

Το Κύτταρο Μια Μοριακή Προσέγγιση  
Έβδομη Έκδοση

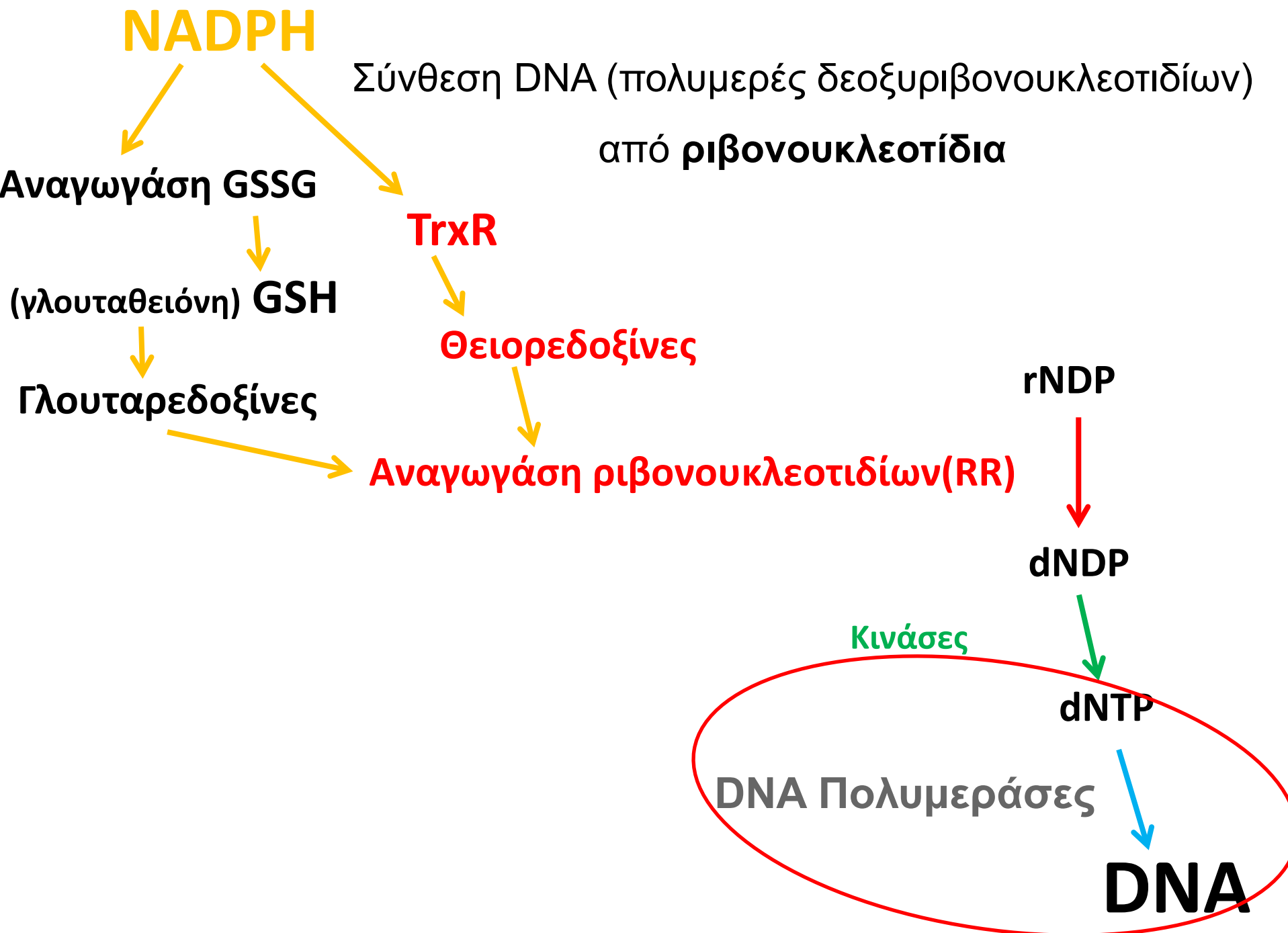
# Κεφάλαιο 7

Αντιγραφή, διατήρηση  
και αναδιατάξεις του  
γονιδιωματικού DNA

*Geoffrey M. Cooper • Robert E. Hausman*

Ακαδημαϊκές  
Εκδόσεις



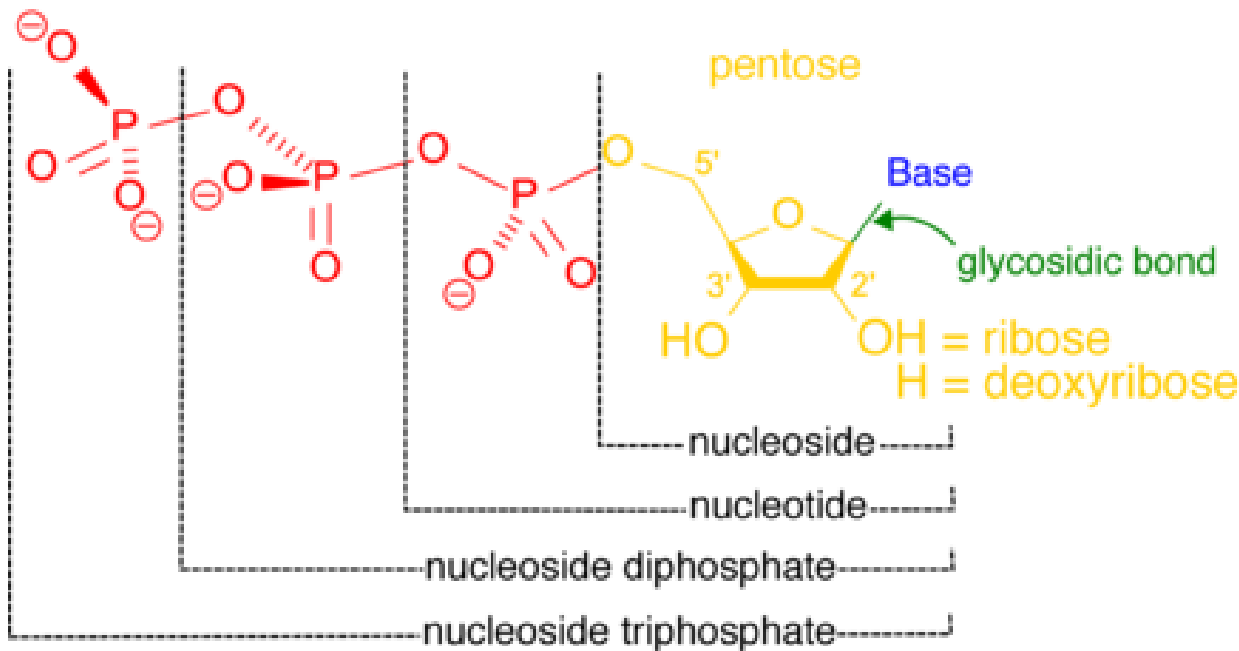


**Όπου δεν αναφέρεται ρητά, οι αριθμημένες εικόνες και το αντίστοιχο κείμενό τους προέρχονται από το βιβλίο:**

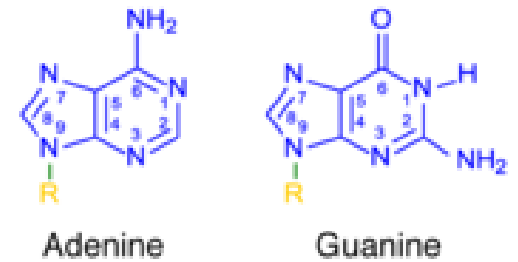
**Το κύτταρο-Μια Μοριακή Προσέγγιση, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011**

# **A. Τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια και πολυμερισμός αυτών**

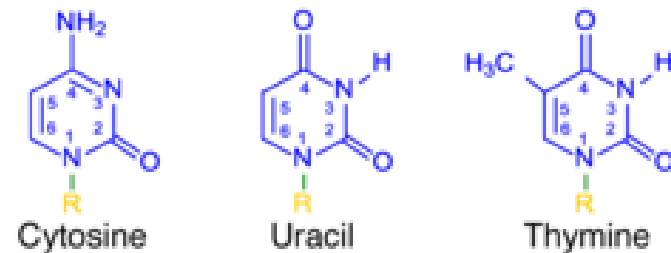
# A. 1.Τριφωσφωρικά ριβονουκλεοτίδια

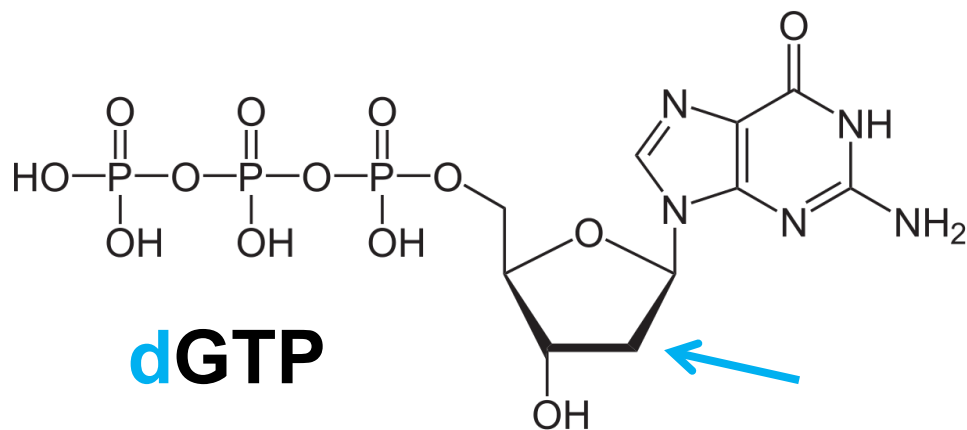
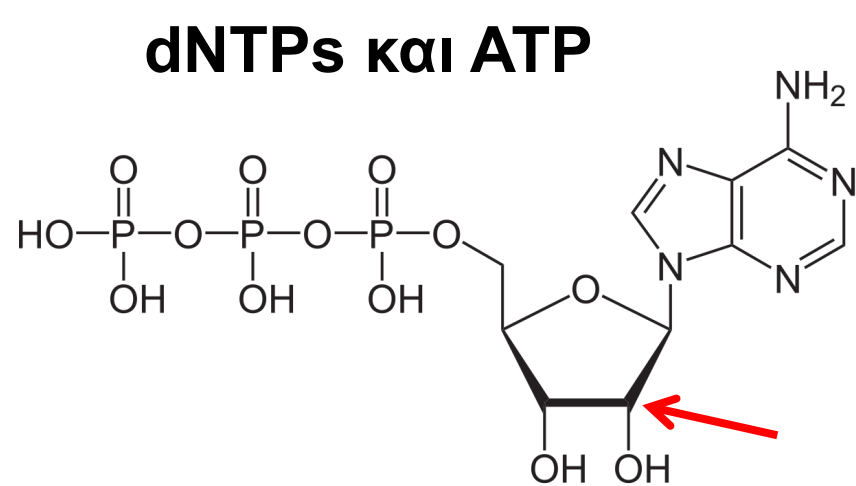
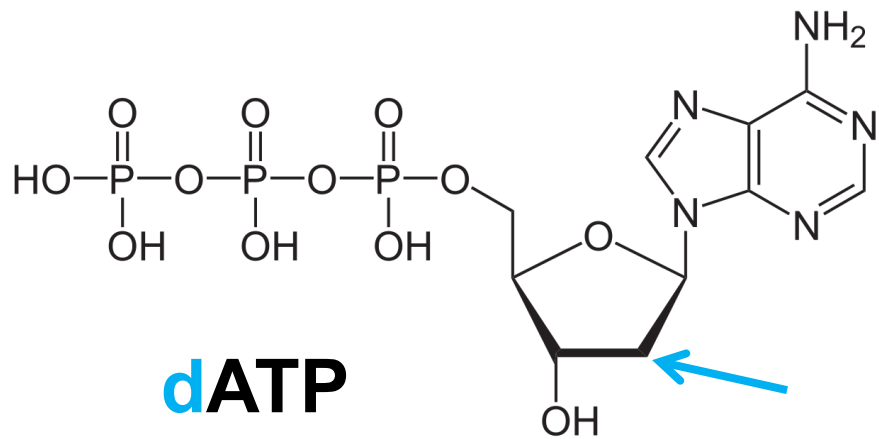


