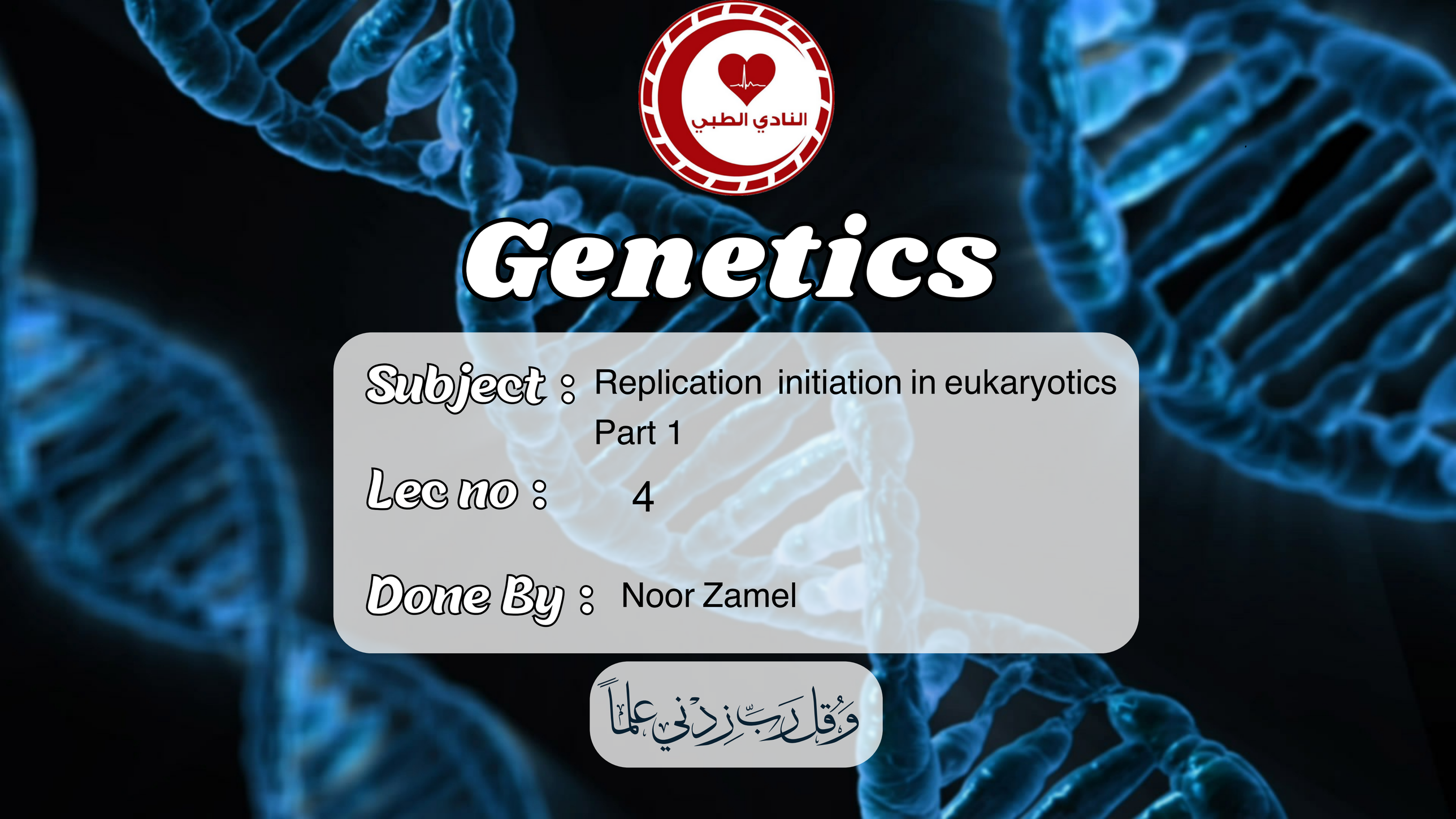


Genetics

Subject : Replication initiation in eukaryotics Part 1

Lec no : 4

Done By : Noor Zamel

وَقُل رَّبِّ زِدْنِي عِلْمًا

للوصول الى guidance الجينيتكسو تفاريغ المادة كاملة :

