

# Replikace DNA



Milada Roštejnská

Helena Klímová

# Obsah

Co je výsledkem replikace

Replikační počátky a replikační vidličky

DNA-polymerasa

Asymetričnost replikační vidličky

Korektorská schopnost DNA-polymerasy

Primasa

Okazakiho fragmenty

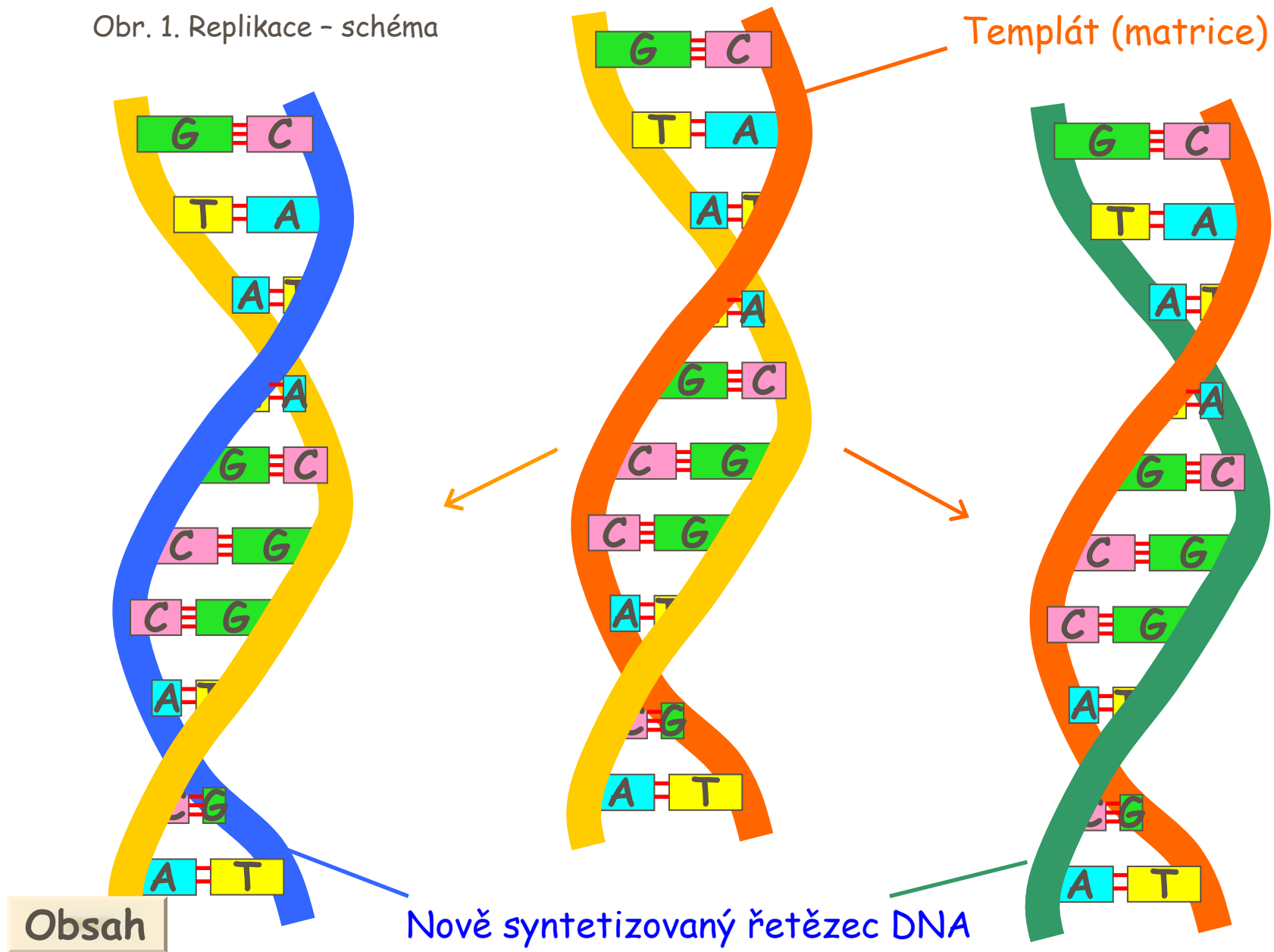
Replikační aparát

Animace

Použitá literatura

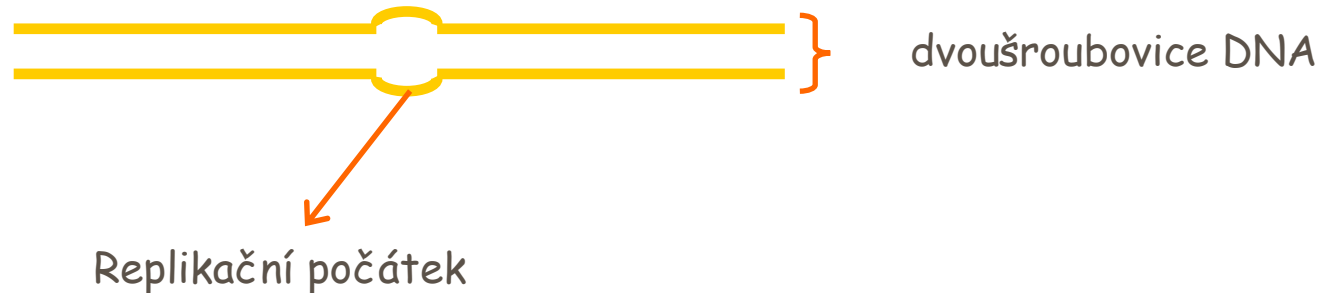
# Replikace DNA dává vznik dvěma novým vláknům.

Obr. 1. Replikace - schéma

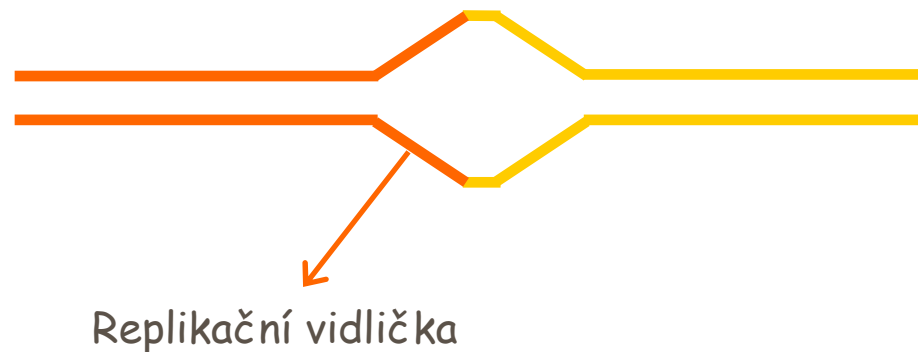


# Replikační počátky a replikační vidličky

Celý proces replikace začínají **iniciační proteiny** v místech, které se nazývají **replikační počátky**.

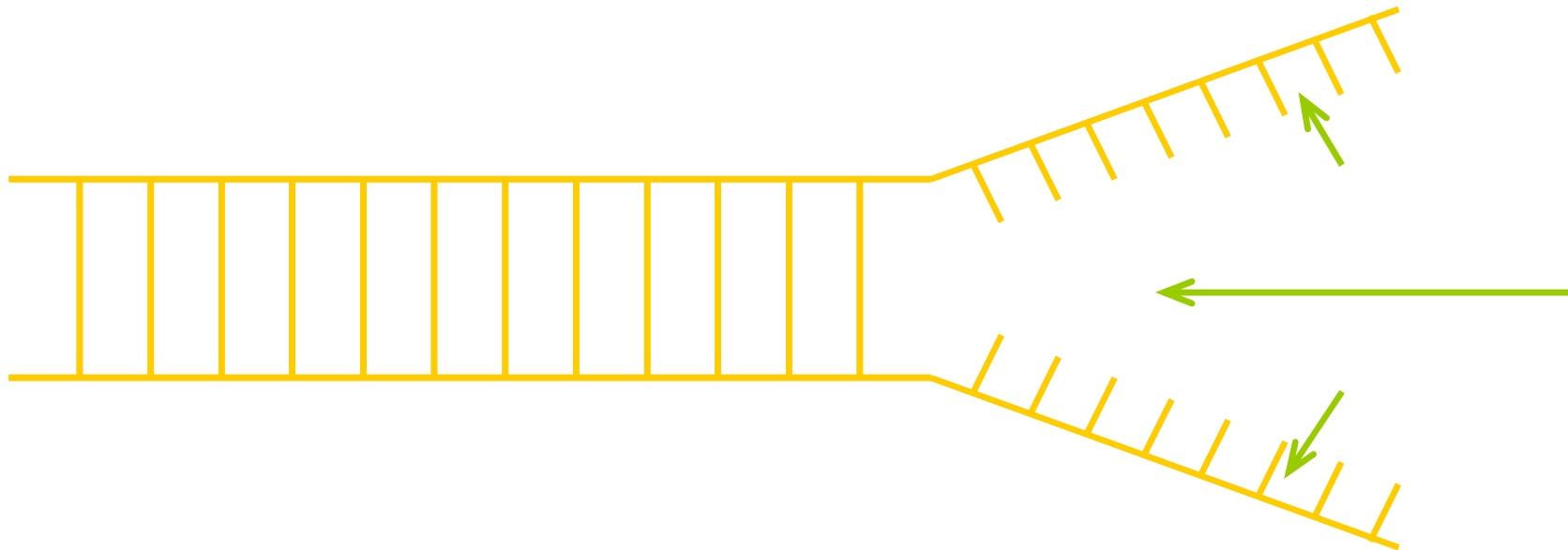


Replikační počátky se v průběhu replikace zvětšují za vzniku tzv. **replikačních vidliček**.