## Purines

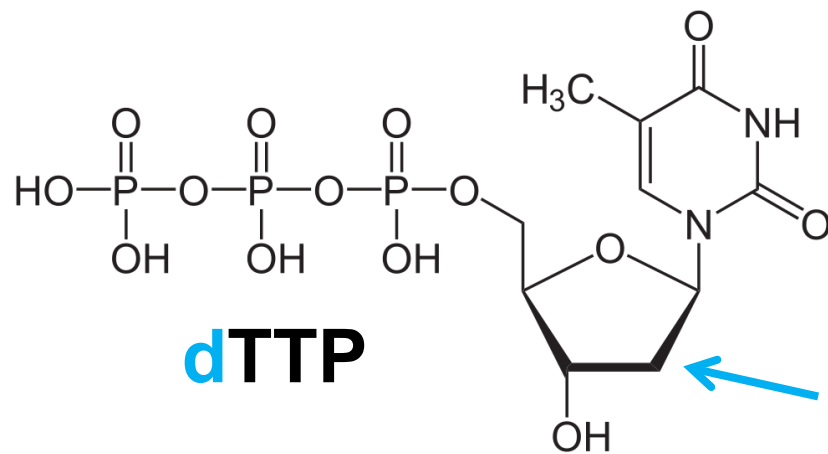
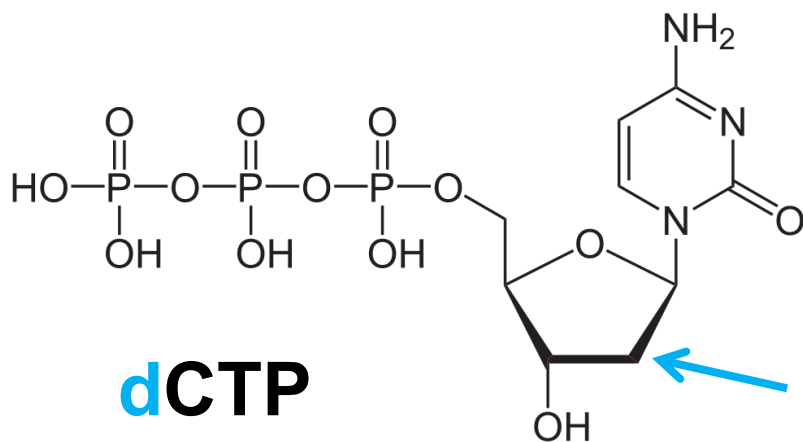


