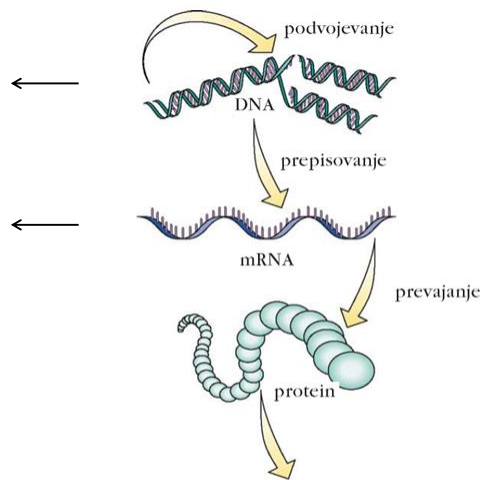


Nukleinske kisline

DNA je nosilka dednih genetskih informacij.

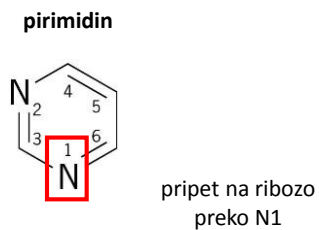
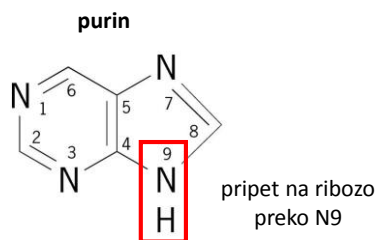
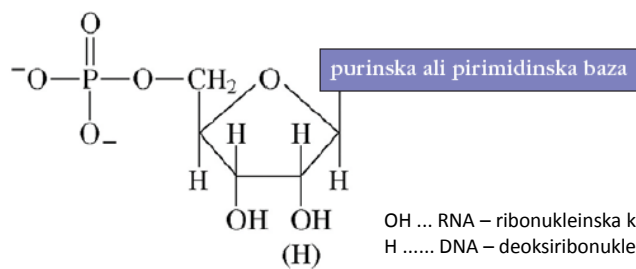
RNA je posrednik, ki omogoča sintezo proteinov na osnovi zapisa na DNA.



Celična zgradba in funkcija
 - metabolizem, ki nam daje energijo
 - sinteza in razgradnja biomolekul
 - shranjevanje in transport biomolekul
 - celična komunikacija (prenos signalov)

Nukleotidi

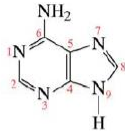
Nukleinske kisline so polimeri **nukleotidov**.



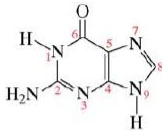
Nukleotidi

Nukleinske kisline so polimeri **nukleotidov**.

(a) osnovne baze



A adenin

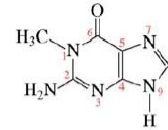


G gvanin

(b) manj pogoste baze

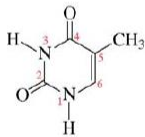


2-metiladenin

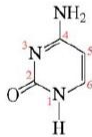


1-metilgvanin

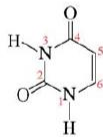
purini



T timin (DNA)



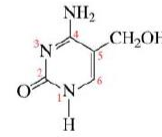
C citozin



U uracil (RNA)



5-metilcitozin

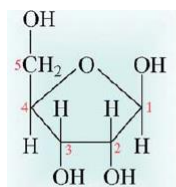
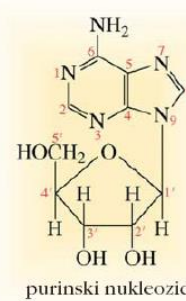


5-hidroksimetilcitozin

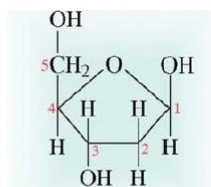
pirimidini

Nukleozidi

Nukleozid = (deoksi)riboza + baza, povezani z glikozidno vezjo



(a) β-D-riboza

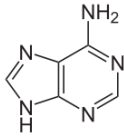


(b) β-D-2-deoksiriboza

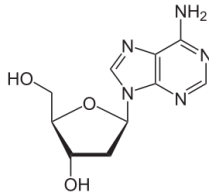
Polizicije na (deoksi)ribozi označujemo s ' (v angl. izgovorimo *prime*)

Nukleozidi

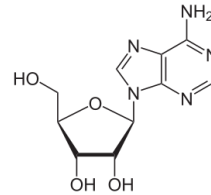
Nukleozid = (deoksi)riboza + baza, povezani z glikozidno vezjo



