**6СУРС: Рекомбинация Транспозиция**

**Содержание**

1. Рекомбинация
2. Транспозиция
	1. IS-элементы
	2. Нерепликативная транспозиция
3. **РЕКОМБИНАЦИЯ**

**Рекомбинация генетическая**, реорганизация генетического материала, обусловленная обменом отдельными сегментами (участками) двойных спиралей ДНК.

Генетическая рекомбинация - главный фактор непостоянства *генома,*основа большинства его изменений, обусловливающая естеств. отбор, микро- и макроэволюции.

Различают два основных типа генетической рекомбинации: 1) "законную" (общую, или гомологичную), при которой происходит обмен гомологичными (одинаковыми) участками [молекул](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_2219.html) ДНК; 2) "незаконную" (негомологичную), в основе которой лежит обмен негомологичными участками ДНК.

Если обмен между разными молекулами ДНК осуществляется только в участках со строго определенными нуклеотидными последовательностями, генетическая рекомбинация называют сайт-специфичной, если в любых местах молекулы ДНК-сайт - неспецифичной.

Законная генетическая рекомбинация обычно сайт-неспецифична, хотя довольно часто у бактерий и высших организмов она может проявлять черты сайт-специфичности, т. е. избирательности к определенным нуклеотидным последовательностям ДНК (т. наз. горячие точки рекомбинации). Такие последовательности резко повышают частоту генетическая рекомбинация в тех участках генома, в которых они локализованы. Незаконная генетическая рекомбинация может быть как сайт-неспецифичной, так и весьма специфичной относительно участка обмена.

Законная генетическая рекомбинация наблюдается, например, между двумя копиями какой-либо [хромосомы](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_4295.html). У эукариот (все организмы, за исключением бактерий и синезеленых водорослей) наиболее типичен обмен участками гомологичных хромосом в мейозе (деление клеток, в результате которого происходит уменьшение числа хромосом в дочерних клетках - основная стадия образования половых клеток). Этот обмен может происходить между плотно конъюгированными хромосомами на ранних стадиях развития яйца или сперматозоида. Реже-законная генетическая рекомбинация осуществляется при обычном делении клеток (с сохранением числа хромосом)-митозе.

У прокариот (бактерии и синезеленые водоросли), у которых отсутствует мейоз, а [геном](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_807.html) представлен только одной молекулой ДНК, законная генетическая рекомбинация сопряжена с такими естественными. формами обмена и переноса генетического материала, как конъюгация (хромосомы из донорской клетки передаются в рециниентную через протоплазменный мостик-пиль), [трансформация](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_3826.html) (ДНК проникает из среды через клеточную оболочку), трансдукция (передача ДНК осуществляется бактериофагом, или вирусом бактерий). У вирусов генетическая рекомбинация происходит при заражении ими клеток. После лизиса клетки обнаруживаются вирусы с рекомбинантными ДНК. У прокариот генетическая рекомбинация осуществляют специальные клеточные [белки](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_5810.html) (многие из них ферменты).

В основе молекулярного механизма законной генетической рекомбинации лежит принцип "разрыв-воссоединение" двух гомологичных [молекул](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_2219.html) ДНК. Этот процесс (его наз. кроссинговер) включает несколько промежуточных этапов: 1) узнавание участков; 2) разрыв и реципрокное (крест-накрест) воссоединение молекул: замена одних цепей гомологичными; 3) устранение ошибок, возникающих в результате неправильного спаривания участков. Точка обмена может возникать на любом участке гомологичных нуклеотидных последовательностей хромосом, вовлекаемых в обмен. При этом в точке обмена обычно не происходит изменения нуклеотидных последовательностей. Точность разрыва и воссоединения чрезвычайно велика: ни один нуклеотид не утрачивается, не добавляется и не превращается в к.-н. другой.

Основой всех предложенных схем генетическая рекомбинация послужила так называемая модель Холлидея, согласно которой генетическая рекомбинация начинается с разрыва только одной из двух цепей спирали ДНК. Вслед за разрывом один конец цепи вытесняется другим концом, который наращивается ДНК-полимеразой. Вытесненный конец разорванной цепи спаривается со второй молекулой ДНК (образуется т. наз. гетеродуплекс), в свою очередь вытесняя там участок одной из ее цепей. В конце концов одиночные гомологичные цепи обмениваются реципрокно. После этого первонач. этапа спаривания две гомологичные спирали ДНК удерживаются вместе благодаря перекрестному обмену цепями-по одной от каждой спирали (см. рис.). Точка перекрестка далее может мигрировать, в результате чего дополнительно образуются или растут гетеродуплексные участки на обеих молекулах ДНК.