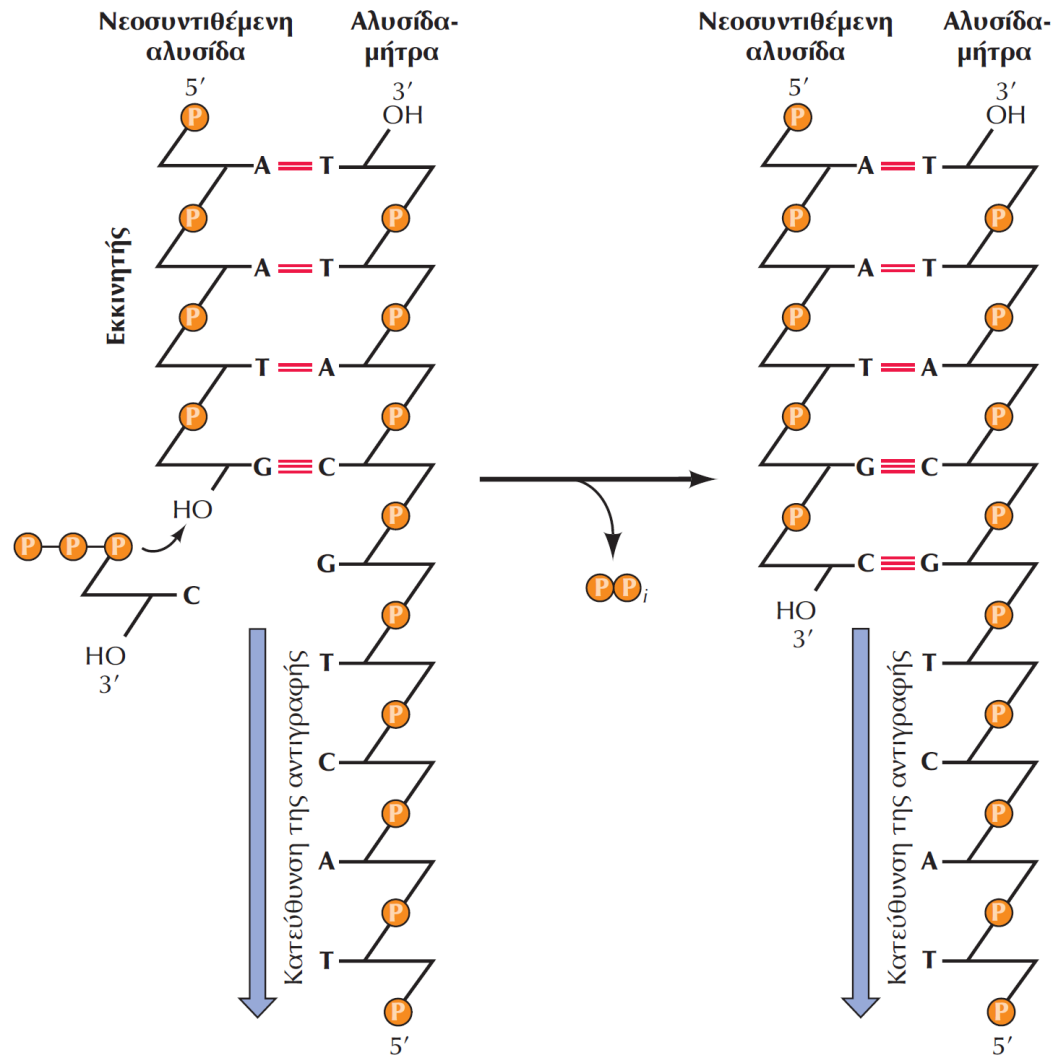
## Pyrimidines





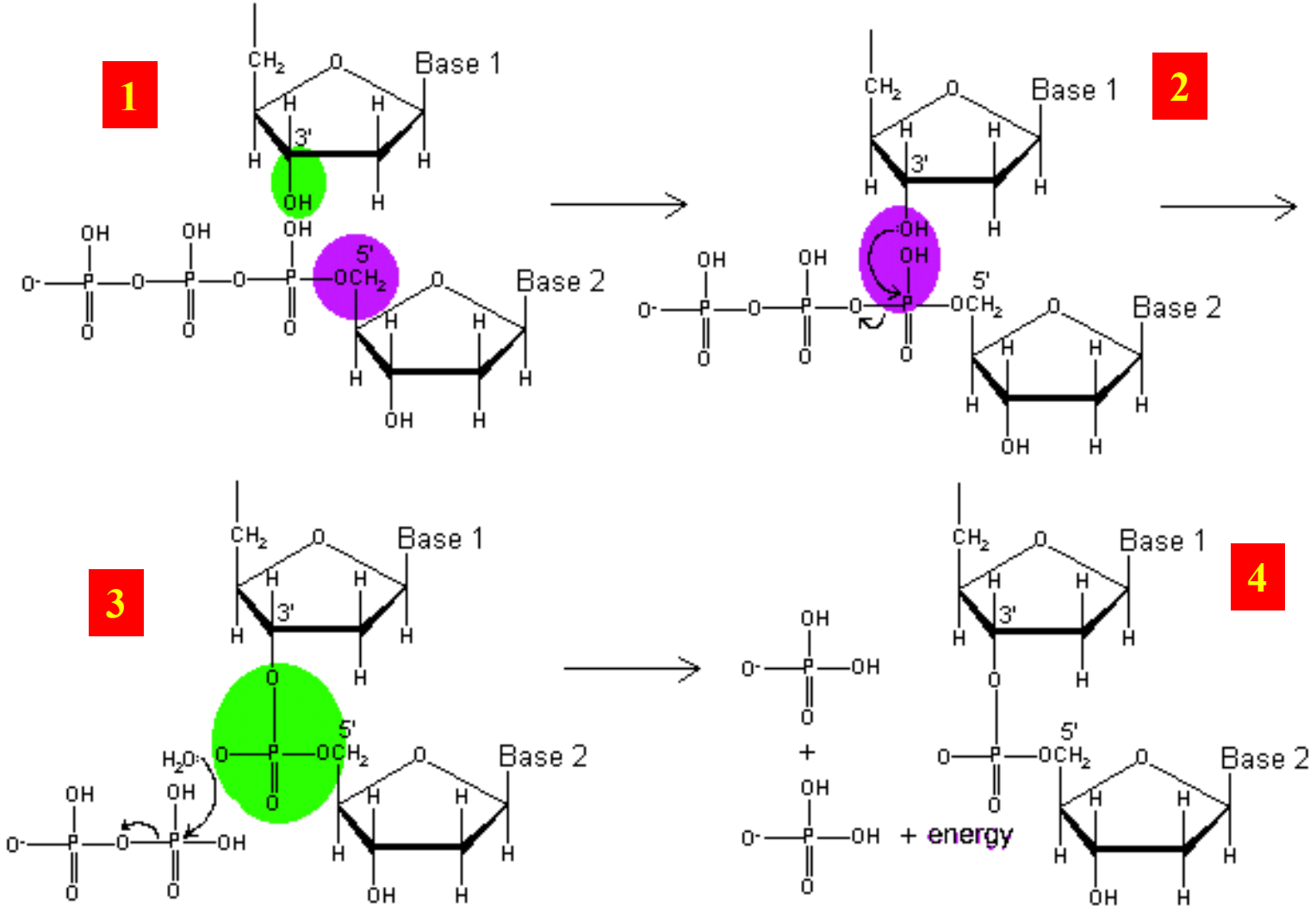
**Τριφωσφορική αδενοσίνη  
(ATP)**





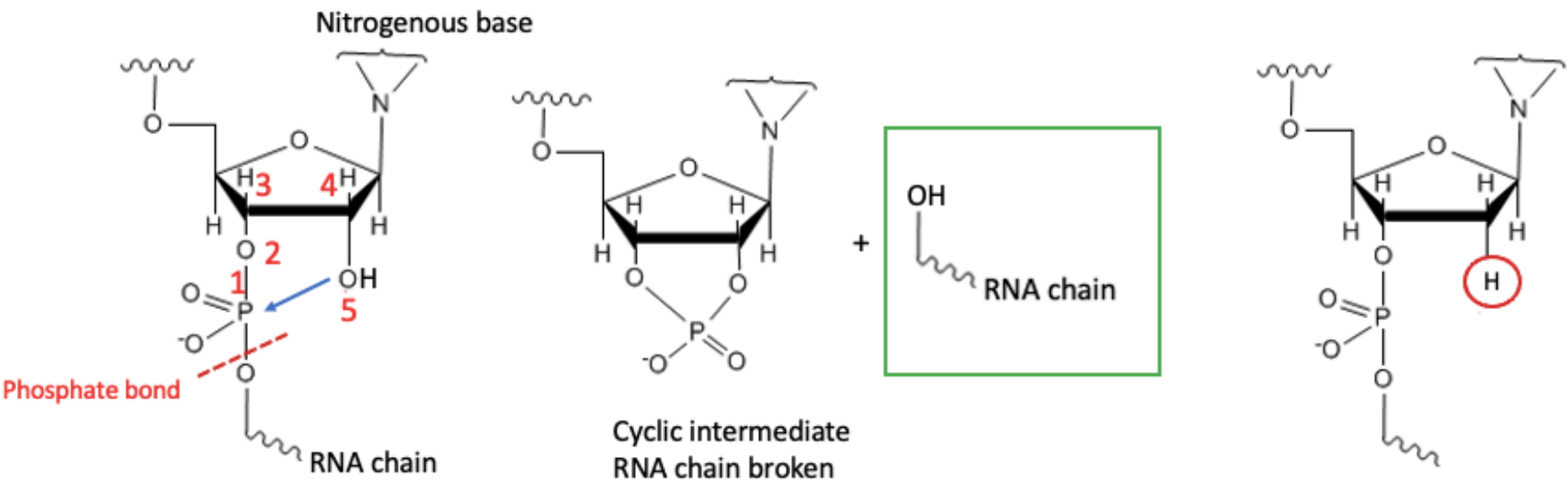
**ΕΙΚΟΝΑ 6.1 Η αντίδραση που καταλύεται από την DNA πολυμεράση.**

Όλες οι DNA πολυμεράσες προσθέτουν ένα 5'-τριφωσφορικό δεοξυριβονουκλεοτίδιο στην 3' υδροξυλομάδα μιας νεοσυντιθέμενης αλυσίδας DNA (κατεύθυνση αντιγραφής '5 προς '3).



Η υδρόλυση ενός τριφωσφορικού νουκλεοτιδίου ευνοεί την αντίδραση πολυμερισμού από θερμοδυναμικής απόψεως





RNA Less Stable

DNA More Stable

**Γιατί το DNA είναι πιο σταθερό μόριο από το RNA;**

# **B. Ενεργειακοί παράγοντες πολυμερισμού των δεοξυριβονουκλεοτιδίων**

# Ενέργεια που απελευθερώνεται από την υδρόλυση φωσφοεστερικών δεσμών υψηλής ενέργειας

Reaction	$\Delta G$ [kJ/mol]
$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$	-30.5
$\text{ADP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{P}_i$	-30.5
$\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{PP}_i$	-40.6
$\text{PP}_i + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{P}_i$	-31.8

Η ενέργεια που απελευθερώνεται από την υδρόλυση του ATP

ισούται με

**-72,4kJ/mol**

# Γιατί ευνοείται η υδρόλυση του ATP και κατ' επέκταση **όλων** των τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων;

1. Διότι υπάρχει **ηλεκτροστατική απώθηση** των αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων που ευνοεί την υδρόλυση των εστερικών δεσμών.
2. Τα προϊόντα που προκύπτουν από την υδρόλυση σταθεροποιούνται με **συντονισμό**. Καθώς οι εστερικοί δεσμοί σπάνε, σχηματίζονται φωσφορικά με αυξημένη σταθερότητα λόγω συντονισμού.

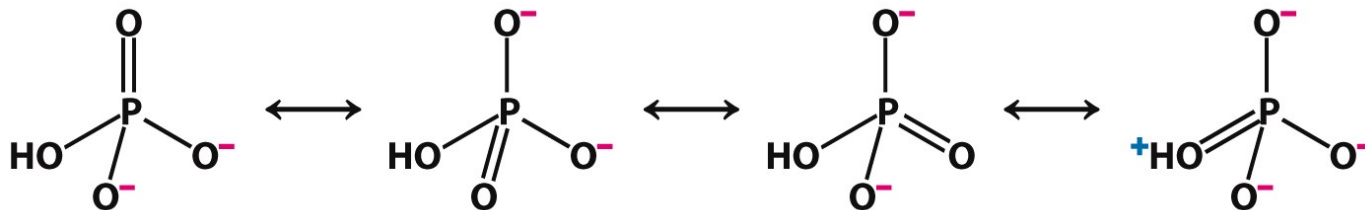


Figure 15.4  
*Biochemistry, Seventh Edition*  
© 2012 W. H. Freeman and Company

3. Η **εντροπία** αυξάνεται.

**Ελεύθερη ενέργεια (G) ενός συστήματος:  $G=H-TS$**

H: η ενθαλπία (θερμικό περιεχόμενο)

T: η θερμοκρασία

S: η εντροπία (βαθμός αταξίας)

**Μεταβολή ελεύθερης ενέργειας ( $\Delta G$ ) ενός συστήματος:**

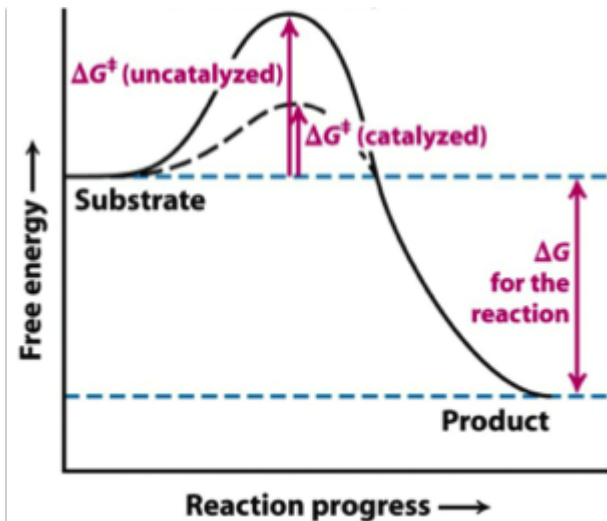
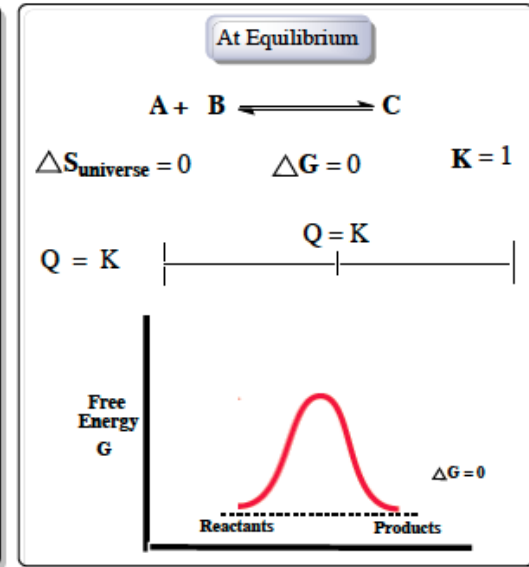
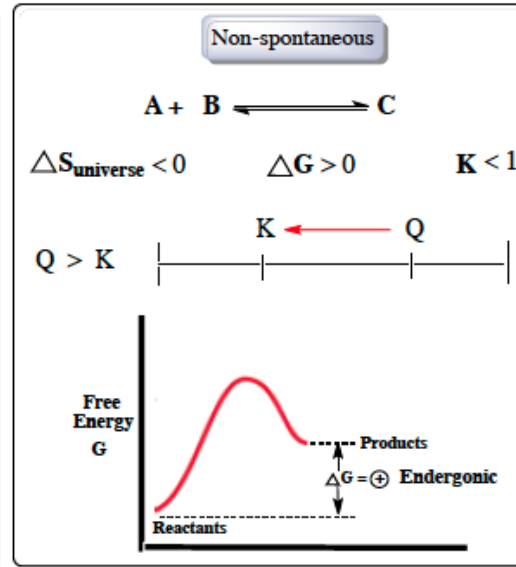
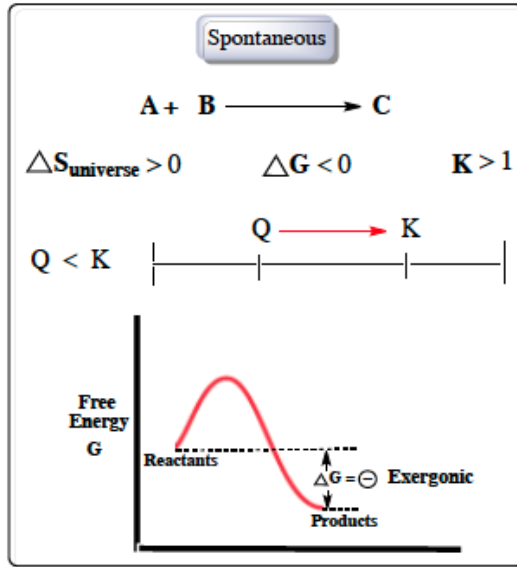
$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Αν μια αντίδραση ευνοείται από θερμοδυναμικής απόψεως ( $\Delta G < 0$ ), αυτό δεν σημαίνει ότι η αντίδραση θα συμβεί αυθόρμητα:

υπάρχει το ενεργειακό φράγμα από την ελεύθερη ενέργεια ενεργοποίησης ( $G^\ddagger$ ).

