

# **Molekulární biologie pro informatiky - 2**

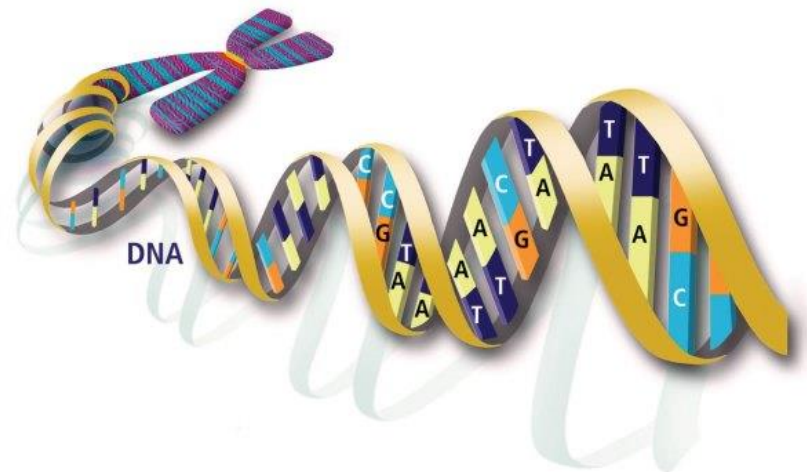
**Struktura genomu  
a genetická informace**

# Vlastnosti genetického materiálu

Obecné přijetí, že nositelem genetické informace jsou nukleové kyseliny až v 50. letech 20. století. Až objasnění struktury DNA ukázalo, jak by se mohla uchovávat a přenášet genetická informace.

Genetický materiál se musí vyznačovat:

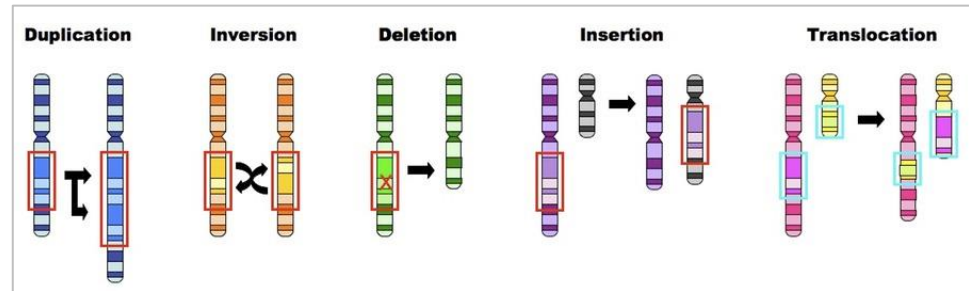
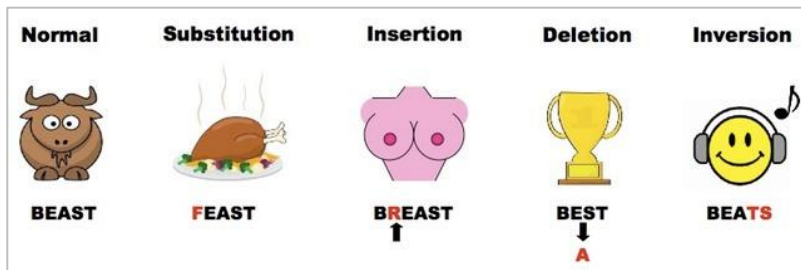
- schopností **uchovat velké množství biologických informací ve stabilní formě**, tyto informace musí mít možnost se mezi jedinci a druhy různit
- schopností **přesně se replikovat**, v rámci mnohobuněčného organismu i při přenosu genetické informace do potomstva
- schopností **kódovat fenotyp** jedince, přítomen mechanismus překládající genetickou informaci do struktury proteinů
- schopností změny (možnost evoluce)



# Zdroje změn v genetický materiálu

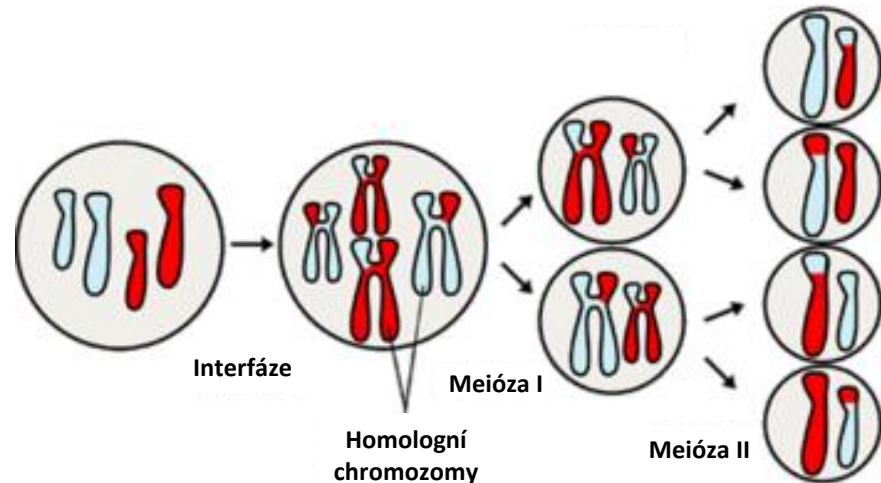
## Mutace

- změna informace přenášené z rodičů na potomky (mateřské buňky na dceřiné)
- radikální zásah zavádějící rozmanitost



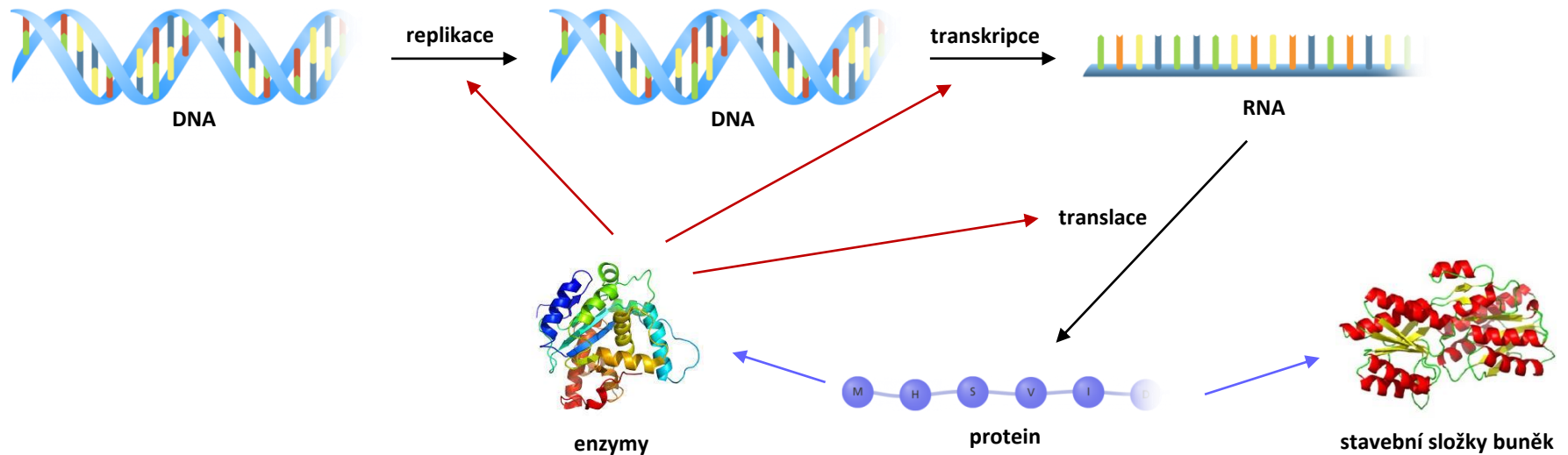
## Rekombinace

- kombinace genetických informací rodičů při pohlavním rozmnožování
- vznikají nové kombinace genů zděděné potomky
- mírnější zdroj rozmanitosti



# Vzájemná podmíněnost NK a proteinů

- NK a proteiny jsou základními složkami všeho živého
- jejich vzájemné vztahy zajišťují základní funkce živých soustav
- **funkce DNA** - nositelka genetické informace (GI)
  - přenos GI na potomstvo
  - přenos GI na proteiny
- **funkce proteinů** - stavební a katalytické
  - dány jejich primární strukturou
- syntéza DNA a proteinů je závislá na DNA jako nositelce GI, proteinech jako enzimech



# Genetická informace

Genetická informace se zapisuje ve formě sekvence nukleotidů

v DNA (prokaryota, eukaryota, DNA viry) pomocí A, T, G, C

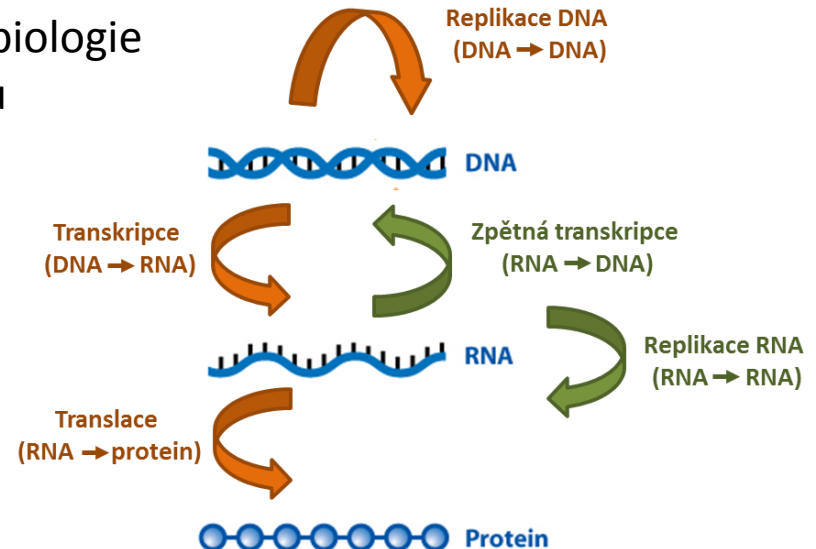
v RNA (RNA viry) pomocí A, U, G, C

Typy genetických informací

- informace o primární struktuře proteinu, v DNA či RNA
- informace o primární struktuře biologicky funkčních RNA (tRNA, rRNA), v DNA
- informace o primární struktuře DNA, v RNA
- informace o vazbě specifických proteinů k daným sekvencím, v DNA či RNA

## Přenos genetické informace

- zformulován v ústředním dogmatu molekulární biologie
- přenos možný z NK do NK nebo z NK do proteinu
- zpětný přenos z proteinu do NK možný není
- replikace
- transkripce
- translace



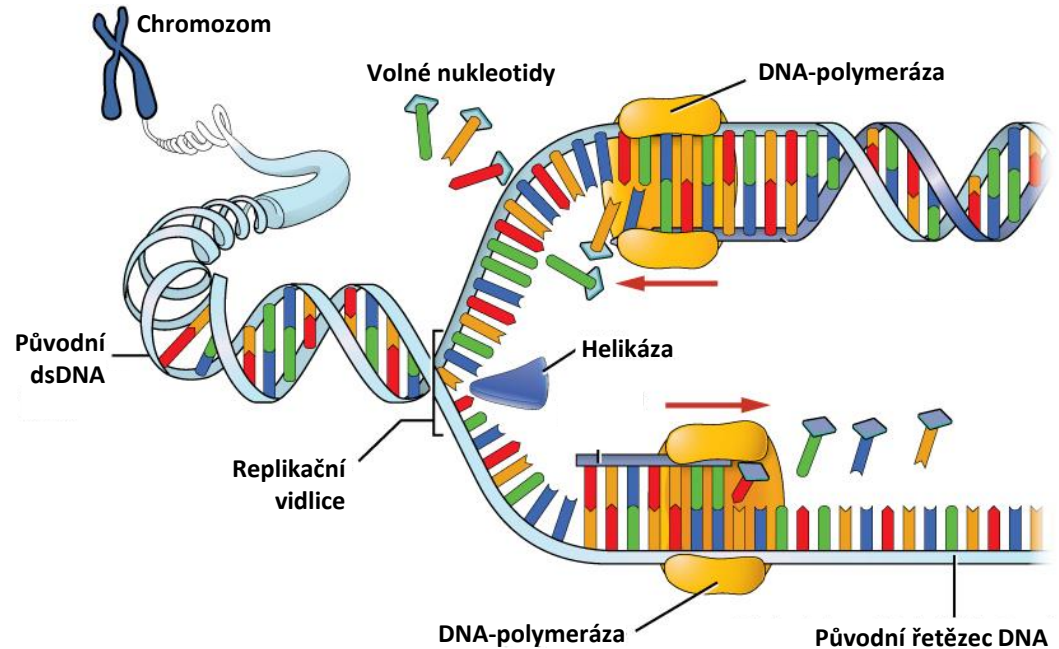
# Replikace

Během replikace se tvoří kopie (repliky) nukleových kyselin zajišťující přenos GI.

**Semikonzervativní způsob replikace dsDNA:** po rozpletení dvoušroubovice slouží oba řetězce jako předloha pro syntézu komplementárních řetězců. Ve výsledných molekulách dsDNA je vždy zachován jeden řetězec původní molekuly dsDNA. Způsob replikace zajišťuje, že dceřiné molekuly mají stejnou sekvenci jako ty původní, nemění se primární struktura NK a genetická informace v nich uložená.