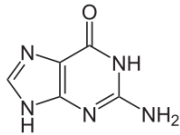
adenin



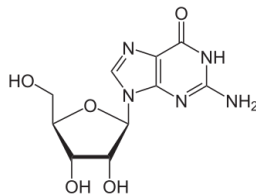
adenozin



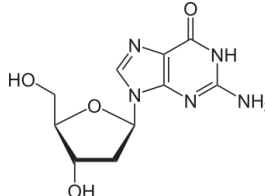
deoksiadenozin



gvanin



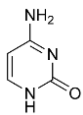
gvanozin



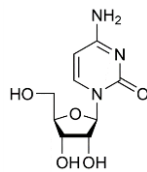
deoksigvanozin

Nukleozidi

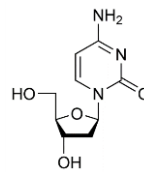
Nukleozid = (deoksi)riboza + baza, povezani z glikozidno vezjo



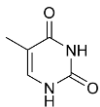
citozin



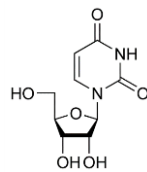
citidin



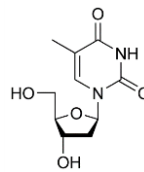
deoksicitidin



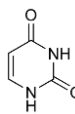
timin



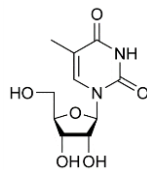
timidin



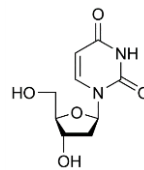
deoksitimidin



uracil



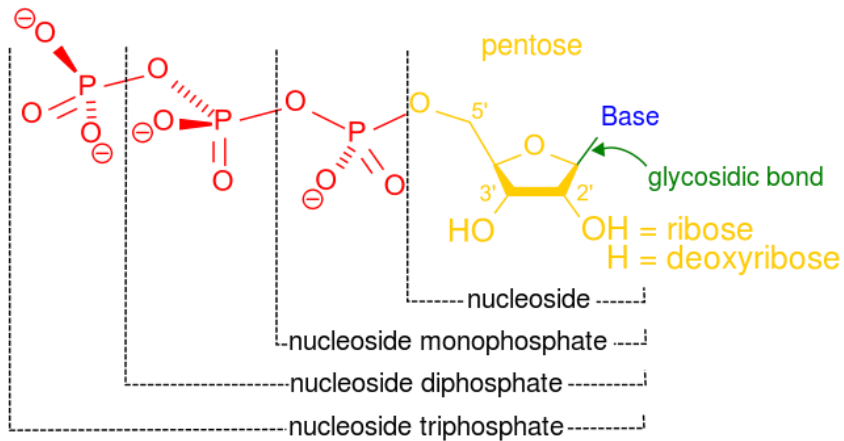
uridin



deoksiuridin

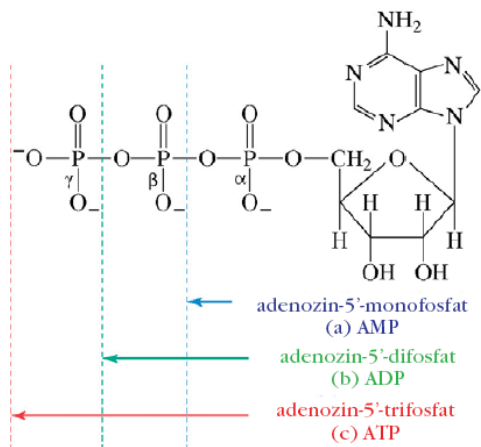
Nukleotidi

Nukleotid = nukleozid + ena ali več fosfatnih skupin



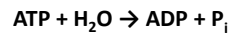
Nukleotidi

Nukleotid = nukleozid + ena ali več fosfatnih skupin

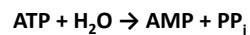


NTP/dNTP so gradniki RNA/DNA.

ATP (in GTP) je energijska zaloga celice.



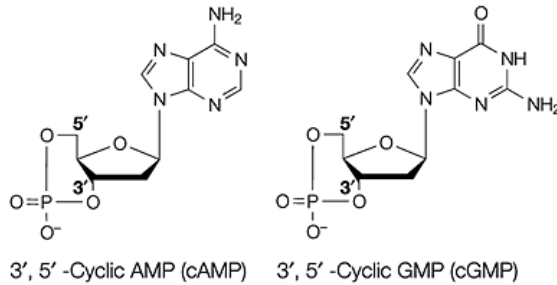
$$\Delta G^\circ = -30.5 \text{ kJ/mol } (-7.3 \text{ kcal/mol})$$



$$\Delta G^\circ = -45.6 \text{ kJ/mol } (-10.9 \text{ kcal/mol})$$

Nukleotidi

Nukleotid = nukleozid + ena ali več fosfatnih skupin



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

cAMP in cGMP nastaneta s ciklizacijo ATP oz. GTP, ki jo katalizirata encima adenilat ciklaza in gvanilat ciklaza. Delujeta kot prenašalca signalov v celici.

