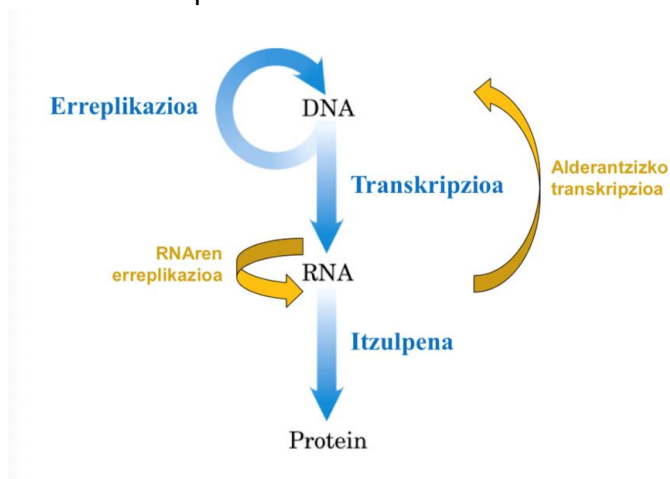


# 1. GAIA: SARRERA

## Biologia Molekularraren Dogma Nagusia

DNAREN dogma: transkripzio, erreplikazioa eta itzulpenean oinarritzen da. DNAREN informazioa erabilgarria izateko proteinetara igaro behar da, baina erdi bidean RNARA bilakatzen da transkripzioz, eta hori itzultzen da proteinetara informazio genetikoaren izateko.

Dena den, hau ez da honela, konplexuagoa da; RNA DNA ere bilakatu daiteke alderantzizko transkripzioa deitzen zaion prozesu baten bidez, birusek egiten dute hau, adibidez. Birusek gu infektatzeko RNA dutenez, DNARA igaro behar dute, alderantzizko transkripzioz. Eta beraien material genetikoaren RNA eran bilduta dagoenez, hauek RNA erreplikatzeko gai dira. Beraz, dogmaz gain hainbat salbuespen eta desberdintasun daude.



## Polimerioen egitura orokorra

DNA eta RNA nukleotidoz daude osatuta, DNA-k bi kate ditu eta RNAk aldiz kate bakarra.

DNAREN nukleotidoak:

- adenina (A) eta timina (T) bi hidrogeno zubiz elkartzen dira. RNA-k, timinaren ordez uraziloa (U) du.
- guanina (G) eta citosina (C) hiru hidrogeno zubiz.

DNA eta RNA 5--->3 norabidean sintetizatzen dira.

PROTEINAK

Proteinetan berriz hau ez da ematen, 20 aminoazido desberdin daude gure proteinak kodetzeko.

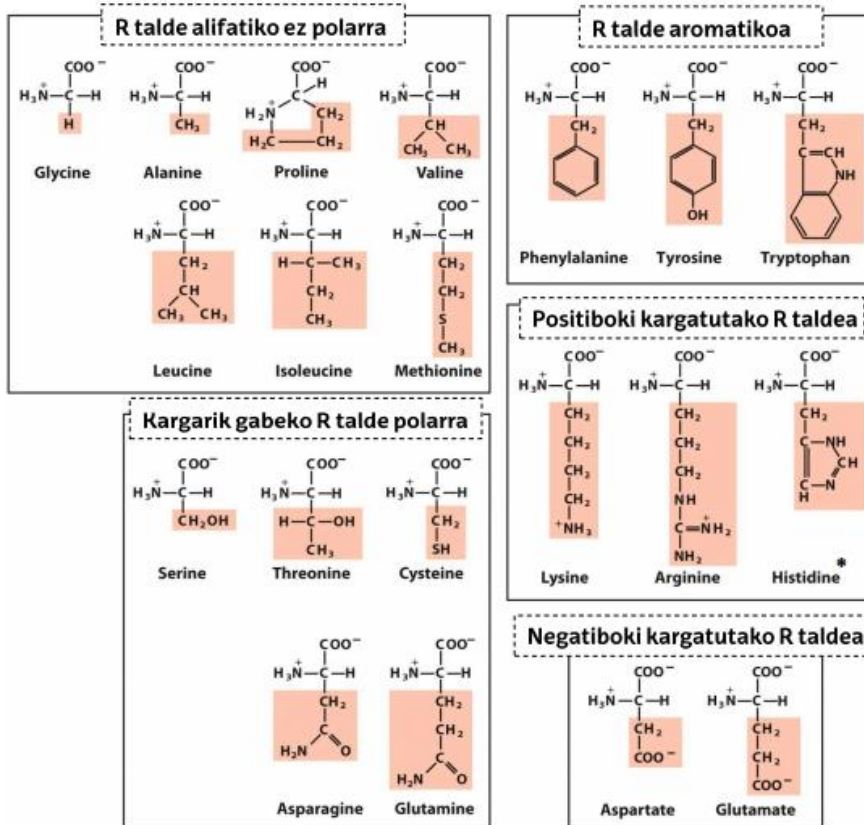
Proteinak, N, amino muturretik C, karboxilo muturrera irakurtzen dira.

**Aminoazidoak** proteinen monomeroak dira.

Honako hau da beraien egitura orokorrak: alfa karbono bat, eta honi lotuta: hidrogeno bat, R albo kate bat, karboxilo taldea eta amino taldea. pH fisiologikoan, aminoazidoa positibo eta karboxiloa negatiboa izango da. Dena den pH ren arabera aldatzen da hau.

Aminoazidoek isomeriak dituzte, adibidez enantiomeria: ispilu irudi gainezarezinak dira. Hau emateko, 4 loturak desberdinak izan behar dira, beraz, karbono hori asimetrikoa da eta honen arabera bi konfigurazio daude: L, amino taldea ezkerrean dutenak, eta D, eskuinean dutenak. Proteinak sortzen dituztenak aminoazidoak L motakoak izango dira. Glizinak ez du enantiomerorik izango, R talde moduan H duelako, eta beraz, ez duelako karbono asimetrikorik izango.

Sailkapena aminoazidoaren polartasunaren arabera egingo da. Proteinak egituraren baitan betetzen du bere funtzioa, eta egitura aminoazidoen araberakoa izango da, izan ere, aminoazidoen polartasunaren arabera lotura batzuk edo beste batzuk emango ditu.



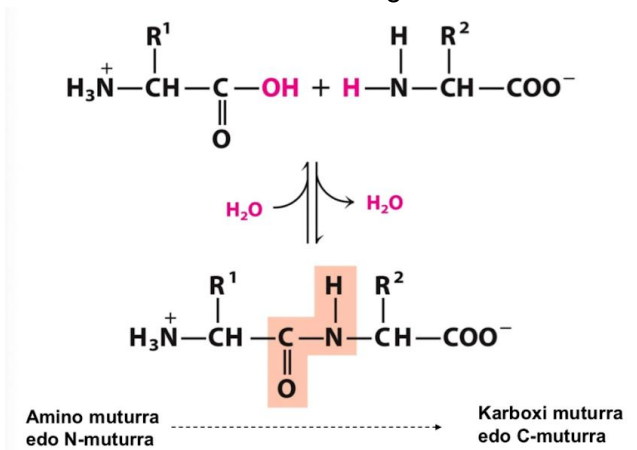
Histidinak berez, karga totala zero dauka (pka=6), eta histidina gutzien %50 baino gutxiagok izango dute karga.

R talde aromatikoak duten aminoazidoak izpi ultramoreak xurgatzeko gai dira, eta hau asko erabiltzen da laborategian.

Hizki bakarreko nomenklatura erabiltzen da datu basetan.

Alanina	Ala	A	pH fisiologikoan, R talde:	
Zisteina	Cys	C		<input type="checkbox"/> Ez polarra <input type="checkbox"/> Positiboki kargatuta <input checked="" type="checkbox"/> Negatiboki kargatuta <input type="checkbox"/> Ez kargatua
Azido aspartikoa	Asp	D		
Azido Glutamikoa	Glu	E		
Fenilalanina	Phe	F		
Glizina	Gly	G	} Polarra	
Histidina	His	H		
Isoleuzina	Iso	I	} Polarra	
Lisina	Lys	K		
Leuzina	Leu	L	} Polarra	
Metionina	Met	M		
Asparagina	Asn	N	} Polarra	
Prolina	Pro	P		
Glutamina	Gln	Q	} Polarra	
Arginina	Arg	R		
Serina	Ser	S	} Polarra	
Treonina	Thr	T		
Valina	Val	V	} Polarra	
Triptofanoa	Trp	W		
Tirosina	Tyr	Y	} Polarra	

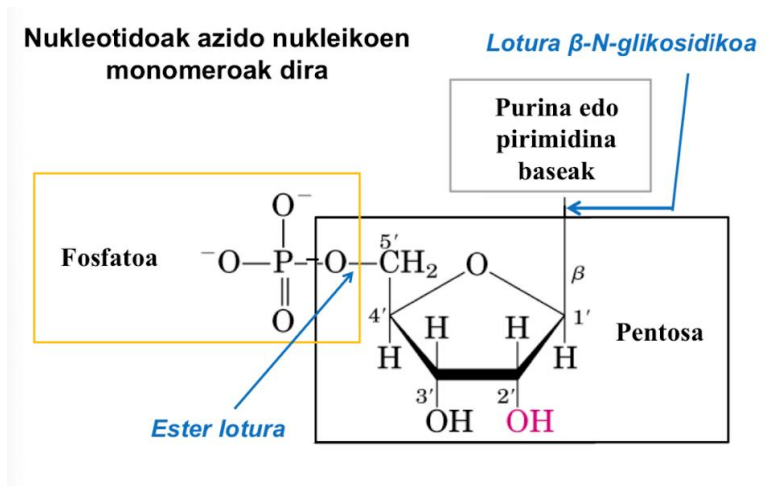
Lotura peptidikoa, aminoazido bateko karboxilo taldearen eta beste aminoazido baten amino taldearen artean ematen da, amida sortuz eta ur molekula bat galduz. Honela sortzen dira peptidoak. Plano bakarrean ematen da R taldeak inguruan izanik.



Aminoazido batzuk, ez dira proteinen osagaiak, berezko funtzio duten **aminoazido ez proteikoak** dira (bitartekari molekularrak), adibidez, ornitina eta zitrulinak uraren zikloan hartzen dute parte edo GABA neurotransmisorre bat da.

### AZIDO NUKLEIKOAK

Nukleotidoak, azukrez, base nitrogenatuz eta fosfatoz osatuta daude. Azukrea pentosa da eta base nitrogentuak purikoak edo pirimidikoak izan daitezke. Pentosaren 5. karbonoan ester loturaz fosfatoa lotuko da eta lotura beta- n glikosidikoaz lotzen da azukrea. Karbono anomerikoaren (forma linealetik ziklikora pasatzean asimetriko bilakatzen den karbonoa) konfigurazioa OH planoaren goian gelditzen delako da beta, eta N glikosidikoa deitzen zaio amino taldearekin ematen duelako lotura.

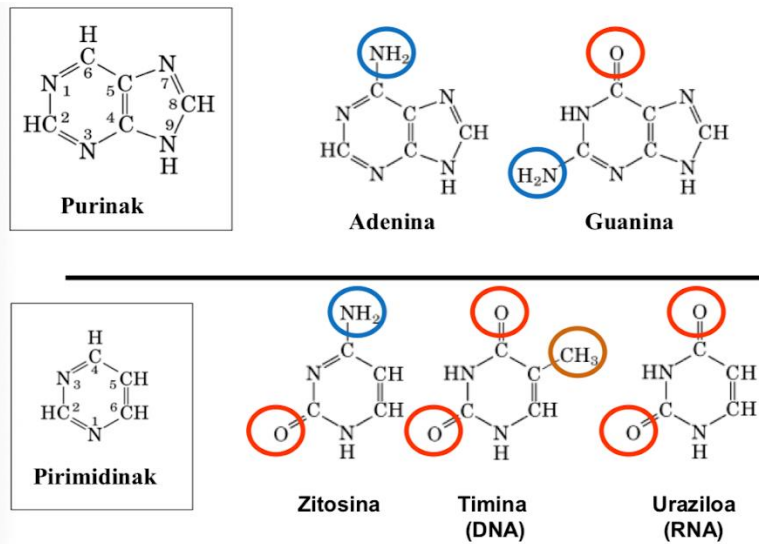


Nukleotidoek, azido nukleikoen osagai izateaz gain beste funtzio batzuk ere badituzte, adibidez, A koentzima, NAD/NADH, FAD/FADH nukleotidoak dira.

Nukleotidoen osagaiak:

**1. Base nitrogenatuak:**

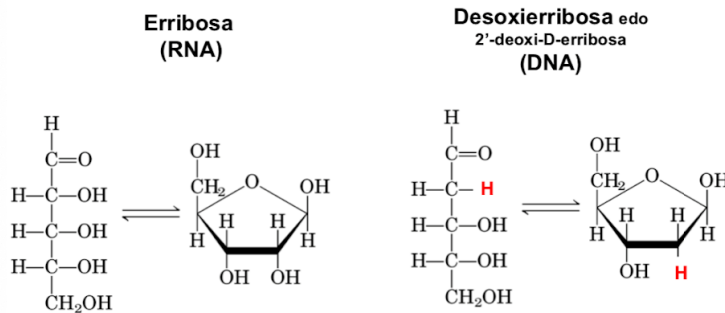
- Purinak: adenina eta guanina (hauek arruntenak/ugarienak).
- Pirimidina: timina, zitosina eta uraziloa (hauek arruntenak/ugarienak, talde funtzional gehiago dituzte. Zitosina eta uraziloa oso antzekoak dira baina timinak metilo talde bat du 2. karbonoan, uraziloak ez duena).



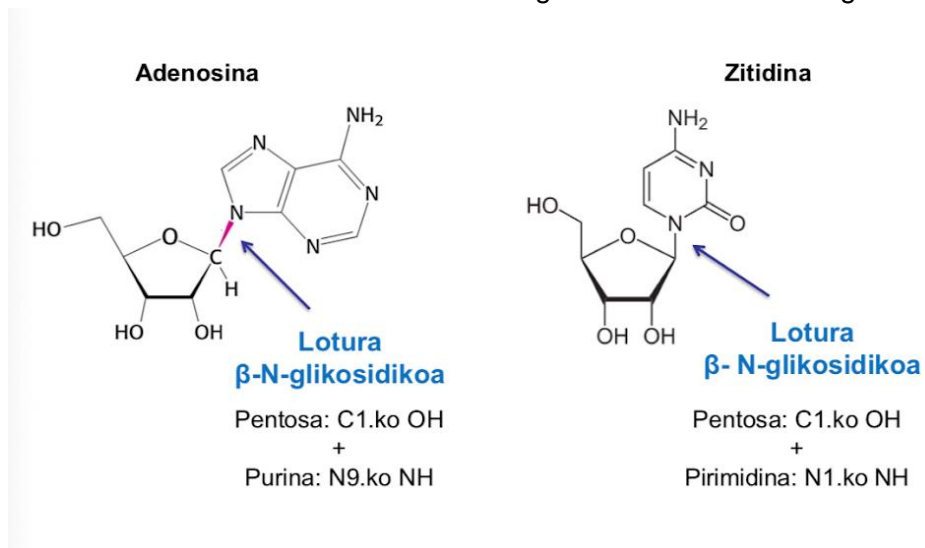
Hauek dira ugarienak, baina badaude beste mota bateko base puriko eta pirimidikoak ere eta bakoitzak bere ezaugarriak dituzte; adibidez, metilatuak. Nukleotido arraroak ere existitzen dira; oso komunak dira RNA garraiatzailean.

## 2. Azukreak:

Erribosa (RNA) eta desoxierribosa (DNA) daude, erribosak OH taldea du eta desoxierribosak aldiz H taldea du.

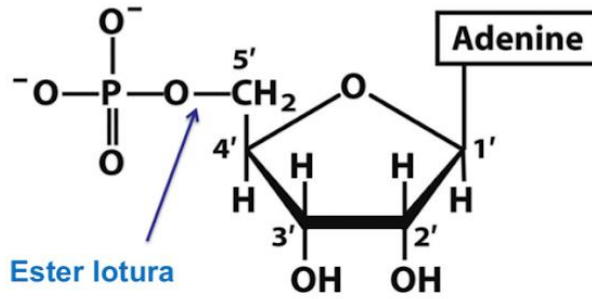


Lehenengo bi osagai hauen artean, azukrea eta base nitrogenatua, lotura beta-N-glikosidikoa ematen da, honela **nukleosidoa** sortuz. Adibidez, guanosina eta adenosina. Baina benetan azido nukleikoen osagaiak nukleotidoak izango dira.



## 3. Fosfatoa:

Ester loturaz lotzen dira nukleosidoa eta fosfatoa, nukleotidoa eratuz. Fosfato taldea 5. posizioan dutenak dira arruntenak, baina adibidez, AMP zillikoan posizioa desberdina da eta gainera ziklatuta dago fosfato taldea.



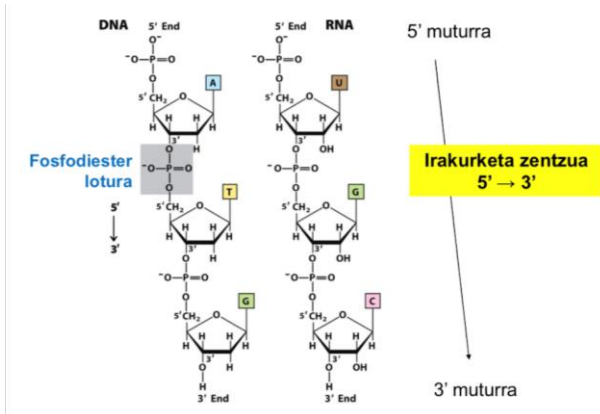
Pentosa: C5.ko OH  
+  
Fosfoatoa: OH

**(Desoxy)erribonukleosidoak eta (Desoxy)erribonukleotidoak**

<b>Erribonukleotidoak</b>				
	<b>Nukleotidoa:</b> Adenilato (adenosina 5' monofosfatoa)	Guanilato (guanosina 5' monofosfatoa)	Uridilato (uridina 5' monofosfatoa)	Zitidilato (zitidina 5' monofosfatoa)
	<b>Ikurrak:</b> <b>A, AMP</b>	<b>G, GMP</b>	<b>U, UMP</b>	<b>C, CMP</b>
	<b>Nukleosidoa:</b> Adenosina	Guanosina	Uridina	Zitidina
<b>Deoxierribonukleotidoak</b>				
	<b>Nukleotidoa:</b> Desoxiadenilato (desoxiadenosina 5' monofosfatoa)	Deoxiguanilato (desoxiguanosina 5' monofosfatoa)	Deoxitimidilato (desoxitimidina 5' monofosfatoa)	Desoxizitidilato (desoxizitidina 5' monofosfatoa)
	<b>Ikurrak:</b> <b>A, dAMP</b>	<b>G, dGMP</b>	<b>T, dTMP</b>	<b>C, dCMP</b>
	<b>Nukleosidoa:</b> Adenosina	Guanosina	Timina	Zitidina

Nukleotidoak oraingoz aipatu ditugunak denak monofosforilatuak dira, baina di edo trifosforilatuak ere existitzen dira.

Fosfodiester loturaren bidez lotzen dira elkarren artean nukleotidoak.



## 2. GAIA: DNAREN EGITURA SEKUNDARIOA ETA TERTZIARIOA

DNAREN egitura sekundarioa: helize bikoitza

Bi aurkikuntza nagusi egon ziren baina nagusiki guk Chargaff-en legea aztertuko dugu.

### CHARGAFF-EN AURKIKUNTZA:

Chargaff-en aurkikuntza arte uste zen informazio genetikoaren proteinetan zegoela gordeta, eta ez DNA-n.

Hurrengo ondorioak atera zituen:

- DNA-ren base konposizioa aldatu egiten da espezie batetik bestera (base-pare kopurua).
- Espezie berean ehun desberdinetatik isolatutako DNA laginek base konposizio berdina dute, hau da, informazio genetikoaren zelula guztietan dago eta guztietan bera da.
- Espezie bateko DNAREN base konposizioa ez da aldatzen adinarekin, ingurune baldintzekin etab.
- DNA guztietan adenina kopurua eta timina kopurua berdina da; baita Guanina eta zitosinarena ere. Horretaz gain,  $A+G=T+C$  erlazioa ere betetzen da.
- Base purikoen eta base pirimidinikoen kopurua ere berdina da.

#### **Chargaff-en legea (1940):**

$$A = T$$

$$C = G$$

$$A + G = T + C$$

**Base puriko = Base pirimidiniko**

### X IZPIEN DIFRAKZIO IRUDIAREN AURKIKUNTZA:

Beste aurkikuntza garrantzitsu bat, X izpien difrakzio irudia izan zen. Aurkikuntza hau Rosalind Franklin eta Maurice Wilkinsek egin zuten. Aztertu nahi zuten lagina izoztu eta ondoren izpiak bonbardeatu zizkioten, eta geratu zen irudiaren interpretazioa eginda DNAREN egitura ondorioztatu zuten.

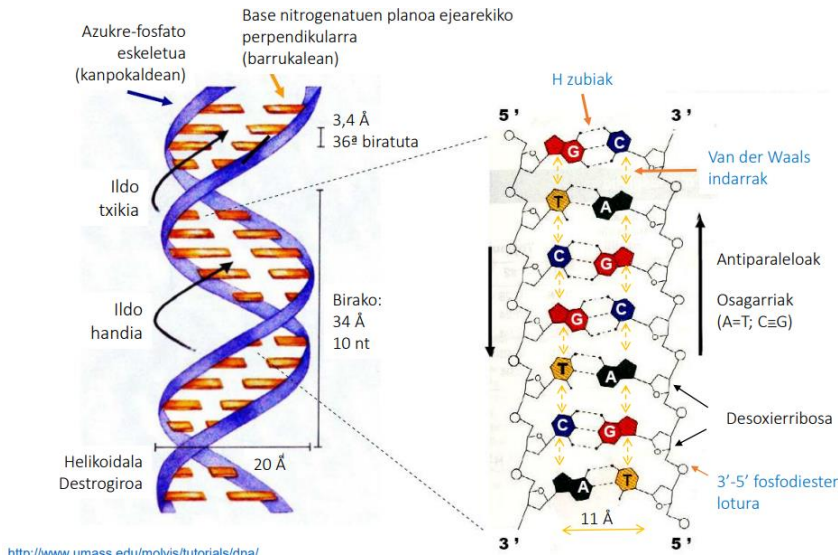
DNAREN egituraren inguruan, honako ondorioak atera ziren:

- Polimero luze, ordenatu eta helikoidala dela. (20Å diametroa).
- Bi periodikotasun antzeman ziren: primarioak 3,4Å-ekoa eta sekundarioak 34Å-ekoa.

Bi aurkikuntza hauek kontuan izanda, Watson eta Crick-ek ondorioak atera eta DNAREN helize bikoitza artikulua argitaratu zuten.

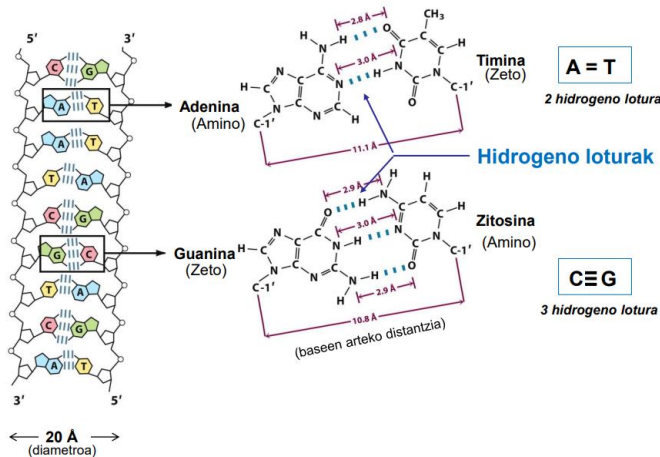
**WATSON eta CRICK-en HELIZE BIKOITZA: B DNA**

DNA helize bikoitzean azukre-fosfato eskeletoa kanpoaldean aurkitzen da, eta base nitrogenodunak barnealdean. Hidoregona zubiek ahalbidetzen dute helizeen arteko distantzia egokia izatea eta mantentzea, harizpien barneko indarrak, van der Waals indarrak, ahalbidetzen dute helizea ez uzurtzea edo zabaltzea.



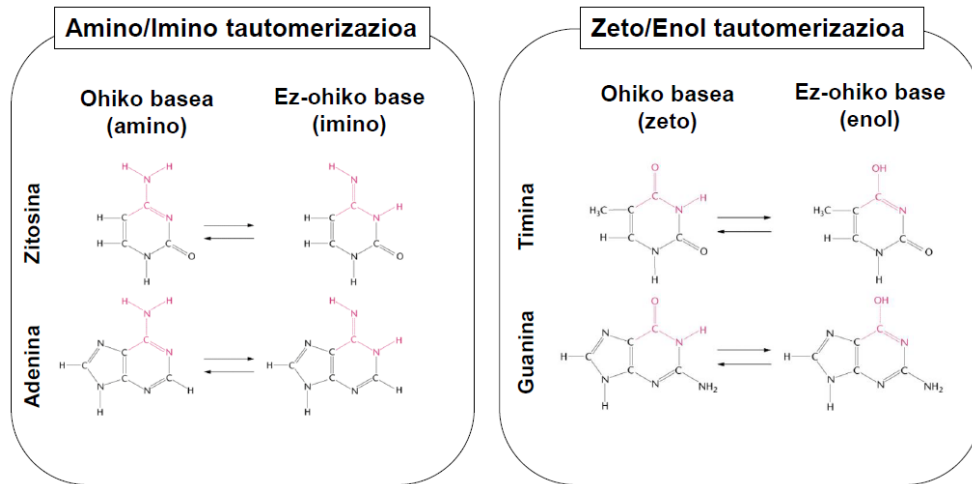
**Baseen “ohiko” parekaketa (WATSON eta CRICK-en parekaketa):**

Normalean honela parekatzen dira baseak baina aldaketak egon daitezke. Batzuetan baseak tautomerizatzen dira, hau da, baseak espontaneoki eraldatzen dira. Tautomerizazioaren ondorioz mutazioak ematen dira.



**Tautomerizazioa**, espontaneoki gerta daitekeen baseen eraldaketa da. Honek mutazioak eragin ditzake. Amino/Imino tautomerizazioa edo Zeto/Enol tautomerizazioa gerta daiteke:





Tautomerizazioaren ondorioz nukleotidoen ez ohiko parekamenduak gertatzen dira, zitosinaren forma tautamerikoa adeninarekin elkartzen da, guaninarekin elkartu ordez. Guanina zitosinarekin elkartu ordez, bere forma tautomerikoan, timinarekin parekatzen da. Hauek, normalean sortu eta ondoren desagertu egiten dira, baina ez badira konpontzen bi belaunaldietan, mutazioak agertu daitezke.

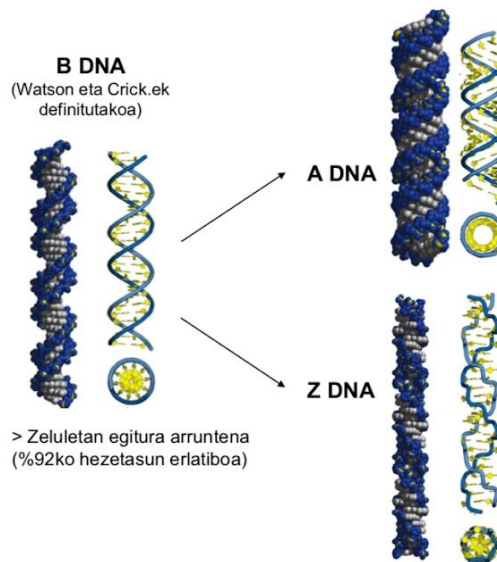


\* Nukleotidoa forma tautomerikoan.

**DNAREN EGITURA SEKUNDARIOAREN ALDAKUNTZAK:**

DNAREN EGITURA SEKUNDARIOAN HAINBAT MOTA AURKITU IZAN DIRA:

- **B DNA:** Watson eta Crick-ek definitutako DNA da. Zeluletan egitura arruntena da, eta %92ko hezetasun erlatiboa du, destrogiora.
- **A DNA:** *in vivo* ez da aurkitu. RNA/RNA eta RNA/DNA duplexoen egitura dute. DNA mota hau destrogiora da eta B DNA baino laburragoa eta diametro zabalagoa du.
- **Z DNA:** ez du eskuineratz giratzen, lebogiara da. B DNA baino luzeagoa, txikiagoa eta bizkarrezurra zigi zagan du. *In vivo* existitzen da eta geneen erregulazioarekin eta errekonbinazioarekin erlazionatzen da.



**DNAREN EGITURA SEKUNDARIOAREN EGITURA BEREZIAK:**

- **H DNAk**, helize hirukoitza dauka. Destrogiroa eta CTn (zitosina eta Timinan) aberatsak diren sekuentzietan agertu ohi da.
- **Sekuentzia palindromikoa**, murrizketa entzimek edo endonukleasek ezagutzen dituzten sekuentziak dira.

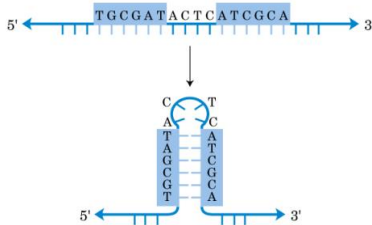
Harizpi bat 5→3 aldera irakurri eta bestea 5→3 zentzuan irakurriz berdina direnean



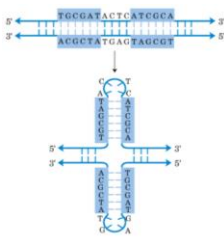
- **Ispilu errepikapena**, puntu batean alde batera irakurri eta bestera irakurrita, norantza desberdinean berdina irakur dezakegunean, gainezarriz berdina izango litzateke.



- **Urkila:**



- **Gurutzea:**



**DNAREN EGITURA TERTZIARIOA: SUPERKIRIBILDURA**

Zelula bakoitzak 1 m DNA du, gu diploideak garenez, zelula bakoitzak (2n, diploide) = 2 m DNA ditu. Gizakietan DNA luzeera guztira (10<sup>14</sup> zelula) 2 x 10<sup>11</sup> Km izango litzateke, konparatzeko lurraren zirkunferentzia 4 x 10<sup>4</sup> Km da eta eguzkiaren eta Lurraren arteko distantzia 1.5 x 10<sup>8</sup> Km

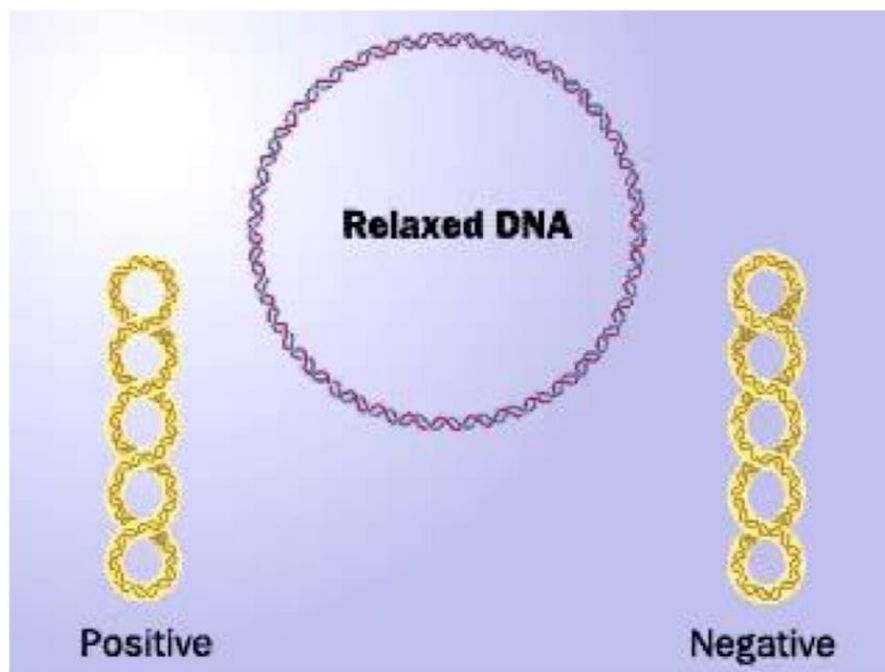
Zelula eukariotoetan (animalietan, landareetan, legamietan, fungi erreinuan...) DNA nuklearra (kromatina/kromosomak) eta DNA ez nuklearra (organulueta: mitokondrioak eta kloroplastoak) ditugu. Zelula prokariotoetan aldiz (bakterioetan), nukleorik ez dagoenez, ez da DNA nuklearra egongo.

DNA superkiribilduta dago (kiribil baten kiribila), horregatik dago hain luzea den egitura bat hain espazio txikian.

### B DNA:

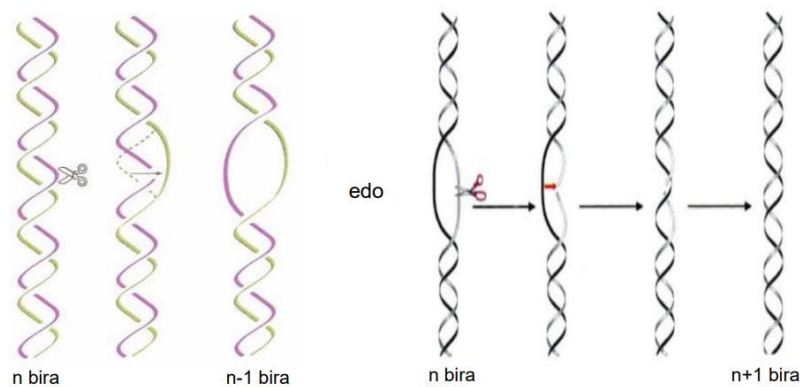
B DNA **destrogiroa** da. Konformazio egonkorra du eta superkiribilkapenik gabekoa da. Bira bakoitzean 10 nukleotido egon ohi dira, baina batzuetan 10 nukleotido baino gehiago edo gutxiago egon daitezke, beraz konformazioa ez da egonkorra izango. Adibidez:

- B DNA ezkererantz biratzen bada, behar baino gutxiago kiribilkatuko da helizea eta ez da konformazio egonkorra izango. Gainera, birako nukleotido gehiago izango ditu (adibidez 11 nukleotido birako). Tentsioak liberatzeko, bere buruaren gainean eskuinerantz kiribiltzeko joera izango du, superkiribildura negatiboa eratzuz.
- B DNA eskumarantz biratu ezker behar baino gehiago kiribilduko da helizea eta konformazioa ez da egonkorra izango, bira bakoitzeko nukleotido gutxiago izango dituelako (9 nukleotido adibidez). Tentsioak liberatzeko, bere buruaren gainean kiribilduko da ezkererantz, superkiribildura positiboa eratzuz.

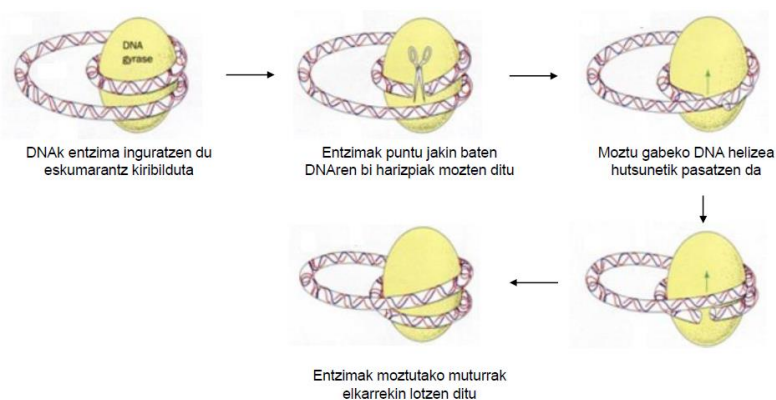


Prozesu hau gauzatzeko topoisomerasa entzimen familia (edo girasak) oso garrantzitsuak dira, DNAREN kiribildura maila erregulatzen dute (helizea emendatuz=handituz edo murriztuz).

- **Topoisomerasa I:** bi harizpietako bat mozten dute, tentsioa murriztuz, bai gehiago kiribilduz edo gutxiago kiribilduz (DNA harizpian mozketak eginez).

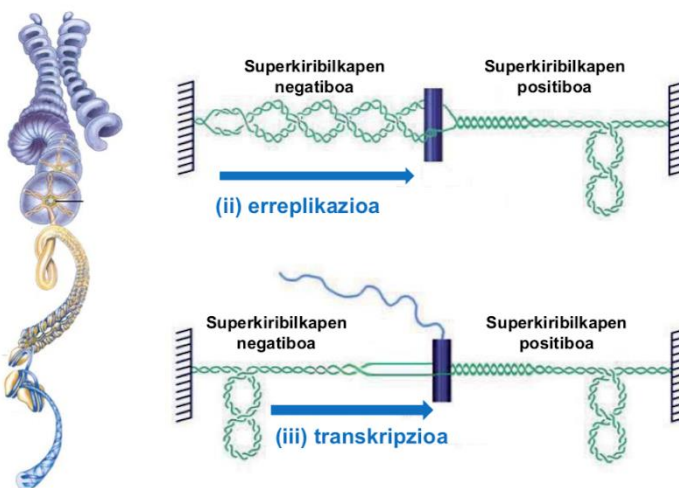


- **Topoisomerasa II (girasa):** bi harizpiak mozten ditu. Ondoren ukitu gabeko harizpi bikoitza mozketara gunetik pasatzen da. Azkenik moztutako muturrak elkarrekin lotzen ditu.



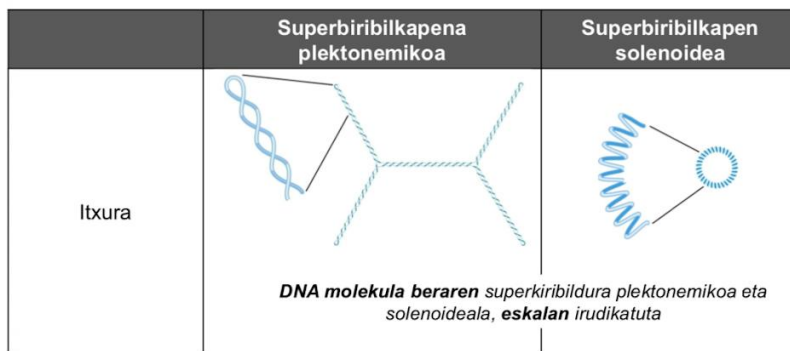
Transkripzioan eta erreplikapenean kiribilkapena gutxiagotu behar da eta ondorioz oso garrantzitsuak dira entzima hauek. Erreplikazioan, superkiribilkapen negatiboa superkiribilkapen positibo bihurtuko da; transkripzioan aldiz, alderantziz.

(i) DNAREN paketamedua



Bi superkiribilkapen mota daude:

- **Plektionemikoa:** ez dute proteinek parte hartzen eta trinkotasun-maila baxua du.
- **Solenoidea:** DNAREN paketamenduan ematen da. Proteina batzuk hartzen dute parte eta trinkotasun-maila altua du.



## Kromatina eta kromosomak

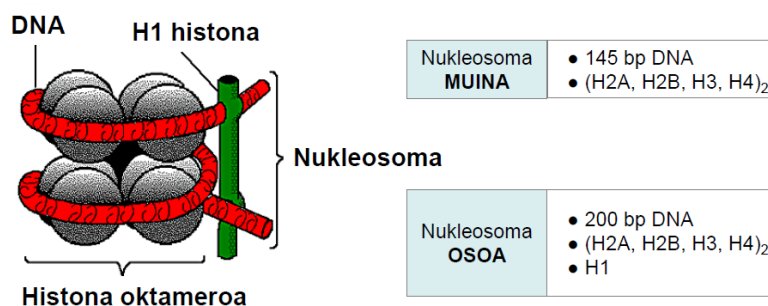
Zelula eukariotoetan kromatina eta kromosomak antzematen dira.

- **Kromatina:** amorfoa da eta nukleoan barreiatuta dago. Zelula zikloko interfasean agertzen da eta trinkotasun-maila baxua du. Kromatinaren osagaiak, DNA, RNA eta proteinak dira.
- **Kromosoma:** meiosi edo mitosian agertzen da, DNA kondentsatu eta ordenatu egiten da eta bastoi forma hartzen du. Trinkotasun maila oso handia du.

Kromatina kromosoma bilakatzeko prozesuari, kondentsazioa deritzogu; aldiz kromosoma kromatina bilakatzeko prozesuari, deskondentsazioa.

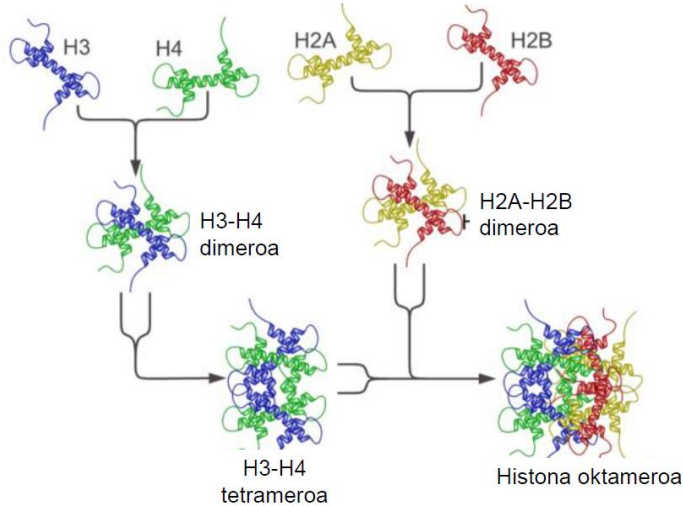
**Nukleosoma**, kromatinaren oinarritzko antolakuntza unitatea da, DNA-histona konplexua. Nukleosoma osatzen duten molekulak, hauexek dira: bi harizpidun DNA eta bost histona mota (H1, H2A, H2B, H3 eta H4).

**Histonak**, zelula eukarioto guztien kromatinan azaltzen diren proteina basiko oso txikiak dira. Oktameroa 8 histonez dago osatua, DNA bere inguruan kiribiltzen da muina osatuz, eta H1 histonak eutsiko dio egiturari.

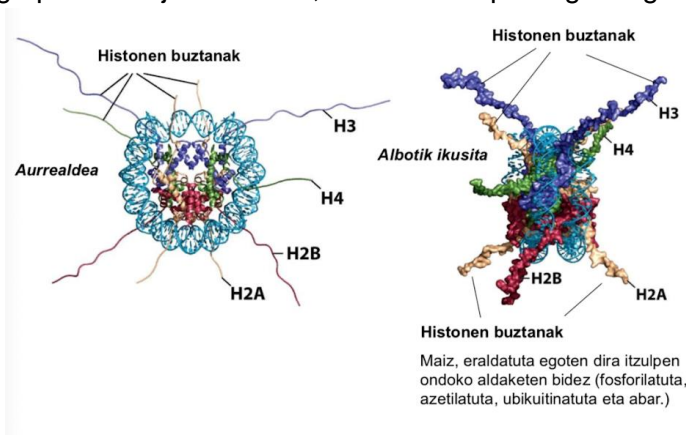


DNA oso negatiboa da, fosfato taldeak oso negatiboak direlako; aldiz histonak, oso positiboak dira, kargak berdintzeko. Histonak ia ez dute eboluzionatu, oso garrantzitsuak direlako gertatzen da hau.

Histonen oktomeroa osatzeko:

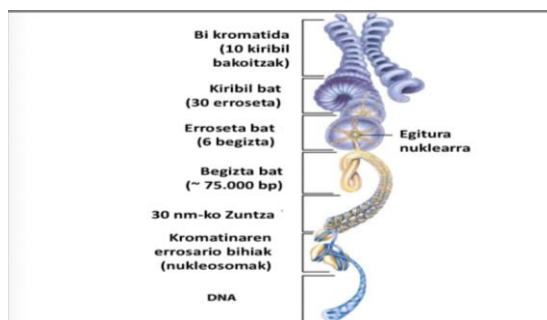


**Nukleosoma muina:** nukleosomaren muinetik histonen buztanak ateratzen dira. Buztan hauek, maiz, eraldatuta egoten dira itzulpen ondoko aldaketen bidez (fosforilatuta, azetilata, ubikuitinatuta...). Transkripzioa edo erreplikazioa eman nahi denean, histonen karga positiboa gutxitu behar da, glizina eta arginina oso positiboak baitira, eta hauen amino taldeak azetilata karga positiboa jeisten dute, honela kiribilpena gutxiagotuz.



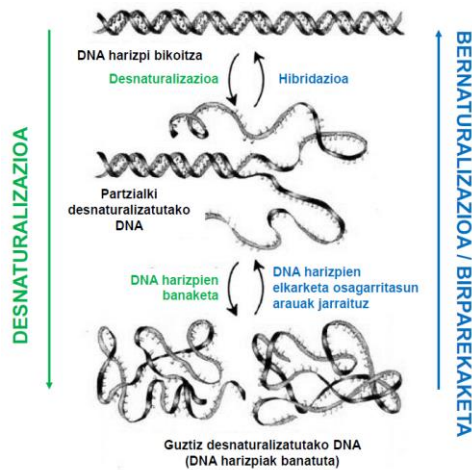
**Errosario egitura:**

Nukleosomak segidan jartzen dira, errosario egitura sortzen dute. Egitura hau sortzen denean, superkiribilkapena gertatzen da (geroz eta maila altuagoko egituretan paketatzen dira).



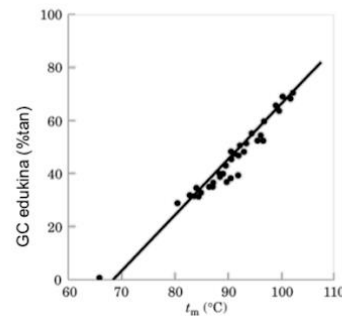
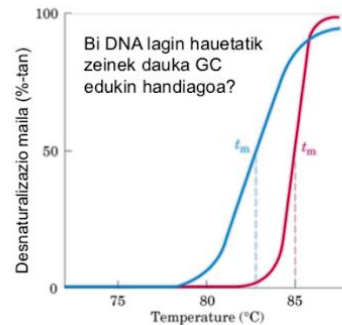
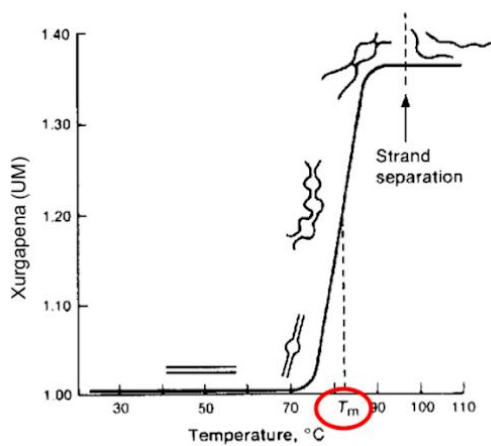
## DNAREN desnaturalizazioa eta efektu hiperkromikoa

DNAREN deskondentsazioa eta desnaturalizazioa prozesu ezberdinak dira. Deskondentsazioa, DNAREN egituraren trinkotze maila txikitzean datza (kromosometatik kromatinara). Desnaturalizazioan aldiz, bi harizpiak banatu egiten dira, hidrogeno zubiak apurtuz (adibidez beroarekin). Aldiz bi harizpiak berriz ere lotzen direnean, hibridazioa gertatzen da. Baldintzen arabera, prozesu hau itzulgarria edo itzulezina izan daiteke.



DNA harizpiak deskribilkatzen hasten direnean, ultramoreen xurgapena handitzen da (*strand separation* puntura iritsi arte). Aldiz, DNA harizpiak kiribilkatuta baldin badaude, ez da xurgapenik emango. Base nitrogenatuek xurgatzen dute argi ultramorea, kiribilduta daudenean ez dira ikusten eta aldiz deskribiltzean geroz eta gehiago ikusten dira.

### Efektu hiperkromikoa:



DNAREN desnaturalizazioa, DNAREN egitura sekundarioa galtzen denean ematen da, bi harizpiak elkarrengandik banatzen dira, baina ondoz ondoko nukleotidoak elkarren artean loturik egongo dira. Hidrogeno loturak dira apurtuko direnak; eta ez fosfodiester loturak. DNAREN desnaturalizazioak ez dauka kondentsazioarekin zer ikusirik.

Bi DNA harizpiak desnaturalizatzeko, bi DNA desberdinek ez dute tenperatura berdina behar, Guanina- Zitosina gehiago baldin baditu, hidrogeno lotura gehiago izango ditu (lotura bakoitzean 3) eta beraz GC kopuruaren arabera aldatuko da desnaturalizazioa emango den tenperatura.

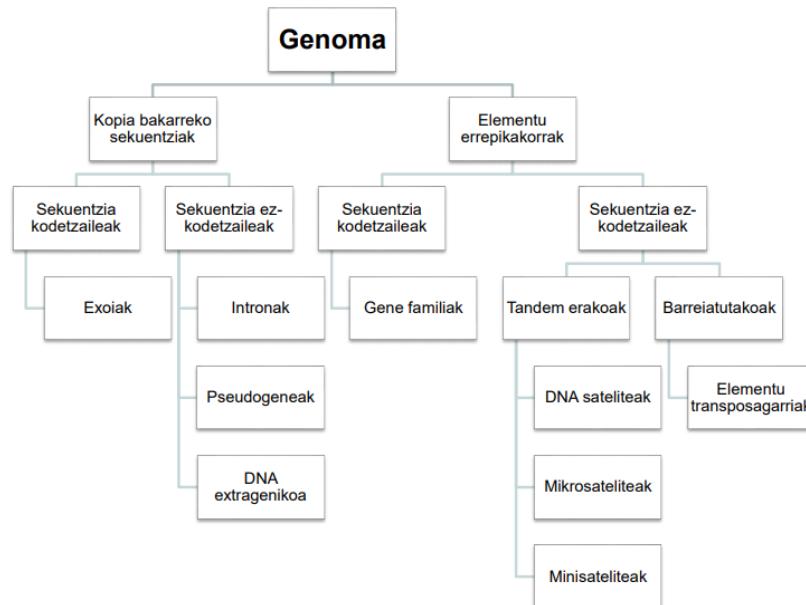
## Genomak

Genomen sekuentziak ezagutu zirela ez da denbora asko igaro, baina hau ezagutu aurretik, uste zen organismo konplexuen genoma oso luzea izango zela. Behin sekuentzia ezagututa, badakigu organismoen konplexutasunak eta genomaren sekuentziaren luzerak ez dutela loturirik.

### Genea:

Hasiera batean, entzima bat kodetzen duen DNAREN zatia zela uste zen, ondoren proteina bat kodetzen zutela uste zuten. Gaur egun ordea, gene produktu baten (RNA edo polipeptido bat) lehen mailako sekuentzia kodifikatzen duen DNA guztia da, kodetzailea eta erregulatzailea.

### Genoma eukariotikoaren antolaketa:



Sekuentzia errepikatzaileek berebiziko garrantzia dute.

Kodetzailea ez den (erregulatzailea) DNA kopurua handiagoa da organismo konplexuetan.



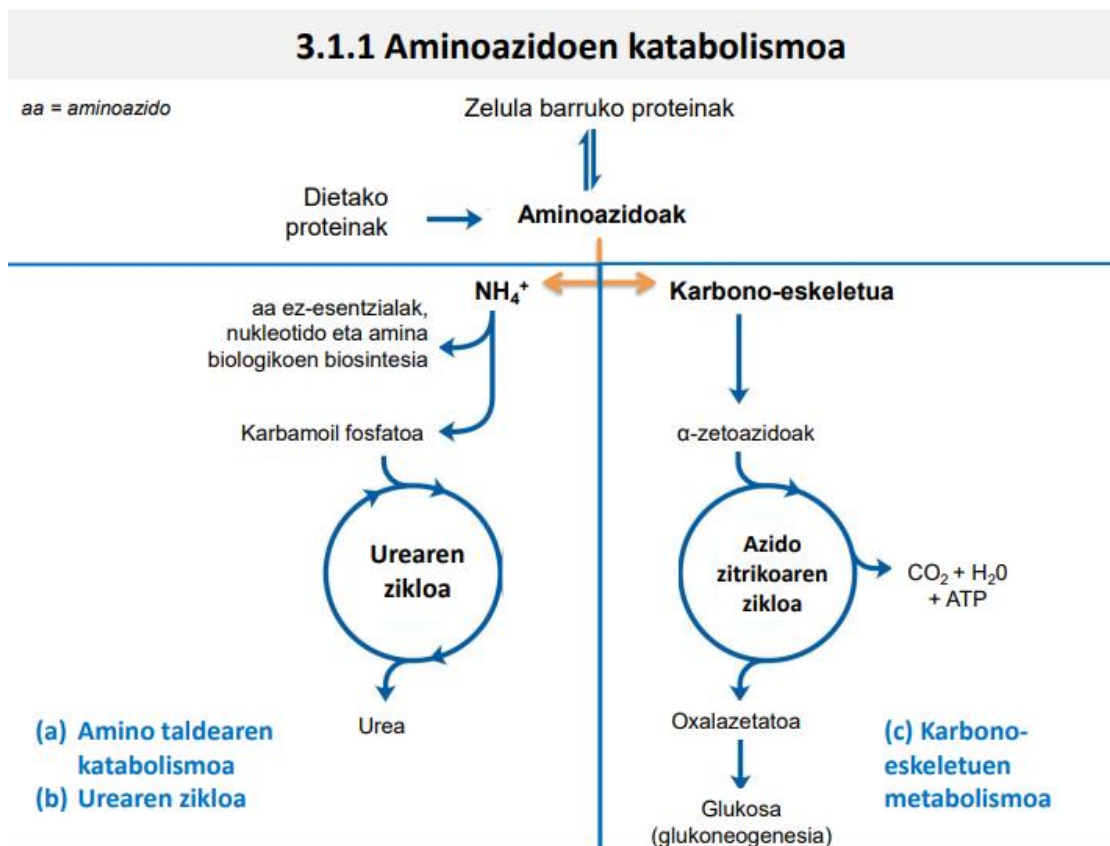
# 3. GAIA: AMINOAZIDOEN ETA NUKLEOTIDOEN METABOLISMOA

## Aminoazidoen metabolismoa

### AMINOAZIDOEN KATABOLISMOA

Aminoazidoen degradazioaren helburu nagusia ez da energia eskuratzea, nahiz eta 3 baldintza hauetan energia eskuratzeko degradazio oxidatiboa ematen den:

- Zelula proteinen sintesi eta degradazio arruntetan, proteinen degradazioan disoziatutako aminoazidoetako batzuek degradazio oxidatiboa jasan dezakete proteina berriak sintetizatzeko behar ez badira.
- Dietak proteina asko duenean, eta gorputzak proteinak sintetizatzeko behar duena baino aminoazido gehiago dituenean, soberakina katabolizatu egin daiteke; aminoazidoak **ezin** dira **metatu**.
- **Baruladian edo *diabetes mellitusean*** karbohidratorik ezin direnean lortu edo ezin direnean era egokian erabili, gorputzeko proteinak erabiltzen dira erregai gisa.



