

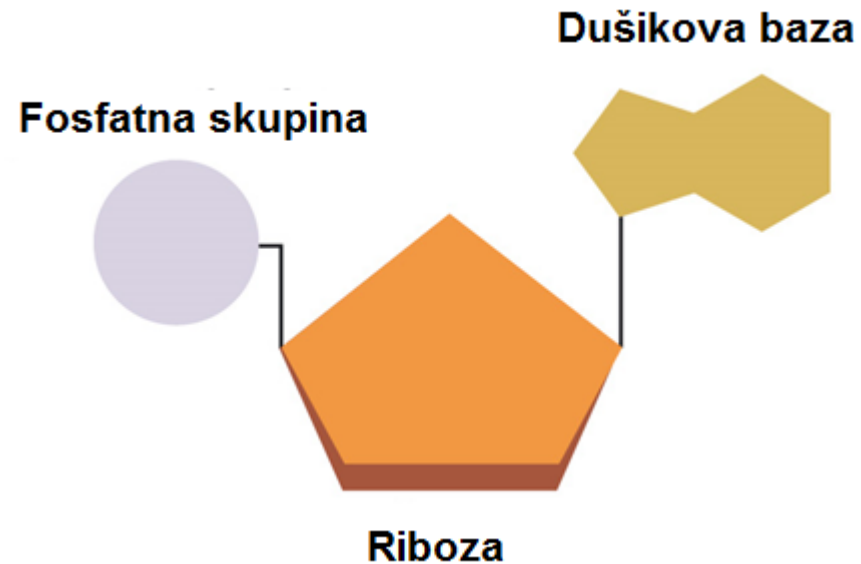
Genski kod in beljakovinska sinteza

Struktura molekule RNA

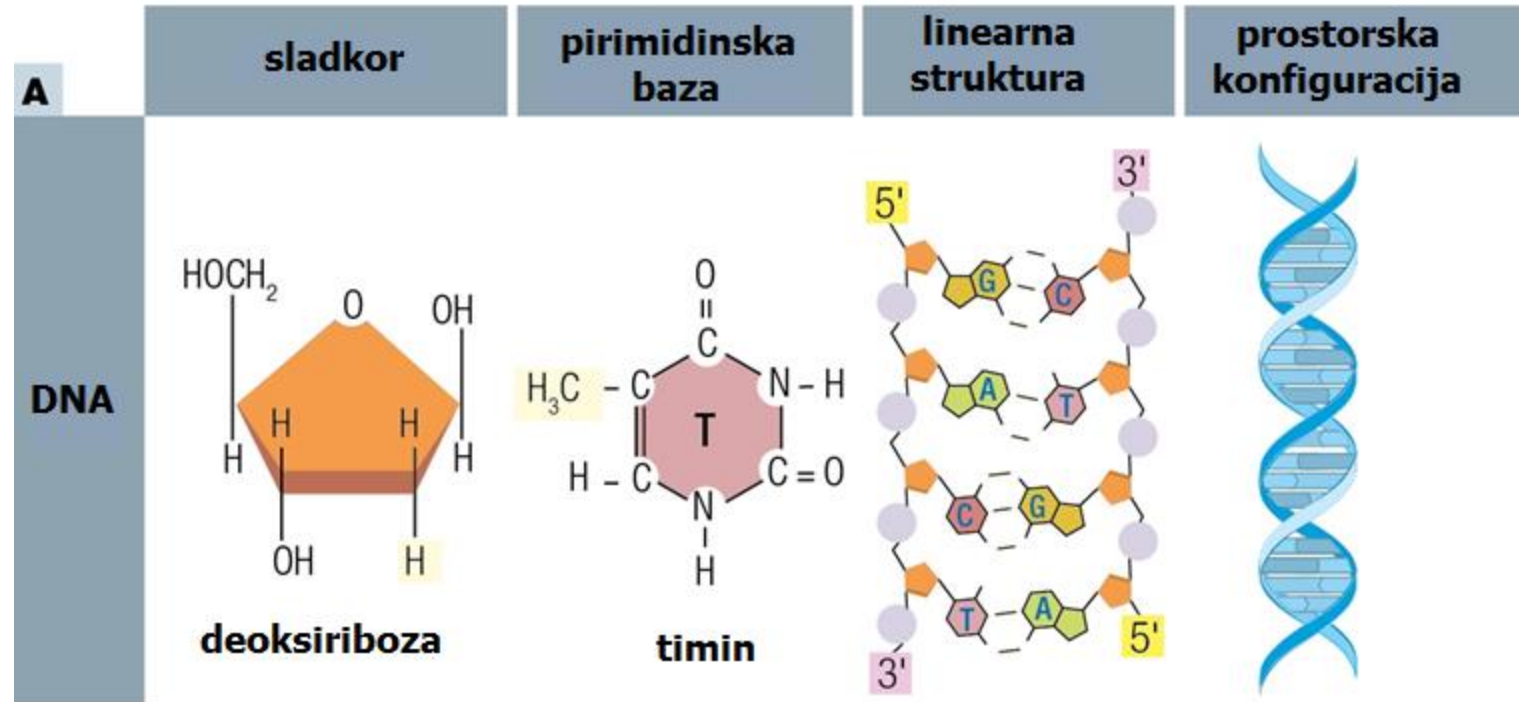
Molekula RNA vsebuje nukleotide, ki so sestavljeni iz sladkorja (riboze), dušikove baze in fosfatne skupine.

Dušikove baze so:

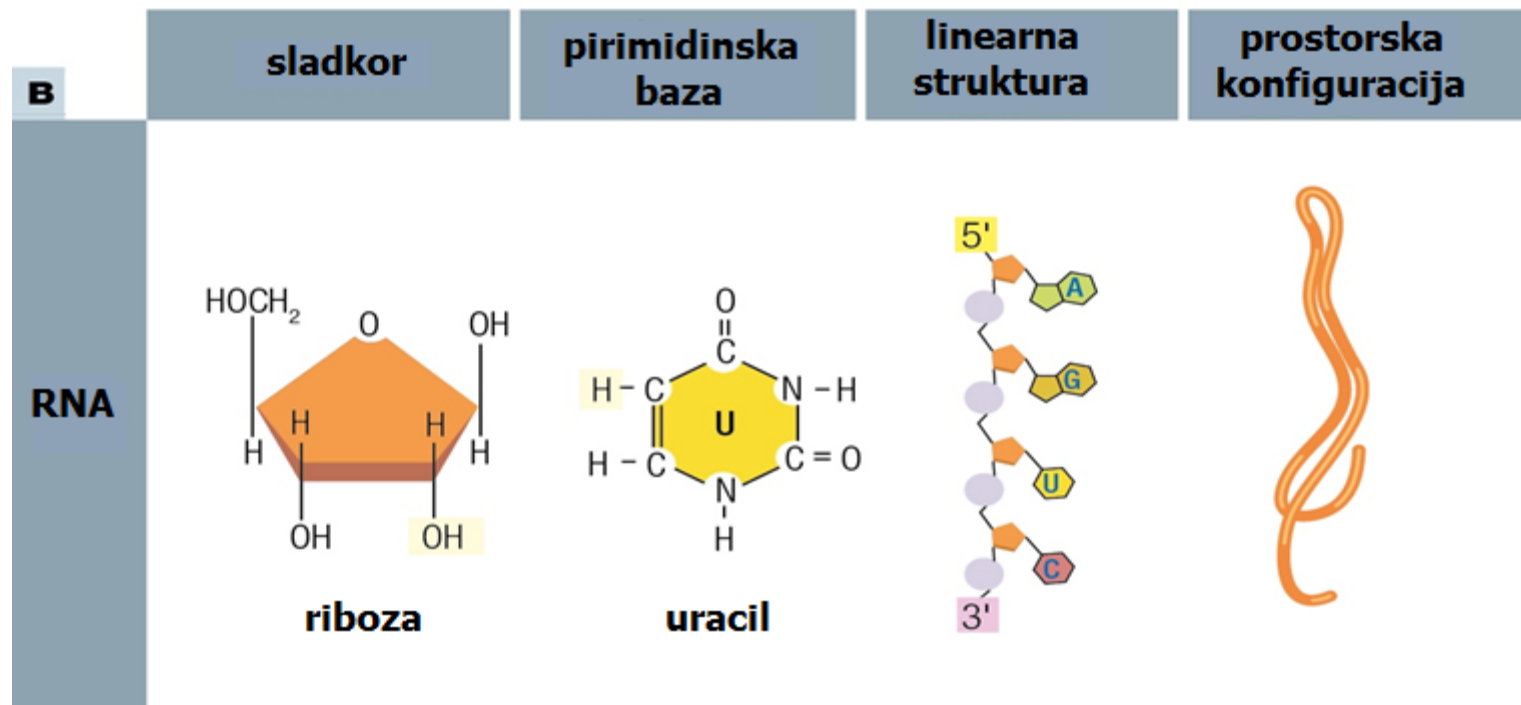
- gvanin
- adenin
- citozin
- uracil



Struktura molekule DNA



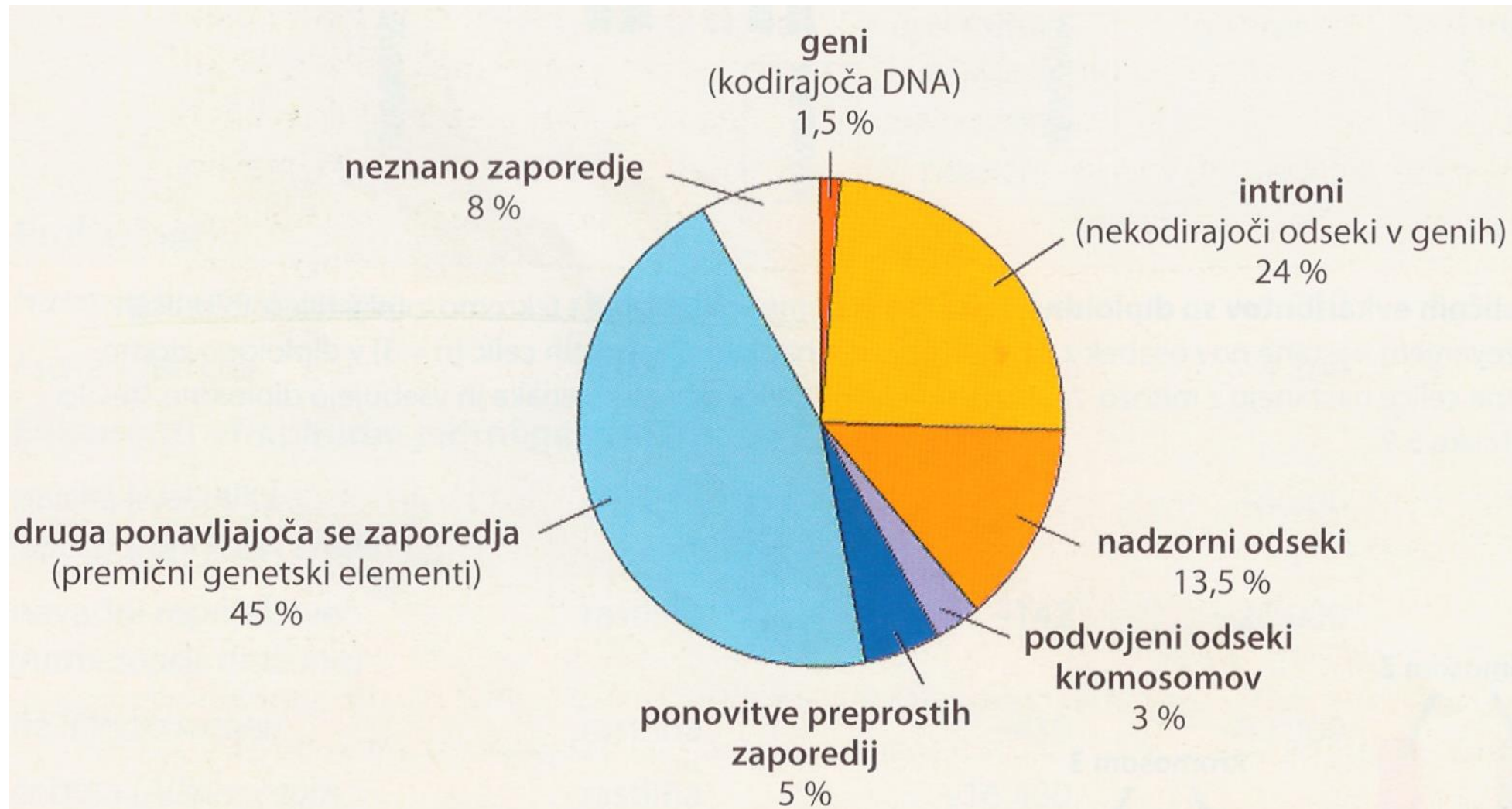
Struktura molekule RNA



Sestava človeškega genoma

- V človeškem genomu le **1,5%** DNA predstavljajo **geni** (**kodirajoča DNA**).
- Znotraj genov so prisotni **nekodirajoči odseki**, **introni**, ki skupaj predstavljajo **24% genoma**.
- **Nadzorni odseki (13,5%)** uravnavajo izražanje genov.
- Polovico človeškega genoma (**50%**) predstavljajo različna **ponavljajoča se zaporedja** v mnogih kopijah:
 - Podvojeni **odseki kromosomov (3%)**
 - Ponovitve **preprostih zaporedij (5%)**
 - **Premični genetski elementi (45%)**.
- Za del človeškega genoma (**8%**) **zaporedje** nukleotidov še **ni znano**.

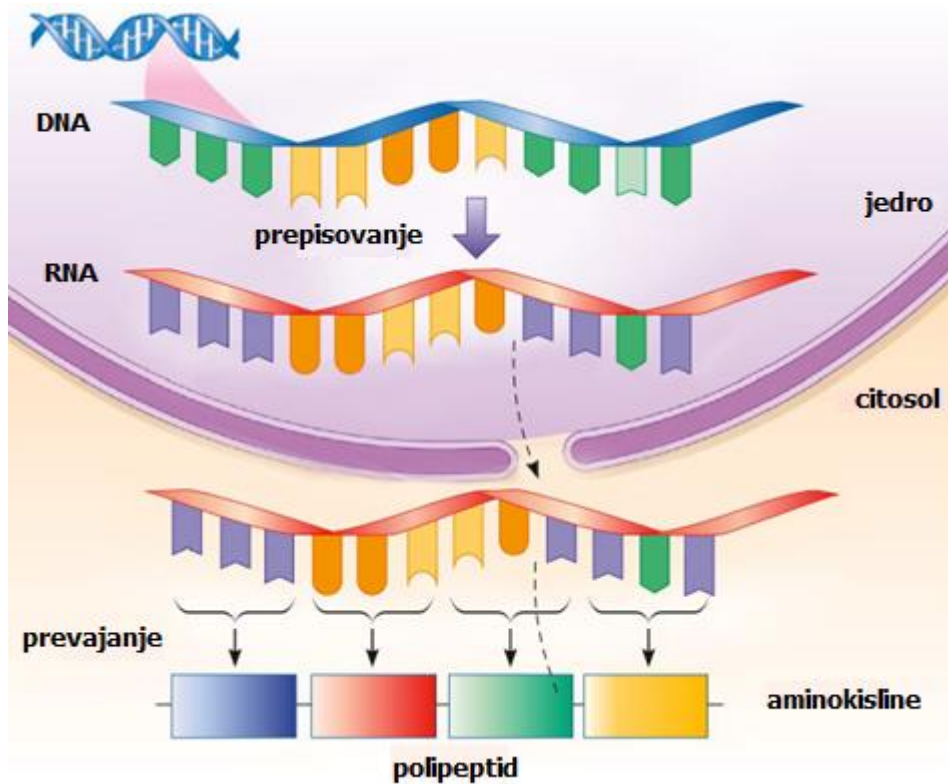
Sestava človeškega genoma



Informacija za sintezo beljakovin je zapisana v genih

- **Geni** so posamezni **odseki DNA**.
- Skupek vseh **genov** organizma je **GENOTIP**.
- Vsak **gen** določa nastanek ene **beljakovine**.
- **Beljakovine** so **molekularna osnova** zunanjih in notranjih **lastnosti** organizma.
- Skupek zunanjih in notranjih **lastnosti** organizma je **FENOTIP**.

Genetska informacija se prenese iz DNA na beljakovine

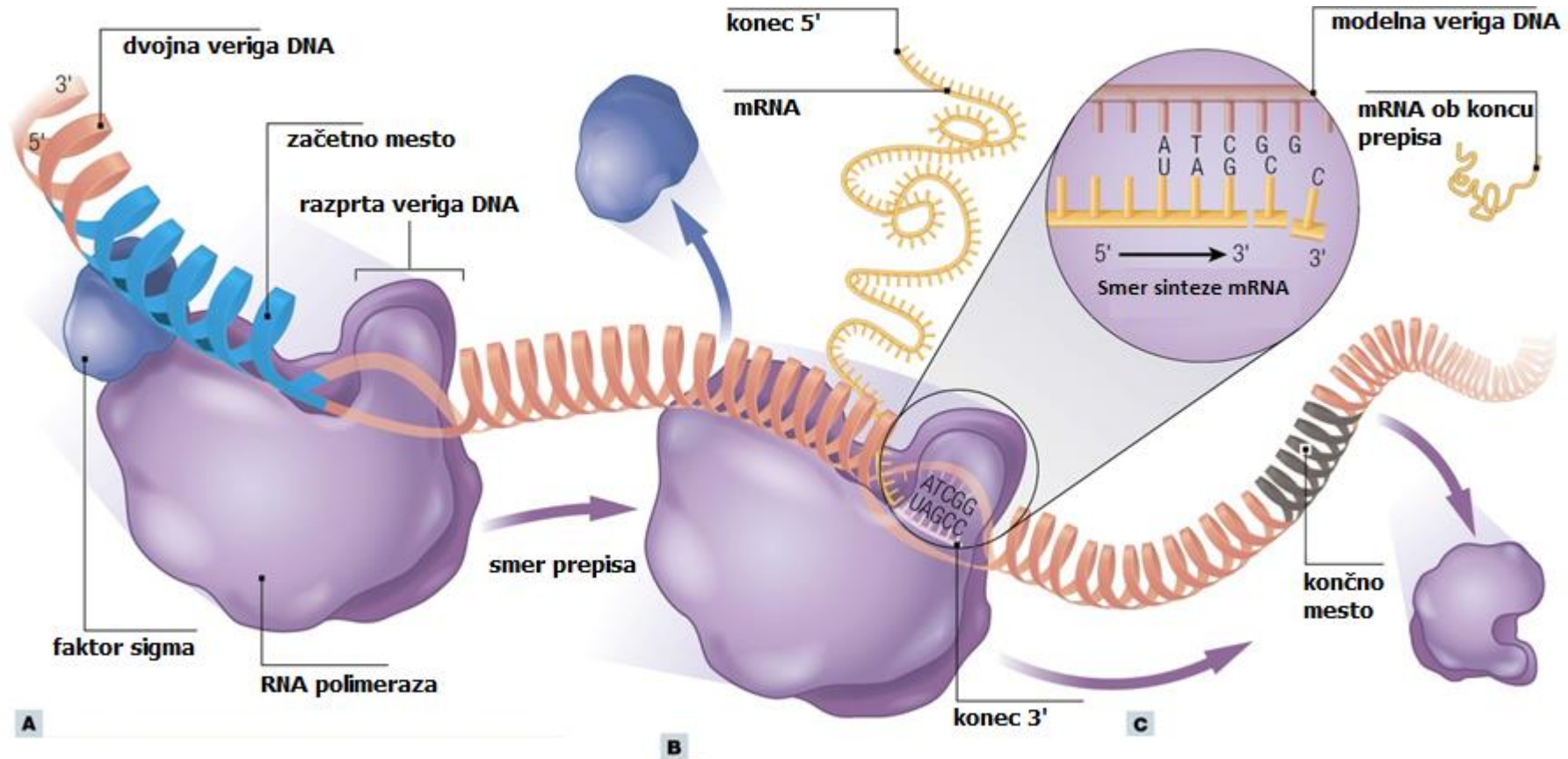


- Med **prepisovanjem** (**transkripcijo**) se informacija prenese iz DNA v mRNA, ki zapusti jedro in odide v citosol.
- Med **prevajanjem** (**translacijo**) se informacija prenese iz mRNA v beljakovino.

Prepisovanje genetske informacije ali transkripcija

- **Obveščevalna RNA (mRNA)** (angl. *messenger*) prenaša genetsko informacijo iz jedra v citosol, kjer se bo odvijala beljakovinska sinteza.
- mRNA nastane v jedru na modelu ene verige DNA;
- nastanku mRNA pravimo **prepisovanje**;
- za prepisovanje je potreben encim **RNA polimeraza**;
- RNA polimeraza se veže na **začetno mesto** (*primer*) na eni verigi DNA (na drugi verigi so drugi geni);
- RNA polimeraza dodaja nukleotide nastajajoči mRNA v smeri **5' → 3'** ;
- nukleotidi mRNA so komplementarni nukleotidom modelne verige DNA, namesto timina se pojavi **uracil**;
- prepisovanje se zaključi, ko RNA polimeraza prispe do **končnega mesta** sinteze (*terminator*).