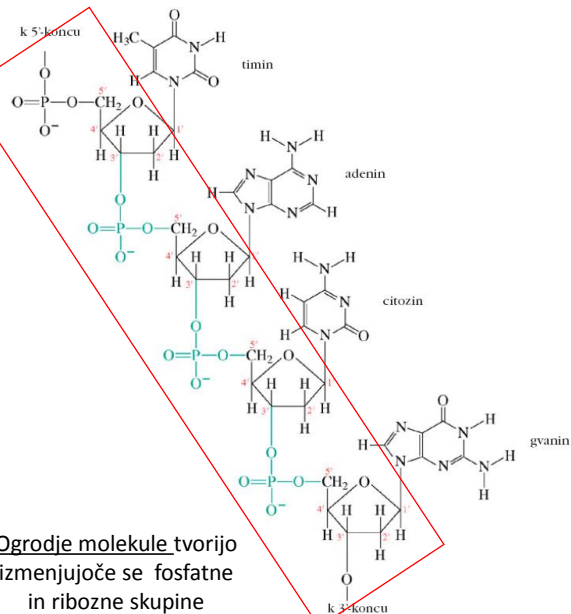
Nukleinske kisline

Nukleinske kisline so polimeri nukleotidov, povezane s 3',5'-fosfodiestrsko vezjo.

Zaporedje zapisujemo od prostega 5'-konca proti prostemu 3'-koncu.

5'-TACG-3'

Ogrodje molekule tvorijo izmenjujoče se fosfatne in ribozne skupine



DNA

Oblike, velikosti in število molekul DNA med organizmi se močno razlikujejo.

Bakterije (*E. coli*) – ena krožna molekula DNA

Evkarionti – več linearnih molekul DNA – kromosomov, vsak v eni ali več kopijah

organizem	število baznih parov	dolžina (μm)	oblika
virusi			
SV40	5 100	1,7	krožna
adenovirus	36 000	12	linearna
fag λ	48 600	17	krožna
bakterija			
<i>E. coli</i>	4 700 000	1 400	krožna
evkarionti			
kvasovke	13 500 000	4 600	linearna
vinska mušica (diploidna celica)	165 000 000	56 000	linearna
človek (diploidna celica)	6 000 000 000	2 x 10 ⁶	linearna

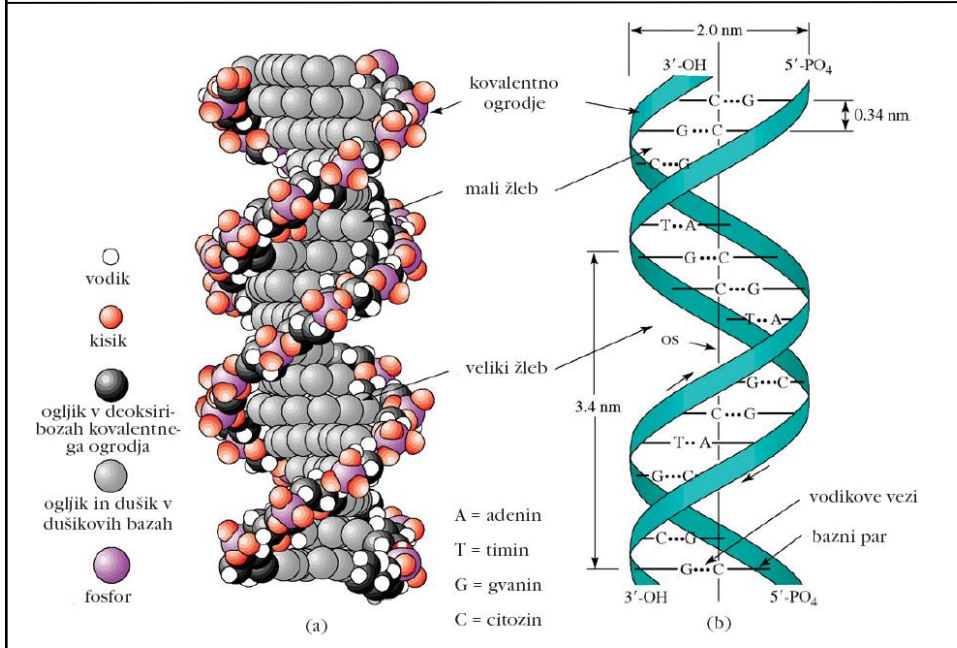
Struktura DNA

Temeljne strukturne lastnosti molekul DNA:

