

Tái bản SVNS

Nhờ Quy tắc bắt cặp Purine-Pyrimidine trng cấu trúc DNA xoắn kép của Watson + Crick

→ Gọi ý:

Mạch Khôn = "Mạch mẹ" $\xrightarrow[\text{+ tổng hợp}]{\text{làm khuôn}}$ Mạch DNA mới (Mà con thì phải giống mẹ :))
Mạch tồn tại từ đó

Phần lớn trng tb, DNA mạch kép đóng vai trò là mạch khuôn → RNA / DNA

Ở một số Virus, RNA đóng vai trò mạch khuôn tổng hợp → RNA / DNA bổ sung

Cơ chế

Bảo tồn: 2 mạch con mang thông tin d' dạng trình tự nucleotide đặc hiệu trên mạch khuôn đc bảo tồn
mạch mẹ vẫn ng° vẹn, = bị hư hỏng
Bản bảo tồn: Từ thí ng° M. Meselson + W.F. Stahl
kết thúc Tái bản → 1 Mạch mẹ + 1 mạch con → 1 DNA mạch kép

Nguyên lý tháo xoắn và phân tách mạch DNA

Biến tính: Có thể tháo xoắn phân tách thuận nghịch 2 mạch DNA:

- Tăng t° dung dịch chứa DNA

tăng vận động

phá vỡ liên kết hydro

lúc làm bền xoắn kép *

⊗ do khung deoxyribose - phosphat của mỗi mạch đều âm

2 mạch tách - đẩy nhau ra

Xảy ra hiện tượng **tăng sắc tính (Hyperchromicity)**: do tăng hấp thụ tia UV

+ Nhiệt độ biến tính: (T_m)

Cặp G-C cần t° cao hơn

vì chứa 3 liên kết hydro

Từ T_m → Tỷ lệ cặp bazơ

Nitơ trong DNA

Khi DNA xoắn kép, các cặp bazơ - Nitơ xếp chồng

⇒ cặp bazơ ít hấp thụ tia UV

Khi biến tính, DNA dần xoắn - tách rời

⇒ cặp bazơ tăng hấp thụ tia UV

+ Năng độ ion: khung phosphat mang điện tích ⊖

→ các ion ⊕ $\xrightarrow{\text{đẩy, bọc}}$ bộ khung phosphat → Ion trở thành lớp bọc

⇒ khi nồng độ ion thấp ⇒ lớp bọc mỏng, lúc đẩy do cùng điện tích âm của

2 mạch DNA tách rời ⇒ T_m giảm

+ Các chất làm giảm đc bởi liên kết hydro: formamide

↓ T_m

urea

+ pH - tại pH cao - thấp

→ các bazơ mất proton - nhận proton

Trong tb, t°, pH hầu như = thay đổi ⇒ chủ có thể thao tác trng phòng thí nghiệm

Hồi tính: DNA sau khi bị biến tính sẽ cuộn gập lại 1 cách ngẫu nhiên, = có tổ chức

→ t°

→ tg

→ [DNA]

→ pH

⇒ Có thể trở lại dạng DNA dạng xoắn kép hoàn hảo

⇒ 2 mạch DNA = bổ sung vẫn sẽ cuộn ngẫu nhiên và = hồi tính

Lai Acid Nucleic: Mức độ tương quan 2 mẫu DNA

→ phân lập các phi DNA đặc hiệu

Mindmaps-Tina

ATTA

Cùng học Y khoa

Tái bản SVNS

Các dNTP Deoxynucleoside 5'-triphosphat tự do $\xrightarrow{\text{tổng hợp}}$ DNA (Tương tự RNA)

- Khi tái bản:

1. AdnB + AdnC được nạp vào 1 trong 2 sợi đơn gần tại vị đặc hiệu.

↳ 1 loại Helicase

- Cùng với sự tham gia giãn xoắn của Gyrase = Topoisomerase II

⇒ Giúp phân tử DNA giãn xoắn tại vị trí khởi đầu Tái bản = Origin = Ori

↳ Th giữa A-T (≈ 245 bp) [Tuy vậy vẫn có sự + nhau ở các sv]

⇒ phá vỡ liên kết hydro giữa 2 sợi đơn ⇒ 2 sợi tách nhau ra ⇒ tạo 2 chạc tái bản hình chữ Y đối diện nhau
Replication fork

- Protein SSB đến gần vào chuỗi đơn DNA ⇒ ổn định trạng thái sợi DNA đã được duỗi $\rightarrow$ tránh bị xoắn trở lại.

