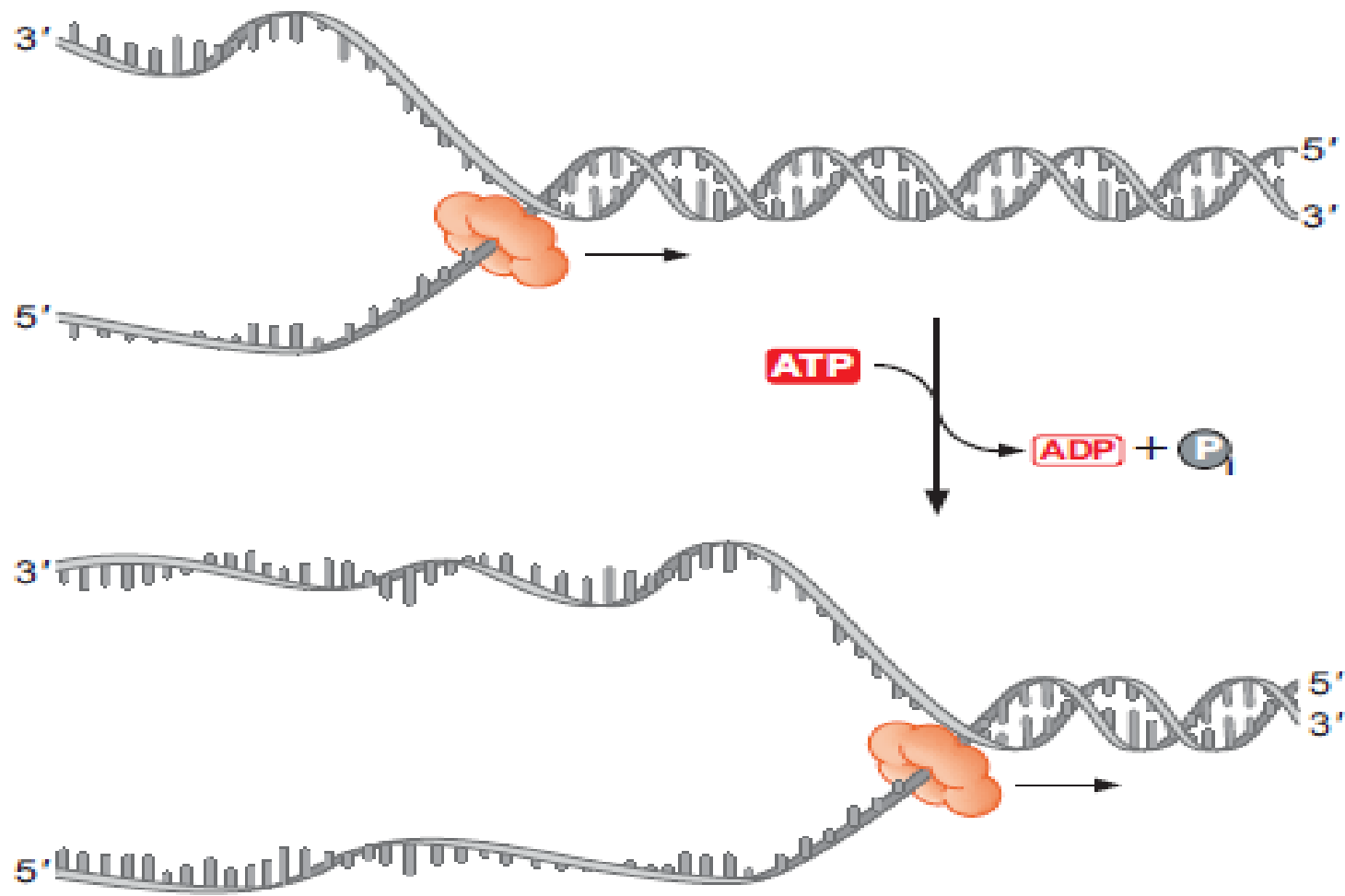


Οι DNA ελικάσες που δρουν στη διχάλα αντιγραφής είναι εξαμερείς πρωτεΐνες με μορφή δακτυλίου. Τα σύμπλοκα αυτά περικυκλώνουν μία μονόκλωνη αλυσίδα DNA και μετακινούνται κατά μήκος της, αποδιατάσσοντας τη διπλή έλικα στο σημείο της διχάλας, δηλαδή στο όριο μεταξύ μονόκλωνου και δίκλωνου DNA.