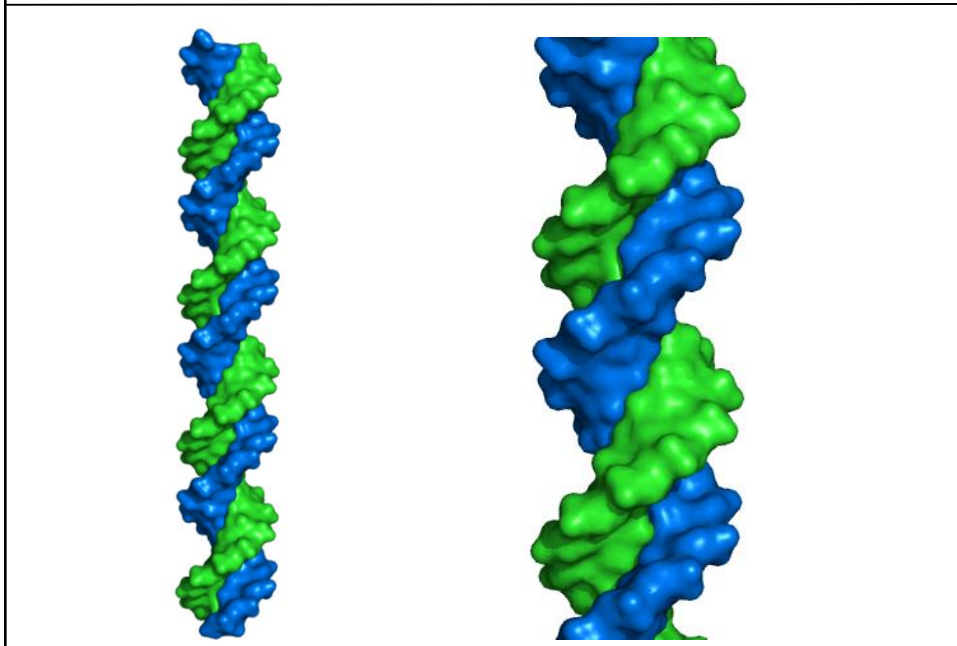
- DNA sestavljata dve polinukleotidni verigi, ki sta oviti okoli skupne osi in tvorita **dvojno desno vijačnico**. Dve topološki značilnosti strukture sta **mali** in **veliki žleb**.
- Verigi sta **antiparalelni** – tečeta v nasprotnih smereh.
- Polarno in nabitno ogrodje je na zunanji strani vijačnice, baze pa so obrnjene v notranjost.
- Dvojno vijačnico stabilizirajo
 - H-vezi med **pari komplementarnih baz** – pari A-T in G-C
 - Interakcije med „naloženimi“ bazami (angl. *stacked*) – ravnine baz so pravokotne na vijačnico.

Komplementarno parjenje baz je lastnost, ki omogoča shranjevanje in prenos genetskih informacij, ker omogoča sintezo nove verige DNA na osnovi nukleotidnega zaporedja obstoječe verige.

Struktura DNA

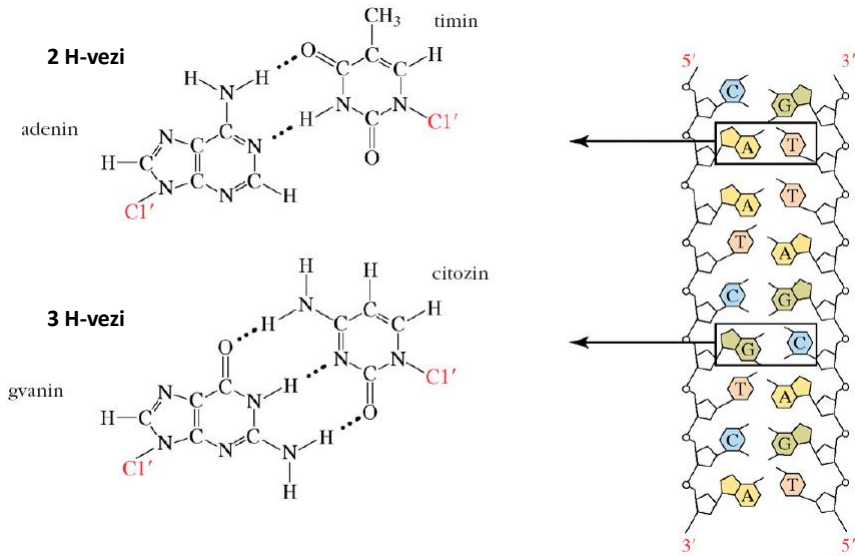


Struktura DNA



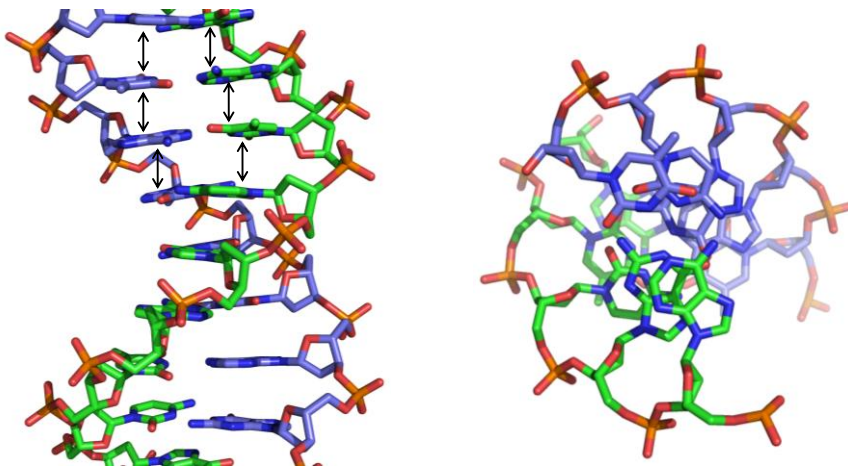
Struktura DNA

Watson-Crickovi bazni pari:



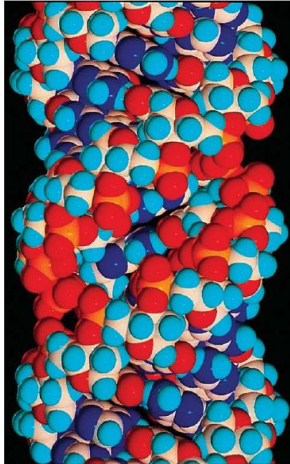
Struktura DNA

„Naložene“ baze: ugodne interakcije med π sistemi baz.



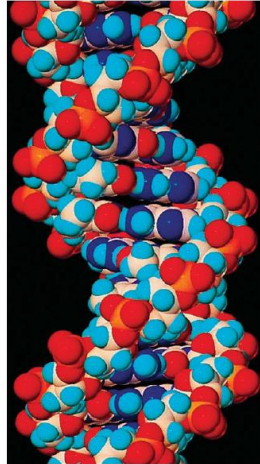
Struktura DNA

ob dehidraciji –
stisnjena v smeri osi



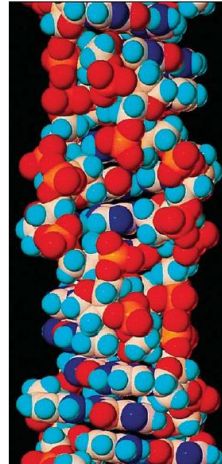
A-DNA

prevladuje



B-DNA

Pojavlja se v kratkih
segmentih (naravnih in
sintetičnih) – je levosučna

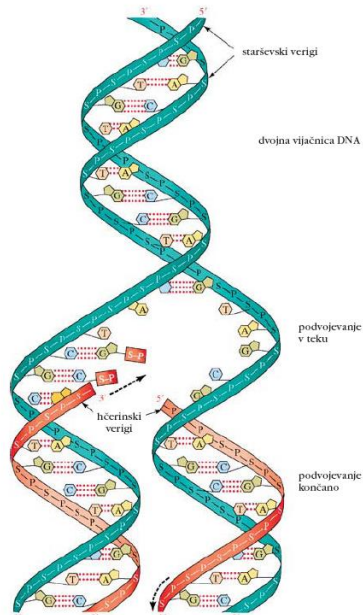


Z-DNA

© Tripos, Inc.

Komplementarnost verig DNA

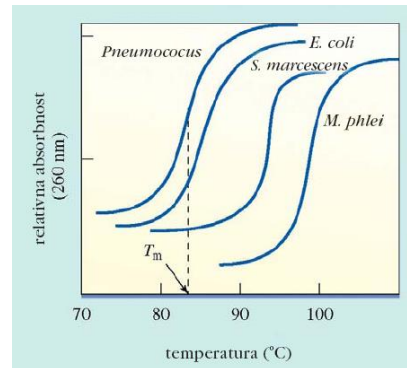
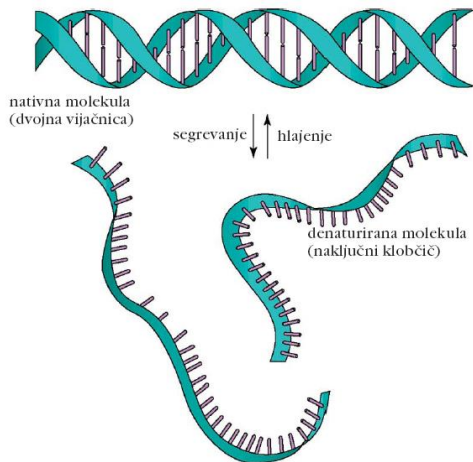
P = fosfat
S = sladkor
A = adenin
G = gvanin
C = citozin
T = timin



Na osnovi Watson-Crickovih baznih parov se DNA podvoji, tako da bosta nastali DNA molekuli identični izvorni. Vsaka izmed verig služi kot matrica za sintezo komplementarne verige.

