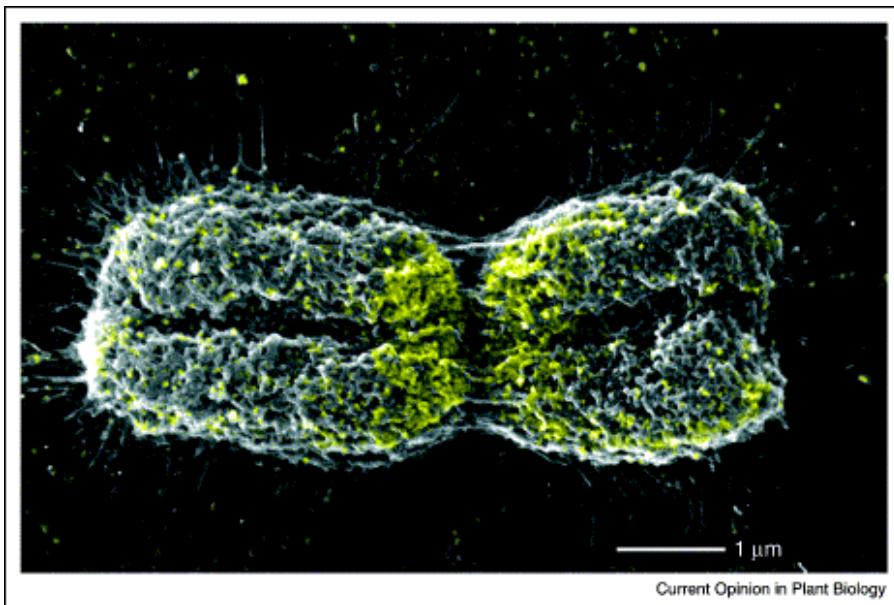


Chromozómy a reprodukcia buniek



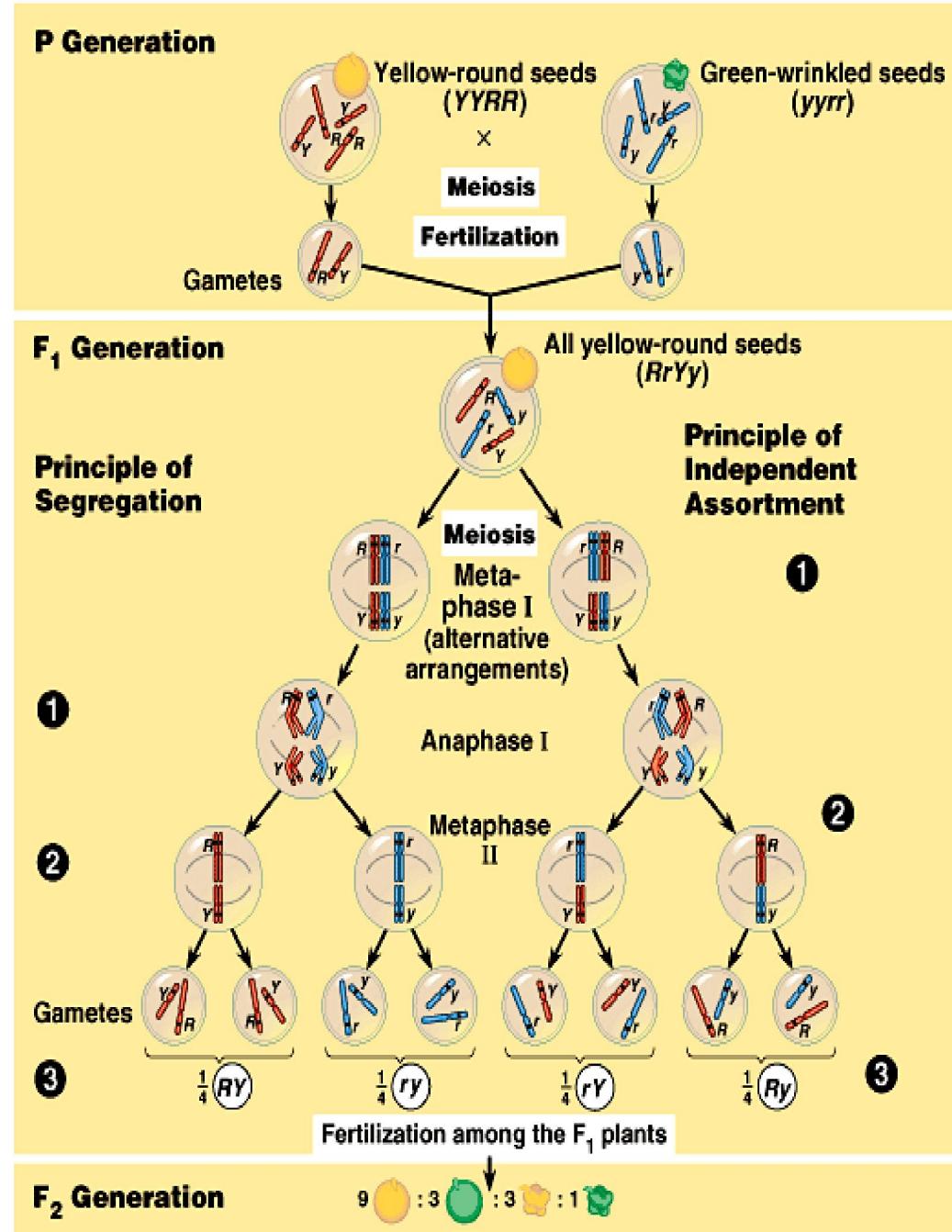
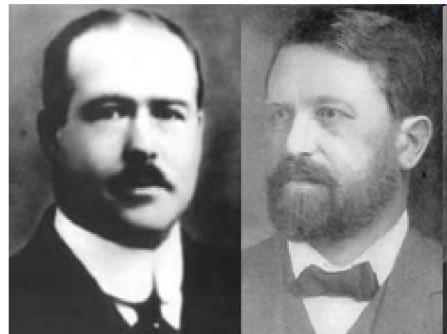
High resolution scanning immunogold electron micrograph.

- Bunky a chromozómy
- Mitóza
- Meióza

História

- ▶ 1869 Friedrich Miescher - DNA v jadre
- ▶ 1870 - chromozómy: vláknité útvary v bunkovom jadre, ktoré sa delia a putujú do dcérskych buniek počas delenia bunky (z gréckych slov χρωμα (*chroma*, farba) a σωμα (*soma*, útvar))
- ▶ začiatok 20. storočia - znovaobjavenie Mendlových zákonov (Karl Correns, Erich von Tschermak a Hugo de Vries)
- ▶

- ▶ 1902 - Walter Sutton a Theodor Boveri - chromozómová teória



Chromozómová teória dedičnosti

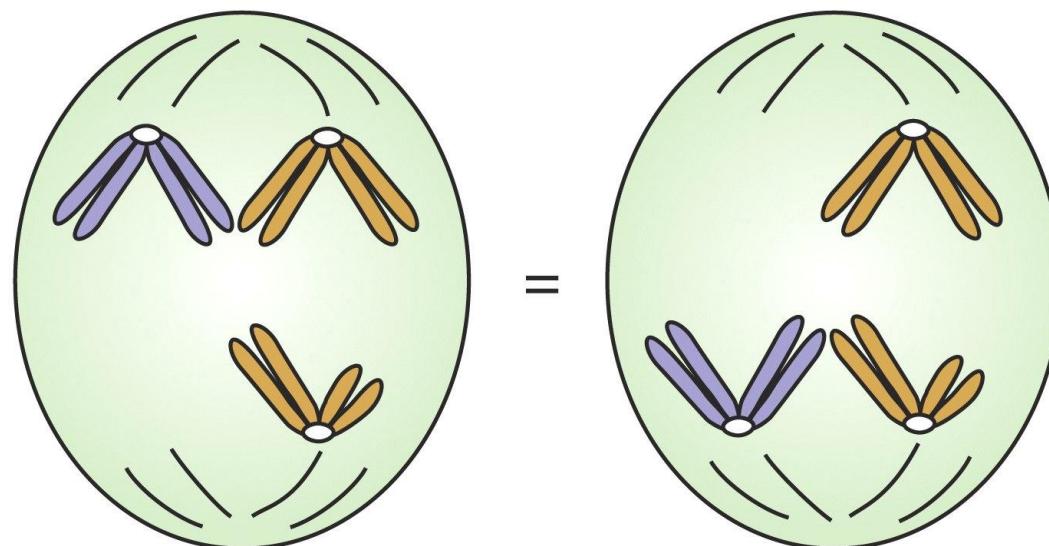
- ▶ Mendlove „dedičné faktory“ sú gény ležiace na chromozónoch
- ▶ Chromozómová teória dedičnosti koreluje segregáciu Mendlových dedičných faktorov so správaním chromozómov
- ▶ Sutton a Boveri zistili, že správanie Mendlových dedičných faktorov počas tvorby gamét je rovnaké ako správanie chromozómov v meióze

Chromozómová teória dedičnosti

- Chromozómy sú v diploidnej bunke prítomné v pároch
- Homologické chromozómy sa počas meiózy rozdeľujú a alely segregujú
- Oplodnenie obnovuje pôvodný stav chromozómov (chromozómy opäť v pároch)

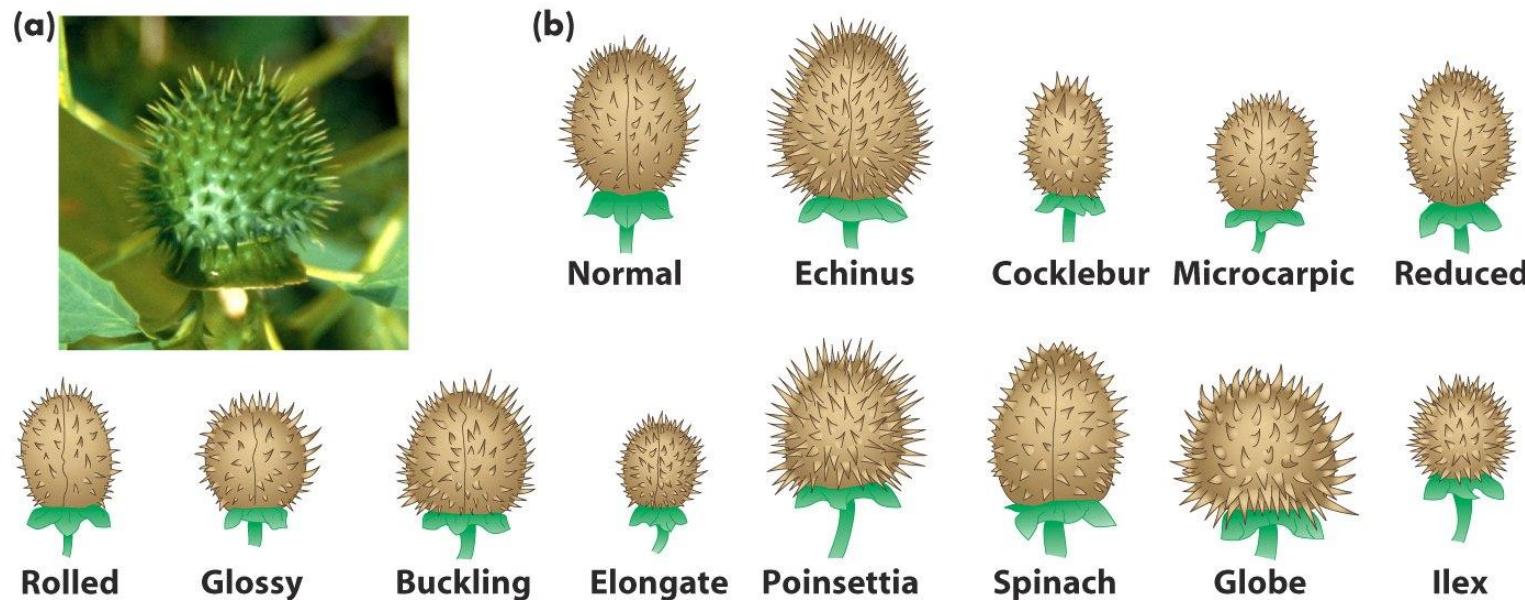
Chromozómová teória dedičnosti - cytologický dôkaz

- ▶ Evelyn Carothers využila kobyľku *Brachystola*, ktorá vo svojom genóme obsahuje heteromorfný autozomálny pár chromozómov
- ▶ Nezávislá segregácia na X chromozóme



Chromozómová teória dedičnosti - cytologický dôkaz

- ▶ Datura (durman obyčajný) - 12 chr. párov
- ▶ Blakeslee vytvoril 12 rôznych kmeňov, každý z nich mal jeden z chromozómov navyše (napr.: 3 chr 1 + po 2 z ostatných chromozómov)



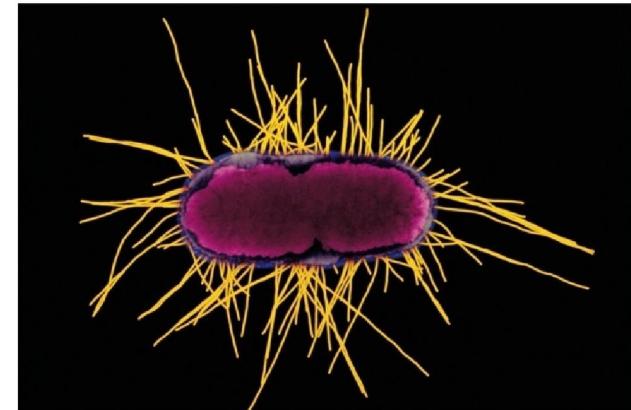
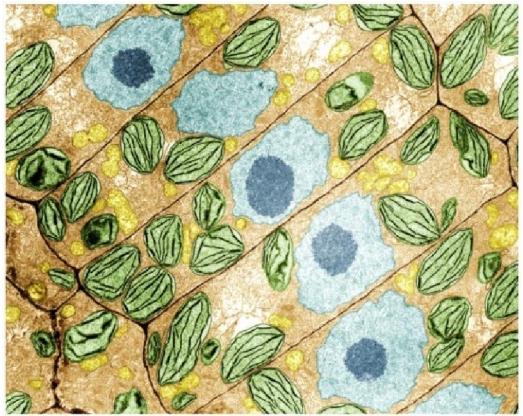
Každý kmeň iný fenotyp = každý chromozóm nesie iné gény

Chromozómová teória dedičnosti - genetický dôkaz

- ▶ Thomas Hunt Morgan
- ▶ modelový organizmus
Drosophila melanogaster

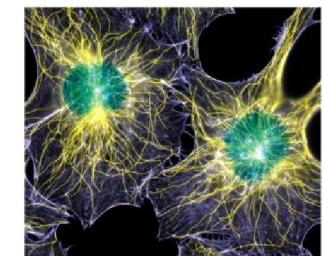


Nobelova cena za fyziológiu a medicínu, 1933, „za jeho objavy týkajúce sa úlohy chromozómov v dedičnosti“.



Bunky a chromozómy

V prokaryotických aj eukaryotických bunkách je genetický materiál organizovaný do chromozómov.



Chromozómy

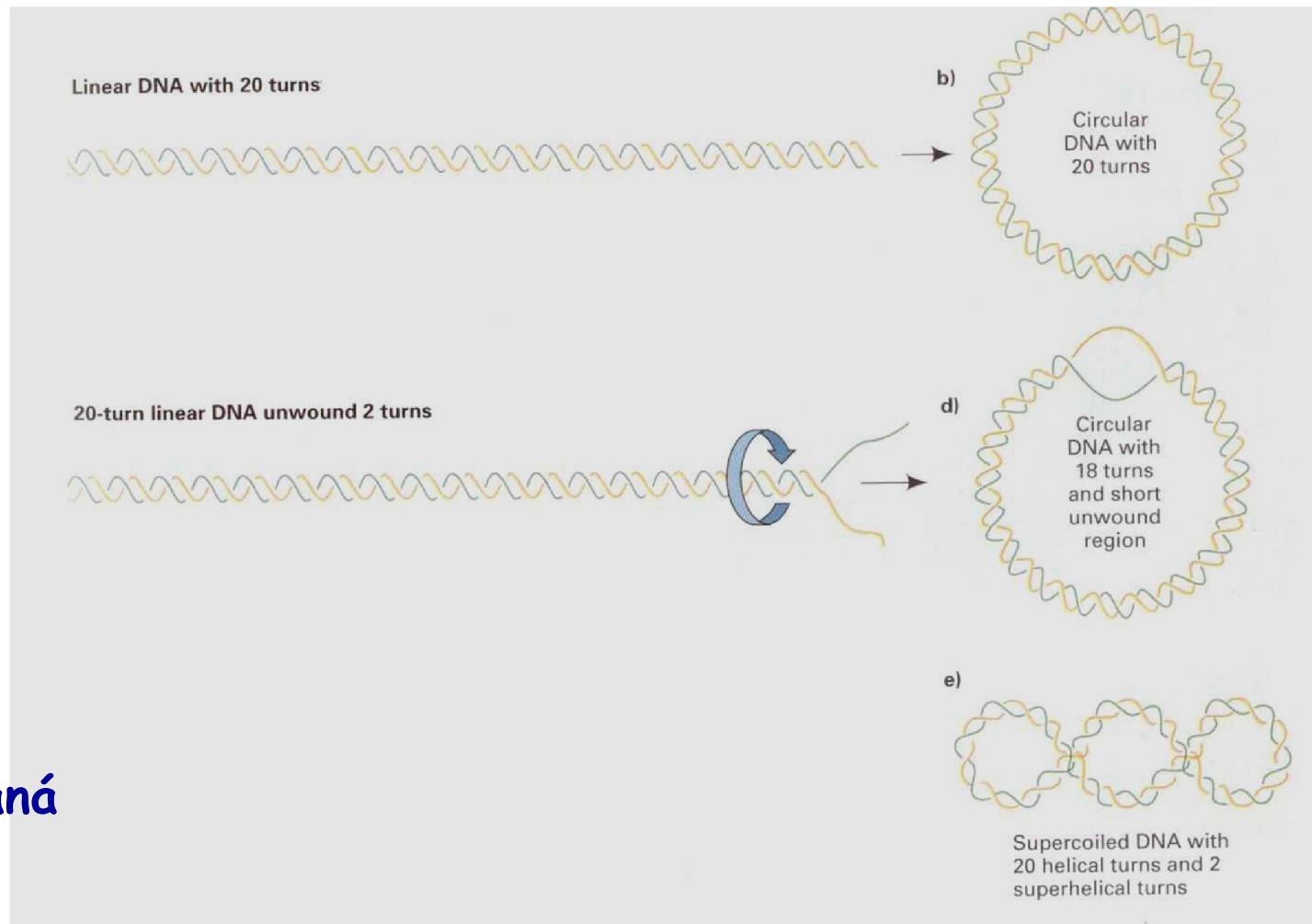
- ▶ Počet chromozómov jedného druhu je konštantný, ale medzi druhami existujú rozdiely
- ▶ Chromozómy sú tvorené DNA a bielkovinami

Baktérie - jeden kruhový chromozóm plus menšie plazmidy

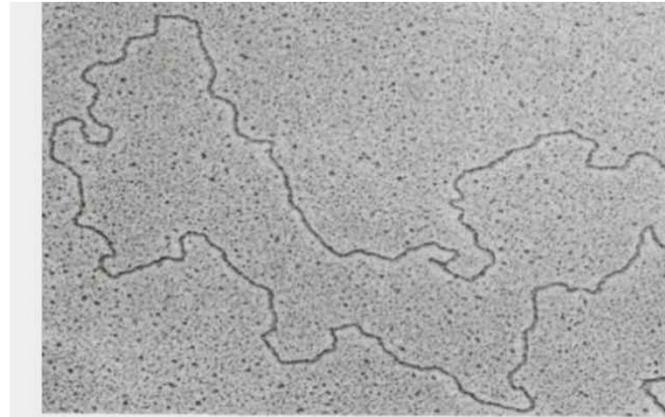
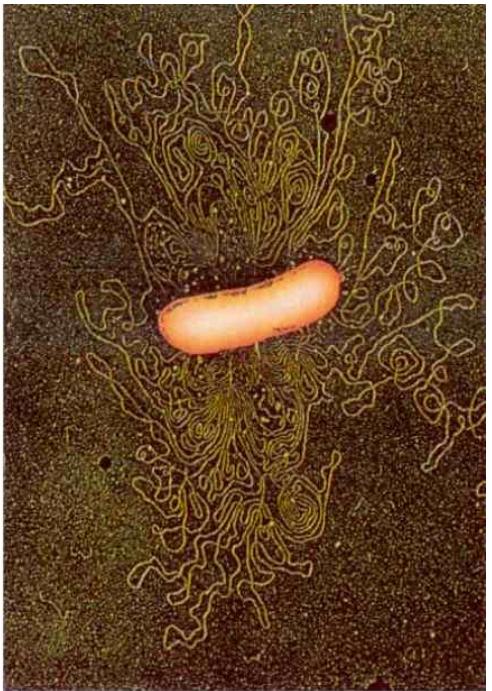
kruhový
chromozóm

relaxovaná
forma

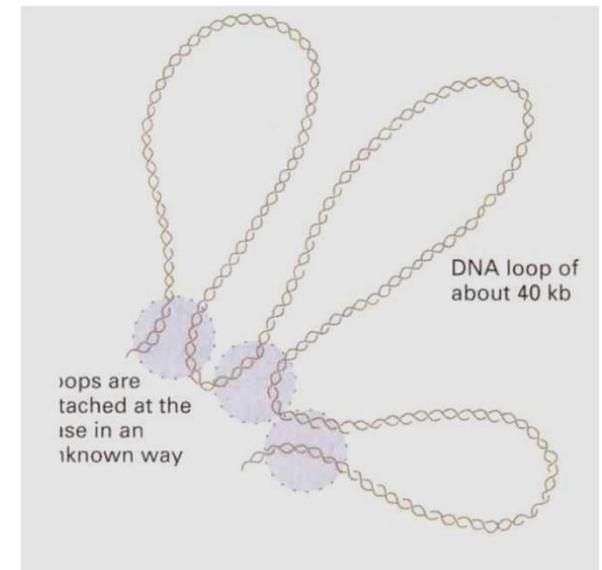
superšpiralizovaná
forma



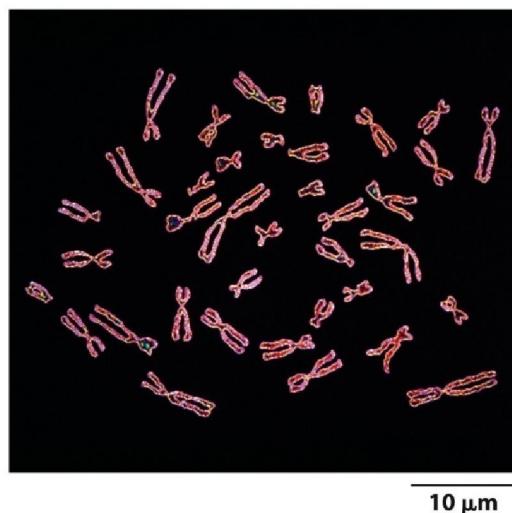
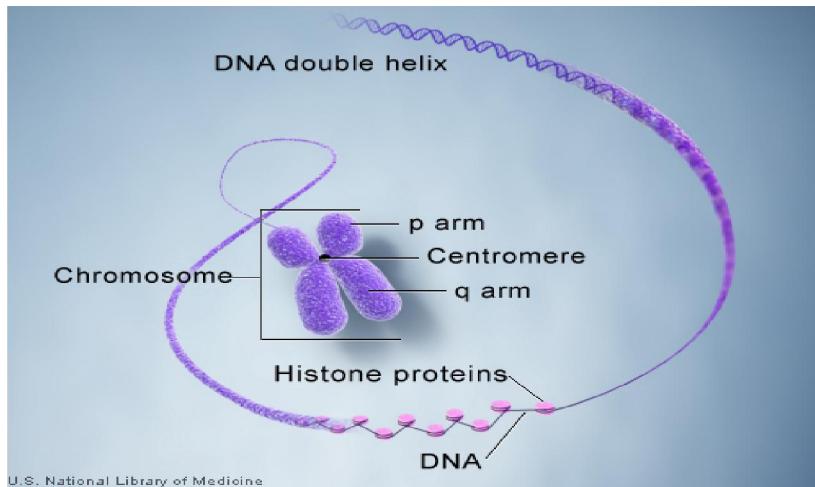
relaxovaná a
superšpiralizovaná forma



