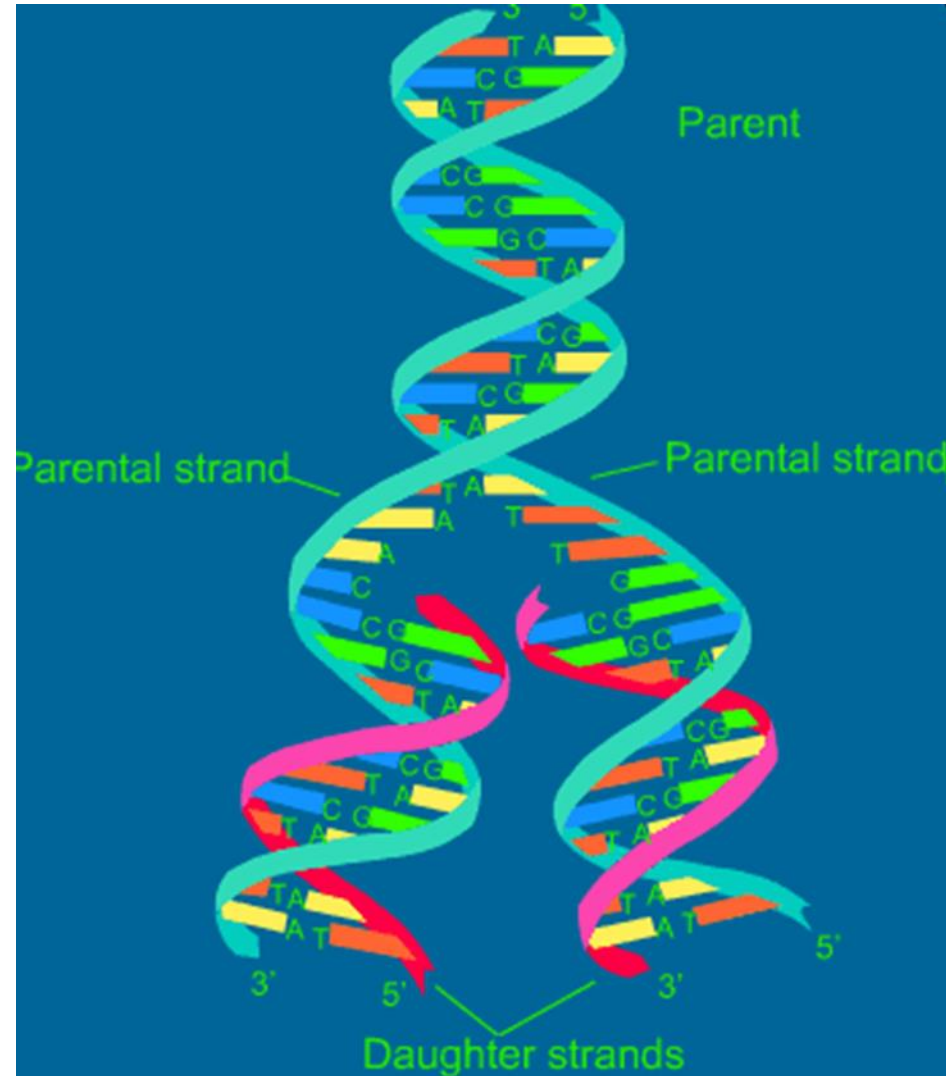
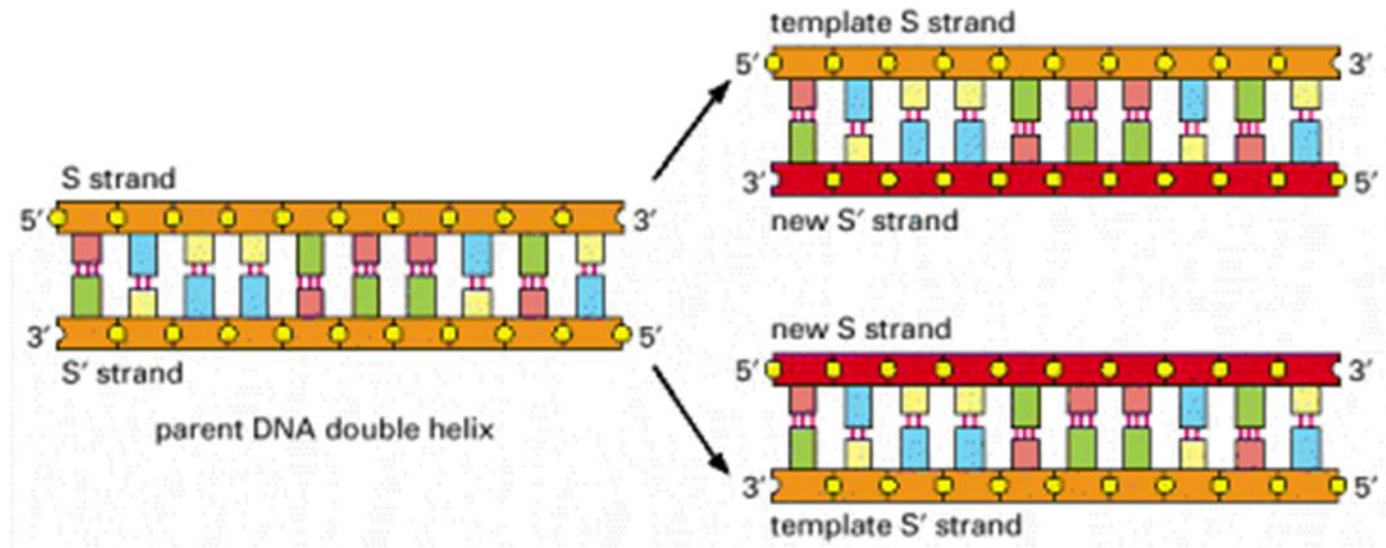


ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ DNA



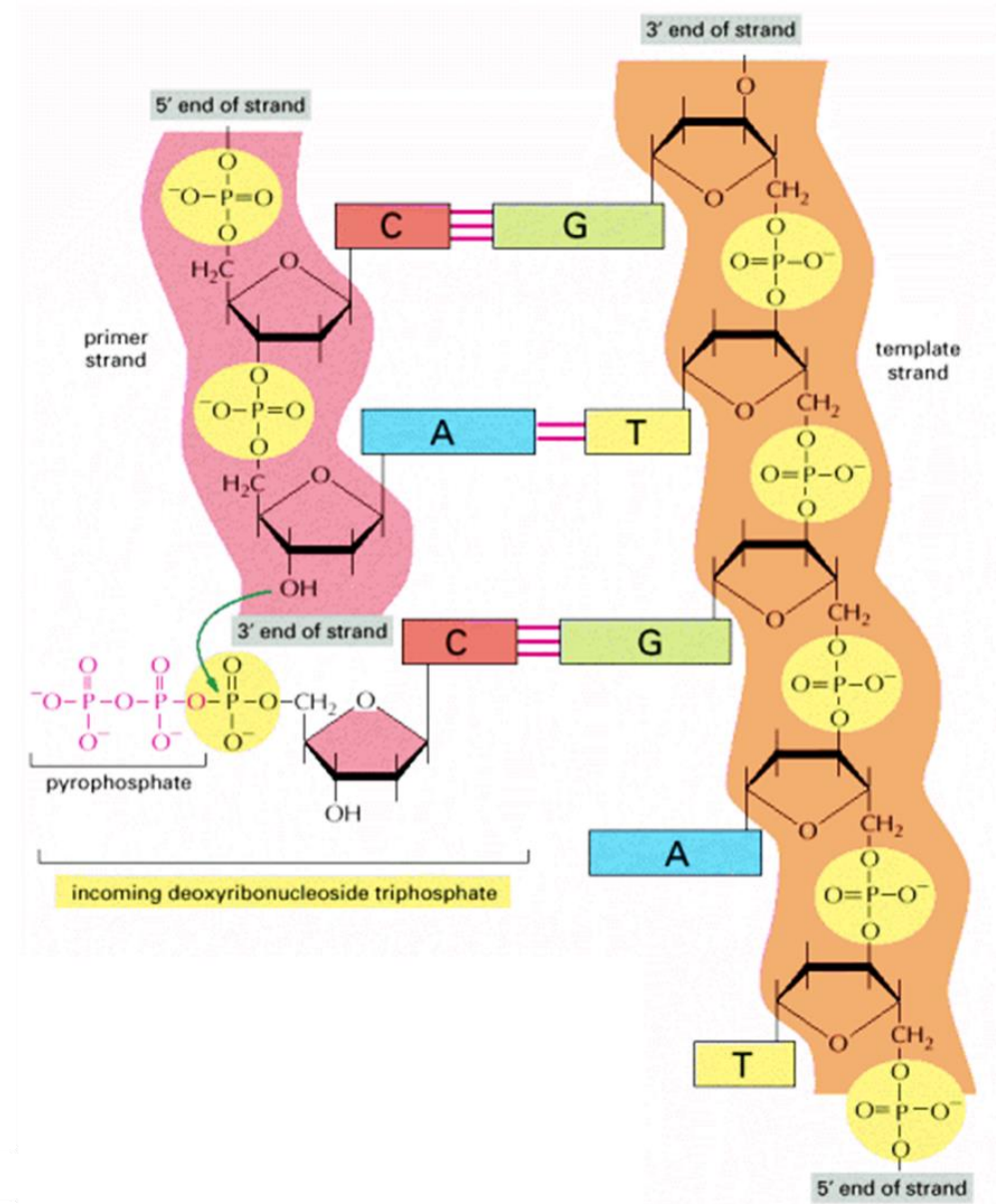
ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ DNA



