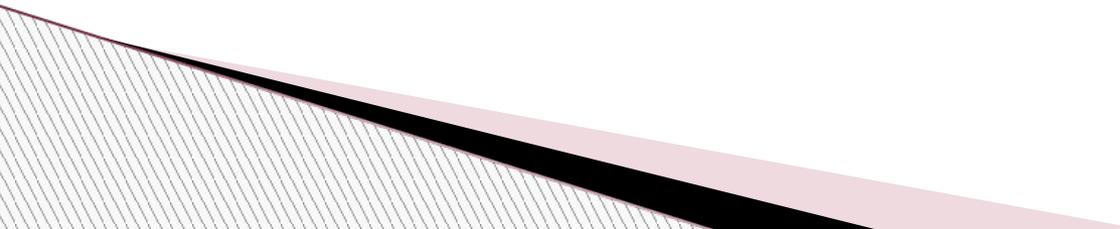


Биосинтез нуклеиновых кислот (анаболизм).

Репликация.



План характеристики процессов репликации и транскрипции

- 1. Суть, значение
 - 2. Исходный материал, матричная схема. Фермент (ферменты).
 - 3. Механизм. Направление синтеза дочерней цепи.
 - 4. Этапы. Рассказ о механизме поэтапно.
 - 5. Особенности процесса у эукариот.
- 

Репликация ДНК.

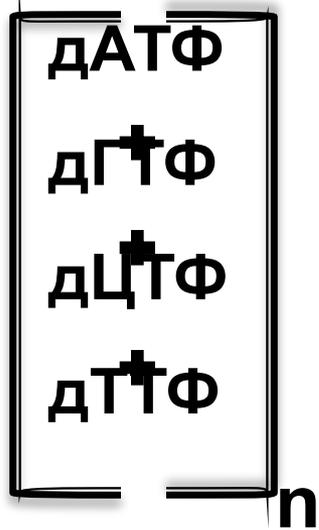
РЕПЛИКАЦИЯ (от позднелат. replicatio - повторение) (редупликация), самовоспроизведение ДНК обеспечивающее точное копирование генетической информации и передачу ее от поколения к поколению.

Синтез ДНК на ДНК-матрице в S-период (синтетический период) интерфазы митоза

Гипотеза о механизме репликации сформулирована в 1953 Дж. Уотсоном и Ф. Криком, которые предположили, что две комплементарные цепи ДНК после их разделения могут выполнять функции матриц для образования на них новых цепей ДНК.

В 1958 М. Мезельсон и Ф. Сталь экспериментально подтвердили такой механизм репликации.

Исходным материалом для синтеза нуклеиновых кислот являются **нуклеозидтрифосфаты**, поэтому в клетках всегда должен быть их полный набор.



ДНК матрица



ДНК полимеразы,
Mg(2+)

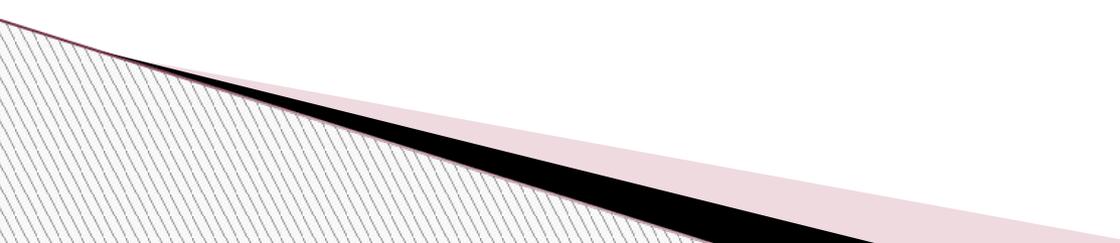


4n Ф - Ф

2Ф

дифосф
атаза

НОН



Почему исходными веществами являются дНТФ??

1. При отщеплении дифосфата при построении новой цепи каждый раз выделяется энергия, необходимая для синтеза второй цепи ДНК. Следовательно, **исходным материалом и источником энергии** для синтеза дочерней цепи ДНК являются дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ,
2. **Для смещения процесса вправо** дифосфат (пирофосфат) гидролизуеться. Полученный фосфат тут же расходуется и реакция смещается вправо.

