

# Replikace DNA



# Jsou monozygotní dvojčata identická?

- vyvinula se z jednoho oplozeného vajíčka
- v raném stádiu se embryo rozpadlo do dvou skupin buněk  
obě skupiny buněk prodělaly úplný vývoj a dozrály do úplných embryí
- správná odpověď: dvojčata obsahují kopie stejných rodičovských genů vzniklých replikací
- v lidském genomu je cca 25 000 genů ( $3 \times 10^9$  nukleotidových párů)
- dospělé tělo člověka je složeno z 65 triliónů (65.000.000.000.000) buněk, každá z nich (s několika výjimkami) obsahuje kopie stejných genů
- replikace tak velkých úseků DNA je obrovský úkol, i když je to velmi přesný proces, k chybám při replikaci dochází
- nukleotidové sekvence DNA ovlivňují rovněž mutace

# Rychlost a přesnost replikace DNA

- u člověka: 3 000 nukleotidů za minutu
- u bakterií: 30 000 nukleotidů za minutu
- frekvence chyb: 1 chyba na miliardu včleněných nukleotidů

(v haploidním genomu člověka je  $3 \times 10^9$  nukleotidových párů, proto u jednovaječných dvojčat bude většina genů identických, ale v některých budou změny)

# Osnova

- základní rysy replikace DNA *in vivo*
- DNA polymerázy a syntéza DNA *in vitro*
- replikační aparát
- speciální aspekty replikace eukaryotických chromozomů

# Principy replikace DNA *in vivo*

- komplementarita vláken v duplexech DNA: po oddělení rodičovských vláken duplexu, může každé z nich sloužit jako templát pro syntézu vlákna nového
- nová vlákna vznikají postupným začleňováním nukleotidů na základě pravidel párování bází
- na konci replikace je každé vlákno templátu spárováno s nově syntetizovaným partnerským vláknem
- replikace DNA je katalyzována enzymy

# Základní rysy replikace DNA *in vivo*

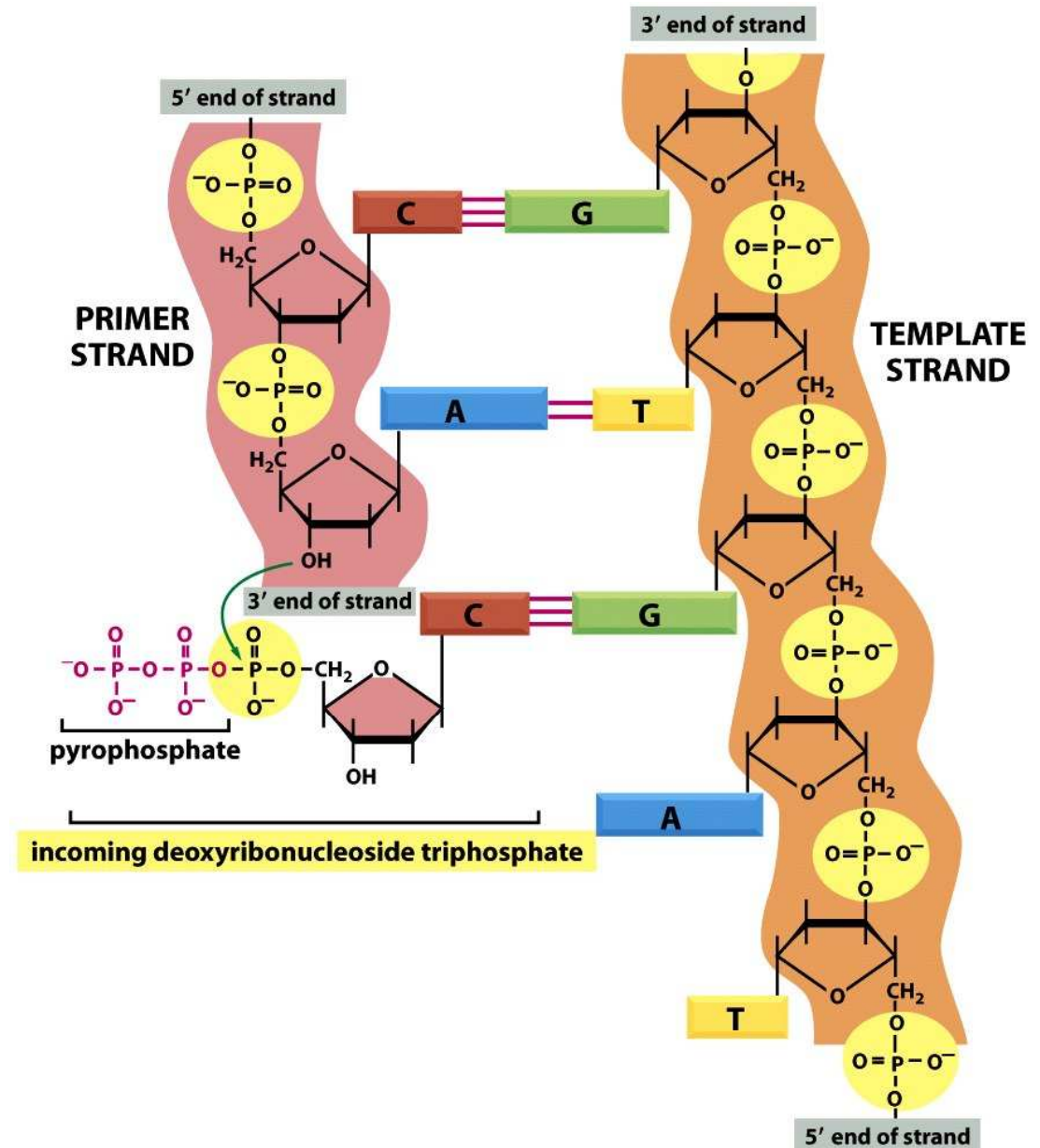
- DNA se replikuje semikonzervativně
- replikace DNA je zahájena (iniciována) ve specifických místech - počátcích replikace ("origins")
- z místa počátku replikace DNA probíhá oběma směry



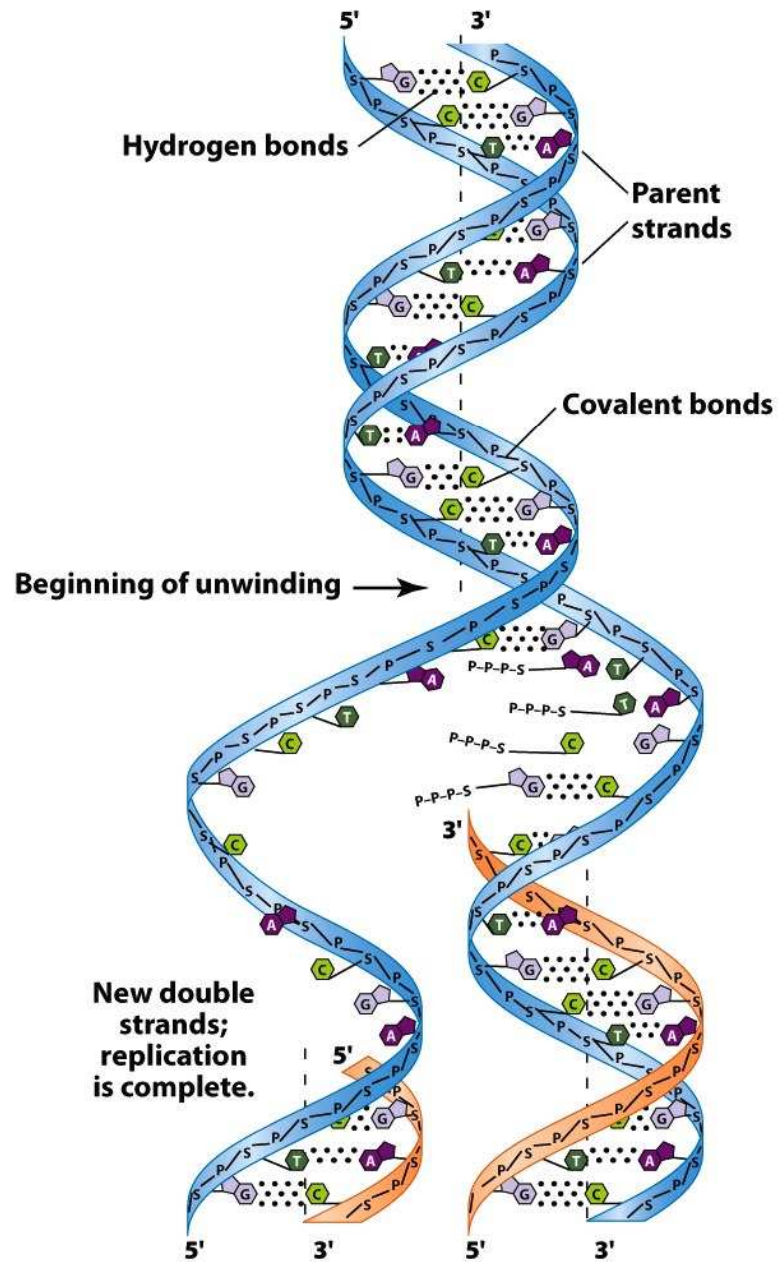
# Replikace DNA

Mechanismus založený na přesném kopírování templátových řetězců DNA:

- rozvolnění původní dvoušroubovice: obnažení templátových jednořetězců
- postupné rozeznávání nukleotidů templátu nespárovanými (volnými) komplementárními deoxyribonukleozidtrifosfáty
- enzymatické připojení komplementárního nukleotidu k rostoucímu primerovému řetězci



# Semikonzervativní replikace DNA



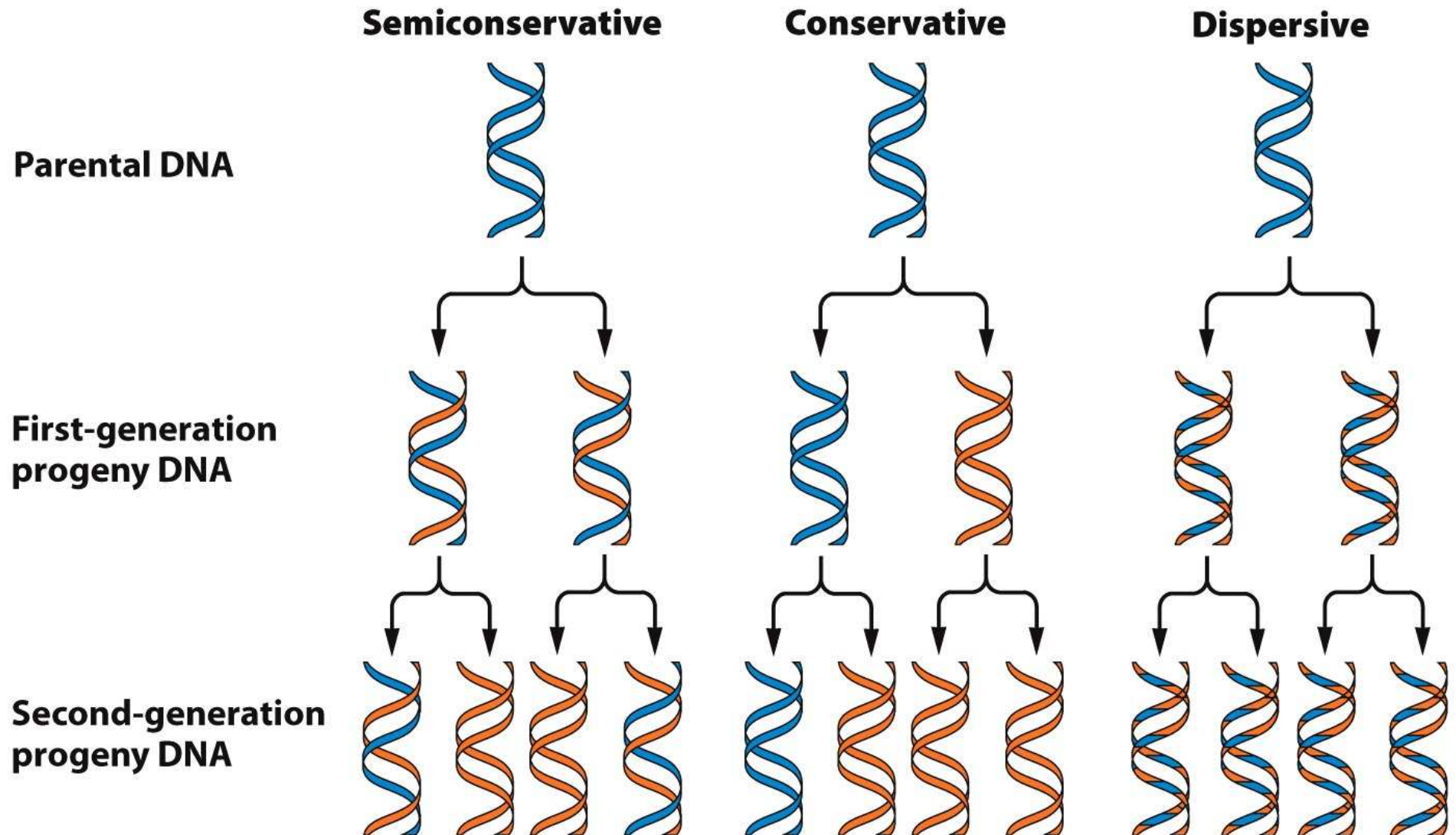
- obě vlákna slouží jako templát
- sekvenci nového vlákna určuje princip komplementarity bází
- každé vlákno rodičovské šroubovice zůstává zachováno



# Modely replikace DNA

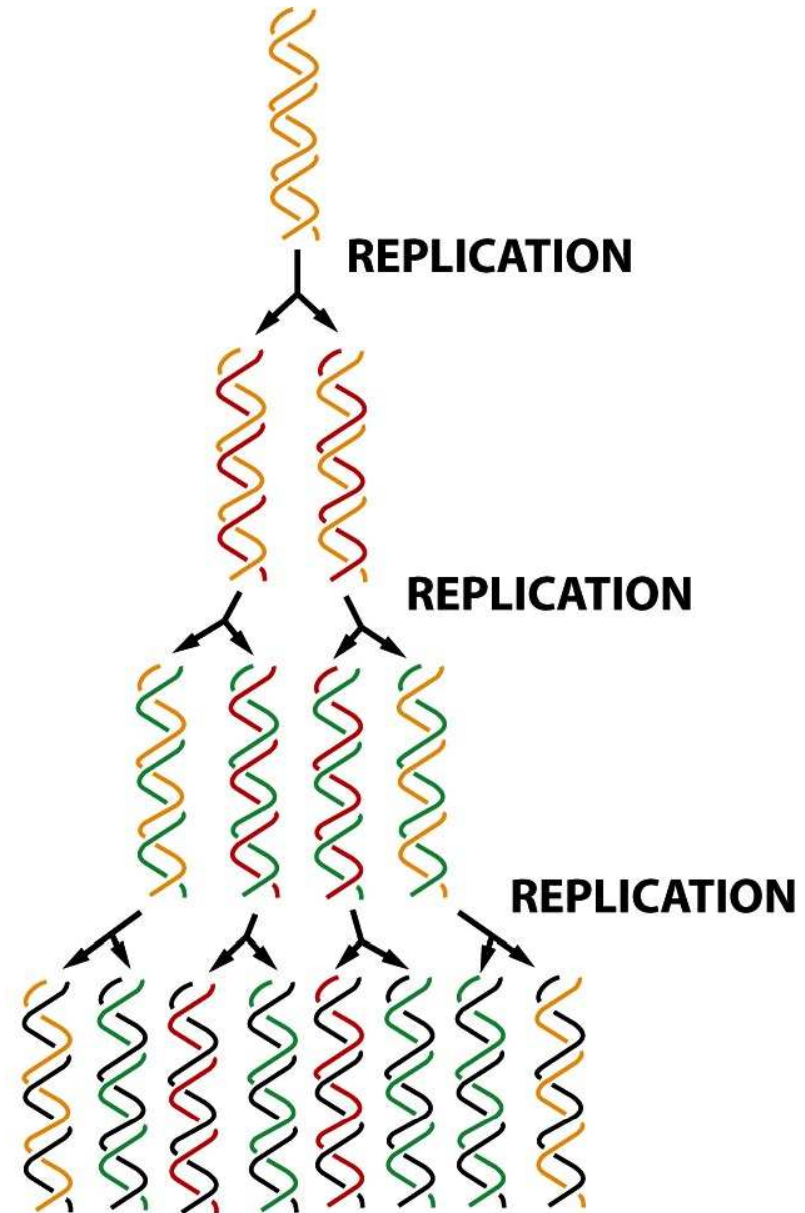
1. **Semikonzervativní:** každé vlákno rodičovské dvoušroubovice se zachovává a uplatňuje se jako templát
  2. **Konzervativní:** rodičovská dvoušroubovice se zachovává a řídí syntézu nové dvoušroubovice
  3. **Disperzní:** segmenty každého rodičovského vlákna se zachovávají a řídí syntézu segmentů nových komplementárních vláken, které se následně spojují
- **Meselson a Stahl** (1958) prokázali, že platí semikonzervativní model navržený Watsonem a Crickem
  - důkaz byl založen na studiu hustoty DNA po označení těžkým dusíkem ( $^{15}\text{N}$ )

