

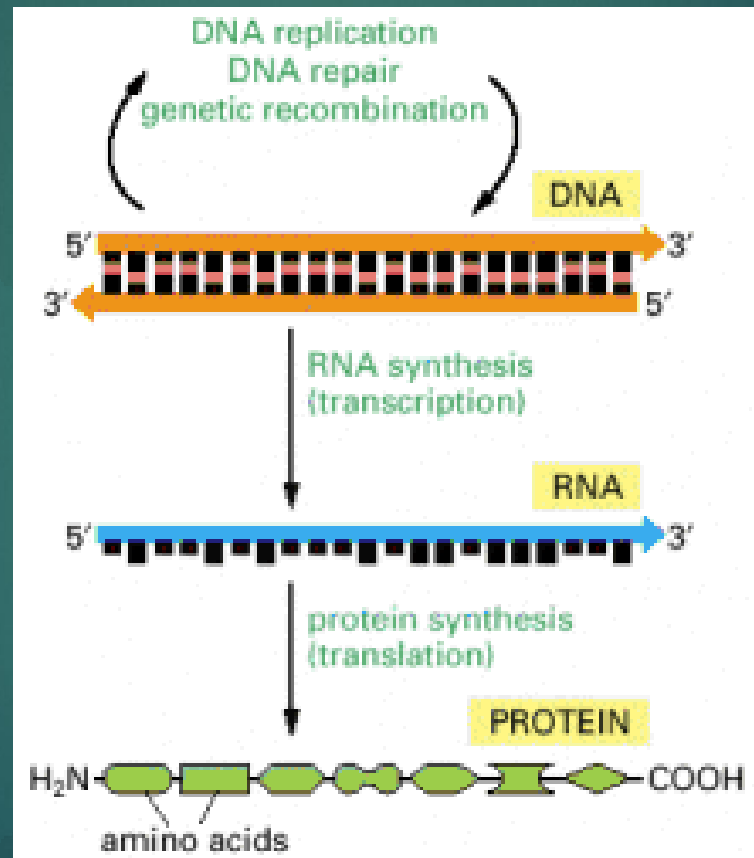
Exprese genu

RNDR. MICHAELA KLEMENTOVÁ; 2017/2

.....JE VYJÁDŘENÍ INFORMACE OBSAŽENÉ
V GENU (DNA) DO BÍLKOVINNÉ STRUKTURY

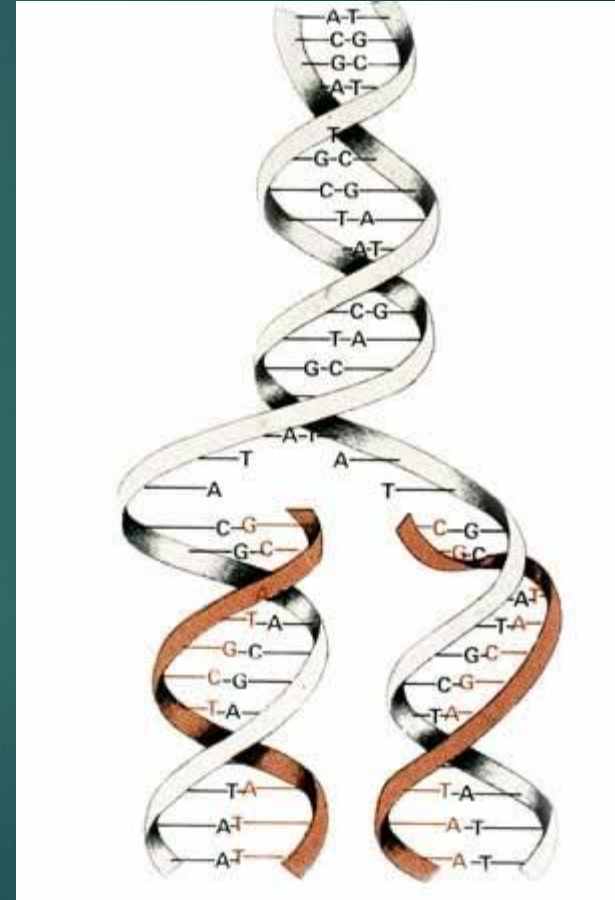
Centrální dogma molekulární biologie

Přenos genetické informace v živých organismech vždy
DNA → RNA → protein



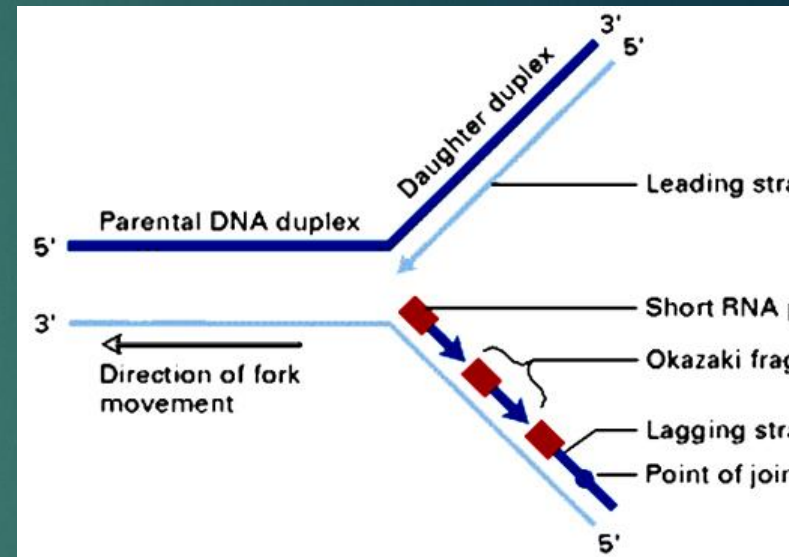
Replikace

- ▶ = zdvojení DNA
- ▶ je proces tvorby kopií molekuly DNA, čímž se genetická informace přenáší z jedné molekuly DNA (templát, matrice) do jiné molekuly stejného typu (tzv. replika)
- ▶ celý proces je **semikonzervativní**, tzn. každá nově vzniklá molekula DNA má jeden řetězec z původní molekuly a jeden nový, syntetizovaný



Replikace

- ▶ Celý proces probíhá **semidiskontinuálně** – vedoucí řetězec se syntetizuje kontinuálně, váznoucí řetězec se syntetizuje diskontinuálně – Okazakiho fragmenty
- ▶ dochází k řazení nukleotidů jeden za druhým, a to podle vzorové původní molekuly DNA
- ▶ výsledkem tohoto řazení nukleotidů je nakonec kompletní DNA daného organismu, v podstatě identická kopie původní DNA



Replikace

Enzymy:

- ▶ DNA polymeráza, DNA primáza – katalyzuje polymeraci
- ▶ DNA helikáza, DNA topoizomeráza, DNA ligáza
- ▶ Iniciátorové a stabilizační enzymy

Replikace

- ▶ je v základních rysech stejná u všech organismů a obecně je možné její průběh rozdělit do tří základních kroků:
- ▶ Iniaciace – rozpletení dvoušroubovice DNA, vznik replikační vidlice a navázání enzymatického komplexu
- ▶ Elongace – přidávání nukleotidů a postup replikační vidlice
- ▶ Terminace – ukončení replikace

Replikace

Iniciace

- ▶ začíná připojením primerů na specifických místech – počátcích replikace
- ▶ Eukaryota – i několik tisíc replikačních počátků
- ▶ Bakterie – jeden počátek
- ▶ Enzymatické rozvolnění vlákna mateřské DNA

