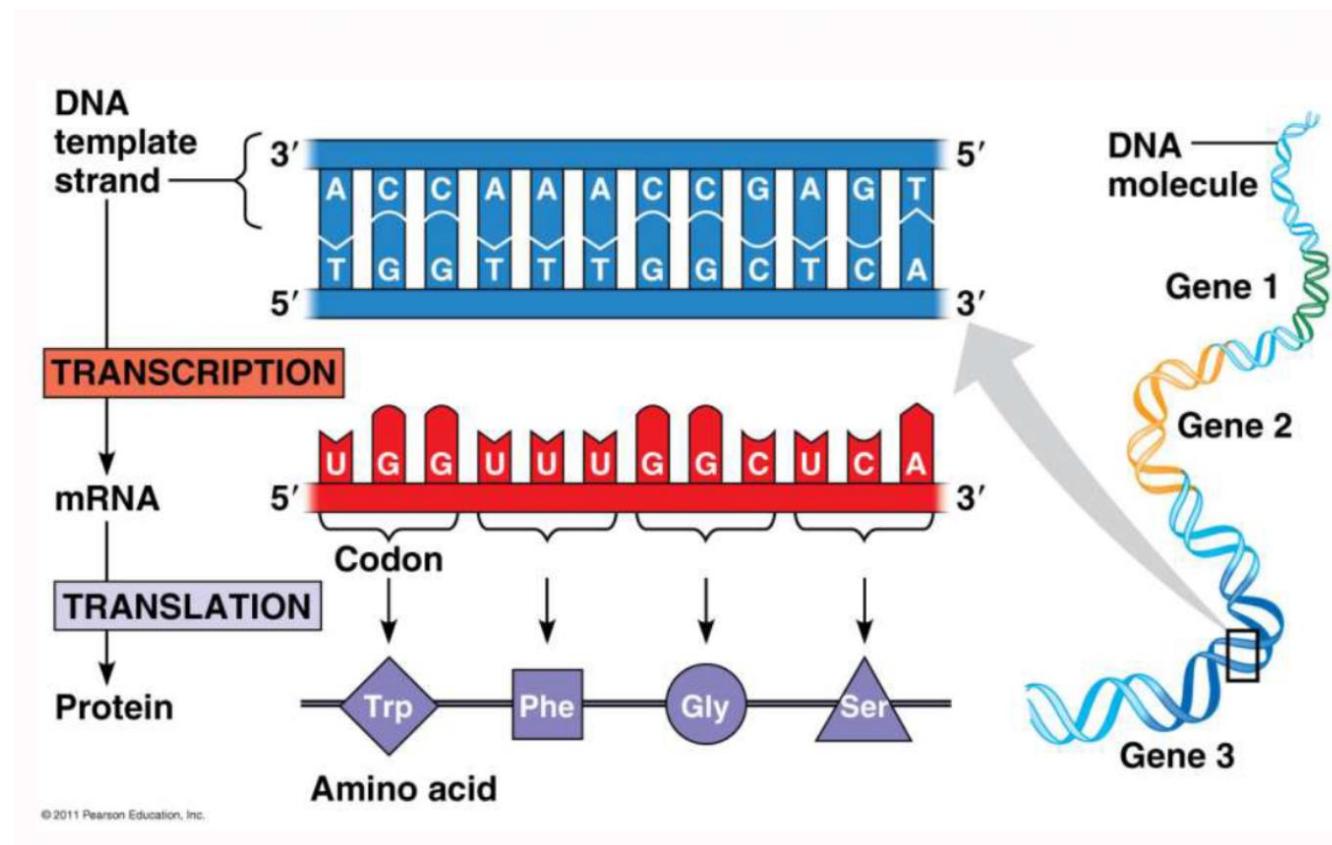


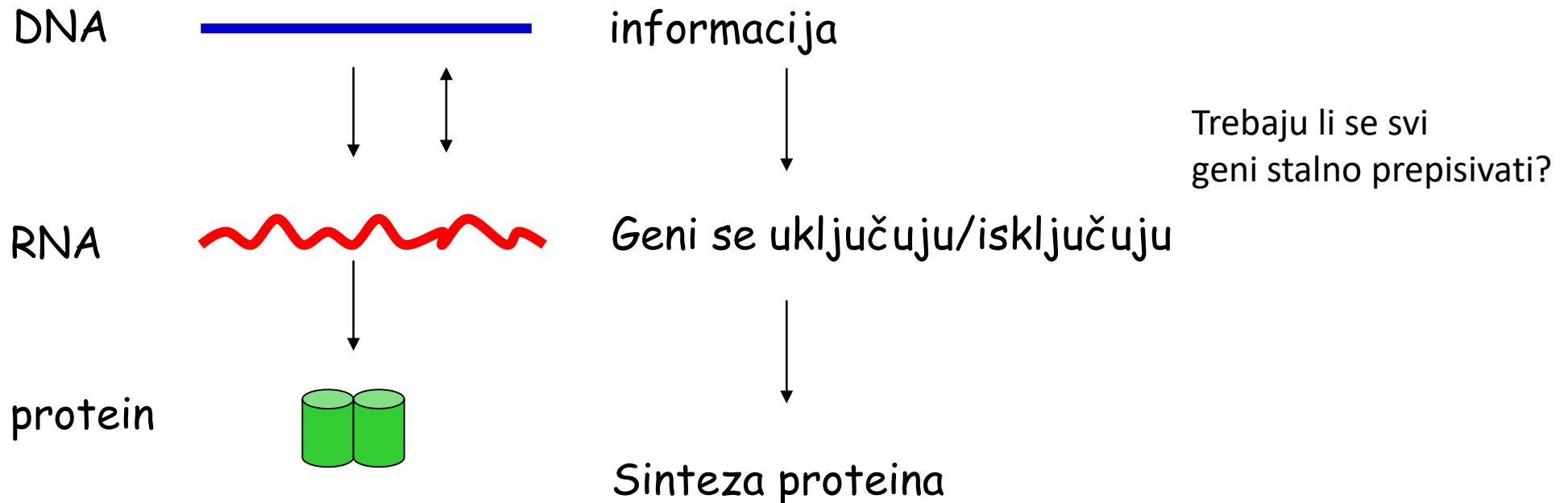
Uvod u molekularnu biologiju i genetiku

5. Transkripcija i translacija



Transkripcija- prijenos informacije

Centralna dogma molekularne biologije



Da li je DNA kalup za komplementarnu (m)RNA?

DA!

1. Da li je RNA dvolančana ili jednolančana?
2. Da li se prepisuje s jednog ili oba lanca DNA?

1. Za RNA ne vrijede Chargaff-ovi omjeri: → $[A] = [U]$ i
 $[G] = [C]$
2. SP8 fag: DNA lanci su denaturirani (razdvojeni); odvojena hibridizacija nakon infekcije sa svakim lancem zasebno
→ RNA hibridizira samo s jednim DNA lancem → komplementarna je samo s jednim lancem

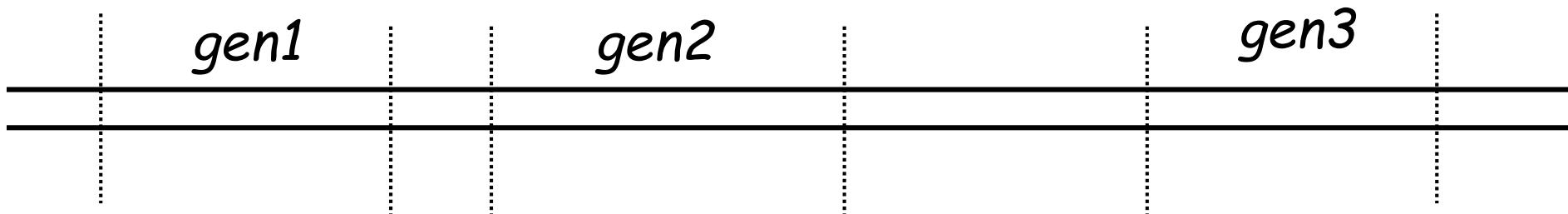
Zaključak: RNA se prepisuje samo s jednog DNA lanca

ALI, geni se u DNA nalaze u obje orijentacije pa se prepisivanje događa s oba lanca!

TRANSKRIPCIJA (PREPISIVANJE)

- 1) Prepisivanje upute za strukturu i funkciranje stanice (organizma) iz DNA u RNA.
- 2) Sinteza molekule RNA.

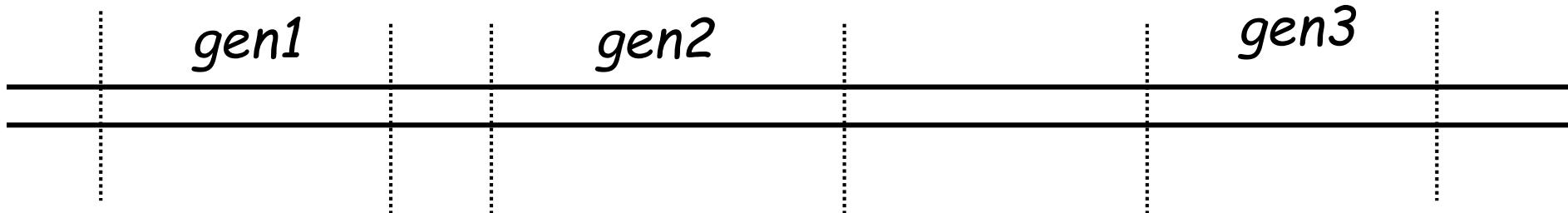
Dijelovi molekule DNA koji se prepisuju nazivaju se **GENI**.



RNA-polimeraza - enzim koji obavlja transkripciju (sintezu molekule RNA) na temelju kalupa DNA

U bakterija postoji jedan tip RNA-polimeraze i nekoliko tisuća gena.

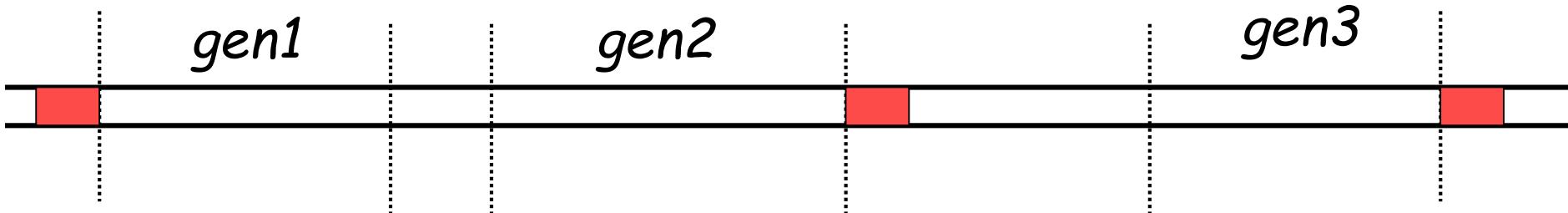
Kako RNA-polimeraza zna gdje počinje i završava svaki gen?

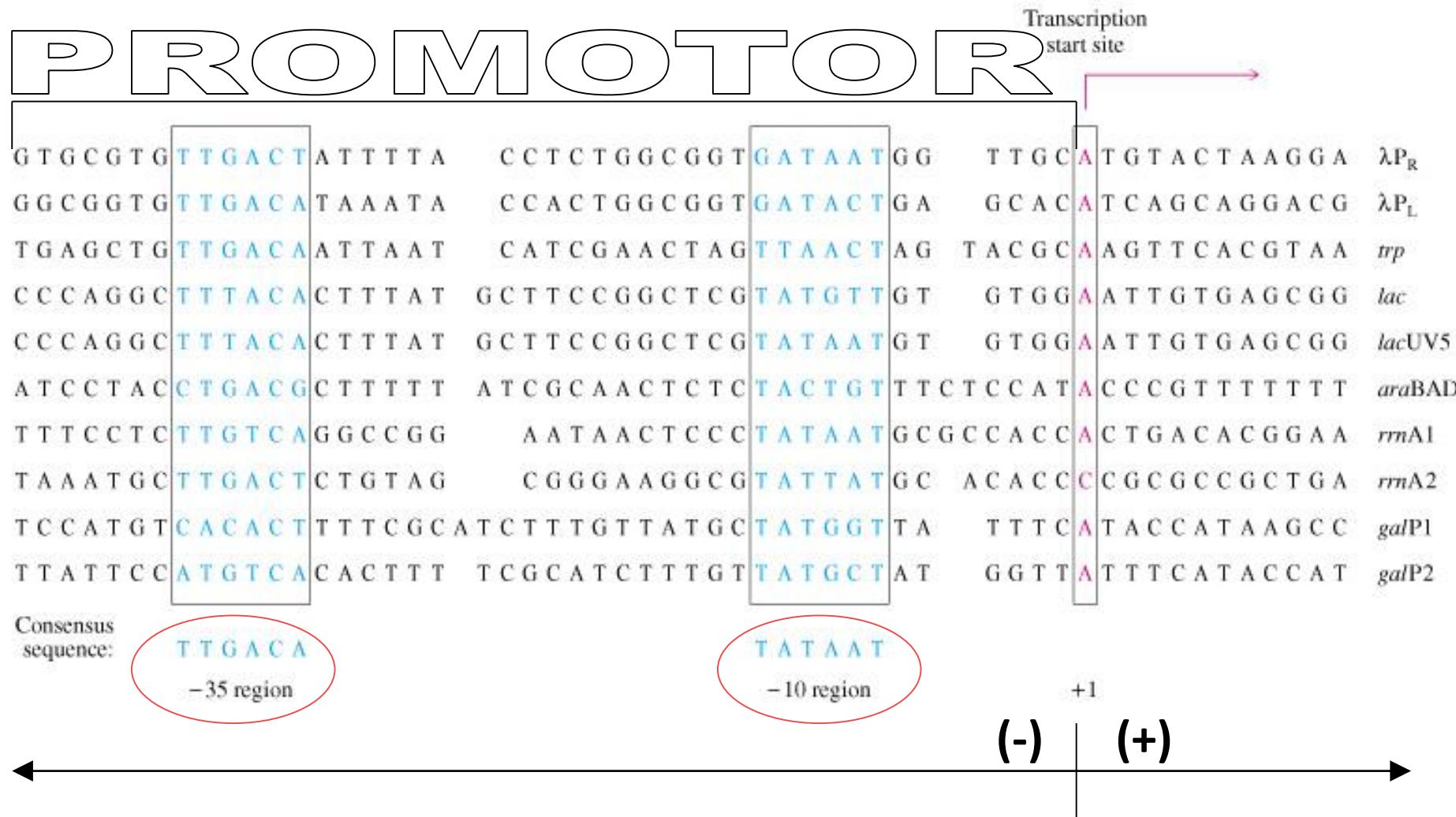


Kako RNA-polimeraza zna gdje počinje i završava svaki gen?

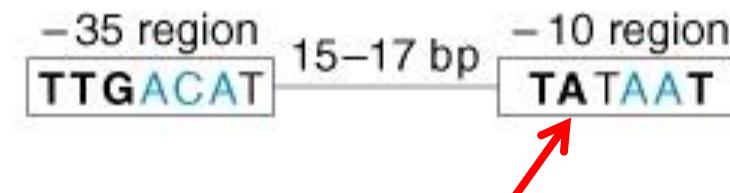
Ispred svakog gena nalazi se redoslijed nukleotida koji se naziva **PROMOTOR**.

RNA-polimeraza prepoznaće promotor, a svi promotori imaju određene redoslijede nukleotida zajedničke - to su redoslijedi koje prepoznaće RNA-polimeraza.





(c) Consensus sequences for all *E. coli* promoters

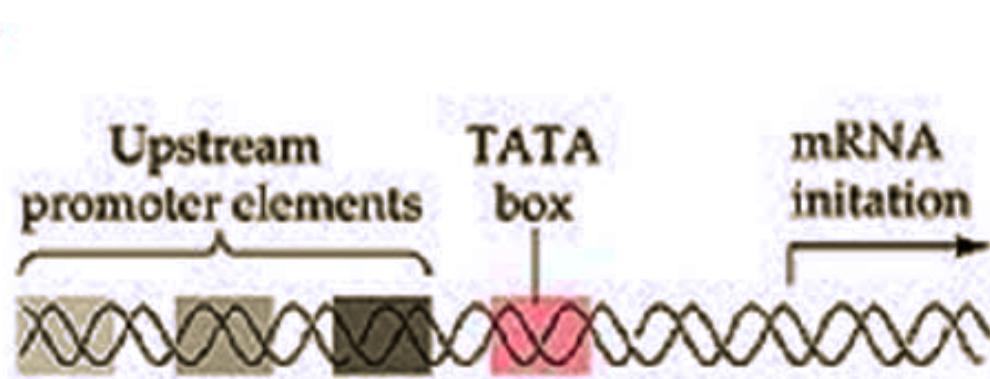


Promotorska konsenzus sekvenca u *E. coli*

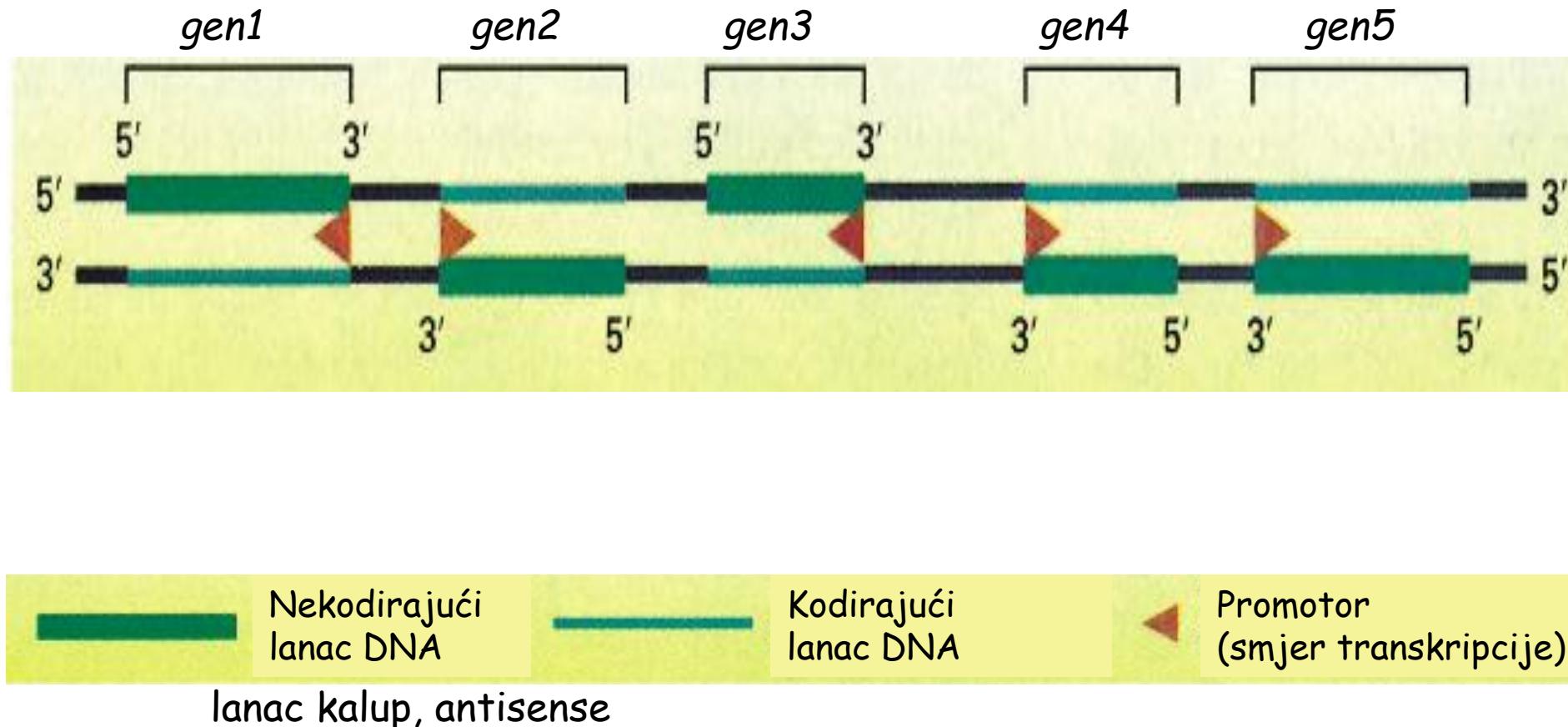
Pribnow ili "tata box"

- što se **-35 sekvenca** i **Pribnow box** više razlikuju od konsenzus sekvence → slabije je vezanje RNA polimeraze
- Sigma faktor (σ) prepoznaće obje sekvene kao i razmak između njih (17 pb)

UP (*upstream*) element: sastavni dio jakih promotora:
-60 do -40



PROMOTOR određuje koji će se lanac DNA prepisivati (na kodirajućem je lancu).



DNA-lanac koji **se prepisuje** naziva se NEKODIRAJUĆI, a onaj drugi KODIRAJUĆI.

Kodirajući

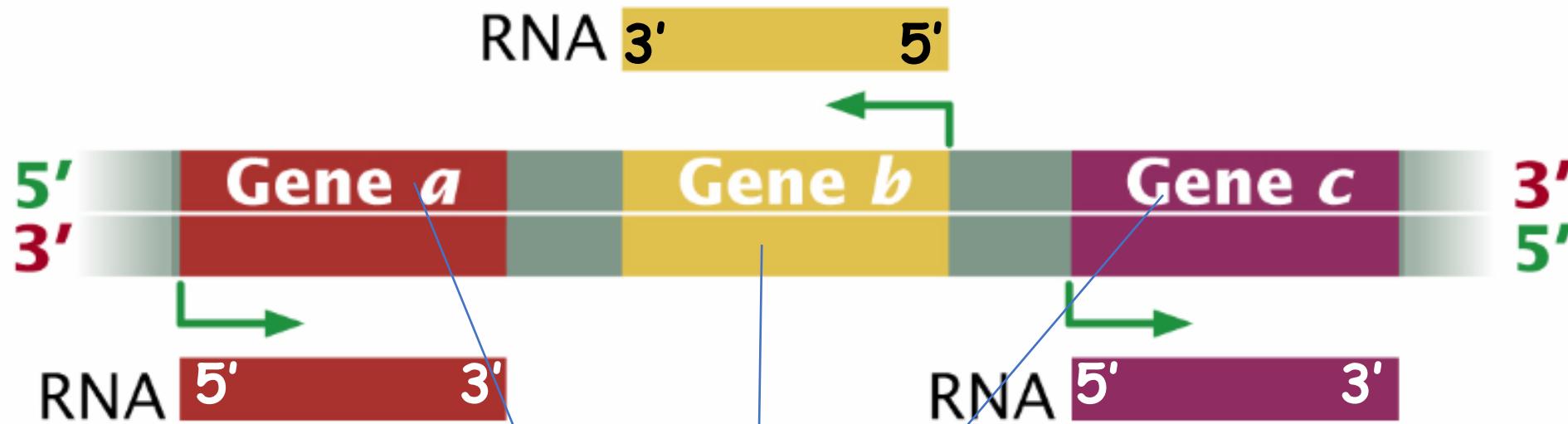
5' — CTGCCATTGTCAGACATGTATACCCCGTACGTCTTCCCAGCGAAAACGATCTGCGCTGC — 3'

Nekodirajući

3' — GACGGTAACAGTCTGTACATATGGGGCATGCAGAAGGGCTCGCTTTGCTAGACGCGACG — 5'

RNA

5' — CUGCCAUUGUCAGACAUGUAUACCCGUACGUUUCCCGAGCGAAAACGAUCUGCGCUGC — 3'



kodirajući lanac, *sense*,
plus, *non-template*

Općenito o transkripciji

- Brzina sinteze 50 nukleotida/sek
- Vjernost sinteze 10^{-5}
- Prepisuje se samo jedan lanac (**nekodirajući**)
- Samo mali dio DNA se prepisuje
- **Ne treba začetnica!**
- Ide u tri koraka: inicijacija, elongacija i terminacija
- Sinteza $5' \rightarrow 3'$
- Kod prokariota samo **jedna** RNA polimeraza!

