

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#01]

**Пряма дія іонізуючих випромінювань: порушення біомолекул та репарація**

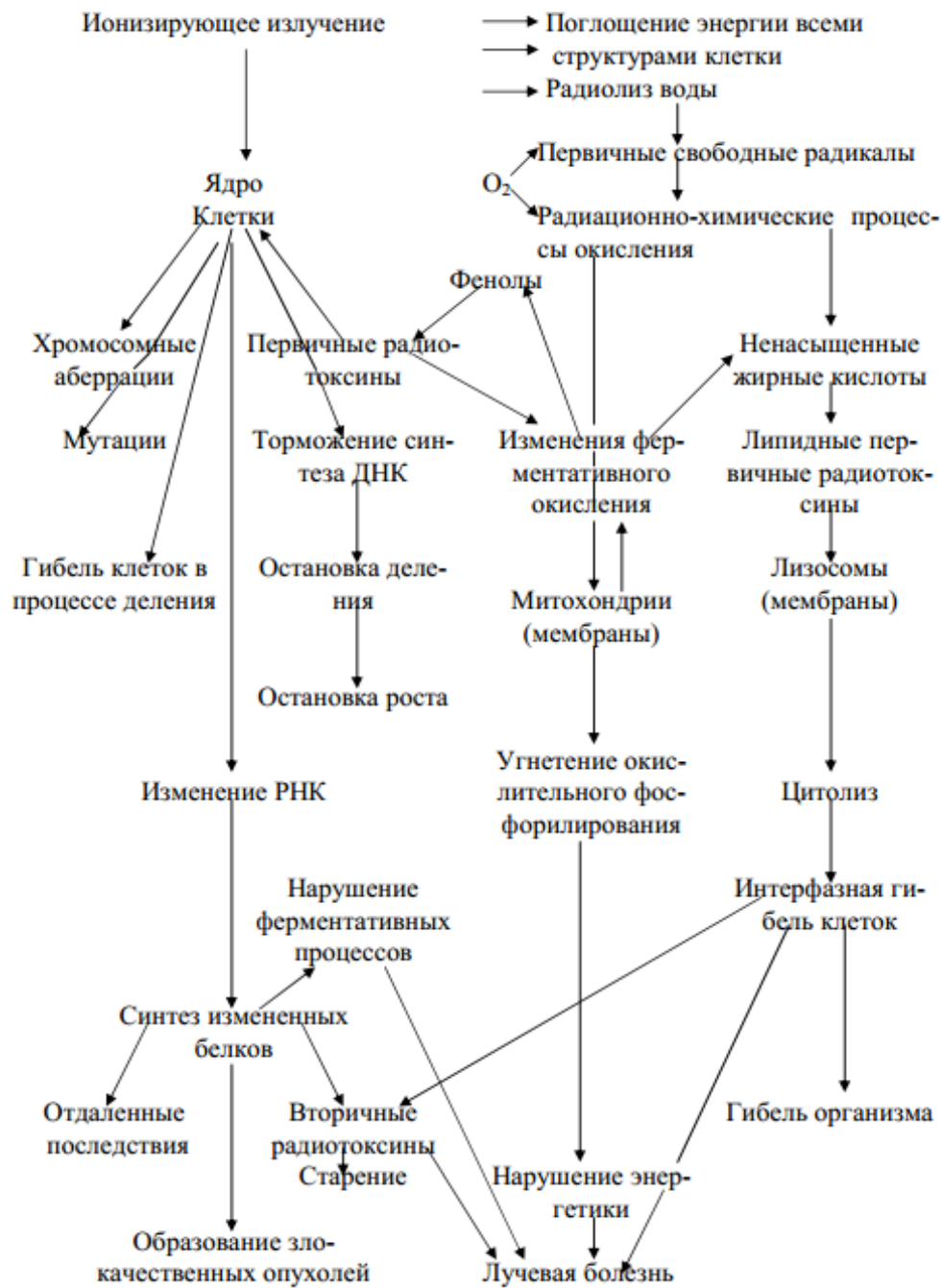
1. Біохімічні процеси в опромінених організмах.
2. Радіаційні ушкодження ДНК і РНК.
3. Радіаційні ушкодження білків і ліпідів.
4. Пострадіаційне відновлення нуклеїнових кислот – репарація.

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#02]

**Біохімічні процеси в опромінених організмах**

**Патогенез лучевого пошкодження/Патогенез променевого пошкодження**

## Патогенез лучевого повреждения



[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#03]

### Пошкодження і репарація клітини



Динамика основных этапов радиационного повреждения клетки (по А.М. Кузину).

Динамика основных этапов радиационного повреждения клетки (по А.М. Кузину).

Динаміка основних етапів радіаційного пошкодження клітини (по А.М.Кузину)

Пошкодження  
ключовий  
загибелі клітин:

ДНК  
етап

репродуктивної

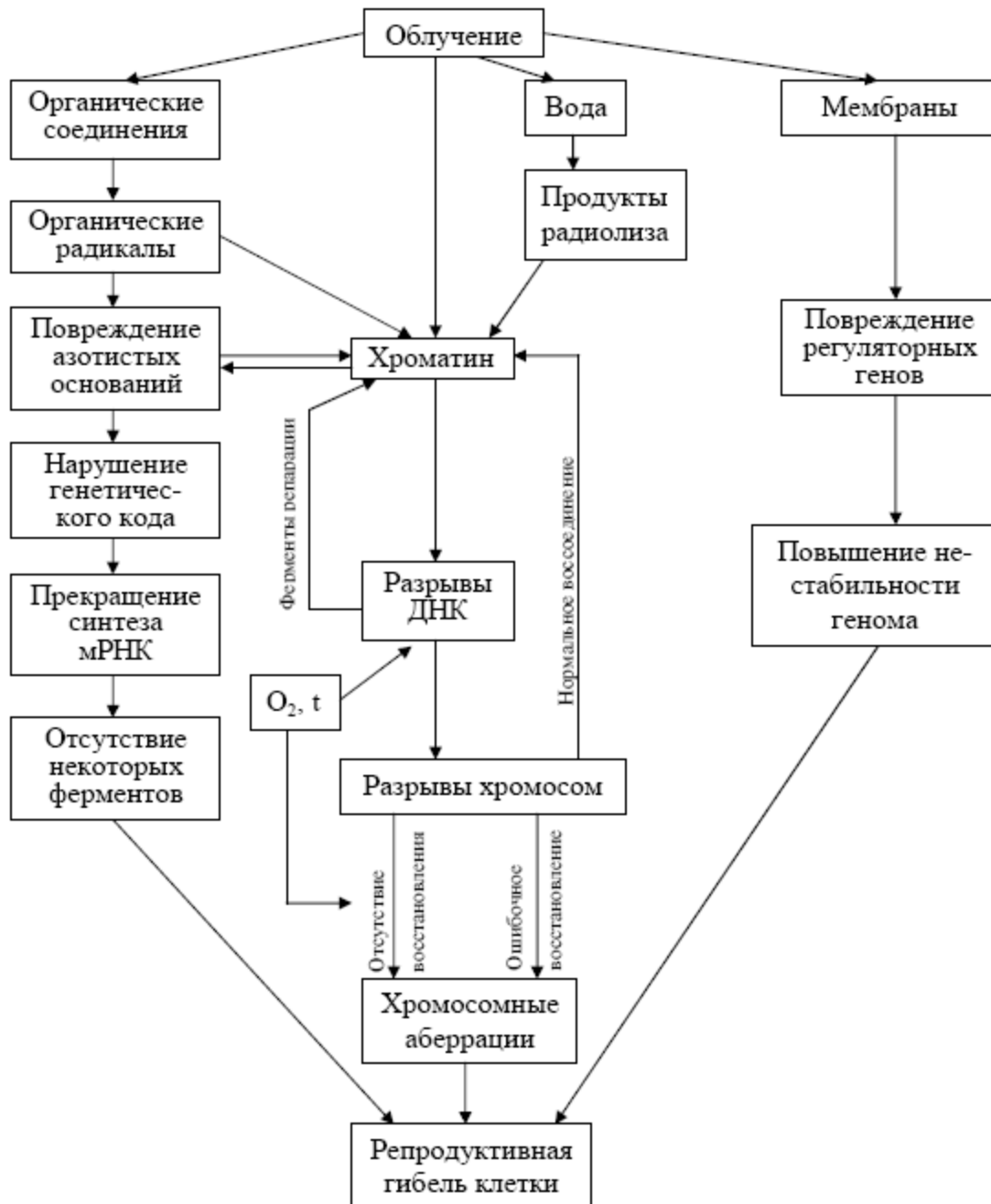


Схема молекулярных событий, приводящих к репродуктивной гибели клеток (по А.М. Кузину).

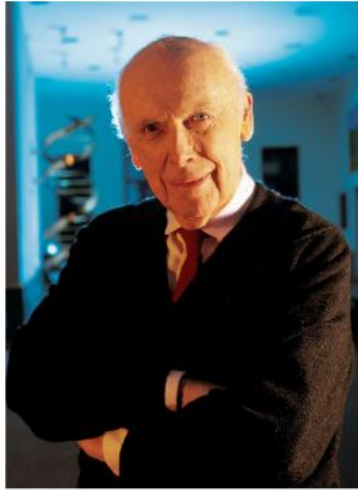
Схема молекулярных событий, приводящих к репродуктивной гибели.

Схема молекулярних подій, які призодять до репродуктивної загибелі

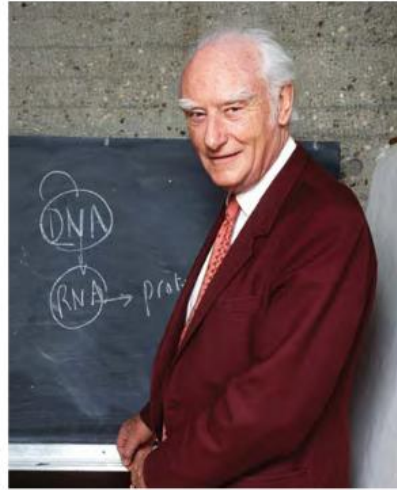
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#05]

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#06]