Replikace

Elongace

- ▶ DNA polymerázy provádí syntézu nových řetězců

Terminace

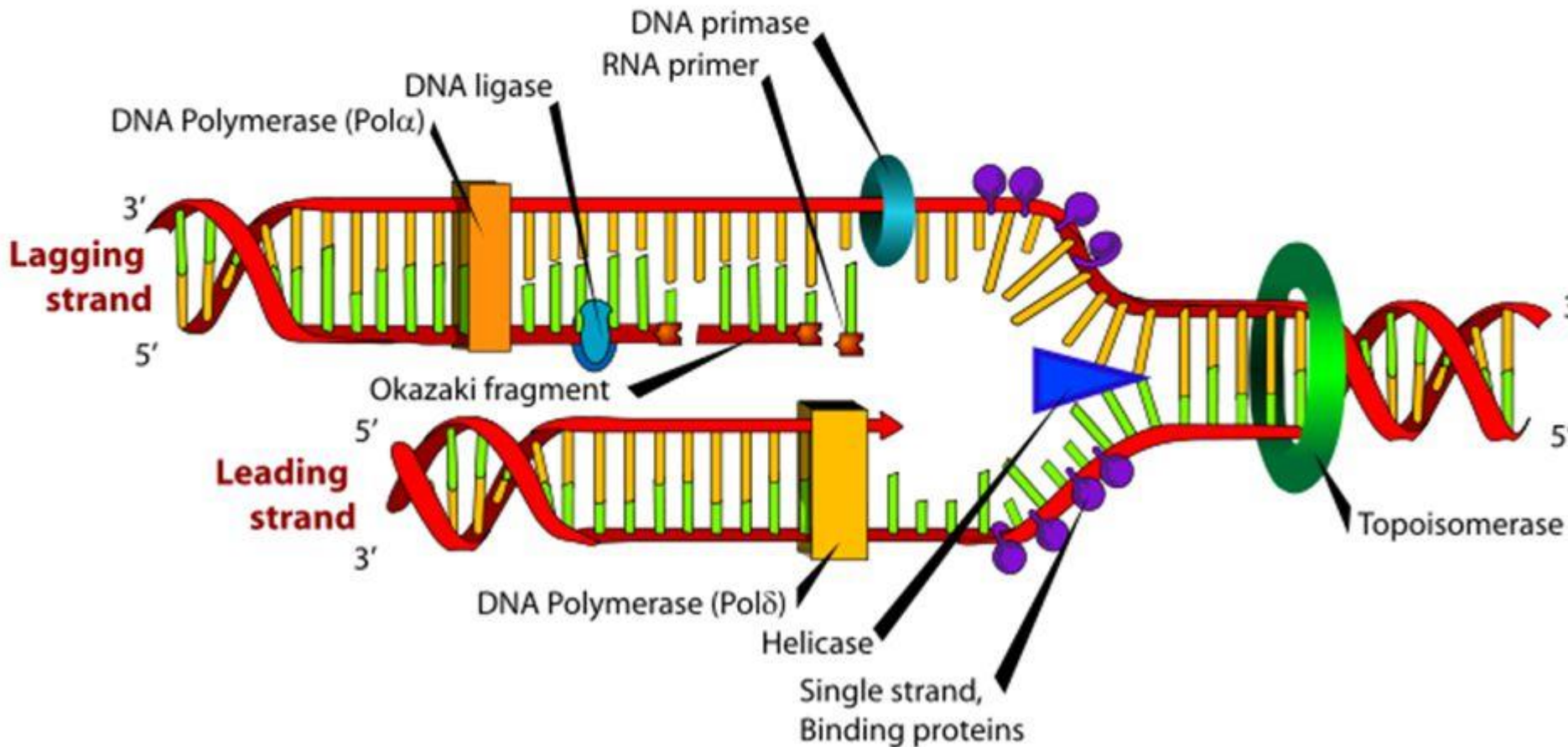
- ▶ Ukončení replikačního procesu

Replikace

- ▶ Bakterie – replikace má jeden nebo několik set replikačních počátků (nukleoid – jedna kruhová DNA), replikace probíhá v kruhu
- ▶ Eukaryota – více replikačních počátků, složitější enzymatické děje
- ▶ Viry – popsáný proces využívají jen některé viry, své modifikace

průběh replikace DNA

- DNA polymerasa, DNA ligasa, DNA primasa
- topoisomerasy, helikasa
- vedoucí a opožďující se vlákno (Okazakiho fragmenty)



Transkripce

- ▶ = „**přepis**“ z DNA do mRNA
- ▶ je proces, při němž je podle genetické informace zapsané v řetězci DNA vyráběn řetězec RNA.
- ▶ probíhá u všech známých organizmů včetně virů. U bakterií se odehrává volně v cytoplazmě, u některých vyšších organizmů (tzv. eukaryota probíhá v buněčném jádře)
- ▶ V centru transkripce stojí enzym **RNA polymeráza**, schopný podle vzoru v podobě DNA vyrábět kopii v podobě RNA