Slučkové domémy
-
DNA + bazické
proteíny
(2 históny HU,
H)



Eukaryotické chromozómy



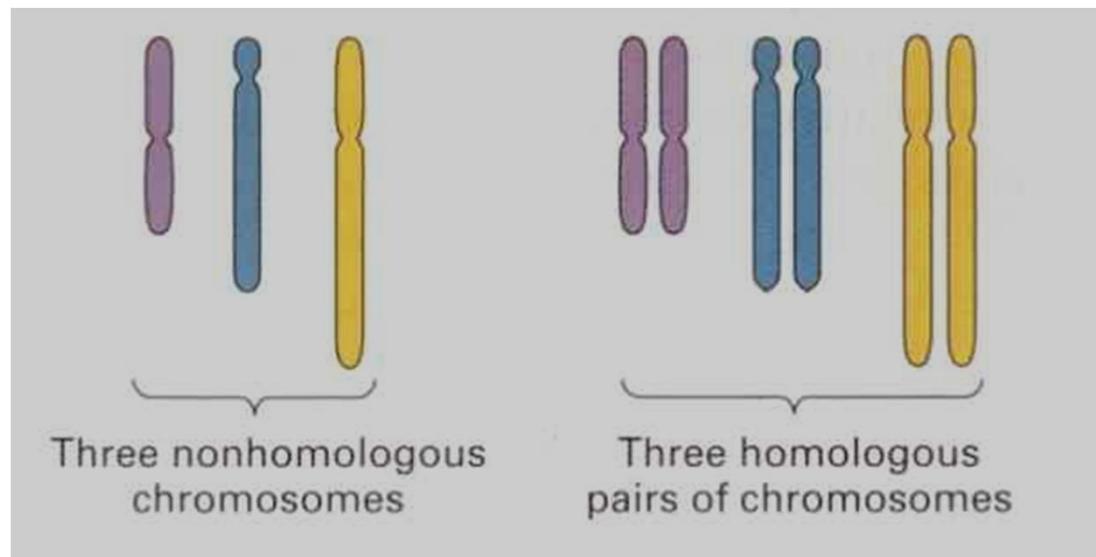
- ▶ ds DNA, proteíny, príp RNA
- ▶ Na rozdiel od prokaryotov väčšina eukaryotických buniek obsahuje niekol'ko veľkých lineárnych chromozómov so zložitejšou štruktúrou
- ▶ Väčšinou diploidné - chromozómy tvoria homologické páry

Genetický materiál eukaryotov – v chromozónoch jadra bunky a v mitochondriách a chloroplastoch

Počet chromozómov – druhovo špecifický

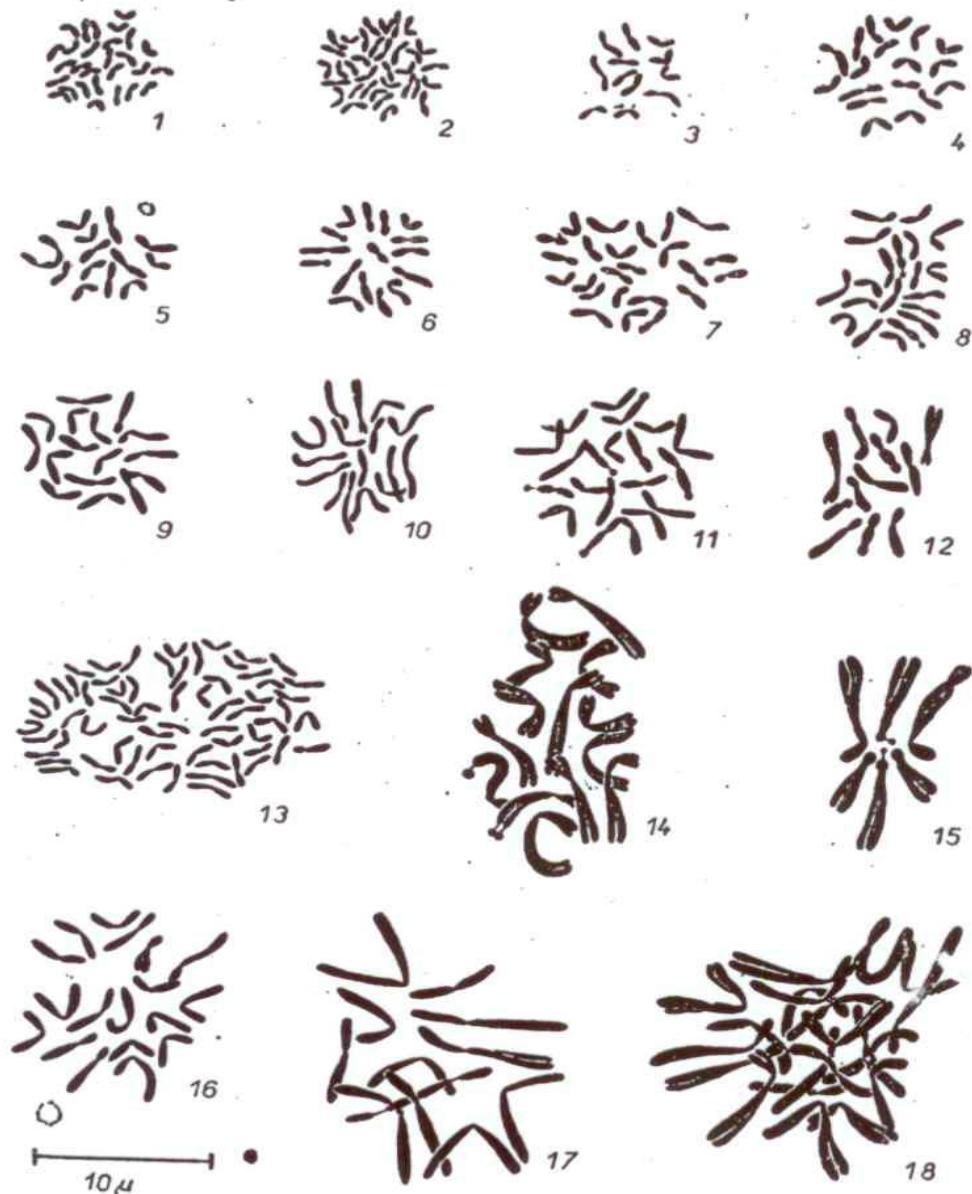
Diploidný počet chromozómov ($2n$) – somatické (telové) bunky

Haploidný počet chromozómov (n) – gaméty (pohlavné bunky)

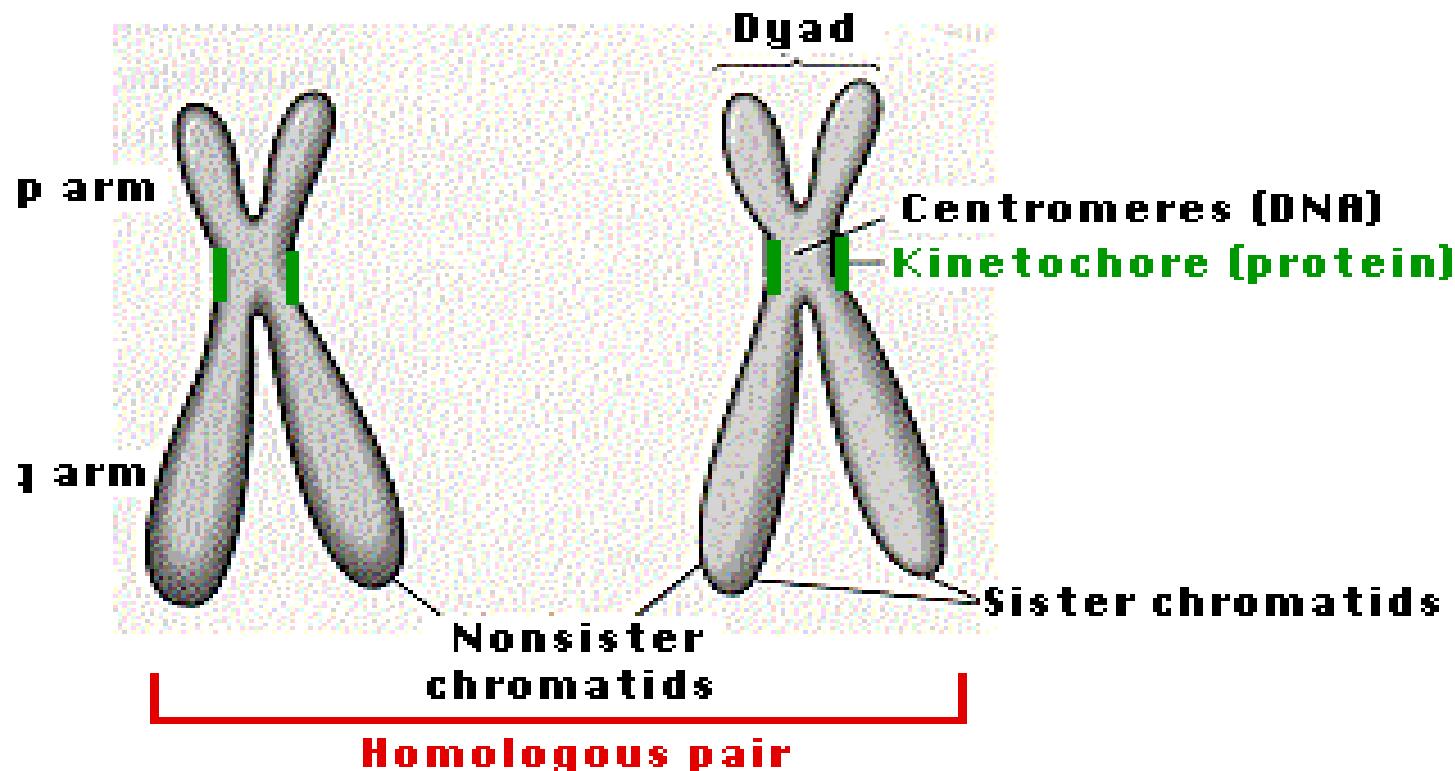


Človek – 46 chromozómov ($2n$)

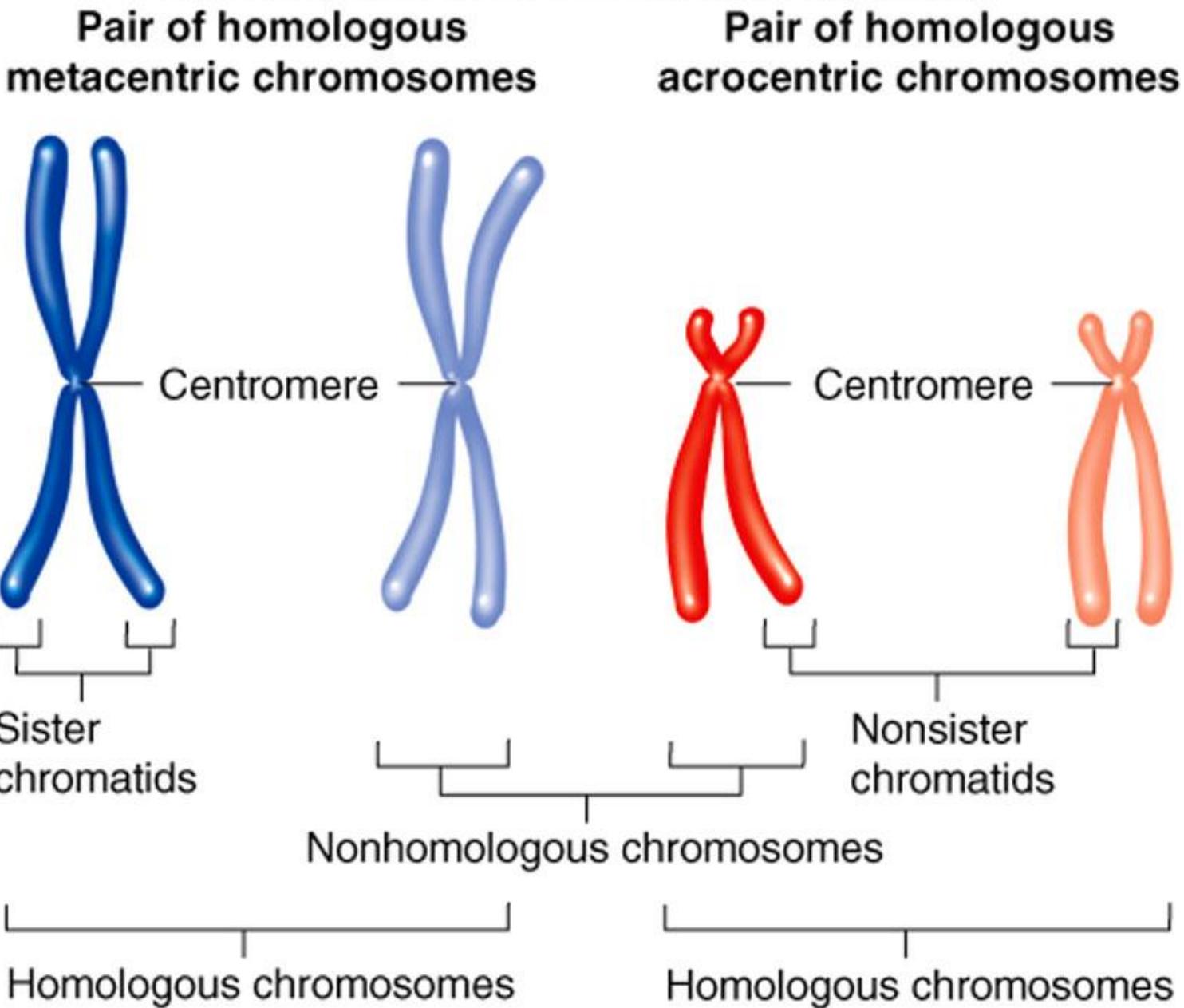
22 párov autozómov + 1 páár pohlavných chromozómov
(ženy XX a muži XY)



Eukaryotický chromozóm



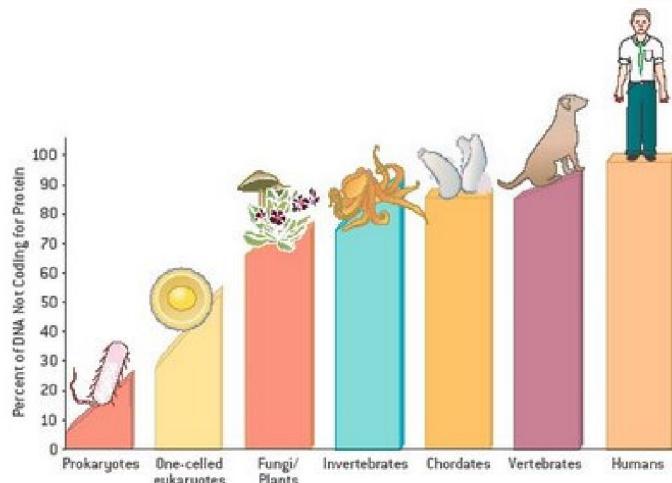
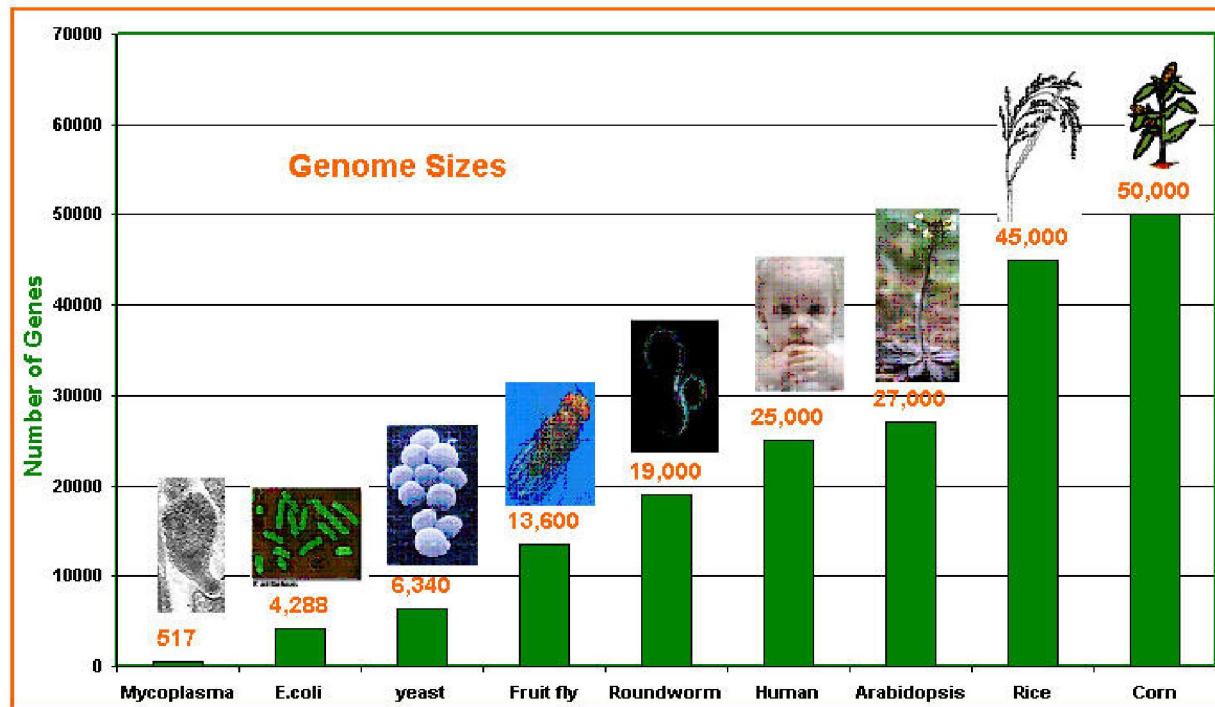
Homologické chromozómy obsahujú rovnaké gény, nie však rovnaké alely týchto génov!!!



DNA eukaryotického chromozómu

- ▶ Každý chromozóm obsahuje iba 1 molekulu DNA
- ▶ Proteíny kóduje len malá časť celkovej DNA (človek, *Arabidopsis* a nematóda majú približne rovnaký počet génov)

Neexistuje korelácia medzi veľkosťou genómu a zložitosťou organizmu (C value paradox)



C hodnota (C value) - celkové množstvo DNA v haploidnom genóme (E. coli 4,63 Mbp, S. cerevisiae 13,1 Mbp, človek 3400 Mbp)

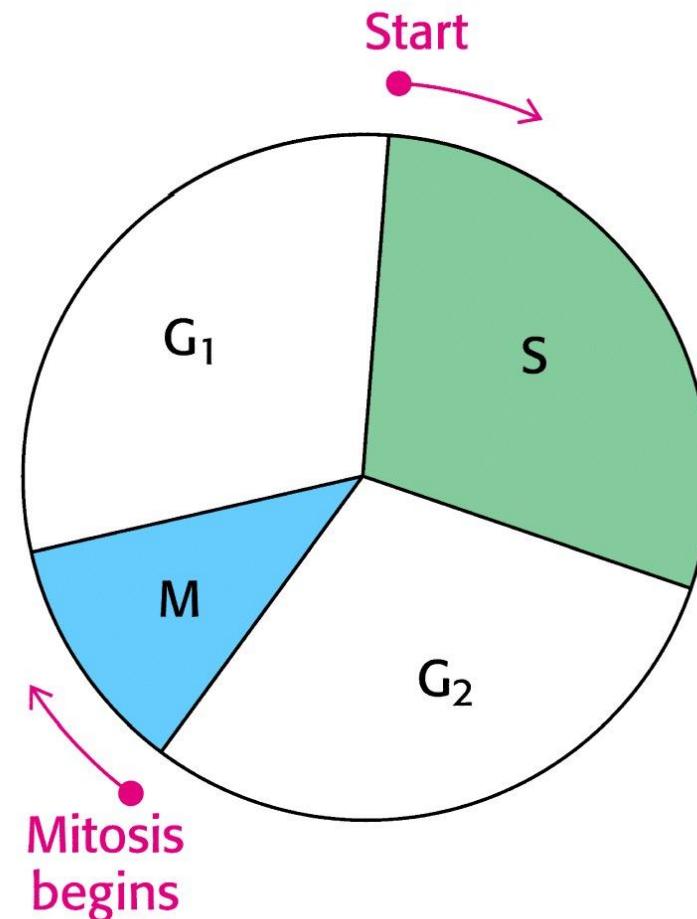
NONPROTEIN-CODING SEQUENCES make up only a small fraction of the DNA of prokaryotes. Among eukaryotes, as their complexity increases, generally so, too, does the proportion of their DNA that does not code for protein. The noncoding sequences have been considered junk, but perhaps it actually helps to explain organisms' complexity.

