

Eukaryontní a prokaryontní systémy

- struktura chromosomů
- organisace genů (introny u eukaryontů), alelace
- odlišnosti v proteosyntetickém aparátu – využití pro terapii

Zásah inhibitorů do procesů přenosu genetické informace

Replikace a transkripce – antimetabolity inhibující synt. nukleotidů (methotrexat), DNA (cisplatina), etidiumbromid,

- spec. eukaryontní – faloidin, amanitin (inhibice RNA polymerázy)
- spec. prokaryontní – rifampicin, aktinomycin D

Translace u prokaryontů – tetracykliny (obsazení místa A na ribosomech),
– chloramfenikol (inhibice peptidyltransferázové reakce),
– streptomycin (vazba na 30S podjednotku)

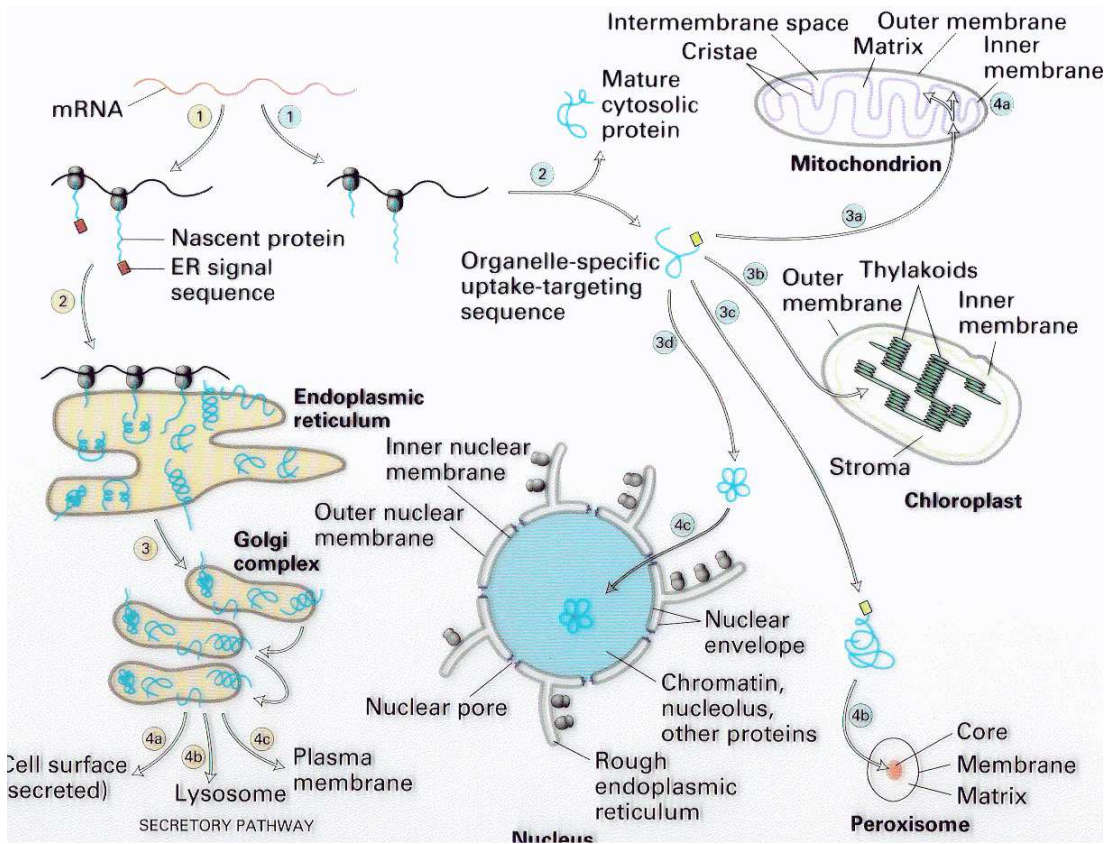
- další antibiotika – penicilin

eukaryonti – cykloheximid (inhibice peptidyltransferázové reakce),
toxiny *C. diphtheriae*, *Ps. Aeruginosa* (ADPribosilace eIF2)

Organely a jejich genetický aparát – mitochondrie a chloroplasty

Organisace a vlastnosti odpovídají prokaryontům, většina genů kodujících jejich bílkoviny je součástí **jaderného genomu** – transport z cytoplasmy do organel.

