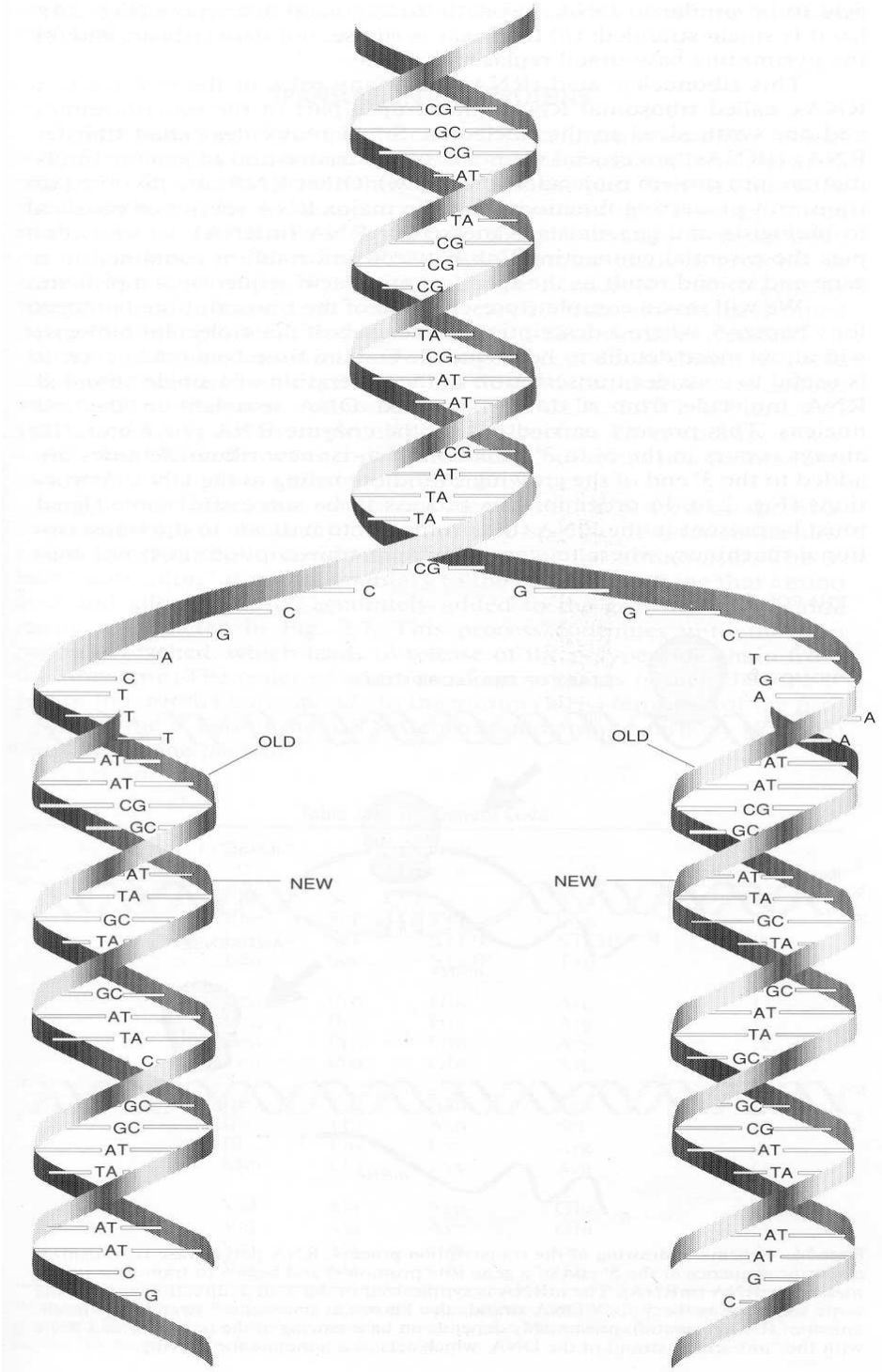
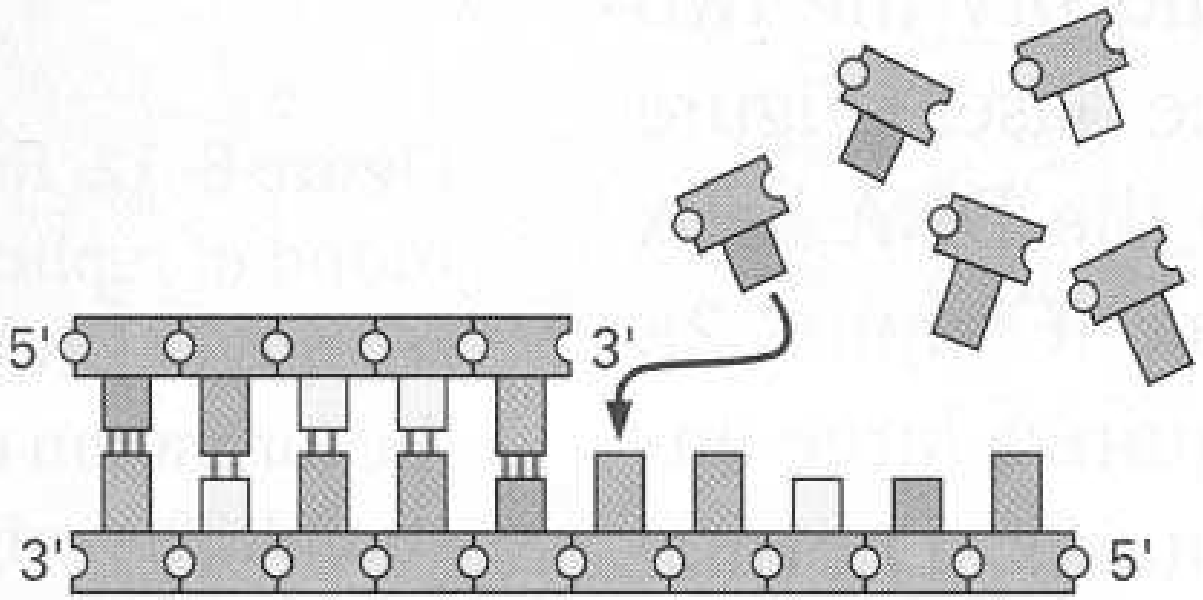
