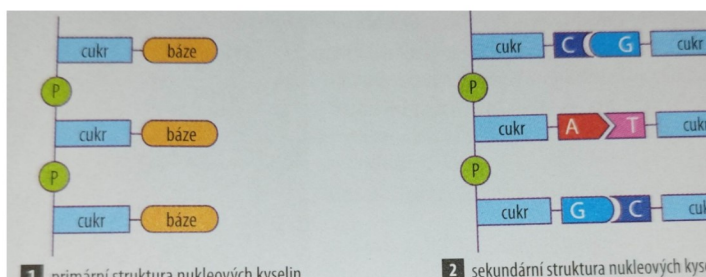


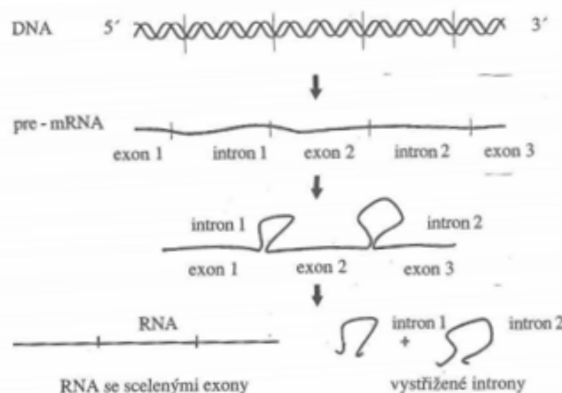
2. Otázka 25. – Molekulární základy dědičnosti a genetika buňky

- Základní pojmy
 - Kyselina deoxyribonukleová DNA – v jádrech všech eukaryotických buněk, základní genetický materiál, uchovává genetickou informaci
 - Kyselina ribonukleová RNA – zajišťuje přenos genetické informace z DNA do struktury bílkovin
 - M-RNA – mediátorová RNA – osahuje přepis informací z DNA o primární struktuře bílkovinné molekuly
 - R-RNA – ribozomová RNA – součást ribozomů v nichž probíhá proteosyntéza
 - T-RNA – transferová RNA – přenáší aminokyseliny u cytoplazmy na místo syntézy bílkovin
- Primární struktura
 - Dána pořadím jednotlivých nukleotidů spojených v polynukleotidový řetězec, určuje genetickou informaci organismu
- Sekundární struktura
 - Dána prostorovým uspořádáním polynukleotidového řetězce
- 1943 - DNA je substrátem dědičnosti – Avery, MacLeod, McCarty
- 1953 - Watson, Crick, Frankliová, 1. Gosling



- Objev molekulární struktury DNA
- DNA je univerzální nosič genetických informací, výjimkou jsou RNA viry
- Genetická informace je zpráva zapsaná v DNA či v RNA
 - Umožňuje buňce a organismu realizaci určitého znaku v konkrétní formě nebo konkrétním stupni (replikace, translace, transkripce)
- Genetický kód
 - Každá genetická informace je v primární struktuře molekuly nukleové kyseliny zapsána podle biologicky univerzálního klíče
- V průběhu každého buněčného cyklu se DNA zdvojuje (=replikuje) - do dceřiných buněk se přenášejí nezměněné genetické informace buňky mateřské = mitóza
- Je zajištěn i přenos genetických informací z generace na generaci organismů – haploidní sada chromozomů, která vzniká při meióze
- Gen
 - Úsek DNA vymezený funkcí, kterou 1.
 - 1. Strukturální geny – kódováním pr někdy pre-mRNA (prekurzorová m
 - 2. Geny pro RNA – kódováním prin
 - 3. Regulační geny – řídí expresi DN

- V genomech nemá značná část DNA genov genů - introny
- Exony – kódující sekvence genů
- Strukturální gen je přepsán do primární formy (=transkripce) RNA jako celek – hnRNA- posttranskripční úpravy- introny jsou vystřiženy – sestřih



