

РЕПЛИКАЦИЯ. ОСНОВЫ

Репликация ДНК

— ферментативный процесс синтеза идентичной *дочерней* молекулы ДНК по матрице *родительской* молекулы ДНК.



Артур Корнберг (1918-2007 г.) и Северо Очоа (1905-1993 г.)

1959 г. нобелевская премия по физиологии и медицине

"за открытие механизмов биосинтеза РНК и ДНК"

Функции ДНК

1. ДНК является носителем генетической информации.

Функция обеспечивается фактом существования *генетического кода*.

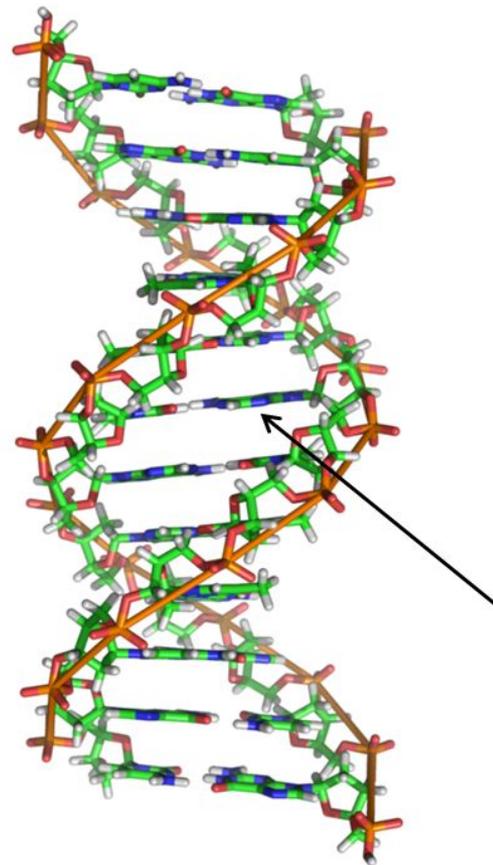
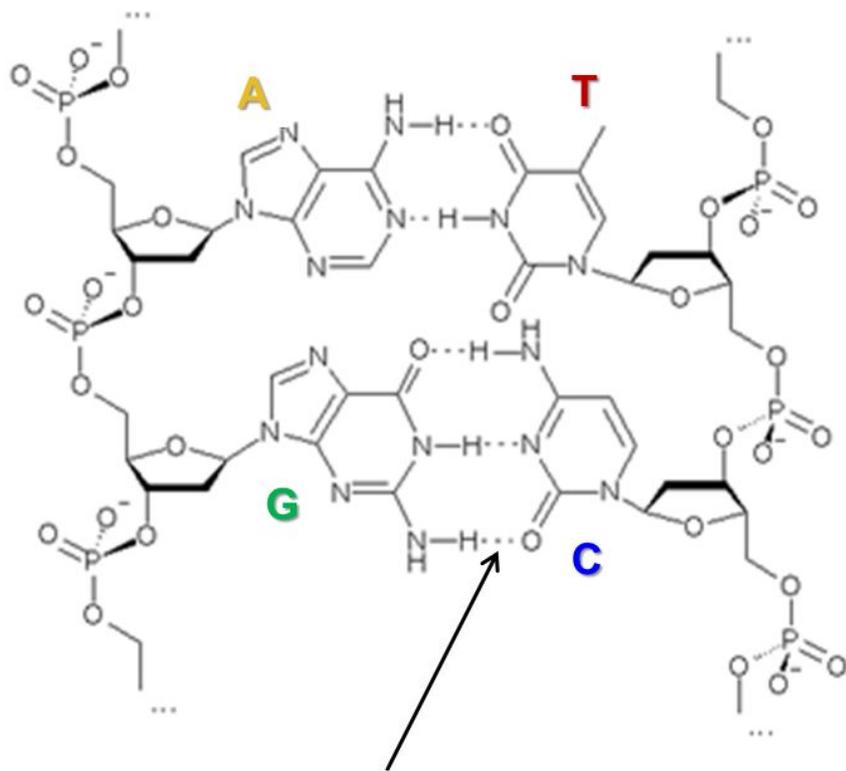
2. Воспроизведение и передача генетической информации в поколениях клеток и организмов.

Функция обеспечивается процессом *репликации*.

3. Реализация генетической информации в виде белков, а также любых других соединений, образующихся с помощью белков-ферментов.

Функция обеспечивается процессами *транскрипции* и *трансляции*.

