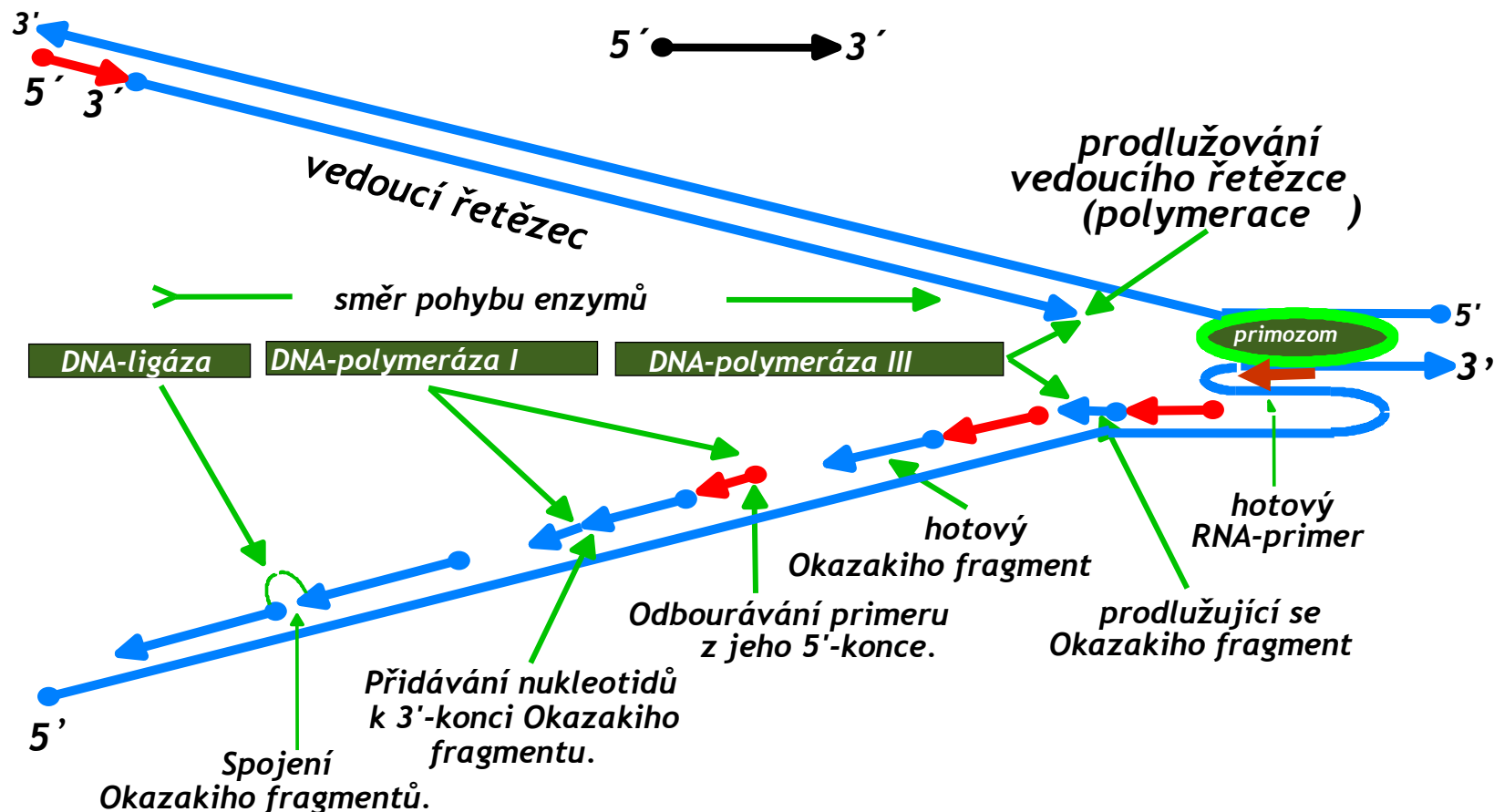
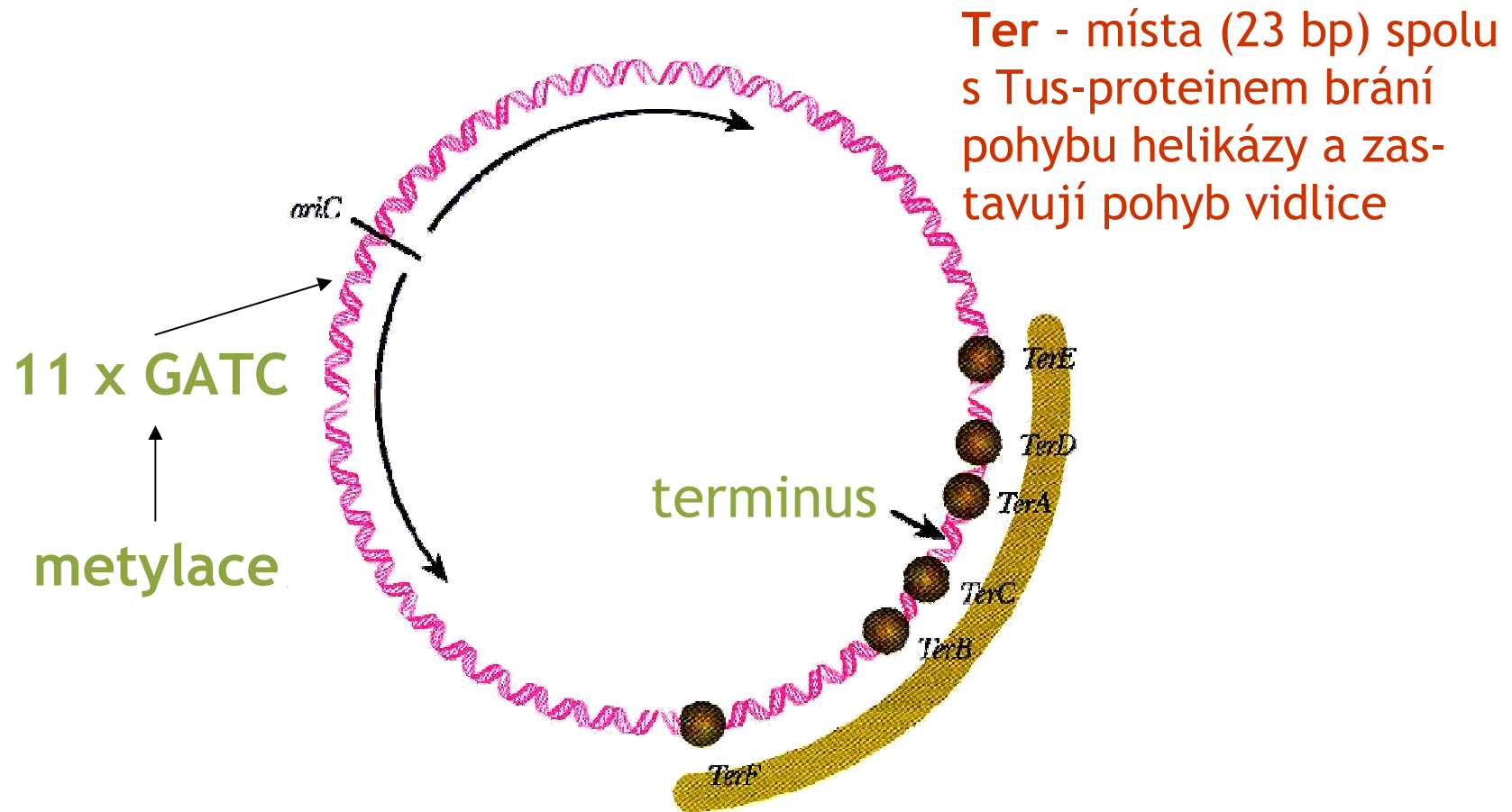


