

# Evoluční genomika (Eduard Kejnovský a Roman Hobza)

## 1. Vznik života

Kosmologická přehra. Atributy života. Moderní abiogeneze. Meteority, panspermie, extremofilové. První genetické systémy na bázi proteinů nebo NK. Ribozymy. Vznik genetického kódu a proteosyntézy. Teorie jílů. Zvláštnosti života a život na bázi křemíku.

## 2. Relikty světa RNA

Svět RNA, Důkazy. Počátky světa RNA a osud prvních RNA katalyzátorů. Centrální role RNA dnes. Ribozómy, tRNA, spliceozóm, snRNA, snoRNA, RNázaP, editace, telomeráza, Eigenův limit, Riboorgis eigensis. Hypotéza termoredukce a původ prokaryot

## 3. Evoluce genomů

Definice genomu. Velikosti genomů a paradox hodnoty C. První DNA genomy. Extrémní genomy, minimální genom. Změny ve velikosti genomu, plynulé nebo skoky, mechanismy. Polyploidizace. Teorie nekódující DNA, big bang v genomu kukuřice. Geografie genů a uspořádání genů v genomech. Počty chromosomů u různých druhů. Syntenie a kolinearita. Regulační systém na bázi RNA. Genomové projekty.

## 4. Evoluce genů

První geny. Anatomie genů. Původ nových genů. Mechanismy evoluce nových genů. Geny a jejich velikosti, extrémy. Introny – staré nebo mladé.

## 5. Dynamika genomů

Podíl repetitivní DNA na velikosti genomů. Retroelementy. DNA transposony. Tandemové repetice. Mikrosatelity. Genomy organel jako pozůstatky prokaryotických organismů. Objev promiskuitní DNA. Migrace genů do jádra. Mechanismus přenosu genů do jádra. Genomy organel a vnitrobuněční parazitů.

## 7. Interakce genomů

Parazitická DNA, restriktivně-modifikační systémy jako parazitů, viry, vnitrobuněční parazitů (Mycoplasma, Rickettsia) a jejich genomy, obranný mechanismus trypanosomy, ovlivnění pohlaví způsobené parazity (Wolbachia), molekulární parazitů živočichů a rostlin. Závody ve zbrojení, červená královna a rychlost evoluce. Pozitivní vliv parazitů na hostitele.

**8. Evoluce sexuality. (A) Příčiny sexuality:** rekombinace a sexualita, rychlost evoluce a degenerativní procesy u nerekombinující DNA – Mullerova rohatka (Mullers ratchet), genetické svezení se (genetic hitchhiking), selekce na pozadí (background selection). Haploidie a diploidie.

**9. Evoluce sexuality. (B) Důsledky sexuality:** mechanismy determinace pohlaví, vznik a evoluce pohlavních chromosomů. Historie lidských pohlavních chromosomů – záhadné palindromy na chromosomu Y, samčí geny jsou zálohované, Y se brání degeneraci, evoluční vrstvy na chromosomu Y. Papája – pohlavní chromosomy ve stádiu zrodu.

## 10. Meioza a rekombinace v evoluci genomů.

Co je příčinou a co následkem.

## 11. Struktura a evoluce lidského genomu

Základní charakteristika. Genové rodiny v lidském genomu. Repetice v lidském genomu. Srovnání genomu člověka s genomem myši a šimpanze. Evoluce člověka.

## 12. Genomika – strategie a metody.

Mapování genomů. Genomové knihovny, sekvenování a analýza sekvencí. Genomové projekty.

# KOSMOLOGICKÁ PŘEDEHRA

Mýty a náboženství

**Albert Einstein** - teorie relativity, první rovnice pro vesmír

**Alexander Friedmann a Georges Lemaître** - matematické rovnice nemají statické řešení, dochází ke smršťování nebo rozpínání vesmíru

**Fred Hoyle a Thomas Gold (1948)** - teorie ustáleného stavu (steady-state), vesmír se rozpíná ale hustota hmoty se nemění (vzniká z ničeho), trvale rozpínající se vesmír nemusí mít počátek

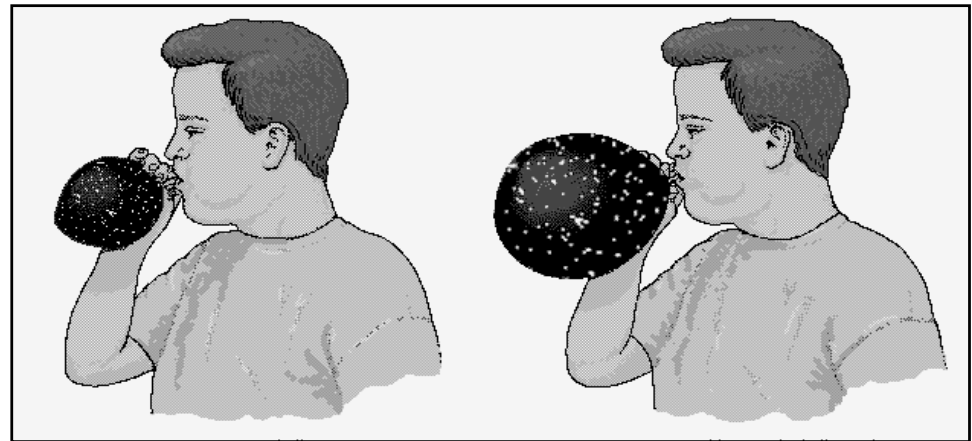
# Velký třesk

**Gamow (1948)** - zkoumal původ těžších prvků, výhodná vyšší hustota na počátku, existence počátku, „big bang“ (Hoyle)

**Velký třesk (Big bang):** vznik ze singularity, nekonečná teplota, křivost, hustota, neplatí fyzikální zákony, vznik prostoru, času a hmoty, smysl otázky „co bylo před vznikem“ - analogie se severním pólem

# Hubblův důkaz rozpínání vesmíru

Hubble (1929) - rudý posun ve spektrech vzdálených galaxií, úměrný vzdálenosti, vesmír se rozpíná, nejde o rychlost pohybu ale o změnu vzdáleností (i mnohonásobek rychlosti světla)

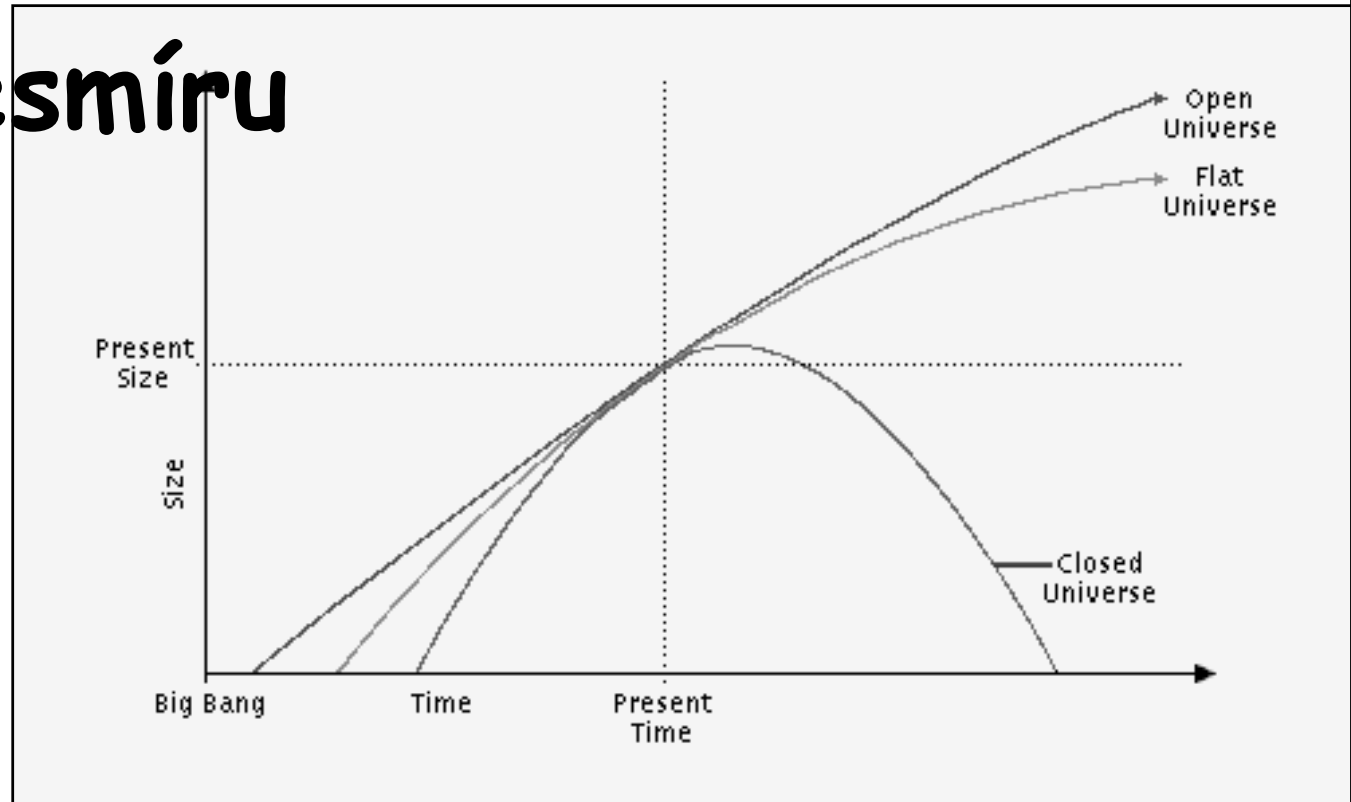


# Reliktní záření: pozůstatek velkého třesku

předpověděli žáci Gamowa - Ralph Alpher a Robert Herman (1948)

- objevili Robert Wilson a Arno Penzias (1964-1965)
- teplota 2.7K, izotropní, části raného vesmíru měly stejnou teplotu a hustotu
- rozpínáním se protáhla vlnová délka reliktních fotonů 1000x, původní teplota záření byla 3000K
- poměr fotonů a baryonů  $10^9:1$  v čase  $10^{-35}$  po velkém třesku
- přesnější měření prokázala neizotropní charakter
- náhodné fluktuace - vznik galaxií

# Modely vesmíru

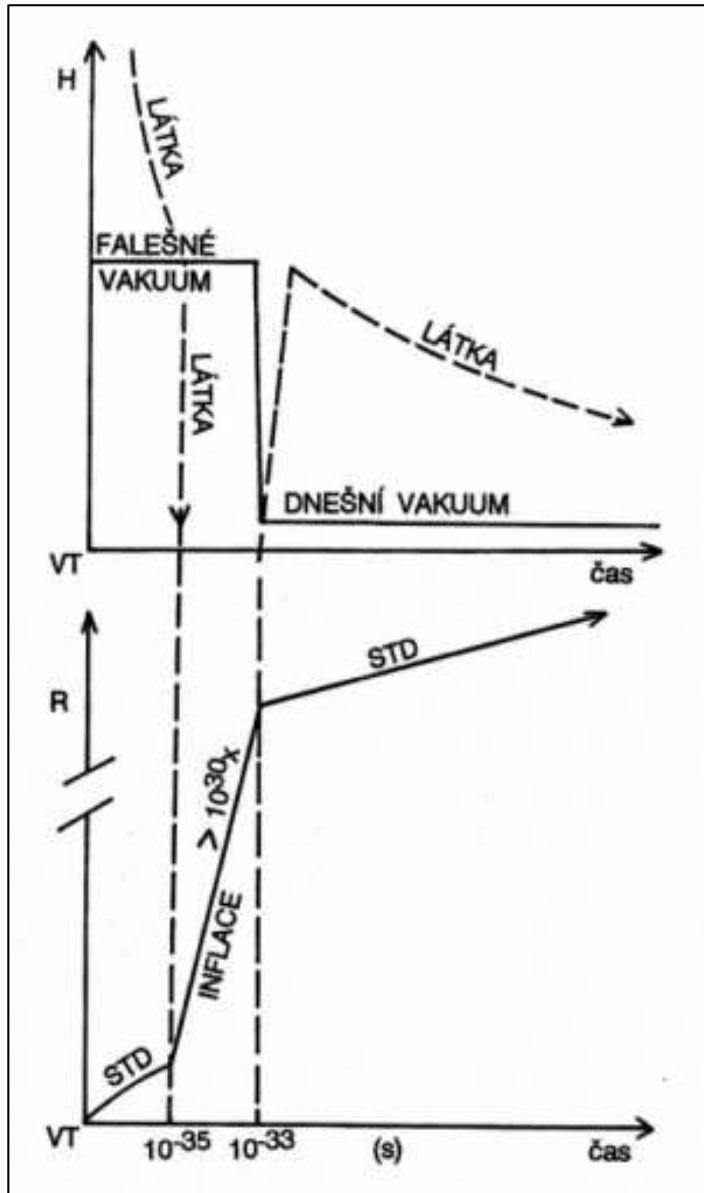


Friedmanovo řešení (1922, 1924):

**Uzavřené modely** (sférické) - kladná křivost +1, součet úhlů v trojúhelníku  $> 180^\circ$  (Riemannova geometrie), různé modely, decelerační parametr, různá doba trvání, analogie s vrhem kamene

**Otevřené modely** (hyperbolické) - záporná křivost -1, součet úhlů trojúhelníku  $< 180^\circ$ , záporná křivost

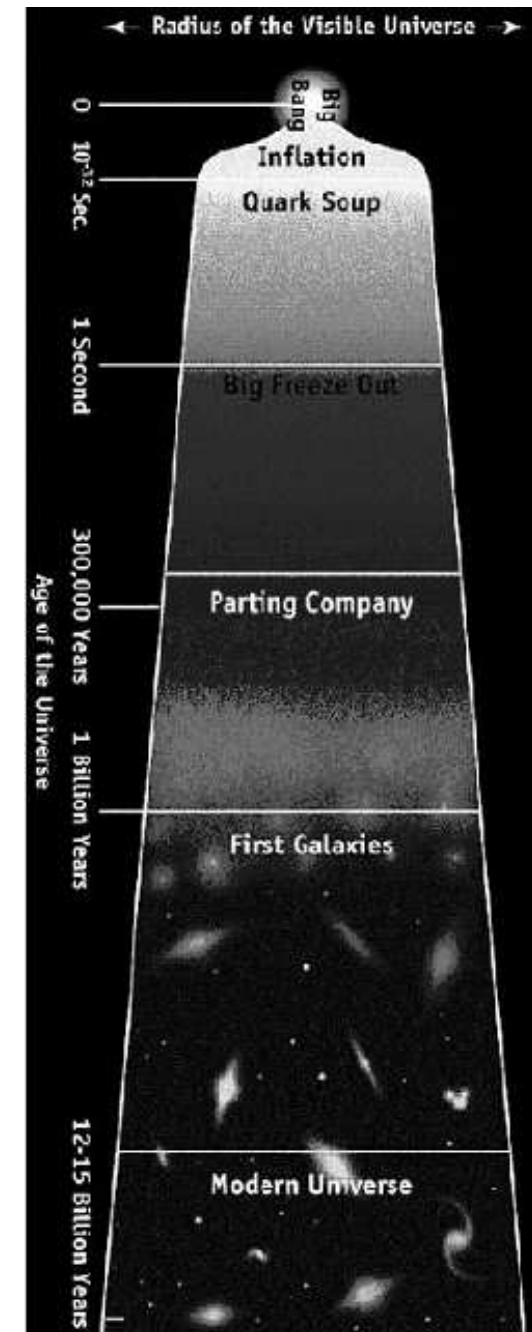
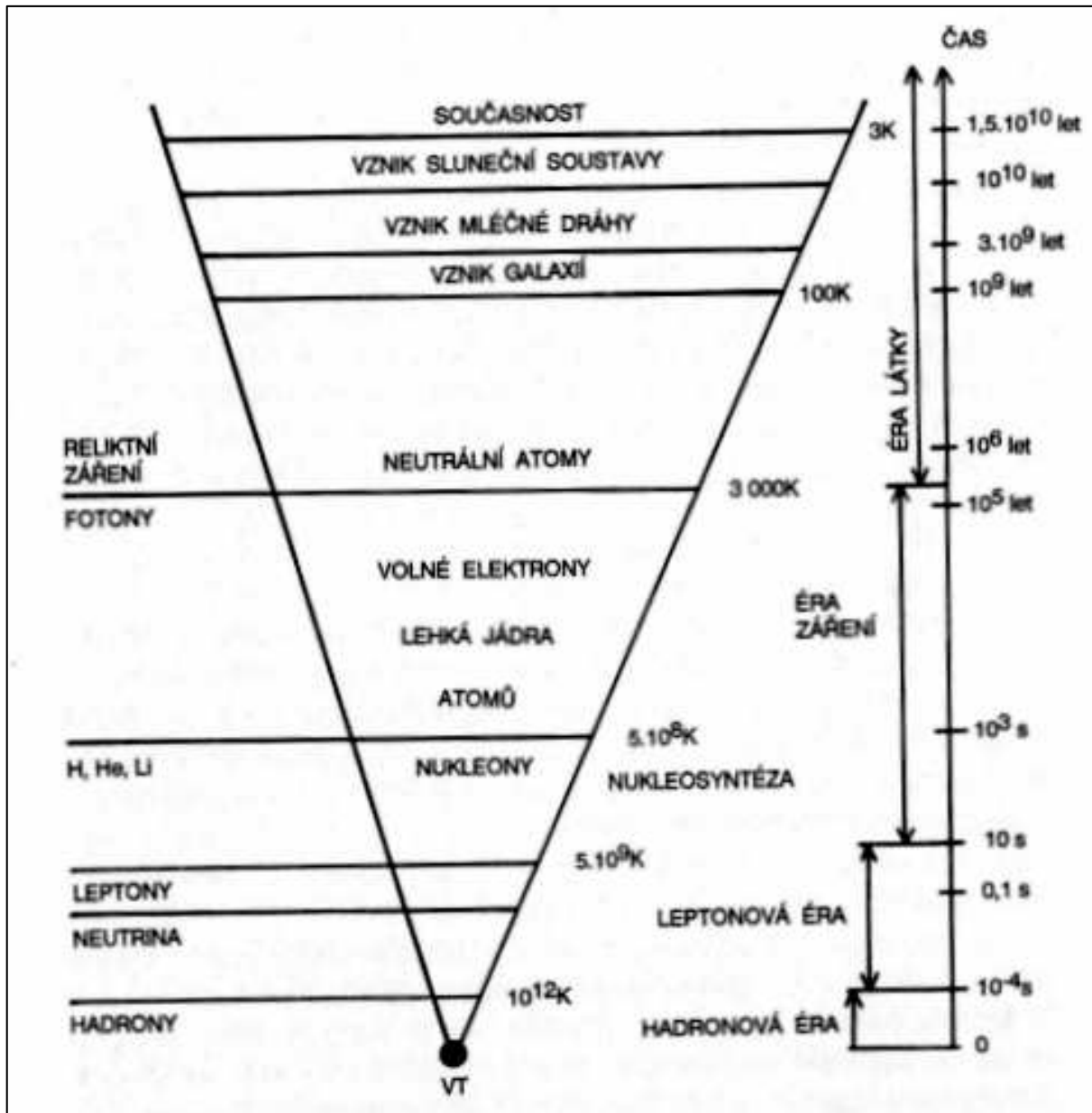
# Inflační vesmír - rozfouknutí vesmíru



- hustota energie látky plynule klesá
- hustota energie vakua skokově klesá
- vakuum předá přebytek energie látce, zamrzne, poté opět pokles energie látky

Graf změny vzdáleností mezi vesmírnými objekty

# Vývoj vesmíru





# Vývoj vesmíru

## 1. Hadronová éra:

- $10^{-44}\text{s}$  až  $10^{-4}\text{s}$ , teplota  $10^{33}\text{K}$  až  $10^{12}\text{K}$
- inflace vesmíru -  $10^{-35}$
- kvarky se spojují v hadrony (mezony a baryony)
- z vakua se tvoří baryony (neutrony a protony) a antibaryony
- anihilace a vznik hmoty a záření (fotony) první asymetrie
- kvarkgluonová plazma

## 2. Leptonová éra:

- $10^{-4}\text{s}$  až  $10\text{s}$ , teplota  $10^{12}\text{K}$  až  $10^{10}\text{K}$
- nejvíce obsaženy ve vesmíru leptony (= elektrony, neutrina aj.)