Chromatín

- Chromatín - farbitel'ný materiál v bunkovom jadre tvorený nukleoproteínmi a DNA
- Nukleoproteíny - históny a nehistónové proteíny
- Históny sú malé bázické proteíny (obsahujú vysoké množstvá arginínu a lyzínu) s pozitívnym nábojom, ktorý ul'ahčuje ich naviazanie s negatívne nabitéou DNA - úloha pri zbal'ovaní DNA do chromozómov
- 5 typov histónov: H1, H2A, H2B, H3 & H4

Štruktúra chromozómu sa mení počas bunkového cyklu

Počas interfázy
chromatínová siet'



Individuálne
chromozómy v
mitóze a meióze

Eukaryotický chromozóm

- Chromatín nie je rovnako kompaktný pozdĺž celého chromozómu - v dôsledku toho farbivá, ktoré reagujú z DNA vytvárajú rôznu intenzitu farbenia

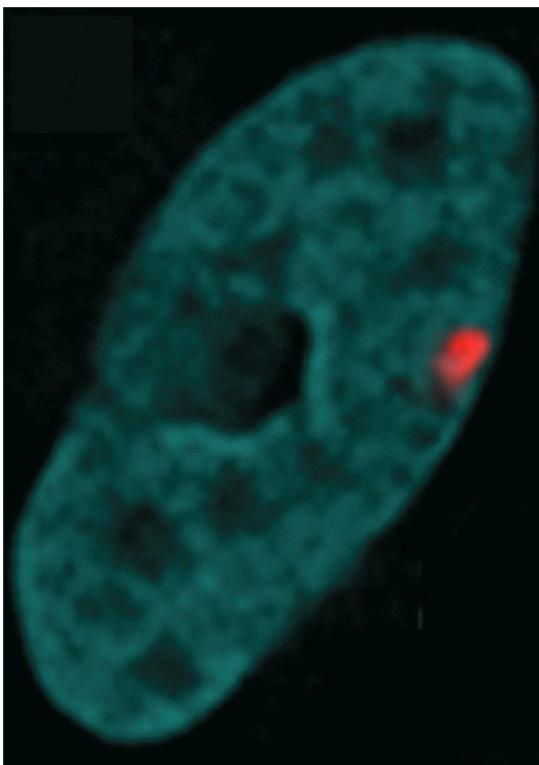
Kondenzovaný stav

Dekondenzovaný
stav

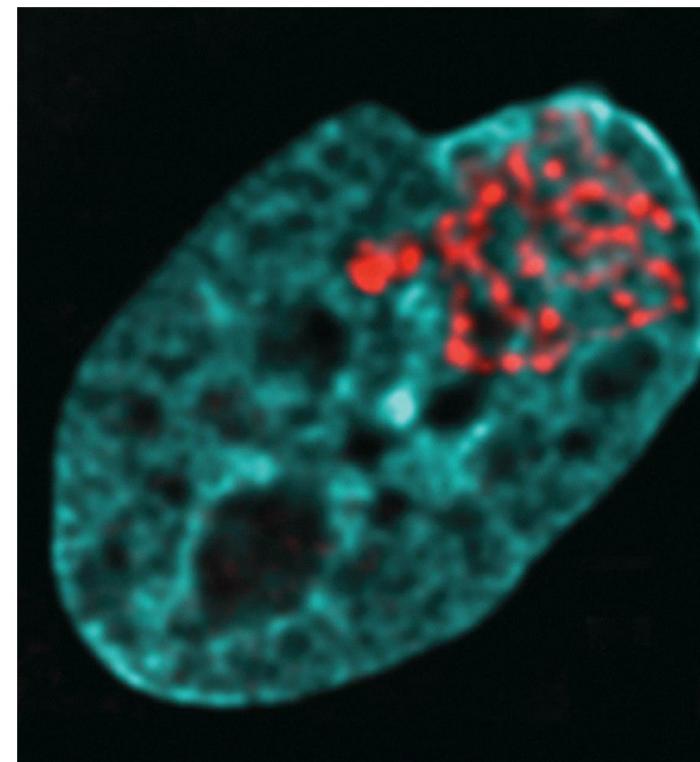
Základom je
špiralizácia a
dešpiralizácia

Dve formy chromatínu (na základe farbenia)

1. Euchromatín - aktívne transkribované regióny, bez repetitívnych sekvencií
2. Heterochromatín



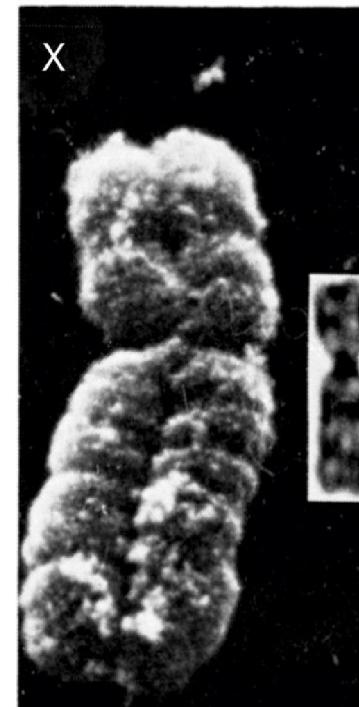
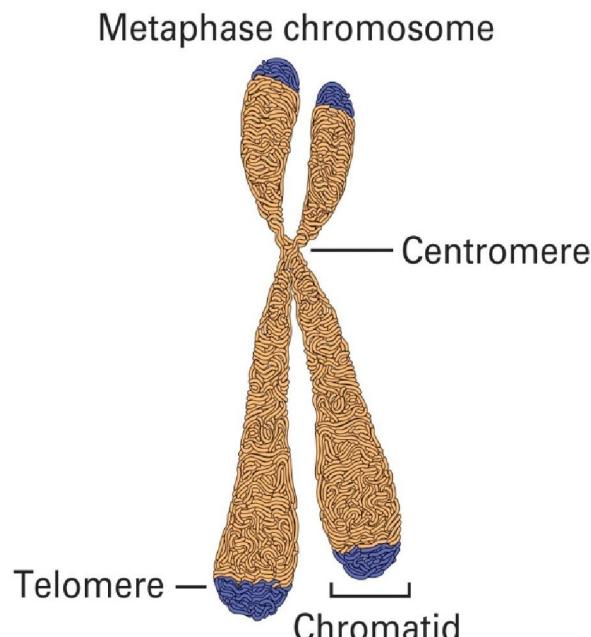
100 Mb DNA v heterochromatíne



100 Mb DNA v euchromatíne

Tumbar et al. (1999)
J. Cell Biol. 145:1341

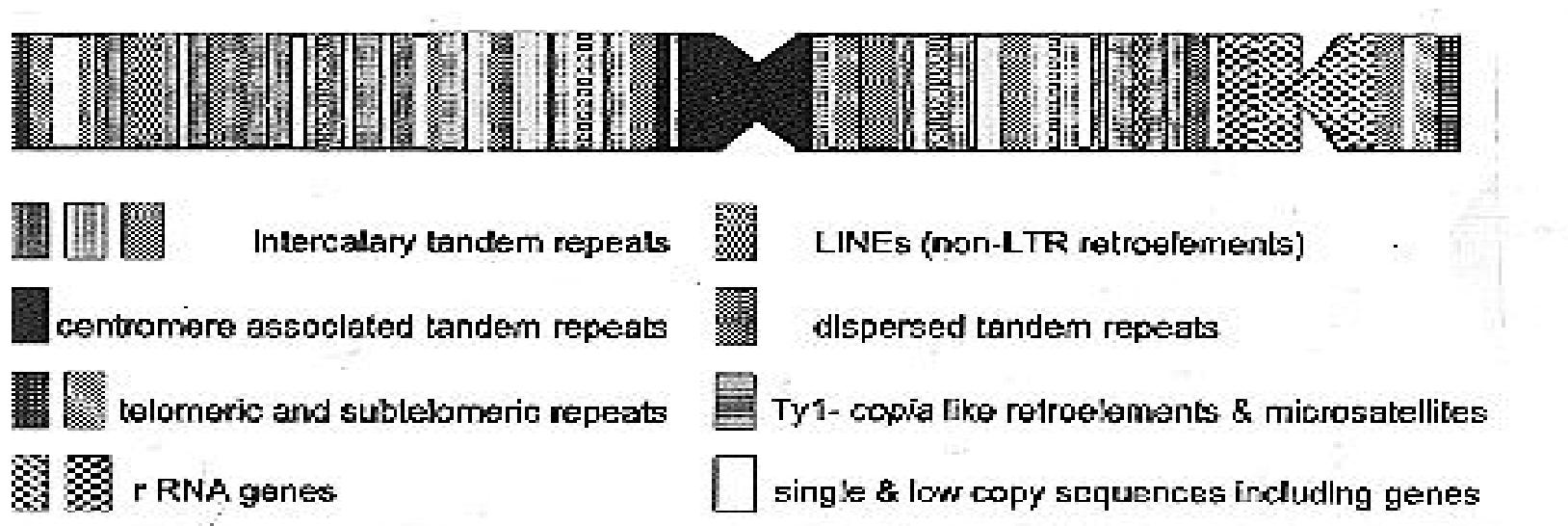
Funkčné oblasti na chromozóme – teloméra, centroméra, satelit



Schématická a elektrónmikroskopická snímka X chromozómu.

Satelit – sekundárna konstriktcia

- v heterochromatínových oblastiach teloméry,
gény pre ribozomálnu RNA



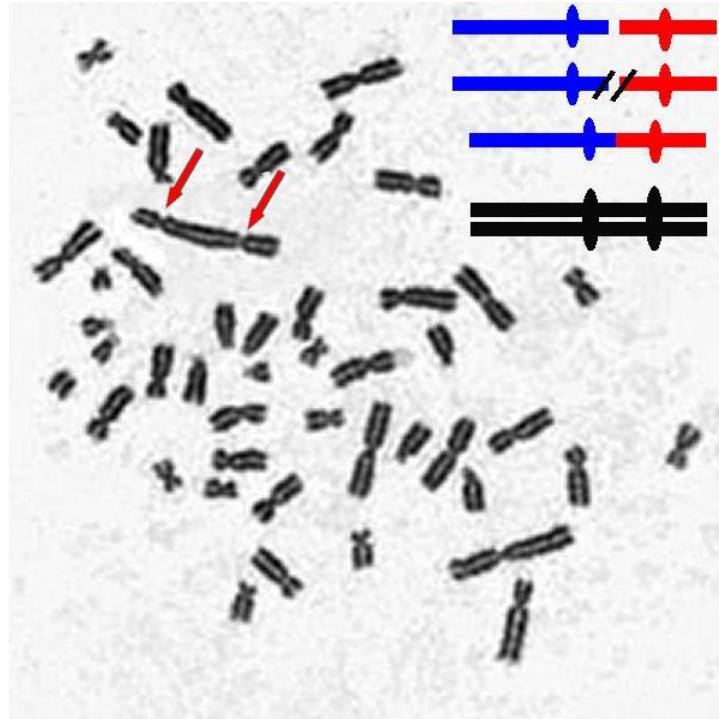
Plant chromosome - distribution of different classes of repetitive DNA and low copy sequences (modified from the chromosome model by T. Schmidt and J. S. Heslop-Harrison⁵). The rRNA genes are clustered on one or more chromosomes within the complement, preferably along secondary constriction regions.

Teloméra

1. Barbara Mc Clintock dokázala, že konce polámaných chromozómov sú „lepkavé“ a majú tendenciu navzájom fúzovať
 - ▶ normálne chromozómy sú stabilné a nefúzujú s inými (ani „lepkavými“)
2. DNA polymeráza nedokáže replikovať terminálnu DNA zaostávajúceho ret'azca



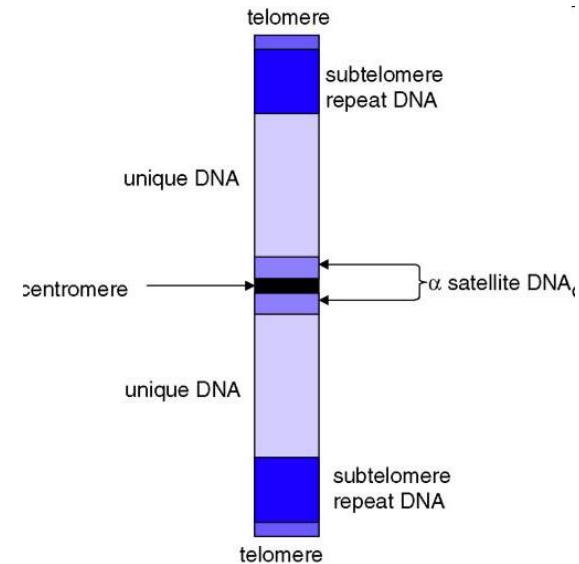
teloméry majú špeciálnu štruktúru



B. Mc Clintock (1902-1992)
1983 Nobelova cena za objav mobilných genetických elementov

Teloméra

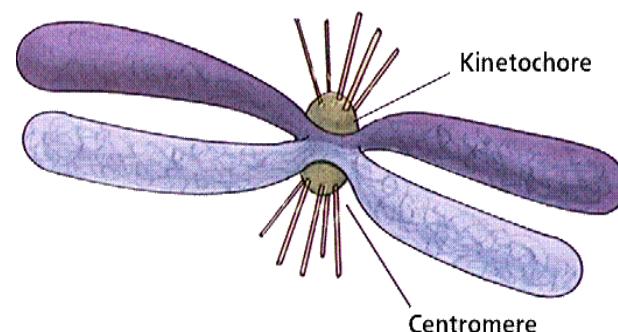
- ▶ Heterochromatínové oblasti na koncoch ramien chromozómu, ktoré zabezpečujú jeho replikáciu a stabilitu
- ▶ V jadre sa nachádzajú v blízkosti jadrovej membrány



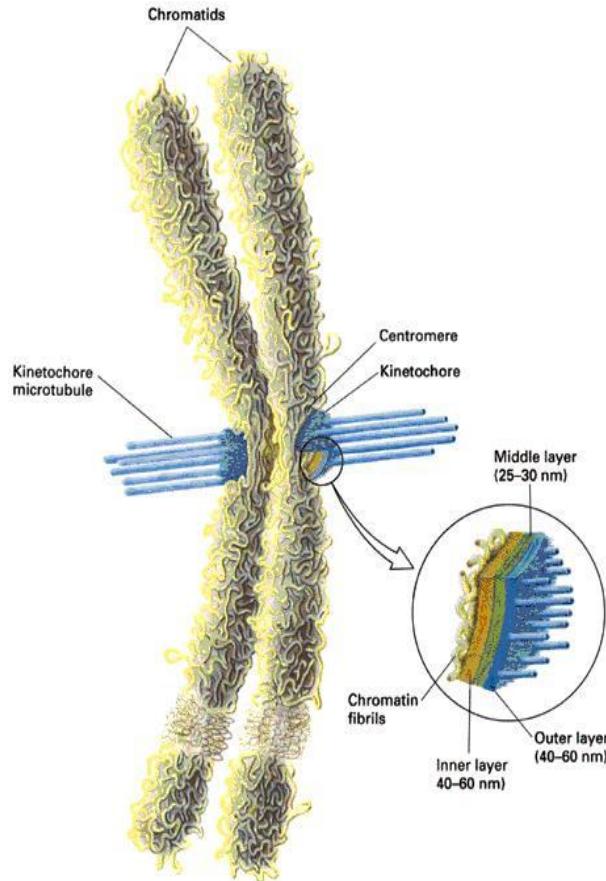
Centroméra

Centroméra je oblast' na chromozóme, na ktorej sa vytvára kinetochór, ku ktorému sa pripájajú vlákna deliaceho vretienka (oblast' primárnej konstrikcie)

- zodpovedá za presnú segregáciu replikovaných chromozómov do dcérskych buniek počas mitózy a meiózy



Kinetochór sprostredkuje pripojenie na vlákna deliaceho vretienka



Centroméra – primárna konstrikcia. Kinetochor je obrovský proteínový komplex s niekol'kými vrstvami. Vonkajšia vrstva umožňuje naviazanie vláken deliaceho vretienka.

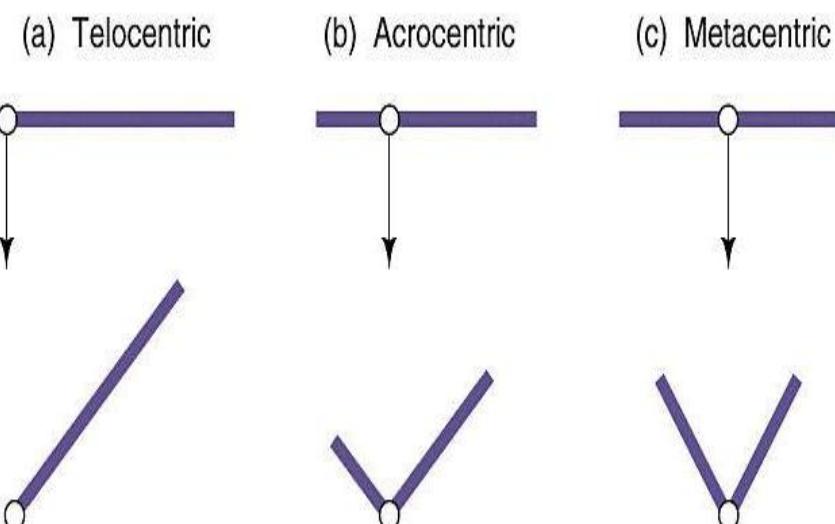
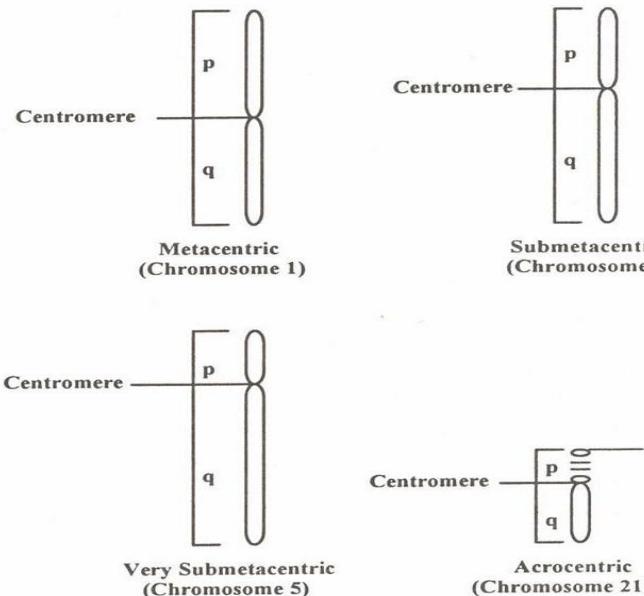
Podľa polohy centroméry:

Metacentrické - centroméra v strede, delí chromozóm na dve približne rovnako dlhé rameňa

Submetacentrické - jedno rameno dlhšie ako druhé (max o polovicu kratšie)

Akrocentrické - jedno rameno je o viac ako $\frac{1}{2}$ kratšie

Telocentrické - chromozóm má len jedno rameno z terminálnej centromérou



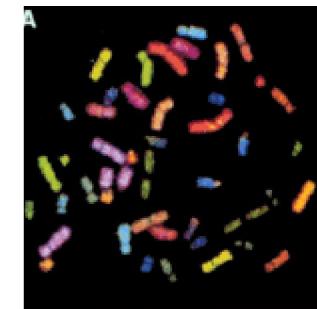
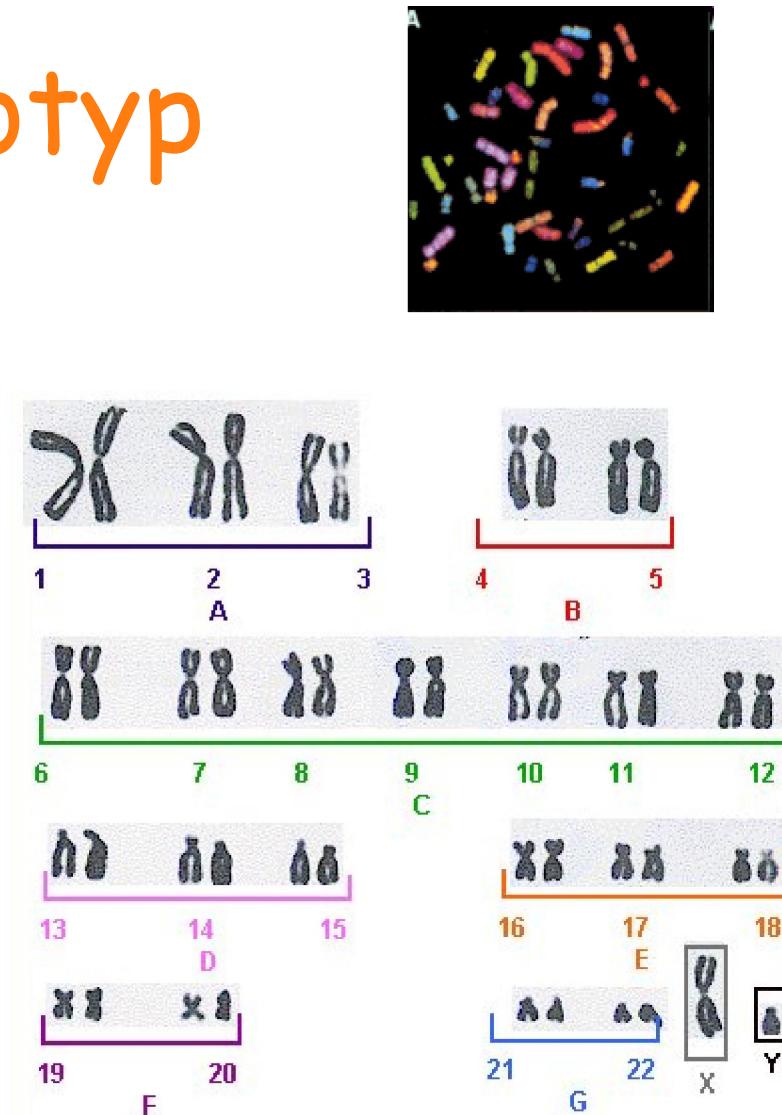
Karyotyp

- ▶ Je súbor metafáznych chromozómov určitého druhu organizmu charakteristický vel'kost'ou, tvarom a počtom
- ▶ Zostavuje sa z mikrofotografie metafáznych chromozómov a pre prehľadnosť sa chromozómy usporiadavajú do homologických párov a zorad'ujú sa podľa vel'kosti a polohy centroméry

