1. **150 rokov po Mendelovi. Najvýznamnejšie míľniky v rozvoji genetiky, ktoré ovplyvnili súčasný stav poznania. Význam Mendelovho učenia, chromozómová teória dedičnosti, od objavu genetickej funkcie DNA po postgenomickú éru.**

* veda o dedičnosti (schopnosť organizmu zachovať podobnosť medzi rodičom a potomkami) a premenlivosti (nový jedinec nikdy nebude kópiou rodičou. Vždy sa nájdu rozdiely medzi otcom-synom, súrodencami).
* prudko sa rozvíjajúca veda, má asi 100rokov
* najvšeobecnejšia biol. disciplína - základné genetické princípy sú rovnaké vo všetkých organizmoch
* interdisciplinarita-vyuziva poznatky z inych vednych disciplin

**DELENIE GENETIKY**

**1.všeobecná** – molekulova, bunkova, jedinca, populacia

**2.špeciálna-**mikroorganizmov, rastlin,zivocichov, cloveka

* **MIĽNÍKY GENETIKY A HISTORICKE SUVISLOSTI**

**1.** korene G su vo vyskume Mendela, ktory objavil ako sa dedia znaky. Študoval dedičnosť rôznych znakov v hrachu, ktorý pestoval. Jeho metóda spočívala v krížení rastlín, ktoré vykazovali rozdielne znaky (napr. nízke rastliny boli krížené s vysokými – aby sa ukázalo ako sa tieto znaky dedia v potomstve.)

**2.** molekularne zaklady dedicnosti polozil Watson a Crick- objasnili strukturu DNA-makromolekula zlozena z 2 komplementarnych retazcov

**3.** uplna analyza ludskej DNA a dalsich organizmov (pokroky ku ktorym doslo v genetike behom kratkej asi 100 rocnej historie = milniky). Projekt HUGO – celosvetový

**HISTÓRIA**

História sa začala písať až v 19.storočí. k veľkému rozvoju došlo až v 2 polovici 20.storočia.

* **Teória prírodného výberu** - lepšie adaptované jedince v pop. na podmienky vonk. prostredia majú lepšie šance na prežitie a prenos znakov na potomstvo.
* **1866 Johann Gregor Mendel** publikoval výsledky výskumu o dedičnosti „faktorov“ v rastlinách Pisum sativum
* **17. – 18. Storočie –** Harvey – teoria epigenezy, Dalton – atómová teória, Schleiden Swan – bunková teória ; Linné – kríženie rastlín , binomická nomenklatúra ; Darwin – hypotéze o dedičnosti PANGENEZA ; Lamarck – vseobecné závery o dedinosti a premenlivosti
* **1869 Miescher -** objav DNA (NK)
* **1900 Carl Correns, Hugo de Vries, Erich von Tschermek:** nezávisle objavili Mendelove princípy a overili ich, čím znovu objavili Mendelove zákony - zrod GENETIKY
* **1905 Bateson –** 1x použil termín Genetika
* **1910 Thomas Hund Morgan** navrhol teóriu dedičnosti viazanej na pohlavie, pre mutáciu „white eye“ Drosophila melanogaster. Potom nasledovala génová teória a teória génovej väzby
* **1931 Harriet B. Creighten a Barbara McClintock** poskytli cytologický dôkaz pre crossing-over
* **40.-te roky Barbara McClintock** vypracovala hypotézu o transpozómoch na objasnenie zmien farby zrna kukurice
* **1950 Erwin Chargaff** zistil pomer 1:1 medzi adenínom a tymínom a guanínom a cytozínom v DNA rôznych org.
* **1951 Rosalinda Franklin** získala rőntgenogram DNA
* **1952 Francis Crick a James Watson** objasnili 3-rozmernú štruktúru mol. DNA
* **1961 –** dokázalo sa, že genetický kód je usporiadaný v trojiciach
* **1988 –** HUGO – začal sa projekt mapovania ľudského genómu
* **1995 –** genóm baktérie bol prečítaný
* **1996 –** genóm kvasinky pivnej (sachromyces cerevisiae) bol prečítaný
* **2001 –** prvé časti ľudského genómu prečítané
* **MENDEL (1822 – 1884)**

**Modelový organizmus:** hrach siatý – pisum sativum

**Metodológia:** trvalo rozdielné znaky, jedincie chránené pred cudzím peľom, veľký počet potomkov

* Študoval alternatívne znaky
* Znaky sú kontrolované faktormi (CH), ktoré sa v organizme nachádzajú v pároch
* Jeden z faktorov prevláda nad druhým
* Prevládajúci faktor – dominantný
* Skrytý faktor – recesívny

**Princíp segregácie**

* Párové faktory sa v priebehu gametogenézy od seba oddeľujú, segregujú sa do rôznych gamét
* Biologickou podstatou je párovanie a následná segregácia homologických CH v priebehu meiózy

**Princíp nezávislej kombinácie ( dihybridné kríženie)**

* Ak hybrid obsahuje viac párov rozdielných faktorov , je ich prechod do gamét nezávislý pre každý jednotlivý pár
* Teoreticky je pri oplodnení možných toľko kombinácií ako medzi nezávislými veličinami
* Alely rôznych génov sa kombinujú nezávisle na sebe
* **VÝZNAM MENDELOVHO UČENIA**

**Aplikácia Mendelových princípov**

* Predpoveď výsledkov kríženia
* **Punettova tabuľka**
* 1 alebo 2 znaky (gény), pre viac je nepraktická
* Zapísanie všetkých gamét a systematické kombinovanie
* Použíť princíp dominancie
* **Vetvenie**
* 2 alebo viac génov
* Kombinácia známych pomerov
* **Pravdepodobnosť**
* Najrýchlejšia
* Súčin pravdepodobnosti gamét – pravdepodobnosť daného potomka

**Testovanie hypotéz**

* **Chí – kvadrát test**
* Určuje kritickú hodnotu – kedy už je zhoda nepravdepodobná, oddeľuje horných 5% rozdelenia
* Závisí od počtu fenotypových tried v potomstve – n
* Tabuľka podľa stupňov veľkosti = n-1
* **CHROMOZÓMOVÁ TEÓRIA DEDIČNOSTI**

Morgan pracoval s drosophilou, ktorá predstavovala ideálny objekt pre genetické výskumy (rýchly reprodukčný cyklus, ľahko sa chová, v karyotepe má 4 páry CH, z toho jeden pár je pohlavný XX samičky a XY samci).

Na začiatku objav mutovaného samčeka, ktorý mal biele oči (štandardný typ červené oči). Po krížení tohto samčeka so samičkou št typu boli všetci potomkovia červenookí. To znamenalo, že biele oči sú recesívne voči červeným.

Keď boli títo potomkovia navzájom krížení medzi sebou, Morgan získal zvláštny segregačný pomer: všetké samičky (červené), a polovica samčekov mali biele oči. Tento pomer naznačoval, že dedičnosť farby očí je viazaná na pohlavné CH.

**Morganové pokusy:**

- kríženie heterozygotnej samičky s hemizygotným samcom

- kríženie homozygntej mutovanej samičky s hemizygotným štadardným samcom

**Morgan zistil:**

- gény sú usporiadané v CH lineárne

- gény v homologických CH sa segregujú do gamét spoločne

- gény v tom istom CH tvoria väzbovú skupinu

**2. Modelové organizmy v genetike. Ich stručná charakteristika a význam pre štúdium geneticky podmienených javov a procesov.**

- organizmy najvhodnejsie pre experimenty

1. kratky zivotny cyklus = umoznuje ziskavat viacere generacie
2. dostatocne potomstvo krizenia
3. lahka kultivacia v laboratoriu – jednoduchy chov a krizenie
4. geneticka variabilita medzi jedincami v populacii – mnoho mutovanych kmenov
5. maly pocet CH
6. **PROKARYOTICKE**

**E.coli** – hlavný PO pre genetickú analýzu, tyčinkovitá baktéria, prirodzene sa vyskytujúca v crevach zivocichov a cloveka, lahka kultivacia, je lahko pristupny vsetkym druhom biochemickych analyz a daju sa z nej lahko izolovat mutantne kmene. Su v nom spojene zaciatky molekulovej biologie – objasnenie mechanizmov replikacie DNA a expresie genov. DNA konkretneho kmena E.coli je tvorena 4,6x10 6 paru baz usporiadanych do kruznice CH.kompletna sekvencia tohto genomu bola ziskana v 1977. Od tohto roku boli sekvenovane aj dalsie genomy E.coli vsetky kmene teda nie su geneticky identicke.

**Bakteriofagy –** su jednoduche preto sa daju skvele vyuzit pri studiu zakladnych gen.rpocesoch. napr. bakteriofagy lambda

1. **EUKARYOTICKE**

***Saccharomyces cerevisiae -* Kvasinka pivna** – sú 1bunkové huby, vlastnosti podobne ako E.coli = lahka kultivacia, lahka izolacia mutantnyc kmenov, ktore sa lisia vo svojich rastovych vlastnostiach, pouzivame v laboratoriach rovnakej dobe, avsak v domacnosti (kvasok) sa kvasinky pouz.uz davno. Rozdiel je vsak v tom ze kvasinka je EO (ma 16 CH ulozenych v jadre bunky a kazdy je tvoreny molekulou DNA, tiez obsahuju mitochondrie ) kvasinkovy genom je tovreny 12x10 6 bp a obsahuje vyse 6000 genov. Bol to prvy Egenom ktory bol kompletne analyzovany 1996. Rozmnužuje sa pohlavne aj nepohlavne (pučanie).

1. **MNOHOBUNKOVCE**

**Bezstavovce**

**Caenorhabditis elegans** – hlistovec – v pode zijuci, ktory sa rychle a eleftivne mnozi a je lahko kultivovatelny. V optimalnych podmienkach prebehne ZC za 3 dni. Je to hermafrodit (tvori spermie aj vajíčka). Jeho vyhodou je ze je priehladny – vedci mozu pozorovat ako sa bunky delia a menia svoju polohu od okamihu kedy vajičko bolo oplodnené.Môžu sledovať utváranie tkanív a orgánov behom celého vývoja.

**Drosophila melanogaster** – mucha – 1x pouzita Morganom 1909 . je ju mozne lahko chovat v laboratoriu, ma kratky ZC okolo 10 dni, velky pocet potomkov. Má zložitý nerový systém, 3 páry nôh no len 1 pár krídel, druhý je modifikovaný do podoby malých príveskou – tzv.haltery – udržujú rovnávahu počas letu. Samicky tvori stovky vajicok, po ich oplodneni sa vyvija embryo , z neho larva, ktora sa niekolko krat zvliekla az vznika dospely jedinec. **Instar** – larválne štádium

**Stavovce**

**Mus musculus –** mys – pouzivame najma v oblastiach biomedicinskeho vyskumu, pri studiach liekov, lebo ma az 60% genov rovnakych ako my.

**Danio rerio** – malá sladkovodná rybka – ľahko chovateľná, Streisenger bol presvedčený že je použiteľná pri štúdiu obratlovcov – z toho dôvodu že má prehliadné vajíčka a oplodnenie prebieha mimo organizmu.

1. **RASTLINY**

**Arabidopsis thaliana** – vyuz sa hlavne kvoli podobnosti s niektorymi polnohospod.rastlinami (pšenica,kukurica,ryža). Malá rastlina s relatívne krátkou generačnou dobou.

1. **HOMO SAPIENS** – nemozmo ho vyuzivat v genetickych experimentoch takze nejde o modelovy organizmus ako taky. Medzi pokroky patri napr. kultivacia ludskych (kmenovych) buniek
2. **Od genotypu k fenotypu: nezávislá kombinácia, epistatický účinok génov, pleiotropný účinok génov, väzba génov. Charakteristika a genetické dôsledky.**

**Genotyp =** súbor vsetkych aliel organizmu, subor dedičných informácií. Každý gén v genotype je zstupeny jedným alelickým párom – jedna alela od matky a druhá od otca

**Fenotyp =** vonkajsi prejav, na ktorom sa podiela aj vonkajsie prostredie (fatba srsti, farba očí, ...)

* **Penetrancia, Expresivita, Letálne alely, Úplna dominancia, Neúplná dominancia, Kodominancia, Mnohonásobný alelizmus -**

Prvé zmienky, že znak môže byť ovplyvnený viacerými génmi podali Bateson a Punnett na základe svojích experimentov kríženia sliepok. Domáce plemená sliepok majú rôzne tvary hrebenov (orechovitý, ružovitý, hráškový, jednoduchý). Zistili, ze typ hrebena je determinovany 2 nezavislimi segregujucimi genmi R a P, z nich každý sa vyskytuje v 2 alelách.

Tato praca jasne poukazala, ze 2 nezavisle segregujuce geny mozu ovplyvnit 1 znak = rozne kombinacie alel tychto 2 genov potom vedu k rozdielnym fenotypom = pravdepodobne kvoli interkciam kodovanych produktov na biochemickej alebo bunkovej urovni.

**EPISTÁZA (znamená „stáť nad“)**

Funkčná nadradenosť 1 génu nad iným. Nadradený gén potláča účinky podradeného.

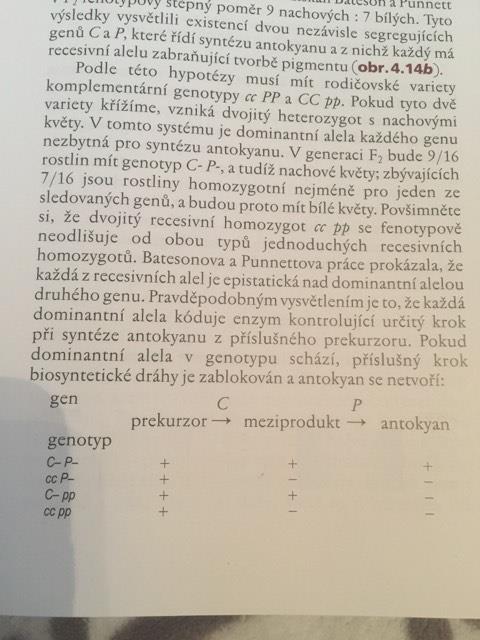
Ak je urcity znak ovplyvneny 2 genmi (alebo viacerými), alela jedneho z nich moze mat na fenotyp prvorady ucinok. Ak je alela nadradena – epistaticka, potlaca prejav ineho podradeneho hypostatickeho genu. Epistaticka moze byt alela recesivna alebo dominantna. Prikladom je sfarbenie kvetov u hrachora. Tato rastlina má kvety fialové, alebo fialovo – biele: ak obsahuju farbivo antokyan; a biele ak ho neobsahuju. Bateson a Pannet krizili 2 rôzne variety s bielymi kvetmi a ziskal hybridne potomstvo len s fialovimi kvetmi. Vzajomnym krizenim fialovych rastlin ziskal v F2, Fšp: 9fialovych : 7 bielych kvetov. Tieto vysledky vysvetlili existenciu 2 nezavisle segregujucich genov, ktore riadia syntezu antokyaon a z nich kazdy ma recesivnu alelu zabranujuce tvorbe pigmetu.

Z toho vyplyva ze, rodičovské variety P: PPcc x ppCC ak ich skrížime tak vzniká dvojitý heterozygot s fialovými kvetmi.

F1: PpCc

V F2: bude 9/16 C-P- (fialové kvety) a 7/16 homozygotné rastliny – biele kvety

Táto práca ukázala, že každá z recesívnych alel je epistatická nad dominantnou alelou druhého génu. Vysvetlením je to, že každá dominantná alela koduje enzým kontrolujúci určitý krok pri syntéze antokyanov z príslušného prekurzoru. Pokiaľ dominantná alela v genotype schází? , príslušný krok biosyntetickej dráhy je zablokovaný a antokán sa netvorí:



**Epistaza moze byt**

**Dominanta** – epistaticky gen dominantny, potlaci prejav hypostatickeho genu

**Recesivna** – epistaticky gen musi byt recesivny homozygot

**PLEIOTROPIA**

Ide o stav kedy 1 gen ovplyvnuje vramci fenotypu viac znakov.

U človeka je Prikladom fenylketonuria, kde primarnym ucinkom recesivnej mutantnej alely tohto genu je tvorba toxickych zlucenin, ktore sa akumuluju v mozgu a sposobuju mentalnu retardaciu. Tato mutacia tiez interferuje so syntezou farbiva melaninu co vedie k svetlej farbe vlasov = typicka pre ludi postihnutych touto chorobou.

Iným príkladom je tvorba chlpkou u drozofily. Štandardné drozofily majú dlhé, jemne zakrívené chlpky na hlave a na hrudi. Homozygoti pre mutovanú alelu „singed“ majú na týchto častiach tela krátke, stočené chlpky. Produkt kodovany štadardnou alelou genu singed je nevyhnutný pre správnu tvorbu chlpkov. No ten produkt je potrebny aj pre správne vytváranie zdravých vajíčok, lebo inak samičky sú sterilné, alebo kladú poškodené vajíčka z ktorých sa nikdy nevyliahnu larvy. Čiže singed pleiotropne riadi u samičiek vytváranie chlpkou a vajíčok, ale u samcov len tvorbu chlpkov.

* **Väzba génov**

**Základné atribúty**

* gény sú usporiadané v CH-e lineárne (nasledujú po sebe)
* gény v homologických CH-och segregujú do gamét spoločne
* gény v tom istom CH-e tvoria väzbovú skupinu(koľko je skupín toľko je párov)
* gaméty:
  + nerekombinované (bez c-o medzi študovanými lokusmi) –sú totožné s rodičovskými
  + rekombinované (dôsledok c-o medzi študovanými lokusmi)

***Thomas Hunt Morgan*** - nositeľ NC za fyziológiu a medicínu v roku 1933. Väzbu génov objavil v roku 1911.

Počet CH u človeka: 22+1 (22 autozómov + 1 gonozóm)

**Crossing-over (c-o) – PRI MEIOTICKOM DELENÍ najčastejšie!!!**

* crossing-over sa vyskytuje v profáze 1. meiotického delenia
* je proces výmeny genetického materiálu medzi homologickými [chromozómami](https://sk.wikipedia.org/wiki/Chromoz%C3%B3m), ktorého výsledkom je väčšia genetická variabilita.
* Objaviteľom tohoto procesu bol americký biológ [Thomas Hunt Morgan](https://sk.wikipedia.org/wiki/Thomas_Hunt_Morgan).
* chiazma je miesto, v ktorom dochádza k prekríženiu chromatíd
* crossing-over je reciprokou výmenou DNA, ktorá zahŕňa zlom a znovuspojenie homologických chromatíd
* crossing-over vedie k rekombinácii medzi génmi vo väzbe a rozširuje genetickú variabilitu

**Ako prebieha crossing-over?**

Zvažovali sa dve možnosti priebehu crossing – overu.

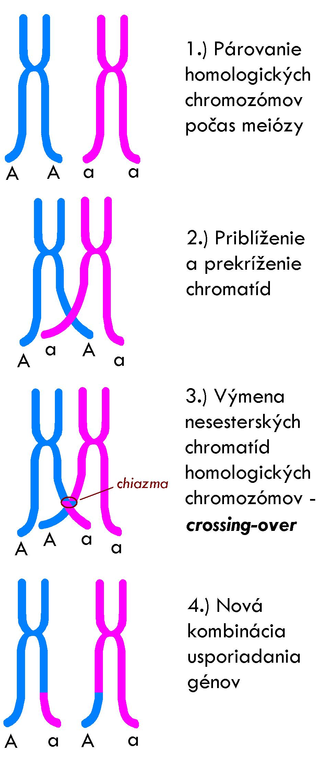
* V prvom prípade sa uvažovalo, že C-O prebieha v profáze I prvého meiotického delenia: 4-chromatídové štádium po duplikácii chromozómov.
* V druhom prípade, že prebieha počas interfázového štádia pred meiózou: 2-chromatídové štádium pred duplikáciou cromozómov.

Na jednoznačné určenie reálneho priebehu c – o bola použitá tetrádová analýza.

**Tetrádová analýza** s *Neurospora crassa* - zoradenie askospór v asku indikuje „pattern“ crossing-over. Experimenty indikujú, že crossing-over sa vyskytuje počas 4-chromatídového štádiu, t. j. počas profázy 1. meiotického delenia (prvá možnosť).

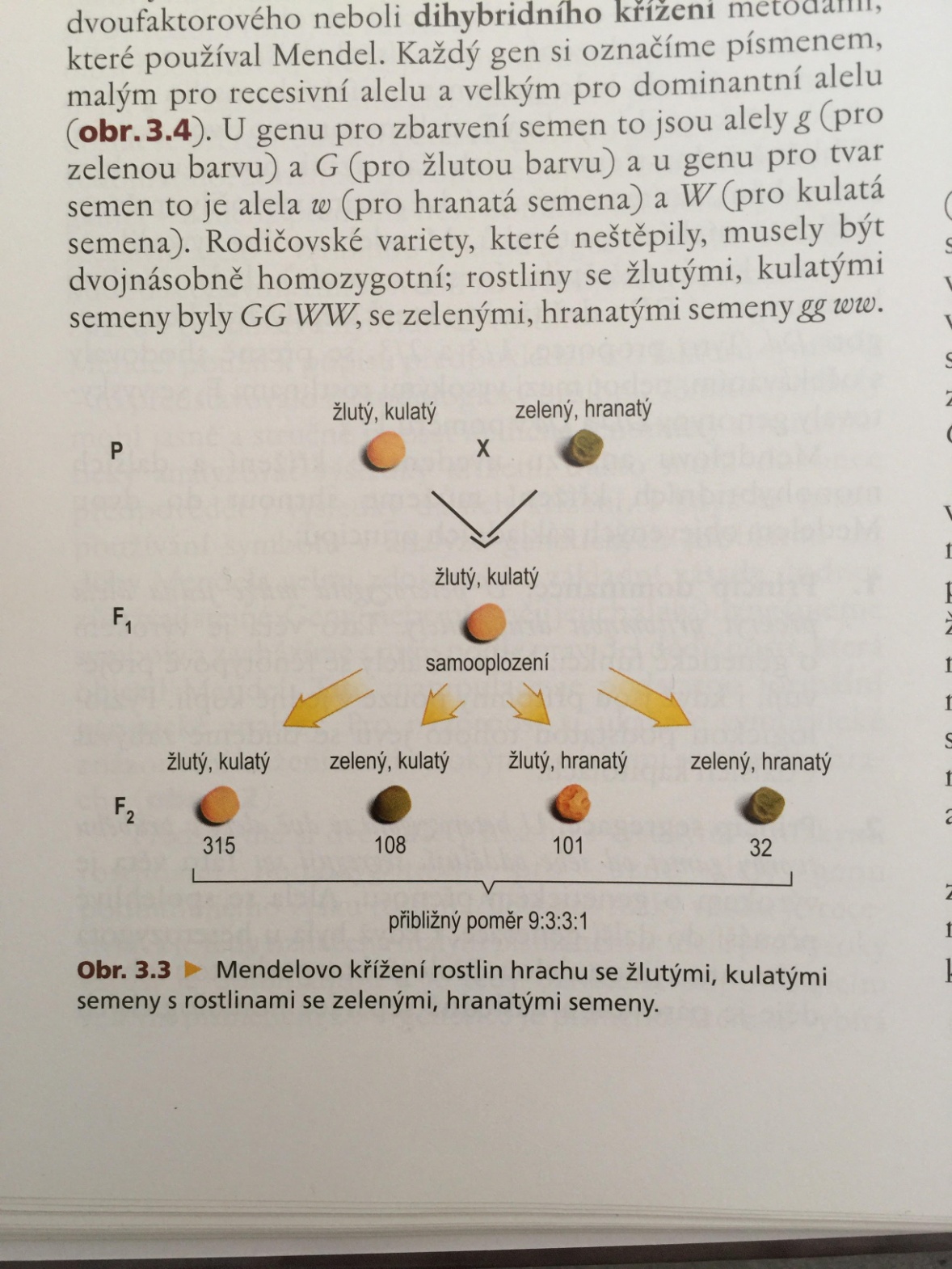
**Tetrádová analýza haploidných eukaryotov:**

* tetráda predstavuje produkt meiózy pozostávajúci zo 4 haploidných gamét
* tetráda môže byť usporiadaná (Neurospora) alebo neusporiadaná (Saccharomyces)
* v haploidnom organizme korešponduje fenotyp s genotypom každého člena tetrády (žiadna dominancia či recesivita)fenotyp=genotyp
* haploidy zjednodušujú interpretáciu výsledkov a mapovanie väzby
* tri najčastejšie využívané organizmy na tetrádovú analýzu (každý má asexuálne a sexuálne párovacie typy)
  + *Saccharomyces cerevisiae*
  + *Chlamydomonas reinhardtii*
  + *Neurospora crassa*



**Princíp nezávislej kombinácie (dihybridné kríženie)**

Krížil rastliny so žltými guľatými semenami X zelené hranaté semená. Chcel zistiť, či sa 2 znaky – farba a tvar – dedia nezávislé na sebe.

****

Alely rôznych génov sa segregujú/kombinujú nezávislé na sebe.

Výzkum Mendela doviedol k 3 princípom dedičnosti:

1. **Aleley génov sú buď dominantné/recesívne**
2. **Rôzne alely génov sa pri tvorbe gamet od seba oddeľujú – segregujú sa**
3. **Alely rôznych génov sa kombinujú nezávislé**
4. **Základné atribúty vzťahu medzi génmi a chromozómami. Chromozómová teória dedičnosti.**

* CH boli objavené v druhej polovici 19.stor. nemeckým cytologom Waldeyerom.
* P – 1 , E – viac a zložitejšie ; po 2 kopie – diploidný stav (somatické b.), 1kopia – haploidný stav (gaméty)
* Žiadna súvislosť medzi počtom CH a veľkosťou organizmu.
* Autozómy a pohlavné CH (gonozómy)
* CH môžeme najlepšie pozorovať v deliacich sa sa bunkách s použitím vhodných farbív, mitotické (dobre viditeľné) zatiaľ čo interfázove (sú ťažko viditeľné).
* Interfázové – majú tvar tenkých, voľne stočených vláken, ktoré vypĺňajú celú oblasť jadra. Po aplikácií farbiva sa preto ofarbí celé jadro a jednotlive CH v ňom nedokážeme rozlíšiť. Túto sieť vláken označujeme ako chromatín. Svetlé oblasti chromatínu – euchromatín transkripčne aktívny, tmavé oblasti – heterochromatín, transkripčne inaktívny.

**Počet CH**

**Základné CH číslo** **x** - u človeka 23 – počet obsiahnutý vo vajíčku i spermii. Iné typy ľudských buniek majú dvojnásobny počet – 46 CH.

**Haploidné** – n - gonozómy

**Diploidné -** 2n – autozómy

**CH teória dedičnosti**

Morgan pracoval s drosophilou, ktorá predstavovala ideálny objekt pre genetické výskumy (rýchly reprodukčný cyklus, ľahko sa chová, v karyotepe má 4 páry CH, z toho jeden pár je pohlavný XX samičky a XY samci).

Na začiatku objav mutovaného samčeka, ktorý mal biele oči (štandardný typ červené oči). Po krížení tohto samčeka so samičkou št typu boli všetci potomkovia červenookí. To znamenalo, že biele oči sú recesívne voči červeným.

Keď boli títo potomkovia navzájom krížení medzi sebou, Morgan získal zvláštny segregačný pomer: všetké samičky (červené), a polovica samčekov mali biele oči. Tento pomer naznačoval, že dedičnosť farby očí je viazaná na pohlavné CH.

**Morganové pokusy:**

- kríženie heterozygotnej samičky s hemizygotným samcom

- kríženie homozygntej mutovanej samičky s hemizygotným štadardným samcom

**Morgan zistil:**

- gény sú usporiadané v CH lineárne

- gény v homologických CH sa segregujú do gamét spoločne

- gény v tom istom CH tvoria väzbovú skupinu

**CHROMOZÓMY**

- eukaryotické chromozómy obsahujú okrem DNA početné bázické a nebázické (kyslé) bielkoviny.

Bázické bielkoviny = HISTÓNY, sú proteíny bohaté na lyzín a arginín. Vo väčšine buniek rôznych druhov organizmov sa vyskytuje 5 typov (frakcií) histónov = H1,H2A,H2B,H3 a H4. históny majú dôležitú štruktúrnu úlohu pri usporiadaní DNA v chromatíne. Čo sa týka kyslých = nehistónových bielkovín, väčšina z nich interaguje s DNA iba dočasne pri určitých procesoch v určitej fáze bunkového cyklu, napríklad sa podieľajú pri tvorbe chromozómového lešenia pri delení buniek alebo majú katalytické vlastnosti (DNA-polymeráza, RNA-polymeráza,ligázy)

**Štruktúra chromatínu:**

- celková dĺžka DNA v bunkách je v porovnaní s rozmermi buniek obrovská, preto molekuly DNA musia byť určitým spôsobom poskladané. Všetky eukaryotické bunky balia DNA na rovnakom princípe:

Základnými štruktúrnymi jednotkami chromatínu sú nukleozómy. Nukleozómy sú tvorené jadrom diskovitého tvaru (histónový oktamér – H2A,H2B,H3,H4), okolo ktorého sa obtáča DNA úsekom pozostávajúcim z 146bp. Medzi jednotlivými nukleozómami je linker DNA (cca 60bp) = koráliková štruktúra. Prostredníctvom H1 histónu sa susedné nukleozómy združujú a zároveň dochádza k špiralizácii reťazca za vzniku solenoidnej štruktúry.

Vyššou úrovňou usporiadania DNA sú slučky chromatínového vlákna, ktoré vzniknú pripojením chromatínového vlákna k jadrovému matrixu = každá slučka je rovnocenná s kružnicovou molekulou DNA baktérii a v každej slučke sa nachádza začiatok replikácie – bod ori = tzv. MAR oblasť.

V interkinetickom jadre sú chromatínové vlákna rozmiestnené v podobe viac alebo menej zhluknutých slučiek = oblasť, kde prevláda slučkové usporiadanie, ktoré je uvoľnenejšie = EUCHROMATÍN, oblasť kde sú slučky zhluknuté viac = HETEROCHROMATÍN, ktorý sa netranskribuje do RNA = je transkripčne inaktívny = KONŠTITUČNÝ HETEROCHROMATÍN, heterochromatín sa však môže v závislosti od vývinového štádia bunky a typu bunky meniť z kondenzovaného na uvoľnený stav (a naopak) a takýto heterochromatín nazývame FAKULTATÍVNY

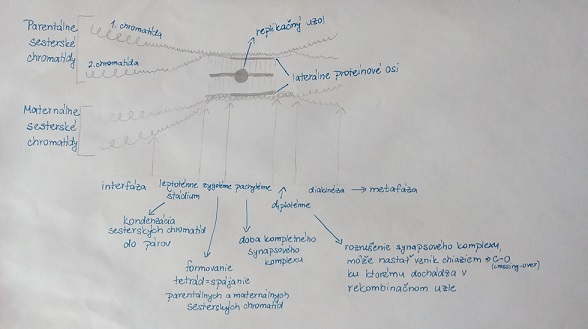
**Mitotický chromozóm**

**-** v bielkovinovom lešení zostávajú zachované zakotvenia slučiek = MAR oblasti, ktoré sa v chromozóme označujú ako SAR = úseky bohaté na A/T. Oblasti SAR sú rozmiestnené pozdĺž chromozómu tak, že tvoria špirálovú dráhu, ktorá je na určitých miestach prerušovaná pozdĺžnymi úsekmi. V špirálových úsekoch sú A/T oblasti blízko pri sebe a tvoria kratšie chromatínové slučky – oblasti chudobné na gény = G pásy chromozómov. V R pásoch chromozómu sú oblasti bohaté na gény = A/T sú vzdialenejšie od seba a slučky sú dlhšie.

V centromérovej a telomérovej oblasti sa štruktúra chromozómu vyznačuje charakteristickými znakmi. Centromérová oblasť tvorí úsek DNA (CEN-DNA) so zvýšeným zastúpením A/T báz. Táto oblasť súvisí s formovaním kinetochóru, na ktorý sa viažu mikrotubuly deliaceho vretienka počas delenia. Koncové časti chromozómu = teloméry majú charakteristické usporiadanie nukleotidov – neobsahujú gény a sú tvorené sekvenciami TG alebo TAG. Teloméry nemajú tendenciu k vzájomnej fúzii, pretože tvoria čiapku, ktorá má tiež ochrannú úlohu pred poškodením. Zúčastňujú sa na udržiavaní polohy chromozómov v jadre a správnom párovaní homologických chromozómov počas meiózy.

**Meiotický chromozóm**

- charakteristickým znakom meiotických chromozómov je spájanie nesesterských chromatíd. Spájanie nesesterských chromatíd je zložitejšie ako spájanie sesterských, lebo mu predchádza vyhľadávanie sekvenčne homologických úsekov DNA. Párovanie a uvoľňovanie štvoríc chromatíd (bivalentov) sa uskutočňuje počas profázy 1. meiotického delenia.



**Počet chromozómov**

- základné chromozómové číslo (x) predstavuje počet chromozómov v chromozómovej sade

- základné chromozómové číslo u človeka je 23 chromozómov = takýto počet chromozómov je obsiahnutý v spermiách a vajíčkach. Väčšina ľudských buniek má dvojnásobný počet chromozómov = je diploidná = 46 chromozómov. V niektorých bunkách, napr. bunkách pečene sa nachádzajú 4 kópie chromozómovej sady = 92 chromozómov a teda bunka je tetraploidná. Ľudská bunka je tvorená 23 pármi chromozómov, z čoho 22 párov je tzv. autozómov a 1 pár je pohlavných chromozómov (gonozómov) = X,Y

**Chromozómová teória dedičnosti**

- okolo 1910 mnohí genetici uvažovali o tom, že gény sú umiestnené na chromozómoch ale nemali dôkaz. K riešeniu tohto problému bolo nutné nájsť gén, ktorý by bol jednoznačne viazaný na určitý chromozóm. K tomu bolo nutné aby bola mutovaná alela dobre rozpoznateľná a aby bol chromozóm morfologicky dobre rozlíšiteľný. Tieto predpoklady splnil americký biológ Thomas Hunt Morgan, ktorý objavil zvláštne sfarbenie očí u *Drosophily melanogaster*. Keďže drozofila má len 4 páry chromozómov, z čoho jeden pár sú pohlavné chromozómy, ktoré sú morfologicky dobre odlíšené, pokusmi dokázal, že mutovaná alela pre biele oči je teda dedená spoločne z X chromozómom.

Morgan krížil:

1. heterozygotnú samičku a hemizygotného mutovaného samčeka

X+Xw x XwY

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | X+ | Xw |
| Xw | X+Xw | XwXw |
| Y | X+Y | XwY |

1. homozygotnú mutovanú samičku a hemizygotného štandardného samčeka

XwXw x X+Y

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Xw | Xw |
| X+ | XwX+ | XwX+ |
| Y | XwY | XwY |

Morgan objasnil tiež vzájomné postavenie génov v chromozóme a zistil, že gény sú v chromozóme vložené za sebou (lineárne). Toto bolo inšpirované cytologickými dôkazmi, ktoré popisovali chromozóm ako dlhé tenké vlákno. Študentom Morgana sa potom podarilo dokázať, že gény sú uložené v určitých miestach lineárnej štruktúry = v lokusoch. Taktiež dokázal, že gény v homologických chromozómoch sa segregujú do gamét spoločne a vyjadril, že gény v chromozóme tvoria väzbovú skupinu.

Morganov žiak Bridges neskôr zopakoval jeden z Morganových pokusov ale vo väčšom rozmere. Krížil bielooké samičky XwXw a červenookého samčeka X+Y. Podľa predpokladov mal dostať iba samičky s červenými očami a samčekov s bielymi, ale zriedkavo pozoroval aj samičky s bielymi očami a samčekov s červenými. vysvetlil to nerovnomerným rozchodom chromozómov do gamét = NONDISJUNKCIA

Normálne: P: XwXw x X+Y

F1: XwY, XwX+

Nondisjunkcia: P: XwXw x X+Y

G: XwXw X+ Y

F1: XwXwY, X+0

samičky samček

záleží to na pomere autozómov : X – determinácia pohlavia

1. **Genetická determinácia pohlavia.**

**Základné typy chromozómovej determinácie pohlavia.**

**Stručný fylogenetický prehľad genetickej determinácie pohlavia.**

* **GENETICKA DETERMINACIA POHLAVIA**

**Prokaryot.bunky**

* Determinacia pohlavia je umoznena genetickymi rozdielmi spossobenymi pritomnostou extrachromozomovej DNA – pritomnost/absencia F plazmidu ktora umoznuje konjugaciu a prenos DNA (E.coli)

**Eukar.organizmy**

1. ***Saccharomyces cerevisiae*** *–* prítomnosť rozdielnych párovacích lokusov umožňuje fúziu – jeden bunkový typ vylučuje špecifické feromóny (tzv. α faktor) a na povrchu majú taktiež receptory pre feromóny iných bunkových typov a po väzbe feromónu s receptorom sa aktivuje transdukčný intracelulárny signál. Tieto typy sa odlišujú v 1 lokuse (MAT a, MAT α, MAT a/MAT α)

MAT α – kóduje α1 a α2 proteín

MAT α1 = aktivuje transkripciu MAT α – špecifickej génovej zostavy (štruktúrne gény pre α faktor a a-receptor) tým, že MAT α kóduje proteín α1

MAT α2 = inaktivuje transkripciu MAT a – špecifickej génovej zostavy (štruktúrne gény pre a-faktor a α-receptor), keďže MAT α kóduje proteín α2, ktorý to zabezpečuje.

MAT a = kóduje proteíny a1 a a2 – robí všetko naopak

Diploidný typ MAT a/MATα = zabraňuje expresiu α a a-špecifických génov.