# Vývoj vesmíru

## 3. Éra záření:

- 10s až  $10^6$  let, teplota  $10^{10}$ K až 3000K
- anihilace pozitronů s elektrony, vznik záření
- protony + neutrony = vodík ( ${}_1^1\text{H}$ ) - deuterium ( ${}_1^2\text{D}$ ) - tritium ( ${}_1^3\text{D}$ ) - tritium (lehké helium  ${}_2^3\text{He}$ ) - helium ( ${}_2^4\text{He}$ ) - lithium  ${}_3^6\text{Li}$  -  ${}_3^7\text{Li}$  -  $\text{He} + \text{He} = \text{Be} + \text{He} = \text{C}$
- dále přítomny volné elektrony a neutrony

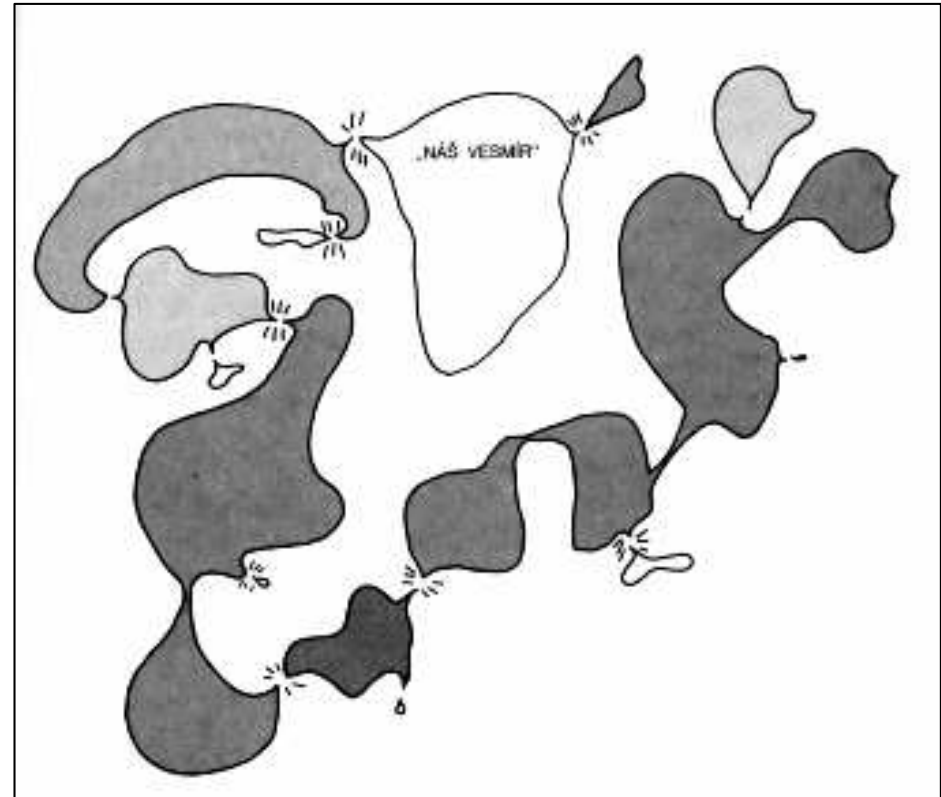
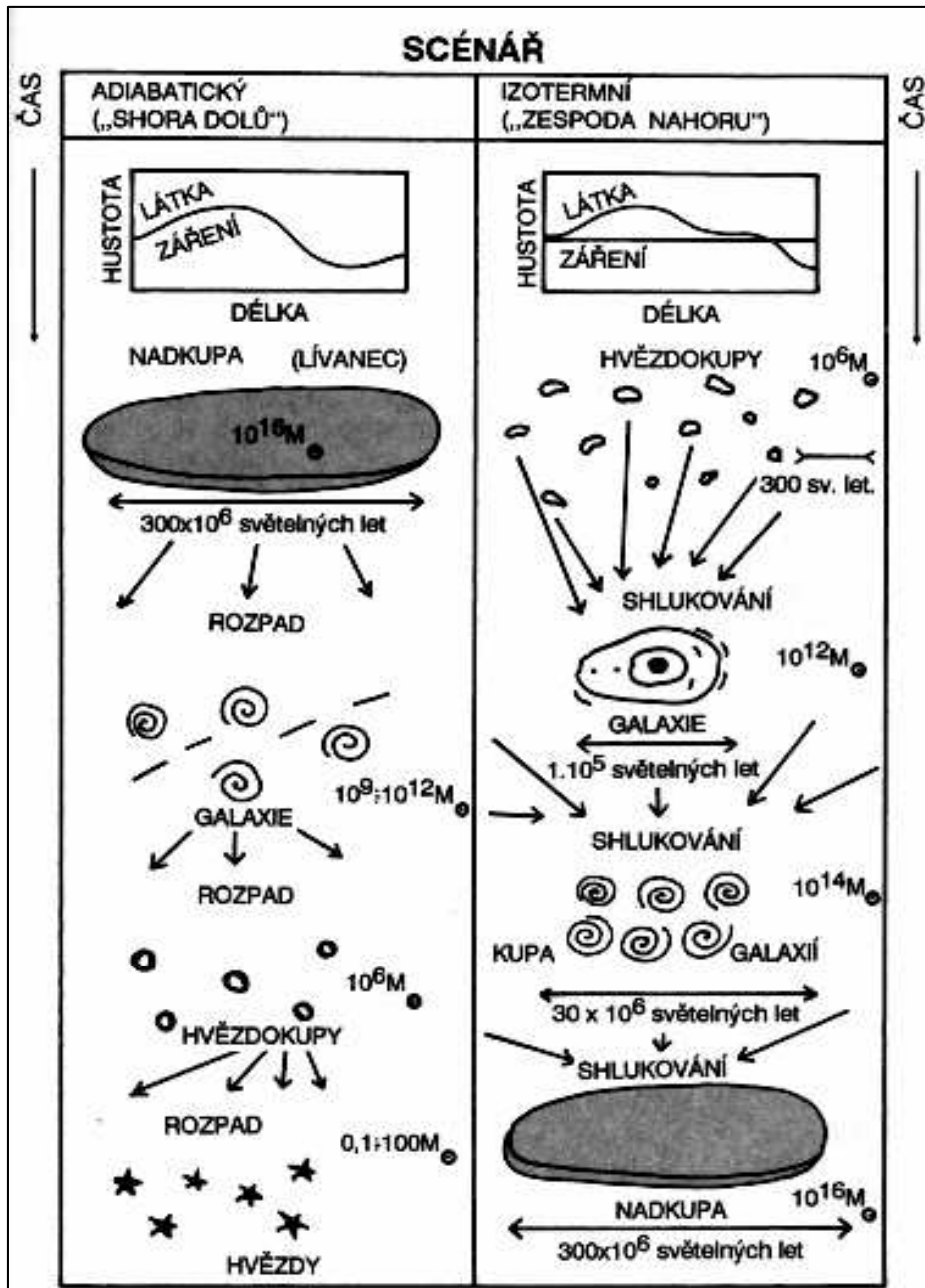
## 4. Éra látky:

- $10^6$  až dodnes, teplota 3000K až 3K
- elektrony se spojují s jádry za vzniku neutrálních atomů
- vesmír průhledný pro fotony a elektromagnetické záření
- formování galaxií, dva scénáře - adiabatický a izotermní

shora dolů

zdola nahoru

# Vývoj vesmíru



- prostoročasová pěna
- vesmíry propojeny prostoročasovými trubicemi
- liší se konstantami a zákony, počty rozměrů

# Antropický princip a paralelní vesmíry



Fyzika totiž zjistila, že existence života na Zemi je téměř zázrakem. Stačilo by, aby fyzikální konstanty vesmíru byly jen nepatrně odlišné a hmota ani život, jak je známe, by nevznikly. Vlastnosti vesmíru jsou přesně a jemně vyladěné právě tak, že na Zemi mohl vzniknout život a nakonec člověk. Téměř se zdá, že vesmír vznikl proto, aby mohla inteligentní bytost vzniknout. V USA dal antropický princip podnět ke vzniku nového kreacionistického hnutí, "**Intelligent Design**".

Zrodil se tak tzv. antropický princip, který zformuloval v r.1973 kosmolog Brandon Carter ve dvou verzích:

"Slabá" verze konstatuje skutečnost, že svět je právě takový, že na něm mohl vzniknout život. *"Povaha vesmíru a naše místo v něm jsou slučitelné s naší existencí jako pozorovatelů"*. Prostě tu jsme, protože tu můžeme být.

"Silná" verze říká, že do základů vesmíru byly vloženy takové specifické informace, aby v něm **zákonitě inteligentní život musil** vzniknout.

# Klasická abiogeneze a heterogeneze

- **Aristoteles** - život má původ v neživé hmotě, např. vznik larev z rozkládajícího se masa, Newton, Descartes,
- **Francesco Redi (1668)** - zabránil larvám klást vajíčka a z masa larvy nevznikaly, „omne vivum ex ovo“
- **Antoni van Leeuwenhoek (1683)** objevil bakterie
- **Lazzaro Spallanzani (1768)** - bakterie pocházejí také ze vzduchu a mohou být zničeny varem
- **Louis Pasteur (1862)**- mikroorganismy přítomny v různých organických materiálech, po sterilizaci a ochraně organismy nevzniknou



# Moderní abiogeneze

- vznik života na Zemi sérií postupných kroků, první živé systémy vznikly z primordiálních chemikálií, více různých teorií (svět RNA, protenoidy, Millerovy experimenty, panspermie aj.)

**Vitalistická filozofie** - dělila přírodu na živou a neživou  
**Redukcionismus** - složité věci lze vysvětlit jednoduššími, řada fyzika-chemie-biologie-sociologie, Dawkins

- **Woehler (1828)** - syntéza močoviny, kvantifikace energie při reakcích, není prostor pro vitální sílu, redukcionismus

**Rozdíl mezi klasickou a moderní abiogenezí:**

- frekvence vzniku života
- složitost vznikajících organizmů

# Moderní teorie chemické evoluce a podmínky na Zemi v době vzniku života

**A.I. Oparin** (1924) - složité molekulární struktury vznikly z jednodušších

**Haldane** (1928) - život vzešel z primordiální polévky, úloha UV záření

**H. Urey** - atmosféry ostatních planet jsou redukující

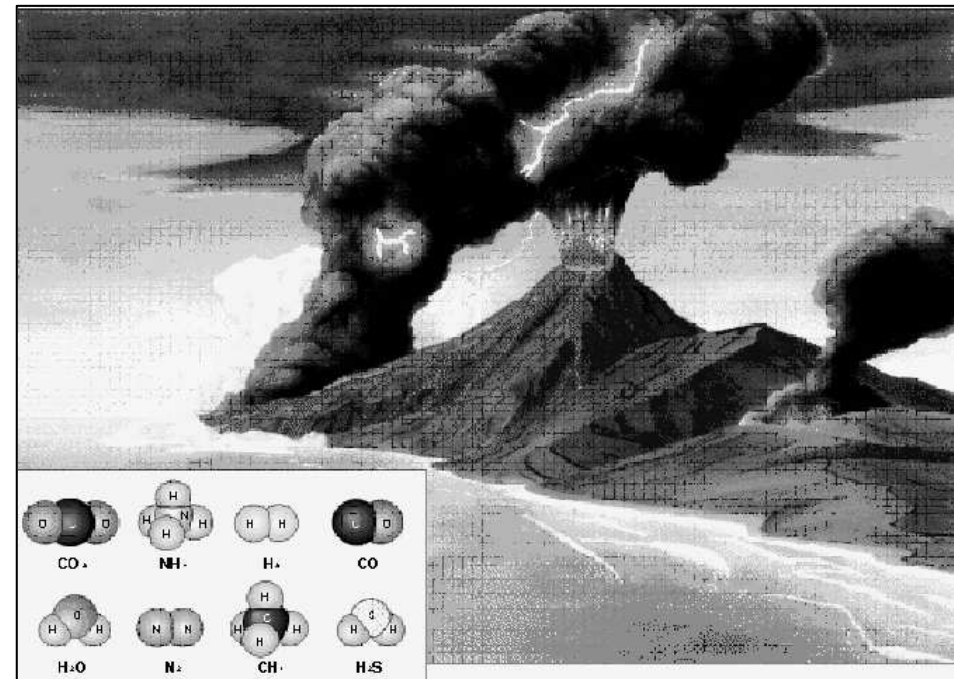
Poloha Země (4.5 mld)

Zdroje energie

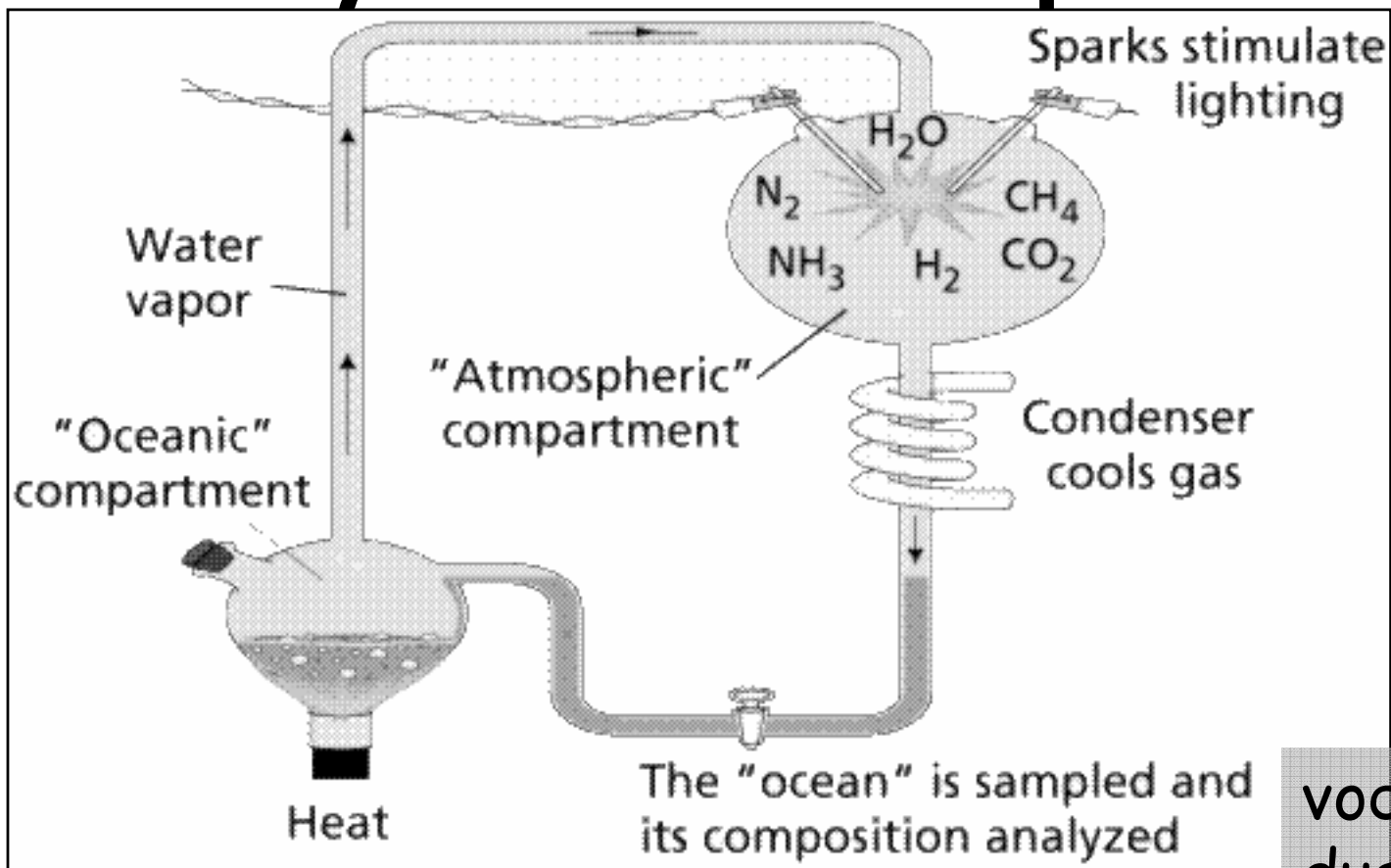
Sopečná činnost a atmosféra

Po zchlazení moře (před 4 mld)

