

2018/2019

light



Základy molekulární biologie

Jan Šmarda, Ústav experimentální biologie PŘF MU

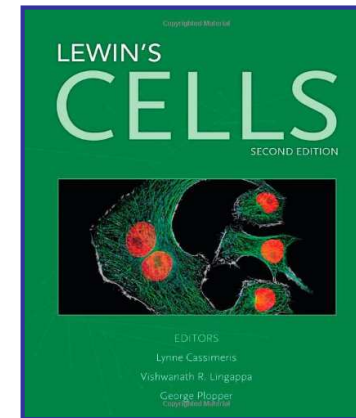
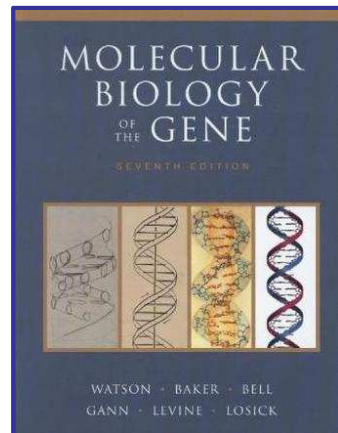


Obsah kurzu

- úvod, historie oboru, milníky, modelové systémy
- struktura a funkce DNA, chromozomy, evoluce genomu
- replikace, reparace, rekombinace a transpozice DNA
- transkripce, sestřih, translace, význam RNA pro původ života
- řízení genové exprese, regulační proteiny, posttranskripční kontrolní mechanismy, RNA interference
- vnitřní organizace buňky, kompartmentalizace, transport molekul uvnitř buňky, principy exkrece molekul mimo buňky
- komunikace mezi buňkami, příjem a zpracování signálů
- buněčný cyklus, molekulární principy řízení jednotlivých fází cyklu, regulace buněčného dělení a růstu
- programovaná buněčná smrt
- molekulární podstata nádorových onemocnění
- metodické přístupy pro analýzu nukleových kyselin a proteinů

Doporučená literatura

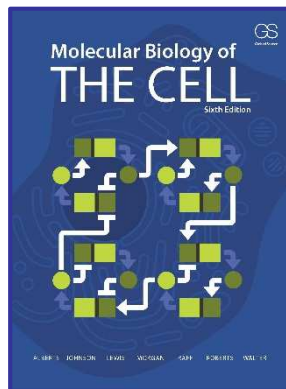
- **Molecular Biology of the Gene, 7th ed.**, Watson, Baker, Bell, Gann, Levine, Losick, Addison-Wesley Longman Pub., 2013



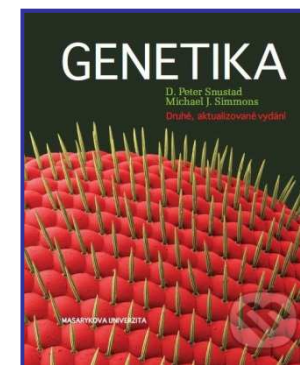
- **Lewin's Cells, 2nd ed.**, Cassimeris L., Lingappa V.R., Plopper G. (eds), Jones and Barlett Pub., 2011

Doporučená literatura

- **Molecular Biology of the Cell, 6th ed.**, Alberts, Johnson, Lewis, Morgan, Raff, Roberts, Walter, Garland Science, 2014



- **Genetika**, Snustad, Simmons (český překlad Relichová et al.), Nakladatelství MUNI, 2017





Zakončení kurzu

písemný test

průměr známek v minulých letech:

- **2015: 2,65**
- **2016: 2,76**
- **2017: 2,39**
- **2018: 2,43**



Osnova úvodní přednášky

- charakteristika molekulární biologie
- historické souvislosti
- živé systémy: typy, vlastnosti
- prokaryotické a eukaryotické buňky
- nebuněčné systémy
- modelové systémy v molekulární biologii



Co je molekulární biologie?

- obor zkoumající souvislost mezi strukturou/vzájemnými interakcemi **biomakromolekul** a **chováním/vlastnostmi** živých soustav (buněk/organismů)
- studuje vztah mezi dvěma úrovněmi živých soustav: **fyzikální a chemickou** (struktura a funkce biomakromolekul) a **biologickou (vlastnosti a chování buněk/organismů)**
- život studuje z perspektivy molekul



Molekulární přístupy ve všech biologických disciplínách

- původní zaměření na dědičnost – udržování a expresi genetické informace (molekulární genetika)
- současná orientace na rozmanité vlastnosti živých systémů na molekulární úrovni
- důraz na praktické aplikace: medicína, biotechnologie, paleontologie, archeologie, evoluce, antropologie, kriminalistika, určování otcovství, atd.



Význam molekulární biologie

- posunuje výzkum na úroveň, která je společná všem živým systémům (prohlubuje dřívější buněčnou úroveň)
- umožňuje manipulovat s buňkami - ovlivňovat jejich vlastnosti žádoucím směrem (lidská a veterinární medicína, biotechnologie, genové inženýrství, zemědělství, atd.)
- přináší nové možnosti studia příbuznosti druhů, fylogeneze, evoluce, atd.
- spolu s informačními technologiemi patří k nejprogresivnějším oborům současnosti

Vznik genetiky

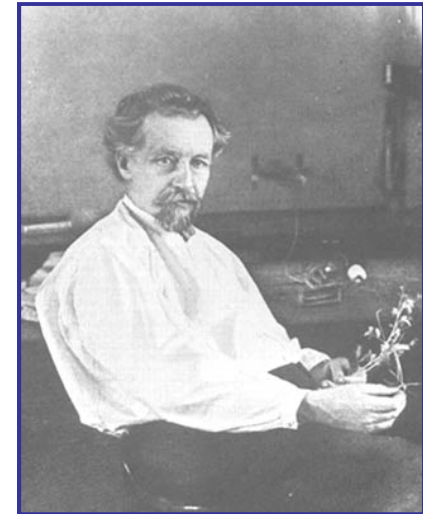
- křížení rostlin a živočichů se provádí tisíce let, ale genetika jako věda vzniká až ve 2. polovině 80. letech 19. století
- zrození genetiky: výsledek zvědavosti **Gregora Mendela** a jeho exaktních pokusů s křížením hrachu
- zákonitosti dědičnosti poprvé formulovány 8.2.1865, kdy Mendel výsledky svých pokusů prezentoval členům Přírodovědeckého spolku v Brně a následně je publikoval v ročence *Verhandlungen des Naturforschenden Vereines in Brünn*
- kopie ročenky rozeslány různým vědeckým institucím ve světě, včetně Královské společnosti a společnosti Linného v Anglii a Smithsonova ústavu ve Washingtonu



Gregor Johann Mendel
(1822-1884)

Znovuobjevení Mendela

- Mendelova práce se výrazného ohlasu nedočká: mezi lety 1866 a 1900 je citována jen 10x
- znovuobjevení až začátkem 20. století:
 - Hugo de Vries
 - Erich von Tschermak
 - Carl Correns
 - William Bateson



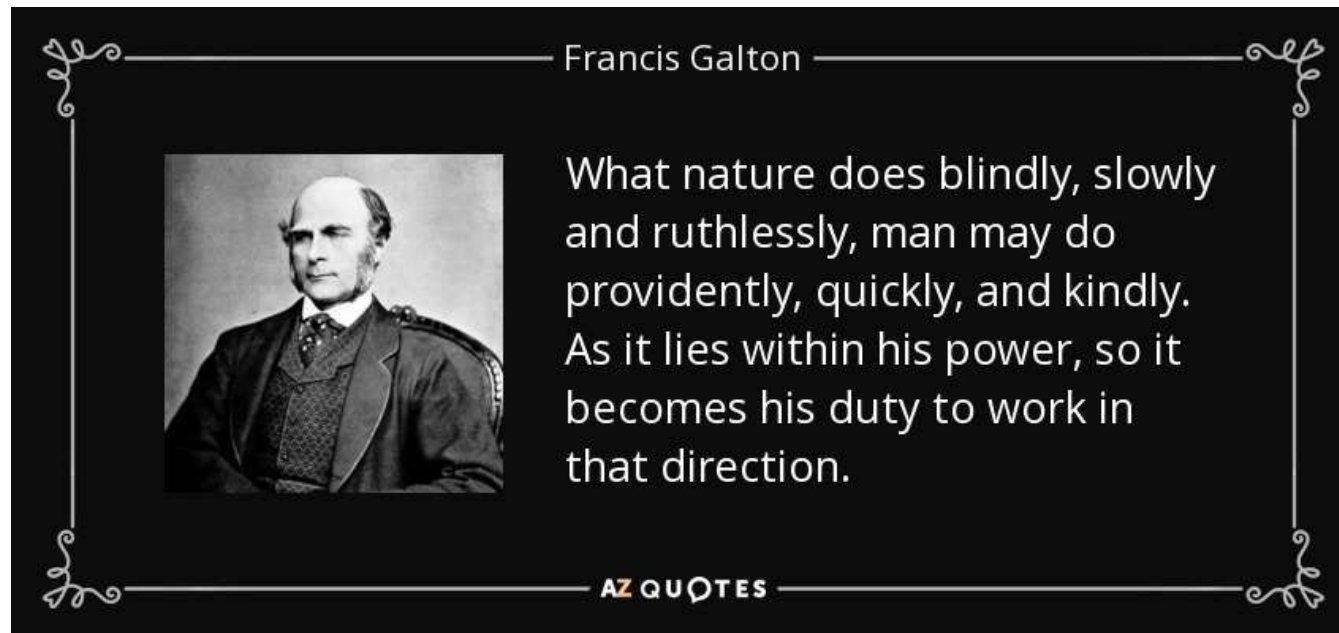


Znovuobjevení Mendela

- Hugo de Vries se propracovává k obdobným závěrům jako Mendel
- na jaře 1900 dostává dopis od svého přítele: “Vím, že studujete hybridy, takže Vás možná bude zajímat přiložená práce z roku 1865, kterou napsal nějaký Mendel.”
- de Vries spěchá s publikací svého článku o rostlinných hybridech, ve kterém záměrně vynechává jakoukoliv zmínku o Mendelově práci
- Correns naznačuje, že de Vries si Mendelovu práci přivlastnil
- de Vries v následné studii již Mendela zmiňuje a přiznává, že Mendelovu práci jen o málo „rozšířil“
- do povědomí vědecké komunity se Mendel dostává především zásluhou Batesona, kteý se stává jeho velkým propagátorem

Strach ze špatných genů

- první pokusy o vylepšování genetického základu člověka – **eugenika**
- **Francis Galton**, publikuje v r. 1883 knihu, ve které navrhuje plán zlepšování lidské rasy – napodobením přírodní selekce – šlechtěním nejsilnějších a nejchytřejších lidí

