

Nævn alle klasserne
af enzymer

Definer hydrolase

Definer nuklease

Definer protease

Definer synthase

Definer isomerase

Definer polymerase

Definer kinase

Definer
phosphotase

Nedbryder nukleinsyrer ved at hydrolysere bindinger mellem nukleotiderne.

Enzymer der katalyserer hydrolytiske kløvningsreaktioner.

- Hydrolase
- Nuklease
- Protease
- Synthase
- Isomerase
- Polymerase
- Kinase
- Phosphotase
- Oxidoreduktase
- ATP-ase

Katalyserer omorganiseringen af bindinger inden for et enkelt molekyle.

Enzymer der syntetiserer molekyler i anaboliske reaktioner - ved at kondensere 2 molekyler.

Nedbryder proteiner vha. hydrolysering af peptidbindingerne mellem aminosyrerne.

Det modsatte af en kinase - fjerner fosfatgrupper fra et molekyle ved hydrolysering.

Katalyserer addition af en fosfatgruppe til et molekyle.

Katalyserer polymerisationsreaktioner f.eks. syntese af DNA og RNA.

Definer
oxidoreduktase

Definer ATP-ase

Definer Gibb's fri
energi
(formel)

Definer ændringen
i fri energi
(ΔG)

Hvad betyder det
for reaktionen, hvis
 ΔG er negativ?

Hvad betyder det
for reaktionen, hvis
 ΔG er positiv?

Hvad betyder det
for reaktionen, hvis
 $\Delta G = 0$?

Hvordan udregner
man ΔG ?
(formel - hvad
betyder x og y?)

Hvad er formlerne
for ΔG^0 ?

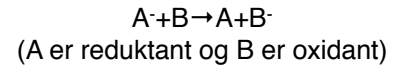
$$G = H - T \cdot S$$

(H = entalpi, T = temperatur i kelvin og S = entropi)

Hydrolyserer ATP. Proteiner kan have egen ATP-ase funktion som del af deres funktioner - f.eks. motorproteiner som myosin og membrantransportproteiner som Na/K-pumpen.

Generelt navn for enzymer, der katalyserer reaktioner, hvor et molekyle er oxideret, mens et andet er reduceret (oxidase, reduktase og dehydrogenase).

Kan også udtrykkes som et enzym, der katalyserer overførslen af elektroner fra et molekyle til et andet - fra reaktanten til oxidanten (eller elektronacceptoren).



$$\Delta G > 0$$

Reaktionen er ikke energifavorabel og kan ikke forløbe spontant - kræver en kobling.

$$\Delta G < 0$$

Reaktionen er energifavorabel og kan forløbe spontant.

$$\Delta G = G_{\text{produkt}} - G_{\text{reaktant}}$$

$$\Delta G^0 = -R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[x]}{[y]}\right)$$
$$\Delta G^0 = -0,616 \text{ kCal/mol} \cdot \ln(K_{\text{eq}})$$
$$\Delta G^0 = -1,42 \cdot \log(K_{\text{eq}})$$

x er produktet og y er reaktanten
 K_{eq} er ligevægtskonstanten

$$\Delta G = \Delta G_0 + R \cdot T \cdot \ln\left(\frac{[x]}{[y]}\right)$$

x er produktet og y er reaktanten

$$\Delta G = 0$$

Reaktionen er i ligevægt.

Hvad er allosterisk regulering af enzymaktivitet?

Nævn de 4 typer af enzymregulering.

Definer et nukleosid.

Definer K_m .

Opskriv Michaelis-Menten ligningen

Nævn alle typer hæmning af enzymer.

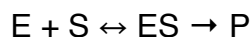
Definer enzymets aktive site.

Hvordan opstilles Michaelis-Menten modellen?

(sammenhængen mellem enzym, substrat, enzymsubstrat og produkt)

Definer V_{max} .

V_{max} er den maksimale hastighed, som en reaktion kan forløbe med.



E = enzym
S = substrat
ES = enzymsubstrat
P = produkt

Den del af enzymet, som substratet binder sig til.

Molekylernes termiske/tilfældige bevægelser sørger for at substrat og enzym mødes.

Passer de sammen, forbliver de sammen og reaktion kan ske.

Enzymbinding sker med meget høj specificitet - kun én slags enzym passer til én slags substrat.

- Irreversibel (uigenkaldelig hæmning)
- Reversibel (genkaldelig)
- Kompetitiv (binding til frit enzym)
- Ukompetitiv (binding til enzymsubstrat kompleks)
- Non-kompetitiv (binding til begge - E og ES)

$$V_0 = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Michaelis-Menten konstanten:

Den substratkoncentration, hvor enzymet arbejder på halvdelen af den maksimale hastighed.

$$K_m = (k_2 + k_1)/k_1$$

↓

$$K_m \approx [E] + [S] / [ES]$$

Et nukleosid er en base (purin eller pyrimidin), som er bundet til et ribose eller deoxyribose sukker.

1. Allosterisk regulering
2. Negativ feedback
3. Positiv feedback
4. Fosforylering/defosforylering

Konformationel ændring af et enzym, der ændrer enzymets aktivitet ved at små molekyler binder sig til enzymet og hæmmer aktiverer enzymet.

Definer et nukleotid.

Definer negativ feedback.

Definer positiv feedback.

Definer fosforylering/
defosforylering.

Definer DNA helix.

Definer Watson-Crick baseparring.