# Replikační vidličky

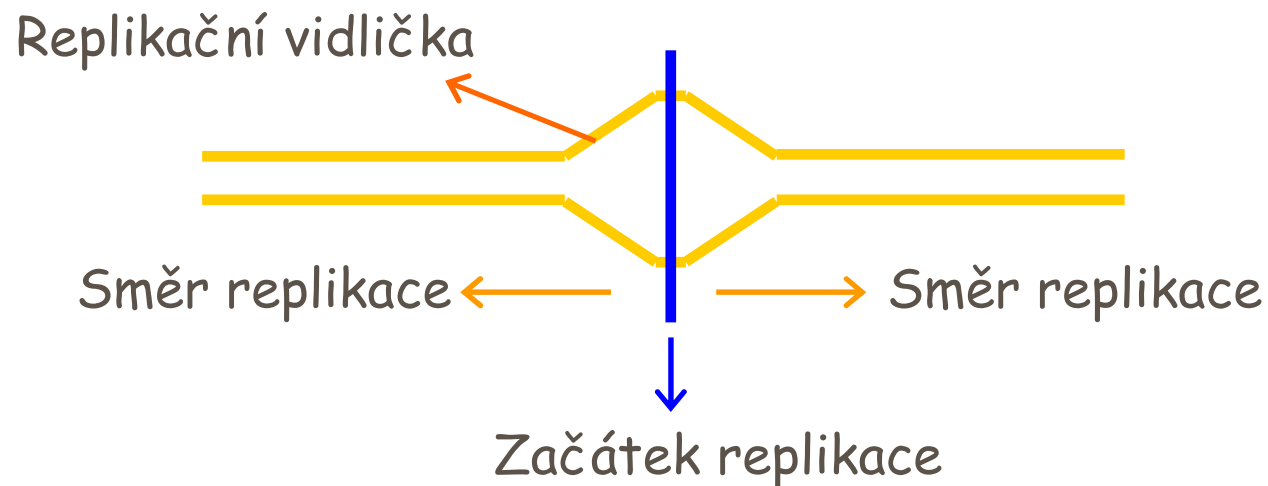
V replikačních vidličkách jsou navázány **proteiny replikačního aparátu**, které se pohybují ve směru replikace a rozvíjejí dvoušroubovicovou strukturu za současné syntézy nového řetězce.



Obr. 2. Replikační vidlička

# Replikační vidličky

V jednom replikačním počátku se vytvoří dvě replikační vidličky, které se pohybují směrem od sebe, a proto je tato replikace nazývána **obousměrná**.



Obr. 3. Obousměrná replikace

# DNA-polymerasa

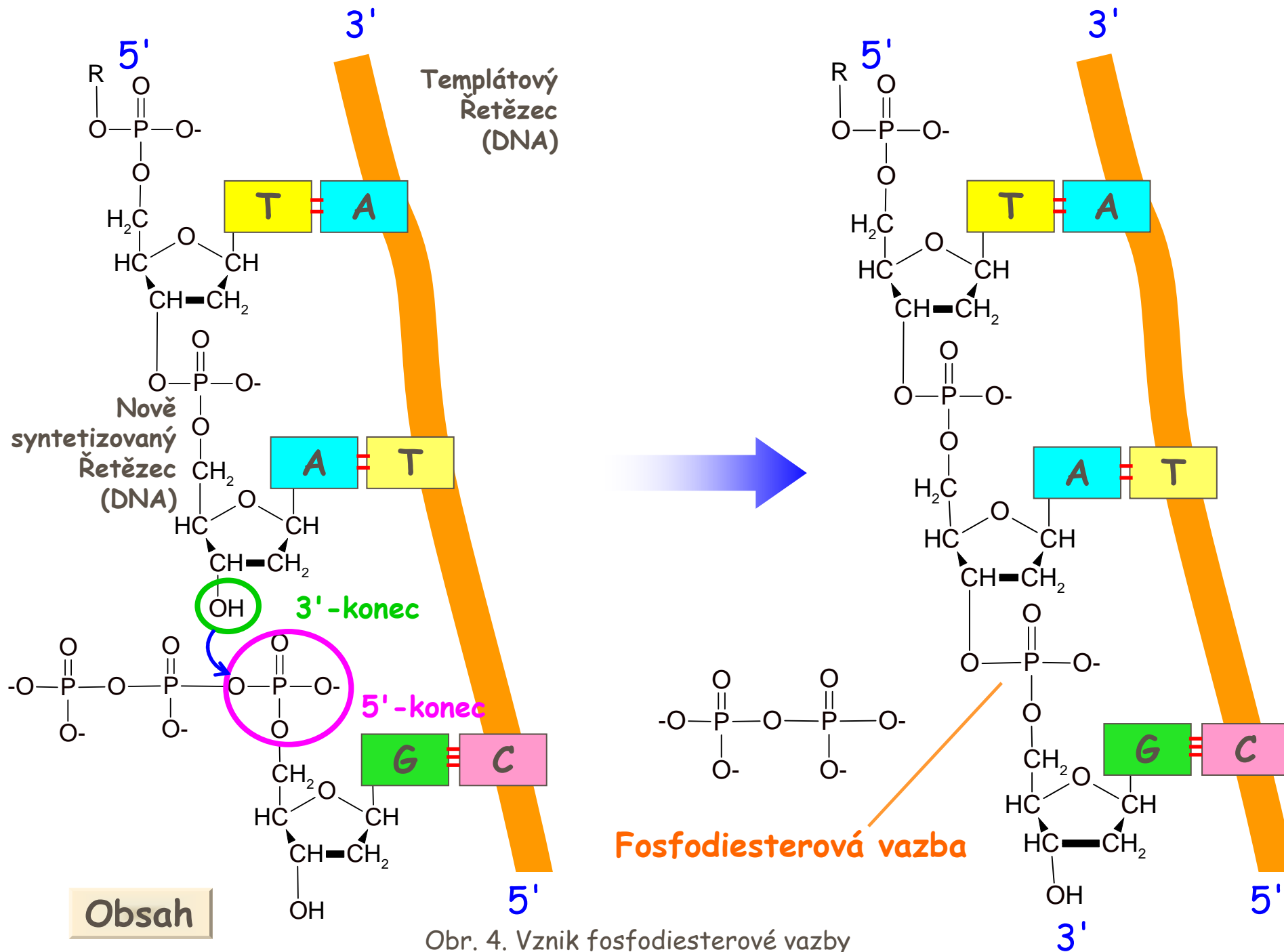
Důležitým enzymem je **DNA-polymerasa**, která syntetizuje nové vlákno DNA podle původního řetězce.

Tento enzym katalyzuje připojování nukleotidů na **3'-konec** rostoucího řetězce DNA za vzniku fosfodiesterové vazby mezi **3'-OH** skupinou řetězce a **5'-fosfátovou skupinou** přidávaného nukleotidu.

DNA je syntetizována ve směru **5' → 3'**.

Většinu nové DNA polymerizuje **DNA-polymerasa III**.

Nukleotidy vstupují do reakce jako **energeticky bohaté deoxynukleosidtrifosfáty** (např. dATP) a dodávají energii polymerizační reakci.

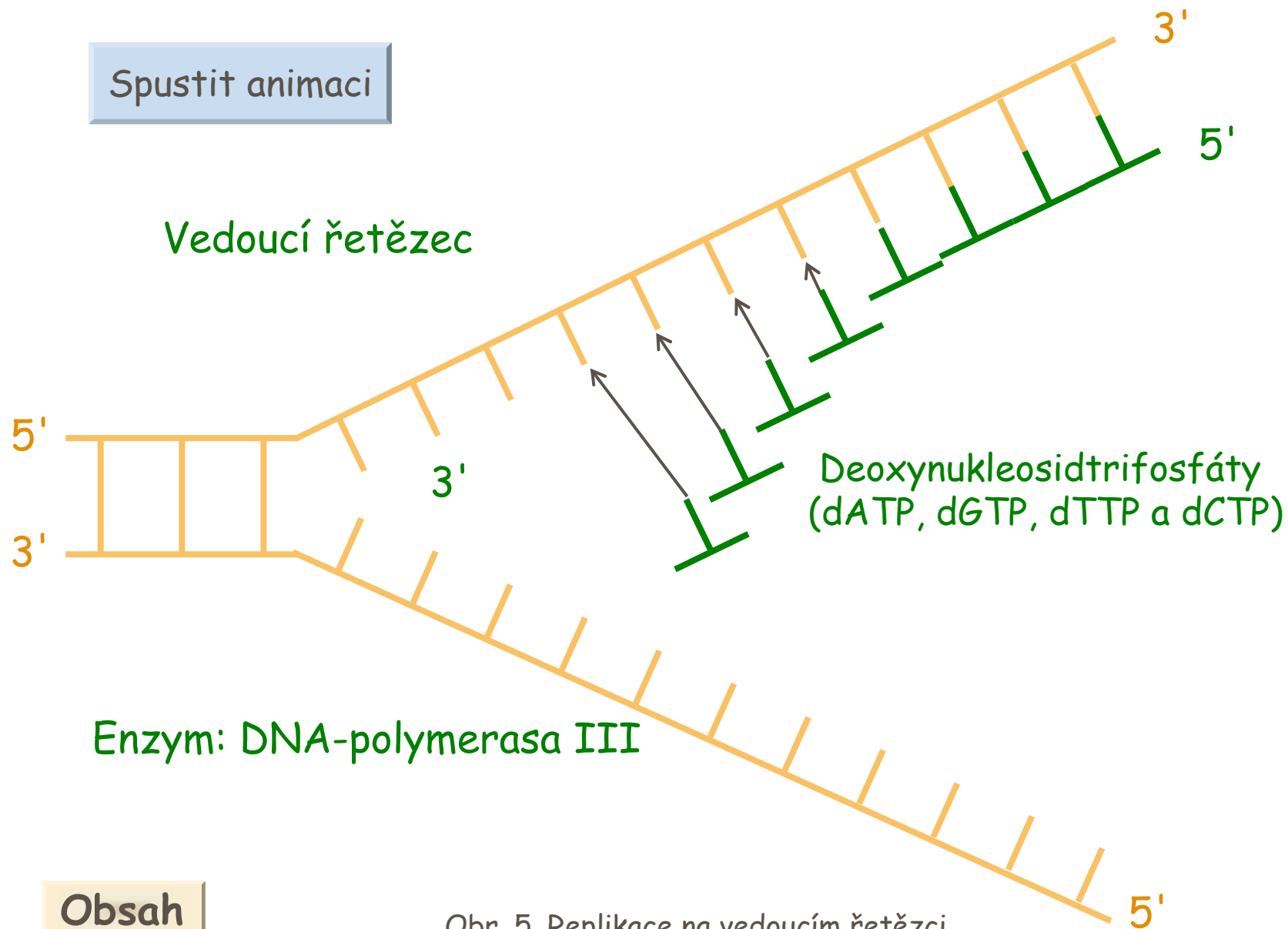


Obr. 4. Vznik fosfodiesterové vazby



# DNA-polymerasa

Spustit animaci



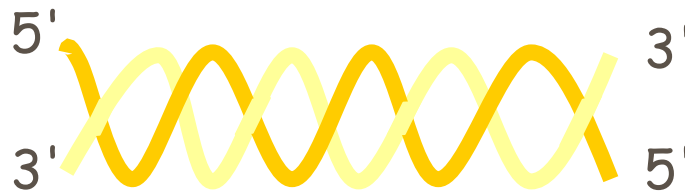
Obsah

Obr. 5. Replikace na vedoucím řetězci

# Asymetričnost replikační vidličky

DNA-polymerasa je schopna syntetizovat nové vlákno pouze prodlužováním 3'-konce DNA.