ДНК

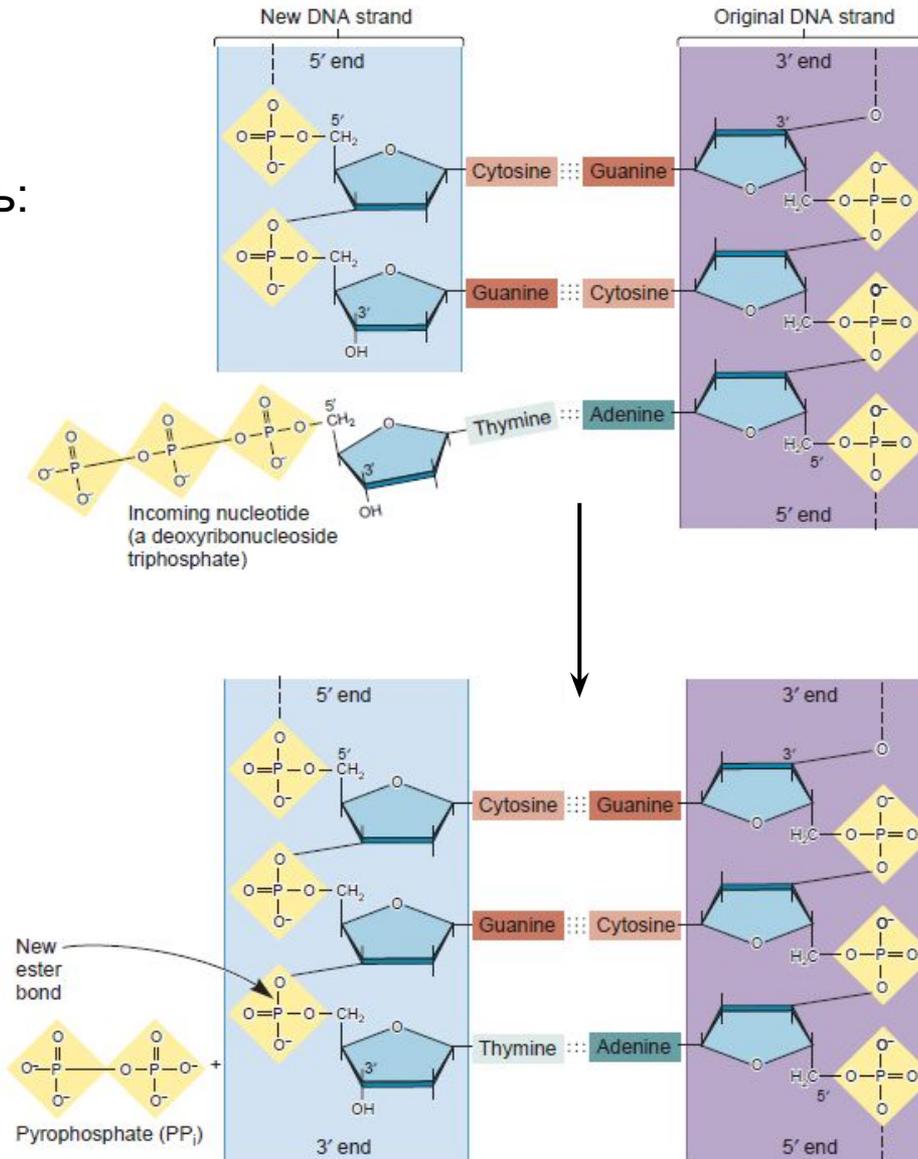


Принципы репликации

1. **Комплементарность:** каждая из двух цепей "материнской" молекулы ДНК служит матрицей для синтеза второй, т.е. комплементарной, "дочерней" цепи.
2. **Антипараллельность:** две комплементарные цепи в молекуле ДНК ориентированы в противоположных направлениях , синтезируемая дочерняя цепь ориентирована антипараллельно матричной, т.е. напротив 3'-конца матричной цепи находится 5'-конец дочерней.
3. **Униполярность:** наращивание цепи при синтезе новой нити ДНК возможно лишь в одном направлении – от 3'-концов к 5'-концам матричных цепей. При этом синтез комплементарных нитей всегда ведется в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Принципы репликации

3. Униполярность:
направление
5'→3',
от 3'-ОН к 5'-Р.



Принципы репликации

4. Потребность в затравке: все существующие ДНК-полимеразы не способны начинать синтез цепи ДНК, они могут лишь наращивать уже имеющуюся полинуклеотидную цепь, последовательно присоединяя дезоксирибонуклеотид к ее 3'-ОН-концу.
5. Полуконсервативность: в ходе репликации образуются две идентичные двойные спирали, в каждой из которых одна цепь – материнская, а вторая – новая, синтезированная из dNTP.
6. Прерывистость: две цепи одной спирали ДНК синтезируются синхронно, но поскольку они антипараллельны, а синтез возможен только в одном направлении, то одна цепь синтезируется непрерывно, а вторая – фрагментами.

Принципы репликации: доказательства

Комплементарность и антипараллельность – метод "ближайших соседей"

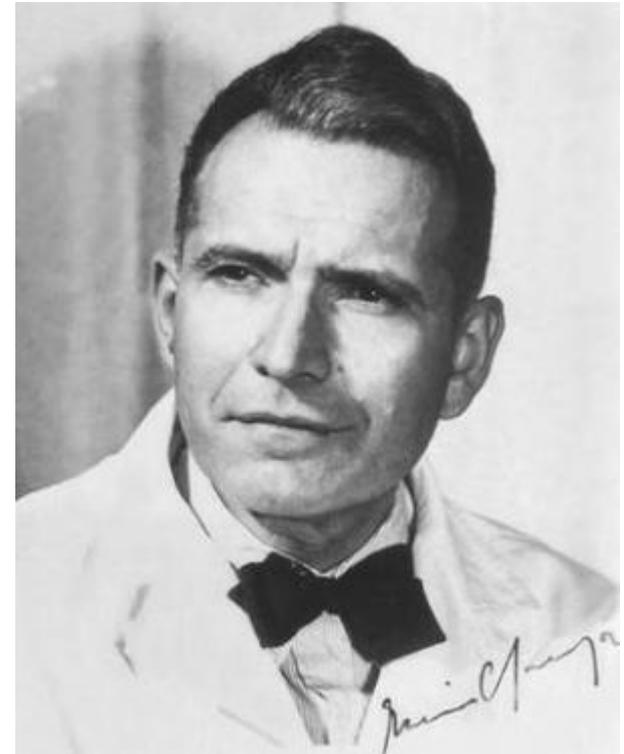
Эрвин Чаргафф (1905-2002 гг.)