Definer base stacking.

Hvad betyder polaritet og antiparallelitet for opbygningen af nukleinsyrer?

Hvorfor pakkes DNA?
(gælder også kromosompakning)

Et enzyms aktivitet katalyseres af produktet, så der bliver produceret endnu mere produkt.

Et enzyms aktivitet hæmmes, når en vis mængde af produktet er tilstede, da et tidligere trin i reaktionsforløbet bremses.

Når produktkoncentrationen igen er faldet under en bestemt værdi, stopper hæmningen, og produktionen begynder igen.

Et nukleotid er en nukleosid med en eller flere fosfatgrupper.

Watson-Crick baseparring går ud på, at puriner og pyrimidiner binder sig til hinanden (A-T, G-C).

A-T binder til hinden med 2 hydrogenbindinger.

G-C binder med 3 hydrogenbindinger.

DNA er en polymer af nukleotider.

Den typiske opbygning af et DNA-molekyle, hvor 2 strenge er snoet om hinanden med baseparring mellem strengene.

Strengene udgør DNA backbone'et, som består af sukker og fosfat sat sammen skiftevis.

ATP omdannes til ADP, og den afgivne energi bruges til at aktivere et molekyle - altså bindes en fosfatgruppe til et organisk molekyle.

Defosforylering er den modsatte reaktion - en fosfatgruppe fjernes fra et organisk molekyle.

DNA'et og kromosomerne pakkes for, at DNA-dobbelthelix'er kan være inde i cellekernerne.

Alle naturlige DNA (og RNA) strenge syntetiseres fra 5'-enden mod 3'-enden.

Dobbelstrenget DNA er opbygget, så de 2 strenge har 5'-enden i hver sin ende - hermed opstår antiparalleliteten.

Baserne i DNA backbone'et, som er plane ligger parallelt oven over og nedenunder hinanden op gennem DNA-helix'en, hvilket er med til at give stabilitet.

Hvad sørger for at DNA bliver pakket og hvordan "bindes" DNA'et?

Hvad giver histon-oktamererne og non-histon-proteinerne deres positive ladning?

Hvad består kromatin af?

Hvad hedder de forskellige typer kromatin?

Hvordan er eukromatin pakket, og hvad betyder det for transkriptionen af kromatinet?

Hvordan er heterokromatin pakket, og hvad betyder det for transkriptionen af kromatinet?

Hvad er et kromosom?

Beskriv kromatinstrukturen og funktion(er/er) af strukturen.

Definer begrebet gener.

Kromatin består af DNA, histoner og non-histoner.

Lysin og Arginin giver den positive ladning.

DNA'et snoes om Histon-oktamerer og non-histon-proteiner (stabilisatorer), så det ligner perler på en snor.

Heterokromatin er tæt pakket og er transkriptionelt inaktivt.

Eukromatin er løst pakket og er transkriptionelt aktivt.

Eukromatin (lyst)
Heterokromatin (mørkt)

Et gen er et område af DNA, der kontrollerer en bestemt arvelig egenskab hos en organisme.

Normalt korresponderer det til et enkelt protein eller RNA-molekyle.

Kromatinstrukturen er dynamisk. den kan midlertidigt forandre sin struktur ved at bruge kromatin-remodellerings-komplekser og enzymer, der modificerer histonhalen. Dvs. cellen er sikker på at proteiner, der er involveret i genekspression, replikation og reparation har adgang til de nødvendige DNA-sekvenser.

Altså ATP-afhængige kromatin-modulerende komplekser og andre kromatin komplekser (bl.a. HAT og HDAC) ændrer kromatin-tilgængeligheden og bestemmer om et specifikt område kan blive udtrykt, kopieret, el.lign.

Et kromosom er en lang trådlignende struktur opbygget af DNA og tilhørende proteiner, som indeholder en del eller al den genetiske information til en organisme.

Beskriv i trin DNA-replikationsprocessen.

Hvilken funktion har replication origins?

Hvad betyder det at replikationen af DNA er semikonservativ?

Hvad sker der ved syntetiseringen af lagging strand?

Definer DNA-polymerase og funktion.

Hvad er proofreading, og hvor ofte sker der fejl i DNA-replikationen?

Hvordan foregår DNA-repair?
(Beskriv i trin)

Hvornår sker homolog rekombination, og hvordan foregår den?

Hvilke faser gennemgår cellecyklussen?

Det vil sige, at hver af de to nye datter DNA-dobbelthelixer indeholder en gammel streng og en nysyntetiseret streng.

Replikationen starter på såkaldte "replication origins".

Der opstår en replikationsgaffel som er asymmetrisk, idet den ene streng (leading strand) syntetiseres kontinuert og den anden (lagging strand) syntetiseres i mindre stykker (Okazaki fragmenter).

Dette skyldes, at DNA polymerase læser DNA' baseparrene i 3' mod 5' og dermed syntetiserer DNA'et fra 5' mod 3' retning.

1. Helicase lyner DNA dobbelthelixer op - der dannes et "Replication Origin".
2. Single-strandet DNA-binding proteiner sørger for at dobbelthelixer ikke gendannes før strengen syntetiseres.
3. Leading strand bliver kontinuert syntetiseret af DNA-polymerase-3
4. Lagging strand syntetiseres i stykker af Okazaki-fragmenter
 - I. RNA-primase laver RNA-primere, der danner midlertidige baseparringer med DNA'ets lagging strand.
 - II. DNA-polymerase-3 finder en RNA-primer og syntetiserer det manglende DNA mellem primererne.
 - III. DNA-polymerase-1 fjerner RNA-primere og erstatter dem med DNA.
 - IV. DNA-ligase kæder Okazaki-fragmenterne sammen.
5. Der er nu dannet 2 DNA-dobbelthelixer.