تجدون في guidance مادة الجينتكس على موقع النادي :

GUIDANCE SLIDES NOTES RECORDS

تجدون هنا شرح المادة كاملة

GENITICS ALAA AL-GAZZAR

شرح الدكتورة ولاء الجزار للمادة

تجدون هنا شرح الفريق العلمي للمادة كاملة

شرح قديم (السلايدات مختلفة) ، يمكن الاستفادة منها لفهم المواضيع

OLD GENETICS

يمكن الاستفادة من تفاريغ الدفع السابقة

ATHAR BATCH

YAQEEN BATCH

VEIN BATCH

كل اعمال الفريق العلمي تنشر على قناة التيليغرام

قبل ما نبلش هاي المحاضرة رسمة شوي وبدها تركيز لهيك عادي اذا تغلبنا فيها شوي لانه هلا حنبلش بمعلومات بدها تركيز واعادة

*غيرت بترتيب اول ٣ سلايدات عشان يكونو اوضح للشرح وشرحت معظم الكلام المكتوب بالسلايدات على الرسمة لهيك حتشوفو

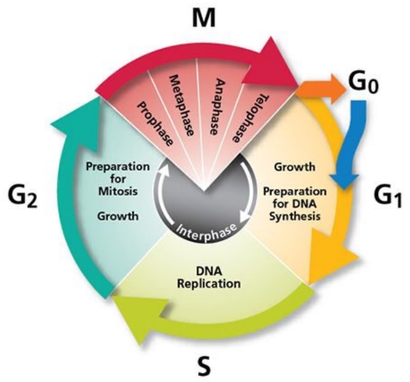
سلايدات فاضيين تفريغهم ع الرسمات

المحاضرة الماضية حكينا عن ال initiation of replication in prokaryotics وهاي المحاضرة رح نحكي عن ال eukaryotics

عملية ال DNA replicator زي ما حكينا في المحاضرة بتصير بال S phase ما بندخل عليها مباشرة وبنصنع DNA بتسبقها عملية تحضيرية

اللي هيه G1 phase ..... وال S phase يسبقها مرحلة تجهيزية ويليها مرحلتين

وهدول ال phases رح نتعرف عليهم قدام بال cell cycle



هلا رح اجهز لل Sphase خلال ال Gphase كيف ؟؟

عن طريق complex من البروتينات اسمه origin recognition complex (ORC)

- In G_1 phase of the cell cycle, many of the DNA replication regulatory processes are initiated.

- Initiation of DNA replication in eukaryotes begins with the binding of the **origin recognition complex (ORC)** to origins of replication during the G_1 phase of the cell cycle.
- **Origin recognition complex (ORC)** is a multi-subunit DNA binding complex (6 subunits) that binds in all eukaryotes in an ATP-dependent manner to origins of replication.
- The subunits of this complex are encoded by the ORC1, ORC2, ORC3, ORC4, ORC5 and ORC6 genes.