# Modely replikace DNA



# Replikace je semikonzervativní

- oba řetězce původní dvoušroubovice fungují jako templáty
- výsledkem je dvoušroubovice obsahující jeden originální a jeden nově syntetizovaný řetězec
- originální řetězce tak zůstávají intaktní po mnoho generací

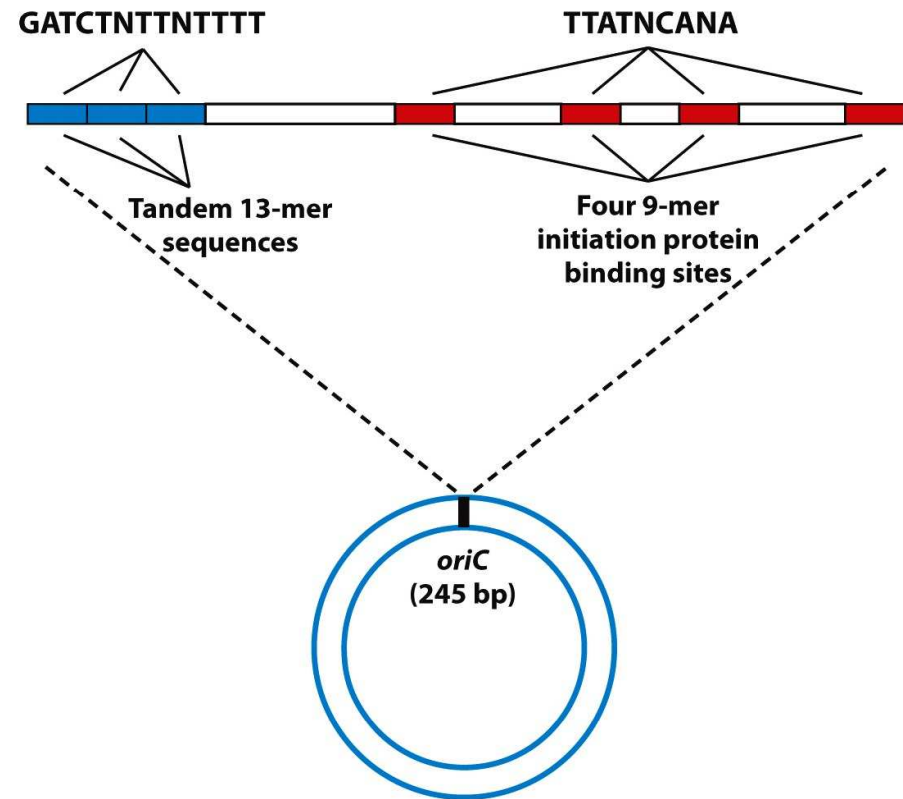


# Replikace DNA začíná v počátku replikace ("origin")

- specifická nukleotidová sekvence (*ori*)
- každý počátek zajišťuje replikaci úseku DNA zvaného **replikon**
- u bakterií a virů je obvykle 1 počátek na chromozom (prokaryotické chromozomy obsahují jediný replikon)
- u velkých chromozomů eukaryot je mnoho počátků replikace (mnoho replikonů)

# Počátek replikace *E. coli* (*ori C*)

- velikost 245 pb
- přítomen v genomu 1x
- obsahuje 2 typy opakujících se sekvencí:
  - sekvenci 13 pb (opakovaná 3x, bohatá na AT, pouze 2 vodíkové vazby mezi AT usnadňují tvorbu replikační bubliny)
  - sekvenci 9 pb (opakovaná 4x, místo vazby proteinů, které jsou nezbytné pro tvorbu replikační bubliny)



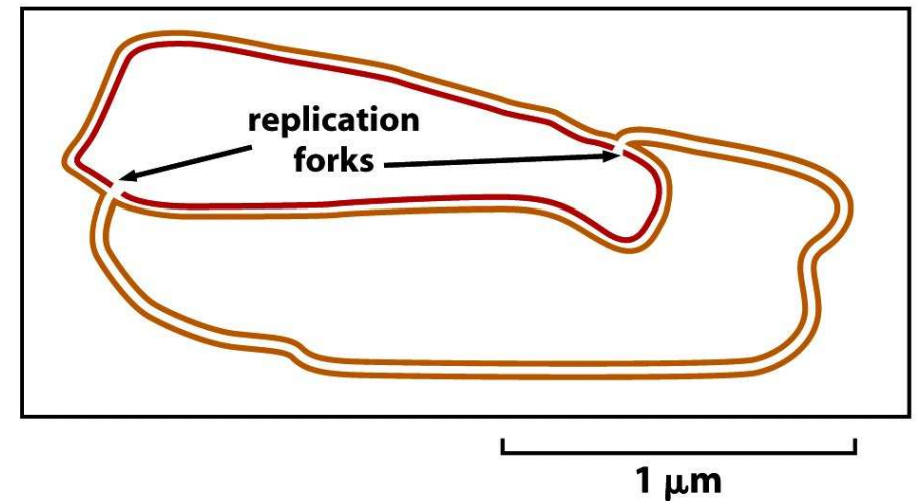
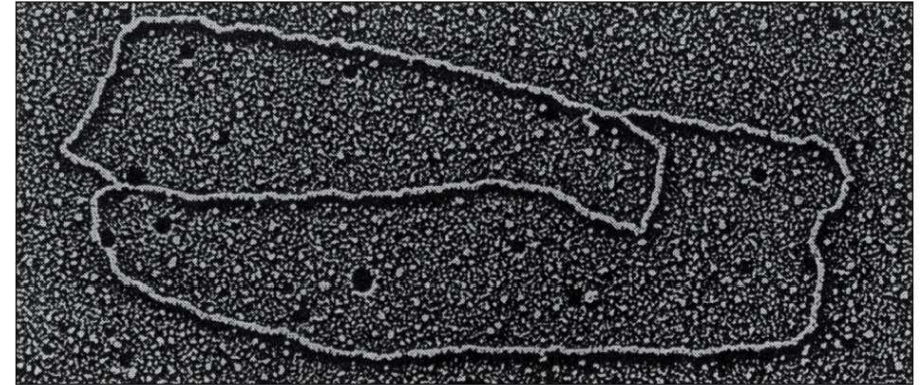


# Počátky replikace u eukaryot

- v genomu v mnoha kopiích
- u kvasinek označované ARS (autonomně se replikující segmenty)
  - délka cca 50 pb
  - obsahují stěžejní sekvenci bohatou na AT o velikosti 11 pb
- funkční složky počátků replikace vyšších eukaryot dosud nejsou přesně známy
- velikost ori u vyšších eukaryot dosahuje až několika tisíc pb

# Replikační bubliny a vidlice

- po rozvolnění DNA v místě ori bohatém na AT se templátové řetězce oddělují a vzniká **replikační bublina**
- od tohoto místa replikace probíhá v obou směrech a vzniká struktura tvaru "Y" zvaná **replikační vidlice**

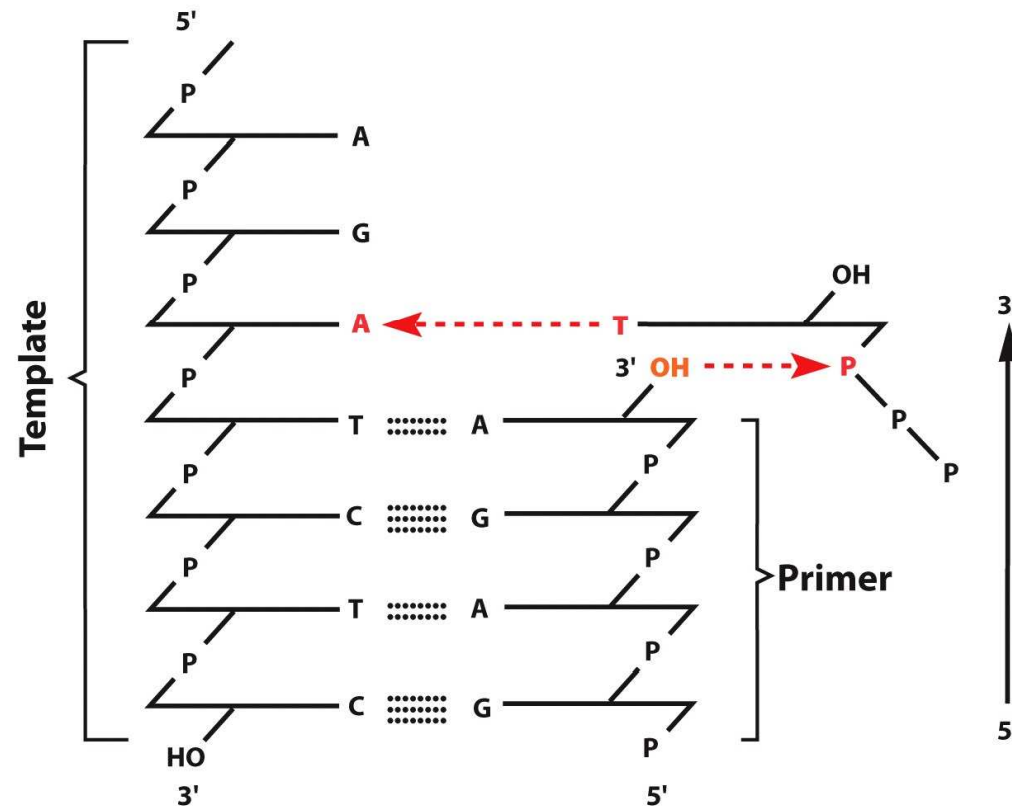


# Take home message

- DNA se replikuje semikonzervativním mechanismem: dvě komplementární vlákna rodičovské dvoušroubovice se v místě počátku replikace rozvinou a oddělí, každý z řetězců slouží jako templát pro syntézu nového komplementárního vlákna
- specifita párování bází zaručuje, že vznikající vlákna DNA budou mít komplementární sekvence vzhledem k templátům
- iniciace replikace nastává v replikačních počátcích, odkud pokračuje oběma směry

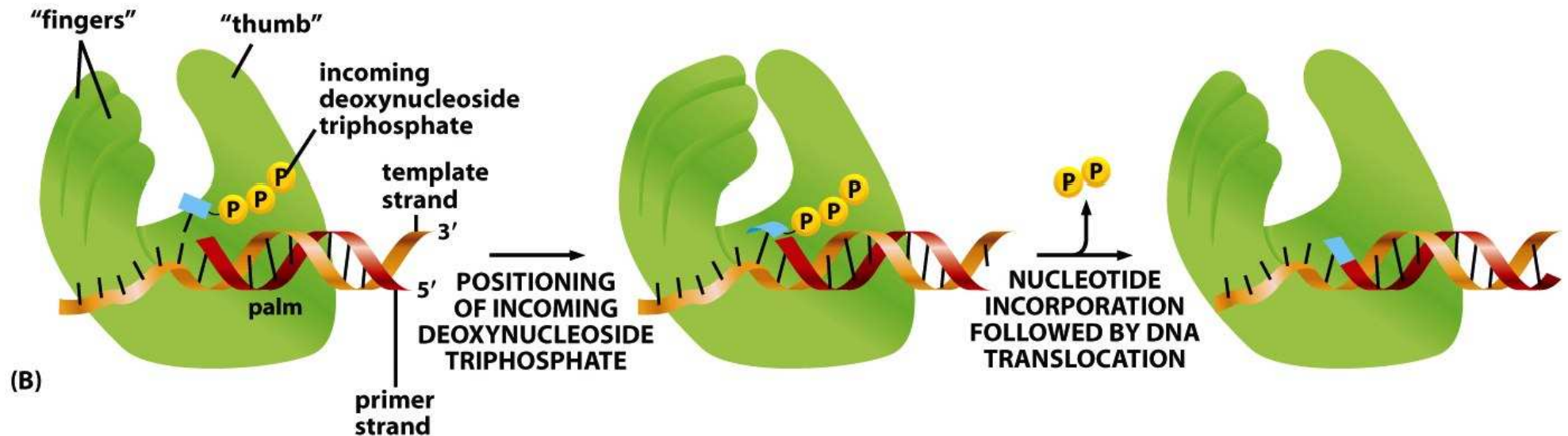
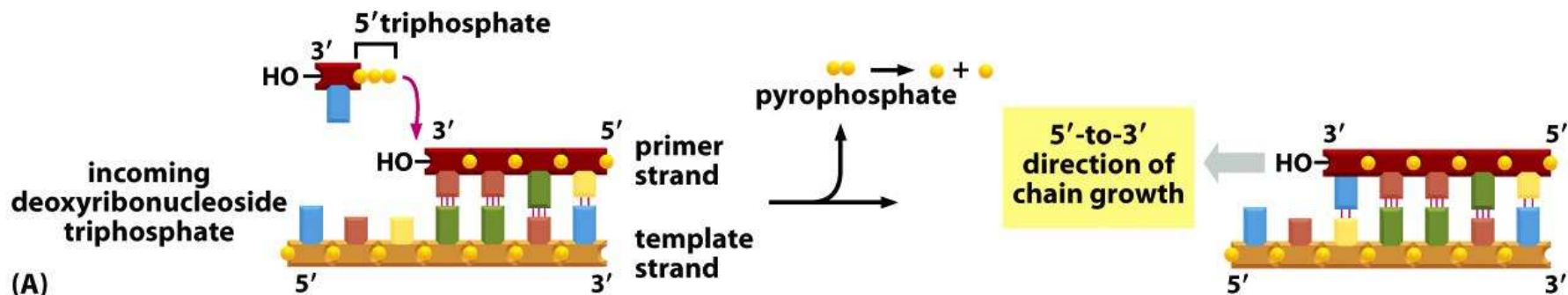
# DNA polymerázy a syntéza DNA *in vitro*

- systémy *in vitro*: základní zdroje informací o replikaci DNA
- replikaci zajišťují enzymy (DNA-dependentní DNA polymerázy)
- substrátové požadavky:
  - primerové vlákno s volnou 3'-OH skupinou
  - templátové vlákno DNA určující sekvenci nového vlákna
  - volné dNTP (dATP, dTTP, dGTP, dCTP)
  - $Mg^{2+}$



# DNA polymeráza katalyzuje tvorbu kovalentních (fosfodiesterových) vazeb mezi nukleotidy

- zajišťuje vazbu deoxyribonukleotidu definovaného templátem k 3'-OH skupině primerového řetězce
- polymerace nově tvořeného řetězce probíhá ve směru 5' - 3'
- potřebná energie je zajištěna uvolněním pyrofosfátu z dNTP







# DNA polymeráza I má nejen polymerační, ale také dvě nukleázové aktivity

Nukleáza je enzym, který degraduje nukleové kyseliny

Exonukleáza štěpí nukleové kyseliny od konců

Endonukleáza štěpí DNA ve vnitřních místech molekuly

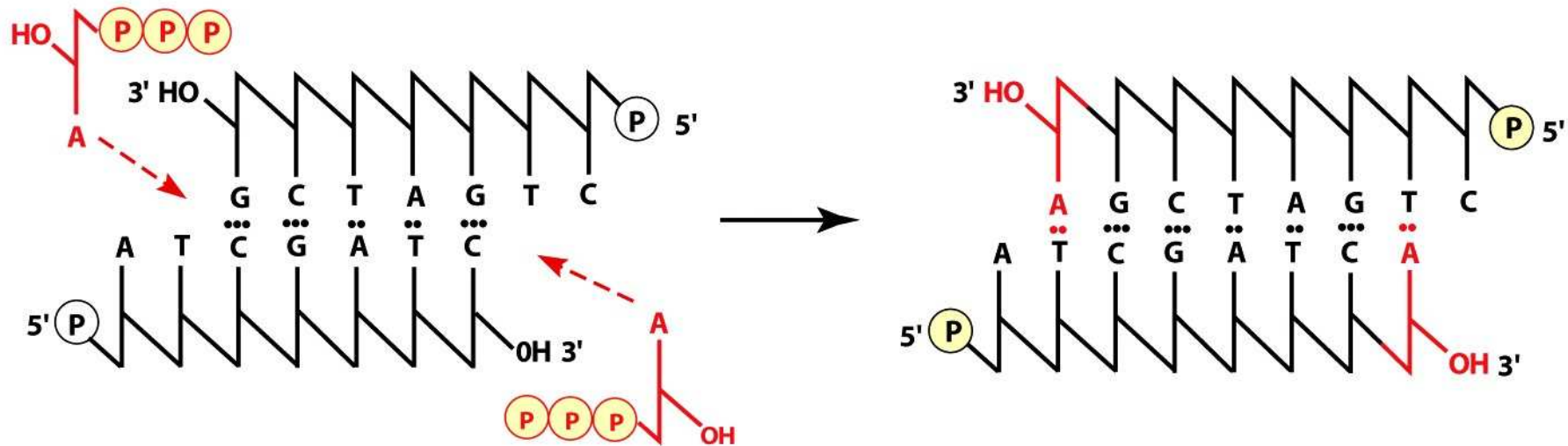
DNA polymeráza I má:

5' → 3' exonukleázovou aktivitu: štěpí DNA od 5' konců (ve formě krátkých oligonukleotidů)

