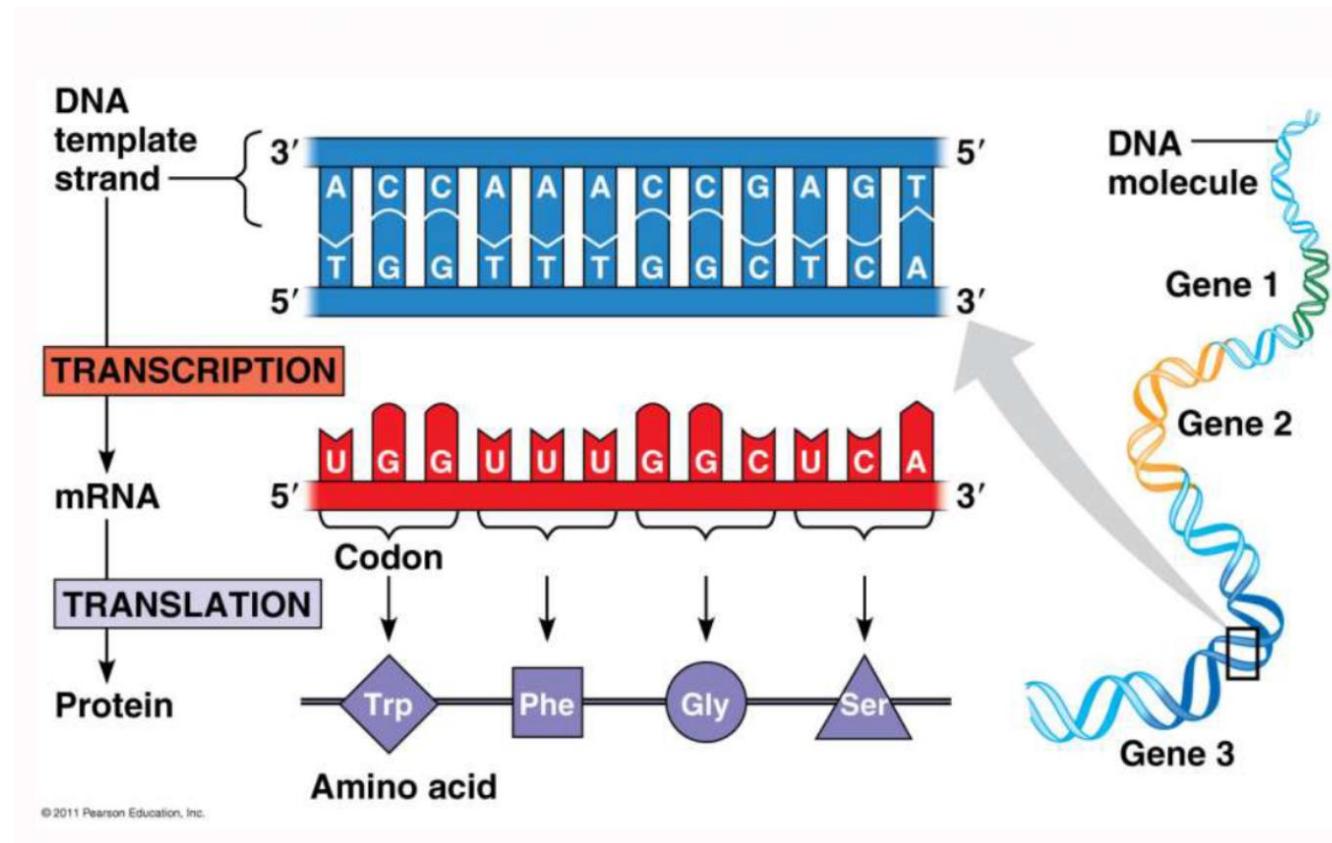


Uvod u molekularnu biologiju i genetiku

4. građa DNA, replikacija



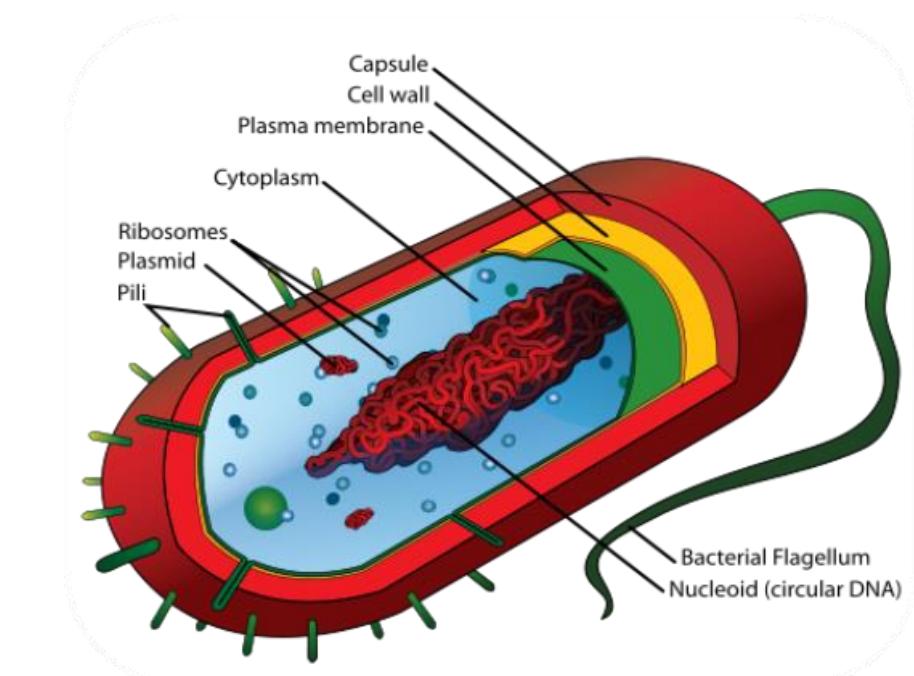
Molekularna biologija

- Molekularna biologija je **grana biologije** koja izučava građu i ulogu gena na **molekularnoj razini**
- Područje molekularne biologije se preklapa s drugim područjima, naročito **genetikom** i **biokemijom**

- **Genetika:**
 - Genetika se bavi proučavanjem karakteristika stanice i kako se svojstva (veličina, oblik, metabolizam i sl.) prenose s jedne generacije na drugu (zakoni nasljeđivanja)
 - Genetika se bavi proučavanjem **živih**, rastućih stanica, organizama
 - Genetikom se uloga pojedinih gena/njihovih produkata proteina proučava uvođenjem **mutacija** u DNA. Zatim se uspoređuju mutanti s „normalnom“ stanicom (**divljeg tipa**)
- **Biokemija:**
 - Biokemija se fokusira na **produkte gena** – enzime i druge proteine
 - Osnovne biokemijske metode su: pročistiti protein i mjeriti reakcijske parametre
 - Kombinirati više proteina da bi se zaključili kompleksni funkcionalni međuodnosi
- **Molekularna genetika:**
 - Kombinacija genetike (mutacije u genima) s biokemijom (aktivnosti produkata gena)

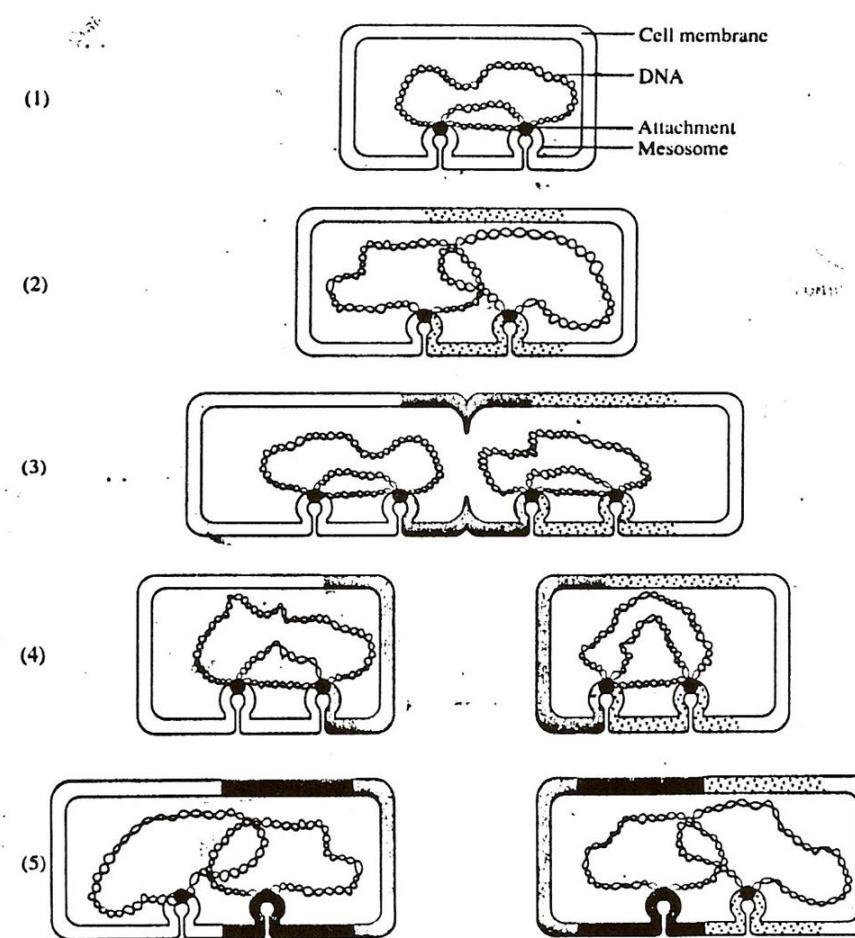
Molekularna genetika

- Koristeći znanja iz biokemije pokušava objasniti nasljedni materijal
- Molekularni genetičar često proučava mutirane gene koji imaju promijenjenu ulogu
 - to se zove **genetički pristup**
- Prvi modelni organizam (prokariot) – bakterija *Escherichia coli*
- Uobičajena pitanja u području molekularne genetike:
 - Što je molekularna struktura DNA, RNA, kromosoma?
 - Kako se geni eksprimiraju na molekularnoj razini?
 - Kako se regulira ekspresija gena?
 - Što je molekularna priroda mutacija? Kako se mutacije popravljaju?
 - Kako se genetički materijal rearanžira na molekularnoj razini?



Esherichia coli

- **Haploidni** organizam (**jedan kružni kromosom, jedan alel za svaki gen!**)
- Nema mitoze, mejoze već jednostavna binarna dioba (diobom dobivamo **klonove**, genetički identične jedinke)
- Nema organela
- Brza dioba (oko 20 tak minuta)
- U optimalnim uvjetima replikacija i dioba ne prestaju
- Rastu na definiranom mediju
- Lako se selektiraju mutanti
- Imaju svoje viruse (fage)
- Nepatogena
- Sekvencirana
- Mnogi ključni stanični mehanizmi otkriveni



Osnovna otkrića u građi i replikaciji DNA

- Griffith 1928. transformirajući princip
- Avery, Macleod, McCarty 1944. transformirajući materijal je DNA
- Erwin Chargaff 1947. Chargaffovo pravilo
- Hershey i Chase 1952. nasljeđuje se DNA, ne protein
- Watson i Crick 1953. struktura DNA predviđa mehanizam replikacije
- Meselson i Stahl 1958. replikacija DNA je semikonzervativna

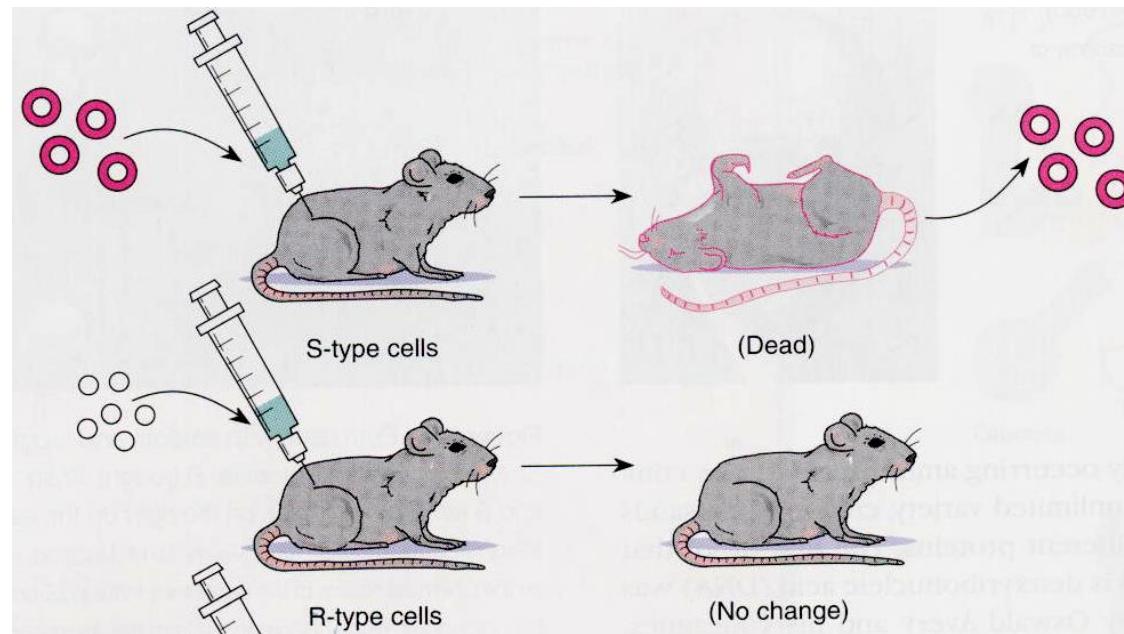
Pitanje: što je molekula nasljeđivanja?

1928. G. – pokus Frederick Griffith - prvi dokaz da kemijski spoj predstavlja genetički materijal

Pokus na bakteriji *Streptococcus pneumoniae* (uzročnik upale pluća) – dva bakterijska soja:

S soj glatke kolonije (S – smooth) – sintetiziraju polisaharide koji stvaraju mukozni omotač – patogeni (uzrokuju upalu pluća)

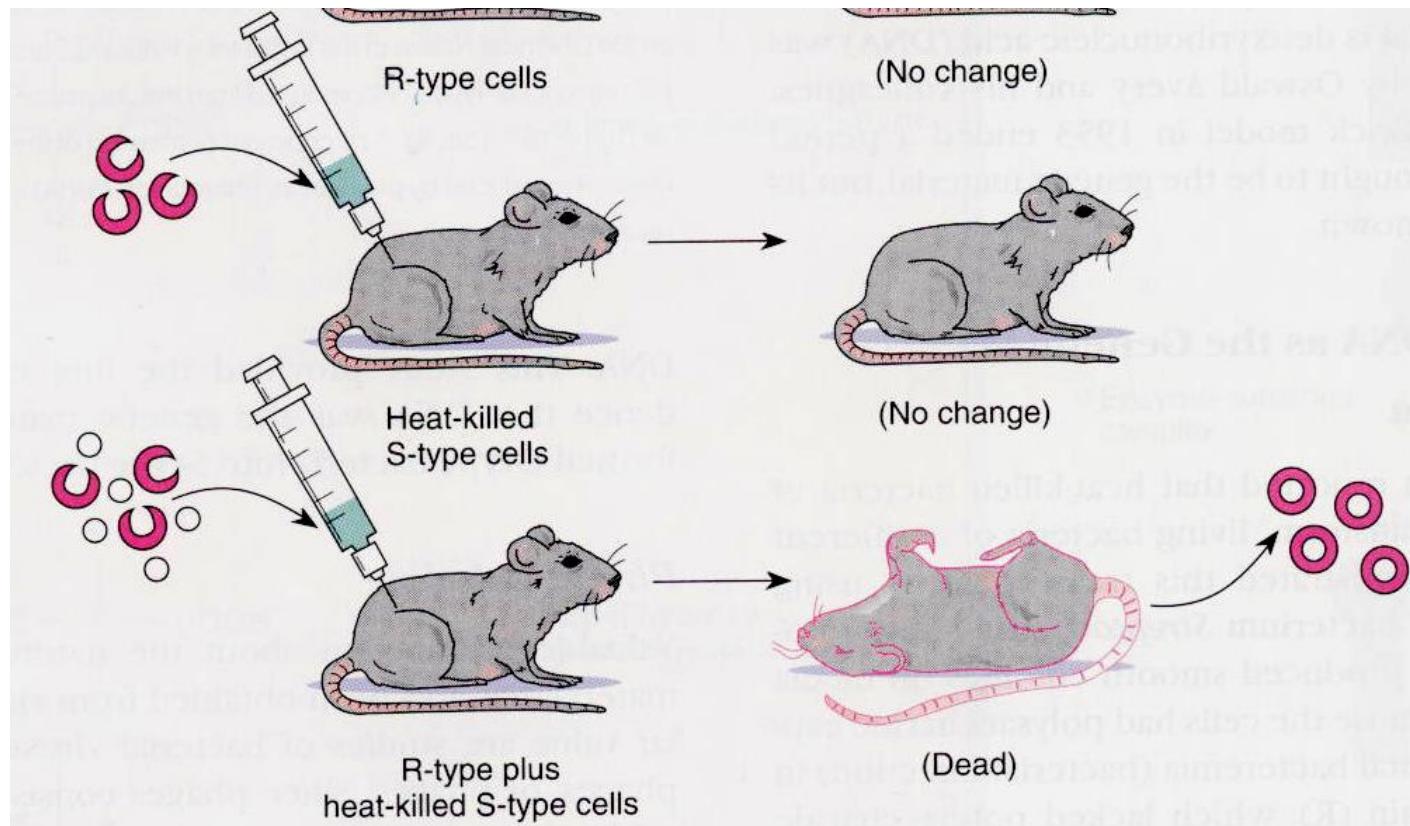
R soj; hrapave kolonije (R – rough) – bez mukoznog omotača



Griffithov pokus „transformirajući princip“

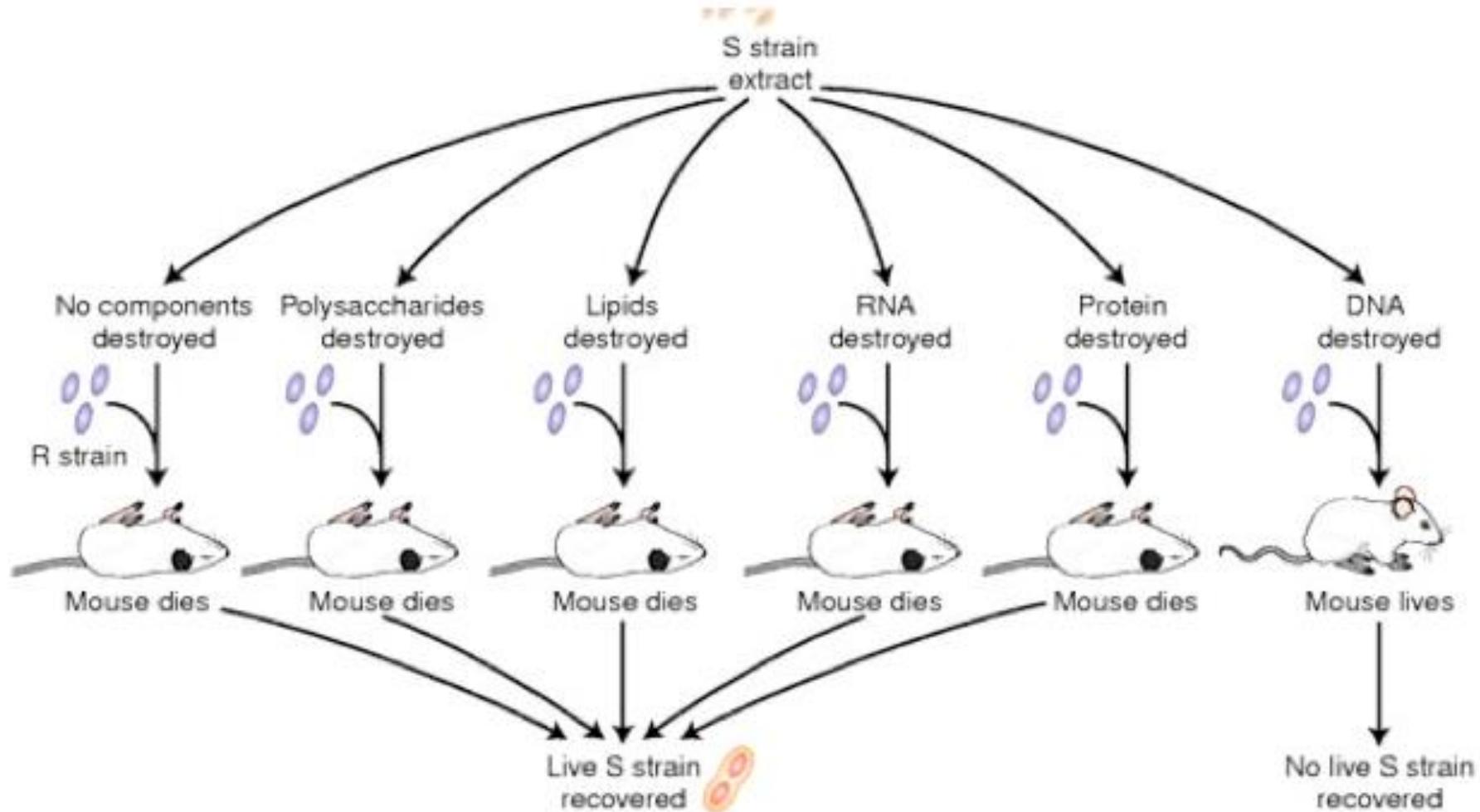
Bakterije S soja oslabljene visokom temperaturom nisu pogubne za miševe – polisaharidi nisu uzrok upale pluća

Oslabljene bakterije **S soja** pomiješane s bakterijama **R soja** – iako oba soja nisu patogena, miševi su uginuli od upale pluća

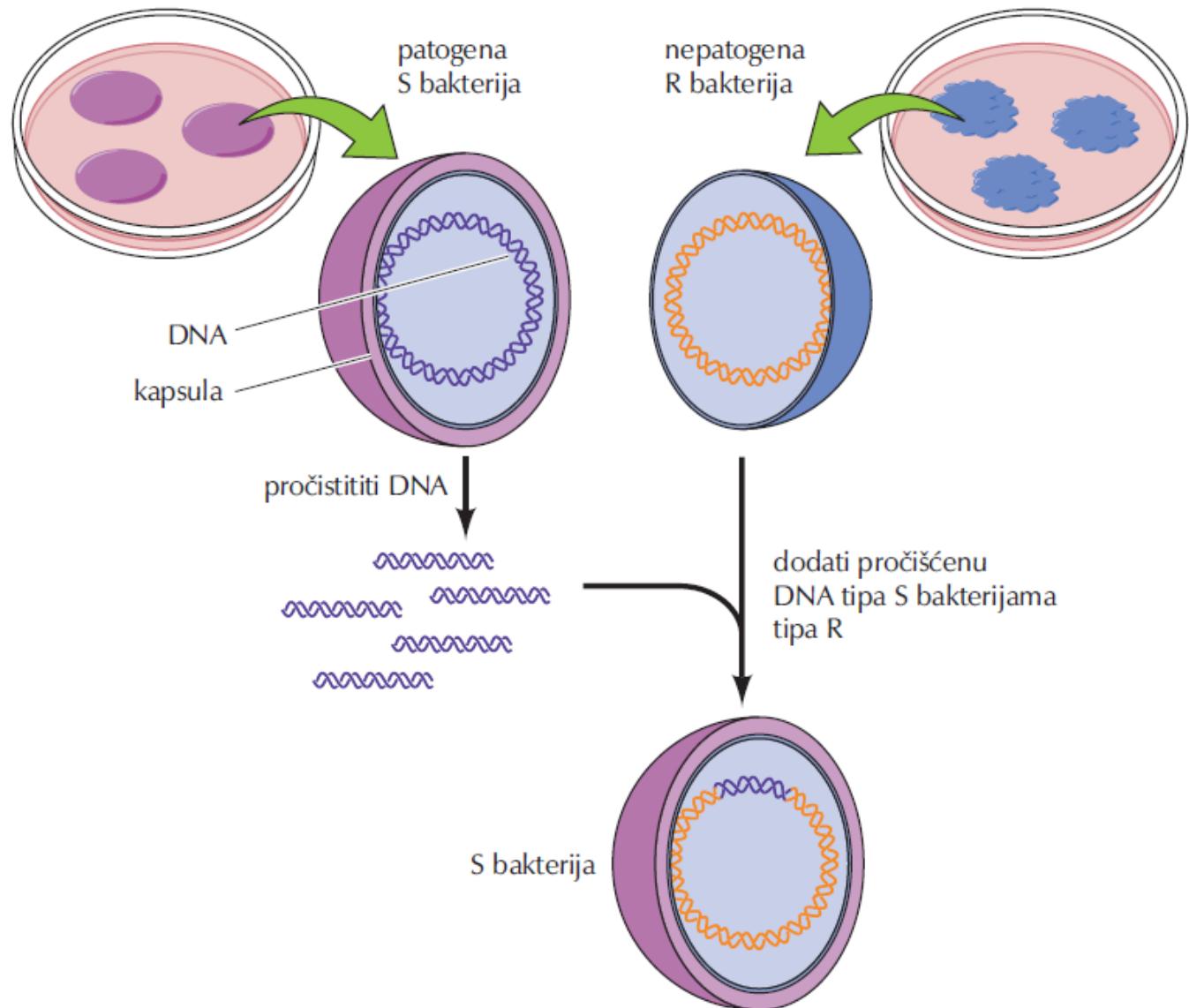


Zaključak: genetički materijal iz oslabljenih S stanica **transformacijom** prešao u R stanice!