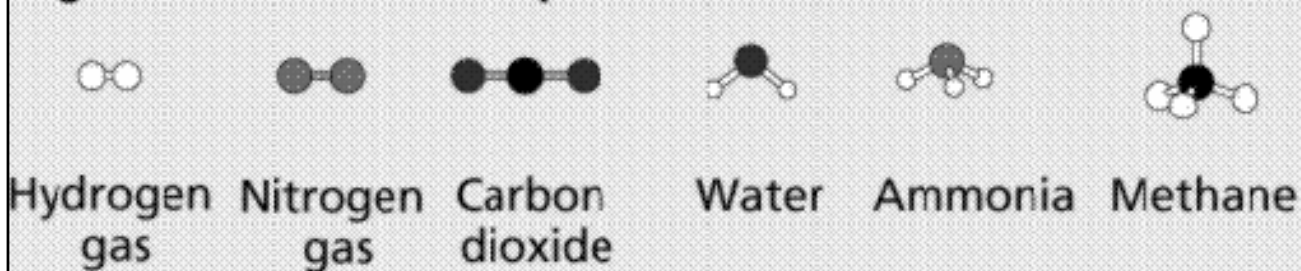
Život před 3.8mld



# Urey-Millerův experiment



## Ingredients in Miller's experiments



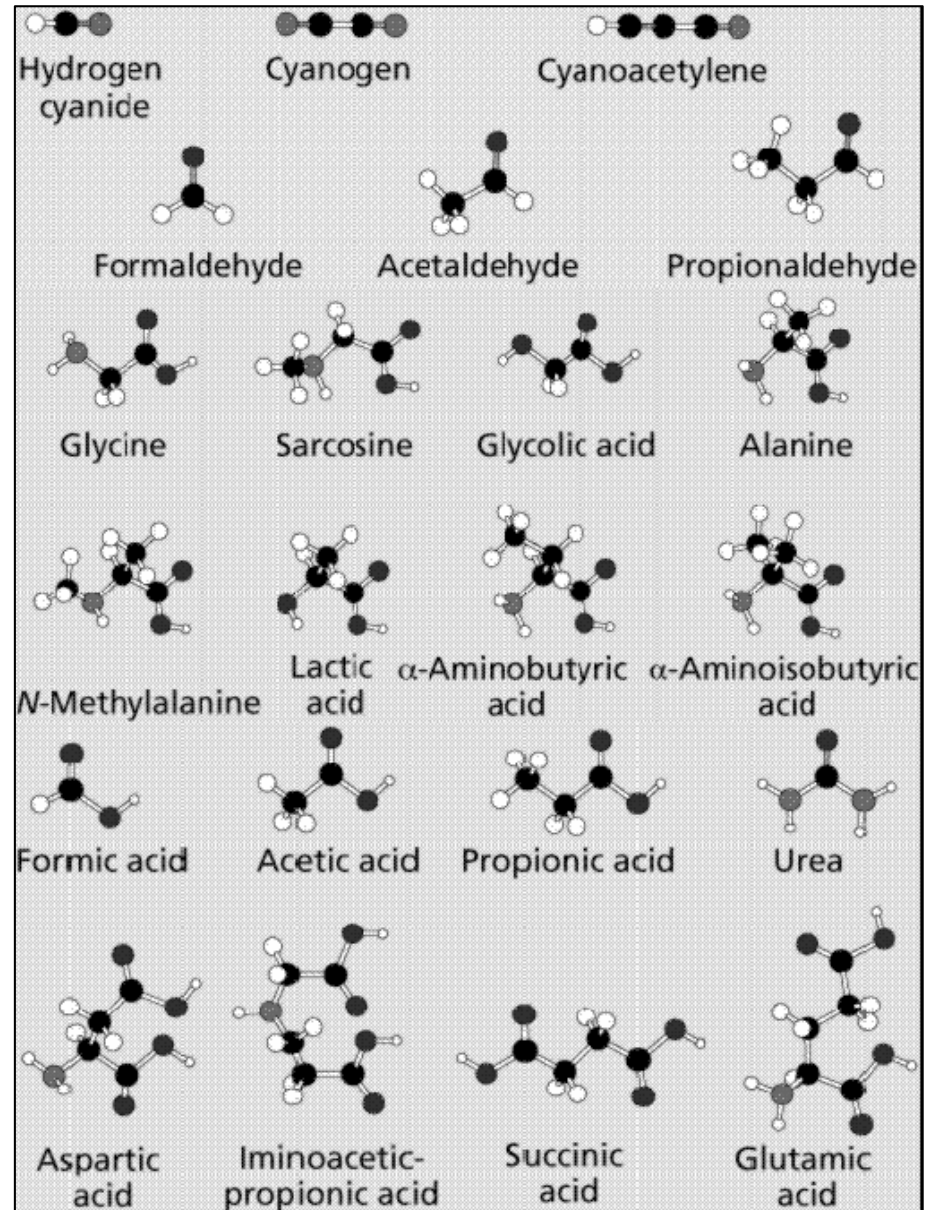
vodík ( $H_2$ )  
dusík ( $N_2$ )  
oxid uhličitý ( $CO_2$ )  
vodní pára ( $H_2O$ )  
amoniak ( $NH_3$ )  
metan ( $CH_4$ )



# Modifikace Urey-Millerova experimentu

1. Pyrosyntéza: místo elektrod použita pícka (S. Fox), simulace sopečné činnosti, tepelná energie sopek srovnatelná s energií blesků, katalyzátory
2. UV záření
3. tlakově vlny (průlety meteoritů)
4. kosmické záření
5. radioaktivita
6. sluneční vítr

**Výsledek:**  
20 AK, 5 bází, hlavní cukry



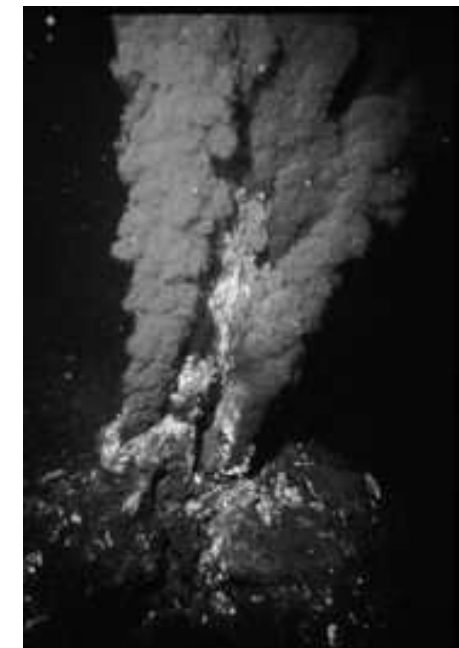
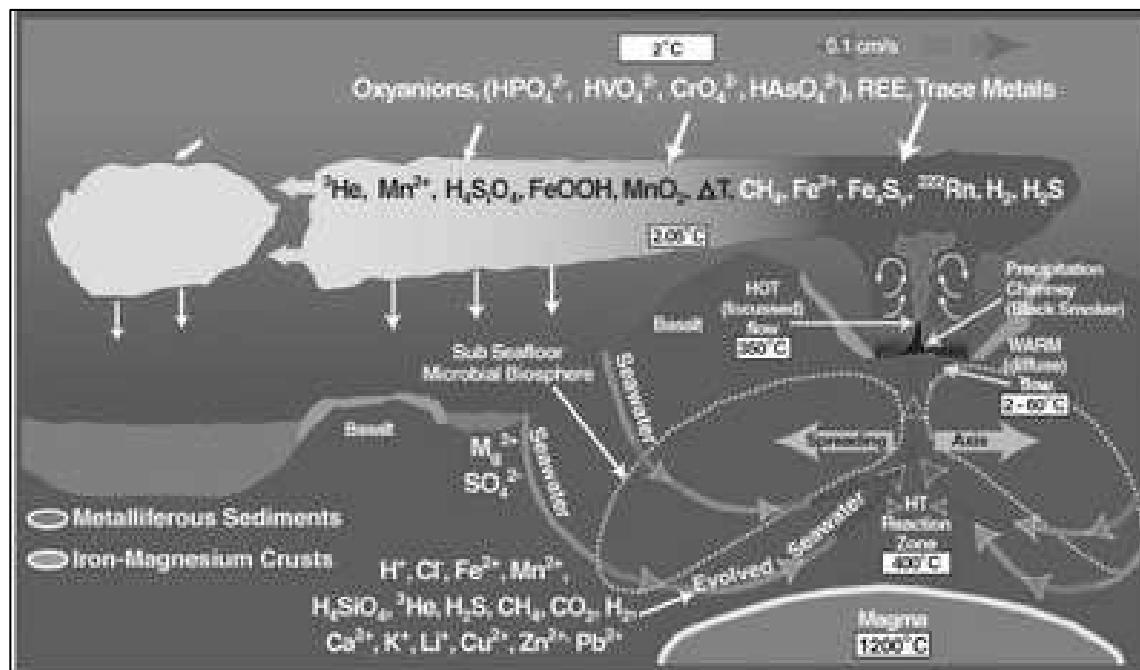
# Teorie světa sulfidů kovů (Wachtershauser, 1980)



- za přítomnosti sulfidů kovů vznikají složitější uhlíkaté sloučeniny
- jednoduchý metabolismus předcházel genetice
- reakce vytvářející energii využitelnou pro další reakce cyklů
- vzrůstá složitost cyklů
- reakce neprobíhaly ve volném oceánu ale na povrchu minerálů (pyrit)
- důležitá role kyseliny octové - jednoduchá kombinace C+H+O, dodnes klíčové postavení v metabolismu
- 1997: smíchal CO, H<sub>2</sub>S, NH<sub>3</sub>, NiS, FeS při 100°C a získal AK a peptidy
- podmínky podobné blízkosti podmořských sopek

# Vznik života v podmorských sopkách (Martin a Russel, 2002, black smokers)

- podmorské komíny v hloubkách kolem 2000m, nalezeny poprvé u Galapág, i jinde
- průměr otvorů stovky metrů, zvláštní ekosystém (extremofilové, fotosyntetické bakterie)
- vyvěrá přehřátá voda bohatá na minerály (sulfidy), krystalizuje při styku s vodou oceánu a sedimentuje, magmatické horniny - katalýza



# Teorie „hluboké horké biosféry“ (T.Gold, 1990, hot deep biosphere)

- první život se vyvinul hluboko pod povrchem Země
- dnešní bakterie několik kilometrů pod povrchem
- možnost života na jiných planetách nebo měsících

# Panspermie („[www.panspermia.com](http://www.panspermia.com)")

- **Anaxagoras** (5. stol. př.n.l.): zárodky života jsou rozptýleny po celém vesmíru
- **Newton**: materiál z komet je důležitý pro život na Zemi
- **Arrhenius** (1908): Panspermie
- **Crick** - řízená panspermie
- **Hoyle and Wickramasinghe** (1978): bakterie v hustém mraku jsou odolné vůči záření

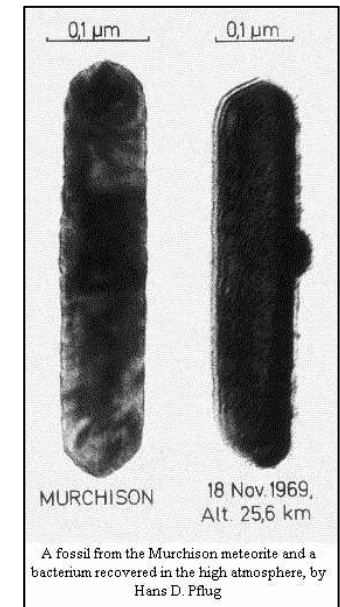
# Komety, meteority a chondrity

## Komety:

- mohou přenášet organické látky (*Science, 1990*)
- Hyakutake - methan a ethan v ohonu komety

## Meteority:

- přenos z Marsu častější než na Mars
- dnes denně na Zemi dopadá 30-150 tun kosmického organického materiálu, dříve více
- prebiotické reakce v mělkých lagunách se zakoncentrovanou polévkou látek mimozemského původu, vymražování, vypařování
- objev aromatických polycyklických uhlovodíků v okolí mrtvých hvězd v mlhovině, glycin v mezihvězdném prachu



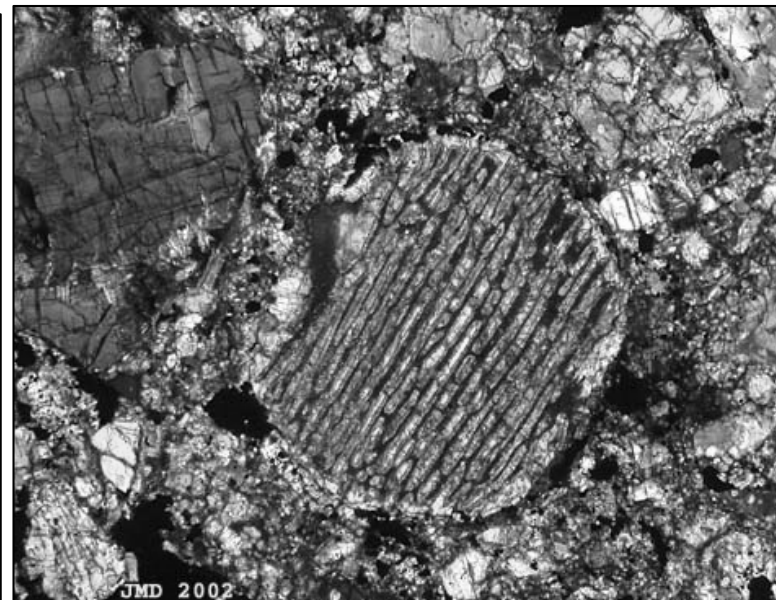
# Komety, meteority a chondrity

## Chondrity:

- typ kamenných meteoritů, nejstaší pevný materiál ve sluneční soustavě, obsahují chondruly

## Chondruly:

- malé kuličky v meteoritech, řec. chondros = zrno,
- vznikají zahřátím na 1500-1900°C a ochlazením,
- obsahují organické látky (aminokyseliny)



# Stromatolity: stopy prvního života

- zkamenělé útvary tvořené mikroorganismy (sinice)
- vznikly většinou v prekambriu (800 000 let)
- anaerobní podmínky (archea), činností sinic vznikl kyslík
- moderní stromatolity (hypersalinní jezera, Austrálie)





# Bakterie - vesmírní kolonizátoři

## *Streptococcus mitis:*

- náhodně zavlečen na Měsíc (Surveyor3) a po 31 měsících zpět (Apollo12) a byl životaschopný

## *Deinococcus radiodurans:*

- 15 000 Gy/ 37% životaschopnost  
člověk 10 Gy, *E. coli* 60 Gy

## **bakteriální spóry:**

- odolnost, konformace A-DNA
- izolace bakterií z trávicího traktu hmyzu zalitého v jantaru (25-40 mil. roků)



# *Extremofilové*

Acidophile: An organism with an optimum pH level at or below pH 3.

Aerobe: requires O<sub>2</sub> to survive.

Alkaliphile: An organism with optimal growth at pH levels of 9 or above.

Anaerobic: does not need O<sub>2</sub> to survive.

Endolith: An organism that lives inside rocks.

Halophile: An organism requiring at least 0.2M of NaCl for growth.

Hypolith: An organism that lives inside rocks in cold deserts.

Mesophile: An organism that thrives in temperatures between 15-60 °C.

Metalotolerant: capable of tolerating high levels of heavy metals, such as copper, cadmium, arsenic, and zinc.

Microaerophilic: requires levels of O<sub>2</sub> that are lower than atmospheric levels.

Oligotroph: An organism capable of growth in nutritionally limited environments.

Piezophile: An organism that lives optimally at high hydrostatic pressure. See also Barophile

Psychrophile: An organism that can thrive at temperatures of 15 °C or lower.

Radioresistant: resistant to high levels of ionizing radiation.

Thermophile: An organism that can thrive at temperatures between 60-80 °C.