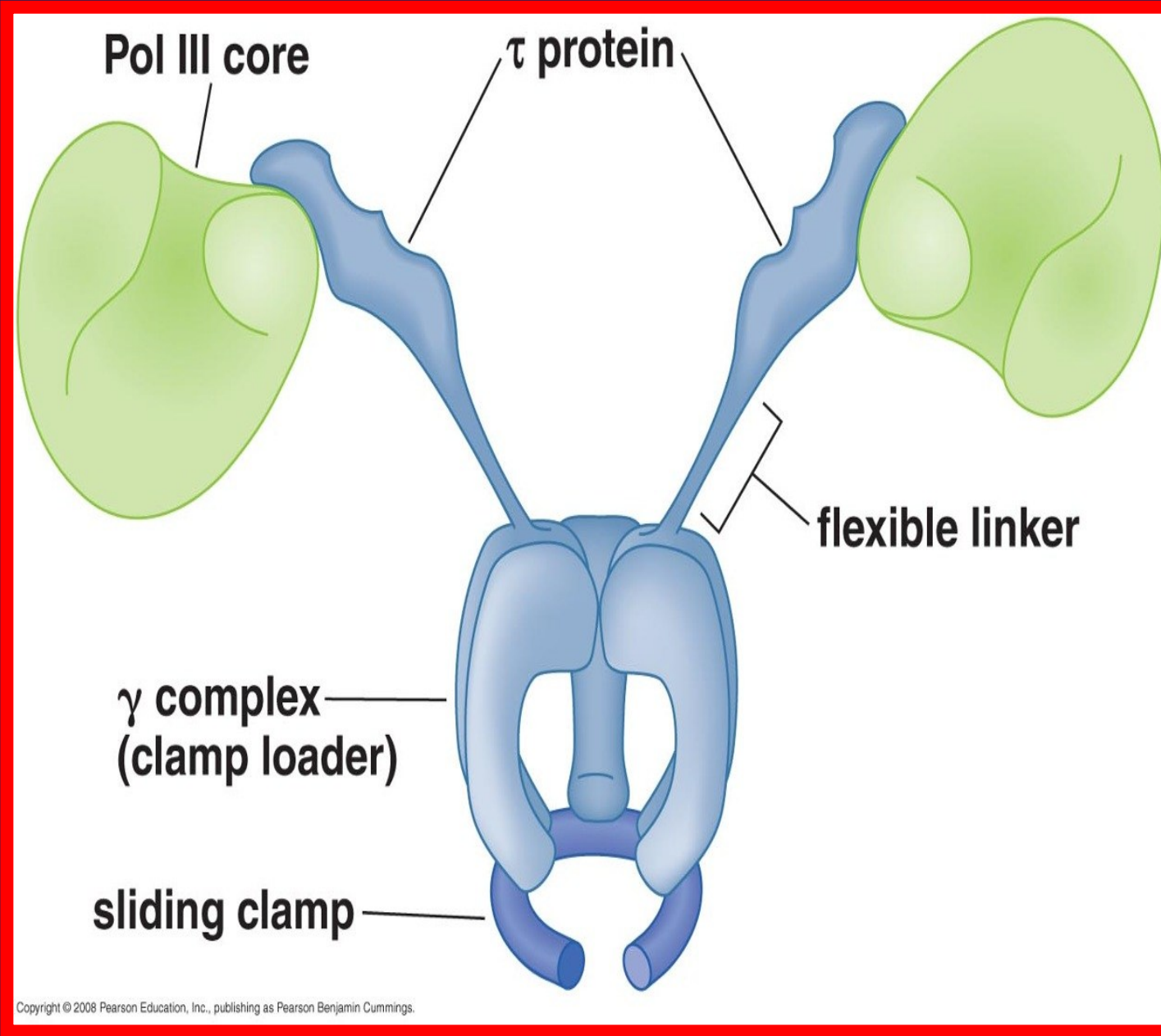


- Η DNA πολυμεράση III είναι το κύριο ένζυμο που συμμετέχει στην αντιγραφή του χρωμοσώματος.

Το γονιδίωμα της *E. coli* αντιγράφεται αμφίδρομα από δύο διχάλες αντιγραφής.

- Η DNA Pol III χαρακτηρίζεται από υψηλή επεξεργασιμότητα, δηλαδή μπορεί να συνθέτει μεγάλες περιοχές DNA χωρίς να αποσυνδέεται.