### Нуклеїнові кислоти: ДНК і РНК



**James Watson**  
(1928)

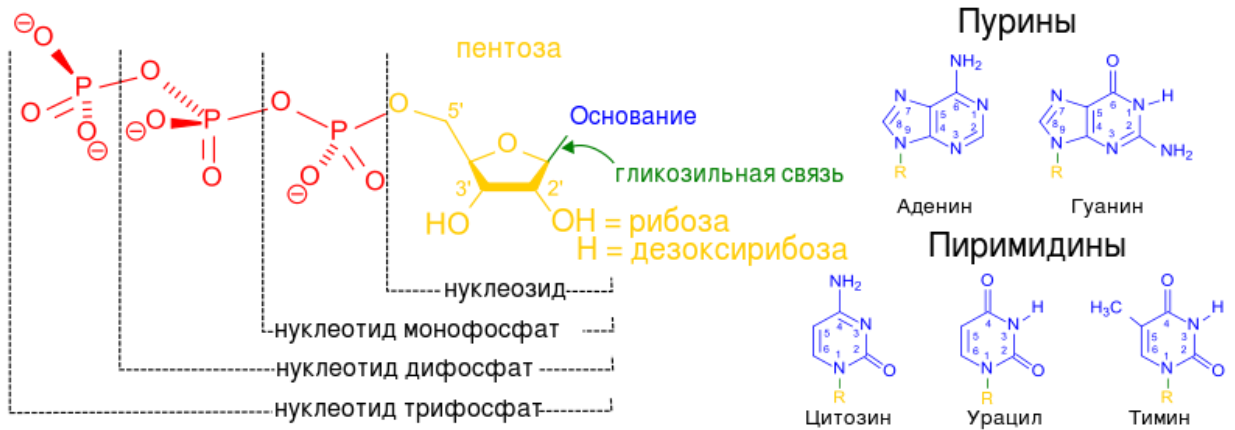


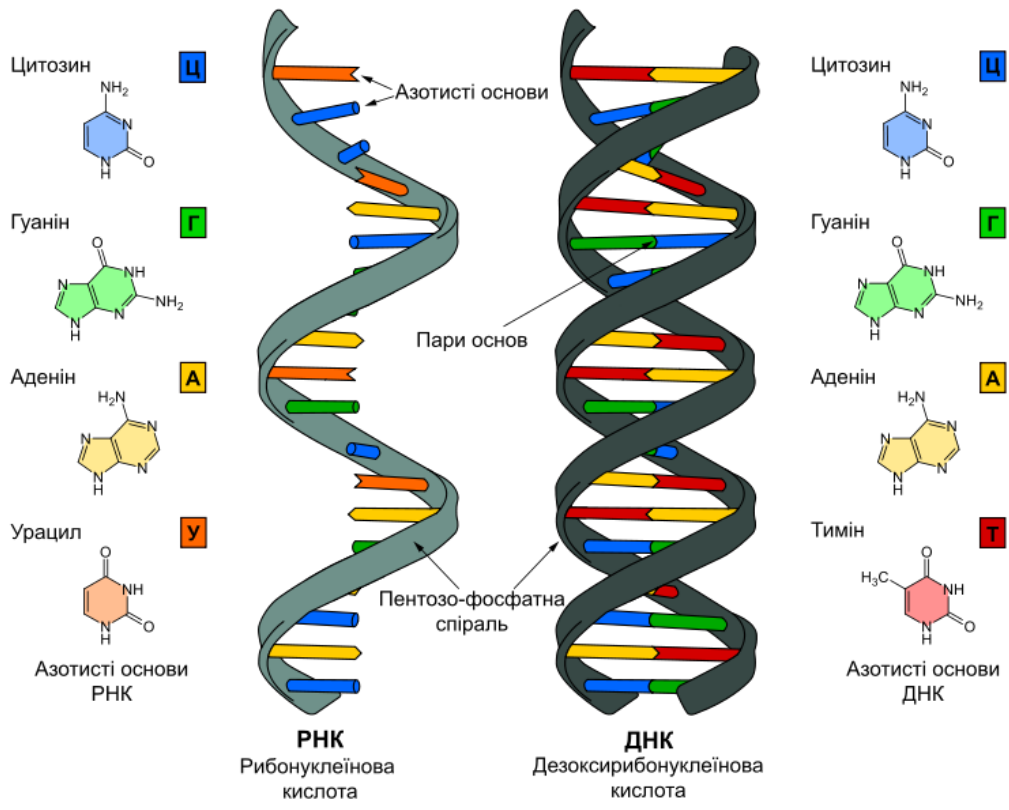
**Francis Crick**  
(1916 – 2004)

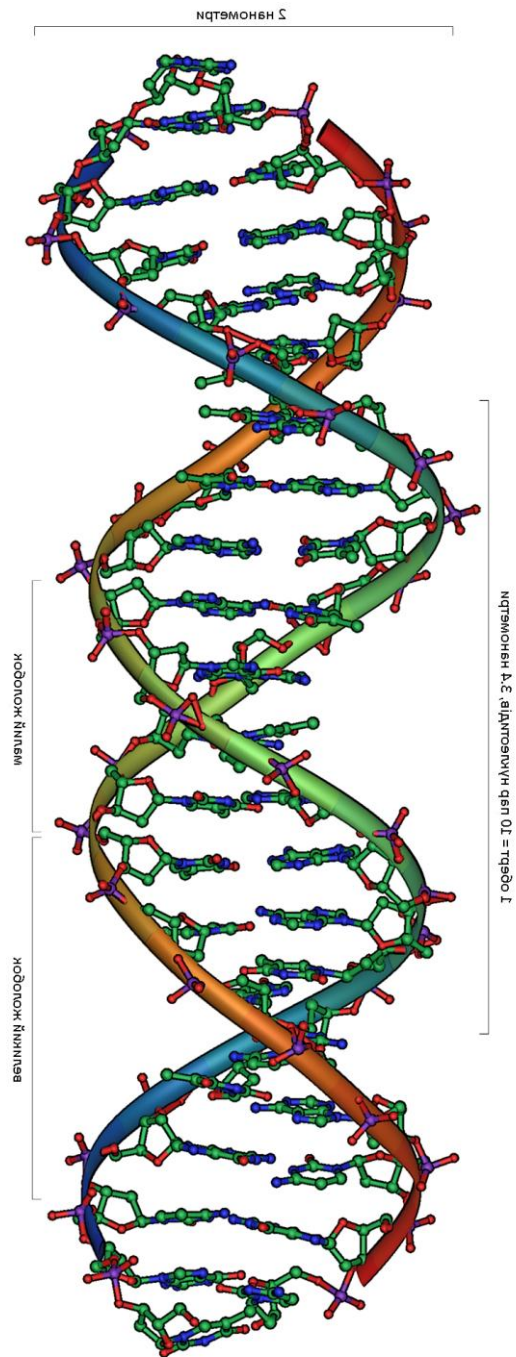
Ватсон, Крік, ДНК і РНК

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#07]

### Нуклеїнові кислоти





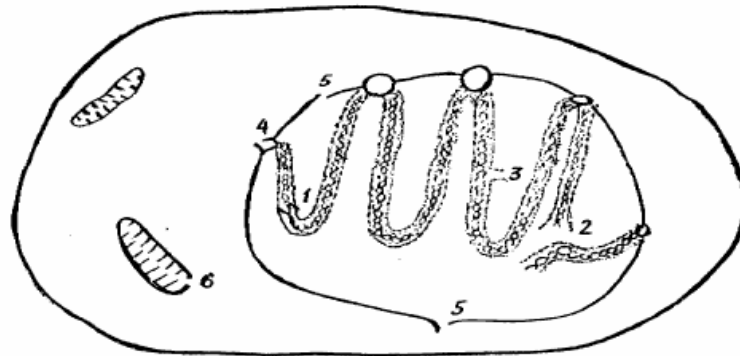


[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#08]

### Радіаційне ушкодження ДНК

- Одиничні (однониткові) розриви молекули ДНК,
- Подвійні (двониткові) розриви молекули ДНК,
- Порушення структури азотистих основ,
- Порушення структури ДНК-мембранного комплексу,

