

2. Štruktúra a dynamika chromozómov.

- Prokaryotické, eukaryotické a organelové chromozómy.
- DNA a proteínové komponenty chromozómov.
- Replikačné stratégie DNA. Experimenty Meselsona a Stahla. Semikonzervatívny mechanizmus syntézy DNA. Iniciácia, elongácia a terminácia replikácie (replikačné počiatky, replikačné bubliny). Okazakiho fragmenty, leading a lagging vlákno). Replizóm.
- Poškodenia chromozomálnej DNA. Príčiny vzniku spontánnych mutácií.
- Reparačné mechanizmy (fotoreaktivácia, bázová a nukleotidová excízna reparácia, rekombinačná oprava). Ochorenia spôsobené defektmi v oprave DNA.
- Kľúčové enzýmy v replikácii, rekombinácii a reparácii DNA: DNA polymerázy, primázy, ligázy, helikázy, topoizomerázy, ssb proteíny.



Chromozóm - *gr. chroma* + *soma*



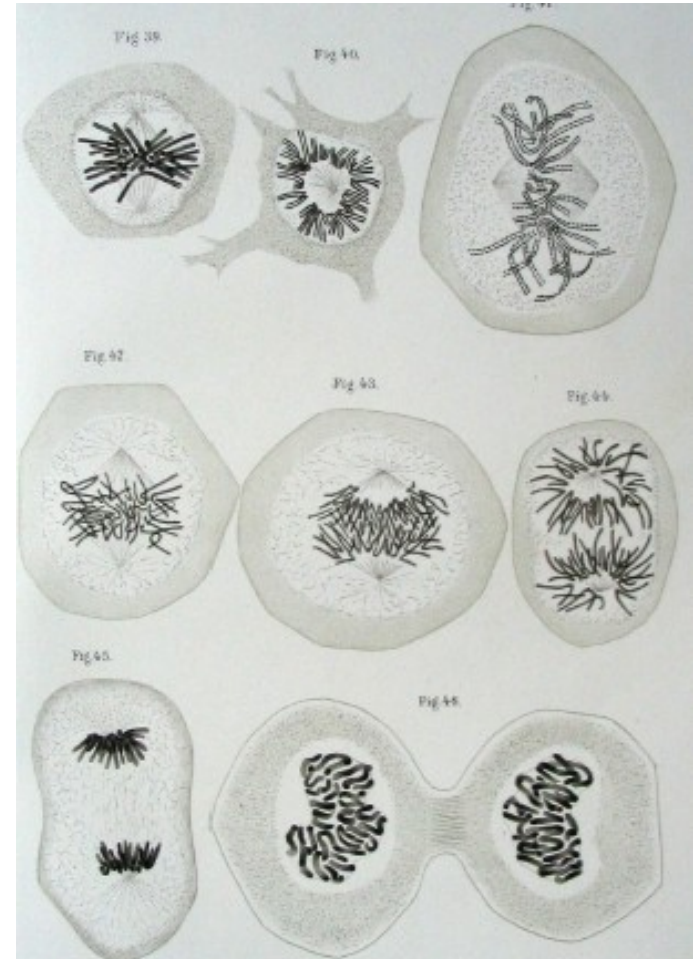
Heinrich W.G. von Waldeyer-Hartz
(1836-1921)

chromozóm



Walther Flemming
(1843-1905)

chromatín
↓
chromozómy
↓
chromatín



Flemming W. (1882)
Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung

Chromozómová teória dedičnosti (Boveri-Suttonova teória)



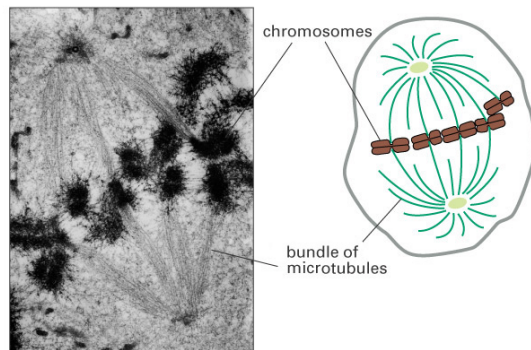
Theodor Heinrich Boveri
(1862-1915)