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General\\_Chemistry/Book: Chem1 \(Lowe r\)/15: Thermodynamics of Chemical Equilibria/23.4: Free Energy and the Gibbs Function](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/General_Chemistry/Book: Chem1 (Lowe r)/15: Thermodynamics of Chemical Equilibria/23.4: Free Energy and the Gibbs Function)

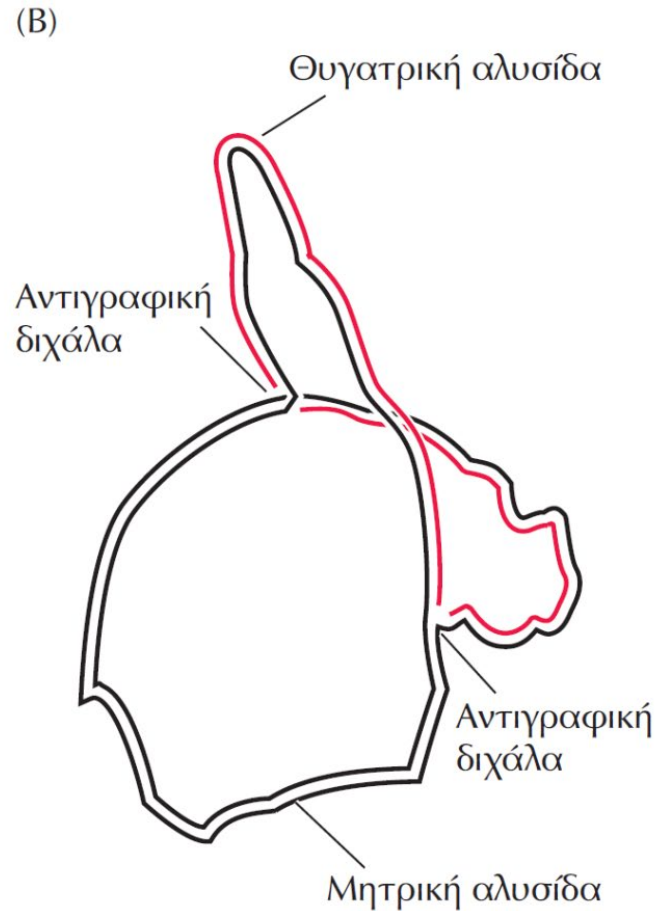
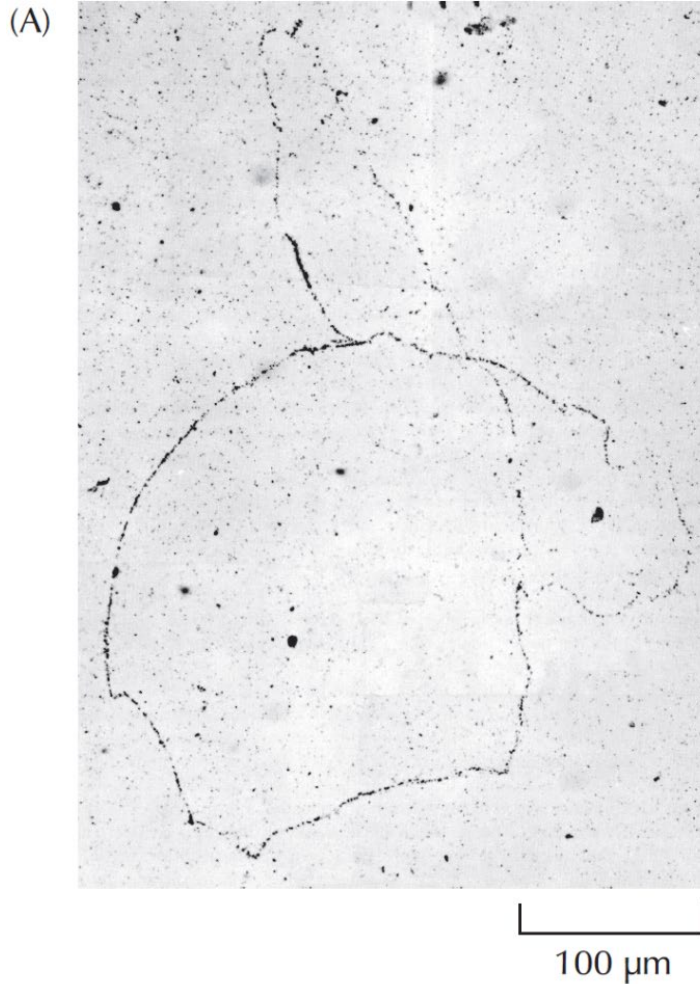
Για να πραγματοποιηθεί μια αντίδραση **αυθόρμητα** πρέπει η **τελική ελεύθερη ενέργεια** να είναι **μικρότερη** από την αρχική (2<sup>ος</sup> νόμος της θερμοδυναμικής)



Τα **ένζυμα (καταλύτες)** ελαττώνουν την ενέργεια ενεργοποίησης που απαιτείται για μια αντίδραση.

Έτσι οι αντιδράσεις συμβαίνουν **γρηγορότερα**.

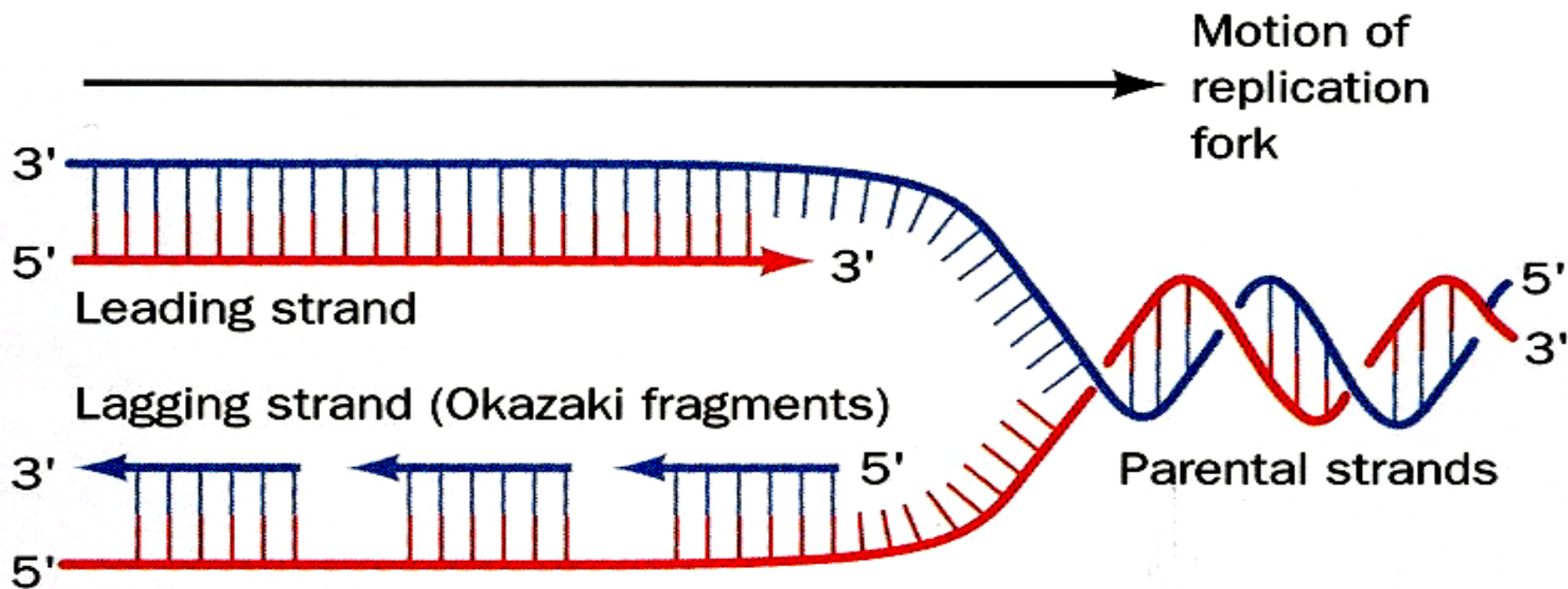
# **Γ. Η αντιγραφή του DNA**



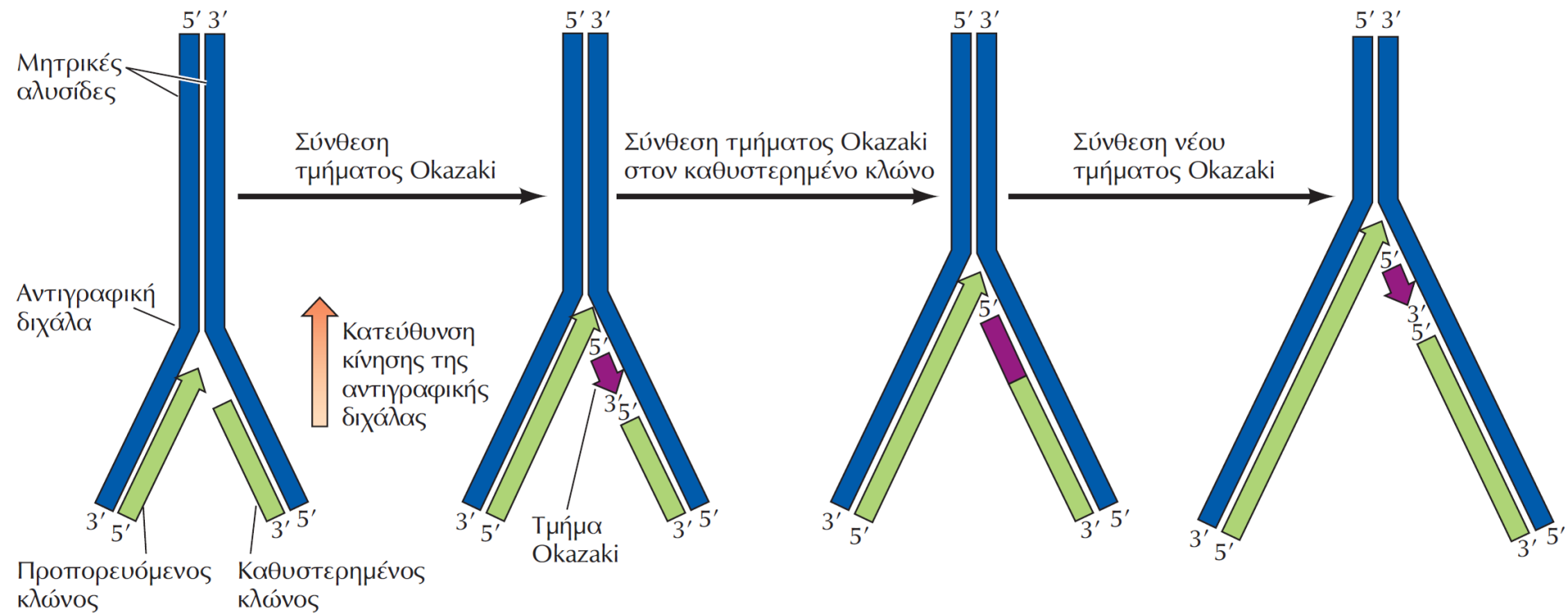
## ΕΙΚΟΝΑ 6.2 Αντιγραφή του DNA της *E. coli* στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

(A) Αυτοραδιογράφημα στο οποίο απεικονίζεται το DNA βακτηρίων που αναπτύχθηκαν σε [ $^3\text{H}$ ] θυμιδίνη για δύο γενιές. Έτσι σημάνθηκε το DNA τους, το οποίο στη συνέχεια απομονώθηκε και έγινε ορατό με έκθεση σε φωτογραφικό φιλμ. (B) Στο σχήμα φαίνονται οι **δύο αντιγραφικές διχάλες** της (A). (Από τη δημοσίευση του J. Cairns, 1963. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 28: 43).