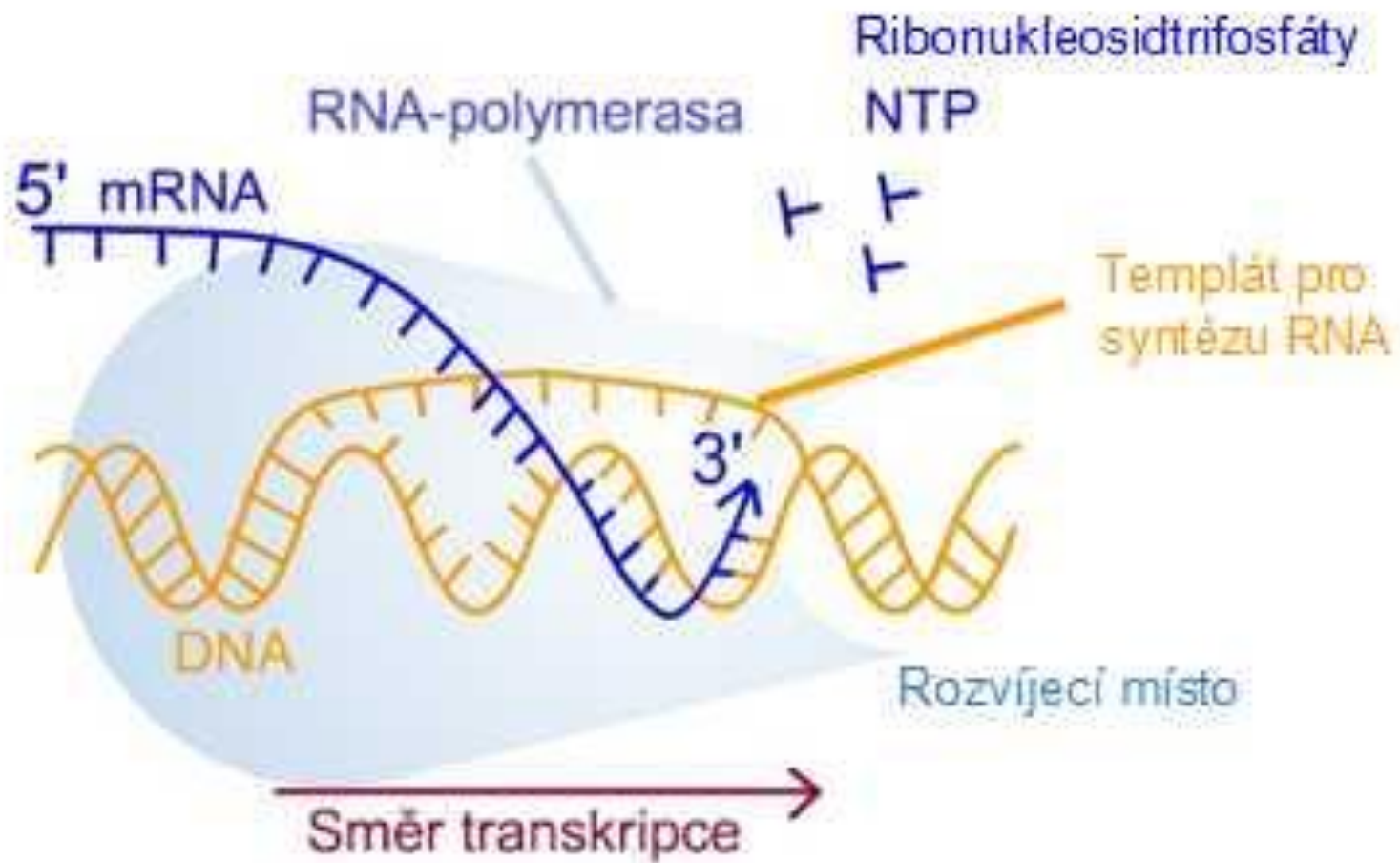
Transkripce

- ▶ Nejdříve se rozplete dvoušroubovice DNA, která se skládá z jednotlivých genů
- ▶ RNA polymeráza se naváže na začátek genu a začne na nukleotidy DNA připojovat komplementární nukleotidy RNA
- ▶ Když se do mRNA přepíše celý gen, jednořetězcová lineární molekula mRNA se odpojí a v typickém případě putuje k ribozomu, kde z ní v procesu translace vzniká bílkovina.

Transkripce

Fáze:

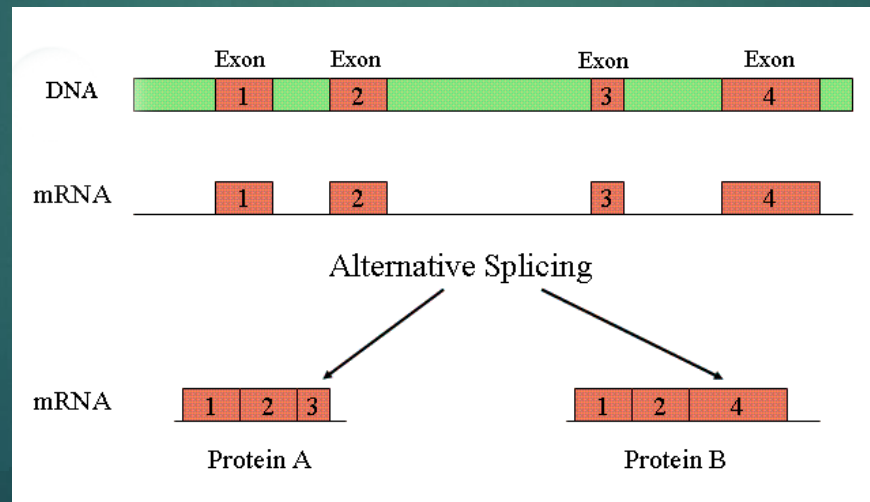
- ▶ Iniclace – rozvine se dvoušroubovice DNA, začne se vytvářet RNA za účasti RNA polymerázy
- ▶ Elongace – prodlužování řetězce
- ▶ Terminace – ukončení transkripce a uvolnění RNA molekuly; následuje několik posttranskripčních úprav, které ovšem nejsou součástí procesu transkripce



Transkripce

Posttranskripční úpravy

- ▶ „**Splicing**“ ...sestřih
- ▶ Spočívá ve vystřížení nekodujících částí = intronů z původních vlákn a vlákno je dále tvořeno exony = kodující část vlákna, která jsou k sobě enzymaticky spojena



