

# 2. Základy mendelovské a molekulární genetiky

---

Tato kapitola je věnována přehledu základních aspektů molekulární a mendelovské genetiky, bez jejichž znalostí nelze řešit řadu evolučních otázek. Bez pochopení meiózy a mendelovské dědičnosti, stejně jako bez pochopení genové vazby a rekombinace, nelze studovat vznik genetické proměnlivosti a dynamiku genetických změn v přírodních populacích. Molekulární podstata dědičnosti je základem téměř pro celou moderní biologii.

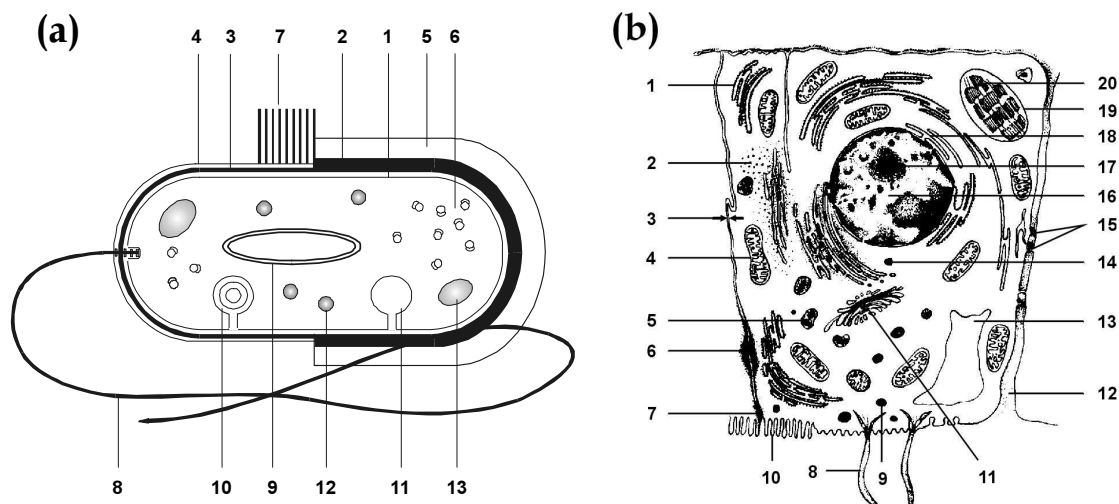
## 2.1 PROKARYOTICKÁ A EUKARYOTICKÁ BUŇKA

U buněčných organismů rozlišujeme dva typy buňky, prokaryotickou a eukaryotickou. Oba typy se liší velikostí a vnitřní stavební složitostí (obr. 2.1).

### 2.1.1 Stavba prokaryotické buňky

Prokaryotická buňka je tvořena jediným, membránami dále neděleným prostorem, ve kterém chybí ohraničené jádro (obr. 2.1a). Vzhledem k malé velikosti (typicky 1-2 $\mu\text{m}$ ) a tedy relativně velkému povrchu i díky absenci vnitřní strukturovanosti jsou metabolismus a buněčné dělení velmi rychlé. **Jádro (nukleoid)** je tvořeno jedinou, kružnicovou molekulou dvouřetězcové DNA, která není od cytoplazmy oddělena jadernou membránou. V některých případech se kromě jaderného genomu vyskytuje i jeden nebo více druhů **plazmidů**, tvořených rovněž kružnicovou DNA. Každý typ plazmidu může být v buňce přítomen v jedné nebo více kopiích. V cytoplazmě se dále vyskytují prokaryotické **ribozomy**, které nejsou vázány na žádnou strukturu, a **zásobní látky** (glykogen, kyselina poly- $\beta$ -máslaná). Vchlípením cytoplazmatické membrány vznikají **mezozomy**, funkčně pravděpodobně analogické eukaryotickým lyzozomům a u fotosyntetizujících bakterií navíc i četné **chromatofory**, nesoucí fotosyntetické pigmenty.

Kromě cytoplazmatické membrány jsou prokaryotické buňky chráněny ještě **buněčnou stěnou**, jejíž základní složkou je na rozdíl od buněk rostlin a hub peptidoglykan murein (lineární polymer derivátů glukozaminu). U grampozitivních bakterií je stěna silná, tvořená mohutnou peptidoglykanovou vrstvou, kdežto u gramnegativních bakterií (např. *E. coli*) je stěna poměrně tenká a vně ještě opatřena tzv. vnější membránou, strukturně odpovídající cytoplazmatické membráně. U zvláště virulentních patogenních forem je buňka opatřena ještě **pouzdrém**, tvořeným nejčastěji buď peptidem, nebo polysacharidem. Některé druhy mají schopnost pevně se přichytit na povrchy, např. kamenů ve vodě, zubů v ústní dutině nebo na povrchy sliznic. K tomu jim napomáhá zvláštní plst'ovitý obal, **glykokalyx**, tvořený hustou sítí polysacharidových vláken (obr. 1a). Pohyb buňky zajišťuje jeden nebo více **bičků**, tvořených spirálovitě vinutými řadami molekul globulárního flagellinu, vytvářejících duté šroubovitě vlákno. Bičků je ukotven v cytoplazmatické membráně dvěma destičkami, které se vůči sobě otáčejí jako rotor a způsobují tak šroubovitý pohyb bičku (podobně jako lodní šroub). Kromě bičků se na povrchu některých bakterií nacházejí krátké, jemné a křehké **fimbrie (pilli)** – některé typy se podílejí na buněčné konjugaci.



**Obr. 2.1** (a) Schéma prokaryotické buňky: 1 cytoplazmatická membrána, 2 buněčná stěna gram pozitivních bakterií, 3 buněčná stěna gramnegativních bakterií, 4 vnější membrána, 5 pouzdro (kapsula), 6 prokaryotické ribozomy, 7 fimbrie, 8 bičík, 9 molekula DNA, 10 mezozom, 11 chromatofor, 12 glykogen, 13 polyfosfátová zrna. (b) Stavba eukaryotické buňky (v levé části buňka živočišná, v pravé rostlinná): 1 drsné endoplazmatické retikulum (ER), 2 zrna glykogenu, 3 mezibuněčný prostor, 4 mitochondrie, 5 lyzozom, 6 desmozom, 7 mezibuněčný spoj, 8 řasinka, 9 sekreční váček, 10 mikroklyky, 11 Golgiho komplex, 12 buněčná stěna, 13 vakuola, 14 centriola, 15 plazmodesmy, 16 jádro, 17 jadérko, 18 hladké ER, 19 chloroplast, 20 tylakoidy.

## 2.1.2 Stavba eukaryotické buňky

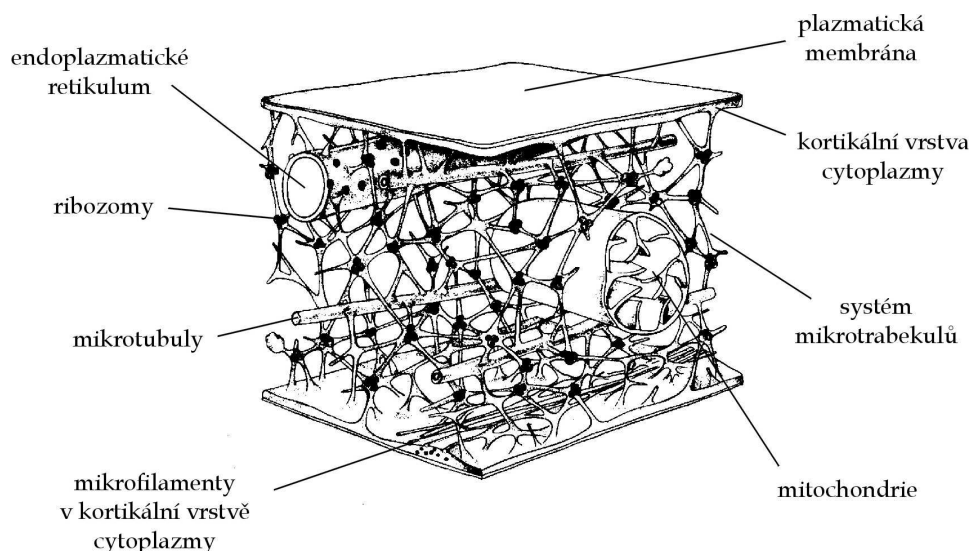
Eukaryotická buňka (obr. 2.1b) je charakteristická složitou strukturovaností a přítomností řady buněčných organel a vnitřního cytoskeletu. Velikost eukaryotických buněk je velmi proměnlivá, například u rostlin dosahuje průměrně 10-100 $\mu\text{m}$ , ale může dosáhnout i několik metrů (mléčnice pryscovitých); živočišné buňky měří většinou 10-20 $\mu\text{m}$ , avšak délka axonu některých nervových buněk může měřit až jeden metr a vaječné buňky ptáků dosahují díky nahromadění zásobních látek skutečně obřích rozměrů (viz např. vajíčko pštrosa, které dosahuje hmotnosti až 1500g).

Mezi nejdůležitější strukturní součásti eukaryotické buňky patří **endoplazmatické retikulum** (ER), tvořené soustavou kanálků, váčků a plochých cisteren. Na retikulum se mohou vázat eukaryotické ribozomy. Takové retikulum označujeme jako **drsné ER**. Retikulum bez ribozomů se nazývá **hladké ER**. Zatímco na drsném ER probíhá intenzivní proteosyntéza, hladké ER je místem syntézy sacharidů, lipidů a steroidů. Na endoplazmatické retikulum funkčně navazuje **Golgiho komplex**, sestávající ze soustavy plochých cisteren, které mohou mít (např. v nervových a zárodečných buňkách, v buňkách bezobratlých, ve většině rostlinných buňkách) podobu samostatných váčků, tyčinek a prstenců, které se označují jako **diktyozomy**. V cisternách Golgiho komplexu dochází k posttranslačním úpravám produktů ribozomů endoplazmatického retikula (kap. 2.2.6), například k přidávání glykozylových skupin na řetězce proteinů. Váčky Golgiho komplexu se dále podílejí na transportu některých látek v buňce a na exocytóze, u rostlin navíc na tvorbě buněčné stěny.

Dalšími organelami jsou např. **lyzozomy**, zajišťující hydrolýzu bílkovin, nukleových kyselin, cukrů, lipidů apod., a **cytozomy**, které se dělí na **peroxizomy** (obsahují peroxidázy, katalázy, u rostlin se podílejí na fotorespiraci), **glyoxozomy** (obsahují enzymy glyoxalátového cyklu), **urikozomy** (obsahují urikázu), u bičíkovic i **hydrogenozomy**. Důležitou součástí většiny eukaryotických buněk jsou **mitochondrie**, jejichž funkce spočívá v oxidaci a fosforylaci základních živin za vzniku energie, akumulované do energeticky bohatých fosfátových vazeb. Pro buňky zelených rostlin jsou typické **plastidy**, které jsou podobně jako mitochondrie ohraničeny dvojitou membránou s členitou strukturou vnitřní membrány. Na základě jejich zbarvení lipofilními pigmenty a jejich vztahu k fotosyntéze se plastidy dělí na bezbarvé **leukoplasty**, fotosynteticky aktivní zelené **chloroplasty**, červené **rodoplasty** a hnědé **feoplasty** a na fotosynteticky neaktivní **chromoplasty** (žluté a červené).

**Jádro (nukleus)** je typickou a stabilní součástí eukaryotické buňky. Od cytoplazmy je odděleno dvojitou membránou, ve které jsou četné, pravidelně rozmístěné, selektivně propustné póry o průměru asi 40 $\mu$ m. Vnější jaderná blána přechází do membrán endoplazmatického retikula, čímž dochází k propojení perinukleárního prostoru (mezi oběma jadernými membránami) s vnitřním prostorem ER. Před dělením se jaderná blána stává součástí retikula a z jeho membrán po dělení opět vzniká. Obsah jádra je tvořen karyoplazmou, která se skládá z despiralizovaných chromozomů (kap. 2.1.3). V jádře je patrná intenzivněji zbarvená oblast, neohrazená biomembránou, **jadérko (nukleolus)**, obsahující ribonukleoproteiny. Počet jadérek je proměnlivý, typicky je jich přítomno 1-7, avšak v oocytech obojživelníků jich může být 1000-2000 a naopak v některých buňkách jadérko zcela chybí.

Kromě jádra a buněčných organel se v základní cytoplazmě vyskytují i různé buněčné inkluze, tzv. **paraplazma**, v buňkách rostlin označovaná jako **ergastické struktury**. Paraplazmou mohou být metabolické rezervy (cukry, škrob, tuky, glykogen), nebo konečné produkty metabolismu (alkaloidy, terpeny, třísloviny, barviva apod.). Tyto látky jsou přítomny v podobě různých zrn a kapének, nebo ve **vakuolách** (typických pro rostlinné buňky). Při dělení buňky se uplatňuje soustava dvou na sebe kolmých válcovitých útvarů, **centriola**, projevující se jako světlolomné tělísko poblíž jádra. Centriola je obklopena zvláštní hyalinní cytoplazmou (**centrosférou**), se kterou tvoří celek nazývaný **centrozom**. Před začátkem mitózy centriola indukují ve své blízkosti tvorbu druhé centrioly, která putuje k opačnému pólu buňky. Obě části potom vyvolávají uspořádání **dělicího vřeténka**, které se podílí na rozchodu homologických chromozomů.

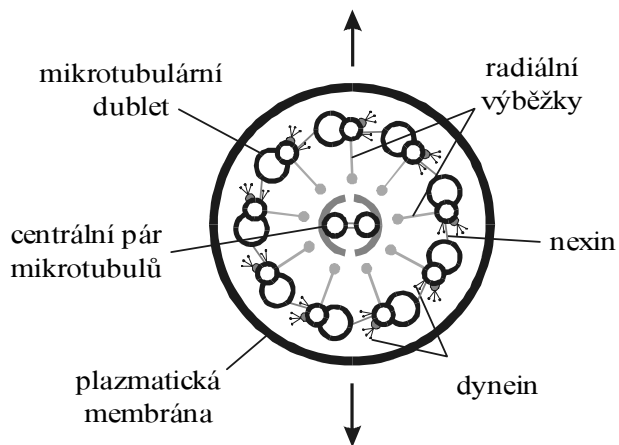


Obr. 2.2 Systém buněčného cytoskeletu.

