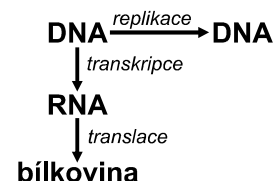


GENETIKA 1 – Molekulární a buněčná genetika

Molekulární genetika

Základní dogma molekulární biologie

Základním nosičem genetické informace je molekula **DNA**. Tato molekula se může **replikovat** (kopírovat). Informace v uložené se mohou přenášet **transkripční** (přepisem) do molekuly **RNA**. Jestliže informace z molekuly RNA projdou **translací** ("překladem"), vznikne podle nich molekula **bílkoviny**.
(Tuto zásadní poučku formulovali James Watson & Francis Crick v 50. letech 20. stol.)



DNA = deoxyribonukleová kyselina

DNA je vláknitá makromolekula tvořená následujícími složkami:

deoxyribóza: pětiuhlíkatý monosacharid (pentóza)

kyselina fosforečná (fosfát = PO_4^{3-}): spojuje molekuly sacharidu do řetězce

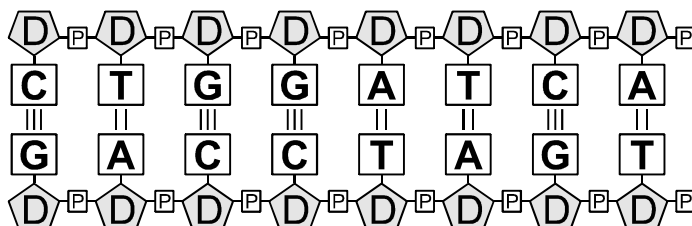
dusíkaté báze: tvoří vlastní "písmena" genetického kódu, jsou čtyři:

purinové báze: adenin (A), guanin (G)

pyrimidinové báze: cytozin (C), thymin (T)

nukleotid = deoxyribóza + báze (A, C, G nebo T) + fosfát, základní stavební kámen molekuly DNA

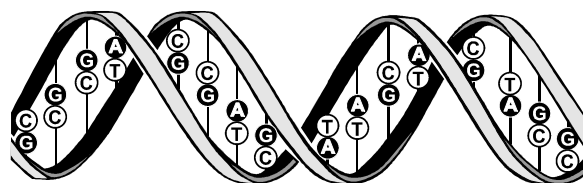
Dusíkaté báze mohou být v libovolném počtu a pořadí, což umožňuje prakticky nekonečné množství kombinací, tj. genetický kód je informace zapsaná "abecedou" obsahující čtyři písmena (A, C, G, T).



Celá molekula DNA je tvořena **dvěma vlákny** spojenými v místech bází pomocí **vodíkových můstků** (vodíkových vazeb) podle jednotného pravidla – tzv. principu **komplementarity**:

A = T (2 vodíkové můstky), **C ≡ G** (3 vodíkové můstky)

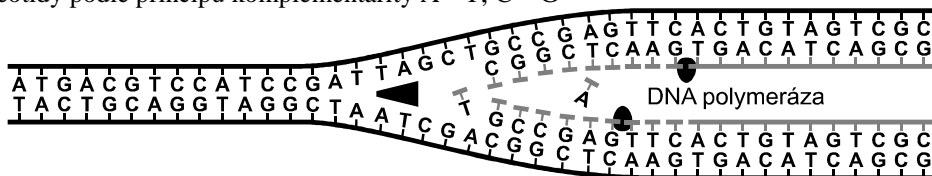
Princip komplementarity zaručuje, že pořadí bází v jednom vláknu přesně určuje pořadí bází v druhém vláknu (a naopak), tj. jedno vlákno je negativním "otiskem" druhého. Obě vlákna jsou prostorově uspořádána do tvaru **dvojšroubovice**.



Replikace DNA (= kopírování DNA před buněčným dělením)

Před replikací DNA musí být v jádře přítomné množství volných nukleotidů všech typů (A, C, G, T).

- rozpojení obou vláken (v místě vodíkových můstků) enzymem
- na obě obnažená vlákna nasedají volné nukleotidy podle principu komplementarity $A = T, C \equiv G$
- nově připojené nukleotidy jsou spojovány enzymem **DNA-polymerázou** a tím vzniknou dvě identické kopie DNA (v každé z nich je vždy jedno vlákno původní a jedno nově vytvořené)



U **prokaryot** probíhá replikace vždy z jednoho místa. U **eukaryot** dochází k replikaci z více míst (tzv. replikonů) současně (cca 1000 míst v každé molekule), čímž se replikace mnohonásobně urychlí. Např. replikace DNA v lidské buňce trvá přibližně 8 hodin.

