

Genetická informace a Proteosyntéza

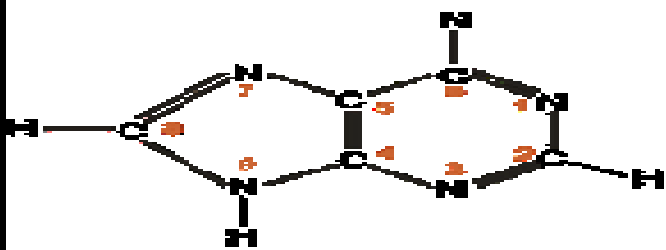
Primární struktura bílkovin

- ❖ Pořadí aminokyselin v polypeptidovém řetězci je určeno **genetickým kódem**.
- ❖ Každou aminokyselinu v polypeptidovém řetězci kóduje konkrétní trojice nukleotidů **triplet**.
- ❖ **Strukturní gen** = úsek DNA, který kóduje primární strukturu 1 bílkoviny.
- ❖ **Geny pro funkční RNA** = jejich produkty (tRNA, rRNA) na rozdíl od strukturních genů nepodléhají translaci.
- ❖ Gen obsahuje ve své transkribované části:
 - oblasti přímo kódující pořadí aminokyselin proteinu (**exony**)
 - oblasti nekódující (**introny**)
 - nepřepisované oblasti na 3' konci (**polyadenylační signál**) a na 5' konci (**promotor**).

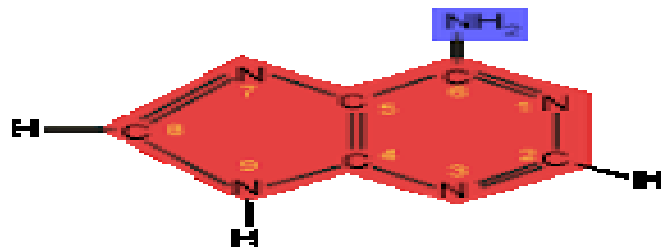
Primární struktura nukleových kyselin

- ❖ V buňce existují dva typy nukleových kyselin: **deoxyribonukleová (DNA) a ribonukleová (RNA)**.
- ❖ DNA je lokalizována v buněčném jádře, RNA v cytoplasmě.
- ❖ základními stavebními jednotkami nukleových kyselin jsou **tzv. nukleotidy**.
- ❖ **Nukleotidy se skládají:**
 - z **dusíkaté heterocyklické báze** (adeninu, guaninu, cytosinu, thyminu a uracilu)
 - z **pentosy** (z deoxyribosy v DNA, z ribosy v RNA)
 - ze **zbytku kyseliny fosforečné** (fosfátu)

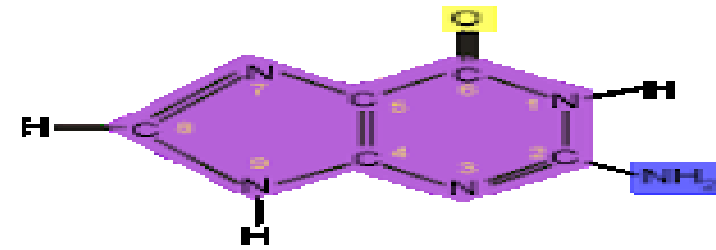
Struktury dusíkatých bází v DNA a RNA



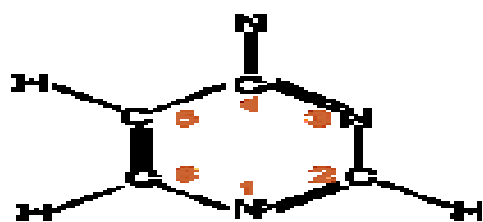
Purin



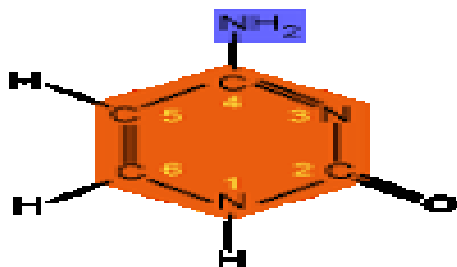
Adenin (A)



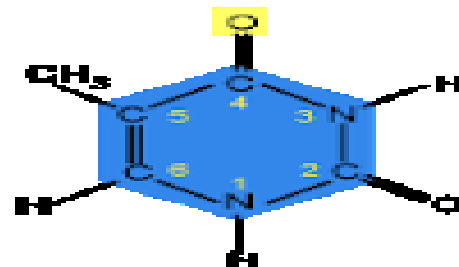
Guanin (G)



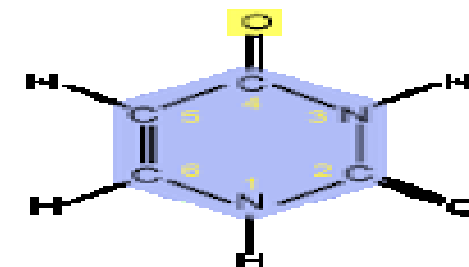
Pyrimidin



Cytosin (C)



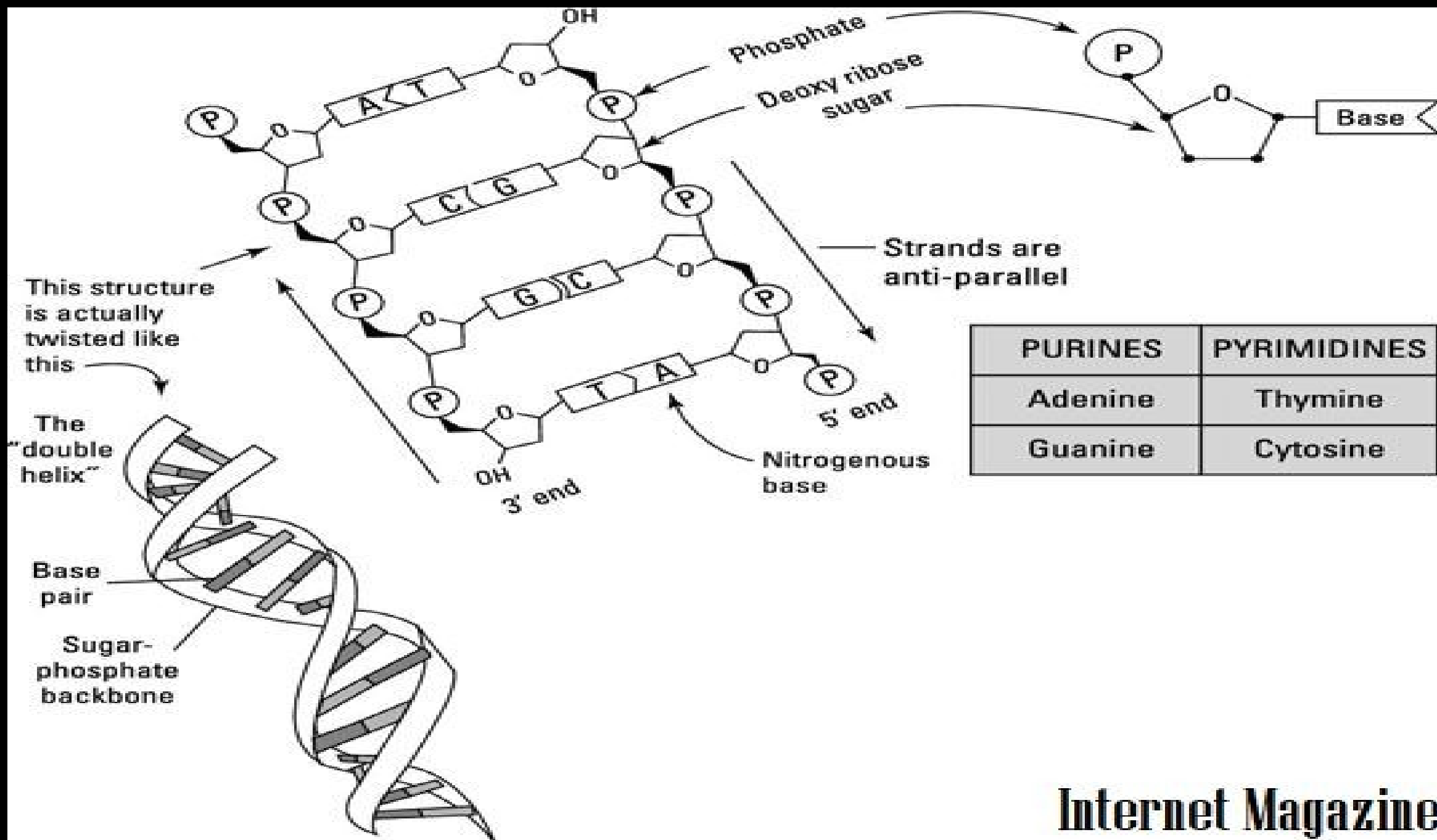
Tymin (T)
(v DNA)



Uracil (U)
(v RNA)

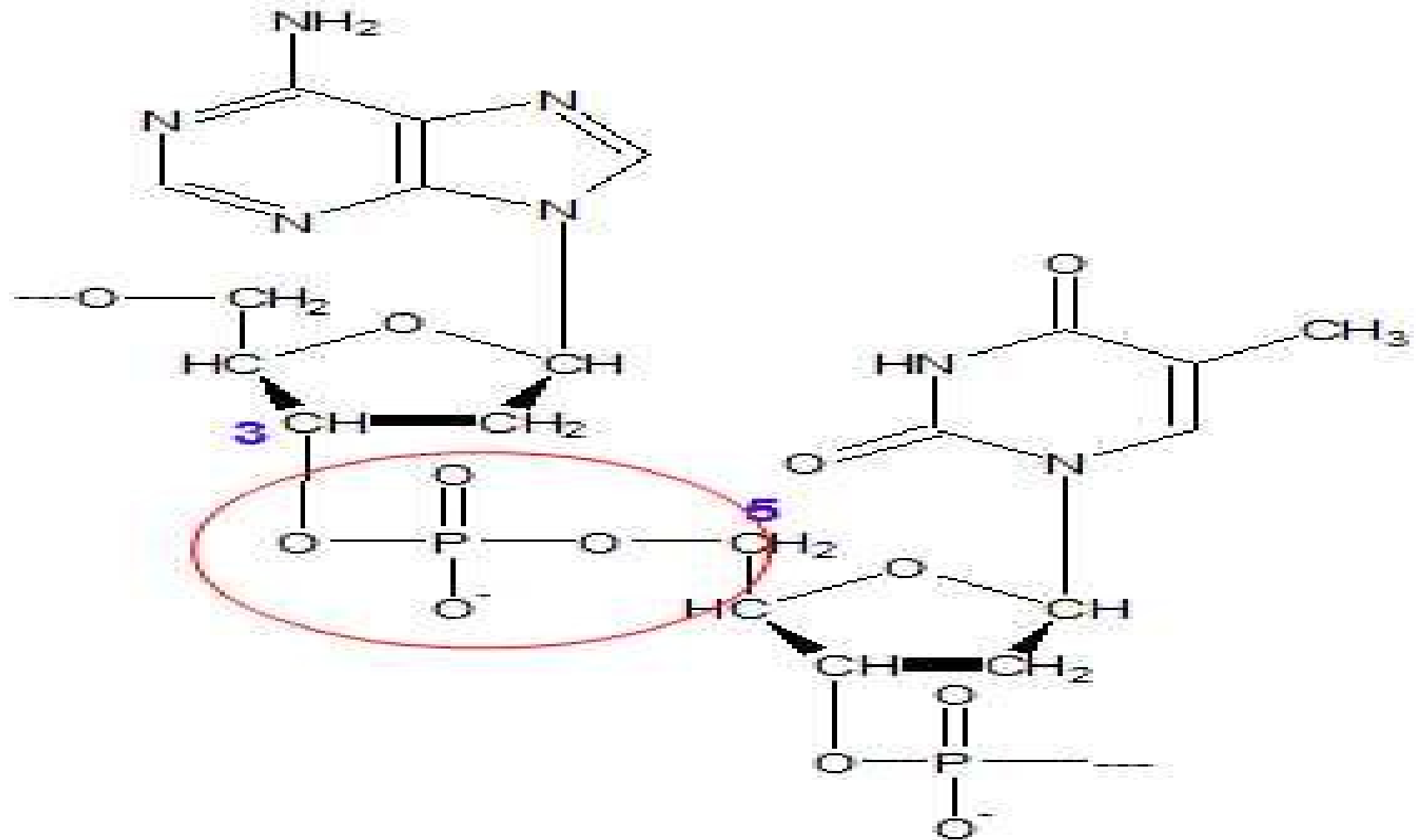
© Tomáš Urban 2014

- ❖ Adenin a guanin patří mezi deriváty purinu.
- ❖ thymin, cytosin a uracil patří mezi pyrimidinové deriváty.
- ❖ thymin, adenin, guanin a cytosin jsou složky DNA, kdežto RNA tvoří adenin, guanin, cytosin a uracil



