**Replikace DNA**



Replikovaná [DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA) musí být nejprve rozdělena na 2 jednovláknové řetězce

**Replikace DNA** je proces tvorby kopií molekuly [deoxyribonukleové kyseliny](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA) (DNA), čímž se [genetická informace](https://cs.wikipedia.org/wiki/Sekvence_DNA) přenáší z jedné molekuly DNA (templát, matrice) do jiné molekuly stejného typu (tzv. replika). Celý proces je [semikonzervativní](https://cs.wikipedia.org/wiki/Semikonzervativnost), tzn. každá nově vzniklá molekula DNA má jeden řetězec z původní molekuly a jeden nový, syntetizovaný. Při replikaci dochází pomocí složité [enzymatické](https://cs.wikipedia.org/wiki/Enzym) mašinérie k řazení [deoxyribonukleotidů](https://cs.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleotid) (nukleových bází, základních stavebních částic DNA) jeden za druhým, a to podle vzorové původní molekuly DNA. Výsledkem tohoto řazení nukleotidů je nakonec kompletní DNA daného organizmu, v podstatě identická kopie původní DNA.

Do tajů tohoto procesu začali vědci blíže pronikat až v [60.](https://cs.wikipedia.org/wiki/1960%E2%80%931969) a [70. letech](https://cs.wikipedia.org/wiki/1970%E2%80%931979) [minulého století](https://cs.wikipedia.org/wiki/20._stolet%C3%AD) a dodnes byly odhaleny do poměrně velkých podrobností molekulární pochody, jež se při replikaci odehrávají. Je například známo, že u [bakterií](https://cs.wikipedia.org/wiki/Bakterie) probíhá replikace poněkud odlišně, než u [eukaryotických](https://cs.wikipedia.org/wiki/Eukaryota) organizmů, jako je například [člověk](https://cs.wikipedia.org/wiki/%C4%8Clov%C4%9Bk), [rostliny](https://cs.wikipedia.org/wiki/Rostliny) či [houby](https://cs.wikipedia.org/wiki/Houby).

**Parametry**

Chybovost replikace DNA byla (u [bakterií](https://cs.wikipedia.org/wiki/Bakterie)) odhadnuta na jednu chybu za 109–1010 [nukleotidů](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleotid) Oprava DNA je zřejmě důvod, proč pracuje DNA polymeráza pouze v jednom směru (5'>3'), v opačném směru by po opravě špatně začleněného [nukleotidu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleotid) nemohla pokračovat elongace řetězce DNA.

Rychlost replikace genomu je u *[Escherichia coli](https://cs.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli%22%20%5Co%20%22Escherichia%20coli)* asi 50 000 [bází](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleov%C3%A1_b%C3%A1ze) za minutu, zatímco u [eukaryot](https://cs.wikipedia.org/wiki/Eukaryota%22%20%5Co%20%22Eukaryota) je mnohem nižší. U [pivní kvasinky](https://cs.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae) činí 3 600 bází za minutu, u [myši](https://cs.wikipedia.org/wiki/My%C5%A1) pouze 2 200 bází za minutu. Je tedy vidět, že ačkoliv mají eukaryota více [replikačních počátků](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek) (kvasinka 400, myš kolem 2 500), je přesto tempo replikace jejich genomu pomalejší. Kdyby byl u eukaryot k dispozici pouze jeden replikační počátek, trvalo by neúnosně dlouho, než by se celý genom replikoval: u člověka totiž rychlost DNA polymerázy činí pouhých 50 nukleotidů za sekundu. Celý lidský genom (~3,2 mld. párů bází = ~3,2 Gb) by se tak z jediného replikačního počátku replikoval ~740 dní.

 **Obecný průběh replikace DNA**

|  |
| --- |
| **Replikace DNA; zde u** [**eukaryot**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Eukaryota)**, ale situace je podobná i u** [**prokaryot**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Prokaryota) |
| DNA replication blank.svgPOPIŠ: [Primer](https://cs.wikipedia.org/wiki/Primer), [DNA polymeráza α](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_%CE%B1)[Okazakiho fragment](https://cs.wikipedia.org/wiki/Okazakiho_fragment)[Topoizomeráza](https://cs.wikipedia.org/wiki/Topoizomer%C3%A1za)[DNAligáza](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_lig%C3%A1za)[Primáza](https://cs.wikipedia.org/wiki/Prim%C3%A1za)[Helikáza](https://cs.wikipedia.org/wiki/Helik%C3%A1za), [SSB proteiny](https://cs.wikipedia.org/wiki/SSB_protein), [DNA polymeráza δ](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_%CE%B4) |