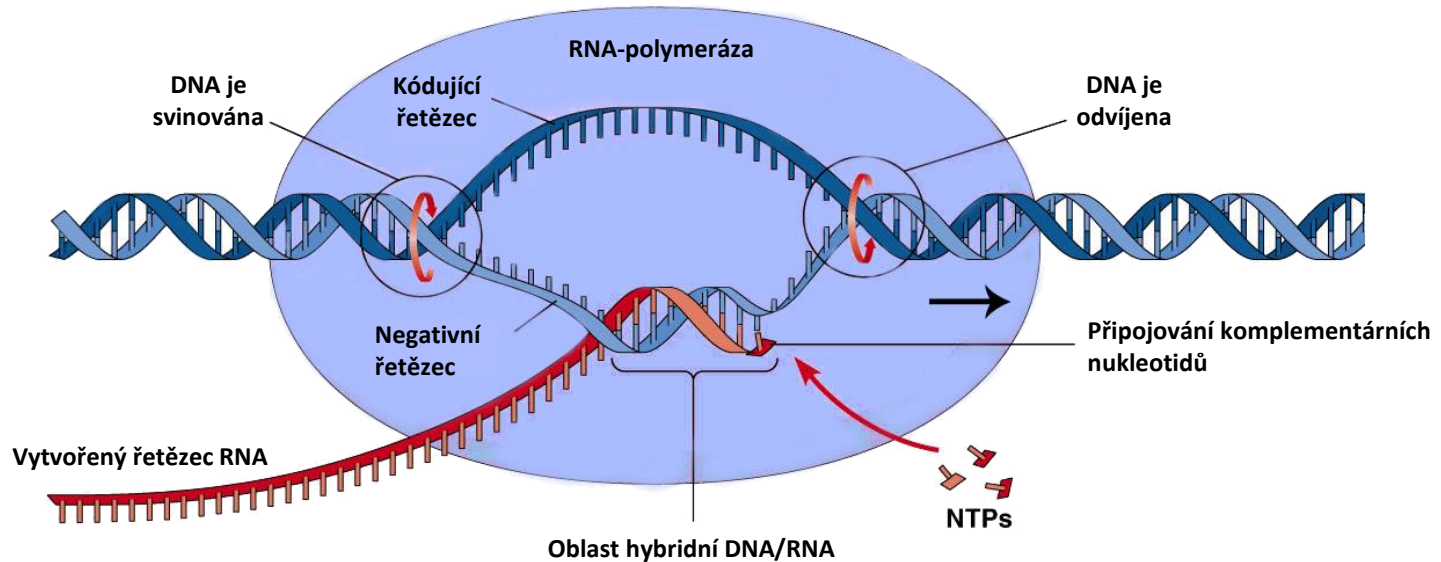
Replikace je řízena komplexem replikačních proteinů v rámci jednotlivých **replikonů**, které obsahují počátek replikace.

**Replikace ssRNA:** u RNA-virů, dočasná dsRNA, která se následně rozpojí a obě molekuly mohou tvořit nový templát.



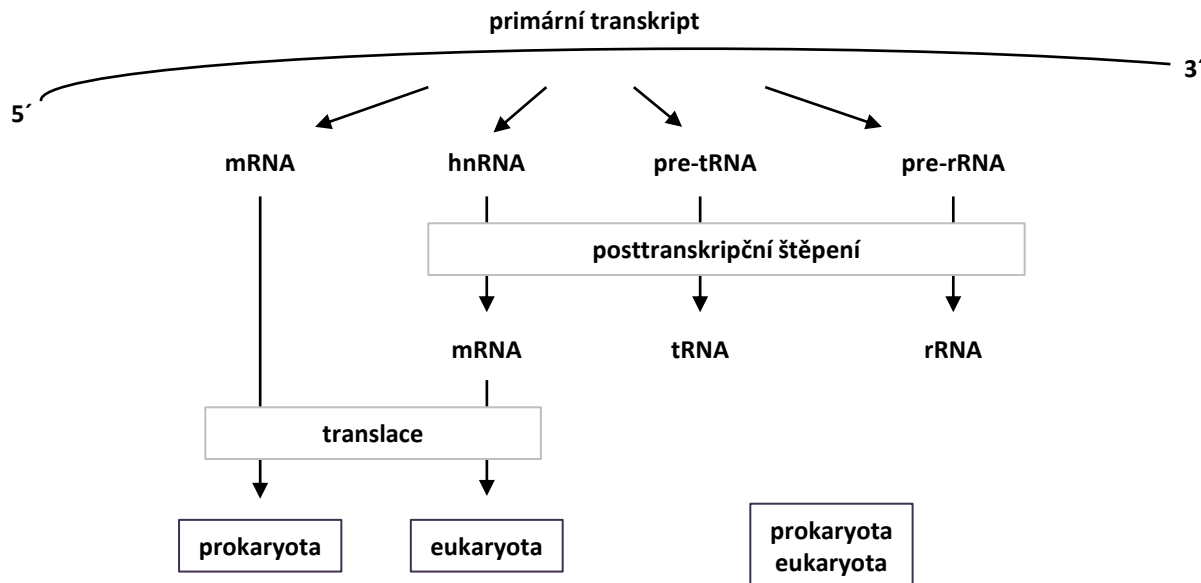
# Transkripce

- během transkripce se přepisuje genetická informace z DNA do RNA
- opačný pochod, přepis genetické informace z RNA do DNA, se nazývá zpětná transkripce
- probíhá vazbou komplementárních ribonukleotidů k přepisovanému úseku DNA
- tvorbu fosfodiesterových vazeb katalyzuje RNA-polymeráza
- výsledkem je transkript



# Transkripce

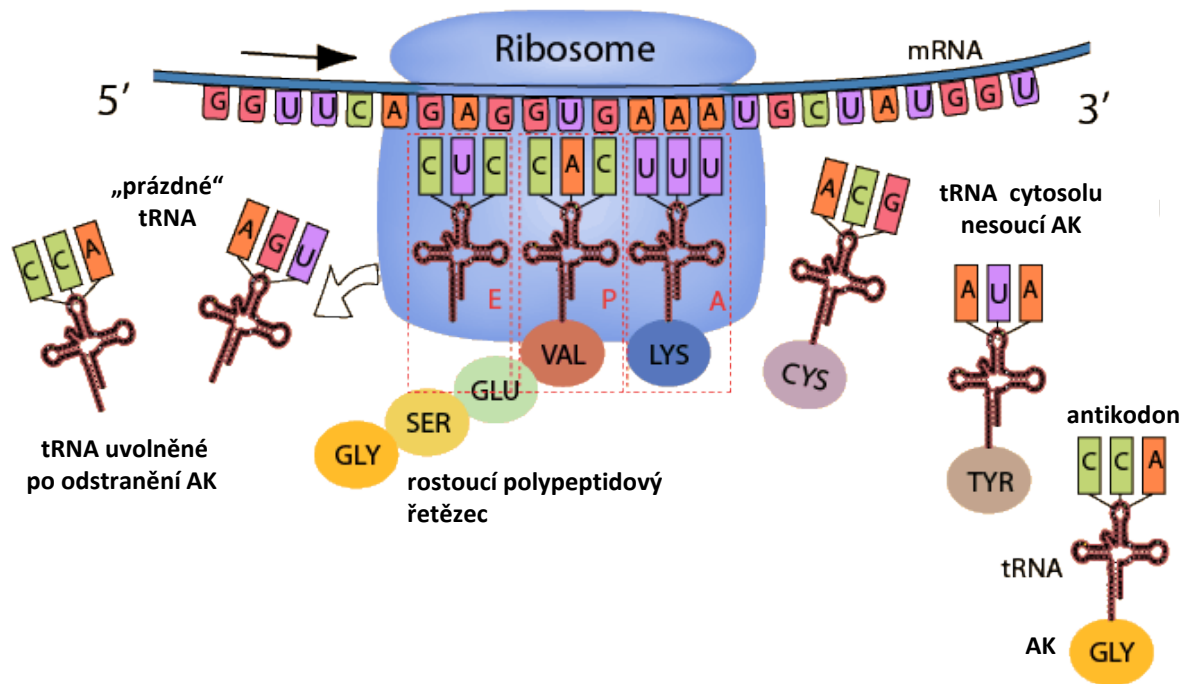
- bezprostředním produktem transkripce je primární RNA-transkript
- ten může podléhat chemickým modifikacím, tzv. posttranskripčním úpravám
- nejčastěji se jedná o štěpení transkriptu
- **mRNA** - podléhá translaci
  - u prokaryot je primárním transkriptem, u eukaryot podléhá sestřihu
- **tRNA, rRNA** - funkční RNA, nepodléhají translaci
  - prodělávají sestřih u prokaryot i eukaryot





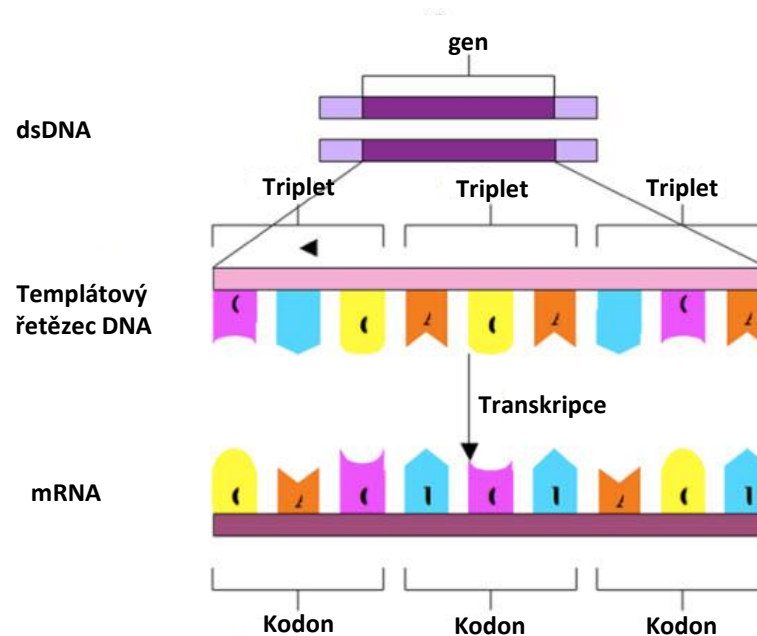
# Translace

- překlad genetické informace z mRNA do primární struktury proteinu
- genetická informace zapsaná v jednom jazyku se překládá podle určitého kódu do jiného jazyku
- nukleotidová sekvence, která obsahuje informaci o primární struktuře proteinu, se nazývá kódující nukleotidová sekvence



# Genetický kód

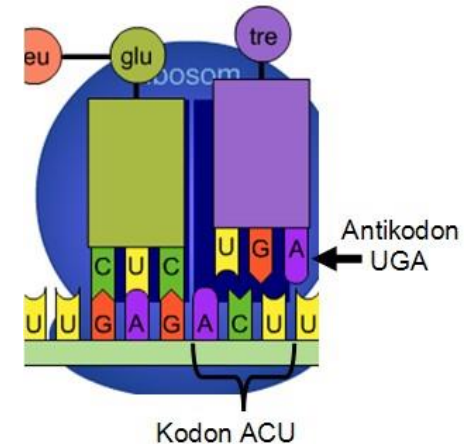
- genetickým kódováním se označuje určení primární struktury proteinu sekvencí DNA podle pravidel genetického kódu, uskutečňuje se translací
- každá AK proteinu je v DNA kódována trojicí nukleotidů, tzv. **tripiletem**



- základní jednotkou genetického kódu je **kodon** = pořadí tří nukleotidů kódujících v proteinu určitou AK nebo signalizující začátek či konec syntézy proteinu
- genetický kód je potom systém pravidel, podle kterých jednotlivé kodony určují zařazení standardních AK do proteinu

# Čtení genetického kódu

- jednosměrné rozeznání kodonů v mRNA antikodony tRNA
- **antikodon** je triplet, pomocí kterého se tRNA přechodě váže ke komplementárnímu kodonu v mRNA
- každá tRNA je obsazena konkrétní aminokyselinou



- 3 možnosti způsobu čtení tripletů

1. **ATG** CAA TGG GGA AAT GTT ACC AGG TCC GAA CTT ATT GAG GTA AGA CAG ATT **TAA**
2. A TGC AAT GGG GAA **ATG** TTA CCA GGT CCG AAC TTA TTG AGG **TAA** GAC AGA TTT AA
3. AT GCA **ATG** GGG AAA TGT TAC CAG GTC CGA ACT TAT **TGA** GGT AAG ACA GAT TTA A

- způsob čtení tripletů založený na daném začátku se nazývá čtecí rámeček
- rozlišují se dva typy
  - **otevřený čtecí rámeček (ORF)**: vymezen iniciačním a terminačním kodonem  
může kódovat souvislý a dostatečně dlouhý polypeptid
  - uzavřený čtecí rámeček: přerušovaný terminačními kodony  
nemůže kódovat souvislý a dostatečně dlouhý polypeptid

# Vlastnosti genetického kódu

- každá AK je v DNA kódována trojicí nukleotidů
- sestaven z 64 kodonů
- degenerovaný, jednotlivé AK kódují různé kodony
- smysl kodonu u 61 kodonů
- většina kodonů je synonymních (stejný smysl)
- nesmyslné kodony, které působí jako terminační
  - UAA (ochre)
  - UAG (amber)
- bifunkční kodon UGA (opal), působí jako terminační kodon nebo může kódovat selenocystein
- většina kodonů se smyslem rozdělena do
  - kodonových rodin: skupina 4 synonymních kodonu, které se liší jen nukleotidem ve třetí pozici
  - dvukodonových sad: dva synonymní kodony končící jeden na A (U) a druhý na G (C)
- bifunkční kodon AUG
  - buď kóduje Met nebo působí jako iniciační kodon
  - na začátku nukleotidové sekvence se na něj váže iniciační tRNA, která přenáší N-formylmetionin u bakterií a methionin u eukaryot
  - uvnitř nukleotidové sekvence se na něj váže tRNA s metioninem u eukaryot i bakterií
- univerzalita, většina kodonů má u všech živých soustav stejný smysl

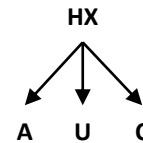
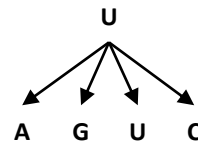
		Druhá báze kodonu				
		U	C	A	G	
První báze kodonu	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA STOP UAG STOP	UGU } Cys UGC } UGA STOP UGG Trp	U C A G
	C	CUU } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA }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

# Genetický kód

## Párování kodon - antikodon

- genetický kód obsahuje 61 kodonů, které mají smysl
- pro jejich přečtení na základě komplementarity dle Watson-Crickova párování by bylo třeba 61 molekulárních druhů tRNA
- ve skutečnosti je jich jen 31
- k této redukci počtu druhů tRNA došlo po uplatnění kolísavého párování bází mezi prvním nukleotidem antikodonu (5'-konec) a třetím nukleotidem kodonu (3'-konec)
- např.