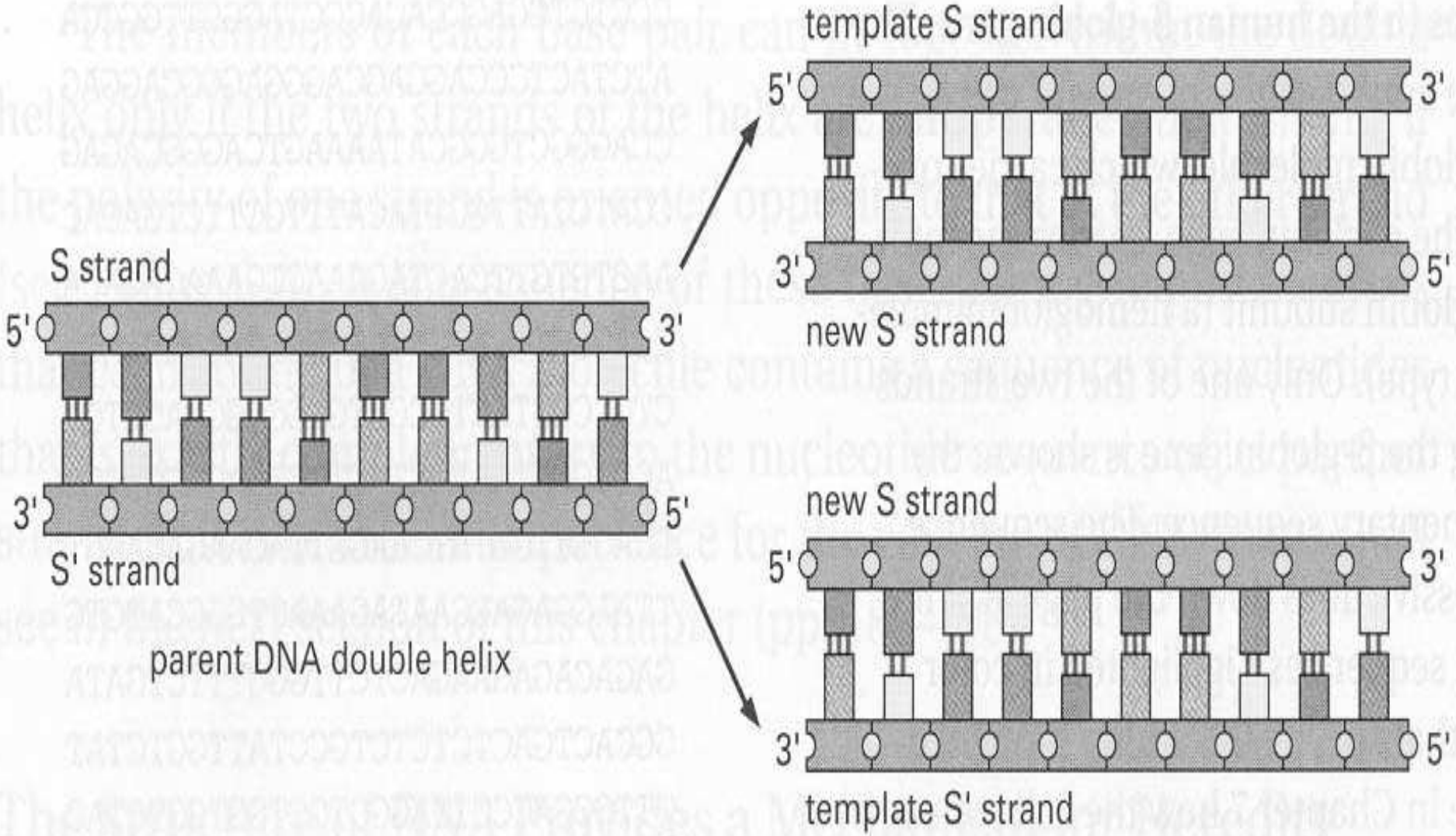
Zdvojování genetické paměti - Replikace DNA

