

# Vorbereitung – Replikation von Genomen I

Damit nach einer Zellteilung beide Tochterzellen die gesamte genetische Information enthalten, muss die DNA während der S-Phase verdoppelt werden. Das heisst, dass in einem Prozess, den man DNA-Replikation nennt, von jedem DNA-Molekül eine identische Kopie angefertigt wird. Bereits bei der Entdeckung der DNA-Struktur erwähnten Watson und Crick die Bedeutung der Basenpaarung in der Doppelhelix für die Vervielfältigung der DNA. Bei der DNA-Replikation dient jede der Einzelketten der Doppelhelix als Vorlage für eine neue komplementäre Einzelkette, sodass aus einem Paar zwei Paare von Doppelhelices entstehen.

Diese Lektion erklärt Ihnen den Ablauf der DNA-Replikation. Sie lernen die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen kennen und erfahren, welche Unterschiede bei Pro- und Eukaryoten bestehen.

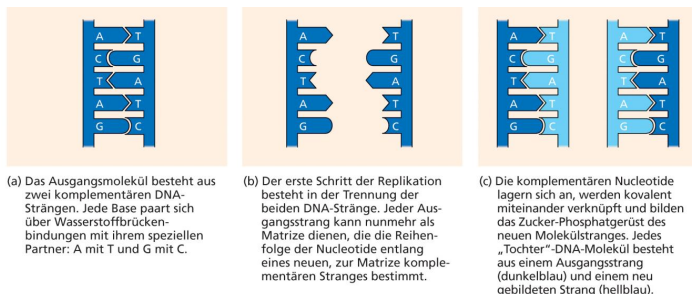
## Lernziele der Lektion

- Sie können den semikonservativen Prozess der DNA-Replikation beschreiben.
- Sie können erklären, warum eine kontinuierliche Synthese beider DNA-Stränge nicht möglich ist.
- Sie können erklären, wie sich die Replikation von leading- und lagging-Strang unterscheidet.
- Sie können die Rolle der Enzyme erklären, die an der Replikation beteiligt sind.
- Sie können die Begriffe ORI und Okazaki-Fragmente definieren.

## Ein Modell für die DNA-Replikation

Die DNA-Replikation erfolgt nach dem Modell der semikonservativen Replikation. Das bedeutet, dass jede neue Doppelhelix aus einem Vorlagenstrang und einem neu synthetisierten Strang besteht (Abb. 16.9). Bei der Replikation wird die DNA-Doppelhelix in ihre zwei Einzelstränge entwunden, von denen jeder Einzelstrang als Vorlage für die Synthese eines dazu komplementären Stranges dient.

Die Grundlage für diesen Prozess bildet die Komplementarität der DNA-Doppelhelix. Adenin bindet über zwei Wasserstoffbrücken Thymin, während Guanin Cytosin über drei Wasserstoffbrücken bindet. Diese Basenpaare werden Watson-Crick-Basenpaare genannt.



**Abbildung 16.9: Ein Modell der DNA-Replikation: das Prinzip.** In dieser vereinfachten Darstellung ist ein kurzes Stück eines DNA-Moleküls entwunden und in der Art einer Leiter dargestellt. Die Seitenteile der Leiter symbolisieren das Zucker-Phosphat-Gerüst der DNA-Stränge. Die Sprossen sind die Basenpaare. Einfache, abstrahierte geometrische Formen stellen die mit den entsprechenden Buchstaben bezeichneten verschiedenen Basen dar. Die dunkelblaue Farbe kennzeichnet die Stränge des Ausgangsmoleküls, die hellblaue Farbe diejenigen der neu synthetisierten DNA.