Prepisovanje – nastanek mRNA

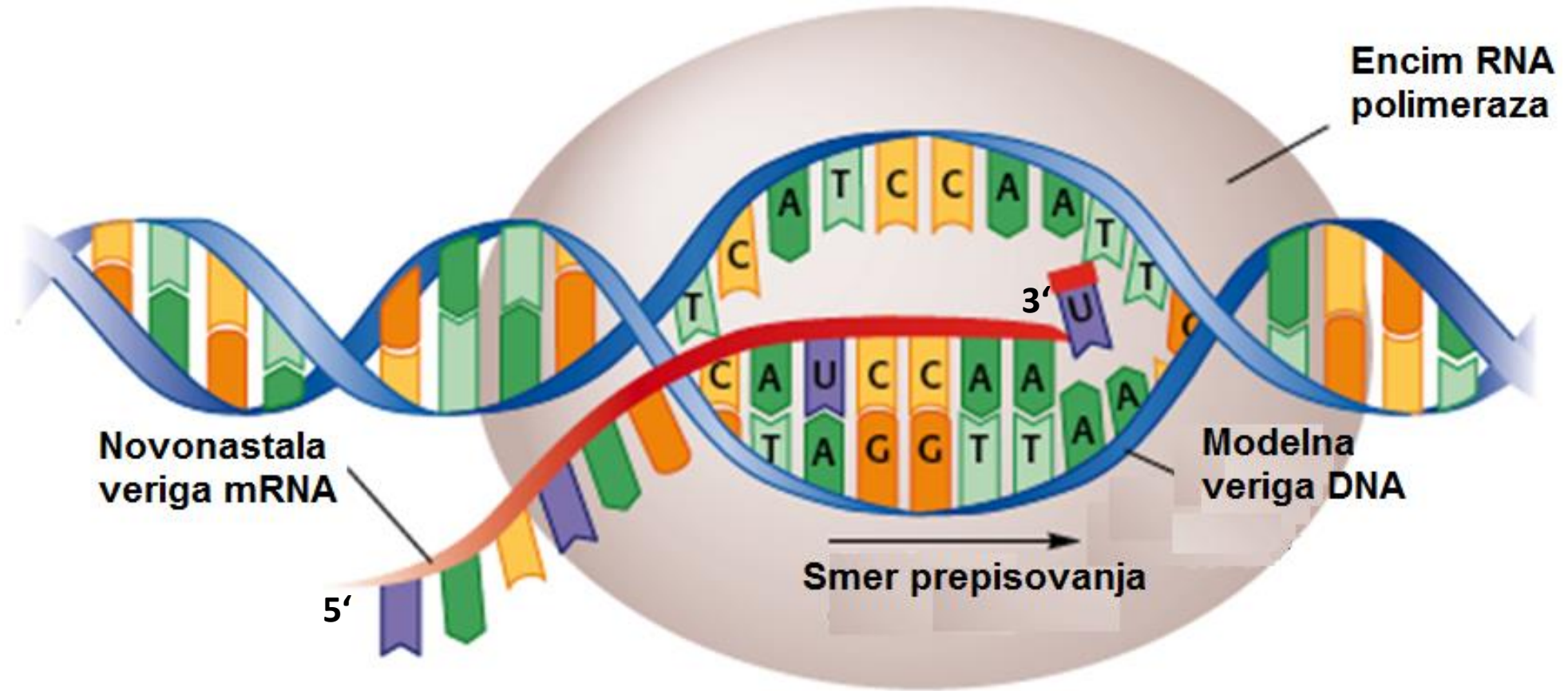


ZAČETEK: na RNA polimerazi je pritrjen **faktor sigma**, ki **prepozna začetno mesto** in se nanj **poveže**; **DNA se razpre**.

PODALJŠEVANJE: **faktor sigma** se **loči** od RNA polimeraze; **RNA polimeraza potuje** vzdolž dvojne verige DNA in **sintetizira mRNA**.

KONEC: ko **RNA polimeraza** dospe do končnega mesta, **zapusti DNA**; **loči se tudi** nastala **mRNA**.

Prepisovanje – nastanek mRNA



Začetek prepisovanja (začetno mesto - *primer*)

- Na začetku vsakega gena je začetno mesto sinteze (*primer*), ki mu pravimo **TATA box**; zanj je značilno **ponavljanje adeninov in timinov** (npr. TTATTAAATTAATA).
- Vsak gen ima svoj TATA box.
- Na RNA polimerazi je pritrjen **faktor sigma**, ki **prepozna ustrezen TATA box**.
- **Glede na potrebe** organizma po beljakovinah **nastajajo različni faktorji sigma**, ki prepoznajo **TATA box različnih genov**.

Konec prepisovanja (končno mesto - *terminator*)

Prepisovanje se lahko zaključi na dva načina:

1. način:

- Na koncu gena je **spekularna sosledica nukleotidov**, npr..

AGTGTTAG**G**TAACACT (DNA)

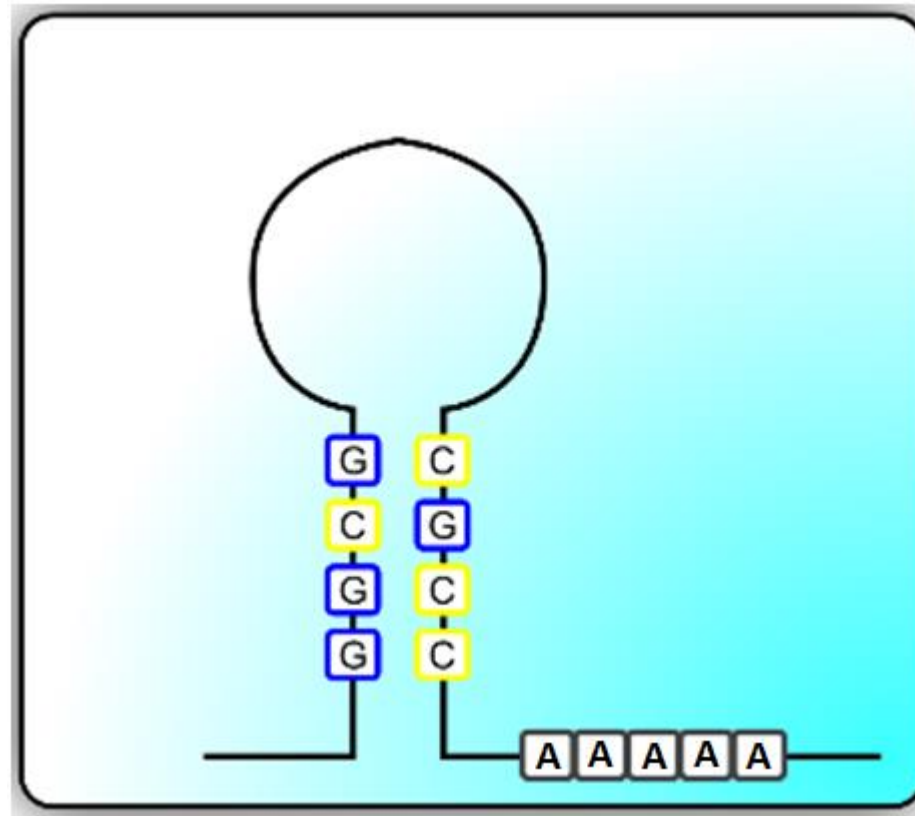
- Tudi na koncu mRNA nastane **spekularna sosledica nukleotidov**:

UCACAAU**C**AUUGUGA (RNA)

- **Komplementarni nukleotidi** v mRNA **se** medsebojno **povežejo** in tako nastane **zanka**, ki zaustavi delo RNA polimeraze in omogoči njeno ločitev od DNA.
- Na **vratu zanke** je več parov **CG**, ob zanki pa **rep poli(A)**.

Konec prepisovanja

1. način:



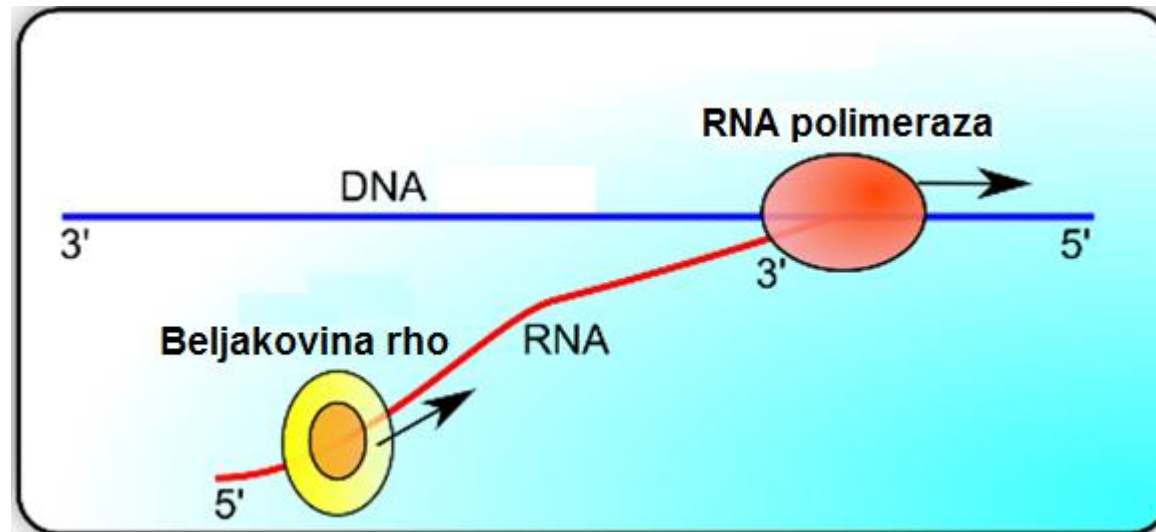
Zanka na koncu mRNA

- Rep poli(A) ni kodificiran na DNA, pač pa ga doda encim poli(A)-polimeraza.
- Rep poli(A) stabilizira mRNA in jo ščiti pred delovanjem eksonukleaz.

Konec prepisovanja

2. način:

- **Protein rho** se veže na specifičen odsek nastajajoče mRNA.
- Nato potuje v smeri 5'-3', dokler ne prispe do RNA polimeraze.
- Tam začne delovati kot **helicaza**, tako da **loči DNA od mRNA**.
- Pri tem se **sprosti** tudi **RNA polimeraza**.

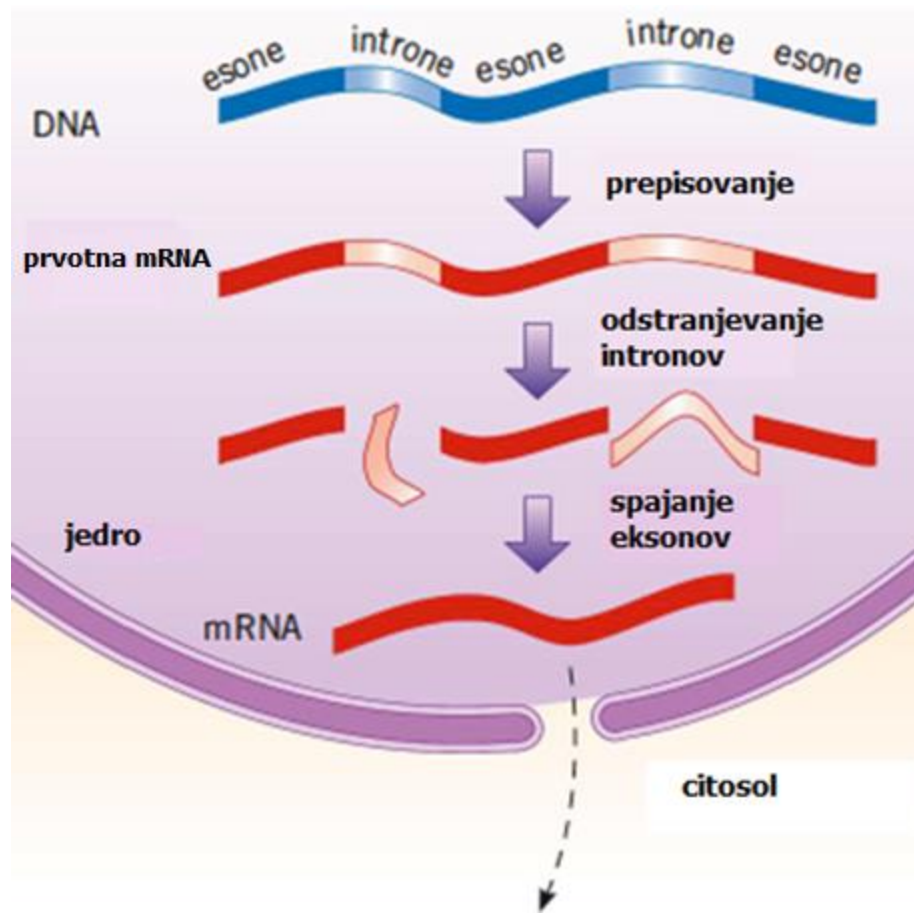


Konec prepisovanja je odvisen od beljakovine rho.