**Amino taldearen katabolismoa:**

Aminoazido gehienak gibelean, **hepatozitoetan** metabolizatzen dira. Prozesu honek hiru pausu ditu:

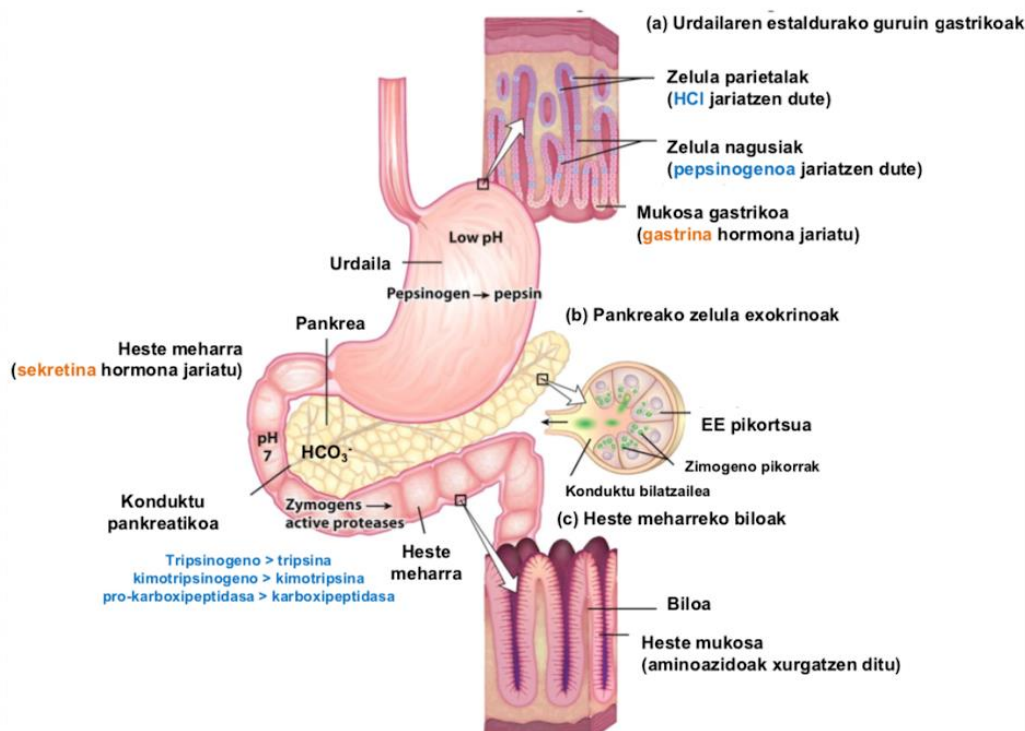
1. Dietako proteinen degradazio entzimatikoa:

Elikagaietako aminoazidoak urdailera iristean, urdaileko mukosako guruin gastrikoek gastrina jariatuko dute. Honek bi ondorio ditu: pepsinogenoa (urdaileko zelula nagusiek) eta azido klorhidrikoa (urdaileko zelula parietalek) jariatzea. Honela, desnaturalizazioa emango da. Pepsinogenoa, pepsinaren era inaktiboa da (zimogenoen funtzioa proteinen degradazioa ematea da), normalean honela sintetizatzen dira eta beraien funtzioa gauzatu behar duten ehunera iristean ematen da aktibazioa.

HCl-ak bi funtzio ditu, antiseptikoa pH azidotzen du, bakterioak edo organismo toxikoak hiltzen ditu, honela ez gara gaixotzen eta baldintza azidoagatik pepsinogenoaren aktibazioa ematen du pepsina sortuz. Honek proteinak degradatuko ditu, desnaturalizatuz.

Urdaillean, beraz, pixka bat degradatu da proteina, baina ez guztiz. Ondoren, heste meharrera joango da proteina erdi-degradatua. Heste meharrak sekretina jariatuko du. Hormona honek hiru proteasen aktibazioa eragiten du: Tripsinogenoa (tripsina sortu), kimotripsinogenoa (kimotripsina sortu) eta pro-karboxipeptidasa (karboxipeptidasa sortu). Bestalde, pankreasak bikarbonatoa jariatuko du azidoa neutralizatzeko.

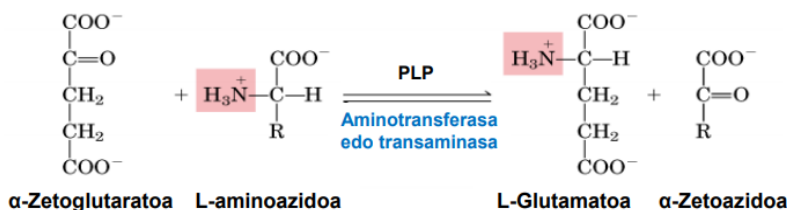
Hau eman ostean, proteinak aminoazidotan degradatuta izango ditugu. Orain, aminoazidoen degradazioa emango da.



2. Transaminazioa:

Lehen erreakzioan, aminoazidoek beraien amino taldea beste molekula bati transferituko diote. Aminoazido bakoitzak bere aminotrasferasa izango du, hau da, aminoazido bakoitzak amino taldea transferitzeko bere molekula propioa izango du. Erreakzioa beti da berdina, beti sortzen da glutamatoa (aminoazido guztietan):

(2) Transaminazioa

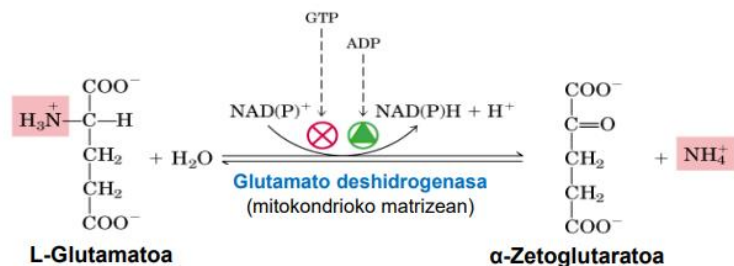


Erreakzio guzti hauek piridoxal fosfato (PTP) koenzimaren laguntzarekin katalizatzen dira.

3. Glutamatoaren desaminazio oxidatiboa:

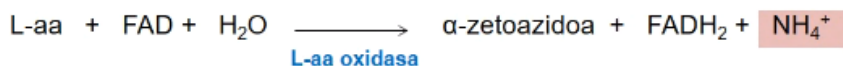
Glutamatoa oxidatu egingo da azken pausu honetan, amino taldea galduz. Honekin batera NAD(P)+ erreduzitu egiten da. Erreakzio hau katalizatzen duen entzima alosterikoa glutamato deshidrogenasa da.

Erreakzio hau inhibitu egingo da energia asko dagoenean, krebsen zikloko bitartekari oso garrantzitsua baita alfa zetoglutaratoa, eta krebsen zikloaren helburua energia eskuratzea delako. Energia gutxi baldin badago, erreakzio hau aktibatzen da, krebsen zikloa emateko eta energia lortzeko.



Transaminazioa + Glutamatoaren desaminazio oxidatiboa = Transdesaminazioa.

Aminoazido batzuk ordea, zuzenean oxidatzen dira transaminaziorik gabe.



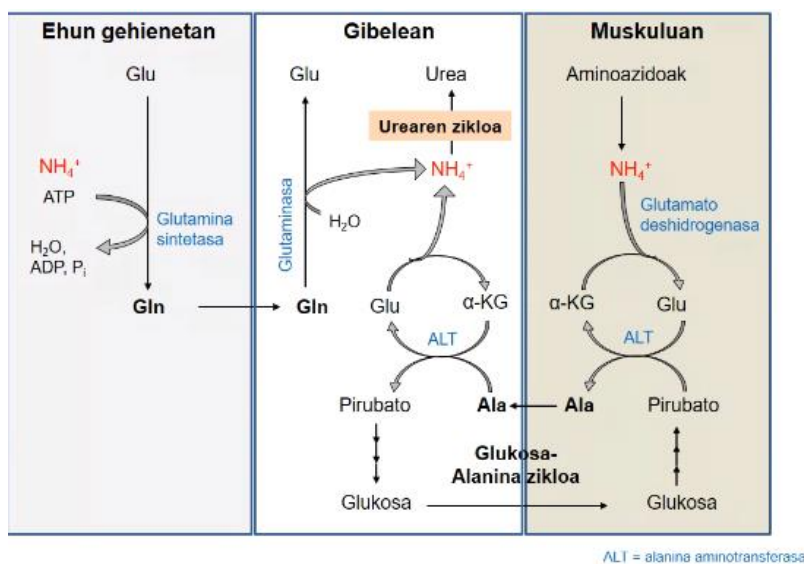
Beste aminoazido batzuk soilik desaminazio ez-oxidatiboa jasaten dute. Hidroxiloa beta posizioan daukaten aminoazidoetan (Ser, Thr) ematen da eta entzima, serina edo treonina deshidratasa izango da.

Aminoazidoen katabolismoan sortzen den amoniakoa toxikoa da pHan eragina duelako. Amoniako soberakina ezabatzeko biomolekula garrantzitsuak desagertzen dira (α-Zetoglutaratoarekin adibidez, honek krebsen zikloa inhibitzea eragingo du). Ondorioz, berriz ere biomolekula hauek errekuaratzeak energia gastua suposatuko du.

Amoniakoak kanporatzeko animalia desberdinek metodo desberdinak erabiltzen dituzte:

- **Animalia amoniotelikoak:** nitrogenu aminikoa amoniakotik irazten dute. Arrain hezurduak talde honetakoak dira.
- **Urikotelikoak:** nitrogenu aminikoa azido urikotik irazten dute. Txoriak eta narrastiak urikotelikoak dira.
- **Ureotelikoak:** nitrogenu aminikoa ureatik (urearen zikloa) irazten dute, giltzurrunean eta batez ere gibelean. Lehortarrek burutzen dute.

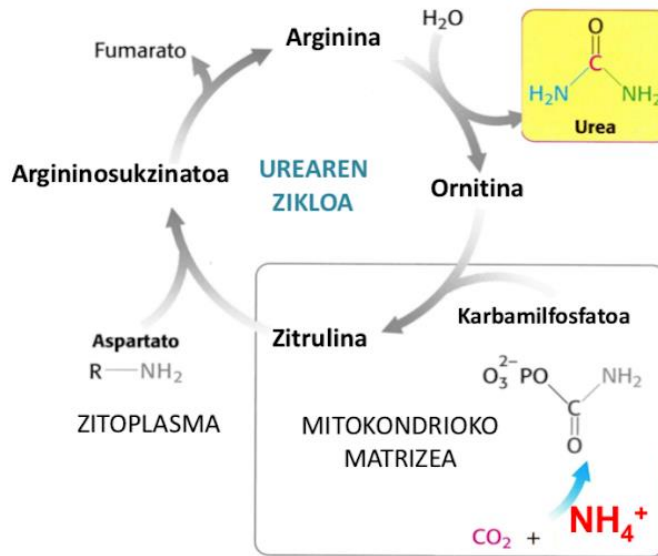
Amoniakoak garraiatu egin behar da zelula desberdinetan zehar, izan ere, gorputzeko zelula askotan sortzen da eta bertatik kanpora garraiatu behar da, lehendabizi gibelerara eta ondoren kanpora, aurrez esan bezala, oso toxikoa den konposatua izanik.



- **Ehun gehienetan:** amoniakoak glutamatoak garraiatuko du. Baina glutamatoa karga negatibodun aminoazidoa da eta ez ditu mintzak zeharkatzen. Hori dela eta, glutamatoa glutaminan bihurtuko da. Ondoren, gibelean hepatozitoetara joango da. Beraz, hobeto esanda, glutamina arduratuko da amoniakoak garraiatzeaz. Behin amoniakoak gibelean dagoela, alderantzizko erreakzioa emango da.
- **Muskuluetan:** amoniakoak  $\alpha$ -zetoglutaratoarekin erreakzionatzen du glutamikoak emanez, baina karga negatiboa du eta ondorioz ezin du mintz plasmatikoa igaro. Beraz, glutamikoak amino taldea pirubatoari pasako dio eta azkenik, alanina bilakatuko da; hau izango da garraiatzailea. Alaninak, pH fisiologikoan karga netoa zero dauka, beraz, odolean erraz garraia daiteke amoniakoak, hepatozitoetara iritsi arte. Bertara iristean, berriz ere alderantzizko erreakzioa emango da, pirubatotik glutamikoak sortuz (alaninatik abiatuta). Bestalde, amoniakoaren bidea beti jarraia izan dadin, muskuluetan, glukolisia eginez pirubatoak sortu eta hauek alanina bilaka daitezke. Gibelean ere, pirubatotik glukosa sortu daiteke glukogenesiaren bitartez (hau gero glukolisiaren bitartez pirubato bilakatuko da).

**Urearen zikloa:**

Organismo ureotelikoetan, hepatozitoen mitokondrioetara heltzen den amoniakoa urea bilakatzen da zitoplasman. Gero, urea odolera jariatzen da, eta azkenik, gernuaren bitartez kanporatua izango da.



Zikloa hasi aurreko erreakzioa mitokondrioaren mintzean ematen da, amoniakoak bikarbonaterekin erreakzionatzen du, **karbamoil fosfatoa** emanez. 2 ATP gastatuko dira eta **karbamoil fosfato sintetasa 1** entzimak katalizatzen du, alosterikoa da eta beraz erregulatuzailea da. Karbamoil fosfatoa izango da urearen ziklora sartzen den molekula.

Karbamoil fosfatoak ornitinarekin erreakzionatzen du eta zitrulina sortzen da mitokondriaren mintzean. Zitrulinak aspartikoarekin erreakzionatzen du zitoplasman, 2 ATP gastatuz (ATP sartu eta AMP irten egiten da, beraz, bi fosfodiester lotura apurtzen dira, bi ATP gastatu dira ATP trifosforilatua eta AMP monofosforilatua delako) argininosukzinatoa emanez.

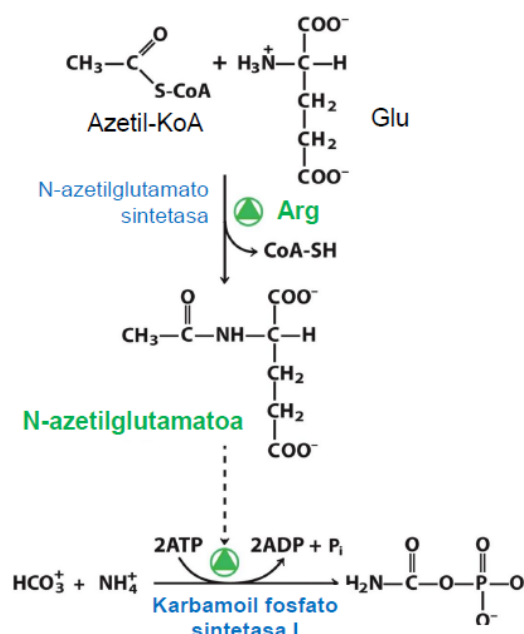
Argininosukzinatoa, liasa baten bitartez apurtu egiten da (ez hidrolasa batek, urak ez duelako parte hartzen), fumarato eta arginina emanez eta arginina hidrolisia jasaten du, urea emanez eta ornitina eratzen da, zikloa berriro hasteko. Ziklo guztian 4 ATP gastatzen dira urea molekula bakoitzeko, beraz energiaren ikuspegitik oso garestia da urea sortzea.

**Zikloko entzimak:**

1. Ornitina transkarbamilasa
2. Argininosukzinato sintetasa: garrantzitsuena, 2 ATP gastatzen dira.
3. Argininosukzinasa: liasa
4. Arginasa: hidrolasa

**Zikloko erregulazioa:**

Berez, urearen zikloko entzimak ez dira erregulatuzaileak, zikloa erregulatu duen entzima karbamoil fosfato sintetasa 1 izango da. Arginina kontzentrazio handiek 1 karbamoil fosfato sintetasaren aktibatzaile alosterikoa den N-azetilglutamatoaren sintesia bizkortzen dute. Urearen zikloan zeharreko fluxua handitzeko beharrezko seinalea da arginina maila igotzea.



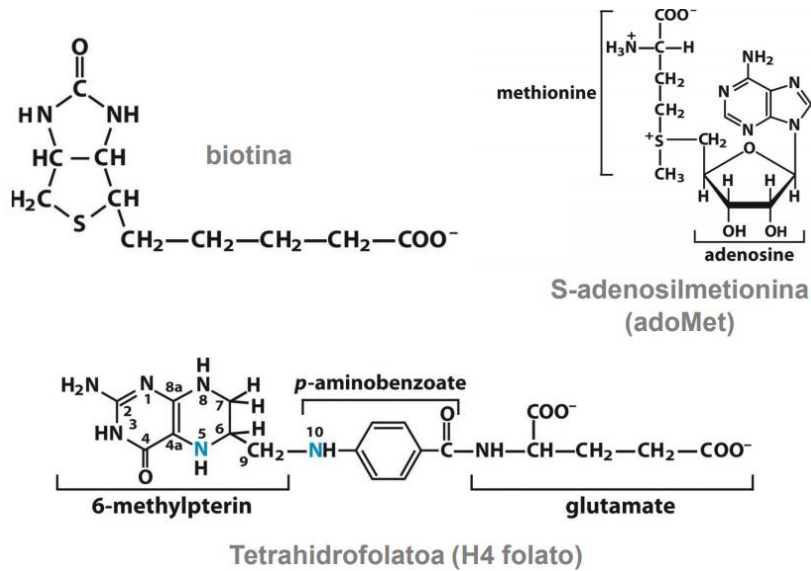
### Aminoazidoen karbono eskeletoen katabolismoa:

Aminoazido bakoitzak degradazio bidezidor berezi bat jarraitzen du. Aminoazidoen degradazioan, amino taldea galdu ostean, sortzen den bitartekaria aminoazido bakoitzari dagokion  $\alpha$ -zetoazidoa (karbono eskeletua) da. Halere,  $\alpha$ -zetoazido guztiak glukosaren degradazioko edota Krebs-en zikloko bitartekari bilakatuko dira beharraren arabera.

Bitartekari horiek:

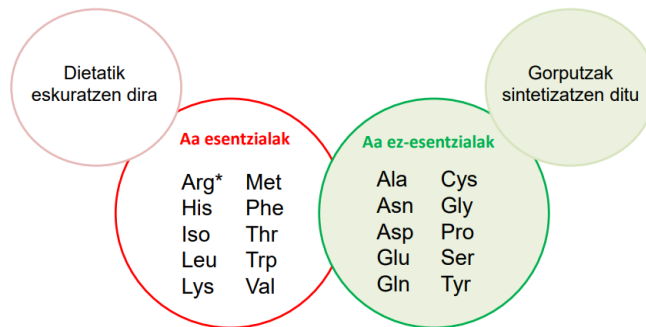
- Guztiz oxidatu daitezke CO<sub>2</sub> eta ATP sortuz.
- Glukosa sintetizatzeko erabili daitezke: aa glukogenikoak.
- Gorputz zetonikoak sintetizatzeko erabili daitezke (baldintza extremoetan sortzen dira, glukosa edo lipido gehiago ez daudenean eta gorputzak energia behar duenean): aa zetogenikoak.
  - Soilik zetogenikoak diren aa.k = Lys eta Leu
  - aa zetogenikoak eta glukogenikoak = Trp, Ile, Phe eta Tyr

Karbono bakarreko talde funtzionalen transferentzian parte hartzen duten kofaktore entzimatikoen garrantzitsuak, biotina, S-adenosilmetionina (adoMet), Tetrahidrofolatoa (H<sub>4</sub> folato).



## AMINOAZIDOEN ANABOLISMOA

Aminoazidoak esentzial eta ez esentzialetan bereizten dira, esentzialak ezin ditugu gizakiok sortu eta dietarekin eskuratu beharko ditugu. Gutxi gorabehera, aminoazidoen erdia sortuko du gure gorputzak eta beste erdia dietaren bidez eskuratuko dugu.



Aintzindaria (bidezidorra)	Aminoazidoak
$\alpha$ -ketoglutaratoa (Krebs)	Glu, Gln, Pro, Arg
3-Fosfoglizeratoa (glikolisia)	Ser, Gly, Cys
Oxalazetatoa (Krebs)	Asp, Asn, Met*, Thr*, Lys*
Pirubatoa (glikolisia)	Ala, Val*, Leu*, Iso*
Fosfoenolpirubato (glikolisia) eta eritrosa 4-fosfatoa (pentosa fosfato)	Trp, Phe*, Tyr†
Erribosa-5-fosfato (pentosa fosfato)	His*

\*aa esentzialak ugaztunendako

† ugaztunetan Phe.tik eratortzen da

Aminoazidoen funtzio nagusia proteinen monomeroa izatea da, baina beste hainbat funtzio dituzten biomolekulak sintetizatzen dituzte: Porfirinak, (fosfo)Kreatina, glutationa, tiroide hormonak, histamina, tiramina, triptamina, azido  $\gamma$ -aminobutirikoa (GABA), katekolaminak (Dopamina, Noradrenalina y Adrenalina), melatonina, serotonina, nukleotidoak.

## Nukleotidoen metabolismoa:

Nukleotidoak iturri desberdinetatik eskuratu ditzazkegu:

- Dieta (azido nukleikoen liseriketaren bidez).
- Zelula barruko azido nukleikoen degradazioz.
- “De novo” sintesiaz.

Nukleotidoek hainbat helburu dituzte:

- Azido nukleikoen sintesia.
- Koentzimen sintesia.
- Bitartekari metabolikoak.
- Degradazio metabolikoan parte hartzea, irazketa egitea.

Purinen kasuan ohikoak dira berreskurapen bidezidorrak. Gure kasuan ikuspuntu energetikotik purinak ekoizteko ATP asko gastatzen dira, hartaz, gure zeluletan ez da de novo sintesia egiten hasiko,, bitarteko molekula batetik sortuko da.

Nukleotidoak sortzeko bi bidezidor metaboliko daude:

1. **De novo sintesi bidezidorra:** izaki bizidun guztietan oso antzekoak dira; eta hainbat aintzindari metaboliko behar dira: aa, erribosa-5-P, CO<sub>2</sub> eta H<sub>2</sub>O.
2. **Berreskuratze-bidezidorra:** base askeak eta azido nukleikoen degradazioan askatutako nukleosidoak birziklatzen dira.

## ERRIBONUKLEOTIDUEN SINTESIA

Erribonukleotidoen *de novo* sintesia:

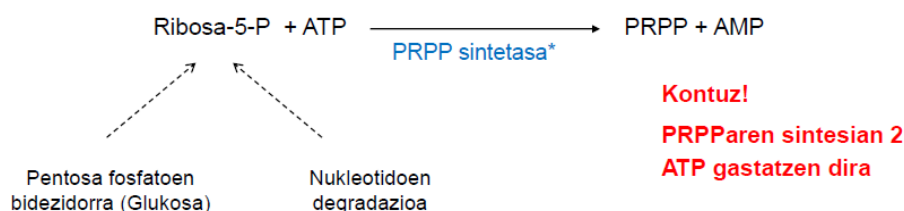


Aintzindaria	PRPP = 5-fosfo- $\alpha$ -ribosil-pirofosfata	
Eratzunaren sintesia	Erribosari pausoka atomoak gehituz	Erribosarekin lotutako orotato gisa sintetizatu
Aminoazido aintzindari garrantzitsua	Gly	Asp
Amino emaileak	Gln, Asp	Gln



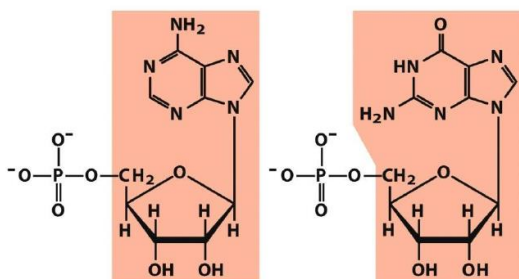
PRPP (5-fosfo- $\alpha$ -ribosil-1-pirofosfatao) nukleotidoak sintetizatzen den erribosaren forma aktibatua da.

PRPP erribosa-5-P-tik (pentosa fosfatoen bidezidorretik) abiatuta sintetizatzen da, baita nukleotidoen degradaziotik ere. Erreakzioan ikusi daiteken bezala, erreaktiboetan ATP bakarra dago eta produktuetan AMP. AMP monofosforilatua denez eta ATP trifosforilatua, PRPP sintetizatzen 2 ATP gastatzen dira.



### Purinen sintesia:

### Purinen egitura:



Nukleotidoa: Adenilato  
(adenosina 5'-monofosfatao)

Izendapena: **A, AMP**

Nukleosidoa: **Adenosina**

Nukleotidoa: Guanilato  
(guanosina 5'-monofosfatao)

Izendapena: **G, GMP**

Nukleosidoa: **Guanosina**

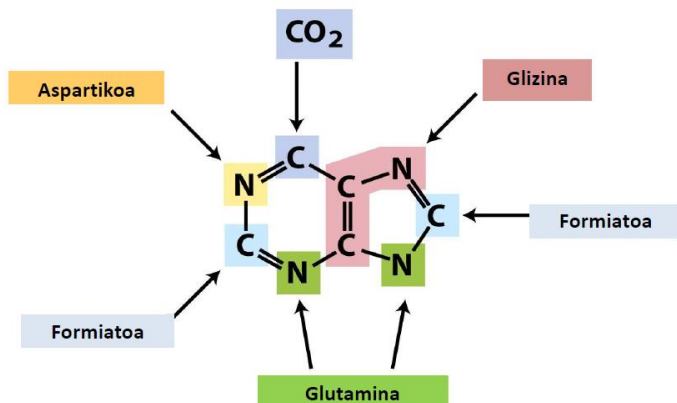
### Purinen *de novo* sintesia:

Purinen kasuan glizina oso garrantzitsua da, atomo asko (3 zehazki) aportatzen baitizkio. Purinen *de novo* sintesian parte hartzen duten entzima guztietatik erregulatuena den bakarra lehenengoa da, Glutamina-PRPP amidotransferasa.

11 erreakzio gertatu ondoren, inosinatoa (IMP) lortzen dugu. Inosinatoa nukleotido arraro moduan sailkatuko genuke.

IMP lortu arte adenosina eta guanosinaren sintesia berdina da. Puntu honetatik aurrera hasiko dira desberdintasunak.

**Purinen eraztuneko atomoen jatorria:**

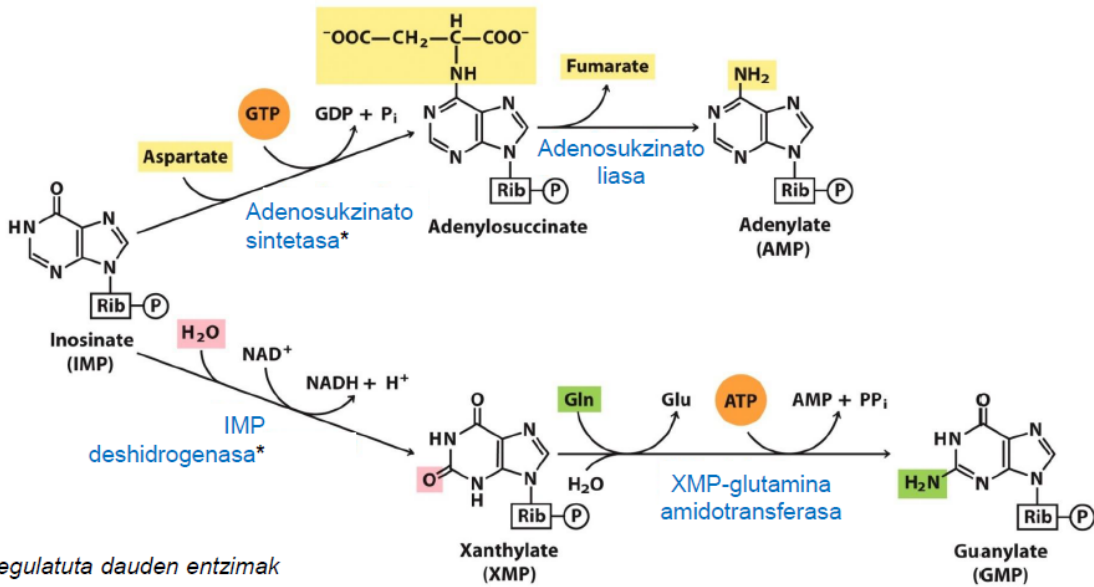


**AMP eta GMP-ren sintesia IMPtik abiatuta:**

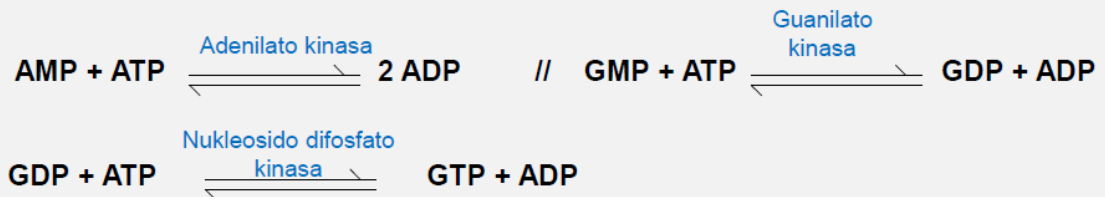
Bi kasuetan, lehenengo erreakzio da erregulatzaileria. AMP-ren sintesian adenosukzinato sintetasa da entzima erregulatzaileria; eta GMP-ren kasuan IMP deshidrogenasa. Erregulazio puntu desberdinak zelularen behar desberdinak lortzeko dira baliagarriak.

Ikuspuntu energetikotik ere desberdinak dira, AMP ekoiztea GMP ekoiztea baino errazagoa da, AMP-ren ekoizpenean ATP gutxiago gastatzen baita.

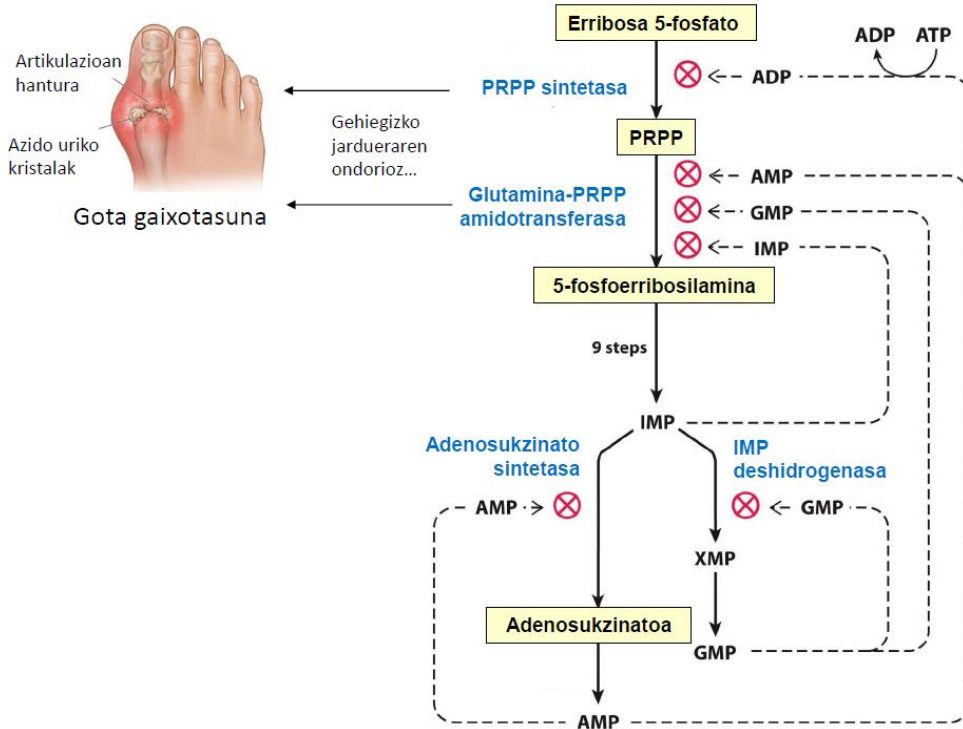
Bidezidor hauek gain kinasa batzuen funtzioa beharrezkoa da, DNA edo RNA ekoizteko trifosforilatutako nukleotidoak behar direlako eta guk bidezidorren bidez nukleotido monofosforilatutakoak lortzen ditugulako. Hartaz, kinasei esker nukleotido monofosforilatutakoak difosforilatuetan bilakatuko dira lehenengo eta ondoren, trifosforilatuetan.



**Nukletido difosfato eta trifosfatoen sintesia**



Bidezidorra PRPP sintetitik hasten da kontatzen. Erretroinhibizio edo atzeranzko inhibizio bidezko erregulazioa gertatzen da purinen *de novo* sintesian: ADPa da gai soilik PRPP sintetasa inhibitzeko (ikuspuntu energetikoarekin lotuta dago honen arrazoa).



Ikuspuntu energetikotik IMP-ren sintesiaren zenbat ATP gastatzen diren aztertuko dugu.

**IMPren sintesiaren ikusupuntu energetikoa:**

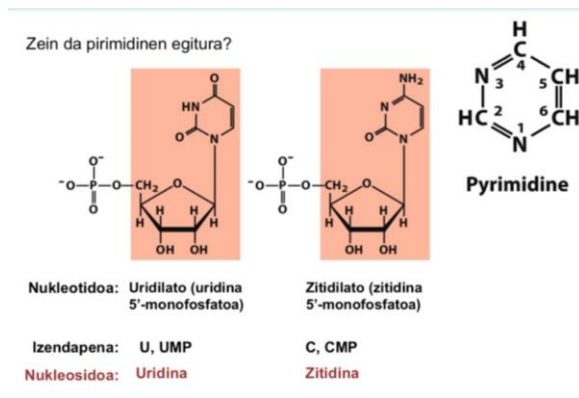
- PRPP sintesirako 2 ATP behar dira.
- PRPPtik IMPren sintesirarteko 11 erreakzioetan, 5 ATP behar dira.
- IMPtik AMPren sintesirako, 1 ATP behar da eta GMP sintetizatzen, 2 ATP.
- AMPtik ATPa sortzeko edo GMPtik GTP sortzeko, 2 ATP behar dira.

Ikuspuntu energetikotik, purinen sintesia oso garestia da. Laburbilduz:

- PRPPren sintesitik ATParen sintesiraino, 10 ATP behar dira.
- PRPPren sintesitik GTPren sintesiraino, 11 ATP behar dira.

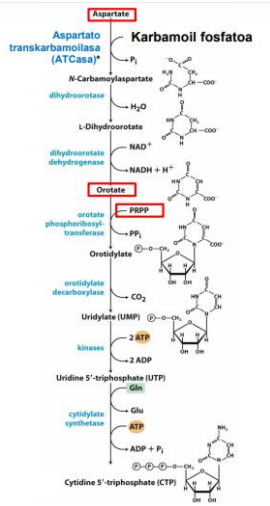
Berreskurapen bidezidorrak mekanismo oso garrantzitsuak dira ATP gastua murrizteko.

**PIRIMIDINEN SINTESIA:**



**Pirimidinen *de novo* sintesia:**

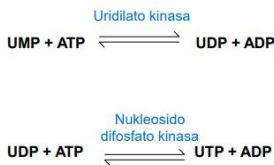
	Purinak	Pirimidinak
Aintzindaria		
	PRPP = 5-fosfo- $\alpha$ -ribosil-pirofosfatoa	
Eraztunaren sintesia	Erribosari pausoka atomoak gehituz	Erribosarekin lotutako orotato gisa sintetizatu
Aminoazido aintzindari garrantzitsua	Gly	Asp
Amino emaileak	Gln, Asp	Gln



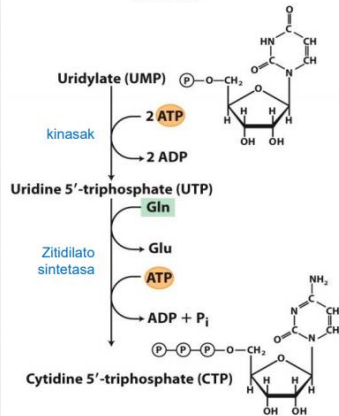
Lehenik, 6 atomoko eraztuna sintetizatzen da (ororato) aspartatetik abiatuta, eta gero PRPP gehitzen da. Bide honetan ere karbamoil fosfatoa behar da, urearen zikloan ere agertzen dena. Baina kasu honetan, zitosolean dagoen karbamoil fosfato sintetasa II entzimak ekoizten du.

Karbamoil fosfatotik abiatuta UMP sintetizatuko da. Lehenik monofosforilatuta egongo da, hau trifosforilatuta egin behar da, trifosforilatzean UTP lortzen da. Honek amino talde bat lortu behar du, glutaminak emanago dio, honela CTP (zitosina nukleotidoa) lortuko da.

UMPtik abiatuta UDP eta UTPren sintesia



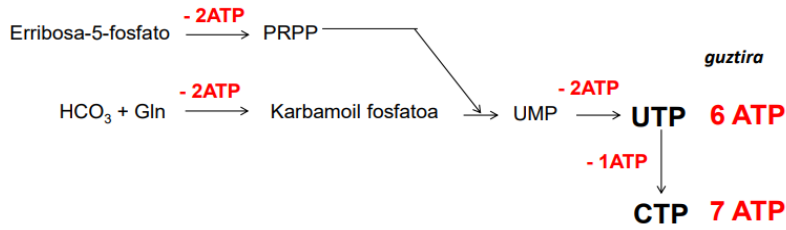
UMPtik abiatuta UTP eta CTPren sintesia



Atzeranzko inhibizio bidezko erregulazioa ematen da pirimidinen de novo sintesian. CTP inhibitzen da, bidezidor guztia blokeatuz. CTParen kantitatearen arabera bidezidorrak aurrera jarraituko du edo ez.

Balantze energetikoa:

Ikuspuntu energetikotik, orohar, **pirimidien sintesia EZ dagarestia**



*guztira*

**Pirimidinen berreskurapen bidezidorrak:**

Mikroorganismoetan:

purinen antzekoa.

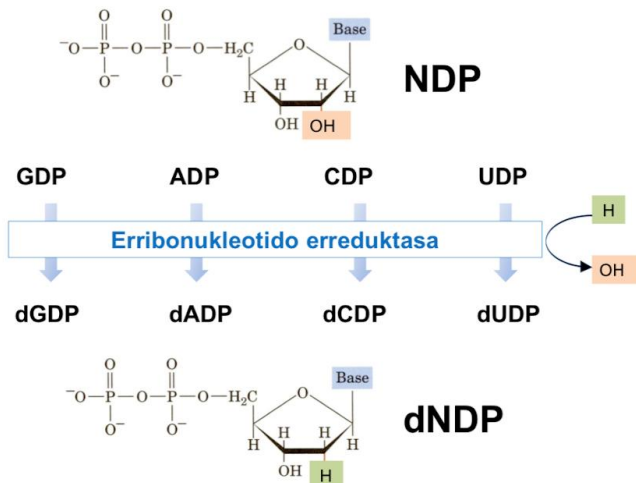
Ugaztunetan: ia ez dira berreskuratzen de novo sintesia ez delako garestia.

## DESOXIERRIBONUKLEOTIDUEN SINTESIA

Zelulan 5 aldiz RNA gehiago daukagu DNA baino. Desoxierribonukleotidoak soilik DNAREN sintesian erabiltzen da. RNA aldiz, zelularen hainbat funtzio burutzeko sintetizatu behar da. Gainera, desoxierribonukleotidoak sortzeko lehenengo erribonukleotidoak sintetizatu behar dira.

Molekula honen sintesian 2 alderdi bereizten dira:

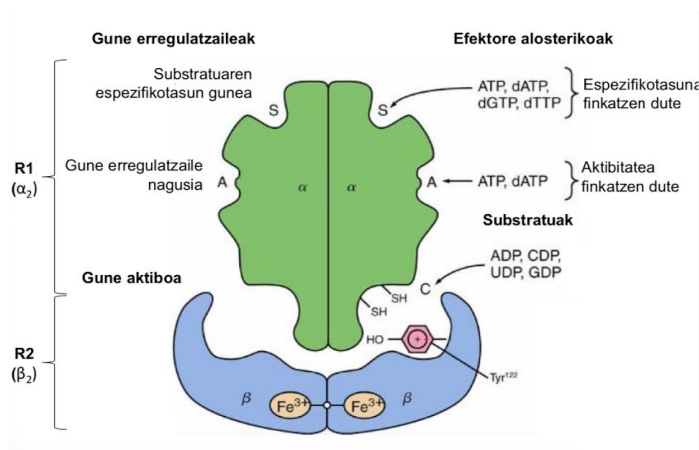
- Erribosaren erredukzioa desoxierribosa emateko.
- dCDP eta dUDPtik abiatuta dTMPren sintesia.



Erribosatik desoxierribosak sortzeko, edozein erribonukleotido difosforilaturen 2. karbonoko hidroxi taldea erreduzitu eta H gelditzen da, honela desoxierribosa lortuz. **Erribonukleotido erreduktasa** entzimak katalizatzen du prozesu hau.

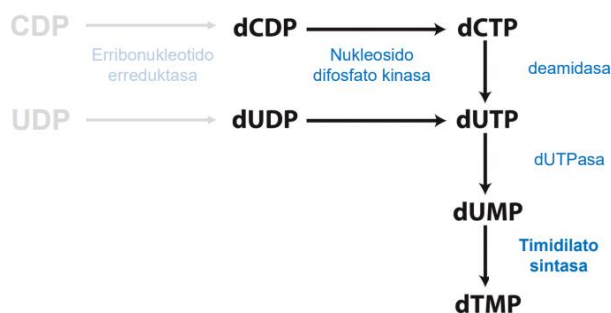
Entzima honek 4 azpiunitate ditu, baita gune aktiboa ere, non substratua sartuko den. Erregulatzen oso konplexua da, eta modulatzailak lotzeko bi gune ditu. Gune aktibora ATP eta dATP sartu daitezke, baina eremu erregulatzaileran ATP, dATP, GTP eta dGTP sartuko

dira. Gune erregulatzaileran sartzen den molekularen arabera, entzimaren jardura desberdina izango da.



Gune erregulatzailer nagusira	Espezifitate gunera	Zeinen erredukzioa <b>aktibatzen</b> da?	Zeinen erredukzioa <b>inhibitzen</b> da?
ATP	ATP edo dATP	CDP, UDP	
ATP	dTTP	GDP	CDP, UDP
ATP	dGTP	ADP	CDP, UDP, GDP
dATP	edozein		ADP, GDP, CDP, UDP

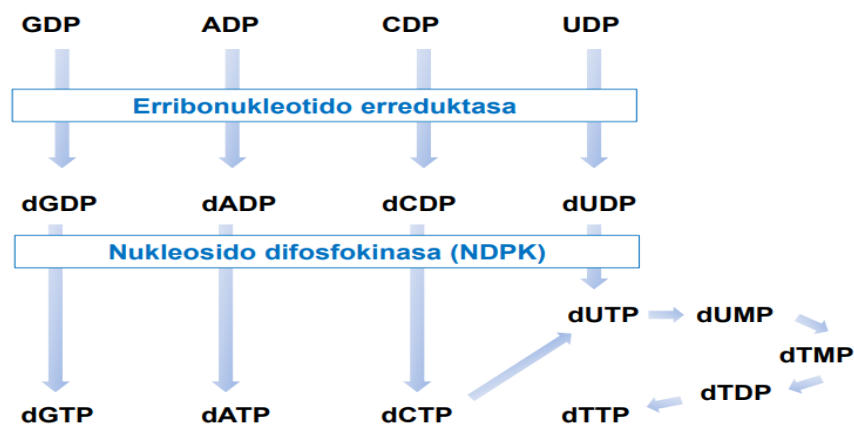
dCDP eta dUDPtik abiatuta dTMPren sintesia:



(argazkian fijatu)

dTMP ekoiztea oso garrantzitsua da, izan ere, bestela ez da DNA bikoiztuko eta beraz zelula apoptosira bideratuko da. TMParen sintesia katalizatzen duten entzimen inhibitzaileak erabiltzen dira askotan minbiziaren aurkako tratamenduetan, modu honetan ez delako timina sortuko, eta beraz, DNA ere ez.

**Desoxirribonukleotidoen sintesia: ikuspegi orokorra**



**NUKLEOTIDOEN KATABOLISMOA:**

1. Purinak:

GMPtik zein AMPtik abiatuta, azken produktua beti izango da azido urikoa. Nukleotidoak ezin dira gorputzean pilatu eta beraz gehiegi badaude degradatu egin behar dira.

Molekula garrantzitsuenak: hipoxantina eta xantina dira, zeinak purinen degradazioko bitartekariak diren. Bestalde, bitartekari hauetatik abiatuta ere purinak sintetiza daitezke.

Bidezidor hauetako bitartekarien faltak gaixotasunak ekartzen ditu.

Purinen degradazioaren azken produktua desberdina izango da izaki guztietan, gure kasuan azido urikoa izango da.

2. Pirimidinak:

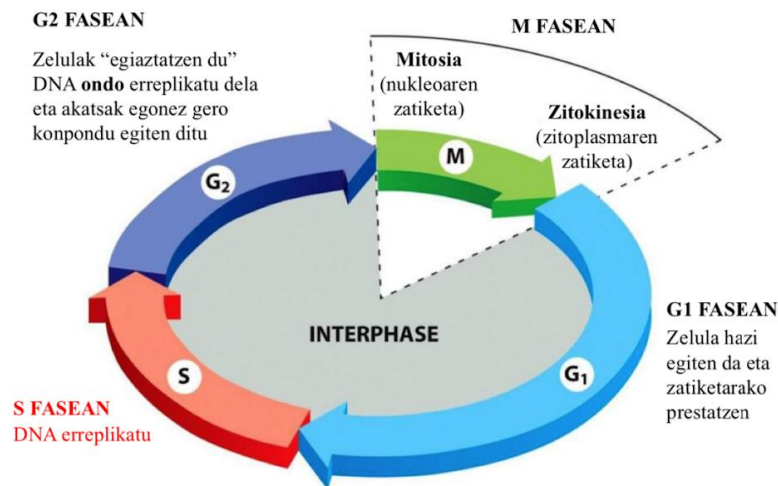
Pirimidinen degradazioko azken produktua Malonil- CoA da (edo timinaren kasuan, metilmalonil-CoA). Urazilo eta timinaren degradazioa berdina izango da (desberdintasuna, timinak eraztunean metilo talde bat duela).



# 4. GAIA: DNAREN ERREPLIKAZIOA

## 1. Ezaugarriak

Erreplikazioa oso prozesu konplexua da, milaka entzimak hartzen dute parte, erregulazioa handia izango da. DNAREN erreplikazioa interfaseko S fasean ematen da. Honen ondoren, material genetikoaren erreplikazioa zuzen eman dela egiaztatzen da, mitosira sartzeko. Erreplikazioan akatsen bat gertatu bada, normalean zelula apoptosira bideratuko da.



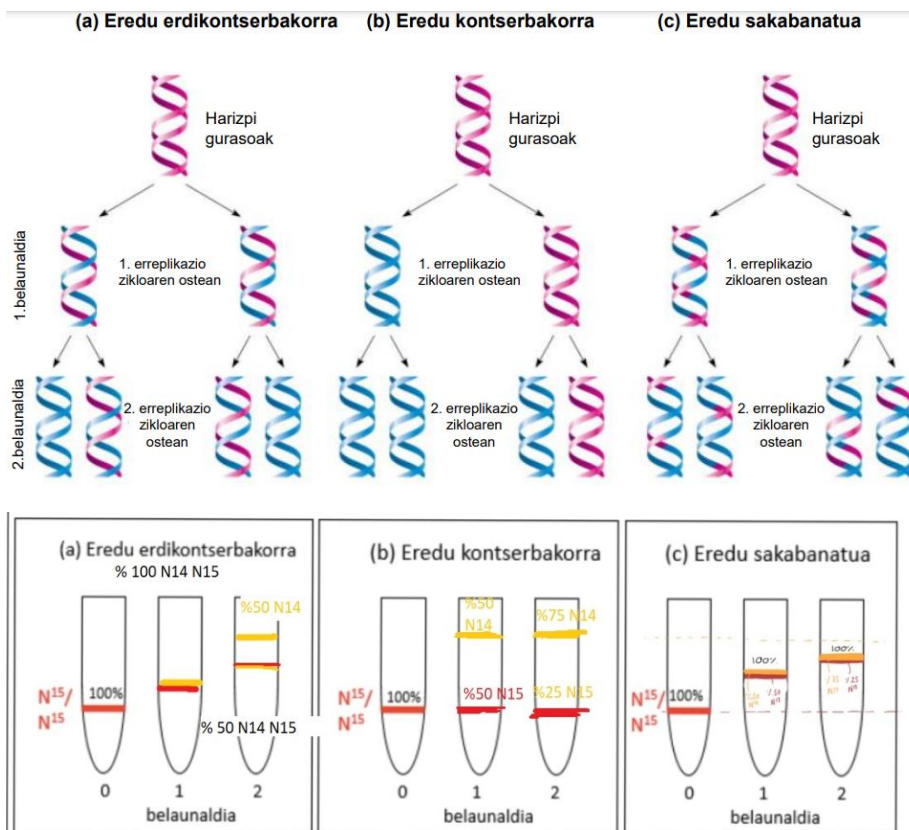
DNA polimerasa gai da erreplikazioan egindako akatsak identifikatzeko, baita hauek zuzentzeko ere; izan ere oso garrantzitsua da aldaketarik ez ematea eta akatsik ez gertatzea. Gaitasun hau oso entzima gutxi dute.

Erreplikazioan gertatutako akatsak minbizia garatzea ekar dezake. Hala ere minbizi mota ezberdinen jatorria faktore ezberdinetan dago: herentzia, ingurumen-faktoreak eta erreplikazioan gertatutako zorizko mutazioak.

Erreplikazioa da konpondu daitekeen prozesu bakarra.

Ezaugarri konkretuak:

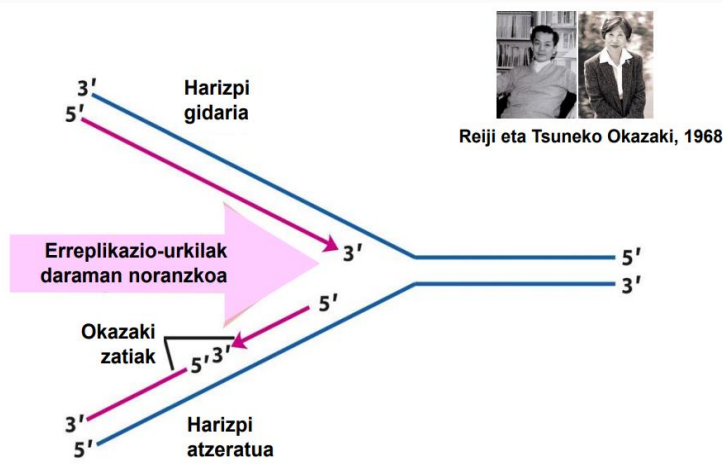
1. DNAREN erreplikazioa ERDIKONTSERBAKORRA da. Watson eta Crick-ek DNAREN egitura sekundario definitzeaz gain, DNAREN erreplikazioa erdikontserbakorra izan zitekeela proposatu zuten, baina ez zuten frogatu. Honen frogapena Melson eta Stahl-ek egin zuten. Hau gertatu arte, hiru eredu ezberdinen artean eztabaida handia sortu zen:
  - a. Eredu erdikontserbakorra
  - b. Kontserbakorra:
  - c. Eredu sakabanatua.



E. colirekin egin zuten esperimentua. Bakterio batzuk hazi zituzten N<sup>15</sup> (nitrogeno pisutsuan). Bakterioak zatitzerakoan DNA erreplikatu beharko da, bertan dagoen elementuak erabiliko ditu. Hori dela eta, lehenengo belaunaldiak sortuko duen DNA pisutsua izango da. Hasieran N<sup>15</sup>-ekin egingo dute eta ondoren e-coli bakterioa N<sup>14</sup>-ko ingurunera eramango dute, eta bakterioak orduan, inguruan duen nitrogenoa erabiliko du orain molekula sortzeko (bigarren belaunaldikoak).

Esperimentua amaitzeko, dentsitateko zentrifugazioarekin molekula dentsitate handienetik txikienera desberdindu zuten.

- (Bakarrik bakterioetan). Erreplikazio jatorri bakarra dago, DNA zirkularra delako. Gainera, gehienetan noranzkoa bitan gertatzen da, harizpi biak deskribilkatzen diren heinean ematen da erreplikazioa.
- DNAREN sintesia 5'--> 3' norazkoan ematen da beti, eta erdietena da. Bi harizpi mota: gidaria (urkilarekin bat doana) eta atzeratua (zatika ematen dena, erreplikazio urkilaren aurkako norazkoan, okazakiren zatien bidez).



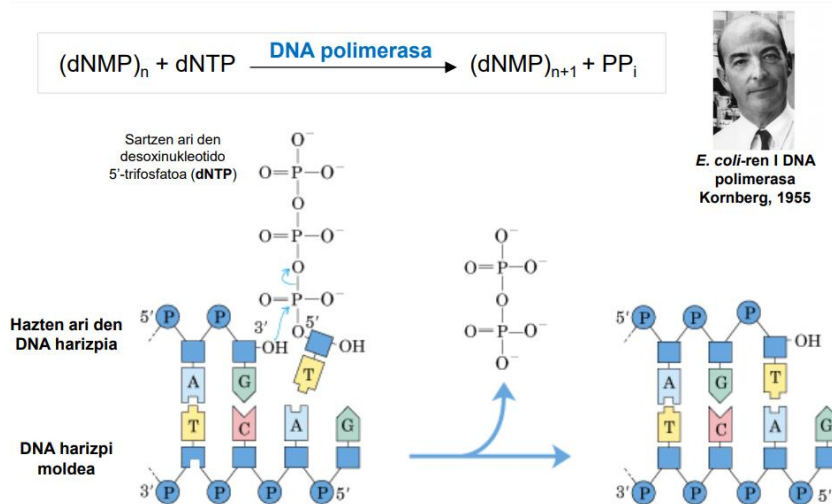
## DNAn parte hartzen duten entzimak

### 1. DNA polimerasa:

Entzima garrantzitsua DNA polimerasa da, desoxierribonukleotido monofosforilatuaren kate bati nukleotido trifosforilatu bat gehitzen dio, baina katean gelditzen den nukleotidoa monofosforilatuta geldituko da, pirofosfatoa askatuz.

Harizpi bat moldea izango da eta sartzen duen nukleotidoa moldearen osagarria izango da.

DNA polimerasak egiten duen bakarra harizpia luzatzea da, baina ez da gai izango harizpia *de novo* sintetizatzen.



DNA polimerizaziorako bi baldintza bete behar dira:

- 1) DNA polimerasa guztiek **moldea** (*template*) behar dute. DNA harizpi moldeak polimerizazio erreakzioa zuzentzen du base-parekaketa arauak jarraituz.