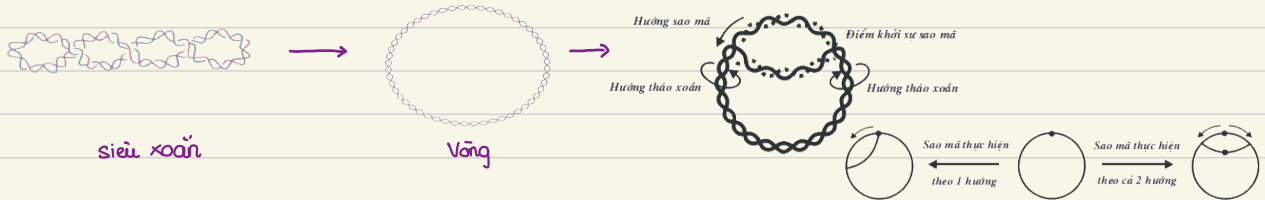
- Khi giãn xoắn cục bộ $\rightarrow$ tạo áp lực

⇒ Topoisomerase I đến và giúp triệt tiêu áp lực xoắn tại phần còn lại

Vì sao DNA cần được giãn xoắn trước khi Tái bản / Phiên Mã, và vì sao cần đến 2 loại Topoisomerase I, II?

- DNA khi ở trạng thái bình thường ở dạng vòng - xoắn kép, 2 mạch cuốn quanh nhau, cuộn rất chặt và khít sát lại nhau

⇒ Các yếu tố khởi đầu Tái bản / Phiên mã = gần vào được ⇒ Không thể xảy ra q trình tái bản



+ Khi giãn xoắn cục bộ tại 1 điểm trng TB, PM $\Rightarrow$ Tăng áp lực xoắn cho phần còn lại $\rightarrow$ xoắn tít thò lộ lại $\Rightarrow$ "Siêu xoắn"

⇒ Cần 1 yếu tố giúp giảm áp lực xoắn này $\Rightarrow$ Topoisomerase I, Topoisomerase II

Topoisomerase I:

Giãn DNA tại vị trí ngẫu nhiên $\Rightarrow$ Phá vỡ liên kết phosphodiester 1 mạch bất kỳ $\Rightarrow$ cần thủy phân ATP Why???

↳ Chứa 1 mạch DNA

⇒ Mạch bị cắt xoay tít thò lộ xung quanh mạch $\Rightarrow$ Cắt $\Rightarrow$ Hết siêu xoắn

↳ Các liên kết hydro chắc cũng bị cắt chứ nhỉ, $\Rightarrow$ thì sao quay $\Rightarrow$

Nói lại chỗ đã cắt

↳ Phá xong phải sửa lại $\Rightarrow$

★ 3 loại A, B, C

Topoisomerase II

Giãn DNA tại vị trí ngẫu nhiên $\Rightarrow$ Phá vỡ liên kết phosphodiester cả 2 mạch DNA cần thủy phân ATP Why???

↳ Sau đó nối lại

↳ anh em cũng họ nên giống nhau $\Rightarrow$

★ 2 loại A, B

2. Pr Adn A nhận biết và bám vào đoạn khởi đầu tái bản

$\rightarrow$ điều kiện phức hợp AdnB + AdnC

Mindmaps-Tina
Cùng học Y khoa

Tái bản SVNS

3. RNA primase = Pr AdnG đến và tạo ra đoạn mồi RNA gắn bổ sung với mạch khuôn

Vì sao phải cần RNA primase để tổng hợp mồi RNA mà phải DNA polymerase ?