Структура с перекрещенными цепями может существовать в разл. стереоизомерных формах, возникающих в результате вращения составляющих ее элементов относительно друг друга. Изомеризация, которая как и др. стадии генетической рекомбинации контролируется генетически, изменяет положение двух пар цепей: две ранее перекрещивавшиеся цепи становятся неперекрещивающимися и наоборот.

Для того чтобы вновь восстановились две отдельные спирали ДНК и тем самым прекратился процесс спаривания, в каждой из двух перекрещенных цепей должен произойти разрыв. Если он происходит до того, как прошла изомеризация, то две исходные спирали ДНК отделяются друг от друга так, что у каждой из них генетически перестроенной оказывается только одна цепь. Если же разрыв двух перекрещенных цепей происходит после изомеризации, то обе молекулы ДНК претерпевают полную реорганизацию: часть каждой исходной спирали оказывается присоединенной (ступенчатым соединением) к части другой спирали.

Законная генетическая рекомбинация приводит к возникновению новых комбинаций специфических аллелей (различной формы одного и того же гена, обусловливающие различные варианты развития одного и того же признака-группы

Незаконная генетическая рекомбинация имеет выраженный локальный характер. В этом случае весь процесс с его начальным этапом узнавания, который сводит вместе две спирали ДНК, направляется особым рекомбинац. ферментом; спаривания оснований здесь не требуется (даже в тех случаях, когда это все-таки происходит, в процессе участвует не более неск. пар оснований). Интеграция транспозонов, плазмид и умеренных фагов в бактериальный [геном](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_807.html) может служить примером генетическая рекомбинация этого типа. Подобный механизм существует также и в эукариотич. Клетках.

При незаконной генетической рекомбинации в обмен вступают короткие специфические нуклеотидные последовательности одной или обеих спиралей ДНК, участвующих в этом процессе. Таким образом такая генетическая рекомбинация изменяет распределение нуклеотидных последовательностей в геноме-соединяются участки ДНК, которые до этого не располагались в непрерывной последовательности рядом друг с другом. Подобный обмен гетерологич. участками ДНК приводит к возникновению вставок, делеций, дупликаций и транслокаций генетического. Материала.

У эукариот перемещения разных генетич. элементов, сопряженные с незаконной генетическая рекомбинация, осуществляются преим. не в мейозе, когда контактируют парные [хромосомы](http://www.chemport.ru/data/chemipedia/article_4295.html). а во время обычных клеточных циклов (митозе). Незаконная генетическая рекомбинация играет важную роль в эволюционной изменчивости, т. к. благодаря ей осуществляются самые разнообразные, нередко кардинальные, перестройки генома и, следовательно, создаются предпосылки для качеств. изменений в эволюции данного организма.

1. **ТРАНСПОЗИЦИЯ**

Транспозиция – перемещение небольших участков генетического материала в пределах одной хромосомы или между разными хромосомами. Происходят при участии особых подвижных или мигрирующих генетических элементов. Изучение молекулярной структуры мобильных генетических элементов на мутантной по 3 lac-генам Е.coli –1960. Общими для этих мутантов были вставки большей или меньшей длины. Эти вставляемые в разные участки генома молекулы ДНК – IS-элементы (insertion sequenses). Особенности этих элементов: 1)на концах инвертированные повторы нуклеотидной последовательности (десятки пар нуклеотидов) 2) большинство Isэлементов содержит ген для фермента транспозазы, ответственных за их перемещение 3) могут содержать несколько сигналов начала и конца транскрипции 4) в точке внедрения каждого элемента всегда обнаруживается дупликация (4-9 пар нуклеотидов). Есть 3 мех-ма транспозиции для эукариот: 1) эксцизия предсуществующего транспозона с переносом на новое место – нерепликативная транспозиция. 2) репликация ДНК транспозона с последующей траспозицией - репликативная транспозиция 3) обратная транскрипция РНК-копии транспозона и перемещение ДНК-копии на новое место – РНК-опосредовання транспозиция.