Celkové schéma transportu bílkovin



Viry – jen genetický materiál – DNA nebo RNA – exprese hostitelskou buňkou

RNA-viry (např. HIV aj. retroviry) – **reversní transkriptáza** – syntéza DNA podle RNA

- cílové místo inhibice, biotechnologické využití

MUTACE – změny v genomu buňky na různých úrovních

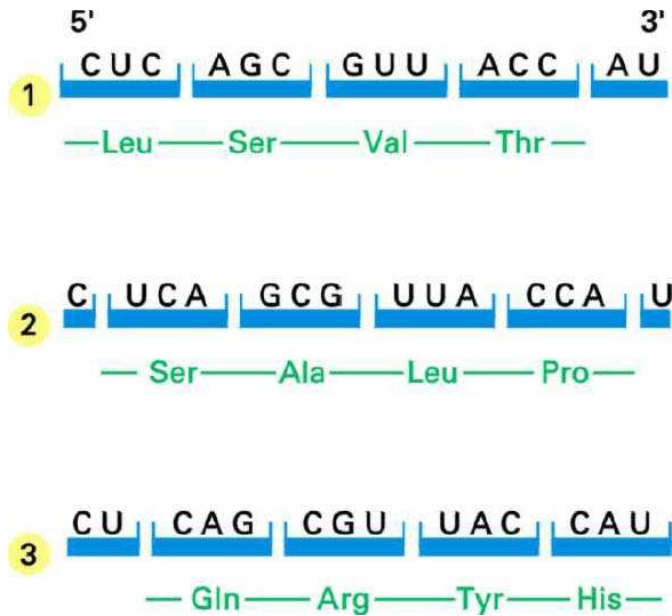
- bodové mutace – týkají se jednoho nukleotidu v sekvenci DNA

mutagenní faktory – vnější a vnitřní – nepřesnosti při replikaci - jistá pravděpodobnost – opravy

vnější – indukovaná mutace – fyzikální (záření – dimery T-T), chemické mutageny (HNO₂, dusíkatý yperit aj.)

Možnosti – inserce, delece, - brzké ukončení syntézy polypeptidu

Substituce – záměna aminokyseliny (ne vždy) – odlišná bílkovina



Význam mutací – nové vlastnosti, výhody a nevýhody, pozitivní a negativní mutace – relativita, vliv podmínek, prostředí apod – vitaminy vs. hem, baze.

Homologie bílkovin – vývoj druhů

Geneticky podmíněné choroby – příklady – fenylketonurie, cystická fibrosa, HbS atd.

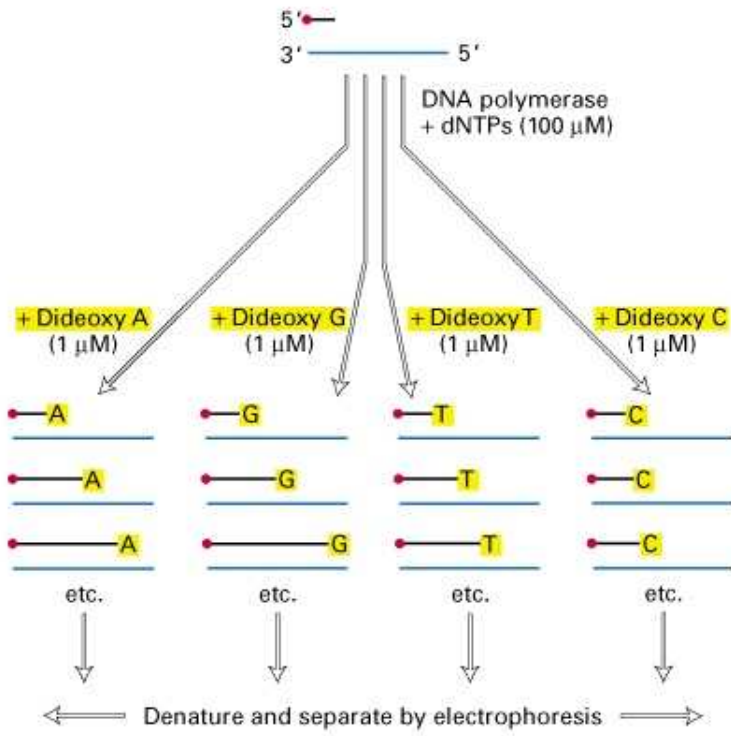
Vliv alelisace na projev choroby – hetero a homozygoti.

