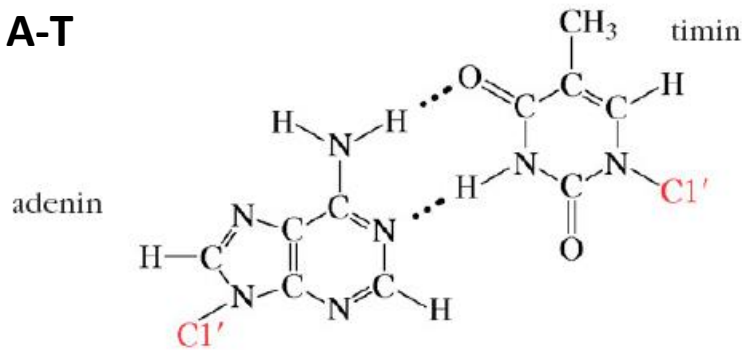


# Podvajanje DNA

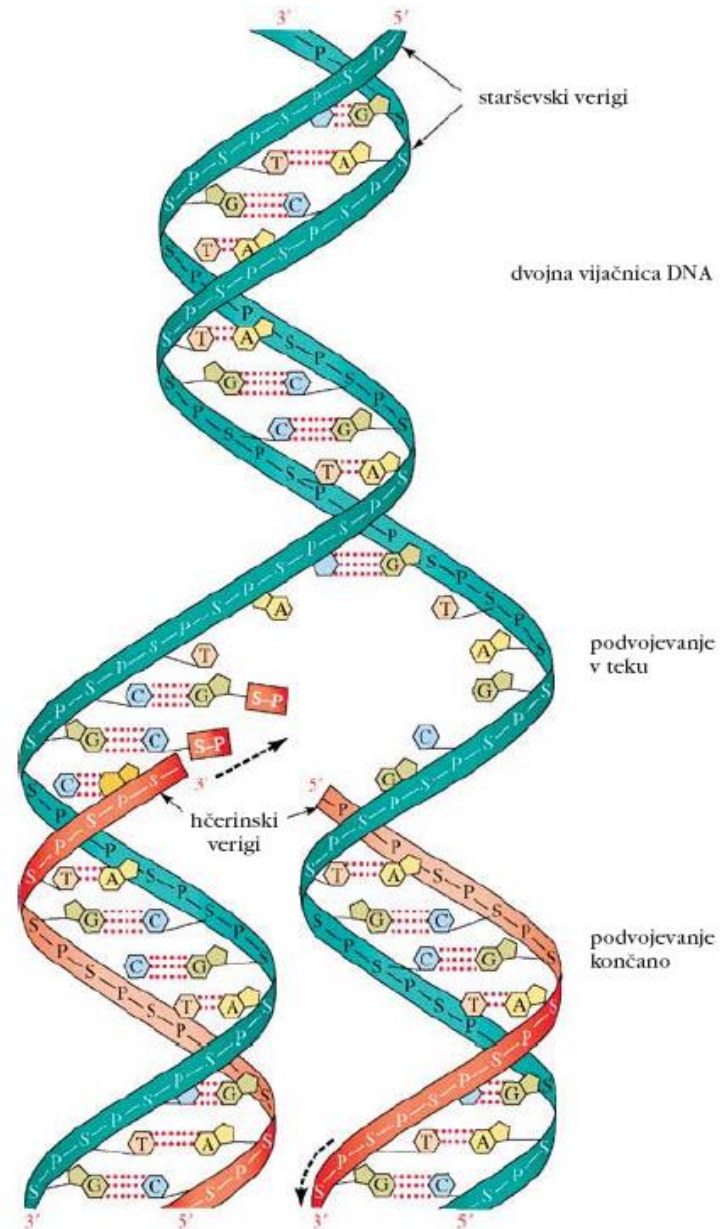
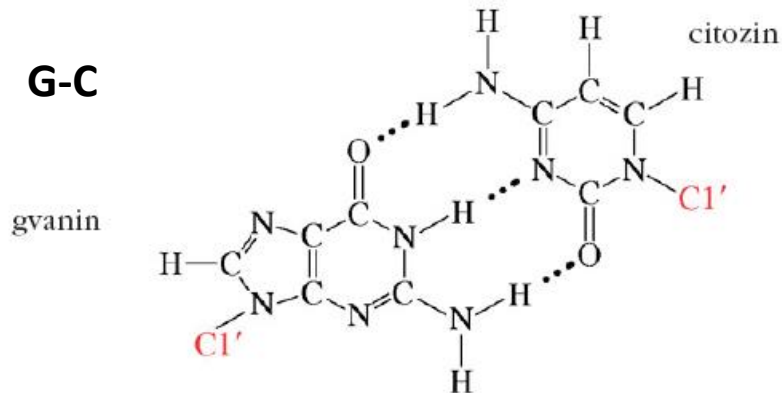
Podlaga za podvajanje oz. **replikacijo** DNA je tvorba Watson-Crickovih baznih parov med bazami v DNA.