Nastanek končne mRNA iz prvotne mRNA

- **Geni evkariontov** imajo prekinjeno strukturo: sestojijo namreč iz **eksonov** in **intronov**.
- **Eksoni** so **kodirajoči** odseki.
- **Introni** so **nekodirajoči** odseki.
- **mRNA**, ki nastane med prepisovanjem, vsebuje bodisi **eksone**, kot **introne**.
- Tej mRNA pravimo **prvotna mRNA**.

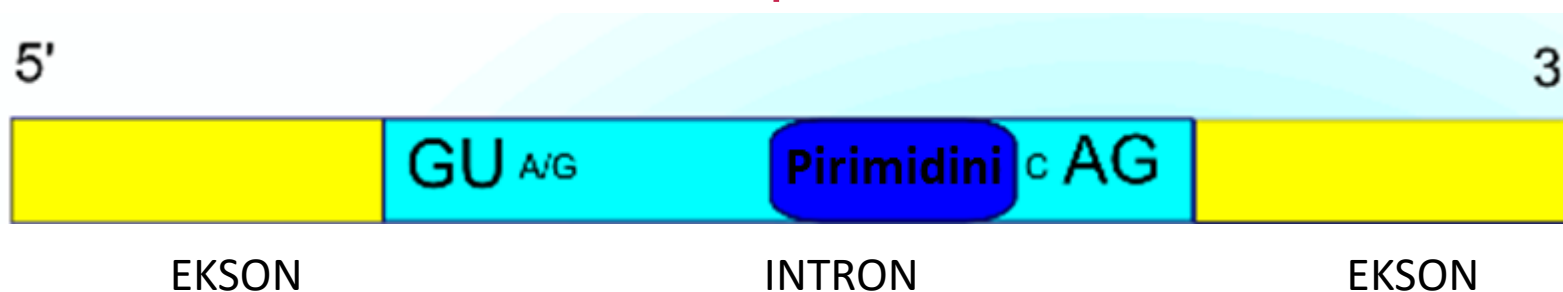
Nastanek končne mRNA iz prvotne mRNA



- Ko je prvotna mRNA še v jedru, nekateri **encimi odstranijo introne** in **spojijo eksone** v neprekinjeno molekulo mRNA.
- Procesu pravimo ***splicing***.
- Nastala molekula mRNA, ki vsebuje samo eksone, potuje v citosol, kjer se prevede v beljakovino.

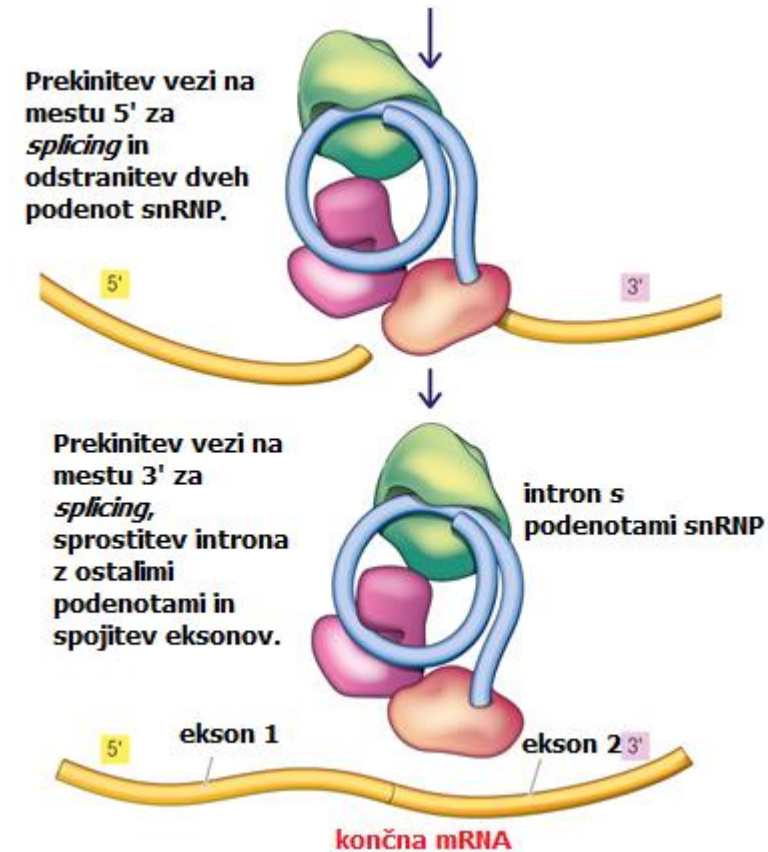
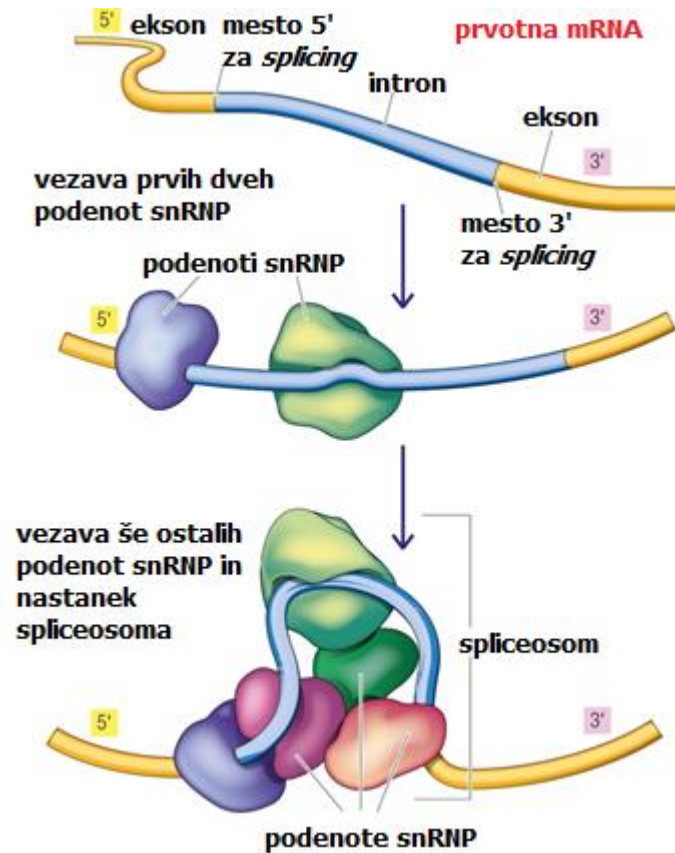
Nukleotidna struktura intronov

- Na koncih intronov sta skoraj vedno prisotni **končni zaporedji GU in AG**.
- V notranjosti introna, v razdalji približno **30 nukleotidov od konca AG 3'**, se nahaja predel, ki je zelo bogat na **pirimidinih (CU)**.
- **5' GU-----pirimidini^{30 nt}AG 3'**



Velike črke predstavljajo nukleotide, ki **običajno** sestavljajo **intron**.
Male črke predstavljajo nukleotide, ki **pogostoma** sestavljajo **intron**.

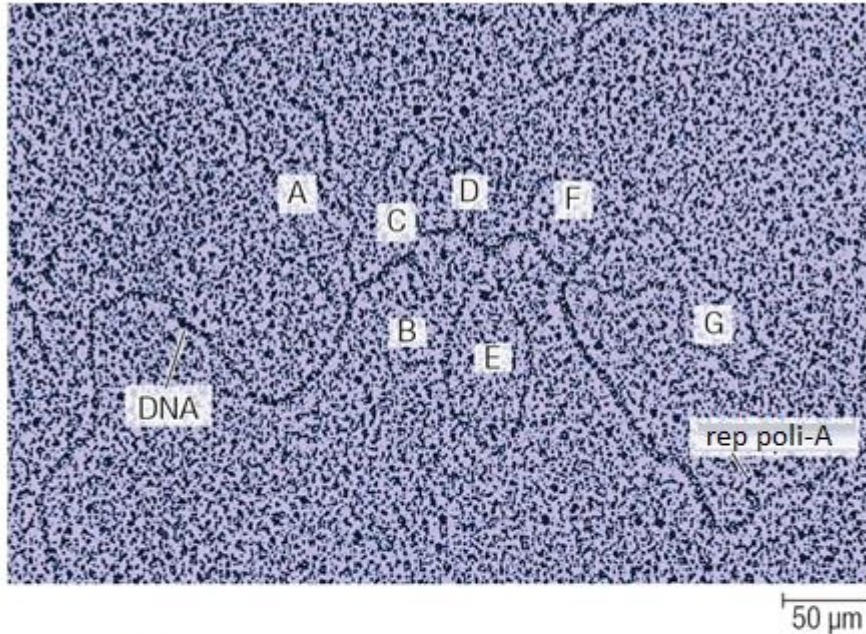
Splicing



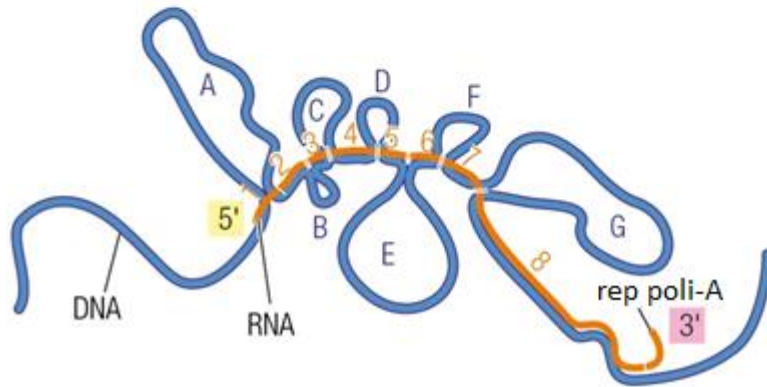
Splicing: izrezovanje intronov in spajanje eksonov .

Spliceosom: kompleks, ki ga gradijo podenote *small nuclear ribo-nucleo-protein* (snRNP).

mRNA pred odstranitvijo intronov



- Zanke odgovarjajo intronom.



(Rep poli-A ščiti mRNA pred eksonukleazami).