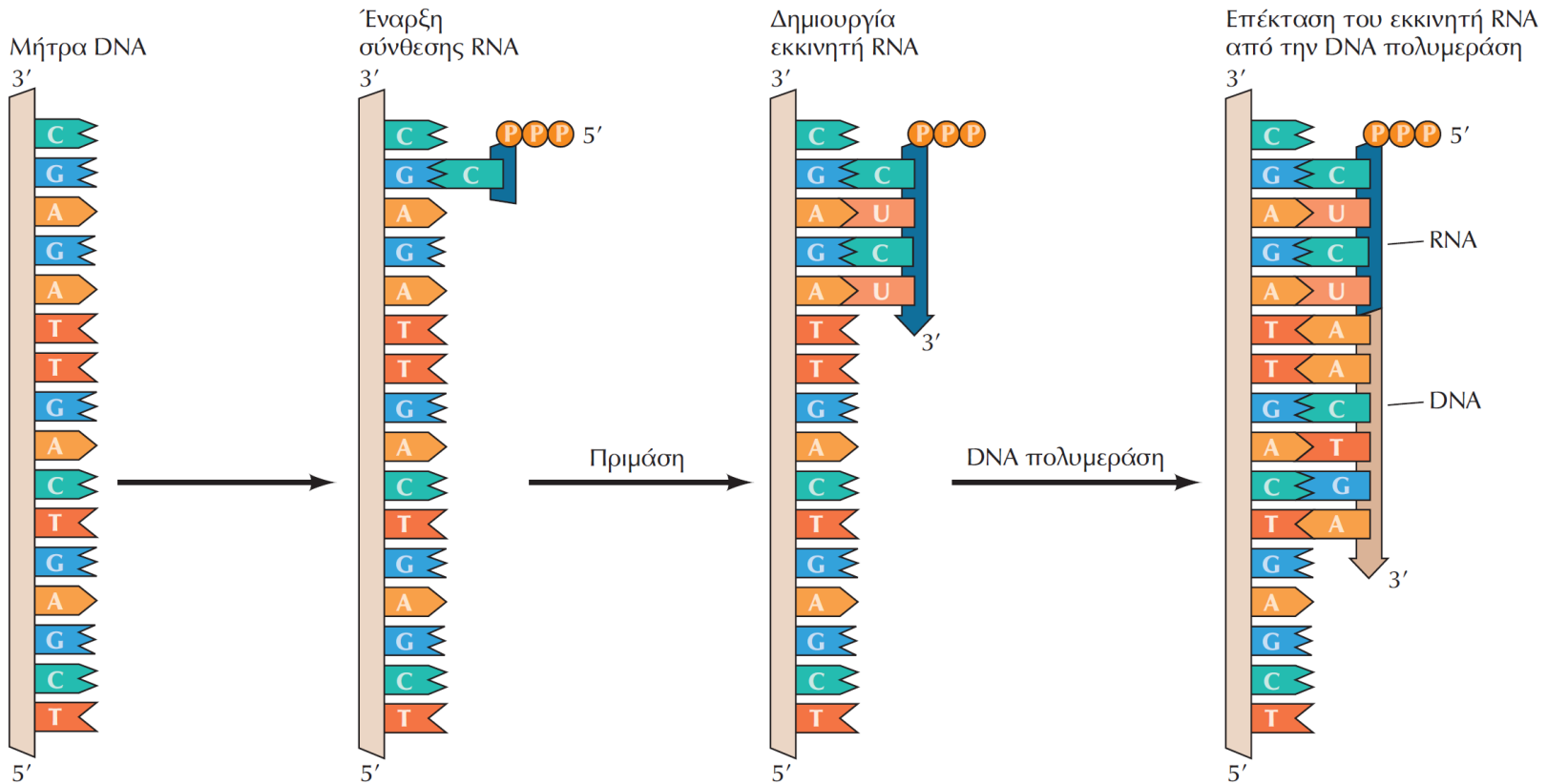
Φορά της αντιγραφής του DNA στην αντιγραφική διχάλα  
Συνεχής και ασυνεχής αντιγραφή, τμήματα Οκαζάκι.



## ΕΙΚΟΝΑ 6.3 Σύνθεση του προπορευόμενου και του καθυστερημένου κλώνου του DNA.

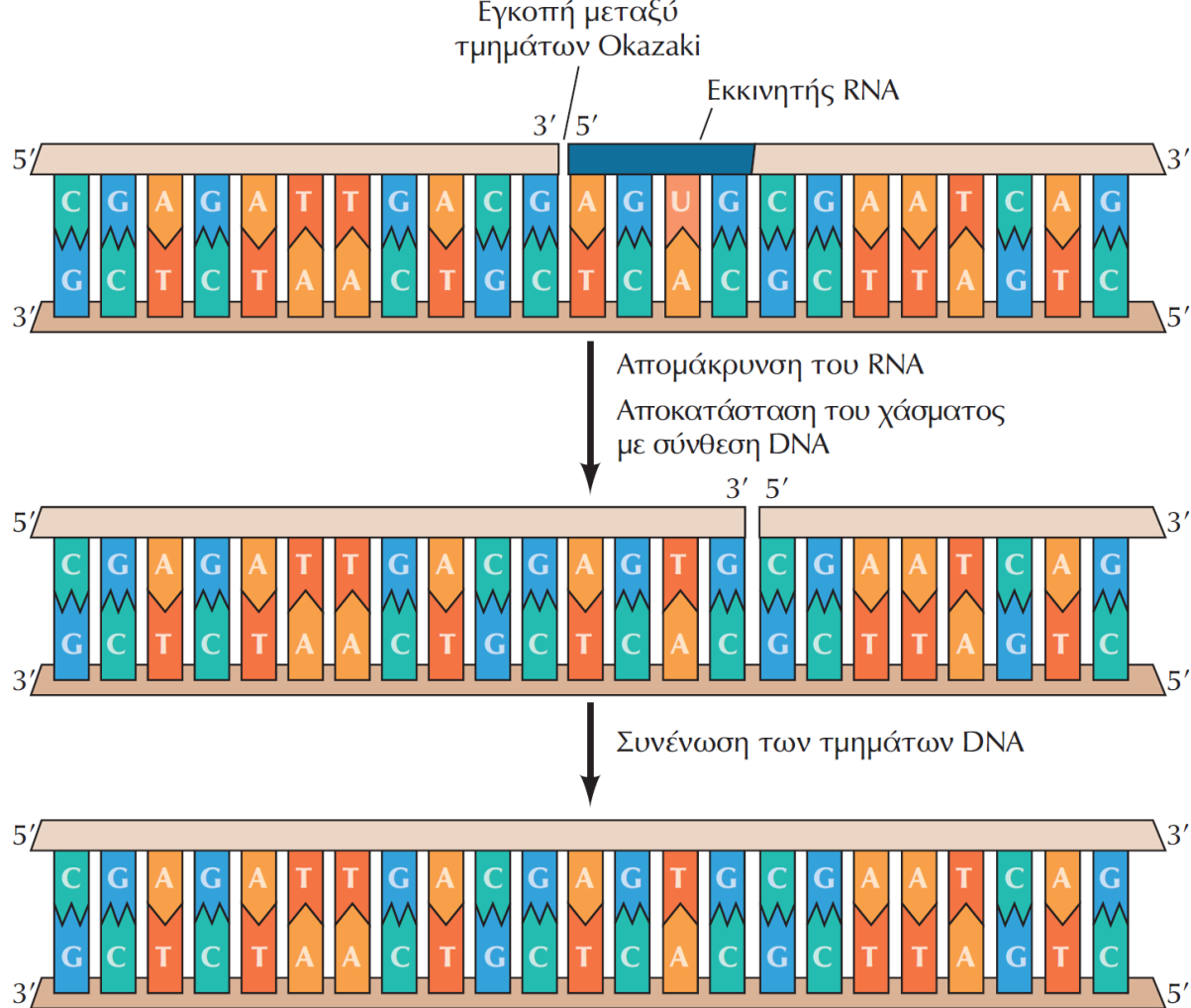
Ο **προπορευόμενος** κλώνος συντίθεται συνεχόμενα προς τη φορά της κίνησης της αντιγραφικής διχάλας. Ο **καθυστερημένος** κλώνος συντίθεται τμηματικά, σε βραχεία τμήματα (τα τμήματα Okazaki) των οποίων η επιμήκυνση πραγματοποιείται με αντίθετη φορά σε σχέση με αυτήν προς την οποία κινείται η αντιγραφική διχάλα. Τα **τμήματα Okazaki** στη συνέχεια συνενώνονται μεταξύ τους με τη δράση της DNA λιγάσης (δεσμύσης).

# Έναρξη αντιγραφής στον καθυστερημένο κλώνο



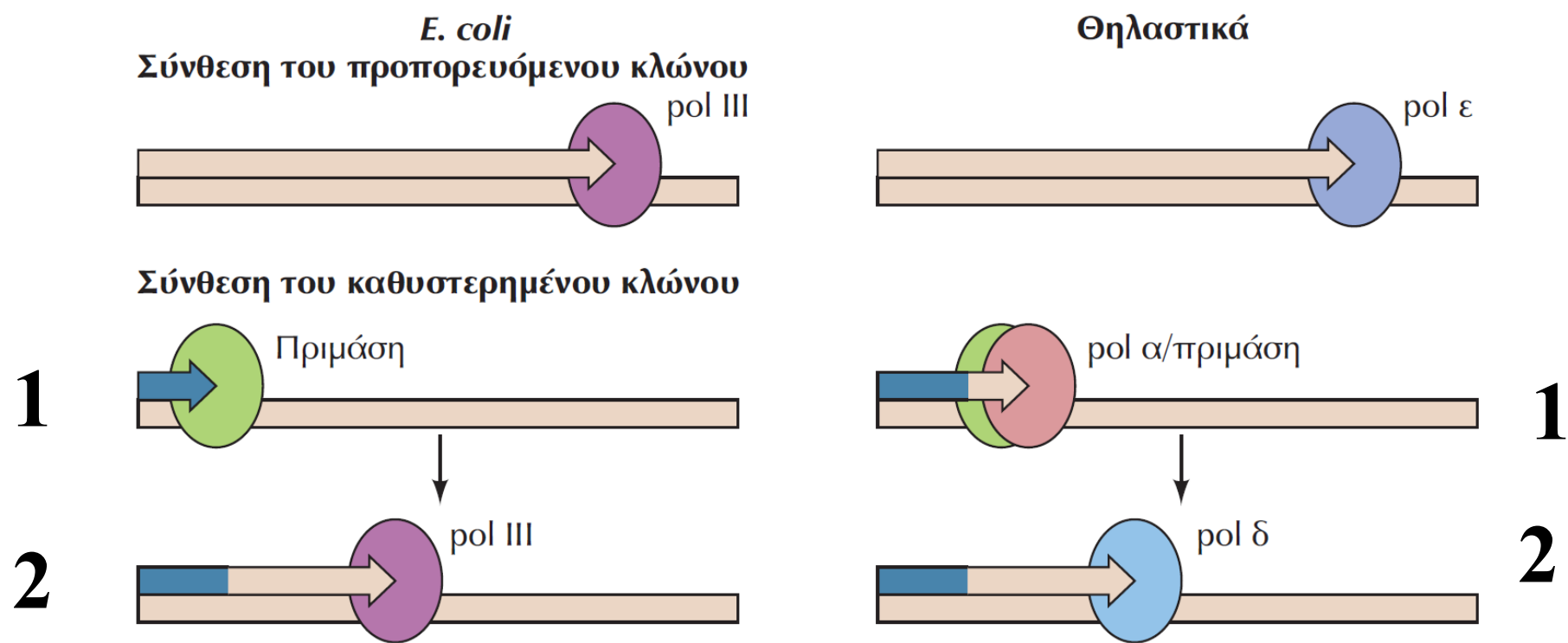
## ΕΙΚΟΝΑ 6.4 Έναρξη της σύνθεσης των τμημάτων Okazaki με εκκινητές RNA.

Βραχέα τμήματα **RNA** συντίθενται και επιμηκύνονται από την **πριμάση του DNA** (μια **πολυμεράση του RNA**). Αυτά τα τμήματα RNA λειτουργούν στη συνέχεια ως **εκκινητές** που μπορούν να επιμηκυνθούν από την πολυμεράση του DNA.



