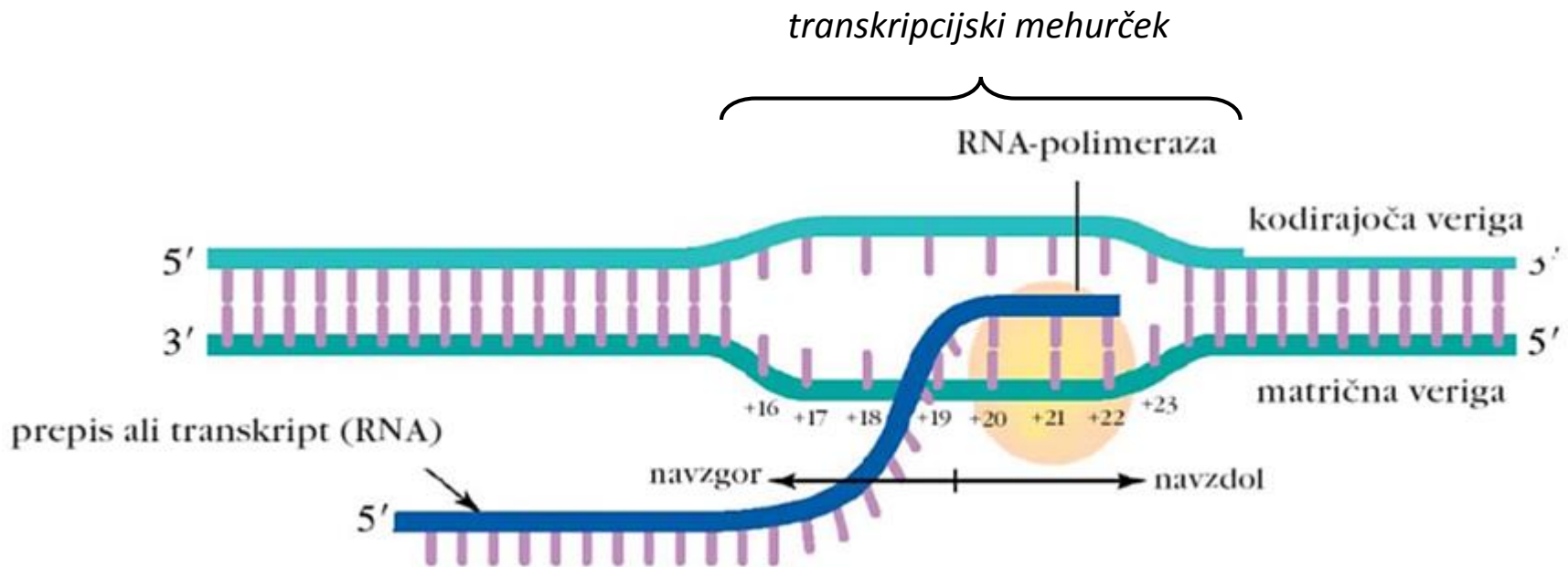


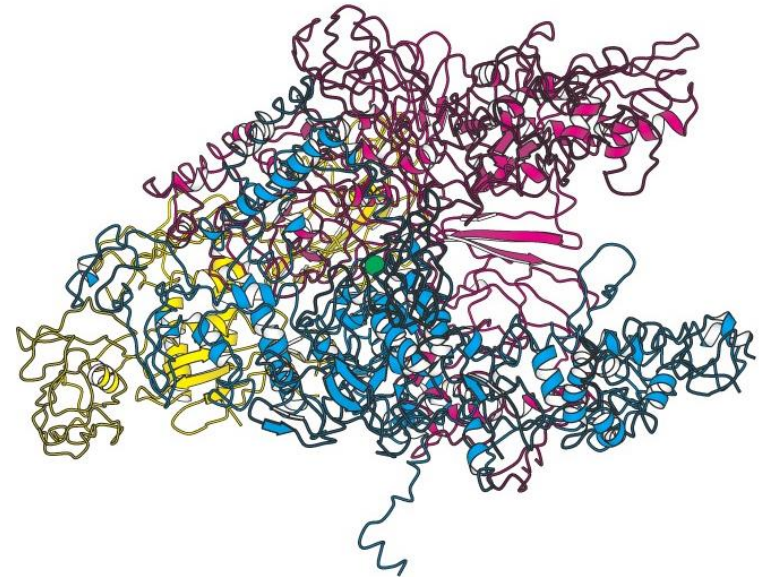
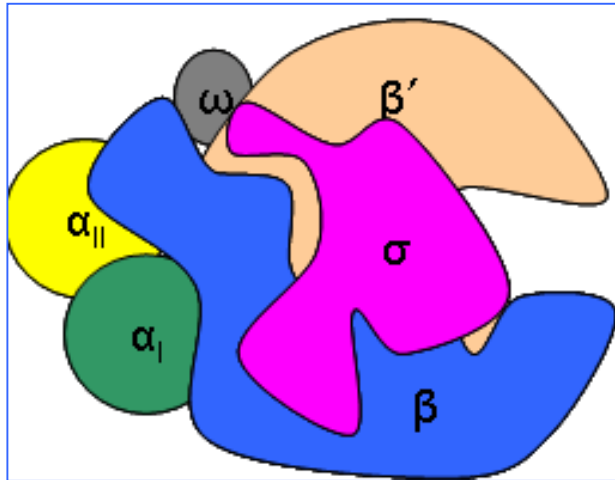
Sinteza RNA - transkripcija

RNA polimeraza je encimski kompleks, ki katalizira sintezo RNA na osnovi DNA matrice – *sinteza RNA, ki jo usmerja DNA*.

Pomnoževanje poteka v 5' proti 3' smeri. Matrična veriga DNA je komplementarna kodirajoči verigi, tako da ima RNA prepis enako zaporedje kot kodirajoča veriga.



Prokariontska RNA polimeraza

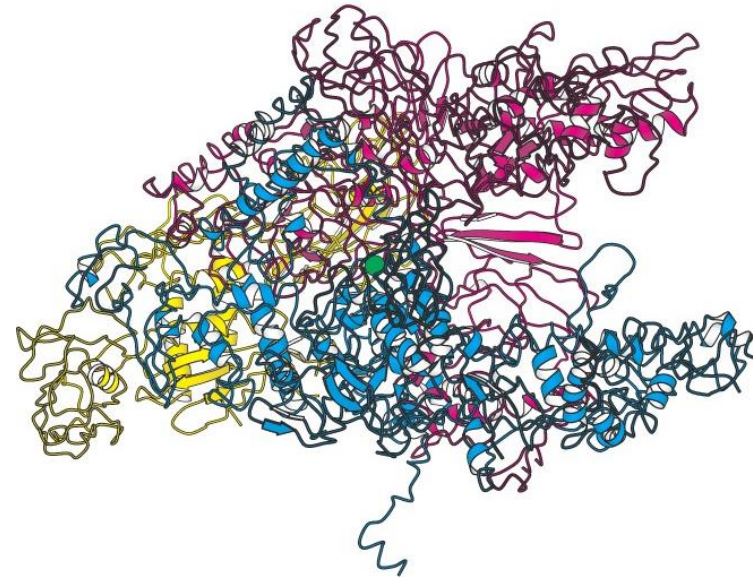
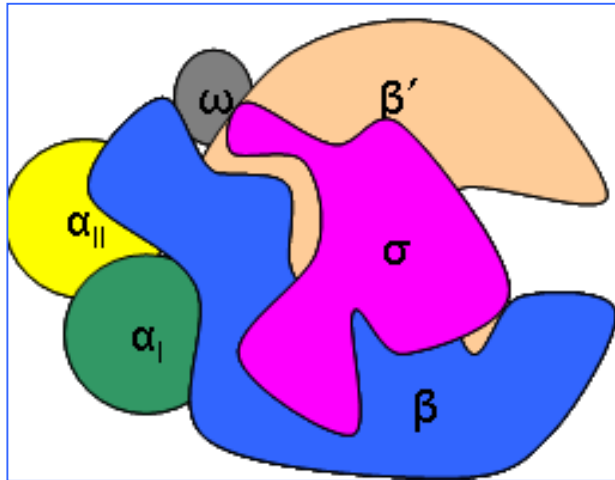


Prokaryotic RNA polymerase

TABLE 28.1 Subunits of RNA polymerase from *E. coli*

Subunit	Gene	Number	Mass (kd)
α	<i>rpoA</i>	2	37
β	<i>rpoB</i>	1	151
β'	<i>rpoC</i>	1	155
σ^{70}	<i>rpoD</i>	1	70

Prokariontska RNA polimeraza



Prokaryotic RNA polymerase

$\text{RNAPol apoencim } (\alpha_2\beta\beta'\omega) + \sigma \text{ podenota} \rightarrow \text{RNAPol holoencim}$

osrednji encim

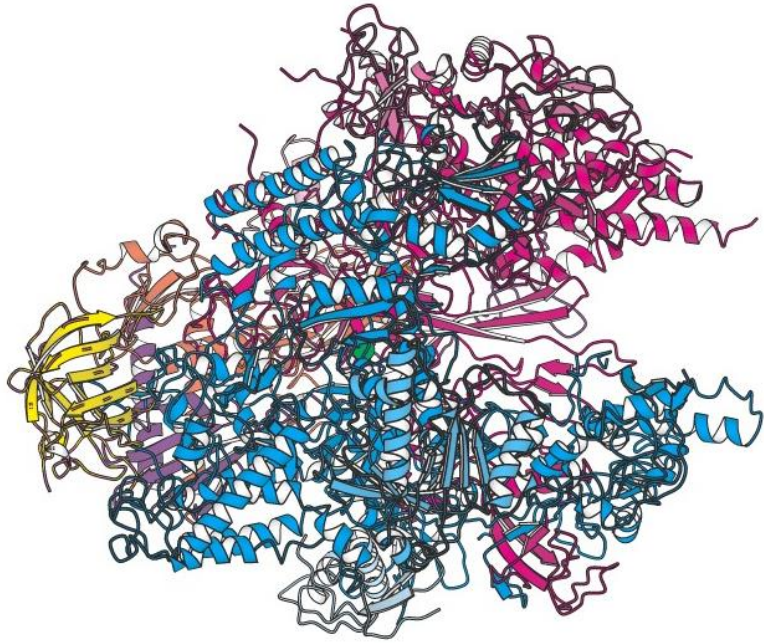
α podenoti – stabilizirata kompleks, interagirata z DNA in vežeta regulatorne elemente

β podenoti – vsebujeta aktivno mesto

σ podenota – omogoči vezavo na promoter, kasneje oddisociira s kompleksa

ω podenota – stabilizira kompleks

Evkariontske RNA polimeraze



Eukaryotic RNA polymerase

So večje in bolj kompleksno zgrajene ter regulirane kot prokariontska.