P - fosfat  
S - sladkor  
A - adenin  
G - gvanin  
C - citozin  
T - timin

**A-T**

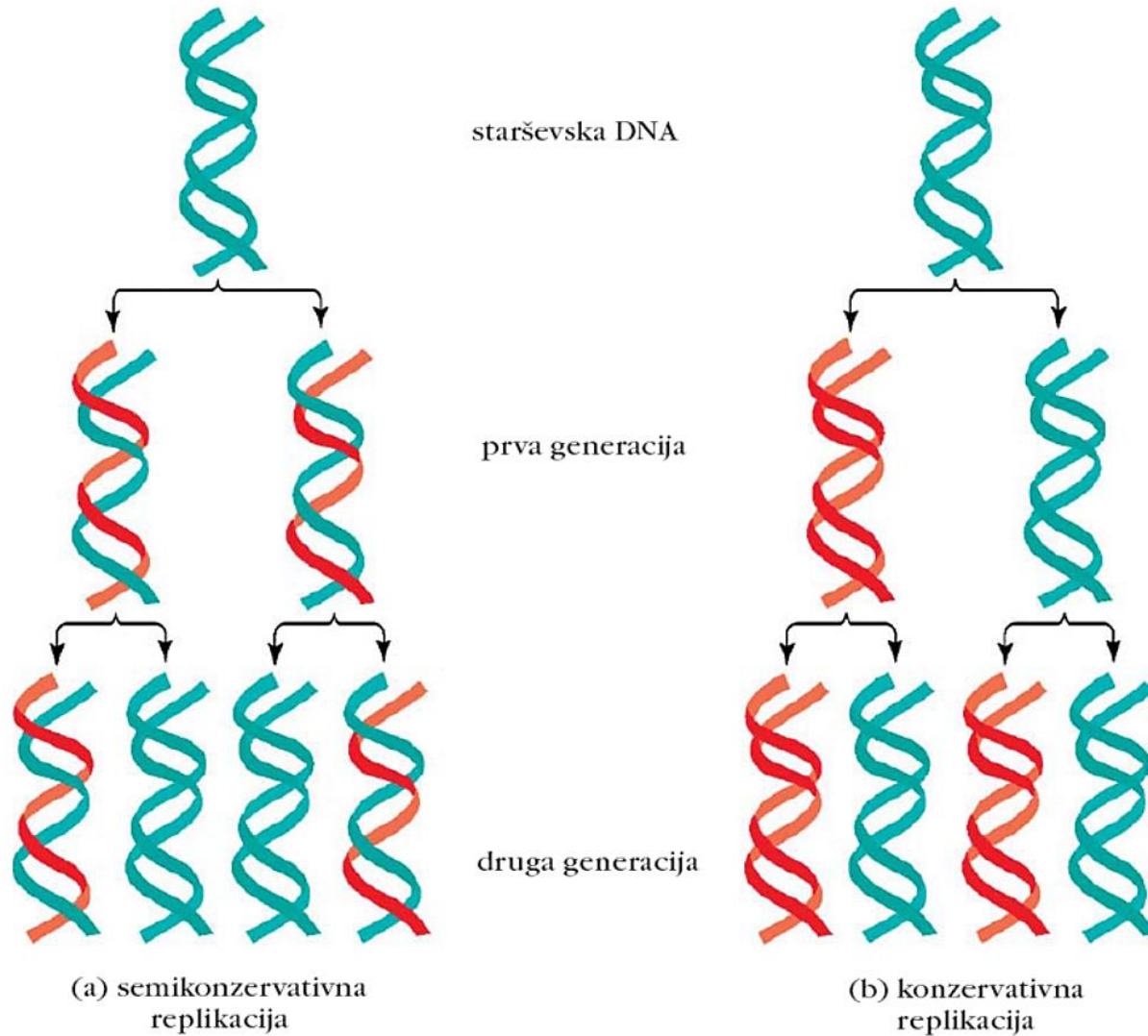


**G-C**



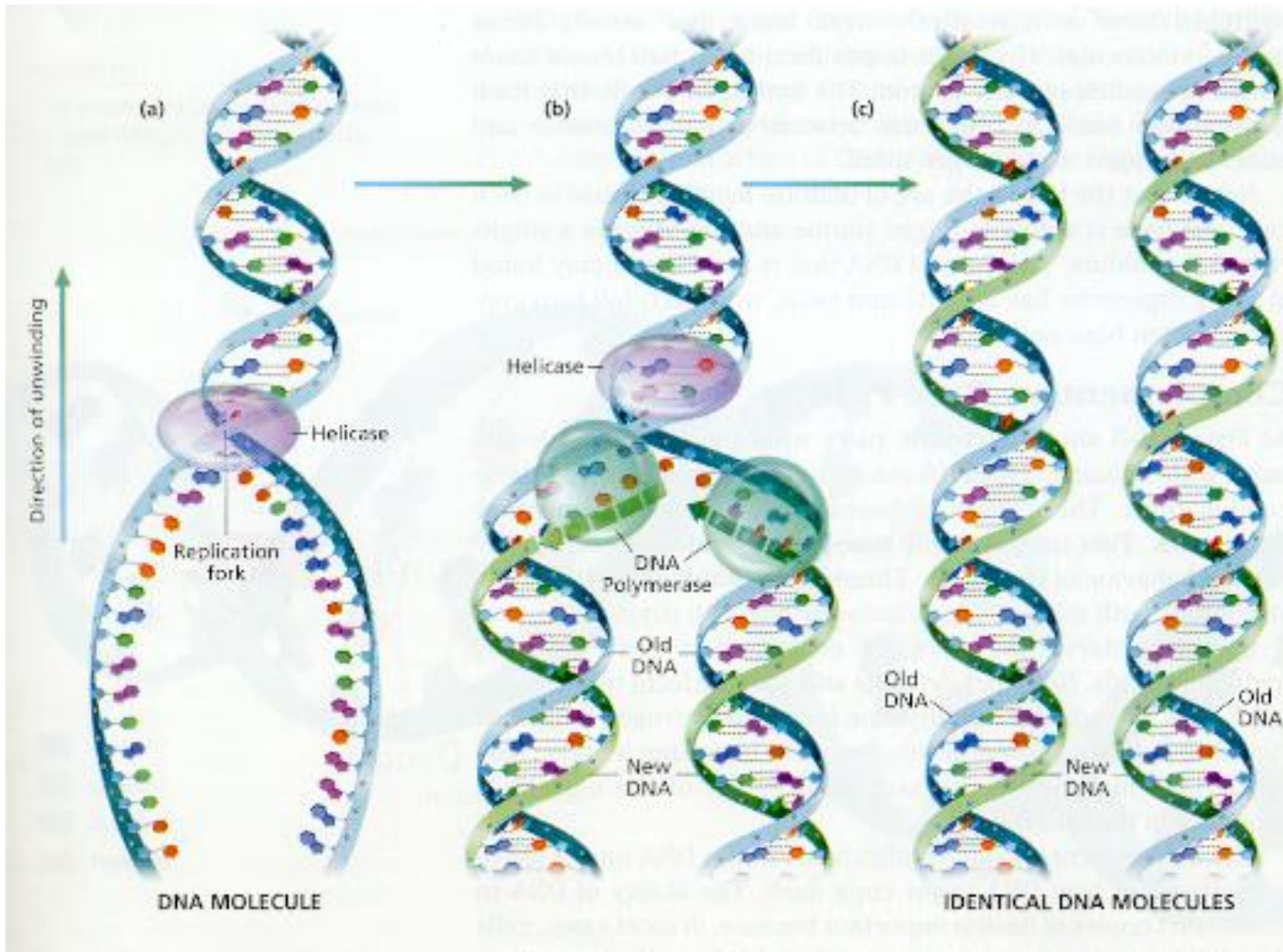
# Podvajanje DNA

Podvajanje DNA je semikonzervativno.

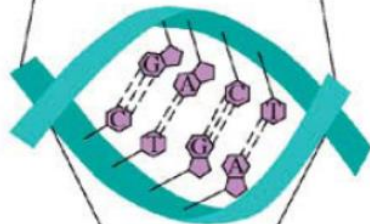
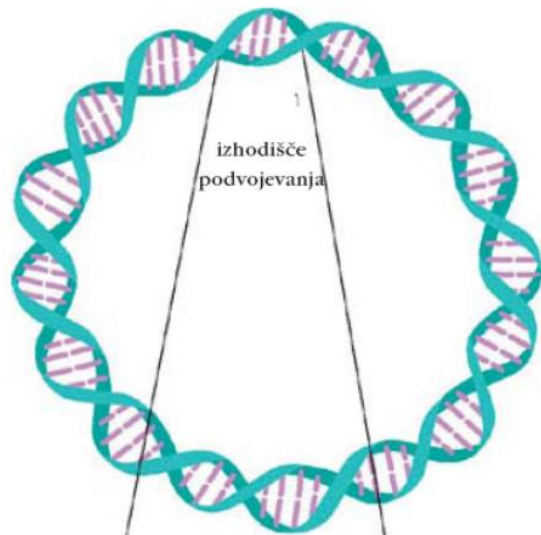


# Replikacijske vilice

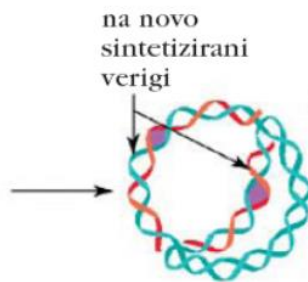
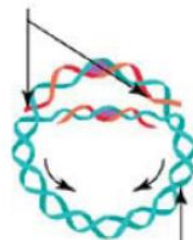
Del DNA, kjer v nekem trenutku poteka podvajanje DNA, imenujemo replikacijske oz. podvojevalne vilice.



# Podvajanje DNA pri prokariontih

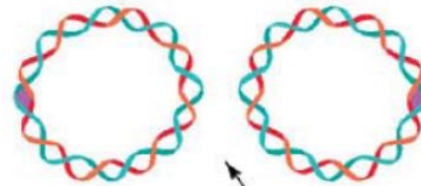


replikacijske vilice

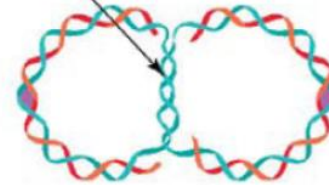


Pri *E. coli* se podvajanje začne na enem točko določenem mestu (mesto *ori*) in poteka v obeh smereh hkrati. Ta model imenujemo **theta** ( $\theta$ ).

dokončana kromosoma

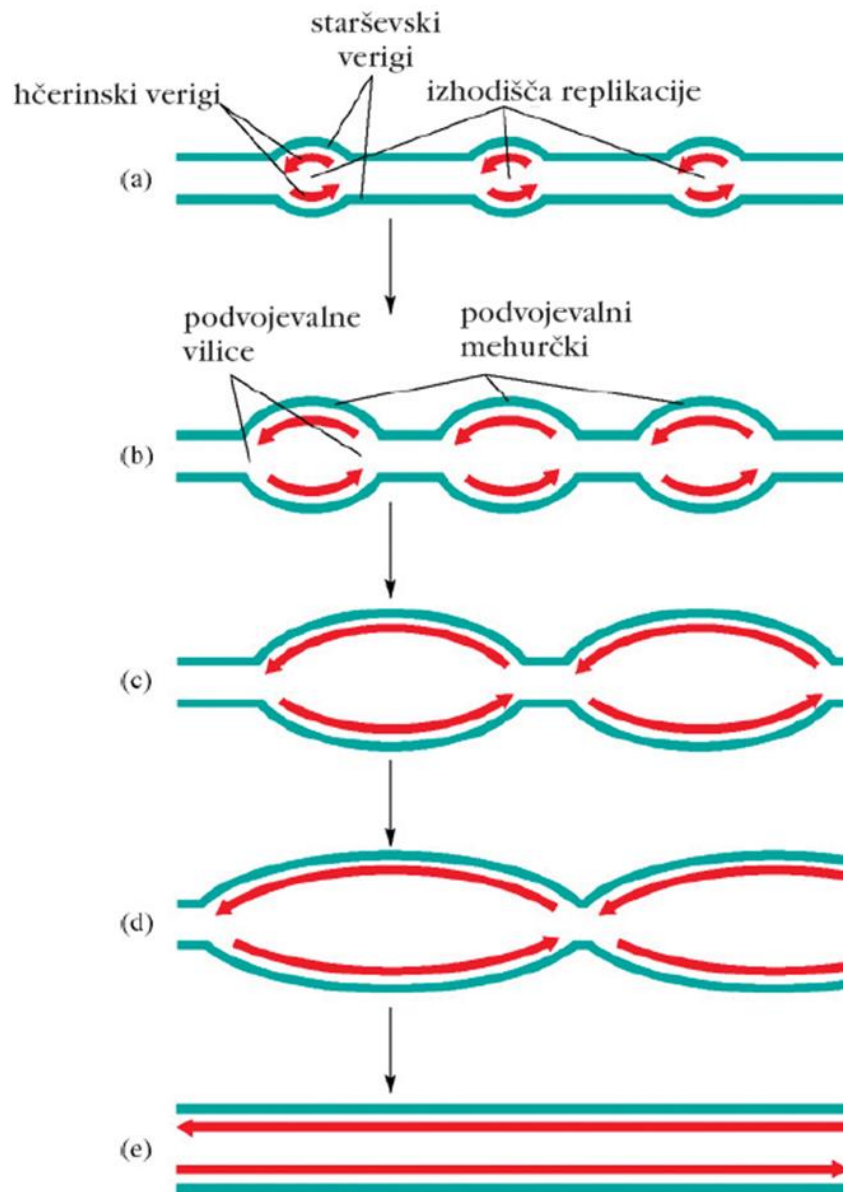


konec podvojevanja



# Podvojevanje DNA pri evkariontih

Pri evkariontih se podvojevanje vsakega kromosoma začne na več mestih hkrati in kot pri prokariontih poteka v obeh smereh, v obliki t.i. **replikacijskih mehurčkov**.

