

Среда 11.12 в 16:00

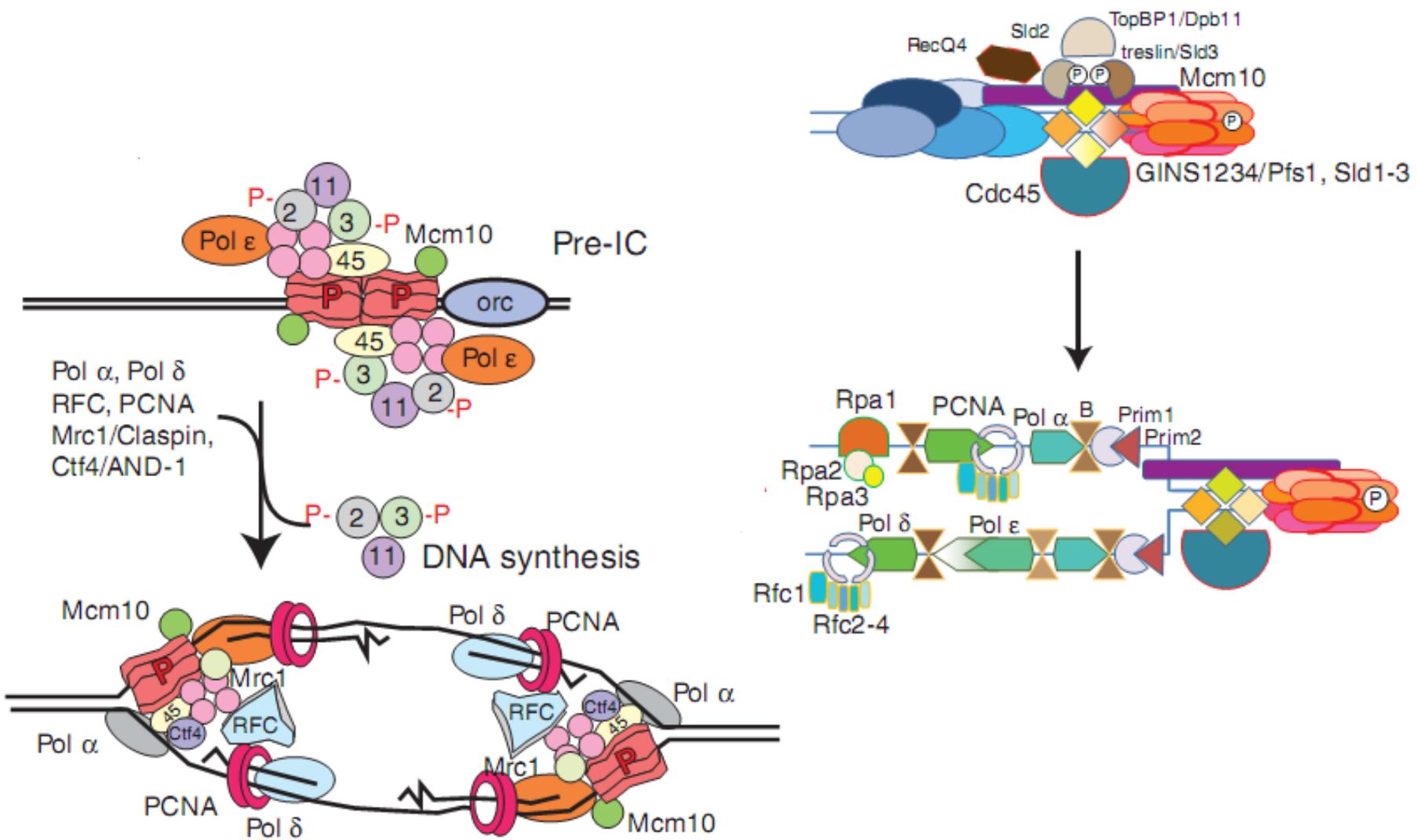
Конференц- зал ИЦИГ

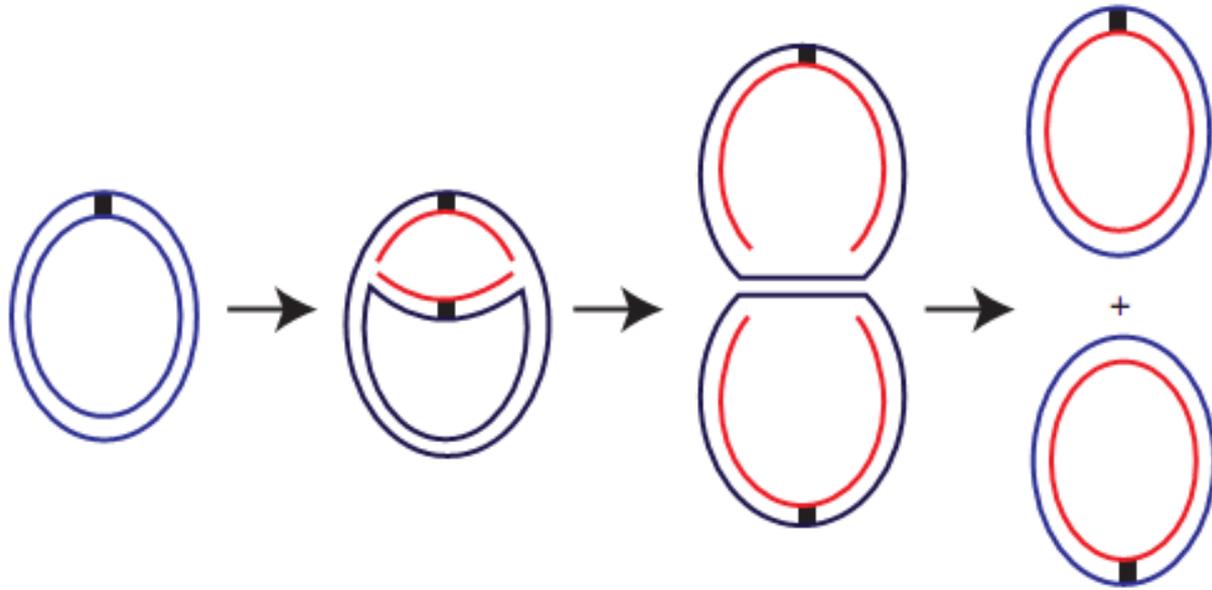
Публичная лекция

Александра Смирнова



Происхождение репликации





Каждую минуту в одном только костном мозге появляется 500-700 миллионов новых клеток, содержащих примерно 1 миллион километров ДНК (3 расстояния до луны).



## Accelerated growth in the absence of DNA replication origins

Michelle Hawkins<sup>1\*</sup>, Sunir Malla<sup>2</sup>, Martin J. Blythe<sup>2</sup>, Conrad A. Nieduszynski<sup>1\*</sup> & Thorsten Allers<sup>1\*</sup>



12.11.13 | [Генетика, Александр Марков](#) | [Комментарии \(1\)](#)

[Альтернативный способ репликации ДНК оказался эффективнее традиционного](#)



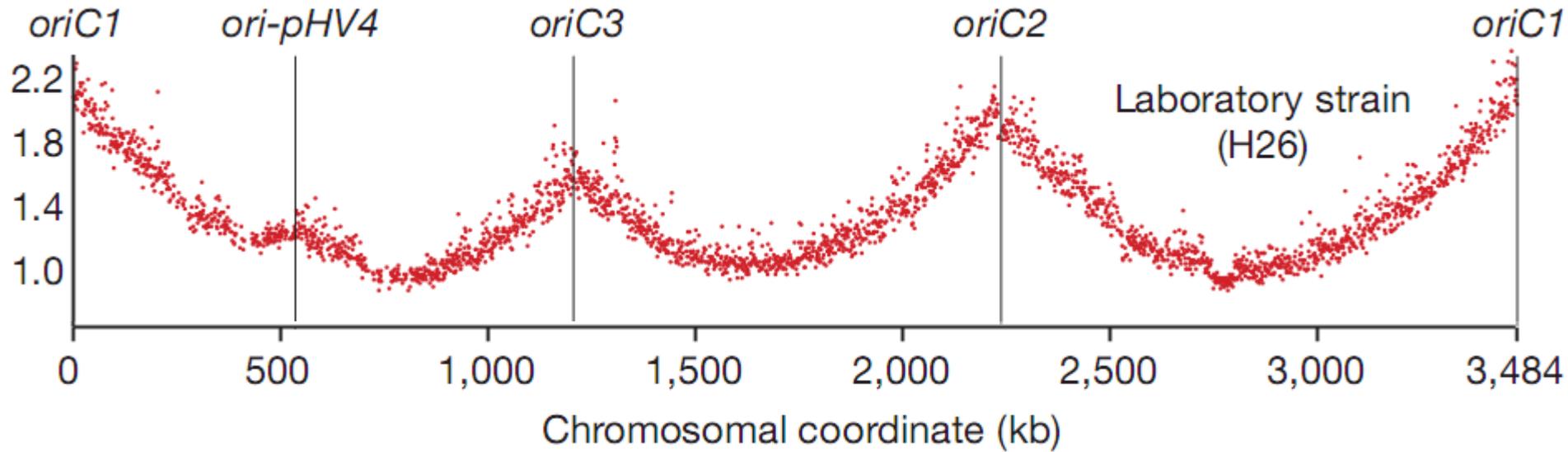
Исследование генома археи *Haloferax volcanii* принесло интересные результаты. Оказалось, что удаление всех «точек начала репликации» (ТНР) в ДНК не замедлило, а ускорило репликацию и размножение микробов. Это указывает на наличие разных способов инициирования репликации и заставляет задуматься о том, зачем вообще нужны ТНР и как они появились. Авторы исследования предлагают свою версию.