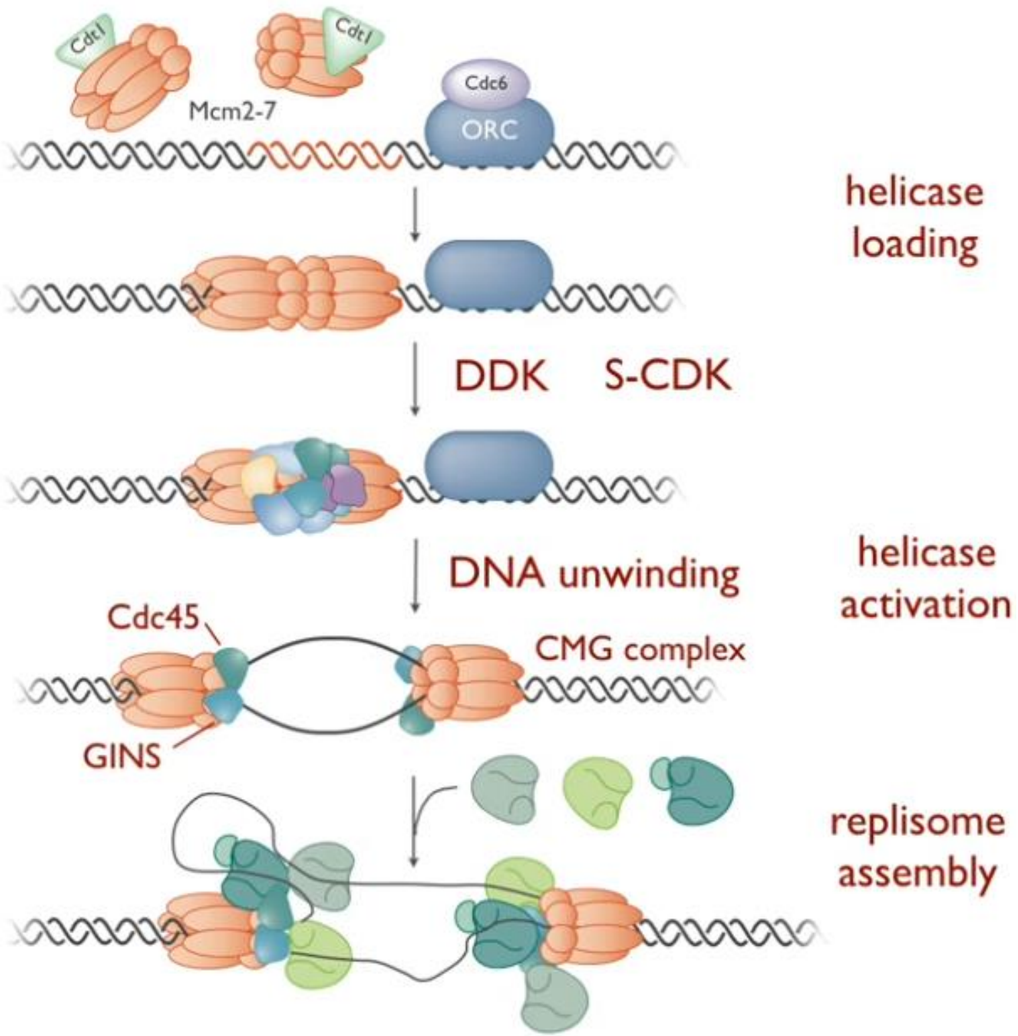
عدد البروتينات ٦ او بنسميهم subunits وكونهم ٦ جينات وهدول اسماء الجينات

هدول الجينات بصيرلهم turn on او activation ب ال G1 phase حتى يعطونا البروتينات اللي رح يتجمعو مع بعض

ويعطونا ال ORC اللي هوه بتعرف ع منطقه معينه ويوقف فيها لحتى عن طريق احداث معينه نقدر نبدأ بال initiation