Usporedba transkripcije i replikacije

Sličnosti

- Koriste se ribonukleotid trifosfati
- Treba kalup DNA
- Lanac raste $5' \rightarrow 3'$
- Velika točnost (ne kao kod replikacije)

Razlike

- ne treba početnica
- odmata se mali dio DNA
(oko 10 -14 pb)
- RNA se **uklanja** kad se DNA natrag zavija
- kopira se samo jedan lanac DNA
- prestaje na posebnim mjestima terminacije

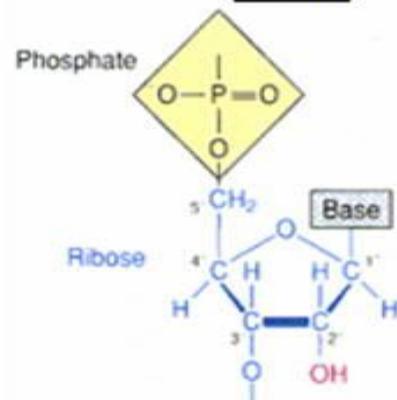
Transcription

A → U
T → A
C → G
G → C

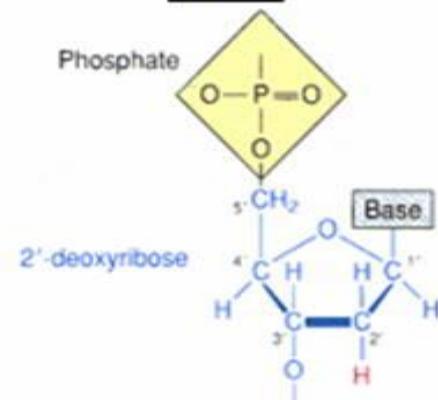
Replication

A → T
T → A
C → G
G → C

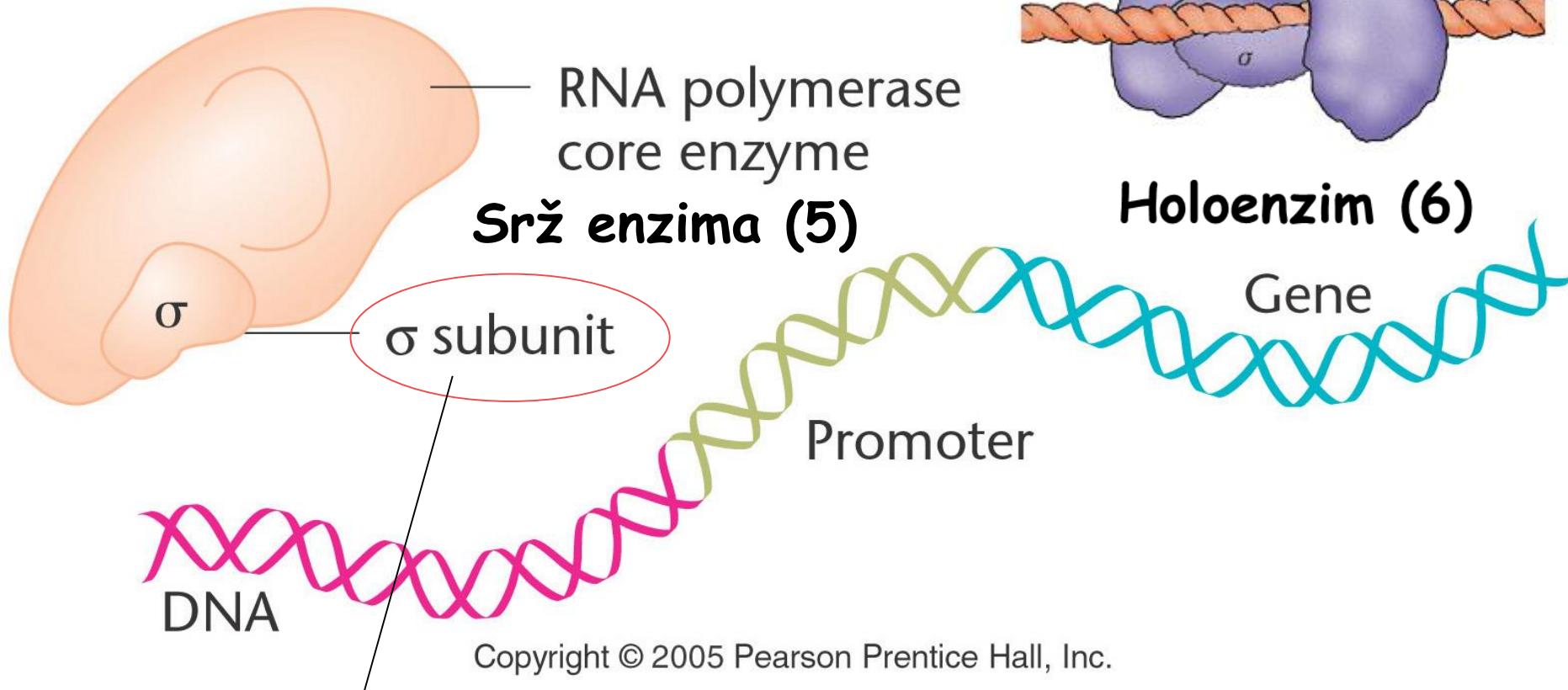
RNA



DNA



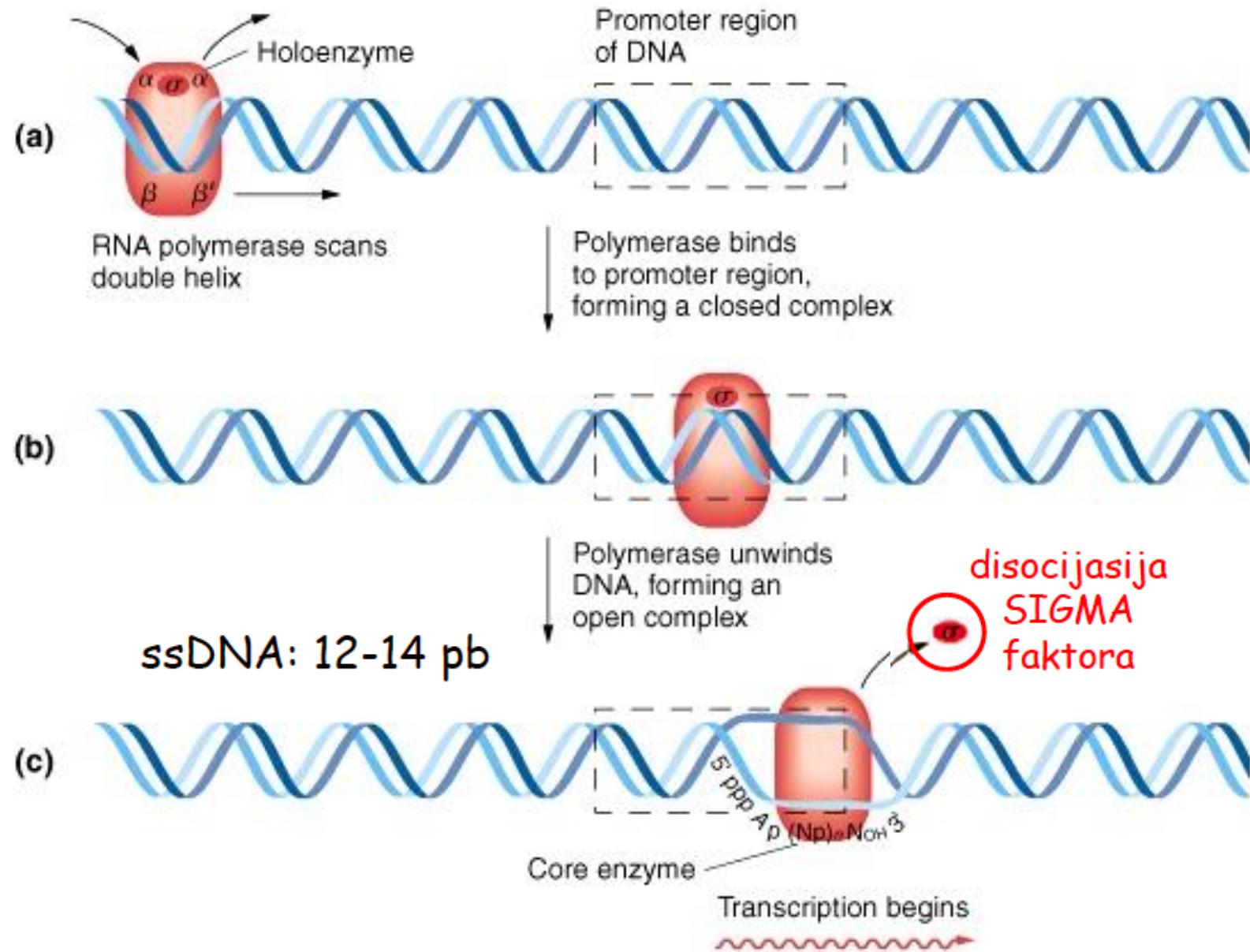
(a) Transcription components

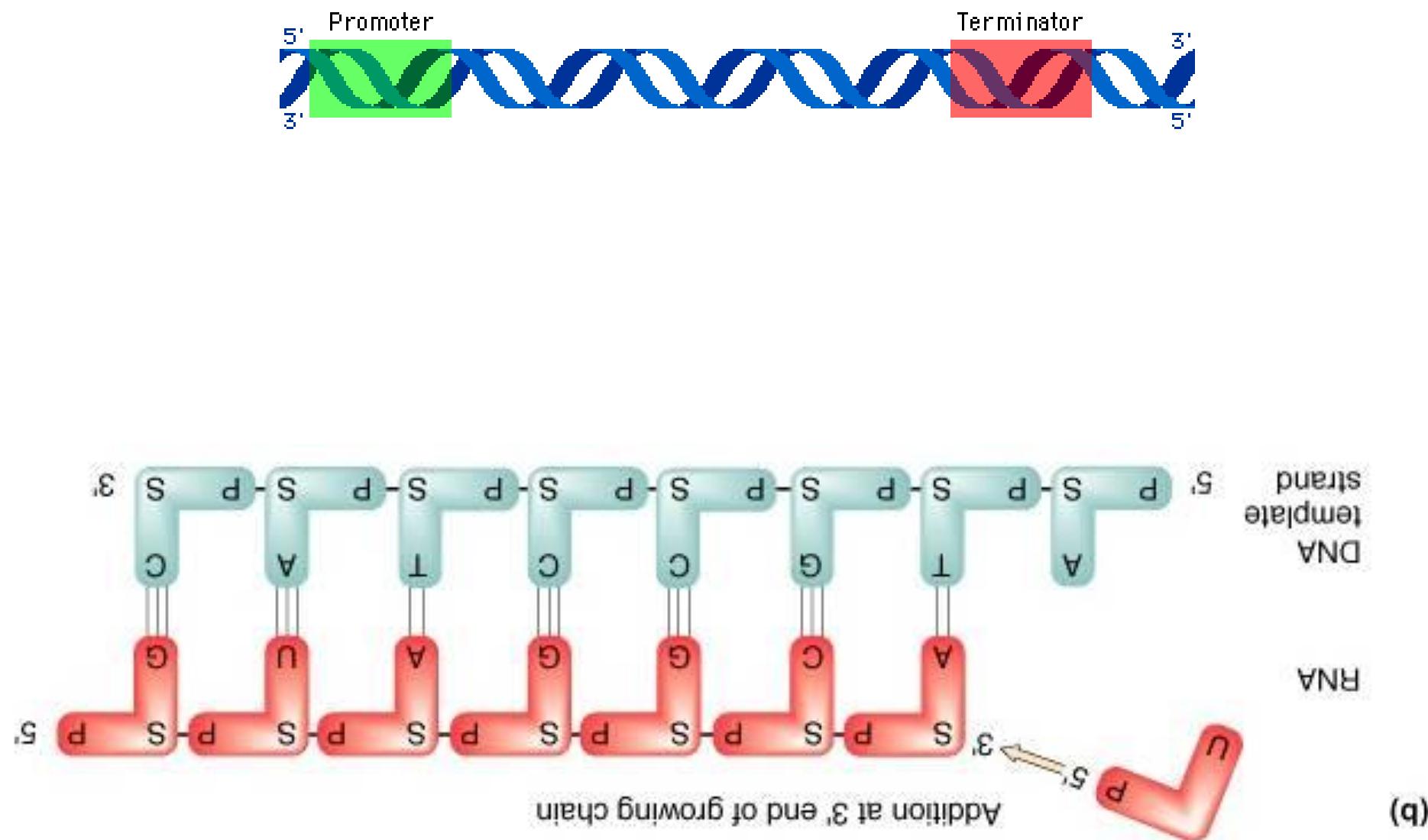


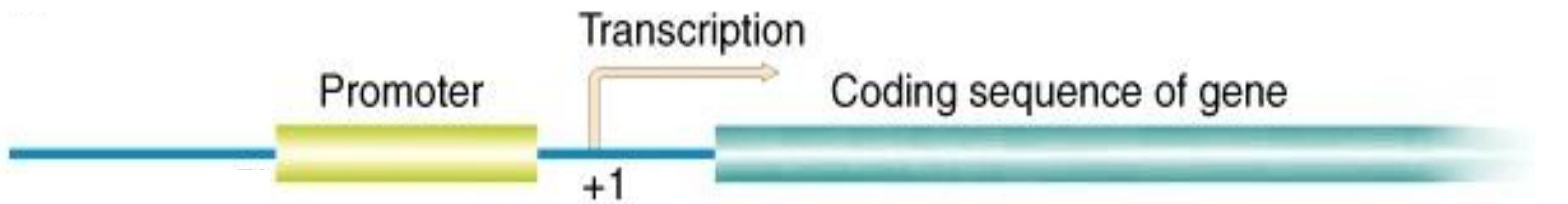
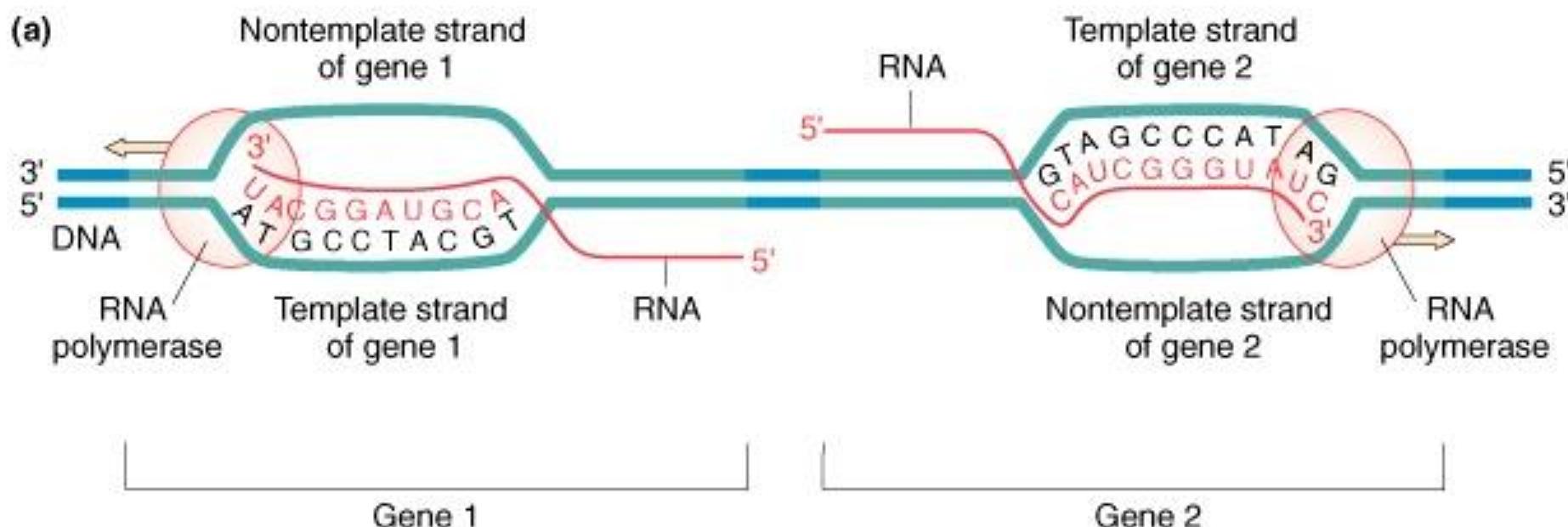
Prepozna je i veže promotor (-10 i -35), dovodi RNA-pol na promotor

Bez SIGMA podjedinice, RNA pol. se nasumično veže na DNA.

Traženje promotora i početak transkripcije







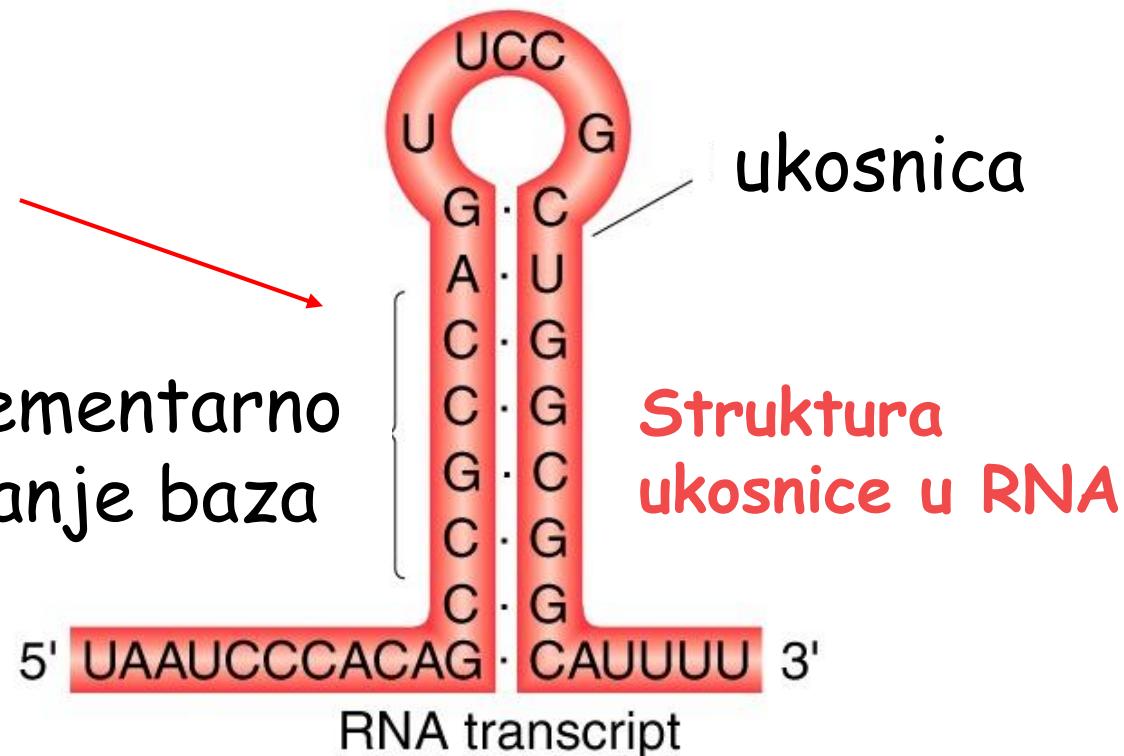
Završetak transkripcije....

Dva tipa:

p - ovisni terminatori

p - neovisni termiantori

komplementarno sparivanje baza

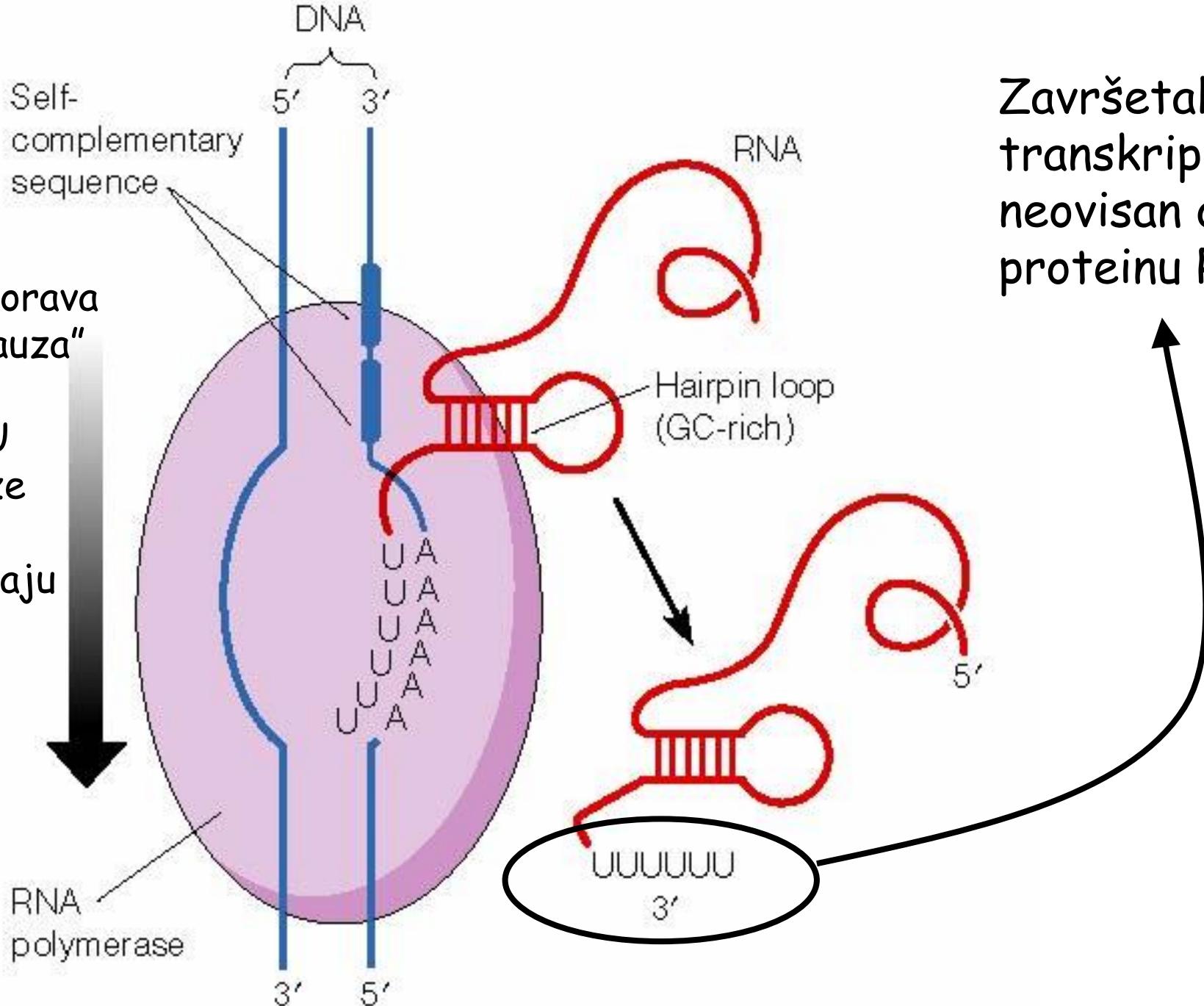


Uputa za prekid transkripcije je u RNA molekuli

Završetak
transkripcije
neovisan o
proteinu Rho

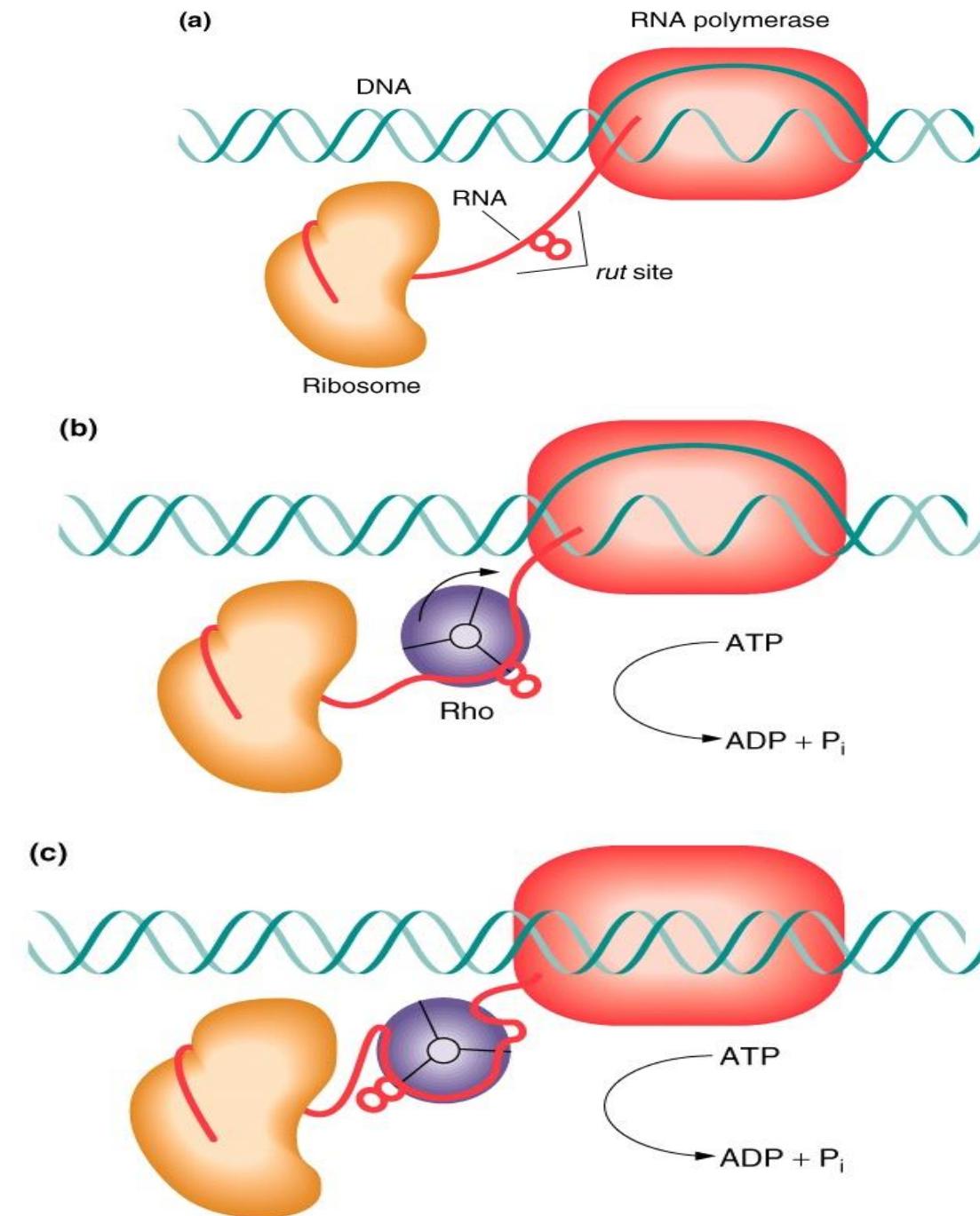
ukosnica usporava
RNA pol - "pauza"

"pauza": A=U
vodikove veze
spontano
se denaturiraju



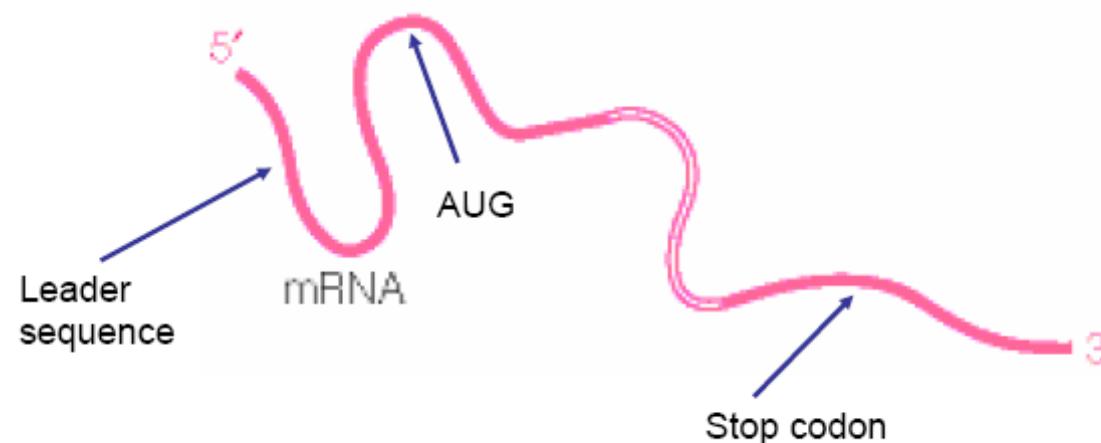
Protein Rho

Heksamerni protein
koji uz utrošak
ATP-a odmata DNA/RNA
hibrid (helikazna aktivnost)
Veže se na rut mjestu gdje
nema ribosoma



Od čega se sastoji završen transkript kod prokariota

- 5' vodeću sekvencu koja sadrži 50-200 nukleotida sekvene za vezanje za ribosom
- Translacijski **START** kodon **AUG** koji kodira aminokiselinu metionin (formilmetionin)
- Translacijski **STOP** kodon: **UAA**, **UAG** ili **UGA**
- 3'-UTR neprevedeni slijed (trailer)



TRANSKRIPCIJA U EUKARIOTA...