RNA = ribonukleová kyselina

RNA je makromolekula stavbou podobná molekule DNA. Obsahuje:

ribóza: pětiuhlíkatý monosacharid (pentóza)

kyselina fosforečná (fosfát = PO_4^{3-}): spojuje molekuly sacharidu do řetězce

dusíkaté báze: purinové: adenin (A), guanin (G)

pyrimidinové: cytozin (C), **uracil (U)**

RNA je vždy tvořena **pouze jedním vláknem**. Od DNA se liší typem cukru (ribóza) a jednou dusíkatou bází (místo thyminu je uracil). Vzniká **transkripční** (přepisem) z DNA:

- vlákna DNA se rozpojí, na jedno vlákno DNA nasedají nukleotidy RNA podle principu komplementarity $A = U, C \equiv G$
 - nukleotidy RNA jsou spojovány enzymem **RNA-polymerázou** a tím vznikne molekula RNA a vlákna DNA se opět spojí
- Podle účelu se rozlišují tři hlavní typy RNA:

mRNA (mediátorová RNA, "messenger RNA")

Nejvíce zastoupena, slouží jako "pracovní kopie" genetické informace, **nese informace o stavbě bílkovin z jádra do ribozomu**

U eukaryot je před transportem z jádra molekula RNA **sestříhána** – jsou z ní vystřiženy nepotřebné (nesmyslné?) úseky, tzv. **introny** (zůstanou v jádře) a zbylé úseky, tzv. **exony** jsou spojeny do molekuly mRNA a opouštějí jádro. Příčina tohoto jevu, při kterém bývá vystřiženo 80-95% molekuly, není dosud zcela objasněna (zřejmě se jedná o balastní části genetické informace, které se v DNA nahromadily během evoluce).

tRNA (transferová RNA)

Je tvořena cca 80 nukleotidy, mnohé z nich jsou navzájem komplementární, takže molekula vytváří smyčky (struktura "jetelového listu"). Na jedné ze smyček je zvláštní trojice bází – **antikodon**. Na jeden konec molekuly se může navázat jedna z 20 aminokyselin, vždy tak, aby odpovídala danému antikodonu. Základní funkcí tRNA je **přenos aminokyselin při translaci**.

rRNA (ribosomální RNA)

Tvoří přibližně polovinu hmoty **ribosomů** (zbytek tvoří bílkoviny), vzniká v jádru.

Translace

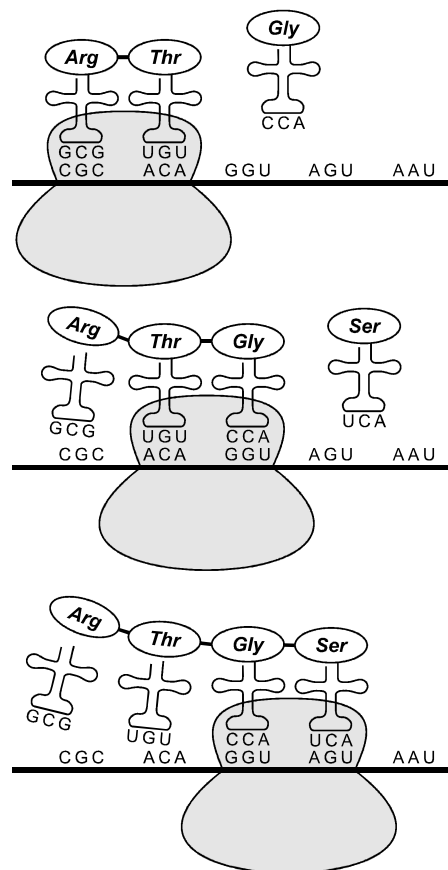
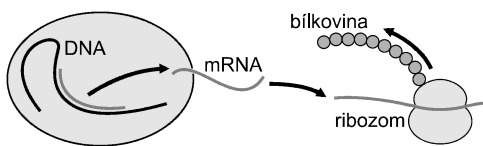
Translace je **překlad genetické informace do struktury bílkovin**. Struktura bílkoviny je jednoznačně určena pořadím aminokyselin, proto stačí, aby v genetické informaci bylo zakódováno pořadí aminokyselin, a tím je jednoznačně určen typ bílkoviny.

