

Replikation, reparation og rekombination

Nøjagtig replikation af DNA er en absolut forudsætning. Det fantastiske ved DNA-dobbelstrengen er, at hver streng kan bruges til at lave en kopi af den anden. Duplikations proces kaldes for **DNA replikation**, som må forekomme før cellen kan producere 2 datterceller.

Vi ved, at hver streng af DNA dobbelt helix indeholder sekvenser af nukleotider der er komplementær til de nukleotider, der er på den anden streng. Hver streng kan fungere som **template**, en syntese for nye komplementær streng, og gør cellen i stand til at replikere.

Man siger, at replikationen er **semikonservative**, dvs. DNA dobbelt helix ender med en gammel streng og en hel ny streng.

DNA replikationen starter med, at **et initiator protein** binder til DNA, og adskiller de 2 strenger fra hinanden ved at bryde hydrogen bindinger. Det område hvor DNA strenger går fra hinanden, kaldes for **replikations origins** og de er markeret af en særlig sekvens af nukleotider. Der er ikke så mange hydrogen bindinger mellem A og T baser som mellem G og C, derfor er A-T-basepar lettere at bryde fra hinanden og replikations origin ofte er fundet ved disse baser. Replikations origin former 2 replikations forks og bevæger sig begge retninger, dvs. replikationen er bidirectional. Der brydes ca. 1000 nucleotidpar for bakterier og 100 for mennesket.

Det humane genom har ca. 10.000 origins, mens bakterier kun har 1.

DNA polymerase er et enzym der syntetiserer en ny DNA streng ved at bruge den gamle streng som template fra 5'ende til 3'ende. Dette enzym katalyserer tilføjelse af nucleotider ved 3'ende af voksende DNA ved at forme en phosphodiester binding mellem den gamle 3'ende og 5'ende af fosfat gruppe på den ny streng. Hydrolyse af en phosphoanhydride binding i deoxyribonucleotid triphosphat bidrager med energien, så deoxyribonucleotid-molekyler kan sættes sammen via kondensations reaktion og frigør pyrophosphat. DNA polymerase bliver ved at være med DNA og bevæger langs strengen og tilfører nukleotider.

Replikationen er asymmetri, dvs. på den ene template går retning fra 3'ende til 5'ende (**lagging streng**), og i den anden template går fra 5'ende til 3'ende (**leading streng**). Lagging streng vokser ved at DNA polymerase arbejder baglands ved at sætte små fragmenter på (discontinuously), kaldes **Okazaki fragments**.

DNA polymerase er meget præcis da det kun laver fejl hver 10⁷ nucleotidpar, det kopier. DNA polymerase kan finde fejlen ved hjælp af en error-correcting activity kaldet **proofreading**. Før det sætter en ny nukleotid på, checker den tidlig base for den rigtige base. Og hvis den er ukorrekt, sørger det for at fjerne den og erstatter den med rigtig base, før det går videre med at sætte en ny base langs streng. Dette kaldes **en 3'-5'exonuklease aktivitet**. Dog er det kun muligt retningen 5'ende til 3'ende og ikke omvendt.

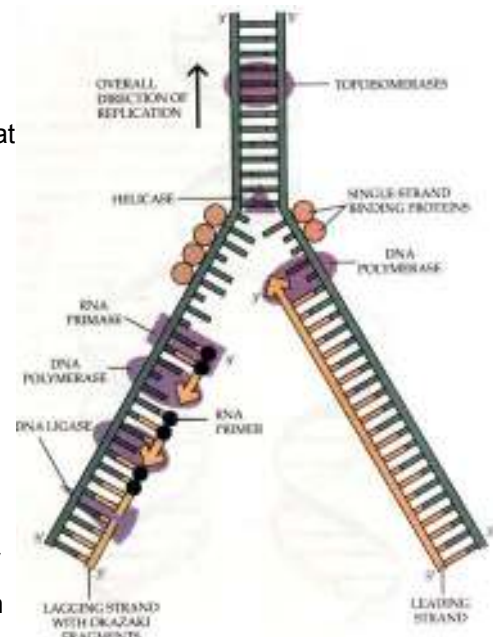
DNA polymerase kan forlænge en streng idet det er i stand til at tilføje nukleotiderne til 3'enden af denne, men ikke starte et nyt. Igangsætningen af syntesen katalyseres af **enzymet DNA-primase**, der er i stand til