Xerotolerant: requires water to survive

# Co je život?

Erwin Schrodinger: *What is life* (1947)

## **Definice NASA:**

- otevřený systém
- replikace - cyklická reprodukce
- samosestavování - hierarchické struktury, fraktály
- evoluce - směřování ke komplexním strukturám

## **Atributy života:**

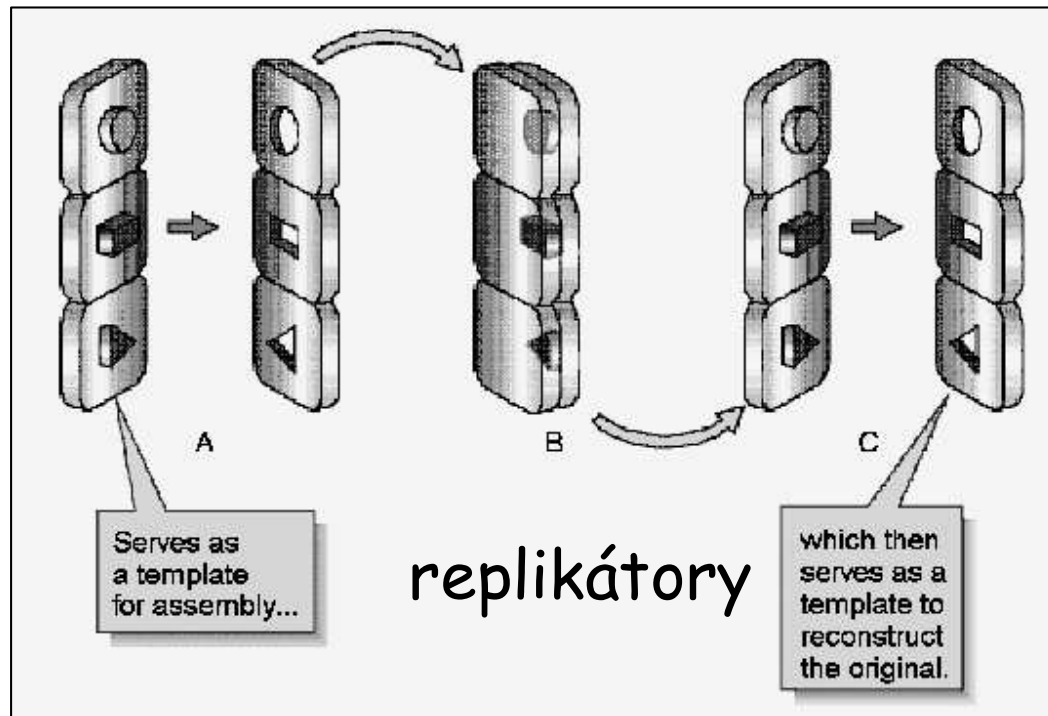
- reprodukce, metabolismus, růst, adaptace, odpověď na podněty, organizace

## **Život a druhý zákon termodynamiky:**

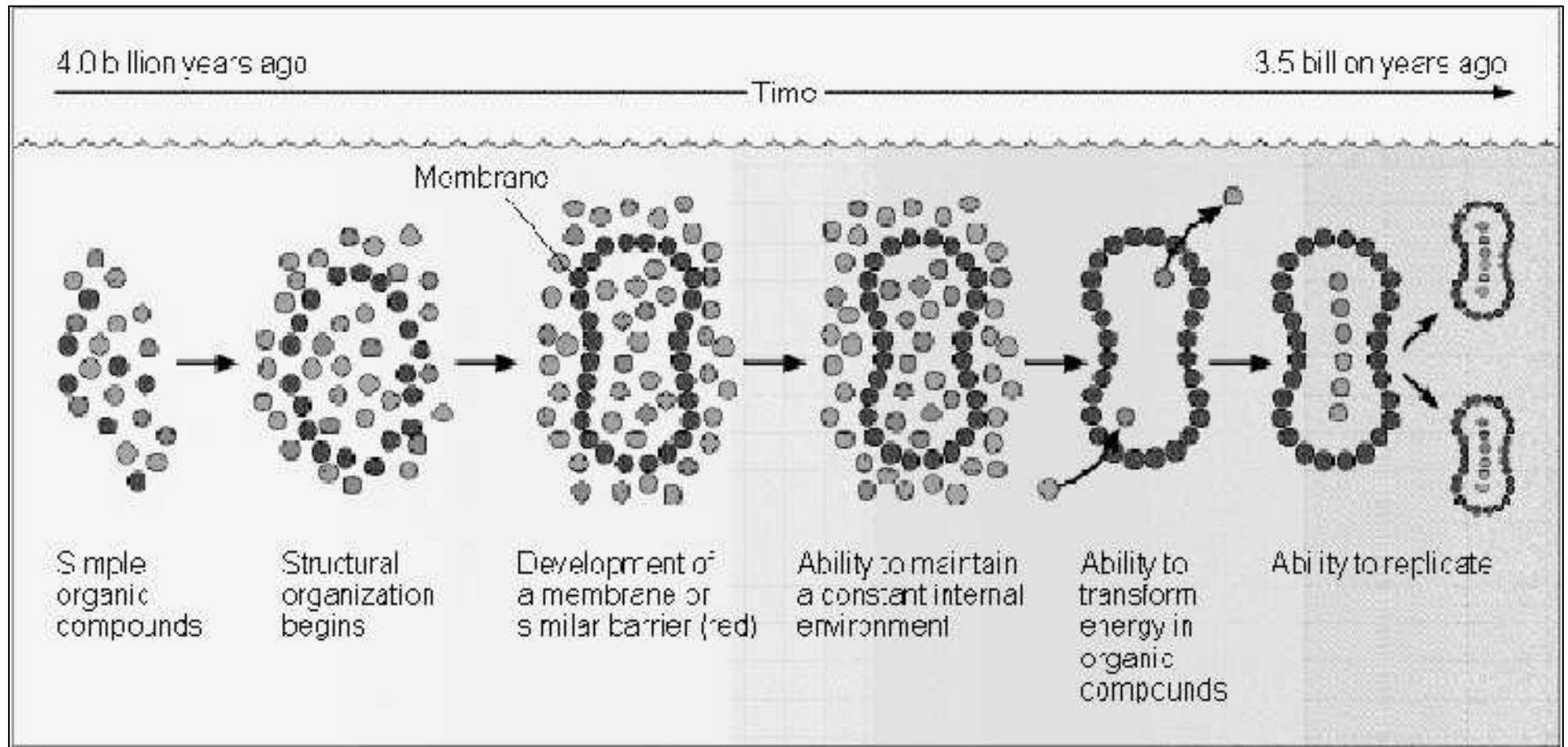
System měnící entropii na negentropii využívající toku energie. Život jako otevřený systém

# První genetické systémy

1. Proteiny - Oparinovy koacerváty a Foxovy mikrosféry
2. Nukleové kyseliny - genová teorie a ribozymy
3. Proteiny i nukleové kyseliny - genetický kód
4. Jiný princip - pRNA, PNA, jíly



# První replikátory

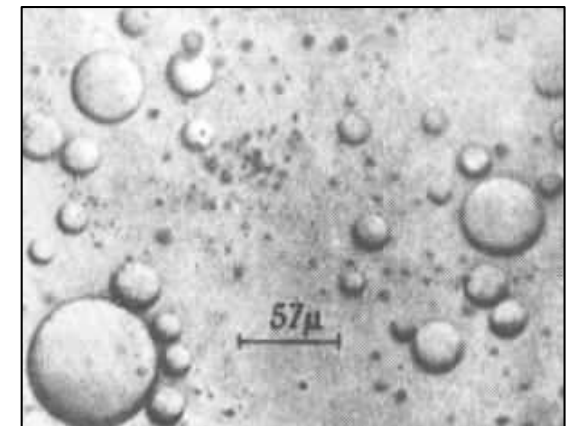
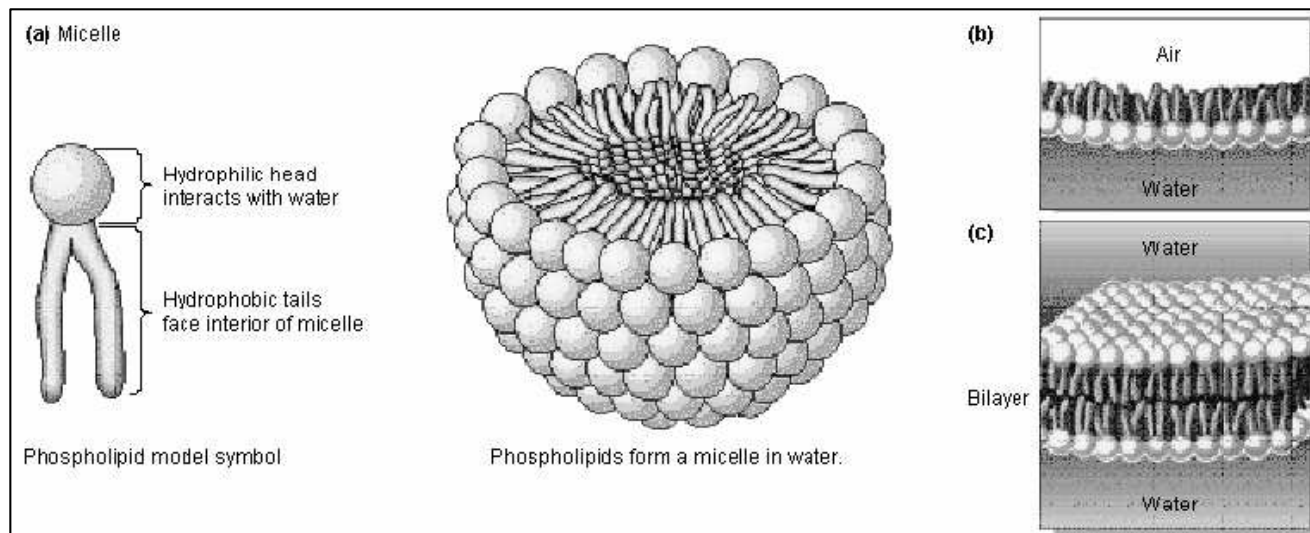


# Na počátku byly pouze proteiny:

## 1. Oparinovy koacerváty



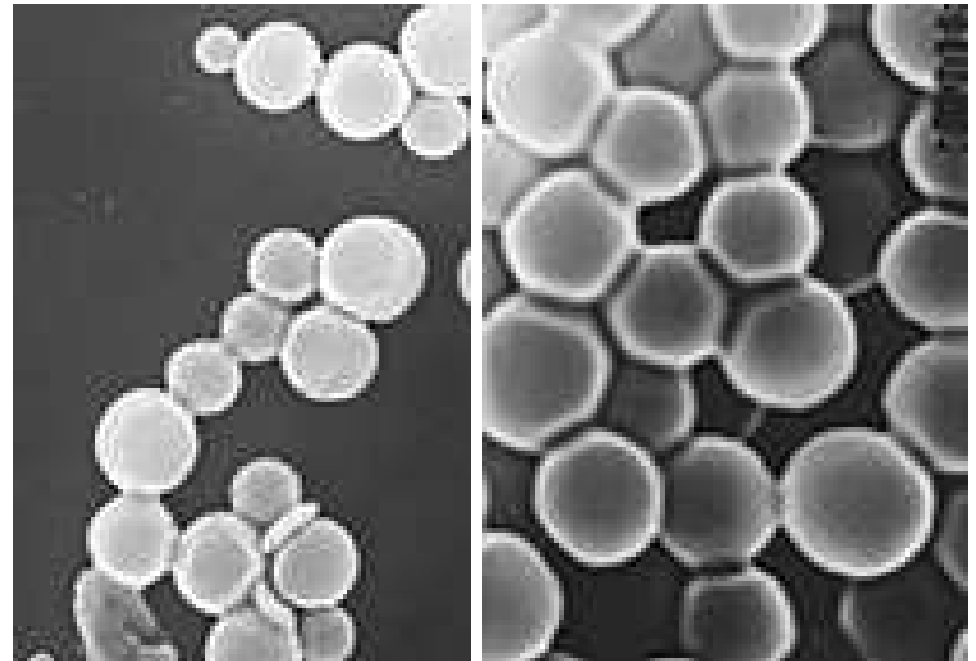
- primitivní modely buňky
- ohraničené semipermeabilní membránou
- hromadění produktů, reakce, růst, dělení
- vznikají v koloidních roztocích
- problém fixace enzymaticky aktivních molekul uvnitř koacervátu, ředění



# Na počátku byly pouze proteiny:

## 2. Foxovy mikrosféry

- snaha zodpovědět otázku původu enzymatických molekul
- vznikají z protenoidů = polymery vzniklé kondenzací aminokyselin
- pořadí AK v těchto polymerech je náhodné
- některé mohou vykazovat katalytickou funkci



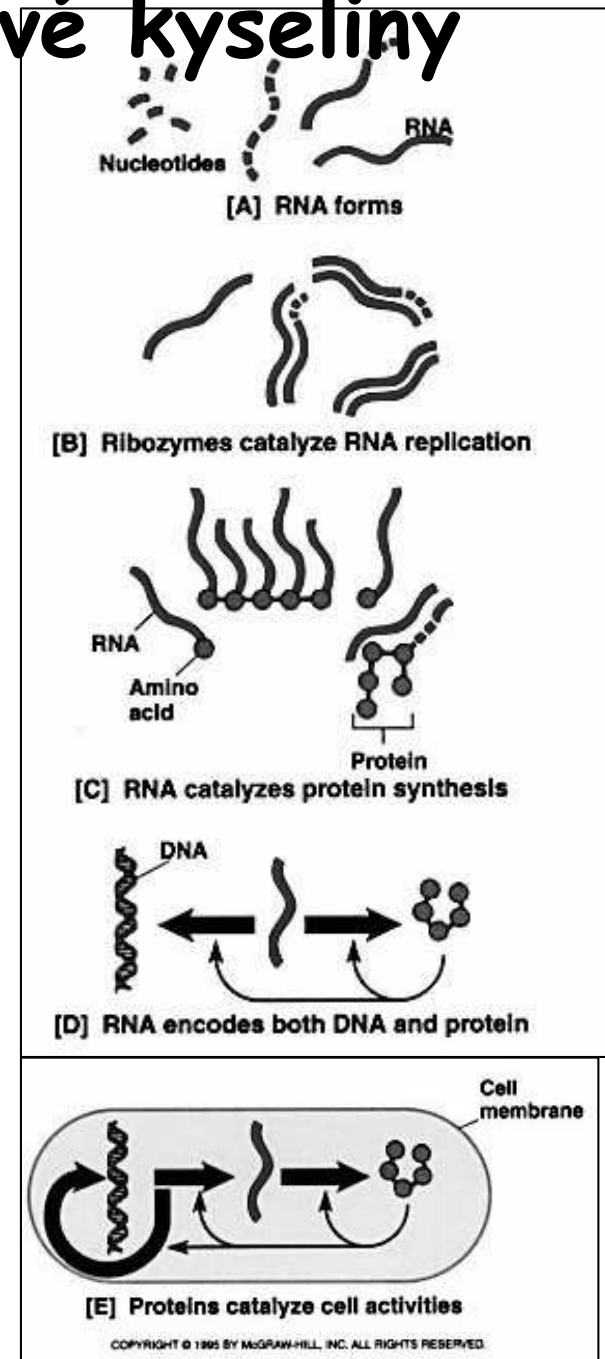
# Na počátku byly pouze nukleové kyseliny - genová hypotéza

- co bylo dříve - DNA nebo proteiny?
- RNA je genetický materiál i katalyzátor postuloval Crick 1968
- katalytická aktivita RNA (Cech 1982)
- RNA svět (W. Gilbert 1986)
- vznik genetického kódu a proteosyntézy

jednoduché polymery - replikátory, RNA

evoluce

autonomní organizmy jsou buněčné  
složitá biochemie: DNA - RNA - protein





# RIBOZYMY: 3 archetypy

## 1. „Hammerhead“ ribozym

Aktivita v *cis*

Odvozené typy:

- Vlášenkové ribozymy
- Hepatitis  $\delta$  virus ribozym
  - replikace genomové RNA rostlinných viroidů (vlášenkové ribozymy) a viru hepatitidy  $\delta$  u savců mechanismem valivé kružnice
- VS ribozym (*Neurospora crassa*)
  - vznik monomerů ssRNA, templátů pro reverzní transkripci RNA
  - Varkud satelit plazmid (mt u *N. crassa*)  
150b, transkript, ligace a štěpení

## 2. Introny I. typu

Aktivita v *cis*

Odvozené typy:

- Introny II. typu
  - samosestřih
- U6 snRNA
  - spliceosomální sestřih

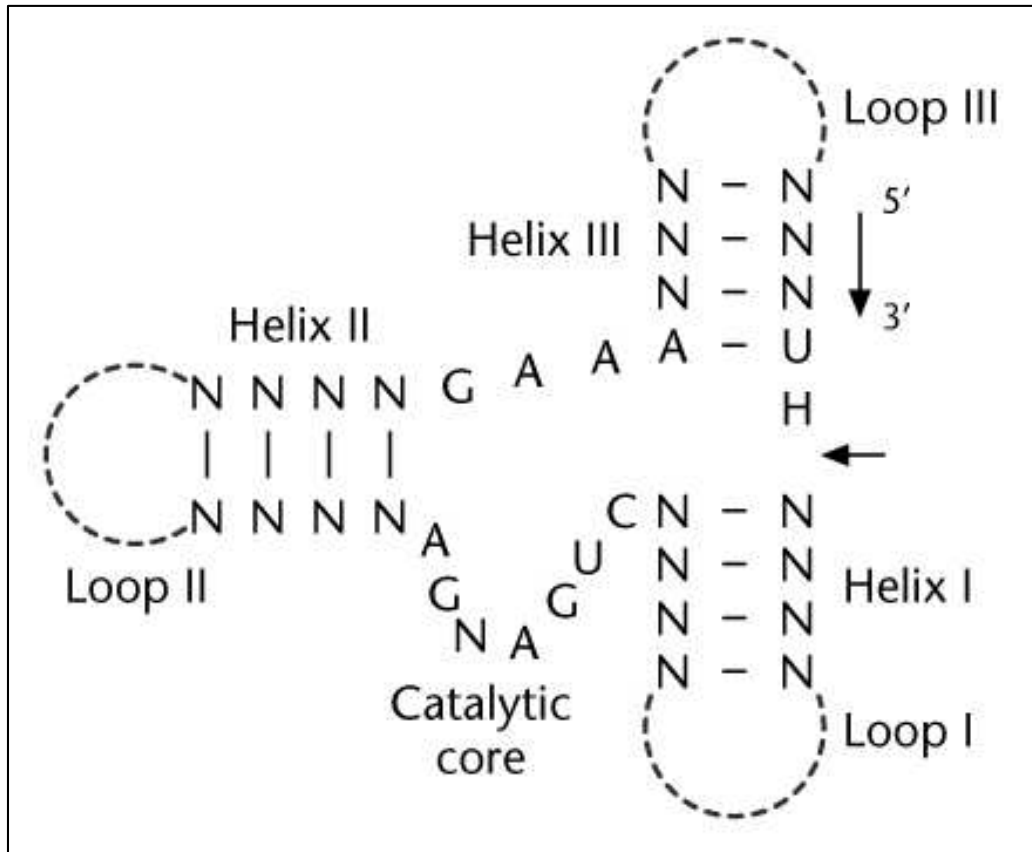
## 3. M1 RNA (RNA složka RNasy P)

Aktivita v *trans*

Odvozené typy:

- RNA složka RNasy P jiných organismů

# „Hammerhead“ ribozymy



- tři dvoušroubovice stýkající se v konzervovaném jádře 13 nukleotidů

- nejjednodušší popsaná forma katalytické RNA

- popsán v ssRNA genomech rostlinných patogenů, viroidů a virusoidů, satelitní DNA čolků

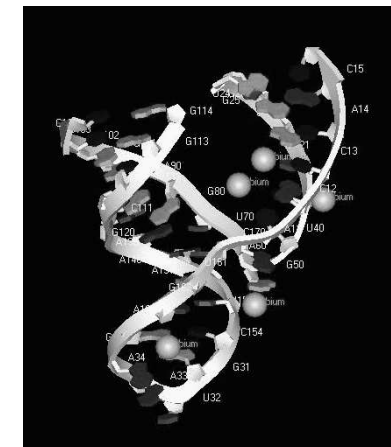
- replikace mechanismem valivé kružnice

- štěpení konkatemerů

- katalyzují i opačný směr reakce - ligaci

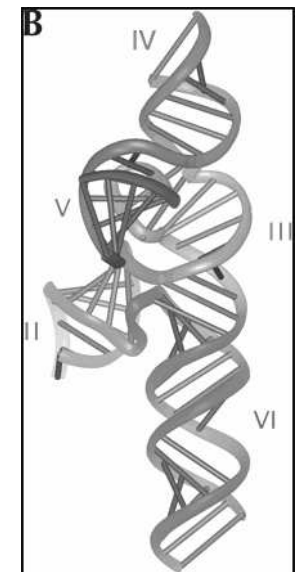
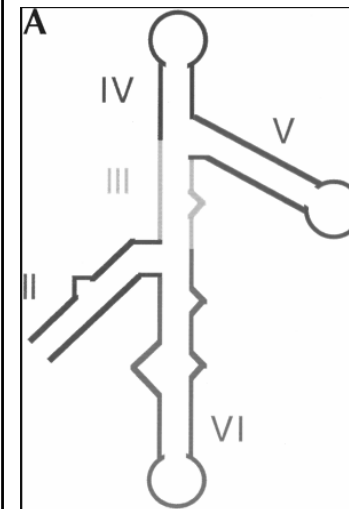
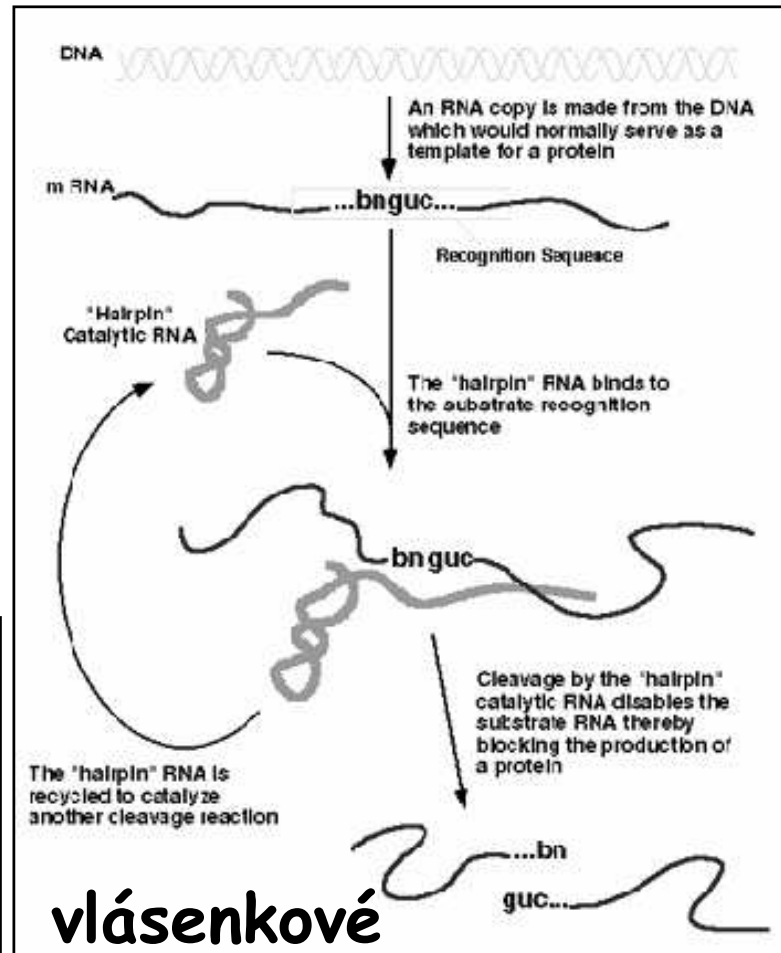
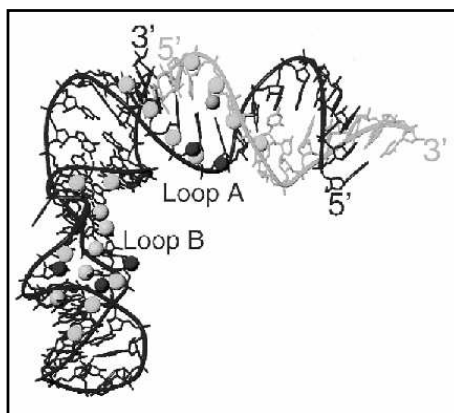
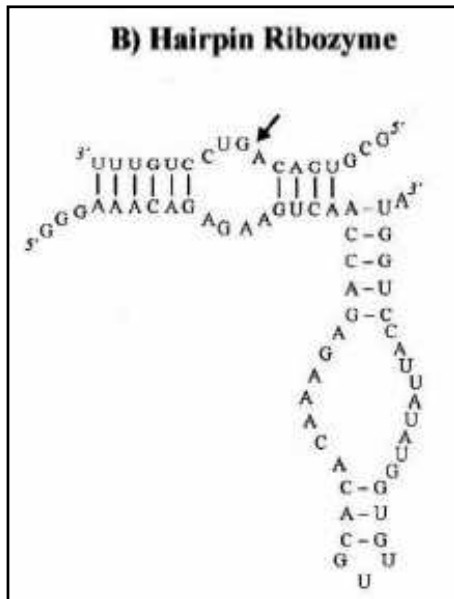
- přirozená aktivita v *cis*, v umělých molekulách i v *trans*

krystalová struktura - tvar „Y“



# Vlásenkové (hairpin) a VS ribozymy

- vlásenková struktura, odvozené z ribozymů hammerhead
- antivirové aplikace, HIV-1, ligáza při manipulacích s RNA



## Varkud satelit

5 helixů  
three-way junction

# Ribozymy: introny I. skupiny

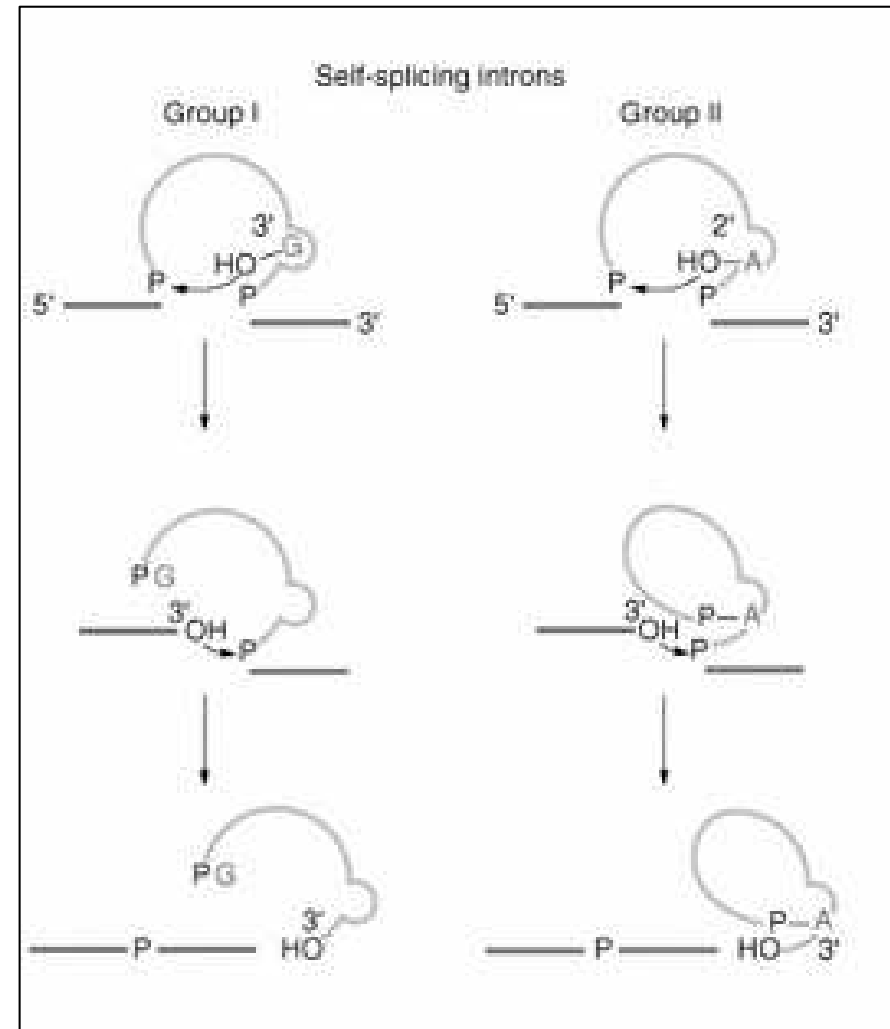


1982 - Thomas Cech: sestřih pre-rRNA prvoka *Tetrahymena*

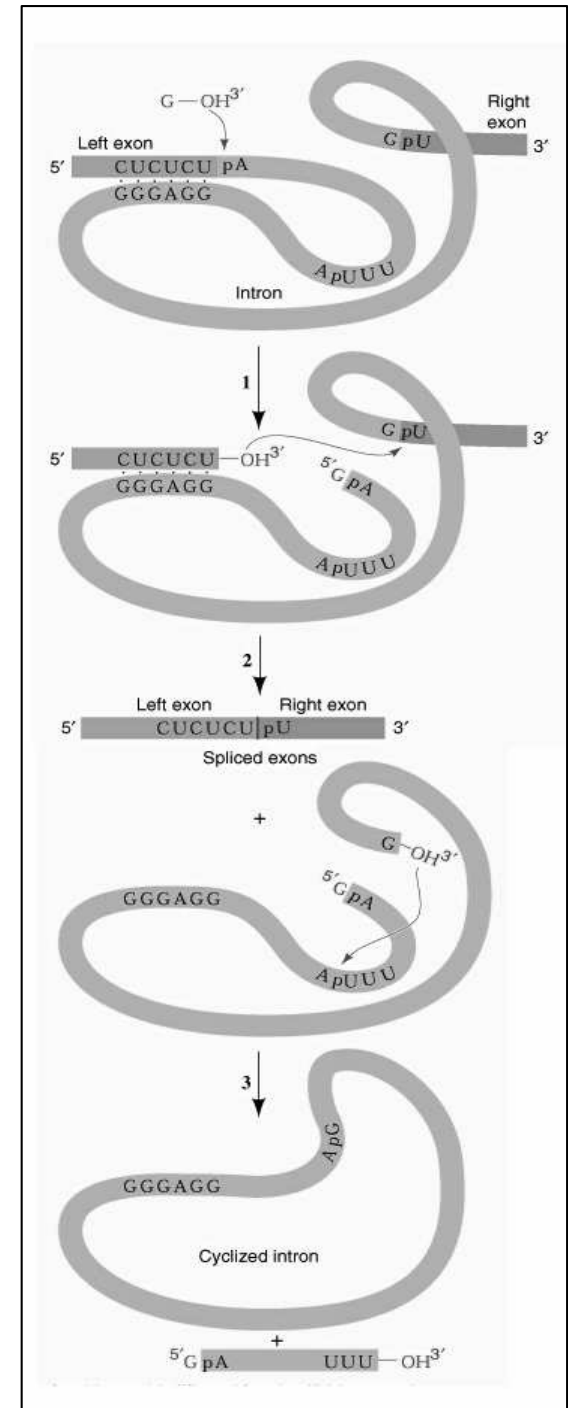
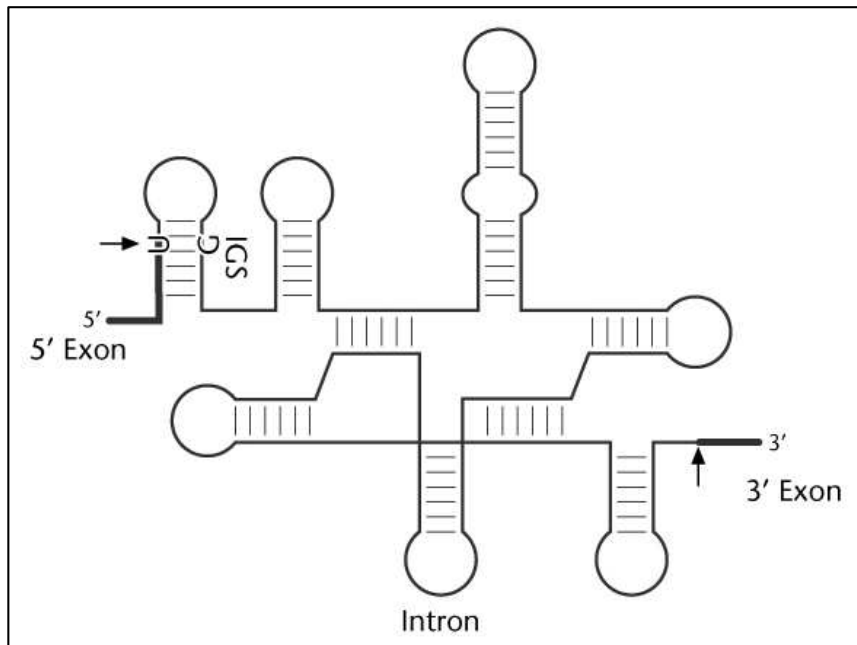
*thermophila*

- samosestřih

- v genech pro tRNA, rRNA i mRNA
- mt hub, cp řas, bakteriofágy
- dvoukroková transesterifikace, bez energie, přenos fosfodiesterové vazby
- guanosinový kofaktor
- manipulace aktivního místa umožní *trans* reakci



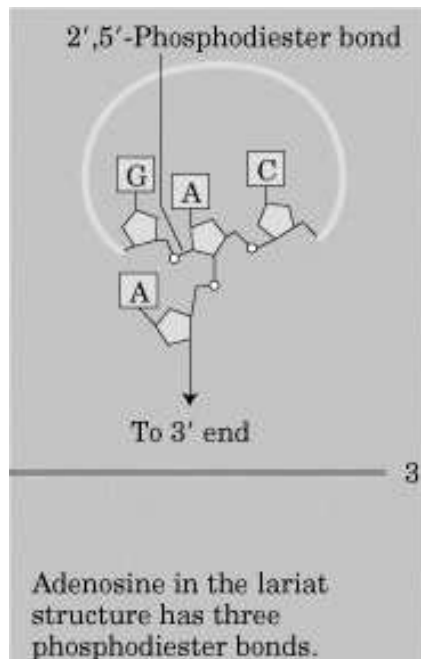
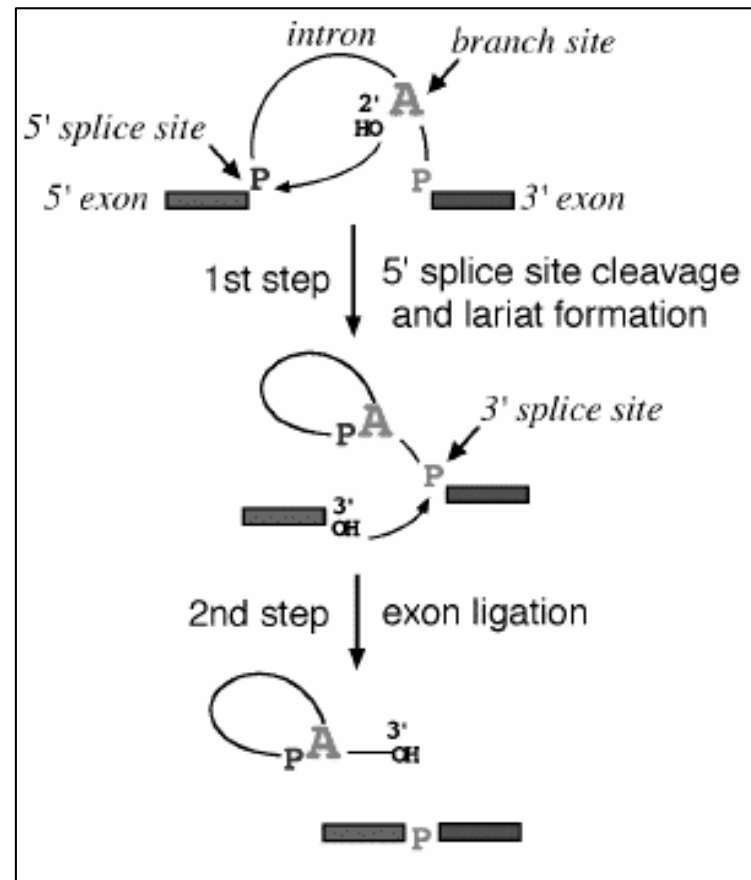
# Ribozymy: introny I. skupiny