První nukleotid antikodonu



Třetí nukleotid kodonu

Genetický kód mitochondrií obratlovců, bezobratlých a hub (ne rostlin) se vyznačuje odchylkami od standardního genetického kódu

standardní kód	UGA Trm	AUA Ile	AAA Lys	AGR Arg	CUN Leu	UAA Trm
obratlovci	<i>Trp</i>	<i>Met</i>	<i>Lys</i>	<i>Trm</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
členovci	<i>Trp</i>	<i>Met</i>	<i>Lys</i>	<i>Ser</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
ostnokožci	<i>Trp</i>	<i>Ile</i>	<i>Asn</i>	<i>Ser</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
měkkýši	<i>Trp</i>	<i>Met</i>	<i>Lys</i>	<i>Ser</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
hlístice	<i>Trp</i>	<i>Met</i>	-	<i>Ser</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
ploštěnci	<i>Trp</i>	<i>Ile</i>	<i>Asn</i>	<i>Ser</i>	<i>Leu</i>	<i>Tyr</i>
nežmaři	<i>Trp</i>	-	-	<i>Arg</i>	-	<i>Trm</i>
kvasinky	<i>Trp</i>	<i>Met</i>	<i>Lys</i>	<i>Arg</i>	<i>Thr</i>	<i>Trm</i>
<i>Aspergillus</i>	<i>Trp</i>	<i>Ile</i>	<i>Lys</i>	<i>Arg</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>
prvoci	<i>Trp</i>	<i>Ile</i>	<i>Lys</i>	<i>Arg</i>	<i>Leu</i>	<i>Trm</i>

# Strukturní gen

Základní funkční jednotkou genetické informace je gen. Rozlišují se následující formy genu:  
strukturní geny, geny pro funkční RNA, regulační oblasti DNA

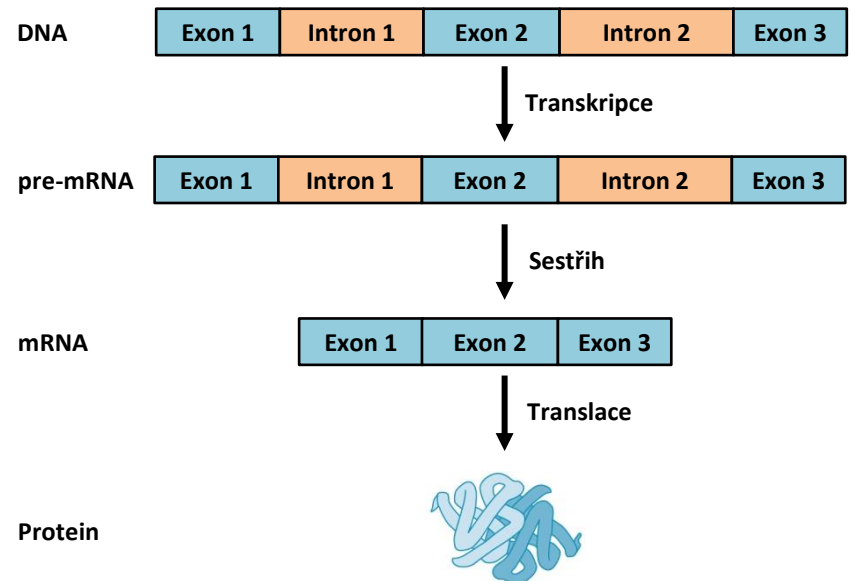
## Strukturní gen

- úsek DNA jehož informace se vyjadřuje v primární struktuře proteinu
- u prokaryot, eukaryot a DNA-virů: přepis do sekvence RNA vymezené iniciačním a terminačním kodonem, která se na ribozomech překládá do translačního produktu
- u RNA virů: překlad přímo z genomové RNA nebo z komplementárních řetězců vzniklých replikací

1. jednoduchý strukturní gen: primární transkript nepodléhá sestřihu, neobsahuje introny

## 2. Složený strukturní gen

- primární transkript podléhá posttranskripční úpravě sestřihem
- složen z exonů a intronů
- intron je část genu, jejíž přepis se při sestřihu vyštěpí a nepřečází do výsledné mRNA
- exon se při sestřihu nevyštěpuje, jednotlivé exony se spojují a tvoří výslednou mRNA



# Strukturní gen

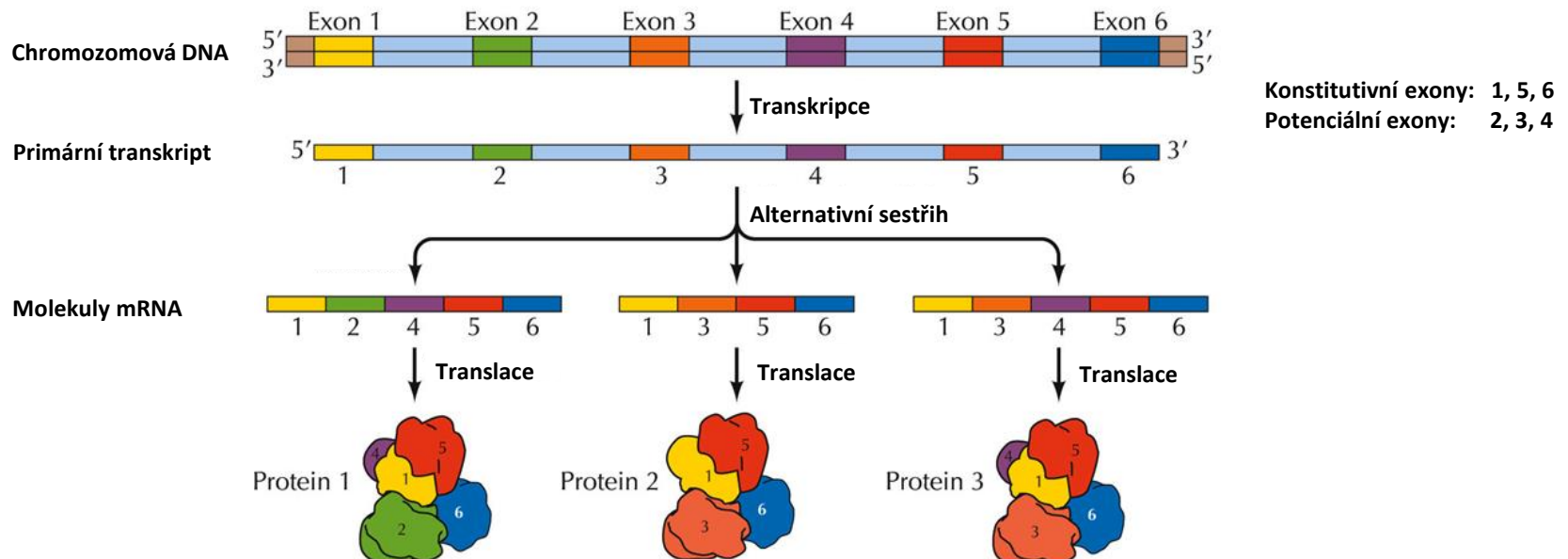
Sestřih strukturních genů:

## 1. konstitutivní sestřih

- výsledkem je molekula mRNA vždy o stejné primární struktuře

## 2. alternativní sestřih

- vzniká více molekul mRNA, které se liší v primární struktuře
- exon konstitutivní: vždy působí během sestřihu jako exon
- exon potenciální: při některém sestřihu působí jako exon, při jiném jako intron
- genetická informace se může vyjádřit ve více proteinech, tzv. izoformách
- izoformy proteinu představují funkčně příbuzné proteiny, které se více či méně liší ve své struktuře



# Ostatní formy genu

## Gen pro funkční RNA

- transkripce do primární struktury RNA, které nejsou určeny k translaci, např. tRNA, rRNA
- několik genů pro tRNA a rRNA se přepisuje do jedné molekuly primárního transkriptu, které se post-transkripčně štěpí na jednotlivé funkční typy RNA
- nevyskytují se u virů

## Gen jako regulační oblast

- rozeznávány proteiny signalizujícími zahájení nebo zastavení transkripce, nemají produkt

## Překrývající se geny

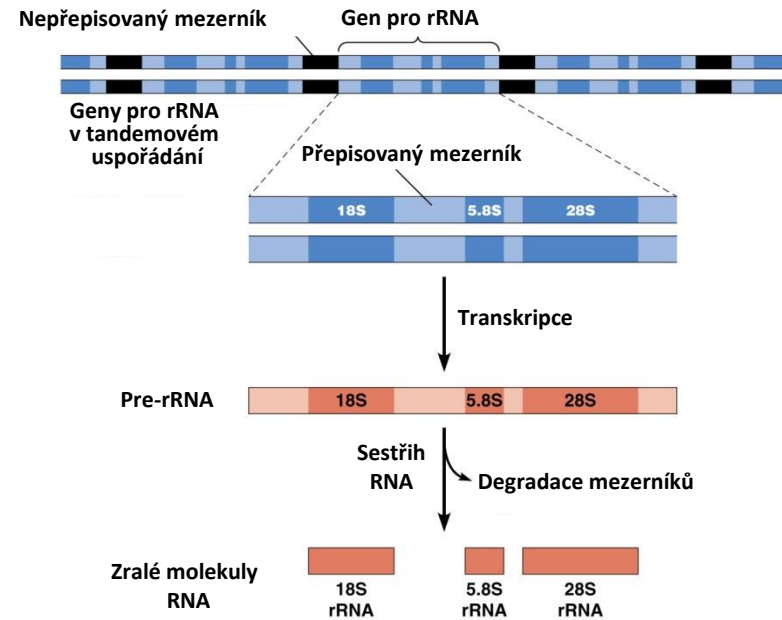
- strukturní geny, jejichž počátek nebo konec je umístěn do jiných strukturních genů

1. překrývání stejných ORF - vznikají proteiny s úseky o stejné primární struktuře

```
AUG.....AUG.....UAG
      AUG.....UAG
```

2. překrývání různých ORF - překryv v sekvenci, která je u obou genů čtena různým způsobem

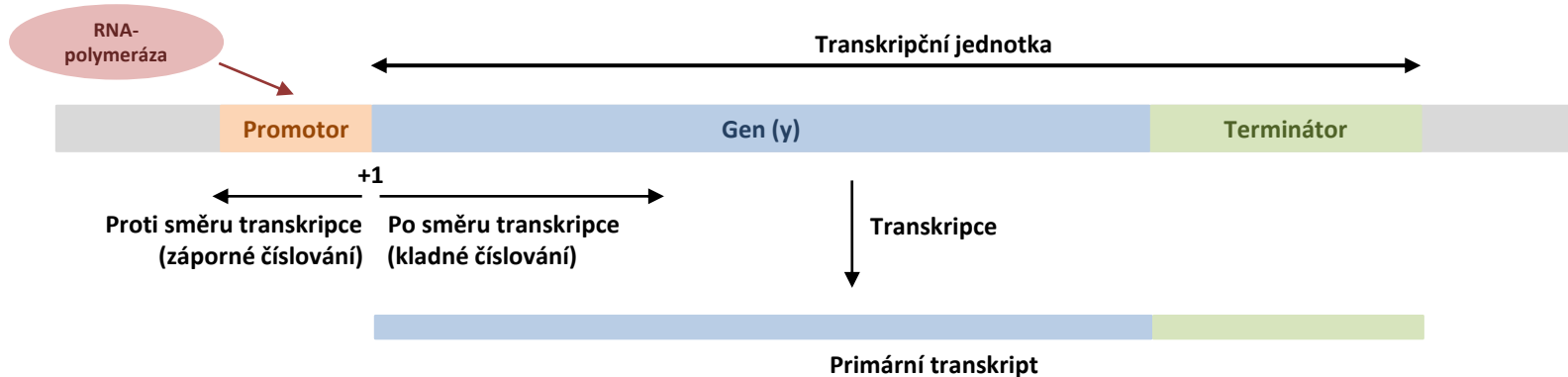
```
AUG GAU UAC GAU ACG GCA UCG GAU GCG AGC UCG UAG CUA CGC AUA UUA UAG
      AUG CGA GCU CGU AGC UAC GCA UAU UAU AGC ..... UAG
```





# Transkripční jednotka

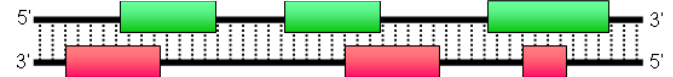
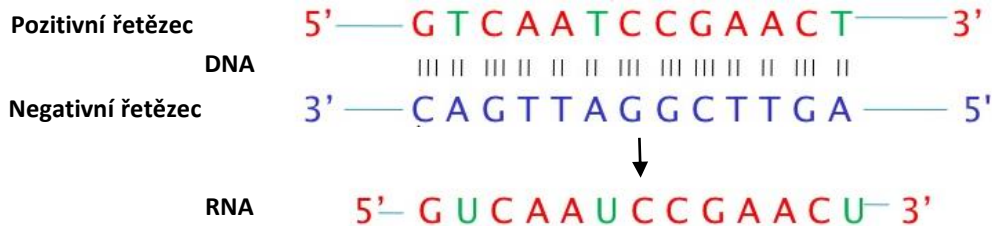
- transkripce genů probíhá v rámci transkripčních jednotek
- vymezena startovacím nukleotidem a posledním nukleotidem v terminátoru
- od **startovacího nukleotidu** (+1) začíná přepis transkripční jednotky
- nukleotidy po směru transkripce jsou +2, 3, +4, ..., proti směru transkripce jsou -1, -2, -3, -4, ...
- **promotor** není součástí transkripční jednotky, váže se na něj **RNA-polymeráza**, která se po zahájení transkripce pohybuje směrem k terminátoru a katalyzuje tvorbu fosfodiesterových vazeb mezi ribonukleotidy, které se komplementárně řadí k matici DNA
- **terminátor** je regulační oblast transkripční jednotky, na které končí její přepis
- obsahuje jeden gen (eukaryota) či více genů (prokaryota)
- přepisuje se do primárního transkriptu, který obsahuje přepis všech přítomných genů



# Transkripční jednotka

## Pozitivní a negativní řetězce DNA

- negativní řetězec (antikódující, antisense) - řetězec v dsDNA, který se přepisuje, slouží jako templát
- pozitivní řetězec (kódující, sense) - nepřepisuje se, má stejnou sekvenci nukleotidů jako RNA, která vzniká na negativním řetězci (T/U)
- negativní řetězec se přepisuje ve směru od 3' k 5' konci, RNA se z dsDNA odvíjí 5' koncem
- v rámci chromozomu se střídají úseky negativních a pozitivních řetězců



