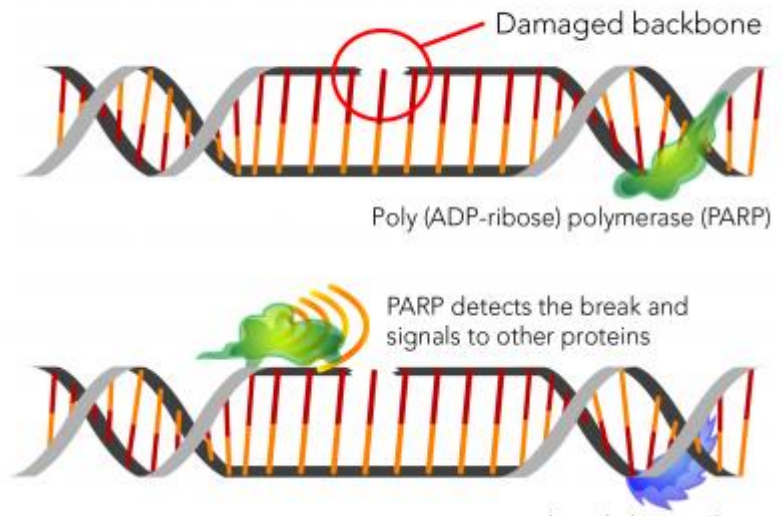
Aceasta transferă gruparea metil de la nivelul O6-metilguaninei pe un reziduu propriu de cisteină formând 5-metilcisteina, o moleculă foarte stabilă ce inactivează enzima.

Repararea rupturilor monocatenare

Rupturile monocatenare sunt detectate de proteine din familia PARP (poly ADP ribose polymerase) care se atașează la nivelul întreruperilor.

În etapele următoare intervin enzimele responsabile de ultimele etape ale mecanismului BER.

Single-Strand Break Repair (SSBR)

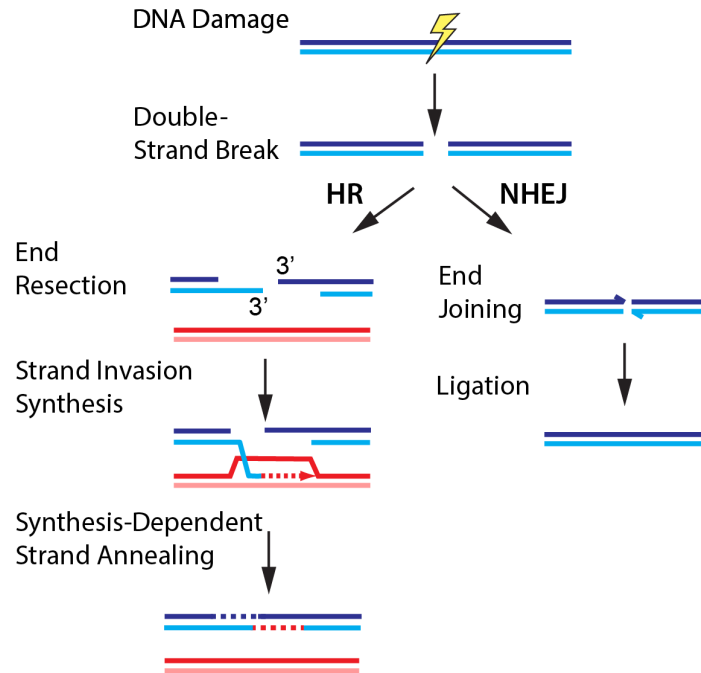


Repararea rupturilor bicatenare

Rupturile bicatenare pot apărea spontan sau ca urmare a expunerii la radiații ionizante

Etape:

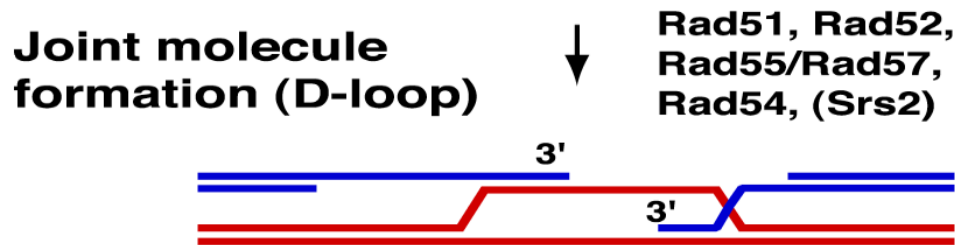
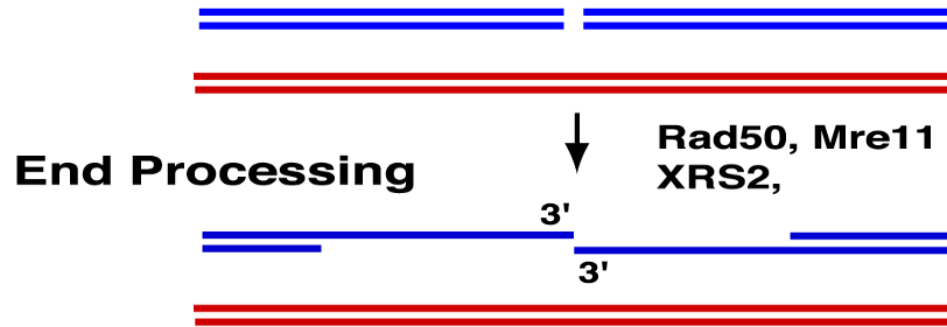
1) Recunoașterea și semnalizarea rupturii (BRCA1, ATM, ATR, RAD50)



2) Recombinarea omoloagă (HR) sau Unirea neomoloagă a capetelor (NHEJ)

2A. Recombinarea omoloagă – HR (homologous recombination)

DSB Formation



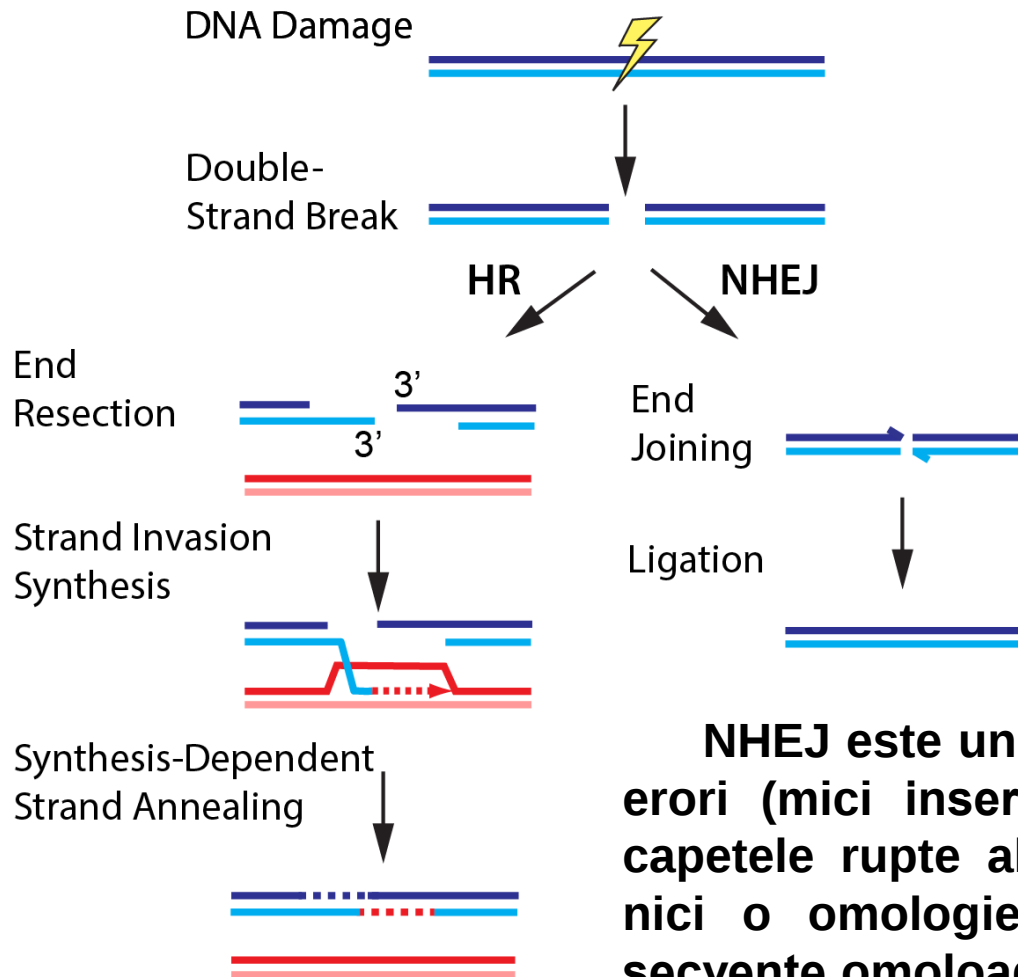
Repair DNA synthesis (Srs2)
Resolution of Intermediates (Srs2)
Ligation