3' → 5' exonukleázovou aktivitu: odštěpuje mononukleotidy od 3' konců DNA

# DNA polymeráza I: 5' → 3' polymerázová aktivita

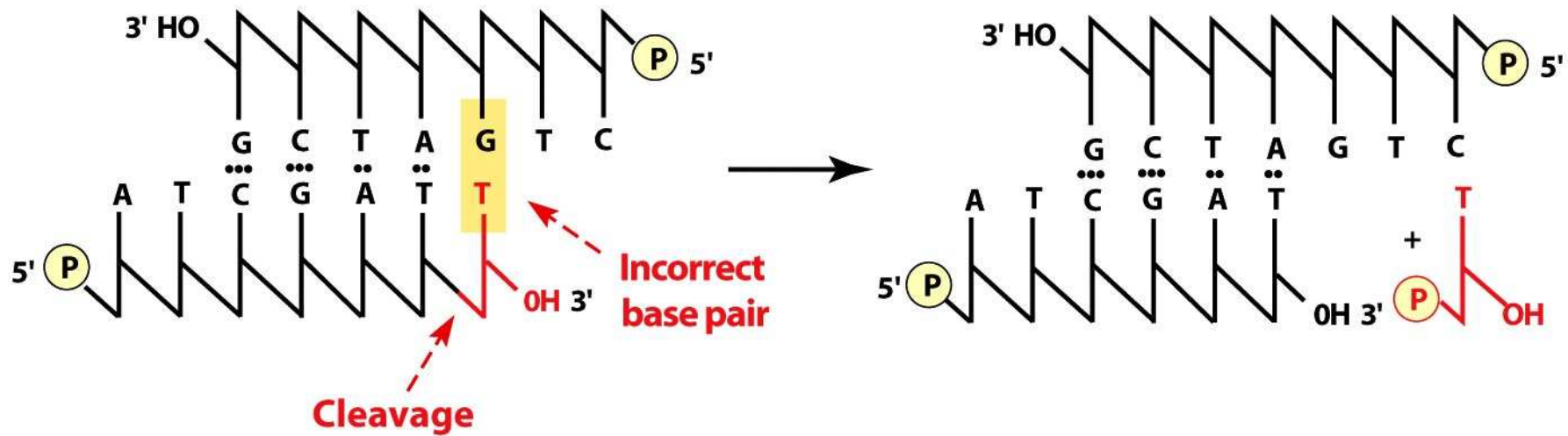
5' → 3' polymerase activity





# DNA polymeráza I: 3' → 5' exonukleázová aktivita

3' → 5' exonuclease activity

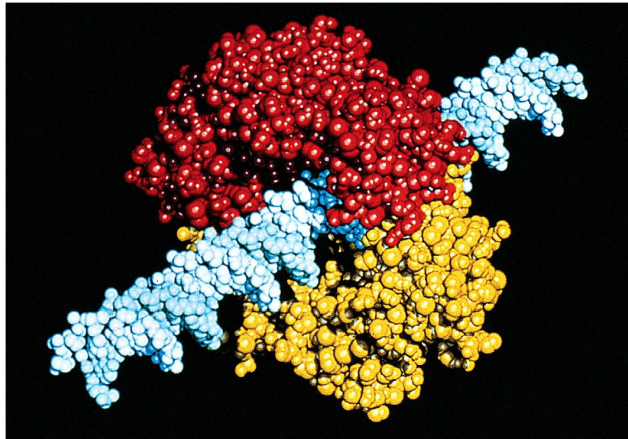




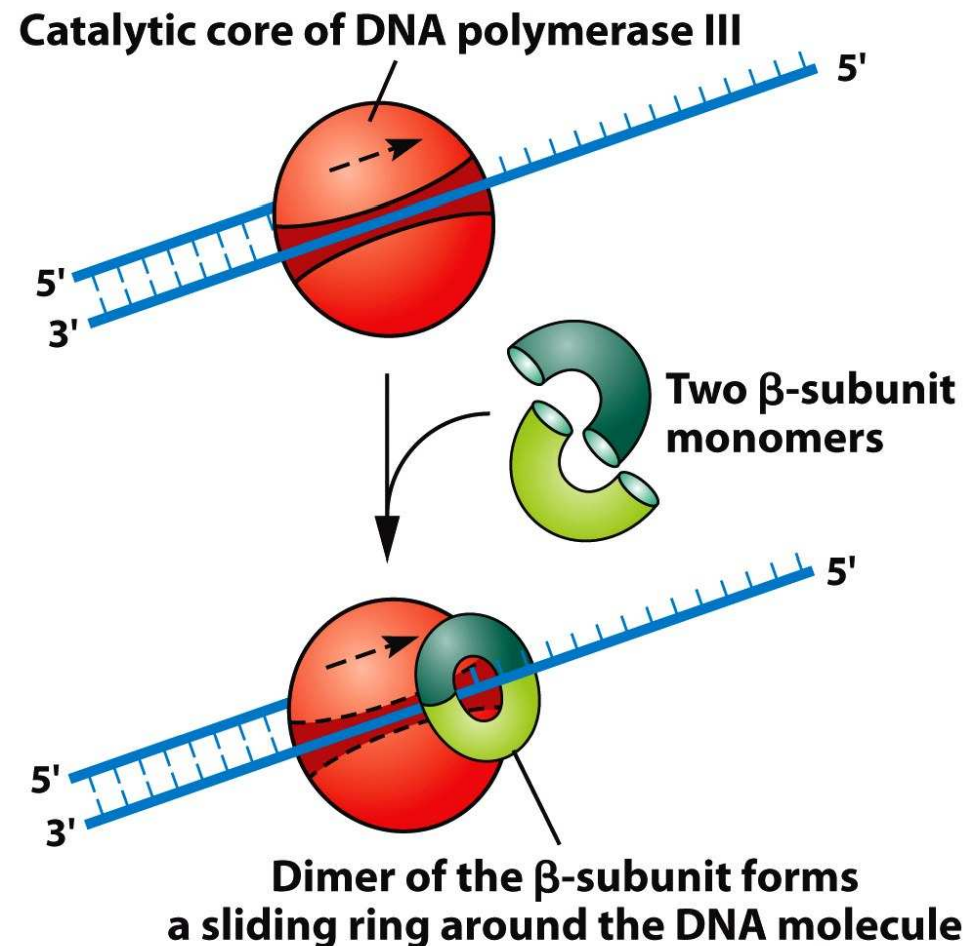
# DNA polymerázy

- polymerázy u *E. coli*
  - replikace DNA: DNA polymeráza III a I
  - reparace DNA: DNA polymeráza II, IV a V
- polymerázy u eukaryot
  - replikace jaderné DNA: polymeráza  $\alpha$ ,  $\delta$  a/nebo  $\epsilon$
  - replikace mitochondriální DNA: polymeráza  $\gamma$
  - reparace DNA: polymeráza  $\beta$ ,  $\epsilon$ ,  $\kappa$ ,  $\zeta$ ,  $\mu$ , and  $\eta$
- všechny tyto enzymy syntetizují DNA ve směru 5' - 3' a požadují volnou 3'-OH skupinu na konci primeru

# DNA polymeráza III je pravou replikázou DNA u *E. coli*

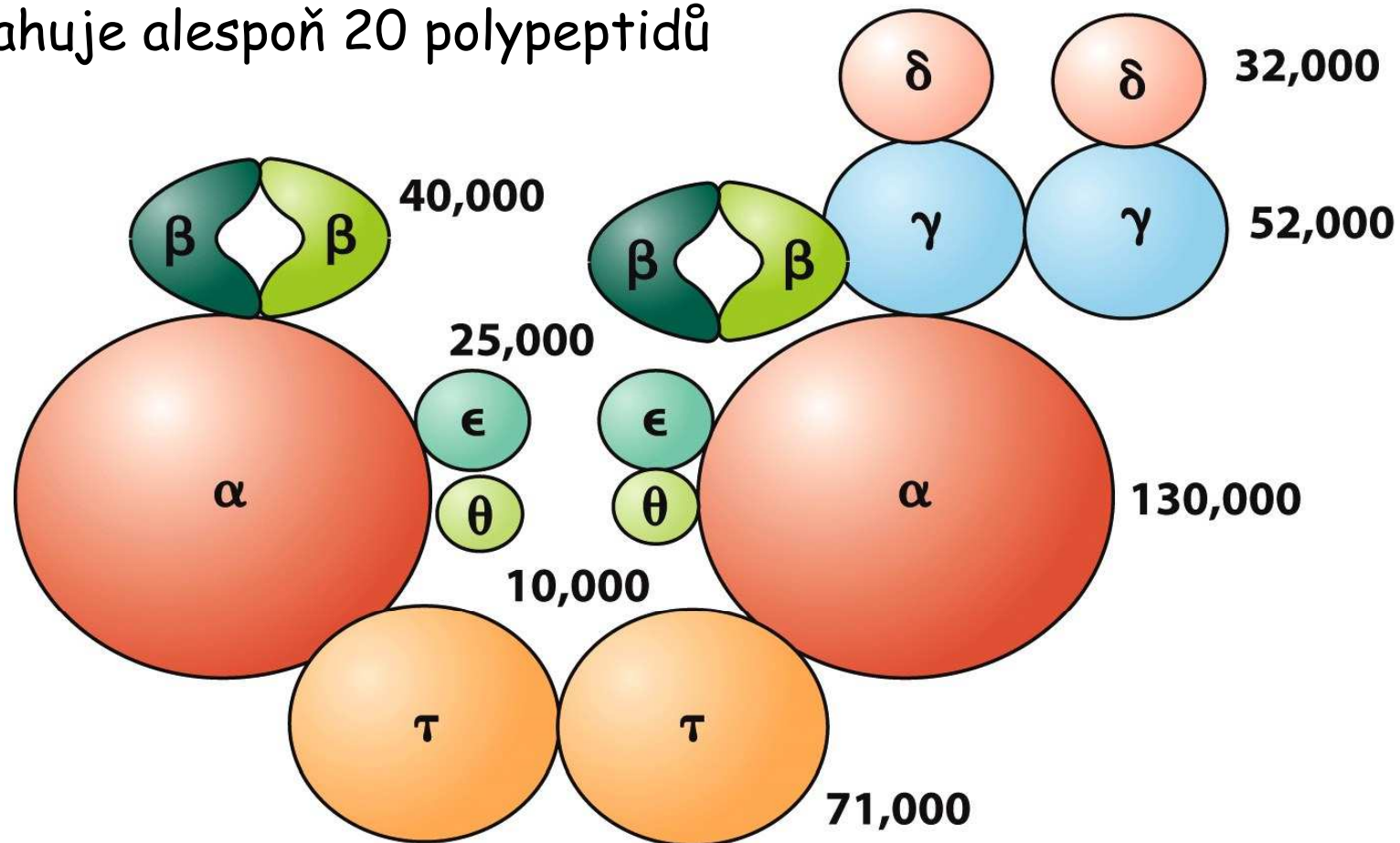


- podjednotkový enzym (holoenzym)
- minimální **jádro s enzymovou aktivitou** *in vitro* obsahuje podjednotky  $\alpha$ ,  $\epsilon$ ,  $\theta$
- podjednotka  $\tau$  zajišťuje dimerizaci katalytického jádra
- podjednotka  $\beta$  tvoří dimer, který brání předčasnému uvolnění DNA pol z templátu (nutné pro syntézu dlouhých molekul)



# Holoenzym DNA polymerázy III *E. coli* má komplexní strukturu

obsahuje alespoň 20 polypeptidů



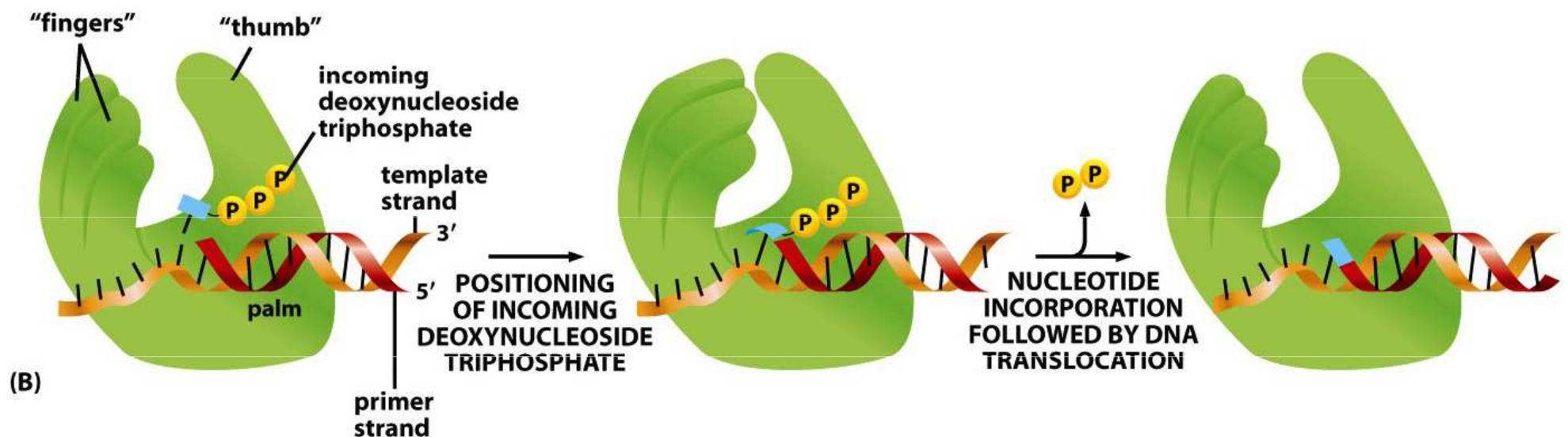
# Kontrola přesnosti replikace: DNA polymerázy disponují korektorskou funkcí

- přesnost kopírování je překvapivě vysoká: pouze 1 chyba na  $10^9$  kopírovaných nukleotidů
- všechny čtyři báze mohou tvořit tautomerní formy, které se párují jinak než je obvyklé (např. C-A) ve frekvenci  $1/10^4$  nebo  $1/10^5$
- malými změnami geometrie šroubovice lze docílit tvorbu vodíkových vazeb mezi G a T
- pokud by DNA polymeráza neměla korektorskou (opravnou) funkci, byly by do nových řetězců DNA často včleněny chybné nukleotidy a docházelo by k hromadění mutací
- korektorská funkce spočívá v kontrole konce právě syntetizovaného vlákna DNA, hledání chyb a jejich opravě

# Korektorská funkce DNA polymerázy

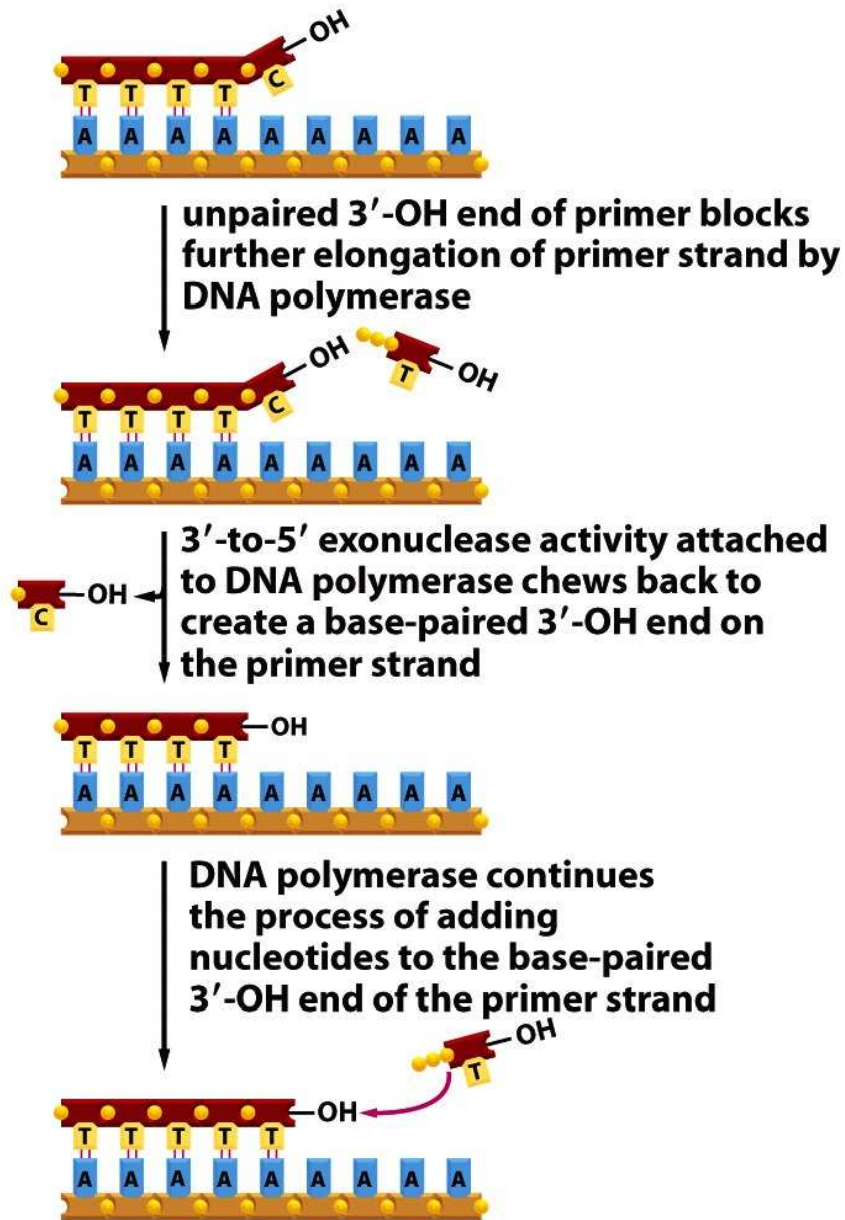
Několik stupňů kontroly:

- první nastává těsně před přidáním nového nukleotidu k rostoucímu řetězci:
  - správný nukleotid má vyšší afinitu k DNA polymeráze než nesprávný, protože správné párování je energeticky výhodnější
  - po navázání nukleotidu na DNA polymerázu, ale ještě před jeho kovalentním připojením k řetězci prochází DNA polymeráza konformační změnou ("stažení prstů" kolem aktivního místa), tato změna neprobíhá správně, pokud není navázaný přesně se párující nukleotid

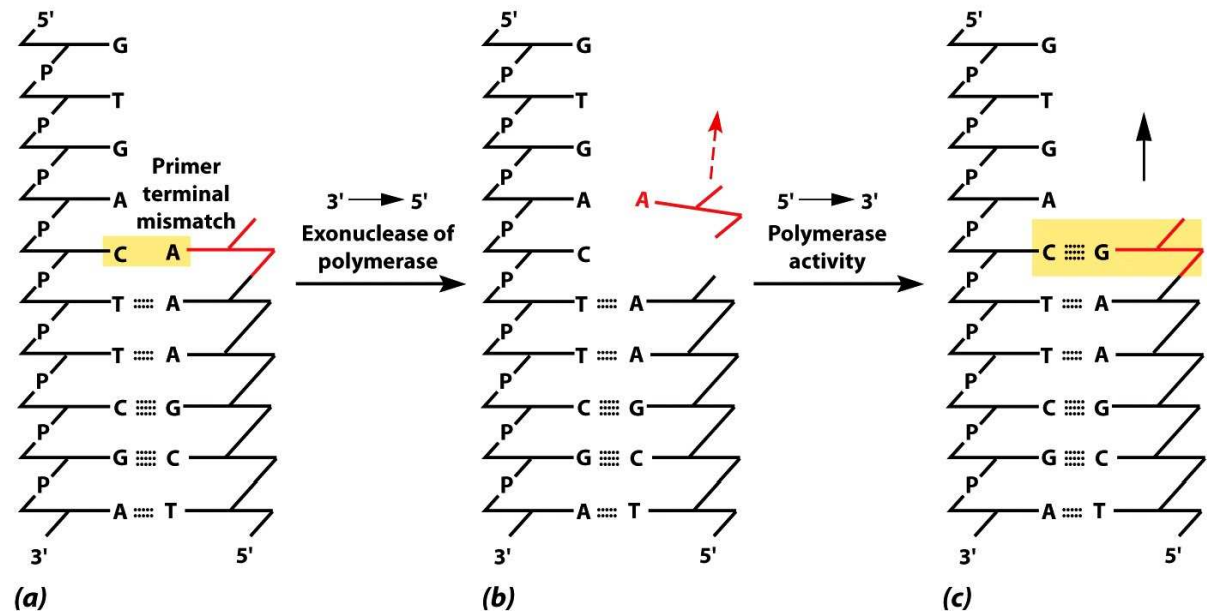




# Korektorská funkce DNA polymerázy



1. na 3' konci primerového vlákna se objevuje chybný (nepárující se nukleotid)
2. replikace DNA polymerázou se pozastaví
3. exonukleázovou aktivitou 3' -5' DNA polymerázy se chybný nukleotid z řetězce uvolní
4. DNA polymeráza obnoví replikaci



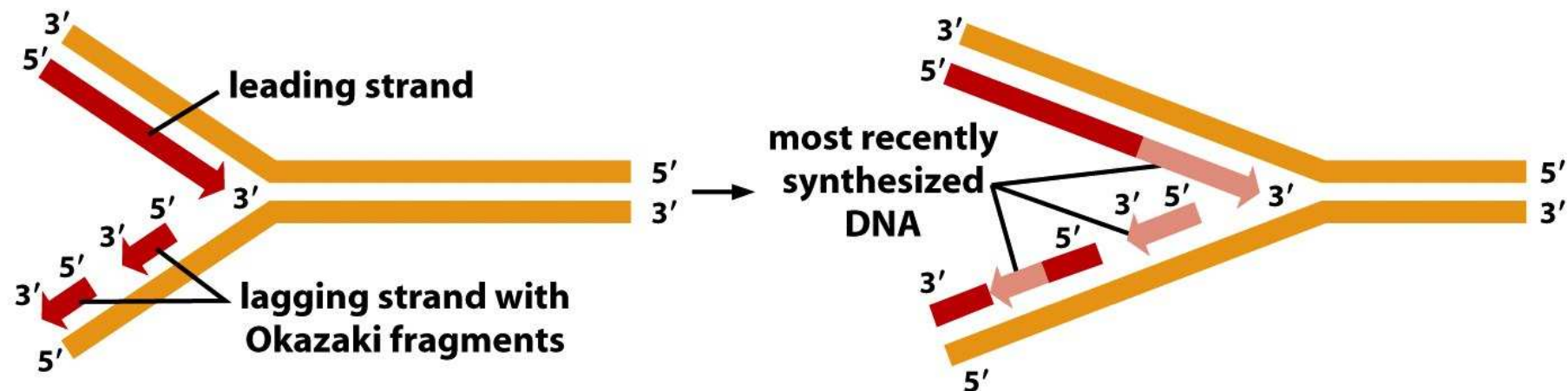
# Take home message

- syntézu DNA katalyzují enzymy - DNA polymerázy
- všechny DNA polymerázy požadují **primerové vlákno** (které se prodlužuje) a **templátové vlákno** (které se kopíruje)
- všechny DNA polymerázy striktně požadují **volnou 3'-OH** skupinu na primerovém vlákně a syntéza veškeré DNA probíhá výhradně ve směru **5' → 3'**
- 3' → 5' exonukleázové aktivity DNA polymeráz mají **korektorskou funkci**: kontrolují vznikající vlákna a odstraňují chybně spárované nukleotidy na 3' koncích primerových vláken

# Rozpor: templátová vlákna jsou antiparalelní x DNA polymeráza funguje pouze ve směru 5' - 3'

Jak může DNA růst ve směru 3' - 5' ?

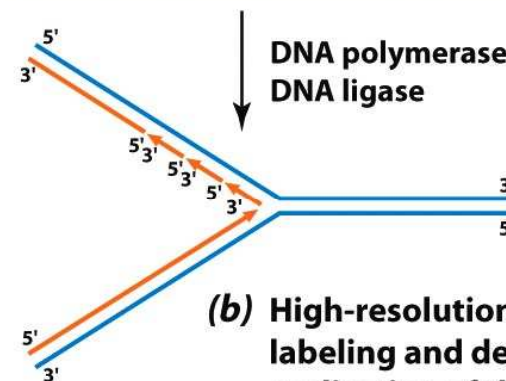
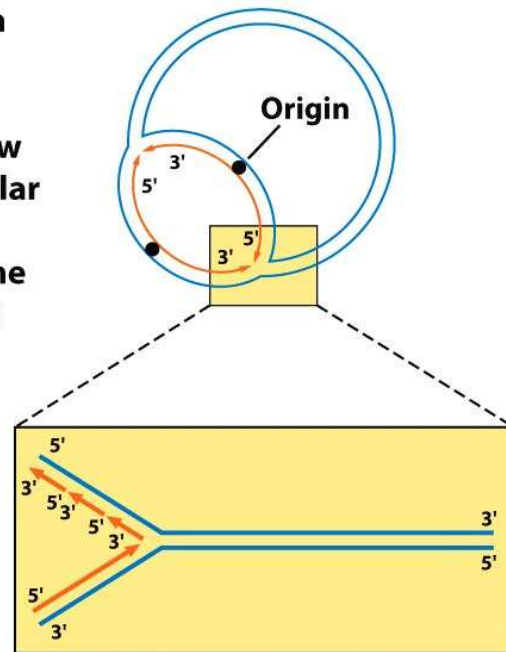
- syntetizuje se ve směru 5' - 3' ale diskontinuitně: nejprve se tvoří krátké tzv. Okazakiho fragmenty (dlouhé 1000-2000 nukleotidů u prokaryot, 100-200 nukleotidů u eukaryot)
- Okazakiho fragmenty se následně spojí
- proto se rozlišuje **vedoucí řetězec** syntetizovaný průběžně a **opožd'ující se řetězec**, syntetizovaný přerušovaně



# Rozpor: templátová vlákna jsou antiparalelní x DNA polymeráza funguje pouze ve směru 5' - 3'

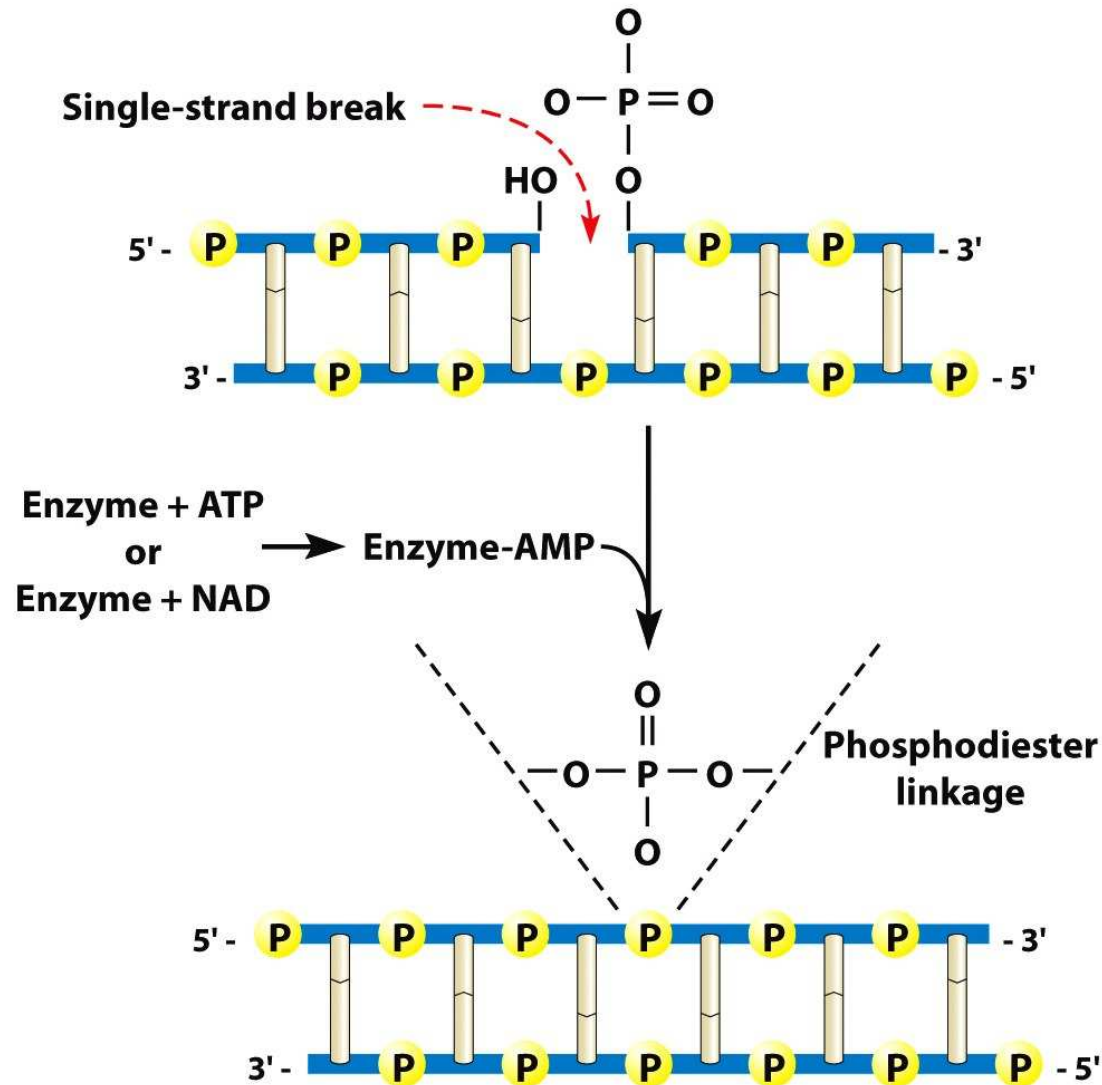
Relatively low-resolution techniques such as autoradiography and electron microscopy show that at the macromolecular level both nascent DNA chains are extended in the same overall direction at each replication fork.

(a)



(b) High-resolution biochemical techniques such as pulse-labeling and density-gradient analysis show that replication of the lagging strand is discontinuous—short fragments are synthesized in the 5' → 3' direction and subsequently joined by DNA ligase.

# Zářezy v DNA kovalentně spojuje DNA ligáza



# Iniciace replikace: RNA primery

## DNA polymerázy nesyntetizují DNA *de novo*

- pouze prodlužují již existující řetězec se správně spárovaným nukleotidem disponujícím volnou 3' OH skupinou
- nemohou tvořit DNA "z ničeho", ale potřebují primer, který prodlužují

## RNA polymerázy

- méně přesné, chyby jsou více tolerovány, protože transkripty se nedědí
- nedisponují exonukleázovou korektorskou funkcí
- mohou začít tvorbu nových polynukleotidových řetězců bez primeru
- jako primery při replikaci DNA proto slouží krátké úseky RNA



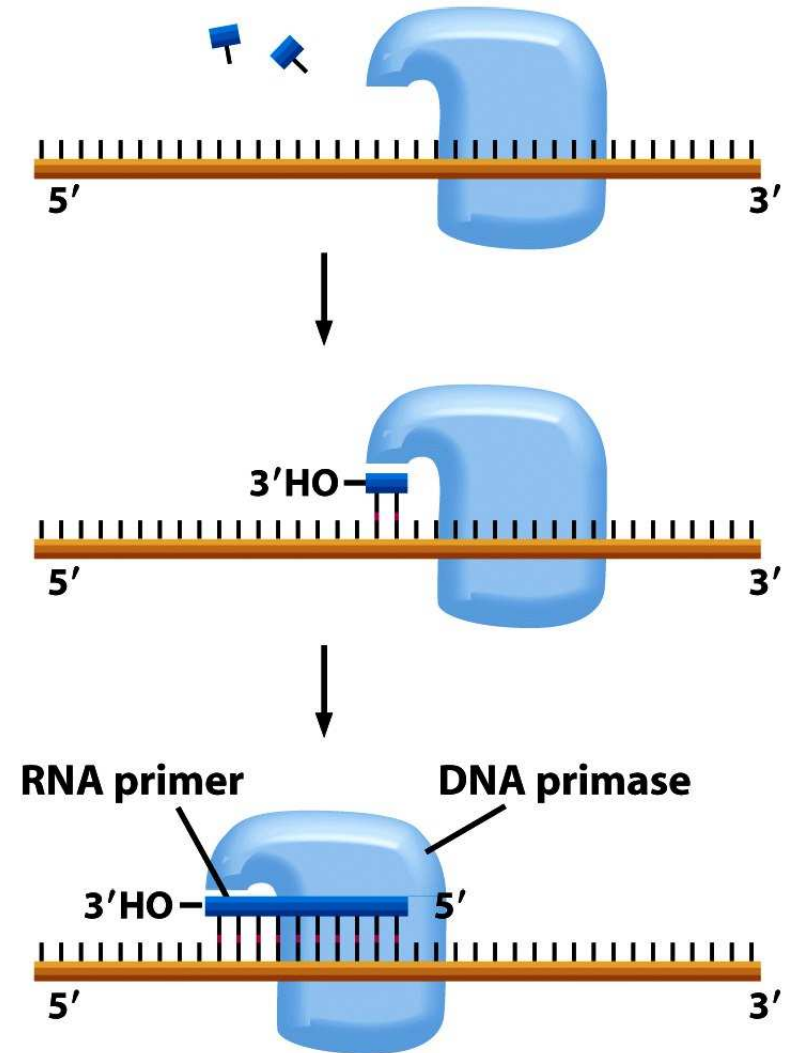
# Syntéza RNA primerů při replikaci DNA

## Vedoucí vlákno (leading strand)

- postačuje jeden RNA primer na začátku templátu, replikace DNA pak probíhá bez přerušení