43. Sestřih (splicing) eukaryotní pre-mRNA – přímého transkriptu kódujících též DNA neboli vystřihání intronů a scelení exonů. Transkripci provádí RN polymerasa

Stavba nukleových kyselin

- Nukleotid – základní stavební jednotka (báze+ cukr+ fosfát)
 - Fosfátový zbytek - 5 konec, skupina OH- 3 konec
 - Cukr – ribóza (RNA) a deoxyribóza (DNA)

- Zbytek H₃PO₄
- Dusíkaté báze
 - Purinové (adenin, guanin)
 - Pyrimidinové (cytosin, thymin a uracil)
 - Purinová báze se váže s pyrimidinovou
 - Komplementarita bází
 - Guanin + cytosin (3 vodíkové můstky)
 - Adenin + thymin (2 vodíkové můstky)
 - V RNA je místo thyminu uracil
- DNA – deoxyribóza
 - Zbytek H₃PO₄, báze ATCG, 2 polynukleotidové řetězce
 - Tvar dvoušroubovice
- RNA – ribóza
 - Zbytek H₃PO₄, báze AUCG, 1 polynukleotidový řetězec
 - Dělí se na mRNA, tRNA a rRNA

Realizace genetické informace (exprese genu)

- Replikace – syntéza DNA
- Transkripce – syntéza RNA
- Translace – syntéza bílkovin
- Replikace
 - Má několik fází
 - 1. Enzym helikáza oddaluje dvě části DNA od sebe
 - 2. Komplementarita bází – syntéza druhého řetězce, je třeba původní DNA (=matrice), ATP, enzymy a nukleotidy, vedoucí a váznoucí řetězec
 - Ve vedoucím řetězci nejsou žádné problémy, syntéza probíhá rychle, ve váznoucím řetězci se DNA musí syntetizovat pozpátku, nesyntetizuje se celek ale jenom části, které se potom spojí – Okazakiho fragmenty
- Transkripce
 - Zapotřebí je DNA, enzymy, ATP
 - DNA se od sebe oddálí jen částečně, na základě komplementarity se zase tvoří dvojice, vzniká pre-mRNA z toho exony (dělají funkční RNA 1. exony se při tom spojují)
- Translace
 - Probíhá na ribozomech, potřeba je exor
- Operon – souvislé úseky DNA, ve kterých jsou
 - Promotor (zahájení transkripce)
 - Operační gen (=operátor, vážou se zde i
 - Strukturální geny
- Celá transkripce je řízena regulačním genem, nejsou součástí operonu (represor X induktor)
- Represor – utlumí, neproběhne transkripce, induktor- proběhne transkripce

		2. báze				
		U	C	A	G	
1. báze (5' konec)	U	Phe ^{UUU}	Ser ^{UCU}	Tyr ^{UAU}	Cys ^{UGU}	U
		Phe ^{UUC}	Ser ^{UCC}	Tyr ^{UAC}	Cys ^{UGC}	C
		Leu ^{UUA}	Ser ^{UCA}	Stop ^{UAA}	Stop ^{UGA}	A
		Leu ^{UUG}	Ser ^{UCG}	Stop ^{UAG}	Trp ^{UGG}	G
C	Leu ^{CUU}	Pro ^{CCU}	His ^{CAU}	Arg ^{CGU}	U	
	Leu ^{CUC}	Pro ^{CCC}	His ^{CAC}	Arg ^{CGC}	C	
	Leu ^{CUA}	Pro ^{CCA}	Gln ^{CAA}	Arg ^{CGA}	A	
	Leu ^{CUG}	Pro ^{CCG}	Gln ^{CAG}	Arg ^{CGG}	G	
A	Ile ^{AUU}	Thr ^{ACU}	Asn ^{AAU}	Ser ^{AGU}	U	
	Ile ^{AUC}	Thr ^{ACC}	Asn ^{AAC}	Ser ^{AGC}	C	
	Ile ^{AUA}	Thr ^{ACA}	Lys ^{AAA}	Arg ^{AGA}	A	
	Met ^{AUG}	Thr ^{ACG}	Lys ^{AAG}	Arg ^{AGG}	G	
G	Val ^{GUU}	Ala ^{GCU}	Asp ^{GAU}	Gly ^{GGU}	U	
	Val ^{GUC}	Ala ^{GCC}	Asp ^{GAC}	Gly ^{GGC}	C	
	Val ^{GUA}	Ala ^{GCA}	Glu ^{GAA}	Gly ^{GGA}	A	
	Val ^{GUG}	Ala ^{GCG}	Glu ^{GAG}	Gly ^{GGG}	G	