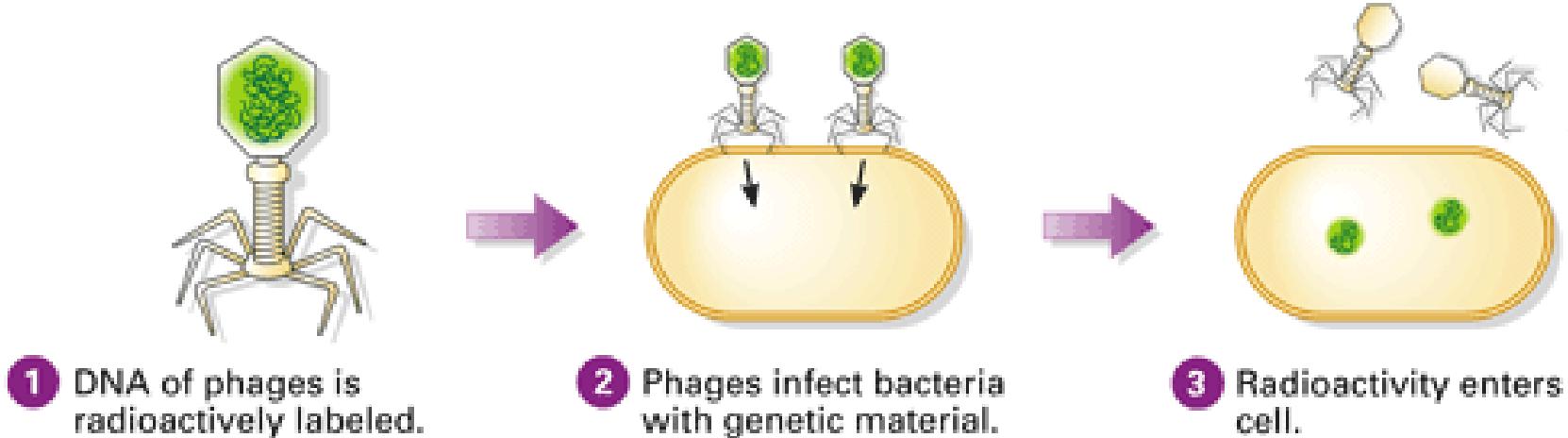
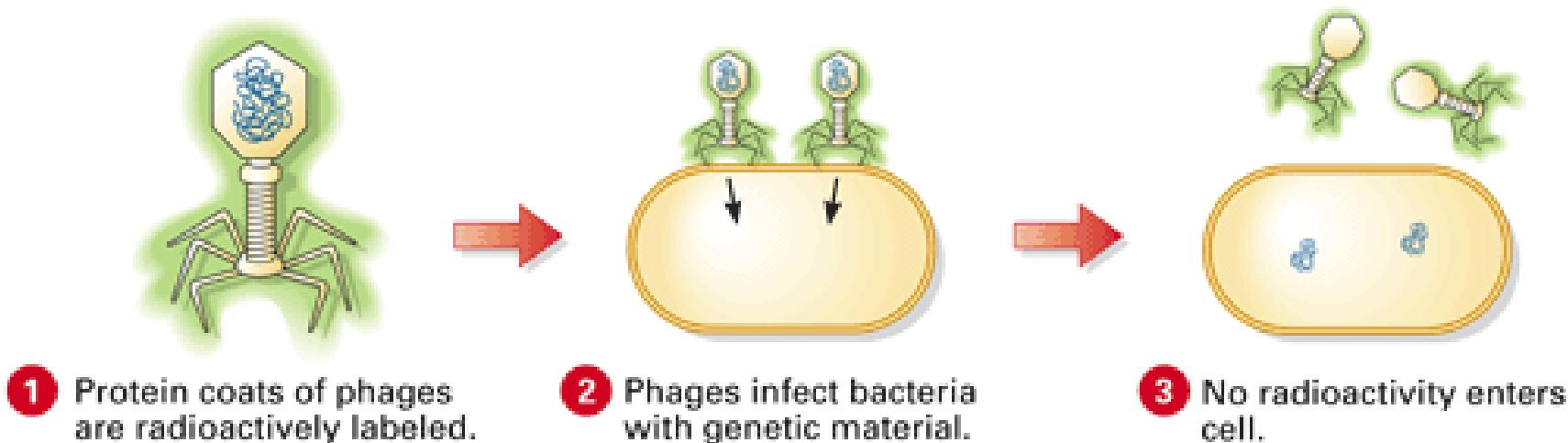
Avery, Macleod, McCarty pokus



Zaključak: transformirajući faktor je DNA



Hershey i Chase pokus



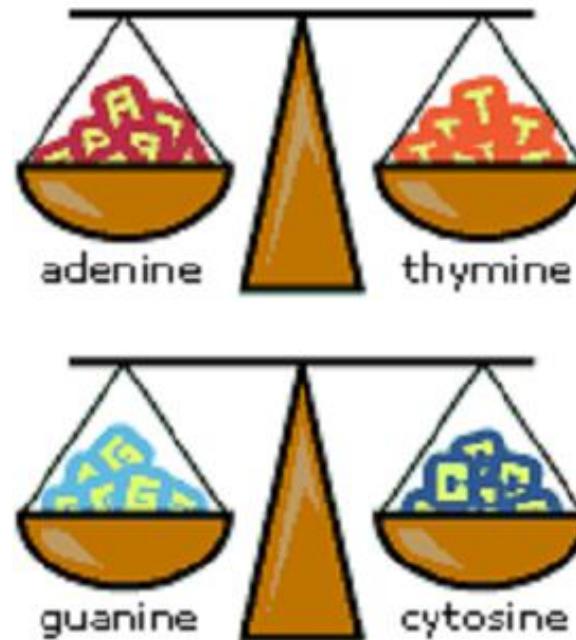
Primarna struktura DNA

Erwin Chargaff 1947. g. – upotrebom papirnate kromatografije istraživao sadržaj pojedinih baza u molekuli DNA u različitim vrsta – razlika je vrsno specifična
tzv. **GC pravilo**: G+C% je vrsno specifičan

Chargaff's DNA Data Base Composition in Various Species (%)				
Species	A	T	G	C
<i>Homo sapiens</i>	31.0	31.5	19.1	18.4
<i>Drosophila melanogaster</i>	27.3	27.6	22.5	22.5
<i>Zea mays</i>	25.6	25.3	24.5	24.6
<i>Neurospora crassa</i>	23.0	23.3	27.1	26.6
<i>Escherichia coli</i>	24.6	24.3	25.5	25.6
<i>Bacillus subtilis</i>	28.4	29.0	21.0	21.6

Primarna struktura DNA

Primjetio je pravilnost u **omjeru baza u dvolančanoj DNA** – broj adenina jednak je broju timina, broj citozina jednak je broju gvanina = **Chargaffov prvi zakon** – broj baza u parovima gotovo je jednak, dok je broj baza u pojedinoj vrsti različit

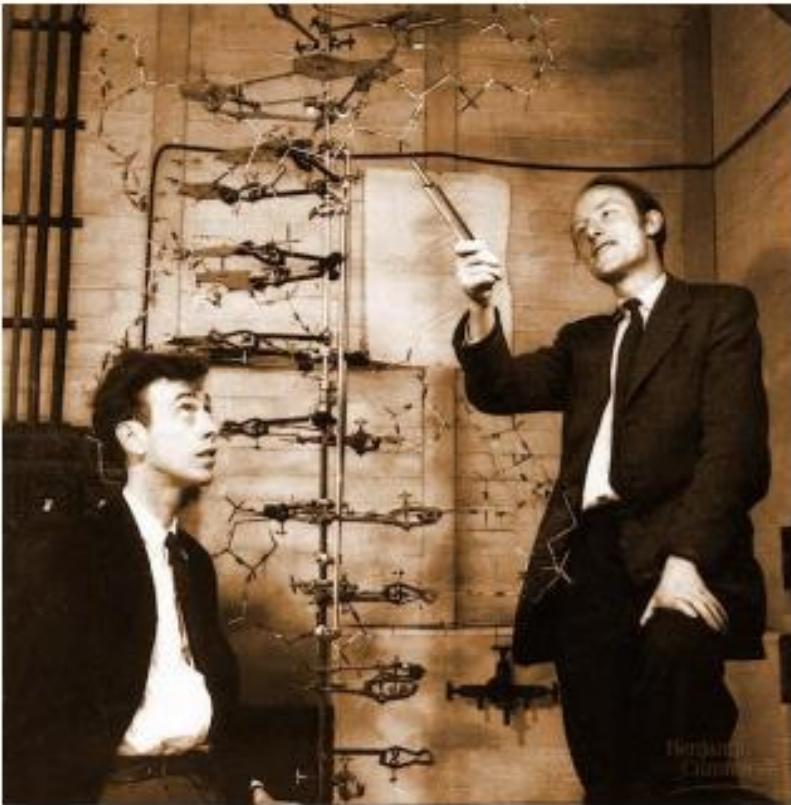


Otkriće strukture DNA



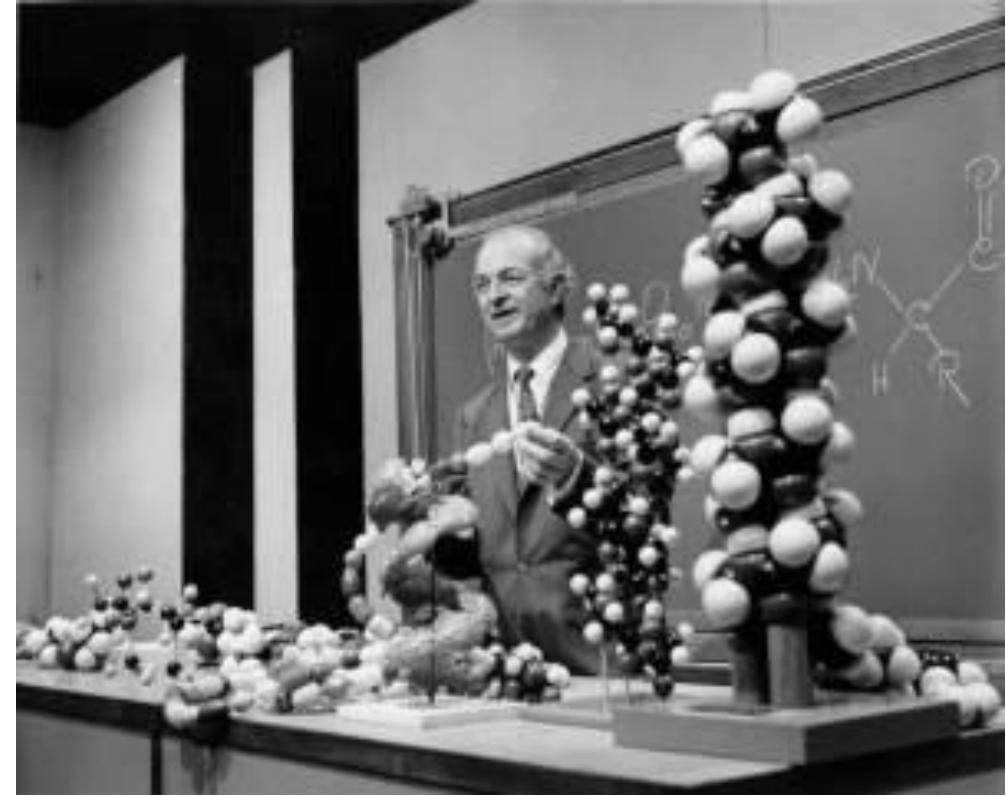
Science museum
London

Zavojnica DNA
(Watson i Crick)



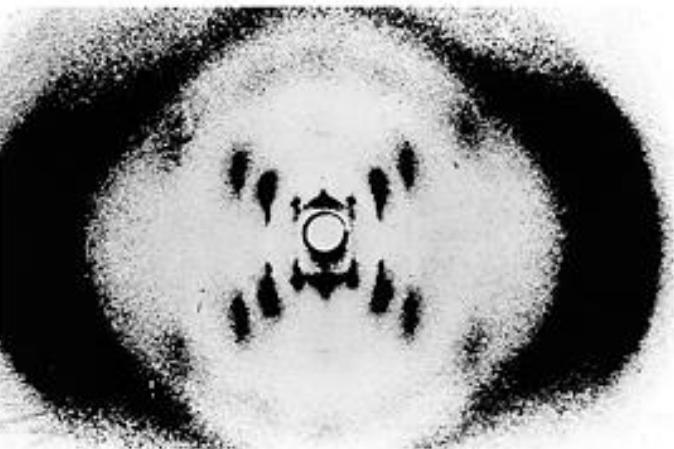
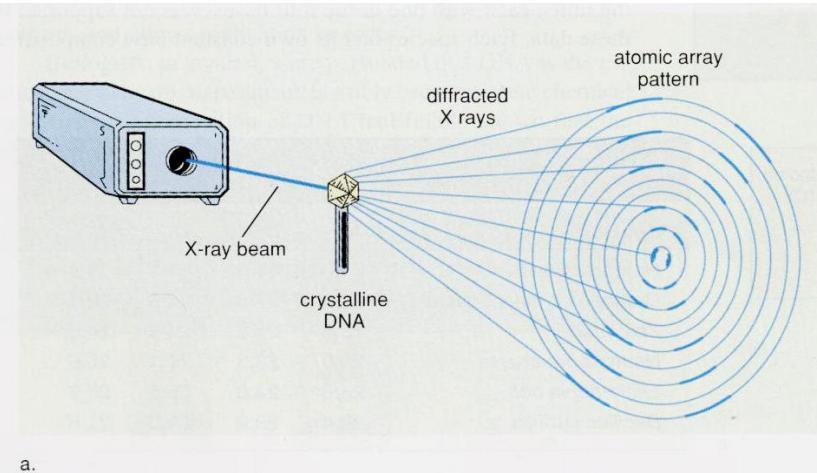
Otkrili da je DNA dvolančana

Proteinska zavojnica
(Linus Pauling)

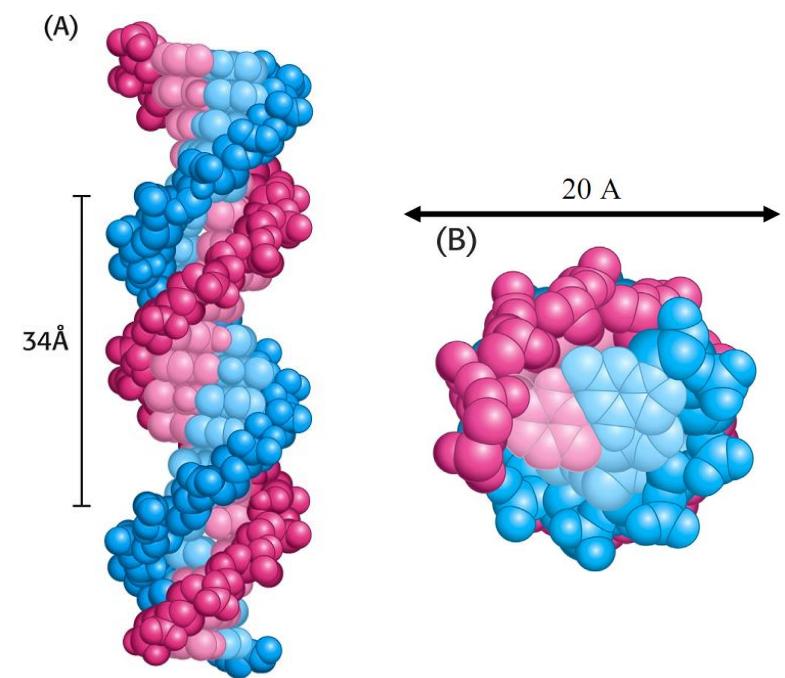


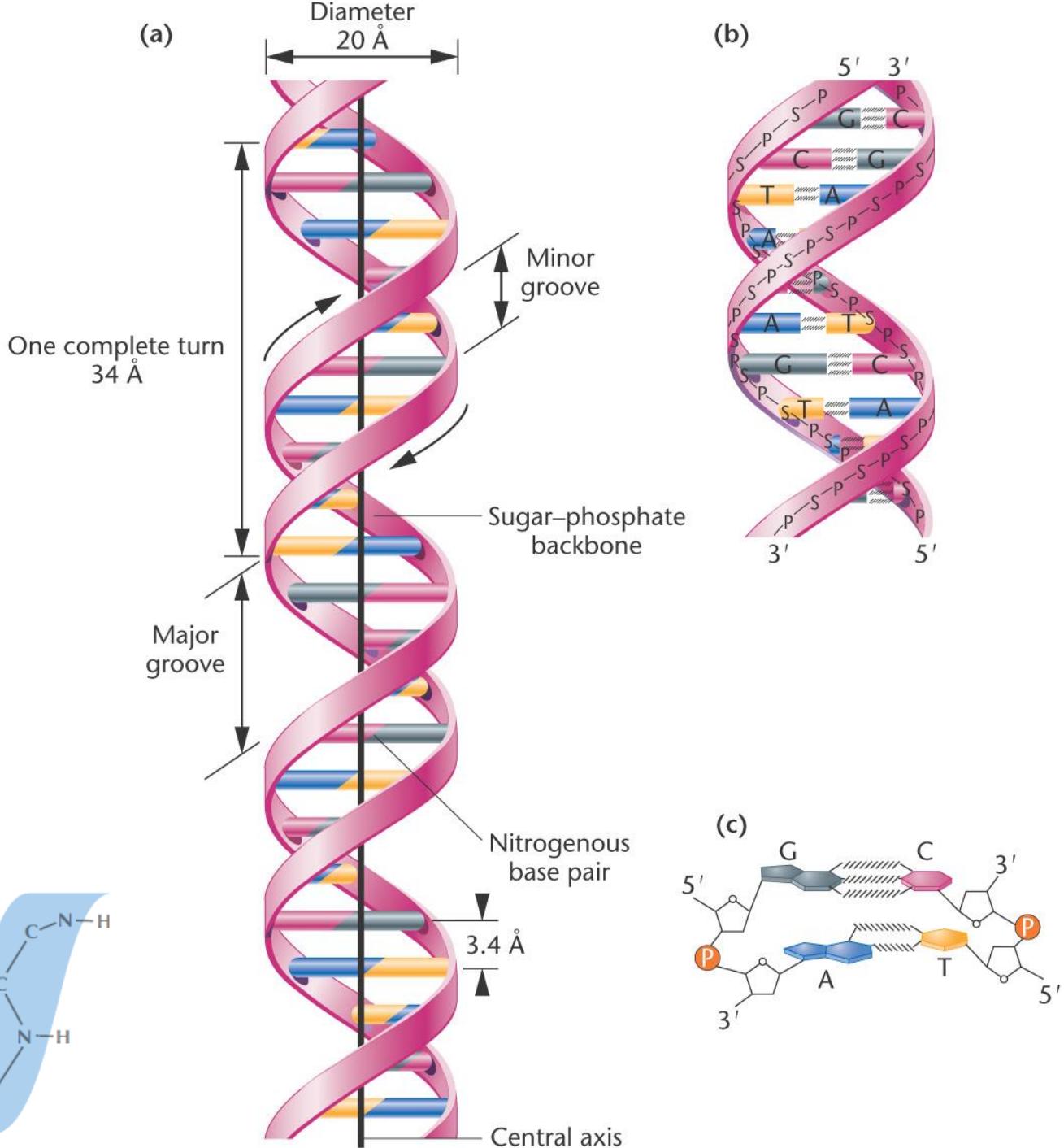
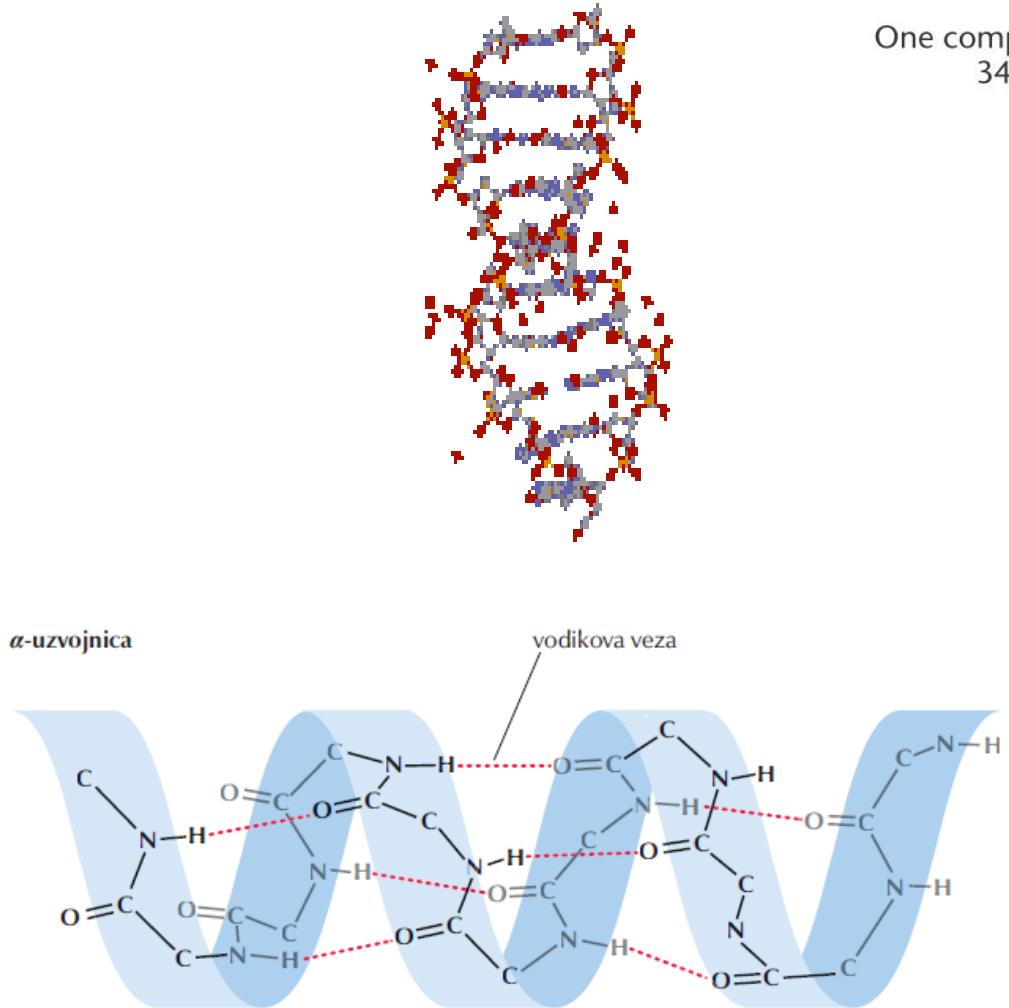
Predložio da je DNA trolančana uzvojnica s
bazama okrenutim prema van