Globální pohled na průběh replikace dsDNA

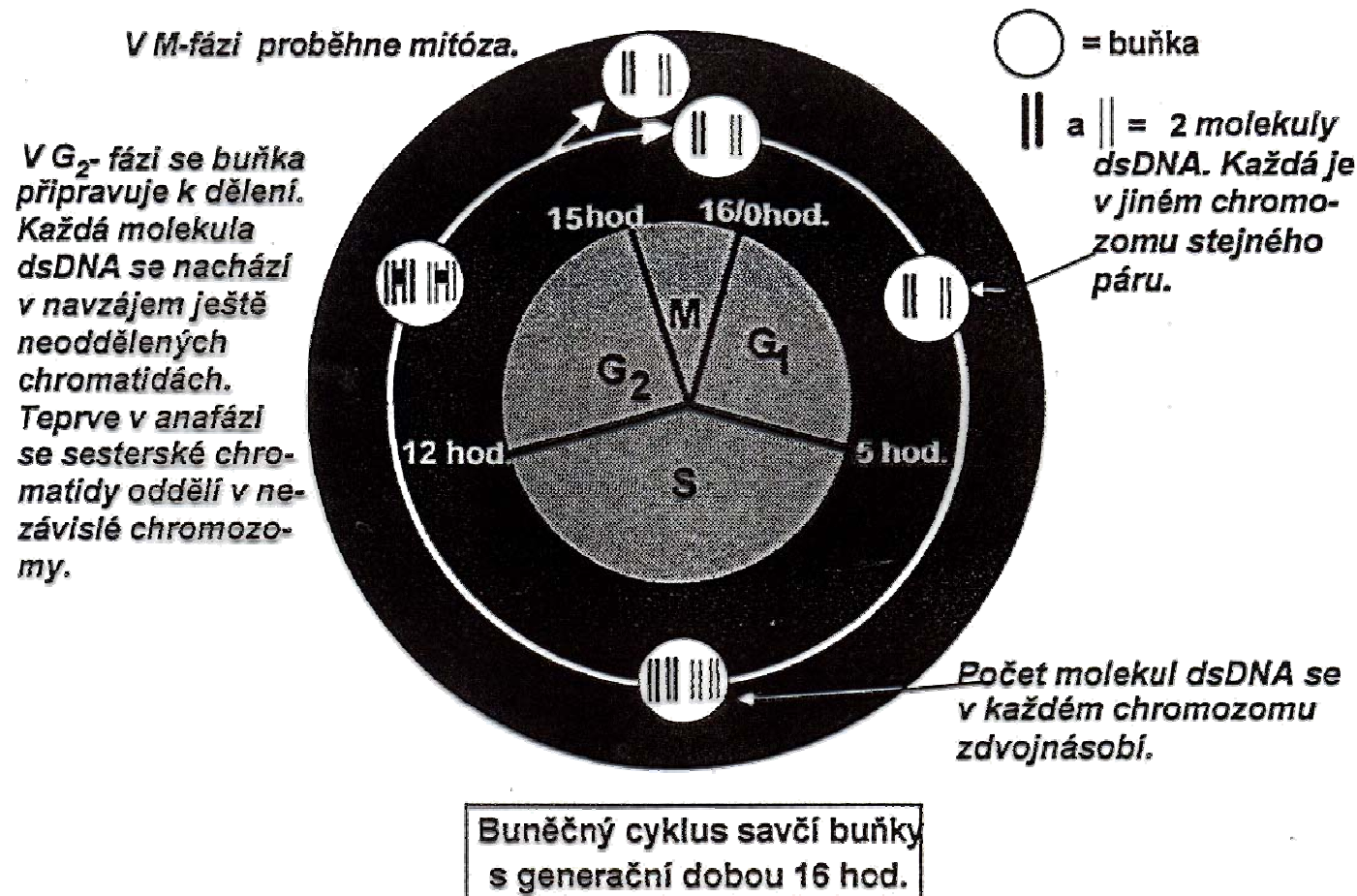


Poznámka: Nepožaduje se znalost a výklad druhé části (str. 180)
Vynechává se též kapitola 2.2.2 (str. 180-184)

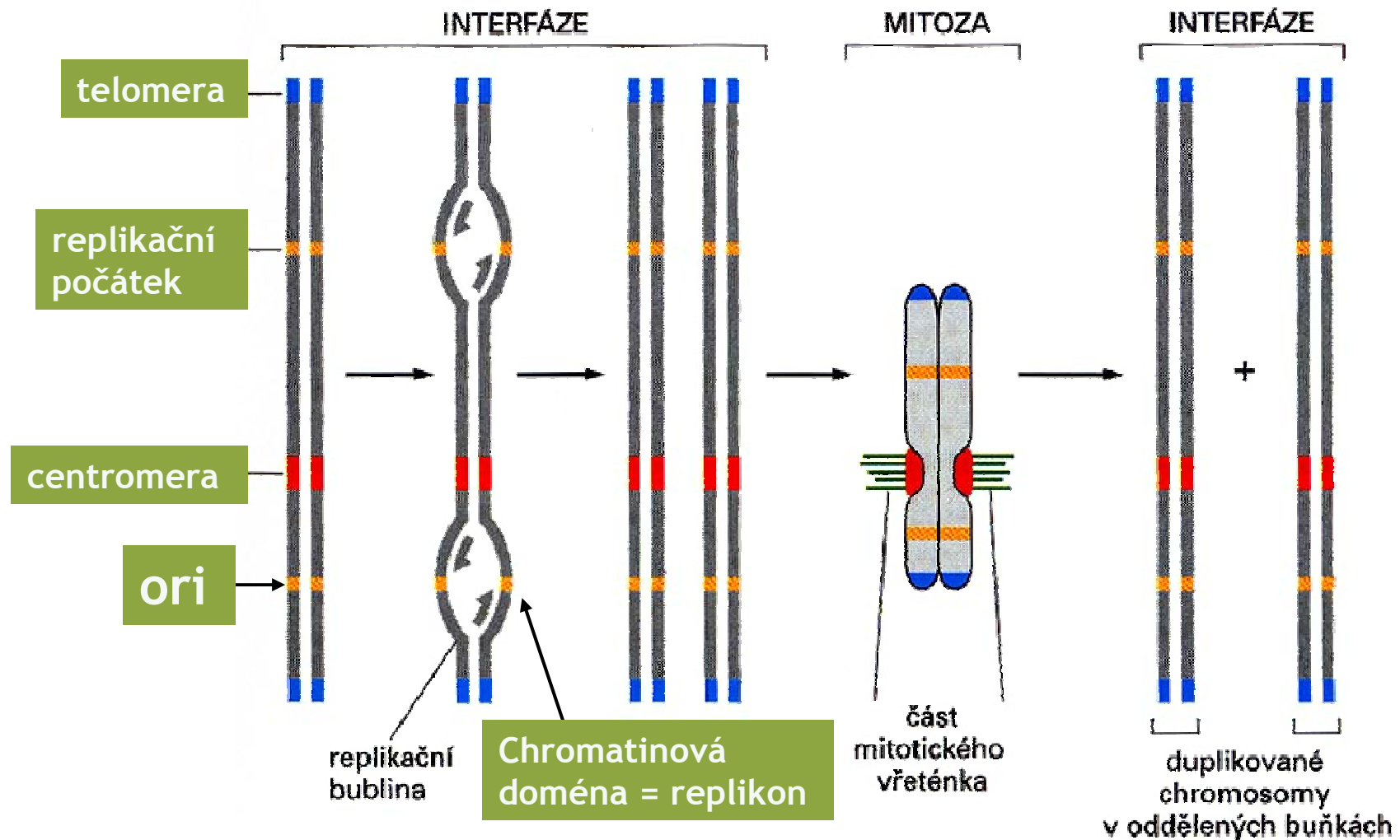
Terminace replikace bakteriálního chromozomu



Zjednodušené schéma buněčného cyklu zdůrazňující počet molekul dsDNA v chromozomech v jeho různých fázích



Struktura chromozomu během dělení buňky



Počet počátků replikace u různých organismů

Organismus Počet replikonů Velikost replikonů Rychlost pohybu vidlice

(E. coli)	1	420 kb	50 000 bp/min
(S. cerevisiae)	500	40 kb	3 600 bp/min
(D. melanogaster)	3 500	40 kb	2 600 bp/min
(X. laevis)	15 000	200 kb	500 bp/min
(M. musculus)	25 000	150 kb	2 200 bp/min
(V. faba)	35 000	300 kb	

Rozdíly v rychlosti syntézy

Složky bakteriálního a eukaryotického replizomu

Složka replizomu	U bakterií	U eukaryot
Replikativní polymeráza	Holoenzym polIII*	pol α /primáza v komplexu s pol δ
Faktor zvyšující procesivitu replikativní polymerázy	β -svorka	PCNA
Faktor nakládající β-svorku (PCNA)	γ -komplex	RFC
Primáza	jen DNA-primáza (DnaG-protein)	komplex pol α /primáza
Helikáza	DnaB-protein, n'-protein	?
Odstranění primeru	DNA-polymeráza I	exonukleáza MF1
Oprava opoždujícího se řetězce	DNA-polymeráza I a DNA-ligáza	Komplex pol δ /pol ϵ ? a DNA-ligáza
DNA-topoizomeráza	II (gyráza)	II
Proteiny vázající se na jednořetězcové úseky DNA	SSB-proteiny	replikační protein A (RP-A) nebo lidský SSB (HSSB)