Tri tipa RNA-polimeraza:

1)RNA-polimeraza I - rRNA

2)RNA-polimeraza II - mRNA

3)RNA-polimeraza III - tRNA

TRANSKRIPCIJA U EUKARIOTA...

TABLE 6-2 The Three RNA Polymerases in Eucaryotic Cells

TYPE OF POLYMERASE	GENES TRANSCRIBED
RNA polymerase I	5.8S, 18S, and 28S rRNA genes
RNA polymerase II	all protein-coding genes, plus snoRNA genes and some snRNA genes
RNA polymerase III	tRNA genes, 5S rRNA genes, some snRNA genes and genes for other small RNAs

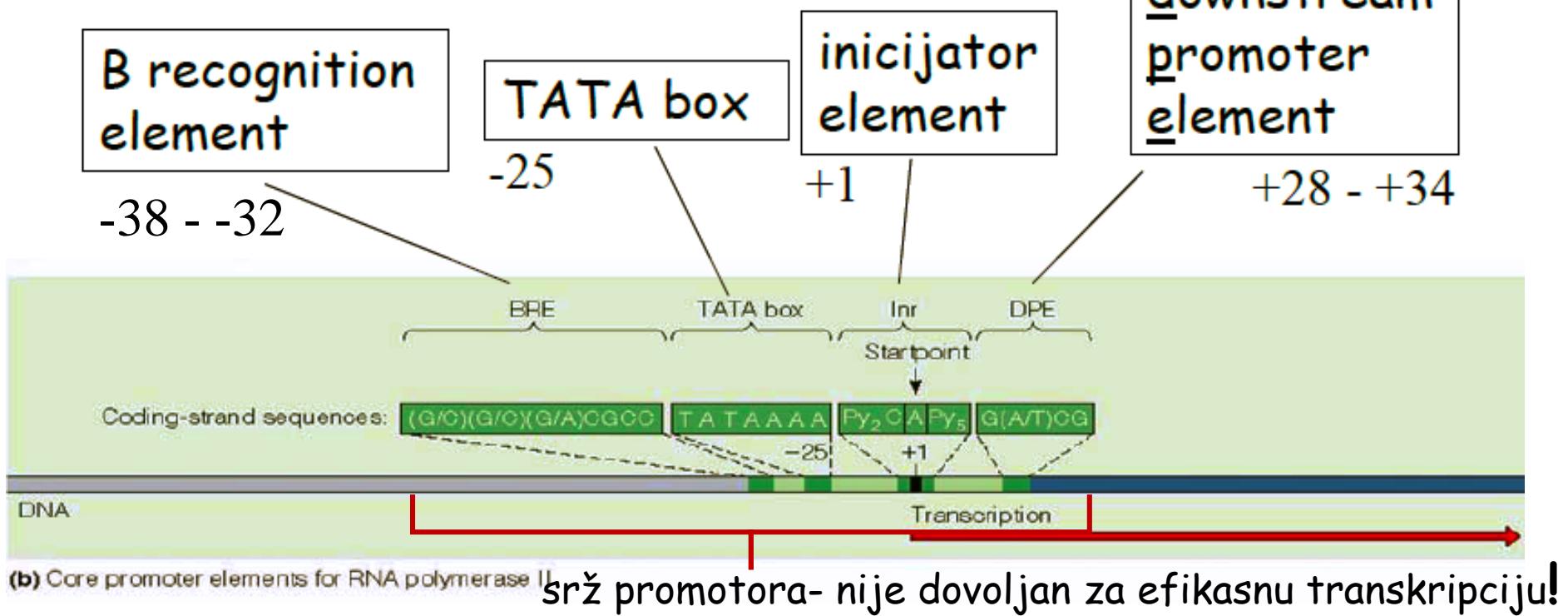
snRNA = small nuclear RNA

Kod biljaka postoji još RNA pol IV i RNA polV

Promotori kod eukariota

- Različiti tipovi promotora
- Svaka RNA polimeraza prepoznaje svoje posebne promotore
- Promotori mogu biti uzvodno ili nizvodno od mesta inicijacije transkripcije
- TATA kutija je na -25!
- Postoje pojačivači koji mogu biti jako udaljeni od promotora, ispred ili iza gena i biti u obje orientacije (stimuliraju transkripciju oko 100 puta)

Promotor RNA-polimeraze II (eukarioti):

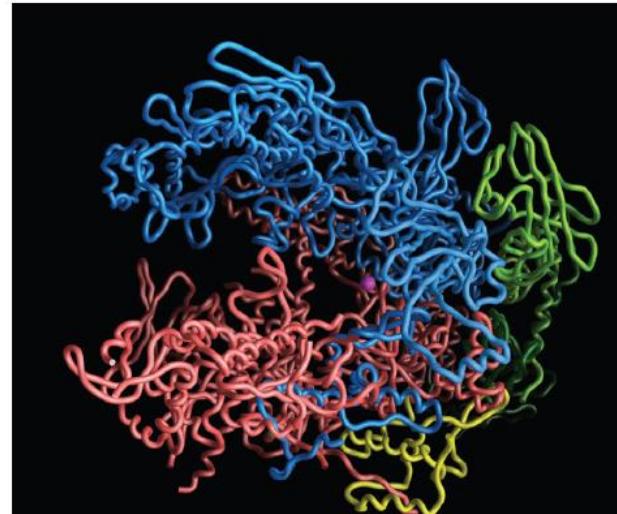
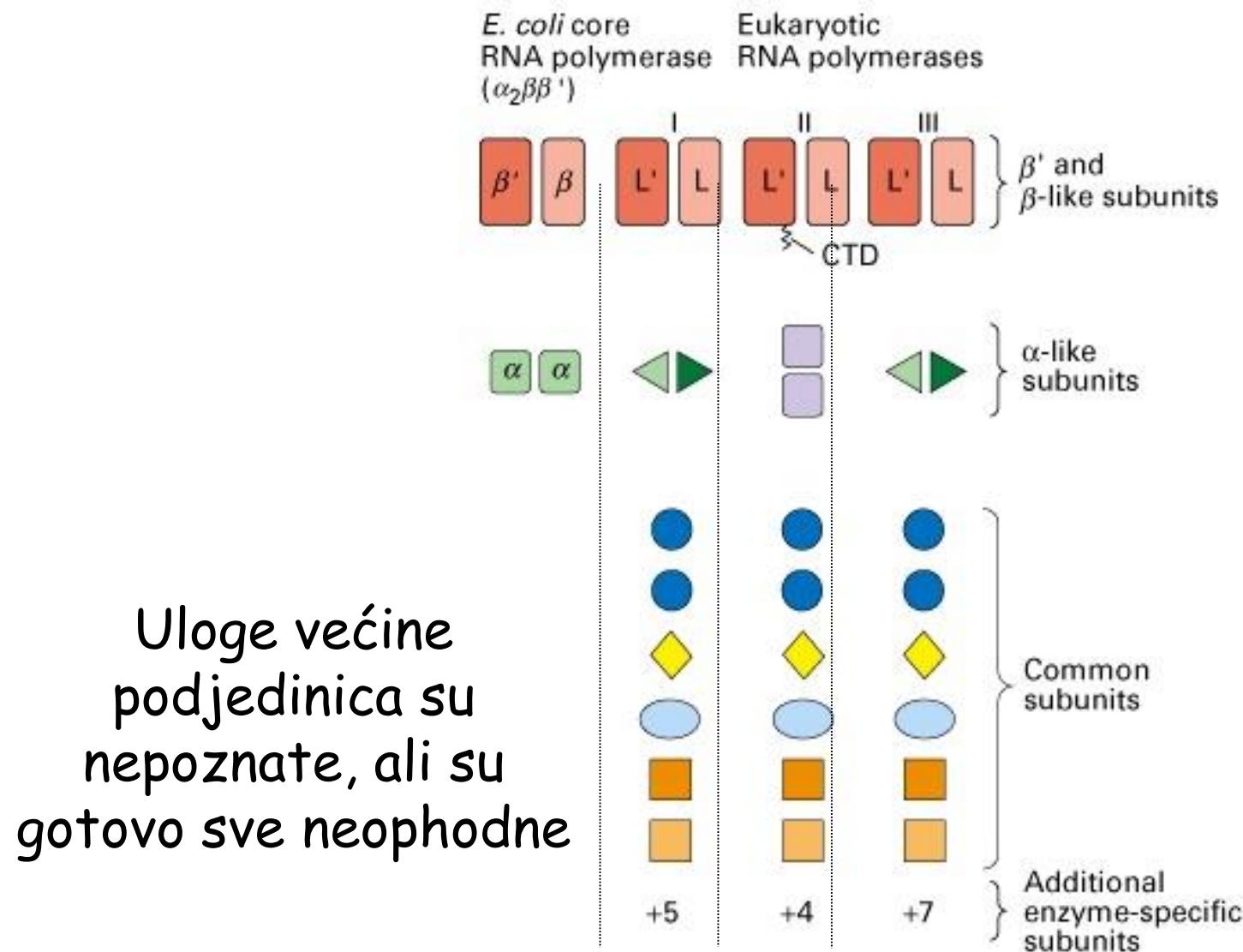


Kvasac: RNA pol. II - 12 podjedinica

→ ne može samostalno prepoznati promotor i vezati se na DNA

- transkripcijski faktori

Eukariotske RNA polimeraze



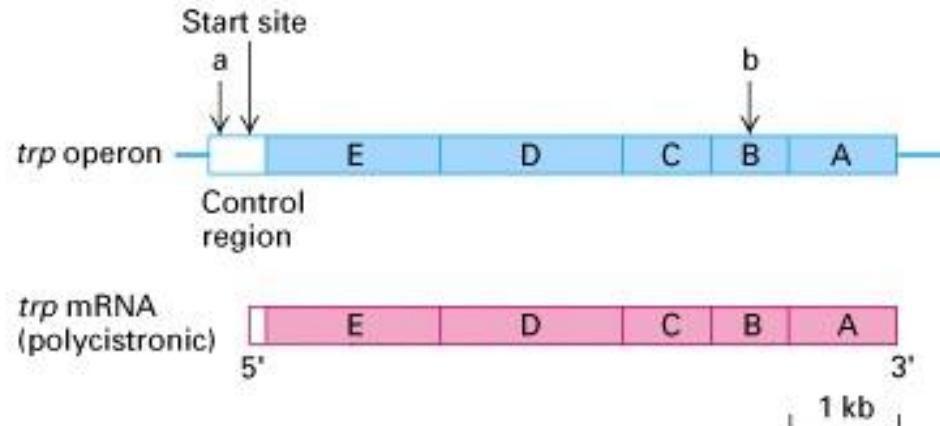
Struktura bakterijske RNA polimeraze



Struktura kvaščeve RNA II polimeraze

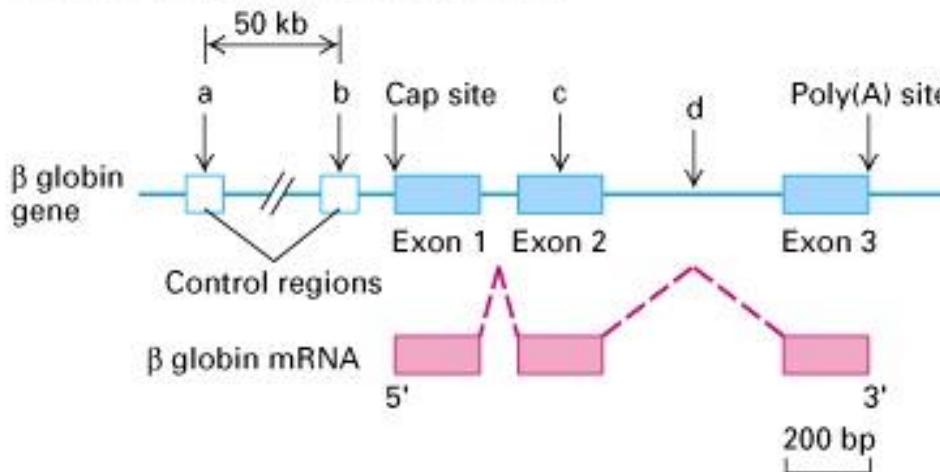
Razlika u građi prokariotskog i eukariotskog gena

(a) Prokaryotic polycistronic transcription unit



Policistonski
neprekinuti

(b) Eukaryotic simple transcription unit



Monocistronski
isprekidani

Razlike u transkripiciji između eukariota i prokariota

Eukariotske RNA polimeraze **ne mogu** same prepoznati promotor - trebaju pomoćne faktore, generalne **transkripcijske faktore**

Uzvodno ili nizvodno od promotora mogu se vezati aktivatori ili represori koji reguliraju prepisivanje

Pri transkripciji moraju se ukloniti i **histoni u kromatinu** koji sprječavaju vezanje TBP (TATA binding protein)

RNA polimeraza II (njen „rep“) se mora **fosforilirati** da bi mogla početi sintetizirati RNA

Transkripcijski faktori: (6)

Generalni transkripcijski faktori

- TFIID ("eukariotski σ faktor")
- TFIID = TBP-TATA-binding protein + >10 TAFs- TBP asociranih faktora (vežu se za inicijator element)

TFIID inicira vezanje ostalih transkripcijskih faktora:

TFIIA, TFIIB, TFII F RNA pol. II, pa TFIIIE i TFIIH

TFII-ovi + RNA pol. II = preinicijalni kompleks (PIC)

TFIIH -proteinska kinaza: fosforilira RNA pol. II
TFIIH → helikazna aktivnost

Dvostruka uloga

Transkripcijski faktori:

Specifični transkripcijski faktori (aktivatori)

- vežu se ze pojačivače (*enhancere*) i generalne TF

Svijanje
DNA:

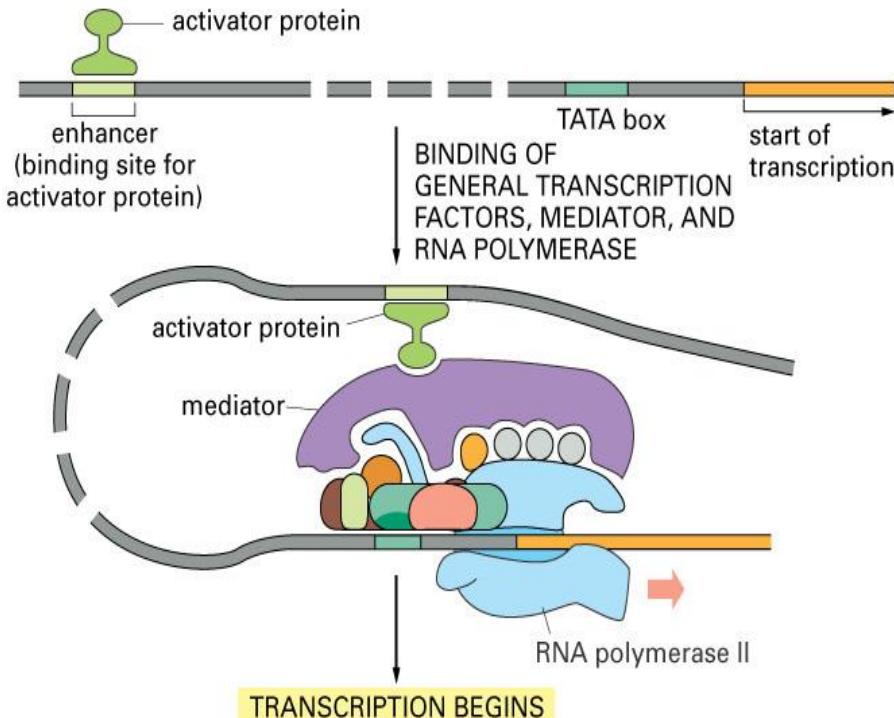


Figure 8-13 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Medijator ili posrednik je koaktivator koji potiče interakciju GTF i aktivatora

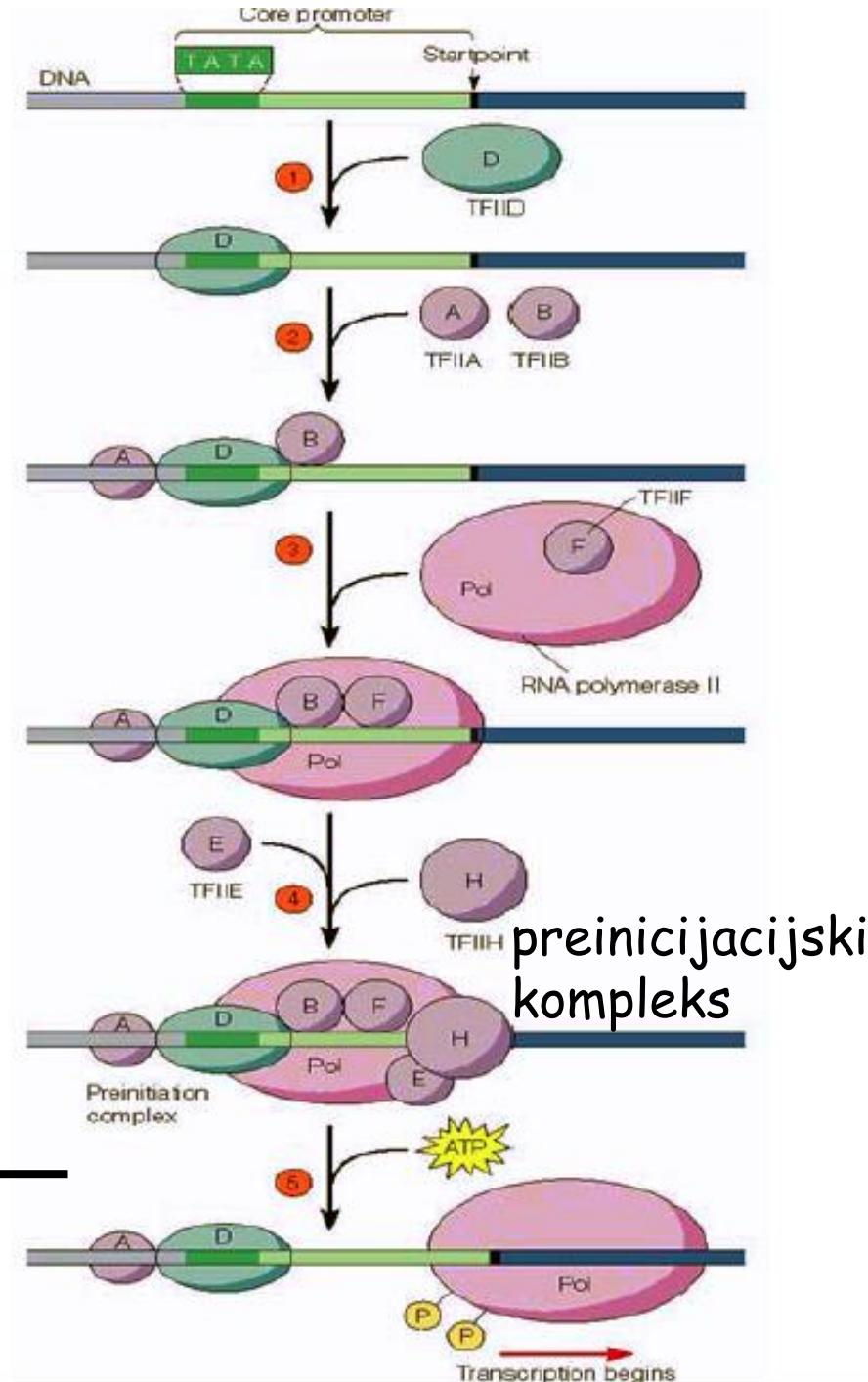
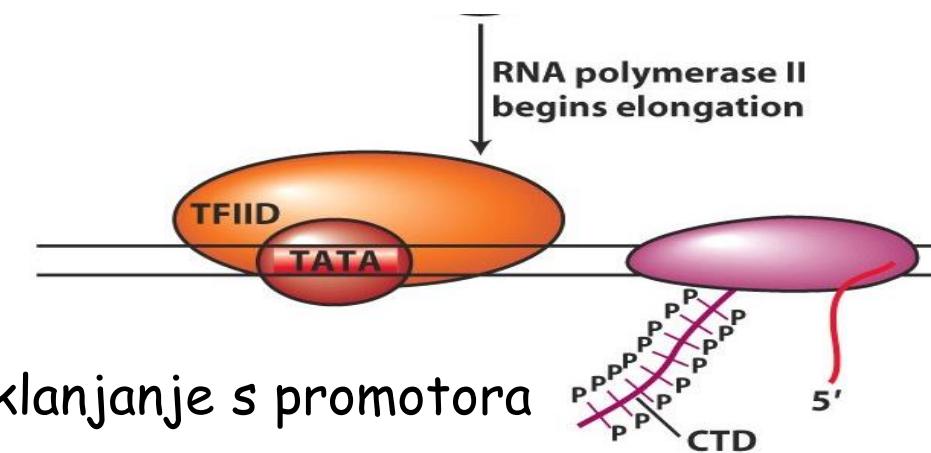
> 80 TF

prepisivanje



fosforilacija se odvija na C-terminanom kraju (CTD) RNA pol II - tzv. **repu** koji se sastoji od 7 ak koji se ponavljaju čak 52 puta kod ljudi

CTD je potreban i za dovođenje proteina za dodavanje 5' kape, izrezivanje introna i dodavanje poliA repa

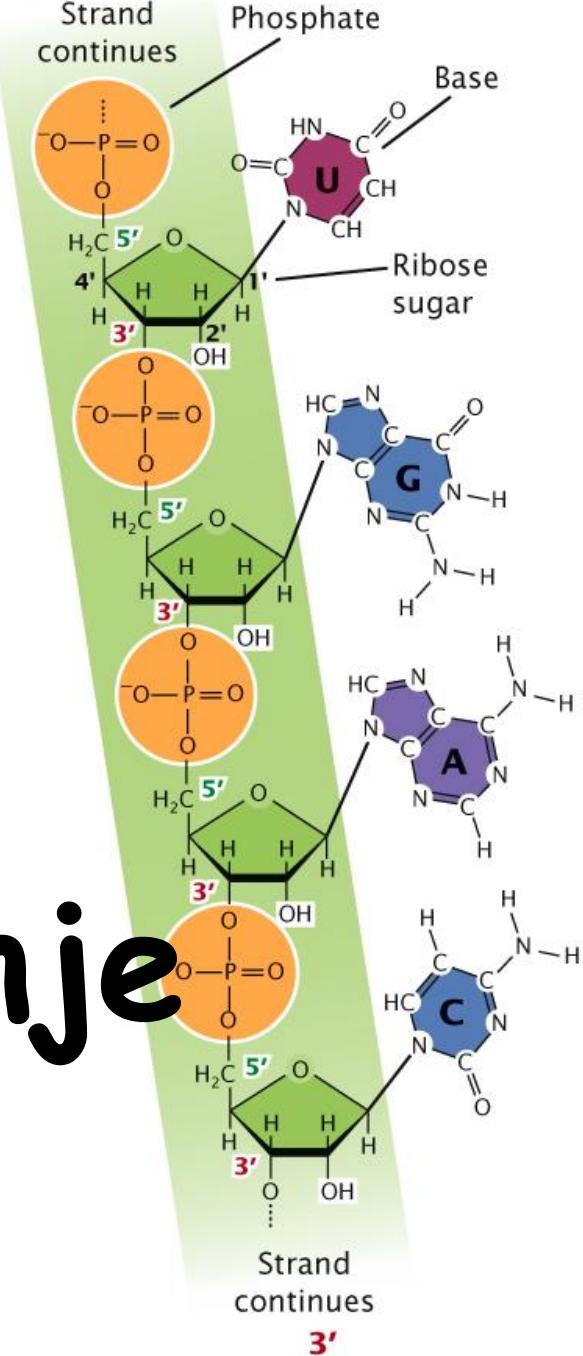


Terminacija transkripcije eukarioti:

- RNA pol. I i RNA pol. III
→ slično kao i kod rho-nezavisne terminacije
- RNA pol. II: kompleksnija terminacija i procesiranje mRNA

Detalji inicijacije i terminacije se i dalje istražuju

Procesiranje RNA

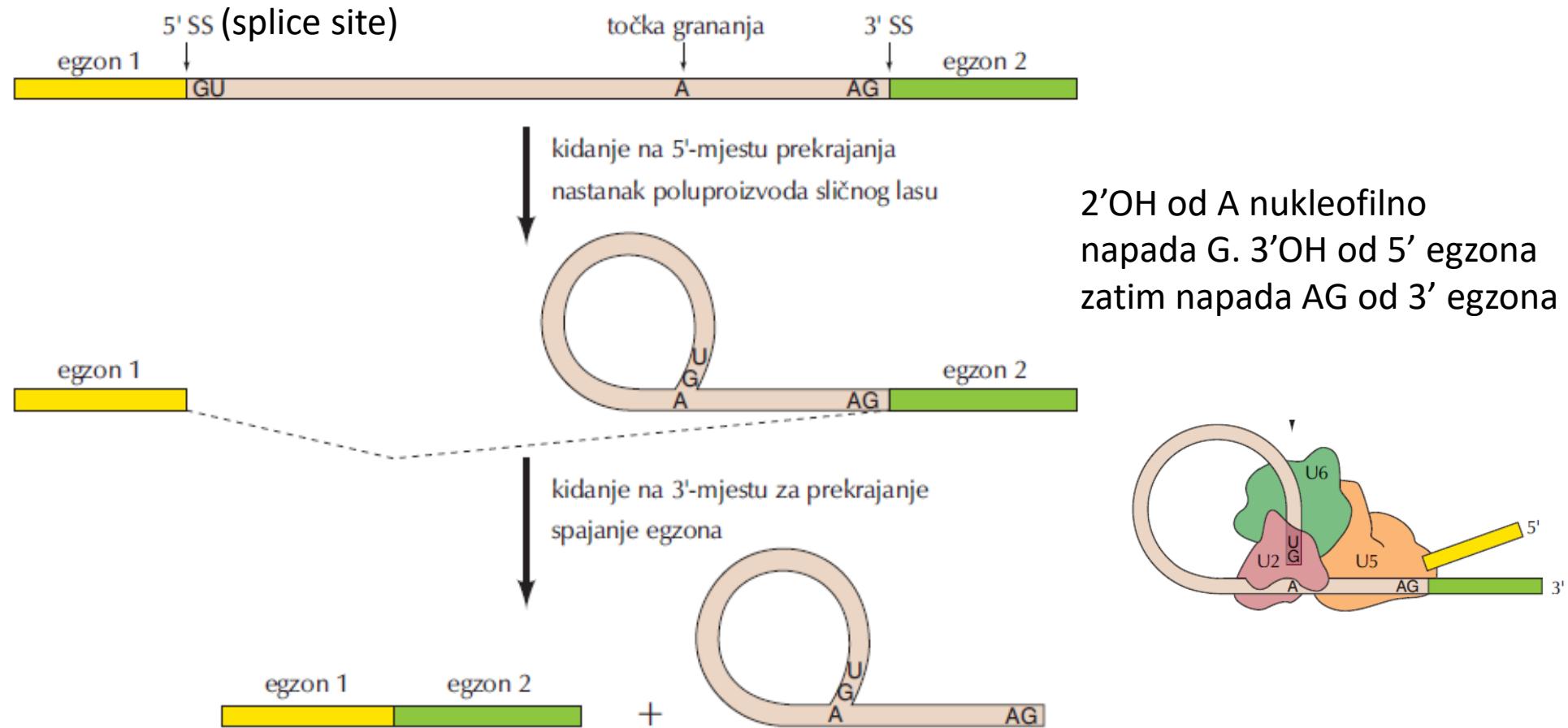


Fig_13-01a *Genetics, Second Edition* © 2005 W.H. Freeman and Company

Transkripcijom RNA-polimeraze II nastaje hnRNA (heterogena nuklearna RNA) iz koje strukturnim promjenama nastaje mRNA, koja izlazi iz jezgre i služi kao kalup za povezivanje aminokiselina u protein.