# *Haloferax volcanii*

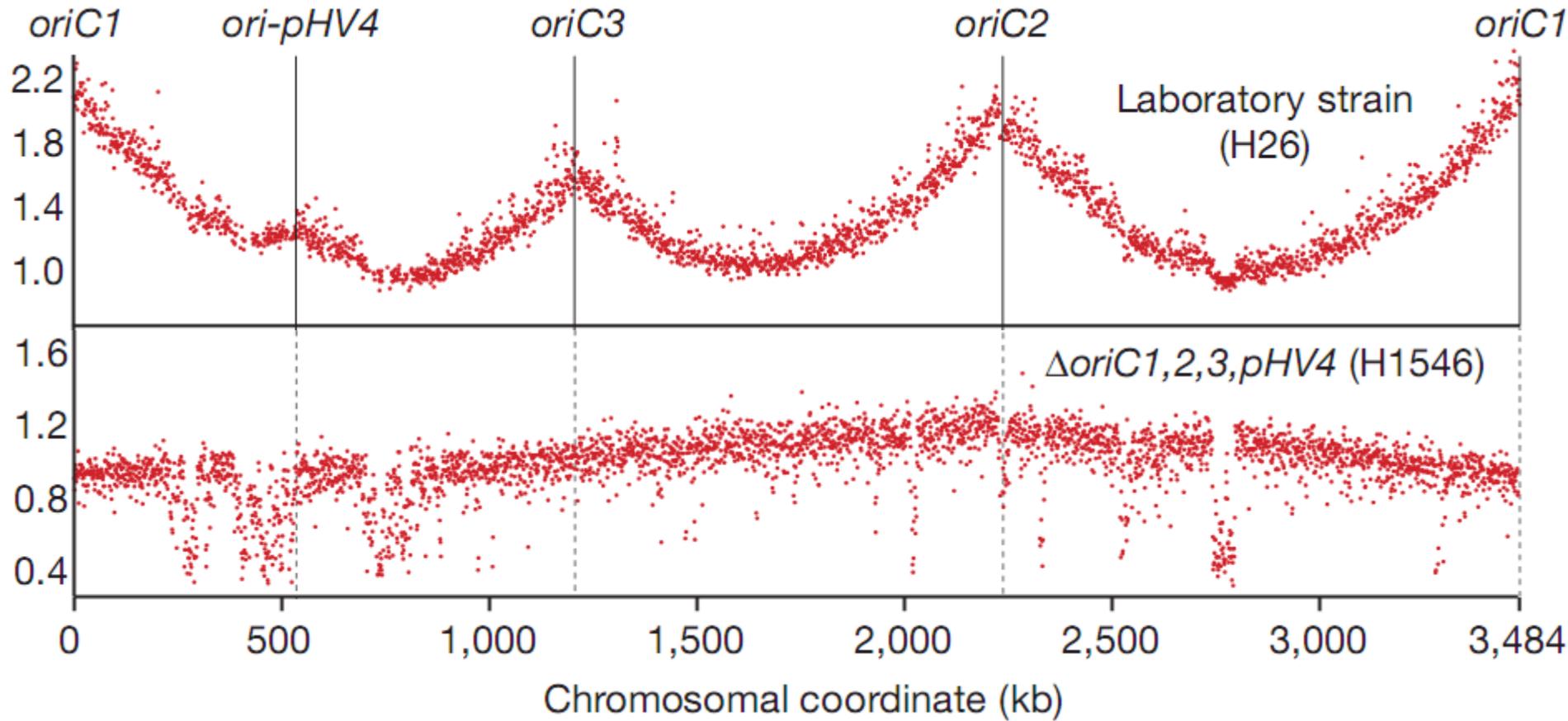
- Галофилы, хемотрофы
- Размер генома (1 хромосома) – примерно 3 миллиона пар оснований