Eukaryotické DNA-polymerázy

- α Syntéza Okazakiho fragmentů, **3' -5' exonukleáza**
- β Syntéza krátkých řetězců při reparaci DNA
- γ Syntéza mitochondriové DNA
- δ Syntéza vedoucího řetězce a dokončení syntézy opožďujícího se řetězce **3' -5' exonukleáza**
- ϵ Neznámá funkce

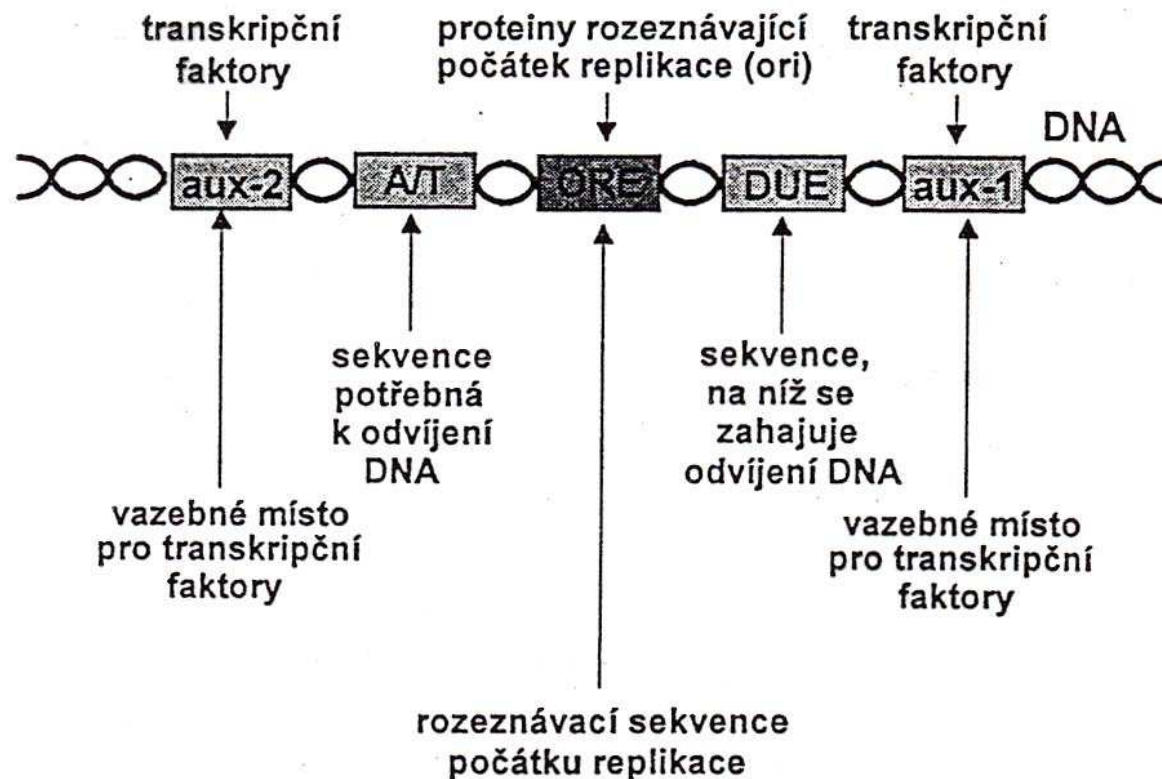
Přehled vlastností a funkcí eukaryotických DNA-polymeráz

Proliferační
buněčný antigen
(proliferating cell
nuclear antigen)
~ β -svorka

Označení u savců	α	β	γ	δ	ϵ
Označení u kvasinek	pol1	pol4	polM	pol3	pol2
Umístění	v jádře	v jádře	v mitochondriích	v jádře	v jádře
Počet podjednotek	4	1	2	2	>1
Polymerázová aktivita 5'-3'	+	+	+	+	+
Exonukleázová aktivita 3'-5'	-	-	+	+	+
Primáza	+	-	-	-	-
Sdružené faktory	žádný	žádný	žádný	PCNA	žádný
Procesivita	mírná	nízká	vysoká	vysoká ve sdružení s PCNA	vysoká
Funkce	začátek syntézy Okazakiho fragmentů primery	oprava poškozené DNA	katalýza replikace v mitochondriích	syntéza prodlužujícího se řetězce a dokončení syntézy Okazakiho fragmentů	neznámá

Struktura počátku replikace u kvasinek

Soubor proteinů = ORIZOM



1. Vazba inciačních proteinů na sekvenci ore (helikáza, polymeráza atp)

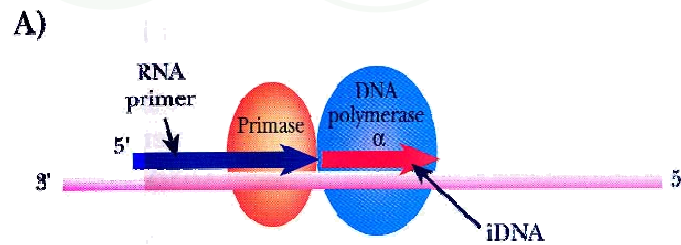
2. Vazba transkripčních faktorů a jejich interakce s proteiny v místě ORE

3. Inicie replikace, rozmotání DNA v místě DUE

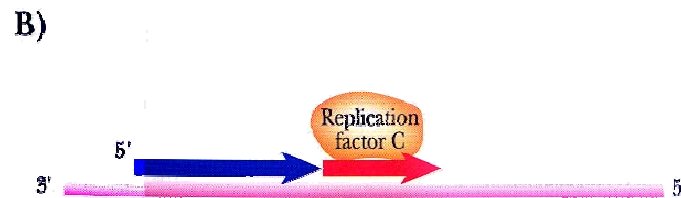
Různé transkripční faktory aktivují různé počátky replikace

Před zahájením replikace se poblíž počátku replikace naváže RLF (replication licensing factor), který je po zahájení replikace odstraněn: koordinace iniciace mnoha ori

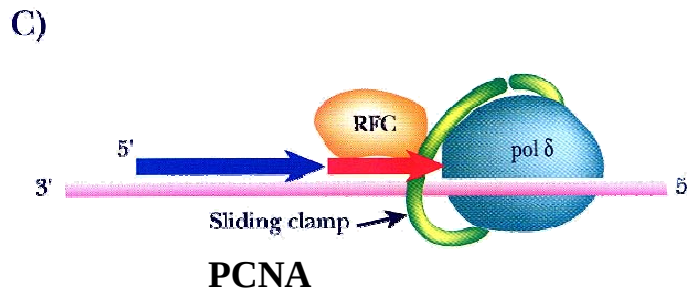
Iniciace replikace u eukaryot - rozdíly oproti bakteriím



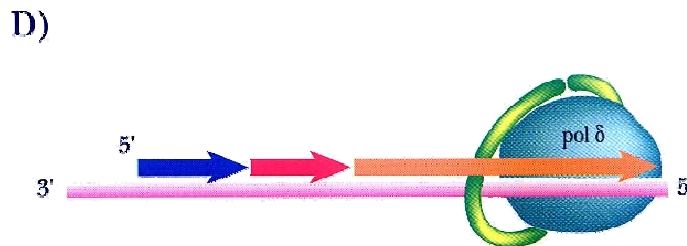
a) Primáza syntetizuje RNA-primer, poté se váže DNA polymeráza α , která nasyntetizuje **iDNA** (iniciátorová DNA).



b) RFC nasedá na iDNA



c) RFC napomáhá navázat DNA-polymerázu δ a PCNA protein (trimer)



d) DNA-polymeráza δ pak prodlužuje nový řetězec DNA

Globální pohled na elongaci vedoucího a opožďující se řetězce v replikační vidlici eukaryotické chromozomové dsDNA