Denaturacija DNA

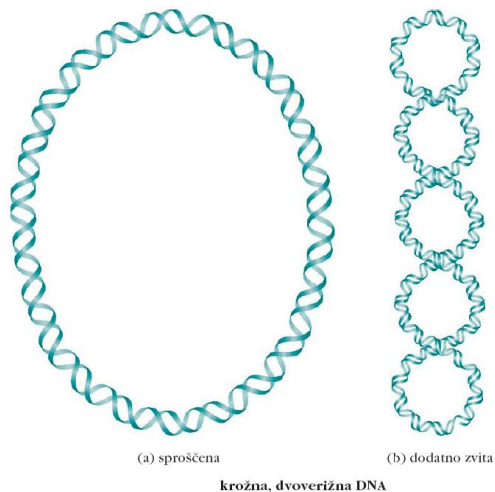
DNA lahko s segravanjem revezibilno denaturiramo, tj. razklenemo dvojni vijačnici. Taljenje DNA lahko spremljamo z merjenjem absorbanse pri 260 nm. Denaturirana DNA namreč absorbira močnejše kot nativna, ker se prekinejo π interakcije med obroči. Temu efektu pravimo **hiperkromni efekt**.



DNA se ponavadi stali v temperaturnem intervalu 5 do 10 °C. Prevoju talilne krivulje pravimo temperatura tališča T_m .

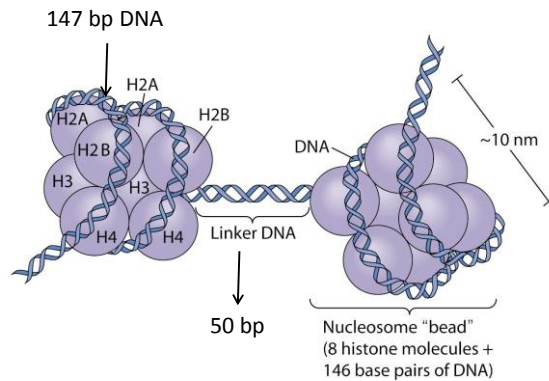
Dodatno zvitje DNA

Krožna DNA pri bakterijah je dodatno zvita, s čemer se zmanjša prostor, ki ga zasede. Encimi, ki katalizirajo pretvorbo oblik, se imenujejo **topoizomeraze**.



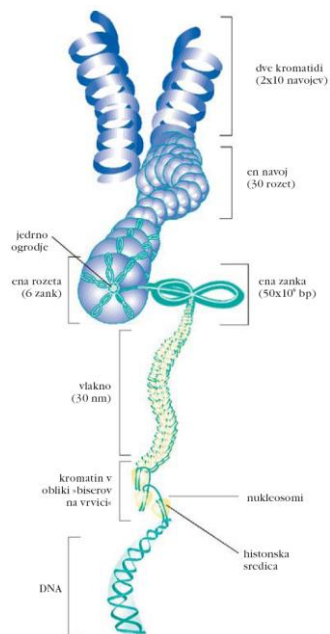
Dodatno zvitje DNA

Pri evkariontih je DNA kompaktirana tako, da je dvojna vijačnica ovita okoli bazičnih proteinov **histonov**. Enoto sestavljeno iz histona in okoli njega navite DNA (147 bp) imenujemo **nukleosom**.



Dodatno zvitje DNA

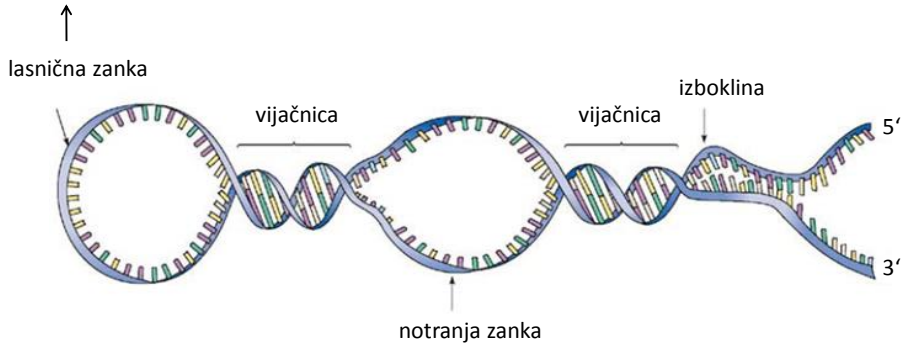
Pri evkariontih je DNA kompaktirana tako, da je dvojna vijačnica ovita okoli bazičnih proteinov **histonov**. Enoto sestavljeno iz histona in okoli njega navite DNA (147 bp) imenujemo **nukleosom**. Celotno DNA z vezanimi proteini (histoni in ostalimi) imenujemo **kromatin**. Nukleosomi se nato kompaktirajo naprej v vlakna in višje organizirane strukture. Vsak kromosom ima pri človeku okoli 1 milijon nukleosomov.



Dodatno zvitje RNA

RNA molekule lahko tvorijo raznolike tridimenzionalne strukture.