Ημισυντηρητικός μηχανισμός αντιγραφής

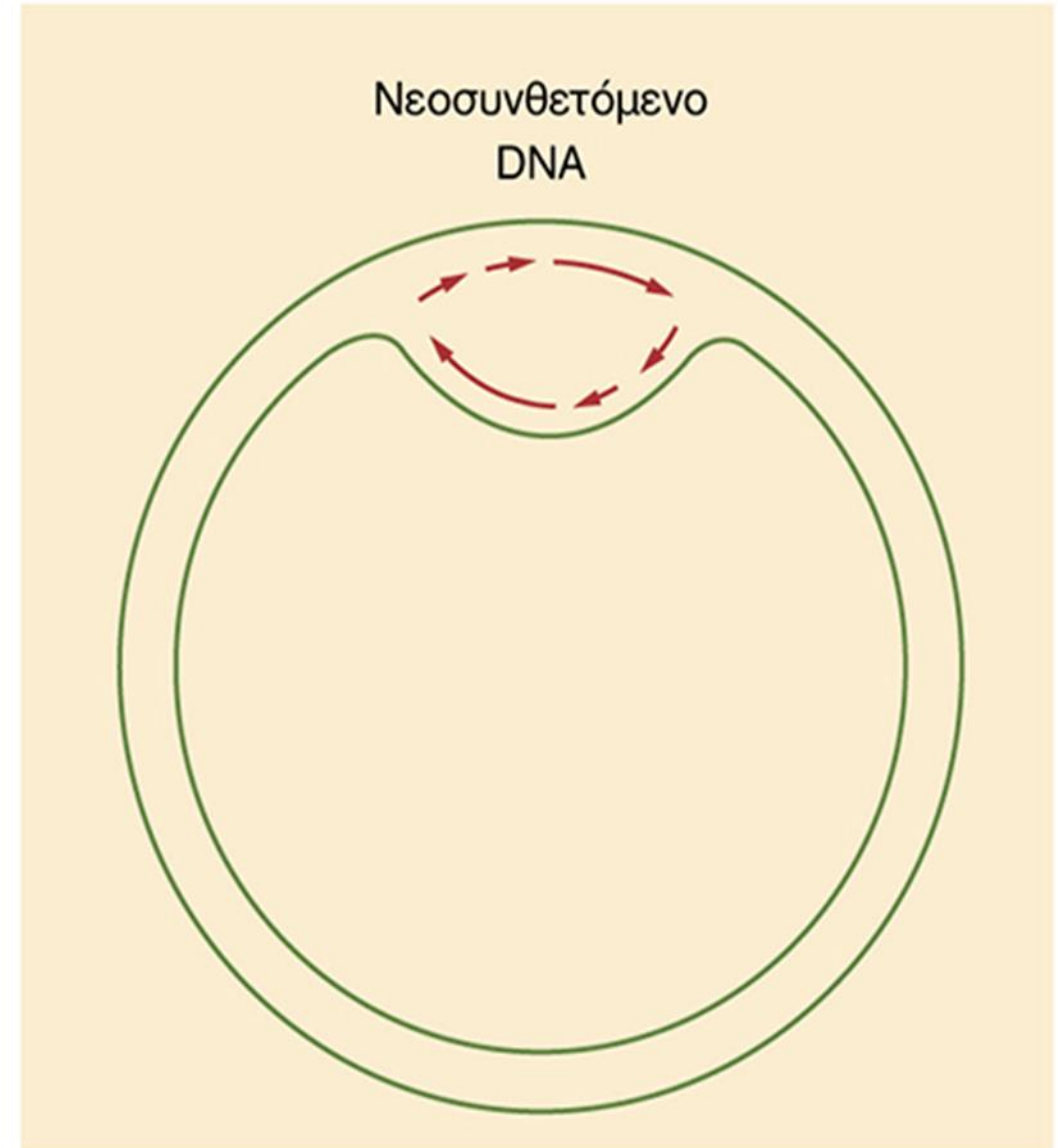
- Κάθε αλυσίδα λειτουργεί σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Έτσι τα δύο θυγατρικά μόρια που προκύπτουν είναι πανομοιότυπα με το μητρικό και καθένα αποτελείται από μια παλιά και μια καινούργια αλυσίδα.

- Η αλυσίδα που έχει κατεύθυνση 3' προς 5' λειτουργεί ως μήτρα
- Η νέα συμπληρωματική (θυγατρική) αλυσίδα συντίθεται με κατεύθυνση 5' προς 3'
- Κάθε νέο νουκλεοτίδιο ενώνεται με τη φωσφορική ομάδα του 5' άνθρακα του με το OH του 3' άνθρακα του προηγούμενου νουκλεοτιδίου

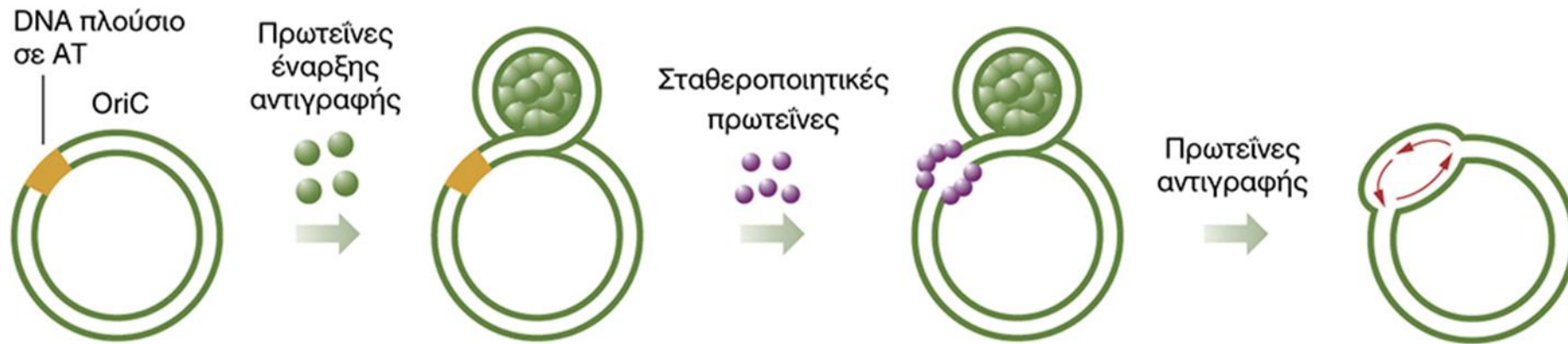


ΘΕΣΗ ΕΝΑΡΞΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ DNA

- Στα πλασμίδια υπάρχουν συγκεκριμένες θέσεις έναρξης αντιγραφής
- Το ίδιο συμβαίνει και στα γραμμικά μόρια DNA όπου η αντιγραφή ξεκινάει από πολλές θέσεις ταυτόχρονα



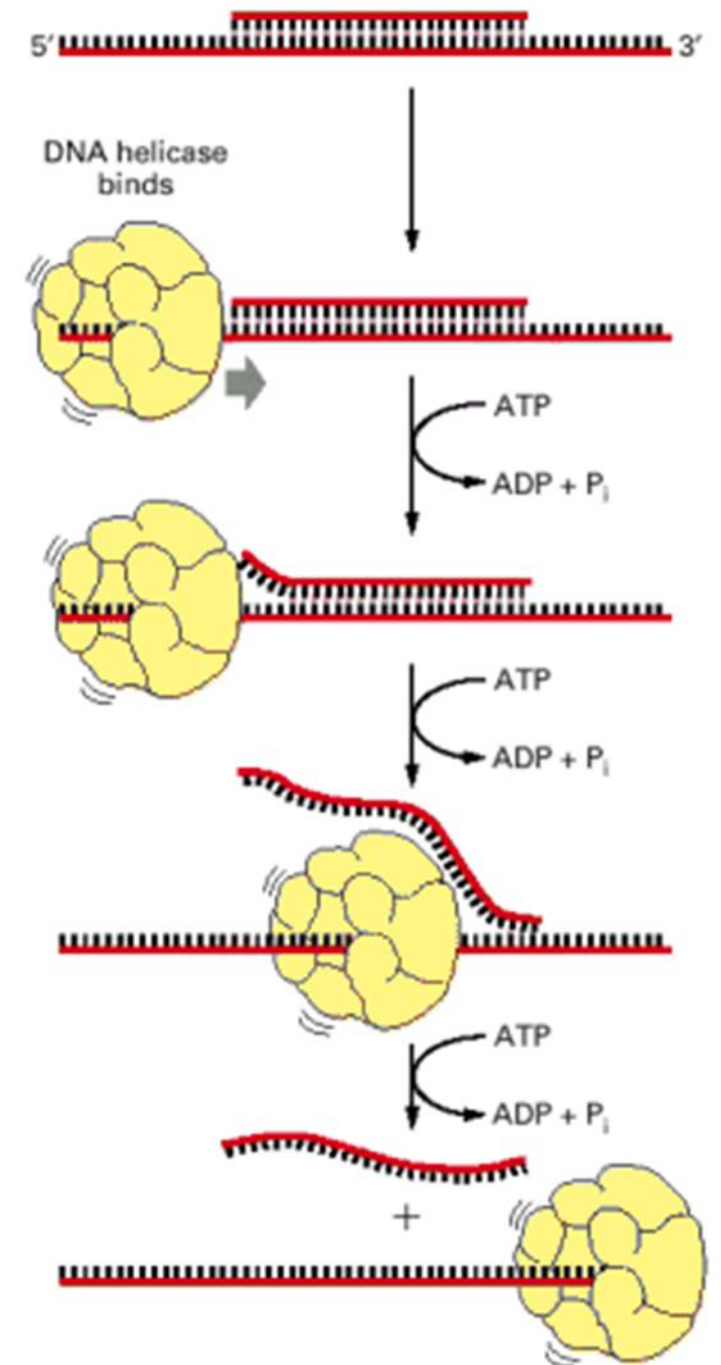
ΘΕΣΗ ΕΝΑΡΞΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ DNA



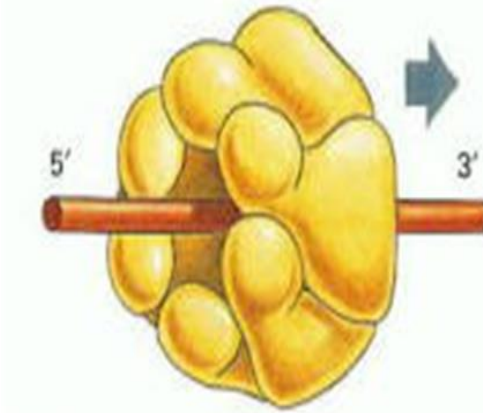
- Οι θέσεις έναρξης αντιγραφής έχουν πιο πολλά ζεύγη A-T
- Τα ζεύγη A-T αποδιατάσσονται πιο εύκολα γιατί έχουν δύο δεσμούς υδρογόνου έναντι των G-C που έχουν τρεις
- Σε αυτές τις θέσεις συνδέονται οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αντιγραφή
- Πρώτα συνδέονται οι πρωτεΐνες που ανοίγουν το DNA

ΕΛΙΚΑΣΗ

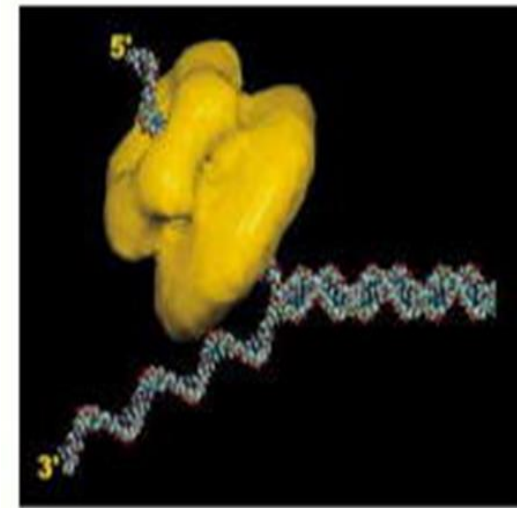
- Η ελικάση συνδέεται στη περιοχή που ανοίγει το DNA
- Κινείται κατά μήκος της διεύθυνσης της αντιγραφής πάνω στη μία αλυσίδα
- Ανοίγει το DNA με ενέργεια που παίρνει από το ATP



- Αποτελείται από 6 υπομονάδες
- Συγκροτούνται στη περιοχή έναρξης αντιγραφής
- Πάνω στην αλυσίδα που ονομάζεται συνοδός κλώνος
- Κινείται σε κατεύθυνση 5' -3' με την ενέργεια από ATP σπάει τους δεσμούς H και χωρίζει τις δύο αλυσίδες σε μονόκλωνες



(A)