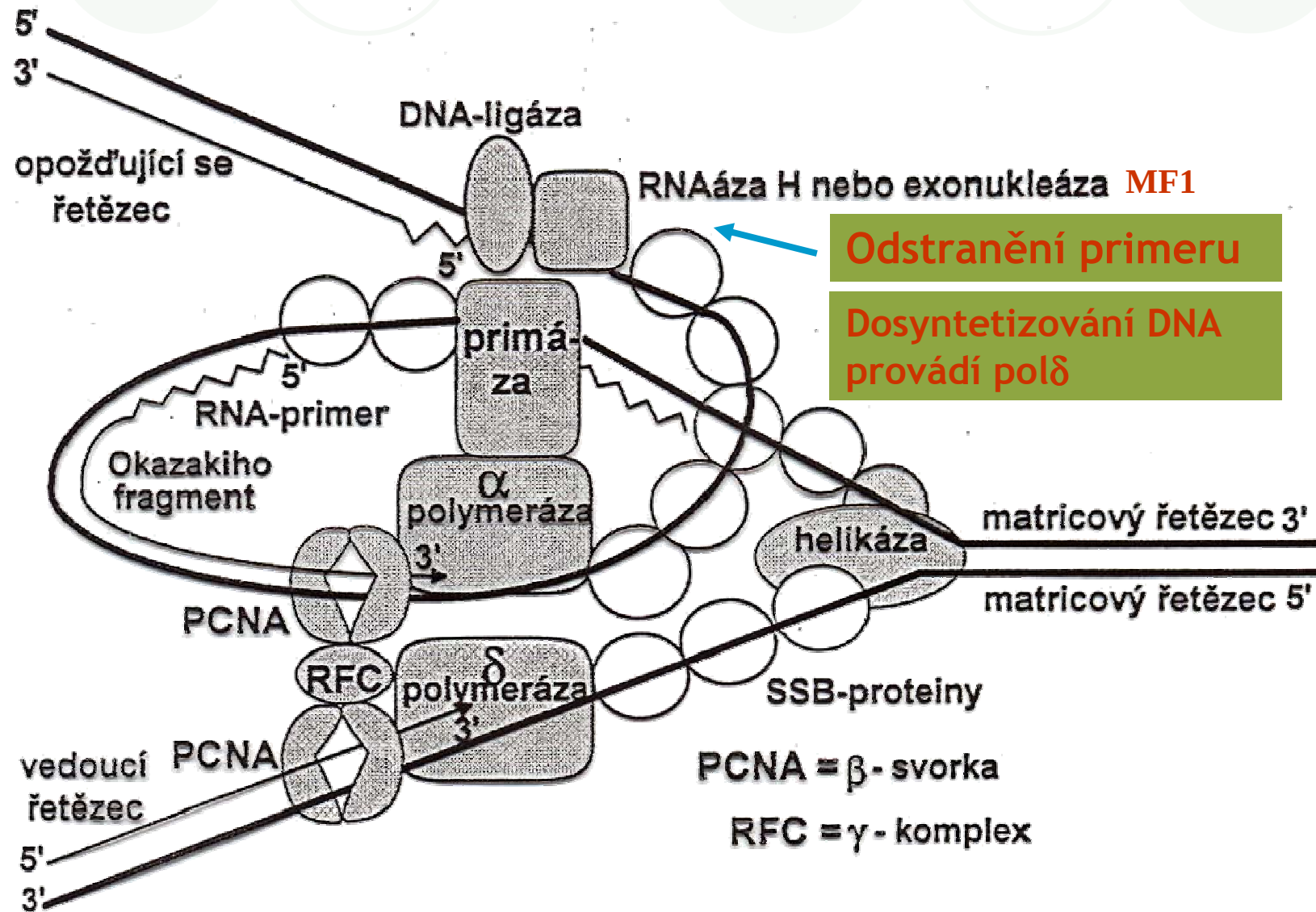
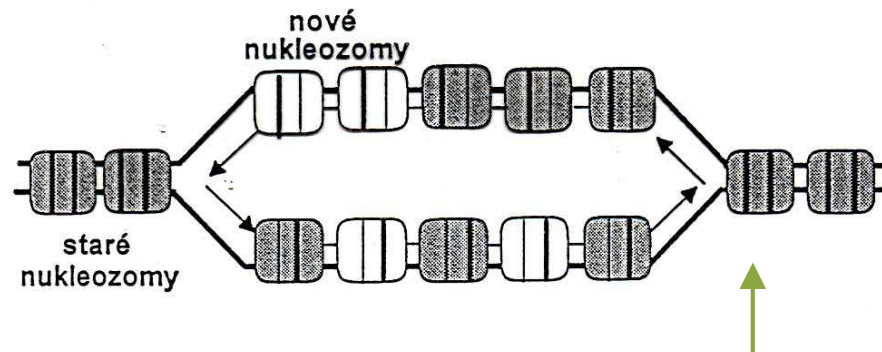
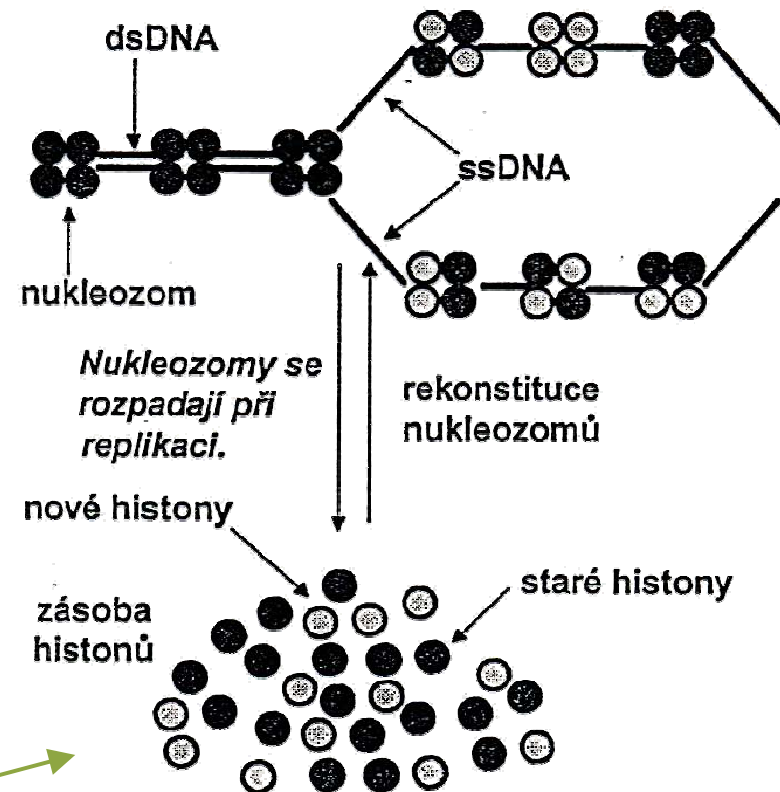