Vzhledem k tomu, že eukaryotická buňka primárně postrádá buněčnou stěnu, je tvar a případně i pohyb celé buňky nebo jejích částí (např. při fagocytóze a pinocytóze) zajišťován vnitřním cytoskeletem, který je tvořen **mikrotubuly, mikrofilamenty, intermediárními filamenty** a systémem tzv. **mikrotrabekulů** (obr. 2.2). Kromě intermediárních filamentů se jednotlivé složky cytoskeletu mohou podílet i na vnitro-buněčném transportu látek. Pohyb buňky mohou dále zajišťovat **řasinky (cilie)** a **bičík (flagellum)**. Jejich struktura je mnohem složitější než u prokaryotického bičíku (obr. 2.3). Centrální mikrotubuly bičíku končí v tzv. bazální destičce pod úrovní buněčného povrchu, zatímco periferní dublety mikrotubulů jsou zakončeny bazálním tělískem (kinetozomem) hlouběji v cytoplazmě. Bičík je zpravidla jen jeden a u některých druhů může mít podobu tzv. undulující membrány (např. trypanozoma).

Buňky rostlin a hub udržují svůj tvar pomocí rigidní **buněčné stěny**, která se skládá z několika vrstev. U rostlin jsou její hlavní stavební složkou celulóza, hemicelulóza a pektiny. Stěna je dále prostoupena

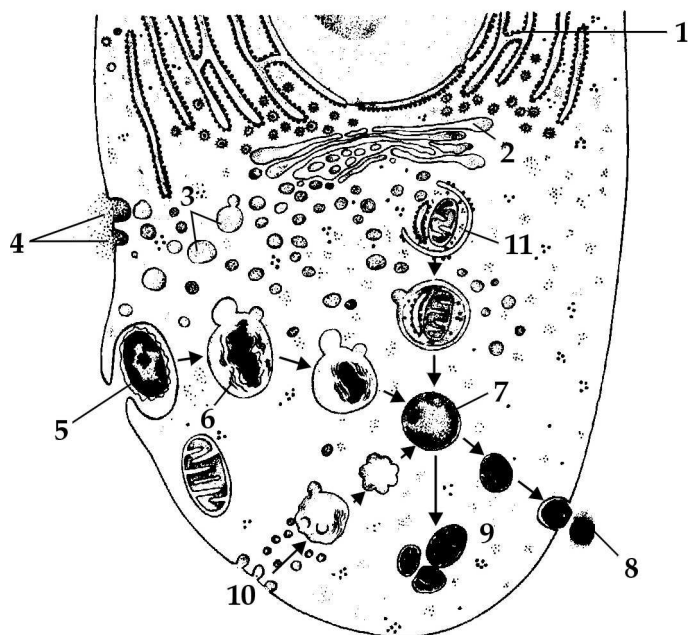
různými anorganickými inkrustacemi a organickými impregnacemi – hovoříme buď o lignifikaci (ukládání ligninu, dřevnatění), suberinizaci (ukládání suberinu, korkovatění) nebo kutinizaci (ukládání kutinu). Buněčná stěna hub je tvořena především chitinem a celulózou, v menší míře se uplatňují i další látky jako D-glukozamin, glukany, mannany a fukany.



**Obr. 2.3** Schematický náčrt příčného řezu eukaryotickým bičíkem.

mohou splnutím s cytoplazmatickou membránou vypudit svůj obsah mimo buňku (exocytóza). Tak dochází k propojení jádra buňky s jejím povrchem (obr. 2.4). Toto propojení jednotlivých buněčných struktur s vnějším prostředím může působit i v opačném směru, např. při pohlcování pevných látek (včetně jiných buněk), fagocytóze, a při tzv. buněčném pití, pinocytóze.

Pro eukaryotickou buňku je typická **kompartmentace**, tj. vzájemné oddělení jednotlivých funkčních součástí buňky. Tato kompartmentace má zásadní význam, neboť umožňuje oddělení metabolických procesů i koncentrace některých enzymů a různých metabolitů. Druhou typickou vlastností eukaryotických buněk je funkční propojení jednotlivých kompartmentů. Například jaderná membrána na některých místech plynule přechází v membránu endoplazmatického retikula a často i Golgiho komplexu. Produkty ER (např. trávicí enzymy) mohou být transportovány do cisteren Golgiho komplexu a tam dále upravovány. Odškrčením membrán ER nebo Golgiho komplexu vznikají sférické vāčky (primární lyzozomy, cytozomy atd.), které plní specifické funkce a popřípadě



**Obr. 2.4** Tvorba a funkce lyzozomů. Enzymy produkované v endoplazmatickém retikulu (1) a Golgiho komplexu (2) se odškrcejí v primárních lyzozomech (3). Některé mohou vyprazdňovat svůj obsah do okolí buňky (exocytóza, 4), nebo se účastnit vnitrobuněčného trávení. Fagocytózou pohlcená bakterie (5) je uzavřena ve fagozomu (6), který splývá s primárním lyzozomem, čímž vzniká fagolyzozom. Z něho vzniká sekundární lyzozom (7) až reziduální tělísko, které je buď vypuzeno z buňky (8), nebo skladováno v cytoplasmě (9). Totéž probíhá při pinocytóze (10). Primární lyzozomy mohou tvořit i autofágní vakuolu po splnutí s poškozenými organelami (11).

### 2.1.3 Dělení buněk

Genetický materiál v jádře eukaryotické buňky je organizován do **chromozomů** (název pochází z řeckého termínu pro „zbarvená tělíska“ vzhledem k jejich reakci na specifické barvení). Často jsou chromozomy chápány obecněji jako jakákoli DNA nesoucí genetickou informaci nezbytnou pro život buňky a proto i u prokaryot někdy hovoříme o prokaryotickém chromozomu. U některých organismů jsou chromozomy rozlišeny na **autozomy**, které jsou stejné u obou pohlaví, a na pohlavní chromozomy (**heterochromozomy**). Pohlavní chromozomy jsou u **homogametického** pohlaví totožné (párové heterochromozomy), kdežto u pohlaví **heterogametického** v jádře nalezneme jeden párový a jeden nepárový pohlavní chromozom (**alozom**). Heterogametické pohlaví může být buď samčí, nebo samičí. V prvním případě hovoříme o „savčím“ typu určení pohlaví, označovaném jako *Drosophila* (samice má chromozomální konstituci XX, samec XY). Druhý případ se označuje jako „ptačí“ typ, tzv. *Abraxas* (samice WZ, samec WW). Kromě těchto dvou typů chromozomálního rozlišení pohlaví byl popsán ještě další případ, známý u rovnokřídlého hmyzu (Orthoptera), kdy samčí pohlaví je opět heterogametické, avšak neobsahuje alozom, ale pouze jediný párový heterochromozom, tzv. typ *Protenor*. (Ve skutečnosti existuje více typů určení pohlaví – jeden z nich, vyskytující se u blanokřídlých, má z evolučního hlediska zvláštní význam, viz kap. x).

#### Mitóza

Jak prokaryotické, tak eukaryotické buňky se normálně dělí procesem zvaným mitóza, která probíhá v několika fázích. Celý proces si můžeme nejlépe ilustrovat na dělení eukaryotické buňky. V profázi dochází k zakulacení buňky, zvětšování jádra a mizení jadérka, dělení centriolu a spiralizaci chromozomů. Na rozhraní této a následující fáze, v tzv. prometafázi, jsou chromozomy maximálně spiralizovány a dobře barvitelné. Rozpouští se jaderná membrána a v cytoplasmě vzniká dělicí aparát. V metafázi se chromozomy seřadují v ekvatoriální rovině, čímž vzniká metafázní destička. Na centromery jednotlivých chromozomů jsou napojena mikrotubulární dělicí vřeténka. Jejich kontrakcí se během následující anafáze jednotlivé chromatidy vzájemně oddělují a dceřinné chromozomy se rozcházejí k protilehlým buněčným pólům. V závěrečné telofázi zanikají dělicí vřeténka, chromozomy se opět despiralizují a vznikají buněčná jádra. Na proces dělení jádra většinou bezprostředně navazuje dělení cytoplazmy a celé buňky. Rozdělení může probíhat dostředivě, od membrány do středu (rýhovací dělení), jako je tomu například u živočichů, nebo odstředivě, jako je tomu u rostlin, kde nejdříve uprostřed buňky vzniká za účasti cisteren Golgiho komplexu tzv. střední lamela, která se postupně rozrůstá směrem k buněčné stěně.

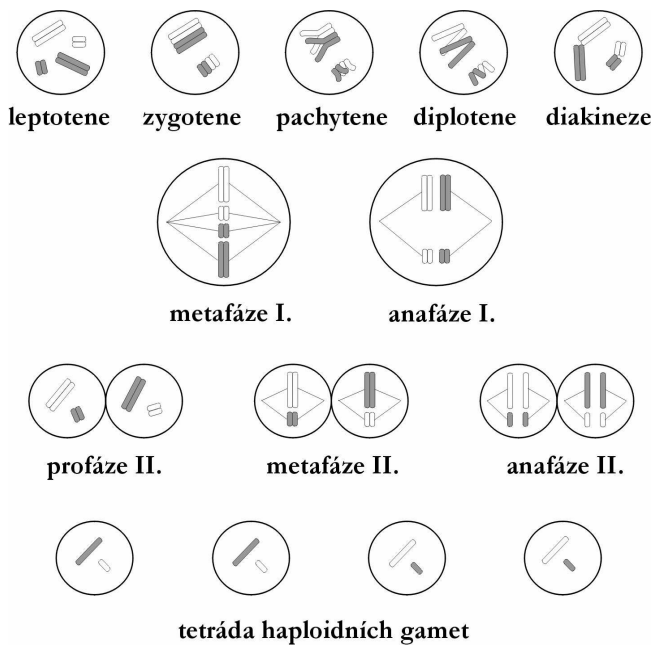
Mitóza (fáze M) je ovšem jen jednou z period buněčného cyklu nebo generačního času buňky. Po rozdělení buňky nastává fáze  $G_1$  (postmitotické období), kdy se syntetizuje RNA a bílkoviny. V následující fázi S (syntetické) dochází k syntéze DNA a zdvojení genomu, zatímco další fáze,  $G_2$ , je obdobím klidu, kdy se buňka připravuje na další mitotické dělení. Někdy ovšem k další M fázi nedochází a buňka se dostává do klidového stadia, označovaného jako fáze  $G_0$ , které může trvat až do zániku buňky (např. u buněk nervových).

#### Meióza

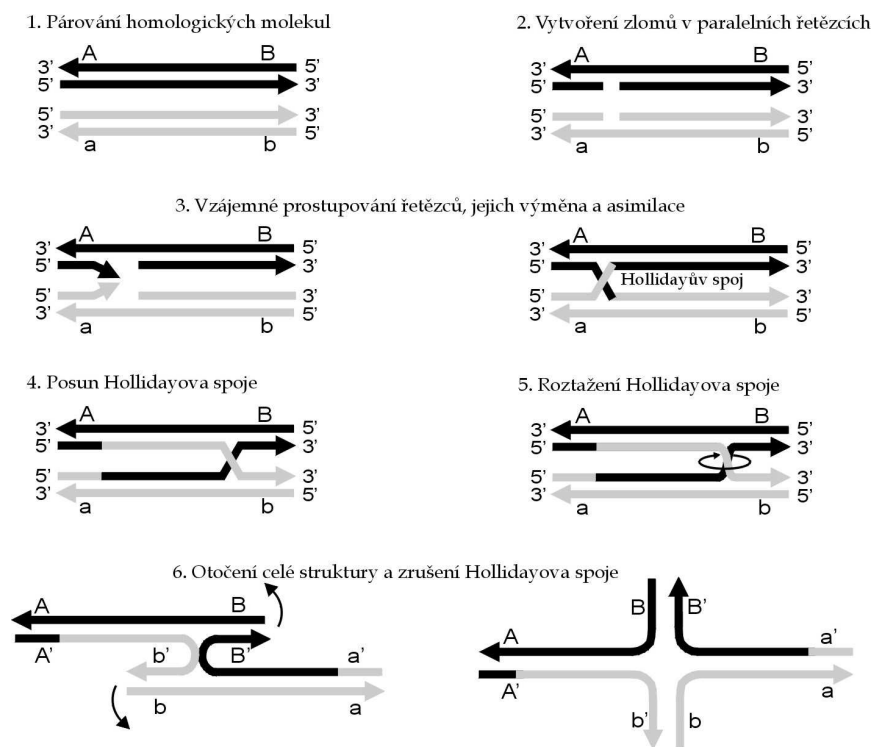
Kdyby byla mitóza jediným mechanismem dělení buněk, docházelo by u pohlavně se rozmnožujících organismů v každé generaci ke zdvojení počtu chromozomů. K redukci jejich počtu, která zajišťuje zachování charakteristického množství chromozomů, dochází v procesu dělení označovaném jako **meióza**. U eukaryot se pohlavní buňky (gamety) většinou tvoří meiotickým dělením primárních oocytů (u samic) a primárních spermatocytů (u samců). Protože proces redukčního dělení a celé reprodukce se mezi jednotlivými organismy značně liší, ilustrujeme si meiózu na typickém příkladě dělení zárodečných buněk u savců (obr. 2.5).

Meióza probíhá ve dvou cyklech, které lze, podobně jako mitózu, rozdělit na profázi, metafázi, anafázi a telofázi. **I. redukční dělení** se označuje jako **heterotypické** a právě během něj dochází k vlastní redukci počtu chromozomů. Na rozdíl od mitózy je však profáze prvního dělení poměrně komplikovaná a většinou se dále člení na pět dalších stadií. Na první stadium, **leptotene**, kdy se chromozomy začínají spiralizovat, navazuje stadium druhé, **zygotene**, ve kterém se jednotlivé homologické chromozomy k sobě vzájemně přikládají za vzniku tzv. bivalentů. Spojení chromozomů v bivalentech se nazývá **synapse** a tyto synapse jsou uskutečněny pomocí speciálních proteinových spojů, nazývaných **synaptické komplexy**. Během synapse dochází k překřížením nesesterských chromatid a vzniku **chiazmat**, která jsou většinou

doprovázena zlomy a výměnou částí těchto chromatid. Pokud během tohoto procesu, označovaného jako **crossing-over**, dojde ke změně ve strukturálním složení chromozomu, hovoříme o **rekombinaci**. Průběh a mechanismus crossing-overu podle současných znalostí je znázorněn na obr. 2.6 a 2.7.