U vyssich euk.organizmoch je genotypová determinacia pohlavia zabezpecena pohl.CH. Existujú 2 možnoti:

**X chromozomová** – autozomová rovnováha (Drosphila, Caernorhabditis) – pomer X:A

**Y chromozový mechanizmus** (človek a ďalšie cicavce) – Y nevyhnutný pre determináciu pohlavia

**CHzomálna determenicia pohlavia moze byt:**

1. **Homogameticka (XX)** – pohlavie je determinovane 2 rovnakymi CH (ženy)
2. **Heterogameticky (XY)** – rozne CH (muži)

b.) **cerenthaditis elegans** – maju 2 pohlavia, hermafroditov (XX) ktory maju aj semenniky aj vajecniky a samcekov (XO) ktory itez mozu plodit potomstvo u hermafroditov.

c.) **drosophila melanogaster** – narozdiel od cloveka Y CH nezohrava ulohu pri determinacii pohlavia. Pohlavie je urcene pomerom autozomovych sad a X CH. ak je tento pomer x:A vacsi rovny 1 ide o samicku. Ak je pomer x:A mensi rovny 0,5 ide o samcekov. U niektorych jedincov sa vysktuje pomer x:A medzi 0,5 a 1 a vtedy sa vyskytuju znaky oboch pohlavi a jedinca oznacujeme ako intersex.

d.)**u vtakov a motylov a niektorých plazov** = determinacia Lapidoptera je opacna pri cloveku. Heterogameticke (ZW) su samicky a homogameticky (ZZ) samcekovia

e.) **u vciel** **a os** - je pohlavie urceny tym ci je jedinec haloidny alebo diploidny. Z diploidných embrií (vz.z oplodnených vajíčok) sa liahnú samičky, z haploidných embrií (vz. Z neoplodnených vajíčok) sa liahnú samčekovie.

f.) **krokodily, kortnacky, jasterice** – pohlavie moze byt ovplyvnene inkubacnou teplotou pocas kritickych stadii determiancie pohlavia

g**.) u niektorych ryb** sa moze pohlavie menit v zavisltosti od veku a velkosti

h.) **u cnamidophtorus (jaster**) su len samicky a rozmnozovaniue prebieha partenogenezou (z neoplodneneho vajcika)

i.) **u rastlin** moze ist o kvety hermafroditicke, hermafroditické a samčie kvety na 1 rastline, samčie a samičie kvety na 1 rastline, samčie a samičie kvety na rôznych rastlinách

j.) **clovek XXY Klinefelterov syndrom** – muzske pohlavie XY je dosledokm vplyvom CH dokazom su jedinci s abnormalnym poctom pohl.CH – XXY su muzi XO zeny. Determinacia pohlavia zabezpecuje geny na Y CH tzv.SRY geny – ktore produkuju testes – determinujuci faktor TDF, ktory zodpoveda za diferenciaciu gonad pocas vyvinu, za vzniku semennikov, ktore nasledne produkuju testosteron – hormon ktory sa viaze na receptory buniek a tato vazba sposobuje vznik komplexu hormon – receptor, ktory sa prenasa do jadra a predava bunkam instrukcie pre ich determinacie vznik zretelnych muszkych znkov = fuzy, vslay

**X0 – Turnerov syndrom –** ženy, sterilné, nízky vzrast, nedostatičné vyvinuté pohlavné orgány

**DEDICNOST VIAZANA NA POLAVIE**

1. **X –viazaná recesivna dedičnosť**

Na X CH je mnoho génov pre rast a vývoj. Y CH je menší a má menej génov. Ženy majú 2 kópie X CH (XX) – preto ak je nejaký gén na jednom X CH zmenený, normálny gén na druhom X CH môže zmenu kompenzovať. V tom prípade bude žena zdravovu prenášačkou choroby.

Muži majú XY – preto ak je niektorý gén na X CH zmenený, nemá inú kópiu, ktorá by to mohla kompenzovať – postihnutý chorobou.

1. **hemofilia** – nepritomnost faktora zrazanlivosti. Hlavný typ H u človeka je spôsobený recesívnou X viazanou mutáciou, preto takmer všetci postihnutý jedinci sú muži, ktorý zdedili mutáciu od svojich heterozygotných matiek. Ak majú potomkov tak mutáciu dostanú dcéry (obvykle ony touto mutáciou netrpia/alebo zdedili st alelu od matiek).
2. **daltonizmus** – farboslepost – farebné videnie je sprostredkované prostredníctvom proteínov absorbujúcich svetlo, ktoré su prítomné v špecializovaných bunkách – čapíkoch. 3 druhy bielkovín: pre absorbciu modrého svetla, zeleéneho, červeného. F vzniká v dôsledku abnormality v akomkoľvek z týchto proteínov. Klasický typ – porucha vnímania červeného a zeleného svetla, vykazuje X viazaný spôsob dedičnosti.
3. **X – viazaná dominantna dedičnosť**

**-** vyskytuje sa len vzácne. Znamená to že ak žena zdedí kópiu zmenenú a druhú normálnu, aj táto zmena postačí na vznik choroby.

**-** ak muž zdezí zmenný gén – chorý

**-** žena má 50% riziko, že bude mať postihnuté deti (dievčatá, chlapci)

**-** muž bude mať postihnuté všetke dcéry ale synov zdravých

-ak je samcek nositelom dominantnej alely prenasa ju na cele samicie potomstvo

-ak je samicka heterozygot polovica samcekov bude postihnuta

-hypofosfatemia-rezistencia voci vitaminu D

**3.** **Y – viazany = hoandricky**

Ovplyvnený su len samcekovia

* Mužské pohlavie je dôsledkom dominantného vplyvu CH Y
* Prejavuje sa včasnom embryonálnom vývoji – vývoj gonád semenníku produkujúce testosterón – vývoj mužských sekundárnych pohlavných znakov
* Gén SRY – sex determining region Y – na pseudoautozomovej oblasti ........... ramena Y
* Jeho produktom je TDF – testes dterminujúci faktor (faktor regulujúci expresiu Ďalších génov v tej istej oblasti CH Y)
* XO – Turnerov syndróm
* XXY Klinefelterov syndróm
* XYY – muž, nízky vzrast
* XXX – žena

**LYONOVEJ HYPOTEZA**

Kedze v X CH je 3 a viac genov ako v Y a samozrejem X viazane geny sa odlisuju od Y viazanych genov, u samic by bolo 2x viac X viazanych genov.

Preto si zivocichy vytvorili mechanizmy, ktore vyrovnavaju davku X viazanych genov u samic a samcov:

1.každy X viazany gen u samcov pracuje 2x vykonnejsie ako u samic (drosophila)

2.kazdy X viazany gen pracuje u samic s polovicnou intenztou ako samcov (caernohabditis)

3.jedna kopia X viazaneho genu moze byt u samic inaktitovovana- (stavovce)

**KOMPENZACIA DAVKY** X viazanych genov u stavovcov je dosiahnutá na základe toho,ze jedna kopia X viazaneho genu je inaktivovana. Tento mechanizmus prvy krat opisala Mary Lyonova 1961 zo štúdia genetiky myší. Pri vyskumoch na mysiach zistila ze k inaktivacii dochadza v ranom stadiu, kedy sa embryo skladá z niekoľko tisíc buniek, pricom kazda bunka si rozhodne, ktory X CH inaktivuje (náhodne). Samice cicavcov su preto geneticke mozaiky lebo obsahuju X CH od matky ktory je z polovice inaktivovany a X od otca ktory je z polovice inaktivovany. Najlepsim pripadom je sfarbenie srsti u samic maciek – ide o heterzygotnu samicu pre X viazany gen, ktore ovplyvnuje sfarbenie srsti. Oranzove a cierne miesta su sposobene inaktivaciou roznych alel v bunkach, ktore produkuju pigment. Inaktitovany X CH nevyzerá ani sa nespráva ako ostatné CH. Jeho DNA je modifikovana metylaciou cytozinu, cim dochadza k represii gen.aktivity a vznika heterochromatin.- barovo teliesko – regulacia je zabezpecena specifickym genom XIST, ktory douje RNA kotra obali a utisi expresiu genou X CH. XIST gen je umiestneny v mieste XIC, odkial prebieha inaktivacia oboma smermi ku koncom CH

**ZNAKY POHLAVIM OVPLYVNENE A OBMEDZENE**

**1**.**znaky pohlavim ovplyvnene**- genotypy determinovane autozomovymi genmi sa exprimuju odlisne v oboch pohlaviach (rohy oviec, plesatost ľudí)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | HH | Hh | hh |
| Muž | **N** | **P** | **P** |
| Žena | **N** | **N** | **P** |

**2**.**znaky pohlavim obmedzene**- vyskytuju sa len v jednom pohlavi, resp.geny s pritomne v oboch pohlaviach, ale exprimuju sa len v jednom (produkcia mlieka)

1. **Genetika prokaryotických organizmov. Genóm bakteriálnej bunky. Operónová štruktúra. Mechanizmy horizontálneho prenosu génov a ich dôsledky.**

**Transpozóny a transpozícia v bakteriálnych bunkách.**

**Regulácia génovej expresie v prokaryotických bunkách.**

**Restrikčno-modifikačné systémy baktérií a ich využitie.**

**Genóm vírusov a viroidov.**

**BAKTERIALNY CHROMOZOM = NUKLEOID (jadro):**

* je bez jadrovej membrany
* u vacsiny bakterii je cirkularny, ale napr.pri rodoch Borelia, alebo Streptomycetes je linearny
* najlepsie prestudovany je u E.Coli – kruhovy, tvoreny 4,6x10 6 bp

**STRATEGIA SKRACOVANIA MOLEKULY DNA JE U VACSINY BAKTERII ROVNAKA**

* Zakladnou funkcnou jednotkou BCH je operon – zhlukovane geny – operon pozostava z operatora, promotora strukturnych genov, kontrolne elementy (zosilovace, zoslabovace) , regulacne elementy a regulacne geny = koordinacia genov – tieto geny spravidla su funkcne v1 biosyntetickej drahe = koordinovana jednotka gen.expresie

**BAKTERIALNY GENOM**

* Gen.info u baktérií je uložená v 1 hlavnom CH (obsahuje niekoľko tisíc génov, minichromozomov nazývaných plazmidy a epizomy) ale aj v plazmidoch
* Plazmidy sú autonómne sa replikujúce kružnicové molekuly DNA
* Epizomy sú podobné plazmidom ale replikujú sa buď autonómne alebo ako súčasť hlavného CH – v integrovanom stave
* Baktérie sa rozmnožujú nepohlavne jednoduchým delením, pričom každá dcérska bunka obdrží 1 kópiu CH,
* sú monoploidné (1 CH) , mnohojadrové (bunka obsahuje viac identických kópií CH)
* keďže CH baktérií neprechádzajú mitotickým delením ani meiotickým ako je to u EU.O. , preto

u baktérií prebiehajú procesy podobné pohlavnému rozmnožovaiu – parasexuálne procesy

* rekombinacia sa uskutocnuje v precesoch parasexualnych = KONJUGALIA , TRANSDUKCIA, TRANSFORMACIA. Rekombinacne procesy u bakterii prebiehaju po prenose genov z jednej bakterii do druhej. Prenos genov je jednosmerny a rekombinacia obvykle prebieha medzi fragmentom CH z donorovej bunky a kompletnym CH recipientnej bunky

Baktérie si vymieňajú genetický materiál medzi 3 rôznymi parasexuálnymi procesmi.

Tieto 3 procesy môžeme odlíšiť na základe 2 jednoduchých kritérií:

1. je vyžadovaný kontakt buniek?
2. Je prenos citlivý k DNáze (enzým, ktorý rozkladá DNA) ?

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Rozlišovanie 3 spôsobov parasexuálnych procesov u baktérií | | |
| Rekombinačný proces | **kritérium** | |
|  | **Je potrebný kontakt buniek?** | **Je prenos citlivý k DNáze?** |
| Transformácia | Nie | áno |
| Konjugácia | Áno | Nie |
| transdukcia | Nie | Nie |

* **KUNJUGÁCIA**
* Potrebný kontakt
* Parasexuálny prenos genetického materiálu, vyžadujúci si priamy kontakt medzi donorovou a recipientnou bunkou
* Pri kontakte sa bunky spájajú pomocou kanálika – pillus – cez ktorý prechádza CH donorovej do recipientnej bunky
* Donorové b. – F+ fertilný faktor
* Recipientné b.- F-
* Bakterie obsahujuce F faktor su schopne prensat geny do iných baktérií (do recipientnej bunky) prostrednictom toho ze Fpilus donorovej bunky F+ nadvazuju kontakt s F- cim dochadza k tesnemu kontaktu medzi bunkami
* význam F pilusu spočíva v navodení kontaktu medzi bunkami, nesprostredkuváva prenos DNA
* Po tom co sa vytvori F pilus medzi donorovou a recipientnou bunkov vvznika konjugačny kanal, ktorym sa DNA prenasa z F+ bunky do F- bunky
* F- faktor môže existovať v 2 stavoch: v autonómnom (v ktorom sa replikuje nezávislé na bakteriálnom CH) a integrovanom (kovalentne je začlenený do bakteriálneho CH a repikuje sa ako každý iný jeho segment). Genetické elementy, ktoré sa vyznačujú týmito vlastnosťami – epizomy.
* Donorová bunka nesúca autonómni F-faktor – bunka F+
* Recipientná bunka bez F-faktoru – bunka F-

**Plazmidy**

* Malá kruhová DNA, nachádza sa v cytoplazme bunky
* Typické pre PB
* Nesú gény len doplnkové (geny rezistencie ATB)
* V bunke sú prtímné v niekoľkých kópiach
* Zúčastňujú sa na konjugácií
* Samostatne sa replikujúce extrachromozomove genetické elementy
* **TRANSFORMÁCIA**
* Baktérie prijímajú voľnú DNA
* Proces, pri ktorom si bakterálny bunka (recipientná) prijíma voľné molekuly DNA uvoľnené z inej baktérie (donorovej bunky)
* Proces gen.zmeny sposobeny inkorporaciou „cudzej“ DNA
* Objavil ju Griffilch (1928) u  kmenov Streptococcus pneumoniae (pneumokok), lebo vykazujú genetickú variabilitu, ktorú rozpoznáme podľa rôznych fenotypov

***Frederick Griffitch (1928) a dva kmene Stretoccocus preumoniae***

* tieto kmene sa líšili schopnosťou virulencie:
* **kmeň s hladkým povrchom „S“ (Smooth) virulentný a pre myši letálny**
* **kmeň s drsným povrchom „R“ (Rough) pre myši avirulentný** a po jeho indikovaní myši prežívali
* Grifith inaktivoval virulentný kmeň a indikoval myšiam, tie prežili
* usmrtený virulentný kmeň zmiešal s avirulentným a zistil, keď ju indikoval myšiam, že niektoré myši uhynuli - došlo k nejakej rekombinácii prechodu informácie z virulentného do avirulentného
* on zahynul počas 2. svetovej vojny, v roku 1944 nadviazali Oswald Avery, C. M. MacLeod a M. McCarty na jeho výskum, a zistili, že je to práve DNA, ktorá za to všetko môže (že tá molekula z virul. prešla do avirule.) nazvali túto molekulu genetickým materiálom a znamenalo to, že vylučovacou metódou prišli na to, že je to práve DNA. skúmali transformačnú aktivitu po pridaní dna-ázy to prestalo fungovať ☺
* tento pán pracoval s Streptococus preumoniae – 2 typy buniek Bunky buď majú hladký povrch. Ak je takými bunkami infikovaná myš tak zomrie. Ak je drsný povrch, myš by prežila. - sú avirulentné. Griffitch inaktivoval virulentný kmeň nad ohňom a indikoval myšia, tie prežili. Potom tento inaktivovaný teplom zmiešal s a virulentným ale živým po zmiešaní niektoré myši prežili a niektoré uhynuli. Prečo? Jemu sa toto nepodarilo vysvetliť, lebo zahynul. Ale nadviazal na to Oswald Avery C.M. MacLeod a M. Mc Carty. Títo zopakovali experiment, ale použili bunkové exktrakty a skúšali transformačnú aktivitu, ale súčasne použili určité enzýmy, aby sa snažili zistiť, čo je tou transformujúcou látkou a aby vylúčili tie ostatné. Zistili, že vždy prebehla transformačná aktivita. Ale keď použili DNAázu, tak tranformačná aktivita neprebiehala, teda DNA je tou látkou ktorá to zastavila. DNAáza naštiepila DNA. Dostali nobelovú cenu.
* **TRANSDUKCIA**
* Bakteriálne gény z donorovej bunky do recipientnej prenáša vírus/bakteriofag
* Bakterálne gény sa prenášajú z donorovej bunky do recipientnej prostredníctvom baktériofága
* sposob prenosu genov u bakterii prostrednictvom bakteriofaga
* v r 1952 objavená Zinderom a Lederbergom, ktorí študovali autotrfoné kmene Salmonela typhimurium, vžadujúce pre svoj rast AMK, jeden kmeň vyžadoval fenylalanin, trptofan a tyrozin a druhy metionin a histidin. Ani jeden kmeň nebol schopný rásť na minimálnom médiu, keď ich však nechali oba kmene dohromady pozorovali aj vznik prototrofnych buniek. Neskor zistili ze jeden z kmenov bol infikovany fagom ktory prenasal geny z donora do reciepenta (z jednej bunky do druhej).
* Tieto vzácne bunky, ktoré objavili boli výsledkom rekombinácie medzi bakteriálnou DNA prenášanou vírusom a DNA chromozomu recipientje bunky

Zistilo **sa ze existuju 2 druhy transudkcie:**

* **1. GENERALIZOVANA (NESPECIFICKA)** – fág môže preniesť na recipientnú kultúru gén z ľubovoľnej oblasti CH donor.b., ide o prenos akehoklvek genu z jednej bakterie do druhej – do fagovej hlavicky je miesto fagoveho náhodne zabaľovaný fragment bakteriálnej DNA
* Najlepšie preštudovaný je fág 22 u Salmonelly t. a P1 u E.Coli
* **2.SPECIFICKA** – fag môže preniesť gény z určitej oblasti CH donora, prebieha rekombinácia medzi CH hostiteľa a CH fága za vzniku fágového CH, ktorý obsahuje malú časť bakteriálnej DNA.
* uskutocnuju ju virusi, ktore prenasaju medzi bakteriami iba urcite geny. Najlpesie prestudovany fag E.Coli – lambda fag , ktory z jednej bunky do druhej iba geny (potrebne pre vyuzivanie galaktozy ako zdroja energie – gal) a bio (potrbeny pre syntezu biotinu) tieto 2 geny su prenasane preto lebo fag sa do CH zacleni presne medzi tieto 2 geny
* **TRANSPOZÓNY (transponovateľné elementy)**
* Vyskytujú sa v genómoch mnohých druhoch organizmoch, štruktúrne a funkčne sú odlišné
* pohyblivé elementy v genome
* prevazne vacsina genov PR.ajEU ma stalu polohu vzhladom k susednym genom. Existuje vsak skupina genov, ktora svoju polohu meni = mobilne geny
* 1 z nich pozoroval v 1947 McClintockova pri nestabilnych mutaciach v sfarbeni kukuricnych zrn
* Bolo zistene, ze transpozicia (presun) moze prebiehat sposobmi :

1. Konzervativny sposob – fyzicke premiestnenie prislusneho useku DNA na ine miesto
2. Replikacnym sposobom – premiestnenie kopie replikovanych genov do cielovej sekvencie
3. Retropozicia-spatnou transkripciou-sekvencia nukleotidov sa prepise z molekuly donorovej DNA do RNA a spatne sa potom prepise do cieloveho miesta DNA

* Su chopne intramolekulovej (1 molekule DNA) aj intermolekulovej transpozicie (medzi 2 molekulami DNA)
* Inaktivuju geny do ktorych sa premiesnili

**ROZDELENIE TRANSPOZOMOV**

1. **Inzercne sekvencie – IS** – T u baktérií, najjednoduchsie, pomenované podľa svojej schopnosti začleniť sa do rôznych miest bakteriálneho CH a plazmidov, sú usporiadané veľmi kompaktne, najznámejší typ IS1, pomerne kratke ME, typicke pre prokaryotov. Obsahuju iba 1 gen pre transpozazu = pre vlastnu transpoziciu, ktory je ohraniceny opakujucimi sa sekvenciami nukleotidov
2. **Transpozony** = okrem genu pre transpozicu obsahuju aj ine strukturne geny, ktore koduju nejake vlastnosti, najcastejsie rezistenciu proti ATB alebo tazkym kovom
3. **Fag Mu** = ma podobne vlastnosti ako Fn/Tn ale obsahuje aj geny pre replikaciu = je schopny tvorit viruove castice
4. **Retrotranspozony** = sekvencie DNA pritomne v genome , posuvaju sa z miesta na miesto , hlavna cast genomu EU org.
5. **Obsahujuce LTR** – su tvorene centralnou oblastou = kodujuca oblast, ktora je ohranicena dlhymi koncovymi repeticiami LTR . kodujuca oblast elementov podobnym retrovirusov obsahuje maly pocet genov = zvacsa 2 gag a pol = gag koduje strukturny protein vyrusovej castice a pol koduje protein s funkciou reverznej transkriptazy a integrazy.
6. **Bez LINE – RETROTRANSPOZONY** - prepisuju sa prostrednictvom RNA do DNA pomocou revrznej transkriptazy ktoru koduju. Vyskytuju sa napr. u drosophily na kococh CH , kde plnia dolezitu funkciu pri doplnovani DNA, ktore sa stracaju pri neuplnej replikacii DNA. K vyrovnaniu tychto strat ma drosophila vyvinuty mechanizmus, pri ktorom posobia 2 retrotranspozony HcAT-A a TART, ktore sa prednostne premiestnuju do koncovych casti cim ich predlzuju

-patria knim LINE aj SINE elementy

**LINE**-dlhe rozptylene jadrove elementy obsahujuce vo svojich sekvenciach aj geny ORF 1a 2, L1,2,3

**SINE**-alu elementy ktore v ludskej DNA predstavuju 11% genomu. Nekoduju ziadne geny; Alu element

* **Reštrikčno modifikačné systémy**

**Obsahujú:**

* **Reštrikčné endonukleázy:** enzýmy, ktoré rozoznávajú špecifické nukleotidové sekvencie na DNA a štiepia jej oba vlákna v rozpoznávacej sekvencií alebo mimo nej
* **Modifikačné metylázy –** enzýmy, ktoré rozoznávajú tú istú sekvenciu ako RE, modifikujú ju metyláciou v dôsledku čoho ju RE nerozoznávajú a neštiepia

**Modifikácia (metylácia)**

* Nemá vplyv na transkripciu, ani na priebeh a vplyv replikácie DNA a preto nie je dedičná, avšak schopnosť modifikovať vlastnú DNA je geneticky daná
* Zdroj CH3 – S (adenozylmetionín) ; Adenín N6\_metyladenín ; Cytozín C5 metylcytozín
* Zdroj RE – baktérie Haemophylus influenzae
* Rozpoznávané sekvencie RE – 4 – 8 bp dlhé sekvencie nukleotidov, zväčša palindromické

**RM SYSTEMY:**

1. **Typ** – vykazuju endonukleazovu a metyiolazovu aktivitu , štiepia náhodne, rozoznávajú metylovanú sekvenciu nukleotidov, putujú od nej pozdlž DNA na vzialenosť 1000 – 5000 nukleotidov, kde štiepia.
2. **Typ** – vykazuju endonukleazovu aj metylazovu aktivitu, a stepia v rozpoznávacej špecifickej sekvencií, ktorá je rotačne symetrická teda obsahuje palindromove sekvencie. Molekula DNA sa štiepi a roznáva v palindrome.
3. **Typ** – podobny ako I ale stiepenie je posunute len o 24-27 bp

* **VIRUS**
* **Vírus** je častica pozostávajúca z jadra nukleovej kyseliny (DNA alebo RNA) vloženej do proteínovej schránky infikujúca živé bunky v biologických organizmoch.
* Vírusy zaraďujeme medzi nebunkové organizmy (*Subcelullata*).
* Vírusy sú obligátne [intracelulárne](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bunka) [parazity](https://sk.wikipedia.org/wiki/Parazit), znamená to, že sa môžu reprodukovať iba vo vnútri živej bunky, pretože nemajú vlastný proteosyntetický aparát. Počas replikácie vírusov v hosťovskej bunke môže dôjsť k poškodeniu DNA bunky alebo k jej alternácii.
* Zdravé ľudské telo reaguje na vírusy produkciou antivírusových proteínov [interferónov](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Interfer%C3%B3nov&action=edit&redlink=1), ktoré zabraňujú prechodu infekcie na susedné bunky. Niektoré vírusy mutujú neprestajne, takže hosťovské telo nie je schopné vyvinúť si permanentú odolnosť ako napríklad [AIDS](https://sk.wikipedia.org/wiki/AIDS) a [Horúčka Lassa](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Hor%C3%BA%C4%8Dka_Lassa&action=edit&redlink=1), ktoré pravdepodobne prešli na ľudí z iných cicavcov.
* Veda o vírusoch sa nazýva [virológia](https://sk.wikipedia.org/wiki/Virol%C3%B3gia).
* Termín *vírus* sa zvyčajne používa na častice infikujúce [eukaryotické](https://sk.wikipedia.org/wiki/Eukaryot) bunky. Parazity [prokaryotických](https://sk.wikipedia.org/wiki/Prokaryot) buniek ([baktérie](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bakt%C3%A9ria) a podobné organizmy) nazývame termínmi **bakteriofág**alebo len **fág**. Na označenie jedinej vírusovej častice sa používa názov **virión**. Ich výraznou vlastnosťou je schopnosť množiť sa v živých bunkách definovaný ako absolútny biotropizmus.

**Stavba**

* genetická informácia vo forme [nukleovej kyseliny](https://sk.wikipedia.org/wiki/Nukleov%C3%A1_kyselina) - [DNA](https://sk.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleov%C3%A1_kyselina) alebo [RNA](https://sk.wikipedia.org/wiki/RNA)
* kapsid (nazývaný tiež hlavička) - [proteínový](https://sk.wikipedia.org/wiki/Prote%C3%ADn) obal, zložený z kapsomér, v ktorom je uložená genetická informácia
* niektoré vírusy majú aj ďalšiu obalovú vrstvu zloženú z [lipidov](https://sk.wikipedia.org/wiki/Lipid) a [glykoproteínov](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Glykoprote%C3%ADn&action=edit&redlink=1).
* niektoré vírusy majú aj ďalšie funkčné proteínové súčasti, ako sú rôzne stopky, doštičky, tŕne, nožičky a pod.

Telo vírusu môže mať viacero tvarov, medzi najznámejšie patria skrutkovitý tvar (helikálny), bičíkatý tvar (komplexný) alebo 20-sten (ikozaedrálny).

### Lytický cyklus

Ako lytický cyklus sa označuje taký životný cyklus vírusu, pri ktorom nastáva deštrukcia (*lýza*) hostiteľskej bunky. Je charakteristický najmä pre bakteriofágy. Cyklus modelových bakteriofágov (fág λ, T4 alebo T7) trvá 20-40 minút.

#### Pokojová fáza - Vírus prežíva mimo hostiteľskej bunky v podobe kompletného viriónu.

#### Infekcia

1. **Adsorpcia.** Prichytenie vírusovej častice (viriónu) na povrch bunky. Daná bunka musí byť citlivá na daný vírus - musí mať na povrchu charakteristické štruktúry ([ligandy](https://sk.wikipedia.org/wiki/Ligand)), na základe ktorých ju virión rozpozná ako vhodného hostiteľa.
2. **Penetrácia.** Prienik nukleovej kyseliny do vnútra bunky. V prípade lytického cyklu preniká do bunky celý virión- v prípade rastlinných,živočíšných viriónov, a to pinocytózou. Obal vírusu sa následne degraduje v cytoplazme.
3. **Eklipsa.** Doslova *zatmenie*. Je to fáza, v ktorej nie sú vo vnútri bunky viditeľné žiadne infekčné vírusové častice, takže nie je možné svetelným alebo elektrónovým [mikroskopom](https://sk.wikipedia.org/wiki/Mikroskop) rozoznať, že je bunka infikovaná. Počas eklipsy prebiehajú biosyntetické procesy. Fág využíva nukleosyntetický a proteosyntetický aparát hostiteľskej bunky na syntézu vlastných enzýmov, štruktúrnych proteínov a na replikáciu vírusovej nukleovej kyseliny. Začne sa [transkripcia](https://sk.wikipedia.org/wiki/Transkripcia) génov z DNA vírusu.
4. **Maturácia.** Dozrievanie, zostavovanie kompletných nových viriónov.

#### Uvoľnenie - Celý proces končí lýzou (zánikom) bunky a uvoľnením nových viriónov do prostredia, kde infikujú ďalšie bunky a proces sa opakuje. Bunku a jej štruktúry degraduje vírusový enzým lyzozým.

### Lyzogénny cyklus

Ako lyzogénny cyklus sa označuje taký životný cyklus vírusu, pri ktorom nenastáva obligátna deštrukcia (*lýza*) hostiteľskej bunky. Má sa za to, že je evolučne mladšou formou vírusového životného cyklu, kedy sa vírusy „naučili“ nezabíjať svojho hostiteľa. Fágy, ktoré sa môžu rozmnožovať buď lytickým, alebo lyzogénnym cyklom, sa nazývajú lyzogénne fágy alebo temperované fágy.

#### Latentná fáza

Po penetrácii prebieha eklipsa lyzogénneho cyklu trochu odlišným spôsobom - spustí sa transkripcia DNA vírusu, ale ako prvé vznikajú [represorové](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Represor&action=edit&redlink=1) [proteíny](https://sk.wikipedia.org/wiki/Prote%C3%ADn), ktoré zastavia ďalšiu transkripciu vírusovej DNA. Procesom [rekombinácie](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Rekombin%C3%A1cia&action=edit&redlink=1) sa vírusová DNA začlení do genetického materiálu bunky a stáva sa jeho súčasťou. Eklipsa sa zastavuje a cyklus vstupuje do latentnej fázy.

#### Provírus

Vírus začlenený do DNA hostiteľskej bunky sa nazýva provírus, alebo perzistentný vírus. Keď sa hostiteľská bunka rozmnožuje, kopíruje spolu s vlastným genetickým materiálom aj provírus a odovzdáva ho dcérskym bunkám. Vírus sa tak *de facto* rozmnožuje bez toho, že by zabil hostiteľskú bunku.

#### Aktivácia

U provírusov môže dôjst k spontánnej reaktivácii a k derepresii transkripcie štruktúrnych génov. Latentná fáza sa preruší, dokončí sa eklipsa a dochádza k maturácii viriónov. Provírus vstupuje do lytického cyklu a po deštrukcii hostiteľskej bunky sa uvoľňujú infekčné vírusové častice.

#### Začlenenie vírusu do genómu bunky

* **Dvojvláknový**[**DNA**](https://sk.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleov%C3%A1_kyselina)**vírus**: Dochádza k priamemu včleneniu genetickej informácie vírusu do genómu hostiteľskej bunky.
* **Jednovláknový**[**DNA**](https://sk.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleov%C3%A1_kyselina)**vírus**: Vírus si dosyntetizuje druhé vlákno DNA a následne začlení svoju genetickú informáciu do genómu bunky.
* **Retrovírus:** Špecifická skupina [RNA](https://sk.wikipedia.org/wiki/RNA) vírusov obsahuje gén, ktorý kóduje [enzým](https://sk.wikipedia.org/wiki/Enz%C3%BDm) [reverzná transkriptáza](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Reverzn%C3%A1_transkript%C3%A1za&action=edit&redlink=1) (RNA-závislá DNA [polymeráza](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Polymer%C3%A1za&action=edit&redlink=1)). **Reverzná transkriptáza dokáže prepísať**[**RNA**](https://sk.wikipedia.org/wiki/RNA)**vírusu do**[**DNA**](https://sk.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleov%C3%A1_kyselina)**, ktorá sa začlení do genómu bunky.**

**PROVÍRUS**

Vírus začlenený do DNA hostiteľskej bunky sa nazýva provírus, alebo perzistentný vírus. Keď sa hostiteľská bunka rozmnožuje, kopíruje spolu s vlastným genetickým materiálom aj provírus a odovzdáva ho dcérskym bunkám. Vírus sa tak *de facto* rozmnožuje bez toho, že by zabil hostiteľskú bunku.

**RETROVÍRUS**

Obalené RNA vírusy s jednovláknovou nukleovou kyselinou, ktoré sú schopné pomocou reverznej transkriptázy prepísať svoju genetickú informáciu do DNA, ktorú následne môžu včleniť do genómu hostiteľksje bunky.

Retrovírusy sú vírusy staovovcov, majú vysokú hostiteľskú špecifitu a u svojich hostiteľov vyvolávajú celoživotné infekcie. Podľa druhu vírusu sú pôvodcami nádorových ochorení alebo napadajú lymfatické tkanivo.

Pre človeka je patogénny T- lymfotropný vírus a vírus HIV, ktorý spôsobuje syndróm získaneého zlyhania imunity – AIDS.**7. Replikácia DNA. Enzýmy replikácie. Replikácia DNA ako proces.**

**Rozdiely v replikácii prokaryotickej, eukaryotickej, plazmidovej a vírusovej DNA.**

**ENZYMY REPLIKACIE:**

1. **DNAP** – katalyzuju syntezu komplementarneho vlakna DNA

**DNA P I** – hlavná úloha v reparácií poškodení DNA, odstraňuje priemry a vypĺňa medzery, oprava poskodenych DNA a replikacia

porusenych usekov DNA a primerov RNA

**DNA P II** – oprava poskedeni DNA, 5% aktivity DNA P I (dôkaz 1999)

**DNA P III** – hlavny replikacny enzym E.Coli, prok.org.; replikacia CH a fagovej DNA, postreplikacna reparacia DNA, odstranovanie poskedenych usekov DNA, zlozena zo 7 podjednotiek

* je rýchla: 1000 dNTPs/s/enzým
* je procesívny: viac ako 500.000 dNTPs pripojí pred disociáciou
* je presná: urobí 1 chybu/107 dNTPs, s proofreadingom, čo celkovo predstavuje 1 chybu na 1010 nukleotidov

**DNA P IV** – oprava poškodení DNA (dôkaz 1999)

**DNA P V**- oprava poškodení DNA (dôkaz 1999)

1. **DNA LIGAZY** – spajaju konce retazcov DNA takze katalyzuju syntezu fosfodiesterovej vazyb medzi 3´OH skupinou 1 retazca a 5 ´fosfatovou skupinou 2 retazca
2. **ROZPLETACIE ENZYMY – HELIKAZA** – katalyzuje despiralizaciu retazca DNA

**GYRAZA** – katalyzuje oddelovanie vlakien

1. **PRIMAZY** – syntetizuju PRIMER ktory poskytuje volnu 3´OH skupinu pre iniciaciu replikacie

**U vírusov**

* [Vírusy](https://sk.wikipedia.org/wiki/V%C3%ADrus), ktoré stoja na hranici živého a neživého, majú pomerne špecifický typ replikácie DNA, odvíjajúci sa od ich [parazitického](https://sk.wikipedia.org/wiki/Parazit) spôsobu života.
* DNA replikácia sa teda týká výhradne [DNA vírusov](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=DNA_v%C3%ADrus&action=edit&redlink=1).
* Niektoré DNA vírusy obsahujú [jednovláknovú DNA](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Jednovl%C3%A1knov%C3%A1_DNA&action=edit&redlink=1), a tak po infekcii musí najprv dôjsť k syntéze komplementárneho vlákna, aby vznikla klasická dvojzávitnica.
* U vírusov sa vyskytuje pomerne veľké množstvo ďalších odchýliek od bežnej schémy DNA replikácie.
* Čo sa týka [*Polyomavírusu*](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Polyomav%C3%ADrus&action=edit&redlink=1), ktorý infikuje eukaryotické bunky, jeho DNA je replikovaná takmer rovnako ako vlastný eukaryotický genóm. Dôvod je jednoduchý: vírusy zneužívajú hostiteľské DNA polymerázy a celý ich enzymatický aparát. Jediný rozdiel spočíva v tom, že u *Polyomavírusu* musí dôjsť k naviazaniu tzv. [veľkého T antigénu](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Ve%C4%BEk%C3%BD_T_antig%C3%A9n&action=edit&redlink=1) (*large T-antigen*) na replikačný začiatok.

**8. Génová expresia. 22**

**Transkripcia DNA -**

**Regulácia transkripcie v prokaryotických a eukaryotických bunkách. 22**

**Charakteristika primárnych transkriptov.**

**Posttranskripčné modifikácie. Zostrih a mechanizmy zostrihu. 23**

**Genetický kód a jeho vlastnosti. 20**

**Translácia. Mechanizmus proteosyntézy v prokaryotických a eukaryotických bunkách. 24**

**Regulácia génovej expresie na úrovni translácie a postranslačných úprav polypeptidov. Regulácia génovej expresie v eukaryotických organizmoch.**

**9. Gén. Definícia génu. Genomika. Komparatívna a funkčná genomika. Charakteristika „omics“ úrovní.**

***Funkčná definícia génu***

Jednotka genetickej informácie, ktorá riadi syntézu **jedného polypeptidu** alebo **jednu štruktúrnu molekulu RNA.**

**Vývoj poňatia génu**

***Mendel (1866):*** jednotkový faktor riadiaci špecifický fenotypový prejav – dospel k tomu na základe rozdielnych fenotypových pomerov

***Garrod:*** jeden mutovaný gén = jeden metabolický blok (objavil hereditárne enzymopatie) – ak dôjde v tomto géne k mutácii, prejaví sa to patologickým stavom. Hereditárne enzypomatie – jeden gén, jeden enzým (+ nejaká absencia?) spôsobuje ochorenia ako fenylketonúria a pod.