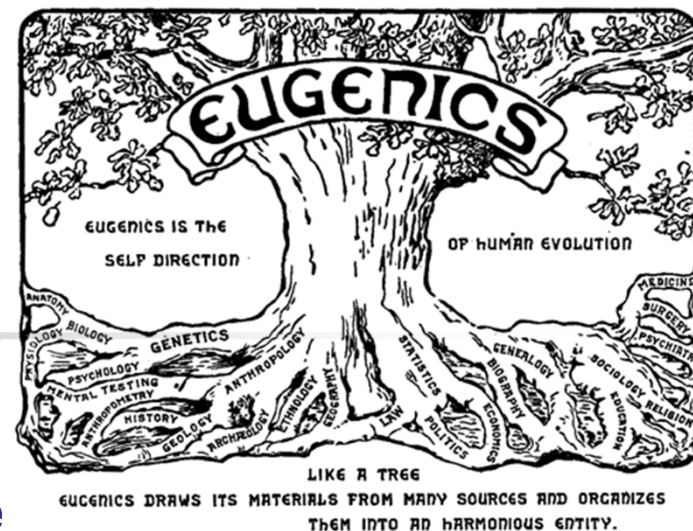




Strach ze špatných genů

- 1904: Galton prezentuje své představy o eugenice na přednášce v Londýně: představuje si, že by se udržovaly záznamy o nejlepších vlastnostech v nejlepších rodinách – jako v plemenné knize dostihových koní
- muži a ženy by se vybírali a uzavírali sňatky podle této „zlaté knihy“
- první snahy o udržování rasové čistoty bělochů

Eugenika



- 1912: **Mezinárodní eugenická konference** v Londýně s mimořádně reprezentativní účastí (politikové, biologové, šéfové světových univerzit)
- 2 důležité přednášky podporující rasovou hygienu:
 - německý lékař Alfred Ploetz
 - Američan Bleeker van Wagenen
- na rozdíl od stále teoretizujících Evropanů jdou Američané rovnou „na věc“
- existují internační centra pro geneticky nežádoucí osoby
- zřízeny výbory pro posuzování nucených sterilizací (epileptici, kriminálníci, hluchoněmí, duševně nemocní, atd.)
- vrchol v sovětském Rusku a nacistickém Německu



Harmonizace mezi genetikou a evolucí

- Darwin: evoluce funguje prostřednictvím přírodní selekce
- podmínkou je dostatečně variabilní přirozená populace
- co je motorem těchto odchylek? Mutace (de Vries)
- **Theodosius Dobzhansky** (ukrajinský biolog, který emigroval do USA, žák T.H. Morgana) sleduje vznik odchylek u octomilek v přirozených populacích
- v 30. a 40. letech dokazuje, že variabilita je prospěšná; koncepce vedoucí k likvidacím individuálních rozdílů ve jméno kolektivního „dobra“ je zhoubná
- jeden z hlavních kritiků nacistické eugeniky a sovětské kolektivizace
- protest proti zneužívání genetiky nevyslyšen



Theodosius Dobzhansky
(1900-1975)



Nečekaný vliv nacismu na genetiku

- začátkem 20. století Německo dominuje světové vědě (atomová fyzika, kvantová mechanika, chemie, fyziologie, biochemie)
- ze 100 Nobelových cen v období 1901-1932 je 33 uděleno německým vědcům (Britové 18, Američané 6)
- vzestup nacismu rozvoj vědy eliminuje
- 1933: vědci židovského původu vyhozeni ze státních univerzit
- tisíce vědců (nejen židovských) emigrují, protože tuto situaci považují za morálně neobhájitelnou
- v novém prostředí vědci obrazejí pozornost k novým problémům, padají mezioborové bariéry
- atomoví fyzikové se zajímají o biologii (dosud neprobádaná oblast) – nové metody, nové otázky

Geny přitahují pozornost

- 1944: Kvantový fyzik **Erwin Schrödinger** ve své přednášce v Dublinu odvážně odhaduje molekulární povahu genu:

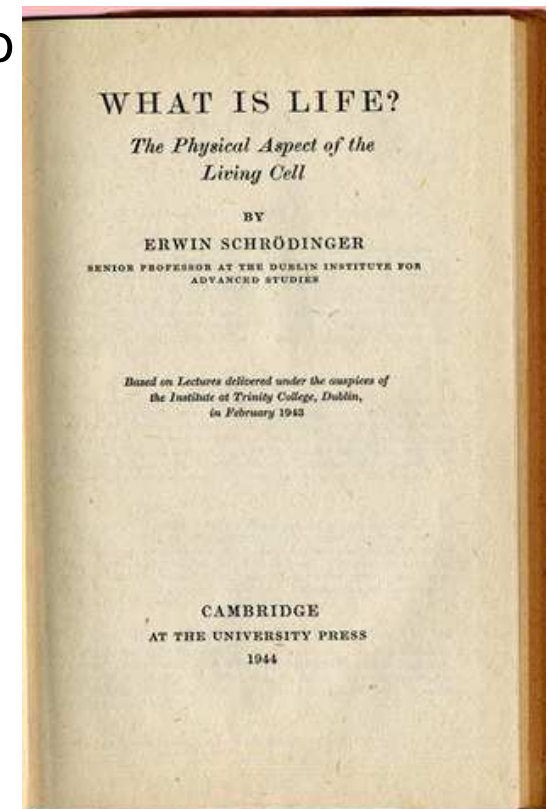
„Gen musí být zvláštní chemická látka, která musí vykazovat chemickou **pravidelnost** (jinak by nemohlo fungovat kopírování nebo přenos), ale musí být rovněž schopna **nepravidelnosti** (jinak by nebyla možná rozmanitost), musí být schopna nést **obrovské množství informací**, ale přitom musí být **kompaktní**, aby mohla být v buňkách poskládána)“

Možná, že kódové písmo spočívá v pořadí vazeb —
“rozmanitost obsahu stlačená do miniaturního kódu.”
Snad je tajemstvím života pořadí korálek na šňůře.

- přednáška později publikována v knize **Co je život?**



Erwin Schrödinger
(1887-1961)



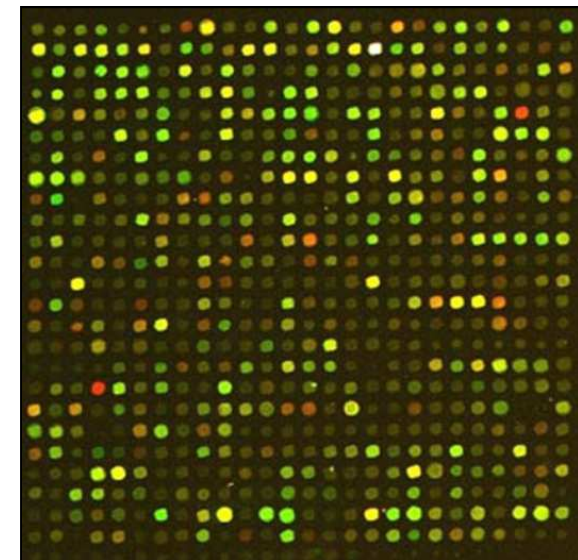
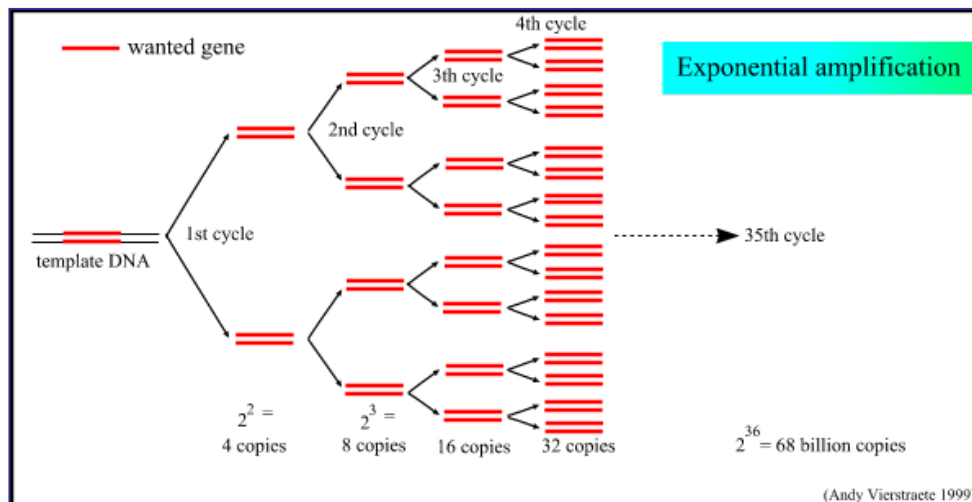
Objev DNA

- ze zájmu vědců o molekulu, která přenáší geny, vplynuly poznatky, které vedly k identifikaci DNA
- objev dvoušroubovicové struktury DNA, způsob kódování informace, replikace a princip genové exprese (Watson, Crick, 1953)



Další historické milníky

- centrální dogma, restriční endonukleázy, klonování genů, zpětná transkripce, sekvenování DNA, PCR, monoklonální protilátky, microarrays, RNA interference, kmenové buňky, umělé nukleázy, atd...
- během posledních několika let nové technologie výrazně urychlují hromadění informací o molekulách života – éra *omik*





Současnost



- od roku 2003 známe nukleotidovou sekvenci DNA, která tvoří lidský genom (přibližně 20.000 genů, 23 párů chromozomů, 3×10^9 párů bází/haploidní stav)
- máme k dispozici veškerou informaci nutnou pro vytvoření a fungování lidské bytosti
- jen 1,5% lidského genomu tvoří geny kódující proteiny, zbytek tvoří oblasti kódující RNA, regulační sekvence, introny, nekódující oblasti



Současnost - výzvy

- poznání mechanismů řídících a koordinujících genovou expresi a jejich vztah ke zdraví člověka (všechny nemoci mají dědičnou složku, o které spolurozhodují geny)
- **léčba dědičných chorob:** důsledek chybné funkce některých genů přenesených z rodičů na potomstvo – pro pochopení příčiny je třeba pochopit funkce zdravých genů
- **léčba rakoviny:** rovněž důsledek poruch funkce genů, hledání markerů pro včasnou diagnostiku a vhodných cílů pro genovou terapii, hledání nových chemoterapeutik
- **genové inženýrství a biotechnologie** (pro zemědělství - zlepšování zdrojů potravy, medicína – vývoj léčiv)

Živí tvorové jsou složeni z buněk

- variabilita projevů života versus jednota jejich základů
- buněčná struktura založená na obdobných složkách se objevuje u všech forem života

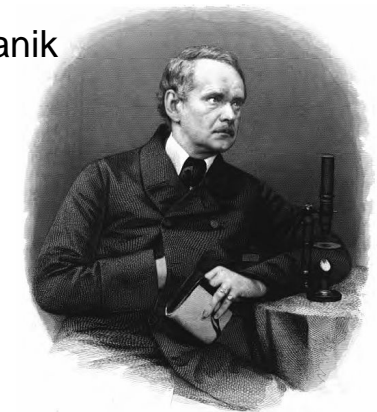
fyzilog



Theodore Schwann (1810-1882)

1. Vše živé je složeno z buněk
2. Buňky jsou nejmenší jednotky živých systémů
3. Buňky vznikají jen z dříve existujících buněk

botanik



Matthias Jakob Schleiden (1804-1881)

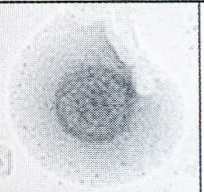





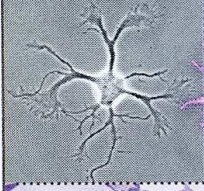
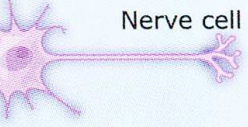
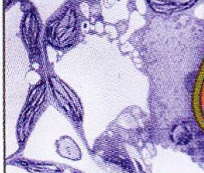
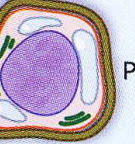
patolog



Rudolf Virchow (1821-1902): „Omnis cellula e cellula“

Buňky se od sebe mohou podstatně lišit.....