1950-1953 гг.

$$A = T; G = C$$

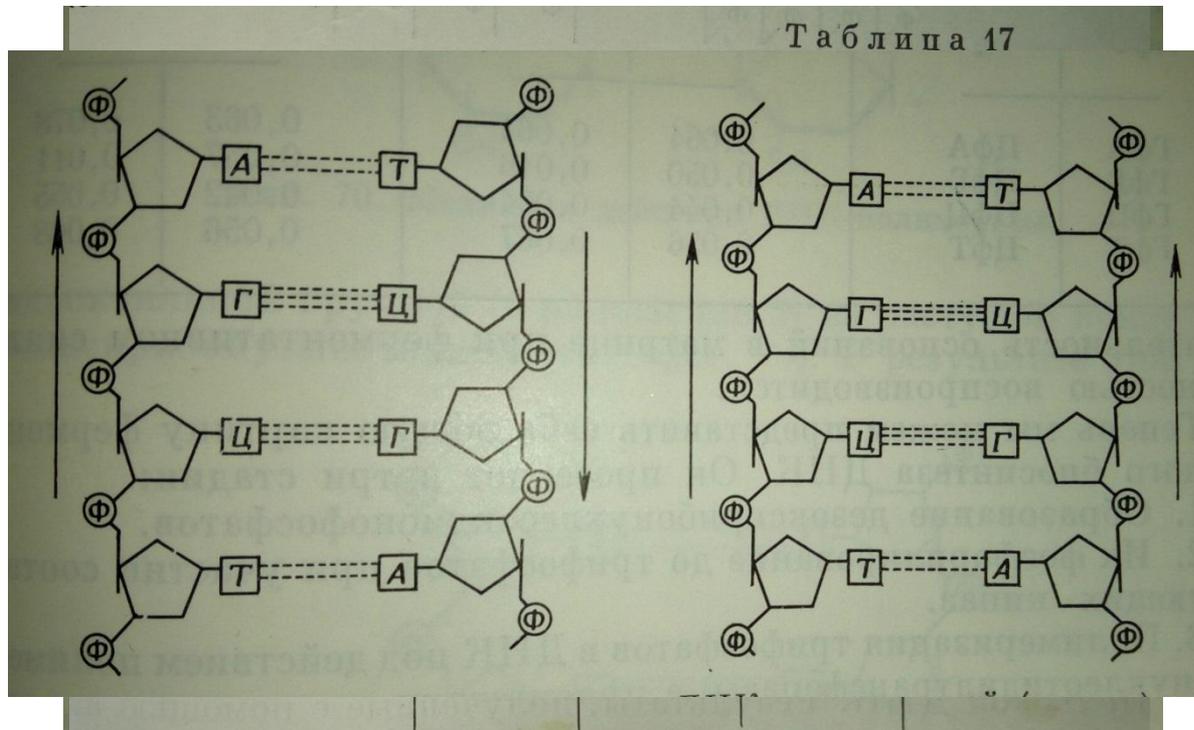
$$P_u / P_y = 1$$

$$(A+T)+(G+C)=100\%$$



Принципы репликации: доказательства

Комплементарность и антипараллельность – метод "ближайших соседей"



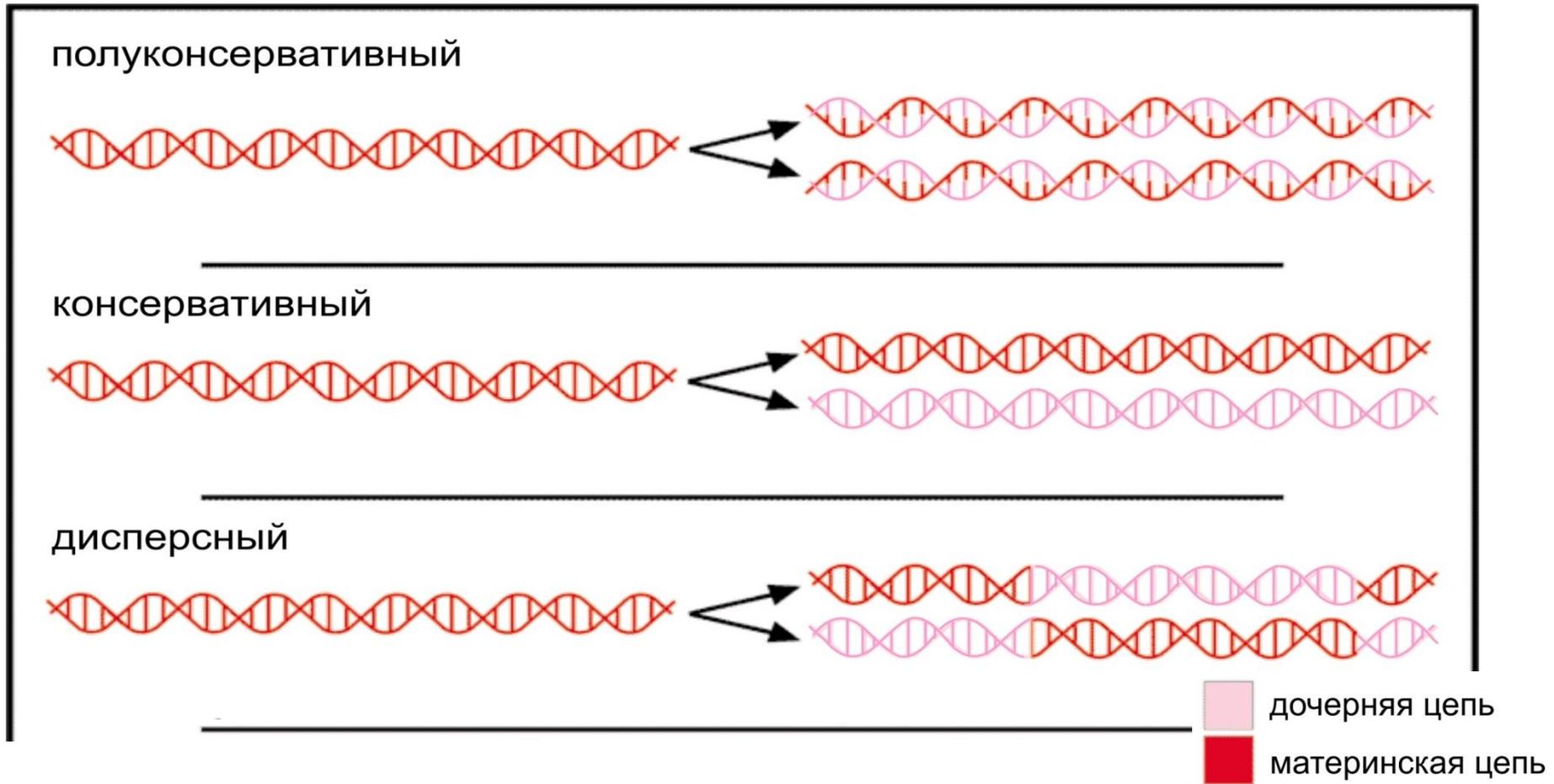
А. Корнберг, конец 1950-х гг.