Omogoča da se veriga obrne in lahko nastanejo komplementarni bazni pari



Vrste RNA

Poznamo veliko število različnih oblik RNA, ki se med seboj ločijo po dolžini, prostorski strukturi in funkciji. Nekatere molekule RNA imajo tudi encimsko aktivnost – **ribocimi**.

RNA molekule, ki sodelujejo pri translaciji:

mRNA – prepis z DNA, matrica za sintezo proteina

tRNA – molekula RNA, ki prepozna kodon na mRNA in nosi ustrezno aminokislino

rRNA – komponenta ribosoma (ena izmed njih je ribocim, ki katalizira nastanek peptidne vezi)

Nekaj primerov ostalih molekul RNA:

siRNA, miRNA – kratke RNA, ki regulirajo prevajanje mRNA – *RNA interferenca*

snRNA, snoRNA – regulirajo procesiranje mRNA v jedru

Struktura tRNA

Molekule tRNA so dolge 74 – 93 nukleotidov. Imajo strukturo deteljnice. Za vsako aminokislino obstaja vsaj ena odgovarjajoča tRNA.

Vsebujejo modificirane baze

I – inozin

ψ – psevdouridin

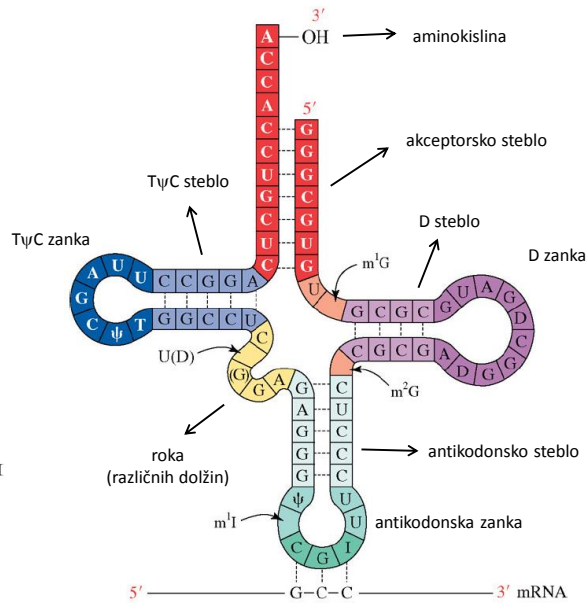
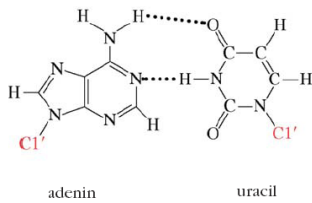
D – dihidouridin

m¹G – metilgvanozin

m²G – dimetilgvanozin

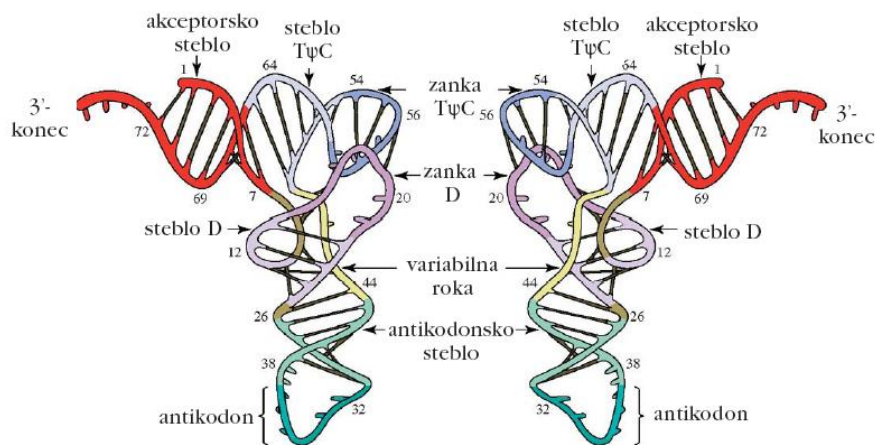
m¹I – metilinozin

Bazni par A-U:



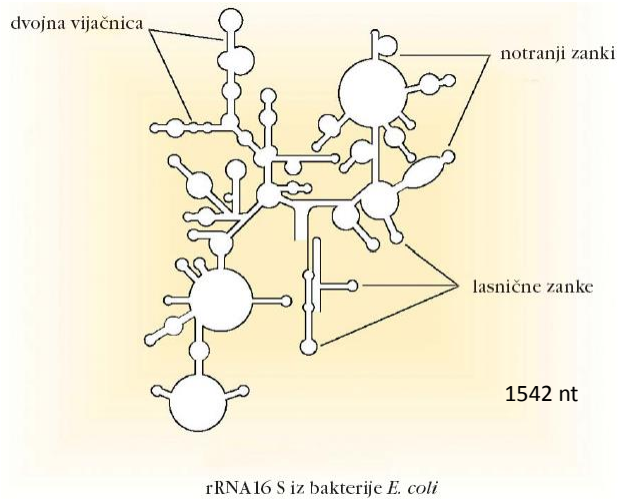
Struktura tRNA

Tridimenzionalna struktura tRNA za prenos Phe (iz kvasovke):



Struktura rRNA

So sestavni deli ribosoma. Podobno kot tRNA tvorijo številne elemente sekundarne/terciarne strukture. So bistveno večje.



