

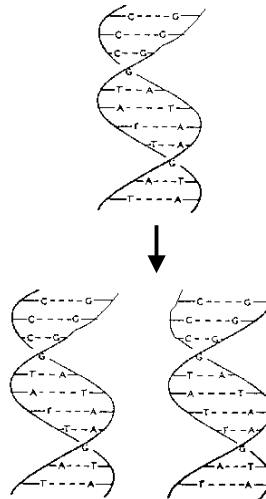
DNA-Replikation und DNA-Reparatur

Grundlegendes Prinzip der
DNA-Replikation:

exakte Verdopplung der
Erbinformation

streng regulierter Prozess

in Grundzügen zwischen
Eukaryonten und Prokaryonten
konserviert

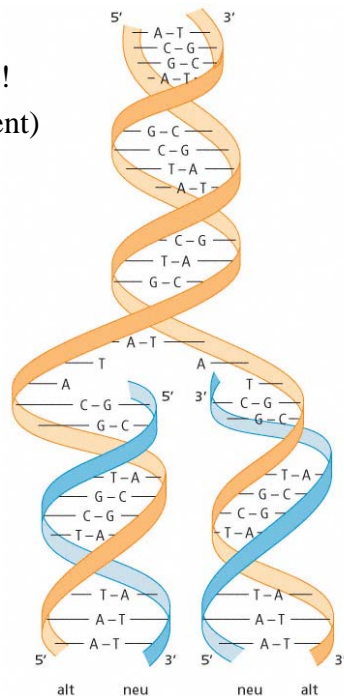


DNA-Replikation ist **semikonservativ!**
(Beweis im Meselson-Stahl-Experiment)

Beide parentale Stränge dienen als
Matrize für die Neusynthese eines
komplementären Strangs

Watson & Crick (1953):

"It has not escaped our notice that
the specific pairing we have pos-
tulated immediately suggests a
possible copying mechanism for
the genetic material."



Prinzipien der DNA-Replikation

Einheit der DNA-Replikation: **Replicon**

3 Phasen: Initiation, Elongation, Termination

1. Initiation der DNA-Replikation

am **Replikations-Startpunkt** (origin of replication)

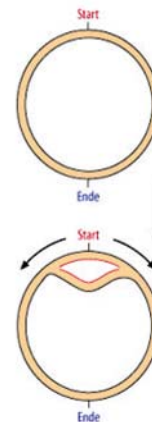
Markierung (durch **Initiationsfaktoren**)

lokales Aufschmelzen der DNA (durch **Helicase**)

Stabilisierung der Einzelstränge (durch **SSB-Proteine**)

Priming (durch **Primosom**)

Entstehen der Replikationsblase mit Bildung der beiden Replikationsgabeln.



aus Löffler/Petrides: Biochemie und Pathobiochemie
6. Auflage 1998 © Springer Verlag Berlin Heidelberg New York usw.

2. Elongation der DNA-Replikation

Neusynthese komplementärer DNA-Einzelstränge an beiden Replikationsgabeln, die sich voneinander weg bewegen (durch **DNA-Polymerasen**)

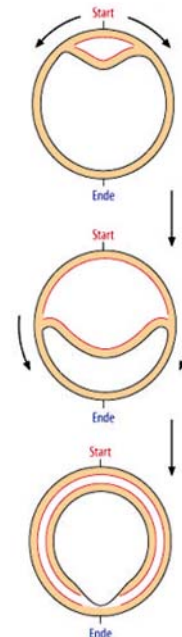
→ **Bidirektionalität** der DNA-Replikation

nach Entwindung des Doppelstrangs (durch **Helicase**)

unter Beseitigung von Torsions-Stress (durch **Topoisomerase**)

3. Termination

Die Regulation der DNA-Replikation erfolgt v.a. auf Ebene der Initiation!



aus Löffler/Petrides: Biochemie und Pathobiochemie
6. Auflage 1998 © Springer Verlag Berlin Heidelberg New York usw.