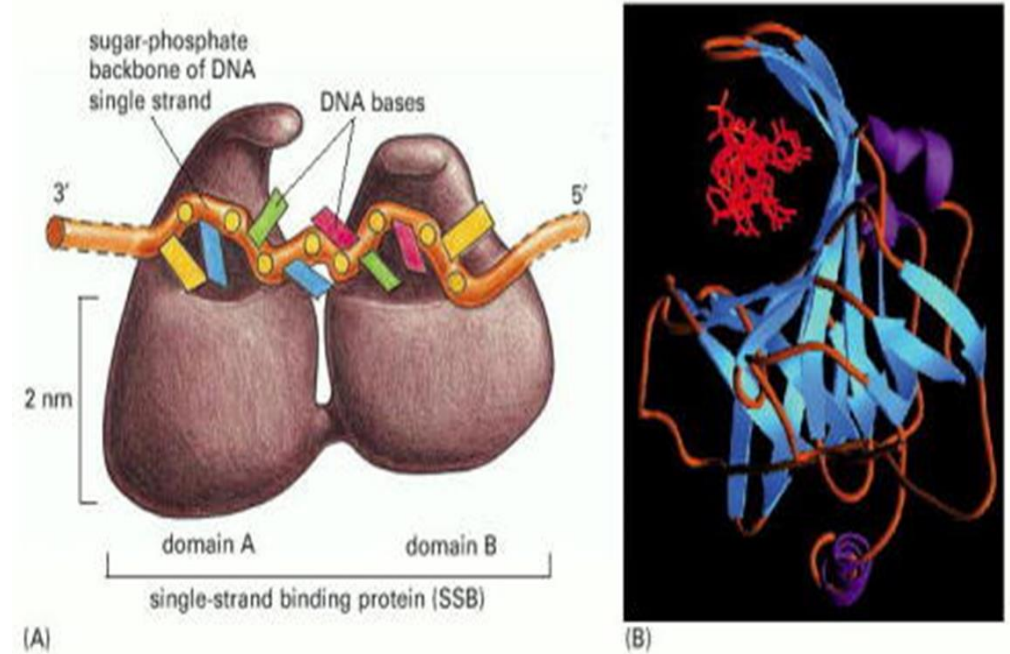
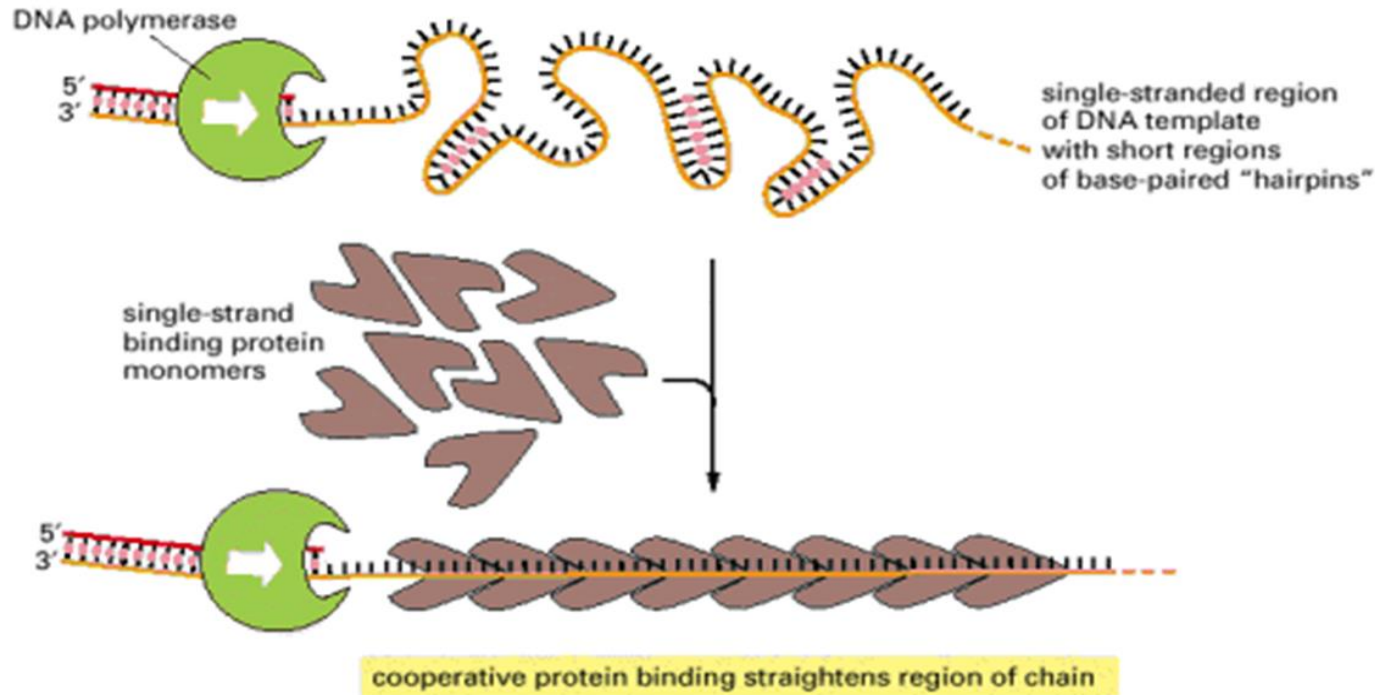


(B)



(C)

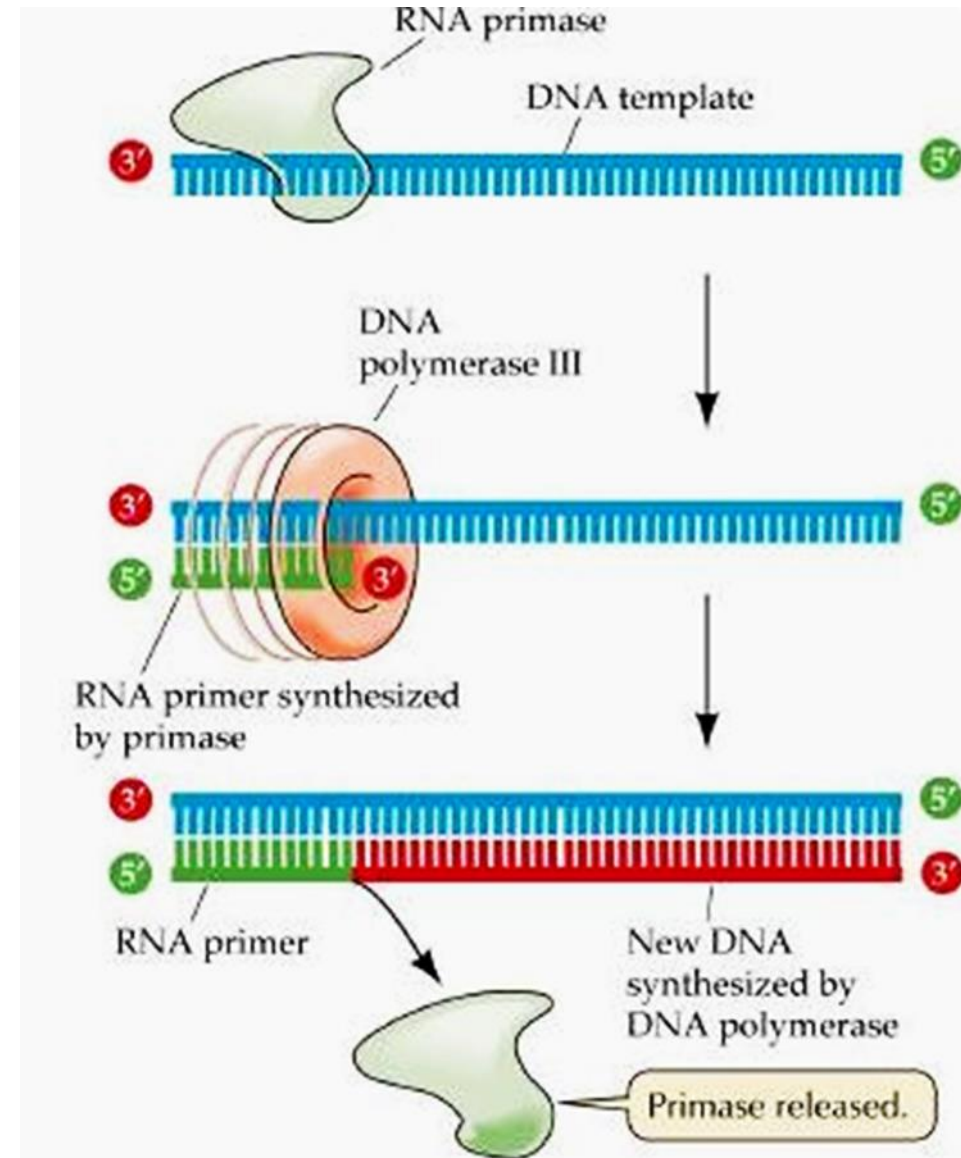
ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΠΟΥ ΔΕΣΜΕΥΟΝΤΑΙ ΣΕ ΜΟΝΟΚΛΩΝΟ DNA, SSB PROTEINS



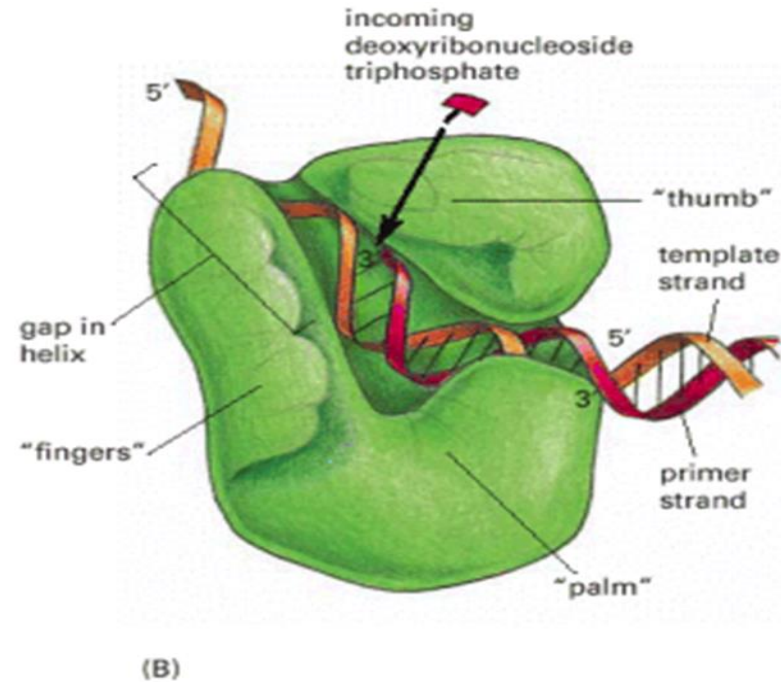
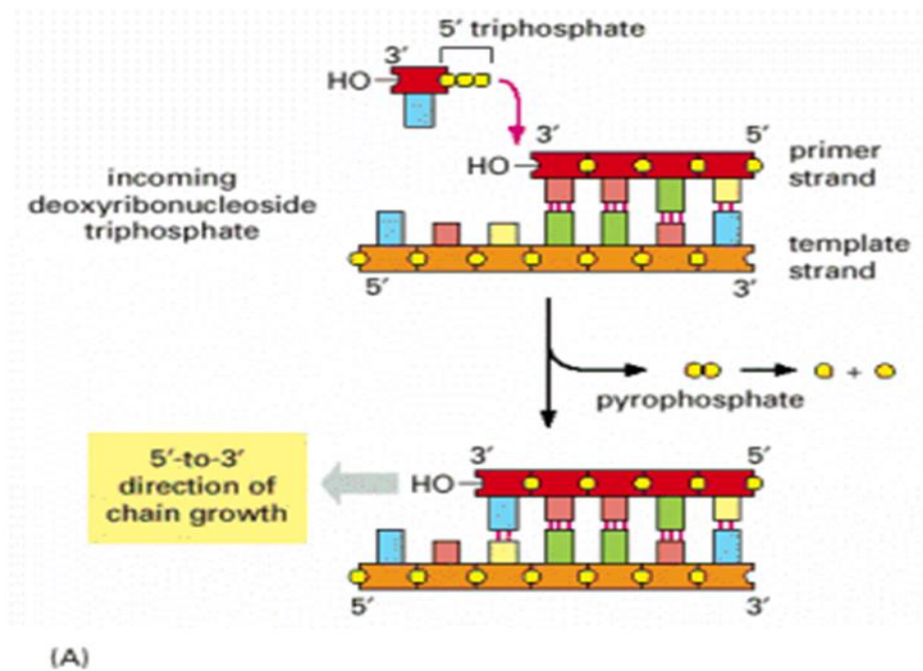
- Για μη ζευγαρώσουν μεταξύ τους τα μονόκλωνα συμπληρωματικά τμήματα του DNA (Φουρκέτες) πάνω τους ενώνονται πρωτεΐνες που ονομάζονται SSB (Single Strand Binding proteins)
- Αυτό γίνεται γιατί οι DNA πολυμεράσες δεν μπορούν να προχωρήσουν σε δίκλωνα τμήματα