- variabilita velikosti a tvarů
- mohou žít volně nebo vázané k matrix nebo jiným buňkám

Cell type		Size
	 Mycoplasma	0.2 μm
	 Yeast cell (<i>S. cerevisiae</i>)	6 μm
	 Fibroblast	20 μm
	 Nerve cell	20 μm - 10 cm
	 Plant cell	50 μm

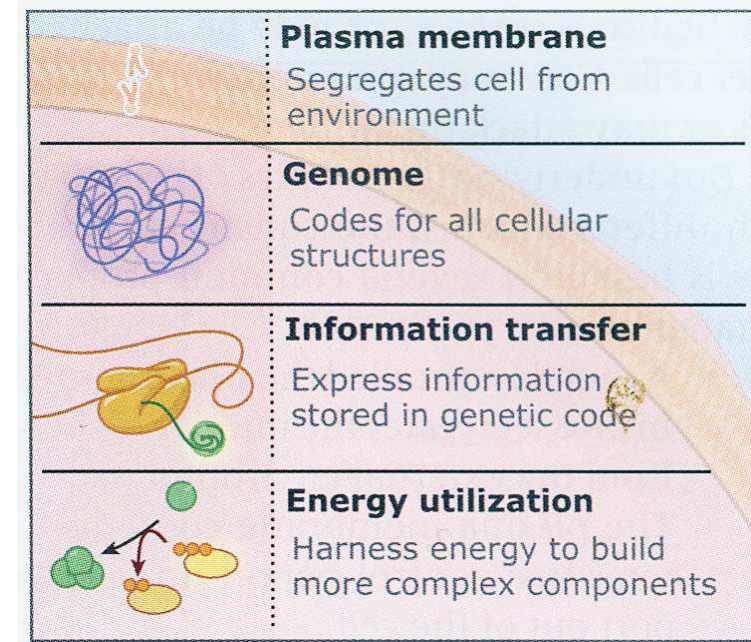


...ale mnoho vlastností sdílejí

- od okolního světa jsou odděleny **plazmatickou membránou** (s charakteristickou fosfolipidovou strukturou)
- v plazmatické membráně jsou systémy, které ovládají import molekul do buňky a export z buňky
- buněčné struktury jsou vybudovány z molekul potravy s využitím vnitřních systémů přeměny energie
- obsahují **genetický materiál** nesoucí informaci potřebnou pro utváření/obnovu všech buněčných složek
- disponují systémem **genové exprese**, kterým se genetická informace převádí k praktickému využití
- jednotlivé proteiny nebo RNA (definované geny) se po své syntéze mohou spojovat do struktur vyššího řádu

Minimální požadavky pro existenci živé buňky

- plazmatická membrána
- schopnost využití vnější energie pro vytvoření buněčných struktur z jednoduchých základních molekul
- přítomnost genetické informace definující vlastnosti buňky
- přítomnost systému pro praktické využití této informace



Jednobuněčné organismy

- nejjednodušší organismy
- žijí jako samostatné jednotky
- reprodukují se
- úspěšně se přizpůsobují extrémním podmínkám (vysoké/nízké teploty, aerobní/anaerobní, apod.)
- často žijí v jiných organismech



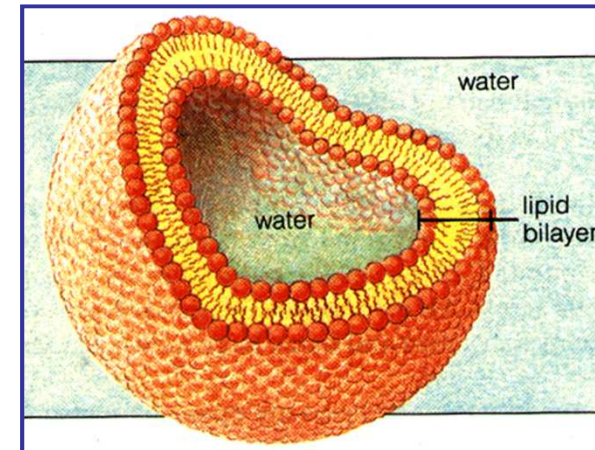
Mnohobuněčné organismy

- buňky se specializují na určitou funkci – **diferencují se**, tj. mění genovou expresi v různých buňkách téhož organismu, což vede k jejich fenotypovému rozrůznění
- některé buňky si udržují nediferencovaný stav (**kmenové buňky**)
- výrazná strukturní a funkční specializace buněk zajišťuje **dělbou práce** uvnitř organismu (často doprovázeno ztrátou schopnosti dělení a růstu)
- buňky mezi sebou komunikují, aby zajistily funkci organismu jako celku



Plazmatická membrána

- zajišťuje autonomii buňky (existenci buněčných složek v omezeném prostoru)
- zajišťuje odlišnost vnitřního prostředí buňky od vnějšího
- obsahuje proteinové komplexy, které řídí import a export molekul přes membránu
- disponuje systémy pro předávání signálů mezi vnějším a vnitřním prostředím buňky

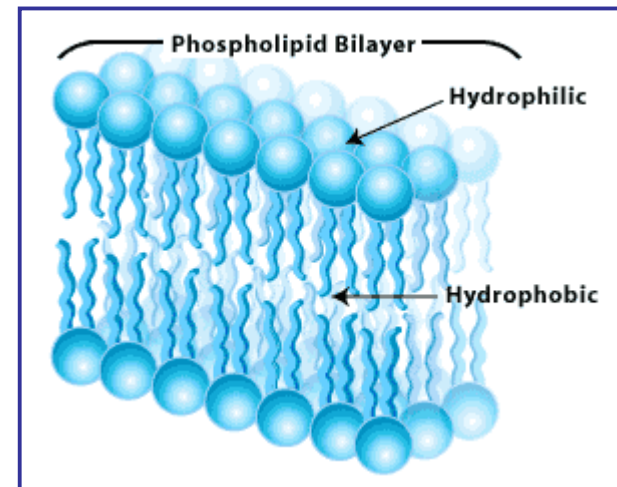


Struktura plazmatické membrány

- dvouvrstevný útvar složený z fosfolipidů a proteinů

Fosfolipidy

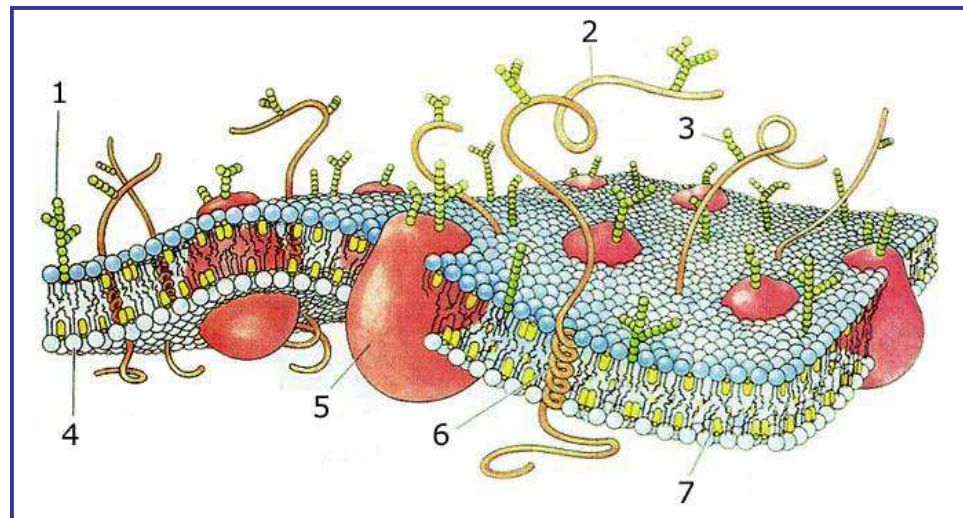
- obsahují **hlavici rozpustnou ve vodě**, jejíž součástí je fosfát, směřující k vnitřnímu a vnějšímu povrchu membrány a **hydrofobní část** (dvojici řetězců mastných kyselin), které tvoří vlastní tělo membrány



Molekuly, které nesou hydrofobní i hydrofilní oblasti se nazývají **amfipatické**

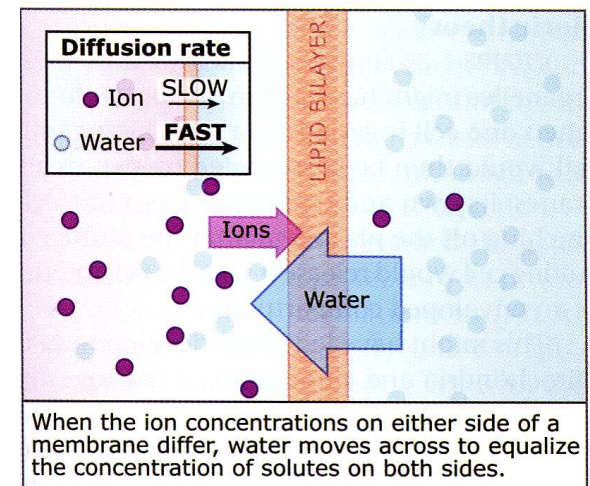
Struktura plazmatické membrány

- vodní prostředí uvnitř i vně buněk vede k agregaci hydrofobních řetězců (tvoří vnitřní prostředí membrány), hydrofilní hlavice tvoří vnější povrchy membrány
- lipidová dvouvrstva umožňuje fúzi membrán a vytváří prostředí pro vazbu proteinů



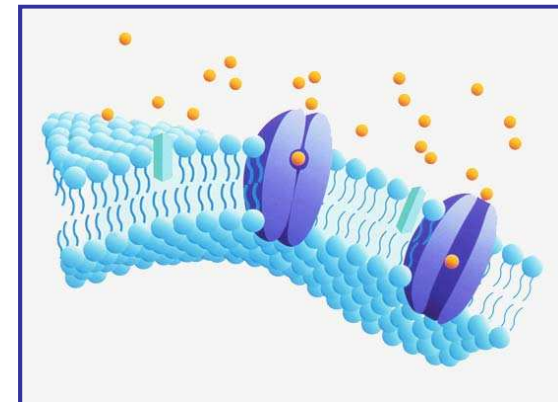
Selektivní propustnost plazmatické membrány