Schéma replikační vidlice eukaryotické jaderné DNA

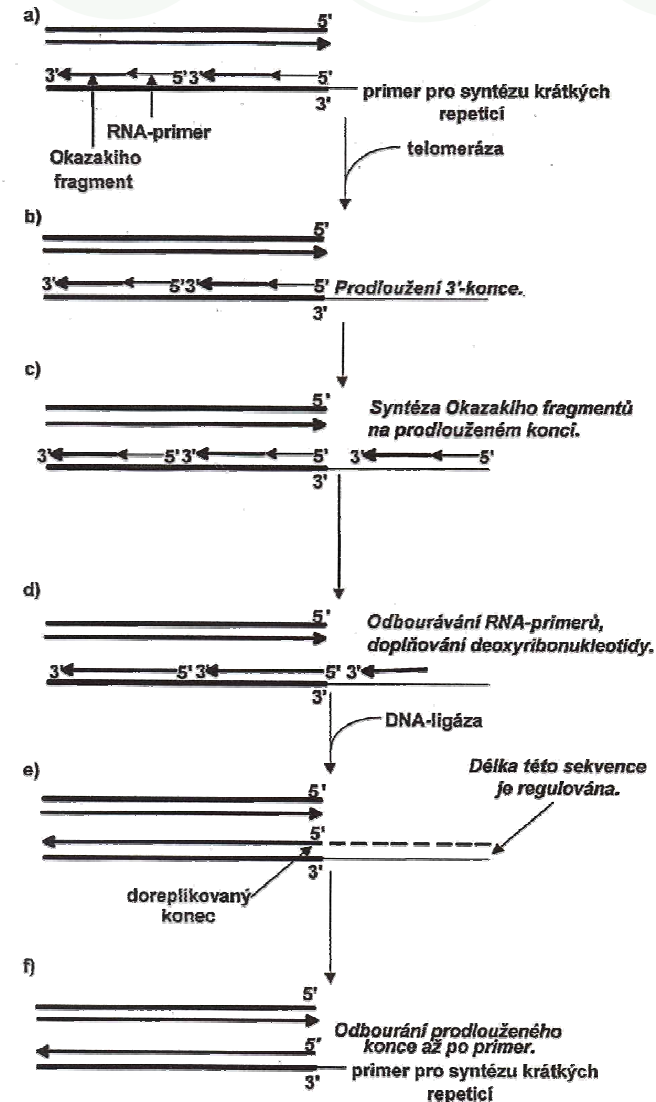
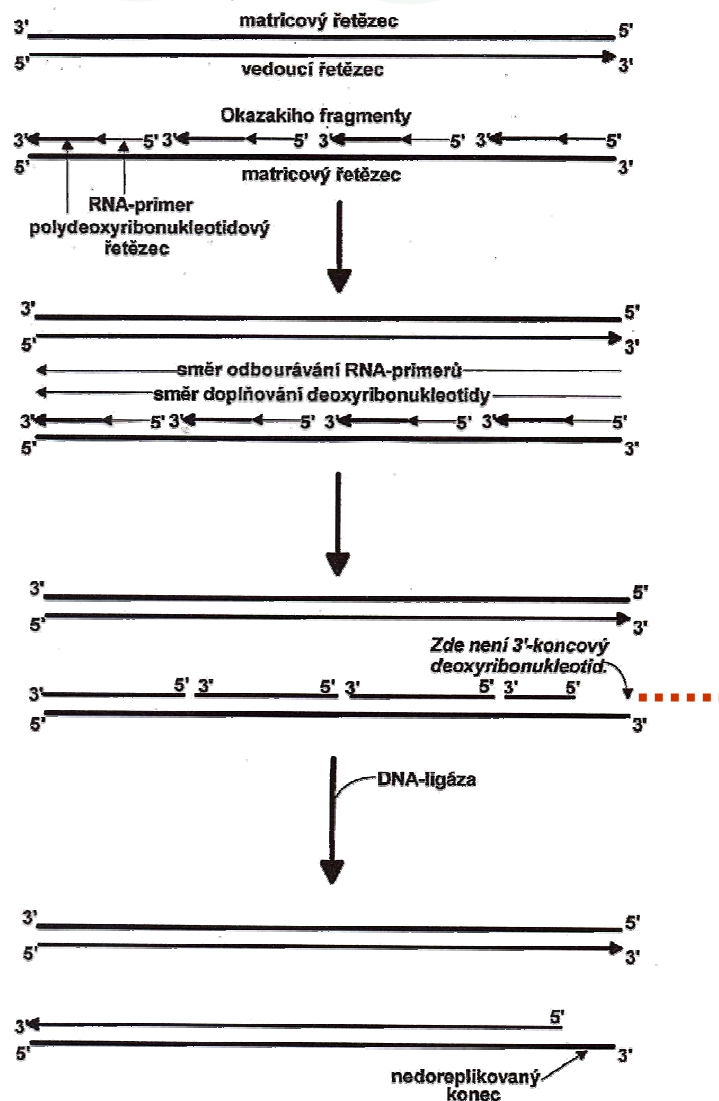


Staré a nové nukleozomy se na maticových a podle nich syntetizovaných komplementárních řetězcích rozdělují náhodně

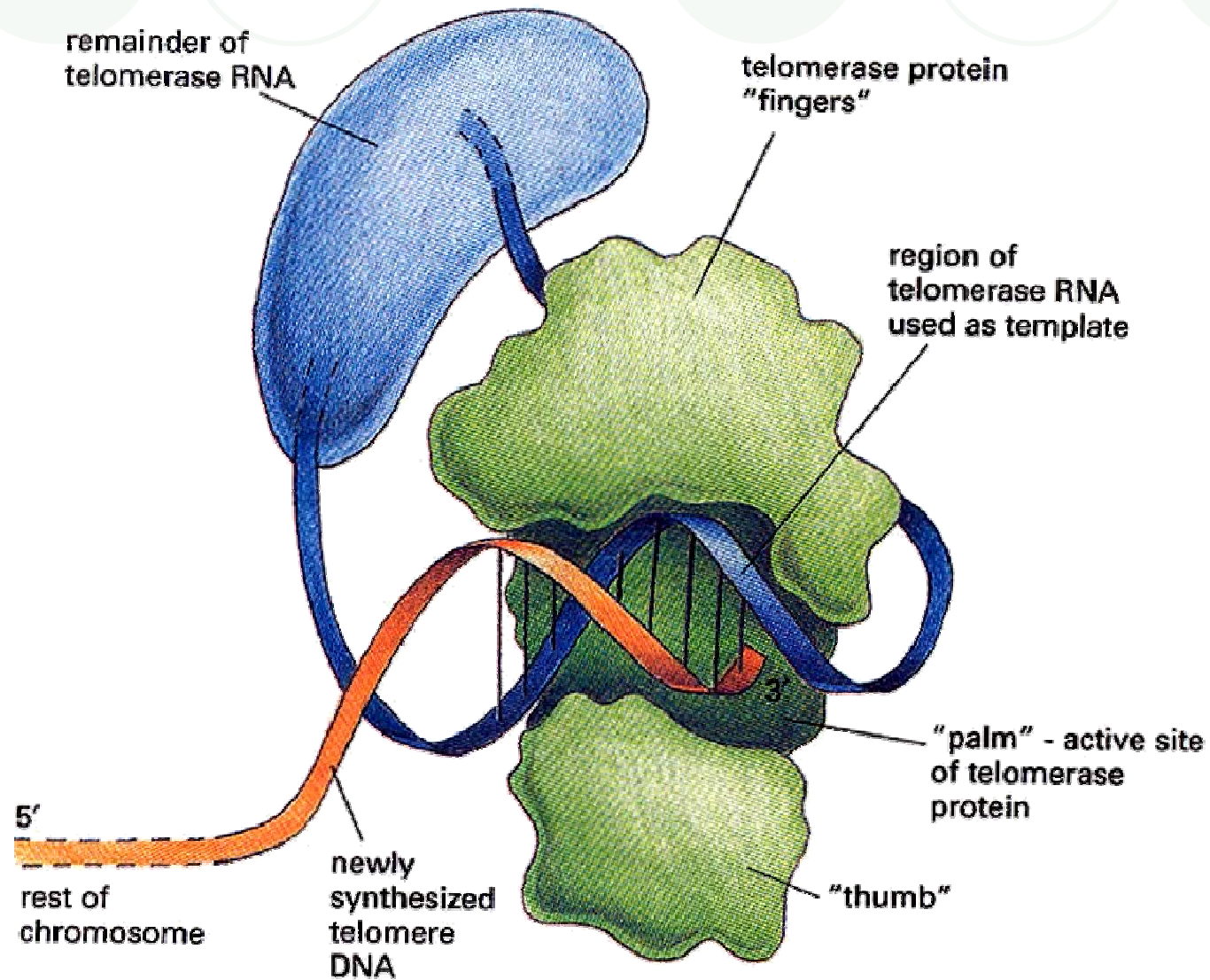
Na obrázku je pro jednoduchost schématického vyjádření nukleozom znázorněn jako tetramer histonů. Ve skutečnosti však jde o oktamer.