Walter S. Sutton
(1877-1916)



Thomas Hunt Morgan
(1866-1945)

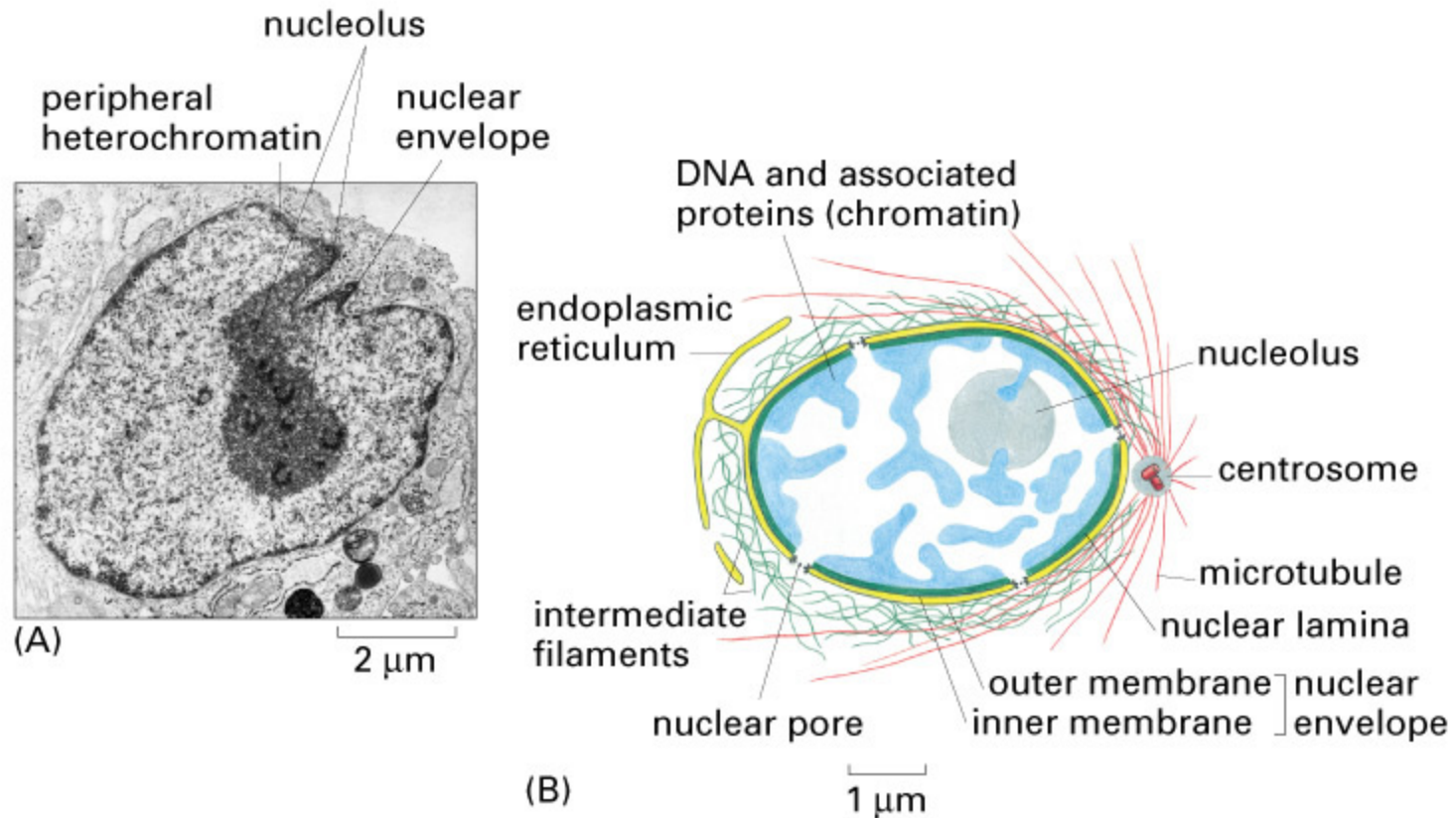


Experimentálny dôkaz chromozómovej teórie

Nobel Prize in Physiology or Medicine (1933)
*"for his discoveries concerning the role played
by the chromosome in heredity"*