## Překrývající se transkripční jednotky

- častý jev u eukaryot
- transkripční jednotka jejíž začátek nebo konec je umístěn do jiné transkripční jednotky
- zjištěné způsoby překrývání
  - transkripční jednotky s různým začátkem a stejným koncem
  - transkripční jednotky se stejným začátkem a různými konci
  - transkripční jednotky s různými začátky a konci
- z každé transkripční jednotky vzniká jeden transkript, který navíc může podléhat alternativnímu sestřihu, buňka tak může z jednoho úseku DNA získat značné množství proteinových izoform

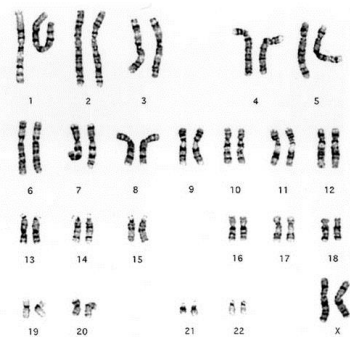
# Genofor, genom

## Genofor

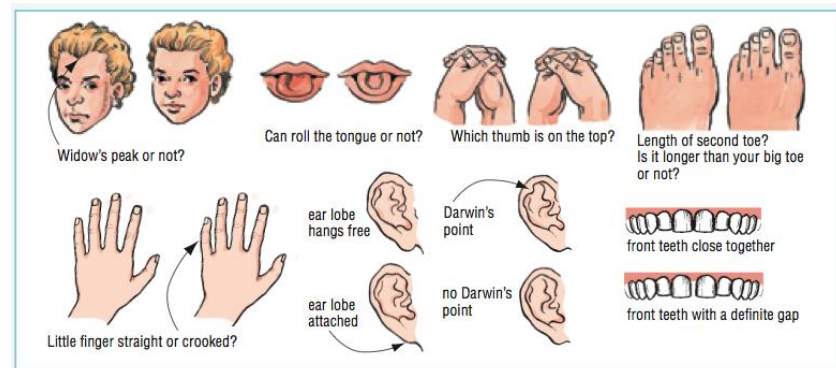
- struktura, která nese geny a je schopná replikace
- genofory obsažené v jádře buňky se nazývají chromozomy
- každý genofor obsahuje soubor genů, které se na něm nacházejí v konkrétním uspořádání, tomuto uspořádání se říká vazbová skupina
- homologické genofory se vyznačují stejnými vazbovými skupinami, např. chromozomy stejného páru v diploidní eukaryotické buňce
- nehomologické genofory se neshodují ve vazbových skupinách

## Genom

- souhrn všech genů buňky, jejich upořádání se vyznačuje strukturou a organizací
- rozlišen do různých organel - jaderná, mitochondriální, chloroplastová složka genomu
- genotyp = genetická sestava alel v organismu, vztahuje se na jedince daného druhu
- fenotyp = soubor znaků a vlastností jedince, jeho utváření je dáno genotypem, závisí také na podmínkách prostředí

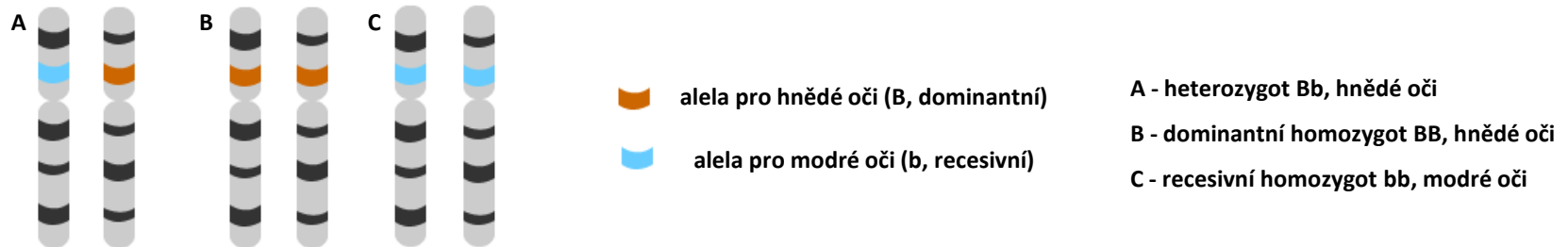


Courtesy of Dr. K. Phelan, Greenwood Genetic Center.  
Noncommercial, educational use only.



# Alela

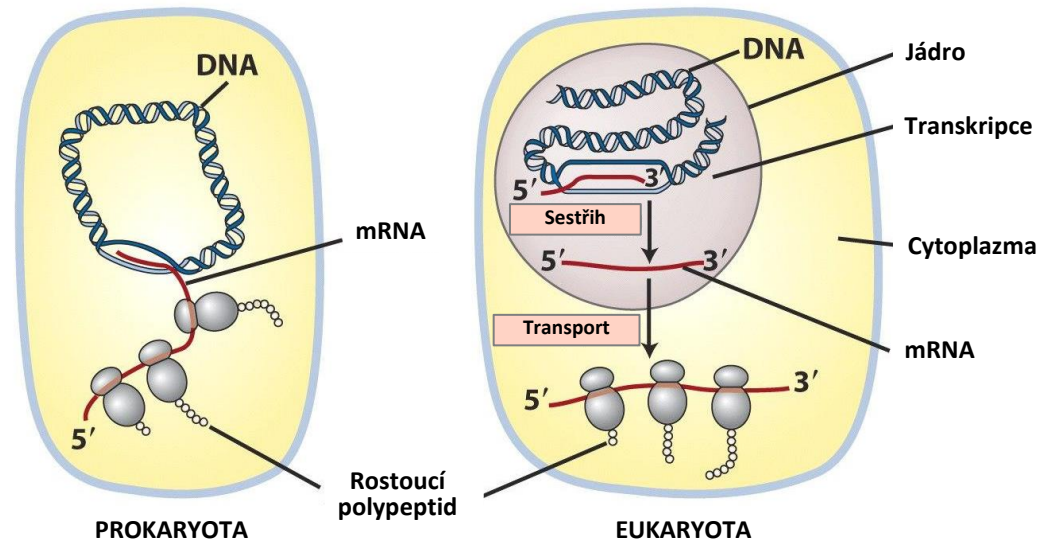
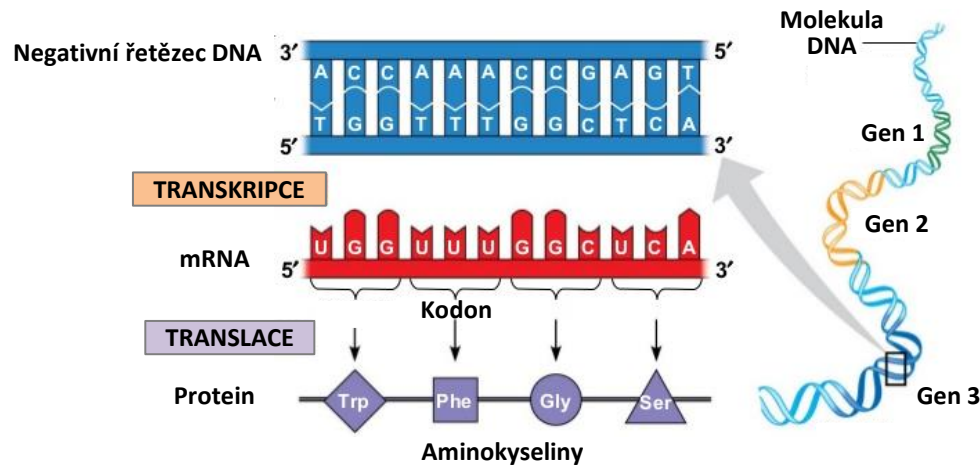
- konkrétní forma genu, projev v biologické funkci proteinu
- každý gen má jednu či více alel, které se navzájem liší v nukleotidové sekvenci
- vztah mezi alelami téhož genu
  - dominance - projev dominantní alely (A) převládá a potlačuje projev recesivní alely
  - recesivita - recesivní alela (a) se v kombinaci s dominantní alelou neprojevuje
    - projev u recesivního homozygota
  - kodominance - žádná z alel není dominantní, ve fenotypu se projeví funkce obou alel
- v somatických buňkách je každý gen zastoupen dvěma alelami
  - homozygotní sestava alel: obě alely genu stejné (AA, aa)
  - heterozygotní sestava alel: obě alely genu rozdílné (Aa)



## Expese genu

- strukturní gen: vyjádření GI v primární struktuře a funkci polypeptidu
- gen pro funkční RNA: vyjádření GI v primární struktuře a funkci RNA, která nepodléhá translaci
- regulační oblast: vyjádření GI ve schopnosti interagovat s určitými proteiny

# Tok genetické informace v živých soustavách



# Živé soustavy

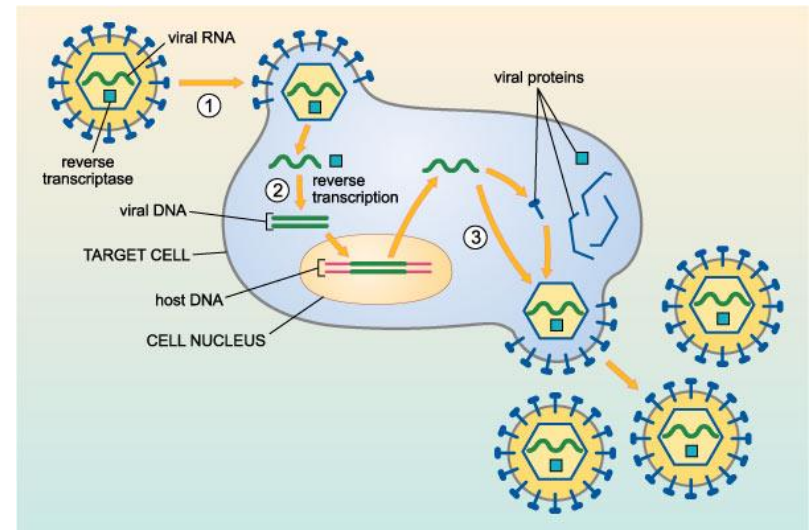
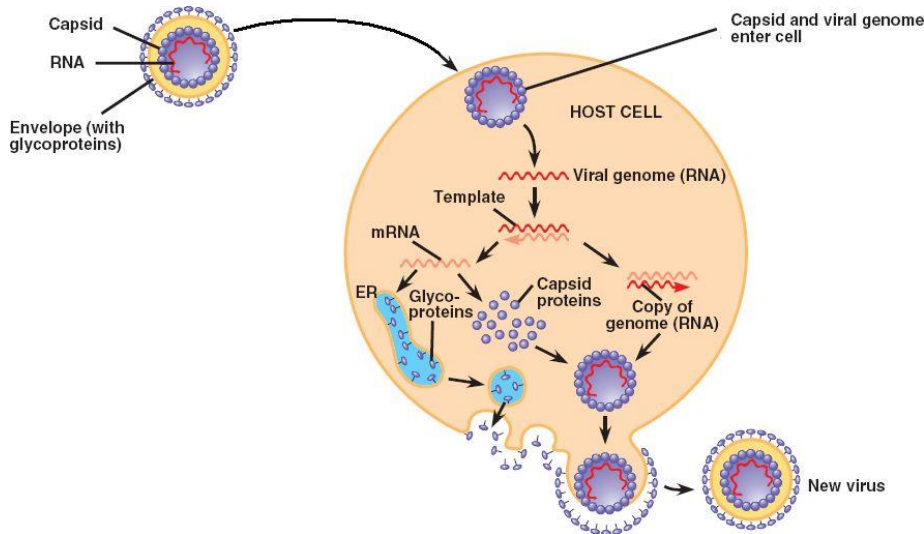
Podle své struktury a organizace se dělí na:

## 1. Buněčné živé soustavy (jednobuněčné a mnohobuněčné organismy)

- vykazují všechny základní životní funkce, všechny toky genetické informace
- autonomní překlad GI do primární struktury proteinů
- typy buněk: prokaryotická, eukaryotická

## 2. Nebuněčné živé soustavy (viry a viroidy)

- intracelulární parazitizmus: přenos GI závislý na hostitelské buňce
- nukleoproteinové částice schopné infikovat hostitelské buňky a v nich se reprodukovat v závislosti na jejich translačním systému
- v genomu nejsou geny pro rRNA, tRNA a strukturální geny pro ribozomové proteiny



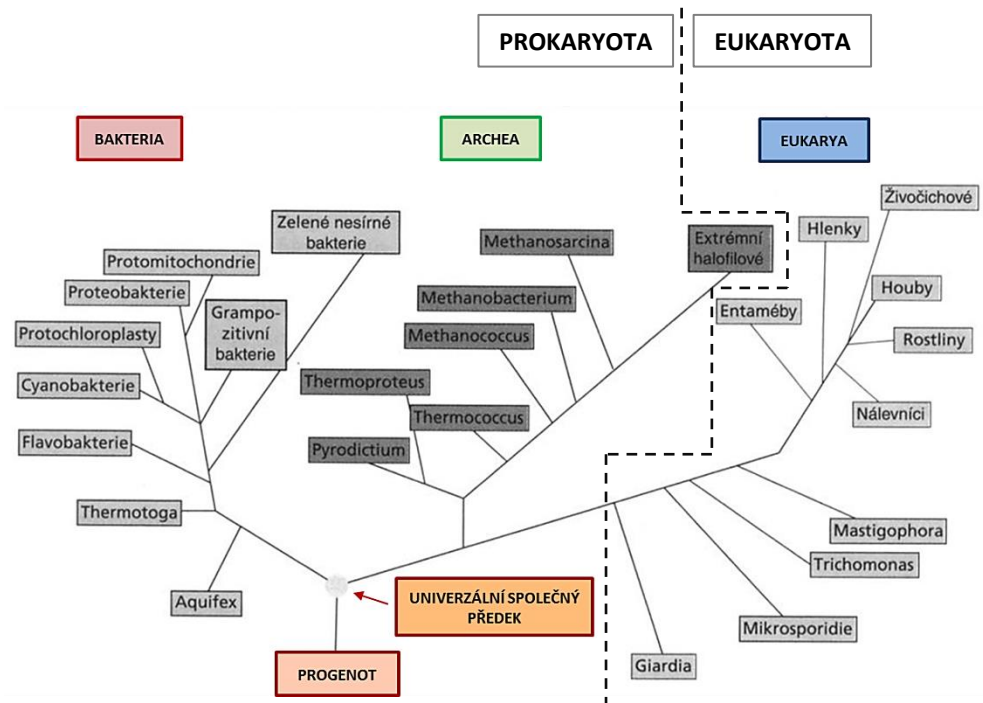
# Buněčné živé soustavy

Buněčné živé soustavy děleny do 3 domén: bakteria, archea, eukarya

## Univerzální fylogenetický strom

- sestaven na základě srovnání nukleotidových sekvencí 16S-rRNA a 18S-rRNA
- 16/18S-rRNA: jedna z nejstarších biologických molekul, funkčně konstantní výskyt u všech organismů, důležitý translační faktor spjatý s evolucí translace
- ukazuje, jak se všechny živé soustavy vyvinuly z **univerzálního společného předka**
- tomu předcházel **progenot**: jednoduchá živá soustava jejíž vznik je datován do doby 3,8 - 4,2 x 10<sup>9</sup> let před současností, prodělával rychlé evoluční změny až do okamžiku vzniku univerzálního předka