1. Strukturalna promjena = izrezivanje introna
2. Strukturalna promjena = dodavanje kape na 5'-kraj
3. Strukturalna promjena = dodavanje poli-A-repa na 3'-kraj (oko 200 ribonukleotida s adeninom), 10-35 nukleotida nizvodno od AAUAAA

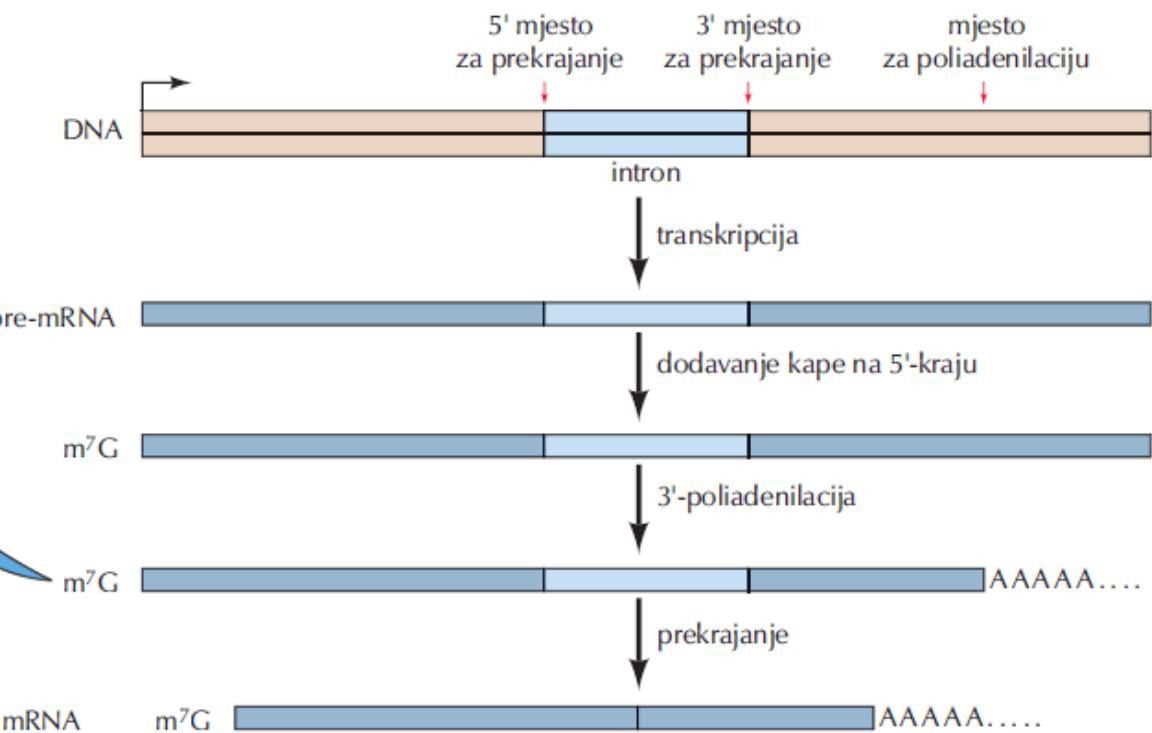
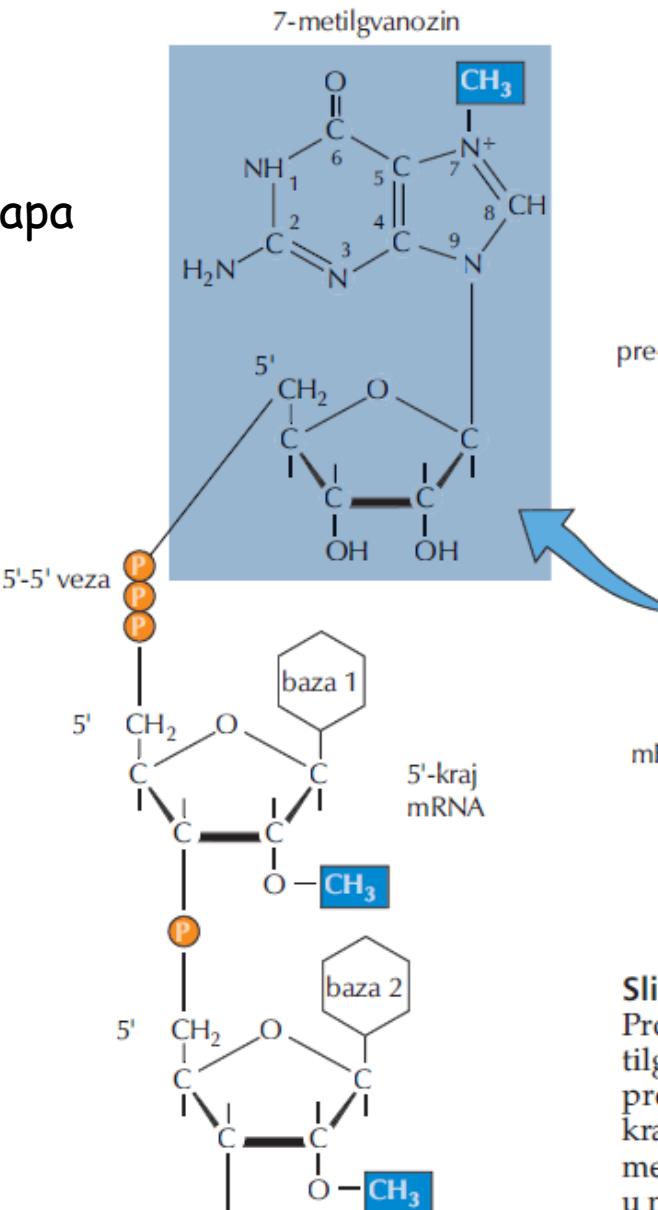
1. Strukturalna promjena - Izrezivanje introna (eng. splicing)



Irezivanje introna odvija se u velikim kompleksima nazvanim tjelešca za prekrajanje (eng. spliceosomes)
Moguća alternativna prekrajanja!

7-metilgvanozinska kapa

(Capping Enzyme Complex CEC)



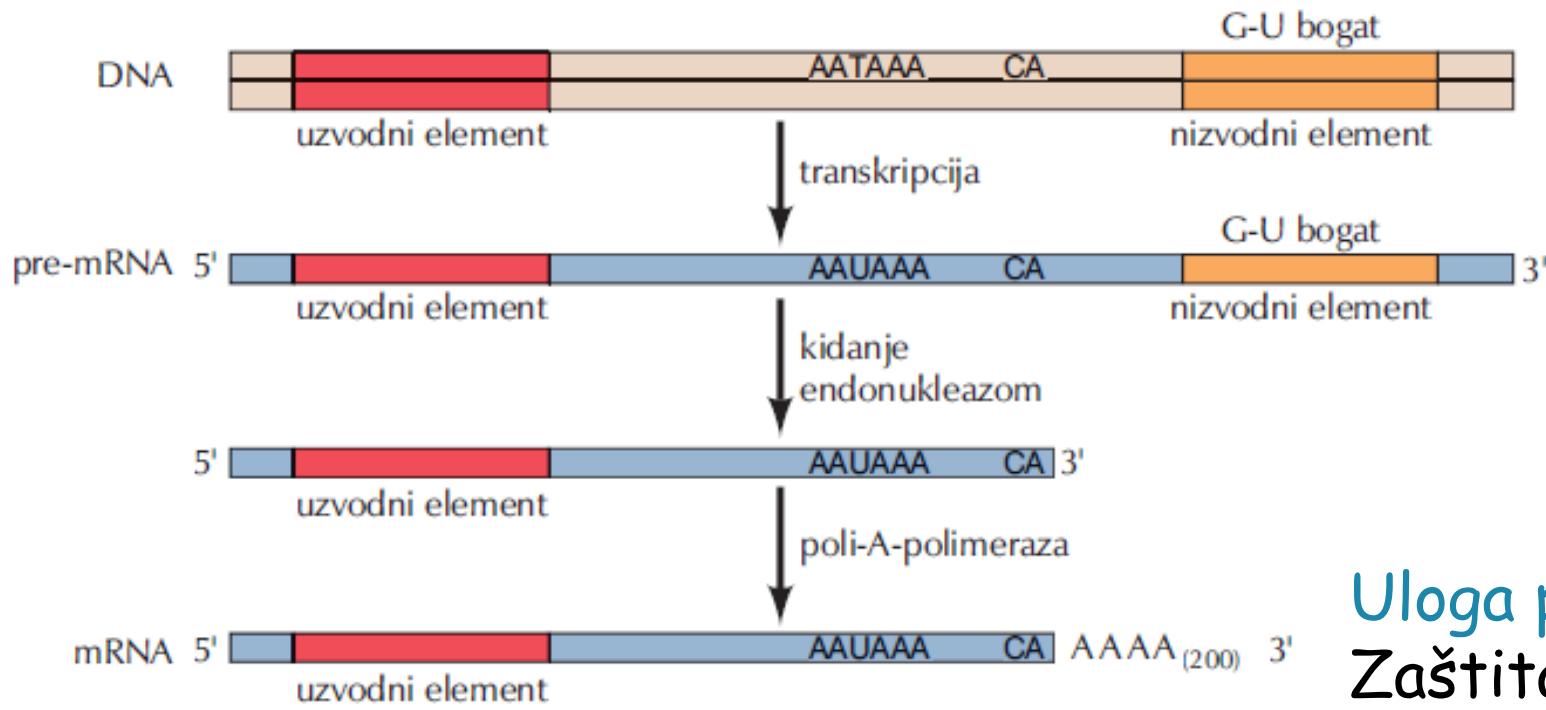
Uloga kape:

1. Štiti mRNA od egzonukleaza (stabilizira)
2. pomaže vezanje na ribosome

Slika 6-41. Proces dorade eukariotskih glasničkih RNA.

Proces dorade mRNA obuhvaća modificiranje 5'-kraja dodavanjem kape s 7-metilgvanozinom (m^7G), modificiranje 3'-kraja poliadenilacijom i uklanjanje introna prekrajanjem. 5'-kapa nastaje dodatkom GTP u obrnutoj orientaciji naspram 5'-kraja mRNA, stvarajući 5'-5' vezu. Dodani G potom se metilira na položaju N-7, a metilne se skupine dodaju i na riboze koje pripadaju prvom ili prva dva nukleotida u mRNA.

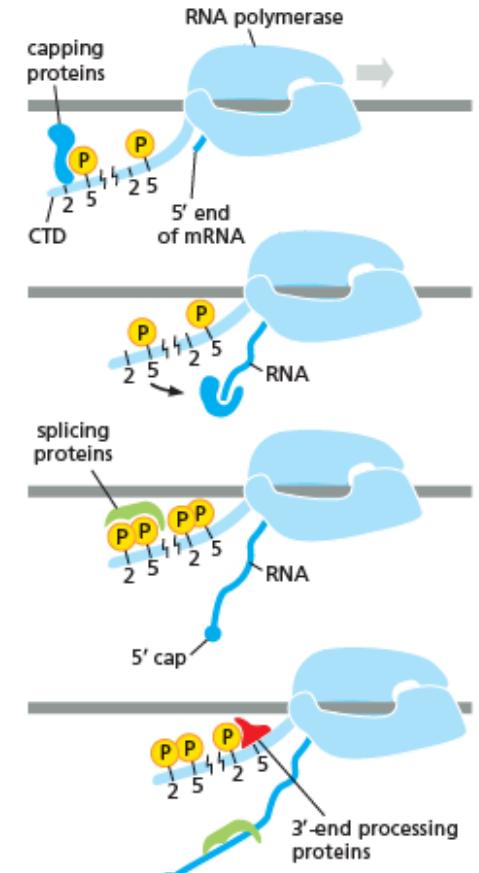
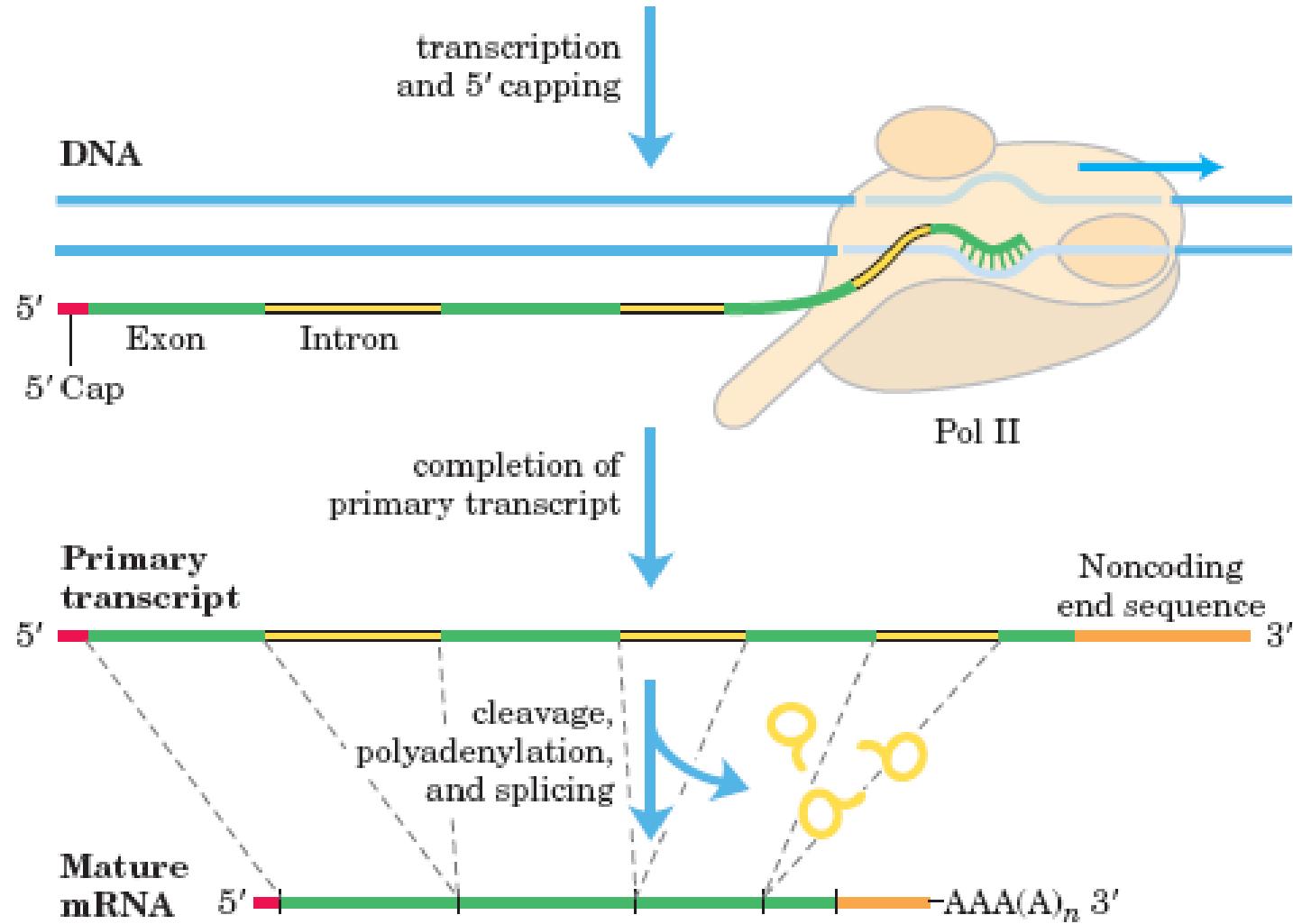
3. Struktturna promjena = dodavanje poli-A-repa na 3'-kraj (oko 200 ribonukleotida s adeninom), 10-35 nukleotida nizvodno od AAUAAA



Uloga poli-A-repa:
Zaštita - stabilnost
Transport u citoplazmu
Pojačanje translacije

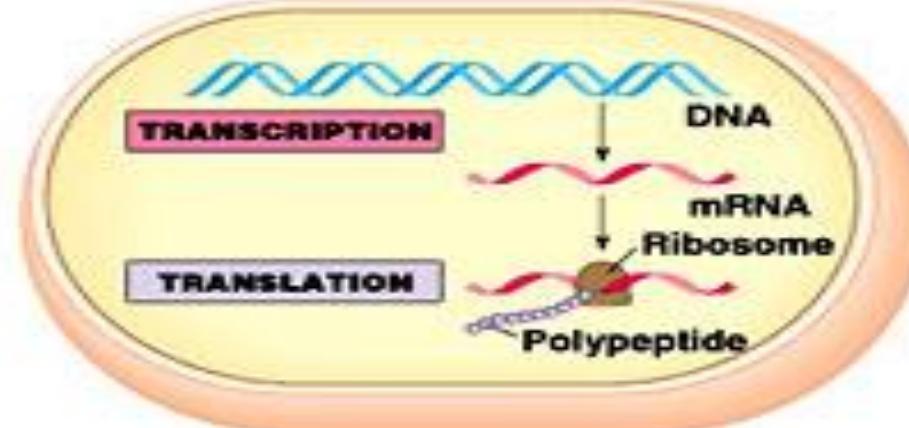
Dodavanje poliA repa je povezano s terminacijom transkripcije kod RNA polII

Procesiranje eukariotske mRNA

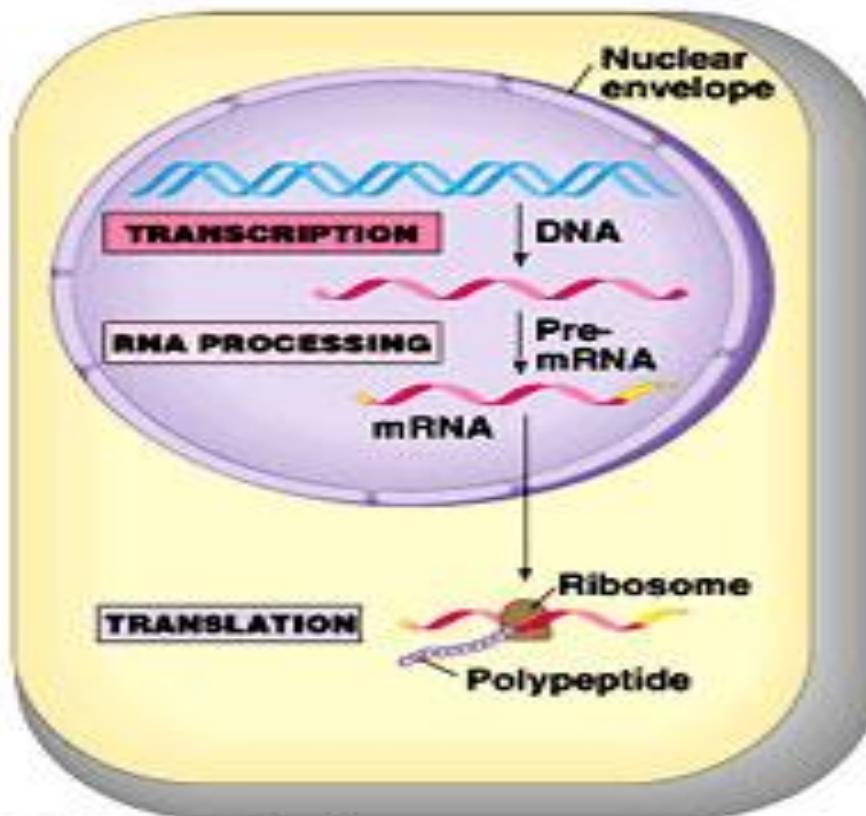


Pitanja

- Transkripcija započinje s ?
- Tko pronašao promotor kod prokariota, a tko od eukariota?
- Kako završava transkripcija?
- Koliko je RNA polimeraza kod eukariota?
- Koje su strukturne promjene u primarnom transkriptu?