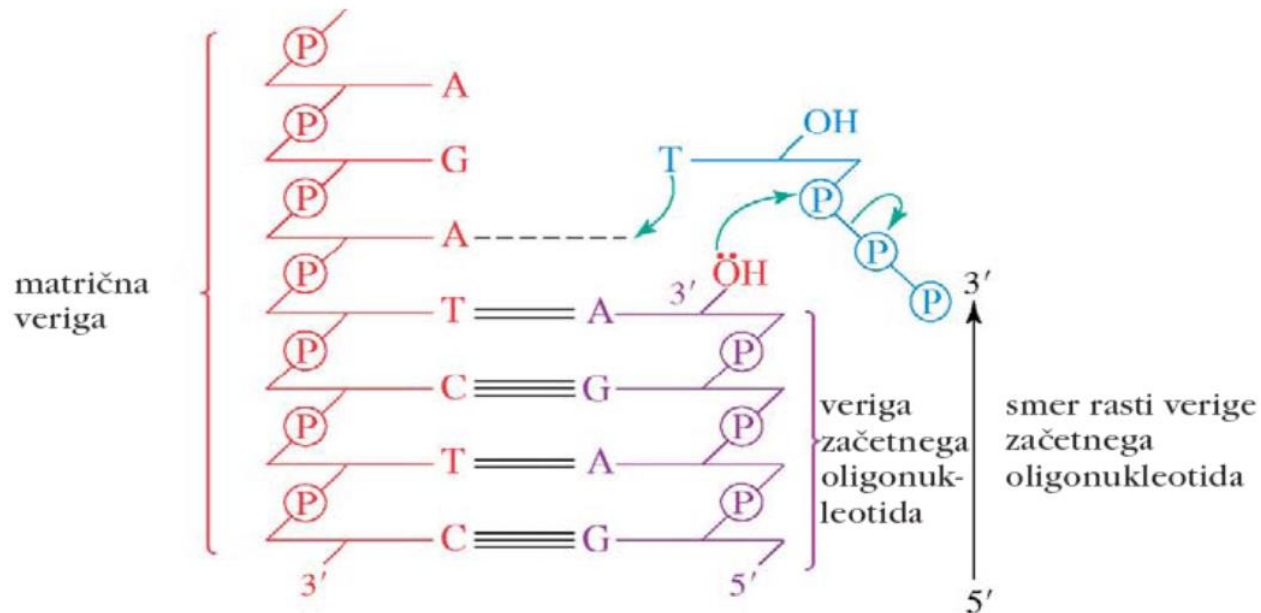


# DNA polimeraze

Encimi, ki katalizirajo podvojevanje DNA, se imenujejo **DNA polimeraze**.

Lastnosti DNA polimeraz:

- Za delovanje potrebujejo **matrico** – starševsko DNA
- Podaljševanje nastajajoče verige vedno poteka v smeri  $5' \rightarrow 3'$  – matrična DNA se bere v smeri  $3' \rightarrow 5'$
- Ne morejo začeti DNA verige popolnoma na novo – za začetek delovanja rabi **začetni oligonukleotid**
- Lahko imajo **eksonukleazno aktivnost** (sposobnost odcepljanja nepravilno sparjenih baz)



# DNA polimeraze

Encimi, ki katalizirajo podvojevanje DNA, se imenujejo **DNA polimeraze**.

Pri *E. coli* poznamo pet DNA polimeraz (knjiga omenja 3), pri človeku jih je več kot deset.

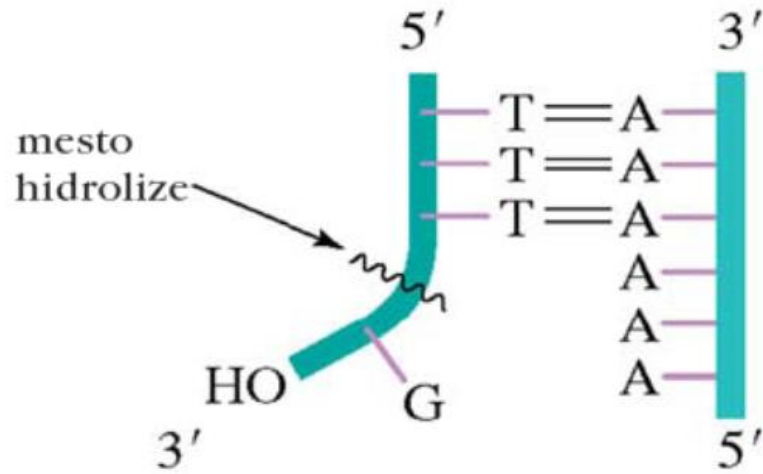
*E. coli*:

lastnosti	DNA-polimeraza		
	I	II	III
molekulska masa (Da)	103 000	88 000	900 000
število polipeptidnih podenot	1	4	10
hitrost polimerizacije (število nukleotidov, ki se dodajo v 1 s)	16 - 20	7	250 - 1000
eksonukleazna aktivnost 3'→5'	da	da	da
eksonukleazna aktivnost 5'→3'	da	ne	ne

DNA polimeraza III je glavni encim pri podvojevanju DNA v *E. coli*, ostali dve sodelujeta pri **kontrolnem branju** in **popravljanju napak**.

# Eksonukleazna aktivnost DNA polimeraz

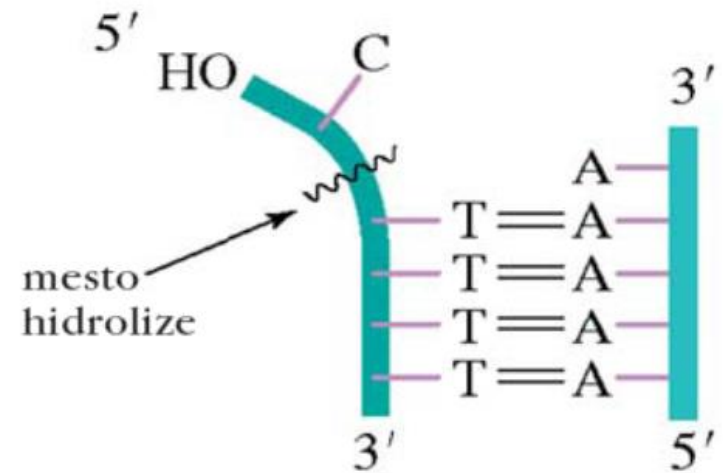
eksonukleazna aktivnost 3'→5'



(a)

Pol I  
Pol II  
Pol III

eksonukleazna aktivnost 5'→3'



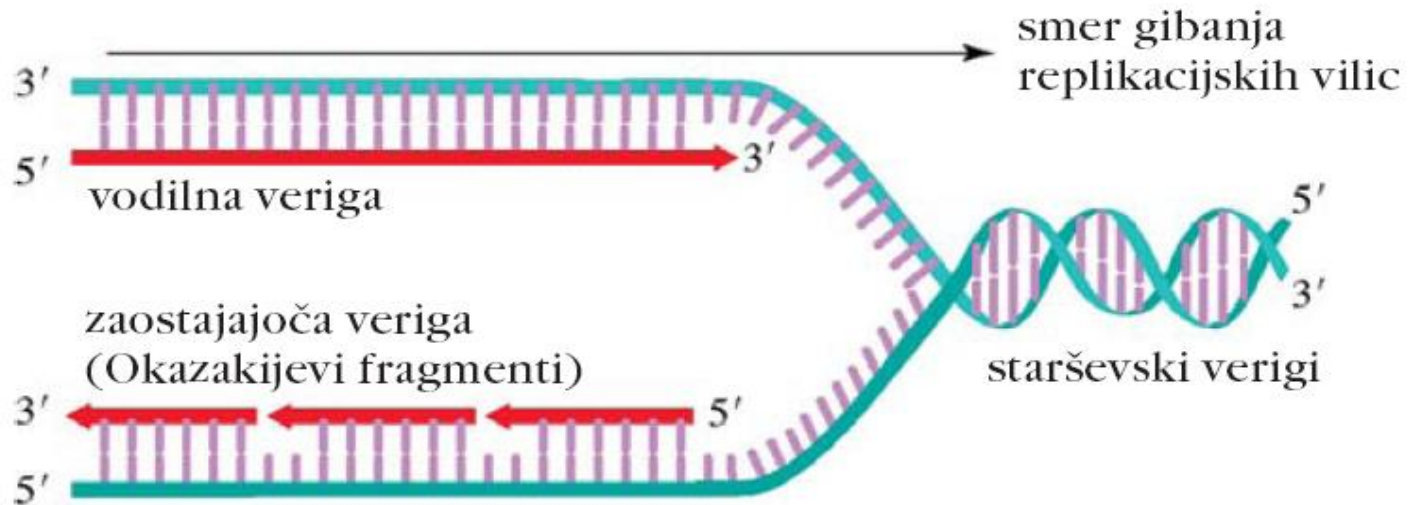
(b)