**Při replikaci** [**DNA**](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA) **vznikají** v typickém případě **z jedné** [**dvoušroubovice**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Dvou%C5%A1roubovice) **DNA dvě tyto dvoušroubovice.** Původní DNA se označuje jako ***matrice* či *templát*,** nově vytvořená DNA je někdy označována jako ***replika*.**

Replikace je přitom [semikonzervativní](https://cs.wikipedia.org/wiki/Semikonzervativnost), což znamená, že **každý nový DNA řetězec se skládá z jednoho původního vlákna a jednoho nového vlákna**. Do celého procesu je zapojeno mnoho enzymů, jako je především [**DNA polymeráza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za), dále však např. [**DNA ligáza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_lig%C3%A1za)**,** [**DNA primáza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Prim%C3%A1za)**,** [**helikáza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Helik%C3%A1za) **či** [**topoizomeráza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Topoizomer%C3%A1za)**.** **Každé z vláken původní dvoušroubovice je replikováno odlišným způsobem, což je způsobeno tím, že je molekula DNA tzv. antiparalelní**. Zjednodušeně řečeno, skládá se ze dvou vláken, každé však je orientováno opačným směrem.

**DNA polymeráza však dokáže pracovat pouze v jednom směru (5'—>3'),** což je v buňce vyřešeno elegantním způsobem. V každém případě však dochází k tomu, že je podle templátu (původní DNA) vytvářena nová DNA, která je k původnímu řetězci [komplementární](https://cs.wikipedia.org/wiki/Komplementarita). To znamená, že když je v původní DNA detekována báze [adenin](https://cs.wikipedia.org/wiki/Adenin), je do nové DNA přidán nukleotid obsahující [thymin](https://cs.wikipedia.org/wiki/Thymin) (a naopak, A a T k sobě patří). Pokud byl na templátové DNA nalezen například [guanin](https://cs.wikipedia.org/wiki/Guanin), je do nového řetězce přidán podle pravidel komplementarity [cytosinový](https://cs.wikipedia.org/wiki/Cytosin) nukleotid.

**Replikace je v základních rysech stejná u všech organizmů** a obecně je možné její průběh rozdělit do tří základních kroků:

* Iniciace – rozpletení dvoušroubovice DNA, vznik replikační vidlice a navázání enzymatického komplexu
* Elongace – přidávání nukleotidů a postup replikační vidlice
* Terminace – ukončení replikace

**Iniciace**



[Replikační vidlice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_vidlice); a: templátová DNA, b: vedoucí řetězec, c: spožďující se řetězec, d: replikační vidlice, e: primer, f: Okazakiho fragment

Replikace **nezačíná** na náhodném místě genomu, naopak toto místo je přesně určeno a označuje se jako [replikační počátek](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek). **Některé organizmy těchto počátků mají několik tisíc** (a tak vedle sebe při replikaci probíhá několik nezávislých polymerací), jednodušším organizmům s menším genomem stačí někdy pouze jeden replikační počátek.

K replikaci je na počátku potřeba krátká molekula [RNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/RNA) o délce 10–200 [nukleotidů](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleotid), tzv. [**primer**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Primer)**.** Tuto sekvenci vytváří speciální **enzym označovaný jako** [**primáza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Prim%C3%A1za). Primer se sice později odstraní a nahradí DNA, ale hraje významnou roli v iniciaci replikace. Celý replikační proces totiž začíná [nukleofilní](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleofil)m atakem 3'-[hydroxylové skupiny](https://cs.wikipedia.org/wiki/Hydroxyl) tohoto primeru na fosfátovou skupinu prvního [deoxyribonukleotidu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleotid). Dále se již **deoxyribonukleotidy vážou na 3' uhlík předchozího deoxyribonukleotidu a nikoliv na primer; ten tedy slouží jen jednorázově.** (to se však netýká opožďujícího se řetězce, viz kapitola „elongace“).

Vzniku replikační vidlice se účastní enzymy [**helikázy**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Helik%C3%A1za), schopné oddálit obě molekuly [dvoušroubovice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Dvou%C5%A1roubovice) a vytvořit charakteristickou strukturu ve tvaru písmene Y, aby mezi nimi vznikl prostor pro syntézu DNA. Udržet vlákna rozdělená pak pomáhají proteiny [SSB proteiny](https://cs.wikipedia.org/wiki/SSB_protein). Helikázy však sice oddálí obě vlákna, ale dvoušroubovice se na konci replikační vidlice čím dál tím více utahuje a vzniká zde příliš velký tlak. Tento problém řeší [**topoizomerázy**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Topoizomer%C3%A1za), jež jsou schopné přestřihnout jedno z vláken, uvolnit tlak a posléze ho opět slepit.