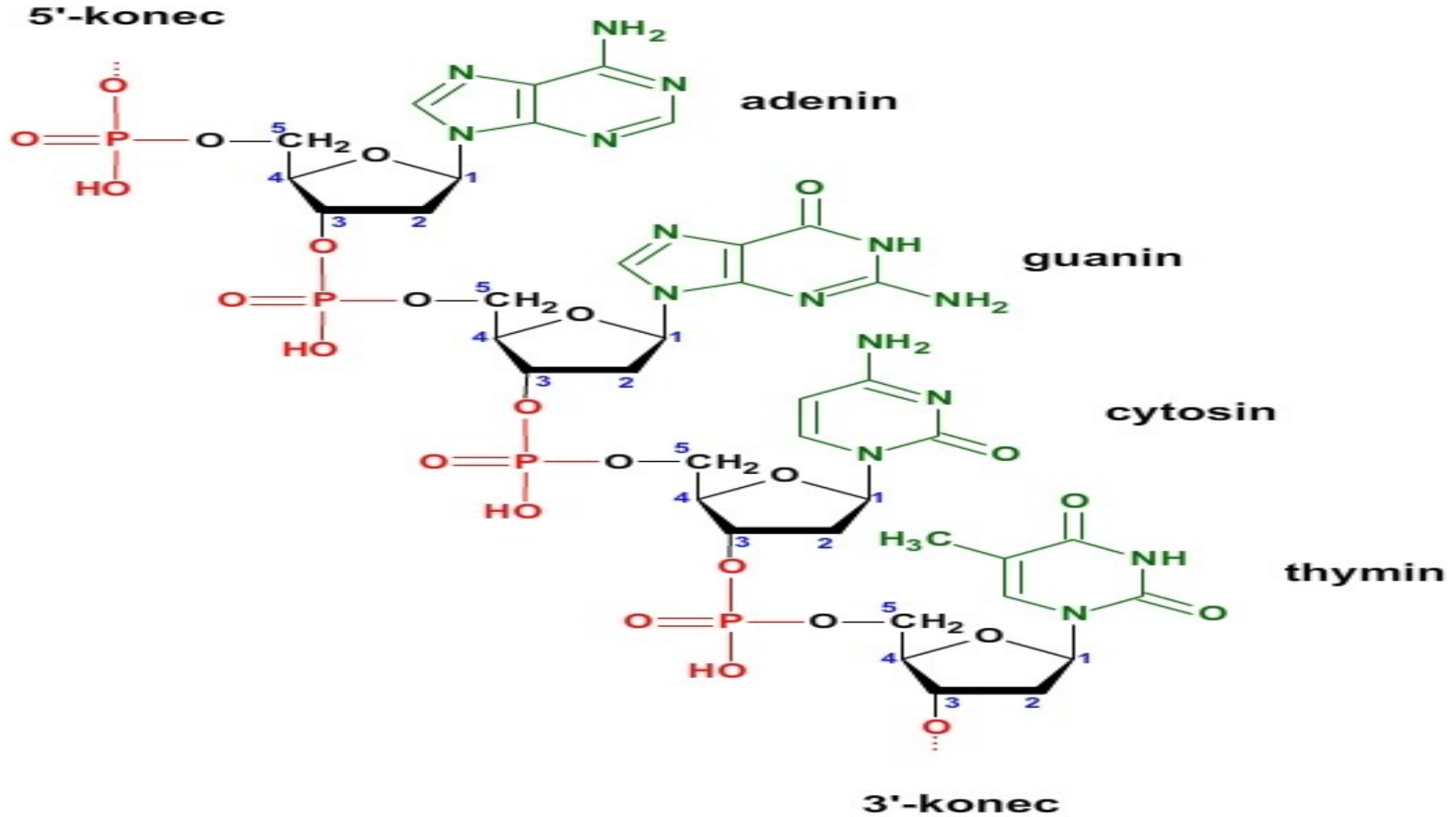
FOSFODIESTEROVÁ VAZBA

- ❖ Mezi fosfátovou skupinou na 5. uhlíku pentosy prvního nukleotidu a hydroxylovou skupinou na 3. uhlíku pentosy druhého nukleotidu vzniká **tzv. fosfodiesterová vazba.**
- ❖ na jednom konci DNA je hydroxylová skupina -OH pentosy (**3' konec**). Na druhém konci DNA je fosfátová skupina od zbytku kyseliny fosforečné (**5' konec**).