ΠΡΙΜΟΣΩΜΑ=ΕΝΑΡΚΤΗΡΙΑ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ, RNA ΠΡΙΜΑΣΗ

- Η DNA πολυμεράση δεν μπορεί να ξεκινήσει τη αντιγραφή σε μονόκλωνο DNA
- Η RNA πριμάση συνθέτει ένα RNA ολιγονουκλεοτίδιο με τους κανόνες συμπληρωματικότητας το εναρκτήριο τμήμα που μαζί με τη πριμάση κάνει το πριμόσωμα
- Μετά απομακρύνεται η πριμάση και συντίθεται DNA από την DNA πολυμεράση συνδέοντας ένα δεοξυνουκλεοτίδιο σε ριβονουκλεοτίδιο

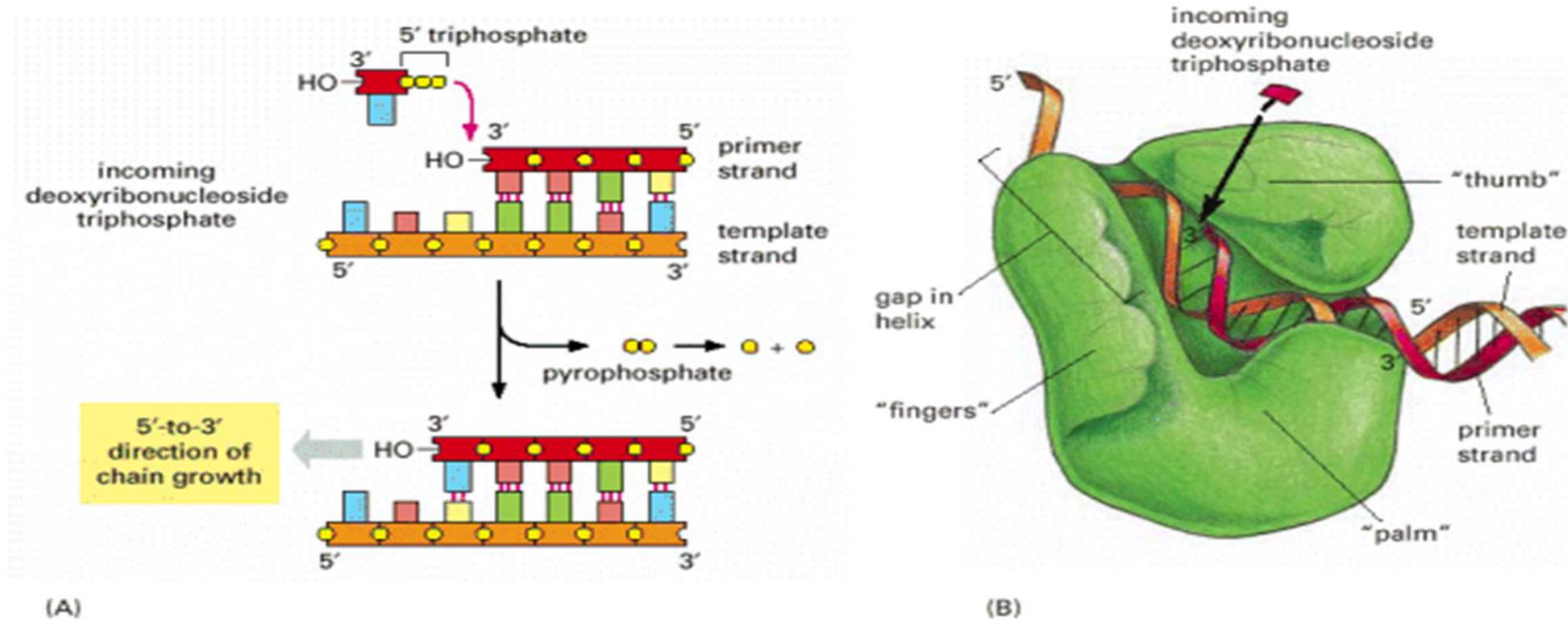


DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ DNA pol III (I, II)

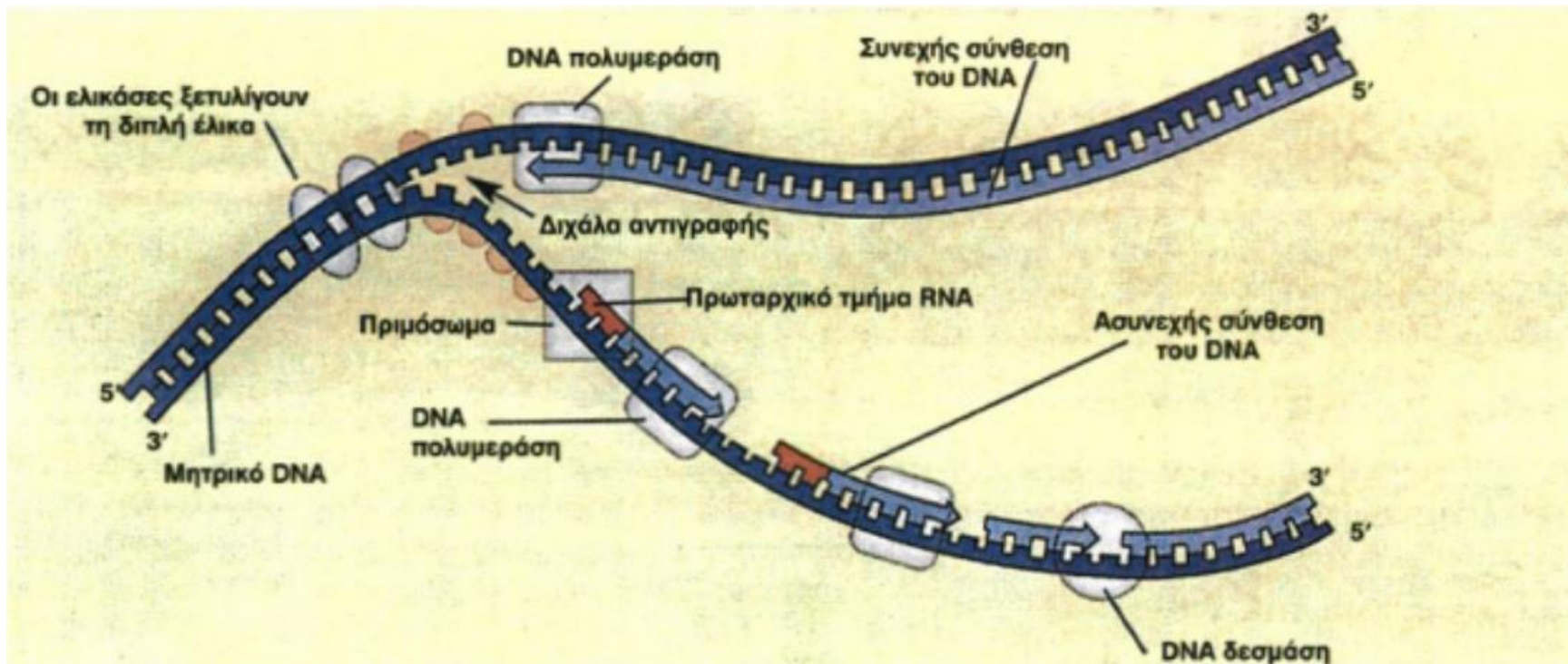


- Η DNA πολυμεράση αγκαλιάζει την αλληλουχία του DNA στο ενεργό κέντρο
- Εκεί υπάρχει το μονόκλωνο DNA, η άκρη του δίκλωνου DNA και το νέο τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο

DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ DNA pol III (I, II)



- Το νέο συμπληρωματικό τριφωσφορικό νουκλεοτίδιο προστίθεται στο OH του 3' άνθρακα
- Τα δύο από τα τρία φωσφορικά του 5' άνθρακα διασπώνται και με την ενέργεια που εκλύεται δημιουργείται ο φωσφοδιεστερικός δεσμός



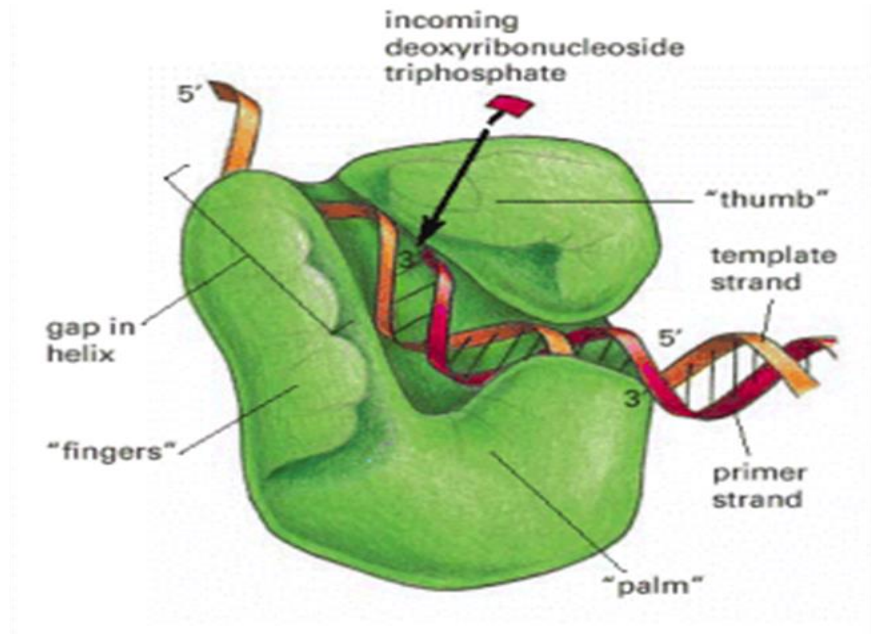
- Στη μία αλυσίδα (3' προς 5') η αντιγραφή γίνεται συνεχής
- Στην άλλη αλυσίδα η αντιγραφή γίνεται ασυνεχής με νέα τμήματα DNA που ονομάζονται θράσματα Okazaki

DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗ

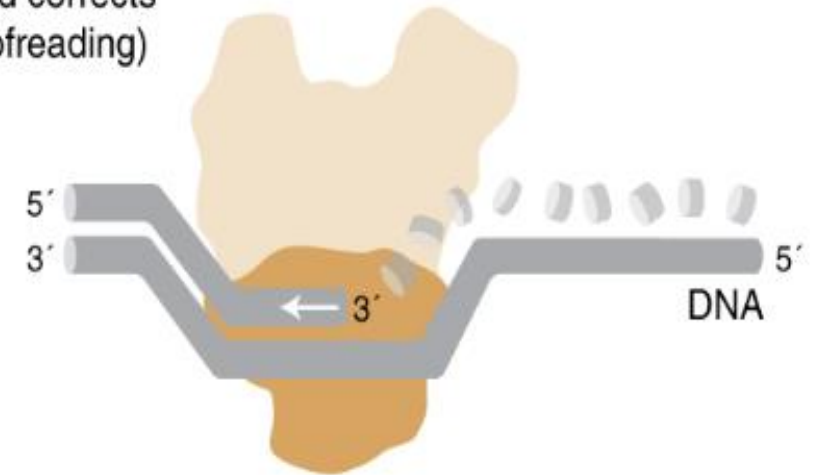
DNA pol III

λειτουργία εξονουκλεάσης

- Η DNA πολυμεράση III έχει και την λειτουργία εξονουκλεάσης
- Διορθώνει λάθη που έχει ήδη κάνει ελέγχοντας το προηγούμενο νουκλεοτίδιο με το κανόνα της συμπληρωματικότητας, έχει εξονουκλεοτιδική δράση