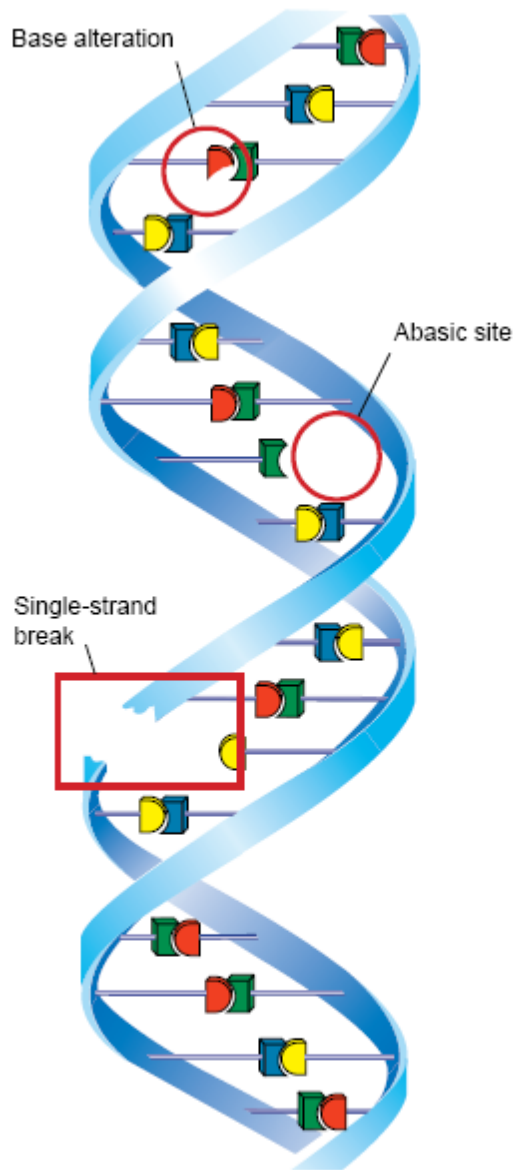
- Порушення ДНК-білкових взаємодій



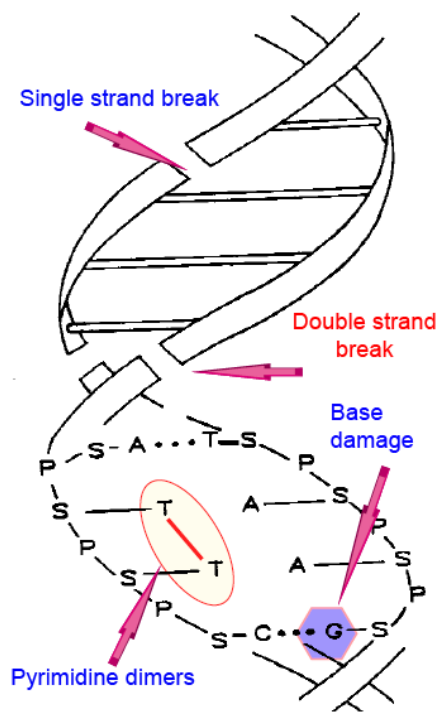
Основные виды лучевого поражения клетки (схема): 1 – однонитчатые (одиночные) разрывы в молекуле ДНК, 2 – двунитчатые (двойные) разрывы ДНК, 3 – нарушение связи ДНК с белком, 4 – повреждение структуры ДНК – мембранного комплекса, 5 – разрушение ядерной мембраны, 6 – повреждение митохондриальной мембраны.

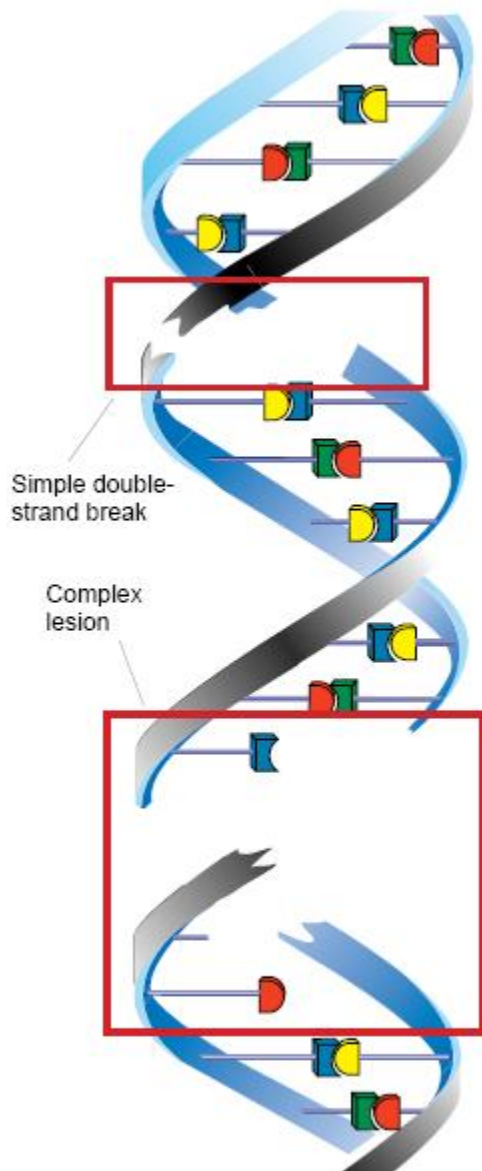
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#09]





**DNA Damage I: Base Alterations and Single-Strand Breaks**





## DNA Damage II: Double-Strand Breaks

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#10]

**Радіаційно-хімічне ушкодження ДНК включає:**

**Одиничні розриви:**

- добре репаруються, тому зазвичай не є летальними для клітин;
- не супроводжуються зміною молекулярної маси фрагмента;

- роблять молекулу ДНК більш рухливою, тому можуть призводити до зміни її положення в просторі)

#### **Порушення структури азотистих основ:**

- зазвичай – тимідину

#### **Формування зшивок:**

- між ДНК і білками нуклеопротейдного комплексу

#### **Подвійні розриви:**

- зазвичай утворюються з одиничних при збільшенні дози ІВ
- супроводжуються розпадом молекули ДНК на фрагменти, деполімеризацією;
- при