[Nobelprize.org](https://www.nobelprize.org)

Bunkové jadro (*nucleus*) - eukaryoty



Nukleoid - prokaryoty, organelly (mitochondrie, plastidy)

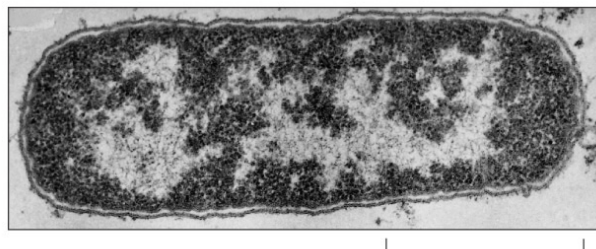


Figure 1-11 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

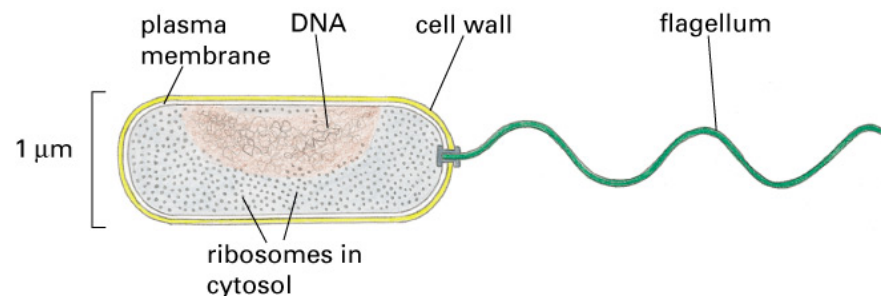


Figure 1-18 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Prokaryotický chromozóm

- Bunky prokaryotov obsahujú (väčšinou) jednu cirkulárnu molekulu DNA
- Kondenzáciu DNA zabezpečuje viacero typov proteínov (HU, H-NS, Fis, IHF)