(a) Prokaryotic cell



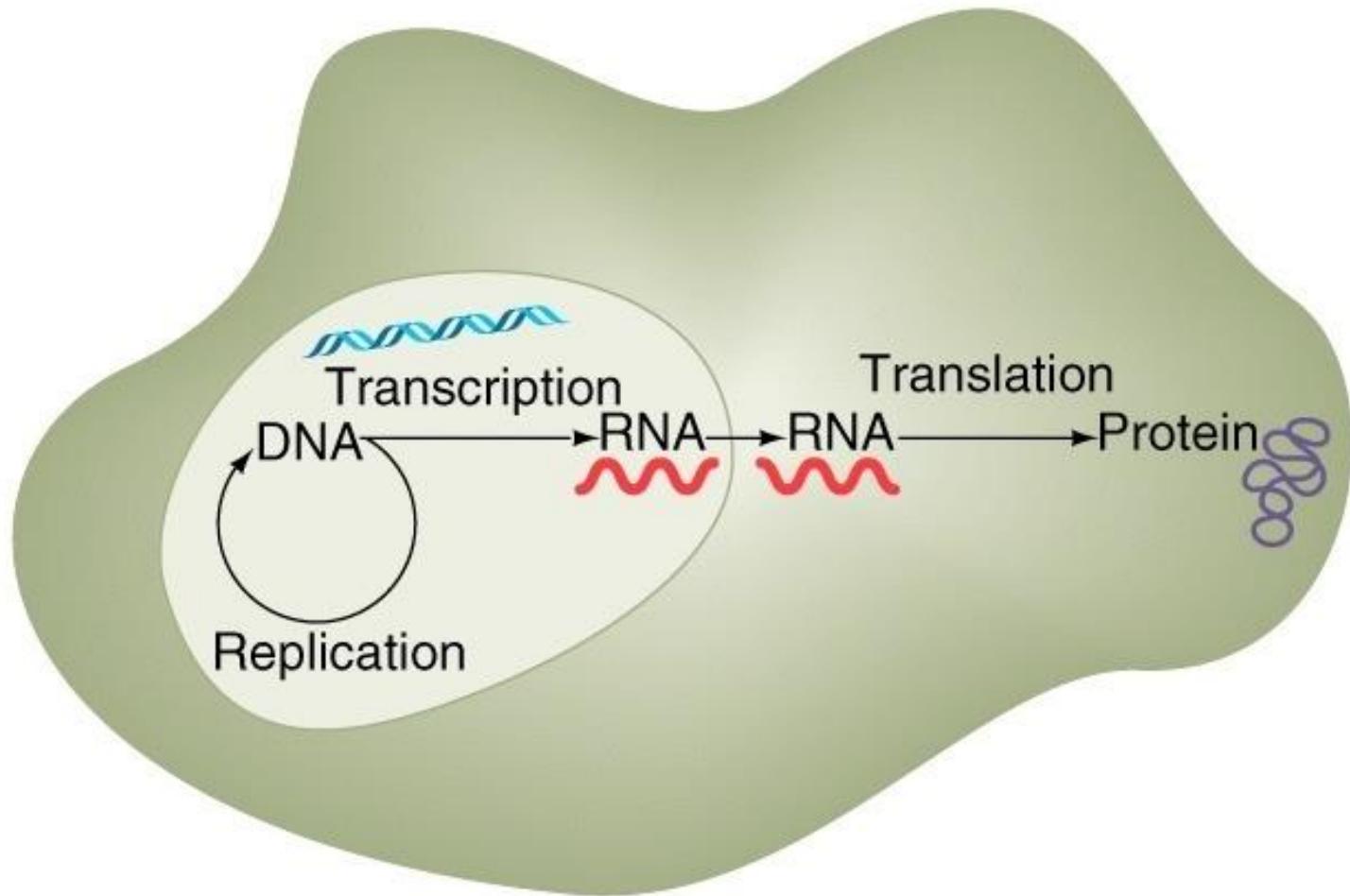
(b) Eukaryotic cell

Istodobna transkripcija
i translacija

Transkripcija i
translacija su
odvojene

PAUZA

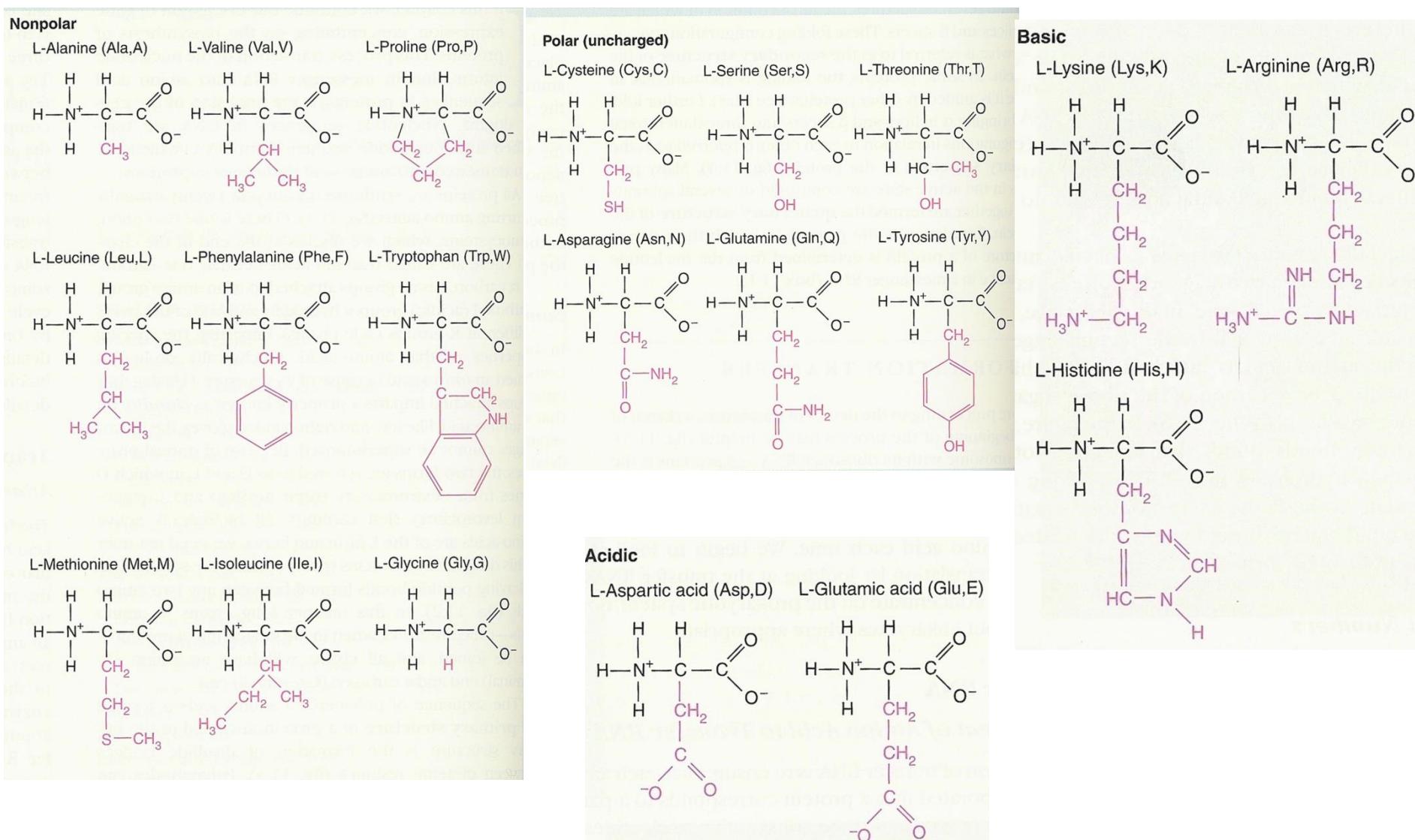
Translacija (sinteza proteina)



Proteini

- Proteini su molekule sastavljene od jednog ili više polipeptida
- Polipeptid je **polimer** od više aminokiselina
- Stanice izgrađuju proteine od **20 različitih aminokiselina**
- Polipeptid se može zamisliti kao nit sastavljenu od 20 različitih "slova" gdje svako slovo označava jednu aminokiselinu

20 različitih aminokiselina



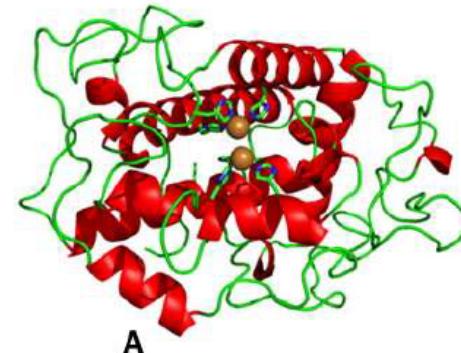
DNA sequence of tyrosinase gene

gi|209571475:5001-122888 Homo sapiens tyrosinase (oculocutaneous albinism IA) (TYR), RefSeqGene on chromosome 11
ATCACTGTAGTAGTAGCTGGAAAGAGAAAATCTGTGA
CTCCAATTAGCCAGTTCCCTGCAGACCTTGTGAGG
ACTAGAGGAAGAACATGCTCTGGCTGTTTGACTGC
CTGCTGTGGAGTTCCAGACCTCCGCTGGCCATT
TCCCTAGAGCCTGTGTCTCCTCTAAGAACCTGATGG
AGAAGGAATGCTGTCCACCCTGGAGCGGGGACAG
GAGTCCCTGTGGCCAGCTTCAGGCAGAGGTTCT
GTCAGAAATATCCTCTGTCCAATGCACCACTTGGG
CCTCAATTCCCTCACAGGGTGGATGACCGGGA
GTCGTGGCCTTCCGTCTTTATAATAGGACCTGCC
AGTGCTCTGGCAACTTCACTGGGATTCAACTGTGGAA
ACTGCAAGTTGGCTTGGGACCAAACACTGCAC
AGAGAGACGACTCTGGTGAGAAGAACATCTCG
ATTGAGTCCCCAGAGAAGGACAATTGGGCC
TACCTCACTTCTAGCAAAGCATACCATCAGCTCAGAC
TATGTCATCCCCATAGGGACCTATGGCCAAATGA
AAAATGGATCAACACCCATGTTAACGACATCAATA
TTTATGACCTCTTGTCTGGATGCATTATTATGT
GTCAATGGATGCACTGCTTGGGGGATCTGAAATCT
GGAGAGACATTGATTTGCCATGAAGCACCAGCT
TTTCTGCCTTGGCATAGACTCTTCTTGTGCGGTGG
GAACAAGAAATCCAGAACGCTGACAGGAGATGAAA
ACTTCACTATTCCATATTGGGACTGGCGGGATGCAG
AAAAGTGTGACATTGACAGAGATGAGTACATGGG
AGGTCAGCACCCCCACAATCCTAACTTACTCAGCC
CAGCATCATTCTCTTCTTGGCAGGTAAGATAT
GCTAGATATACGATGTCAGAGTAGGGAGGAACCTT
AACAACTTCTTCAGGCAGGGTATAAAACTTCTC
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



Potrebni elementi za sintezu proteina

- mRNA
- aminokiseline
- tRNA
- aminoacil-tRNA sintetaze
- ribosomi
- translacijski faktori

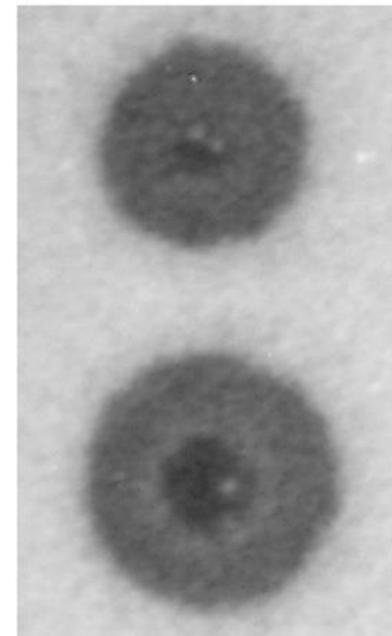
Karakteristike genetičkog koda

- Na "razbijanju" genetičkog koda radili su:
- Francis Crick - genetički pristup - eksperimenti s mutantom faga T4rII
- Marshall Nirenberg - biokemijski pristup
- Sidney Brenner - STOP kodoni

T4 phage *rII* mutants produce distinct plaques when grown on *E. coli* B cells

Top: Plaque produced by wild-type T4
Bottom: Plaque produced by *rII* mutant
r = rapid lysis (hence bigger plaques)

Phage	<i>E. coli</i> B	<i>E. coli</i> K12 (Lambda)
T4 w.t.	Small plaques	Small plaques
T4 <i>rII</i>	Large plaques	No plaques



Karakteristike genetičkog koda

- Linearan
- "Riječ" u mRNA se sastoji od 3 slova (**kodon ili triplet**)
- Kod je nedvosmislen = svaki triplet određuje samo **jednu** aminokiselinu
- Kod je degeneriran (jednu aminokiselinu može određivati više kodona)
- Kod ima **start** i **stop** signale
- Kod je bez pauza - kodoni se čitaju jedan za drugim

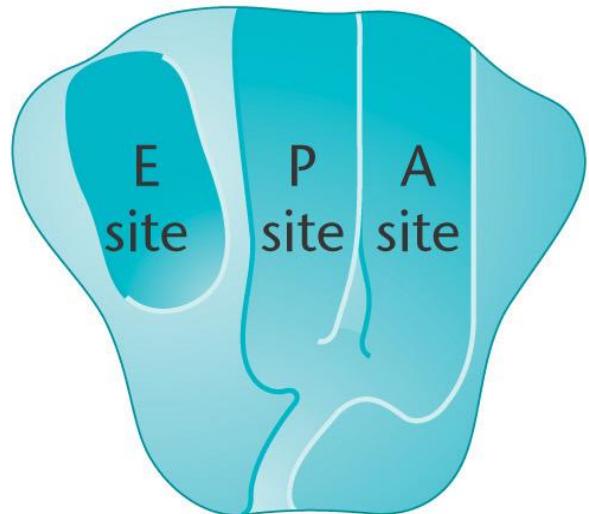
Karakteristike genetičkog koda

- Kod je **nepreklapajući** - jednom kad započne translacija, svaki ribonukleotid unutar mRNA predstavlja dio samo jednog tripleta
- Kod je gotovo univerzalan - s malim razlikama kod je isti za virus, bakterije, arheje i eukariote

Translacijske komponente

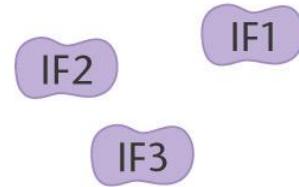


mala podjedinica



velika podjedinica

GTP



Initiation factors

RIBOSOM - mjesto na kojem se odvija sinteza proteina

Sadrže rRNA (40%)
i
proteine (60%).



Elongation factors

Anticodon



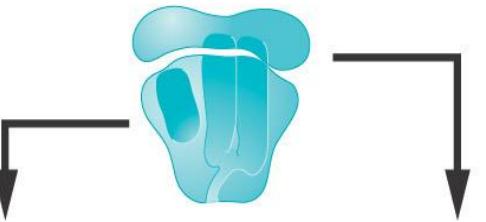
Initiator tRNA

Many triplet codons



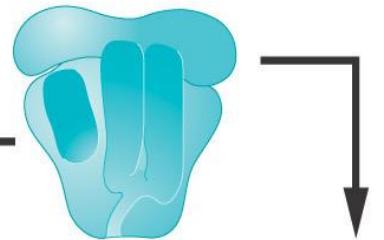
Prokaryotes

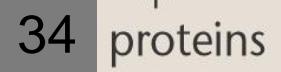
Monosome 70S (2.5×10^6 MW)



Eukaryotes

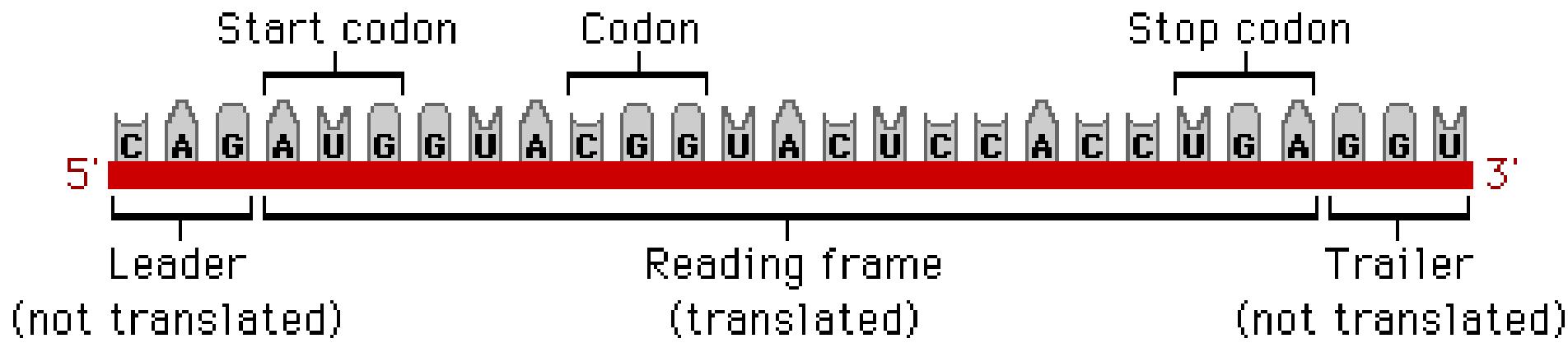
Monosome 80S (4.2×10^6 MW)



Large subunit	Small subunit	Large subunit	Small subunit
50S 1.6×10^6 MW 	30S 0.9×10^6 MW 	60S 2.8×10^6 MW 	40S 1.4×10^6 MW 
23S rRNA (2904 nucleotides)  + 34 proteins  + 5S rRNA (120 nucleotides) 	16S rRNA (1541 nucleotides)  + 21 proteins 	28S rRNA (4718 nucleotides)  + 49 proteins  + 5S rRNA (120 nucleotides)  + 5.8S rRNA (160 nucleotides) 	18S rRNA (1874 nucleotides)  + 33 proteins 

mRNA

sadrži prijepis upute za redoslijed aminokiselina u proteinu



Kodon = 3 mRNA baze = 1 amino kiselina

Prvi kodon u sekvenci definira OKVIR ČITANJA

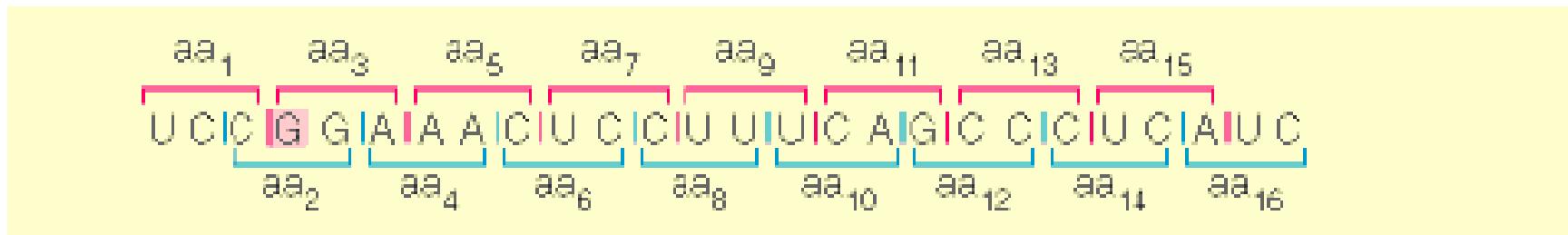
Okviri čitanja

64 kodona - 20 aminokiselina

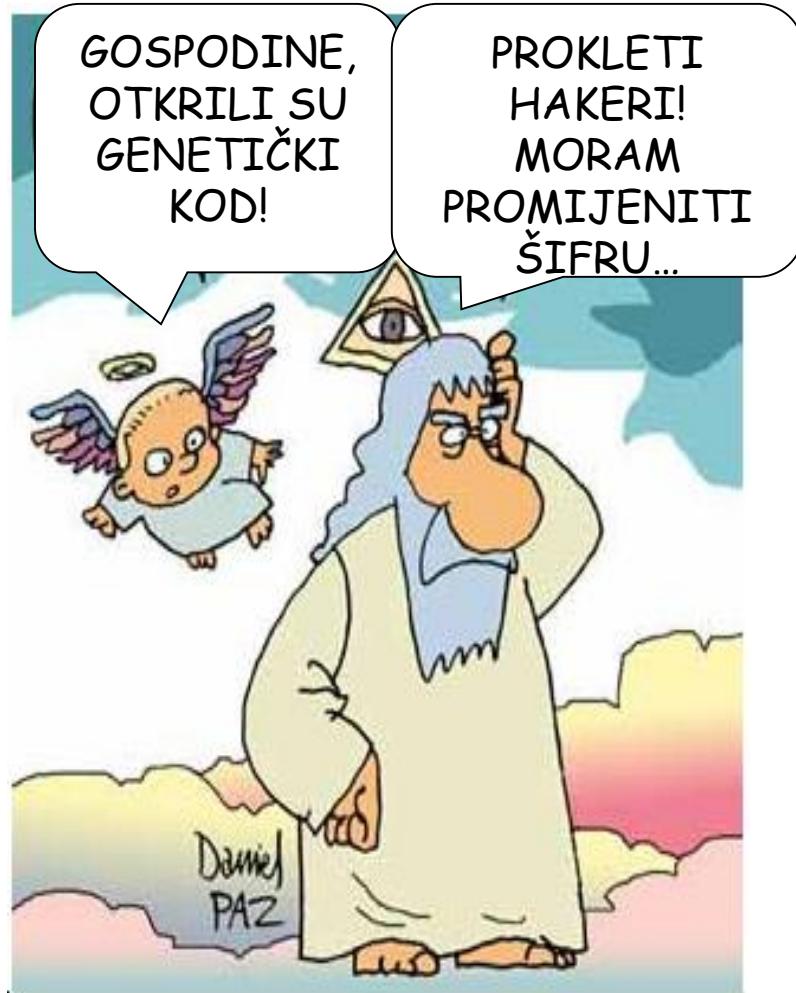
40 tRNA kod *E. coli*

61 kodon kodira za aminokiseline

3 okvira čitanja za jednu sekvencu DNA



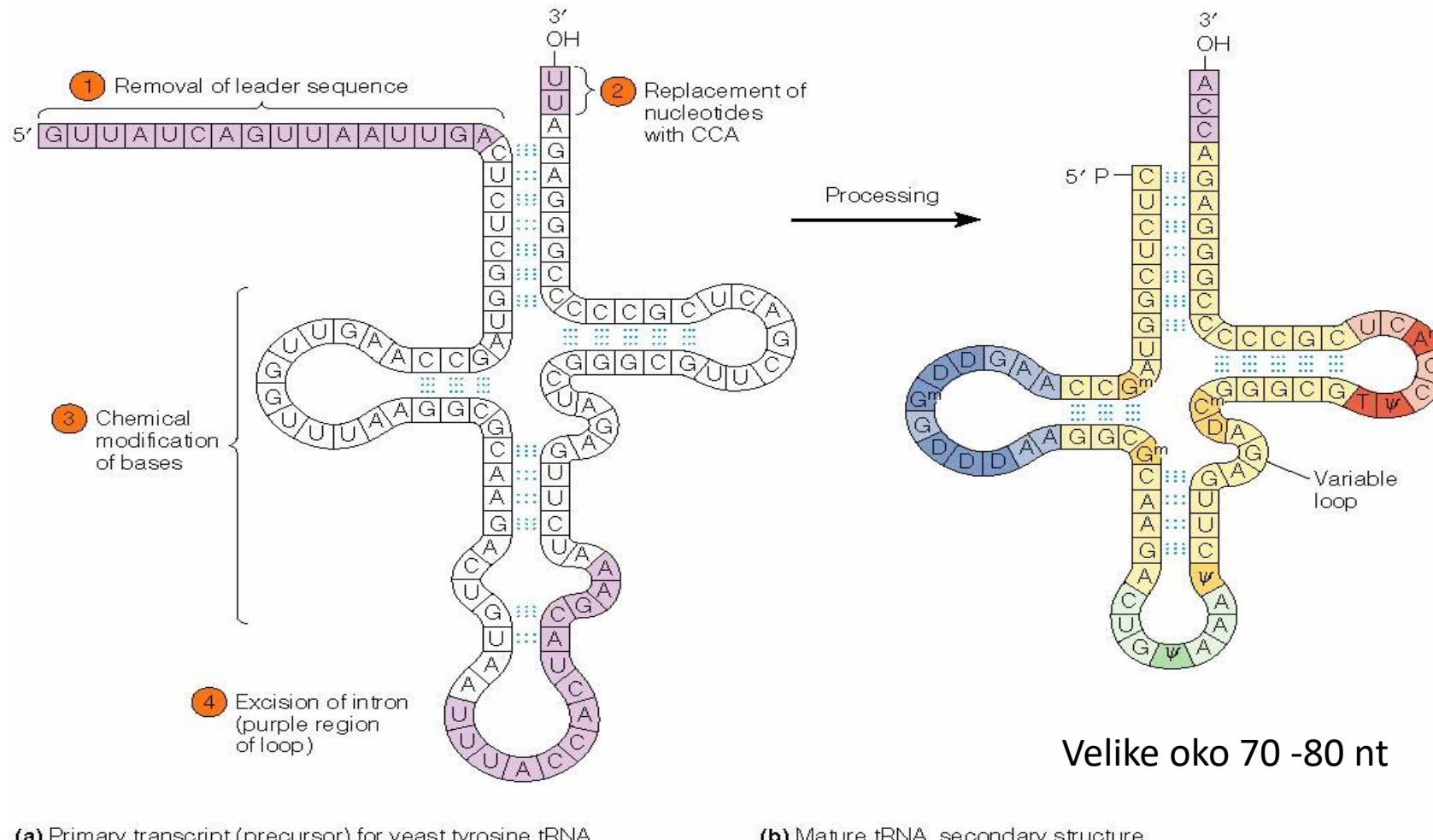
Kod je degeneriran - više kodona za jednu aminokiselinu!