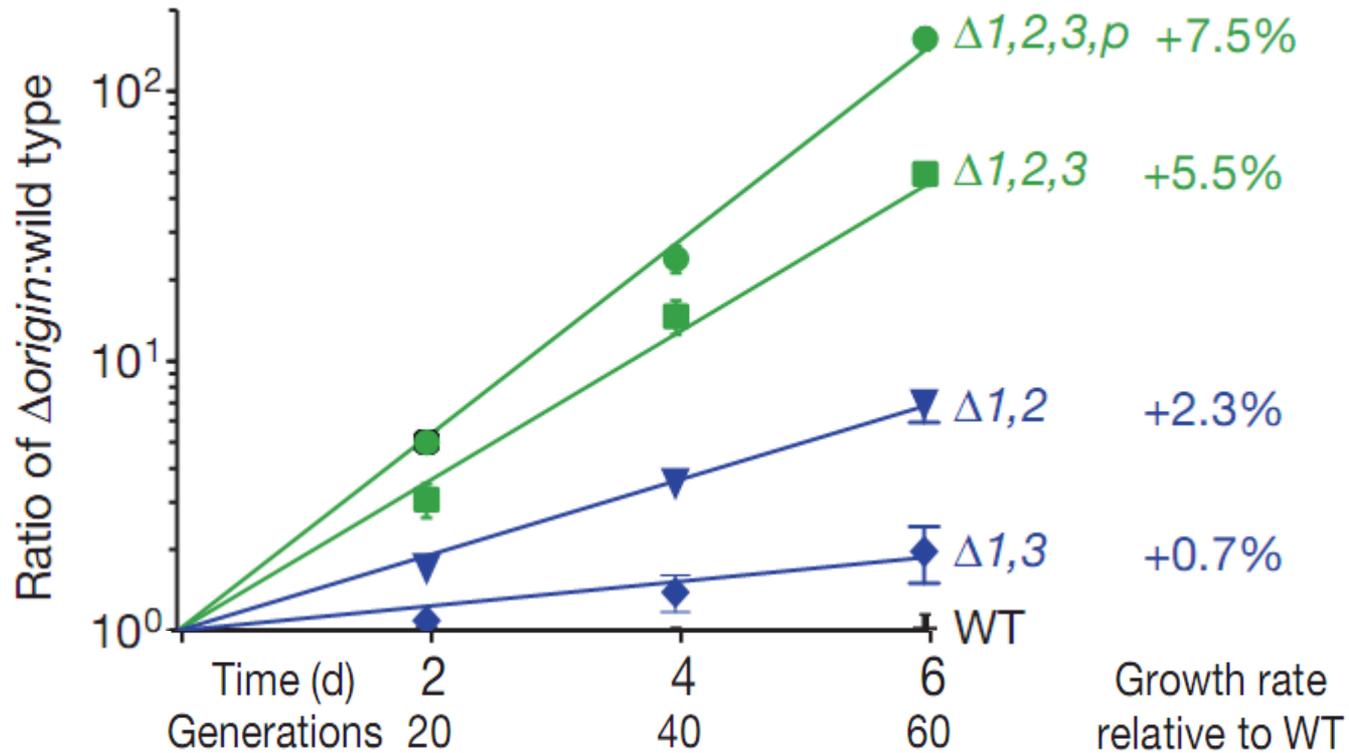
# Картирование ориджинов репликации



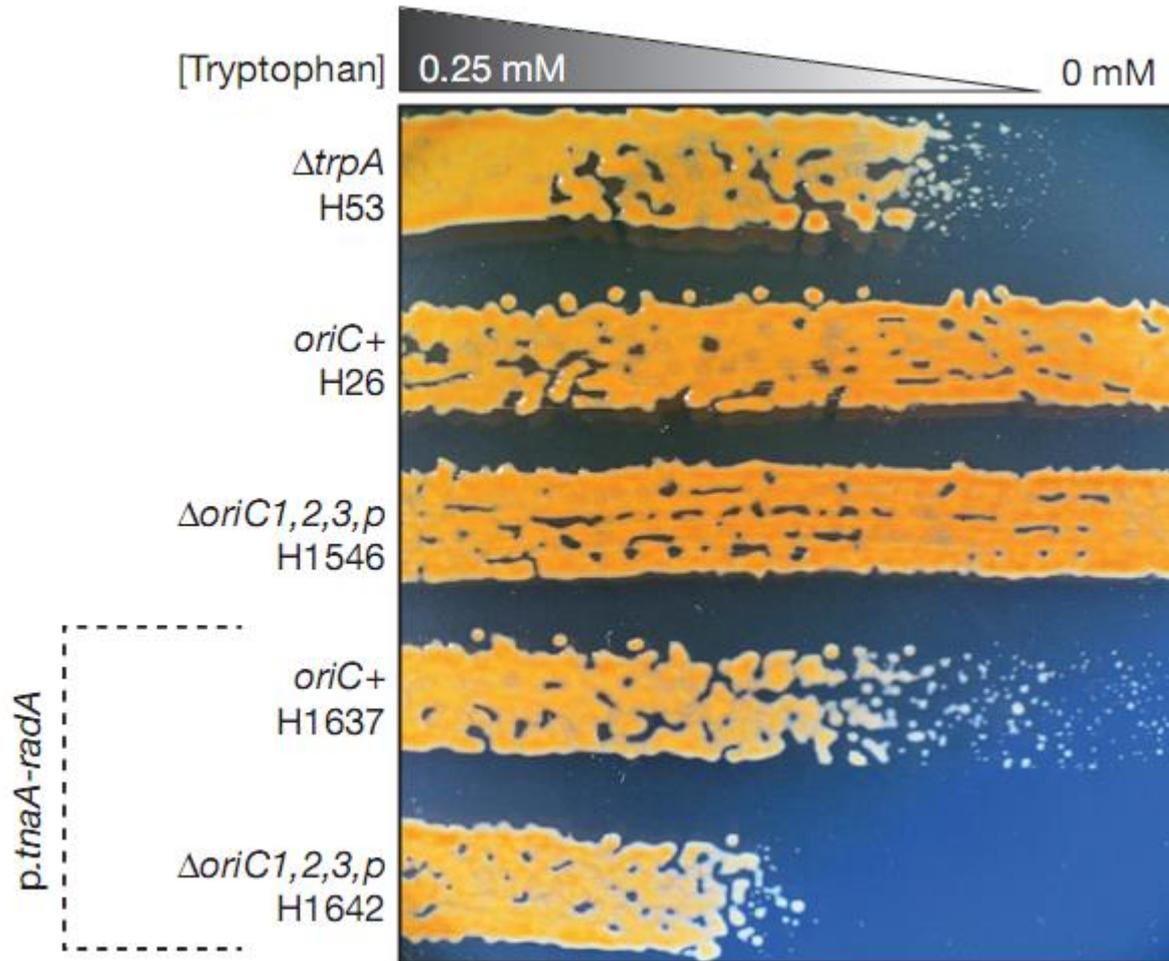
# Удаление ориджинов репликации

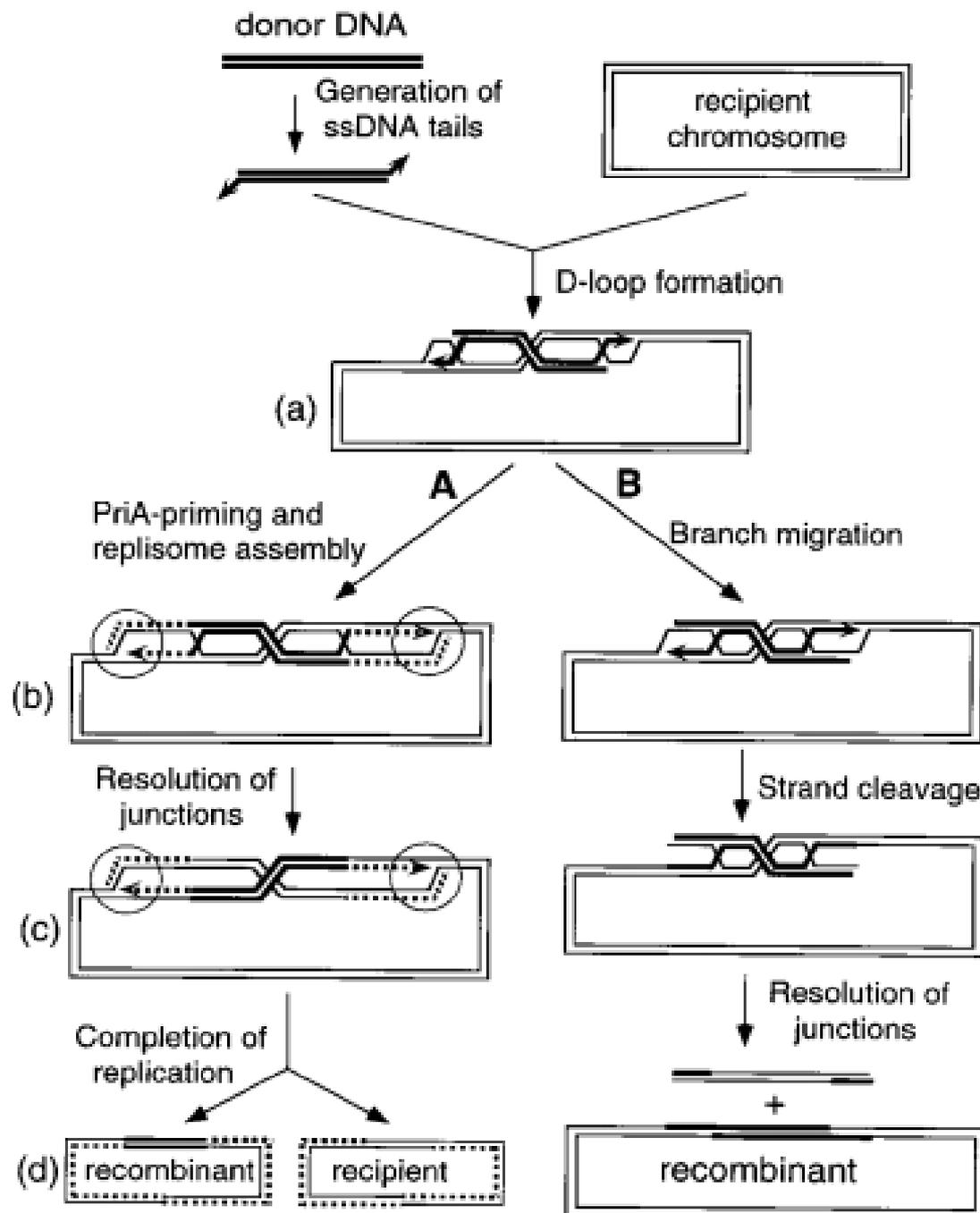


# Удаление ориджинов репликации

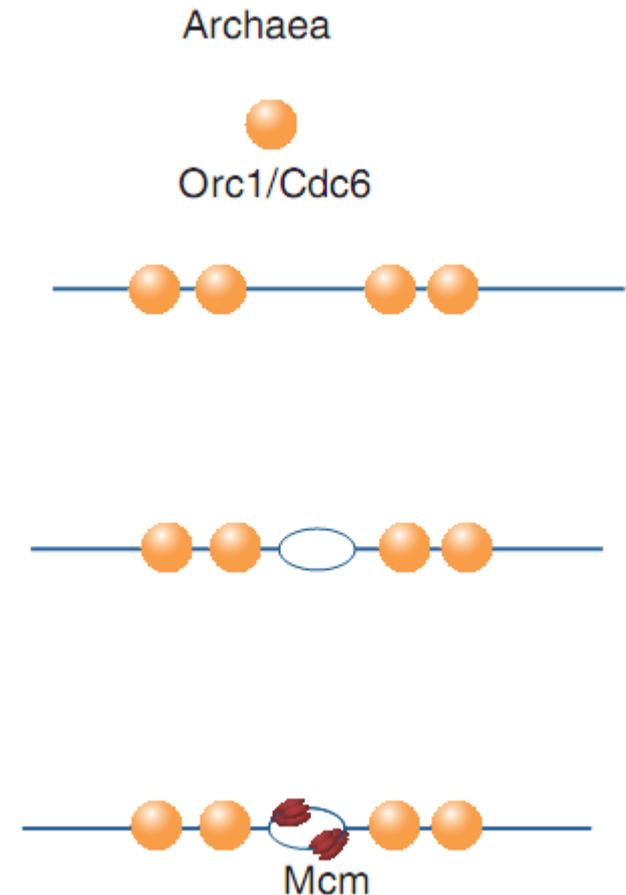


# Для репликации генома необходима гомологичная рекомбинация

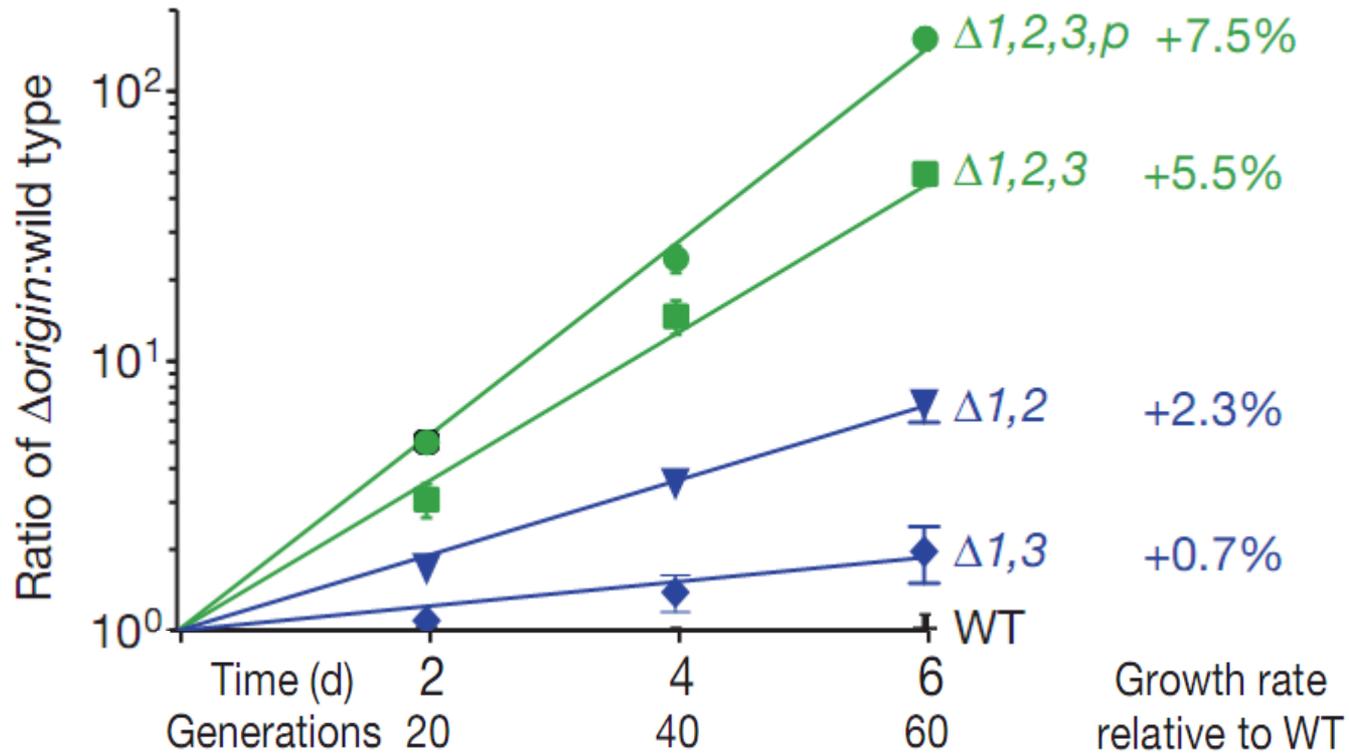




- В обычных клетках, имеющих ориджины репликации, ORC1 связывает MCM геликазу в сайте инициации репликации
- Обратная корреляция скорости роста и числа ориджинов свидетельствует о том, что разные механизмы репликации (ori и HR) конкурируют за MCM геликазу, причем ORC1 имеет большее сродство



# Удаление ориджинов репликации



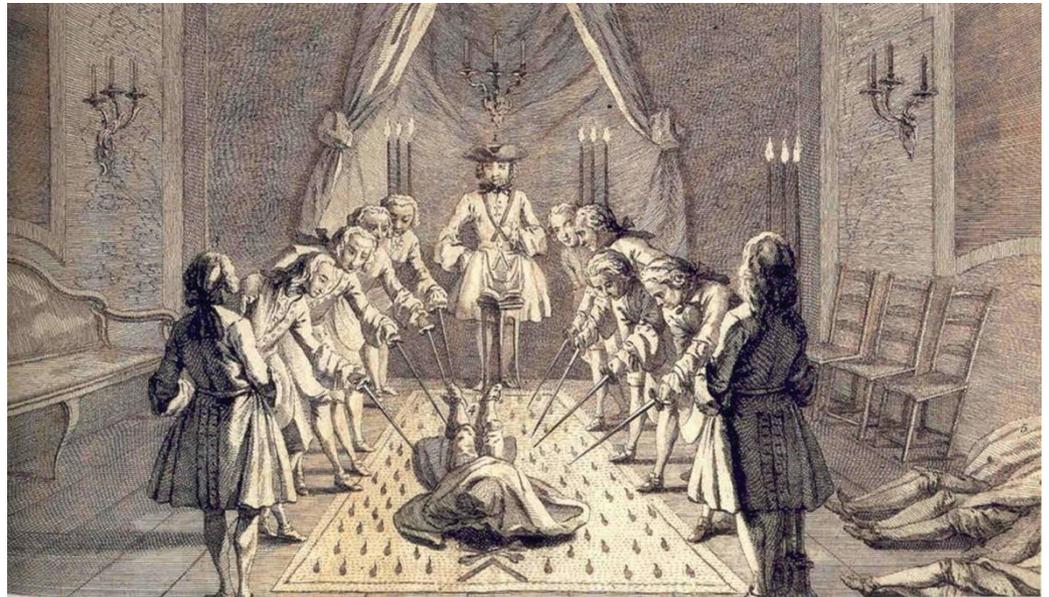
# Выводы из работы

- Высокая плоидность (20 геномных эквивалентов) позволяет реплицировать геном за счет гомологичной рекомбинации, которая выгоднее, чем ориджин-зависимая репликация.
- На этом радикальном примере показано, что ориджины репликации ведут себя эгоистично, связывая MCM собственным белком-инициатором ORC1, чтобы реплицировать себя в первую очередь.