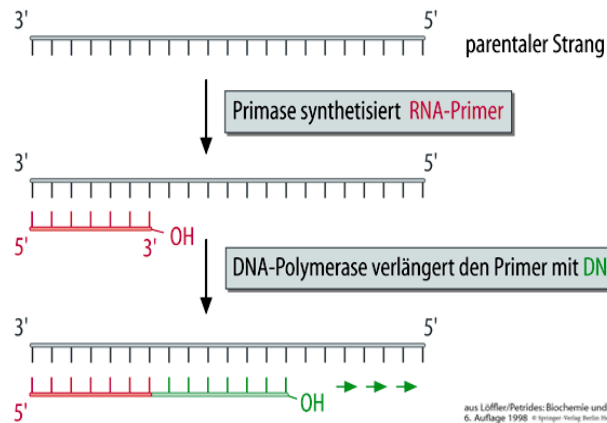
Enzyme der DNA-Replikation: DNA-Polymerasen

benötigen eine **DNA-Einzelstrang-Matrize**

benötigen einen **Primer** mit einer freien **3'-OH-Gruppe**

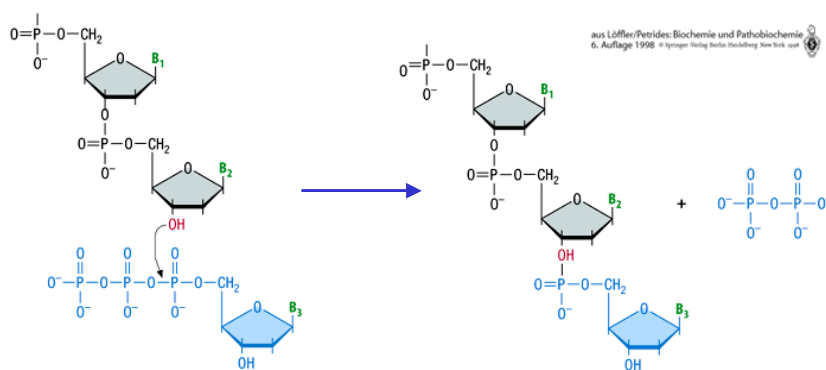
keine de novo-Synthese

in vivo: RNA-Primer (hergestellt durch **Primase**)



Enzyme der DNA-Replikation: DNA-Polymerasen

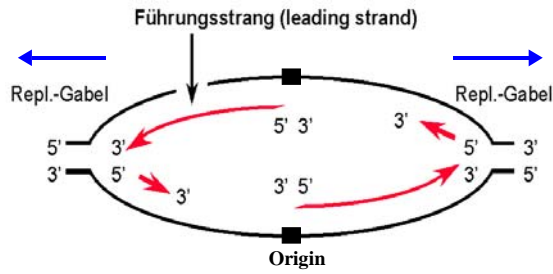
katalysieren Kettenverlängerung ausschließlich in **5'→3'-Richtung**



viele besitzen **3'→5' Exonuclease-Aktivität (Korrekturlese-Funktion)**

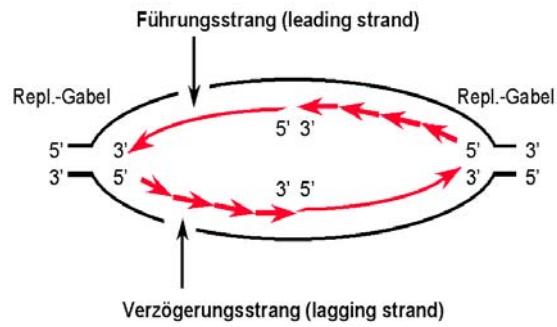
einige besitzen **5'→3' Exonuclease-Aktivität (Primerbeseitigung, s.u.)**

Problem der DNA-Neusynthese in 5'→3'-Richtung:

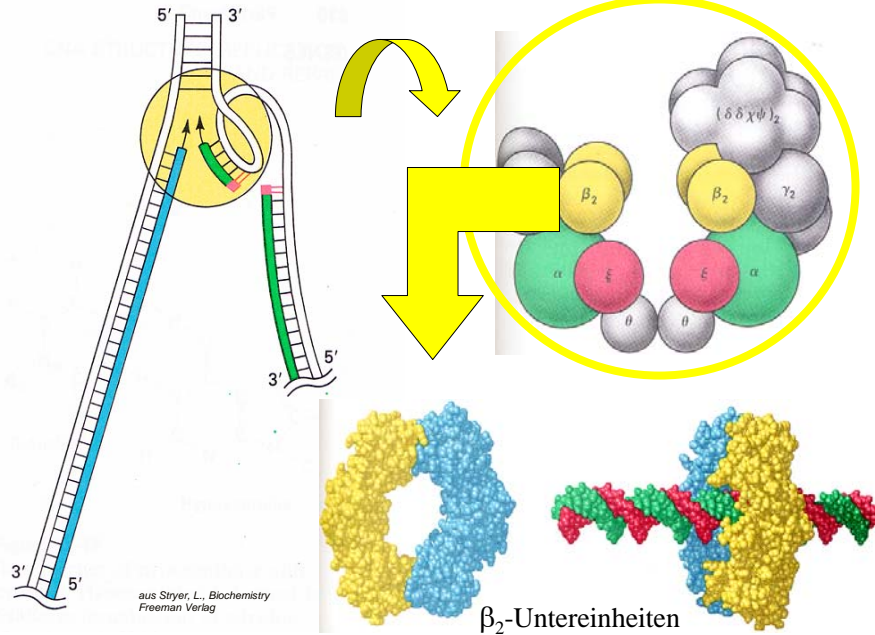


Lösung des Problems:

Diskontinuierliche Synthese
des Verzögerungsstrangs in
Form von ca. 1-2 kb langen
Okazaki-Fragmenten.

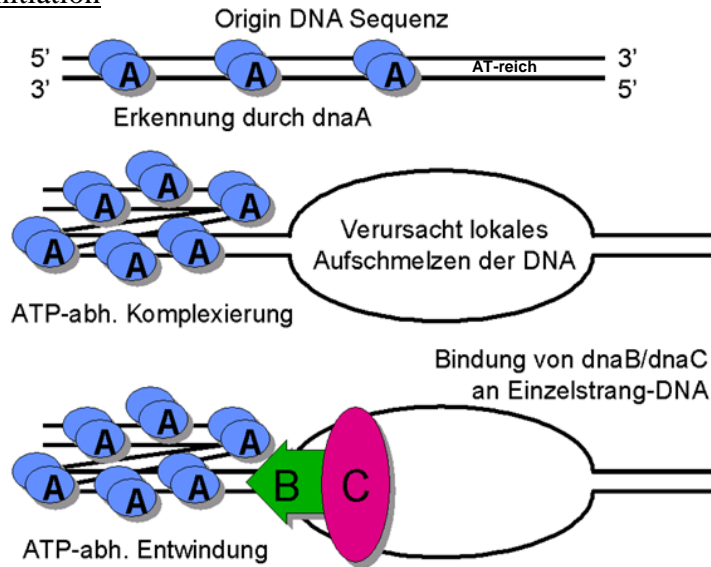


E.coli DNA-Polymerase III: "asymmetrisches Dimer"

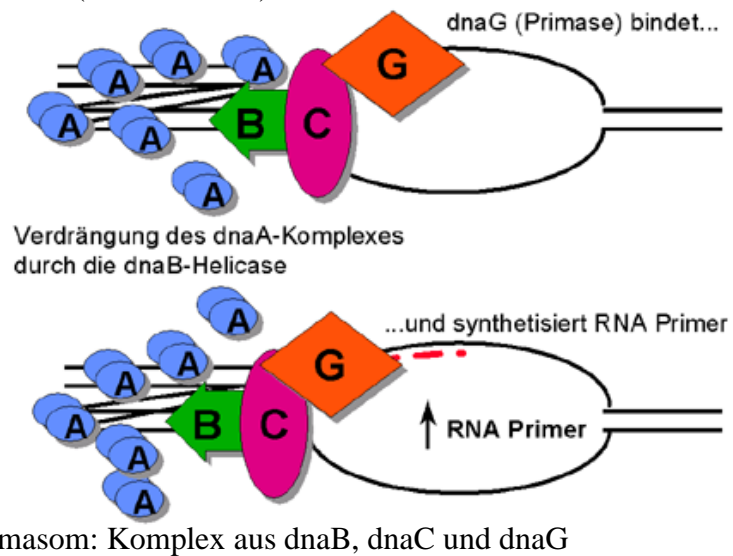


DNA-Replikation in Prokaryoten (E.coli)