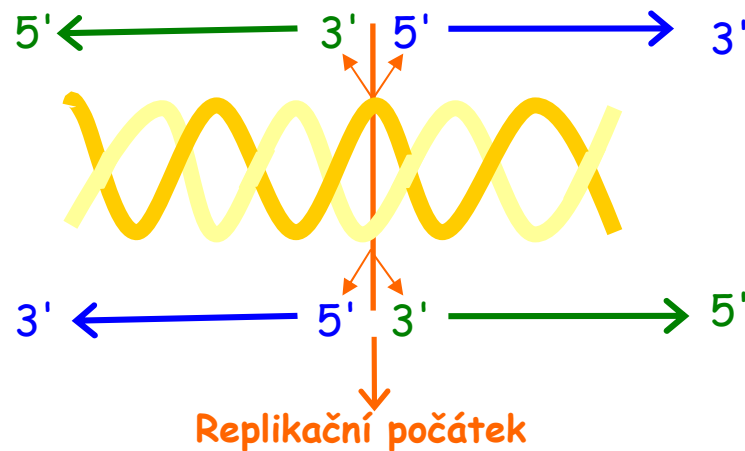
V replikační vidličce nastává problém, protože původní dvoušroubovice se skládá ze dvou antiparalelních řetězců (je asymetrická).



# Asymetričnost replikační vidličky

Jeden nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru  $3' \rightarrow 5'$ . (Vzniká  $5' \rightarrow 3'$  řetězec)

Druhý nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru  $5' \rightarrow 3'$ .



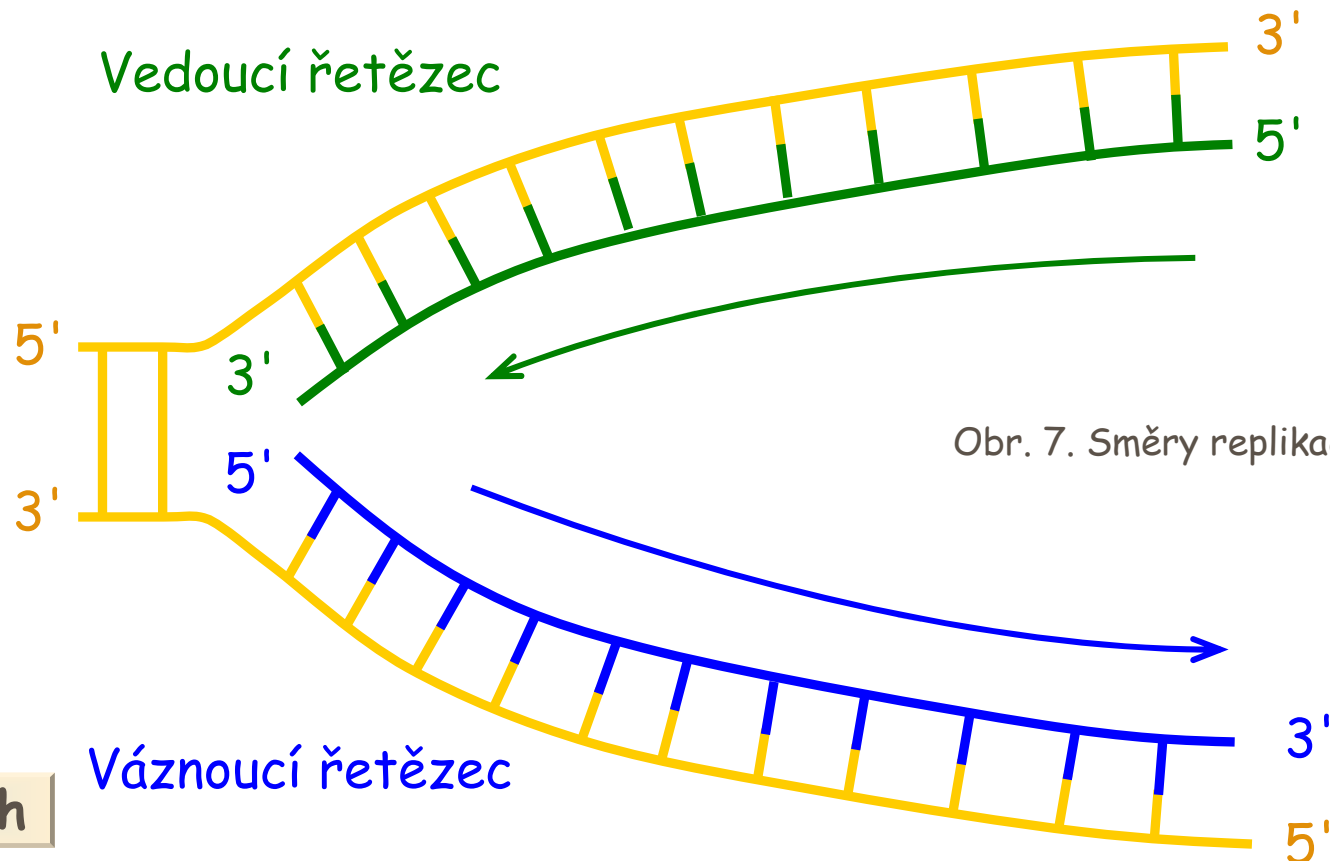
Obsah

Obr. 6. Antiparalelní řetězce DNA

# Asymetričnost replikační vidličky

Jeden nový řetězec je v replikační vidličce syntetizována podle templátu ve směru  $3' \rightarrow 5'$ . (Vzniká  $5' \rightarrow 3'$  řetězec)

Druhý nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru  $5' \rightarrow 3'$ .




Obr. 7. Směry replikace

# Asymetričnost replikační vidličky

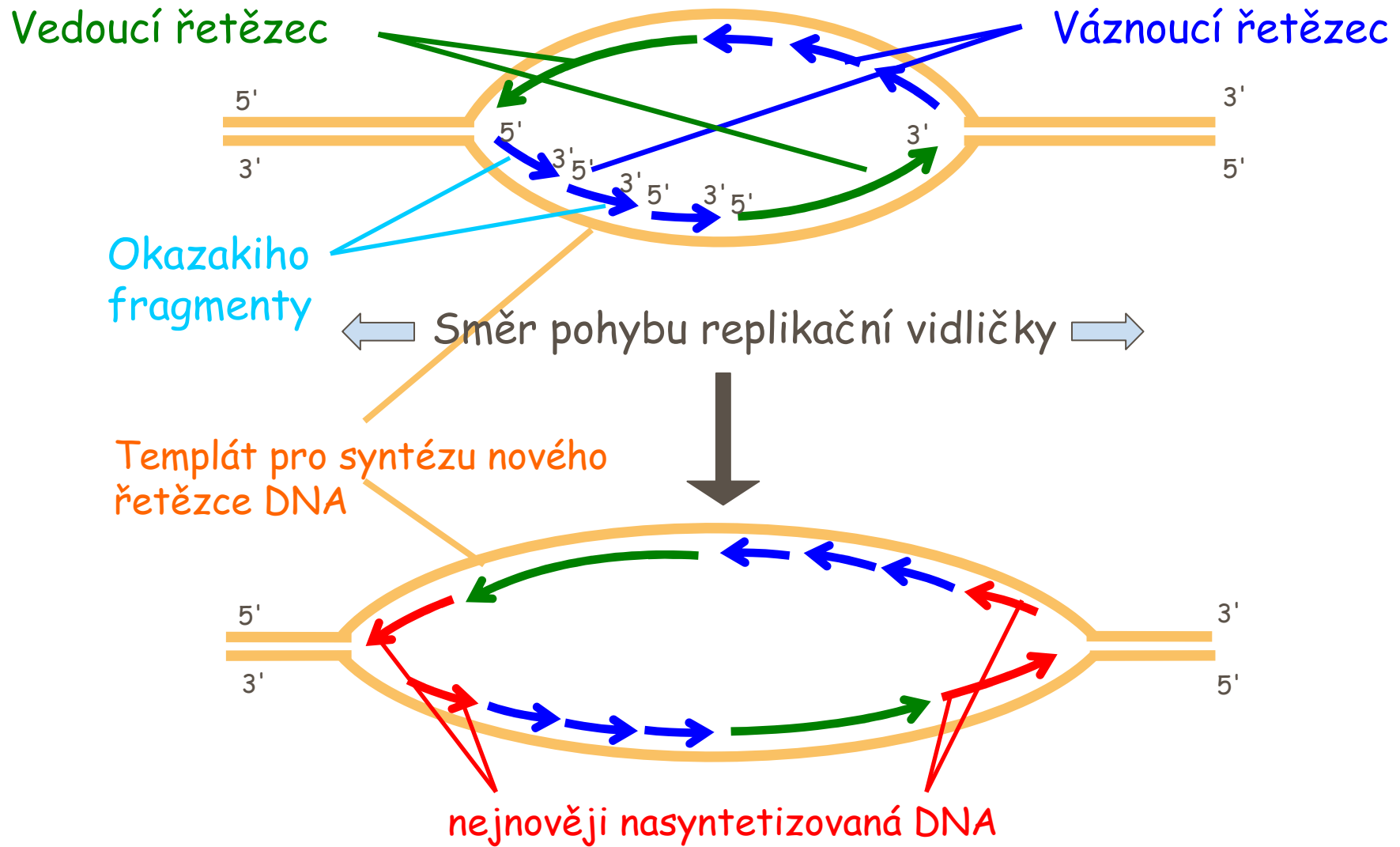
**Neexistuje** DNA-polymerasa, která by dokázala prodlužovat 5'-konec DNA.