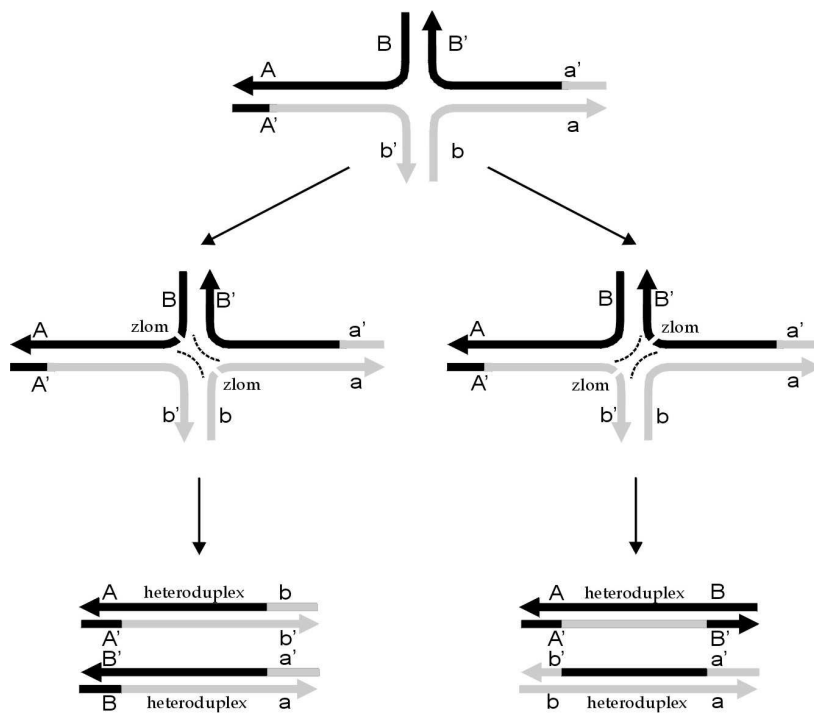


Obr. 2.5 Schéma meiotického dělení.

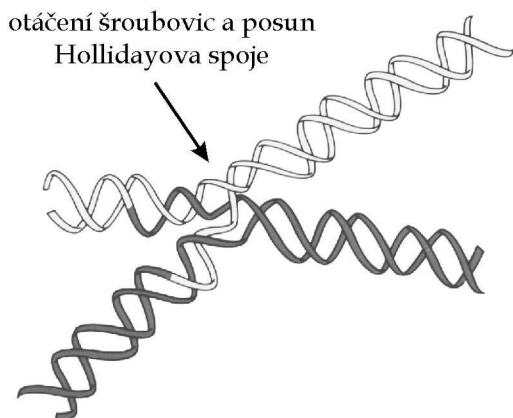


Obr. 2.6 Hollidayův model crossing-overu.

Ve třetím stadiu, **pachytene**, pokračuje spiralizace chromozomů a vzájemné obtáčení a proplétání nesesterských chromatid. Pro následující stadium, **diplotene**, je charakteristické rozpouštění synaptických komplexů a oddalování homologických elementů, které začíná v oblasti centromer. Jejich úplnému rozchodu však brání místa překřížení a propletení nesesterských chromatid (chiazmat). V pátém stadiu, **diakinezi**, se chiazmata posouvají ke koncům chromozomálních ramen a bivalenty se přesouvají ze středu jádra směrem k membráně, která se postupně rozpouští. Současně s tímto procesem se vytváří dělicí vřeténko.



Obr. 2.6 Pokračování: tvorba heteroduplexů.

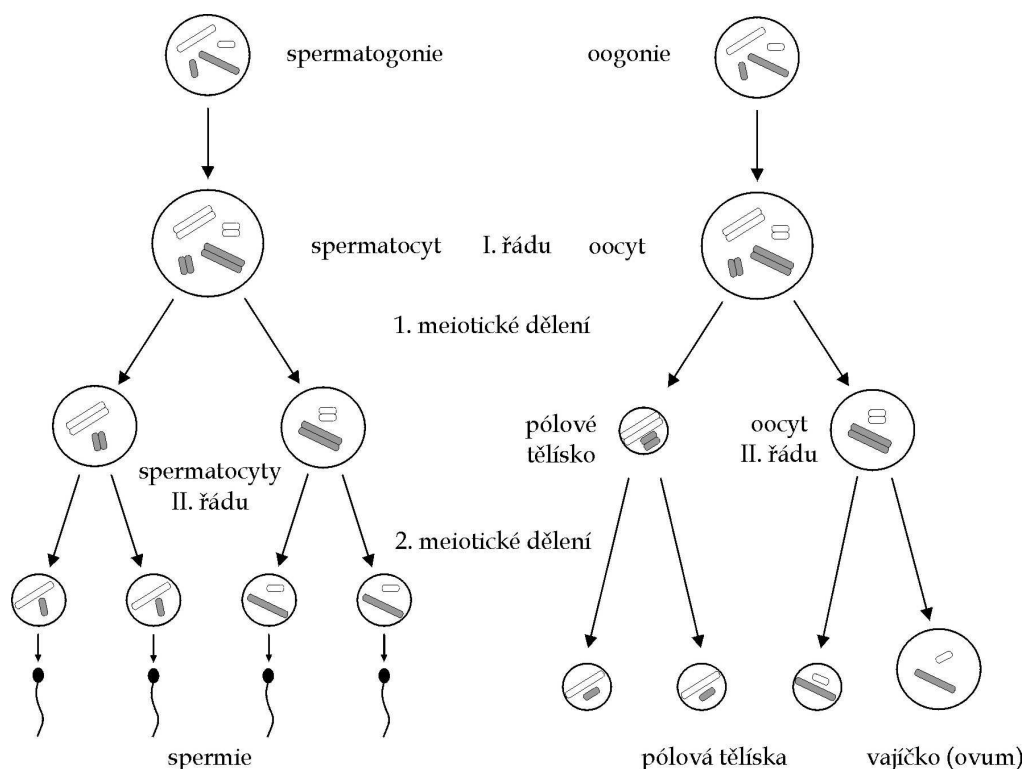


Obr. 2.7 Posun Hollidayova spoje.

Během heterotypické metafáze se bivalenty napojují na vlákna dělicího vřeténka a v následující anafázi dochází k jejich vzájemnému rozdělávání. Na rozdíl od mitotického dělení se však centromery podélně nerozštěpí a k pólům vřeténka se rozcházejí celé dvouchromatidové chromozomy. Tímto procesem je zajištěna redukce diploidního počtu chromozomů. U některých organismů na anafázi I navazuje typická telofáze včetně vytvoření dceřiných jader a vzniku buněčné přepážky, následovaná obdobím interkineze. U jiných organismů však mohou telofázní shluky chromozomů bezprostředně vstupovat do profáze II. dělení.

Průběh II. (**homeotypického**) redukčního dělení, je prakticky shodný s průběhem mitózy, účastní se ho však pouze haploidní

sada chromozomů. Konečným produktem meiózy je tedy čtveřice (tetráda) haploidních dceřinných jader. Výsledek gametogeneze je však u samčího a samičího pohlaví odlišný (obr. 2.8).



Obr. 2.8 Průběh gametogeneze u samců (vlevo) a samic (vpravo).

## 2.2 PŘENOS GENETICKÉ INFORMACE

### 2.2.1 Struktura informačních makromolekul

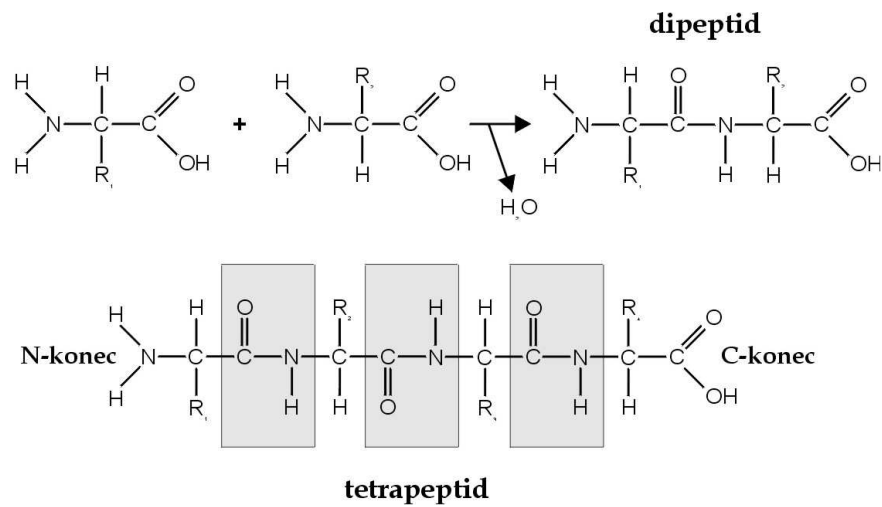
K makromolekulám biologického původu, tj. biologickým makromolekulám, patří proteiny, nukleové kyseliny a polysacharidy. Jako informační makromolekuly označujeme ty biologické makromolekuly, mezi nimiž dochází v živých soustavách k přenosu genetické informace. Tato schopnost je dána jejich polymerním charakterem. Mezi informační makromolekuly patří proteiny a nukleové kyseliny.

#### **Proteiny**

**Primární struktura proteinu** je určena pořadím jejich stavebních jednotek, aminokyselin, které jsou vzájemně spojeny tzv. peptidovou vazbou. Ta vzniká spojením skupiny  $-NH_2$  jedné aminokyseliny se skupinou  $-COOH$  jiné aminokyseliny za současného vyloučení vody (obr. 2.9). **Sekundární strukturu proteinu** rozumíme uspořádání polypeptidového řetězce do  **$\alpha$ -šroubovice**, nebo  **$\beta$ -struktury** (která má tvar složeného listu papíru). Tyto struktury vyššího řádu jsou umožněny vznikem vodíkových můstků mezi  $-CO$  a  $-NH$  skupinami peptidových vazeb. Vzhledem k různosti chemické povahy postranních skupin aminokyselin a tendenci těchto skupin zaujmout energeticky nejvýhodnější konfiguraci dochází k dalšímu zkroucení makromolekuly za vzniku terciální struktury. Podle ní lze proteiny dělit na **globulární**, které mají díky střídání s ostatními segmenty proteinu kompaktní kulovitý tvar, a **fibrilární**, v nichž převažují uspořádané  $\alpha$ -šroubovice a  $\beta$ -struktury. Pod pojmem kvartérní struktura proteinů rozumíme



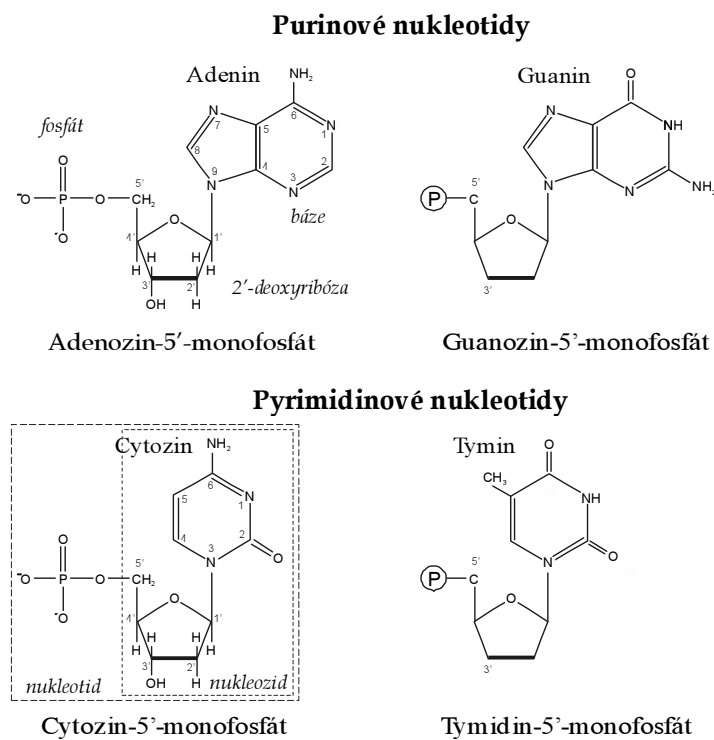
způsob sestavení jednotlivých polypeptidových řetězců v molekule oligomerního proteinu (dimeru, trimeru, tetrameru atd.).



Obr. 2.9 Schéma tvorby primární struktury polypeptidu.

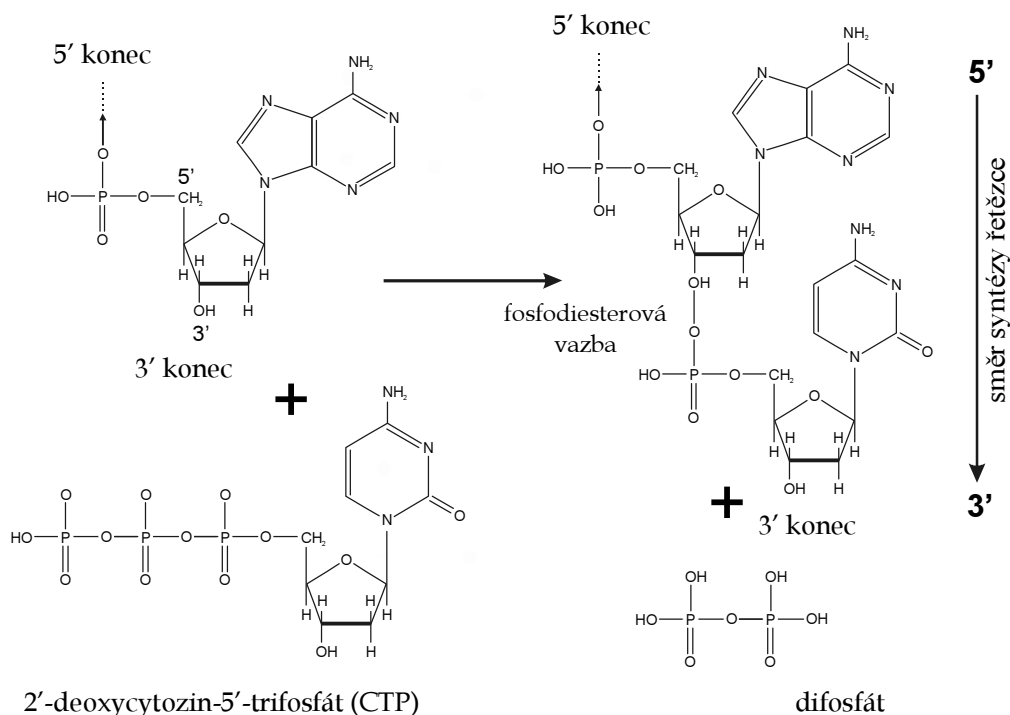
### Nukleové kyseliny

**Nukleové kyseliny** jsou složeny z nukleotidů. Nukleotid se skládá z pětiuhlíkového monosacharidu, pentózy (ribózy, nebo deoxyribózy), kyseliny fosforečné a báze. Jako nukleozid označujeme sloučeninu báze s pentózou (obr. 2.10). Báze mohou být buď purinové (adenin, guanin), nebo pyrimidinové (cytozin,



Obr. 2.10 Purinové a pyrimidinové nukleotidy. Nukleotid bez fosfátu se nazývá nukleozid.

tymin, uracil). Nukleotidy jsou spojeny do polynukleotidového řetězce tzv. 3',5'-fosfodiesterovou vazbou, která se tvoří mezi uhlíkem 3' pentózy jednoho nukleotidu a 5' uhlíkem následujícího nukleotidu. Proto označujeme jeden konec řetězce, tvořený OH-skupinou, jako 3'-konec a druhý, tvořený fosfátovou skupinou, jako 5'-konec. Základní kostra polynukleotidového řetězce je tvořena zbytky pentózy spojené fosfátovými molekulami. Z této pentózofosfátové kostry, označované někdy též jako páteř polynukleotidu, bočně vystupují báze jednotlivých nukleotidů (obr. 2.11).