النادي الطبي

Events of Eukaryotic DNA Replication Initiation



G1 phase

S phase

بالتفصيل بالسلايد الجاي

رتبتهم على شكل

خطوات امشو فيهم

بالترتيب

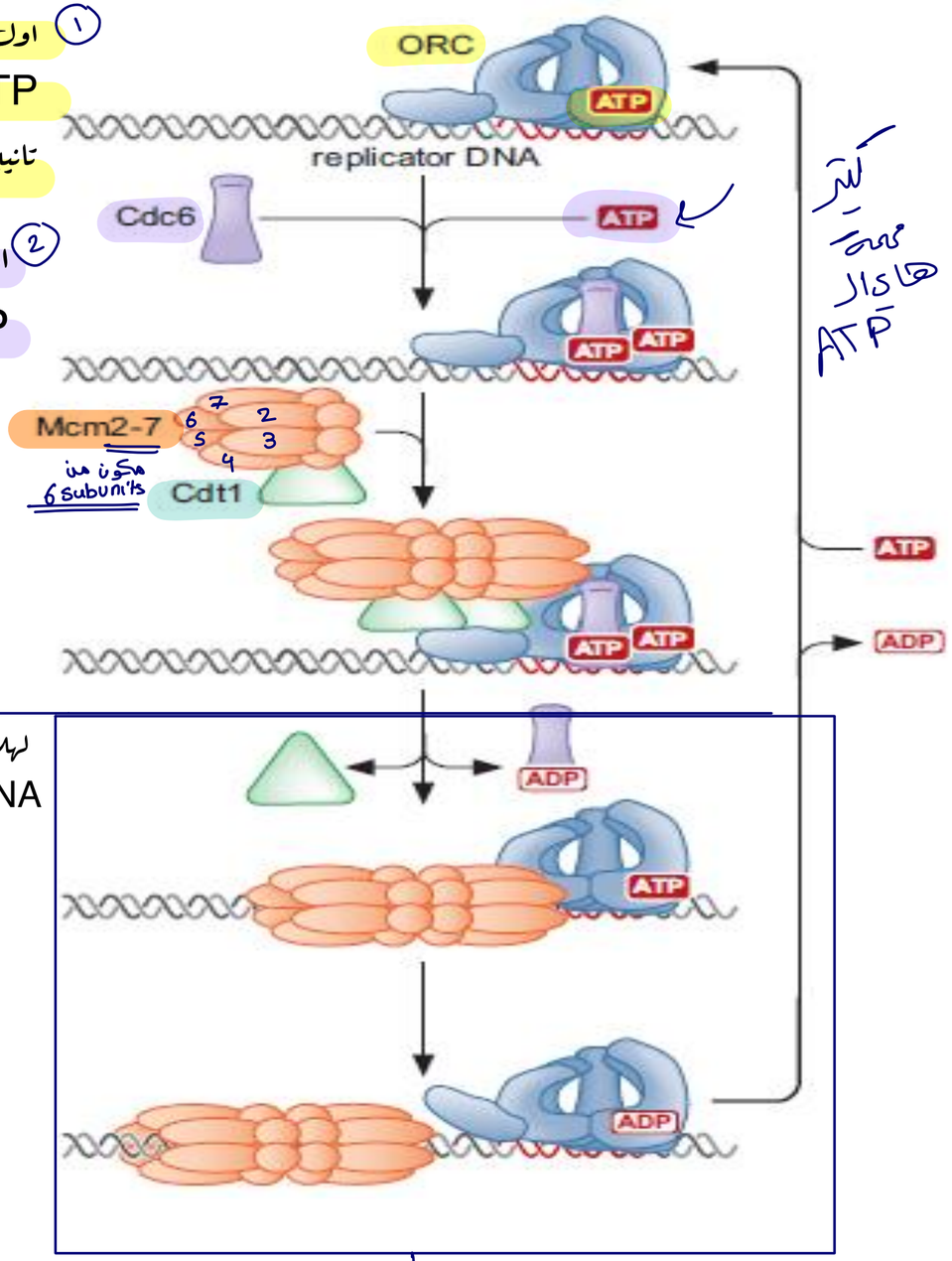
النادي الطبي

G1 phase

١ اول اشي رح يجي ال ORC وماسك فيه ATP وبتشتغل كمنصه عشان يركب عليها بروتينات تانيين ولكن رح يكون الهم ترتيب

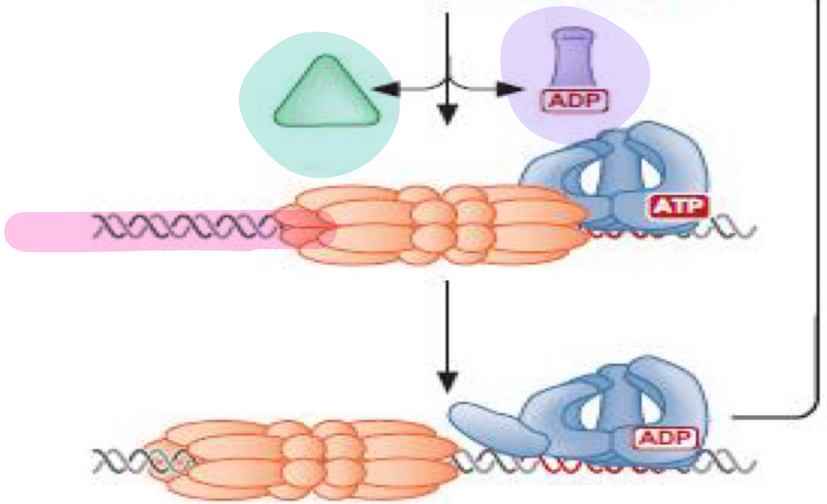
٢ اول بروتين رح يجي يركب هوه cdc 6 وهوه ماسك فيه ATP زي ال ORC