- dělení živých soustav na **prokaryota** a **eukaryota** podle fenotypu buněk (struktura a organizace buňky)
- dělení živých soustav do jednotlivých domén na základě evoluční příbuznosti jejich zástupců
- archea ač prokaryotického typu buněk, jsou podle molekulárně biologických vlastností evolučně blíže eukaryím

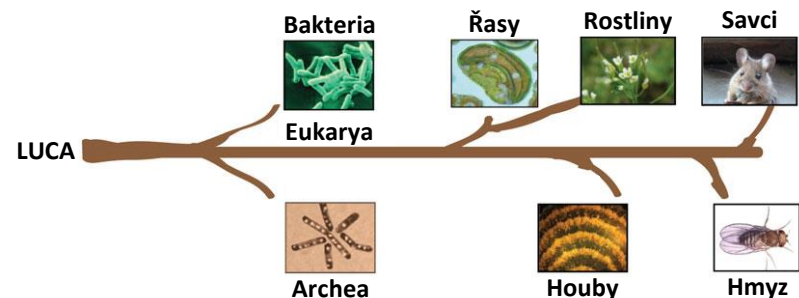




# Buněčné živé soustavy

## Univerzální společný předek (LUCA=last universal common ancestor)

- hypotetický poslední společný předek všech organismů, z kterého se vyvinul veškerý život na Zemi
- jednoduchý jednobuněčný organismus, buněčná membrána z dvojvrstvy fosfolipidů
- nepohlavní rozmnožování buněčným dělením, heterotrofní (možná i autotrofní) způsob výživy
- vlastnosti odhadované z toho, že je sdílejí nezávisle žijící organismy
- genetický kód - založen na dvouvláknové DNA složené z dC, dA, dT, dG
  - 64 kodonů, 20 aminokyselin
  - exprimován prostřednictvím jednovláknové RNA (T nahrazen za U)
  - jeho expresí vznikají proteiny, na kterých závisí všechny další vlastnosti organismu
- metabolismus - ribozomy z velké a malé podjednotky (jádro z rRNA, obal z proteinů)
  - glukóza využívána jako zdroj energie a uhlíku, na syntézu aminokyselin
  - glykolýza cukrů pomocí Krebsova cyklu
  - ATP jako univerzální zásobárna energie





# Prokaryota

Struktura buňky rozlišena na jádro, cytoplazmu a buněčné obaly

## Jádro (nukleoid)

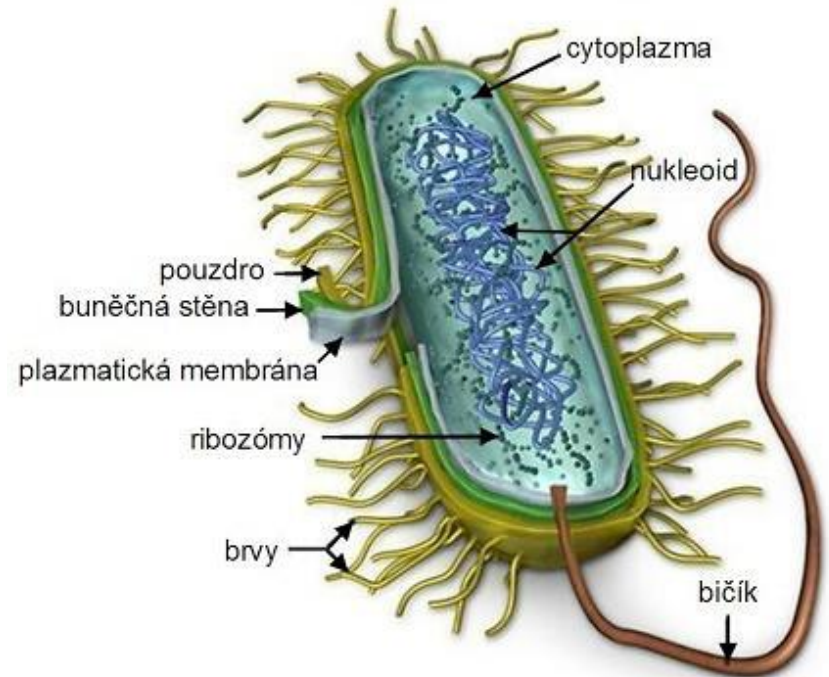
- prokaryotického typu
- není proti cytoplazmě ohraničeno membránou
- nedělí se mitoticky
- vždy obsahuje jednu molekulu dsDNA (chromozom prokaryotické buňky), která je většinou kružnicová

Dochází ke všem přenosům genetické informace (replikace a transkripce DNA, translace mRNA)

Nepohlavní rozmnožování

## Ribozomy

- typ 70S
- rRNA molekuly 5S, 16S, 23S



# Prokaryota

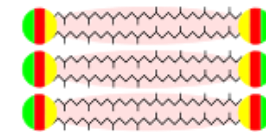
## Bakteria (bakterie a sinice)

- buněčná stěna tvořena mureinem, glycerol-esterlipidy v cytoplazmatické membráně
- 16S-rRNA obsahuje sekvence jedinečné pro bakterie / podobné eukaryálním 18S-rRNA
- geny neobsahují introny, značná část je jich organizována do operonů
- při translaci se jako první řadí N-formylmetionin
- metabolismus foto- i chemo- hetero- i autotrofové

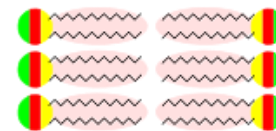
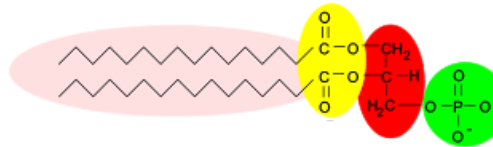
## Archea (archebakterie)

- v buněčné stěně je pseudomurein či jiné složky, glycerol-etherlipidy v cytoplazmatické membráně
- 16S-rRNA obsahuje sekvence jedinečné jen pro archea / podobné eukaryálním 18S-rRNA a bakteriálním 16S-rRNA
- geny přepisované do tRNA a rRNA obsahují introny, sestřih podobný eukaryotům
- přenos genetické informace se vyznačuje prvky bakteriální i eukaryotní translace
- metabolismus chemoautotrofní, chemoheterotrofní

Fosfolipidová jednovrstva  
u archeí



Fosfolipidová dvojvrstva  
u bakterií a eukaryot



# Eukaryota

Jednobuněčné i mnohobuněčné organizmy.

Buněčná stěna tvořena z celulózy u rostlin, z chitinu u hub, u živočichů chybí.

U mnohobuněčných organismů buňky během ontogeneze organismu diferencují a liší se strukturou, morfologií a fyziologickou funkcí.

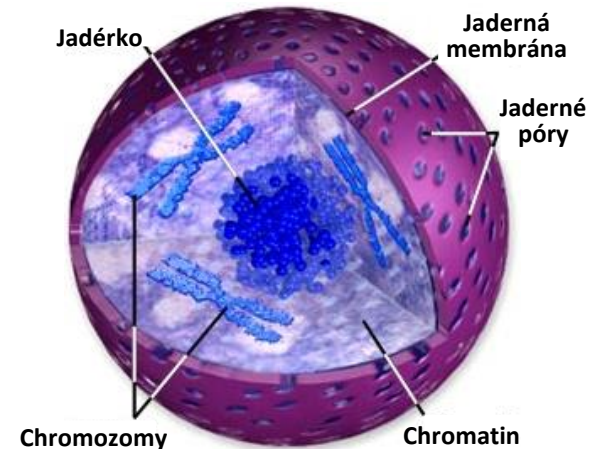
Rozmnožování nepohlavní u jednobuněčných druhů, pohlavní u mnohobuněčných druhů.

Metabolismus fotoautorofní u rostlin, chemoheterotrofni u živočichů a hub.

Dělení do říší: prvoci, rostliny, houby, živočichové.

## Jádro

- eukaryotického typu, zřetelně ohraničeno jadernou membránou
- obsahuje chromatin složený z DNA, histonů a proteinů nehistonové povahy
- chromozomy obsahují lineární molekuly dsDNA
- mitotické dělení, které zajišťuje rozdělení chromozomů do dceřiných buněk



# Eukaryota

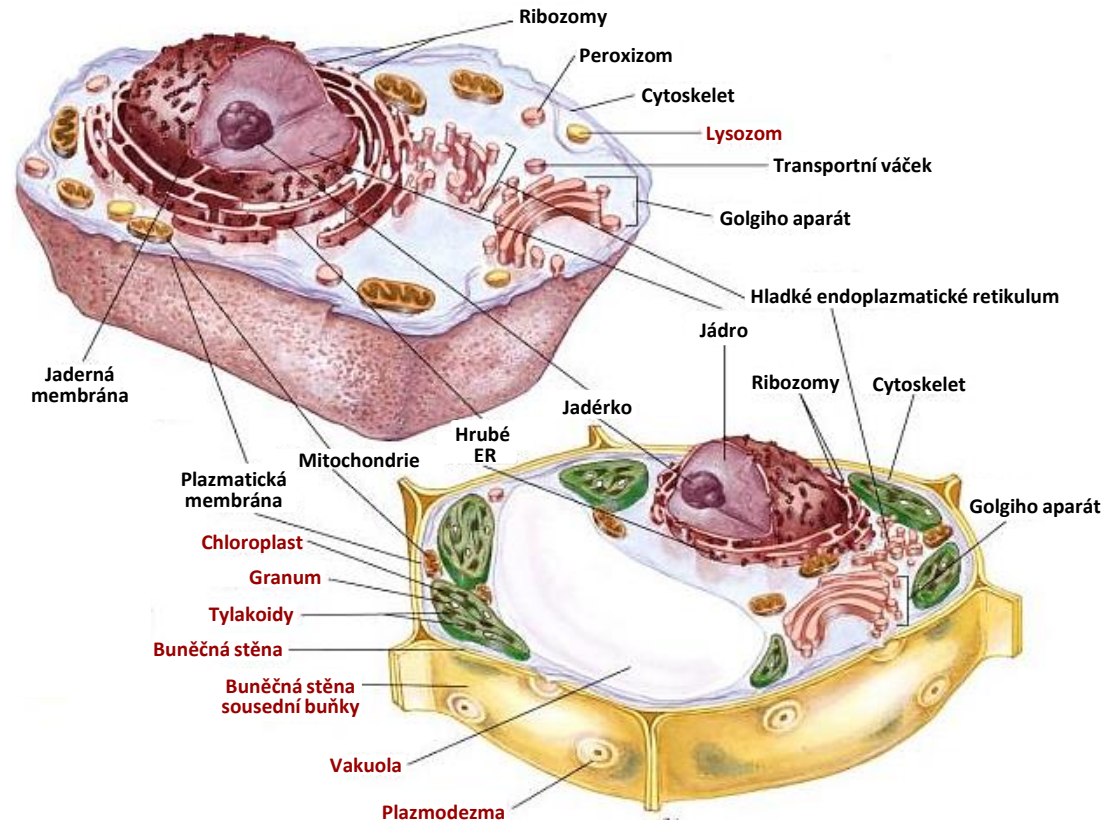
Všechny mechanismy přenosu genetické informace vyjádřené ústředním dogmatem molekulární biologie zachovány jako u prokaryot. Modifikace těchto mechanismů za účelem diferenciacce buněk.

Složené geny s introny.

Při translaci se jako první řadí metionin.

Řada organel, které nejsou přítomny v prokaryotické buňce:

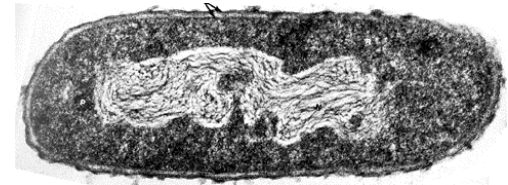
- mitochondrie a chloroplasty (kružnicové molekuly dsDNA, výroba energie)
- ribozomy (typ 80S, rRNA molekuly 5.8S, 18S, 28S)
- endoplazmatické retikulum
- Golgiho aparát
- lyzozom
- peroxizom
- cytoskelet
- vakuola



# Struktura prokaryotického genomu

Prokaryotický genom se soustřeďuje do prokaryotického jádra, nukleoidu.

U řady druhů jsou některé geny umístěny na plazmidech a genom je tak rozdělen na více genoforů.