Pol I

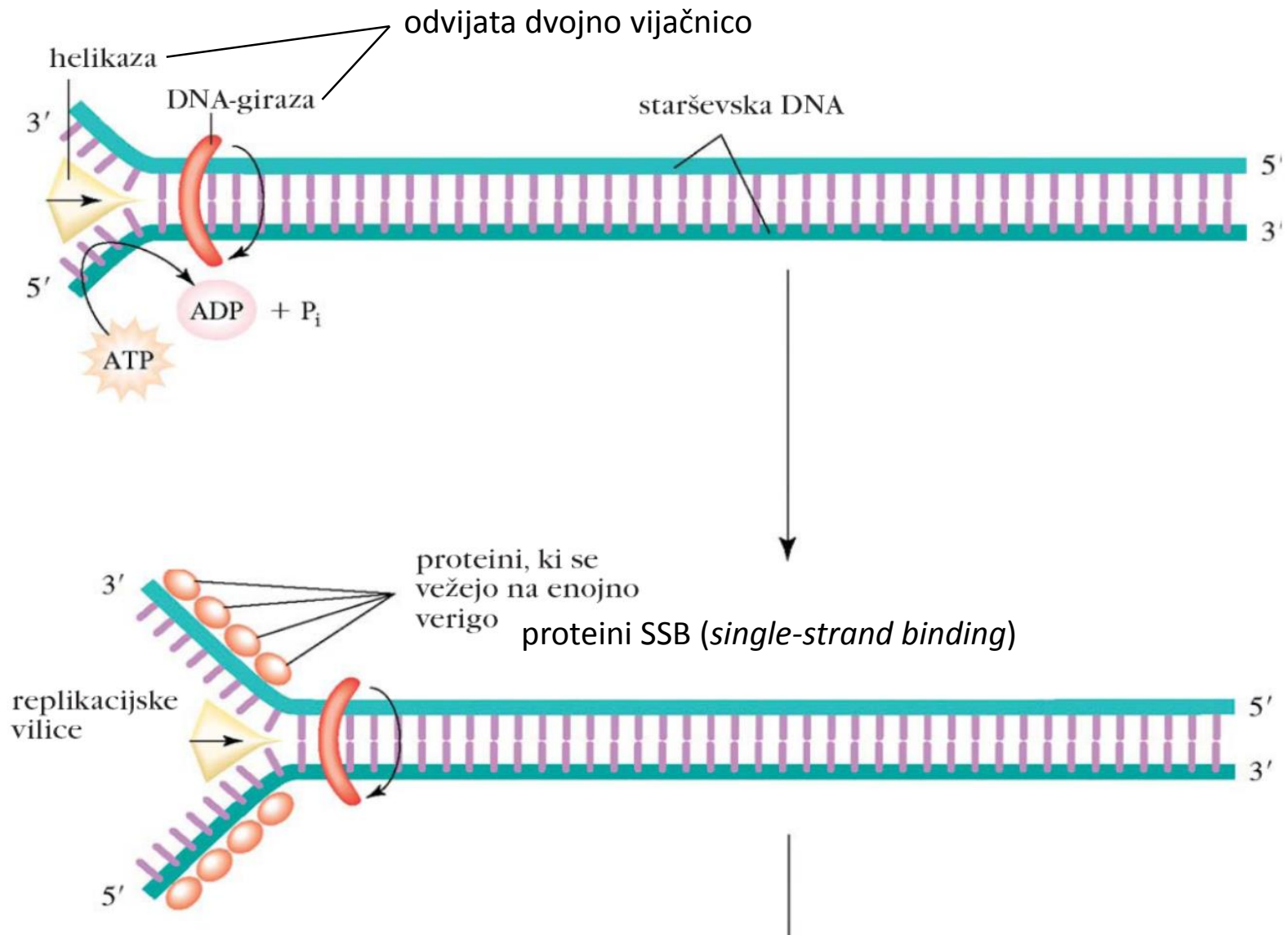


# Okazakijevi fragmenti

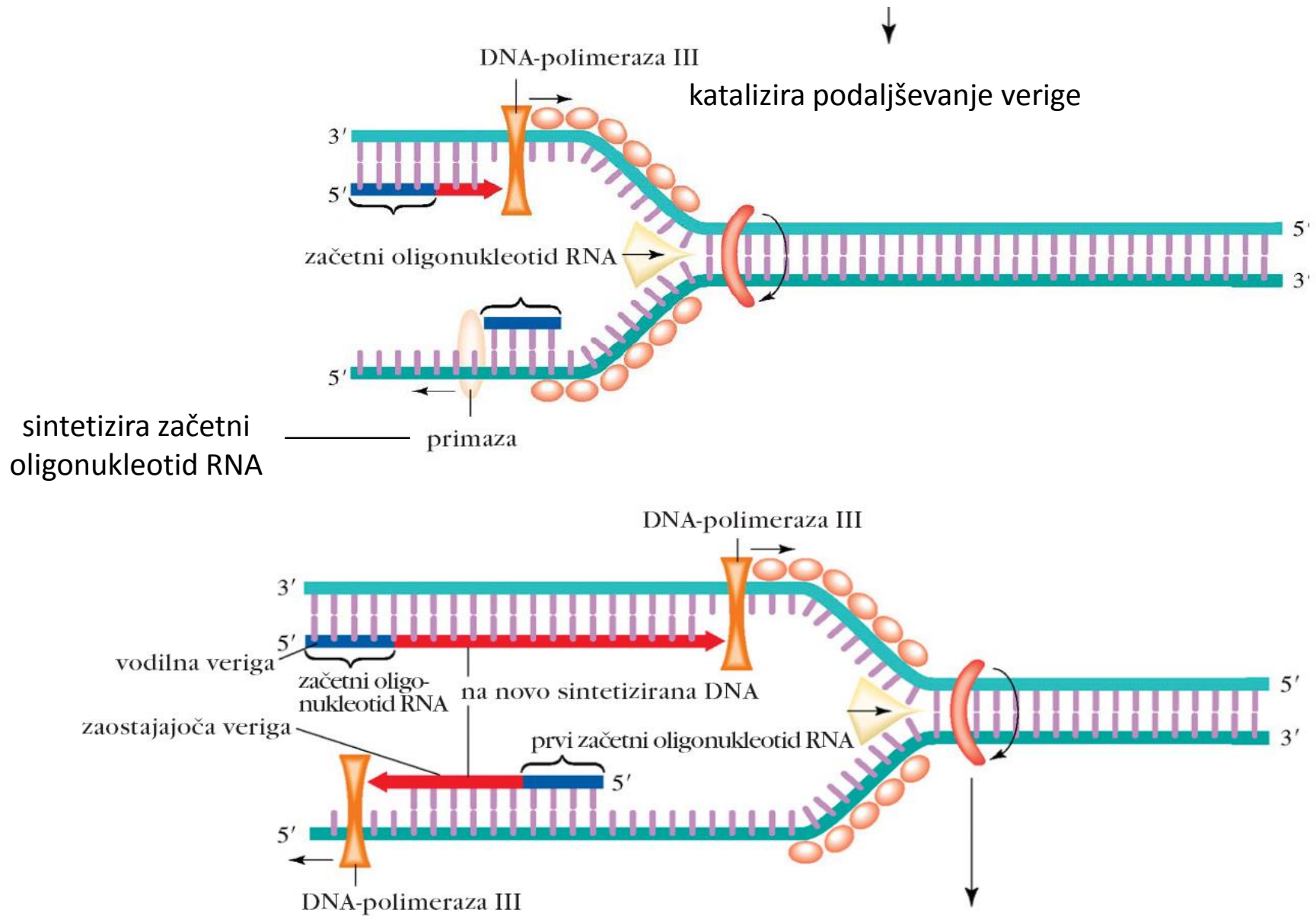
Ker sinteza nove verige DNA lahko poteka le v  $5' \rightarrow 3'$  smeri, se lahko v smeri gibanja replikacijskih vilic kontinuirno sintetizira le ena veriga DNA – **vodilna veriga**. Druga veriga – **zastajajoča veriga** – se sintetizira diskontinuirno v več fragmentih, imenovanih **Okazakijevi fragmenti**.