В процессе репликации двойная спираль ДНК, состоящая из двух комплементарных полинуклеотидных цепей, раскручивается на отдельные цепи и одновременно начинается синтез новых полинуклеотидных цепей; при этом исходные цепи ДНК играют роль матриц.

Когда процесс завершается, образуются две идентичные двойные спирали, каждая из которых состоит из одной материнской(исходной) и одной новой цепи.

Таким образом, одна из материнских цепей входит в каждую дочернюю ДНК – это так называемый полуконсервативный механизм репликации.

Репликация, как и любой процесс матричного синтеза, состоит из 3 этапов::

- 1.Инициация (зарождение цепи)
- 2.2. Элонгация (рост цепи)
- 3.Терминация (обрыв цепи)

Все эти этапы репликации, протекающие с высокой скоростью и исключительной точностью, обеспечивает комплекс, состоящий более чем из 20 ферментов и белков - так называемая ДНК-репликазная система, или реплисома.

Рассмотрим процесс репликации в прокариотической клетке, состоящий из нескольких стадий.

Инициация – создание репликативной вилки.

На ДНК прокариот есть одна **точка начала репликации** – *ori*. . Ориджин репликации имеют определённую нуклеотидную

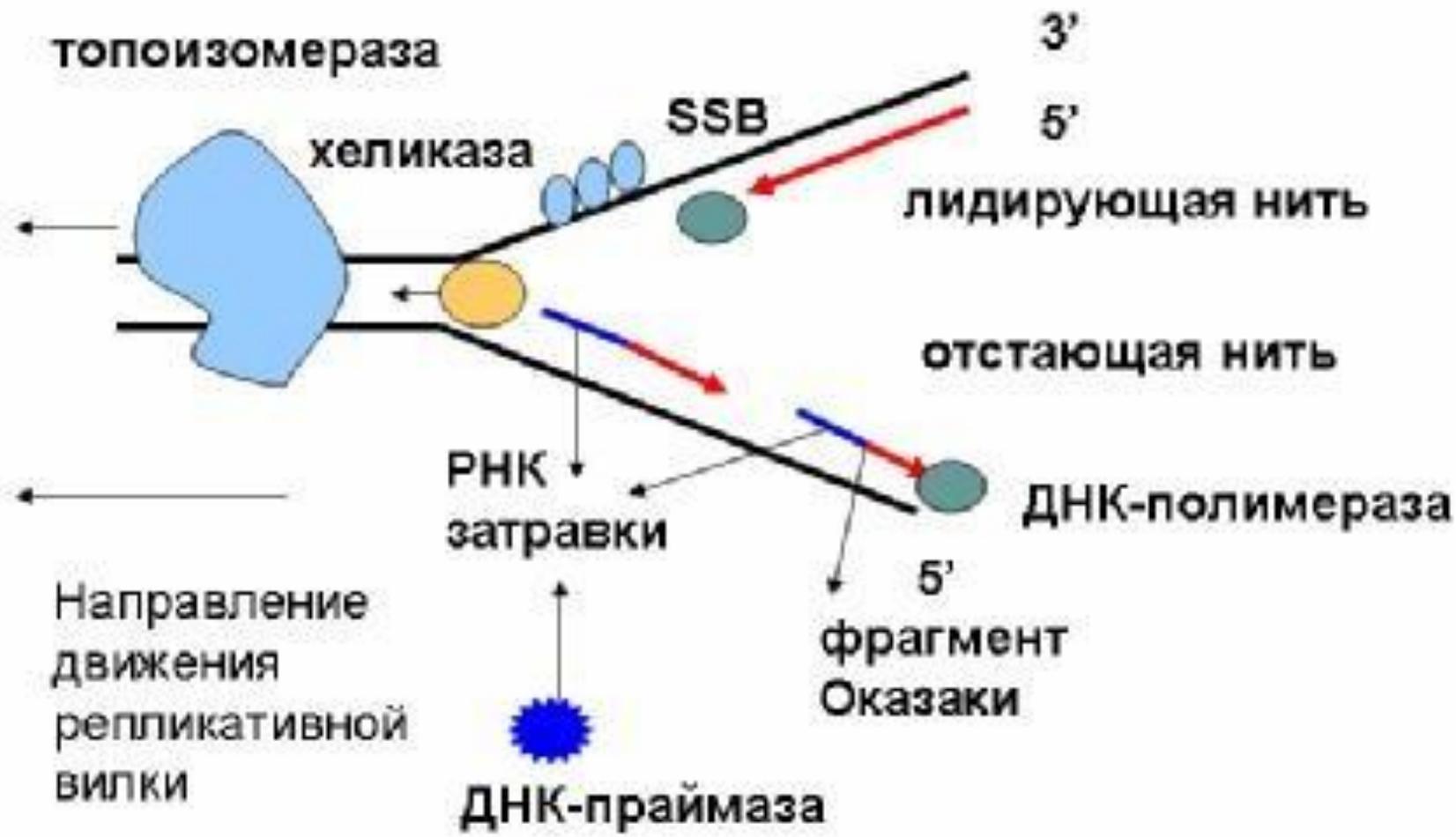
последовательность. В ходе *инициации* происходит **расплетение двойной спирали ДНК матрицы и образование репликативной вилки в месте точки начала репликации**. Участвуют в этом процессе **ферменты** ДНК-топоизомераза 1, ДНК-хеликаза и белки, связывающиеся с одноцепочечными участками ДНК (SSB-белки). *ДНК-топоизомераза 1* присоединяется к участку ориджина, расщепляет одну из цепей ДНК и связывается с фосфатным остатком в точке разрыва, происходит сброс супервитков и раскручивание двуцепочечной нити ДНК. В область разрыва присоединяются молекула *ДНК-хеликазы*, которая, используя энергию АТФ, разрывает водородные связи между комплементарными основаниями и разделяют цепи ДНК.