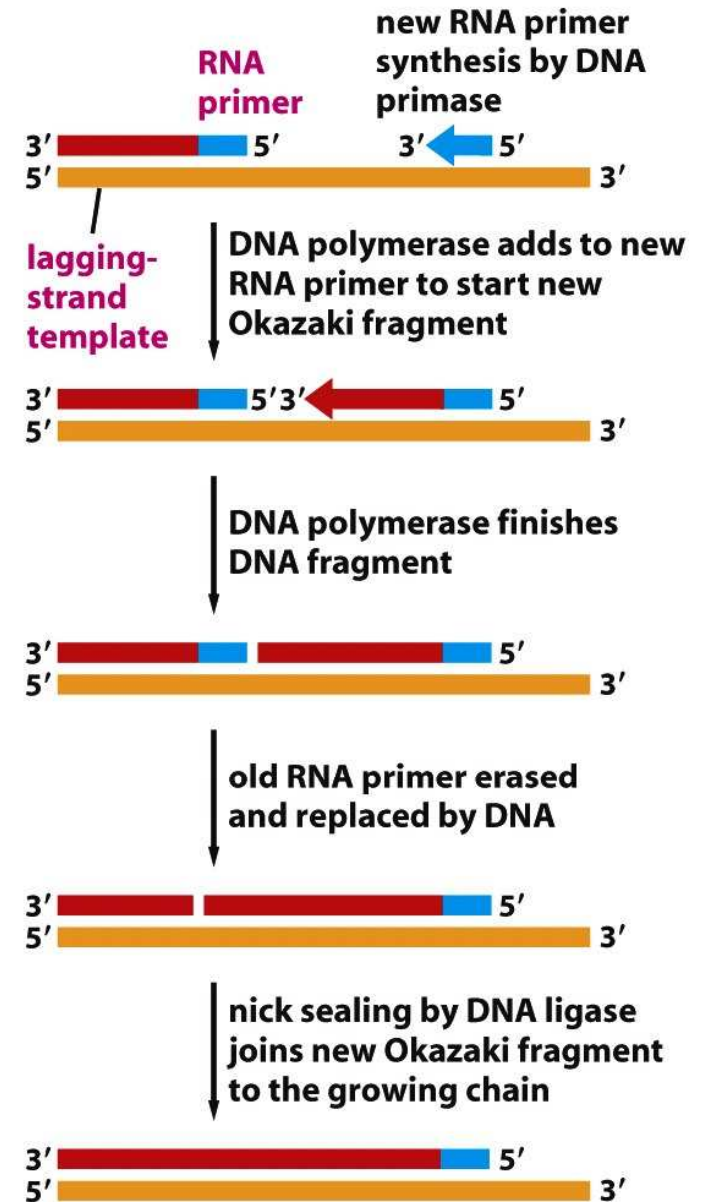
## Opoždující se vlákno (lagging strand)

- po dokončení syntézy každého Okazakiho fragmentu (tj. po několika vteřinách) se musí syntetizovat další RNA primer
- tvorbu RNA primerů zajišťuje **DNA primáza (DNA-dependentní RNA polymeráza)**, schopná spojit dva nukleozidtrifosfáty na templátu DNA
- primáza syntetizuje krátký polynukleotid (10-60 nukleotidů u prokaryot, cca 10 nukleotidů u eukaryot) ve směru 5' -3' a vytvoří potřebný substrát pro DNA polymerázu



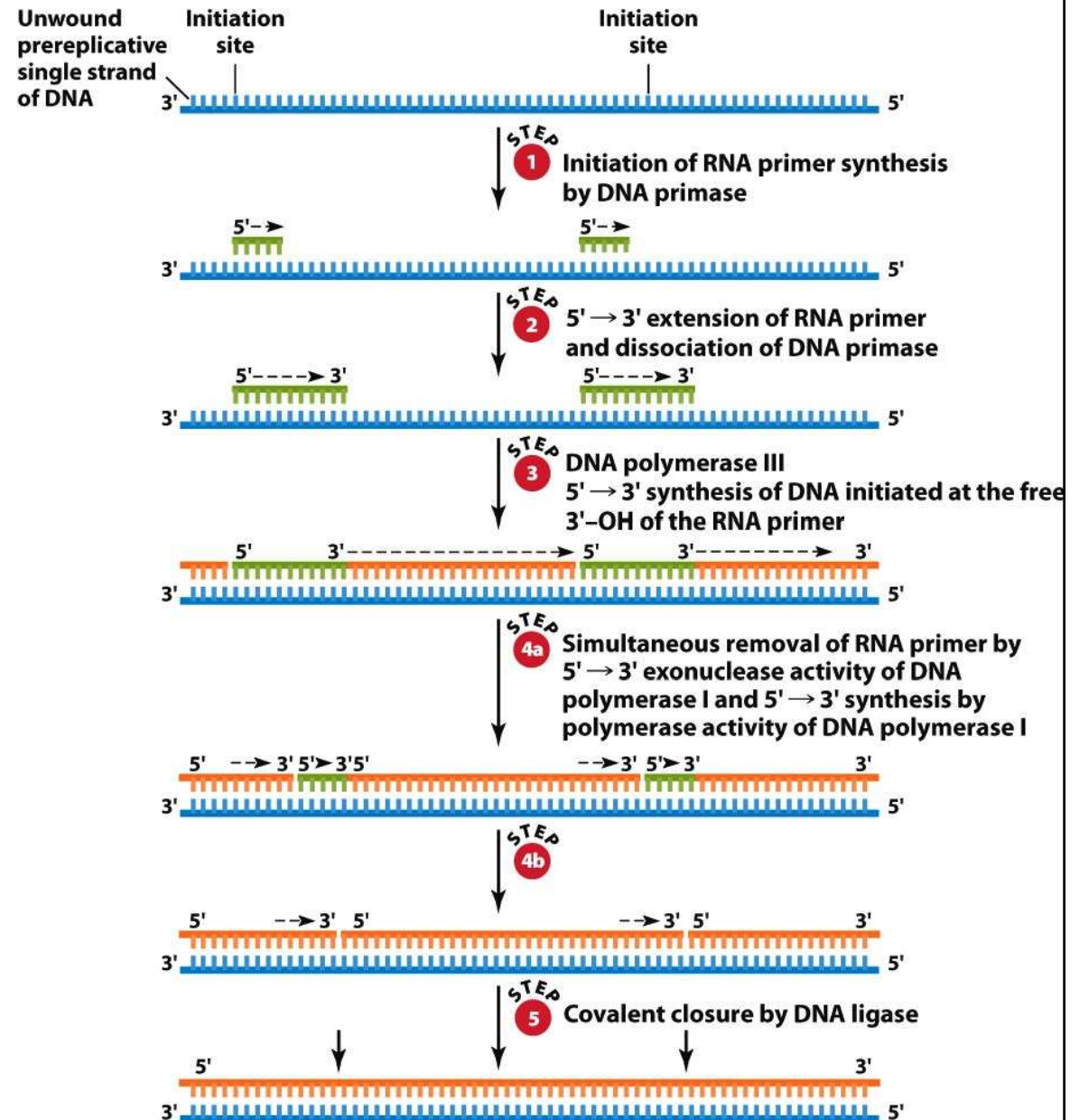
# Spojení Okazakiho fragmentů

- DNA polymeráza prodlužuje RNA primer a tvoří nové vlákno DNA
- syntéza Okazakiho fragmentu na opožd'ujícím se řetězci DNA skončí, jakmile DNA polymeráza narazí na RNA primer předchozího fragmentu
- při vytvoření celistvé struktury DNA na templátu opožd'ujícího se řetězce se uplatňují opravné mechanismy: RNA primery odstraní a nahradí je DNA
- kovalentní spojení 3' konce jednoho fragmentu DNA s 5' koncem jiného zajistí DNA ligáza



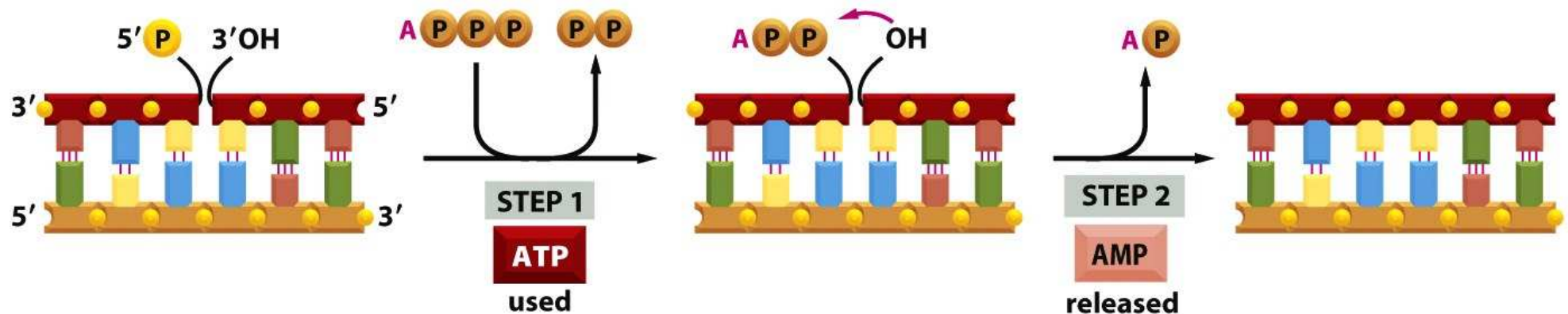
# Odstranění primerů

- RNA primery jsou odstraněny 5' -3' exonukleázovou a nahrazeny polymerační aktivitou DNA polymerázy I
- 3' OH konec jednoho Okazakiho fragmentu se spojí s 5' P koncem sousedního Okazakiho fragmentu DNA ligázou



# Funkce DNA ligázy

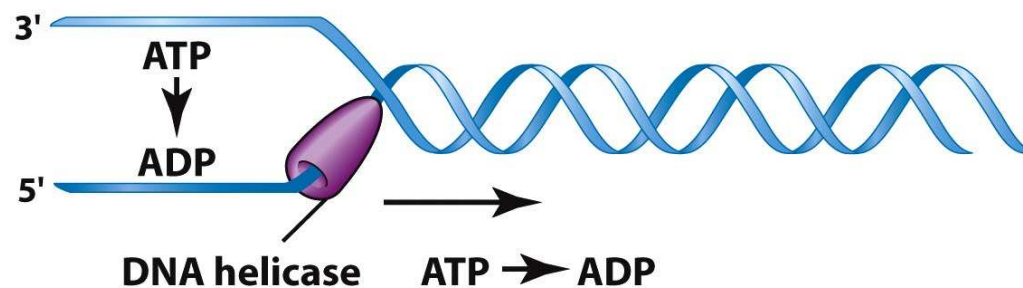
- DNA ligáza opravuje "zářezy" v cukr-fosfátové kostře DNA, tj. porušené fosfodiesterové vazby
- ATP se přechodně připojí k volnému 5' P
- uvolněním AMP se obnoví kovalentní vazba v řetězci



# Rozvíjení dvoušroubovice před replikační vidlicí

- podmínka párování přicházejících deoxyribonukleozidtrifosfátů s templátem
- dvoušroubovice je však stabilní (pro denaturaci je potřeba teplota blízká teplotě varu)
- otevírání dvoušroubovice napomáhají 2 typy replikačních proteinů:
  - **DNA helikázy**
  - **proteiny vážoucí jednořetězcovou DNA**
  - **DNA topoizomerázy**

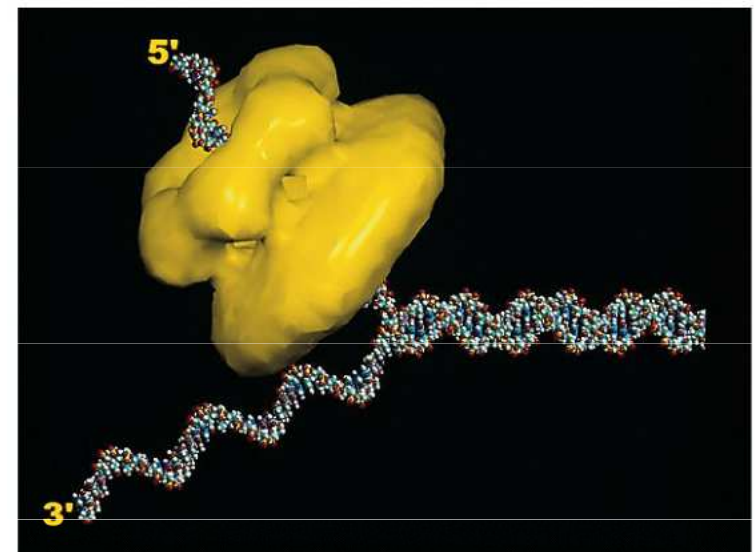
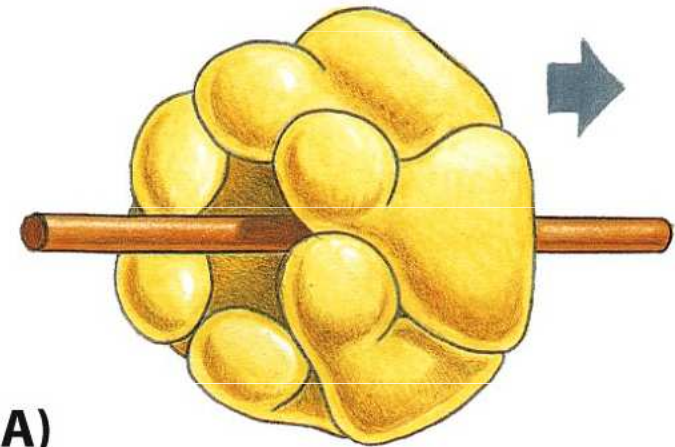
**DNA helicase catalyzes the unwinding of the parental double helix.**





# DNA helikázy

- tvoří šestipodjednotkové válce, které obklopují jednořetězcovou DNA
- vážou a hydrolyzují ATP a díky tomu se po jednořetězcové DNA pohybují
- když narazí na oblast dvouřetězcové DNA, pokračují ve svém pohybu, přičemž odtlačují řetězce dvoušroubovice od sebe
- existují helikázy pohybující se ve směru 5' - 3' i 3' - 5'

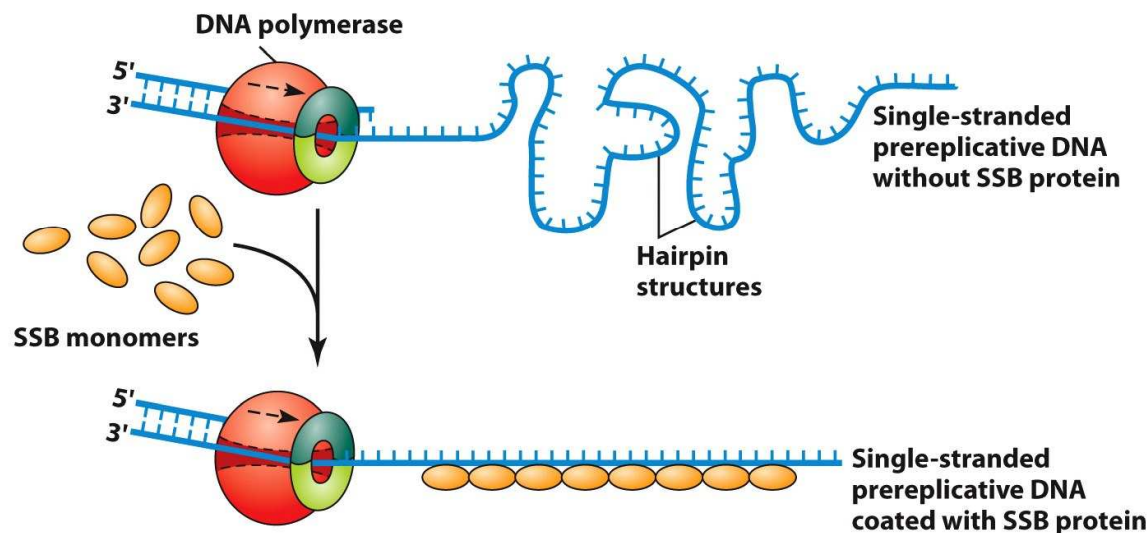




# Proteiny vážoucí jednořetězcovou DNA (SSB proteiny)

- pevně se vážou na jednořetězcové úseky DNA vzniklé působením helikáz, aniž by blokovaly báze, které tak zůstávají k dispozici pro párování
- pomáhají helikázám tím, že stabilizují jimi vytvořené jednořetězce
- brání náhodnému intramolekulárnímu párování (tvorbě vlásenek), které by komplikovaly replikaci DNA
- na DNA se vážou kooperativním způsobem (vazba 1 monomeru stimuluje vazbu druhého)

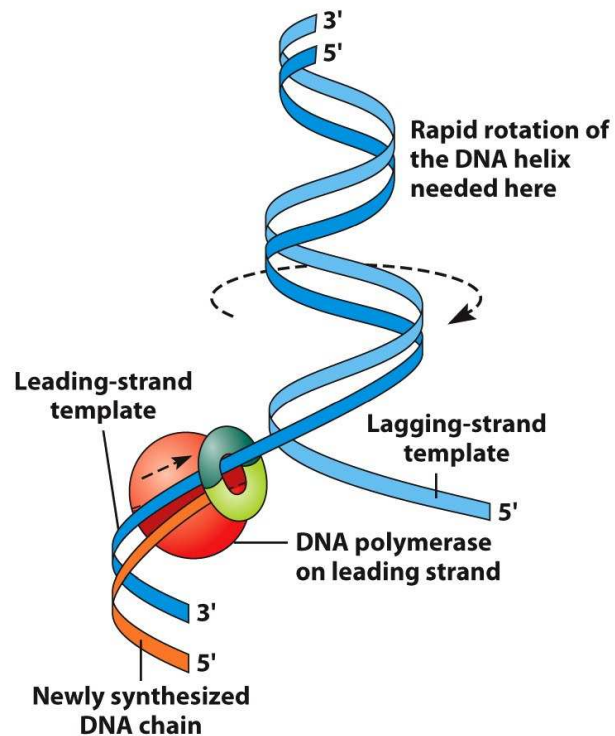
Single-strand DNA-binding (SSB) protein keeps the unwound strands in an extended form for replication.