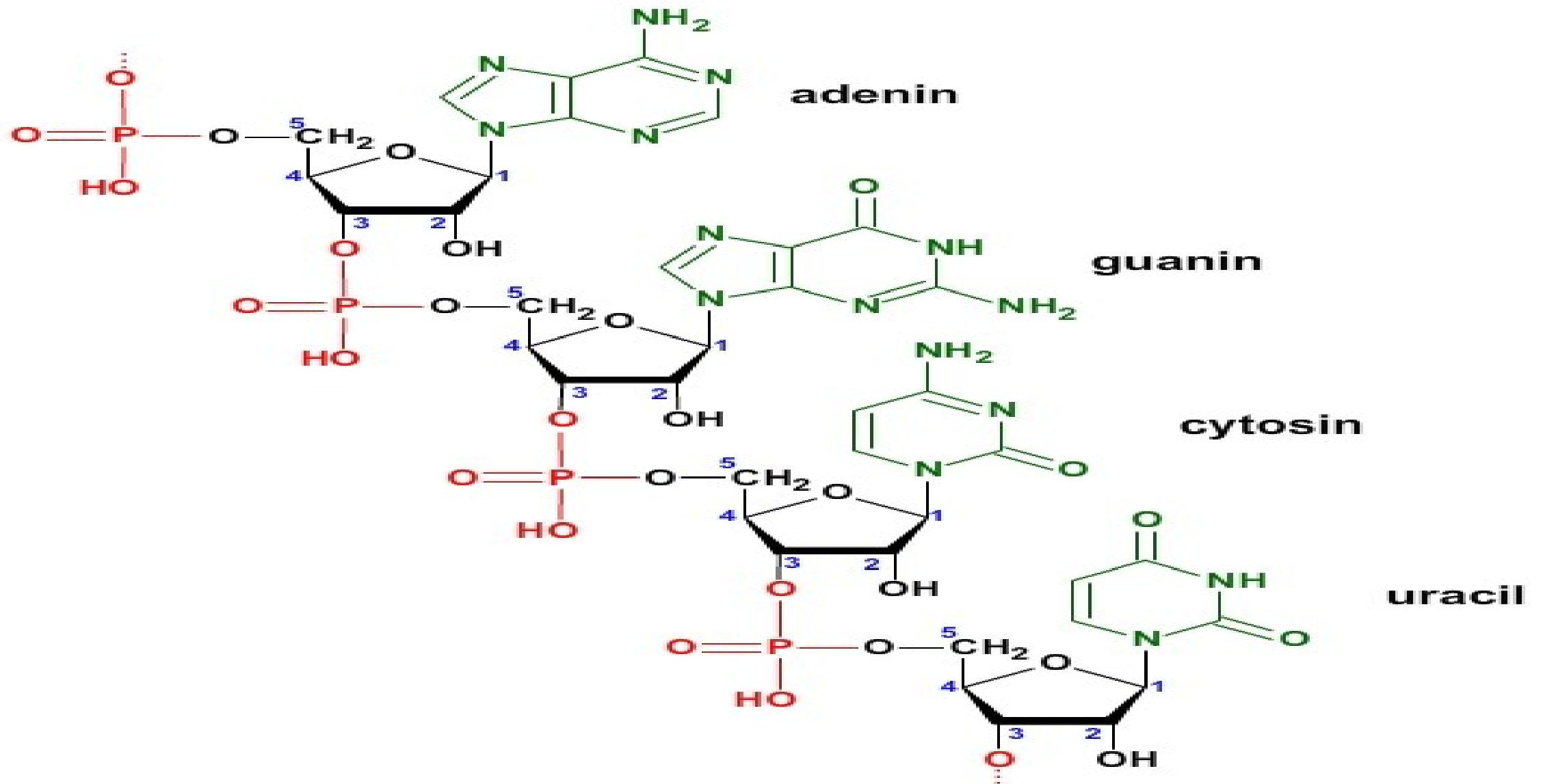


Fosfodiesterová vazba

Primární struktura DNA



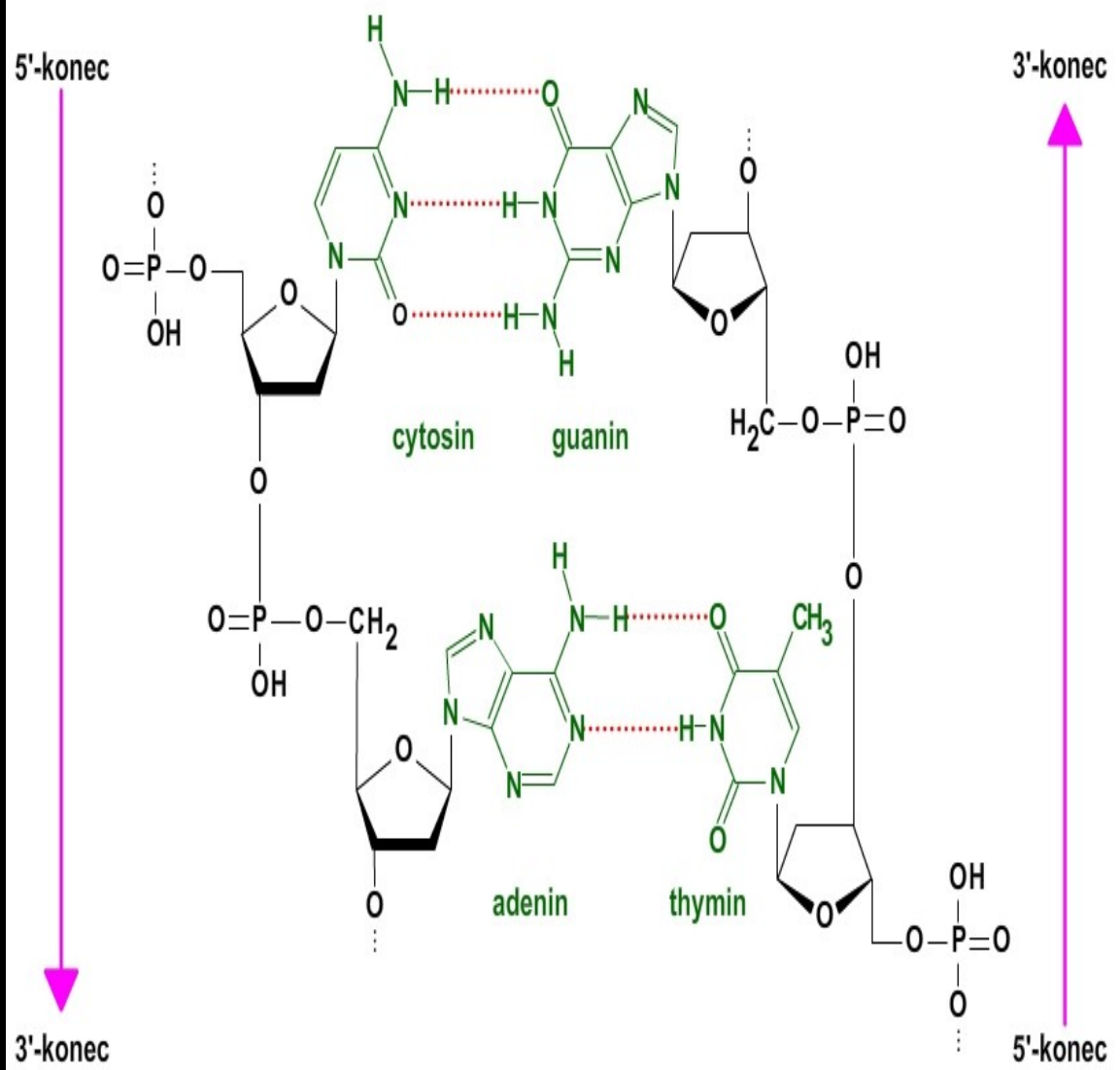
Primární struktura RNA



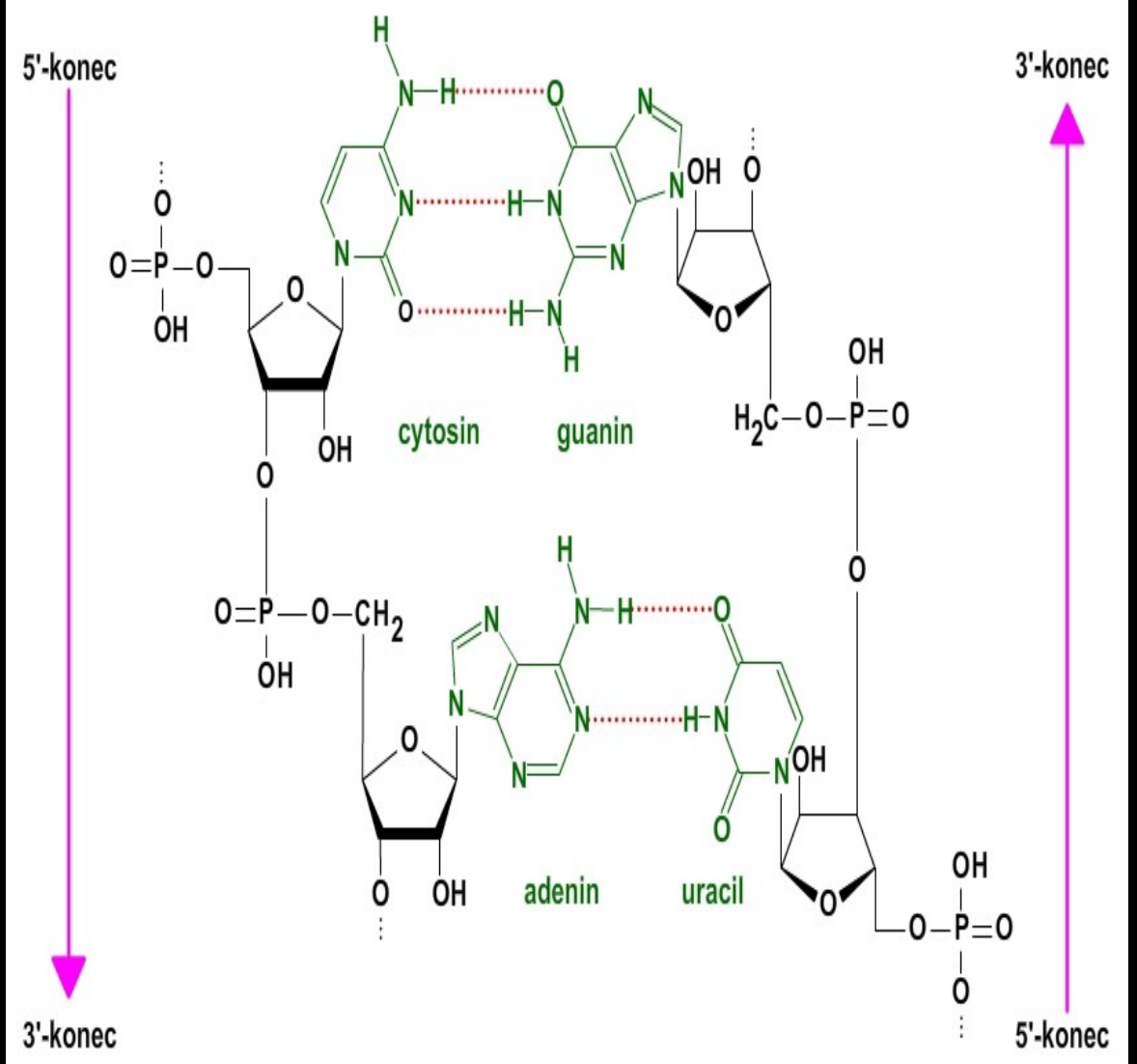
KOMPLEMENTARITA BÁZÍ

- ❖ Dusíkaté báze mohou mezi sebou vytvářet komplementární dvojice **pomocí vodíkových vazeb.**
- ❖ párování bází není náhodné, ale je dáno jejich **komplementaritou.**
- ❖ adenin se páruje buď s thyminem (v DNA) nebo s uracilem (v RNA)
- ❖ guanin s cytosinem a naopak.
- ❖ toto komplementární párování bází umožňuje párům bází zaujmout energeticky nejvýhodnější konformaci v rámci dvoušroubovice.

Komplementarita bázi - DNA

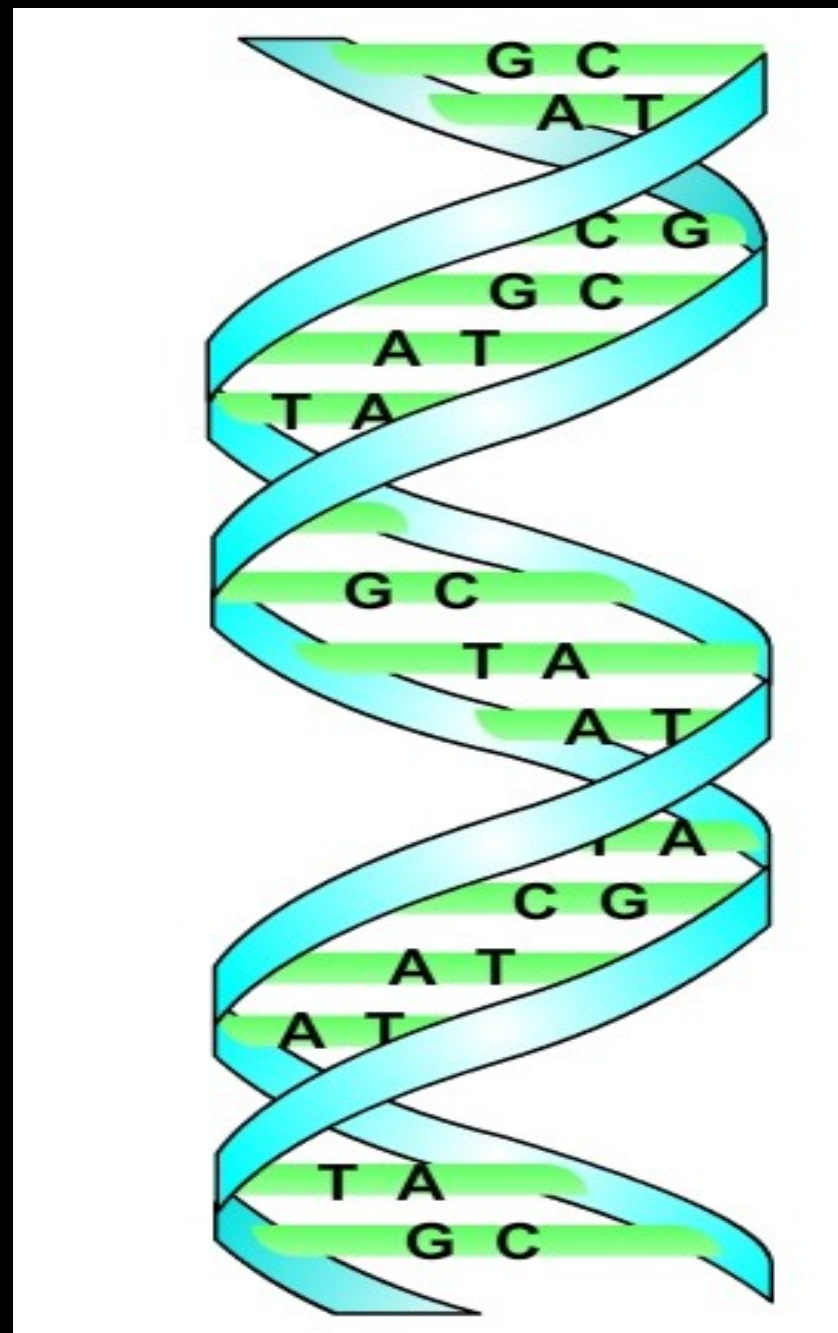
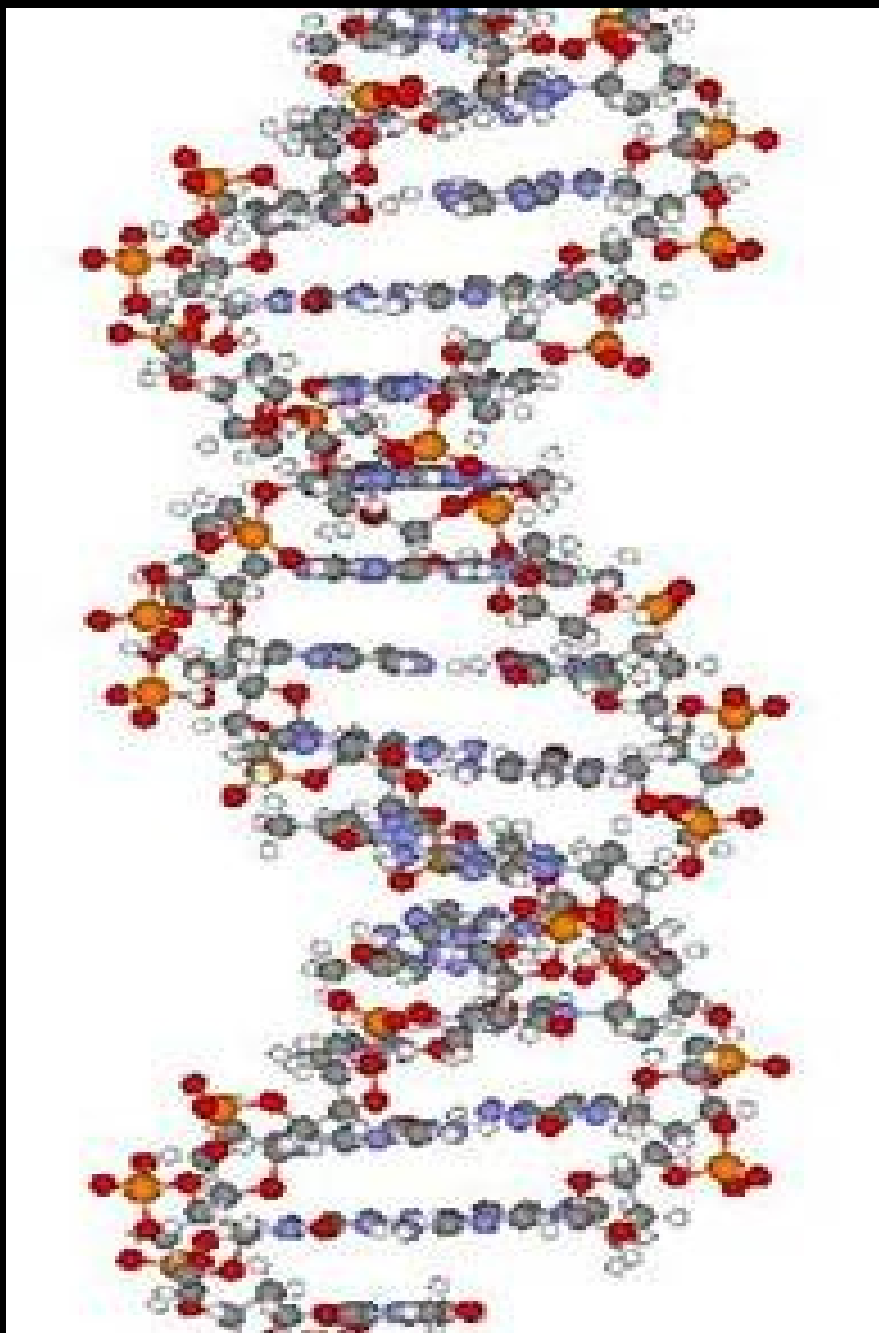


Komplementarita bázi - RNA



Sekundární struktura DNA

- ❖ DNA je stočena do **pravotočivé dvoušroubovice**, která je stočena **ze dvou komplementárních vláken DNA**.
- ❖ řetězce v dvoušroubovici DNA jsou **vůči sobě antiparalelní**, tzn. že polarita jednoho řetězce je opačná k polaritě druhého řetězce DNA.
- ❖ vodíkové vazby a tato zdvojená šroubovice přispívají k co největší stabilizaci molekuly DNA.



Typy DNA

- ❖ **B DNA** (nejčastější) – jedná se o pravotočivou dvoušroubovici o četnosti zhruba 10 bází na závit.
- ❖ báze tvořící pár leží vždy v jedné rovině.
- ❖ dvoušroubovice DNA má na svém povrchu dva typy žlábků (malý a velký).
- ❖ **A DNA** – opět se jedná o pravotočivou dvoušroubovici; má 11 párů bází na závit.
- ❖ **Z DNA** – jedná se o levotočivou dvoušroubovici
- ❖ vytváří se, pokud se ve šroubovici objeví pravidelné opakování bází adeninu a thyminu
- ❖ **cirkulární DNA (kruhová DNA)** – prokaryotní DNA i DNA semiautonomních organel (např. mitochondrií) jsou kruhové.

Sekundární struktura RNA

- ❖ RNA je složena pouze z jednoho různě stočeného vlákna.
- ❖ pokud se blízko sebe ocitnou dva komplementární úseky vlákna RNA, mohou se mezi bázemi vytvořit vodíkové vazby.

Typy RNA

- ❖ **mRNA** (informační, mediatorová) – vzniká přepisem genů kódujících aminokyselinovou sekvenci proteinů a její základní funkcí je řídit vznik proteinu.
- ❖ **rRNA** (ribosomální) – tvoří jádro ribosomů, na kterých je mRNA překládána do proteinu.
- ❖ **tRNA** (transferová) – vybírá správné aminokyseliny a umísťuje je do správného místa na ribosomu, aby mohly být začleněny do rostoucího aminokyselinového řetězce.
- ❖ **rRNA a tRNA** vznikají přepisem genů nekódujících aminokyselinovou sekvenci proteinu a jedná se o tzv. **neinformační RNA**.