На развод 1 пары комплементарных азотистых оснований **расходуется 2 молекулы АТФ**.

ДНК-связывающие белки имеют сродство с одноцепочечной ДНК и временно эти цепи раздвинуты благодаря им. Нити ДНК находятся в растянутом виде, таким образом создаются условия для синтеза ДНК дочерних цепей.

Элонгация

- Дочерние нити ДНК образуются на обеих нитях материнской ДНК. Этот процесс катализирует несколько ДНК-полимераз, которые синтезируют полинуклеотидные цепи из дНТФ в направлении от 5'- к 3'- концу на антипараллельной матрице, имеющей направление от 3'- к 5'- концу. Новые цепи синтезируются неодинаково. На матрице ДНК с направлением от 3'→5' концу цепь растет непрерывно по ходу движения репликативной вилки и называется **лидирующей (образуется лишь 1 праймер)**.
- Другие специфические белки помогают **праймазе** получить доступ к матрице отстающей цепи. В результате праймаза связывается с ДНК и синтезирует РНК-затравки для фрагментов отстающей цепи. На матрице с направлением 5'-→3'- концу вторая цепь синтезируется против движения репликативной вилки в виде коротких отрезков — **фрагментов Оказаки** (по имени ученого, впервые обнаружившего их образование).



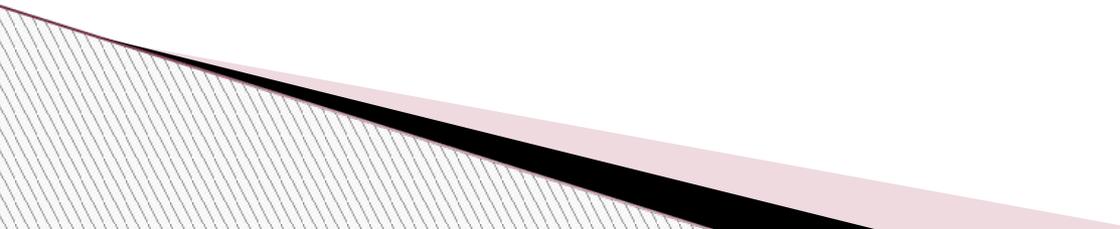
Итак, репликационная вилка асимметрична. Из двух синтезируемых дочерних цепей ДНК одна строится непрерывно, а другая - с перерывами.