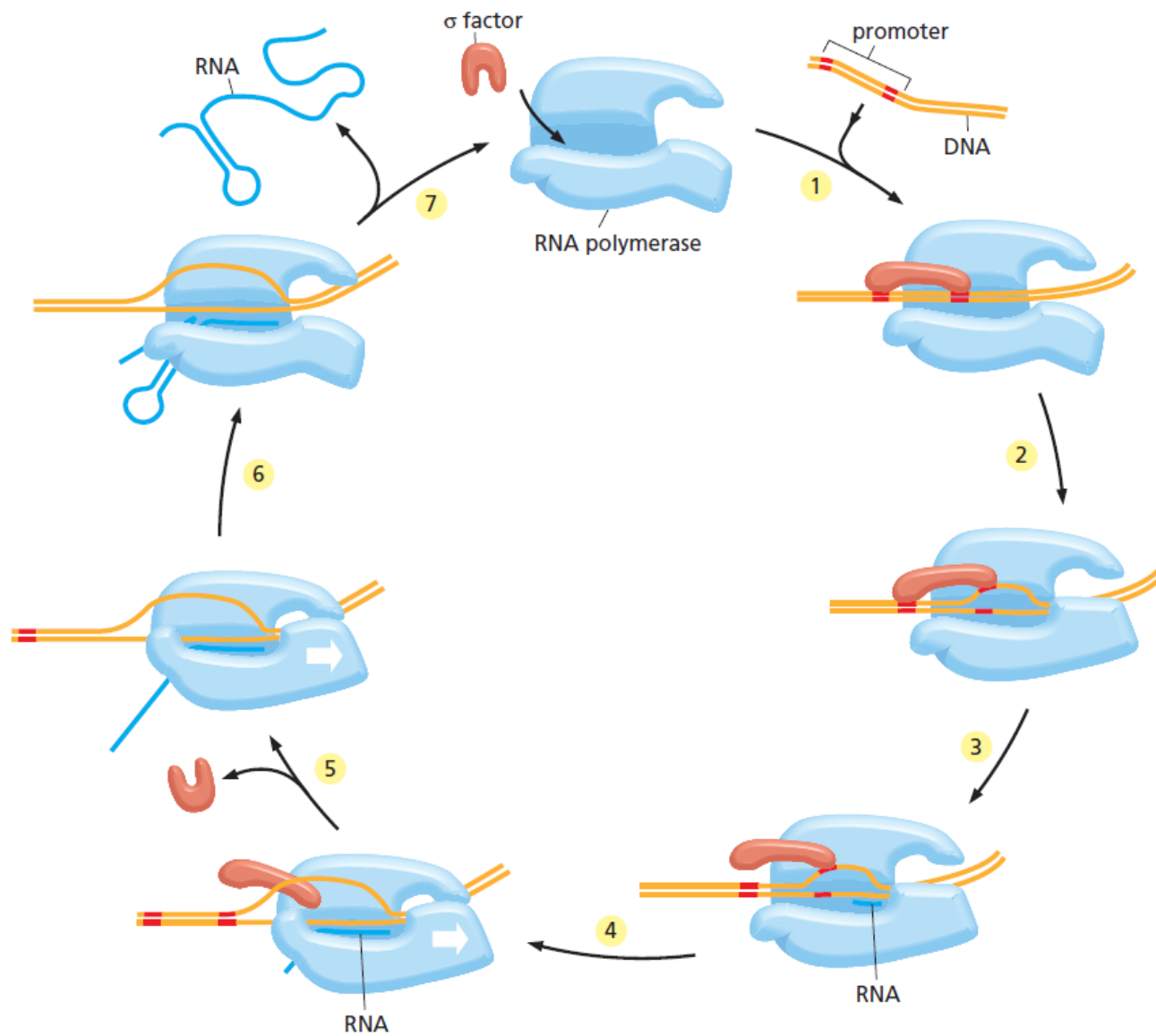
RNApol I – prepisuje rRNA

RNApol II – prepisuje gene, ki kodirajo za proteine

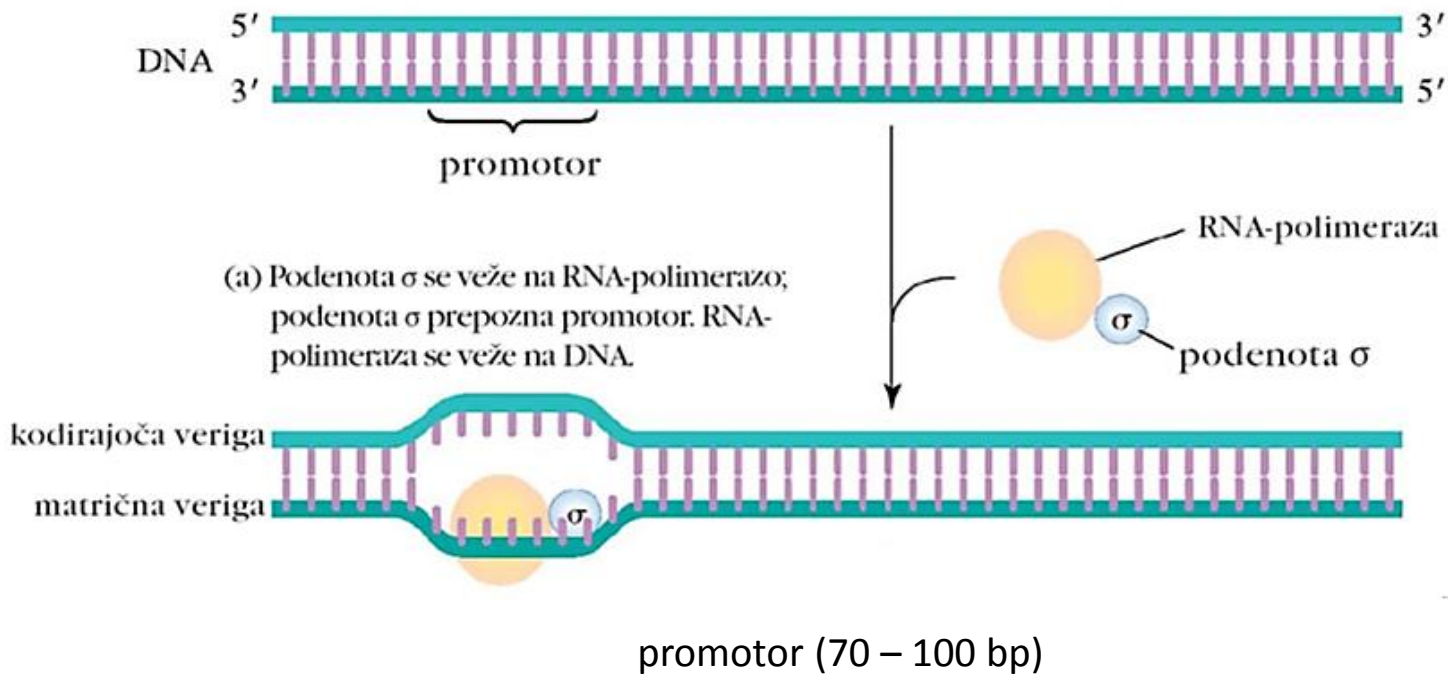
RNApol III – prepisuje tRNA in druge manjše tRNA

Mehanizem delovanja je analogen prokariontski.

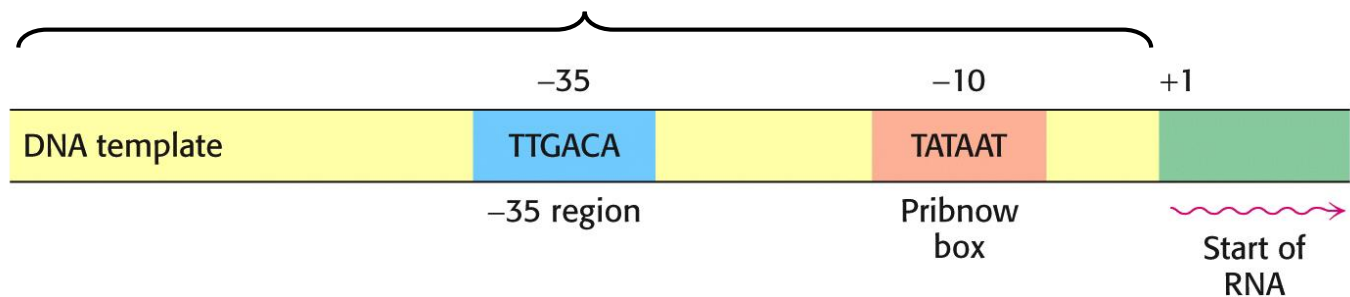
Potek transkripcije



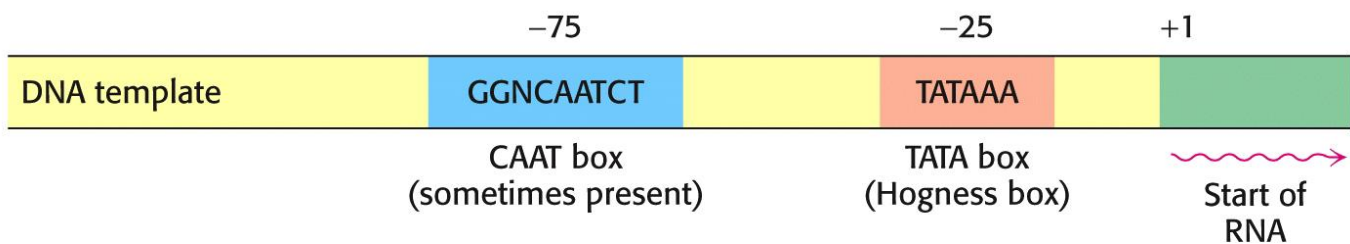
Iniciacija transkripcije



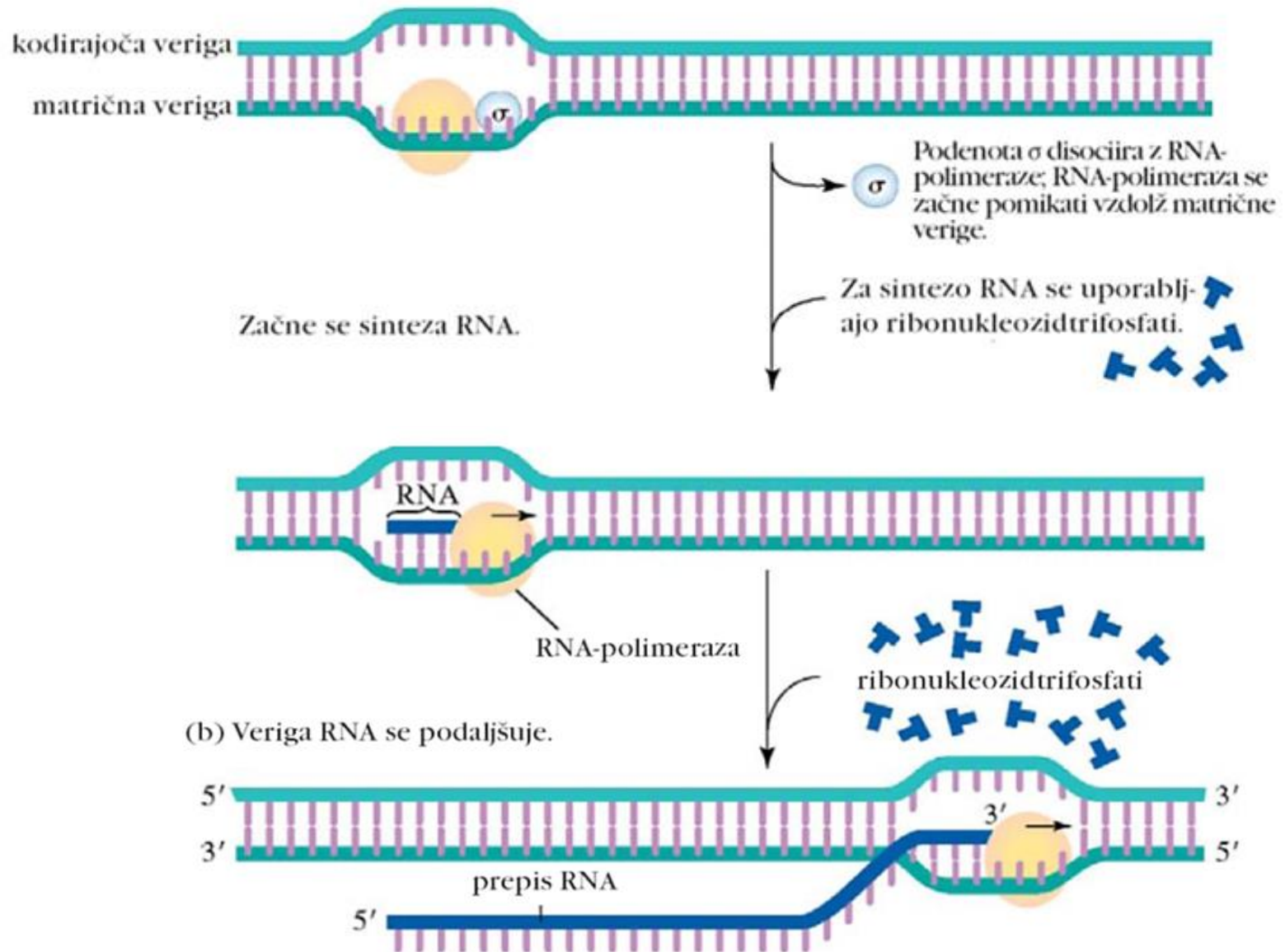
Prokarionti



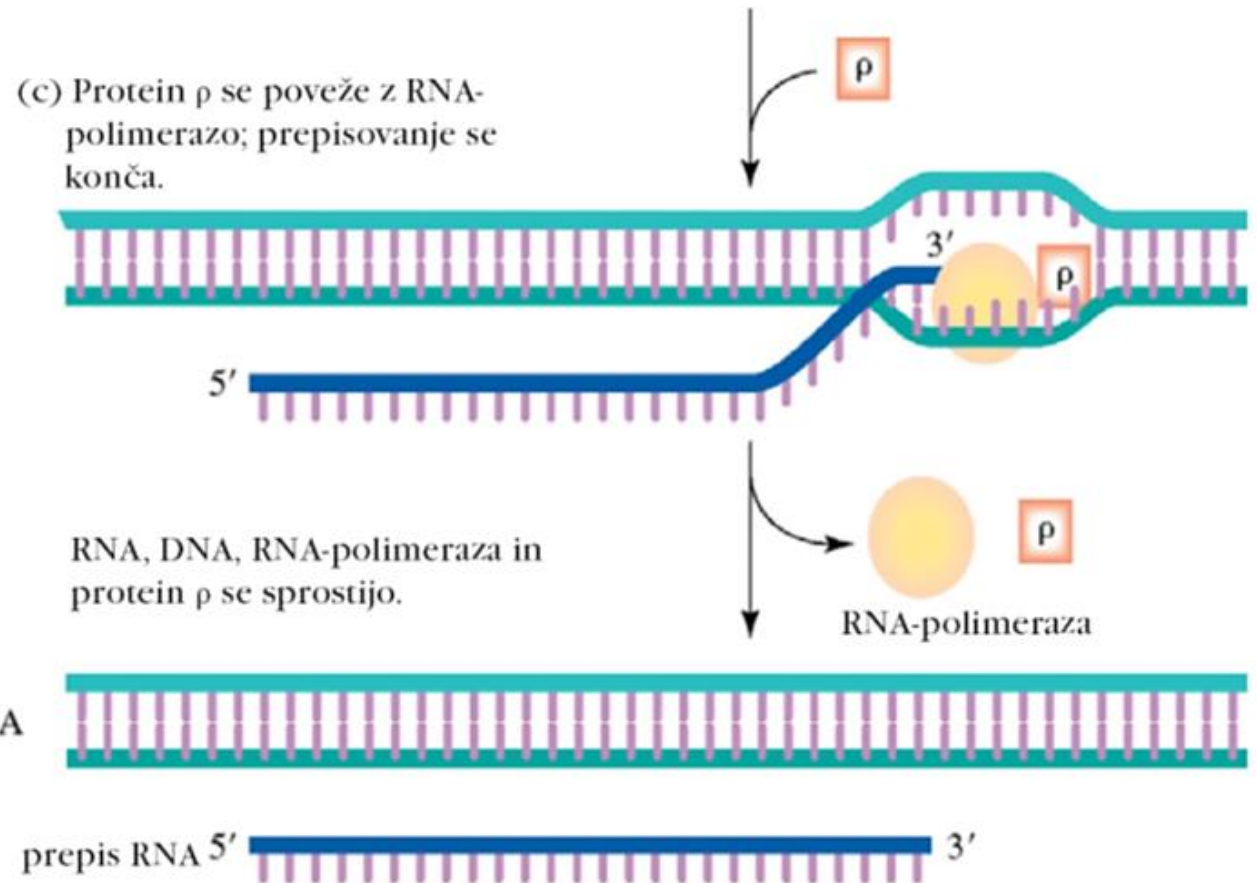
Evkarionti



Potek transkripcije



Terminacija transkripcije

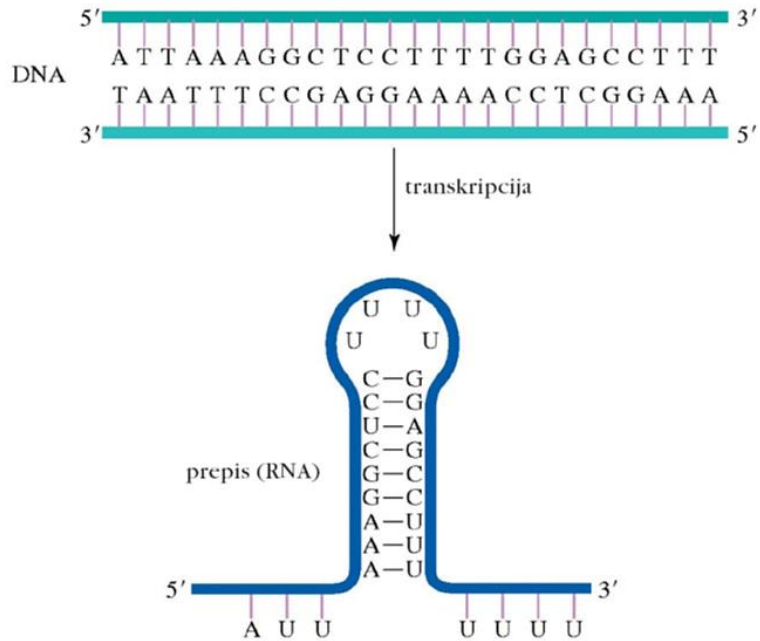


Prepisovanje se konča na določenem zaporedju DNA, ki označuje konec.