**Beadle a Tatum:** jeden gén - jeden enzým(enzým je proteín)

... jeden gén - jeden polypeptid alebo jeden gén - jeden transkript

**Pred rokom 1940:** gény sú korálky na niti (k rekombinácii dochádza medzi génmi, ale nie v nich)

**Gén bol:**

**Funkčná jednotka:** jednotka genetického materiálu, ktorá určuje dedičnosť jedného znaku alebo vlastnosti fenotypu

**Štruktúrna jednotka:** určená 2 spôsobmi:

* **Rekombináciou:** jednotka genetickej informácie nedeliteľná rekombináciou
* **Mutáciou: najmenšia** jednotka genetického materiálu schopná nezávislej mutácie

**1940:** dôkaz o rekombinácii v rámci génu

**60-te roky:** objav prekrývajúcich sa génov – ale je to štruktúrny prekryv – jeden gén je napr. kratší druhý je dlhší

**70-te roky:** objav intronov– Eukaryotické gény sa skladajú z intrónov a exónov. Intrónov môže byť aj 10 násobne viac.

... definícia by mala byť flexibilná, aby vyjadrovala vzťah štruktúry a funkcie

**Gén je jednotka genetickej informácie, ktorá riadi syntézu jedného polypeptidu alebo jednej molekuly štruktúrnej RNA. Je to funkčná definícia**

**Metódy analýzy**

* restrikčné endonukleázy a ich využitie –molekuly štiepiace DNA v presne definovaných úsekoch, využíva sa ich schopnosť špecigifky štiepiť DNA – teda presné miesta štiepenia napr. pri tvorbe rekombinovaných molekúl. Plazmid treba naštiepiť tou istou endonukleázou.
* tvorba rekombinovaných molekúl – rekombinovaná molekulka je taká, ktorá okrem vlastnej informácie obsahuje aj nejakú ďalšiu (gén, úsek, plazmid – malá cirkulárna molekula DNA)
* vektory a amplifikácia DNA (plazmidy a i.) -Plazmid je vektor pre introdukciu pre cudzí organizmus a vnesenie do neho. Vektory dnes sú prispôsobené konkrétnemu cieľu. Amplifikácia DNA – namnoženie určitého fragmentu (máme ho v kópiách)
* polymerázová reťazová reakcia - vedieť princíp nájsť si ho
* génové knižnice – robia sa experimentálne v baktériách, kde v plazmide je konkrétny gén
* southernova hybridizácia– Hybridizačné metódy na značenie sondy, ktorá je komplementárna génu, ktorý chceme hľadať.... na základe počtu signálov vieme zistiť, koľko segmentov sa tam nachádza.
* nothernova hybridizácia
* reverzná transkripcia – transkripcia prebiehajúca opačne od RNA k DNA: - reverzné transkriptázy
* western blottin
* mapovanie génov - prednáška so Sotákom – pozrieť si to
* sekvenovanie DNA – určovanie sekvencií DNA výhoda: vieme celú sekvenciu DNA, nevýhoda – zostavovanie sekvenovaných úsekov sa nám nemusí podariť.
* Pododbor genetiky zaoberajúca sa štúdium štruktúry a funkcie genómu
* **Genom :** kompletna gen info daneho organizmu
* **štruktúrna** štúdium štruktúry genómu(tu nás zaujíma porovnávanie na základe miery podobnosti štruktúry jednotlivých génov),
* **funkčná** štúdium funkcie genómu (gén je funkčný ale nemusí byť, teda patrí tu aj metabolomika, transkriptomika, proteomika.......)
* **komparatívna genomika** štúdium evolúcie genómu (keď máme nejakú sekvenciu génu a hľadáme v databázach niečo podobné, s istou pravdepodobnosťou vieme povedať že ide o taký či taký gén, dnes sa veľmi využíva)
* ***transkriptomika*** - zaoberá sa transkriptómom organizmov
* ***proteomika*** - zaoberá sa proteómom - súbor proteímov v bunke

**Funkčná genomika**

* Prítomnosť génu per sé neznamená, že sa bude exprimovať
* FG sa zaoberá funkciou g., že sa exprimuje a podmienkam, za akých sa exprimuje
* FG zohľadňuje regulačné aspekty

**Porovnávacia genomika:**

* Na základe štruktúry podobnosti prináša info o predpokladanej funkcii génových sekvencií
* Prvým krokom k priamej biologickej validácií gen.funckie
* Využíva sa v evolučných a taxonomických štúdiách génov a genómov

**GENETICKE, CYTOLOGIKE A FYZICKE MAPY CH**

**G** – su zalozene na frekvencii rekombinacie medzi markerovymi genmi , kde 1 cM je rovný vzdialenosti odpovedajúcej priemernej frekvecií 1% rekombinácie; (cM,RFLP); relatívne vzialenosti na základe spätných krížení

**C** – rozdielné pruhovanie jednotlivych CH pozorovanych pod mikroskopom po ofarbení rôznymi farbivami

**F** – sú založené na molekulových vzialenostiach – pároch báz , kilobáz, megabáz – oddeľujúcich rôzne oblasti DNA. Často vyjadrujú umiestnenie prekrývajúcich sa genómových klonov a jedinečných nukleotidových sekvencií

**10. Mutácie, typy mutácií, genetické dôsledky. Detekcia mutácií.**

**Mechanizmy reparácie poškodení DNA.**

* Dedičné zmeny genetického materiálu, poskytujú nové genetické varianty, ktoré umožňujú evolúciu organizmu
* Oznacuje zmenu gen.materialu a proces behom ktorehu tato zmena vzniká
* Vyskytujú sa u všetkých organizmov od vírusou až po človeka; môžu vznikať spontánne alebo indukovane mutagénnou látkou
* Mutácia je obvykle náhodný, neadaptívny proces
* **Mutant** = organizmus so zmenou gen info ktora bola sposobena mutaciou
* Su hlavnym zdrojom gen variability
* Dedicne zmeny gen materialu ktore poskytuju prvotny material pre evoluciu

**Mutácie sú**:

* **náhle** - k mutáciám dochádza náhle, skokom, organizmus sa na ne nepripravuje
* **neusmernené**– organizmus nemá možnosť si mutácie vyberať, preto môžu byť pre nositeľa priaznivé aj škodlivé, nedá sa predpovedať ich veľkosť ani účinok
* **trvalé**– mutácie sú zmeny, ktoré sa prenášajú na potomstvo
* **jedinečné** – mutáciou môže vzniknúť nová alela, nový genotyp, ktorý sa predtým nevyskytoval

**Mutagény** - sú zodpovedné za vznik mutácií

- sú to látky alebo faktory, ktoré zvyšujú početnosť mutácií

- rozdeľujú sa do troch skupín:

**1. fyzikálne mutagény** - rôzne druhy ionizačného a neionizačného žiarenia

Medzi ionizujúce žiarenie patria lúče X, čiže röntgenové (RTG) žiarenie. Je to žiarenie s vysokou energiou, ktoré dokáže z molekuly "vyraziť" elektróny a vytvárať tak ióny. Vysoké dávky ionizujúceho žiarenia bunky zabíjajú, takže ho možno využiť pri terapii niektorých nádorov.

**2. chemické mutagény** - chemické zlúčeniny meniace alebo napodobňujúce štruktúru dusíkatých báz a včleňujúce sa do dvojzávitnice DNA

Génové mutácie môžu byť spôsobené vystavením organizmu rozličným chemickým látkam, ktoré sa nachádzajú v prostredí a ktoré každoročne produkuje chemický priemysel.  
Podľa zdroja sa rozdeľujú do skupín:  
- lieky  
- látky získané potravou  
- pesticídy  
- ostatné chemické látky  
- zlúčeniny, ktoré priamo pôsobia na DNA, vyvolávajú v nej chemické alebo štruktúrne poškodenia  
- analógy báz, čiže látky s veľmi podobnou štruktúrou ako majú dusíkaté bázy v DNA (napr. 5-brómuracil nahrádza tymín)  
 **3. biologické mutagény** - niektoré onkogénne vírusy   
 Biologické mutagény predstavujú niektoré skupiny vírusov. Vírusy obsahujú ako genetickú informáciu aj DNA aj RNA. Niektoré onkogénne vírusy sú schopné včleniť svoju DNA do hostiteľského genómu na ľubovoľné miesto, čím spôsobujú mutácie, následkom ktorých je daný prerušený gén viac nefunkčný.

**KLASIFIKÁCIA**

1. **Podľa typu zasiahnutej bunky:**
2. **Gametické –** vyskytujú sa v bunkách zárodočnej línie, čiže ak mutácia vznikne v zárodočnej línií jej účinky sa môžu prejaviť v potomstve. Postihujú genetický materiál pohlavných buniek, vznikajú počas spermatogenézy (tvorby spermií) alebo oogenézy (tvorby vajíčok) a sú dedičné, pretože sa prenášajú do ďalších generácií
3. **Somatické –** v somatických bunkách, ak mutácia vznikne v tejto bunke, tak výsledný mutantný fenotyp sa nebude prenášať do potomstva.Postihujú somatické (telové) bunky a neprenášajú sa do ďalších generálií, môžu byť príčinou rakoviny
4. **Podľa vzniku:**
   * 1. **Spontánne –** vznikajú bez príčiny, náhodny jav
     2. **Indukované –** vznikajú po pôsobení fyzikálnych/chemických látok s mutagénnym účinkom t.j. navodzujú zmeny v DNA – tieto látky sa označujú ako **mutagény ;** sú cieľavedome vyvolávané mutácie v laboratórnych podmienkach
5. **Podľa rozsahu genetickej informácie, ktorú mutácie postihujú:**
6. **génové mutácie** - postihujú nukleotidovú sekvenciu obmedzenú na jeden gén.
7. **chromozómové mutácie** (aberácie) - postihujú DNA na úrovni štruktúry chromozómov a ich častí
8. **genómové mutácie** - mutácie vedúce k zmene počtu chromozómov a celých chromozómových súborov
9. **Podľa lokalizácie mutácie:**
10. **jadrové mutácie** - vznikajú v DNA nachádzajúcej sa v bunkovom jadre
11. **mimojadrové mutácie -** vznikajú v DNA, ktorá je prítomná v mitochondriách, príp. chloroplastoch
12. **Podľa smeru mutovania:**
13. **priame mutácie** - keď z normálnej alely vzniká mutovaná alela
14. **spätné mutácie** - keď sa mutovaný genotyp spätne zmení na pôvodný (normálny) genotyp
15. **Podľa zlučiteľnosti so životom:**
16. **vitálne mutácie** - neovplyvňujú prežívanie jedinca
17. **letálne mutácie** - mutovaný genotyp neumožňuje ich nositeľovi prežitie (mutácie esenciálnych génov)
18. **Podľa stupňa fenotypového prejavu:**
19. **dominantné mutácie** - mutovaná alela je nadradená nad normálnu alelu
20. **recesívne mutácie** - mutovaná alela sa prejaví len v homozygotne recesívnom stave (väčšina mutácií)

**Vznik mutácie**  
Podstatou vzniku mutácií je schopnosť chemických, fyzikálnych a biologických mutagénov reagovať buď priamo, alebo prostredníctvom ich metabolických produktov s DNA.  
**Tento proces je zložený z niekoľkých fáz:**  
a) najprv musí mutagén preniknúť do jadra, aby mohol zreagovať s DNA  
b) touto reakciou vznikne gén s predmutačným poškodením, buď sa vráti do pôvodného stavu **–reparácia**, alebo sa stabilizuje a vznikne **mutácia**c) ak sa mutácia stabilizuje, dochádza v bunke k zmene genetickej informácie  
d) menia sa biochemické vlastnosti mutovaných buniek  
e) podľa rozsahu poškodenia bunky mutáciou postihnutá bunka buď hynie – **letálna mutácia,** alebo sa rozmnožuje a vzniká klon mutovaných buniek

**AMESOV TEST – TESTOVANIE MUTAGENICITY**

* Jednoducha metoda pouzivana k identifikacii mutagennych latok
* Bruce Ames a spolupracovníci vytvorili jednoduchú a citlivú metódu používanú k testovaniu mutagenity chemických látok s využitím histidinových auxotrofných mutantov Salmonella
* Mutagénne látky sú taktiež karcinogény – látky, ktoré môžu vyvolať vznik nádorov
* Pretože mutagénne chemické látky sú zároveň karcinogény, môže byť Amesov test použivaný aj k identifikácií chemikálií, pretože u nich existuje vysoká pravdepodobnosť že sú karcinogénne
* Ames vytvoril auxotrofne kmene bakterie Salmonella s rôznymi typmi mutaciami, v genoch pre syntezu histidinu. Následne sledoval reverziu auxotrofných mutantov na prototrfofné typy
* Na 2 petriho miskach s agarovym mediom a stopovymi prvkami histidinu, pricom do 1 bol pridany mutagen, pozorovali pocetnosti jedincou, kt ucinkom spatnej mutacie reverzovali na prototrofny kmen
* Porovnali potom pocet spontannych revertantou a pocet indukovanych revertantov, ktorych reverzia bola indukovana potencionalnmy mutagenom

**CH ABERACIE SPOSOBUJU VZNIK**

1. Sekundarcnych konstrikcii
2. Medzera zlom
3. Prstencovy CH – na oboch koncoch CH nastane strata koncovych usekov, pricom zvysok CH po spojeni utvori prstenec
4. Robertsonovska fuzia – spoja sa 2 akrocentricke CH alebo telocentricke v oblasti centromer pricom vznika metacentricky CH alebo submetacentricky
5. Dicentricky CH (tricentricky)

**MUTACIE LUDSKYCH GENOV**

* **Kosacikovita anemia** – substitucia elu za val sposobila zemnu struktury hemoglobinu a tym padom zmenu tvaru erytrocytov
* **Tya – sachsova choroba** – jednaz najtragickejších, novorodenci homozygotný v mutovanom géne zodpovedného za toto ochorenie sú pri pôrode normálny. avšak behom niekoľko mesiacov začnú hypersenzitívne reagovať na hlasné zvuky a na sietnici oka sa im vytvorí červená škvrna. Dochádza k neurologickej degradácií, ktorá sa rozvinie k mentálnej retardácií, sprevádzaná slepotou, hluchotou. Behom 2 rokov deti niesú schopné pohybu, rozvíjajú sa u nich chronické infekcie dýchacích ciest. Umierajú okolo 3-4 roku. Efektívna liečba pre toto ochorenie neexistuje. Za mutáciu je zodpovedný gén HEXA, kódujúci enzým hexozaminidázu – A.

**Fenotypové účinky**

**Nulová alela** – produkty mutovaných génov niesú funkčné, alebo sa vôbec netvoria.

**Albinizmus** – porucha spôsobená absenciou pigmentácie kože, vlasov, očí – je dôsledkom mutácie blokujúcej premenu tyrozinu na tmavý pigment melanín. Dedí sa ako autozómvo recesívny znak, heterozygoti majú normálnu úroveň pigmentu.

**Auxotrofný mutanti** – nemôžu syntetizovať niektoré základné metabolity (AMK, vitamíny, ...) na rozdiel od štandardných/ prototrofných organizmov rovnakého druhu. Rastú a rozmnožujú sa len vtedy, pokiaľ je v rastovom médiu obsiahnutý určitý metabolit, ak chýba, tak tieto organizmy nebudú rásť.

**Teplotne – senzitívny – mutanti** – rastú a množia sa len za určitých teplotných podmienok.

**Seupresor – senzitívny – mutanti** – životaschopný pokiaľ je prítomný ďalší genetický faktor – supresor – ak nchýba neprežijú.

**11. Poznatky získané z mapovania ľudského genómu a genómov modelových organizmov. Význam a využitie týchto poznatkov.**

**Najnovšie technológie mapovania genómov a transkriptómov – sekvenovanie novej generácie (NGS).**

* **HUGO**
* začalo to v roku 1990

**Pôvodné ciele:**

1. **zmapovať všetky ľudské gény**
2. **zostaviť podrobnú fyzickú mapu celeého ľudského genómu**
3. **určiť nukleotidovú sekvenciu všetkých 24 ľudských CH do roku 2005**

Vedci si uvedomili, že splnenie tejto úlohy je možné len celosvetovým úsilím. Preto bola založená medzinárodná Organizácia pre výskum ľudského genómu – HUGO – Human Genome Organization

Prvým riaditeľom sa stal James Watson, ktorý s Crickom objavil DNA

Pokrok pri mapovaní ľ.genómu bol veľmi rýchly. Kompletná fyzická mapa CH X a 21, podrobná RFLP mapa CH X a všetkých 22 autozómov bola publikovaná v r.1992.

Zatiaľčo mapovanie postupovalo rýchlo, pokrok v sekvenovaní zozačiatku sa oneskoril. No začiatkom r.1998 sa to zmenilo, keď J.Craig Venter oznámil založenie súkromnej spoločnosti Celera Genomics – cieľom bolo sekvenovať ľ.genóm za 3 roky

**Dalsie ciele:**

* Vyvinut nove laboratoria a technologie (informatika)
* Sirit ziskane info
* Zvazovat eticke pravne a soc.dosledky tohto vyskumu

**Modelove organzmy:**

* Bakterie (E.coli)
* Kvasinky
* Rastlina (arabidopsis thaliana)
* Cerv (caenorhabdis elegans)
* Mucha (drosophila melanogaster)
* Mys (mus musculus)

1992 – kompletné fyzické mapy X a 21. Podrobná RFLP – mapa X a všetkých 22 autozómov

1995 – genetická mapa obsahovala markery vzdialené v priemere 200kb

1996 – podrobná mikrosatelitná mapa

1997 – súhrnná mapa 16 354 rôznych lokusov

1999 – kompetná sekvencia 22 CH

2000 – kompletná sekvencia 21 CH

2001 – prvá verzia sekvencie ľudského genómu

**HUPO – international human proteome organization – medzinárodná organizácia pre ľudský proteóm**

* Určiť štruktúru a funkciu všetkých proteómov kódovaných ľudským genómom

**Konzorcium ENCODE – encyclopedia of DNA elements**

* Identifikovať všety negénové funkčné elemnty v ľudskom genóme – promotóry, zosilovače, zoslabovače, miesta metylácie a aacetylácie,..

**HapMap projekt**

* Charakteizovať podobnosti a rozdiely medzi ľudskými genómami celeho sveta, identifikovať a mapovať SNP

**SNP – jednonukleotidový polymorfizmus**

* Vyznmné genetické udalosti v evolúcií človeka, predpovedať vnímavosť konkrétnej sooby k osobám
* sú odchýlky individuálnych nukleotidov v [sekvencii DNA](https://cs.wikipedia.org/wiki/Sekvence_DNA) . Mutácie takých miest prebiehajú veľmi pomaly. Tým sú predurčené k mapovanie histórie človeka a zostavenie jeho genetického stromu.

**Ako to urobili:**

* DNA 5 udi (2M , 3 Z)
* Izolacia CH
* Stiepenie DNA restrikcnymi endonukleazmi
* Ligacia do BACs a YACs
* Amplifikacia
* Sekvenovanie
* Automaticke vyhodnocovanie

**Ludsky genom:**

* 1-2% koduje polypeptidy
* 24% dolezite pre translaciu
* 75% junk (odpad) intergenove sekvencie
* Repetitivne sekvencie: satelity, transpozony, retrotranspozony, parazity

**Chromozómové mapovanie**

* Gény vo väzbe sa mapujú analýzou početností rekombinácií ich alel
* Spočítanie c-o (spočítanie chiaziem, (cytologická aanalýza) a spočítanie rekombinovaných CH (genetická analýza))
* Nedá sa priemerný počet výmen v určitej časti CH
* Vzdialenosť medzi 2 bodmi na genetickej mape CH sa rovná riemernému počtu výmien medzi nimi
* Vypčíta sa to ako početnosť rekombinácie – počet rekombinovaných/počet všetkých

**Cytogenetické mapovanie**

* Delécia/deficiencia – odstraňujjeme určité úseky jedného reťazca – ak sa nám zmení fenotyp, vieme v ktorej časti je sledovaný gén
* Duplikácia – hľadáme takú čo maskuje mutantný fenotyp

**Reštrikčné mapovanie**

* Reštrikčné fragmenty – odhad podľa DNA markerov známych veľkostí
* Vyjadrujú skutočné fyzické vzdialenosti na DNA

**12. Mimojadrové genetické determinanty. Organizácia a gény mitochondriálneho genómu. Mutácie mt genómu a ich dôsledky u človeka.**

**Organizácia a gény plastidového genómu. Mutácie v genóme chloroplastov a ich dôsledky.**

**Expresia mt a cp genómov.**

**Maternitné efekty. Príčina a molekulová podstata.**

**Infekčná dedičnosť, epigenetická dedičnosť, genómový imprinting.**

* neplatia Mendelove principy
* fenotyp nezavisi od genov v CH ( jadre)
* dedidcnost determinova genmi mitochondrii a plastidov
* gen.material je v organelach, resp.volne mimo jadra
* mitochondrie a chloroplasty (extrachromozonalne gen.elementy) u PRO mozno tieto elementy naz plazmidy
* gen info tychto organel tvori 2 retazcova cirkularna DNA, kt sa v kazdej organele nach v mnohych kopiach (veľký počet kópií je hlavne tam, kde je požiadavka na veľký počet DNA)

**PRAVIDLA MIMOJADR.DED.:**

* kvoli absencii meiotickej segregacie nedochadza k stiepeniu v mendelovskych pomeroch (chloroplasty a mitochondrie sa meioticky nedelia)
* neplati identita reciprokych krizeni (zygota obsahuje cytoplazmu len od matky)
* genotyp a fenotyp potomstva je rovnaky ako u matky (maternita)
* paternita – vyskytuje sa v malom pocte pripadov (dedicnost po otcovi)

**MITOCHONDRIALNY GENOM**

* mtDNA-objavena v 60.rokoch 20stor
* velkost od 6 kb po 2500 kb (vyssie rastliny), clovek a stavovce (16kb) kvasinky (80kb)
* mtDNA-vyskytuje sa vo vsetkych EB
* vacsina su cirkularne a superspiralizovane molekuly
* v 1 bunke je niekolko mitochondrii, kazda mitochondria obsahuje niekolko kopii DNA co znaci vysoky pocet mtDNA v 1 bunke
* produkcia ATP oxidativnou fosforylaciou
* % GC mtDNA je v niektorych druhov vysoke, co umoznuje jednoduchu separaciu
* mtDNA od jadrovej gradientnovou centrifugaciou
* mtDNA neobsahuju histone-like proteins (ako bakterie)
* mtDNA OBSAHUJU GENY PRE : tRNA,rRNA,ATP-azy, cytochrom oxidazu, NADH-dehydrogenazu
* geny mtDNA sa nach v obidvoch retazcoch
* mitochondrie vyuz aj gen,aparat jadra : DNAP-y, repliakcne faktory, RNA P-a, transkripcne faktory,...

**PLASTIDOVY GENOM**

* chloroplasty maju vlastny genom, znaky sa dedia vacsinou maternitne
* plastidy niekolko druhov: chromoplasty, amyloplasty, elaioplasty
* vsteky 3 sa vyvija z protaplastidov (male membranou ohranicene organely) a obsahuju DNA – chlorplastovu DNA
* pocet molekul cpDNA v bunke zavisi od 2 faktorov
  1. poctu chlororplastov
  2. molekul cpDNA v kazdom chloroplaste
* obsahuje 60-800 kb (velkost)
* cirkularna 2retazcova molekula DNA bez proteinov s odlisnym obsahom zastupenia GC parov
* nachadza sa v mnohych kopiach a obsahuje vela nekodujucich sekvencii

**POVOD MITOCHONDRII A CHLORPLASTOV**

* predpoklad: z endosymbiotickych bakterii – volne zijuce PB ktore infikovali EB a vznikol medzi nimi vzajomne prospesny vztah
* M – su odvodene z fotofotosyntetizujuces purpurovej bakterie kt infikovala EB pred viac ako miliardu rokov
* CH – su odovdene z fotosyntetizujucej cyanobakterie

**VNUTROBUNKOVA SYMBIOZA = ENDOSYMBIOTICKA TEORIA**

***Dôkaz:***

* Replikacia týchto DNA je viazaná na prostredie v ktorom sa nachádzajú.
* M a CH maju vlastnu DNA (dvojretazcovu), ktora sa replikuje nezavisle od jadroveho genomu (teda od chromozomovej DNA);
* mtDNA a cpDNA nie je organizovana do nukleozomov pomocou histonov ako jadrova DNA;
* mtDNA vyuziva bakterialny N-formyl metionin a tRNA ;
* v mtdDNA a cpDNA funguju bakterialne translacne inhibitory ktore nefunguju v jadrovej DNA

**EPIGENETICKA DEDICNOST**

* Rozdiel medzi genetickou dedicnostou: zmeny ovplyvnujuce primarnu strukturu DNA, dedicne

Epigeneticka: zmeny nie na urovni primarnej struktury, ale zaobera sa funkciou danych zmapovanych genov, predstavuje cele spektrum regulacnych mechanzmov od genu az po konecny fenotyp

Imprintig je prikladom epigentickej dedicnosti

* Modifikacia jadrovych genov sposobujuca zmeny v ich expresii nie vsak v primarnej strukture
* Modifikacii dochadza pocas oogenezy, spermatogenezy a ovplyvnuje fenotyp jedincov
  + Príkladom je kompenzácia dávky , genomový imprinting, **Huntingtonova choroba –** mutantný gén od otca; pokiaľ gén zdedíme od otca, tak sa gén prejaví , **Svalová dystofia –** mutantný gén od matky

**INFEKCNA DEDICNOST**

* Kappa telieska su bakterialne symbioty produkujuce faktory „killer“ ktory sa dedi prostrednictvom cytoplazmy (citlivost na CO2 u drosophily)

**EPIGENEZA**

* Vyvojova teoria podla ktorej zarodocny vyvoj nie je predurceny genmi a vyznam dedicnosti vo vyvoji sa nedocenuje

**GENOVY IMPRINTING**

* Gen expresia sa meni v zavislosti od povodu CH nesuceho urcity gen – bud sa exprimuju alebo nie
* Huntightonova choroba – mutantny gen od otca
* Svalova dystrofia – mutantny gen od matky
* Je mechanizmus regulacie expresie genu – imprintovane geny sa lisia od dedenych medelovskych – za normalnych okolnosti sa exprimuju obe alely s vynimkou genou na pohl CH. imrintovane geny su transkribovane len z 1 alely a to rodivske ; 2 alela je neaktivna (imtrintovana). Tieto geny sa podielaju na ebryonalnom vyvoji regulacii proliferacie , maju aj F pri vyvoji spravania
* Vysledok rozdielnej expresie 1 z aliel rod genu

**13. Základy genetiky človeka. Fyziologická a patologická variabilita.**

**Metódy v genetike človeka.**

**Genetická podstata patologických javov.**

**Skupiny genetických chorôb človeka na základe typu genetickej príčiny (génová mutácia, chromozómová aberácia, polyfaktoriálna dedičnosť).**

* **ZÁKLADY GENETIKY ČLOVEKA**
* samostatný vedný odbor, ktorý sa zaoberá dedičnosťou normálnych ľudských znakov a dedične podmienenými chorobami
* má mnohé špecifiká, ktorými sa odlišuje od iných genetických disciplín. Tieto odlišnosti sú spôsobené:
* človeka nemožno zámerne krížiť (etické dôvody)
* na človeku nie je možné robiť experimenty
* na ľuďoch nie je možné vykonávať selekciu (etické dôvody)
* generačná doba človeka je dlhá
* človek má malý počet potomkov (malá vzorka na „vytvorenie“ štiepnych pomerov)
* človek má zložitý genotyp (asi 50 – tisíc génov)
* väčšina znakov je polygénneho charakteru
* vplyv prostredia
* sociálne podmienky, lekárska starostlivosť, zemepisné rozšírenie

**Špeciálne oblasti genetiky človeka:**

**1. klinická genetika** – študuje geneticky podmienené zmeny. Zameriava sa na diagnostiku, prevenciu a liečbu dedičných chorôb a vrodených chýb.

**2. cytogenetika** - študuje zmeny počtu a štruktúry chromozómov a ich klinické prejavy

**3. molekulová genetika** - prináša nové poznatky z oblasti štruktúry a regulácie génov, génového inžinierstva, génovej terapie.

* **VARIABILITA**
* fyziologická (v súvislosti s človekom)
* patologická (v súvislosti s človekom)

1. **Fyziologická variablita**

***1. biochemická***

* + polymorfizmus DNA (RFLP, RAPD, PCR)
  + polymorfizmus sérových bielkovín (17 polymorfných lokusov)
  + polymorfizmus izoenzýmov
  + **príčiny variability**
    - rôzne gény
    - mnohonásobný alelizmus – v danom lokuse na úrovni populácie môže existovať niekoľko rozličných alel – príklad krvné skupiny
    - posttranslačná modifikácia – tie determinujú variabilitu kódovaných polypeptidov a proteínov
  + **evolučné mechanizmy biochemickej variability (**nie sú predmetom výberu)
    - selekčná neutralita
    - drif - náhodná génetická zmena – (stane sa selekčne pozitívnym alebo negatívnym)

***2.imunologická (je úzky vzťah medzi imunologickou a biochemickou)***

* 1. **antigén** - špecifická bielkoviny, ktora stimultuje protilátky a reaguje s nimi
  2. **protilátka** - bielkovina schopná reakcie s antigénom, najčastejšie ho inaktivuje, rozpoznáva cudzie makromolekuly
  3. **Ig** (molekuly imunoglobulínov – schéma v tvare „ypsilon“ má dlhý a krátky reťazec)
     1. v imunitnej odpovedi majú úlohu imunokompetentné bunky
     2. **T-lymfocyty (thymus dependent)**
     3. **B-lymfocyty ( thymus independent) bursa fabrici**
     4. T lymfocyty: citlivé na antigény implantantovaného tkaniva, na nádorové bunky vlastného organizmu
     5. senzibilizované lymfocyty - význam v bunkovej imunite
     6. B lymfocyty: citlivé na antigény mikroorganizmov, vírusov a erytrocytov
     7. plazmatické bunky - význam u humorálnej imunite
  4. **Imunologická variabilita**
     1. erytrocytázne antigény (asi 200)
     2. 15 polymorfných systémov
     3. histokompatibilné antigény
     4. HLA systém - gény sú v 5 lokusoch, 20 mil. kombinácií
     5. najvyšší polymorfizmus u človeka
     6. % rekombinácii:2
     7. % pravdepodobnosti identity u súrodencov: 25
     8. Erytrcytárne krvné skupinové systémy: AB0, Rf faktor a pod. (viď nižšie)

1. ***Morfologická variabilita***
   1. **pigmentácia**
      1. kože, vlasov, dúhovky
      2. obsah melonínu
      3. melanocyty
      4. Tyr - 2 3 - 4 - dihydroxyfenylalanín (DOPA) - DOPA chinón - melanín
      5. polyfunkčný enzým + UV (vonkajší vplyv)
      6. polygénna dedičnosť s aditívnym účinkom
      7. vlasy: 2 formy: eumelanín a feomelanín (hrdzavé vlasy)
      8. zmeny počas ontogenézy
      9. dúhovka (klasický príklad)
         1. tmavá (údajne je táto dominantná)
         2. svetlá - optický efekt - Reyleighov rozptyl modrá
         3. zelená
      10. polygénna dedičnosť ? (otáznik tam má byť) ☺
   2. **dermatoglyfy** 
      1. Výíjajú sa skoro: od 13 týždňa do konca 4. Mesiaca gravidity
      2. Typická jedinečná kresba, determinovaný tvar sa nemení počas života (úraz áno), identifikácia osôb
      3. Odtlačky prstov
         1. Vir
         2. Slučka
         3. Oblúk
         4. Dvojslučka
      4. Palmárne znaky
         1. Flekčné brázdy
         2. Axiálny trirádius
      5. Plantárne znaky (znaky chodidiel)
         1. Tibiálny oblúk
   3. **telesné rozmery**
   4. **somatoskopické znaky**
2. **Patologická variabilita**
3. skupina gén. chorôb a ich frek.
   1. **Choroby s jednoduchou (mendelovskou dedičnosťou) 0,7%** (patria tu enzymopatie; aj malá **bodová mutácia –** ako hlavná príčína**,** spôsobí nefunkčnosť enzýmu)
   2. **choroby spôsobené CH aberáciami 0,5%** (delécie, translokácie, mono a trizómie)
   3. vývinové anomálie polyfaktoriálneho pôvodu 1,8% (často spôsobené vplyvom prostredia, napr. matka požije liek, ktorý poškodí plod – ráštep a pod.)
   4. **Choroby dospelého veku s významnou účasťou genetickej predispozície** 7% (vysoký cholesterol, obezita, cukrovka...)
   5. ..... spolu 10%

**Choroby s jednoduchou (mendel dedičnosťou)**

hereditárne enzymopatie ako sú:

* 1. svalová dystrofia
  2. fenylketonúria, alkaptonúria\*
  3. Parkinsonov syndróm

\*fenylketomíria (PKU) je recesívne antozómovo podmienený defekt charakterizovaný deficienciou v syntéze enzýmu fenylalanín hydrolázy (PAM) potrebného metabolizovanie AMK fenylalanínu na tyrozín. Phe sa akumuluje a mení sa na fenylketóny, ktoré sa hromadia v moči a spôsobujú vážne poruchy funkcie mozgu

**Choroby spôsobené CH aberáciami**

1. **štruktúrne anomálie** (čiastočná monozómia)
2. **numerické anomálie** (trizómia 21 – Downov syndróm)

**Vývin anomálie polyfaktoriálneho pôvodu a choroby dospelého veku s vyznamnou účasťou genetickej predispozície.**

1. komplikovaný spôsob dedičnosti
2. rázštepy, cukrovka, artériová hypertaxia, artérioskleróza, vredová choroba žalúdka a dvanástnika, psychické choroby

* **METÓDY V GENETIKE ČLOVEKA**
* **Genealogická = rodokmeňová**
* Genealógia = rodopis
* človek, od ktorého sa začína robiť výskum sa nazýva **proband**
* schéma rodokmeňa sa zapisuje pomocou štandardných značiek
* skúma sa určitý znak niekoľko generácií
* využíva zostavovanie rodokmeňov niekoľkých generácií

**Existujú 3 typy dedičnosti:**

* **autozomovo dominantná** – napr. polydaktylia, brachydaktylia
* **autozomovo recesívna** – napr. fenylketonúria, celiakia, galaktozémia
* **gonozómovo recesívna** - daltonizmus, hemofília
* **Gemelologická – výskum dvojčiat**
* Gamelus – dvojitý
* Skúmajú sa obaja jedinci páru dvojčiat
* dvojčatá môžu byť:
* **dvojvaječné**- dve vajíčka, každé oplodnené inou spermiou
* **jednovaječné**- 1 vajíčko oplodnené jednou spermiou. Vzniknutá zygota sa neskôr rozdelí a vyvíjajú sa 2 zárodky, ktoré majú vždy rovnaké pohlavie.
* Z genetického hľadiska sú zaujímavejšie jednovaječné dvojčatá,lebomajú rovnakú genetickú výbavu, ale nie sú úplne totožné. Je možné u nich sledovať aj vplyv prostredia.
* **KARCENOGENÉZA**
* proces vzniku nadoru
* **maligny** – vytvara metastazy
* **benigny** – nevytvara metastazy
* **karcinom** – zhubny nador epitelialnych buniek
* **sarkom** – zhubny nador spojivovych tkaniv
* **protoonkogen** – strukturny gen E bunky podielaju sa na regulacii delenia buniek a ich derenciacii
* **onkogen** – variant protoonkogenu sposobeny mutaciou a vyvolavajuci malignu transformaciu
* **protoonkogen a onkogen** - 2 alelicke formy jedneho strukturneho genu
* **aktivacia protoonkogenov** – mutacia, amplifikacia, translokacia, inzercna mutageneza
* **onkogeny** – kodujuce rastove faktory, receptory rastovych faktorov, transkripcne faktory, tyrozin , ...
* **antionkogeny = nadorove supresove geny.**
* Potlacaju proliferaciu buniek a udrziavaju bunku v G0 faze.
* Produkt nadoroveho supresoroveho genu napr. protein p53 .
* mutacia v tomto gene znamena neregulovanu proliferaciu buniek

**ROZDIELI MEDZI**

1. **MUTOVANYMI ALELAMI NAD.SUP.GENOV**

* vznikaju v zarodocnych bunkach
* Neinhibuju delenie buniek
* Recesivny ucinok na fenotyp bunky
* Dedia sa

1. **ONKOGENY**

* vznikaju v somatickych bunkach
* Vznikaju aktivaciou protoonkogenov
* Dom.ucinok na fenotyp bunky
* Spravidla sa nededia

**GEN KODUJUCI PROTEIN p53 ( CH17, 20kb, 11 exonov, 10 intronov)**

* zastavuje G1 fazu bunk.cyklu
* inaktivacia genu bodovou mutaciou alebo deleciou vedie k neoplastickej trnasformacii a vzniku nadorov
* strazca genomu
* chrani DNA pred poskodenim

**ONKOGENNE VIRUSY**

* vyvolavaju / ovplyvnuju neoplasticku transformáciu
* Retrovirusy obsahujuce onkogen (virusy menšej myšej leukémie, myšieho sarkómu,...)
* Retrovyrisy neobsahujuce onkogen
* Niektore virusy hepatitidy
* Herpesvyrisy

**MECHANIZMY ONKOGENEZY SPOSOBENEJ VIRUSMY**

* Inzercna aktivacia protoonkogenu
* Transdukcia
* Interferencia vir.proteinov s produktmi nad.supr.genov (zničenie ich supresívneho účinku)

**VIRUS A RAKOVINA ČLOVEKA**

* Vznik rakoviny viazanej na pritomnost virusov sa predpokalda asi 20% postihnutych
* Lymfotrofny ludsky virus 1 a2
* V.hepatitidy B
* Tieto retrovirusy neoplasticky trnasofrmuju hostitelskej bunky vlastnymi genmi
* **Skupiny genetických chorôb človeka na základe typu genetickej príčiny – génová mutácia, chromozómomvá aberácia, polyfaktoriálna dedičnosť**

**Rozdelenie dedičných chorôb**

**Dedičné choroby z hľadiska naviazanosti na chromozómy môžu byť:**

1./ **autozómové -** viazané na nepohlavný chromozóm,

2./**gonozómové** - viazané na pohlavný chromozóm X alebo Y,

...pričom na základe vzťahu medzi alelami na danom lokuse sú dvojakého charakteru:

a./**dominantné** - ochorejú aj heterozygoti,

b./**recesívne** - ochorejú iba homozygoti pre príslušnú mutovanú alelu.