Принципы репликации: доказательства

Полуконсервативность – эксперименты Мезельсона и Сталя, Ральфа, Тейлора

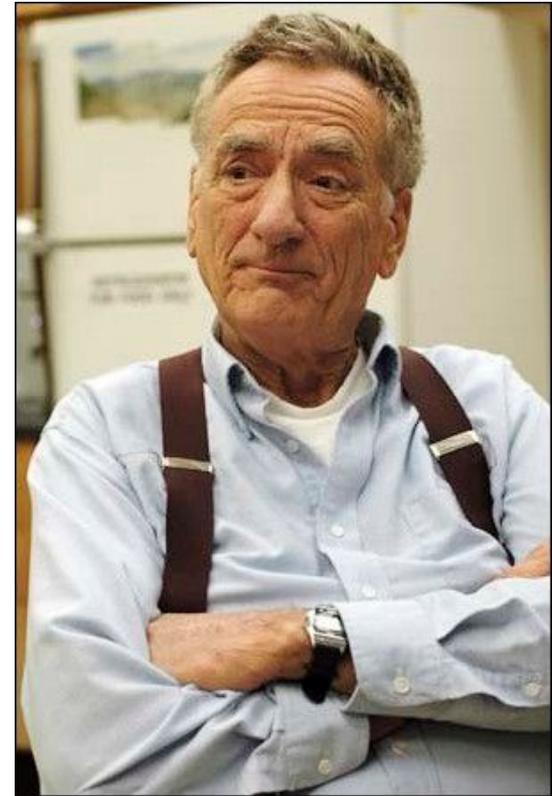
А. Корнберг:

"Half of what we know is wrong, the purpose of science is to determine which half".