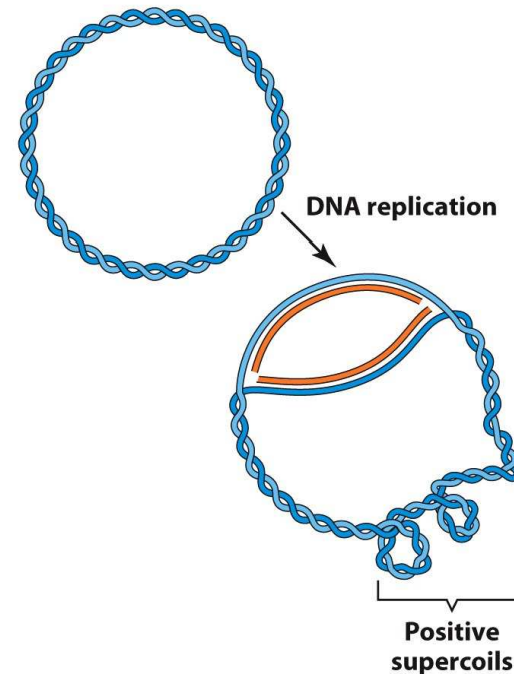
# DNA topoizomerázy

- katalyzují přechodné zářezy v DNA buď v jednom (topoizomerázy I) nebo obou vlákních (topoizomeráza II)
- DNA se před replikační vidličkou otáčí díky rozvíjení šroubovice helikázami
- bez přerušení vláken DNA topoizomerázami by rozvíjení DNA vedlo k tvorbě pozitivních nadšroubovicových závitů

To unwind the template strands in *E. coli*, the DNA helix in front of the replication fork must spin at 3000 rpm.



Without a swivel or axis of rotation, the unwinding process would produce positive supercoils in front of the replication forks.

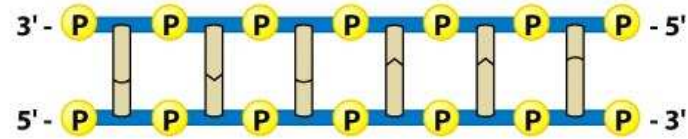


# DNA topoizomeráza I

- katalyzuje přechodné zářezy v jednom vlákně DNA:
- kovalentní připojení enzymu k jednomu z fosfátů v DNA
- DNA se může otočit kolem své osy
- obnovení dvoušroubovice

STEP  
1

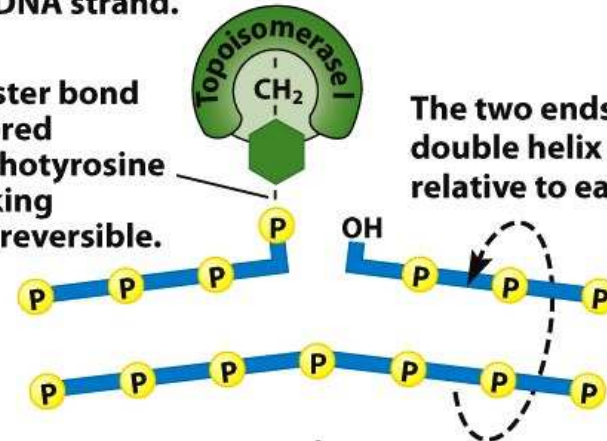
One end of the DNA double helix cannot rotate relative to the other end.



STEP  
2

DNA topoisomerase I covalently attaches to a DNA phosphate, thereby breaking a phosphodiester linkage in one DNA strand.

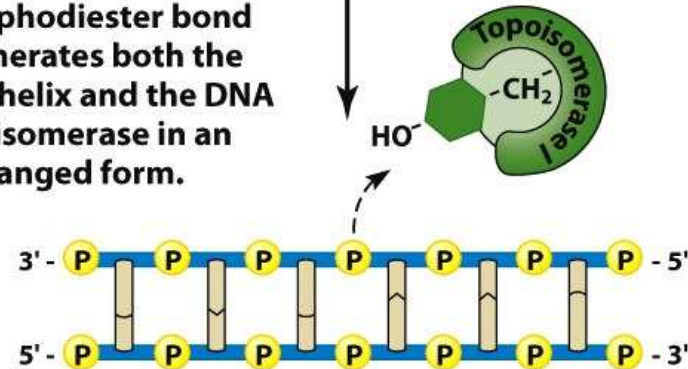
The original phosphodiester bond energy is stored in the phosphotyrosine linkage, making the reaction reversible.



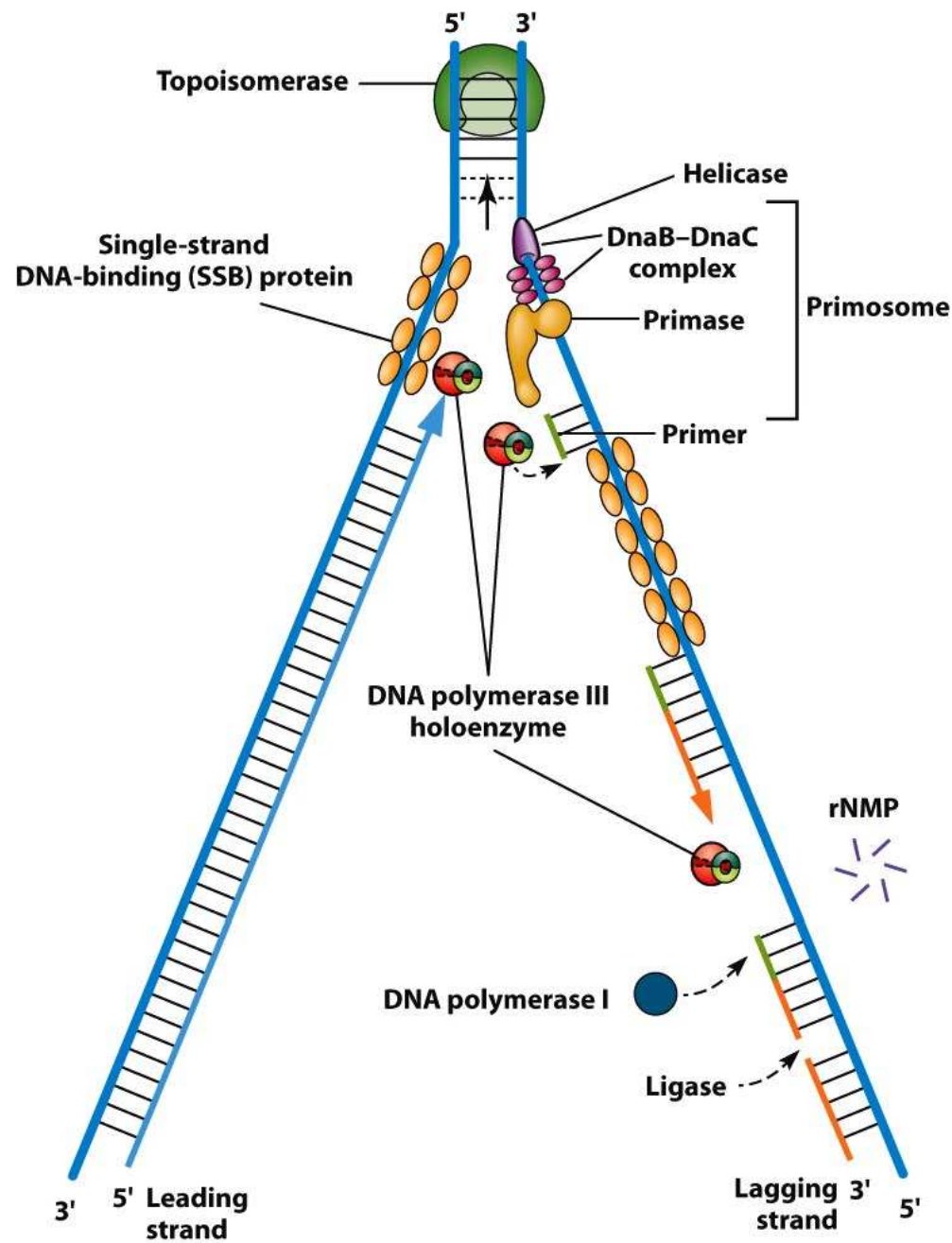
The two ends of the DNA double helix can now rotate relative to each other.

STEP  
3

Re-formation of the phosphodiester bond regenerates both the DNA helix and the DNA topoisomerase in an unchanged form.



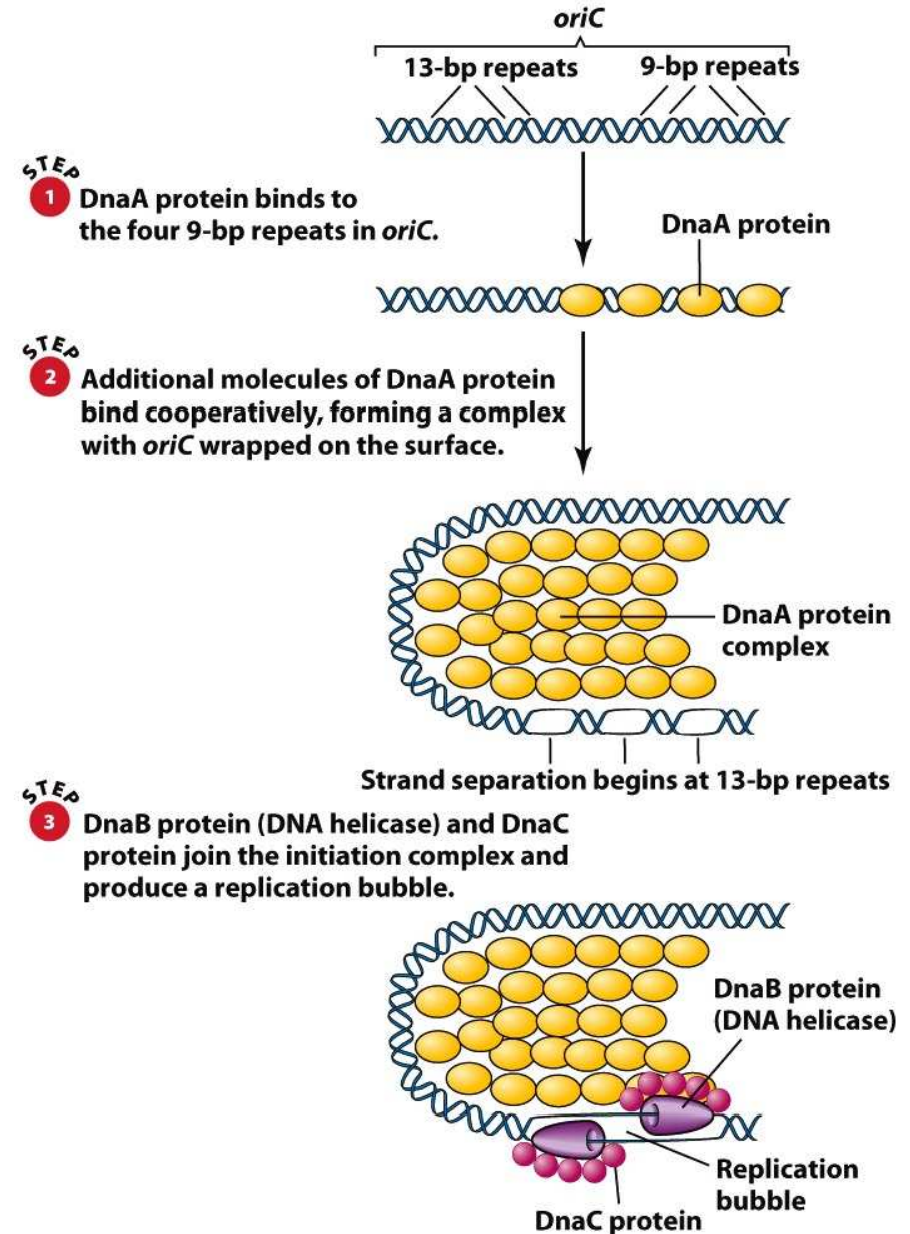
# Replikační aparát *E. coli* - shrnutí





# Průběh replikace DNA v *E. coli*

- v *oriC* se tvoří **replikační bublina** díky interakci se specifickými proteiny (tzv. *prepriming proteins*) - vzniká iniciační komplex
- po připojení DNA helikázy, SSB proteinu a DNA gyrázy (forma DNA topoizomerázy II) k iniciačnímu komplexu vzniká **replikační vidlice**



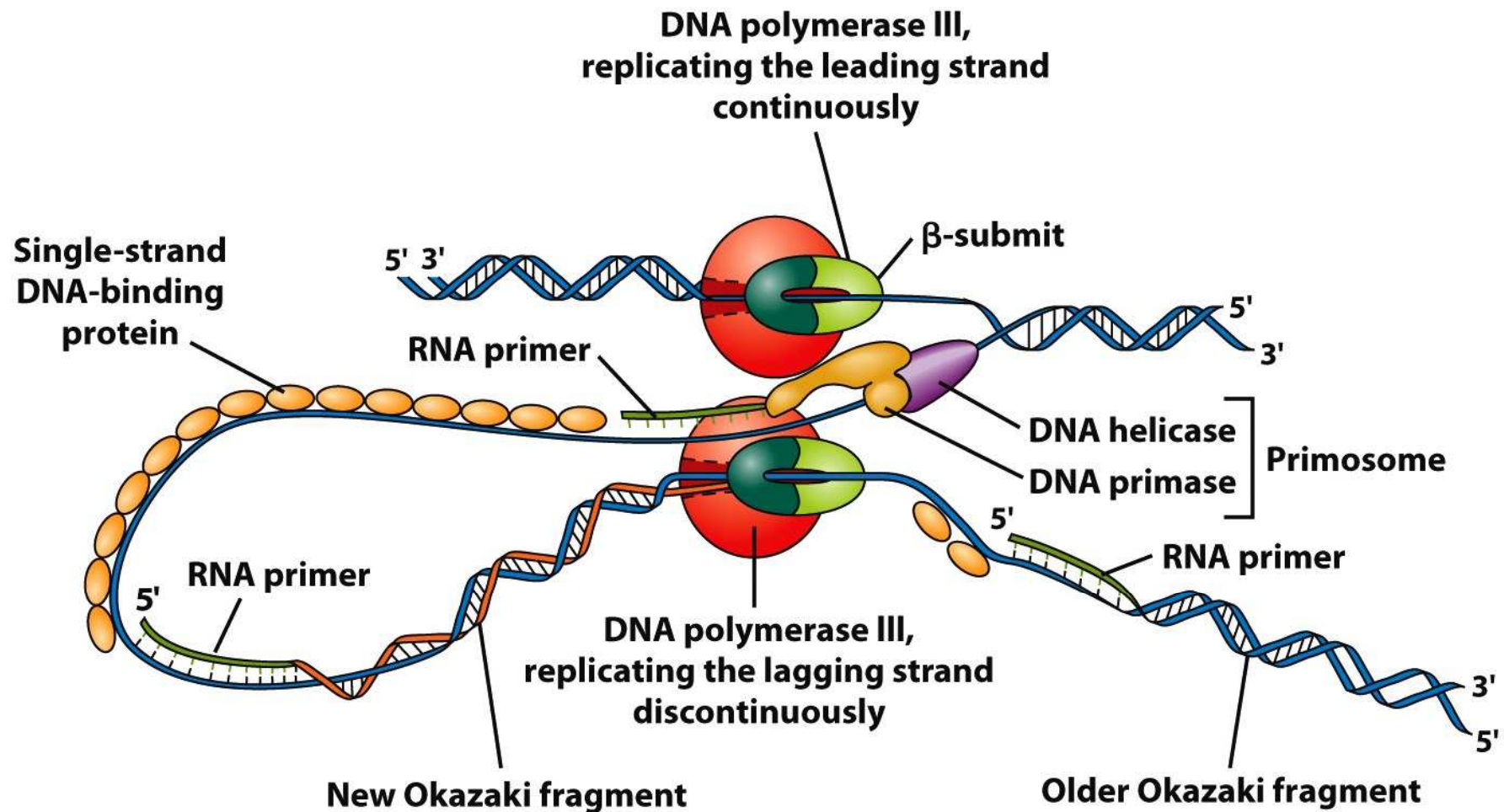
# Průběh replikace DNA v *E. coli*

- v replikační vidlici dojde k iniciaci replikace působením **DNA primázy**, která katalyzuje syntézu **RNA primerů**
- iniciaci Okazakiho fragmentů zajišťuje proteinový komplex, tzv. **primozom** (obsahuje DNA primázu a helikázu)
- RNA primery prodlužuje **DNA polymeráza III**
- **DNA topoizomerázy** vytvářejí v DNA přechodné zářezy, aby se DNA nesmotávala
- proteiny vážoucí jednořetězce (**SSB**) pokrývají rozvinutou DNA
- RNA primery jsou nahrazeny DNA působením **DNA polymerázy I**
- jednořetězcové zářezy jsou odstraněny **DNA ligázou**
- obnoví se složení DNA (negativní nadšroubovicové vinutí) působením **DNA gyrázy**