1. **AD** - Ak je dominantná alela D v populácii veľmi zriedkavá, ako je to často prípad genetických chorôb, je takmer isté, že jedinec dominantného fenotypu je heterozygot Dd, a teda všetky manželstvá sú typu Dd × dd. Jedná sa predovšetkým o mutácie základných bielkovín morfologicko-štruktúrneho charakteru, bielkovín vo funkcii biologických nosičov a receptorov bunky, zriedka nimi bývajú bielkoviny enzýmového charakteru.

Typickými znakmi autozómovo dominantne dedičného znaku v rodokmeni sú:

* vertikálny prenos v rodokmeni (postihnuté dieťa má postihnutého rodiča) cez viac generácií
* pravdepodobnosť postihnutia potomka postihnutého rodiča 0,5
* pravdepodobnosť postihnutia potomka ak sú obaja rodičia postihnutí 0,75
* podiel postihnutých žien a mužov je rovnaký
* prenos do ďalšej generácie cez obidve pohlavia

Veľmi zriedkavým dominantne autozómovým dedičným ochorením je familiárna **hypercholesterolémia.** Jedinci s týmto dedičným ochorením majú mutáciu v géne pre LDL receptor (špecifický bielkovinový receptor na lipoproteínovom komplexe, ktorý prenáša cholesterol v krvi). Dôsledkom tejto poruchy je neschopnosť periférnych tkanív prijímať cholesterol z krvi, cholesterol sa hromadí v krvnom obehu a stáva sa vážnym rizikovým faktorom vzniku arteriosklerózy a srdcového infarktu.

1. **AR** - Aj pri tomto prípade dedičnosti genetickej choroby pochádza väčšina postihnutých z krížení dvoch heterozygotov Dd × Dd, pretože alela je v populácii pomerne zriedkavá. Produktom patologického génu je predovšetkým enzýmový defekt. Variabilita stupňa závažnosti patologického stavu je zvyčajne slabšie vyznačená ako pri dominantnej autozómovej dedičnosti.

* Typickými znakmi autozómovo recesívne dedičného znaku v rodokmeni sú:
* postihnutí zvyčajne len v jednej generácii (horizontálny prenos)
* rodičia postihnutých sú zvyčajne zdraví
* pravdepodobnosť postihnutia ďalšieho súrodenca postihnutého je 0,25 bez ohľadu na počet postihnutých v súrodenectve
* postihnutí majú zvyčajne zdravých potomkov
* podiel postihnutých žien a mužov je rovnaký
* častejší výskyt príbuzenských sobášov u rodičov

Príkladom recesívne autozómového dedičného ochorenia je **galaktozémia**, pri ktorej je postihnutý organizmus neschopný vytvárať jeden z enzýmov nevyhnutných na normálny priebeh katabolického reťazca odbúravania mliečneho cukru - galaktózy. Metabolická dráha teda prebieha až po určitý medziprodukt, tu sa zastaví a ďalej nespracovateľný medziprodukt sa hromadí vo väčšine vnútorných orgánov, na ktoré pôsobí ako jed. Vznikajú tak vážne príznaky: nechutenstvo a iné tráviace ťažkosti, znížená hladina glukózy v krvi, žltačka, zmrštenie pečene, zväčšenie sleziny, príznaky poškodenia obličiek, zákal očnej šošovky a spomalenie psychického vývinu. Genetická informácie jednej mutovanej alely sa teda premieta do mnohých patologických znakov - pleiotropný účinok. Vzniku tejto choroby možno predísť vylúčením mlieka a mliečnych výrobkov zo stravy.

1. **GD** - Dominantnými genetickými chorobami, ktoré sú viazané na X-chromozóm, sú postihnuté aj ženy, avšak často je prejav ochorenia miernejší. Je to pravdepodobne preto, že sú zvyčajne heterozygotky XDXd a ako u všetkých buniek s karyotypom XX, dochádza v prvých štádiách ontogenézy k inaktivácii jedného X-chromozómu (Lyonovej hypotéza inaktivácie jedného X-chromozómu u žien). Pritom je často inaktivovaný práve X-chromozóm s defektnou alelou.

Typickými znakmi gonozómovo dominantne dedičného znaku v rodokmeni sú:

* sú postihnutí muži aj ženy
* podiel postihnutých žien v populácii je zhruba 2x vyšší
* potomok postihnutej ženy má 50 % riziko postihnutia bez ohľadu na pohlavie
* postihnutý muž má všetky dcéry postihnuté a žiadneho postihnutého syna
* V praxi je známych málo prípadov genetických chorôb s týmto typom dedičnosti.

1. **GR** - Matka je zvyčajne asymptomatická prenášačka a môže mať postihnutých potomkov mužského pohlavia. Postihnutie žien môže nastať podobne ako v predchádzajúcom prípade inaktiváciou chromozómu, ktorý nesie "zdravú" alelu. Taktiež ženy postihnuté Turnerovým syndrómom (karyotyp 45,X0) majúce len jeden X-chromozóm sú v podobnej pozícii ako hemizygotný muž (46,XY), takže sa u nich recesívna alela môže prejaviť.

Typickými znakmi gonozómovo recesívne dedičného znaku v rodokmeni sú:

* zvyčajne postihnutí sú len muži
* postihnutí muži sa rodia nepostihnutým rodičom
* postihnutí muži neprenášajú ochorenie na svojich synov
* všetky dcéry postihnutých mužov sú prenášačky
* môže sa vyskytovať preskočenie generácie
* nie je zvýšený výskyt konsangvinity (pokrvných sobášov) medzi rodičmi postihnutých

Najčastejšia recesívne gonozómová porucha krvnej zrážanlivosti novonarodených chlapcov (1 : 5000-10 000) je klasická hemofília A, ktorej gén sa nachádza na X-chromozóme. U chlapcov, keďže majú len jeden X-chromozóm, dôjde vždy k postihnutiu, u dievčat, ktoré majú X-chromozómy dva, choroba sa neprejaví (len v prípade homozygotne recesívneho stavu). Dievčatá s jednou zmutovanou alelou sú prenášačky a môžu hemofíliu preniesť na svoje potomstvo.

* Iným častým príkladom recesívne gonozómovej dedičnej poruchy viazanej na X-chromozóm je daltonizmus - farbosleposť na zelenú a červenú farbu, ktoré postihnutý jedinec vníma ako rôzne odtiene šedej farby.

**Holandrická dedičnosť - Y**

* Je špeciálnym typom dedičnosti znakov, ktoré sa nachádzajú na Y-chromozóme. Zatiaľ nebol zistený žiadny patologický znak, ktorý by sa prenášal touto cestou.

Typickými znakmi holandrickej dedičnosti znaku v rodokmeni sú:

* postihnutí sú len muži
* všetci synovia postihnutých mužov sú tiež postihnutí

Génové mutácie – fenylketonúria, alkaponúria, albinizmus

CH aberácie – downov syndróm, trizómia X, Klinefelterov syndóm, XYY, Turnerov syndróm

**14. Komplexné znaky a ich genetická charakteristika. Diskontinuálna a kontinuálna premenlivosť. Odhad miery genetickej determinácie komplexného znaku.**

**Heritabilita a koeficient heritability.**

* Komplexné fenotypy môžu byť ovplyvnené kombináciou genetických faktorov a faktorov prostredia
* Ako prvý na to poukázala dánsky biológ Wilhelm Johannsen, študoval hmotnosť semien fazule – Phaseolus vulgaris
* **Prahové znaky** – teoretický predpoklad, že ak náchylnosť prekročí určitú hranicu/prah, objaví sa znak vo fenotype.
* Kvantitativne znaky : charakteristickým znakom je merateľnosť su podmienene polygenmi = maju vela fenotypovych kategorii, ktore su kodovane velkym poctom genotypov
* Zakaldna otazka pri studii kvan.znakov: aka cast premenlivosti medzi individuami jednej populacie je determinovana gneticky a aka cast vplyvom prostredia ?
* Tieto podiely sa daju vyjadrit vztahom:
* T= G+E
* T – celkova fenotypova premenlivost (rozptyl)
* G – genotypova premenlivost (rozptyl)
* E-zlozka premenlivosti podmienena prostredim
* Komplexne znaky sa teda dedia kvantitativne ale exprimuju sa kvalitativne
* Rodzelenie fenotypovych tried u kvantitativnych znakov v populacii je typicka tzv.GAUSOVA KRIVKA – pricom najviac sa v nej vyskytuju priemerni jedinci a najmenej jedincov je s extremnym fenotypom. Prikladom je telesna vyska u ludi, ktora zaroven do velkej miery je ovplynena (stravou)
* Multifaktorialna povaha

**Heritabilita**

- v širšom slova zmysle: aká časť celkovej fenotypovej variancie je daná genetickými rozdielmi medzi jedincami v danej populácií

**H2= Vg/VT**=Vg(Vg+Ve)

- hodnoty by sa mali pohybovať medzi 0 – 1

- hodnoty približujúce sa 0 – len malá časť pozorovanej variability poplácie je prisudzovaná individuálnym genetickým rozdielom

- hodnoty približujúce sa 1 – pozorované variability sú prisudzované genetickým rozdielom

- hodnota H v š.s.z. zistená v jednej populácií nemôže byť automaticky pokladaná za reprezenttívnu pre inu populáciu

- užšom slova zmysle: je podiel aditívnych efektov alel z celkovej fenotypovej variancie: **h2=Va/VT**

**Dedičnosť** (heritabilita) udáva, aká veľká časť premenlivosti znaku je zapríčinená genetickými faktormi, takže ju možno vypočítať ako podiel [variance](https://cs.wikipedia.org/wiki/Variance) (rozptylu) [fenotypu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Fenotyp) spôsobený genetickými faktormi (V G ) a celkového rozptylu hodnôt fenotypu (V P ). Tento výraz označujeme ako heritabilitu v širokom zmysle (broad-sense heritability) a označujeme ju **H 2** = Vg/Vp

{\ Displaystyle H ^ {2} = {\ frac {V\_ {G}} {V\_ {P}}}}

H 2 môže teoreticky nadobúdať hodnoty od 0 do 1, ak je napr. H 2 = 0, je variance fenotypu plne závislá na faktoroch prostredie), pri H 2 = 1 naopak faktory prostredia nemajú žiadny vplyv a všetok pozorovaný rozptyl závisí od faktorov genetických ( napr. krvná skupina).

V G je však zložená veličina, u ktorej rozlišujeme minimálne tri základné zložky. Jednou z nich je tzv. Prídavný účinok [génov](https://cs.wikipedia.org/wiki/Gen) (V A ), keď výsledný efekt zodpovedá súčtu pôsobenia jednotlivých aktívnych alel. U niektorých [génov](https://cs.wikipedia.org/wiki/Gen) sa však uplatňuje princíp dominancie a recesivity, takže účinok danej alely závisí aj od typu alely na homológnym [chromozóme](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Chromosomu&action=edit&redlink=1) .Táto zložka rozptylu [fenotypu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Fenotyp) vyvolaná pôsobením dominancie (V D ) nie je aditívne. To platí aj pre posledný uvažovanú zložku, zložku genetických nealelních interakcií ([epistáze](https://cs.wikipedia.org/wiki/Epist%C3%A1ze) ) - V I .

{\ Displaystyle V\_ {G} = V\_ {A} + V\_ {D} + V\_ {Aj}}Vg = VA+VD+VI

Pre výpočet podielu aditívne zložky (V A ) na celkovej variáciu [fenotypu](https://cs.wikipedia.org/wiki/Fenotyp) , preto bol zavedený termín heritabilita v úzkom zmysle (narrow-sense heritability), označuje sa ako **h 2** a platia pre ňu vzťah

{\ Displaystyle h ^ {2} = {\ frac {V\_ {A}} {V\_ {P}}}}h2= VA/VP

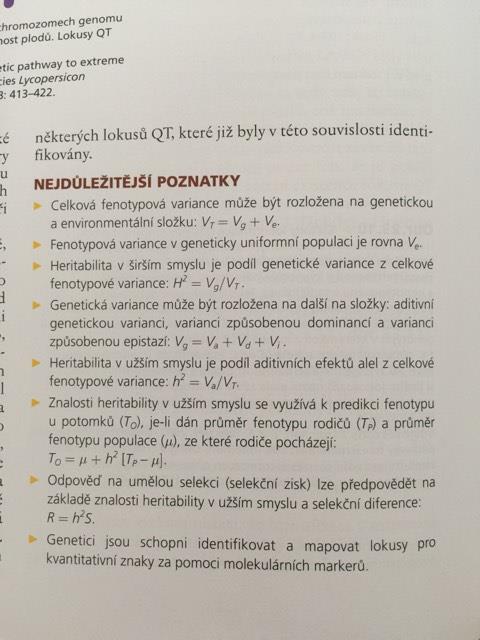
Heritabilitu možno vypočítať, či skôr odhadovať pomocou radu postupov, napr. Regresiou v rodinách, [štúdiom dvojčiat](https://cs.wikipedia.org/w/index.php?title=Dvoj%C4%8Dec%C3%AD_metoda&action=edit&redlink=1) (ACE model, ADE model) atp. Je však nutné uvažovať aj[korelácia](https://cs.wikipedia.org/wiki/Korelace) (resp. [Kovariancie](https://cs.wikipedia.org/wiki/Kovariance) ), inak môžu byti interpretácia výsledkov značne skreslené.

**Kvantitatívna genetika znakov ľudského správania**

Teória kvantitatívnej genetiky bola využitá k určeniu heritability inteligencie a osobnostných znakov u ľudí.

**Inteligencia** : odhad heritability v š.s.z. vdedie k záveru, že ľudia medzi sebou sa líšia v intelingencii viac v dôsledku pôsobenia genetických faktorov ako prostredia.

**Zhrnutie:**



**Kvantitatívne znaky:**

Väčšina znakov a vlastností vykazuje oveľa širšie spektrum možných fenotypových kategórií napr. hmotnosť tela novorodeniat, znáška vajec u kuri, obsah bielkovín v zrne kukurice, ... rozdelenie fenotypov týchto znakov sa vyznačuje spojitou premenlivosťou a jej grfickým znázornením je Gaussova kivka.

**Čím sa vyznačuju:**

* KZ sú podmienené polygénmi – majú veľa fenotypových kategórií, ktoré sú kódované veľým počtom genotypov
* ich premenlivosť je okrem genetickej zložky v porovnaní s kvalitatívnymi znakmi v oveľa väčšej miere podmienená aj faktormi prostredia
* determinované veľkým počtom génov, ktorých aditívny efekt sa v hlavnej miere podieľa na ich fenotypovom prejave
* je možné ich študovať na vzorkách súborov populácií a pomocou štatistických metód (priemer, rozpty, korelácie, odhady premelivosti, regresná analýza)
* základna otázka: aká časť premenlivosti medzi indivíduami jednej populácie je determinovaná geneticky a aká časť vplyvom prostredia? Tieto podiely sa dajú vyjadriť vzťahom:

**P=G+E**

P – celková fenotypová premenlivosť (rozptyl)

G- genotypová premenlivosť (rozptyl)

E- zložka prostredia

**Heritabilita:**

Podieal časti fenotypovej variability na celkovej variabilite, za ktorú sú zodpovedné genetické faktory. Ide o dedivosť v š.s.z.

KZ sú podmienené veľkým počtom génov malého účinku (polygénmi). Dominantné alely podieľajúce sa na zvyšovaní hodnôt KZ označujeme ako aktívne – kontribučné, recesívne alely sú z hľadiska ich príspevku na hodnotu KZ neutrálne – nekontribučné. Efekt kontribučných alel na konečný fenotypový prejav býva najčastejšie aditívny (účinok aktívnych alel sa sčituje), zriedkavo multiplikatívny (účinok aktívnych alel sa násobí).

**Znakom** nazývame všetko, čo sa prejaví navonok na základe určitého génu (predpokladu). Za **kvalitatívny** znak považujeme napr. farbu očí, vlasov – t.j. znak prejavujúci sa kvalitou.

Na druhej strane napr. výška je kvantitatívnym vyjadrením znaku, t.j. **kvantitatívny znak**.

Ďalej rozlišujeme znaky **morfologické** (napr. rozmery tela), **funkčné** (napr. schopnosť vyvíjať biologickú aktivitu) a **psychické**(napr. nadanie, povaha, IQ). Hotové znaky sa od rodičov nededia, dedia sa len predpoklady – **gény**, čo je molekulový predpoklad na vytvorenie určitého znaku, vlastnosti. Je to časť DNA, nesie úplnú genetickú informáciu pre vytvorenie znaku. Gény sa môžu ale i nemusia prejaviť.

Diskontinuálna variabilita je variabilita, pri ktorej sa daný znak vyskytuje v jednej z dvoch alebo v niekoľkých rôznych formách, medzi ktorými nie je žiadna iná forma. Je to riadené jedným alebo niekoľkými génmi.

Kontinuálna variabilita je variabilita, pri ktorej je daný znak vyjadrený rôznymi formami. Jeho forma je určená súčinnosťou mnohých génov, čo vedie k vzniku mnohých medzi- foriem.

**15. Základy genetiky populácií. Rovnovážny stav v populácii. Hardyho a Weibergov zákon o populačnej rovnováhe. Frekvencia alel a frekvencia genotypov. Faktory narúšajúce rovnováhu v populácii.**

**Populačná genetika:** študuje dedičnosť a premenlivosť v rámci populácie a medzi populáciami, vysvetľuje jej pôvod, popisuje faktory, ktoré ju v priebehu evolúcie ovplyvňujú.

Populačná genetika určuje genetickú variabilitu prostredníctvom určenia **genetickej štruktúry** populácie. Tá spočíva v meraní frekvencie alel konkrétnych génov, ktoré tento rozdielny fenotyp determinujú.

**Populácia:** spoločenstvo organizmov jedného druhu časovo a priestorovo oddelené od iného druhu. Každá je genotypovo a fenotypovo polymorfná.

**Predmet štúdia:**

**Genofond:** súbor génov všetkých členov určitej populácie

**Faktory** – ktore determinuju zloženie genofonda

**Spôsob štúdia:**

* Stanovenie genotypových frekvencií na základe fenotypov
* Stanovenie alelových (genových) frekvencií

**Veľké populácie:** rozhodujúci je počet jedincov, ktorí sú schopní žiť a rozmnožovať sa, väčšinou nad 100 členov

**Malé populácie:** produkujú malý počet gamét, ich genetický fond nie je schopný zabezpečiť vytvorenie reprezentatívnej vzorky génov

**V populáciach môže prebiehať: (SPOSOBY ROZMNOZOVANIA)**

a) **panmixia:** systém kríženia je náhodný, voľné a náhodné kríženie jedincov spoločenstva medzi sebou na základe rovnakej pravdepodobnosti, pričom jedinci sú rovnako životaschopní.

- udržiava konštantný pomer genotypov v populácii, počet heterozygotov bude zachovaný aj v nasledujúcich generáciách

b)**autogamia:**  samooplodnenie (splynutie samčej a samičej pohlavnej bunky toho istého jedinca), typické najmä pre rastliny. Po určitom čase sa z populácie stratia heterozygoty, a populácia sa rozpadne na 2 pôvodné homozygotné zložky (2 čisté línie).

**Manželstva medzi geneticky príbuznými jedincami – inbreeding:**

**Incest** – brat a sestra

**Inbreeding** – bratranec a esternica (hlavne romska populacia)

c))**Alogamia** – urcity vyber partnera

**Autogamia a inbríding znižujú genetickú heterogenitu populácie a prispievajú k homogenite!**

Takáto zmena genotypových frekvencií je škodlivá pre jedinca, pretože sa v jeho genotype môžu prejaviť recesívne letálne alely (ktorých účinok bol predtým maskovaný dominantnými vitálnymi alelami). Zároveň však inbríding "ozdravuje" populáciu tým, že dochádza k rýchlejšej eliminácii letálnych alel, pretože homozygotné jedince sa nedostanú do reprodukčného veku.

**Genetická štruktúra populácie**

- skúmame ju:

1. **z hľadiska početnosti alel** - **alelické frekvencie:**

- predstavujú percentuálne zastúpenie určitej alely génu v populácii)

alela A → početnosť.................. **p**

alela a → početnosť.................. **q**

platí: **p + q = 1**

1. **z hľadiska genotypov** - **genotypové frekvencie**

- predstavujú percentuálne zastúpenie konkrétneho genotypu v populácii

AA: dominantný homozygot → počet............................**P**

Aa: heterozygot → počet..............................................**H**

aa: recesívny homozygot → počet ................................**Q**

platí: **P + H + Q = 1**

potom**: p = P + ½ H**

**q = Q + ½ H**

**Hardy – Weinbergov zákon alebo zákon o populačnej rovnováhe**

- definovali ho: r. 1908 G. H. Hardy + W. Weinberg

- pre potreby populačnej genetiky bolo potrebné zaviesť zjednodušený matematický model, ktorý by umožnil kvantitatívne vyjadrenie genetickej variability

- vyjadruje vzťah medzi alelickými a genotypovými frekvenciami v populácii

- **znenie:** za predpokladu panmixie a rovnakej životaschopnosti všetkých jedincov populácie, pri platnosti ostatných kritérií pravej populácie je ľubovoľné východiskové genetické zloženie populácie stále rovnaké, je teda v rovnováhe.

- platí pre pravé populácie

**p2(AA) + 2pq (Aa) + q2 (aa) = 1**

**N –** genofond populácie

**p2 –** frekvencia genotypu AA dominantný homozygot

**2pq –** frekvencia genotypu Aa heterozygotov

**q2-** frekvencia genotypu recivný homozygot

* genotypové frekvencie vyplývajú z alelových frekvencií
* genotypové frekvencie sú binomickou funkciou alelových frekvencií

**Z HWZ vyplýva:**

* po dosiahnutí rovnovážneho stavu sa alelové frekvencie z generácie na generáciu nemenia
* rovnovážny stav je dosiahnutý už v 1.generácií získanej náhodným krížením

**Vzťah medzi genotypovými a alelovými frekvenciami**

Ak sa zvyšuje frekvencia dominantje alely, tak narastá počet dominantných homozygotov, analógne aj recesívnijedinci

* počet heterozygov rastie keď hodnoty p a q rastú z hodnoty 0
* ak je niektorý znak zriedkavý (recesívny), väčšina recesívnych alel v populácii sa nachádza v heterozygotoch (recesívne genetické choroby) – frekvencia mutácie **je nízka**
* ak p a q sú v intervale (0,33;0,67), potom heterozygoti tvoria väčšinu populácie (prenášači recesívnych alel)

**PODMIENKY PLATNOSTI HWZ:**

* dostatocna velkost populacie (ziadne nahodne zmeny (genetický drift, mutácie), generacie sa neprekryvaju – 1 generácia 30rokov)
* panmixia (vynimka hluchonemi, ludia kt zblizuje choroba)
* ziadny z genotypov nema selkcnu vyhodu (rovnaka zivotaschopnost, schopnost reprodukcie)
* nepritomnost faktorov meniacich G frekvencie (mutacie, migracie, gen.drift)

**Pravá populácia sa vyznačuje:**

* a) prebieha v nej panmixia
* b) je nekonečne veľká a svoju veľkosť nemení
* c) neprebiehajú v nej rušivé vplyvy (mutácie)

**Pravá populácia v prírode neexistuje, je to modelová populácia**!

**Aplikácia HWZ**

* pre výpočet frekvencie alel a genotypov stačí poznať frekvenciu recesívnych homozygotov
* stanovenie genetického rizika = frekvencie heterozygotov (prenášačov) nesúcich recesívnu alelu pre genetickú poruchu
* určiťgenetické riziko = zistiť frekvenciu heterozygotov
* vypočítať genetické riziko = zistiť frekvenciu recesívnych homozygotov *q2* -) vypočítať *q* -) vypočítať *2pq*
* príklad : albinizmus (tigre) – Autonomne Recesívny znak, f(a,a) sa dá zistiť priamym zrátaním jedincov

**Procesy narúšajúce rovnováhu v populácií - Odchýlky od H-W rovnováhy**

Porušenie H-W rovnováhy je dôsledkom pôsobenia faktorov, ktoré menia alelické a genotypové frekvencie v populácii. Okrem už spomínaných systémov kríženia (inbríding, homogamia) sú hlavnými a dôležitejšími dve skupiny činiteľov:

1. systematické činitele

* mutácie
* migrácia

- selekcia

1. stochastické činitele

- genetický drift

* **náhoda** - náhodné zmeny sa uplatňujú hlavne **v malých populáciách**
* čím menšia je populácia, tým väčšmi sa môže uplatniť náhoda, ktorá spôsobí, že génové frekvencie v nasledujúcej generácii budú iné ako v predchádzajúcej - **hovoríme o génovom posunu (génový drift)**

**GENETICKY DRIFT**

* populácie veľkého rozsahu - Genetický drift môže spôsobovať postupné zmeny v priebehu generácií
* populácie malého rozsahu - drastické zmeny genotypových frekvencií už po 1 generácii
* zmena relatívnej početnosti určitej alely vplyvom **náhody**
* uplatňuje sa v populáciách s ohraničeným efektívnym rozsahom
* v jeho dôsledku - fixácia alebo eliminácia alel ---- **zníženie genetickej variability**

**EFEKT ZAKLADATELA –** vysoke pocetnosti gen ochoreni v populaciach, kt vznikli z malych zaklandnych celkov

**IZOLATY –** ak sa veľká panmiktická populácia rozdelí na malé subjednotky

* + geografické (ostrovy, oázy, obce vo vysokohorských údoliach)
  + sociálne (na základe náboženstva, etnickej odlišnosti, reči, napr. romovia v európe)
  + genetický dôsledok - zvyšovanie **početnosti homozygotov**
* rozpad izolátov - zmeny priemerných hodnôt kvantitatívnych znakov (napr. vzostup priemerných hodnôt telesnej výšky)

**Procesy narušujúce rovnováhu v populácii**

* činitele, ktorých pôsobenie má **zákonitý ráz**
  + mutácie
  + selekcia
  + migrácia
* uplatňujú sa predovšetkým vo **veľkých populáciách**, kde ich účinok nerušia náhodne pôsobiace činitele

**MUTACIE**

* mutácie sú veľmi zriedkavé
  + v priebehu **niekoľkých generácií** - nemôžu samo osebe vyvolávať podstatné zmeny génových frekvencií populácie
  + v **evolučných časových dimenziách** - môžu byť významných činiteľom zmien génových frekvencií
* mutácie prebiehajú v prírodných populáciách náhodne:
  + selekčne výhodné - priaznivé
  + selekčne nevýhodné - škodlivé
  + selekčne neutrálne

**SELEKCIA**

mutácie = zdroj genetickej variability potom **podklad** pre evolúciu

selekcia = **hybná sila** evolúcie

**Uplatňuje sa keď:**

* určitý genotyp/fenotyp poskytuje danému organizmu výhodu oproti ostatným organizmom s inou alternatívou znaku
* stav, keď jedinci s rozličnými genotypmi majú v priemere nerovnaký počet potomstva (niektoré jedince prispievajú do genofondu populácie odlišne ako ostatné)
* pravdepodobnosť, že daný genotyp prežije a zanechá potomstvo, je mierou jeho reprodukčnej zdatnosti (fitness, f)
  + fitness je relatívna hodnota, závisí od environmentálnych podmienkok (pri zmene podmienok získava výhody iný genotyp)
* rozdiel medzi fitness sledovaného genotypu a iného porovnávaného genotypu sa nazýva selekčný koeficient (s)

**Typy selekcie:**

* prírodná selekcia - vplyv zmien životného prostredia na populáciu Biston betularia
* na skúške tento príklad neuvádzať, skúšajúca ho nemá rada ☺
* Sú to motýle čierny a škvrnitý. Škvrnité dominujú ☺, sadajú na kôru stromov, kôra má podoní sfarbenie takže sú ťažko rozlíšiteľné, a potom nastala priemyselná revolúcia a začali dominovať čierne motýle (kôra vymizla)

**Typy prírodnej selekcie**

gaussova krivka - žiadna selekcia

usmernená selekcia - usmernené krajné hodnoty - posun... prostredie ssa mení v jednom extrémnom smere

stabilizujúca sekvencia - výhody nositelia priemernej hodnoty, prostredie sa nemení

disruptívna selekcia - žijú v dvoch extrémnych prostrediach, jedinci sa môžu krížiť; jedinci jednej

populácie sa dostávajú do dvoch rozdielnych populácií

**Migrácia**

* v dôsledku migrácie sa v recipientnej populácii (B) mení frekvencia alel ich prenikaním z donorovej populácie (A). vzniká tak zmiešaná populácia (C). pre frekvenciu určitej alely v zmiešanej populácii potom platí:

**qc = (nAqA + nBqB) / nA + nB**

**nA =** počet jedicovdonorovej populácie A

**nB =** počet jedincovrecipientnej populácie B

Gradient alely B lokusu AB0 – najvyššia frekvencia B je v Centrálnej Ázii a postupne klesá SZ smerom. Gradient výskytu alely B zodpovedá vlnám migrácií mongolských kmeňov do Európy po páde Rímskej ríše.

**16. Vnútrobunkové trávenie. Endocytóza.**

**Regulované a neregulované trávenie vlastného a prijatého materiálu bunkou.**

**Stavba a funkcia lyzozómov.**

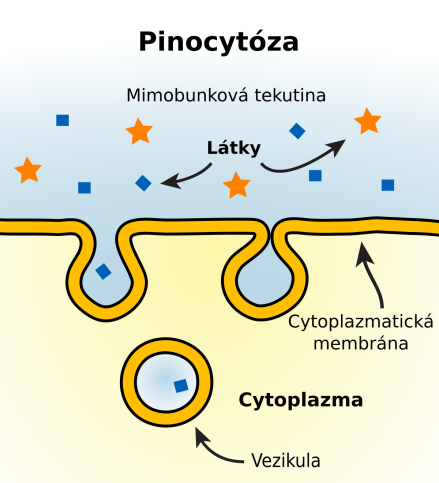
**Špecifická degradácia bielkovín proteazómami.**

**Aktívny transport (látok cez bunkovú membránu)**

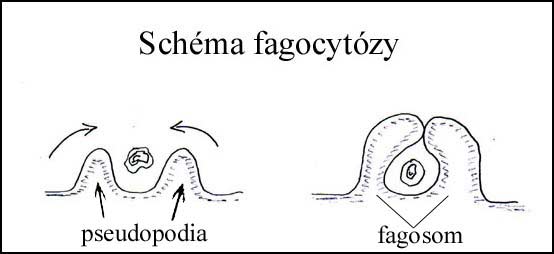
**Endocytóza**je proces, pri ktorom sa do [bunky](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bunka) dostávajú väčšie [makromolekuly](https://sk.wikipedia.org/wiki/Makromolekula), ktoré nie sú schopné [prejsť plazmatickou membránou ani pomocou transportných proteínov](https://sk.wikipedia.org/wiki/Membr%C3%A1nov%C3%BD_transport). Makromolekula sa vnorí do [plazmatickej membrány](https://sk.wikipedia.org/wiki/Plazmatick%C3%A1_membr%C3%A1na), ktorá ju obalí a vo forme transportnej vezikuly dopraví do bunky. Opačný proces sa nazýva exocytóza.

Bunka pohlcuje látky z okolia prestavbou cytoplazmatickej membrány:

* **pinocytóza** – bunka prijíma látky vo forme roztoku (rozpustné látky), membrána sa preliači do bunky a odškrtí sa vo forme malého mechúrika, ktorá prechádza do cytoplazmy, rozpadáva sa a jeho obsah je rozptýlený, tak vznikajú pinocytárne vakuoly.



* **fagocytóza –** bunka vytvorí panôžky (plazmatické výbežky), ktorými obali väčšie častice a uzavrie ich do mechúrika. Do neho prúdia enzýmy, ktoré častice rozložia.

****

**Vnútrotelové trávenie (intrasomatické) -**procesy trávenia prebiehajú vo vnútri organizmu

**- bunkové trávenie (intracelulárne) -**najjednoduchší a fylogenetický najstarší spôsob. Potrava je prijatá fagocytózou do bunky, kde sa trávi účinkom lytických enzýmov v tráviacich vakuolách. Nestrávené zvyšky sú odstránené exocytózou alebo na určitom mieste bunky – cytopyge. Vnútrobunkové trávenie sa vyskytuje aj pri najjednoduchších bezstavovcoch (hubky, ploskavce, niektoré mäkkýše).

**Fagocytóza** je [endocytotický](https://sk.wikipedia.org/wiki/Endocyt%C3%B3za) proces pohlcovania pevných častíc z okolitého prostredia [bunkami](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bunka). Bunky so schopnosťou fagocytózy majú na povrchu iba tenkú [plazmalemu](https://sk.wikipedia.org/wiki/Plazmalema), môžu meniť svoj tvar a vytvárajú tzv. [panôžky](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Pan%C3%B4%C5%BEky&action=edit&redlink=1), čo sú výbežky ich tela. Panôžkami časticu obalia, vytvoria z plazmalemy váčok a vtiahnu do seba. Do váčku vylúčia enzýmy a časticu strávia.

Týmto spôsobom sa niektoré jednobunkové organizmy živia. Príkladom môžu byť [koreňonožce](https://sk.wikipedia.org/wiki/Kore%C5%88ono%C5%BEce), z nich najznámejšia je [meňavka](https://sk.wikipedia.org/wiki/Me%C5%88avka) ([améba](https://sk.wikipedia.org/wiki/Am%C3%A9ba)). V mnohobunkovom tele to môže byť prostriedok obrany proti cudzorodým časticiam a mikroorganizmom alebo sa týmto spôsobom odstraňujú vlastné bunky zaniknuté procesom [apoptózy](https://sk.wikipedia.org/wiki/Apopt%C3%B3za) (prestarnuté a poškodené bunky a ich zvyšky). Na túto činnosť bývajú vyčlenené špecializované bunky [fagocyty](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Fagocyt&action=edit&redlink=1) ([makrofágy](https://sk.wikipedia.org/wiki/Makrof%C3%A1g) a [mikrofágy](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Mikrof%C3%A1g&action=edit&redlink=1)), ktoré sa vďaka svojej schopnosti ľahko zmeniť tvar dostanú i cez steny ciev

**Lyzozómy**

Lyzozómy sú membránové organely všetkých eukaryotických buniek. Napriek tomu, že existencia lyzozómov v živočíšnej bunke je známa už dávno, o ich existencii v rastlinnej bunke sa ešte aj dnes polemizuje.

Lyzozómy sú obalené len jednoduchou membránou. Ich veľkosť a tvar sú značne variabilné.  
Sú hlavnou zložkou intracelulárneho tráviaceho systému a slúžia na enzýmové odbúravanie materiálu endogénneho a exogénneho pôvodu.

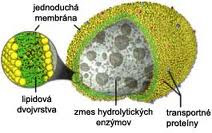
V lyzozómoch dochádza k hydrolytickému štiepeniu proteínov, peptidov, DNA, RNA, polysacharidov, oligosacharidov, lipidov, fosfátov.

Základnými enzýmami lyzozómov sú **hydrolázy** (peptidázy, lipázy, glykozidázy, nukleázy). Tieto enzýmy sú syntetizované na drsnom endoplazmatickom retikule, odkiaľ sú transportované do Golgiho aparátu. Po prechode Golgiho aparátom sa odštiepovaním formujú ohraničené vezikuly.

**Rozlišujeme niekoľko typov lyzozómov podľa ich aktivity:**

* **Primárne lyzozómy** sú bunkové štruktúry, ktoré vznikajú odštiepovaním z Golgiho aparátu, poprípade z endoplazmatického retikula. Sú vyplnené bezštruktúrnou hmotou (matrix), ktorá obsahuje neaktívne hydrolytické enzýmy.
* **Sekundárne lyzozómy** predstavujú bunkové štruktúry, ktoré sa aktívne zúčastňujú na lytických procesoch v bunke. Obsahujú už aktívne hydrolytické enzýmy a materiál, ktorý rozkladajú. Podľa substrátu, ktorý sekundárne lyzozómy odbúravajú, sa delia na:
  + **heterolyzozómy (heterofagozómy)** odbúravajú látky, ktoré sa dostali do bunky zvonku prostredníctvom endocytózy
  + **autolyzozómy (autofagozómy)** rozkladajú vlastné opotrebované, poškodené a nefunkčné bunkové štruktúry (organely, ribozómy), fragmenty organel sú v tomto type lyzozómu jasne viditeľné
* **Terciárne lyzozómy (reziduálne telieska, telolyzozómy)** obsahujú len zvyšky rozloženého obsahu sekundárnych lyzozómov, t.j. materiál, ktorý sa ide vylúčiť z bunky pomocou exocytózy; zaraďujú sa sem aj **lipofuscínové granuly** (**lipofuscín** je tzv. **pigment z opotrebovania**)

Ako už bolo spomenuté, hlavná funkcia lyzozómov spočíva v rozklade cudzorodých alebo vlastných bunkových štruktúr, čím zohrávajú úlohu pri likvidácii patogénov a detoxikácii niektorých látok. Okrem toho môžu mať lyzozómy transportnú a sekrečnú funkciu. Lyzozómy spermatickej bunky rozrušujú membránu vajíčka. Autolýzou tracheálnych elementov je zabezpečená diferenciácia vodivých rastlinných pletív.