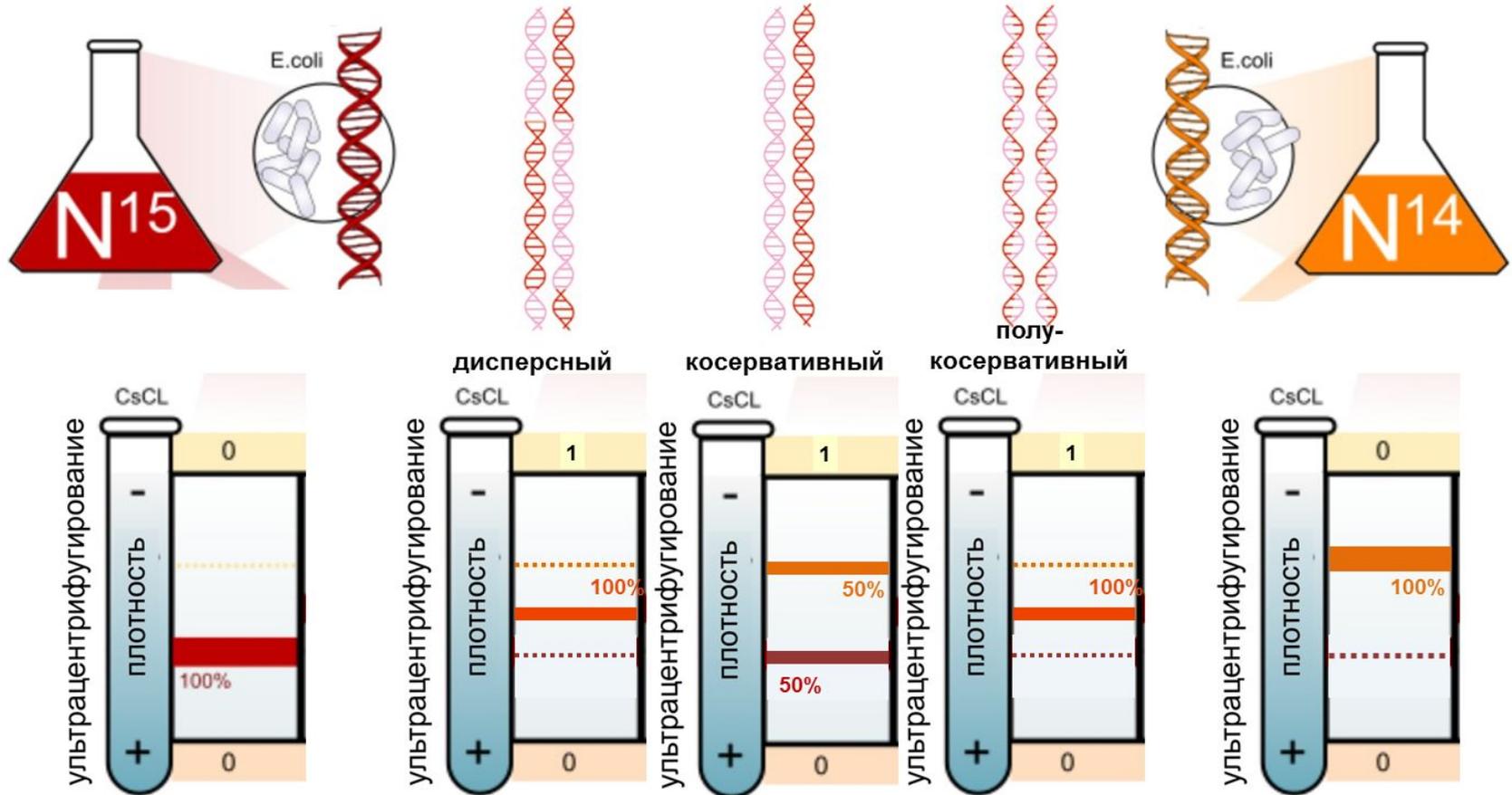
Принципы репликации: доказательства

1958 г., Мэтью Мезельсон (1930 г.) и Франклин Сталь (1929 г.)



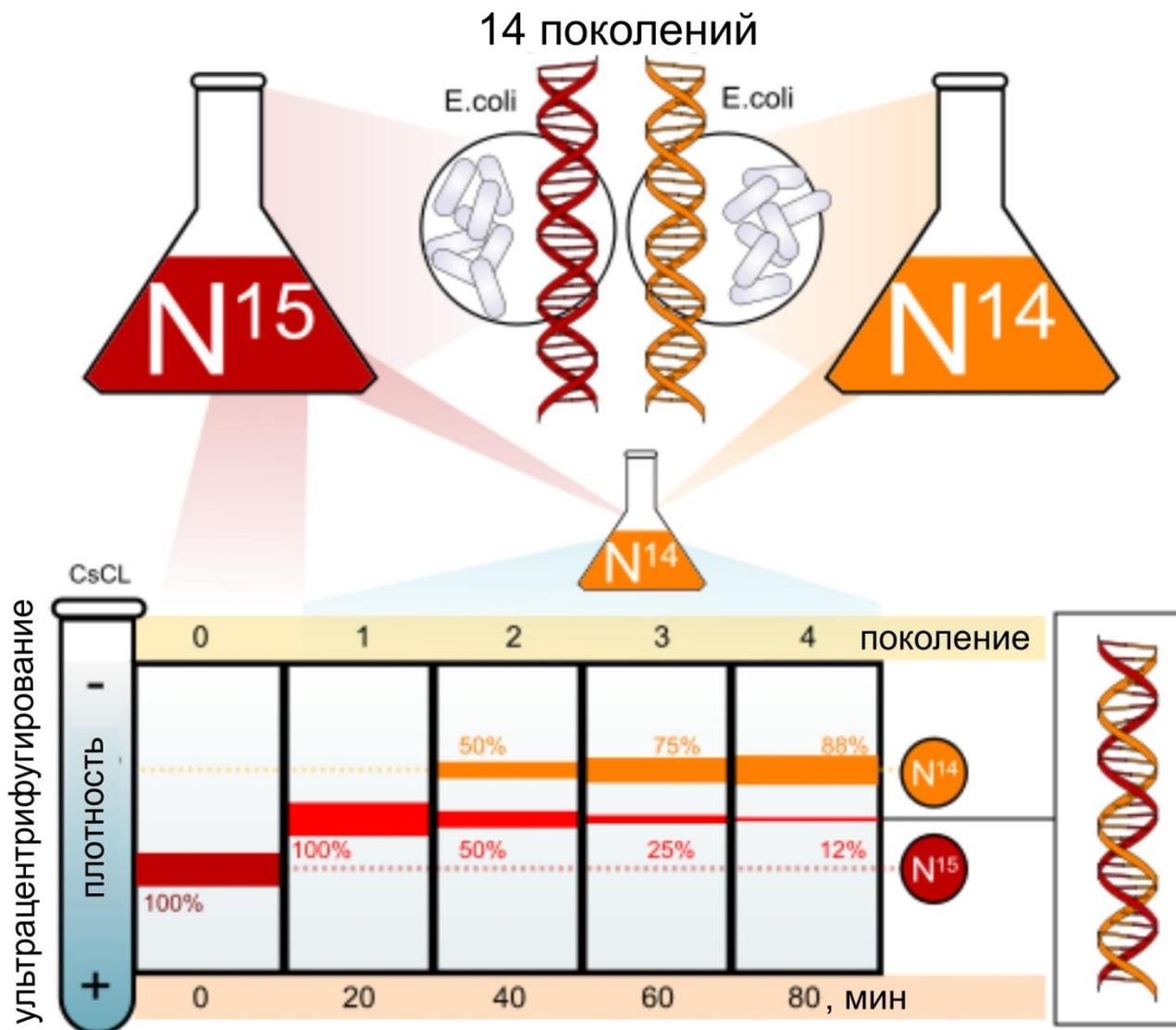
Принципы репликации: доказательства

1958 г., Мэтью Мезельсон (1930 г.) и Франклин Сталь (1929 г.)