Sekundární struktura tRNA



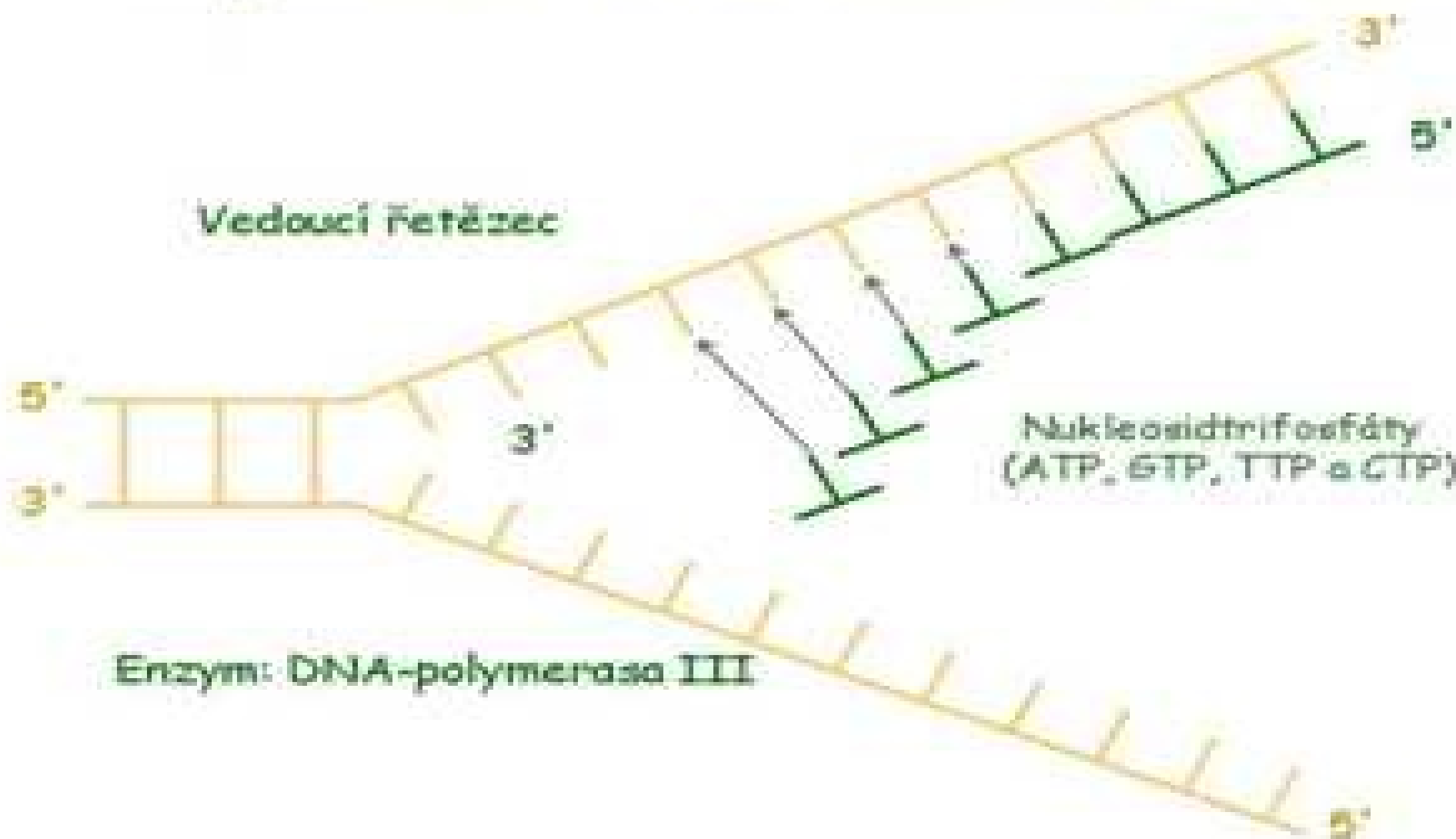
REPLIKACE

- ❖ Před každým dělením buňky se každý chromosom musí samostatně **zreplikovat** a jeho kopie musí být rozděleny do obou dceřinných buněk.
- ❖ při tomto procesu dochází k **přenosu dědičné informace z mateřské buňky do dceřinné.**
- ❖ oba řetězce DNA obsahují navzájem komplementární sekvence nukleotidů, proto oba mohou sloužit jako **templát** (matrice, předloha) pro syntézu nového komplementárního řetězce.
- ❖ Replikace DNA je **semikonzervativní**, protože výsledkem replikace jsou dvě dceřinné dvoušroubovice, z nichž každá má jedno vlákno původní (mateřské) a jedno nově nasyntetizované.

- ❖ Proces replikace začínají **iniciační proteiny**, které se vážou na DNA a **rozvívají její dvoušroubovicovou strukturu** přerušováním vodíkových vazeb.
- ❖ místům, kde je struktura dvoušroubovice nejdříve narušena, se říká **replikační počátky** a jsou určeny speciální nukleotidovou sekvencí.
- ❖ bakteriální genom, který je obvykle tvořen jednou kruhovou DNA o délce několika miliónů bází má jediný replikační počátek.
- ❖ lidský genom, který má přibližně 3×10^9 nukleotidů má zhruba 10 000 takovýchto počátků.
- ❖ jejich velký počet umožňuje lidské buňce zreplikovat veškerou DNA během relativně krátké doby.
- ❖ pro počátky replikace jsou typické **útvary ve tvaru písmena Y**, které se nazývají **replikační vidličky**.

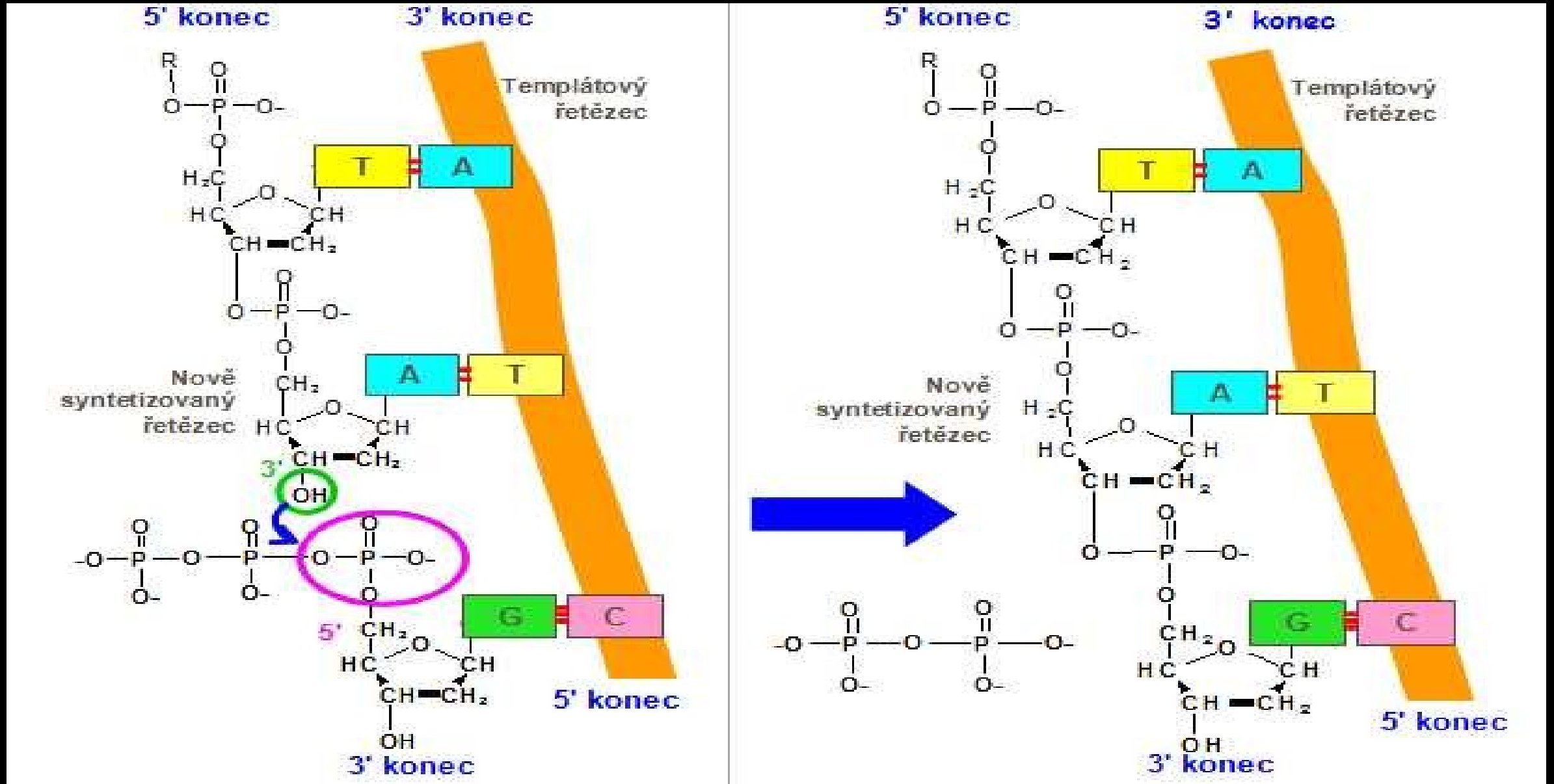
- ❖ V replikačních vidličkách jsou navázány **proteiny replikačního aparátu**, které se pohybují ve směru replikace a **rozvíjejí dvoušroubovicovou strukturu** za **současné syntézy nového řetězce**.
- ❖ Nejdůležitějším replikačním enzymem je **DNA-polymerasa**, která syntetizuje nové vlákno DNA podle původního řetězce.
- ❖ je to enzym, který katalyzuje **připojování nukleotidů na 3' konec** rostoucího řetězce DNA za vzniku fosfodiesterové vazby mezi hydroxylovou skupinou na 3. uhlíku pentosy rostoucího řetězce a fosfátovou skupinou na 5. uhlíku pentosy přidávaného nukleotidu.
- ❖ **DNA je syntetizována ve směru 5' → 3'** (tzn., že narůstá na 3' konci).

Replikace na vedoucím řetězci



- ❖ Nukleotidy vstupují do reakce jako **energeticky bohaté deoxynukleosidtrifosfáty** (dATP, dTTP, dGTP a dCTP) a dodávají energii polymerizační reakci.
- ❖ Energie uvolněná hydrolýzou jedné fosfodiesterové vazby v deoxynukleosidtrifosfátu je dostatečná pro kondenzační reakci, při které se váže deoxynukleotidový monomer (dAMP, dTMP, dGMP a dCMP) do nově syntetizovaného řetězce za současného uvolnění difosfátu.
- ❖ DNA-polymerasa se neodděluje od DNA po každém přidání nukleotidu, ale zůstává navázána na DNA a během polymerace se podél ní pohybuje.

Vznik fosfodiesterové vazby



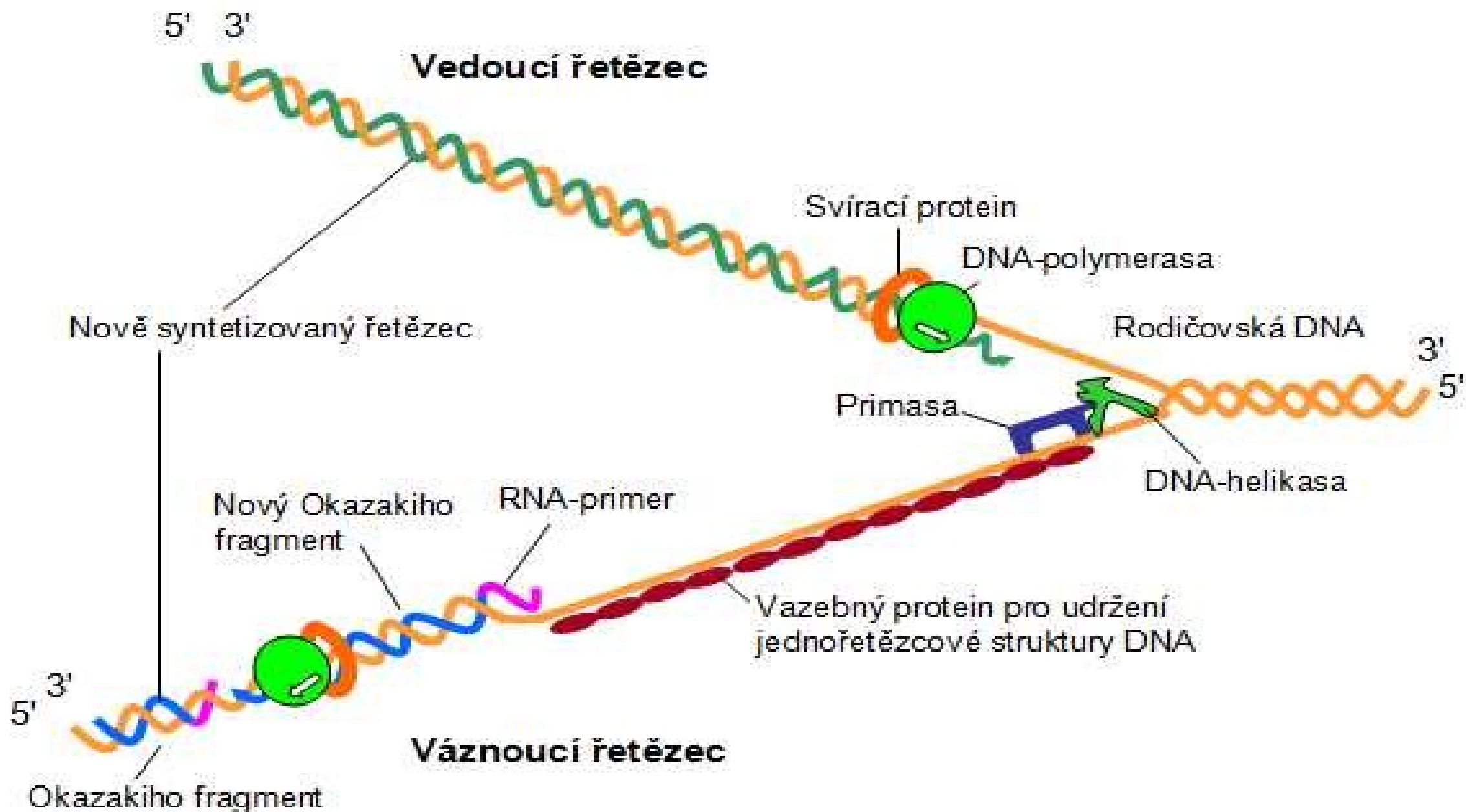
- ❖ **DNA-polymerasa je schopna syntetizovat nové vlákno pouze prodlužováním 3' konce DNA.**
- ❖ V replikační vidličce nastává problém, protože původní dvoušroubovice se skládá ze dvou antiparalelních řetězců (je asymetrická).
- ❖ Jeden nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru $3' \rightarrow 5'$. (Vzniká $5' \rightarrow 3'$ řetězec).
- ❖ Druhý nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru $5' \rightarrow 3'$.
- ❖ **Avšak neexistuje DNA-polymerasa, která by dokázala prodlužovat 5' konec DNA. Tudíž v tomto směru roste diskontinuálně** tzn., že jsou ve směru $5' \rightarrow 3'$ syntetizovány krátké úseky DNA (tzv. **Okazakiho fragmenty**), které jsou následně spojovány v kontinuální řetězec.