Obr. 2.11 Syntéza poly-2'-deoxyribonukleotidového řetězce.

**Sekundární strukturou DNA** je dvoušroubovice, tvořená dvěma antiparalelními polynukleotidovými řetězci, které jsou vzájemně spojeny vodíkovými můstky mezi jednotlivými bázemi, vždy mezi purinovou a pyrimidinovou (obr. 2.12). Je-li dvoušroubovice DNA dále svinuta, hovoříme o **terciární struktuře**, označované jako nadšroubovice.

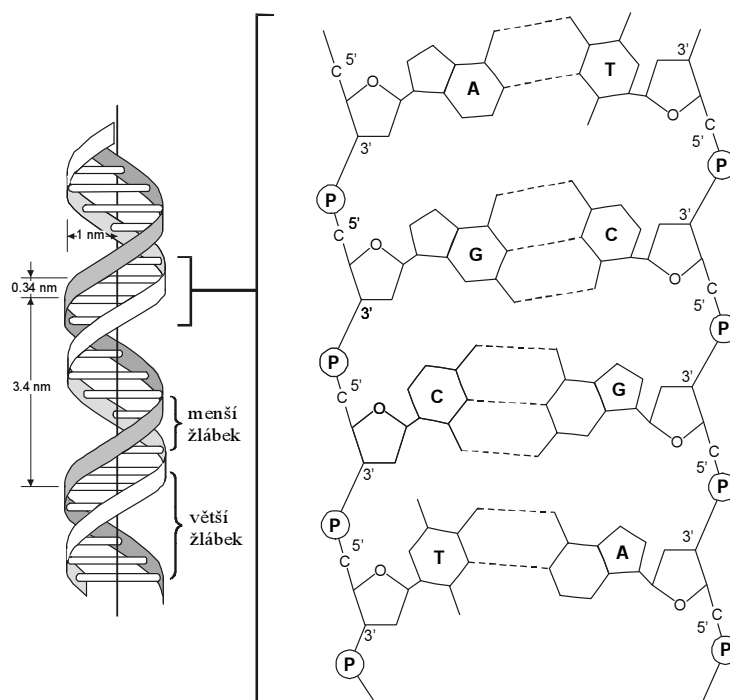
### Struktura eukaryotického chromatinu

**Chromatin** je hmota buněčného jádra skládající se z DNA, histonů a nehistonových bílkovin, barvitelná zásaditými barvivy. Podle intenzity zbarvení, stupně kondenzace a intenzity transkripce se chromatin rozlišuje na **euchromatin** a **heterochromatin**. Ačkoli mezi oběma typy chromatinu neexistuje ostrá hranice, důležitým rozdílem mezi nimi je přepis euchromatinových genů do RNA (resp. jeho absence v heterochromatinu). Obecně rozeznáváme dva typy heterochromatinu, konstitutivní a fakultativní. **Konstitutivní heterochromatin** (např. v oblasti centromery) zůstává v kondenzovaném stavu po celý buněčný cyklus ve všech buňkách a vývojových stádiích, zatímco **fakultativní heterochromatin** může být v určitých fázích ontogenetického vývoje transkripčně aktivní.

Zkoumáme-li chromatinový materiál elektronovým mikroskopem, můžeme pozorovat drobné částice, které vypadají jako korálky na šňůře. Tyto částice se nazývají **nukleozomy** a celá struktura **nukleozomový řetězec**. Vnitřek nukleozomu je tvořen oktamerem histonů (H2A, H2B, H3 a H4 – každý je zastoupen dvakrát), tzv. *histonovou dřeví*, okolo níž se obtáčí řetězec DNA. Úsek DNA, který se bezprostředně dotýká histonové dřevě, je dlouhý 146 párů bází a označuje se jako *dřeňová DNA*. Část řetězce mezi jednotlivými nukleozomy se nazývá *spanová DNA* a je dlouhá podle druhu organismu 50-75 pb.

Nukleozomový řetězec je základní strukturální konformací chromatinu, při které dochází k replikaci. Připojením histonu H1 vzniká **jednotkové chromatinové vlákno** o průměru 10-11nm. Histon H1 k sobě váže jednotlivé nukleozomy a současně stabilizuje vinutí DNA kolem histonové dřeně. Další spiralizací jednotkového chromatinového vlákna vzniká struktura o průměru 25-30nm, označovaná jako **solenoid** (obr. 2.13). Všechny tři zmíněné struktury jsou typické pro buňku v interfázi.

Kromě DNA a histonů se v chromatinu všech eukaryotických buněk nachází i tzv. **vysoce mobilní skupina bílkovin** (HMG = high mobility group), tvořená minimálně čtyřmi nízkomolekulárními proteiny. Tyto bílkoviny se přednostně váží s transkripčně aktivními oblastmi chromatinu a účastní se disociace a reasociace nukleozomů.



**Obr. 2.12** Sekundární struktura DNA. Vpravo detail vodíkových vazeb mezi komplementárními bázemi antiparalelních řetězců

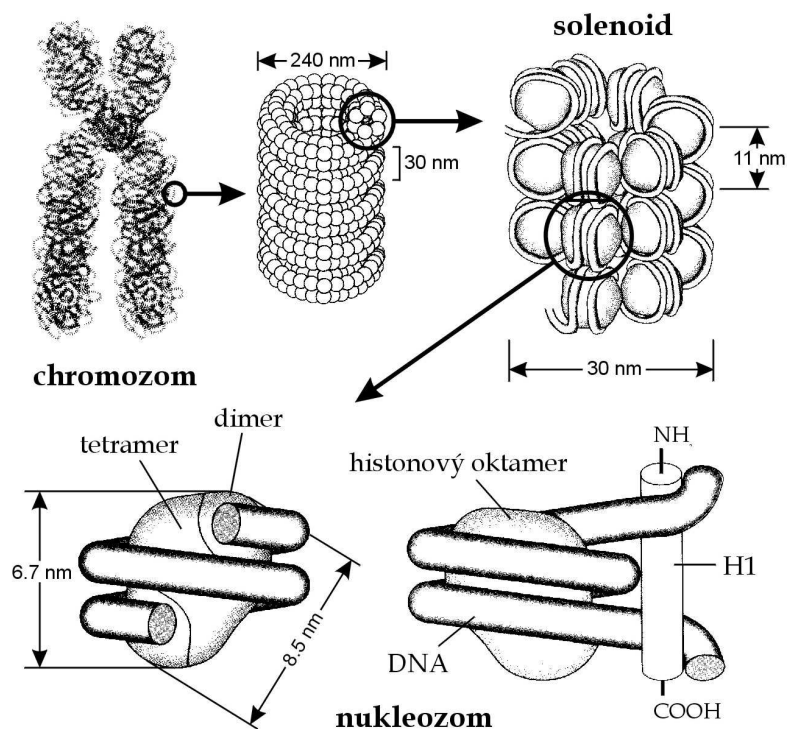
## 2.2.2 Ústřední dogma molekulární biologie

Proces přenosu genetické informace je zformulován v tzv. **ústředním dogmatu molekulární biologie**, které je schematicky znázorněno na obr. 2.14. *Podle něho je možný přenos genetické informace z nukleové kyseliny do nukleové kyseliny nebo z nukleové kyseliny do proteinu, nikoli však zpětný přenos z proteinu do struktury nukleové kyseliny.* Přenos genetické informace se děje následujícími způsoby:

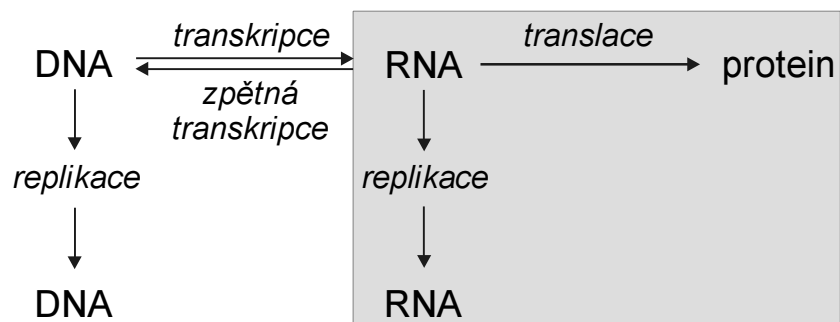
1. **Replikace** je přenos informace z DNA do DNA, nebo z RNA do RNA. Kopie molekuly nukleové kyseliny vzniklá replikací se označuje jako **replika**. Replikace dvouřetězcové DNA se označuje jako semikonzervativní, tzn. molekula se rozplétá a oba její řetězce slouží jako matrice pro syntézu komplementárních řetězců, takže v obou výsledných molekulách se zachovává jeden řetězec z molekuly výchozí. Tímto způsobem si dceřinné molekuly DNA zachovávají stejnou informaci jako mateřská molekula.
2. **Transkripce** je přepis genetické informace z DNA do RNA. Opačný proces, tedy přepis z RNA do molekuly DNA, se označuje jako **reverzní (zpětná) transkripce**. Sekvence, vzniklá transkripcí, se nazývá **transkript**. RNA-transkript je komplementární matricové sekvenci DNA, kdežto DNA-

transkript (vzniklý reverzní transkripcí) je komplementární matricové sekvenci RNA. RNA-transkript může podléhat tzv. **posttranskripčním úpravám** a proto se odlišuje jako tzv. **primární transkript**.

3. **Translace** znamená překlad genetické informace z mRNA do primární struktury proteinu. Překládání z jednoho typu informace (jazyka) do druhého se děje podle určitého kódu, který se označuje jako **genetický kód**.



**Obr. 2.13** Organizace eukaryotického chromatinu. Obtáčáním dvoušroubovice DNA kolem histonového oktameru vznikají nukleozomy (dole vlevo). Navázáním histonu H1 na řetězec nukleozomů (vpravo dole) vzniká jednotkové vlákno. Jeho následným vinutím se vytváří další struktura vyššího řádu, solenoid (nahore vpravo). Dalším svinováním a překládáním vzniká metafázní chromozom.



**Obr. 2.14** Ústřední dogma molekulární biologie.

## 2.2.3 Genetický kód

Syntéza proteinů zahrnuje proces dekodování genetické informace z RNA do pořadí aminokyselin, tedy do primární struktury proteinu. Každá aminokyselina v polypeptidovém řetězci je určena **tripletem** (trojicí) nukleotidů, který se nazývá **kodon**. Genetický kód je tak systémem pravidel, podle nichž jednotlivé kodony určují zařazení aminokyselin do polypeptidu. Čtení kodonů závisí na tom, kterým nukleotidem začíná. Způsob čtení tripletů v nukleotidové sekvenci, založený na pevně stanoveném počátku tohoto čtení se označuje jako **čtecí rámec**. Čtecí rámec může být buď **otevřený**, umožňující kódování dostatečně dlouhého polypeptidového řetězce, nebo **uzavřený**, který je přerušován terminačními kodony a proto neumožňuje kódování dostatečně dlouhého řetězce.

Genetický kód (obr. 2.15) je charakteristický následujícími vlastnostmi:

1. Je **třípísmenný**, tzn. každá aminokyselina je určována trojicí nukleotidů, tzv. tripletem.
2. Jelikož každá aminokyselina je kódována třemi nukleotidy a existují čtyři typy nukleotidů, je celkem  $4^3=64$  kodonů.
3. Je **degenerovaný**, tzn. naprostá většina aminokyselin je kódována více než jedním kodonem, jinými slovy většina kodonů je synonymních. Jako **synonymní** se označují odlišné kodony, kódující stejnou aminokyselinu. Z celkového počtu 64 kóduje aminokyselinu 61 kodonů.
4. Některé kodony jsou **nesmyslné**, tzn. nekódují žádnou aminokyselinu. Jsou to kodony **UAA**, nazývaný *ochre*, a **UAG**, nazývaný *amber*. Tyto kodony signalizují zakončení syntézy polypeptidu a proto se označují jako **terminační**.
5. Kodon **UGA**, nazývaný též *opal*, je bifunkční. Může vystupovat jednak jako terminační kodon a jednak může kódovat aminokyselinu selenocystein.
6. Kodon **AUG** je rovněž bifunkční, kóduje aminokyselinu metionin, současně však signalizuje začátek syntézy polypeptidového řetězce, působí tedy jako kodon **iniciační**.
7. Až na výjimky je genetický kód univerzální, tzn. má u všech živých soustav stejný smysl. U některých organismů však mají některé kodony jiný smysl a proto se odlišuje tzv. **standardní** genetický kód a kódy, které se od tohoto standardu odlišují. Standardní kód používá většina organismů a to *v plném znění*.

2.1		2.1.2 Druhý nukleotid									
		U		C		A		G			
První nukleotid	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	Třetí nukleotid	U
		UUC	Phe	UCC	Ser	UCC	Tyr	UGC	Cys		C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	stop	UGA	stop		A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	stop	UGG	Trp		G
	2.2	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U	
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C	
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A	
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G	
	2.3	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U	
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C	
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A	
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G	
	2.4	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
		GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C	
		GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A	
		GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G	

Obr. 2.15 Genetický kód.