#### **Формування “містків”:**

- між молекулами ДНК так, що утворюються розгалужені молекули

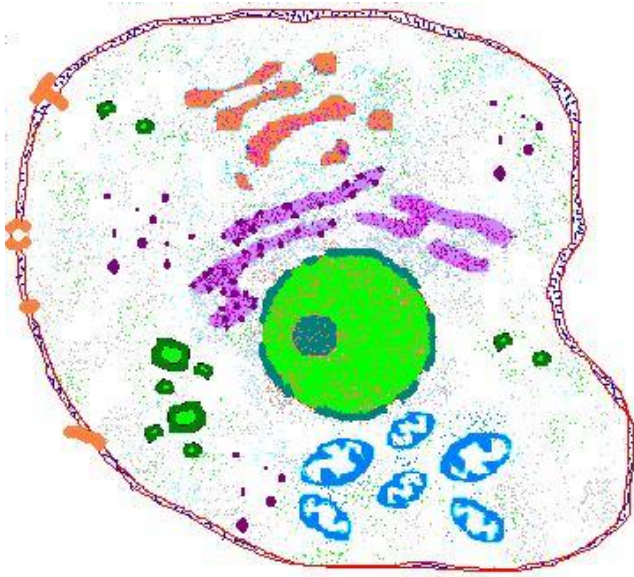
#### **Порушення структури ДНК-мембранного комплексу:**

- в області з'єднання між ДНК і мембраною ядра – я наслідок – порушення регуляції ініціації редуплікації ДНК та розділення ниток ДНК у мітозі

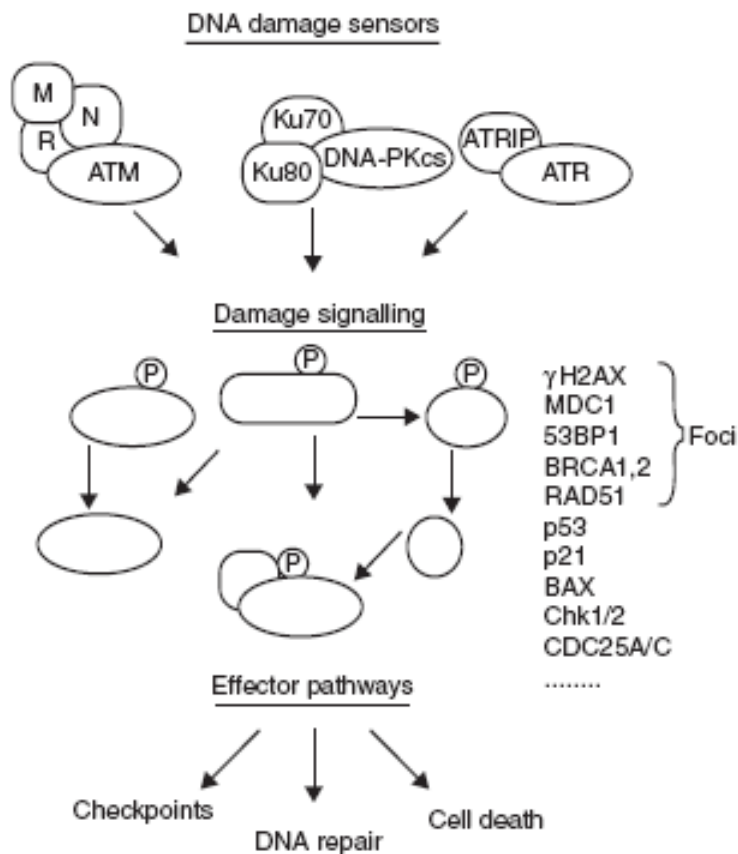
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#11]

#### **100 рад**

- Пошкодження 500 пар азотистих основ ДНК,
- Утворення 1000 одиничних розривів ДНК,
- Утворення 10-100 подвійних розривів ДНК.



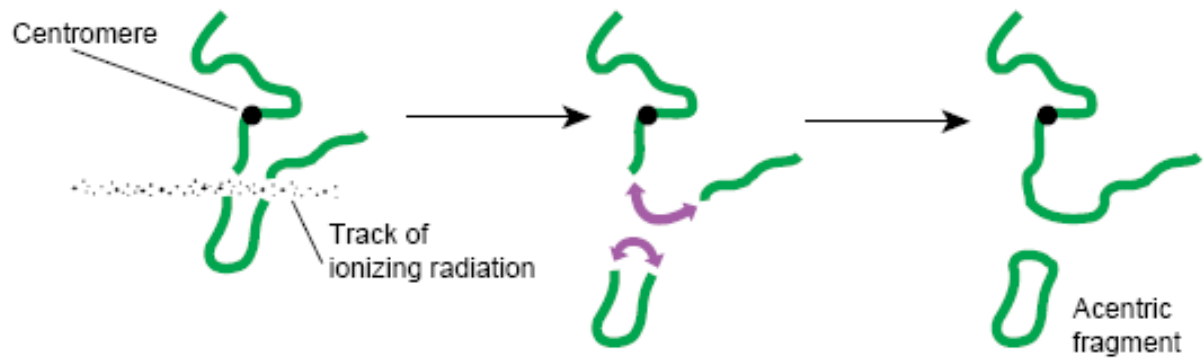
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#12]



The DNA damage response can be divided into sensors and effectors. The sensors consist of protein complexes which recognize DNA damage and include MRN–ATM, Ku–DNA-PKcs, and ATRIP–ATR (see text). These proteins signal to many other proteins which activate three important effector pathways: checkpoints, DNA repair and cell death. Examples of some of the proteins which signal from the sensors to the effector pathways are listed.