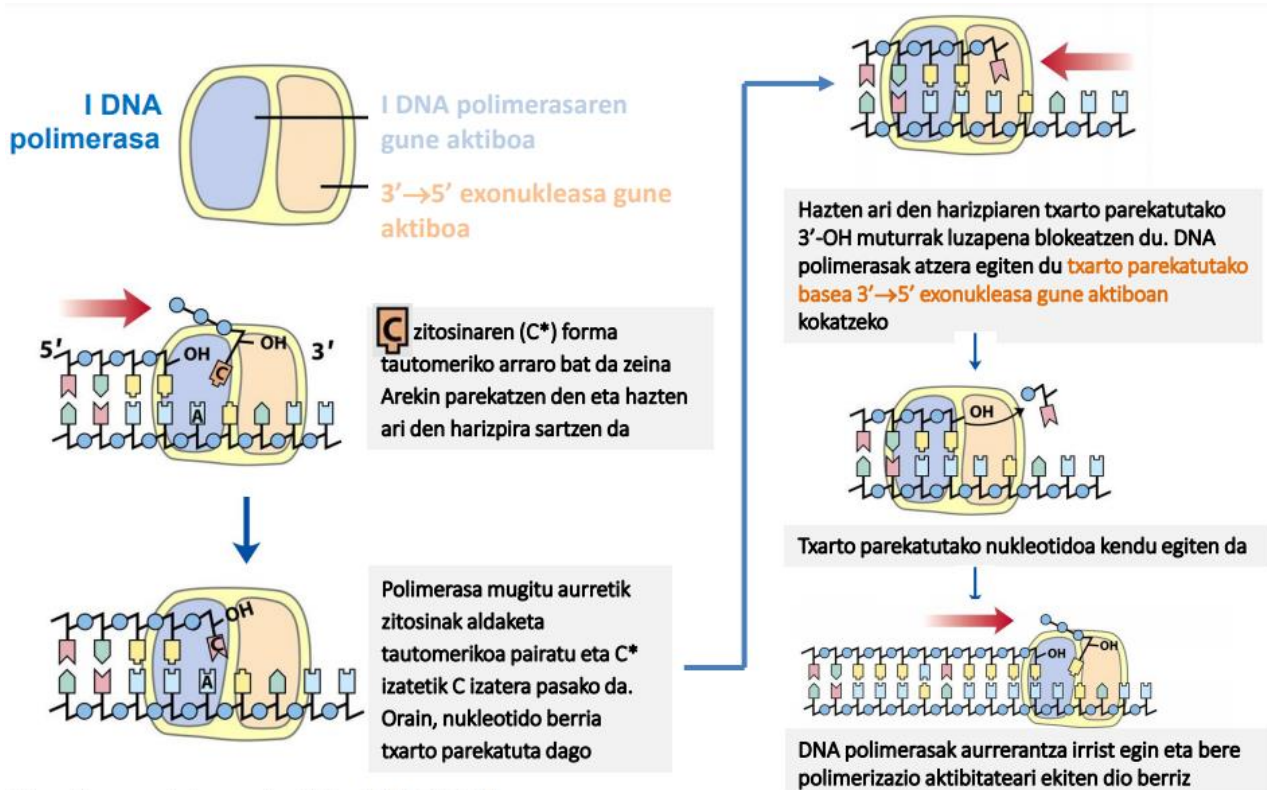
- 2) DNA polimerasek **RNA hasle** (*primer*) bat behar dute. Haslea moldearen osagarria den RNA harizpi zati bat da eta 3'-OH aske bat du zeinera nukleotido bat gehi dakioken. Hau da, harizpi berriaren zatitxo bat DNA etorri orduko bere lekuan egon behar da. DNA polimerasak soilik gehi diezaizkiekete nukleotidoak aurretik dagoen harizpi zati bati (-OH talde bati).

Erreplikazioko akatsak:

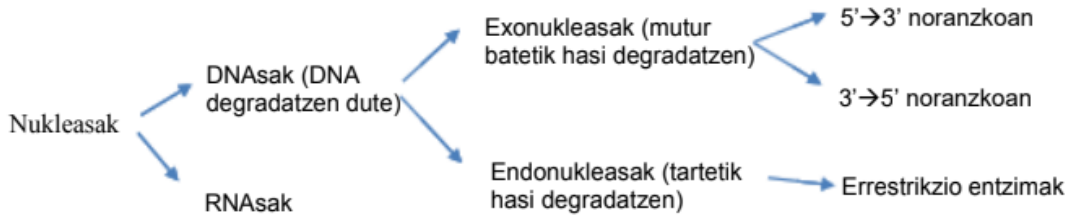
Erreplikazioa oso zehatza bada ere, ez da %100 perfektua. Akats batzuk egiten dira, baina hauek konpontzeko mekanismoak badaude. Base osagarrien arteko parekatzearen zuzentasuna adierazten duten hidrogeno-loturen bidez jakin daiteke nukleotido egokia gehitu den ala ez (A=T, G≡C). **3'-5' exonukleasa** aktibitateari esker akatsak identifikatu eta konpontzen dira.

E.coli-n (4 x 10<sup>6</sup> bp) akats bat gehitutako 10<sup>9</sup> -10<sup>10</sup> nukleotidoko → 1.000 – 10.000 erreplikaziotik behin akats bat gertatzen da.

Ein batean behintzat DNA polimerasa gai da akatsak zuzentzeko, entzimak berak daukan 3' 5' exonukleasa aktibitateari esker (proba irakurketa edo proofreading).



<https://www.youtube.com/watch?v=600qD6KCOVE>



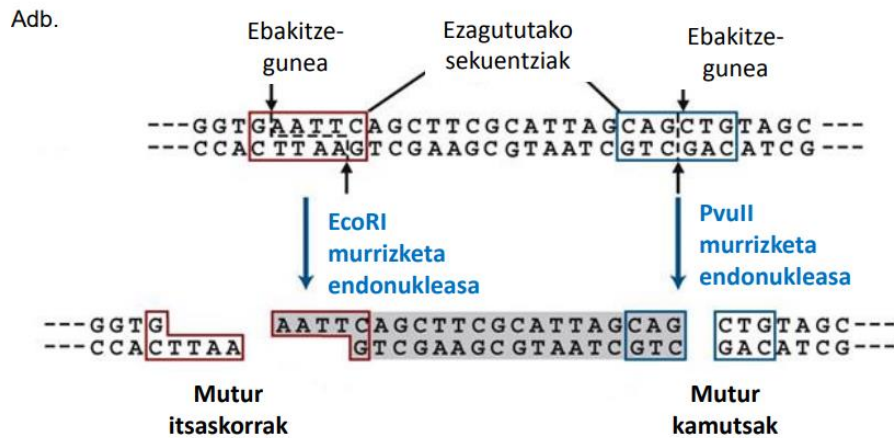
DNAsak: fosfodiester loturak apurtuz DNA degradatzen duen entzimen familia da.

- **Exonukleasak:** azido nukleikoak degradatzen dituzte mutur batetik hasita. 5'-3' edo 3'-5' noranzkoan; harizpi bikoitzeko, harizpi bateko edo harizpi bakarreko nukleotidoak kentzen dituzte 5'tik edo 3'tik.
- **Endonukleasak:** molekularren gune jakin batetan hasita azido nukleikoa degradatzen has daitezke, geroz eta txikiagoa eginez. Hau da, azido nukleikoen barneko fosfodiester loturak hidrolizatzen ditu; eta muturrekoak ez diren loturetan dihardute.

\*Badira nukleotido sekuentzia espezifikoetan moztzen duten endonukleasak. Adibidez bioteknologian hain garrantzitsuak diren **errestrikzio entzimak edo murrizketa entzimak**.

**Murrizketa endonukleasak:**

Ehundaka daude, bakoitzak sekuentzia espezifiko bat ezagutu eta moztzen du. Sekuentzia palindromikoak ezagutzen dituzte eta modu jakin batean moztzen da, mozketa patroia bat jarraituz, ez edozein modutara. (Gogoratu, sekuentzia palindromikoa: kate bat 5'-3' noranzkoan eta bere osagarria 5'-3' noranzkoan irakurtzean base berdinak dituzteneko sekuentzia). Mozketa ondotik mutur itsasak edo kamutsak utzi ditzakete, bioteknologian oso erabiliak direnak.



Beraz, DNA polimerasak akats gutxi egiten baditu ere, akatsak antzeman daitezke 3'-5' exonukleasa aktibitateari esker. Gainera, kate barneko akatsak zuzentzeko ere badaude zenbait mekanismo. Erreplikazioa oso zehatza, oso doia, da.

**Proba-irakurketa:**

DNA polimerizazioa ondo badao, polimerasaren gune aktibotik baseak gehituko zaizkio kateari. Bat-batean egokia ez den base bat sartzen bada, esaterako tautomero arraro bat, DNA polimerasa I-ek zuzenean konponduko du. Baina gehitu den basea egokia bada baina ez osagarria, H lotura okerrak sortuko dira eta polimerasak detektatu egingo du; eta 3'-5' exonukleasa aktibitateko gunera mugituko da. Polimerasak atzetik hasita lehen basea kentzeko ahalmena du. Behin basea kendu duela, berriz ere gune aktibora mugitzen da eta erreplikazioak jarraituko du.

Baina aipatutako DNA pol I ez da bakarra. Pol I-ek gutxi gorabehera 10 nukleotido baino ez ditu batzen segunduko, nahiko motela da akatsak konpontzen. Badira II eta III motako DNA polimerasak ere.

Moteltasun hau prozesibitatea aztertuz ikusi zuten.

Prozesibitatea: Polimerasak moldetik askatu gabe batz bestea gehitzen duen nukleotido kopurua. Beste bi polimerasa horiek aurkitu zituzten bakterio bat aztertzen ari zirenean, zeinak pol I izan ordez, modifikatua zuen pol IA zeukan (beraz, modifikatutako pol I). Aldaketa bazuen ere, erreplikazioak aurrera jarraitzen zuen, E coli horrek bideragarria izaten jarraitzen zuen, hau da, zatitzen jarraitzen zen. Beraz polimerasa gehiago egon behar ziren. Gainera beste bi polimerasek pol I-ek bezalaxe 3' -5' exonukleasa aktibitatea ere badute.

**Bakterioetako DNA polimerasak:**

*E.coli*-ren 3 DNA polimerasen arteko konparaketa

	DNA polimerasa		
	I	II	III
Gene kodetzaila	polA	polB	polC
Azpiunitate kopurua (mota ezberdinekoak)	1	7	>10
M <sub>w</sub>	103,000	88,000	791,500
3' → 5' exonukleasa (irakurketa proba)	Bai	Bai	Bai
5' → 3' exonukleasa	Bai	Ez	Ez
Polimerizazio abiadura (nt/s)	10-20	40	250-1,000
Prozesibitatea (polimerasa disoziatu baino lehen gehitutako nt kopurua)	3-200	1,500	>500,000
Funtzioa	RNA hasleen ezabatzea & DNAREN konponketan	DNAREN konponketa mekanismo oso espezializatua	DNAREN erreplikazioa

### E. Coli-ren III DNA polimerasa

Azpiunitatea	Azpiunit kop.	Azpiunit. $M_w$	Genea	Azpiunitatearen funtzioa	
$\alpha$	2	129,900	<i>polC (dnaE)</i>	Polimerasa aktibitatea	Polimerasa muina
$\epsilon$	2	27,500	<i>dnaQ (mutD)</i>	3'-5' exonukleasa aktibitatea $\epsilon$ azpiunitatearen egonkortasuna	
$\theta$	2	8,600	<i>holE</i>		
$\tau$	2	71,100	<i>dnaX</i>	Polimerasa muinaren dimerizazioa	Matxarda zamatzaille konplexua – $\beta$ matxarda kokatzen du atzeratutako harizpiaren Okazaki zati bakoitzean
$\gamma$	1	47,500	<i>dnaX*</i>	Matxarda zamatzaillea	
$\delta$	1	38,700	<i>holA</i>	Matxarda zabaltzaillea	
$\delta'$	1	36,900	<i>holB</i>	Matxarda zamatzaillea	
$\chi$	1	16,600	<i>holC</i>	SSB.kin batu	
$\psi$	1	15,200	<i>holD</i>	$\gamma$ eta $\chi$ .kin batu	
$\beta$	4	40,600	<i>dnaN</i>	DNA inguratu prozesibitatea areagotzeko	

### Eukariotoetan aurkitzen diren 5 DNA polimerasen arteko konparaketa:

	DNA polimerasa				
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
Kokapena	Nukleoan	Nukleoan	Mitokondrio	Nukleoan	Nukleoan
Primasa aktibitatea	Bai	Ez	Ez	Ez	Ez
3'→5' Exonukleasa	Ez	Ez	Bai	Bai	Bai
5'→3' Exonukleasa	Ez	Ez	Ez	Ez	Ez
Funtzioa	RNA hasleen sintesia	DNAren konponketa	Mitokondrioko DNAren erreplikazioa	Okazaki zatiak luzatu	PNCArekin batu eta harizpi gidaria luzatu

## Erreplikazioaren etapak eta inplikaturako molekulak

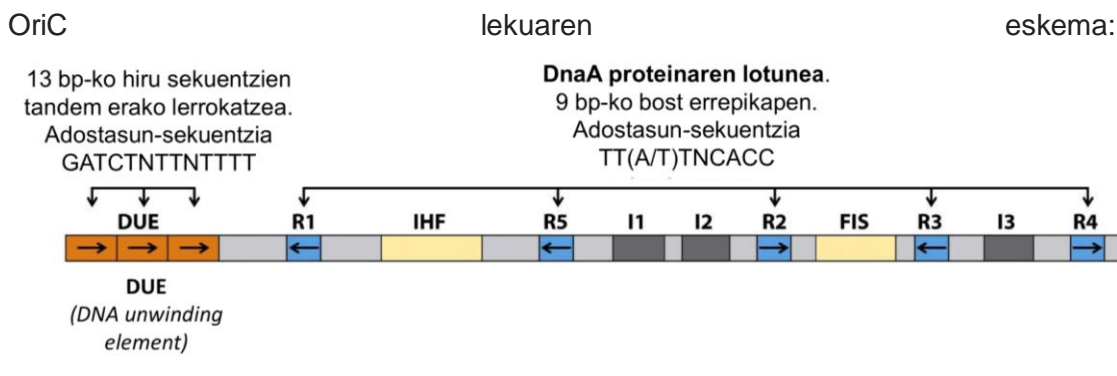
Erreplisoma: DNAREN erreplikazioaz arduratzen den makinaria molekularra.

Orain *E. coli*ren erreplikazioa aztertuko dugu, hori baita mekanismorik ezagunena.

### 1. Hasiera:

Non?

*E. coli*-n erreplikazioa leku bakar eta zehatz baten hasten da, OriC sekuentzian.



*E. coli*ren hasieran erreplikazioa hasteko beharrezko proteinak (batzuk orokorrak, beste prozesu batzuetan ere agertuko direnak. Beste batzuk, adibidez primasa, espezifikokoak honako prozesu honetan):

Proteina	Mw	#azpiunitate	Funtzioa
<b>DnaA</b>	50.000	1	OriC sekuentzia ezagutu; DNA duplexa zabaltzen du jatorriaren kokagune espezifikoetan
<b>DnaB</b> (helikasa)	300.000	6*	DNA deskribiltzen du. DNA harizpiak banatu
<b>DnaC</b>	174.000	6*	DnaB jatorrirra lotzeko beharrezkoa
<b>HU</b>	19.000	2	Histona motako proteina. DNARI lotzen dena. Hasiera estimulatzen du
<b>FIS</b> (factor for inversion stimulation)	22.500	2*	DNA-ri lotzen zaion proteina. Hasiera bultzatzen du
<b>IHF</b> (integration host factor)	22.000	2	DNA-ri lotzen zaion proteina. Hasiera bultzatzen du
<b>Primasa</b> (DnaG)	60.000	1	RNA hasleak sintetizatzen ditu
<b>SSB</b> (single-stranded DNA-binding protein)	75.600	4*	Harizipi bakarreko DNARI lotu
<b>II DNA topoisomerasa</b> (girasa)	400.000	4	DNA-katea deskribiltzean sortzen den tentsioa askatzen du
Dam metilasa	32.000	1	OriC sekuentzian (5')GGATC metilatzen du

\*azpiunitateak berdinak



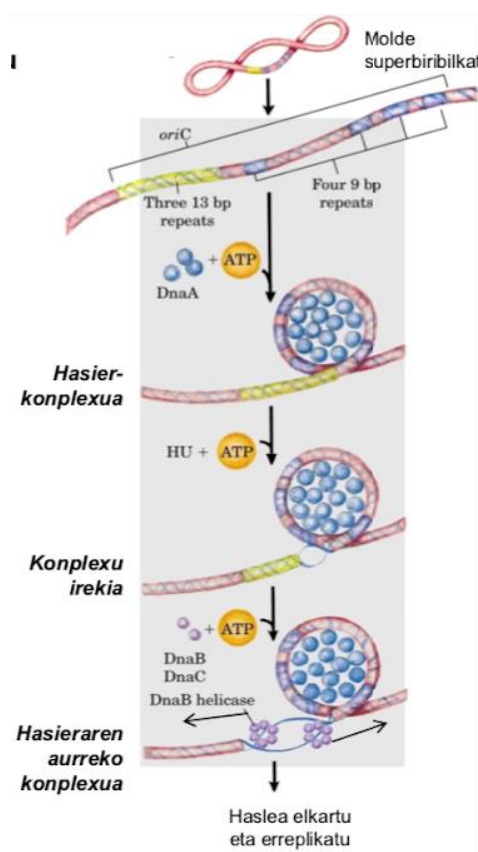
Nola?

Polimerasak DNA eskuragarri izateko DNA deskribildu behar du.

DNA A proteina R sekuentziei lotuko zaie, ezagutu egiten direlako (9 bp.ko 4 errepikapenak, irudiko urdinak). DNA kiribildu egingo da eta ondorioz DUE sekuentzietatik gertuago geldituko da. Horretarako ATP behar da.

Ondoren, HU proteinak errazten duen erreakzio batean DNA A proteinak DUE sekuentzia (13 bp.ko 3 sekuentziak/errepelikak ezagutu, zona berdea) eta DNA pixka bat desnaturalizatuko da.

DNA B proteina (helikasa) ezinda bertaratu zona berdera eta DNA Cren laguntzarekin gerturatuko da eta bi harizpiak banaduko ditu, 2 urkilak sortuz eta honela erreplikazioa hasiko da. SSB proteinak (harizpi bakarrera lotu, berriro bi harizpiak ez lotzeko kateak egonkortuz) eta topoisomerasak (desnaturalizazioaren ondorioz sortutako tentsioak kendu).



- **Helikasak:** DNAn zehar mugitu eta harizpiak banatzen dituzte; horretarako ATPren energiaren baliatzen dira.
- Harizpi banaketak DNA helize egituraren eragindako tentsioa **topoisomerasak** arinduko dute. Gogoratu, I eta II motatako topoisomerasak daudela. I motakoek harizpi bakarra egonkortzen dute eta II motakoek aldiz, bi harizpiak.
- **SSB proteinak**, behin harizpiak bananduta daudela DNAn lotzen zaizkie, egonkortu eta bananduta mantentzeko, birnaturalizazioa ekidinez.

2. Luzapena:

Entzimak eta proteinak:

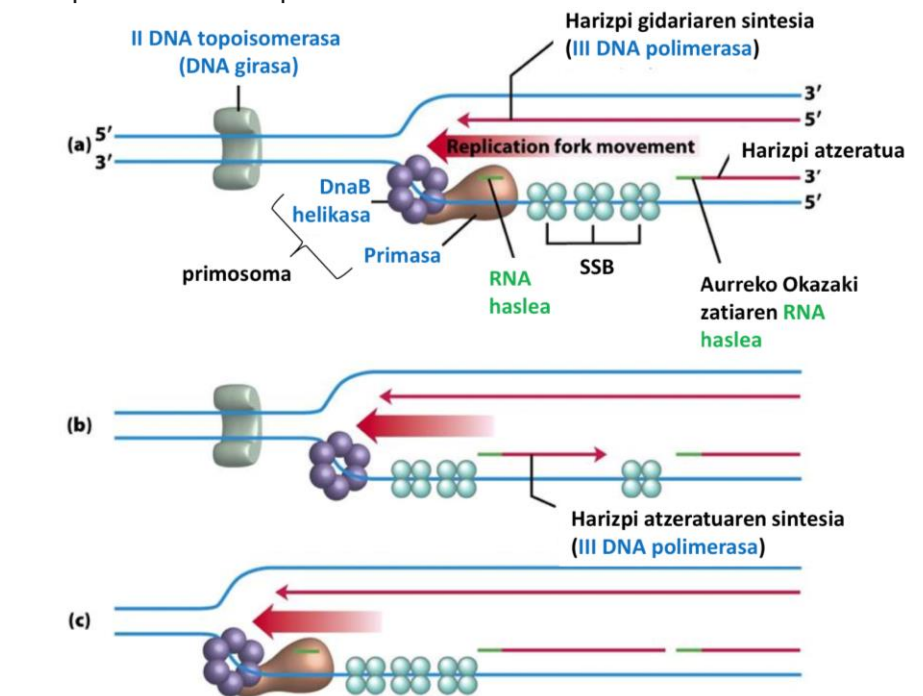
Proteina	Mw	#azpiunitate	Funtzioa
<b>SSB</b> (single-stranded DNA-binding protein)	75.600	4*	Harizpi bakarreko DNArri lotu
<b>DnaB</b> (helikasa)	300.000	6*	DNA deskribiltzen du. DNA harizpiak banatu. <i>Primosomaren osagaia</i>
<b>Primasa</b> (DnaG)	60.000	1	RNA hasleak sintetizatzen ditu. <i>Primosomaren osagaia</i>
<b>III DNA polimerasa</b>	900.000	2x10	Kate berriaren luzapena
<b>I DNA polimerasa</b>	103.000	1	Koskak betetzea; hasleen ezabaketa
<b>DNA ligasa</b>	74.000	1	DNA zatikiak lotzea
<b>II DNA topoisomerasa</b> (girasa)	400.000	4	DNA-katea deskribiltzean sortzen den tentsioa askatu

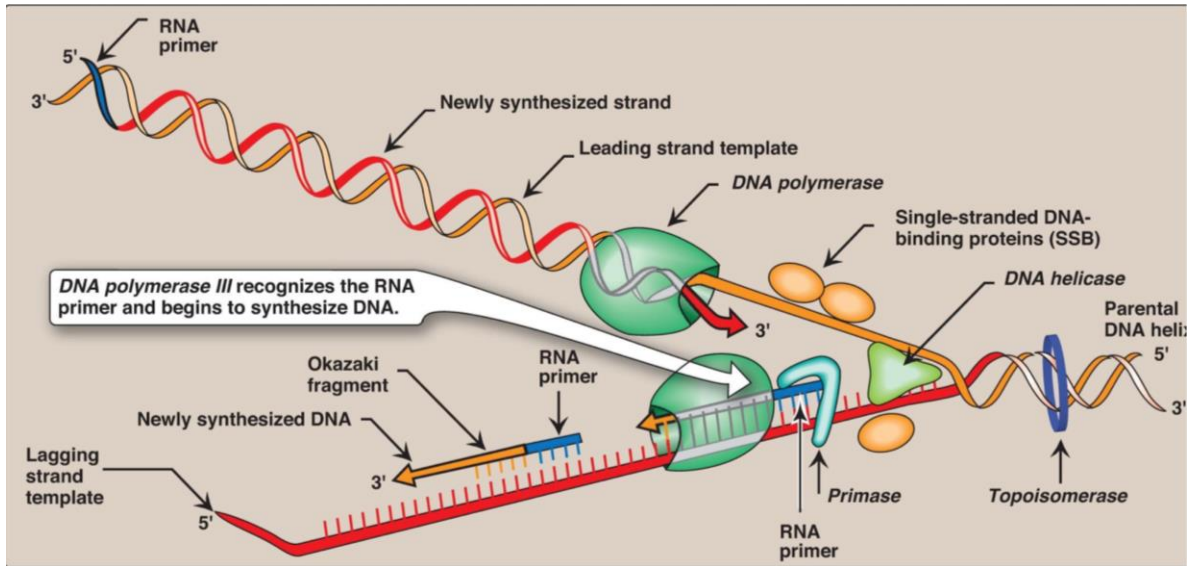
Harizpi gidariaren sintesia: zuzenean.

Harizpi atzeratuaren sintesia: Okazaki zatien bidez.

Bakterioetan, aldi berean sintetizatzen dira bi erreplikazio urkilak (III DNA polimerasa bakoitzak bi muiin ditu). RNA haslea primasak sortuko du.

SSB proteina bi harizpiak berriz ere lotzen ez direla arduratzen da.

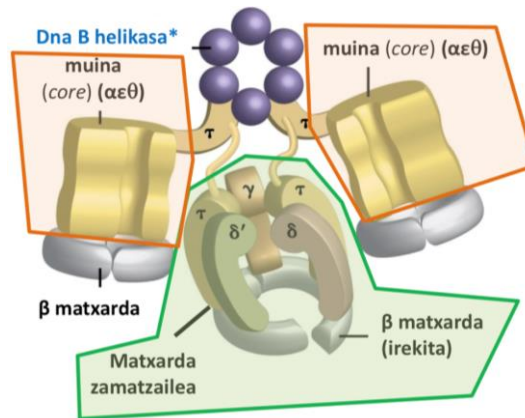




Kontuz irudiekin!!

Irudi honen arabera, ematen du 2 DNA polimerasa arduratzen direla harizpien sintesia egiteko, baina bakterioetan bakarra aritzen da. Polimerasa bereko muin bat arduratuko da harizpi batez, eta 2. muin bat besteaz.

### DNA polimerasa:



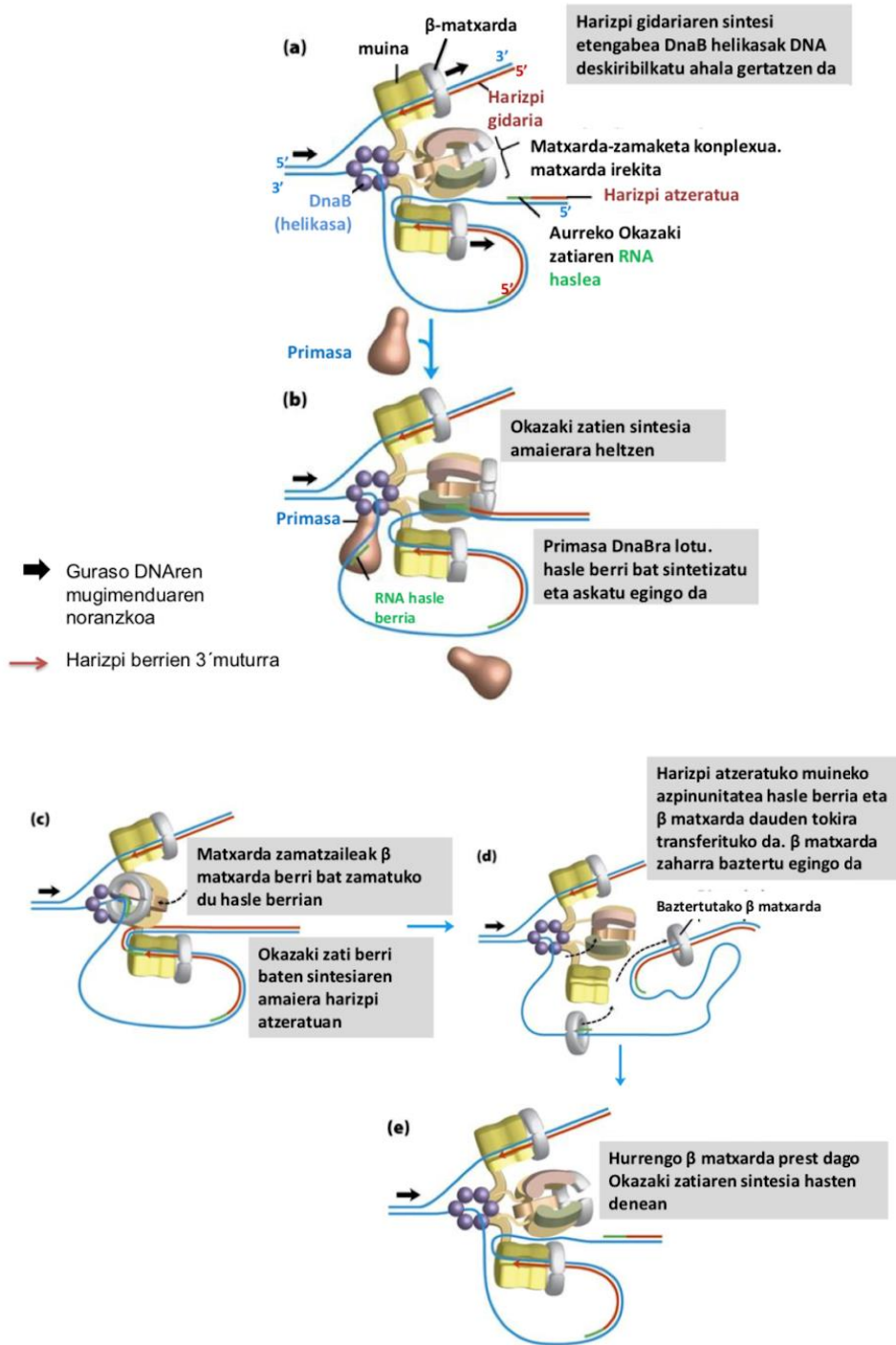
Alde batetik, bi muin ditu bakoitzak azpiunitate desberdinekin. Bi muinetako bakoitza harizpi mota bat sintetizatzeaz arduratzen da, gidaria edo atzeratua. Bi muinak aldeberean dihardute lanean.

Beta matxardaren funtzioak:

- Prozesibitatea altua da, behin hasita denbora luzean egon daiteke.
- RNA haslea non dagoen eta nondik hasi behar duen adierazteaz arduratzen da.

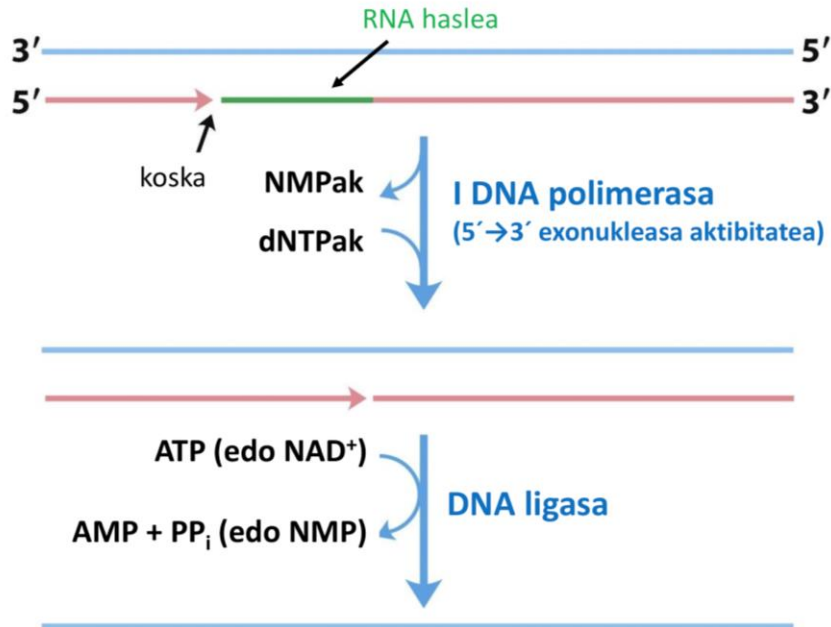
Beraz, harizpi aurreratuan ez dago arazorik. Baina atzeratuan bai, zatika egin behar delako. Matxarda zamatzailearen funtzioa, beta matxarda RNA hasleari lotzea da, honela ondoren, muinaren bidez erreplikazioa hasteko. Bi norabideetan emateko, harizpi atzerakoa tolestu egiten da, biak gutxi gora-behera pare berean egoteko.

Okazakiren zatiarekin bukatuta, matxarda zamatzaileak  $\beta$  matxarda berri bat zamatuko du hasle berrian, beste okazakiren zati bat sintetizatzen. Muina beraz, aske egongo da eta ondorioz beta matxarda berriarekin lotuko da.

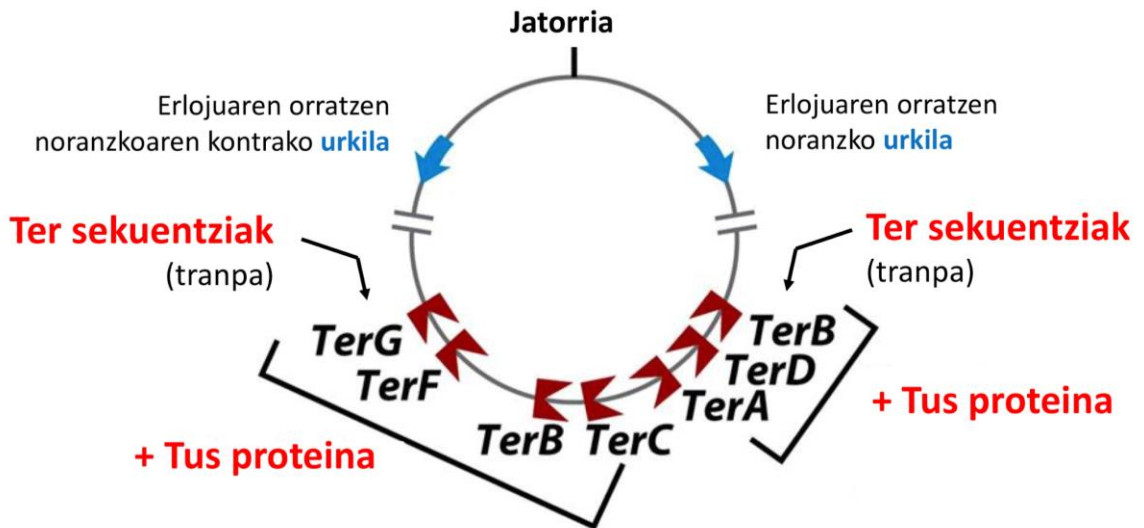


(irudiko azalpenak irakurri eta ikasi)

RNA zatiak kentzeaz DNA polimerasa I arduratzen da. DNA polimerasa I ez da gai fosfodiester loturak katalitzako; honek bakarrik nukleotidoak sartuko ditu. Fosfodiester lotura katalizatzeaz DNA ligasa arduratuko da.



### 3. Amaiera:



Printzipioz, bi urkilak bat egiten duten puntuan amaituko da erreplikazioa. Baina arazoak egon daitezke, eta Ter sekuentzia txikiak daude arazoak ekiditeko, eta DNA harizpi bakoitza behin bakarrik erreplikatzeko. Behin sekuentzia hauetara iritsita, ezingo dute aurrera jarraitu. Tus proteinak lotuko zaizkie Ter sekuentzietan eta hauek biak batera ematen dute amaiera. Dena den, ez dakigu oso ondo nola funtzionatzen duen.

### Eukariotoetan erreplikazioa:

Bakterioetan, DNA oso txikia eta zirkularra denez, erreplikazio puntu bakarra dago. Eukariotoetan, DNA oso handia denez, erreplikazio puntu asko egongo dira. Ez dago argi eukariotoetan non hasten den erreplikazioa (zein sekuentzietan), baina hasiera puntu asko daudela badakigu.

**Entzima eta proteina bereziak:**

Funtzioa	E.coli	Eukariotoak
Erreplikazioaren hasiera puntua ezagutu	DnaA proteina	ORC proteinas
Polimerasa	I, II eta III DNA polimerasak (ikus 11. diapositiba)	$\alpha$ , $\epsilon$ , $\delta$ , $\beta$ eta $\gamma$ polimerasak (ikus 19. diapositiba)
DNA polimerasaren prozesamendua emendatu	III DNA polimeraren $\beta$ matxarda	PCNA proteina
RNA haslea sintetizatu	Primasa	$\alpha$ polimerasak (primasa aktibitatea)
Harizpien luzapena	III DNA polimerasa	Harizpi gidariarena polimerasa $\epsilon$ eta atzeratuarena polimerasa $\delta$
RNA hasleak ezabatu	I DNA polimerasa	Rnasa H, FEN1

Eukariotoen kasuan, prozesuaren prozesibitatea handitzeaz arduratzen den proteina PCNA izango da.

Harizpi bakoitzerako DNA polimerasa bat egongo da erreplikazioa katalizatzen. (eta taulako desberdintasun guztiak)

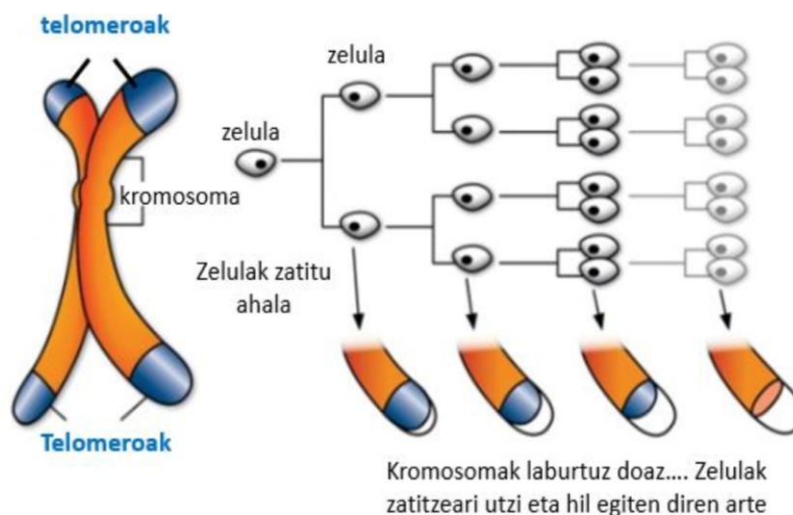
Gainera, 5 DNA polimerasa daude:

	DNA polimerasa				
	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$	$\epsilon$
<b>Kokapena</b>	Nukleoan	Nukleoan	Mitokondrio	Nukleoan	Nukleoan
<b>Primasa aktibitatea</b>	Bai	Ez	Ez	Ez	Ez
<b>3' → 5' Exonukleasa</b>	Ez	Ez	Bai	Bai	Bai
<b>5' → 3' Exonukleasa</b>	Ez	Ez	Ez	Ez	Ez
<b>Funtzioa</b>	RNA hasleen sintesia	DNAren konponketa	Mitokondrioko DNAren erreplikazioa	Okazaki zatiak luzatu	PNCArekin batu eta harizpi gidaria luzatu

Alfa DNA polimerasak RNA hasle bat sortzen du, harizpia luzatu eta azkenik, ligasak, sortu den harizpi zati berria eta lehendik zegoena lotuko ditu. Azkenik, RNA haslea desagertzen da.

**PROKARIOTOEKIKO BEREZITASUNAK ZELULA EUKARIOTOEN ERREPLIKAZIOAN**

Kontuan izanda eukariotoen DNA lineala dela, nukleasek tarteko hasle guztiak kentzen dituzte eta Okazaki zatiak luzatuz ordezkatu. Harizpi berriko 5'ko hasleak ere kendu daitezke baina ezin dira ordezkatuak izan. Ondorioz kate berriak beraien moldeak baino motzagoak dira 5' muturrean. Ondorioz, kromosomen muturrak (telomeroak), laburtzen joaten dira. Hori dela eta zelula **zahartzen** joango da.



Telomeroek kromosomen egonkortasuna bermatzen dute, kromosomak beraien artean elkartzea ekiditen dute edota kaltegarriak izan daitezkeen bestelako elkarrekintzak ekiditen dituzte. T eta G aberatsak diren sekuentzia errepikakorrek dituzte, baina bertan ez dago gene garrantzitsurik.

Telomeroak laburtzen joango dira zatiketa bakoitzeko, oso motzak izan arte, eta azkenik, zelula apoptosira bideratuko da. Horretarako kontrol puntuak daude, eta hauek erabakitzen da zelularen zatiketarekin (hau da erreplikazioarekin) aurrera jarraitu edo ez. Telomero motzekin aurrera jarraitzen bada, zelula gaizto bilaka daiteke (minbizi zelula).

**Beti-gazte xagua:** Esperimentu batean telomerasa sartu zioten xagu bati eta horrela telomeroak ez zitzaizkion mozten eta ez zen zahartzen. Baina, beste arazo batzuk zituen, adibidez, minbizi tasa altua zuen.

Telomerasa telomeroen laburpena ekiditeaz arduratzen den entzima da. Proteina bat da, baina bere baitan RNA molde bat du. RNA molde hau elkartzen da telomeroekin. DNAREN harizpi luzearekin elkartzen da eta are gehiago luzatzen du. Amaitutakoan, disoziatu egiten da DNAREKIN.





ERREPLIKAZIOAREN LABURPENA:

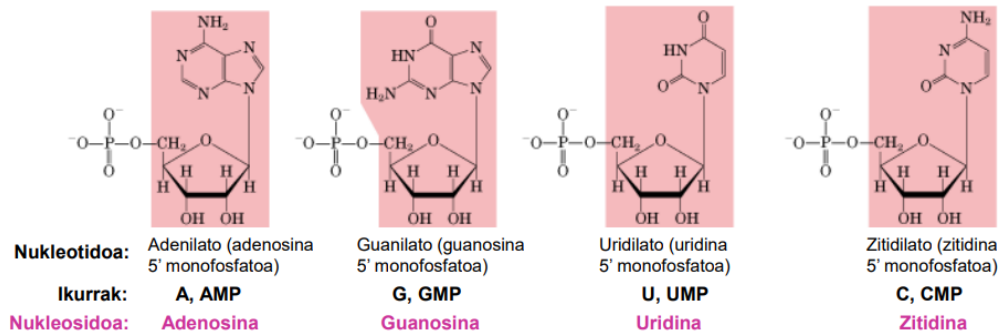
	<i>Prokariotoak</i>	<i>Eukariotoak</i>
Zein da gertatzen den erreakzio nagusia?	$[(dNMP)N + dNTP > (dNMP)N+1 + PPi]$	$[(dNMP)N + dNTP > (dNMP)N+1 + PPi]$
Erreplikazioa non hasten da?	[OriC lekuan]	[Ez da ezagutzen adostasun sekuentzia]
Zenbat hasiera leku daude?	[Bat]	[Asko]
Ze molekula ezagutzen du erreplikazioaren hasiera gunea?	[DnaA proteina]	[ORC proteinak]
Zein da DNA desnaturalizatzeaz arduratzen den entzima?	[Helikasa]	[Helikasa]
Zein da DNA desnaturalizatzean sortutako tentsioa liberatzen duen entzima?	[Topoisomerasa]	[Topoisomerasa]
Zein arduratzen da DNAREN bernaturalizazioa ekiditeaz?	[SSB ]	[SSB ]
Zenbat DNA polimerasa daude? Zeintzuk dira?	[Hiru. I, II eta III DNA polimerasa]	[Bost. Alfa-, Beta-, Gamma-, Epsilon-, Delta- DNA polimerasak]
Ze DNA polimerasak sintetizatzen du harizpi atzeratua?	[DNA polimerasa III]	[Delta DNA polimerasa]
Ze DNA polimerasak sintetizatzen du harizpi gidaria?	[DNA polimerasa III]	[Epsilon DNA polimerasa]
Zein arduratzen da DNA polimerasaren prozesibitatea areagotzeaz?	[DNA polimerasa IIIren beta matxarda]	[PCNA]

Zeinek katalizatzen du RNA hasleen sintesia?	[primasa]	[DNA polimerasa alfa]
Zein da edo zeintzuk dira 3'-5' exonukleasa jarduera du(t)en DNA polimerasa(k)?	[DNA polimerasa I, II eta III]	[DNA polimerasa gamma, delta, eta epsilon]
Zein da edo zeintzuk dira DNA konponketa mekanismotan parte hartzen du(t)en DNA polimerasa(k)?	[DNA polimerasa I eta II]	[Beta DNA polimerasa]
Zein da edo zeintzuk dira 5'-3' exonukleasa jarduera du(t)en DNA polimerasa(k)?	[DNA polimerasa I]	[Ez da existitzen]
RNA hasleak ezabatzeaz arduratzen den molekula	[DNA polimerasa I]	[Rnasa H eta FEN1]
Erreplikazio ziklo bakoitzean DNA laburtuz al doa?	[Ez]	[Bai]
Telomerasa adierazten dute? Erantzuna baiezkoa bada, zehaztu ze zelulek adierazten duten	[Ez]	[Bai, gametoek]

# 5. GAIA: RNAren EGITURA, FUNTZIOA ETA METABOLISMOA (transkripzioa)

RNA molekula

Ohiko erribonukleotidoak:



5'---> 3' norabidean irakurtzen da. Harizpi bakarreko molekula, tolesteko aukera duena, eta barne parekamenduak sortzen direnez, egitura konplexuak sortu ditzake (egitura sekundarioa).

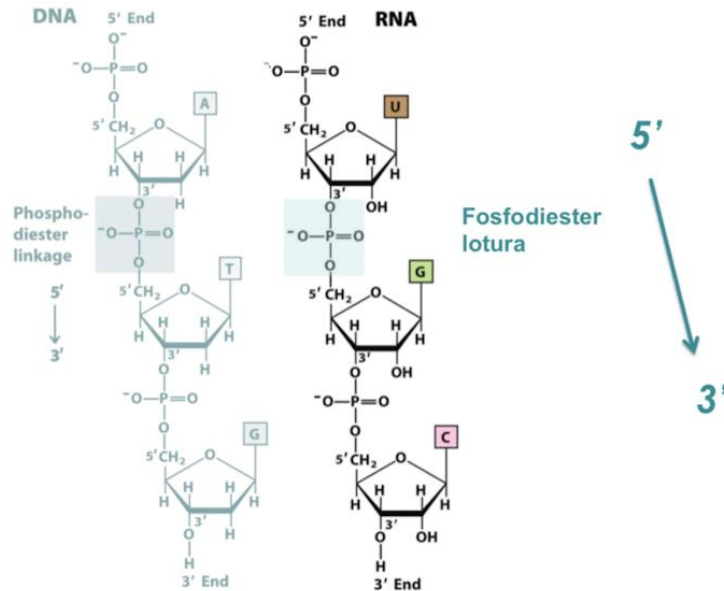
Egitura primarioa



Tolespena

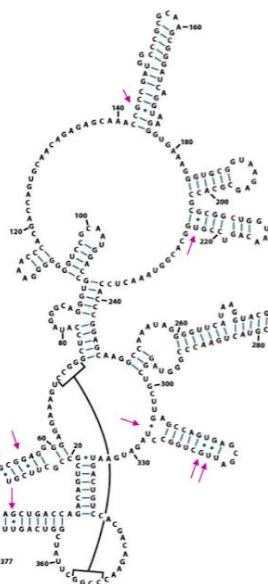
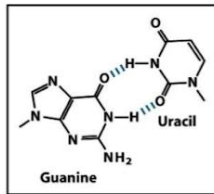
Egitura sekundarioa (harizpi bakarra)





RNA molekula asko daude eta bakoitzak bere egitura propioa dauka. Baina kasu batzuetan ikusi da, RNA tolestu eta helize destrogiro moduan antolatzen dela. Watson eta Cricken base-parekamendua emateaz gain G-U parekamendua ere ematen da RNAan eta beraz tolesteko aukera gehiago ditu, urkilak, gurutzeak eta barne bigiztak sortuz.

GU parekamenduak

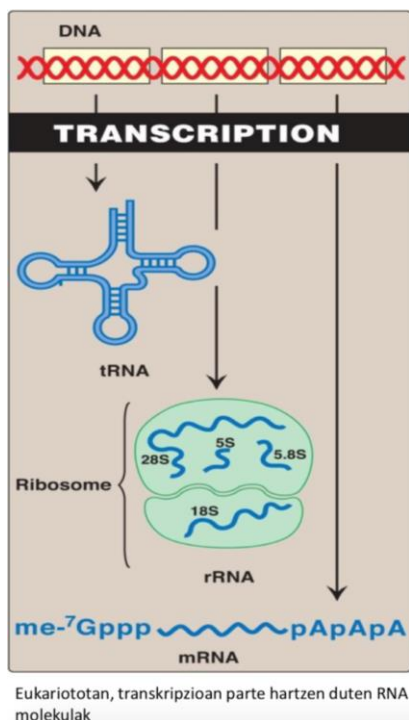


**E. Coli ren P Rnasa entzimaren M1 RNA osagaiaren egitura sekundario posiblea.** Urkila asko ageri dira egitura horretan. P Rnasak badu osagai proteikoa ere, ez dena hemen irudikatu. Entzima honek tRNA-ren prozesamenduan parte hartzen du. Egitura tridimentsionalean parekatuta egon litekeen sekuentzia osagarri gehiago adierazten dituzte kortxeteek. Puntuek berriz (•) Watson-en eta Crick-en arabera ez dira G=U base bikoteak adierazten dituzte.

DNA baino askoz ere **konplexuagoa** da metabolismo, egitura... aldetik.

Transkripzioko RNA molekulak:

- tRNA (%15)
- rRNA(%80): erribosomak oso oso ugariak direlako.
- mRNA (%5)



Baina RNA gehiago ere badaude:

- snRNA (small nuclear RNA)
- snoRNA (small nucleolar RNA)
- Erribozimak
- RNAi
- beste RNA erregulatzaile batzuk

**rRNA:**

Erribosomen osagaia da. Erribosomak, proteinak sintetizatzen dituzten organuluak dira. Erribosomek bi azpiunitate izaten dituzte, zenbaki eta S batez osatuta (unitate hau **ez** da **batugarria**, jalkitze indizea adierazten du, tamaina eta formaren arabera dena).

Prokariotoen eta eukariotoen artean, hainbat ezberdintasun daude:

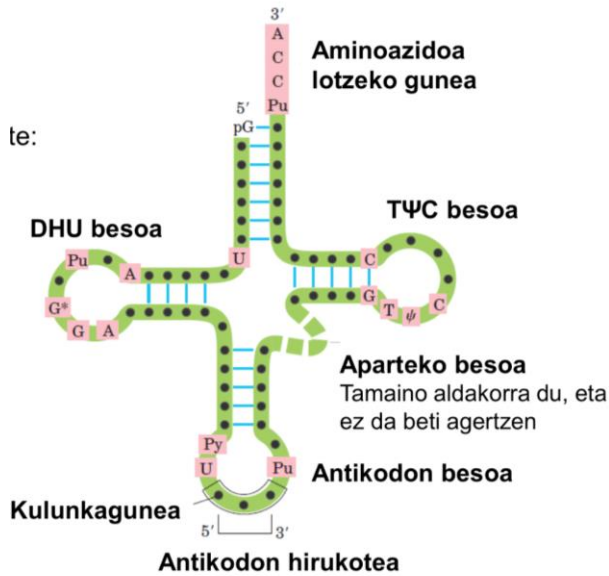
	Prokarioto		Eukarioto	
Erribosomaren tamaina	70S		80S	
Azpiunitatea	Handia	Txikia	Handia	Txikia
Azpiunitatearen tamaina	50S	30S	60S	40S
rRNA	5S eta 23S	16S	5S, 5.8S eta 28S	18S
Proteina	36	21	49	33

rRNA batzuk aktibitate entzimatikoa daukate (**erribozimak**).

rRNA molekulen 3D egitura oso konplexuak dira. Prokariotoen erribosomen egitura orain dela gutxi definitu zen, eta eukariotoena askoz ere konplexuagoa denez, oraindik ez da guztiz definitu.

**tRNA:**

(hau egitura sekundarioa)



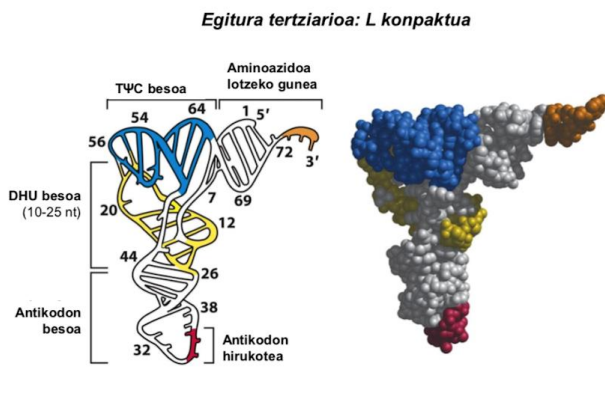
mRNAn dagoen informazioa irakurri eta sintetizatzen ari den polipeptidoaren kodoi bakoitzari dagokion aminoazidoa gehitzeaz arduratzen da. Kodoi bat 3 basez osatuta dago eta tRNA bakoitzak antikodoi bat du kodoiaren osagarriak diren 3 basez osatuta, honela elkartzerakoan dagokion aminoazidoa kokatuko du. Hirusta formakoa da bere egitura sekundarioa.

tRNA molekula txikiak dira, 75-98 aa (4S).

Nukleotido bereziak (ez-ohikoak) dituzte:

- G\*: guanosina edo 7-metilguanosina.
- DHU: 5, 6- dihidrouridina.
- T: erribotimidina.

egitura tertziarioa:



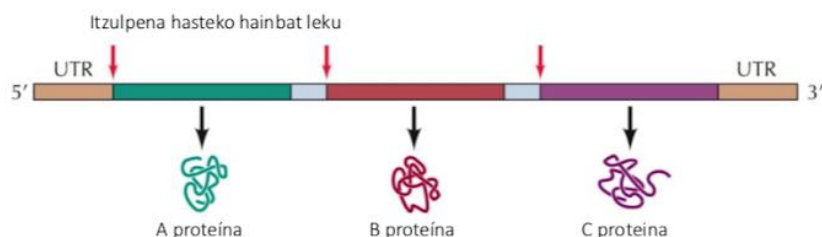
**mRNA:**

Gene batek edo gene multzo batek zehaztutako polipeptido bat edo gehiagoren aminoazido sekuentzia kodetzen du.

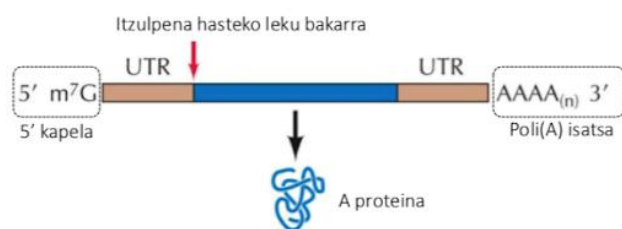
Eukariotoetan, gene bakoitzak mRNA bat dauka, eta bakoitzetik proteina bat sortzen da, hau da, eukariotoetan, mRNA **monozistronikoa** da.

Prokariotoena oso desberdina da, gene bakar batek mRNA bat izango du baina bakoitzetik 3 proteina sortuko ditu, hau da, prokariotoetan mRNA **polizistronikoa** izango da. Honela, azkarrago emango da prozesua, eta erregulazioa sinpleagoa izango da.

**Prokariototan: mRNA Polizistronikoa**



**Euskaritototan: mRNA Monozistronikoa**



UTR, untranslated region

Prokariotoetan, transkribatutako geneak aldi berean itzultzen dira, fisikoki leku berean ematen direlako bi prozesuak; eta batzuetan mRNA-ren transkripzioa amaitu baino lehen hasten da itzultzen.

Eukariotetan aldiz, leku desberdinetan ematen da, bata nukleoan eta bestea zitoplasman, beraz bi prozesuak banaduta daude eta mRNAk 3 aldaketa jasan behar ditu itzultzen hasteko.