## Nukleoid

- funkční ekvivalent eukaryotického jádra
- obsahuje všechny geny nepostradatelné pro životní funkce a činnost prokaryotické buňky
- prokaryotická buňka je haploidní (1 alela od každého genu)
- nedělí se mitoticky, pouze replikací
- hmota tvořená proteiny a DNA
- proteiny dvojího typu - HLP proteiny (proteiny podobné eukaryotickému histonu H2A)
  - proteiny nehistonové povahy
- **prokaryotický chromozom**
  - jediná molekula dsDNA, většinou kružnicová
  - E.coli:  $4,6 \times 10^6$  bp, délka 1,36 mm
    - zhruba 4300 kódujících sekvencí, 1800 známých proteinů
    - nadšroubovice rozdělená do 50-100 smyček, struktura dohromady držena proteiny
    - úseky DNA ve stavu relaxovém či nadšroubovice



# Struktura prokaryotického genomu

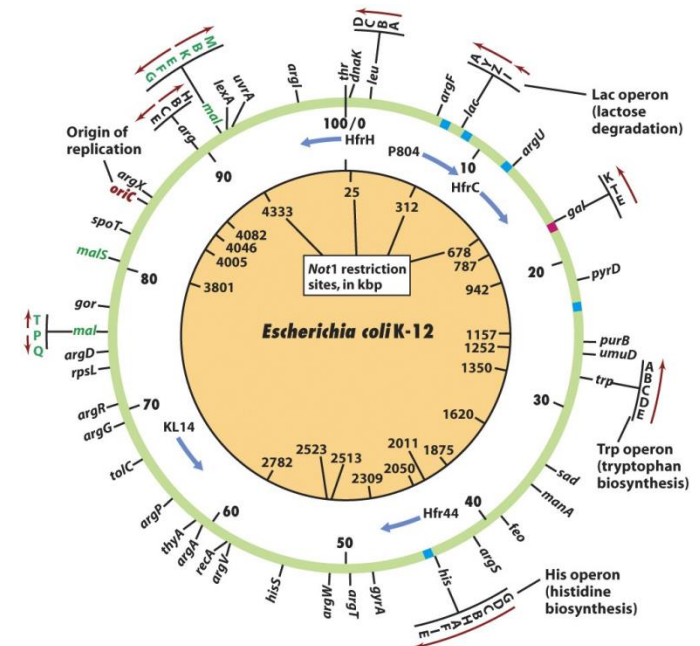
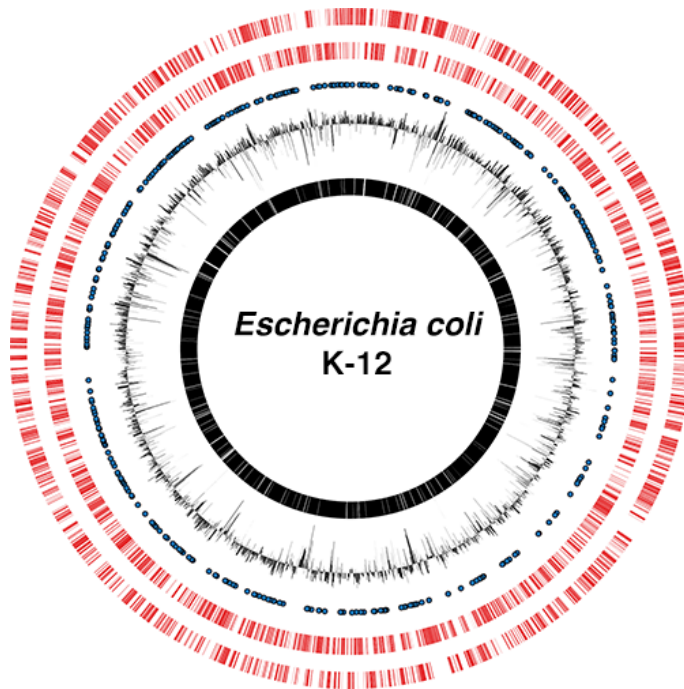
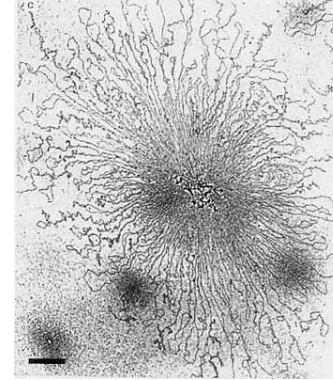
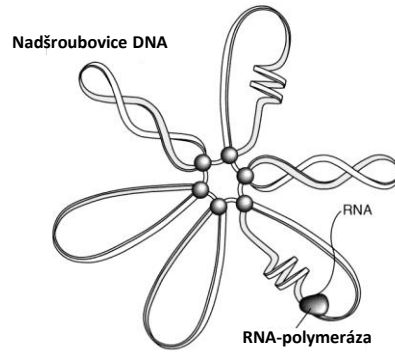
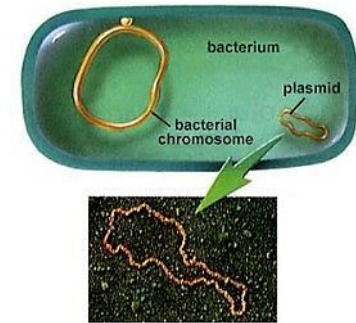


Figure 10-42 Brock Biology of Microorganisms 11/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

# Struktura prokaryotického genomu

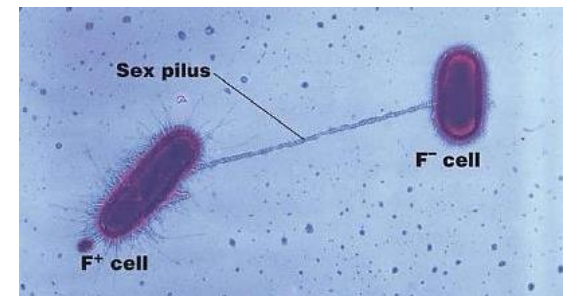
## Plazmidy

- u řady bakteriálních druhů, dva až několik set v jedné buňce
- izolovaná kružnicová molekula dsDNA
- počátek replikace (ori), místo pro připojení k membráně buňky (Inc)
- obsahují geny, které nejsou nezbytné pro životní funkce buňky, ale poskytují jí selekční výhodu (rezistence vůči antibiotikům, syntéza vlastních antibiotik, fixace vzdušného dusíku)
- umožňují buňkám rozšiřovat svoji genetickou informaci a přizpůsobit se měnícím se podmínkám prostředí



## Konjugativní plazmidy

- schopnost vlastního přenosu z donorové do recipientní buňky procesem konjugace
- obsahují transferové geny, které kódují syntézu pilusů a podmiňují tak přenos plazmidů
- pomocí pilusů se donorová a recipientní buňka kontaktují, v místě interakce se vytvoří „most“ (otvor v obou buňkách), kterým plazmid prochází
- současně s přenosem dochází k replikaci plazmidu

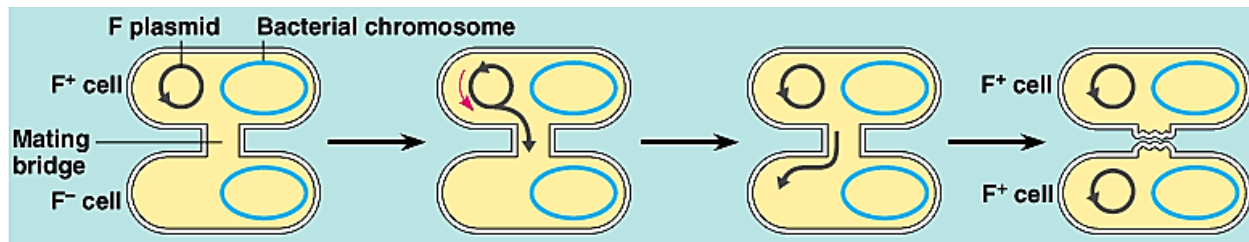


# Struktura prokaryotického genomu

## Konjugativní plazmidy

- např. F-plazmid, který navozuje konjugaci u *E.coli* K12
- F<sup>+</sup> buňka obsahuje F-plazmid, F<sup>-</sup> buňka neobsahuje F-plazmid
- Hfr buňka obsahuje F-plazmid začleněný do svého chromozomu

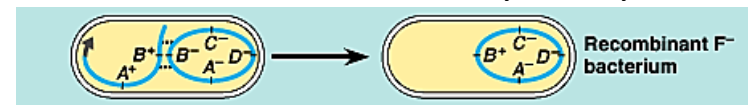
Konjugace mezi F<sup>+</sup> a F<sup>-</sup> bakterií



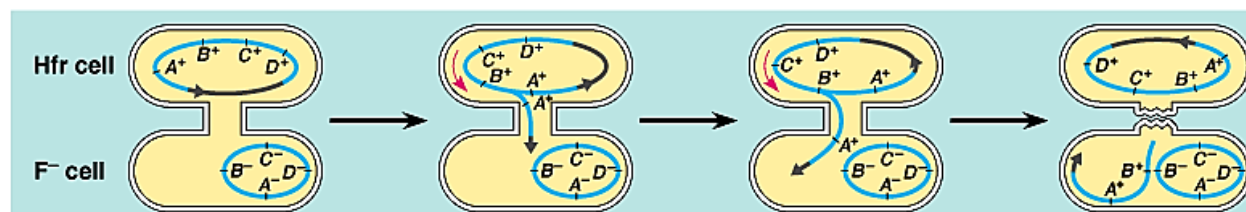
Vznik Hfr buňky z F<sup>+</sup> buňky začleněním F-plazmidu do chromozomu



Rekombinace mezi chromozomem Hfr buňky a F<sup>-</sup> buňky



Konjugace mezi Hfr a F<sup>-</sup> buňkou





# Genom archeí

---

Strukturálně podobný bakteriálnímu genomu.

## Nukleoid

- bez jaderné membrány, kružnicová dsDNA
- 490 kbp - 5,7 Mbp
- histony - uspořádání chromozomové DNA do struktur podobných eukaryotickým nukleozomům
  - několik typů, které v závislosti na podmínkách růstu tvoří homodimery či heterodimery s různým účinkem na kondenzaci DNA

U některých druhů se vyskytují **plazmidy**, které se mohou horizontálně šířit procesem obdobným bakteriální konjugaci.

Geny organizovány do **operonů**, přičemž v některých je pořadí genů stejné jako u bakterií.

Co do sekvence nukleotidů mají archea značně odlišný genom v porovnání s ostatními doménami. Až 15 % proteinů je zcela unikátní pro archea, nevyskytují se u bakterií ani eukaryot.

## Transkripce a translace obecněji příbuznější eukaryotům

- podobnost RNA-polymerázy, ribozomů a hlavních transkripčních faktorů s eukaryoty
- jiné transkripční faktory podobné bakteriím
- postranskripční úpravy sestřihem u tRNA a rRNA, vzácně u strukturních proteinů

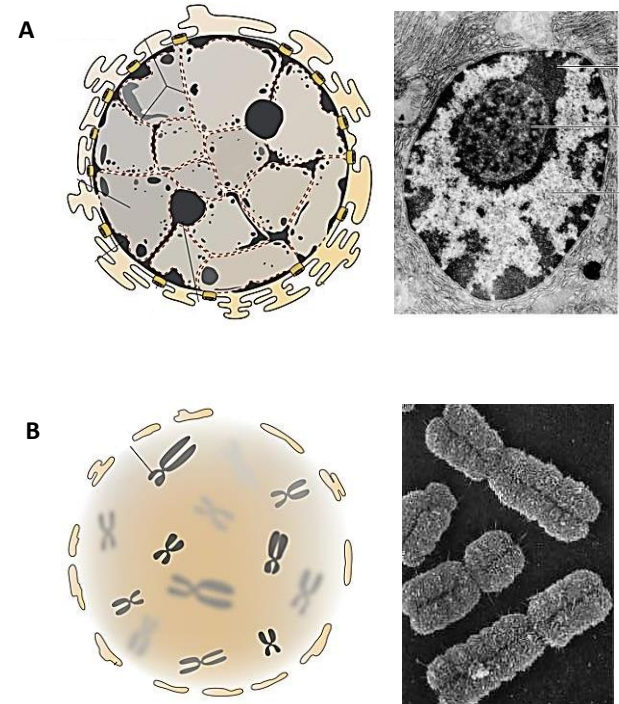
# Struktura eukaryotického genomu

Geny jsou u eukaryot rozděleny do 2-3 organel: jádra, mitochondrií, chloroplastů (rostlinná buňka)

- chromozomová (jaderná) DNA: nDNA, většina genů, lineární dsDNA
- mitochondriová / chloroplastová DNA: mt / ct DNA, malá část genů, kružnicová dsDNA
- jen u mála eukaryot zjištěny plazmidy, např. *Saccharomyces cerevisiae*

## Chromatin

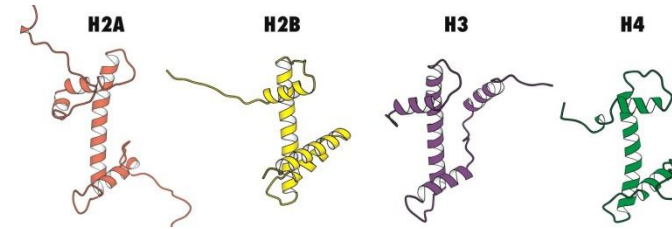
- hmota která se vyskytuje v eukaryotickém jádře
- složena z dsDNA, histonů a proteinů nehistonové povahy
- podle stupně kondenzace chromatinu se rozlišují dva stavy
  - (i) **euchromatin**: dekondenzovaný, slabě zhuštěný, slabé barvení, přístupný transkripci
  - (ii) **heterochromatin**: kondenzovaný, silně zhuštěný, silné barvení, transkripčně inaktivní
    - konstitutivní: trvale ve stavu heterochromatinu, např. v centromerách, telomerách
    - fakultativní: přechází do stavu euchromatinu
- interfázní chromatin (**A**) - silně dokondenzovaný, 10-30 nm chromatinová vlákna
- mitotické chromozomy (**B**) - nejvyšší forma kondenzace chromatinu



# Chromatin

## Histony

- pět rodin proteinů s podobnou strukturou
- globulární střed molekuly, vláknité flexibilní konce s vysokým obsahem argininu a lysinu
- jaderné histony - H2A, H2B, H3, H4, výskyt ve formě dimerů a tetramerů, tvoří jádro nukleozomu
- linkerový histon - H1; monomer, podílí se na spojování sousedních nukleozomů