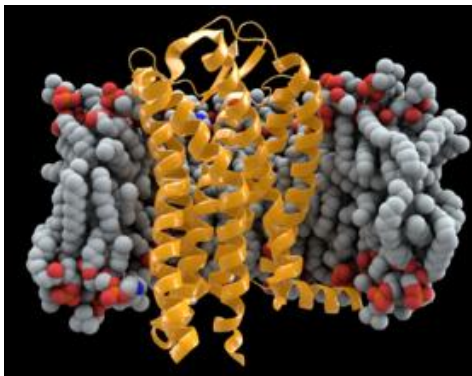
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#13]

**Делеції хромосом**



### Chromosome Deletions

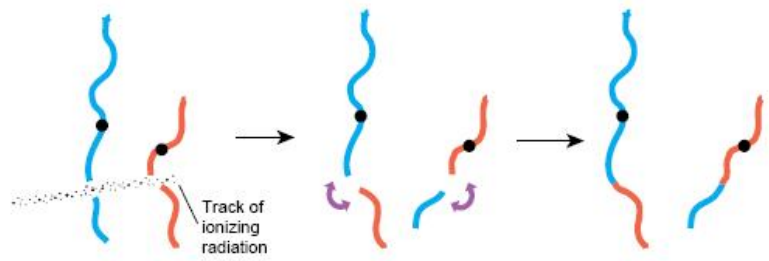
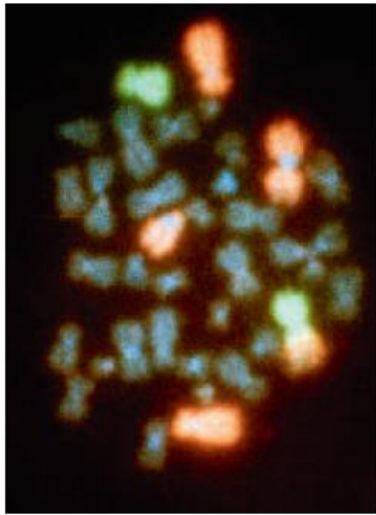
Chromosomal deletions can arise if two double-strand breaks occur within the same chromosome, creating a DNA molecule that is broken into three pieces. If two of the end pieces are re-joined, such that the middle section of DNA is unattached, it is no longer associated with a centromere. This free floating piece, called an acentric fragment, may be lost during mitosis.



- Ccr5

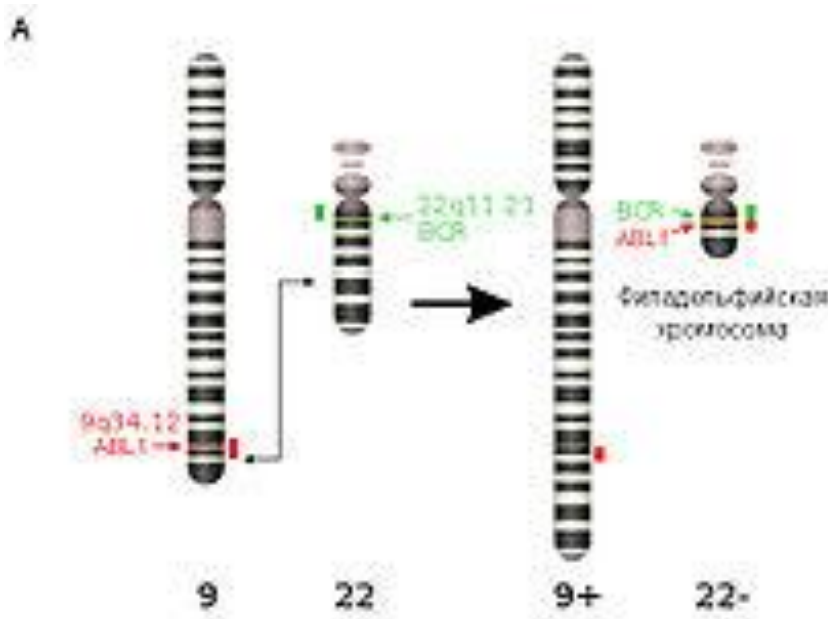
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#14]

Транслокації хромосом



### Chromosomal Translocation

A translocation occurs when large sections of genetic material are swapped between two or more chromosomes. In the illustration on the upper right, ionizing radiation creates double-strand breaks in two different chromosomes. The ends interchange when they are spliced back together.



Філадельфійська хромосома

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#15]

### Радіаційно-хімічні перетворення РНК, амінокислот та білкових молекул

- Опромінення призводить до порушення молекулами ДНК і РНК здатності до реплікації, транскрипції, трансляції



## Синтез РНК

Сравнительная радиочувствительность различных тРНК (по способности связывать соответствующие аминокислоты)

Изученный комплекс: аминокислота/тРНК	$D_{37} \times 10^4$ , Гр	Изученный комплекс: аминокислота/тРНК	$D_{37} \times 10^4$ , Гр
лейцин	25	пролин	58
аланин	43	метионин	62
изолейцин	46	валин	86



[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#16]

Радиочувствительность функций, определяющих биологическую активность ферментов

Фермент	Радиочувствительность функций, связанных с ферментной активностью (по величине дозы $D_{37}$ )
химотрипсин	эстераза > протеаза > связывание диизопропилфосфата > уменьшение максимальной скорости > > увеличение константы Михаэлиса–Ментен *)
трипсин	протеаза > эстераза
глутамат-дегидрогеназа	уменьшение максимальной скорости и увеличение константы Михаэлиса–Ментен > поражение активного центра и способности связывать кофермент
рибонуклеаза	уменьшение максимальной скорости; константа Михаэлиса–Ментен без изменения
аспартаткарбамоилтрансфераза	поражение активного центра > инактивация участка ингибирования по принципу обратной связи (аллостерические свойства)

\*) Более высокая радиочувствительность (т.е. меньшие дозы  $D_{37}$ ) обозначена символом >. Например, эстераза > протеаза означает, что эстеразная активность фермента более радиочувствительна, чем протеазная.

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#17]

#### Пошкодження білків

- Зміна амінокислотного складу (особливо знижується кількість амінокислот метіоніну, фенілаланіну, лізину, гістидину, тирозину і цистеїну),
- Порушення третинної структури,
- Розриви поліпептидного ланцюга,
- Розрив сульфгідрильних груп і поява вільних SH-груп

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#18]

#### Пострадіаційне відновлення клітин – репарація

- Сублетальні радіаційні пошкодження – такі пошкодження, які самі по собі не спричиняють загибель клітин, однак полегшують її інактивацію при наступному опроміненні (одиночні розриви ДНК)
- Потенційно летальні пошкодження – такі пошкодження, які самі по собі спричиняють загибель клітини, але можуть бути репаровані (репарація можлива тільки в  $G_0$ - та  $G_1$ -фазах клітинного циклу)

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#19]



. Схема действия различных процессов в пострadiационный период.

