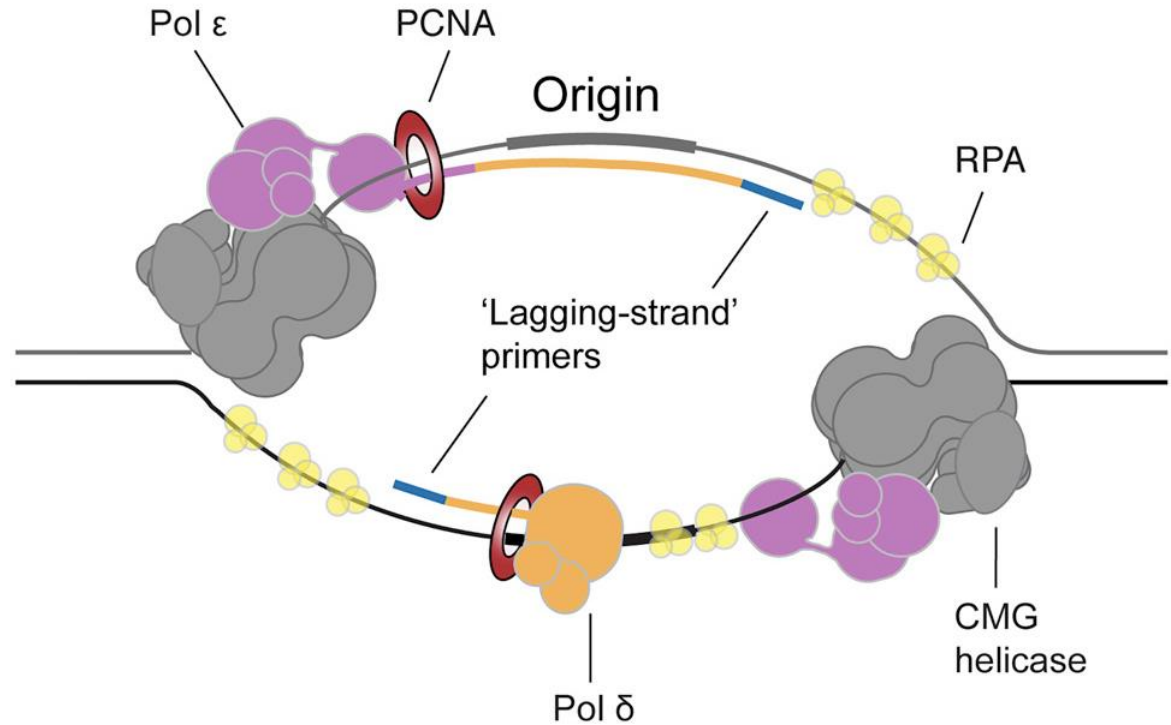


Initiering och terminering av DNA-replikation i eukaryota celler

Den eukaryota replikations-gaffeln



DNA-helikaset:

CMG helikaset -består av tre delar:
MCM, Gins och Cdc45

Det enkelsträngsbindande proteinet:

Replication protein A (RPA)

Den eukaryota replikations-gaffeln

DNA polymeraset på leading strand:

DNA-polymeras epsilon

- 3' to 5' exonukleas aktivitet (proof-reading)
- Arbetar tillsammans med clamp (PCNA)

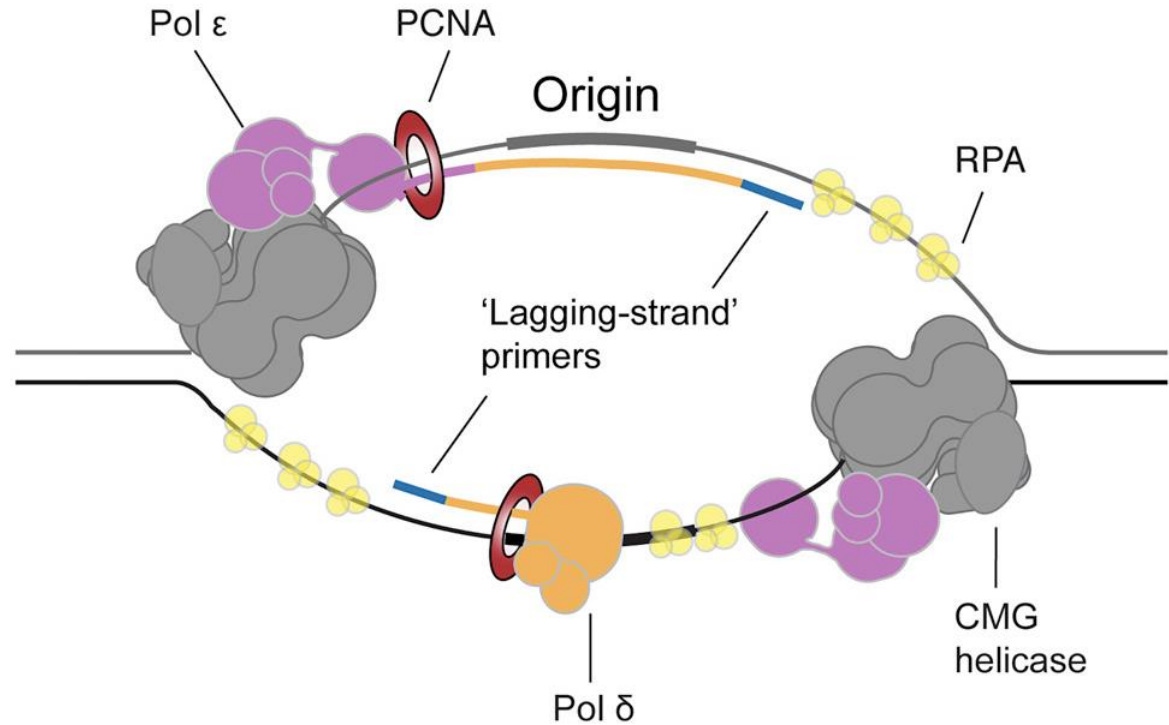
DNA polymeraset på lagging strand:

DNA-polymeras delta

- 3' to 5' exonukleas (proof-reading)
- Arbetar tillsammans med clamp (PCNA)

Sliding clamp:

PCNA



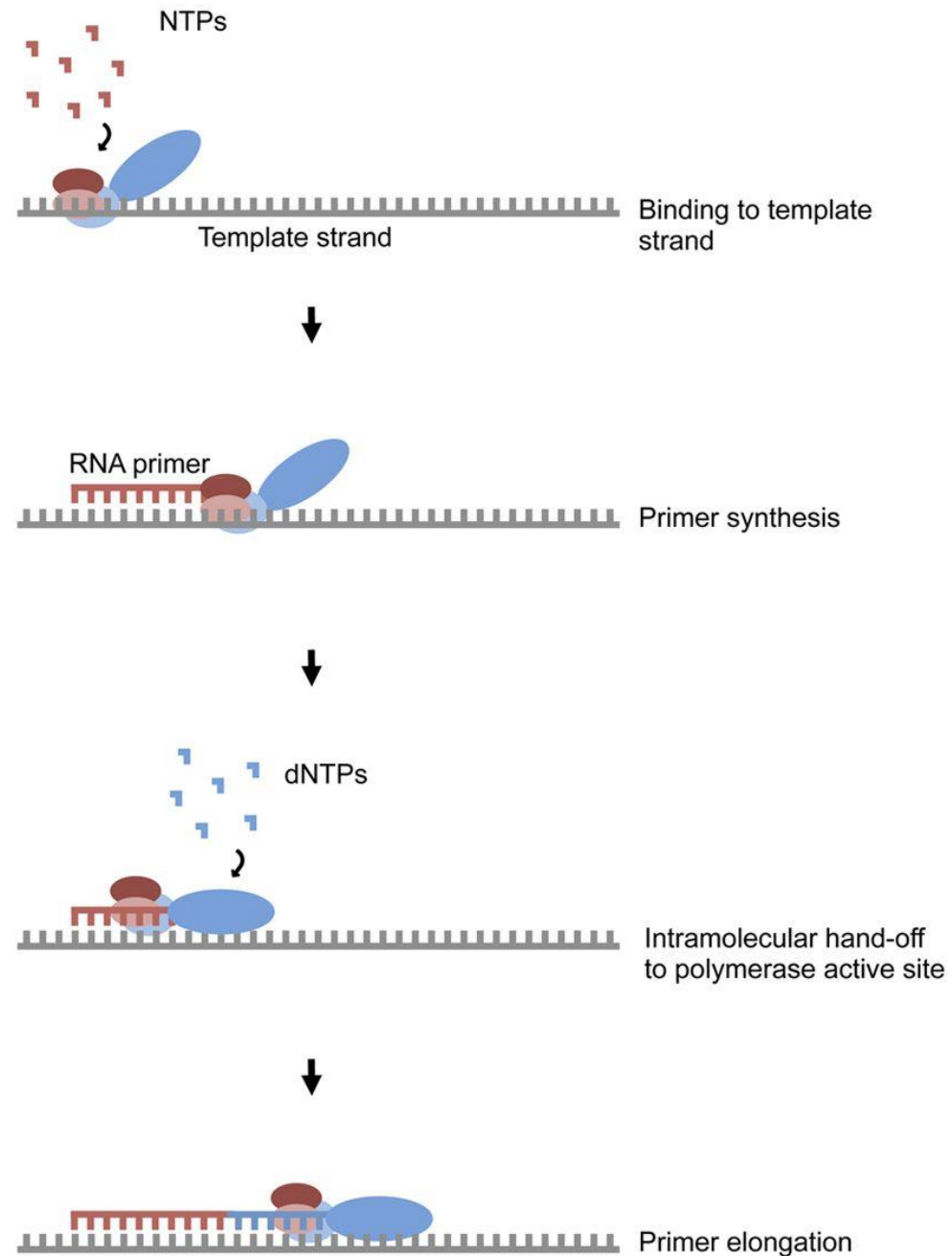
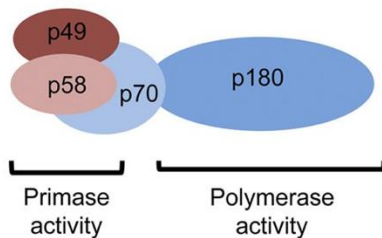
Primaset finns inte med på bilden!

I eukaryota celler är primaset ett kombi-enzym:

DNA-polymeras alfa-primas

- Startar DNA replikation på både leading och lagging strand, men lämnar sedan.
- Har både primas aktivitet och DNA polymeras-aktivitet
- Syntetiserar en kort RNA-primer och sedan 20 nt DNA.
- Sedan ersätts DNA pol alfa-primas av antingen DNA pol epsilon eller DNA pol delta