## 2.2.4 Pojem genu

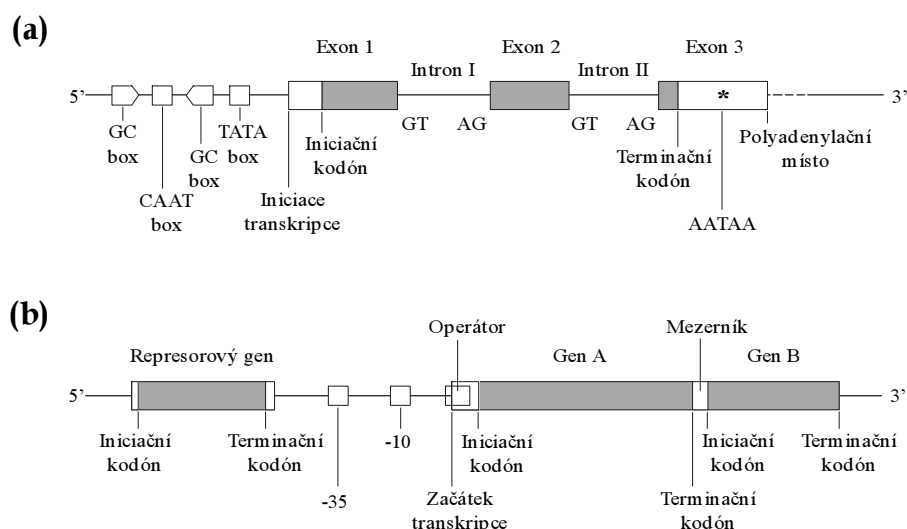
Gen je *základní jednotkou genetické informace nebo základní funkční genetickou jednotkou*. Tradičně býval gen definován jako úsek DNA, který kóduje polypeptidový řetězec („Jeden gen, jeden enzym“), popřípadě funkční molekulu RNA. Současné molekulární studie však zcela změnily náš pohled na geny a díky tomu je nutno přijmout poněkud volnější definici. Podle ní je gen *sekvence genomové DNA, nebo RNA, která je nezbytná pro určitou specifickou funkci*, přičemž k plnění této funkce není nutné, aby byl gen přepisován do primární struktury proteinu nebo dokonce podléhal transkripci.

Nejlépe je ukázat si pojem genu na výčtu jeho konkrétních podob. V současnosti rozlišujeme tři základní typy genů: (1) **geny kódující proteiny**, které jsou přepisovány (transkribovány) do RNA a dále do struktury bílkovin; (2) **geny pro funkční RNA**, které jsou přepisovány do primární struktury tRNA, nebo rRNA, případně dalších druhů RNA, které nejsou určeny k translaci; (3) **regulátorové geny**. Někdy se můžeme setkat s termínem **strukturní geny**, kterým jsou označovány geny kódující proteiny, avšak někteří autoři tento pojem chápou širěji a zahrnují do něj i geny pro funkční RNA.

Strukturní geny se rozlišují na složené a jednoduché. **Složené geny** se skládají z **exonů** a **intronů** a jeho primární transkript podléhá posttranskripční úpravě sestřihem. Během sestřihu dochází k vyštěpení intronů, zatímco exony se opět spojí a dávají vznik výsledné mRNA. Pojem exonu a intronu je však v řadě případů relativní, neboť úsek mající v jednom případě funkci intronu, může mít jindy funkci exonu a naopak. Takový exon se označuje jako potenciální, na rozdíl od exonu konstitutivního, který během sestřihu nikdy nepodléhá vyštěpení. **Jednoduché geny** neobsahují sekvence typu exonů a intronů a nepodléhají posttranskripčnímu sestřihu.

### Struktura genů kódujících bílkoviny

Standardní **eukaryotické** geny kódující bílkoviny jsou typické tím, že obsahují introny, tzn. jsou složené. Skládají se z přepisovaných (transkribovaných) a nepřepisovaných částí. Nepřepisované části se nazývají podle své polohy vůči kódující části jako 5' a 3' **lemující oblasti** (flanking regions). 5' lemující oblast obsahuje několik specifických sekvencí, určující počátek, rychlost a načasování procesu transkripce, které se označují jako **promotor**. Jednotlivé jeho součásti se nazývají elementy promotoru a určují místo, kam se váže RNA-polymeráza II (viz dále). Pro promotor jsou charakteristické následující boxy: 1. **TATA box (Hognessův box)**, obsahující sekvenci TATAAAA, umístěnou v rozmezí -34 až -26 od startovacího nukleotidu; 2. **CAAT box** a 3. jeden nebo více **GC boxů**, které se skládají ze sekvence GGGCGG, nebo podobné, a nacházejí se kolem CAAT boxu. Na rozdíl od CAAT a GC boxů neovlivňuje TATA box vazbu RNA-polymerázy, ale určuje počátek transkripce (obr. 2.16a).



Obr. 2.16 Struktura eukaryotického (a) a prokaryotického (b) genu.

Bílkoviny kódující geny **prokaryot** (obr. 2.16b) jsou odlišné od eukaryotických především tím, že jsou jednoduché. Nacházející se v určitých skupinách, které se označují jako **operony** a **neoperonové transkripční jednotky**. Základními složkami obou jednotek jsou promotor, startovací nukleotid, přepisované geny a terminátor. Operony se od neoperonových transkripčních jednotek liší tím, že mezi promotorem a startovacím nukleotidem mají ještě další regulační strukturu, tzv. **operátor**, na který se váže protein, označovaný jako **represor**. Po vazbě aktivního represoru na operátor se transkripce zastaví. Neoperonová transkripční jednotka je řízena pouze promotorem. Prokaryotický promotor obsahuje tyto sekvence: 1. **-35 sekvence**, mající nukleotidové složení TTGACAT, a 2. tzv. **Pribnowův box**, který se nachází kolem nukleotidu -10 a skládá se ze sekvence TATAAT.

### Geny pro funkční RNA

Genem pro funkční RNA se rozumí sekvence DNA, přepisovaná do primární struktury tRNA nebo rRNA, popř. jiných druhů RNA, které nejsou určeny k translaci. To znamená, že např. *mRNA není jejich produktem*. Struktura těchto genů je většinou obdobná u eukaryot i prokaryot. Většinou neobsahují introny – výjimkou jsou některé mikroorganismy jako například obrvení prvoci, hlenky a bakterie.

### Regulátorové geny

Jsou to úseky DNA (u RNA-virů RNA), které mají regulační funkci. Na rozdíl od strukturních genů nemají žádný produkt a jejich funkce a struktura jsou známy v mnohem menší míře. V současné době rozlišujeme několik typů takových genů: 1. **replikátorové geny**, určující iniciaci a terminaci replikace DNA, 2. **rekombinátorové geny**, specifikující rozpoznávací místa pro rekombinační enzymy, 3. **segregátorové geny**, které poskytují specifická místa pro připojení chromozomů k segregacnímu komplexu během meiózy a mitózy a 4. **připojovací místa** pro proteiny, hormony nebo další molekuly.

## 2.2.5 Replikace

Replikace probíhá ve třech fázích:

1. **Iniciace replikace**, probíhající v místě *ori* (počátek replikace) a zahrnující především jeho rozeznání replikačními enzymy a vytvoření replikační vidlice.
2. **Elongace**, tj. postupné prodlužování DNA-řetězce připojováním deoxyribonukleozid-5'-mono-fosfátů k jeho 3'-konci.
3. **Terminace replikace**.

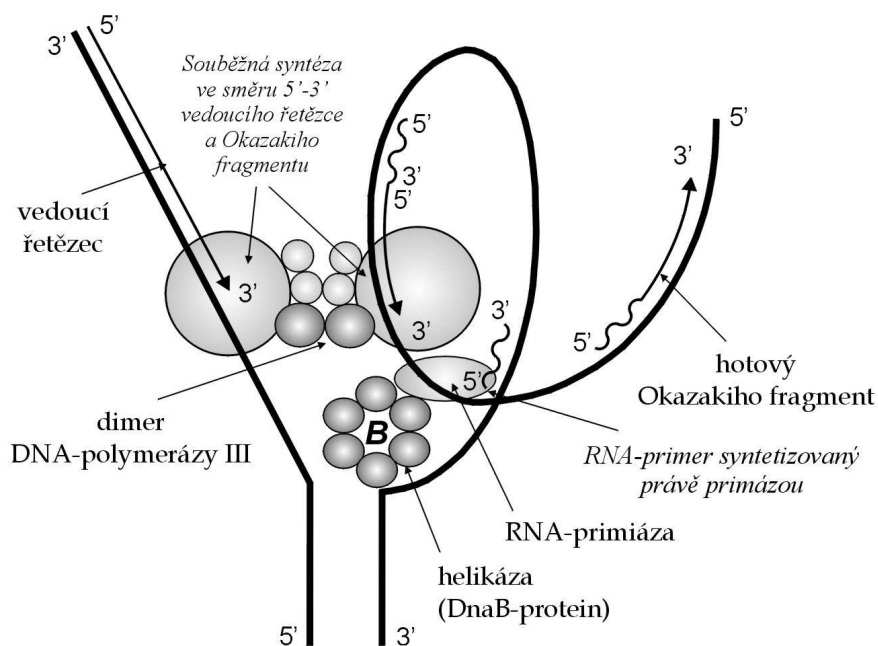
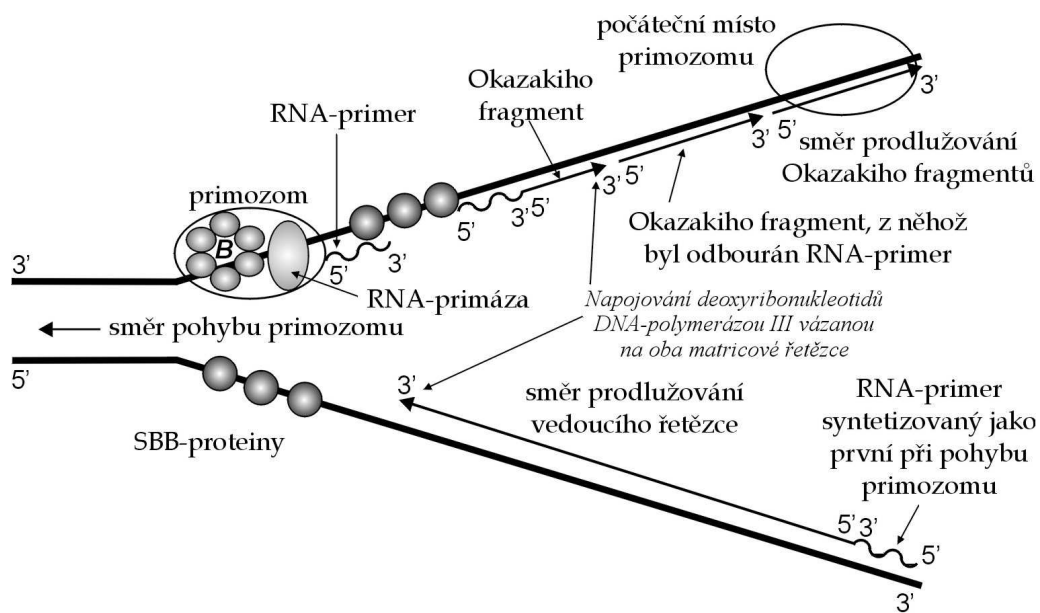
Syntéza nových DNA-řetězců je **semidiskontinuální**, tzn. jeden řetězec se syntetizuje na matricovém řetězci kontinuálně a druhý diskontinuálně. Kontinuální syntéza probíhá na **vedoucím řetězci**, jehož směr fosfodiesterových vazeb je 3'-5'. Tento řetězec se prodlužuje *ve směru pohybu replikační vidlice*. Diskontinuální syntéza probíhá na **opožďujícím se řetězci** přes tzv. **Okazakiho fragmenty**, sestávající z RNA-primeru a krátkého polydeoxyribonukleotidu, který se syntetizuje ve směru 5'→3'. Okazakiho fragmenty se prodlužují *proti směru pohybu replikační vidlice*. RNA-primery se odbourávají od 5'-konců a vzniklé mezery se doplní komplementárně k matricovému řetězci tím, že se začne každý Okazakiho fragment prodlužovat syntézou od 3'-konců. Zbývající části Okazakiho fragmentů se nakonec spojí do souvislého řetězce (obr. 2.17).

### Replikace prokaryotického genomu

Počátek replikace na prokaryotickém chromozomu je jen jeden a iniciace replikace se uskutečňuje jen jednou za generační dobu. Nejdříve je proteiny DnaA rozeznán počátek replikace (*oriC*), který je současně převeden do otevřené formy. Poté se na uvolněné DNA-řetězce navážou dvě molekuly **helikázy** (DnaB-proteinu), které je začnou odvíjet ve směru 5'→3' za tvorby replikačních vidlic. Na vznikající jednořetězcové oblasti se vážou **SSB-proteiny**, udržující matricové řetězce v nataženém stavu.

Syntéza vedoucího i opožďujícího se řetězce vyžaduje přítomnost RNA-primeru, syntetizovaného **RNA-primázou**, která je k této činnosti aktivována helikázou. Komplex primázy a helikázy se označuje jako **primozom**. V některých případech může primozom obsahovat i další proteiny. Vlastní syntéza řetězce DNA probíhá činností **DNA-polymerázy**, která se pohybuje ve směru pohybu replikační vidlice.

Předpokládá se, že matricový řetězec, na kterém se syntetizují Okazakiho fragmenty, tvoří kolem ramene DNA-polymerázy III smyčku, čímž umožní souběžné prodlužování vedoucího i opoždujícího se řetězce (obr. 2.17).



**Obr. 2.17** Schéma prokaryotické replikace – syntéza vedoucího řetězce a Okazakiho fragmentů. Dole detail smyčky řetězce DNA kolem DNA-polymerázy III, umožňující souběžné prodlužování vedoucího i opoždujícího se řetězce.



RNA-primery jsou posléze z 5'-konce odbourávány a na 3'-konce předchozích Okazakiho fragmentů jsou napojovány deoxyribonukleotidy. Oba tyto procesy jsou katalyzovány DNA-polymerázou I. Takto doplněné fragmenty jsou nakonec spojeny **DNA-ligázou**. Replikace končí na specifických sekvencích, které se označují jako **terminátory replikace**.