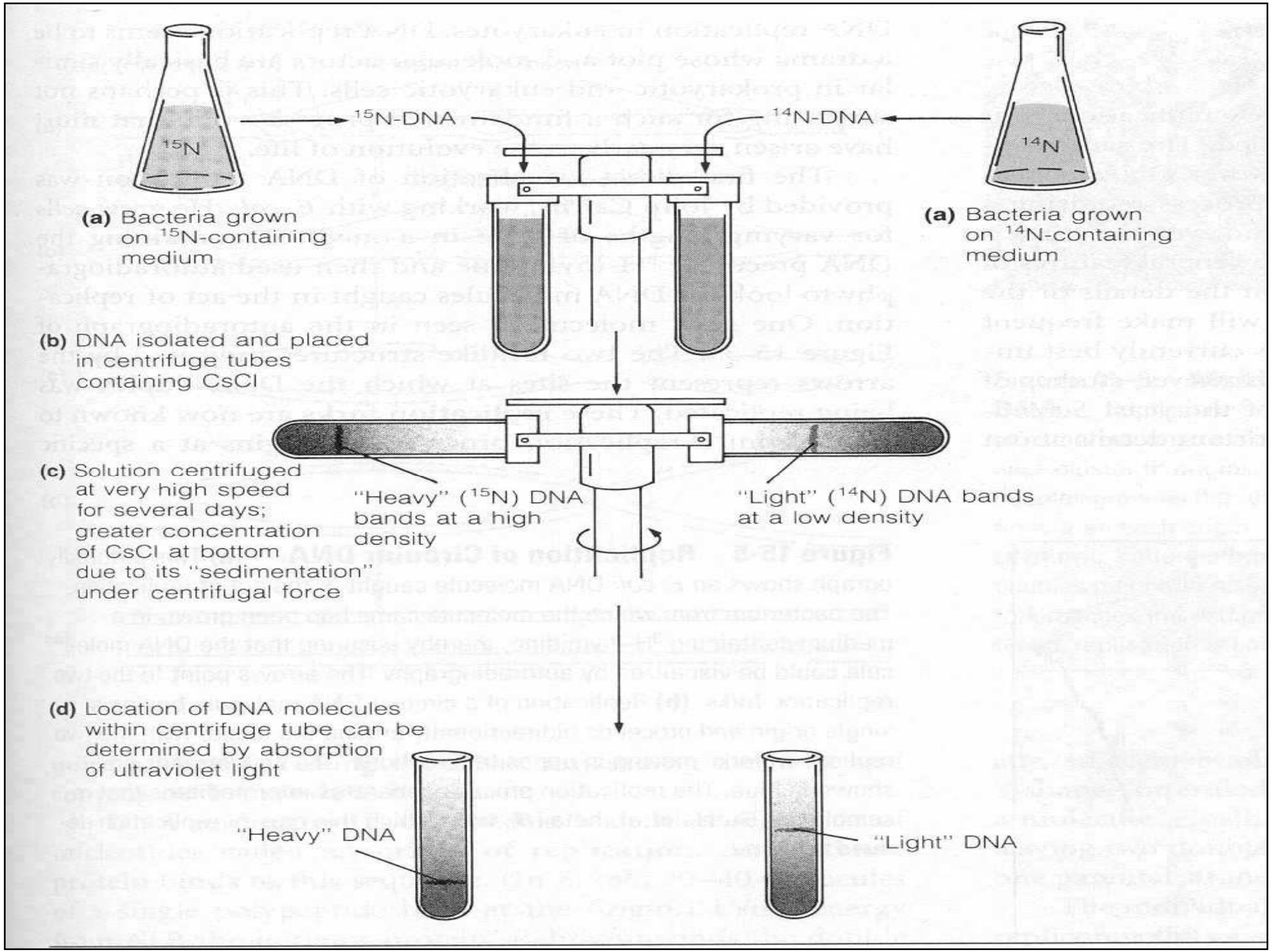
Princip zdvojování -
komplementarita bazí
(Watson a Crick, 1953)