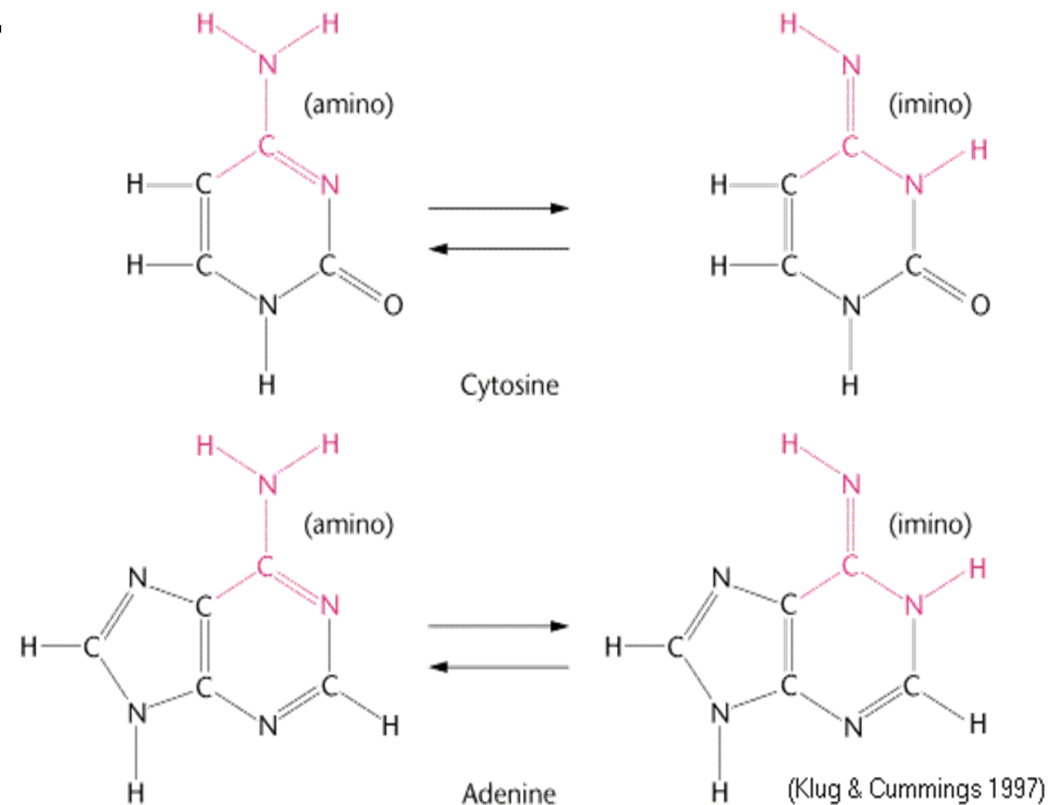


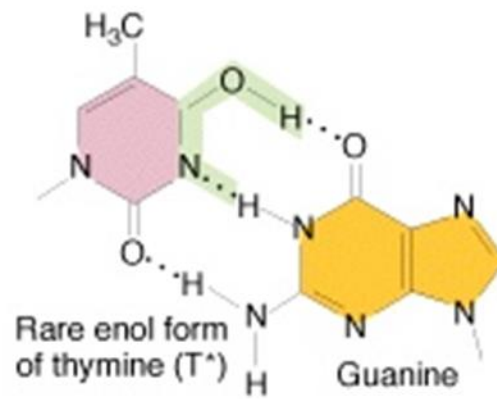
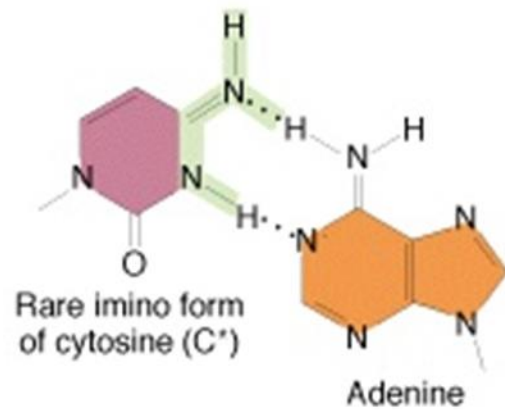
3'→5' exonuclease
Digests 3'→5' and corrects mismatches (proofreading)



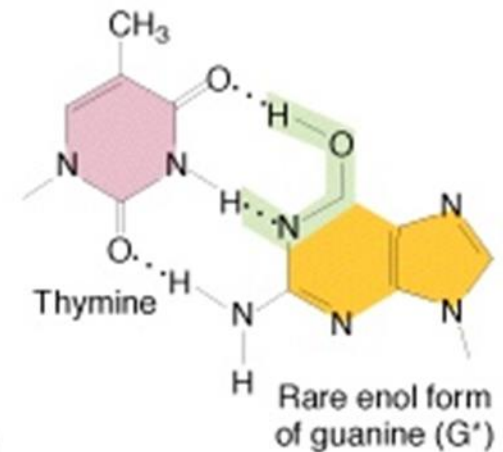
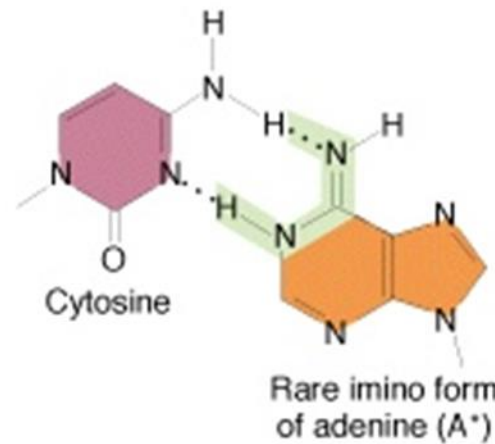
Αλλαγές στα νουκλεοτίδια που μπορούν να δημιουργήσουν λάθος στο ζευγάρωμα

- C-G τρεις δεσμούς υδρογόνου
- Όταν η C με μετάπτωση από την άμινο μορφή μπορεί να μετατραπεί σε ίμινο μορφή με αυθόρμητη μετακίνηση ηλεκτρονίου
- Το ίδιο μπορεί να συμβεί και στην αδενίνη





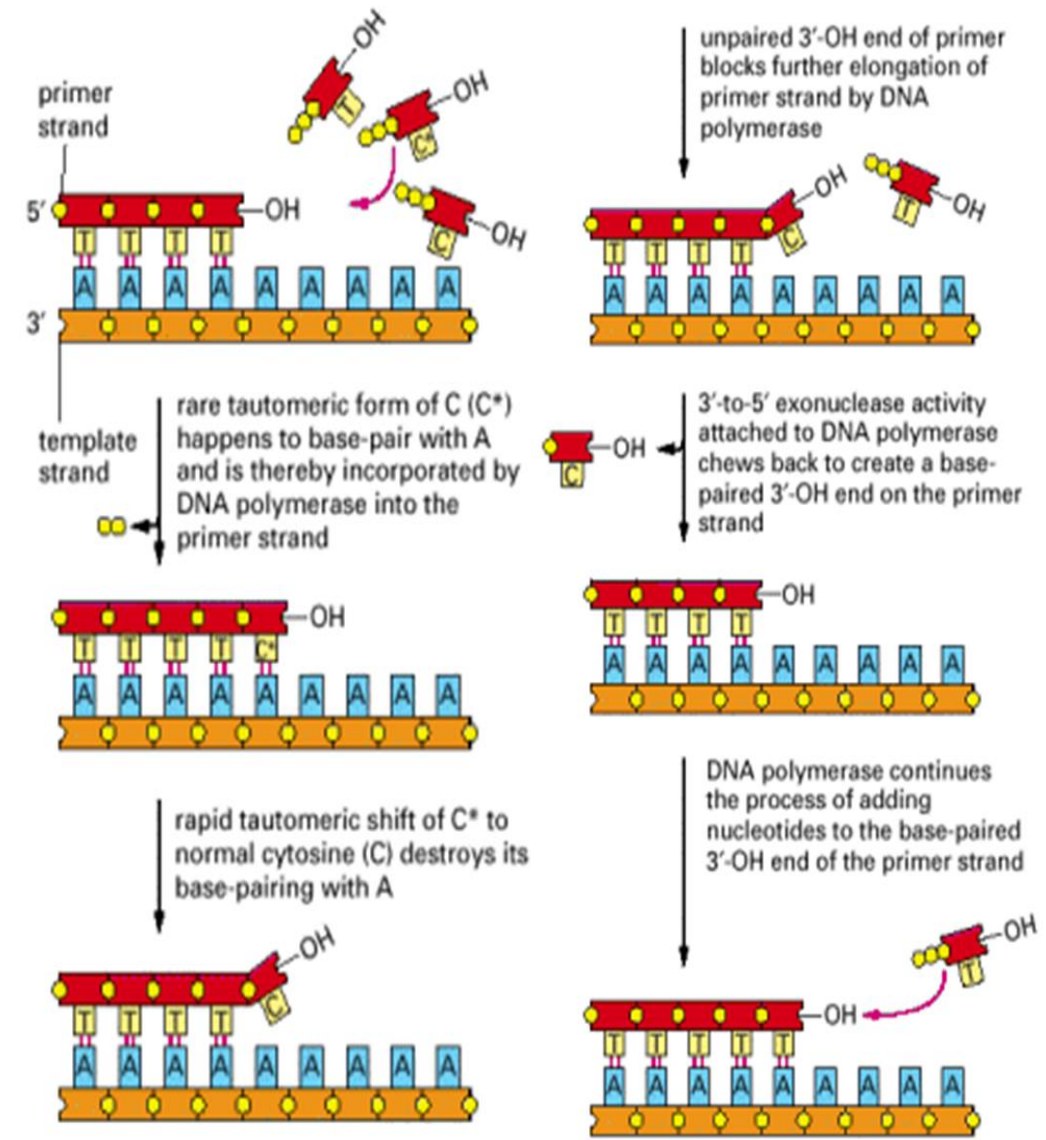
(a)

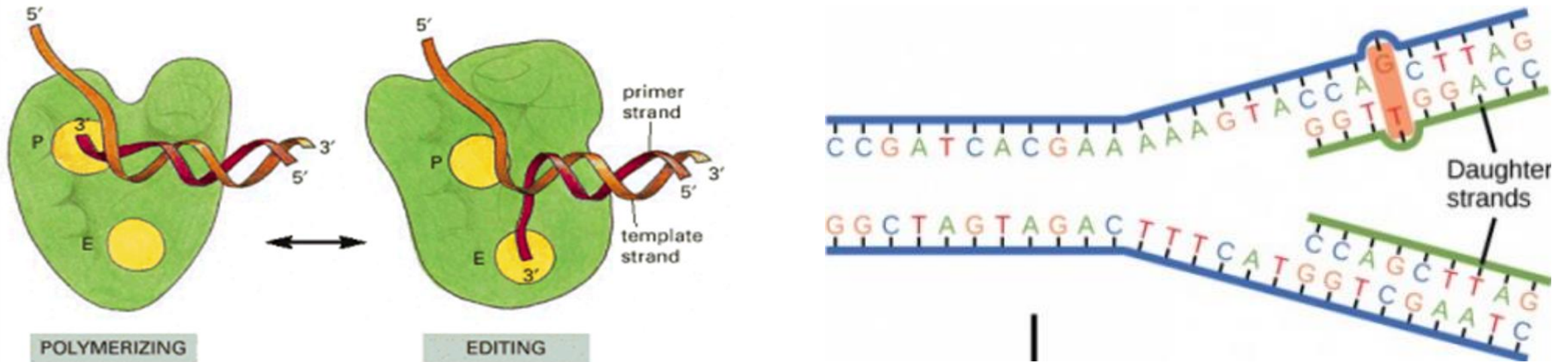


(b)