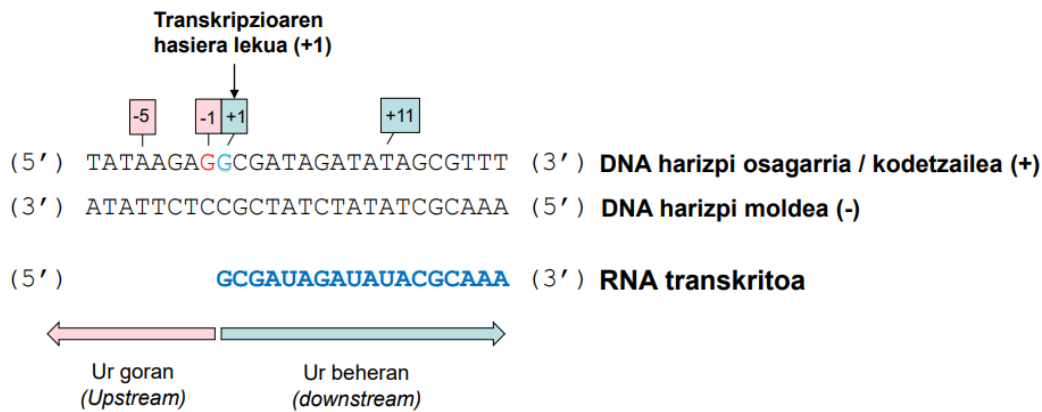
Erreplikazioa VS transkripzioa:

- **ANTZEKOTASUNAK:** sintesien norazkoa 5→3 zentzuan ematen da, moldea beharrezkoa da eta biek 3 fase dituzte: hasiera, luzapena eta amaiera. Transkripzioaren hasiera fasea 2 zatitan banatu: (i) DNAr lotzeko fasea (ii) RNA sintesiaren hasiera.
- **DESDERDINTASUNAK:** RNA polimerasak ez du haslerik behar RNA sintetizatzeko eta ez dute 3'-5' exonukleasa (proba irakurketa) aktibatzerik, hau da, ezingo ditu akatsak konpondu. Transkripzioan moldea harizpi bakarreko DNA izango da. Transkripzioan egindako akatsak ez dira ondorengoari igarotzen, beraz energia gastua bada ere, gertatzen diren akats ez dira hain larriak. Erreplikazioan aldiz akatsak konpondu egiten dira, akatsak egotekotan ondorengoari igarotzen direlako.

## Transkripzioa = DNAREN mendeko RNAREN sintesia

DNA-harizpi batean gordetako informazio genetikoaren bere osagarria den RNA-kate baten base-sekuentzia espezifikatzeko erabiltzen den prozesu entzimatikoa da. Antiparaleloan transkribatzen da. DNA moldearen eta RNAREN harizpien artean, **heteroduplexa** sortzen da, RNA eta DNA harizpien elkarketa.

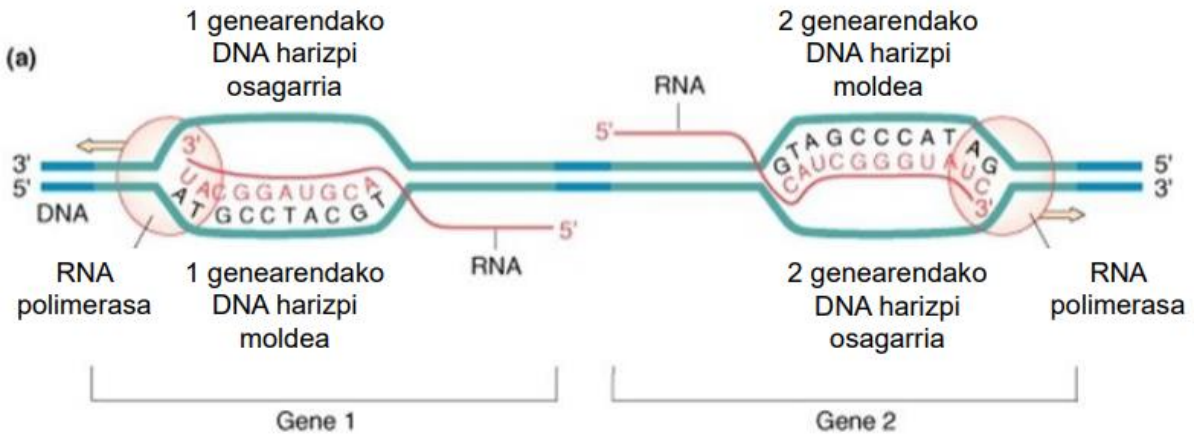
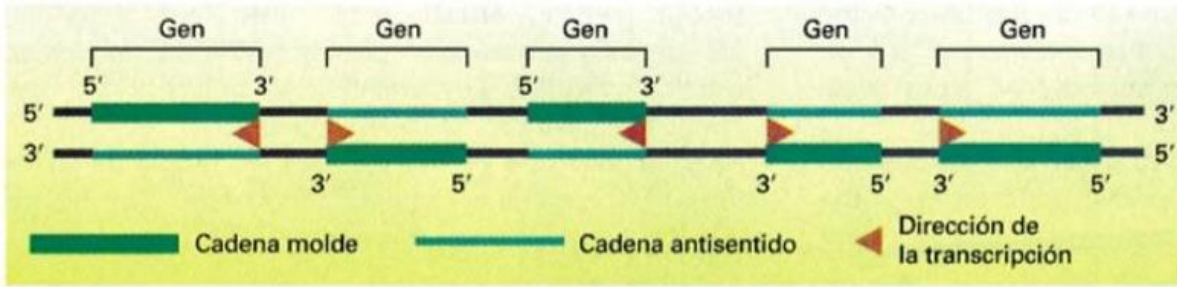
Lehenengo transkribatzen den nukleotidoa +1 da, ondoko nukleotidoa ezkerrera -1 izango da eta eskuinera +2 (**ez da 0 nukleotidoa existitzen**).



Ur goran dauden geneak ez dira transkribatzen.

Transkripzioaren asimetria: Gene desberdinek DNA harizpi desberdinak erabiltzen dituzte molde gisa.

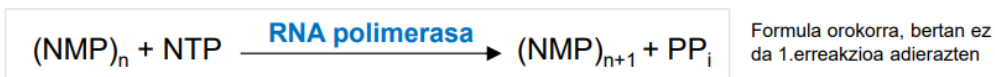




## RNA polimerasa:

Harizpi moldea behar du (genearen arabera DNA harizpi bat edo bestea izango da). Ez du haslerik behar. Ez dauka exonukleasa jarduerarik eta beraz ez ditu akatsak zuzentzen. Akatsen proportzioa 1/104 -105 nt da.

RNA katea sortzeko RNA polimerasaren substratua NTP da (nukleotido trifosforilatua), eta NTPak kateari gehitzen joango da. Horrela katea sortzen joango da. Lehenengo nukleotidoa trifosforilatua izango da, baina hurrengo NTPak katean lotzerakoan monofosforilatu bihurtuko dira.

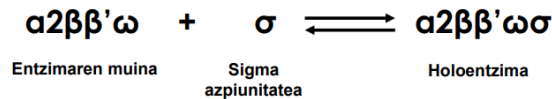


Entzimaren funtzionamenduarentzat oso garrantzitsua da magnesioa.

Prokariotoetan RNA polimerasa **bakarra** da, aldiz eukariototan 3 RNA polimerasa daude. Muina edo nukleoa izango du eta gainera 4 azpiunitate izango ditu. Garrantzitsuena beta da, berak duelako polimerasa funtzioa, gune katalitikoa da.

E.coliren RNA polimerasa:

	RNA polimerasa holoentzima				
	Muina edo nukleoa				
	$\alpha$	$\beta$	$\beta'$	$\omega$	$\sigma^*$
# molekula entzimako	2	1	1	1	1
M <sub>w</sub> (kD)	36,5	151	155	11	*
Funtzioa	Sintesiaren hasiera. Proteina erregulatuzaileekin eta ur-gorako promotore elementuekin batu	Transkripzioaren hasiera eta luzapena. <b>Gune katalitiko</b>	DNA moldeari lotu	Ezezaguna	Sustatzailea ezagutu



$\sigma$  azpiunitateak ezagutzen ditu sustatzaileak. 7 desberdin daude eta bakoitzak adostasun sekuentzia espezifiko bat ezagutzen du, sustatzaile mota jakinetan agertzen direnak.

Adostasun sekuentzia	Sustatzaile mota
$\sigma^{70}$ TTGACAN <sub>16-18</sub> TATAAT	Gene konstitutiboak (gehienak)
$\sigma^{54}$ TGGYAYAN <sub>4-6</sub> TTGCA	Nitrogenoaren metabolismoa
$\sigma^{38}$ TATAAT	Fase geldikorra
$\sigma^{32}$ TNNCNCNCTTGAAN <sub>13-15</sub>	Txoke termikoa
$\sigma^{28}$ TAAAN <sub>15</sub> GCCGCTAA	Kimiotaxia y flageloaren egitura
$\sigma^{24}$ Definitu gabe	Funtzio extrazitopasmikoak
$\sigma^{19}$ Definitu gabe	Burdinaren garraioa

**Gene konstitutiboak edo housekeeping geneak:**

- Gene hauek kodetzen dituzten proteinek zelularen oinarrizko funtzionamendua bermatzen dute.
- Oro har, onartzen da gene hauen transkripzio-maila konstantea (eta baxua) dela zelula mota guztietan. Hori dela eta, gene hauen transkripzio-maila kontrol gisa erabiltzen da espresio genikoko esperimenduetan.

Gene konstitutiboetan adostasun sekuentzia egongo da bere sustatzailearekin, eta sigma 70ak ezagutuko du. Orduan, transkripzioa emango da.

Gaixotasun bat identifikatzeko:

Laborategian: susmoa daukagu A genea behar baino gutxiago transkribatzen dela. Beraz, hori konprobatzeko, bi lagin hartuko ditugu: pertsona osasuntsu batena eta "gaixoarena", berez kuantitate berdinak. Baina, laborategian erroreak egon daitezke. Beraz, probaren ondoren bi gauza jakingo ditugu: laginaren kuantitate berdinak hartu ditugun edo ez eta A transkripzio maila egokia den edo ez. Hau ikusteko, gene konstitutiboak kontrol moduan hartuko dira, izan ere, gene hauek pertsona guztietan gutxi gora-behera transkripzio maila bera dute.

Esperimentua egin ostean, konprobatu dugu I. laginean A-ren transkripzio maila 20 dela eta gene konstitutiboena 5, eta II. laginean 10 A-rena eta gene konstitutiboaren ere 10. Zatiketarik egitean datuak konparatzeko  $20/5=4$  eta  $10/10=1$  beraz, kuantitate desberdinak hartu ditugu

eta gainera bietako bat gaixo dago. Pertsona osasuntsuaren gene konstitutiboen transkripzio maila beste geneekin alderatuz laurdena bada, II. laginaren pertsona gehiago dago, izan ere, pertsona horren A genea eta gene konstitutiboa proportzio berean transkribatzen dira.

Eukariotoetan, **hiru RNA polimerasa** ditugu: I, II eta III. Bakoitzak RNA mota jakin batzuk transkribatzeaz arduratzen da. KONTUZ! Bakterioetan DNA polimerasa I, II eta III egongo dira.

### RNA polimerasa

	I	II	III
<b>Kokapena</b>	Nukleoloa	Nukleoplasma	Nukleoplasma Mitokondrio eta Kloroplasto
<b>Produktua</b>	rRNA (28S, 18S, 5,8S)	mRNA prekursorea eta snRNA	tRNA eta 5S rRNA mRNA, tRNA, rRNA

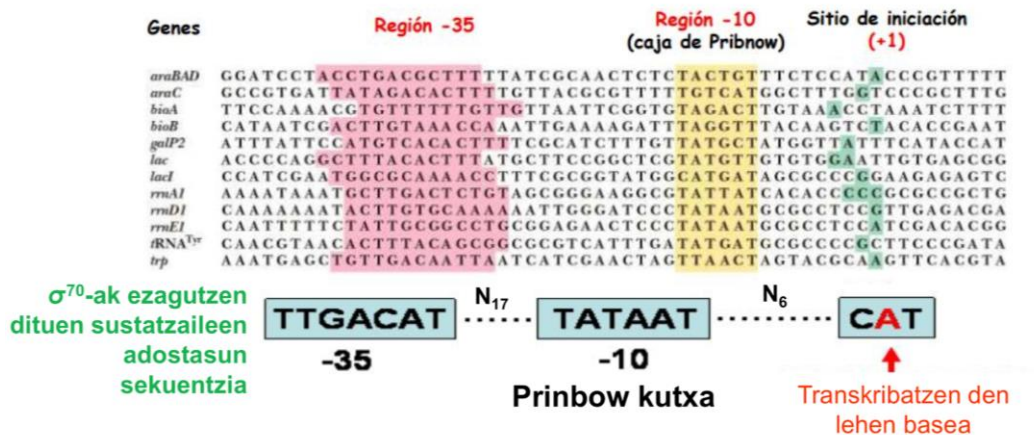
snRNA: small nuclear RNA.

### Transkripzioko etapak eta inplikaturako molekulak

#### 1. HASIERA: Non?

Prokariotoetan, transkripzioaren hasiera sekuentzia sustatzailea edo promotorea da, unitate transkripzionalen 5' aldean dagoen sekuentzia bat, gehienetan sigma 70ak ezagutzen duena.

-10ean Prinbow kutxa (TATAAT) egongo da eta -35ean, beste sekuentzia bat. Adostasun sekuentziak definitzeko, gene desberdinen sustatzaileak hartu eta informatikoki antzekotasunak edo maiztasun handiarekin agertzen diren sekuentziak detektatzen dira. Sekuentzia batek geroz eta antzekotasun handiago badu adostasun sekuentziarekin, indartsuagoa da, gene hau gehiago transkribatuko da.



**Mekanismoa:**

RNA polimerasa DNAREN gainean kokatzen da, eta mugitzen hasten da, sigma azpiunitateak (70ak normalean) sustatzaile bat ezagutu arte (honen barruan, -35 eta -10 sekuentziak detektatzen ditu). Oraindik DNA kiribilkatuta egongo da. Behin ezagututa, muinak DNA pixka bat desnaturalizatzen du (17 bp inguru), 5-6 nukleotido transkribatzen dira.

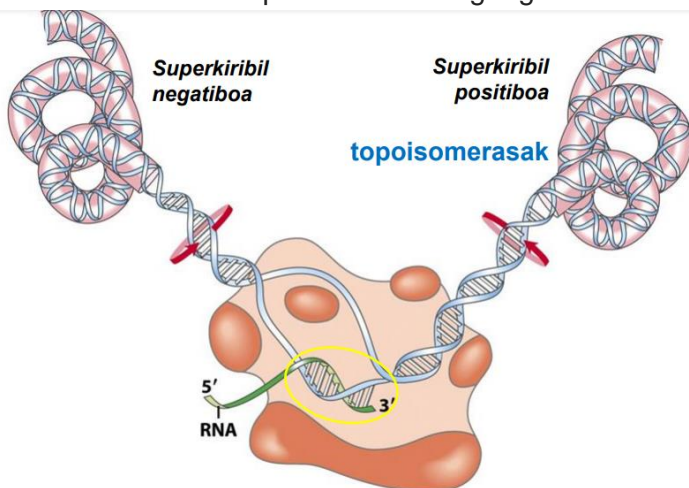
- Alfa azpiunitatea sekuentzia erregulatzailerara lotzen da.
- Beta azpiunitatea, NTP-ei lotu eta fosfodiester loturak katalizatzen ditu.
- Beta prima DNA moldeari lotzen da.

Nukleotido gutxi hauen transkripzioa eman ostean, sigma askatu egiten da sustatzaile berriak aurkitzeko, eta muina bakarrik geratuko da; berak emango du transkripzioa.

2. LUZAPENA

**Transkripzio burbila** sortuko da: desnaturalizatuta egongo dira 17 nukleotido inguru leku zehatz horretan. DNAREN harizpi bat moldetzat hartuta RNA sortzen joaten da, duplexo bat sortzen da (RNA eta DNA elkartuta), DNA AREN egitura hartzen du. RNA polimerasa mugitzen joango da baina beti 17 nukleotido inguru desnaturalizatuko ditu. Dagoeneko transkribatuta dagoen zatiaren DNA-ren bi harizpiak elkartuko dira berriro, birnaturalizatuz. Transkripzioa erreplikazioa baino askoz ere mantsoago gertatzen da, akatsak ezin direlako zuzendu.

Tentsioak kentzen topoisomerasak egongo dira.

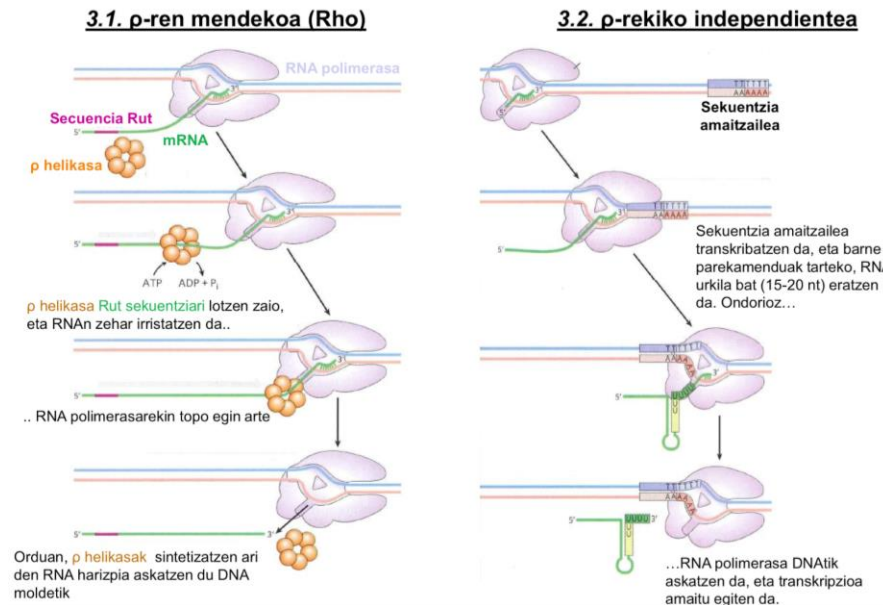


3. AMAIAERA:

Bi mekanismo:

- Rho-ren menpekoa: Rho helikasak parte hartzen du. Kasu batzuetan, adostasun sekuentzia bat transkribatzen da, Rut sekuentzia. Orduan, Rho helikasak hau ezagutu eta sekuentzia honi lotuko zaio. Rut sekuentziatik abiatuta, mugitzen hasiko da RNA mezularian RNA polimerasarekin topo egin arte. Horrela, RNA mezularia askatu eta prozesua amaituko da.

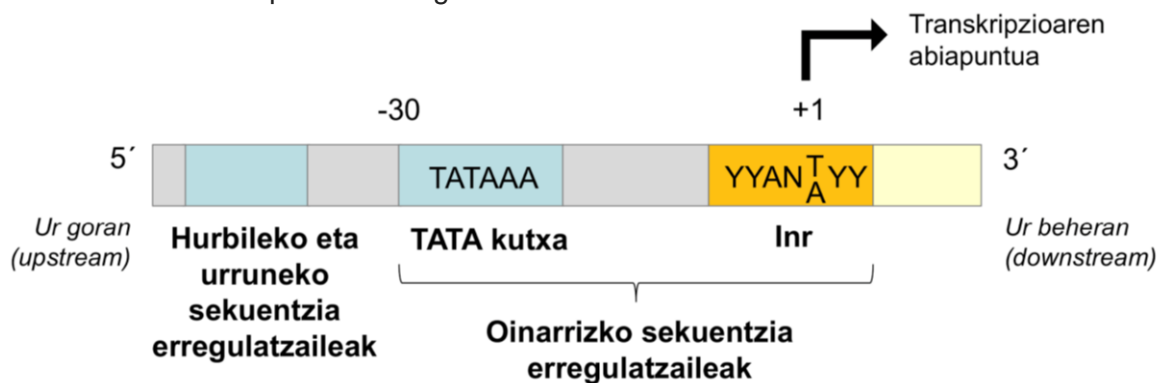
- Rho-rekiko independentea: Amaiera sekuentzia transkribatuko da, eta barne parekamenduen ondorioz, RNA urkila berri bat eratuko da. Ondorioz, RNA polimerasa DNA katetik askatu eta transkripzioa amaituko da.



## EUKARIOTOETAN TRANSKRIPZIOA

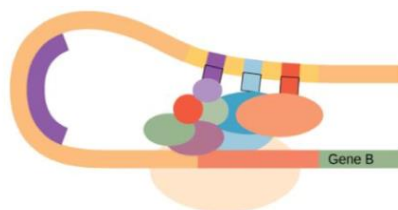
### 1. HASIERA

Sustatzailetan hasten da, Inr sekuentziaren barnean egongo da transkripzioaren abiapuntua ematen den nukleotidoa. -30 nukleotidoan TATA kutxa izango dugu (garrantzitsua da gainontzeko guztia honen ondoren datorrelako, sustatzailea hemendik gertu). Gune erregulatzaila eta adostasun sekuentzia ugari egongo dira. Hauetakako bakoitzari proteina bat gehituko zaio.



Transkripzio hasierako konplexuak oso luzeak izan daitezke eta beraz, plegatu egin beharko dute urruneko sekuentzia erregulatzailak, eta horiei lotutako proteinak

transkripzio hasierako konplexuarekin elkarrekiteko. Erregulazioa eukariototan oso konplexua da.



Proteina	Mw	#azpiunitate	Funtzioa
<b>Pol II</b>	10,000-220,000	12	<b>RNA polimerasa</b> , RNAREN sintesia katalizatu
<b>TBP (TATA Binding Protein)</b>	38,000	1	<b>TATA kutxa ezagutu</b>
<b>TFIIA</b>	12,000; 19,000; 35,000	3	<b>TBP eta TFIIIB promotorera lotzen direnean, lotura egonkortu</b>
<b>TFIIB</b>	35,000	1	<b>TBPri lotu; PolII-TFIIF konplexua erreklutatu</b>
<b>TFIIE</b>	34,000; 57,000	2	<b>TFIIH erreklutatu; ATPasa eta helikasa jarduera dauka</b>
<b>TFIIF</b>	30,000; 74,000	2	<b>Estuki lotu Pol II.ri; TFIIBri lotu eta ekidin Pol II inespezifikoki lotzea DNARA</b>
<b>TFIIH</b>	35,000-89,000	12	<b>Helikasa aktibitatea dauka, eta beraz sustatzaileko DNA deskribiltzen du; Pol II fosforilatzen du;</b>

**TFIIak oso kontserbatuak eukarioto guztietan.**

Hemendik garrantzitsuenak E, H, TBP eta pol II.

TBP entzimak TATA kutxa ezagutuko du. Ondoren garrantzitsuenak, E eta H helikasak dira eta desnaturalizatzear arduratzen dira, partzialki egiten dute. Azkenik, RNA polimerasa jarduerari ekiteko fosforilatu egin behar da; H-k fosforilatuko du kinasa funtzioa ere baduelako. Horrela, hau egin ostean transkripzioa hasiko da. E eta H helikasek beraien funtzioa betetzen dutenean askatu egingo dira.

## 2. LUZAPENA:

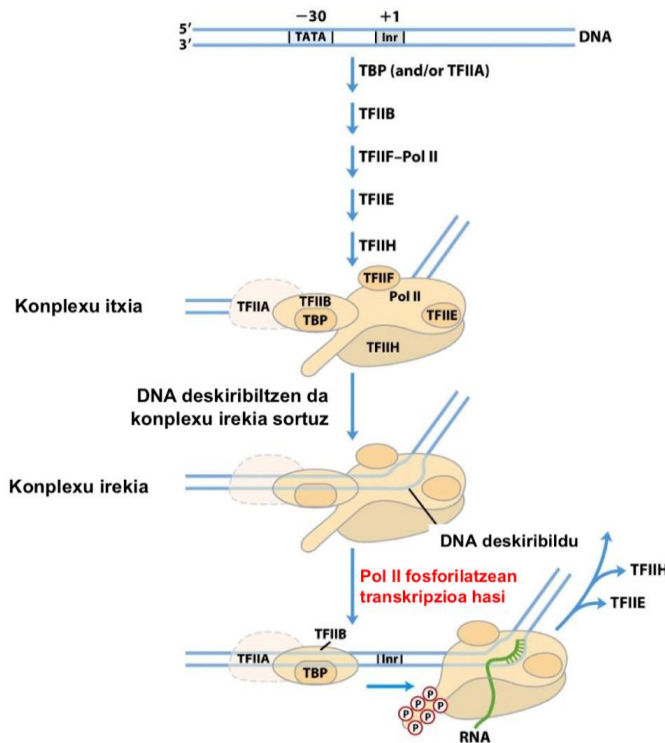
Parte hartzen duten entzimak eta proteinak:

Proteina edo luzapen faktoreak	#azpiunitate	Funtzioa*
<b>ELL</b>	1	
<b>pTEFb</b>	2	<b>RNA Pol II fosforilatuta jarraitzen duela bermatu</b>
<b>SII (TFIIS)</b>	1	
<b>Elongin (SIII)</b>	3	

\*Proteina bakoitzaren funtzioa ez da zehatz-mehatz ezagutzen, baina oro har, **luzapen faktore guztien funtzioa da transkripzioaren etetea ekiditea**

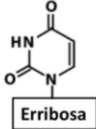
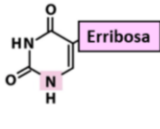
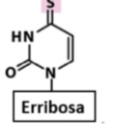
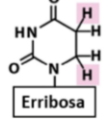
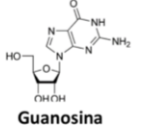
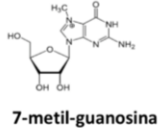
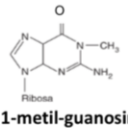
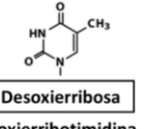
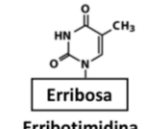
## 3. AMAIERA:

Gure transkripzioa RNA polimerasaren desfosforilazioa ematen denean amaituko da.



**RNAren heltzea:**

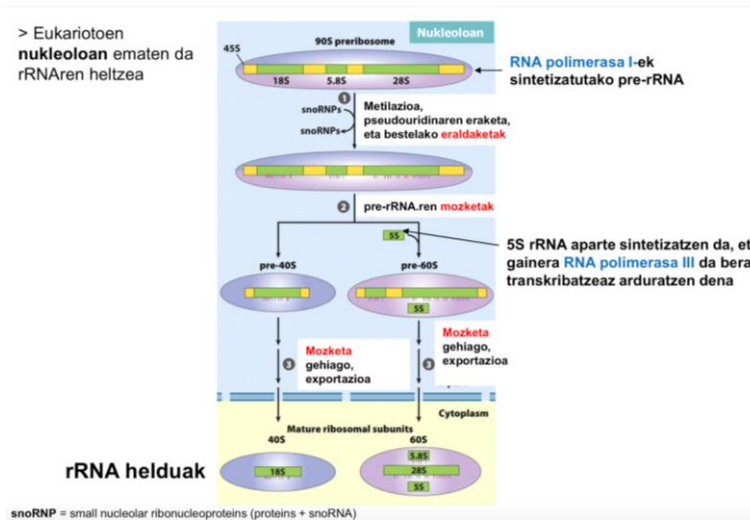
Sortutako RNA pre RNA da eta heldu egin behar du RNA sortzeko. Mozketak eta baseen aldaketak ematen dira hau heltzeko. Nukleosido arraroak daude (Tiouridina, Dihidrouridina).

nukleosido arruntak	rRNA eta tRNA agertzen diren nukleosido bereziak			
 <p>Uridina</p>	 <p>Pseudouridina (<math>\psi</math>)</p>	 <p>4-Tiouridina (<math>5^4U</math>)</p>	 <p>Dihidrouridina (D)</p>	
 <p>Guanosina</p>	 <p>7-metil-guanosina</p>	 <p>1-metil-guanosina</p>		
 <p>Desoxierribosina</p>	 <p>Erribotimidina</p>	<p>Orain arte, guztira identifikatutako nukleosido eraldatuak:  <b>tRNA-tan 81</b>  <b>rRNA-tan 30</b></p>		

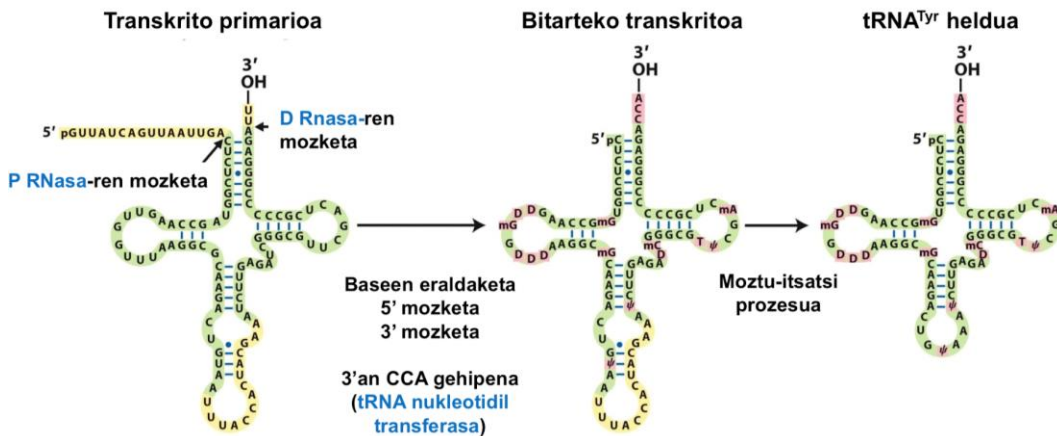
- rRNA, geneak polizistronikoak dira, hau da, gene bakoitzetik proteina desberdinak sortzen dira. Baseen eraldaketak sortuko dira eta nukleasen bitartez mozketak ematen dira, RNA helduak sortuz.

Eukariotoetan: **Nukleoloan** ematen da rRNAren heltzea, pol I-ek sintetizatutako pre-RNA-rena. Gene polizistronikoak izango dira (salbuespena, oso gutxi egongo dira horrelakoak, izan ere, eukariotoetako gene ia guztiak monozistronikoak dira). Baseen

aldaketak ematen dira, snoRNP- ak arduratzen dira honetaz. Ondoren mozketak ematen dira, endonukleasak egiten dute hau. RNA polimerasa III 5s RNA sintetizatzeaz arduratzen da honela azpiunitate handia sortzeko. Prozesu hau aparte ematen da.



- tRNAren heltze prozesua:



Orokorrean, prokarioto zein eukariotoetan berdin ematen da.

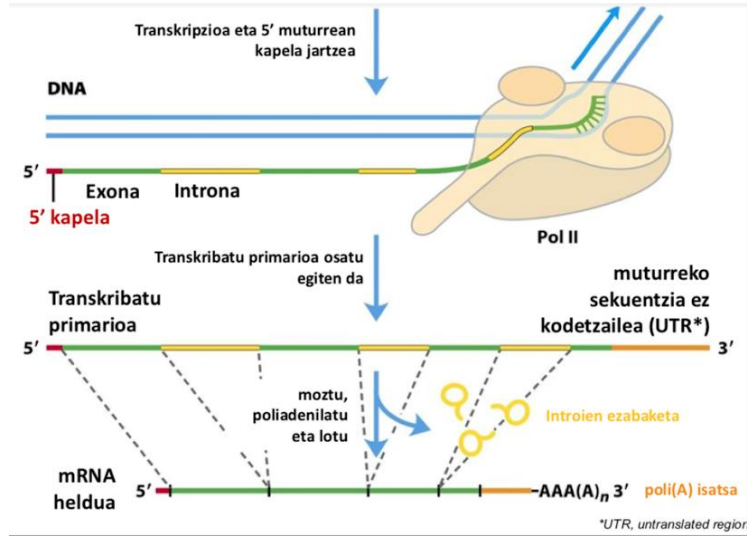
Transkripto primarioak egitura sekundarioa izango du, baina zati batzuk kendu behar izaten dira (horiz adierazitakoak); bai 5' eta 3' muturretako zenbait zati.

Horiz adierazitako sekuentziak esan bezala moztu egingo dira erribonukleasa espezifikoaren bitartez; ondoren itsasketa emango da. Horretaz gain, base dexente eraldatzen dira (arrosez).

CCA sekuentzia gehitzen da tRNA-katean 3' muturrera **tRNA nukleotidiltransferasak** katalizatzen duen erreakzioaren bitartez. CCA mutur hori aminoazidoari lotuko da. Antikodoiaren lobuluan ez da bereizten eta mozketa eta itsasketen ondorioz sortuko da antikodoia, gero kodoiarekin elkartuko dena.

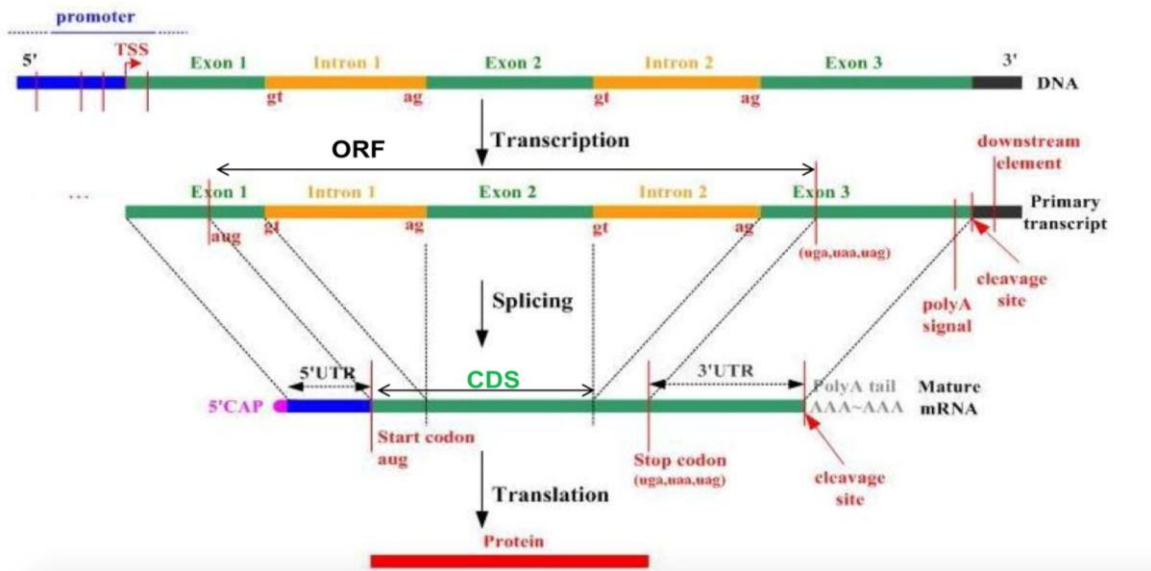


- mRNA-ren heltzeari dagokionez (eukariotoetan soilik, prokariotoetan sortzen ari den heinean heldua ere itzultzen joaten da). Prozesuak hiru pausu izango ditu: mRNAan exoiak eta introiak daude, introiak ez dira behar eta kendu egiten dira. Gainera, bi muturrak babestu egin behar dira eta txapela eta Poli(A) isatsa gehitzen zaizkio.



**ORF (open Reading frame):** ATG-n hasi eta stop kodoian amaitzen den DNA sekuentzia da. Normalean geneak iragartzeko detektatzen dira, baina ez dago frogatuta transkribatzen direnik. Eukarioetan introiak izango ditu.

**CDS (Coding sequence):** Proteinara itzultzen den nukleotido sekuentzia (DNA edo RNA). Prokariotoetan ORF eta CDS berdinak izango dira. Honek ez du introirik izango.



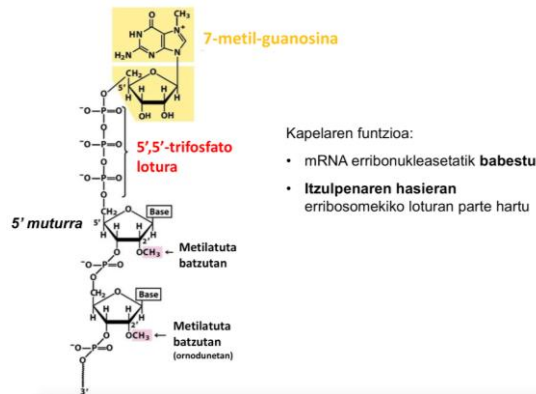
TSS: transcription start site.

UTR (Untranslated region) : 5' muturrean dago eta sekuentzia erregulatzailea da, mRNAren zati bat da baina ez da transkribatuko.

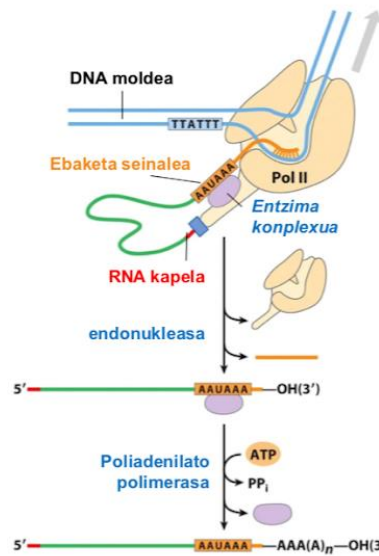
mRNAren heltze prozesuan ematen diren pausuak:

1. **mRNAREN 5' MUTURREAN KAPELA (CAP) JARRIKO DA:** kapelaren funtzioak, mRNA erribonukleasetatik babestea eta itzulpenaren hasieran erribosomekiko loturan parte hartzea da.

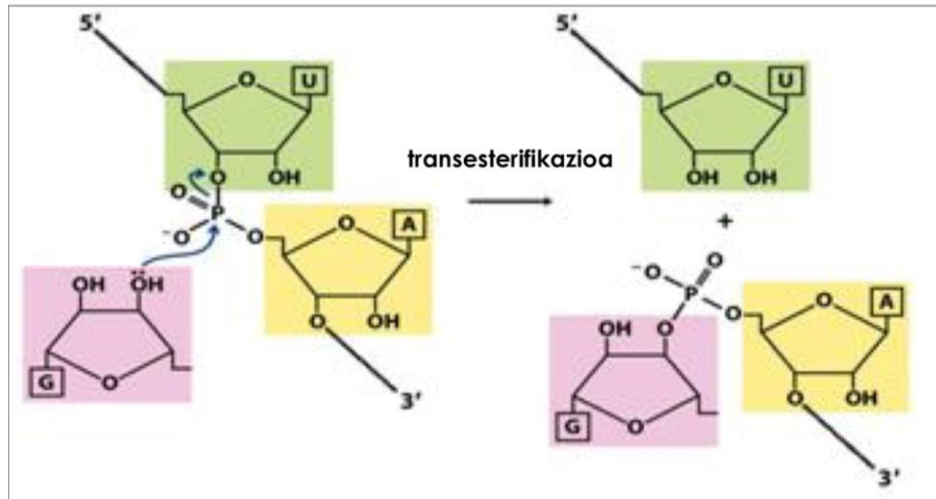
mRNAREN lehen nukleotidoa trifosforilatua izango da (hau horrela izango da beti). Hori dela eta, lehenengo bi nukleotidoen arteko lotura 5',5'-trifosfato izango da.



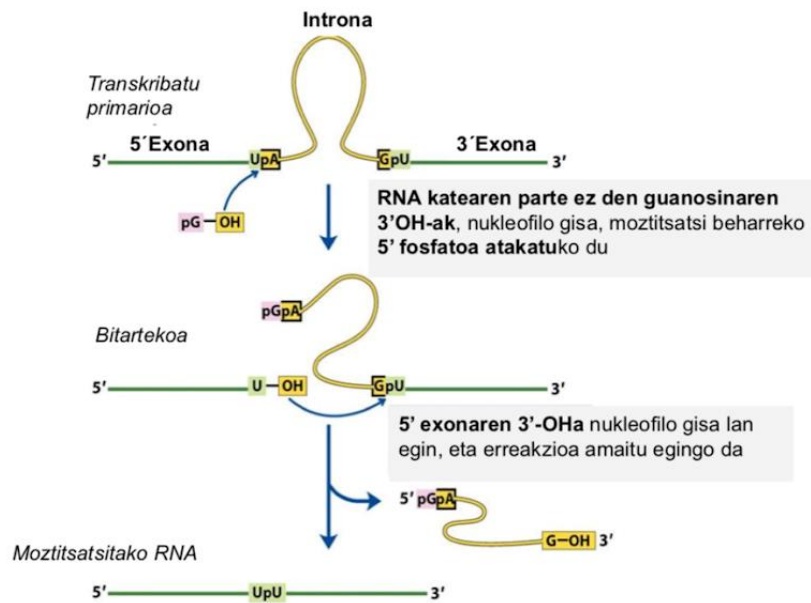
2. **EUKARIOTOEN mRNAREN 3' MUTURREAN POLI(A) ISATSA KOKATUKO DA:** RNA degradaziotik babestea da bere funtzioa. Prozesuan 2 entzimek hartzen dute parte. Ebaketa-seinalea (AAUAAA) duen zatia baino luzeago sintetizatzen du II RNA polimerasak RNA. Amaitutakoan, ebaketa seinaletik 10-30 nukleotido ingurura ebaketa bat egiten du endonukleasa batek eta 3' muturra libre geratuko da. Orduan, poliadenilato polimerasa entzima gehitzen zaio eta 20 eta 250 adenilato bitarteko poli (A) isatsa sintetizatzen du ebaki unetik hasita.



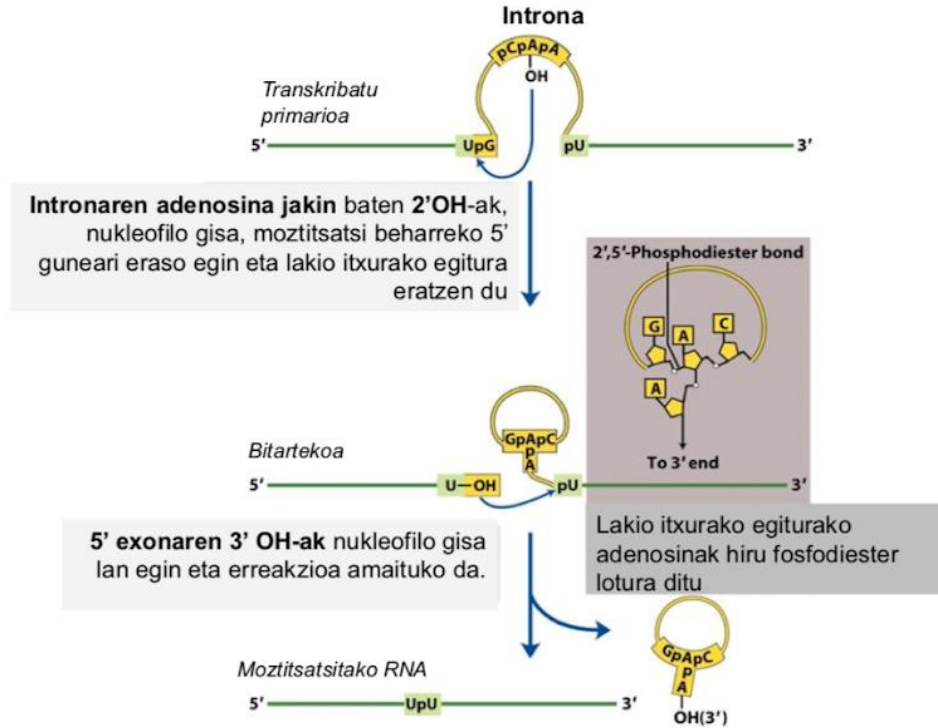
3. **mRNAREN intronen moztitsasketa:** RNAk katalizatzen du intronen moztitsasketa I eta II taldeetako Intronak: autokatalitikoak dira (gutxi batzuk), 2 transesterifikazio erreakzioa pairatzen dituzte.



### I taldeko intronen moztitsasketa mekanismoa



- I taldeko intronak: onddo, alga eta landareen kloroplasto eta mitokondrioetako mRNA-ren transkribatu primariotan daude. Kasu honetan, kate barruan dagoen adenosina jakin batek 2'OH-ak, nukleofilo gisa, moztitsatsi beharreko 5' guneari eraso egin eta lakio itxurako egitura eratzen du. Exonaren 3' OH-ak nukleofilo gisa lan egin eta erreakzioa amaituko da.

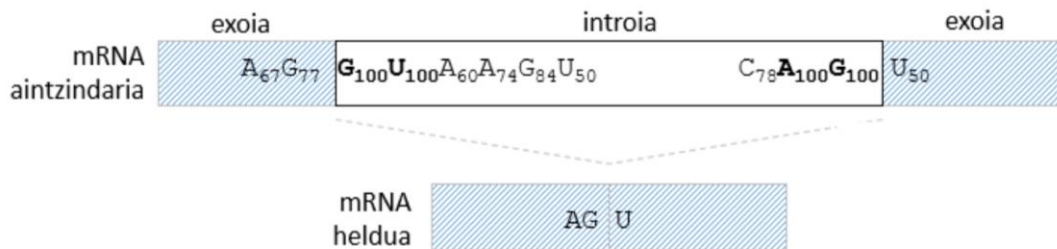


III taldeko intronak: Esplizeosoma

- Esplizeosoma = snRNA (U1, U2, U4, U5 eta U6) + proteinak, hots, snRNP.
- Esplizeosoma II RNA polimerasaren C-muturrari lotuta egoten da.
- Esplizeosomak prozesatu gabeko mRNA ezagutu, eta bertara lotzen da.

Esplizeosomak introiak detektatu egiten ditu, adostasun sekuentzia batzuk dituztelako. Adostasun sekuentzia hauek U1 eta U2-k detektatuko dituzte. Ondoren gainontzeko elementu guztiak etorriko dira introiak moztera.

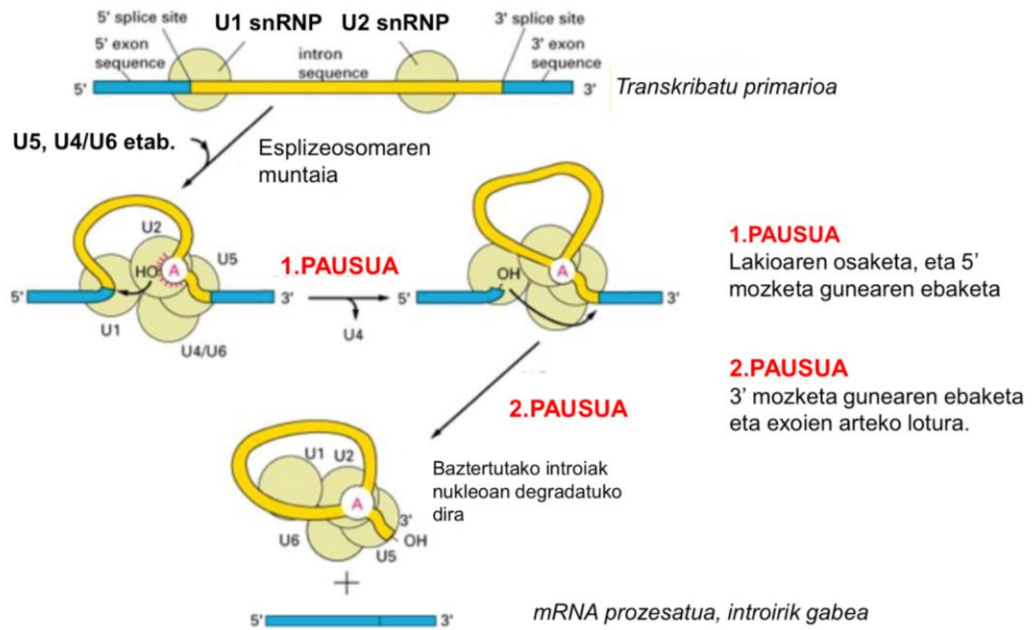
Esplizeosomak mRNA prozesatzeko ezagutzen duen **adostasun sekuentzia** honakoa da (nukleotidoen ondoko zenbakiak, nukleotido bakoitzaren frekuentzia edo maiztasuna adierazten du):



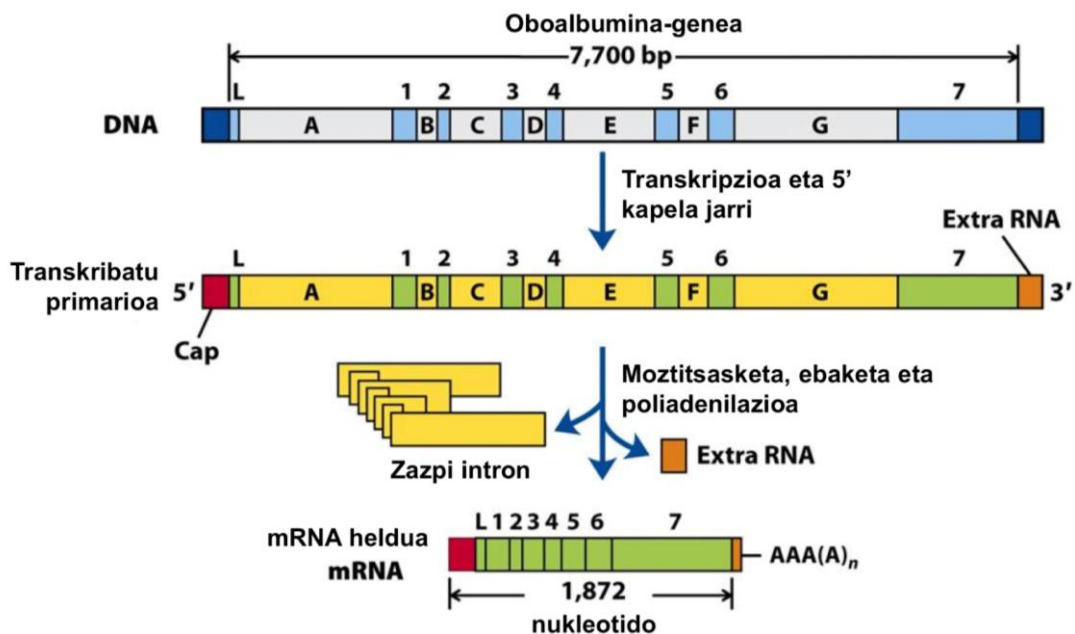
Oso garrantzitsuak dira adostasun sekuentzia hauek. Mutazioetan arazoak.

Behin adostasun sekuentziak identifikatuta, gainontzeko pausu guztiak aurrekoen berdin ematen dira.

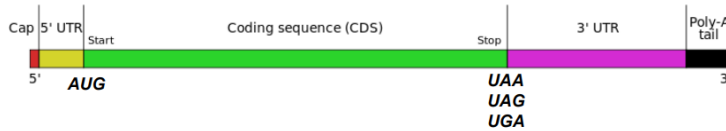
- Splicing edo mozt-itsasketa prozesua:



**Eukariotoen mRNAren heltze-prozesuaren laburpena.** Intronak hizkiz eta exonak zenbakiz daude adierazita. RNA osoaren 3 laurdenak ezabatzen dira prozesuan. Beste gene batzuen luzeraren %90 intronek osa dezakete. Mozketa eta poliadenilazioa gertatuko diren gunea baino harantzago luzatuko du transkribatu primarioa II RNA polimerasak (Extra RNA). Ez da ezagutzen II RNA polimerasaren amaiera-seinalerik.



mRNA heldua: honako itxura du



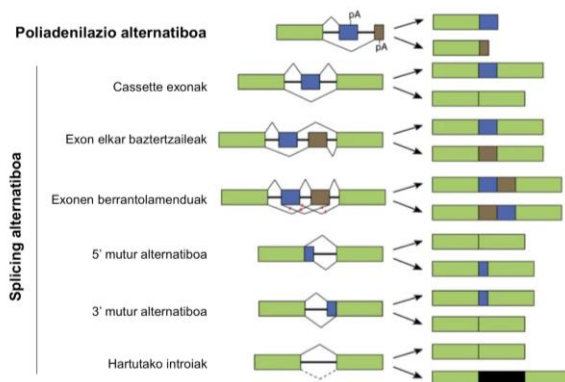
mRNAren heltzeko modu desberdinak dituenek, mRNA heldu desberdinak izango dira prozesamendu desberdinak jasaten dituztelako, eta beraz, proteina desberdin bat sortuko da.

mRNAa-ren prozesamendu alternatiboari esker, gene bakar batetik edo transkripto primario batetik proteina desberdinak lortzen dira, izan ere, mRNA heltzeko prozesu desberdin asko daude; hartaz, mRNA batek hainbat heltze-prozesu desberdin jasan ditzake, eta ondorioz, proteina desberdinak kodetu. Hori dela eta, mekanismo hau existituko ez balitz, gure konplexutasun-maila txikiagoa izango litzateke, honen helburu nagusia dibertsitatea handitzea baita. Eboluzioaren bidez, prozesamendu alternatiboaren emaitza diren hainbat isoforma aukeratzen dira, funtzio zehatz bat dutenak, eta modu honetan giza funtzionamendurako diren proteinak lortzen ditugu.

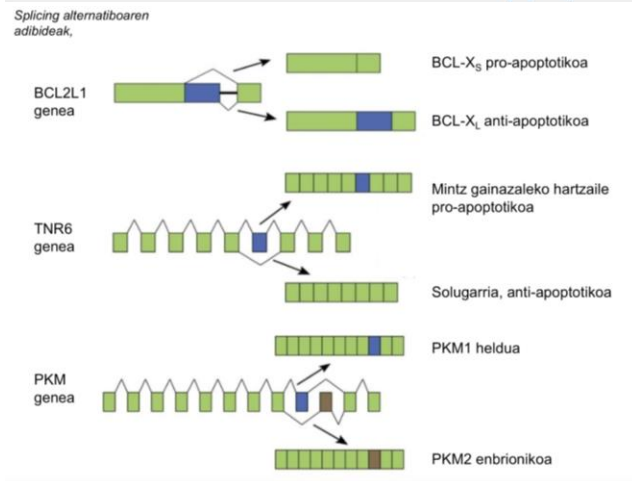
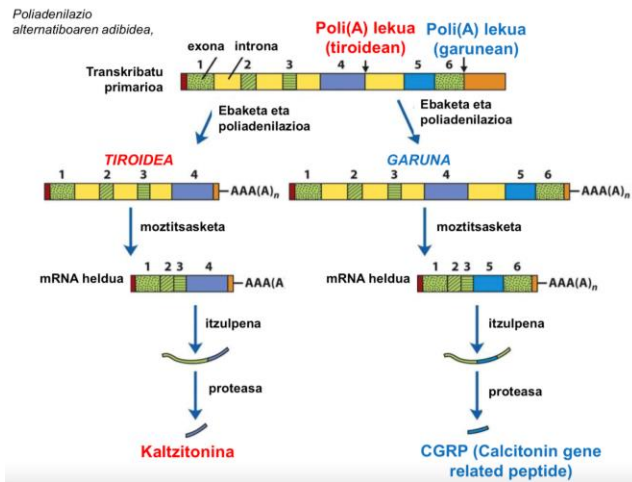
Mekanismo hau galduko bagenu, gene bakoitzeko proteina bakarra ekoitziko litzateke, eta beraz bi aukera daude:

- Proteina gutxiago edukitzea, eta beraz, gure gorputzak edo zelulek ezingo lituzkete gaur egun betetzen dituzten funtzio guztiak bete.
- Ditugun proteina guztiak ekoitzi ahal izateko gene kopurua handiagoa izatea, eta beraz, genomak zelularen gain hartuko duen espazioa handiagoa izango itzateke.