# Replizom *E. coli*

úplný replikační aparát, který se pohybuje podél molekuly DNA v replikační vidlici



# Replikace DNA otáčivou kružnicí

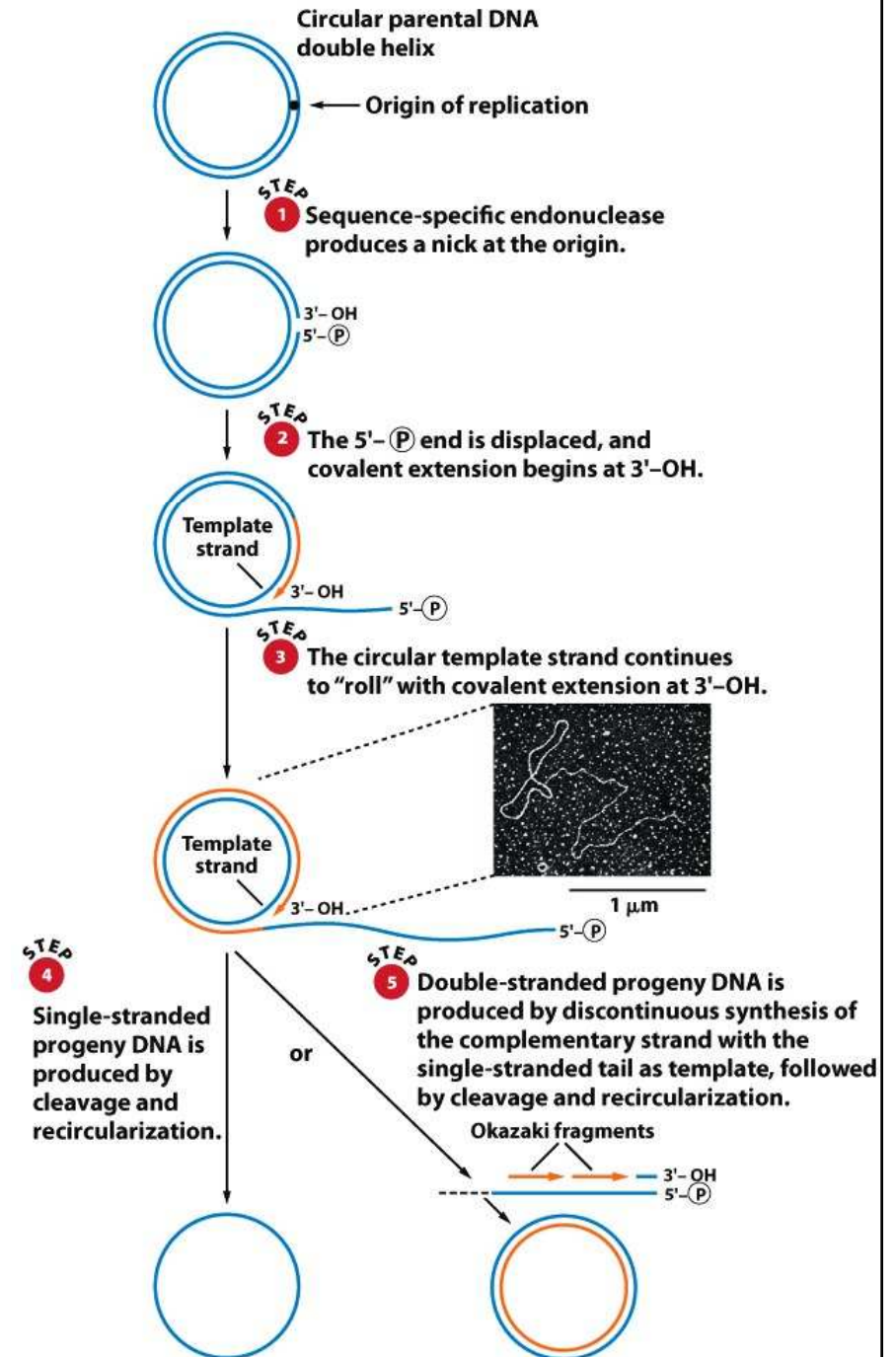
- používaná viry pro duplikaci svých genomů
- bakteriemi pro přenos DNA z donora do recipienta
- obojživelníky při amplifikaci extrachromozomálních DNA nesoucích geny pro rRNA

## Princip

- mechanismus replikace kruhových molekul DNA
- jedno parentální kruhové vlákno zůstává intaktní a otáčí se a zároveň slouží jako templát pro syntézu nového komplementárního vlákna

# Replikace DNA otáčivou kružnicí

- iniciace: sekvenčně specifická endonukleáza štěpí jedno vlákno DNA v místě ori
- neporušené templátové vlákno se otáčí kolem své osy a zároveň se vytěsňuje 5' konec z kruhové struktury
- kovalentní prodlužování nastává v od 3' OH konce naštěpeného vlákna
- replikace DNA je úplná při otáčce templátu o 360°
- mohou vznikat DNA dvou typů:
  - jednořetězcová kruhová (po štěpení lineární DNA v oblasti ori a následné cirkularizaci)
  - dvouřetězcová kruhová (ssDNA se použije pro syntézu dsDNA, která se cirkularizuje)

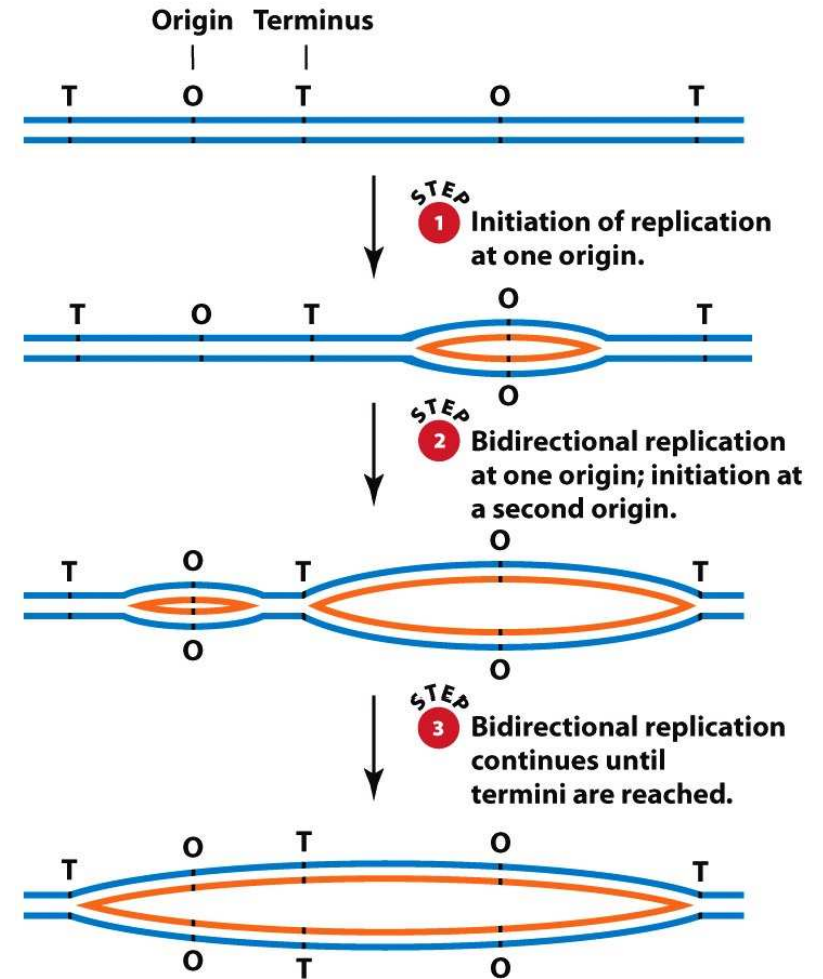


# Replikace eukaryotických chromozomů

- základní principy platné stejně jako u prokaryot

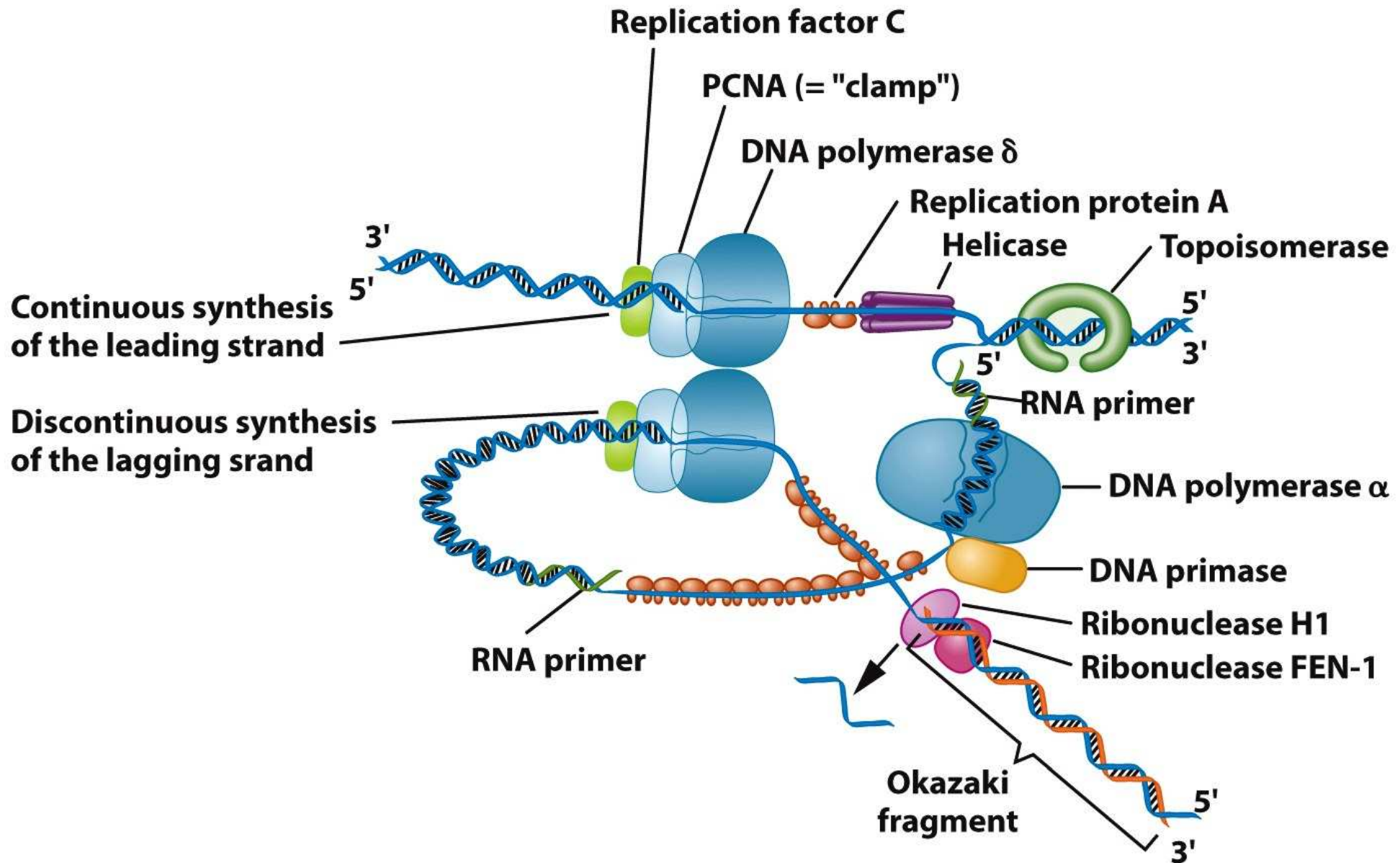
Odlišnosti od prokaryot:

- RNA primery a Okazakiho fragmenty jsou kratší
- syntéza DNA probíhá jen v určité fázi buněčného cyklu (S fázi)
- přítomnost mnoha počátků replikace (ori) - řádově 10 000
- více typů DNA polymeráz



Diagrammatic interpretation of the replication of the DNA molecules visualized in (a) and (b).