- membrána není permeabilní pro ionty a velké nenabitě (polární) molekuly
- molekuly vody a malé nenabitě (polární) molekuly membránou procházejí – difúze
- malé nepolární molekuly procházejí volnou difúzí
- odlišná koncentrace iontů na obou stranách membrány může vytvořit osmotický tlak (pohyb molekul vody přes membránu směrem k prostředí s vyšší koncentrací iontů)
- riziko poškození buňky



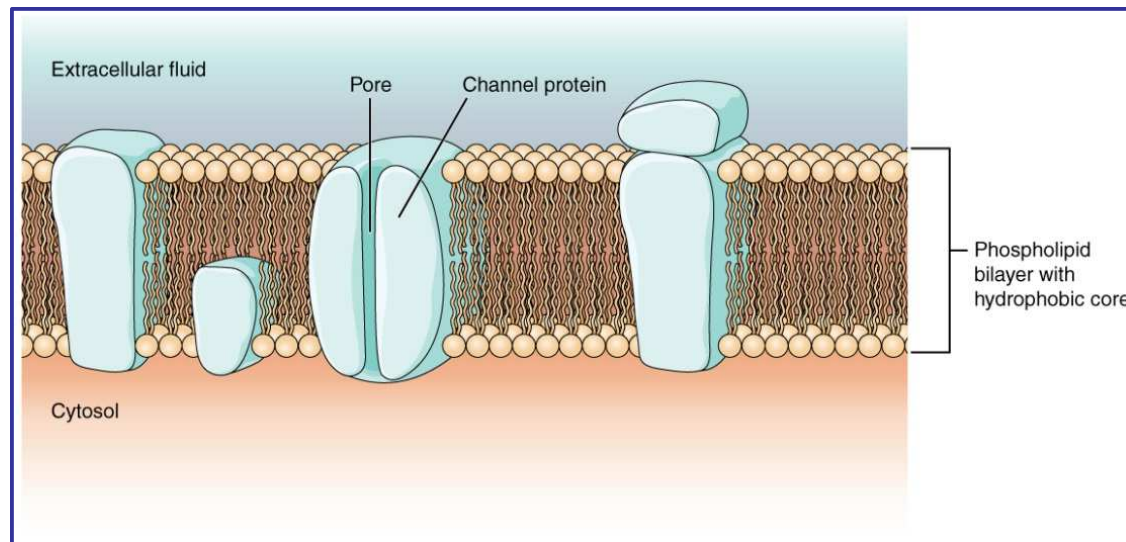
Buňka si řídí svůj obsah

- regulaci podléhá nitrobuněčné pH a obsah iontů
- využívá se speciálních membránových přenašečů
- přes membránu musí rovněž projít substráty metabolismu (zdroje energie) a složky zapojené do výstavby buněčných struktur
- nechtěné produkty metabolismu, ionty se přes membránu exportují ven
- pro oba směry platí vysoká selektivita transportu
- schopnost buňky udržovat vnitřní prostředí se nazývá **homeostáze**



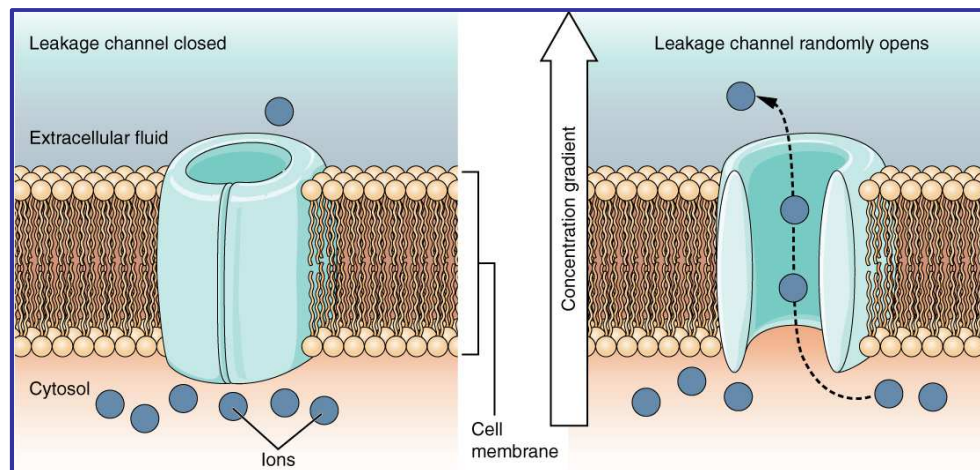
Přechod iontů řídí proteinové komplexy

- vytvářejí kanálek v lipidové dvouvrstvě
- vnější povrch kanálkových proteinů je v kontaktu s membránovými lipidy
- vnitřní povrch obklopuje vodné prostředí kanálku
- vybrané ionty a hydrofilní molekuly procházejí kanálkem, aniž by byly v kontaktu s membránovými lipidy



Iontové kanálky a proteinové přenašeče

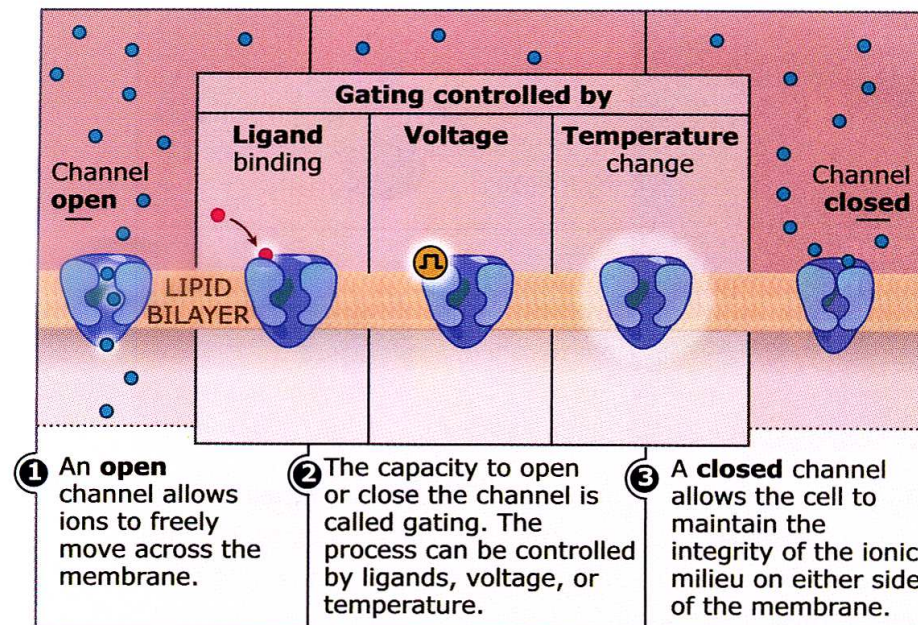
- dva mechanismy přenosu iontů membránou: ve směru a proti směru iontového gradientu
- při pohybu iontů z prostředí o vyšší koncentraci do prostředí o nižší koncentraci (**po směru gradientu**) se využívá **iontových kanálků** (probíhá bez spotřeby energie)



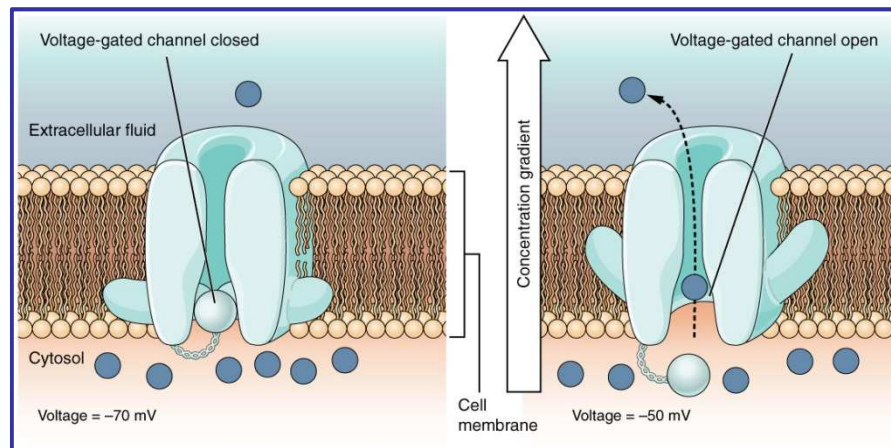
- při pohybu iontů **proti směru gradientu** se využívá **proteinových přenašečů** (probíhá za spotřeby energie)

Ovládání propustnosti iontových kanálků

- nemohou být stále otevřené (koncentrace iontů na obou stranách membrány by se vyrovnaly)
- otevírají se tím, že projdou konformační změnou
- konformační změnu mohou vyvolat různé podněty (např. speciální signální molekuly, elektrické napětí, teplota)