- ❖ DNA-polymerasa je velice přesně párující enzym, který udělá průměrně jednu chybu na 10^7 zreplikovaných párů bází.
- ❖ **DNA-polymerasa neumí začít syntetizovat nové vlákno (neboť přidává další nukleotid teprve po kontrole správného párování předcházejících bází).**

- ❖ Protože **DNA-polymerasa** neumí **začít** syntetizovat nové vlákno, musí existovat jiný enzym, který by dokázal spojit dva volné nukleotidy a začal syntetizovat nové vlákno podle jednořetězcové DNA.
- ❖ tento enzym se nazývá **primasa**.
- ❖ **enzym primasa** nesyntetizuje DNA, ale **krátké úseky RNA** mající cca 10 nukleotidů.
- ❖ tyto úseky se párují na základě komplementarity s templátovým řetězcem a poskytují 3' konec pro DNA-polymerasu. Slouží tedy jako **primery** pro syntézu DNA. Při syntéze vedoucího řetězce je třeba pouze jeden RNA-primer. Syntéza opoždujícího se řetězce je však diskontinuální a vyžaduje neustále tvorbu RNA-primerů.

- ❖ Opoždující řetězec je tvořen mnoha oddělenými úseky DNA tzv. Okazakiho fragmenty.
- ❖ na vytvoření souvislého vlákna DNA z Okazakiho fragmentů jsou třeba tyto enzymy: **DNA-polymerasa I** (odstraňuje RNA-primery (exonukleasová funkce) a nahrazuje RNA-primery DNA) a **DNA-ligasa** (pospojuje všechny úseky dohromady).
- ❖ replikace DNA vyžaduje spolupráci několika druhů enzymů, které vytvářejí **tzv. Replikační aparát**.
- ❖ **Replikační aparát** umožňuje vznik a posun replikační vidličky a syntézu nové DNA.
- ❖ hlavní složky replikačního aparátu: **DNA-polymerasa**
- ❖ **primasa**
- ❖ **helikasa** – využívá energii z hydrolýzy ATP k pohybu podél DNA a současnému rozvíjení dvoušroubovicové struktury.

- ❖ **SSB-proteiny** (single-strand binding proteins) – ochraňují jednořetězcovou DNA uvolněnou helikasou před znovuspárováním.
- ❖ **Svírací protein** (sliding clamp) – pevně váže DNA-polymerasu na templát.
- ❖ má tvar prstence, který obemyká DNA a pohybuje se podél ní i s navázanou DNA-polymerasou ve směru replikace.
- ❖ popsaný průběh procesu replikace probíhá **u prokaryotních organismů**.
- ❖ U eukaryotních organismů probíhá **obdobným způsobem**.
- ❖ U eukaryotních organismů existuje 5 druhů DNA-polymeras: α , β , γ , δ a ϵ .



TRANSKRIPCE

- ❖ Jestliže buňka potřebuje syntetizovat určitý konkrétní protein, je nukleotidová sekvence v patřičné oblasti dlouhé molekuly DNA v chromosomu nejprve zkopírována do **mRNA** (mediatorová, informační RNA).
- ❖ tato mRNA je přímo využívána jako **templát** (předloha, matrice) pro tvorbu proteinů.
- ❖ genetická informace je tedy předávána z DNA do mRNA procesem zvaným **transkripce** a následně z mRNA do proteinu procesem zvaným **translace**.
- ❖ Prvním krokem pro uplatnění genetické informace v buňce je přepsání části nukleotidové sekvence DNA – genu – do nukleotidové sekvence mRNA (přepis celého genu označujeme jako expresi -vyjádření genu).
- ❖ **Veškerá RNA v buňce vzniká transkripcí.**

- ❖ **Transkripce** je **přepis genetického kódu z kódujícího řetězce molekuly DNA do řetězce molekuly mRNA.**
- ❖ jedná se v drtivé většině o přepis informace **z jednoho genu**, sloužícího k tvorbě **jedné specifické bílkoviny**, kterou buňka v danou chvíli potřebuje.
- ❖ vlákno mRNA se vytvoří na **principu komplementarity** ke kódujícímu vláknu DNA.
- ❖ Poté, co je informace přepsána, je díky mRNA přenesena do cytoplazmy na **proteosyntetický aparát**, kde se podle opsaného pořadí nukleotidů zahájí **proteosyntéza**.
- ❖ Transkripce je **enzymatický proces**, kdy je jako enzym využívána **RNA polymeráza** (DNA-dependentní RNA-polymerasa).

- ❖ Prozkoumávání řetězce probíhá od konce 5' ke konci 3'.
- ❖ RNA polymeráza hledá v DNA **startovní sekvenci nukleotidů, tzv. promotor** (za jeho rozpoznání je zodpovědná podjednotka enzymu – tzv. sigma faktor).

PROMOTOR - Směřuje k 5' konci pracovního vlákna DNA před začátkem transkripce.

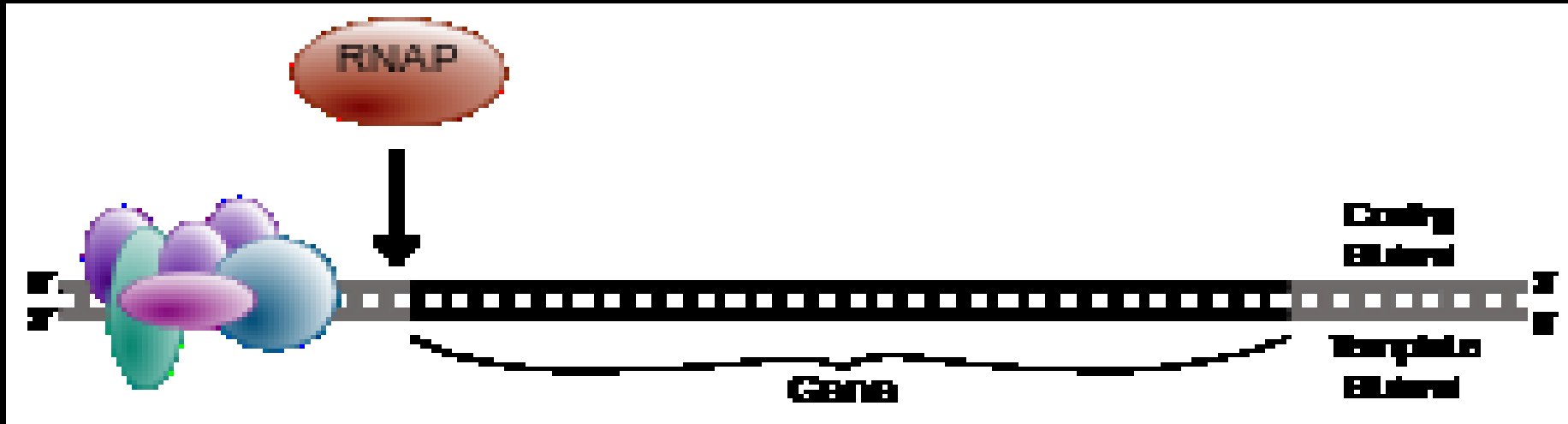
- ❖ bývá proměnlivé délky, obvykle kolem 30–40 pb.
- ❖ Jeho funkcí je **označení začátku transkripce** a podílí se na **regulaci její intenzity**.
- ❖ v oblasti promotoru se často vyskytují **tzv. signální sekvence**:
 - 30–40 pb před začátkem transkripce bývá tzv. **TATA box** ← obsahuje vyšší množství T a A
 - další známou signální sekvencí je **CCAAT box** ← obvykle na pozici 75–80 pb (u genů, které jsou touto signální sekvencí vybaveny, je její přítomnost podmínkou účinné transkripce).

- ❖ Při transkripci dochází vždy k *přepisu jen z jednoho vlákna* – **vlákno pracovní (též negativní (-), antikódující či nesmyslné)**.
- ❖ druhé vlákno pro transkripci tohoto genu **význam nemá** – **vlákno paměťové (též pozitivní (+), kódující či smysluplné)**.
- ❖ po rozpoznání promotoru a rozpojení vodíkových můstků se na základě komplementarity bází k pracovnímu vláknu DNA nasyntetizuje vlákno RNA.
- ❖ **místo tyminu se do RNA zabuduje uracil.**
- ❖ jakmile RNA-polymeráza narazí v řetězci na **STOP-sekvenci**, dojde **k zastavení přepisu** a uvolněná RNA může putovat dále.
- ❖ Základními enzymy podílejícími se na transkripci jsou **DNA-dependentní RNA-polymerasy I.– III.**

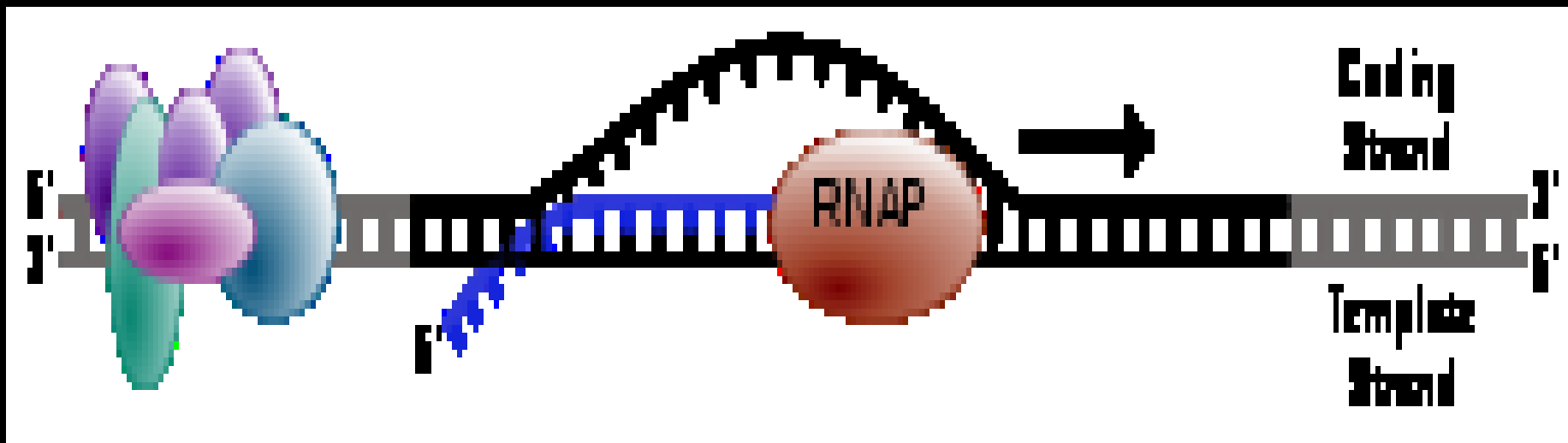
Typy DNA-dependentních RNA-polymeráz:

Označení	Lokalizace	Produkt
I.	jádérko	pre-rRNA
II.	jádro	pre-mRNA (hnRNA)
III.	jádro	pre-tRNA, 5S rRNA