Принципы репликации: доказательства

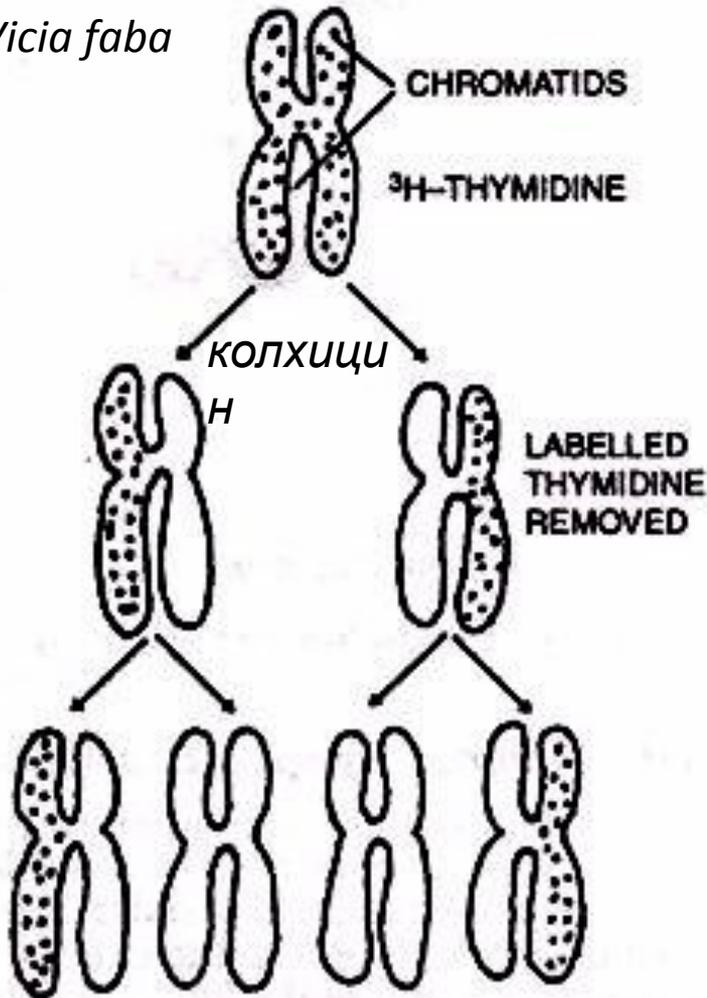
1958 г., Мэтью Мезельсон (1930 г.) и Франклин Сталь (1929 г.)



Принципы репликации: доказательства

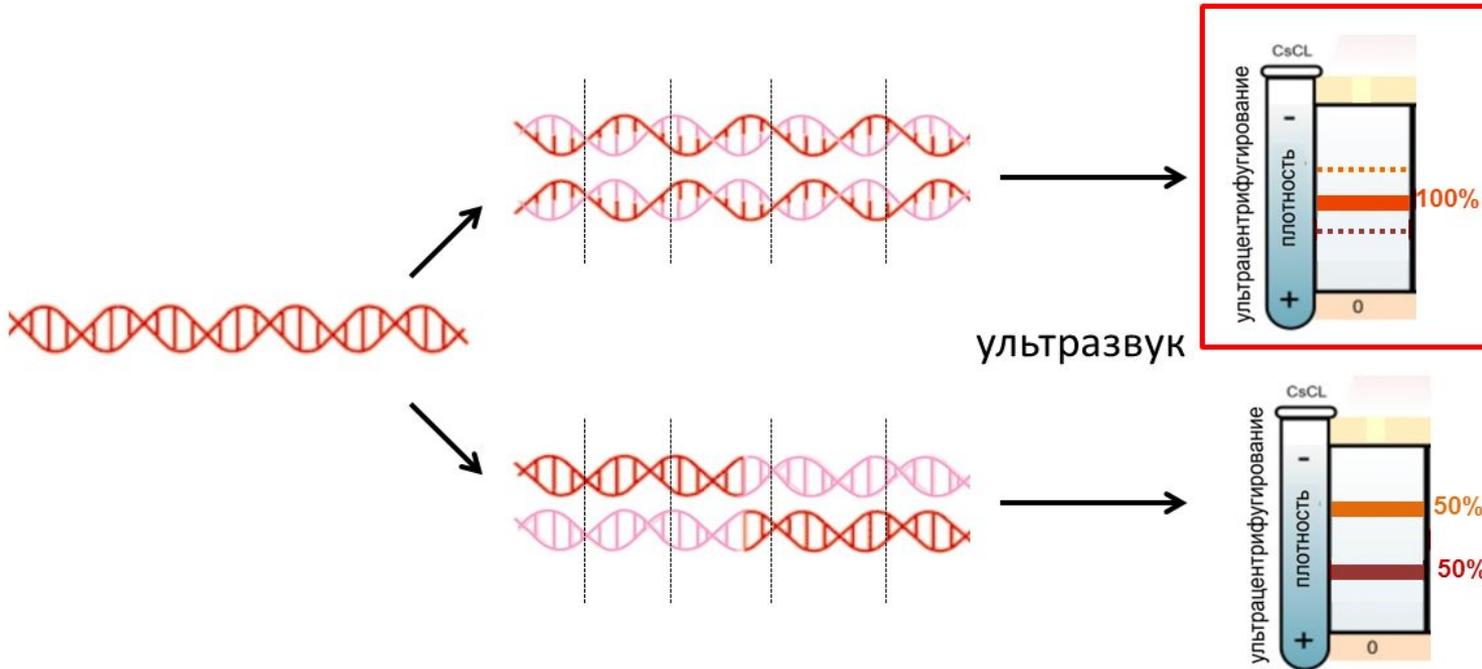
Полуконсервативность – 1957 г., эксперимент Джеймса Тейлора (1916-1998 гг.)

