



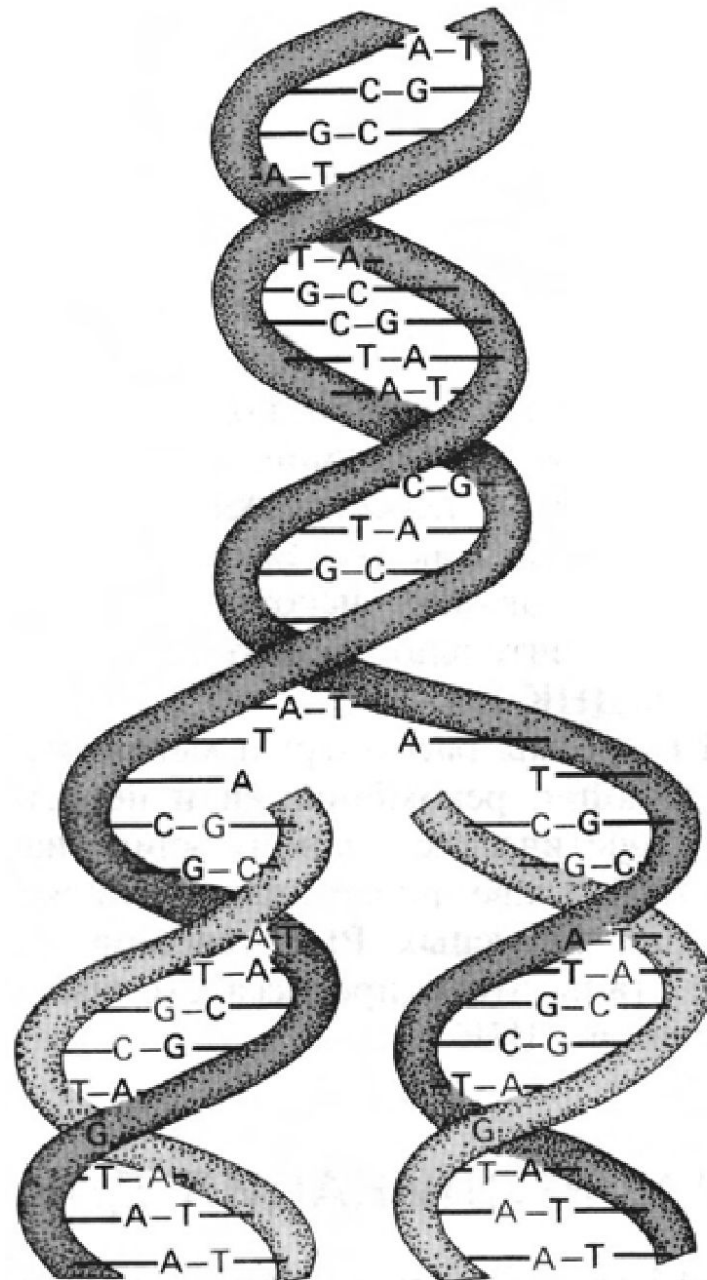
ДНҚ репликациясы

ДНҚ репликациясы

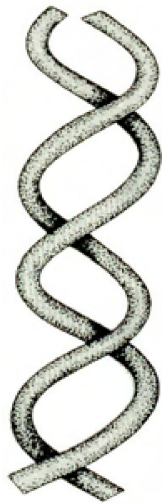
- **Репликация** – дегеніміз ядроішілік маңызды процесс. бұл өзін-өзі көшіруге қабылетті днқ санының екі еселенуіне алып келеді.
- Репликация процессінде матрицалық днқ молекуласының әрбір полинуклеотидті тізбегінде оған комплементарлы тізбек синтезделінеді.
- Нәтижесінде, екі спиральді днқ-ң біреуінен, екі ұқсас қос спираль пайда болады. бұндай екіеселену жолындағы әрбір – жаңа молекула бір матрицалық және бір жаңа синтезделген тізбектен тұрады және **жартылай консервативті** (сақтаушы, негізгі қалпын сақтау) деп аталады.

- ДНК дупликациясы кезінде спиральды екі тізбекті тұрақты ұстап тұратын сутегілік байланыстар үзіледі.

- Кез келген тізбек басқа комплементарлы тізбек синтезіне матрица бола алады.



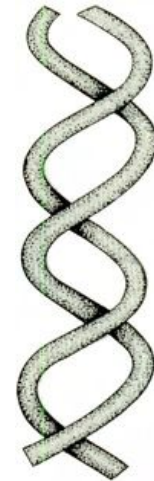
- Барлық екі тізбекті ДНК репликациясы жартылай консервативті болып келеді. Бірінші репликациядан кейін кез келген аналық молекуланың бір тізбегі консервативті, ал басқа бөлік жаңадан синтезделеді.
- Егер де геном бір тізбекті ДНК тұрса(кейбір вирустарда), бұл жалғыз тізбек матрица ретінде комплементарлы тізбек түзуге қатысады және дуплексті құрайды. Кейін дуплексте дочерние дуплекстер немесе бір тізбекті матрицалық тізбектердің көшірмелері синтезделеді.



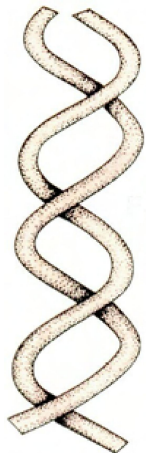
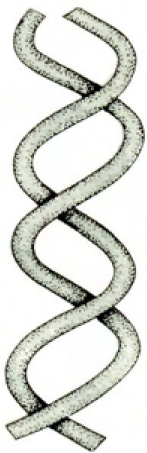
Родительская молекула



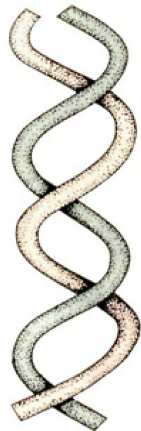
Родительская молекула



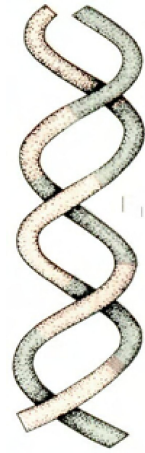
Родительская молекула



F1



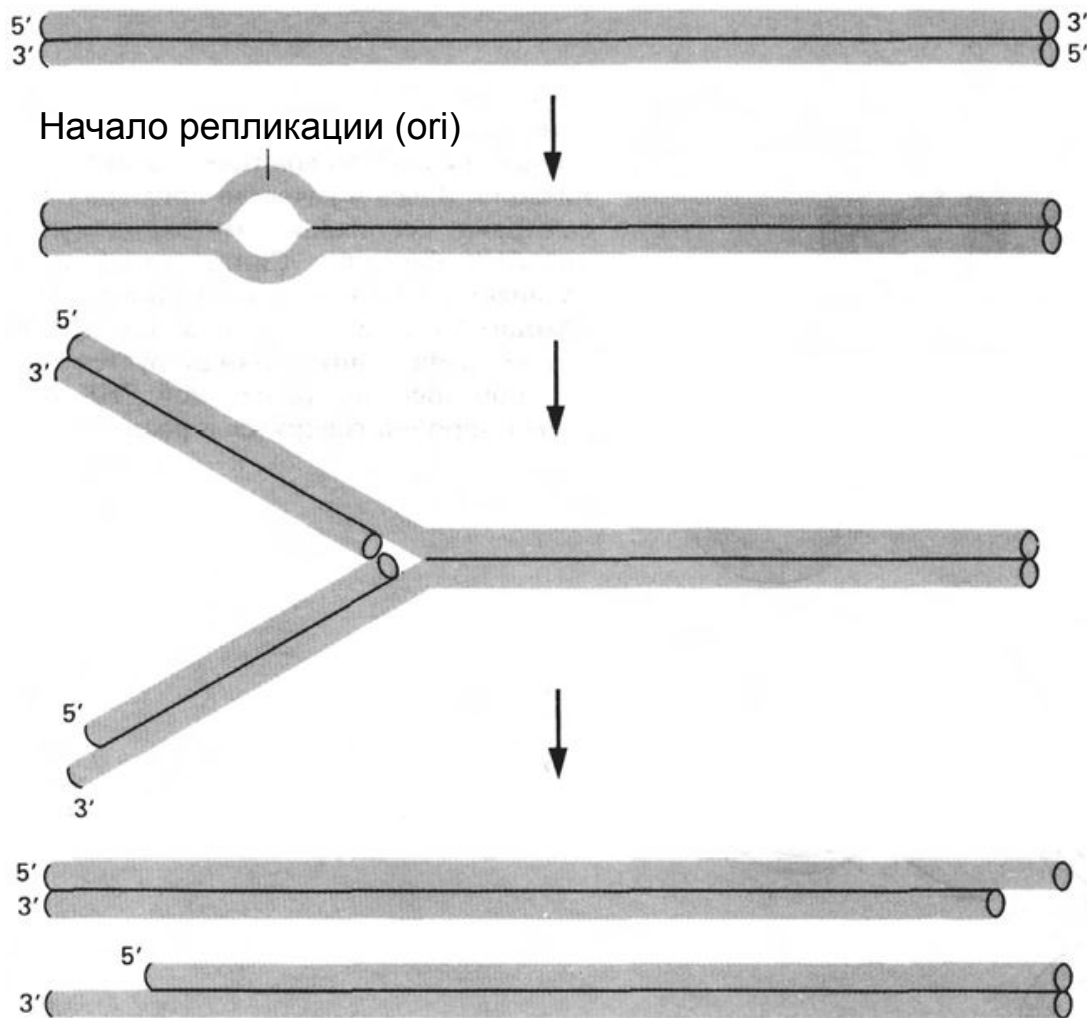
F1



F1

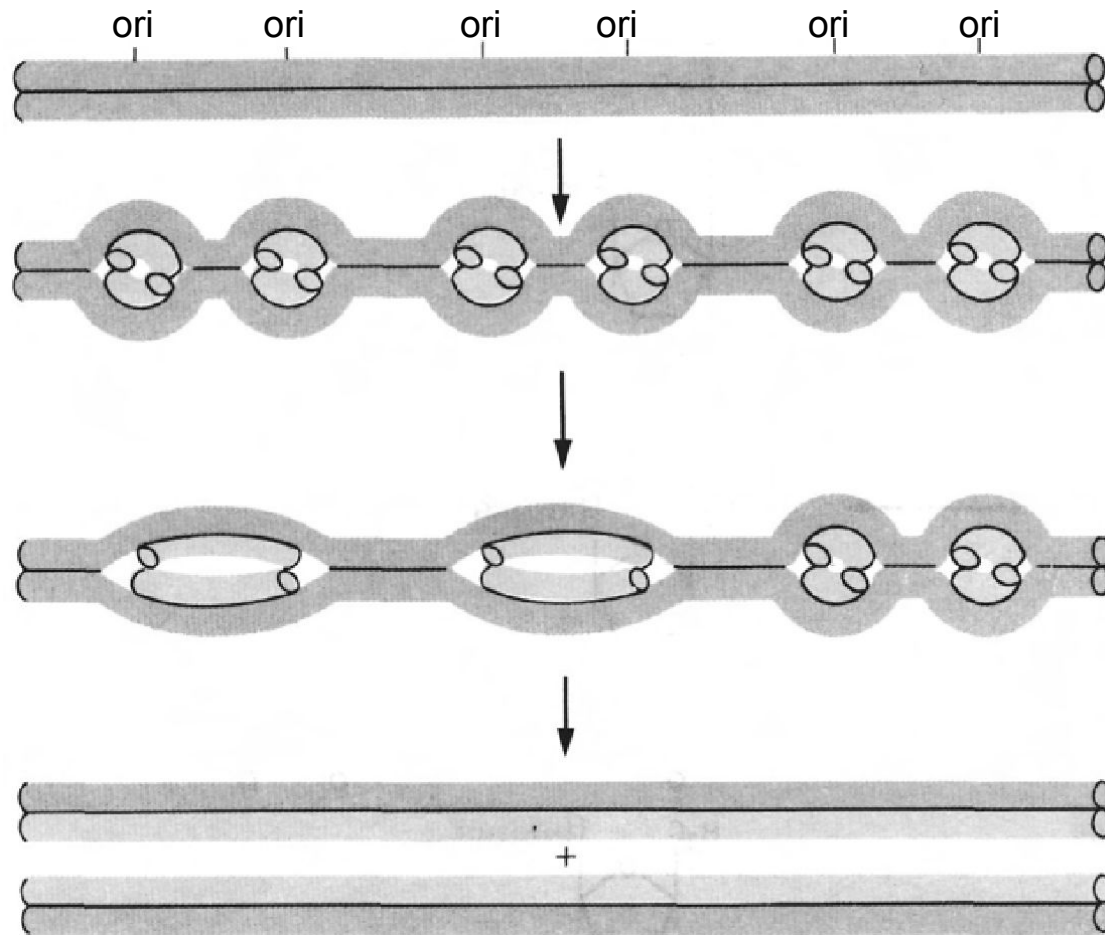
- Дуплексті ДНК қолданбалы репликация жобасы.
- Суреттің ортаңғы бөлігінде жартылай консервативті механизм көрсетілген. Соның ішінде – консервативті (сол жағында) және дисперсионды (оң жағында), - белгісіз. Сонымен қатар, басқада механизмдердің болу мүмкіндігі бар.