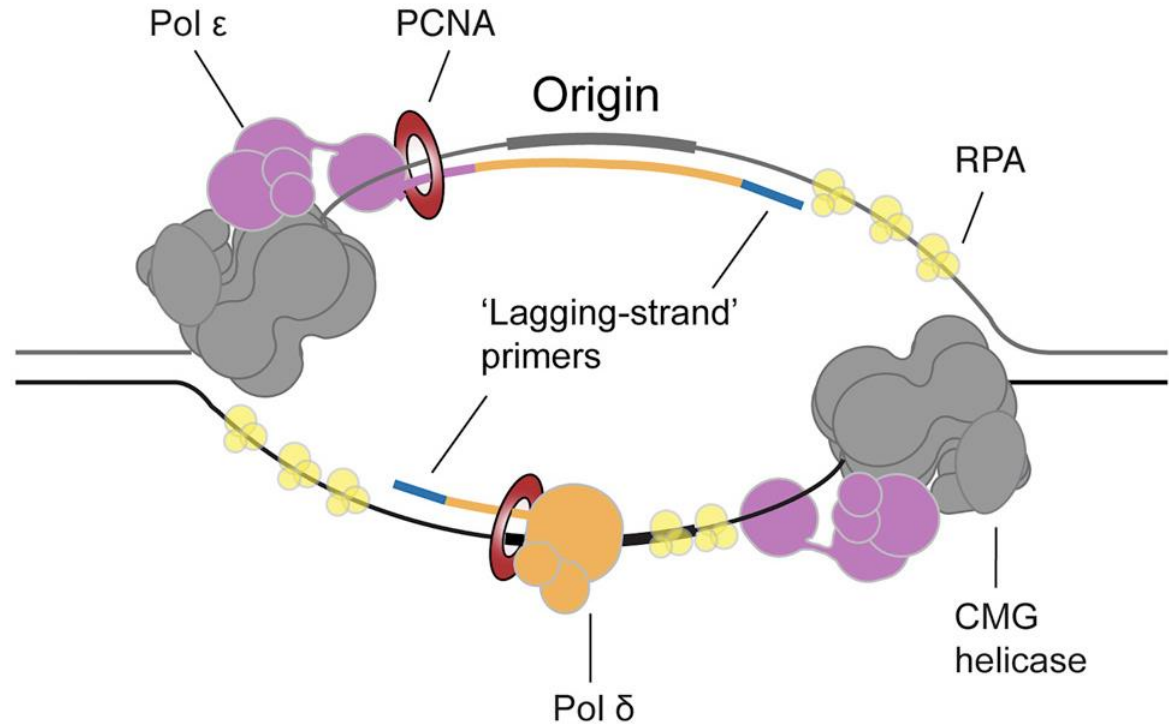
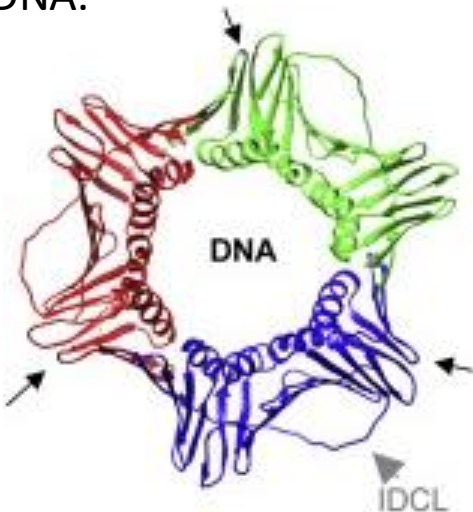
DNA-polymeras alfa-primas



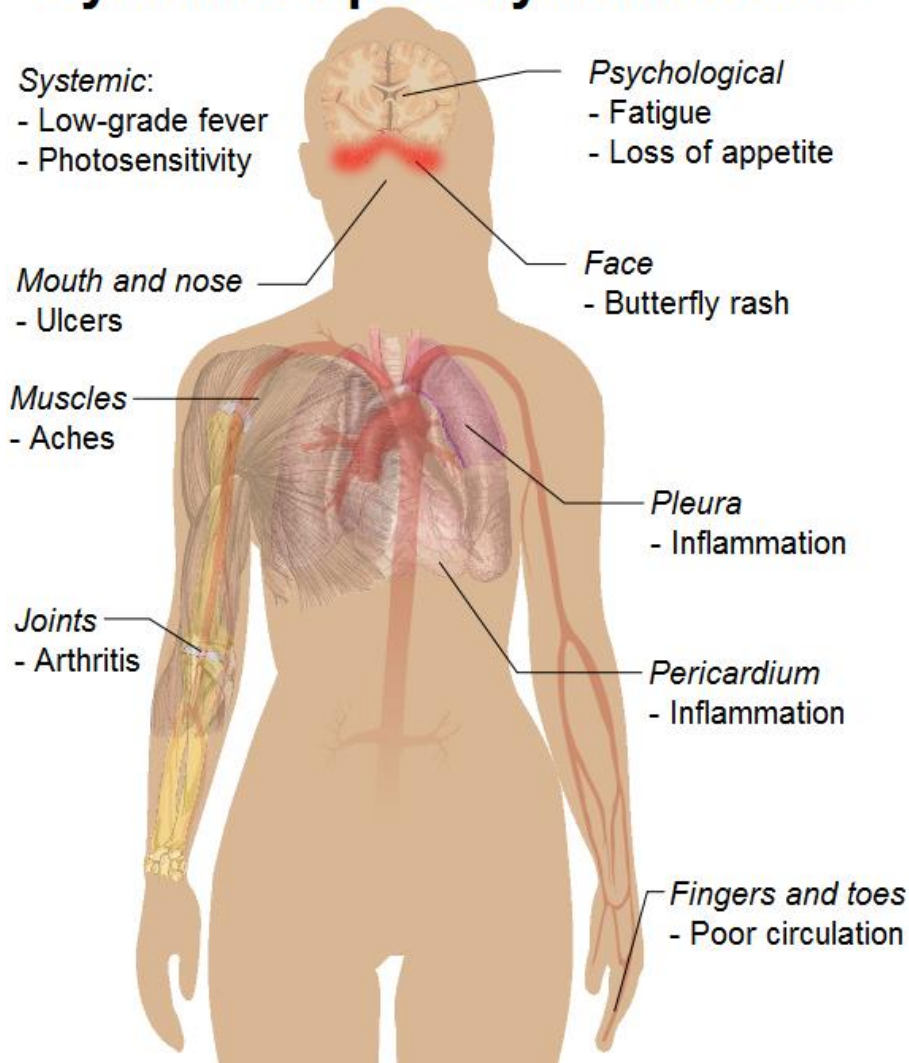
PCNA

Sliding clamp – ökar processiviteten hos DNA-polymeras delta och epsilon, genom att förhindra att de lämnar DNA-templetet.

Sitter som en ring runt DNA.



Most common symptoms of
Systemic lupus erythematosus



Fjälisexantem

En autoimmun sjukdom med antikroppar mot antigener i cellkärnan (ANA – antinukleära antikroppar).

Antikroppar mot PCNA är mycket vanligt vid SLE

Cellcykeln

DNA-replikation sker endast i S-fas

Allt DNA replikeras en gång i varje cell-cykel.