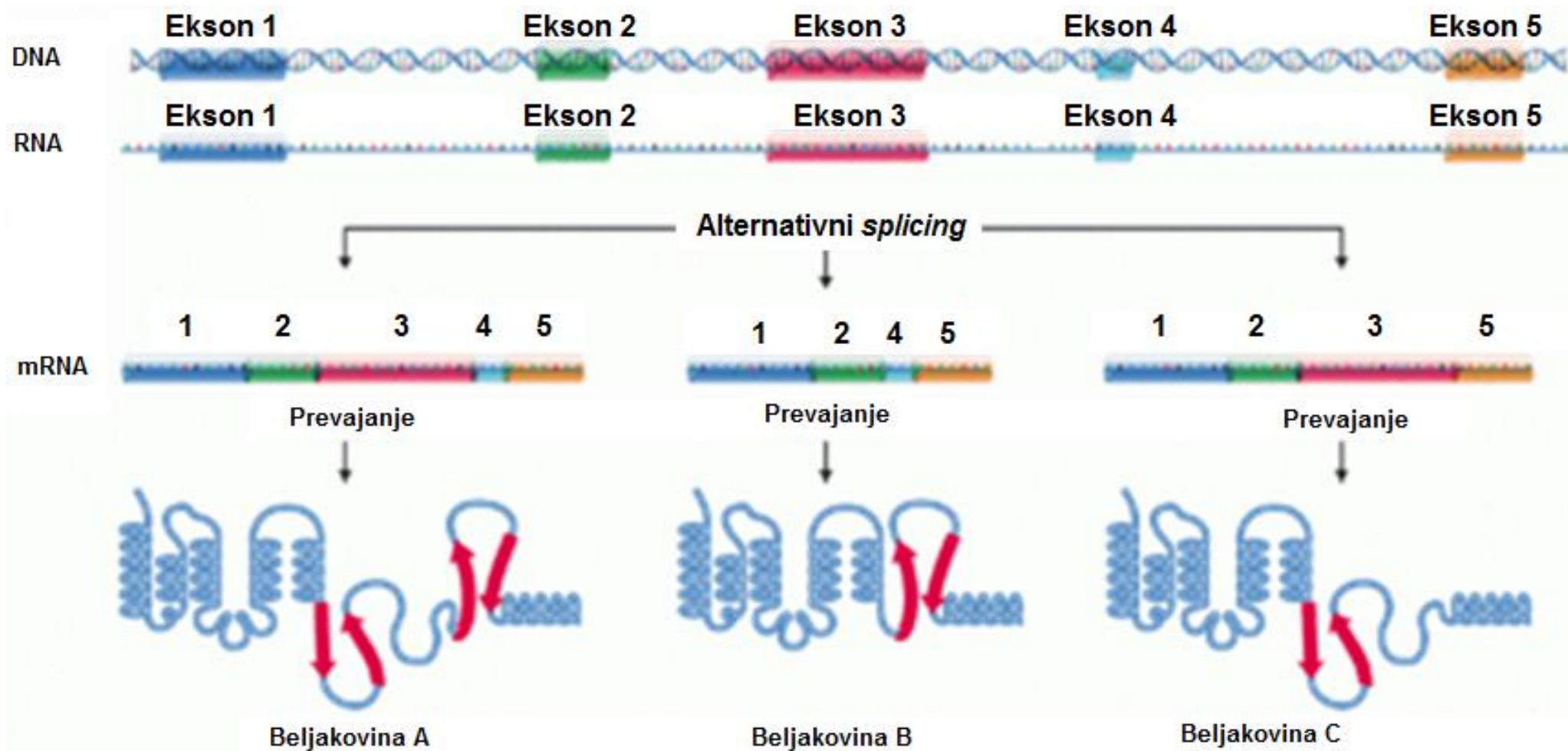
Pomen intronov

- Po mnenju znanstvenikov imajo tudi introni svoj pomen.
- Vsebujejo namreč **pomembne informacije** za **pravilno delovanje genov** in omogočajo **pravilen potek** prepisovanja **DNA→RNA**.

Različni načini izrezovanja intronov omogočajo nastanek različnih beljakovin

- V različnih tkivih se odvija različno izrezovanje intronov (***alternativni splicing***):
→ iz enega gena lahko nastanejo različni končni mRNA in torej različni proteini.
- Znanstveniki ocenjujejo, da lahko poteka *alternativni splicing* pri več kot polovici človeških genov.
- *Alternativni splicing* močno povečuje število različnih beljakovin, ki jih lahko izdelajo človeške celice.
- **Primer:** z *alternativnim splicingom* lahko človeško telo sintetizira 10^{15} različnih protiteles.

Alternativni *splicing*



Genski kod

- **Genski kod** je **skupek pravil**, po katerih se **informacije**, ki so zapisane v genetskem materialu **prevajajo v zaporedje aminokislin**, ki gradijo beljakovine.
- Genski kod **sestoji** iz **64** tričrkovnih **besed**: to so **vse kombinacije**, ki jih lahko sestavimo s 4 črkami A, U, C in G.
- Vsaka **črka** odgovarja eni **dušikovi bazi**.
- Vsaka **beseda**, ki ji pravimo **trojček** ali **kodon**, se prevede v eno **aminokislino**.
- **Več kodonov** tvori „**stavek**“, ki se prevede v **beljakovino**.

Genski kod

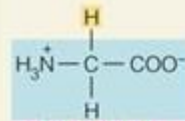
- Genski kod je skupen vsem živim bitjem:** v vseh vrstah odgovarja določenemu kodonu ista aminokislina.

		prvo mesto									
		U		C		A		G			
prvo mesto	U	UUU	fenilalanin Phe	UCU	serin Ser	UAU	tirozin Tyr	UGU	cistein Cys	U	treće mesto
		UUC		UCC		UAC		UGC		C	
		UUA	levcin Leu	UCA		UAA STOP	UGA	STOP	A		
		UUG		UCG			UAG	UGG	triptofan Trp	G	
	C	CUU	levcin Leu	CCU	prolin Pro	CAU	histidin His	CGU	arginin Arg	U	
		CUC		CCC		CAC		CGC		C	
		CUA		CCA		CAA	glutamin Gln	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG	CGG	G			
	A	AUU	izolevcin Ile	ACU	treonin Thr	AAU	asparagin ASN	AGU	serin Ser	U	
		AUC		ACC		AAC		AGC		C	
		AUA		ACA		AAA	lizin Lys	AGA	arginin Arg	A	
		AUG		metionin Met START		ACG	AAG	AGG		G	
	G	GUU	valin Val	GCU	alanin Ala	GAU	aspartat Asp	GGU	glicin Gly	U	
		GUC		GCC		GAC		GGC		C	
		GUA		GCA		GAA	GGA	A			
		GUG		GCG		GAG	GGG	G			

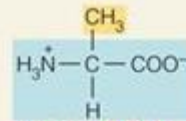
- Kodonov je mnogo več (**64**) kot aminokislin (**20**).
- Različni kodoni lahko določajo isto aminokislino, zato pravimo, da je genski kod degeneriran.
- Kljub temu je genski kod nedvoumen, saj vsak kodon določa samo eno aminokislino.

Aminokisline

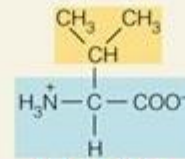
ALIFATSKE AMINOKISLINE



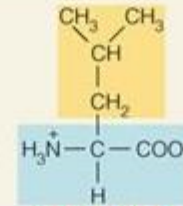
Glicin (Gly)



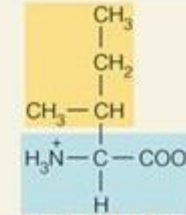
Alanin (Ala)



Valin (Val)

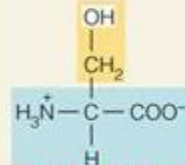


Levcin (Leu)

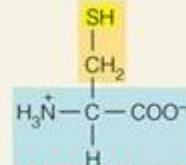


Izolevcin (Ile)

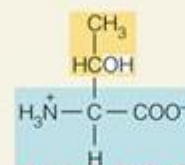
AMINOKISLINE Z ŽVEPLOM (S) ALI HIDROKSILNO (OH) SKUPINO



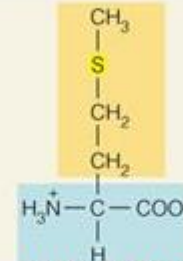
Serin (Ser)



Cistein (Cys)

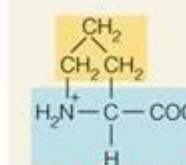


Treonin (Thr)



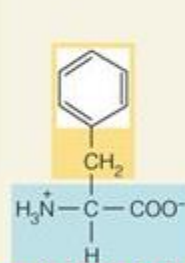
Metionin (Met)

CIKLIČNA AMINOKISLINA

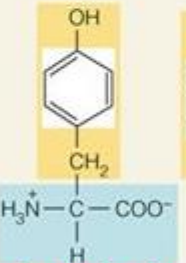


Prolin (Pro)

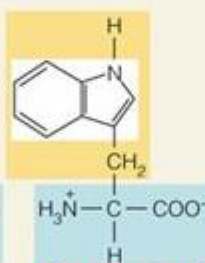
AROMATSKE AMINOKISLINE



Fenilalanin (Phe)

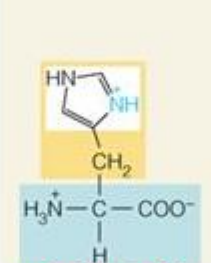


Tirozin (Tyr)

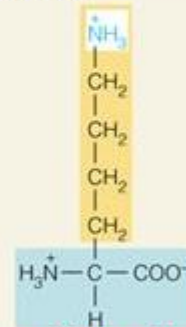


Triptofan (Trp)

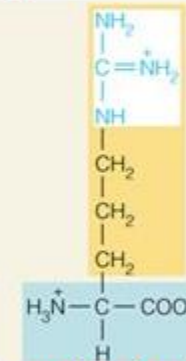
BAZIČNE AMINOKISLINE



Histidin (His)

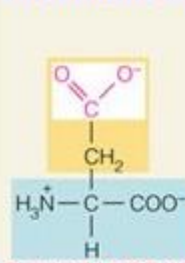


Lizin (Lys)

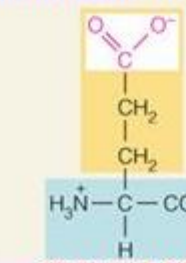


Arginin (Arg)

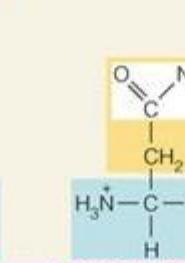
KISLI AMINOKISLINI IN NJUNA AMIDA



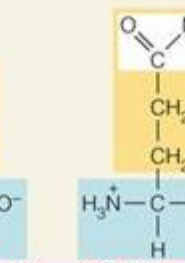
Aspartat (Asp)



Glutamat (Glu)



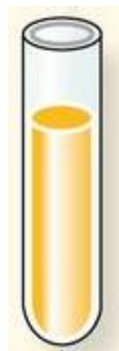
Asparagin (Asn)



Glutamin (Gln)

Dešifriranje genskega koda

- **Prvi kodon** sta leta 1961 dešifrirala ameriška biokemika **Marshall Nirenberg** in **Heinrich Matthaei**.
- **Sintetizirala** sta kratko molekulo **m-RNA**, ki je vsebovala samo kodone UUU (**poli-U**).
- V **epruveto** s **poli-U** sta nato dodala **vse sestavine potrebne za** to, da se molekula mRNA prevede v **verigo aminokislin**.
- Ko sta nastalo **verigo aminokislin** analizirala, sta ugotovila, da vsebuje **samo** zaporedno vezane **fenilalanine**.
- Tako je bila odkrita **prva beseda** v slovarju genetskega koda:
UUU = fenilalanin



Epruveta z ribosomi, t-RNA, aminokislinami, encimi, ...