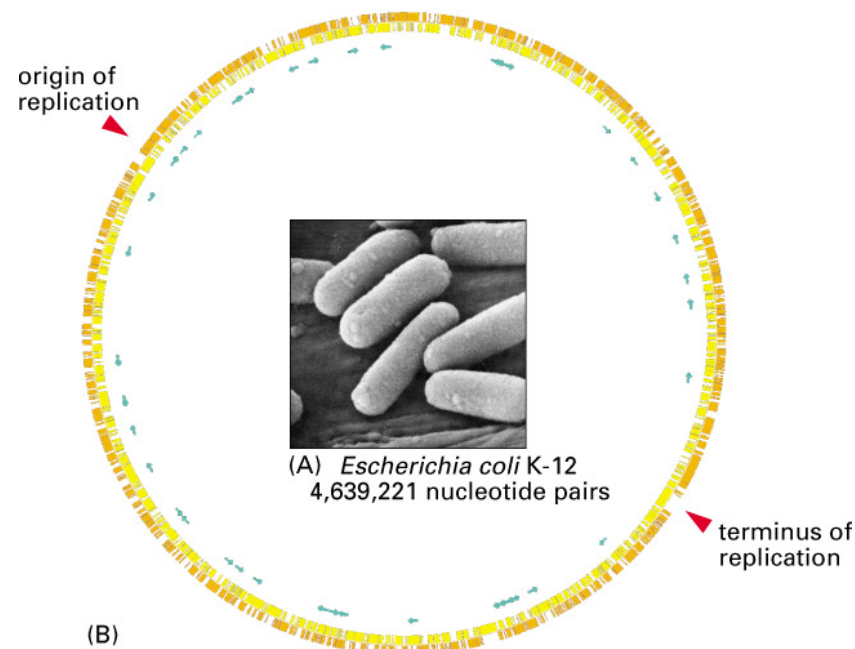
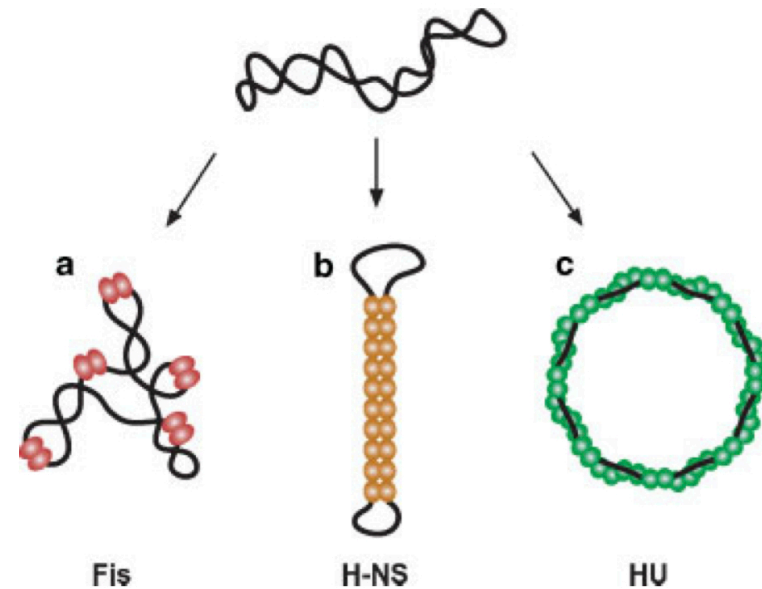


Figure 1-30. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



Thanbichler M *et al.* (2005) J Cell Biochem 96: 506-521.

$4,6 \times 10^6$ bp = ~ 1,5 mm

[bunka *E.coli* ~ 0.5 x 2 μ m]