- Чтобы обеспечить надежную передачу от клетки к клетке с помощью горизонтального трансфера ORC1 располагается рядом с ориджином.

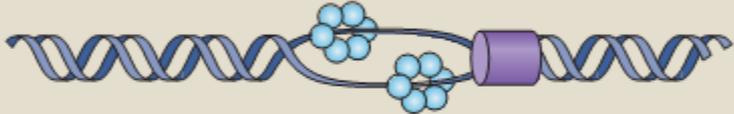
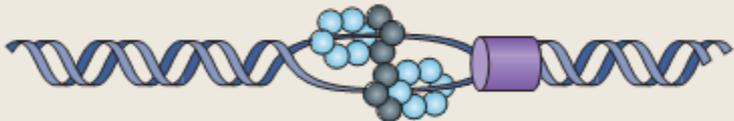
# Теория репликонов (Франсуа Жакоб, 1963)

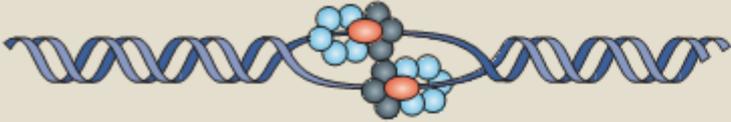
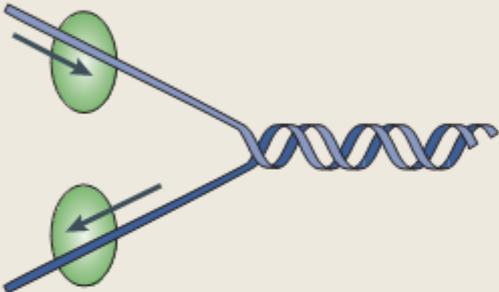
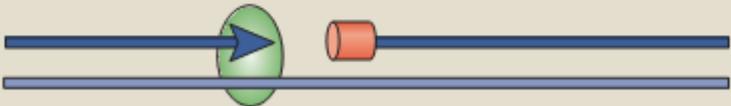
- Репликатор + инициатор
- “Что верно для *E.coli*, верно и для слона” (Жакоб Моно). Это справедливо в отношении некоторых процессов, таких как транскрипция или трансляция, но не совсем правильно по отношению к ДНК репликации.

Есть даже регулярные встречи, которые называются replicon birthday meetings, проводимые каждые 10-20 лет, начиная с момента появления идеи в 1963.

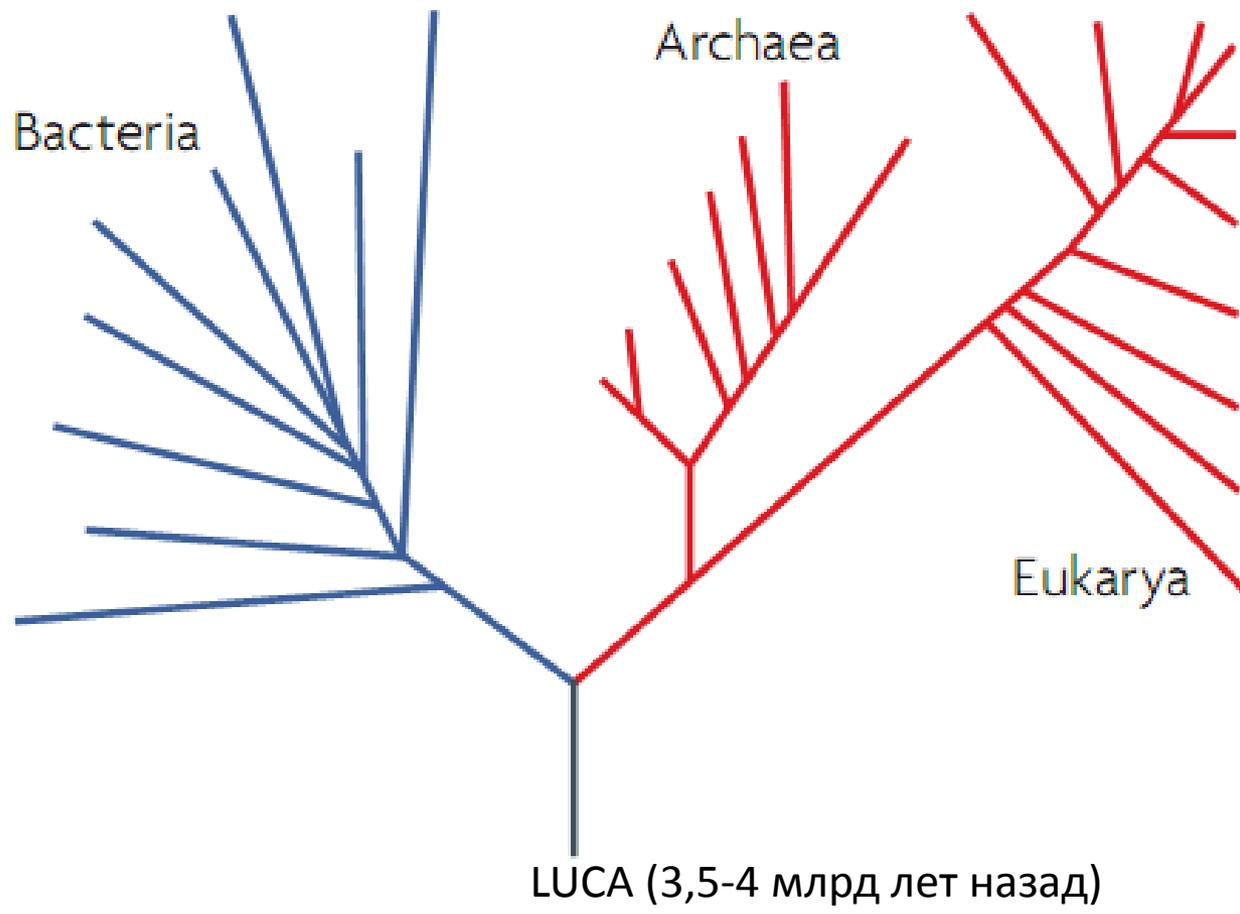


# Гомологи, но не ортологи

Stage in DNA replication	Bacteria	Archaea	Eukaryotes
Define origin 	DnaA	Orc1/Cdc6, WhiP	<u>Orc</u> ( <u>Orc1</u> , <u>2</u> , <u>3</u> , <u>4</u> , <u>5</u> and <u>6</u> )
Recruit helicase 	DnaC, DnaB	Orc1/Cdc6, MCM6	Cdt1, Cdc6, MCM (2-7)
Pre-initiation complex 	–	GINS (Gins23 and Gins15)	GINS (Psf1, 2, 3 and Sld5), <u>MCM10</u> , <u>Cdc45</u> , <u>Sld2</u> , <u>Sld3</u> , <u>Dbp11</u>