٣ وبعديه رح يجي cdt 1 ورح يكون حامل بروتين تاني اللي هوه mcm2-7 وبدنا ننتبه انهم بيجو ك couples ونركز عليه لانه هوه بالاخر رح يطلع ال helicase وهاد بذكرنا بال dnaC اللي كان حامل ال dnab (Helicase) بال prokaryotes



كتير مهمة هاد ال ATP

لهلا ال mcm2-7 ماركب ع ال DNA وانا هدفي يركب النسختين على ال doublestranded DNA لانه زي ما حكينا هوه ال helicase بالاخر

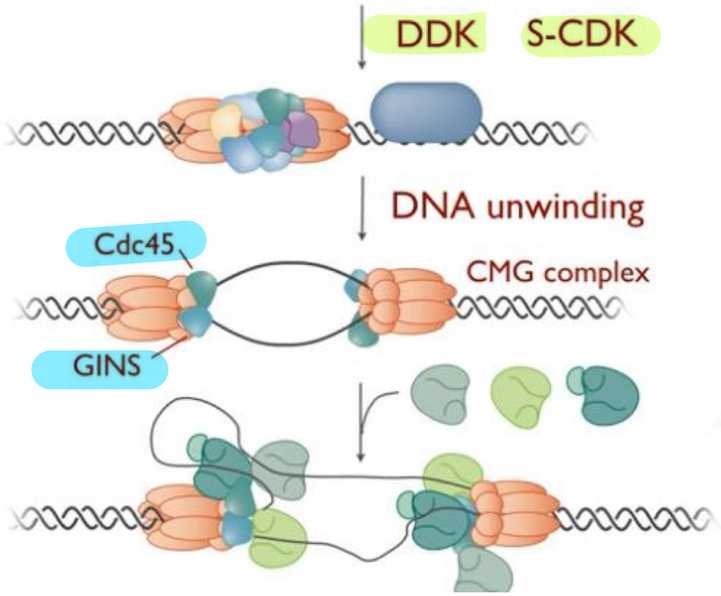


اللي رح يخليهم يركبو هوه تحلل ال ATP اللي مع ال cdc6 هلا رح يصير loading لل mcm2-7 وبوقتها بنبطل محتاجين cdt 1 فبروحو

وانتبهو لنقطة كتير مهمة ال mcm2-7 ركب على ال doublestranded DNA وهاد الفرق عن ال prokaryotics اللي كنا نركب غيرهم ال singlestrand

لهلا احنا لسا ب G1 وال mcm2-7 مش active متى بنصير active وجاهزين لفصل ال strands ؟ بال S phase

كيف ؟



لما ننتقل لل Sphase رح نلاقي kinases 2 واحد اسمه CDK و DDK و رح يعمل activation لل mcm2-7 عشان هوه اللي رح يفتح ال strands واقدر ابني بعدين

Kinases

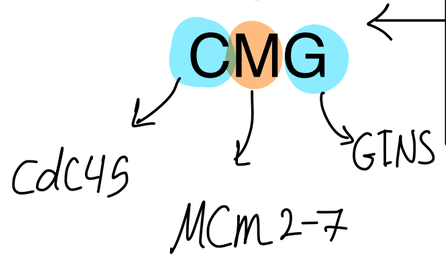
يعني رح يضيفو phosphate طيب وين ؟

- DDK ← رح يضيف على mcm2-7
- CDK ← رح يضيف على بروتينات أخرى ما بدنا نحكي بس خاطرك انه بس يصير لهم phosphorylation رح تحفز نوعين تابعين من البروتينات واحد اسمه Cdc45 وواحد GINS ووجود البروتينين رح يرتبطو مع mcm2-7