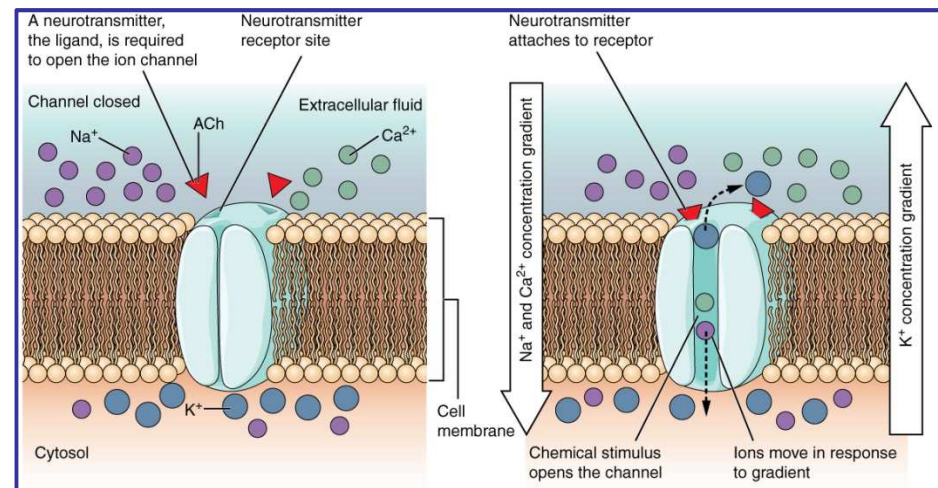


Ovládání propustnosti iontových kanálků



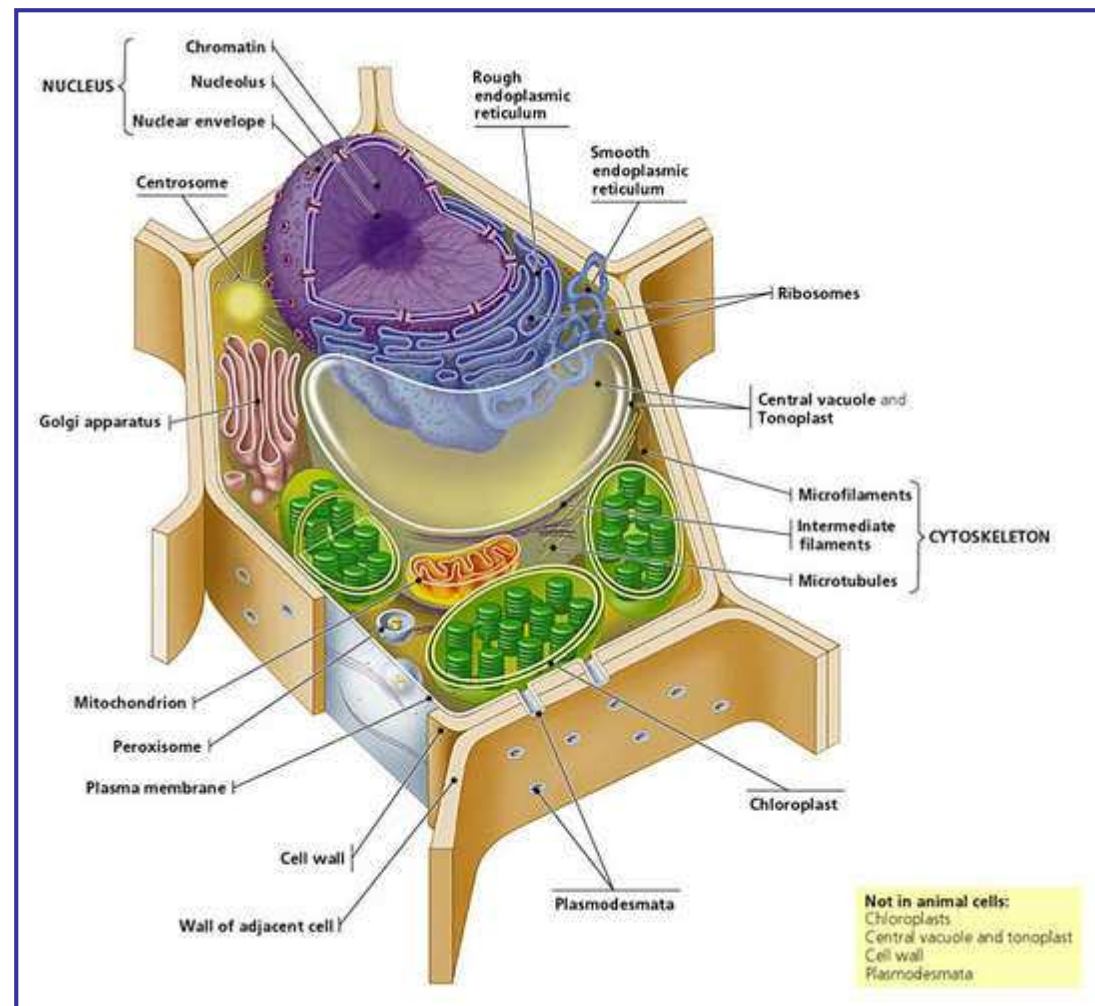
otevření změnou
membránového potenciálu

otevření pomocí signální
molekuly



Buněčná membrána potřebuje oporu

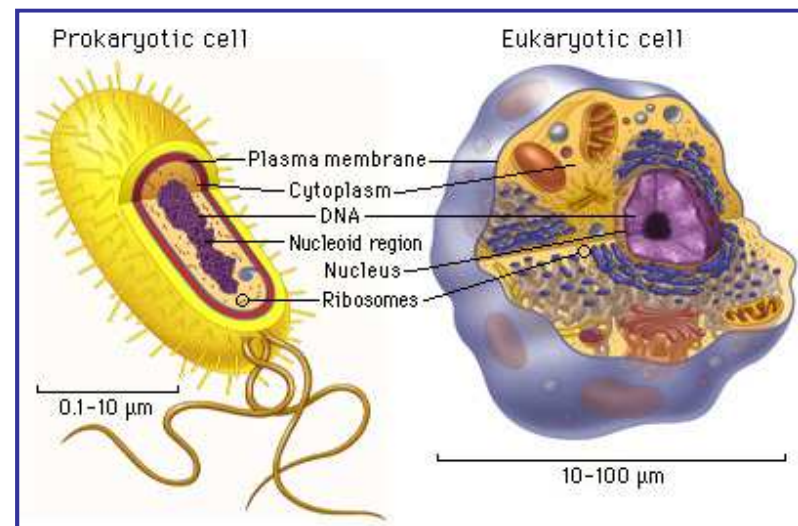
- je slabá, flexibilní a křehká
- mechanickou oporu může poskytnout **buněčná stěna** umístěná vně membrány - běžná u bakteriálních a rostlinných buněk
- u živočišných buněk je podpírána strukturami cytoskeletu



Dva typy živých buněk

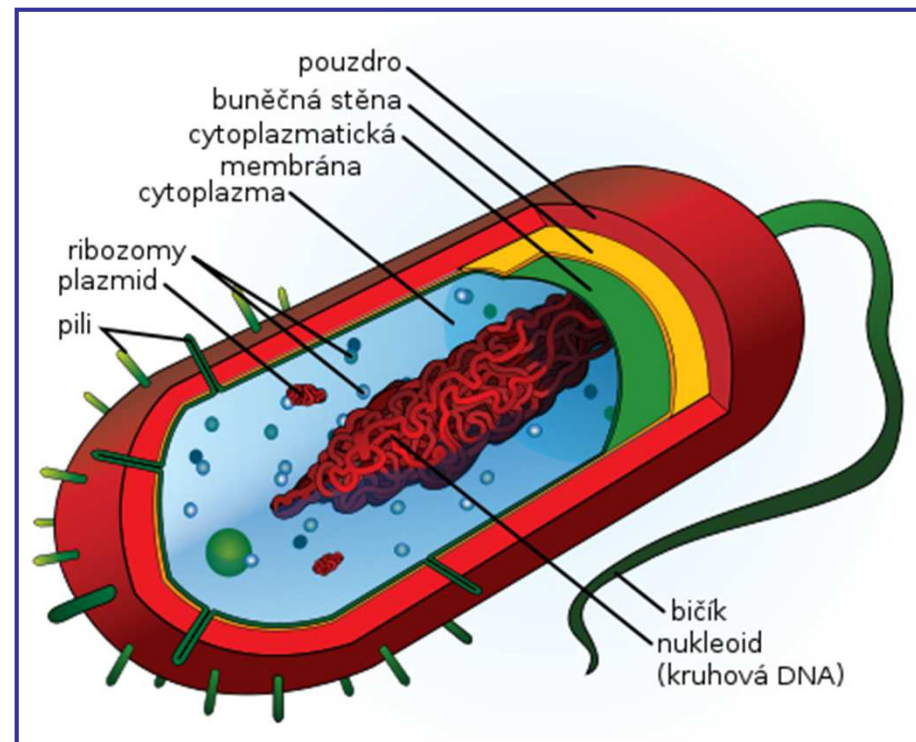
Klasifikace podle vnitřního členění, tzv. **kompartmentalizace** (kompartiment = prostor uzavřený membránou)

- **prokaryotická buňka**: jednodušší, tvořena pouze jedním kompartmentem s genetickým materiálem
- **eukaryotická buňka**: komplexnější, více kompartmentů



Prokaryota

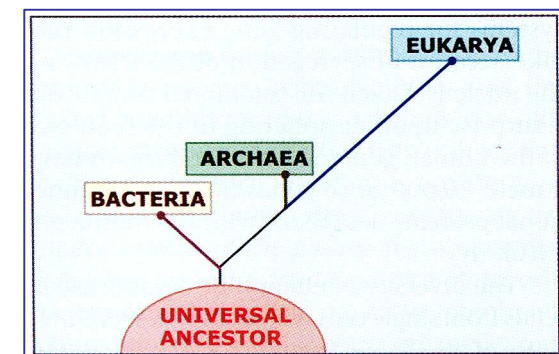
- jednobuněčné organismy
- obklopeny membránou a buněčnou stěnou
- DNA v cytoplazmě
- obsahuje všechny chemické a strukturní složky nutné pro život
- na jediném chromozomu veškerá genetická informace



Dva typy prokaryot: bakterie a archea

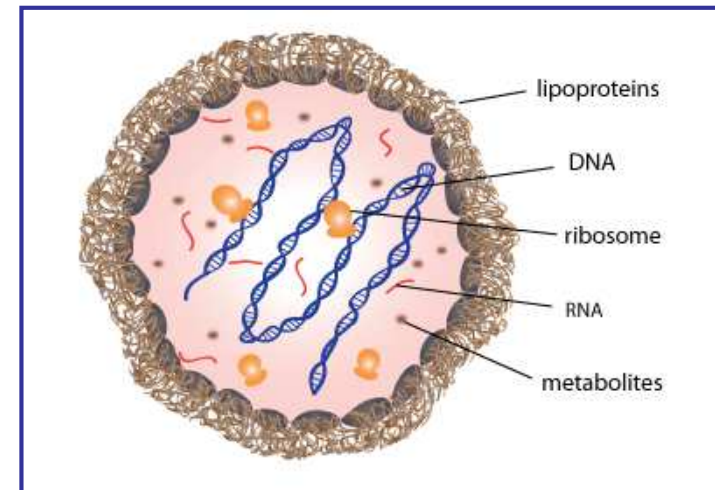


- fylogenetický vztah stanoven relativně nedávno moderními metodami (srovnáním nukleotidových sekvencí DNA): archea představují samostatnou skupinu prokaryot
- archea mají vzhled a stavbu podobnou bakteriím: malé jednobuněčné organismy bez vnitřních membrán
- žijí v extrémních podmínkách (vysoké teploty, kyselost, obsah solí)
- archea často využívají netypické metabolické dráhy, vykazují chemické odlišnosti ve stavbě buněčné stěny, mají aparát pro genovou expresi, který se více podobá eukaryotům než bakteriím