**Špecifická degradácia bielkovín proteazómami.**

**Proteázy** sú enzýmy zo skupiny [hydroláz](https://sk.wikipedia.org/wiki/Hydrol%C3%A1za), ktoré sú schopné štiepiť [peptidovú väzbu](https://sk.wikipedia.org/wiki/Peptidov%C3%A1_v%C3%A4zba) medzi dvoma [aminokyselinami](https://sk.wikipedia.org/wiki/Aminokyselina) [peptidového](https://sk.wikipedia.org/wiki/Peptid) reťazca. Tento proces sa nazýva proteolýza a v [bunke](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bunka) je prísne regulovaný.

Proteázy sa okrem katabolizmu [bielkovín](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bielkovina) zúčastňujú mnohých ďalších procesov. Sú súčasťou regulačných kaskád, sú esenciálne pre poskladanie niektorých [vírusových](https://sk.wikipedia.org/wiki/V%C3%ADrus) častíc, regulujú [apoptózu](https://sk.wikipedia.org/wiki/Apopt%C3%B3za), upravujú bielkoviny do ich konečnej primárnej štruktúry a v ich chybnej funkcii majú pôvod niektoré globálne rozšírené ochorenia. Proteázy sú rozšírené vo všetkých [taxónoch](https://sk.wikipedia.org/wiki/Tax%C3%B3n), od [baktérií](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bakt%C3%A9rie) a jednobunkových [eukaryotických](https://sk.wikipedia.org/wiki/Eukarya) organizmov až k [hubám](https://sk.wikipedia.org/wiki/Huby), [rastlinám](https://sk.wikipedia.org/wiki/Rastliny) a [živočíchom](https://sk.wikipedia.org/wiki/%C5%BDivo%C4%8D%C3%ADchy).

Degrádacia bielkovín je jednou zo základných úloh proteáz v bunke. Podieľajú sa na degradácii chybných bielkovín, bielkovín označených na degradáciu a určujú polčas bielkovín v bunke.

**Degradácia ne proteazóme**

Proteazóm je veľký bielkovinový komplex pozostávajúci zo siedmich α- a siedmich ß-podjednotiek usporiadaných cylindricky. Aktívne miesto tvorí [treonín](https://sk.wikipedia.org/wiki/Treon%C3%ADn), ktorý je lokalizovaný na ß-podjednotkách. Proteazómy štiepia bielkoviny na heptapeptidy až nonapeptidy. Na štiepenie jednej peptidovej väzby pritom spotrebujú v priemere 0,1 molekúl [ATP](https://sk.wikipedia.org/wiki/ATP). Degradácia na proteazóme je regulovaná tzv. [ubikvitináciou](https://sk.wikipedia.org/w/index.php?title=Ubikvitin%C3%A1cia&action=edit&redlink=1). Molekula ubikvitínu sa tioesterovou väzbou viaže na bielkovinu určenú na degradáciu (zv. cez [lyzínový](https://sk.wikipedia.org/wiki/Lyz%C3%ADn) zvyšok) a následne dochádza k reťazeniu ubikvitínov. To, či bude nakoniec proteín degradovaný, závisí na počte a dĺžke reťazcov ubikvitínu

**17. Poškodenie DNA. Reparácia poškodenia DNA. Rozhodovanie o osude bunky s poškodenou DNA.**

**Molekulárna podstata karcinogenézy.**

* **KARCENOGENÉZA**
* proces vzniku nadoru
* **maligny** – vytvara metastazy
* **benigny** – nevytvara metastazy
* **karcinom** – zhubny nador epitelialnych buniek
* **sarkom** – zhubny nador spojivovych tkaniv
* **protoonkogen** – strukturny gen E bunky podielaju sa na regulacii delenia buniek a ich derenciacii
* **onkogen** – variant protoonkogenu sposobeny mutaciou a vyvolavajuci malignu transformaciu
* **protoonkogen a onkogen** - 2 alelicke formy jedneho strukturneho genu
* **aktivacia protoonkogenov** – mutacia, amplifikacia, translokacia, inzercna mutageneza
* **onkogeny** – kodujuce rastove faktory, receptory rastovych faktorov, transkripcne faktory, tyrozin , ...
* **antionkogeny = nadorove supresove geny.**
* Potlacaju proliferaciu buniek a udrziavaju bunku v G0 faze.
* Produkt nadoroveho supresoroveho genu napr. protein p53 .
* mutacia v tomto gene znamena neregulovanu proliferaciu buniek

**ROZDIELI MEDZI**

1. **MUTOVANYMI ALELAMI NAD.SUP.GENOV**

* vznikaju v zarodocnych bunkach
* Neinhibuju delenie buniek
* Recesivny ucinok na fenotyp bunky
* Dedia sa

1. **ONKOGENY**

* vznikaju v somatickych bunkach
* Vznikaju aktivaciou protoonkogenov
* Dom.ucinok na fenotyp bunky
* Spravidla sa nededia

**GEN KODUJUCI PROTEIN p53 ( CH17, 20kb, 11 exonov, 10 intronov)**

* zastavuje G1 fazu bunk.cyklu
* inaktivacia genu bodovou mutaciou alebo deleciou vedie k neoplastickej trnasformacii a vzniku nadorov
* strazca genomu
* chrani DNA pred poskodenim

**ONKOGENNE VIRUSY**

* vyvolavaju / ovplyvnuju neoplasticku transformáciu
* Retrovirusy obsahujuce onkogen (virusy menšej myšej leukémie, myšieho sarkómu,...)
* Retrovyrisy neobsahujuce onkogen
* Niektore virusy hepatitidy
* Herpesvyrisy

**MECHANIZMY ONKOGENEZY SPOSOBENEJ VIRUSMY**

* Inzercna aktivacia protoonkogenu
* Transdukcia
* Interferencia vir.proteinov s produktmi nad.supr.genov (zničenie ich supresívneho účinku)

**VIRUS A RAKOVINA ČLOVEKA**

* Vznik rakoviny viazanej na pritomnost virusov sa predpokalda asi 20% postihnutych
* Lymfotrofny ludsky virus 1 a2
* V.hepatitidy B
* Tieto retrovirusy neoplasticky trnasofrmuju hostitelskej bunky vlastnymi genmi

**18. Štruktúra a dynamika prokaryotických a eukaryotických chromozómov. Hierarchické usporiadanie DNA v chromatínových vláknach interkinetického jadra a chromozómov.**

**Mikroskopická a molekulová stavba mitotických a meiotických chromozómov.**

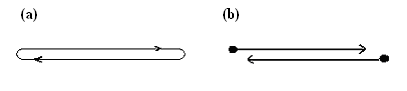
**BAKTERIÁLNY CHORMOZÓM**

- Najväčšia časť baktériovej DNA je prítomná v chromozóme, ktorý tvorí nukleoid; iba malá časť DNA je prítomná mino chromozómu v podobe plazmidov

**Stavba chromozómu:**

- Niektoré baktérie majú **lineárne** chromozómy. Napr. *Borrelia* a niektoré *Streptomyces* majú lineárne chromozómy a kružnicové plazmidy, ale väčšina baktérií rodu *Streptomyces* má lineárne chromozómy aj plazmidy

- Lineárne chromozómy baktérií majú na koncoch dva rôzne typy telomér, a to vlásenkové (hairpin) a obrátené (invertron) teloméry



- teloméry chránia voľné konce lineárnej dvojreťazcovej DNA, ktoré sú veľmi citlivé na degradáciu intracelulárnymi nukleázami. Palindrómové vlásenkové teloméry sú chránené tým, že nemajú voľné dvojreťazcové konce DNA. Obrátené teloméry sú chránené bielkovinymi kovalentne naviazanými na 5’-konce reťazcov (terminálne proteíny - TP).

- Ostatné baktérie majú **kružnicové** chromozómy, tvorené kružnicovou molekulou DNA

- Skrátenie dĺžky molekuly DNA pri súčasnom zachovaní dostupnosti určitých miest pre vykonávanie ich funkcií sa dosahuje pomocou viacerých stratégií. Tieto stratégie organizácie baktériovej DNA zahŕňajú cirkulárizáciu štruktúry, tvorbu záhybov a superšpiralizáciu DNA. Usporiadanie DNA do takejto štruktúry si vyžaduje účasť viacerých DNA-viažucich **bielkovín** podobných histónom, ako sú *HU, IHF, FIS* a *H-NS*. Tieto bázické bielkoviny, pomáhajú zbaliť DNA a majú aj ochrannú úlohu. Niektoré z nich môžu spôsobiť ohyb molekuly DNA, a to až do 140° uhla, čím ovplyvňujú štruktúru chromozómu. Neutrálne proteíny baktériového nukleoidu sú potrebné na priebeh rôznych procesov, ako je replikácia, všeobecná rekombinácia, oprava poškodení DNA a transkripcia.

**Cirkularizáciou** sa lineárna dĺžka molekuly skráti viac ako o polovicu. Relaxovaný cirkulárny chromozóm s priemerom približne 430 µm vytvára 50 až 100 chromozómových domén. Rozdelenie na domény sa uskutočňuje **tvorbou slučiek** DNA. Takto poskladaný baktériový chromozóm (nukleoid), tvorený cirkulárnou molekulou DNA a celou sadou DNA-viažucich bielkovín, predstavuje časticu s priemerom maximálne 30 µm. Na tvorbe slučiek sa zúčastňuje aj RNA.Zhlukovanie DNA pokračuje **superšpiralizáciou** (supercoiling, superzvinutie) DNA v každej slučke.

**Superšpiralizácia** je spôsobená rotáciou a ohýbaním molekuly DNA a vyžaduje si rozštiepenie reťazcov. Na špiralizácii a dešpiralizácii DNA sa zúčastňuje sada topoizomeráz. V baktériových bunkách, napr. *E. coli* sú dve hlavné skupiny topoizomeráz, a to **topoizomerázy I** (swivelázy), ktoré väčšinou zavedú pozitívnu superšpiralizáciu (pravotočivé závity) a **topoizomerázy II** (gyrázy), ktoré väčšinou zavedú negatívne superzvinutie (ľavotočivé závity). Funkciu topoizomeráz ovplyvňuje ATP: v prítomnosti ATP topoizomeráza spôsobí superzvinutie DNA, v neprítomnosti ATP spôsobuje uvoľnenie superšpirály. V baktériových bunkách sa najviac uplatňujú topoizomerázy II a väčšina genómu je negatívne superzvinutá.

Mnohonásobným opakovaním otáčania molekuly DNA okolo seba pomocou gyráz sa DNA organizuje do série superzvinutých oblastí. Úplne superšpiralizovaný chromozóm má priemer okolo 1 – 2 µm, takže sa zmestí do baktériovej bunky. Chromozómová DNA baktérií je pripojená k plazmaléme úsekom ori, v ktorom sa začína replikácia.

**PLAZMIDY**

Plazmidy sú molekuly **mimochromozómovej DNA**  nachádzajúce sa v cytoplazme mnohých druhov baktérií a kvasiniek. Sú to dvojšpirálové kružnicové molekuly DNA, ktoré majú po obvode dĺžku niekoľko mikrometrov až desiatok mikrometrov a pozostávajú z niekoľko tisíc až 200 tisíc bp.

Počet a poloha molekúl plazmidov v baktériovej bunke je koordinovaná s rýchlosťou rastu a životným cyklom bunky. V normálnych podmienkach sa v bunkách spravidla nachádza malý počet určitých druhov plazmidov (1 – 2 kópie). V prítomnosti niektorých škodlivín sa počet kópií zvyšuje replikáciou.

Plazmidová DNA je pripojená na špecifické miesta plazmalémy určitým úsekom, ktorý má úlohu pri segregácii plazmidov a označuje sa ako lokus **Inc**. Plazmidy patriace k odlišným skupinám sú pripojené na odlišné miesta a sú segregované v rôznom čase baktériového bunkového cyklu. V bunkách *E. coli* sú kópie replikovaných plazmidov (napr. plazmidu R1) separované a premiestňované k opačným pólom bunky rozdeľovacím (partitioning, par) systémom. Súčasťou **systému par** je proteín *ParM*, ktorý sa prostredníctvom ďalších bielkovín viaže na centromérovú oblasť plazmidovej DNA. Proteín *ParM* tvorí filamenty podobné aktínu. Proces segregácie plazmidov R1 v *E. coli* závisí od ATP a pripomína pohyb, sprostredkovaný aktínom v eukaryotických bunkách.

- Funkcie, ktoré kódujú, nie sú celkom životne nepostrádateľné, ale v zvláštnych podmienkach prostredia môžu svojho nositeľa zvýhodňovať alebo zachrániť pred zahynutím

- Plazmidy sú prídavné genetické elementy uloţené v cytoplazme. Nesú genetickú informáciu, ktorá nie je celkom nevyhnutná (všetky životne dôležité gény sú v chromozómoch), ale ktorá je pre bunku za určitých okolností výhodná. Tieto genómy obsahujú informácie nutné pre svoje vlastné funkcie, môţu však niesť aj gény, ktoré sa prejavia zmenou fenotypu hostiteľskej baktérie (rezistencia na antibiotiká).

- Plazmidov je viac typov, každý typ obsahuje štruktúrne gény pre iné proteíny. Môžu existovať v dvoch stavoch:

1. v **autonómnom** stave, keď sa štruktúra replikuje samostatne a nezávisle na replikácii chromozómov

2. v **integrovanom** stave, keď sú pripojené k chromozómom – epizómy

Plazmidy môžu ovplyvniť tieto fyziologické vlastnosti:

1. Rezistencia na antibiotiká a chemoterapeutiká.

2. Rezistencia na ťažké kovy.

3. Produkcia antibiotík – priemyselné využitie (Streptomycéty).

4. Degradácia a oxidácia inak biologicky inertných organických látok ako sú uhľovodíky (ropa)

**EUKARYOTICKÝ CHROMOZÓM**

ECH obsahujú okrem DNA početné bázické a nebázicke bielkoviny.

**HISTÓNY**

Objavil ich v1884 – Kossel v ERY husí.

Sú skupinou nízkomolekulových bázických proteínov bohatých na lyzín a arginín.

- tieto aminokyseliny tvoria približne 25  mol %. Izoelektrický bod jednotlivých frakcií histónov je v rozpätí pH 10 – 12

- V prevažnej väčšine buniek rôznych druhov organizmov sa vyskytuje 5 typov, frakcií, histónov vyznačujúcich sa charakteristickými vlastnosťami

1. **Histón H1** je veľmi bohatý na lyzín, pomerné zastúpenie lyzínu k arginínu, L : A = 22. Má z histónov najvyššiu molekulovú hmotnosť, 21 000 Da a pozostáva z 215 aminokyselinových zvyškov.

2. **Histón** **H2A** je bohatý na lyzín, ale jeho relatívne zastúpenie je menšie ako v predchádzajúcej frakcii, takže pomer L : A = 1,2.

3. **Histón** **H2B** má pomer L : A = 2,5. Okrem arginínu a lyzínu má vyšší aj obsah serínu. Na rozdiel oproti ostatným frakciám sa N-terminus začína prolínom (v iných frakciách serínom).

4. **Histón** **H3** je bohatý na arginín, pomerné zastúpenie lyzínu a arginínu, L : A = 0,72. Charakteristická je aj prítomnosť cysteínu, ktorý ostatným frakciám chýba.

5.**Histón** **H4** je tiež bohatý na arginín, pomer L : A = 0,79. Táto histónová frakcia má najnižšiu molekulovú hmotnosť, 11 300 Da, a pozostáva zo 102 aminokyselinových zvyškov.

- H1 je málo špiralizovaný

- pre históny je charak nerovnomerné rozmiestnenie zvyškov lyzínu a arginínu pozdĺž peptidového reťazca

- terminálne oblasti – chvostíky histónov sú flexibilné

- nepolárne zvyšky AMK sú sústredené najmä v stredných častiach molekúl kde vytvárajú globulárne domny

V molekulách H2A B 3 a 4 má globulárnu štruktúru aj C terminálna časť

-syntéze histónov prebieha v interfáze

-H rovakého základného typu líšiace sa určitými odchýlkami v primárnej štruktúre pokladáme za subtypy

Históny podliehajú viacerým chamickým modifikáciam:

* **Acetylácia –** nastáva na AMKupine serínu/lyzínu v Nterminálnejoblasti. Na 1 molekule môže byť acetylovaná 1 – 4 skupiny. Stupeň A sa zvyšuje pri prechode chromatínu z neaktívneho do transkripčne aktívneho stavu
* **Fosforylácia –** nastáva na hydroxylovej skupine serínu a treonínu
* **Metylácia –** prebieha na niektorých zvyškov lyzínu
* **ADP ribozylácia –** spočíva v pripojení ADP ribozylu na AMKupinu histónov

Históny majú dôležitú úlohu pru usporiadaní DNA v chromatíne. Nukleohistón je základnou zložkou chromatínu. Ďalšou zložkou chromatínu je nehistónový proteín.

**NEHISTÓNOVÉ PROTEÍNY:**

- Do skupiny nehistónových proteínov zaraďujeme niekoľko desiatok druhov bielkovín, ktorých spoločným znakom je väčšie zastúpenie kyslých aminokyselín v porovnaní s bázickými aminokyselinami, preto ich izoelektrický bod leží v kyslej oblasti. Väčšina týchto bielkovín interaguje s DNA, resp. histónmi iba dočasne pri určitých procesoch alebo v určitej fáze bunkového cyklu, pričom niektoré interakcie s DNA sú sekvenčne špecifické (DNA-viažuce bielkoviny). Viaceré nehistónové bielkoviny sú tkanivovo a druhovo špecifické.

1. Dôležitou skupinou nehistónových bielkovín chromatínu sú nízkomolekulové proteíny skupiny **HMG** (high mobility group, skupina s vysokou mobilitou) vyznačujúce sa vysokou elektroforetickou mobilitou, napr. HMG1, HMG2, HMG14, HMG17. Proteíny HMG1 a HMG2 sú veľmi príbuzné. Dobre sa viažu na DNA, prednostne na neobvyklé štruktúry, napr. palindrómy, preto sa usudzuje, že majú dôležitú úlohu pri replikácii a transkripcii. HMG14 a HMG17 sú tiež veľmi blízke proteíny. Viažu sa na jadro nukleozómu, zvlášť v oblastiach, kde prebieha transkripcia
2. Skupina **Sc** (scaffold, lešenie) zahŕňa hlavne bielkoviny Sc I a Sc II, ktoré sú v interkinetickom jadre súčasťou nukleárneho matrixu a v priebehu mitózy alebo meiózy sú súčasťou chromozómového lešenia. Rozšíreným proteínom nukleárneho matrixu a chromozómov je najmä Sc II, ktorý má topoizomerázovú aktivitu. Sc II bol neskôr identifikovaný ako proteín typu SMC2.
3. Rodina bielkovín **SMC** (structural maintenance of chromosome, zachovanie štruktúry chromozómov) je skupinou chromozómových ATPáz, ktoré sú v rôznych eukaryotických organizmoch vysoko konzervatívne. Bielkoviny SMC sú zapojené do dynamiky mitotických a meiotických chromozómov a do iných dejov súvisiacich so štruktúrou a funkciou chromozómov. V eukaryotických bunkách má rodina SMC štyri podrodiny označené SMC 1 až SMC 4. Všetci členovia tejto rodiny bielkovín majú spoločné štruktúrne motívy, vrátane amino-terminálneho nukleotid-viažuceho (DNA-viažuceho) motívu, dvoch centrálnych zvinutých motívov a konzervovanej karboxy-terminálnej sekvencie. Kombinačnou asociáciou niekoľkých druhov SMC s inými bielkovinovými podjednotkami vznikajú veľké funkčné komplexy.

- Veľká časť nehistónových bielkovín, napr. DNA-polymerázy, RNA-polymerázy, ligázy, topoizomerázy, nukleázy, acetyltransferázy, metyltransferázy, má **katalytické vlastnosti**. Z uvedených dôvodov, nehistónové bielkoviny jadra, najmä tzv. DNA-viažuce bielkoviny (DNA-binding proteins), majú mimoriadne veľký význam pri regulácii syntézy DNA a génovej expresie.Okrem DNA môže byť nehistónový proteín spojený aj s nízkomolekulovou RNA, pozostávajúcou často iba z niekoľkých desiatok párov nukleotidov. Takáto RNA sa označuje termínom **chromozómová RNA** (cRNA).

**Štruktúra chromatínu**

* Dĺžka DNA je obrovská v porovnaní s bunkou
* Všetky EU bunky sa balia na rovnakom princípe
* Zvýšenie úrovne usporiadania DNA vedie ku skráteniu dĺžky a zväčšeniu hrúbky vznikajúceho útvaru
* Štruktúrne jednotky : **nukleozómy –** pozostávajú z histónového jadra, okolo ktorého sa otáča DNA
* Jadro – histónový oktamér, tvorený z 2 molekúl histónov H2A H2B 3 a 4
* V dekompenzovanom nukleozomovom reťazci sa okolo jadra otáča duplex DNA konštantným úsekom zo 146bp
* Nukleozómové vlákno pripomína šnúru korálikov
* K rožštiepeniu vlákna najľahšie dochádza v oblasti linkérovej DNA , pričom vznikajú oligonukleozómy / mononukleozómy
* Nukleozómové reťazce nie sú na všetkých miestach pokryté nukleozómami a preto sú mnohonásobne citlivejšie k pôsobeniu nukleáz (majú dĺžku 50 – 200bp)
* Prostredníctvom H1 a silne bázických Nterminov histónového oktaméru sa susedné nukleozómy v reťazci zesne zhlukujú
* Súčasne so združovaním nukleozómov dochádza k špiralizácií reťazca pri vzniku solenoidnej štruktúry – na 1 závit solenoid pripadá 6 nukleozómov
* Vyššou úrovňou usporiadania DNA sú slučky chromatínového vlákna – vznikajú jeho pripojením k nuklárnemu matrixu. Slučky niesú rovnako veľké. Každá slučka predstavuje replikón a obsahuje jedno miesto začiatku replikácie DNA (ori) a jednu alebo viac transkripčných jednotiek
* Nukleárny matrix obsahuje rôzne bielkoviny, ktoré sa viažu na chromatín
* V interkinetickom jadre sú chromatínové vlákna rozmiestnené v podobe viac alebo menej zhluknutých slučiek. Uvošnené slučkové usporiadanie chromatínových vláken – euchromatín. Transkripčne neaktívny – heterochromatín – kondenzovaný stav

**Mitotický CH**

V bielkovinovom lešení CH zostáva zakotvenie slušiek chromtínu v oblastiach MAR, ktoré sa v CH ozn.SAR

Oblasti SAR – úseky DNA bohaté na A/T bázy. DNA v týchto miestach ma typickú B štruktúru, na oblasti SAR sa pripájajú DNA viažúce bielkoviny. Oblasti SAR sú umiestnené pozd´ž CH tak že tvoria špirálovú dráhu.

Centromérovú oblasť CH tvorí úsek DNA so zvýšeným zastúpením AT párov. V kvasinkách tento úsek pozostáva z 80-90bp a obsahuje sekvencie nukleotidov. Táto oblasť spolu s postrannými sekvenciami predstavuje protokinetochor kvasiniek. CH vyšších EU majú (110-120bp) dlžku a zložitejšiu čo súvisí s formovaním útvaru – kinetochor – v tejto oblasti sa netvoria typické nukleozómy a DNA tu má úlohu kinetochorového organizátora.

Cicavčí kinetochor pozostáva z 2 vrstiev : vnútorná platňa a vonkajšia doména.

Koncové časti lineárnych CH – teloméry – osobitne regulované súčasti CH ktoré slúžia na stabilizáciu ich integrity, tvoria čiapku chrániacu konce CH pred trávením nuklázov/iným poškodením. Okrem stabilizácie majú ôlohu pri replikácií koncov lineárnej DNA a zúčastňujú sa na udržaní polohy CH v jadre a správnom párovaní homol CH počas meiózy. Teloméry netvoria nekleozómy.

Na 3 konci reťazca sú teloméry dlhšie ako na 5 konci – tým vzniká jednoreťazcový previs (12-16 nukl). Úsek tvoriaci previs má väčšie zastúpenie G T báz. Vďaka vysokému zastúpeniu G báz može tento previs tvoriť koncovú vlásenku.

Pri starnutí buniek sa telomery skracujú až kým sa nedosiahne určitá dĺžka – tento bod sa ozn Hayflickov limit

Tvorba telomer je katalyzovaná telomerázou – ktorá ma vlastnosti reverznej transkriptázy

V blízkosti telomerových sekvencií sa zistili subtelomerové sekvencie – priespievajú k stabilite heterochromatínu.

**MEIOTICKÝ CH**

Tvorba homologických párov CH pri ktorej sa spájajú nesesterské chromatídy, je charak znakom meiotických CH.

Spájanie neses chromatíd je zložitejšie ako spájanie sesterských a predchádza mu vyhľadávanie sekvenčne homologkých úsekov DNA. Pri vyhľadavani majú dôležitú úlohu DNA viažúce bielkoviny.

Pri párovaní a uvoľňovaní CH počas 1 meioickej profázy prebiehajú zložité morfologické zmeny.

* Štádium leptotene – nastáva kondenzácia sesterských chromatíd do párov.
* Štádium zygotenne – tesné spájanie maternálnych a petrnálnych párov chromatíd, pričom sa formujú tetrády. Tvorba synpotnémového komplexu
* Štádium pachytene – charak prítomnosť vyformovaných tetrád, ktoré predtavujú 4rice chrmatíd
* Štádium diplotene – rozrušený centrálny element synapt.komplexu a rozrušujú sa aj bielkoviné osi. CH su dekondenzované, gény su transkrpčne aktívne, bunky možu existovať a rásť. Prvý raz pozorovateľné chiazmy.
* V diakynéze – kondenzácia CH a zastavenie transkripcie
* Synaptonemovy komplex – v EUB vysoko konzervovaný.má podobu rebrikovej štruktúry, pozostáva z laterálnych elementov a centrálneho elementu s nodulom

**DYNAMIKA CH**

Chromatínové vlákna – veľmi dynamické štruktúry. V EB v každom bunkovom cykle dochádza ku kondenzácií a asociácií chromatínu a v priebehu mitózy/meiozy aj k segregácií.

Kondenzáciu chromatínu ovplyvňuje fosforylácia histonu H1. Na kondenzácií a asociácií sa zúčastňujú nehistonóvé bielkoviny rodiny Smc.

Kondenzný komplex pozostáva z heterodiméru XCAP-C a XCAP-E a z dalsich 3 podjednotiek. Jedna podjednotka interreaguje s topoizomerázou II.

Kohézny komplex – sprostredkuváva asociáciu medzi 2 sesterskými chromatinovými vláknami, spolu s mitotickým sparatom zabezpučuje aj spravnu segregáciu CH, obsahuje bielkoviny skupiny Smc.

Separázy – vysoko konzervované enzýmy s proteázovou aktivitou, uloha pri regulácií mitozy.

**19. Životný cyklus bunky. Priebeh mitózy a meiózy. Cytokinéza živočíšnej a rastlinnej bunky. Mechanizmy regulácie bunkového cyklu.**

**Fázy bunkového cyklu:**

**1. INTERFÁZA** – je **typická intenzívnym metabolizmom** a procesy, ktoré v ňom prebiehajú možno rozdeliť do nasledujúcich fáz:

**G1 fáza (postmitotická)**

- trvá 30 - 40% generačnej doby bunky

**- nastupuje vznikom bunky a charakteristická je pre ňu vysoká metabolická aktivita,rast bunky a bunkových organel**

- v tejto fáze sa **zhromažďujú látky potrebné k replikácií nukleových kyselín** (nukleotidy), **a tvorbe bielkovín** (aminokyseliny)

- **nachádza sa tu hlavný kontrolný uzol,** ktorý zastavuje bunkový cyklus za nepriaznivých podmienok a ovplyvňuje nástup ďalších fáz

- niektoré bunky sú trvalo zablokované v tejto fáze bunkového cyklu, hovoríme, že zostali v **G0fáze. Sú to napr. nervové bunky, sítkovice, červené krvinky.**

**S fáza (syntetická)**

- trvá 30 – 50% generačnej doby bunky

**- prebiehajú v nej syntetické procesy spojené so syntézou (replikáciou) DNA v jadre, hmotou chromozómov a bielkovín**

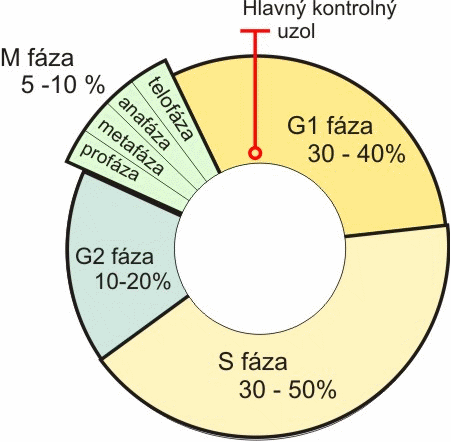
- nastáva zdvojenie (replikácia) jednochromatídových chromozómov na dvojchromatídové

**G2fáza (postsyntetická, predmitotická)**

- trvá 10 – 20% generačnej doby bunky

- **pokračuje metabolická aktivita bunky, syntéza bielkovín mitotického aparátu, syntézaRNA**

- pribúdajú bunkové organely



Mitóza a amitóza sú spôsoby bunkového delenia. Delenie bunky v oboch prípadoch je sprevádzané najprv rozdelením jadra - **karyokinézou**, až neskôr sa rozdelí cytoplazma - **cytokinéza**.

**MITÓZA**

Somatické (telové) bunky organizmov sa delia**mitózou**označovanou ako**nepriame delenie.** Mitózazabezpečuje **rovnomerné rozdelenie chromozómov do dcérskych buniek**. **Výsledkom delenia sú 4 bunky s rovnakým počtom chromozómov ako mali materské bunky.**

**Význam mitózy** je nepredstaviteľný. Tento proces zabezpečuje konštantný počet chromozómov vo všetkých somatických bunkách mnohobunkového organizmu. Vznikajú ňou všetky nové telové bunky, ktoré nahrádzajú staré a poškodené. Umožňuje rast tkanív, pletív, orgánov i celému organizmu.

Mitóza prebieha v niekoľkých dobre mikroskopicky odlíšiteľných fázach. Jednotlivé fázy plynule prechádzajú jedna do druhej, preto v mnohých prípadoch nemožno medzi nimi určiť ostrú hranicu.

**Fázy mitózy:**

**1. Profáza**

**-**chromozómy hrubnú a stávajú sa viditeľnými = špiralizujú sa a kondenzujú

- zaniká jadierko a rozpadá sa jadrová membrána

- formuje sa mitotický aparát - centrioly putujú k opačným pólom bunky a medzi nimi vzniká deliace vretienko

**2. Metafáza**

- vrcholí špiralizácia chromozómov (chromozómy sú v tejto fáze najlepšie pozorovateľné)

- chromozómy sú usporiadané v centrálnej rovine – ekvatoriálnej (rovníkovej) rovine

- pozoruje sa pozdĺžne rozdelenie chromozómov, ktoré sú spojené ešte v mieste centroméry

**3.** **Anafáza**

**-**dochádza krozdeleniu centromér a ku skracovaniu mikrotubúl deliaceho vretienka

- nastáva rozchod sesterských chromatíd k pólom bunky

**4.** **Telofáza**

- nastáva dešpiralizácia chromozómov

- tvorba jadrovej membrány a obnova jadierka

- zaniká deliace vretienko

Po delení jadra nasleduje delenie bunky – **cytokinéza.** Uskutočňuje sa dvojakým spôsobom: **zaškrtením bunky v strede** (u živočíšnych buniek) alebo **tvorbou platničky** (u rastlinných buniek). Tá rastie zo stredu bunky k okrajom bunkovej steny.

**Rozdiel medzi mitózou a meiózou**

Pri meióze vznikajú z jednej [diploidnej](https://sk.wikipedia.org/wiki/Ploidia) bunky (2n) až štyri bunky haploidné (n), ktorá každá má polovičný počet chromozómov ako materská bunka. Meiózou vznikajú [pohlavné bunky](https://sk.wikipedia.org/wiki/Pohlavn%C3%A1_bunka) [eukaryotických organizmov](https://sk.wikipedia.org/wiki/Eukaryoty). Pri mitóze vznikajú dve bunky, ktoré majú rovnaký počet chromozómov ako materská bunka, ale polovičný obsah DNA. Mitózou vznikajú bunky somatické (telové).

**MEIÓZA**

Meióza (redukčné delenie) je osobitný typ bunkového cyklu, ktorým vznikajú gaméty. Gaméty musia mať len jednu sadu chromozómov (musia byť haploidné), lebo inak by sa počet chromozómov pri oplodnení v  generáciách nasledujúcich za sebou ustavične znásoboval. Priebeh redukčného delenia je dosť zložitý, ale jeho základný princíp je jednoduchý; replikácia DNA, teda aj zdvojenie chromozómov, prebehne iba raz, ale cytokinéza dva razy. Takže prebehnú za sebou dva bunkové cykly (dve mitózy), ale pri jednom sa replikuje DNA. Meióza sa rozdeľuje na 1.meotické delenie a 2.meiotické delenie. Bunkový cyklus druhého meiotického delenia je redukovaný a tak výsledkom obidvoch meiotických delení sú štyri bunky, s haploidným počtom chromozómov (s jednou sadou chromozómou).

Prvé meiotické delenie je vlastne mitóza, a druhé meiotické delenie sa skladá len z anafázy a telofázy , aby ten počet bol haploidný a nie diploidný. Jedna chromozómová sada = 23 chromozómov.

**Heterotypické delenie**

Toto je charakterizované redukciou počtu chromozómov.

**Profáza** sa od profázy normálnej mitózy odlišuje hlavne dĺžkou svojho trvania a zložitosťou priebehu. Homologické chromozómy sa vzájomne priblížia. Vzniknú útvary označené ako bivalenty. Zároveň sa chromozómy skracujú a hrubnú. Chromozómy sa v tejto fáze neštiepia na chromatidy. V tejto fáze dochádza k výmene homologických častí chromozómov – [crossing over](https://sk.wikipedia.org/wiki/Crossing_over). Potom sa chromatídy oddeľujú. V poslednom štádiu zaniká jadrová membrána. Subfázy sú:

* leptoténne: dochádza k špiralizácii vlákien [DNA](https://sk.wikipedia.org/wiki/Deoxyribonukleov%C3%A1_kyselina) a diferenciácii chromozómov
* zygoténne : homologické chromozómy (tie isté chromozómy rôznych sád) sa sťahujú k sebe a za pomoci špeciálnej [bielkoviny](https://sk.wikipedia.org/wiki/Bielkovina) sa spájajú do páru, tzv. bivalent.
* pachyténne: chromozómy dokončujú špiralizáciu a bivalenty sú pozorovateľné ako tzv. tetrády – štvorchromatidový komplex. Nesesterské chromatidy sa pritom preplietajú, dochádza k tzv. [crossing-overu](https://sk.wikipedia.org/wiki/Crossing-over).
* diploténne: uvoľňujú sa bielkovinové väzby medzi homologickými chromozómami a dochádza k ich postupnému odďaľovaniu. Rozostup začína od oblasti centromér. V miestach prekríženia - chiasmach však naďalej zostávajú spojené.
* diakinéza: dochádza k preusporiadaniu a rozchodu homologických chromozómov

**Metafáza** je podobná metafáze klasickej mitózy. Vzniká deliace vretienko a zaniká jadierko.

**Anafáza** je charakterizovaná rozdelením bivalentov na dva neidentické sesterské chromatídy spojené v oblasti centroméry, ktoré sú kinetochorovými mikrotubulami ťahané k opačným pólom bunky. Týmto procesom dochádza k skutočnej redukcii počtu chromozómov. Z každého bivalentu, tvoreného dvomi homologickými chromozómami, je ku každému pólu bunky priťahovaný iba jeden z homologických chromozómov.

**Telofáza** sa od mitotickej telofázy líši tým, že chromozómy sú tvorené obomi chromatídami.

**Homeotypické delenie**

Nasleduje po určitej dobe od ukončenia prvého delenia.

**Profáza** je odlišná tým, že bunka má haploidný počet chromozómov. Vznikajú dve deliace vretienka, ktoré sa premiestňujú do opačných pólov bunky.

**Metafáza** chromozómy sa zoskupujú v ekvatoriálnej rovine bunky (metafázová doštička). Kinetochorové mikrotubuly sa napájaju na kinetochory sesterských chromatíd.

**Anafáza** – chromatídy putujú k pólom bunky a sú postupne dešpiralizované.

**Telofáza** je analogická mitotickej telofáze. Na konci homotypického delenia dochádza k rozdeleniu na štyri bunky so štyrmi jadrami a jadierkami. Každá bunka má haploidný počet chromozómov.