Diagnostika DNA

- Soubor molekulárněbiologických metod
 - Slouží k identifikaci chorob na úrovni DNA
- Hybridizace
 - Hybridizační metody – identifikace částí genomu pomocí uměle připravených úseků DNA se známou sekvencí – sonda
 - Naváže se a v DNA se zjistí porucha (sonda musí být označená – barvivem nebo radioaktivním zářením), pokud se nenaváže (nenajde komplementární DNA) - v DNA není porucha
- Užítí hybridizace

- V klinické diagnostice (výskyt hybridizačního signálu je důkazem přítomnosti škodlivé sekvence – lze prokázat ztrátu sekvence nebo namnožení genů)
- Vyšetření některých infekčních nemocí – hlavně virové – sonda má sekvence virových nukleových kyselin
- Dříve se k hybridizaci používali vzorky čisté DNA, dnes jenom chromozomy/jádra buněk – probíhá přímo v biologickém materiálu – metoda ISH nebo FISH
- Množení DNA – metoda PCR – polymerázová řetězová reakce,
 - Využití – diagnostika genetických chorob, vyšetření infekčních onemocnění, kriminalistika nebo i diagnostiku COVIDu

Mutace

- Mutace – změna v DNA
 - Změny náhodné, nekódované, neprogramované
 - Vznikají spontánně s určitou statistickou pravděpodobností
 - Zpravidla jde o změny trvalé
 - Postihnou-li gametu nebo jsou do ní přeneseny dělením, jsou přenosné na další generace
- Klasifikace mutací
 - Podle zasažené části buněčného genomu
 - Mutace DNA jaderné a mimojaderné
 - Podle typu zasažených buněk
 - Somatické a gametické – mutované alely mohou být recesivní nebo dominantní
 - Podle zasažené úrovně genomu buňky
 - Genové – na úrovni genu – báze
 - Chromozomová – aberace – strukturní a numerická aberace
 - Podle stupně poškození postižené buňky
 - Vitální – buňka je v pořádku
 - Letální – smrt buňky
 - Mutace reverzní (zpětná)
 - Podle typu vzniku
 - Spontánní – příčinu nelze ovlivnit
 - Indukovaná (záměrně vyvolaná)
 - Mutagenní činitelé
 - Fyzikální – radiomutace – rentgenové, radioaktivní a ultrazvuk
 - Chemické – chemomutace – látky genotoxické – pro člověka asi 6é základních typů
 - 80 % mutagenů působí karcinogenně (nádorově)
- Genové mutace
 - Delece (ztráta), inserce (vlození), duplikace (zdvojení), substituce (záměna) báze, transpozice (vzájemná výměna v řetězci), inverze (vzájemná výměna mezi homologními řetězci)
 - Tyto mutace – dobové
 - Původně bodová změna vede k mutaci posunové
 - Mlčící mutace – bodová změna, která se u proteinu neprojeví – nemá vliv na jeho funkci
 - Podmíněné mutace – projeví se ve fenotypu jen za určitých podmínek (tepelně citlivé mutace)
 - Mutace protoogenu – geny, jejichž mutací vznikají onkogeny – před 20 u živočichů a člověka – regulace buněčného růstu
 - Cystická fibróza – delační mutace genu produkující protein CFTR

3.