Poruchy mitochondriálního genomu – nejsou alely, jen od matky, poruchy energetického metabolismu, svalové dystrofie

METODY STUDIA

Sekvence DNA – chemická (selektivní štěpení – Maxam-Gilbert), biochemická (syntéza, dideoxy metoda - Sanger)

(a)

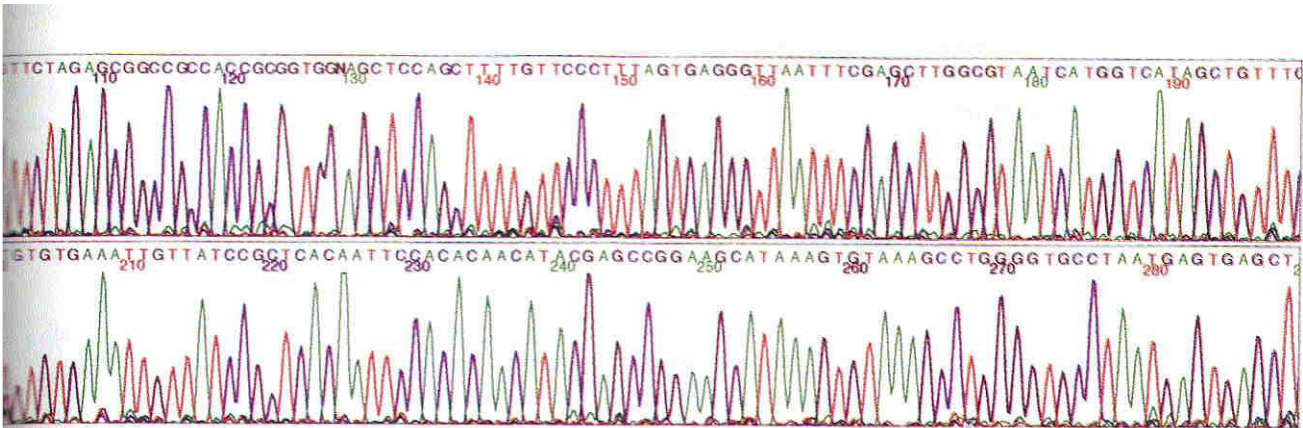
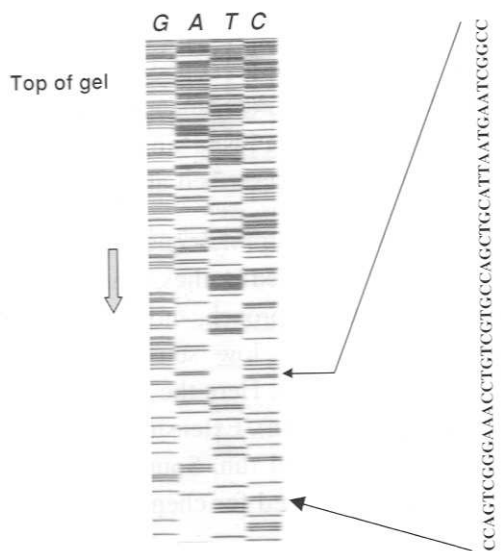


(b)

5' ³²P-TAGCTGACTC3'
3' ATCGACTGAGTCAAGAACTATTGGGCTTAA...

↓
DNA polymerase
+ dATP, dGTP, dCTP, dTTP
+ ddGTP in low concentration

5' ³²P-TAGCTGACTCAGG3'
3' ATCGACTGAGTCAAGAACTATTGGGCTTAA...
+
5' ³²P-TAGCTGACTCAGTTCTCG3'
3' ATCGACTGAGTCAAGAACTATTGGGCTTAA...
+
5' ³²P-TAGCTGACTCAGTTCTCGATAACCCG3'
3' ATCGACTGAGTCAAGAACTATTGGGCTTAA...