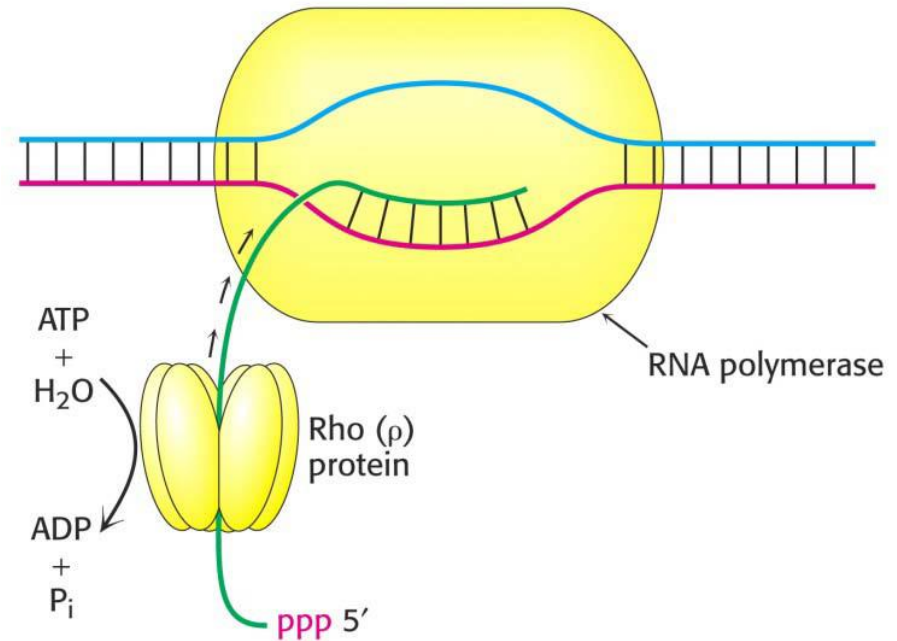
Prepisovanje se lahko konča na dva načina: s proteinom ρ ali preko tvorbe lasnične zanke v RNA.

Terminacija transkripcije

terminacija z lasnično zanko

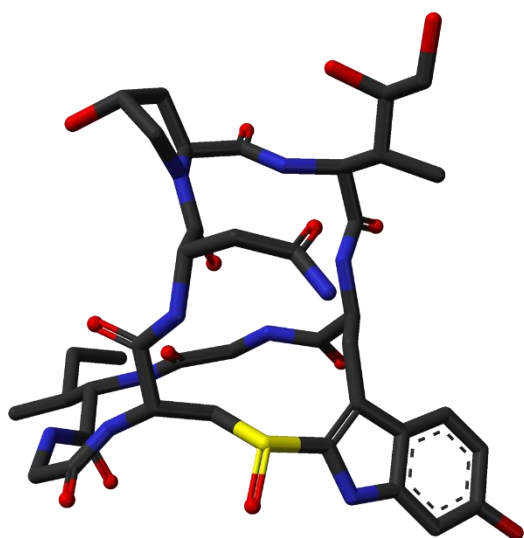
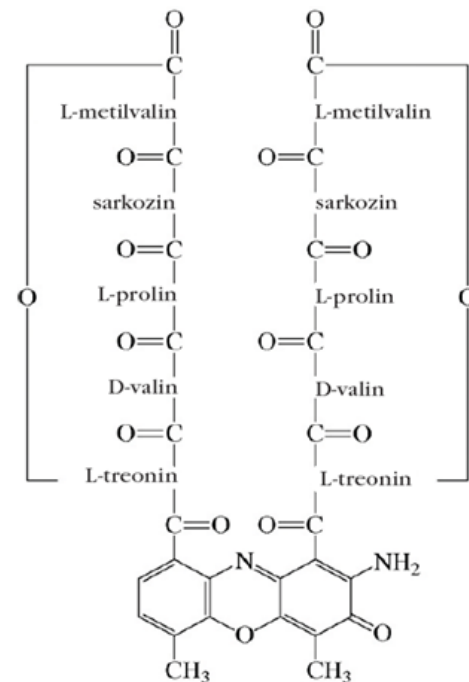
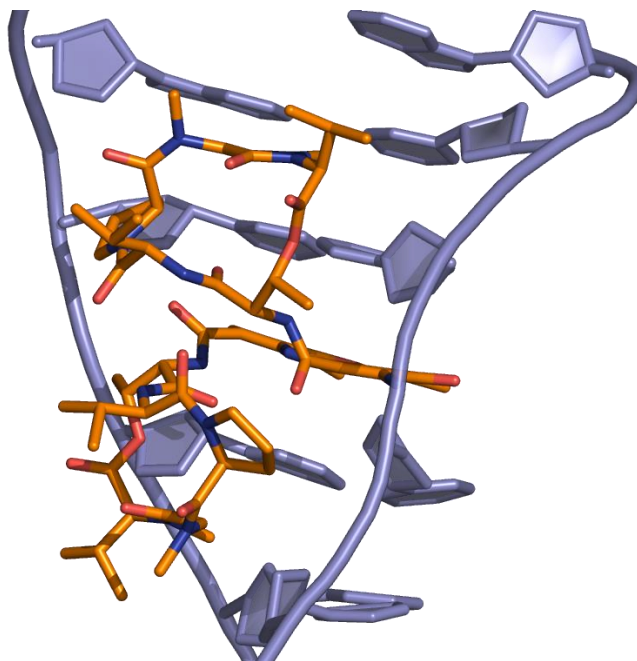


terminacija s proteinom ρ

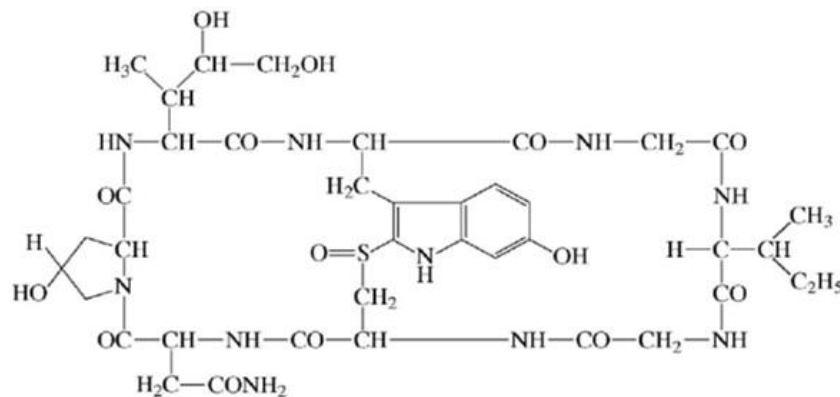


Inhibitorji transkripcije

Aktinomicin D iz talnih bakterij rodu *Streptomyces* inhibira transkripcijo, tako da se vrine v DNA. Uporablja se kot antibiotik in za kemoterapijo.



α -amanitin iz mušnice je inhibitor RNAPol II.



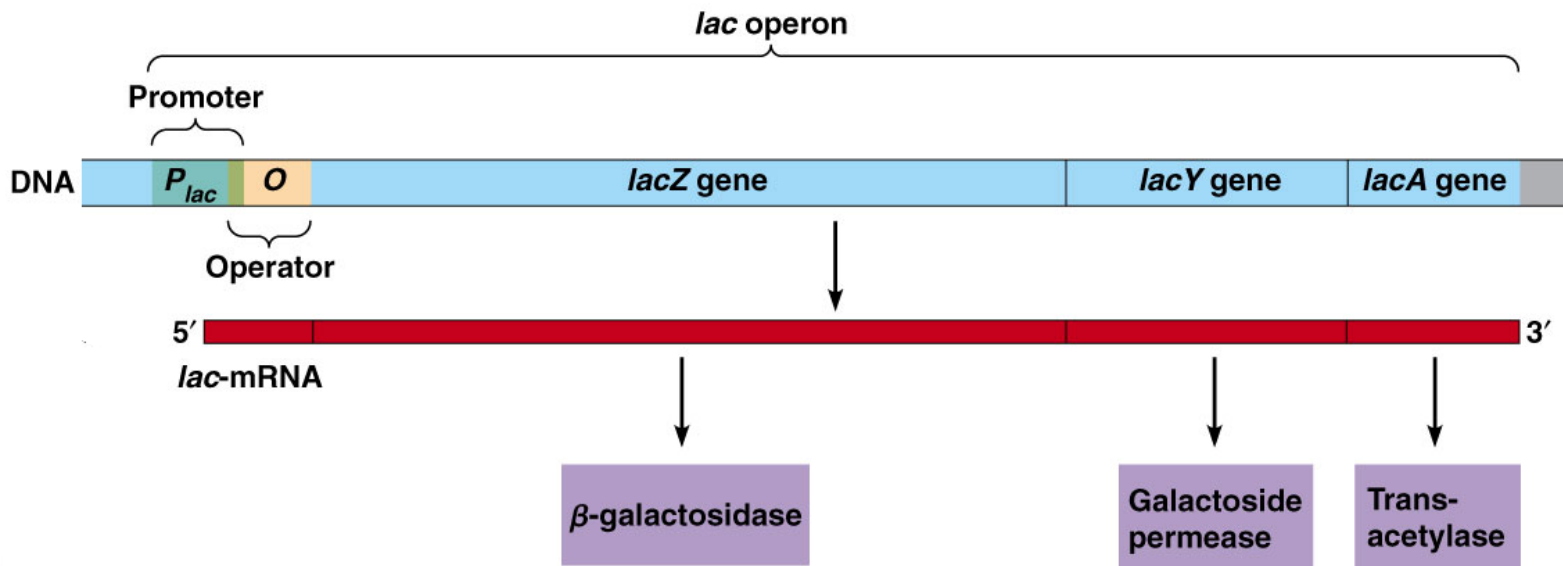
Amanita phalloides

RNA prepis

RNA prepis, ki ga dobimo kot produkt translacije, odražajo strukturo oz. organiziranost zapisa na DNA. Prepisi RNA niso nujno končna funkcionalna oblika. Najbolj izrazito je to pri prepisih, ki kodirajo za proteine, katerih je največ.

Pri prokariontih se pogosto hkrati prepíše več genov, ki kodirajo za proteine s sorodnimi funkcijami. Zaporedju genov pod kontrolo skupnega promotorja rečemo **operon**. mRNA, ki kodira za več proteinov hkrati, rečemo **policistronska**.

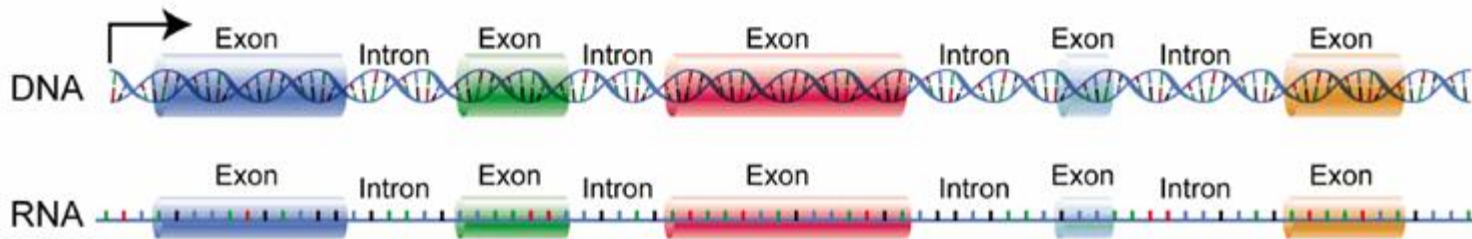
Primer: *lac* operon *E. coli* kodira za proteine, ki omogočajo uporabo laktoze kot vira energije.



RNA prepis

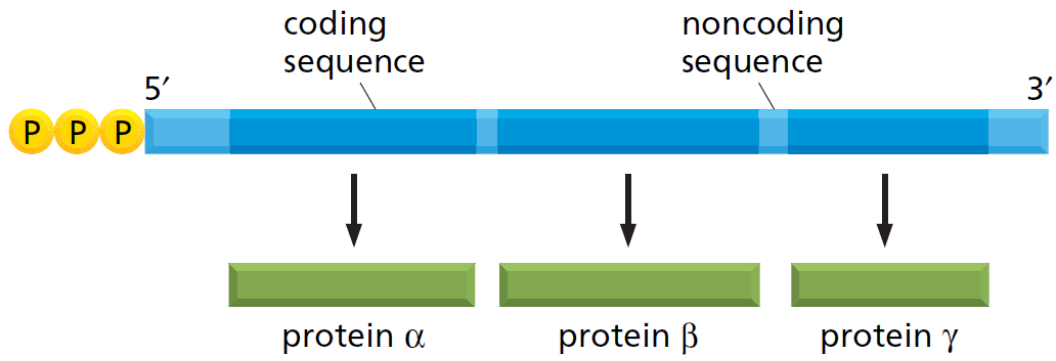
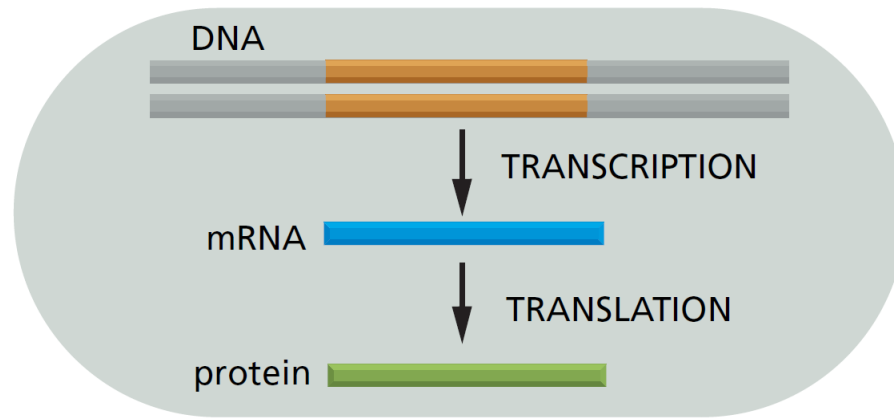
RNA prepis, ki ga dobimo kot produkt translacije, odražajo strukturo oz. organiziranost zapisa na DNA. Prepisi RNA niso nujno končna funkcionalna oblika. Najbolj izrazito je to pri prepisih, ki kodirajo za proteine, katerih je največ.

Pri evkariontih so geni sestavljeni iz alternirajočih kodirajočih delov – **eksonov** in nekodirajočih delov – **intronov**. Slednji so lahko dolgi 10 do 100.000 nt. V RNA se prepíše celoten gen in se nato preuredi tekom **zorenja RNA**.