- Οπότε η ίμινο κυτοσίνη μπορεί να κάνει δύο δεσμούς H με την αδενίνη και η ένολο θυμίμη με την γουανίνη (πουρίνη με πυριμιδίνη)
- Οι δεσμοί αυτοί έχουν τις σωστές διαστάσεις και η DNA πολυμεράση δεν αντιλαμβάνεται τη διαφορά

- Ωστόσο αυτά τα λανθασμένα ζευγαρώματα σπάνια καταλήγουν σε μεταλλάξεις
- Η ίμινο μορφή της κυτοσίνη γρήγορα μεταπίπτει σε κανονική κυτοσίνη
- Και επειδή η πολυμεράση έχει και δράση εξονουκλεάσης αναγνωρίζει τη λάθος ζεύγος
- Αντικαθιστά το λάθος νουκλεοτίδιο με το σωστό

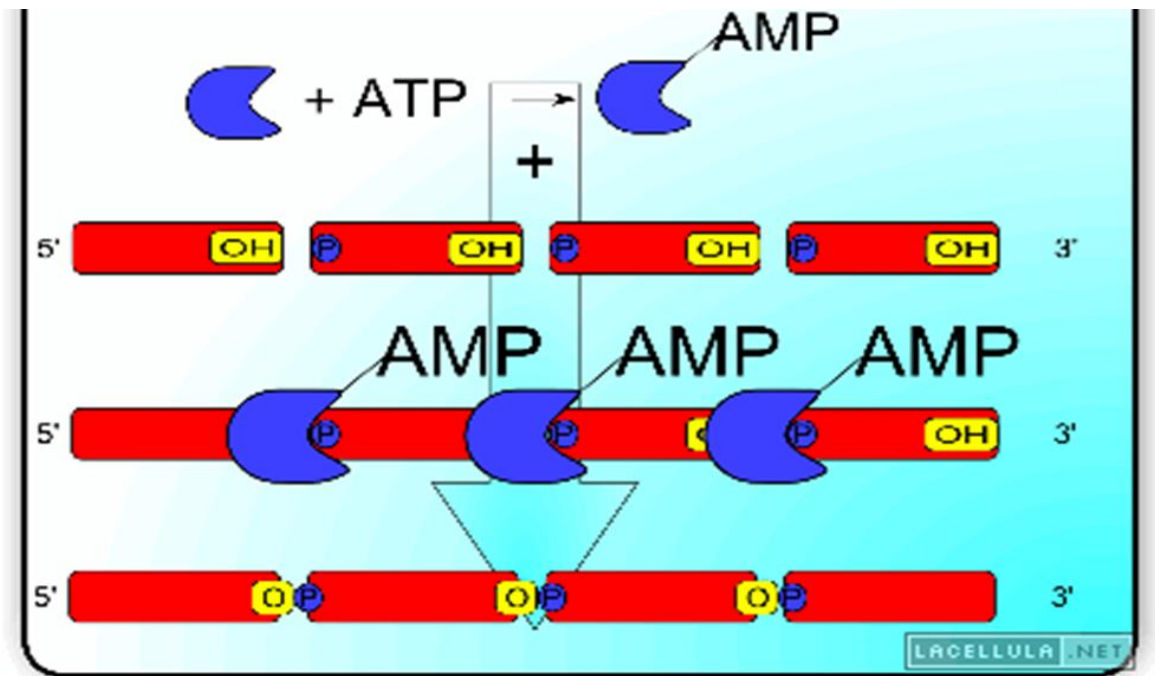
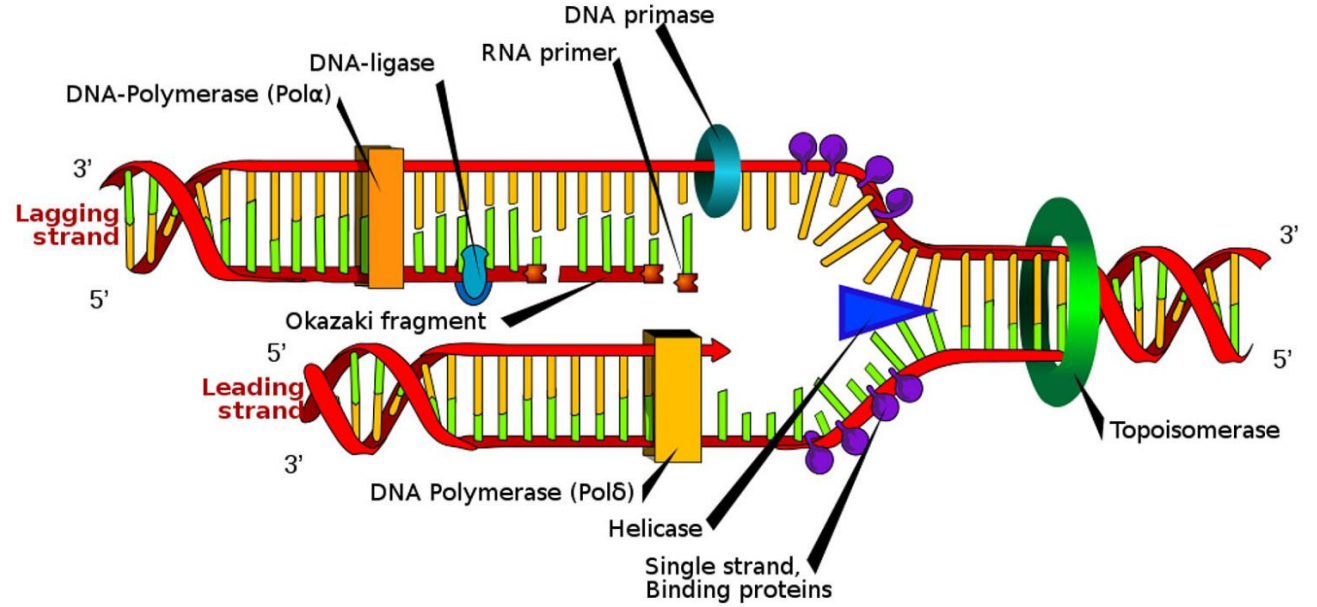




- Για να δράσει η πολυμεράση ως εξωνουκλεάση θα πρέπει το τελευταίο 3' άκρο να είναι μονόκλωνο ώστε να κάνει γωνία και να πάει στο ενεργό κέντρο της εξωνουκλεάσης
- Αν η λάθος μορφή του νουκλεοτιδίου δεν μεταπίπτει και προστεθεί και άλλο νουκλεοτίδιο στη σειρά τότε δεν μπορεί η εξωνουκλεάση να αναγνωρίσει το λάθος νουκλεοτίδιο και να το αντικαταστήσει

ΛΙΓΑΣΕΣ

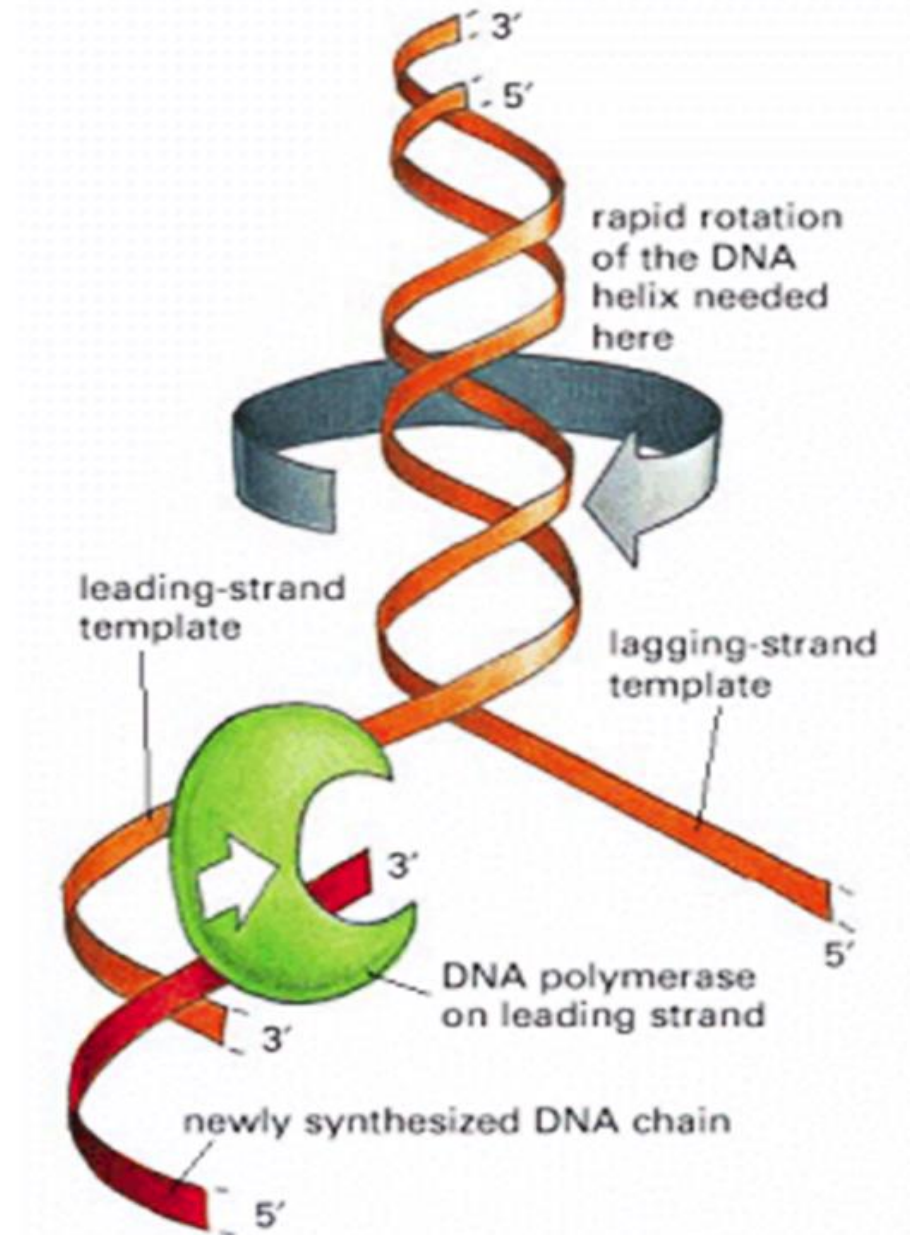
- Η αντιγραφή ξεκινάει από πολλά σημεία ταυτόχρονα στο κλώνο που αντιγράφεται ασυνεχώς 5' -3' αλλά και στον κλώνο που αντιγράφεται συνεχώς 3' -5'
- Η δράση της πολυμεράσης I ως εξωνουκλεάσης 5' έως 3' αφαιρεί τα ριβονουκλεοτίδια από τα 5' άκρα των θραυσμάτων Okazaki, και τα αντικαθιστά με δεόξυνουκλεοτίδια (στα προκαρυωτικά)
- Υπάρχουν ένζυμα που λέγονται λιγάσες που καταλύουν την δημιουργία φωσφοδιεστερικού δεσμού μεταξύ του 3' OH και 5' φωσφορικής ομάδας
- Η αντίδραση αυτή παίρνει ενέργεια από το ATP