Otkriće strukture DNA



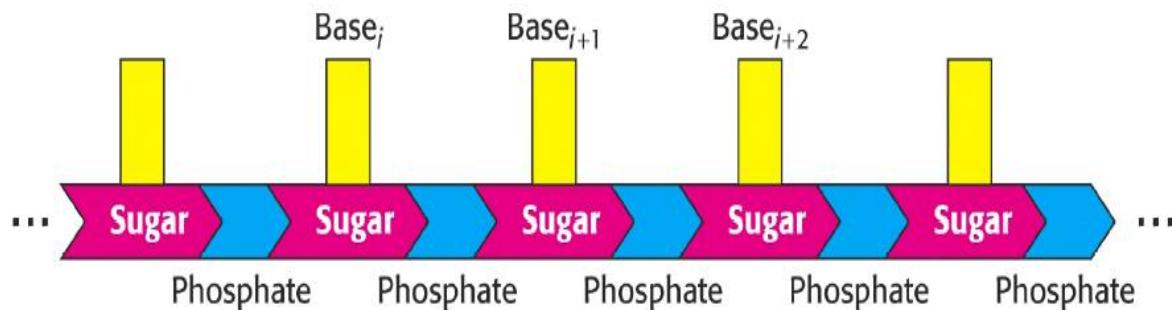
Na temelju kristalografske slike Crick je zaključio da je osnovni oblik molekule DNA dvostruka zavojnica s 10 parova baza po okretu





Nukleinske kiseline su linearne polimeri (polinukleotidi)

Informacijske molekule - sadrže genetsku uputu o građi organizma i djelovanju svih gena



Kraći polimeri se nazivaju oligonukleotidi (10 - 40 pb)
monomerna jedinica - **NUKLEOTID**

Nukleotid = Baza + šećer + fosfat

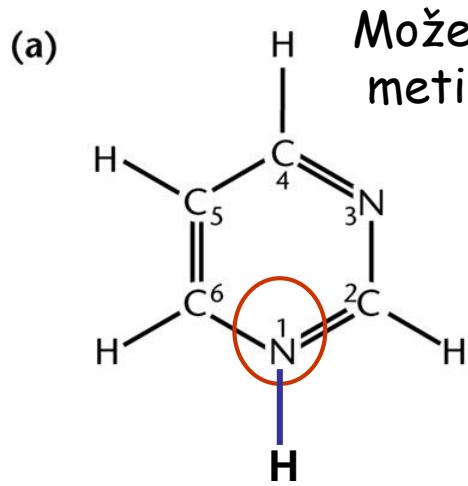
2 tipa nukleinskih kiselina:

DNA (deoksiribonukleinska kiselina) - pohrana svih podataka

RNA (ribonukleinska kiselina) - dolazi u nekoliko oblika (**mRNA, tRNA, rRNA**)

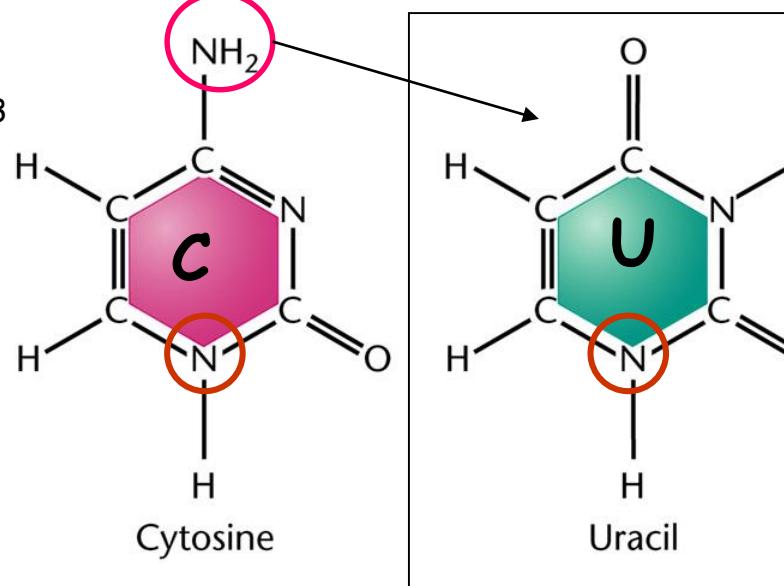
Struktura nukleotida

2) Dušična baza

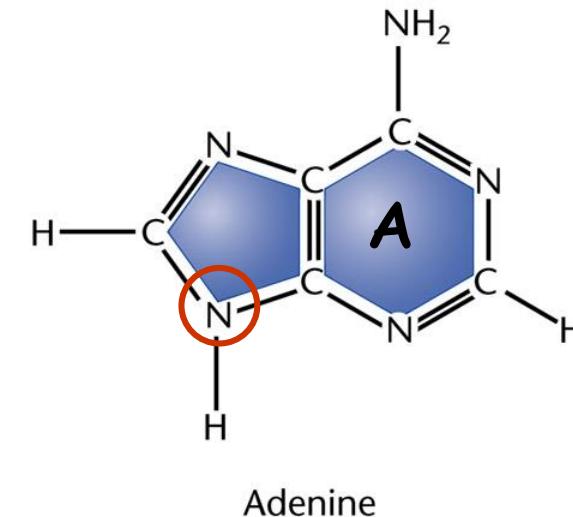
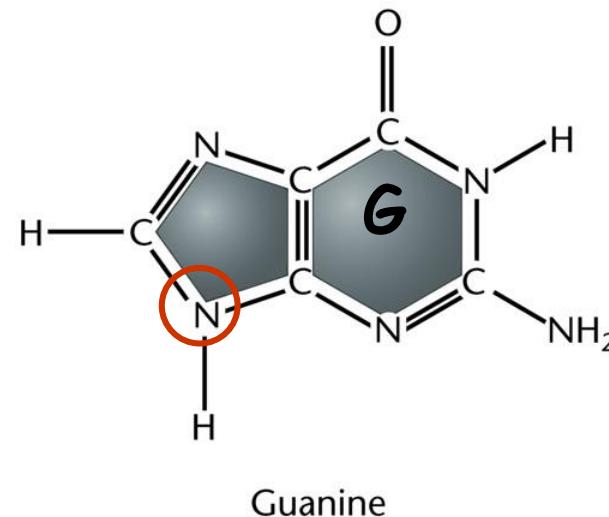
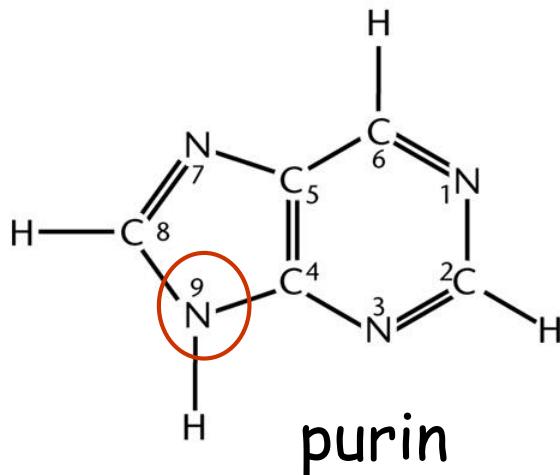
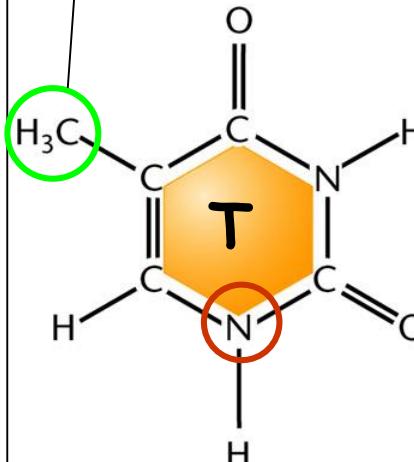


Može biti metiliran CH_3

Deaminacijom citozina nastaje uracil!

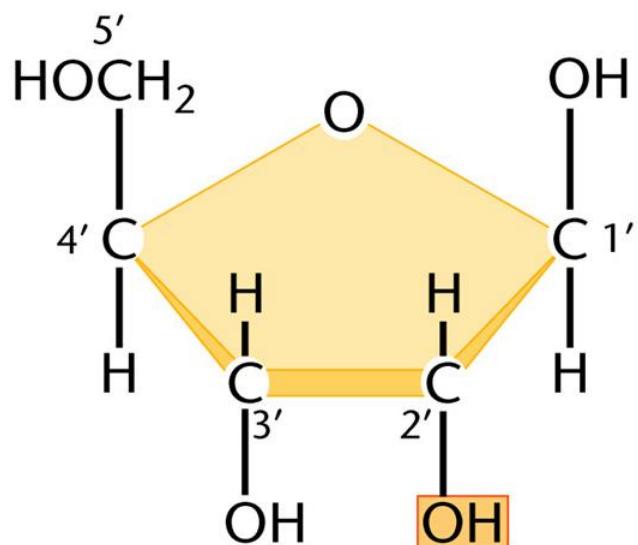


Demetilacijom timina nastaje uracil!

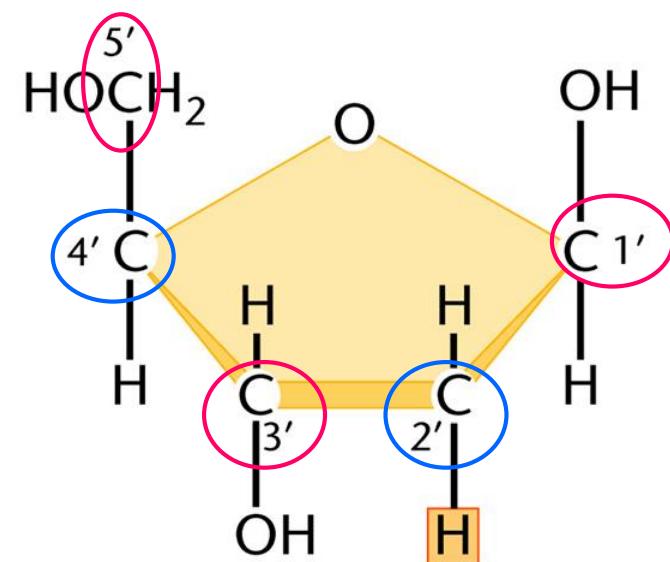


Struktura nukleotida

1) Šećer (pentoza - 5 ugljikovih atoma)

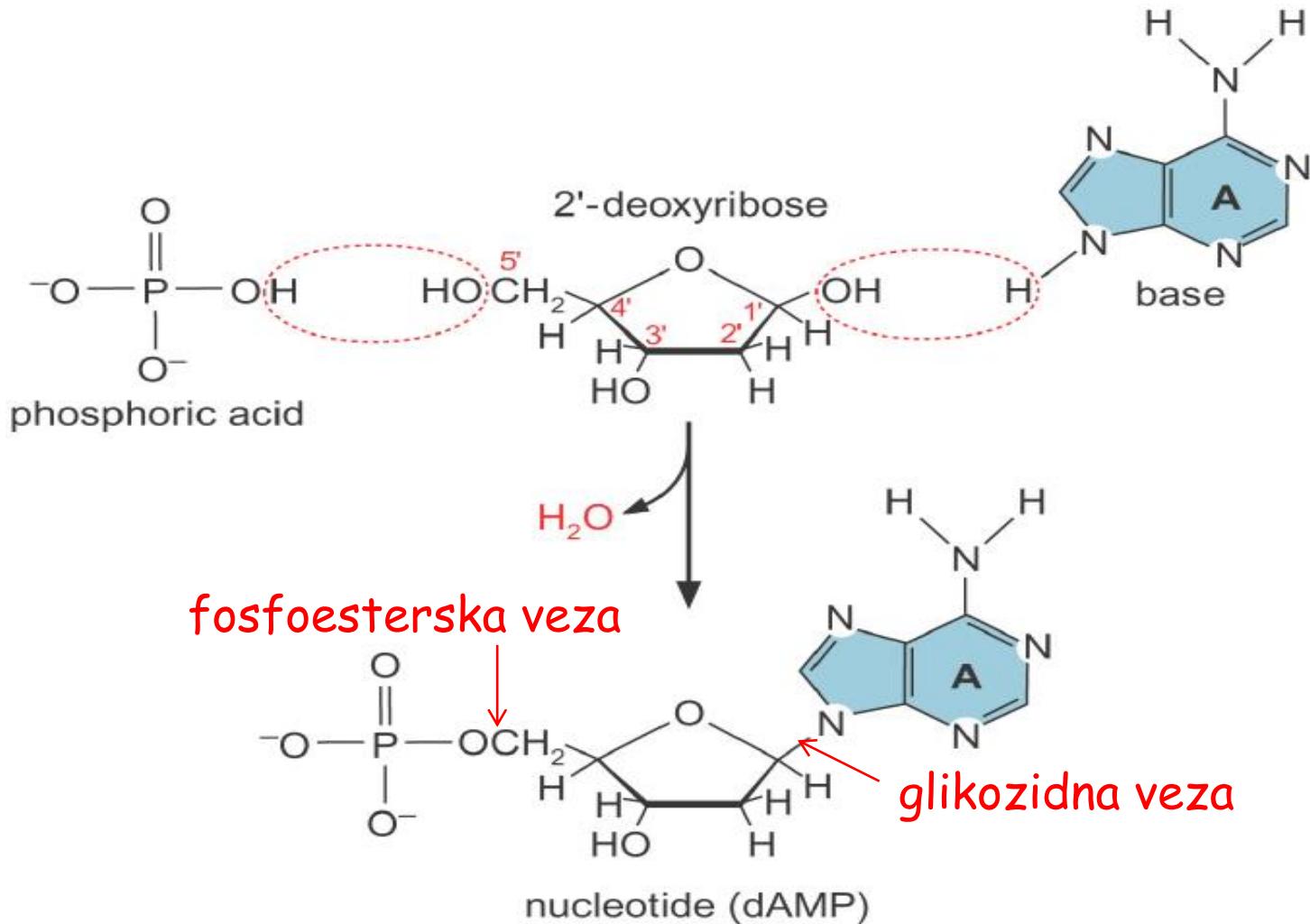


riboza



2-deoksiribosa

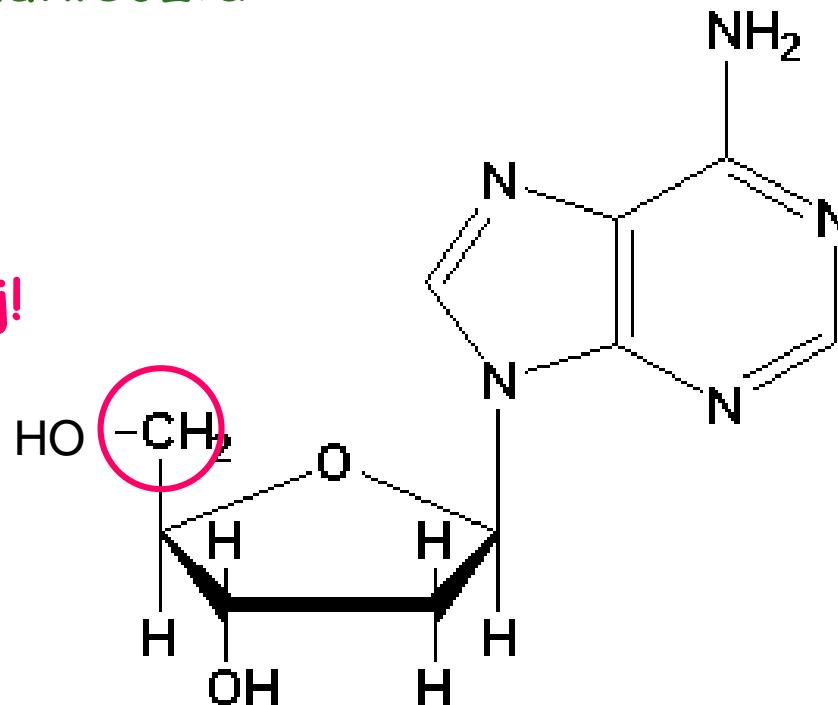
Šećer i dušična baza povezani su glikozidnom vezom



Struktura nukleotida

- 1) Deoksiriboza → Deoksinukleozid
- 2) Dušična baza
- 3) Fosfat

Nosi negativan električni naboj!



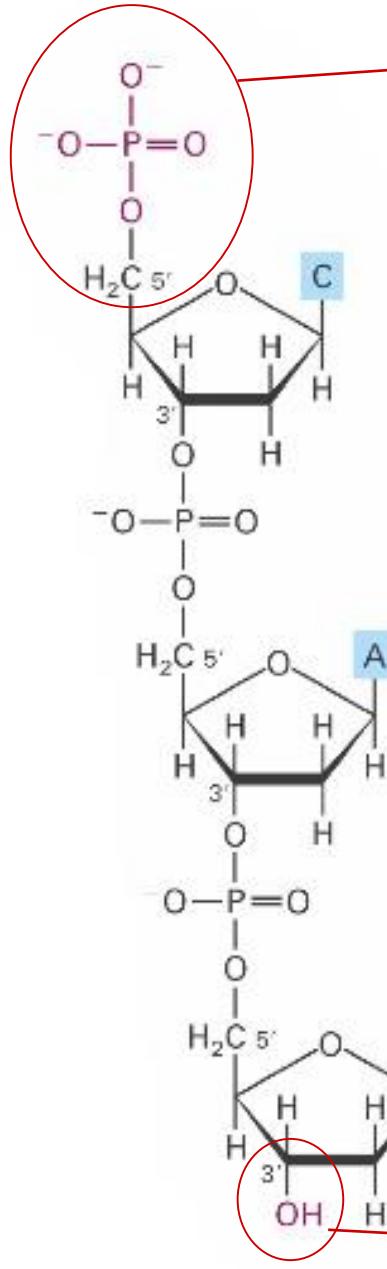
Deoksiadenozin (deoksinukleozid)

Deoksinukleotid

Deoksiadenozin + Fosfat = Deoksiadenozin-5'-monofosfat

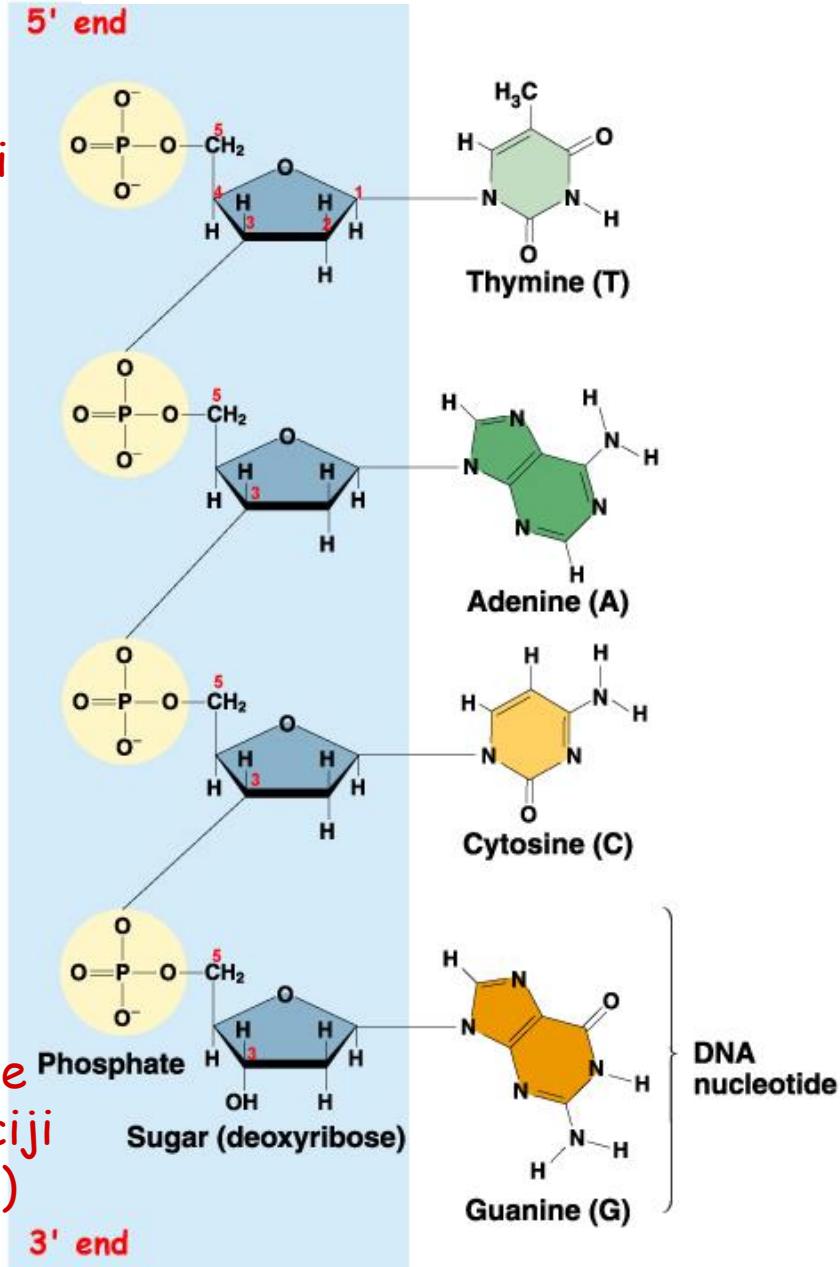
Deoksiadenozin + 2 Fosfata = Deoksiadenozin-5'-difosfat

Deoksiadenozin + 3 Fosfata = Deoksiadenozin-5'-trifosfat



na 5' kraju nedostaje nukleotid na 5' poziciji (ima 5' fosfat)

na 3' kraju nedostaje nukleotid na 3' poziciji (ima slobodnu 3' OH)