A. Initiation



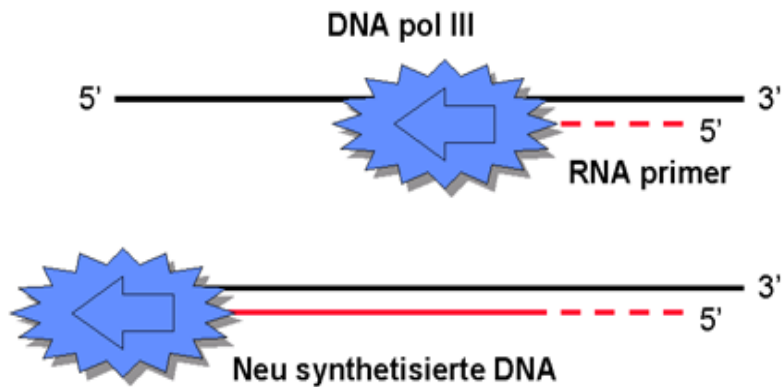
Stabilisierung des Einzelstrangs durch Einzelstrangbindungs-Proteine (SSB-Proteine)



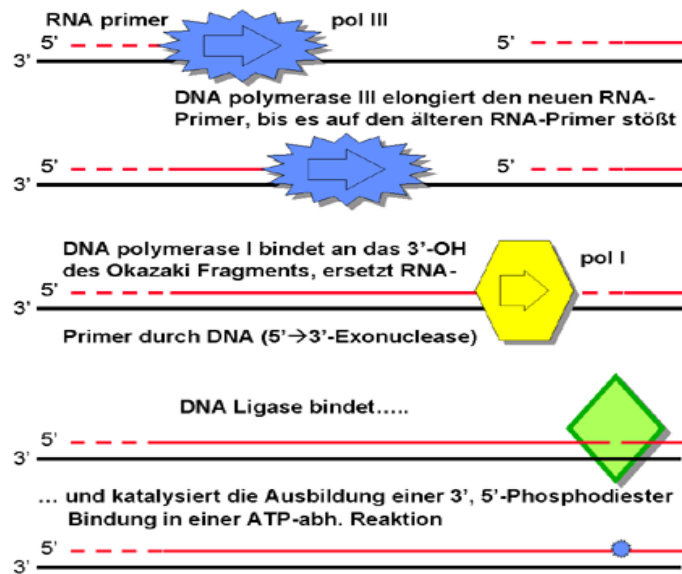
B. Elongation

DNA-Synthese am Führungsstrang:

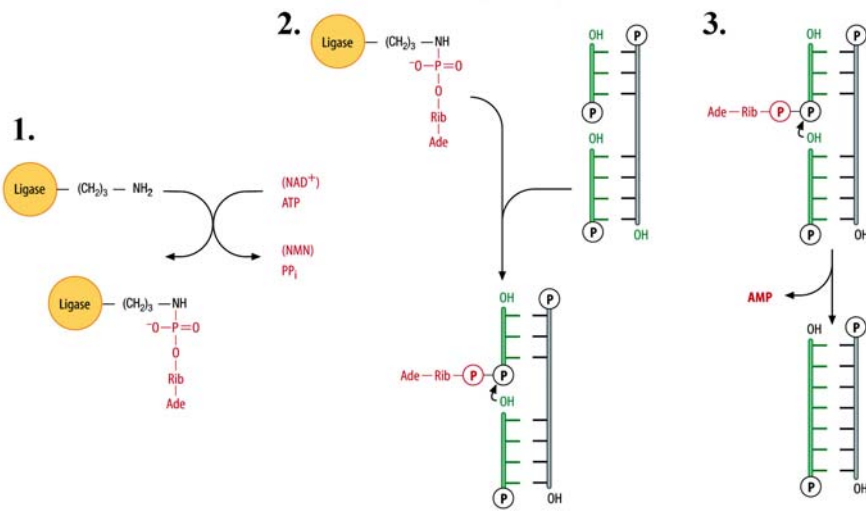
durch DNA Polymerase III in 5'→3'-Richtung
mit gleichzeitigem Korrekturlesen (3'→5'-Exonuclease)