Mutace na genové úrovni

MUTACE BEZ PROJEVU

5' ATG GGA GCT CTA TTA ACC TAA 3'
met gly ala leu leu thr stop

5' ATG GGA GCT CTA TTA ACC TAA 3'
met gly ala leu leu thr stop

MUTACE SE ZTRÁTOU SMYSLU

5' ATG GGA GCT CTA TTA ACC TAA 3'
met gly ala leu leu thr stop

5' ATG GGA GCT CTA TGA ACC TAA 3'
met gly ala leu stop

ZMĚNA JEDNÉ AMINOKYSELINY

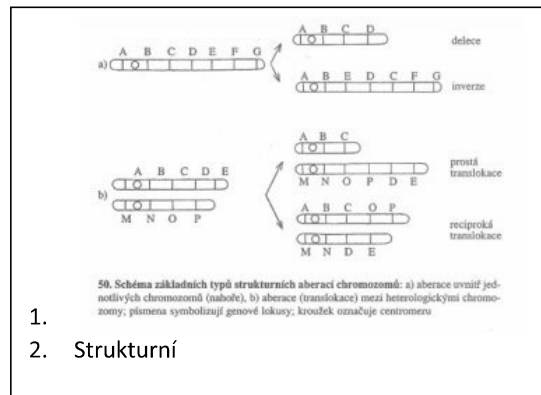
5' ATG GGA GCT CTA TTA ACC TAA 3'
met gly ala leu leu thr stop

5' ATG GGA GCT CTA TTT ACC TAA 3'
met gly ala leu phe thr stop

MUTACE S POSUNEM ORF

5' ATG GGA GCT CTA TTA ACC TAA 3'
met gly ala leu leu thr stop

5' ATG GGG AGC TCT ATT AAC CTA A 3'
met gly ser ser ile asn leu



- 1.
2. Strukturální

-

mutace

- Strukturální
 - Změna struktury chromozomu
 - Změna pořadí i počtu genů, jsou vyvolány zlomem chromozomu
 - Překážka pro normální průběh meiózy (až 6 % gamet)
- Numerické
 - Změna standardního počtu chromozomů v buňce
 - Polyploidie – znásoben počet úplných sad – triploidie – $3n$, tetraploidie – $4n$

Chromozomové

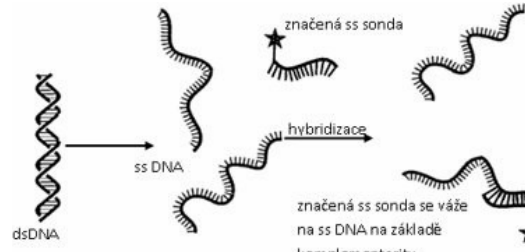
- Aneuploidie zvýšen (polyzomie) nebo snížen (hypoploidie) počet jen určitých chromozomů
- Trisomie 21. chromozomu (je tam 3x) -> Downův syndrom
- Chemické látky škodlivé
 - Alkylační činidla, silní oxidační činidla (peroxydy), deaminující činidla (dusitany), nitrosoučeniny, azobarviva
- Epigenetické mutageny
 - Narušují funkci enzymu nutné pro replikaci DNA – arsen, nikl, antibiotika (aktinomycin)
- Promutageny
 - Neaktivní, v buňkách musí na mutageny způsobující změnu metabolizovány – benzopyren, aflatoxiny plísní

4.