Tudíž v tomto směru roste **diskontinuálně** tzn., že jsou ve směru 5' → 3' syntetizovány **krátké úseky DNA (Okazakiho fragmenty)**, které jsou následně spojovány v kontinuální řetězec.

 Řetězec, který je tvořen kontinuálně, se nazývá **vedoucí řetězec**.

 Řetězec, který je tvořen diskontinuálně, se nazývá **opožďující se** nebo **váznoucí řetězec**.

# Asymetričnost replikační vidličky



Obsah

Obr. 8. Asymetričnost replikační vidličky

# Korektorská schopnost DNA-polymerasy

DNA-polymerasa katalyzuje reakci:



DNA-polymerasa je schopna hydrolyzovat DNA od 3'-konce (tzv. 3' → 5' exonukleasová aktivita). Připojí-li se chybný nukleotid, vznikne nestabilní produkt (nukleotid se chybně páruje s nukleotidem v templátu), čímž dojde k posunutí rovnováhy ve směru výchozích látek.



Proto DNA-polymerasa je velice přesně párující enzym, který udělá průměrně jednu chybu na  $10^7$  zreplikovaných párů bází.

Obsah

# Primasa

DNA-polymerasa neumí začít syntetizovat nové vlákno.



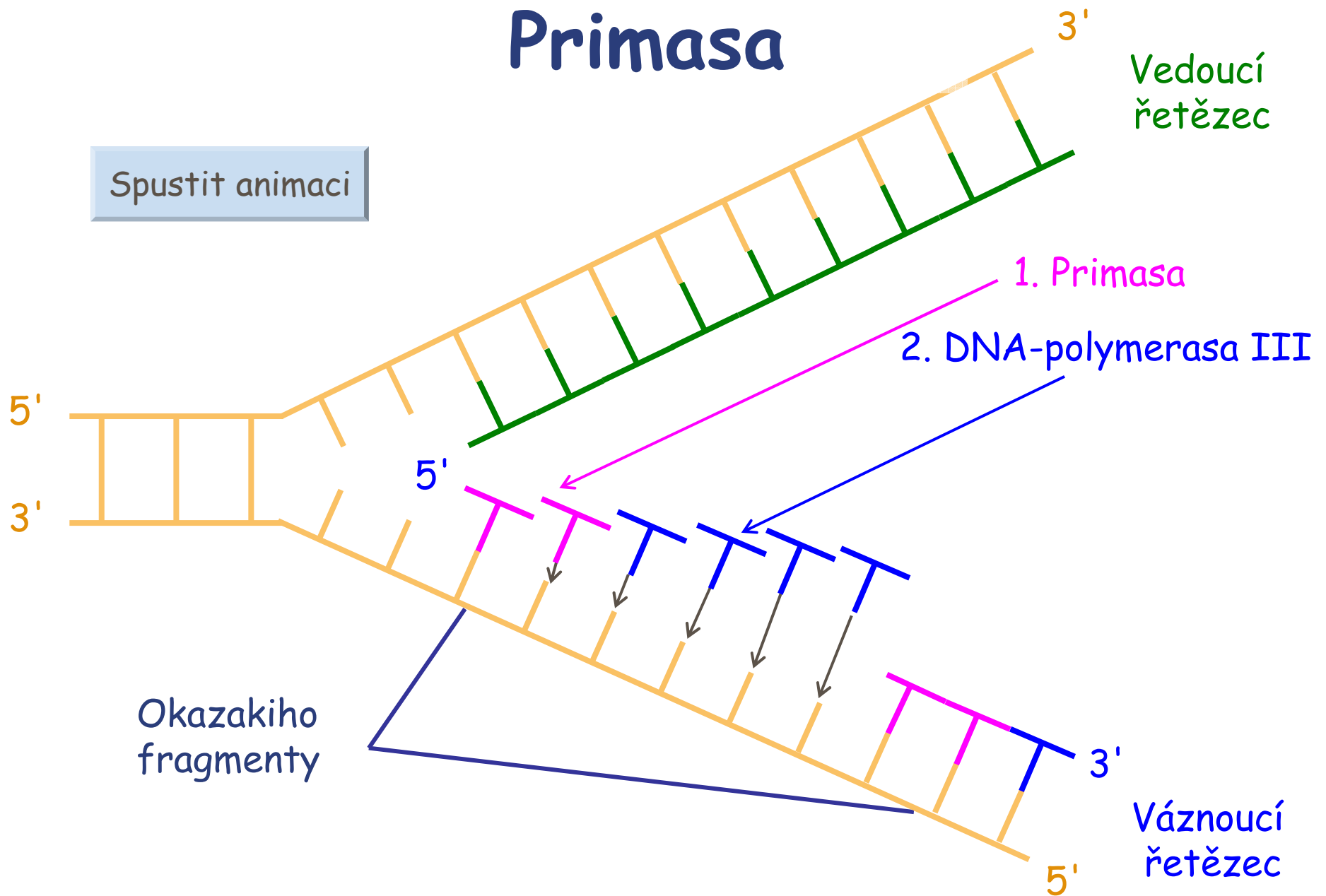
Existuje jiný enzym - **primasa**, která dokáže spojit dva volné nukleotidy.

Primasa nesyntetizuje DNA, ale krátké úseky RNA majících cca 10 nukleotidů.

Tyto úseky se párují na základě komplementarity s templátovým řetězcem a **poskytují 3'-konec pro DNA-polymerasu**. Slouží tedy jako **primer** pro syntézu DNA.



# Primasa



Obsah

Obr. 9. Replikace na váznoucím řetězci (1. část)

# Okazakiho fragmenty

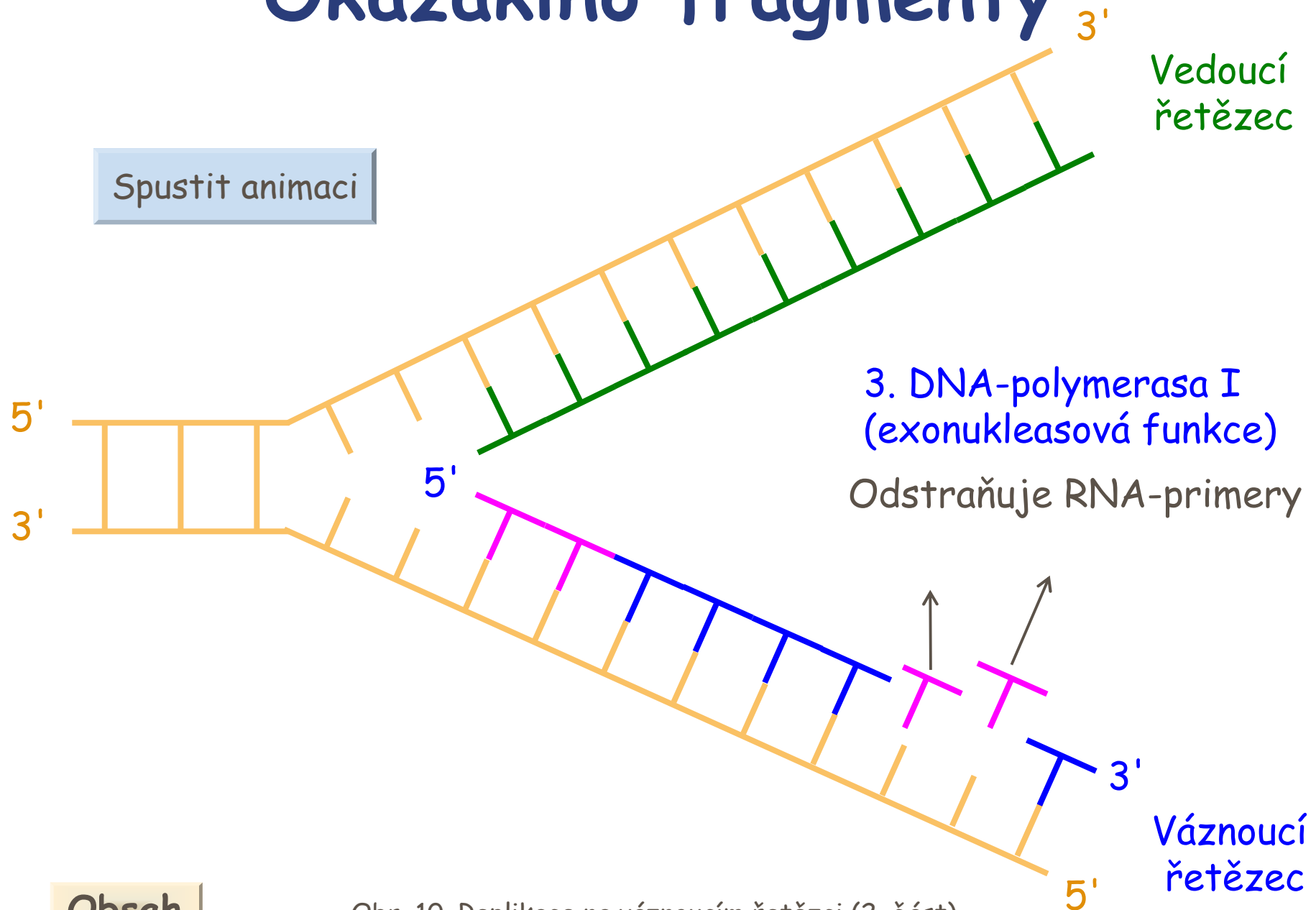
Opožd'ující řetězec je tvořen mnoha oddělenými úseky tzv. **Okazakiho fragmenty** (o velikosti 1000-2000 nukleotidů).