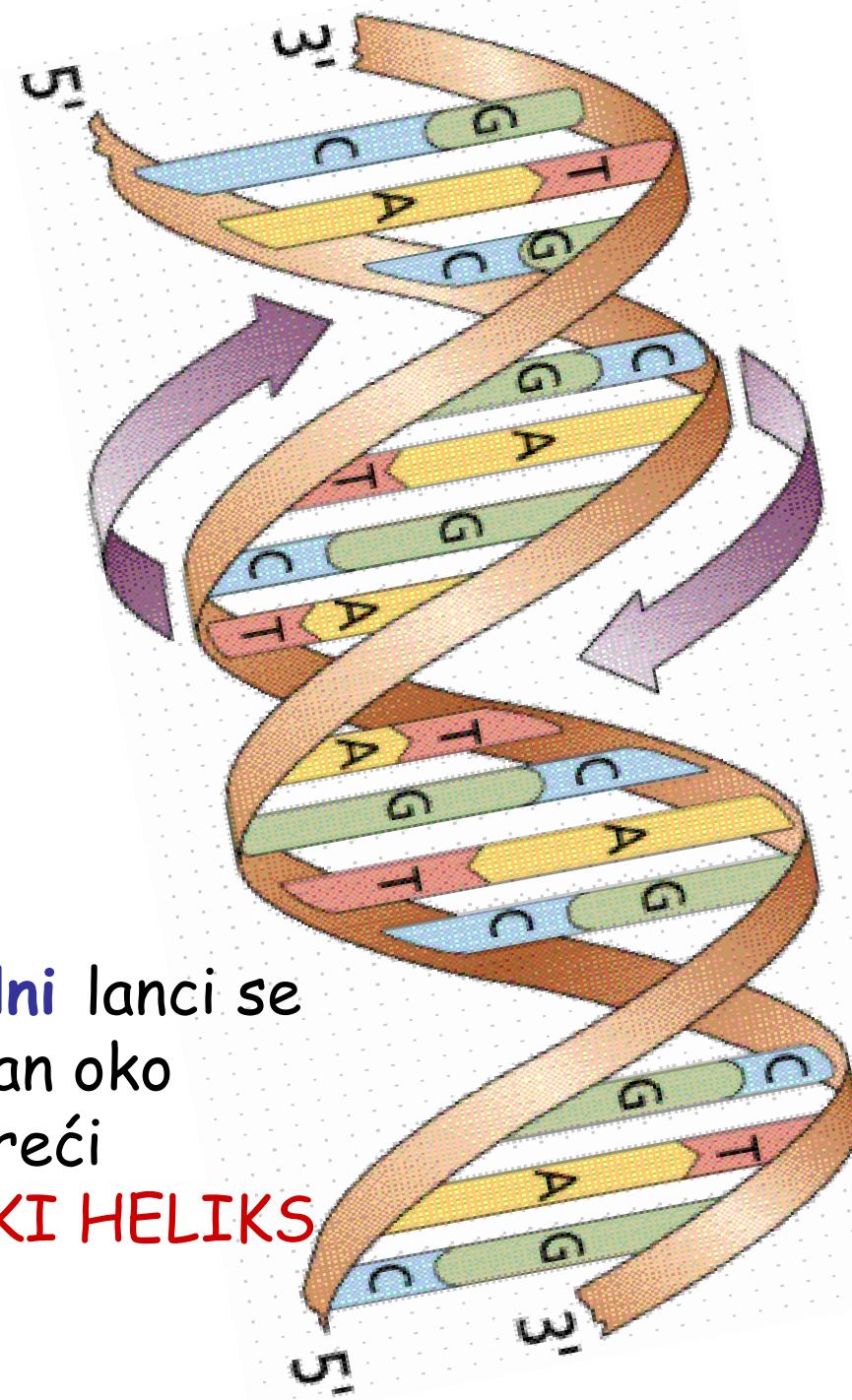
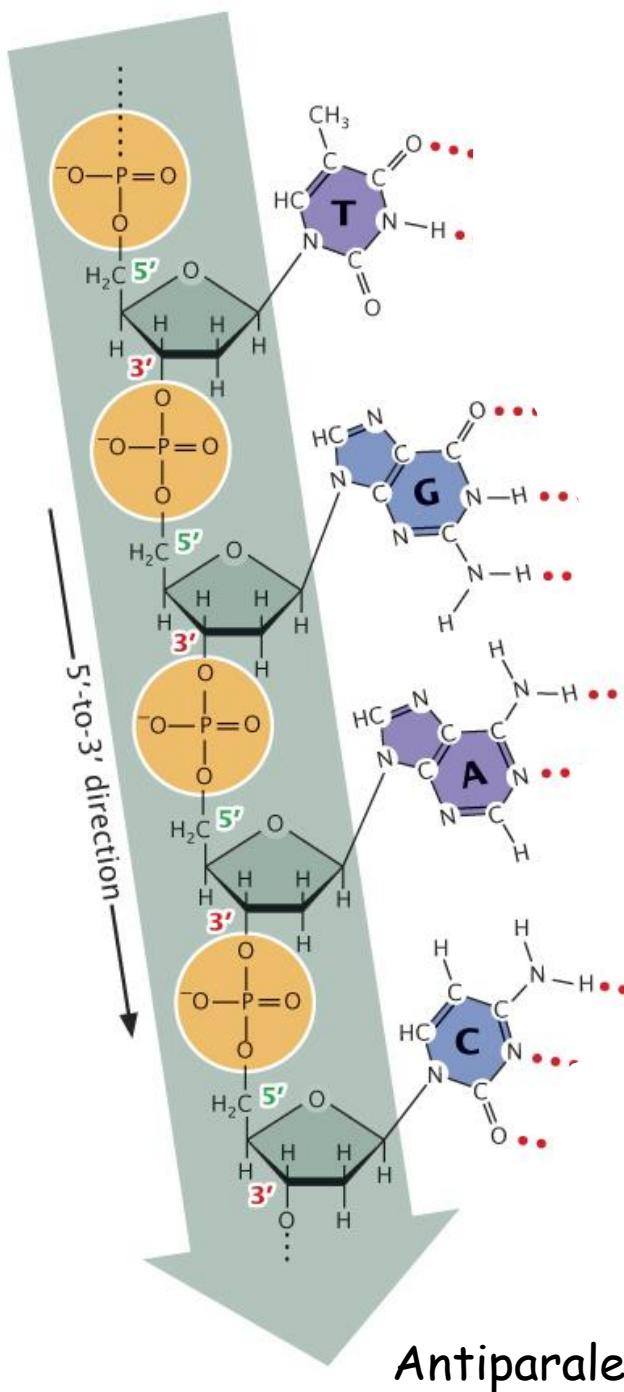
DNA

- Lanac DNA možemo zamisliti kao nit sastavljenu od 4 različita slova

ctgctggaccgggttgcttaggaccctgactgcc
cggggccgggggtgcggggccccctgag...

Nukelotidi (slova) u lancu imaju SMJER 5'→3'

Slijed baza/nukleotida (slova) u nukleinskim kiselinama nosi **genetsku informaciju**



Antiparalelni lanci se
okreću jedan oko
drugog tvoreći
DVOSTRUKI HELIKS

DNA lanci

- Antiparalelni lanci DNA **nisu identični**, već su komplementarni
- To znači da su lanci tako smješteni da su komplementarne baze međusobno sparene
- Zato je moguće predvidjeti **slijed nukleotida (sekvenci ili PRIMARNA STRUKTURA)** jednog lanca znajući sekvencu njegovog komplementa

DNA i gen

- Dogovorom se sekvenca piše od **5' prema 3' kraju**
- **GEN:** dio sekvence DNA koja nosi informaciju u obliku slijeda baza o građi proteina; obično odgovara jednoj mRNA
- Prijenos ove informacije ide preko prepisivanja (**transkripcije**) u **RNA** koja se zatim prevodi (**translatira**) u **protein**
- **Proteini** su funkcionalne molekule koje obnašaju većinu staničnih reakcija u stanici (struktturna uloga, kretanje, zaštita od bolesti, selektivno ubrzanje kemijskih reakcija...)

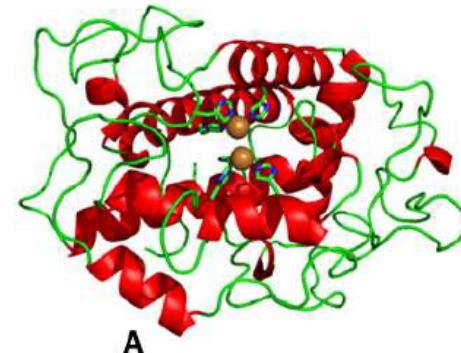
DNA sequence of tyrosinase gene

gi|209571475:5001-122888 Homo sapiens tyrosinase (oculocutaneous albinism IA) (TYR), RefSeqGene on chromosome 11
ATCACTGTAGTAGTAGCTGGAAAGAGAAAATCTGTGA
CTCCAATTAGCCAGTTCCCTGCAGACCTTGTGAGG
ACTAGAGGAAGAAATGCTCTGGCTGTTTGACTGC
CTGCTGTGGAGTTCCAGACCTCCGCTGGCCATT
TCCCTAGAGCCTGTGTCTCCTCTAAGAACCTGATGG
AGAAGGAATGCTGTCCACCCTGGAGCGGGGACAG
GAGTCCCTGTGGCCAGCTTCAGGCAGAGGTTCT
GTCAGAAATATCCTCTGTCCAATGCACCACTTGGG
CCTCAATTCCCTCACAGGGTGGATGACCGGGA
GTCGTGGCCTTCCGTCTTTATAATAGGACCTGCC
AGTGCTCTGGCAACTTCACTGGGATTCAACTGTGGAA
ACTGCAAGTTGGCTTGGGACCAAAC TGCAAC
AGAGAGACGACTCTGGTGAGAAGAAACATCTCG
ATTGAGTCCCCAGAGAAGGACAATTTTGCC
TACCTCACTTCTAGCAAAGCATACCATCAGCTCAGAC
TATGTCATCCCCATAGGGACCTATGGCCAAATGA
AAAATGGATCAACACCCATGTTAACGACATCAATA
TTTATGACCTCTTGTCTGGATGCATTATTATGT
GTCAATGGATGCACTGCTTGGGGGATCTGAAATCT
GGAGAGACATTGATTTGCCATGAAGCACCAGCT
TTTCTGCCTTGGCATAGACTCTTCTTGTGCGGTGG
GAACAAGAAATCCAGAAGCTGACAGGAGATGAAA
ACTTCACTATTCCATATTGGGACTGGCGGGATGCAG
AAAAGTGTGACATTGACAGAGATGAGTACATGGG
AGGTCAGCACCCACAAATCCTAACTTACTCAGCC
CAGCATCATTCTCTTCTTGGCAGGTAAGATAT
GCTAGATATACGATGTCAGAGTAGGGAGGAACCTT
AACAACTCTTCTCAGGCAGGGTATAAAACTTCTC
ACCTGAACACTCATTGAGCCCCATCAAGGACAG
AAATGGTGCCCTGTTAAGAACTCTCAATGTATCTT

Primary structure of tyrosinase protein

>gi|403422|gb|AAB60319.1| tyrosinase [Homo sapiens]
MLLAVLYCLLWSFQTSAGHFPRACVSSKNLMEKECCPP
WSGDRSPCGQLSGRGSQNILLSNAPLGQPQFP
FTGVDDRESWPSVFYNTRCQCSGNFMGFNCGNCKF
GFWGPNCTERLLVRRNIFDLSAPEKDKFFAYTL
AKHTISSDYVIPIGTYGQMKNGSTPMFNDINIYDLFVW
MHYYVSMDALLGGSEIWRDIDFAHEAPAFLPW
HRLFLRWQEIQKLTGDENFTIPYWDWRDAEKCDIC
TDEYMGGQHPTNPNLSPASFFSSWQIVCSRLE
EYNSHQSLCNGTPEGPLRRNPGNHDKSRTPLPSSADV
EFCLSLTQYESGSMDKAANFSFRNTLEGFASP
LTGIADASQSSMHNALHIYMNGTMSQVQGSANDPIFL
HHAFVDSIFEQWLQRHRPLQEYVPEANAPIGH
NRESYMPFIPLYRNGDFFISSKDLGYDYSYLQDSDPDSF
QDYIKSYLEQASRIWSWLLGAAMVGAVLTA
LLAGLVSLLCRHKRKQLPEEKQPLLMEEKDYHSLYQSHL

Quaternary structure of tyrosinase protein



RNA

- U stanicama nalazimo 3 osnovne vrste RNA
 - **mRNA** ili glasnička RNA - sadrži prijepis upute za redoslijed aminokiselina u proteinu
 - **tRNA** ili transfer RNA - donosi aminokiseline na ribosom (antikodon)
 - **rRNA** ili ribosomalna RNA - gradi ribosome, osigurava pravilno povezivanje mRNA i male podjedinice ribosoma, **katalizira stvaranje peptidne veze**

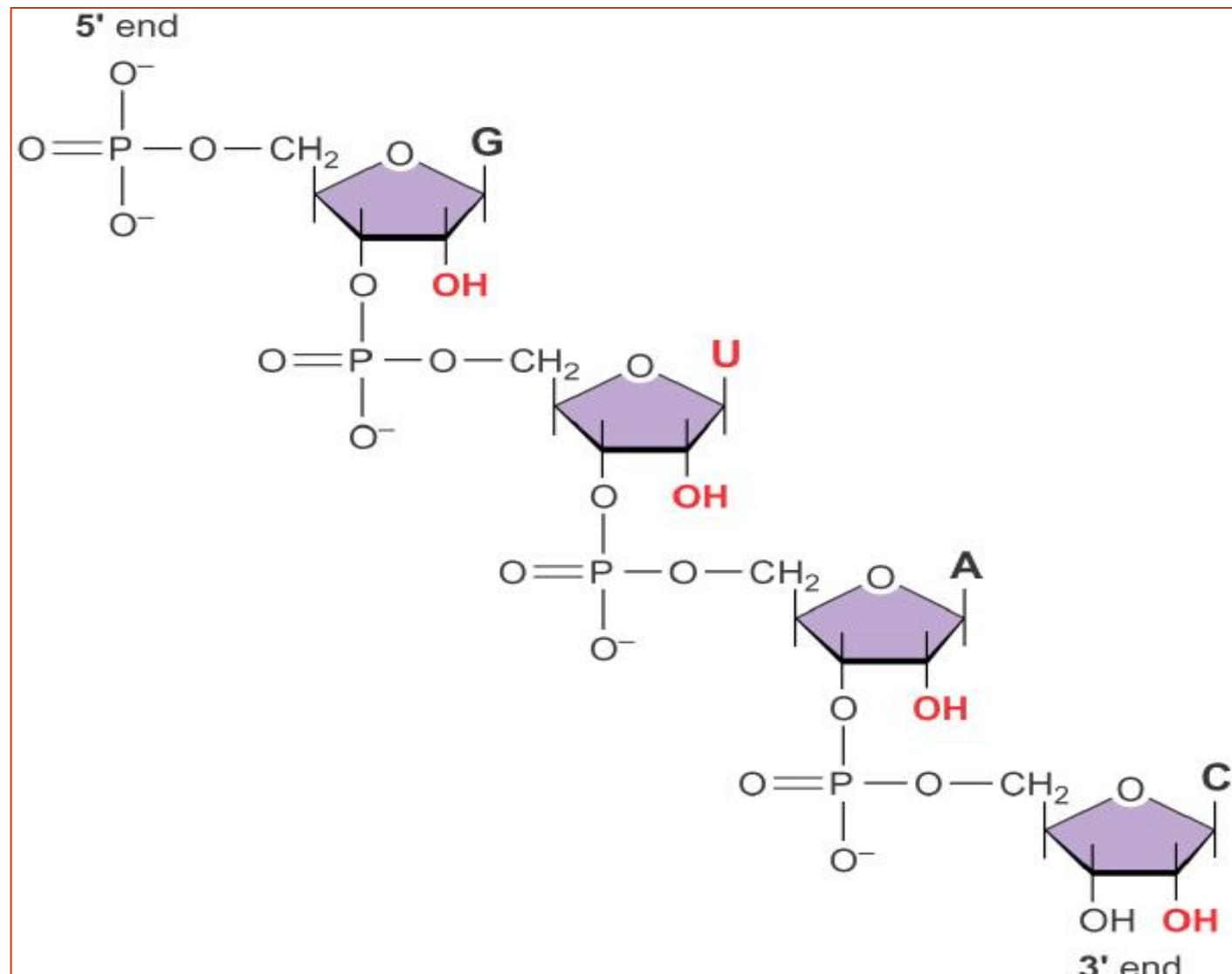
Struktura RNA

RNA sadrži šećer ribozu i bazu uracil

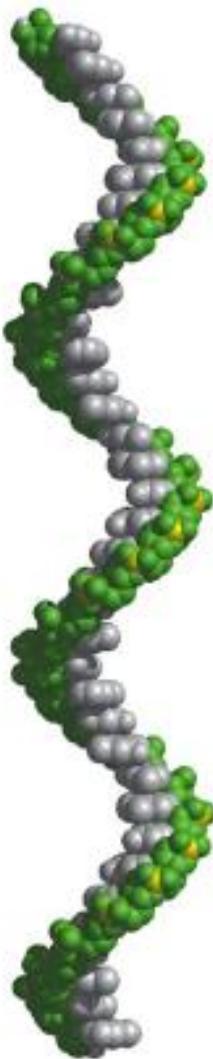
Obično je jednolančana

RNA predstavlja vezu između gena i proteina

RNA može biti genetički materijal nekih virusa

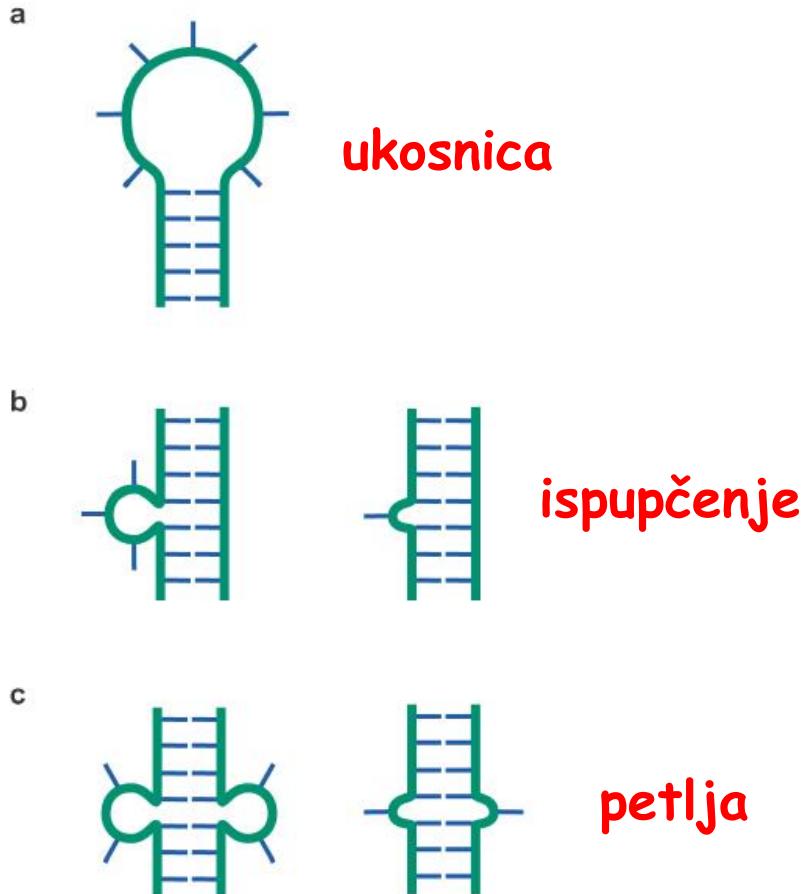


Lanci RNA se mogu preklopiti i stvarati lokalne dvolančane regije, po konformaciji slične A obliku DNA

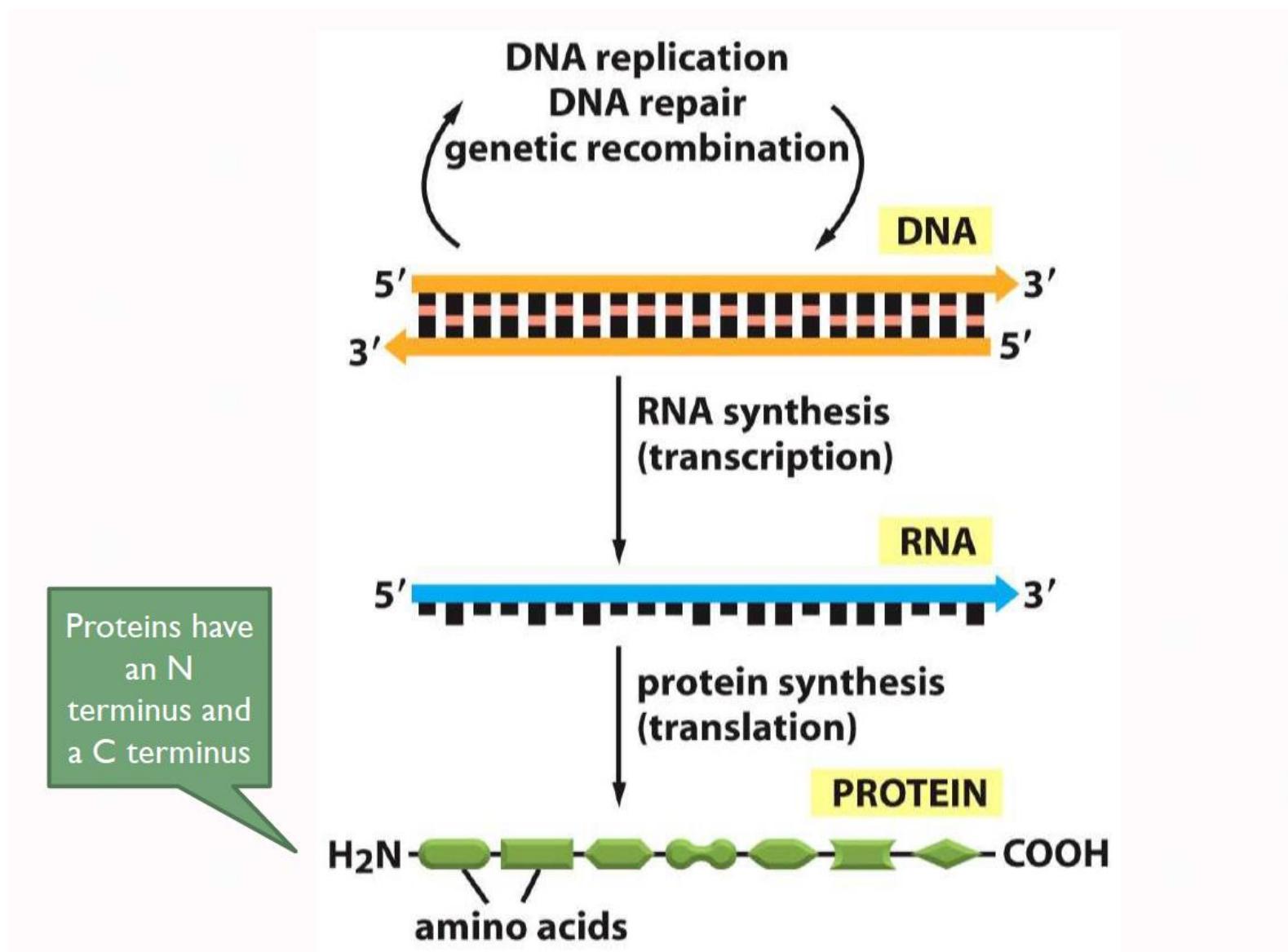


Desna, jednolančana uzvojnica RNA

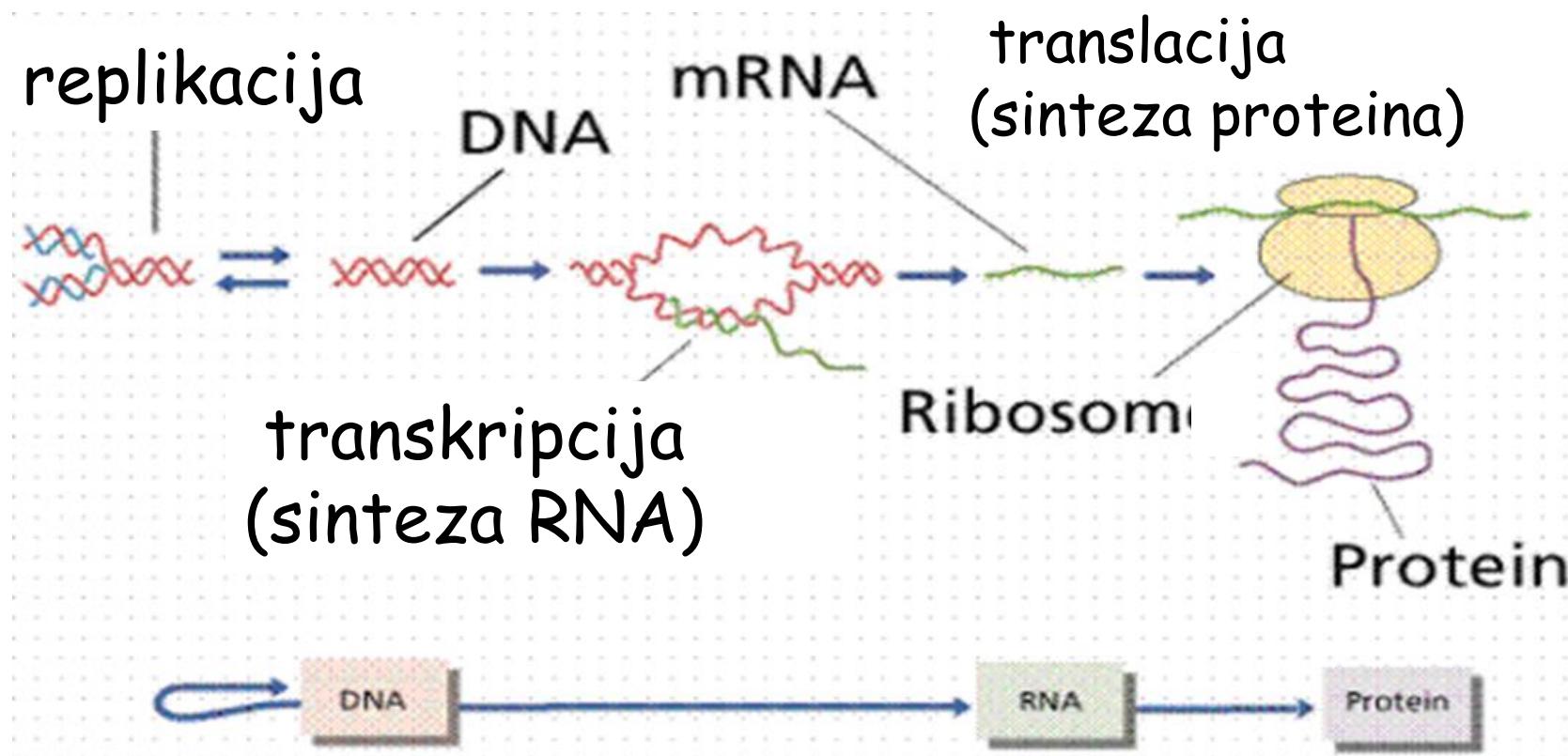
Sekundarne strukture

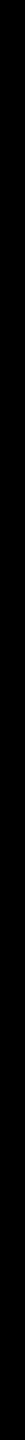


Kako se gen eksprimira?