G1 - Growth

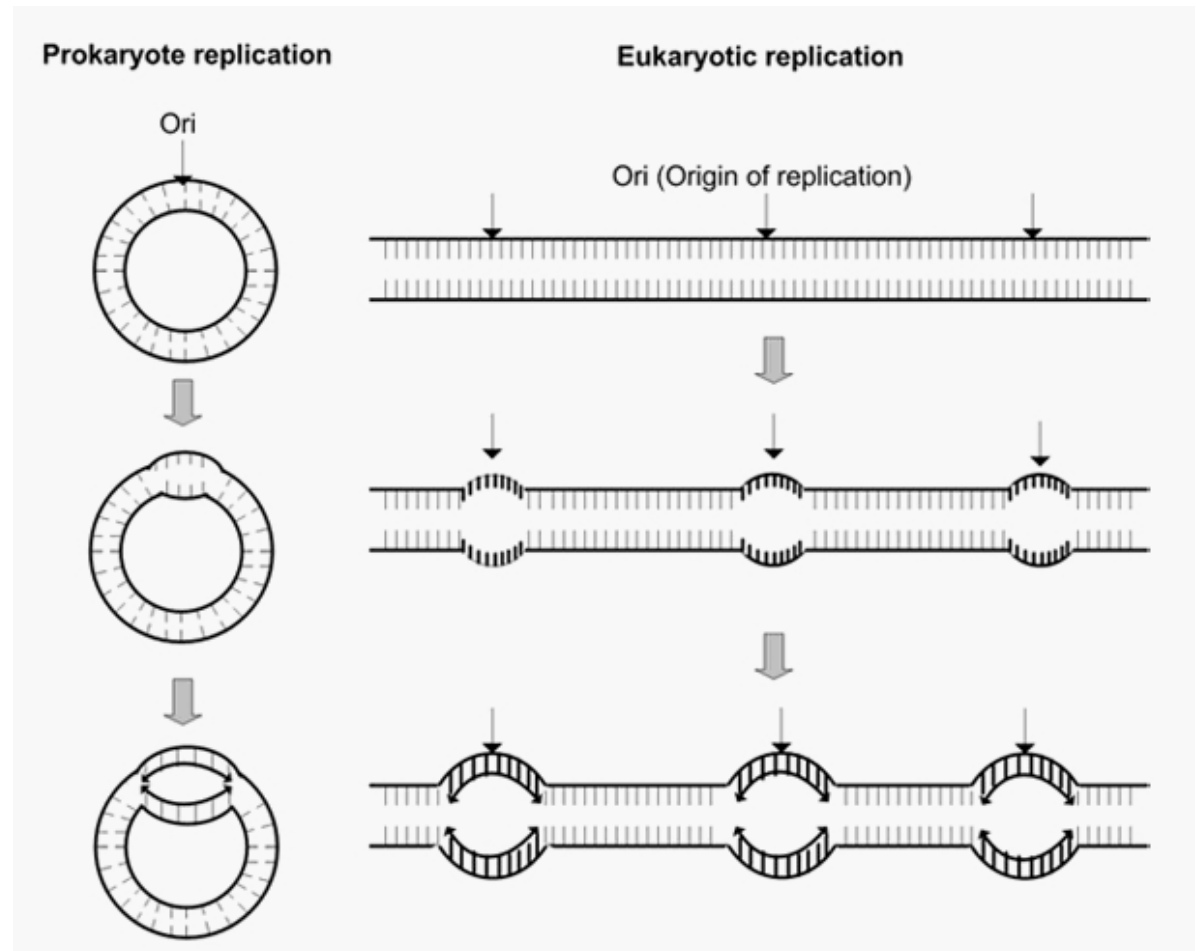
S - DNA synthesis

G2 - Growth and
preparation for
mitosis

M - Mitosis
(cell division)

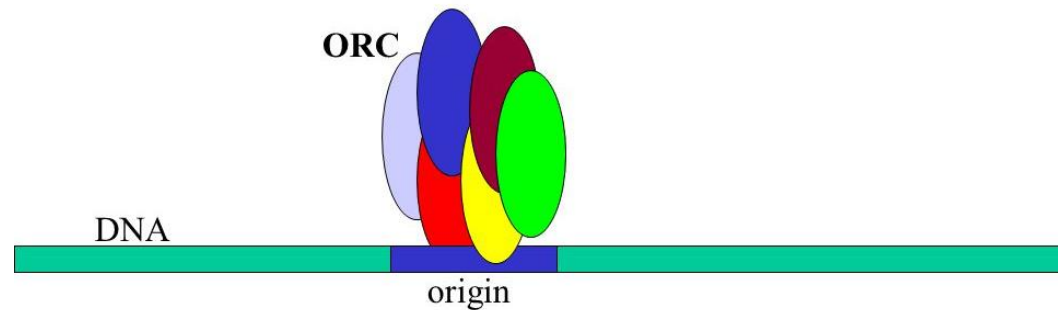
DNA-replikation startar från *origins of replication*.

- Humana genomet är 3×10^9 bp
- 30 000 origins
- Avstånd mellan origins är 50 – 300 kb



Origin recognition complex

- Binder till eukaryota *origins of replication*
- Ett komplex som består av 6 proteiner som sitter bundna till origin under hela cellcyklen.