- RNA polymerase có khả năng tìm ra vị trí khởi đầu PM trên DNA kép
- khởi đầu tổng hợp RNA bổ sung mạch DNA khuôn
- DNA polymerase không thể tự thân khởi đầu tổng hợp chuỗi $\Rightarrow$ Chúng cần 1 đoạn RNA / DNA mồi

4. Từ đó DNA polymerase III đến và gắn các Deoxynucleotide vào nhóm -OH tự do theo trình tự mạch $\Rightarrow$ kéo dài chuỗi đầu 3' - đoạn mồi

- Mạch khuôn được sử dụng đến đầu các Pr SSB được giải phóng đến đó

- Hai mạch DNA ngược chiều nhau, DNA polymerase chỉ tổng hợp 5' $\rightarrow$ 3' $\Rightarrow$ Có sự khác nhau khi Tái bản
 - $\Rightarrow$ 1 Mạch dẫn / Mạch tiến
 - $\Rightarrow$ 1 Mạch chậm / Mạch lùi

Vì sao sự tổng hợp luôn theo chiều 5' $\rightarrow$ 3' ?

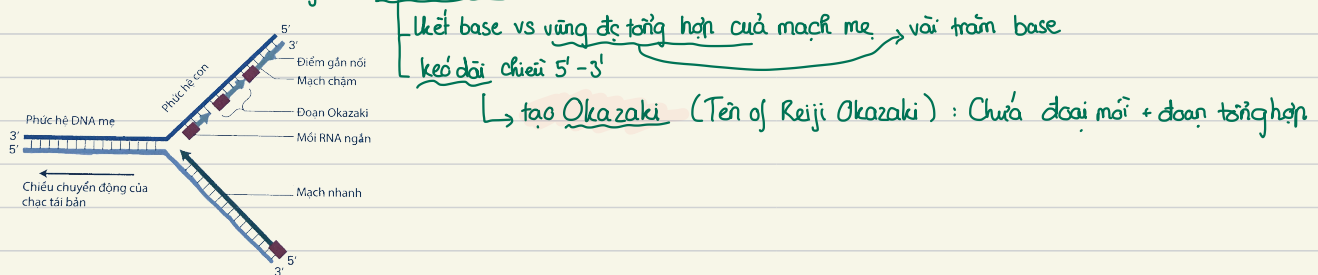
- $\rightarrow$ Hình thành liên kết Phosphoeste
- Oxy 3' - Mạch đang pt + phosphate - dNTP $\Rightarrow$ Đổ tiêu tốn E

* Vấn đề tại Mạch chậm = Lagging Stand

Vì DNA pol chỉ tổng hợp 5' $\rightarrow$ 3' $\Rightarrow$ Mạch chậm phải tái bản ngược chiều !!! How ??

$\Rightarrow$ Khi 1 vũng lồi đoạn này được tháo xoắn

$\Rightarrow$ tổng hợp đoạn mồi mới ($\approx$ 10nu)



5. Sau Tái bản, DNA polymerase sử dụng hoạt tính 5' - 3' exonuclease phân rã các đoạn mồi RNA trước đó

$\Rightarrow$ Loại bỏ và thay thế các đoạn mồi : Tuy vậy vẫn còn sót vài base $\Rightarrow$ Hở

$\rightarrow$ Tạo các lỗ hổng / khoảng trống giữa các đoạn Okazaki

6. DNA polymerase

$\rightarrow$ Lấp đầy các khoảng trống

7. Enzyme Ligase đến nối các đoạn Okazaki - các lỗ hổng

$\rightarrow$ Tạo mạch mới hoàn chỉnh

8. Sau khi hoàn thành, các enzyme tác động rời khỏi phân tử DNA ra môi trường. $\rightarrow$ Cho đến khi bắt đầu lần tái bản mới

Kết quả :

- Tạo 2 chuỗi DNA xoắn kép mới
- Mỗi chuỗi mới có 1 mạch DNA gốc của mẹ
 - $\rightarrow$ 1 mạch mới tổng hợp