Vicia faba



Принципы репликации: доказательства

Полуконсервативность – эксперимент Ральфа, конец 1950-х гг.

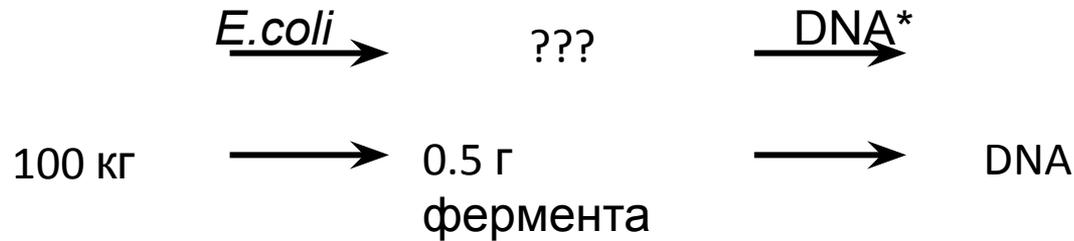


E.coli, $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$

Принципы репликации: доказательства

Потребность в затравке и униполярность – эксперименты Корнберга, 1956 г.

"Это было мое убеждение - ... вы должны знать актеров, чтобы понять сюжет. А актеры – ферменты. Они являются мини-химиками, машинами, с помощью которых протекают биологические явления,.. легендарный ли это вопрос спиртового брожения ... или как светится светлячок."



I. R. Lehman, Maurice J. Bessman, Ernest S. Simms, and Arthur Kornberg

Enzymatic Synthesis of Deoxyribonucleic Acid: I. PREPARATION OF SUBSTRATES AND PARTIAL PURIFICATION OF AN ENZYME FROM ESCHERICHIA COLI // J. Biol. Chem. 1958 233: 163-170.

Maurice J. Bessman, I. R. Lehman, Ernest S. Simms, and Arthur Kornberg

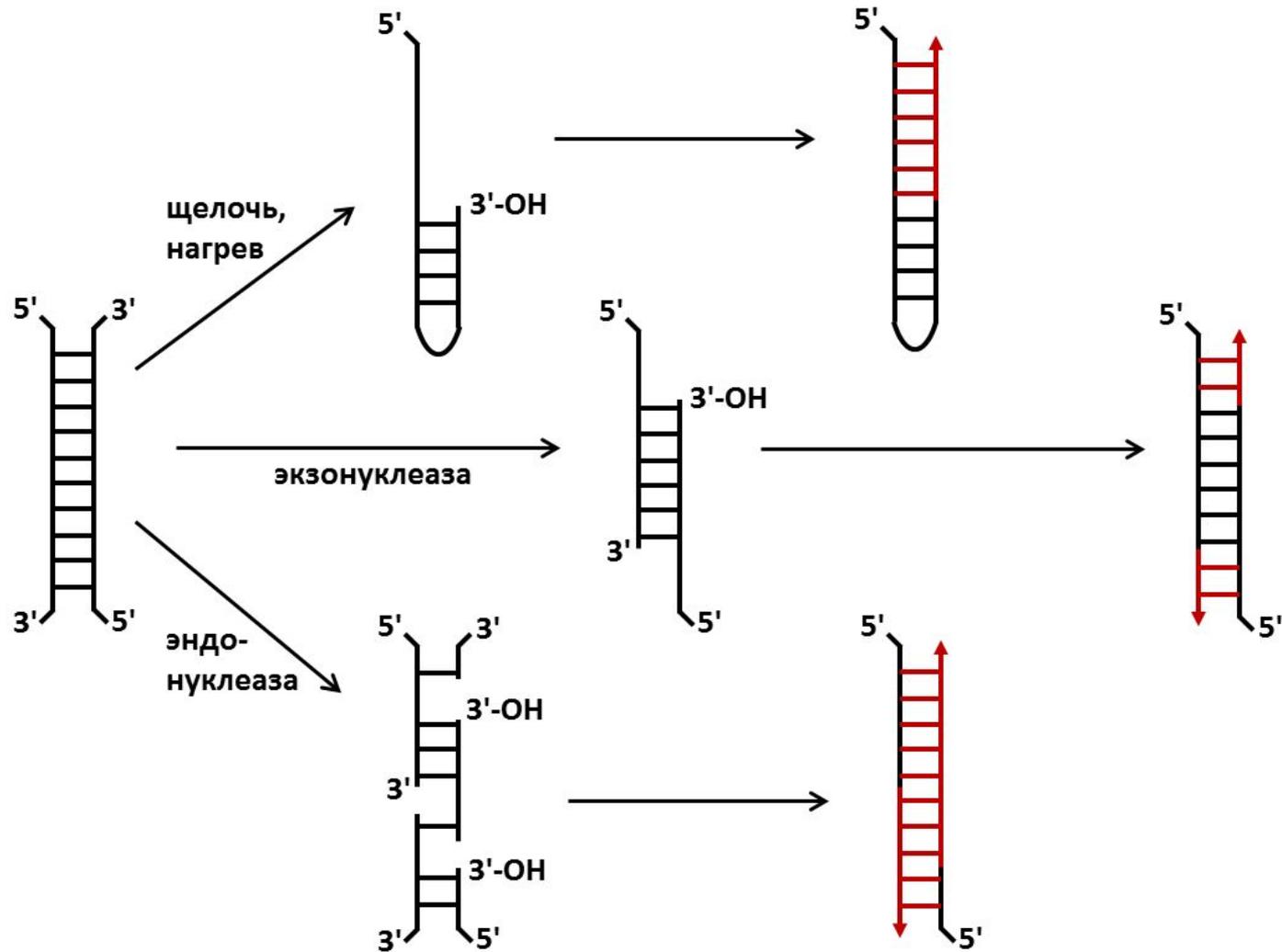
Enzymatic Synthesis of Deoxyribonucleic Acid: II. GENERAL PROPERTIES OF THE REACTION // J. Biol. Chem. 1958 233: 171-177.