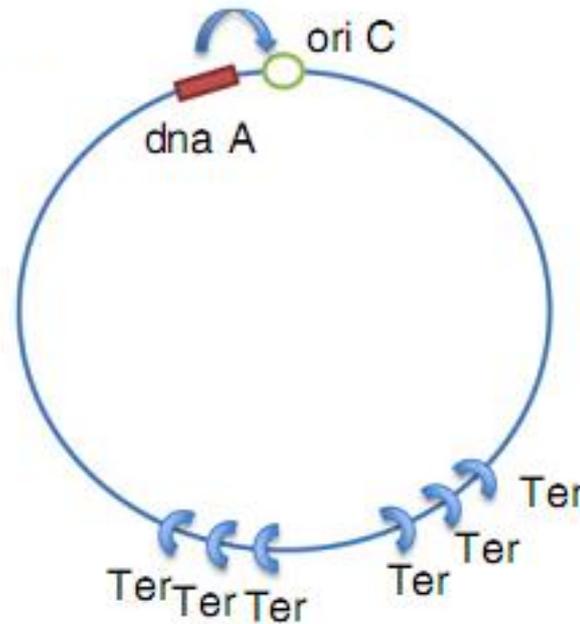
Priming		DnaG	Primase (PriS and PriL)	<u>Pol <math>\alpha</math>/primase</u> (PRIS, PRIL, <u><math>\beta</math></u> subunit, DNA <u>pol<math>\alpha</math></u> )
DNA synthesis		DNA pol III core $\tau$ -subunit, Clamp loader proteins ( $\gamma$ -complex), Sliding clamp proteins ( $\beta$ -clamp)	B family DNA pol, D family DNA pol*, Clamp loader proteins (RFC), Sliding clamp proteins (PCNA)	B family DNA pol ( $\delta$ and $\epsilon$ ), Clamp loader proteins (RFC), Sliding clamp proteins (PCNA)
Primer removal		DNA pol I, RNaseH, DNA ligase (NAD-dep)	Fen1, Dna2, RNaseHII?, DNA ligase (ATP-dep)	Fen1, Dna2, RNaseHII?, DNA ligase (ATP-dep)

\*Found in archaea only. dep, dependent; MCM, minichromosome maintenance; PCNA, proliferating cell nuclear antigen; pol, polymerases; RFC, replication factor C.



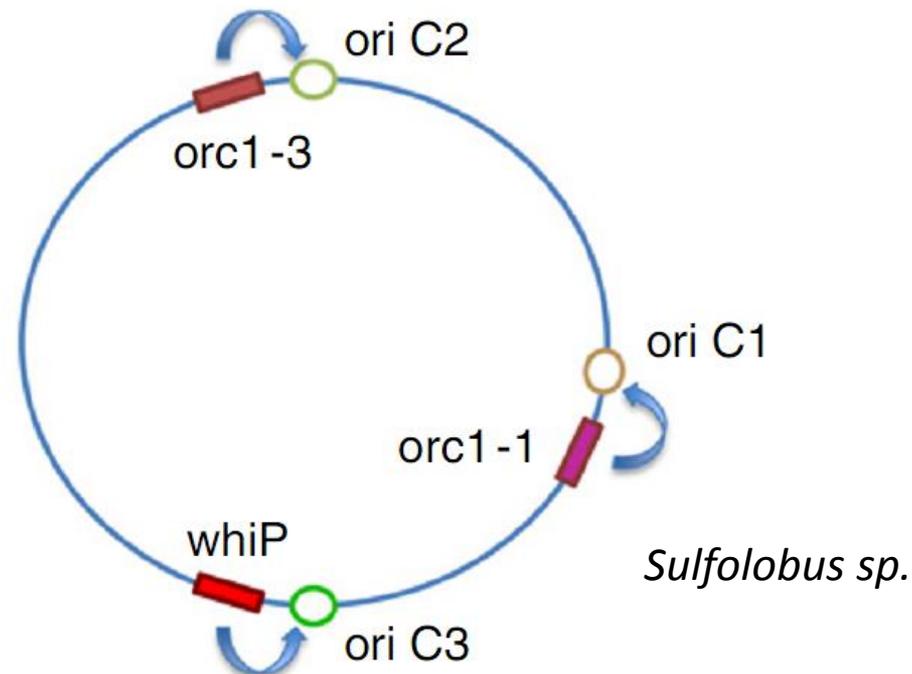
# Способы репликации ДНК: бактерии

- Циклические хромосомы бактерий имеют один ориджин репликации (oriC) и один белок-инициатор DnaA
- Размер генома – 0,6-13Mb, скорость репликации – 50Kb/мин
- Зоны терминации связаны белком терминации Tus у E.coli, который позволяет репликативным вилкам проходить, но не выходить



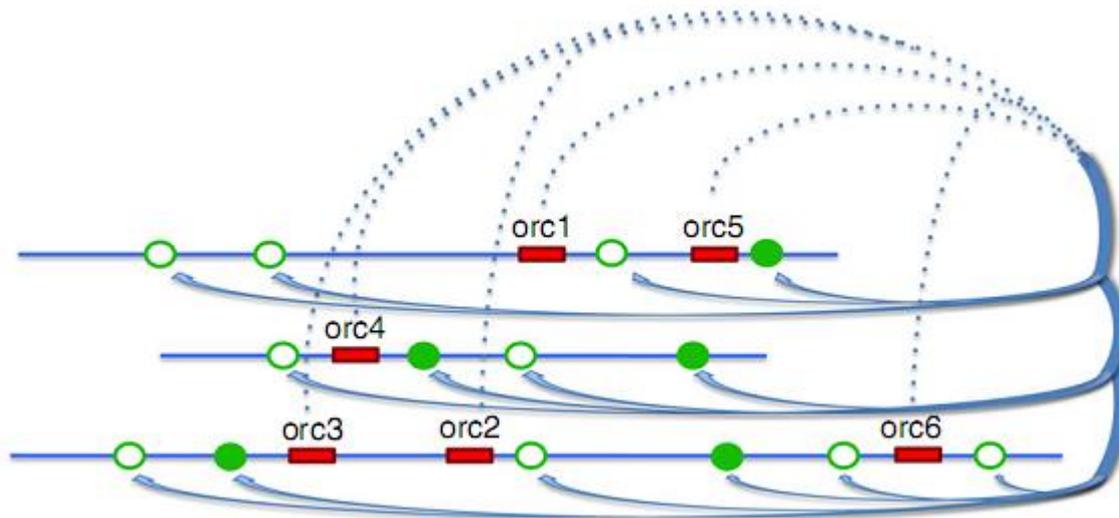
# Способы репликации ДНК: археи

- Циклические хромосомы имеют от одного до четырех ориджинов репликации (ori CX) и несколько гомологичных инициаторных белков Orc1
- Размер генома – 0,5-6Mb, скорость репликации – 5Kb/мин
- Ориджины являются самостоятельными репликонами, то есть каждый узнается своим инициатором, хотя у некоторых видов архей более сложные связи



# Способы репликации ДНК: эукариоты

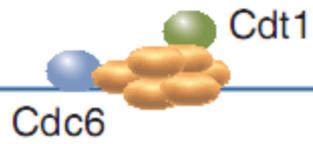
- Множество скрытых ориджинов репликации на расстоянии 50-400Кб
- Размер генома – до 100000 Мб, скорость репликации – 1Кб/мин