Na vytvoření souvislého vlákna DNA z Okazakiho fragmentů jsou třeba tři enzymy:



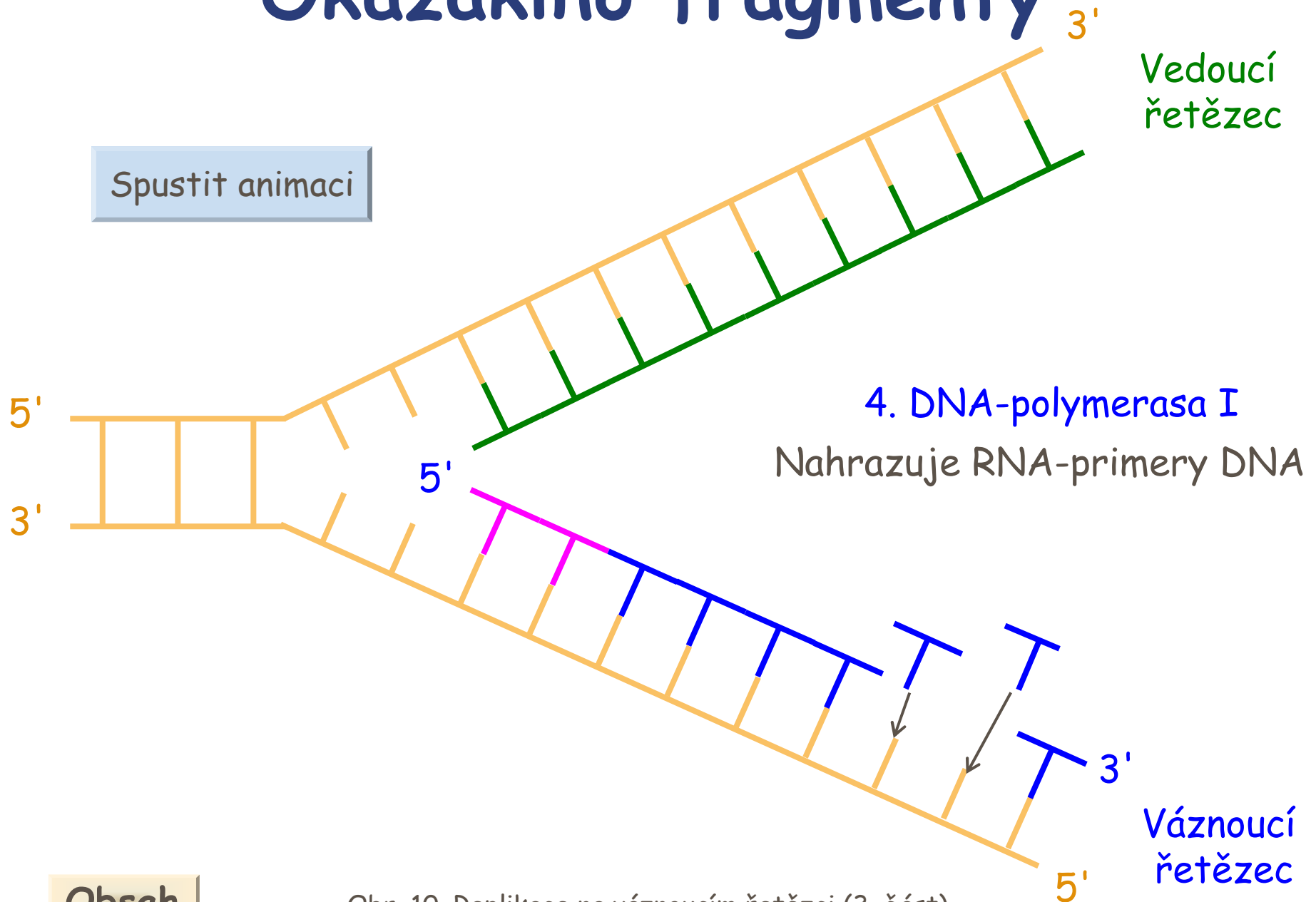
1. **DNA-polymerasa I (exonukleasová funkce)** - odstraňuje RNA primery;
2. **DNA-polymerasa I** - nahrazuje RNA-primery DNA;
3. **DNA-ligasa** - pospojí všechny úseky dohromady.

# Okazakiho fragmenty



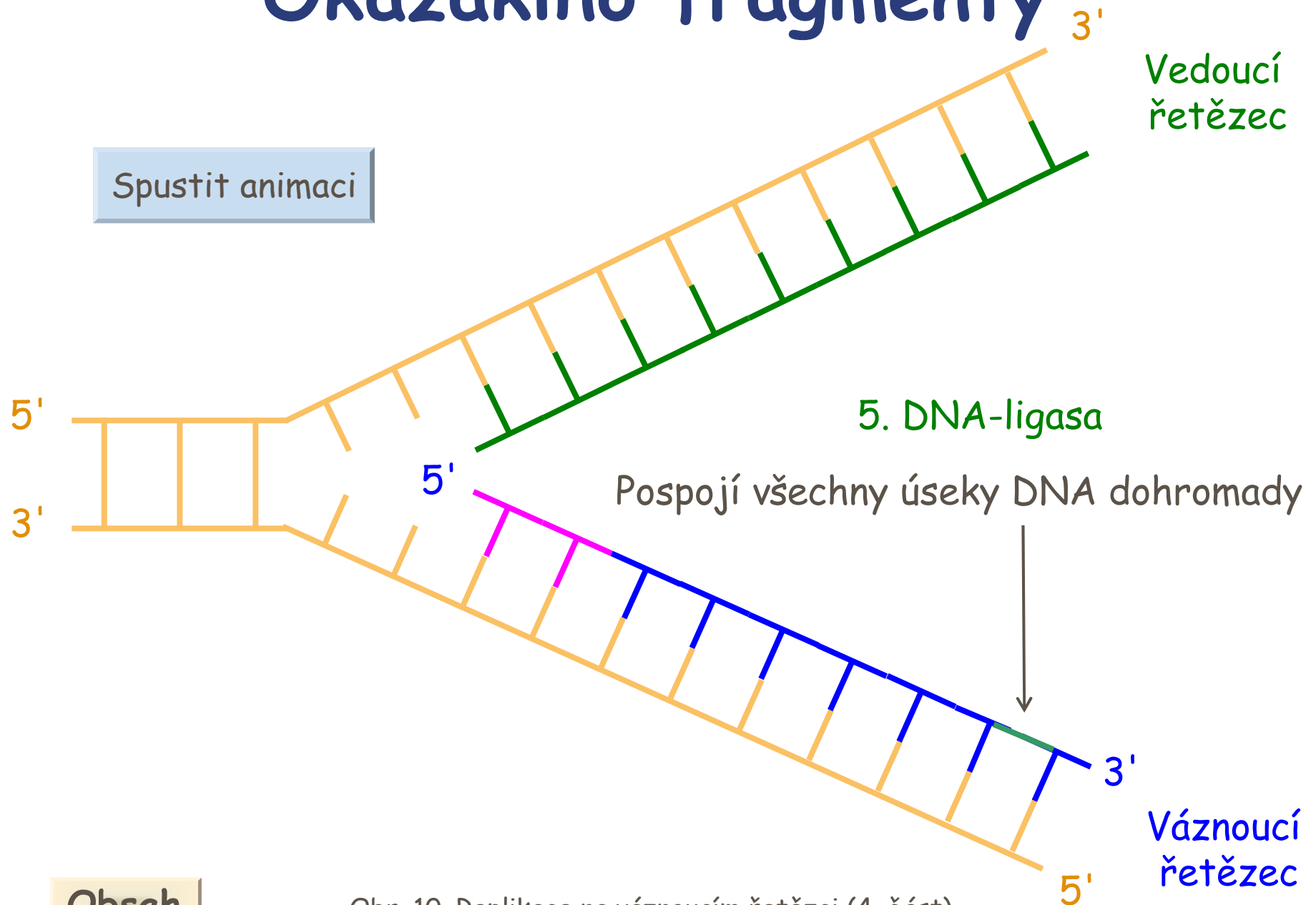
Obr. 10. Replikace na váznoucím řetězci (2. část)

# Okazakiho fragmenty



Obr. 10. Replikace na vážnucím řetězci (3. část)

# Okazakiho fragmenty



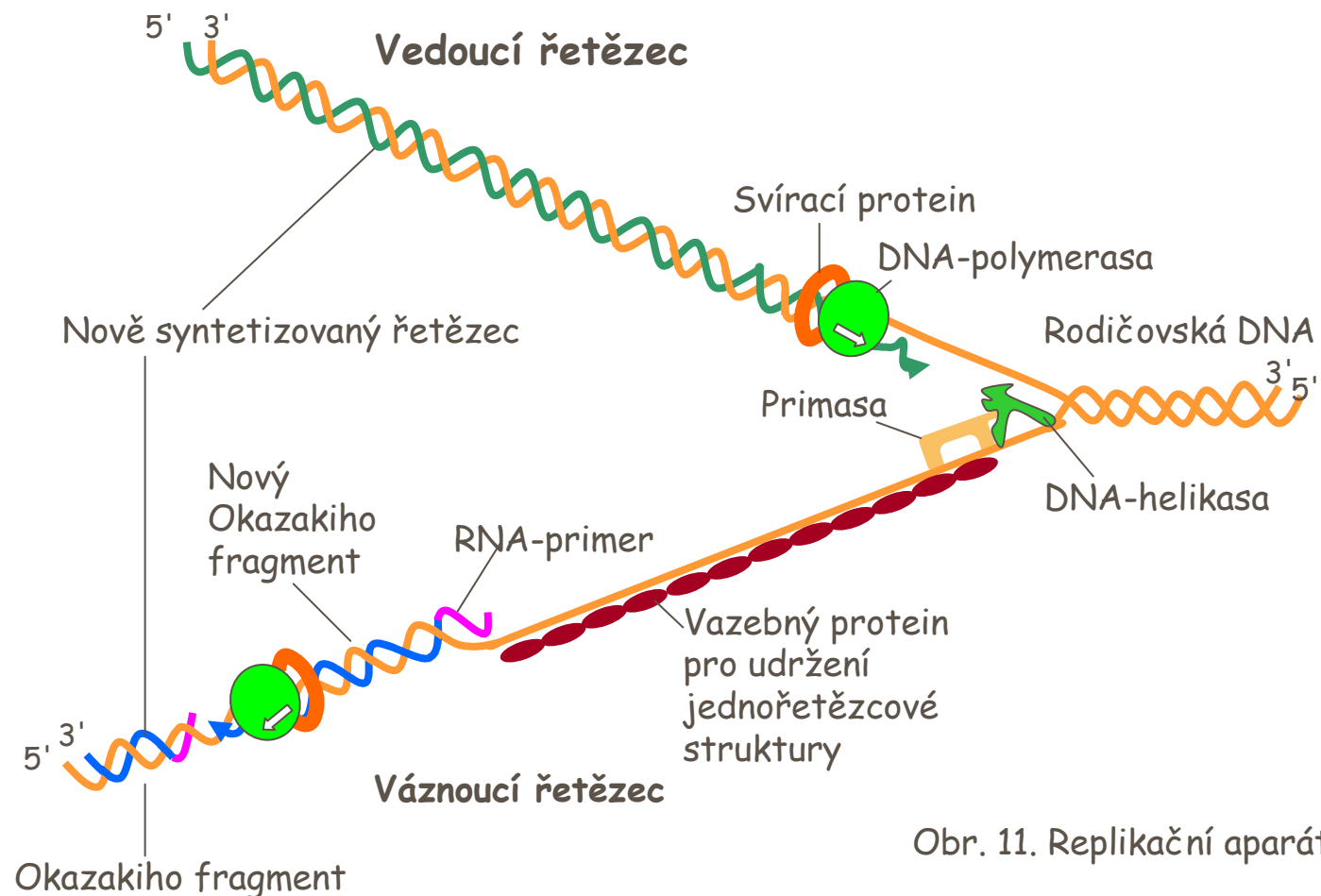
Obsah

Obr. 10. Replikace na vážnouchím řetězci (4. část)

# Replikační aparát

Replikace DNA vyžaduje spolupráci několika druhů enzymů.