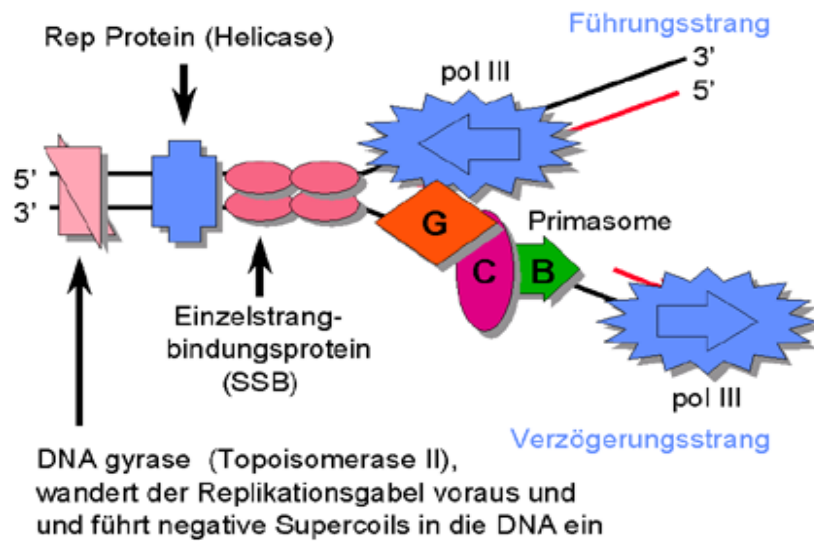
DNA-Synthese am Verzögerungsstrang:



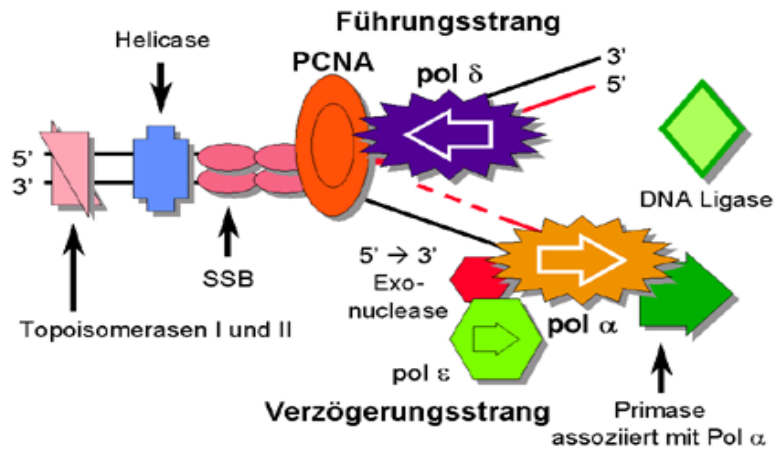
Mechanismus der DNA Ligase-Reaktion



Proteine an der E.coli Replikationsgabel



DNA-Replikation in Eukaryoten (Mensch)



In Eukaryoten sind die an der Replikation beteiligten Enzyme in einem Multienzymkomplex organisiert: [Replisom](#)

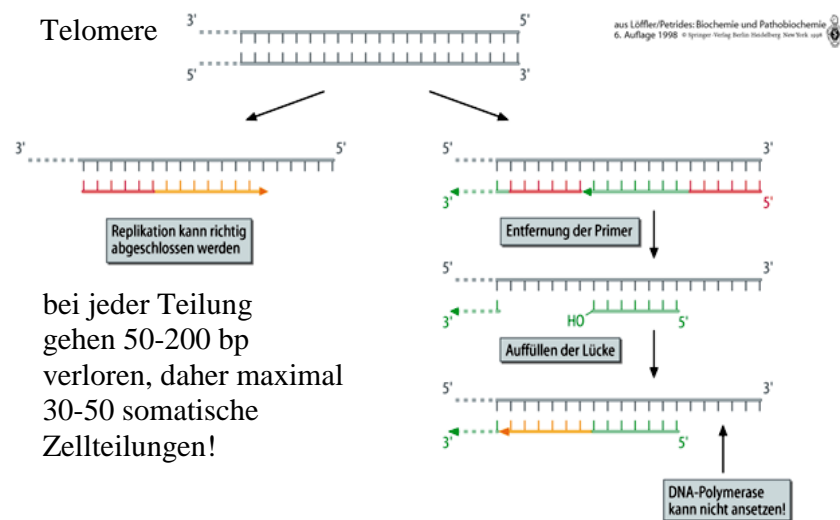
Eukaryotische DNA-Polymerasen

	α	β	γ	δ	ϵ
Lokalisierung	nucl	nucl	mito	nucl	nucl
Replikation	yes	no	yes	yes	(no)
Reparatur	no	yes	no	no	yes ³
Enzym. Aktivität					
5' → 3' Polymerase	yes	yes	yes	yes	yes
3' → 5' exonuclease	no	no	yes	yes	yes
5' → 3' exonuclease	no	no	no	no	no
Primase-Assoziation	yes	no	no	no	no
PCNA-Assoziation	no	no	no	yes	no
Prozessivität	low			high	
Strang-Synthese	lagging	-----	both	leading	-----