Pořadí aminokyselin v bílkovině je dáno pořadím dusíkatých bází v molekule DNA (resp. v její kopii – mRNA). Aby genetická informace jednoznačně kódovala dvacet různých druhů aminokyselin, musí být každé "slovo" tvořeno **třemi** "písmeny". Tyto základní trojice (triplety) bází na mRNA se nazývají **kodony**. Každý kodon určuje zařazení jedné aminokyseliny do řetězce. Vzhledem k tomu, že počet různých kodonů ($4^3 = 64$) je větší než počet typů aminokyselin (20), je logické, že některé aminokyseliny jsou kódovány několika (až šesti) různými kodony. Některé kodony v molekule mRNA určují hranice mezi jednotlivými molekulami bílkovin – nazývají se **iniciační** ("start") a **terminační** ("stop").

Průběh proteosyntézy

1. Ribozom nasedne na molekulu mRNA, "přečte" první trojici bází (první kodon) a ze svého okolí přitáhne molekulu tRNA s komplementárním antikodonem.
2. Posune se, přečte další kodon a přitáhne další molekulu tRNA. Tím se dvě aminokyseliny nesené molekulami tRNA dostanou do vazebné blízkosti a spojí se (vznikne mezi nimi peptidická vazba).
3. Ribozom se posune o další triplet, "první" molekula tRNA se uvolní (bez aminokyseliny), "druhá" tRNA zůstává v ribozomu a vedle ní nasedá další tRNA s aminokyselinou – vzniká další peptidická vazba. Celý proces se stále opakuje tak dlouho, dokud se na mRNA neobjeví jeden z terminačních kodonů – pak se peptidický řetězec ukončí a uvolní se molekula bílkoviny.

Translace probíhá průměrnou rychlostí 15 kodonů za sekundu, tj. průměrná molekula bílkoviny (obsahující cca 300 aminokyselin) vznikne přibližně za 20 sekund. Na jedné molekule mRNA může současně "pracovat" mnoho ribosomů naráz.



Tabulka genetického kódu, kde je uvedeno, jakou aminokyselinu určitý kodon kóduje.

(Není určeno k zapamatování.)

		2. báze			
		U	C	A	G
1. báze	U	UUU fenylalanin	UCU serin	UAU tyrosin	UGU cystein
		UUC fenylalanin	UCC serin	UAC tyrosin	UGC cystein
		UUA leucin	UCA serin	UAA Stop	UGA Stop
		UUG leucin	UCG serin	UAG Stop	UGG tryptofan
	C	CUU leucin	CCU prolin	CAU histidin	CGU arginin
		CUC leucin	CCC prolin	CAC histidin	CGC arginin
		CUA leucin	CCA prolin	CAA glutamin	CGA arginin
		CUG leucin	CCG prolin	CAG glutamin	CGG arginin
	A	AUU isoleucin	ACU threonin	AAU asparagin	AGU serin
		AUC isoleucin	ACC threonin	AAC asparagin	AGC serin
		AUA isoleucin	ACA threonin	AAA lysin	AGA arginin
		AUG methionin, Start	ACG threonin	AAG lysin	AGG arginin
G	GUU valin	GCU alanin	GAU kys. asparagová	GGU glycin	
	GUC valin	GCC alanin	GAC kys. asparagová	GGC glycin	
	GUA valin	GCA alanin	GAA kys. glutamová	GGA glycin	
	GUG valin	GCG alanin	GAG kys. glutamová	GGG glycin	

Typy genů

Gen je úsek molekuly DNA kódující určitou informaci.

strukturní gen: kóduje syntézu jedné molekuly bílkoviny, přepisuje se do molekuly mRNA (průměrná délka 1000 nukleotidů)

gen pro RNA: kóduje jiné typy RNA než mRNA (tj. tRNA a rRNA)

regulační gen: nekóduje žádnou molekulu; nese informaci o tom, za jakých podmínek se budou přepisovat následující geny; tyto geny se významně podílejí na diferenciaci buněk (u diferenciované buňky je díky regulačním genům zablokována většina genetické informace kromě té, kterou buňka "potřebuje" pro svou specifickou funkci)

Buněčná genetika

Genetika prokaryotické buňky

nukleoid ("jádro"): jedna kruhová molekula DNA, dlouhá cca 1–2 mm, obsahuje cca 3–4 miliony nukleotidů (tj. cca 3–4 tis. genů).