at syntetisere ganske korte RNA-fragmenter med DNA som skabelon, og som kan starte syntesen fra bunden dvs. direkte fra begyndelsen ved sammenbinding af de 2 første nukleotider i molekylet. Så snart en RNA-primer er dannet, fortsætter DNA-polymerase med at tilføje nukleotider til 3'enden af primeren. RNA-stykkerne fjernes og erstattes med DNA af DNA repair polymerase, hvorefter Okazaki-fragmenterne bindes sammen af **DNA-ligasen**.

Det er de 3 proteiner der erstatter RNA primers med DNA, er nuklease, repair polymerase og ligase. Der findes endnu et protein, **helicase**, der bruger energi fra ATP hydrolyse til at sætte farten op, når helixen går fra hinanden. For at DNA replikationen kan starte, er det vigtigt at DNA template er afsløret til polymerase.

Endnu en komponent af replikations maskine – **single-strand binding protein** – sætter sig på DNA template og dermed med til at forhindre, at baserne finder sammen igen, og lukker for replikationen. Endnu et protein, **sliding clamp**, sørger for at polymerasen bliver ved at hæfte på DNA template. På lagging streng frigør sliding clamp polymerasen hver gang Okazaki fragment er fuldført.

Endnu en gruppe af enzymer er knyttet til replikationen af DNA, nemlig **topoisomerase I og II**, der er lokaliseret lige foran replikations fork og her fremkalder forbigående brud i den ene eller begge DNA-strengene. Formålet med dette er at lette opsnoringen af DNA-helixen, når de 2 strenge skal gå fra hinanden under replikationsprocessen. Under opsnoringen roteres DNA foran replikations fork. Det er kun nødvendigt at rotere stykket frem til det næste klip i DNA-molekylet, foretaget af topoisomerasen. Uden denne ville hele DNA-strengen foran replikations fork skulle roteres, hvilket ville være meget energikrævende og forsinke replikationsprocessen.



Telomerase adderer repetitive sekvenser til enden så der kan påsættes endnu en RNA primer. Sekvenserne signalerer også at dette er et rigtigt kromosom ende og ikke noget knækket DNA.

Hvis fejlen alligevel skulle forekomme, har cellen et backup system – DNA mismatch repair – hvis opgave er at rette disse fejl. DNA polymerasen laver kun ca. 1 fejl pr. 10.000.000. Den retter ca. 99 % af fejl. DNA mismatch repair fjerner en af strengene hvor der er fejlen, og syntetiserer en ny streng. Det er altid den ny streng der bliver fjernet. Ved at fjerne den gamle vil man beskytte fejlen end fjerne den.



Hvis skaden ikke repareres i den ny-syntetiserede streng inden replikation, fås i det ene tilfælde en mutation med nukleotidændring og i dette tilfælde en deletion. Mutationer kan evolutionært set være en fordel. For det enkelte individ kan det være en stor ulempe. En lille

fejl kan have store konsekvenser. En nukleotid forskel kan give en proteinforskel, der giver seglcelle anæmi.

Ultraviolet stråler fra solen kan skade DNA ved at danne en kovalent binding mellem thymine baser, således der dannes thymine dimer. Thymine dimer kan hæmme replikationen og kan udvikle hudskader inkl. cancer. Reparation af DNA skader er afhængige af om de kan genkendes som unaturlige således at det skadede område på den ene DNA streng kan fjernes, resyntetiseres og liggeres.