

# C5720 Biochemie

18a-Regulace proteosyntézy, manipulace

# Obsah

- Mutace bodové, inserce, delece, substituce, význam, geneticky podmíněné choroby, mitochondriální genom.
- Regulace exprese genů u prokaryontů (induktivní, represivní mechanismus, operon, represor, regulátorový gen).
- Praktické aspekty – účinek antibiotik, antimetabolity.
- Genové manipulace, GMO, syntéza oligonukleotidů, řízená mutagenese, umělé geny.

# Mutace

- Změny v genomu buňky na různých úrovních
  - rozdíly pro- a eukaryontů
  - 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 ( $\text{HNO}_2$ , dusíkatý yperit aj.)
  - GMO
- Bodové mutace
  - inserce, delece, - brzké ukončení syntézy polypeptidu
  - substituce – záměna aminokyseliny (ne vždy) – odlišná bílkovina

# Mutace

- Bodové mutace

- inserce, delece – posun čtení – brzké ukončení syntézy polypeptidu
- Substituce – záměna aminokyseliny (ne vždy) – odlišná bílkovina

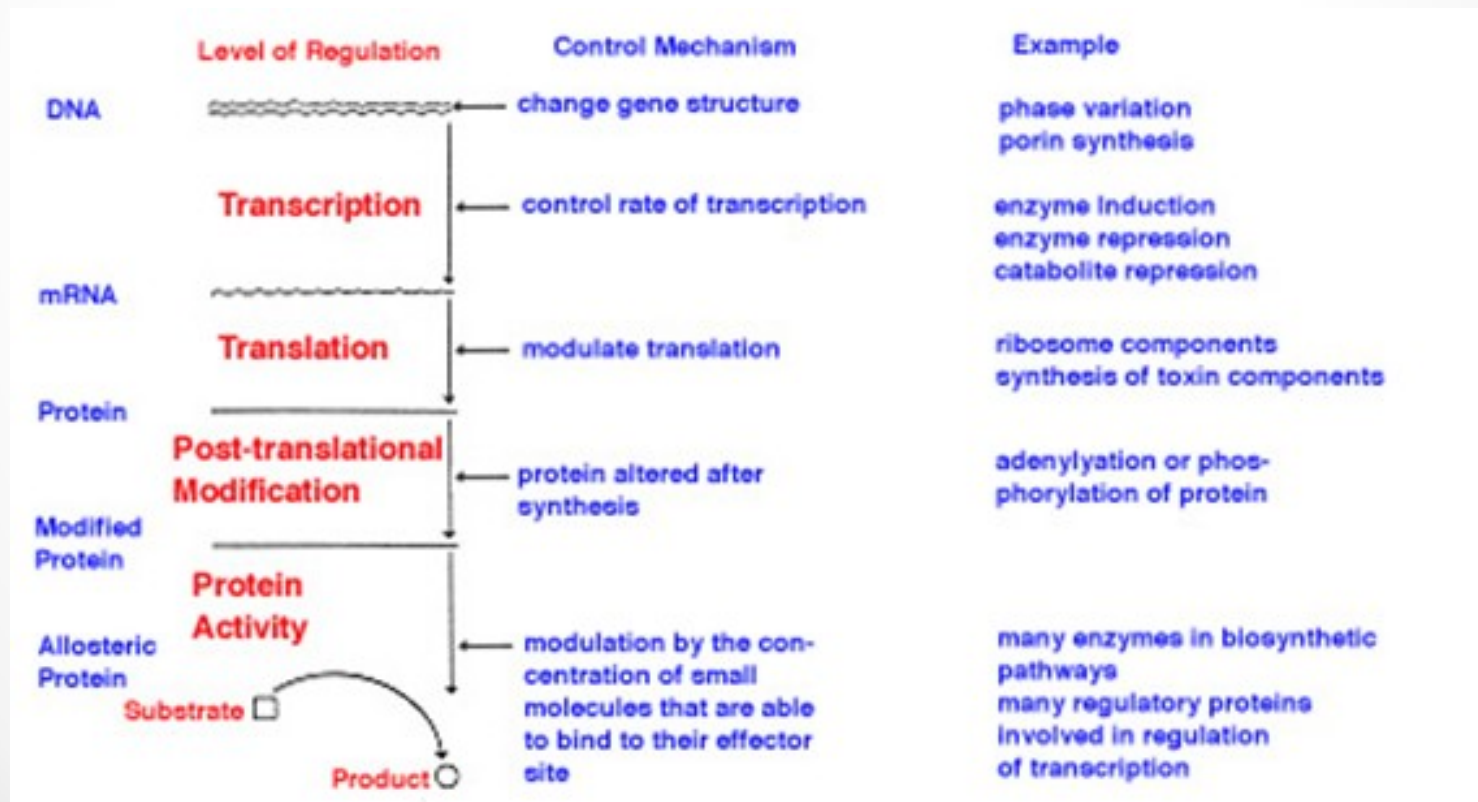


# Mutace

- Význam mutací
  - nové vlastnosti
  - výhody a nevýhody
  - pozitivní a negativní mutace
  - relativita, vliv podmínek, prostředí apod . – selekční tlak – 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 – prokaryontní typ
  - jen od matky
  - poruchy energetického metabolismu, svalové dystrofie

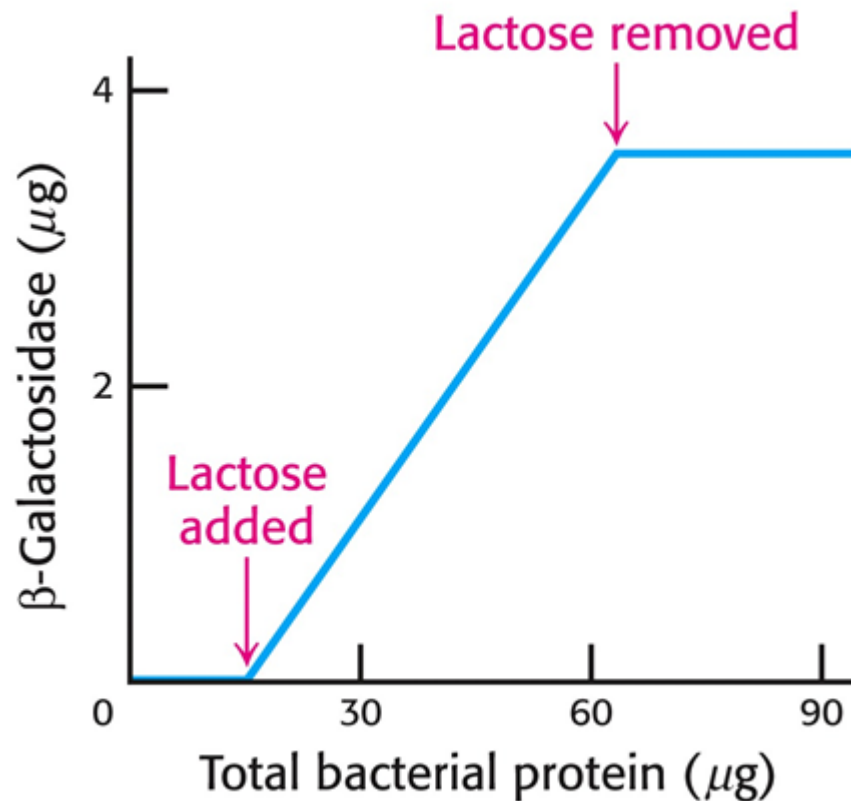
# Regulace proteosyntézy

- Množství míst, efektivita
- Složité vztahy
- Diferenciace buněk atd.