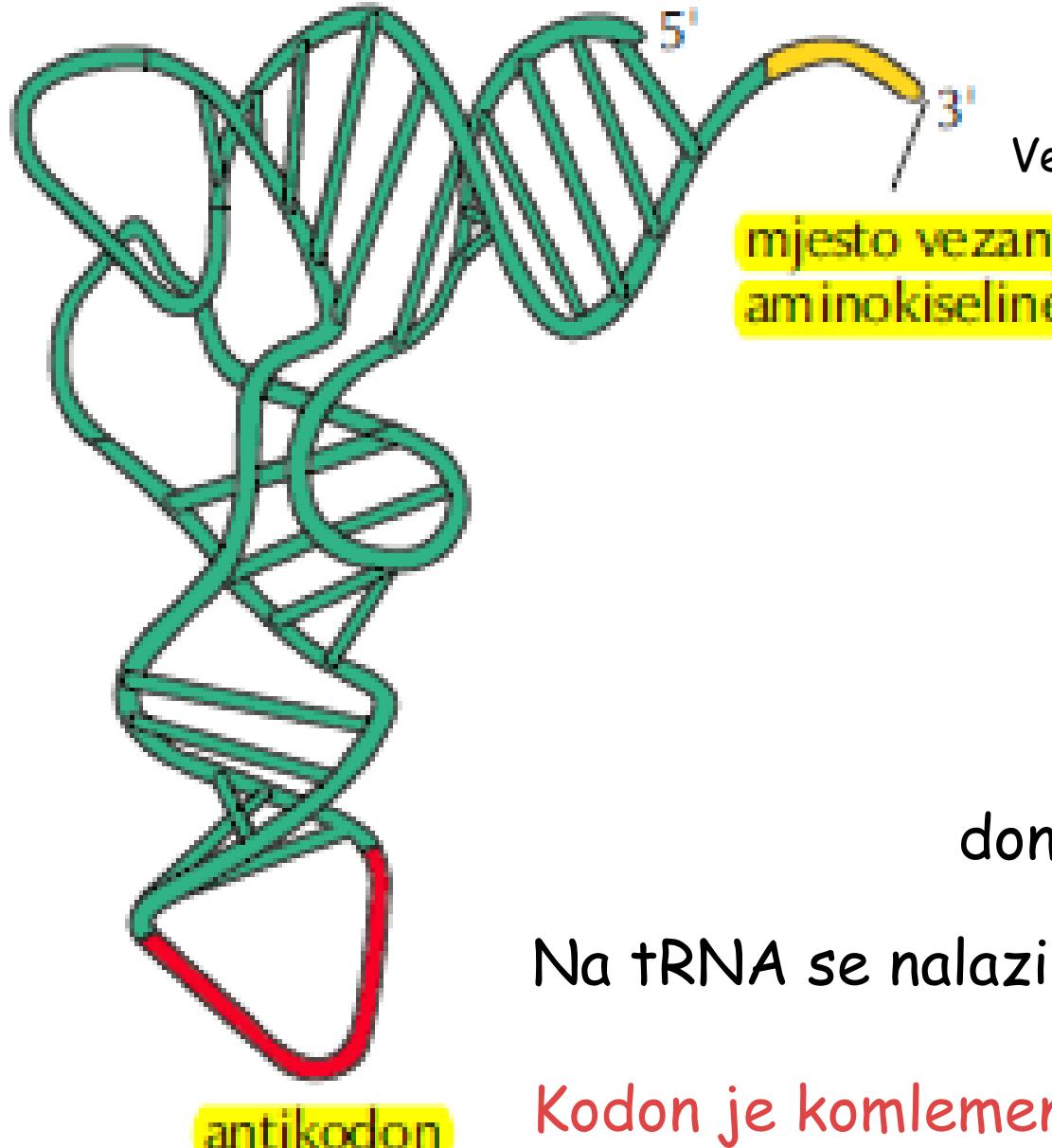
		Second position						
		U	C	A	G			
First position (5'-end)	U	UUU UUC	UCU UCC	UAU UAC	UGU UGC	U C		
	UUA UUG	leu	UCA UCG	UAA UAG	Stop Stop	UGA	Stop	
	C	CUU CUC	CCU CCC	CAU CAC	CGU CGC	U C		
	CUA CUG	leu	CCA CCG	CAA CAG	CGA CGG	CGA	arg	
	A	AUU AUC	ACU ACC	AAU AAC	AGU AGC	U C		
G	AUA AUG	ile met	ACA ACG	asn	ser	AGA AGG	arg	
	GUU GUC	val	GCU GCC	AAA AAG	lys	GGU GGC	U C	
	GUA GUG		GCA GCG	asp	glu	GGA GGG	gly	

Zadnja baza kodona može biti različita - **KOLEBLJIVA** baza

Procesiranje transkripta tRNA

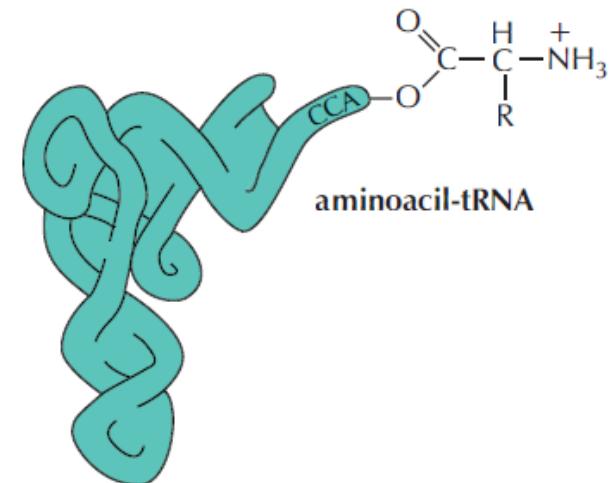


tRNA



Veže odgovarajuće aminokiseline

mjesto vezanja
aminokiseline



donosi aminokiseline na ribosom

Na tRNA se nalazi **ANTIKODON**

Kodon je komplementaran antikodonu!

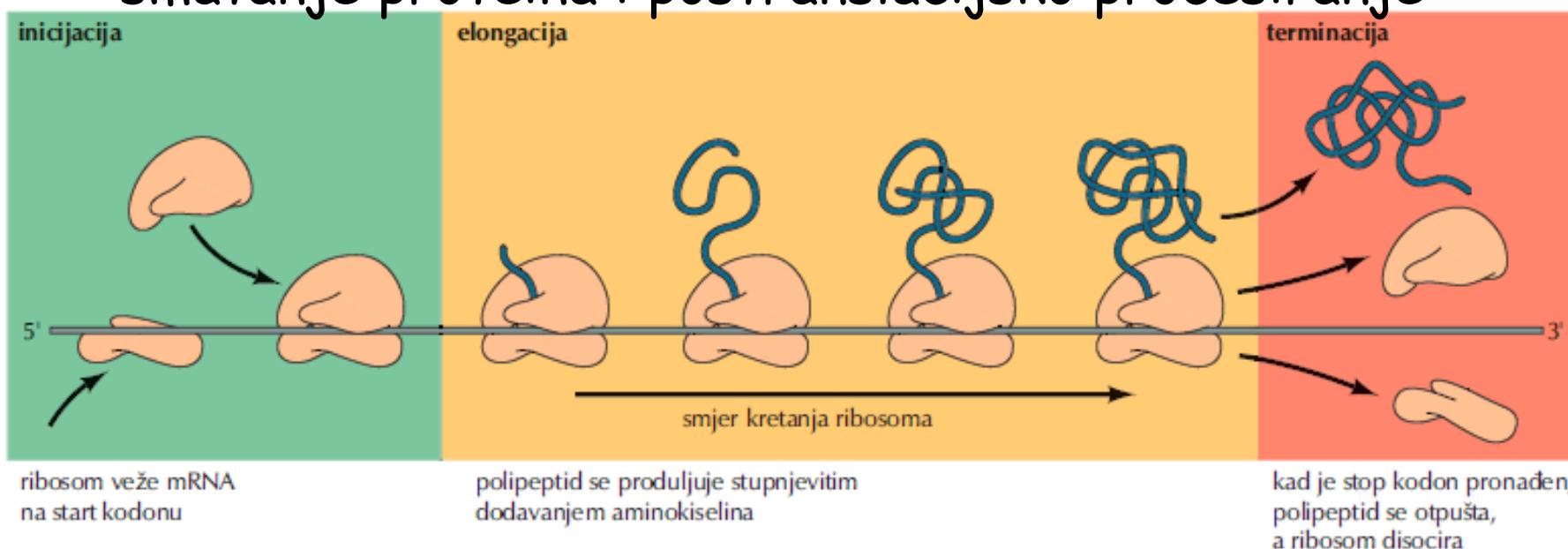
Prepoznaće kodon na mRNA - sparivanje vodikovim vezama

Non W-C sparivanje baza

Base at 5' Position in Anticodon		Base at 3' Position in Codon
G	pairs with	C or U
C	pairs with	G
A	pairs with	U
U	pairs with	A or G
inozin I	pairs with	A, U, or C

Sinteza proteina

- Faze u sintezi proteina:
- aktivacija aminokiselina
- inicijacija
- elongacija
- terminacija
- smatanje proteina i postranslacijsko procesiranje



Aktivacija aminokiselina

Aminoacil-tRNA sintetaza

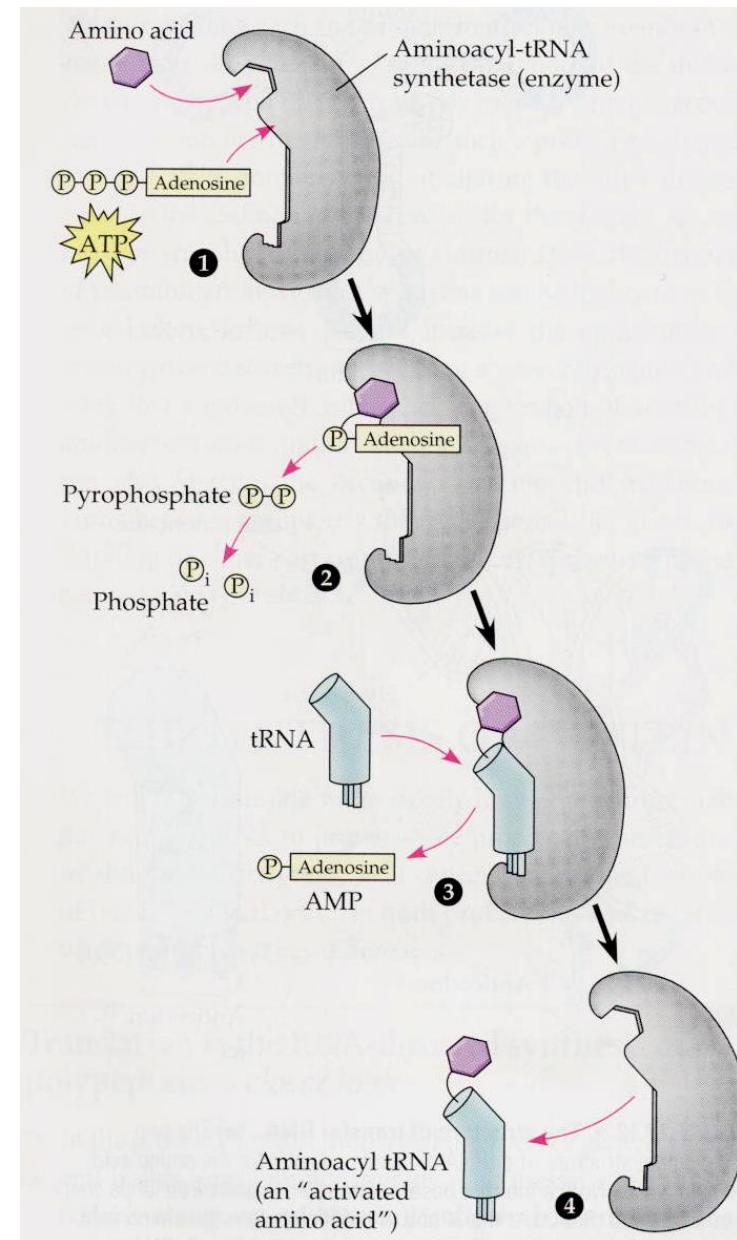
-aktivacija tRNA
vezanjem odgovarajuće
aminokiseline za tRNA
katalizira enzim aminoacil-
tRNA sintetaza

-aminoacil-tRNA-sintetaza
ima **20** i specifične su za
pojedine ak

tRNA^{Cys}

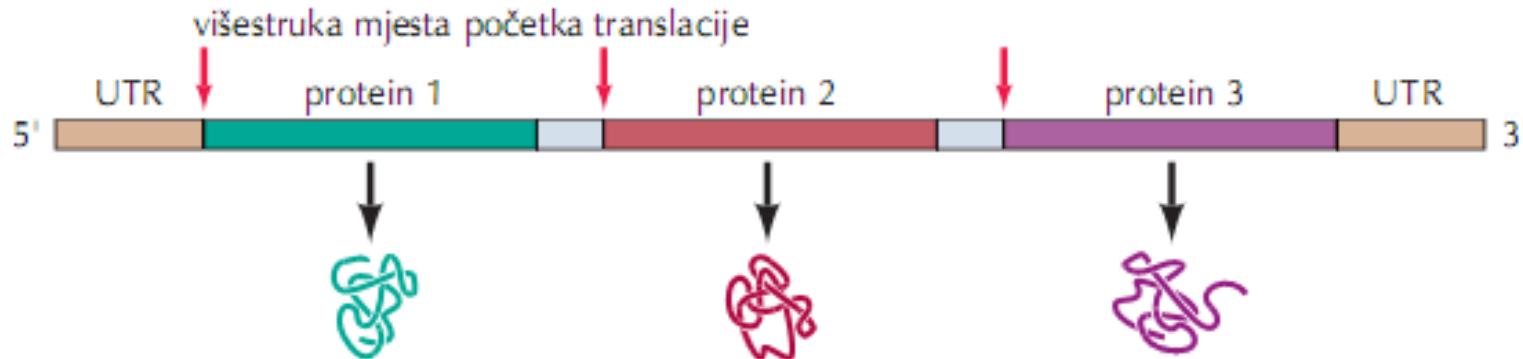
tRNA^{Ser}

Greška aminoaciliranja je 10^{-4} - 10^{-5} .

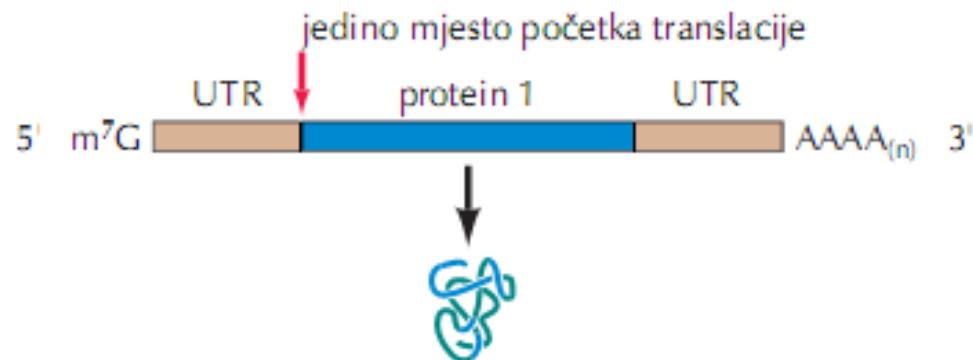


Prokariotske i eukariotske mRNA

prokariotska mRNA

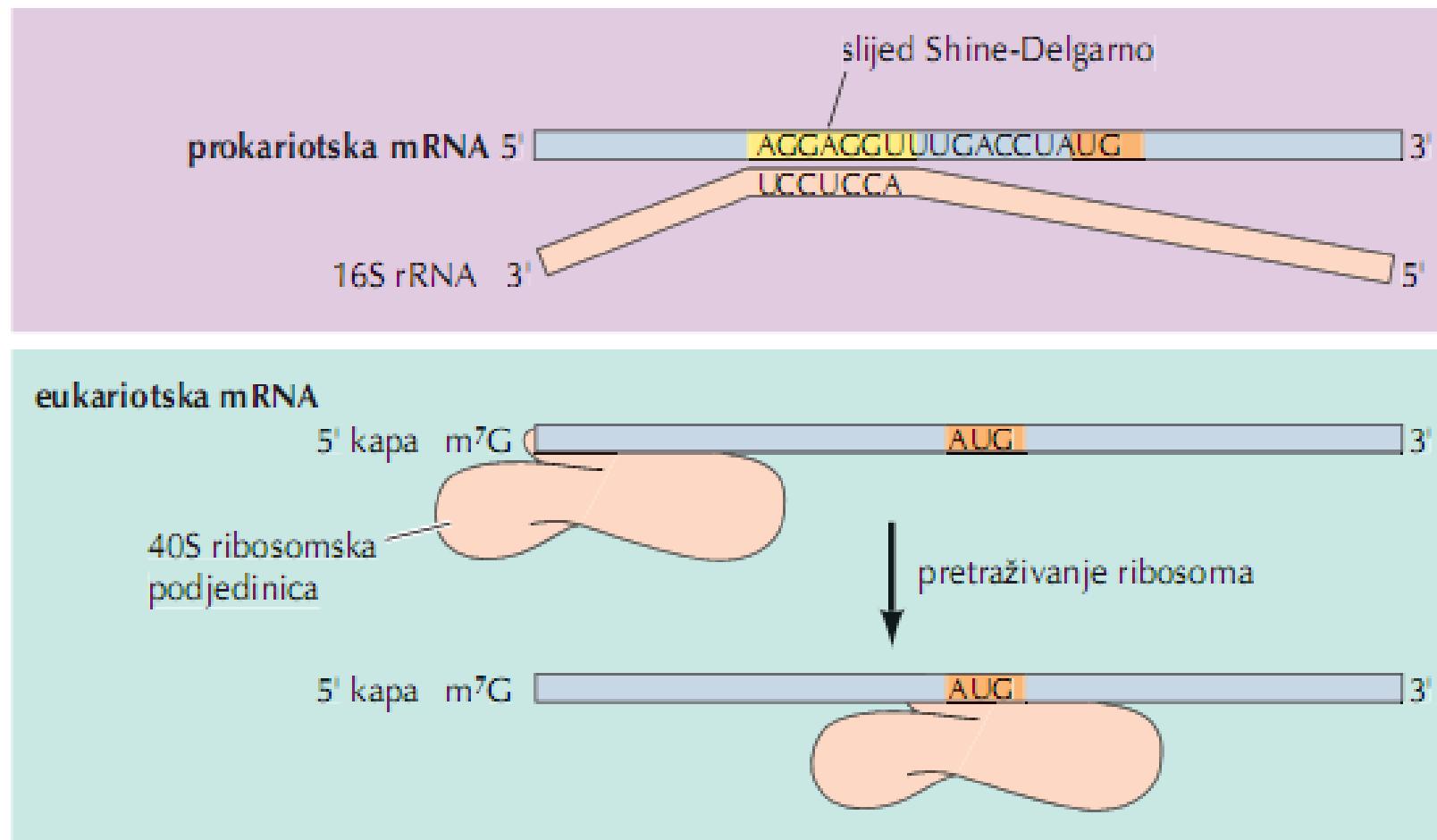


eukariotska mRNA

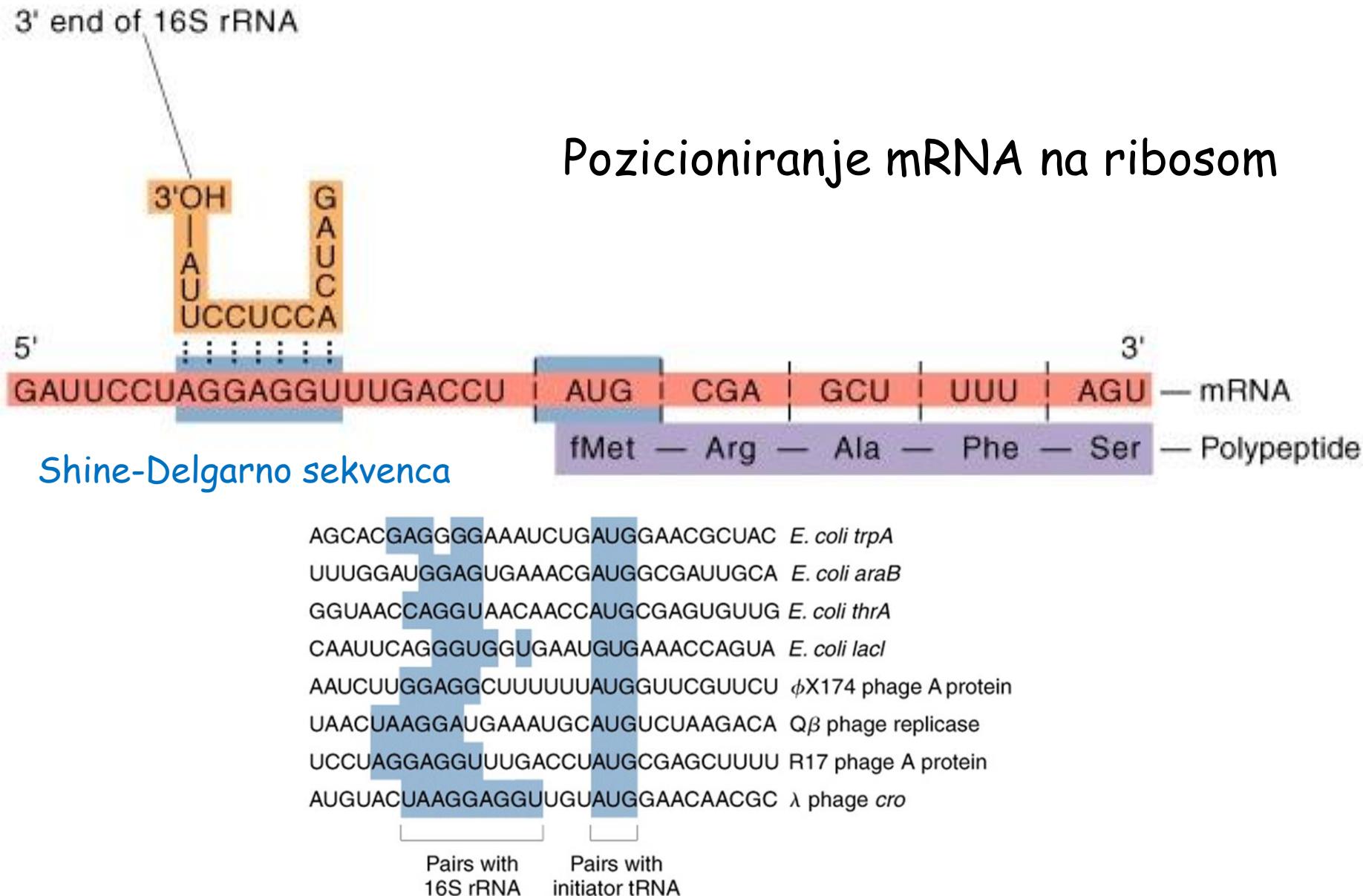


Translacija ne započinje na 5' kraju mRNA već na specifičnom inicijacijskom mjestu.

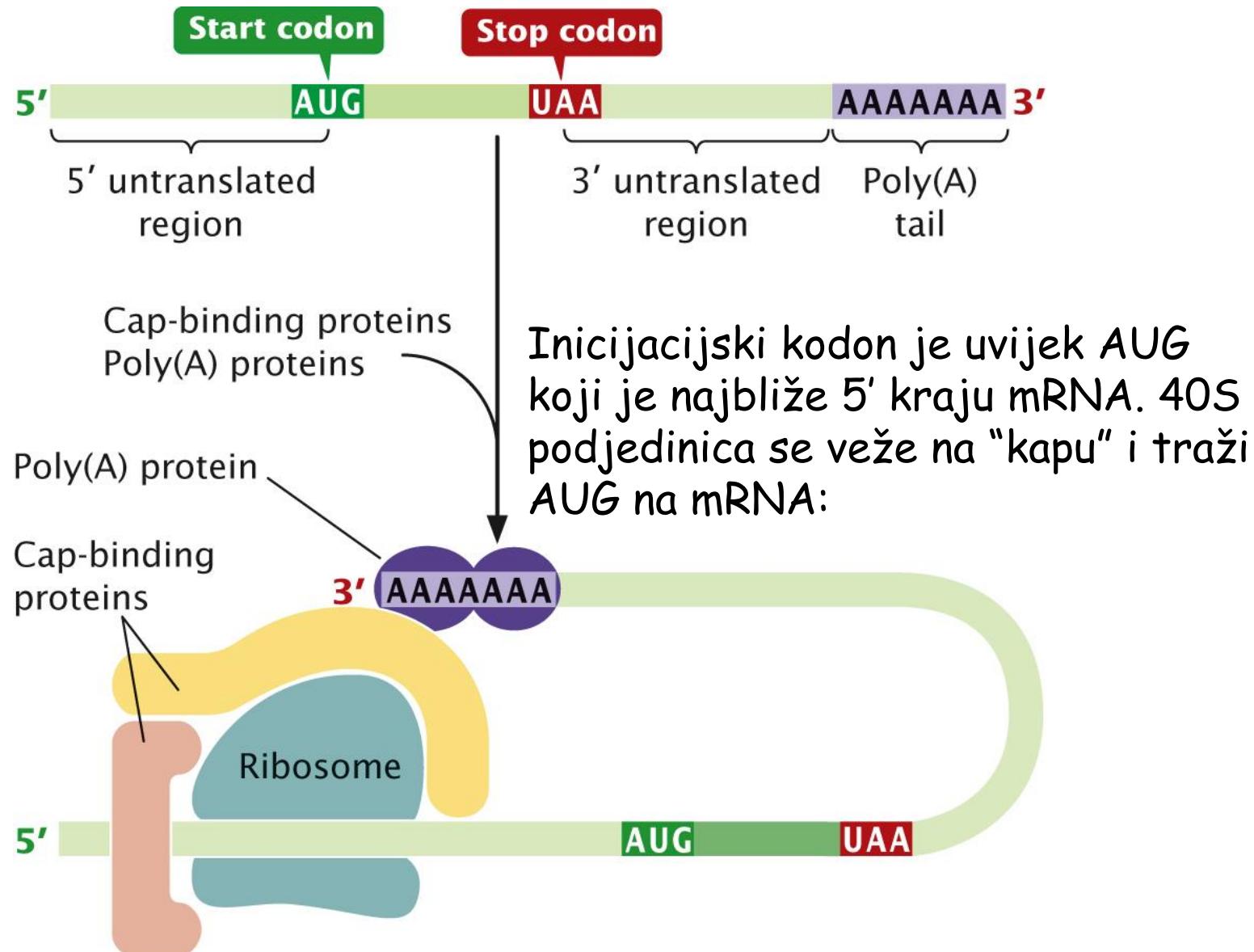
Signali za inicijaciju translacije



Inicijacija translacije kod prokariota



Vezivanje eukariotske mRNA za ribosom...