Laburbilduz, prozesamendu alternatiboa ez edukitzea energetikoki garestiagoa izango litzateke guretzako.



Adibide errealak:



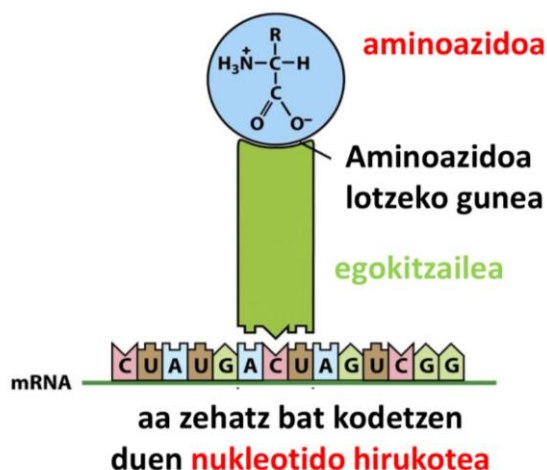
## 6. GAIA: PROTEINEN SINTESIA

### Proteinen sintesia ulertzeko aurkikuntza gakoak

1950-1960 urteetan zehar hainbat aurkikuntza gako egin ziren:

- Proteinak, erribosometan sintetizatzen dira,  $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$  zentzuan. Prozesua modu errepikakorrean gertatzen da (**polierribosomak**).
- Hogland eta Zamecnik-ek aminoazidoak lehenik ATParekin aktibatu egin behar direla ikusi zuten eta gero RNA bati (tRNA) batzen direla aminoazil-tRNA sortuz. Erreakzio hau aminoazil-tRNA sintetasak katalizatzen du.
- Nola itzuli daiteke azido nukleikoen 4 hizkiko hizkuntzan dagoen informazio genetikoak, proteinen 20 hizkiko hizkuntzara?

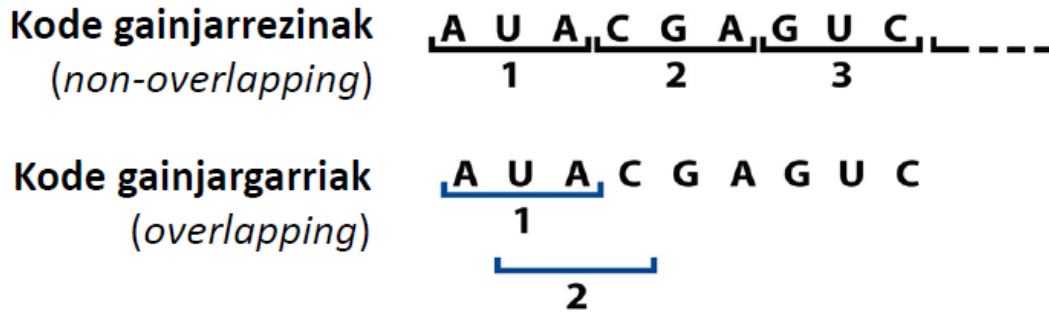
Francis Crick-ek proposatu zuen tRNAk egokitze lana betetzen duela, hau da, bi informazio motek bat egiten dutela (nukleotidoenak eta aminoazidoenak). Berak esan zuen nukleotidoak hiruak multzokatzen direla. Binaka konbinatuko balira,  $4^2=16$  konbinazio posible egongo lirateke. Beraz, ezingo lirateke modu horretan 20 aminoazidoak sintetizatu. Hirunaka  $4^3=64$  konbinazio daude eta beraz posible da aminoazido guztiak sintetizatzea. Launaka konbinatuko balira  $4^4=256$  konbinazio posible egongo lirateke (gehiegi). Horretaz gain, Robert W. Holley-ek tRNAren egitura sekundarioa ebatzi zuen (hirusta forma).



### Kode genetikoak

Beraz, 60. hamarkadarako argi zegoen aminoazidoko kodonak nukleotido hirukoteak direla, baita kodonak ez direla gainjartzen eta kodonen artean ez dagoela puntuaziorik (Hurrengo irudiko 1. egitura jarraitzen dute).





Marshall Nirenberg-ek 1961 urtean honakoa galdetu zion bere buruari: mRNA hirukote bakoitzak ze aminoazido zehazten du?

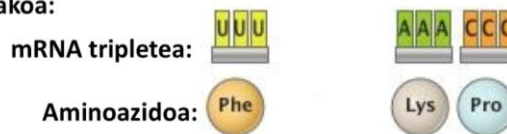
**Esperimentua:**

1. Polinukleotido fosforilasa (NTPak zoriz elkartzen ditu) eta uraziloa erabiliz, poliU mRNA artifiziala sortu zuen (soilik U duen mRNA artifiziala).
2. poliU mRNA artifiziala 20 tutu-tara gehitu zuten. Tutu bakoitzean honakoa zegoen: proteinen sintesirako oinarriko elementuak (erribosoma, tRNA eta entzima aktibatzaileak) eta 20 aminoazidoetatik bakarra (tutu bakoitzean aa desberdin bat).

19 tutuetan ez zituen proteinarik aurkitu, baina tutu batean bai (Phe-z osatutako proteina, fenilalaninaren kate polipeptidikoa).

Esperimentua berriz errepikatu zuen, baina poliA mRNA artifiziala eta poliC mRNA artifiziala erabiliz, adibidez. Era horretan, poliA mRNA artifiziala tutuetara gehitzean, tutu batean proteina bat agertu zen (Lys- aminoazidoz osatutako proteina bat). Berdina gertatu zen poliC mRNA artifiziala gehitzean (Pro- aminoazidoz osatutako proteina bat).

**Ondorioztatutakoa:**



1966rako aminoazidoen hirukote guztiek base-sekuentziak zehaztu ziren:

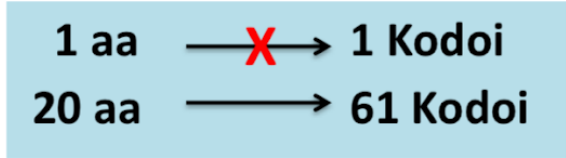
Kodoiko bigarren hizkia

		U	C	A	G			
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop
C	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp
	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
Kodoiko lehen hizkia (5' muturra)	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
G	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly
G	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

Kode genetikoaren ezaugarri deigarriena, gene-kodea **endekatuta** dagoela da. Zenbait aminoazido sintetizatzeke kodon bat baino gehiago dago (kasu horretan, desberdintasuna

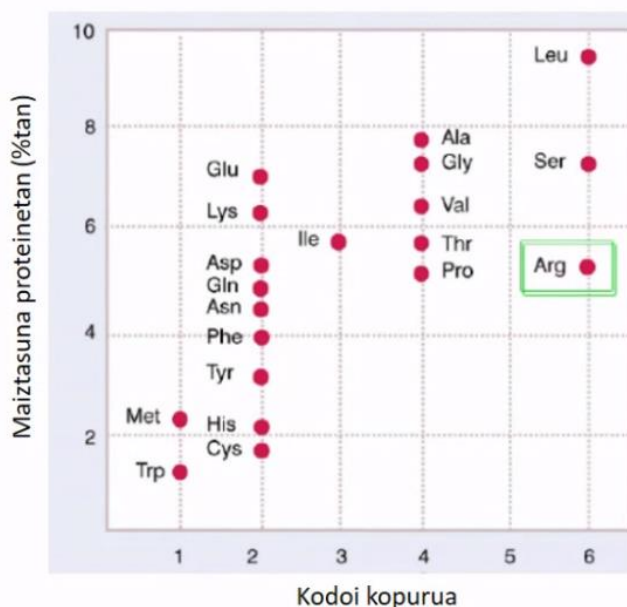
kodoiaren hirugarren basean (3' muturrean) dago). Hala ere, kodoi bakoitzak beti aminoazido bakarra espezifikatzen du, hau da, kodoi bakoitzak aminoazido bakar bat sintetizatzeko aukera du, 20 aa 61 Kodoi.

aa	Kodoi kopurua	aa	Kodoi kopurua
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6



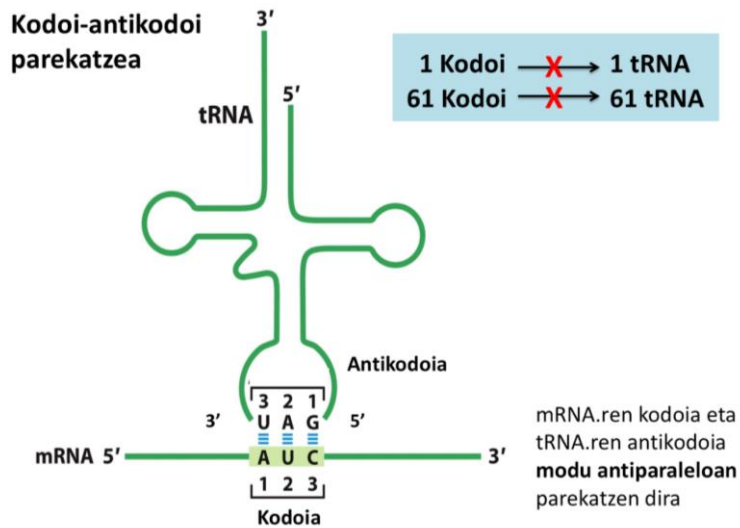
Ikusi zen eukariotoetan itzultzen den lehen kodoia AUG dela, eta honek metionina aminoazidoa sintetizatzen duela. Baina proteina guztiek ez dute lehen aminoazidotzat metionina, behin proteina lortzean, askotan metionina hori askatzen delako. Prokariotoetan eta eukariotoetako kloroplasto eta mitokondrioetan, lehen aminoazidoa formil-metionina izango da.

Nahiko korrelazio ona dago aminoazido bakoitzak proteinetan duen maiztasunaren, eta aminoazido hori kodetzen duten kodoi kopuruaren artean:



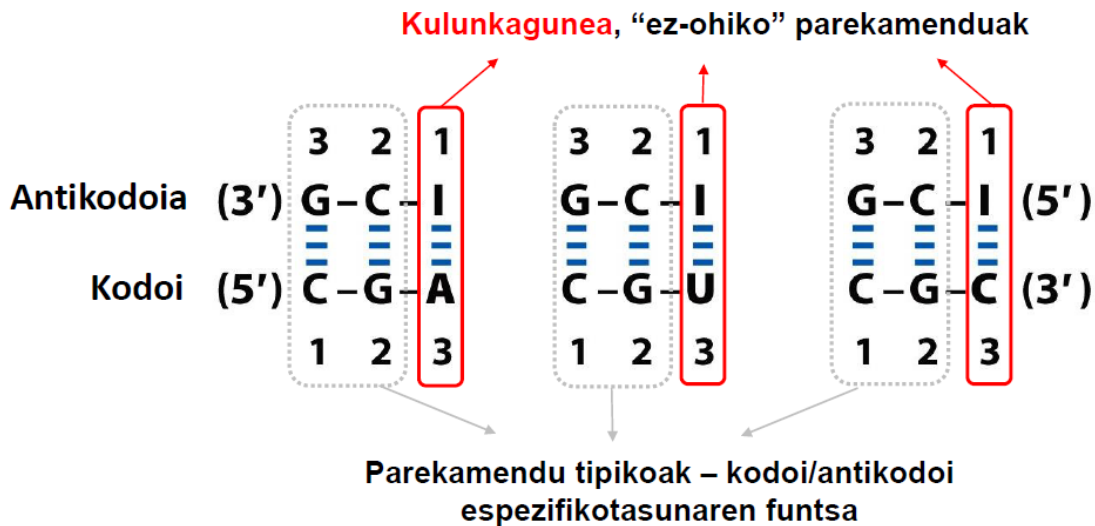
Laburbilduz, aminoazido batek proteinetan duen maiztasuna, kodoi-kopuruaren arabera da. Beraz, geroz eta kodoi-kopuru gehiago izan, orduan eta maiztasun handiagoa izango du proteinan (aukera gehiago izango dituelako sintetizatzeko).

Kodoiak tRNA molekula identifikatzen du. mRNAren kodoia eta tRNAren antikodoia modu antiparaleloan parekatzen dira.



Hala ere, kodoi bakoitza ez da tRNA batekin lotzen: kulunkari esker, tRNA batzuek kodoi bat baino gehiago ezagutu ditzakete.

Kodoiaren lehendabiziko bi baseak dira kodoi-antikodoi espezifikotasunaren funtsak. 3. hizkia ez da horren modu espezifikoan ezagutzen, kulunkan dagoela esaten da. Adibidez: antikodoiak lehen hizkia (3. Kodoi hizkia identifikatzen duena) I base eraldatua (inosinatoa, ez-ohiko hipoxantina nukleotidoa) dauka, zeinak A, U eta C identifikatzen dituen.



Crick-ek proposatutako kulunkaren hipotesiaren oinarriak:

1. mRNA molekuletako Watson-Crick-en lotura sendoak osatzen dituzte beti tRNAko antikodonon lehen bi baseek (2 eta 3. baseak) kodoneko base osagarriekin. Haiek dira kodearen espezifikotasunaren oinarria.

2. Antikodon batzuen aurreko baseak (5'-3' noranzkoan irakurri; hots, kodonaren 3. basearekin parekatzen dena) tRNA jakin batek irakurriko duen kodon kopurua zehazten du.

Antikodonaren lehen basea:

- C edo A denean, lotura espezifikoa da, eta tRNAk kodon bakarra irakur dezake
  - U edo G denean, lotura ez da hain espezifikoa, eta bi kodon irakur ditzake (honek bai guanina eta bai uraziloa elkarren artean parekatu daitezke, RNAn nahiko komuna dena).
  - I (inosinatoa) dagoenean, kulunkatuz, hiru kodon irakur ditzake tRNAk.
3. Aminoazido bat zehazteko kodon bat baino gehiago egonik aurreko bi baseetako bat desberdina badute, tRNA desberdina beharko dute.

<b>1. One codon recognized:</b>		
Anticodon	(3') X-Y-C (5')	(3') X-Y-A (5')
	$\begin{array}{ccc} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{array}$	$\begin{array}{ccc} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{array}$
Codon	(5') X'-Y'-G (3')	(5') X'-Y'-U (3')
<b>2. Two codons recognized:</b>		
Anticodon	(3') X-Y-U (5')	(3') X-Y-G (5')
	$\begin{array}{ccc} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{array}$	$\begin{array}{ccc} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{array}$
Codon	(5') X'-Y'- <sub>G</sub> <sup>A</sup> (3')	(5') X'-Y'- <sub>U</sub> <sup>C</sup> (3')
<b>3. Three codons recognized:</b>		
Anticodon	(3') X-Y-I (5')	
	$\begin{array}{ccc} \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots \end{array}$	
Codon	(5') X'-Y'- <sub>C</sub> <sup>A</sup> (3')	

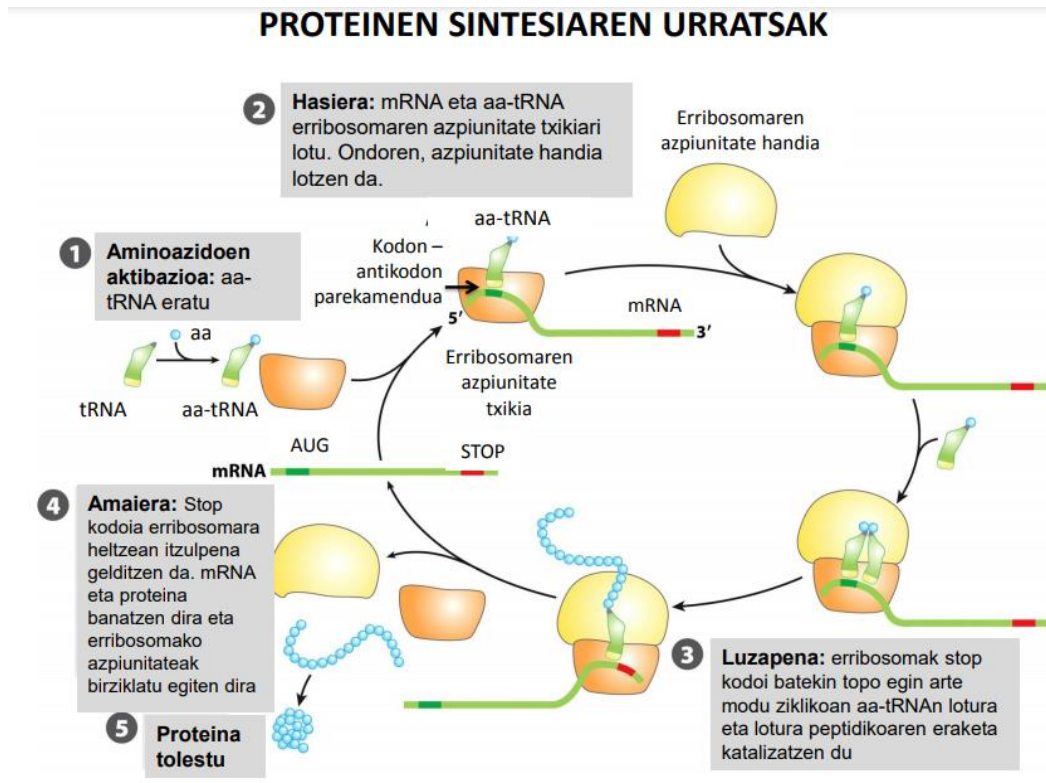
### Kulunkaguneko baseak erabakiko du tRNA jakin batek aminoazido bakoitzaren zenbat kodon ezagut ditzakeen

Watson-Crick-en parekatze sendoak eratzeko gai diren base osagarriak dira X eta Y hizkiak. Kulunkagunean dauden baseek, kodonaren 3' kokagunekoak eta antikodonaren 5' kokagunekoak, itzal zuria daukate inguruan.

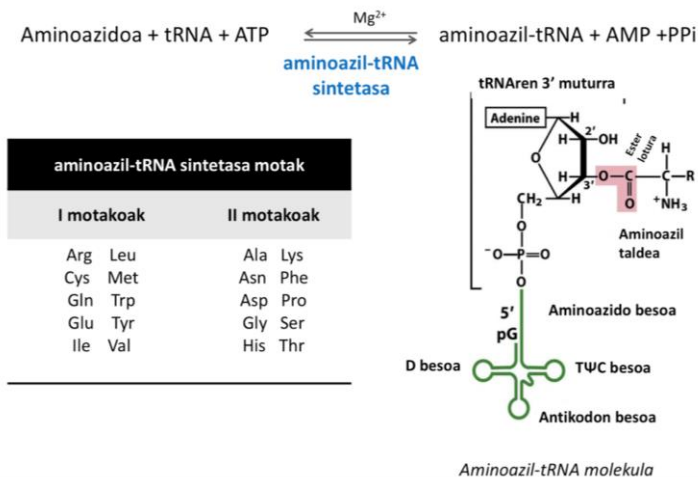
ARIKETA BEGIRATU (taldeko 5. jardura)

## Proteinen sintesiaren urratsak

### PROKARIOTOETAN:



### 1. Aminoazidoen aktibazioa:



Aminoazidoaren eta tRNAren artean ematen den lotura da, honetarako beharrezkoa da energia. Honela, aminoazil-tRNA sortzen da. Aminoazidoa, aktibatzen bakarrik 2 ATP gastatzen dira. Hori dela eta, proteinak sintetizatzea zelularentzako nahiko kostoso da energetikoki. Mg kofaktorea oso garrantzitsua izango da, aminoazil tRNA transferasa entzimak beharrezkoa duelako bere funtzioa betetzeko.

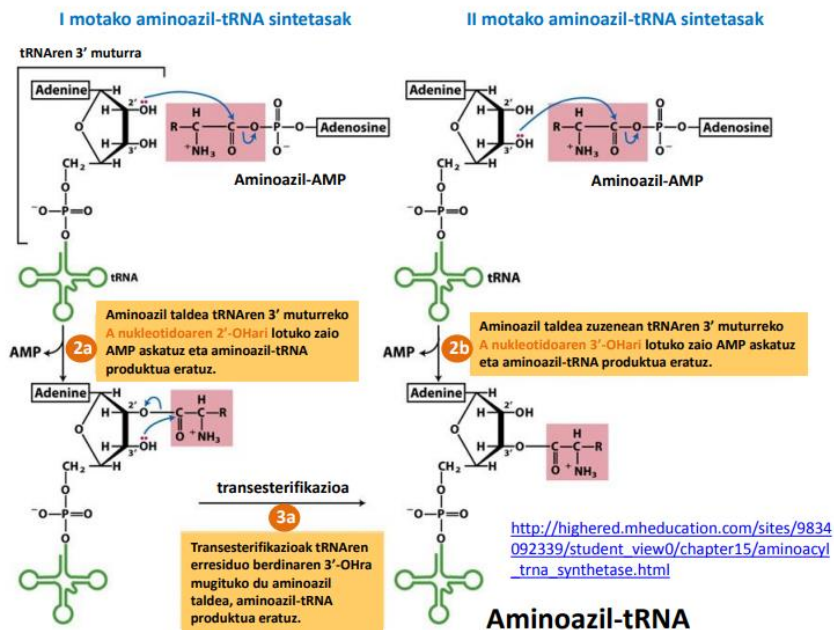
3' muturrean tRNAak CCA dauka eta A horri lotuko zaio aminoazidoa. 3' karbonoko OH-ari lotzen zaio hain zuzen ere, ester lotura eratuz.

Aminoazidoak lehenik eta behin ATParekin erreakzionatuko du, bitartekari bat sortuz: aminoazil AMP. Behin molekula hau daukagula, molekula honetatik aminoazidoa tRNAren CCA muturrera transferituko da.

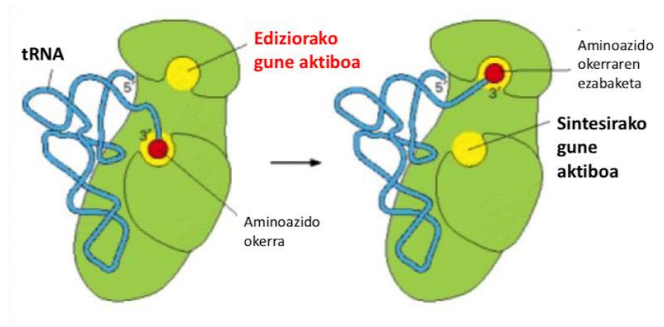
20 aminoazido direnez, 20 aminoazil t-RNA transferasa entzima egongo dira bi motetan banatuta: 1. eta 2. motatakoak, bakoitza 10 entzimez osatuta.

1. motako aminoazil tRNA transferasek, aminoazidoa CCA ko Aren 2' karbonoko OH-ra eraman, eta ondoren transesterifikazioaren bitartez azkenik 3' ko OH-ra pasatuko dute.

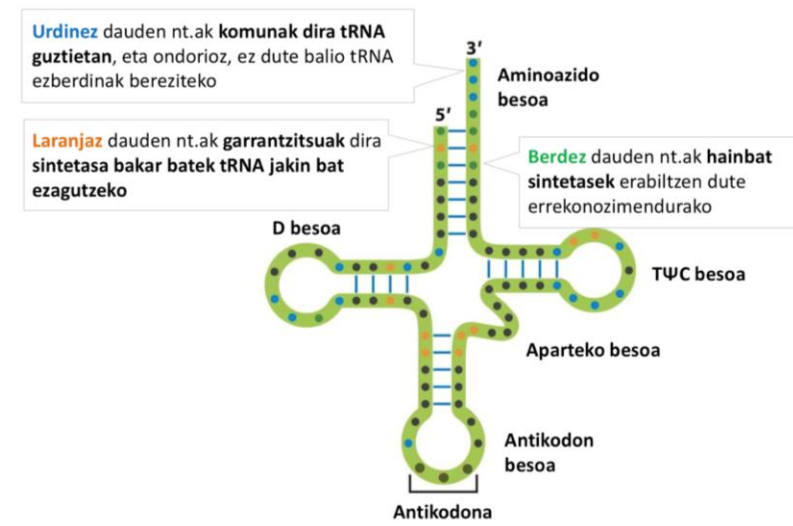
2. motakoak berriz, zuzenean 3' muturreko OHra transferituko da.



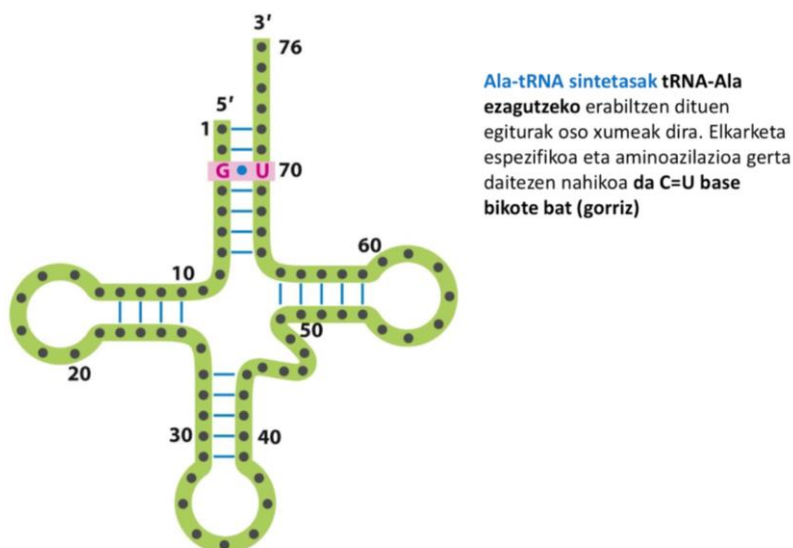
Aminoazil tRNA sintetasa batzuk gaitasuna dute proba irakurketa egiteko, hau da itzulpenean dauden akatsak zuzendu ditzakete. Nahiz eta transkripzioa ez izan prozesu hain inportantea, energia gastu handia duenez, garrantzitsua da akatsak egin ezkerro hauek konpontzea. Bestela, sortzen den mRNA ez da funtzionala izango eta suntsitu egin beharko da. Horretarako, entzima hauek ediziorako gune bat dute akatsak hidrolizatzeke.



Nola ezagutzen du aminoazil-tRNA sintetasak zamatu behar duen tRNA?



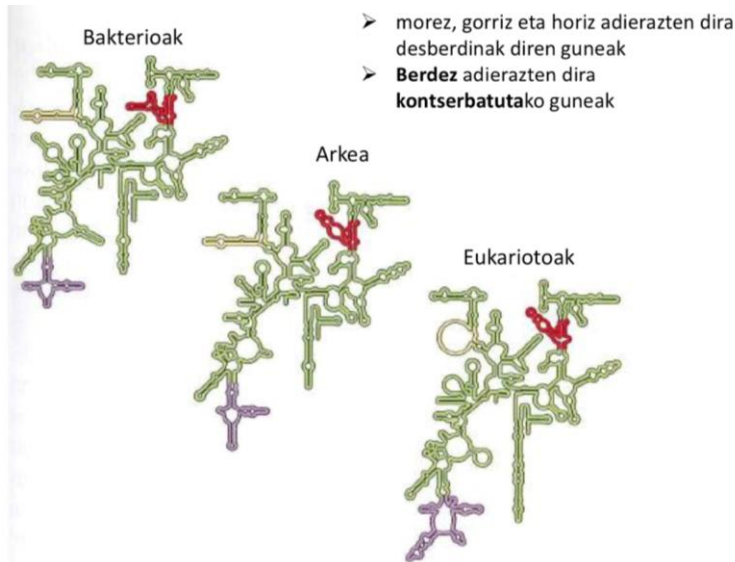
Adibidez:



**2. Hasiera:**

Erribosomak makina supramolekular konplexuak dira, oso handiak dira eta bi azpiunitate dituzte. Proteinez eta rRNAz osatzen dira. rRNA hauek garrantzitsuagoak dira proteinak baino, proteinen funtzioa estrukturala delako eta aldiz rRNA-rena aktiboa.

Erribosomako azpiunitate txikiko 16s rRNA oso kontserbatuta dago. Ia ez da egon aldaketarik eboluzioan zehar eta bakterioek, arkea eta eukariotoek oso antzekoa dute. Honek esan nahi du molekula hau oso garrantzitsua dela.



Erribosometan hiru gune bereizten dira: A gunea (aminoazil gunea), P gunea (peptidil gunea) eta E gunea (irteera gunea).

Gunea	Non?	Funtzioa
Aminoazil gunea (A)	30S eta 50S	Aminoazil-tRNA sartu
Peptidil gunea (P)	30S eta 50S	Lotura peptidikoa eratu
Irteera (E, exit site)	50S	Aa galdu duen tRNA ateratu

Proteinen sintesia amino-karboxilo zentzuan emango da.

Proteinen sintesia beti aminoazido espezifiko batean hasten da (eukariotoen kasuan metioninan): 2 tRNAak metionina ezagutuko dute baina batek lehen AUG ezagutuko du eta P gunera joango da eta besteak kate barnekoa bat ezagutuko du eta A gunera joango da. Gainontzeko guztian berdinak dira eta entzima berak katalizatuko ditu, Met-tRNA sintetasak.



5' AUG-k, amino muturreko **Met** zehazten du

*Bizidun guztietan*

Kodoi 1 (AUG) → **2 tRNA** - (i) lehen AUG ezagutu  
 - (ii) kate barruko AUG ezagutu

**Met-tRNA sintetasa berdinak** zamaratu 2 tRNA.k

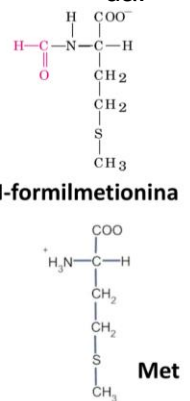
Adb.



Bakterioetan eta eukariotoetako mitokondrio eta kloroplastoetan, lehen aminoazidoa formilmethionina izango da. Dena den, eukariotoetan eta prokariotoetan lehen kodoia ezagutzen duen tRNA berdina izango da, izan ere, formil talde hori behin kodoi-antikodoi ezagutza egin ostean ematen da.

**Bakterioetan eta eukariotoen kloroplasto/mitokondrian:**

**Met-tRNA sintetasa berdinak** → tRNA<sup>fMet</sup> –hasierako AUG ezagutu  
 → tRNA<sup>Met</sup> – kate barruko AUG ezagutu



fMet-tRNA<sup>fMet</sup> .ren sintesia 2 pausotan gertatzen da:



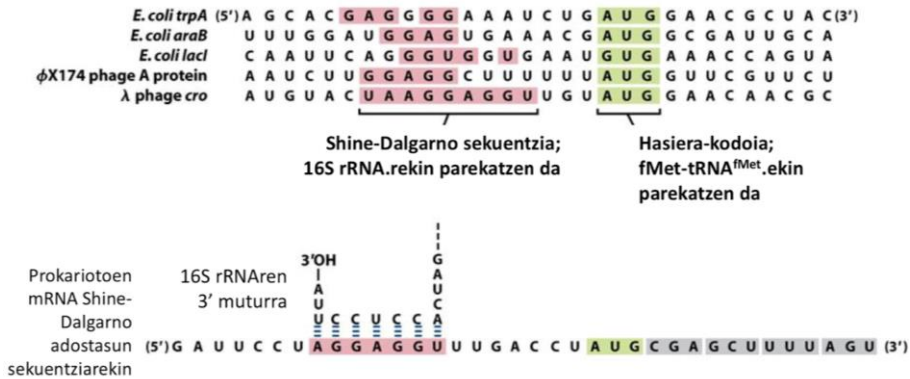
**Hasierako konplexuaren eraketa 3 pausotan:**

Hasierako faktore batzuk (IF-I, IF-II eta IF-III) eta mRNAak hartuko du parte. Eribosomaren azpiunitate txikiari IF-1 eta IF-3 lotzen zaizkio. AUG kodoiak P gunean

egon behar du, eta hau emateko, **Shine-Delgarno** sekuentzia egongo da mRNAako 5' muturrean; eta parekatu egingo da erribosomaren azpiunitate txikiko 16s rRNArekin osagarriak direlako, ondorioz tRNA (zehazki honen antikodoia) P gunean gelditzen da. Sekuentzia hau **prokariotoetan** dago soilik.

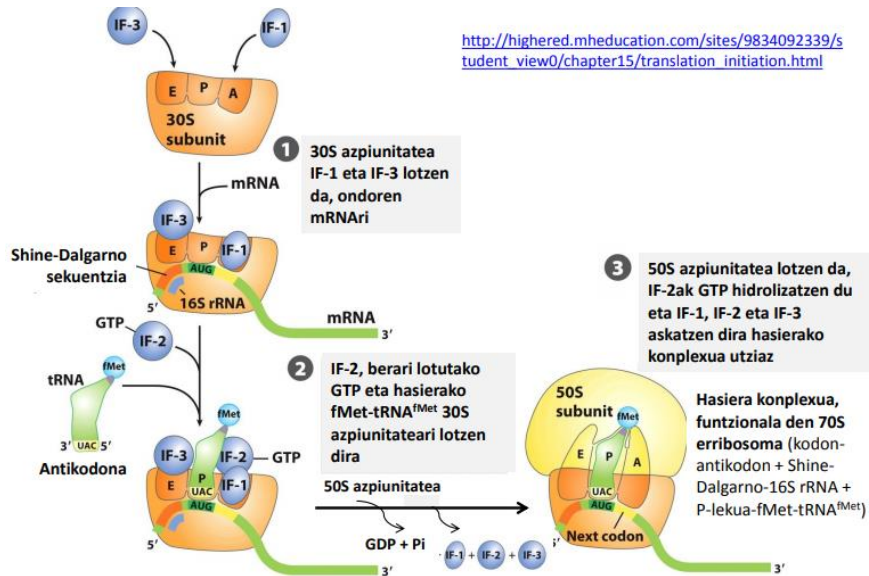
### Shine-Dalgarno sekuentzia

- 4-9 purina
- Hasiera kodonetik ur goran 8-13 bp-tara (5' UTRan)
- Erribosomako azpiunitate txikiko 16S rRNArekin parekatzen da

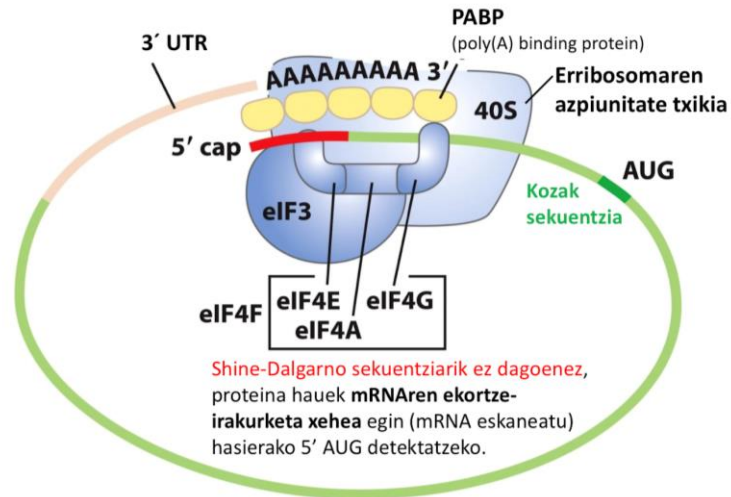


Behin AUGa P gunean egonda, dena ondo dagoela ziurtatu eta IF-2ak GTP askatu eta hidrolisia emango da. Ondorioz, IF-1, 2 eta 3 askatu eta erribosomaren azpiunitate handia (50 S) lotuko zaio txikiari. Hasierako konplexu funtzionala: 70 S.

Lehenengo tRNA P gunera sartzen da baina gainontzekoak A gunetik sartuko dira.



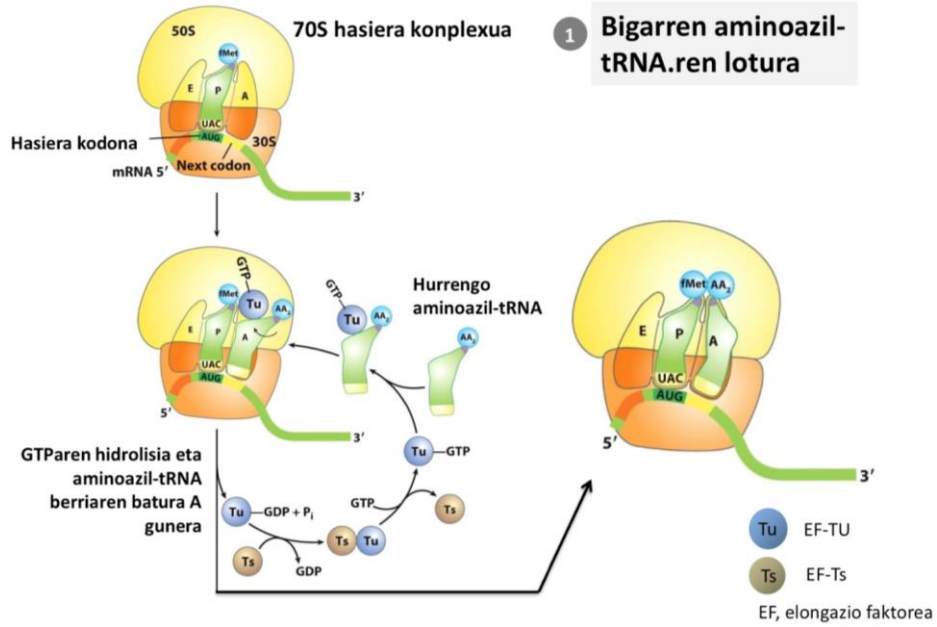
Prokarioto eta eukariotoetan, funtzionalki nahiko berdin ematen da proteinen sintesia. Desberdintasun handiena hasierako fase honetan ematen da. Izan ere, eukariotoetan Shine-Delgarno sekuentzia ez da existitzen. Honen ordez, eskaneatu egiten da, **mRNAren ekortze-irakurketa xehea** egiten da eta lehen kodoia, AUG, kozak sekuentzia egongo da. Orduan, eskanerra gelditu egingo da itzulpena hasteko.



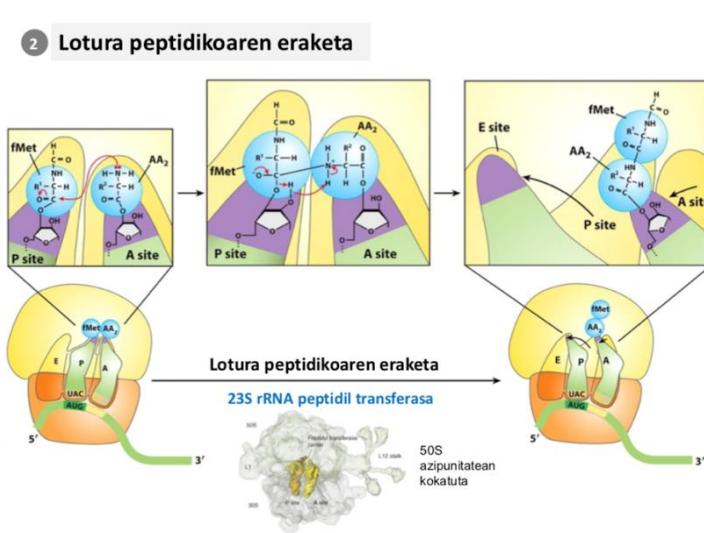
Horretaz gain, eukariotoetan hasierako faktore gehiagok hartuko dute parte.

### 3. Luzapena:

A gunean t-RNA sartuko da, ondoren P gunean aurretik zegoen tRNAren aminoazidoa A guneko aminoazidoarekin lotuko da, honela A gunea libre utziz beste amizil tRNA bat sartzeko.



A gunean sartuko da tRNA baina bera bakarrik sartzeko gai ez denez, Tu luzapen faktorea beharko du hau gauzatzeko. Aldi berean, Tu-k GTParekin lotuta egon behar du. Behin aminoazil-tRNA A gunean sartuta, Tu-k bete du bere funtzioa eta beraz GTPren hidrolisia ematen da. Honela askatu egiten da aminoazil tRNAtik, berriro erabili ahal izateko. Baina hau pasa ostean, Tu-GDPprekin egongo da eta honela ezingo du beste aminoazil tRNA bat A gunera sartu. Beraz, Tu elongazio faktoreak GTP berriz lortzeko, Ts faktoreak lagunduko dio, eta trukatu egingo dute GTP eta GDP. Ondorioz, aminoazido bakoitza sartzeko GTP bat gastatzen da.

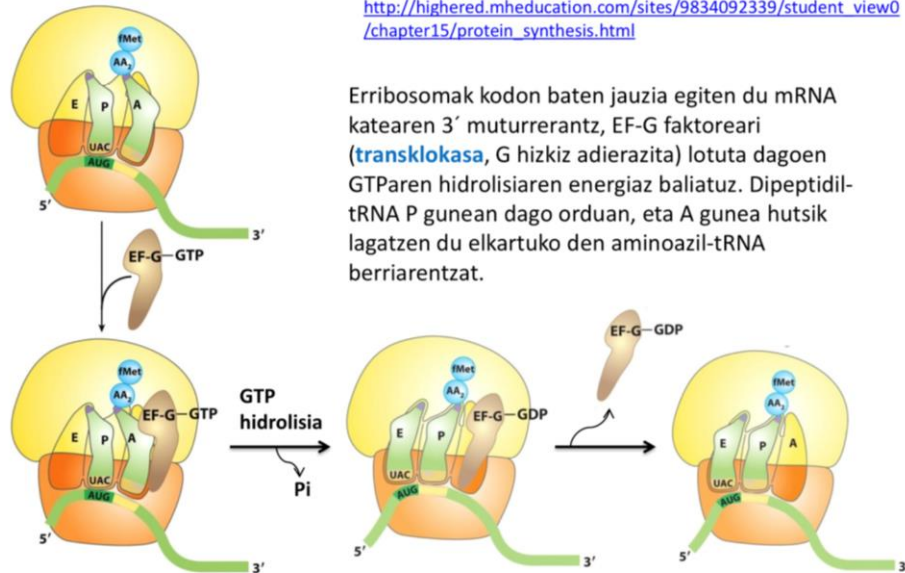


Behin A gunean ere aminoazido bat dagoela, **lotura peptidikoa** emango da lehen aminoazidoaren karboxilo taldearen eta bigarreneko amino taldearen artean. RNA batek katalizatzen du erreakzioa (entzima hau ez da proteina bat), azpiunitate handian egoten den **23s rRNA peptidil transferasak** katalizatzen du.

**3 Translokazioa**

[http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student\\_view0/chapter15/translation\\_elongation.html](http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student_view0/chapter15/translation_elongation.html)

[http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student\\_view0/chapter15/protein\\_synthesis.html](http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student_view0/chapter15/protein_synthesis.html)



Erribosomak kodon baten jauzia egiten du mRNA katearen 3' muturrerantz, EF-G faktoreari (**transklokasa**, G hizkiz adierazita) lotuta dagoen GTParen hidrolisiaren energia baliatuz. Dipeptidil-tRNA P gunean dago orduan, eta A gunea hutsik lagatzen du elkartuko den aminoazil-tRNA berriarentzat.

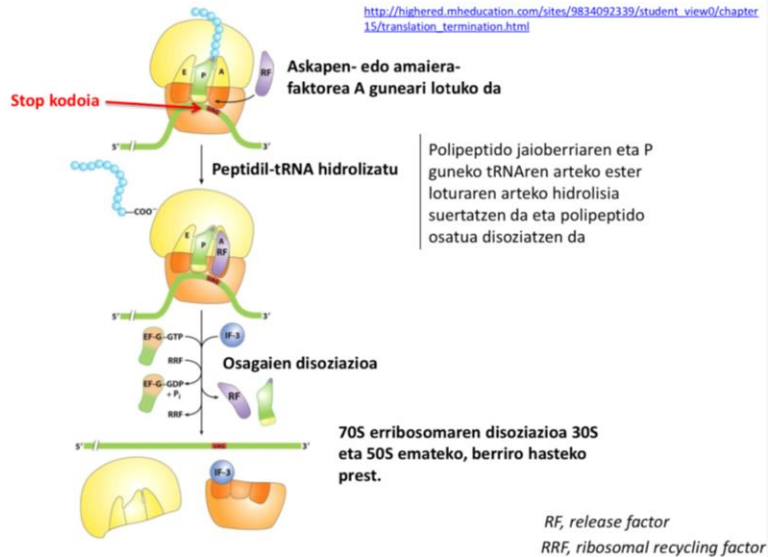
Erribosometan esaten da proba irakurketa egiten dela, hau da, hein batean konprobatzen da kodoi antikodoien interakzioak ondo ematen direla. Hau Tu-ren GTPren birziklapena ematen ari den bitartean ematen da. Kodoi-antikodoi lotura ez bada zuzena, konplexua disoziatu eta proteinen sintesia bertan behera geldituko da.

**4. Amaiera:**

**4. Urratsa: Amaiera**

[http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student\\_view0/chapter15/how\\_translation\\_works.html](http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student_view0/chapter15/how_translation_works.html)

[http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student\\_view0/chapter15/translation\\_termination.html](http://highered.mheducation.com/sites/9834092339/student_view0/chapter15/translation_termination.html)



Polipeptido jaioberriaren eta P guneko tRNAren arteko ester loturaren arteko hidrolisia suertatzen da eta polipeptido osatua disoziatzen da

70S erribosomaren disoziazioa 30S eta 50S emateko, berriro hasteko prest.

RF, release factor  
RRF, ribosomal recycling factor

Luzapena stop kodoira iristean amaitzen da. A gunera askapen faktore bat sartuko da, orduan erribosomatik askatzen da aminoazidoen katea; polipeptido jaioberriaren eta P guneko tRNAren arteko ester loturaren hidrolisia ematen da, polipeptido osatua hidrolizatuz. Ondoren guztia leheneratu (disoziatu) behar da, erribosomaren bi atalak banandu... Honela beste itzulpen bat emateko.

mRNA bakar bat irakurtzen hainbat erribosoma egoten dira eta beraz proteina gehiago sortzen dira mRNA bakar batetik, honi **polisoma** deitzen zaio eta hauei esker oso azkar itzul daiteke mezu bat.

Prokariotoetan, transkripzioaren eta itzulpenaren arteko uztarketa ematen da, hau da, RNA polimerasa DNA katea mRNA-ra transkribatzen dagoen bitartean, molekula hau guztiz sortuta egon ez arren, erribosoma mRNA itzultzen hasten da.

Eukariotoetan prokariotoekin alderatuz, transkripzioa hasteko faktore askoz ere gehiago beharko dira, gehiago erregulatu behar delako.

## Proteinen tolestea eta prozesamendua

### 1. Tolespena:

Proteinen tolespena beti emango da.

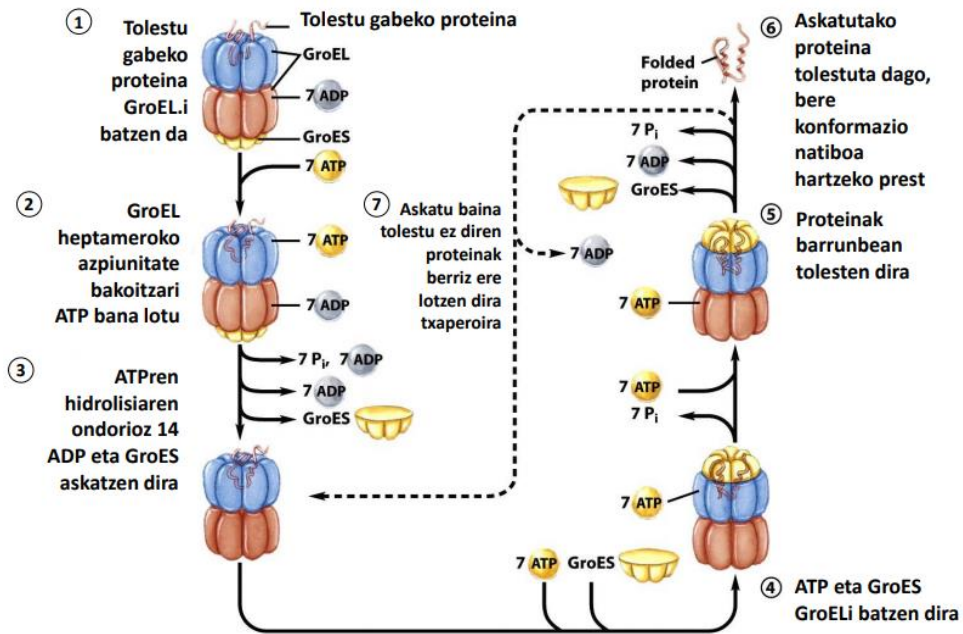
Prozesu espontaneo bat da, pausoka baina oso azkar gertatzen da eta beharrezkoa da proteina funtzionala izateko konformazioa eskuratzeko.

Zitoplasma molekulaz beteta dago, eta tolesteko zitoplasmako molekulak interferentziak eragin ditzakete, tolespen prozesua oztopatuz. Beraz, molekula laguntzaile batzuk egongo dira, **txaperonak**. Geroz eta konplexuagoa izan proteina txaperonen beharra handiagoa izango da. Baina, egia da proteina simple batzuk gai direla txaperonen laguntzarik gabe tolesteko. Txaperonek, polipeptidoa degradaziotik babestu eta jatorrizko egitura hartzeko denbora ematen diote.

Tolesmen prozesuan arazoak gerta daitezke eta agregatuak sortu, pilaketak. Hauek oso toxikoak dira eta kasu onenean autofagiaren bidez desagertarazi daitezke. Ez baldin badira degradatzen gaixotasunak sor ditzakete. UPS sistema ere erabili daiteke, eta normalean sistema hau gaizki tolestutako proteinak degradatzeko erabiltzen da.

**Txaperonak eta txaperoninak:** proteinen tolespenean laguntzen duten proteina edo proteina konplexuak (Hsp70, Hsp60 eta Hsp90 familiak) dira. Txaperonak multiproteikoak dira, handi xamarak. Bertan sartzen da proteina eta bertan hartzen du proteinak bere konformazioa natiboa. Txaperonak ez dituzte proteinak tolesten, proteinari babesa eskeintzen diote barrunbe horretan.

Adibidez: Gro EL/ Gro Es sistema E.coli-n (Hsp 60 familiakoa).

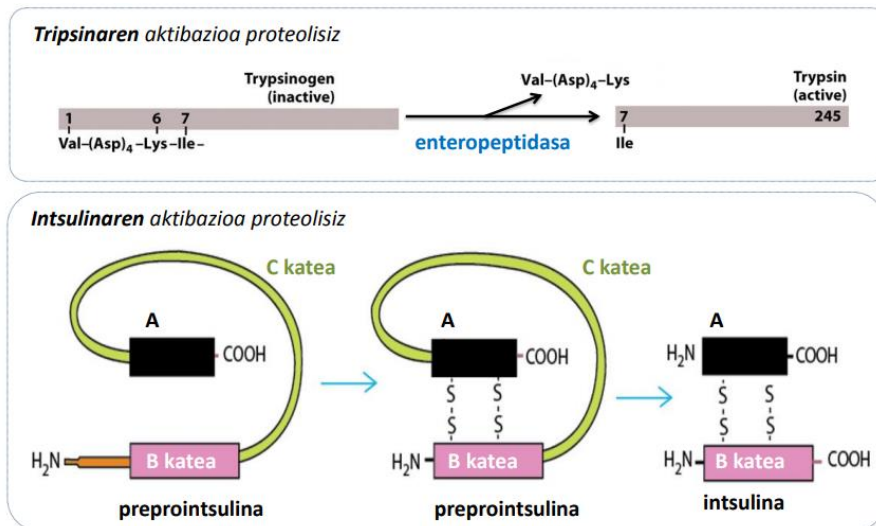


2. Prozesamendu proteolitikoa (proteina batzuetan bakarrik):

Proteina aintzindari asko, hots **zimogenoak**, inaktiboak dira, eta aktibatzeko proteasa espezifikoek moztu egin behar dute.

Prozesamendu proteolitikoa nahiko tipikoa da molekulak degradatzeaz arduratzen diren proteinetan.

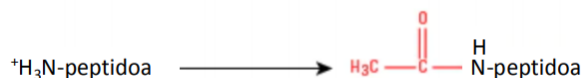
Adibidez (intulina ez da arduratzen molekulak degradatzeaz, baina prozesamendu proteolitikoa jasaten du):



### 3. Amino eta karboxilo muturreko eraldaketak:

N-formilmetionina (bakterioetan), metionina (eukariotoetan), eta amino edo karboxilo muturretako hainbat aa entzimen bidez kentzen dira katetik, eta ez dira proteina funtzionalean agertzen.

Proteina eukariotoen %50ean, amino muturreko NH<sub>2</sub> taldea azetilatuta dago.



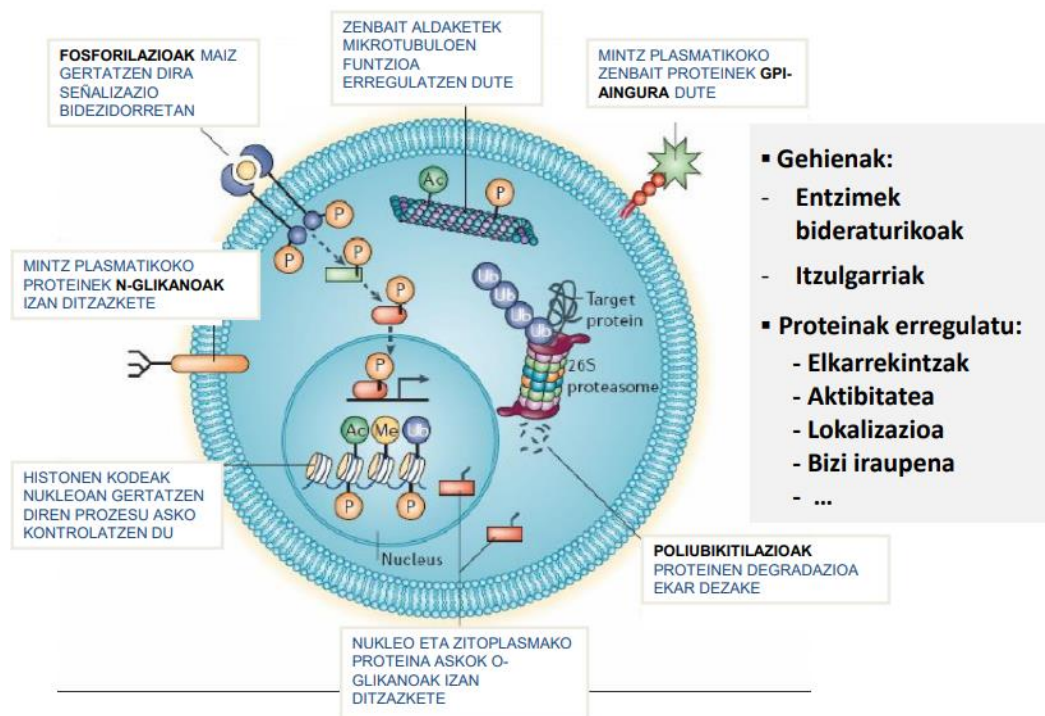
Batzuetan, karboxi muturra amidatuta (CO-NH<sub>2</sub>).