Eukaryotický chromozóm

Bunky eukaryotov obsahujú (väčšinou) viacero chromozómov

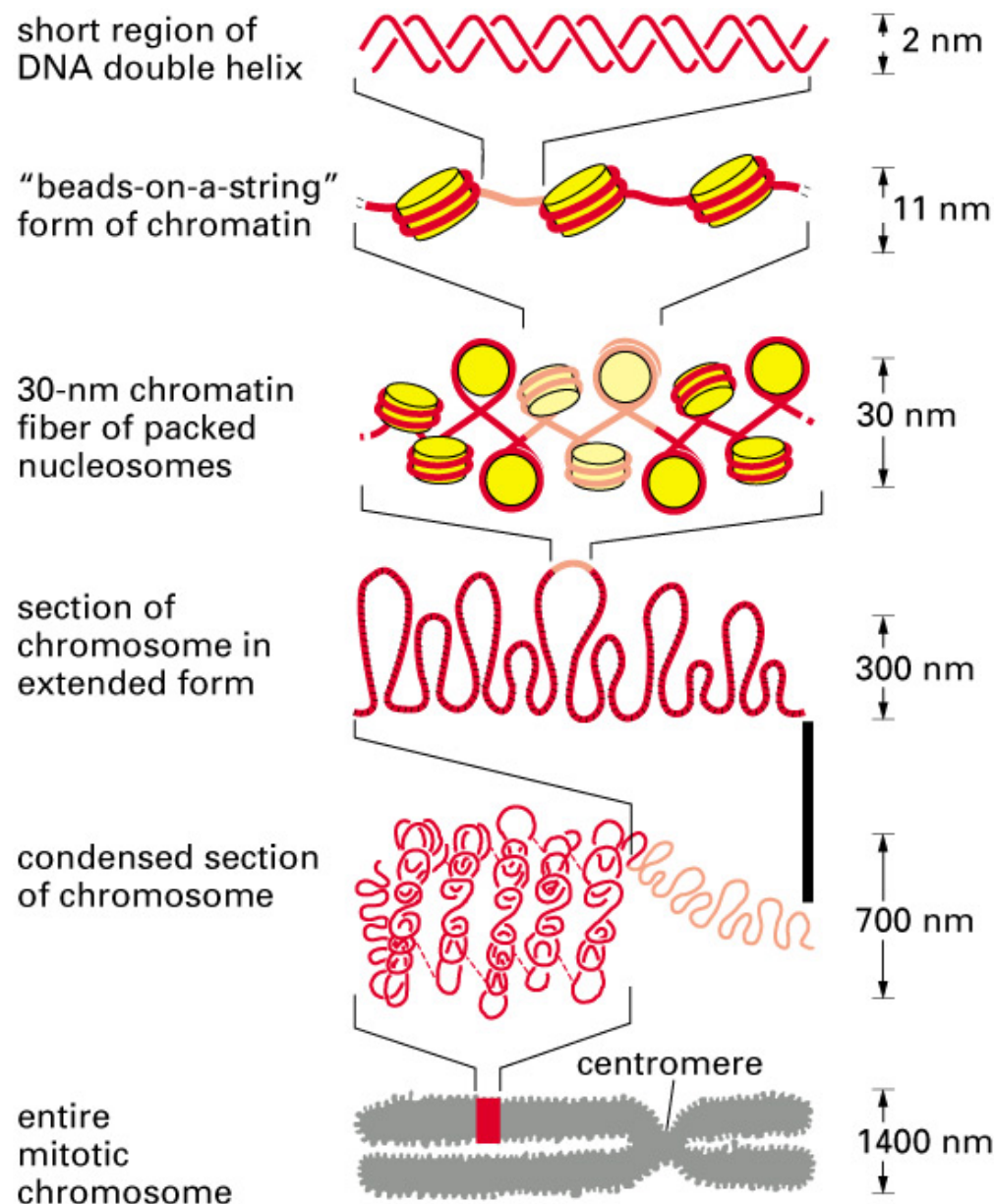
Každý chromozóm je reprezentovaný jednou lineárnou molekulou DNA

Zbaľovanie DNA do štruktúry chromozómov zabezpečujú históny a ďalšie proteíny

Nukleozóm tvoria históny:

H2A, H2B, H3, H4

H1 spája susedné nukleozómy



NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH

Figure 4-55. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Počas mitózy sú chromozómy rovnomerne distribuované do dcérskych buniek