Zorenje mRNA

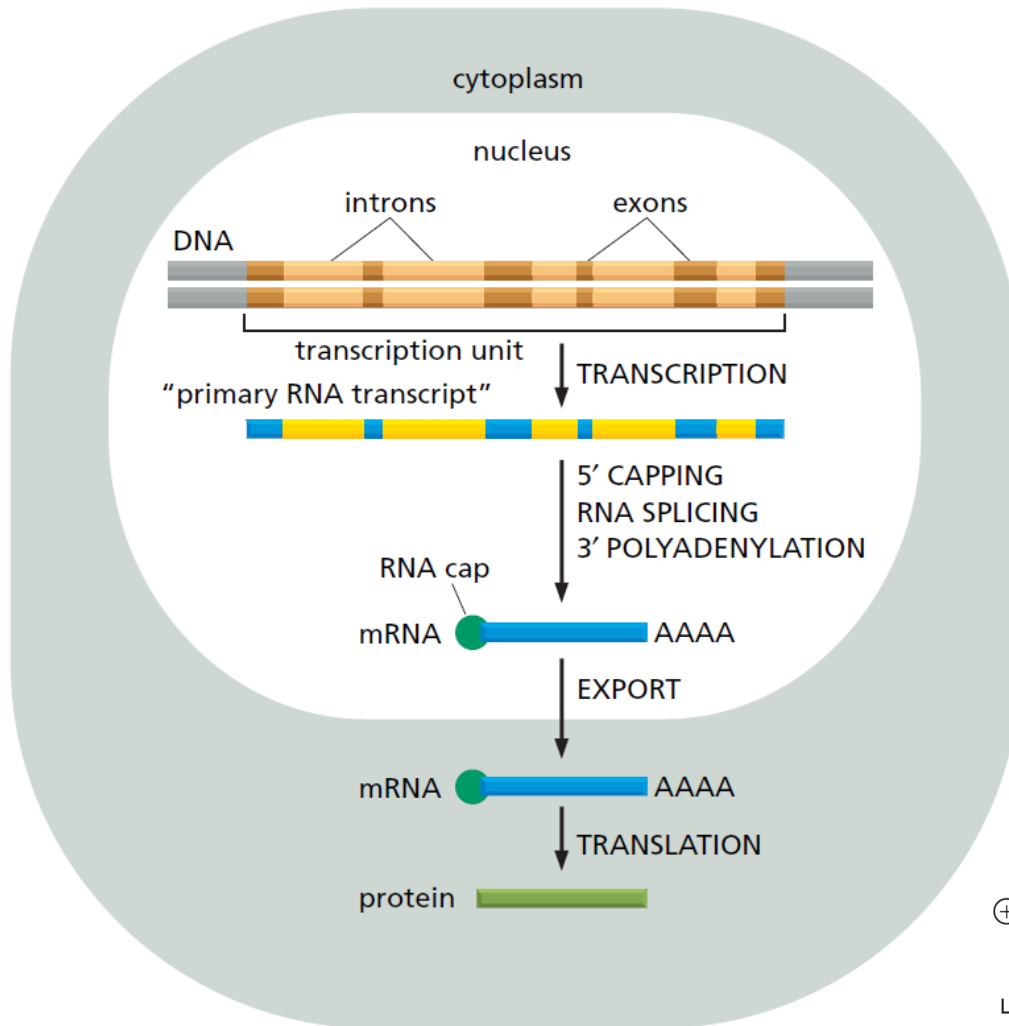
Pri prokariontih se lahko RNA prepis direktno prevede v protein(e).



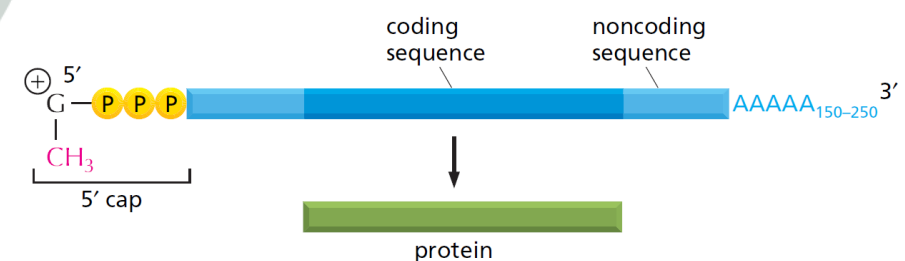
prosta trifosfatna skupina na 5' koncu

Zorenje mRNA

Pri evkariontih se RNA prepis v jedru modificira preden se izvozi v citoplazmo in prevede.

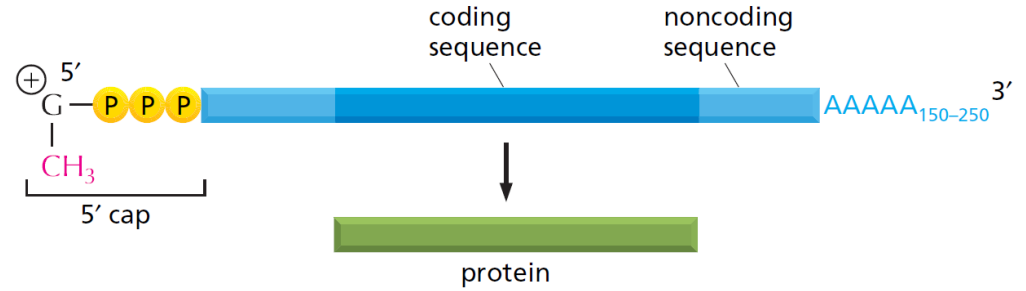
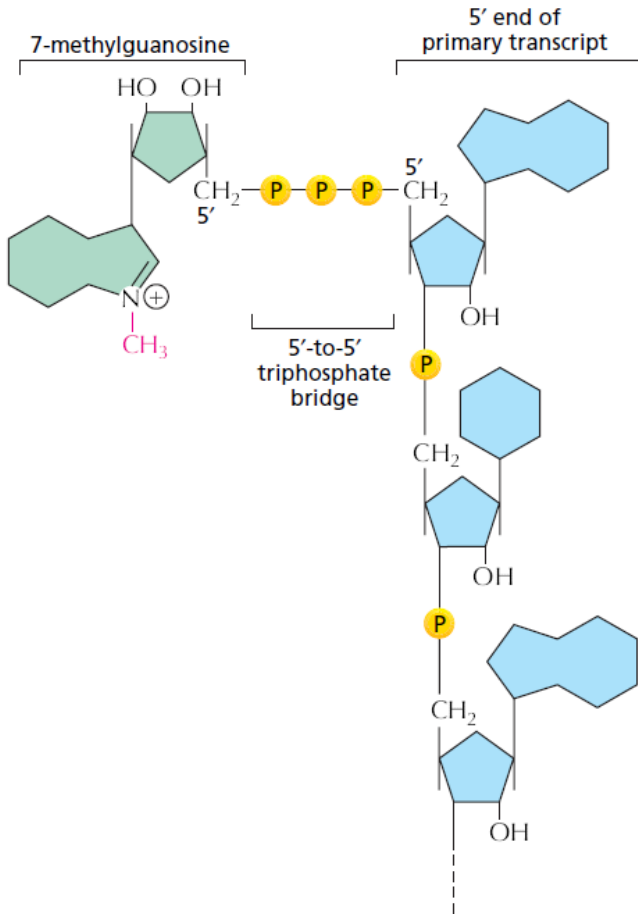


1. Dodajanje 5' kape
2. Izrezovanje intronov
3. Poliadenilacija 3' konca

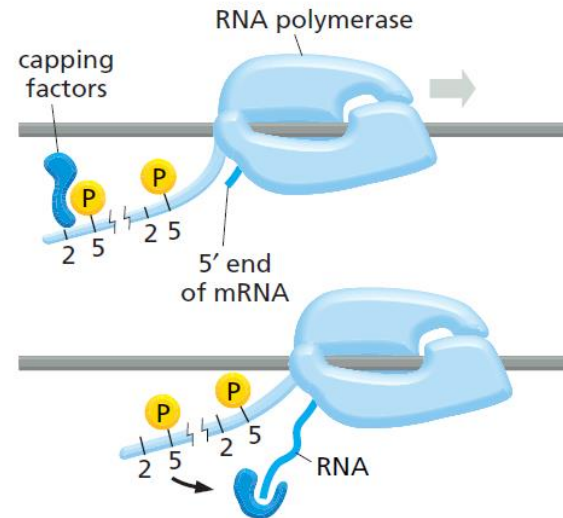


Zorenje mRNA

Struktura 5' kape:

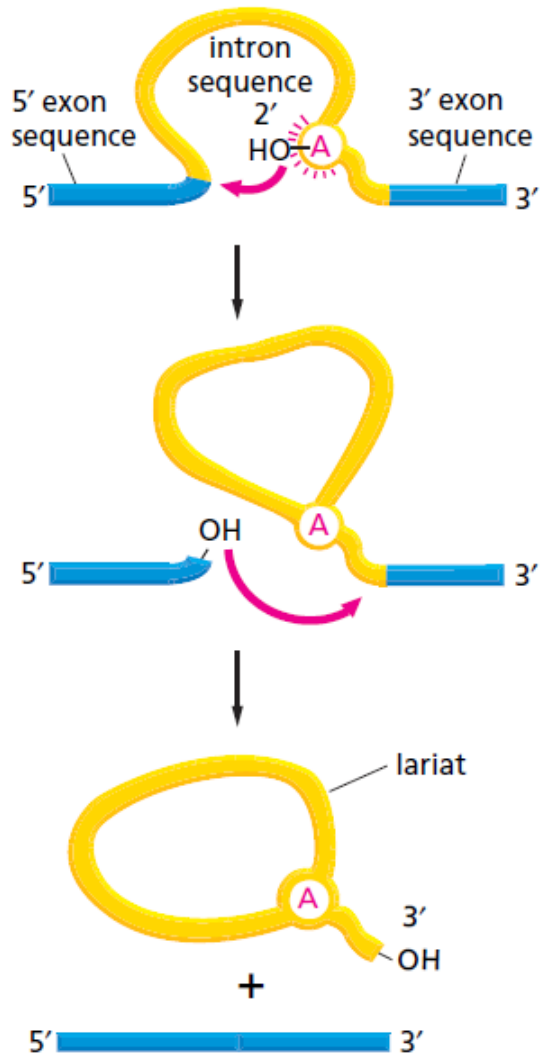


Dodajanje 7mG-kape na 5' konec RNA je prva modifikacija, ki poteče na nastajajoči RNA (ko je dolžina nastajajoče verige okoli 25 nt).

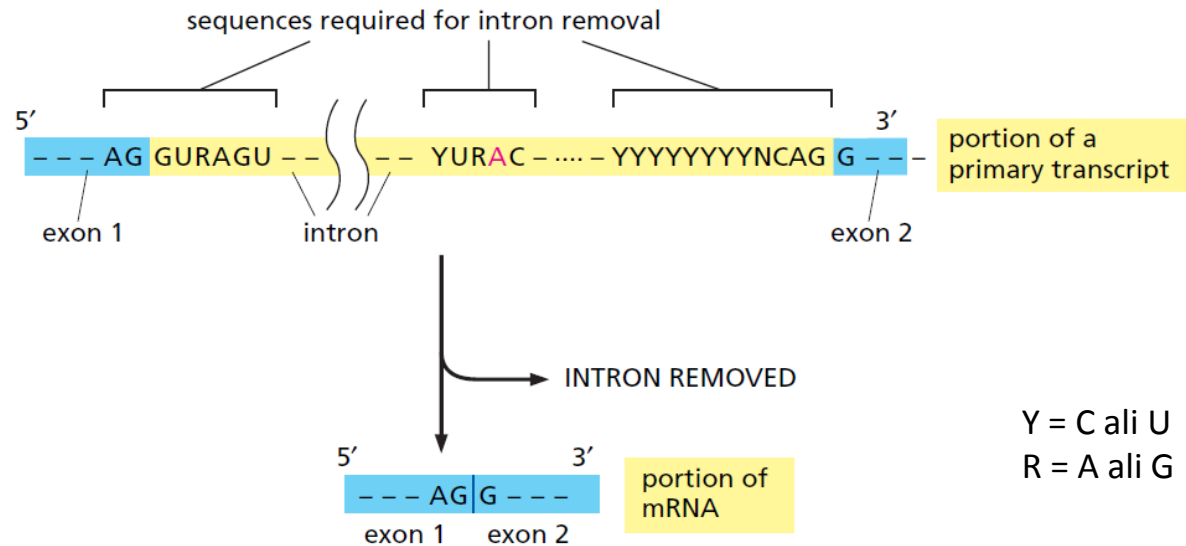


Zorenje mRNA

Izrezovanje intronov – **splicing**:



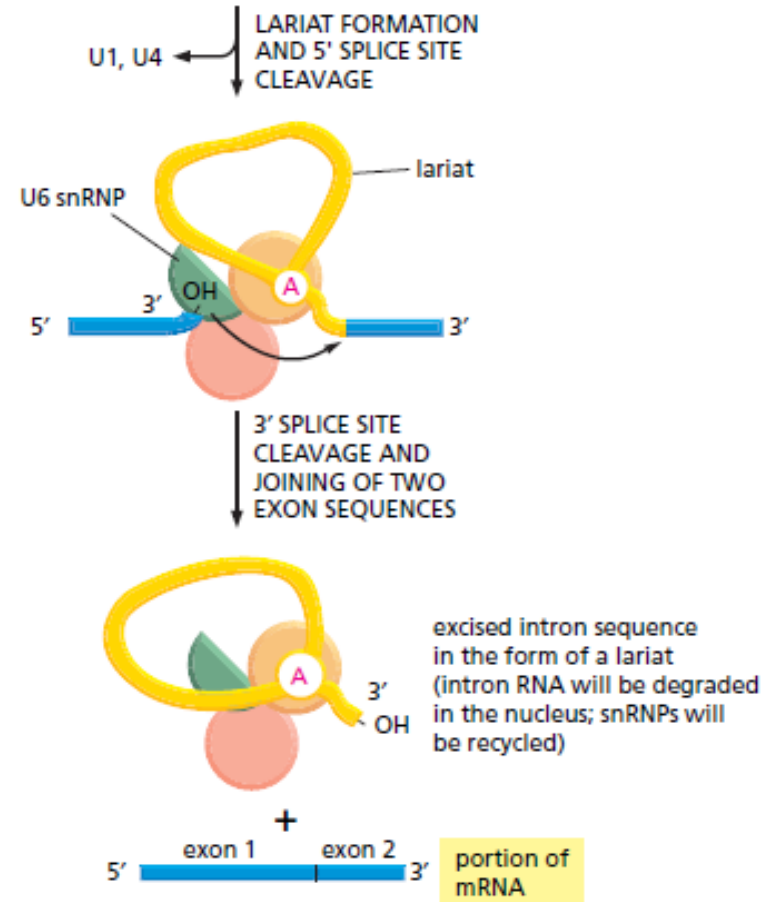
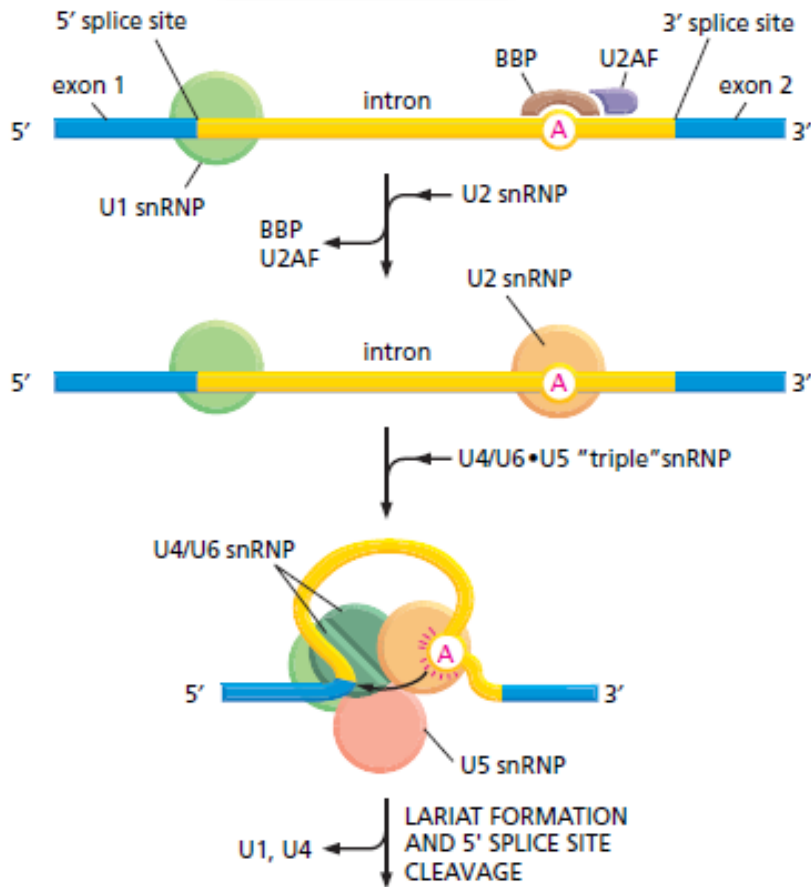
Introni se izrezujejo na točno določenih mestih:



Y = C ali U
R = A ali G

Zorenje mRNA

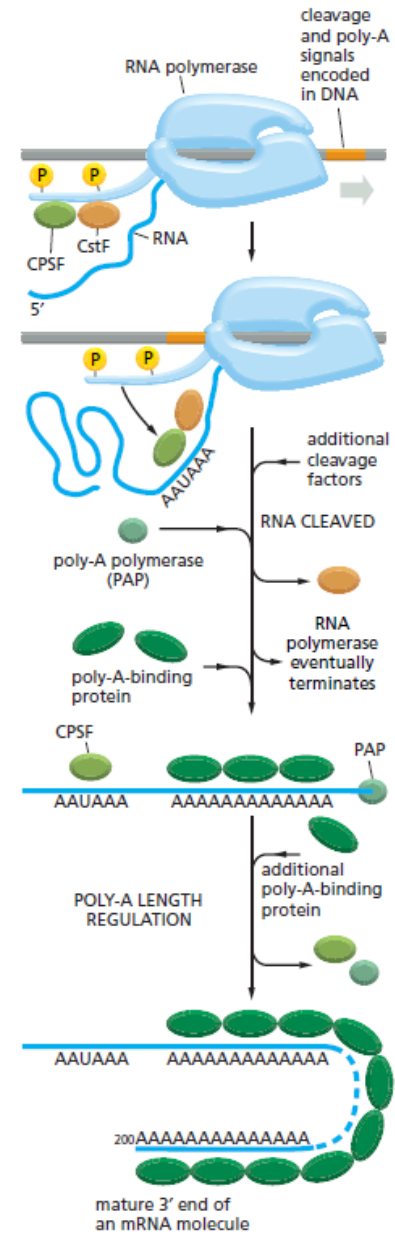
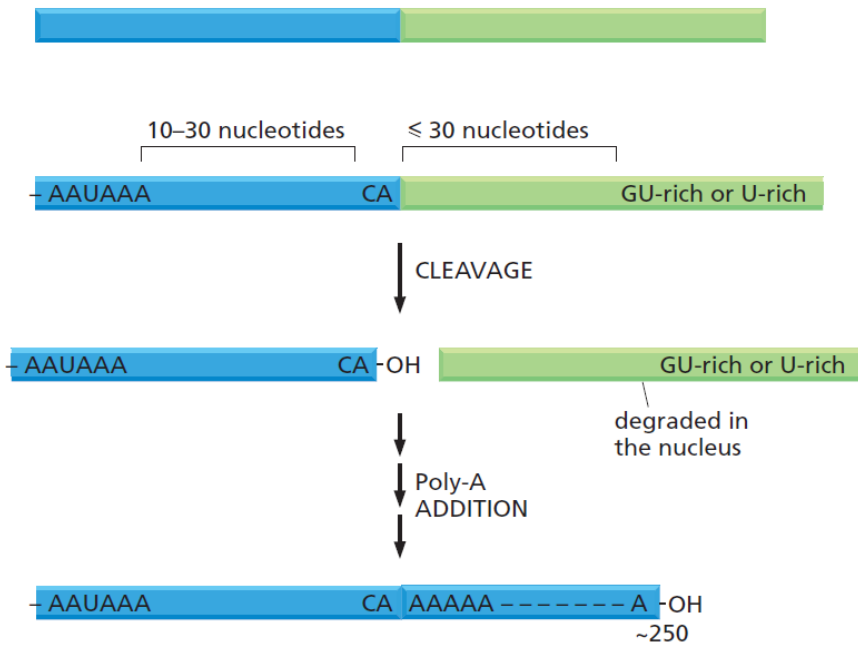
Izrezovanje intronov – **splicing**:



Kompleks snRNA in proteinov, ki katalizirajo izrezovanje intronov, imenujemo **spliceosom**.

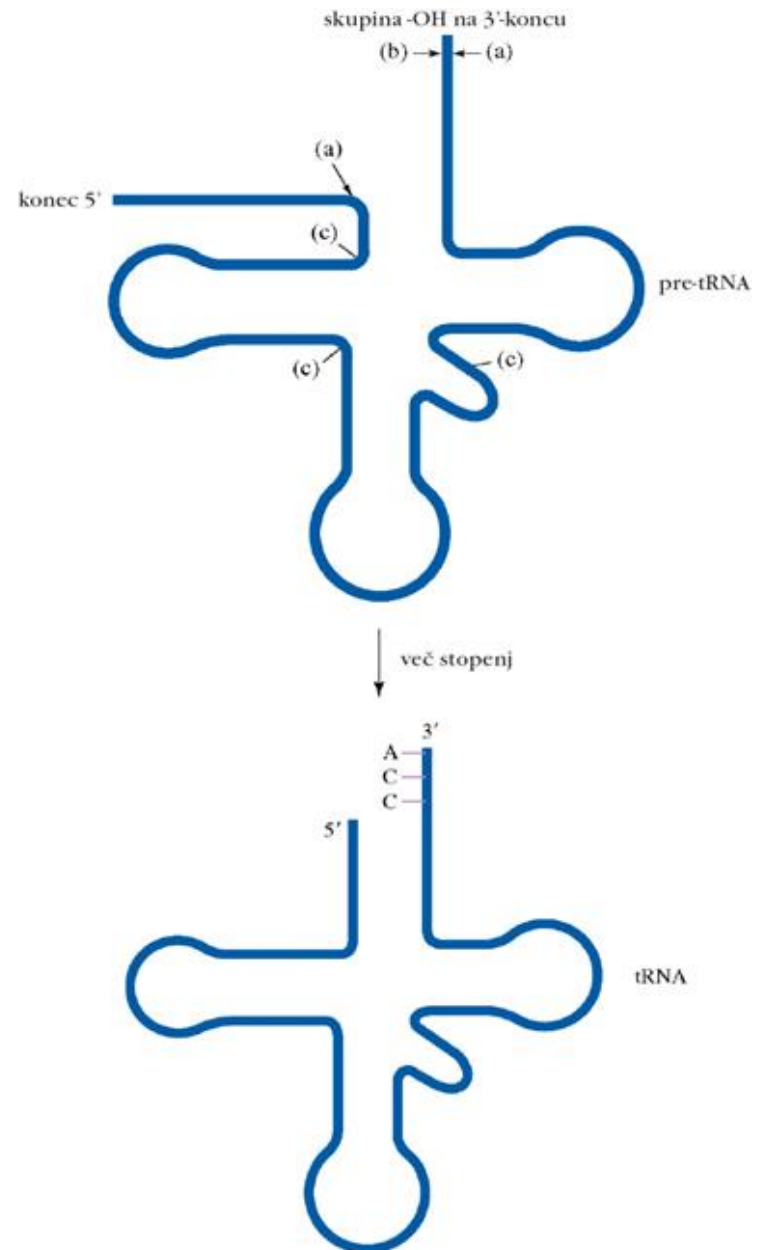
Zorenje mRNA

Poliadenilacija 3' konca:



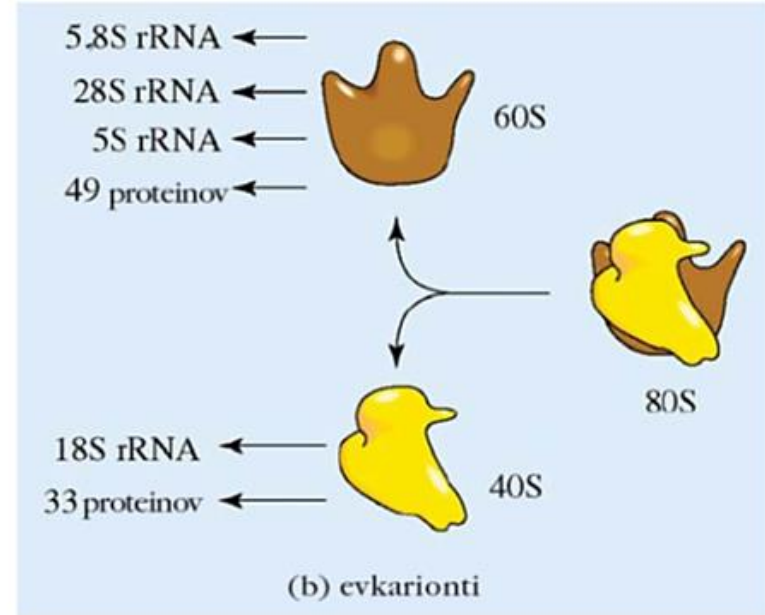
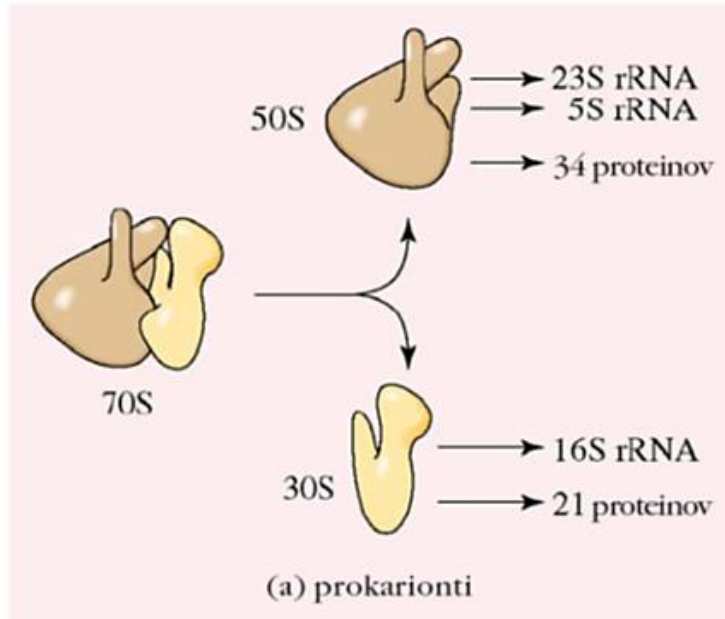
Zorenje RNA

Podobno kot mRNA se posttranskripcijsko modificirajo tudi molekule tRNA in rRNA, in sicer tako pri evkariontih kot tudi pri prokariontih.



Prevajanje RNA

Prevajanje RNA v proteine poteka v citosolu na ribosomih.



značilnost	celotni ribosom	velika podenota	mala podenota
sedimentacijski količnik	70 S	50 S	30 S
molekulska masa (kDa)	2 520	1 590	930
vsebnost RNA	66 %	23 S (2 904 baze) 5 S (120 baz)	16 S (1 542 baz)
vsebnost proteinov	34 %	34 različnih proteinov	21 različnih proteinov

Kako ribosom bere mRNA? Kako sintetizira protein?

Genetski kod

RNA se prevaja skladno z genetskim kodom. Kodon je kombinacija treh baz, ki kodira za točno določen aminokislinski ostanek.

		druga baza kodona				
		U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U	
	UUC } Leu		UAC } Tyr	UGC } Cys	C	
	UUA } Leu		UAA } Stop	UGA } Stop	A	
	UUG } Leu		UAG } Stop	UGG } Trp	G	
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U	
	CUC } Leu		CAC } His	CGC } Arg	C	
	CUA } Leu		CAA } Gln	CGA } Arg	A	
	CUG } Leu		CAG } Gln	CGG } Arg	G	
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U	
	AUC } Ile		AAC } Asn	AGC } Ser	C	
	AUA } Met		AAA } Lys	AGA } Arg	A	
	AUG } Met		AAG } Lys	AGG } Arg	G	
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U	
	GUC } Val		GAC } Asp	GGC } Gly	C	
	GUA } Val		GAA } Glu	GGA } Gly	A	
	GUG } Val		GAG } Glu	GGG } Gly	G	

Opomba: V tabeli so poudarjeni startni kodon - AUG in stop-kodoni UAA, UAG ter UGA.
Vir: Prevzeto iz Wolfe, S.L., 1993, Molecular and Cellular Biology, Wadsworth Publishing

Degeneriranost = več kodonov za isto AK

Univerzalnost = genetski kod je pri vseh organizmih enak

Prevajanje se začne pri prvem AUG kodonu in nato dalje po tripletih (kodonih) do stop kodona.

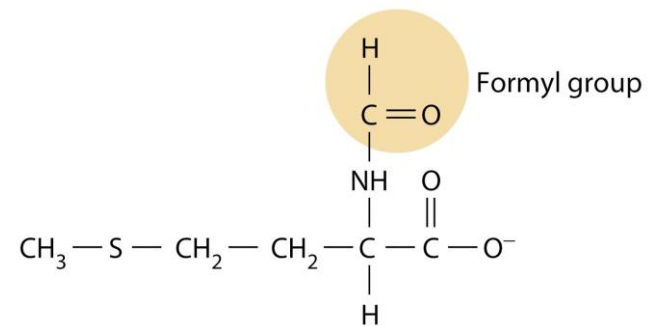
Bralni okvirji

Ribosom se veže na vezavno mesto in potuje po mRNA v smeri od 5' proti 3' koncu. Sinteza proteina se začne pri prvem AUG kodonu in se nadaljuje v istem **bralnem okvirju** do STOP kodona. Sinteza poteka v smeri od N-konca proti C-koncu proteina.

5' - CUUUAAGAAGGAGAUAUACCAUGGGCAGCAGCCAUCAUCAUCAU
MetGlySerSerHisHisHisHis

CAUCACAGCAGCGGCUGAGAUC CGGCUGCUAACAAA - 3'
HisHisSerSerGlySTP

Pri bakterijah je prva AK vedno formil-Met.



Bralni okvirji

Ribosom se veže na vezavno mesto in potuje po mRNA v smeri od 5' proti 3' koncu. Sinteza proteina se začne pri prvem AUG kodonu in se nadaljuje v istem **bralnem okvirju** do STOP kodona.