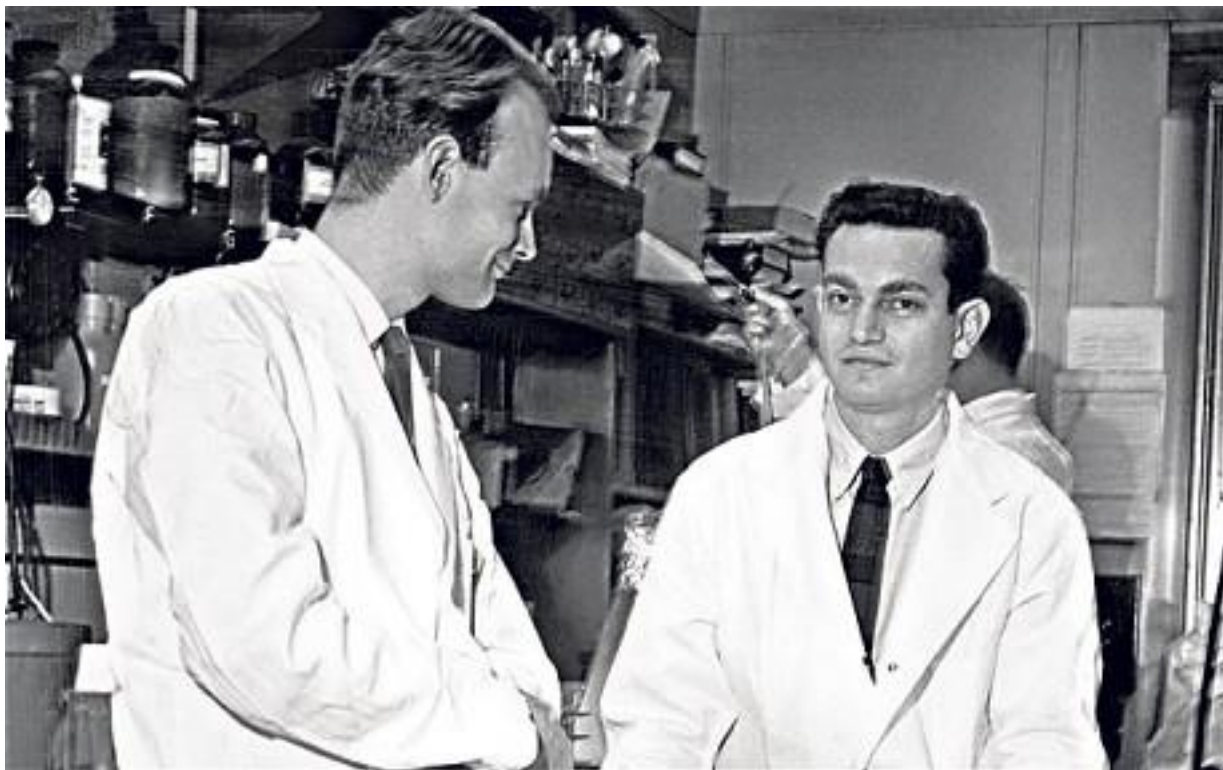
+



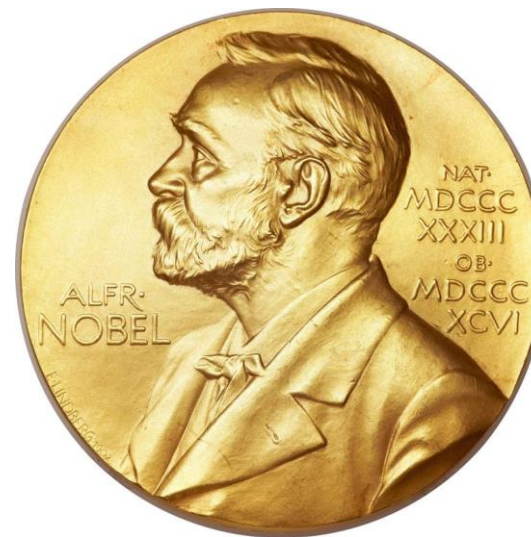
m-RNA poli-U

veriga aminokislin

Dešifriranje genskega koda



Marshall Nirenberg (desno) in Heinrich Matthaei (levo)



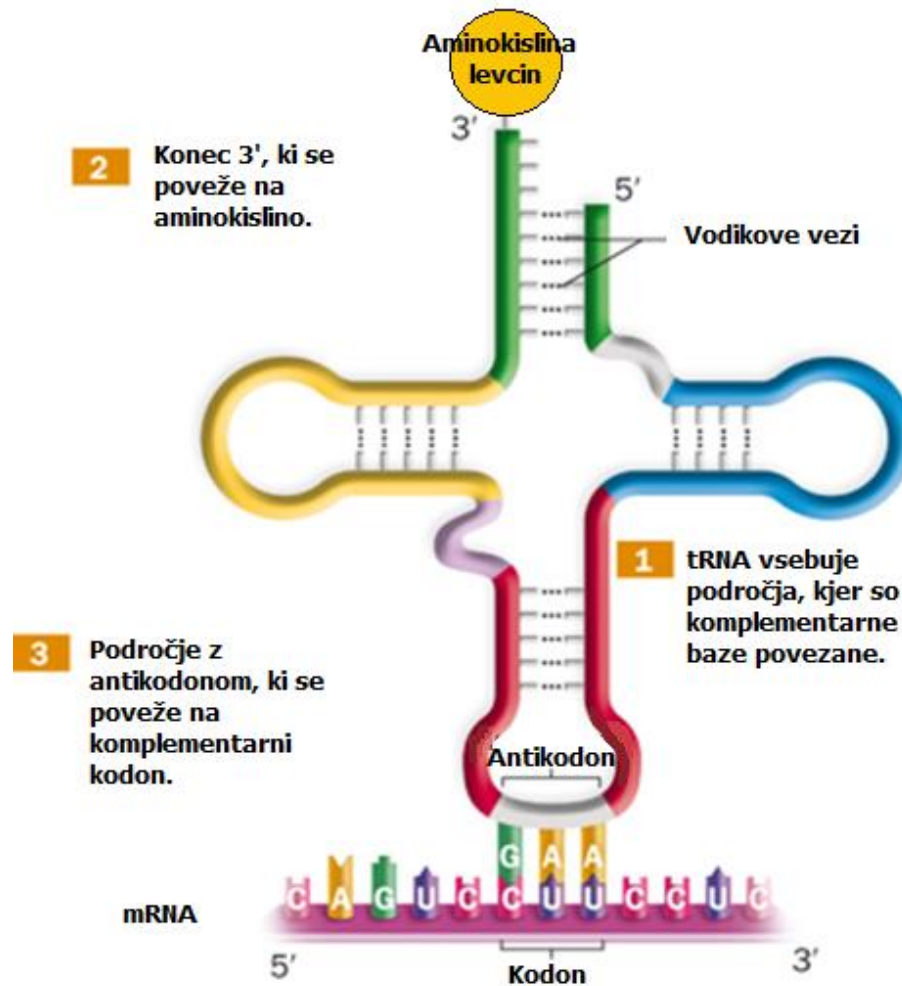
Nobelova nagrada 1968

Prevajanje genetske informacije ali translacija

- Med prevajanjem se **informacija prenese z mRNA v beljakovino**.
- Pri prevajanju sodeluje še **prenašalna RNA (tRNA)** (angl. *transfer*).
- Prevajanje se odvija v **ribosomih**, ki so sestavljeni iz **beljakovin** (1/3) in iz ribosomske RNA (**r-RNA**) (angl. *ribosomal*) (2/3).
- Tudi t-RNA in r-RNA nastaneta v jedru na modelu DNA v procesu prepisovanja.

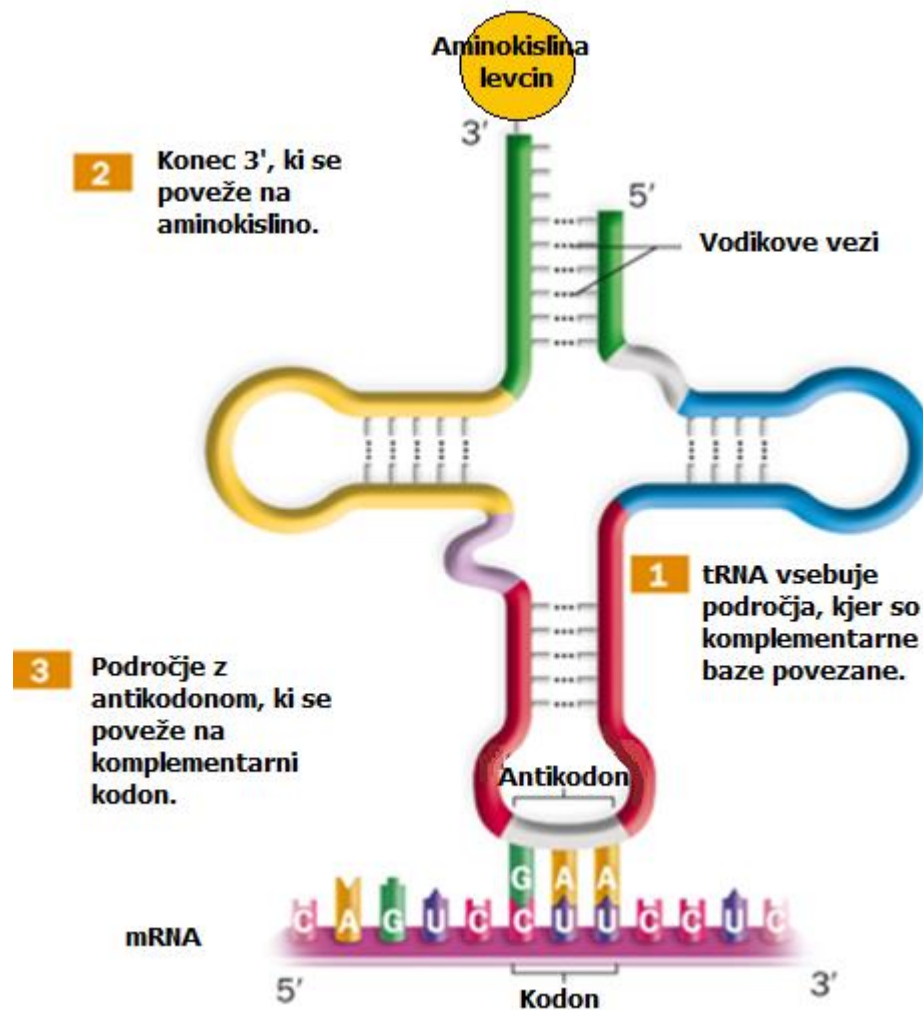
Prenašalna RNA - tRNA

- **tRNA** je **enoverižna** molekula RNA, dolga okrog **80 nukleotidov**.