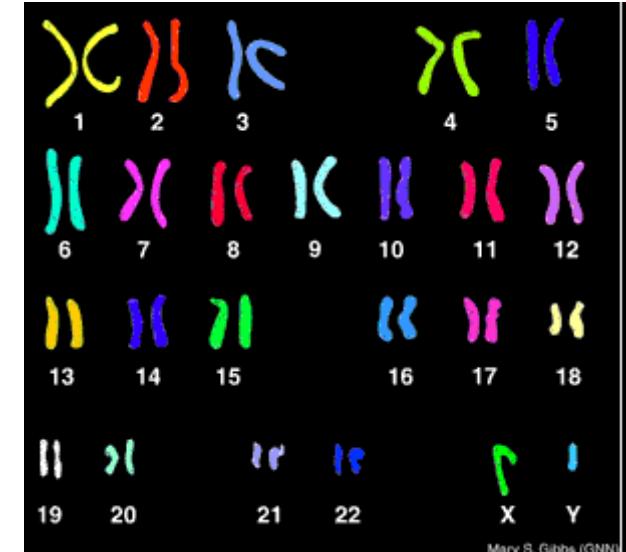
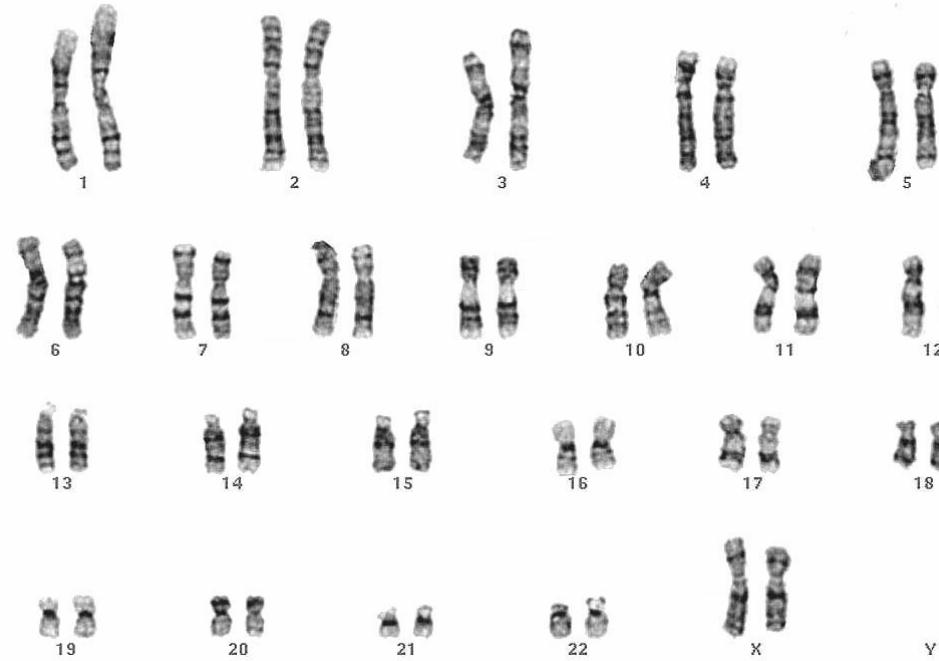


Karyotyp

- ▶ Je súbor metafáznych chromozómov určitého druhu organizmu charakteristický velkosťou, tvarom a počtom
- ▶ Zostavuje sa z mikrofotografie metafáznych chromozómov a pre prehľadnosť sa chromozómy usporiadavajú do homologických párov a zoradujú sa podľa velkosti a polohy centroméry

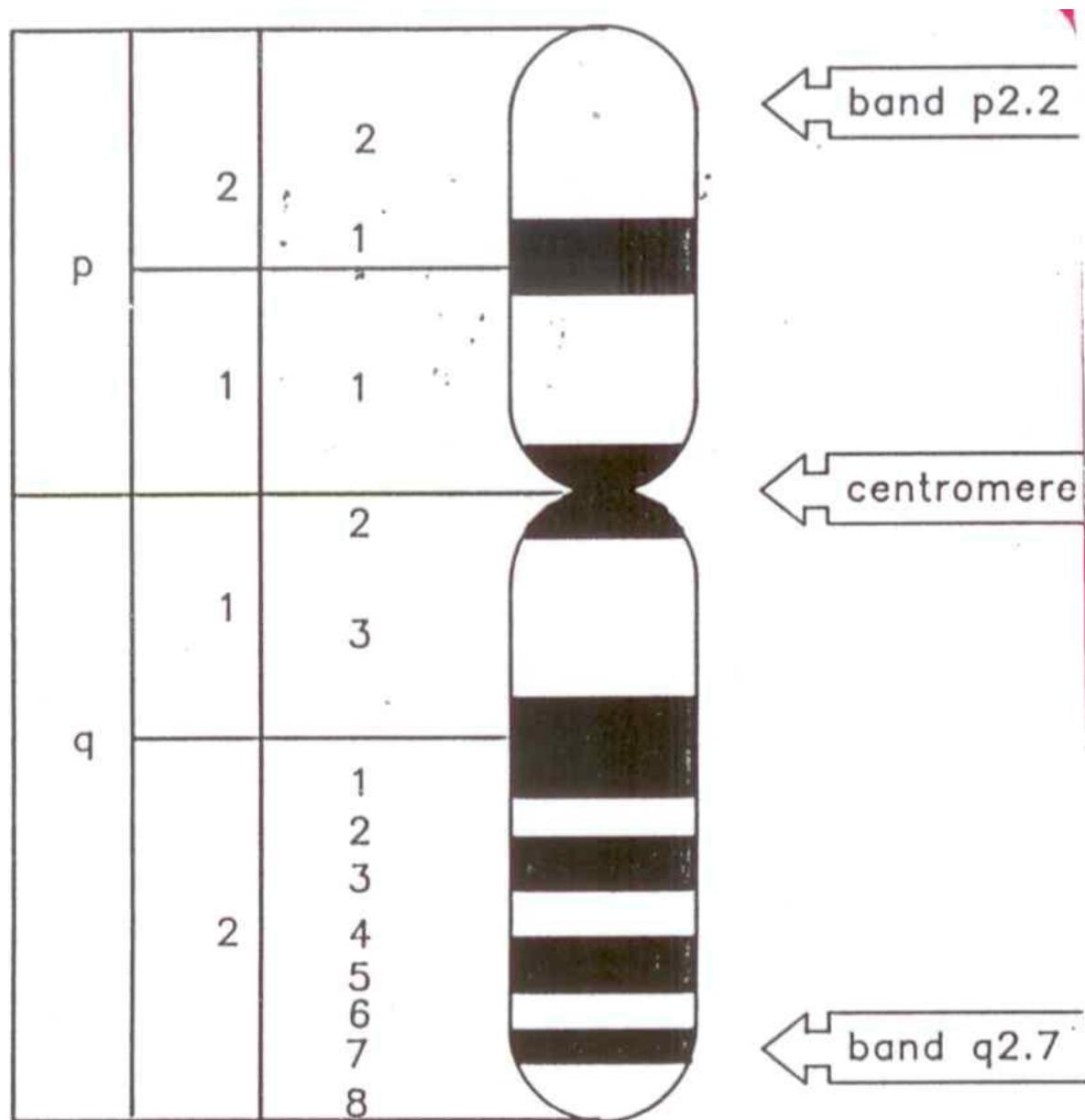


Human female
G-bands

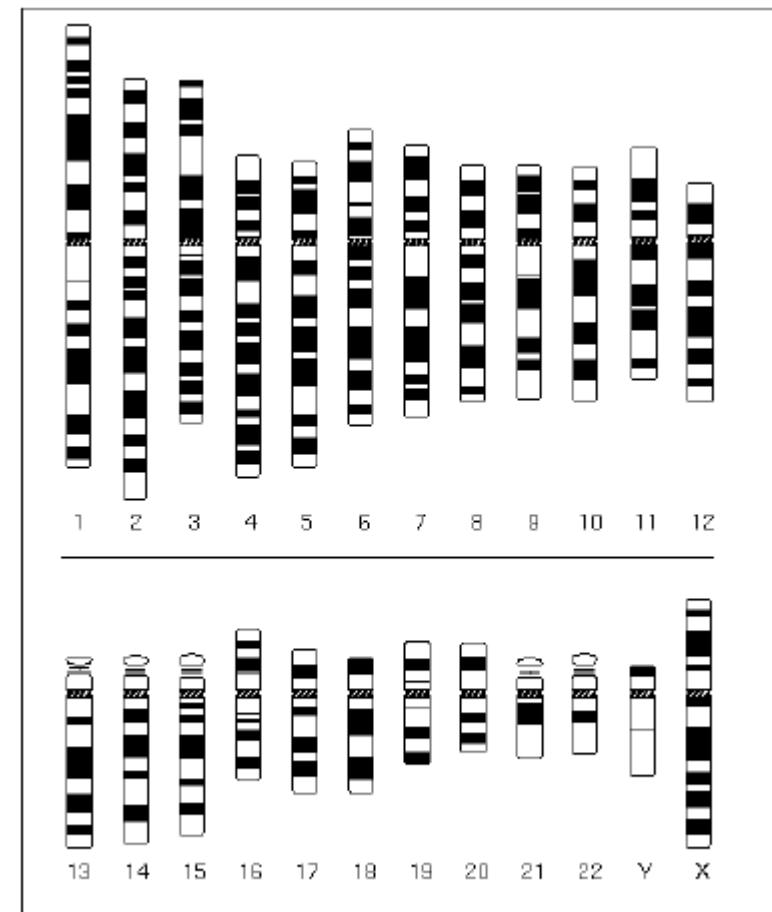
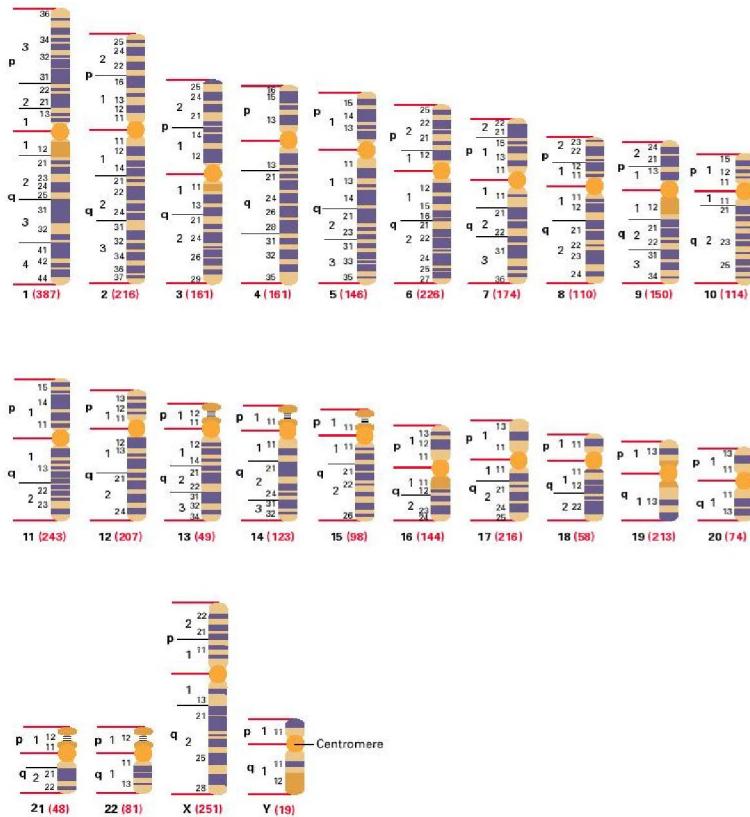


Mary S. Gibbs (GNN)

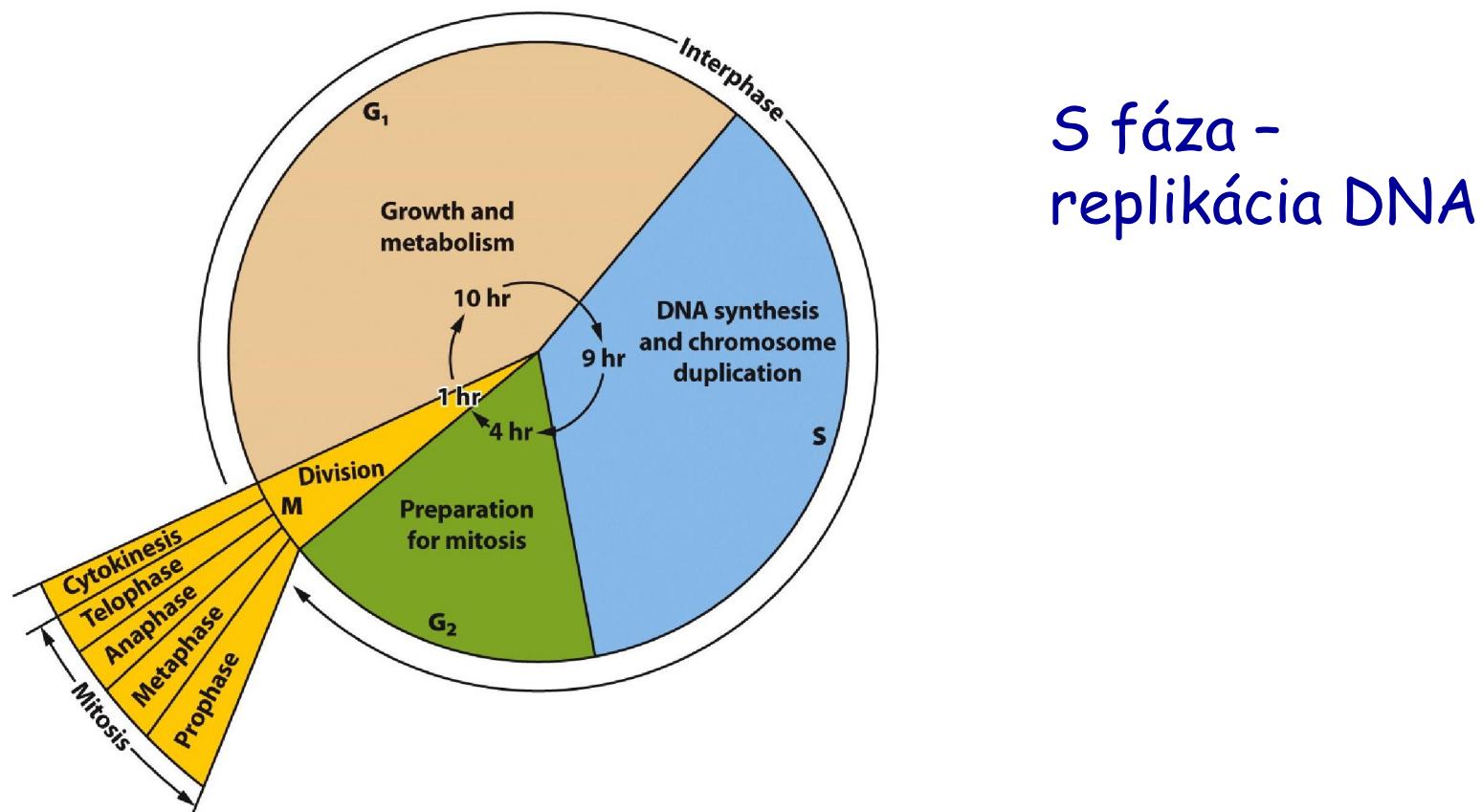
Presnejšie rozlíšenie chromozómov pomocou farbenia,
najčastejšie G-banding (podľa Giemsa) alebo fluorescenčne.



Idiogram - grafické znázornenie karyotypu, zobrazuje sa na ňom dĺžka chromozómov, poloha centroméry a satelit



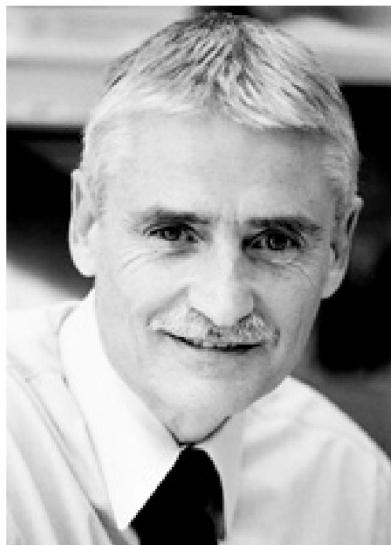
Delenie eukaryotických buniek - mitóza



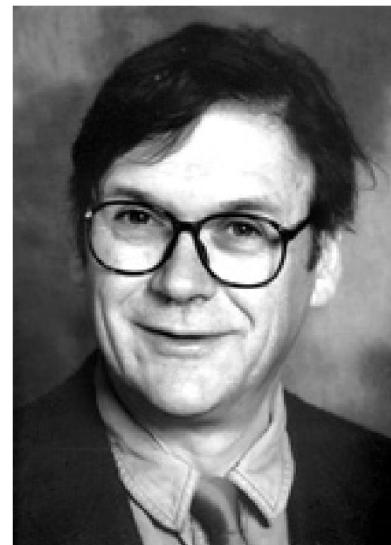


The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2001

"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"



Leland H. Hartwell



Tim Hunt



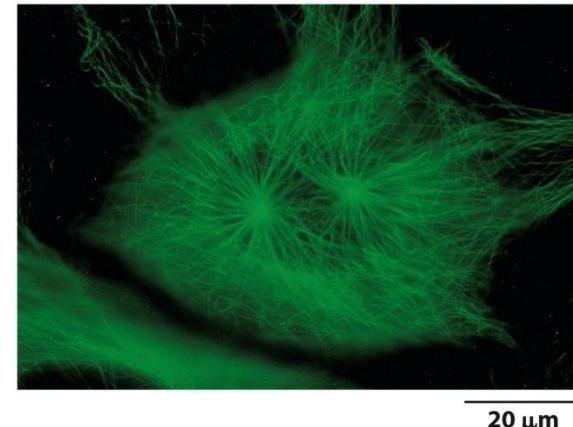
Sir Paul M. Nurse

Mítóza

- ▶ Prvýkrát pozorovaná v 1870 Walterom Flemmingom
 - Z gréckeho *mitos* = vlákno

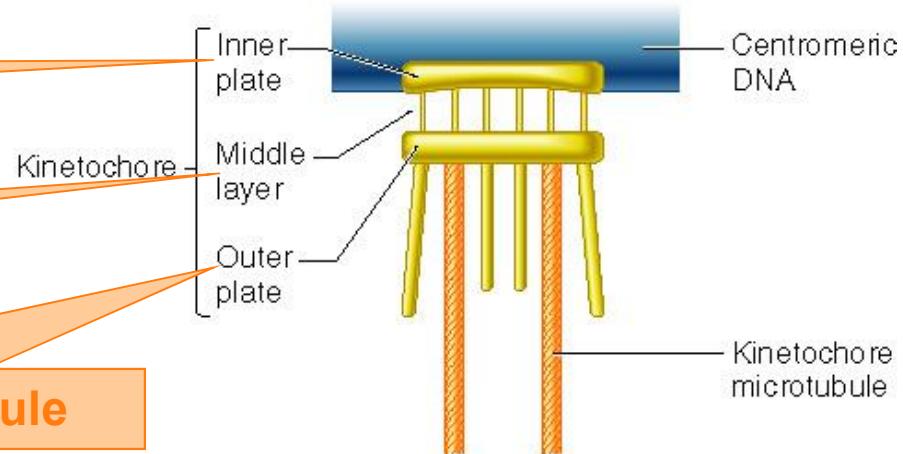
Eukaryotická bunka počas delenia distribuuje svoj genetický materál rovnomerne do dcérskych buniek

Deliace vretienko
tvorené mikrotubulami
– rýchla polymerizácia
tubulínových proteínov



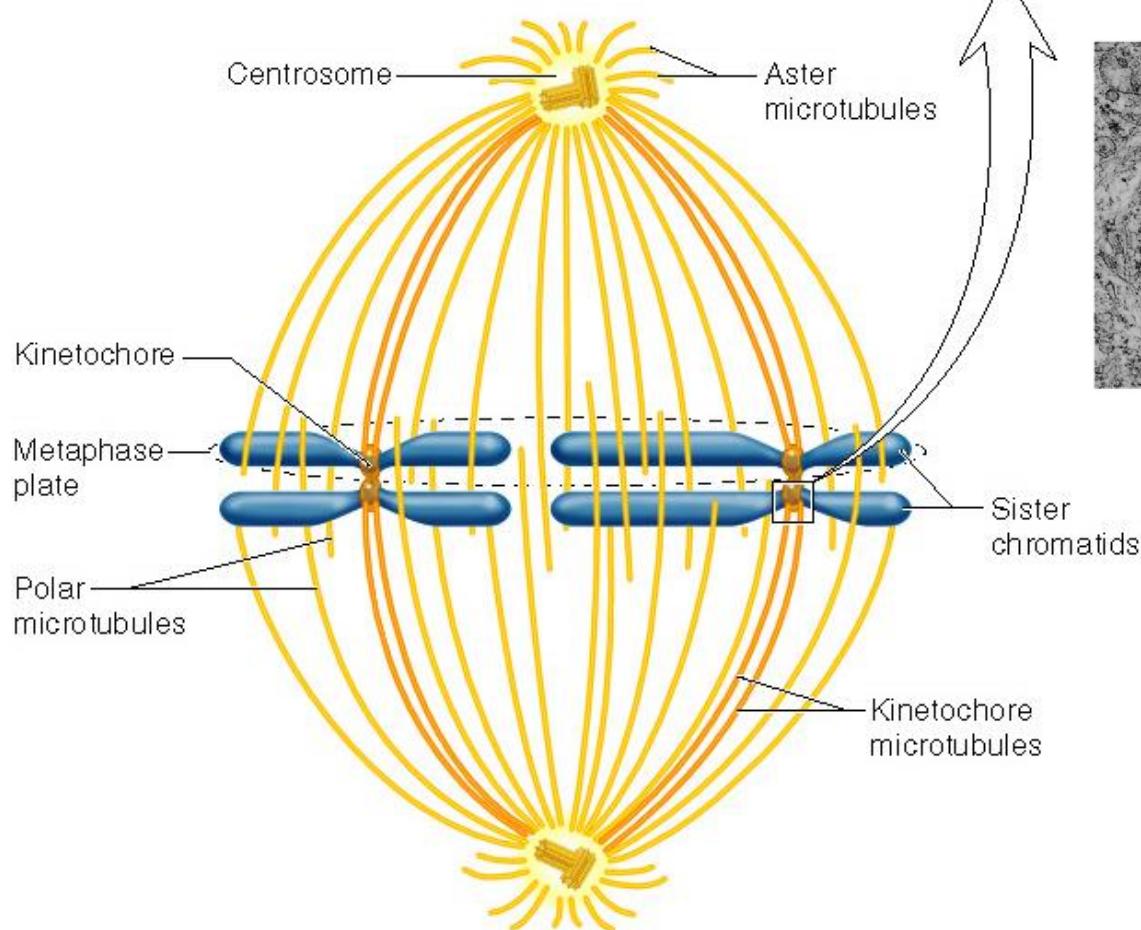
- ▶ 3 typy mikrotubulov deliaceho vretienka
 - 1. astrálne mikrotubuly
 - Umiestnenie deliaceho vretienka
 - 2. polárne mikrotubuly
 - Napomáhajú vzdálovaniu polív bunky
 - 3. kinetochorové mikrotubuly
 - Pripájajú sa ku kinetochórom centromér a odtahujú od seba sesterské chromatidy