### **Replikace jaderné DNA**

U eukaryotických buněk je nutno rozlišovat replikaci jaderné (chromozomální) DNA (nDNA) a DNA tvořící genofor mitochondrií a chloroplastů. Replikace nDNA eukaryot je v zásadě totožná s replikací prokaryotického chromozomu, neprobíhá však ihned po skončení buněčného dělení, nýbrž pouze v určité fázi buněčného cyklu, v S-fázi. Zreplikované molekuly nDNA (tj. jednotlivé chromozomy) segregují během mitózy do dceřiných buněk. Ve fázi G<sub>1</sub> a G<sub>2</sub> v buňce probíhá transkripce a translace, nikoli však replikace. Druhým rozdílem od prokaryotických organismů je to, že každý chromozom je složen z velkého počtu modulů, tzv. **replikonů**, z nichž každý má svůj replikační počátek. Replikace však neprobíhá ve všech replikonech synchronně, protože heterochromatinové úseky se replikují později. Platí však, že každý replikon se během S-fáze zreplikuje pouze jedenkrát.

## **2.2.6 Transkripce**

### **Transkripce prokaryotického genomu**

Transkripce je u prokaryot katalyzována **prokaryotickou RNA-polymerázou** (DNA-dependentní RNA-polymerázou), neboli **transkriptázou**. Její činností vznikají na matricovém řetězci DNA následující primární transkripty:

1. **Mediátorová ribonukleová kyselina (mRNA)** je produktem transkripce strukturálních genů a slouží jako matrice pro syntézu polypeptidového řetězce na ribozomu.
2. **Prekurzorová ribozomální RNA (pre-rRNA)** je primárním transkriptem genů pro rRNA, který je dále upravován na různé funkční typy rRNA.
3. **Prekurzorová transferová RNA (pre-tRNA)** je primárním produktem přepisu genů pro tRNA, který se posttranskripčně upravuje na různé funkční typy tRNA.

Podle typů primárních transkriptů rozlišujeme i tři typy transkripčních jednotek (obsahující strukturální geny, obsahující geny pro rRNA a geny pro tRNA). Na rozdíl od eukaryotických buněk katalyzuje tatáž RNA-polymeráza syntézu všech typů primárních transkriptů. Podobně jako replikace zahrnuje i proces transkripce tři fáze, iniciaci, elongaci a terminaci.

Prokaryotická transkripční jednotka obsahující strukturální geny se od ostatních transkripčních jednotek liší tím, že mezi promotorem a prvním strukturálním genem má **vedoucí sekvenci**, která obsahuje tzv. **Shineovu-Dalgarnovu sekvenci**. Tato sekvence, která se do 5'-konce mRNA přepisuje jako AGGA, se váže na sekvenci UCCU na 3'-konci 16S-rRNA ribozomální podjednotky 30S. Transkripce je u prokaryot bezprostředně spřažena s translací, to znamená, že ještě před jejím ukončením se na vznikající molekule mRNA začíná syntetizovat polypeptidový řetězec. Životnost molekul mRNA je krátká a velmi brzy po jejich syntéze dochází k jejich rozkladu katalytickou aktivitou ribonukleázy.

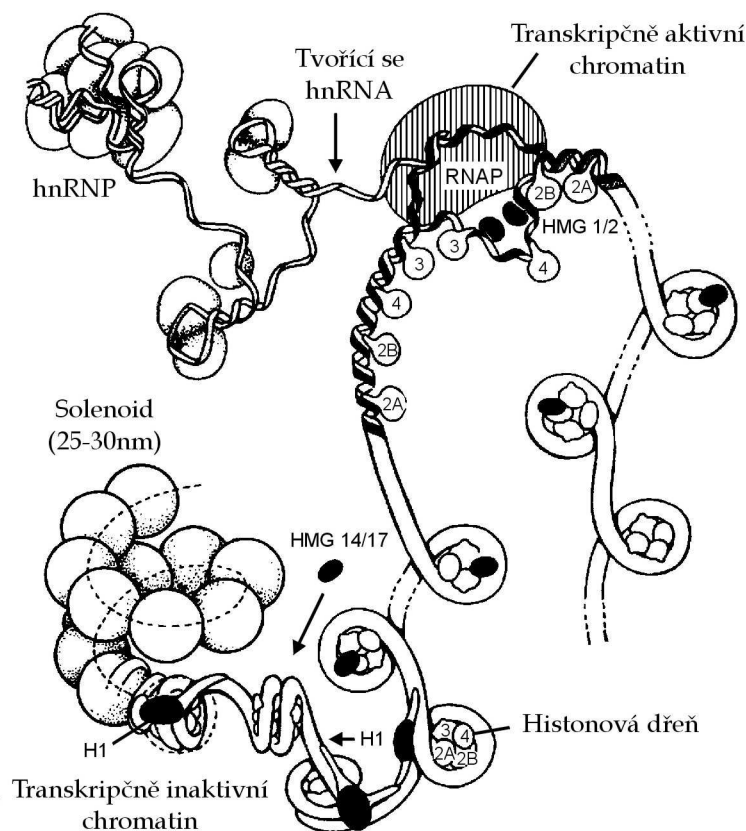
### **Transkripce eukaryotického jaderného genomu**

Eukaryotická transkripce je schematicky znázorněna na obr. 2.18. Produktem transkripce strukturálních chromozomálních genů je **heterogenní jaderná RNA (hnRNA)**. Někdy se můžeme setkat i s označením **prekurzorová mRNA (pre-mRNA)**, ovšem oba termíny nejsou totožné, protože jako prekurzorovou označujeme obecně jakýkoli primární transkript strukturálních genů přepisovaný do mRNA, tedy i genů mitochondriálních a chloroplastových. Jako **prekurzorovou ribozomální RNA (pre-rRNA)** označujeme primární transkript genů pro rRNA, zatímco **prekurzorová transferová RNA (pre-tRNA)** vzniká přepisem genů pro tRNA. Kromě těchto primárních transkriptů mohou vznikat ještě **5S-rRNA** (transkript genů pro jednu ze součástí eukaryotického ribozomu, 5S-rRNA) a tzv. **malé RNA**. Jsou to nízkomolekulární stabilní druhy RNA, plnící v buňce rozmanité funkce, především při posttranskripčních úpravách (např. řízení sestřihu). Podle výskytu v jednotlivých buněčných kompartmentech je dělíme do tří skupin:

1. **malé jaderné RNA (snRNA)**
2. **malé jadéřkové RNA (snoRNA)**

### 3. malé cytoplazmatické RNA (scRNA).

Pro zahájení transkripce příslušné eukaryotické transkripční jednotky jsou na rozdíl od prokaryot nutné transkripční faktory, regulační proteiny, které většinou pozitivně ovlivňují zahájení transkripce. Jak již bylo uvedeno výše, jedním z rozdílů mezi prokaryotickou a eukaryotickou transkripcí je ten, že eukaryotická transkripce je katalyzována více než jedním typem RNA-polymerázy, např. RNA-polymeráza I přepisuje geny pro 5,8S-rRNA, 18S-rRNA a 28S-rRNA, které jsou stavebními jednotkami eukaryotických ribozomů (písmeno S označuje sedimentační konstantu), RNA-polymeráza III katalyzuje přepis některých snRNA, tRNA a 5S-rRNA a konečně nejdůležitější je RNA-polymeráza II, která přepisuje strukturální jaderné geny. Jejím primárním transkriptem je tedy hnRNA. Promotor RNA-polymerázy II obsahuje některé důležité sekvence, označované jako elementy promotoru, především Hognessův (TATA) box, CAAT-box, GC-box a **startovací nukleotid (Inr-element)**. Podrobný popis průběhu transkripce eukaryotických genů pro strukturální proteiny přesahuje rámec tohoto přehledu. Celý proces končí terminací, která je signalizována sekvencí AATAAA, označovanou jako **polyadenylační signál**. Tato sekvence totiž signalizuje, že 10-30 nukleotidů za ní se hnRNA bude štěpit a tím se uvolní od DNA.



Obr. 2.18 Průběh eukaryotické transkripce.

Všechny primární transkripty v jádře eukaryotické buňky jsou poměrně velké molekuly, které je nutno určitým způsobem upravit a především zkrátit tak, aby mohly být následně transportovány z jádra do cytoplazmy, ve které probíhá translace. Posttranskripční úpravy si můžeme ilustrovat na příkladu hnRNA. Tento proces zahrnuje jednak modifikaci a jednak sestřih primárního transkriptu. **Modifikace** hnRNA zahrnuje tvorbu komplexů hnRNA s proteiny, tvorbu tzv. čepičky na 5'-konci a konečně polyadenylaci 3'-konce hnRNA. Během transkripce se hnRNA v jádře spojuje s tzv. hnRNP-proteiny a jednak s částicemi snRNP, se kterými tvoří **hnRNP-komplexy**. Částice snRNP řídí proces sestřihu v komplexech

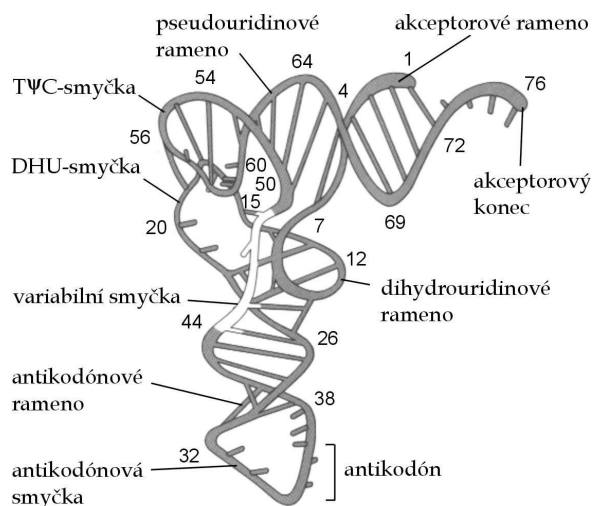
označovaných jako **spliceozomy** [splajsozomy], které vznikají vazbou těchto částic s introny. **Sestřih** hnRNA je umožněn tím, že konce všech intronů obsahují specifické sekvence, kterými jsou podle tzv. pravidla GU-AG na 5'-konci přepisu intronu v hnRNA dinukleotid GU a na jeho 3'-konci dinukleotid AG. Na tyto sekvence se vážou některé druhy snRNA, účastníci se vlastního sestřihu. Nakonec jsou oba konce exonů, sousedících s vystřiženým intronem, vzájemně spojeny. Konečným produktem modifikace a sestřihu je mRNA, která slouží jako matrice při tvorbě polypeptidového řetězce.

Pre-rRNA obsahuje transkript genů pro 18S, 5,8S a 28S-rRNA, které se nacházejí v jadéřkové DNA (tato oblast chromozomu se proto někdy označuje jako rDNA). Tyto geny jsou odděleny tzv. mezerníky, které se rovněž přepisují do primárního transkriptu. Během posttranskripčních úprav jsou z pre-RNA tyto mezerníky vyštěpeny a odstraněny současně s 5' a 3'-konci a introny. Na rozdíl od hnRNA nejsou exony po sestřihu opět spojeny, nýbrž jsou drženy pohromadě prostřednictvím ribozomálních proteinů. Rovněž některé geny pro tRNA v jádře kvasinek, rostlin a savců obsahují introny, avšak ty neobsahují specifické sekvence pro místa sestřihu. Ten je zajišťován katalytickou aktivitou endonukleáz, štěpících obě místa sestřihu, a RNA-ligáz, spojujících zbylé exony.

## 2.2.7 Translace

### Translace prokaryotické mRNA

Translace je konečným procesem přenosu genetické informace z genu do molekuly proteinu. Podobně jako replikace a transkripce zahrnuje i translace tři fáze, iniciaci, elongaci a terminaci. Translaci zajišťují nízkomolekulární ribonukleové kyseliny, transferové RNA (tRNA), o molekulární hmotnosti přibližně 80000. Primární struktura tRNA obsahuje 74-95 nukleotidů. Kromě standardních nukleotidů obsahuje i několik neobvyklých bází, vzniklých enzymovou modifikací již vytvořeného polynukleotidu. Vzhledem k tomu, že většina bází je vzájemně komplementární, dochází k jejich párování a vzniku sekundární struktury v podobě jetelového listu. Tato struktura se skládá celkem ze čtyř ramen: akceptorového ramene, pseudouridinového ramene se smyčkou (T $\Psi$ C), dihydrouridinového ramene se smyčkou (DHU) a antikodonového ramene se smyčkou, obsahující antikodon. Kromě těchto hlavních ramen se zde vyskytuje i tzv. variabilní smyčka. Díky vzniku vodíkových vazeb mezi některými nukleotidy, především mezi DHU



Obr. 2.19 Terciární struktura tRNA.

smyčkou a variabilní smyčkou dochází ještě ke sbalení celé molekuly do terciální struktury (obr. 2.19). Pouze tato terciální struktura je biologicky aktivní.

Prokaryotická translace probíhá na prokaryotických ribozomech. Jejich sedimentační koeficient je 70S a skládají se ze dvou podjednotek, větší o sedimentačním koeficientu 50S, a menší 30S. Pouze jejich spojením je ribozom plně funkční, schopný syntézy polypeptidového řetězce, podle matrice mRNA, která probíhá kanálkem mezi oběma podjednotkami. Obsahuje několik vazebných míst, z nichž nejdůležitější jsou: vazebné místo pro mRNA, aminoacylové místo (místo A), peptidové (P) místo a také výstupní místo pro deacylovanou tRNA (E-místo).

Aby mohla vlastní translace začít, musí být jednotlivé aminokyseliny aktivovány. Aktivaci rozumíme esterifikaci aminokyselin s příslušnou tRNA, za vzniku komplexu aa~tRNA (symbolem „aa“ je označena aminokyselina).

Tato reakce je katalyzována **aminoacyl-tRNA-syntetázami** (aminoacylsyntetázami). Během iniciační fáze dochází k disociaci ribozomu na podjednotky 50S a 30S a vazbě několika iniciačních faktorů na příslušná místa. Iniciací končí vznikem **iniciačního komplexu**, sestávajícího ze spojených ribozomálních podjednotek, mezi nimiž probíhá mRNA, a dále z první aktivované aminokyseliny, kterou je fMet~tRNA<sup>fMet</sup>,

nápojené na P-místo (fMet označuje formylmetionin, vzniklý formylací metioninu). Jelikož prokaryotická mRNA je většinou polygenní, iniciace translace se opakuje před každým přepisem strukturálního genu. Toto opakování je umožněno tím, že mezi přepisy jednotlivých genů se nacházejí typické sekvence, především Shineova-Dalgarnova sekvence.