**Elongace**



**Enzym** [**helikáza**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Helik%C3%A1za) **rozmotává dvoušroubovici DNA, aby mohla DNA polymeráza postupovat podél řetězce.**

Poté, co je rozvinuta DNA a na vlákna přisednou [**DNA polymerázy**](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za), je možné začít samotnou replikaci. Aby v průběhu této činnosti DNA polymeráza pevně držela na svém místě, pomáhají jí k tomu tzv. [svorkové proteiny](https://cs.wikipedia.org/wiki/Sv%C3%ADrac%C3%AD_protein) (tvořící posuvnou svorku).

Důležité je upozornit, že **každé z vláken původní templátové DNA je replikováno odlišným způsobem.** Důvodem je skutečnost, že je **DNA polymeráza schopná pracovat jen ve směru 5'—>3', tedy od pátého uhlíku** [**deoxyribózy**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Deoxyrib%C3%B3za). Tento **enzym totiž umí připojit nové** [**nukleotidy**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleotid) **pouze na** [**3' uhlík**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Direkcionalita) **deoxyribózy**. Toto omezení poněkud komplikuje celý proces, protože **DNA je** [**antiparalelní**](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Antiparaleln%C3%AD&action=edit&redlink=1), tedy jeden řetězec směřuje 5'—>3' směrem, ale druhý 3'—>5' směrem. Buňky však tento problém řeší elegantně. **Po jednom řetězci (tzv. vedoucí řetězec**, čili [angl](https://cs.wikipedia.org/wiki/Angli%C4%8Dtina). *leading strand*) **postupuje DNA polymeráza** zcela **běžným způsobem**. **Druhý řetězec**, který je orientován ve směru 3'—>5', se označuje jako **opožďující** se řetězec ([angl](https://cs.wikipedia.org/wiki/Angli%C4%8Dtina). *lagging strand*). Tento řetězec však musí být kopírován rovněž v 5'—>3' směru (jinak to buňky neumí), a tak **DNA polymeráza replikuje tento řetězec po malých částech, tzv.** [**Okazakiho fragmentech**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Okazakiho_fragment) o délce asi 100–200 nukleotidů (ale asi 10krát delší jsou tyto fragmenty u prokaryot). **Na začátku každého Okazakiho fragmentu se musí pokaždé vytvořit nový RNA** [**primer**](https://cs.wikipedia.org/wiki/Primer)**, ten je později vystřihnut a Okazakiho fragmenty jsou pospojovány** [**DNA ligázou**](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_lig%C3%A1za) **do souvislého vlákna**, jež je od vedoucího (*leading*) řetězce k nerozeznání. Kvůli zvláštní replikaci na zpožďujícím se vlákně se také replikace označuje jako semidiskontinuální.

**Terminace**

Replikace končí tehdy, když je zhotovena kopie celé DNA. U bakterií se v tento okamžik sejdou obě replikační vidlice a splynou spolu, u eukaryot splývají replikační vidlice tehdy, když dosyntetizují „svou“ část genomu. Protože jsou však eukaryotické chromozomy lineární, DNA polymerázy nejsou schopné replikovat jejich koncové části, tzv. [telomery](https://cs.wikipedia.org/wiki/Telomera), a tak je replikovaná DNA nepatrně kratší, než původní. Po určitém počtu buněčných dělení by to začalo vadit ([Hayflickův limit](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Hayflick%C5%AFv_limit&action=edit&redlink=1" \o "Hayflickův limit (stránka neexistuje))); v praxi to však nepředstavuje problém, protože během [meiózy](https://cs.wikipedia.org/wiki/Mei%C3%B3za) se velikost telomer obnovuje pomocí enzymů [telomeráz](https://cs.wikipedia.org/wiki/Telomer%C3%A1za).

 **Rozdíly v průběhu replikace**

**U eukaryot**

Eukaryotické genomy jsou obecně větší než prokaryotické, čemuž musí být celý proces replikace přizpůsoben. Na rozdíl od bakterií, jež mají pouze jeden [replikační počátek](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek) (místo, odkud začíná replikace), mají eukaryota replikačních počátků více. U kvasinky [*Saccharomyces cerevisiae*](https://cs.wikipedia.org/wiki/Saccharomyces_cerevisiae) se tyto replikační počátky označují [ARS](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=ARS&action=edit&redlink=1) a je jich kolem 400 (u obojživelníků však jich je až 15 000). Z těchto replikačních počátků směřují oběma směry [replikační vidlice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_vidlice) ve tvaru písmene Y. Když se potkají dvě protijdoucí replikační vidlice, jednoduše dojde k jejich splynutí.