Contacts the centromere



Contacts the other two

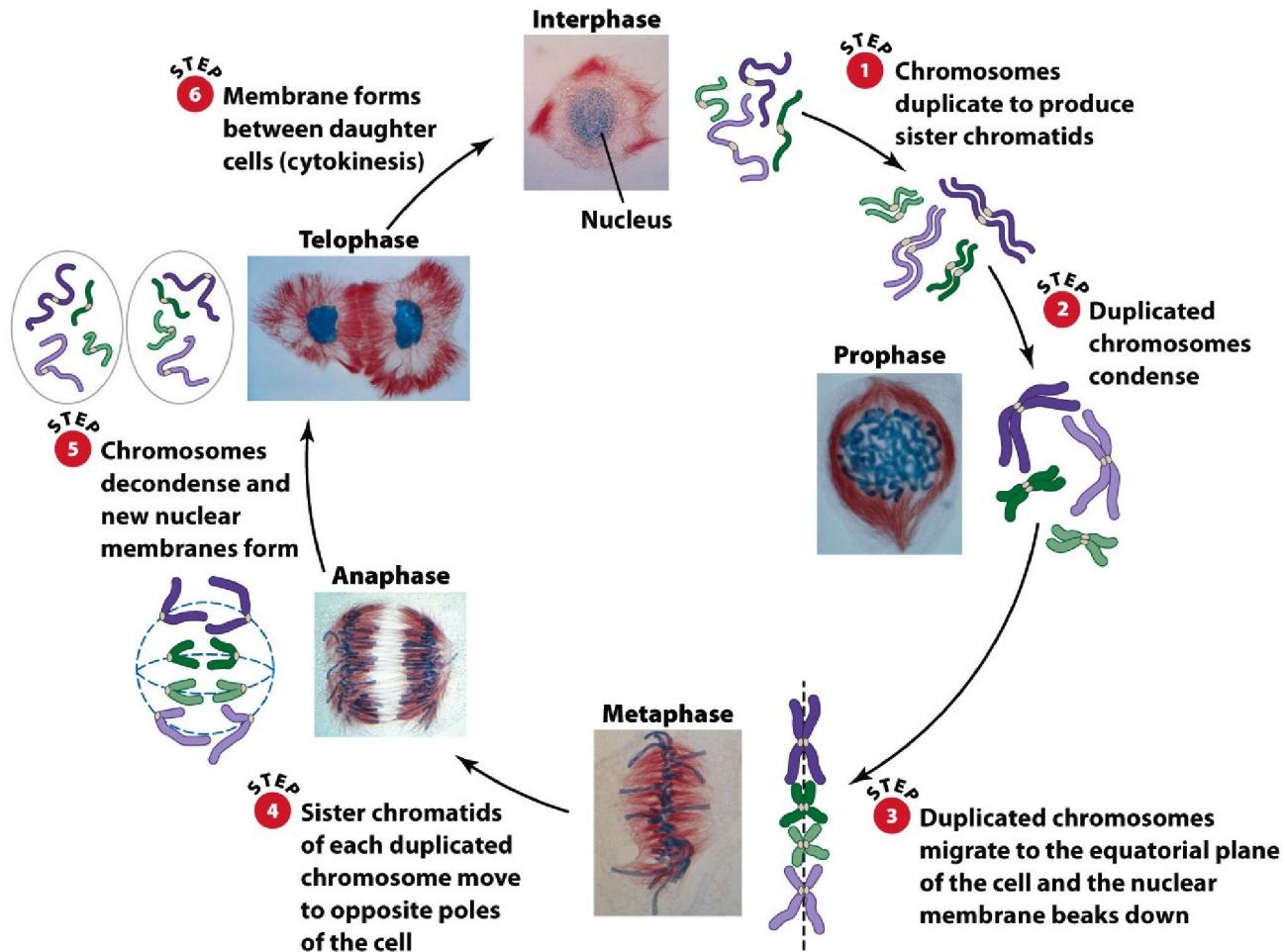
Contacts the kinetochore microtubule



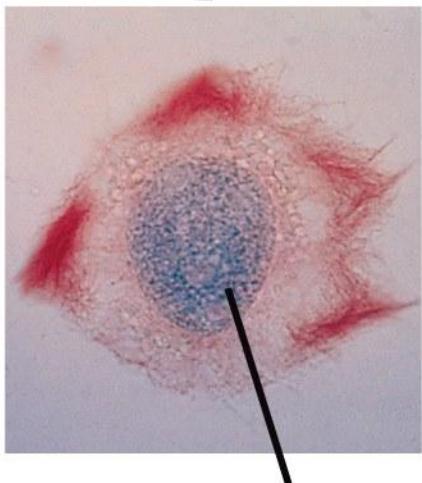
Two pairs of centrosomes

$0.3 \mu\text{m}$

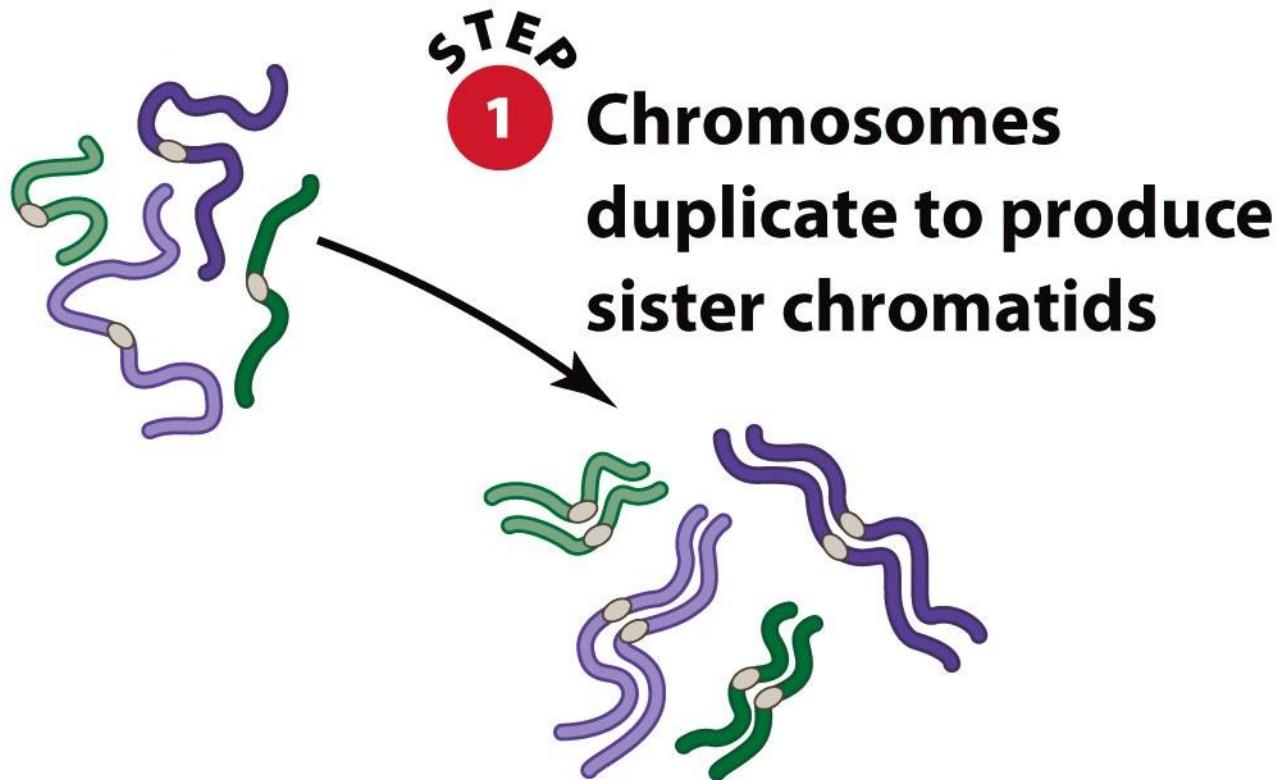
Mitóza



Interphase

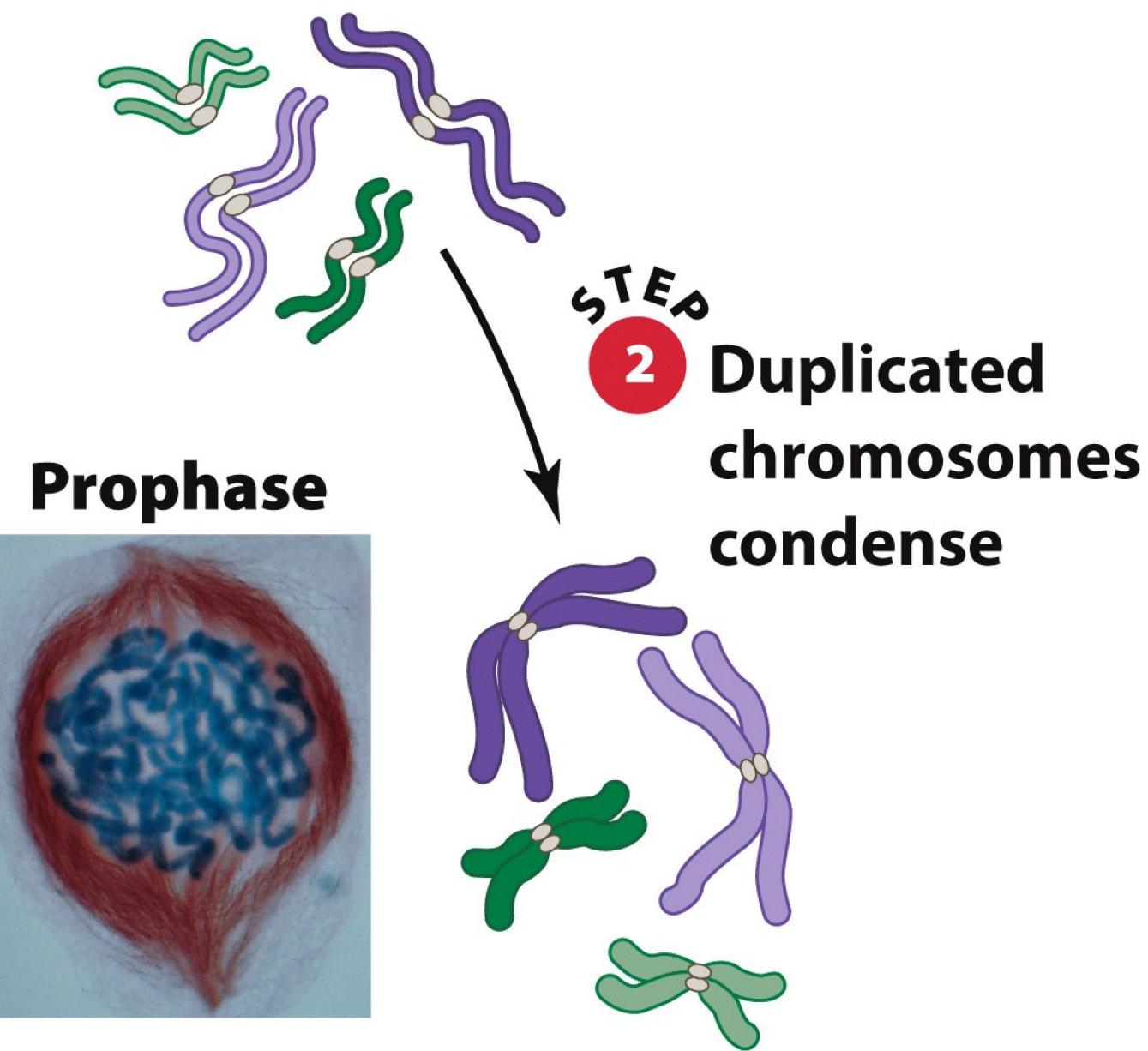


Nucleus

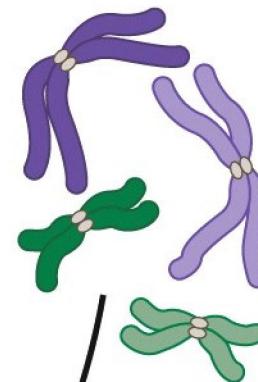


STEP
1

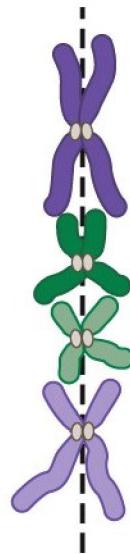
**Chromosomes
duplicate to produce
sister chromatids**



Prophase

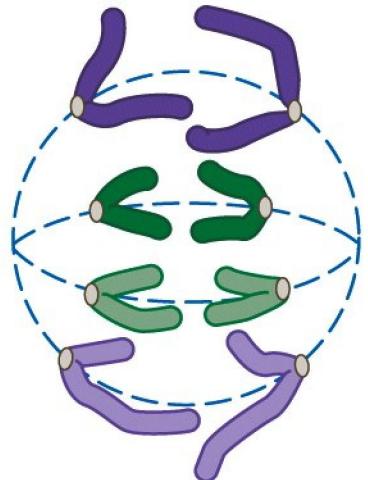


Metaphase

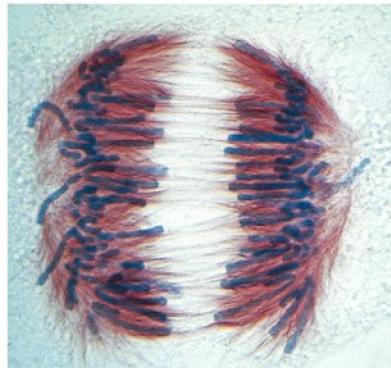


STEP
3

**Duplicated chromosomes
migrate to the equatorial plane
of the cell and the nuclear
membrane breaks down**



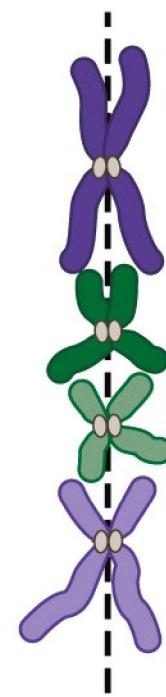
Anaphase



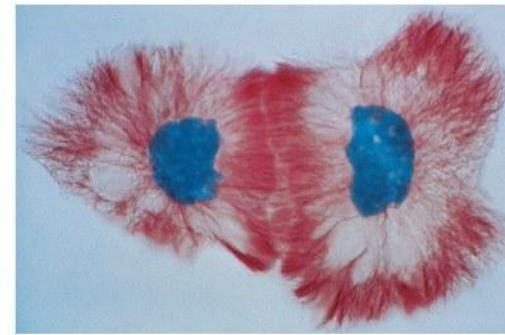
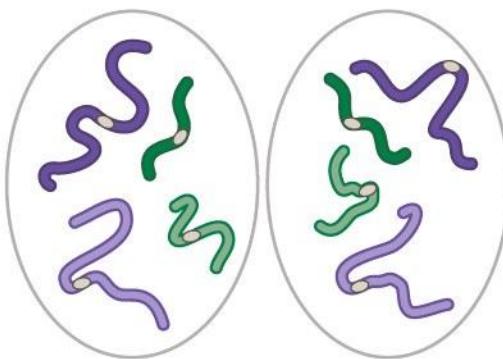
STEP
4

**Sister chromatids
of each duplicated
chromosome move
to opposite poles
of the cell**

Metaphase



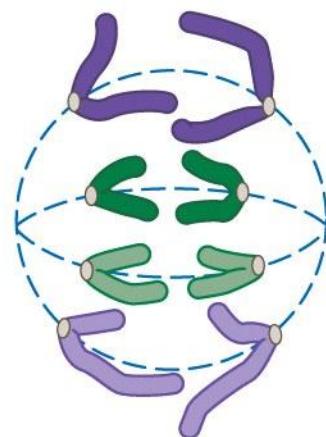
Telophase



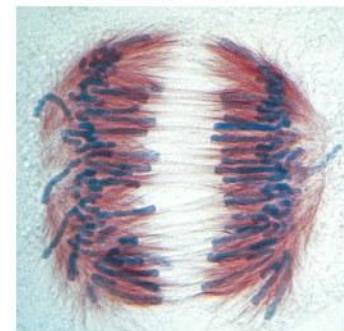
STEP

5

**Chromosomes
decondense and
new nuclear
membranes form**



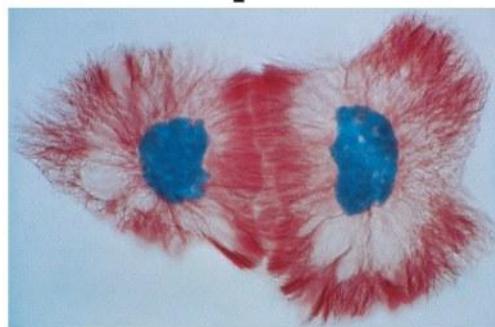
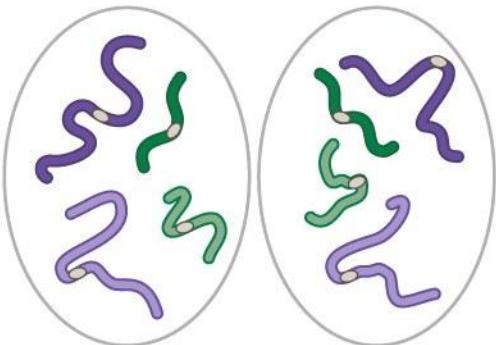
Anaphase



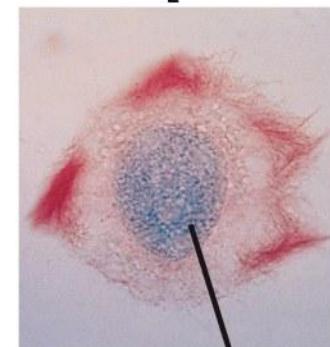
STEP
6

**Membrane forms
between daughter
cells (cytokinesis)**

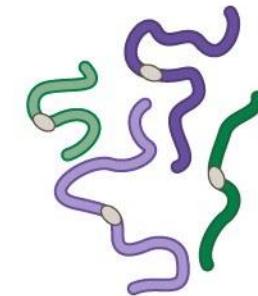
Telophase



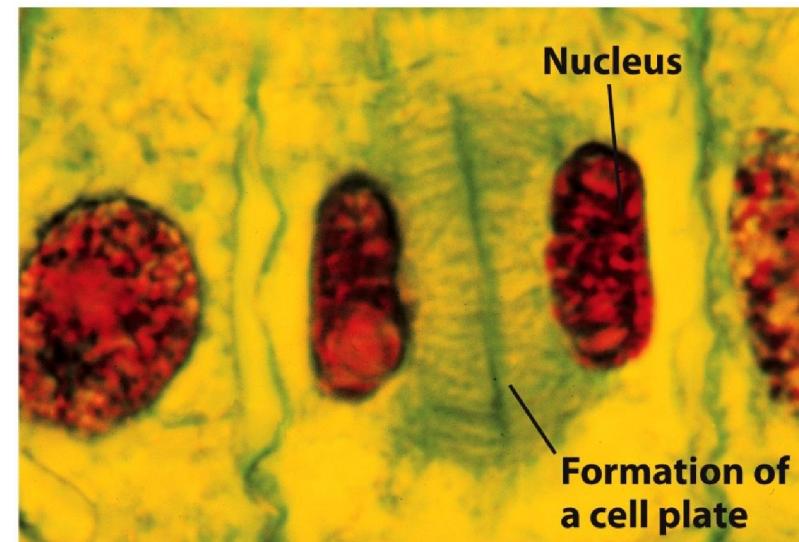
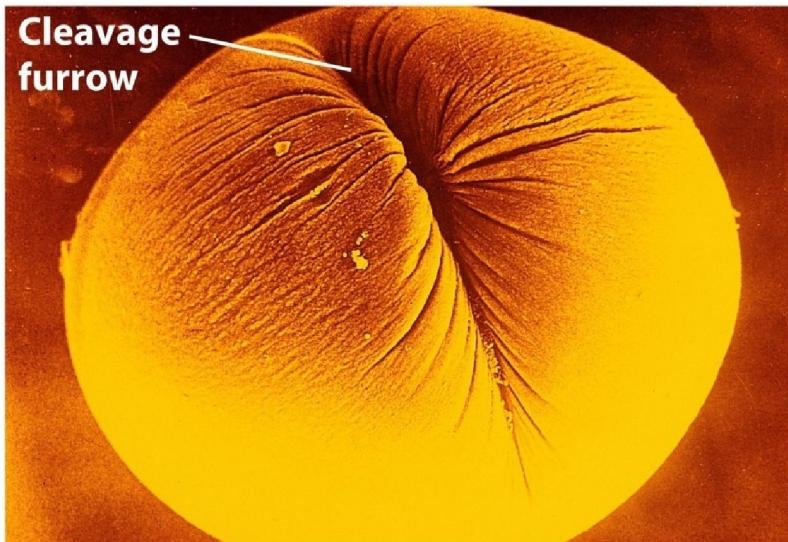
Interphase



Nucleus



Cytokinéza

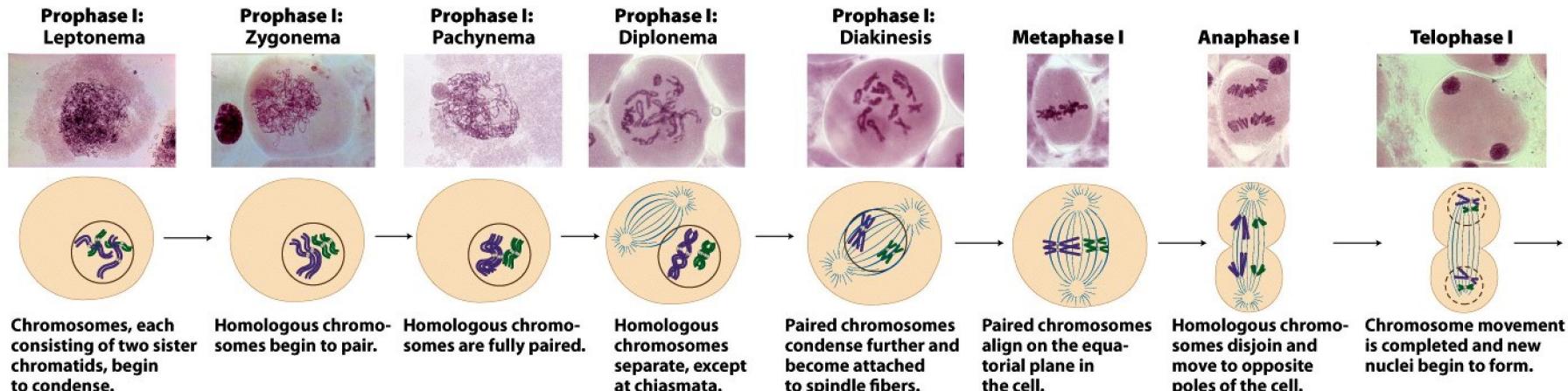


Meióza

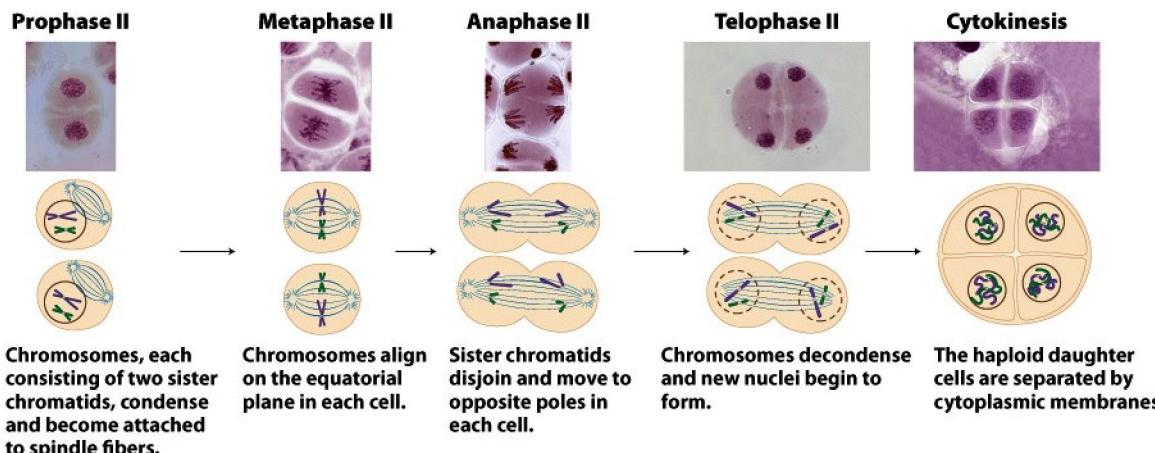
Pohlavné rozmnožovanie zahŕňa mechanizmus redukcie počtu chromozómov na polovicu.