- ДНК репликациясы арнайы жерлерден басталады, оны репликация басталатын нүкте деп атаймыз.
- ДНК екі еселенгенше көшірілу процесі бір немесе екі бағытта репликативті айырлардың пайда болуымен жалғасады.
- Жабық тізбекті сақиналы дуплекстерде жаңа синтезделген ДНК тізбегі жалғыз айырша репликация нүктесіне оралған кезде онымен ковалентті байланысады.

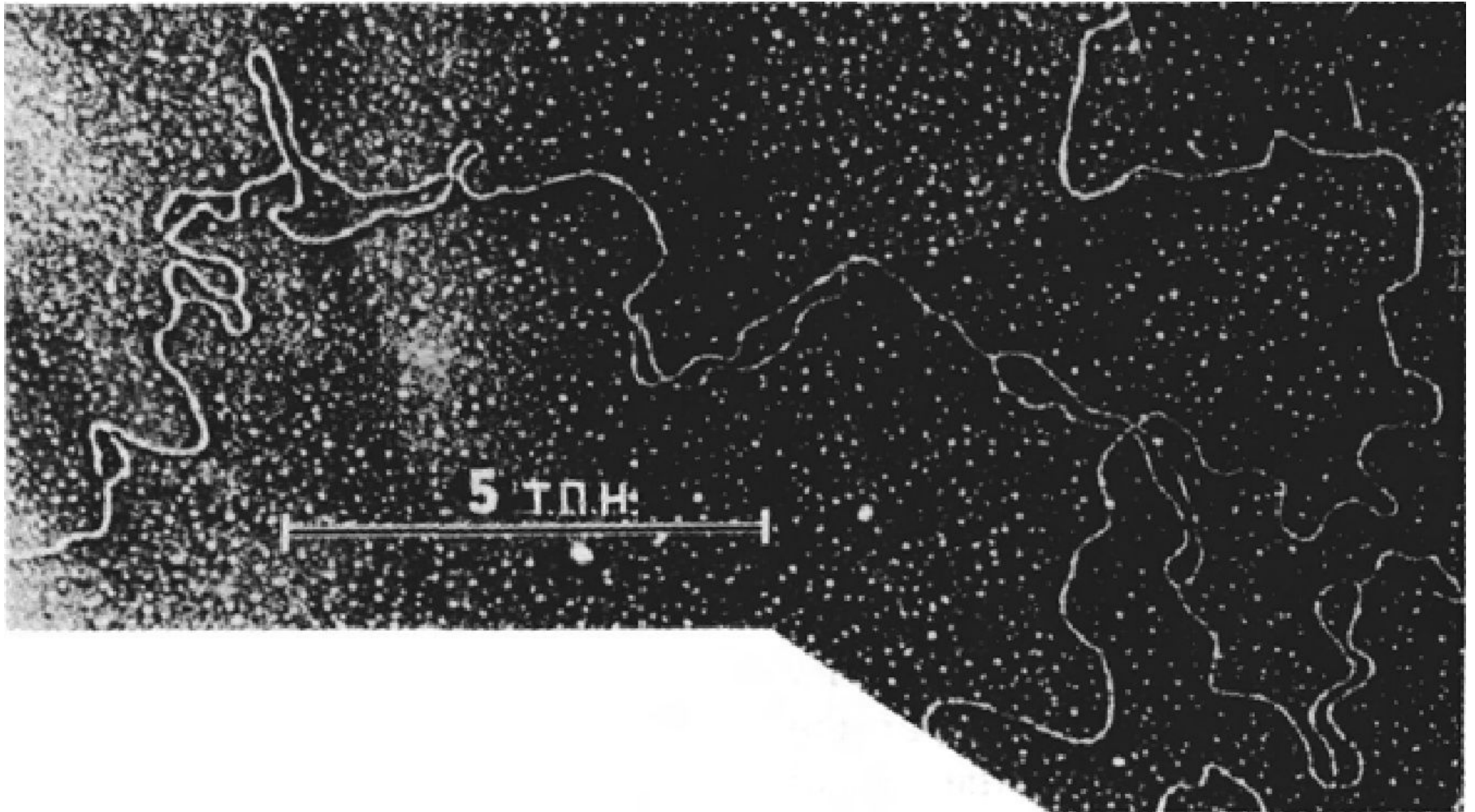


- ДНК синтезі ori нүктесінен екі бағытта жүреді.
- ДНК репликация синтезінің ерекшелігі 5'-ұшы жаңа синтезделген тізбектердің аяқталмаған түрде қалады.
- Толық дуплексті фаг геномын құру үшін қосымша әрекет қажет.

- Эукариот жасушаларының геномына хромосомада 30-300 м.ж.н арақашықтығы бойынша таралған көптеген репликация басталатын нүктелер тән.
- Эукариот жасушаларының геномына көптеген репликация басталатын нүктелер тән.





- Хромосомалық эукариот ДНК репликациясы.
- Репликация екі бағытта және әр түрлі нүктелерден бағытталады. Репликация басталатын нүкте (ori) көпіршіктердің пайда болуымен жүреді.
- Суретте көрсетілгендей репликативті айыршалардың қозғалуына қарай көпіршіктер үлкейіп қосылады.

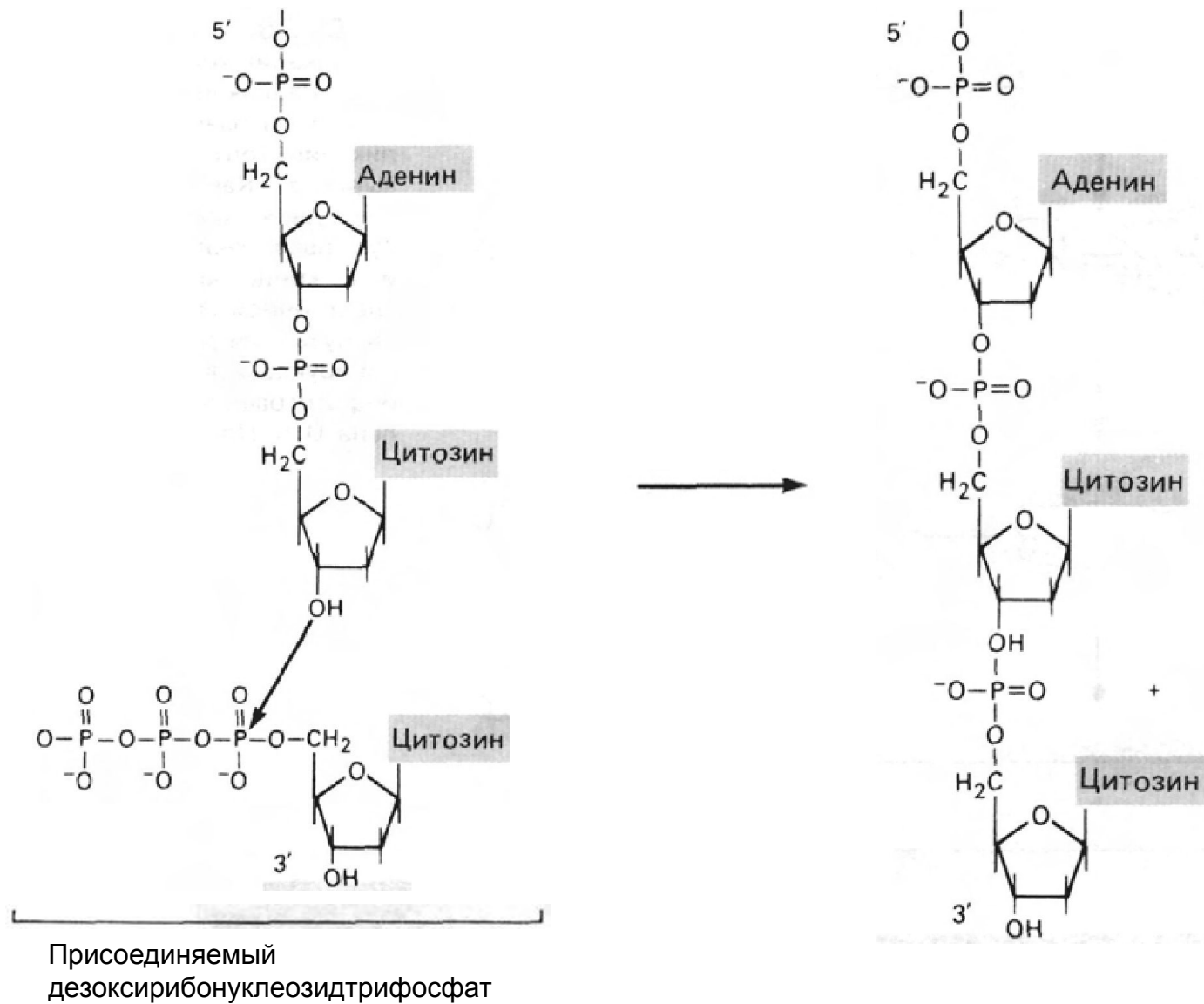


- *Электронды микрофотография арқылы ДНК Drosophila-да репликация жүріп жатқанын көре аламыз.*

- Геномдағы репликация жылдамдығы басты жағдайда инициация жиілігіне байланысты.
- *E. coli* да әр бір айыршаның көшірілуі 1500 п. н. секундына, сонымен қатар толық геном ұзындығы $4 \cdot 10^6$ пар 40 мин. репликацияланады.
- Эукариот жасушаларында репликативті айыршаның қозғалу жылдамдығы аз (10–100 п.н. в секундына).

- 
- 
- Кей жағдайларда репликация басталатын орын сондай бір нуклеотидтер кезектілігіне йе болады да кейін дуплекс ерекше конфигурацияға йе болып, инициацияға қатысатын белоктарды таниды.

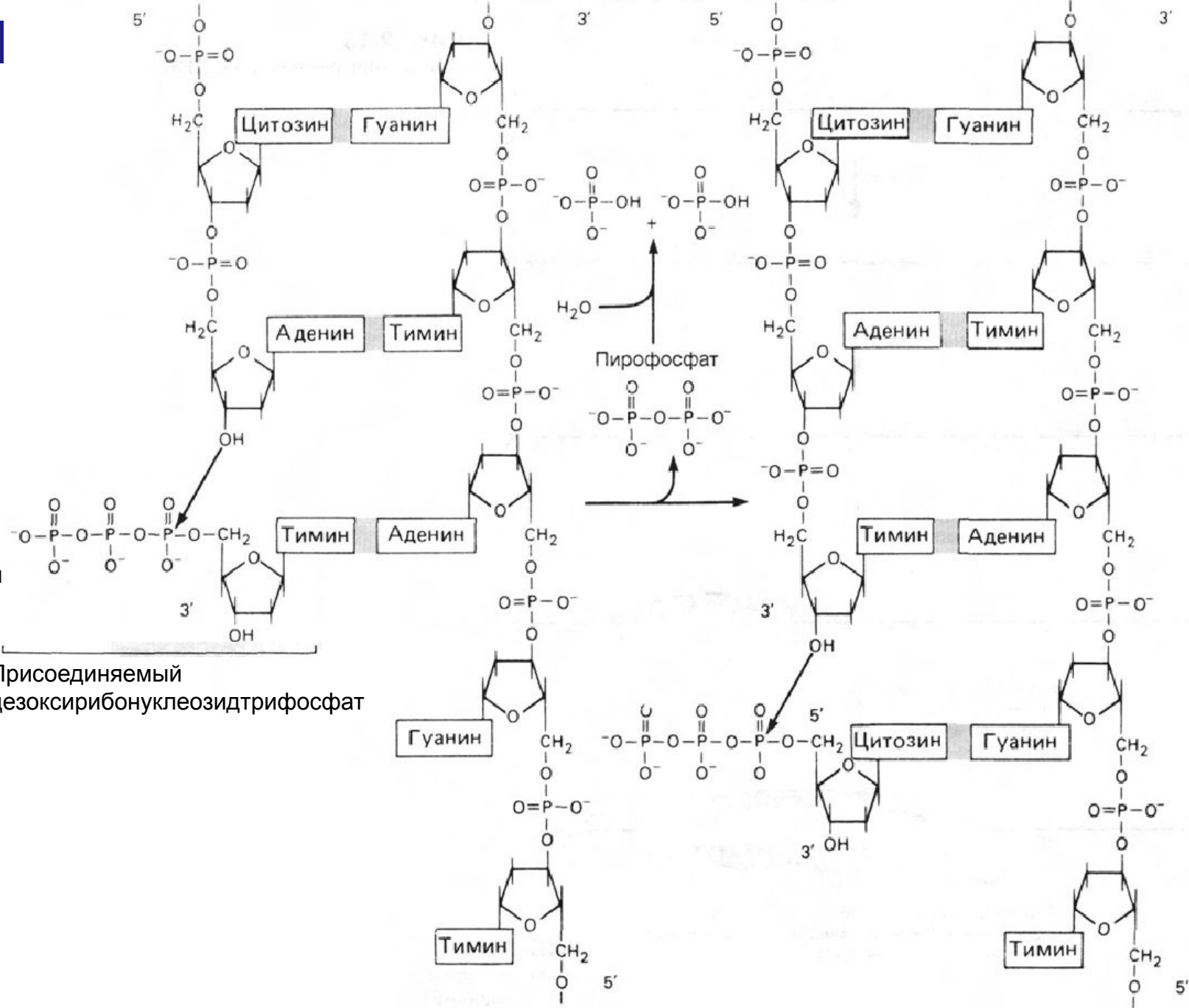
- ДНК тізбектері 5'-дезоксинуклеотидті дезоксирибонуклеозидтрифосфат бірлігінің 3'-гидроксильді ұшымен байланысуымен синтезделеді.
- Матрицалық тізбек бойымен 5'→3' бағытта олар синтезделеді, 3'→5' бағытқа қарама қарсы.
- Тізбектердің кері бағытта жүрмейді.
- Бір тізбек үздіксіз синтезделеді, ал келесі тізбек үздікті.
- Бастаушы тізбек репликативті айыршаның 5'- 3'- ұшына қарай бағытталады.
- Үздікті тізбек синтезі үшін бірнеше инициация жүруі қажет. Нәтижесінде көптеген қысқа тізбектер пайда болады. Бұл тізбектерді Оказаки фрагменттері деп атаймыз. Прокариоттарда өлшемі 1000–2000 нуклеотид, ал эукариоттарда репликацияланатын ДНК 100–200.
- Қозғалысқа байланысты репликативті айыр ұштары Оказаки көрші фрагменттерімен үздіксіз тізбекті түзе отырып құралады.