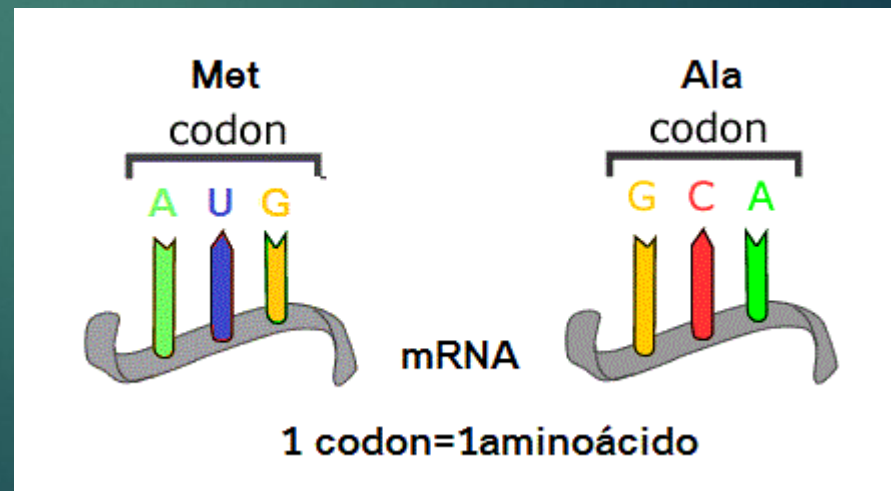
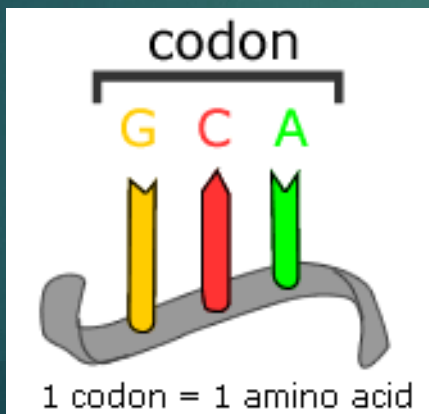
Translace

- ▶ = překlad
- ▶ **Translace** neboli **proteosyntéza** je překlad nukleotidové sekvence **mRNA** do sekvence **aminokyselin** proteinu
- ▶ Proces probíhá na ribosomech a jednotlivé aminokyseliny jsou zařazovány podle pravidel genetického kódu

Translace

Genetický kod

- ▶ **1. Tripletový** - každá trojice bází kóduje jednu aminokyselinu - tyto úseky na mRNA se nazývají kodony



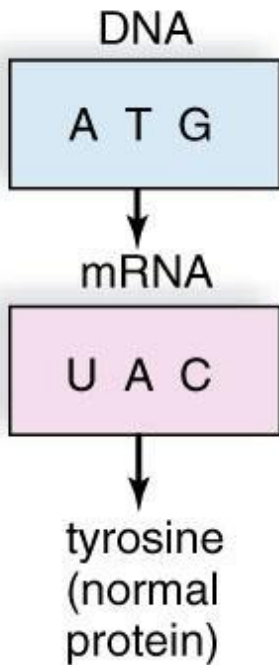
	U		C		A		G	
U	UUU	fenylalanin	UCU	serin	UAU	tyrosin	UGU	cystein
	UUC	fenylalanin	UCC	serin	UAC	tyrosin	UGC	cystein
	UUA	leucin	UCA	serin	UAA	stop	UGA	stop
	UUG	leucin	UCG	serin	UAG	stop	UGG	tryptofan
C	CUU	leucin	CCU	prolin	CAU	histidin	CGU	arginin
	CUC	leucin	CCC	prolin	CAC	histidin	CGC	arginin
	CUA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