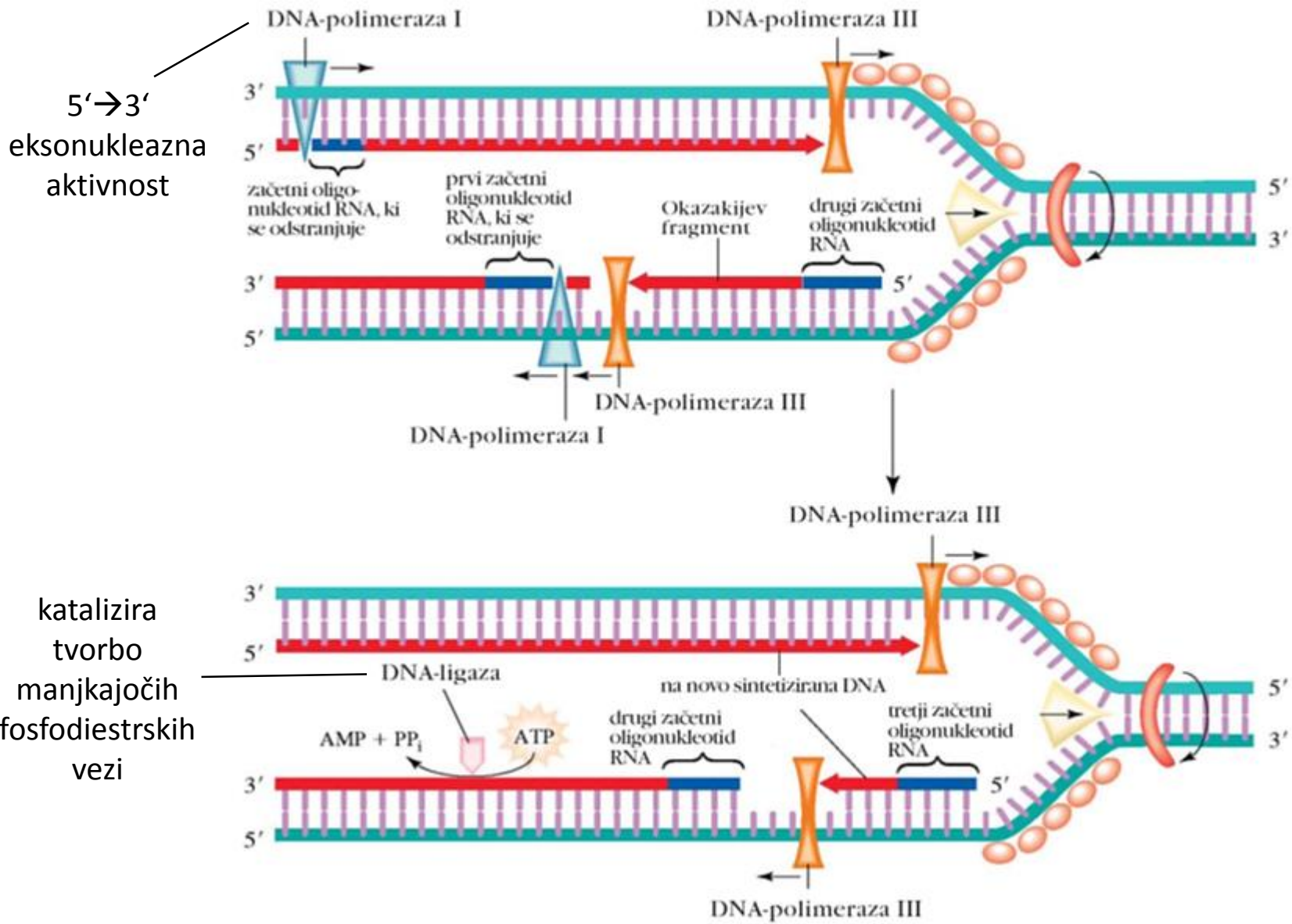
# Podvajanje DNA



# Podvajanje DNA



# Podvajanje DNA

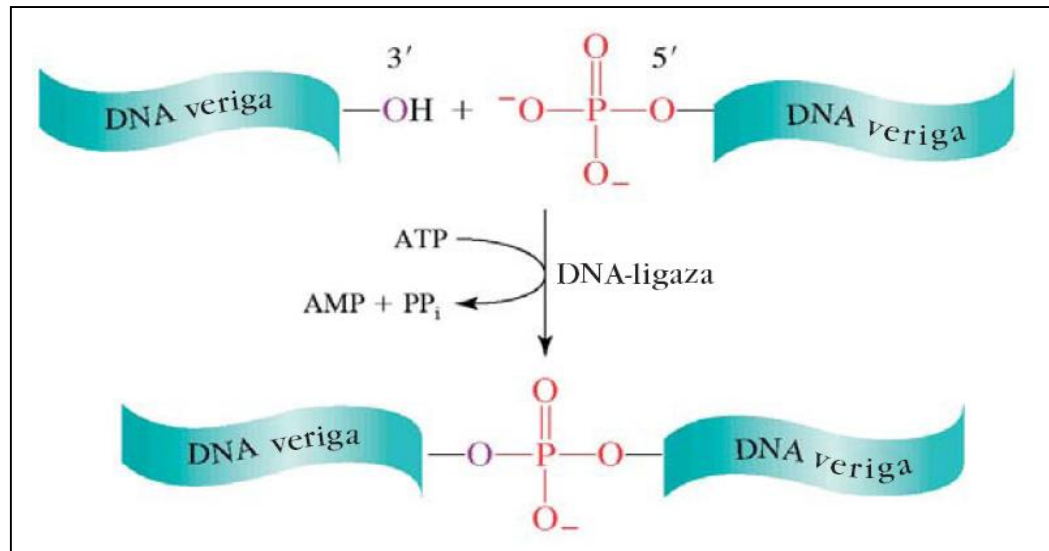


# Podvajanje DNA

Poglavitni proteini, ki sodelujejo pri podvojevanju DNA

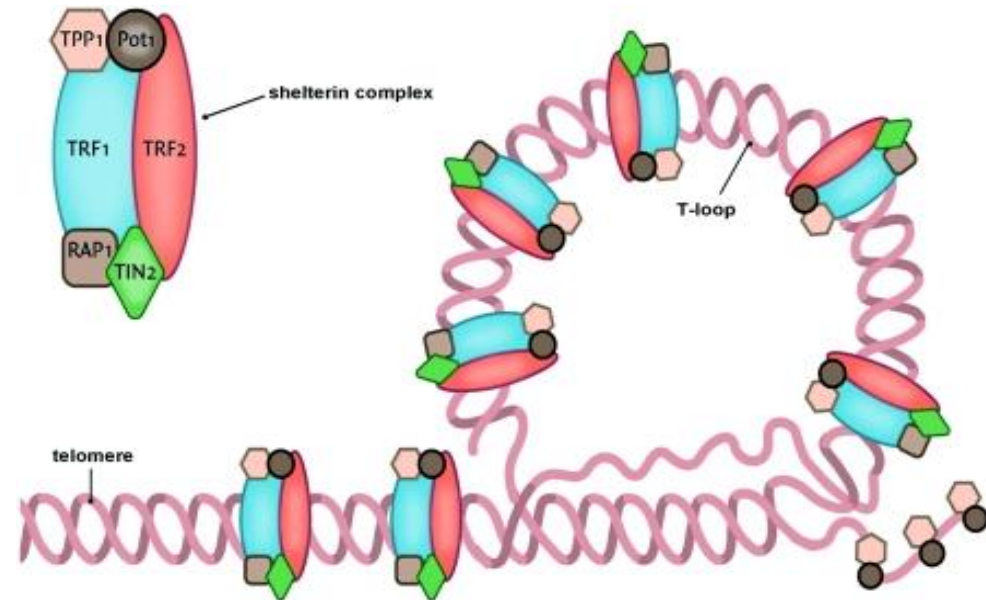
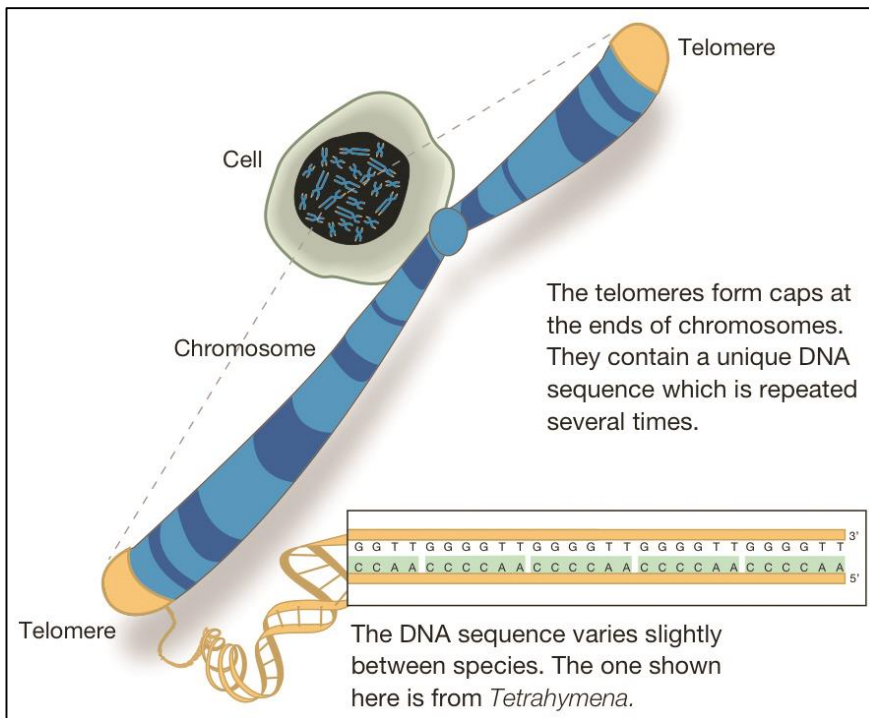
protein	vloga
helikaza	Katalizira razpiranje dvojne vijačnice DNA.
DNA-giraza	Pomaga pri odvijanju dvojne vijačnice DNA.
proteini SSB	Stabilizirajo enojni verigi DNA.
primaza	Katalizira sintezo začetnega oligonukleotida RNA.
DNA-polimeraza III	Katalizira podaljševanje verige DNA.
DNA-polimeraza I	Katalizira zamenjavo ribonukleotidov v začetnem oligonukleotidu z deoksiribonukleotidi.
DNA-ligaza	Katalizira sintezo manjkajoče fosfoesterske vezi med Okazakijevimi fragmenti.

delovanje DNA ligaze



# Telomere

Pri človeku je prisotnih več ponovitev zaporedja AGGGTT. Dodatno so telomere stabilizirane s posebnimi proteinskimi kompleksi, s katerimi skupaj tvorijo specifične prostorske strukture.

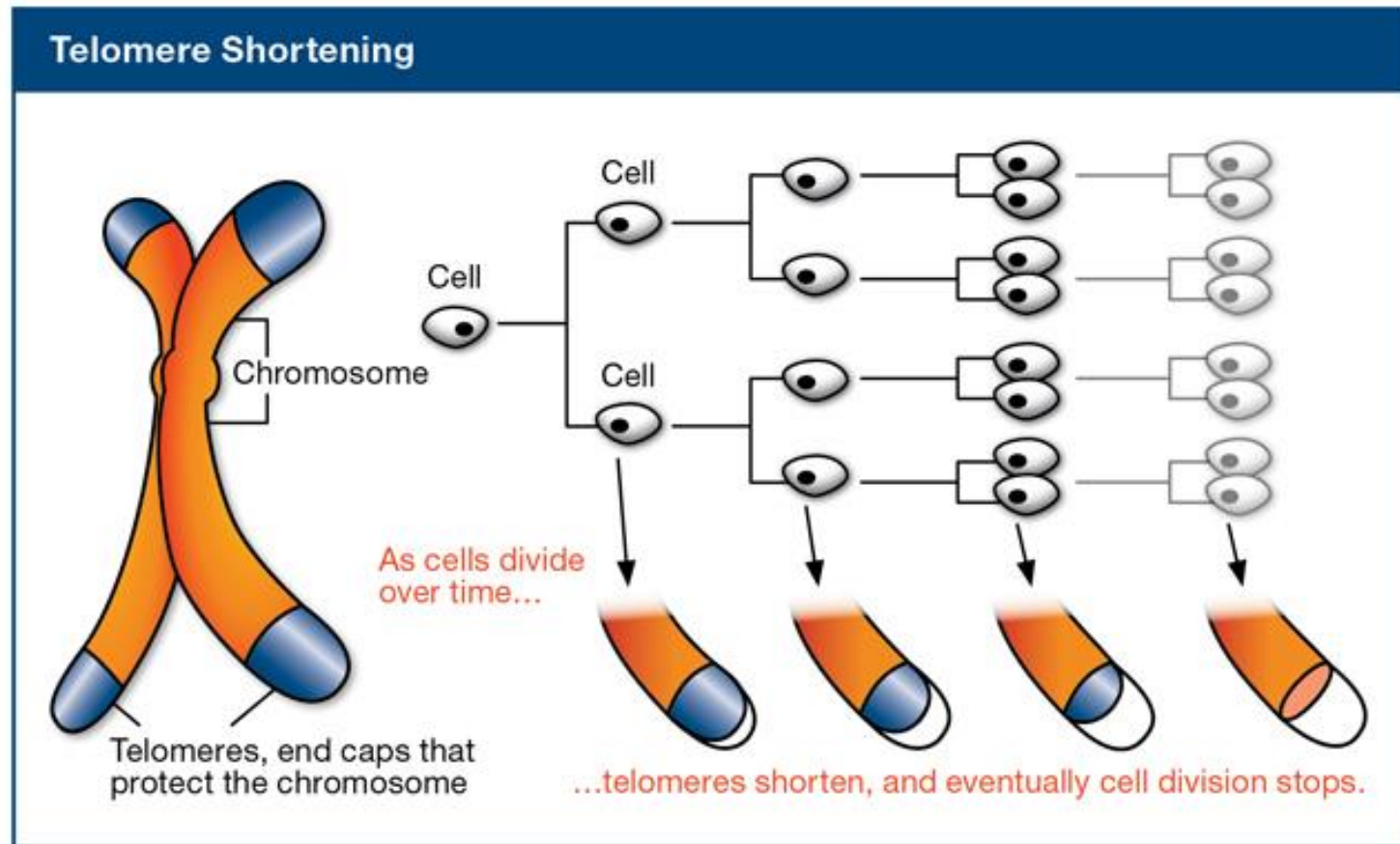


<http://www.hudsonalpha.org/education/outreach/basics/telomeres>

<http://www.anti-agingfirewalls.com/2011/03/27/the-epigenetic-regulation-of-telomeres/>

# Telomere

Pri človeku je prisotnih več ponovitev zaporedja AGGGTT. Dodatno so telomere stabilizirane s posebnimi proteinskimi kompleksi, s katerimi skupaj tvorijo specifične prostorske strukture. Telomere podaljšujejo encimi **telomeraze**. Ko se telomere skrajšajo na določeno minimalno dolžino, se celice nehajo deliti.