  Перемещаясь случайным образом, мобильные генетические элементы существенно влияют на структуру генетического материала хозяина и имеют фундаментальное значение в формировании генетической изменчивости. Считают, что транспозиционная активность МГЭ вызывает до 80 % спонтанных мутаций и является основной причиной их возникновения. Мобильные элементы оказывают различные регуляторные эффекты.  ДКП содержат двунуклеотидные инвертированные повторы на концах и еще ряд повторов на некотором расстоянии от концов, разнообразные регуляторные элементы (промоторы и терминаторы и энхансеры транскрипции). Наличием регуляторных элементов в ДКП обусловлены различные эффекты ретровирусов и ретротранспозонов, встроенных в хромосомы, на экспрессию соседних генов.Стабильность гена in vivo является одним из его жизненно важных свойств. Однако оказалось, что существование большинства позвоночных животных зависит не только от стабильности их генома, но и от запрограммированной нестабильности ряда генетических локусов. Например, функционирование иммунной системы основано на происходящих в онтогенезе перестройках генетического материала в локусах, заключающих в себе последовательности генов и

**3.1 IS-элементы.** В большинстве своем мобильные элементы прокариот и эукариот построены по сходному плану. Сами элементы состоят из центральной части, фланкированной инвертированными повторами (ИП). Центральная часть обычно содержит ген (или гены), кодирующие белки транспозиции. Главный белок транспозиции – транспозаза. Некоторые бактериальные транспозоны имеют на концах длинные ИП, в свою очередь являющиеся мобильными IS-элементами. В этих случаях центральная часть транспозона содержит только посторонние гены, а гены транспозиции находятся в IS-элементах, причем один из них инактивирован одной или более мутациями. Структура мобильных элементов определяет механизмы их перемещений. Хотя эти механизмы различаются в деталях, имеется общий принцип реакций транспозиции.  Процесс происходит в 3 этапа. На первом этапе 2 молекулы транспозазы соединяются с концами подвижного элемента, сводят концы вместе и генерирует в них разрывы, чаще всего в обеих цепях. Затем транспозаза делает в обеих цепях ДНК-мишени ступенчатые разрывы, отстоящие друг от друга на столько пар нуклеотидов, сколько обнаруживается в ДПП данного элементаВторой этап – обмен цепями, приводящий к рекомбинации между ДНК оставляя, за счет ступенчатости разрывов, бреши между 5'-P-концами элемента и 3'-OH-концами мишени. Катализируемое транспозазой расщепление и замыкание концов цепей ДНК происходит без потери энергии связей и не требует АТФ, что напоминает консервативную сайт-специфическую рекомбинацию. Отличие от последней заключается в том, что транспозаза не образует ковалентной связи с 5’-P концом ДНК.  На третьем этапе происходит репаративный синтез брешей, формирующий ДПП, а иногда еще и репликация элемента. Таков общий общий механизм транспозиционной рекомбинации.  IS-элементы: небольшие (размером не более 2,5 т.п.н.) элементы, которые состоят из центральной части с геном транспозазы, фланкированной двумя инвертированными повторами. Основные механизмы транспозиций(на рисунках):Репликативная транспозиция отличается тем, что мобильный элемент, перемещаясь в другую молекулу, оставляет свою копию в исходной ДНК. Это может произойти только за счет удвоения (репликации) элемента.  При репликативной транспозиции на концах подвижного элемента происходят разрывы с образованием выступающих 3’-OH-концов. Одновременно транспозаза делает разрывы в ДНК-мишени. 3’-OH-концы подвижного элемента ковалентно связываются с 5’-Р-концами мишени, и образуется структура с двумя вилками репликации на концах подвижного элемента. В вилках репликации инициируется синтез ДНК (направленный «внутрь»). В результате образуется две копии мобильного элемента. При этом репликоны, содержащие «старую» и «новую» копию мобильного элемента сливаются (образуется коинтеграт).  Коинтеграты разрешаются (разрезаются) на 2 репликона в рекомбинационном res-сайте ферментом резолвазой. Старая и новая копии мобильного элемента в коинтеграте находятся в одной ориентации, и разрешение коинтеграта идет через сложную фигуру, напоминающую восьмерку. В результате снова образуется 2 репликона, но теперь каждый из них несет копию мобильного элемента. Реакция относится к сайт-специфической рекомбинации.  Репликативный механизм транспозиции распространен сравнительно мало. Он обнаружен у мобильного элемента Is6, фага Mu и бактериальных транспозонов семейства Tn3 с короткими ИП. Нерепликативная транспозиция заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место. При этом 2 молекулы транспозазы связываются с концами мобильного элемента и делают разрывы одновременно в обеих цепях ДНК на концах мобильного элемента и в ДНК-мишени. Далее транспозаза сводит вместе концы мобильного элемента и ДНК-мишень, 3-OH-концы элемента соединяются с 5-Р-концами ДНК-мишени, а между 3’-OH-концами ДНК-мишени и 5’-Р- концами элемента образуется брешь, которая заполняется с помощью репаративного синтеза ДНК, в результате чего на концах мобильного элемента возникают ДПП строго фиксированной длины.  В исходном репликоне остается ДНР. Будет ли он репарирован – зависит хозяйской клетки. Этот механизм характерен для большинства мобильных элементов бактерий и эукариотических элементов с короткими ИП. По такому типу перемещаются многие IS-элементы и мобильные элементы, которые называют составными: Tn5, Tn9, Tn10 и другие. Составные транспозоны отличаются тем, что у них инвертированные повторы представлены IS-элементами, которые находятся в обратной или (гораздо реже, например, Tn9) в прямой ориентации.

