Лабораторна робота № 3

Тема: Репарація ДНК та її значення для стабільності геному

Мета: Сформувати у студентів цілісне розуміння механізмів ушкодження ДНК та шляхів їх репарації, з'ясувати роль різних типів репараційних систем у підтриманні генетичної стабільності, а також проаналізувати біомедичне значення порушень репарації в розвитку онкопатології, старіння та спадкових захворювань.

Ключові поняття та терміни: ушкодження ДНК, апуринізація, дезамінування, алкілування, піримідинові димери, АР-сайт, пряма реактивація, фотоліаза, ексцизійна репарація, ДНК-глікозилаза, АР-ендонуклеаза, SOS-репарація, RecA білок, MutS / MutL / MutH, метилювання ДНК, напівметильована ДНК, "гарячі точки" мутагенезу, рекомбінаційна репарація.

Теоретичні питання для обговорення

1. Які основні типи ушкоджень ДНК виникають спонтанно?
2. Чому дезамінування цитозину є мутагенним процесом?
3. Який механізм прямої реактивації піримідинових димерів?
4. У чому полягає принцип ексцизійної репарації?
5. Чим відрізняється ексцизійна репарація від прямої?
6. Які механізми запускає SOS-система?
7. Чому SOS-репарація може бути мутагенною?
8. Як система розпізнає "новий" ланцюг ДНК при репарації неспарених нуклеотидів?
9. Яку роль відіграє метилювання ДНК у контролі якості реплікації?
10. Чому метильований цитозин є "гарячою точкою" мутагенезу?
11. Які пошкодження неможливо усунути ексцизійним шляхом?
12. Який зв'язок між порушенням репарації та розвитком раку?

Практична частина

Завдання 1. Дайте визначення та поясніть значення

Репарація - _____

_____.

Значення репарації - _____

_____

_____

ДНК-глікозилаза_____

_____.

АР сайт - _____

_____.

Фотоліаза - _____

LIVEWORKSHEETS

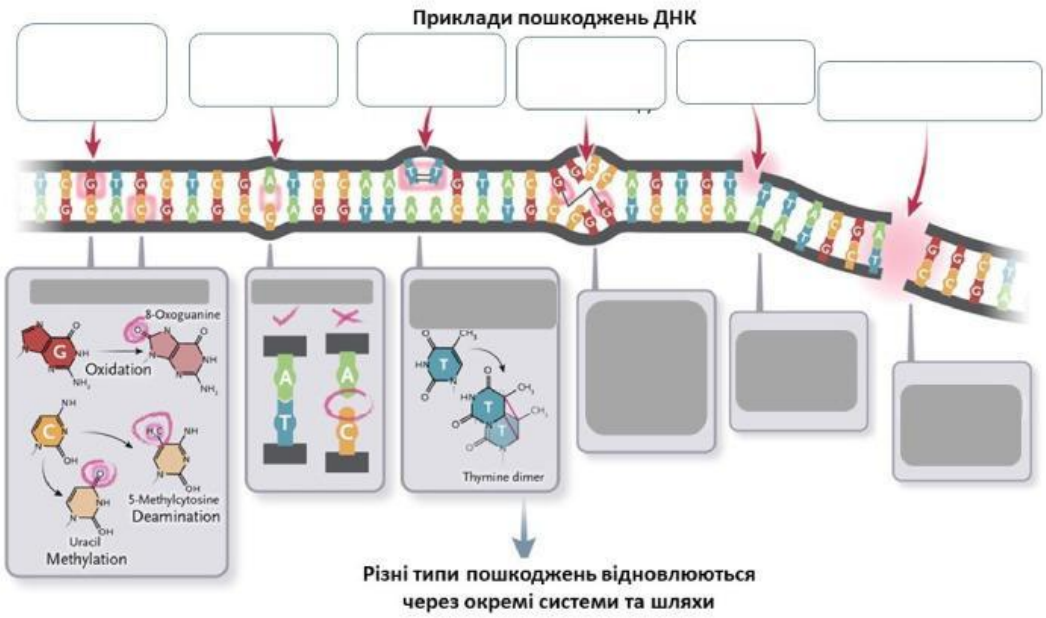
_____.

SOS-репарація - _____

_____

_____

Завдання 2. Заповніть схему щодо типів ушкодження



Завдання 3. Заповніть таблицю «Тип ушкодження – механізм – наслідки»

Тип ушкодження	Причина	Наслідки без репарації
Апуринізація		
Дезамінування		
Алкінування		
Піримідинові димери		
Неспарені нуклеотиди		

LIVEWORKSHEETS

Завдання 4. Заповніть таблицю «Механізм-принцип – клінічне значення»

Механізм	Основний принцип	Можливі наслідки порушення
Пряка реактивація		
Ексцизійна репарація		
SOS-репарація		
Репарація неспарених нуклеотидів		
Рекомбінаційна репарація		

Завдання 5. Встановіть відповідність

Фермент	Функція
А. Фотоліаза	Репарація неспарених основ
Б. ДНК-глікозилаза	Видалення пошкодженої основи
В. UvrABC-ендонуклеаза	Індукція SOS-системи
Г. RecA	Видалення піримідинових димерів у темряві
Д. MutS	Фотореактивація

Завдання 6. Відновіть послідовність ексцизійної репарації

Опис етапу	Номер етапу
Дія ДНК-лігази	
Вирізання пошкодженої ділянки	
Дія ДНК-полімерази	
Розпізнавання ушкодження	
Утворення АР-сайту	

Завдання 7. Вставте пропущені терміни

Втрата пуринової основи називається _____.

Дезамінування цитозину призводить до утворення _____.

Піримідинові димери виникають під дією _____ випромінювання.

LIVEWORKSHEETS

Фермент, що переносить метильну групу з пошкодженої основи на себе, називається _____.

Ексцизійна репарація використовує _____ ланцюг як матрицю.

SOS-репарація активується при значній кількості _____ ДНК.

Білок _____ пригнічує коригуючу активність ДНК-полімерази III.

У E. coli метилювання аденіну відбувається в послідовності _____.

Напівметильована ДНК утворюється одразу після _____.

“Гарячі точки” мутагенезу часто пов’язані з _____ цитозином.

Завдання 8. Дайте розгорнуті відповіді на прикладні запитання

Питання 1. Пацієнт має підвищену чутливість до ультрафіолетового випромінювання. Передбачається дефект системи ексцизійної репарації. Який тип ушкоджень не буде ефективно видалятися? Які клінічні наслідки можливі? Чому такі пацієнти мають підвищений ризик раку шкіри?

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

Питання 2. Пацієнт проходить хіміотерапію препаратами алкілюючої дії. Виявлено дефіцит ферментів прямої репарації алкільованих основ. Який тип ушкоджень ДНК накопичуватиметься? Чому О6-метилгуанін є особливо небезпечним? Які можливі наслідки для клітини — апоптоз чи мутагенез? Чому порушення цієї системи може підвищувати ризик вторинних пухлин?

_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____
_____

LIVEWORKSHEETS

Питання 3. У пацієнта виявлено мутацію в гені, аналогічному mutS / mutL (порушення MMR). Який тип помилок накопичуватиметься в ДНК? Чому зростає частота точкових мутацій? Як це пов'язано з розвитком спадкових форм колоректального раку (аналогія з синдромом Лінча)? Чому геномна нестабільність є ключовим фактором канцерогенезу?

LIVEWORKSHEETS