# Mutacije

Mutacija je sprememba zaporedja baz v DNA. Obsegajo lahko od enega nukleotida do posameznih regij kromosomov.

Normal DNA Sequence: **AGTCGA**  
Codon 1 Codon 2

Point Mutations:

Base Substitution: **AGTAGA**  
Codon 1 Codon 2

Frameshift Mutations:

Insertion: **ATGTCGA**  
Codon 1 Codon 2 Codon 3

Deletion: **ATCGA**  
Codon 1 Codon 2

Točkovne mutacije v zaporedjih, ki kodirajo za proteine, povzročijo spremembo zaporedja proteina.

## Chronic myelogenous leukemia

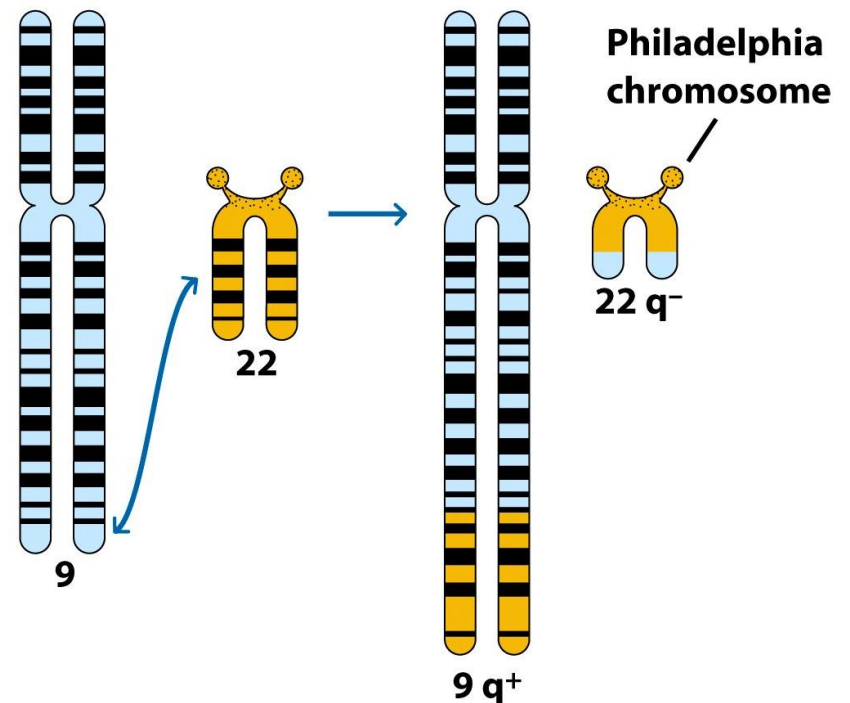


Figure 21-3a  
Kuby IMMUNOLOGY, Sixth Edition  
© 2007 W. H. Freeman and Company

translokacija dela kromosoma pri levkemiji.



# Mutacije

---

Mutacija je sprememba zaporedja baz v DNA. Obsegajo lahko od enega nukleotida do posameznih regij kromosomov.

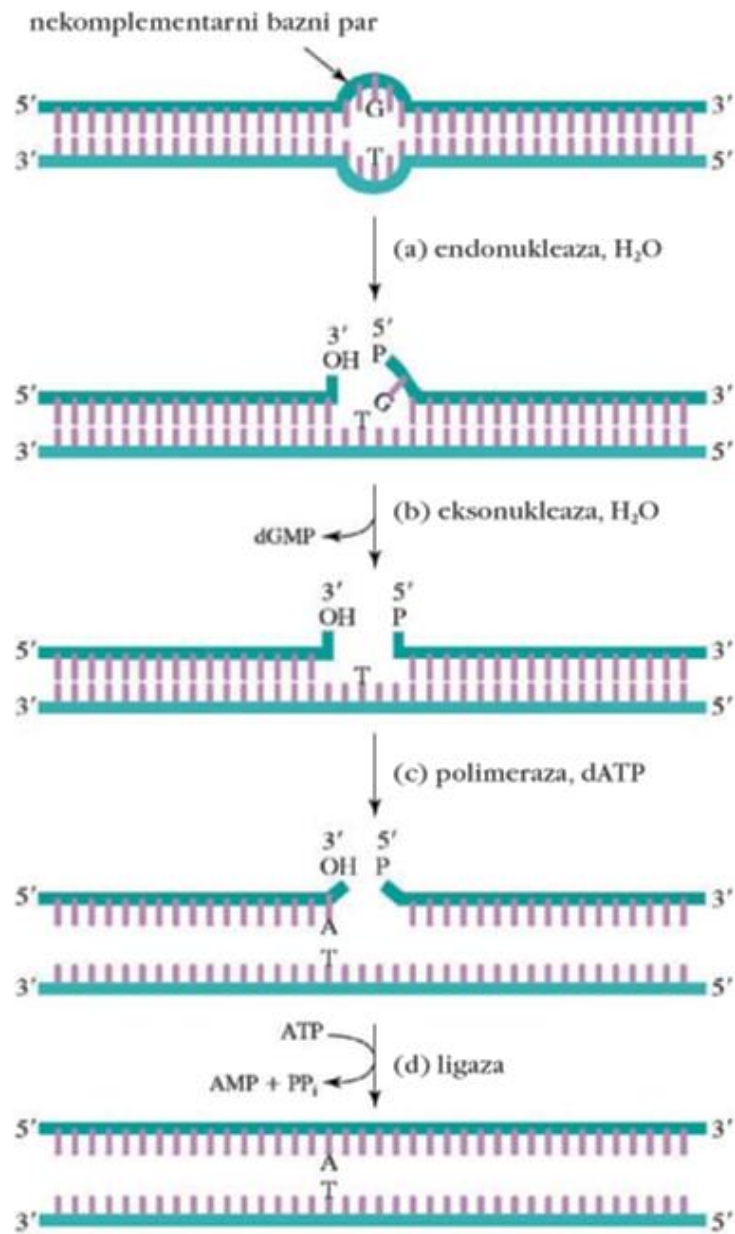
V celicah mutacije popravljajo **popravljalni mehanizmi**.

**Spontane mutacije** nastanejo med običajnimi celičnimi procesi.

- napake pri podvojevanju (frekvenca  $10^{-4}$  do  $10^{-5}$  pri podvojevanju oz.  $10^{-10}$  ob upoštevanju popravljalnih mehanizmov)
- spremembe baz zaradi hidrolitičnih reakcij