Den lave fejlsekvens skyldes at DNA polymerasen har "proofreading" altså check af den indsatte nukleinsyre.

Findes en fejl, skæres den fri og der indsættes en ny. Dette kaldes en "3'-5'exonuclease" aktivitet.

DNA replikationen skal være nøjagtig, så der ikke kommer mutationer.

DNA polymerasen laver kun ca. 1 fejl ("forkert" basepar) per 10.000.000 basepar.

En DNA-polymerase er et enzym, der gennemfører replikation af DNA.

Polymerasen katalyserer polymerisering af frie deoxynukleotider til en DNA-kæde.

DNA polymerase kræver en magnesiumion for at fungere, og anses derfor for et holoenzym. Uden magnesiumionen er det et apoenzym.

Alle kendte DNA polymeraser kræver en såkaldt primer for at kunne starte replikation af DNA. Typisk dannes denne primer af enzymet primase.

Lagging strand kan ikke replikeres helt ud til enden da DNA-polymerasen skal have noget at starte på (og ikke kan køre baglæns).

Konsekvensen er at der mistes lidt sekvens ved hver replikation - med mindre der sættes nye stykker på.

Telomerase kan addere repetitive sekvenser (telomere) til enden, så der kan påsættes endnu en RNA primer. Sekvenserne signalerer også at dette er en rigtig kromosomende og ikke knækket DNA.

1. G₁
2. S
3. G₂
4. M
5. G₀

Sker under meiosen for at blande arvematerialet og sikre, at der hele tiden opstår nye kombinationer – det er altså ikke en reparation.

Under mitosen sker det for at reparere forskellige kromosomfejl og skader.

Sker ved at to homologe DNA områder lines op, begge strenge brydes, de afsnørede dele bytter plads og sættes fast på den anden streng.

Et DNA mismatch repairsystem reparerer de få fejl, som polymerasen laver:

1. Fjernelse af skadet DNA vha. forskellige nukleaser.
2. DNA repair polymeraser syntetiserer nyt DNA og fylder dermed hullet ud.
3. DNA ligasen ligger sukker/fosfat-backbonen sammen igen.

Der findes andre repair systemer i cellen.

Det er vigtigt at bevare genomets DNA uden fejl, så genomet ikke ændres og der sker mutationer, hvilket kan nedarves og skade organismen.

Beskriv G₁ fasen

Beskriv S fasen

Beskriv G₂ fasen

Beskriv M fasen

Beskriv G₀ fasen

Hvad er
cellecyklus kontrol?

Nævn de 4 Cdk-
komplekser.

Hvad er S-Cdk's
funktion?

Hvad er M-Cdk's
funktion?

Cellen gror og producerer de ting, den skal bruge til mitosen.

Sidst i G₂ fasen er der endnu et checkpoint, hvor der sikres, at al cellens DNA er replikeret, og at det stadig er intakt.

Cellen undergår DNA replikation (S står for syntese).

Cellen vokser og forbereder sig på at duplikere sig (G står for gap).

Sidst i G₁ fasen skal cellen passere et checkpoint for at kontrollere, at DNA'et er intakt og miljøet er favorabelt til at fortsætte ind i S fasen.

Der er tre checkpoints i cellecyklus, som bestemmer, om processen skal fortsætte.

Alle checkpoints er styret af cyklin/kinase komplekser. Aktiviteten af disse komplekser bestemmer, om processen skal fortsætte eller ej.

Forskellige cyklin-Cdk par trigger forskellige trin i cellecyklus.

Cykliner er ikke enzymer. De aktiverer forskellige nøgleproteiner, fx har mitosen cytokinase som nøgleprotein.

Cdk står for cyklin-dependent proteinkinase.

Cdk's aktivitet er styret af fosforylering og defosforylering.

Hvilefase – sidespor fra G₁ fasen. Cellen hviler sig – der er ingen udvikling.

Herfra kan cellen igen gå ind i cyklus og fortsætte den, eller den kan blive i G₀ resten af sin levetid.

Cellen undergår mitose og cytokinese (M står for mitose).

M-Cdk styrer overgangen G₂ til M-fasen og starter dermed mitosen.

S-Cdk styrer overgangen fra G₁ til S-fasen og starter DNA replikationen og sørger for, at samme stykke DNA ikke bliver replikeret flere gange.

1. S-Cdk
2. M-Cdk
3. G₁/S-Cdk
4. G₁-Cdk

Hvad er G₁S-Cdk's funktion?

Hvad er G₁-Cdk's funktion?

Hvad styrer helt præcist div. trin i cellecyklusen?

Hvad er vigtigt for at en celle undergår proliferation?

Hvornår vil celler proliferere?

Hvad sker der, hvis en celle ikke bliver stimuleret (modtager cellesignaler)?

Hvad gør kroppen for at modvirke ændringer i antallet af celler?

Hvordan styres apoptose?

Hvordan proliferere cancerceller?

Egentlig er det ikke Cdk alene, men cyklin-Cdk komplekser, der styrer trinene i cellecyklus.