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#20]

## Механізми репарації

**Біохімічна репарація** здійснюється із залученням процесів:

- ліквідація одно- і двониткових розривів ДНК,
- вирізання ділянок ДНК з пошкодженими азотистими основами і реконструкція порожніх ділянок за допомогою комплементарного фрагменту протилежної нитки ДНК

**Фізико-хімічна репарація** макромолекул:

- пострадіаційна реактивація макромолекул,
- внутрішньомолекулярна репарація,
- репарація продуктами радіолізу (наприклад, продуктами радіолізу сульфгідрильних речовин)

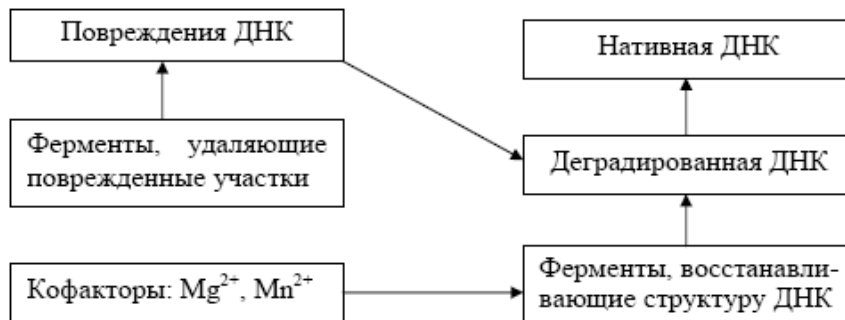


Схема биохимической системы репарации ДНК.

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#21]

## Base-Excision Repair

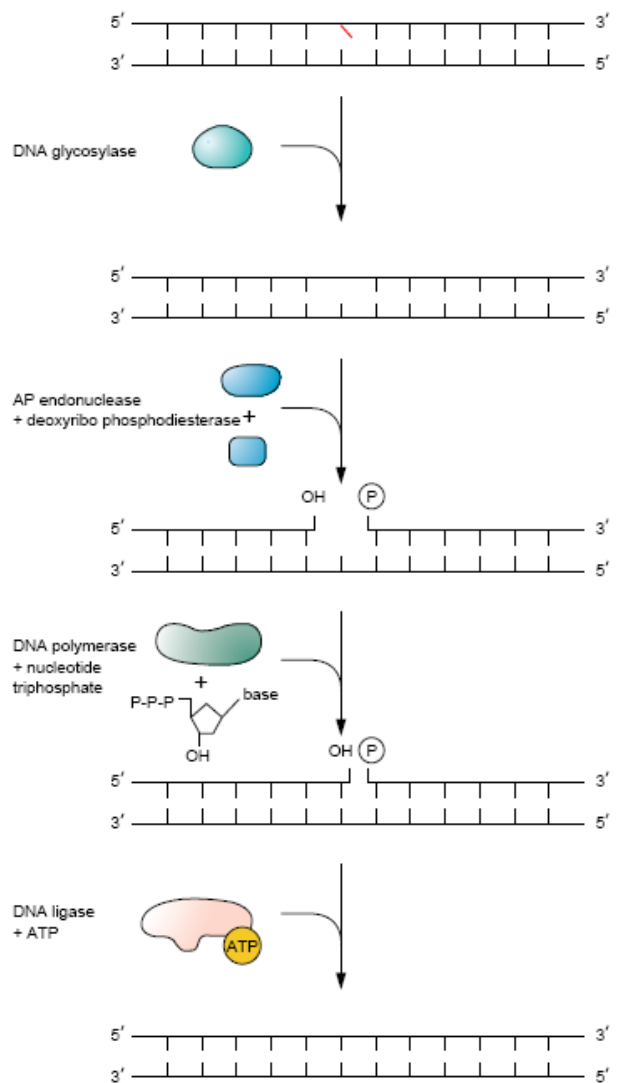
An altered base (slanted red line) results in a minor disruption of the DNA structure.

The lesion is recognized by a class of enzymes known as DNA glycosylases, which release the damaged base, leaving behind an abasic site.

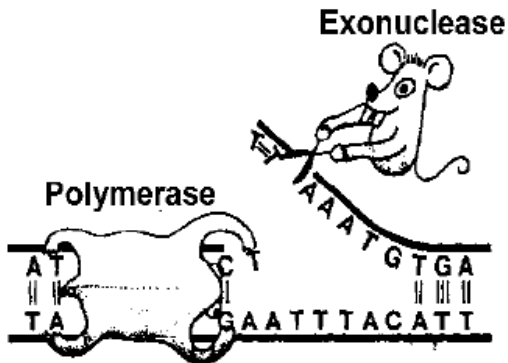
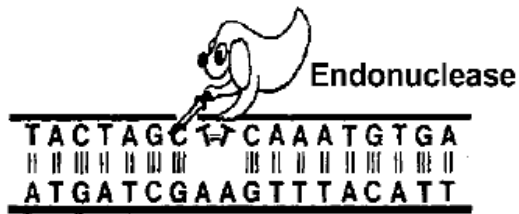
An incision is made to the 5'-side of the abasic site by an AP-endonuclease and the remaining sugar is released by a deoxyribo phosphodiesterase.

The resulting one-base gap is filled by a DNA polymerase. Watson-Crick base pairing will dictate which base is used for the repair. The polymerase leaves a nick in the DNA backbone.

The repair is completed when a DNA ligase seals the nick. The DNA has been repaired with no loss of genetic information.