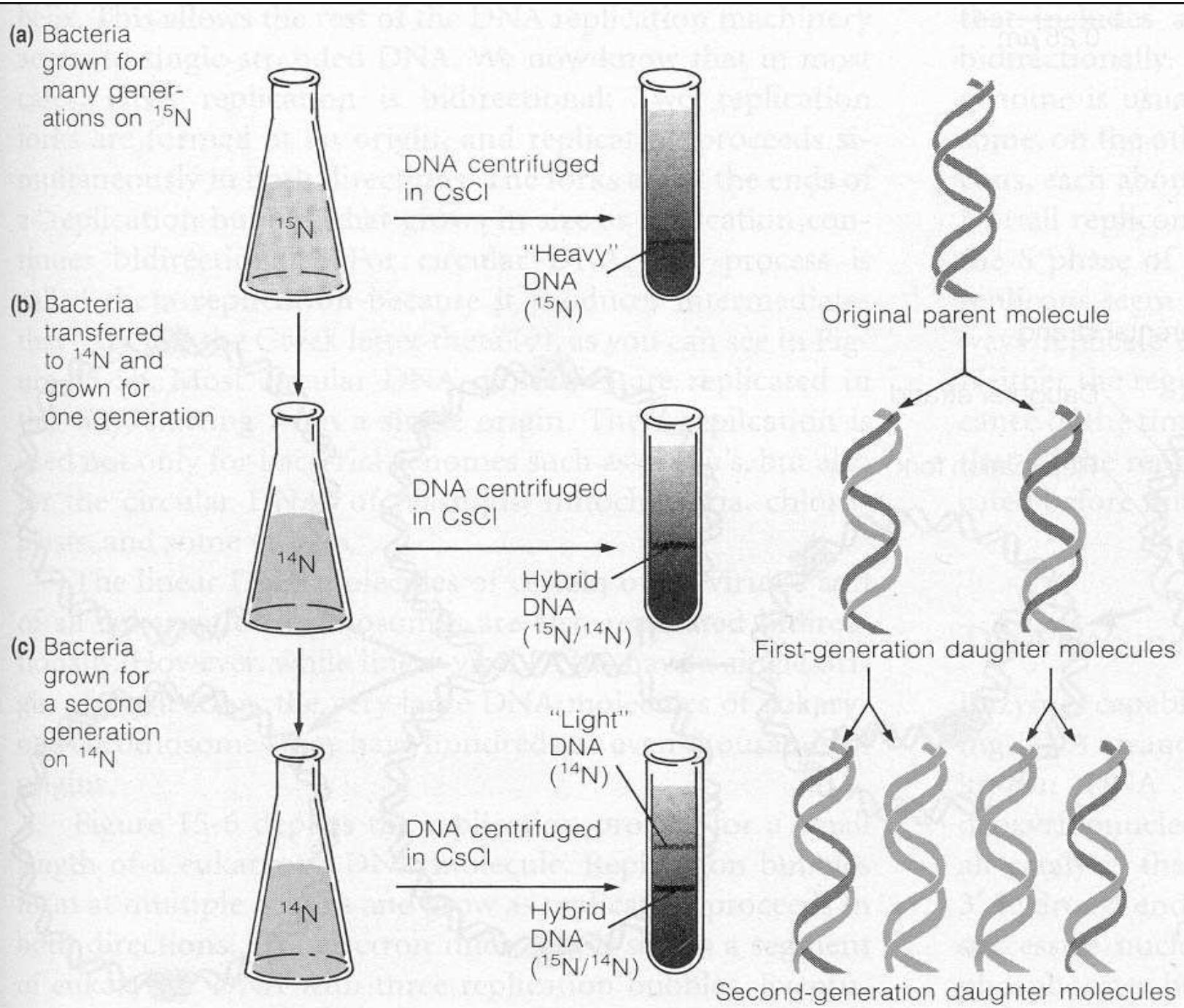
Semikonzervativní způsob replikace
Experimentální důkaz:
M.Meselson a F.W. Stahl, 1958