Komplekserne virker ved, at Cdk, som vi har i en konstant mængde i kroppen hele tiden, bliver bundet sammen med cyklin, som bliver nedbrudt efter brug.

Sammen virker dette kompleks på cellecyklus.

Aktivering af komplekset afhænger altså af, at cyklin binder sig til Cdk.

Inaktivering af komplekset afhænger af nedbrydningen af cyklin.

G1-Cdk fører cellen gennem G1-fasen.

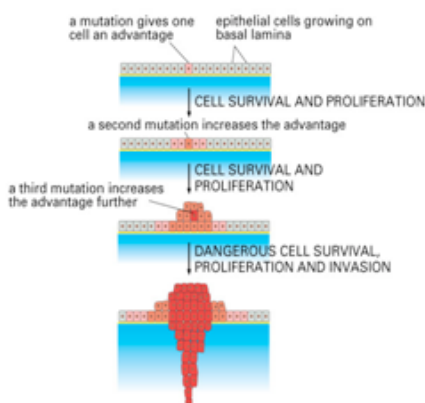
G1/S-Cdk fører cellen gennem S-fasen.

Modtager cellen ingen signaler, vil cellecyklus gå i stå i G₁ fasen, og cellen vil træde ind i G₀ fasen og blive der, til den får en stimulering.

Celler vil kun proliferere, hvis de bliver stimuleret til det af andre celler.

Cellesignalering er vigtig for proliferation.

Cancerceller trodser de normale "sociale" kontroller for cellers opførsel, og derfor gror, deler og overlever de langt bedre end normale celler.



Apoptose styres af en række proteaser (kløvende enzymer) kaldet caspaser.

Caspaserne er oprindeligt lavet som inaktive procaspaser, som selv bliver aktiveret ved kløvning vha. et andet medlem af denne proteasefamilie.

En enkelt af disse aktiverede caspaser kan derefter aktivere flere andre.

Derved opstår der en stor mængde aktive caspaser som i en kædereaktion (positiv feedback).

Nogle af disse aktiverede caspaser kløver andre proteiner fx dem, som danner den nukleære lamina. Denne kløvning er irreversibel (kan ikke fortrydes).

Antallet af celler holdes hele tiden meget konstant.

Sker en ændring i antallet af celler, vil intracellulære programmer og ekstracellulære signaler begynde at regulere og genoprette antallet.

Dette gøres ved enten at aktivere/hæmme mitotiske delinger eller aktivere/hæmme apoptose.

Hvilken funktion har RNA-polymerase?

Hvad er forskellen på RNA-polymerase i prokaryoter og eukaryoter?

Hvilken funktion har RNA-polymerase-I?

Hvad forbruger RNA-polymeraser under syntetiseringen?

Hvilken funktion har RNA-polymerase-II?

Hvilken funktion har RNA-polymerase-III?

Hvordan reguleres transkriptionen af ribosomalt RNA (rRNA) - *undtaget 5S-rRNA*?

Inddel RNA-polymerase-I's transskriptionscyklus i 3 trin.

Hvad sker der i initialisationen af RNA-pol.-I?

Også kendt som POL-I

RNA-polymerase-I transkriberer alt ribosomalt RNA (rRNA), undtaget 5S-rRNA.

Prokaryoter har kun en RNA polymerase.

Eukaryoter har 3 forskellige RNA polymeraser:
RNA-polymerase I, II og III.

RNA polymerase katalyserer transkriptionen af DNA til RNA.

RNA polymerase syntetiserer kun i 5' til 3' retning.

Også kendt som POL-III.

RNA-polymerase-III syntetiserer 5S-rRNA og tRNA.

Også kendt som RNAP-II og POL-II.

Katalyserer transkriptionen af DNA til mRNA, microRNA, snRNA og siRNA.

RNA polymerasen bruger ATP, GTP, CTP og UTP.

Den har ribose som sukker og er enkeltstrenget (men kan folde op i en dobbeltstrenget struktur).

Den bruger baserne Adenin, Guanin, Cytosin og Uracil.

Opbyggelsen af RNA-kompleks på gen promoteren med hjælp fra transskriptions faktorerne.

1. initialisation
2. Elongation
3. Termination

Når en celle bliver mere specialiceret kræver den mindre vækst, og vil få en nedgang i syntesen af rRNA og et fald i rDNA gener, der bliver transkriberet.

Når RNA syntesen stimuleres, vil SL1 (selektivitets faktor 1) binde sig til promotorer af rDNA gener, og sørger for at POL-I binder sig til et præ-initiations kompleks og begynder transkriptionen af rRNA.

Hvad sker der i elongationsfasen af RNA-pol.-I?

Hvad sker der i terminationen/afslutningen af RNA-pol.-I?

Nævn i punkter, hvordan RNA-polymerase-II transskriptionscyklusen forløber.

I hvilken rækkefølge binder GTF'erne (Generelle transskriptions faktorer) sig til genot, der skal udtrykke mRNA'et?

Hvad er TBP og hvilken funktion har den?

Hvilken funktion har TFIIA?

Hvor og hvordan binder TFIIB sig?

Hvilken funktion har TFIIIF?

Hvilken funktion har TFIIIE?

1. initialisation
2. Elongation
3. Termination

RNA transskriptionen ophører RNA-polymerase-komplekset demonteres.