[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#22]



Courtesy of Gunnar Ahnström



Gunnar Ahnström  
(1929 – 2008)

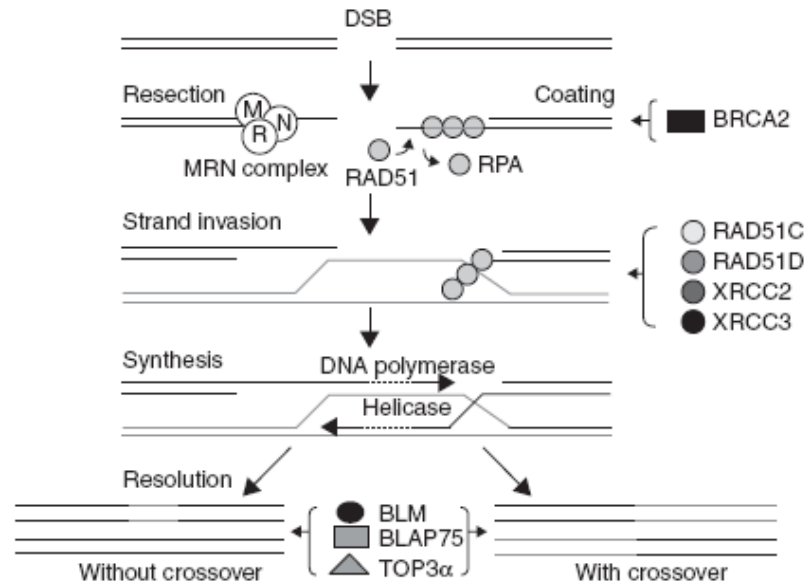
*In the figure Gunnar Ahnström has outlined the steps in this repair mechanism. The process includes altogether four enzyme groups. If you look into the details you will find that Prof. Ahnström has included an error in base pairing. Can you find it?*

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#23]

#### Ензими, які приймають участь в репарації ДНК у випадку подвійних розривів молекули ДНК

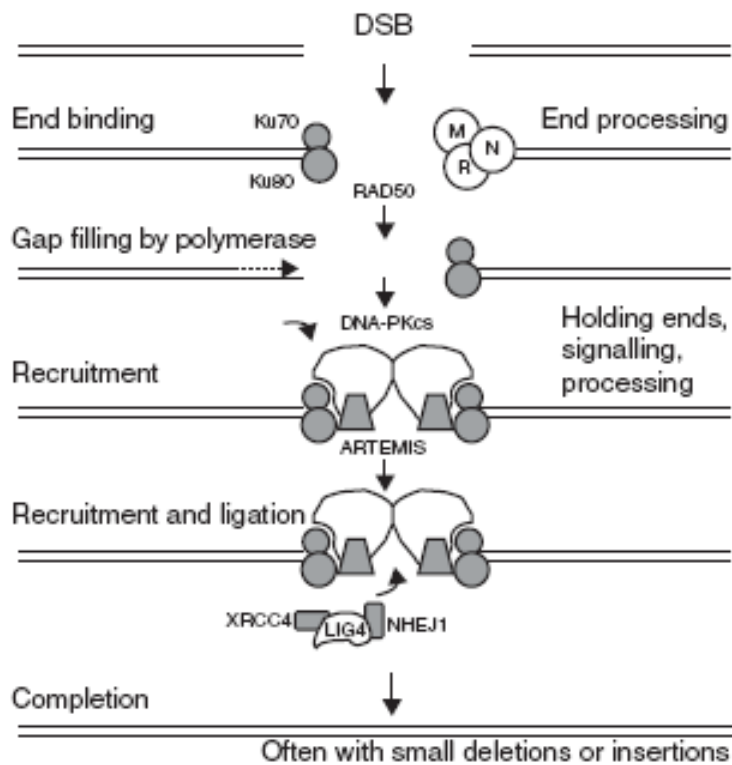
- **ДНК-залежні ДНК-полімерази** (здійснюють реплікацію — подвоєння молекул ДНК; в «нормі» саме ці ферменти працюють при репарації подвійних розривів ДНК);
- **РНК-залежні ДНК-полімерази** (зворотні транскриптази (синтезують ДНК на матриці РНК);
- **ДНК- залежні РНК- полімерази** (синтезують РНК на матриці ДНК, відповідають за «зчитування» генів — транскрипцію);
- **РНК- залежні РНК- полімерази** (розмножують молекули РНК).

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#24]



Schematic of double-strand DNA break (DSB) repair by homologous recombination (HR). The principal genes known to be involved are shown, although there are others not shown which are also involved in HR. Chromatin remodelling genes are not shown. The main feature is the use of an undamaged sister chromatid sequence (light coloured lines) as template for repair. The groups of genes (right and bottom centre) are involved with the processes indicated by the horizontal arrows.

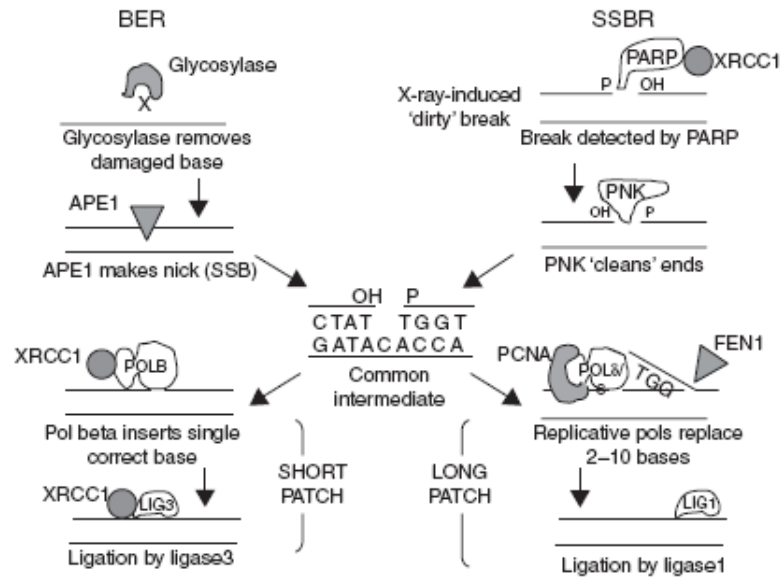
[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#25]



Schematic of double-strand DNA break (DSB) repair by non-homologous end-joining (NHEJ). The principal genes known to be involved are shown, although there are others not shown which are also involved in NHEJ. Chromatin remodelling genes are not shown. For clarity, processes such as end-binding have been shown on one side of the break only.

[sheva\_medu\_mag01\_CHUMBALYK\_L\_4 RBa#26]





Schematic of the related pathways of base excision repair (BER) and single-strand break repair (SSBR). The X (top left) represents a damaged base. Different base damages are recognized and removed by different glycosylases as the first step in BER. Both pathways result in a common nicked intermediate, which is processed by one of two subpathways (short or long patch repair). APE1 apurinic/apyrimidinic endonuclease-1; PARP, poly (ADP-ribose) polymerase; PNK, polynucleotide kinase; POL, polymerase.