Inicijacijski faktori i njihova uloga

- IF1 - drži ribosomske podjedinice razdvojene
- IF2 - stvara kompleks s GTP i formil -Met- tRNAfMet i donosi inicijacijsku ak na ribosom
- IF3 - veže se na 30S, omogućuje vezanje mRNA, sprječava vezanje 50S podjedinice

Tablica 7-1. Translacijski faktori

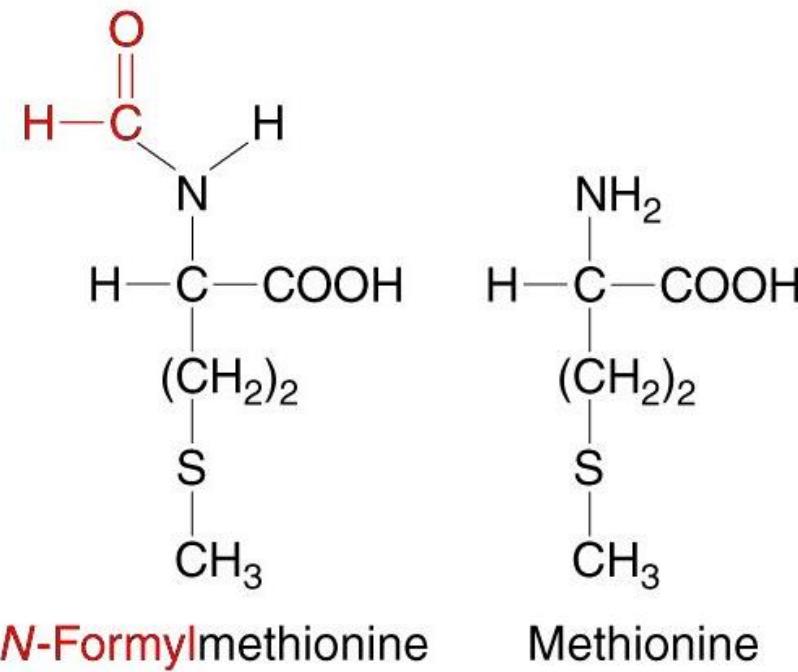
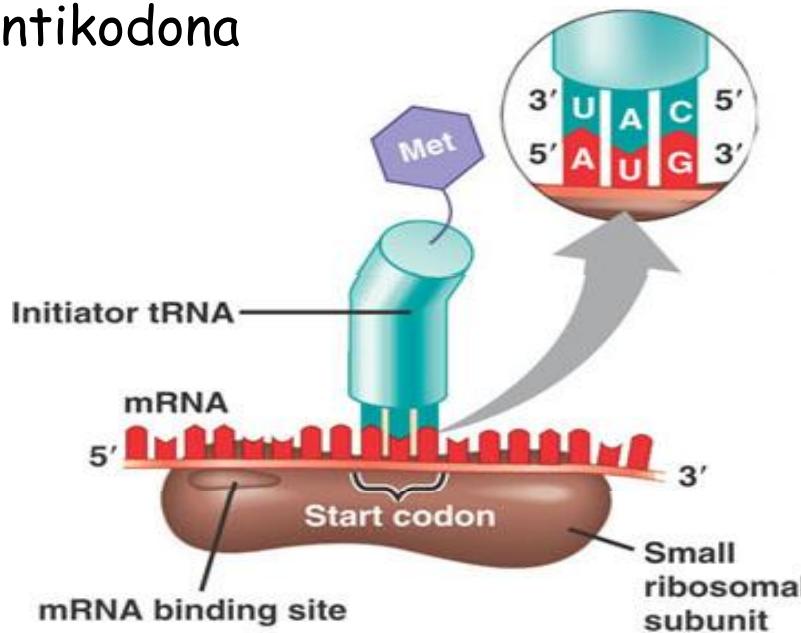
Uloga	Prokarioti	Eukarioti
Inicijacija	IF-1, IF-2, IF-3	eIF-1, eIF-1A, eIF-2, eIF-2B, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4E, eIF-4G, eIF-5
Elongacija	EF-Tu, EF-Ts, EF-G	eEF-1 α , eEF-1 $\beta\gamma$, eEF-2
Terminacija	RF-1, RF-2, RF-3	eRF-1, eRF-3

Inicijacija translacije: vezanje inicijacijske tRNA u P mjesto

Početna aminokiselina:

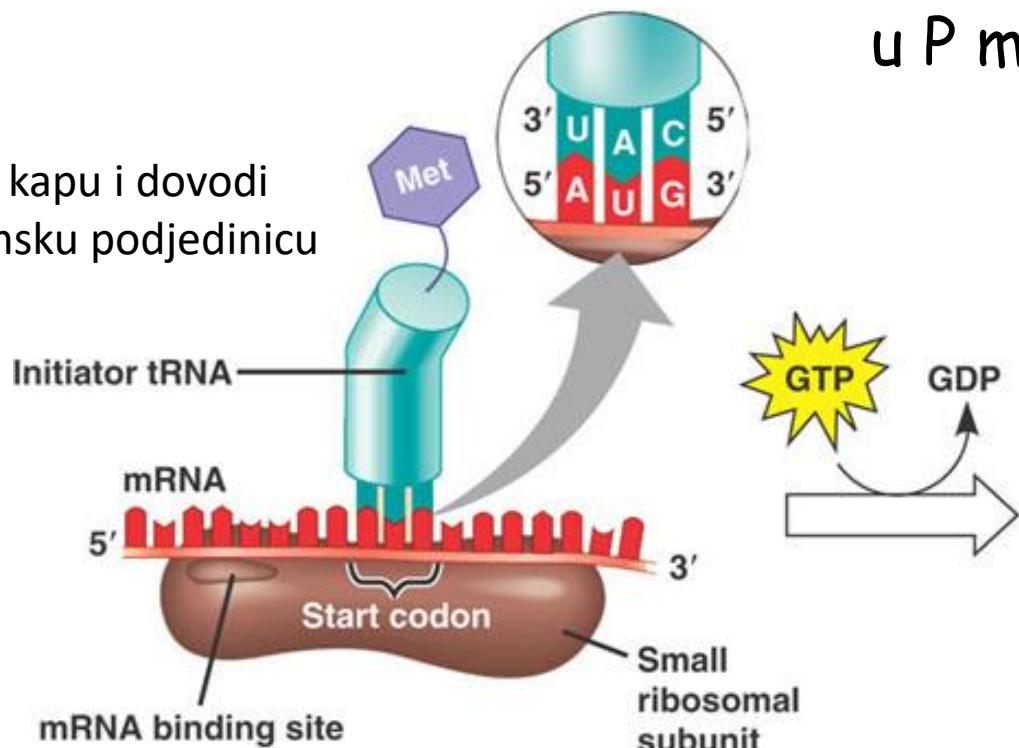
- Prokarioti: formil-metionin (fmet)
- Eukarioti: obični metionin (met)

Vodikove veze se uspostavljaju između kodona i antikodona

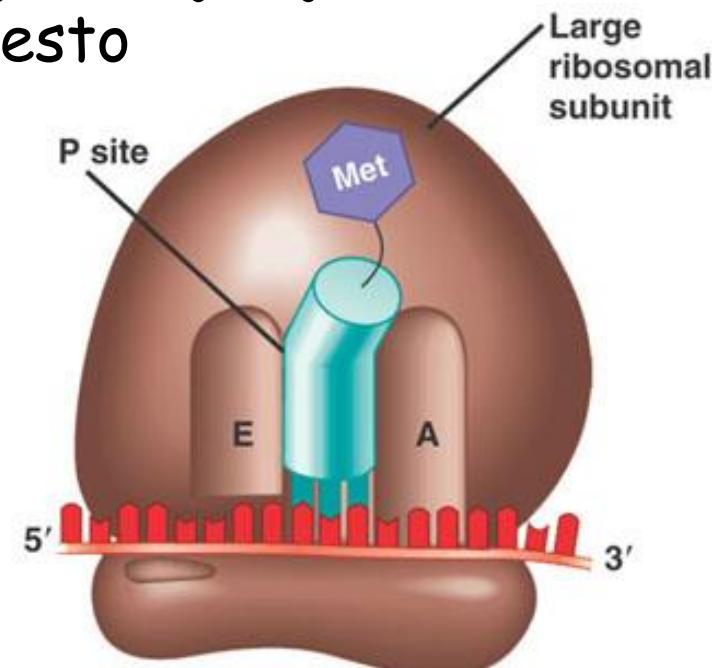


Inicijacija translacije: vezanje velike podjedinice ribosoma

eIF4E prepoznae kapu i dovodi malu 40S ribosomalnu podjedinicu blizu mRNA kape



vezanje inicijacijske tRNA
u P mjesto



Translation initiation complex
= kompletan ribosom
+ inicijacijska tRNA
+ mRNA na AUG

Inicijacijski kompleks

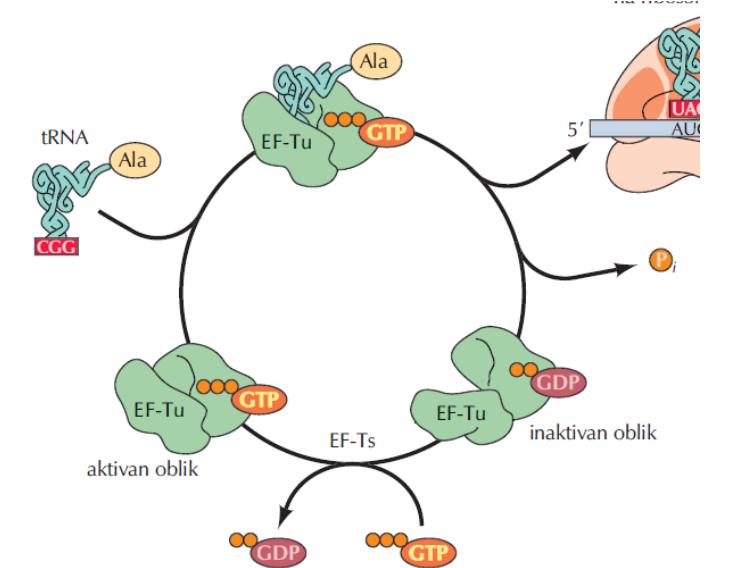
Elongacijski faktori i njihova uloga

EF-Tu - veže aminoacil tRNA-GTP - prati aminoacil-tRNA do ribosoma

EF-Ts - uklanja GDP s EF-Tu-GDP

EF-G - GTPaza; translocira mRNA u ribosomu

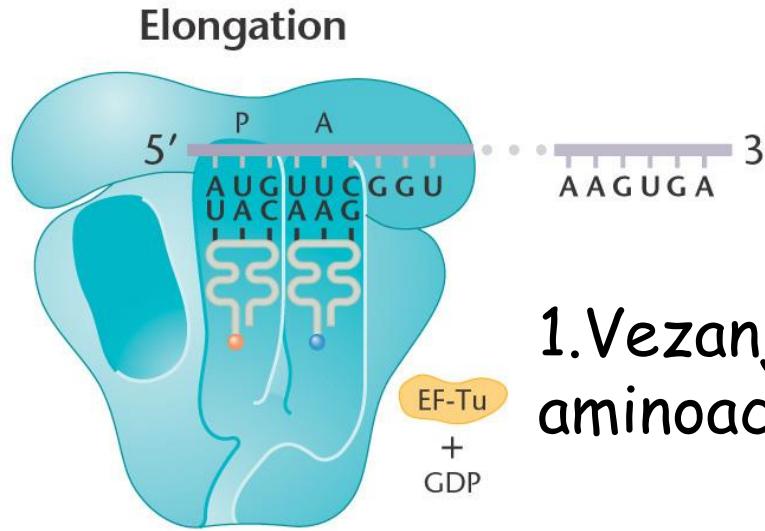
ELONGACIJA - postupno dodavanje aminokiselina u polipeptidni lanac



Obnavljanje kompleksa EF-Tu-GTP

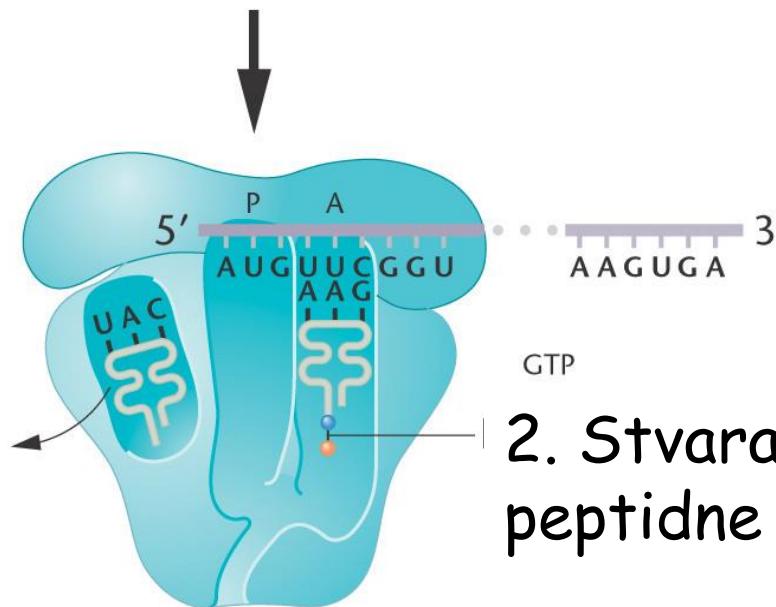
Elongacija (3 faze)

Peptidnu vezu katalizira velika ribosomska podjedinica, gdje **rRNA (23S)** ima **peptidil-transferaznu aktivnost**



1. Vezanje iduće aminoacil-tRNA

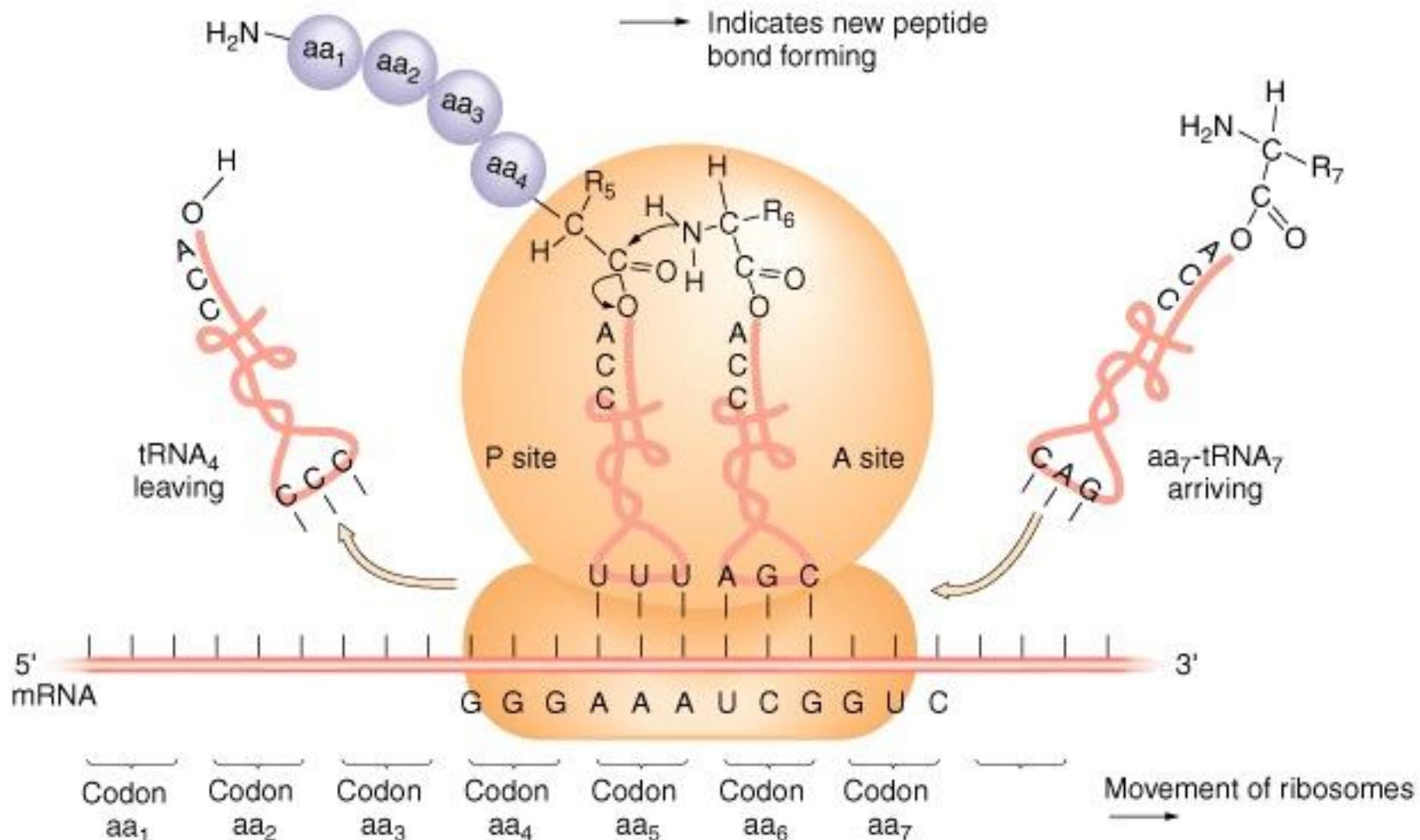
Step 1. Second charged tRNA has entered A site, facilitated by EF-Tu; first elongation step commences



2. Stvaranje peptidne veze

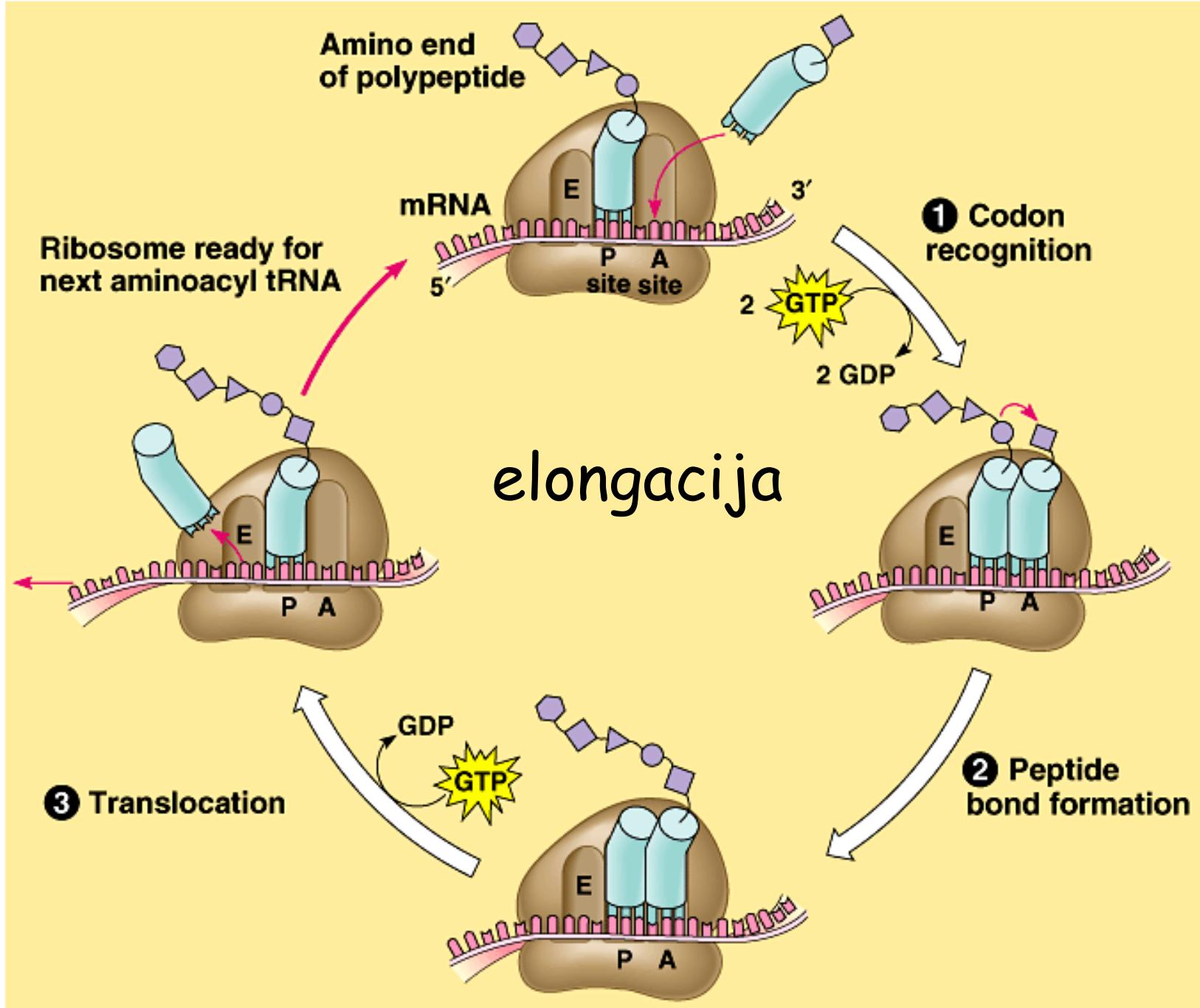
Step 2. Dipeptide bond forms; uncharged tRNA moves to E-site and then out of ribosome

3. Faza elongacije - Translokacija



Pomak ribosoma duž molekule mRNA za 1 kodon u 3' smjeru (potreban EF-G-GTP). GTP se hidrolizira. Aminokiseline se dodaju do STOP kodona

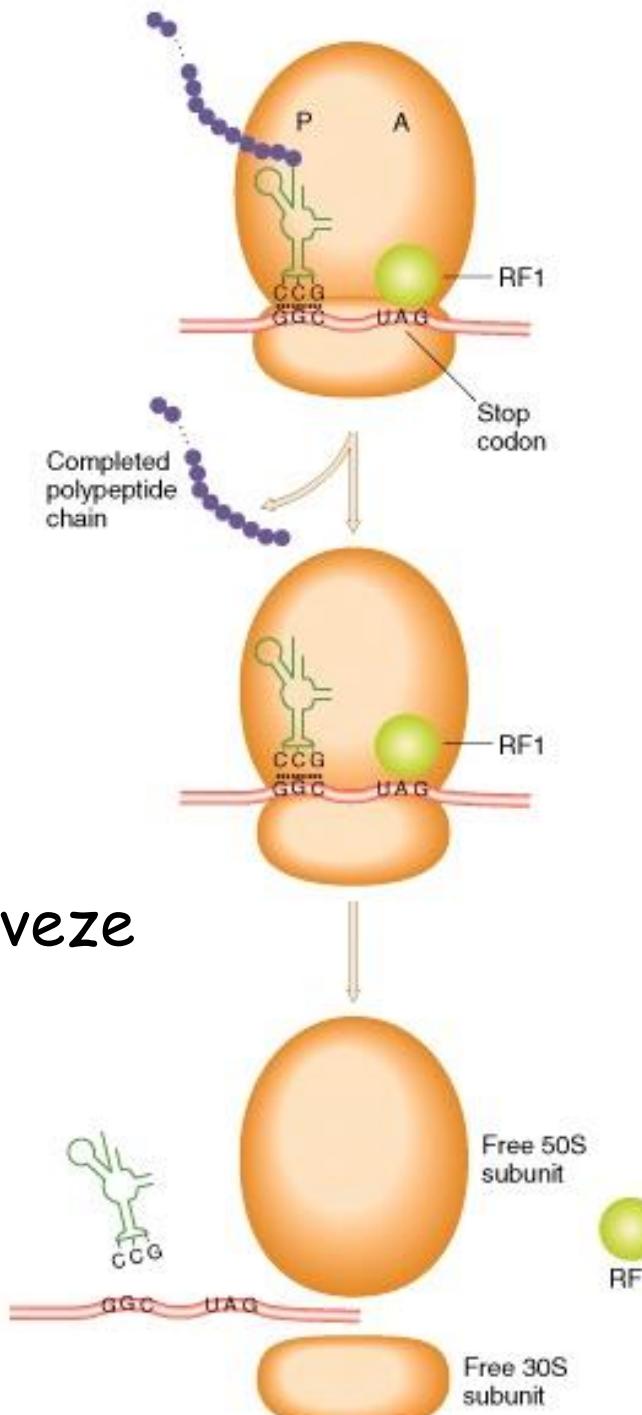
Brzina translacije:
- 17 - 21 ak/sec kod prokariota
- 6 - 9 ak/sec kod eukariota