- Nekateri odseki (CT) so **komplementarni** drugim, zato nastanejo v vodni raztopini **vodikove vezi**, ki dajo molekuli t-RNA **posebno obliko**.
- Na enem koncu je trojček nukleotidov, ki mu pravimo **antikodon**, na drugi konec se poveže **aminokislina**.

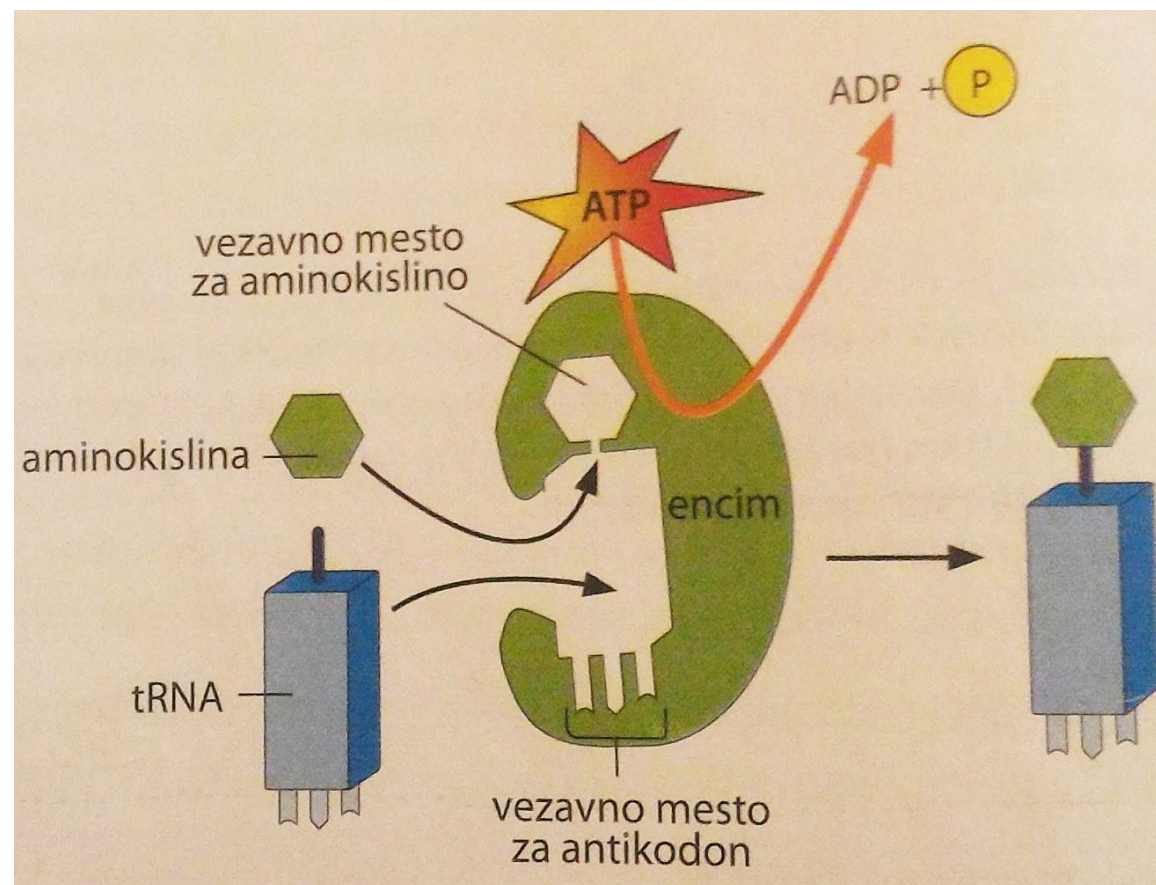
Prenašalna RNA - tRNA



- Poznamo **20 različnih t-RNA**, eno za vsako aminokislino.
- t-RNA prenaša aminokisline iz citosola v ribosome.
- Tu se **antikodon t-RNA** poveže na **komplementarni kodon m-RNA**.
- V ribosomih se posamezne aminokisline med sabo povežejo v takem zaporedju, kot narekuje genski kod na m-RNA.

Nastanek kompleksa t-RNA - aminokislina

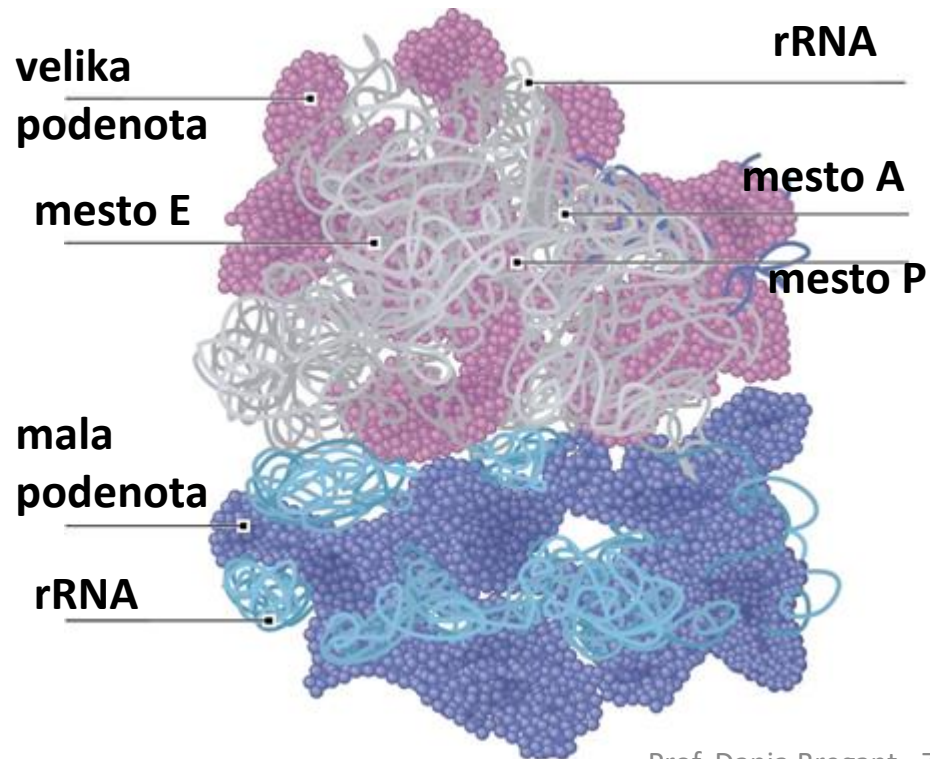
- Vezava aminokislina na tRNA poteka z encimom **aminoacil-tRNA-sintetaza**.
- Tudi sintetaz je **20 različnih vrst**.



Vezava aminokislina na t-RNA

Ribosom

- Ribosom je majhna kroglasta struktura (20 nm), zgrajena iz male in velike podenote.
 - Velika podenota sestoji iz 34 beljakovin in 2 molekul ribosomske r-RNA.
 - Mala podenota sestoji iz 21 beljakovin in 1 molekule ribosomske r-RNA.

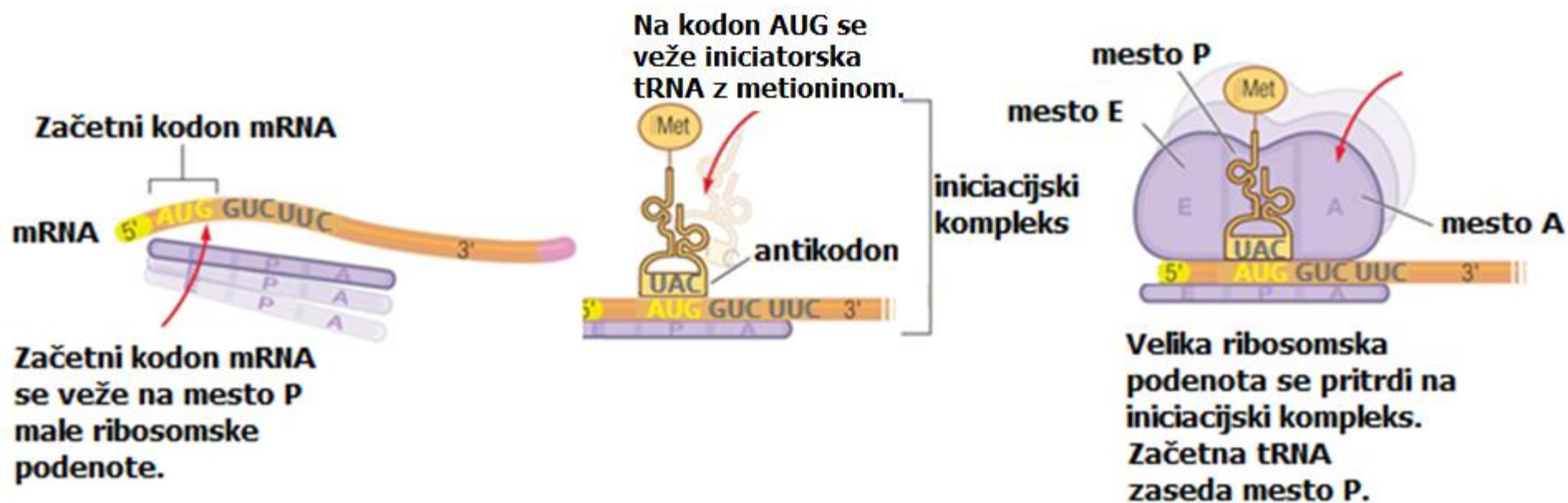


- Na mali podenoti je vezavno mesto za m-RNA.
- Na veliki podenoti so tri vezavna mesta za t-RNA:
 - mesto A (*aminokislina*)
 - mesto P (*peptid*)
 - mesto E (*exit*).