Genetický materiál prokaryot

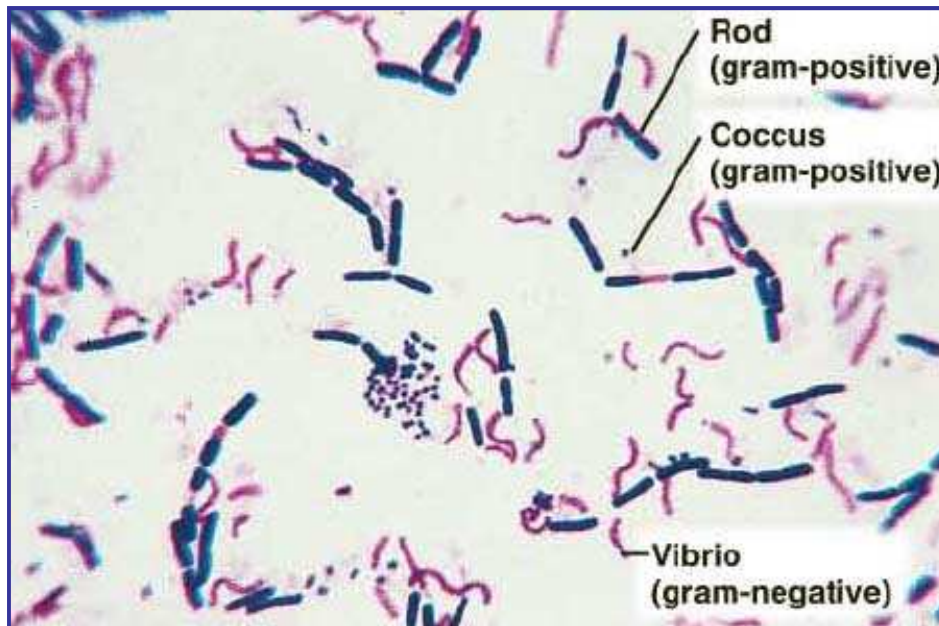
- nejjednodušší genom mají bakterie, které nežijí volně, ale uvnitř jiných organismů (*Mycoplasma*)
- hostitel poskytuje látky, které bakterie potřebují, ale nemohou si je vytvořit
- genom nejmenších bakterií obsahuje pouze cca 500 genů, které kódují jen základní strukturní složky
- genomy volně žijících bakterií obsahují alespoň 1500 genů, které kódují kromě strukturních elementů také enzymy a složky vyspělejšího aparátu pro regulaci genové exprese



Klasifikace bakterií

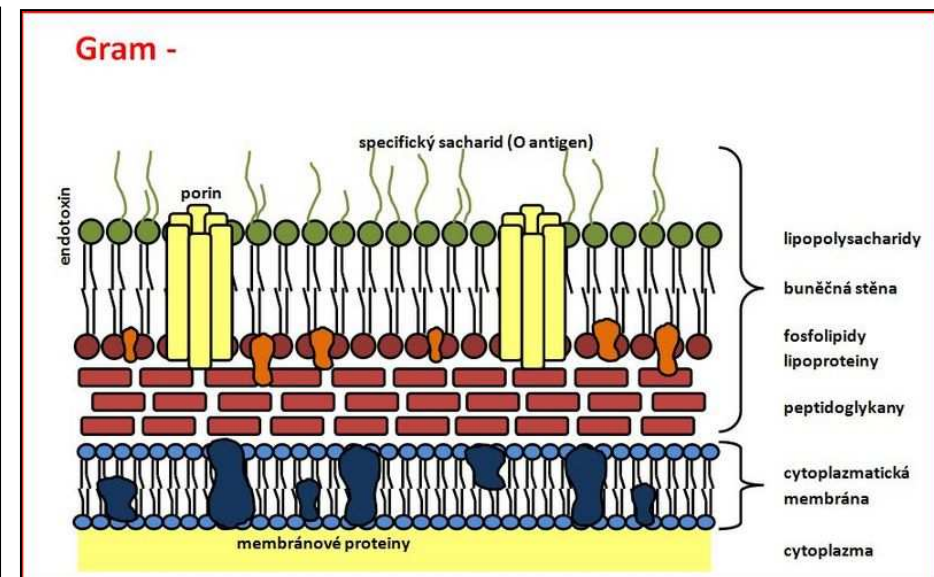
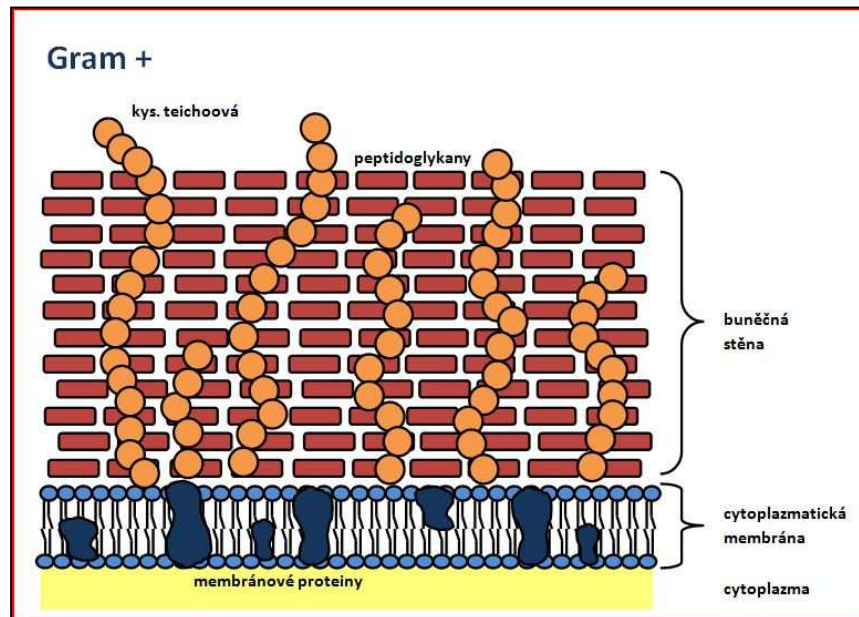
2 skupiny, které divergovaly cca před 2 miliardami let:

- Gram-negativní (např. *E. coli*) a Gram-pozitivní (např. *B. subtilis*), podle toho, jak reagují s Gramovým barvivem
- citlivost dána interakcí barviva s buněčnou stěnou

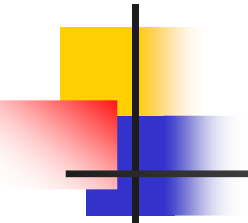


Hans Christian
Joachim Gram
(1853-1938)

Gramovo barvení



- G+ bakterie mají plazmatickou membránu obklopenou buněčnou stěnou tvořenou proteoglykany a polysacharidy (modré/fialové zbarvení)
- G- bakterie mají stěnu zvnějšku obklopenou lipopolysacharidovou vrstvou (červené/růžové zbarvení)

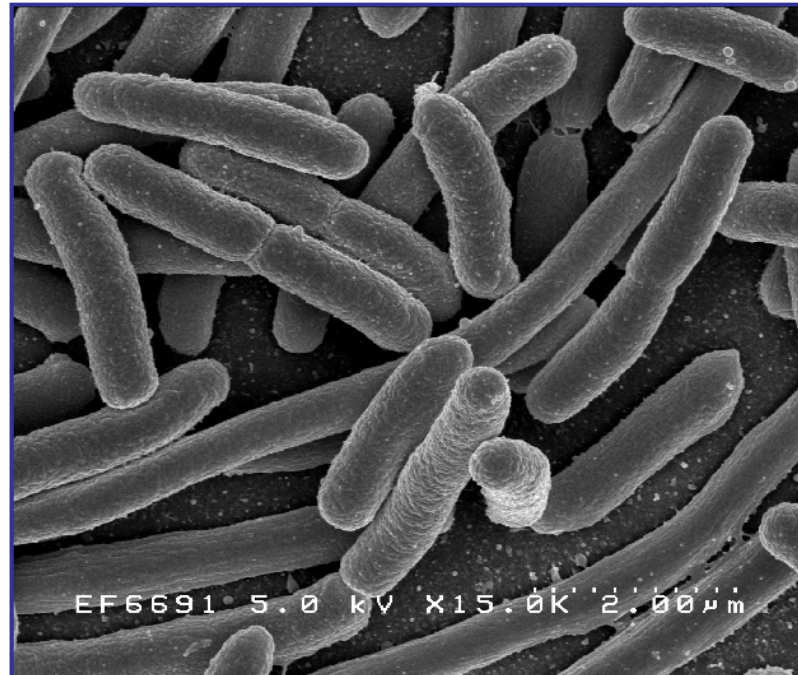


Bakterie – model pro výzkum základních buněčných procesů

- jednobuněčné mikroorganismy, nejstarší organismy na Zemi
- nízký počet genů
- haploidní stav (pouze jedna kopie každého genu)
- možnost kultivace za přísně kontrolovaných podmínek (v definovaném médiu s přesně daným obsahem solí a zdrojem uhlíku)
- vysoká rychlost růstu, generační doba pouze 20 minut
- možnost snadného uskladnění při nízkých teplotách (-70 °C) po dlouhou dobu (desítky let) bez ztráty životaschopnosti

Modelová bakterie: *Escherichia coli*

- tyčinkovitá bakterie (velikost 1 x 2,5 mikronu)
- přirozeným prostředím je střevo (*colon* - proto „*coli*“)
- gram-negativní





Kde najdeme bakterie?

- téměř všude: 60 km vysoko v atmosféře, 11 km pod hladinou oceánu, ve sladké i slané vodě nebo ve splašcích, v půdě, kořenech rostlin nebo v tělech živočichů (a člověka)
- počet bakterií na zemi je obrovský
- bakterie pravděpodobně tvoří více než polovinu živé hmoty na Zemi



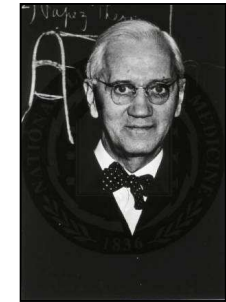
Prokaryota jsou velmi přizpůsobivá

- životní styl je rozmanitý a může se přizpůsobit i extrémním podmínkám (pH, přítomnost kyslíku, teplota, apod.)

Klasifikace podle schopnosti růstu v různých teplotách:

- **mezofilní:** nejlépe rostou mezi 25 a 40°C (sem patří lidské patogeny)
- **psychofilní:** nejlépe rostou mezi 15 a 20°C (ale jsou i takové, které žijí při 0°C) – oblíbené prostředí – studená voda a půda
- **termofilní:** nejlépe rostou mezi 50 a 60°C (některé tolerují i 110°C)

Bakterie jsou citlivé k přírodním látkám

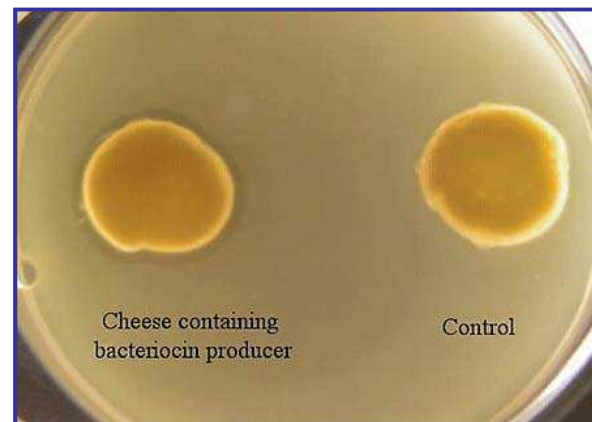


A. Fleming

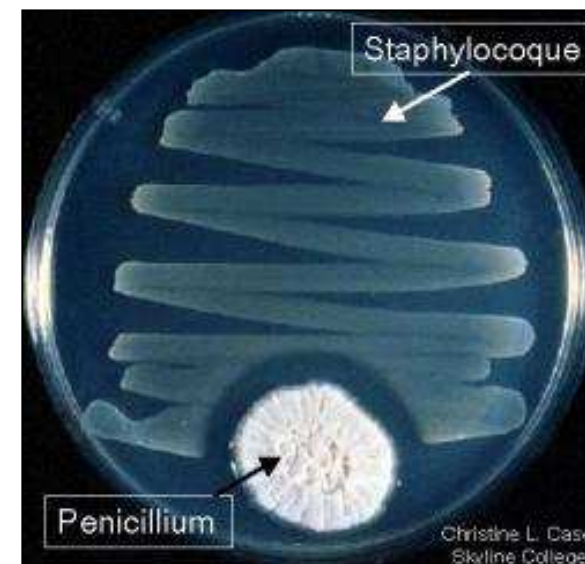
mikroorganismy spolu soutěží o zdroje:



- sekrece **toxických proteinů**, např. bakteriocinů - zabíjejí příbuzné bakterie, ale ne kmeny – producenty (využití bakteriocinových plasmidů jako vektorů)



- tvorba **antibiotik** (klinické využití)



Bakterie přirozeně obývají těla vyšších organismů



- u člověka 10x víc bakteriálních než lidských buněk
- kůže, trávicí soustava
- udržování aktivity imunitního systému

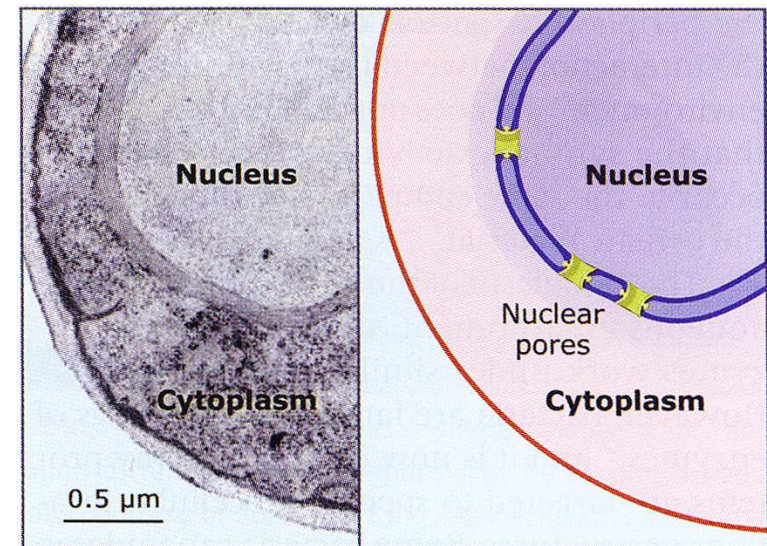


Některé bakterie škodí, jiné jsou užitečné

- malá část bakterií je **patogenních**: původce infekčních nemocí (cholera, tuberkulóza, sněť slezinná, syfilis, kapavka, černý kašel, záškrť, atd.), k jejich vymýcení přispívá hygiena, čistá voda, mýdlo, splachovací záchody a také očkování a antibiotika
- většina bakterií má pozitivní význam: přispívá k rovnováze ekosystémů (rozklad odumřelých těl rostlin a živočichů)
- rozklad odpadních produktů činnosti člověka a škodlivin
- vyšší formy života by bez bakterií nepřežily, naopak ano

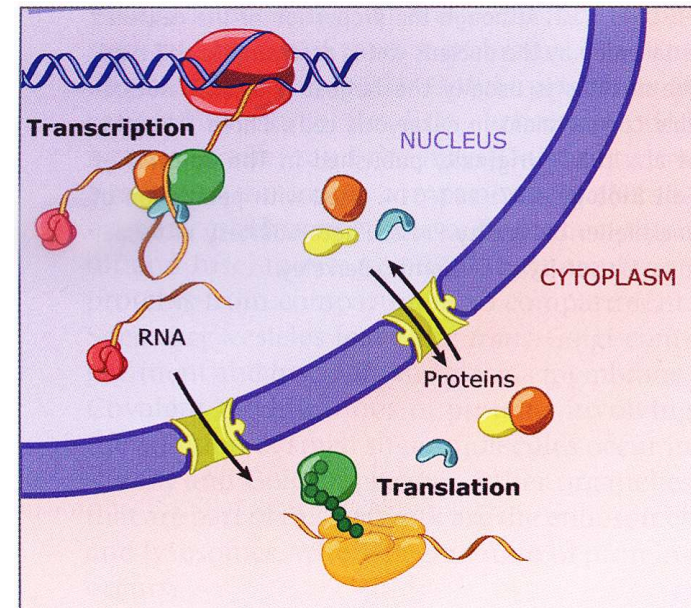
Eukaryotická buňka obsahuje několik kompartmentů

- zvýšení komplexity buňky - dělba práce na buněčné úrovni
- vnitřní prostor je rozdělen do dvou hlavních oddílů uzavřených membránou: **cytoplazmy a jádra**
- makromolekuly se transportují mezi jádrem a cytoplazmou **jadernými póry** (tj. proteinovými kanálky)
- póry jsou plně propustné pro menší molekuly



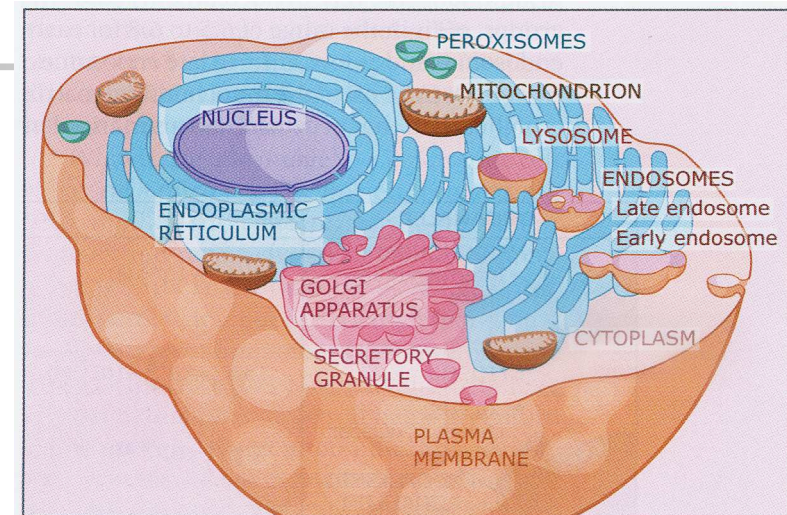
Jádro: úložiště genetického materiálu

- na rozdíl od prokaryot musí genom eukaryot kódovat nové strukturní prvky, definovat umístění proteinů do správných oddílů
- složitější mechanismus regulace genové exprese
- genetická komplexita eukaryot: nejjednodušší jednobuněčné organismy eukaryot nesou cca 5000 genů, člověk cca 20000 genů kódujících proteiny



Eukaryotická buňka obsahuje organely

- obklopeny membránami se stejnými strukturálními rysy jako plazmatická membrána
- cytoplazma = organely + cytozol
- cytozol je vodné prostředí cytoplazmy, ve kterém se syntetizují proteiny, které v něm buď zůstávají nebo se transportují do organel nebo mimo buňku
- organelové membrány nejsou permeabilní, proto se vnitřní prostředí organel liší od cytozolu (výjimkou je jádro se svými póry)





Organely eukaryotické buňky

- **endoplazmatické retikulum** – skládání proteinů, sestavování vícepodjednotkových oligomerů
- **Golgiho aparát** – modifikace a transport proteinů sekreční drahou
- **lysosomy** – rozklad molekul
- **mitochondrie** – získávání energie respirací
- **chloroplasty** – fotosyntéza



Dvě hlavní buněčné linie eukaryot

somatické a pohlavní

- u většiny mnohobuněčných je běžná specializace tkání a orgánů
- pohlavní buňky jsou součástí reprodukčního systému a podílí se na tvorbě další generace
- somatické buňky tvoří tělo, vytvářejí dobré podmínky pro fungování buněk pohlavních, neúčastní se reprodukce



Modelové organismy

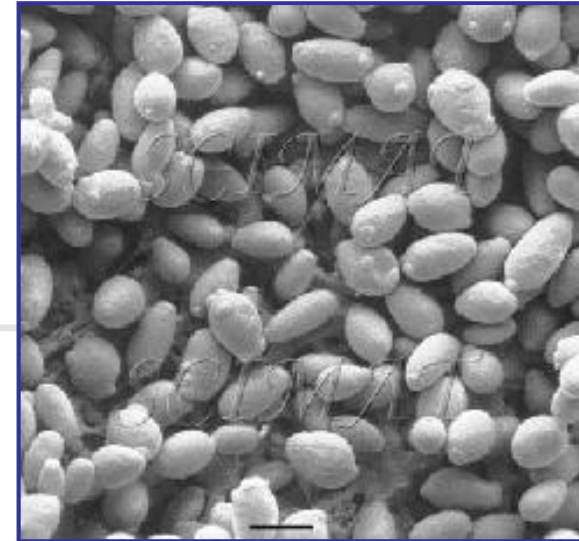
- experimentální/technické výhody
- předpokládá se, že získané poznatky budou platit i u jiných organismů, přinejmenším u těch, které jsou modelovým organismům příbuzné
- neplatí to vždy, pro lidskou medicínu nebo zemědělství je třeba zkoumat přímo cílové organismy

Kvasinky – model jednobuněčných eukaryot

- jednobuněčná eukaryota, podobné výhody jako bakterie
- genom osekvenován jako první (z eukaryot) – v r. 1996
- patří mezi houby – obdobná příbuznost živočichům i rostlinám
- střídání diploidní a haploidní fáze, lze pracovat s haploidními kulturami, což usnadňuje genetickou analýzu
- genom obsahuje cca 6000 genů

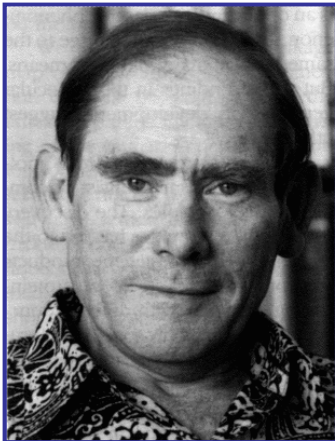


Kvasinky



- málo genů (cca 5 %) obsahuje introny
- rostou v chemicky definovaném médiu, tvoří kolonie na agarových plotnách
- generační doba cca 90 minut
- možnost snadného uchování v zamraženém stavu
- specifikum: množení pučením
- model vhodný pro studium funkce genů a buněčného cyklu

Hlístice



Sydney Brenner
(*1927)

Caenorhabditis elegans (hád'átko obecné)