**ΕΙΚΟΝΑ 6.5 Απομάκρυνση των εκκινητών RNA και συνένωση των τμημάτων Okazaki.**

Οι εκκινητές RNA απομακρύνονται και η DNA πολυμεράση συμπληρώνει με δεοξυριβονουκλεοτίδια τα χάσματα μεταξύ των τμημάτων Okazaki. Τα τμήματα DNA που δημιουργούνται συνενώνονται στη συνέχεια από την **DNA λιγάση** (δεσμάση).



**ΕΙΚΟΝΑ 6.6 Ρόλοι των DNA πολυμερασών στην *E. coli* και σε κύτταρα θηλαστικών.**

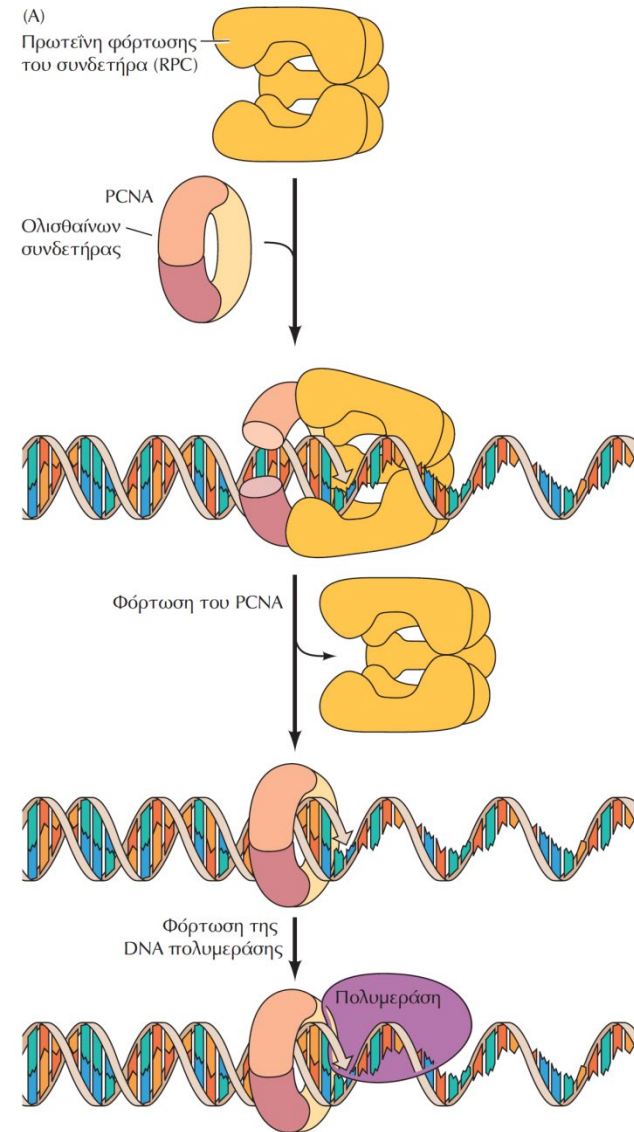
Ο προπορευόμενος κλώνος συντίθεται από την πολυμεράση III (pol III) στην *E. coli* και από την πολυμεράση ε (pol ε) στα κύτταρα των θηλαστικών.

Στην *E. coli*, η έναρξη της σύνθεσης του καθυστερημένου κλώνου πραγματοποιείται από την πριμάση και κατόπιν οι εκκινητές επιμηκύνονται από την πολυμεράση III. Στα θηλαστικά, η έναρξη της σύνθεσης του καθυστερημένου κλώνου διεξάγεται από ένα σύμπλοκο της πριμάσης με την πολυμεράση α (pol α). Τα βραχεία τμήματα RNA-DNA που συντίθενται από αυτό το σύμπλοκο επιμηκύνονται στη συνέχεια από την πολυμεράση δ (pol δ).

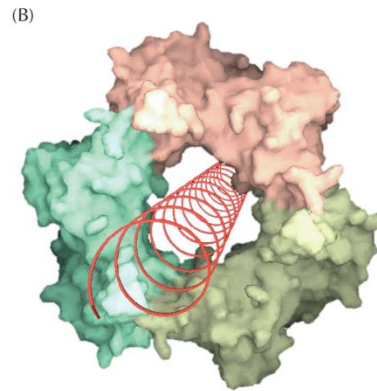
## ΕΙΚΟΝΑ 6.7 Επικουρικές πρωτεΐνες των πολυμερασών.

(A) Ένα σύμπλοκο ανάμεσα στην πρωτεΐνη φόρτωσης του συνδετήρα (RFC) και την πρωτεΐνη-ολισθαίνοντα συνδετήρα (PCNA) (στα κύτταρα των θηλαστικών) (i) προσδένεται στο DNA στο άκρο του **εκκινητή RNA**. (ii) Ο RFC απελευθερώνεται φορτώνοντας το PCNA στο DNA. Στη συνέχεια, (iii) η **DNA πολυμεράση** προσδένεται στο **PCNA**.

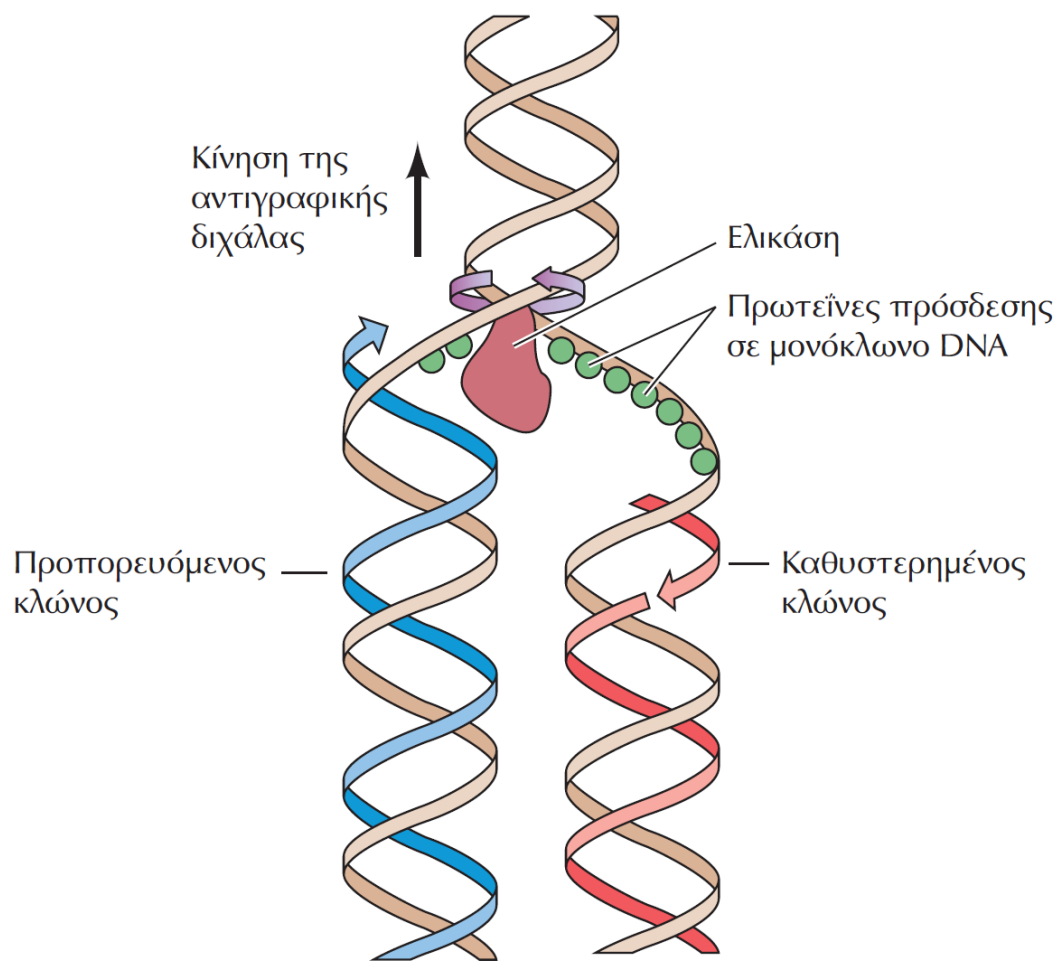
(B) Μοντέλο στο οποίο το PCNA παρουσιάζεται συνδεδεμένο με DNA. (B, από τη δημοσίευση των T. S. Krishna, X. P. Kong, S. Gary, P. M. Burgers και J. Kuriyan, 1994. *Cell* 79: 1233.)



(A)



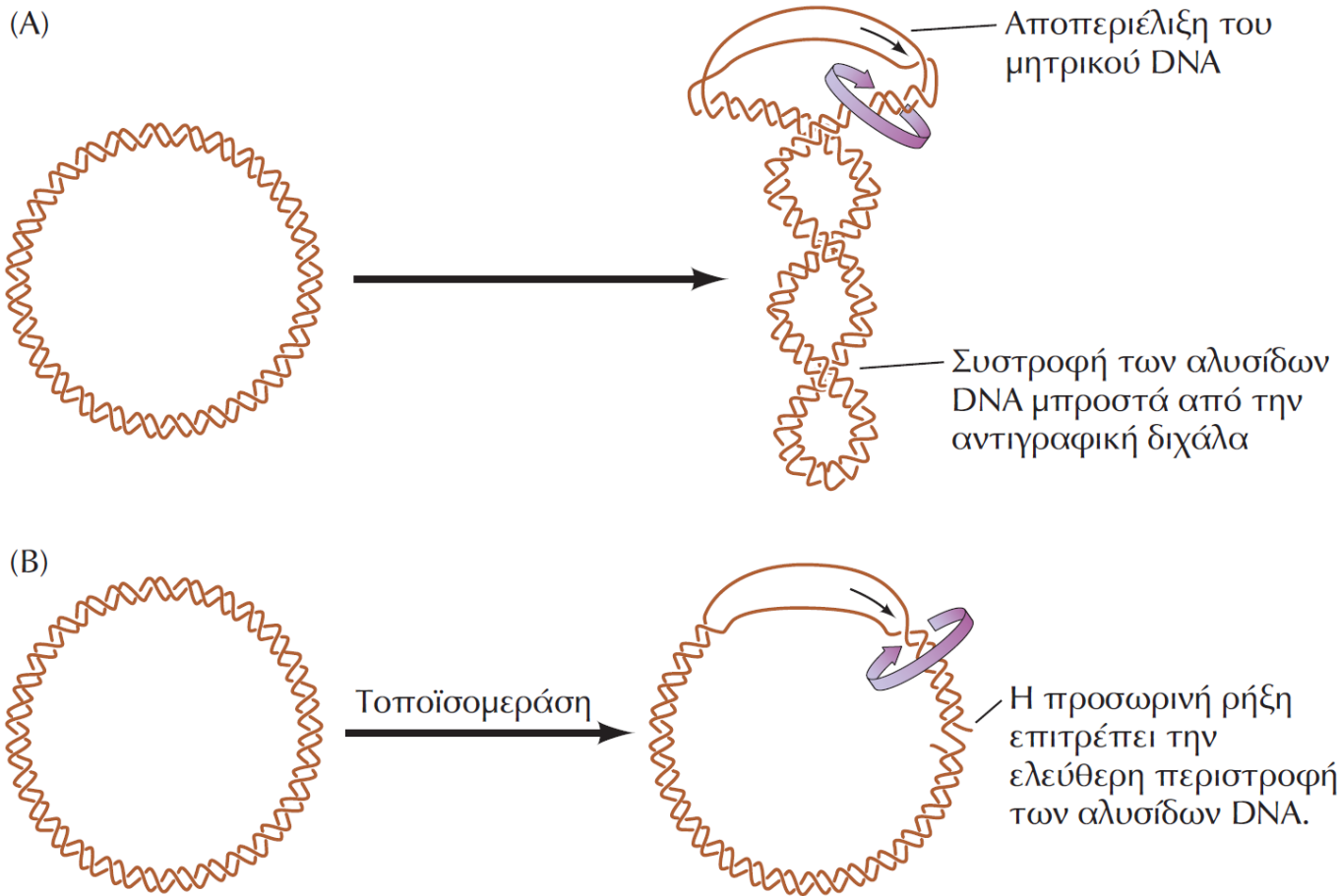
(B)



## ΕΙΚΟΝΑ 6.8 Δράση των ελικασών και των πρωτεϊνών πρόσδεσης σε μονόκλωνο DNA.

Οι **ελικάσες** αποπεριελίσσουν τις δύο αλυσίδες του μητρικού DNA μπροστά από την αντιγραφική διχάλα. Οι αποπεριελιγμένες αλυσίδες στη συνέχεια σταθεροποιούνται από **πρωτεΐνες πρόσδεσης σε μονόκλωνο DNA**, ώστε να μπορούν να λειτουργήσουν ως μήτρες για νέα σύνθεση DNA.