Vznik buniek s haploidným počtom chromozómov, 2 delenia, 1 DNA replikácia (→pohlavné bunky)

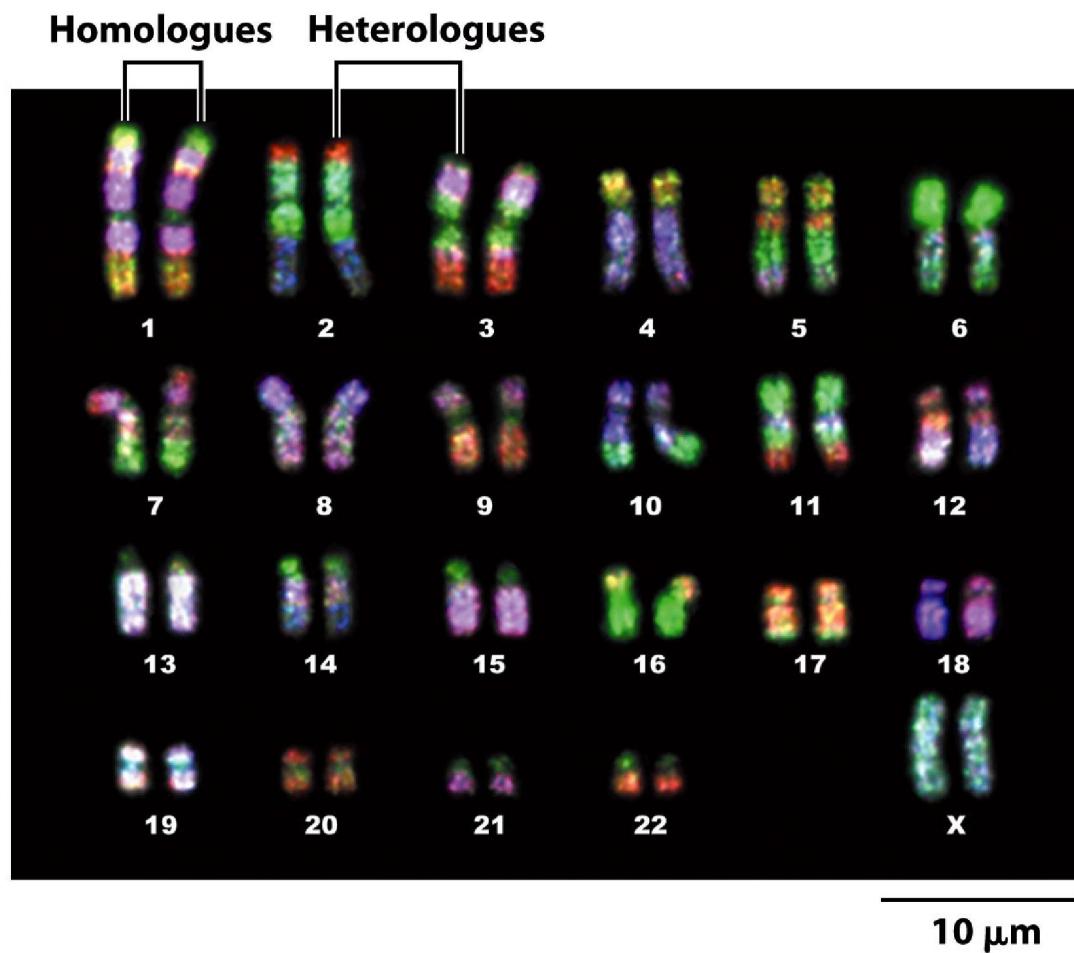
MEIOSIS I



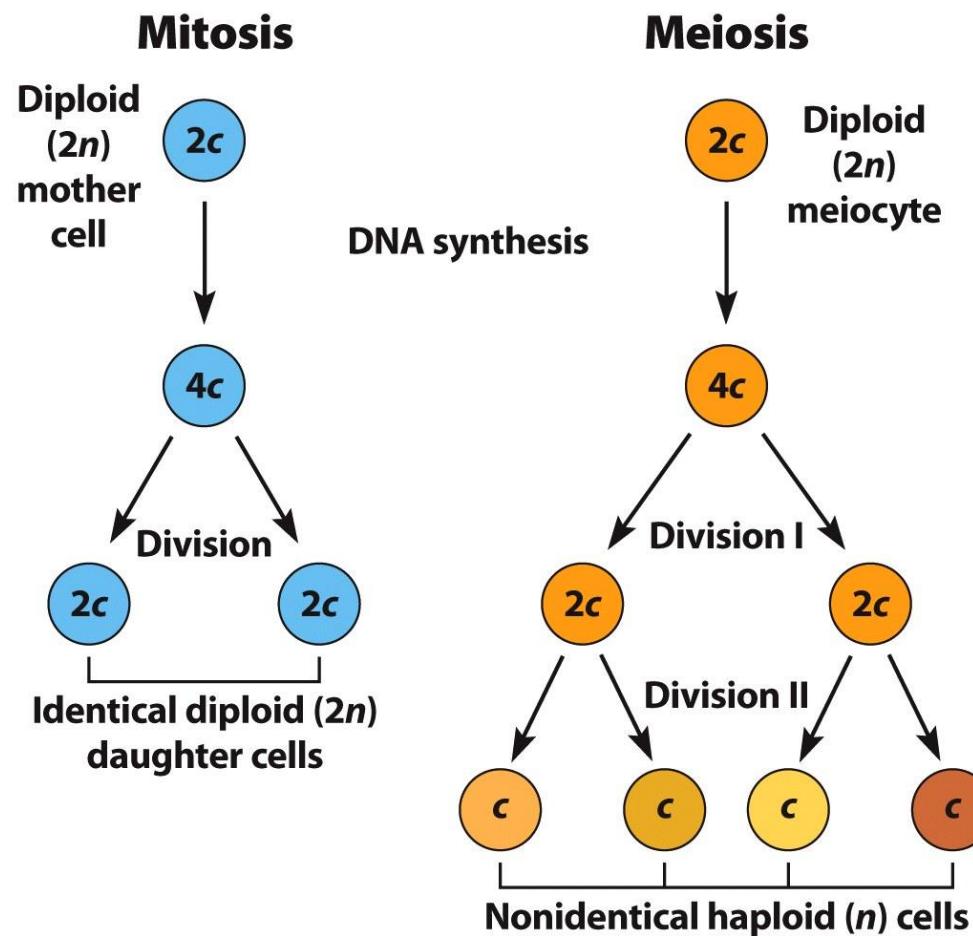
MEIOSIS II



Homology



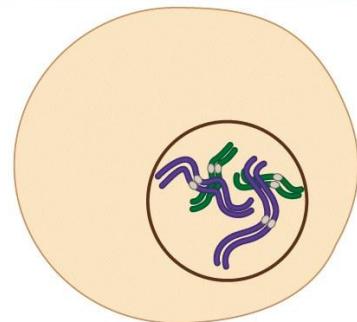
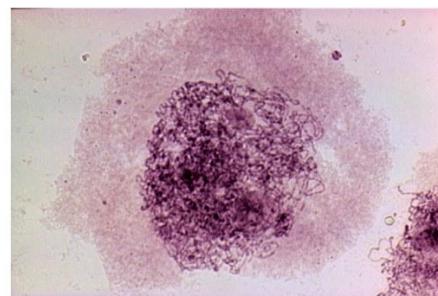
Mitóza vs. Meióza



Profáza I: Leptonema

MEIOSIS I

Prophase I: Leptonema

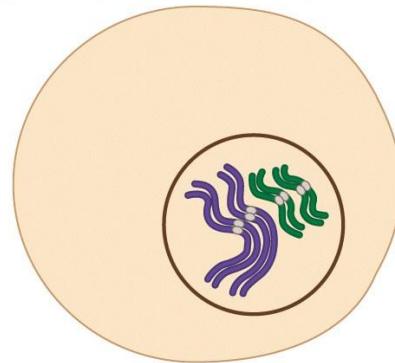
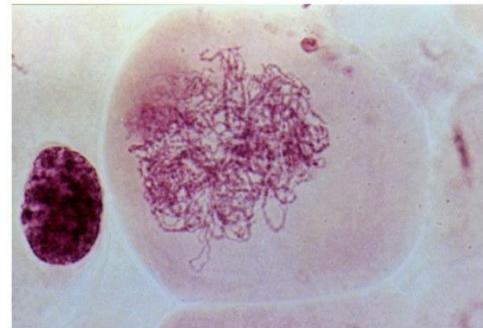


Chromosomes, each consisting of two sister chromatids, begin to condense.

- ▶ Chromozómy (každý tvorený dvoma chromatidami) sa kondenzujú

Prophase I: Zygōnema

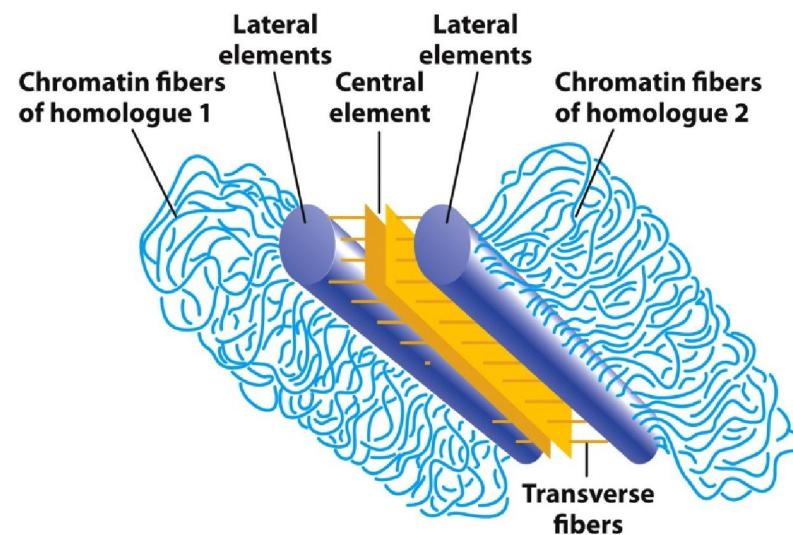
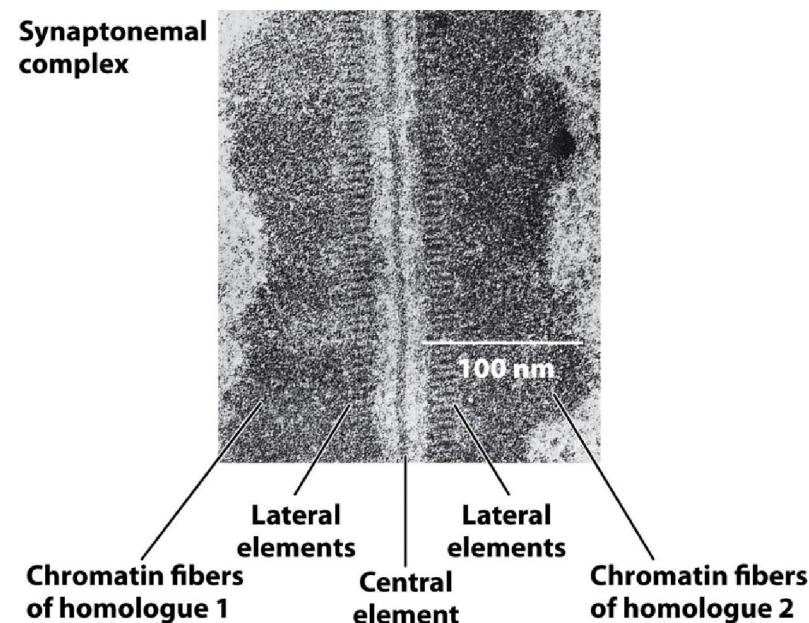
Prophase I: Zygōnema



Homologous chromosomes begin to pair.

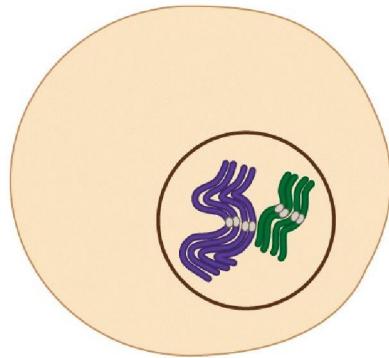
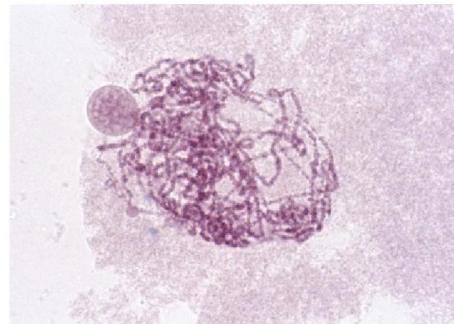
- ▶ Párovanie homologických chromozómov
- ▶ Synaptonemálny komplex

The Synaptonemal Complex



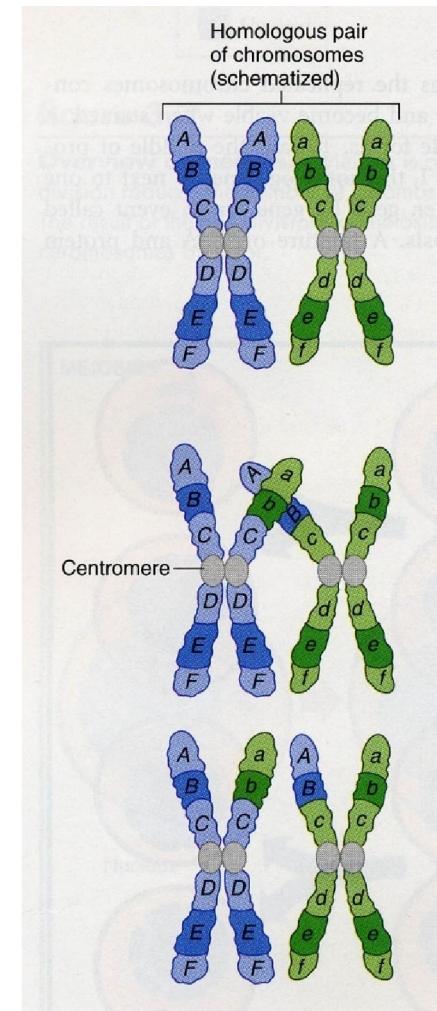
Prophase I: Pachynema

Prophase I: Pachynema



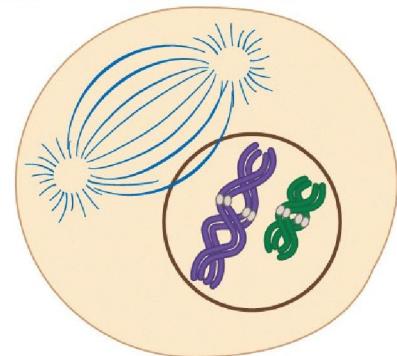
**Homologous chromosomes
are fully paired.**

- ▶ Pokračovanie špiralizácie chromozómov
- ▶ tvorba bivalentov
- ▶ Crossing over

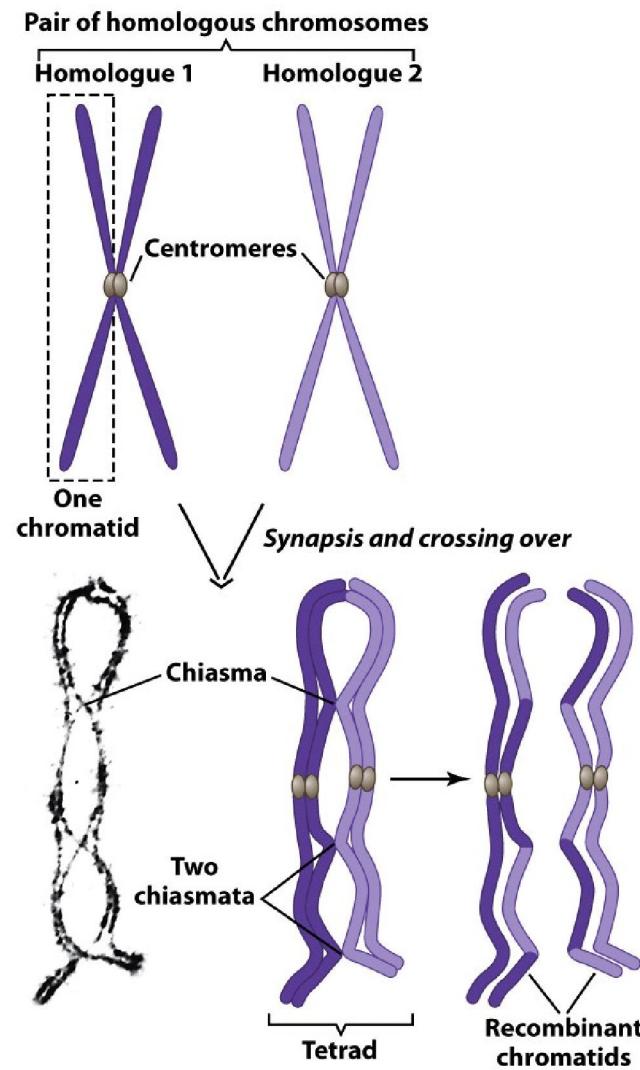


Profáza I: Diplonema

Prophase I: Diplonema

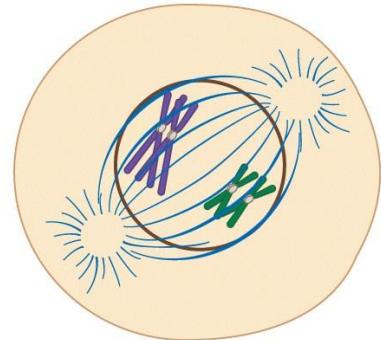


Homologous chromosomes separate, except at chiasmata.



Profáza I: Diakinéza

Prophase I: Diakinesis

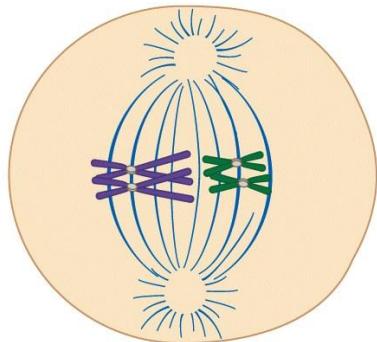


Paired chromosomes condense further and become attached to spindle fibers.

- ▶ Rozpad jadrovej membrány
- ▶ Pripojenie vláken deliaceho vretienka ku kinetochórom
- ▶ Pohyb chromozómov do ekvatoriálnej roviny

Metafáza I

Metaphase I

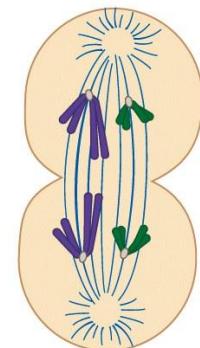


Paired chromosomes align on the equatorial plane in the cell.

- ▶ Spárované chromozómy sú usporiadané v ekvatoriálnej rovine
- ▶ Terminalizácia chiaziem: chiazmy putujú smerom k teloméram

Anafáza I

Anaphase I

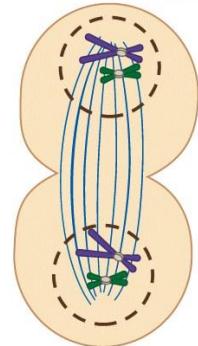
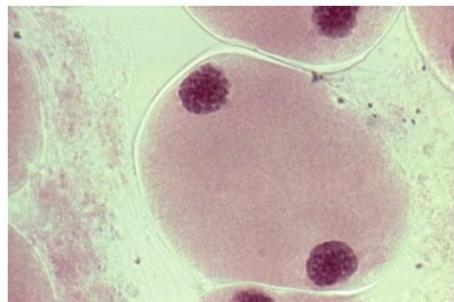


**Homologous chromosomes
disjoin and move to opposite
poles of the cell.**

- ▶ Rozdelenie chromozómov
- ▶ Pohyb chromozómov k opačným pólom bunky
- ▶ REDUKCIA!!!

Telofáza I

Telophase I

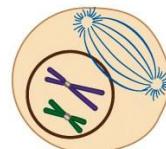
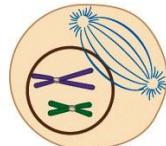


Chromosome movement is completed and new nuclei begin to form.

- ▶ Chromozómy na póloch bunky
- ▶ Vytvorenie jadier
- ▶ Rozpad deliaceho vretienka
- ▶ Oddelenie dcérskych buniek
- ▶ Dekondenzácia chromozómov
- ▶ Každý chromozóm má 2 chromatidy

Profáza II

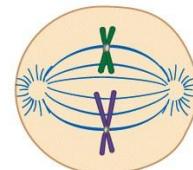
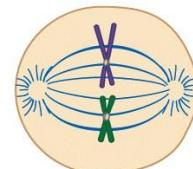
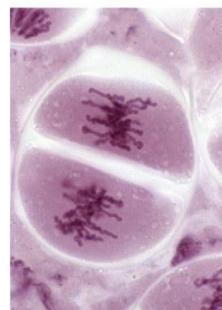
MEIOSIS II Prophase II



Chromosomes, each consisting of two sister chromatids, condense and become attached to spindle fibers.

Metafáza II

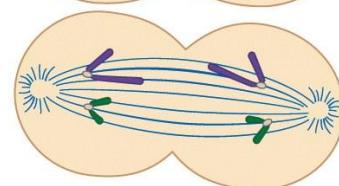
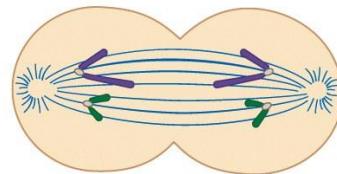
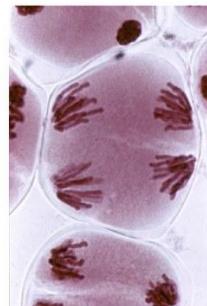
Metaphase II



Chromosomes align on the equatorial plane in each cell.