Elongace translace probíhá vazbou aa~tRNA na A-místo (tímto místem musí projít všechny aa~tRNA kromě fMet~tRNA<sup>fMet</sup>, která se váže přímo do P-místa v rámci iniciace translace). Proces prodlužování polypeptidového řetězce zahrnuje vytvoření vazby mezi první aminokyselinou peptidyl-tRNA a aa~tRNA, posunutí ribozomu o tři nukleotidy, posunutí peptidyl-tRNA do místa P a vytěsnění deacylované tRNA do E-místa. Posun ribozomu vždy o jeden kodon podél mRNA se označuje jako **translokace ribozomu**. Rychlost prodlužování polypeptidového řetězce je poměrně vysoká, např. v buňkách *E. coli* 10-20 aminokyselin za sekundu. Pro ukončení celého translačního procesu je nutná přítomnost terminačního kodonu a současně přítomnost terminačních faktorů.

**Posttranslační procesy** zahrnují kotranslační a posttranslační úpravy. **Kotranslační úpravy** probíhají ještě během elongace peptidového řetězce a zahrnují deformylaci N-terminálního metioninu, odštěpení některých aminokyselin z volného N-konce polypeptidu, chemickou modifikaci některých aminokyselin (hydroxylace, fosforylace), tvorbu disulfidových můstků, připojení cukerných zbytků (za vzniku glykoproteinů) a vytváření sekundární a terciární struktury. Pojmem **posttranslační úpravy** označujeme vyštěpení peptidů, tvorbu kvartérní struktury, přidání peptidických skupin a sestavování oligomerních proteinů a nadmolekulárních struktur.

### **Eukaryotická translace**

Translace u živočichů probíhá nejen v cytoplazmě, ale i v mitochondriích, u rostlin navíc v chloroplastech. Cytoplazmatická translace probíhá na eukaryotických ribozomech 80S, které se skládají z podjednotek 60S a 40S. Tyto ribozomy se v cytoplazmě vyskytují buď volně, nebo vázané na endoplazmatické retikulum (viz 2.1.2). Cytoplazmatická eukaryotická translace se od prokaryotické liší následujícími zvláštnostmi: 1. počáteční aminokyselinou není formylmetionin, ale metionin, který se váže na specifickou iniciační tRNA (tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>), a 2. počet iniciačních faktorů je vyšší.

Translace v mitochondriích je podobná translaci prokaryotické, avšak není autonomní, neboť závisí na proteinech tvořených v cytoplazmě eukaryotické buňky. V mitochondriích se překládají pouze ty mRNA, které vznikly přepisem genů vyskytujících se v mtDNA. Genetický kód mitochondrií je odlišný od kódu standardního vzhledem k odlišnostem ve čtení některých kodonů. Naproti tomu chloroplasty používají stejný genetický kód jako eubakterie.

## **2.3 ZÁKLADY MENDELOVSKÉ GENETIKY**

### **2.3.1 Základní genetické pojmy**

V kapitole 2.2.3 byla popsána struktura prokaryotického i eukaryotického genu. Soubor všech genů organismu se nazývá **genotyp**. V genetice je však většinou z praktických důvodů bráno v úvahu genetické složení jednoho páru homologických genů, popřípadě několika málo genů. Fyzickým projevem genotypu je **fenotyp**. Na utváření fenotypu se kromě genetického základu do větší či menší míry podílí i negenetická složka reprezentovaná vlivem prostředí. Geny jsou obsaženy jak v chromozomech buněčného jádra, tak v některých buněčných organelách (mitochondrie, plastidy). Souhrn veškeré DNA označujeme jako **genom** – jde-li o jadernou DNA, hovoříme o jaderném genomu, v ostatních případech jde o genom mimojaderný neboli cytoplazmatický (např. mitochondriální genom, chloroplastový genom, plazmidy bakterií). V genomu diploidních organismů se každý gen vyskytuje ve dvou kopiích díky přítomnosti dvojice homologických chromozomů.

Oblast chromozomu, ve které se nachází konkrétní gen, se nazývá **lokus**. Geny se mohou vyskytovat v různých alternativních formách (**alelách**), lišících se sekvencí nukleotidů. Genové alely mohou být buď funkční, nebo nefunkční neboli nulové (v tom případě se přítomnost této alely fenotypově neprojeví). Ovšem termíny lokus a alela se mohou někdy vztahovat i na oblasti DNA, které neobsahují žádný gen. Příkladem mohou být tzv. mikrosatelity (viz kap. 3.1.2), tvořené mnohačetnými kopiemi krátkého motivu

dvou až pěti nukleotidů. Lokus je zde podobně jako v případě genů místem, ve kterém se daný opakovaný motiv nachází, jednotlivé „alely“ se potom vzájemně liší počtem kopií tohoto motivu.

Párové založení diploidních organismů obsažených v jaderných chromozomech znamená, že i při existenci mnoha alelických forem téhož genu mohou být v jednom jedinci přítomny vždy pouze dvě alely. (V případě mimojaderného genomu, který je vždy haploidní, je přítomna pouze jediná alela.) Pokud pár homologických genových lokusů nese dvojici stejných alel, hovoříme o **homozygotním** genotypu, jestliže se oba lokusy svými alelami liší, jde o genotyp **heterozygotní**. V prvním případě jsou možné pouze dva genotypy,  $AA$  respektive  $A'A'$ , ve druhém případě se mohou vyskytnout genotypy tři,  $AA$ ,  $AA'$ ,  $A'A'$ .

Fenotypové vyjádření vlastnosti, určené dvojicí alel, bude u homozygotního genotypu záviset jen na tom, zda jsou přítomné alely funkční, nebo nulové, jinými slovy buď se daná vlastnost projeví, nebo ne. Naproti tomu fenotyp určený heterozygotním genotypem bude závislý na funkčním vztahu mezi oběma alelami. Nejjednodušším typem mezialelického vztahu je **úplná dominance**, kdy je fenotypový projev heterozygota totožný s fenotypem homozygota pro **dominantní** alelu, zatímco **recesivní** alela se projeví jen v případě, že jsou v genotypu přítomny obě její kopie (recesivní homozygot).

Často je fenotypový projev heterozygotního genotypu svými vlastnostmi „intermediární“, tj. nechází se mezi projevem dominantního a recesivního homozygota, nebo se od obou liší jiným způsobem. Tento případ alelické interakce se nazývá **neúplná dominance**. Dalším typem vztahu mezi různými alelickými formami téhož genu je **kodominance**, kdy se projevují současně obě alely, aniž by docházelo k potlačení účinku kterékoli z nich (tato vlastnost je typická např. pro enzymatické geny).

### 2.3.2 Mendelovy zákony

Když roku 1900 tři botanikové, Němec Carl Correns, Rakušan Erich von Tschermak a Holanďan Hugo de Vries, publikovali zákonitosti přenosu vloh z rodičů na potomstvo, nebylo jisté, zda ke svým závěrům dospěli pouze na základě vlastního výzkumu, nebo zda je jejich práce nepřivedla k původnímu článku moravského mnicha a pozdějšího opata augustiánského kláštera Sv. Tomáše v Brně v tehdejší Rakousku Johanna Gregora Mendela, ve kterém shrnul výsledky svých hybridizačních experimentů s hrachem (*Pisum sativum*). Své závěry formuloval do několika principů, známých dnes jako Mendelovy zákony<sup>1</sup>.

Za datum publikace Mendelovy práce se někde uvádí rok 1865, jinde 1866. Tento rozpor vzniknul z jednoduché příčiny. V únoru a březnu 1865 Mendel přednesl dvě přednášky v Přírodovědné společnosti v Brně, které následně publikoval ve formě 48-stránkového, rukou psaného článku *Versuche über Pflanzen-Hybriden* (Experimenty v křížení rostlin). Ten vyšel ve Zprávách Přírodovědné společnosti z roku 1865, které však byly vydány až v roce následujícím, tedy 1866.

#### **Zákon o jednotnosti první generace kříženců**

Jestliže zkřížíme dva jedince homozygotní pro odlišné alely, všichni jejich potomci (kříženci, hybridy) budou v daném alelickém páru heterozygotní. Důvodem je skutečnost, že potomci dostávají od každého z rodičů vždy jen po jedné alele a jejich spojením musí zákonitě vzniknout výhradně genotyp heterozygotní. Tento princip je nazýván prvním Mendelovým zákonem neboli **zákonem o jednotnosti první generace kříženců**. Oba rodiče tvoří tzv. parentální (rodičovskou) generaci (P) a jejich potomci první filiální generaci (F<sub>1</sub>). Zákon o jednotnosti F<sub>1</sub>-generace lze tedy schematicky znázornit následovně:

P-generace	$AA \times aa$
gamety	$A \quad a$
F <sub>1</sub> -generace	$Aa$

<sup>1</sup> Zde jsme se přidrželi českých učebnic a uvádíme tři Mendelovy zákony, v zahraničních pramenech se však většinou první z nich neuvádí, takže za první Mendelův zákon je považován tzv. princip volné segregace (zákon o nestejnorodosti druhé generace kříženců).

## Rámeček 2.1 *Podváděl Mendel?*

Správnost Mendelových závěrů byla mnohokrát potvrzena. Avšak podrobné studium jeho původního článku vedlo některé autory k tvrzení, že 1. Mendel ve své práci zamlčel ty znaky, u kterých nedochází k nezávislé segregaci, a 2. upravoval svoje výsledky.

První tvrzení – že Mendel schválně neuvedl výsledky křížení znaků, které nevykazují nezávislé štěpení – vyplývá z nápadné shody mezi počtem studovaných nezávislých znaků (sedm) a počtem párů chromozomů v karyotypu hrachu, kterých je rovněž sedm. Pravděpodobnost, že by Mendel zcela náhodou vybral sedm genů, z nichž každý by se nacházel na jiném chromozomu, je velmi nízká ( $7/17 \times 6/17 \times 5/17 \times 4/17 \times 3/17 \times 2/17 \times 1/17 = 0,006$ ). Jinými slovy, Mendel měl šanci menší než jednu ze sta, že náhodně vybere sedm znaků na sedmi různých chromozomech.

Jestliže se však dva geny nacházejí na stejném chromozomu dostatečně daleko od sebe, mohou tyto geny segregovat v podstatě nezávisle. Mendel si tedy mohl teoreticky vybrat i geny ležící (alespoň některé) na jednom chromozomu - což se také skutečně stalo: např. geny určující výšku rostliny a povrch semen (hladký  $\times$  vrásčitý) se oba nacházejí na chromozomovém páru č. 4. Skutečná pravděpodobnost výběru sedmi nezávisle segregujících znaků je tedy mnohem nižší, zhruba jedna ku čtyřem až jedna ku třem.

Druhé tvrzení – že Mendel manipuloval s výsledky – pochází z pečlivé analýzy, kterou provedl vynikající populační genetik a statistik, jeden z architektů neodarwinismu, Ronald A. Fisher. Ve svém článku z r. 1936 Fisher dospěl ke dvěma závěrům: za prvé, že všechny Mendelem zjištěné výsledky jsou příliš ideální, jinými slovy blíží se předpokládaným poměrům více, než by bylo možno očekávat, bereme-li v úvahu náhodné odchylky, a za druhé, v některých případech byly Mendelovy údaje v souladu s nesprávnými poměry.

Tuto druhou Fisherovu námitku lze shrnout následovně. U dominantního znaku nelze v  $F_2$  generaci na základě fenotypu určit, zda jde o heterozygota či dominantního homozygota. Mendel tento problém řešil tak, že studoval deset potomků získaných samosprašením daného  $F_2$  hybridu. V rámci dominantní skupiny  $F_2$  generace o poměru  $1AA:2Aa:1aa$  očekával poměr homozygotů ku heterozygotům 1:2. Avšak ve skutečnosti tento poměr není zcela přesný vzhledem k určitému procentu chybného určení heterozygotů. Existuje totiž určitá pravděpodobnost, že někteří heterozygoti budou klasifikováni jako homozygoti, protože všichni jejich potomci budou mít náhodou dominantní fenotyp. Pravděpodobnost, že jeden potomek samosprašeného heterozygotního jedince  $Aa$  bude mít dominantní fenotyp, je  $3/4$  (0,75). Pro deset potomků je tato pravděpodobnost  $0,75^{10} = 0,056$  (jinými slovy, v 5,6% případů se Mendel teoreticky měl dopustit chybné klasifikace hybridů). Musel proto očekávat teoretický poměr 1,11:1,89 místo 1:2. Poté, co tímto způsobem vyšetřil 600 rostlin, získal poměr 201 homozygotů : 399 heterozygotů, což je prakticky dokonalá shoda s poměrem 1:2, ale ne s 1,11: 1,89.

Fisher, který Mendelovu práci velmi obdivoval a nevěřil, že by mohl vědomě podvádět, se snažil tuto nesrovnalost vysvětlit tím, že Mendelovy údaje nejsou výsledkem vlastních experimentů, ale pouze jakousi demonstrací jeho principů dědičnosti. Až v roce 1971 podal přesvědčivější důkazy o Mendelově nevině F. Weiling. Ten poukázal na to, že údaje znovuobjevitelů Mendelovy práce jsou podezřelé z přesně téhož důvodu. Naznačil, že problém tkví v procesu tvorby pylových zrn u rostlin, nikoli v osobě experimentátora. U heterozygota  $Aa$  vznikají z jedné mateřské pylové buňky dvě buňky  $A$  a dvě  $a$ . Tyto buňky mají tendenci zůstat v prašníku v těsné blízkosti a proto nedochází k oplození striktně náhodným způsobem vzhledem k vyšší pravděpodobnosti, že včela nabere stejné množství pylových zrn  $A$  i  $a$ . Použitím odlišného statistického postupu Weiling ukázal, že ani Mendel, ani jeho následovníci nemuseli upravovat svoje data, aby dospěli k výsledkům tak blízkým očekávaným poměrům a navíc procento nesprávného určení heterozygotů nebylo ve skutečnosti tak vysoké.

O něco později Weiling a další poukázali na to, že Mendel, aby si byl jist při určování deseti potomků, jich pravděpodobně zkoumal víc, takže procento jeho chybného určení bylo zřejmě nižší než 5,6%. Kromě toho vyšlo najevo, že Fisher, přestože byl brilantním statistikem, použil v několika svých analýzách nesprávné statistické postupy a dospěl tak k chybným závěrům.

Dosud tedy nikdo nepodal přesvědčivý důkaz o tom, že by Mendel jakýmkoli způsobem manipuloval se svými daty, aby demonstroval svoje genetické zákony. Navíc vzhledem k tomu, co je známo o charakteru této nesporně výjimečné osobnosti, se zdá mnohem pravděpodobnější, že se žádného „podvodu“ nedopustil.