**Regulácia bunkového cyklu**  
  
Hoci má každá bunka schopnosť deliť sa, nie všetky bunky mnohobunkového organizmu sa delia. Pri rastlinách sú to bunky nedelivých (trvácich) pletív, pri živočíchoch sú to v dospelosti bunky takmer všetkých tkanív. Znamená to teda, že u týchto buniek sa bunkový cyklus preruší.  
V mnohobunkových organizmoch teda bunkový cyklus riadia **regulačné mechanizmy,**ktoré zabezpečujú zodpovedajúci počet buniek vo všetkých tkanivách a orgánoch. Regulácia bunkového cyklu je jedným z hlavných mechanizmov zabezpečujúcich celistvosť mnohobunkového organizmu.  
Bunkový cyklus je najčastejšie riadený prostredníctvom chemických látok. Tieto látky delenie buniek podporujú -**stimulujú** alebo tlmia - **inhibujú.**  
Všetky regulátory bunkového delenia ovplyvňujú priebeh bunkového cyklu v G1 fáze, kde je kontrolný uzol. Po pôsobení inhibítorov zostáva bunka v G1 fáze a všetky procesy pripravujúce replikáciu DNA a rastové procesy sa zastavia. Bunky, ktoré sa napr. v ľudskom organizme nedelia sú G1 fáze (takéto zastavenie bunkového cyklu sa nazýva aj G0 fáza). Všetky ostatné životné funkcie vykonáva bunka bez prerušenia. Akonáhle prestanú pôsobiť inhibujúce vplyvy alebo začnú pôsobiť stimulátory cyklus sa opäť obnoví začínajúc G1 fázou.  
U buniek, ktoré natrvalo stratili schopnosť delenia je kontrolný uzol v G1 fáze natrvalo zablokovaný.  
Vplyvom niektorých látok sa môže regulácia bunkového delenia narušiť natoľko, že sa delenie bunky stane nekontrolovateľným a vznikajú nádorové bunky.

**REGULÁCIA BUNKOVEHO CYKLU**

Zabezpečujú ju regulačné mechanizmy

1. Riadia priebeh bunkového cyklu
2. Udržujú zodpovedajúci počet buniek v tkanivách a orgánoch

-najčastejší je **látkový** spôsob regulácie- stimulačný- iniciuje bunkové delenie

- inhibičný- zastavujú bunkové delenie(cytostatiká)

-- účinné hlavne v G1 fáze ( hlavný kontrolný uzol)

- časové trvanie bunkového cyklu nazývame GENERAČNÁ DOBA BUNKY. Je daná geneticky a prostredím a je rozdielna pre rozličné bunky

- nekoordinované delenie buniek, vznik nádorových buniek až rakovina

**20. Materiálna podstata génu.**

**Štruktúra a funkcia prokaryotickej DNA (chromozómovej, plazmidovej) a eukaryotickej DNA (jadrovej, mitochondriovej, plastidovej).**

**Genetický kód.**

**MATERIÁLNA PODSTATA GÉNU**

**Gén** je úsek (sekvencia) [DNA](http://sk.wikipedia.org/wiki/DNA) alebo [RNA](http://sk.wikipedia.org/wiki/RNA), ktorá kóduje informáciu pre tvorbu jednej [bielkoviny](http://sk.wikipedia.org/wiki/Bielkovina). Existuje množstvo rôznych definícií génu, často upravených pre potreby jednotlivých vedných disciplín. Gén je základná funkčná jednotka dedičnosti.

**NUKLEOVÉ KYSELINY**

- Nukleové kyseliny sú tvorené z nukleotidov, ktoré pozostávajú z cukru, kyseliny fosforečnej a organickej dusíkatej bázy

**Cukor** je päťuhlíkový (pentóza), vyskytuje sa vo forme furanózy, t. j. vo forme päťčlenného kruhu s 1 kyslíkovým heteroatómom; piaty uhlík je v alkoholovej skupine -CH2-OH. Hlavné chemické rozdiely medzi DNA a RNA vyplývajú z rôznych vlastností týchto cukorných zložiek. Zlúčeniny ribózy sú oveľa labilnejšie ako zlúčeniny deoxyribózy, lebo -OH skupiny na 2' a 3' uhlíku sú ľahko atakovateľné rôznymi oxidačnými činidlami a umožňujú napr. alkalickú hydrolýzu reťazca; chemická reaktívnosť hydroxylovej skupiny na C2 ribózy sa podieľa aj na katalytických procesoch sprostredkovaných ribonukleovou kyselinou.

**Kyselina fosforečná** (ortofosforečná) je rovnaká vo všetkých typoch nukleových kyselín. V nukleotide je kyselina fosforečná spojená s cukrom fosfoesterovou väzbou na 5' uhlíku furanózového kruhu; pri polymerizácii sa spája aj s 3' uhlíkom nasledujúceho nukleotidu, takže tvorí fosfodiesterovú väzbu. Zvyšok kyseliny fosforečnej môže byť ionizovaný, čím molekula získava negatívny náboj a charakter kyseliny. Preto sa nukleové kyseliny farbia bázickými farbivami.

**Dusíkaté bázy** sú dvojakého typu, purínového a pyrimidínového typu. Purínové bázy, adenín a guanín (A, G), sú tvorené šesťčlenným a päťčlenným kruhom, pyrimidínové bázy, tymín, cytozín a uracil (T, C, U) sú tvorené iba šesťčlenným kruhom.

V každom type nukleových kyselín sa z týchto piatich báz vyskytujú štyri, a to A, T, G, C v DNA a A, U, G, C v RNA.

Bázy sú naviazané na každom 1' C atóme cukru. Adenín a cytozín sú v aminoforme, tymín, guanín a uracil v ketoforme. Medzi aminoformou a ketoformou báz môžu vznikať vodíkové väzby. Vzhľadom na odlišné rozmery purínových a pyrimidínových báz môžu vzniknúť vodíkové väzby iba medzi adenínom a tymínom (resp. adenínom a uracilom) alebo guanínom a cytozínom. Odlišné rozmery purínových a pyrimidínových báz a  možnosť tvorby vodíkových väzieb medzi aminoformou a ketoformou podmieňujú komplementárnosť báz, ktorá sa uplatňuje pri takých dôležitých procesoch, ako je uchovávanie, prenos a realizácia genetickej informácie.

**DNA**

V molekule DNA stoja oproti sebe komplementárne bázy, A – T a G – C, preto molárny obsah A = T a molárny obsah G = C. Z toho vyplýva, že súčet purínových báz sa rovná súčtu pyrimidínových báz a pomer (A + G)/(T + C) = 1 (Chargaffovo pravidlo).

- štruktúra DNA:

* **Primárna štruktúra** - Poradie (sekvencia) nukleotidov, spojených navzájom fosfodiesterovou väzbou do polynukleotidového reťazca, predstavuje primárnu štruktúru nukleových kyselín. Sekvencia nukleotidov v molekule DNA je druhovo špecifická a prejavuje aj určité interindividuálne rozdiely, čo umožňuje presnú identifikáciu jedincov.
* **Sekundárna štruktúra** - Molekula DNA pozostáva z dvoch polynukleotidových reťazcov, ktoré sú navzájom orientované antiparalelne, pretože jeden reťazec má smer 5'  3', druhý 3'  5'.

**-** Polynukleotidové reťazce vytvárajú dvojitú špirálu, **duplex**, plektonemického typu. V špirále takéhoto typu sa reťazce otáčajú okolo spoločnej osi a môžu sa od seba oddeliť iba pri rozkrútení špirály. Medzi závitmi špirály vzniká priehlbina, označovaná ako väčší (vonkajší) žliabok. Okrem väčšieho žliabka sa povrchom molekuly DNA tiahne menší (vnútorný) žliabok, ktorý vzniká medzi polynukleotidovými reťazcami v oblasti spojenia párov báz.

**-** DNA môže vytvárať niekoľko konformácií, a to konformáciu A, B a Z:

* **Konformácia B** – je najčastejšou a vo vodnom prostredí najstabilnejšou

**-** kolmé postavenie párov báz na os duplexu

**-** špirála ja pravotočivá

* **Konformácia A** – sa môže vyskytovať aj v hybridoch DNA-RNA a v duplexoch RNA

**-** od konformácie B sa líši menšou výškou závitu, väčšou hrúbkou špirály (na jeden závit pripadá 11 – 12 párov báz) a hlavne tým, že bázy zvierajú približne 70° uhol s osou molekuly

* **Konformácia Z** - je ľavotočivá

**-** Duplex v tejto konformácii je tenký, dlhý, na jeden závit špirály pripadajú iba 3 – 4 páry báz. Na rozdiel oproti B konformácii, je DNA v tejto konformácii silne imunogénna

**-** Vo všeobecnosti sú bázy v molekule DNA orientované k centru špirály a ich roviny sú v pravom (v konformácii A v 70°) uhle k spoločnej osi špirály. Ionizované fosfátové skupiny a hydrofilné zvyšky cukru smerujú k vonkajšiemu povrchu molekuly a reagujú s okolitým vodným prostredím. Sekundárna štruktúra DNA je teda stabilizovaná nielen vodíkovými väzbami medzi komplementárnymi bázami, ale aj hydrofilnými interakciami povrchových skupín s vodou a hydrofóbnymi interakciami báz. Hydrofóbne interakcie medzi susednými bázami rozmiestnenými nad sebou pozdĺž osi molekuly sa uskutočňujú hlavne prostredníctvom Π (pí) elektrónov a sú príčinou hyperchrómového efektu preparátov DNA.

- Najrozšírenejším typom sekundárnej štruktúry DNA je dvojreťazcová špirála (double strand, dsDNA), vyskytujúca sa hlavne v B konformácii. Nachádza sa vo všetkých organizmoch s výnimkou niektorých vírusov a baktériofágov

* **Terciálna štruktúra** - Niektoré sekvencie (napr. AAAANNN, kde N môže byť akákoľvek báza okrem A) spôsobujú ohyb duplexu DNA. Ak sa takéto sekvencie vyskytujú na dlhom úseku alebo opakovane v krátkych intervaloch, potom sa molekula DNA ohýba neobvyklým spôsobom, prípadne tvorí kružnicové útvary. Okrem uvedených nepravidelností a ohybov duplexu k terciárnej štruktúre DNA prispievajú hlavne krížové štruktúry vytvorené z inverzne sa opakujúcich sekvencií.

**-** DNA sa najčastejšie vyskytuje v podobe dlhých **lineárnych útvarov**, ktoré sú usporiadané do zložitých štruktúr prostredníctvom pripojených bielkovín. Prokaryotické bunky a plastidy, mitochondrie a kinetoplasty eukaryotických buniek obsahujú molekuly DNA, ktorých konce sú spojené kovalentnými väzbami, čím vzniká uzavretý kružnicový útvar. Lineárna molekula DNA vírusov a baktériofágov (napr. baktériofág lambda) po preniknutí do bunky sa tiež spravidla uzavrie do kružnice na základe párovania báz na komplementárnych kohéznych („lepkavých“) koncoch.

**Kovalentne uzavretá kružnica** môže byť v relaxovanej alebo superšpirálovej forme. Superšpirálu (nadšpirálu, nadzávitnicu, supercoil, superhelix) môže tvoriť aj lineárna molekula DNA, ak sú jej konce, alebo iné oblasti pripojené napr. k  jadrovému skeletu alebo k bielkovinovému lešeniu chromozómov. K vzniku superšpirály dochádza hlavne preto, lebo v uzavretej kružnicovej alebo slučkovej forme sa stupeň špiralizácie (t. j. celkový počet závitov v molekule alebo v slučke) nemôže meniť. S tým súvisia niektoré vlastnosti charakteristické pre kružnicové DNA. Z nich najdôležitejšie je **hromadenie energie v superšpirálach**, ktoré vznikajú pri roztváraní (odvíjaní) duplexu pri replikácii DNA alebo transkripcii.

**Baktériové bunky** majú jeden chromozóm, tvorený jedinou kružnicovou molekulou DNA pozostávajúcou z niekoľko miliónov párov báz. Molekulová hmotnosť chromozómovej DNA baktérií je rádovo 109 Da a dĺžka po obvode kružnice viac ako jeden milimeter. Okrem tejto veľkej chromozómovej molekuly DNA obsahujú baktériové bunky (aj nižšie eukaryotické bunky, napr. kvasinky) ešte niekoľko malých molekúl mimochromozómovej, plazmidovej DNA, ktoré tiež tvoria dvojšpirálové kovalentne uzavreté kružnice. Plazmidová DNA (plazmidy) obvykle pozostáva z niekoľko tisíc až 200 000 párov nukleotidov a po obvode kružnice má dĺžku niekoľko mikrometrov alebo desiatok mikrometrov.

**Bunky eukaryontov** majú väčší počet, obvykle až niekoľko desiatok chromozómov, v závislosti od druhu organizmu. V každom chromozóme je iba jedna lineárna molekula DNA veľkých rozmerov. Veľkosť jednotlivých molekúl eukaryotickej DNA nie je rovnaká, jej molekulová hmotnosť je v rozpätí od hodnoty baktériovej DNA až po jej päťdesiatnásobok a dĺžka dosahuje niekoľko mm až desiatok mm. Napr. molekula DNA v najväčšom, ľudskom chromozóme dosahuje dĺžku takmer 100 mm a pozostáva z 2,8x108 bp. Dĺžka všetkých molekúl DNA v haploidných eukaryotických bunkách môže dosahovať viac ako jeden meter a obsah nukleotidových párov niekoľko miliárd (napr. u človeka 3,3 x109 bp, niektorých rýb, obojživelníkov a rastlín až 1010 – 1011 bp). Absolútna väčšina eukaryotickej DNA je lineárna a vyskytuje sa v jadre ako súčasť chromatínu (kapitoly 2.2.1.2, 3.2.2). Malé množstvo eukaryotickej DNA má tvar kružnice a nachádza sa mimo jadra, v mitochondriách, plastidoch a niektorých iných miestach bunky.

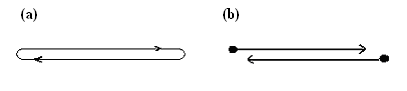
**BAKTERIÁLNY CHORMOZÓM**

- Najväčšia časť baktériovej DNA je prítomná v chromozóme, ktorý tvorí nukleoid; iba malá časť DNA je prítomná mino chromozómu v podobe plazmidov

- stavba chromozómu:

- Niektoré baktérie majú **lineárne** chromozómy. Napr. *Borrelia* a niektoré *Streptomyces* majú lineárne chromozómy a kružnicové plazmidy, ale väčšina baktérií rodu *Streptomyces* má lineárne chromozómy aj plazmidy

- Lineárne chromozómy baktérií majú na koncoch dva rôzne typy telomér, a to vlásenkové (hairpin) a obrátené (invertron) teloméry



- teloméry chránia voľné konce lineárnej dvojreťazcovej DNA, ktoré sú veľmi citlivé na degradáciu intracelulárnymi nukleázami. Palindrómové vlásenkové teloméry sú chránené tým, že nemajú voľné dvojreťazcové konce DNA. Obrátené teloméry sú chránené bielkovinymi kovalentne naviazanými na 5’-konce reťazcov (terminálne proteíny - TP).

- Ostatné baktérie majú **kružnicové** chromozómy, tvorené kružnicovou molekulou DNA

- Skrátenie dĺžky molekuly DNA pri súčasnom zachovaní dostupnosti určitých miest pre vykonávanie ich funkcií sa dosahuje pomocou viacerých stratégií. Tieto stratégie organizácie baktériovej DNA zahŕňajú cirkulárizáciu štruktúry, tvorbu záhybov a superšpiralizáciu DNA. Usporiadanie DNA do takejto štruktúry si vyžaduje účasť viacerých DNA-viažucich **bielkovín** podobných histónom, ako sú *HU, IHF, FIS* a *H-NS*. Tieto bázické bielkoviny, pomáhajú zbaliť DNA a majú aj ochrannú úlohu. Niektoré z nich môžu spôsobiť ohyb molekuly DNA, a to až do 140° uhla, čím ovplyvňujú štruktúru chromozómu. Neutrálne proteíny baktériového nukleoidu sú potrebné na priebeh rôznych procesov, ako je replikácia, všeobecná rekombinácia, oprava poškodení DNA a transkripcia.

**Cirkularizáciou** sa lineárna dĺžka molekuly skráti viac ako o polovicu. Relaxovaný cirkulárny chromozóm s priemerom približne 430 µm vytvára 50 až 100 chromozómových domén. Rozdelenie na domény sa uskutočňuje **tvorbou slučiek** DNA. Takto poskladaný baktériový chromozóm (nukleoid), tvorený cirkulárnou molekulou DNA a celou sadou DNA-viažucich bielkovín, predstavuje časticu s priemerom maximálne 30 µm. Na tvorbe slučiek sa zúčastňuje aj RNA.Zhlukovanie DNA pokračuje **superšpiralizáciou** (supercoiling, superzvinutie) DNA v každej slučke.

Superšpiralizácia je spôsobená rotáciou a ohýbaním molekuly DNA a vyžaduje si rozštiepenie reťazcov. Na špiralizácii a dešpiralizácii DNA sa zúčastňuje sada topoizomeráz. V baktériových bunkách, napr. *E. coli* sú dve hlavné skupiny topoizomeráz, a to **topoizomerázy I** (swivelázy), ktoré väčšinou zavedú pozitívnu superšpiralizáciu (pravotočivé závity) a **topoizomerázy II** (gyrázy), ktoré väčšinou zavedú negatívne superzvinutie (ľavotočivé závity). Funkciu topoizomeráz ovplyvňuje ATP: v prítomnosti ATP topoizomeráza spôsobí superzvinutie DNA, v neprítomnosti ATP spôsobuje uvoľnenie superšpirály. V baktériových bunkách sa najviac uplatňujú topoizomerázy II a väčšina genómu je negatívne superzvinutá. Mnohonásobným opakovaním otáčania molekuly DNA okolo seba pomocou gyráz sa DNA organizuje do série superzvinutých oblastí. Úplne superšpiralizovaný chromozóm má priemer okolo 1 – 2 µm, takže sa zmestí do baktériovej bunky. Chromozómová DNA baktérií je pripojená k plazmaléme úsekom ori, v ktorom sa začína replikácia.

**PLAZMIDOVÁ DNA**

Plazmidy sú molekuly **mimochromozómovej DNA**  nachádzajúce sa v cytoplazme mnohých druhov baktérií a kvasiniek. Sú to dvojšpirálové kružnicové molekuly DNA, ktoré majú po obvode dĺžku niekoľko mikrometrov až desiatok mikrometrov a pozostávajú z niekoľko tisíc až 200 tisíc bp. Počet a poloha molekúl plazmidov v baktériovej bunke je koordinovaná s rýchlosťou rastu a životným cyklom bunky. V normálnych podmienkach sa v bunkách spravidla nachádza malý počet určitých druhov plazmidov (1 – 2 kópie). V prítomnosti niektorých škodlivín sa počet kópií zvyšuje replikáciou.

Plazmidová DNA je pripojená na špecifické miesta plazmalémy určitým úsekom, ktorý má úlohu pri segregácii plazmidov a označuje sa ako lokus **Inc**. Plazmidy patriace k odlišným skupinám sú pripojené na odlišné miesta a sú segregované v rôznom čase baktériového bunkového cyklu. V bunkách *E. coli* sú kópie replikovaných plazmidov (napr. plazmidu R1) separované a premiestňované k opačným pólom bunky rozdeľovacím (partitioning, par) systémom. Súčasťou **systému par** je proteín *ParM*, ktorý sa prostredníctvom ďalších bielkovín viaže na centromérovú oblasť plazmidovej DNA. Proteín *ParM* tvorí filamenty podobné aktínu. Proces segregácie plazmidov R1 v *E. coli* závisí od ATP a pripomína pohyb, sprostredkovaný aktínom v eukaryotických bunkách.

- Funkcie, ktoré kódujú, nie sú celkom životne nepostrádateľné, ale v zvláštnych podmienkach prostredia môžu svojho nositeľa zvýhodňovať alebo zachrániť pred zahynutím

- Plazmidy sú prídavné genetické elementy uloţené v cytoplazme. Nesú genetickú informáciu, ktorá nie je celkom nevyhnutná (všetky životne dôležité gény sú v chromozómoch), ale ktorá je pre bunku za určitých okolností výhodná. Tieto genómy obsahujú informácie nutné pre svoje vlastné funkcie, môţu však niesť aj gény, ktoré sa prejavia zmenou fenotypu hostiteľskej baktérie (rezistencia na antibiotiká).

- Plazmidov je viac typov, každý typ obsahuje štruktúrne gény pre iné proteíny. Môžu existovať v dvoch stavoch:

1. v **autonómnom** stave, keď sa štruktúra replikuje samostatne a nezávisle na replikácii chromozómov

2. v **integrovanom** stave, keď sú pripojené k chromozómom – epizómy

Plazmidy môžu ovplyvniť tieto fyziologické vlastnosti:

1. Rezistencia na antibiotiká a chemoterapeutiká.

2. Rezistencia na ťažké kovy.

3. Produkcia antibiotík – priemyselné využitie (Streptomycéty).

4. Degradácia a oxidácia inak biologicky inertných organických látok ako sú uhľovodíky (ropa)

**EUKARYOTICKÝ CHROMOZÓM**

**JADROVÁ DNA**

- Pre eukaryotickú jadrovú DNA je charakteristické to, že obsahuje nielen jedinečné (unikátne, singulárne) sekvencie nukleotidov, ktoré sú v genóme prítomné iba v jednej kópii (napr. prevažná väčšina štruktúrnych génov), ale aj opakované sekvencie vyskytujúce sa vo väčšom počte kópií. Úseky DNA s opakovanými sekvenciami sa označujú termínom opakujúca sa (opakovaná, repetitívna) DNA. Repetitívnu DNA možno separovať od singulárnej DNA na základe rýchlosti reasociácie termálne denaturovaných, t. j. jednoreťazcových preparátov DNA.

**Repetitívne sekvencie** sú kratšie alebo dlhšie opakujúce sa úseky DNA s určitou postupnosťou nukleotidov. Navzájom identické alebo podobné sekvencie tvoria **rodinu** (family). Okrem poradia nukleotidov sa jednotlivé rodiny líšia navzájom aj dĺžkou sekvencií a počtom opakovaní (členov) v rodine. Podľa počtu opakovaní rozlišujeme stredne a vysoko repetitívne sekvencie. Stredne repetitívne sekvencie majú 10 – 100 000 kópií; patria k ním niektoré regulačné sekvencie (štart, stop), mnohonásobné gény (kódujúce napr. rRNA, tRNA a históny) a mnohé retrotranspozóny. Vysoko repetitívne sekvencie sa vyskytujú vo viac ako 105 kópiách; tieto sekvencie sú prítomné hlavne v heterochromatíne. Mnohé z nich predstavujú určité formy retrotranspozónov (LINE, SINE), iné sa pravdepodobne zúčastňujú na formovaní štruktúry chromozómov a tvorbe synáps v priebehu meiózy.

- repetitívne sekvencie môžu byť usporiadané rôznym spôsobom:

* Veľmi podobné alebo identické sekvencie tvoria tandemy opakujúce sa  za sebou

......A A A A.....

* Členovia dvoch alebo viacerých rodín repetitívnych sekvencií  sa opakujú za sebou

. . . A A A B A A A B . . .

* Medzi repetitívnymi sekvenciami (R) jednej rodiny sú roztrúsené rôzne jedinečné sekvencie (S)

. . . R S1 R S2 R S3 . . .

* Inverzne sa opakujúce sekvencie, palindrómy, pri ktorých sa sekvencia opakuje v komplementárnom reťazci DNA v obrátenom smere, napr.

5' . . . C T T C G A . . . T C G A A G . . . 3'

3' . . . G A A G C T . . . A G C T T C . . . 5'

- takéto obrátené sekvencie umožňujú vznik tzv. krížových štruktúr DNA. Ak sú všetky páry báz komplementárne, vzniká dokonalá krížová štruktúra. Ak niektoré páry báz nie sú komplementárne, vzniká nedokonalá krížová štruktúra

- Krátke inverzne sa opakujúce sekvencie predstavujú rozpoznávacie miesta (responzívne elementy) pre rôzne enzýmy a regulačné bielkoviny. Pri transkripcii môžu na ich základe vznikať "vlásenky" v molekule mRNA

* Okrem uvedených repetitívnych sekvencií, ktoré sa netranskribujú, sa v genóme eukaryontov nachádzajú aj určité repetitívne sekvencie, ktoré sa transkribujú a predstavujú teda opakujúce sa gény. Takéto gény sa opakujú za sebou v tandemoch, kde A, B, C a D označujú jednotlivé gény vo vnútri opakujúcej sa skupiny. Takto sa opakujú gény kódujúce rRNA, tRNA a históny

. . A B C D A B C D . . .

- Eukaryotické chromozómy obsahujú okrem DNA početné bázické a nebázické (kyslé) bielkoviny, ktoré majú dôležitú štruktúrnu úlohu a zásadným spôsobom ovplyvňujú dynamiku chromozómov (chromatínu), ich vlastnosti a funkciu

- **V eukaryotických bunkách** je DNA v prevažnej väčšine spojená s histónmi; iba v niektorých prípadoch je spojená s iným druhom bázických bielkovín, s protamínmi

- HISTÓNY: - Históny sú skupinou nízkomolekulových bázických proteínov bohatých na lyzín a arginín.

- tieto aminokyseliny tvoria približne 25  mol %. Izoelektrický bod jednotlivých frakcií histónov je v rozpätí pH 10 – 12

- V prevažnej väčšine buniek rôznych druhov organizmov sa vyskytuje 5 typov, frakcií, histónov vyznačujúcich sa charakteristickými vlastnosťami

1. **Histón H1** je veľmi bohatý na lyzín, pomerné zastúpenie lyzínu k arginínu, L : A = 22. Má z histónov najvyššiu molekulovú hmotnosť, 21 000 Da a pozostáva z 215 aminokyselinových zvyškov.

2. **Histón** **H2A** je bohatý na lyzín, ale jeho relatívne zastúpenie je menšie ako v predchádzajúcej frakcii, takže pomer L : A = 1,2.

3. **Histón** **H2B** má pomer L : A = 2,5. Okrem arginínu a lyzínu má vyšší aj obsah serínu. Na rozdiel oproti ostatným frakciám sa N-terminus začína prolínom (v iných frakciách serínom).

4. **Histón** **H3** je bohatý na arginín, pomerné zastúpenie lyzínu a arginínu, L : A = 0,72. Charakteristická je aj prítomnosť cysteínu, ktorý ostatným frakciám chýba.

5.**Histón** **H4** je tiež bohatý na arginín, pomer L : A = 0,79. Táto histónová frakcia má najnižšiu molekulovú hmotnosť, 11 300 Da, a pozostáva zo 102 aminokyselinových zvyškov.

- Históny majú dôležitú štruktúrnu úlohu pri usporiadaní DNA v chromatíne. Regulačnú funkciu histónov limituje ich malá variabilita. Okrem toho, interakcie histónov s DNA nie sú sekvenčne špecifické, teda nemôžu byť ani génovo špecifické. Preto vystupujú hlavne v úlohe všeobecného represora génovej aktivity.Naviazanie histónu spôsobuje zmenu terciárnej štruktúry DNA pri vzniku komplexného útvaru, nukleohistónu. Nukleohistón je základnou zložkou chromatínu. Ďalšou zložkou chromatínu je nehistónový proteín.

- NEHISTÓNOVÉ PROTEÍNY: - Do skupiny nehistónových proteínov zaraďujeme niekoľko desiatok druhov bielkovín, ktorých spoločným znakom je väčšie zastúpenie kyslých aminokyselín v porovnaní s bázickými aminokyselinami, preto ich izoelektrický bod leží v kyslej oblasti. Väčšina týchto bielkovín interaguje s DNA, resp. histónmi iba dočasne pri určitých procesoch alebo v určitej fáze bunkového cyklu, pričom niektoré interakcie s DNA sú sekvenčne špecifické (DNA-viažuce bielkoviny). Viaceré nehistónové bielkoviny sú tkanivovo a druhovo špecifické.

1. Dôležitou skupinou nehistónových bielkovín chromatínu sú nízkomolekulové proteíny skupiny **HMG** (high mobility group, skupina s vysokou mobilitou) vyznačujúce sa vysokou elektroforetickou mobilitou, napr. HMG1, HMG2, HMG14, HMG17. Proteíny HMG1 a HMG2 sú veľmi príbuzné. Dobre sa viažu na DNA, prednostne na neobvyklé štruktúry, napr. palindrómy, preto sa usudzuje, že majú dôležitú úlohu pri replikácii a transkripcii. HMG14 a HMG17 sú tiež veľmi blízke proteíny. Viažu sa na jadro nukleozómu, zvlášť v oblastiach, kde prebieha transkripcia
2. Skupina **Sc** (scaffold, lešenie) zahŕňa hlavne bielkoviny Sc I a Sc II, ktoré sú v interkinetickom jadre súčasťou nukleárneho matrixu a v priebehu mitózy alebo meiózy sú súčasťou chromozómového lešenia. Rozšíreným proteínom nukleárneho matrixu a chromozómov je najmä Sc II, ktorý má topoizomerázovú aktivitu. Sc II bol neskôr identifikovaný ako proteín typu SMC2.
3. Rodina bielkovín **SMC** (structural maintenance of chromosome, zachovanie štruktúry chromozómov) je skupinou chromozómových ATPáz, ktoré sú v rôznych eukaryotických organizmoch vysoko konzervatívne. Bielkoviny SMC sú zapojené do dynamiky mitotických a meiotických chromozómov a do iných dejov súvisiacich so štruktúrou a funkciou chromozómov. V eukaryotických bunkách má rodina SMC štyri podrodiny označené SMC 1 až SMC 4. Všetci členovia tejto rodiny bielkovín majú spoločné štruktúrne motívy, vrátane amino-terminálneho nukleotid-viažuceho (DNA-viažuceho) motívu, dvoch centrálnych zvinutých motívov a konzervovanej karboxy-terminálnej sekvencie. Kombinačnou asociáciou niekoľkých druhov SMC s inými bielkovinovými podjednotkami vznikajú veľké funkčné komplexy.

- Veľká časť nehistónových bielkovín, napr. DNA-polymerázy, RNA-polymerázy, ligázy, topoizomerázy, nukleázy, acetyltransferázy, metyltransferázy, má **katalytické vlastnosti**. Z uvedených dôvodov, nehistónové bielkoviny jadra, najmä tzv. DNA-viažuce bielkoviny (DNA-binding proteins), majú mimoriadne veľký význam pri regulácii syntézy DNA a génovej expresie.Okrem DNA môže byť nehistónový proteín spojený aj s nízkomolekulovou RNA, pozostávajúcou často iba z niekoľkých desiatok párov nukleotidov. Takáto RNA sa označuje termínom **chromozómová RNA** (cRNA).

**MITOCHONDRIOVÁ DNA**

- Mitochondriová DNA (mtDNA) je jedným z druhov extrachromozómovej DNA, zodpovedajúcej za **mimojadrovú dedičnosť**. Z celkového obsahu DNA bunky pripadá na mtDNA menej ako 1 %, obvykle 0,1 – 0,5 %. V jednej mitochondrii sa nachádza 2 – 6 molekúl DNA. Počet kópií mtDNA v bunkách nie je presne kontrolovaný. Bunky, ktoré majú veľký počet mitochondrií a aktívne sa deliace bunky (najmä nádorové) majú celkové množstvo mtDNA značne zvýšené.

- Mitochondriová DNA izolovaná z rôznych organizmov má podobné vlastnosti. Jej molekuly sú dvojreťazcové, väčšinou sa vyskytujú vo forme kovalentne uzavretých **kružníc**. Značná časť (60 – 70 %) je superšpiralizovaná, ostatok je vo forme relaxovaných kruhov. Molekuly mtDNA ľahko prechádzajú zo superšpiralizovanej formy do normálnej kružnicovej formy pomocou jednoreťazcových zárezov (nick). Časť mtDNA v bunkách je v podobe katenátov, v ktorých sú dve kružnice navzájom prepojené podobne ako oká reťaze; v malígnych ľudských bunkách a v niektorých líniách tkanivových kultúr bola zistená iná variácia, v ktorej sú dve molekuly spojené do jedného, dvojnásobne väčšieho kruhu. Tieto variantné formy predstavujú replikujúce sa molekuly mtDNA

- Pri centrifugácii denaturovanej mtDNA v gradiente CsCl možno rozlíšiť tzv. ľahký (light, L) a ťažký (heavy, H) reťazec. Po termálnej denaturácii mtDNA rýchle renaturuje, čo svedčí o homogénnosti molekúl izolovaných z rôznych orgánov

**CHLOROPLASTOVÁ DNA**

Chloroplastová DNA (ctDNA, plastidová DNA, ptDNA) je prítomná v plastidoch, hlavne v chloroplastoch rias a vyšších rastlín. Z celkového obsahu DNA bunky tvorí približne 1 %, výnimočne viac. V jednom chloroplaste je obvykle niekoľko desiatok molekúl DNA. Chloroplastová DNA rôznych druhov rastlín má molekulovú hmotnosť 8 – 9x107 Da a pozostáva zo 120 – 200 kbp.

Molekuly ctDNA tvoria uzavreté kružnice. Niekedy sú pozorovateľné aj lineárne konformácie, ktoré môžu byť pripojené k membráne chloroplastu. Zastúpenie jednotlivých báz sa líši od nukleárnej DNA vyšším obsahom párov G/C, preto ctDNA vytvára v gradiente chloridu cézneho odlišnú malú frakciu. S výnimkou niektorých prípadov ctDNA obsahuje dve obrátené presné repetície, dlhé 20 – 30 kbp, ktoré sú separované malým a veľkým neopakujúcim sa úsekom. Takáto podobnosť veľkosti a štruktúry  molekúl ctDNA izolovaných z rôznych zdrojov svedčí o jej malej evolučnej flexibilnosti.

**GENETICKÝ KÓD**

Genetická informácia je obsiahnutá v chromozómovej a mimochromozómovej DNA (prípadne v RNA niektorých vírusov), kde je „zapísaná“ trojčlánkovými znakmi, tripletmi. **Triplety** (kodogény) sú trojice nukleotidov určujúce poradie jednotlivých aminokyselín v budúcej bielkovine. Takýmto spôsobom je v molekulách DNA, v genotype, zakódovaná štruktúra a vlastnosti bielkovín, vrátane enzýmov, a tým sú určené metabolické procesy, ktoré sa prejavia určitými znakmi alebo vlastnosťami organizmu, t. j. fenotypom.

- genetický kód je univerzálny a s malými výnimkami rovnaký pre všetky organizmy. Táto skutočnosť dokazuje, že genetický kód zostal počas dlhého obdobia evolúcie konštantný a všetky živé organizmy majú spoločný princíp dedičnosti.

- Genetický kód reprezentuje **64 kodónov**. Bielkoviny však pozostávajú iba z 2l druhov aminokyselín, takže väčšinu aminokyselín kóduje viac tripletov. Napríklad zaradenie leucínu do budúcej bielkoviny určuje matrica s tripletmi UUA, UUG, CUU, CUC, CUA, CUG. Skutočnosť, že jednotlivé aminokyseliny sú kódované viacerými tripletmi sa označuje termínom **degenerácia kódu**. Degenerácia kódu je veľmi nerovnomerná; napr. kódy pre serín a leucín sú degenerované šesťkrát, pre kyselinu glutámovú a tyrozín iba dvakrát. Kódy pre metionín, tryptofán a selénocysteín nie sú degenerované, teda zaradenie každej z týchto aminokyselín kóduje jeden triplet. V degenerovanom kóde sa kódovanie najčastejšie deje prvými dvomi nukleotidmi (napr. serín, valín, prolín), ktoré sú teda primárnymi determinantmi kódovej špecifickosti, kým tretí nukleotid je najvariabilnejší. Takýto spôsob párovania báz sa označuje ako kolísavé párovanie a uskutočňuje sa podľa určitého pravidla

- Zvláštne postavenie majú triplety AUG a UGA, ktoré sú bifunkčné. AUG kóduje zaradenie metionínu a súčasne je aj iniciačným kodónom translácie; UGA kóduje zaradenie selénocysteínu a súčasne je aj jedným z terminačných kodónov translácie

- Zo 64 tripletov boli tri označené ako nezmyselné triplety, pretože sa usudzovalo, že nekódujú zaradenie žiadnych aminokyselín. Sú to kodóny UAA, UAG a UGA, ktoré slúžia ako signály na ukončenie syntézy polypeptidového reťazca a predstavujú **terminačné kodóny**. Niekedy sa tieto kodóny označujú názvami amber, ochre, opal (jantár, oker, resp. opál)

Medzi jednotlivými kodónmi chýbajú nejaké signály (rozdeľovacie znamienka), ukazujúce koniec jedného kodónu a začiatok druhého. Preto sa rozšifrovanie kódu musí začať na správnom mieste a postupovať (bez posunutia alebo presahovania) od tripletu k tripletu. V opačnom prípade by sa vytvorila nezmyselná bielkovina. Rozšifrovanie (čítanie) genetického kódu prebieha na ribozómoch počas proteosyntézy. Smer rozšifrovania na molekule mRNA pri proteosyntéze je od 5’- k 3’- koncu, t. j. rovnaký ako smer syntézy DNA a RNA.

Podľa presne stanoveného začiatku sa každá z troch potenciálnych možností čítania tripletov v príslušnej sekvencii nukleotidov označuje ako **čítací rámec**. Napr. sekvencia AGGACT.... (na komplementárnom reťazci DNA), alebo AGGACU.... na mRNA) sa môže čítať nasledovne:

↓

AGGACT.......... t.j. GGA (kódujúci glycín) atď.

↓

AGGACT.......... t.j. GAC (kódujúci kyselinu asparágovú) atď.

↓

AGGACT.......... t.j. ACT (kódujúci treonín) atď.

Úsek DNA obsahujúci najmenej 100 kodónov, ktorý sa začína štartovacím kodónom a končí stop kodónom sa obvykle označuje ako **otvorený čítací rámec** (open reading frame, ORF). Predpokladá sa, že väčšina ORF kóduje nejaký polypeptid, teda predstavuje gén. Neidentifikovaný otvorený čítací rámec, o ktorom nie je známe, či kóduje proteín sa niekedy označuje skratkou u-ORF (unidentified open reading frame). Ak je čítací rámec prerušovaný terminačnými kodónmi, takže nemôže kódovať súvislý polypeptidový reťazec, označujeme ho ako **uzavretý čítací rámec**.