Translace

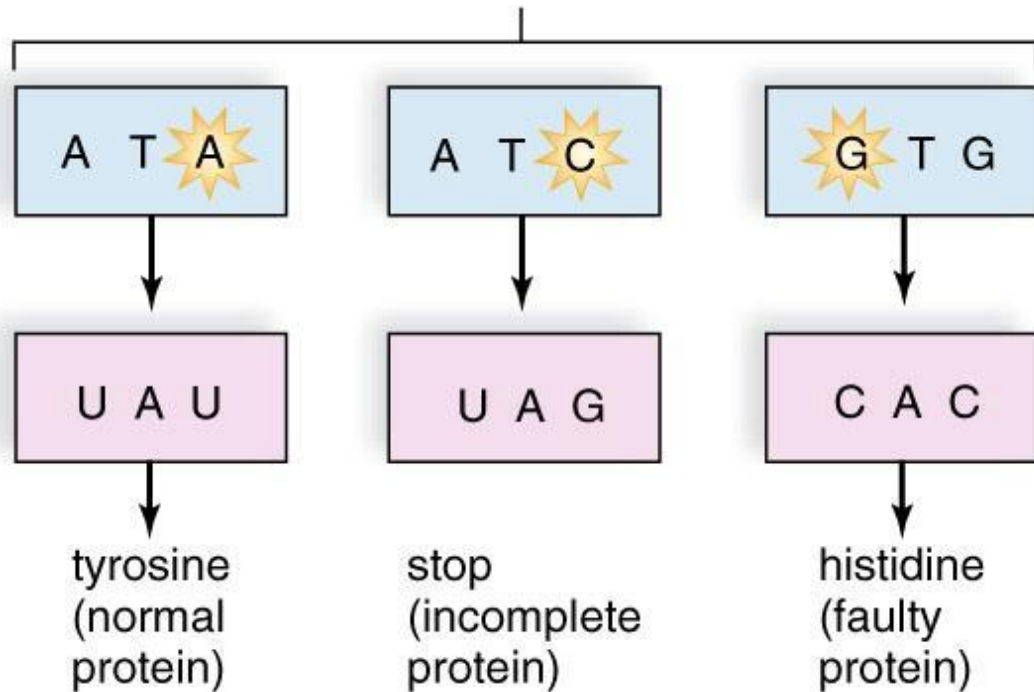
Genetický kod

- ▶ **2. Degenerovaný** - pro asi 20 aminokyselin existuje mnohem více kódujících kodonů, z toho plyne, že některé aminokyseliny jsou kódované více tripletami. Tato degenerace má své výhody - například pokud dojde k bodové mutaci (substituci) na třetí pozici kodonu - je ve většině případů zařazena stejná aminokyselina.

No mutation



Point mutations



Translace

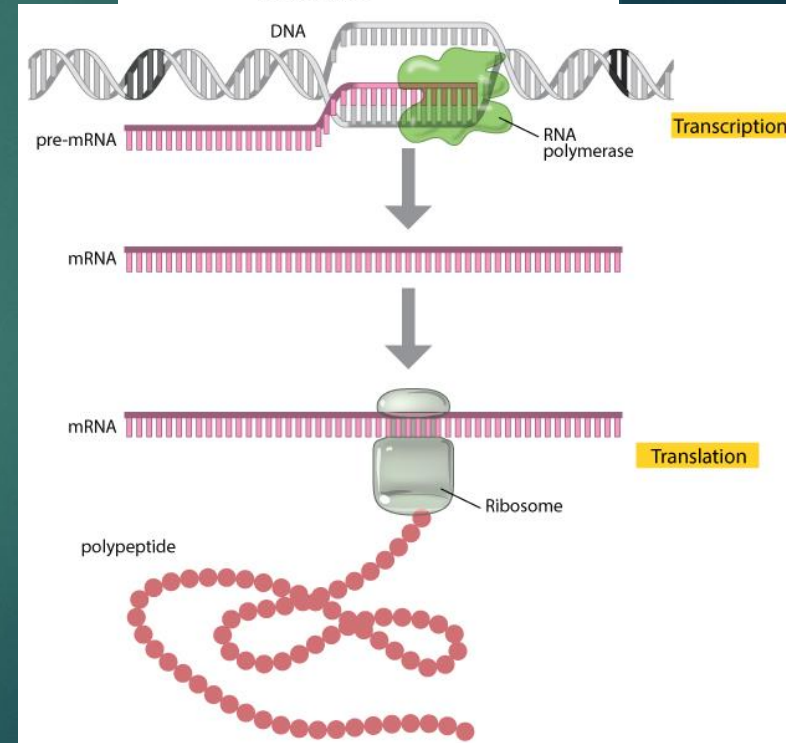
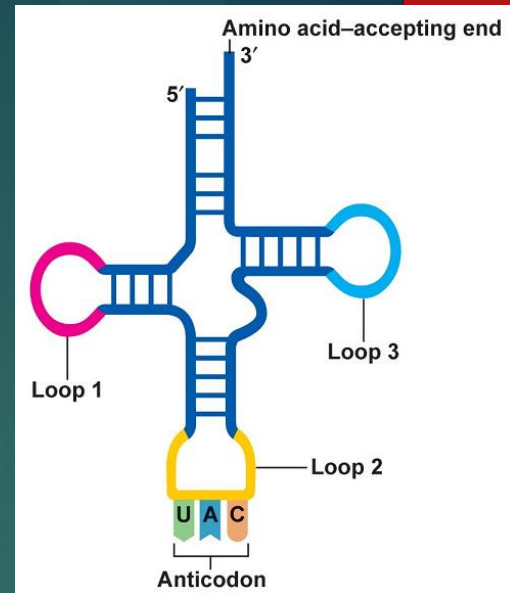
Genetický kod

- ▶ **3. Univerzální** - je platný pro všechny organismy na Zemi (existují ale i výjimky - např. u genetického kódu lidských mitochondrií)
- ▶ celkem jsou 4 báze, takže pro kombinaci máme celkem $4 \times 4 \times 4 = 64$ možností
- ▶ triplet **AUG** - iniciační (zároveň kóduje methionin)
- ▶ triplety **UAA**, **UAG** a **UGA** - terminační, neboli beze smyslu.

Translace

Pro translaci jsou zapotřebí:

- ▶ RNA molekuly:
 - mRNA** (informační) – nese informaci o pořadí aminokyselin
 - rRNA** (ribosomální) - stavební jednotky ribosomu (kromě proteinů)
 - tRNA** (transferová) – přenašeč aminokyselin při syntéze proteinů na ribosomu
- ▶ enzymy podmiňující jednotlivé reakce (eIF, GTP, ATP, aminokyseliny atd.)