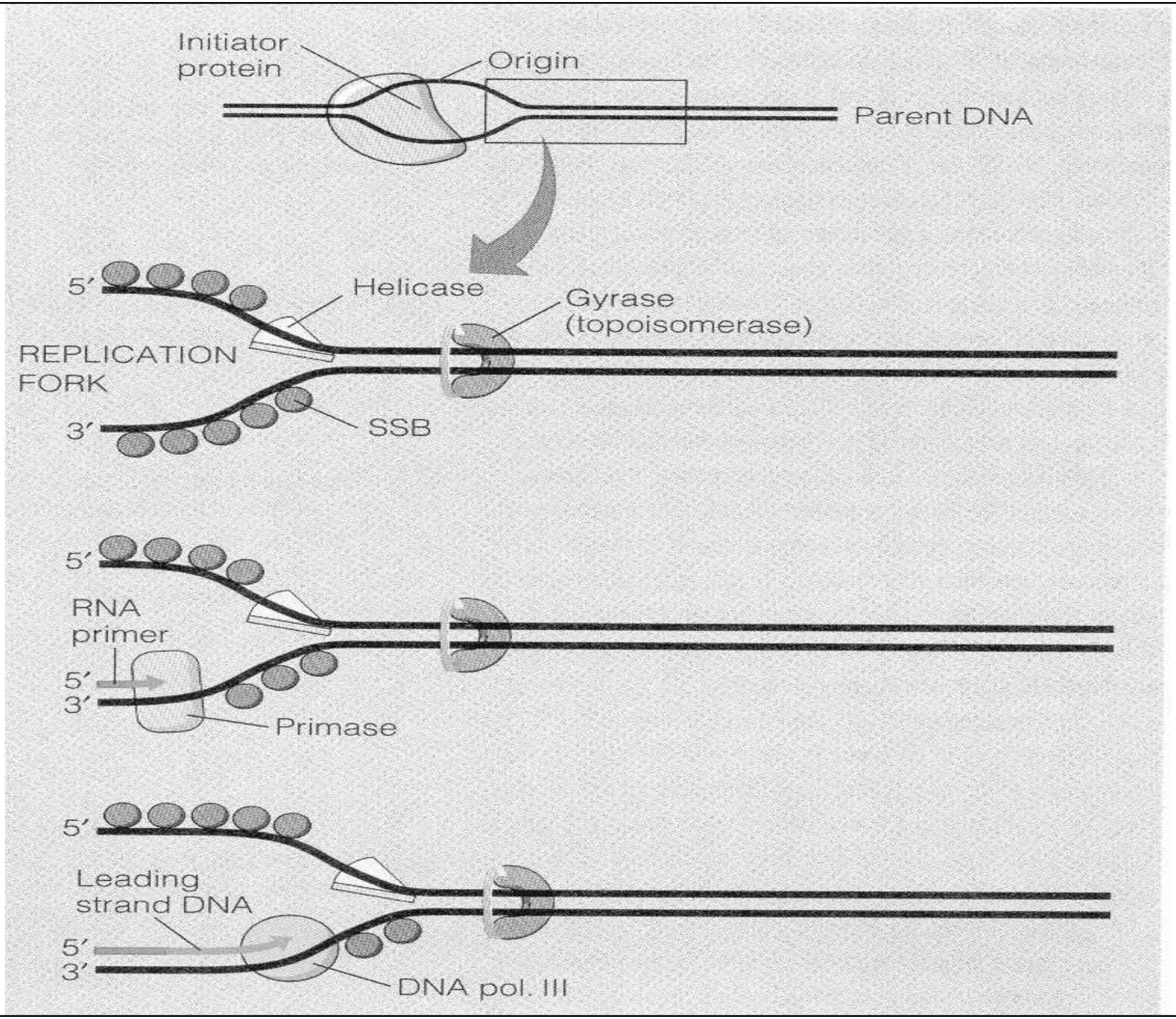

CG
GC
CG
AT
TA
CG
CG
CG
TA
CG
AT
AT
CG
AT
TA
TA
CG
C
C
G
A
C
T
T
T
T
AT
AT
CG
GC
AT
TA
GC
TA
GC
AT
TA
C
GC
GC
AT
TA
AT
AT
C
G
OLD
NEW
G
G
C
T
G
A
A
A
OLD
AT
AT
CG
GC
NEW
AT
TA
GC
TA
GC
AT
TA
GC
GC
CG
AT
TA
AT
AT
G
C

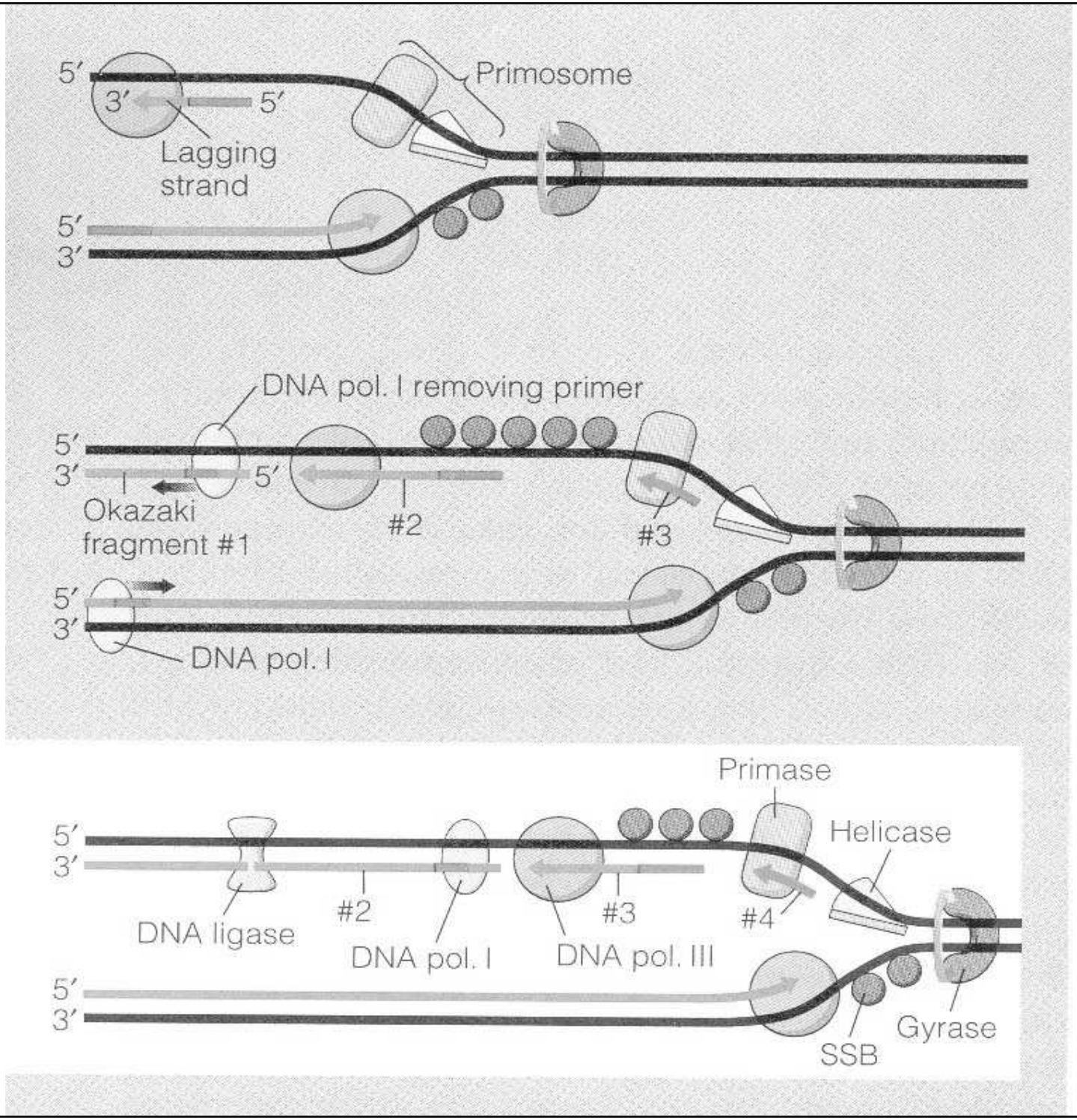

5'
3'
3'
5'