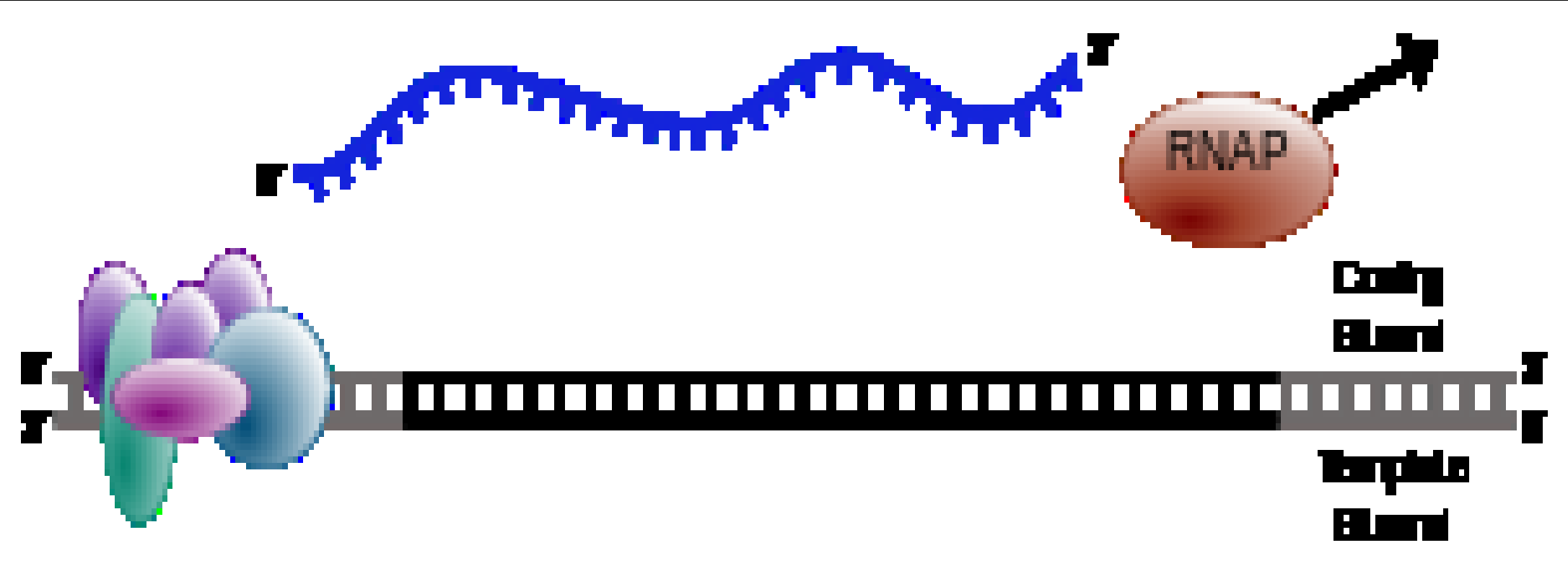
Initiation transkripce



Elongace transkripce



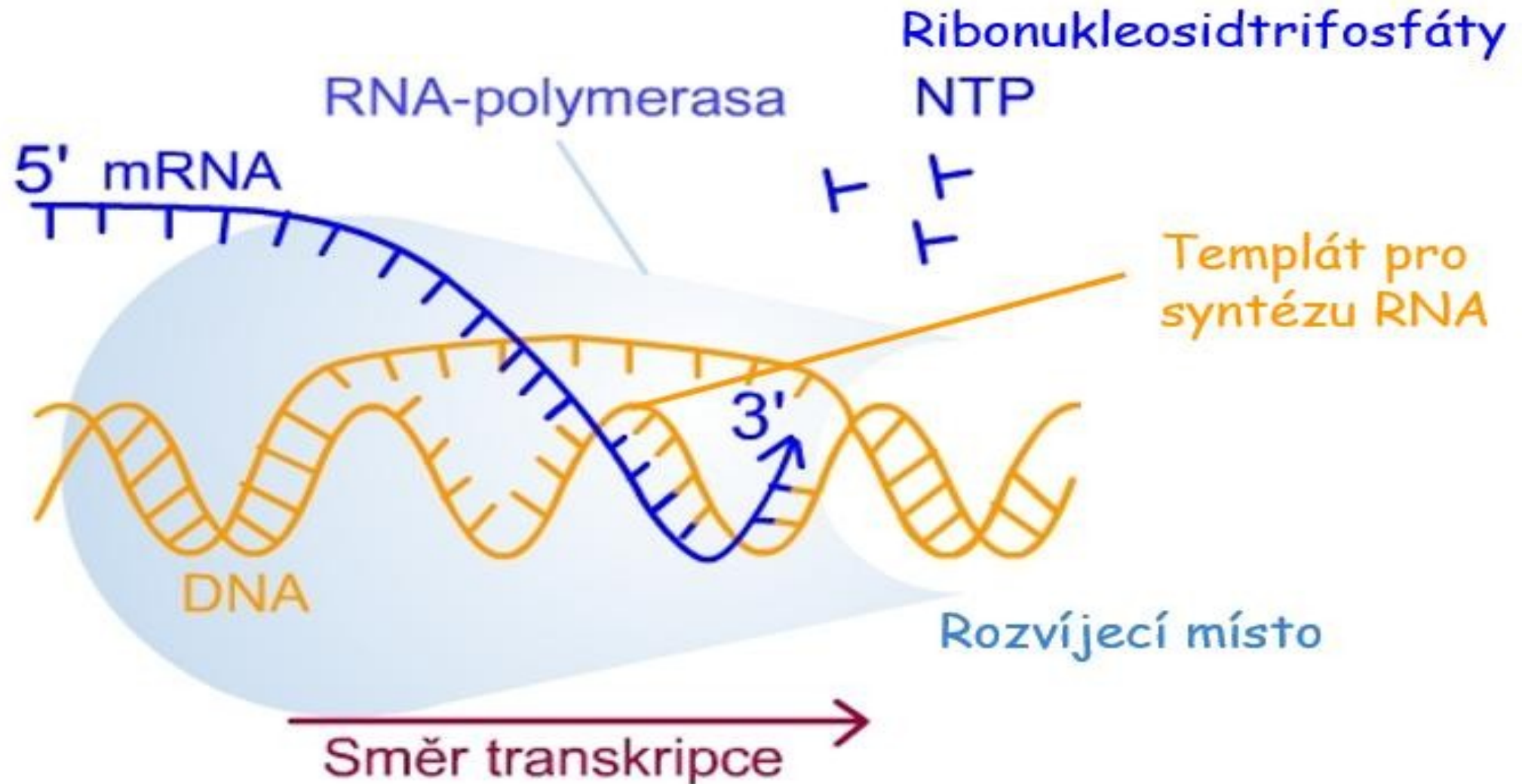
Terminace transkripce



- ❖ Transkripce začíná rozvolňováním krátkého úseku dvoušroubovice DNA (obsahuje gen).
- ❖ jeden z řetězců pak slouží jako **templát pro syntézu mRNA**.
- ❖ ribonukleotidová sekvence mRNA je určena komplementárním párováním bází.
- ❖ jestliže se volný ribonukleotid páruje s deoxyribonukleotidem v templátové DNA, je tento ribonukleotid kovalentně připojen fosfodiesterovou vazbou k rostoucímu řetězci RNA v enzymově katalyzované reakci.
- ❖ u eukaryotních organismů nejprve musí dojít ke vzniku poměrně složitého **transkripčního iniciačního komplexu** za přítomnosti několika **transkripčních faktorů (= regulační proteiny)**.

- ❖ Řetězec RNA vznikající transkripcí se nazývá **transkript**.
- ❖ mRNA nezůstává spojena s templátovou DNA vodíkovými vazbami.
- ❖ Ale dochází za místem, kde byl přidán ribonukleotid, k obnovení dvoušroubovicové struktury DNA a **vytěsnění vlákna mRNA**.
- ❖ proto jsou molekuly **mRNA jednovláknové**.
- ❖ vzhledem k tomu, že dochází k přepisu pouze malé části DNA, jsou molekuly RNA mnohem kratší (cca několik 1000 ribonukleotidů).
- ❖ enzymy, které přepisují DNA do RNA, se nazývají **RNA-polymerasy**.
- ❖ katalyzují vznik fosfodiesterové vazby, která spojuje jednotlivé ribonukleotidy a vytváří tak cukr-fosfátovou kostru RNA.
- ❖ RNA-polymerasa se pohybuje krok po kroku po DNA, **rozvíjí její dvoušroubovicovou strukturu a uvolňuje tak vlákno pro komplementární párování s volnými ribonukleotidy**.

Mechanismus transkripce

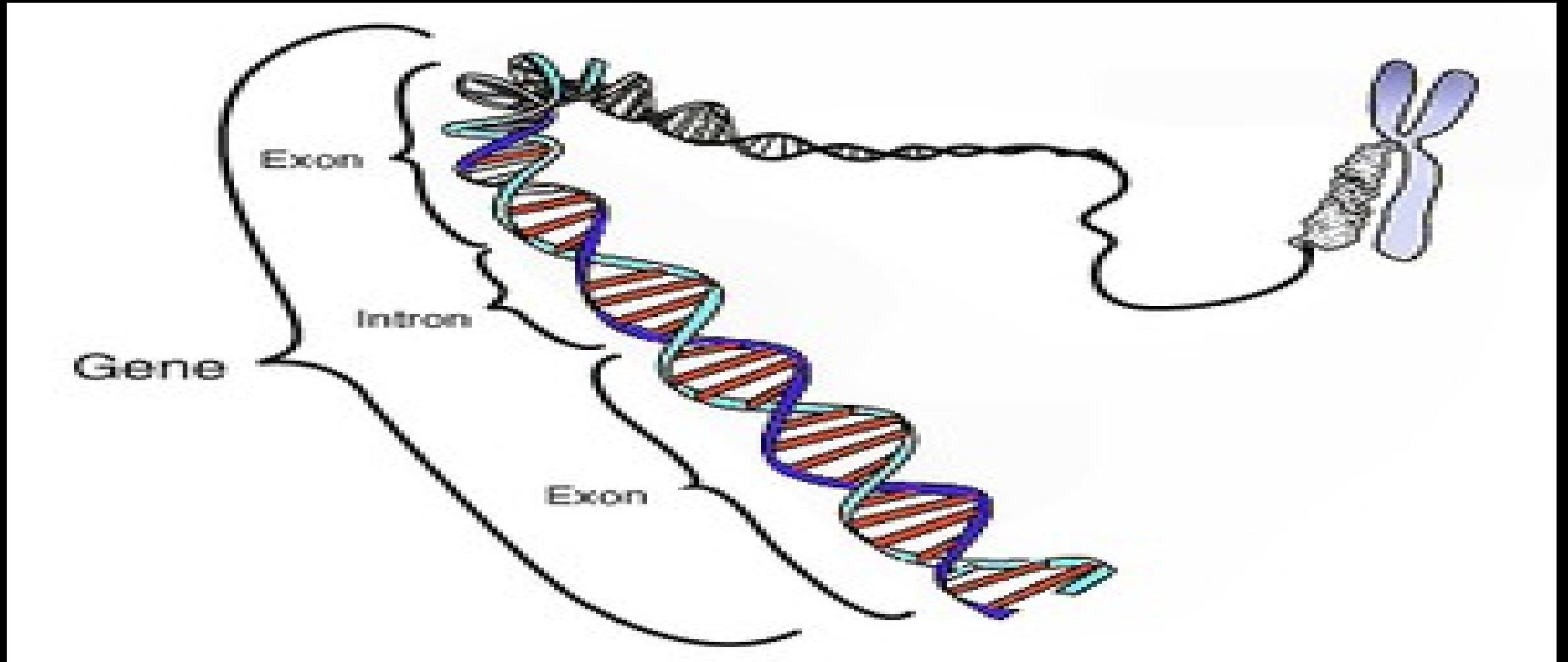


- ❖ U prokaryotních organismů existuje pouze jeden typ RNA-polymerasy, u eukaryotních organismů existují tři typy RNA-polymeras: I, II a III.
- RNA-polymerasa **postrádá korektorskou schopnost.**
- před přidáním dalšího ribonukleotidu do řetězce RNA **nekontroluje**, zda se předcházející ribonukleotid správně páruje, a proto může RNA-polymerasa začít syntetizovat nový RNA řetězec **bez potřeby primeru.**
- Transkripce (1 chyba na 10^4 nukleotidů) není a ani nemusí být tak přesná jako replikace (1 chyba na 10^7 nukleotidů), protože **RNA není určena k trvalému uchování genetické informace v buňkách.**
- ❖ U eukaryotních organismů je DNA uzavřena v jádře, ale ribosomy se nacházejí v cytoplasmě **mRNA musí být transportována z jádra do cytoplasmy** malými jadernými póry.
- ❖ **před opuštěním z jádra však mRNA podléhá posttranskripčním úpravám.**

Posttranskripční úpravy RNA

- ❖ Transkripcí vzniká nejprve **primární transkript (tzv. pre-mRNA)**, neboli **heterogenní jaderná RNA (hnRNA)**, která se dále upravuje.
- ❖ upravená mRNA je transportována do cytoplasmy a tam překládána na proteiny (translace).
- ❖ **U prokaryotních organismů se vzniklá mRNA posttranskripčně neupravuje, slouží ihned jako matrice pro tvorbu proteinu.**
- ❖ Eukaryotní DNA obsahuje kromě kódujících sekvencí (tzv. **exony**) i nekódující sekvence (tzv. **introny**).
- ❖ celá DNA včetně intronů je transkribována do mRNA (přesněji do Pre-mRNA).
- ❖ Introny jsou odstraňovány enzymy a exony jsou spojeny dohromady. Tento krok se nazývá **sestřih (anglicky splicing)**.

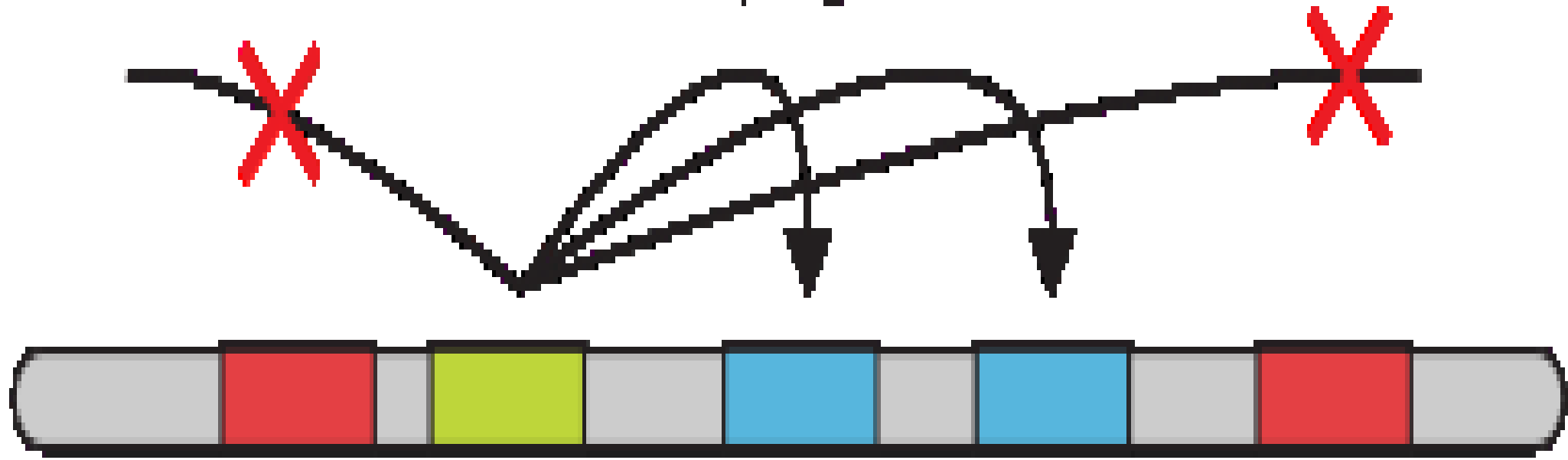
Gen



- ❖ Expresi genu mohou ovlivňovat vzdálené sekvence zvané ***enhancery*** a ***silencery***.