# Regulace proteosyntézy

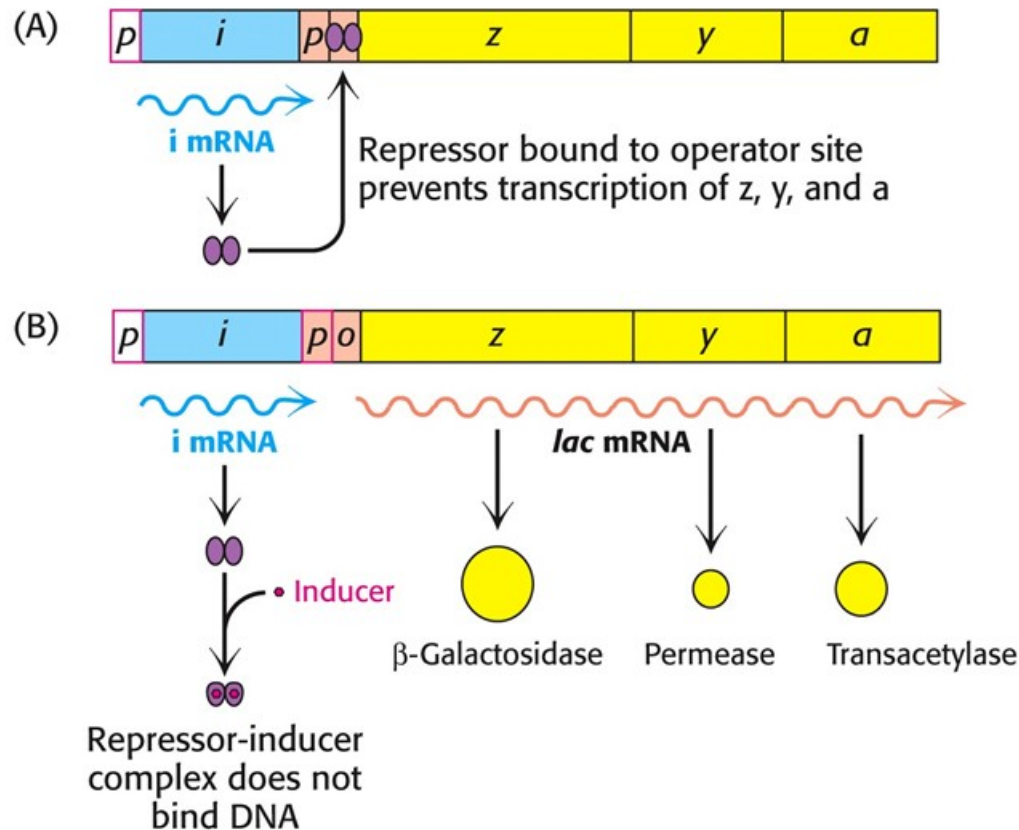
- Regulace transkripce – represe a indukce
  - Mikrobiální model - indukční mechanismus – Monodův model (NC 1965 F. Jacob, A. Lwoff, J. Monod)



- Využití laktosy

# Regulace proteosyntézy

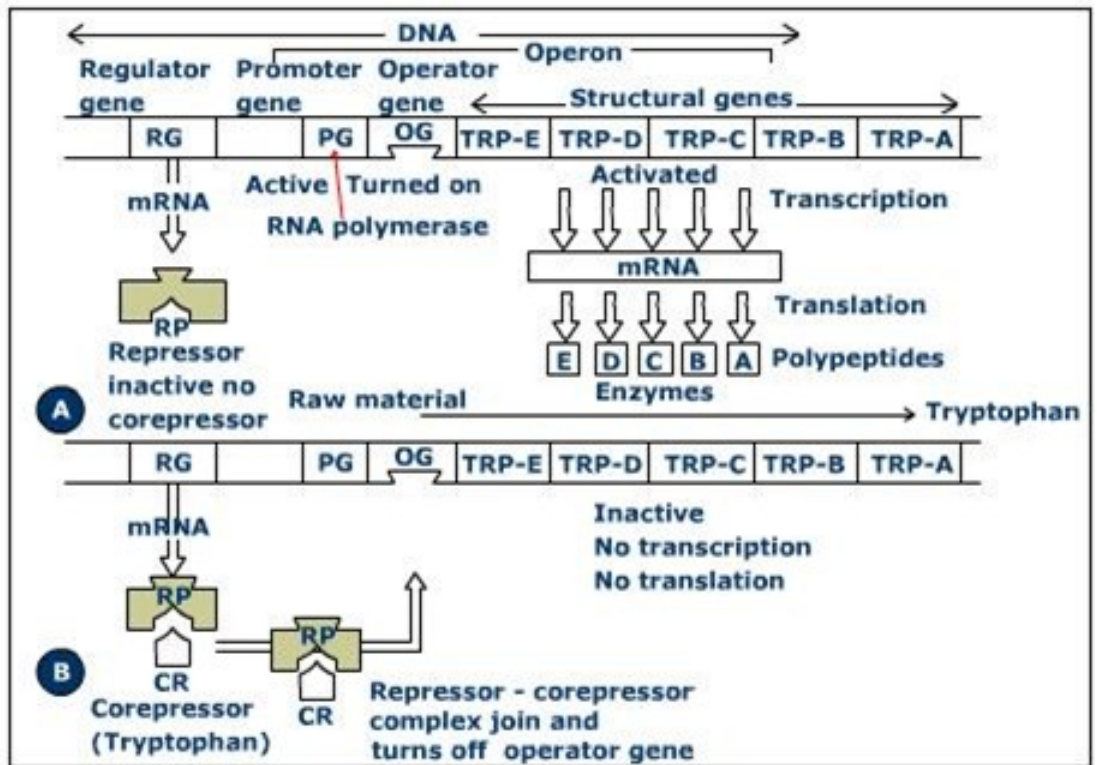
- Induktivní mechanismus
  - Aktivní represor inaktivován induktorem