ΤΟΠΟΪΣΟΜΕΡΑΣΕΣ

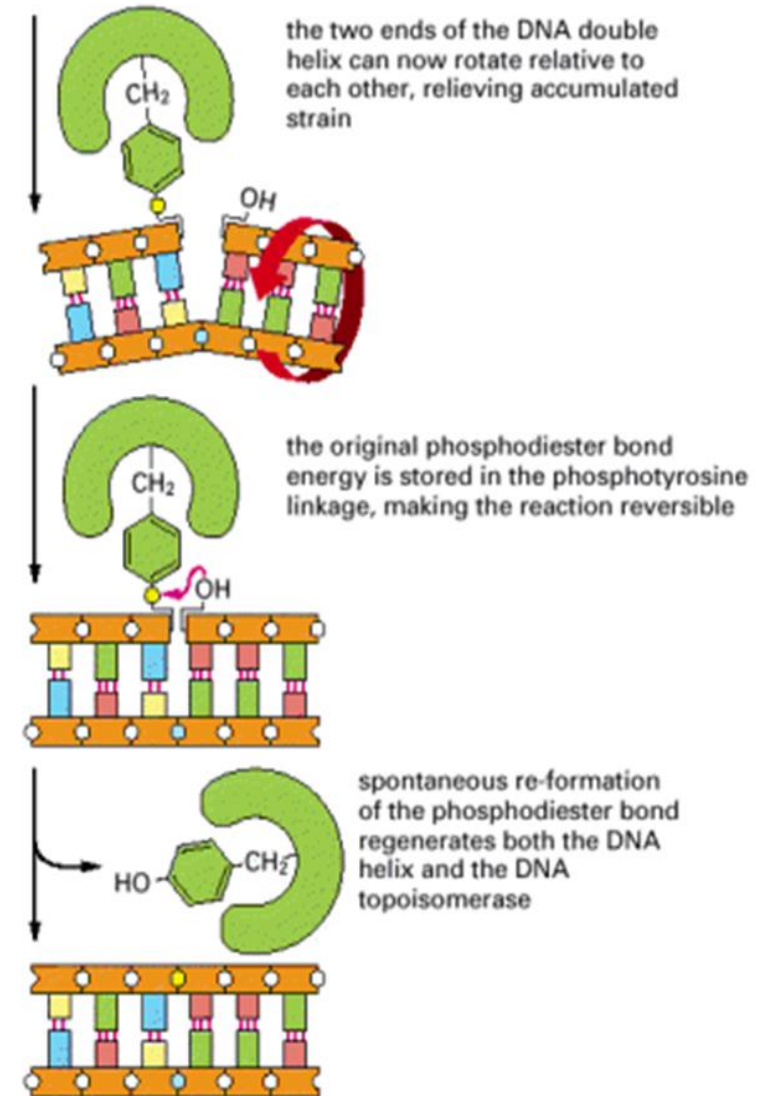
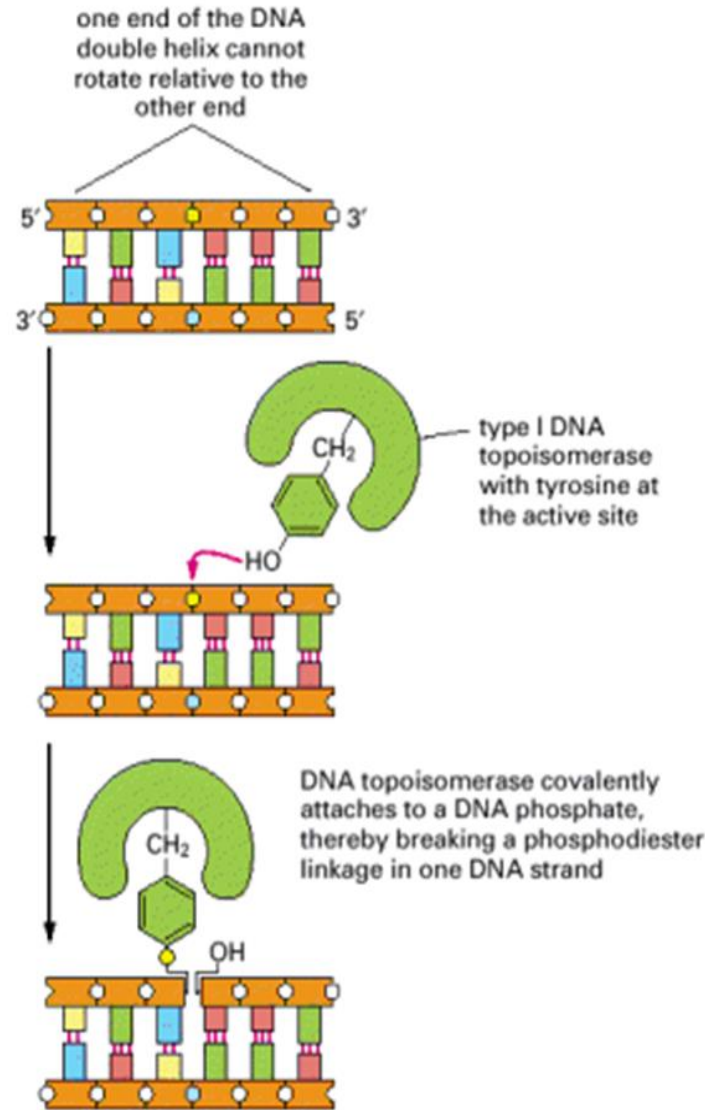
- Καθώς οι ελικάσες ανοίγουν τη διπλή έλικα η αλυσίδα του DNA παρακάτω συστρέφεται και δημιουργούνται υπερελικώσεις
- Οι υπερελικώσεις αυτές ανακουφίζονται από ένζυμα που λέγονται τοποϊσομεράσες

<https://www.youtube.com/watch?v=EYGrElVyHnU>



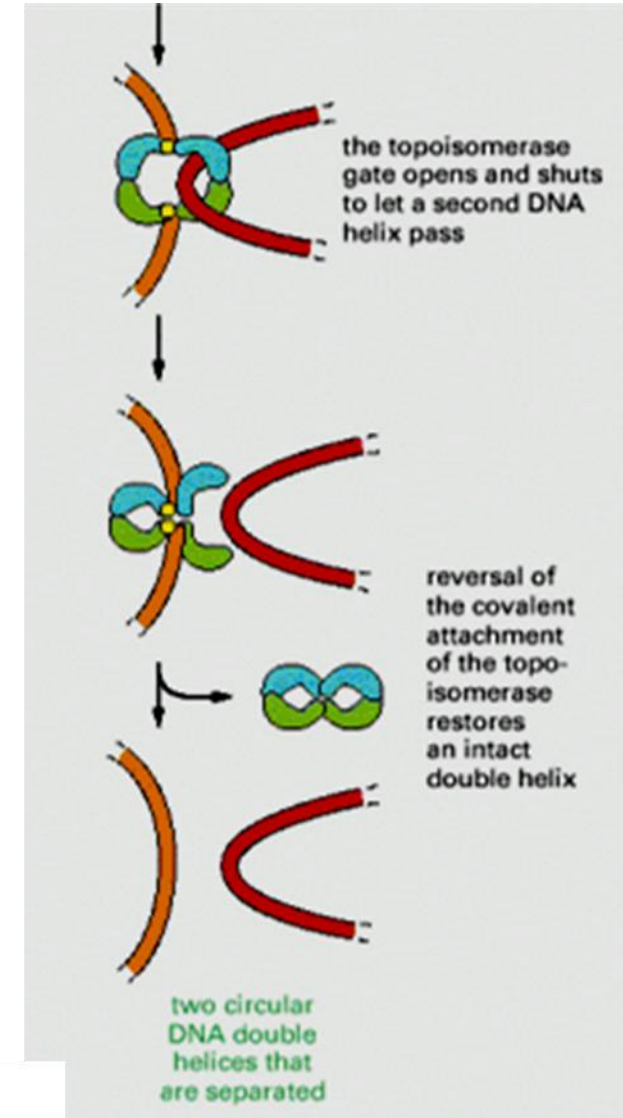
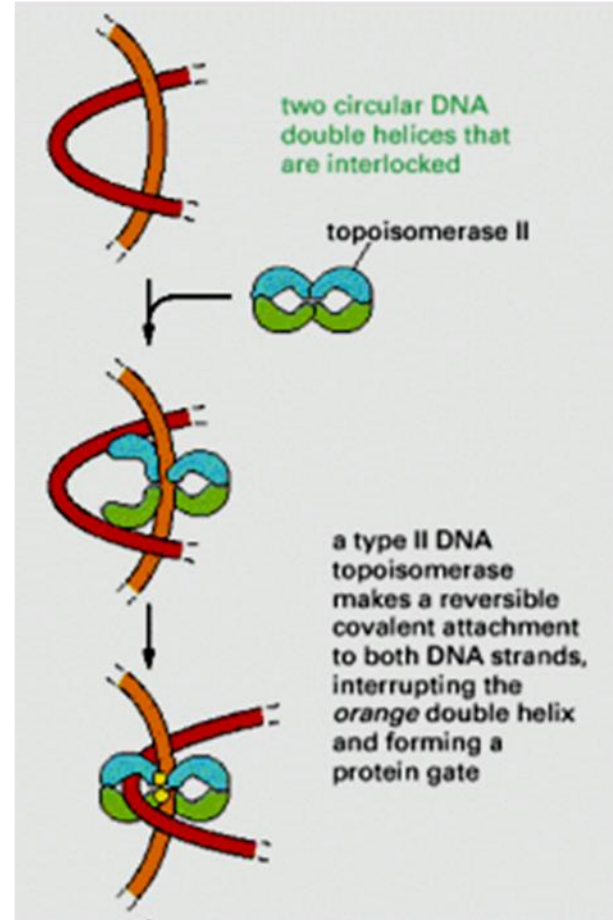
ΤΟΠΟΪΣΟΜΕΡΑΣΗ Ι

- Η τοποΐσομεράση Ι σπάει το φωσφοδιεστερικό δεσμό στη μια από τις δύο αλυσίδες
- Υπάρχει μία τυροσίνη στο ενεργό κέντρο του ενζύμου
- Το OH της τυροσίνης αντικαθιστά το 3' OH και σπάει ο φωσφοδιεστερικός δεσμός
- Όταν ανακουφιστούν οι υπερελικώσεις η τυροσίνη απομακρύνεται και αποκαθίσταται ο φωσφοδιεστερικός δεσμός αυθόρμητα χωρίς κατανάλωση ενέργειας