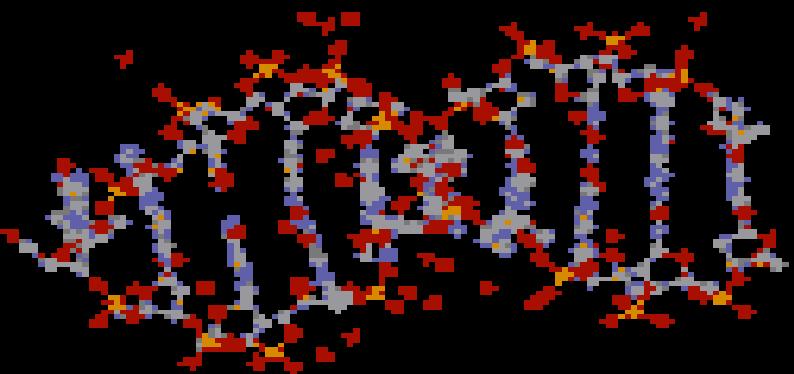
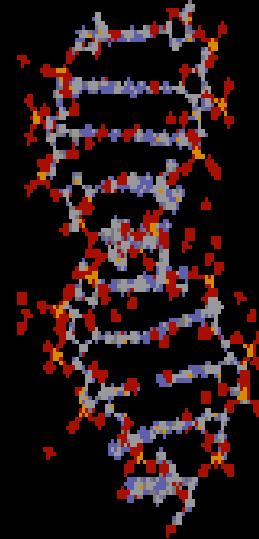
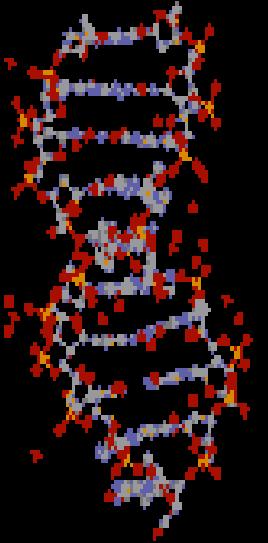


Centralna dogma molekularne biologije

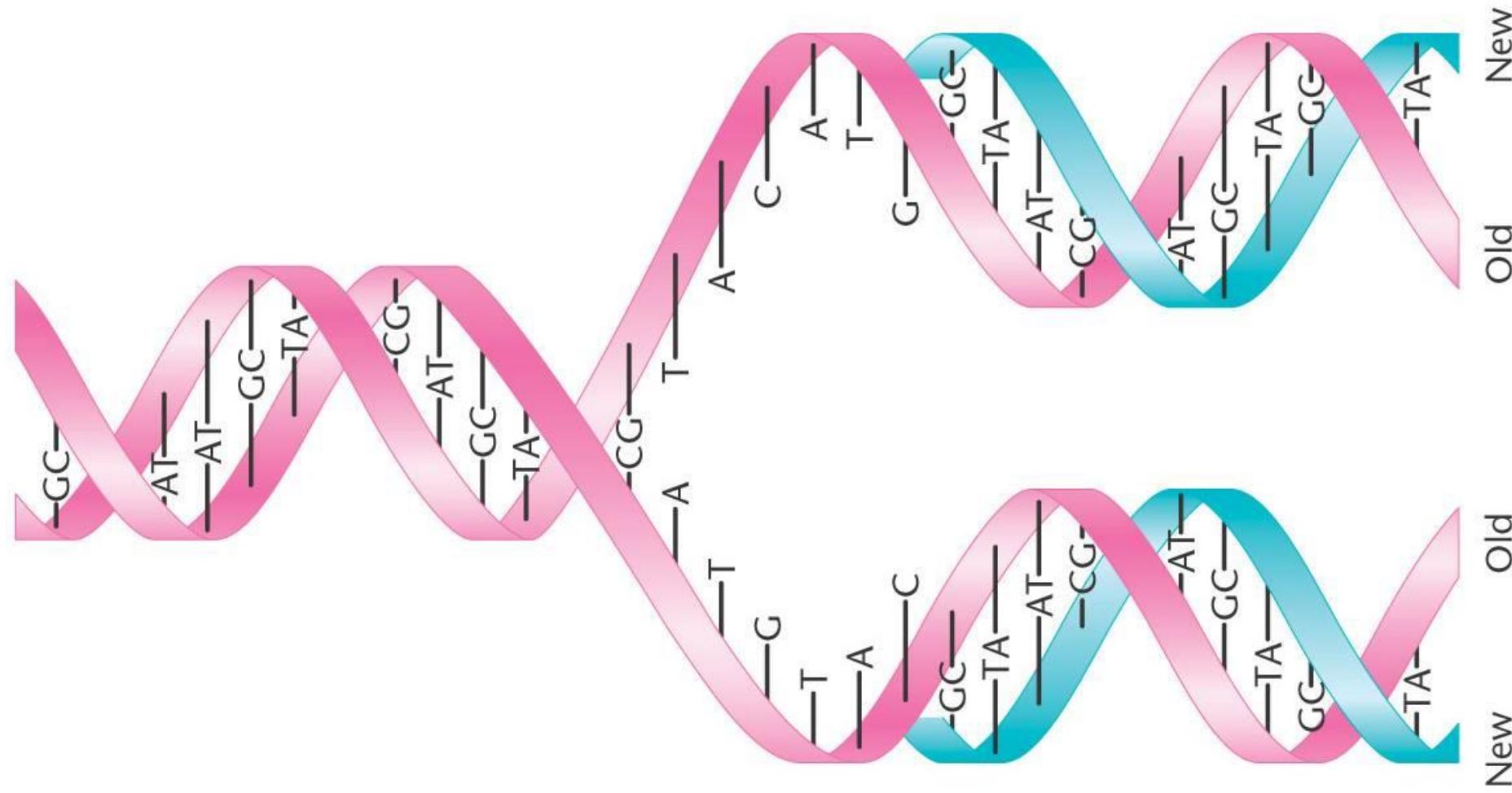




PAUZA



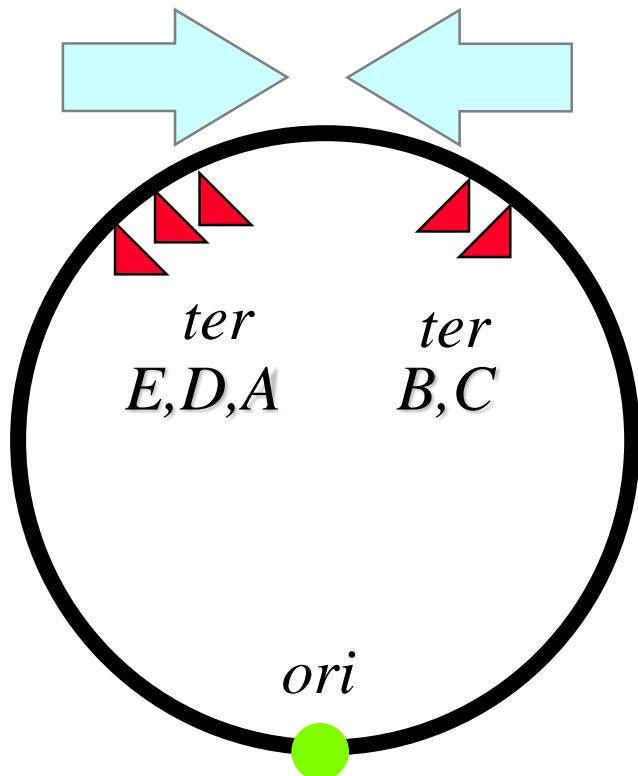
2) REPLIKACIJA MOLEKULE DNA



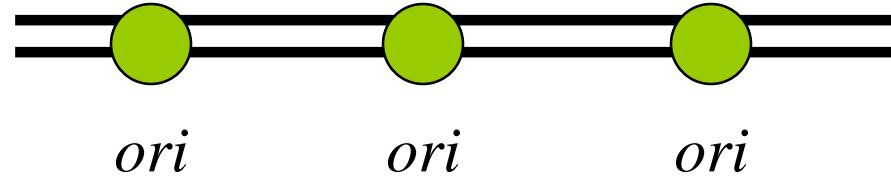
Replikoni

- **Replikon**: cjelovita molekula DNA na kojoj se događa replikacija. Mora sadržavati izvorište replikacije (replikacijski start, *ori*) i može sadržavati kraj (**terminus**, stop)
- Događa se **jedan** put po staničnom ciklusu
- Dioba stanice ne može započeti ako replikacija nije završila
- Primjeri: bakterijski kromosom, eukariotski genom, virusni genom i slično

Replikoni mogu biti kružni i linearni

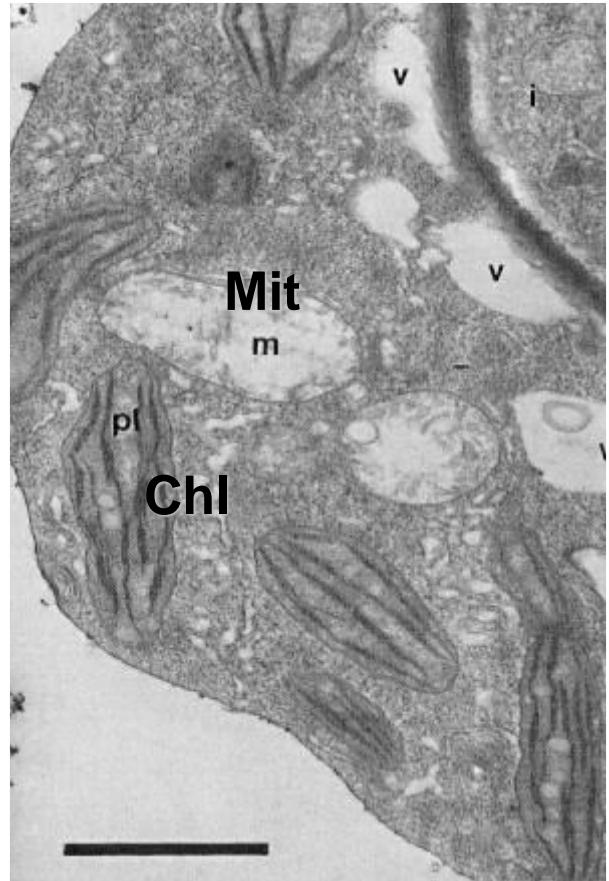


Kružni replikon, 1 *ori*
prokarioti

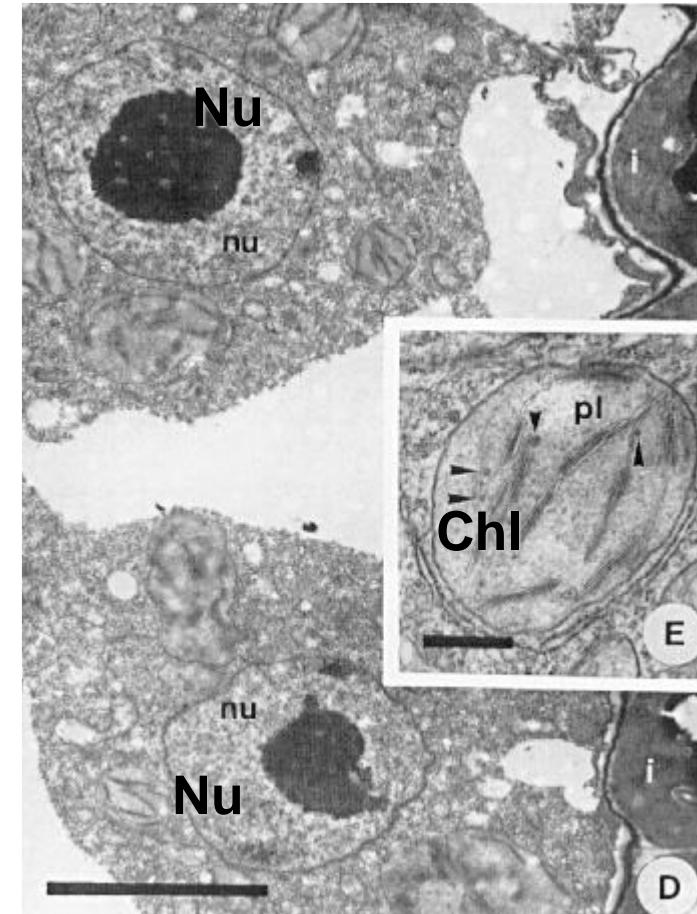


Linearan replikon, više *ori*
eukarioti

Koliko ima replikona u biljkama?



jezgra?



kloroplasti?

mitochondriji?

Replikacija DNA je umnažanje DNA pri čemu informacija sadržana u slijedu baza ostaje sačuvana.

Conservative



Semiconservative

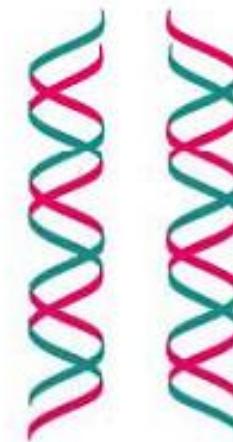
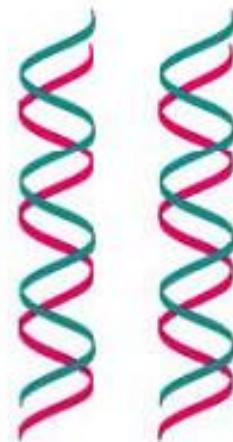
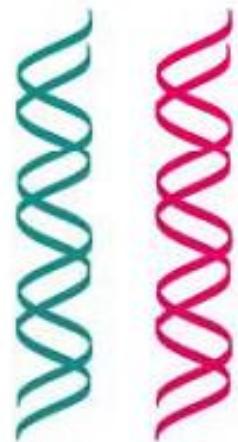


Dispersive

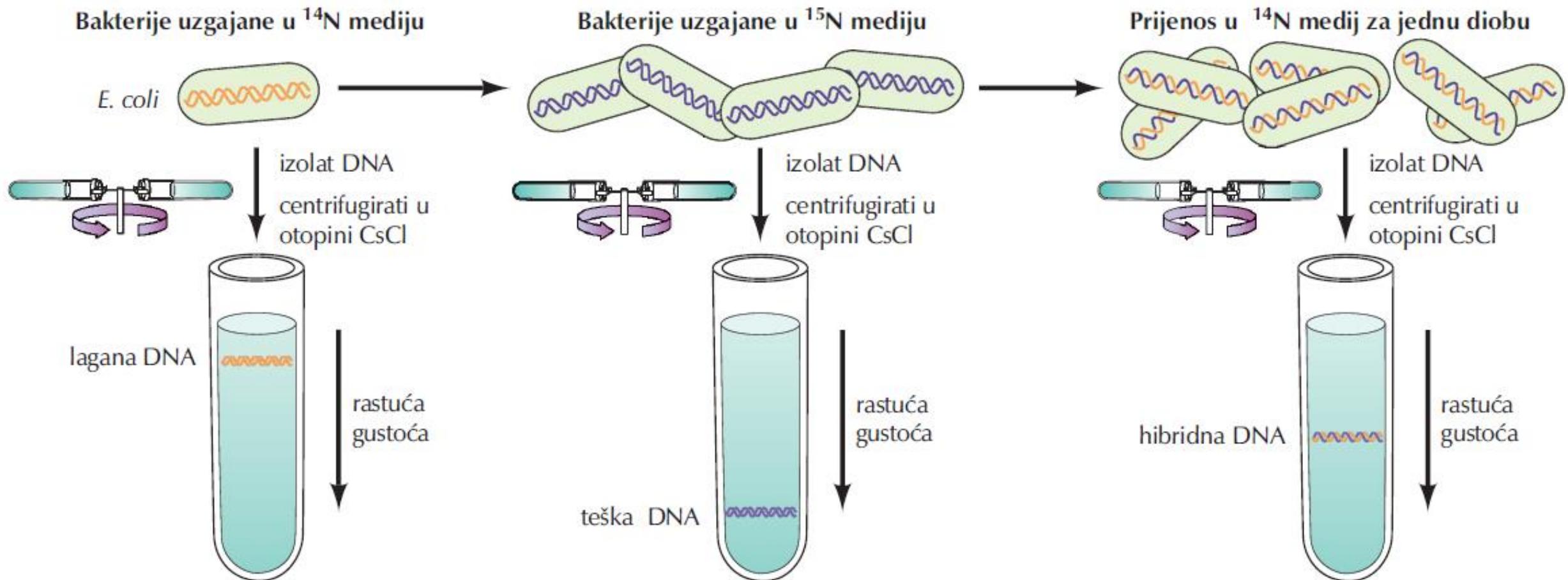


Što je točno?

One round of replication — New synthesis is shown in blue



Pokus Meselson i Stahl 1958.

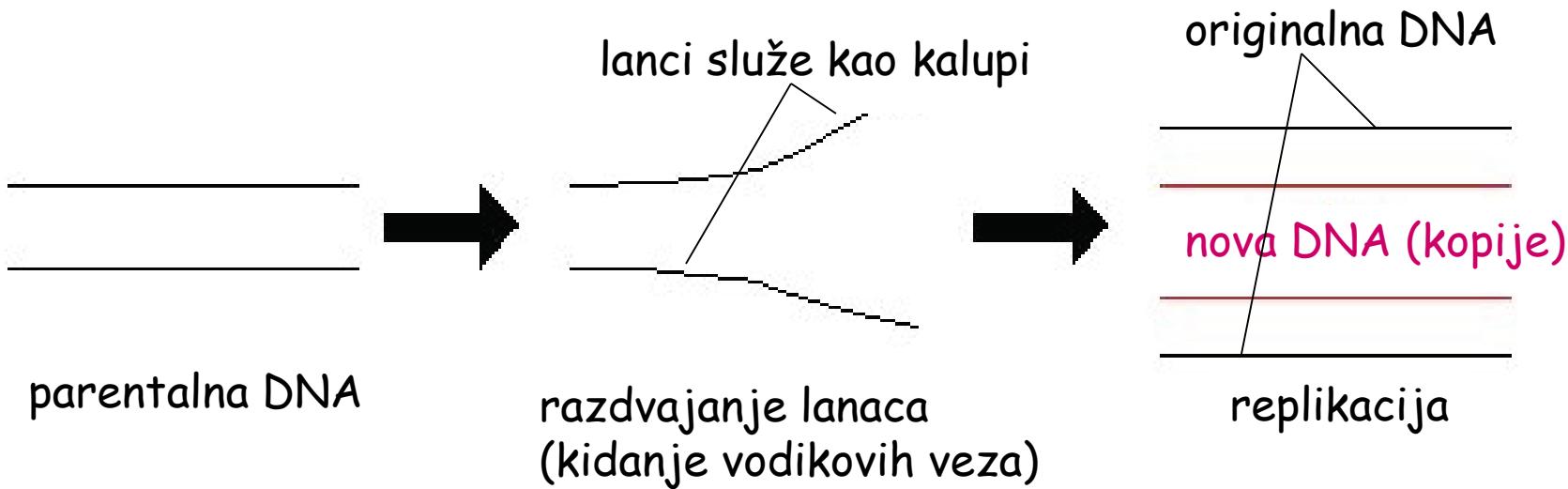


Osnovna svojstva replikacije DNA

- (i) Replikacija je **usmjeren**a: polimerizacija se odvija u **5' → 3' smjeru** (stvaranje fosfodiesterskih veza između slobodne 3'OH grupe i 5' dNTP-a, pirofosfat se eliminira)
- (ii) Replikacija je **semi-konzervativna** (jedan lanac stari, jedan novi)
- (iii) Replikacija je **semi-diskontinuirana** (jedan lanac se sintetizira kontinuirano a drugi u fragmentima)
- (iv) Za replikaciju je potreban:
 - kalup**
 - začetnica ili početnica (engl. primer)