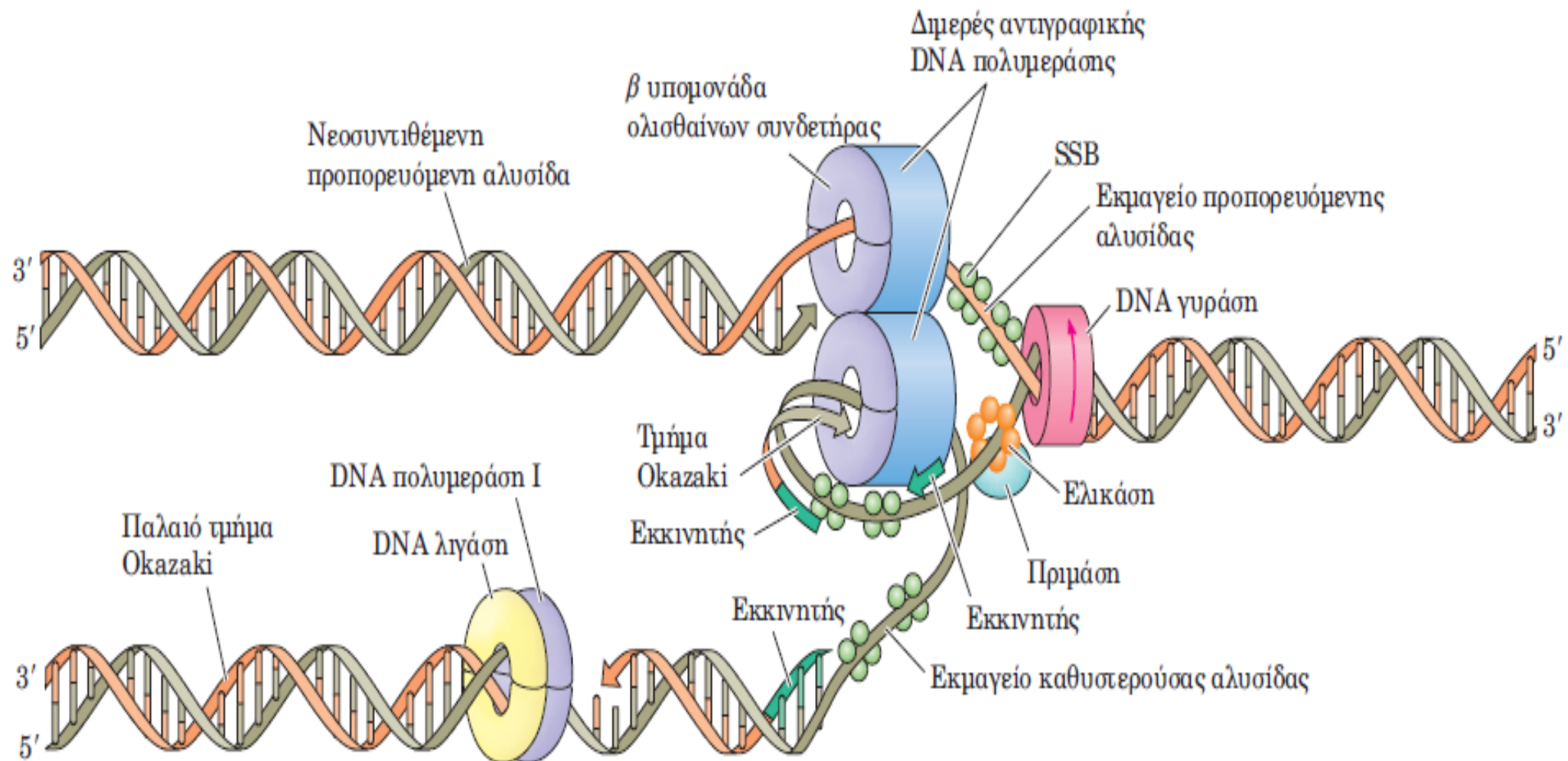
Για τον λόγο αυτό αποτελεί μέρος ενός μεγαλύτερου συμπλόκου, το οποίο της προσδίδει αυτή την ιδιότητα και είναι γνωστό ως ολοένζυμο της DNA Pol III.