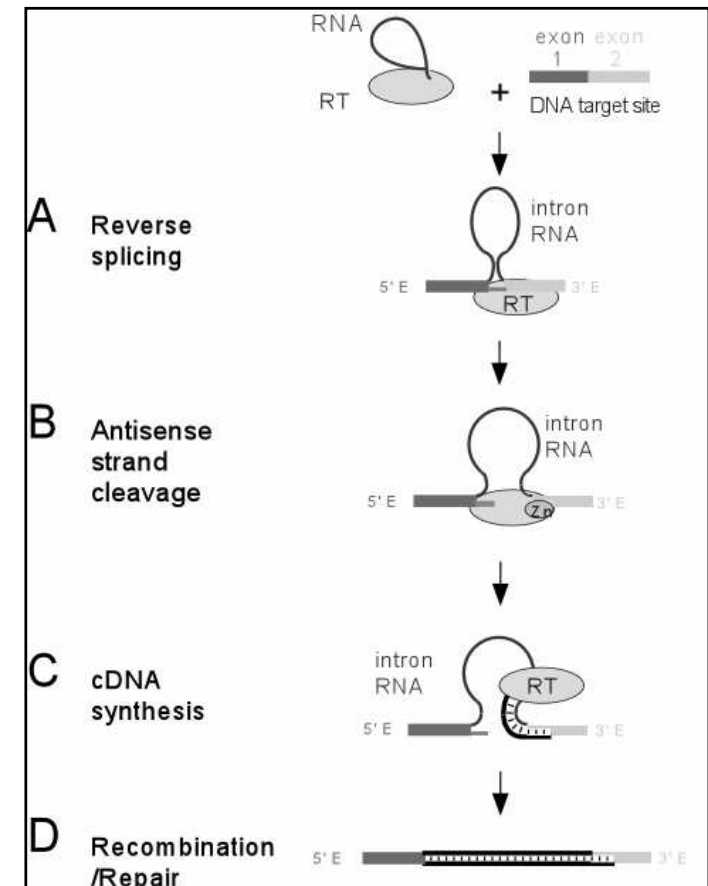
# Ribozymy: introny II. skupiny

- méně rozšířené, odvozené, bakterie, organelové genomy eukaryot
- adenosinový kofaktor
- „retrohoming“ - inserce do alel bez intronu, reverzní transkripce

## Sestřih



## Reverzní sestřih



# RNáza P



## Zrání tRNA:

odštěpení 5'-leaderu za vzniku zralé tRNA, 1983 S. Altman

## Specifické vlastnosti:

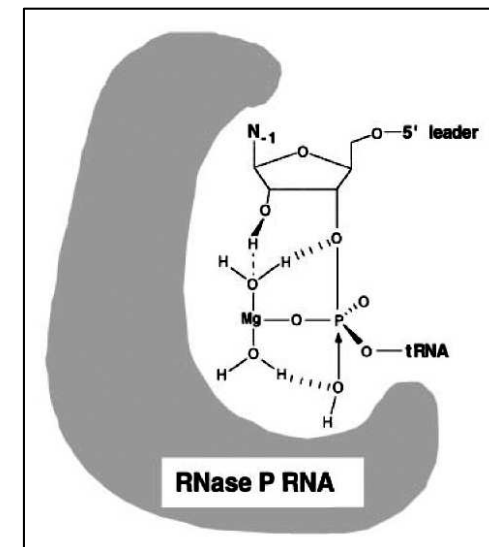
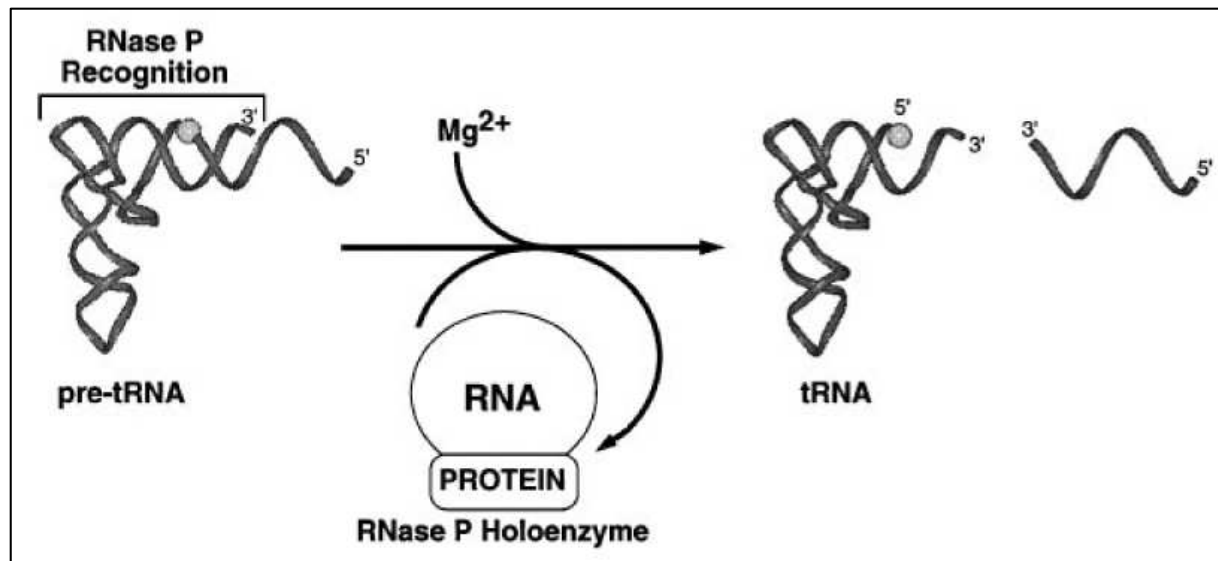
Skutečný enzym - opakovaná aktivita v *trans*

Rozpoznání substrátu není na základě párování bází, ale podle struktury a tvaru

Nukleofilem je hydroxylový ion  $\text{OH}^-$

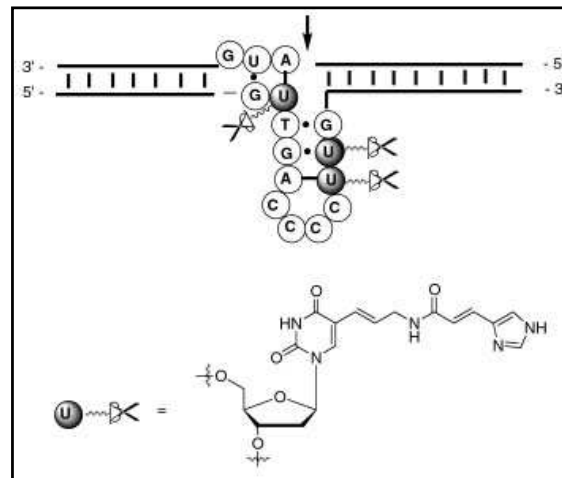
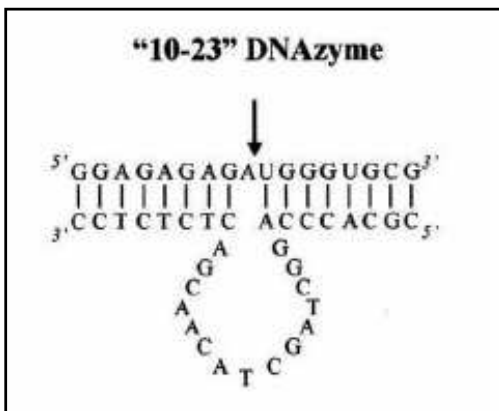
*E. coli* - RNA + jedna bílkovina, katalytická aktivita čisté RNA prokázána

*H. sapiens* - RNA + tři bílkoviny, katalytická aktivita RNA neprokázána



# DNAzymy - enzymaticky aktivní DNA

- připraveny *in vitro* selekčními metodami (SELEX)
- „10-23“ deoxyribozym, katalytické centrum (15bází) + dvě ramena vážící substrát, štěpí RNA
- výhody DNA: tvorba DNAzymů rezistentních k nukleázám, sekvenční specifita
- tvorba molekul DNA podobných proteinům (báze s postranními AK řetězci, OBR.)
- antivirové, proti HIV-1 RNA,
- cílené proti „rakovinovým“ genům





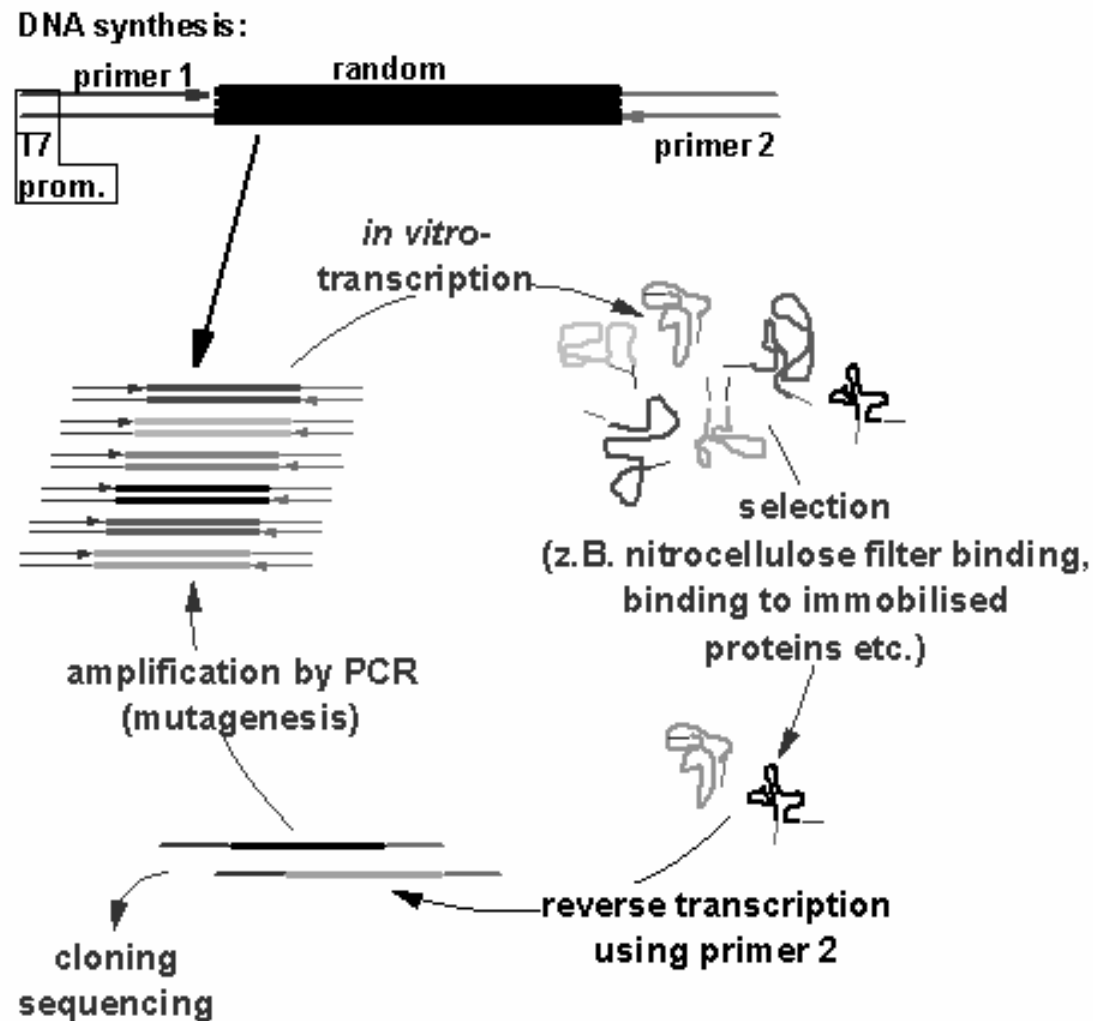
# Selekce DNA ve zkumavce: Aptamery a SELEX

- G. F. Joyce, J.W. Szostak, a L. Gold, počátek 90. let
- molekuly RNA nebo DNA
- 15-60 bází dlouhé, intramolekulární interakce, folding
- získané selekcí ve zkumavce (SELEX)
- lat. „aptus“ = pasovat, zámek a klíč
- vazba malých molekul a makromolekul, supramolekulárních struktur či buněk
- velké rozdíly afinit u podobných molekul

theophylline  
(1,3-dimethylxanthine) ‹ ‹ caffeine  
(1,3,7-trimethylxanthine)

# SELEX: „evolve *in vitro*”

## A. *In vitro* Selection of an RNA-Aptamer



## B.

- DNA viry (AAV)  
pro genovou terapii
- rezistence k Ab
- metoda SELEX
- produkce supervirů

**Na počátku byly proteiny i  
nukleové kyseliny (koevoluce)**

**GENETICKÝ KÓD**

# Vznik genetického kódu

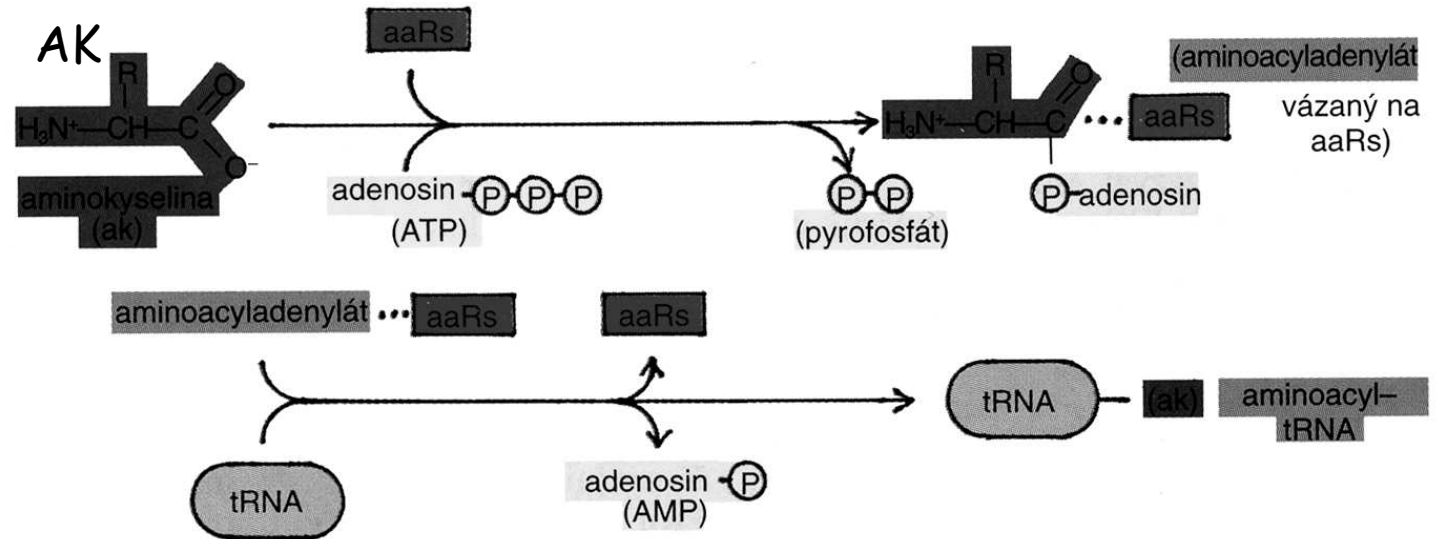
1. Unikátní vysoce nepravděpodobná událost („frozen accident“)
2. Postupný vývoj - důkazy:
  - (a) minimalizace chyb
  - (b) Korelace fyzikálně-chemických vlastností AK a tripletů, interakce
  - (c) AK syntetizované společnými biochemickými dráhami jsou kódovány podobnými triplety
3. Produkt rozumné bytosti - nesplňuje kritérium vědecké hypotézy (ověřitelnosti)

# Inkorporace bílkovin do RNA světa

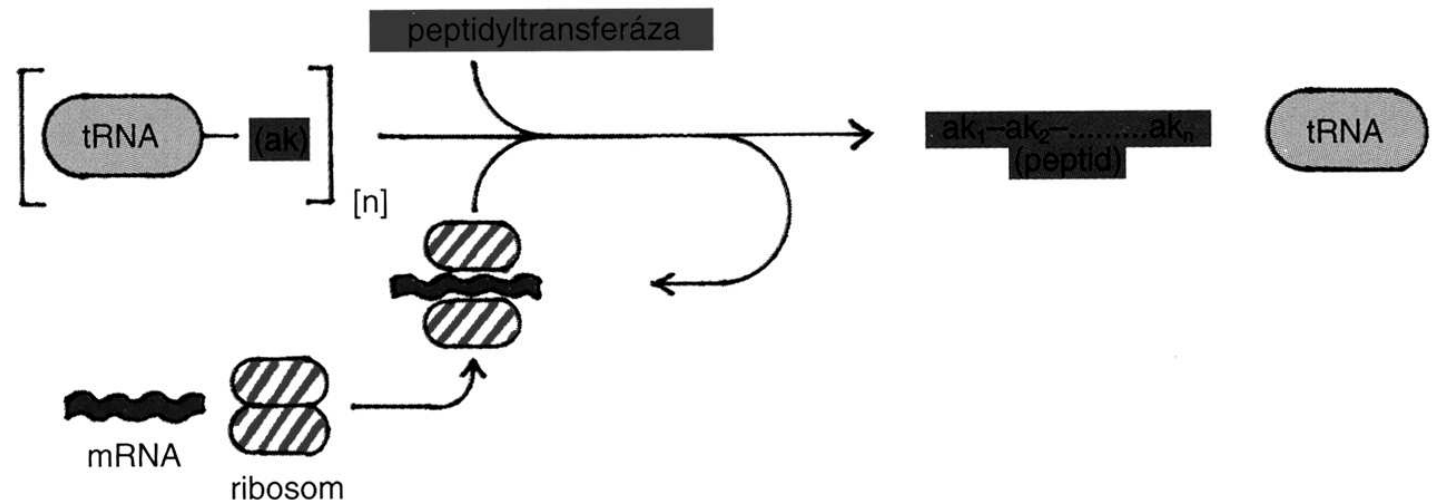
Dvoukroková syntéza bílkovin:



Aktivace tRNA,  
aminoacyl-tRNA  
synthetasa,  
mohl být ribozym,  
bez templátu,  
operační kód