Størstedelen af genet bliver transskriberet til en korresponderende RNA sekvens.

stabiliserer de første bindinger, mellem TATA-boksen og TBP.

TBP (TATA Binding Protein) er en subunit til TFIID (**T**ranscription **F**actor for polymerase **II D**), som bøjer DNA'et ud af form, hvilket giver signal til de andre generelle transskriptionsfaktorer.

1. TBP binder sig til TATA-boxen.
2. TFIIA binder sig til TFIID og DNA
3. TFIIB binder mellem TFIID og det sted, hvor POL-II vil binde sig.
4. TFIIF og POL.II binder på samme tid i komplekset.
5. TFIIE og TFIIH binder sig på samme tid til komplekset.
6. TFIIH og TFIIJ binder sig på samme tid.
7. Mediator

Hjælper med at åbne og lukke POL-II's kæbeagtige struktur, der gør det muligt for POL-II at flytte sig langs DNA'et.

Ligner lidt den bakterielle sigma faktor.

TFIIF hjælper til ved katalyserer polymerisations processen.

TFIIB binder sig delvist sekvens specifikt til fordel for BRE.

Hvilke funktioner har TFIIH?

Hvilken funktion har mediatoreren i RNA-polymerase-II's transskriptionscyklus?

Hvad nedbrydes mRNA af?

Hvor længe lever et mRNA i en bakterie?

Hvor længe lever et mRNA i en eukaryot?

Hvilke(n) type mRNA har typisk kort(e) levetid(er)?

Beskriv mRNA's processing (splicing) i trin.

Hvordan exporteres mRNA's fra nucleus.

Definer exons.

Definer introns.

Et mRNA kan translateres mange gange. mRNA nedbrydes hele tiden af RNA nucleaser.

Mediatoreren omslutter alle transskriptionsfaktorerne og RNA-polymerase-II.

Mediatoreren interagerer med enhancers (områder langt væk, der hjælper med at regulere transkriptionen.

TFIIH er en kinase, som fosforylerer RNA polymerase II, så denne bliver frigjort og kan starte transkriptionen.

Desuden leverer TFIIH nogle enzymer til, at mRNA kan blive bearbejdet. RNA polymerasen er nu klar til at starte transkriptionen.

1. Påsætning af 5' Cap, som består af 7-methylguanosin
2. Polyadenylation på 3'-enden: En sekvens af ca. 100-200 A'er sættes på.
3. Splicing: Fjernelse af introns.

De mRNA der koder for proteiner som er i tilstede i lavt niveau eller hvis niveau skal ændres hurtigt som følge af signalpåvirkning.

Levetiden er til dels kontrolleret af sekvenser i mRNA'et - ofte i "3' untranslated region" før polyA halen.

Forskellige mRNA har forskellig levetid.

Mange bakterie mRNA holder kun ca. 3 min.

Eukaryoters mRNA levetid er generelt længere.

Introns er ikke kodende sekvenser, der fjernes fra mRNA'et inden det exporteres til cytosolet.

Exons er kodende sekvenser i mRNA.

Det færdige mRNA transporteres ud af kernen gennem de nukleære porer for at blive translateret i cytosolet.

Beskriv mRNA's cyklus i trin fra syntetisering export.

Beskriv mRNA's cyklus i trin fra translation til nedbrydning.

Hvad er et tRNA?

Hvordan er tRNA opbygget?

Hvordan bruges et antikodon?

Definer Wobble-baseparring.

Nævn start-kodon'et og hvilken aminosyrer, den koder for.

Nævn de 3 stop-kodons.

Definer antikodon.

tRNA molekyler er molekylære adaptorer, som kobler aminosyrer med kodons.

1. En initiations faktor (eIF4E) binder sig til CAP'en mens andre proteiner binder sig til mRNA'et og poly-A-halen.
2. mRNA'et klargøres til translation af initiations faktorerne (eIF4)
3. 40S-ribosomale-subunit og initiator-tRNA'et scanner mRNA'et til det møder det første AUG-start-kodon.
4. Translationen begynder, når 60S-ribosomale-subunit binder sig til 40S-subunit'en.
5. Translationen slutter, når ribosomet når til et stop-kodon.
6. Hver gang translationen forløber bliver poly-A-halen kortere og kortere.
7. Når poly-A-halen er afkortet tilpas meget mister mRNA'et sin 5'-CAP og bliver nedbrudt af nucleaser.

1. Transskriptions Faktorer og co-aktivatorer binder sig til enhancer-sekvenser.
2. TF'erne og co-aktivatorerne bliver samlet af GTF'erne, SRB'er og RNA-polymerase-II (POL-II) ved promotoren. Danner alt i alt Transskriptions initiations komplekset.
3. POL-II's terminale carboxyl domæne bliver phosphoryleret.
4. 5'-enden af mRNA'et bliver beskyttet mod 5'-exon-nucleaser af 7-methylguanosin-CAP.
5. Et CAP-Binding-Complex og forskellige hnRNP'er binder sig til RNA'et.
6. Spliceosomet (bestående af snRNA og proteiner) fjerner introns fra RNA'et.
7. Polyadenylations kompleks kløver mRNA'et og påsætter en poly-A-hale på 3'-enden.
8. Poly-A-binding-protein-II og et CAP-binding-Complex beskytter mRNA'et og hjælper til med at exportere mRNA'et til cytosolet.