Osnovna svojstva replikacije DNA

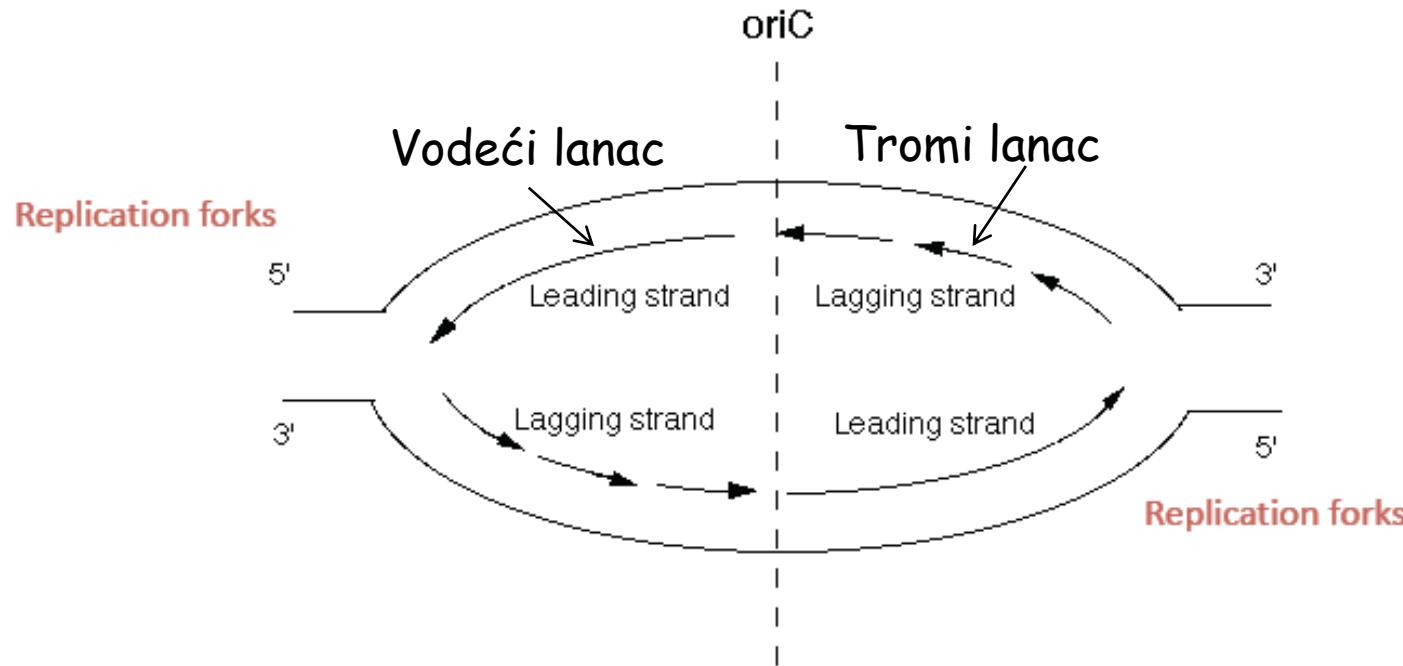
Semi-konzervativna



Meselson-Stahl
Experiment

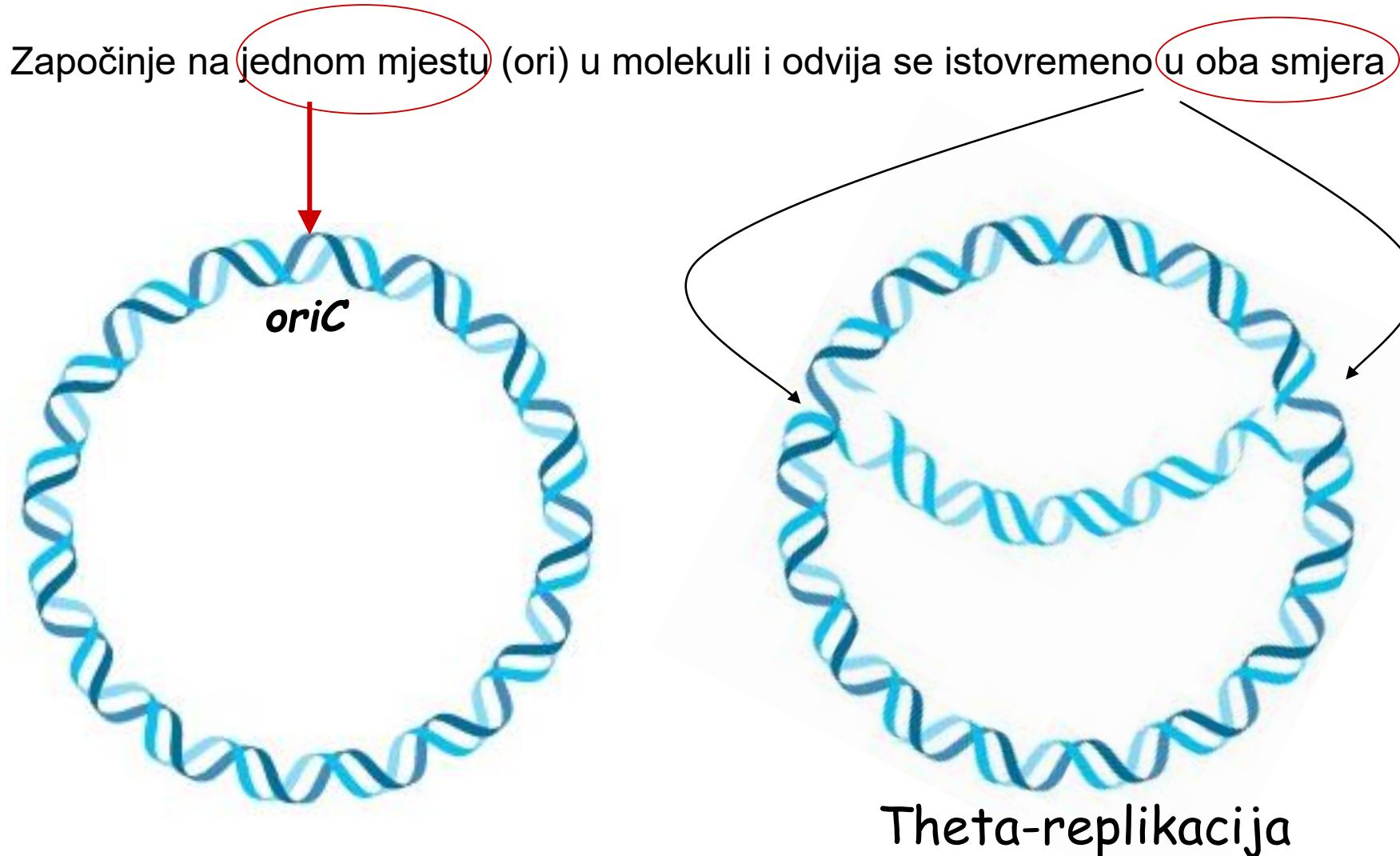
Osnovna svojstva replikacije DNA

Semi-diskontinuirana



Usmjerena: Polimerizacija se odvija u $5' \rightarrow 3'$ smjeru

Osnovna svojstva replikacije DNA



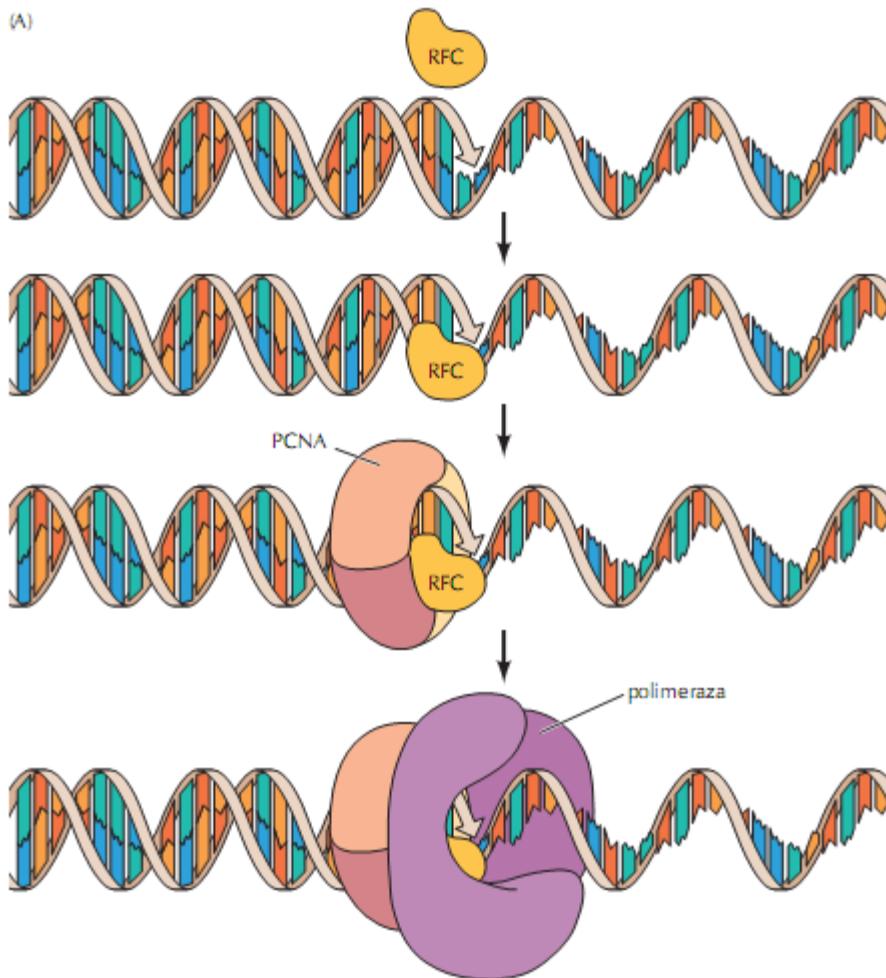
(v) **Dvosmjerne** replikacija (bakterijskog kromosoma *E. coli*)

Enzimi koji sudjeluju u replikaciji

- **Helikaze** - odvajaju lance DNA, troše ATP (DnaB)
- **Topoizomeraze** - uklanjaju torzionalni stres zbog razdvajanja lanaca
- **DNA vezujući proteini (SSB)** - stabiliziraju odvojene lance
- **Primaze** - sintetiziraju male molekule RNA koje služe kao začetnice/početnice (daju slobodan 3'OH kraj na koji se može dodati prvi deoksinukleotid)
- **DNA polimeraze** - sintetiziraju nove lance dodavanjem nukleotida
- **DNA ligaze** - zatvaraju ureze nakon što se uklone RNA početnice (katalizira fosfodiestersku vezu)

Pomoćni proteini polimeraze

- Proteini kližuće stezaljke (sliding clamps) - stvaraju prsten oko DNA-kalupa
- Proteini za stavljanje stezaljke (clamp loading proteins)



Proteini za stavljanje stezaljke:

E. coli: γ -kompleks

Eukarioti: replikacijski faktor C (**RFC**)

Proteini kližuće stezaljke:

E. coli: β protein

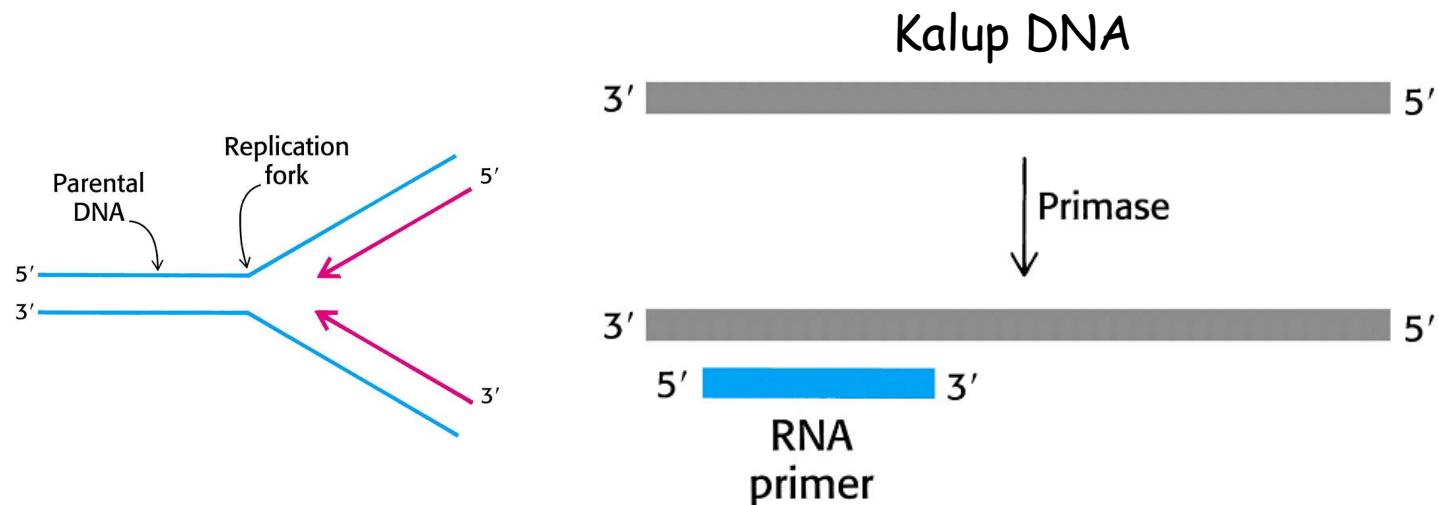
Eukarioti: jezgreni antigen proliferirajućih stanica (**PCNA**)

Replikaciju kataliziraju enzimi DNA polimeraze (1957. Kornberg)

- Pravila rada svih DNA polimeraza:
 1. polimeriziraju u $5' \rightarrow 3'$ smjeru
 2. trebaju začetnicu sa slobodnim $3' OH$ krajem (mogu samo **produžiti** lanac, ne mogu započeti sintezu de novo). Na $3'$ kraju ne smije biti krivo spareni nukleotid.
 3. mogu provjeriti točnost sinteze DNA ($3' \rightarrow 5'$ egzolektorirajuća aktivnost)
 4. mogu biti ili procesivne ili distributivne

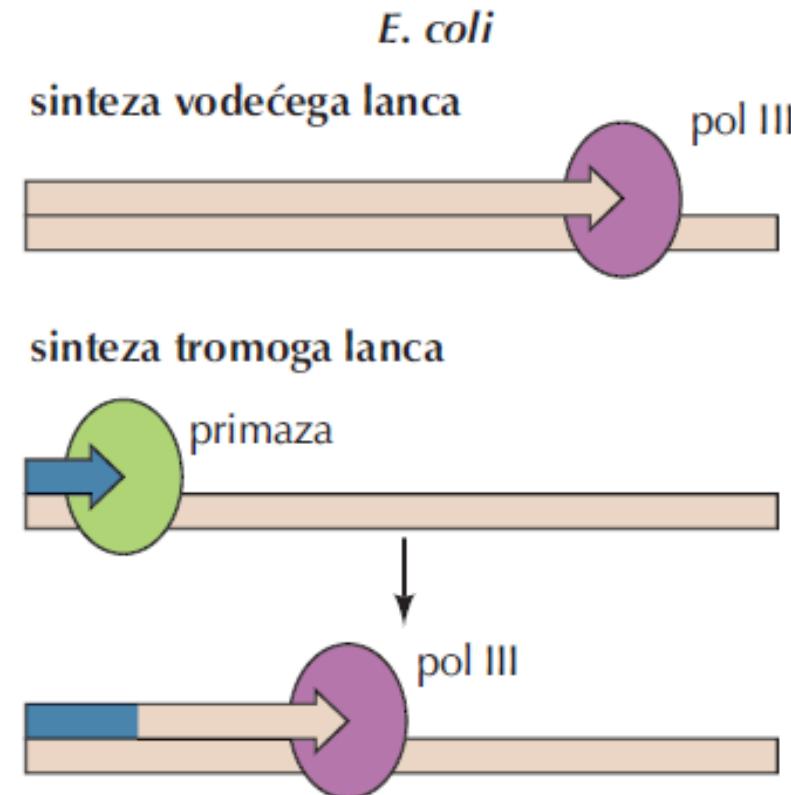
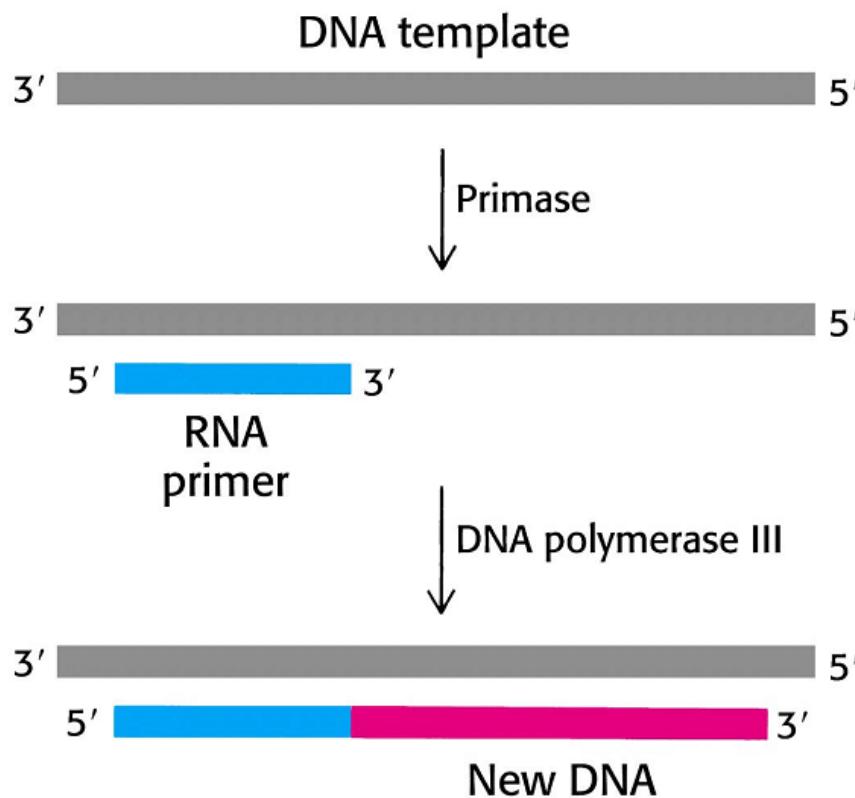
Započinjanje (priming) sinteze

- Kako započinje sinteza DNA kad je otvorena DNA?
Znamo da polimeraze produžavaju s 3'OH kraja.
- **RNA Začetnice (primer)**: 10-12 nukleotida duge RNA molekule potrebne za početak sinteze novog lanca
- **Primaza (DnaG)**: enzim koji sintetizira RNA začetnice za replikaciju DNA



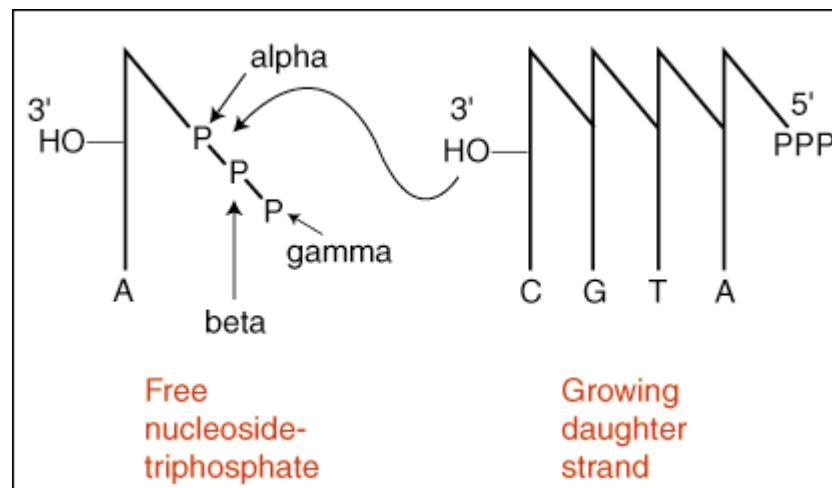
Sinteza novih lanaca

Lanci DNA rastu ponavljanjem ciklusa dodavanja nukleotida na 3' OH krajeve lanaca pomoću DNA polimeraze . Nukelotidi se međusobno povezuju **fosfodiesterskom vezom**.



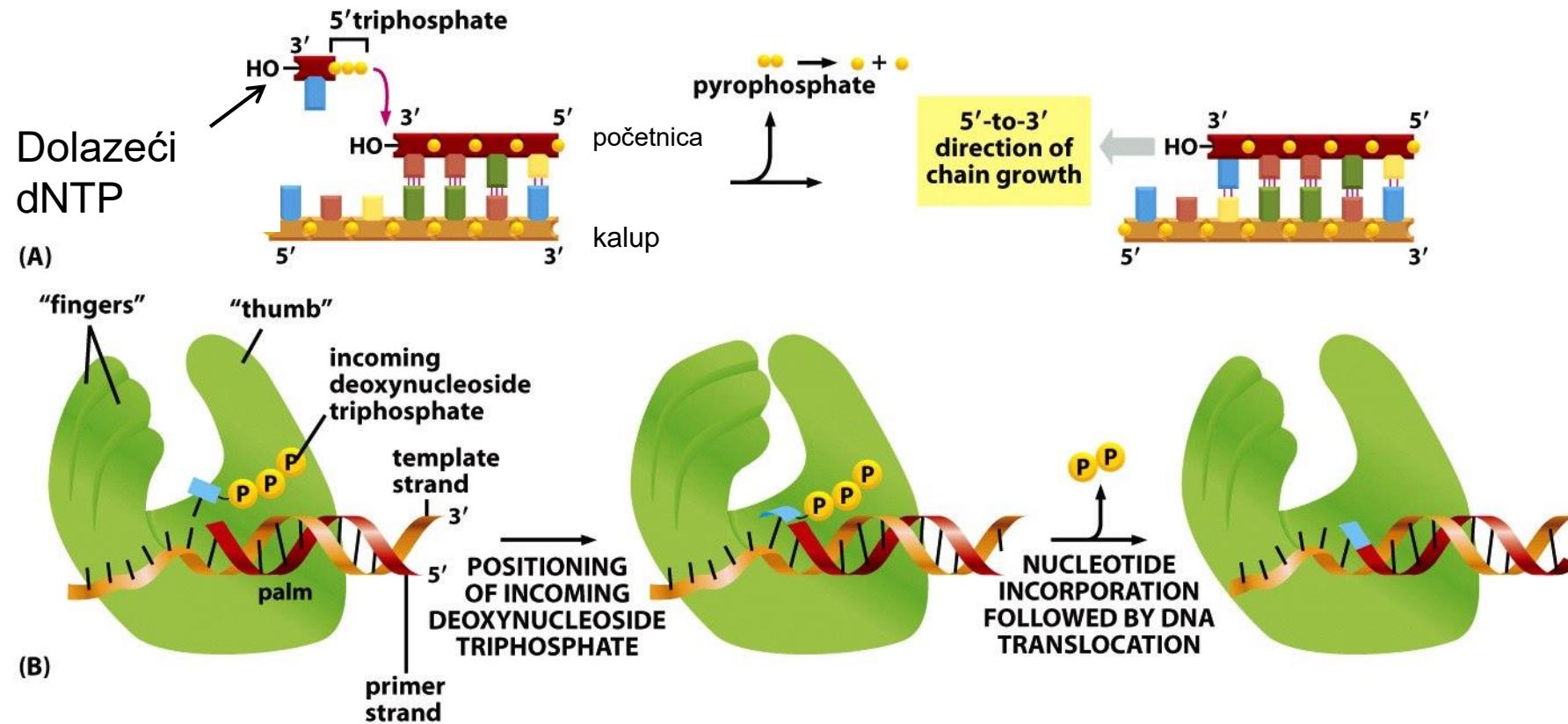
Sinteza novih lanaca

- Dodavanje mononukleotida na rastući lanac **nije spontan** proces. Svaki nukleotid **nosi energiju** za svoje dodavanje u lanac.
- Veza između 3'-OH rastućeg lanca i dNTP-a nastaje tako da dolazi do **transesterifikacije** između α -fosfata (prvi uz šećer) i 3'-OH skupine. Krajnja dva fosfata se oslobođaju kao **pirofosfat** koji se hidrolizira u dva fosfata. Hidroliza pirofosfata čini reakciju **ireverzibilnom**.



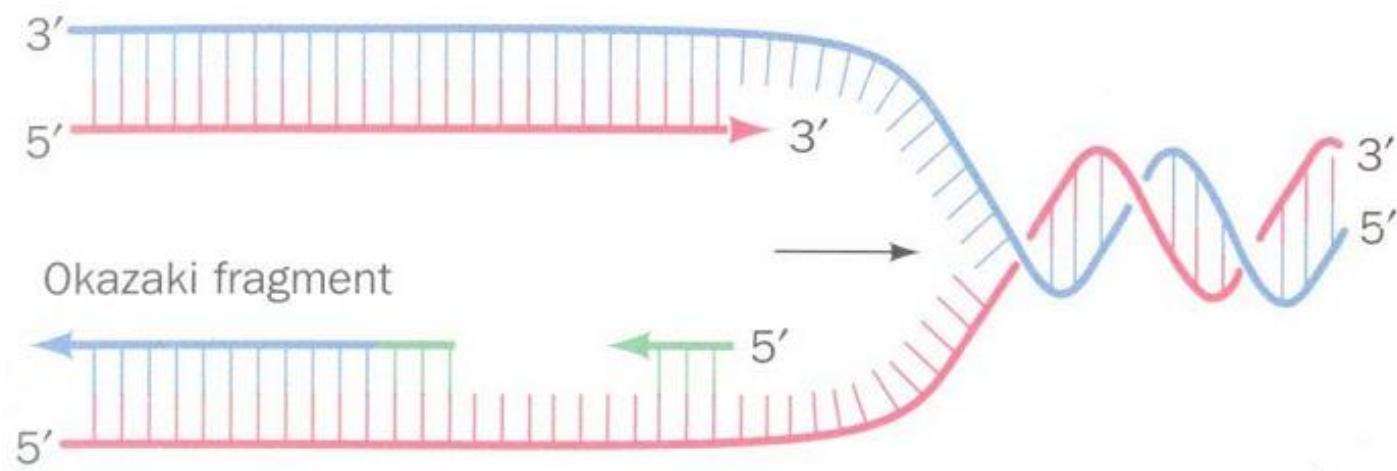
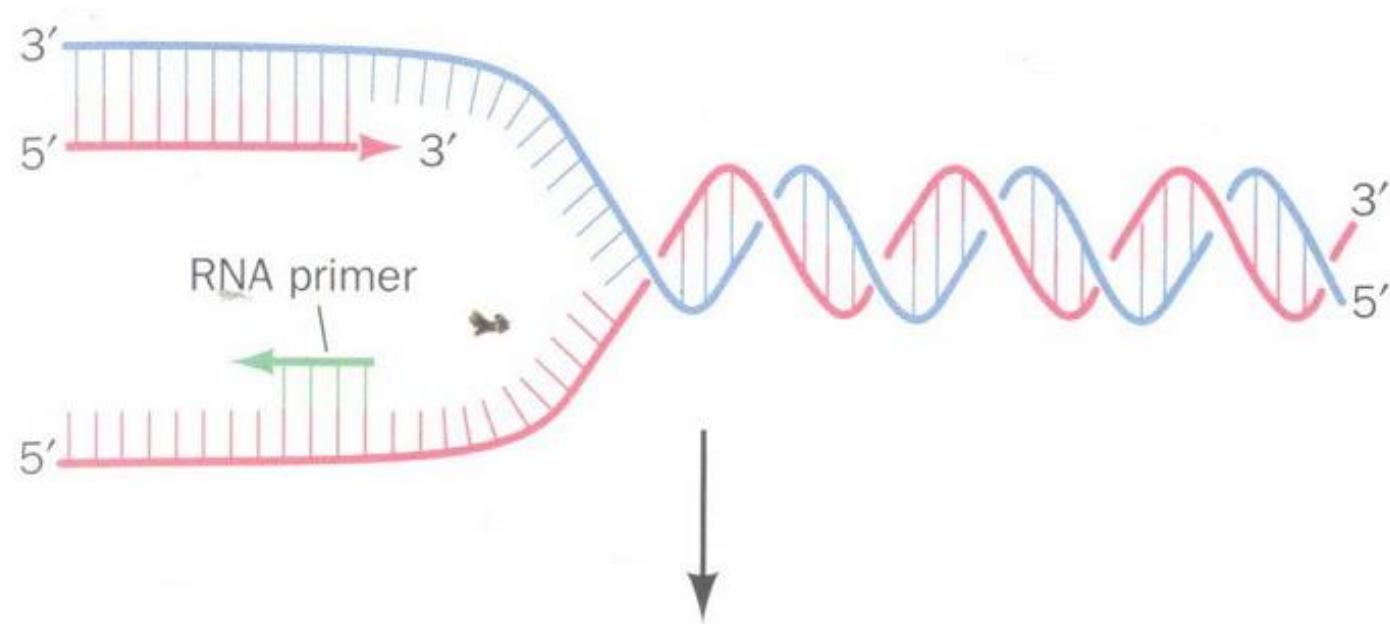
Sinteza DNA

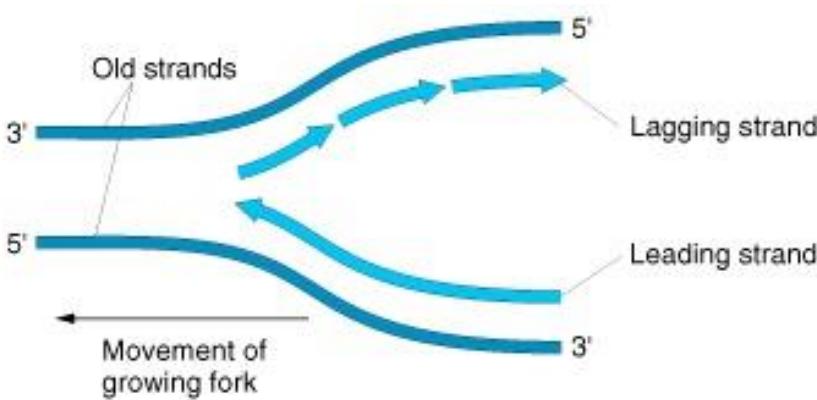
Energija za sintezu DNA dolazi od hidrolize PPi u dvije molekule Pi.