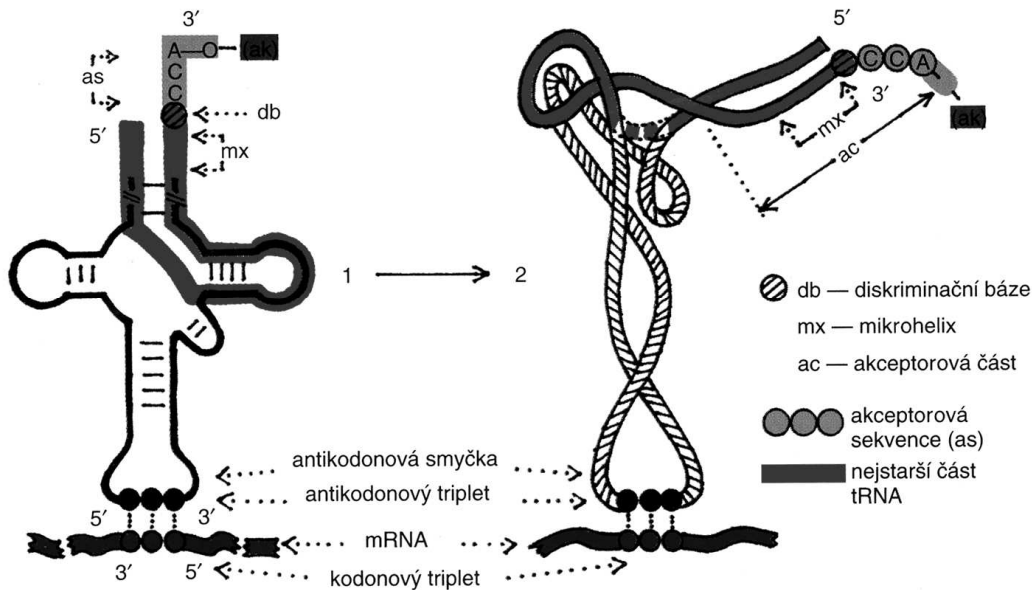
Kondenzace  
aminokyselin,  
peptidyltransferasa,  
je ribozym,  
podle templátu,  
genetický kód



# Předchůdce tRNA

Snad signál pro replikasu, vlásenka na 3'-konci genomové RNA viru Q $\beta$  dodnes nese adaptér -CCA

Syntéze peptidů předcházely jiné funkce aminokyselin - aminoacylace, předstupeň aktivace tRNA, vznik operačního kódu



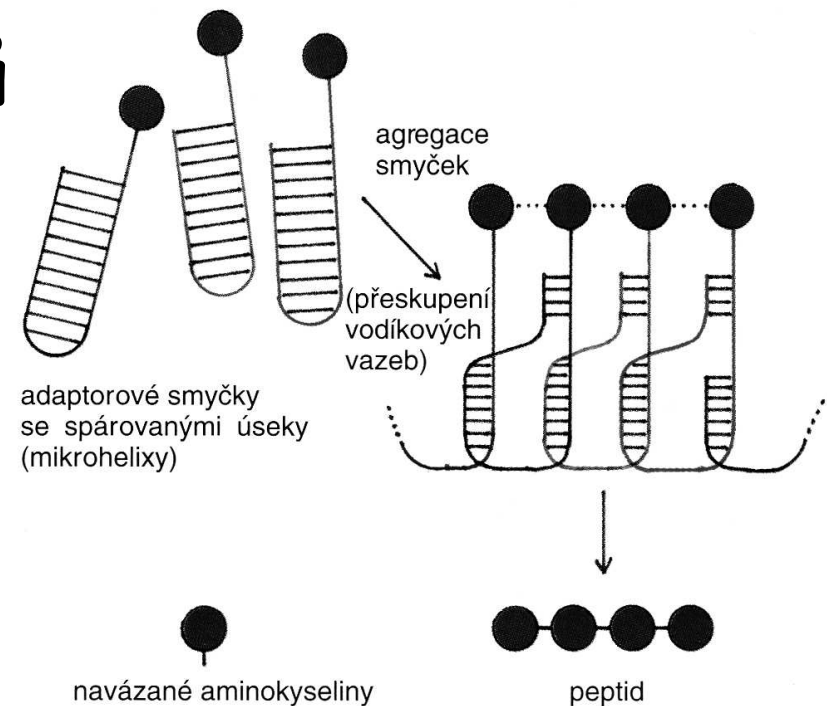
Struktury nebo vlastnosti vzniklé v ranějších evolučních etapách bývají v modifikované podobě použity později k jiným účelům

## Nekódovaná syntéza peptidů

Adaptorové smyčky

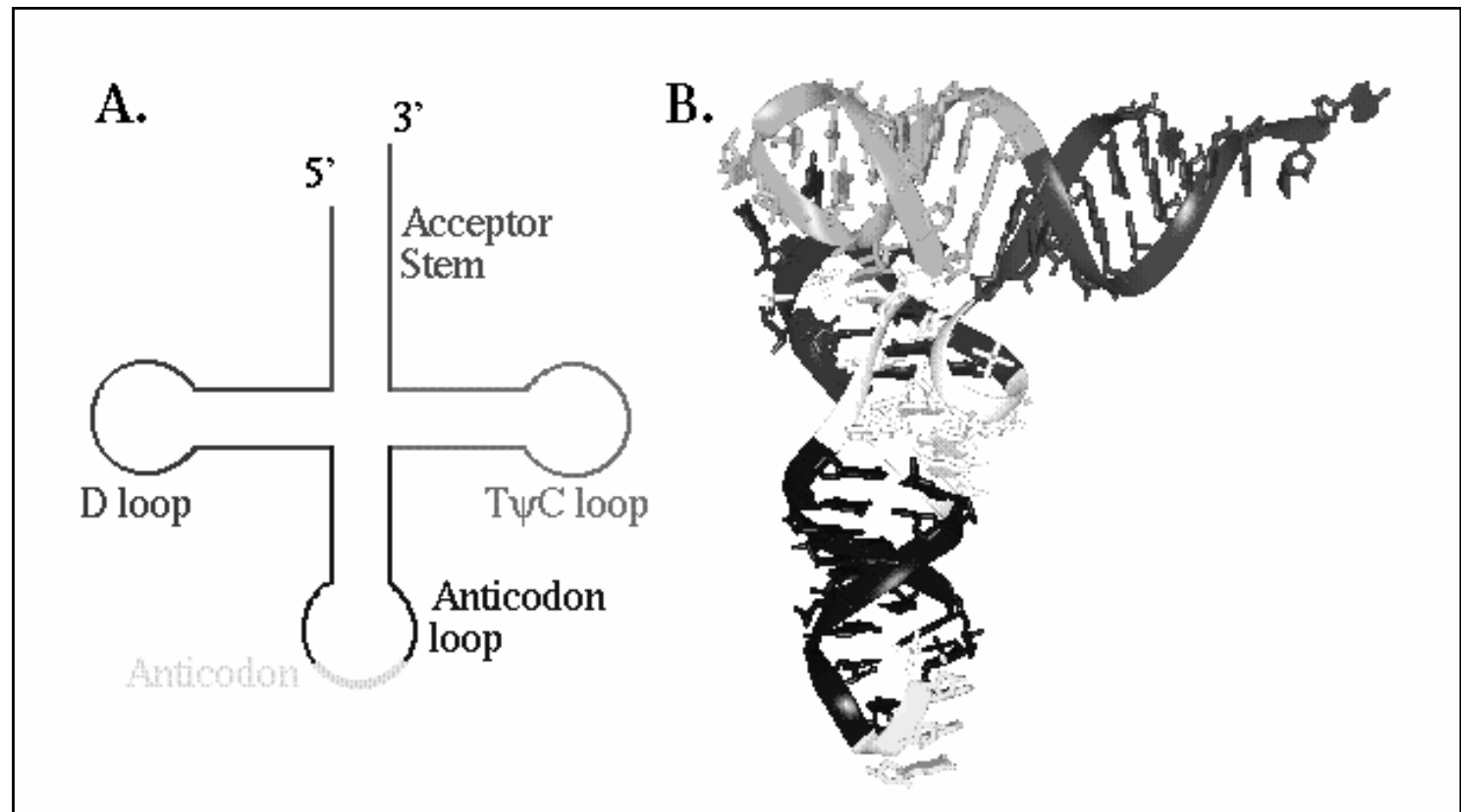
Diferenciace RNA na genotyp (komplementární vlákna) a fenotyp (adaptory)

Změna terciální a kvartérní struktury adaptorů mohla vytvořit podmínky pro vznik peptidové vazby



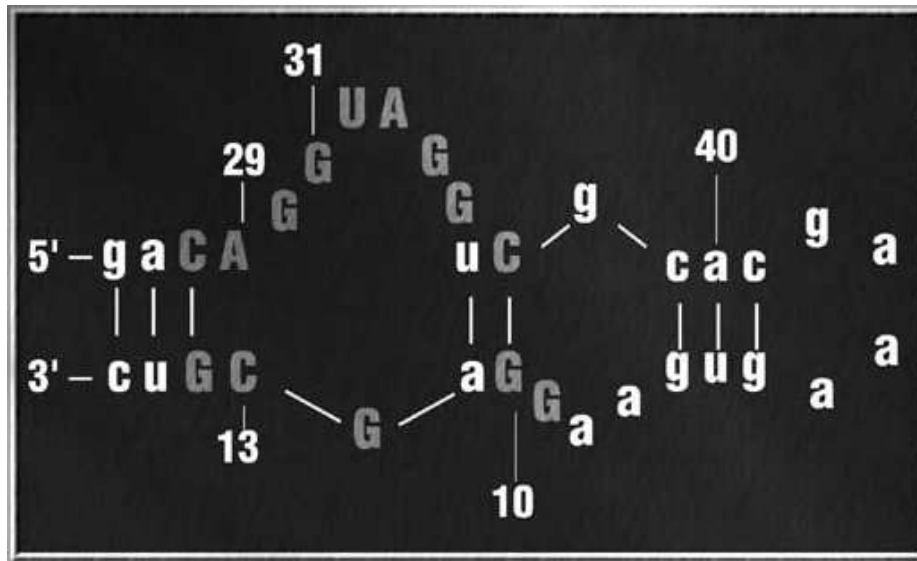
# tRNA: nejstarší biomakromolekula

- replikace RNA genomů s náhodným počátkem
- výhodný počátek na 3' konci, mikrohelix
- vazba AK stabilizuje replikázový komplex
- ribozymové aaRs připojují AK
- za CAA jsou diskriminační báze, operační kód
- přesun bází do antikodonové oblasti

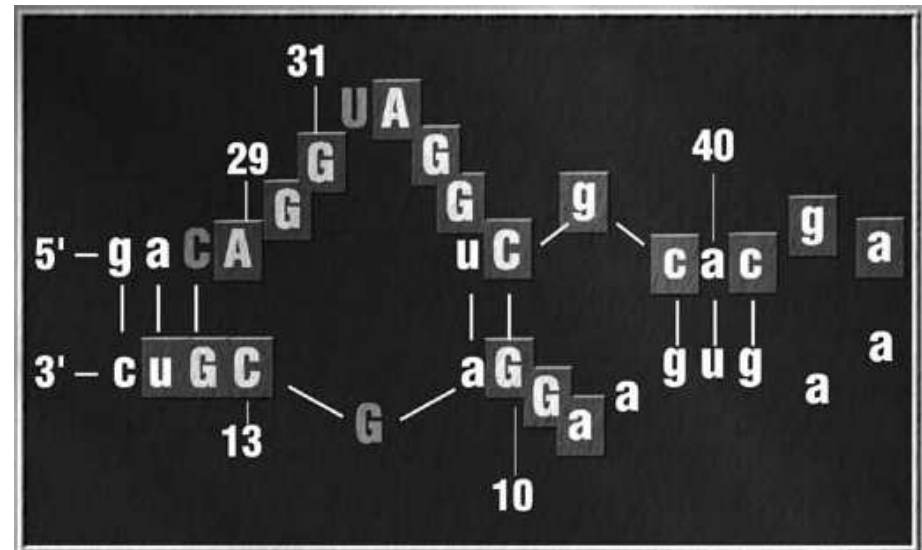


# Aptamery a genetický kód

- Aptamerové RNA silně se vážící na arginin obsahují argininové kodony (Schostak)



Báze vážící arginin (zeleně)

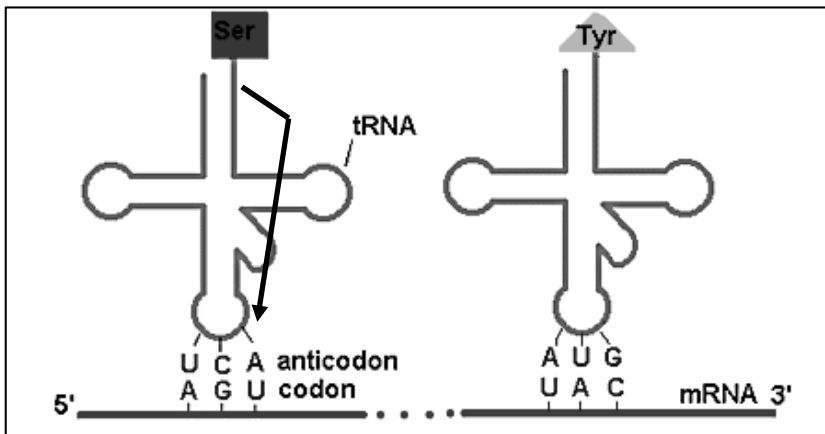


Argininové kodony (AGG)



# Přechod ke kódované syntéze - od operačního ke genetickému kódu

Vznik operačního kódu předcházel vzniku genetického kódu



Bioinformatické studie -  
přímá genetická souvislost  
operačního a genetického kódu

Sekvence dnešních tRNA lze  
odvodit z opakovaných spojení,  
rekombinací a mutací krátkých  
palindromatických sekvencí

Antikodony - pocházejí z první  
trojice spárovaných bazí v  
akceptorové části prvotních  
adaptorových RNA

		2nd base in codon				
		U	C	A	G	
1st base in codon	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

3rd base in codon

**The Genetic Code**

# Teorie vývoje genetického kódu

První poloha	Druhá poloha				Třetí poloha
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	term	term	A
	Leu	Ser	term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

## GC model

Nejstarší triplety *GXC*  
 Val, Ala, Asp, Gly  
 nejčastější aa, abiotická syntéza,  
 glycinové hodiny  
 Další vývoj prostřednictvím  
 mutační expanze

## AU model

Prakód obsahoval jen báze A,U  
 Mutační expanze většinou adaptivní

## GCU model (Trifonov)

*GCX, GXU, XCU*  
 expanze *GCT*-nemoci  
 pořadí kodonů v evoluci a stabilita  
 obě vlákna kódující

# Mutační expanze AU prakódu

## AU model

Prakód obsahoval jen báze A,U  
Mutační expanze většinou adaptivní

### První poloha

Mění smysl kódování (aa)  
nemění povahu aa

### Druhá poloha

Mění smysl kódování  
Pur/Pur, Pyr/Pyr - nemění povahu aa  
Pur/Pyr - mění i povahu aa

### Třetí poloha

Nemění smysl kódování, když ano,  
zachovává chemickou povahu aa










První poloha	Druhá poloha				Třetí poloha
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	term	term	A
	Leu	Ser	term	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

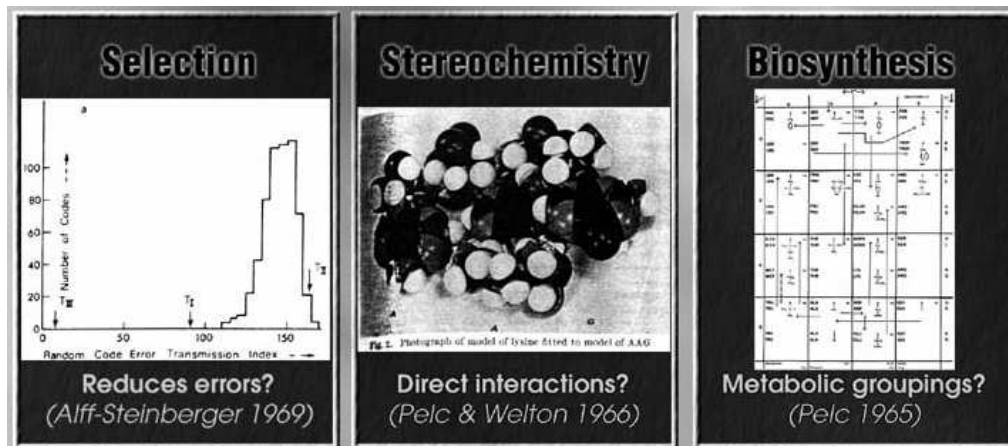
# Důkazy postupné evoluce genetického kódu

- Minimalizace chyb
- Přímé interakce AK s kodony
- AK kódované podobnými kodony jsou syntetizované stejnými biochemickými dráhami

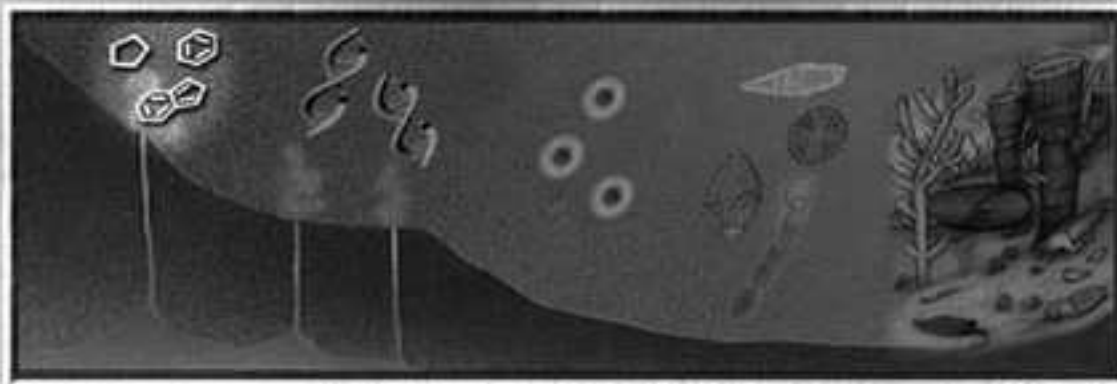
	U		C		A		G	
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	TER	UGA	TER
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	TER	UGG	Trp
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser
	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
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly

	Acidic		Amide		Hydroxyl containing
	Alkyl		Aromatic		Sulfur containing
	Alkyl		Basic		STOP