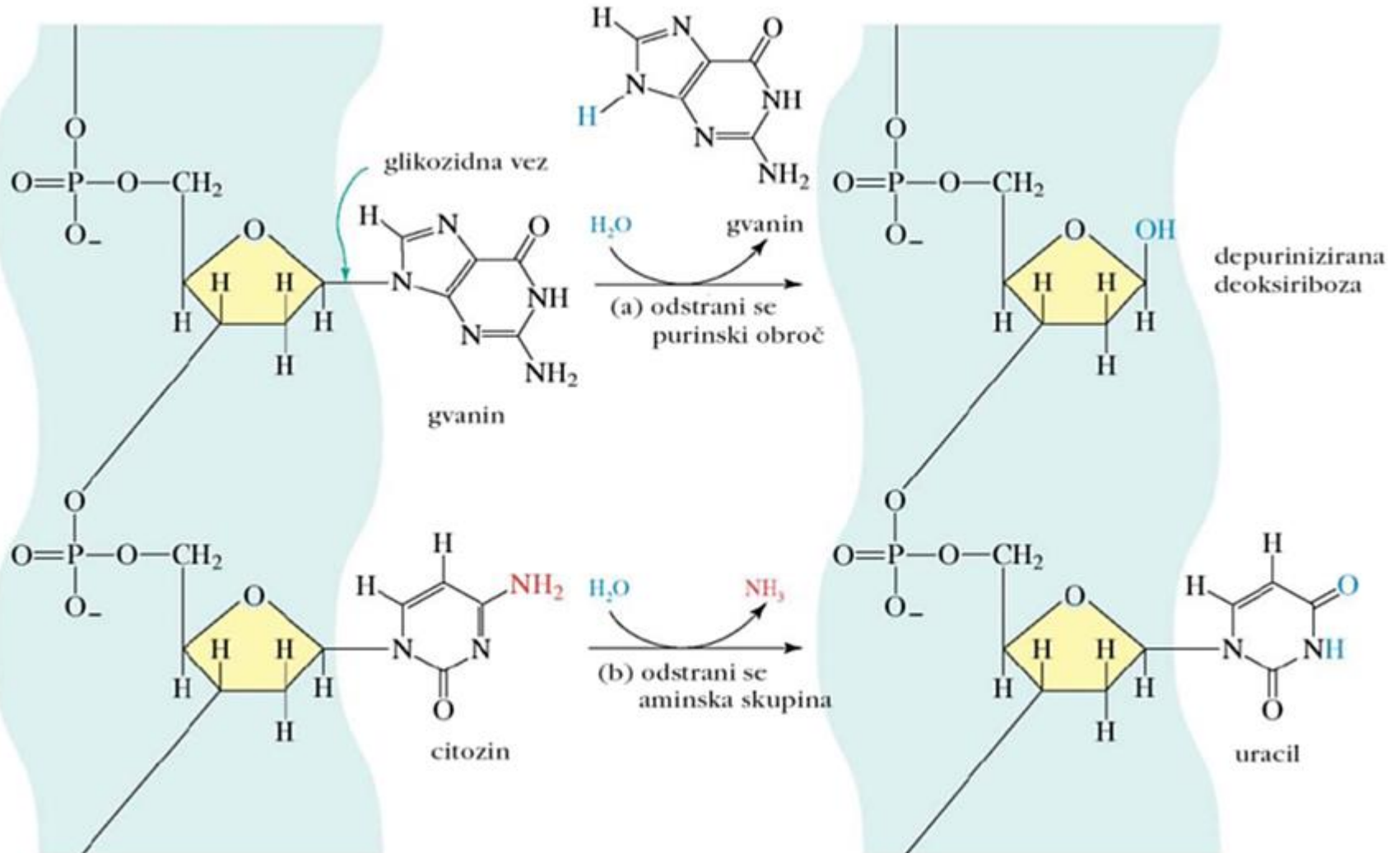
# Popravljanje napak na DNA

Osnovni mehanizem  
popravljanja napak v *E. coli*



# Hidroliza baz

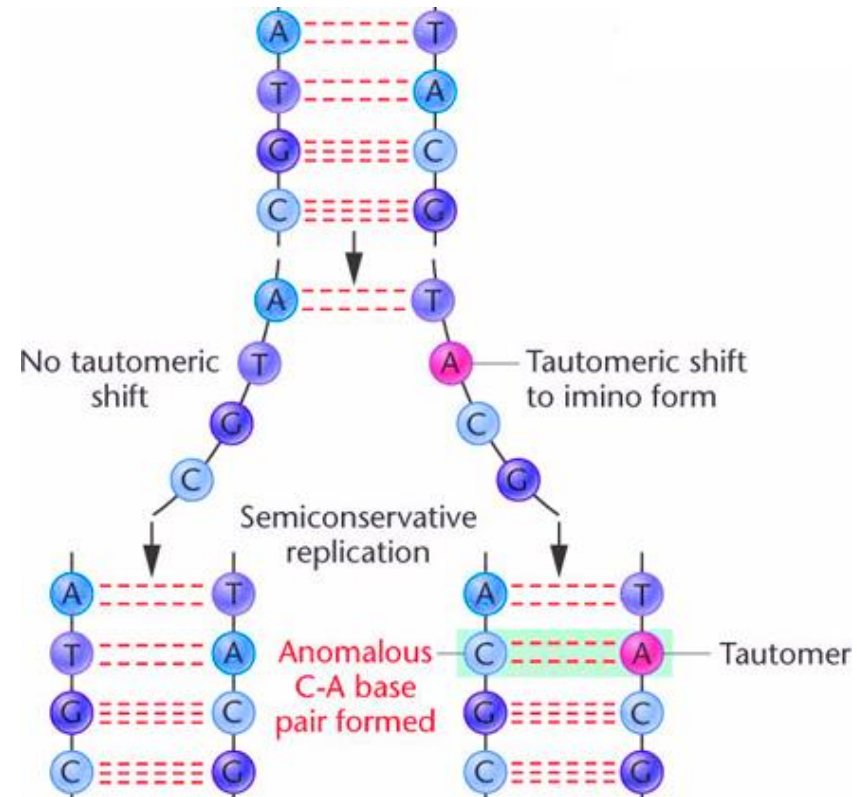
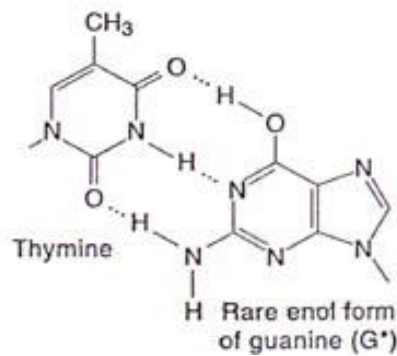
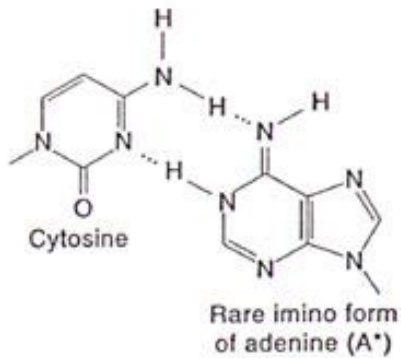
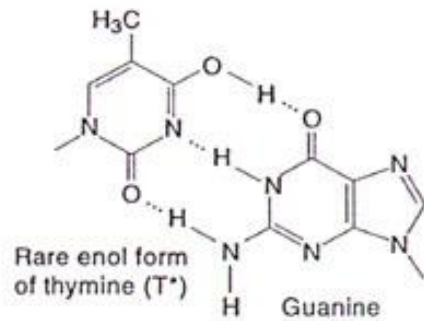
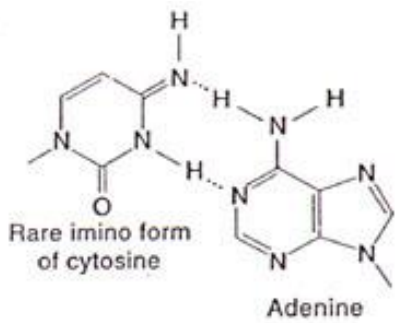
odcep baze (v človeški celici do 10.000 na dan)



spontana deaminacija (U se pari s T) – popravljajo DNA glikozidaze

# Tautomerija baz

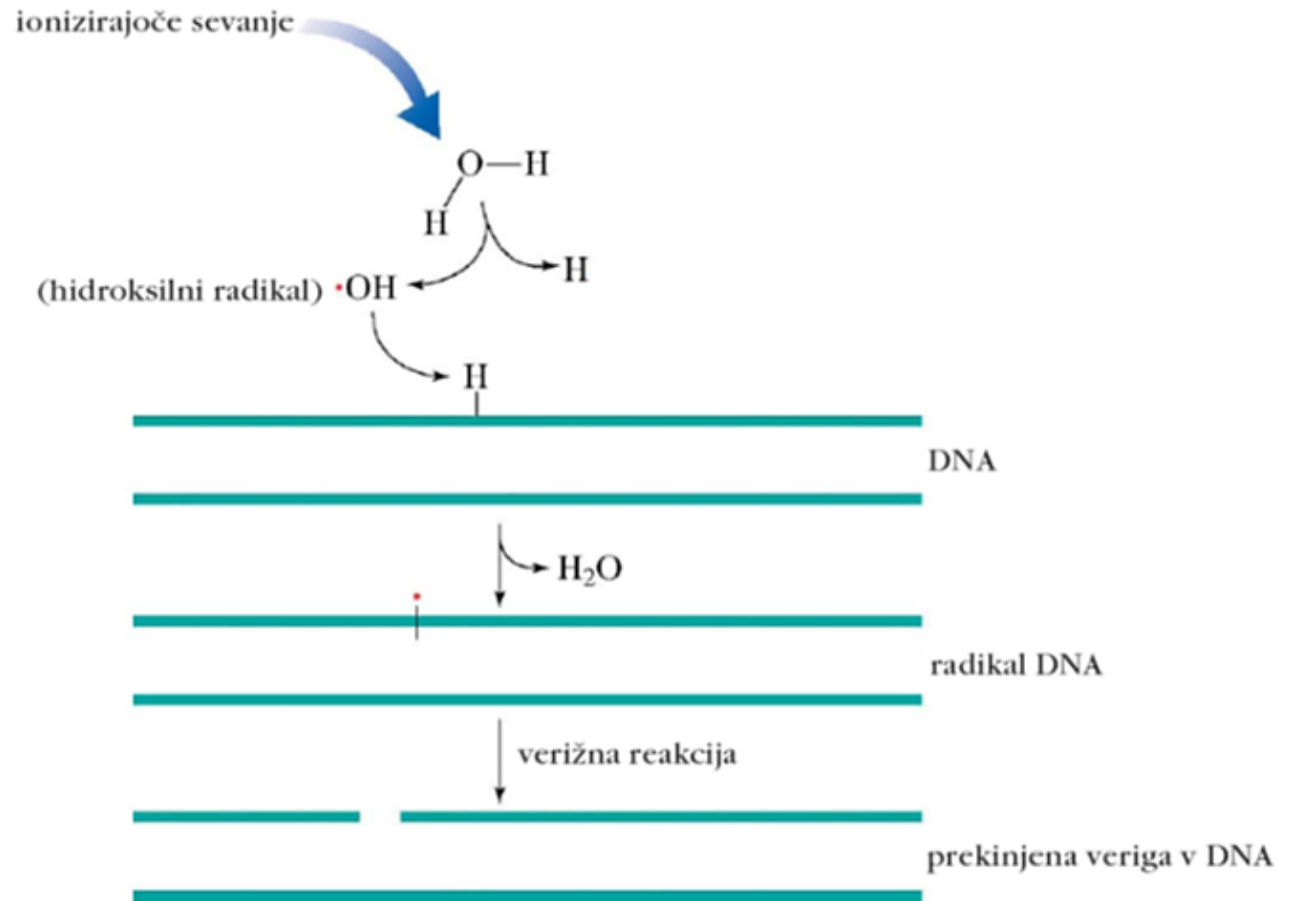
Baze v nukleotidih lahko obstajajo v več tautomernih oblikah. Alternativni tautomeri so sicer redki, a občasno privedejo do mutacij, ker tvorijo ne-Watson-Crickove bazne pare.



# Inducirane mutacije

Dejavnike okolja, ki povzročajo mutacije, imenujemo **mutageni**.