Anafáza II

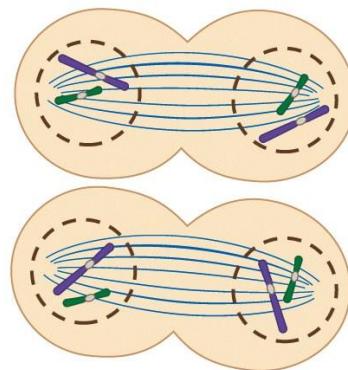
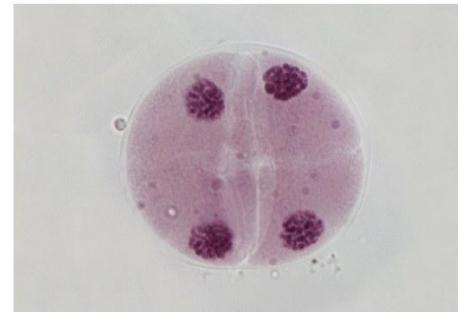
Anaphase II



**Sister chromatids disjoin
and move to opposite poles
in each cell.**

Telofáza II

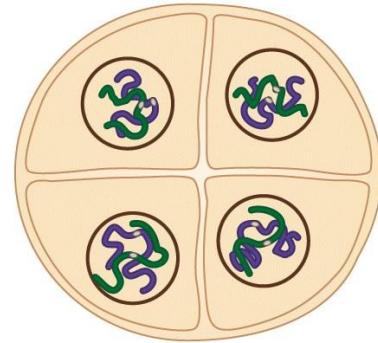
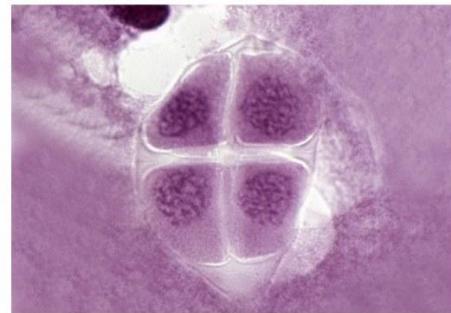
Telophase II



**Chromosomes decondense
and new nuclei begin to form.**

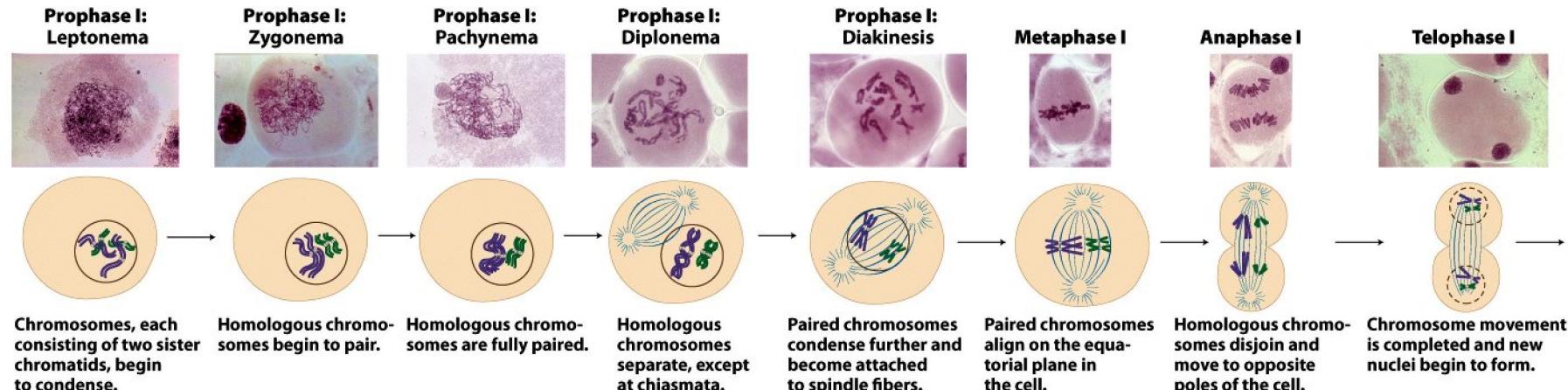
Cytokinéza

Cytokinesis

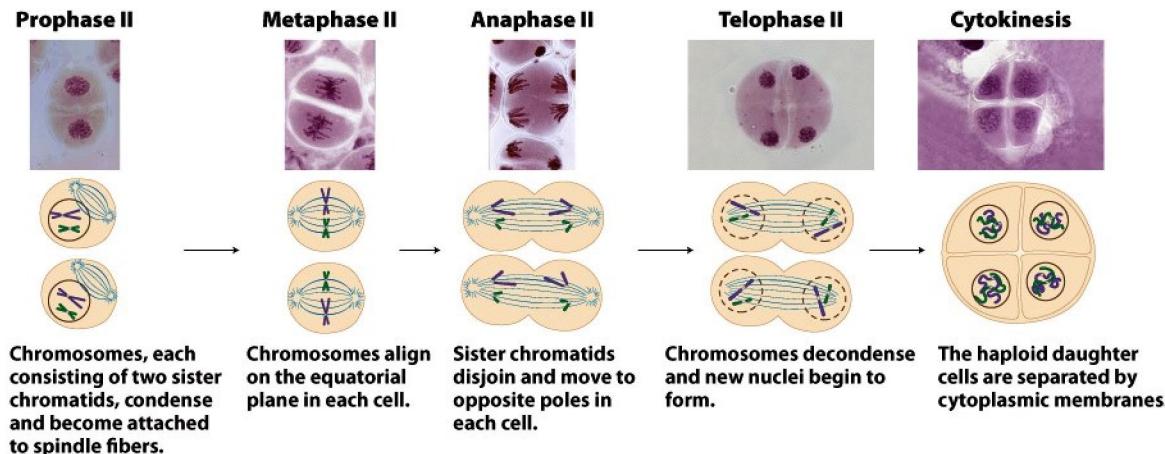


**The haploid daughter
cells are separated by
cytoplasmic membranes.**

MEIOSIS I



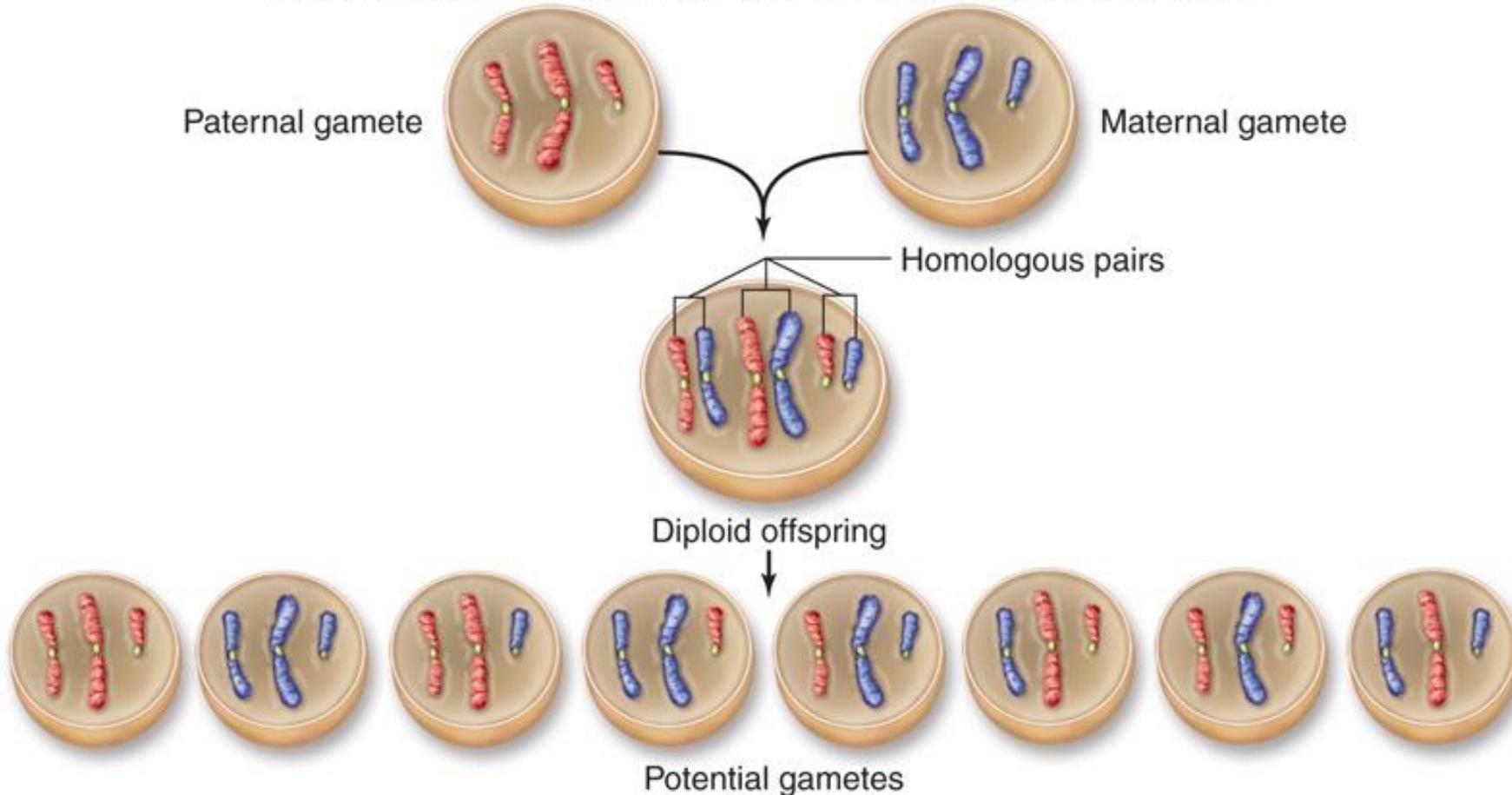
MEIOSIS II

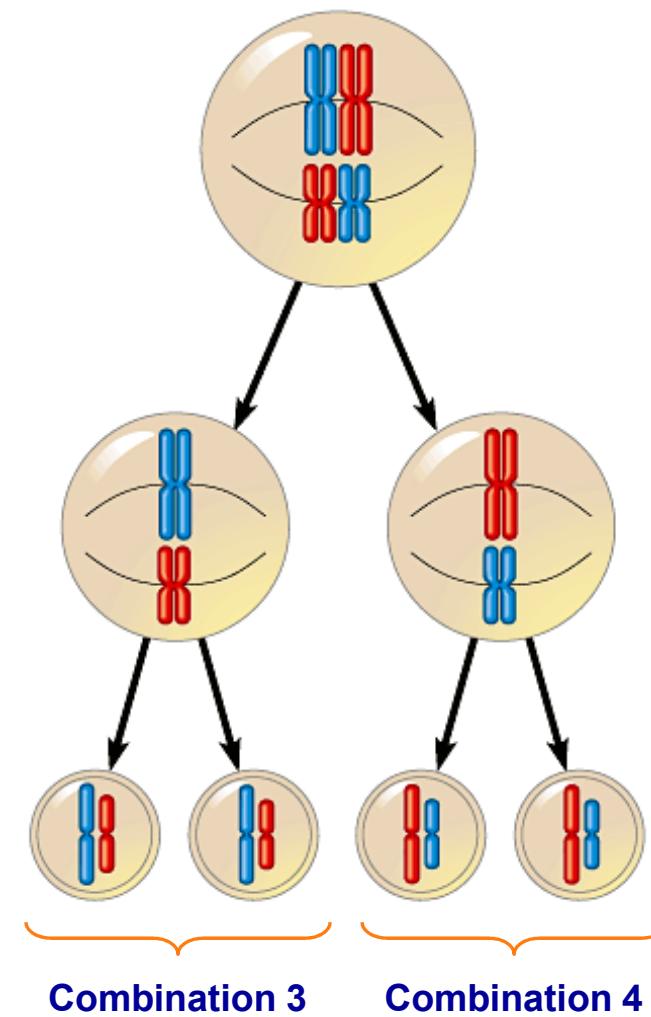
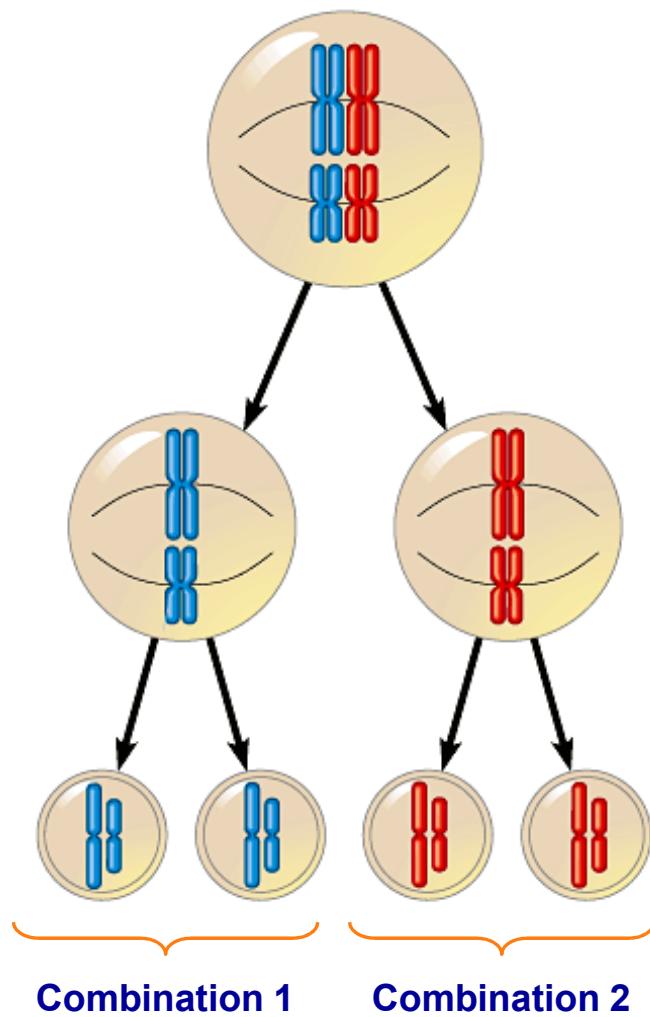


Dcérske bunky NIE SÚ geneticky identické!

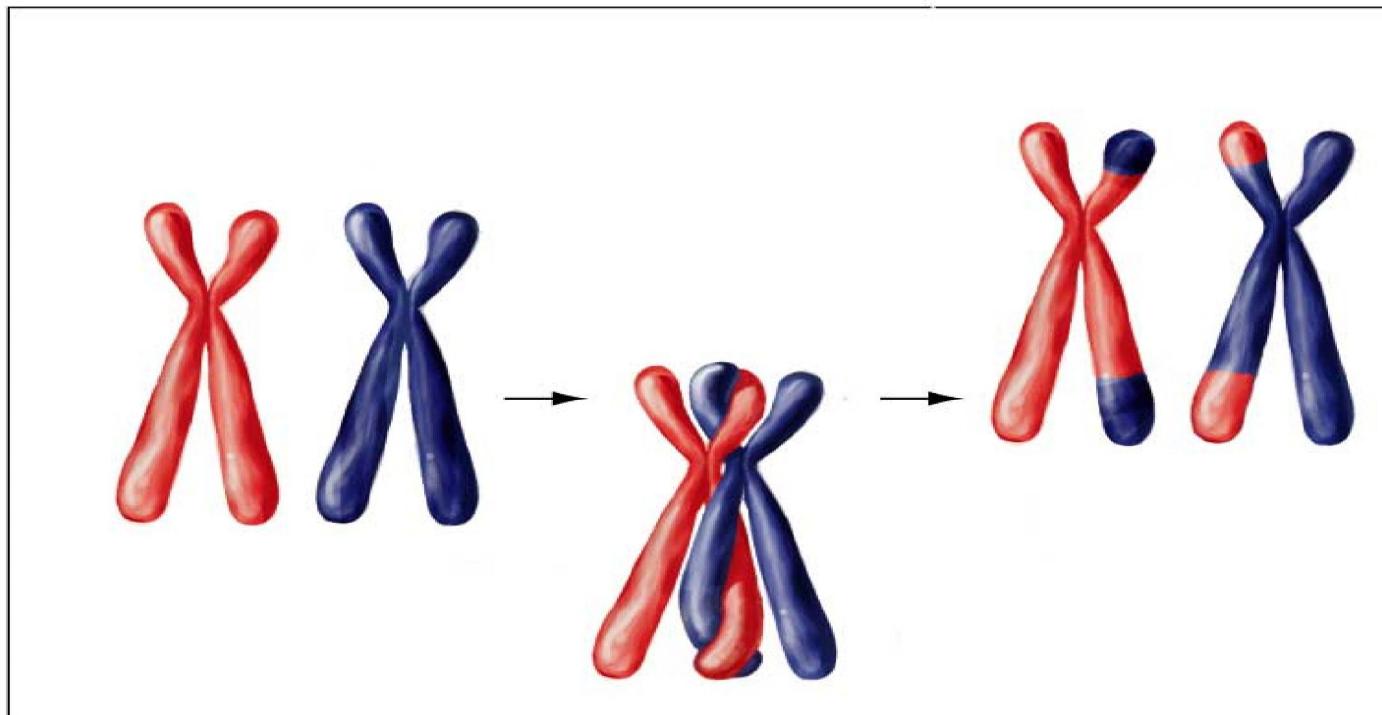
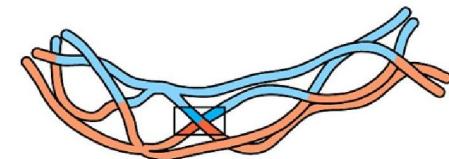
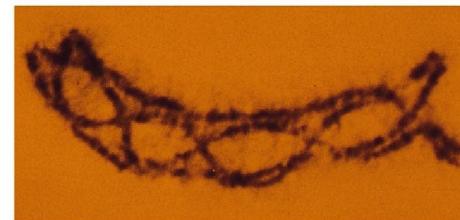
- ▶ Materské a otcovské homológy sa párujú a potom rozchádzajú. Rozchod je náhodný = vznik rôznych kombinácií materských a otcovských chromozómov.
počet možných kombinácií 2^n , kde n je počet chromozómových párov (u človeka viac ako 4 milióny kombinácií + homologické chromozómy nie sú geneticky identické...)
- ▶ Homologické chromozómy si vymieňajú materiál v procese crossing overu – zvýšenie variability.

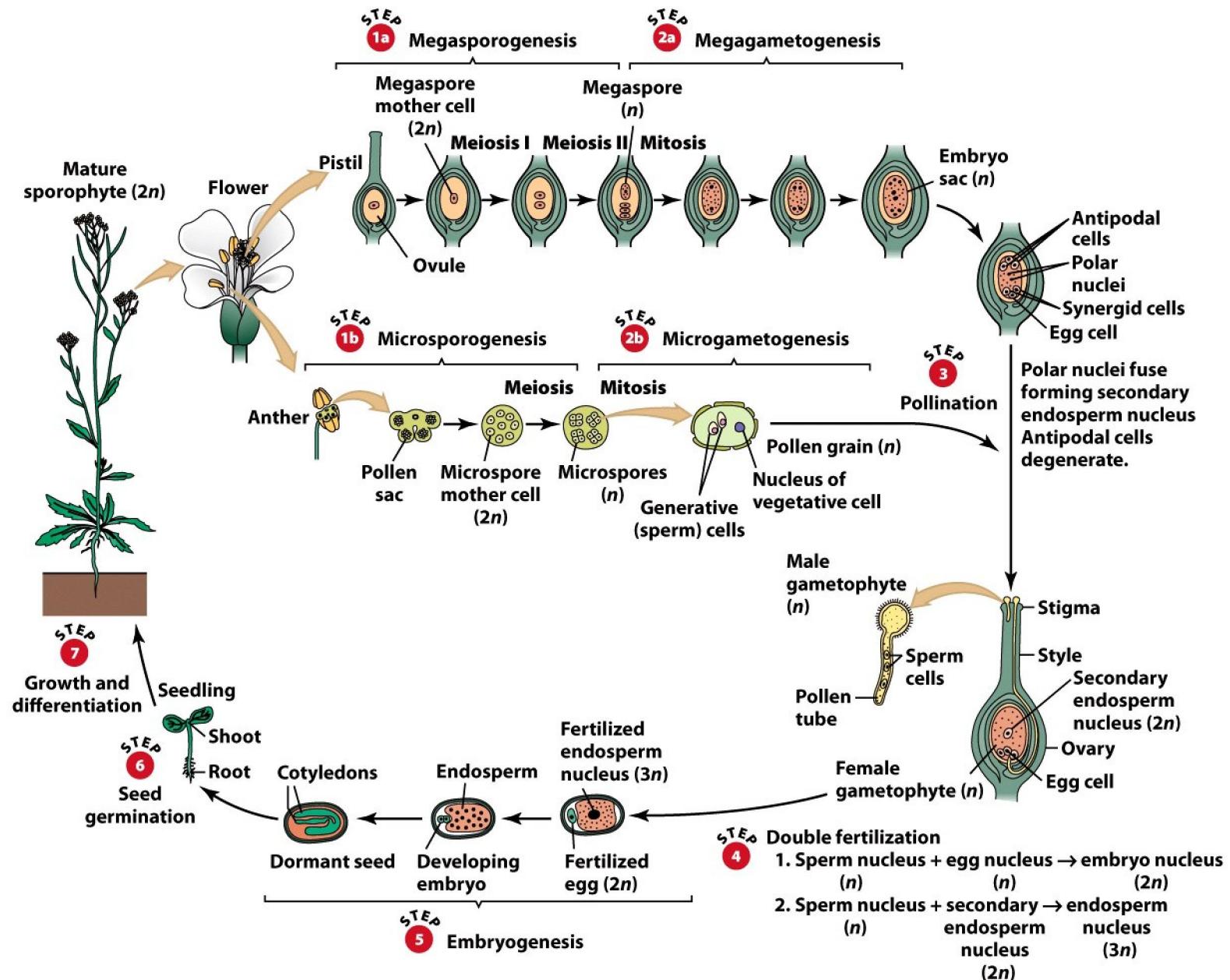
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