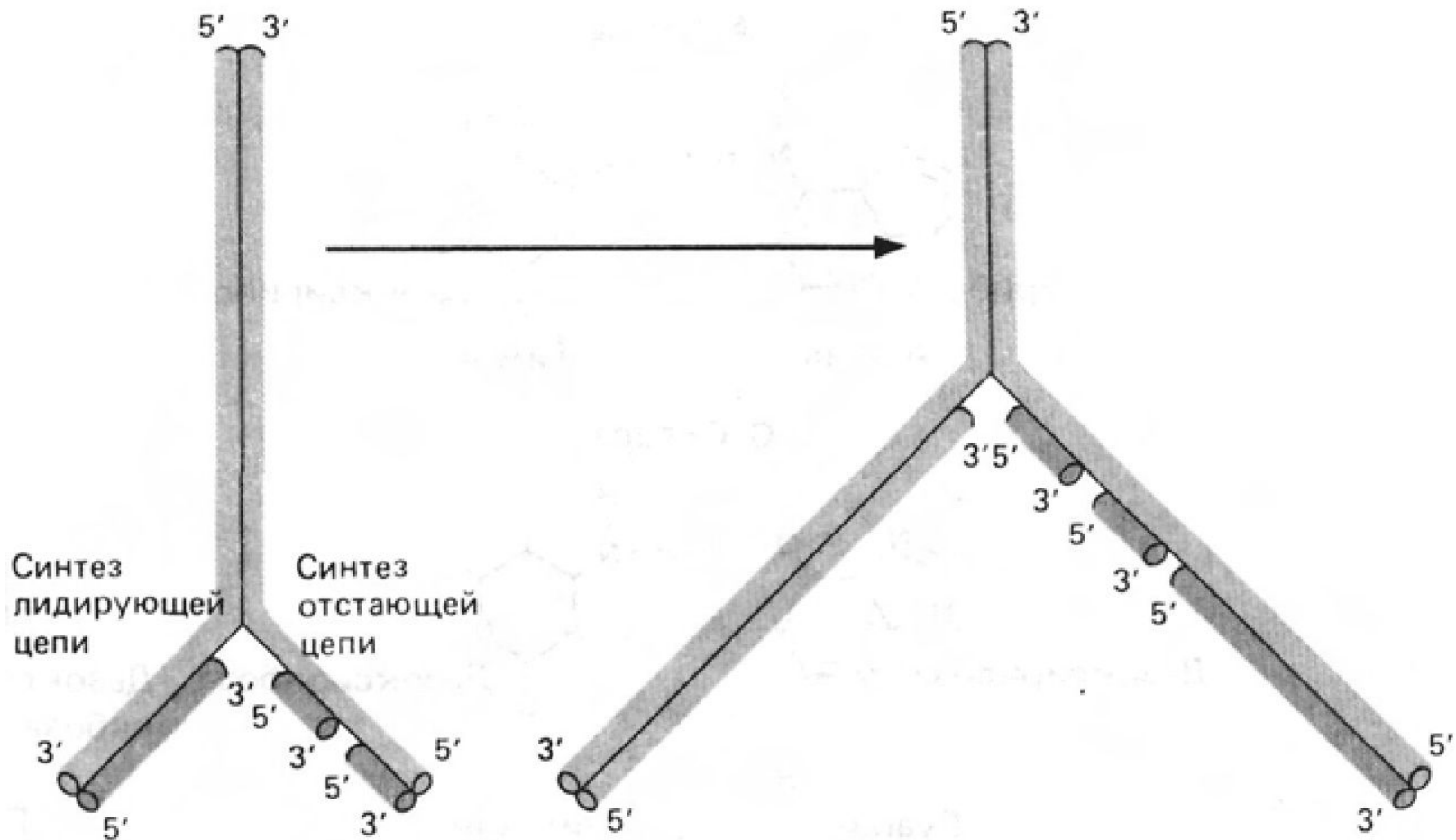


- ДНК тізбектері әрбір кезекті нуклеотид ұшындағы 3'-ОН-топқа дезоксинуклеотидтердің байланысуымен ұзарады.
- Жаңадан дезоксинуклеотид бірліктеріне 5'-дезоксинуклеозидтрифосфаттар донор болып табылады.
- Әрбір нуклеотидтің байланысуы бір пиррофосфат молекуласының босауымен жүреді.

ДНК репликациясы. Праймер тізбегінің өсуі матрицалық тізбекке комплементарлы тізбектің көшірілуімен жүзеге асады. Жаңа дезоксинуклеотидтер 3'-ұшына жалғанса да, праймер тізбегі 5'→3' бағытта өседі. Комплементарлы матрицалық тізбек 3'→5' бағытта жүреді. Реакцияға қажет энергияны гидролиз пирозин фосфат есебінен алады.

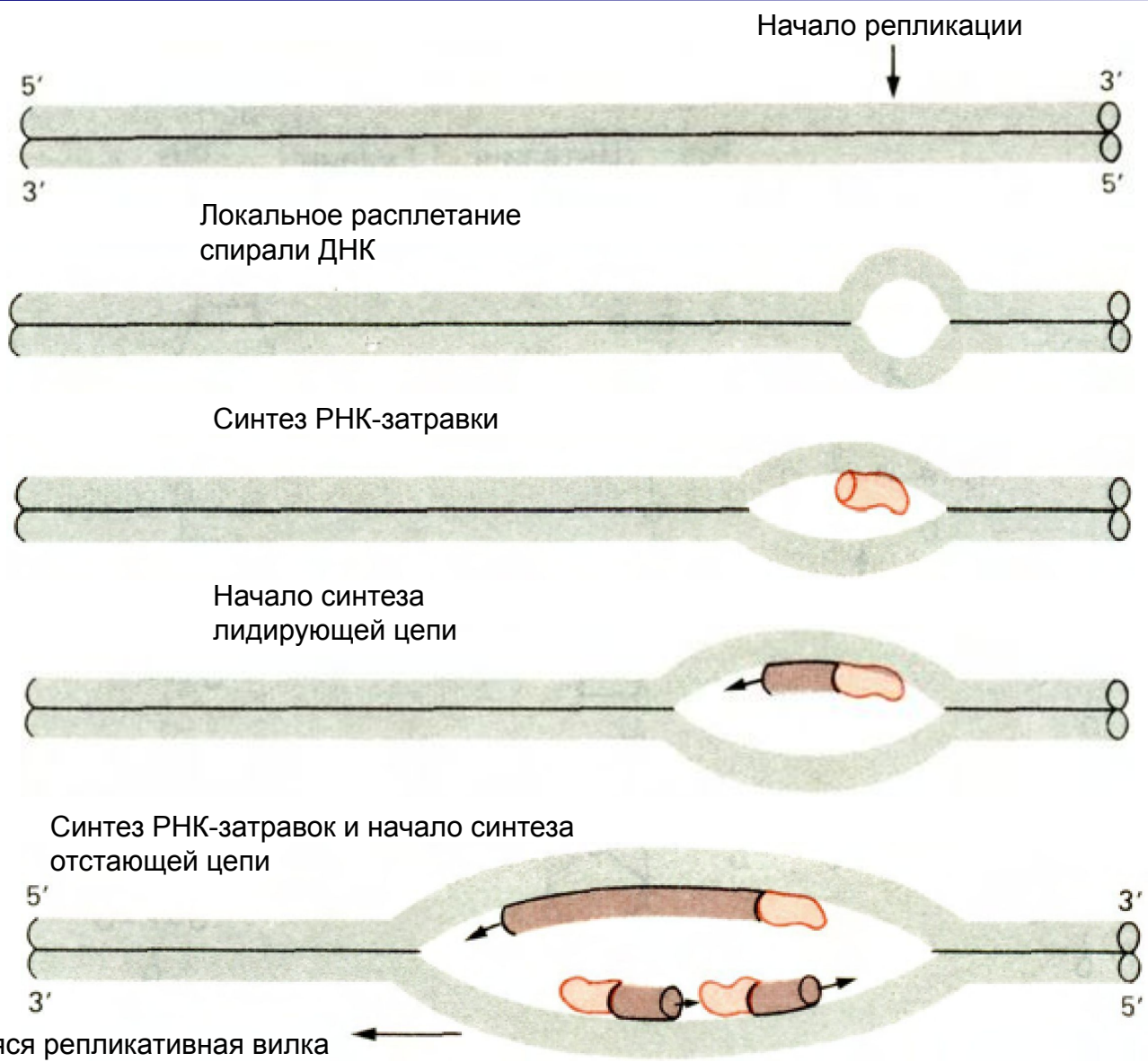
Присоединяемый дезоксирибонуклеозидтрифосфат





- ДНК екі тізбегінде де репликативті айырша синтезі 5'→3' бағытта жүреді.
- Бір тізбек - бастаушы – толық синтезделді, ал екіншісі - үздікті-қысқа фрагменттермен, артынша үздіксіз тзбектердің пайда болуымен байланысады.

- Оказаки фрагменттерін пайда болуы барысында репликацияның инициация механизмдері бірдей, бірақ кейбір ерекшеліктері бар.
- Екі жағдайда қысқа РНК затравканың (праймер) матрицалық ДНК компонентарлы болып, жаңа ДНК тізбегі синтезделеді.
- Әрі қарай РНК қысқа бөліктері ДНК сегменттерімен байланысып, соңына қарай үздіксіз артта қалушы тізбек түзілдеі.



Образовавшаяся репликативная вилка перемещается влево (вверху - лидирующая цепь, внизу - отставущая)

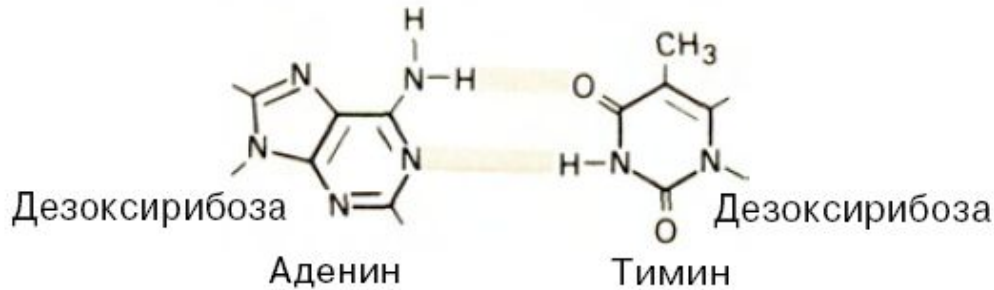
- ДНК репликациясының инициациясы

- Синтез барсында кейде матрицалық тізбек ішінде нуклеотидтердің қате байланысуы болады.
- Нуклеотидтердің қате қосылуынан тізбектің өсуі тоқтатылады.
- Нуклеотидтердің байланысуын катализдейтін ферменттер эффективті жүйемен жабдықталған. Олар қате қосылған нуклеотидтерді жойып отырады.