Translace

▶ U prokaryot:

- ▶ translace **probíhá současně s transkripcí** → tedy na jednom konci vznikající molekuly mRNA probíhá již translace a na druhém pokračuje transkripce;

▶ U eukaryot:

- ▶ transkripcí vzniká **hnRNA** (pre-mRNA) a následně dochází k **posttranskripčním úpravám**;
- ▶ definitivní molekula mRNA je nejprve transportována z jádra **do cytoplazmy** pomocí *transportních proteinů* → pak teprve dochází na ribosomech k **translaci**;
- ▶ proteiny, které vznikají na *volných ribosomech*, zůstanou **pro buňku**;
- ▶ proteiny vzniklé na *ribosomech endoplazmatického retikula* pak buňka **transportuje** do extracelulárního prostoru.

Translace

Iniciace

- ▶ **iniciační tRNA** (zvláštní tRNA přenášející AMK **Methionin**: Met-tRNAⁱMet), **GTP** (potřebný zdroj energie)...
- ▶ komplex je navázán na malou podjednotku (**40S**) ribosomu;
- ▶ k této malé podjednotce ribosomu připojena molekula **mRNA**
- ▶ za pomoci energie získané štěpením ATP se molekula mRNA **posunuje** po malé jednotce ribosomu tak dlouho, dokud nenarazí na první triplet **AUG** (triplet pro **Met**) → dojde k **otevření čtecího rámce** (mechanismus zajišťující čtení informace po trojicích basí mRNA) a zahájení translace;
- ▶ vzniklý komplex je následně **spojen s větší podjednotkou** ribosomu za pomoci energie uvolněné štěpením GTP