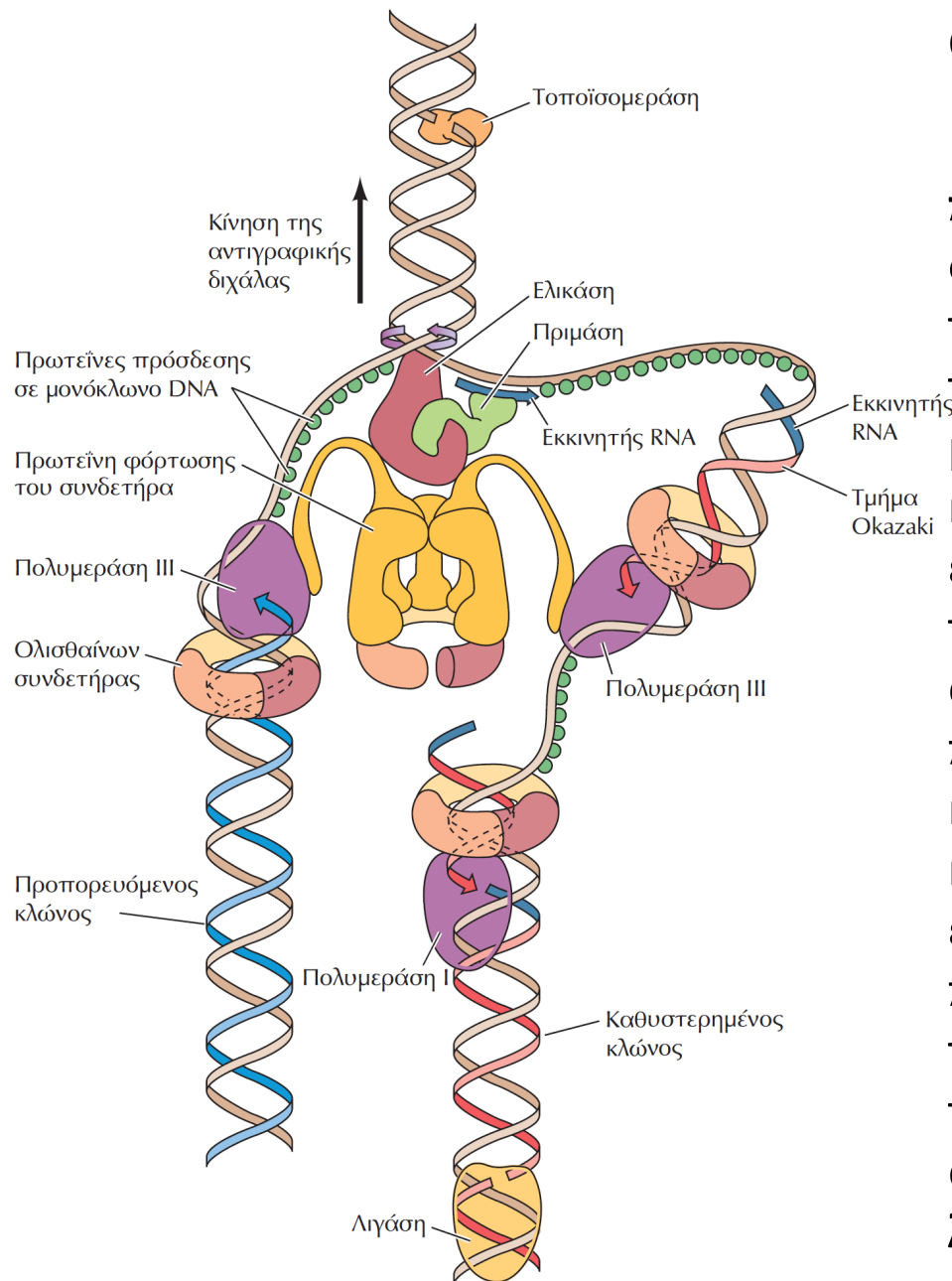


## ΕΙΚΟΝΑ 6.9 Δράση των τοποϊσομερασών κατά την αντιγραφή του DNA.

(A) Καθώς αποπεριελίσσονται οι δύο αλυσίδες της μήτρας DNA, το DNA μπροστά από την αντιγραφική διχάλα αναγκάζεται να περιστραφεί, με αποτέλεσμα την **αυτοπεριέλιξη** των κυκλικών μορίων. (B) Το πρόβλημα επιλύεται από τις **τοποϊσομεράσες**, οι οποίες καταλύουν την **κοπή και την επανένωση** των αλυσίδων DNA. Οι προσωρινές ρήξεις που προκαλούνται από τις τοποϊσομεράσες επιτρέπουν στις δύο αλυσίδες DNA να περιστρέφονται ελεύθερα η μία γύρω από την άλλη.



## ΕΙΚΟΝΑ 6.10 Μοντέλο της αντιγραφικής δικιάλας της *E. coli*.



Η **ελικάση**, η **πριμάση** και δύο μόρια **DNA πολυμεράσης** διεξάγουν συντονισμένα τη σύνθεση τόσο του προπορευόμενου όσο και του καθυστερημένου κλώνου του DNA. Και τα δύο μόρια DNA πολυμεράσης συνδέονται με την **πρωτεΐνη φόρτωσης του συνδετήρα**, η οποία με τη σειρά της συνδέεται με την ελικάση στην αντιγραφική δικιάλα. Η μήτρα του καθυστερημένου κλώνου αναδιπλώνεται, έτσι ώστε η πολυμεράση που διεκπεραιώνει τη σύνθεσή του να κινείται στην ίδια φορά με αυτή που κινείται η αντιγραφική δικιάλα. Η **τοποϊσομεράση** επιτρέπει στις δύο αλυσίδες DNA να περιστρέφονται ελεύθερα η μία γύρω από την άλλη μπροστά από τη δικιάλα. Πίσω από τη δικιάλα, η DNA πολυμεράση I απομακρύνει τους εκκινητές RNA και η **DNA λιγάση** (δεσμάση) συνενώνει τα τμήματα Okazaki.

## Διευκρινήσεις του μοντέλου της αντιγραφικής διχάλας της *E. coli* (ΕΙΚΟΝΑ 6.10 )

Η RFC μπορεί να συνδέεται ταυτόχρονα με την DNA πολυμεράση και με την PCNA. Κατά την αντιγραφή του DNA, η RFC πρώτα τοποθετεί την PCNA στη θέση του εκκινητή και μετά τοποθετεί την DNA πολυμεράση κολλητά με την PCNA. Το σύμπλοκο πολυμεράσης-PCNA διατηρείται και ξεκινά ο πολυμερισμός του DNA.

Όταν ο πολυμερισμός γίνεται στον προπορευόμενο κλώνο, η RFC παραμένει συνεχώς συνδεδεμένη με την πολυμεράση που είναι συνδεδεμένη με την PCNA. Όταν η αντιγραφή γίνεται στον καθυστερημένο κλώνο, η RFC παραμένει πάλι συνδεδεμένη με την πολυμεράση (και αυτή με την PCNA), μέχρις ότου η πολυμεράση συναντήσει τον επόμενο εκκινητή. Τότε η PCNA ξεκολλά από την πολυμεράση που εξακολουθεί όμως (η πολυμεράση) να είναι συνδεδεμένη με τον εύκαμπτο βραχίονα της RFC. Η RFC προσλαμβάνει μια νέα PCNA στον καινούργιο εκκινητή, μεταφέρει την πολυμεράση στη νέα PCNA και η διαδικασία επαναλαμβάνεται.