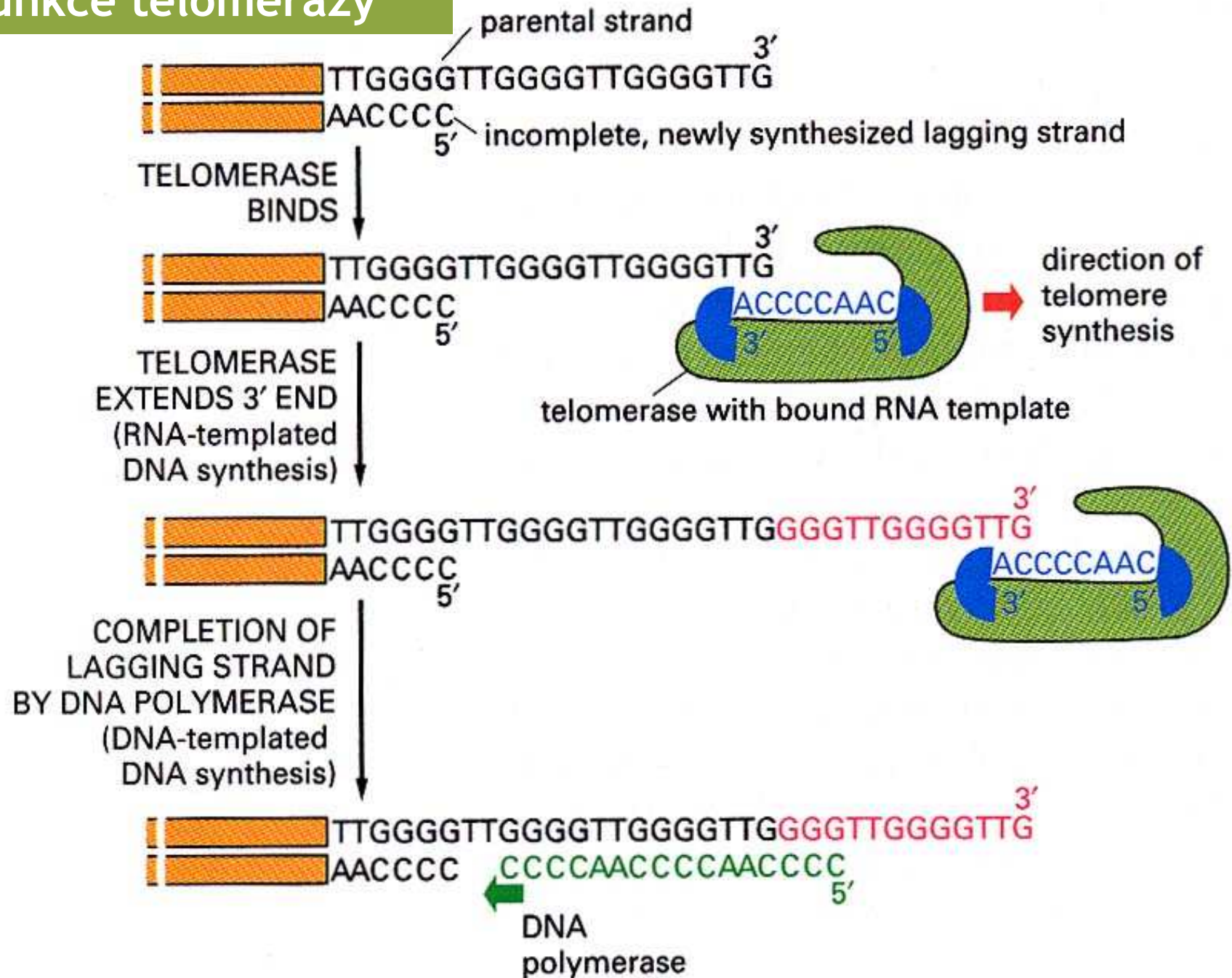
Problém doreplikování 3' konců lineárních chromozomů



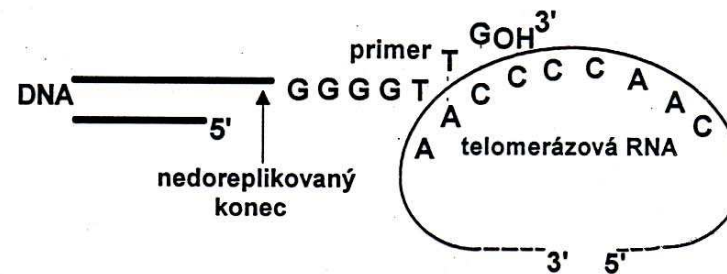
Struktura telomerázy



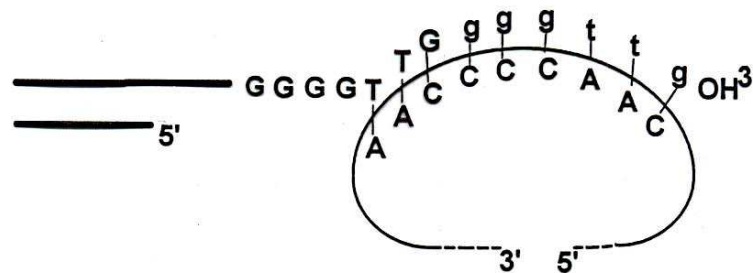
Funkce telomerázy



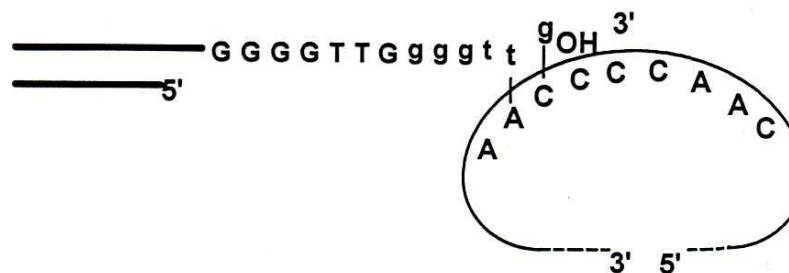
1. Vazba telomerázy na telomerický primer (a).



2. Prodloužení 3'-konce od primeru (b).



3. Translokace telomerázy (b).

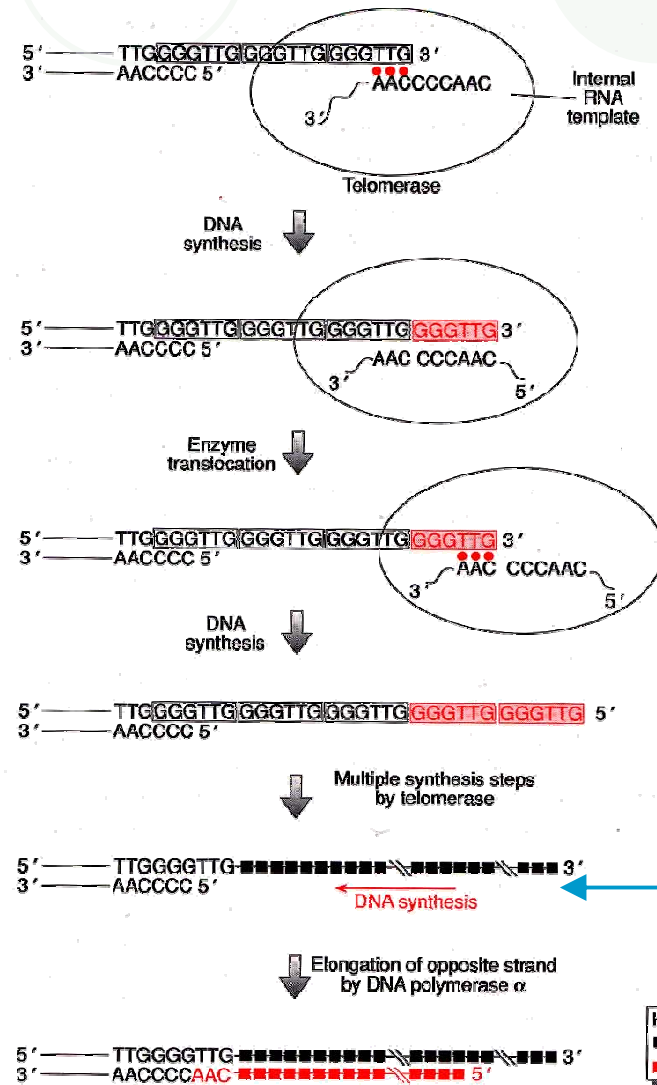


4. Replikace na 3'-konci (c, d, e, f).



Nově napojované nukleotidy jsou vyjádřeny malými písmeny.
V závorkách jsou uvedeny odkazy na části obr. 198.

Prodlužování konců telomer telomerázou



Sekvence telomer různých organismů

- **TTGGGGG** - T_2G_4 u *Tetrahymena thermophila* a *Glaucoma chattoni*
- **TTTTGGGGG** - T_4G_4 u *Euplotes aediculatus* a *Oxytricha nova*
- **TTTAGGGG** - $T_3A_1G_3$ u *Arabidopsis thaliana*
- **TGGG** - TG_3 u *Saccharomyces cerevisiae*
- **TTAGGG** - $T_2A_1G_3$ u člověka, myši, a *Trypanosoma brucei*