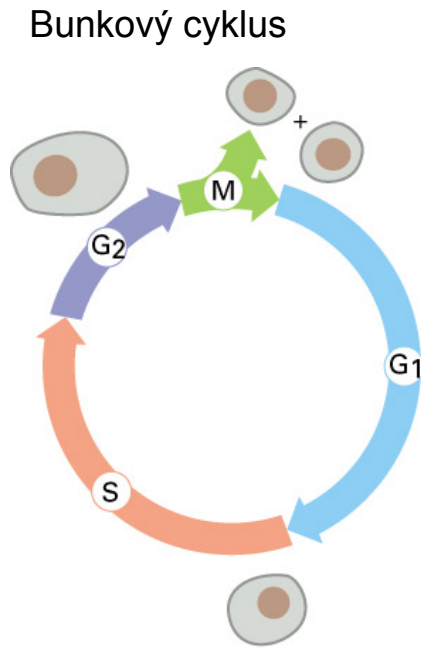


Figure 5-34. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

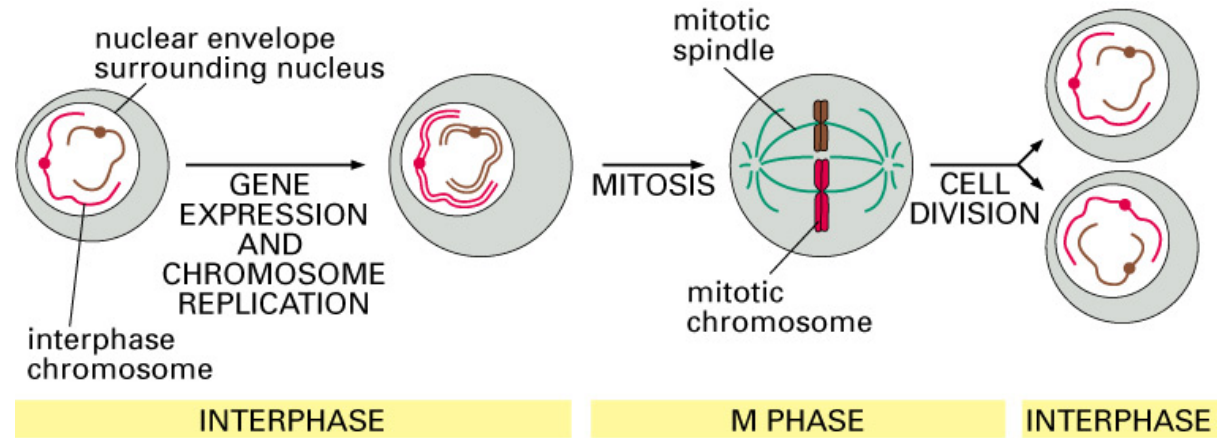


Figure 4-20. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

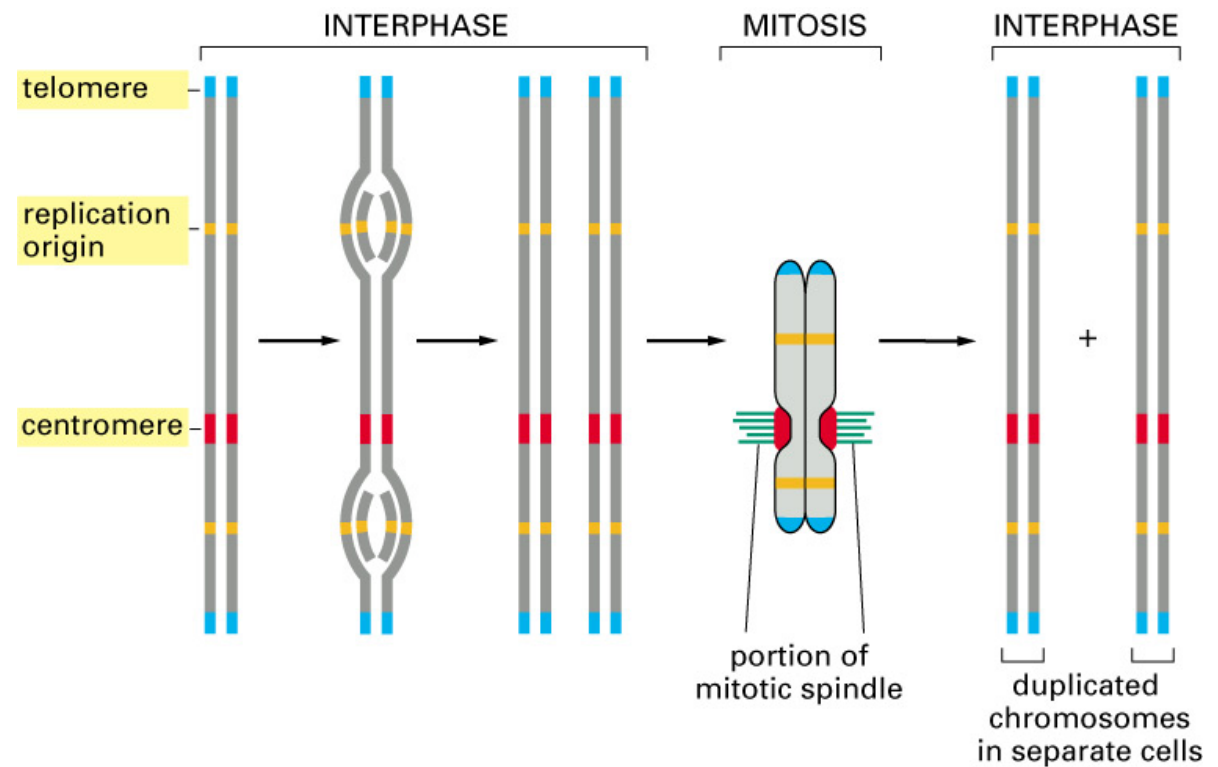


Figure 4-22. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Replikácia chromozomálnej DNA

(prebieha v S-fáze bunkového cyklu)

Syntéza DNA vyžaduje:

- templát
- primer s voľnou 3'-OH skupinou
- enzým (DNA polymeráza)
- sadu dNTP

**Syntéza prebieha na princípe komplementarity
báz a vždy v smere 5' → 3' (nové vlákno)**

DNA polymeráza

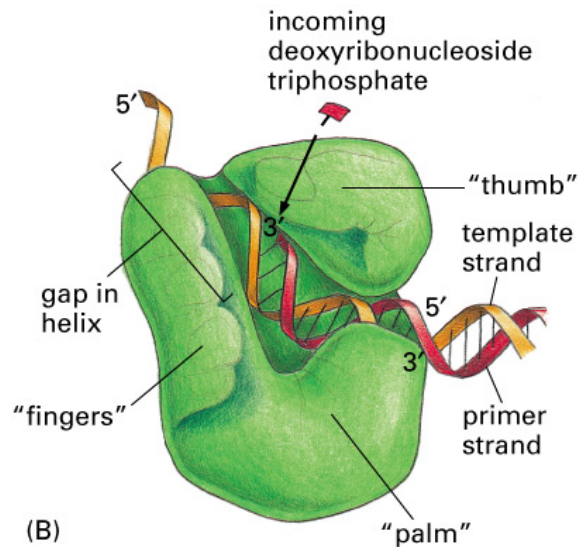


Figure 5-4 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

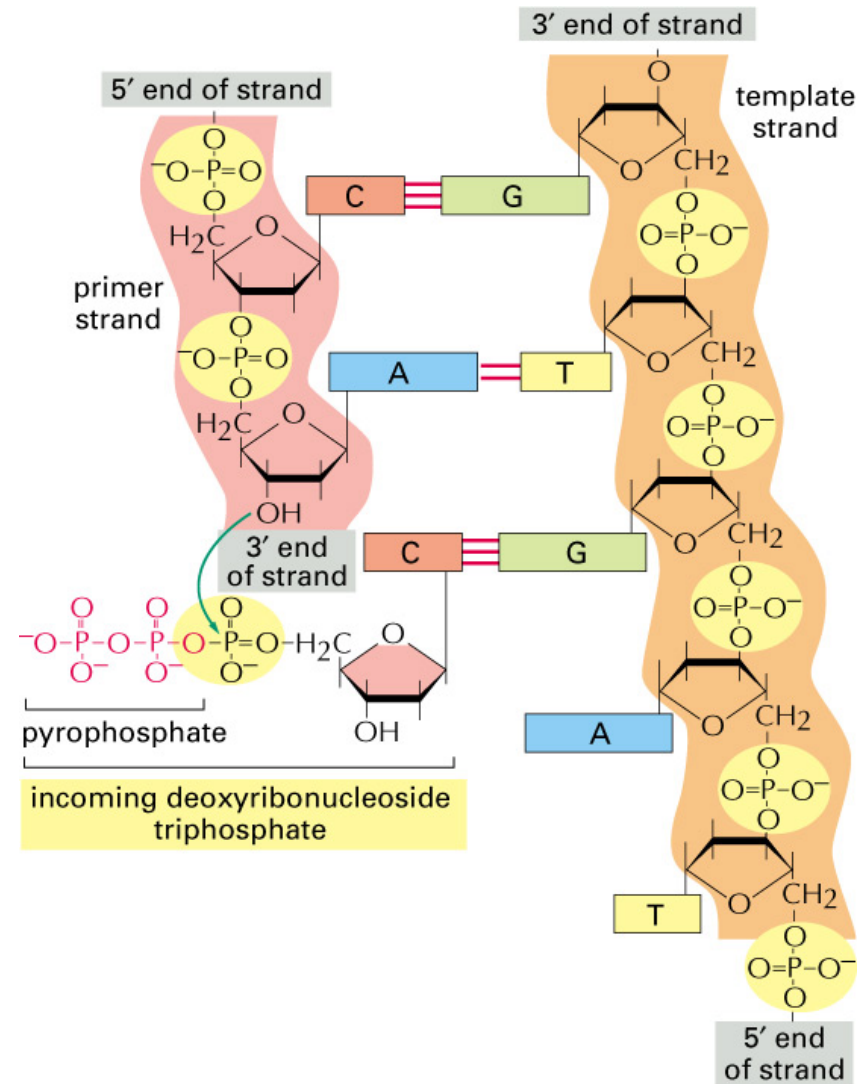