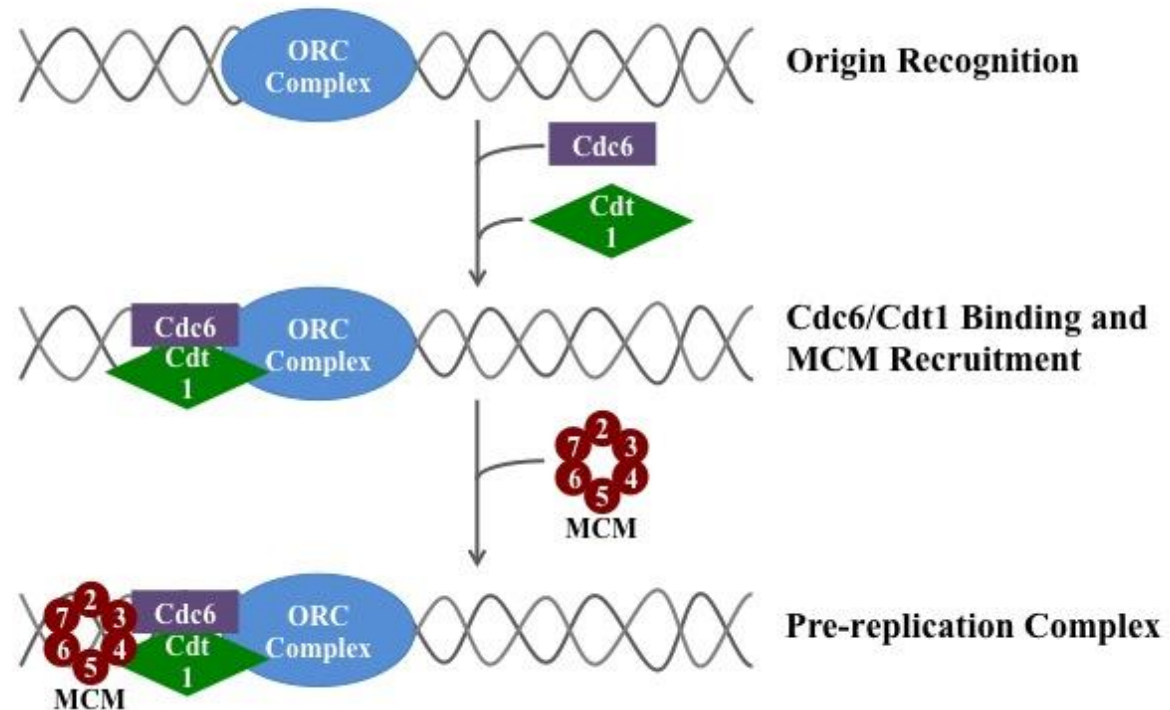


Origin Recognition Complex (ORC, six subunits) binds specifically to origin DNA sites on the chromosome.
ORC is bound to origin DNA regardless of whether replication is occurring or not.

Hur påbörjas DNA replikation?

Två rekryterings faktorer hjälper ORC att locka till sig DNA helikaset MCM.

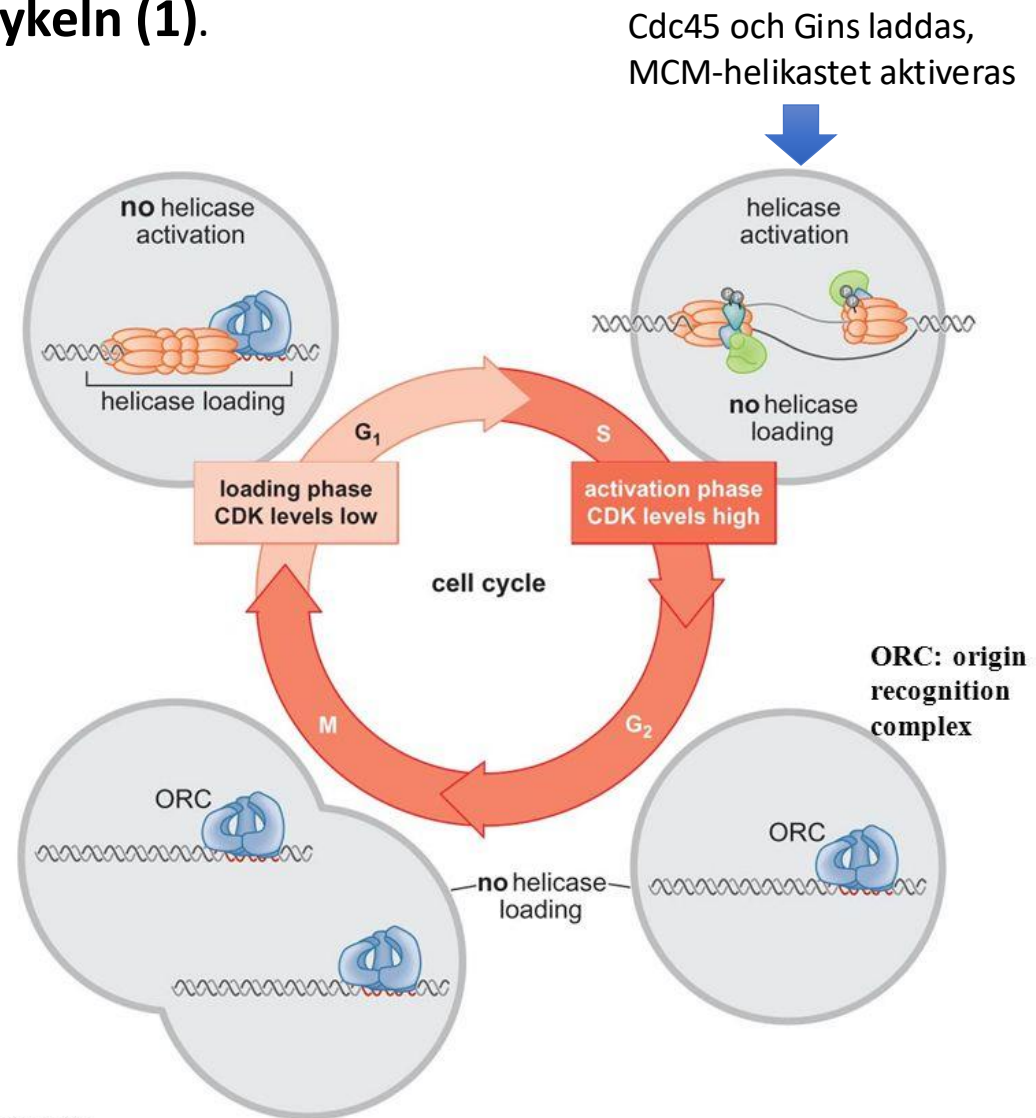
- ORC är bundet till origin genom hela cellcykeln
- Vid aktivering rekryteras först två laddningsfaktorer (Cdc6 och Cdt1) till ORC.
- Cdc6, Cdt1 och ORC laddar sedan MCM-helikaset på DNA i en ATP-beroende process.
- **Laddning av MCM sker i G1**



Reglering av initiering under cellcykeln (1).