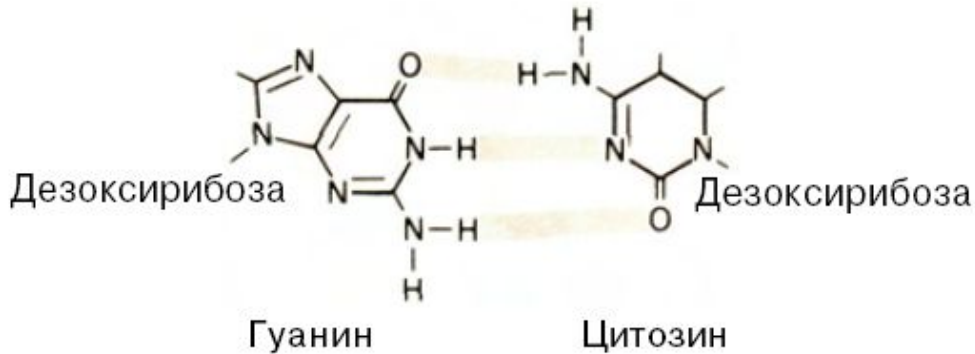
- ДНК-полимераза- праймер - қажетті, дезоксинуклеотидтердің байланысуын ДНК матрицасымен детерминирленетін фермент.
- Оказаки фрагменттері ДНК тізбегін көшіру барысында үздіксіз тізбекке айналады. Бұл реакция ДНК лигазамен жүзеге асады. ДНК лигаза дуплексте ДНК тізбегін ковалентті байланысын катализдейді.
- ДНК-лигаза тек репликацияда емес сонымен қатар, ДНК рекомбинациясында маңызы зор.

ОБЫЧНЫЕ ПАРЫ

А-Т-пара

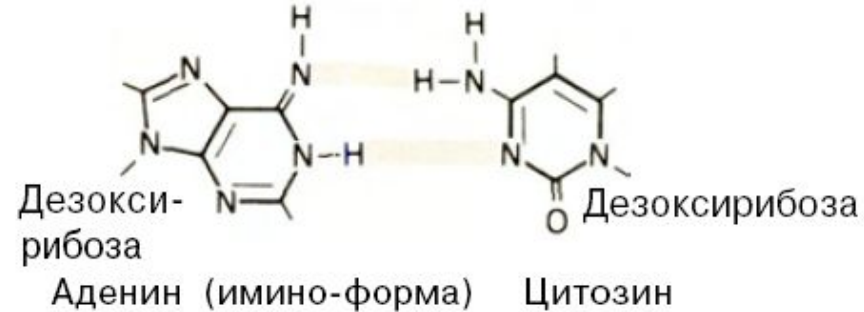


Г-С-пара

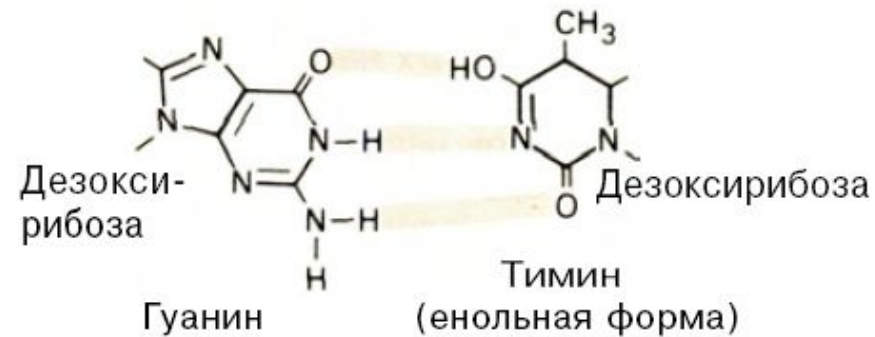


НЕОБЫЧНЫЕ ПАРЫ


А-С-пара



Г-Т-пара



- Сирек кездесетін жұптар, жай және күрделілерді салыстырамыз

- 
- ДНК-полимераза барлық прокариот және эукариот жасушаларында кездеседі.
 - Көптеген жануарлар және бактерия вирустары вирус спецификалық ДНК полимераза немесе ақуыздардың түзілуін индуцирлейді.

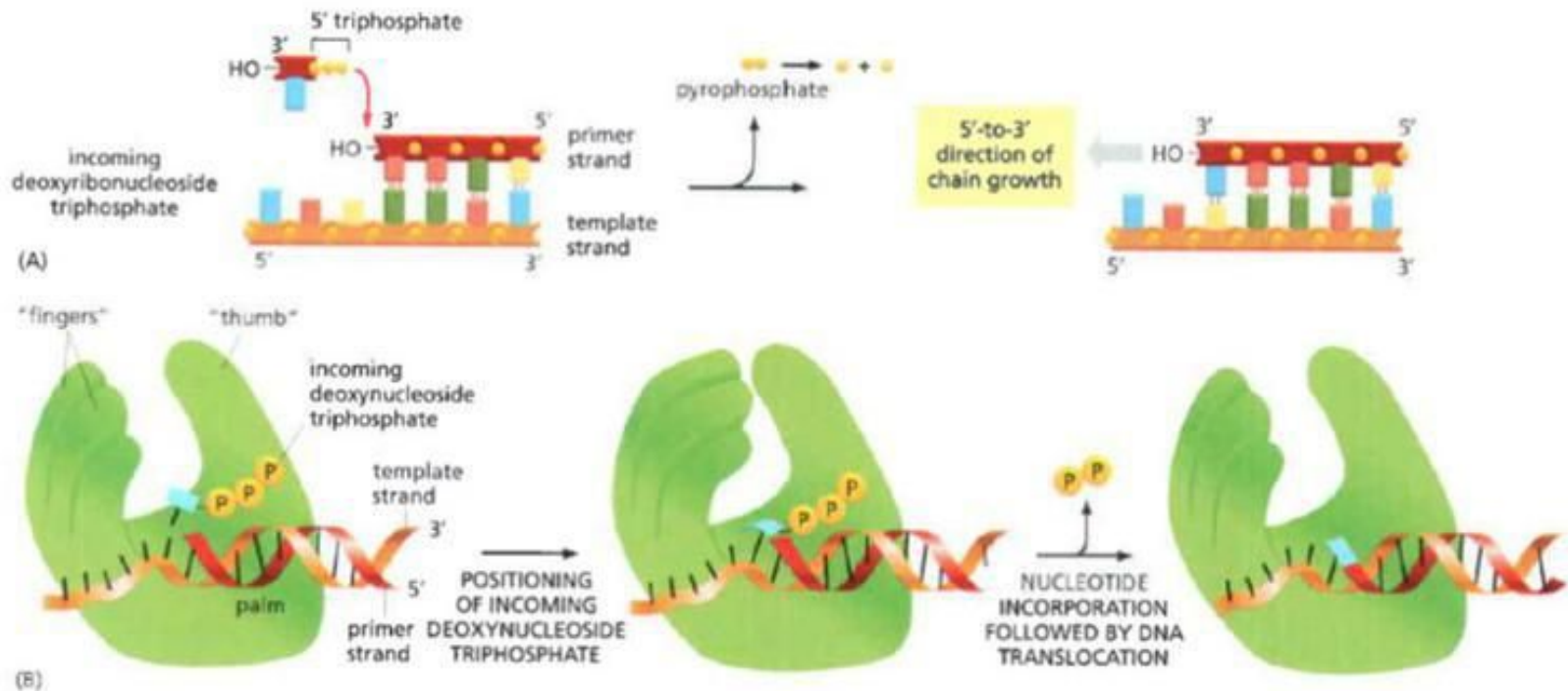


Figure 5-4 DNA synthesis catalyzed by DNA polymerase. (A) As indicated, DNA polymerase catalyzes the stepwise addition of a deoxyribonucleoside to the 3'-OH end of a polynucleotide chain, the *primer strand* that is paired to a second *template strand*. The newly synthesized DNA strand therefore polymerizes in the 5'-to-3' direction as shown in the previous figure. Because each incoming deoxyribonucleoside triphosphate must pair with the template strand to be recognized by the DNA polymerase, this strand determines which of the four possible deoxyribonucleotides (A, C, G, or T) will be added. The reaction is driven by a large, favorable free-energy change, caused by the release of pyrophosphate and its subsequent hydrolysis to two molecules of inorganic phosphate. (B) The shape of a DNA polymerase molecule, as determined by x-ray crystallography. Roughly speaking DNA polymerases resemble a right hand in which the palm, fingers, and thumb grasp the DNA and form the active site. In the sequence shown, the correct positioning of an incoming deoxynucleoside triphosphate causes the fingers of the polymerase to tighten, thereby initiating the nucleotide addition reaction. Dissociation of pyrophosphate causes release of the fingers and translocation of the DNA by one nucleotide so the active site of the polymerase is ready to receive the next deoxynucleoside triphosphate.

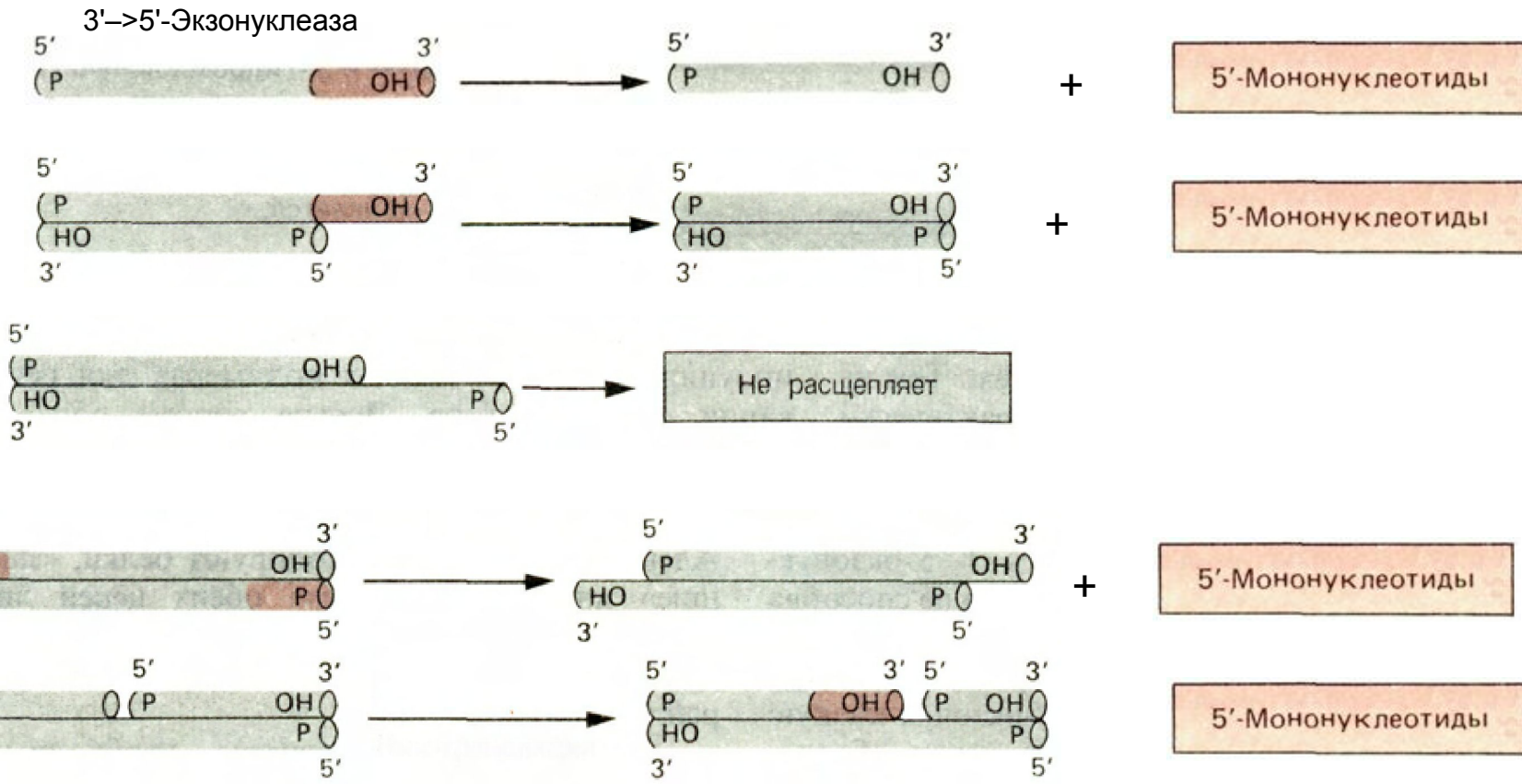
- I (Pol I) *E. coli* ДНК полимеразасы толық зерттелген. Жалғыз полипептид мультиқызметтілігімен сипатталады.
- Pol I ДНК-полимераза ретінде 5'-дезоксинуклеотидильді бірлік дезоксинуклеозид-5'-трифосфатты ДНК немесе РНК тізбегіндегі 3'-ОН-топқа ауысуын катализдейді. Кейін ДНК тізбегіне комплементарлы бйланысу басталады.