↓

Mature Recombinants

Mecanismul HR este cel mai frecvent mecanism, este precis și utilizează pentru reparare o catenă de ADN intactă de pe cromatida soră sau de pe cromozomul omolog.

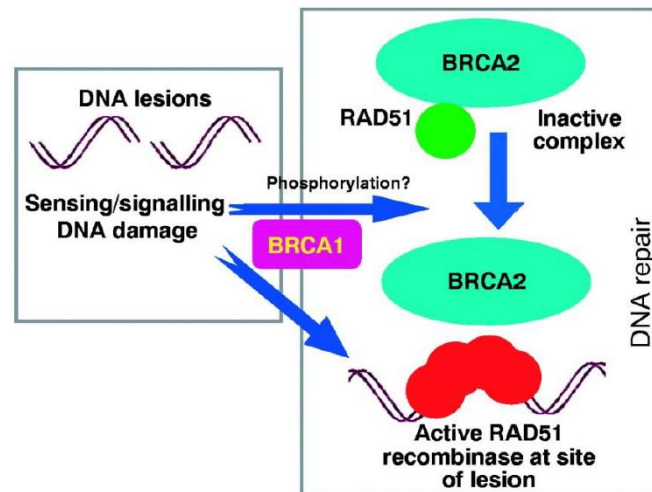
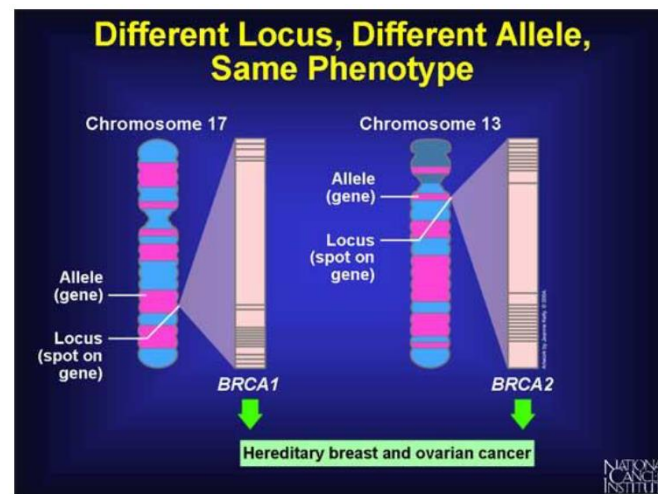
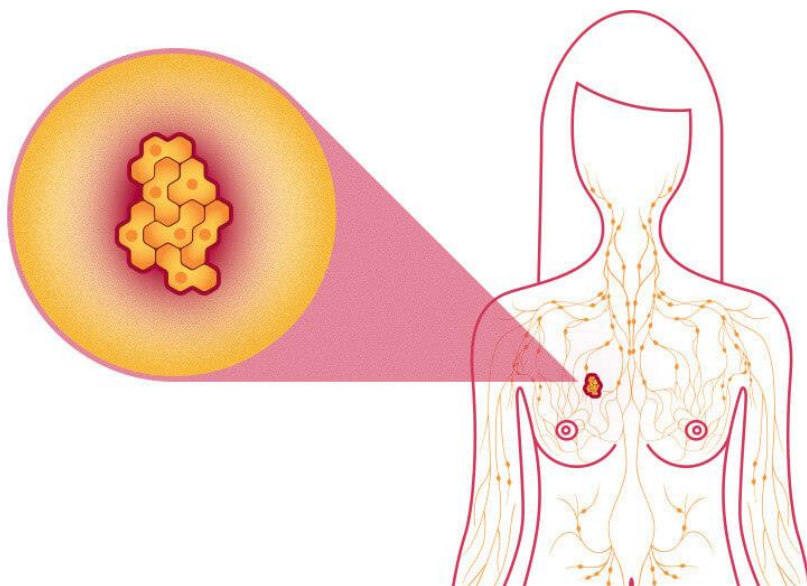
2B. Unirea neomoloagă a capetelor (NHEJ – non-homologous end-joining)