# Regulace proteosyntézy

- Represivní mechanismus
  - Inaktivní represor aktivován ko-represorem



Represe syntézy  
Try

# Regulace proteosyntézy

<b>Indukce</b>	<b>Represe</b>
Zapíná operon	Vypíná operon
Umožňuje transkripci a translaci	Znemožňuje transkripci a translaci
Působí ji metabolit vhodný jako substrát, indukuje se syntéza enzymů (+ ev. další bílkovin) nutných pro jeho využití	Působí ji syntetizovaný metabolit v nadbytku, reprimují se enzymy (+ ev. další bílkoviny) nutné pro jeho syntézu
Typické pro katabolické procesy	Typické pro anabolické procesy – trvalé – ztráta schopnosti syntézy (vitaminy?)
Vazba induktoru na represor znemožní vazbu na operátor	Vazba korepresoru na aporepresor umožní vazbu na operátor

## Katabolická represe

Dobry substrát (glukosa) reprimuje syntézu enzymů pro využití jiných substrátů, i když jsou přítomny (laktosa) – zahrnuje další mechanismy – transportní bílkoviny.

# Proteosyntéza

- Srovnání proteosyntézy pro- a eukaryontů
  - struktura chromosomů
  - organisace genů (introny u eukaryontů),
  - alelisace
  - odlišnosti v proteosyntetickém aparátu – využití pro terapii

# Proteosyntéza

- Zásah inhibitorů do procesů přenosu genetické informace
- Replikace a transkripce
  - antimetabolity inhibující synt. nukleotidů (methotrexat)
  - DNA (cisplatina), etidiumbromid,
  - spec. eukaryotní – faloidin, amanitin (inhibice RNA polymerázy)
  - spec. prokaryotní – rifampicin, aktinomycin D
- Translace
  - u prokaryotů
    - tetracykliny (obsazení místa A na ribosomech),
    - chloramfenikol (inhibice peptidyltransferázové reakce),
    - streptomycin (vazba na 30S podjednotku)
  - eukaryoti
    - cykloheximid (inhibice peptidyltransferázové reakce)
    - toxiny *C. diphtheriae*, *Ps. aeruginosa* (ADPribosilace eIF2)
    - ricin – inaktivace ribosomů – vazba podjednotek