- Нуклеотидердің полимеризациясынан басқа Pol I екі реакцияны катализдейді, биологиялық ролі өте маңызды.
- Солардың бірінде ДНК тізбегінің бір бөлігінде фосфодиэфирлі байланыстардың гидролизі жүреді (3'-5'-экзонуклеаза).
- Екінші реакцияда да нуклеотидтердің ыдырауы басталады. Бірақ гидролиз 5'- ұшынан 3'-ұшына қарай жүреді.
- Pol I полипептидті тізбектің әр түрлі сайттарына қатысты.

- Егер *in vitro* да трипсинмен Pol I байланыстырса, полипептидті тізбек үлкен және кіші бөлшектерге бөлінеді.
- Үлкен, С-ұшты фрагмент («фрагмент Кленова») 3'-5'-экзонуклеазды және ДНК полимеразды активтілікті сақтап қалады;
- Кіші, N-ұшты фрагмент тек 5'-3'-экзонуклеазды белсенділікке йе.
- 3'-5'-экзонуклеазды активтілік кез келген нуклеотидтің жалғануын бақылайды және қате жалғанған нуклеотидерді жояды.

- Pol I екі тізбекті ДНК ның бір тізбегінің 3'-ұшын ұзарта алады және 5'-ұшындағы нуклеотидтерді жоя алады (процесс, называемый ник-трансляцией).
- Репарацияда маңызды роль атқарады.
- Pol II нуклеотидтерді барынша аз байланыстырады және 5'-3'-экзонуклеазды активтілікке йе емес. Pol II ДНК фрагменттері арасындағы үзіктерді толтыруы мүмкін, бірақ Оказаки фрагментінен РНК нуклеотидтерін ыдырату немесе ник-трансляцияны бастауға қабілетсіз.

- Pol III-холофермент – маңызды фермент, *E. coli*. хромосомалық ДНК репликациясына жауапты.
- Кез келген жасушада тек кана 10–20 көшірмелері бар. Сонымен қатар, мультиферментті комплекстің негізі компоненті, репликация айыршаларын инициациясын құрастырушы және элонгацияға қатысады.
- Pol III-холофермент 5'-3'-экзонуклеазды активтілікке ие болмағандықтан, репликация үшін және артта қалушы тізбекке Pol I қатысу қажет. Өнімнің ұзаруына әкеледі.



- ДНК-полимераза 3'→5'- и 5'→3'-экзонуклеазды реакцияларды катализдейді.
- 3'→5'-экзонуклеаза бір тізбекті ДНК ны 3'-ОН-ұшынан ыдыратады, ал 5'→3'-экзонуклеаза дуплексті ДНК 5'-ұшынан.
- 5'→3'-экзонуклеазды және полимеразды активтілік катализдейтін процесс дуплексте бір тізбекті 5'-ұшынан нуклеотидтерді ыдыратады және 3'-ұшынан өсіреді. Ыдыраған орын нәтижесінде тізбек бойымен 5'-тан 3'-ұшына қарай орналасады (ник-трансляция). Ник-трансляцияның түзілуіне дезоксинуклеозидтрифосфат қажет.

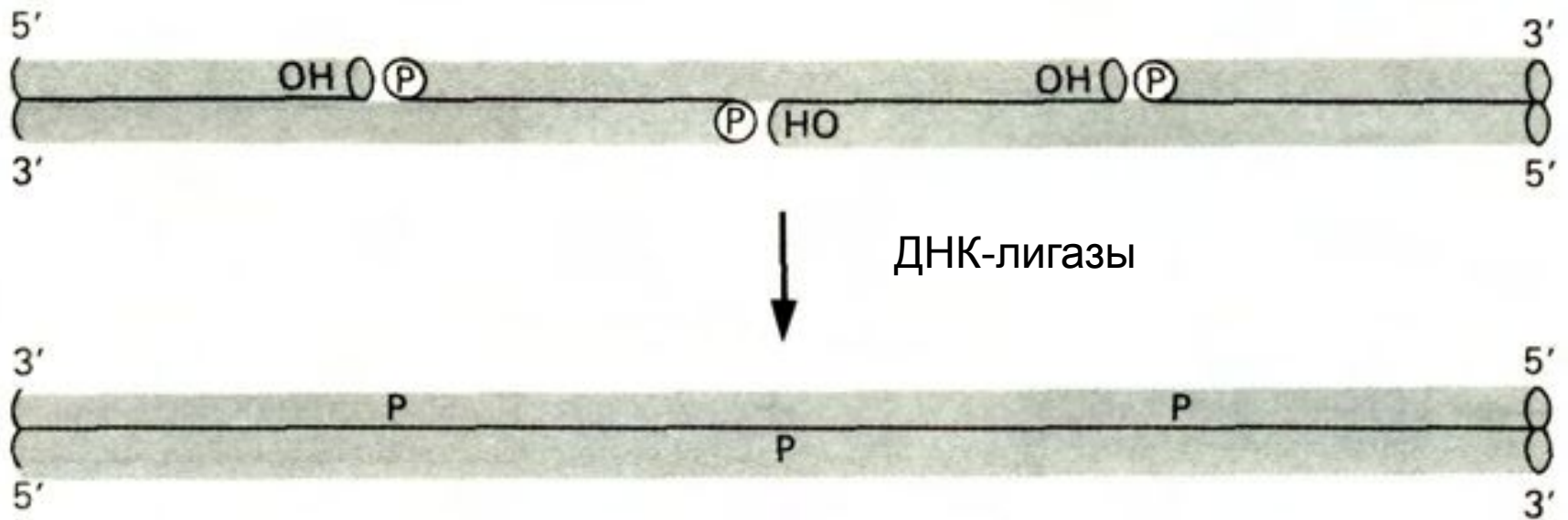
- Эукариот жасушаларында көптеген ДНК-полимеразалар идентифицирленген. Прокариоттардың ферменттеріне қарағанда жақсы зерттелген.
- Сүт қоректілердің жасушаларынан төрт ДНК-полимераза алыған: α , β және δ ядрада , ал γ – митохондрияда.

- Ядролық хромосоманың репликациясына **α ДНҚ полимеразамен бірге δ . ДНҚ** полимераза қатысады.
- **α ДНҚ полимераза**—барлық эукариот жасушаларына тән құрамы мен қасиеті ұқсас мультисуббірлікті фермент. Бір суббірлікте *primase* белсенділік бар, ал ең үлкен суббірлік полимеразалық белсенділікке ие. Алайда бұл полимераза 3' - 5' түзетуші экзонуклеазалық белсенділікке ие емес.
- **α ДНҚ полимераза қысқа праймерлердің синтезделуіне қатысады, яғни артта қалған тізбектегі Оказаки фрагменттерінің, синтезделуіне қатысады. Бұл праймерлер содан соң δ ДНҚ полимераза арқылы жойылады.**
- **δ ДНҚ полимераза пролиферативті жасушалық ядролық антиген деп аталатын ақуыз арқылы стимулданады, бұл ақуыз пролиферацияланатын жасушалардың ядросынан көп мөлшерде табылған (PCNA; Mr- 29 000). PCNA-ның үш өлшемді құрылымы ДНҚ полимераза III-тің β суббірлігіне ұқсас, бірақ тізбектердің басты сәйкестігі айқын емес.**
- PCNA –да β суббірліктегі сияқты ұқсас қызметі бар, ол полимеразаның процессивтілігін арттырады.
- **3' - 5' экзонуклеазалық белсенділікті түзетуші δ ДНҚ полимераза сонымен бірге қос тізбектегі тасымалдауды да атқарады.**

- Тағы да бір полимераза ол- **εДНК полимераза**, δ ДНҚ полимеразаның кейбір жағдайда орынын басады, мысалы, ДНҚ репарациясында. **εДНК полимераза соынмен қатар репликациялық вилкада да қызмет атқарады, ол жерде ол бактериялық 1ДНҚ полимеразаға аналог ретінде болады, сойтіп артта қылған тізбек Оказаки фрагментіндегі праймерлерді жояды.**
- Тағы да екі кешенді ақуыз бар, олар эукариот репликациясына қатысады.
- **RPA** (*replication protein A*) eukaryotic ақуыз, ДНҚ-ның бір тізбегін *E. Coli*-дің эквивалентті SSB ақуызымен байланыстырады.
- **RFC** (*replication factor C*), **PCNA** –ның отыруын фиксациялайды және репликацияның белсенді кешенінің қалыптасуын жеңілдетеді.
- **RFC кешенінің суббірлігінде бактериялық кешен отыруын фиксациялайтын ұқсас тізбек бар.**
- Сызықты эукариот хромосомасында репликацияның аяқталуы әр хромосоманың ұшындағы теломер деп аталған арнайы құрылымдардың синтезін тудырады.

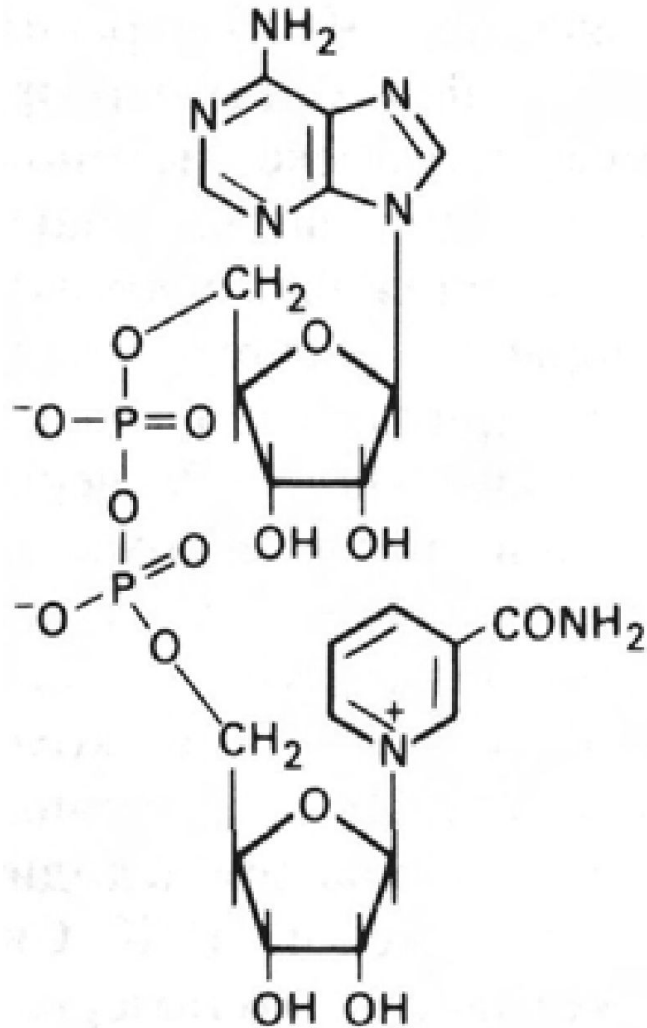
- ДНК-полимераза хромосомалық ДНК репликациясына қатысады. Полимеразды белсенділігі үлкен полипептидтермен байланысты, бірақ мультисуббірлікті белок ретінде қызмет атқарады.
- β -Полимераза – жалғыз полипептид, қызметі репарация барсында зақымдалған ДНК үзінділерінің орнын толтыру.
- Митохондриальды полимераза γ , геномдағы митохондриальды репликацияға жауапты және төрт полипептидтен тұрады.
- δ -Полимераза өзінің молекулярлы және синтетикалық құрамымен α полимеразаға ұқсас және хромосомалық ДНК репликациясына қатысады.

- ДНК-лигаза ДНК тізбектерін байланыстырушы ретінде репликация, репарация және рекомбинацияға қатысады.
- Барлық белгілі лигазалар бұзылған ДНК орындарында көрші дезоксинуклеотидтер 5'-фосфорильді және 3'-гидроксильді топтар арасында фосфодиэфирлі мостиктерді құруға қабілетті.