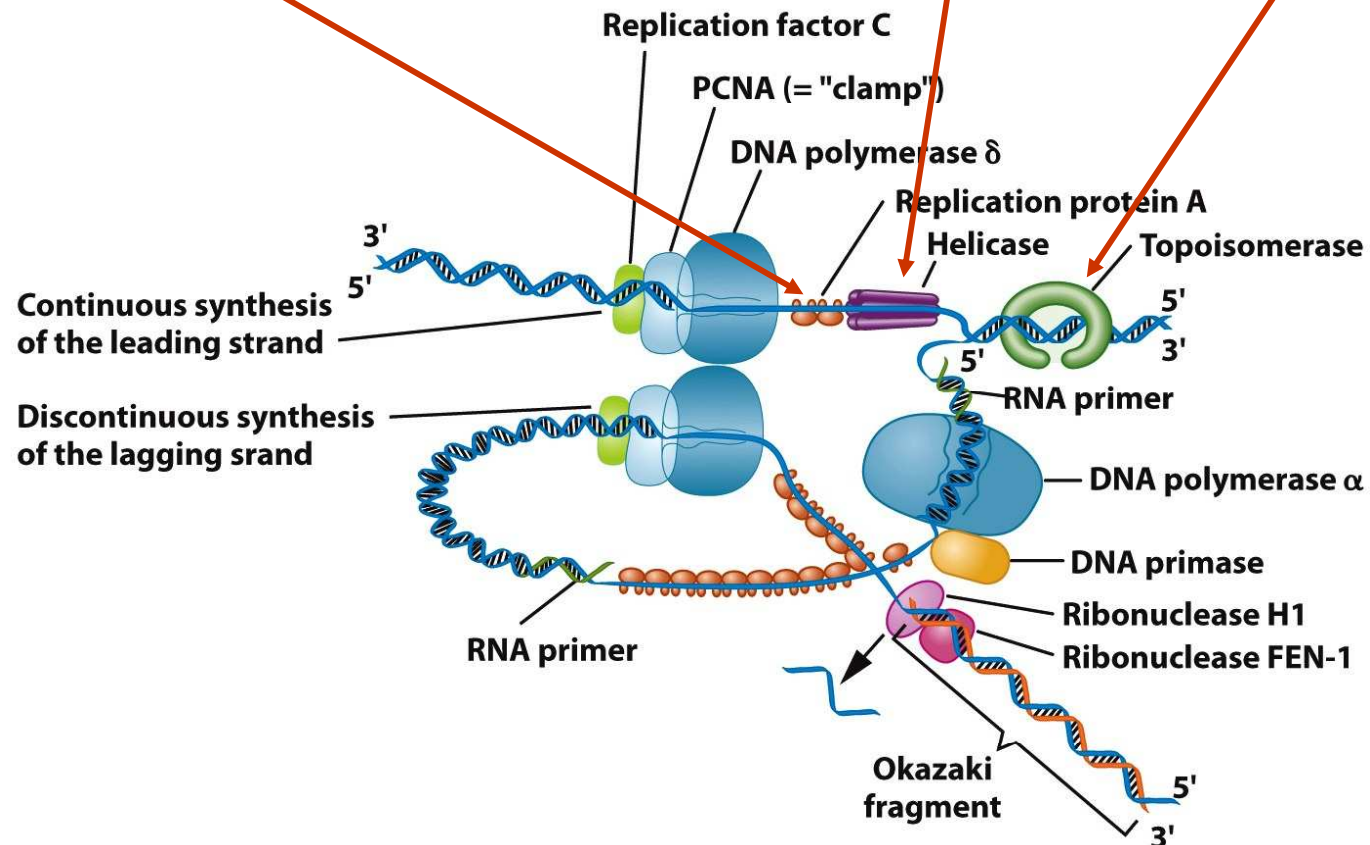
# Složky eukaryotického replizomu





# Složky eukaryotického replizomu

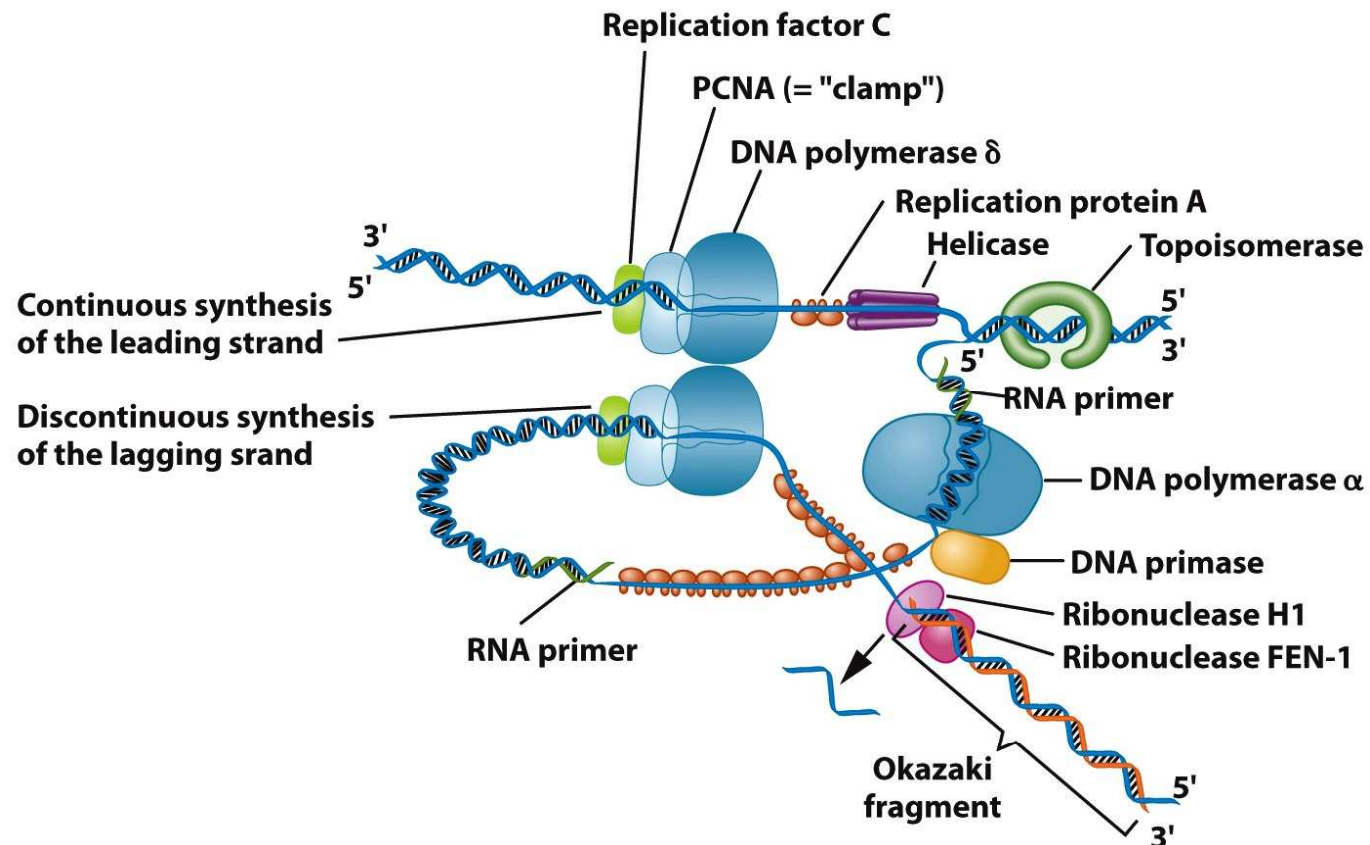
- rozvíjení šroubovice vyžaduje aktivitu **DNA helikázy** a **DNA topoizomerázy**
- rozvinuté řetězce se obklopují proteinem vážoucím jednořetězce - **Replikačním proteinem A (Rp-A)**





# Složky eukaryotického replizomu

- replikace se účastní 3 různé DNA polymerázy: Pol  $\alpha$ , Pol  $\delta$  a Pol  $\epsilon$
- alespoň dvě (a možná všechny 3) DNA polymerázy se vyskytují v jednom replizomu



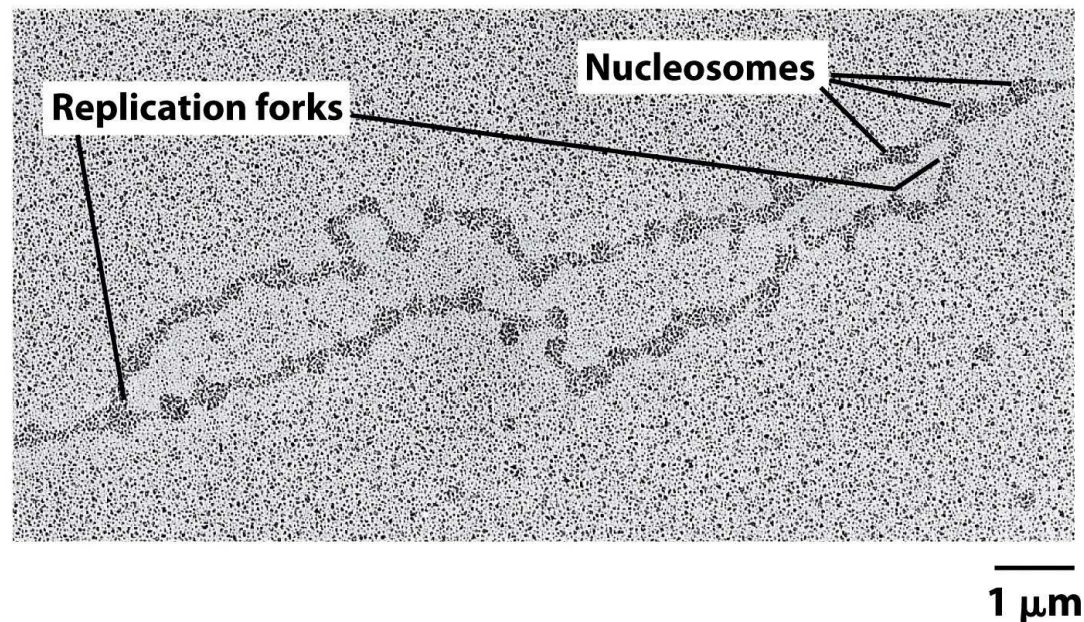
# Korektorská funkce eukaryotických DNA polymeráz

- DNA polymerázy  $\delta$  a  $\epsilon$  — mají 3′-5′ exonukleázovou aktivitu pro opravy syntetizované DNA, ale nemají 5′-3′ exonukleázovou aktivitu pro odstranění RNA primerů
- RNA primery odstraňují samostatné enzymy: ribonukleáza HI a ribonukleáza FEN1
- mezery zaplňuje Pol  $\delta$  a zářezy DNA ligáza

# Duplikace nukleozomů v replikačních vidlicích

EM: nukleozomy si udržují svou strukturu i vzájemnou vzdálenost na obou stranách replikační vidličky

**Nucleosome spacing in replicating chromatin.**



- nukleozomy se rozkládají a zase rychle skládají, aby umožnily duplikaci DNA
- histony se syntetizují preferenčně během S fáze

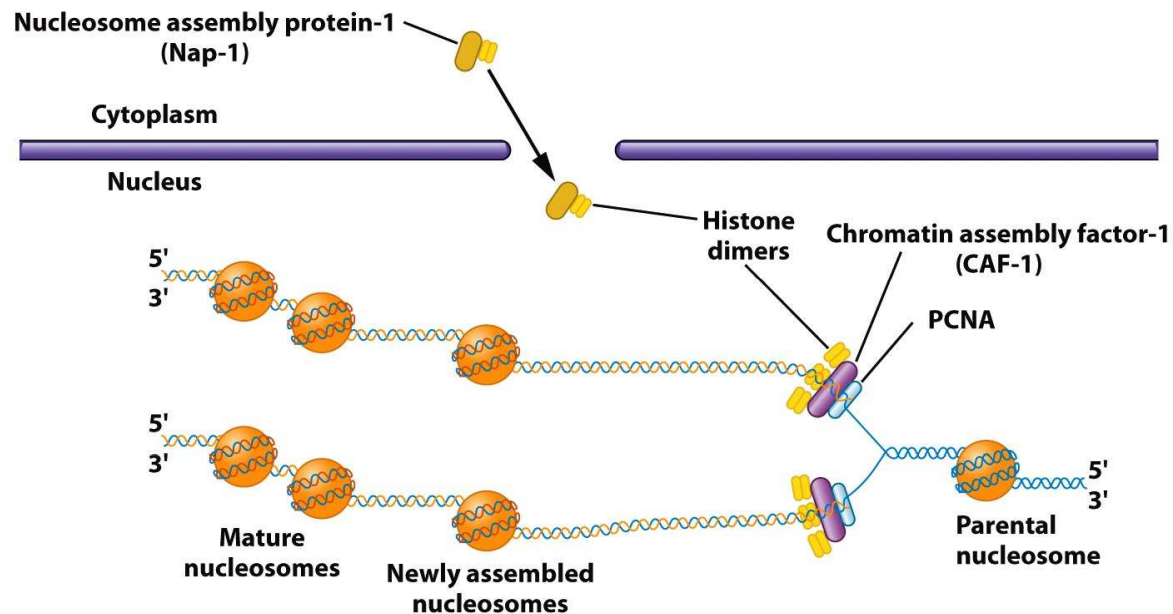
# Rozklad a sestavení nukleozomů během replikace DNA

Účast specifických proteinů:

**Nap-1** (nucleosome assembly factor 1): zajišťuje přenos histonů z místa jejich syntézy v cytoplasmě do jádra

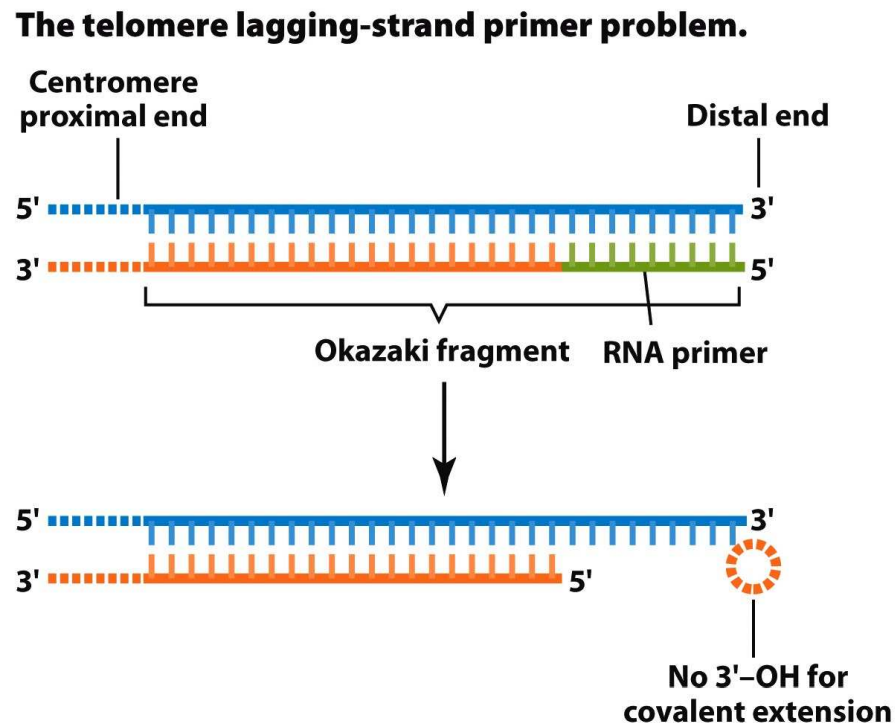
**CAF-1** (chromatin assembly factor 1): zajišťuje přenos histonů do správných míst na chromozomech, kde mají vytvořit nukleozomy, váže se na **PCNA**

## Nucleosome assembly during chromosome replication.



# Replikace konců chromozomů: telomeráza

- DNA polymerázy nedokážou replikovat poslední segment opožd'ujícího se vlákna DNA lineárního chromozomu

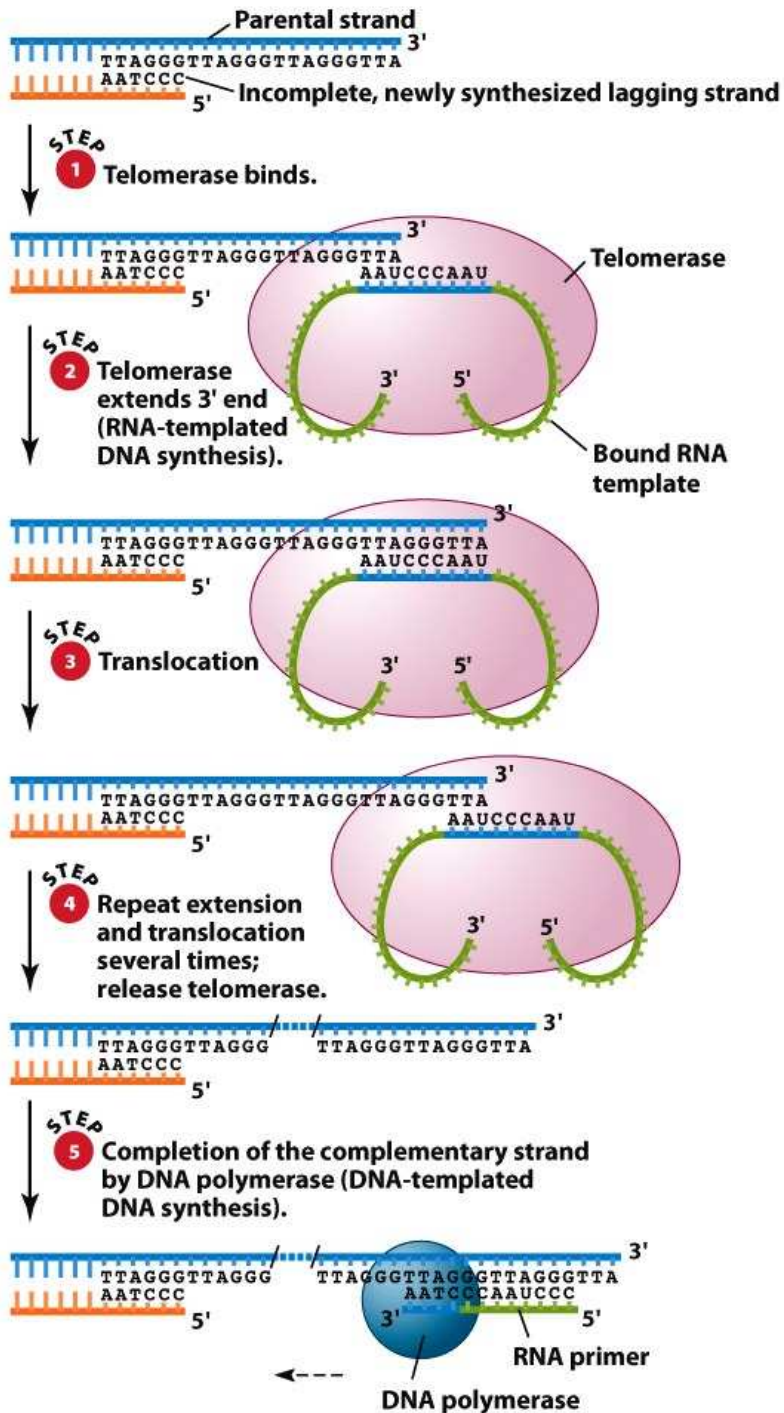


- přidání koncových úseků (telomer) zajišťuje speciální mechanismus, který je založen na aktivitě enzymu **telomerázy**



# Telomeráza řeší problém replikace konců chromozomů

Telomerase resolves the terminal primer problem.



- zabraňuje zkracování konců chromozomů během každého replikačního cyklu
- obsahuje RNA
- váže se na 3' přechýlající konec a prodlužuje jej ve směru 5' - 3' přidáním několika telomerových sekvencí
- telomerázová RNA slouží jako primer pro DNA polymerázu, která zajistí syntézu komplementárního vlákna



# Délka telomer a stárnutí

- většina somatických buněk nemá telomerázovou aktivitu (na rozdíl od buněk pohlavních) - telomery se postupně zkracují
- lidské somatické buňky pěstované v kultuře projdou jen omezeným počtem dělení (20 - 70 generací) - pak nastane stárnutí a smrt
- koreluje délka telomer a počet buněčných dělení předcházejících stárnutí a smrt
- vzácně se stane, že somatické buňky začnou v kultuře neomezeně proliferovat (=růst a dělit se): na rozdíl od svých předchůdců mají telomerázovou aktivitu
- analogie - nádorové buňky: snaha o potlačení zvýšené aktivity telomerázy

# Progerie

- dědičná onemocnění typická předčasným stárnutím (např. **Hutchinson-Gilfordův syndrom**, **Wernerův syndrom**)
- příznaky - předčasná plešatost, vrásčitost, apod) se objevují krátce po narození
- smrt nastává před 20 rokem věku (HGS) nebo před 40 rokem věku (WS)
- v obou případech jsou v somatických buňkách zkráceny telomery a tyto buňky mají v kultuře sníženou proliferační schopnost



Patnáctiletý pacient postižený progerií

## Take home message

- velké molekuly DNA eukaryotických chromozomů se replikují obousměrně z počátků replikace, kterých je v chromozomech velký počet
- v každé replikační vidlici eukaryot jsou alespoň dvě DNA polymerázy ( $\alpha$ ,  $\delta$ , a/nebo  $\epsilon$ )
- telomery jsou specifické koncové sekvence na koncích chromozomů, které se ke koncům chromozomů připojují telomerázou