Ionizirajoče sevanje:

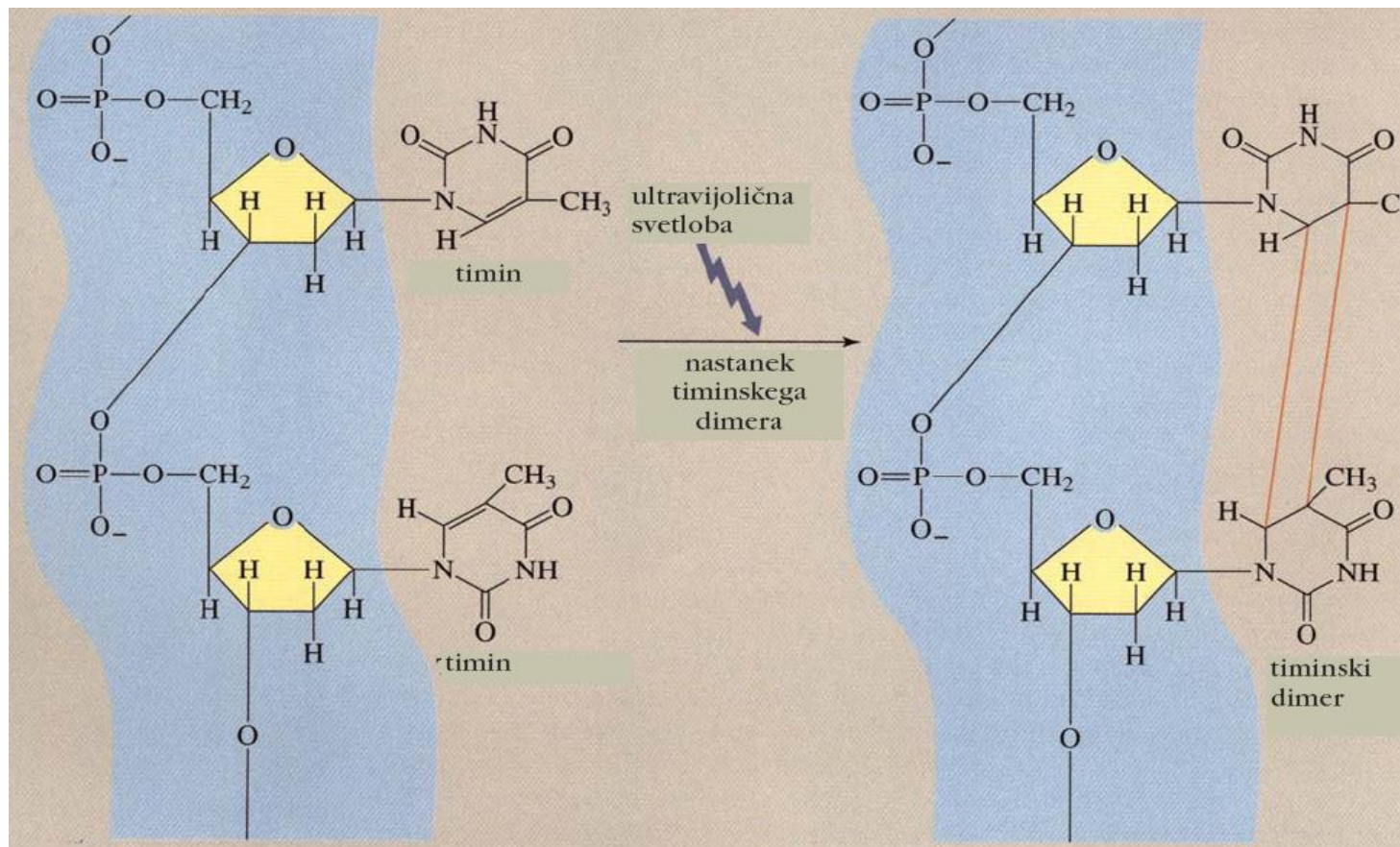


Prelome enojne verige je relativno enostavno popraviti, prelome dvojne verige pa bistveno težje.

# Inducirane mutacije

Dejavnike okolja, ki povzročajo mutacije, imenujemo **mutageni**.

UV sevanje:

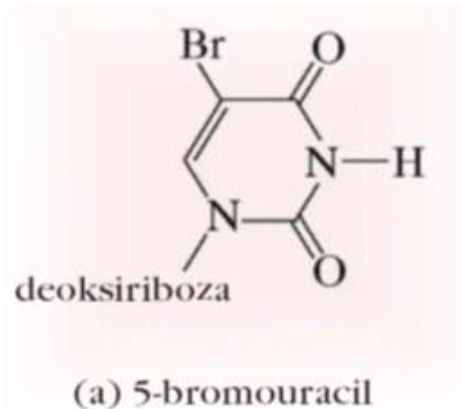


Pirimidinski dimeri povzročajo napake pri podvojevanju DNA (zamenjave C s T). Napake odpravljajo DNA-**fotoliaze**. Pirimidinski dimeri so eden glavnih mehanizmov razvoja kožnega raka.

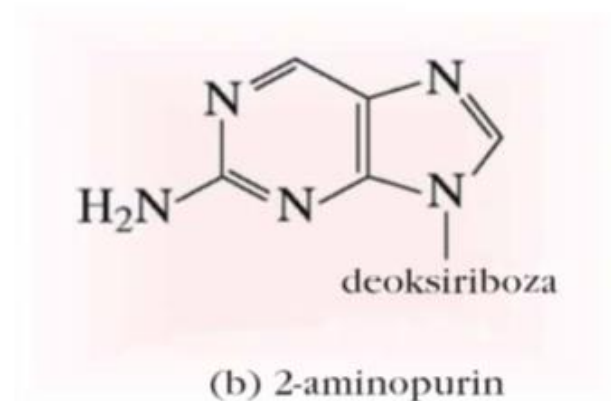
# Inducirane mutacije

Dejavnike okolja, ki povzročajo mutacije, imenujemo **mutageni**.

Kemijski mutageni – analogi baz:



zamenja T in se povezuje z A ali G.



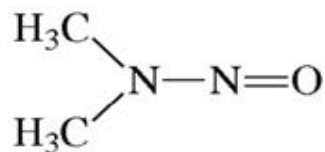
zamenja A in se povezuje s T ali C.

Vgradijo se v DNA in povzročijo vgradnjo napačnega nukleotida pri naslednji delitvi.

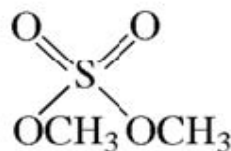
# Inducirane mutacije

Dejavnike okolja, ki povzročajo mutacije, imenujemo **mutageni**.

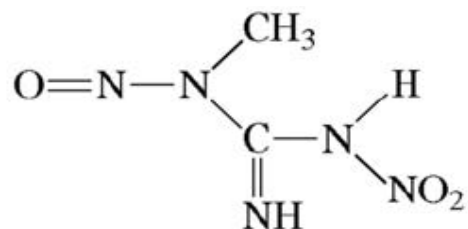
Kemijski mutageni – alkilirajoča sredstva:



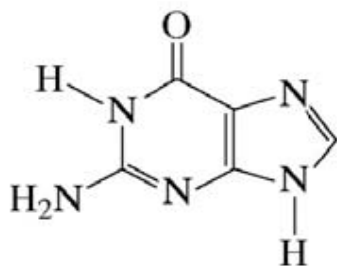
dimetilnitrozamin



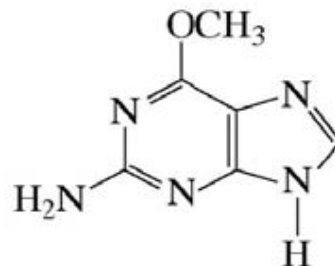
dimetilsulfat



*N*-metil-*N*-nitro-*N*-nitrozogvanidin



gvanin



*O*<sup>6</sup>-metilgvanin

tvori bazni par s T

Modificirajo baze in povzročijo nastanek napačnih parov ob podvojevanju (prikazan je le en primer).

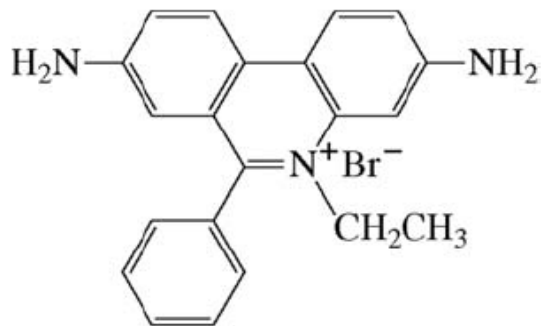
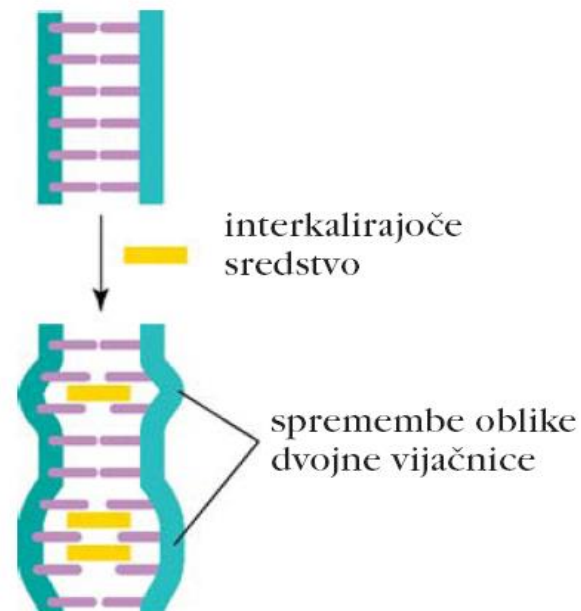


# Inducirane mutacije

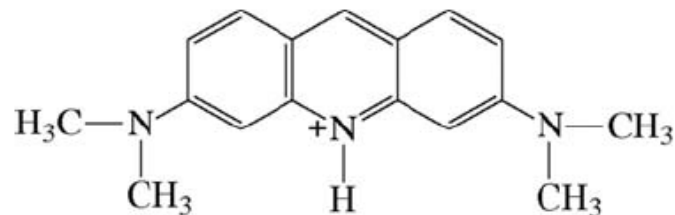
Dejavnike okolja, ki povzročajo mutacije, imenujemo **mutageni**.

Kemijski mutageni – interkalatorji:

Vrinejo se med baze v DNA in povzročajo insercije/delecije.



(a) etidijev bromid



(b) akridin-oranžno