En Wobble-baseparring er en ikke-Watson-Crick baseparring mellem 2 nukleotider i et RNA molekyle.

De 4 primære wobble-basepar er: Guanin-Uracil, Inosin-Uracil, Inosin-Adenin og Inosin-cytosin (G-U, I-U, I-A og I-C).

Antikodon bruges i translationen ved at tRNA molekylet bindes til den mRNA streng, som skal translateres.

Dette gøres ved, at tRNA's antikodon har en korresponderende sekvens til sekvensen på mRNA, fx UCG på mRNA passer med en tRNA, som har antikodon AGC.

De er opbygget som et kløverblad med et D-loop, et T-loop og et antikodon-loop.

I 3'enden er påsat en af de 20 aminosyrer.

Det er denne aminosyre, som bliver hæftet på den voksende aminosyrekæde ved translationen.

Antikodon regionen på et tRNA er en sekvens af 3 baser, der er komplementære til det kodon, der sidder på mRNA'et.

Under translation danner baserne i antikodon'et komplementære basepar med baserne fra RNA'ets kodon ved at danne de nødvendige hydrogenbindinger.

Stopkodons:
UAG, UAA, UGA

AUG koder for Metionin.
og er startkodon

Hvordan læses en
RNA sekvens?
(både retning og læseramme)

Hvor foregår translation?

Hvad binder den lille
ribosomale subunit sig
til?

Hvad gør den lille
ribosomale subunit,
når den er bundet til
mRNA's 5'Cap?

Hvad sker der, når
den lille ribosomale
subunit finder et
startkodon?

Hvad hedder de 3
lige store sites, som
den store
ribosomale subunit
indeholder?

Hvad er forskellen
på sites'ne på den
store og den lille
ribosomale subunit?

Hvilket site binder
initiator tRNA'et sig til på
den lille ribosomale
subunit, og hvilken
effekt har det på den
store ribosomale
subunit?

En RNA sekvens læses fra 3'-enden mod 5'-enden.

Husk RNA syntetiseres fra 5'-enden mod 3'-enden

Der er 3 læserammer, hvor man enten springes det 1., de 2 første eller 3 første nucleotid(er) over, der er kun 1 læseramme, der kan bruges.

Translation foregår på ribosomerne og går ud på at få oversat mRNA til en aminosyrekæde.

Den store ribosomale subunit, bindes til den lille, så den store omslutter RNA'et og den lille ribosomale subunit.

Den bevæger sig hen over RNA-strengen, til den støder på et startkodon - AUG.

Den lille ribosomale subunit der har en initiationsfaktor bundet til sig bindes til mRNA's 5'Cap.

P-sitet på den lille subunit

Den store subunit hæfter sig fast.

Den lille ribosomale subunit har 3 tilsvarende sites, men her er E-sitet meget lille

E - elefanter

P - pruster

A - aldrig

Hvad sker der, når der den store ribosomale subunit har sat sig fast og omslutter den lille subunit og RNA'et?

Hvad sker der, når der er bundet et tRNA til både E-, P- og A-sitet?

Ribosomet har flyttet sig, så der er tRNA på E- og P-sitet, hvad sker der næste gang ribosomet flytter sig?

Hvornår stopper translationen?

Hvad sker der, når translationen er stoppet?

I hvilken retning syntetiseres aminosyre-kæderne?

Hvordan opstår mutationer?

Nævn 3 typer af mutationer.

Nævn 4 forskellige måder translation kan kontrolleres på.

E-site's antikodon bliver smidt ud samtidig med at aminosyren fra tRNA'et bliver koblet sammen med resten af aminosyre kæden.

tRNA'et der sidder på P-sitet bliver sendt videre til E-sitet.

A-site's tRNA bliver sendt til P-sitet.

Det første tRNA's binding til sin aminosyre bliver brudt, og tRNA molekylet forsvinder samtidig med, at aminosyren, som er blevet koblet af danner starten af en aminosyrekæde.

1. Der sker en forskydning af den store subunit, som rykker sig et trin mod 3'-enden
2. Den lille subunit, flytter sig på samme måde mod 3'-enden.

Den nye aminosyrekæde syntetiseres i fra den N-terminale ende mod den C-terminale ende.

1. En releasefaktor binder sig til A-sitet, hvor stopkodonet findes.
2. Ribosomet udfører forskydningen som normalt, men aminosyrekæden kan ikke binde sig til releasefaktoren
3. Aminosyre kæden bliver løsnet og får tilsat en OH-gruppe.
4. De to subunits dissocierer og kan starte en ny translation et andet sted.

Translationen stopper, når ribosomet støder på et stopkodon.

(UAG, UAA eller UGA)

1. Tilføje/fjerne et translation repressor protein.
2. Ændre temperaturen.
3. Tilføje/fjerne et kontaktmolekyle.
4. Låse RNA-strengen med en anden streng (antisense RNA).

1. Ikke skadelige
2. Skadelige
3. Neutrale

1. Der kan være sket en fejl i transkriptionen fra DNA til RNA, hvor et forkert nukleotid er sat på RNA strengen.
2. Der kan sidde en forkert aminosyre på tRNA, så der fæstes en anden aminosyre til peptidkæden, end der egentlig skulle have været.

Hvad gør de 4 måder til at kontrollere translationen ved RNA-strengen?

Hvad har RNA-polymerasen brug for, for at kunne starte en transkription?

Hvad bliver transkriptionsfaktorerne brugt til?