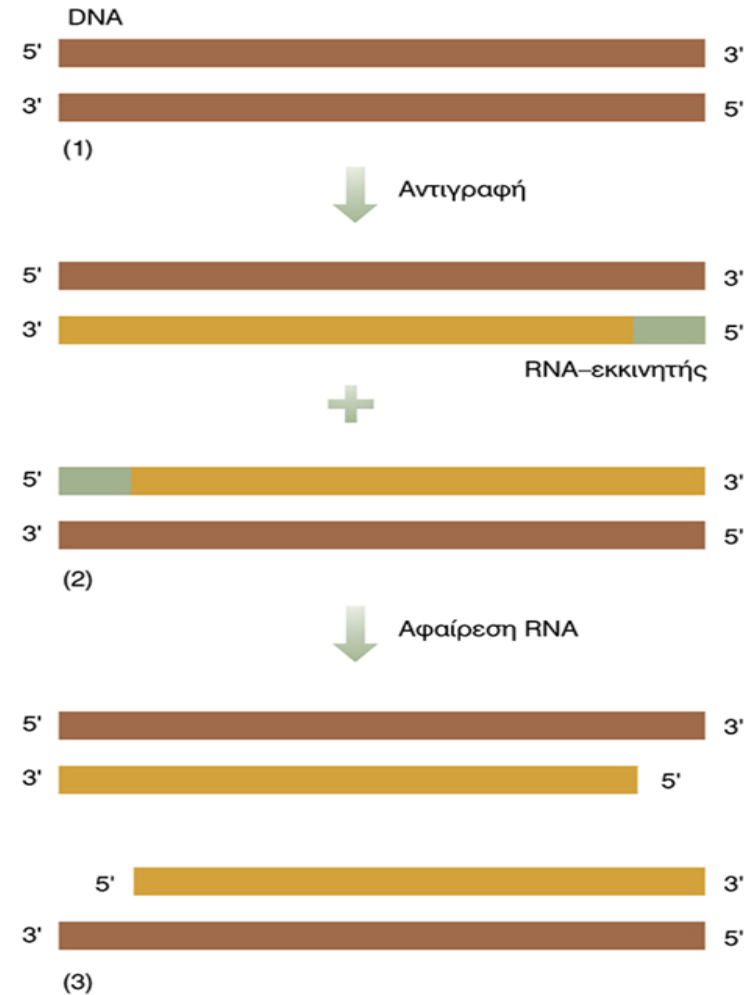
ΤΟΠΟΪΣΟΜΕΡΑΣΗ II

- Όταν 2 δίκλωνοι κλώνοι DNA έχουν μπλεχτεί μεταξύ τους
- Η τοποϊσομεράση II κόβει τους δύο κλώνους της μίας αλυσίδας και αφού την απομακρύνει από την άλλη τους ενώνει ξανά. Για αυτή τη διαδικασία χρειάζεται ενέργεια από το ATP.



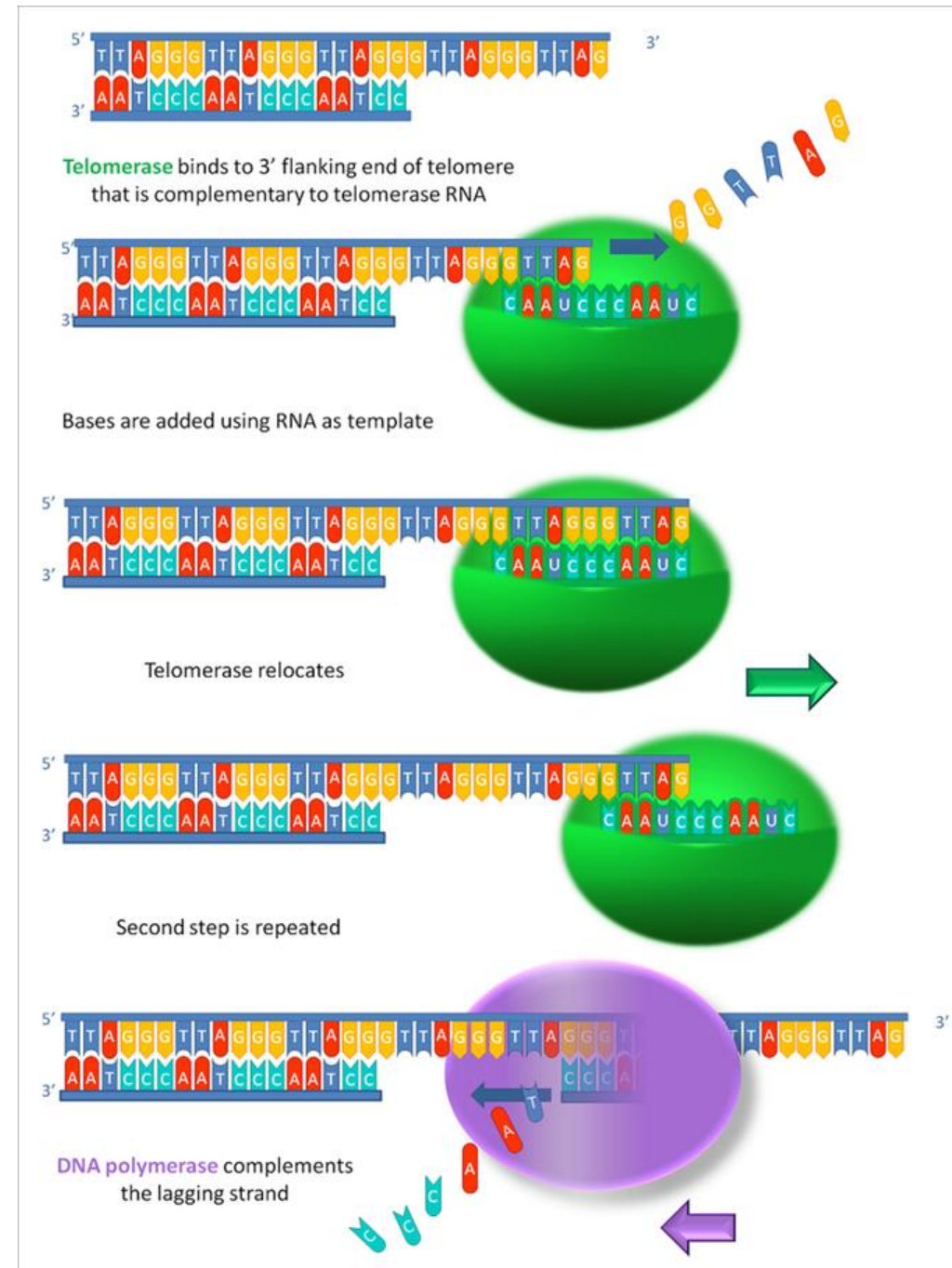
ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ - ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗ

- Στην άκρη του μονόκλωνου όταν αντιγράφεται η 3' - 5' αλυσίδα συνεχώς, μένει κενό εκεί που φεύγει το RNA ολιγονουκλεοτίδιο εκκινητής
- Το DNA σε αυτό το σημείο μένει μονόκλωνο
- Το μονόκλωνο αυτό τμήμα αν παραμείνει, κόβεται από ειδικά ένζυμα εξωνουκλεάσες και έτσι μικραίνει ο κλώνος



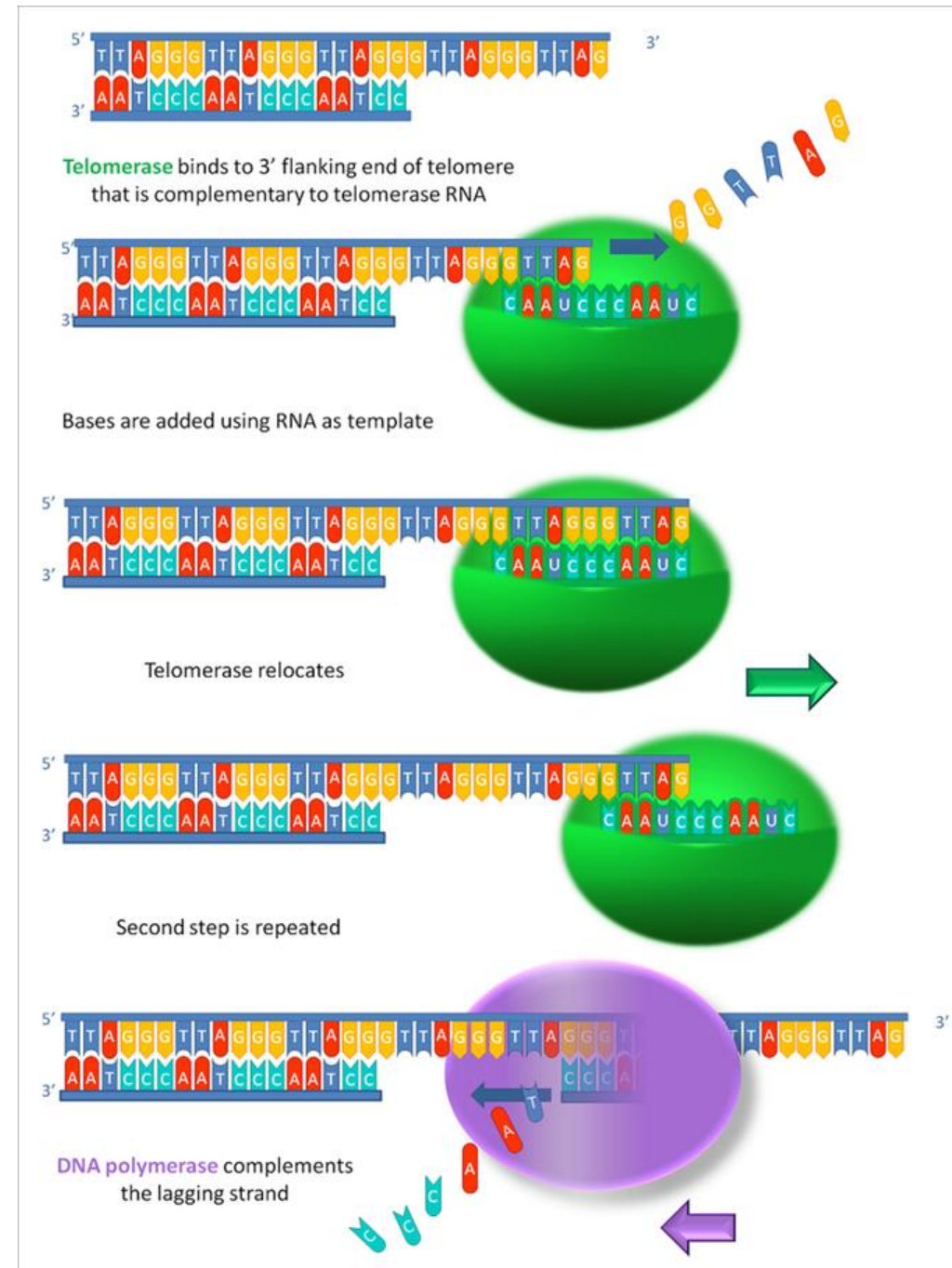
ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ - ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗ

- Η τελομεράση είναι ένα ένζυμο που συνδέεται με ένα μονόκλωνο συμπληρωματικό RNA στο μονόκλωνο άκρο αυτών των αλυσίδων
- Δρα ως αντίστροφη μεταγραφάση και επεκτείνει αυτό το μονόκλωνο άκρο με αντιγραφή



ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ - ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗ

- Μετά γίνεται αντιγραφή αυτού του άκρου από την DNA πολυμεράση
- Ωστόσο το μονόκλωνο DNA που μένει τώρα μετά την απομάκρυνση του RNA ολιγονουκλεοτίδιου εκκινητή είναι πρόσθετο και δεν δημιουργεί πρόβλημα όταν απομακρύνεται από τις εξωνουκλεάσες
- <https://www.youtube.com/watch?v=2NS0jBPurWQ>



Ενδεικτικές ερωτήσεις

- Γιατί λέμε ότι η αντιγραφή του DNA είναι ημισυντηρητική; Δώστε πειραματικά δεδομένα υπέρ αυτής της άποψης.
- Ποιες πρωτεΐνες συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA; Ποια η λειτουργία τους;
- Τι είναι ο συνεχής και τι ο ασυνεχής κλώνος DNA; Τι τα θραύσματα Okazaki;
- Γιατί λέμε ότι η κατεύθυνση της αντιγραφής είναι πάντα 5' → 3';