Každý gen se vyskytuje jen jednou (nemá "kopie"), a proto genetická informace prokaryot snadno podléhá mutacím.

plazmidy: mimojaderné malé kruhové molekuly DNA, tvořeny řádově stovkami až desetitisíci nukleotidů

Buňka je získává buď pozřením (volné DNA z okolí, virové částice s DNA nebo jiné bakterie), anebo **konjugací** = výměnou plazmidů s jinou bakterií (pomocí speciálních fimbrií). Plazmidy nesou pomocnou informaci (která není životně nezbytná), většinou umožňující přežití v netypických podmínkách (např. plazmidy pro anaerobní metabolismus, pro rezistenci vůči antibiotikům ap.). Cílené vpravení předem připravených plazmidů je nejčastější metodou **genového inženýrství**.

Genetika eukaryotické buňky

chromozom = jedna molekula DNA (v jádře) s pomocnými molekulami bílkovin (histony)

karyotyp = soubor všech chromozomů jádra

genom = soubor všech genů buňky (v užším slova smyslu soubor všech genů v jádře)

genotyp = soubor všech genů organismu

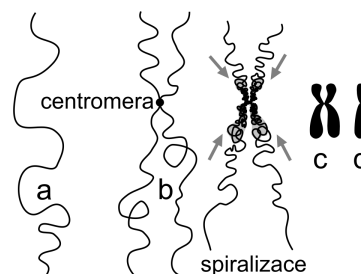
genofond = soubor všech genů sledované populace (např. genofond smrků na Šumavě, genofond lidstva na Zemi ap.)

Tvar chromozomu:

jedna molekula (a): délka řádově v centimetrech, v buňce se vyskytuje v G_1 a G_0 fázi buněčného cyklu

dvě vlákna (b): dvě molekuly spojené v jednom místě (**centromera**), vyskytuje se v S a G_2 fázi

mitotický chromozom (c): zdvojený **spiralizovaný** chromozom (vlákna naskládaná do smyček kvůli lepšímu transportu), v průběhu dělení se tento chromozom rozdělí na dvě identické kopie obsahující jen jednu molekulu DNA (d)



Karyotyp

haploidní sada (n): každý chromozom je v jádře přítomen jen jednou, u živočichů se vyskytuje jen v gametách, u člověka $n = 23$

diploidní sada (2n): vzniká splynutím dvou haploidních jader. Každý chromozom je obsažen ve dvou "kopiích" (tzv. **homologické chromozomy**). Oba chromozomy na stejných místech (nazývaných **lokusy**) nesou stejné typy genů.

Mitóza

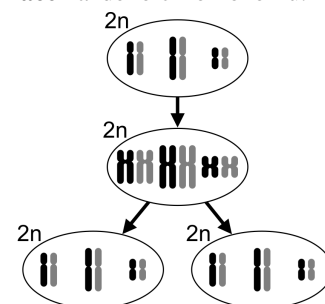
Mitóza je jaderné dělení, při kterém z jednoho standardního diploidního jádra vzniknou dvě diploidní jádra s totožnou genetickou informací. Podmínkou mitózy je dostatečné množství energie a živin v buňce a také **předcházející replikace** každého chromozomu.

profáze: zaniká jaderná membrána a jadérko, zdvojené chromozomy se spiralizují, vzniká dělicí vřeténko (= síť mikrotubulů, u živočišných buněk se vytváří rozchodem centriolů)

metafáze: chromozomy nasedají na vlákna dělicího vřeténka a poté se obě kopie (až dosud spojené v centromeře) oddělí

anafáze: vlákna vřeténka se zkracují, a tím jsou chromozomy přitahovány k opačným pólům

telofáze: rozpadají se zbytky vřeténka, obnovuje se jaderná membrána a jadérko, chromozomy se despiralizují; tím vzniknou dvě nová jádra. Koncem telofáze většinou dochází také k **cytokinezi** – oddělí se cytoplazma (u živočišných buněk zaškrcením, u rostlinných buněk vytvořením dělicí přepážky) a vzniknou dvě samostatné buňky.



Buněčný (generační) cyklus

= cyklus u opakovaně se dělících buněk (např. buněk embrya) od jednoho dělení ke druhému. Celý cyklus u eukaryotických buněk trvá *přibližně* jeden den a má čtyři fáze označované G₁, S, G₂ a M. Alternativou cyklu je přechod do tzv. G₀ fáze.