Nahiko tipikoa izaten da berez proteinen muturrak kargatuta egon beharrean, aldaketa hauei esker neutro egotea.

### 4. Aminoazidoen eraldaketak (>300 eraldaketa ezberdin):

Eraldaketak, entzimak ematen dituzte eta prozesu itzulgarriak izaten dira. Honela proteinen erregulazioa ematen da: proteinen arteko elkarrekintzak, lokalizazioa, bizi iraupena...

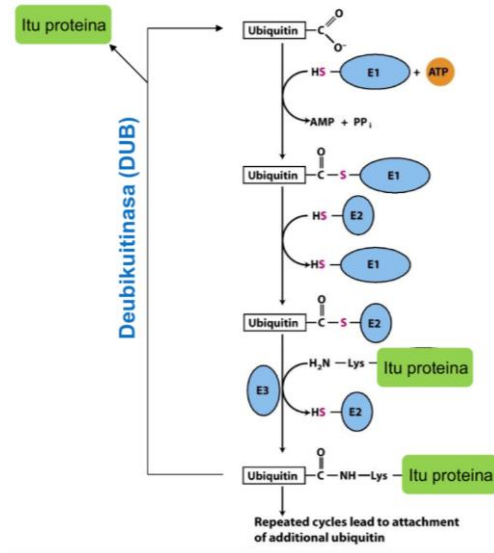




- Ubikitinazioa:

Itu proteinei ubikitina gehitzean datza. Ubikitina bera 76 aminoazidotako proteina txikia da, ebolutiboki oso kontserbatuta dagoena. Lys aminoazidoaren albo kateko aminoazidora lotzen da ubikitina eta 3 entzimek (E1, E2 eta E3) bideratzen dute ubikitinazioa. Kontrako prozesua, hots, itu proteinari ubikitina desitsastea edo deubikitinazioa deubikitinasek (DUB) bideratzen dute.

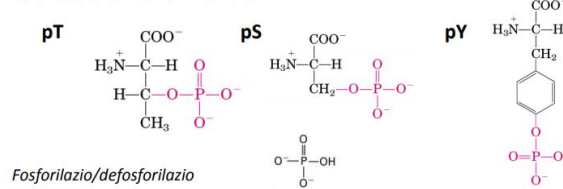
Normalean (baina ez beti), ubikitina proteina bati gehitzean, proteina degradatu behar den seinale izango da.



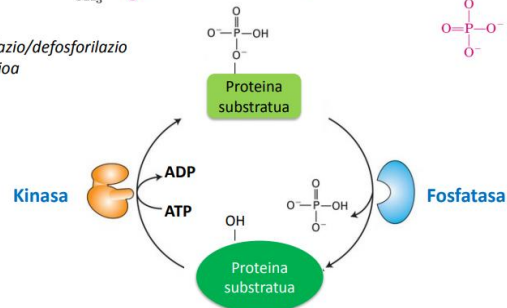
- Fosforilazioa:

Fosforilatu daitezkeen aminoazidoak (OH taldea dutenak):

Fosforilatu daitezkeen aminoazidoak:



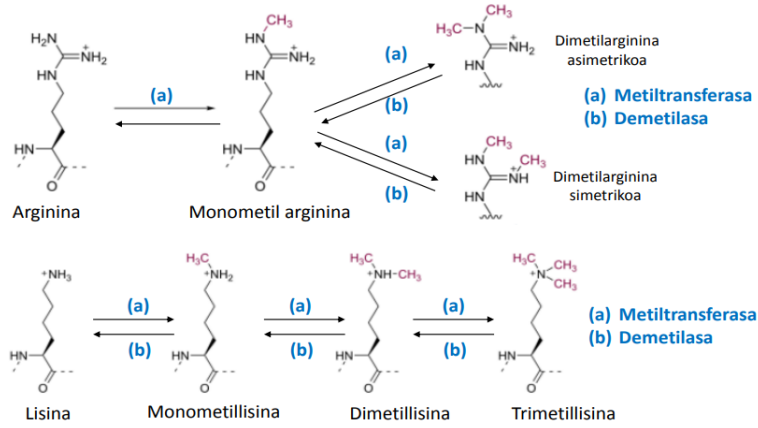
Fosforilazio/defosforilazio erreakzioa



Fosforilatzeaz arduratzen diren entzimak: kinasak eta defosforilatzeaz arduratzen direnak: fosfatasak.

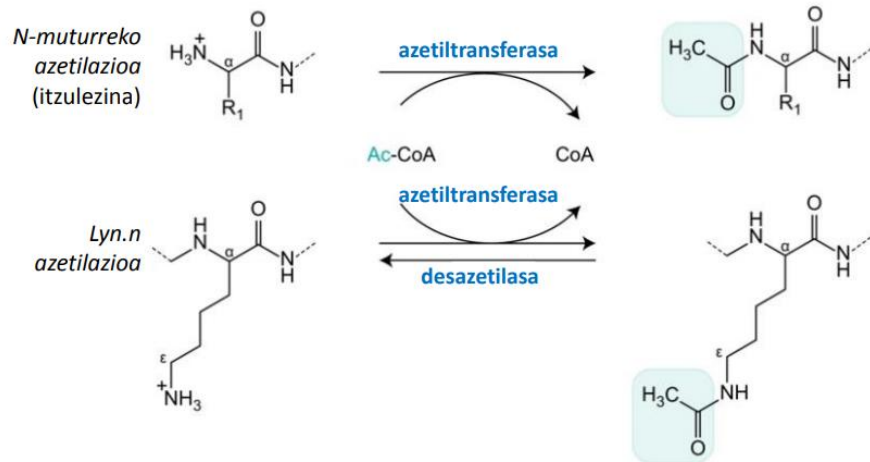
- Metilazioa:

Normalean Lys eta Arg metilatzen dira. Proteinen C- eta N-muturrak ere metilatu daitezke. Gehitzen diren metilo taldeen arabera, mono-, di- edo tri-metilazioak bereiz daitezke.



- Azetilazioa:

Amino taldeak azetilatzeko dira: proteinen N-muturrak, Lys eta Arg. Azetilazioaren ondorioz, amino taldearen karga positiboa galdu egiten da.



Hau histonetan asko ematen da. Histonek DNArekin estuki lotzen dira karga positiboa dutelako (DNAk fosfato asko dute eta karga negatiboa asko). Histonek azetilatzeko, karga positiboa asko gutxituko da, DNArekiko afinitatea jeitsiz. Horrela, DNA eskuragarriago egongo da, adibidez, zenbait gene transkribatzeko.

- Glikosilazioa:

Glikosilatzen den aminoazidoaren arabera, glikosilazio mota ezberdinak daude:

- Asn (N)-n amino taldea  $\rightarrow$  N glikosilazioa,

- Ser (S), Thr (T), hidroxiPro (Hyp), hidroxiLys (Hyl)-n OH taldea → O glikosilazioa.
- Trp (W)-n indol eraztunari → C glikosilazioa.
- Proteinaren C-muturra GPI aingurari lotu → GPI (glikosil fosfatidilinositol) -eri lotutako proteinak (mintzean).

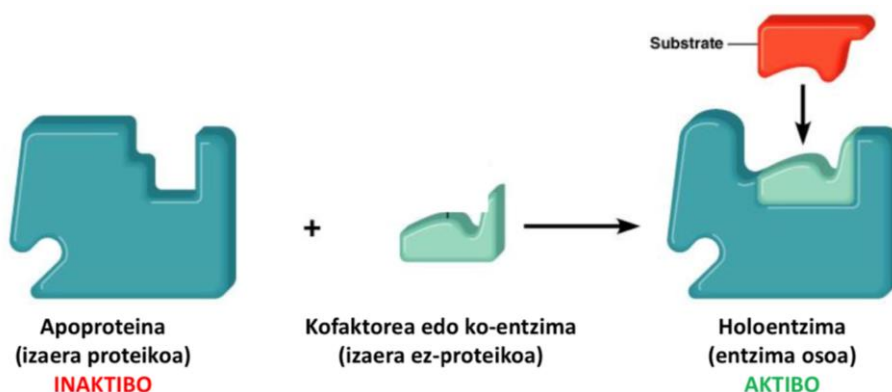
Proteinari lotzen zaion azukrea oso ezberdina izan daiteke (mono-, oligo-sakaridoa...).

Proteinen glikosilazioa batez ere erretikulu endoplasmatikokoan lumenean gertatzen da, eta gutxi batzuk Golgi aparatuan.

Begiratu taldeko 6. jarduera.

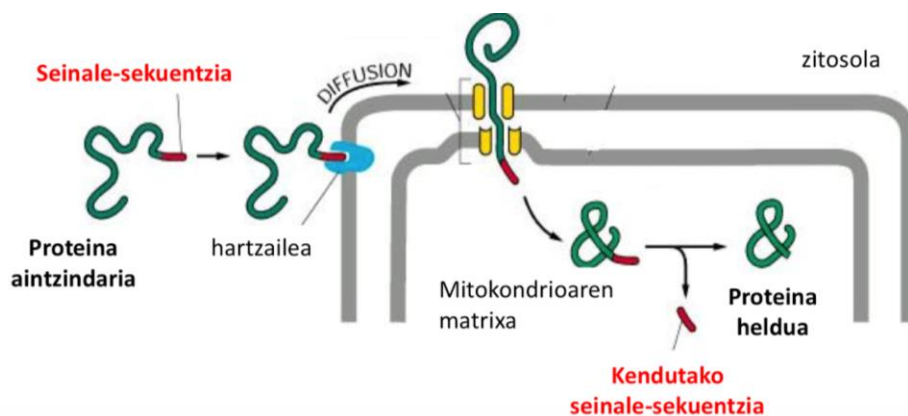
### 5. Talde prostetikoek gehipena:

Bereziki entzimetan txertatzen dira behin entzima itzuli ondoren. Dena den, badaude proteina batzuk egoki funtzionatzeko talde prostetiko baten beharra dutenak. Adibidez: hemoglobina.



### 6. Seinale sekuentzien bidez proteinak leku zehatzetara bideratzea:

Zenbait proteinen amino muturreko 15-30 erresiduoak proteinak ituratzeko seinaleak dira. Organulu bakoitzerako seinale sekuentzia berezi bat dago. Seinale sekuentzia ezagutu eta honela proteinak egon behar duen lekuan translokaturako da. Seinale sekuentzia horiek peptidasa espezifikoek kenduko dituzte, honela proteina heldua prest egongo da bere funtzioa betetzeko dagokion lekuan.



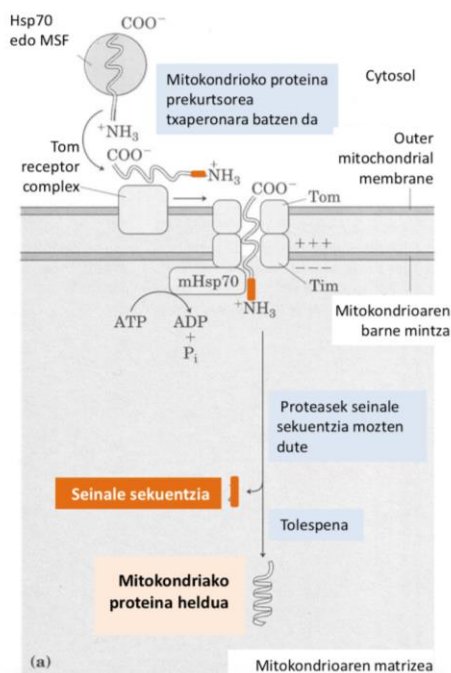
- Mitokondriora:

Mitokondriora sartu behar diren proteinek duten seinale sekuentziaren ezaugarriak (orokortasunak):

- 10-70 aa.
- Aa hidrofobikoak eta positiboki kargatutakoak tartekatuta agertuko dira. Ondorioz, helize anfiptikoa eratuko dute.
- Sekuentzia hau proteinen amino muturrean kokatuko da.

Tim-tom sekuentzia izango da sekuentzia hau ezagutuko duena. Horrela, proteina mitokondrioko matrizerara translokaturiko da.

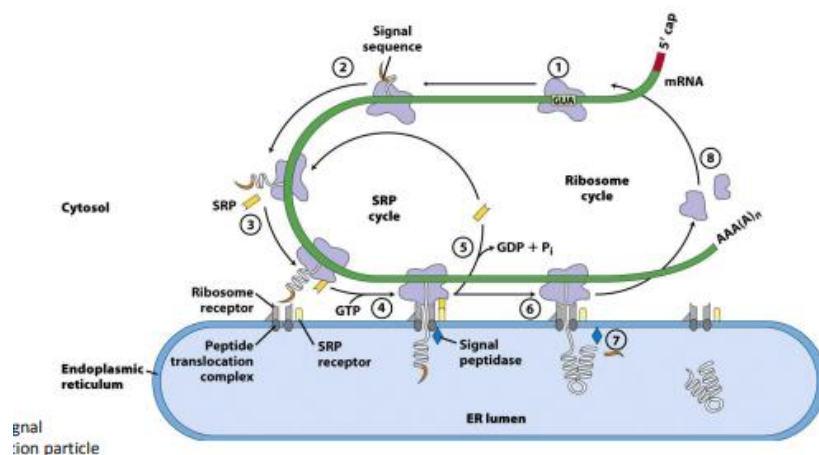
Tom hartailea kanpoko mintzean egongo da eta tim barnekoan, garraio translokazio konplexuak dira.



- Erretikulu endoplasmatikora:

Seinale sekuentziaren ezaugarriak:

- 15- 36 aa-ko sekuentziak dira.
- 10-15 aa-k R talde apolarrak dauzkate.
- N muturretik gertu positiboki kargatutako aa bat edo gehiago egongo da.
- C muturretik gertu (mozketa genetiko gertu) R talde txikidun aa.



- Nukleora:

Seinale sekuentziaren (NLS, nuclear localization signal) ezaugarriak:

- 5-8 aa basiko.
- Proteinaren edozein lekutan, ez amino muturrean.
- Ez da moztzen.

Behin proteina nukleora iritsi denean seinale sekuentzia ez da ezabatzen. Hori dela eta, nahi beste aldiz sartu ahal izango da nukleora NLS sekuentzia duen edozein proteina.

Translokazioan parte hartzen duten proteinak:

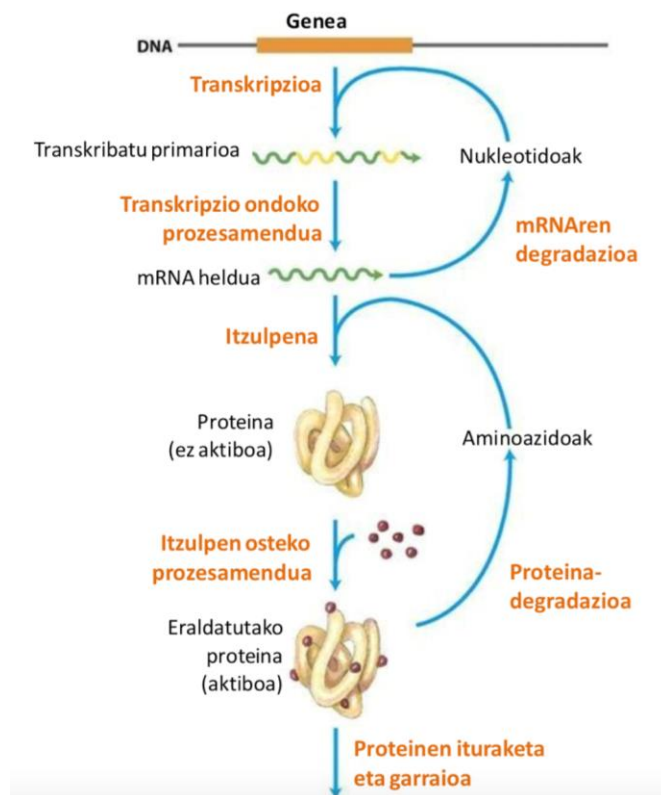
- Inportina (alfa eta beta): hartzaileak, hauek ezagutuko dute seinale sekuentzia.
- Ran GEF
- Ran GTP/ Ran GDP
- NTF2
- CAS

Begiratu banakako 8. ariketa eta antibiotikoena.

# 7. GAIA: GENE ESPRESIOAREN ERREGULAZIOA

## 1. Kontzeptu orokorrak

Proteinen kontzentrazioa hainbat prozesuren mendekoa da (hurrengo irudian laranja agertzen diren egiturak). Prozesu horietako bakoitza erregulazio-gunea izan daiteke.



Gene-adierazpen motaren arabera bi gene talde bereizten dira:

- **Gene etxezainak (housekeeping genes):**

Gene hauek kodetzen dituzten proteinak zelularen oinarriko funtzionamendua bermatzen dute (metabolismoko entzimak kodetzen dituzten geneak). Gene hauen transkripzioa nahiko konstantea izango da, momentu oro daude transkribatzen. Denbora guztian behar diren gene-produktuak kodetzen dituzten geneak dira. Gene hauek konstitutiboki adieraziko dira, adibidez aktina, tubulina, GAPDH, 7S erribosoma...

Gene etxezainak kontrol gisa erabiltzen dira teknikan.

- **Erregulatutako geneak:**

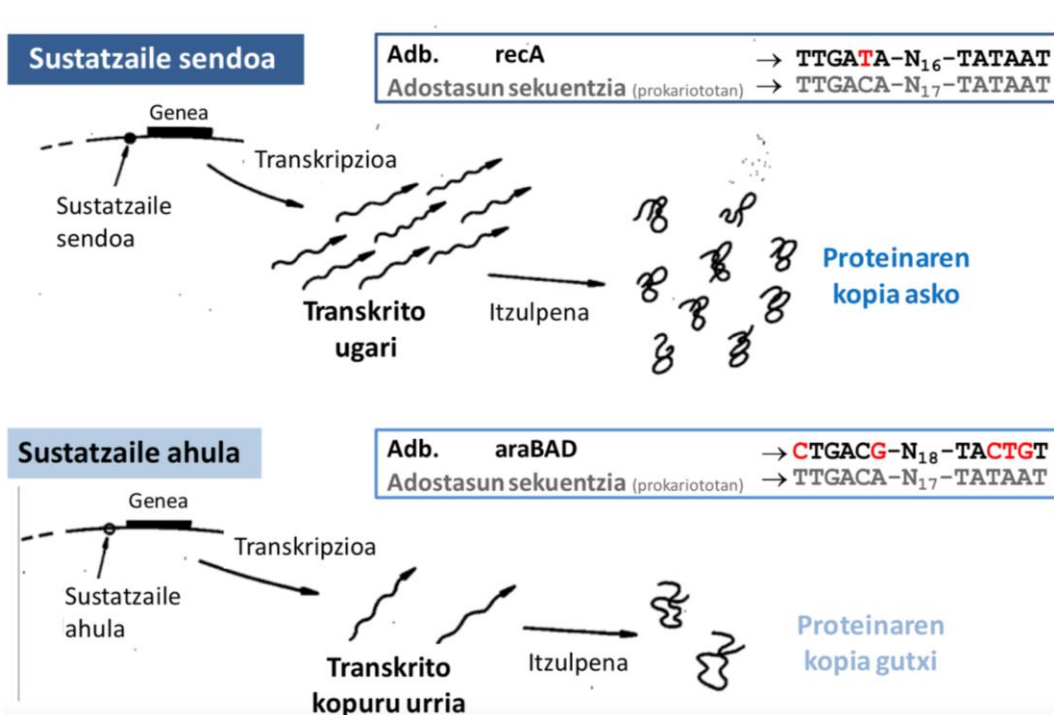
Gene-produktu hauen adierazpen-maila igo eta jaitsi egiten da seinale molekularren ondorioz (aktibatzaileak edo errepresoreak izan daitezke).

# RNA polimerasa eta sustatzailearen arteko afinitateak transkripzioaren hasiera baldintzatzen du

Afinitate horretan eragiten duten faktoreak:

## 1. DNA sekuentzia (sustatzailearen indarra):

Sustatzailearen indarra: adostasun sekuentziak (gene asko hartzen dira eta berdintasunak ateratzen dira, adostasun sekuentziak, baina gehienetan nukleotido guztiak ez dira berdin-berdinak izango) egongo dira sustatzailean, geroz eta antzekoagoa izan adostasun sekuentziarekiko orduan eta indartsuagoa izango da sustatzaile hori. Gainera, RNA polimerasak ekoitziko duen mRNA kopurua handiagoa izango da.



## 2. Proteinak:

### a. Espezifikotasun faktoreak:

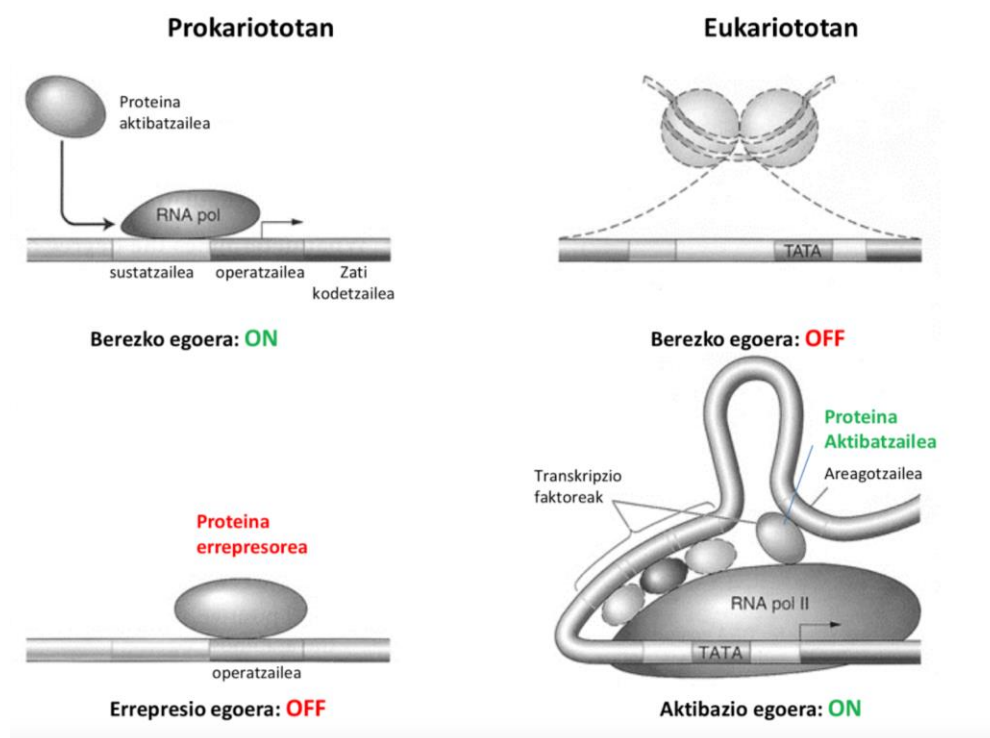
Prokariotoetan: sigma faktorearen arabera gene bat edo beste transkribatuko da.

Eukariotoetan: sustatzaileak konplexuagoak dira, hurbilekoetan TATA kutxa izango dugu; TBP-k ezagutuko du hau eta transkripzio faktoreak bertan sartuko dira, transkripzioari hasiera emanez.

b. Proteina erregulatzaileak, transkripzio faktoreak:

**Prokariotoetan**, geneak berez aktibo daude, hau da, transkribatu egingo dira inongo erregulaziorik jasaten ez duten geneak. Tipikoki, erregulazioa gertatzen denean, erregulazio negatiboa emango da, transkripzioa etenaz. Proteina errepresoreak sekuentzia operatzaileetara lotuko dira. Proteina hauek normalean sustatzailean egongo dira. Beraz, RNA polimerasa ezingo da sustatzailerara lotu eta, beraz, ezingo da transkripzioa eman.

**Eukariotoetan**, berriz, kontrakoa gertatzen da. Izan ere, DNA oso luzea da eta enpaketatuta egongo denez, geneak ez dira eskuragarri egongo, ondorioz, ezer egin gabe ezingo da transkripzioa eman. Transkripzioa emango da DNA eskuragarri gelditzen denean. Behin hau gertatuta, konplexu proteiko handiak sortuko dira (beheko irudian ikusten den bezala). Kasu honetan, transkripzioa martxan jartzeko konplexu proteiko honek transkripzio faktore aktibatzaileak beharko ditu. DNA tolestuko da, eta urrun dauden transkripzio faktoreak RNA polimerasatik gertu geldituko dira, gene hauek transkribatzeko.



i. Proteina (ko)aktibatzaileak (erregulazio positiboa):

Aktibatzaileak: zuzenean DNArri lotu.

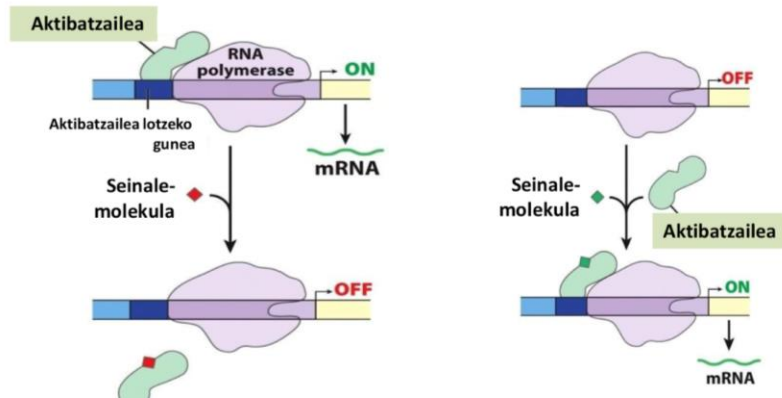
Koaktibatzaileak: ez dira zuzenean DNARA lotuko.



**Bakterioetan:**

Tipikoki, seinale molekularak (kasu honetan koerrepresorea) aktibatzailea DNAtik askatzea eragiten du, eta ondorioz, transkripzioa inhibitzen da.

Beste batzuetan, seinale molekulari esker, proteina aktibatzailea DNArri lotzen da, eta, horrenbestez, transkripzioa aktibatzen da. Kasu honetan, seinale molekula hau koaktibatzailea izango da. Hau bakterioetan ez da oso normala izango.



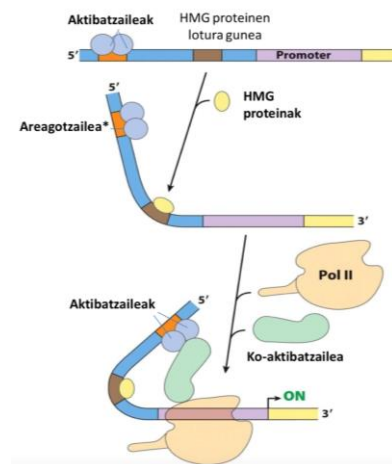
**Eukariotoetan:**

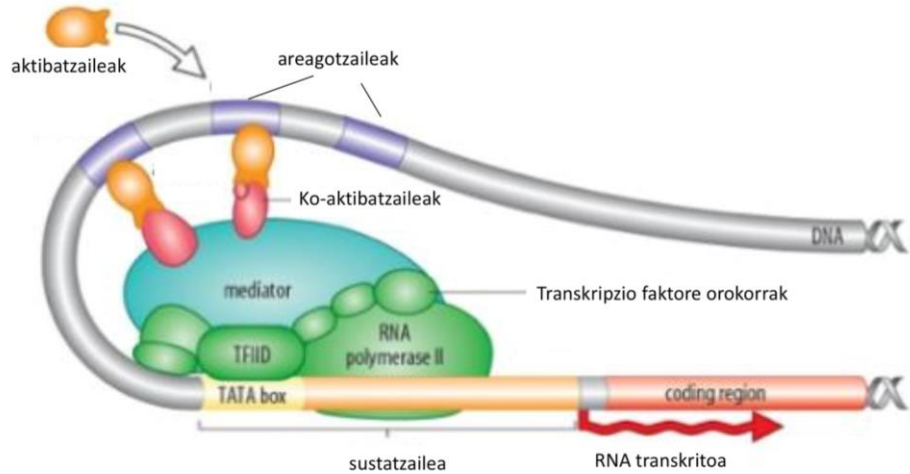
Proteina erregulatzaileak (aktibatzaile/errepresore), maiz, erregulatzen duten sustatzaitetik urrun (-1500, -3000 bp) lotzen dira.

HMG (high movility group) erako proteinei esker, DNA "tolesten" da, eta sekuentzian urrun dauden erregulazio gune ezberdinak fisikoki gerturatu egiten dira.

Baina, nahiz eta DNA tolestu, oraindik ere nahiko urrun geldituko dira aktibatzailea eta transkripzio faktorea. Hauen arteko zubi moduan jokatzen dute aktibatzaileak.

Ko-aktibatzaileak ez dira DNARA lotzen, aktibatzaileak berriz bai, zehazki sekuentzia areagotzaileetara (eukariotoetan, aktibatzailean lotuko deneko DNA sekuentzia).



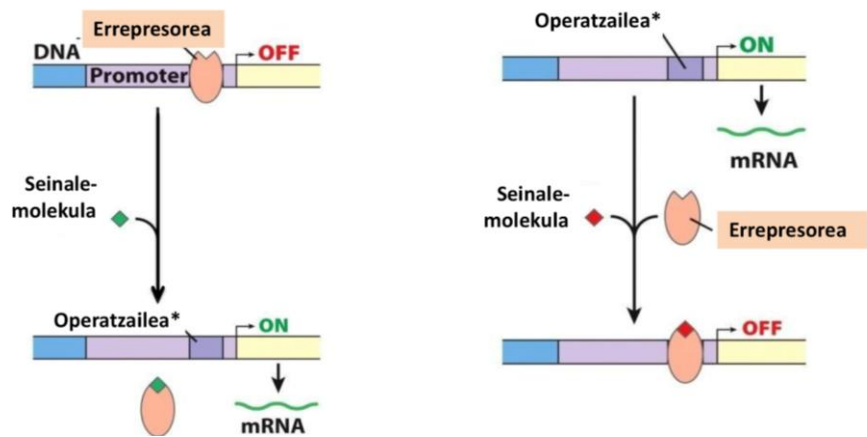


ii. Proteina (ko)errepresoreak:

Hemen ere, DNA-ri lotzeari dagokionez, aktibatzaileen berdin gertatzen da.

**Bakterioetan:**

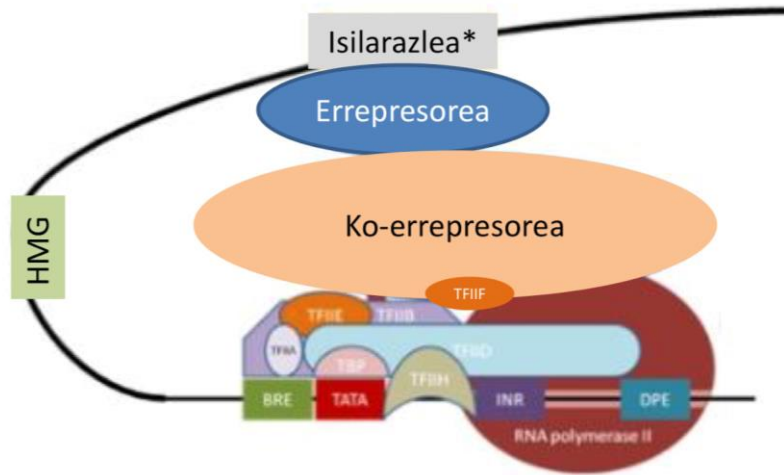
Errepresorea operatzaileira lotuko da, orduan RNA fisikoki ezingo da sustatzailerara lotu. Hori dela eta, ez da transkribatuko genea. Gero, seinale molekular, errepresorea DNAtik askatzea eragingo du, eta ondorioz transkripzioa martxan jarriko da berriz (tipikoki, errepresorea operatzailearen barnean).



**Eukariotoetan:**

Maiz errepresoreen eta RNA polimerasaren arteko elkarrekintza proteina ko- errepresoreen bitartez egiten da.

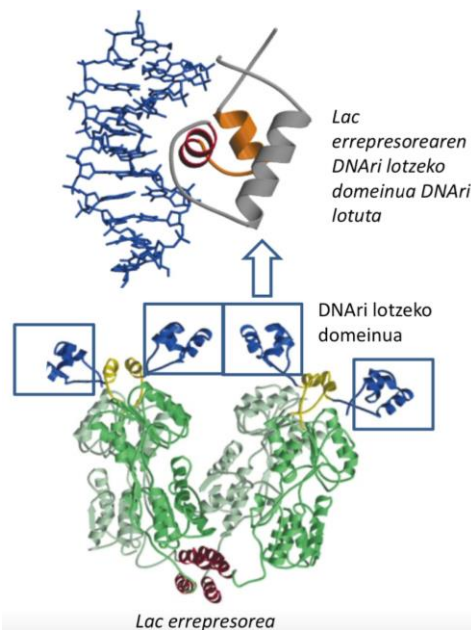
Ko-errepresoreak ez dira DNARA lotzen, errepresoreak berriz bai, hain justu **sekuentzia isilarazle**etara. Ko-errepresoreak zubi moduan jokatu dute sekuentzia isilarazle eta errepresoreen artean.



c. DNARI lotzeko domeinuak proteina erregulatzailetan:

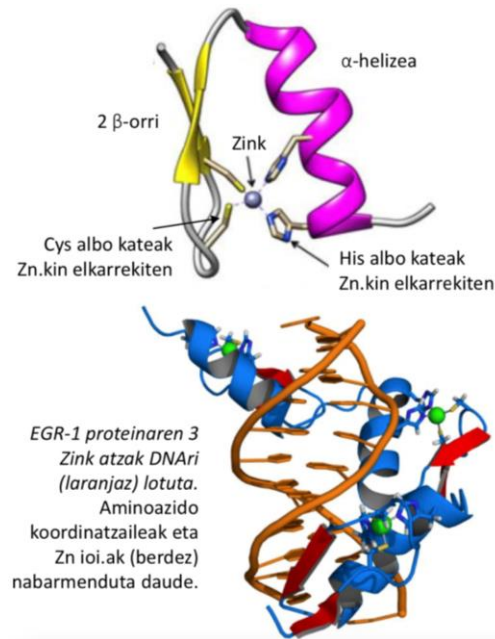
Domeinu hauek laborategietan erabiltzen dira, izan ere, proteina batek domeinu bat baldin badauka, seguruenik DNARI lotuko zaio, geneen erregulazioa parte hartuz.

i. Helize-bira-helize (nahiko txikia eta sinplea):



Helize-bira-helize	
Egitura	<ul style="list-style-type: none"> <li>Guztira 20 aminoazido ditu.</li> <li>7-9 aminoazidoko 2 <math>\alpha</math>-helize <math>\beta</math>-bira baten bidez banatuta</li> </ul>
Non	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bakterioen proteina erregulatzailetan oso ohikoak.</li> <li>Eukariototan ere azaltzen dira</li> </ul>
Adb	Lac errepresorean (ikusi ondoko irudia)

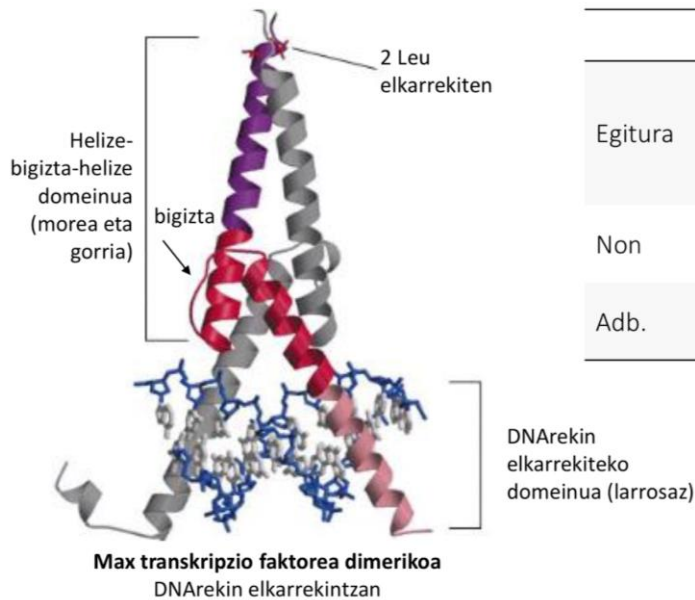
ii. Zink atza (zink finger):



Zink atza	
Egitura	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Guztira 30 aminoazido ditu.</li> <li>• Begizta luze bat oinak Zn ioi baten bidez elkartuak. Zn ioiarekin elkarrekiten 4 aminoazido (4 Cys edo 2Cys + 2His).</li> <li>• Begiztan 2 β-orri eta α-helize bat</li> </ul>
Non	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eukariototan oso ohikoak dira. DNA eta zink atzen arteko elkarrekintza ahula denez, proteina askok "Zn atz" domeinu asko dituzte.</li> </ul>
Adb	EGR-1 transkripzio faktorea (ikusi ondoko irudia)

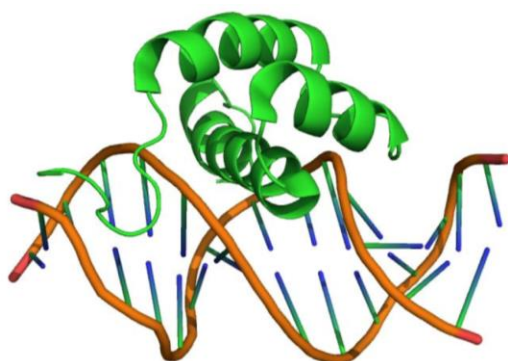
iii. Helize-begizta-helize:

Dimerizazioa gertatu.



Helize-begizta-helize	
Egitura	Guztira 50 aminoazido ditu. Bi proteinen "helize-begizta-helize" domeinuek elkarrekiten dute elkarren artean dimerizatzeko
Non	Garapena erregulatzen duten gene eukarioto batzutan.
Adb.	Eukariotoen Max transkripzio faktorea (ikusi ondoko irudia)

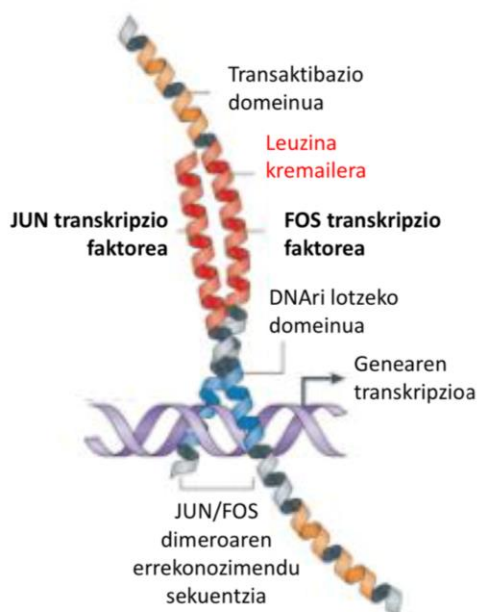
iv. Homeodomeinuak:



Homeodomeinuak	
Egitura	<ul style="list-style-type: none"> <li>Guztira 60 aminoazido ditu.</li> <li>3 helizek osatzen dute. 2 eta 3 helizeen artean "helize-bira-helize" motiboa eratzen dute.</li> </ul>
Non	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eukariotoen transkripzio faktoretan oso ohikoak.</li> </ul>

v. Leuzina kreamailera (Leu zipper):

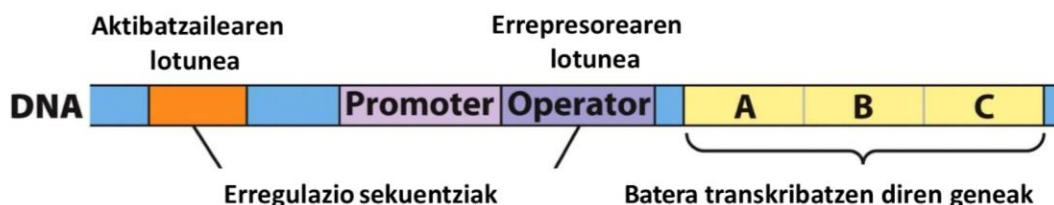
Dimerizazioa gertatu.



Leuzina kreamailera	
Egitura	<ul style="list-style-type: none"> <li><math>\alpha</math>-helize anfipatikoa.</li> <li>Aminoazido apolar guztiak mutur baten dauden pilatuta eta hori da bi kate polipeptidikoaren elkarrekintza gunea.</li> <li>7 aminoazidoz behin Leu dago.</li> </ul>
Non	<ul style="list-style-type: none"> <li>Eukariotoen proteina erregulatzailetan oso ohikoak dira.</li> <li>Bakteriotan gutxi batzuk deskribatu dira.</li> </ul>
Adb.	Eukariotoen AP-1 heterodimeroa (Jun/Fos transkripzioa faktoreen dimeroa) (ikusi ondoko irudia)

## Geneen erregulazioa prokariotoetan: operonak

Operona: elkarrekin erlazionatutako zenbait genez osaturiko gene-espresioaren unitatea, haren transkripzioa erregulatzeko duten sekuentzia operatzailea eta sustatzailea barne direla (gene polizistronikoa).

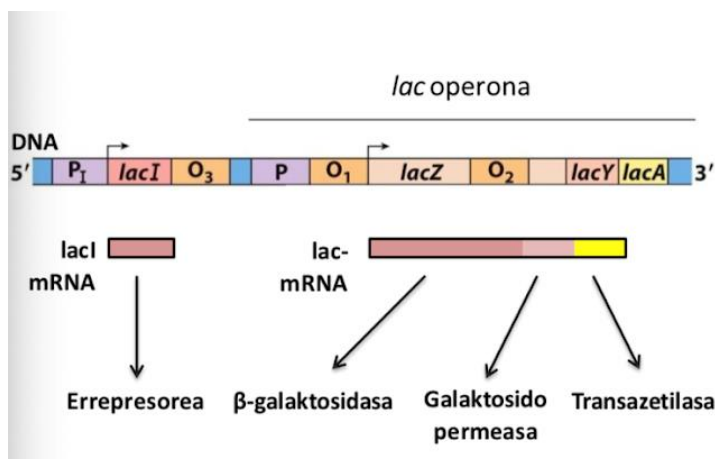


Operonean dauden gene guztiak batera erregulatuko dira, hau da, guztiak batera adieraziko dira, edo ez da bat ere adieraziko.

Maiz, gene hauek bidezidor metaboliko bereko partaideak edo multiproteina bateko azpiunitateak kodetuko dituzte (mRNA polizistronikoak).

*E. coli*-ren geneen erdiak operonetan antolatuta daude. Guzti horietatik 2 aztertuko ditugu: lac operoia eta Trp operoia.

- **Lac operoia:**



**Legenda:**

**P1:** lacI genearen promotorea.

**lacI genea:** errepresorea kodetzen du (gene monozistronikoa, soilik produktu bakarra). Gene honek lac-mRNA kodetuko du, eta mezulari honek, aldi berean hiru proteina kodetuko ditu: beta galaktosidasa, galaktosido permeasa eta transazetilasa.

**P:** lac geneen promotorea.

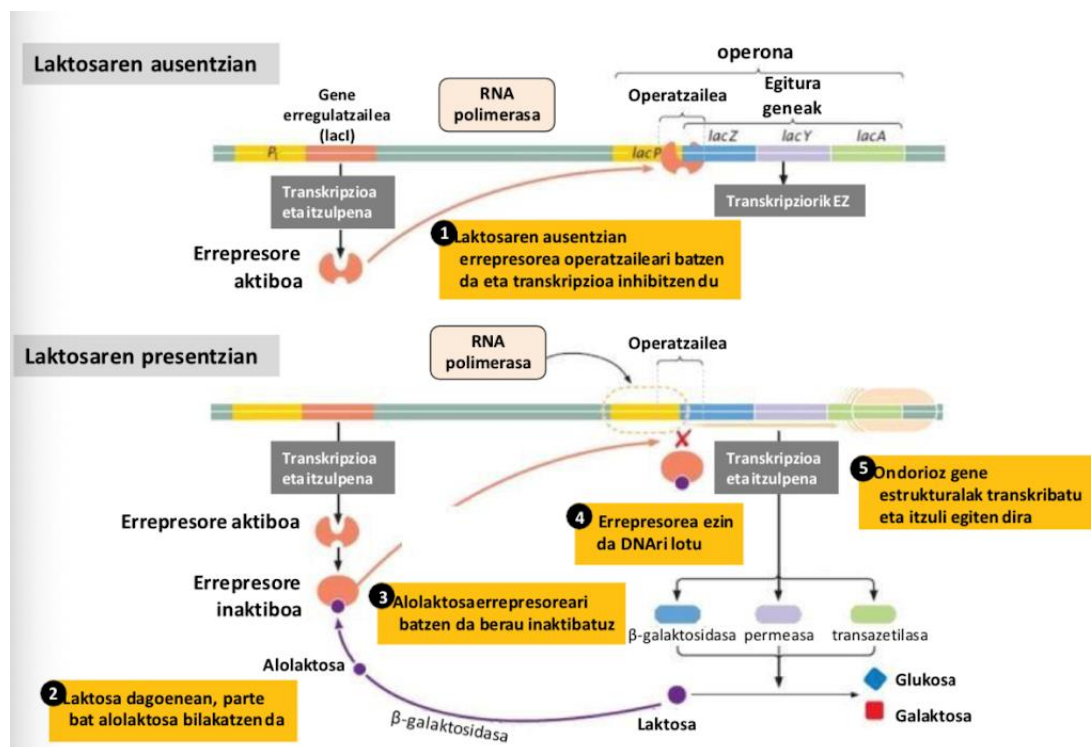
**lacZ, lacY eta lacA:** lac gene estrukturalak.

**O1:** lac operonaren operatzaile nagusia.

**O2 eta O3:** operatzaile sekundarioak. Lac errepresorearekiko afinitate txikiagoa daukate

Beta galaktosidasa (laktosa apurtu) eta galaktosido permeasak (laktosa zeluletara sartu) galaktosaren metabolismoan parte hartzen dute. Transazetilasa ez du hauekin zer-ikusirik.

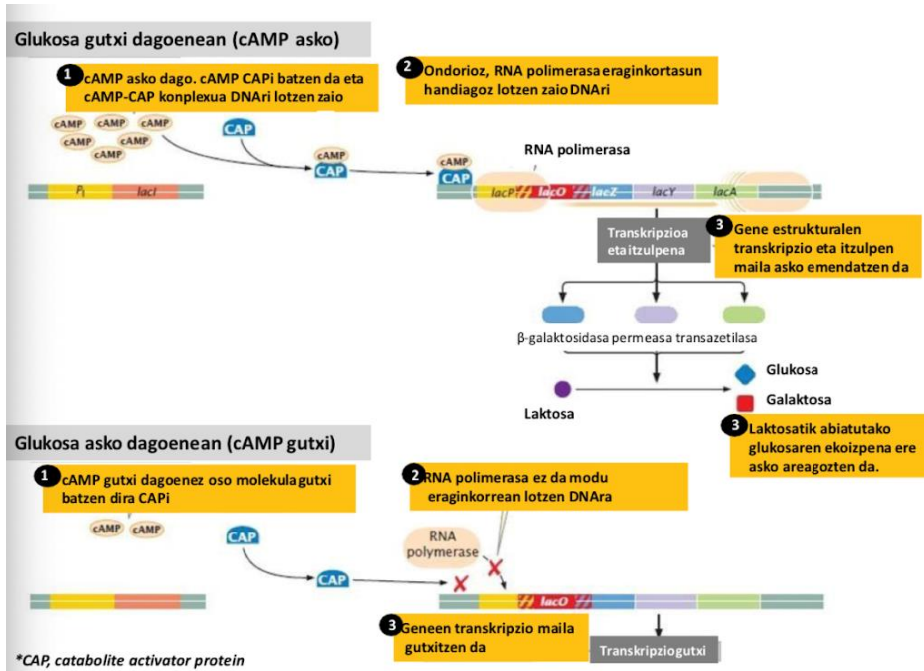
Lac operoia erregulazio **negatiboa** pairatuko du.



Alolaktosa: seinale molekula, errepresorea inaktibatzen duena. Hau laktosatik abiatuta ekoiztuko da (beta galaktosidasak katalizatuta).

Nola da posible beta galaktosidasa egotea mekanismoa martxan jarri aurretik? Hau laktosaren paradoxa da. Errepresore eta operatzailearen arteko afinitatea oso handia da (baina ez erabatekoa). Orduan, denbora tarte oso labur batean, bi hauen arteko lotura apurtu eta momentu zehatz horretan transkripzioa martxan jarriko da. Hori dela eta, esaten da kantitate txikietan bada ere, zeluletan beti egongo direla beta galaktosidasa, permeasa eta transazetilasa.

Dena den, Lac operoia erregulazio **positiboaren** menpe ere badago.

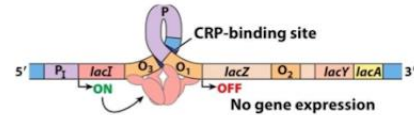


Erregulazio positiboa glukosa mailaren araberakoa da.

Emendatu=augmentar.

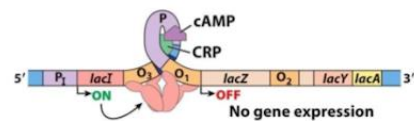
Glukosa eta laktosaren erabilgarritasunaren araberako erregulazioa:

(a) Glukosa asko, cAMP gutxi, laktosaren ausentzian

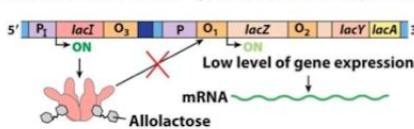


Laktosaren ausentzian, berdin dio glukosa egon edo ez egon, errepresorea operatzaileari lotuta egongo da eta ondorioz lac geneak ez dira transkribatuko.

(b) Glukosa gutxi, cAMP asko, laktosaren ausentzian

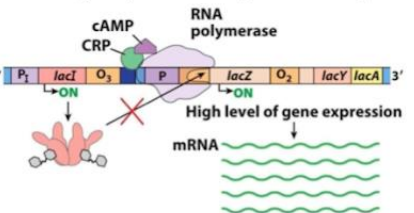


(c) Glukosa asko, cAMP gutxi, laktosaren presentzian



Laktosaren presentzian, errepresorea operatzailetik disoziatuko da. Baina glukosa asko badago, cAMP maila baxuen ondorioz ez da DNAr lotzen den CAP-cAMP konplexua eratuko. RNA polimerasa maila txikian batuko da transkripzio hasiera gunera eta lac genea apur bat transkribatuko du.

(d) Glukosa gutxi, cAMP asko, laktosaren presentzian

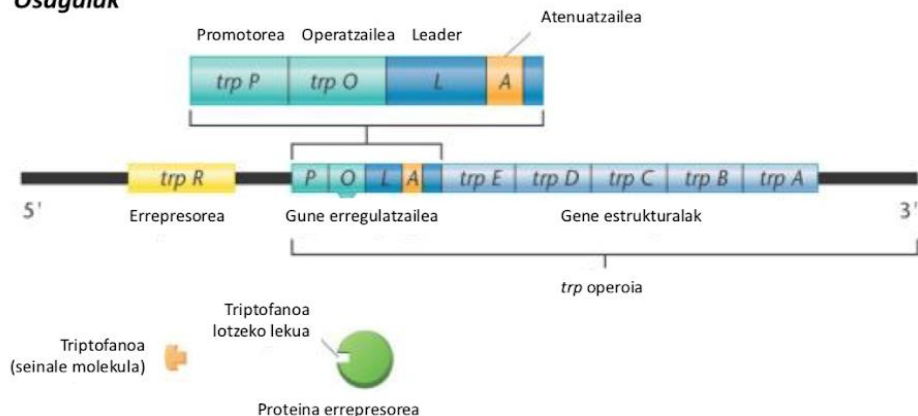


Laktosaren presentzian, errepresorea operatzailetik disoziatuko da. Gainera, glukosarik ez badago CAP-cAMP konplexua eratu eta DNAr lotuko da. Ondorioz, RNA polimerasa modu eraginkorrean lotuko da DNAr eta lac geneen transkripzio maila asko emendatuko da.



- **Trp operoia:**

**Osagaiak**



Gene estrukturalak: trp E, trp D, trp C, trp B eta trp A. Hauek triptofanoaren sintesia katalizatzen dute entzimak kodetuko dituzte.

P: promotorea.

O: operatzailea.

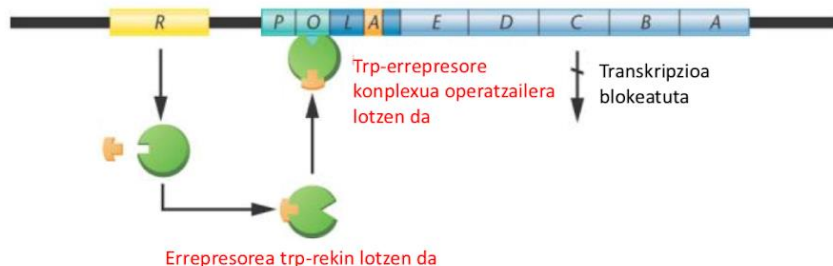
trp R: errepresorea kodetzen duen genea.

trp operonak erregulazio **negatiboa** pairatzen du:

**(a) Trp ez dagoenean**



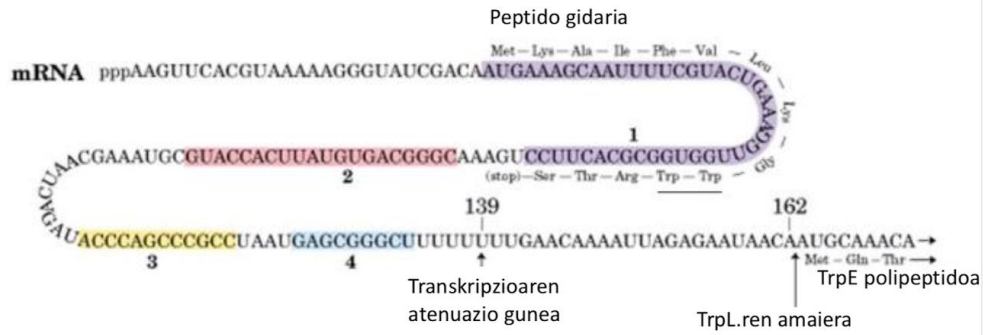
**(b) Trp dagoenean**



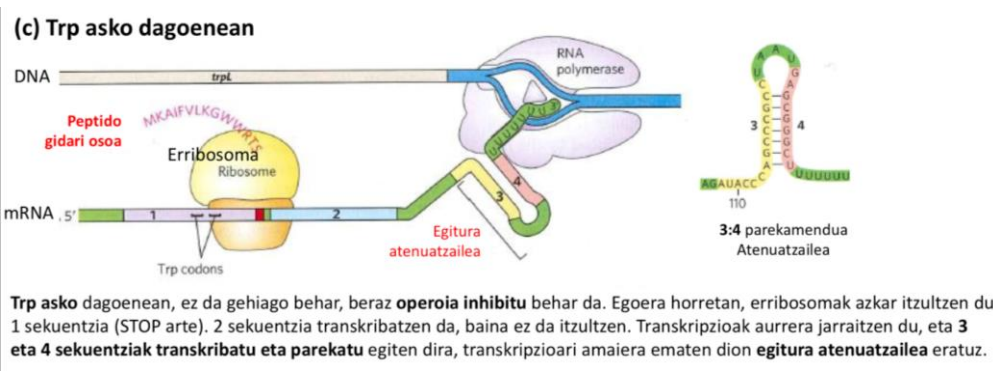
trp operona **atenuazioz** ere erregulaten da:

Sekuentzia atenuatzailea transkribatzen doan heinean itzultzen joango da.