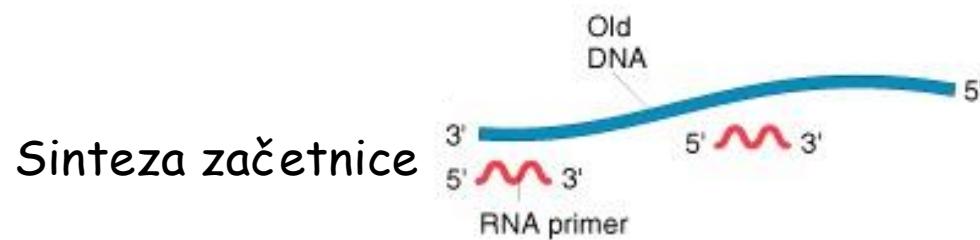
Mehanizam istovremene replikacije oba lanca

- **Problem:** Sinteza DNA uvijek mora ići $5' \rightarrow 3'$! Zbog antiparalelnosti lanaca, samo se **JEDAN** lanac može sintetizirati $5' \rightarrow 3'$! (ne postoji DNA polimeraza koja produljava lanac dodatkom nukleotida na 5' kraj). **Zato je replikacija semi-diskontinuirana.**
- **Vodeći lanac (engl. Leadnig strand)** – sintetizira se kontinuirano u smjeru replikacijskih rašlji
- **Tromi lanac (engl. Lagging strand)** – sintetizira se u fragmentima, zvani "Okazakijevi fragmenti". Obično su dugi 1000 do 2000 pb. Svaki Okazakijev fragment ima svoju začetnicu, a naknadno se povezuju.





Lagging-strand synthesis

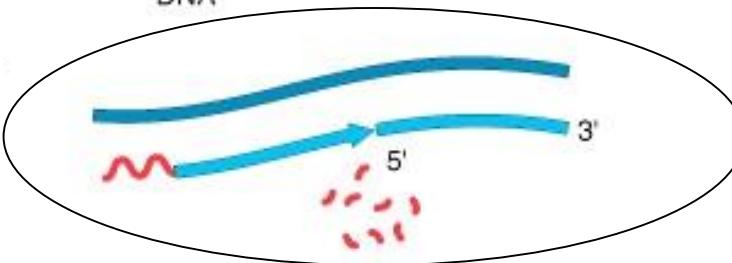


Sinteza začetnice



Produljenje začetnice Okazakijevim fragmentom

Uklanjanje začetnice i sinteza DNA

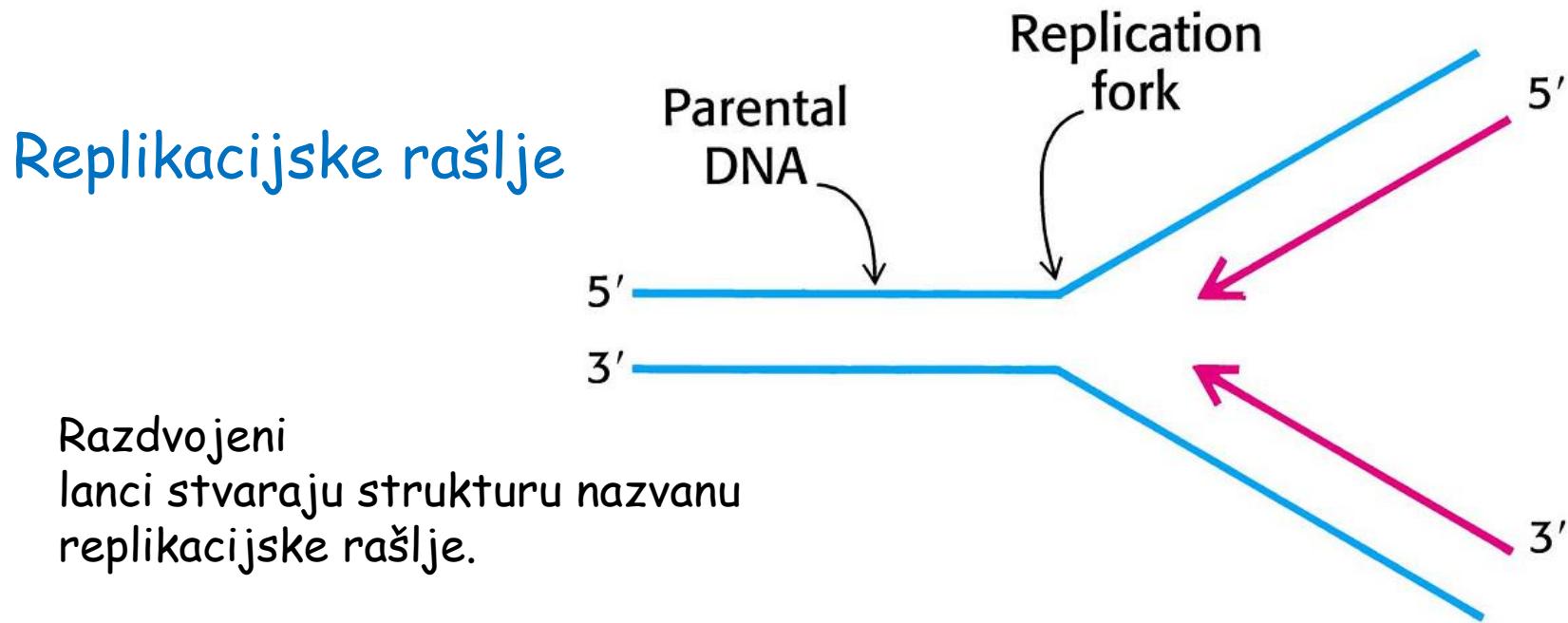


Ligacija

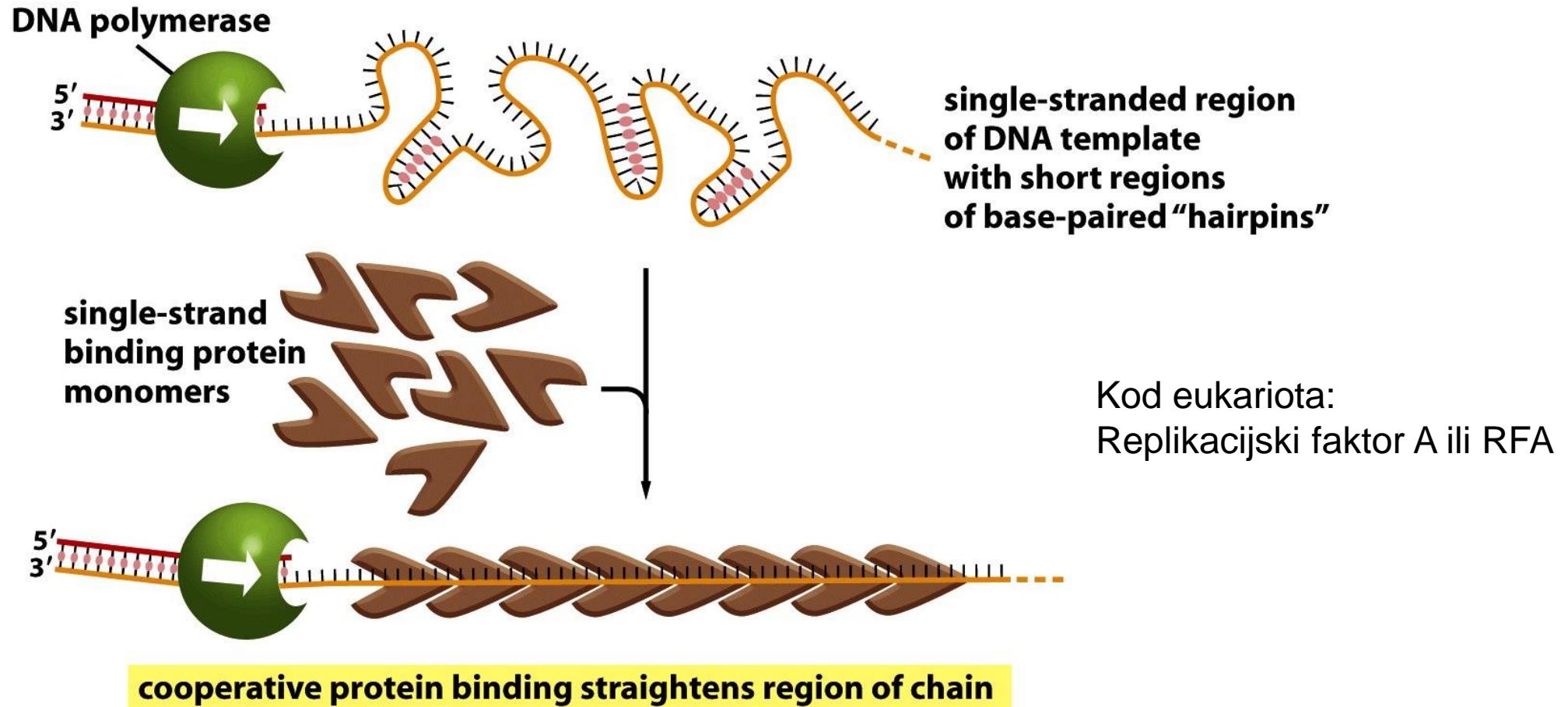


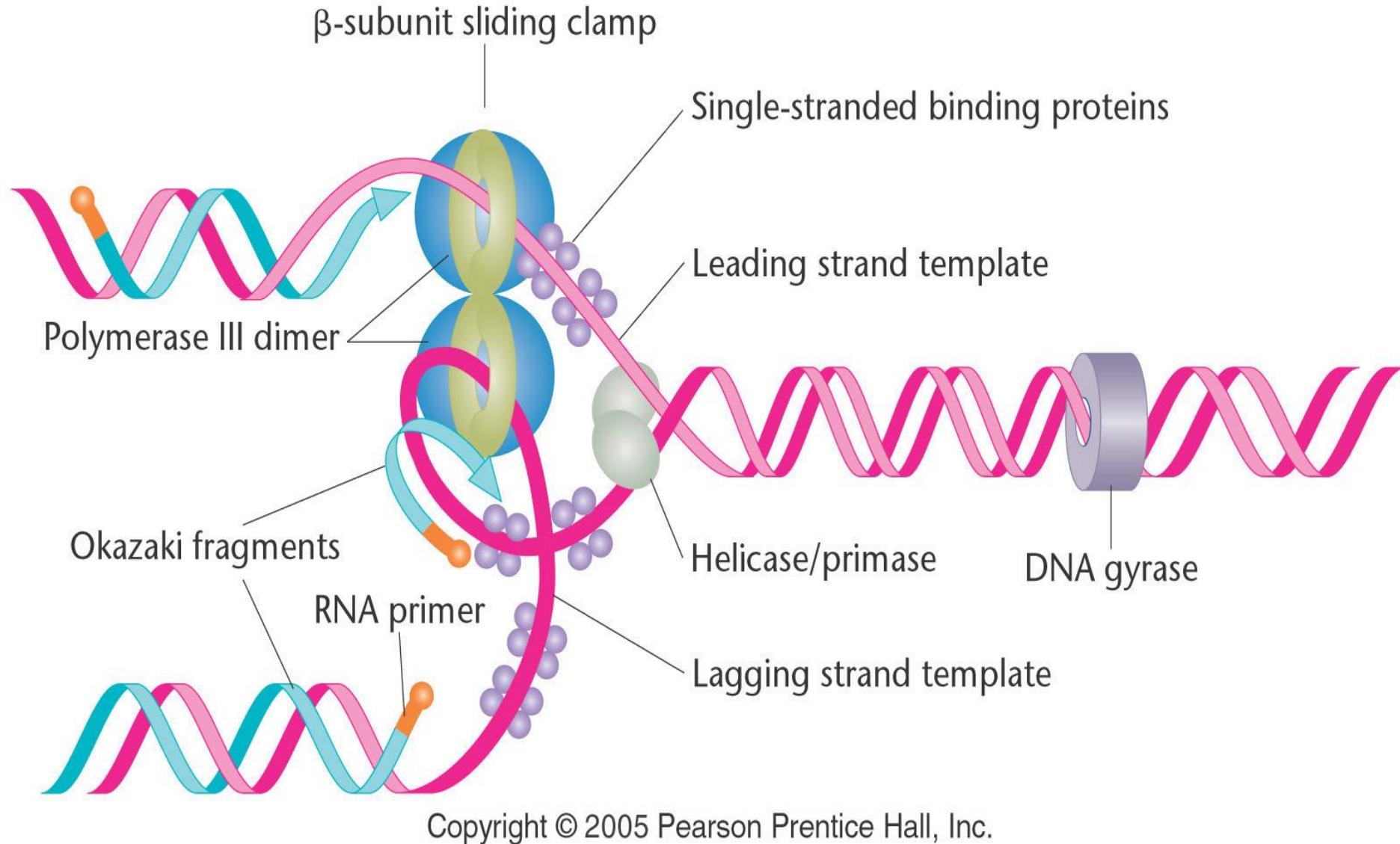
Razdvajanje lanaca (denaturacija) DNA

- **DNA helikaza DnaB:** enzim koji uz pomoć ATP-a razdvaja lance dvolančane DNA
 - Klizi po jednolančanoj DNA i kida vodikove veze između parova baza
- **Protein SSB** (engl. **single stranded DNA binding protein**): veže se na nesparene ssDNA i sprječava povezivanje vodikovim vezama

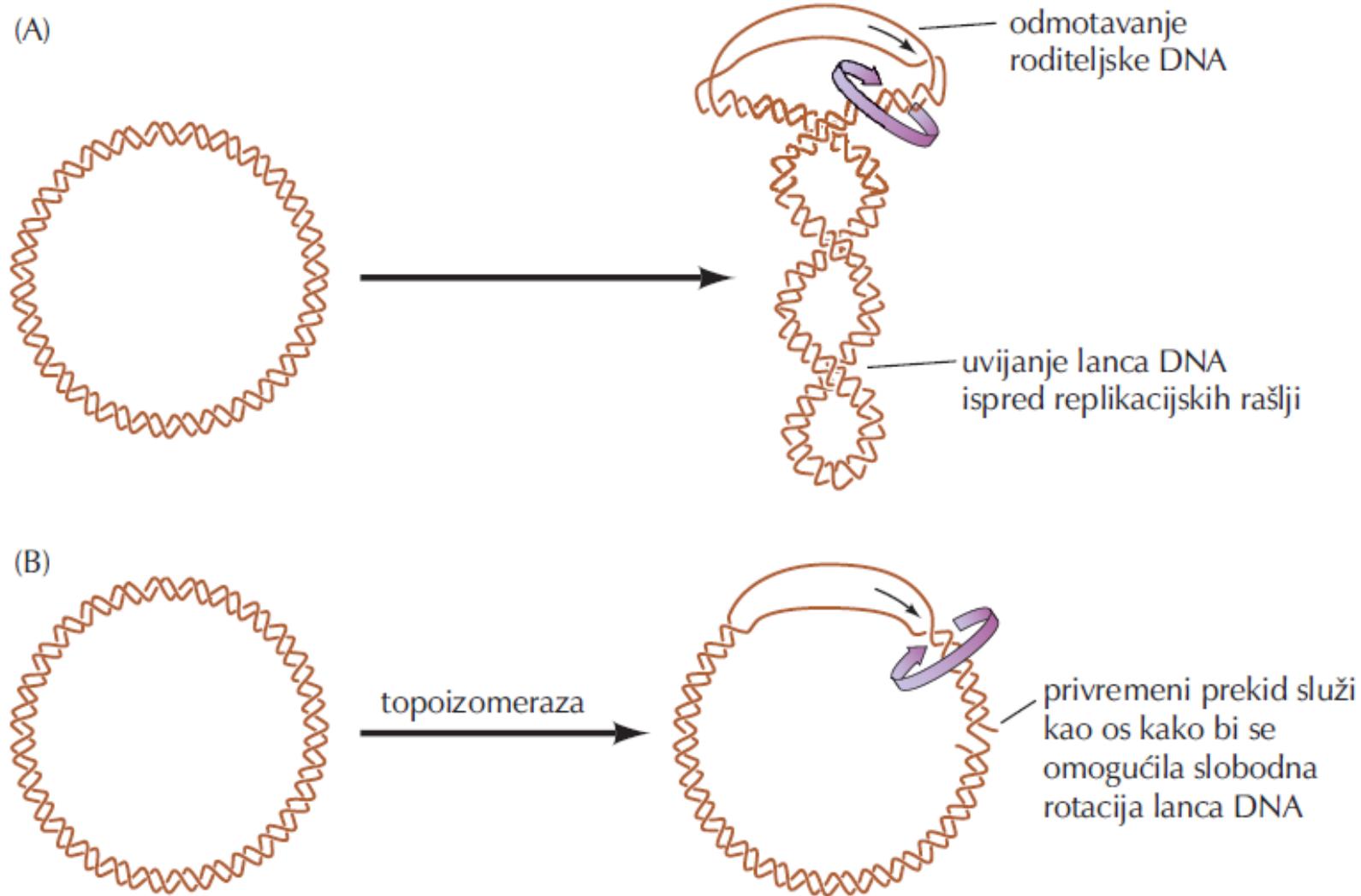


Mehanizam djelovanja SSB



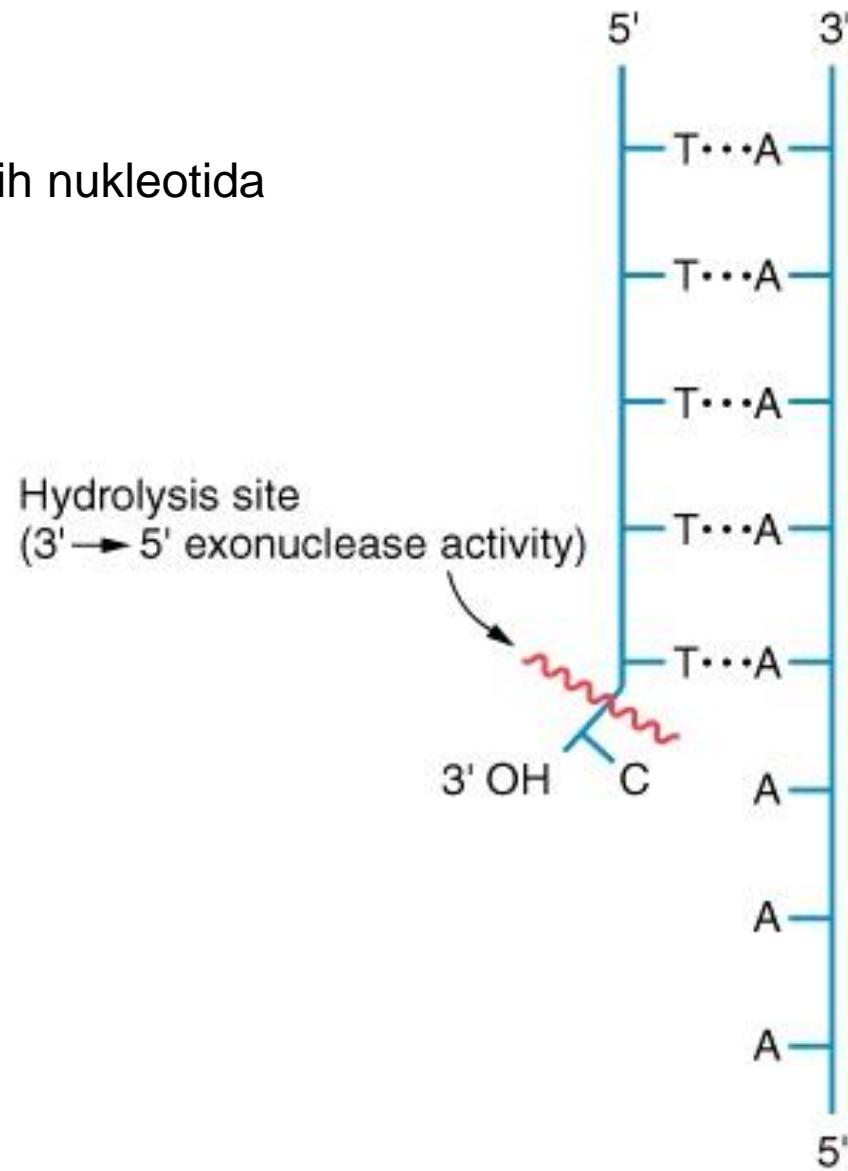


Djelovanje topoizomeraza za vrijeme replikacije

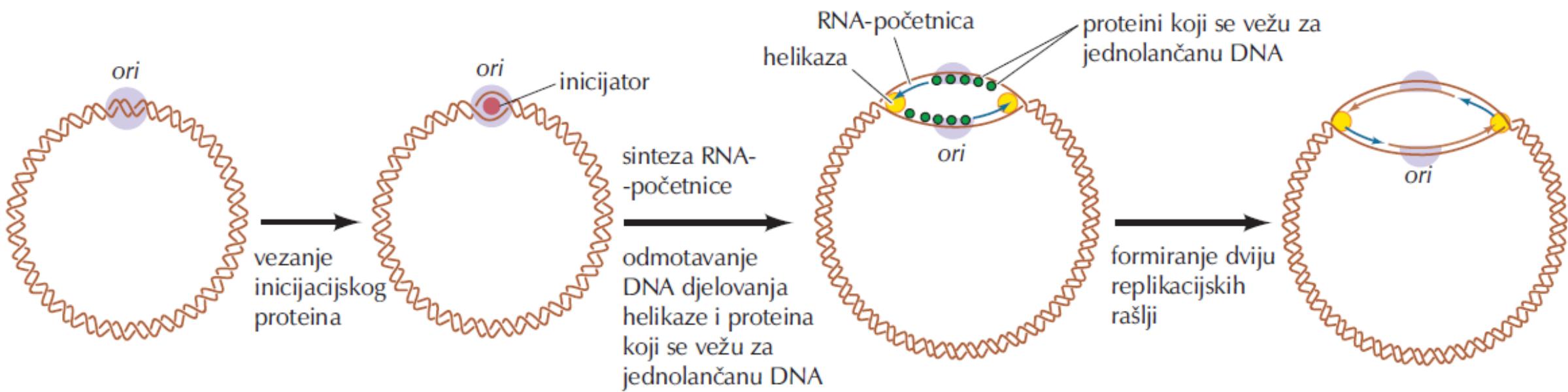


Mehanizam lektorirajuće aktivnosti

Greška prilikom replikacije događa se jednom na svakih 10^9 do 10^{10} ugrađenih nukleotida