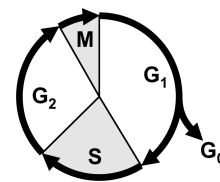
G₁ fáze (cca 40 % délky cyklu): růst buňky po dělení, syntéza důležitých látek, v průběhu cyklu se vyskytuje okamžik – tzv. kontrolní uzel, kdy se rozhoduje o dalším průběhu (zda se cyklus zastaví a buňka přejde do G₀ fáze, nebo zda bude pokračovat)

S fáze (cca 30 %): syntéza (replikace) DNA před dalším dělením

G₂ fáze (cca 20 %): syntéza látek potřebných pro dělení (materiál dělicího vřeténka ap.)

M fáze (cca 10 %): mitóza, cca 5 % generační doby

G₀ fáze: na základě impulsu v kontrolním uzlu buňka zastaví dělení a **diferencuje se**, u některých buněk je tato fáze nevratná.



Meióza (redukční dělení)

Při meióze z jedné diploidní buňky vznikají 4 haploidní, uplatňuje se především při tvorbě **gamet**.

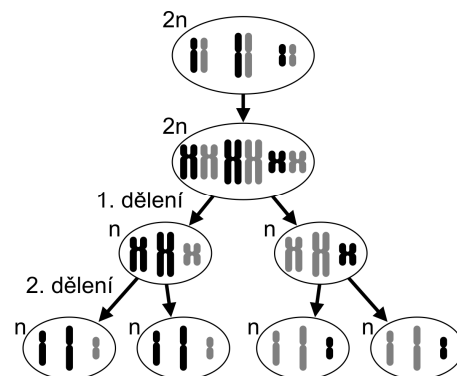
1. meiotické (heterotypické) dělení

1. profáze: chromozomy se částečně spiralizují, homologní páry chromozomů se spojí do dvojic (v centromere i v jiných místech – chiasmata)

1. metafáze: zanikne jaderná membrána, vznikne dělicí vřeténko, páry chromozomů nasednou na vlákna vřeténka a dvojice se oddělí

1. anafáze: každý z dvojice homologických chromozomů putuje k opačnému pólu vřeténka; přitom je zcela náhodné (pravděpodobnost 50%), který z dvojice putuje k jednomu pólu a který ke druhému = princip **náhodné segregace**

1. telofáze: obnoví se jaderné membrány, zanikne dělicí vřeténko, chromozomy se mohou despiralizovat a obě buňky (každá s haploidním jádrem) se oddělí.



2. meiotické (homeotypické) dělení

V každé z obou buněk proběhnou stejné děje jako při "obyčejné" mitóze, tj. **2. profáze**, **2. metafáze**, **2. anafáze** a **2. telofáze**.

Výchozí zdvojené chromozomy však netvoří diploidní sadu, ale haploidní, takže vzniknou 4 haploidní buňky (s jednoduchými = nezdvojenými chromozomy).

Důsledky meiózy

Vzniklé haploidní buňky se od sebe liší kombinací "otcovských" a "mateřských" chromozomů; organismus s diploidní sadou **n** může vytvářet **2ⁿ typů gamet** s různými kombinacemi chromozomů (člověk 2²³ = 8 388 608 různých kombinací).

Crossing-over

Jev, ke kterému dochází v 1. profázi meiózy, kdy jsou dvojice homologických chromozomů spojeny; části dvou chromozomů se překryjí a dojde k výměně homologických úseků (nastává u cca 10 % chromozomů).

Výsledkem jsou chromozomy se vzájemně vyměněnými formami genů, takže v konečném důsledku se při každém crossing-overu dvakrát zvýší počet možných kombinací genů v pohlavních buňkách.

(Například organismus s $n = 3$ nyní nevytváří jen 8, ale 16 různých typů gamet).



Mimojaderná dědičnost

Mitochondrie a chloroplasty mají **vlastní DNA** (kruhové molekuly, stavbou i velikostí velmi podobné DNA bakterií) a díky tomu se množí nezávisle na jádru buňky, jsou relativně samostatné, tzv. **semiautonorní**.

Objev DNA bakteriálního typu v mitochondriích a chloroplastech vedl k formulaci **endosymbiotické teorie** vzniku eukaryotických buněk: Eukaryotické buňky vznikly vnitřní symbiózou (endosymbiózou) mnoha původně samostatných prokaryotických buněk v jedné společné větší buňce.