Ферментативная система синтеза ДНК *in vitro*

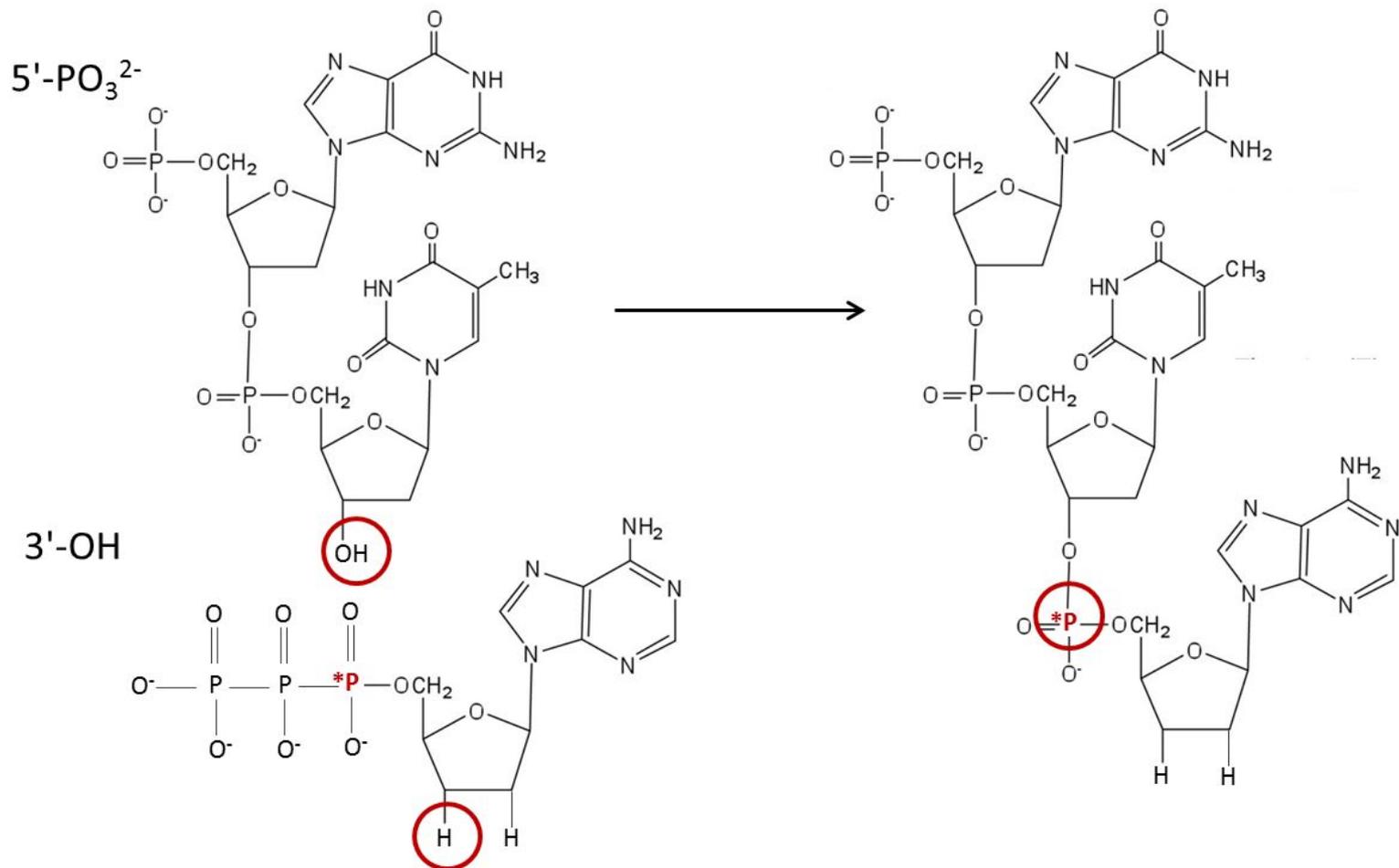
1. **ДНК-матрица** - образец, по которому строится новая цепь ДНК.
2. **Активированные нуклеотиды** – dATP, dGTP, dTTP, dCTP, то, из чего строится дочерняя цепь.
3. **ДНК-полимераза** - то, что строит новую цепь ДНК.
4. **Ионы магния** - то, без чего фермент не работает.

Ферментативная система синтеза ДНК *in vitro*

ДНК-матрица → потребность в затравке



Ферментативная система синтеза ДНК *in vitro*



затравка – 3'-ОН!!!

доказательство униполярности синтеза ДНК