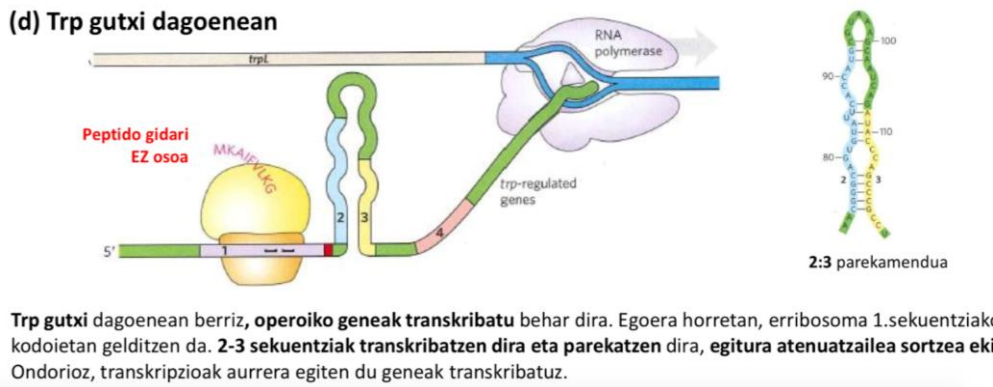
Sekuentzia atenuatzailea: *trp* gidaria (TrpL)



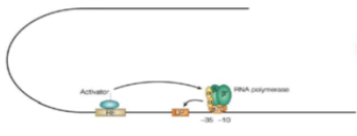
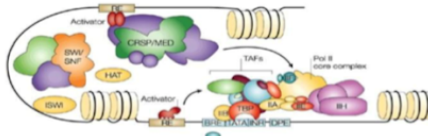
- 162 nukleotidoko sekuentzia – TrpE genearen 5' muturrean kokatuta
- 4 sekuentziek osatzen dute: 1, 2, 3 eta 4
  - **3 eta 4 sekuentziak** base osagarriak dituzte – parekatu, **urkila** bat eratu → **amaiera seinale** gisa funtzionatu
  - **2 eta 3 sekuentziak** ere parekatu daitezke → transkripzioa ez da eteten eta **geneak transkribatzen** dira.
  - **1 sekuentziak 2 Trp** kodetzen ditu → **baldintzatu 3-4 edo 2-3** sekuentziak parekatuko diren



STOP kodoian blokeatuta geldituko da erribosoma 2. sekuentzia blokeatuz. Hori dela eta, eman daitekeen parekamendu bakarra 3 eta 4. sekuentzien artekoa izango da; eta hau emango da transkripzioa geldituz.



**Konparazioa:** geneen erregulazioa eukarioto eta prokariotoetan.

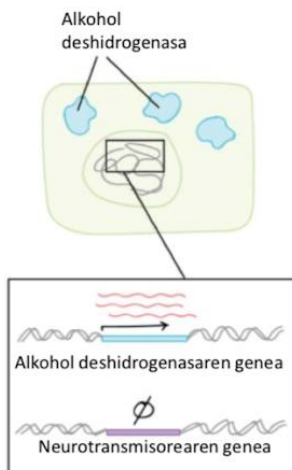
	PROKARIOTOAK	EUKARIOTOAK
Genomaren egitura	Genoma zirkularra eta bakarra, batzuetan plasmidoak dituzte	Genoma kromosometan dago; nukleosomak eskuragarritasuna mugatu
DNAren egitura	Zenbait proteina lotuta dituen superbiribilkatutako DNA	Nukleosometan histonekin lotutako superbiribilkapen handia duen kromatina
Genomaren tamaina	Erlatiboki txikia	Erlatiboki handia
Transkripzioa eta itzulpena	Aldiberean	Transkripzioa nukleoan eta itzulpena zitoplasman. Transkripto primarioak prozesatzen dira
Gene-taldeaketa	Funtzio antzekoa duten geneak OPERONetan taldekatuta daude	Oro har, gene bakoitzak bere sustatzailea eta aktibatzailea ditu
Transkripzioaren lehenetsitako egoera	"On"	"Off"
Geneen erregulaziorako makinaria molekularra		

Gure erregulazioa oso konplexua da prokariotoekin konparatuz (goiko makinarian ikusten da hori).

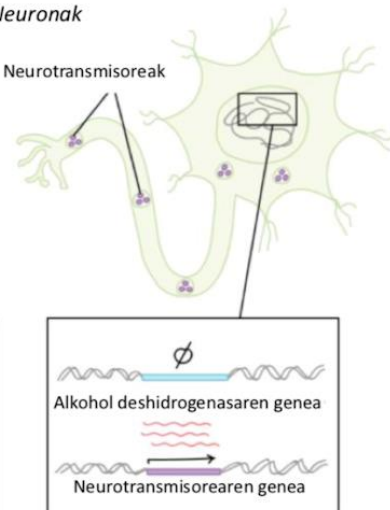
## Geneen erregulazioa eukariotoetan

Transkripzio faktoreek baldintzatuko dute zein gene transkribatu eta zein ez. Geneen erregulaziorari esker, organismo eukarioto multizelularren zelula mota bakoitzak gene jakin batzuk adierazten ditu.

*Hepatozitoak*



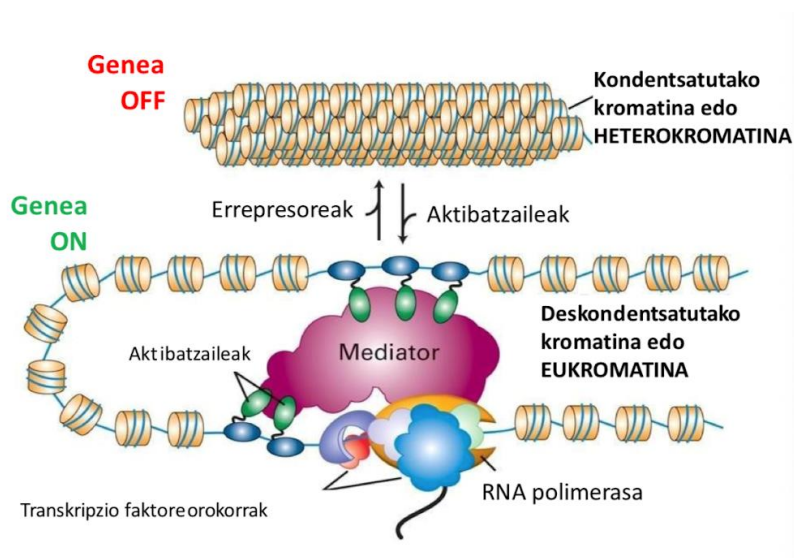
*Neuronak*



### Transkripzioaren aurreko erregulazioa:

1. Erregulazio epigenetikoa-kromatinaren modelatzaileak (epigenetika: material genetikoan ematen diren aldaketa kimikoak, bai DNAn eta bai histonetan, eta histonen aldaketak eragin zuzena izango dute DNaren eskuragarritasunean):

DNaren eskuragarritasunean dago gakoa, hau da, honen arabera gene batzuk edo beste transkribatuko dira. DNA oso oso enpakatuta baldin badago ezingo da transkribatu, transkripzioan parte hartzen duen makinaria ezingo delako bertan sartu.



Heterokromatina eukromatitan bilatzeko, hau da, DNA deskondentsatzeko:

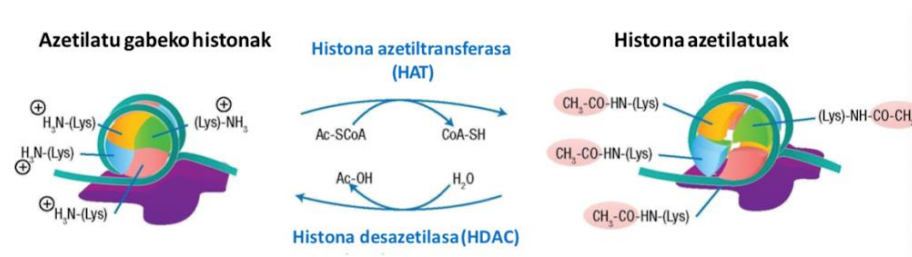
- **Nukleosomen berrantolatzaileak:** konplexu proteikoak dira gehien ezagutzen direnak (ez dira mota asko ezagutzen), nukleosomen antolaketa eraldatzen dute. Batzuetan nukleosomen arteko distantzia laburtzen dute, nukleosoma bat kendu H8 kenduan edo nukleosoma bat desplazatu; honela DNA eskuragarri egongo da.
- **Histonetan aldaketak** ematen dira, histonen buztanetan hain zuzen ere DNA eskuragarri egoteko. Proteinak direnez, proteinen ondorengo eraldaketak pairatzen dituzte. Eraldaketa desberdin asko eman daitezke buztan bakarrean, eta aldaketen arteko konbinaketak eragina izango du DNaren eskuragarritasunean. Dena den, ez da gauza handirik ezagutzen.

### Azetilazioa:

Isilik dagoen gene bat (azetilatu gabe):

DNA eta histonak estuki lotuta egongo dira. pH fisiologikoan, lisinen albo kateko amino taldeak protonatuta daude, histonak karga positiboak izango ditu eta DNarekin (karga negatiboduna) interakzionatzen dute.

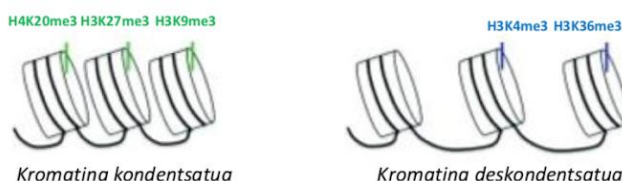
Histonen azetilazioak amido taldeak sortzen ditu eta hauek ez dira protonatzen pH fisiologikoan, ondorioz, kromatina errazago deskondentsatuko da.



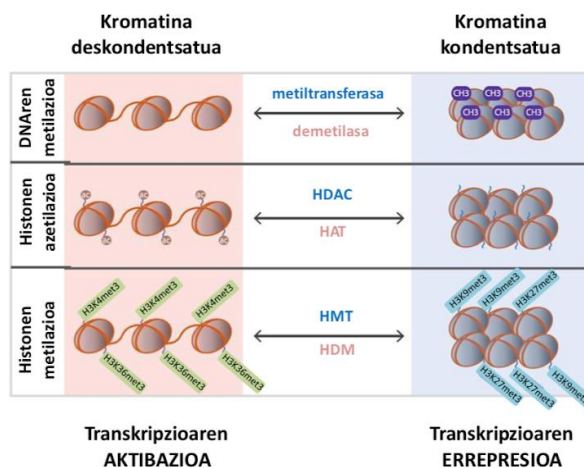
**Metilazioa:**

Lys eta Arg hondarretan -CH3 talde bat izateak, seinale bat bezala ezagutzen dute proteina batzuk. Mono-, di- eta tri-metilatu daitezke Lys eta Arg. Hemen, histona mono, di edo trimetilatu goteak eragin desberdinak izaten dituzte.

Metilatutako hondarren arabera erreprimitzen edo aktibatzen dute transkripzioa. Adibidez, H3 histonaren 4. Arg metilatuta baldin badago, DNA deskondentsatuta dago eta aldiz H3 histonaren 9. Arg metilatzen bada kromatina kondentsatuta egongo da.



- **DNAREN metilazioa:** zitosinan ematen da (CpG irletan, tipikoki sustatzailean), metilatu gabeko CG sekuentzian transkripzioa emango da, aldiz, metilatuta daudenetan, ez da traskripziorik emango (berez sekuentzia hori ezagutzen duten proteinek ez dutelako ezagutuko sekuentzia metilatua). Hori dela eta, sustatzailea metilatuta egongo da, ez zaigulako interesatzen zati hori transkribatzea.



Hiru faktore hauek guztiak batera gertatzen dira eta hauen konbinaketa bat gertatzen da gene bat transkribatzeko.

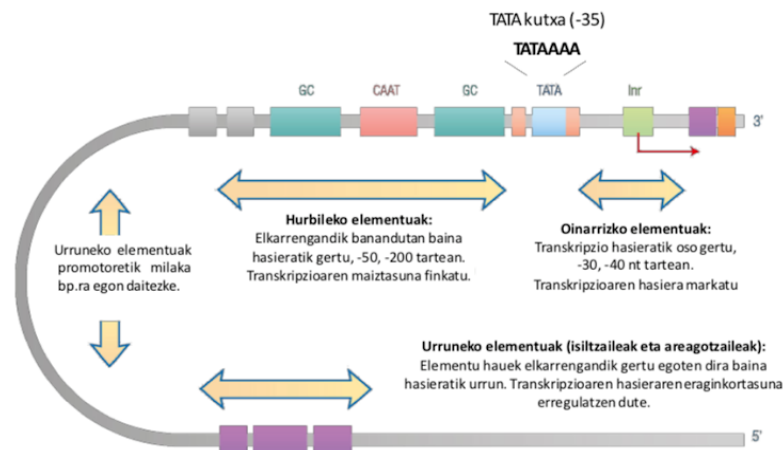
## 2. Erregulazio genikoa:

Eukariotoen sustatzaile gehien erregulazioa positiboa da. Aktibatzaile eta ko-aktibatzaileek RNA polimerasaren aktibitatea emendatuko (sustatuko) dute.

- Aktibatzaileak: sekuentzia areagotzaileetara lotuko dira.
- Ko-Aktibatzaileak: aktibatzaileak eta RNA polimerasa kontaktuan jarriko dituzte (ez dira DNARA lotzen).

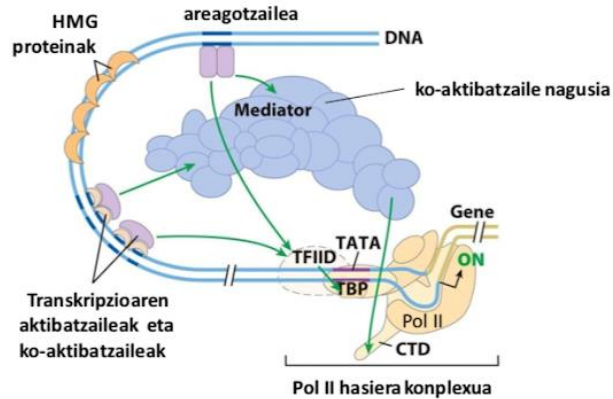
II. klaseko geneen antolamendua (II RNA polimerasak transkribatzen dituenak):

Gene hauek eremu erregulatzailerak (urgoran) eta egitura genea (transkribatuko dena) izango ditu.



RNA polimerasa II gene baten sustatzaile modu eraginkorrean batzeko 5 proteina moten arteko jardura bateratua gertatu behar da:

1. Oinarrizko transkripzio faktoreak (TBP, TFIIB, TFIIE, TFIIIF, TFIIH, TFIIA).
2. HMG proteinak - DNA begizta eran tolestea erraztu.
3. Aktibatzaileak – DNA sekuentzia espezifikoak ezagutu eta horiei batu.
4. Ko-aktibatzaileak – DNARI zeharka batu.
5. Kromatinaren modelatzaileak – histonen itzulpen ondoko aldaketak erregulatu.



Errepresoreek RNA polimerasaren eta aktibatzailearen arteko hartu-emana oztokatzen dute, transkripzioaren errepresioa eraginez.

Proteina batek adostasun sekuentzia ezagutu eta lotu egingo da, baina metilatuta baldin badago, adibidez, ez da lotuko proteina. Minbizi zeluletan, oso metilatuta dago DNA eta sekuentzia ez dago eskuragarri eta proteinek ezin dute erregulatu.

Neurri handi batean, ehun jakin batean adierazten diren (ko)aktibatzaile eta (ko)errepresoreek determinatzen dute ehun horretan transkribatuko diren geneak.

### 3. Zelula barruko eta kanpoko seinaleen bidezko erregulazioa:

Geneen erregulazioa zelulatik kanpo datorren seinale batetik etortzen da askotan, zelula inguruneke baldintzetara egokitu behar delako. Askotan seinale hauek hormonak dira.

## Transkripzioaren osteko erregulazioa

### 1. Interferentziako RNA bidezko geneen isilpena

Landare, animalia, fungi eta zenbait bakterioetan deskribatutako mekanismoa. Laborategian oso erabilia da

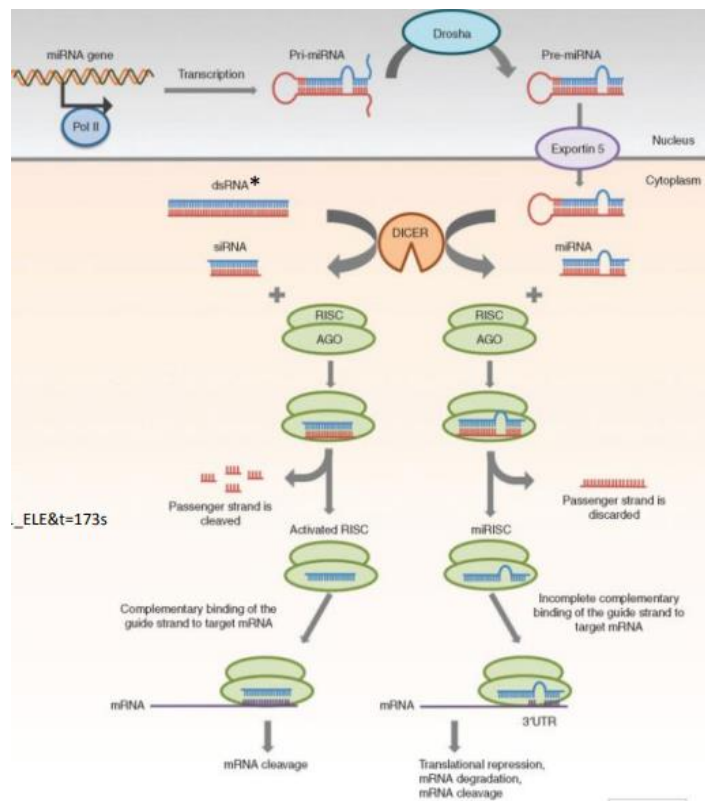
- miRNA (mikro RNA): guk hainbat gene ditugu molekula hauek transkribatzeko, baina hasieran transkribatzen dena ez da funtzionala: Pri-RNA. Honek mozketa batzuk jasan (dosha endonukleasaren bidez) eta Pre-RNA bilakatuko da, hau ere funtzionala izango ez dena. Hau, nukleotik zitoplasmara garraiatua izango da (esportina baten bidez), eta behin zitoplasman dagoenean beste mozketa batzuk jasaten ditu (DICER proteinak eragingo dituenak) eta mikroRNA-k oraindik azkenengo aldaketak beharko ditu.

Horrela, beste proteina batzuekin interakzionatzen du, RISC eta AGOekin eta harizpi bat soilik utziko du (izan ere, hasierako RNAk kate bikoitza dauka eta funtzionala bilakatzeko kate bakarra izan behar du). Honela mikro RNA funtzionala izango dugu, soilik harizpi betekin.

Osagarria den mRNA batekin elkartzen denean (itu sekuentzian elkartzen direnean), mRNA-ren erribosomako sarrera galaraziko da. Hau da, mRNA horrek ez du proteinarik sintetizatuko.

- E6 RNA proteinak ez ekoizteko oso erabilia da. Proteina ezagutzen badugu bere RNAm eraiki dezakegu eta ondorioz E6 RNA ere sintetizatzeko gai izango gara, honela proteina zehatz hori ez da sintetizatuko. E6 RNA ez da funtzionala izaten, miRNA-k bezala zenbait aldaketa jasan behar ditu lehenengo; endonukleasek moztu egin behar dute prozesatuz, eta berriro ere harizpi gidaria soilik geratuko da. mRNA-ren itu sekuentzia aurkitu eta elkartzean mRNA deusestatu egiten da, degradatuz.

E6 RNA oso espezifikoa da, bere eta mRNA-ren arteko ezagumendua totala delako. miRNA berriz, ez da hain espezifikoa, ezagumendua ez delako totala.





# 8. GAIA: INFORMAZIO GENETIKOAREN TRANSMISIOA

## 1. PARTEA

### 1. Mutazioak

#### 1.1 mutazioak: definizioa eta motak

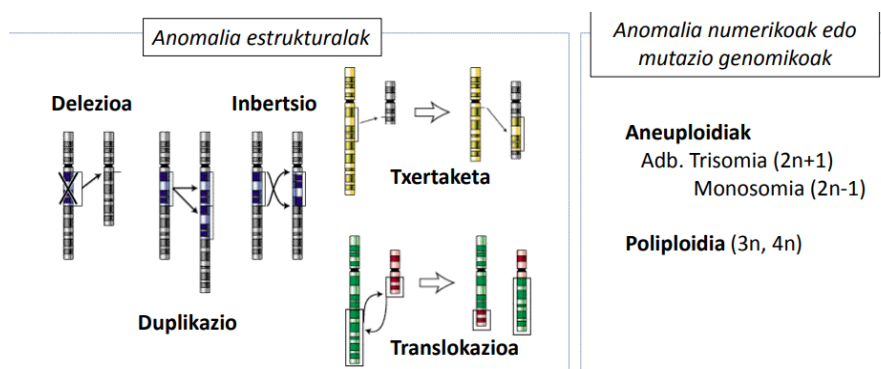
**Mutazioa** DNAREN sekuentzian ematen den aldaketa **iraunkorra** da; eta aldaketa populazioaren  $<1\%$  agertzen da (bestela polimorfismoa izango da). Aldaketa hau ez da derrigorrez txarra izan behar, ona ere izan daiteke. Gaur egun hemen bagaude mutazioen ondorioz da, ingurunera egokitzen gaituztelako, hautespen naturala mutazioetan oinarritzen da.

Mutazioak sekuentzia kodetzaile edo ez-kodetzaileetan; eta zelula somatikoetan edo hozi-zeluletan (gametoetan) eman daitezke. Mutazioa gametoan baldin badago, ondorengoei transmitituko zaie.

Mutazioa txarra bada, askotan berdin du zati kodetzailean edo ez-kodetzailean ematen den, bietan izango da txarra. Zati ez kodetzailea erregulatzailea da, eta mutazioa sekuentzia jakin batzuetan ematen bada, transkripzioa ez da emango. Berriz, mutazioa zati kodetzailean ematen bada, proteina desberdin bat sintetiza dezakegu.

Tamainaren arabera ere sailka daitezke mutazioak:

- Mutazioak edo anomalia kromosomikoak.
- Mutazio ertainak errepikatutako sekuentzietan.
- Puntualak:
  - Ordezkapenak: trantsizioak/transbertsioak.
  - Ezabaketak edo delezioak (bi hauek ondorio negatiboak dituzte, material genetiko gutxi edo asko edukitzea eragiten baitute).
  - Txertaketak.



Mekanismoaren arabera:

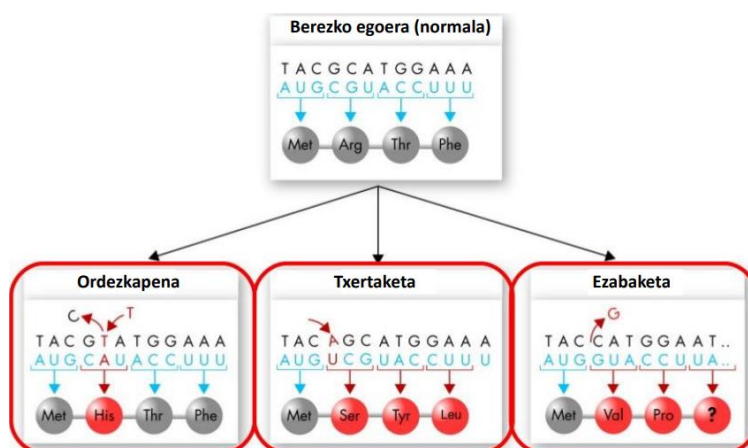
- Endogenoak (espontaneoak, gure gorputzak eragiten ditu) ala exogenoak (kanpo-mutagenoak, kanpoko faktore batzuen ondorio dira).

Eraginaren arabera:

- Isilak
- Ez-isilak
  - **STOP kodoi goiztiarra edo nonsense:** mutazio baten ondorioz, base baten delezio edo txertaketa baten ondorioz, STOP kodoia kodetzen duen aa bat agertu da, eta beraz, kate polipeptidikoaren itzulpena amaitu egingo da.
  - **missense (zentzua galtzea edo aldatzea):** mutazio puntual mota bat da, nukleotido bakar batean eragiten du aldaketa, eta ondorioz, beste aminoazido bat kodetuko duen kodoi bat agertzen da. Missense mutazioak bi motatakoak izan daitezke:
    - **Kontserbakorra:** mutazioaren ondorioz, kate polipeptidikoa aldatu egingo da eta jatorrizko aa-ren eta aa berriaren propietateak antzekoak direnez, mutazioa kontserbatu egingo da, gure gorputzarentzako ez delako arazo handia.
    - **Ez-kontserbakorra:** mutazioaren ondorioz, kate polipeptidikoa aldatu egingo da eta jatorrizko aa-ren eta aa berriaren propietateak oso desberdinak direnez, kate polipeptidikoa automatikoki ezabatu egingo da.

## 1.2 Mutazio puntualak eta hauen eragina

Nukleotido bakar batean gertatzen den aldaketari deritza mutazio puntuala. Hiru mota daude:



### 1. Ordezkapena:

Nukleotido bat beste batengatik ordezkatua izango da. Hori dela eta, baseen parekamendu okerra emango da. Parekamendua bi motatakoa izan daiteke: trantsizioa edo transbertsioa.

Sekuentzia normala

5' CATTCACCTGTACCA 3'  
3' GTAAGTGGACATGGT 5'

↓

**trantsizioa**

CATCCACCTGTACCA  
GTAGTGGACATGGT

pirimidina → pirimidina  
purina → purina

Trantsizioa	Berezko bikotea	Mutazio osteko bikotea
A → G	A/T	G/C
G → A	G/C	A/T
T → C	T/A	C/G
C → T	C/G	T/A

Sekuentzia normala

5' CATTCACCTGTACCA 3'  
3' GTAAGTGGACATGGT 5'

↓

**transbertsioa**

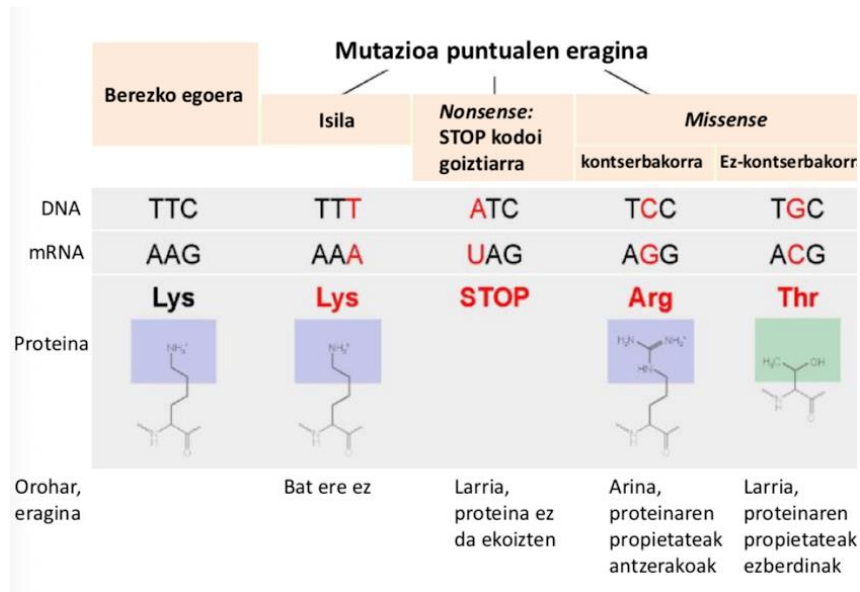
CATGCACCTGTACCA  
GTACTGGACATGGT

pirimidina ↔ purina

Transbertsioa	Berezko bikotea	Mutazio osteko bikotea
A → T	A/T	T/A
A → C	A/T	C/G
G → T	G/C	T/A
G → C	G/C	C/G
T → A	T/A	A/T
T → G	T/A	G/C
C → A	C/G	A/T
C → G	C/G	G/C

## 2. Ezabaketak eta txertaketak:

Ezabaketak nukleotido bat edo batzuk ezabatzean datza eta txertaketak nukleotido bat edo batzuk gehitzean. Nahiz eta batzuetan mutazio hauek nukleotido batean baino gehiago eragiten duten mutazio puntual kontsideratzen dira). Bat edo bi ezabatu edo txertatzen badira, irakur araua aldatuko da eta beraz, aa desberdin bat kodetuko denez, beste proteina bat sintetizatuko da edo proteina gaizki sintetizatuko da. Aldiz 3 nukleotido gehitu edo kentzen direnean ondorioa ez da hain larria, irakur araua ez baita aldatzen, aminoazido bat gutxiago edo gehiago izango du, baina gainontzeko guztia berdina izango da.



### 1.3 mutazioak adierazteko oinarriko nomenklatura

- **Erreferentziako sekuentzia zehaztu:**

- g. Sekuentzia genomikoa
- m. DNA mitokondriala
- c. DNA sekuentzia osagarria (erabiliena)
- n: DNA sekuentzia moldea
- r: RNA sekuentzia
- p: proteina sekuentzia

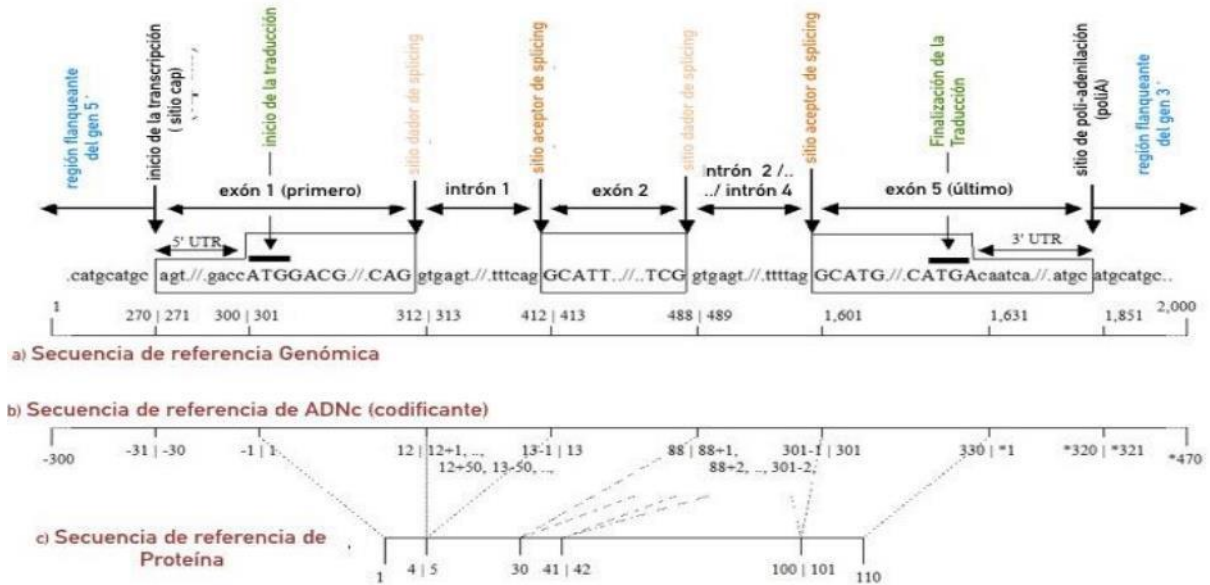
- **Nukleotidoen posizioa zehaztu:**

- DNA genomikoaren kasuan: nukleotidoen zenbakiak arbitrarioak dira. Lehen nukleotidoari "1" deritzo.
- DNA kodetzaila edo osagarriaren kasuan: Met aminoazidoa kodetzen duen ATG kodoiaren A izango da "+1" nukleotidoa (0 nukleotidoa ez da existitzen ATG-ren aurreko nukleotidoa -1 da).

- **DNA osagarriaren sekuentziako posizioak nola zehaztu:**

- +1 nukleotidoa: ATG hasierako kodoiko A nukleotidoa da (0 nukleotidoa ez da existitzen, ATG aurreko nukleotidoa -1,-2...)
- Introiko nukleotidoak:
  - Introien hasierakoak: aurreko exoiko azken nukleotidoaren zenbakia hartzen da kontuan; eta "+" jartzen da, introiko nukleotido hori exoitik zenbat nukleotidoetara dagoen adierazteko. Adib: c.77+1G edo c.77+2T

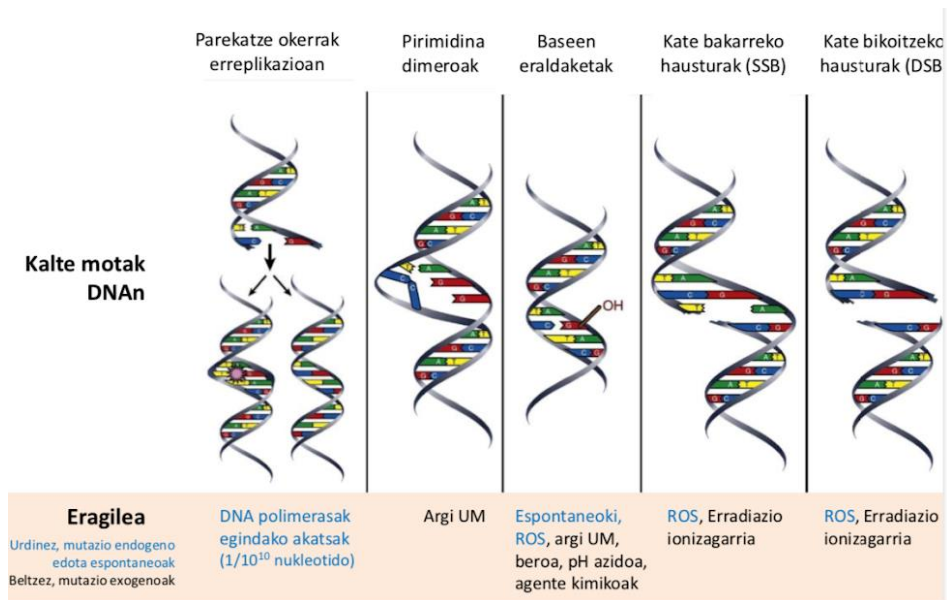
- Introiaren amaierakoak: hurrengo exoiko lehen nukleotidoaren zenbakia hartzen da kontuan; eta “-“ jartzen da introiko nukleotido hori exoitik zenbat nukleotido atzerago dagoen adierazteko (-x nukleotido atzerago egongo da). Adib: c.78-1A edo c.77-2C



- Azkenik, mutazio mota zehaztuko da:

		Mutazio mota	Zehazki gertatutako aldaketa	Adb
DNA edo RNA mailan	Ordezkapena	•	Posizioa; Jatorrizko nt > nt berria	g.119621G>A edo berdina dena c.1166-11G>A
	Ezabaketa	•	Ezabatutako posizioak; “del”	c.124_128del
	Txertaketa	•	Txertaketaren posizioa; “ins”; txertatutako sekuentzia	c.2468_2469insCAG
Proteina mailan	Ordezkapena	•	Jatorrizko aa; posizioa; aa berria • *mutazioaren ondorioz stop kodoi goiztiar bat agertu bada	p.Phe35Ala p.Phe35*
	Ezabaketa	•	Ezabatutako aminoazidoa edo eremua; “del” • “Δ”; ezabatutako aminoazidoa	p.Leu76del p.Leu76_Gln79del p.ΔL76
	Txertaketa	•	Txertaketaren posizioa; “ins”	p.Lys2_Met3ins

## 2. DNA kate motak eta eragileak:

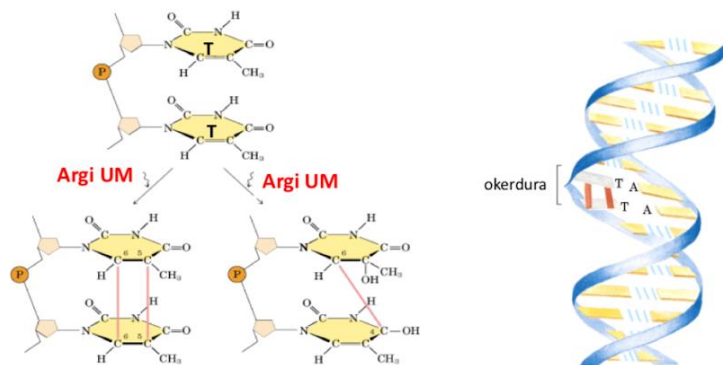


(azken biak ez ditugu ikusiko)

DNA polimerasa entzima oso eragilea da eta akatsak zuzentzeko izugarriko gaitasuna dauka. Hala ere, oso noizean behin, 10 nukleotatik behin, akatsak gertatzen dira.

Eragile endogeno eta exogenoak bereiztea garrantzitsua da. Eragile endogenoa gure gorputza bera da, honek eragiten ditu mutazioak. Eragile exogenoak aldi, gorputzaren menpe ez dauden eragileak dira, kanpo-faktoreak dira.

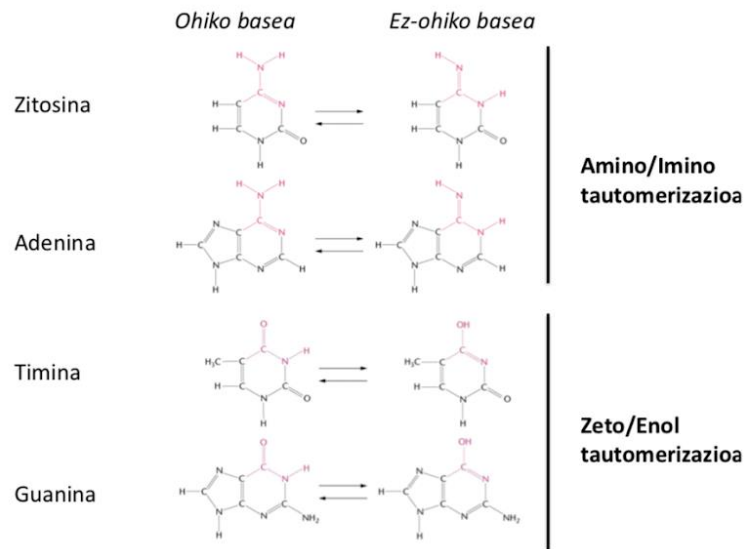
1. **PIRIMIDINA DIMEROAK:** agente exogenoen ondorioz sortzen dira, argi ultramoreak (UM-k) pirimidina dimeroak sor ditzake. Pirimidina dimeroa eratzeko, DNA harizpi berean ondoz ondoko pirimidinen artean lotura kobalenteak eraten dira (T-C eta C-C). Honek DNA-ren egituran distortsio bat eragingo du lokalki eta distortsioaren ondorioak oso latzak izan daitezke, izan ere, DNA puntu horretan ezingo da ez transkribatu ez erreplikatu. Erreplikatzen den zatia TT dimero batekin topatzen bada erreplikazioa etengo da eta zelula apoptosira bideratuko da.



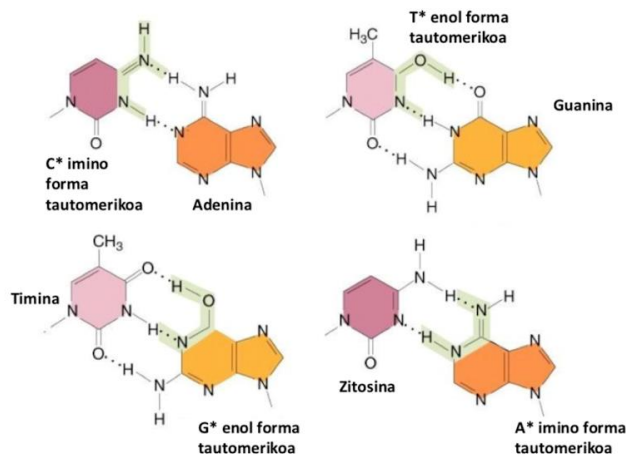
2. BASEEN ERALDAKETAK: espontaneoki emango dira. Bost mota daude:

- a. **Tautomeria:** ohiko baseak **espontaneoki** tautomeria deritzon prozesu baten ondorioz ez-ohiko baseetan bihurtzen dira. Tautomeroak Hidrogeno baten kokapenean bereiten diren isomeroak dira. Zitosina eta Adenina Amino/Imino tautomerizazioa jasango dute. Tautomeriaren ondorioz, ez-ohiko parekamendua gertatzen dira, hau da, baseen tautomerikoen “ez-ohiko parekamendua” gertatuko da. Nahiz eta akats hau ez konpondu, erreplikazioak aurrera jarraituko du. Hartaz, akats hau ez bada konpontzen bigarren belaunaldian (ondorengo belaunaldian) mutazioak agertu daitezke (ez dira beti agertzen).

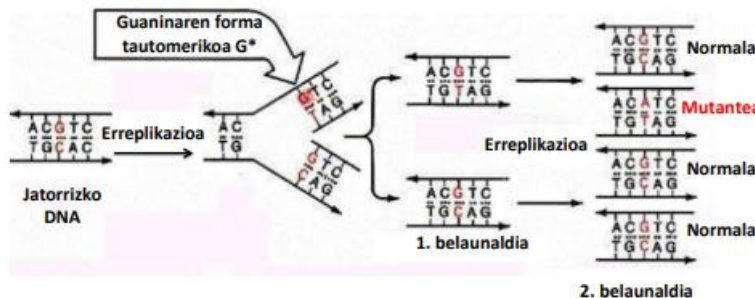
Tautomerizazioa itzulgarria den prozesua da.



**Baseen tautomerikoen “ez-ohiko” parekamendua**

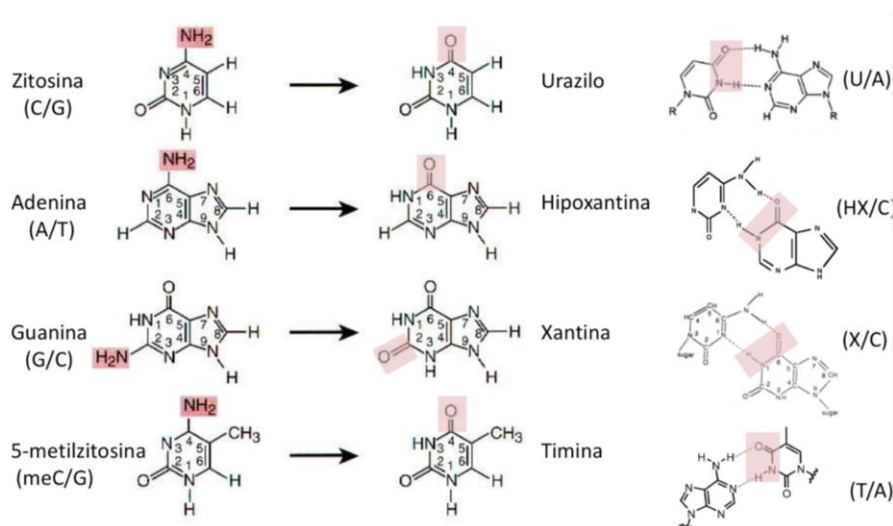


Baseen **tautomerizazio espontaneoak** base baten aldaketa eragin dezake



- b. **Desaminazioa:** hau espontaneoki zein faktore exogenoen ondorioz eman daiteke. Azido nitrosoen aintzindari exogenoek (sodio nitroso, sodio nitrato, nitrosaminak...) eragiten dute, eta desaminazioa amino taldearen galera espontanea da. Adibidez, desaminazio prozesuaren ondorioz, CG izan ordez UA agertuko da, baina tipikoki U ez da DNAn agertzen. Hartaz, DNA polimerasak, erreplikazioa katalizatzean, ez du jakingo uraziloa zein baserekin parekatu (ez du jakingo uraziloarekin zer jarri). Arazo hau konpontzen ez bada, transkribapenean arazoak sortuko dira, DNA polimerasak ez baitu Uraziloa ezagutuko.

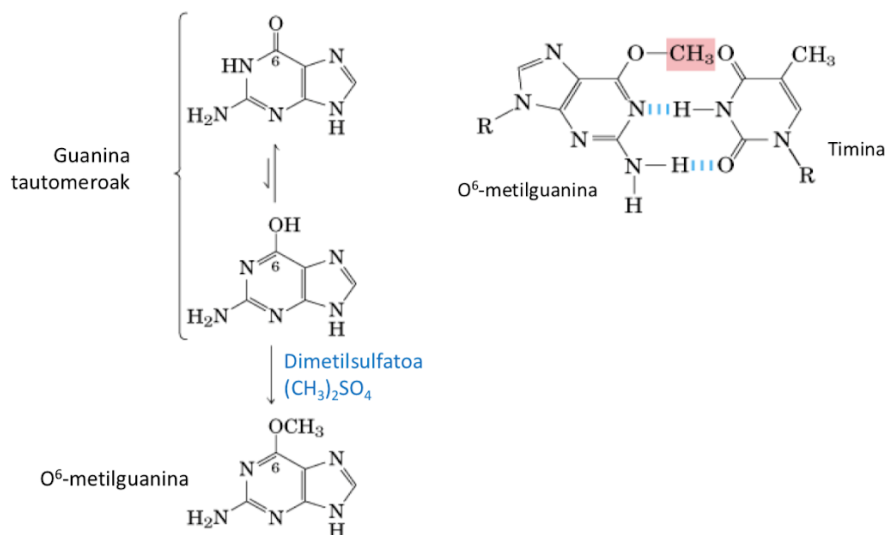
Mota honetako mutazioak sustatzaileetan agertzeak arazo larriak dakartza.. Konpontzen ez bada, inpaktu handia izan dezake. (argazkiko azken adibideari erreparatu amino taldea karbonilo taldean bihurtzen da desaminazioaren ondorioz).



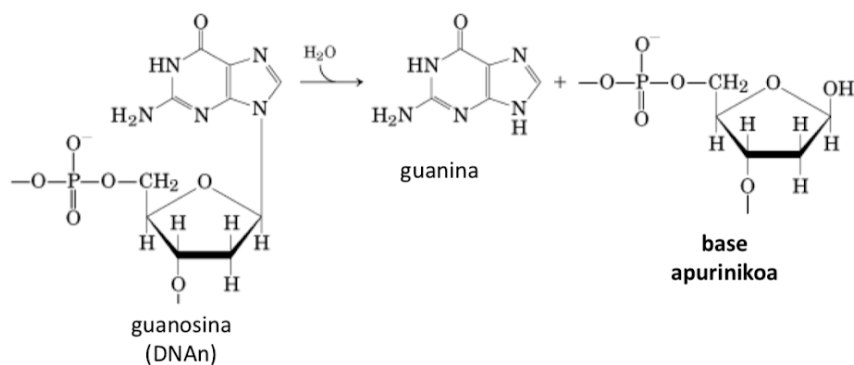
- c. **Alkilazioa:** agente alkilatzaile exogenoek (dimetilsulfatoa: DMSO; S-adenosilmetionina, dimetilnitrosamina, ziape nitrogenatua...) eragin dezaketen baseen eraldaketa da. Alkilo talde bat gehitzean datza, eta normalean base nitrogenatu bati gehitzen zaio.



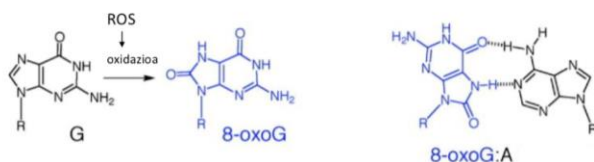
Jatorrizko nukleotidoa Guanina bada GC parekamendua edukiko du, Guanina tautomerizatu eta hau konpotzen ez bada parekamendua aldatuko da, G ez da C-rekin parekatuko, Timinarekin baizik.



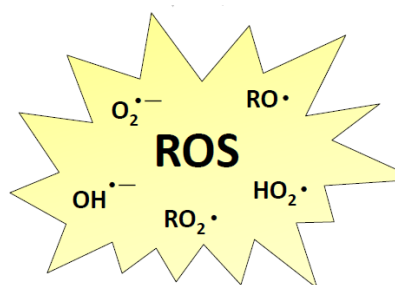
- d. **Depurinazioa:** espontaneoki gertatzen da, eta base nitrogenatua galtzea da.. Temperatura altuetan eta pH azidoetan ematen da. Base nitrogenatua galtzean datza, fosfatoa eta azukrea soilik geratuz. Base bat galtzen denean DNA harizpi batean informazioa galtzen da. Hala ere, 2 DNA kate daudenez, galdutako informazioa berreskuratu daiteke. 10.000 base galtzen dira eguneko eta zelulako, baina konponketa mekanismoak existitzen dira.



- e. **Oxidazioa:** guanina izaten da normalean oxidatzen dena, 8-oxoG geratzen da eta hau C-rekin parekatu ordez A-rekin parekatzen da. Oxigenoaren erradikal askeek (ROS)-ek eragiten dute mutazio hau.



ROS-ak (reactive oxygen species), oxigenoaren erradikal askeak dira eta mutazio ugari sor ditzakete. ROS-ak parekatu gabeko elektroiak dituztenez oso errektiboak dira, hauek metabolismo oxidatiboan sor daitezke (endogenoki), eta gorputzean pila daitezke. Faktore exogeno ugariren ondorioz ere sor daitezke: atmosferako kutsadura, erretzea, erradiazio UM, elikagai ez osasuntsuak, ozonoa, konposatu kimikoak... ROSak pilatzearen ondorioz eraldaketak eman daitezke biomolekula guztietan.



Parekatu gabeko elektroiak dituztelako oso errektiboak dira

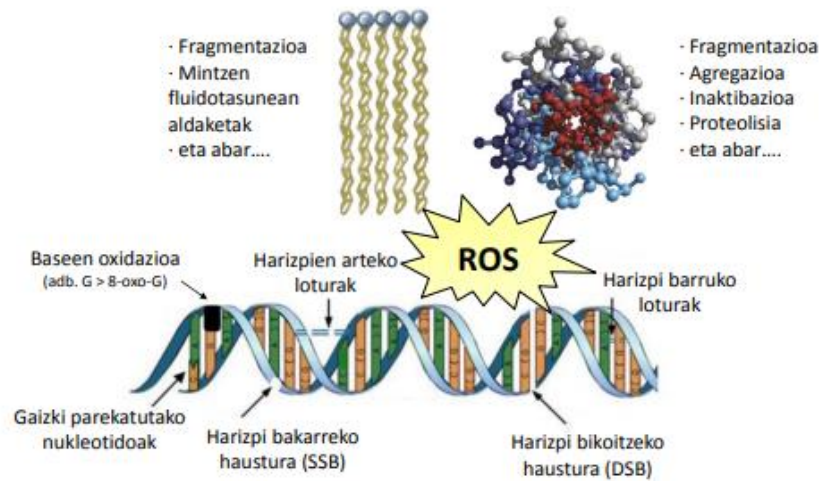
### Estres oxidatiboaren teoria:

Estres oxidatiboaren teoriak azaltzen du zahartzaroaren arrazoia. ROS-ak biomolekula guztietan eragiten dituzte kalteak: proteinetan, mintzetan... baita DNAn ere.

DNAn: baseen oxidazioaz gain, gaizki parekatutako nukleotidoak sor ditzaketenez, transkripzioan eta erreplikazioan inaktua sor ditzakete, prozesu hauek blokeatuz; eta ondorioz, zelulak apoptosira bideratuz.

Harizpien arteko loturak sor ditzateke, harizpi barruko loturak...

**Estres Oxidatiboaren Teoria** → **Zahartzapena**



	Parekatze okerrak erreplikazioan	Pirimidina dimerokoak	Baseen eraldaketak	Kate bakarreko hausturak (SSB)	Kate bikoitzeko hausturak (DSB)
<b>Kalte motak DNAn</b>					
<b>Eragilea</b> Urdinez, mutazio endogeno edota espontaneoak Beltzez, mutazio exogenoak	DNA polimerasak egindako akatsak (1/10 <sup>10</sup> nukleotido)	Argi UM	Esportaneoki, ROS, argi UM, beroa, pH azidoa, agente kimikoak	ROS, Erradiazio ionizagarria	ROS, Erradiazio ionizagarria
<b>Konponketa mekanismoa</b>	MMR	NER	← BER →		Birkonbinazio homologia
		← Konponketa zuzena →			

*NER (nucleotide excision repair): nukleotido ebaketaren bidezko konponketa*

*BER (base excision repair): base ebaketaren bidezko konponketa*

*MMR (mismatch repair): parekatze okerren konponketa*

### 3. DNA konponketa sistema:

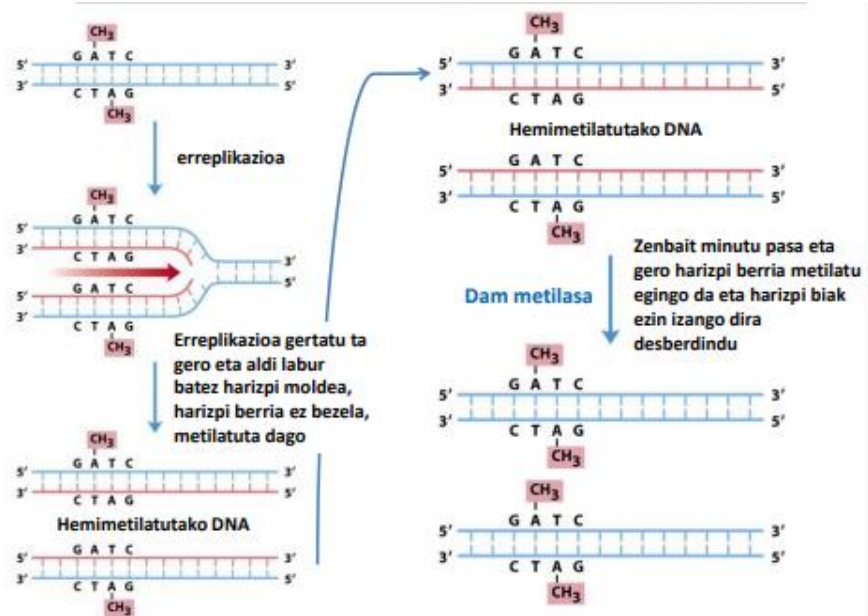
#### DNA konponketa sistema motak E.coli-n:

Sistema	Entzimak/Proteinak	Kalte mota
<b>Parekatze okerren konponketa</b> ( <i>MMR, mismatch repair</i> )	Dam metilasa MutH, MutL, MutS proteinak II DNA helikasa SSB DNA polimerasa III I, VII eta X Exonukleasak RecJ nukleasa DNA ligasa	Erreplikazioan zehar gertatutako parekatze-okerrak
<b>Base-ebaketaren bidezko konponketa</b> ( <i>BER, base excision repair</i> )	DNA glikosilasa AP endonukleasa I DNA polimerasa DNA ligasa	Ez-ohiko baseak (uraziloa, hipoxantina, xantina); alkilatutako baseak; pirimidina-dimeroak
<b>Nukleotido-ebaketaren bidezko konponketa</b> ( <i>NER, nucleotide excision repair</i> )	ABC eszinukleasa I DNA polimerasa DNA ligasa	Egitura-aldaketa sakonak eragiten dituzten kalteak; adb pirimidina-dimeroak
<b>Konponketa zuzena</b>	DNA fotoliasak O <sup>6</sup> -metilguanina-DNA transferasa	Pirimidina-dimeroak O <sup>6</sup> -metilguanina

DNA konpontzeko hainbat mekanismo daude, baina akatsaren arabera bat edo beste erabiliko da.