NHEJ este un mecanism predispus la erori (mici inserții sau deleții) în care capetele rupte ale ADN sunt unite fără nici o omologie ori cu ajutorul unor secvențe omoloage scurte.

Cancerul de sân ereditar

- mutații ale unor gene **BRCA1** , **BRCA2** implicate în repararea rupturilor ADN



Sindroame produse de deficiențe în mecanismele de reparare a leziunilor ADN

Boli cauzate de deficiențe NER

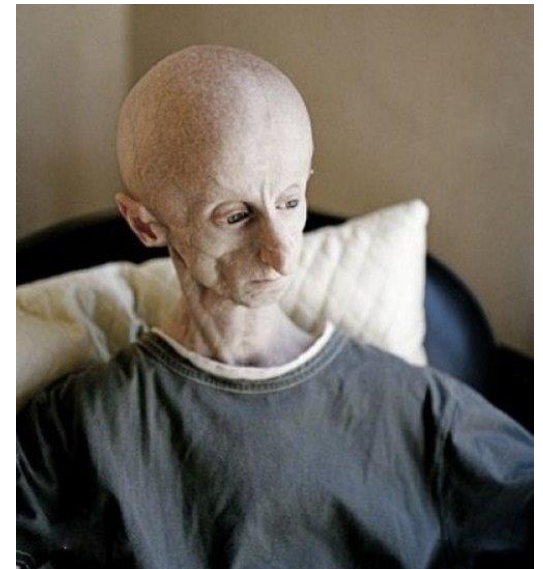
- **Xeroderma pigmentosum** (hipersensibilitate la radiațiile UV solare, eritem , fotofobie, anomalii de pigmentare – macule hiper sau hipopigmentate , oftalmologice și neurologice, risc crescut cancer cutanat)
- **Sindromul Cockayne** (hipersensibilitate la radiațiile UV, hipostatură, microcefalie, surditate, afectare neurologică)
- **Tricothiodistrofia** (sensibilitate la UV, statură redusă, păr subțire și fragil –deficiență de sulf)