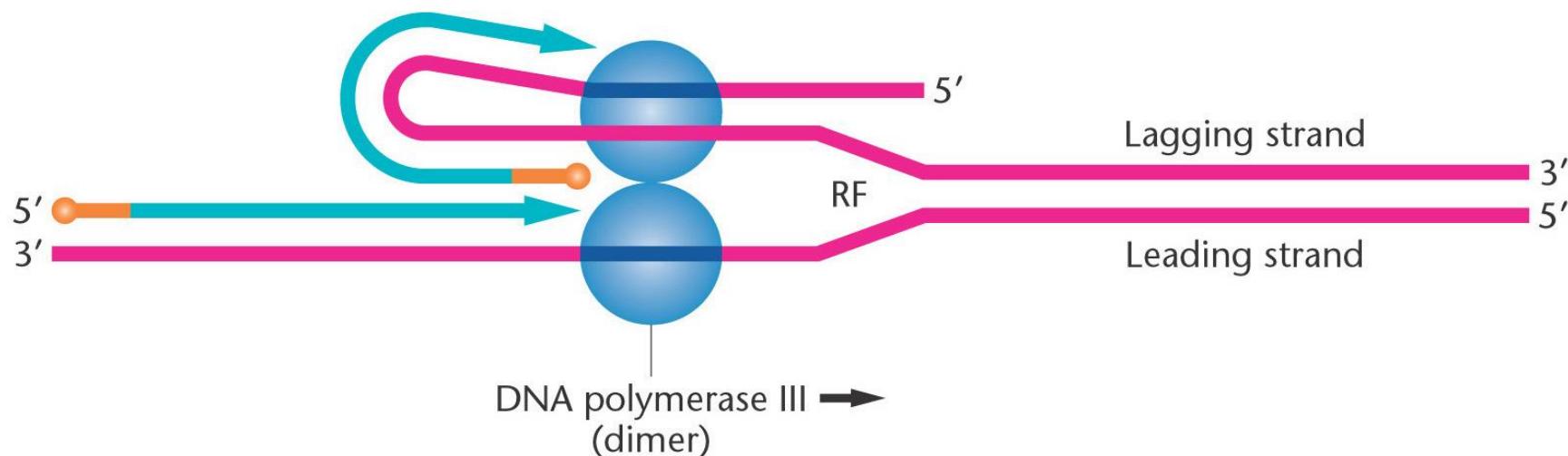


Faza inicijacije



Faza elongacije

Da bi **dimerna** DNA polimeraza III mogla istovremeno sintetizirati oba lanca DNA, tromi lanac se mora izviti svaki put za novi Okazakijev fragment

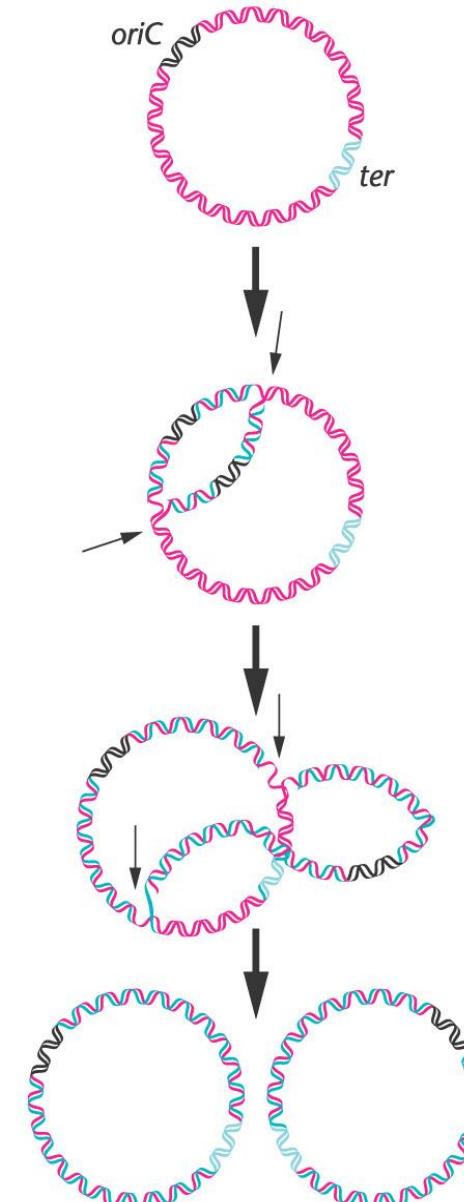


Copyright © 2005 Pearson Prentice Hall, Inc.

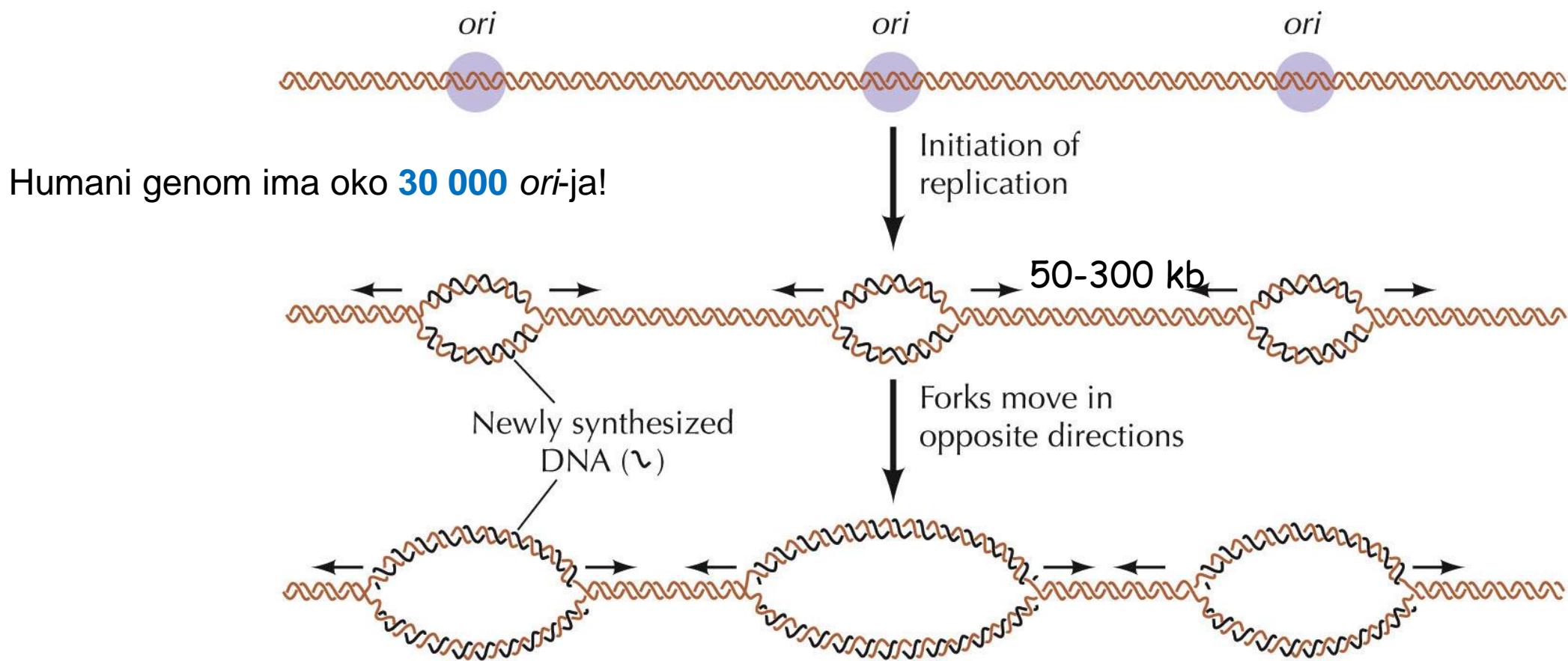
Model "trombona"

Faza terminacije

- Kromosom *E. coli* je kružan pa se 2 replikacijske rašlje moraju sresti
- Mjesto susreta rašlji se zove sekvenca **TER** (20 pb), ima ih 6
- Na mjestu TER su vezani proteini **Tus** koji zaustavljaju replikaciju (usporavaju jedan od lanaca)
- 2 zavojnice su na mjestu susreta međusobno povezane i razrješuju se pomoću **topoizomeraze IV**



Replikacija u eukariota



U suštini slična replikaciјi kod prokariota

Replikacija je sporija u odnosu na *E. coli*, ali ju ubrzava **više ori-ja (zovu se ARS)**

Okazakijevi fragmenti su kraći, oko 150 pb (100-400)

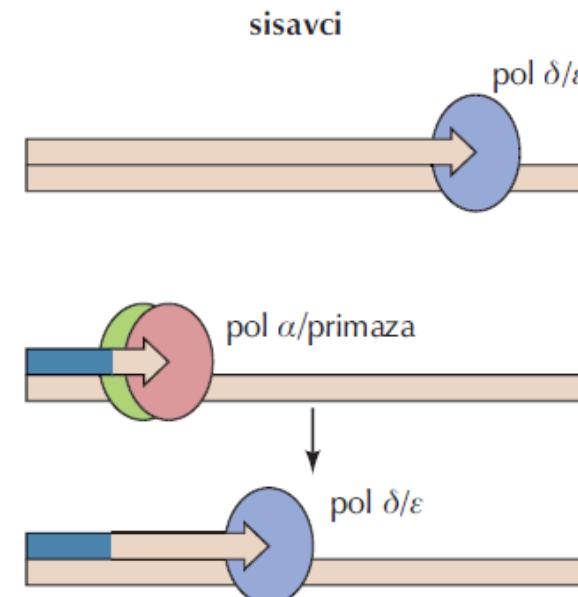
Eukariotske DNA polimeraze

5 u sisavaca

Enzim	α (I)	δ (III)	ε (II)	β	γ
Položaj jezgra	jezgra	jezgra	jezgra		
Uloga	započinjanje oba lanca	elongacija tromog lanca	elongacija vodećeg lanca & popravak		
3'-5' egzo.	Ne	Da	Da		
relativna aktivnost	80%			10-15% 2-15%	

The diagram shows three stages of pol delta activity:

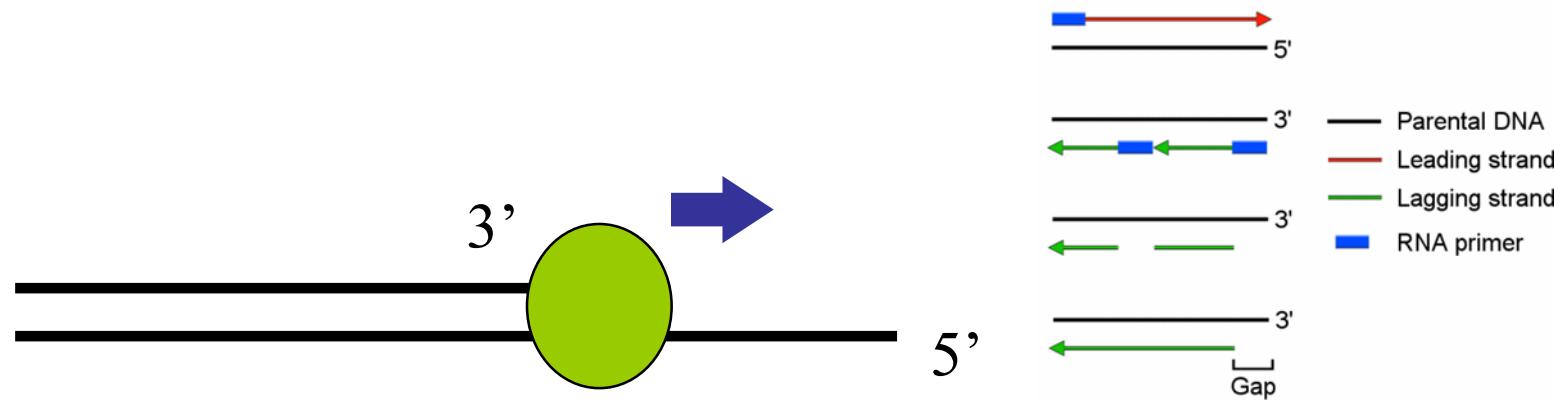
- Initiation:** A blue circle labeled "pol δ/α " is shown at the 5' end of a DNA duplex. An arrow points from the duplex towards the enzyme.
- Elongation:** A green circle labeled "pol $\alpha/\text{primaza}$ " is shown at the 3' end of the lagging strand, which is being synthesized as Okazaki fragments. An arrow points from the duplex towards the enzyme.
- Proofreading/Correction:** A blue circle labeled "pol δ/ε " is shown at the 3' end of the lagging strand, performing error correction. An arrow points from the duplex towards the enzyme.



PRIMAZA REPLIKAZA REPLIKAZA tromog lanca vodećeg lanca

Problemi kod linearnih replikona

- Kako se novi lanac uvijek sintetizira u $5' \rightarrow 3'$ smjeru jednostavno je sintetizirati novi lanac koji ide do kraja kalupa.
- Međutim, kako da DNA polimeraza započne sintezu na kalupu s $3'$ krajem? Vremenom bi se taj kraj počeo skraćivati za dužinu začetnice.

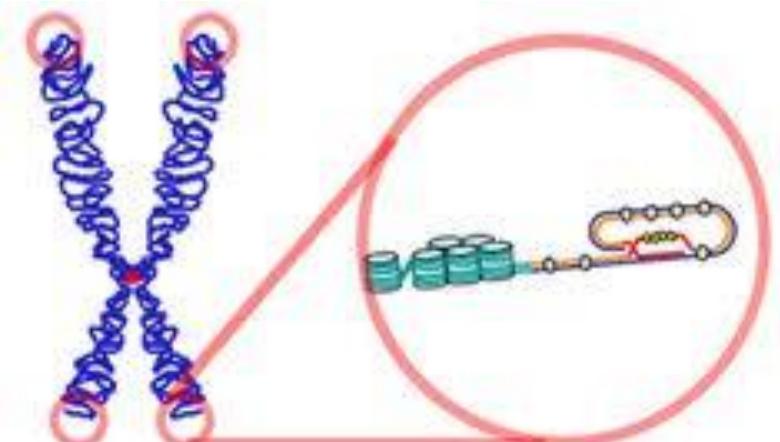


Skraćivanje telomera - 25-300 pb/staničnom ciklusu

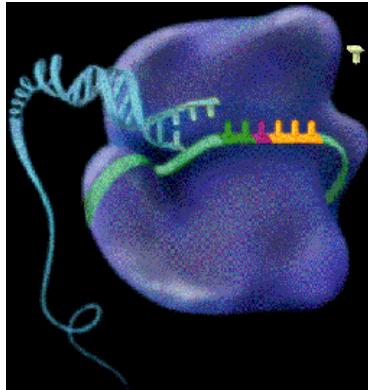
Problemi kod linearnih replikona

- Rješenje (jedno od):

Krajevi kromosoma mogu biti različiti
npr. Eukariotski kromosomi imaju na krajevima kratke
ponavljače sekvene - **TELOMERNE** sekvene koje
se repliciraju pomoću enzima **telomeraze**



Arabidopsis	TTTAGGG
Human	TTAGGG
Oxytricha	TTTTGGGG
Slime Mold	TAGGG
Tetrahymena	TTGGGG
Trypanosome	TAGGG
Yeast	(TG) ₁₋₃ TG ₂₋₃

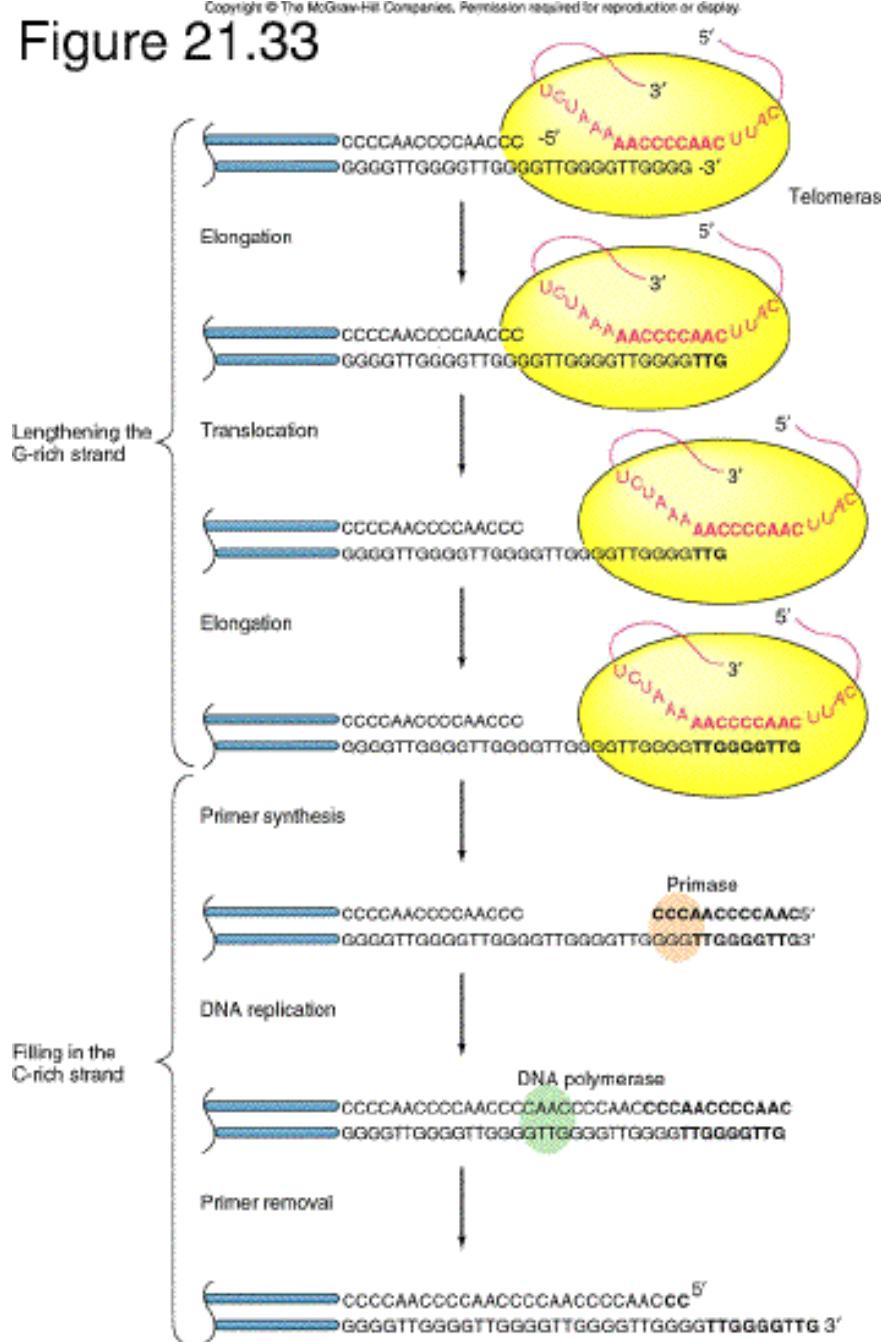


Telomeraza je **reverzna trankriptaza**

Takav enzim može sintetizirati DNA na **RNA kalupu**

Telomeraze nose **svoj kalup RNA** koji je komplementaran telomernim ponavljačim sekvencama

Produljuje se 3' kraj kromosomske DNA



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2009

"for the discovery of how chromosomes are protected by telomeres and the enzyme telomerase"



Elizabeth H.
Blackburn

1/3 of the prize
USA



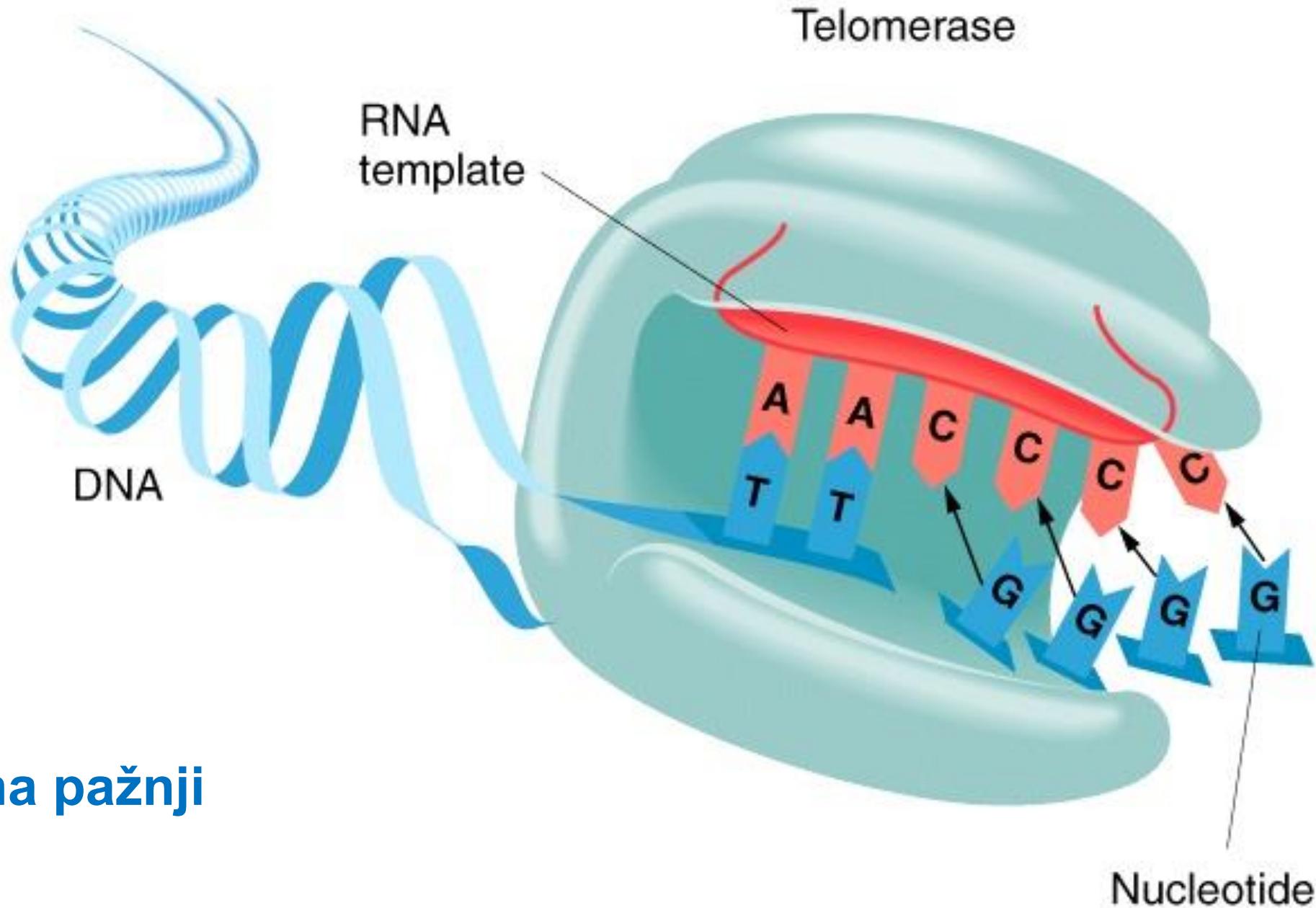
Carol W. Greider

1/3 of the prize
USA



Jack W. Szostak

1/3 of the prize
USA



Hvala na pažnji