## Mechanismus der DNA-Replikation

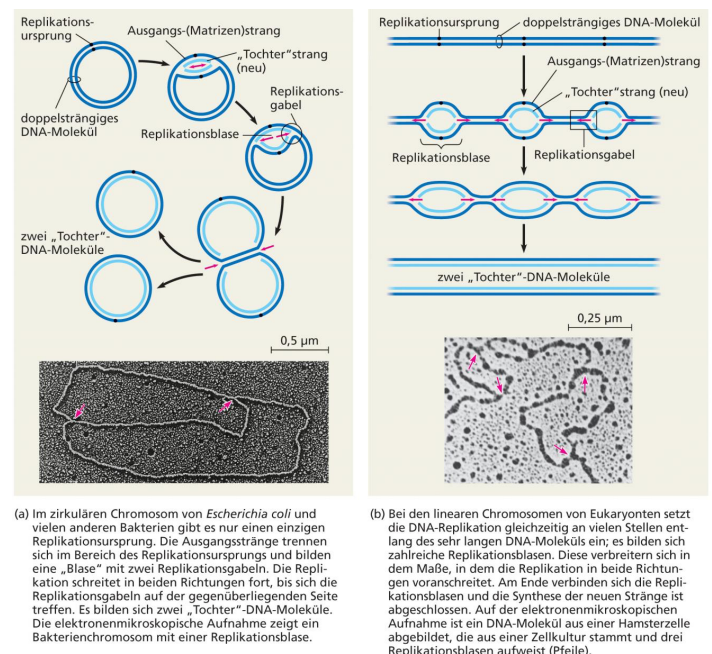
Der Replikationsmechanismus funktioniert bei Eukaryoten ähnlich wie bei Prokaryoten. Der offensichtlichste Unterschied zwischen Prokaryoten und Eukaryoten bei der Replikation ist die

Grösse der Genome. Das Genom eines typischen Bakteriums ist ca.  $5 \times 10^6$  Basenpaare gross und liegt in Form eines einzelnen, zirkulären DNA-Moleküls vor. Im Vergleich dazu umfasst das diploide menschliche Genom  $6.4 \times 10^9$  Basenpaare, verteilt auf 46 lineare Chromosomen.

Das Video im Online-Kurs gibt Ihnen einen ersten Überblick über den Mechanismus der Replikation. Ausserdem erhalten Sie eine kurze Einführung in die Reparaturmechanismen während der Replikation, die in der Vorlesung vertieft besprochen werden.

## Der Beginn der Replikation

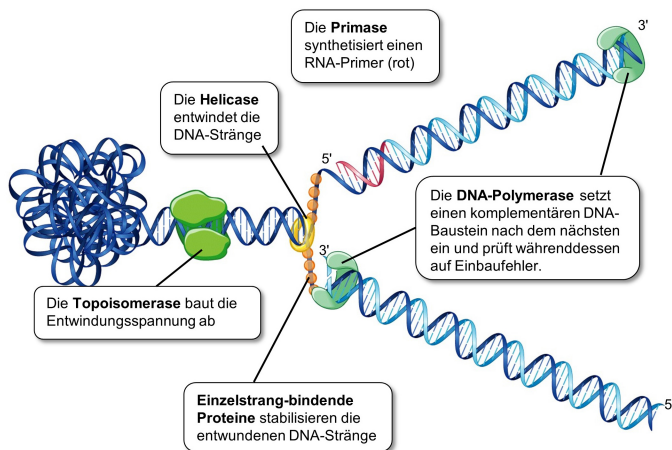
Die Replikation beginnt am Replikationsursprung (*engl.* origin of replication; ORI). Der ORI stellt eine spezielle Sequenz dar, an die Proteine binden, woraufhin sich die DNA-Doppelhelix lokal in ihre Einzelstränge entwindet und eine Replikationsblase mit zwei Replikationsgabeln entsteht. Von hier aus schreitet die Replikation in beide Richtungen voran, der Prozess ist bidirektional.



**Abbildung 16.12: Replikationsursprünge bei *Escherichia coli* und bei Eukaryoten.** Die roten Pfeile zeigen die Richtung an, in die sich die Replikationsgabel bewegt und mit ihr die gesamte Replikation in jeder „Blase“.

Bakterielle Chromosomen besitzen nur einen ORI, von dort aus startet die Replikation, bis sich die beiden Replikationskomplexe wieder treffen und die DNA dupliziert ist (Abb. 16.12 links). Eukaryotische Chromosomen hingegen können mehrere hundert ORI besitzen, von denen aus die Replikation parallel startet (Abb. 16.12 rechts).