Gizakietan DNA E.coli-n konpontzen den modu antzekoan konpontzen da:

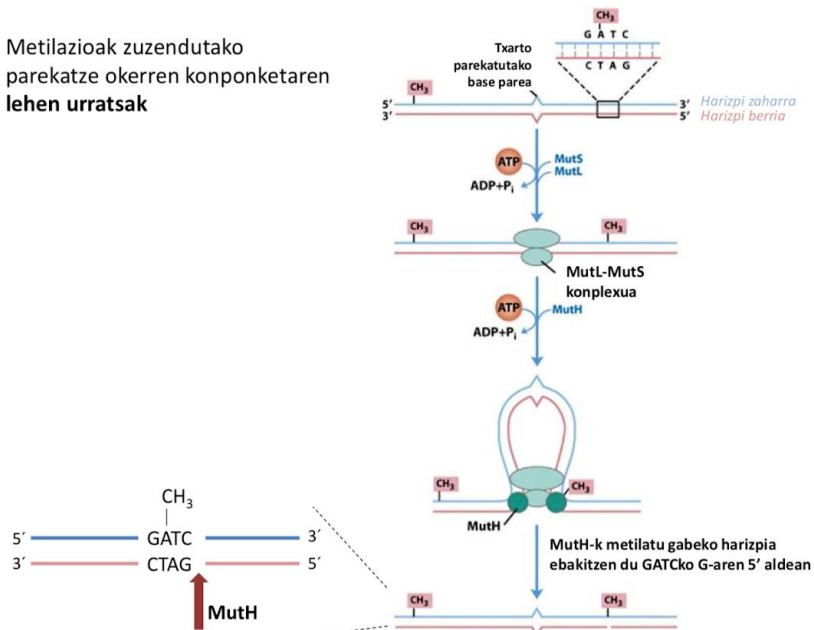
- **Parekatze okerren konponketa:**
  - Metilazioak zuzendutako parekatze okerren konponketa: gure DNA sekuentzia jakin batzuetan oso metilatuta dago: GATC sekuentziako Adenina metilatuta dago. Metilazio honek eta metilazio epigenetikoak ez daukate zer ikusirik. Adeninarekin metilazioak harizpi zaharra berritik desberdintzeko erraztasuna ematen digu. Metilazio mota hau **ez da itzulgarria**. Behin GATC sekuentziako Adenina metilatuta, betirako geldituko da horrela. Jatorrizko egoeran, bi harizpietako Adeninak metilatuta daude. Jatorrizko DNA erreplikatu da.

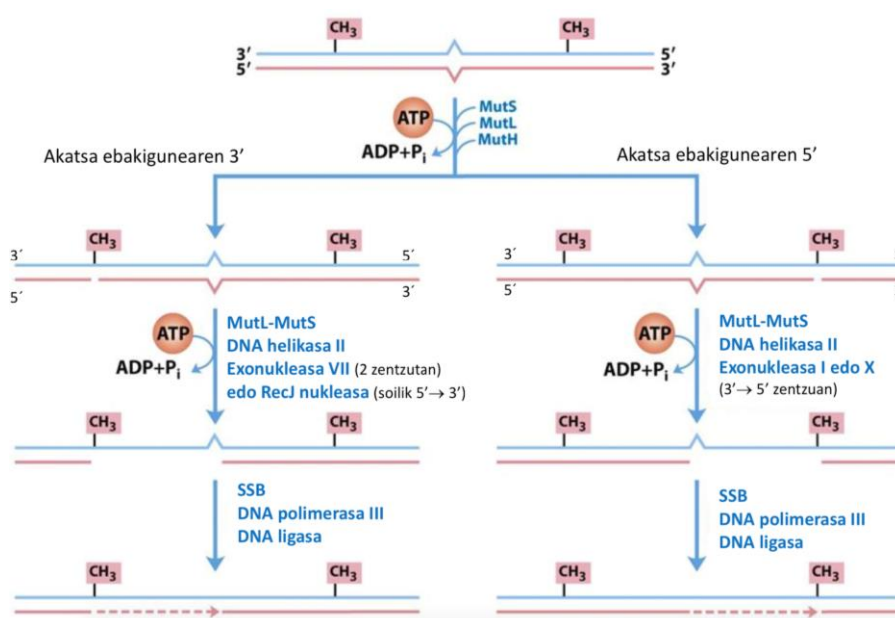


Jatorrizko egoeran GATC sekuentzia palindromikoa da. DNA erreplikatzeko, bi harizpiak banatu behar dira, eta horrela emango da erreplikazioa. Behin erreplikazioa emanda, harizpi bateko A metilatuta egongo da, eta bestea aldiz ez. Honek, hemimetilazioak honela iraungo du aldi batez; baina berehala **Dam metilasa** etorri eta berriro metilatuko du harizpi berriko A. Momentu honetatik aurrera ezingo dugu jakin zein den harizpi moldea eta zein berria.

Hau garrantzitsua da, metilatuta ez dagoen harizpiak aldaketak eginez aldatu daitezkelako gaizki-parekatutako baseak.

Metilazioak zuzendutako parekatze okerren konponketaren lehen urratsak



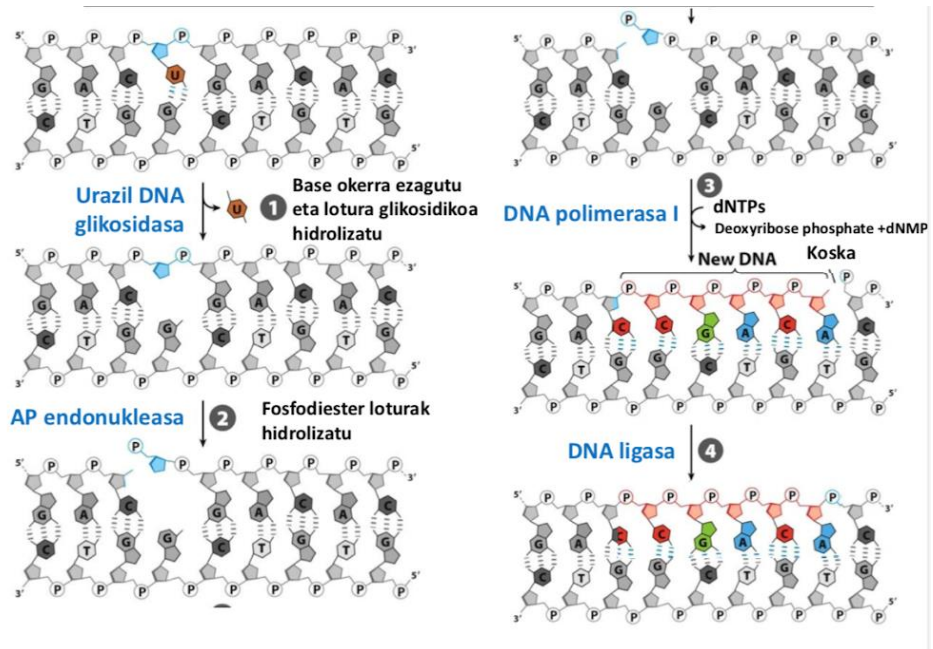


Adibidea: DNAn txarto parekatutako base parea dago. MutL eta MudS-ek akatsa topatuko dute. Ondoren, endonukleasa batek harizpia moztuko du, mozketa hau Muth-k katalizatuko du. (GATCko G-aren 5' muturrean). Akatsa ebakigunetik 3' alderantz edo 5' alderantz egon diateke, eta honen arabera elementu desberdinek parte hartuko dute, baina jarraituko diren pausuak berdinak izango dira beti: lehenenik eta behin, helikasa bat DNA-ren bi harizpiak banatuko ditu; eta jarraian exonukleasak DNA akatsduna ezabatuko dute (zentzuaren arabera exonukleasa batek edo besteak hartuko du parte). SSB proteinak egongo dira Harizpi bakarreko DNA egonkortzen. Gero, DNA polimerasa III-k baseen txertaketa egingo du eta azkenik, DNA ligasak fosfodiester loturak katalizatuko ditu.

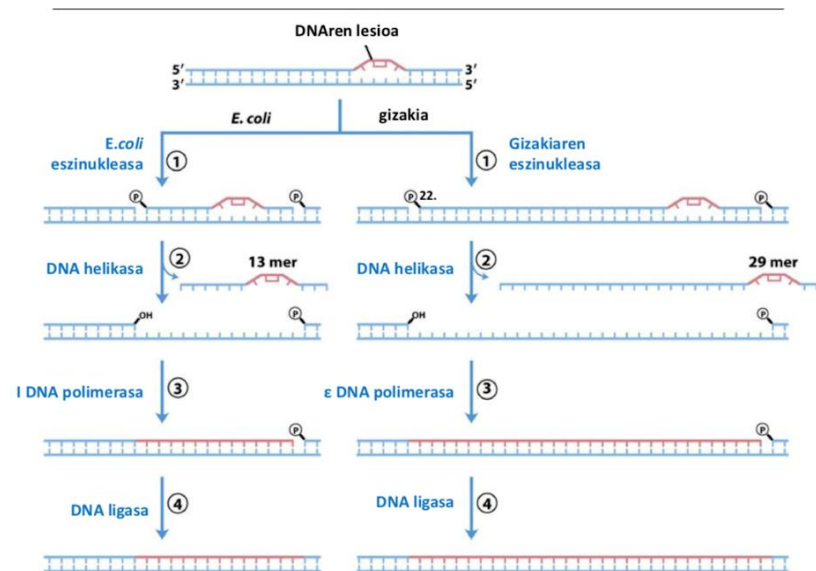
- **Base-ebaketaren bidezko konponketa:**

**DNA sekuentzian ez-ohiko baseak agertzen direnean erabiltzen da konponketa mekanismo hau.**

DNA-n Nukleotido arraro bat dago, adibidez, DNA-n uraziloa agertzen da eta DNA-n ez dago urazilorik. Urazil DNA glikosilasak ezagutuko ditu base okerrak edo arraroak eta lotura glikosidikoa apurtuko (hidrolizatuko) du. Lotura glikosidikoa azukrearen eta base nitrogenatuaren artean ematen da. Behin lotura hau hidrolizatuta, sekuentzia irakurtzen hasiko da, eta base apuriniko bat aurkitzen duenean, DNA polimerasa bertan geldituko da. AP endonukleasak egingo du mozketa, base purikoa ez duen nukleotidotik, hau da, fosfodiester loturak hidrolizatzen hasiko da. Ondoren, DNA polimerasa-I-ek base berriak sartuko ditu; eta azkenik, DNA ligasa agertuko da, bi harizpiak lotzeko.



• Nukleotido-ebaketaren bidezko konponketa:



- E.colin:

Mekanismo honetan parte hartzen duten entzimak eszinukleasak dira, endonukleasen familiako kide direnak. Harizpia barrutik mozten dute sekuentzia jakin batean, kasu honetan ez dute sekuentzia bat ezagutzen, distortsioa baizik. Eszinukleasak bi mozketara egiten dituzte DNA harizpi berdinean, 13 nukleotidoen aldearekin.

Akatsa detektatu eta bi aldeetara moztuko dute DNA sekuentzia. Askatzen den DNA fragmentuari 13 mer deritzo.

Ondoren, DNA polimerasa eta DNA ligasak jardungo dute.

Eszinukleasen jarduerak, pirimidina dimeroek eragindako kaltea konpontzeko balio du besteak beste.

- Gizakietan:

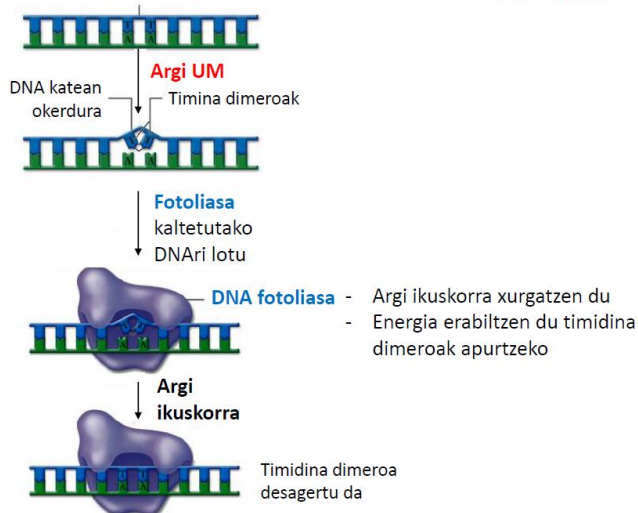
Gizakietan mekanismoa berdina da, eszinukleasak detektatzen du distortsioa kokapena, eta bi puntutan mozten du DNA. Mozketaren ondorioz askatzen den fragmentuari 29 mer deritza. Ondoren, mozketaen ondorioz gelditu diren tartea epsilon DNA polimerasak beteko ditu. Azkenik, DNA ligasa agertzen da.

● **Konponketa zuzena:**

Konponketa zuzen mota desberdinak daude, baina guk bi aztertuko ditugu soilik:

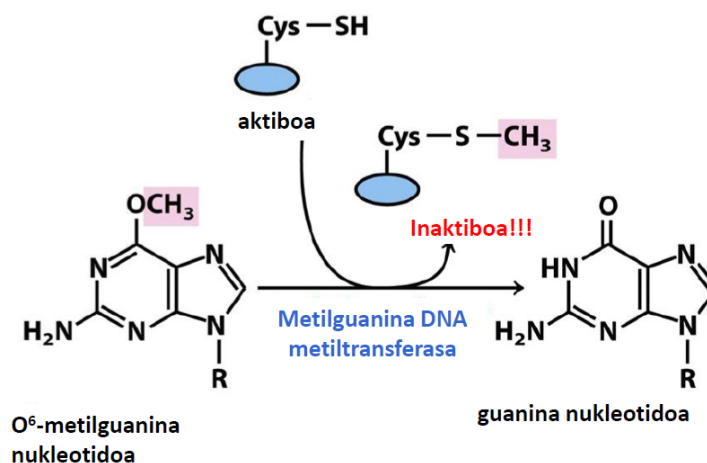
- DNA fotoliasak: argi ikuskorra xurgatzeko gai dira, argiaren energia bereganatzen dute eta energia hau timidina-dimeroak apurtzeko erabiltzen da.
- O<sup>6</sup>-metilguanina DNA transferasa: entzimaren gunea aktiboan zisteina bat dago. Zisteinek SH talde bat dute bere muturrean eta honek metilguaninaren metilo taldea bereganatu dezake, guanina inaktibo utziz.

(i) Timidina-dimeroen konponketa fotoaktibazio bidez **DNA fotoliasari** esker





(ii) O<sup>6</sup>-metilguanina-ren konponketa metiltransferasen bidez



## 2. PARTEA

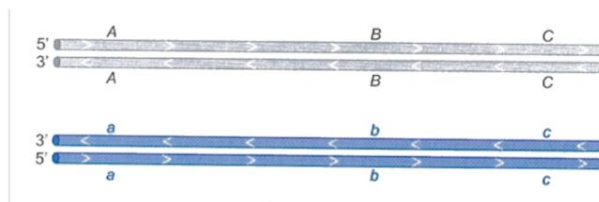
### 4. DNAREN BIRKONBINAZIOA

Gene-birkonbinazioa informazio genetikoen berrantolaketan gertatzen diren prozesuen multzoa da (DNA molekula berean eta DNA molekulen artean).

- Gene-birkonbinazio homologoa:** gene trukea sekuentzia bereko eremu zabal berdinak dituzten bi DNA molekulen artean (edo molekula bereko bi segmentuen artean), gertatzen da sekuentzia edozein delarik.

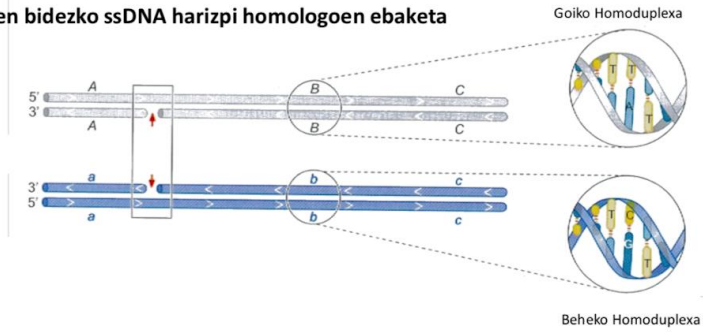
**Mekanismoa: Holliday eredu:**

- DNA homologoen lerrokamendua: Harizpiak oso antzekoak dira baina alelo desberdinak izan daitezke.

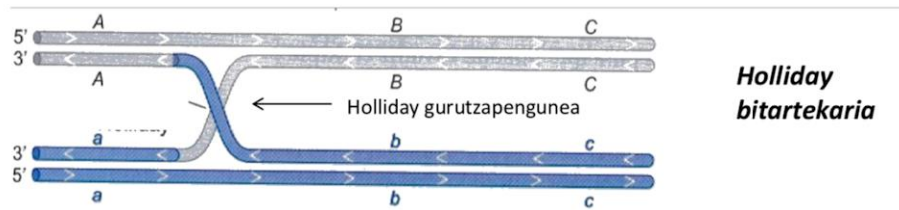


- Endonukleasen bidezko ssDNA harizpi homologoen ebaketa: nahiz eta bi DNA harizpiren nukleotidoak ez izan %100-an berdinak, elkartu egin daitezke 3'→5' eta 5'→3' rekin, bi harizpiak antiparaleloak izango dira. Nahiz eta mozketak endonukleasen bidez egin, ez dago zehaztuta ez ze endonukleasek egiten duten lana, ez zein sekuentzia ezagutzen duten, ez eta nola egiten duten ere.

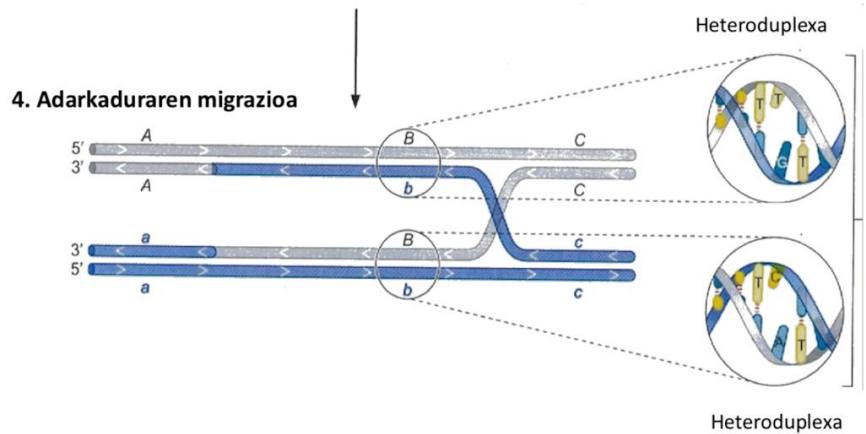
2. Endonukleasen bidezko ssDNA harizpi homologoen ebaketa



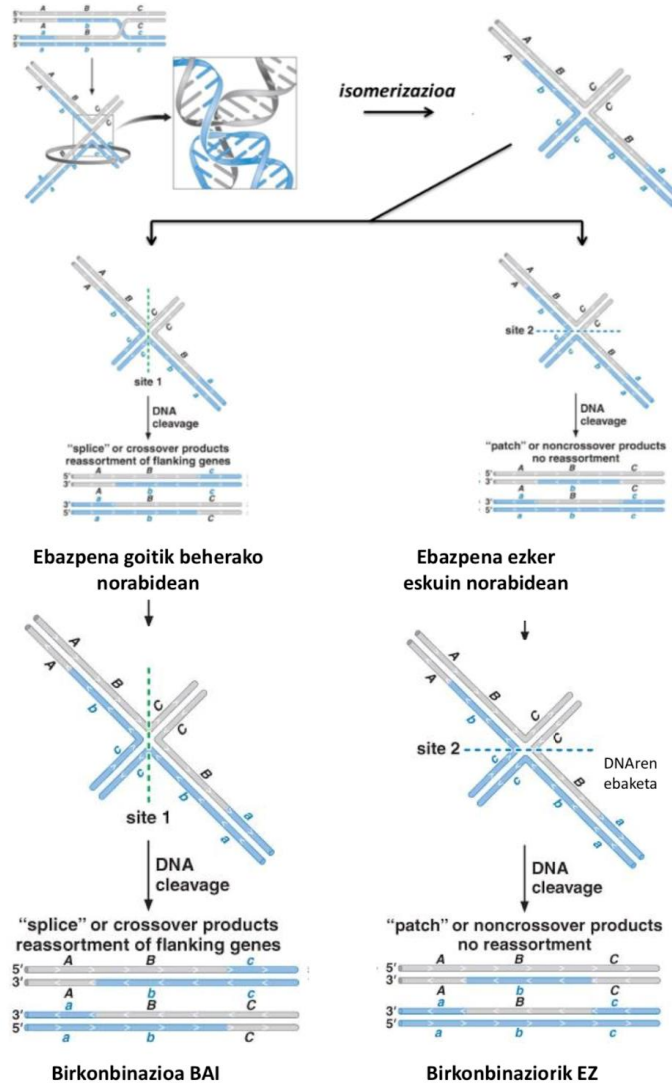
3. Harizpien inbasioa: printzipioz 5'-3' harizpi grisa eta 3'-5' harizpi urdina elkartu daitezke, homologoak baitira, sekuentzia aldetik oso-oso antzekoak dira. Behin mozketak gertatuta, harizpien inbasioa gertatuko da, bi harizpi hauek lotuko dira, eta **holliday gurutzapen gunea** sortuko da. Puntu honetatik aurrera adarkaduraren migrazioa gertatuko da.



4. Adarkaduraren migrazioa: elkartu egingo dira eta heteroduplexa sortuko da, 4 harizpitako DNA birkonbinatua. DNA harizpiak ez dira guztiz osagarriak izango, baina ez osagarritasun hori oso txikia denez, harizpiak elkartuta mantenduko dira.

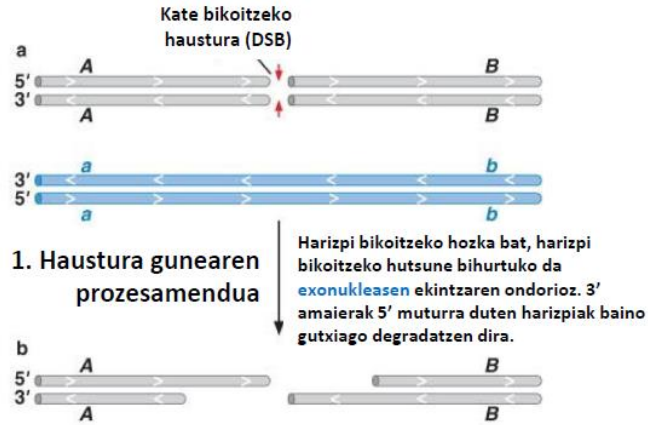


5. Holliday bitartekariaren ebazpena: bitartekariaren ebazpena isomerizatzean datza, molekula 180 graduko bira ematen du. Ebazpena goitik behera ematen bada (hau da, bertikalean), birkonbinazioa ere emango da; ebazpena, aldiz, ezkerretik eskubira gertatzen bada (hau da, horizontalean), ez da birkonbinaziorik emango. Irudiari erreparatuz, konturatuko gara ebazpen horizontalaren bidez lortzen dugun harizpi grisa eta urdina jatorrizko DNA-ren berdinak izango direla.



Holliday ereduaren funtzio nagusiak:

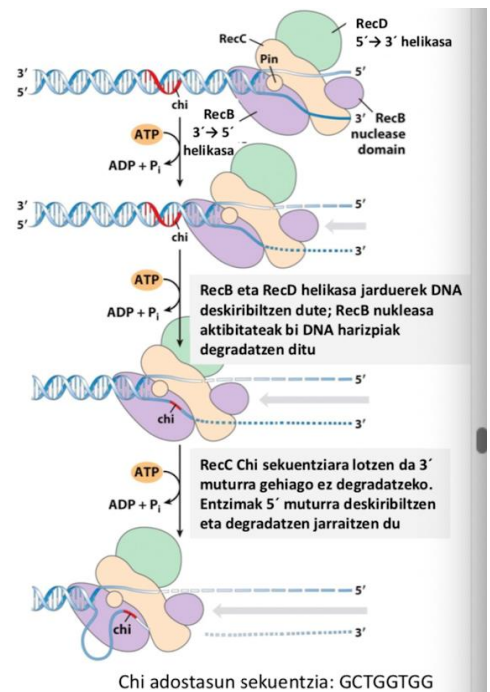
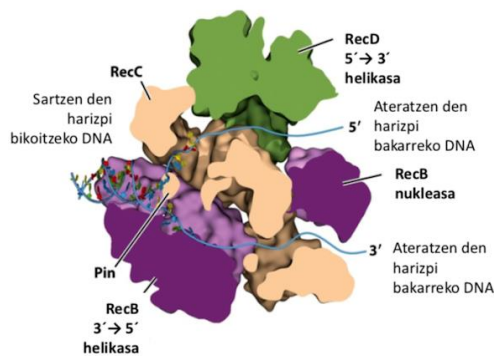
- DNA-n akats larriak konpontzea:
  - Kate bikoitzeko haustura (DSB) konponketa birkonbinazio homologo bidez: kate bikoitzeko (DSB) haustura horiek konpontzeko hozka prozesatzen da, hutsune batean bihurtuz. Exonukleasaren ekintzaren ondorioz, 3' amaierak, 5' muturra duten harizpiak baino gutxiago degradatzen dira.

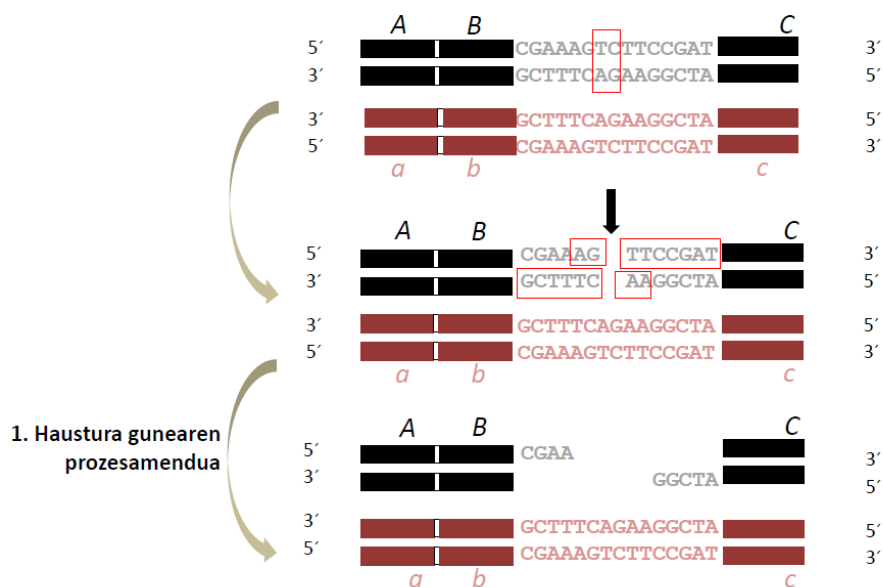


1. Haustura genearen prozesamendua:

RecBCD: nukleasa eta helikasa jarduerak ditu. RecB (3'-5' zentzuan mozten du katea) eta RecD (5'-3' zentzuan mozten du katea) helikasa jarduerak DNA deskribiltzen dute; RecB nukleasa aktibitateak bi DNA-k degradatzen ditu. Ondoren, RecC Chi sekuentziara lotzen da, 3' muturra gehiago degradatu ez dadin; eta entzimak 5' muturra gehiago deskribilkatzen eta degradatzen jarraituko dute.

*E.coli*ren RecBCD nukleasa/helikasa bidez

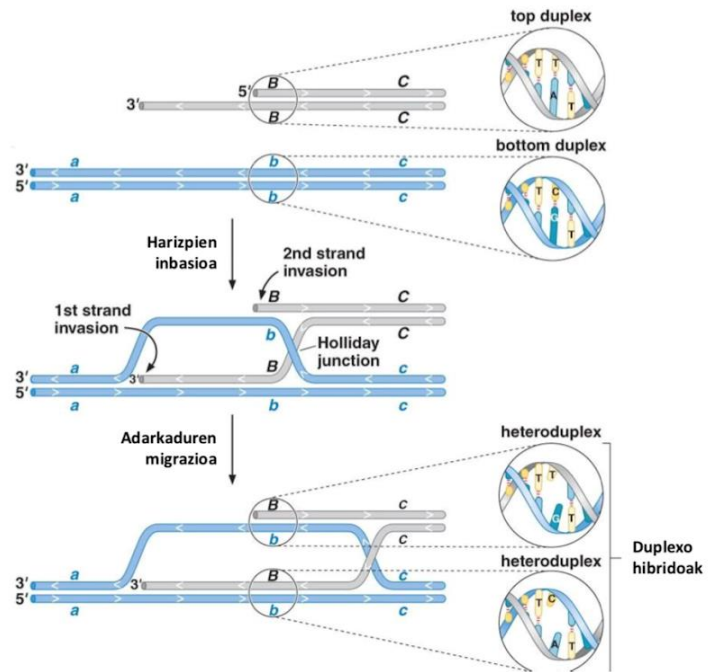




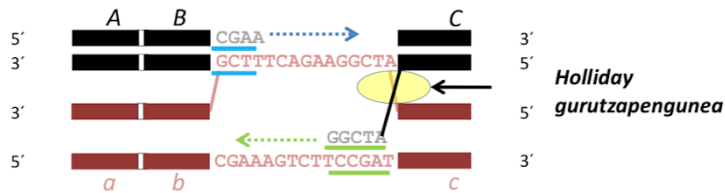
2. Harizpien inbasioa, DNA koskaren konponketa eta 4. Holliday bitartekarien sorrera :

3' mutur luze hori, bere homologoarekin lotuko da eta kontrako aldeko 3' muturrak gauza bera egingo du. Honela, DNA polimerasek molde modura erabiliko du kontrako aldeko sekuentzia, eta falta diren nukleotidoak betetzeko gai izango da. Hemen ere isomerizazio prozesua gertatzen da eta gero, bi modutara ebatzi daiteke. Batean birkonbinazioa emango da heteroduplexak sortuz; eta bestean, aldiz ez.

Sekuentziarekin adibidea: intakto dagoen DNA molekulak erabiliz, irudian urdinez eta berdez dauden hutsuneak bete daitezke.

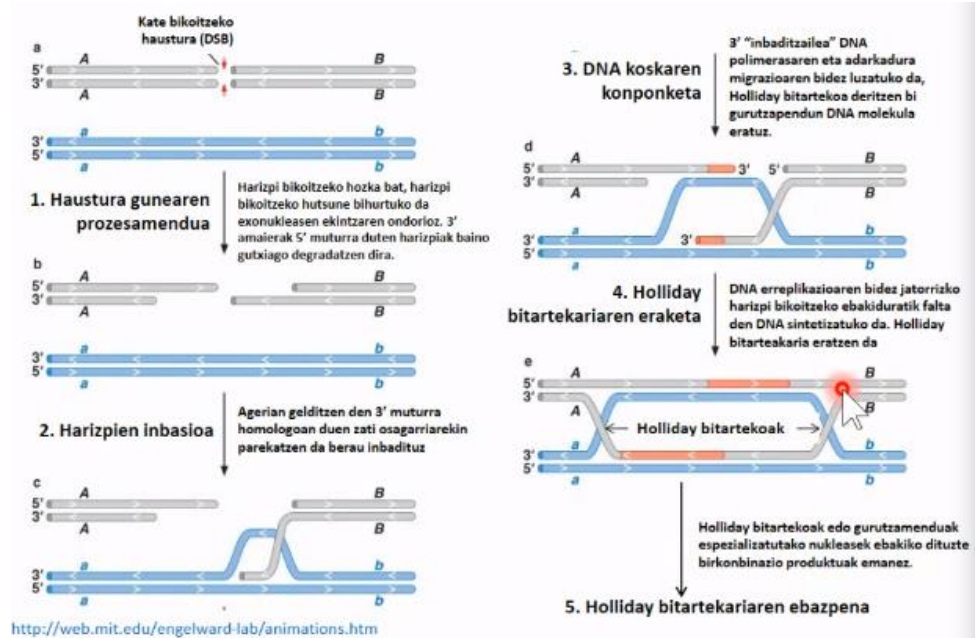


**i-2. Harizpien inbasioa**



Laburpena:

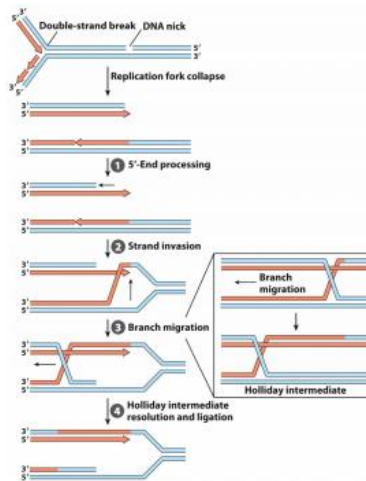
Erreplikazio urkilaren kolapsoaren konponketa birkonbinazio homologoaren bitartez: kate bikoitz batean haustura dagoenean beste kromosoma hartu beharko dugu aintzakotzat konponketa emateko. Homologoak izango direnez, elkartzeko aukera izango dute eta honela luzatzeko gai izango dira, antiparaleloak osagarriak direlako. Bietako batek molde gisa jardungo du bestea konpondu ahal izateko.



Prokarioto eta eukariotoetan, konponketa hau nahiko antzera gertatzen da, baina parte hartzen duten entzimak desberdinak izango dira.

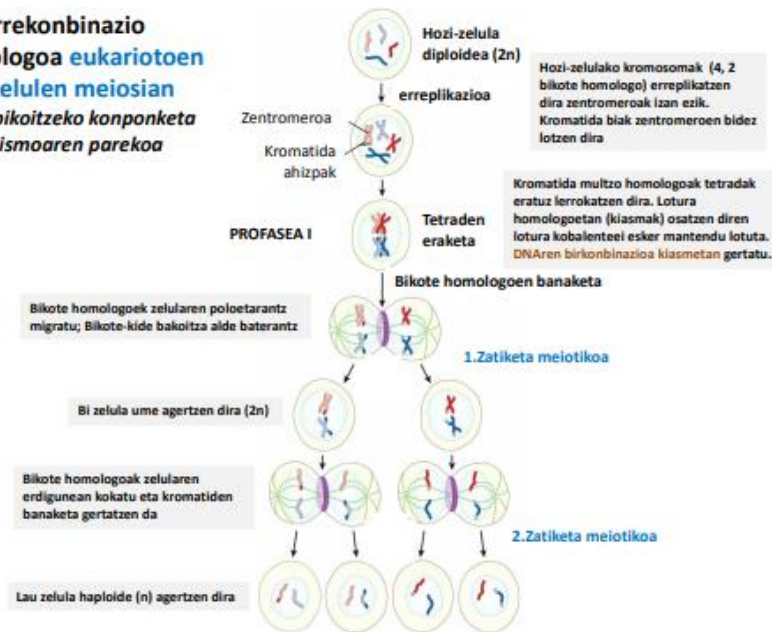
- Erreplikazio urkilaren kolapsoaren konponketa errekonbinazio homologo bidez:

**(ii) Erreplikazio urkilaren kolapsoaren konponketa errekonbinazio homologo bidez - Kate-bikoitzeko konponketa mekanismoaren parekoa**

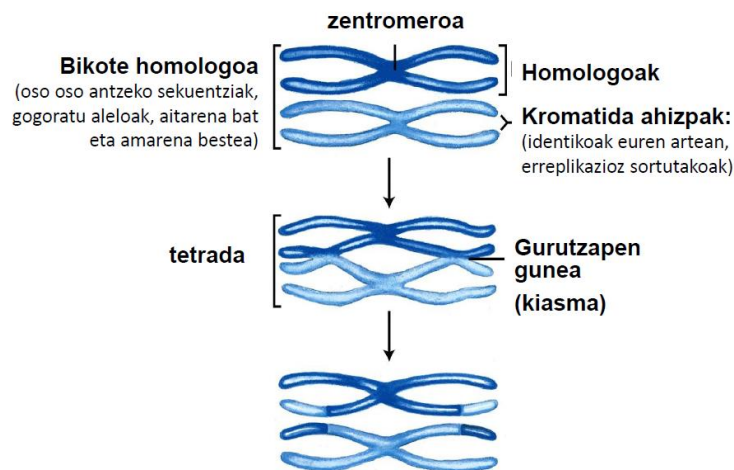


- Errekonbinazio homologoaren bidez aniztasun genetiko handitzen eta kromosomen banaketa egokia bermatzen da meiosi prozesuan.

**(iii) Errekonbinazio homologoa eukariotoen hazi zelulen meiosian -Kate-bikoitzeko konponketa mekanismoaren parekoa**



**Meiosiko I profasean geratzen den birkonbinaketa homologoa**



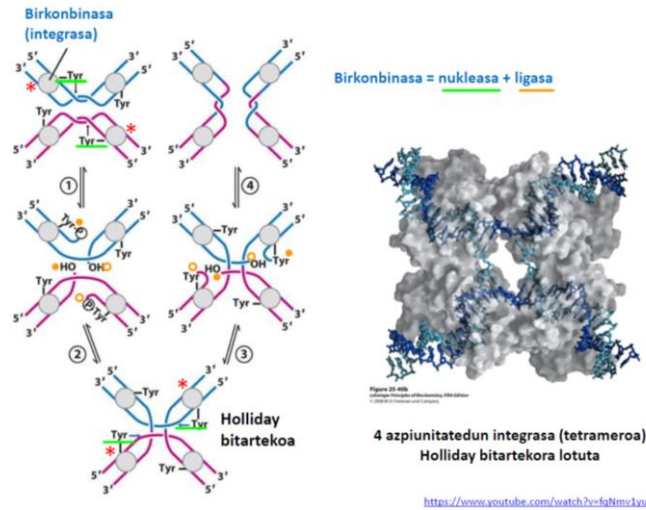
**2. Gune espezifikoko birkonbinazioa:** informazio trukea DNAREN sekuentzia jakin batzuetan gertatzen da soilik. Birkonbinazio mota hau zelula guztietan gerta daiteke baina sekuentzia berezietara mugatzen da. Birkonbinasa edo integrasa deitzen diren entzimek katalizatzen dituzte. Birkonbinasa edo integrasek endonukleasa jarduera dute; eta bi motatakoak izan daitezke: gune aktiboan Tyr edo gune aktiboan Ser dutenak.

Gune espezifikoaren birkonbinazioak funtzio ugari eta aldakorak ditu:

- Zenbait geneen espresioaren erregulazioa
- Geneen berrantolaketa: antigorputzen espezifitate erreperitorioa lortzeko.
- Birus (fago λ eta HIV ) eta plasmidoen berrantolaketa.



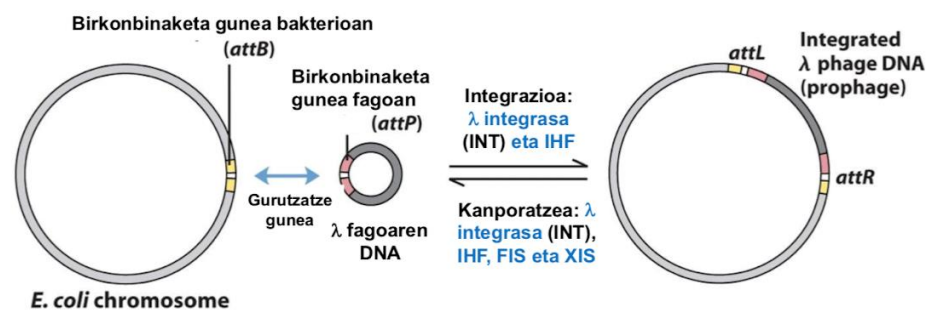
1. Adibidea:



Tirosina birkonbinasa batek parte hartzen du. DNA molekula bakoitzeko harizpi bat moztu egingo da endonukleasa jarduerari esker. Birkonbinasak egingo du hau. Ondoren, birkonbinasak duen ligasa jarduerari esker, puntu naranjak eta txuriak lotzen dira. Hori Holliday bitartekoa izango da, orain, intakto dauden bi harizpiak moztu eta beste DNA molekulako harizpiarekin elkartuko da. Horrela, jatorrizko DNA-rekiko desberdinak diren bi molekula berri sortuko dira.

2. Adibidea:

- XIS: fagoren ebaketarako proteina
- FIS: bakterioaren ebaketarako proteina
- IHF: Integration host factor (bakterioaren integrazioarako faktorea)



Lambda fagoaren integrazioa E.colin:

Bi sekuentzia berezi dituzte, bakoitzak bat. Bi sekuentzia horiek desberdinak dira DNA-n eta bi sekuentzia hauen artean birkonbinazioa gertatuko da, beti noranzko berdinean. Fagoaren DNA bakterioaren DNA-n txertatzea lortuko da mekanismo baten ondorioz, baina prozesu hau itzulgarria izaten da.

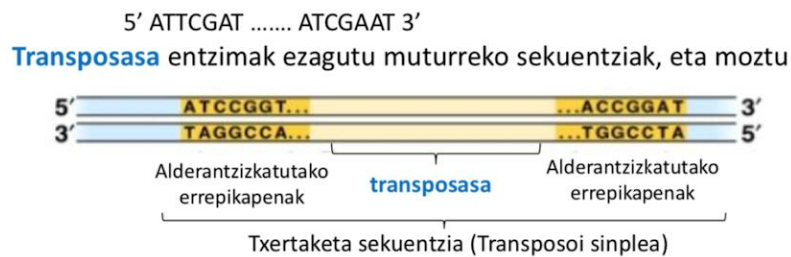
3. DNAREN TRANSPOSIZIOA (bakterioetan aztertu da gehien bat): DNA zati bat kromosomaren leku batetik bestera mugitzeko ahalmena duenean gertatzen da. DNA segmentuen mugimendua zorizkoa da, DNA segmentua kromosoma beren mugitu

daiteke alde batetik bestera mugitu daiteke edo kromosoma batetik bestera. Oraingoz ez da patroik ikusi eta beraz zorizkoa dela esaten da. DNA segmentuak mugitzeak aldaketa ugari dakartza, **ez da oso komuna** zatitzen diren milioi bat zelulako transposizio bakarra gertatza, hau da, transposizio prozesua ez da oso maiz gertatzen. Transposoi asko daude baina orokorrean ez dira transposatzen. 2 motatakoak daude (bakterioetan).

Elementu transposagarri edo gene saltakari motak:

- **Transposoi sinpleak edo txertaketa sekuentziak:**

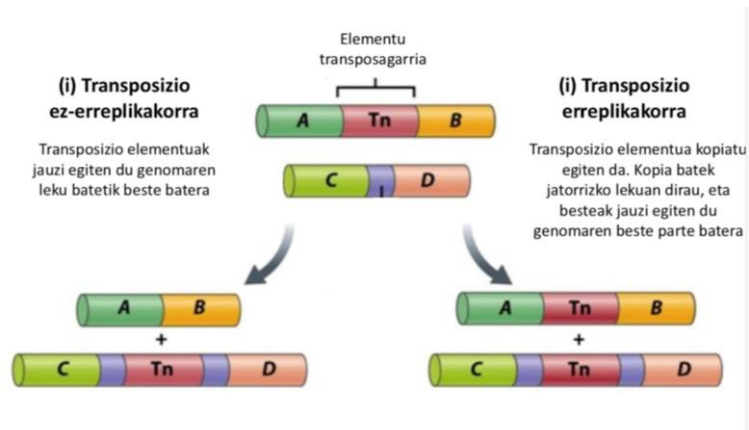
500-1500 bp inguru izaten dituzte, muturretan alderantzizkatutako sekuentzia errepikatuak dituzte, eta erdian gene bat, transposasa egongo da. Transposasa entzimak ezagutuko ditu muturreko sekuentziak eta moztu egingo ditu, nahi duten lekura mugitzea ahalbidetuz.



- **Transposoi konplexuak (Tn):** transposoi konplexuak (Tn), sinpleak (IS) baino konplexuagoak dira, eta transposasa geneaz gain, beste genea batzuk daramatzate (antibiotikoekiko erresistentzia kodetzen dituzten geneak, metabolisoko geneak...)

Mekanismoaren arabera, bi transposizio mota daude:

1. **Transposizio ez-erreplikakorra:** elementu transposagarriak genomaren leku batetik bestera egiten du jauzi.
2. **Transposizio erreplikakorra:** transposoia=elementu transposagarriak bere burua kopiatzen du. Kopia batek jatorrizko lekuan dirau, eta beste kopia jauzi egiten du genomaren beste leku batera.



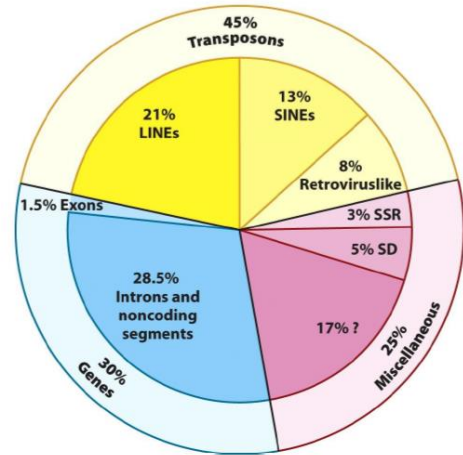
Elementu transposagarri asko daude baina ez dakigu zergatik dauden

hainbeste. Geroz eta genoma luzeago, orduan eta elementu transposagarri gehiago egongo dira.

Genomaren tamaina eta TE kantitatearen arteko erlazioa

		Genomaren tamaina (pg)	% TE
<i>Rana esculenta</i>	Igela	5,6-8	77
<i>Zea mays</i>	Artua	5	60
<i>Homo sapiens</i>	Gizakia	3,5	45
<i>Mus musculus</i>	Sagua	3,4	40
<i>Drosophila melanogaster</i>	Eulia	0,18	15-22
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Zizarea	0,1	12
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Legamia	0,012	3-5
<i>Escherichia coli</i>	Bakteria	0,0046	0,3

Giza genomaren antolamendua



LINEs, Long interspersed nuclear elements;  
SINEs, Short interspersed nuclear elements

## 5. Polimorfismoak

Polimorfismoa populazio bateko banakoen artean, DNA-ren leku jakin batean (**locus**) dagoen **sekuentzia aldaera** da, baina aldaera hau populazioaren > %1-an agertu behar da. Aldaeraren maiztasuna <%1 bada, mutazioa da, eta ez polimorfismoa.

Sekuentzia polimorfiko bakoitzak hainbat aldaera edo alelo ditu:

- Alelo bakoitzak maiztasun jakin bat dauka.
- Gu diploideak izanik, locus bakoitzeko bi alelo ditugu; eta bi aleloak berdinak badira homozigotoa da, eta desberdinak badira heterozigotoak.

Polimorfismoak sekuentzia kodetzailetan edo ez kodetzailetan ager daitezke. Polimorfismoek fenotipoan eragina izan dezakete (patogenikoa edo ez patogenikoa) edo ez.

Hurrengo taulan agertzen dira **polimorfismo motak**, baina RFLP-a sailkapen honetatik kanpo utziko dugu, izan ere polimorfismoak detektatzeko **teknika** bat da eta ez mota bat.

Mota	Esanahia	Ezaugarria	Zertan datza polimorfismoa	Adb
<b>RFLP</b>	Restriction fragment length polymorphism	GO1en landuko dugu		
<b>VNTR</b>	Variable number tandem repeats	Errepikatzen den sekuentzia 8-50 bp	Errepikapen kopuruan	DRD4 genean 48 bp.ko 2-11 errepikapen (2, 4, 7 errepikapen komunenak)
<b>STR edo SSR</b>	Short tandem repeats edo short sequence repeat	Errepikatzen den sekuentzia 1-8 bp		GL-ko Th01 locus.a, ez kodetzailea (TCAT errepikatzen kopurua)
<b>SNP</b>	Single nucleotide polymorphism	Polimorfismo ugariak (1/300 nt)	Nukleotido bakar baten aldaketa	

Mota	Esanahia	Irudikapen grafikoa
<b>RFLP</b>	Restriction fragment length polymorphism	
<b>VNTR</b>	Variable number tandem repeats	
<b>STR edo SSR</b>	Short tandem repeats edo short sequence repeat	
<b>SNP</b>	Single nucleotide polymorphism	<pre> AAGTGGACGCTCGA                     TTCACCTGCGAGCT  AAGTGGAAAGCTCGA                     TTCACCTTCGAGCT                     </pre>

RFLP an endonukleasen bitartez mozten da beti DNA. Mozketaren ondorioz sortutako DNA fragmentuak desberdinak direnez, abiadura desberdinarekin, modu desberdinean migratuko dute elektroforesian.

Adibidez: ABO odol-sistema

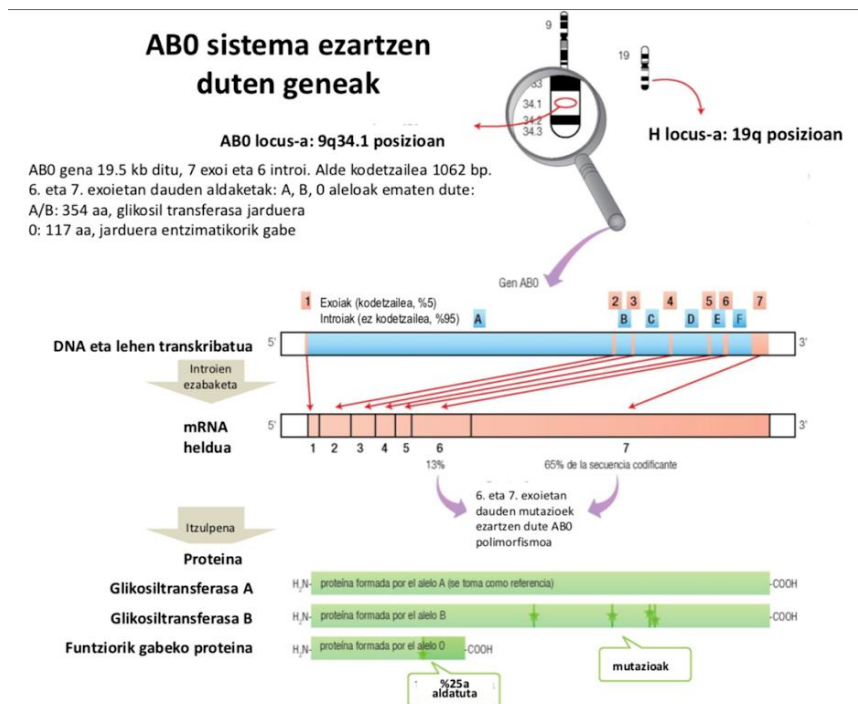
<b>Mota genotipoa</b>	A taldea AA/AO	B taldea BB/BO	AB taldea AB	O taldea OO	<b>Zelula gainazaleko glikosilazio patroia ezberdina</b>
<b>Odol zelula</b>					
<b>Antigorputza</b>			Bat ez		
<b>Antigenoa</b>				Bat ez	

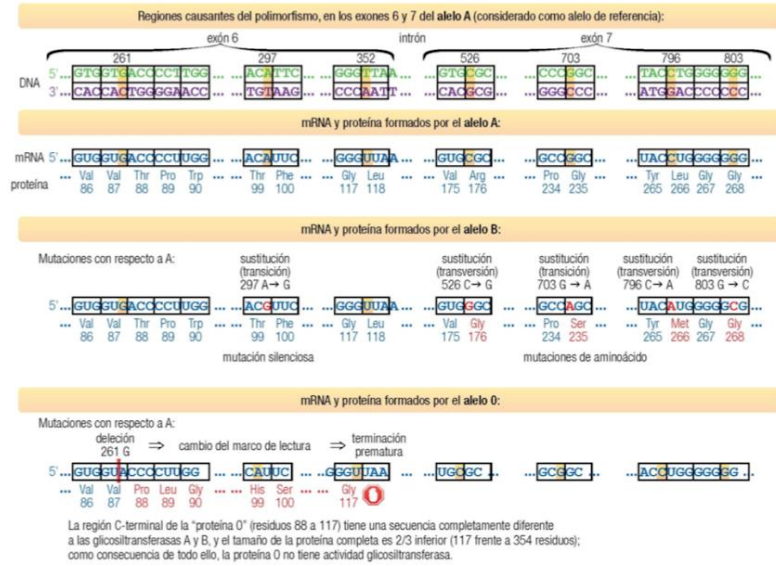
  

<b>Bateragarritasuna</b>	<b>HARTZAILEA</b>		<b>A TALDEA</b>	<b>B TALDEA</b>	<b>AB TALDEA</b>	<b>O TALDEA</b>
			anti-B	anti-A	bat ere	anti-A anti-B
	<b>A TALDEA</b>	A antigenoa	+	-	+	-
	<b>B TALDEA</b>	B antigenoa	-	+	+	-
	<b>AB TALDEA</b>	A, B antigenoak	-	-	+	-
<b>O TALDEA</b>	Bat ere	+	+	+	+	

Hau polimorfismo mota bat da. O alelo azpirakorra da, eta A eta B alelo dominanteak.

A, B eta O dutenek, entzima desberdinak ekoitziko dituzte: A glikosilasa, B glikosilasa hurrenez-hurren, eta O dutenen kasuan ez dute entzimarik ekoiztuko. A odol motakoa glikosiltransferasak katalizatzen du, eta hau erabiltzen da molde moduan beste bi polimorfismoak azaltzeko (hau mutazio gabekoa). B odolean 4 mutazio egon behar dira, honela glikosiltransferasa B-k katalizatuko du. O odolak 6. exoiean mutazio bat izango du eta funtziorik gabeko proteina bat sortzen da, mutazioaren ondorioz stop kodoi bat agertu eta transkripzioa bertan behera geldituko delako.





Denok daukagu H antigenoa. A aleloa dutenek, H antigenoari N azetil-galaktosamina gehituko diote, eta zeluletako mintzean azukre hau gailenduko da. B aleloa dutenek H antigenoari N azetil-glukosamina gehituko diote, eta hau gailenduko da zeluletako mintzean. O aleloa dutenek aldiz ez diote H antigenoari ezer gehituko eta ondorioz, zeluletan gailenduko den azukrea H antigenoak duena izango da.

Polimorfismoek eragiten dituzte odol mota desberdinak.