Первая цепь - ведущая, или лидирующая.

Вторая цепь - отстающая.

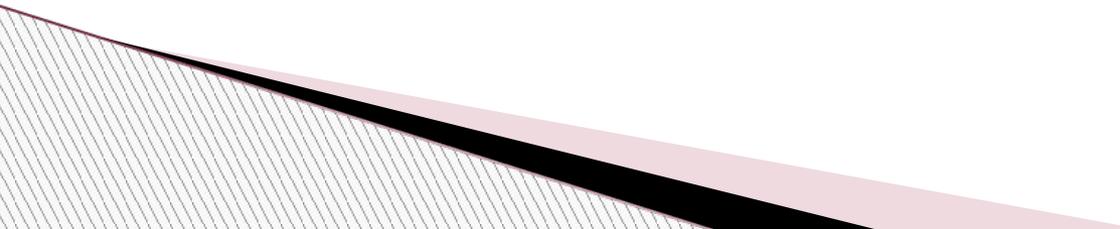
Синтез второй цепи идет медленнее.

В качестве затравок для синтеза фрагментов отстающей цепи служат короткие отрезки РНК, комплементарные матричной цепи ДНК. Эти РНК-затравки (праймеры), состоящие примерно из 10 нуклеотидов, с определенными интервалами синтезируются на матрице отстающей цепи из рибонуклеозидтрифосфатов в направлении 5' ---: 3' с помощью фермента РНК-праймазы.