An den Replikationsgabeln wird die DNA von Helicasen in die Einzelstränge entwunden und durch Einzelstrang-bindende Proteine auseinandergehalten (Abb. 4). Beim Entwinden der Stränge durch die Helicase entsteht eine „Überdrehung“ der DNA stromabwärts, wie bei zwei ineinandergewundenen Schnüren, die man an den Enden auseinanderzieht. Die so entstandene Spannung wird mithilfe des Enzyms Topoisomerase gelöst, indem es das Rückgrad eines Strangs bricht und die Stränge nach einer Entwindung wieder kovalent verknüpft.



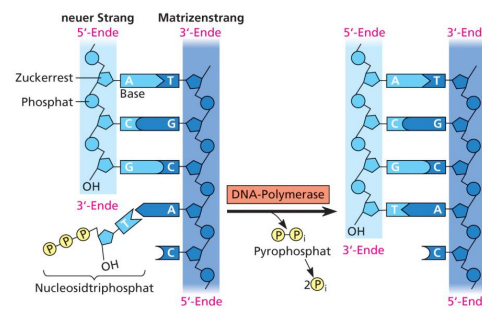
**Abbildung 4: Proteine der DNA-Replikation.** (adaptiert von Abbildung 12.8 How Life Works, Freeman and Company)

## Die DNA-Synthese

Die durch das Entwinden der Doppelhelix zugänglich gemachten DNA-Einzelstränge in der Replikationsblase dienen als Matrizen (Vorlagen) für die Synthese komplementärer Stränge. Zuerst synthetisiert die Primase (eine RNA-Polymerase) einen Primer von 5' nach 3'. Erinnern Sie sich, dass ein Primer eine kurze einzelsträngige Sequenz ist, die an den Matrizenstrang bindet. Sie haben DNA-Primer bereits bei der DNA-Sequenzierung kennengelernt; beachten Sie, dass bei der DNA-Replikation aber RNA-Primer verwendet werden. Dieses kurzen zur Matrizen-DNA komplementären RNA-Fragmente bilden den Ausgangspunkt der DNA-Synthese. Die DNA-Polymerase III setzt an der 3'-OH-Gruppe des Primers (3'-Ende) an und beginnt von 5' nach 3' die komplementären Desoxyribonucleotide kovalent zu verknüpfen. Die Bausteine liegen als Desoxyribonucleosidtriphosphate vor. Beim Einbau in den wachsenden DNA-Strang wird Pyrophosphat frei, das zu zwei Phosphaten hydrolysiert wird. Diese beiden exergonen Schritte liefern die Energie für die DNA-Synthese (Abb. 16.14).

Warum kann die DNA-Polymerase nur von 5' nach 3' den neuen Strang synthetisieren? Der Grund liegt in den unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der beiden Enden der Stränge und des neuen DNA-Bausteins. Betrachten Sie dazu noch einmal Abbildung 16.14. Am 5'-Ende eines Stranges befindet sich eine Phosphatgruppe, am 3'-Ende ein Zuckerrest. Am unteren Ende des hellblauen Strangs sehen Sie die 3'-OH-Gruppe, die nucleophil die Phosphatgruppe des neuen Bausteins angreifen kann, was zum Einbau eines neuen Nucleotids führt. Die Energie für diese Reaktion kommt von der Freisetzung von Pyrophosphat, ähnlich wie bei der Nutzung von ATP als Energieträger. Dies ist jedoch nicht am 5'-Ende des Stranges möglich. Auf der nächs-