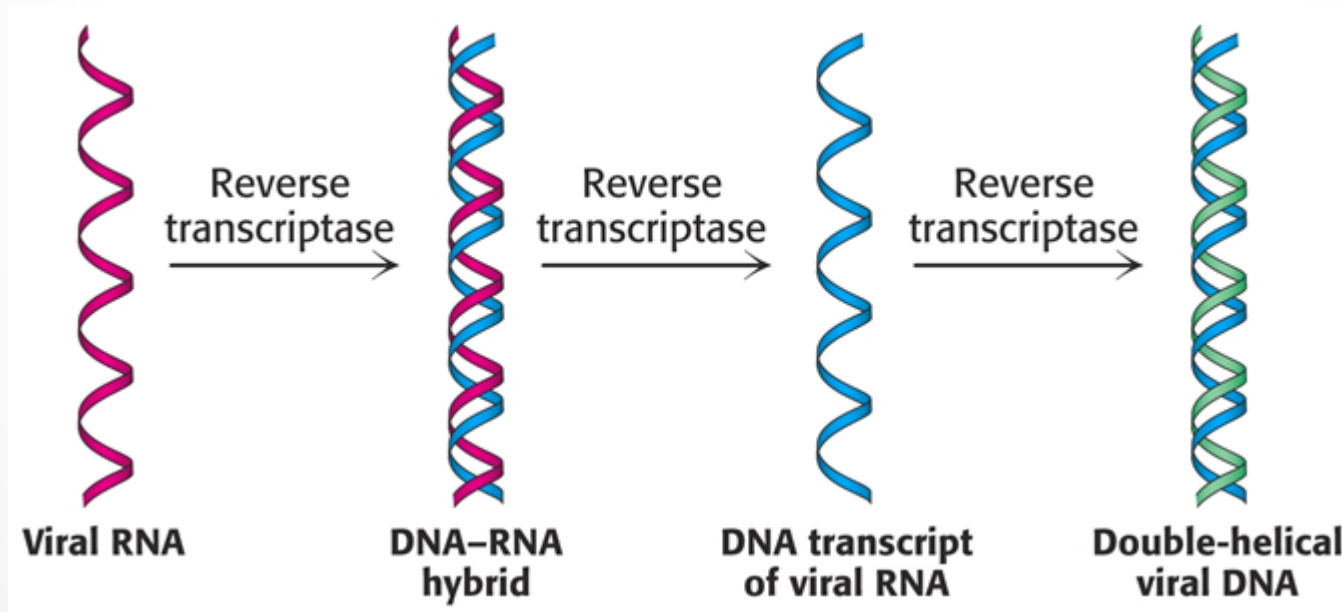
# Proteosyntéza

Organely a jejich genetický aparát - mitochondrie a chloroplasty

- Organismace a vlastnosti odpovídají prokaryontům
- Většina genů kodujících jejich bílkoviny je součástí jaderného genomu
  - Transport bílkovin z cytoplasmy do organel
  - Páry alel
- Mitochondriální genom
  - Genetické studie, mateřská linie
- Mitochondriální choroby
  - Poškození ROS
  - 1 alela

# Proteosyntéza

- Viry – jen genetický materiál
  - DNA nebo RNA – exprese hostitelskou buňkou
- RNA-viry (např. HIV aj. retroviry)
  - reversní transkriptáza – syntéza DNA podle RNA



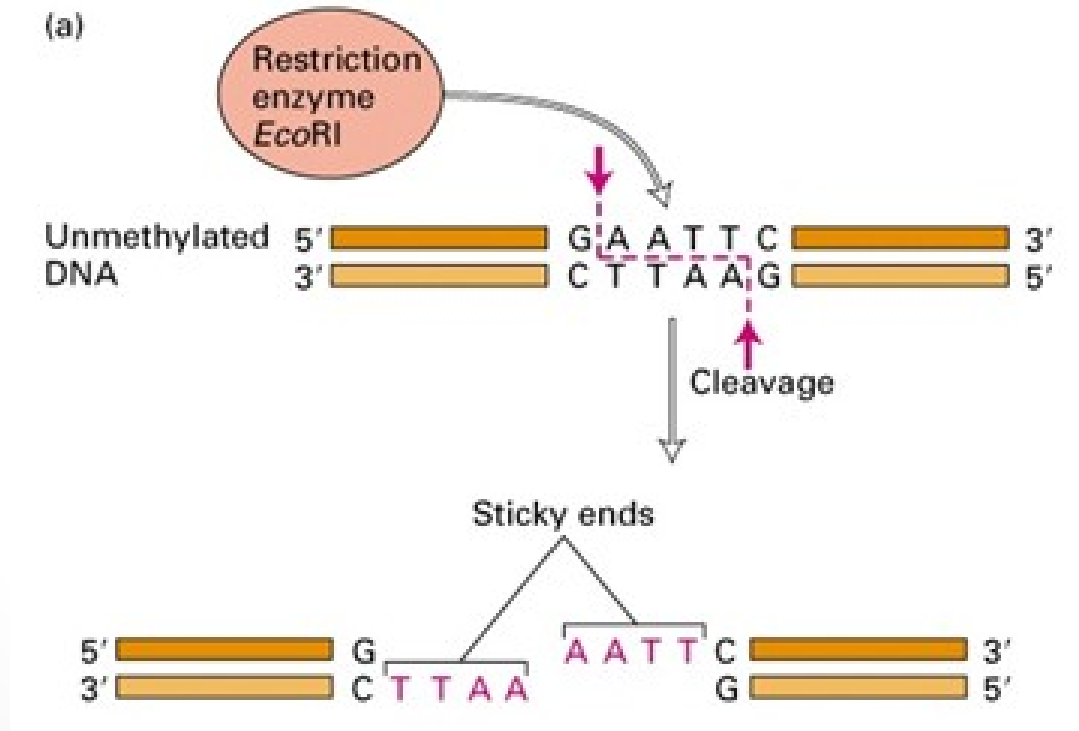
Cílové místo inhibice, biotechnologické využití - cDNA

# Genové manipulace

- Základní principy
  - Příprava genu – izolace, syntéza (modifikované)
    - Viz syntézy genů
  - Úprava konců
  - Gen se inkorporuje do nosiče – vektoru (analogie se strategií virů)
  - Vnesení do hostitelské buňky
  - Exprese
- Využití restričních endonukleáz
  - Palindromové sekvence – specifické místo hydrolýzy
- - reversních transkriptáz
  - Vyřeší problém intronů
  - Umožní syntézu cDNA i bez genu – z mRNA

# Genové manipulace

- Využití restričních endonukleáz (palindromové sekvence)





# Genové manipulace

- Vložení štěpu

- Vektor
- Cílový organizmus
- Manipulace s vlastními geny (pod jiný promotor)
- Problémy GMO
- Využití
  - Terapie – inzulin
  - Růst
  - Odolnost – kukuřice
  - Další