Eukaryote

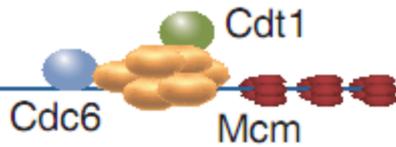


ORC



Cdc6

Cdt1



Cdc6

Cdt1

Mcm

Archaea

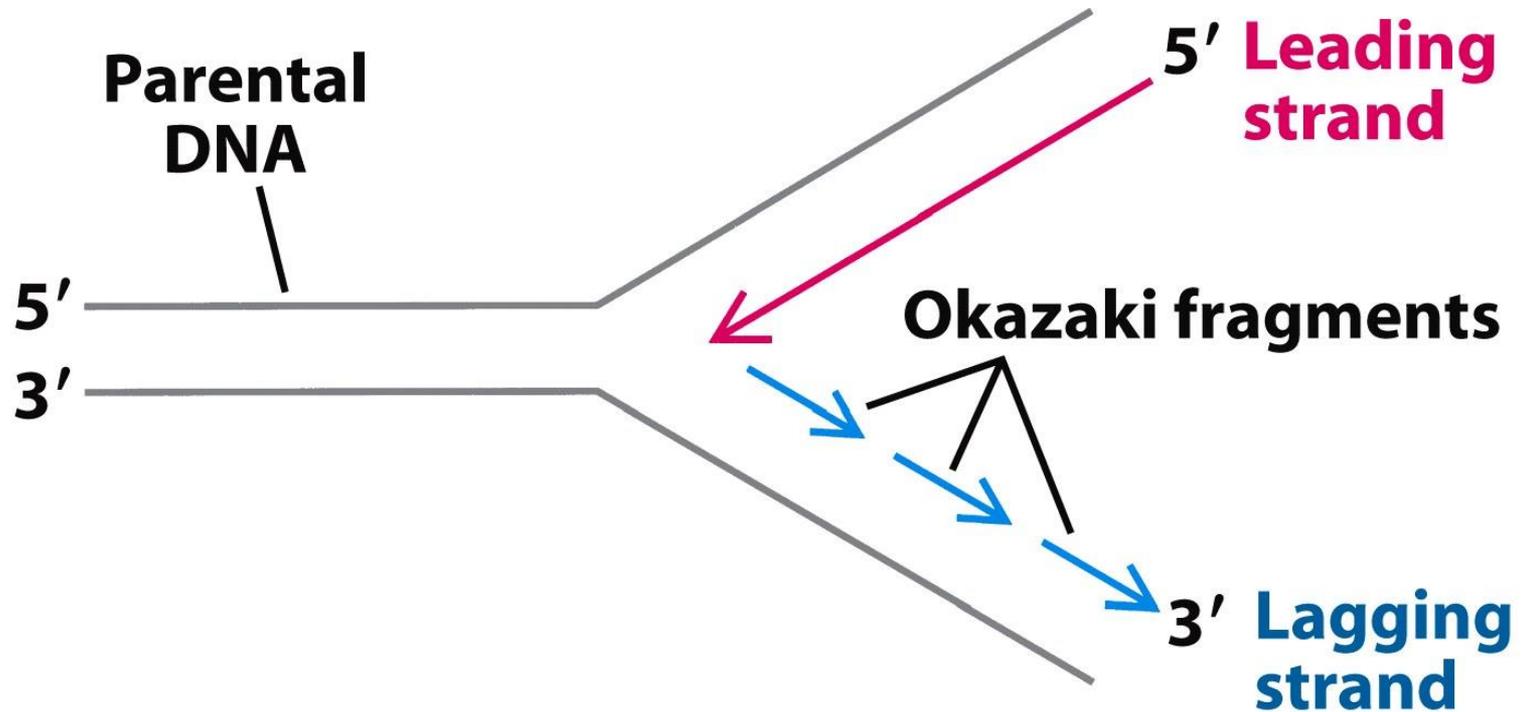


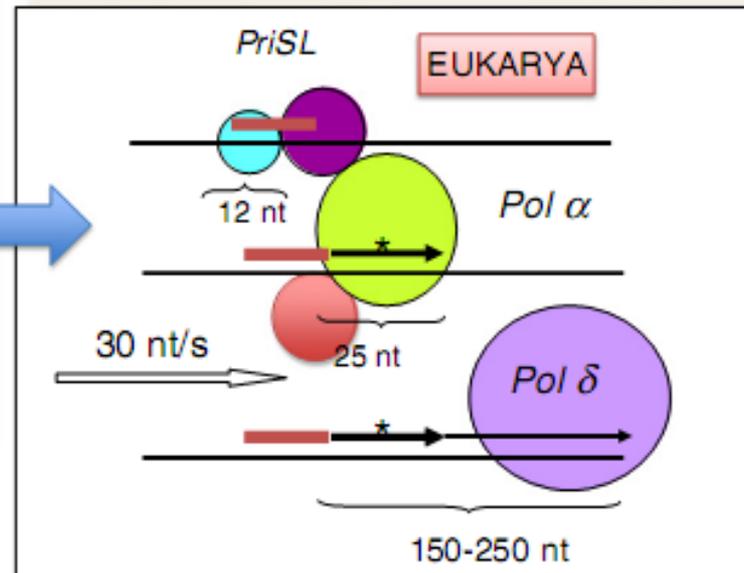
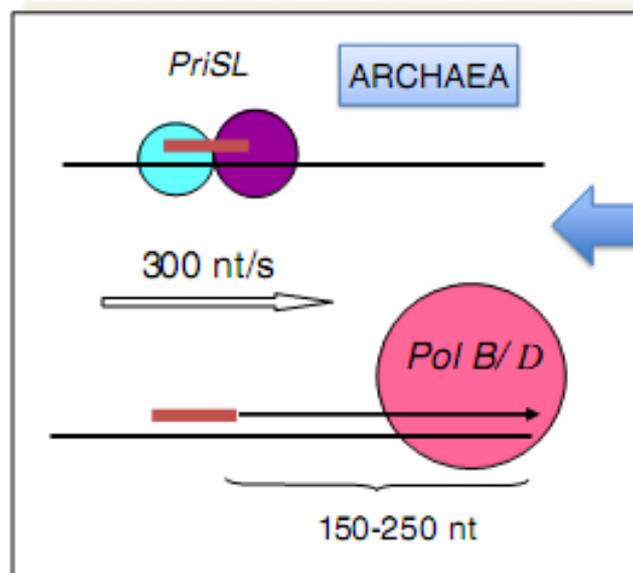
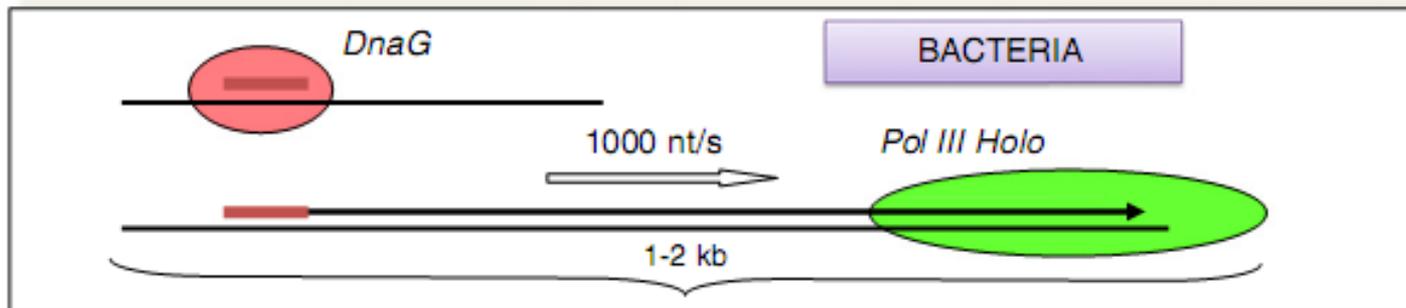
Orc1/Cdc6