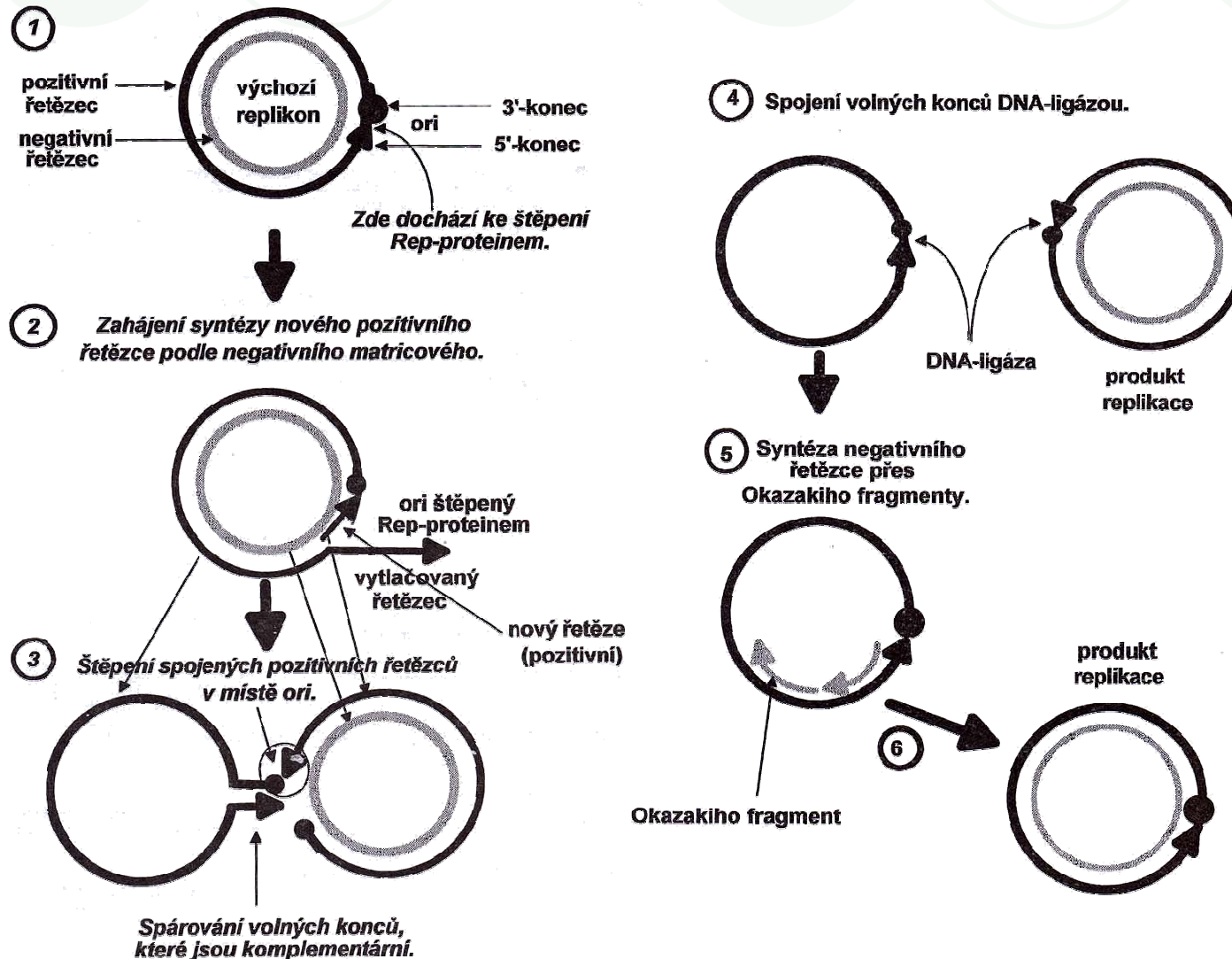
5' GGGTTA 3' - 10 000 bp



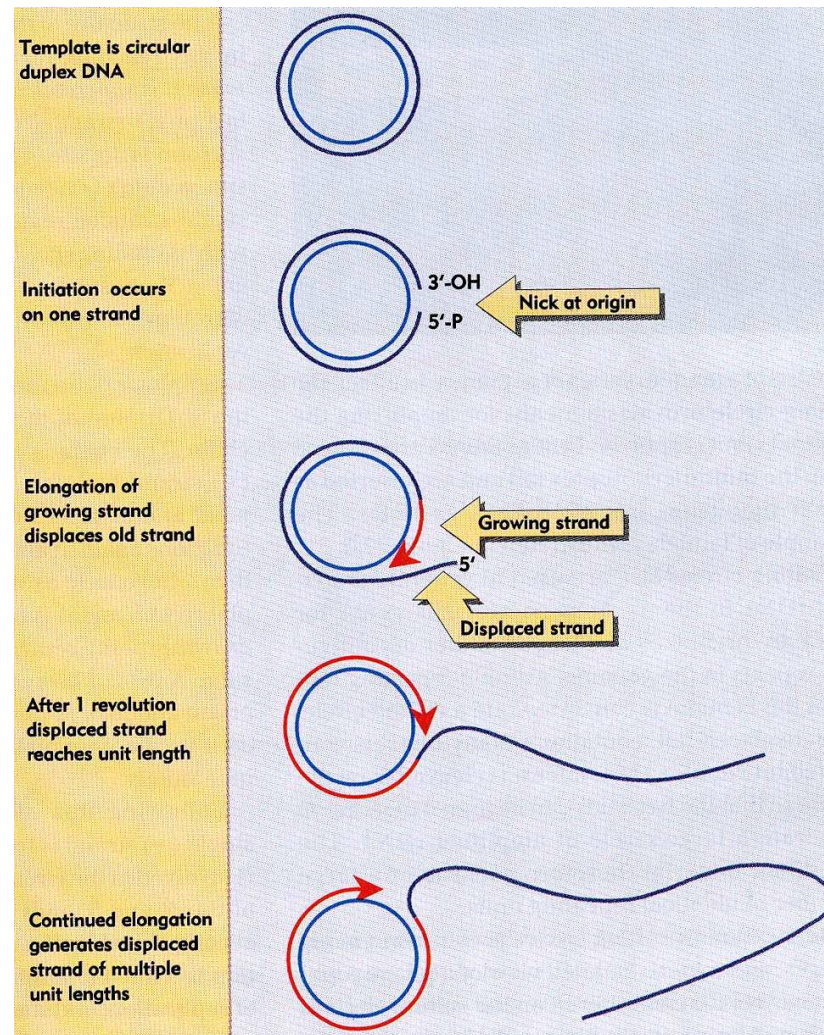
Telomerová opakování ~ mechanismus pro kontrolu buněčného dělení

- při narození mají v somatických buňkách telomery úplnou délku
- při každém dělení buňky ztrácí telomera 50-100 nt
- po mnoha děleních zdědí buňky defektní chromozomy a dochází k zástavě dělení buněk = **replicative cell senescence**
- **Mechanismus zajišťuje, že nedochází k nekontrolovatelnému dělení buněk („measuring stick“)**
 - *lidské fibroblasty ve tkáňové kultuře - po 60 děleních buněk dochází k zástavě tvorby telomerázy*
 - *po vložení genu s aktivní telomerázou se délka telomer udržuje a buňky nestárnou*