S strand
5'
3'
3'
5'
S' strand
parent DNA double helix
template S strand
5'
3'
3'
5'
new S' strand
new S strand
5'
3'
3'
5'
template S' strand


^{15}N
^{15}N-DNA
^{14}N-DNA
^{14}N
(a) Bacteria grown on ^{15}N-containing medium
(a) Bacteria grown on ^{14}N-containing medium
(b) DNA isolated and placed in centrifuge tubes containing CsCl
(c) Solution centrifuged at very high speed for several days; greater concentration of CsCl at bottom due to its "sedimentation" under centrifugal force
"Heavy" (^{15}N) DNA bands at a high density
"Light" (^{14}N) DNA bands at a low density
(d) Location of DNA molecules within centrifuge tube can be determined by absorption of ultraviolet light
"Heavy" DNA
"Light" DNA


(a) Bacteria grown for many generations on ^{15}N
^{15}N
DNA centrifuged in CsCl
"Heavy" DNA (^{15}N)
(b) Bacteria transferred to ^{14}N and grown for one generation
^{14}N
DNA centrifuged in CsCl
Hybrid DNA ($^{15}N/^{14}N$)
(c) Bacteria grown for a second generation on ^{14}N
^{14}N
"Light" DNA (^{14}N)
DNA centrifuged in CsCl
Hybrid DNA ($^{15}N/^{14}N$)
Original parent molecule
First-generation daughter molecules
Second-generation daughter molecules


Initiator protein
Origin
Parent DNA
5′
Helicase
Gyrase (topoisomerase)
REPLICATION FORK
3′
SSB
5′
RNA primer
5′
3′
Primase
5′
Leading strand DNA
5′
3′
DNA pol. III


5′
3′
5′
Primosome
Lagging
strand
5′
3′
DNA pol. I removing primer
5′
3′
5′
Okazaki
fragment #1
#2
#3
5′
3′
DNA pol. I
Primase
Helicase
5′
3′
DNA ligase
#2
DNA pol. I
#3
DNA pol. III
#4
5′
3′
SSB
Gyrase

Princip replikace:

- replikační počátek
  (ori sekvence, origin of replication)
- iniciační protein - vazba na ori sekvenci, rozvinutí řetězce v krátkém úseku
- vazba dalších součástí replikačního aparátu

-replikace je dvousměrná

- replikace kruhového chromosomu:
  jeden počátek
- replikace lineárního chromosomu:
  stovky až tisíce replikonů

replikon: autoreplikující se segment chromosomu s replikačním počátkem

DNA polymeráza

- katalyzuje vznik fosfodiesterické vazby mezi 5´koncem volného deoxyribonukleotid trifosfátu a 3´koncem rostoucího řetězce

DNA polymeráza **prokaryontní** I,II,III

eukaryontní α, β,γ

Průběh DNA replikace:

vedoucí řetězec

zpožďující se řetězec

Okazakiho fragmenty

DNA ligáza

RNA primer (spouštěč syntézy)