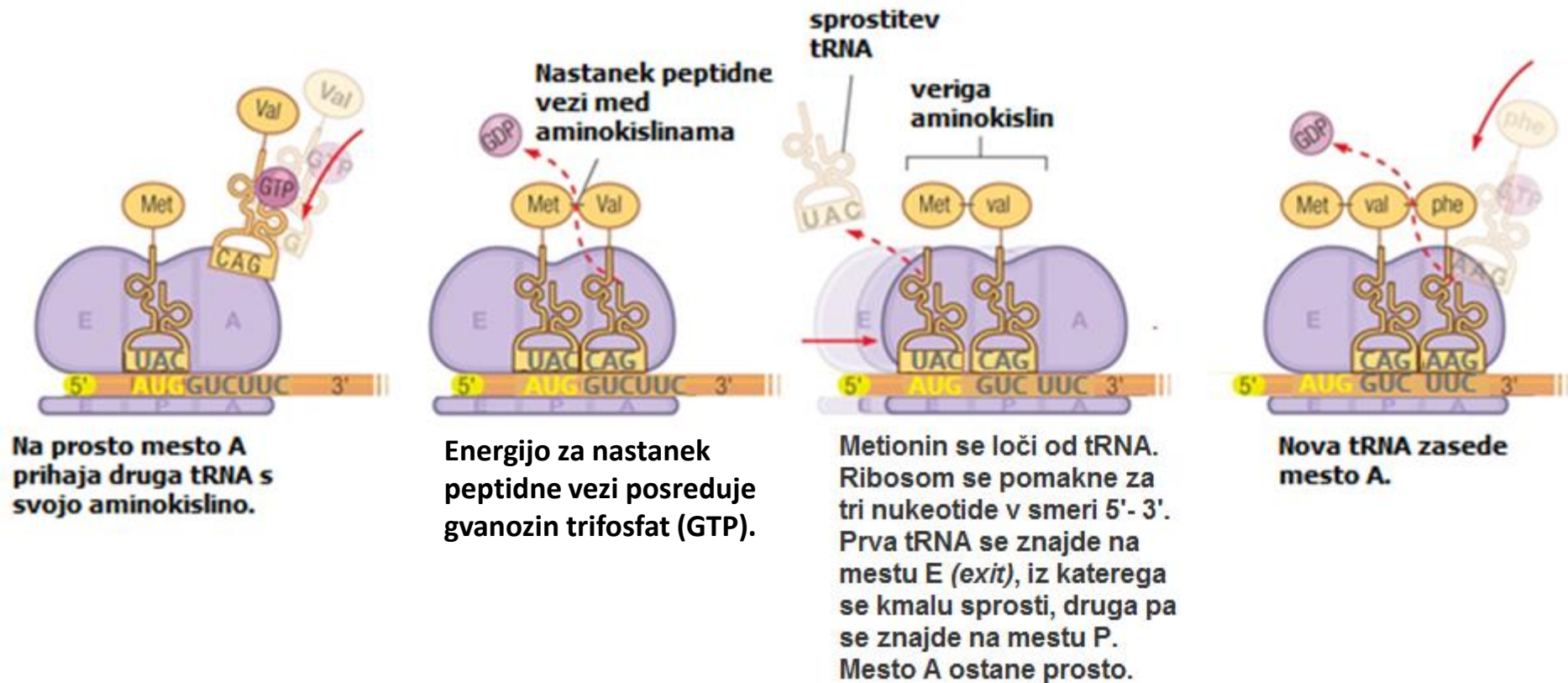
Beljakovinska sinteza

- **Prevajanju** genetske informacije pravimo tudi **beljakovinska sinteza**.
- Beljakovinska sinteza se odvija **na ribosomih v citoplazmi**.
- Odvija se v treh fazah:
 - **začetek prevajanja,**
 - **podaljševanje verige aminokislin,**
 - **konec prevajanja.**

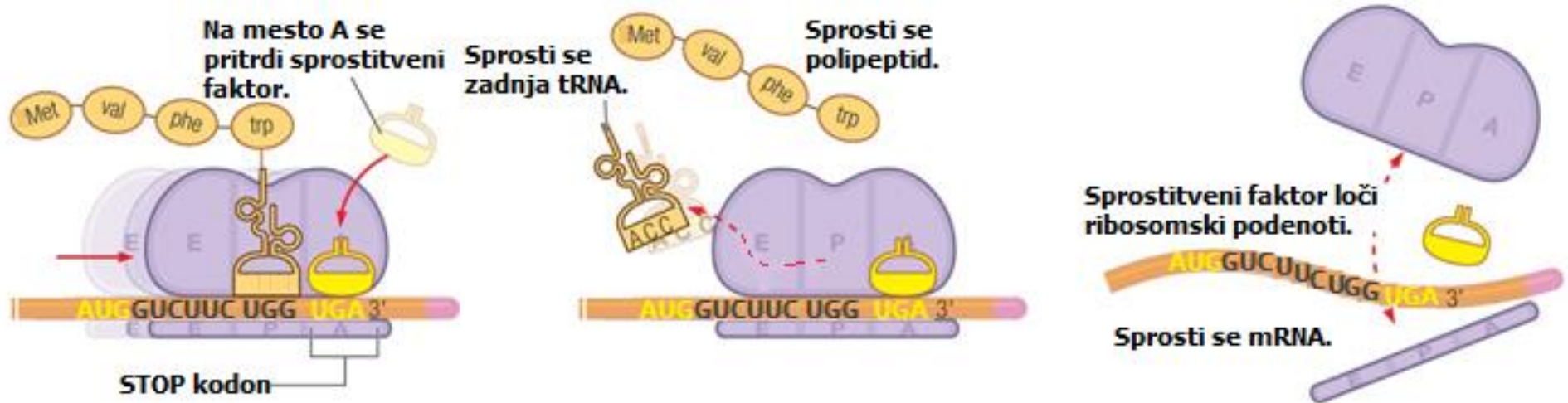
Začetek prevajanja



Podaljševanje verige aminokislin

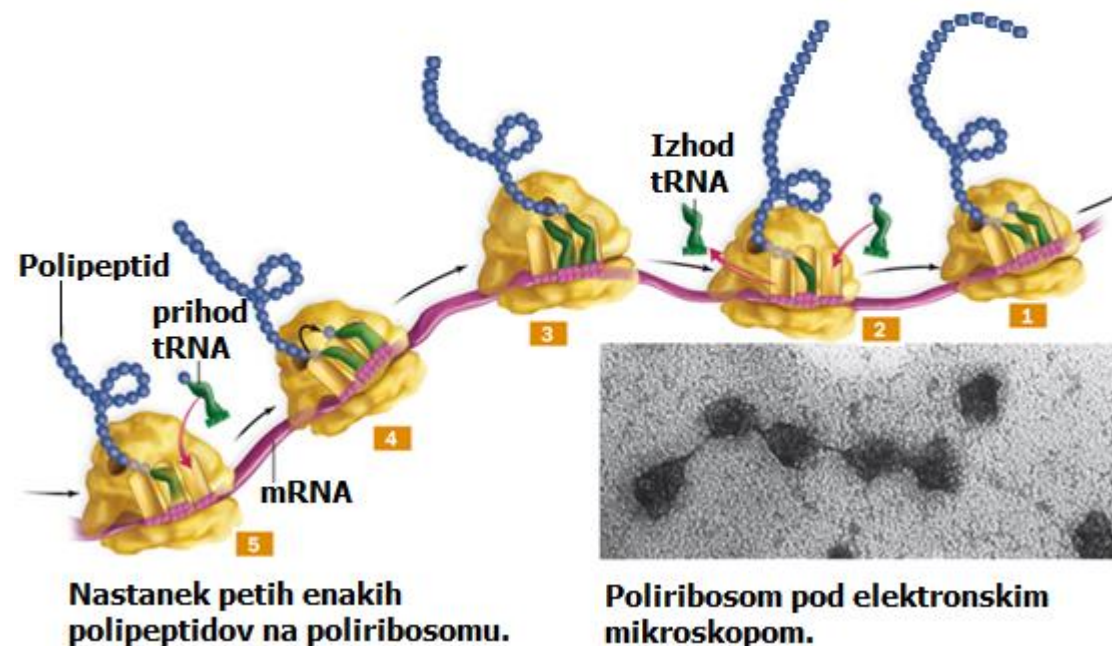


Konec prevajanja

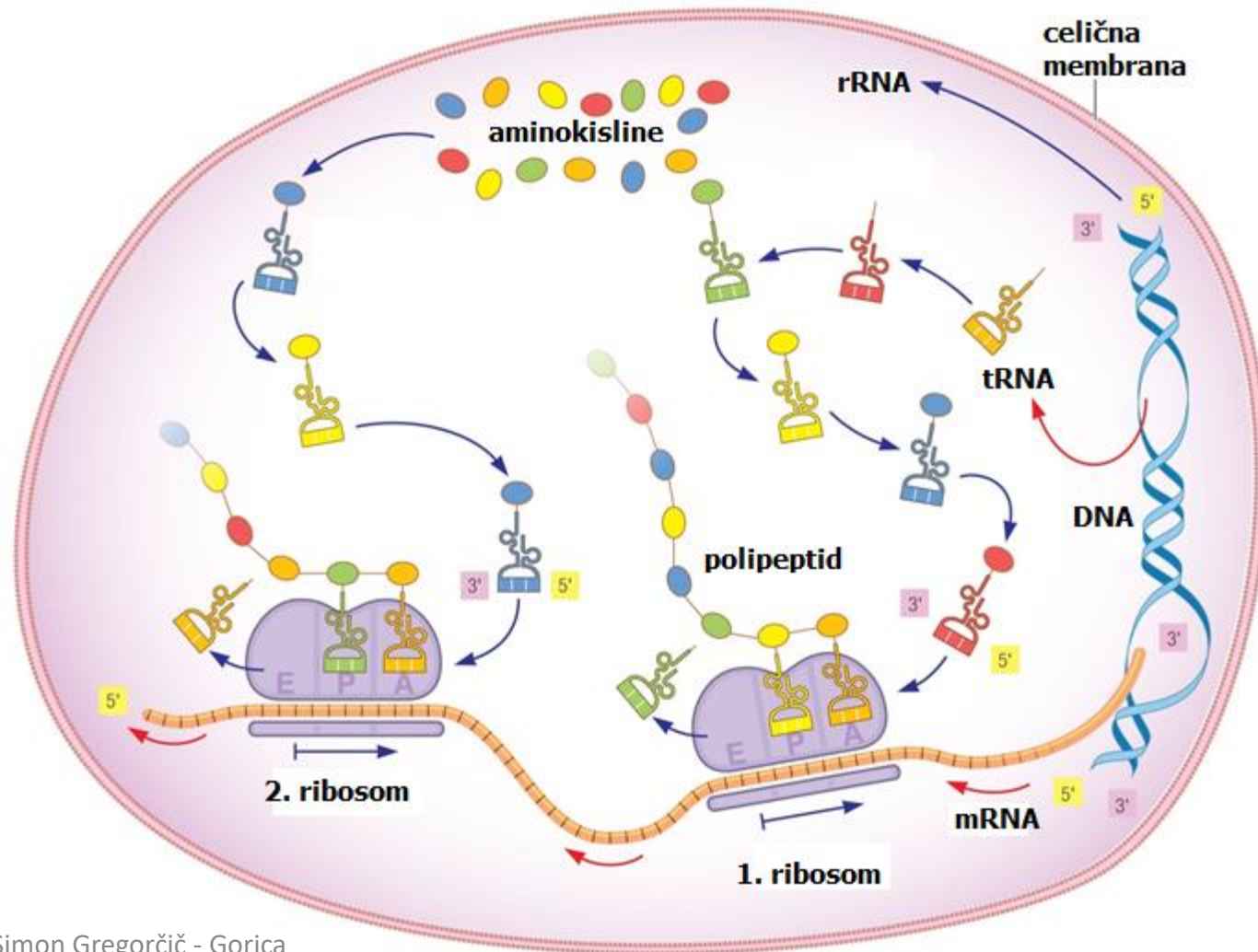


Bakterije imajo poliribosome

- V bakterijah se **na isto m-RNA** lahko priključi **več ribosomov**, ki tvorijo t.i. **poliribosom**.
- Posamezni ribosomi se premikajo po m-RNA od začetnega do končnega kodona v smeri $5' \rightarrow 3'$.
- Poliribosom lahko v kratkem času sintetizira **veliko število polipeptidov** na modelu ene same m-RNA.



Beljakovinska sinteza v prokariontski celici



Beljakovinska sinteza v evkariontski celici