Mcm2-7 (6)

حالياً معمول الـ phosphorylation ومرتبط فيه بروتينين

وسمينا هاد ال complex ب



وبهاد الوضع صار active form يعني بقدر يفك ال strands عن طريق ال helicase activity وال ATPase activity عشان نكسر ال hydrogen bonds

- The ORC complex then serves as a platform for forming much more complicated **pre-replicative complexes (pre-RCs).**
- The pre-RC formation involves the ordered assembly of many replication factors including:
  - ✓ **the origin recognition complex (ORC),**
  - ✓ **Cdc6 protein (cell division cycle 6),**
  - ✓ **Cdt1 protein (Chromatin licensing and DNA replication factor 1),** and
  - ✓ **minichromosome maintenance proteins (Mcm2-7) (heterohexamer of the six MCM proteins (MCM2-7).**
- Pre-RC assembly during G1 is required for **replication licensing** of chromosomes prior to DNA synthesis during S phase.

ملاحظاتهم في الرسمة اللي فوق!

ملاحظة: مطلوب منا بس الاختصارات لاسماء البروتينات مو الاسم كامل

6 subunits

مختلفين عن بعض

(2, 3, 4, 5, 6, 7) 6 Subunits

رح تقرأ انه ال ORC ارتبط بال replicator شو هوه وشو بفرق عن ال origin of replication

المكان اللي بتدور فيه كل هاي الاحداث

وبتوقف فيه البروتينات كلها هاي وفيها بصير initiation

ال physical site اللي فعلياً اللي بصير فيه بداية ال opening

وبنقدر نحكي انه هوه fraction of replecator

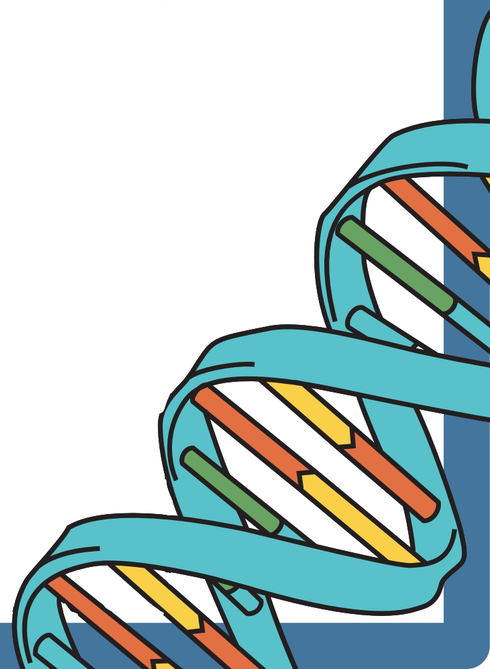
- ORC, Cdc6, and Cdt1 are all required to load the six protein minichromosome maintenance (Mcm 2-7) complex onto the DNA. (It is thought that the Cdc6p-Cdt1 complex uses ATP hydrolysis to thread DNA through the central hole of the MCM doughnut).

- Pre-RCs formed during the G_1 phase are converted to the **initiation complex** during cell cycle transition from G_1 to S by the action of two kinases: **cyclin-dependent kinase (CDK)** and **Dbf4-dependent kinase (DDK)**. i.e. Once the pre-RC is formed, activation of the complex is triggered by two kinases, cyclin-dependent kinase (CDK) and Dbf4-dependent kinase (DDK) that help transition the pre-RC to the initiation complex prior to the initiation of DNA replication.