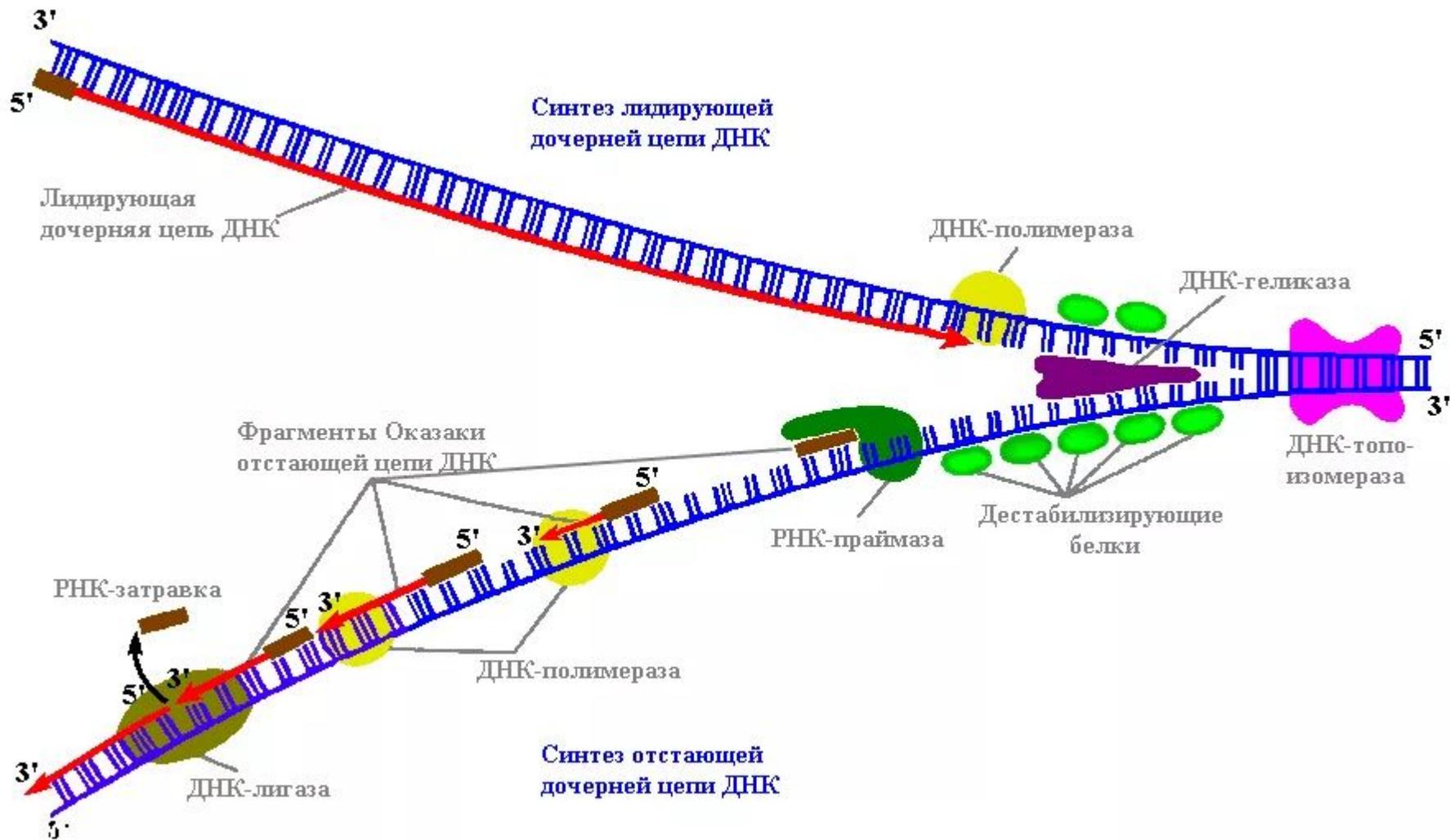


РНК-праймеры затем наращиваются дезоксирибонуклеотидами с 3'-конца ДНК-полимеразой -III, которая продолжает наращивание до тех пор, пока строящаяся цепь не достигает РНК-затравки, присоединенной к 5'-концу предыдущего фрагмента. Образующиеся таким образом фрагменты (так же называемые фрагменты Оказаки) отстающей цепи насчитывают у бактерий 1000-2000 дезоксирибонуклеотидных остатков; в животных клетках их длина не превышает 200 нуклеотидов.

У прокариот и, в частности, у бактерий *E. coli*, описаны три ДНК-полимеразы - Pol I , Pol II и Pol III , первая из которых ответственна главным образом за репарацию ДНК, третья - за репликацию ДНК, а функция второй - в замене Pol III в крайних ситуациях, таких, например, как мутагенная репарация ДНК



Элонгация



Для образования непрерывной цепи ДНК из многих таких фрагментов, в действие вступает особая система репа-рации ДНК, удаляющая РНК-затравку и заменяющая ее на ДНК. У бактерий РНК-затравка удаляется с помощью РНК-азы, специфически расщепляющей РНК в РНК-ДНК гибридах. Одновременно с удалением праймеров происходит застройка образовавшейся брешы ДНК-полимеразой- α . При этом каждый отщепленный рибонуклеотидный мономер замещается соответствующим дезоксирибонуклеотидом.

Завершает весь процесс фермент ДНК-лигаза, катализирующий образование фосфодиэфирной связи между группой 3'-ОН нового фрагмента ДНК и 5'-фосфатной группой предыдущего фрагмента. Образование этой связи требует затраты энергии, которая поставляется в ходе сопряженного гидролиза пирофосфатной связи кофермента-никотинамид-адениндинуклеотида (в бактериальных клетках) или АТФ (в животных клетках и у бактериофагов).

- Терминации нет фактически, так как она происходит при окончании молекулы матричной ДНК.
- Скорость построения цепи у прокариот :1000 нуклеотидов в секунду. В среднем вся ДНК прокариот реплицируется за 40-60 секунд.
- Благодаря сложному системному процессу, ошибка составляет 10^{-10} в степени.
- **О репликации эукариот** известно меньше:
 - . Используется 5 ДНК- полимераз;
 - . Фрагменты Оказаки в 100 раз меньше;
 - . Репликативные вилки двигаются медленнее(50 нуклеотидов в секунду);
 - . В целом репликация хромосом эукариот в 10 раз быстрее чем у прокариот за счет большого числа репликативных вилок и точек начала синтеза.

РНК-зависимая репликация у вирусов

- Кроме ДНК-зависимого синтеза РНК известны также РНК-зависимые РНК-полимеразные реакции, характерные для большого числа растительных бактериальных вирусов, содержащих в качестве наследственной информации РНК, а не ДНК (фермент- РНК-репликаза).