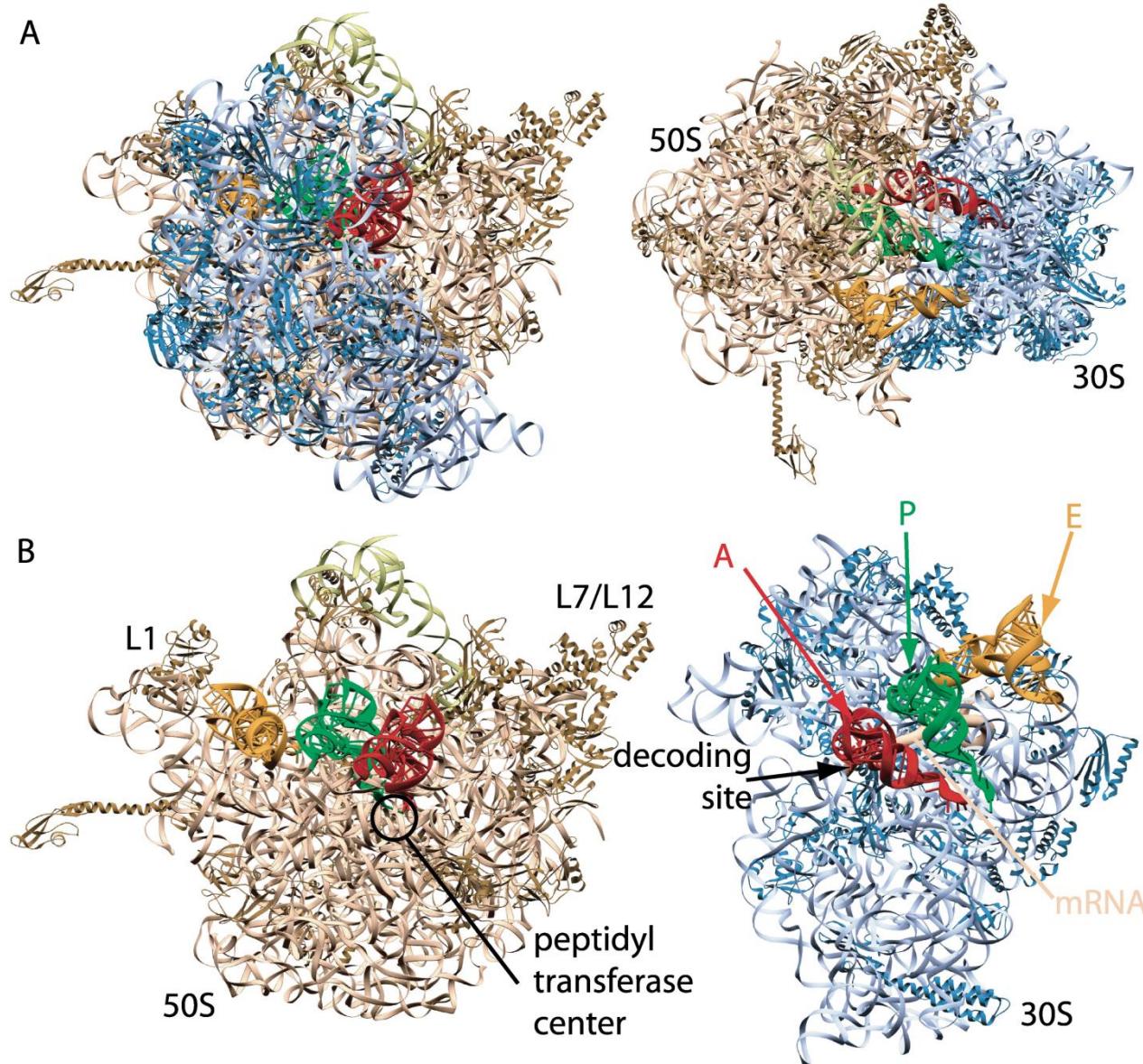
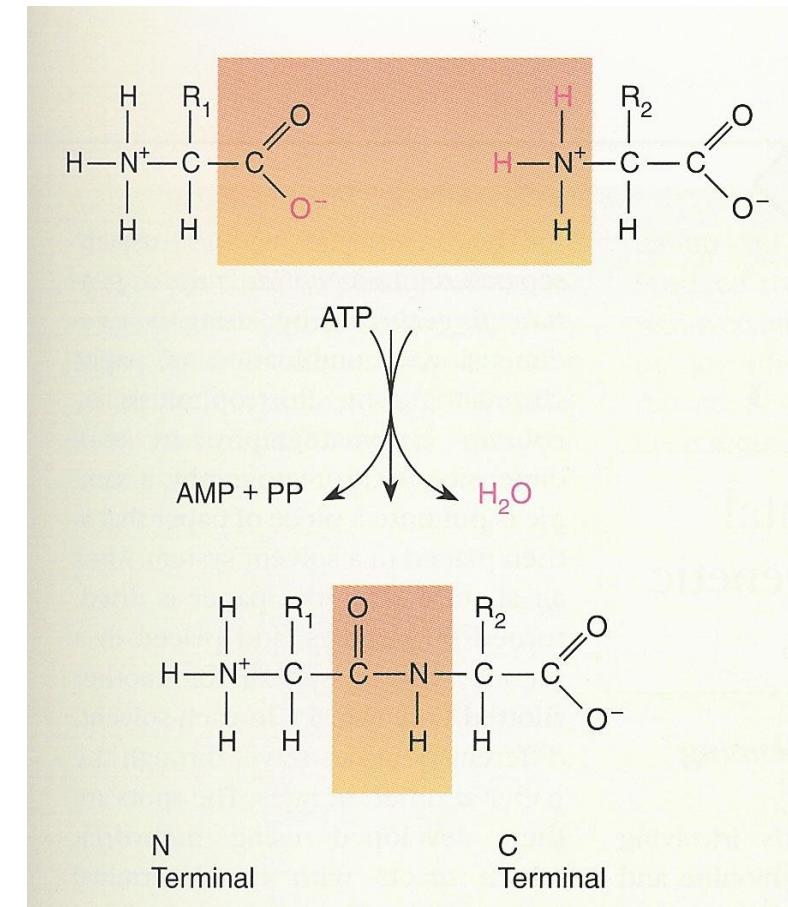


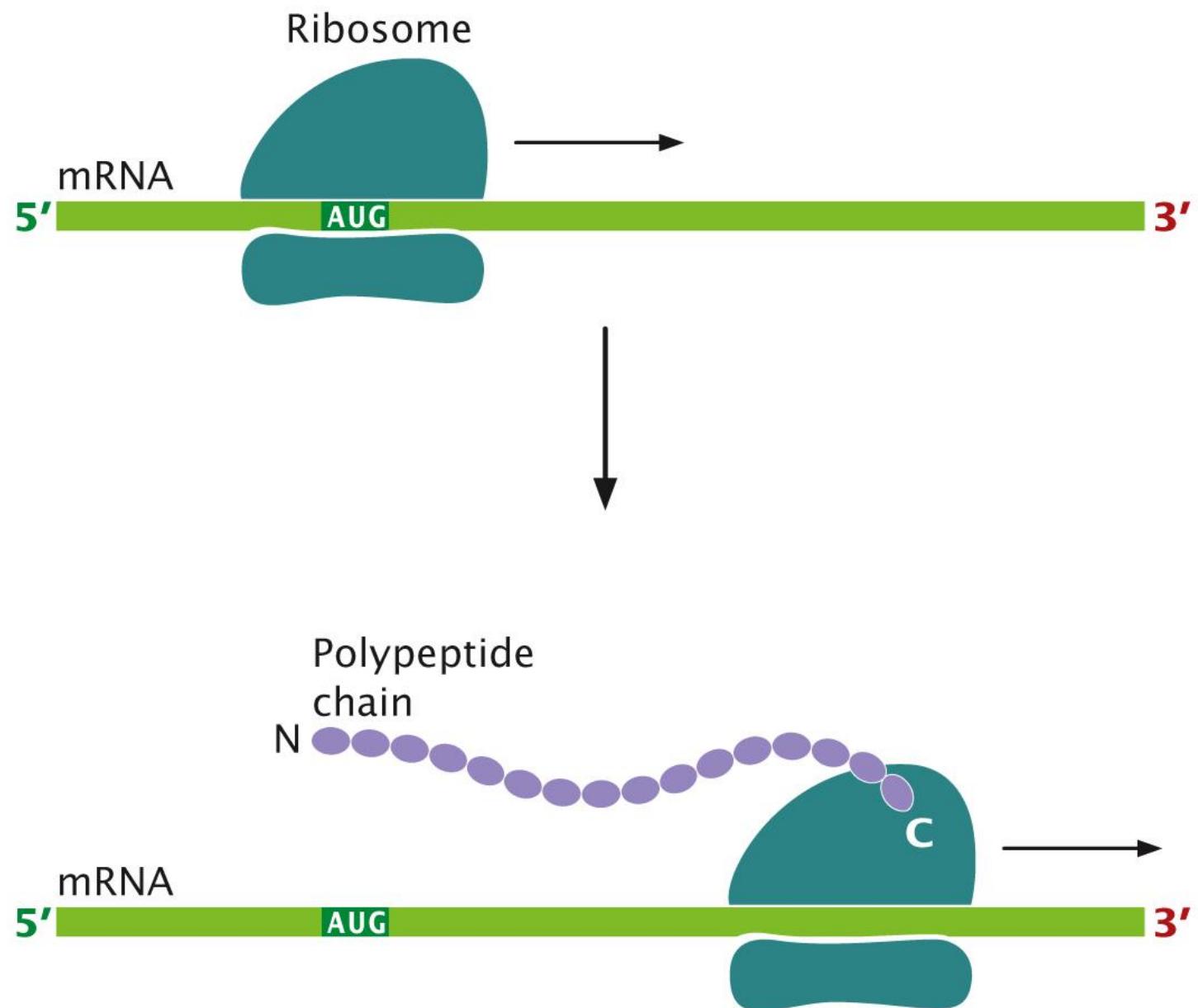
STOP kodoni:
UAG, UAA, UGA
(kad dođu u mjesto A)

Terminacija

Umjesto tRNA vežu se faktori otpuštanja (RF).
Oni dovode do cijepanja esterske veze između tRNA i polipeptida

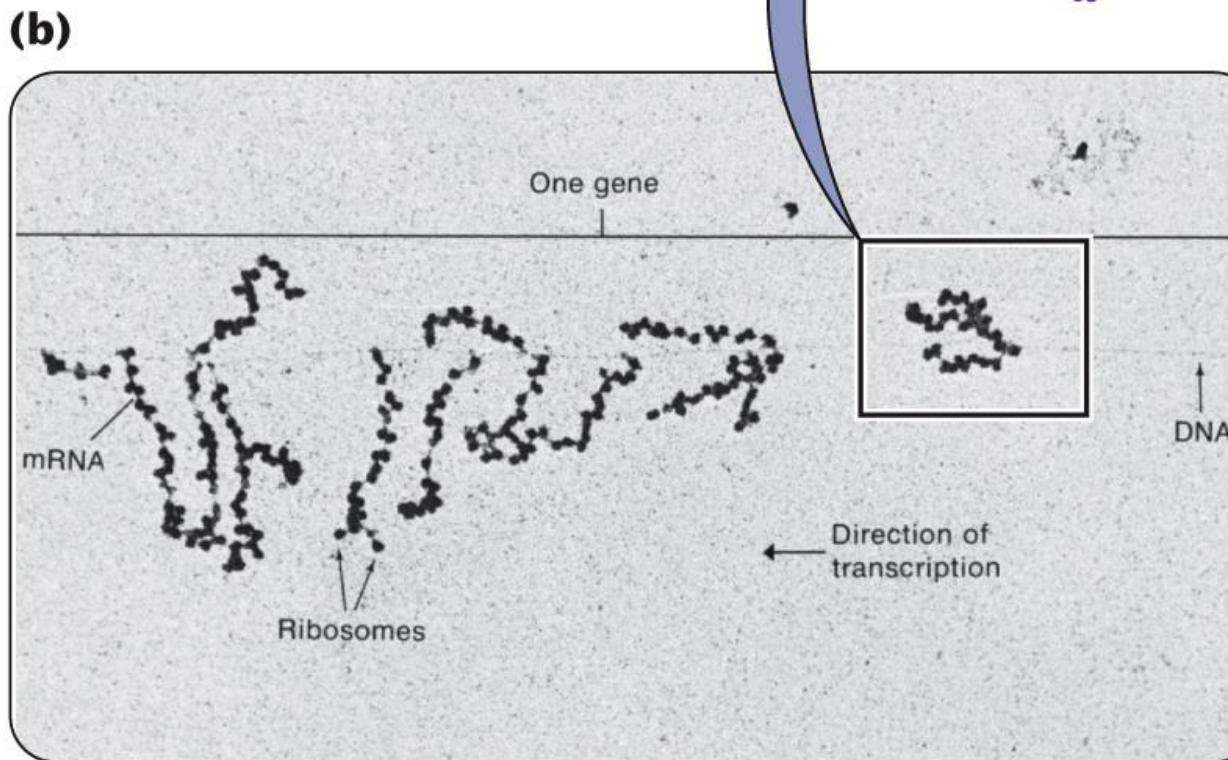
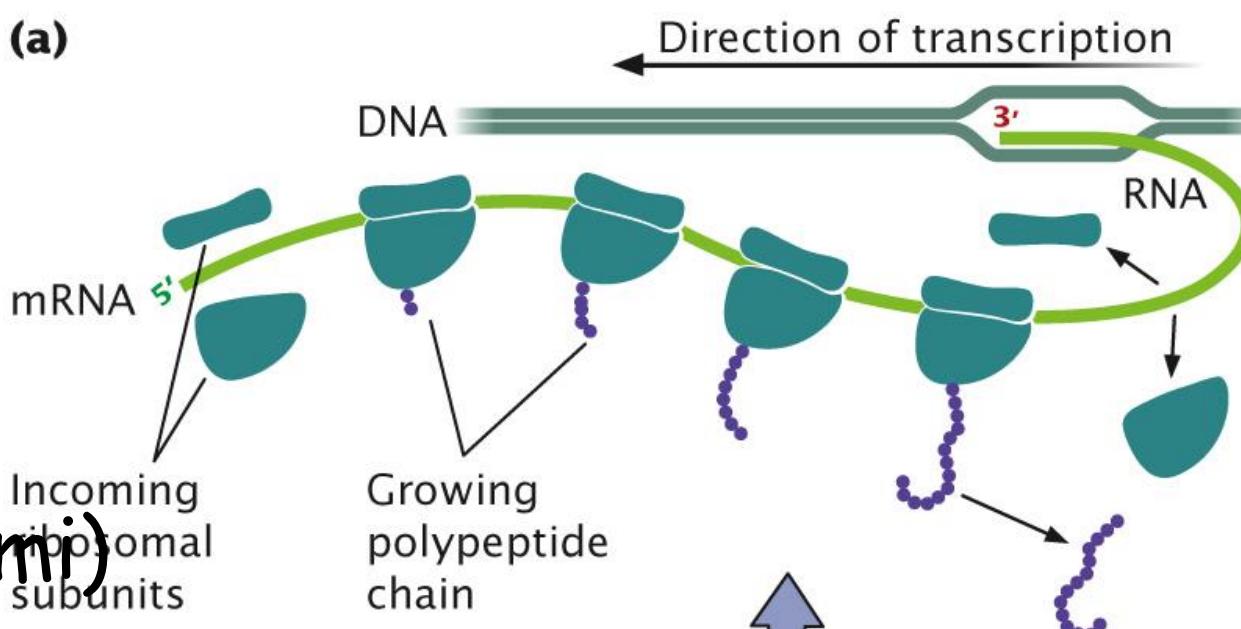






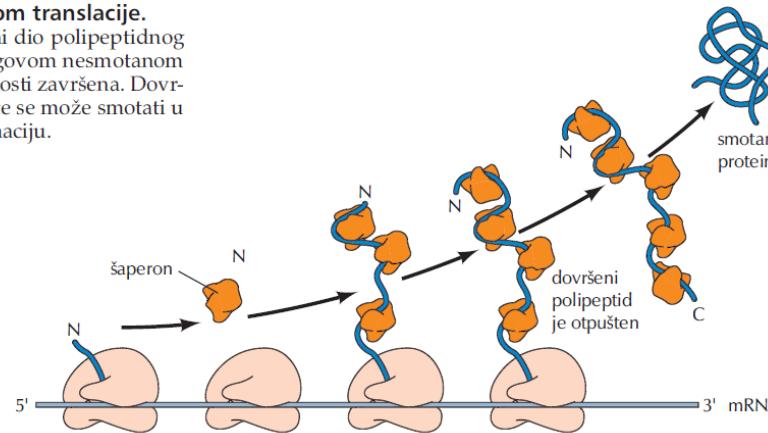
Fig_15-12 *Genetics, Second Edition* © 2005 W.H. Freeman and Company

Polisomi (poliribosomi)



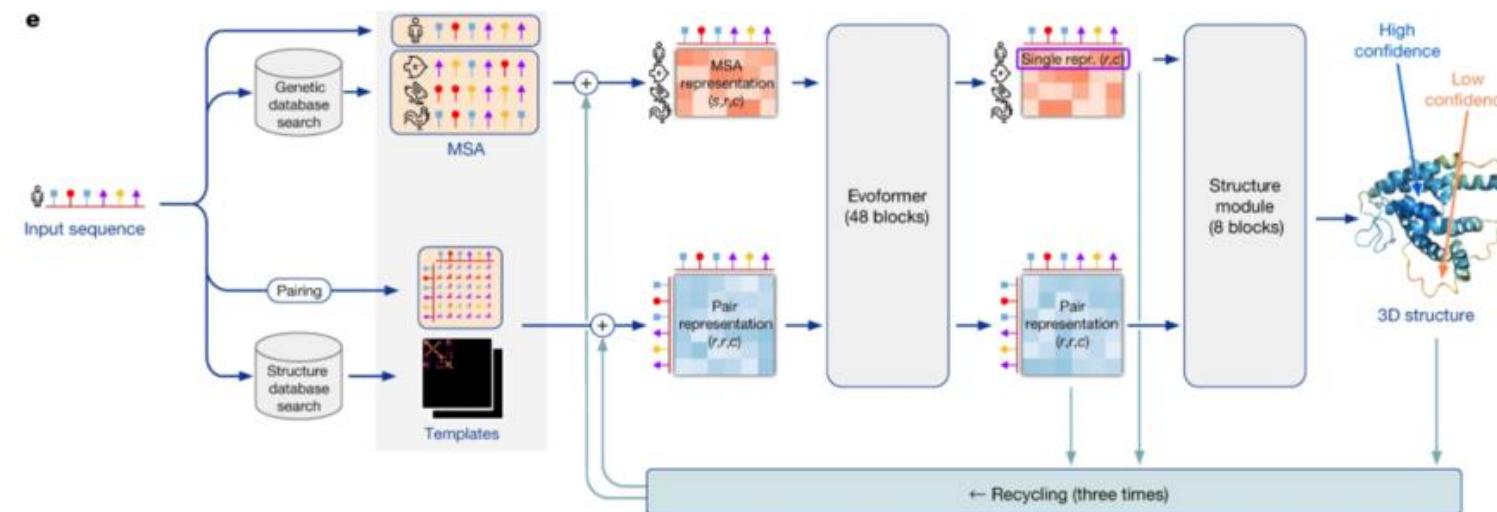
Smatanje i dorada proteina

Slika 7-19. Djelovanje šaperona tijekom translacije.
Šaperoni se vežu na amino (N) terminalni dio polipeptidnog lanca u nastajanju te ga stabiliziraju u njegovom nesmotanom obliku sve dok sinteza lanca nije u potpunosti završena. Dovršeni se protein zatim otpušta s ribosoma, te se može smotati u svoju pravilnu trodimenzionalnu konformaciju.

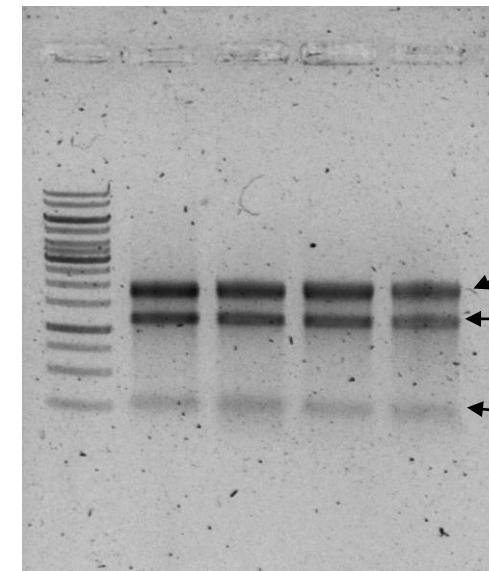
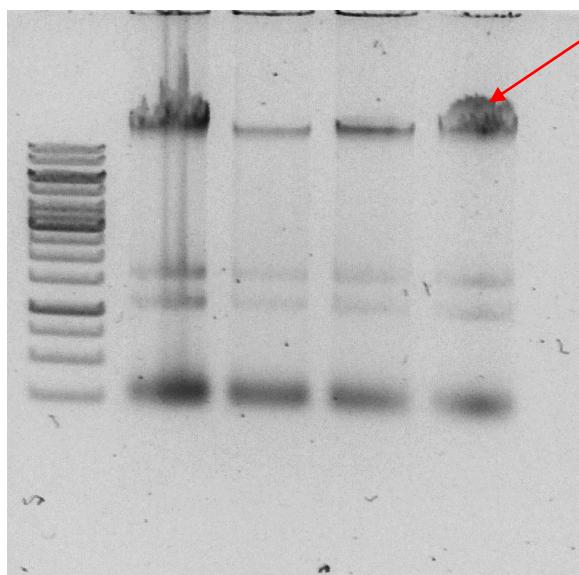
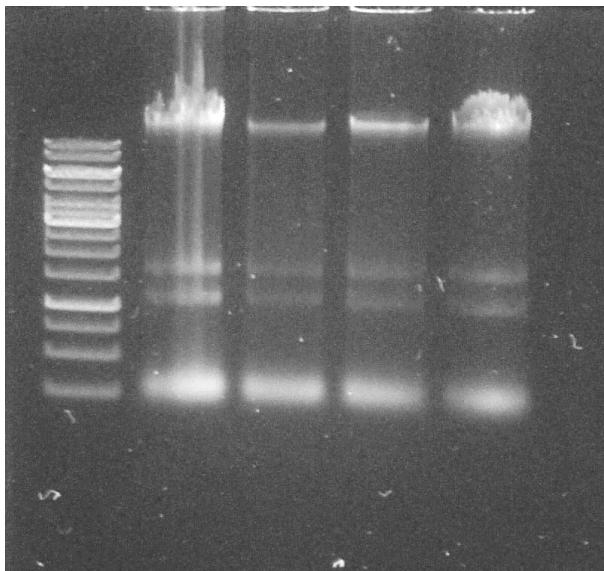


Proteini koji olakšavaju smatanje proteina zovu se šaperoni

Razvijeni su mnogi algoritmi koji predviđaju sekundarnu i tercijarnu strukturu proteina na temelju primarne.
AlphaFold se smatra najboljim



Primjer iz prakse



~ 2000 nt (23S rRNA)
~ 1200 nt (16S rRNA)
~ 300 nt
(male RNA)

Istovremena transkripcija i translacija kod prokariota

DNA = plavo

RNA = zeleno

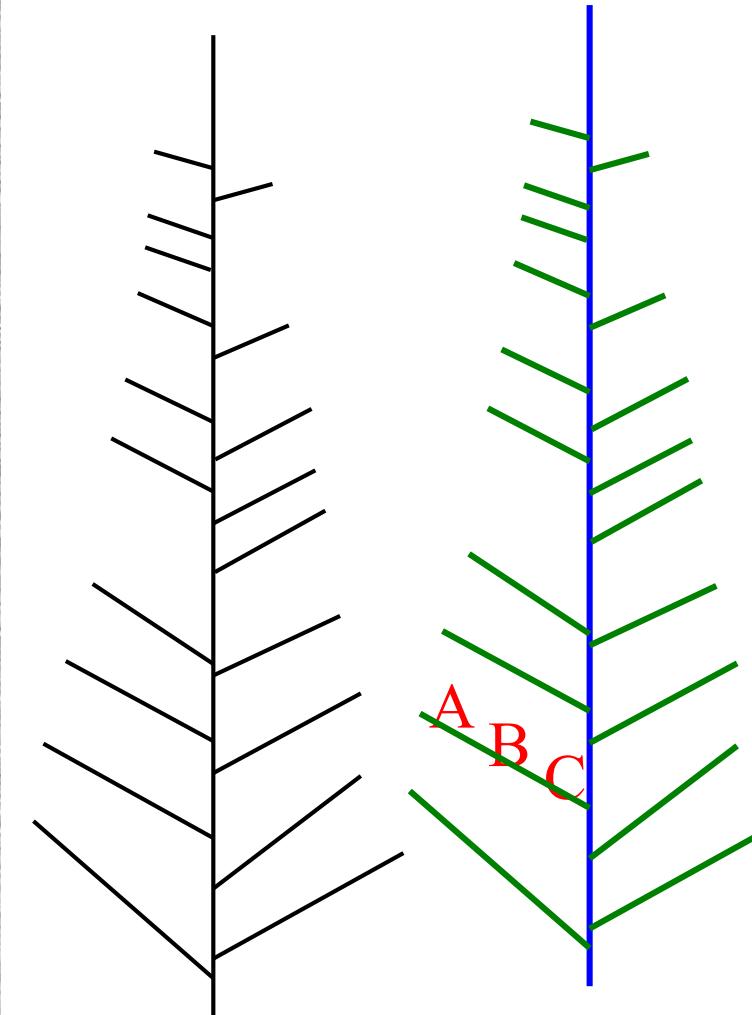
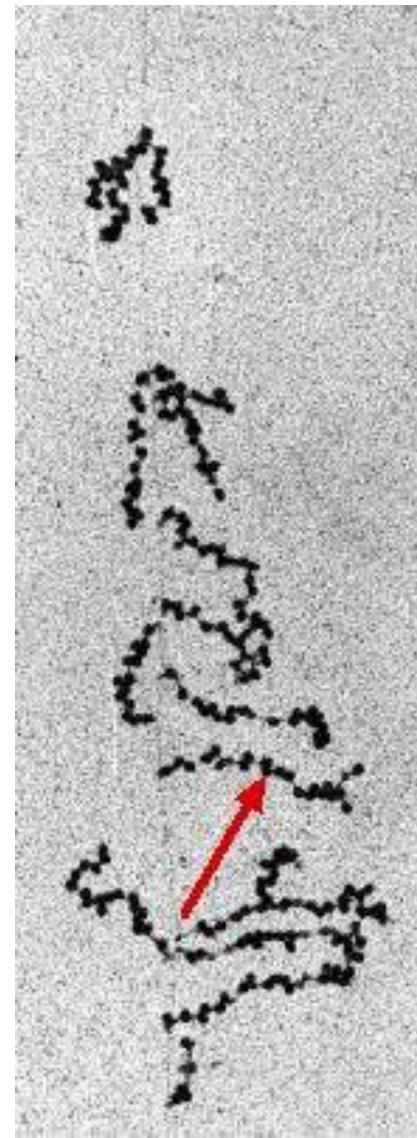
Ribosom = crveno

Pitanje:

1. Obilježite 5' i 3' kraj
mRNA i DNA.

Objasnите.

2. Od 3 ribosoma
A, B i C koji
translatiraju,
koji ima najduži
polipeptidni
lanac?



Usporedba

	Transkripcija	Translacija
kalup		
Genetički kod		
produkt		
Mjesto sinteze		
Korištene molekule		

Usporedba

	Transkripcija	Translacija
kalup	DNA	mRNA
Genetički kod	tripleti	kodoni
produkt	mRNA	polipeptid
Mjesto sinteze	jezgra	Ribosomi (citoplazma)
Korištene molekule	RNApol RNA nukleotidi	Ribosomi tRNA aminokiseline