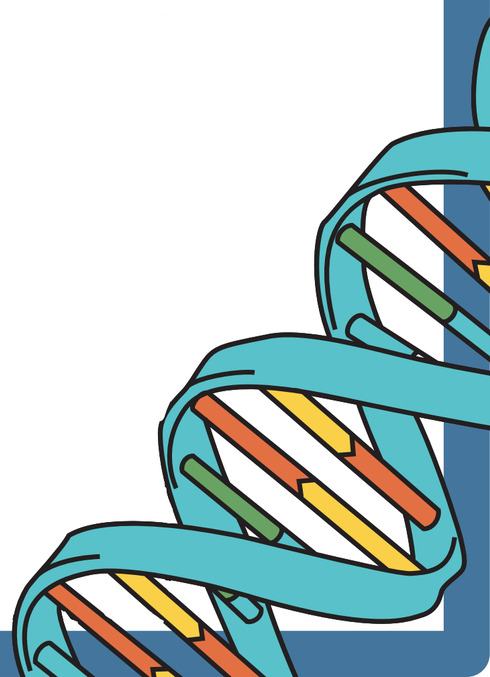
- Formation of an initiation complex, which includes helicase activity, unwinds the DNA double helix at the origin site.

Eukaryotic helicase loading

- Loading of the eukaryotic replicative DNA helicase is an ordered process that is initiated by the association of the ATP-bound origin recognition complex (ORC) with the replicator.(The initiation of DNA replication is directed by specific DNA sequences called replicators).
- Once bound to the replicator, ORC recruits **ATP-bound Cdc6** and **two copies of the Mcm2-7 helicase** bound to a second **helicase loading protein, Cdt1**.
- This assembly of proteins triggers ATP hydrolysis by Cdc6, resulting in the loading of a head-to-head dimer of the Mcm2-7 complex encircling double-stranded origin DNA and the release of Cdc6 and Cdt1 from the origin.



- Eukaryotic helicase loading does not lead to the immediate unwinding of origin DNA. Instead, helicases that are loaded during G1 are **only** activated to unwind DNA and initiate replication **after cells pass from the G1 to the S phase** of the cell cycle.
- Loaded helicases are activated by two protein kinases: CDK (cyclin dependent kinase) and DDK (Dbf4-dependent kinase). These kinases are activated when cells enter S phase. Once activated, DDK targets the loaded helicase, and CDK targets two other replication proteins. Phosphorylation of these proteins results in the **Cdc45 and GINS proteins** binding to the Mcm2-7 helicase.



- Importantly, Cdc45 and GINS strongly stimulate the Mcm2-7 ATPase and helicase activities and together form the **Cdc45–Mcm2-7–GINS (CMG) complex**, **which is the active form of the Mcm2-7DNA helicase.**

هلا احنا فصلنا طيب كيف رح نبني ؟

عن طريق انزيم اسمه

DNA polymerase 3

لكن فيه مشكلتين

١) ما بيمشي الا باتجاه واحد

من 5\ الى 3\

٢) ما بيعرف يبني لحاله وما بعرف

يبدأ لازم نخطله بادئ

primer يكمل عليه

B-Synthesis of the two DNA strands:

الكلام تاع البناء رح يكون عن ال prokaryotes

- **DNA polymerase III** enzyme is responsible for the synthesis of both new DNA strands. The enzyme synthesizes the new DNA strands **only in the 5\→3\ direction**, and it cannot start DNA synthesis without the presence of **RNA primers**.