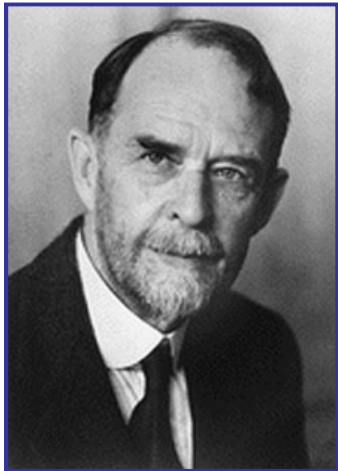
- nepatogenní půdní hlístice
- genom má 7x vyšší obsah DNA než kvasinky
- cca 19 000 genů
- vyšší obsah intronů a nekódujících sekvencí
- velikost 1 mm, tělo složeno z 959 buněk, které se diferencují do všech základních tělních soustav
- popsán vývoj každé z nich z původní zygoty
- model pro studium vývoje (životní cyklus od oplození do dospělosti jen 3 dny), apoptózy, stárnutí
- na tomto modelu poprvé popsána RNA interference



C. elegans

©2005 American Society for Microbiology

Moucha



T.H. Morgan

(1866-1945)

Drosophila melanogaster:

- životní cyklus 2 týdny
- 14000 genů
- výzkum buněčné diference, vývoje organismu, buněčných signalizací a chování



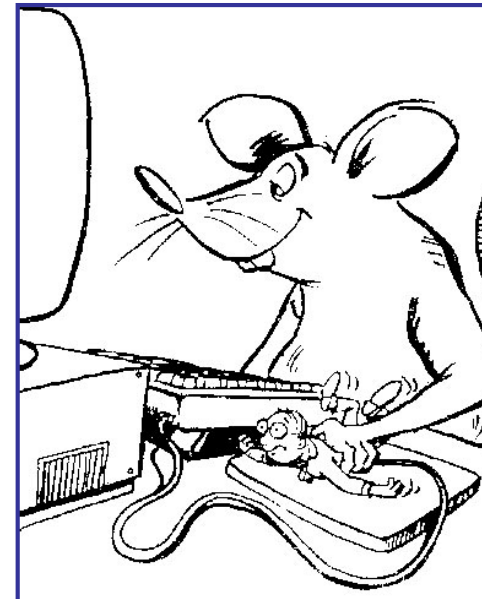
Zebříčka – model pro studium vývoje obratlovců

- Zebříčka pruhovaná/Danio pruhované: malá sladkovodní rybka (2,5 cm)
- oplozená vajíčka se vyvíjejí mimo tělo matky – lze sledovat mikroskopii
- vývoj z vajíčka do dospělého organismu trvá 3 měsíce
- díky průhlednosti lze sledovat vývoj vnitřních orgánů
- snadná mikroinjekce cizorodé DNA do vajíčka
- molekulární genetika vývoje
- 25 chromozomů, 75% homologie s lidským genomem



Myš

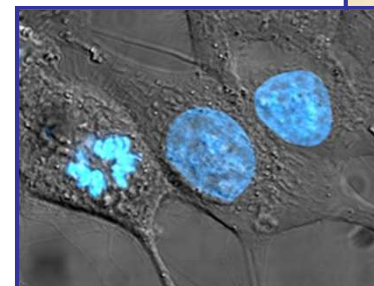
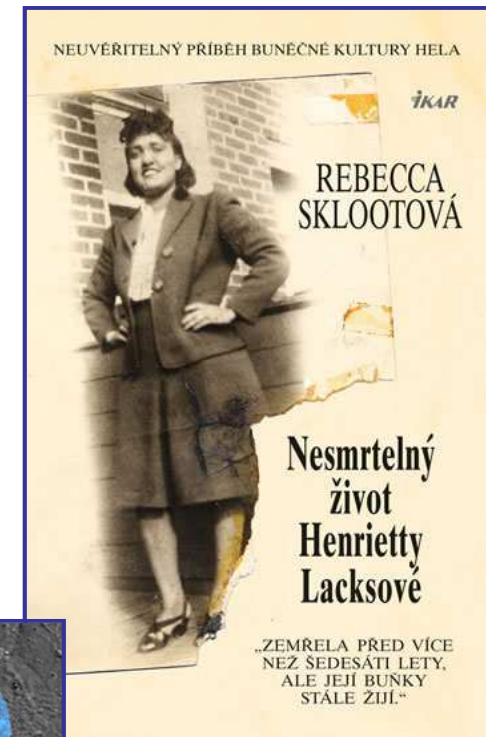
- zástupný model za člověka, kde experimentovat nelze
- žije 1-3 roky, pohlavní zralosti dosahuje po 4 týdnech
- obsahuje 20 chromozomových párů
- pouze necelé 1% myších genů nemá lidského homologa
- používá se pro studium funkce genů



Člověk



- z etických důvodů nelze experimentovat s lidmi
- je však možné kultivovat lidské buňky v kultuře
- nesmrtelné buněčné linie (např. buňky HeLa) jsou tvořeny buňkami nádorovými
- HeLa buňky jsou buňky odvozené z nádoru děložního čípku **Henrietty Lacksové** v roce 1951
- buněčné linie jsou vhodným modelem pro mol. biol. studie



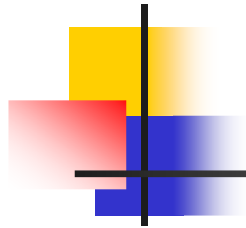
Arabidopsis – model pro rostliny

- mol. biologie rostlin je historicky poněkud opožděná za jinými organismy
- mají často mnoho genů (rýže: 40 000 – 50 000 genů)
- výzva současnosti: genetické vylepšení kulturních plodin

Arabidopsis thaliana (huseníček rolní):

- čeleď *Brassicaceae* (Brukvovité)
- strukturní jednoduchost, malý genom (5 párů chromozomů, cca 25 000 genů, sekvence známa)
- dozrání rostliny k produkci semen trvá 6-10 týdnů, několik generací do roka
- vypracovány účinné transformační metody pro přípravu transgenních rostlin



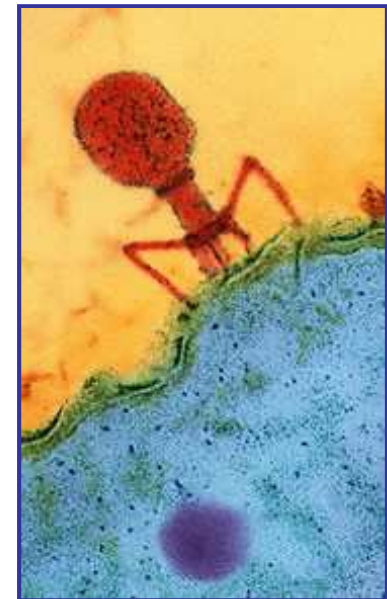


Virus

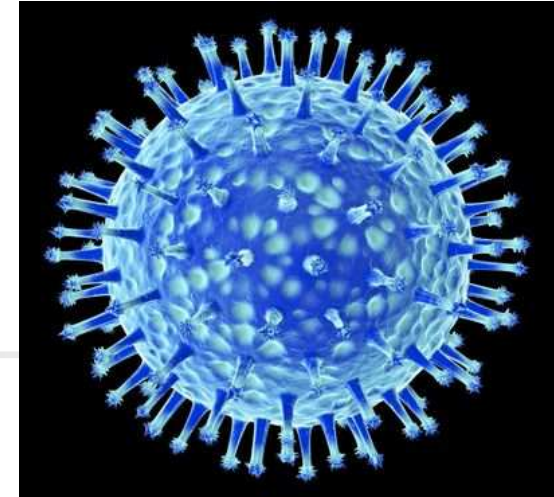
- podbuněčná struktura
- obsahuje vlastní geny obalené proteinovým pláštěm, ale nedovede je sám vyjádřit
- postrádá aparát pro zajištění vlastní energie
- buněčný parazit, replikaci a expresi virových genů zajistí infikovaná buňka
- genetická informace viru je uložena v DNA nebo RNA
- je schopen vyvolat onemocnění
- uplatňuje se v genovém inženýrství – vektor pro přenos klonované DNA

Bakteriální virus = bakteriofág

- infikuje bakteriální buňku, která je přinucena vyrábět nové bakteriofágy, posléze praskne a uvolní novou generaci bakteriofágů
- každý z nových virionů může infikovat další bakterii
- během několika hodin může fágová epidemie zlikvidovat kulturu bakterií o počtu několikanásobně převyšujícím lidskou populaci



Virus člověka



- infikuje lidské buňky
- původce běžných onemocnění (spalničky, příušnice, plané neštovice, běžné nachlazení a chřipka) i závažných chorob (dětská obrna, Ebola, AIDS)
- infekce málo nebezpečným virem může zajistit rezistenci proti příbuznému, ale mnohem nebezpečnějšímu viru
- virovou infekci nelze léčit; nutná prevence – imunizací
- může přenášet geny z jednoho hostitelského organismu na jiný (význam pro evoluci a genové inženýrství)
- antibiotika nemají smysl při boji s virovou infekcí, mohou jen pomoci s paralelní bakteriální infekcí



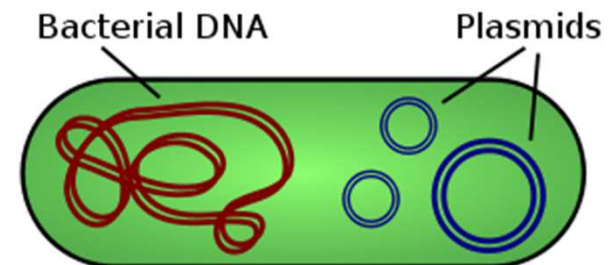
Podbuněčné genetické elementy

- nesou genetickou informaci, ale nedisponují aparátem pro životní funkce
- hojně rozšířené v biosféře
- význam různý: mohou vyvolávat vážná onemocnění nebo jejich existence je téměř nezaznamatelná
- **viry** jsou z nich nejvyspělejší
- **viroidy a plazmidy**: autonomní molekuly nukleových kyselin, které nemají proteinový obal
- **viroidy** jsou molekuly RNA, které infikují rostliny a přinutí je k produkci nových viroidů uvolňovaných do prostředí

Podbuněčné genetické elementy

plazmidy

- molekuly DNA, které se stabilně udržují uvnitř hostitelské buňky
- mohou přecházet z jedné buňky do druhé pouze pokud mezi nimi dojde k fyzickému kontaktu
- hostitelskou buňku nelikvidují
- hojně využívané v genovém inženýrství





Podbuněčné genetické elementy

transponovatelné elementy (transpozony)

- molekuly DNA, které se nereplikují jako samostatné jednotky
- pro svou replikaci vyžadují začlenění do jiných molekul DNA, které schopnost samostatné replikace mají
- mají schopnost přeskakovat z jedné hostitelské DNA na jinou



Podbuněčné genetické elementy

priony

- infekční molekuly proteinů
- neobsahují žádnou nukleovou kyselinu
- infikují buňky nervového systému zvířat a způsobují vážné nemoci (např. nemoc šílených krav)
- představují chybně složenou verzi normálního proteinu nervových buněk
- když proniknou do buňky, způsobí chybné skládání odpovídajícího normálního proteinu v mozku, což buňku usmrtí