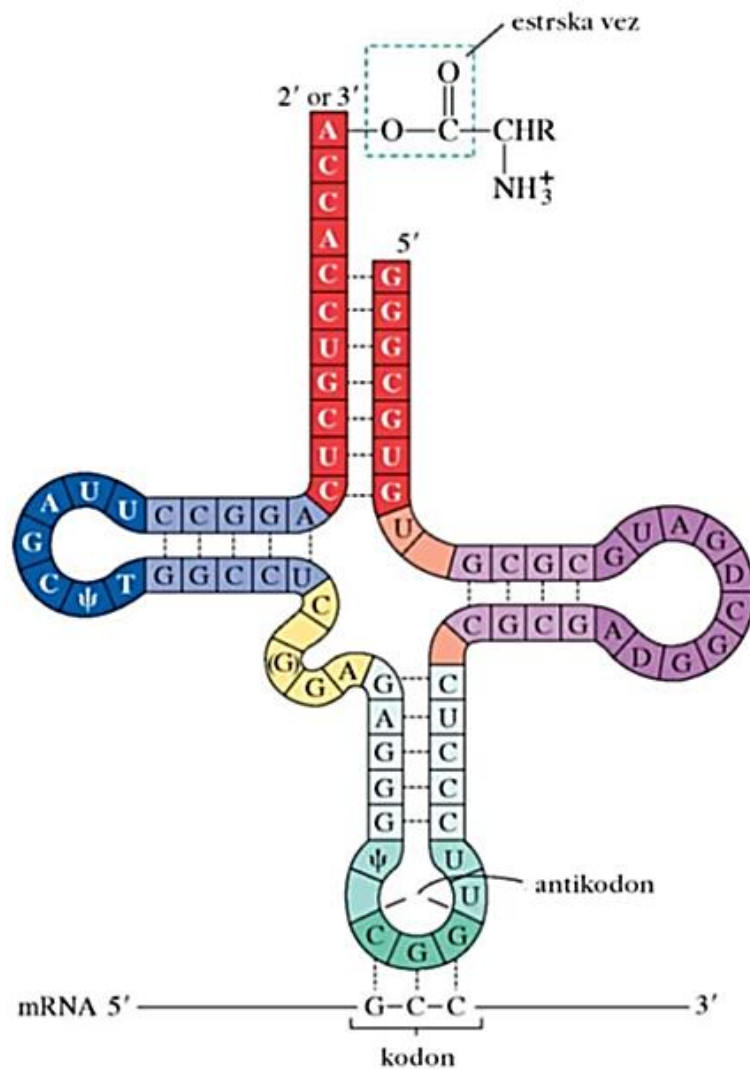
```
5' - CUUUAAGAAGGAGAUAUACCAUGGGCAGCAGCCAUCAUCAUCAU
      LeuArgArgArgTyrThrMetGlySerSerHisHisHisHis
      PheLysLysGluIleTyrHisGlyGlnGlnProSerSerSer
      LeuSTPGluGlyAspIleProTrpAlaAlaAlaIleIleIle

      CAUCACAGCAGCGGCUGAGAUCCGGCUGCUAACAAA-3'
      HisHisSerSerGlySTPAspProAlaAlaAsnLys
      SerSerGlnGlnArgLeuArgSerGlyCysSTPGln
      IleIleThrAlaAlaAlaGluIleArgLeuLeuThr
```

Odprt bralni okvir – zaporedje, ki se začne se z Met in konča s stop kodonom

Aminoacil-tRNA

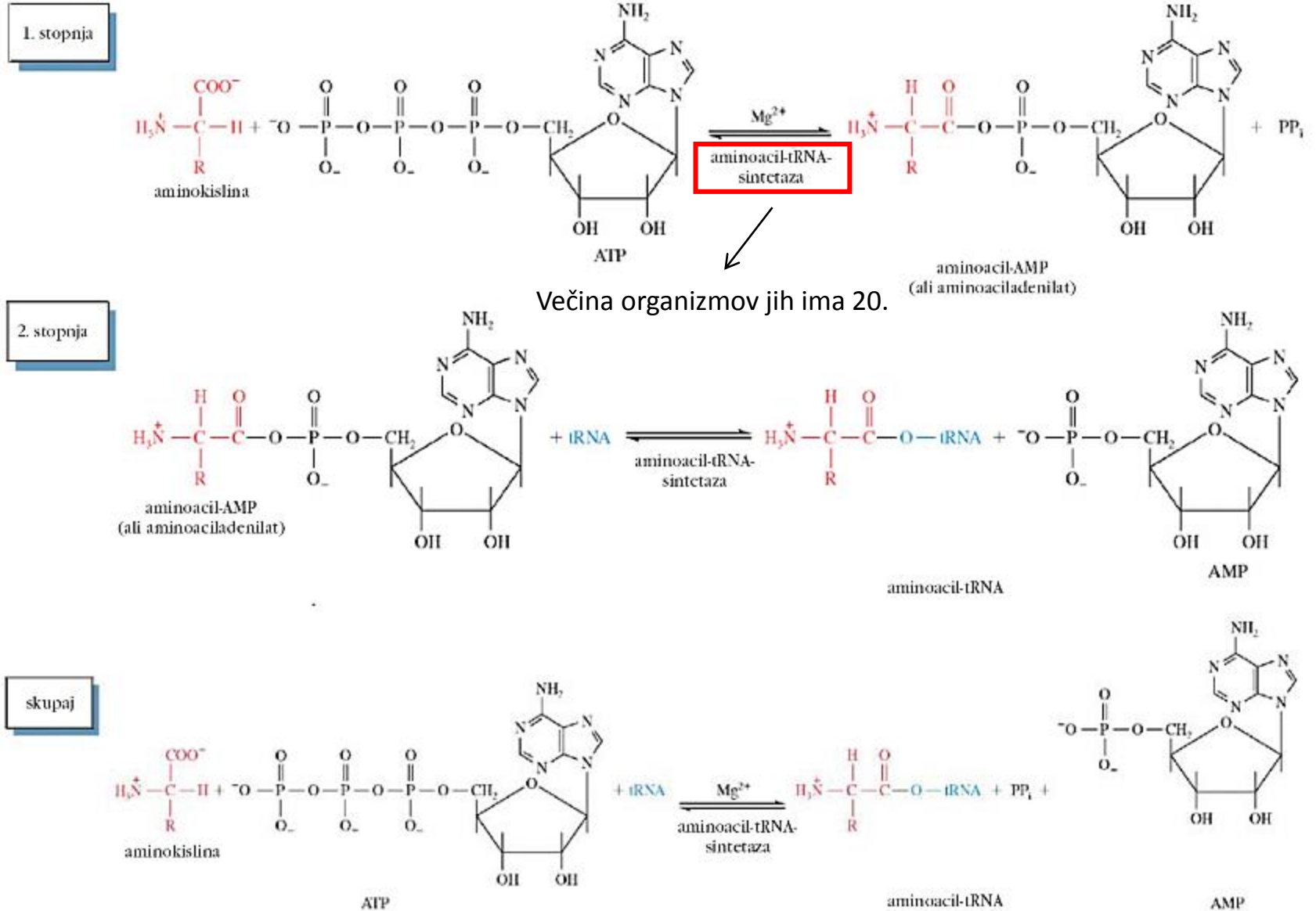
Aminokisljine za sintezo proteinov so v obliki molekul aminoacil-tRNA.



Tretja pozicija antikodona je lahko degenerirana

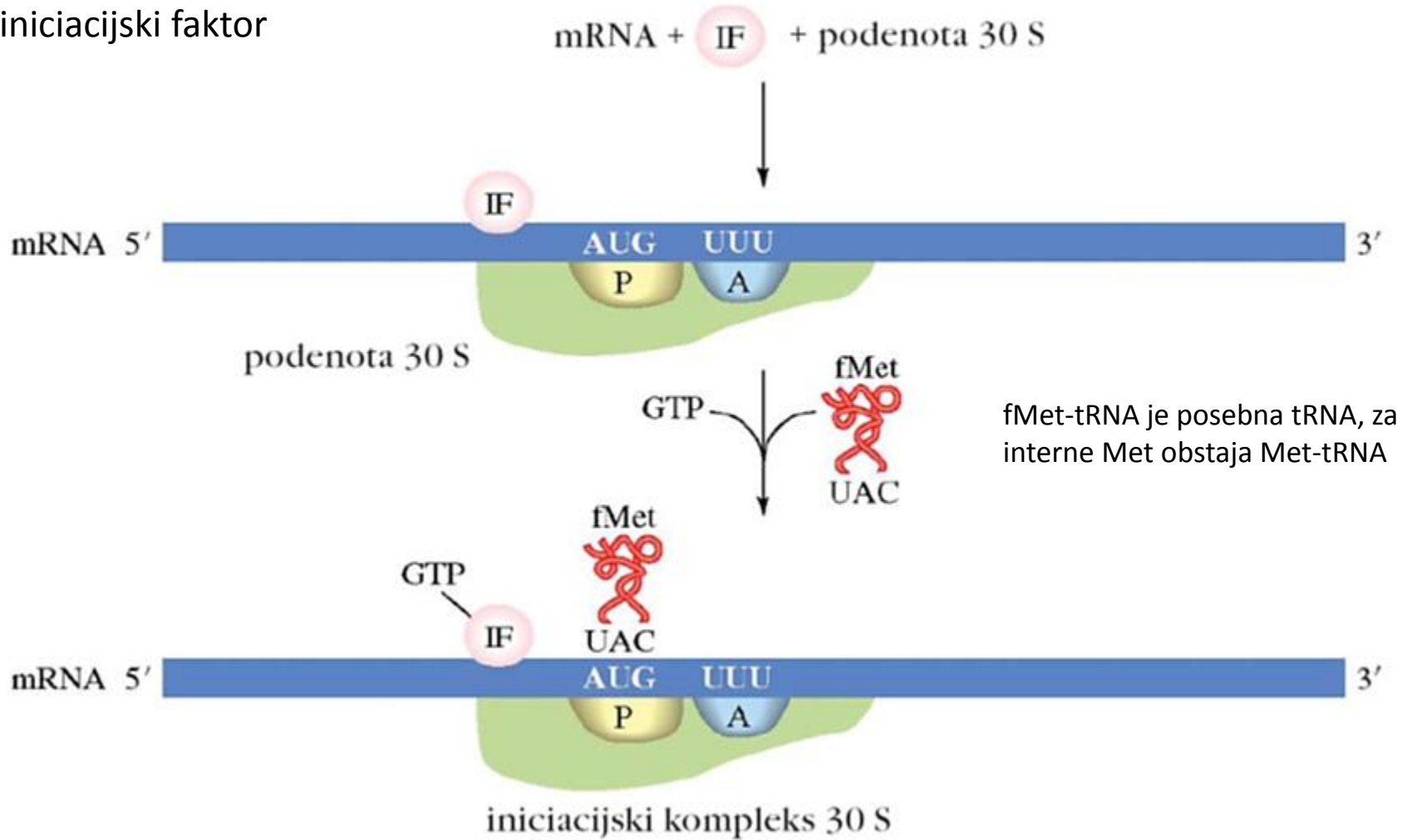
Aminoacil-tRNA

Sinteza aminoacil-tRNA molekul:

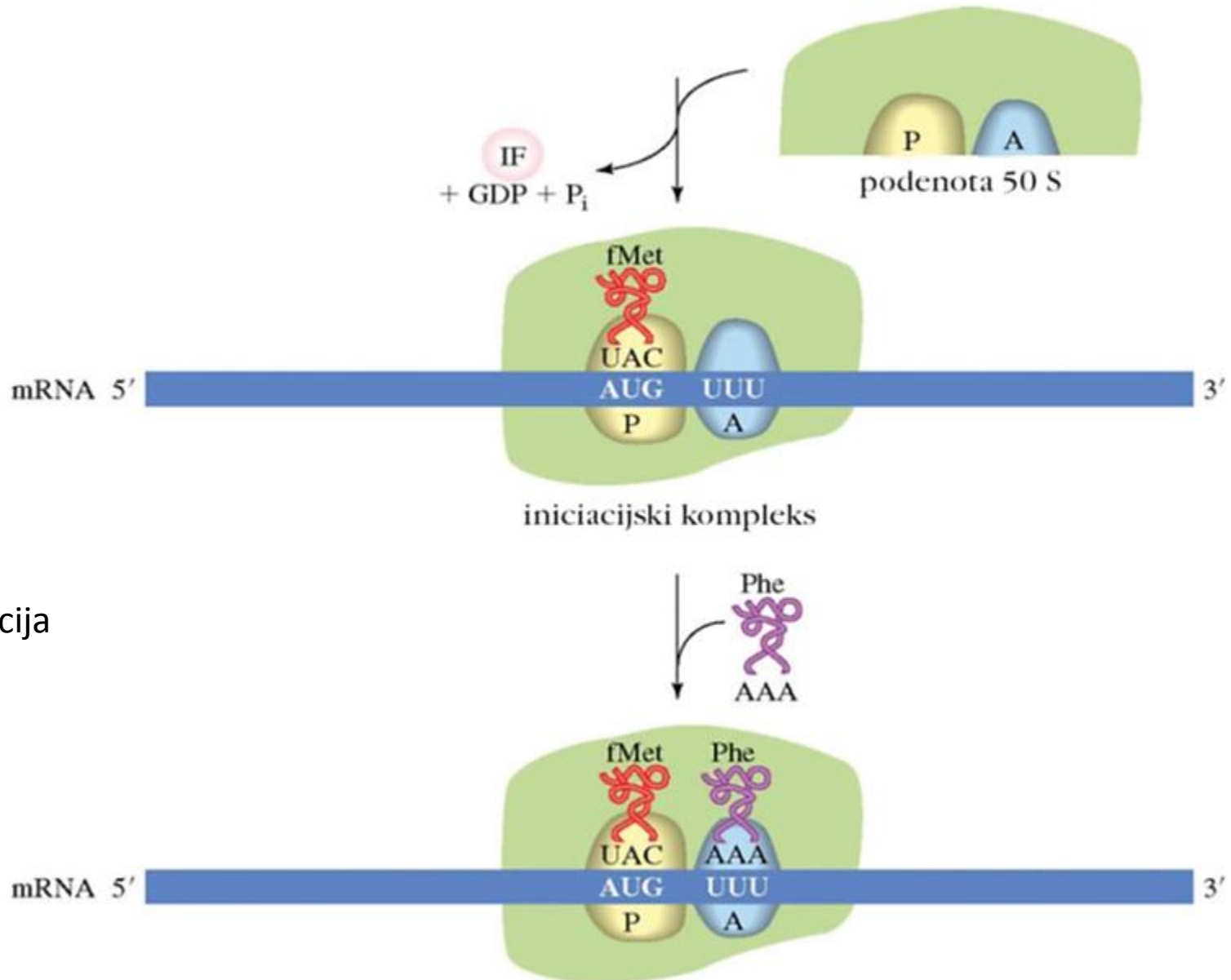


Potek translacije - iniciacija

IF = iniciacijski faktor

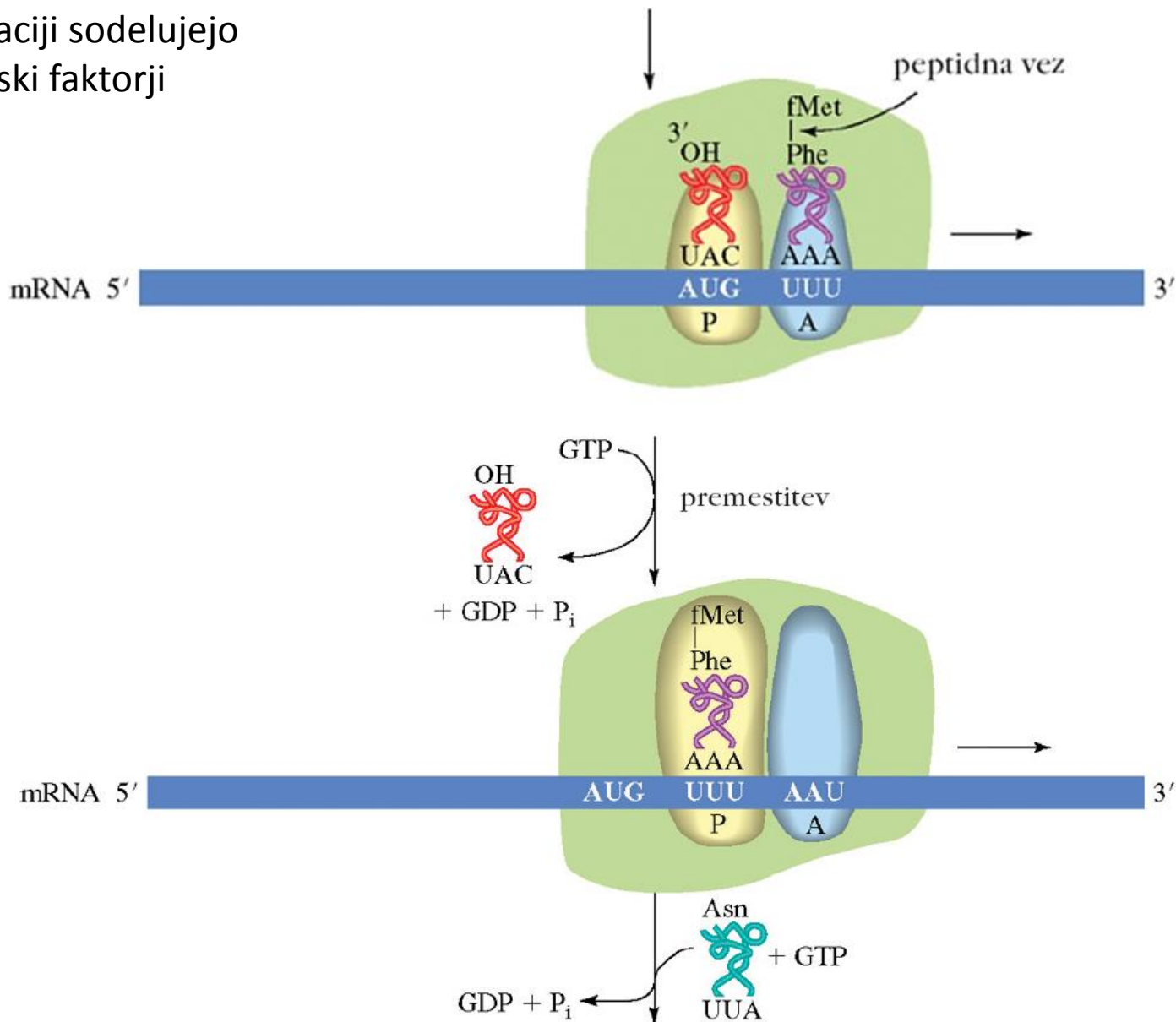


Potek translacije – iniciacija → elongacija

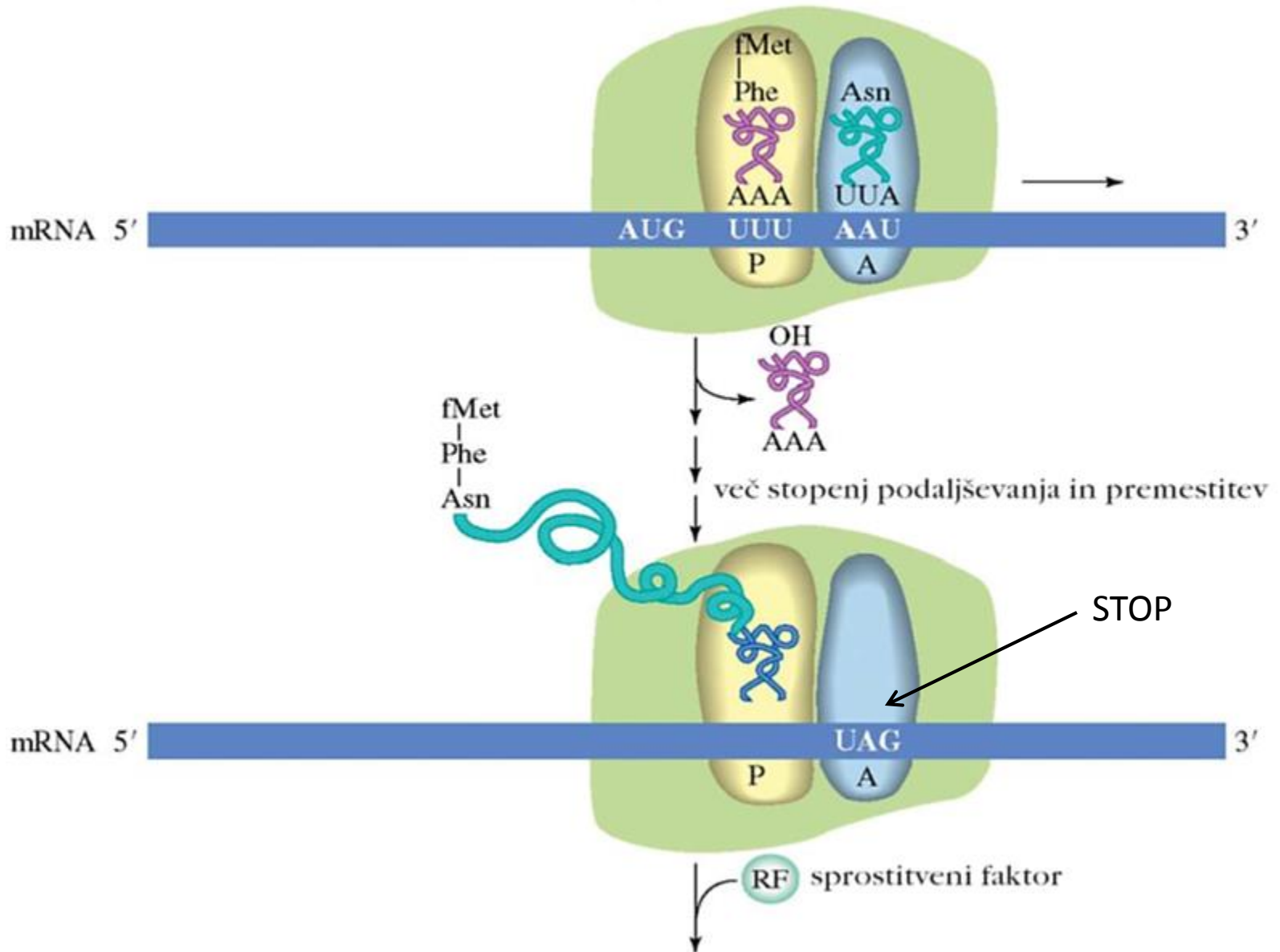


Potek translacije – elongacija

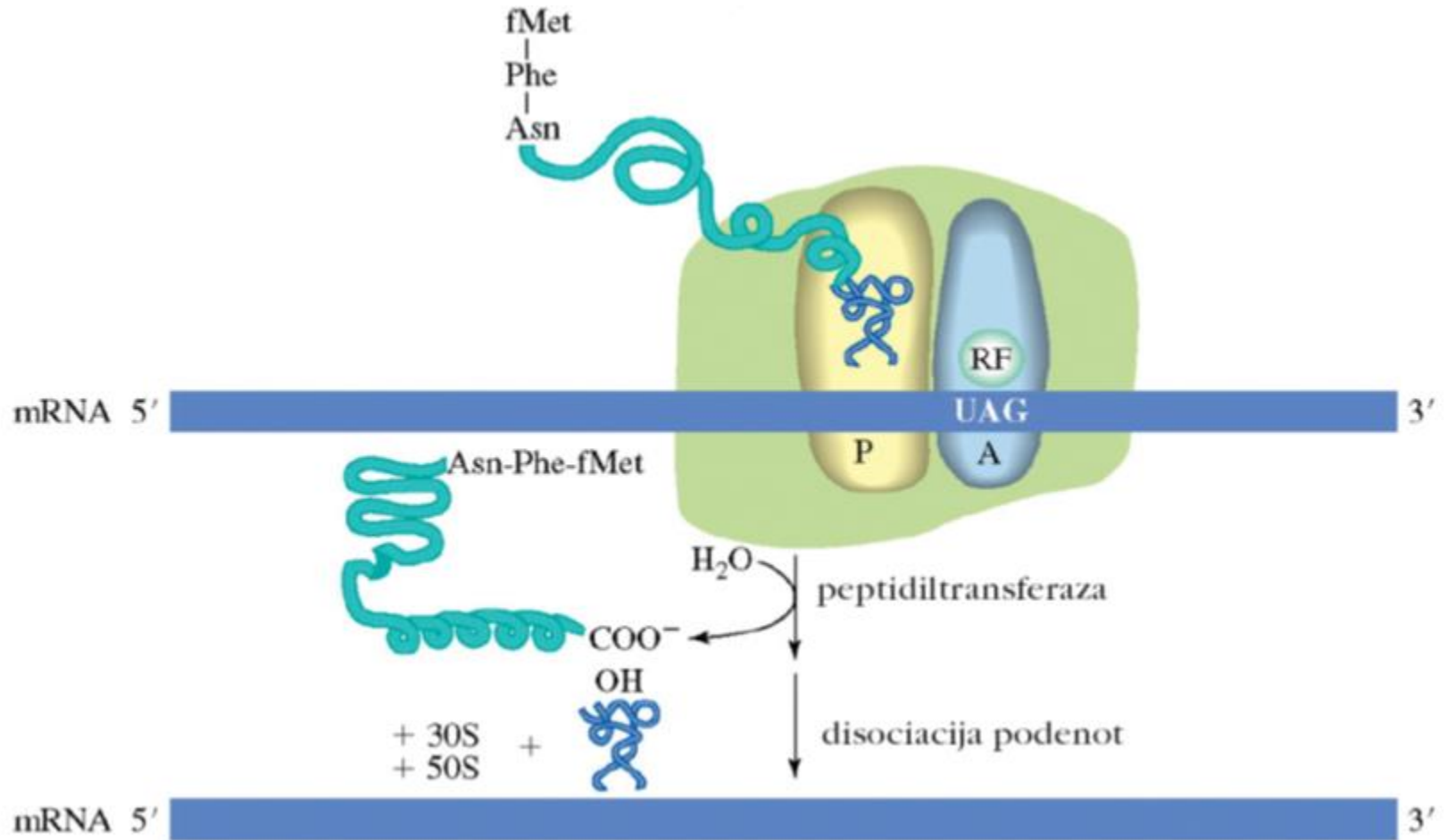
Pri elongaciji sodelujejo elongacijski faktorji



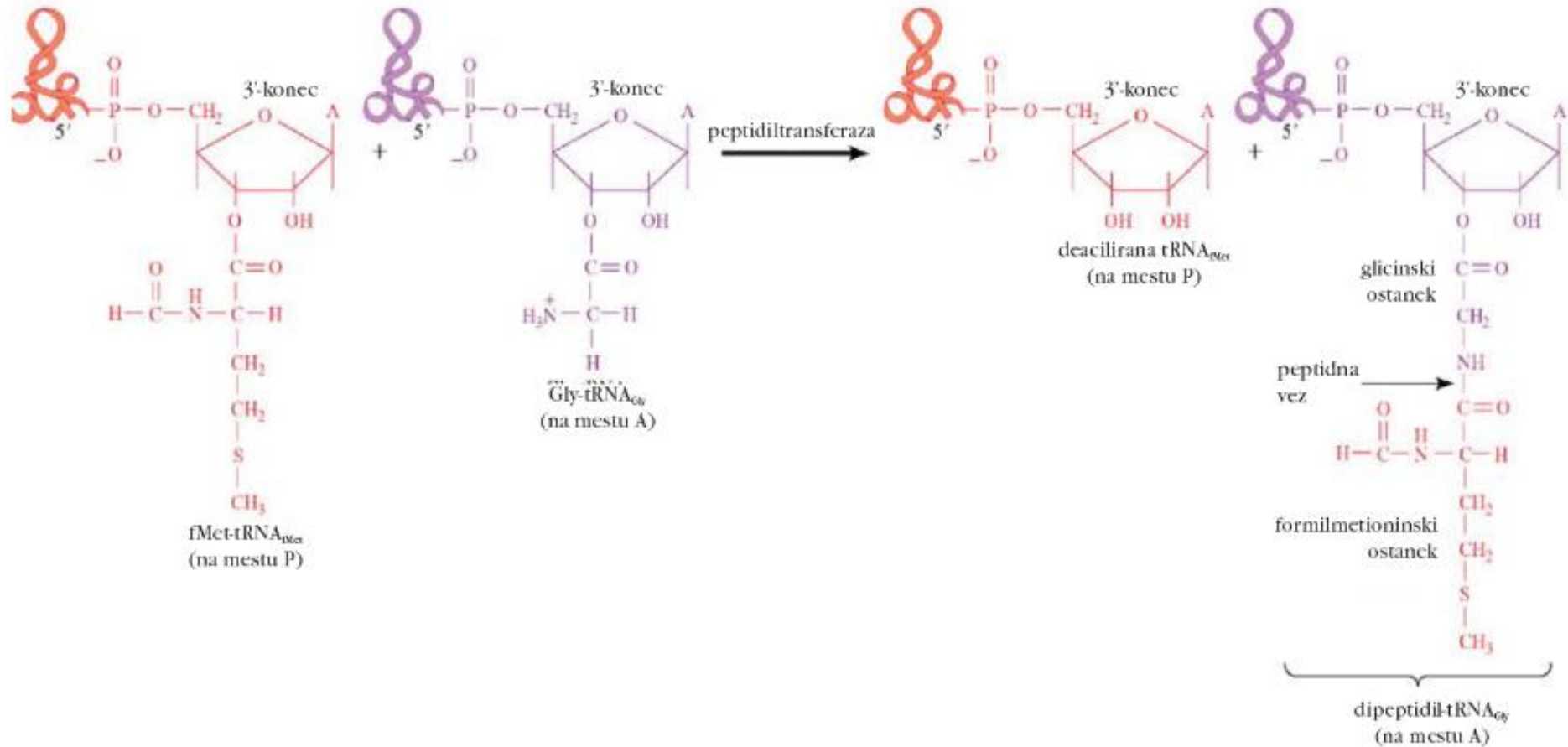
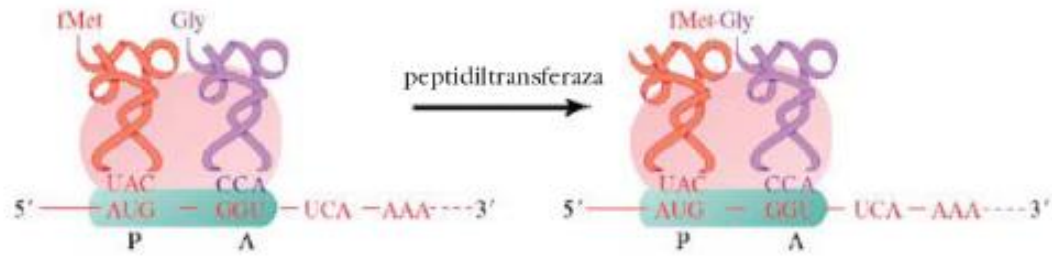
Potek translacije – elongacija