عشان لازم يشوف nucleotide

عندها free OH عشان يكون

phosphodiester likages

اللي بخطلنا هاد ال RNA primer

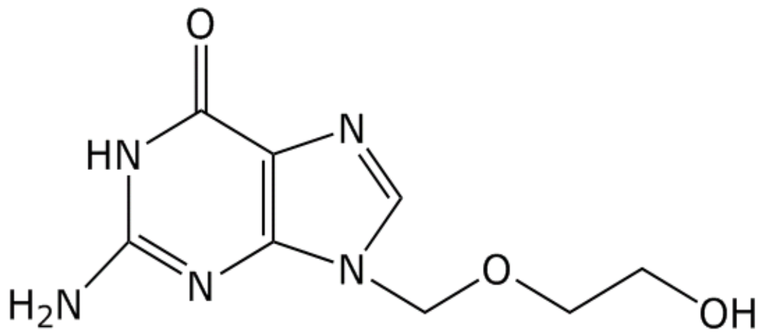
عشان ال polymerase يبني عليه

هوه RNA primase

هيك خلص القسم الاول من الملف الخامس

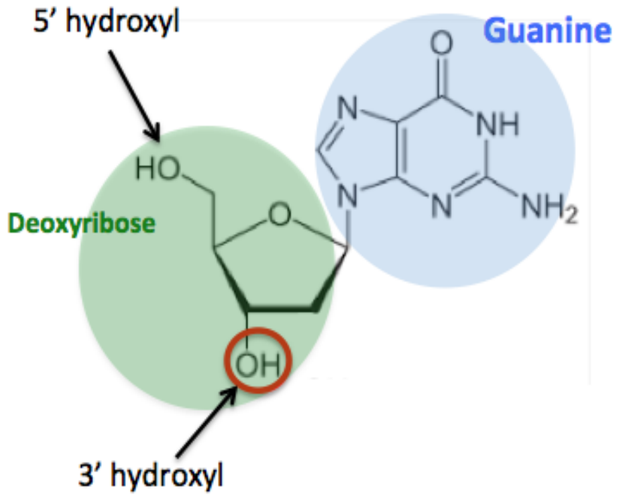
سؤال ضافته
الدكتوره بنهاية
المحاضره بناءً
على المحاضرات
السابقه

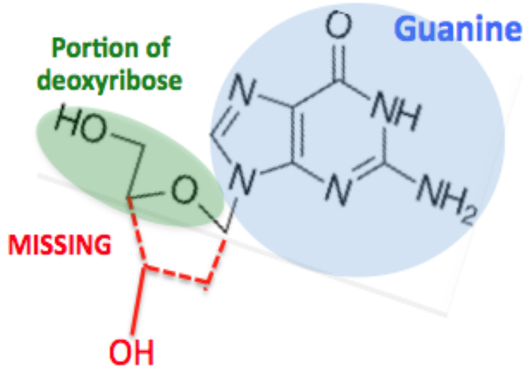
The antiviral drug Acyclovir (structure pictured below) is used to treat infections caused by double-stranded DNA viruses such as herpes simplex virus. Acyclovir acts at the level of DNA synthesis.



A. Acyclovir functions as the analog of what deoxynucleoside?

B. Acyclovir cannot be incorporated into the DNA unless it is modified by a virally encoded kinase. Explain why the activity of a kinase is required for Acyclovir to be incorporated during DNA synthesis.



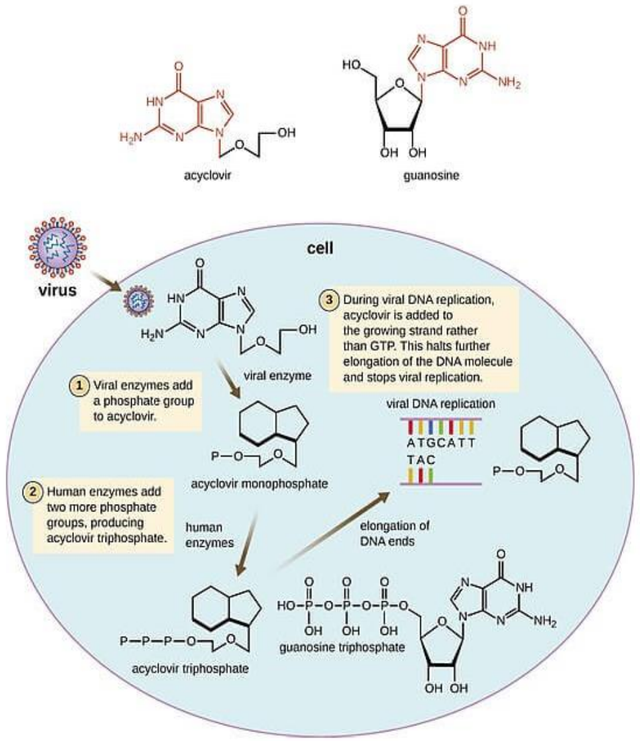


Natural substrate

Acyclovir

- A. Deoxyguanosine.

- B. Without the triphosphate group, Acyclovir cannot incorporate into a growing strand of DNA. Kinases phosphorylate their substrate. The kinase adds the phosphate groups that Acyclovir is missing.



CNX OpenStax [CC BY 4.0], via Wikimedia Commons