## Μηχανισμός Αντιγραφής – Βασικά Στοιχεία

Αντιγραφή DNA στους προκαρυώτες – Σύνθεση προπορευόμενης και καθυστερούσας αλυσίδας

- **Ελικάση DnaB:** Διαχωρίζει τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας του DNA, μετακινούμενη κατά μήκος της μονόκλωνης αλυσίδας με κατεύθυνση 5' → 3'.
- **Πριμάση:** Συνθέτει RNA εκκινήτες (primers) για την έναρξη της σύνθεσης DNA.
- **Πυρήνας αεθ της DNA πολυμεράσης III:** Υπεύθυνος για τη σύνθεση νέων αλυσίδων DNA.
- **Προπορευόμενη αλυσίδα (leading strand):** Συντίθεται συνεχώς προς την κατεύθυνση κίνησης της διχάλας αντιγραφής.
- **Καθυστερούσα αλυσίδα (lagging strand):** Συντίθεται ασυνεχώς, σε μικρά τμήματα DNA (τμήματα Okazaki).



## Δυναμική της διχάλας αντιγραφής

- Η αντιγραφή πραγματοποιείται από ένα οργανωμένο σύμπλοκο πρωτεϊνών (**ρεπλισώμα**).
- Το **ολοένζυμο της DNA πολυμεράσης III** περιλαμβάνει δύο καταλυτικούς πυρήνες που λειτουργούν ταυτόχρονα.
- Η σύνθεση DNA γίνεται **μόνο με κατεύθυνση 5' → 3'**, ενώ οι δύο αλυσίδες του DNA είναι αντιπαράλληλες.
- Για να επιτευχθεί ταυτόχρονη σύνθεση, η καθυστερούσα αλυσίδα σχηματίζει έναν **βρόχο** (μοντέλο “τρομπόνι”).
- Οι δύο πυρήνες του συμπλόκου κινούνται προς την ίδια κατεύθυνση μαζί με τη διχάλα.
  - Με την ολοκλήρωση κάθε τμήματος Okazaki, το σύμπλοκο επανατοποθετείται σε νέο εκκινητή.
- Η **β υπομονάδα** διατηρεί την πολυμεράση προσδεσμένη στο DNA, επιτρέποντας τη σύνθεση μεγάλων τμημάτων DNA χωρίς αποσύνδεση

## Σύνθεση προπορευόμενης και καθυστερούσας αλυσίδας

- Η σύνθεση DNA γίνεται πάντα με κατεύθυνση  $5' \rightarrow 3'$ .

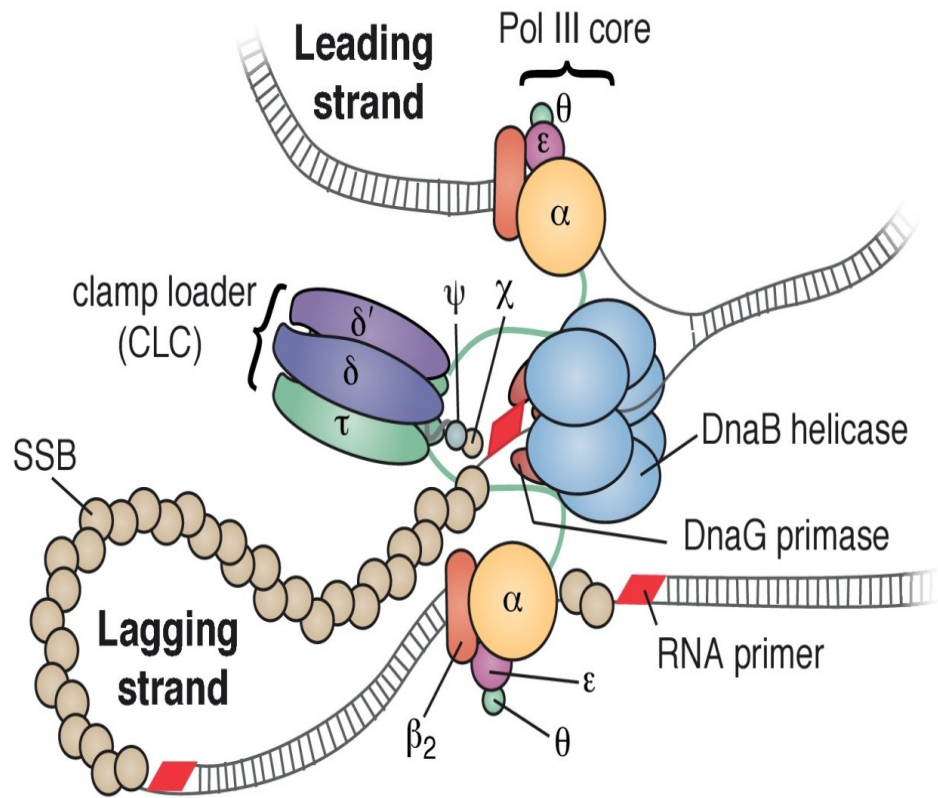
### Προπορευόμενη αλυσίδα (leading strand):

- Συντίθεται συνεχώς προς την κατεύθυνση της διχάλας αντιγραφής.
  - Απαιτεί έναν μόνο εκκινητή.