- ❖ **Enhancer (zesilovač)** je oblast eukaryotické DNA, na kterou se váží **regulační proteiny** a společně ovlivňují **transkripci přilehlého genu**.
- ❖ cílový gen však může být vzdálen od enhanceru až 10 000 párů bází.
- ❖ na enhancer se váže sada proteinů, které společně vytvářejí tzv. **enhanceozom** a následně dochází ke vzniku smyčky, která fyzicky spojí enhancer s transkripčním počátkem.
- ❖ Enhancer se může vyskytovat před genem, za genem nebo dokonce uvnitř genu (v intronech).
- ❖ pokud by hrozilo, že by enhancer zvyšoval expresi nějakého jiného blízkého genu a přitom to nebylo žádoucí, vytváří se mezi enhancerem a tímto genem tzv. **inzulátor**, který je schopen efektivně vyrušit účinky enhanceru.
- ❖ podobné vlastnosti, ale opačný účinek na expresi přilehlých genů, mají **tzv. silencers**.

looping of DNA



Insulator Enhancer

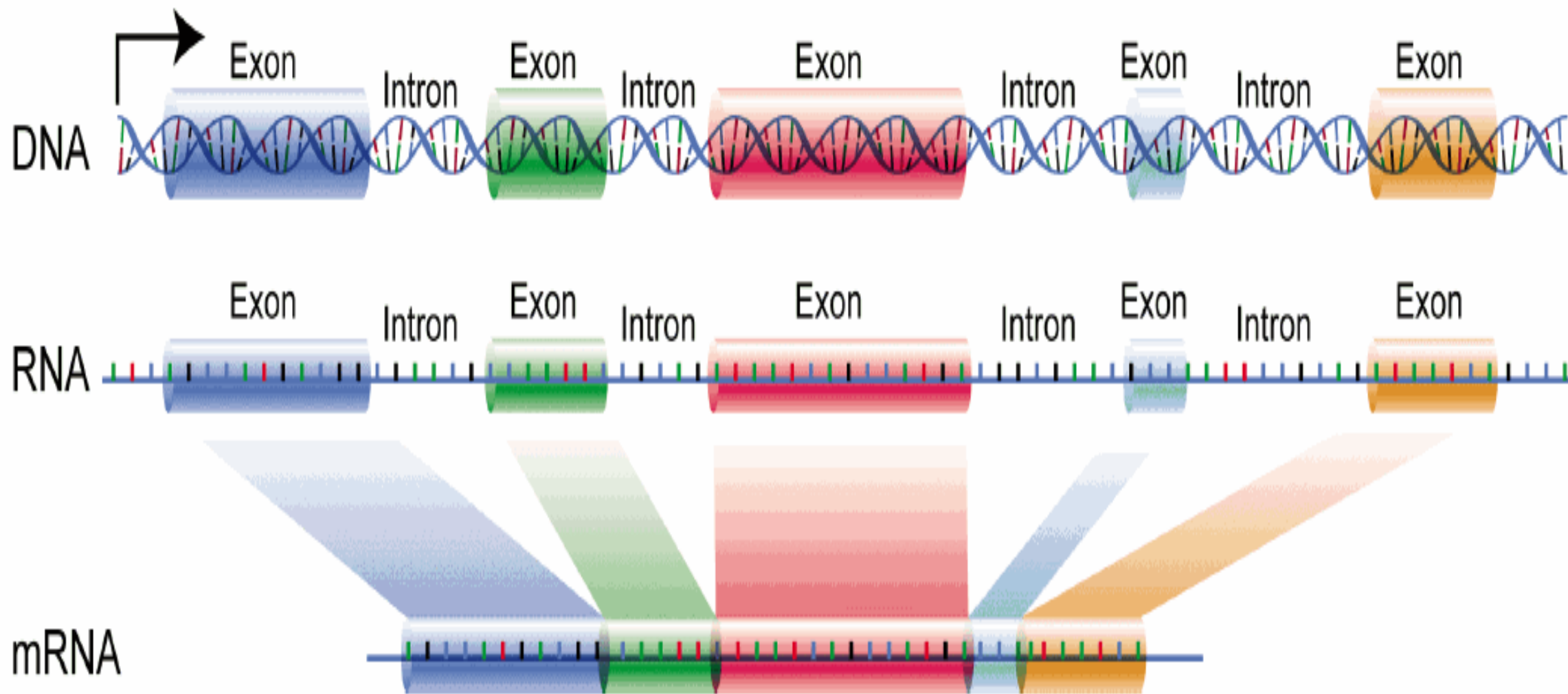
Genes

Insulator

- ❖ Část DNA související s tvorbou proteinu (geny včetně kódujících i nekódujících částí, enhancery a silencery) zabírají v lidském genomu celkem **cca 20 % délky DNA**.
- ❖ části kódující proteiny **pouze asi 3 %**.
- ❖ zbylých **80 % je tvořeno DNA s nejasnou funkcí**.
- ❖ z tohoto množství je přibližně polovina tvořena **repetitivními sekvencemi**.
- ❖ z hlediska množství v genomu jsou repetitivní sekvence nejpočetnější, tvoří přibližně polovinu DNA, která nesouvisí s tvorbou proteinů, tedy přibližně 40 % celé délky genomu.
- ❖ jedná se o **části genomu, ve kterých se pravidelně opakují určité sekvence nukleotidů**.

- ❖ Přepis DNA do mRNA (transkripce) je podobný pro všechny organismy, ačkoliv následné posttranskripční úpravy se již liší.
- ❖ u bakterií se DNA nachází přímo v cytoplazmě, kde se nacházejí i ribozomy, a tak dochází rovnou i k překlada mRNA do proteinu.
- ❖ u eukaryot je však DNA uložena v jádře, odkud následně prostupuje (po přeložení do mRNA) jadernými póry do cytoplazmy.
- ❖ před překladem mRNA do aminokyselinové sekvence dochází k posttranskripčním úpravám – nejdříve **přidání čepičky (capping)** a **polyadenylace**.
- ❖ dále probíhá **splicing** – z RNA jsou vyštěpeny **introny**.
- ❖ Dojde-li k mutaci v oblasti intronů, obvykle nedochází k výrazným škodám.
- ❖ **Jakékoliv mutace v oblasti exonů jsou však naprosto zásadní a vedou ke vzniku defektní nebo pozměněné bílkoviny.**

Posttranskripční úpravy mRNA



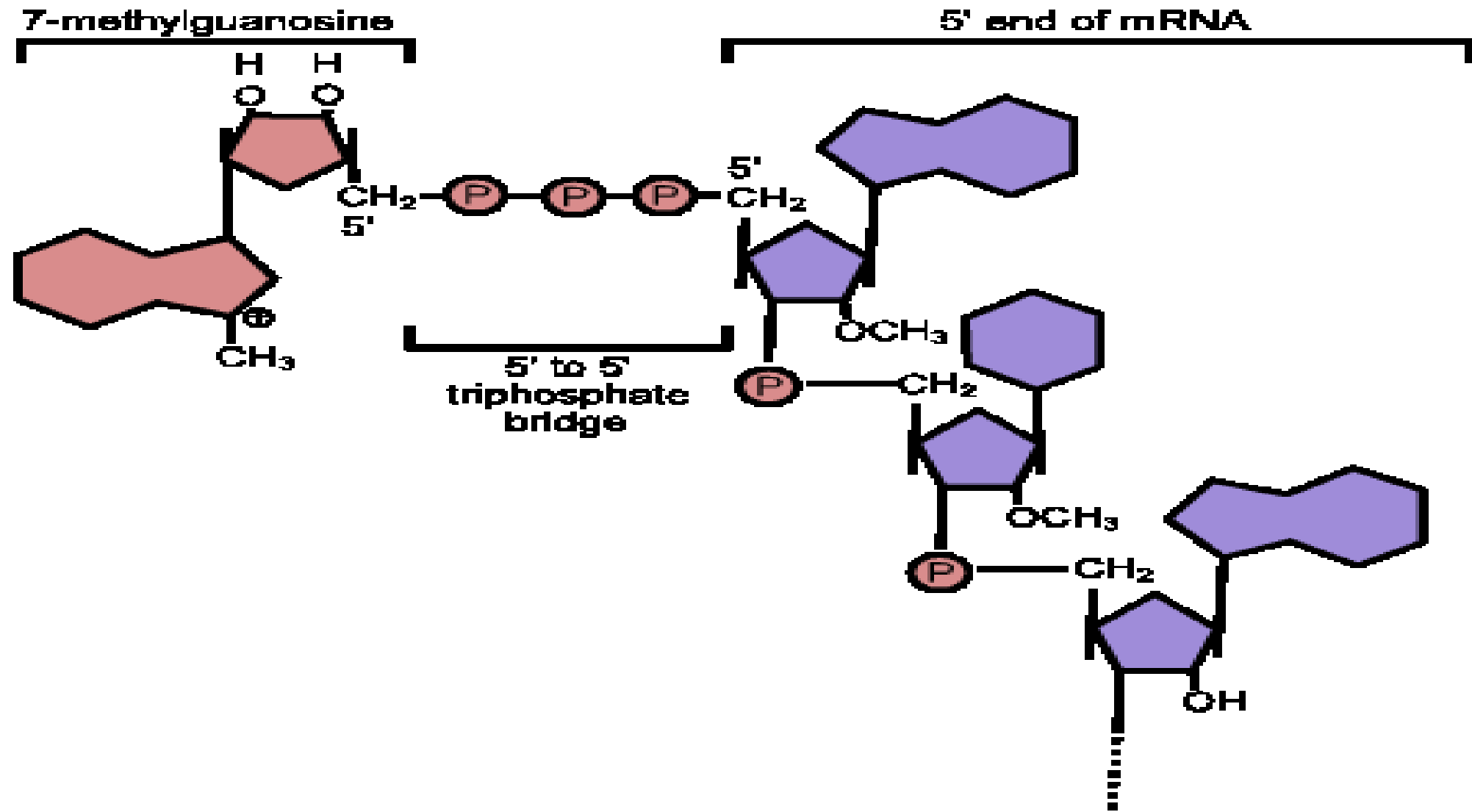
CAPPING

- ❖ 5' čepička (cap) je struktura na 5' konci eukaryotických i virových mRNA, která **chrání mRNA před rozkladem bunčnými enzymy (fosfatázami a nukleázami)** a **usnadňuje transport** mRNA z bunčného jádra do cytoplazmy a **spuštění procesu translace** na ribosomu.
- ❖ Čepičku tvoří nukleosid **7-methylguanosen (m⁷G)** navázaný na první nukleotid mRNA řetězce přes tři fosfátové skupiny (a to přes 5' uhlíky obou ribóz).

CAPPING - proces přidávání čepičky na 5' - konec molekuly eukaryotické i virové mRNA.

- ❖ je to **první probíhající posttranskripční modifikace mRNA**. surového primárního transkriptu mRNA.
- ❖ na cappingu se podílí tři základní enzymy, které pracují v těsném sledu:
 1. **fosfatáza** odstraní 5' fosfát z konce mRNA.
 2. **guanyltransferáza** připojí GMP na konec řetězce a to ve směru 5'–5' (naopak než je normální v nukleových kyselinách).
 3. **methyltransferáza** přidá na guanosen methylovou skupinu.

CAPPING



POLYADENYLACE

- ❖ **Poly(A) konec** (také poly(A) ocásek) je sekvence asi 40–250 adeninových (A) nukleotidů, které jsou pomocí **poly(A)polymerázy** přidány na 3' konec mRNA v procesu tzv. polyadenylace.
- ❖ Poly(A) konec **zvyšuje stabilitu mRNA** (dokud má RNA poly(A) konec, není zpravidla degradována).
- ❖ Poly(A) konec **napomáhá exportu mRNA z jádra do cytoplazmy.**
- ❖ Pro vědce má poly(A) konec ten praktický význam, že umožňuje snadnou izolaci veškeré buněčné mRNA pomocí afinitní chromatografie na oligocelulóze.

SPLICING

- ❖ **Splicing (sestřih)** je postsyntetická úprava mRNA, k níž dochází v jádře eukaryotických buněk, jako závěrečná posttranskripční úprava mRNA.

SPLICING

- ❖ **Splicing (sestřih)** je postsyntetická úprava mRNA, k níž dochází v jádře eukaryotických buněk, jako závěrečná posttranskripční úprava mRNA.

TRANSLACE

- ❖ Translace neboli **proteosyntéza** je překlad nukleotidové sekvence mRNA do sekvence aminokyselin proteinu.
- ❖ Proces probíhá **v cytoplasmě buněk na ribosomech** a jednotlivé aminokyseliny jsou zařazovány **podle pravidel genetického kódu**.
- ❖ Mechanismus translace lze podobně jako u transkripce rozdělit do 3 fází.