Existuje však zajímavá souvislost. Ukázalo se totiž, že Mendel, dříve než započal se svými botanickými experimenty, studoval dědičnost zbarvení srsti u domácích myší (pravděpodobně křížením albinotických a normálně zbarvených – tzv. „aguti“ – jedinců). Myši choval ve svém dvoupokojovém příbytku, avšak byl nucen se svého započatého experimentu vzdát na nátlak konzervativního biskupa A. E. Schaffgotsche, který trval na tom, že pro mnicha je nemyslitelné, aby ve svém příbytku přechovával stvoření, která kopulují. Naštěstí pro Mendela biskup, kterému bylo intelektuálně a vědecky liberální centrum augustiniánského řádu trnem v oku a všemožně se snažil o zavření brněnského kláštera, nic nenamítal proti jeho botanické činnosti. Přestože přechod na jiný experimentální objekt (kromě biskupa zřejmě uvítaný také jeho řádovými bratry, kteří jistě ocenili výrazně pozitivní dopad tohoto kroku na ovzduší kláštera) pravděpodobně neovlivnil historii genetiky, můžeme spekulovat o tom, k jakým konkrétním poměrům by dospěl, kdyby mu bylo umožněno ve své práci pokračovat, a zda při křížení hrachu již nevěděl, k jakým poměrům má dojít. Tato druhá možnost je však málo pravděpodobná vzhledem k tomu, že byl nucen křížení myší ukončit v rané fázi experimentu.

## **Zákon o nestejnorodosti druhé generace kříženců**

Při vzájemném křížení heterozygotních jedinců vzniká potomstvo druhé filiální generace ( $F_2$ ), které je genotypově různorodé. To je způsobeno tím, že při meiotickém dělení během gametogeneze vznikají se stejnou pravděpodobností gamety obsahující jednu či druhou alelu sledovaného genu. Při vzniku zygoty splynutím náhodně vybraných pohlavních buněk se objevují tři různé genotypy v charakteristickém poměru  $1/4 AA : 1/2Aa : 1/4aa$ . Tento druhý Mendelův zákon, nazvaný **zákon o nestejnorodosti druhé generace kříženců**, lze znázornit takto:

$F_1$ -generace  $Aa \times Aa$   
gamety  $A$  nebo  $a$   $A$  nebo  $a$

$F_2$ -generace

gamety	$A$	$a$
$A$	$AA$	$Aa$
$a$	$Aa$	$aa$

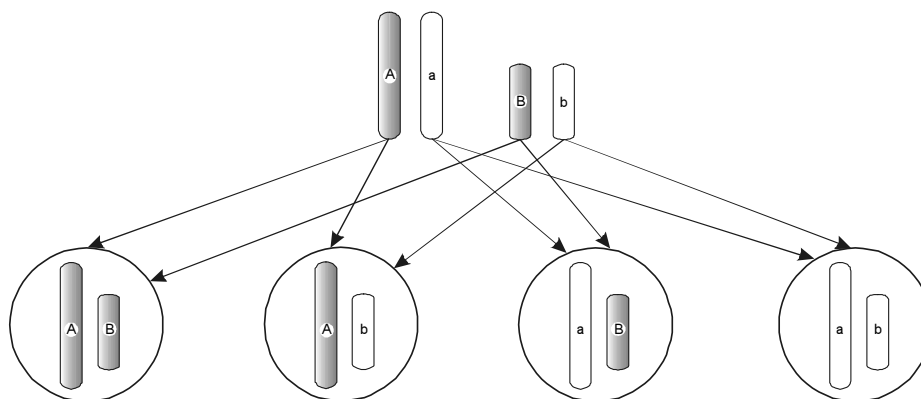
V  $F_2$ -generaci tedy dochází ke genotypovému štěpení neboli **segregaci**. Stejným způsobem segreguje i fenotyp hybridů, avšak při úplné dominanci, kdy se heterozygotní fenotyp neliší od dominantního homozygota, nacházíme v  $F_2$ -generaci místo poměru 1:2:1 fenotypový štěpný poměr  $3A:1a$ .

### Zákon o volné kombinovatelnosti vloh (alel)

Dosud byl brán v úvahu pouze jeden gen se dvěma alelami, jinými slovy monohybridní křížení. Při sledování  $F_2$ -generace ve více párech alel současně (při dihybridním, trihybridním či obecně polyhybridním křížení) jsou segregační poměry složitější. Avšak i v těchto případech lze tyto vztahy odvodit od základních štěpných poměrů. Jako příklad může posloužit jednoduché dihybridní křížení ilustrované na obr. 2.20. Kombinace, které lze teoreticky očekávat, jsou znázorněny následovně:

$F_1$ -generace  $AaBb \times AaBb$   
gamety  $AB:Ab:aB:ab$   
 $F_2$ -generace

gamety	$AB$	$Ab$	$aB$	
$AB$	$AABB$	$AABb$	$AaBB$	$AaBb$
$Ab$	$AABb$	$AAbb$	$AaBb$	$Aabb$
$aB$	$AaBB$	$AaBb$	$aaBB$	$aaBb$
$ab$	$AaBb$	$Aabb$	$aaBb$	$aabb$



**Obr. 2.20** Princip náhodné kombinace alel z různých párů chromozomů v gametách dihybrida.

Z uvedeného kombinačního čtverce je možno odvodit genotypový štěpný poměr  $1AABB : 2AABb : 1AAbb : 2AaBB : 4AaBb : 2Aabb : 1aaBB : 2aaBb : 1aabb$ . Jestliže budeme sledovat segregaci pouze jediného alelického páru, získáme štěpný poměr  $4AA:8Aa:4aa$ , tedy základní mendelovský genotypový poměr 1:2:1. Při úplné dominanci bude fenotypový poměr  $3A:1a:3B:1b$ .

### 2.3.3 Interakce mezi geny

#### Základní typy genových interakcí

Fenotyp jedince je v naprosté většině určován působením mnoha genů. Jestliže se tyto geny svými účinky vzájemně ovlivňují, hovoříme o genové interakci. Velmi často se stává, že jeden gen je funkčně nadřazen genu jinému. Tento případ označujeme jako epistázi.

Při epistatické interakci gen nadřazený (epistatický) překrývá či potlačuje účinek genu podřízeného (hypostatického). Podle toho, zda se epistatické působení týká dominantní alely, nebo homozygotně recesivního genotypu, rozlišujeme epistatickou interakci **dominantní** a **recesivní**. Zvláštním typem dominantní epistáze je **inhibice**. V tomto případě nemá epistatická dominantní alela žádný zvláštní fenotypový projev, ale svým působením inhibuje fenotypový účinek dominantní alely genu hypostatického.

Jindy je fenotypový projev znaku závislý na vzájemně se doplňujících spolupůsobení interagujících genů (**komplementarita**), nebo naopak jednotlivé geny působí proti sobě (**kompenzace**). Při komplementární interakci je dominantní fenotyp daného znaku možný pouze při současné přítomnosti dominantních alel obou interagujících genů. Při kompenzaci je fenotyp zygotických kombinací, obsahující ve svém genotypu dominantní alely obou zúčastněných genů, shodný s fenotypovým projevem dvojnásobně recesivních homozygotů. Jednotlivé genové interakce jsou typické charakteristickým štěpným poměrem v  $F_2$ -generaci, ze kterých se často usuzuje na typ interakce. Pro úplnost je třeba dodat, že termínem „epistáze“ se někdy označují obecně jakékoli genové interakce.

#### Genové interakce kvantitativní povahy

Vzájemné interakce genů nemusí vždy mít jen kvalitativní povahu, ale mohou mít i podobu rozdílné *intenzity* fenotypového projevu. Spolupůsobící **duplicitní geny** se obvykle svou funkcí kvalitativně neliší. Výsledná intenzita fenotypu závisí na tom, zda se účinek duplicitních genů kumuluje či nikoli.

V prvním případě se jedná o kumulativní duplicitní interakci. Při **kumulativní interakci s dominancí** je maximální intenzita výsledného fenotypu závislá na součinnosti dominantních alel obou interagujících duplicitních genů. Pokud se interakce účastní pouze jedna dominantní alela, je konečná intenzita nižší, avšak vzájemně se jejich fenotypové účinky kvalitativně neliší.

**Kumulativní duplicitní interakce bez dominance** je jediným případem genové interakce, kdy se rozšiřuje počet fenotypových tříd v  $F_2$ -generaci. U tohoto typu interakce intenzita fenotypového projevu závisí jen na celkovém počtu přítomných dominantních alel v genotypu.

Jestliže se účinek duplicitních genů nekumuluje, je výsledný fenotyp závislý pouze na přítomnosti dominantní alely ať už jednoho či druhého genu, přičemž na jejich počtu nezáleží. Tento typ se nazývá **nekumulativní duplicitní interakce**.

## SOUHRN

1. U buněčných organismů rozlišujeme dva typy buňky, prokaryotickou a eukaryotickou. Oba typy se liší velikostí a vnitřní stavební složitostí. Prokaryotická buňka je v porovnání s eukaryotickou daleko menší (1-2 $\mu$ m); jádro (nukleoid) tvoří jediná, kružnicová molekula dvouřetězcové DNA, neohraňovaná jadernou membránou. V cytoplazmě se dále vyskytují prokaryotické ribozomy, zásobní látky a mezozomy, u fotosyntetizujících bakterií navíc i četné chromatofory, nesoucí fotosyntetické pigmenty. Kromě cytoplazmatické membrány jsou prokaryotické buňky chráněny ještě buněčnou stěnou, tvořenou peptidoglykanem. Eukaryotická buňka je relativně velká (u rostlin průměrně 10-100 $\mu$ m, u živočichů 10-20 $\mu$ m), strukturně složitá a obsahuje mnoho buněčných organel. Mezi nejdůležitější strukturní součásti eukaryotické buňky patří hladké a drsné endoplazmatické retikulum (ER), Golgiho komplex a cytozomy různých typů. Jádro (nukleus) je opatřeno dvojitou membránou a obsahuje 1-7, nebo i více jadérek. Kromě jader a buněčných organel se v základní cytoplazmě vyskytují i různé buněčné inkluze, tzv. paraplazma. Eukaryotická buňka primárně postrádá buněčnou stěnu, je její tvar



a případně i pohyb celé buňky nebo jejích částí zajišťován vnitřním cytoskeletem, který tvoří mikrotubuly, mikrofilamenty, intermediární filamenty a tzv. mikrotrabekuly. Pohyb buňky mohou dále zajišťovat řasinky (cilie) a bičík (flagellum), jejichž struktura je složitější než u prokaryotického bičíku. Buňky rostlin a hub udržují svůj tvar pomocí rigidní buněčné stěny.

2. Dědičnost je určena molekulou DNA (u RNA virů RNA), která u eukaryot tvoří barvitelné struktury, chromozomy. Ty mohou být u některých organismů rozděleny na autozomy a pohlavní chromozomy. Jak prokaryotické, tak eukaryotické buňky se normálně dělí procesem zvaným mitóza, která se dělí na profázi, metafázi, anafázi a telofázi. U pohlavně se rozmnožujících organismů dochází také k speciálnímu typu redukčního dělení, označovanému jako meióza. Ta probíhá ve dvou cyklech, které lze, podobně jako mitózu, rozdělit na profázi, metafázi, anafázi a telofázi. I. redukční dělení se označuje jako heterotypické a během něj dochází k vlastní redukci počtu chromozomů. Profáze prvního dělení se dále člení na leptotene, zygotene, pachytene, diplotene a diakinezi. Během I. redukčního dělení dochází k překřížení a výměně částí nesesterských chromozomových petic (chromatid), které se nazývá crossing-over. Průběh II. redukčního dělení je prakticky shodný s průběhem mitózy.
3. Podle ústředního dogmatu molekulární biologie se genetická informace může přenášet buď do jiné nukleové kyseliny, nebo do proteinu. Zpětný přenos z proteinu do struktury nukleové kyseliny možný není. Přenos genetické informace se děje procesem replikace (DNA → DNA, RNA → RNA), transkripce (DNA → RNA), respektive zpětná transkripce (RNA → DNA) a translace (RNA → protein). Překlad z jednoho typu informace (jazyka) do druhého se děje podle třípísmenného genetického kódu.
4. Molekula DNA obsahuje oblasti, které kódují protein, RNA, nebo plní jinou specifickou funkci. Eukaryotické geny jsou zpravidla strukturně mnohem složitější a kromě kódujících oblastí (exonů) mohou obsahovat i nekódující introny.
5. Místo na chromozomu, kde se nachází konkrétní gen, se nazývá lokus. Geny mohou existovat ve více formách neboli alelách. Soubor všech genů (v jádře, nebo v cytoplazmě) se nazývá genotyp. Fyzickým projevem genotypu je fenotyp. Na utváření fenotypu se kromě genotypu podílí i vnější prostředí a další vlivy. Souhrn veškeré DNA v jádře nebo v cytoplazmě se nazývá genom.
6. Proces přenosu genů do dalších generací se zpravidla řídí Mendelovými zákony. První z nich je zákon o jednotnosti první generace kříženců, druhý zákon o nesejnorodosti druhé generace kříženců a třetí zákon o volné kombinovatelnosti alel.
7. Mezi geny někdy dochází k vzájemným interakcím. Tyto interakce se dělí na dominantní a recesivní epistázi, inhibici, komplementaritu a kompenzaci; genové interakce kvantitativní povahy mohou být buď kumulativní duplicitní interakce s dominancí a bez dominance, nebo nekumulativní duplicitní interakce.

## DOPORUČENÁ LITERATURA

- Li, W. H., Graur, D. 1991. *Fundamentals of molecular evolution*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, Massachusetts. [Stručný úvod do molekulární biologie.]
- Page, R. D. M., Holmes, E. C. 1998. *Molecular evolution. A phylogenetic approach*. Blackwell Science Ltd., Oxford. [Obsahuje výklad molekulární struktury genů.]
- Romanovský, A. a kol. 1985. *Obecná biologie*. SPN, Praha. [Přehled nejrůznějších aspektů biologie.]
- Nečásek, J., Cetl, I. a kol. 1979. *Obecná genetiká*. SPN, Praha. [Vysokoškolská učebnice obecné genetiky.]

Rosypal, S. a kol. 1994. *Přehled biologie*. Scientia, Praha. [Přehled nejrůznějších aspektů biologie.]

Rosypal, S. 1998. *Úvod do molekulární biologie*. [Čtyřdílný přehled molekulární biologie.]