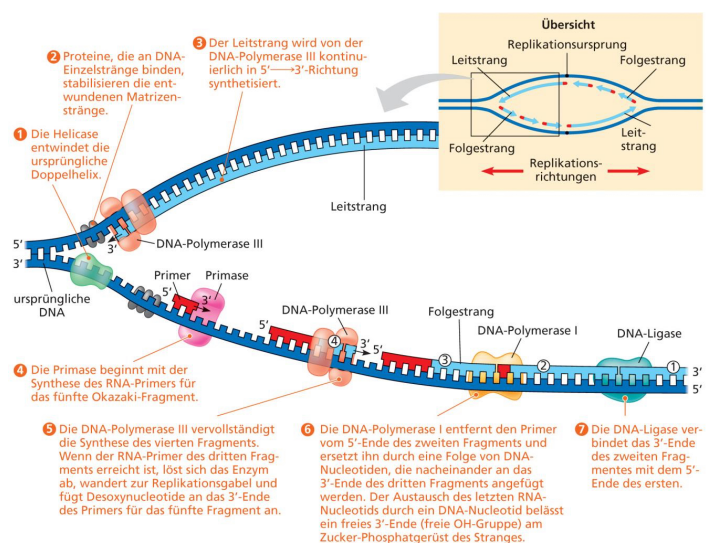
ten Inhaltsseite lernen Sie, welche Auswirkungen dies für den Ablauf der Replikation hat.



**Abbildung 16.14: Einbau eines Nucleotids in einen DNA-Strang.** Die DNA-Polymerase knüpft ein Nucleosidmonophosphat, das in Form eines Nucleosidtriphosphats bereitgestellt wird, an die OH-Gruppe am 3'-Ende eines sich verlängernden DNA-Stranges. Pyrophosphat wird freigesetzt und anschließend hydrolysiert.

## Die Natur der DNA-Replikation bedingt einen Leit- und einen Folgestrang

Die DNA-Synthese kann nur von 5' nach 3' erfolgen. Deshalb ergibt sich für die beiden DNA-Einzelstränge eine unterschiedliche Situation, da die Stränge antiparallel sind. Am Leitstrang (zeigt von 3' nach 5') ist eine kontinuierliche DNA-Synthese in Richtung der fortschreitenden Replikationsgabel möglich, denn die DNA-Polymerase kann den komplementären Strang kontinuierlich von 5' nach 3' herstellen. Am Folgestrang (zeigt von 5' nach 3') hingegen erfolgt die DNA-Synthese entgegen der Richtung, in die die Replikationsgabel fortschreitet. Dies verhindert eine kontinuierliche Synthese. Stattdessen synthetisiert die Primase stets Primer, von denen ausgehend die DNA-Polymerase III kurze DNA-Fragmente bis zum nächsten Primer synthetisiert. Diese DNA-Segmente werden Okazaki-Fragmente genannt. Die DNA-Polymerase I ersetzt im nächsten Schritt die RNA-Primer vor den Okazaki-Fragmenten mit DNA, worauf hin die DNA-Segmente auf dem Folgestrang von der Ligase zu einem durchgehenden Strang verknüpft werden. Abbildung 16.17 gibt ihnen einen zusammenfassenden Überblick über die an der DNA-Replikation beteiligten Enzyme.



**Abbildung 16.17: Zusammenfassung der bakteriellen DNA-Replikation.** Obwohl hier in der höheren Auflösung wieder nur eine Replikationsgabel abgebildet ist, zeigt die Übersicht oben rechts, dass die Replikation für gewöhnlich gleichzeitig an zwei Gabeln erfolgt, die sich an den beiden Enden einer Replikationsblase befinden. Die Übersicht zeigt jeden Tochterstrang in seiner Gesamtheit, so dass zu erkennen ist, dass die eine Hälfte kontinuierlich gebildet wird (Leitstrang), während die andere Hälfte in Fragmenten synthetisiert den Folgestrang bildet.

## Die Enzyme der Replikation bilden einen grossen Komplex

Obwohl die Enzyme der DNA-Replikation in Lehrbuchabbildungen zum besseren Verständnis häufig als einzelne Einheiten dargestellt werden, sieht die Realität doch etwas anders aus: Wie im folgenden Video dargestellt, bilden die Enzyme einen

einzelnen grossen Komplex, der über diverse Protein-Protein-Interaktionen zusammengehalten wird. Dieser Replikationskomplex bewegt sich nicht an der DNA entlang, sondern zieht die DNA durch den stationären Komplex, der in der Kernmatrix verankert ist. Im Video im Online-Kurs sehen Sie, wie der Leitstrang kontinuierlich synthetisiert wird, während der Folgestrang in Okazaki-Fragmenten, die grosse Schleifen bilden, hergestellt werden muss.