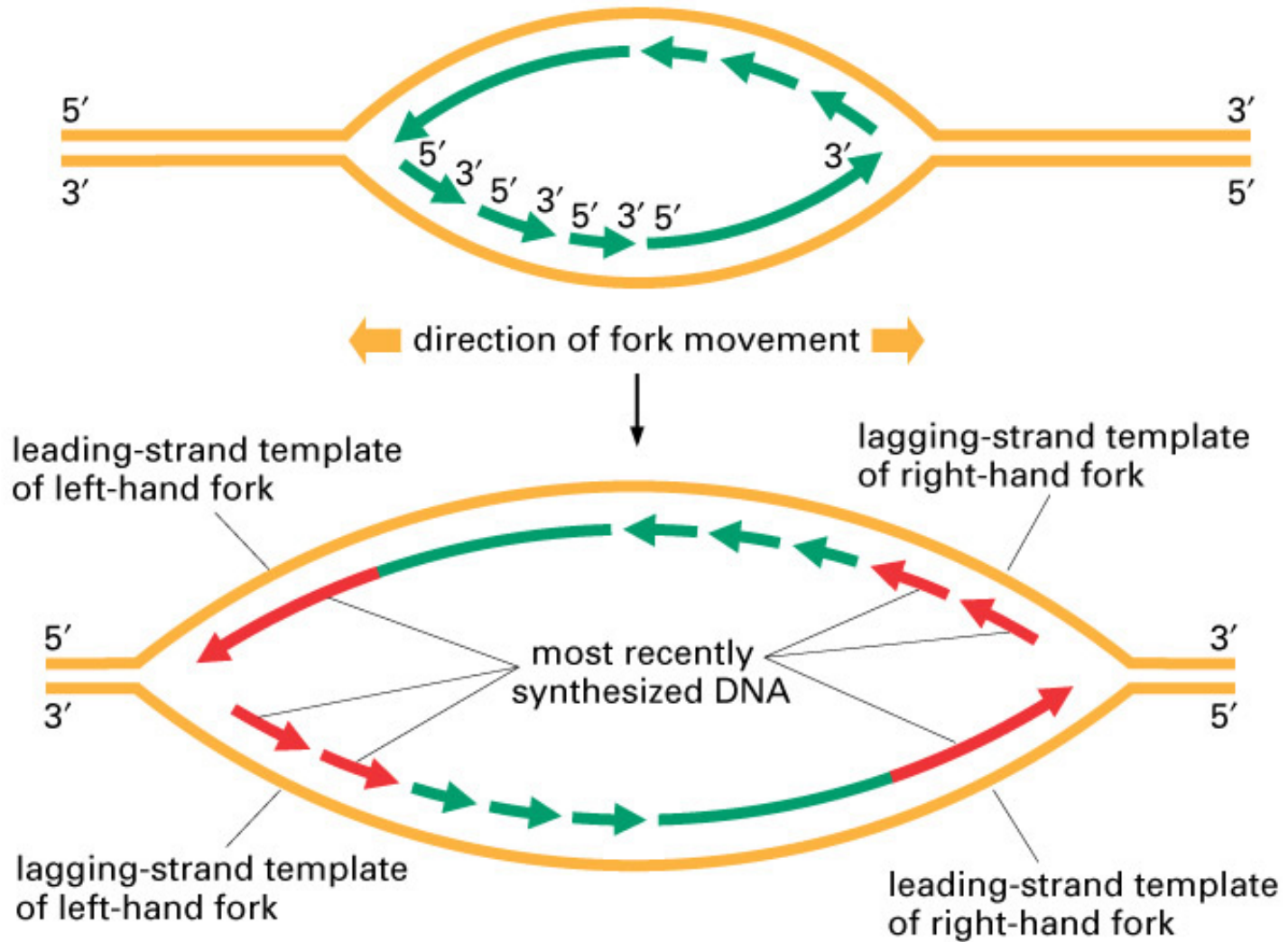
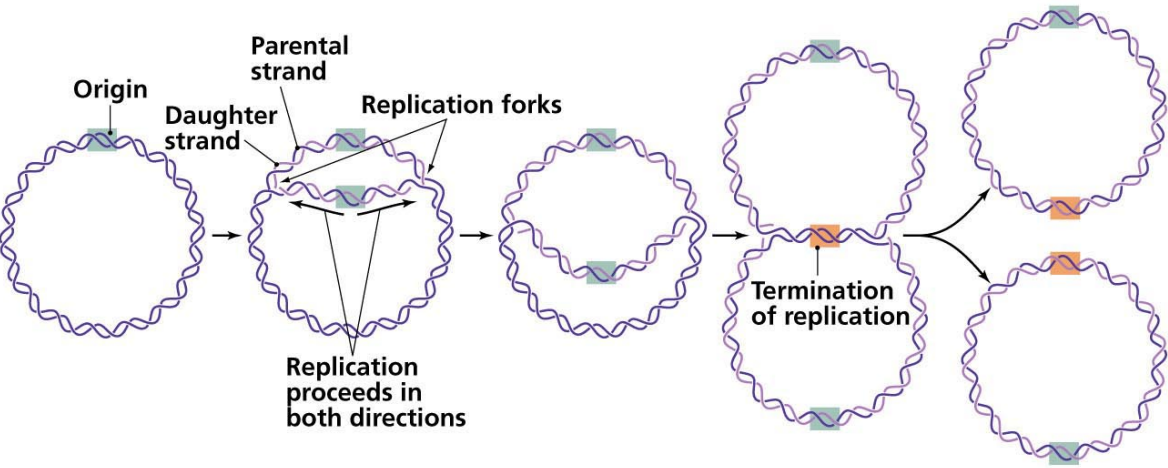


Figure 6-12 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Η αντιγραφική διχάλα κινείται αμφίπλευρα

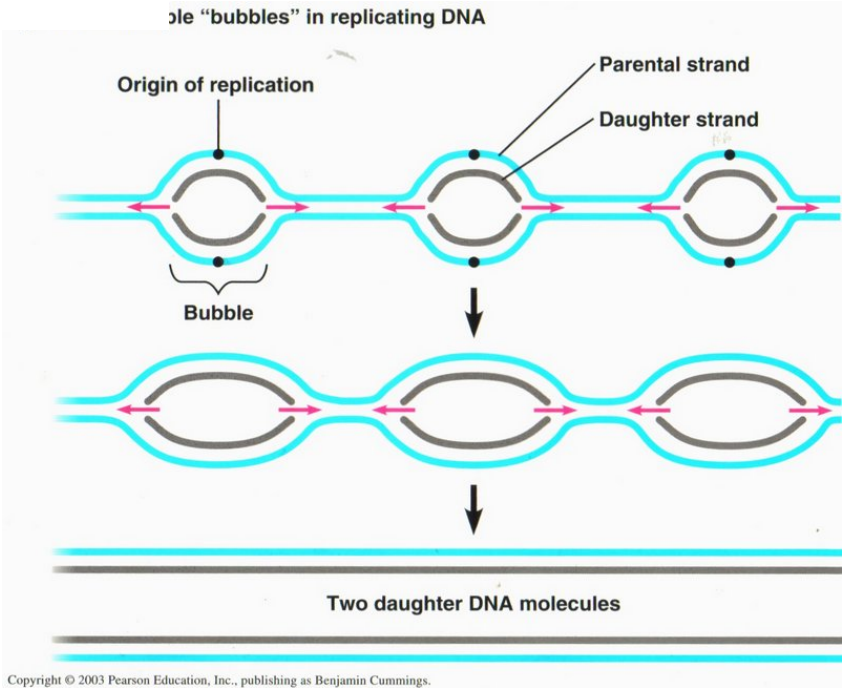
# Μία αντιγραφική διχάλα στα βακτήρια:



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<http://biology-pictures.blogspot.com/2011/10/bidirectional-replication.html>

# Περισσότερες στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς:

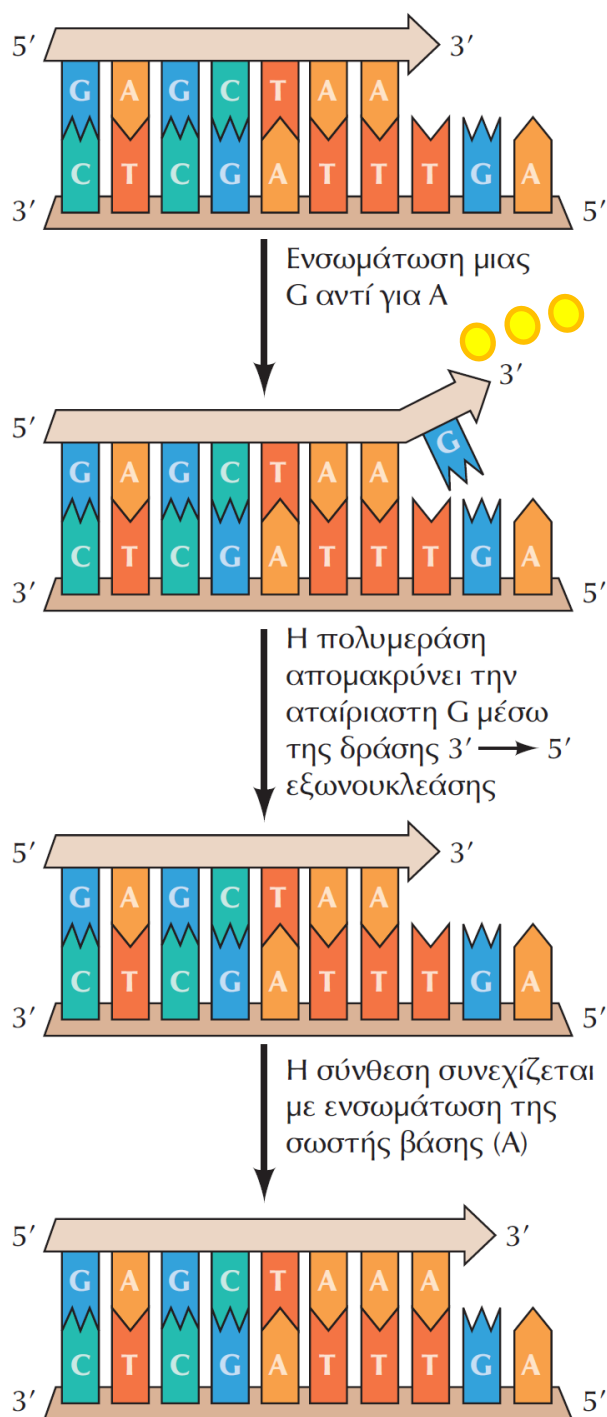


Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<http://herbmitchell.info/SECONDESSION.htm>

## **Δ. Διορθωτικός έλεγχος**

## ΕΙΚΟΝΑ 6.11 Διορθωτικός έλεγχος από την DNA πολυμεράση.



Μία G ενσωματώνεται στη θέση μιας A, απέναντι από μια T της αλυσίδας-μήτρας. Λόγω του αταίριαστου ζευγαρώματος, η G στο 3' άκρο δε συνδέεται με δεσμούς υδρογόνου με την αλυσίδα-μήτρα. Το γεγονός αυτό επάγει την απομάκρυνσή της μέσω της **ενεργότητας 3' προς 5' εξωνουκλεάσης** της DNA πολυμεράσης, η οποία, για να συνεχίσει τη σύνθεση, χρειάζεται το 3' άκρο του εκκινητή να είναι ζευγαρωμένο με την αλυσίδα-μήτρα.

Μετά την εκτομή της αταίριαστης G, η σύνθεση DNA μπορεί να συνεχιστεί με την ενσωμάτωση του σωστού νουκλεοτιδίου (εδώ μιας A).

*Θα μπορούσε να γίνει η προηγούμενη επιδιόρθωση αν τα ελεύθερα νουκλεοτίδια είχαν τρεις φωσφορικές ομάδες στην θέση 3' αντί της 5';*

*Ή: είναι προτιμότερο ο πολυμερισμός να καθορίζεται από ελεύθερα ή ήδη ενσωματωμένα νουκλεοτίδια;*

# Η πιστότητα της αντιγραφής του DNA

Από δεδομένα γονιδίων προκύπτει 1 λάθος ανά  $10^9$  νουκλεοτίδια.

- Από μετρήσεις της **ελεύθερης ενέργειας** (βάσεις) μόνο θα έπρεπε να είναι  $1:10^2$ .
- Η **DNA πολυμεράση ως εξειδικευμένο ένζυμο πολυμερισμού** (προηγούμενη σελίδα) βελτιώνει την ποιότητα της αντιγραφής στα  $1:10^4$  λάθη.
- Η ικανότητα **διορθωτικού ελέγχου** της DNA πολυμεράσης (ενεργότητα εξωνουκλεάσης) (προηγούμενη σελίδα) βελτιώνει επιπροσθέτως την αντιγραφή 100-1000 φορές.

**Σύνολο λαθών μετά από την DNA πολυμεράση  $1:10^7-10^8$**

- **Επιπρόσθετοι μηχανισμοί** που ελέγχουν το νεοσυντιθέμενο DNA  $1:10^9$

Η πολυμεράση **θήτα** του DNA μπορεί να μεταγράψει τμήματα RNA στο αντίστοιχο DNA κατά την επιδιόρθωση του DNA. Έχει λοιπόν ενεργότητα **ανάστροφης μεταγραφάσης του RNA**.

*SCIENCE ADVANCES* • 11 Jun 2021 • Vol 7, Issue 24 • [DOI: 10.1126/sciadv.abf1771](https://doi.org/10.1126/sciadv.abf1771)

<https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abf1771#F4>



**Τέλος ενότητας 7**