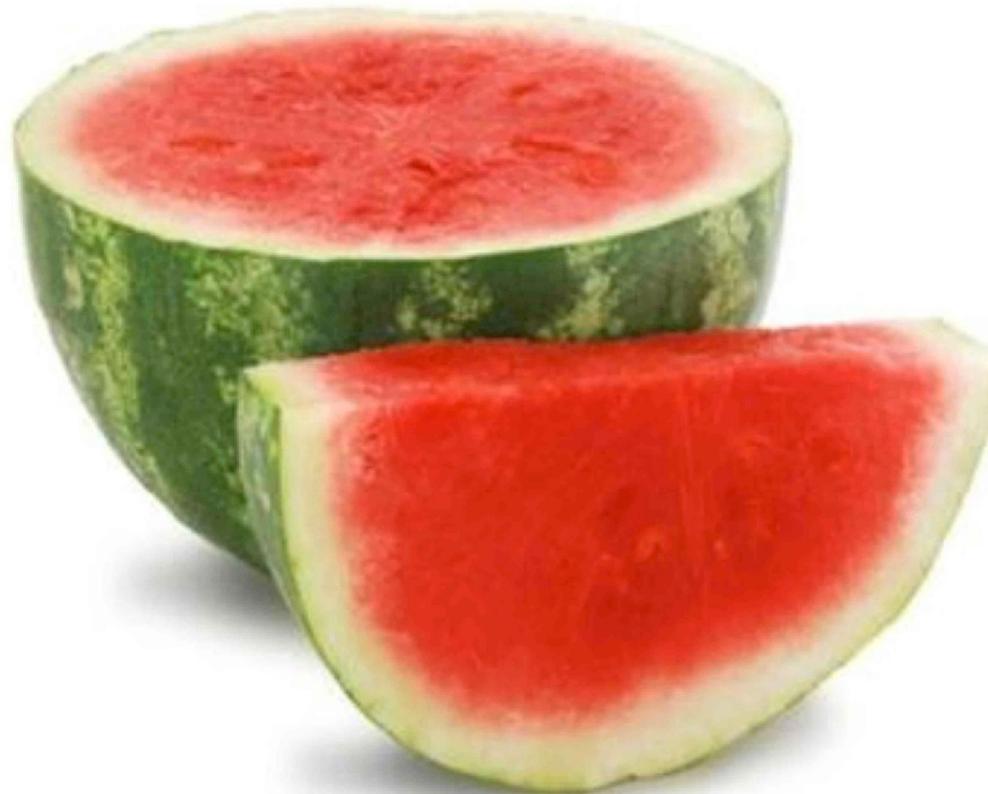


Crossing over
zvyšuje variabilitu



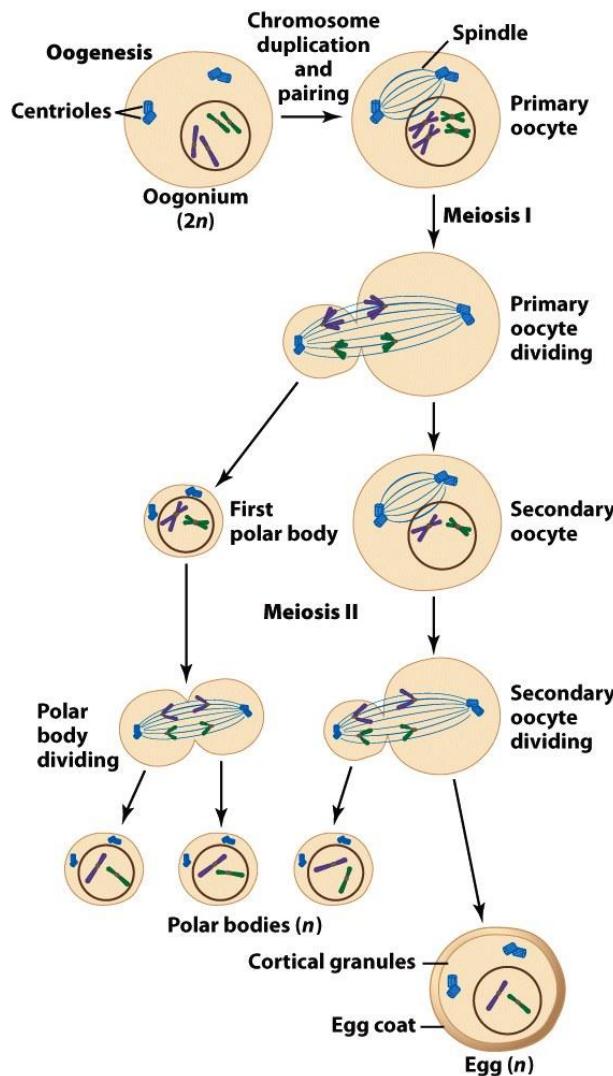


A seedless watermelon is a sterile hybrid which is created by crossing male pollen for a watermelon, containing 22 chromosomes per cell, with a female watermelon flower with 44 chromosomes per cell.

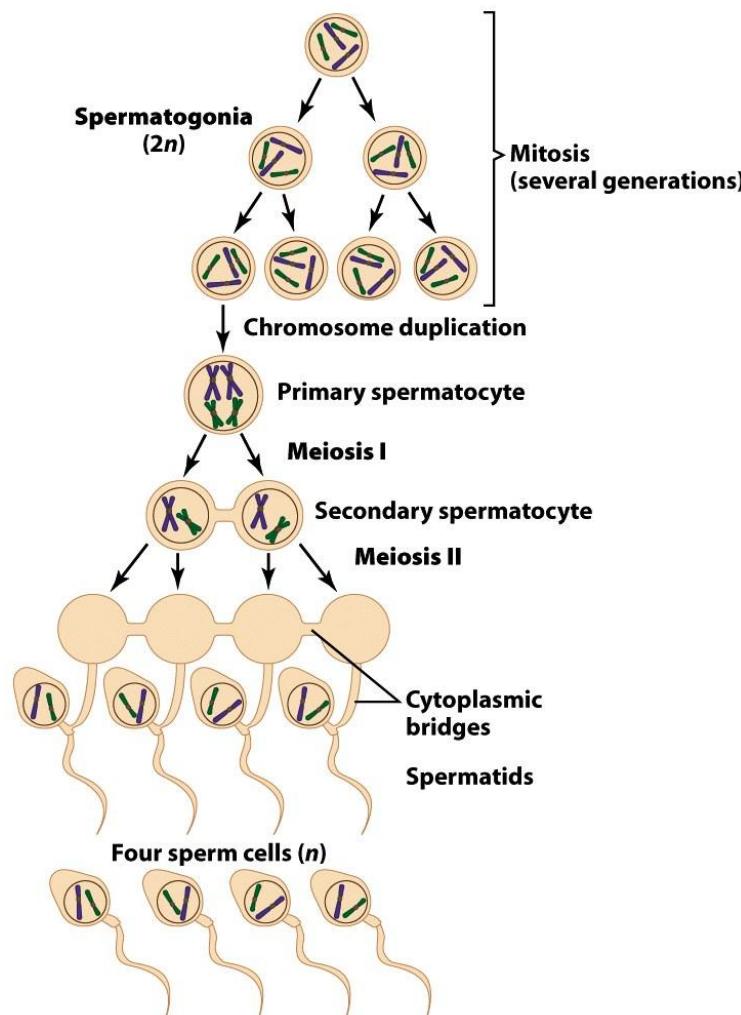




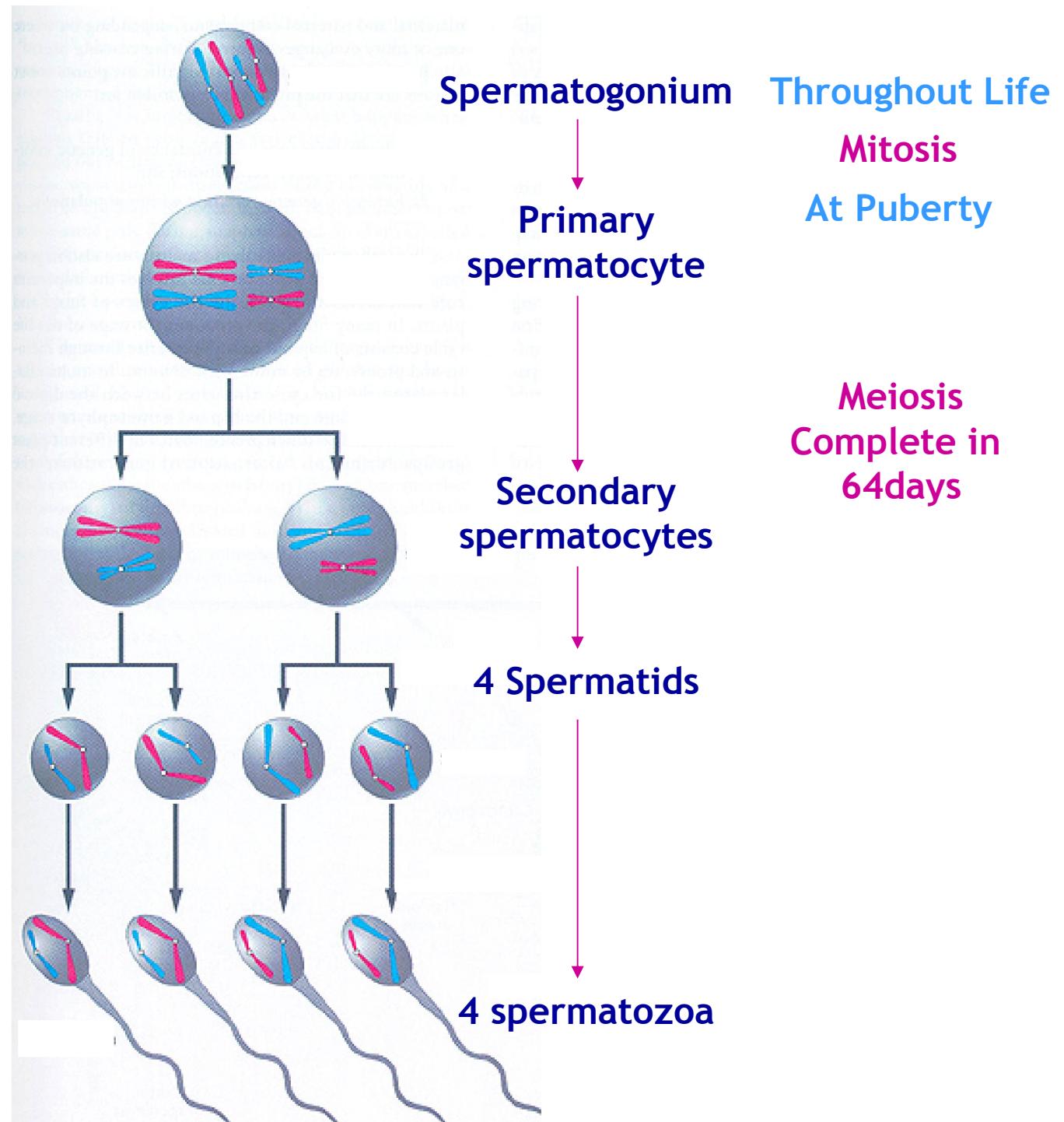
Oogenéza u cicavcov



Spermatogenéza u cicavcov



Muži



Ženy

Fetal period

Before or at birth

Meiosis in progress

After birth

Arrested in
diplotene
of Meiosis I

After puberty

Meiosis I
complete

Arrest at
Metaphase II

At fertilization

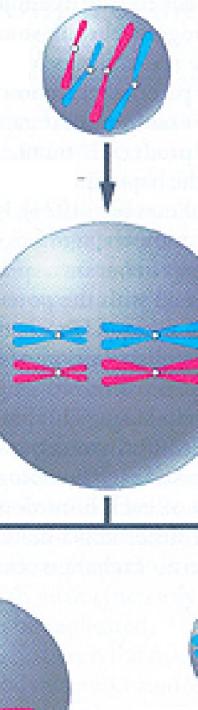
Meiosis II
complete

Oogonium

Primary Oocyte

Secondary Oocyte & Polar Body I

Fertilized Ovum & Polar body II



Rozdiely v gametogenéze

Muži

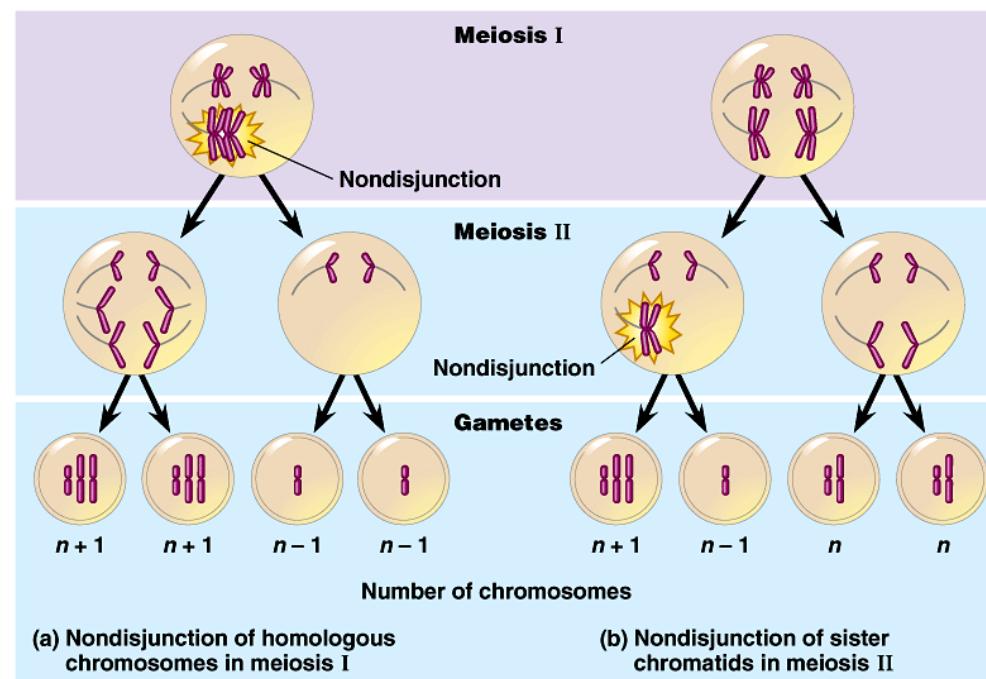
- ▶ Od puberty
- ▶ 60-65 dní
- ▶ 100-200 miliónov spermií v ejakuláte

Ženy

- ▶ Počas skorého embryonálneho vývinu
- ▶ 10-50 rokov
- ▶ 1 vajíčko počas jedného menštruačného cyklu

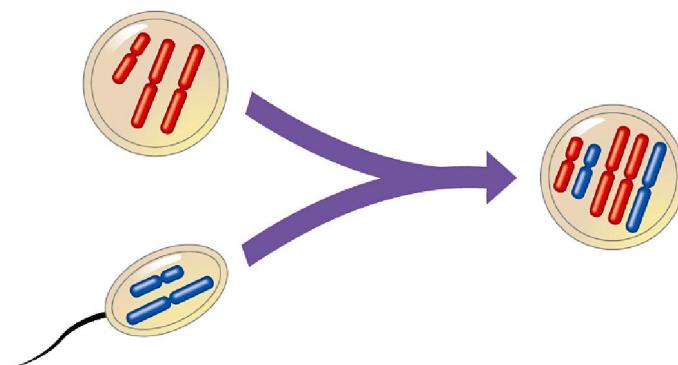
Zmeny v počte chromozómov

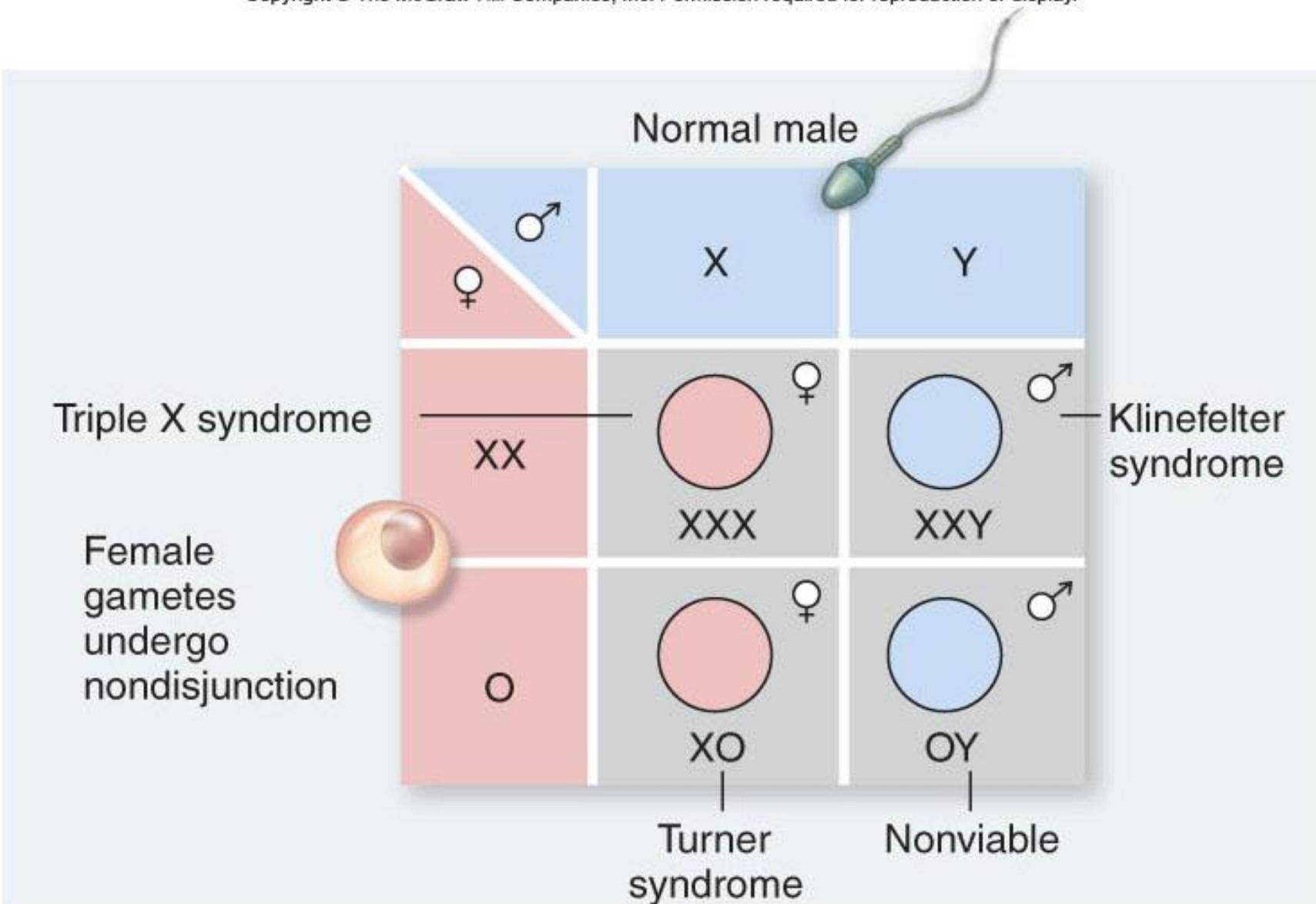
- ▶ Nondisjunkcia - problém s deliacim vretienkom spôsobí chybný rozchod chromozómov
 - ▶ v meióze I
 - ▶ v meióze II



Dôsledky nondisjunkcie

- Trizómia – bunky obsahujú 3 kópie určitého chromozómu ($2n + 1$)
- Monozómia – bunky obsahujú iba jednu kópiu určitého chromozómu ($2n - 1$), u ľudí len monozómia pohlavného chromozómu X.

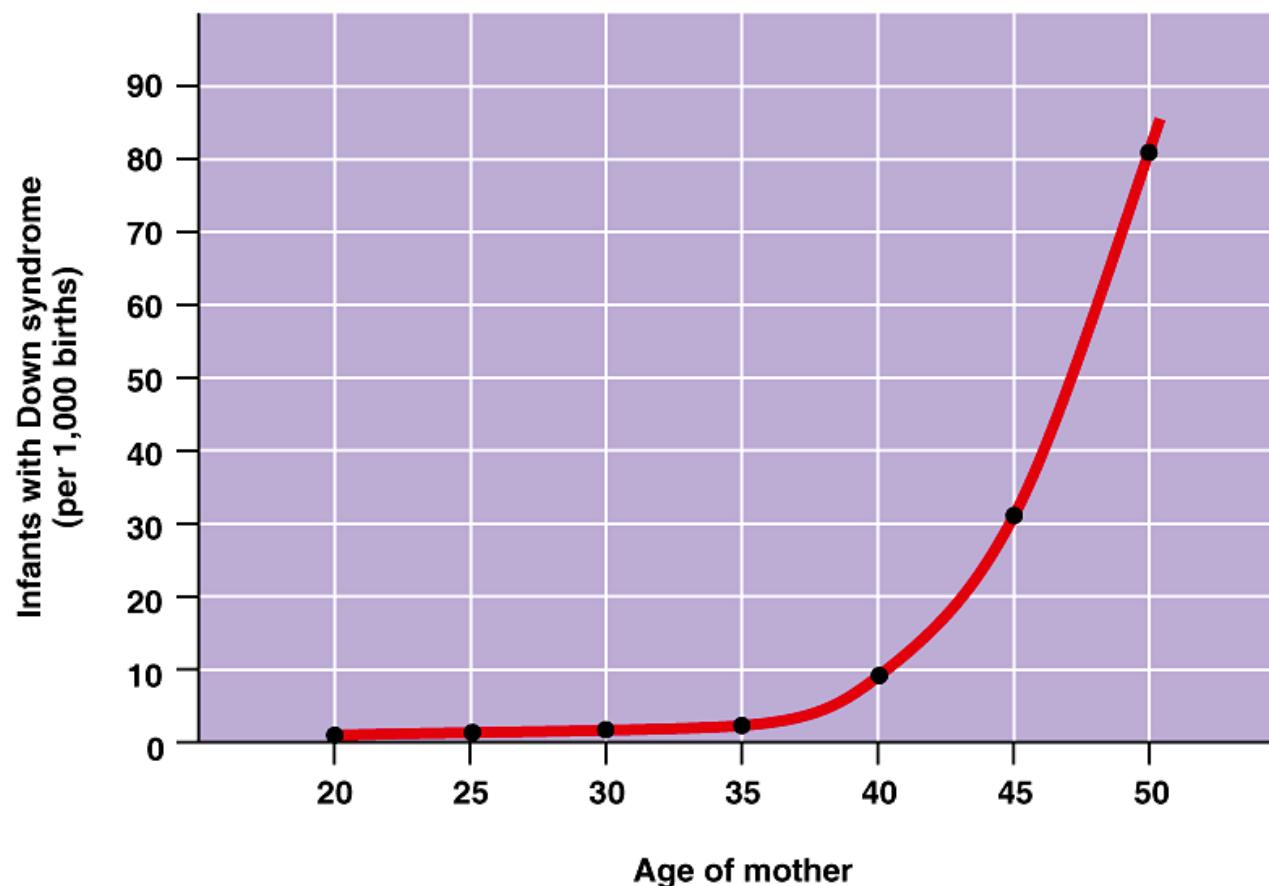




Aneuploidia

- ▶ Niektoré chromozómy vykazujú non-disjunkciu v oocytoch
- ▶ 13, 18, 21 spojené s vekom
- ▶ 16 a X iba počas prvého meiotického delenia spojené s vekom
- ▶ Väčšina je nezlučiteľná so životom (potraty)

Pravdepodobnosť trizómie v závislosti od veku matky



Otcovský pôvod aneuploidie

	Paternálny %	Maternálny%
Trizómia13	15	85
Trizómia18	10	90
Trizómia21	5	95
45,X	80	20
47,XXX	5	95
47,XXY	45	55
47,XYY	100	0