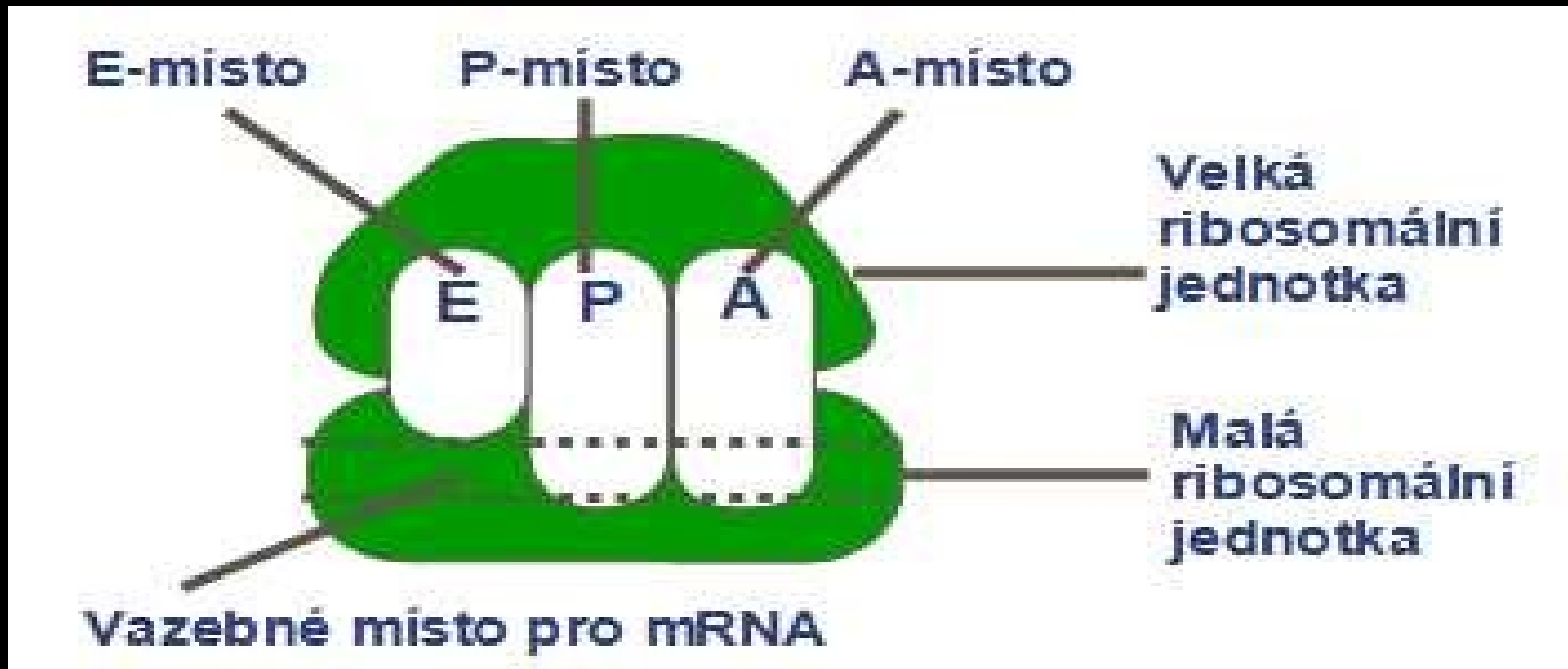
<https://www.youtube.com/watch?v=kmrUzDYAmEI>

		Druhý nukleotid					
		U	C	A	G		
První nukleotid	U	UUU fenylalanin	UCU serin	UAU tyrosin	UGU cystein	U	Třetí nukleotid
		UUC fenylalanin	UCC serin	UAC tyrosin	UGC cystein	C	
		UUA leucin	UCA serin	UAA stop kodon	UGA stop kodon	A	
		UUG leucin	UCG serin	UAG stop kodon	UGG tryptofan	G	
	C	CUU leucin	CCU prolin	CAU histidin	CGU arginin	U	
		CUC leucin	CCC prolin	CAC histidin	CGC arginin	C	
		CUA leucin	CCA prolin	CAA glutamin	CGA arginin	A	
		CUG leucin	CCG prolin	CAG glutamin	CGG arginin	G	
	A	AUU isoleucin	ACU threonin	AAU asparagin	AGU serin	U	
		AUC isoleucin	ACC threonin	AAC asparagin	AGC serin	C	
		AUA isoleucin	ACA threonin	AAA lysin	AGA arginin	A	
		AUG methionin	ACG threonin	AAG lysin	AGG arginin	G	
	G	GUU valin	GCU alanin	GAU kyselina asparagová	GGU glycin	U	
		GUC valin	GCC alanin	GAC kyselina asparagová	GGC glycin	C	
		GUA valin	GCA alanin	GAA kyselina glutamová	GGA glycin	A	
		GUG valin	GCG alanin	GAG kyselina glutamová	GGG glycin	G	

Iniciace translace

- ❖ Proces začíná **na iniciačním kodonu AUG** a pro iniciaci je třeba **iniciační tRNA**, která má na sobě vázaný **methionin** (u prokaryotních organismů formyl-methionin).
- ❖ u eukaryotních organismů je iniciační tRNA s navázaným methioninem připojena k **malé ribosomální jednotce** za asistence několika **proteinů tzv. iniciačních faktorů**.
- ❖ po navázání iniciační tRNA se malá podjednotka váže na 5' konec mRNA a začne se pohybovat podél mRNA ve směru 5' → 3' a hledat první kodon AUG, který je rozpoznán antikodonem iniciační tRNA.
- ❖ Jakmile ho nalezne, odpoutá se od malé ribosomální podjednotky několik iniciačních faktorů, což umožní připojení **velké ribosomální podjednotky**.

- ❖ Protože se iniciační tRNA váže rovnou do **P-místa** na ribosomu, může prodlužování řetězce (elongace) ihned začít navázáním druhé tRNA s aminokyselinou do **A-místa** na ribosomu.



- ❖ na ribosomu popisujeme **P (proteinové) místo** a **A (aminokyselinové místo) místo**, E místo pro prázdnou – deacylovanou tRNA.

Elongace translace

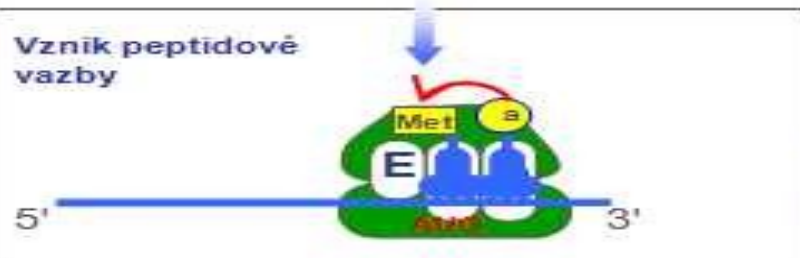
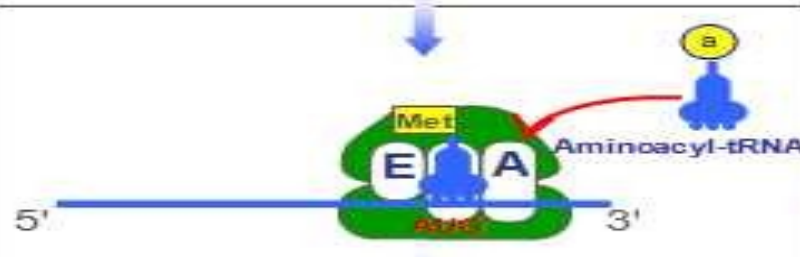
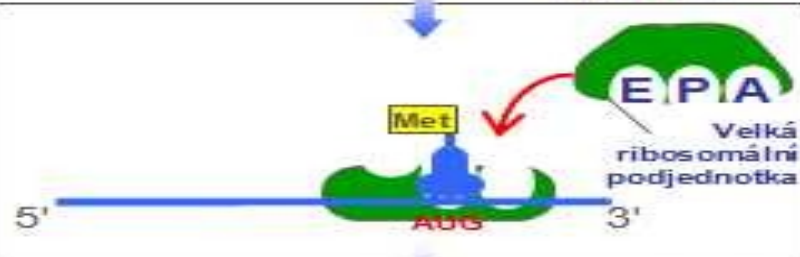
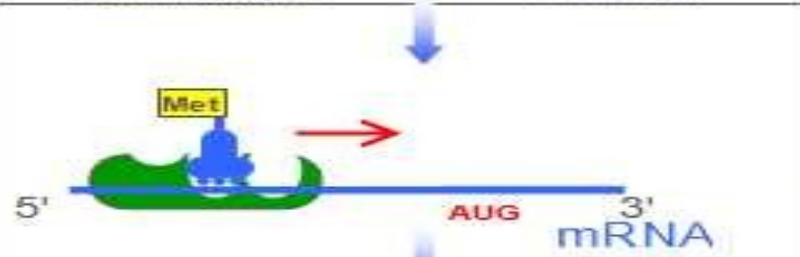
- ❖ Ribosom se pohybuje podél mRNA **ve směru 5' → 3'**, překládá nukleotidovou sekvenci do aminokyselinové za použití tRNA a po dosyntetizování proteinu se obě podjednotky ribosomu opět oddělí.
- ❖ při proteosyntéze je neustále **opakován tříkrokový cyklus**:
 - 1) v prvním kroku je **aminoacyl-tRNA navázána do A-místa**.
 - 2) ve druhém kroku **vzniká nová peptidová vazba** mezi přicházející aminokyselinou a prodlužujícím se peptidovým řetězcem
 - 3) ve třetím kroku **se ribosom posune o 3 nukleotidy** podél mRNA, čímž se uvolní tRNA bez navázané aminokyseliny z E-místa a tRNA z A-místa se přenesse do P-místa
- ❖ do volného A-místa se může okamžitě vázat další tRNA s připojenou aminokyselinou.

- ❖ mRNA je překládána ve směru 5' → 3' a **nejprve vzniká N-konec proteinu**, z čehož vyplývá, že polypeptidový řetězec roste směrem od N-konce k C-konci.
- ❖ celý cyklus všech tří kroků je opakován při každém předávání nové aminokyseliny do polypeptidového řetězce, dokud ribosom nenarazí na stop-kodon.

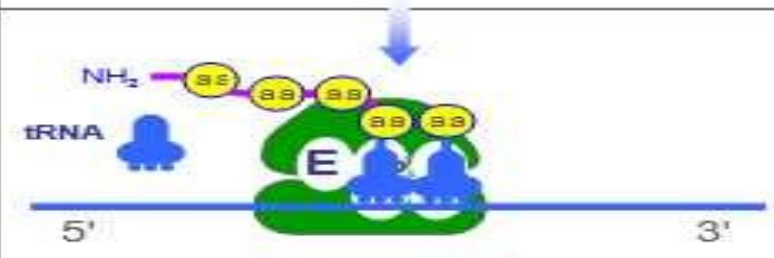
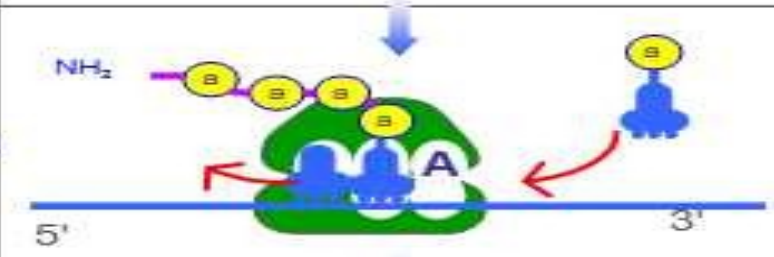
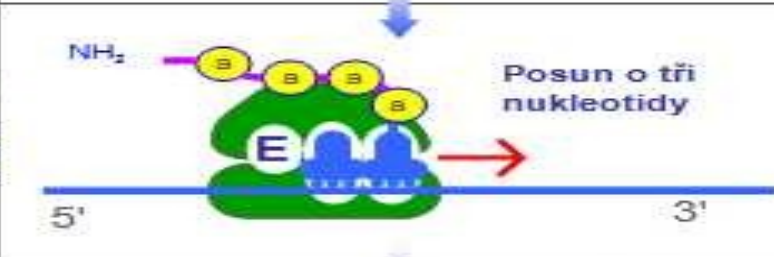
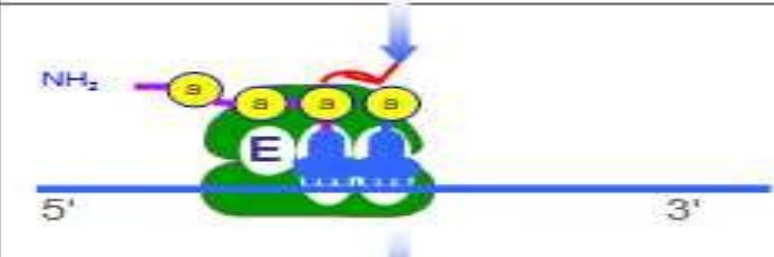
Terminace translace

- ❖ Konec proteinu je signalizován přítomností jednoho ze tří **terminačních neboli stop kodonů (UAA, UAG, UGA)**.
- ❖ těmto kodonům (vyjma UGA kodonu) není přiřazená žádná aminokyselina.
- ❖ místo tRNA se na stop kodon v A-místě vážou tzv. **terminační (uvolňovací) faktory**.
- ❖ místo aminokyseliny se váže molekula vody, čímž se uvolní karboxylový konec hotového polypeptidového řetězce z tRNA v P-místě.
- ❖ protein se uvolňuje do cytoplasmy.
- ❖ Po skončení proteosyntézy je mRNA odpojena od ribosomu a dojde k disociaci obou podjednotek ribosomu, které se mohou navázat na jinou molekulu mRNA a začít novou translaci.

iniciace



elongace



terminace