Potek translacije – terminacija



Tvorba peptidne vezi



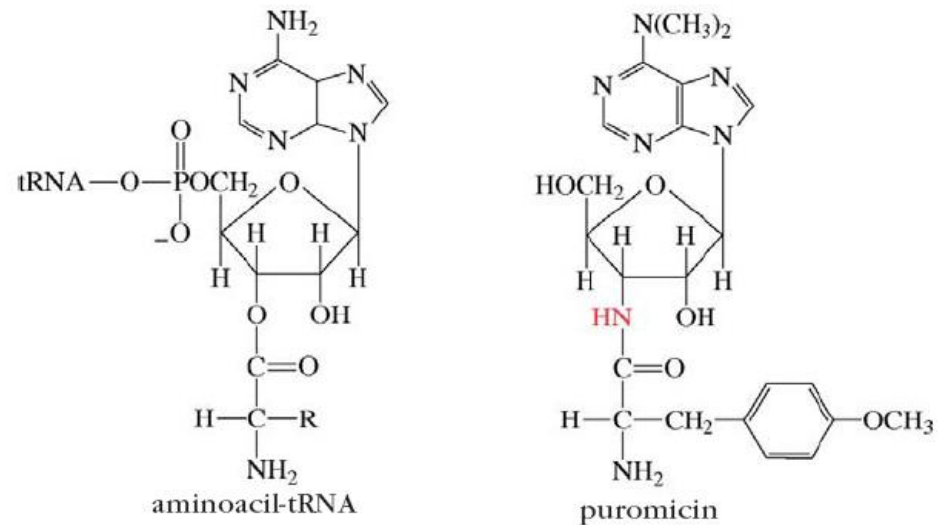
Energijska bilanca sinteze proteinov

Potrebna energija za sintezo proteinov

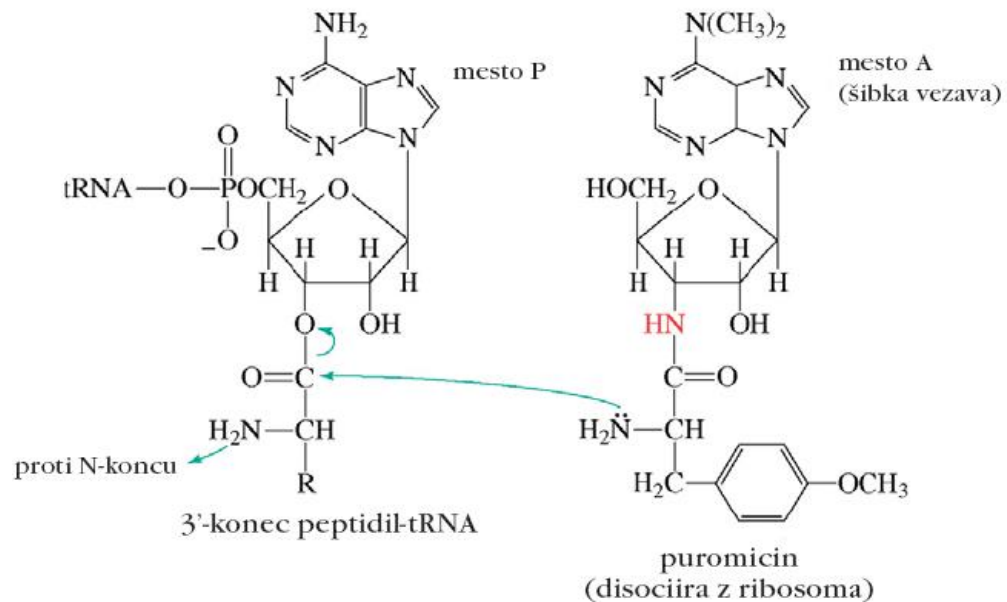
proces	reakcija	število razcepljenih fosfoanhidridnih vezi
1. izbor in aktivacija aminokislinae	aminokislina + tRNA → aminoacil-tRNA	
	ATP → AMP + PP _i	1
	PP _i + H ₂ O → 2 P _i	1
2. vstop aminoacil-tRNA na mesto A na ribosomu	GTP + H ₂ O → GDP + P _i	1
3. premestitev	GTP + H ₂ O → GDP + P _i	1
	skupaj:	4

Inhibitorji sinteze proteinov

Puromicin je antibiotik iz bakterij rodu *Streptomyces*. Veže se na A mesto ribosoma in povzroči prezgodnjo terminacijo translacije.

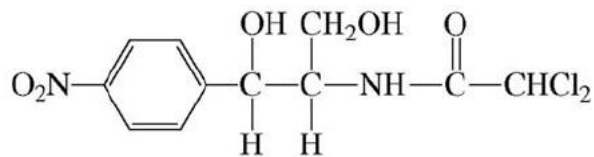


(a)

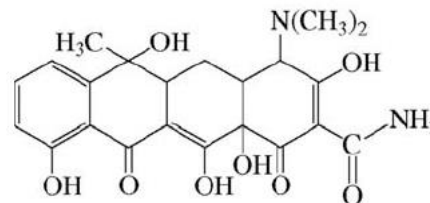


Inhibitorji sinteze proteinov

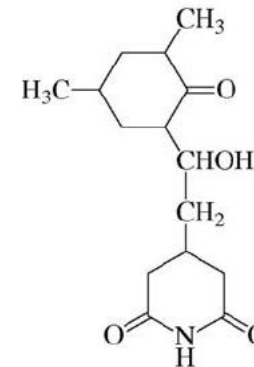
Kot inhibitorji sinteze proteinov delujejo tudi nekateri drugi antibiotiki.



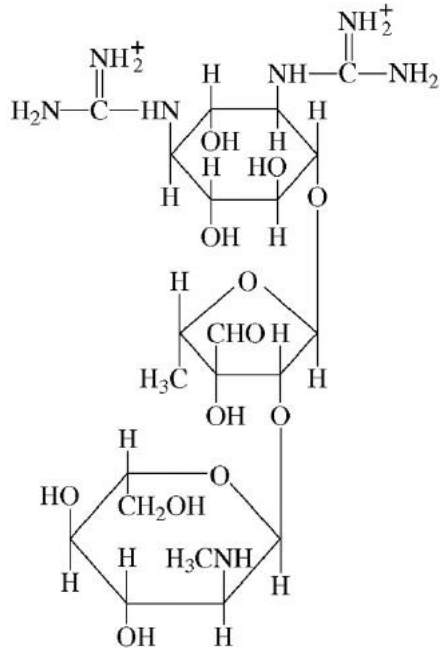
kloramfenikol



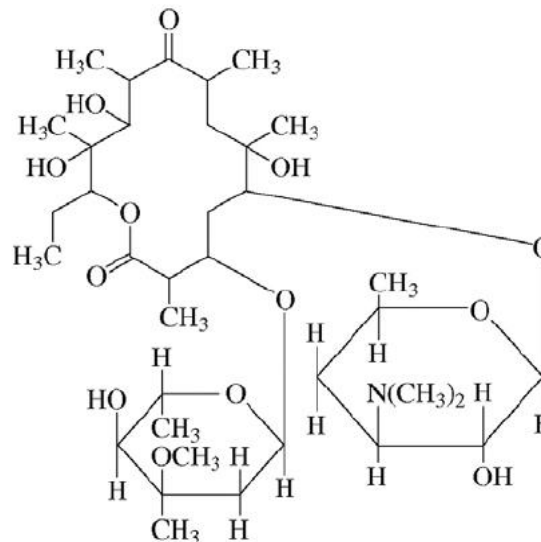
tetraciklin



cikloheksimid



streptomycin



eritromicin

Inhibitorji sinteze proteinov

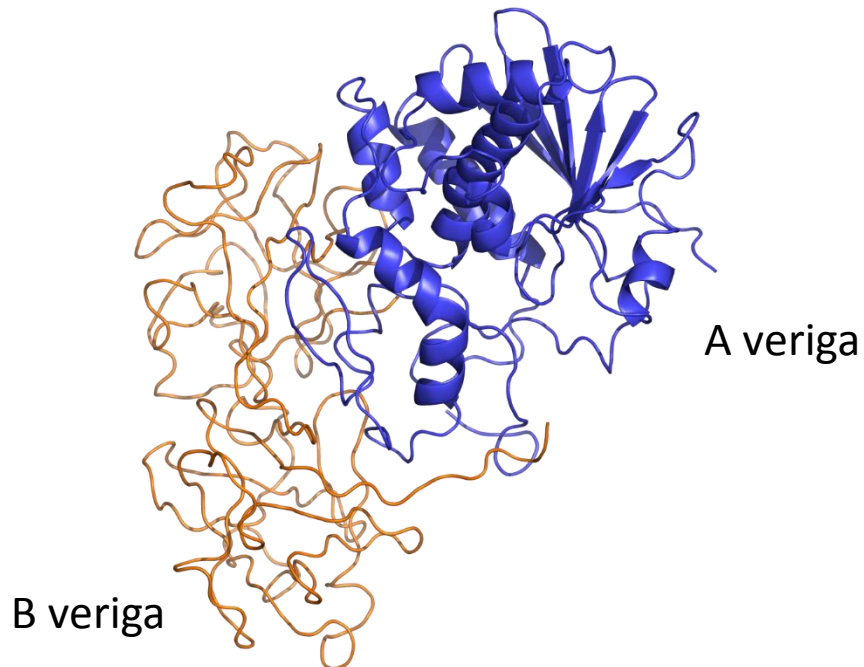
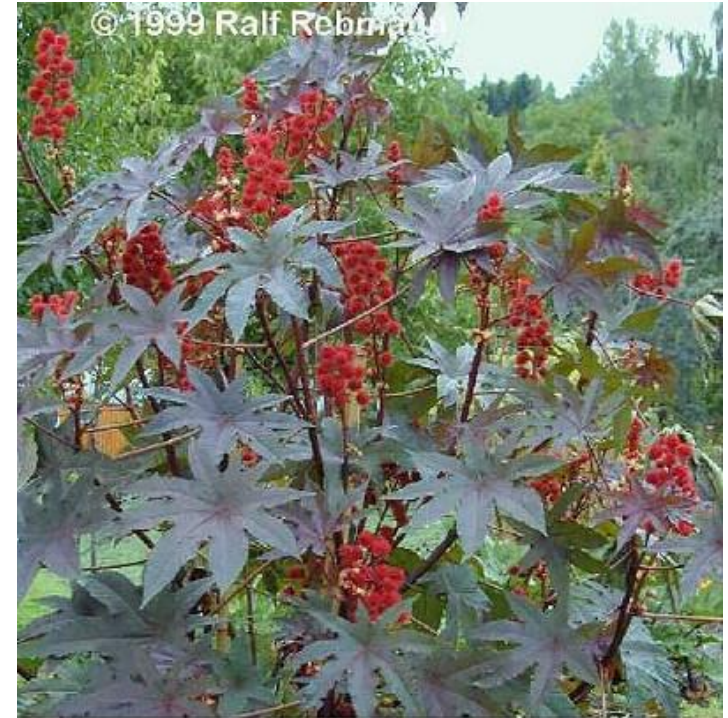
Ricin iz kloščevca (*Ricinus communis*)

B veriga se veže na sladkorne ostanke na površini celic.

A veriga proteina je rRNA N-glikozidaza, ki odcepi bazo A4324 v 28S rRNA velike podenote ribosoma.

Ena molekula ricina lahko ubije celico.

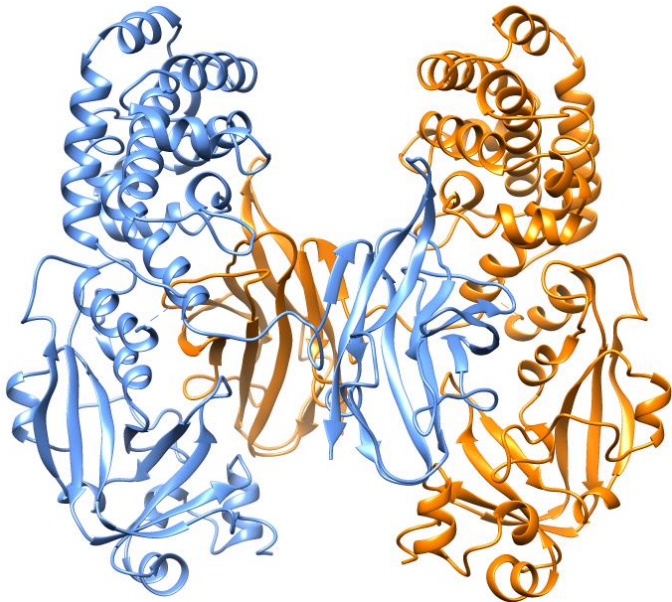
LD_{50} je 22 μg na kg telesne teže.



Inhibitorji sinteze proteinov

Corynebacterium diphtheriae je povzročitelj davice, bolezni ki okuži zgornje dihalne poti. Izloča eksotoksin, ki s svojim delovanjem uničuje tkivo gostitelja ter povzroča nalaganje trde „membrane“ iz fibrina, levkocitov in odmrlih epiteljskih celic. Povzroča tudi sistemske težave, zlasti srčne in nevrološke (poškodba mielinske ovojnice).

Zapis za eksotoksin kodira gen *tox*, ki je na bakteriofagu β , ki živi znotraj *C. diphtheriae*. Le sevi, ki vsebujejo lizogen fag so toksični. Toksin se internalizira v celico preko ganglioizidnih receptorjev in zavira sintezo proteinov. Ena molekula toksina lahko ubije celico.



Diphtheria toksin ADP-ribosilira elongacijski faktor EF2 in ga s tem inaktivira.