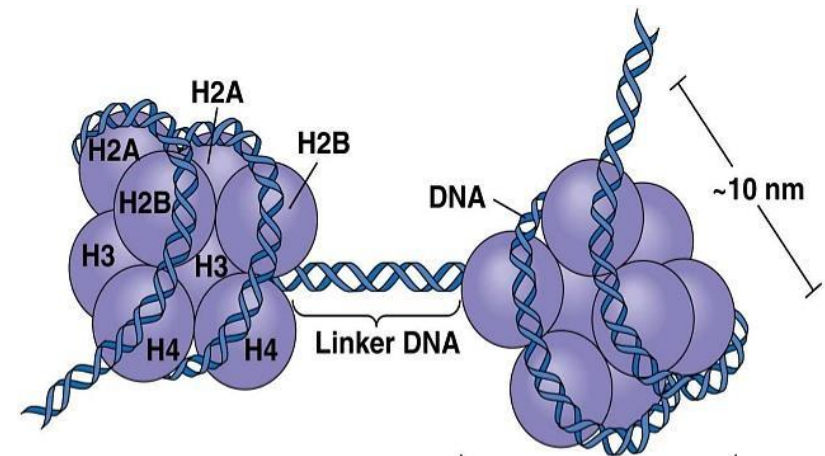


## Proteiny nehistonové povahy

- proteiny transkripčního aparátu, hlavně RNA-polymerázy
- HMG-proteiny (proteiny skupiny vysoké pohyblivosti)
  - HMG1 a HMG2 - vazba na neobvyklé struktury DNA
  - HMG14 a HMG17 - vazba na jádro nukleozomu v oblastech kde probíhá syntéza RNA

## Nukleozom

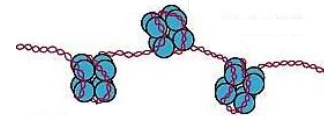
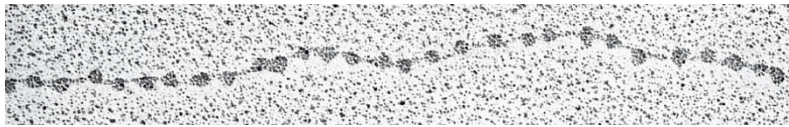
- základní jednotka chromatinu
- oktamer histonů - tetramer  $(H3)_2 - (H4)_2$ 
  - dva dimery H2A - H2B
- úsek DNA o délce 146 bp (1,75 otáčky)
- šířka 10-11 nm, výška 6 nm
- molekula H1 není součástí oktameru, pojí se k nukleozomu z vnější strany a spojuje sousední nukleozomy v řetězci



# Chromatin

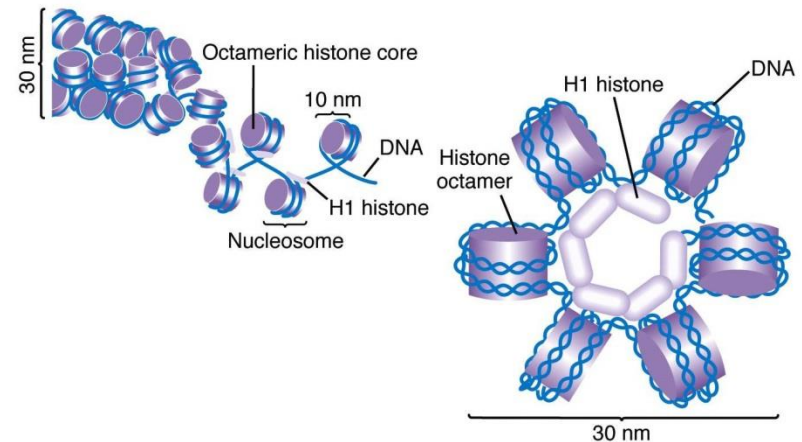
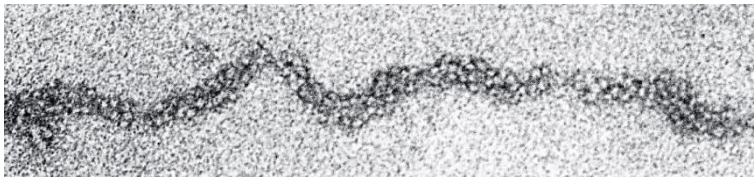
## Nukleozomový řetězec

- 10-nm chromatinové vlákno
- jednotlivá jádra nukleozomů spojená lineární molekulou dsDNA v rámci chromozomu
- plně dekonzenzovaný euchromatin, despiralizované chromozomy během interfáze



## 30-nm chromatinové vlákno

- H1 se globulární částí váže na specifické místo na DNA v rámci nukleozomu
- vláknité konce se váží na sousední nukleozomy v místě vstupu a výstupu DNA z nukleozomu
- spiralizace nukleozomového řetězce do solenoidové struktury
- vlákno s průměrnou tloušťkou 30 nm, jeden závit tvořen 6 nukleozomy



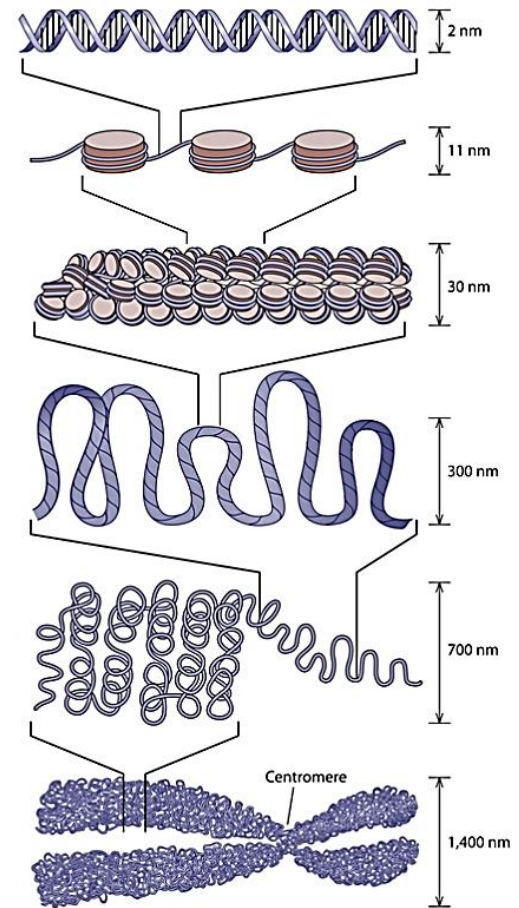
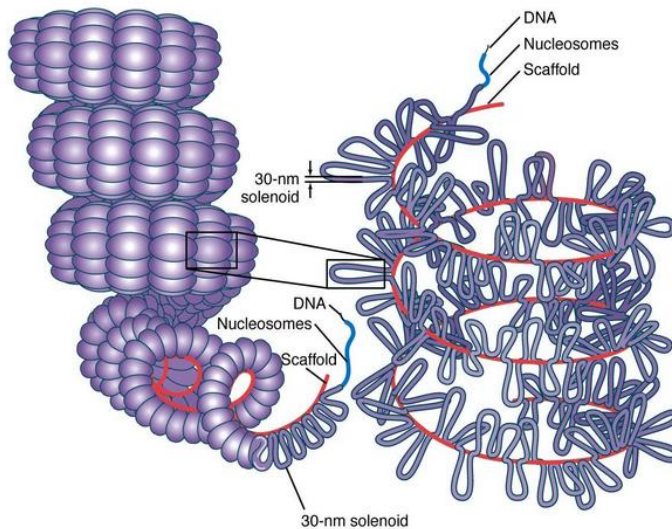
# Chromatin

30-nm chromatinové vlákno je dále uspořádáno do smyček, tzv. **chromatinových domén**

- vazba k proteinovému lešení (Topoll, HMG-proteiny, transkripčních faktory, DNA/RNA-polymerázy)
- 60-150 kb, každá doména je nezávislým replikonem

## 600-nm chromatinové vlákno

- 30-nm chromatinové vlákno navázané na proteinové lešení spiralizací dále kondenzuje v 600-nm vlákno
- vznik během meiózy a mitózy a tvoří strukturu metafázních chromozomů
- viditelné pomocí světelného mikroskopu
- nejvyšší stupeň kondenzace chromatinu, transkripčně inaktivní

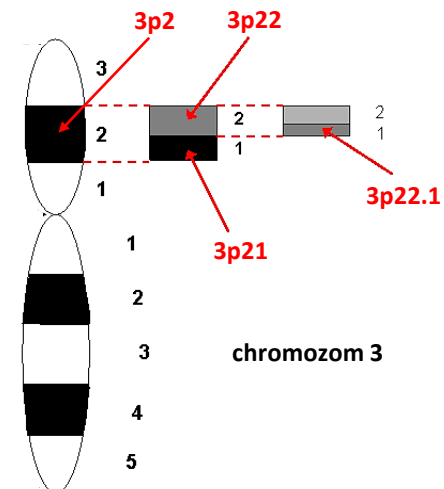
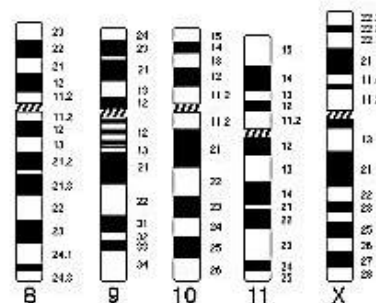
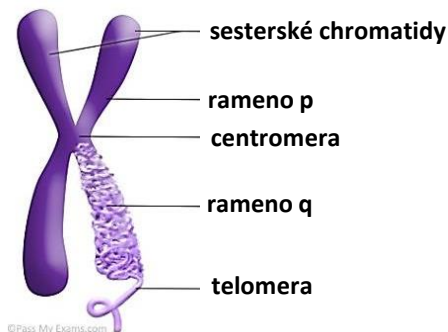




# Chromozom

## Mitotické chromozomy

- v metafázi rozděleny na sesterské chromatidy obsahující molekuly DNA vzniklé v S-fázi b. cyklu
- krátké rameno (p), dlouhé rameno (q), centromera (+kinetochoy), telomery



## Pruhování chromozomů

- rozlišení chromozomů v karyotypu podle spekter pruhů
- G pruhy: tmavé oblasti GC párů  
Q pruhy, R pruhy : přednostní barvení AT párů
- číslování pruhů v p- a q-raménku zvlášť (směrem od centromery), umístění genu na chromozomu v určitém místě (lokus), např. gen OCA-2 15q11.2-q12

## Hypersenzitivní místa

- místa v DNA, která nejsou pokryta nukleozomy, 50 - 200 bp
- mnohonásobně citlivější k DNázel ve srovnání se sousedními oblastmi
- místa snadno přístupná proteinům pro regulaci genové exprese
- konstitutivní (trvale v euchromatinu), indukovatelná (odkrývají se těsně před aktivací genu)

# Chromozom

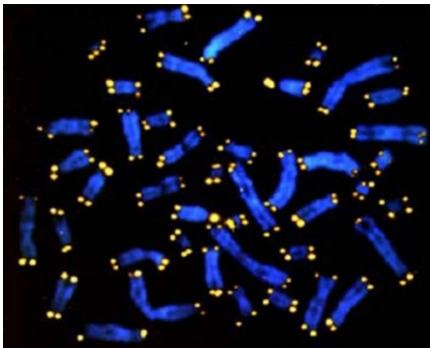
Každý eukaryotický chromozom má následující složky, které zajišťují jeho funkci jako celku:

## (i) centromera

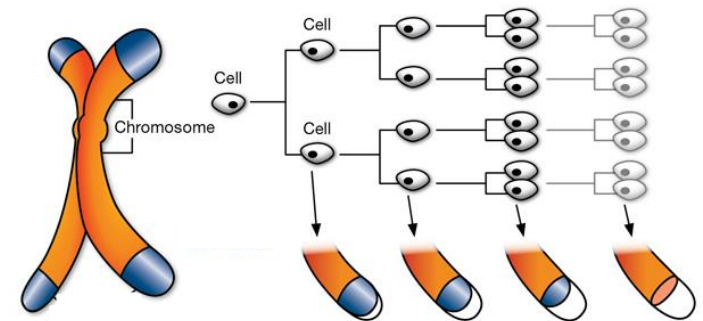
- zajišťuje během buněčného dělení segregaci chromozomů do dceřiných buněk

## (ii) telomera

- ochrana konců lineárních molekul dsDNA u eukaryotických chromozomů
- při replikaci DNA řídí dokončení syntézy dceřiných řetězců na 3' konci matricových řetězců DNA
- na těchto 3' koncích se nachází **telomerické sekvence** (tandemové repetice se sekvencí bohatou na G, charakteristickou pro daný druh)
- ztráta repetitív vlivem nedokončení syntézy dceřiných řetězců během S-fáze buněčného cyklu
- telomerické sekvence se netvoří replikací ale syntetizovány telomerázou
- **telomeráza**: specifická DNA-polymeráza, která připojuje telomerické sekvence k 3' koncům DNA u rychle se dělících buněk jednobuněčných organismů u savců není přítomna v somatických buňkách  
přítomna v pohlavních, embryonálních, nádorových buňkách



TTAGGG	člověk, myš
TGGG	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
TTTAGGG	<i>Arabidopsis thaliana</i>
TTTTGGGG	<i>Oxytricha nova</i>



# Jaderná DNA

## Velikost jaderného genomu

- hodnota C = velikost jaderné složky haploidního genomu daného druhu
- paradox hodnoty C = neexistuje vztah mezi velikostí genomu a biologickou komplexitou organismu
- jednotky Mb - stovky Gb

Druh	Velikost genomu (bp)	Počet chromozomů v haploidním genomu	Počet genů
<i>S. cerevisiae</i>	$1,2 \times 10^7$	16	5.770
<i>C. elegans</i>	$1,0 \times 10^8$	4	21.700
<i>D. melanogaster</i>	$1,2 \times 10^8$	4	17.000
<i>Xenopus laevis</i>	$3,1 \times 10^9$	18	
<i>Mus musculus</i>	$2,8 \times 10^9$	20	23.000
<i>Homo sapiens</i>	$3,3 \times 10^9$	23	21.000
<i>Zea mays</i>	$5,0 \times 10^9$	10	50.000
<i>Allium cepa</i>	$1,5 \times 10^{10}$	8	

## Genové repetice

- jednotkou repetice je gen
- u mnohobuněčných organismů se 50 - 75 % strukturních genů vyskytuje ve dvou nebo více kopiích

### 1. tandemové genové repetice

- geny či skupiny genů které se opakují bezprostředně za sebou
- nukleotidové sekvence které oddělují jednotlivé geny či skupiny se nazývají mezerníky
- např. geny přepisované do 5S rRNA (250x), tRNA (10-100x)  
geny kódující histony (20x skupina genů kódující všech pět histonů)

### 2. rozptýlené genové repetice

- gen nebo skupina genů s kopiemi na různých místech haploidního genomu
- např. některé geny pro tRNA, snRNA, aj.