- CDK är proteinkinaser som reglerar cellcykelns progression.
- I S-fas stiger mängden av cyklinberoende kinas (CDK).
- CDK stimulerar laddning av Cdc45 och GINS på MCM. De tre proteinerna bildar tillsammans bildar det CMG-helikaset.

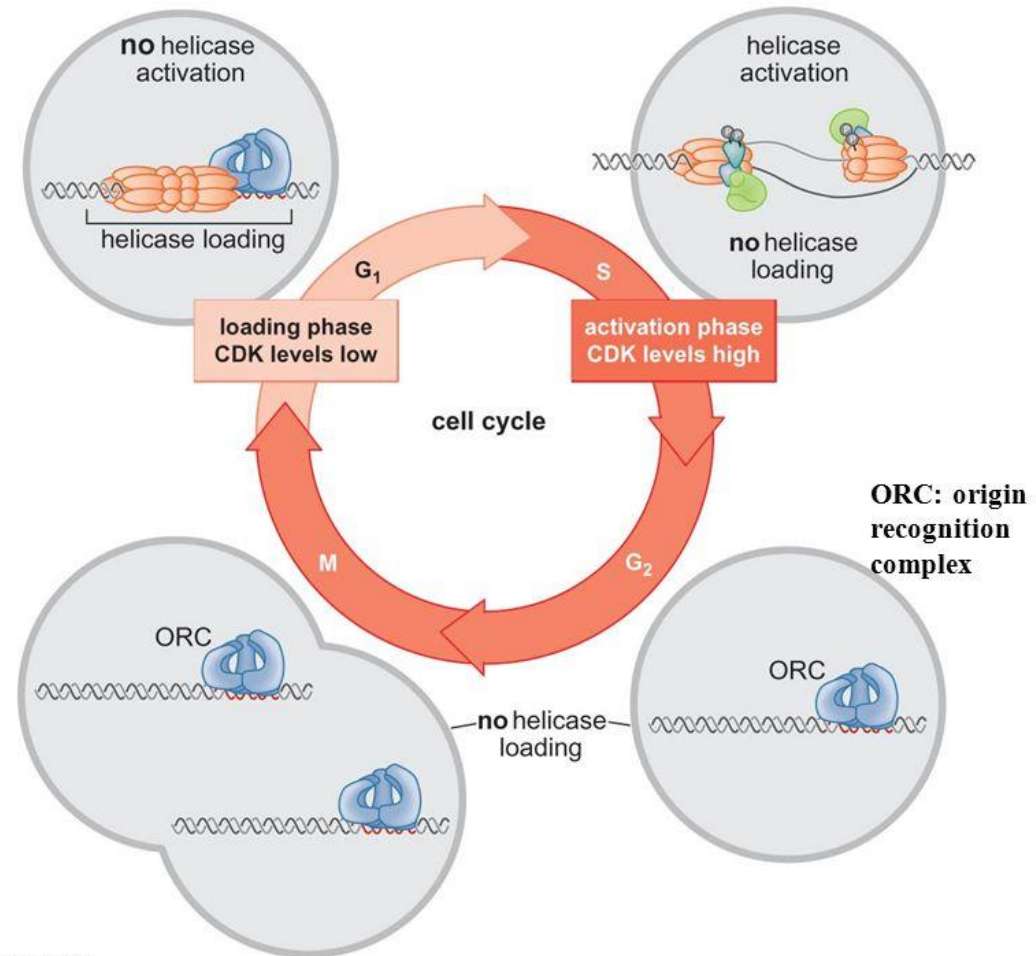
Figure 9-34



Reglering av initiering under cellcykeln (2).

Figure 9-34

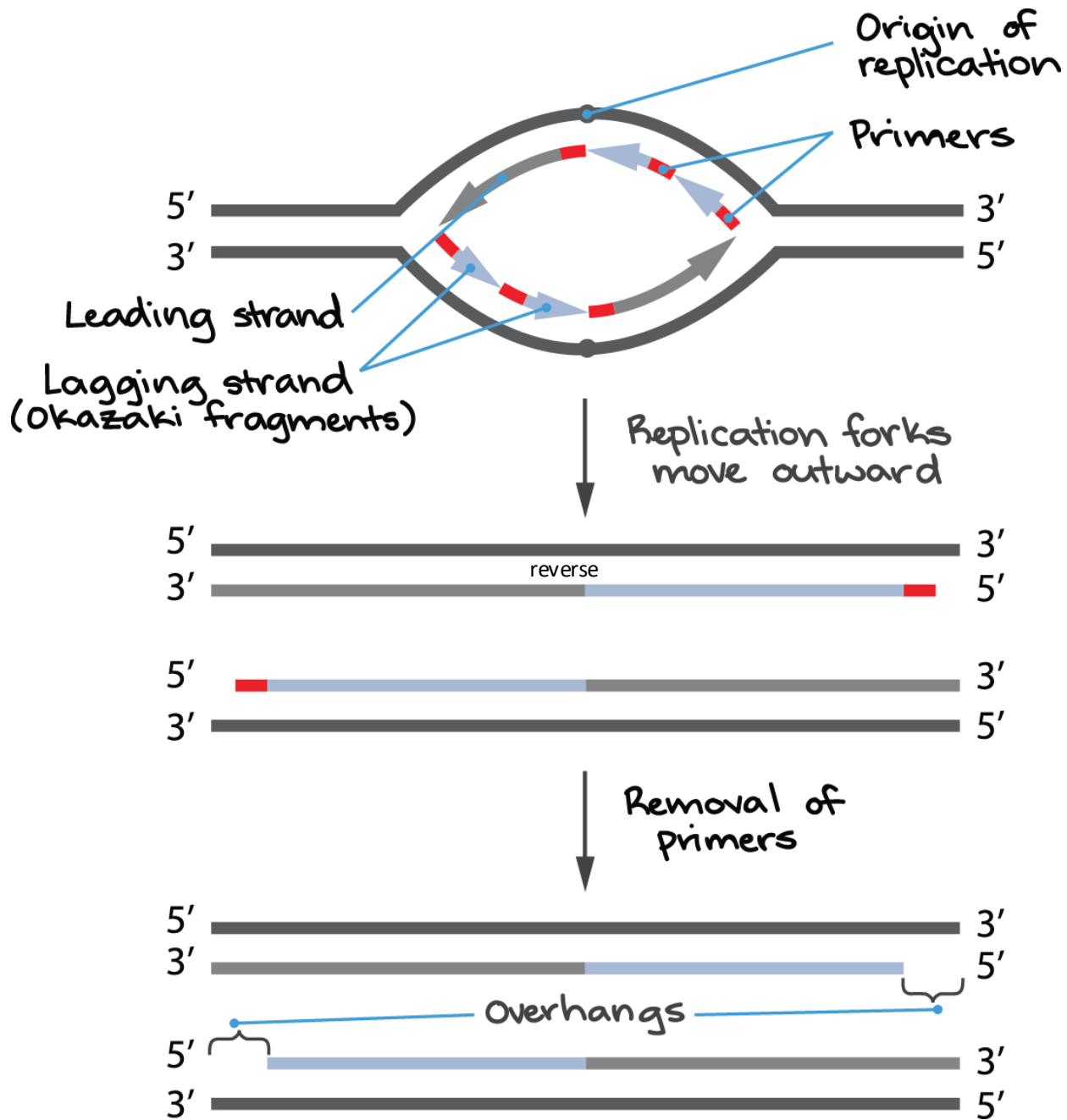
- CMG-helikaset smälter DNA vid *origin of replication*.
- DNA polymeras alfa-primas laddas och kan starta bidirektionell replikation.
- Viktigt att separera laddningen av MCM-helikaset från dess aktivering! På det viset säkerställs att DNA-replikation endast initieras en gång under cellcykeln.