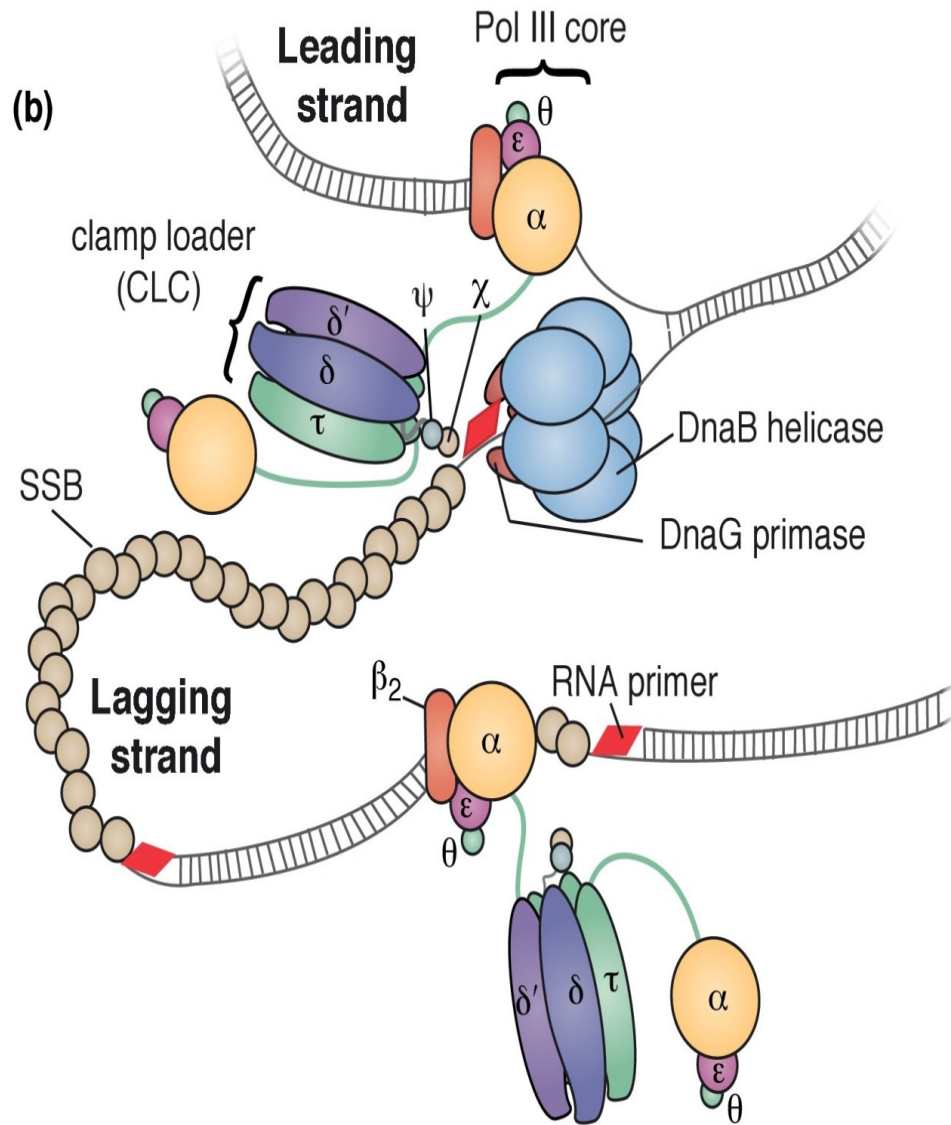
### Καθυστερούσα αλυσίδα (lagging strand):

- Συντίθεται ασυνεχώς σε μικρά τμήματα, τα **τμήματα Okazaki**.
  - Κάθε τμήμα ξεκινά με νέο RNA εκκινητή.
- Η **DNA πολυμεράση I** αφαιρεί τους RNA εκκινητές και τους αντικαθιστά με DNA.
- Η **DNA λιγάση** ενώνει τα τμήματα Okazaki, δημιουργώντας μια συνεχή αλυσίδα DNA.