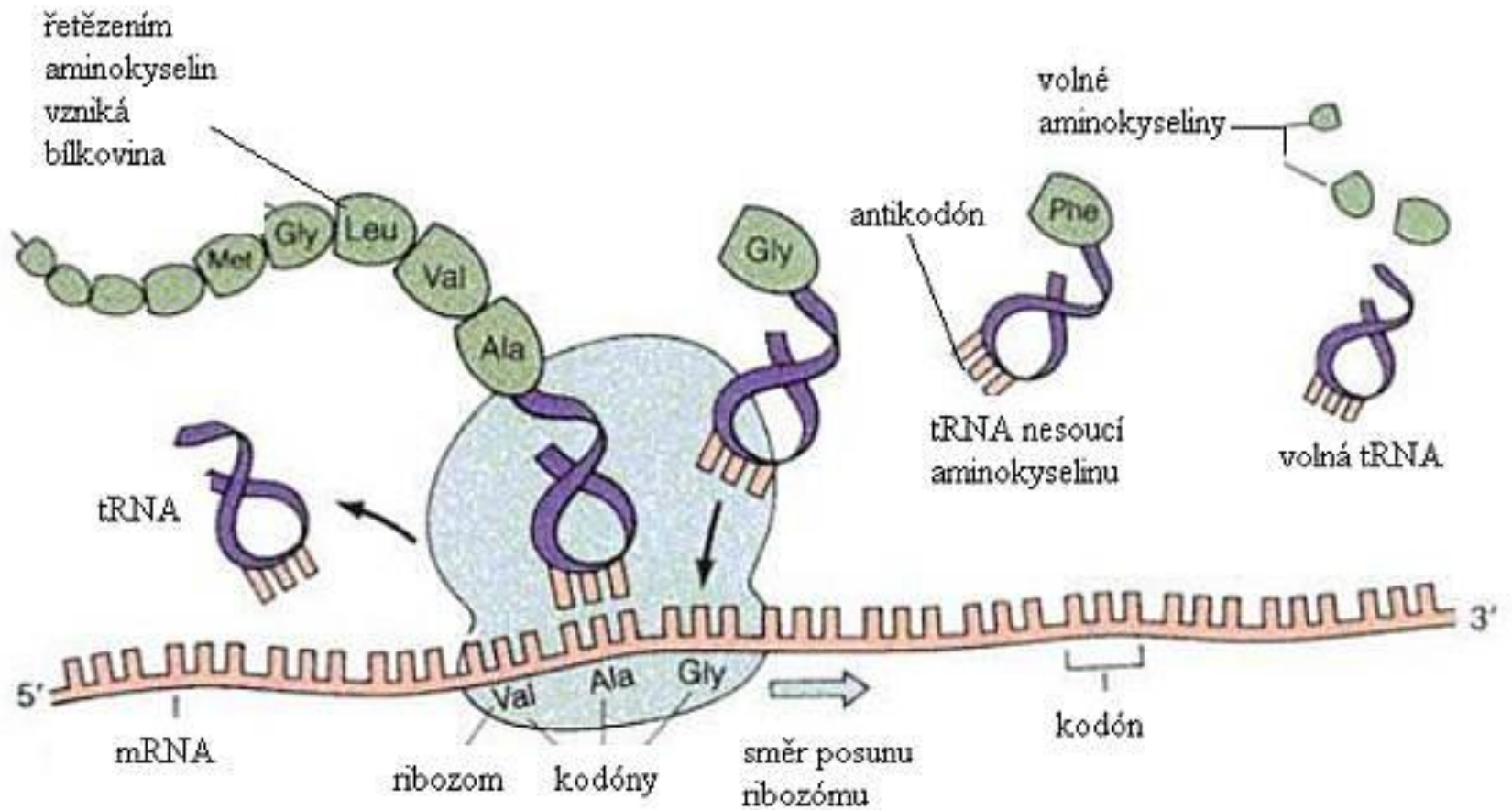
Translace

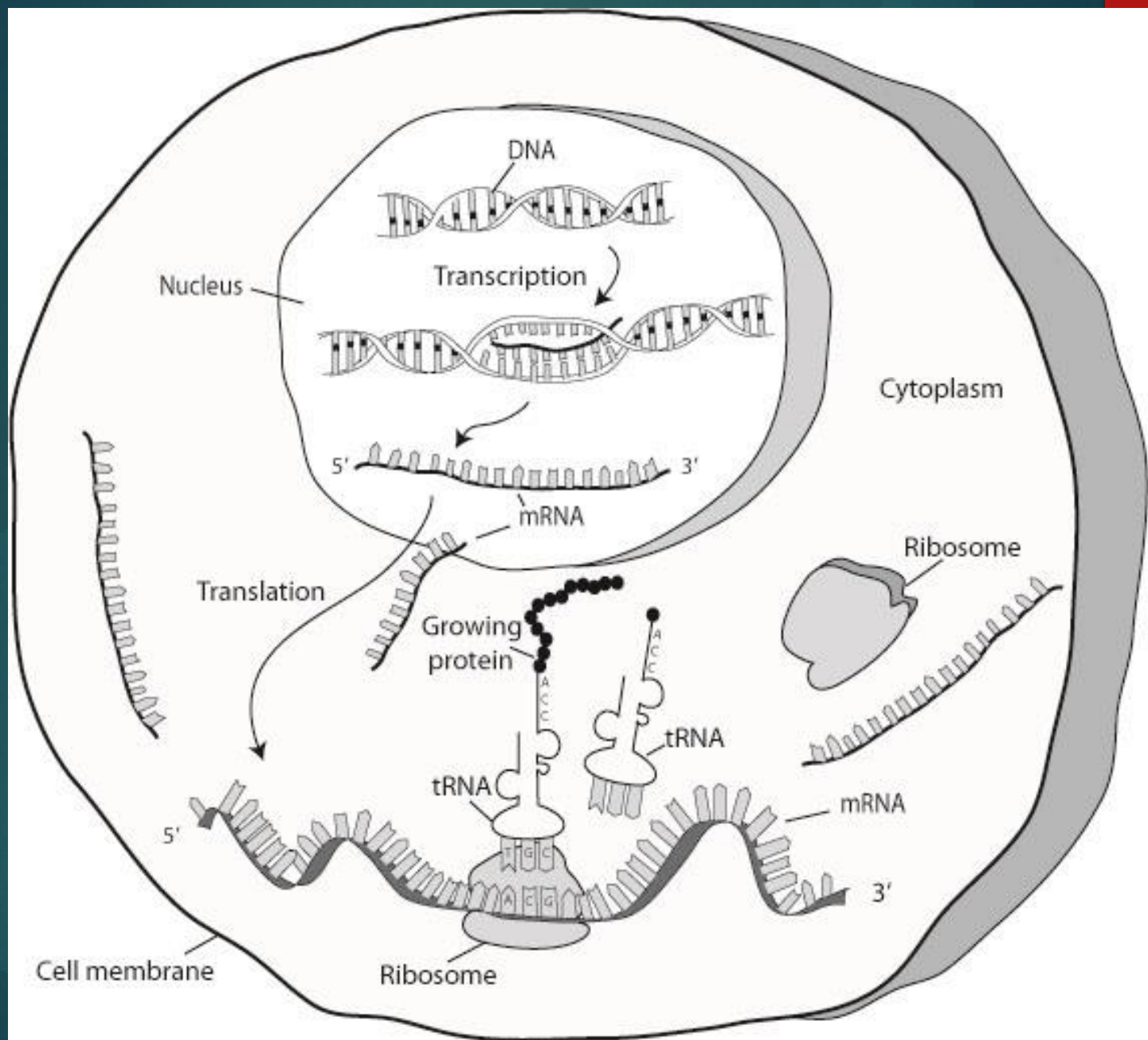
Elongace:


- ▶ celý děj (systém kodon na mRNA – antikodon na tRNA) se opakuje až do doby, než je na molekule mRNA nalezen některý **stop-kodon** = **terminační kodon** (UAA, UAG, UGA);

Terminace:

- ▶ pak nastupuje další bílkovinný faktor (RF), který hotový **polypeptid uvolní** z ribosomálního komplexu.





- 
- ▶ Klíčová slova: genová exprese, replikace, transkripce, translace, proteosyntéza, DNA-polymeráza, RNA-polymeráza, genetický kod a jeho vlastnosti