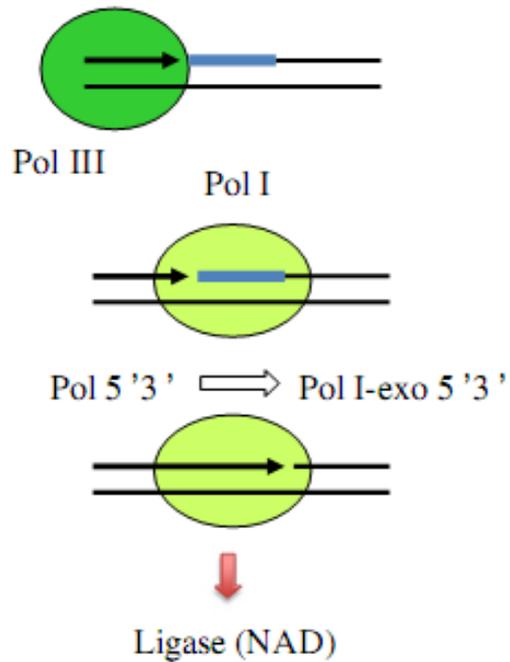
Mcm

# Фрагменты Оказаки

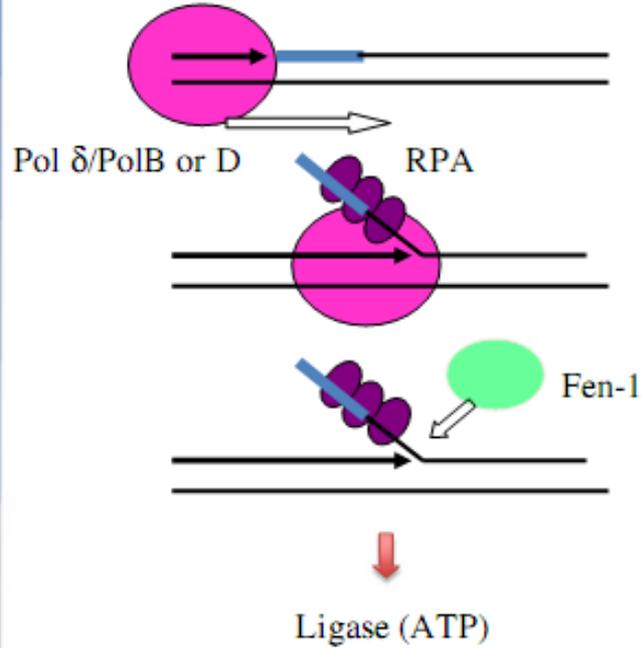




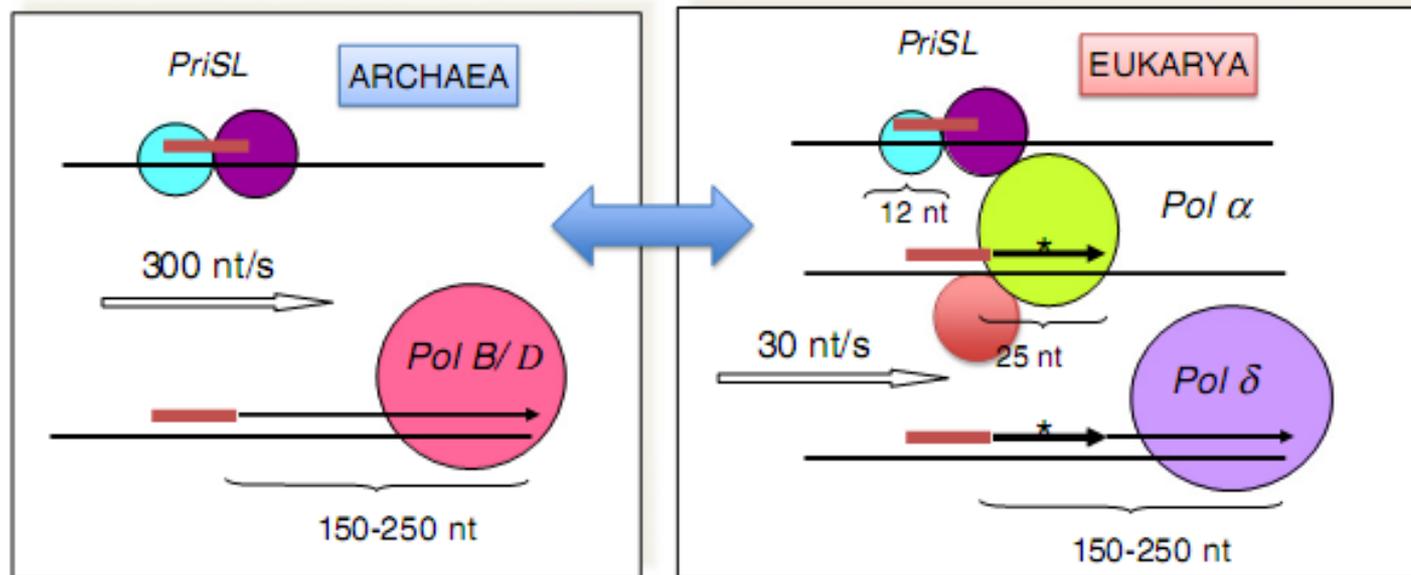
**Bacteria**



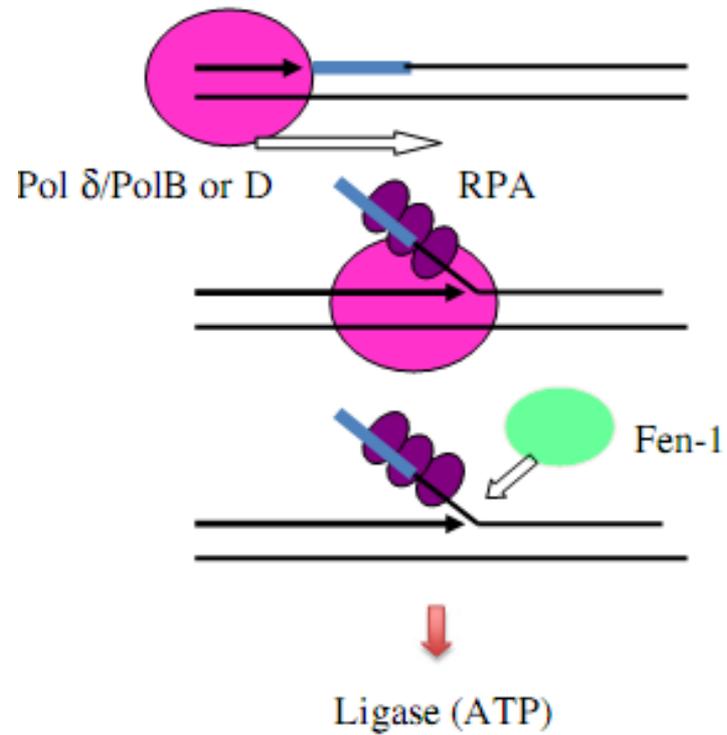
**Eukarya/Archaea**



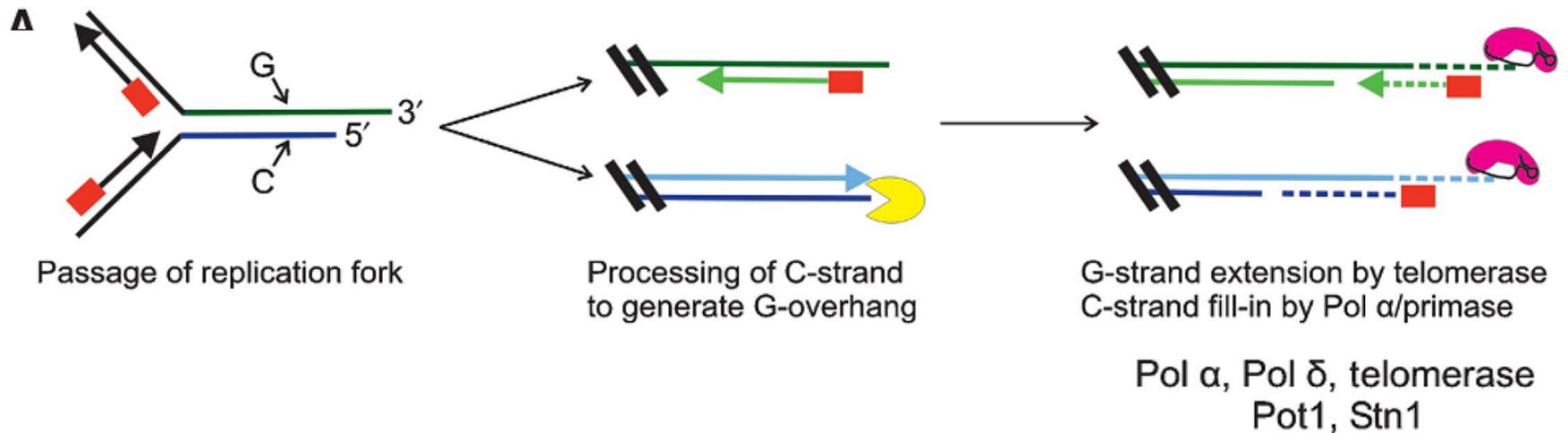
Зачем и откуда появилась *pol α*? У архей ее нет, скорость и надежность синтеза ДНК в сотни раз ниже, чем у *pol δ*.  
Более того, в процессе созревания фрагментов Оказакки, участок синтезированный *pol α* удаляется вместе с затравкой.