Hvad bruges DNA-protein kontakter til?

Hvordan dannes DNA-protein kontakter?

Hvad gør eukaryote genregulatoriske proteiner?

Hvad gør eukaryote aktivatorer?

Hvor på DNA'et binder et protein i DNA-protein interaktioner?

Hvor mange bindinger dannes der i DNA-protein interaktioner?

- Placerer RNA polymerasen korrekt i forhold til startsitet
- Trækker de to DNA strenge fra hinanden, for at transkription kan foregå
- Får RNA polymerase til at slippe promotoren (TATA-boxen) og starte transkriptionen.

- Generelle transkriptionsfaktorer
- Mediatorer

Alle fire metoder ændre 3D strukturen på RNA-strengen og gør, at translation er mulig/ikke mulig.

Kontrollerer
genekspressionen
på lang afstand.

Dannes af genregulerende
proteiner, som binder til
regulerende DNA-
sekvenser.

Regulerer om et gen
skal udtrykkes eller ej.

ca. 20

Hver enkelt kontakt er svag, men de ca. 20 kontakter, som dannes gør, at DNA-protein interaktioner er mellem de stærkeste og mest specifikke interaktioner, man kender til.

Langt oftest binder proteinet til DNA-helixen i major groove, da der ikke er plads til proteinet i minor groove.

Påvirker transkriptionen af et gen, som både er placeret opstrøms og nedstrøms i forhold til aktivatoren.

Hvad bruges
protein motiver til?

Nævn de 3
protein motiver.

Definer
homeodomæne.

Definer zink-finger.

Definer leucin-zipper.

Hvad påvirker DNA-
bindende proteiner
interaktionen med
DNA?

Hvordan kontrollerer
en celle de proteiner,
den syntetiserer?

Definer det humane
genom.

Definer genitisk
variation.

- Findes i mange DNA-bindende proteiner.
- Det består af 3 sammenbundne α -helixer.
- De fleste kontakter er lavet af helix 3.
- Homeodomænet er medlem af helix-turn-helix familien (en familie af DNA-bindende proteiner).

1. Homeodomæne.
2. Zink-finger.
3. Leucin-zipper.

Genkender og binder til DNA
(er kun en mindre del af proteinet og ofte flere per protein)

Regulerer om genet skal udtrykkes eller ej.

- Formet af to α -helixer, som kommer fra hvert sit proteinmolekyle.
- Det vil sige, at leucin zipper binder til DNA helixen som en dimer og holder om den som en hårnål.

- Opbygget af en α -helix og en β -sheet holdt sammen af et zink-molekyle.
- Zink fingers findes ofte i klynger af flere zink fingers, som holdes kovalent sammen.
- Disse klynger tillader α -helixerne at kontakte baserne i major groove.

- Ingen mennesker (udover identiske tvillinger) har helt samme genom.
- Størstedelen af den genetiske variation mellem to individer skyldes ændringer i en enkelt base.
- Det er disse små forandringer i genomet, som gør os forskellige.
- Den gennemsnitlige forskel i to menneskers genom er 0,1%, mens den mellem mennesker og aber er 1,2%.

1. Det humane genom består af flere funktionelle dele.
2. Det er opdelt i repeats og unikke dele.
3. De unikke dele består af introns, exons og proteinregulerende sekvenser.

For procentvis inddeling se s. 313 i ECB2.

1. Kontrollerer hvornår og hvor ofte et givet gen transkriberes.
2. Kontrollerer hvordan RNA transkripter er splejset og processeret.
3. Styrer hvilke mRNA, der skal translateres af ribosomer.
4. Selektivt aktivere eller inaktivere proteiner efter, at de er blevet lavet.

Definer
restriktionsenzym.

Hvordan klipper et
restriktionsenzym?

Hvad bruges
restriktionsenzym
til?

Definer DNA
denaturering.

Definer DNA
renaturering.

Definer
hybridisering.

Hvor bruges DNA
denaturering,
renaturering og
hybridisering?

Definer sekventering.

Hvad betyder
kloning?

Restriktionszymerne kan bruges til DNA analysering.

Restriktionszymerne kan klippe sekvenserne på forskellige måder.

F.eks. klipper Hae III og Alu I lige igennem så der dannes to **blunt** ends, mens Eco RI, Not I og Hind III klipper skævt, så der dannes to **sticky ends** (5' sticky end eller 3' sticky end).

Et restriktionsenzym er et enzym, som kan klippe DNA molekyler på specifikke punkter ved at genkende 4 nukleotider og kløve dem.

De sekvenser, som genkendes er ofte palindromiske.

Hybridisering er en proces, hvor man bryder hydrogenbåndene mellem baserne i en DNA-helix

Gøres enten ved at bruge varme (op til 90 grader) eller udsætte det for ekstrem pH.

Dette bryder ikke de kovalente bindinger i DNA-backbonen, men kun bindingerne mellem baserne.

Hvis processen langsomt "spoles tilbage", vil hydrogenbindingerne gendannes, og man vil igen få en stabil DNA dobbelthelix.

Hele processen (denaturering og renaturering) er det, man kalder hybridisering.

Renaturering er det modsatte af denaturering.

Denaturering er en proces, hvor man skiller to strenge i en DNA dobbelthelix fra hinanden ved at udsætte DNA'et for høj temperatur eller ændring pH.

DNA kloning kan dække over flere begreber/teknikker.