(a)



(b)



Το ολοένζυμο της DNA πολυμεράσης III περιέχει δύο πυρήνες πολυμεράσης ( $\alpha$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$ )

Οι δύο πυρήνες συνδέονται μέσω της υπομονάδας  $\tau$  (**tau**)

→ Επιτρέπει την ταυτόχρονη σύνθεση και των δύο αλυσίδων

### **Clamp loader (CLC)**

Το σύμπλοκο  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\delta'$ ,  $\chi$ ,  $\psi$  φορτώνει τον  $\beta$  **sliding clamp** στο DNA

Η υπομονάδα  $\gamma$  (**gamma**) διαθέτει ενεργότητα **ΑΤΡάσης** και οδηγεί τη φόρτωση του  $\beta$ .

Απαιτεί ATP

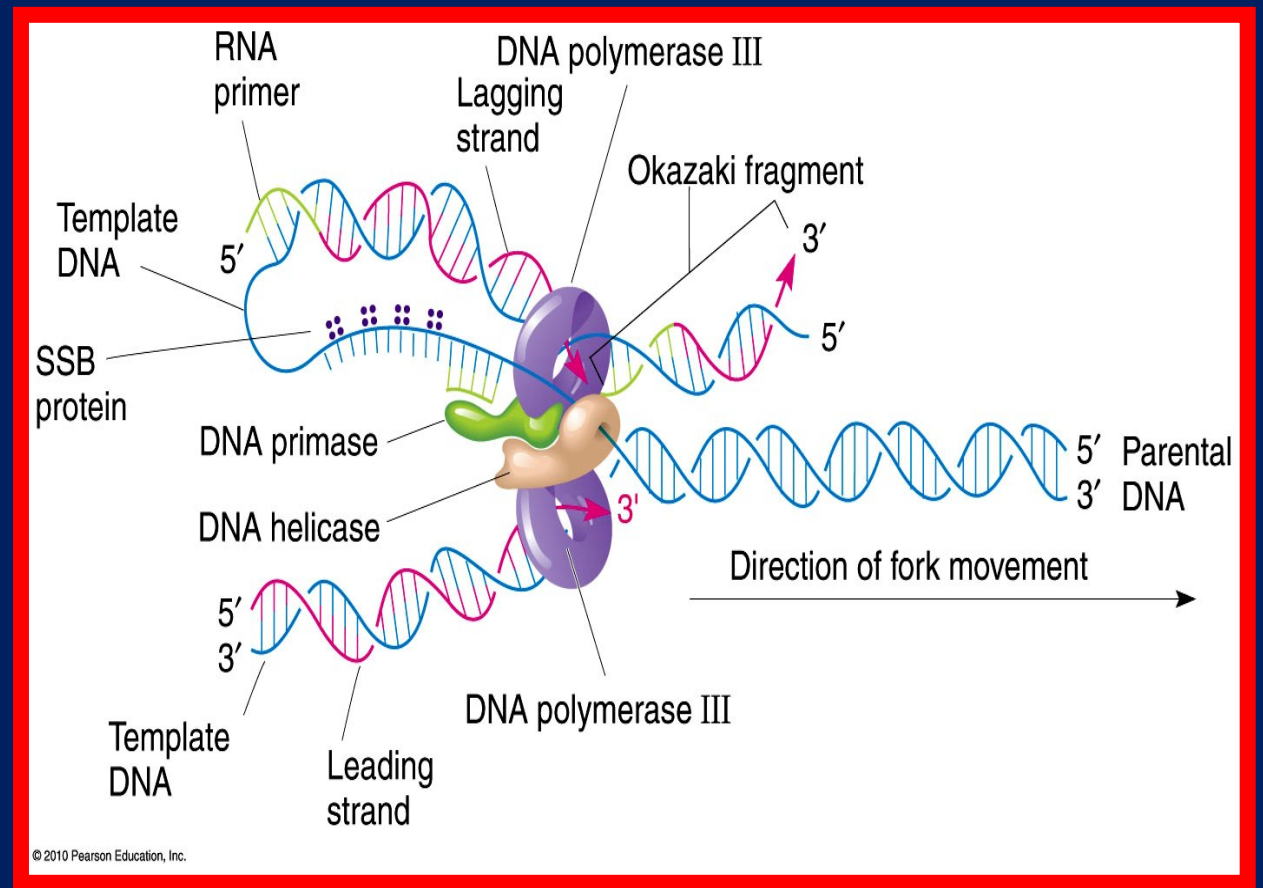
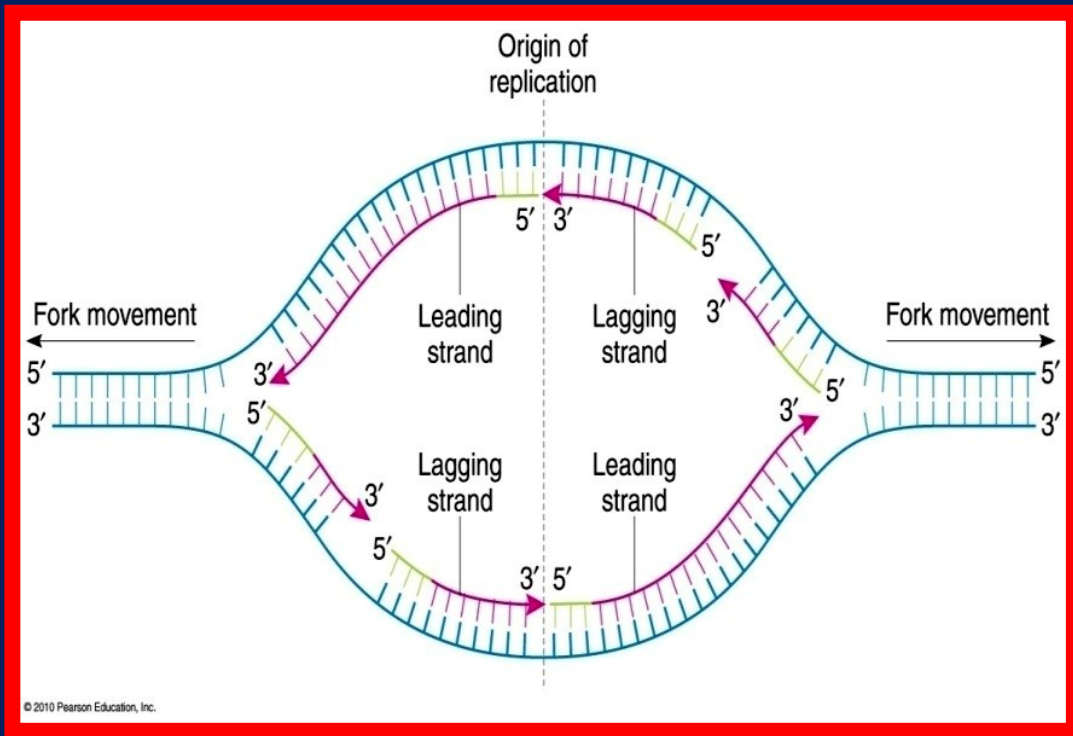
Επαναφορτώνεται σε κάθε νέο RNA εκκινητή (**καθυστερούσα αλυσίδα**)