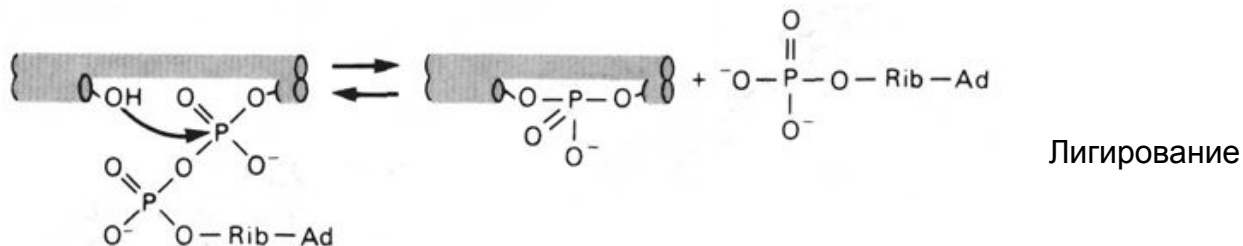
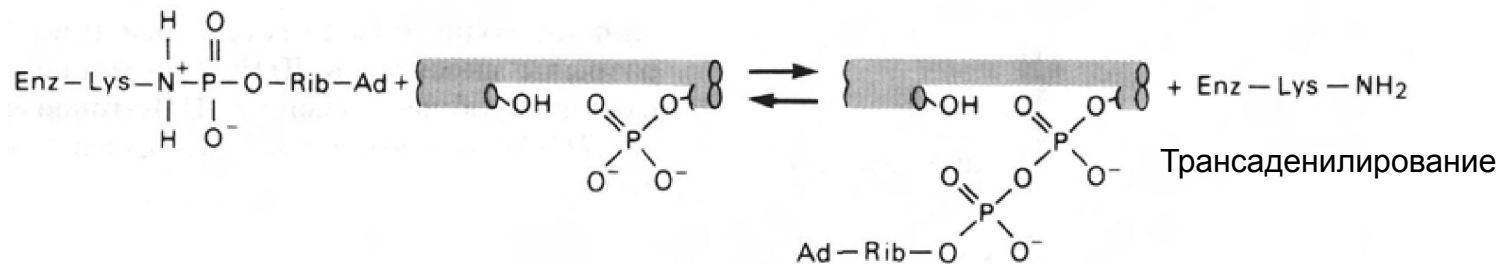
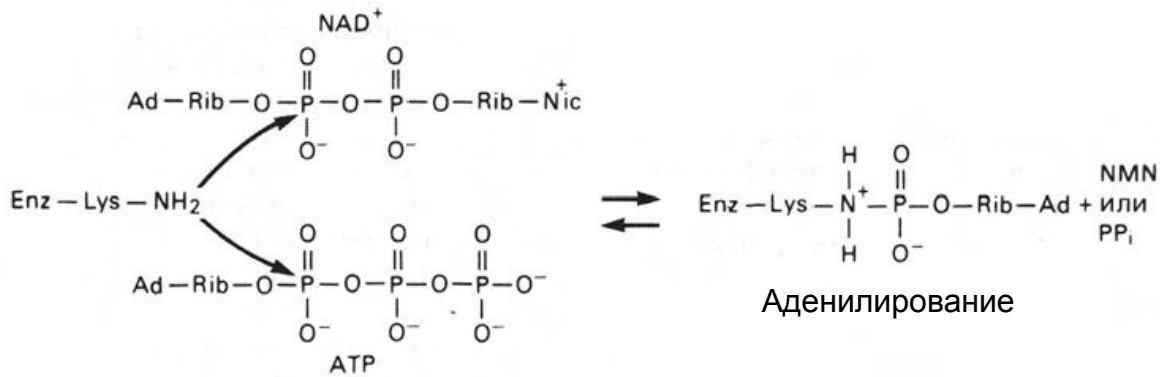


- Барлық ДНК лигазалар дуплекті ДНК қарама қарсы ұштарында тұрған нуклеотидтердің 5'-фосфорильді және 3'-гидроксильді топтарын байланыстырады.
- Жаңа фосфоэфирлі байланыс орнайды

- *E. coli* ДНК-лигаза, Т4 және Т7 – жалғыз полипептидті тізбектер, ал сүт қоректілердің ДНК лигазаларының екі түрі әлі белгісіз.
- Фосфодиэфирі байланыстарды қатысты нуклеотид ұштарымен байланыстыру үшін лигазалар гидролиза, АТФ энергиясын пайдаланады немесе никотинамидадениндинуклеотидті (NAD).
- Реакция бірнеше этаптардан құралады:
- 1) Аденильді бірлік NAD(лигазы *E. coli* и *B. subtilis*) немесе АТФ (лигазы фагов Т4, Т7 и млекопитающих) бір уақытта никотинамидномононуклеотид немесе органикалық емес фосфаттың босануымен лигазаның қалдықты ε-аминотопқа ауыстырылады.
- 2) пирофосфорильді аденинил ДНК түзілуімен, аденилильды топ белоктан ДНК ұшындағы 5'-фосфорильді топқа ауысады;
- 3) аденилильді топ, 5'-фосфорильді топпен байланысқан, 3'-гидроксильді топпен ДНК ұшына орналасады.
- Реакциялар нәтижесінде ДНК тізбегінде фосфодиэфирлі байланыс болды және энергия көзі ретінде гидролиза пирофосфорильды байланыс NAD немесе АТФ.

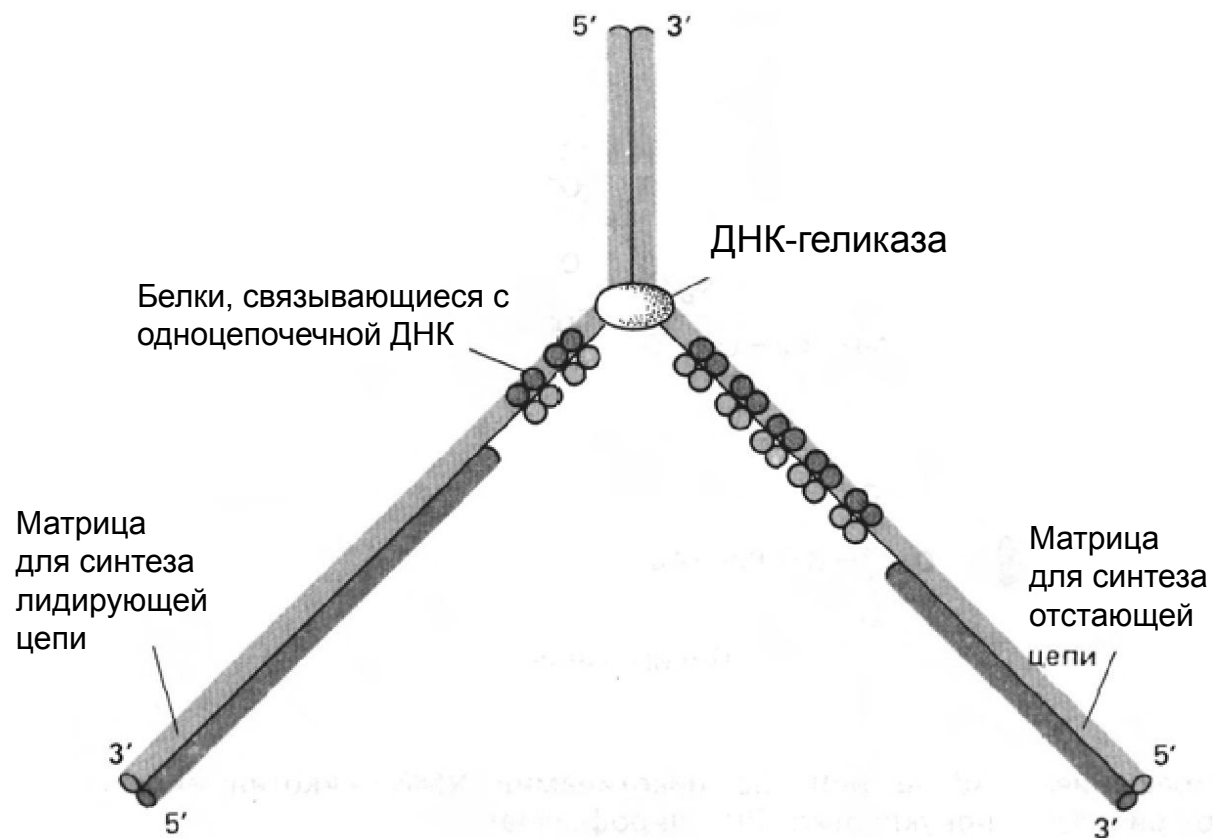


- Никотинамидадениндинуклеотид (NAD).



- ДНК-лигазы (Enz) әсер ету механизмі.
- Қысқартылуы: Lys - лизин, лигазы құрамына кіреді, Rib - рибоза, Ad - аденин, Nic - никотинамид, NMN - никотинамидмононуклеотид, PPi- пирофосфат.

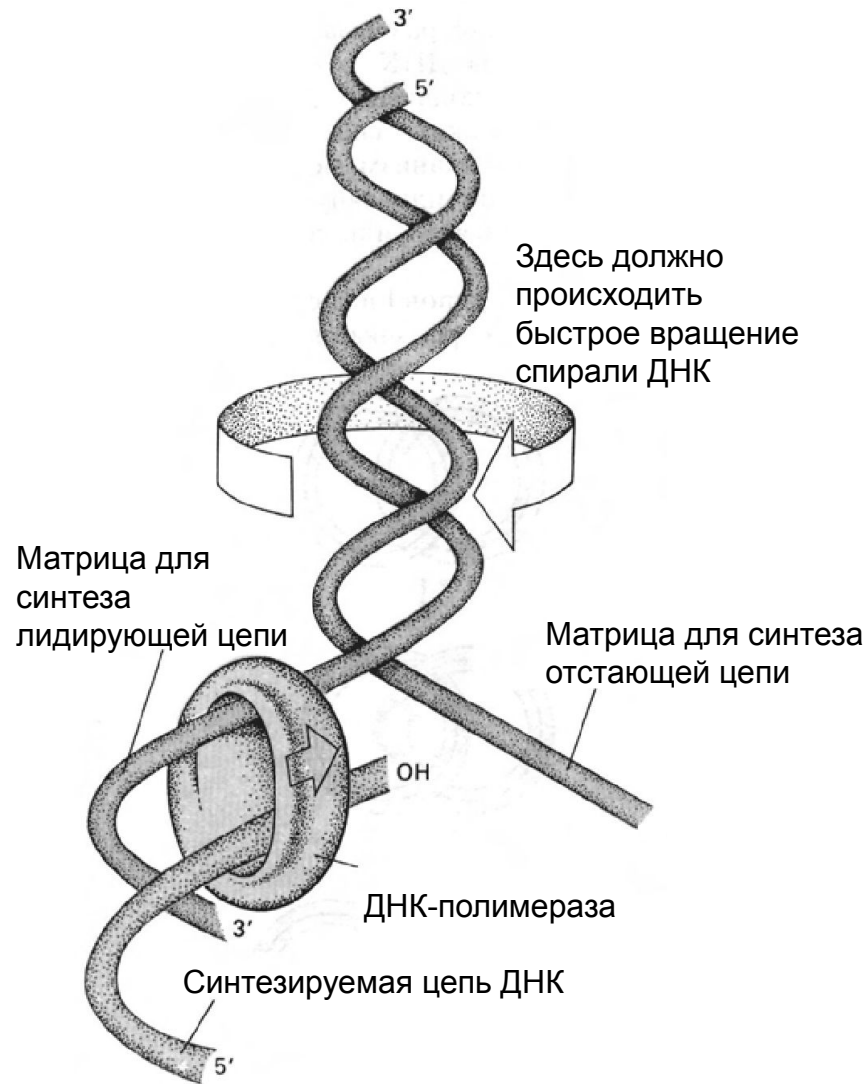
- Комплементарлы тізбектер көшірмелерін алу үшін екі тізбекті ДНК аздап шиыршықтануы қажет.
- Шиыршықтану немесе тарқатылу репликативті айырдың локальды бөлігінде жүреді.
- ДНК-геликазалар екі қабатты спиральда локальды шиыршықтану туғызып, ал басқа да арнайы белоктар бір тізбекті аудандарына комплементарлы байланысудың жағдайын туғызады.