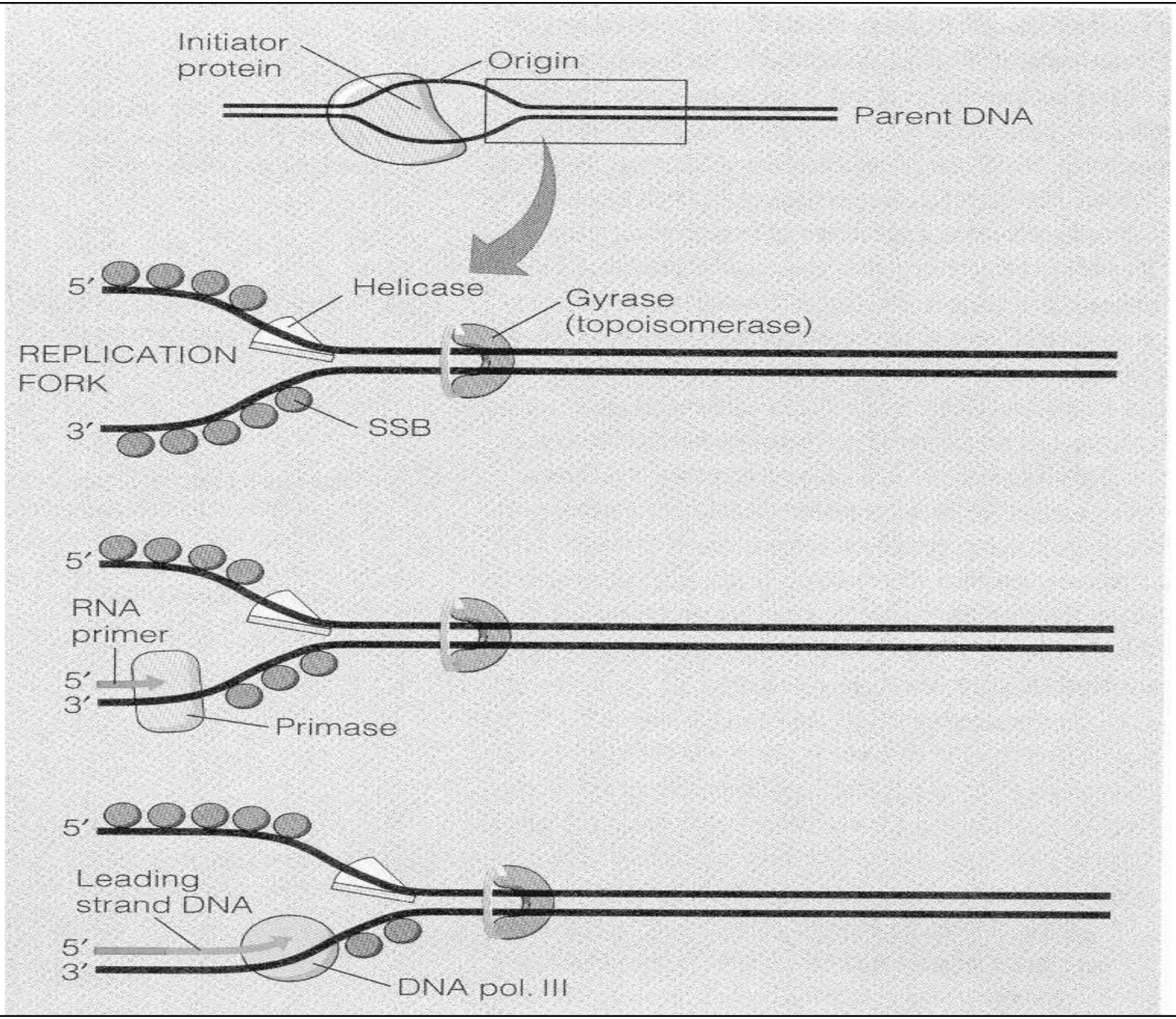
Rozvinování molekuly DNA

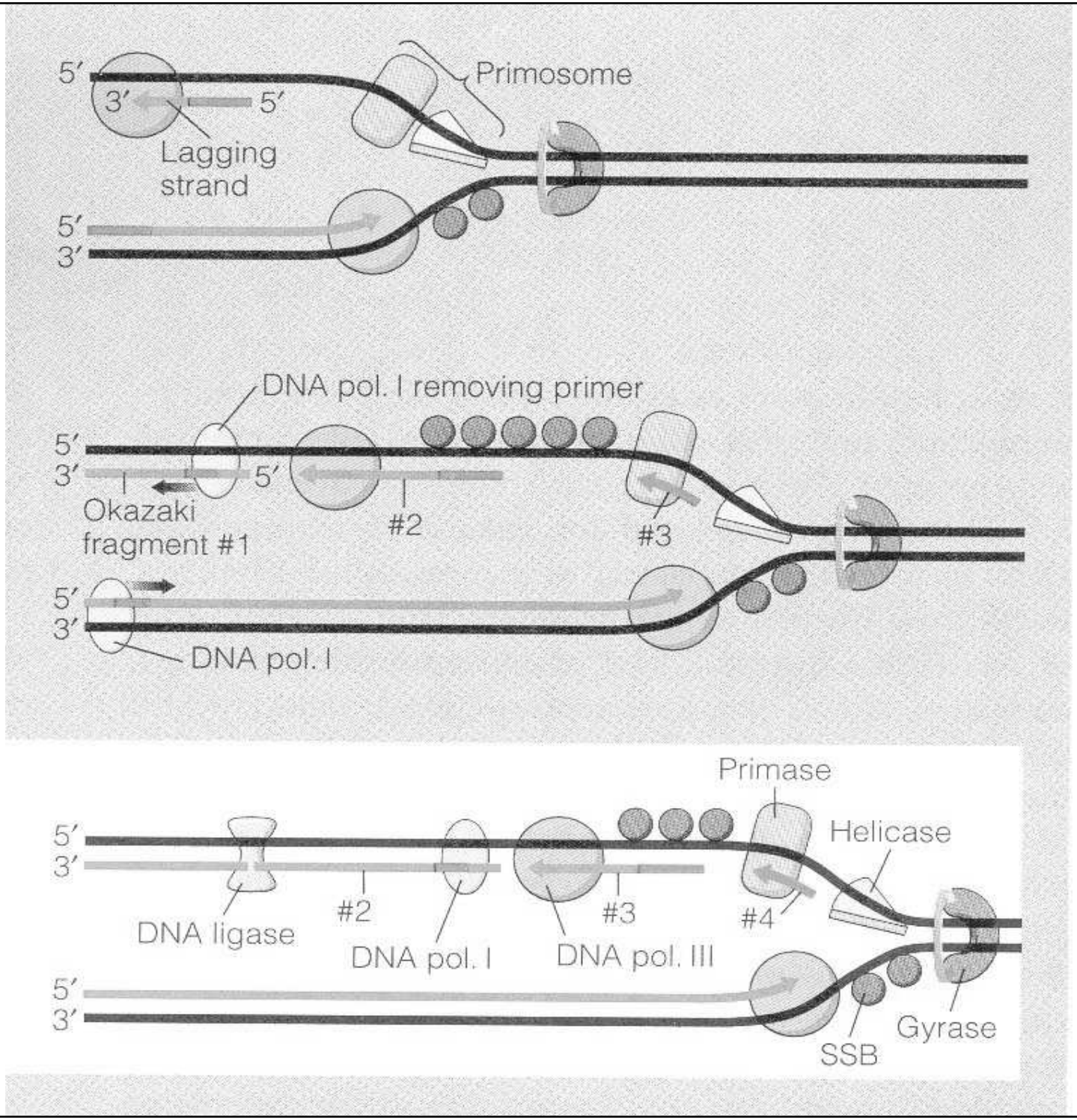
gyráza - rozvinování nadšroubovice

helikáza (rozvinování dvouvlákna)