Собственно транспозоны несут кроме транспозазы другие гены, не имеющие отношения к транспозиции (чаще всего гены устойчивости к антибиотикам). Собственно транспозоны можно в свою очередь разделить на следующие группы:

1). Сложные транспозоны (семейство Tn3) – короткие ИП на концах, делают в ДНК-мишени ДПП из 5 п.н. и перемещаются по механизму репликативной транспозиции.

2) Составные транспозоны (Tn5, Tn9, Tn10) с длинными ИП, представляющими собой различные IS-элементы. Длина ДПП обычно 9 п.н.

Транспозон Tn3 представляет семейство мобильных элементов с короткими ИП (35-50 п.н.), перемещающимися с помощью репликативной транспозиции и образующими ДПП из 5 п.н.

У самого Tn3 центральная часть содержит гены транспозазы, резолвазы и бета-лактамазы bla (обеспечивает устойчивость к антибиотикам пенициллинового ряда). Ген транспозазы tnA кодирует большой белок из примерно 1000 а.о., ген резолвазы tnR кодирует белок из 185 а.о. Гены транспозазы и резолвазы транскрибируются в противоположных направлениях с промоторов, расположенных в межгенном пространстве длиной 170 п.н. В межгенном пространстве находится и сайт res, по которому происходит разрешение коинтегратов. Транскрипции генов резолвазы и транспозазы конкурируют друг с другом, и ген резолвазы выступает как ген-регулятор гена транспозазы.

**3.2 Нерепликативная транспозиция** заключается в вырезании элемента и его перемещении в новое место. При этом 2 молекулы транспозазы связываются с концами мобильного элемента и делают разрывы одновременно в обеих цепях ДНК на концах мобильного элемента и в ДНК-мишени. Далее транспозаза сводит вместе концы мобильного элемента и ДНК-мишень, 3-OH-концы элемента соединяются с 5-Р-концами ДНК-мишени, а между 3’-OH-концами ДНК-мишени и 5’-Р- концами элемента образуется брешь, которая заполняется с помощью репаративного синтеза ДНК, в результате чего на концах мобильного элемента возникают ДПП строго фиксированной длины. В исходном репликоне остается ДНР. Будет ли он репарирован – зависит хозяйской клетки. Этот механизм характерен для большинства мобильных элементов бактерий и эукариотических элементов с короткими ИП. По такому типу перемещаются многие IS-элементы и мобильные элементы, которые называют составными: Tn5, Tn9, Tn10 и другие. Составные транспозоны отличаются тем, что у них инвертированные повторы представлены IS-элементами, которые находятся в обратной или (гораздо реже, например, Tn9) в прямой ориентации.

**Список литературы**

[1.](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A0%D0%B5%D0%BF%D0%B0%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F_%D0%94%D0%9D%D0%9A#cite_ref-konichev_2-0)  А.С.Коничев, Г.А.Севастьянова Молекулярная биология. — Москва: Академия, 2003. — [ISBN 5-7695-0783-7](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BB%D1%83%D0%B6%D0%B5%D0%B1%D0%BD%D0%B0%D1%8F%3A%D0%98%D1%81%D1%82%D0%BE%D1%87%D0%BD%D0%B8%D0%BA%D0%B8_%D0%BA%D0%BD%D0%B8%D0%B3/5769507837)

2. Зенгбуш П., Молекулярная и клеточная биология, пер. с нем., т. 1, М., 1982, с. 183-215;

 3. Страйер Л., Биохимия, пер. с англ., т. 3, М., 1985, с. 196-216. © П.Л.Иванов.

1. Резяпкин, Основы молекулярной биологии. Москва, 2009