Sindroame produse de deficiențe în mecanismele de reparare a leziunilor ADN

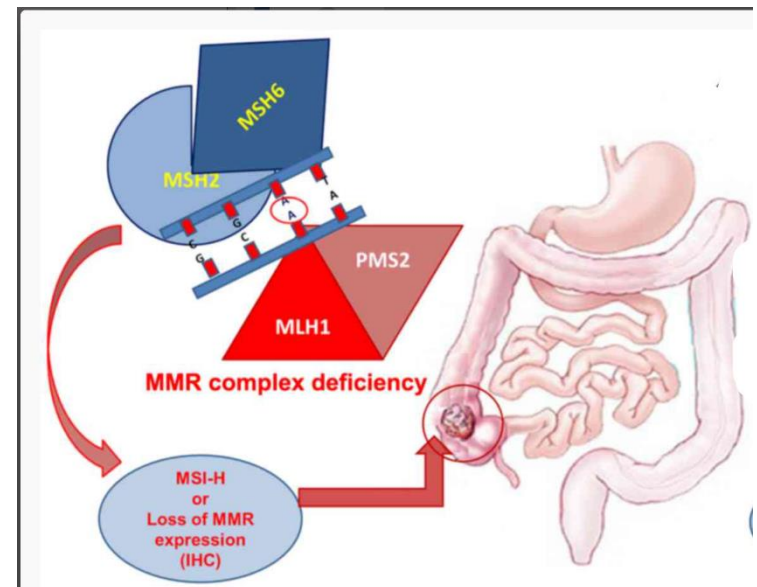
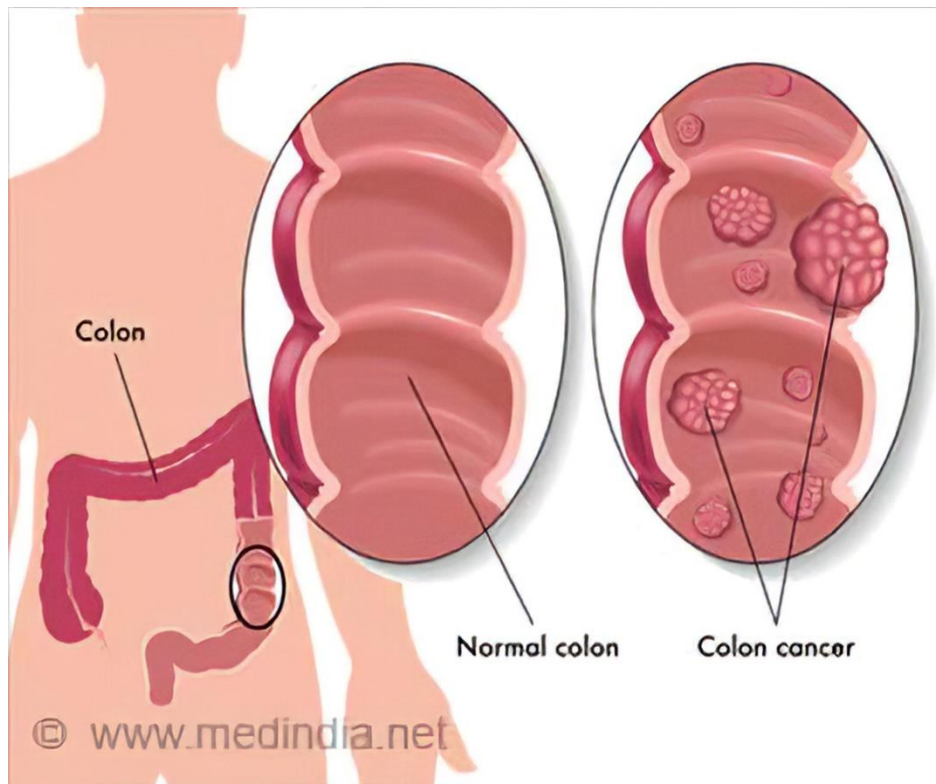
Boli cauzate mutații ale unor gene implicate în repararea rupturi bicatenare de ADN

- **Ataxia telangiectazică** (imunodeficiență, risc leucemii, telangiectazii, ataxie cerebelară)
- **Anemia Fanconi** (tulburări de dezvoltare, insuficiență medulară specifică, risc hemopatii maligne)
- **Sindromul Bloom** (nanism, infertilitate, risc tumori solide)
- **Sindromul Werner** (îmbătrânire precocă, calviție, osteoporoză, risc crescut de cancer, hipogonadism)



CANCERUL COLORECTAL NONPOLIPOZIC EREDITAR (SD.LYNCH)

- cauzat de mutatii ale genelor MMR



Cancerul de sân ereditar

- deficiențe în repararea rupturilor bicatenare ADN (mutații BRCA1, BRCA2)