Kloning kan være at producere mange af "en slags".

Det kan også være det at isolere et stykke DNA for at undersøge eller flytte det (en teknik som også kræver "mange" molekyler/kloner).

Sekventering er en metode til bestemmelse af en nukleinsyresekvens.

På et stykke enkeltstrenget DNA tilsættes først en primer
Vha. DNA polymerase forlænges primeren med deoxyribose indeholdende de fire nukleintrifosfater (dATP, dGTP, dCTP og dTTP) som laver en komplementær streng til det enkeltstrengede DNA.

Dette gentages, og samtidig tilsætter man dideoxyribose af de fire NTP'er (ddATP, ddGTP, ddCTP og ddTTP).

Dette gør, at alle forlængelser af den komplementære DNA-streng stopper, når der stødes på en ddNTP.

Køres dette på en gel, vil man kunne se de forskellige stop ved, at de forskellige stykker vil køre forskellige længder på gelen, og man vil på den måde kunne bestemme sekvensen af nukleinsyrene.

- Diagnosticering af genetisk betingede sygdomme (>3000 sygdomme vides at skyldes mutationer i et enkelt gen!).
- Identifikation af personer/ retsmedicin (f.eks. kriminalsager).
- Mutationsanalyse.
- Array analyse.
- Placering af et gen på et kromosom.

Definer et plasmid?

Hvad bruges plasmider til?

Hvordan tilføjes DNA til plasmider?

Hvilke former for hybridiseringsteknikker findes?
(nævn 2)

Hvordan bruges PCR (polymerase chain reaction)?

Beskriv teknikken bag PCR (polymerase chain reaction).

Hvordan bruges array-analyse?

Beskriv teknikken bag array-analyse.

Definer RNA interferens.

For at indsætte et stykke DNA i et plasmid må det liggeres til plasmid DNA'et.

Efter ligering sendes plasmiderne ind i bakterierne. Der selekteres for bakterier med plasmider som opformeres.

Herefter kan bakterierne lyses, og plasmiderne med det indsatte DNA kan isoleres i relativ stor mængde.

Plamider/
kloningsvektorer bruges til at indsætte et stykke DNA man vil undersøge:

1. Opformere (som template for transkription fx, eller videre kloning)
2. Udtrykke (i så fald kræves promotorer etc.)
3. Sekventere

- Et plasmid er et DNA molekyle, der findes separat fra det kromosomale DNA.
- Plasmider er typisk cirkulære og dobbeltstrengede og replikeres i cellerne.
- Plasmider findes naturligt i mange bakterier (kan også findes i gær).
- Størrelsen varierer meget - fra 1 kbp til over 400 kbp.
- Der kan være en kopi per celle eller mange kopier per celle afhængig af hvilket plasmid der er tale om (antallet er reguleret).

1. Ved opvarmning adskiller de to strenge i en DNA dobbelthelix.
2. Derefter tilsætter man en primer (en oligonukleotid) til startsekvensen
3. nedkøler strengen igen, så primeren fæstner sig,
4. lader man DNA polymerasen syntetisere resten af DNA-strengen.
5. Dette kan gentages så mange gange, man har behov for.

Bruges til at:

- Skabe meget store mængder af et givet gen
- Klone DNA, hvor man kender start- og slutsekvensen
- Identificere en virus- eller bakterieinfektion
- Identificere en person (en kriminel eller en far).

- PCR (polymerase chain reaction)
- Array-analyse:

RNA interferens (RNAi) er både en teknik og en naturlig reguleringsmekanisme.

1. 2 mRNA sekvenser, bliver kopieret til cDNA.
2. Disse farves med hhv. rød flourokrom og grøn flourokrom.
3. Derefter blandes de to prøver og lader dem hybridisere til en microarray (en mikrochip med en række forskellige kendte prober – prøverne hybridiserer altså til proberne).
4. Efter, at de to prøver er blevet udtrykt, vasker man microarrayen for at få fjernet ubundne molekyler
5. Flourescencen scannes på microarrayen
6. nu kan vi se, hvilke gener, der er blevet mest udtrykt af den ene og den anden prøve.

Bruges til at genkende forskellige DNA-sekvenser f.eks.:

- Forandringen i genekspression, som gør, at et jordbær modner
- Forskellige humane cancercellers "signatur".

Hvor foregår
RNAi?

Beskriv RNAi
metoden.

Hvordan foregår RNAi
som antisense teknik?

1. RNAi som antisense teknik foregår ved at sende lange dsRNA eller små siRNA ind i cellerne.
2. dsRNA klippes til siRNA af enzymet Dicer,
3. hvorefter den ene streng hybridiserer til sin komplementære mRNA.
4. Er komplementariteten perfekt, klippes mRNA over vha. "RISC"- et protein kompleks.
5. Denne degradering kan give produktion af flere små siRNA.
6. Disse kan også komme ind i kernen og hæmme gentranskription ved at påvirke kromatinpakningen.

Mekanismen for dette er ikke fuldstændig kendt.

Man bruger et dobbeltstrenget RNA molekyle, som har en nukleotidsekvens, som matcher nukleotidsekvensen i det gen, man vil hæmme.

RNAi foregår bl.a. naturligt i celler.

Ikke alle detaljer i mekanismen er velbeskrevet, og dele af processen varierer mellem forskellige organismer.

De involverede RNA kaldes siRNA (small interfering RNA).