Štruktúru každej bielkoviny alebo RNA kóduje jeden gén (cistrón), ktorý zaberá príslušný úsek molekuly DNA, lokus. V ojedinelých prípadoch molekula DNA v niektorých úsekoch obsahuje informáciu nie pre jednu bielkovinu, ale pre dve bielkoviny. V takomto prípade sa otvorené čítacie rámce nachádzajú v oboch reťazcoch DNA (napr. v mitochondriovej DNA sa väčšina génov nachádza na H-reťazci, ale niektoré gény sú lokalizované v tej istej oblasti na L-reťazci) alebo v tom istom reťazci, takže dochádza k čiastočnému prekrývaniu génov. Pri lokalizácii génov na tom istom reťazci môže dôjsť k prekrývaniu rovnakých čítacích rámcov alebo rôznych čítacích rámcov.

**Prekrývanie rovnakých** otvorených **čítacích rámcov** je vtedy, keď čítanie môže začať na rôznych iniciačných kodónoch, ale ukončenie určuje jeden terminačný kodón, napr.

....AUG................AUG...................................UGA......

Pri takejto sekvencii nukleotidov sa produkty translácie dvoch génov navzájom nevyhnutne líšia svojou dĺžkou.

**Prekrývanie rôznych** otvorených **čítacích rámcov** nastáva vtedy, keď jednotlivé čítacie rámce poskytujú odlišné možnosti začatia a ukončenia čítania, napr.

....AUG............AUGAG.......UGAUG........UAG....

Pri tejto sekvencii nukleotidov sa produkty translácie prekrývajúcich génov nemusia výraznejšie líšiť svojou dĺžkou, ale líšia sa sekvenciou aminokyselín.

**Štruktúrne gény** (cistróny) obsahujú informácie o primárnej štruktúre a z nej vyplývajúcich vlastností jednotlivých polypeptidov. Štruktúrne génykódujúce bielkoviny sa v genóme najčastejšie vyskytujú iba v jednej kópii (s výnimkou napr. génov histónov a tubulínov) a označujú sa ako unikátne gény. Gény kódujúce **funkčné RNA**, ako je tRNA, rRNA a niektoré iné druhy nízkomolekulových RNA sa označujú ako gény funkčnej RNA; takéto gény sú prítomné vo viacerých kópiách a predstavujú repetitívne gény. Pred jednotlivými génmi alebo skupinami génov sa nachádza promótor, ktorý je súčasťou **regulačných elementov**. Regulačné elementy (regulačné oblasti) sú úseky DNA, ktoré špecificky interagujú s určitými bielkovinami a vyskytujú sa na určitých miestach matricového 3’  5’ reťazca DNA (kapitoly 6 a 8). Označenie reťazcov DNA nie je jednotné. Termínom matricový reťazec sa obvykle označuje ten reťazec DNA, ktorý obsahuje genetickú informáciu a transkribuje sa do RNA. Druhý reťazec, ktorý má rovnakú sekvenciu nukleotidov ako RNA syntetizovaná na matricovom reťazci (samozrejme s výnimkou U miesto T), sa označuje ako komplementárny reťazec.

Transkripcia génov sa uskutočňuje v  **transkripčných jednotkách** riadených promótormi. Transkripčné jednotky prokaryotických buniek obvykle obsahujú niekoľko génov, ktoré sa transkribujú do jednej molekuly primárneho transkriptu. Transkripčné jednotky eukaryotických buniek obsahujú po jednom géne (s výnimkou napr. génov pre rRNA) a tiež sa transkribujú do jednotlivých molekúl transkriptu. Transkripčné jednotky sú na molekulách DNA usporiadané za sebou. Medzi nimi sú rôzne dlhé úseky nekódujúcich a netranskribovaných sekvencií.Gény, ktoré sú v danom čase transkripčne neaktívne sa označujú ako reprimované (stíšené) gény, kým transkripčne aktívne gény ako exprimované gény.

**GENÓM BAKTÉRII**

- Genetická informácia baktérií je obsiahnutá hlavne v DNA chromozómu; iba mala časť informácie je prítomná v mimochromozómovej DNA, v plazmidoch

Gény kódujúce rRNA sa nachádzajú **v zhlukoch** (5’-16 S-23 S-5 S-3’) najmenej v 7 kópiách. V intercistrónových úsekoch sú gény pre niektoré tRNA. Gény kódujúce enzýmy určitej metabolickej dráhy sú tiež zhluknuté v jednej oblasti DNA. Aj gény pre asociované štruktúrne bielkoviny (napr. bielkoviny ribozómov) sa často nachádzajú v susedstve. Členovia sady priľahlých (zhluknutých) génov sú často kontrolované koordinovane; transkribujú sa súčasne, pričom vznikajú polycistrónové mRNA, ktoré majú kódujúce sekvencie pre niekoľko bielkovín. Na označenie takejto kompletnej regulovanej jednotky zhluknutých génov sa používa termín **operón.**

**Operón** pozostáva z operátora, priľahlých štruktúrnych génov, ktoré kódujú enzýmy určitého reťazca alebo asociované bielkoviny, z kontrolných elementov (promótor, operátor, prípadne zosilňovač alebo zoslabovač), ktoré predstavujú úseky nachádzajúce sa na DNA väčšinou blízko štruktúrnych génov, kontrolovaných regulačným proteínom a z regulačného génu, ktorý kóduje regulačný proteín (kapitola 8.2). Usporiadanie génov v operónoch a s tým súvisiaca možnosť koordinovanej kontroly génov, ktorých produkty sú funkčne prepojené, je veľmi výhodná z hľadiska adaptácie samostatne žijúcej bunky (baktérie) na vonkajšie podmienky, pretože zabezpečuje tvorbu rovnakého počtu molekúl nadväzujúcich na seba v enzymatických reťazcoch.Súbor transkripčných jednotiek alebo operónov, ktorých expresiu reguluje ten istý regulačný proteín, sa niekedy označuje termínom **regulón** (napr. súbor operónov génov SOS).

**GENÓM EUKARYOTOV**

Podobne ako v prokaryotickom genóme, aj v eukaryotickom genóme sú prítomné sekvencie regulačných oblastí, ktoré sú ešte rozsiahlejšie a komplikovanejšie (kapitola 6.2). Pre jadrové gény eukaryotických organizmov je charakteristická hlavne mozaiková štruktúra génov a prítomnosť opakujúcich sa sekvencií nukleotidov. Eukaryotické gény nie sú celistvé. Ich kódujúce úseky, **exóny**, sú často prerušené intervenujúcimi sekvenciami, **intrónmi**, ktoré väčšinou nekódujú žiadny produkt. Preto sa eukaryotický gén označuje ako mozaikový (zložený) alebo rozštiepený gén.

- Exóny sú od intrónov ohraničené určitými krátkymi sekvenciami nukleotidov. Intróny sa transkribujú do prekurzorovej RNA súčasne s exónmi, ale sú z nej vyštiepené v priebehu zretia primárneho transkriptu (kapitola 6.3). Počet a dĺžka intrónov v géne je rôzna. Histónové a interferónové gény nemajú intervenujúce sekvencie, takže ich kódujúce sekvencie sú kontinuálne.

- Všeobecne platí, že čím sú organizmy fylogeneticky nižšie postavené, tým menej majú rozštiepené gény. Z uvedeného je zrejmé, že intervenujúce sekvencie prispievajú k „nadbytku“ DNA v eukaryotických genómoch v rôznom rozsahu

- **Úloha intrónov** spočíva hlavne v tom, že umožnili (a umožňujú) vznik nových génov v priebehu evolúcie

- Intrónové sekvencie podmieňujú aj veľkú variabilitu génových produktov, pretože umožňujú prestavbu niektorých génov, napr. génov kódujúcich imunoglobulíny

- Dôležitý význam intrónov je aj v tom, že umožňujú zmiernenie následkov mnohých mutácií, pretože v priebehu zretia primárneho produktu transkripcie dochádza k vystrihnutiu intrónov a prípadná zmena v čítacom rámci nepokračuje do konca polypeptidového reťazca

- V niektorých prípadoch sú v intrónoch lokalizované dôležité regulačné sekvencie, alebo sekvencie kódujúce funkčné molekuly RNA, prípadne bielkovinové produkty. Medzi takéto molekuly patria napr. malé jadrové RNA a malé jadierkové RNA (snRNA, resp. snoRNA), ktoré majú dôležitú úlohu pri zretí prekurzorovej mRNA alebo rRNA a tvorbe ribozómov. Napríklad U22, ktorá je kódovaná intrónom, sa zúčastňuje na maturácii 18 S rRNA

Od intrónov je potrebné odlíšiť **medzerníky** (intergenic spacers), ktoré sa vyskytujú v prokaryotických aj eukaryotických bunkách. Medzerníky tiež patria medzi nekódujúce sekvencie, ale sa nachádzajú medzi génmi alebo skupinami génov. Väčšina medzerníkov sa netranskribuje. Niektoré medzerníky sa transkribujú do pre-rRNA, alebo pre-mRNA (hnRNA), ale v priebehu zretia sú vyštiepené.

**Rozštiepené gény** boli objavené pri skúmaní génov **imunoglobulínov** v súvislosti s nezhodou medzi celkovým počtom génov v genóme cicavcov (niekoľko desaťtisíc) a množstvom druhov protilátok (potenciálne 109 až 1012). Zistilo sa, že medzi úsekom DNA kódujúcim stálu zložku a variabilné zložky reťazcov imunoglobulínov, ale aj v rámci týchto zložiek, sa nachádzajú nekódujúce sekvencie.

**MITOCHONDRIOVÉ GÉNY**

Mitochondriové gény sú pozostatkom genómu endosymbiotického, protobaktériového predka mitochondrií. V priebehu evolúcie sa mnohé gény pôvodného predka terajších mitochondrií stratili, alebo boli prenesené z mtDNA do nukleárneho genómu. Na druhej strane počas evolúcie eukaryotickej bunky mitochondrie získali nové proteíny, ktoré sú kódované v jadrovej DNA.

- Ľudský mitochondriový chromozóm (mtDNA) je tvorený 16 569 pármi nukleotidov a obsahuje 37 génov kódujúcich **2 druhy rRNA, 22 druhov tRNA a 13 druhov bielkovín** z doteraz zistených približne 600 druhov mitochondriových bielkovín. Mitochondriová DNA je jedinou bunkovou DNA obsahujúcou gény pre podjednotky dýchacích enzýmov (cytochrómy a oxidázy), preto jej genetická informácia je pre bunku životne dôležitá. Medzi mitochondriovými génmi sú aj gény zapojené do regulačných procesov a pravdepodobne aj gény reparácie mtDNA. Väčšina bielkovín kódovaných mtDNA predstavuje podjednotky mnohozložkových komplexov vnútornej mitochondriovej membrány, katalyzujúcich oxidatívnu fosforyláciu

- Zvláštnosťou mtDNA je skutočnosť, že jej **genetický** **kód nie je úplne identický** s kódom jadrovej DNA alebo prokaryotickej DNA. Napríklad kodón UGA v mtDNA nie je terminálny, ale kóduje tryptofán. Na rozdiel od jadrovej DNA, v ktorej veľká časť sekvencií nemá priamu genetickú funkciu, v mtDNA je dôležitý každý pár nukleotidov. **Úspornosť v usporiadaní génov** sa prejavuje napr. tým, že intróny prítomné v génoch rRNA a medzerníky medzi génmi bielkovín väčšinou kódujú tRNA, ako aj tým, že v niektorých prípadoch posledný nukleotid jedného génu môže súčasne predstavovať prvý nukleotid priľahlého génu. Okrem toho, kódujúci význam majú obidva reťazce mtDNA; väčšina génov sa vyskytuje v H-reťazci, ale niekoľko génov sa nachádza aj v L-reťazci

Transkripciu génov katalyzuje zvláštna mitochondriová RNA-polymeráza. V ľudských mtDNA sa transkripcia začína iba od dvoch miest; vytvorené primárne transkripty sú štiepené a upravované na funkčné molekuly RNA. Všetky bielkoviny kódované mtDNA sú syntetizované mitochondriovými ribozómami, ktoré, v zhode s ich fylogenetickým pôvodom, pripomínajú baktériové ribozómy.

Keďže mitochondrie sa nachádzajú v cytoplazme, dedí sa mtDNA väčšinou po materskej línii (samčie pohlavné bunky živočíchov a rastlín prispievajú k cytoplazme zygoty iba v nepatrnom množstve alebo vôbec neprispievajú). Mutácie mtDNA môžu byť príčinou maternálne dedených ochorení, napr. Leberovej optickej neuropatie alebo myoklonálnej epilepsie

**PALSTIDOVÉ GÉNY**

- Mimojadrové gény prítomné v plastidoch, plastogény, obsahujú informáciu pre ribonukleové kyseliny a časť bielkovín plastidov.

- niektoré oblasti ctDNA prekvapujúco **pripomínajú DNA** súčasných **baktérií**

Plastidová DNA v bunkách rôznych druhov rastlín má **podobné** celkové **usporiadanie génov**. Na ctDNA sú dve obrátené repetície, ktorými je molekula rozdelená na veľký úsek, LSC (large single copy, veľká jediná kópia) a malý úsek, SSC (small single copy, jediná malá kópia). Veľký úsek obsahuje väčšinu génov pre tRNA a štruktúrne gény. Obrátené repetície obsahujú gény pre rRNA a niektoré iné opakujúce sa gény. Rôzny počet opakovaní génov v týchto miestach spôsobuje rôznu dĺžku obrátených repetícií a tým aj rôznu dĺžku molekuly ctDNA. ctDNA je lokalizovaných okolo **120 génov**. Približne polovica z nich je zapojená do transkripcie a translácie, pretože predstavujú gény pre rRNA, tRNA, podjednotky RNA-polymerázy a početné (19) ribozómové bielkoviny. Ďalšie plastogény kódujú bielkoviny zapojené do procesu fotosyntézy, napr. niektoré proteíny fotosystému I a fotosystému II,...

Pri syntéze týchto bielkovín ribozómami chloroplastov sa využíva „štandardný“ genetický kód. Ostatných približne 90 % bielkovín z celkového počtu okolo 1 000 štruktúrnych a funkčných bielkovín chloroplastov je kódovaných jadrovou DNA a syntetizovaných ribozómami v cytoplazme, odkiaľ sú inkorporované do organely. Existujú určité rozdiely v distribúcii génov kódujúcich bielkoviny plastidov. Napríklad v ctDNA niektorých krytosemenných rastlín môžu byť prítomné určité gény, ktoré neboli nájdené v ctDNA iných druhov rastlín, ale sú prítomné v jadrovej DNA a naopak. Tento fakt naznačuje určitú výmenu génov (transpozície) medzi plastidom a jadrom v priebehu evolúcie.

**Expresia génov** kódujúcich chloroplastové bielkoviny **v plastidoch a jadre je** určitým spôsobom **koordinovaná**. Signály vznikajúce v chloroplastoch ovplyvňujú schému génovej expresie v jadre.

**21. Zachovanie a prenos genetickej informácie.**

**Replikácia DNA v prokaryotických bunkách (chromozómovej a plazmidovej DNA) a v eukaryotických bunkách (jadrovej a mitochondriovej DNA).**

**Mechanizmy a genetická kontrola replikácie DNA.**

Súbor

**22. Génová expresia. Štruktúra a funkcie mRNA, tRNA, rRNA, ribozómov, ribozómová aktivita.**

**Mechanizmus transkripcie v prokaryotických a eukaryotických bunkách.**

súbor

**23. Posttranskripčná úprava RNA.**

**Formy alternatívneho zostrihu, bázová modifikácia a editovanie.**

Vysokomolekulový primárny trankript podlieha PTÚ – zretie, maturácia, processing – ktoré spočívajú vo fyzickej a chemickej modifikácií molekuly vrátane zostrihu jej intrónov.

Sebazostrihujúce sekvencie sa rozdeľujú na 2 skupiny:

* **Intróny I.skupiny** – ako kofaktor používajú guanozín, vnútorným párovaním báz môžu intróny vytvoriť ohyb, čím sa dostanú k sebe konce 2 exónov, ktoré sa ajú spojiť. Vyštiepený intrón je lineárny
* **Intróny II.skupiny** – tvoria viaceré záhyby – vzniká komplexná sekundárna štruktúra s početnými slučkami a vlásenkami. Uskutočňuje sa s účasťou 2´- hydroxilovej skupiny adenozínu, vyštiepené intróny majú rozvetvenú štruktúru.

**PTÚ pre-mRNA**

* mRNA vzniká zretím vysokomolekulovej jadrovej RNA (heterogénna nukleárna RNA hnRNA)
* najprv modifikácia na oboch koncov

**Úprava 5´konca:** spočíva v metylácií 1.nukleotidu a formovaní čiapky. Čiapka vzniká naviazaním 7-metylguanozínu na 5´koniec mRNA trifosfoesterovou väzbou, čím vznikne priestorová konformácia pripomínajúca čiapku. Čiapka chráni 5´koniec mRNA pred štiepením exonukleázami, ovplyvňuje pripojenie mRNA na ribozómy. Viaže sa na ňu bielkovinový faktor potrebný na začatie translácie.

**Úprava 3´konca:** spočíva v rozštiepení fosfodiesterovej väzby endonukleázou, aby sa uvoľnila 3-hydroxylová skupina primárneho transkriptu, na ktorú sa pripojí poly(A) úsek. Príslušný faktor rozozná polyadenylačný signál transkribovaný na sekvenciu typu AAUAAA a po rozštiepení väzby sa k 3´koncu pripája prvých 12adenylových zvyškov. Potom sa pripojí ďalších 50-250 adenylových zvyškov. Polyadenyláciu katalyzuje enzým poly(A)polymeráza. Po prechode do cytoplazmy dôjde k odbúraniu časti poly(A)sekvencii 3´exonukleázou, čiže zrelá mRNA obsahuje niekoľko desiatok adenylových jednotiek. Polyadenylácia má význam pri transporte mRNA do cytoplazmy.

**Zostrih:** vyštiepenie, splicing – primárnych transkriptov. Prebieha na konci transkripcie po uvoľnení 3´konca. Zostrihom sa odstráni veľká časť – 80-90% pôvodnej pre-mRNA čím sa zníži jej molekulová hmotnosť. Všetky procesy zretia sú katalyzované enzýmami a bielkovinovými faktormi, ktoré sa ešte v priebehu transkripcie spájajú s nascentnou pre-mRNA. S ňou sa spájajú aj bázické bielkoviny – ktoré znemožňujú formovanie vláseniek a iných útvarou sekundárnej štruktúry. Veľké viaczložkové ribonukleoproteínové častice – hnRNP/pre-mRNP-majú modulárnu štruktúru, 1/viac domén viažúcich RNA, doménu interreagujúcu s inými bielkovinami. Najrozšírenejšia RNA-viažúca doména bielkovín je motív rozpoznávajúci RNA – pozostáva asi z 80AMK zvyškov.

**Spliceozóm:** komplex zostrihu – formuje sa z hnRNP za spoluúčasti 5 druhov snRNA. Dynamická dočasná štruktúra. Zloženie sa mení v priebehu zetia a transportu mRNA do cytoplazmy. Na 1 molekule hnRNA sa tvorí obvkle 1 spliceozóm. V jadre sú S pripojené na nukleárny skelet. Presnosť zostrihu zabezpečujú malé snRNA – bohaté na uridín – ozn.sa skratkou U a číslicou poradia.

Pred vlastným zostrihom naviaže U1 molekula na začiatok 1.intrónu pre-mRNA a U2 sa naviaže na tzv.oblasť vetvenia – nukleotid A blízko 3´-konca intrónu – vzniká slučka. Zostrih sa uskutočňuje transesterifikáciou – mení sa fosfátový ester na iný ester bez hydrolýzy a bez dodania energie z ATP/GTP. Fosfodiesterová väzba ssa medzi prvým exónom a intrónom štiepi nukleofilným pôsobením 2ÓH skupiny adenozínu z oblasti vetvenia intrónu. Súčasne sa začiatok intrónu spojí s adenozínom v meiste vetvenia, prostredníctvom fosfodiesterovej väzby – vzniká slučka v podobe lasa. Neskôr nasleduje druhá transesterifikácia – prenesie sa OH skupina z exónu na koniec intrónu, rozštiepi sa fosfo.väzba. uvoľní sa 1.intrón v podobe lasa a prepisy prvého a druhého exónu sa spoja. Zostrih pokračuje dovtedy, kým nie sú vystrihnuté všetke intróny.

**Alternatívny zostrih:** niekedy z jedného primárneho transkriptu môžu vzniknúť odlišné mRNA, teda aj odlišné bielkoviny. AZ je jedným z mechanizmov regulácie génovej expresie.

Zrelá mRNA pozostáva z vedúcej sekvencie + vlastná informačná sekvencia pre príslušný proteín + úsek poly(A)

Faktory zúčastňujúce sa na zostrihu RNA regulujú aj export mRNA do cytoplazmy. Do exportu sú zapojené adaptérové bielkoviny – napr.faktor exportujúci RNA je zapojený do vyštiepenia intrónov z nezrelých RNA, ale môže byť aj ako adaptér medzi mRNA a proteínom potrebným pre export. mRNA je transportovaná do cytoplazmy cez póry v jadrovom obale, pripája sa na podjednotky ribozómov a začína translácia. Počas celej doby sa mRNA vyskytuje v podobe mRNP – sú vlastne modifikované spliceozómy, neobsahujú snRNA a majú iné sady proteínov. Tieto častice mRNP – informozómy.

**PTÚ pre-rRNA**

* syntéza a zretie prebieha v jadierku
* tieto úpravy spočívajú hlavne v metylácií 2´-hydroxylovej skupiny ribózovej zložky špecifických nukleotidov, v konverzii špeci zvyškov uridínu na pseudouridín a v zostrihu primárneho transkript
* primárny transkript pozostáva z intrónov, exonov
* intróny sú z pre-rRNA vyštiepené
* exóny sa po zostrihu navzájom nespájajú – pretože predstavujú funkčné molekuly
* polohu miest zostrihu v pre-rRNA a špeci miesta 2´-O-metylácie a tvorby pseudouridínu určuje cca 150 rôznych druhov malých nukleolárnych RNA – snoRNA

**PTÚ pre-tRNA**

* podlieha štiepeniu, modifikáciam báz niekedy aj zostrihu
* všetky pre-tRNA majú na svojom 5´konci sekvenciu s variabilnou dĺžkou – odštiepuje ju ribozým – **ribonukleáza P (RNáza P)**
* modifikácie báz sú trojakého druhu:

1. nahradenie zvyškov uridínu na 3´konci pre-tRNA sekvenciou CCA
2. pridanie metylových a izopentylových skupín na heterocyklický kruh purínových báz a metylácia 2´OH skupiny ribózy
3. konverzia špecifikých uridínov na dihydrouridín, pseudouridín, ribotymidín, čím vznikajú neobvyklé **minoritné bázy**

* zostrih intrónov z pre-tRNA katalyzujú bielkoviny, endonukleázy, ligázy a nie ribozymová RNA
* excízia sa uskutočňuje 1 krokom, súčasným rozštiepením väzieb na oboch koncoch intrónu
* jeden druh endonukleázy môže štiepiť všetky typy pre-tRNA
* uvoľnen konce exónov sa spájajú ligázou s využitím energie z ATP/GTP

**24. Translácia genetickej informácie. Mechanizmus proteosyntézy v prokaryotických a eukaryotických bunkách.**

Súbor

**25. Význam a mechanizmy regulácie génovej expresie v prokaryotických bunkách. Funkcia a charakteristika operónu. Enzýmová indukcia, katabolická represia a enzýmová represia. Atenuácia.**

Regulácia génovej expresie v PB sa uskutočňuje na úrovni transkripcie.

**s.181 - Regulácia na úrovni transkripcie**

* expresia Pgénov je regulovaná prostredníctvom špeciálnych bielkovinových represorov/aktivátorov
* **prostredníctvom represorov – negatívna regulácia** – zahŕňa mechanizmy enzýmovej indukcie a represie
* **prostredníctvom aktivátorov – pozitívna regulácia** – katabolická represia, dvojzložkové regulačné systémy
* **Enzýmová indukcia**
* **Operón** – regulačný gén, regulujúci činnosť štruktúrnych génov vrámci regulačnej jednotky
* **Laktózový operón –** lac operón – lokusy génov lacZ, lacY, lacA – kódujú 3 funkčne spojene enzými – pri utilizácií laktózy
* je to gén pre beta-galaktozidázu – štiepi laktózu na glukózu a galaktózu
* gén pre beta-galaktozid permeázu – katylzuje vstup laktózy do bunky
* gén pre transacelylázu – prenáša acetylovú skupinu z koenzýmu A na laktózu
* pred štruktúrnymi génmi sú: kontrolné elementy, operátor, promotor, lacl (gén R) kodujúci represor
* mutácia v oblasti štruktúrneho génu – tvorba abnormálneho enzýmu – štiepenie laktózy znemožnené, spomalené
* mutácia v oblasti regulačného génu alebo operátora – ovplyvní transkripciu všetkých 3 štruktúrnych génov
* pri transkripcii operónu vzniká – polycistrónová mRNA
* v neprítomnosti laktózy – transkripcia génov tohto zhluku nepatrná, promotor lac operónu je blokovaný
* v prítomnosti laktózy – transkripcia začína od promotora a pokračuje cez štruktúrne gény až po terminátor
* v lac operóne je regulačný gén – lacl- tesne pred promotorm a kontrolnými elementmi
* transkripcia regulačngo génu lacl začína od promotora , prebieha rovnakou rýchlosťou
* operátor sa čiastočne prekrýva s promotorom
* represor má vysokú afinitu k určitým malým molekulám, efektorom
* regulcia génovej expresie prostredníctvom molekúl represora – negatívna kontrola génu
* **Katabolická represia – 184**

CAP – katabolický aktivačný proteín – regulačný proteín, je súčasťou systému pri výbere najvhodnejšieho substrátu - Optimálnym substrátom pre E.Coli je glukóza.

Patrí medzi mechanizmy pozitívnej kontroly, pretože transkripcia génu nastáva až po pripojení špeci aktivačného proteínu CAP na promotor.

Začne pôsobiť vtedy, keď je nízka hladina intracelulárneho cyklického AMP – v takých podmienkach nemôže tvoriť komplex s cAMP, ktorý by sa pripojil na lacP. Promotor laktózového operónu teda nieje aktivovaný a transkripcia neprebieha. Pri nedostatku glukózy vzrásta v bunke hladina cAMP, môže sa viazať na CAP. Komplex CAP-cAMP interreaguje s poznávacím miestom na promotore lac operonu. Spôsobí silné ohnutie DNA – začína transkripcia génov pre enzýmy rozkladajúce laktózu.

* **Enzýmová represia**
* pre syntézu bielkovín je nevyhnutná prítomnosť AMK v bunke – ak sa nevyskytujú musia si ich vytvoriť baktérie pri účasti anabolických enzýmov
* negatívna kontrola
* uskutočňuje sa prostredníctvom represora, ktorý je účinný iba v komplexe s korepresorom
* pri nedostatku korepresora – operón je kontinuálne aktívny
* korepresor – produkt príslušnej metabolickej dráhy
* pri znížení koncentrácie korepresora pod hranicu dochádza k inaktivácií represora – derepresia génov
* najlepšie preskúmaný – tryptofánová operón – trp operón – pozostáva z 5 štruktúrnych génov, ktoré kodujú 3 enzýmy
* proti smeru transkripcie sú regulačné lementy pozostávajúce z atenuátora, operátora, promotora
* represorový proteín – kdoovaný regulačným génom, pozostáva zo 4 podjednotiek, na operátor sa viaže len ak je v komplexe s trypptofánom
* tryptofánový operon obsahuje aj dalsie regulacné elementy – napr.sekundárny promotor
* druhým prídavným kontrolným elementom je atenuátor
* **Atenuácia**
* Transkripciou DNA v oblasti atenuátora vzniká vedúca RNA – pozostáva zo 162 nukleotidov
* Blízko začatia vedúcej RNA – väzbové miesto pre ribozóm, za ním od 27.nukleotidu je sekvencia 14kodonov (zacina kodonom pre metionin a konci UGA), podla tejto sekvencie vznika pri translácií – **vedúci peptid**
* Nasledujúca oblasť poskytuje druhú možnosť zastaviť transkripciu génov tryp.op.
* V prítomnosti tryptofánu sa transkripcia zastaví v terminačnej oblasti (UUUUUUU)
* V neprítomnosti tryptofánu atenuátor neovplyvní transkripciu – vytvorí sa celá polycistronová mRNA pre 5 štrutúrnych génov
* V transkribovanej oblasti atenuátora má význam jeho schopnosť tvorby aleternatívnych sekundárnych štruktúr
* Dôležitú úlohu majú 2 kodony pre tryptofán
* Ak ma bunka dost tryptofánu, ribozómy postupujú cez tieto trp kodony, vytvori sa terminacna vlasenka, ukoncenie transkripcie pre RNA-polymerazu
* Ak je hladina tryptofanu nizka – neukutocni sa translacia
* **Ribospínače – aptaméry, riboswitches** - regulačné úseky mRNA, kontrolujúce génovú expresiu formovaním alternatívnych štruktúr

**26. Význam a mechanizmy regulácie génovej expresie v eukaryotických bunkách. 190 Kontrola transkripcie. 193**

**Posttranskripčná kontrola. 197**

**Regulácia expresie génov na úrovni RNA. Význam degradácie RNA.**

**Antisense RNA, siRNA, miRNA a úloha riboswitchov.**

**Jednobunkové organizmy** – cieľom je prežitie bunky. Bielkoviny v týchto podmienkach umožňujú riešiť situáciu, rýchlo vznikajú a zanikajú.

**Mnohogunkové organizmy** – regulácia ontogenetického vývinu – delenie a diferenciácia buniek. Tento organizmus pozostáva z veľkého množstva diferencovaných buniek. Všetky typy buniek majú rovnakú genetickú výbavu ako zygota. Podstata bunkovej diferenciácie – expresia správnych génov, v správnej dobe, na správnom mieste, v správnej miere.

**Ontogenetický vývin** – riadený postupne sa rozvetvujúcim programom regulácie génovej expresie.

**Prevádzkové gény** – housekeeping genes – bielkoviny prítomné v EU bunkách – zabezpečujú základné bunkové funkcie.

**Špecifické bielkoviny** – hemoglobín, myoglobín, myozín a pod. sa nevyskytujú vo viacerých bunkových typoch, niesú nevyhnutné pre prežitie buniek, dávajú im špecifické vlastnosti – špecifické gény.

Bunky mnoho.org. pestované v bunkových – tkanivových kultúrach reagujú na zmeny v prostredí podobným spôsobom ako jednobunkové org.

V mnoho.org.-nieje génová expresia ovplyvnená vonkajším prostredím – vďaka existencii vnútorného prostredia.

* + - 1. **aktivácia génovej štruktúry**
* DNA v inaktívnom stave – nieje prístupná transkripčnému aparátu
* Pred transkripciou – uvoľnenie štruktúry chromatínu – gén je v transkripčne kompetentnom stave – aktivácia chromatínu nastáva dávno pred povelom k prepisu
* Uvoľnenie chromatínu ovplyvnäujú chemické modifikácie histónov – dekondenzácia vláken – zlepšuje prístup TF k DNA
* K zmene chromatínovej štruktúry prispieva aj zvýšená aktivita špecifických nehistónových bielkovín a ďalších bielkovín regulujúcich génovú expresiu
* Aktiváciu EU génov najviac ovplyvňujú modifikácie samotnej DNA – hlavne metylácia – demetylácia
* Niekedy aktivácia transkripcie si vyžaduje aj predchádzajúcu lineárnu prestavbu DNA – môže byť programovaná, náhodná
* Kompetentný stav génu – uvoľnená štruktúrachromatínu a zvýšená citlivosť príslušnej časti chromatínu k degradácií DNázou I
* Miesta DH – mimoriadne citlivé k DNáze – hypersenzitívne – obsahujú regulačnú oblasť, niekedy sa vyskytujú v oblasti Z konfomácií
  + - 1. **Kontrola transkripcie**
* zo všetkých kontrolných mechanizmov najdôležitejšie je ovplyvnenie interakcie medzi RNA polymerázou a promotórom pri iniciácii transkripcie
* EB (výnimka kvasinky a nižšie huby) nemajú operóny
* Regulačné oblasti sú rozsiahle
* Početné kontrolné oblasti blízko štartu – promotory, promotorom blízke elementy a zosilovače
* Promotory – riadia naviazenie RNA polymerázy II na DNA, určujú miesto začiatku transkricpei a ovplyvňujú rýchlosť
* Okrem hlavného promotra (ten je tesne pred štartom) majú aj vedľajšie
* V EU DNA boli identifikované 2 základné typy: TATA box – najrozšírenejší
* Iniciátorový element Inr element – iniciátor transkripcie, pozostáva z pyrimidínovch nukleotidov, je miestom štartu transkripcie A v polohe +1
* Oblasť bohatá na CG – ostrov CpG sa nachádza v blízkosti štartovacieho miesta
* V regulačnej oblasti génov môžu byť prítomné aj Ďalšie kontrolné oblasti – elementy blízke promotru
* Prídavné regulačné elementy – zosilovače (enhancery) a zoslabovače (silencery) – obsahujú sekvečné motívy – responzívne elementy.
* Zosilovače – obsahujú niekoľko motívov, môžu sa opakovať, zvyšujú tým silu zosilovača a tým aj promotora
* Zoslabovače – znižujú pretože umožňujú naviazanie bielkovin inhibujúcich začatie transkripcie
* Genóm väčšiny kvasiniek okrem TATA boxu iba 1 kontrolný element – UAS – upstream activatig sequence – podobná funkcia ako zosilovač
* Regulačné bielkoviny – DNA viažúce bielkoviny, pôsobia ako TF. TF majú 2 hlavné oblasti – DNA viažúcu doménu a aktivačnú doménu
* V EB sa vyskytujú **všeobecné – základné TF**, prítomnosť nevyhnutná na začatie T
* **Špeciálne TF –** zvyšujú účinnosť T nad bazálnu hladinu
* Mnohé špeciálne a základné sa v bunke nachádzajú v neaktívnom stave. Aktiácia – fosforyláciou, naviazaním ligandu
* TF sa nachádzajú (najmä všeobecné) vo všetkých bunkách
* Pre diferenciáciu a ontogenetický vývin má zásadný význam kontrola expresie génov kódujúcich rôzne TF – hlavne špeci – t.j. regulačné proteíny
  + - 1. **Postranskripčná kontrola**
* Alternatívny zostrih je rozšírený
* O AZ rozhoduje špeci proteín – faktor zostrihu – tvorí sa v neurónoch
* Iným príkladom AZ je tvorba rôznych typov tropomyozínu – napr.v bunkách potkana vzniká AZ z 1 génu – 7 tkanivovo špeci typov bielkovín
* Dobre preštudovaný AZ primárneho produktu T génu kódujucého proteín Slo. – prítomný je v mnohých izoformách
* Expresiu génov na tejto úrovni ovplyvňuje aj stabilita mRNA – ktorá závisi od polyadenylácie jej 3´konca
* Stabilita sa môže zmeniť aj v priebehu diferenciácie
* Okrem mRNA sa môže meniť aj životnosť molekúl RNA
* Väčšina mRNA je degradovaná v dôsledku skracovania poly(A)konca, následným trávením sprostredkovaným exómom v smere 3-5.
  + - 1. **Kontrola translácie**
* Ovplyvňuje všetky mRNA – následok – zmena celkovej proteosyntetickej aktivity v bunke
* Selektívna regulácia bola zistená najmä v embryonálnych bunkách
* **miRNA – mikro RNA** – blokuje prístup k štartovaciemu kodónu/k miestu čiapočcky, čím znemožní pripojenie malej podjednotky ribozómov na 5ńekodujucu oblasť mRNA a blokuje protesyntézu. Vzniká rovnako ako siRNA zretím dlhšieho 2reťazcovvého prekurza. Tvorí sa v bunkách rôznych tkanív, zohráva úlohu pri regulácií neiktorých EU génov (napr. v rajčiaku zabraňuje dozrievaniu plodov).
* **siRNA-** vzniká zretím dlhšieho 2reťazcového prekurzora, z ktorého pôsobením ribonukleázy Dicer je vystrihnutá 2reťazcová mi/siRNA pozostávajúca z 21-23 nukl.párov. jeden reťazec prechodného produktu sa spája s viacerými bielkovinami, vzniká komplex indukovaný ribo.kyselinou – RICS – ak sa RICS RNA spája s bazami cieľovej mRNA vtedy pôsobi ako si. Ak sa v hybride RICS RNA s cieľovými sekvenciami mRNA je aj niekoľko nesprávnych báz vtedy pôsobi ako mi.
* Najdôležitejším regulačným mechanizmom – reverzibilná fosforylácia špecifických bielkovinových faktorov
  + - 1. **Posttranslačná kontrola**
* Kovalentné modifikácie a proteolytické štiepenie
* Pleiotropné gény – ich produktom je polycistrónová mRNA – jej transláciou sa syntetizujú dlhé molekuly prekurzora – polyproteínu – ktoré sú štiepené.