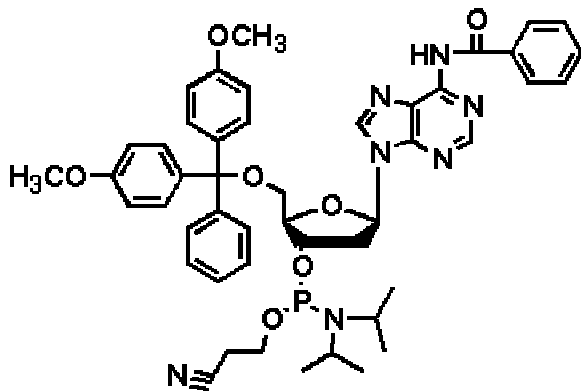
PCR

Taq polymeráza, dNTP, primery, vzorek-templát

Termocycler - animace

Potřeba primerů

Syntéza oligonukleotidů



**N-6-benzoyl-deoxyadenosine
phosphoramidite**

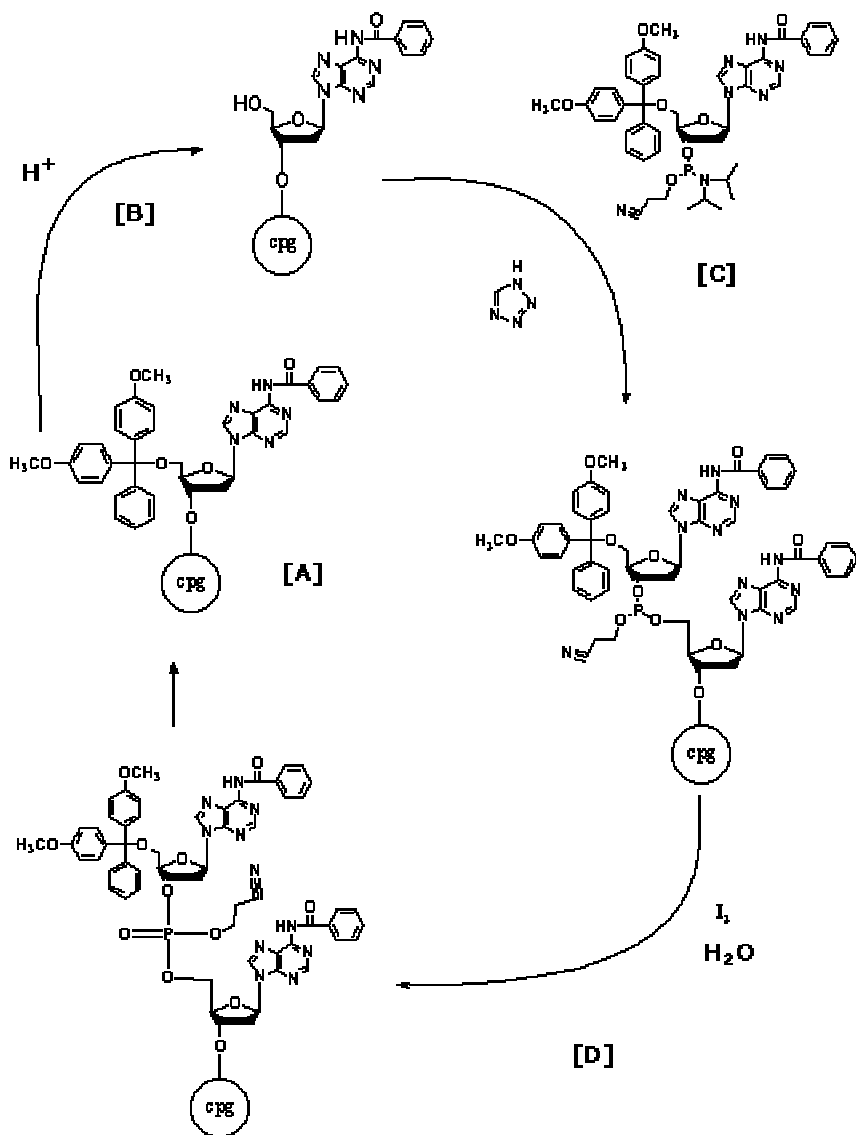


Table 12.3

Some Chemically Synthesized Genes

Gene	Size (bp)
tRNA	126
α -Interferon	542
Secretin	81
γ -Interferon	453
Rhodopsin	1057
Proenkephalin	77
Connective tissue activating peptide III	280
Lysozyme	385
Tissue plasminogen activator	1610
c-Ha-ras	576

RNase T1	324
Cytochrome <i>b</i> ₅	330
Bovine intestinal Ca-binding protein	298
Hirudin	226
RNase A	375

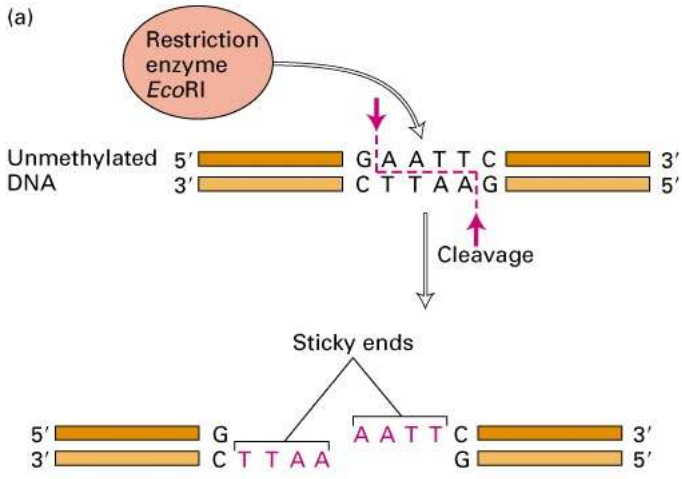
Delší geny po částech

Komerčně dostupné oligonukleotidy

GENOVÉ MANIPULACE

Gen se inkorporuje do nosiče – vektoru (analogie se strategií virů) a vnese do hostitelské buňky.

Využití restrikčních endonukleáz (palindromové sekvence) event. reversních transkriptáz (vyřeší problém intronů)



(b) Insertion of *EcoRI* restriction fragments