Vergleich der DNA-Replikation in Prokaryoten und Eukaryoten

	Prokaryot (E.coli)	Eukaryot (Maus)
Geschwindigkeit	50.000 bp/min	2.200 bp/min
Replicons/Genom	1	ca. 25.000
Zeitpunkt		S-Phase
Replikationsstartpunkt	ori C	ARS
Initiationsfaktor(en)	dnaA	ORC
DNA-Polymerasen	Pol III (und Pol I)	Pol δ und α

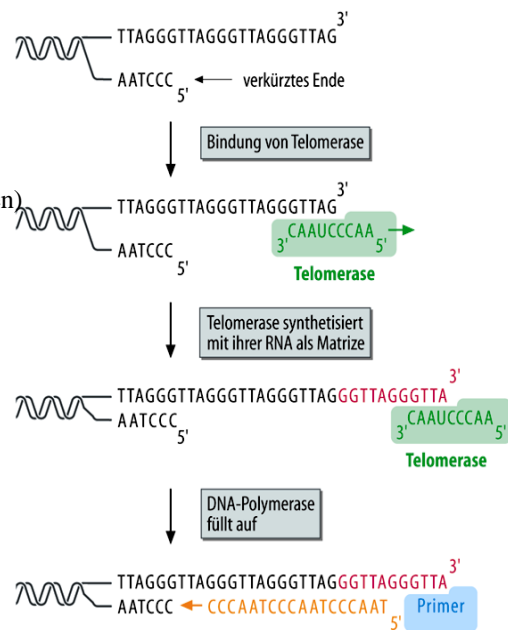
Telomer-Replikation als Komplikation der DNA-Replikation bei Eukaryonten



Telomerase wirkt dieser Verkürzung entgegen:

in Körperzellen reprimiert
in Keimzellen (und Tumorzellen) aktiv

Ribonucleoprotein-Enzym



aus: Löffler/Petriken: Biochemie und Pathobiochemie, 6. Auflage 1998 © Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York 1998

Hemmstoffe der DNA-Replikation

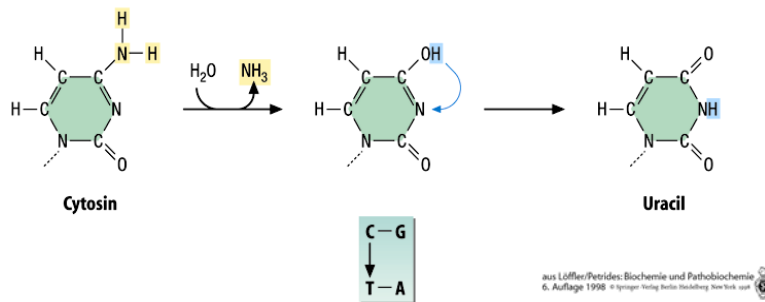
- Mitomycin: Bildung kovalenter Verknüpfungen zwischen den Einzelsträngen (Tumorthherapie)
- Actinomycin D: interkaliert in GC-reiche DNA
- Gyrasehemmer (→ Antibiotikum):
Nalidixinsäure (Nogram), Fluorchinolone
(Norfloxacin/Barazan, Ciprofloxacin/Ciprobay)

DNA-Reparatur

DNA unterliegt permanent Veränderungen.

spontane Änderungen:

- Einzelstrangbrüche
- Depurinierung durch Lösen der N-glykosidischen Bindung
- Desaminierungen



UV-Induziert:

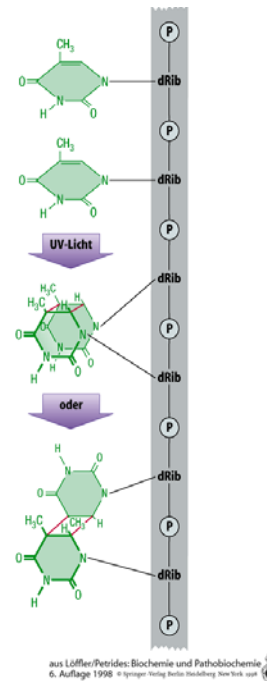
- Thymin dimere
(Ausbildung eines
Cyclobutan-Rings)

induziert durch chemische Noxen:

z.B. Sauerstoff-Radikale

- Thyminglykol-Derivate
- Formamidopyrimidine
- 8-Oxoguanin

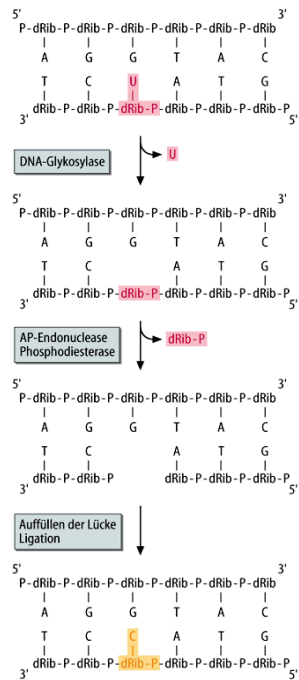
Reparatursysteme zwingend!



Basenexzisions-Reparatur

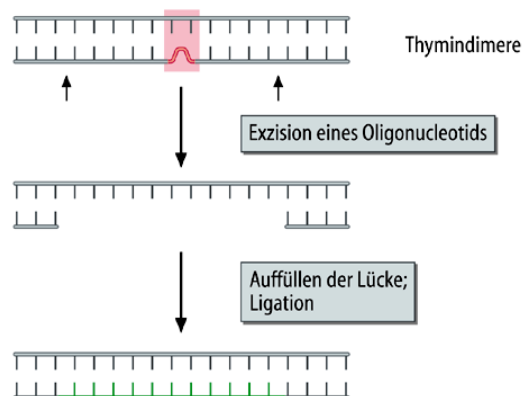
zum Beispiel nach Desaminierung von Cytosin zu Uracil

Erkennung der Konformationsänderung durch spezifische Proteine

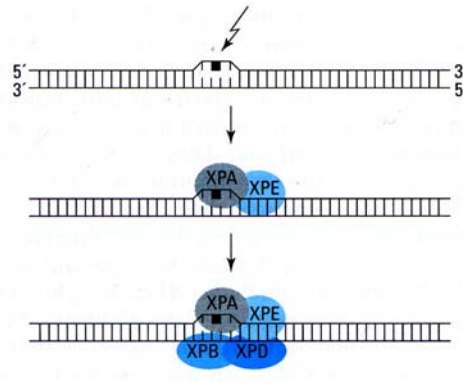


Nucleotidexzisions-Reparatur

zum Beispiel nach Pyrimidin-Dimerisierung



Nucleotidexzisions-Reparatur



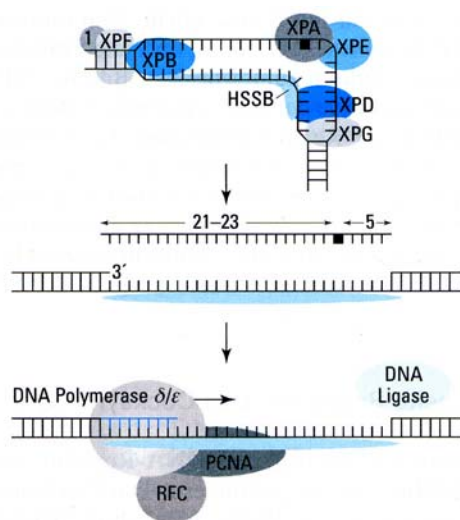
Durch Multienzymkomplex mit 16 Proteinen:

Erstkontakt mit der beschädigten DNA (XPC)

Erkennung der UV-induzierten Läsion (XPA, XPE)

Bindung von Helikasen (XPB, XPD)

Nucleotidexzisions-Reparatur



Entwinden der DNA um die UV-Läsion durch Helikasen (XPB, XPD)

Entfernen des defekten DNA-Strangs durch Endonucleasen (auf 3'-Seite der Läsion XPG, auf 5'-Seite der Läsion XPF/ERCC1)

Neusynthese des entfernten Strangs (DNA-Polymerase δ/ϵ)

Strangligation (DNA-Ligase)