**Replikační aparát** umožňuje vznik a posun replikační vidličky a syntézu nové DNA.



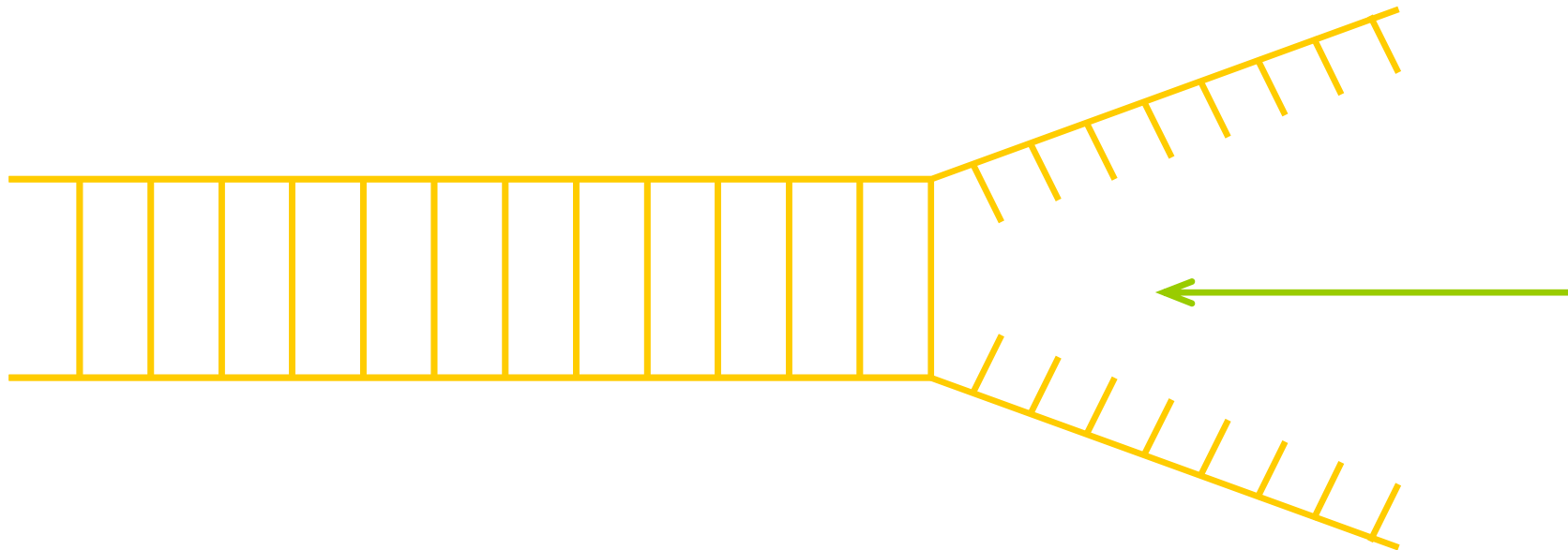
Obsah

Obr. 11. Replikační aparát

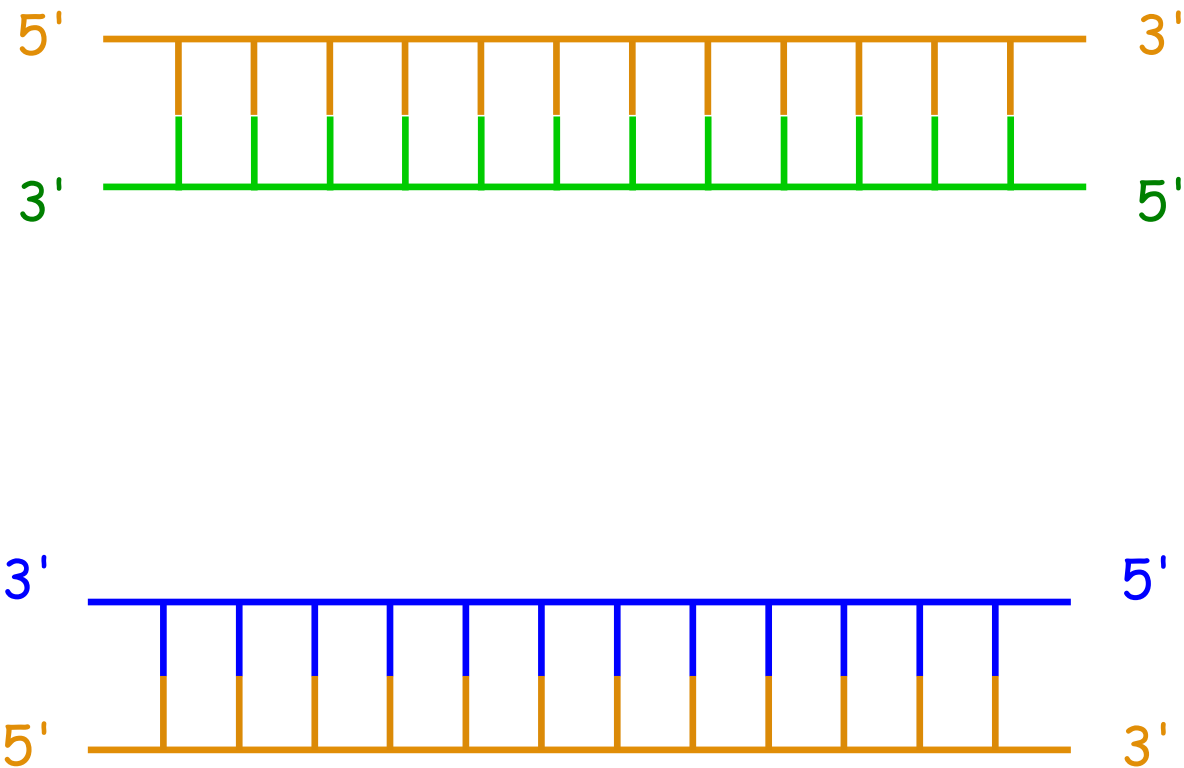
# Replikační aparát - helikasa

## Helikasa

(rozvíví dvoušroubovicovou strukturu)