### **Sliding clamp ( $\beta_2$ )**

Δακτυλιοειδής δομή που περιβάλλει το DNA

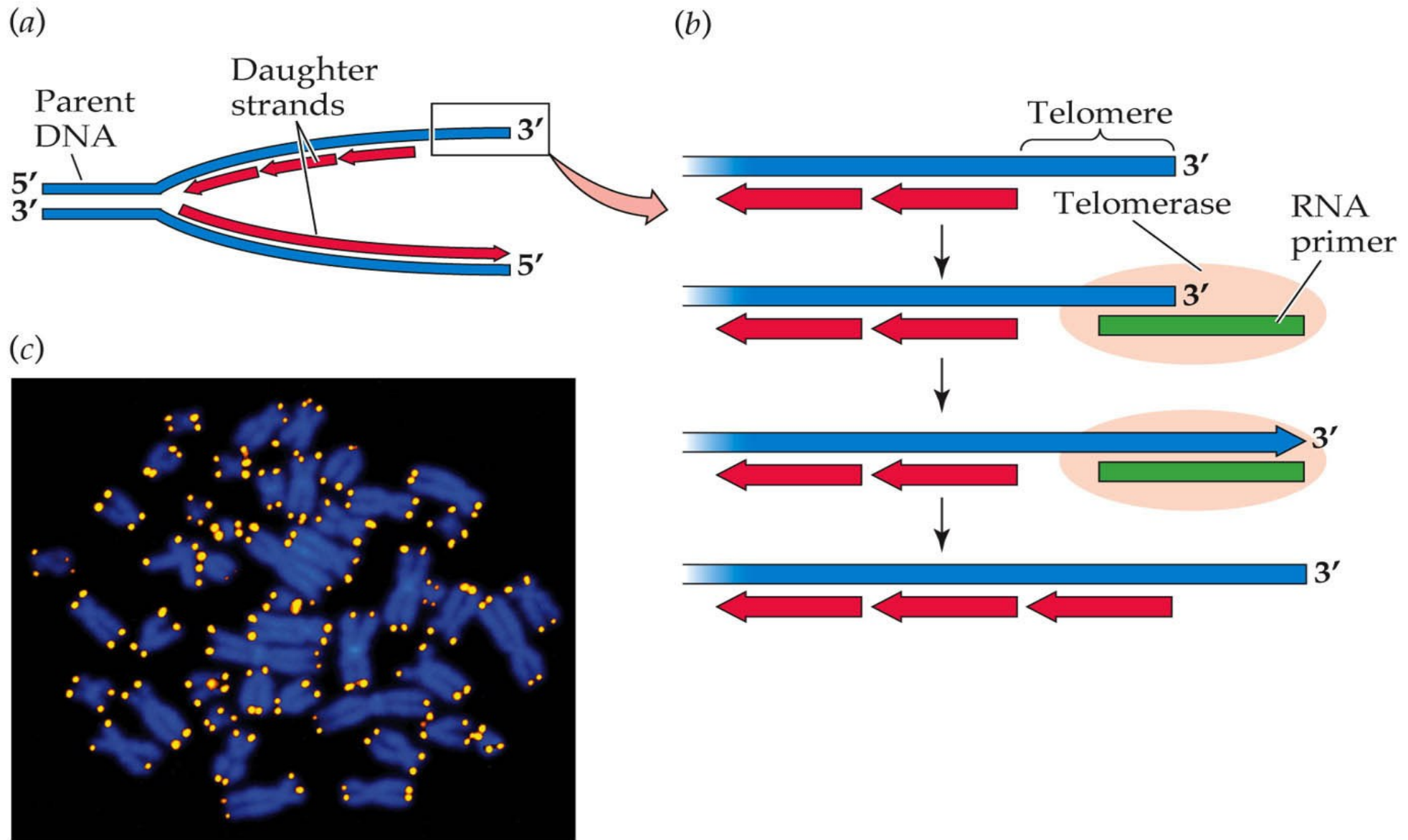
Διατηρεί την πολυμεράση προσδεδεμένη

→ Υψηλή επεξεργασιμότητα



**ΠΙΝΑΚΑΣ 28.4** Βιοχημικές ιδιότητες των κύριων DNA πολυμερασών του ανθρώπου

Εντόπιση και λειτουργία της πολυμεράσης	Υπομονάδες (μάζα σε kD)	Λειτουργία υπομονάδας
DNA πολυμεράση α		
Πυρήνας, εκκίνηση της αντιγραφής του πυρηνικού DNA	180	Καταλυτική υπομονάδα
	68	Αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης
	55	Πριμάση
	48	Πριμάση
DNA πολυμεράση δ		
Πυρήνας, κύρια πολυμεράση στη σύνθεση της καθυστερούσας αλυσίδας, ιδιαίτερα επεξεργαστική	125	Καταλυτική υπομονάδα
	66	Δομική
	50	Αλληλεπίδραση με PCNA
	12	Αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης
DNA πολυμεράση γ		
Πυρήνας, σύνθεση προπορευόμενης αλυσίδας, αισθητήρας ελέγχου του σημείου ελέγχου της βλάβης του DNA	261	Καταλυτική υπομονάδα
	59	Πλειομερισμός
	17	Αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης
	12	Αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης
DNA πολυμεράση γ		
Μιτοχόνδρια, αντιγραφή μιτοχονδριακού DNA	140	Καταλυτική υπομονάδα
	55	Επεξεργαστικότητα
DNA πολυμεράση β		
Επιδιόρθωση DNA	39	



## Τελομερή & τελομεράση

Αφορά ευκαρυώτες (γραμμικά χρωμοσώματα)

- Μετά την απομάκρυνση του τελευταίου RNA εκκινητή
- Δεν μπορεί να αντιγραφεί το 5' άκρο της νεοσυντιθέμενης καθυστερούσας αλυσίδας
  - → Σταδιακή βράχυνση χρωμοσωμάτων

### Τελομεράση — μηχανισμός

Ριβονουκλεοπρωτεϊνικό ένζυμο (περιέχει RNA ως δομικό και λειτουργικό συστατικό)

- Επιμηκώνει το 3' άκρο της μητρικής αλυσίδας (με RNA εκμαγείο)
  - Προσθέτει επαναλήψεις τελομερών
    - Σχηματίζεται νέος εκκινητής
- Συμπλήρωση της απέναντι αλυσίδας με DNA