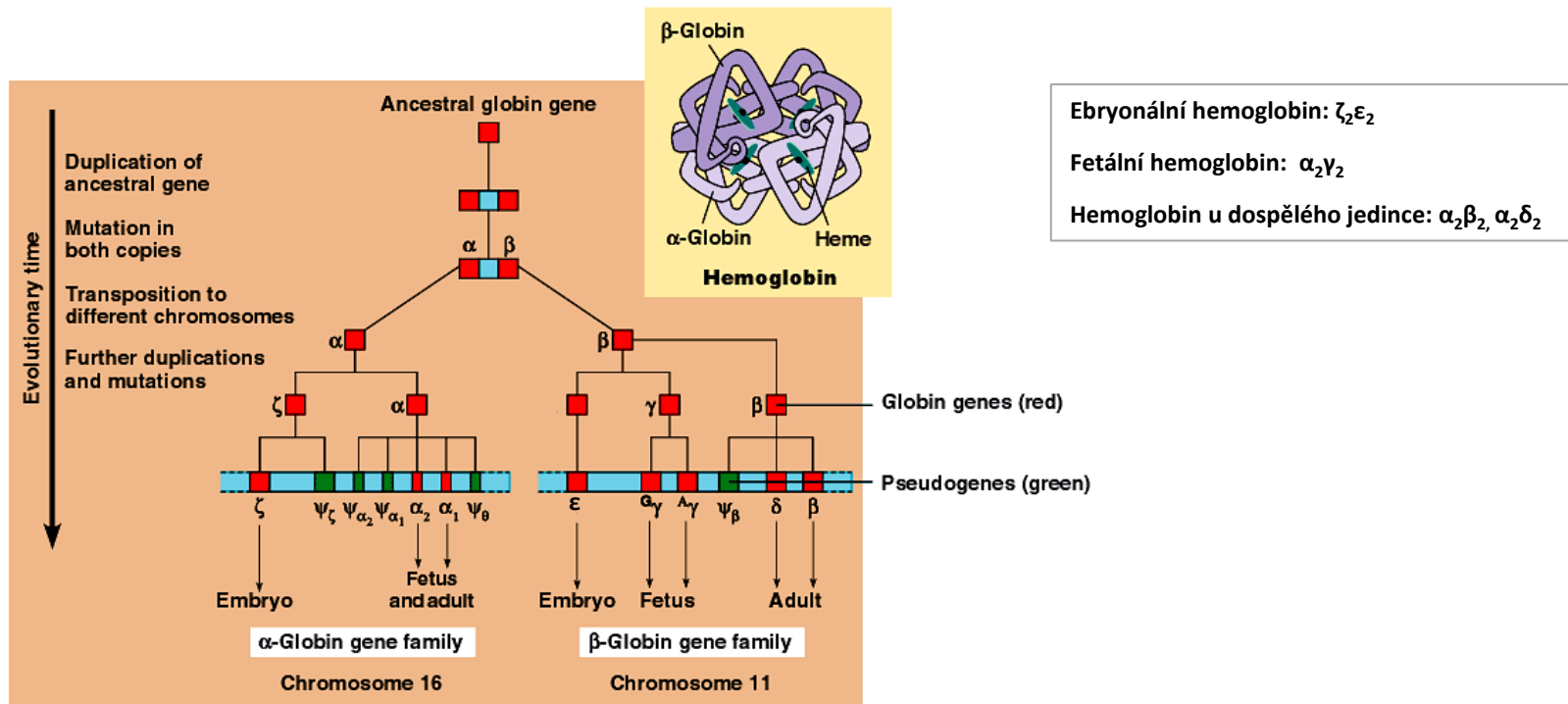


# Jaderná DNA

## Genové repetice

### 3. genové rodiny

- skupina sekvenčně příbuzných genů
- společný evoluční původ a biologická funkce genů
- často se geny v rámci rodiny nevyjadřují současně ve stejném vývojovém stádiu organismu
- např. geny kódující polypeptidové řetězce hemoglobinu, ve dvou genových rodinách pseudogeny = nepřesné kopie strukturních genů (inaktivní)



# Mitochondriový genofor

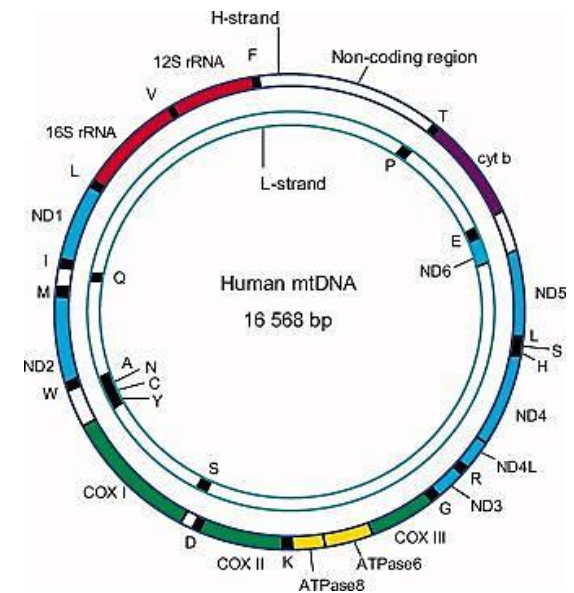
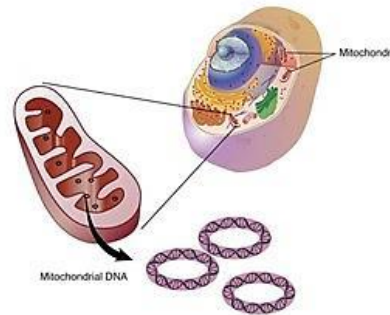
Heterogenita ve velikosti, tvaru a konformaci mtDNA v závislosti na fylogenetickém postavení druhu  
např. mnohobuněční živočichové - kružnicová dsDNA, 16 - 20kb, každý druh má svůj vlastní typ  
vyšší rostliny - kružnicová či lineární dsDNA, 250 - 2000kb, variabilní uspořádání genů

Většinou 5 - 10 molekul dsDNA na mitochondrii

Biochemické děje mitochondrií zajišťují proteiny kódované jak mitochondriálními tak jadernými geny

## Genofor mitochondrií člověka

- geny pro funkční RNA
  - 2 molekuly rRNA (12S a 16S)
  - 22 molekul tRNA
- 13 strukturních genů
  - cytochrom c-oxidáza: COI, II, III (10)
  - NADH-dehydrogenáza: ND1-ND6 (41)
  - ATP-syntáz: ATPáza 6 a ATPáza 8 (14)
  - ubichinon-cytochrom b-reduktáza: cyt b (10)
- geny pro ribozomové proteiny a DNA- a RNA-polymerázy nahrazeny jadernými geny
- u živočichů jsou mitochondriální geny jednoduché u hub a rostlin je řada z nich složených



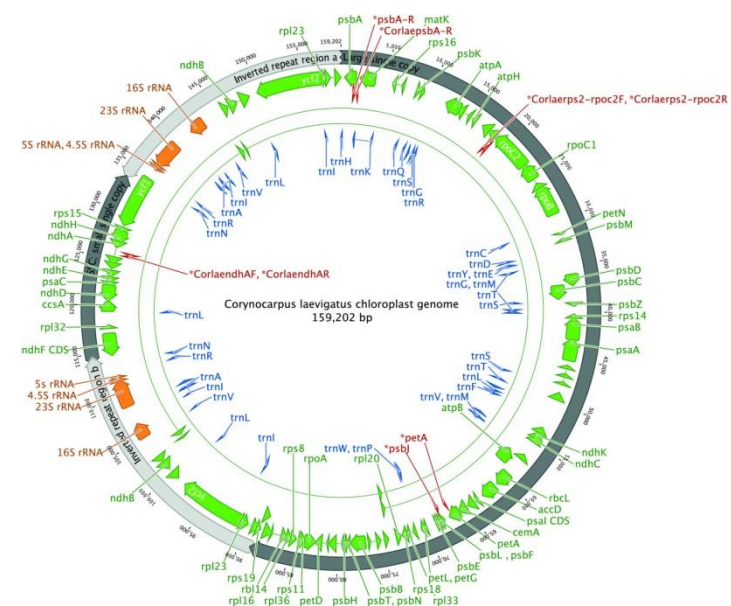
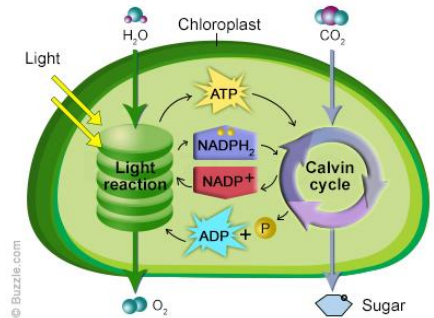
# Chloroplastový genofor

Genom rostlinné buňky rozdělen do jádra, mitochondrií a chloroplastů

Kružnicová dsDNA, 40-220 kb

Jednotný ve struktuře a organizaci genů napříč druhy:

- dvě obrácené repeticity
- krátký a dlouhý jednokopiový úsek (SSC-úsek, LSC-úsek)
- polygenní transkripční jednotky
- geny pro podjednotky RNA-polymerázy ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\beta''$ )
- geny pro rRNA (5S, 4,5S, 16S, 23S)
- geny pro tRNA (30 druhů)
- geny pro ribozomové proteiny
- geny pro proteiny fotosyntézy
  - velká podjednotka RuBisCo
  - proteiny fosfosystému I a II
  - podjednotky ATP-syntázy
  - podjednotky NADH-dehydrogenázy



## Zvláštnosti genomu rostlin

- vzájemná závislost a spolupráce jaderná, mitochondriové a chloroplastové složky genomu
- rozdíly ve velikosti jaderného genomu vlivem různého počtu mnohonásobných repeticí
- mnohé geny součástí genových rodin (evoluční přežití rostlinného druhu)

# Lidský genom

Celková velikost ~3.200.000.000 bp

Počet genů ~ 20.500 (odhad před sekvenací 150.000)

Odlišnosti v rámci druhu Homo sapiens ~ 0,1 %

Homologie s ostatními primáty 96 % (celkem), 99 % v genech

26 % z celkové sekvence genomu přepisováno do RNA

1,5 % sekvencí kóduje proteiny nebo funkční RNA

## Lidský karyotyp

- 23 párů chromozomů
- 22 párů autozomů (homologní chromozomy)
- 1 pár gonozomů (pohlavní chromozomy X a Y)
- dělení do 7 skupin podle makrostavby chromozomu

**A** – 1, 2, 3

**B** – 4, 5

**C** – 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, X

**D** – 13, 14, 15

**E** – 16, 17, 18

**F** – 19, 20

**G** – 21, 22, Y

velké metacentrické

velké submetacentrické

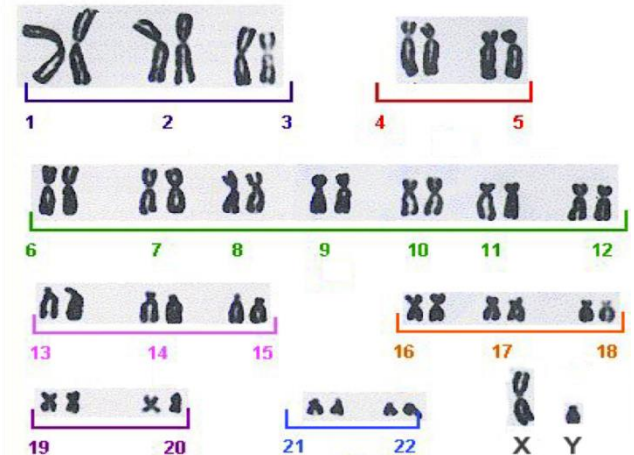
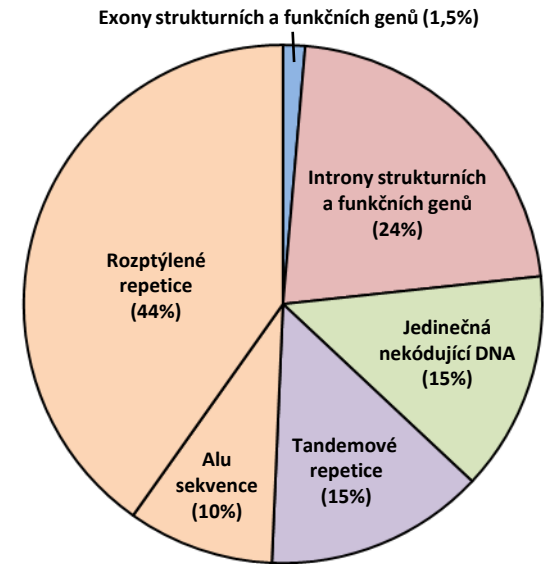
střední submetacentrické

střední akrocentrické

malé submetacentrické

malé metacentrické

malé akrocentrické



# Zvídavé otázky

---

- Seřadte následující položky od nejméně po nejvíce složitou strukturu: chromatin, nukleozom, DNA, chromozom
- Jakými čtyřmi základními vlastnostmi se musí vyznačovat genetický materiál?
- Jaký je přibližný počet genů v lidském genomu?
- Co je to chromatin a jaké jsou jeho hlavní složky?
- Co je to nukleozom a jaké jsou jeho hlavní složky?
- Co je to heterochromatin?
- Popište postupné úrovně zhušťování, které musí podstoupit molekula jaderné DNA, aby vytvořila kondenzovanou strukturu mitotického chromozomu.
- Kolik se nachází chromozomů ve většině buněk lidského těla?
- Co se myslí tím, když je alela popsána jako dominantní?
- Jaký termín se používá pro označení genu, pokud jsou obě jeho alely identické?