Svinování molekuly DNA

svírací protein


Initiator protein
Origin
Parent DNA
5′
Helicase
Gyrase (topoisomerase)
REPLICATION FORK
3′
SSB
5′
RNA primer
5′
3′
Primase
5′
Leading strand DNA
5′
3′
DNA pol. III


5′
3′
5′
Primosome
Lagging
strand
5′
3′
DNA pol. I removing primer
5′
3′
5′
Okazaki
fragment #1
#2
#3
5′
3′
DNA pol. I
Primase
Helicase
5′
3′
DNA ligase
#2
DNA pol. I
#3
DNA pol. III
#4
5′
3′
SSB
Gyrase

Další funkce DNA polymeráz:

- exonukleázová aktivita
- korektura sekvencí řetězce DNA
- vyštěpování RNA primeru

Ukončení replikace DNA molekuly

cirkulární chromosom
lineární chromosom

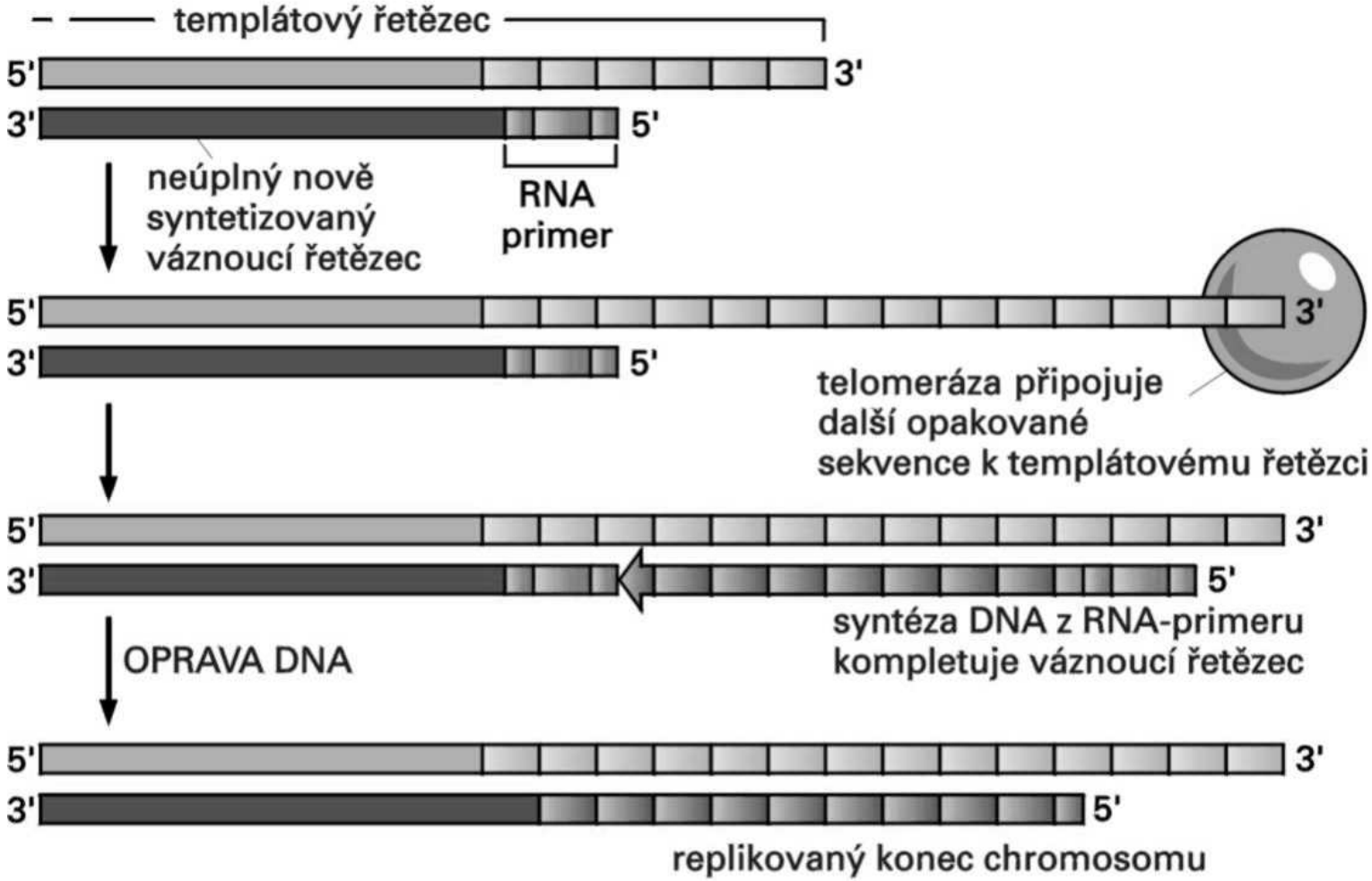
telomery –

nedokončuje se replikace DNA ve zpožďujícím se řetězci

telomeráza:

specifický komplex protein-RNA, zajišťuje „dosyntetizování“ konců DNA

Dokončení syntézy DNA na koncích (telomerách) chromosomů



© Espero Publishing, s.r.o.