 Situace je komplikovanější, co se týká počtu [DNA polymeráz](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za). U eukaryot jich bylo nalezeno nejméně 15. [DNA polymeráza α](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_%CE%B1) obsahuje podjednotku, jež funguje jako [primáza](https://cs.wikipedia.org/wiki/Prim%C3%A1za), a je schopná vytvořit na začátku každého [Okazakiho fragmentu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Okazakiho_fragment) RNA primer, načež k němu přidá několik DNA nukleotidů. Poté zřejmě předá místo na 3' konci prodlužujícího se řetězce [DNA polymeráze δ](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_%CE%B4). Vedoucí řetězec je zřejmě rovněž načat DNA polymerázou α, ale na rozdíl od opožďujícího se řetězce se zde zřejmě předává vlákno [DNA polymeráze ε](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_%CE%B5) (ale stále o tom panují diskuse).

**U prokaryot**

Replikace u prokaryot je relativně dobře prozkoumaná, protože bakterie (a jejich menší genom) představují snadnější model než komplexní eukaryotické organizmy. Zásadní pro průběh replikace u prokaryot je skutečnost, že obvykle mají kruhovou molekulu DNA, tzv. [nukleoid](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleoid).

Bakterie [*Escherichia coli*](https://cs.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli) má jediný [replikační počátek](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek), a to v [genovém lokusu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Lokus_%28genetika%29) nazvaném [oriC](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek). Z tohoto místa se pohybují oběma směry [replikační vidlice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_vidlice), v nichž dochází k syntéze nových řetězců DNA podle vzoru původních řetězců. Hlavní polymerázou bakterií je [DNA polymeráza III](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_III) obsahující velké množství různých [podjednotek](https://cs.wikipedia.org/wiki/Podjednotka). Polymerázy [I](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_I) a [II](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za_II) hrají pouze méně významnou roli.

Protože z lokusu [oriC](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek) byly vyslány dvě [replikační vidlice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_vidlice) po [kruhové molekule DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/Nukleoid), tyto vidlice se logicky potkají přibližně „na půl cesty“ kolem dokola.

Replikace [mitochondriální DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/Mitochondri%C3%A1ln%C3%AD_DNA) a [plastidové DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/Plastidov%C3%A1_DNA) vykazuje značnou podobnost s replikací DNA u prokaryot.

**U virů** ( pro zajímavost)

[Viry](https://cs.wikipedia.org/wiki/Virus), které stojí na pomezí živého a neživého, mají poměrně specifický typ replikace DNA, odvíjející se od jejich [parazitického](https://cs.wikipedia.org/wiki/Parazitismus) způsobu života. Toto se netýká tzv. [RNA virů](https://cs.wikipedia.org/wiki/RNA_viry), protože u většiny z nich v jejich rozmnožovacím cyklu molekuly DNA vůbec nefigurují (u těch ostatních, např. u [retrovirů](https://cs.wikipedia.org/wiki/Retroviry), molekula DNA figuruje, ale nedochází k její replikaci [DNA polymerázou](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za)). Replikace DNA se tedy týká výhradně [DNA virů](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_viry). Některé DNA viry obsahují [jednovláknovou DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/Jednovl%C3%A1knov%C3%A1_DNA), a tak po infekci musí nejprve dojít k syntéze [komplementárního](https://cs.wikipedia.org/wiki/Komplementarita) vlákna, aby vznikla klasická [dvoušroubovice](https://cs.wikipedia.org/wiki/Dvou%C5%A1roubovice). U virů se vyskytuje poměrně velké množství dalších odchylek od běžného schématu DNA replikace. Co se týče [*Polyomaviru*](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Polyomavirus&action=edit&redlink=1), jenž infikuje eukaryotické buňky, jeho DNA je replikována téměř stejně jako vlastní eukaryotický genom. Důvod je prostý: viry často zneužívají hostitelské [DNA polymerázy](https://cs.wikipedia.org/wiki/DNA_polymer%C3%A1za) a celou jejich enzymatickou mašinérii. Jediný rozdíl spočívá v tom, že u *Polyomaviru* musí dojít k navázání tzv. [velkého T antigenu](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Velk%C3%BD_T_antigen&action=edit&redlink=1) (*large T-antigen*) na [replikační počátek](https://cs.wikipedia.org/wiki/Replika%C4%8Dn%C3%AD_po%C4%8D%C3%A1tek).

 Pro sebe upravil Milan Haminger, BiGy Brno 2017, zdroj wikipedie