# Stejné AK v prebiotické syntéze, v prakódu i v meteoritech

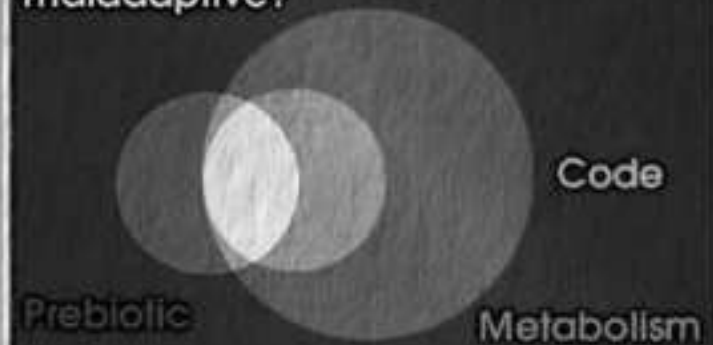


Amino Acid	Gly	Ala	Asp	Glu	Pro	Val	Ser	ILTK	X
Spark Tube	++	++	+	+	+	+	+	+	-
HCN Polymerization	++	++	++	+	?	-	-	-	-
Murchison Meteorite	++	++	+	+	++	+	-	-	-
Nakhla Meteorite	++	++	+	++	-	-	+	-	-

Same amino acids in prebiotic syntheses, meteorites

Most common  $\alpha$ -amino acids present in code

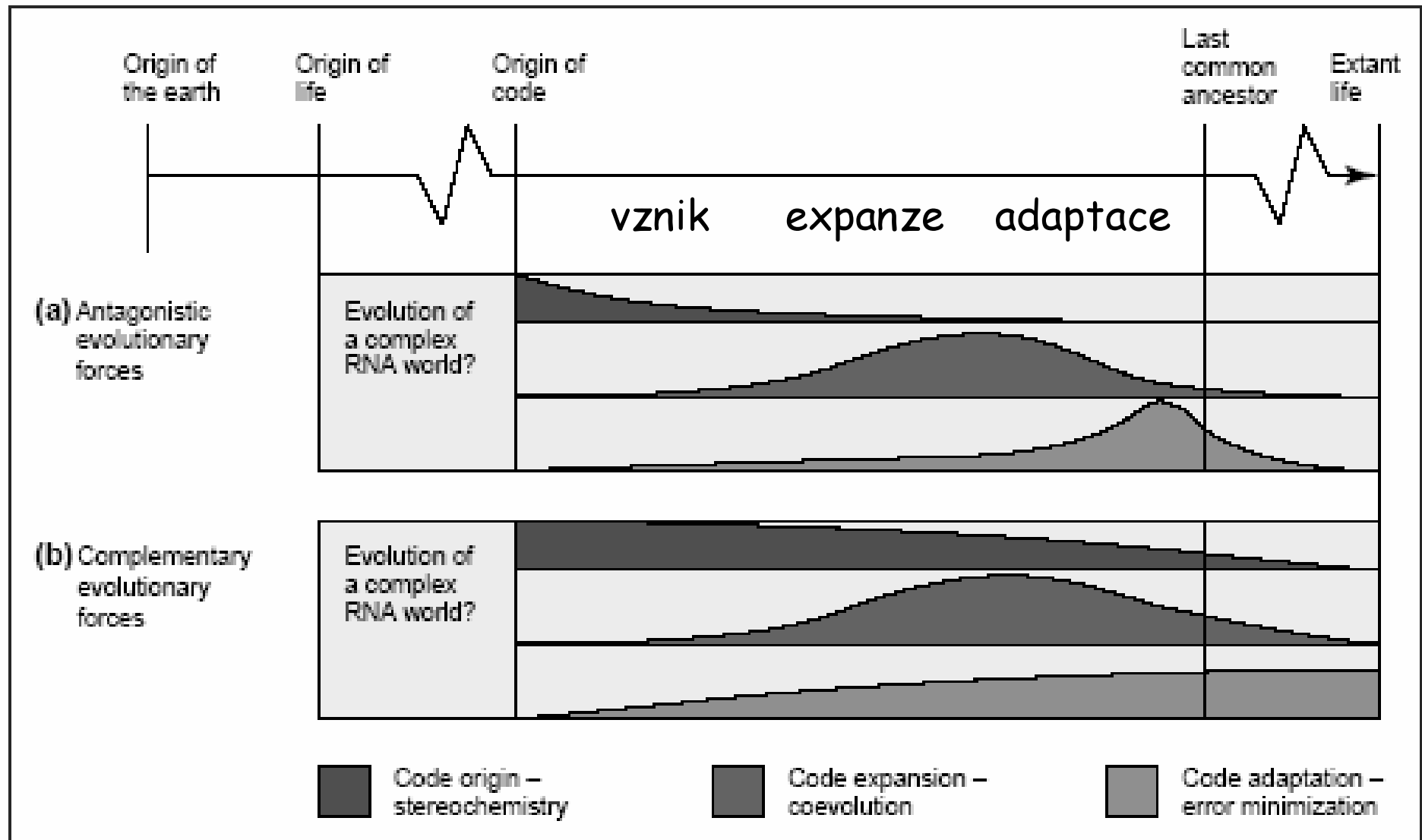
Some curiously absent from code — maladaptive?



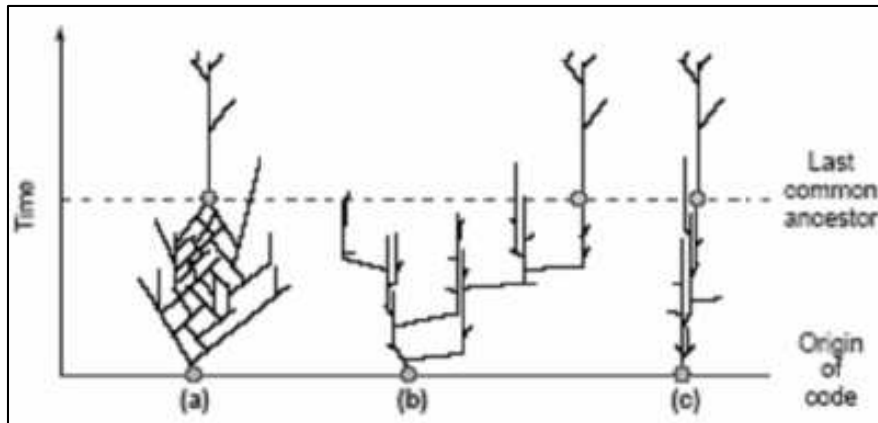
**Did prebiotic conditions influence the amino acid repertoire?**

*Weber & Miller (1981), Wong & Bronskill (1979), Kvenwolden et al. (1970, 1971), Glavin et al. (1999)*

# Evolve genetického kódu: Antagonistické nebo komplementární síly?



# Odchylky od univerzálního genetického kódu



(a) Nuclear variants

	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys	Gln Diplomonada Acetabularia Some ciliates -Other ciliates
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA TER UAG TER	UGA TER UGG Tip	
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro	CAU His CAC His CAA Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg	Ser Candida -Saccharomyces
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile	ACU Thr ACC Thr ACA Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys	AUG Met AAG Lys AAG Lys	Non sense Micrococcus
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	

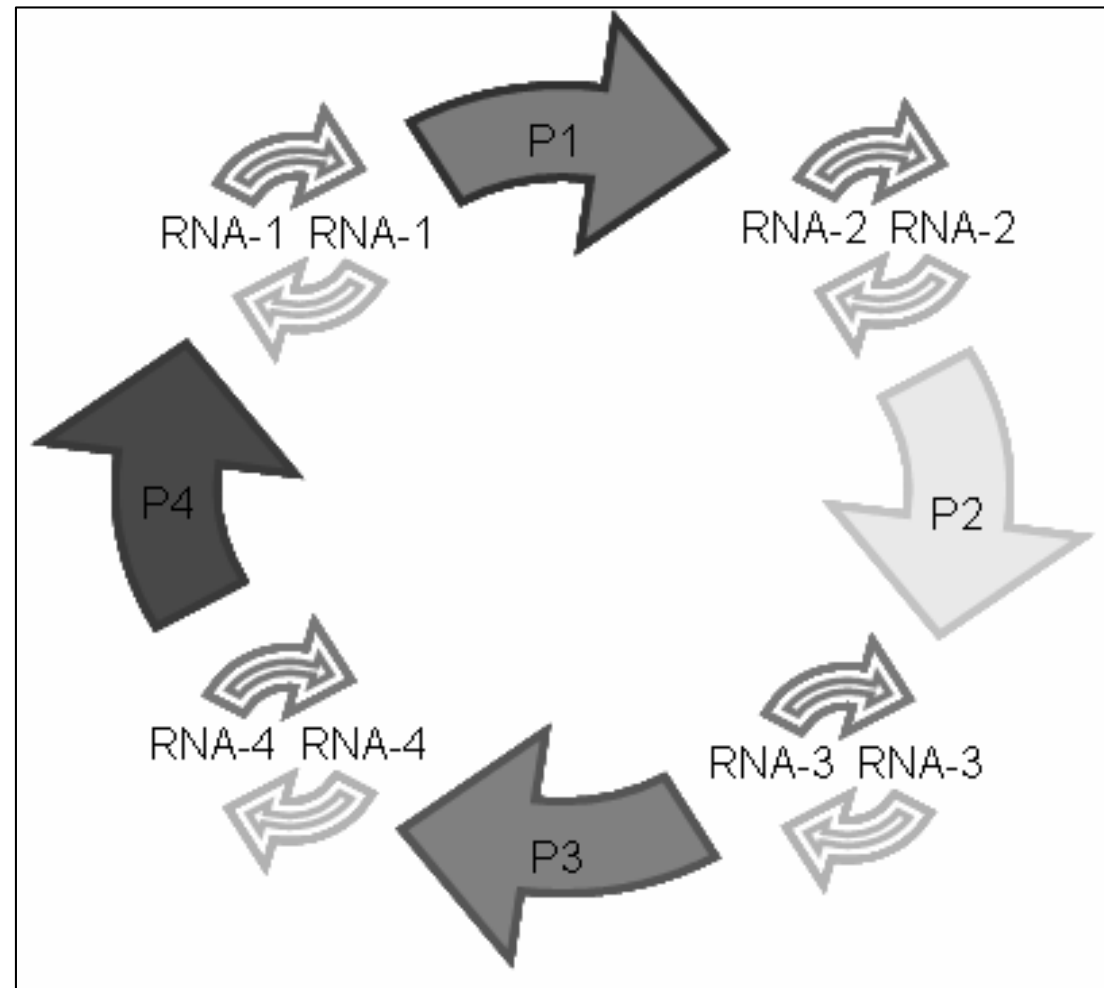
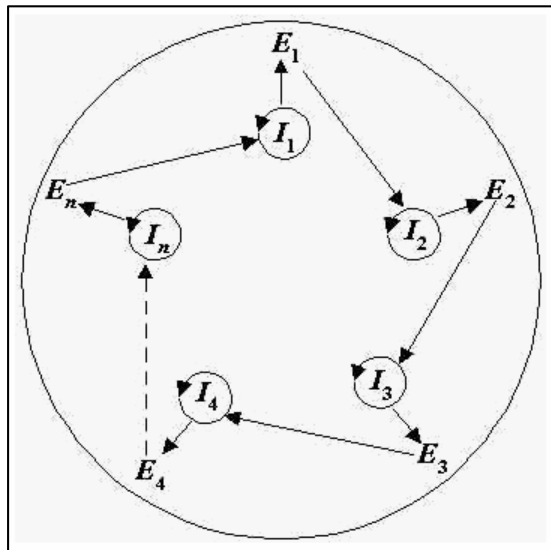
(b) Mitochondrial variants

	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe	UCU Ser UCC Ser	UAU Tyr UAC Tyr	UGU Cys UGC Cys	Various Some chlorophytes (UAG = Leu) Some chlorophytes (UAG = Ala) Platyhelminths (UAA = Tyr)
	UUA Leu UUG Leu	UCA Ser UCG Ser	UAA TER UAG TER	UGA TER UGG Tip	
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro	CAU His CAC His CAA Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg	Thr Yeast
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile	ACU Thr ACC Thr ACA Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys	AUG Met AAG Lys AAG Lys	Met Yeast Triploblasta -Echinoderms
	AUG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	Various Blattaria (Ser) -Drosophila (non sense) -Vertebrates (Gly) -Tunicates (TER)

# Hypercykly (M. Eigen)



Původně jeden člen -  
duplikace a mutace -  
dva členy ...

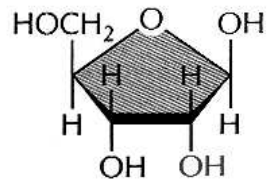




# Proč je genetická informace uložena v DNA

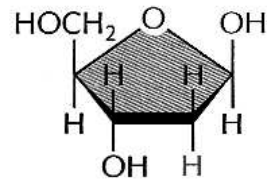
## Rozdíly mezi RNA a DNA:

Ribosa (2'-OH skupina)  
Uracil místo thyminu (absence methylu v poloze 5)



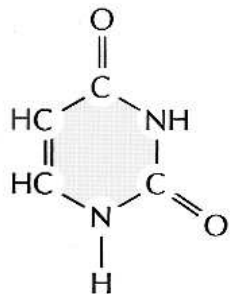
ribose

used in ribonucleic acid (RNA)



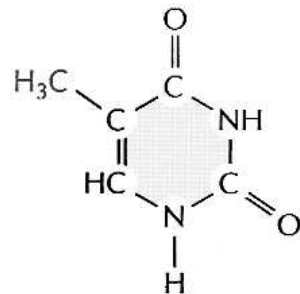
deoxyribose

used in deoxyribonucleic acid (DNA)



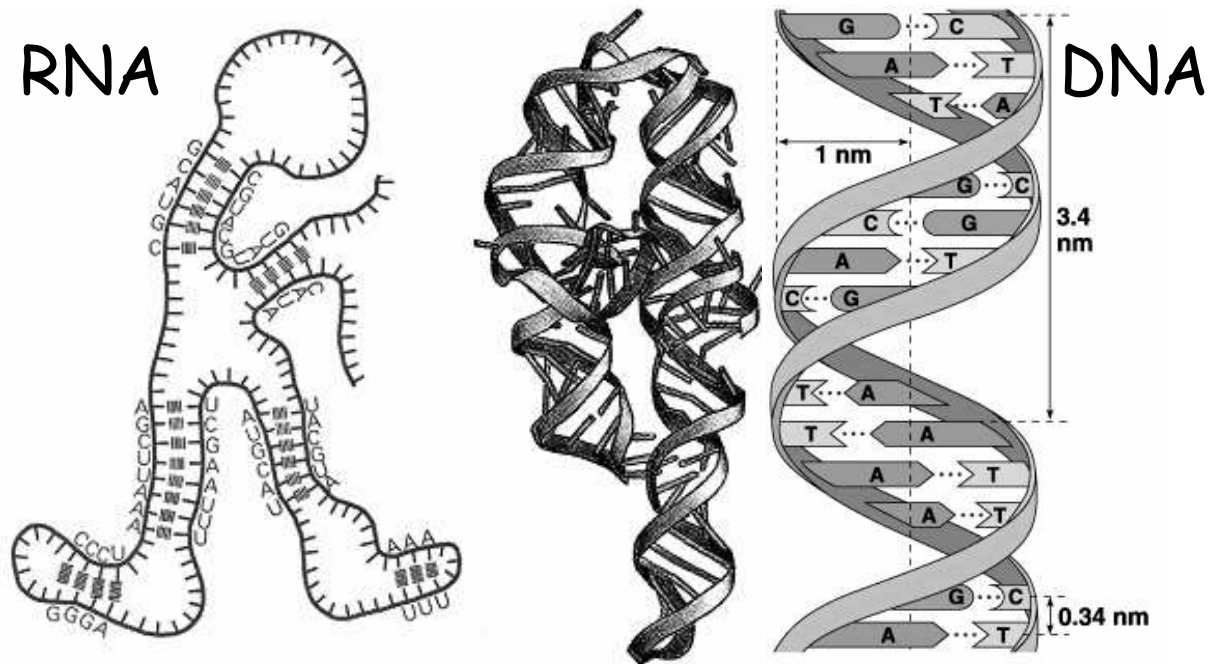
uracil

used in RNA



thymine

used in DNA



## Důsledky:

- vyšší chemická i fyzikální stabilita
- delší molekuly (uchování komplexní informace)
- dvouřetězcová (replikace)
- méně reaktivní deoxyribóza
- konformační flexibilita - funkční relevance

# Jiný organizační princip: Teorie jílů

Alexander Graham Cairns-Smith (1985):

*„Seven Clues to the Origins of Life“*

- anorganické křemičitanové látky tvořící krystaly
- replikace
- mutace
- šíření do okolí, sedimentace
- obdoba přírodního výběru

Problém přechodu od jílů k nukleovým kyselinám, teorie není široce akceptována

# Zvláštnosti života a život na bázi křemíku?

## Důvody pro křemík:

- vyšší stabilita, možnost života při vyšších teplotách
- ve vesmíru velmi rozšířen
- v periodické tabulce leží pod uhlíkem, podobná chemie
- váže čtyři vodíky ( $\text{SiH}_4$ , silan), tvoří polymery (silikony), kde se střídají Si-O (podobně jako C-O tvoří polyacetaly)

## Nevýhody:

- je větší a proto hůře tvoří dvojně a trojně vazby
- dlouhé řetězce méně stabilní
- silany jsou velmi reaktivní s vodou
- počet křemíkatých látek ve vesmíru 10x menší

# Další prvky a rozpouštědla

## Fosfor:

- může tvořit dlouhé polymery
- velmi reaktivní, stabilnější v kombinaci s dusíkem
- P-N vazbu tvoří různé sloučeniny i cyklické

Síra místo kyslíku - některé bakterie

## Rozpouštědla:

### Čpavek:

- rozpouští většinu organických látek i některé kovy
- normální tlak: kapalný při  $-79$  až  $-33^{\circ}\text{C}$
- při 60 atm: kapalný při  $-77$  až  $+98^{\circ}\text{C}$
- podmínky pod povrchem měsíce Titanu