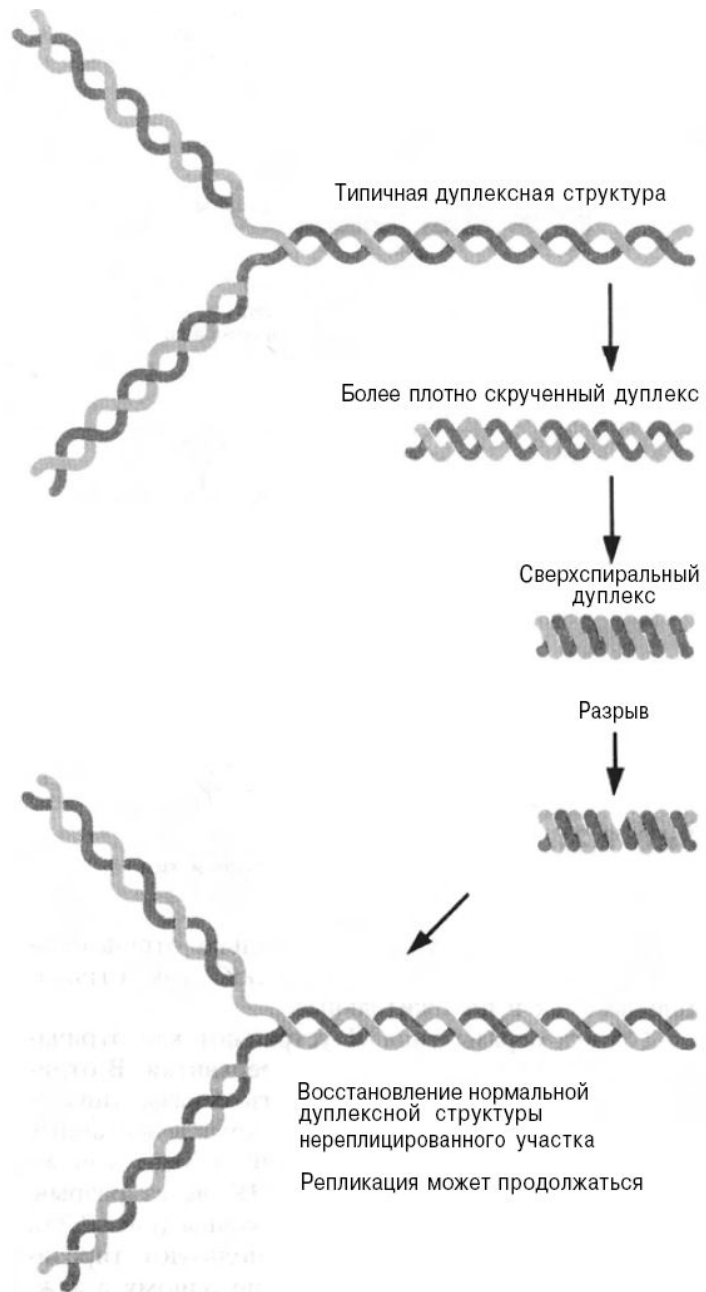
- ДНК дуплекстердің тарқатылуы екі белок қатысуымен жеңіл өтеді: геликазалар және белок. Олар біртүзбекті ДНК байланыстырады.

- Егер де хроматин құрамындағы ДНК тарқатқымыз келсе, ДНК және гистондарды бұзу қажет. Кейін репликация аяқталған соң, екі дочерние спиральды күрделі құрылымды хроматинге орналастырады.
- Байланыспаған ДНК бөліктерін репликация периодында жою үшін хроматин жинағы бір уақытта дуплексті ДНК түзілуімен қатар жүру қажет.


- Шиыршықталудың шегіне қарай сегменттердің жоғары спиральдығы репликацияланатын айырша алдында тұрғанда біртіндеп төмендейді.
- Кейін айыршаны сақина ұшына орналастыру қиындыққа әкеледі де құлыпталады (блокируется). Құлыпты (блок) ашудың бір жолы бір тізбекті бөлікті енгізу арқылы.
- «Шарнир» пайда болып, айырша алдына орналасады да репликацияланбайтын дуплекске мүмкіндік бере отырып, бірге айналады. Мұндай ажыраулар ДНК-ға ДНК-топоизомеразы ферменттері көмегімен орналастырылады.



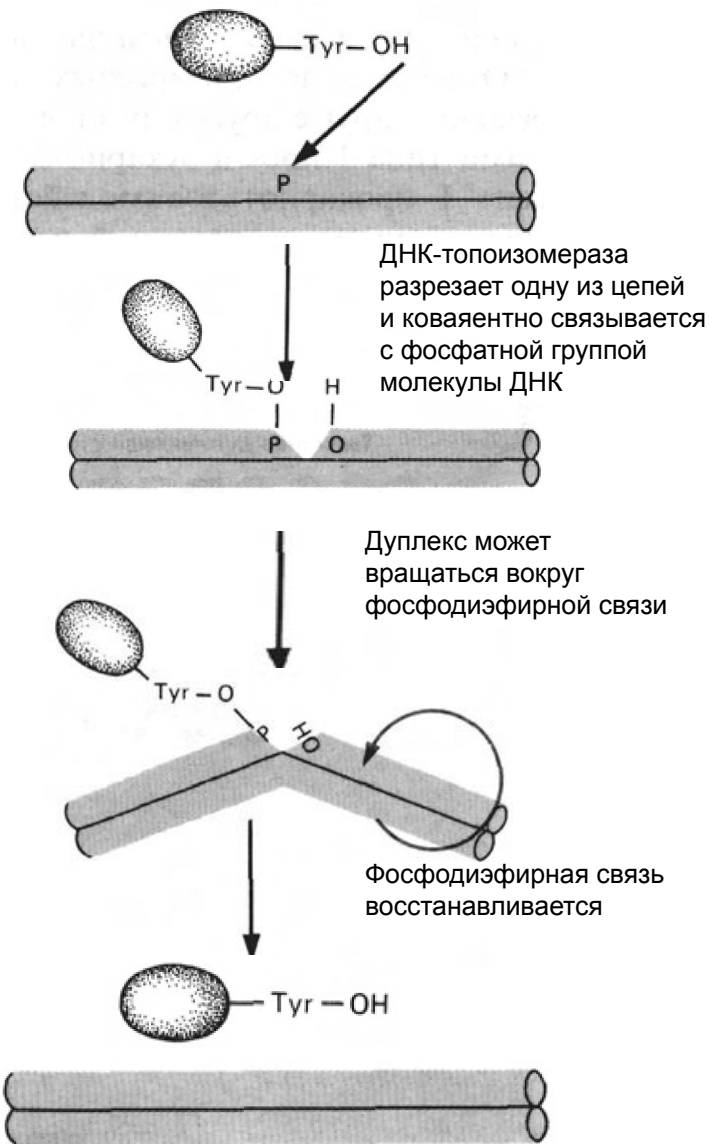
- Екі спиральды ДНК айналуы механикалық өрісті азайтады.



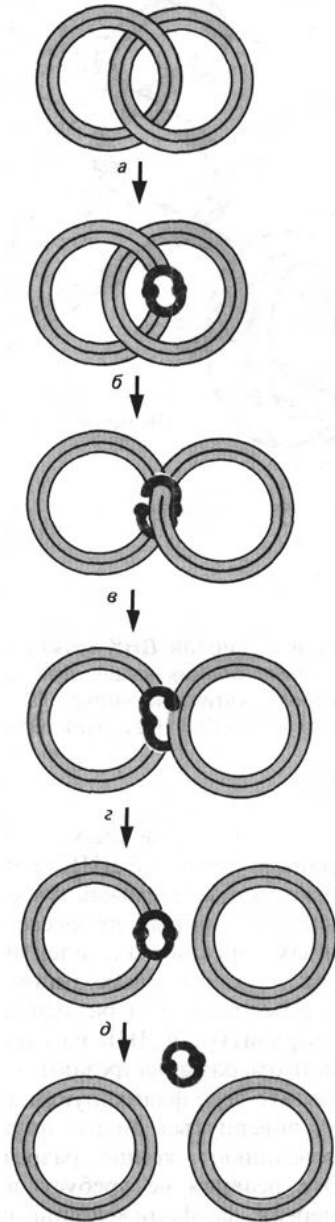
- Механикалық және топологиялық өрісті репликативті айыр алдында сақиналы дуплексте алып тастау қажет.
- Репликацияланбаған жоғары ДНК бөлігінде ажырау болған жағдайда репликативті айырмен айнала алады.
- *in vivo* өтетін ұзын тізбекті ДНК репликациясындағы өрісті осындай әдістер қолдау қажет.

- 
- ДНК-топоизомеразалар жоғары спиральдылықты және жоғары спираль типтерін өзгертеді.
 - Олар репликативті айырдағы үздіксіз қозғалысты әкелетін шарнирлардың пайда болуына әкелмей және де арнайы сақиналы ДНК катенандардың түзілуіне әкеледі.


- Әр түрлі ағзаларда топоизомеразалардың екі басты типтері идентифицирленген.
- I типті Топоизомеразалар жоғары айырларды ДНК да бірлікке азайтады.
- II типті Топоизомеразалар ДНК молекулаларының ажыраған ұштарын жалғайды.

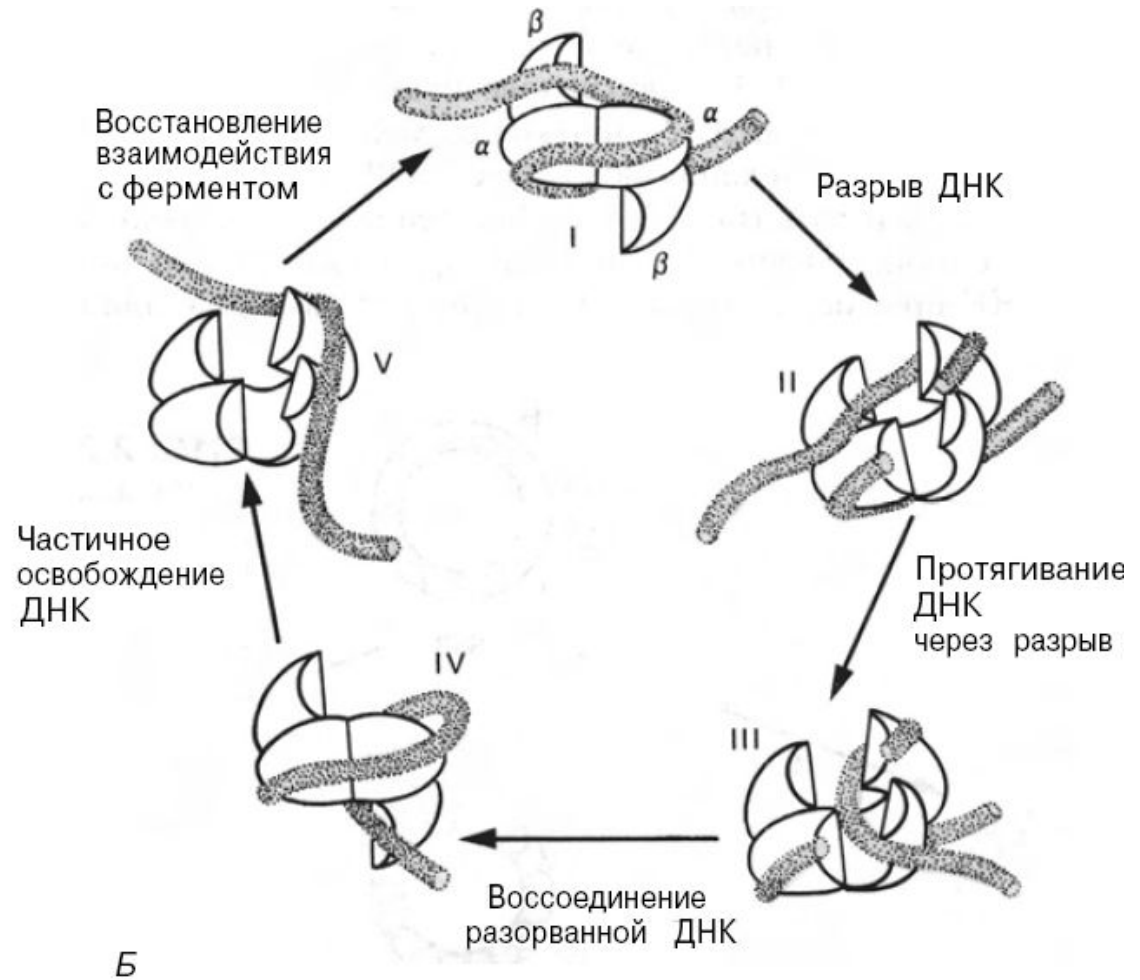
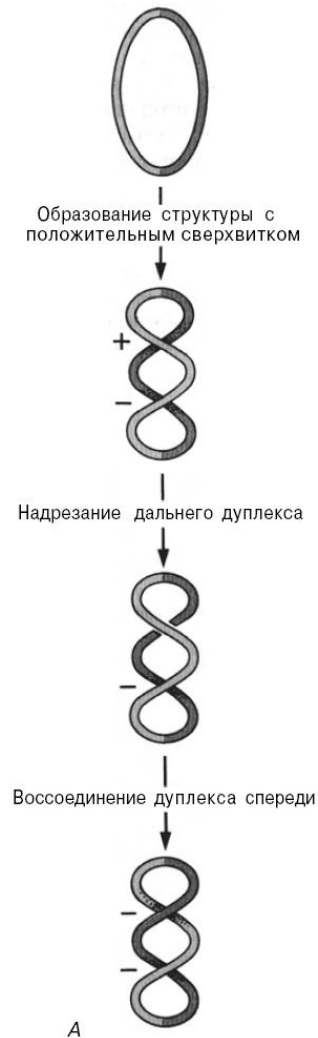