# Replikace je proces semikonzervativní



Obsah

Obr. 13. Dceřinná vlákna DNA



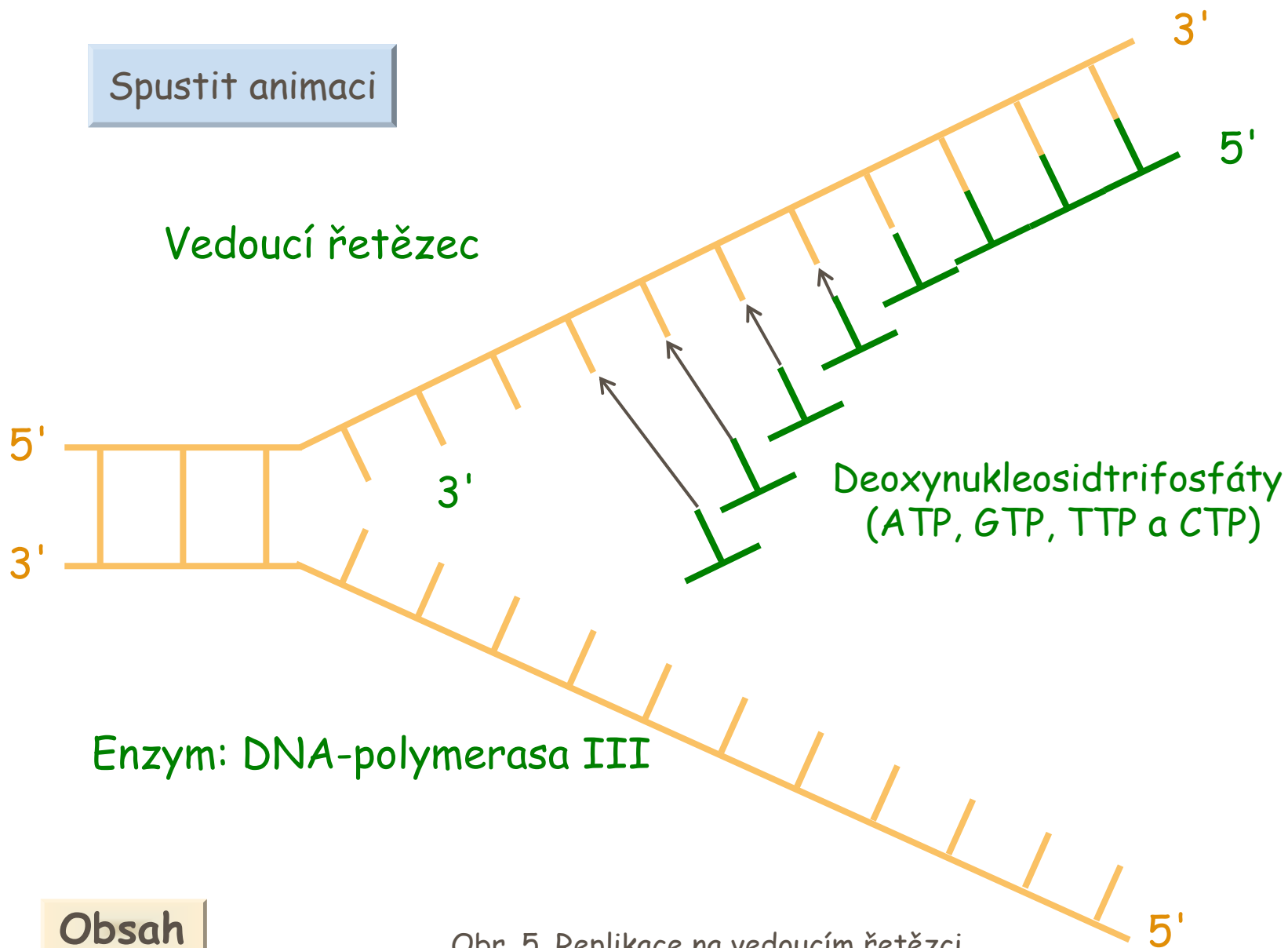


# Animace pro zopakování

Obsah

# Replikace na vedoucím řetězci

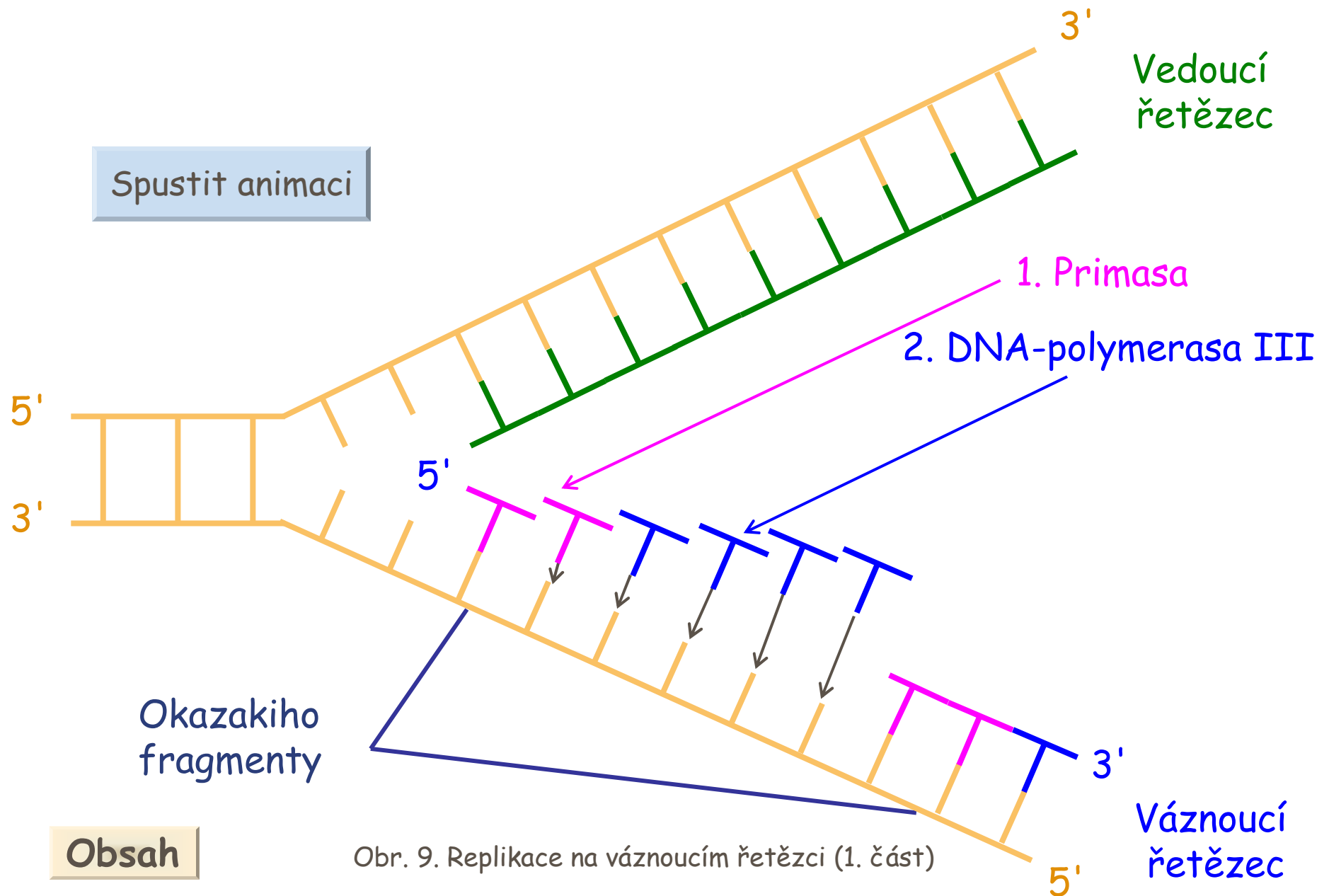
Spustit animaci



Obsah

Obr. 5. Replikace na vedoucím řetězci

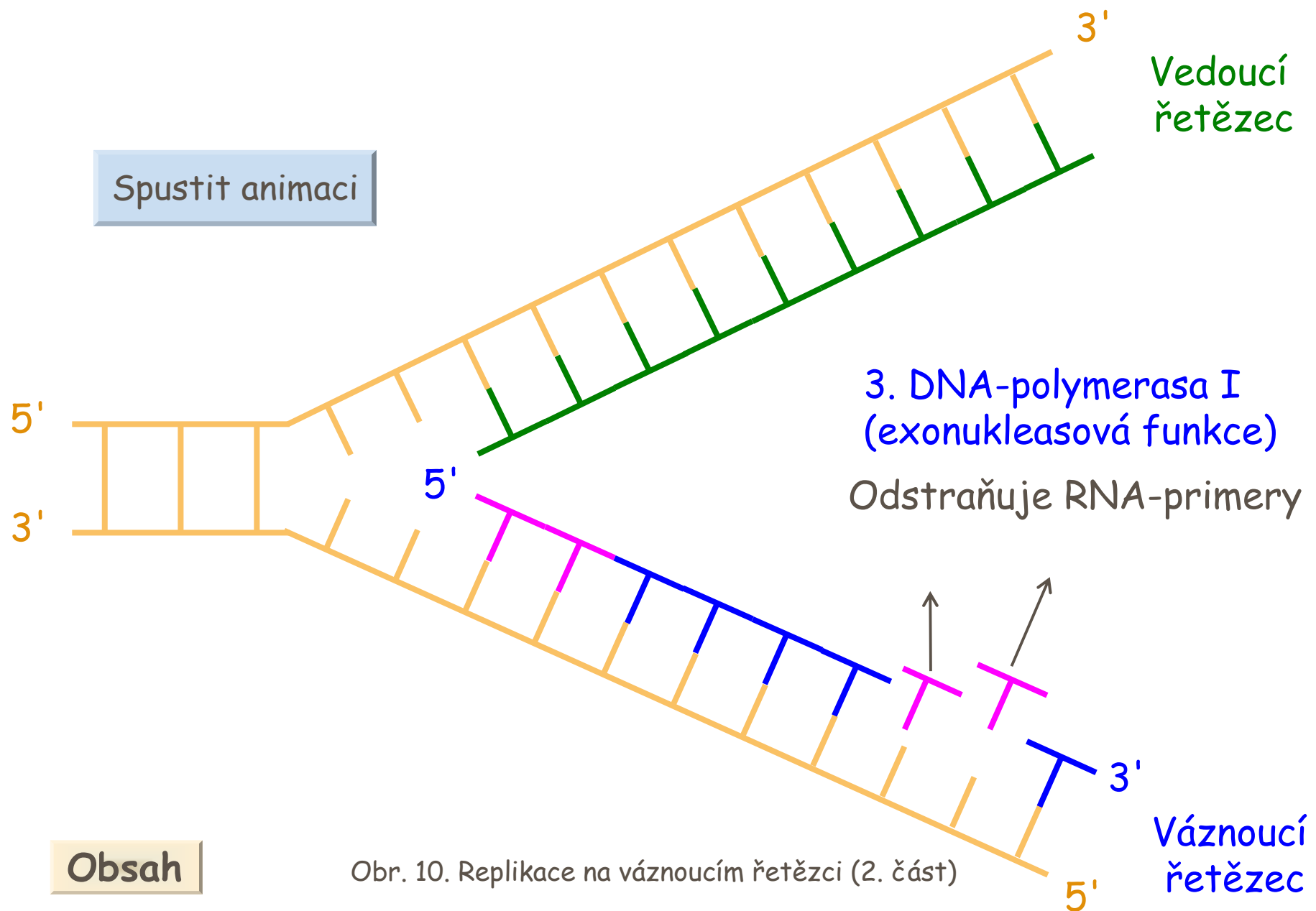
# Replikace na váznoucím řetězci (1. část)