Eukarya/Archaea

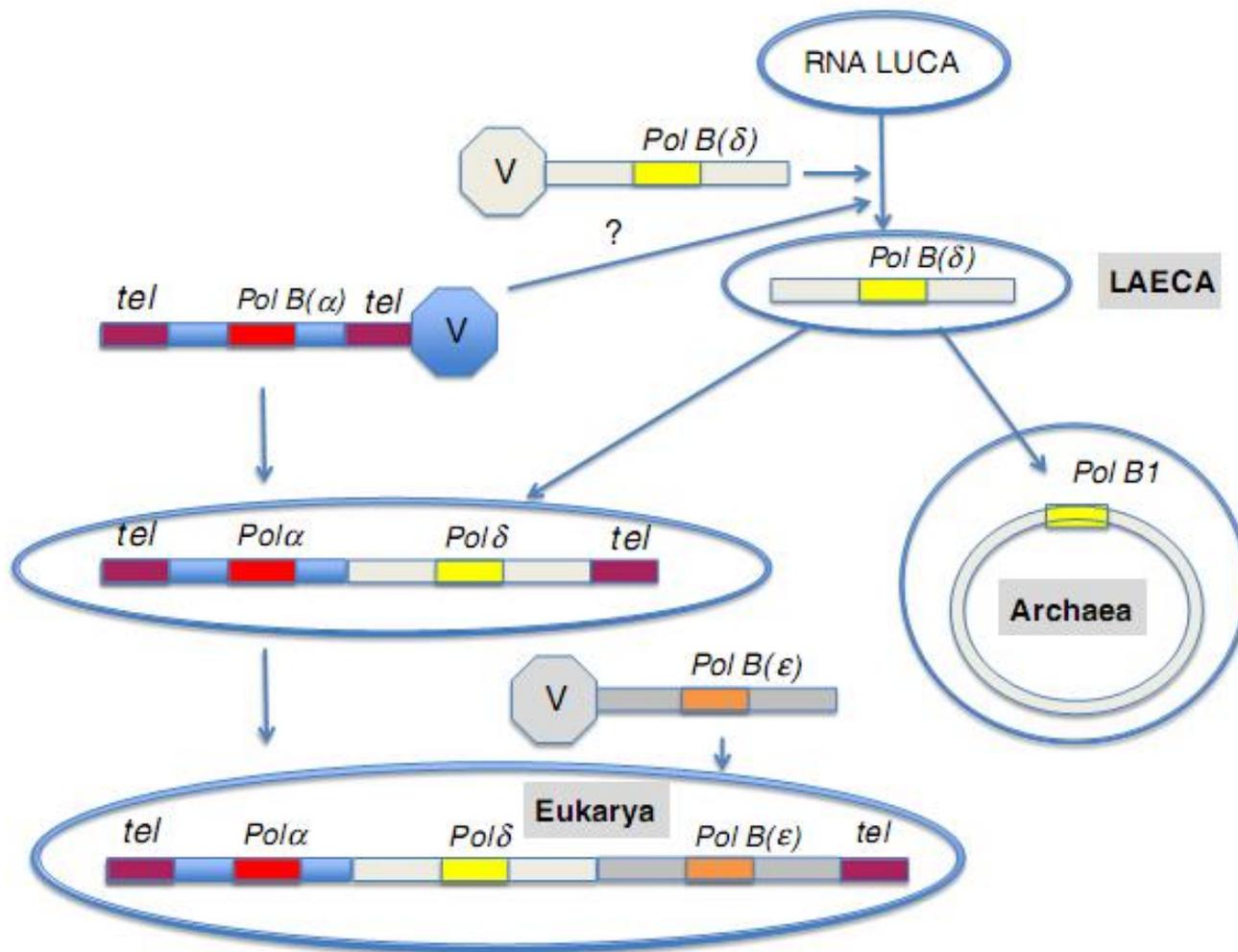


# Pol $\alpha$ участвует в репликации теломер

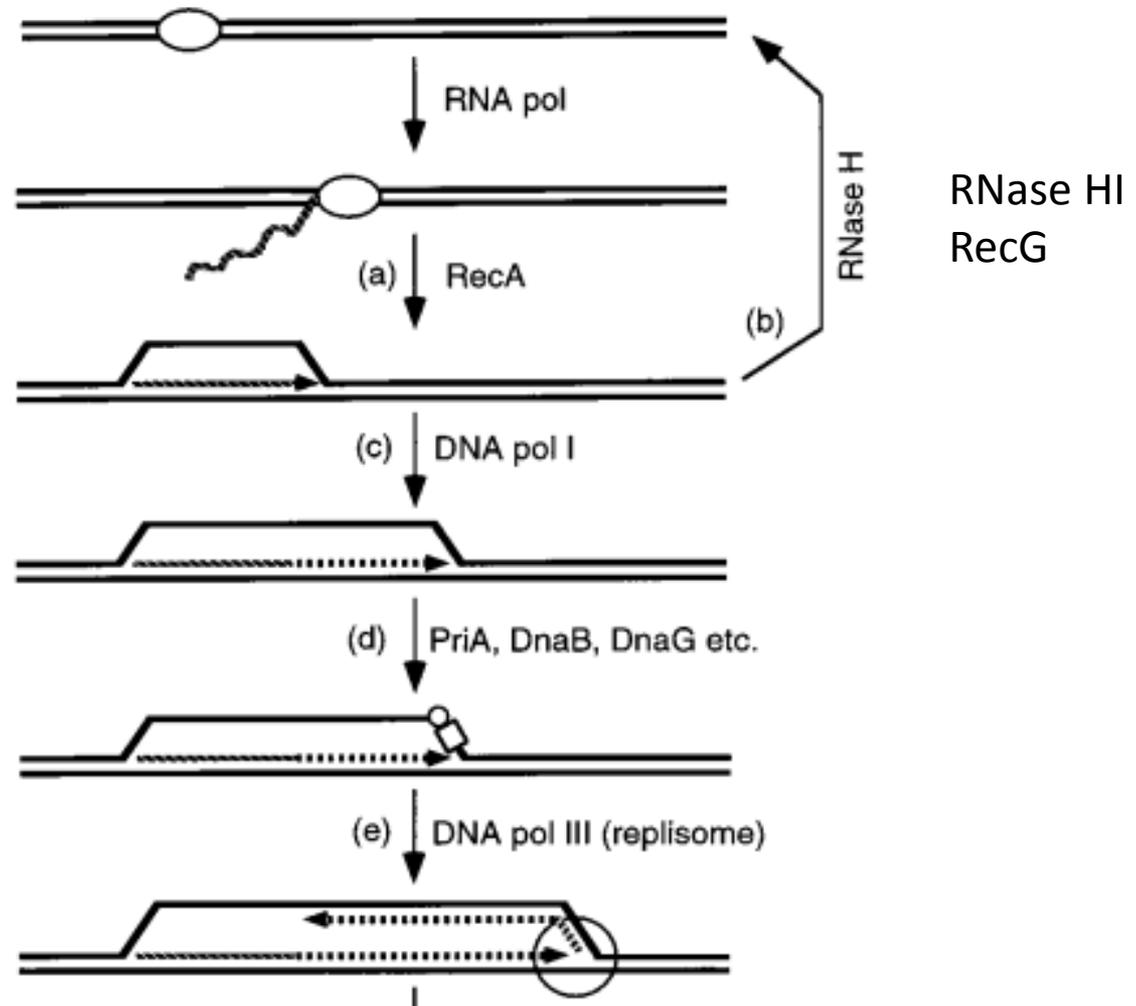


Как уже было сказано, Pol  $\alpha$  отсутствует у архей, также как и теломеры.

# Происхождение ДНК полимераз от вирусов



# Альтернативная ДНК репликация у E.coli: recombination dependent replication и constitutive stable DNA replication



# Вопросы геномной эволюции

## Основные споры:

ДНК vs РНК как первые молекулы?

Имел ли общий предок(LUCA) липидную мембрану?

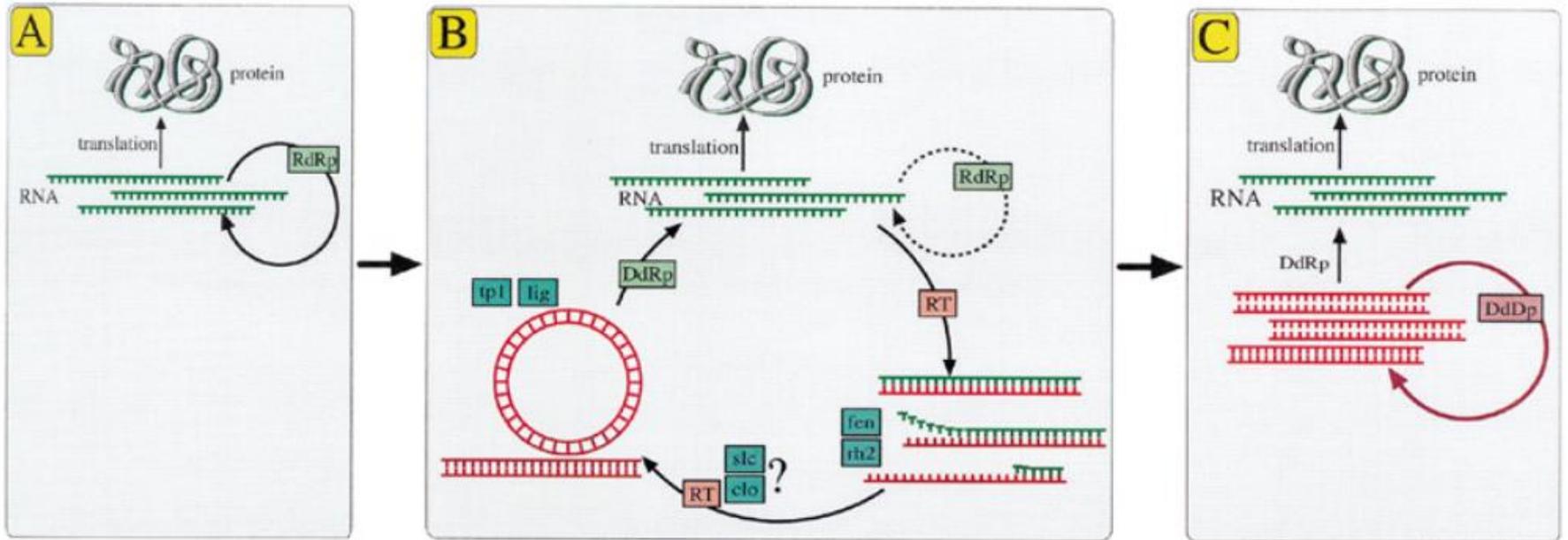
Имел ли общий предок ДНК геном?

Как он реплицировался?

**Почему бактерии и археи/эукариоты имеют разные неродственные системы репликации? Гипотезы:**

LUCA имел РНК-геном / LUCA имел ДНК-геном современного типа /  
LUCA имел смешанный геном

# LUCA



Предположение Дарвина о существовании общего гипотетического предка всех живых организмов было выдвинуто в 1859.

LUCA имел несколько сотен генов, общее с современными организмами: генетический код (64 кодона, 20 универсальных аминокислот), универсальная система трансляции (рибосомы, рРНК, тРНК), РНК полимераза, аппарат синтеза нуклеотидов.

# Заключение

- Ориджины репликации и инициаторы репликации (DnaA/ORC) в ветвях бактерий и архей/эукариот скорее всего произошли независимо от эгоистичных генетических элементов привнесенных вирусами
- Основные репликативные ДНК полимеразы произошли от ДНК вирусов
- Последний общий предок вероятно имел другой механизм репликации, отличный от современного: обратная транскрипция, гомологичная рекомбинация или какой-то другой