Problem vid DNA-replikation

Hur kan ändarna på linjärt DNA replikeras? Vi måste ju ha en RNA-primer?

Detta är ett klassiskt problem.

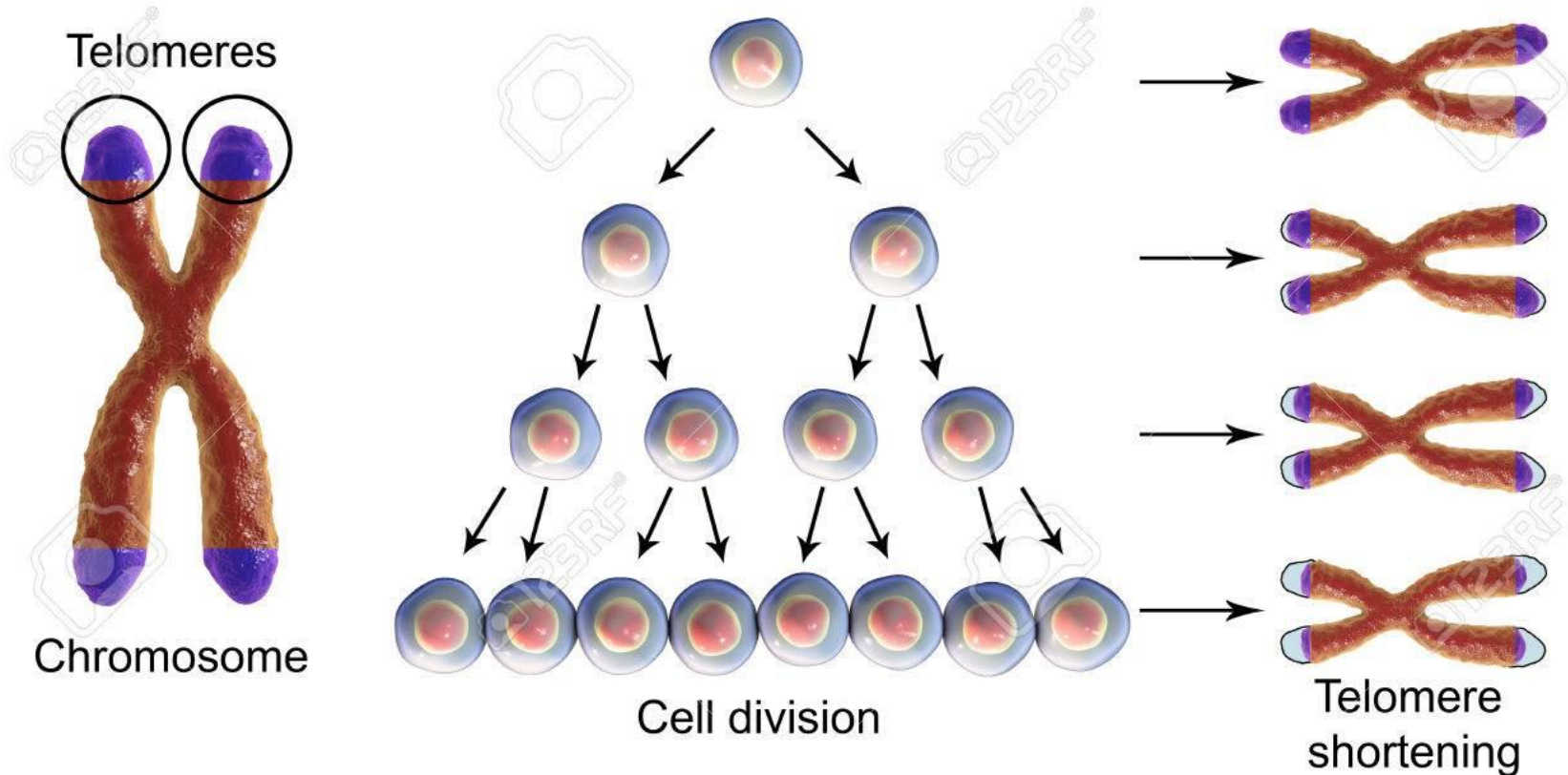


Ändarna på kromosomer kallas telomerer!