Obsah

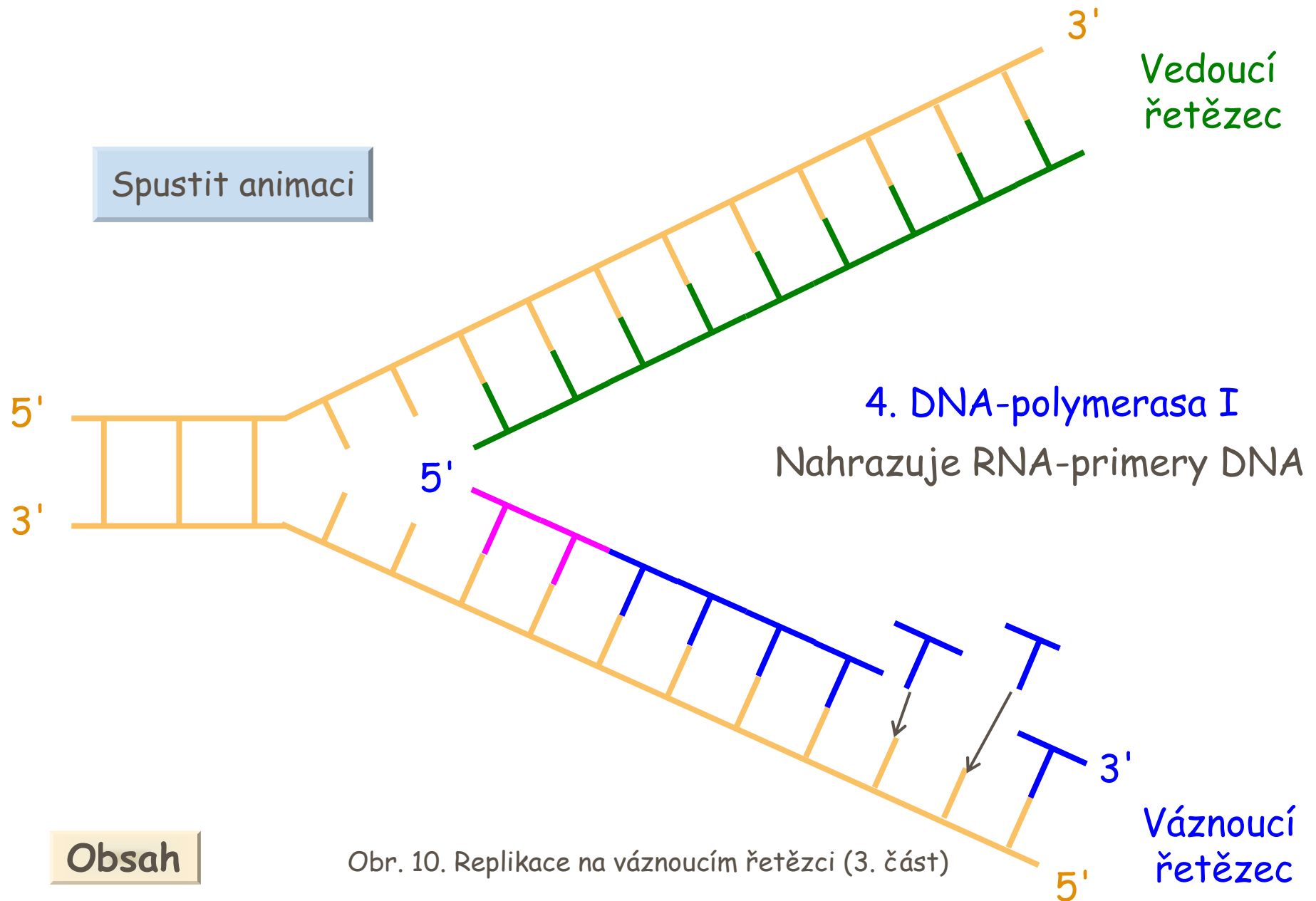
Obr. 9. Replikace na váznoucím řetězci (1. část)

# Replikace na váznoucím řetězci (2. část)

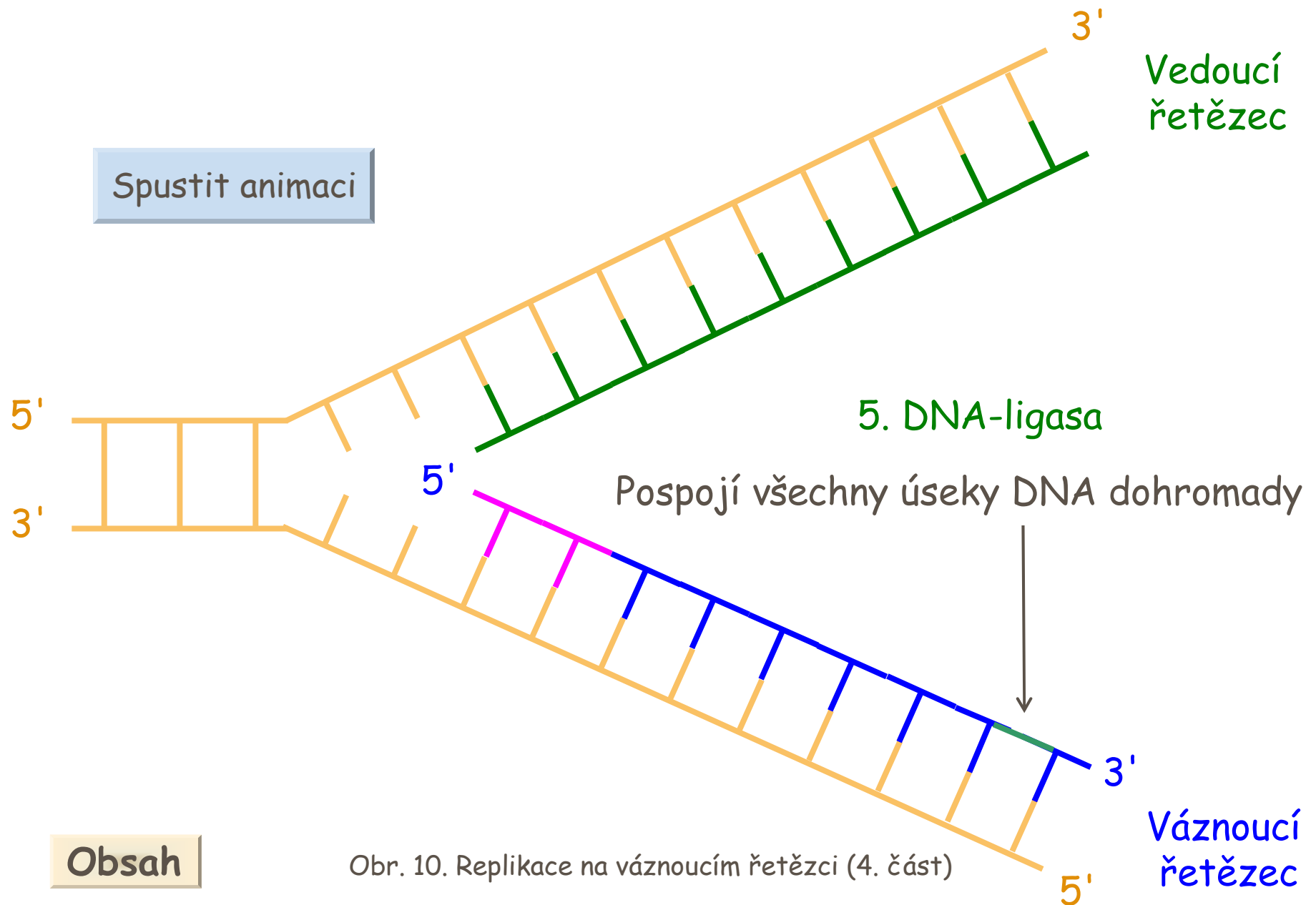


Obr. 10. Replikace na váznoucím řetězci (2. část)

# Replikace na váznoucím řetězci (2. část)

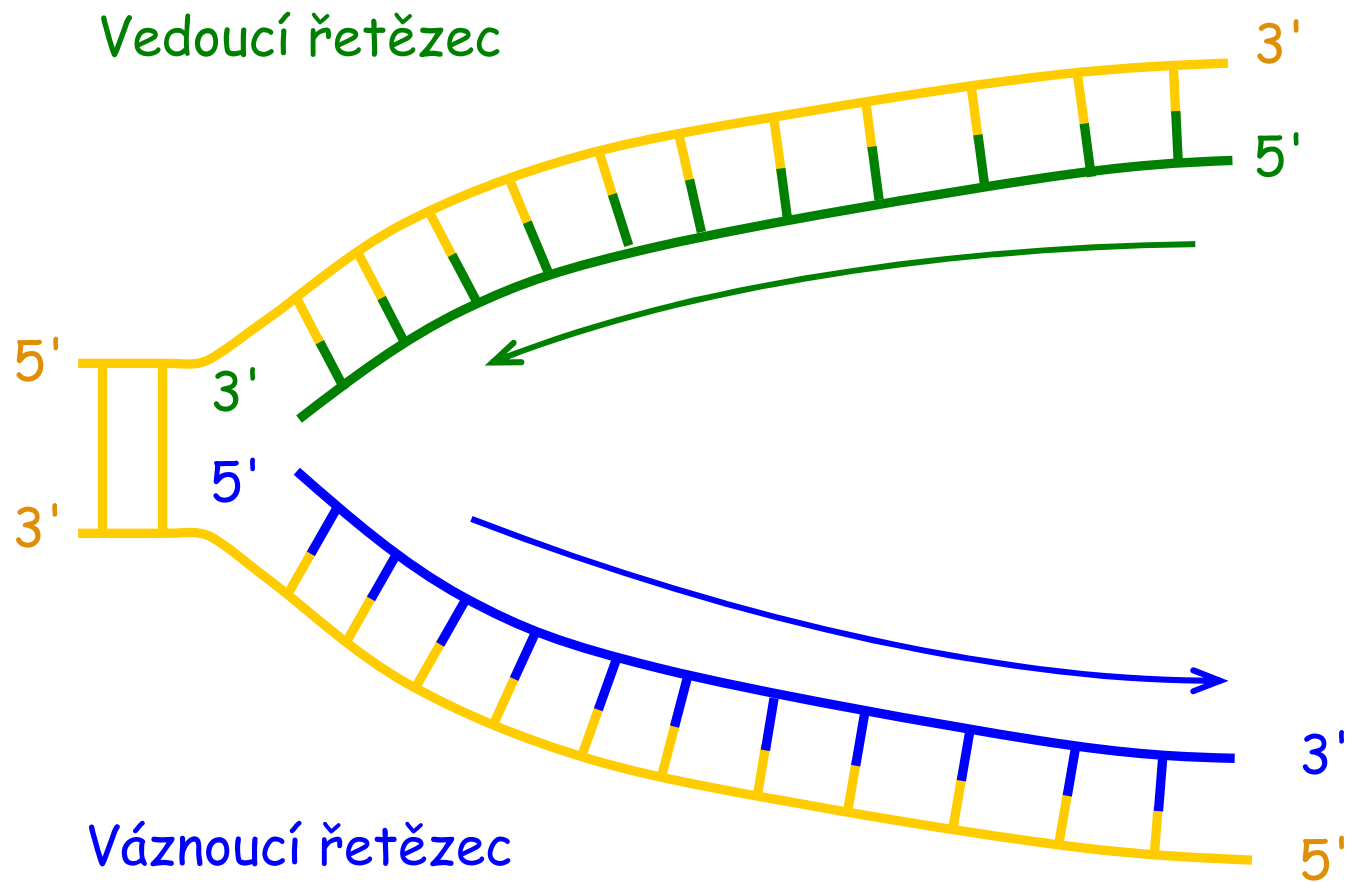


# Replikace na váznoucím řetězci (2. část)



Obr. 10. Replikace na váznoucím řetězci (4. část)

# Průběh replikace





# Použitá literatura

[1] ALBERTS, B. a kol. *Základy buněčné biologie*. Ústí nad Labem: Espero Publishing, 1997.

[2] NEČAS, O. a kol. *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. Jinočany: Nakladatelství H&H, 2000.

[3] KUBIŠTA, V. *Buněčné základy životních dějů*. Praha: Scientia, 1998.