- I типтегі топоизомераза арқылы катализденетін реакциялар

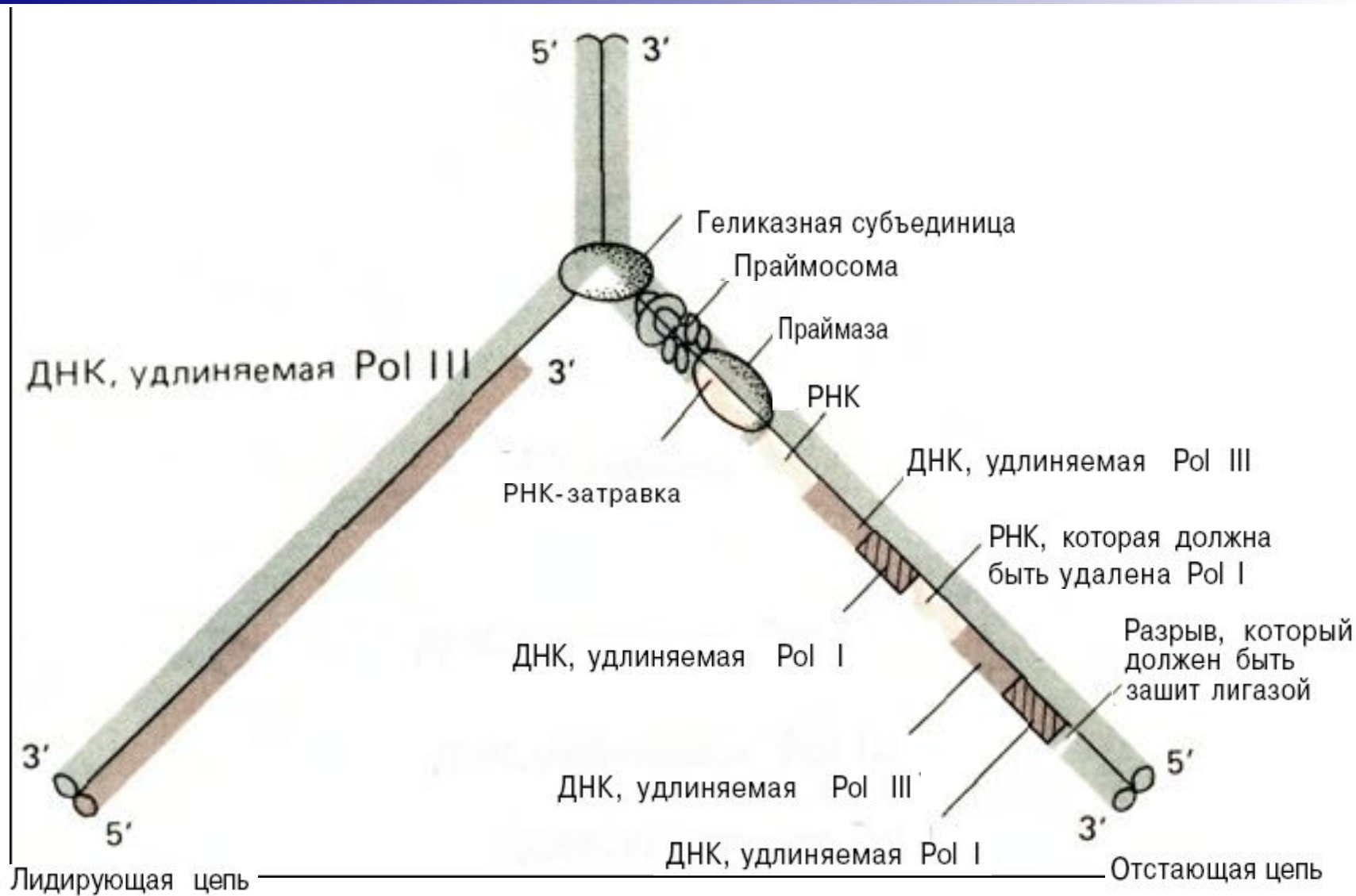


- II типті топоизомеразалар екі сақиналы дуплекстерді катализдейді.

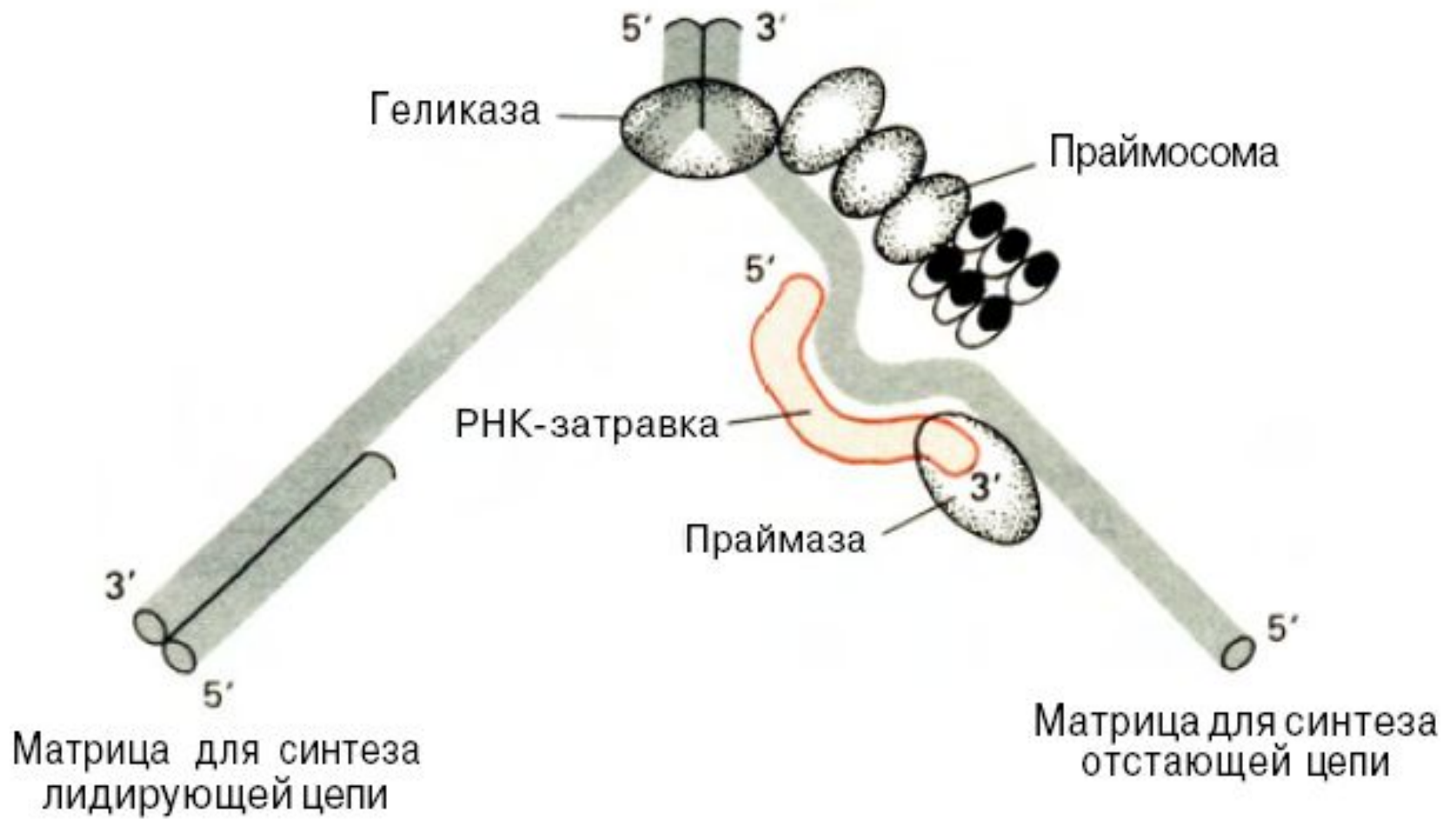
- 
- Топоизомераза II, гиразой тек қана бактерияларда табылған. Олар сақиналы ДНК теріс жоғары айырлардың индукциясын туғызады.
 - Бұл үшін гираза екі тізбекті ажыратып және ерекше әдіспен жалғайды.



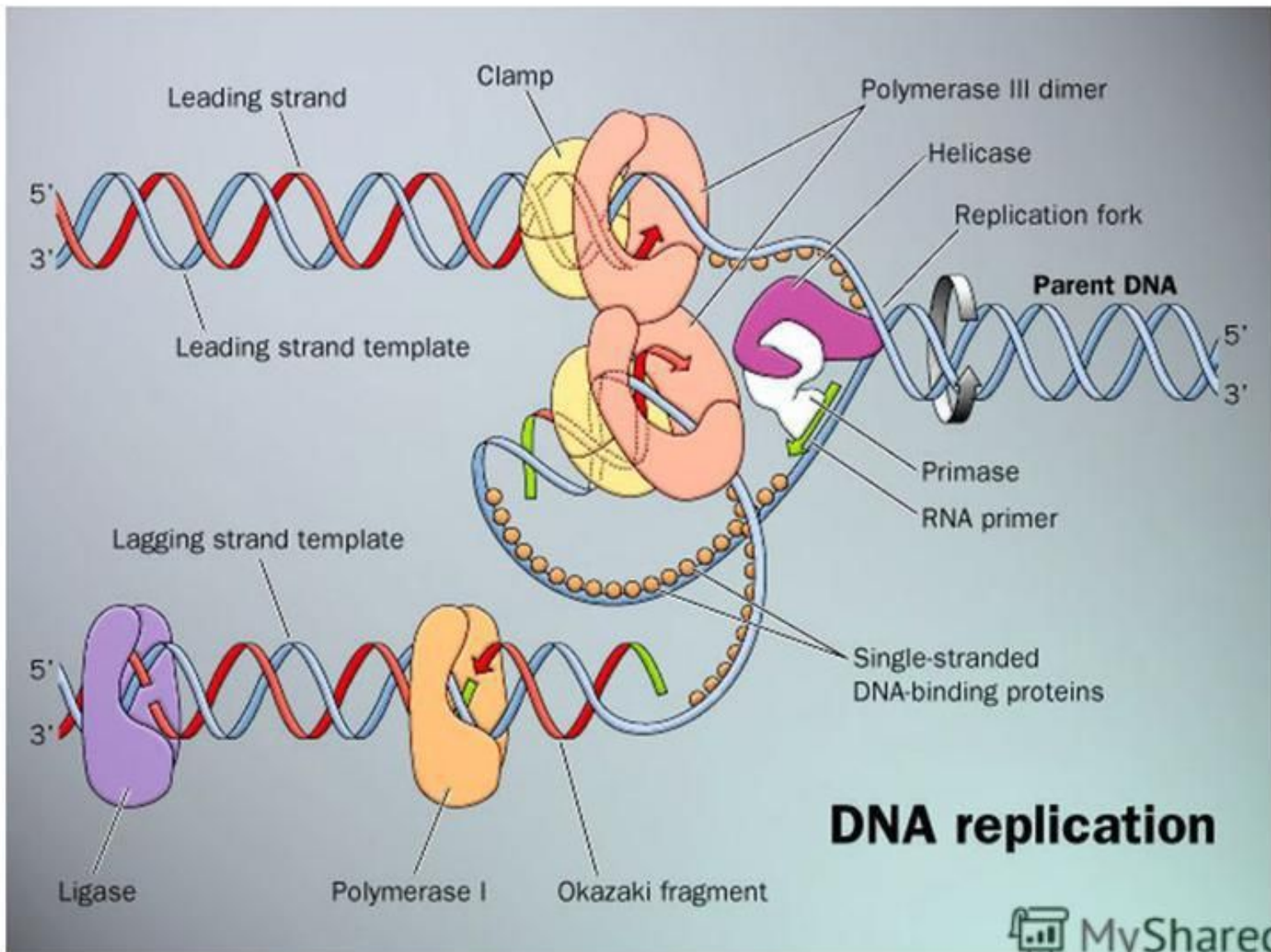
- В бактерияларда II типтегі топоизомераза табылған, ол ДНК-гираза деп аталады
- А. гиразаның әсерімен релаксацияланған сақиналы ДНК дуплексінде теріс жоғарыұршықтардың түзілуінің схемалық көрінісі.
- Б. үрдістің тұтастай кескіні.



- Жартылай консервативті *E. coli*. ДНК репликация механизмі.



- Артта қалған тізбектің инициация синтезі



DNA replication