**27. Funkcia promótora a ďalších regulačných elementov transkripcie.**

**Responzívne elementy DNA. 176**

**DNA-viažúce bielkoviny. 177**

**Všeobecné a špeciálne transkripčné faktory.**

**Vplyv mimobunkových signálov na génovú expresiu.**

* **Responzívne elementy DNA**
* Špecifické rozpoznávacie sekvencie, tvorené zväčša 2 obrátenými repetitívnymi sekvenciami (palindromami)
* Repetitívne sekvencie – pozostávajú obvykle zo 6 nukleotid.párov, navzájom separované 3-5 neopakujucimi sa parmi nukleotid.
* Špecifické sekvencie DNA môžu byť rozoznané bez otvoreania duplexu – info o sekvencii nukleot.je na povrchu molekuly DNA
* Najdôležitejším znakom pri rozoznávaní sekvencii je schéma rozmiestnenia skupín, význam môžu mať aj atómy, a najmä celková geometria duplexu
* Zistilo sa ze DNA nieje ideálne pravidelná
* Pre rozpoznanie a naviazanie bielkoviny na špeci sekvenciu DNA je dôležitý rozsah v akom sa môže DNA deformovať
* **DNA viažúce bielkoviny**
* Sú veľmi početné
* Rozpoznávanie a naviazanie sa uskutočňuje prostredníctvom nekovalentných interakcií – vodíkovými väzbami, iionovymi, hydrofobnymi
* Jednotlivé druhy majú unikátne sekvencie – väčšinov obsahuju 1 motív – ktorý využíva na naviazanie na väčší žliabok DNA svoju alfa špirálu, beta plochu, pričom obe zložky – t.j.responzívny element a motív proteínu do seba zapadajú
* Najjednoduchší a najbežnejší DNA viažúci motív je „helix-otočka-helix“. Tento motív pozostáva z 2 alfa špirál medzi kt.je krátky úsek reťazca tvoriaci ohyb pod určitým uhlom 178
* **Všeobecné a špeciálne TF**
* V EB sa vyskytujú **všeobecné – základné TF**, prítomnosť nevyhnutná na začatie T, viažu sa na promotory prevádzkových génov
* **Špeciálne TF –** zvyšujú účinnosť T nad bazálnu hladinu, niektoré zabezpečujú T špeci génov, - umožňujú tvorbu špeci bielkovín, sú indukovateľné
* Mnohé špeciálne a základné sa v bunke nachádzajú v neaktívnom stave. Aktiácia – fosforyláciou, naviazaním ligandu
* TF sa nachádzajú (najmä všeobecné) vo všetkých bunkách
* Pre diferenciáciu a ontogenetický vývin má zásadný význam kontrola expresie génov kódujúcich rôzne TF – hlavne špeci – t.j. regulačné proteíny

**28. Mobilné génové elementy.**

**Plazmidová DNA, charakteristika a význam v génových manipuláciách.**

**Mechanizmy transpozície.**

**Repetitívne sekvencie DNA.**

* Vyskytujú sa v genómoch mnohých druhoch organizmoch, štruktúrne a funkčne sú odlišné
* pohyblivé elementy v genome
* prevazne vacsina genov PR.ajEU ma stalu polohu vzhladom k susednym genom. Existuje vsak skupina genov, ktora svoju polohu meni = mobilne geny
* 1 z nich pozoroval v 1947 McClintockova pri nestabilnych mutaciach v sfarbeni kukuricnych zrn
* Bolo zistene, ze transpozicia (presun) moze prebiehat sposobmi :

1. Konzervativny sposob – fyzicke premiestnenie prislusneho useku DNA na ine miesto
2. Replikacnym sposobom – premiestnenie kopie replikovanych genov do cielovej sekvencie
3. Retropozicia-spatnou transkripciou-sekvencia nukleotidov sa prepise z molekuly donorovej DNA do RNA a spatne sa potom prepise do cieloveho miesta DNA

* Su chopne intramolekulovej (1 molekule DNA) aj intermolekulovej transpozicie (medzi 2 molekulami DNA)
* Inaktivuju geny do ktorych sa premiesnili

**ROZDELENIE TRANSPOZOMOV**

1. **Inzercne sekvencie – IS** – T u baktérií, najjednoduchsie, pomenované podľa svojej schopnosti začleniť sa do rôznych miest bakteriálneho CH a plazmidov, sú usporiadané veľmi kompaktne, najznámejší typ IS1, pomerne kratke ME, typicke pre prokaryotov. Obsahuju iba 1 gen pre transpozazu = pre vlastnu transpoziciu, ktory je ohraniceny opakujucimi sa sekvenciami nukleotidov
2. **Transpozony** = okrem genu pre transpozicu obsahuju aj ine strukturne geny, ktore koduju nejake vlastnosti, najcastejsie rezistenciu proti ATB alebo tazkym kovom
3. **Fag Mu** = ma podobne vlastnosti ako Fn/Tn ale obsahuje aj geny pre replikaciu = je schopny tvorit viruove castice
4. **Retrotranspozony** = sekvencie DNA pritomne v genome , posuvaju sa z miesta na miesto , hlavna cast genomu EU org.
5. **Obsahujuce LTR** – su tvorene centralnou oblastou = kodujuca oblast, ktora je ohranicena dlhymi koncovymi repeticiami LTR . kodujuca oblast elementov podobnym retrovirusov obsahuje maly pocet genov = zvacsa 2 gag a pol = gag koduje strukturny protein vyrusovej castice a pol koduje protein s funkciou reverznej transkriptazy a integrazy.
6. **Bez LINE – RETROTRANSPOZONY** - prepisuju sa prostrednictvom RNA do DNA pomocou revrznej transkriptazy ktoru koduju. Vyskytuju sa napr. u drosophily na kococh CH , kde plnia dolezitu funkciu pri doplnovani DNA, ktore sa stracaju pri neuplnej replikacii DNA. K vyrovnaniu tychto strat ma drosophila vyvinuty mechanizmus, pri ktorom posobia 2 retrotranspozony HcAT-A a TART, ktore sa prednostne premiestnuju do koncovych casti cim ich predlzuju

-patria knim LINE aj SINE elementy

**LINE**-dlhe rozptylene jadrove elementy obsahujuce vo svojich sekvenciach aj geny ORF 1a 2, L1,2,3

**SINE**-alu elementy ktore v ludskej DNA predstavuju 11% genomu. Nekoduju ziadne geny; Alu element

* **PLAZMIDOVÁ DNA**

Plazmidy sú molekuly **mimochromozómovej DNA**  nachádzajúce sa v cytoplazme mnohých druhov baktérií a kvasiniek. Sú to dvojšpirálové kružnicové molekuly DNA, ktoré majú po obvode dĺžku niekoľko mikrometrov až desiatok mikrometrov a pozostávajú z niekoľko tisíc až 200 tisíc bp. Počet a poloha molekúl plazmidov v baktériovej bunke je koordinovaná s rýchlosťou rastu a životným cyklom bunky. V normálnych podmienkach sa v bunkách spravidla nachádza malý počet určitých druhov plazmidov (1 – 2 kópie). V prítomnosti niektorých škodlivín sa počet kópií zvyšuje replikáciou.

Plazmidová DNA je pripojená na špecifické miesta plazmalémy určitým úsekom, ktorý má úlohu pri segregácii plazmidov a označuje sa ako lokus **Inc**. Plazmidy patriace k odlišným skupinám sú pripojené na odlišné miesta a sú segregované v rôznom čase baktériového bunkového cyklu. V bunkách *E. coli* sú kópie replikovaných plazmidov (napr. plazmidu R1) separované a premiestňované k opačným pólom bunky rozdeľovacím (partitioning, par) systémom. Súčasťou **systému par** je proteín *ParM*, ktorý sa prostredníctvom ďalších bielkovín viaže na centromérovú oblasť plazmidovej DNA. Proteín *ParM* tvorí filamenty podobné aktínu. Proces segregácie plazmidov R1 v *E. coli* závisí od ATP a pripomína pohyb, sprostredkovaný aktínom v eukaryotických bunkách.

- Funkcie, ktoré kódujú, nie sú celkom životne nepostrádateľné, ale v zvláštnych podmienkach prostredia môžu svojho nositeľa zvýhodňovať alebo zachrániť pred zahynutím

- Plazmidy sú prídavné genetické elementy uloţené v cytoplazme. Nesú genetickú informáciu, ktorá nie je celkom nevyhnutná (všetky životne dôležité gény sú v chromozómoch), ale ktorá je pre bunku za určitých okolností výhodná. Tieto genómy obsahujú informácie nutné pre svoje vlastné funkcie, môţu však niesť aj gény, ktoré sa prejavia zmenou fenotypu hostiteľskej baktérie (rezistencia na antibiotiká).

- Plazmidov je viac typov, každý typ obsahuje štruktúrne gény pre iné proteíny. Môžu existovať v dvoch stavoch:

1. v **autonómnom** stave, keď sa štruktúra replikuje samostatne a nezávisle na replikácii chromozómov

2. v **integrovanom** stave, keď sú pripojené k chromozómom – epizómy

Plazmidy môžu ovplyvniť tieto fyziologické vlastnosti:

1. Rezistencia na antibiotiká a chemoterapeutiká.

2. Rezistencia na ťažké kovy.

3. Produkcia antibiotík – priemyselné využitie (Streptomycéty).

4. Degradácia a oxidácia inak biologicky inertných organických látok ako sú uhľovodíky (ropa)

* **Génové manipulácie**

Vedný odbor zaoberajúci sa umelými rekombináciami prirodzených a syntetických NK in vitro sa ozn. – **génové inžinierstvo.** Cieľom umelých rekombinácií je vytvorenie nových biologických systémov. Časť týchto postupov sa zaraďujú do modeérneho priemyslového odvetia – **biotechnológia.**

V súčasnosti poznáme okolo 100 reštriktáz izolovaných z rôznych druhov baktérií. Každá reštriktáza má špecifickú cieľovú sekvenciu, v ktorej štiepi DNA na reštrikčné fragmenty.

Fragmenty sú identifikované pomcou tzv.génových sond – krátky úsek prirodzenej/syntetickej DNA/RNA so známou sekvenciou nukleotidov. Sonda je ozn.nejakým rádionuklidom/fluoreskujúcou látkou. Identifikácia sa uskutošňuje blottingovou technikou, pri ktorej sa elektroforeticky rozdelené fragmenty DNA prenesú pomocou fólie na nitrocelulózový filter kde sú imobilizované. Potom sú fragmenty denaturované a preliate roztokom obsahujúcim génovú sondu.

Reťazec DNA s požadovanou sekvenciou možno syntetizovať viacerými spôsobmi. Princíp chemickej syntézy DNA spočíva v chránení reakcie schopných skupín okrem 5´-OH rastúceho oligonukleotidu. Potom sa odstráni ochranná skupina na 5-OH skupine a proces pokračuje postupným pripájaním ďalších nukleotidov. CHSDNA je veľmi zložitá, trvá dlhšie než biosyntéza.

Pre ďalšie analýzy je možné prírodné/syntetické gény zmnožiť (amplifikovať). V podmienkach in vitro sa používa polymerázová reťazová reakcia pri ktorej je požadovaný úsek DNA amplifikovaný DNA polymerázou. DNA ktorá má byť amplifikovaná v hostiteľskej bunke musí byť do nej prenesená prostredníctvom nosiča – vektora (t.j. plazmidová, vírusová DNA schopná vniknúť do hostit.bunky). vektor ktorý nesie exogénny gén predstavuje **rekombinovanú DNA.**

Exogénnu DNA prijíma iba časť buniek.

Selekcia buniek s novým génom sa robí na základe využitia niektorej vlastnosti kódovanej vektorom. Napr. v plazmidových vektorch sa využíva inzerčná inaktivácia.

V živočíšnych organizmoch je cieľom génových manipulácií liečba genetických ochorení. Princíp spočíva v nesení intaktého génu do defektných buniek. Pri somatickej génovej terapii sa odobraté defektné bunky kultivujú in vitro a po vnesení génu sa rozmnožia a spätne implantujú pacientovi. Vnesený gén v bunke slúži ako „génová protéza“ pretože jeho produkt nahrádza produkt pôvodného defektného génu (inzulín pri diabete).

Pri germinálnej génovej terapii sa klonovaný gén zavedie do genómu pohlavných buniek/embryo.b. zvierat a rastlín a trvalo zostáva inkorporovaný a prenášaný do nasledujúcej generácie. Takýto gén – **transgén – transgénové organizmy.**

**29. Molekulárne mechanizmy signalizácie. Membránové receptory. Druhy signálov, signálne molekuly, intra- a extracelulárna signalizácia, amplifikácia signálu. Proteínkinázy a ďalšie enzýmy v signálnych dráhach. Cytokíny. Prenos signálov.**

***Molekulovy mechanizmus signalizacie***

- expresia urcitych genov v jednotlivych typov buniek je kontrolovana prostrednictvom

mimobunkovych signalov- hormony, rast. faktory, interakcia b-b

- signalna molekula- molekula sprostredkuvajuca pravu informaciu- signal

- mozu to byt male molekuly alebo makromolekuly

- delenie signalnych molekul:

1. **extracelularne**- bunky ich len prijimaju z extrac. prostredia

- reaguju prostrednictvom ligandu, napr. transmitery, hormony

2**. intracelularne**- sama bunka ich produkuje

- prinasa informaciu smerujuce do jadra, kde sa potom ako odpoved

aktivuje transkripcia

- napr. cAMP, G1 protein

- **intracelularna signalizacia**

- exc. molekuly prechadzaju cytoplaz. membranou do bunky, tam reaguju s receptormi

napr. steroidy, oxid dusny

- **inc. receptory**- maju hydrofilnu povahu, su vo vnutri bunky, nepripevnene na membranu,

mozu interagovat s urcitymi molekulami v bunke

- interakcia receptor+signal- zmena konformacie- indukcia enzymatickej aktivity bunky-

aktivacia transk. faktorov- zvysi sa ich hladina a po nasadnuti na promotor zabezpeci napr.

expresiu nejakeho genu

- skupina takychto prechodov spustenych inc. molekulami+receptor a prenesenie na

cielovu inc. molekulu- signalna draha- intracelularna signalizacia

- **extracelularna signalizacia**

-proces prenosu signalu z bunky, ktora je zdrojom signalu na receptor inej bunky, ktora taky

signal prijima- cielova bunka

- 3 zakl. typy extracelularnych signalizacii

**A, endokrinna**- napr. hormon, viaze sa cez ligand

- relativne pomaly- zavisly na difuzii a toku krvi

**B, signalizacia** dutym spojom- pri tesnom kontakte sa tvori tubularna struktura medzi

zdrojom a cielovou bunkou

- tak prechadzaju signalne molekuly Ca, cAMP

**C, autokrinna**- ta ista bunka je zdroj aj prijemca signalu

- exc. signalne molekuly- oznacuju sa ako I poslovia signalu a casto vedie k produkcii dalsich

malych signalnych molekul- II poslovia- oni pomahaju zosilnit povodny signal, ktory sam

o sebe nemusi stacit na aktivaciu procesu- amplifikacia signalu

- **Proteinkinazy**

- enzymi uplatnujuce sa v signalizacii

- prenos samotneho signalu spociva v tom, ze jedna zlozka sa aktivuje – casto fosforylaciou

druhej zlozky a kaskadovito sa presuva signal az k najvzdialenejsej molekule- prijemca-

najcastejsie je to transk. faktor

- fosforylacne deje prebiehaju najcastejsie po katalyze proteinkinazami- katalyzuju jedno

alebo viacero OH/fenolovych skupin v bunke pricom vyuzivaju E z ATP a proton ako donor

- delenie podla toho aka AK skupina je fosforylovana:

**1, Se- Tre kinazy**

- fosforyluju zbytky Se a Tre v cielovom substrate

- patri tu: **a, cAMP dependentna proteinkinaza**

- jej aktivita je regulovana c AMP

- existuju 2 typy kinaz- tetramery- ma 2 katalyticke a 2 regul. podjedn.

- celkovo je inaktivna lebo je blokovana

regulacna podjednotka

- aktivacia cAMP sposobi oddelenie kataly.

a regul. podjednotiek a tak fosforyluju

jednotlive molekuly

- membranove- podobne ako tetramery ale

regul. podjednotka sprostredkuva spojenie

s membranou

**b, cGMP dependentne proteinkinazy**

- zavisia na c GMP

- najcastejsie v hladkych svaloch, srdci a mozgu

**c, proteinkinazy C ( PKC )**

- existuje v 11 izoformach, ktore mozu fosforylovat rozne substraty

- najcastiejsie 3 zakladne typy- alfa, beta, gama, ktore su viazane na

plazmalemu a su akivovane diacylglycerolom/fosfatidil serinom/ Ca

**d, Ca2+ kalmodulin dependentne proteinkinazy ( PK )**

- moze fosforylovat specificke molekuly

- glykogen syntaza kostroveho svalu

ionove kanaly

transk. faktory

**2,** **Tyr proteinkinazy**

- rozsiahla skupina- **A**, receptorove-sucast receptorov viazanych na membrane

**a,** **SRC rodina**- obsahuju domenu SH2, SH3 a kinazovu domenu

SH1

- miristilaciou su ukotvene v cytopl. membrane- enzym.

zavedenie miristilu pomocou sCoA- sukcynil koenzymu A

- src protein 60 je kodovany genom c src

- SH2 ma vazbove miesto pre speci. sekvenciu kde sa

viaze fosfory. tyrozin

- v pripade ze sa tyrozin 527 domena fosforyluje, naviaze

sa na SH2 domenu, cim sa zablokuje aktivne miesto

kinazy- inaktivacia

- aktivita sa obnovi tak, ze sa SH2 domena viaze s inym

proteinom a ich aktivita je regulovana rastovym

faktorom, potom sa aktivne miesto receptora odblokuje

v zavisloti od koncentracie proteinu, ktory sa tam moze

naviazat- napr. GRB2 protein

- take proteiny sa mozu viazat s dalsou domenou napr.

SH3 sa moze viazat na dalsi protein- su to tkz.

adaptorove molekuly

**b**, **jak- janusova rodina**

- jak 1,2,3 a tyk 2- neobsahuju SH2 a SH3- obsahuju

domenu podobnu SH1- su priamo aktivovane receptormi

pre interferon- erytropoetin, ine cytokiny- aktivacia

sposobi presun- presuva sa na receptor, ktory fosforyluje-

sposobi fosforylaciu receptora- k nemu sa pripoji protein

typu STAT (3/5), ktory sa fosforyluje na spominanon

receptore- ich fosforylaciou sa presuvaju do jadra

a aktivuju transkripciu

**B,** nereceptorove- nenaviazane na membrane

- nemaju transmembranove sucasti

- vsetky maju sekvencne homologicke useky a dlzke 300

AK, ktore podporuju vlastnu aktivitu kinaz- kinazove

domena SH1

**- proteinkinazy aktivovane mitogenmi**

- MAP alebo ERK proteinkinazy- regulovane extracelul. signalom

- **mitogen**- rastovy faktor stimulujuci bunky k deleniu

- fosforylacia na serine a treonine / treonine a tyrozine

**1, MAPKKK- Ras protein**

**2, MAPKK- Mek protein**

**3, MAPK- Erk ½**

- kinazy umiestnene pod sebou

- aktivacia Ras proteinom ( GTP ) na ser. a treo. zvyskoch- katalyzuje fosforylaciu treoninu

a tyrozinu a same su aktivovane- mitogenom aktivovana kinaza- aktivovana MAPKK a po jej

fosforylacii sa presuva k trans. faktorom

- adenylatcyklaza katalizuje uvolnenie di P+ z ATP- vznika cAMP

- guanylatcyklaza- katalizuje uvolnenie di P+ z ATP- cGMP

- cAMP fosfodiesteraza- hydrolyza cAMP, cGMP

- fosfolipaza C- 1-fosfatidil inozitol 4,5 bisfosfat fosfodiesteraza

- ucinkom enzymu dochadza k hydrolyze fosfatidil inozitol 4,5 bisfosfatu na inozitol

1,4,5 trifosfat a uvolnuje sa diacylglycerol- siria info smerom k jadru

- fosfatidil inozitol- 3 kinaza – PI3K

- katalyzuje tri typy reakcii- vznikaju II poslovia

- **Hormony**

1. odvodene od AK- adrenalin, noradrenali
2. typu peptidov- inzulin, glukagon, parathormon
3. pohlavne- steroidne, glukokortikoidy
4. tkanivove- gastrin, sekretin, serotonin, prostaglandin
5. vit. D, kys. retinova

- 1 a 2 su extracelul. signaly

- **Cytokiny**

- bielkoviny produkovane bunkami, extracel. signaly

- zahajuje sa nimi proces proliferacie, diferenciacie

- skupiny- interleukiny, interferony, nadorove nekroticke faktory ( TNF- tumor necrotic factor )

- rastove faktory- stimuluju bunky k deleniu

- **PDGF**- plateled drived grow factor- stimuluje epitelove a endotel. bunky

- **EGF**

- **IGF1/2**- podobne inzulinu

- stimuluju proliferaciu vacsiny buniek

- **GM-CSF**- stimuluje vytvaranie kolonii granulocytov a makrofagov

- **HGF**- rastovy faktor hepatocytov

- **Vazba rast. faktora na receptor**

- cielom je signalna draha smerom k jadru

- realizacia cesty prenosu signalu je expresia rannej skorej fazy, ktora je kodovana

transkripcnymi faktormi

- neskor expresia neskorsej fazy, ktore koduju bielkoviny skeletu

- po 20 min zacina prebiehat synteza DNA

- **Membranove receptory**

- ak ma bunka odpovedat na signal musi mat schopnost rozpoznat signalne molekuly,

uskutocnuje sa to pomocou memb. receptorov

- memb. receptory- Bielkoviny umiestnene v cytoply. membrane na ktore sa moze naviazat

signalne molekuly a tym ho aktivuju- v zmysle odoslania signalu do vnutra bunky

1. – receptory spojene s ion. kanalmi
2. – receptory spojene s G proteinom
3. - tyrozinproteinkinazove receptory RTK
4. – receptor s pridruzenou tyrozin proteinkina. aktivitou

- stimulacia/inhibiacia- po zamene GDP za GTP

- aktivacia- po prijati signalu sa aktivuje produkcia G proteinu na alfa podjednotke, ktora

reguluje aktivitu specifickeho enzymu- adenylatcyklaza

- aktivna vymena GDP-GTP- dochadza k uvolneniu alfa podjednotky, ktora sa

presuva na adenylatcyklazu- aktivuje ju a tak dochadza k hydrolyze GTP-GDP a to

je zaroven signal pre alfa podjednotku aby sa vratila spat- obnova inak. G proteinu

- mechanizmus regulacie transkripcie zmenou cAMP bol zisteny pri studiu cAMP

responzivnych neuropeptidovych genov- geny pre somatostatin- tieto geny

obsahuju responzivny element- maly palindrom **CRE**- zmeny hladiny cAMP sa

prenasaju na CRE prostrednictvom specialneho DNA viazuceho proteinu CREB

- **CREB** a jemu podobne transducery- prenasace su aktivovane

fosforylaciou, ktoru katalyzuje cAMP dependentna proteinkinaza-

Proteinkinaza C

- fosforylovana oblast CREB interaguje s DNA a dalsimi proteinmi v mieste

CRE a ty indukuje transkripciu cieloveho genu

**Receptory spojene s ion. kanalmi**

- oligomer bielkovin zlozene z viacerych monomerov

- tvoria ionovy kanal regulovany ligandom indukujucim otvorenie, alebo zatvorenie kanalu cim

sa zabrani alebo umozni prechod malych molekul dnu alebo von

- vyskyt v neuronoch- otvorenie kanalu na zmeny el. potencialu

- reakcia na druhy prenasac- seku. Messenger cAMP, inozitol 1,4-3,5 fosfat

**Receptory spojene s G proteinom**

- vazba ligandu na taky receptor vedie k aktivacii G proteinu, ktory prenasa info po aktivacii na

dalsiu zlozku signalnej drahy, aktivuje sa vazba GTP molekuly a moze sa prenasat signal

z receptoru na iny protein- v cytopla. membrane

- ligand- serotonin, epinefrin, glukagon, vazopresin

- nie steroidne hormony

- prenos signalu sa uskutocnuje prostrednictom sekundarnych poslov napr. Ca2+, cAMP alebo

pripojenim na ionove kanaly alebo MAP kinazovu drahu

- G protein sa aktivuje napr. enzymom Adenylatcyklaza, ktora katalyzuje 2 messenger cAMP

- take receptory po naviazani ligandu mozu mat- stimulacny ucinok

- inhibicny ucinok

- typy G proteinov sa lisia Alfa podjednotkou

- delenie podla mnozstva podjednotiek- trimerne alebo monomerne G proteiny

- ma 3 podjednotky alfa, beta, gama

- aktivacia- cyklicky sa viaze s GTP inaktivneho stavu do stavu aktivneho ked sa na polypeptid

viaze GTP

- signal k tejto vymene dava GRB 2 protein- ma specificku SH2 domenu, ktora sa

viaze na fosforylovany tyrozin

- SH3 domena sa viaze na SOS protein, ktory posobi ako faktor vymienajuci guanozin

fosfat

- GAP- protein aktivovany GTP azou, ktory sa vracia do inakticnej formy odstiepenim

protonu

**Tyrozin proteinkinazove receptory**

- vyznacuju sa enzymatickou aktivitou tyrozin proteinkinazy ktora je regulovana ligandami

takych receptorov

- kazdy receptor obsahuje 3 domeny

**A,** extracelularna- znacne glykolyzovana, naviaze sa na nu EGF rastovy faktor

**B,** transmembranova-kratka hydrofobna

**C,** intracelularna- s proteinkinazovou aktivitou

- aktivacia- rastovy faktor sa viaze do extracel. domeny receptora- vazba ligandu sposobi zmenu

konformacie, ktora sa prejavi dimerizaciou- podstata samotnej aktivacie

- TPK kazdeho monomeru je fosforylovany tyrozinom svojho monomerneho partnera-

autofosforylacia

- samotne zbytky tyrozinu posobia ako vazbove miesta pre intracel. proteiny s SH2

domenou a mozu sa viazat na fosforylo. tyrozin a tak otvaraju cestu dalej- napr.

aktivacia GRB2

**Receptory s pridruzenou proteinkinazovou aktivitou**

- nemaju intracelul. kinazovu aktivitu

- maju len extracel. a transmem. domenu

- po vazbe ligandu sa taktiez dimerizuje a aktivuje nereceptor. protein kinazy- receptory pre

niektore antigeny/cytokininy

- jac a src aktivuju prave tieto receptory

- po aktivacii sa presuvaju na receptory pre antigen, kde sposobuju jeho fosforylaciu, na ktore sa

potom viaze cielova bielkovina

- **STAT (3/5) protein**- moze sa takto aktivovat- ma SH2 domenu pomocou ktorej sa fosforyluje

na tomto type receptora

- po aktivacii prenasaju signal do jadra kde sa aktivuje transkripcia

**Intracelularne receptory extracelularnej signalizacie**

- tyka sa steroidnych hormonov, vit. D

- delenie: **A,** receptory viazane na chromatin v jadre- naprv. receptory pre vit D

**B,** receptory cytoplazmy- napr. steroidne hormony

- kazdy hormonalny receptor ma niekolko funkcnych domen

**1,** domena pre dimerizaciu

**2,** DNA vazbovu domenu- domena bohata na bazove AK

- viaze receptor k responzibilnemu elementu

**3,** aktivnacnu domenu- aktivuje transkripciu cielovych genov, tym ze reaguje s TFIID

- receptory maju 2 Zn prsty, kazdy ma antiparalelne usporiadanie Beta-helixu

- Zn je naviazany na 4 zbytky Cys

- receptor po aktivacii hormonom sa moze viazat AK jedneho Zn prstu na respon. element, ktory

je sucastou zosilnovaca transkripcie- GRE- glukokortikoidny responzivny element

- na druhom Zn prste je miesto, ktore rozpoznava druha molekula receptora s ktorou dimerizuje

- receptor sluzi na dimerizaciu receptora

**Prenos extracelularneho signalu**

- receptor je povodne neaktivny, lebo sa na neho viazu proteiny Hsp 90/70/56- Bielkoviny

indukovaneho teplotneho soku- zodpovednost za inhibicne aktivity

- receptor sa menia z po konformacnej zmene vplyvom hormonu

- az ked sa uvolnia H proteiny konformacne zmenene molekuly mozu dimerizovat- receptor

sa aktivuje intenzivnou fosforylaciou za pritomnosi proteinkinazy- indukcia transkripcie

**3 zakladne procesy prenosu membranovych receptorov**

- **A, signalizacia pomocou cAMP a cGMP**- signalizacia cez tieto sekundarne messengre zacina

od receptora, ktory sa vyznacuje guanylatcyklazou v pripade cGMP a adenylatcyklazou v

pripade cAMP

- sekundarnymi messengrami sa aktivuju dalsie oblast- napr. cAMP aktivuje PKA a cGMP

aktivuje PKG

- proteinkinazou A su potom aktivovane dalsie proteiny, receptory steroidov, transk. faktory

a ine cielove molekuly

- proteinkinaza G stimuluje Ca2+ pri uvolneni svalov a rozsireni ciev

- PKA a PKG si inaktivovane fosfatazou- hydrolitckym stiepenim

- **B, signalizacia kaskadou**, ktora vychadza z Ras proteinu MAP kinaz

- za predpokladu ze sa uskutocnila aktivacia receptora, vznikli fosforylovane zvysky a je

pritomna SH2 domena moze dojst k aktivacii GRB2

- **C, signalizacia prostrednictvom inozitol 1-4-5 trifosfatu a triacylglycerolu**

- su to sekundare prenasace vznikajuce enzymatickym posobenim fosfolipaz C

- inozitol 1-4-5 trifosfat- aktivuje ionove kanaly ER, dochadza k uvolneniu Ca2+ ionov a

tie sa viazu na kalmodulin- Ca2+ kalmodulin dependentna proteinkinaza

- triacylglycerol- aktivuje rozne izoformy proteinkinazy napr. PKC

- existuju interakcie medzi drahami, mozu sa krizit alebo prebiehat paralelne

**30. Rast, starnutie a smrť živých systémov.**

**Kontrola bunkového cyklu, úloha proteínov pRb, p53, p21.**

**Úloha telomér v programovaní počtu delení.**

**Apoptóza.**

* **Úloha proteínov**

**pRB –** kľúčová úloha v regulácií bunkového cyklu. Produkt génu RB je nevyhnutný pre život. Boli objaené 2 gény homológne s RB – p107 a p130. Na začiatku G1 fázy viaže pRB proteíny E2F. Kým sú transkripčné faktory E2F naviazané na pRB nemôžu sa viazať na špecifické sekvencie zosilovačov. Radia expresiu génov, ktorých produkty sú nutné pre postup bunkovým cyklom – neprebieha. Potom je pRB fosforylovaný cyklin dependetnými kinázami – uvoľňuje transkripčné faktory E2F – tie aktivujú svoje cieľové gény – postup bunky do S fázy. Po mitóze je pRB defosforylovaný. U nádorov je tento cyklus narušený – pRb je inaktivovaný – neschopný viazať E2F – cyklus sa nezastavuje.

**p53** – nádorový supresorový proteín – kódovaný nádorovým supresorovým génom TP53. Vrodené mutácie TP53 sú spojené s Li-Fraumeniho syndromom, somatická mutácia inaktivuje obe kópie génu TP53 – strata funkcie p53 – kľúčový krok karcinogenézy.

Je zložený z 3 domén:

N-koncové traskripčné aktivačné domény TAD

Centrálne DNA – viažúce domény DBD

C-koncové homooligomerizačné domény OD

Väčšina mutácií je v DBD – poškodzujú/odstraňujú schopnosť p53 viazať špecifické sekvencie DNA. Mutácie v DBD sú tak typické recesívne mutácie spôsobujúce stratu funkcie.

Mutácie v OD – p53 tvoria tetramery so št polypeptidami p53 a zabraňujú tak št polpeptidom fungovať ako transkripčný aktivátor. Preto môžu mať dominantne negatívny dopad na funkciu p53.

Proteín p53 má hlavnú úlohu v bunkovej odpovedi na stres. V normálnych bunkách je hladina p53 nízka, zatiaľ čo v poškodených je vysoká.

**p21 -** kľúčový faktor zastavenia cyklu. Gén je aktivovaný TFp53. Inhibítor komplexu cyklín/CDK – zastavenie cyklu.

* **Úloha telomér v programovaní počtu delení**

Na rozdiel od zárodočných buniek nemá väčšina ľudských somatických buniek telomerázovú aktivitu – prejdu obmedzeným počtom delení (20-70 generácií) ako zostárnu a odumrú. Existuje korelácia medzi dĺžkou telomér a počtom delení. Platí, že bunky a dlhšími telomerami preživajú dlhšie a prechádzajú väčším počtom delení ako bunky s kratšími telomerami. Somatické bunky – ktoré získajú schopnosť neobmedzenej proliferácie v kultúre – „nesmrteľné bunky“ – vkazujú telomerázovú aktivitu. Pre boj s rakovinou by bolo treba v nádorových bunkách inhibovať telomerázovú aktivitu.

Ďalľí dôkaz vzťahu medzi dĺžkou telomér a stárnutím človeka vznikol zo štúdia jedincov s poruchou – progeria – dedičná choroba charakterizovaná predčasným stanutím. Najťažšie forma – Hutchinson Gilfordov syndróm začína starnutie v podobe tvorby vrások, plešatosti hneď po narodení a človek zomiera pred dovŕšením 20 roku.

Je dokázané, že dĺžka telomér a starnutie buniek plne korelujú. Neexistuje priamy dôkaz že skrátenie telomér spôsobuje starnutie. Skracovanie telomér však prispieva k procesu starnutie u človeka.

* **Programovaná smrť buniek - APOPTÓZA**

Bunky majú obmedzenú dĺžku života a zväčša aj obmedzený počet delení. Starnutie a smrť je regulovaný proces.

Geneticky riadená je aj tzv.programovaná smrť buniek. Nastáva formou apoptózy – ktorá sa od nekrózy (ktorou hynú akútne alebo závažne poškodené bunky) odlišuje viacerými znamkmi.

Na začiatku apoptózy: rozpad jednotlivých zložiek bunkového jadra. Pre A je charakteristická najmä kondenzácia chromatínu a rozpad chromatínových vlákien. Následne rozpad jadra a bunky na apoptické telieska – tie sú fagocytované (preto A nieje sprevadzána zápalom).

PSB regulujú zložité mechanizmy – kľúčová úloha proteín p53. Môže indukovať A vo všetkých typoch živočíšnych buniek (napr.lymfocyty, týmocyty, splenocyty). Indukciu A prostredníctvom tohto protínu vyvoláva poškodenie molekuly DNA.

Gén kódujúci tento proteín patrí medzi tumor-supresorové gény, pretože ovplyvňuje vznik nádorov. Pri poškodení molekuly DNA dochádza k akumulácií proteínu p53 čo vedie k zastaveniu postupu bunkovým cyklom alebo k apoptóze.

Na dráhe vedúcej k apoptóze sa okrem proteínu p53 zúčastňujú aj produkty ďalších génov. Hlavne produkt onkogénnu bcl 2 , ktorý A blokuje, a produkt génu bax – reguluje aktivitu proteínu bcl 2 a v podobe homodiméru podporuje procesy vedúce k bunkovej apoptóze.

D§ležitými súčaťami kontrolných dráh vedúcich od p53 k zastaveniu postupu bunkovým cyklom, sú produkty génov kódujúcich inhibítory cyklín-dependentných kináz – hlavne produkt génu p21.

V dôsledku mutácie génu p53 nie je funkčná táto kontrolná dráha, preto bunka pokračuje v delení aj s poškodenou DNA čo môže viesť k rôznym poruchám.

* **Neoplatická transformácia buniek**

Nežiadúce staré/poškodené bunk, odstránené apoptózou, sú vo väčšine tkanív pravidelne nahrádzané novými bunkami. Niekedy však vznikajú bunky – vymykajúce sa normálnym regulačným mechanizmom. Bunky s porušeným mechanizmom regulácie delenia a diferenciácie sú nádorovo transformované bunky – rakovinové bunky. Nádory, ktorých bunky sú schopné vniknúť do iných tkanív a v nich sa množiť sú zhubné – malígne nádory. Nádory, ktoré sa nerozširujú metastázami – nezhubné (benigné).

Premena somatickej bunky na nádorové – zložitý proces, založený predovšetkým na zmene genetickej informácie. Zmeny vznikajúce z rôznych príčin na DNA sú väčšinou reparované. Ak nedôjde k oprave vtedy poškodenie DNA zostáva fixované v podobe somatických mutácií v ďalších deleniach bunky – vzniká populácia (klon) transformovaných buniek.

V neoplasticky transformovaných bunkách nastávajú ďalšie vrátane zmien expresie génov, ktoré vedú k zmenám niektorých biologických vlastností bunky. Napr. expresia génov angiogénnych faktorov, zmenená schéma epresie rastových hormónov.

Zo strany hostiteľa je dôležitá imunitná odpoveď, vyváženosť hormonálneho systému ako aj pôsobenie ďalších mechanizmov regulujúcich rast a diferenciáciu buniek.

Pri nádroovej transformácií bunky hrajú dôležitú úlohu 2 veľké skupiny génov – protoonkogény a tumor supresorové gény.

Protoonkogény môžu byť aktivované na onkogénny táto zmena je následkom mutácie – ktorá spôsobí zvýšenú expresiu génu alebo tvorbu hyperaktívneho bielkovinového produktu. Genóm niektorých nádorových buniek obsahuje mnohonásobné kópie (proto)onkogénov a ich produktov. Premena protonkogénu na onkogén je jedným z hlavných mechanizmov pôsobenia chemických karcenogénov a UV alebo ionizujúceho žiarenia a môže byť spôsobená aj retrovírusmi.

Antionkogény (gény kódujúce nádorové supresory, tumor-supresívne gény) kódujú skupinu bielkovín, ktoré brzdia proliferáciu buniek s poškodenou DNA a tým potláčajú tvorbu nádorov. Bolo zistených niekoľko antionkogénov, najlepšie preskúmané gény p53 a RB.

Neoplastická transformácia je viacstupňový proces – vyžadujúci si viaceré genetické zmeny.