Dessa blir allt kortare med tiden i de flesta av vår kropps celler.

När de försvinner dör cellen! Celler kan därför bara dela sig ett visst antal gånger!

Gäller inte cancerceller och stamceller, som kan fortsätta dela på sig och deras telomerer förkortas inte! Hur går det till?



Det finns s.k. "omvänt transkriptas" – enzymer som kan syntetisera DNA med RNA som mall.

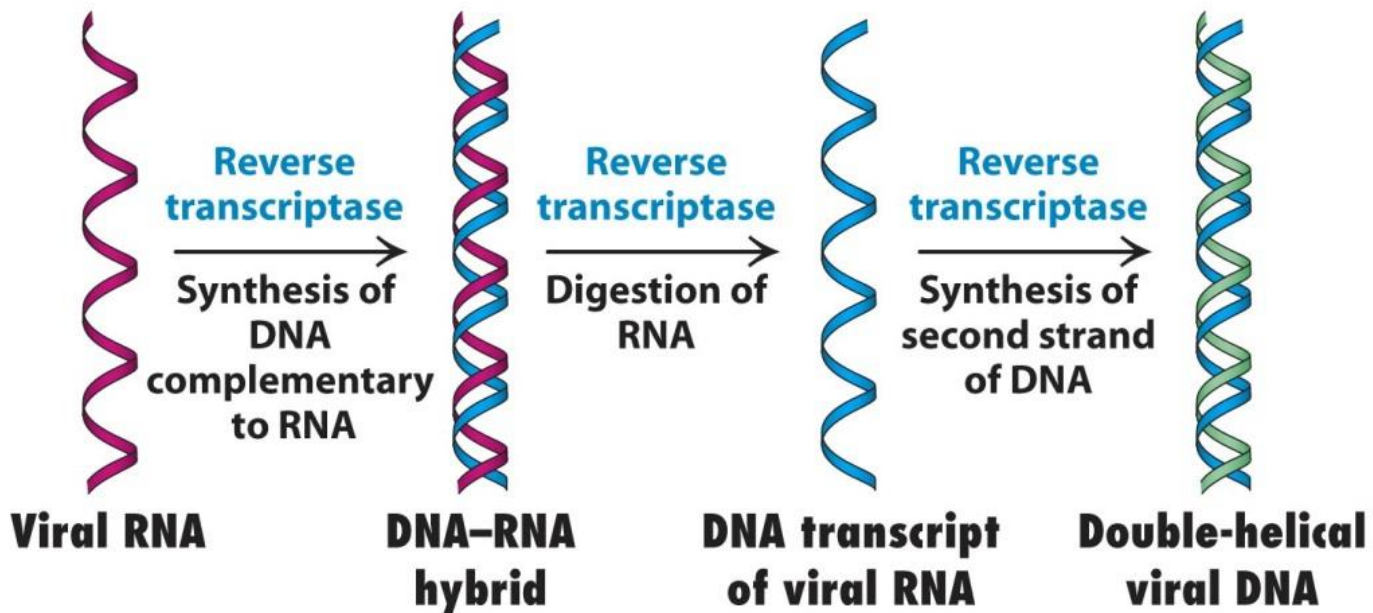


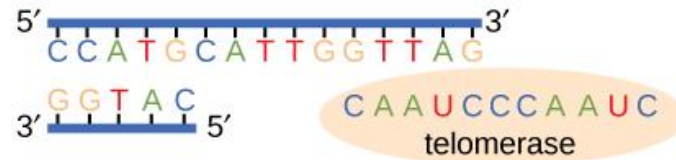
Figure 4-23
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Enzymet telomeras förlänger kromosomändar.

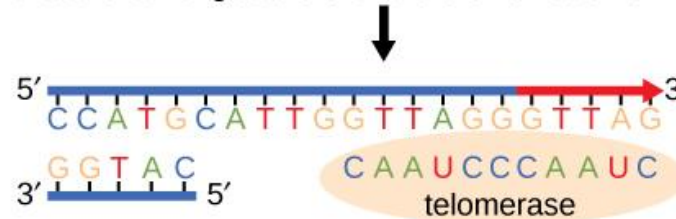
Sker genom att lägga till en kort, repeterad sekvens på 6 nt.

Enzymet Telomeras är ett omvänt transkriptas. Har med sig en egen RNA molekyl som den använder som mall för att syntetisera en kort DNA sträcka om och om igen.

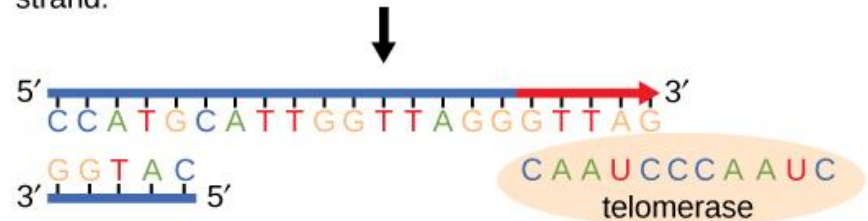
Aktivt telomeras finns t.ex. i stamceller och i cancerceller.



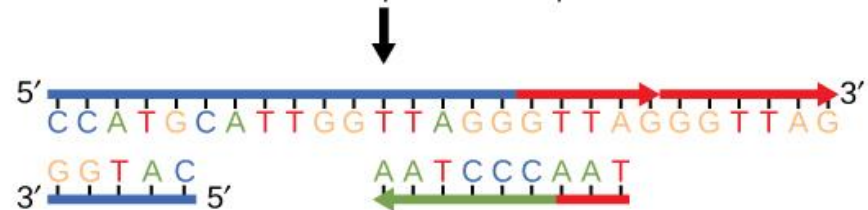
Telomerase has an associated RNA that complements the 3' overhang at the end of the chromosome.



The RNA template is used to synthesize the complementary strand.



Telomerase shifts, and the process is repeated.



Primase and DNA polymerase synthesize the complementary strand.