5. Genová diagnóza

• Sonda DNA – hybridizace

- Množina stejných kopií řetězce DNA, komplementárního k dané mutované genové sekvenci
- Sonda je označena radioaktivním izotopem, fluorescenční látkou nebo specifickou látkou (prokazatelnou chemickou reakcí) - DNA-čipy



• Přímé vyšetření nenukleotidové sekvence

- Náročnější metoda, možnost vyšetření všech genů, pro něž je známá sekvence standardní alely
- Prenatální genová diagnostika – aminocentéza (plodová voda)

• Rekombinace DNA

- Od počátku 70. let 20. století – nové molekulárně genetické metody – vznikla možnost záměrně konstruovat sestavy genů, které by nikdy nevznikly přirozenými procesy nebo mutacemi
- Možnost izolovat genovou DNA a *in vitro* (uměle, ve zkumavce) vázat s genovou DNA jiného původu -> rekombinantní molekula DNA
 - Vloží se do buněčného jádra příjemce = genové inženýrství

• Genové manipulace – nová éra biotechnologií

- Nové generace vakcín (proti žloutence typu B)
- Produkce čistých lidských hormonů bakteriemi a kvasinkami (inzulin, somatotropin)
- Produkce interferonů (proti virům a některých zhoubným nádorům)
- Výroba čistých chemických látek (AK, alkaloidy, steroidy)

• Transgenní rostliny a živočichové (GMO) - proti škůdcům a chorobám rostlin

• Genově „upravené“ bakterie – likvidace odpadních látek a škodlivin, získávání vzácných kovů u chudých rud

• Genová terapie – transgenóze funkčních alel do lidských buněk – kmenové buňky kostní dřeně, kožní buňky, buňky některých epitelů

• Úprava DNA – křížování – CRISPR – Cas9

- Z DNA se cíleně vystříhne zmutovaný úsek a vloží se nezmutovaný úsek na to místo

• Metody šlechtitelství

- Cílem je zlepšit kvalitu a výnos zemědělských odrůd rostlin a plemen živočichů
- Úprava fyziologických funkcí organismů – zásah do genotypu (úprava dědičná)
- Šlechtění rostlin – zvyšování výnosů
 - Agrotechnické úpravy podmínek kultivace – způsob pěstování, výživa, ochrana před škůdci
- Šlechtění nových odrůd – umělý výběr
 - Výběr jedinců vhodných z hlediska lidských zájmů
 - Metody
 - Propylitizací polyploidní buňky jsou většinou větší než standardní – pšenice, jetel, vinná réva, melou, řepa cukrová)
 - Haploidizace – získávání diploidních linií, které jsou homozygotní ve všech genech – prašnickové kultury (řepka olejka)

- Křížení rostlin – šlechtění školky (rostliny o známých genotypech), genové banky (sekvence DNA) - odrůdy je nutno při výrobě osiva sledovat udržovacím šlechtěním
 - Vegetativní rozmnožování – brambory, ovocné dřeviny – roubování
 - Heteroze – jev, kdy hybridní (heterozygoti) jsou větší a silnější, než rodiče (kukuřice, rajčata)
 - Vzdálení hybridizace – mezidruhové křížení – splývání somatických buněk v kulturách (Triticale)
 - Mutagenese – indukce zářením nebo chemickými látkami – mutace jsou obvykle recesivní – nutnost vypěstovat homozygotní generaci
- Plemenitba živočichů – omezené metody
 - Umělý výběr a křížení – plemenné chovné linie
 - Stabilizace genové výbavy (homozygoti v daném znaku), je nutné se vyvarovat příbuzenského šlechtění – vedlo by postupně inbrední depresi (projev homozygotní sestavy nepříznivých recesivních alel)
 - Umělá inseminace
 - Přenos embryí – od 70.let
 - Oplození geneticky vybrané krávy vybraným býkem a přenos jejího embrya do dělohy jiné krávy – může se rozdělit embryo až do stadia 8 buněk
- Klonování
 - Klasická metoda šlechtění rostlin – i vyšší rostliny lze snadno rozmnožovat nepohlavně
 - Vyšší živočichové – pohlavní rozmnožování – nová metoda
 - Vajíčko se zbaví haploidního jádra a do jeho cytoplazmy se přenesou jádra diploidní z tkáně nediferencovaných embryonálních buněk, nutnost nitroděložního vývinu
 - 1997 - ovce Dolly – jádro ze somatické tkáňové buňky dospělé ovce