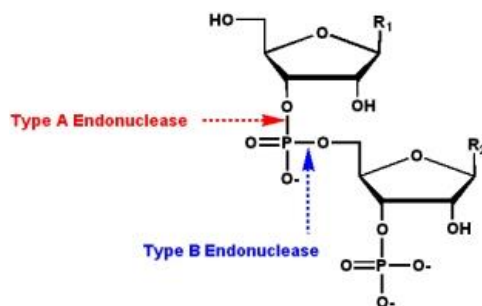
Nukleaze

Nukleaze (fosfodiesteraze) so encimi, ki cepijo nukleinske kisline. Prisotni so v vseh celicah, veliko pa jih uporabljamo tudi v laboratoriju.

V osnovi jih ločimo na **DNaze** (cepijo DNA) in **RNaze** (cepijo RNA).

Glede na mesto cepitve jih delimo na **eksonukleaze** (odcepljajo nukleotide s konca verige) in **endonukleaze** (cepijo znotraj verige).

Glede na to, katero vez cepijo jih delimo na **tipa a** in **b**.



Nukleaze

Nukleaze (fosfodiesteraze) so encimi, ki cepijo nukleinske kisline. Prisotni so v vseh celicah, veliko pa jih uporabljamo tudi v laboratoriju.

V osnovi jih ločimo na **DNaze** (cepijo DNA) in **RNaze** (cepijo RNA).

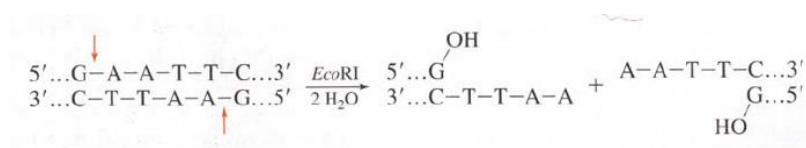
Glede na mesto cepitve jih delimo na **eksonukleaze** (odcepljajo nukleotide s konca verige) in **endonukleaze** (cepijo znotraj verige).

Glede na to, katero vez cepijo jih delimo na **tipa a in b**.

encim	substrat	tip	specifičnost
občajne nukleaze			
fosfodiesteraza iz strupa klopotiče	DNA, RNA	ekso-a	začne na koncu 3'; ni specifična glede na zaporedje baz
fosfodiesteraza iz vranice	DNA, RNA	ekso-b	začne na koncu 5'; ni specifična glede na zaporedje baz
ribonukleaza A iz trebušne slinavke	RNA	endo-b	najpogosteje cepi ob pirimidinu na koncu 3'
deoksiribonukleaza II iz vranice	DNA	endo-b	notranje estrske vezi; ni specifična glede na zaporedje baz

Restriksijske endonukleaze

Restriksijske endonukleaze (restriktaze, restriksijski encimi) so najbolj specifične znane endonukleaze. So bakterijski encimi, ki delujejo kot del bakterijskega imunskega sistema (ščitijo pred bakteriofagi). Prepoznajo zaporedja, dolga 4 do 8 nt, ki so običajno palindromna. Pogosto jih uporabljamo v laboratoriju.

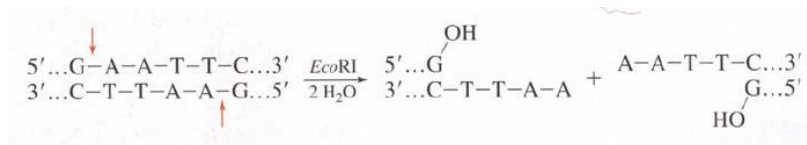


encim	substrat	tip	specifičnost
restriksijske endonukleaze			
<i>EcoRI</i>	DNA	endo-a	5' ↓ GAATTC*
<i>BaI</i>	DNA	endo-a	5' ↓ TGGCCA
<i>TaqI</i>	DNA	endo-a	5' ↓ TCGA
<i>HinI</i>	DNA	endo-a	5' ↓ GANTC

*Rdeča puščica na prepoznavnem mestu vsake restriktaze označuje mesto cepitve.

Restriksijske endonukleaze

Restriksijske endonukleaze (restriktaze, restriksijski encimi) so najbolj specifične znane endonukleaze. So bakterijski encimi, ki delujejo kot del bakterijskega imunskega sistema (ščitijo pred bakteriofagi). Prepoznajo zaporedja, dolga 4 do 8 nt, ki so običajno palindromna. Pogosto jih uporabljamo v laboratoriju.



Mesta cepitve različnih restriktaz na bakteriofagu λ :