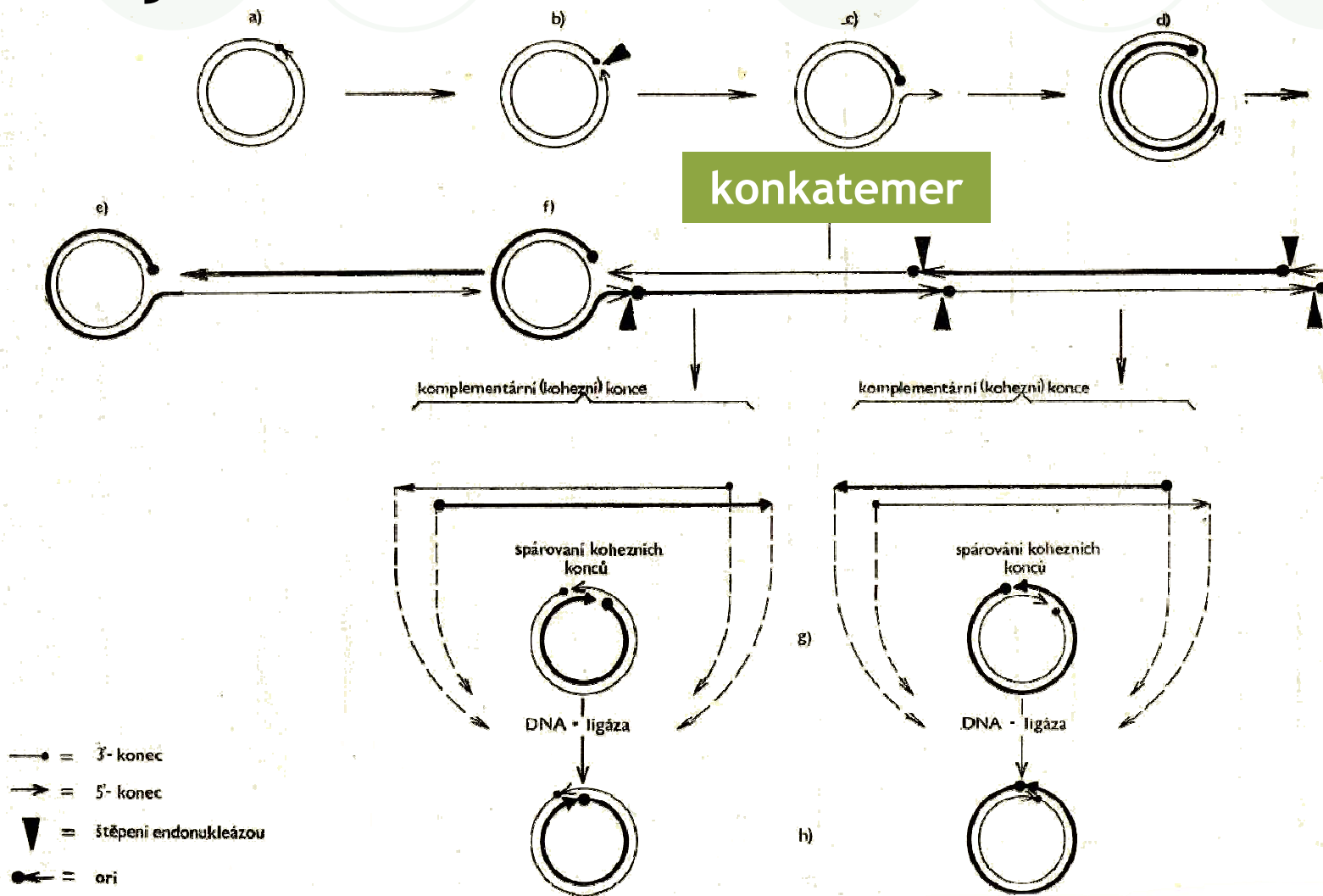
Replikace plazmidů otáčející se kružnicí



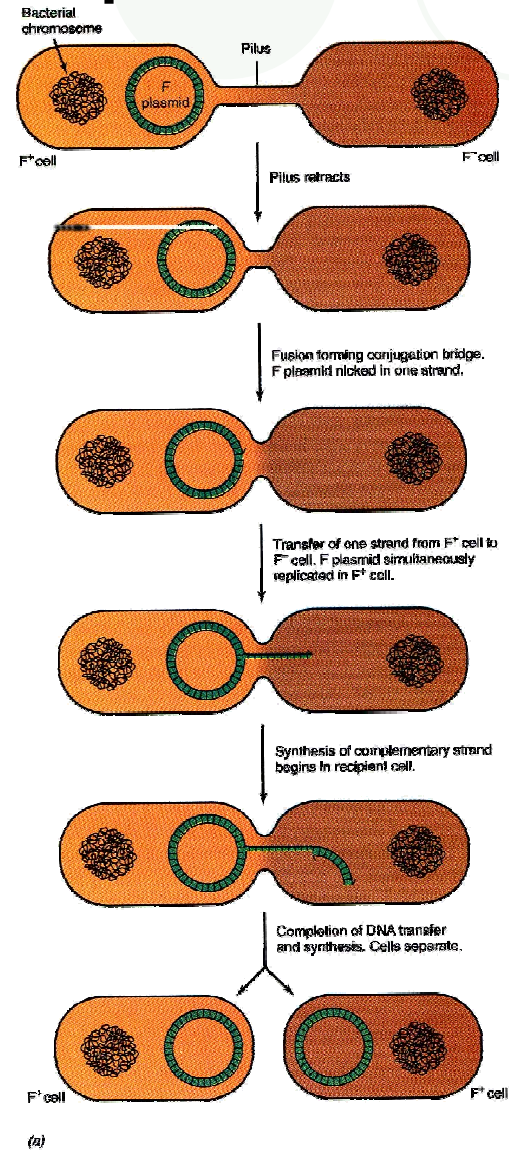
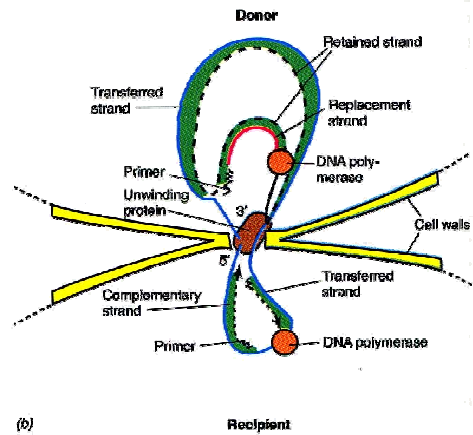
Replikace DNA mechanismem otáčející se kružnicí



Replikace bakteriofágů (lambda) otáčející se kružnicí

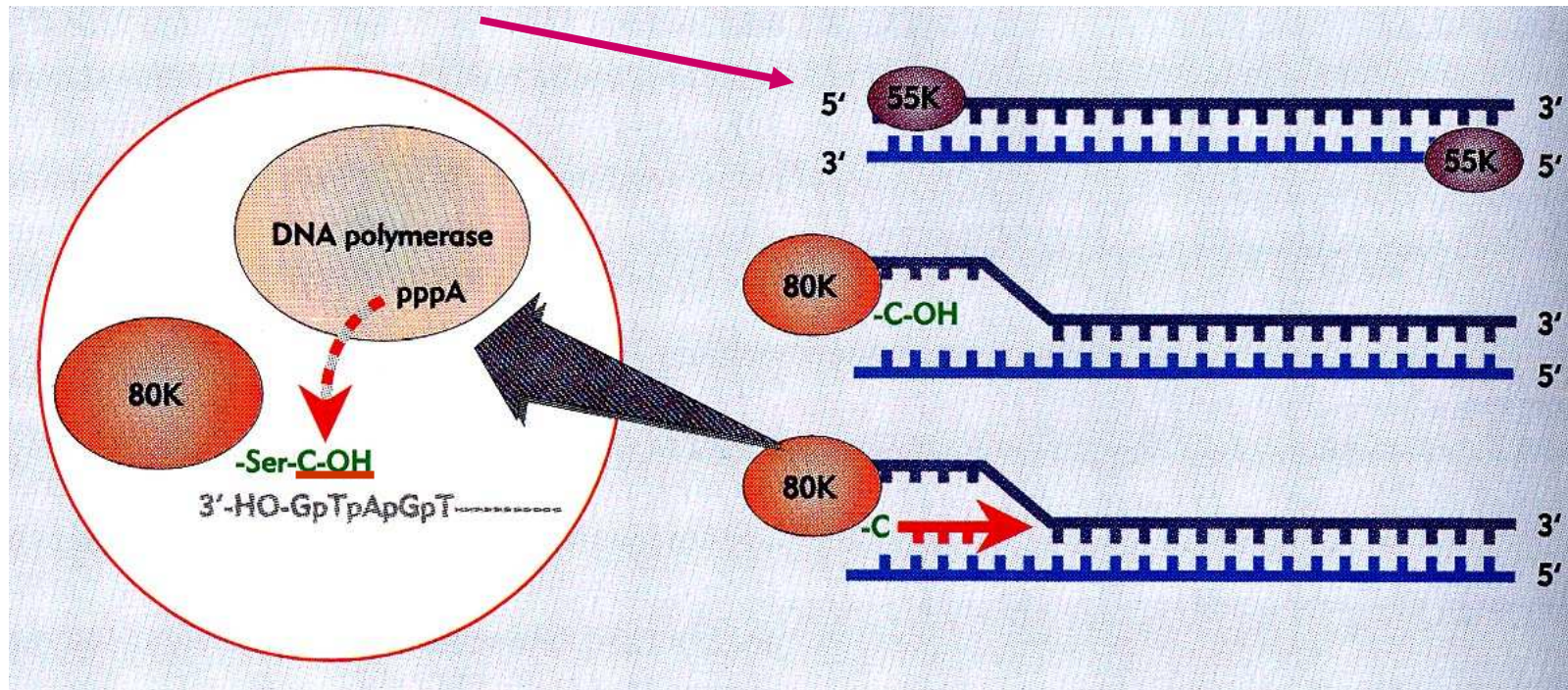


Replikace konjugativních plazmidů



Replikace genomu adenoviru (též některé bakteriofágy)

Specifický protein pro iniciaci replikace



Ostatní viry: vlastní polymerázy nebo polymerázy hostitele; proteiny pro iniciaci replikace; retroviry: RT