Figure 5–3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine (1959)
***"for their discovery of the mechanisms in the biological synthesis of
ribonucleic acid and deoxyribonucleic acid"***



Severo Ochoa
(1905-1993)



Arthur Kornberg
(1918-2007)

Syntéza DNA je semikonzervatívna

Experiment Meselsona a Stahla (1958)

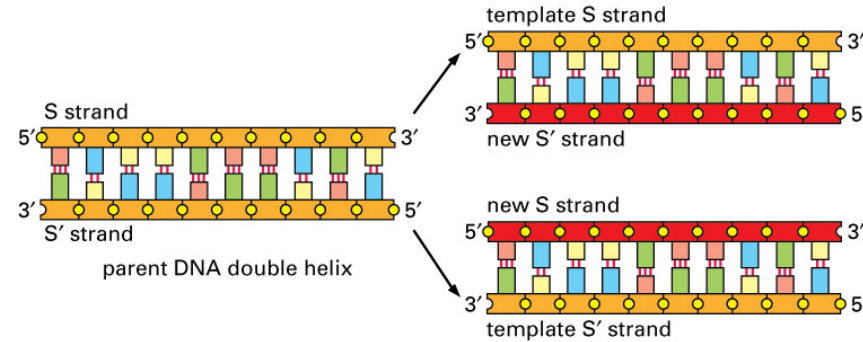
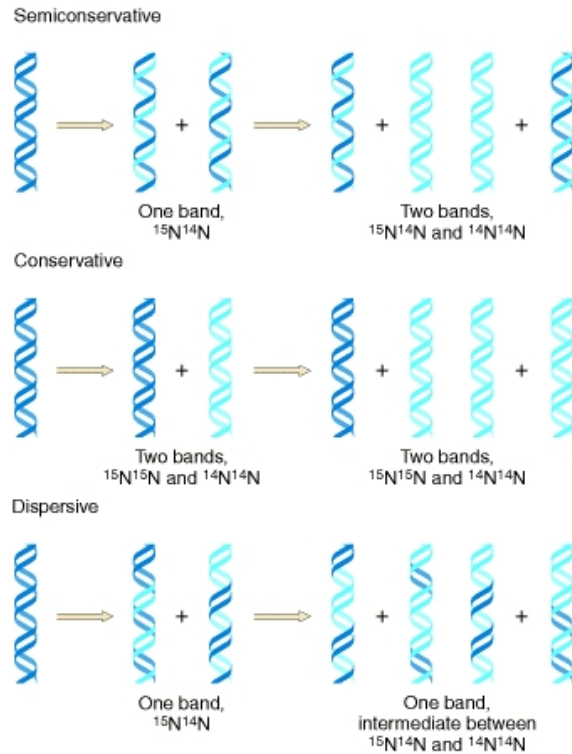
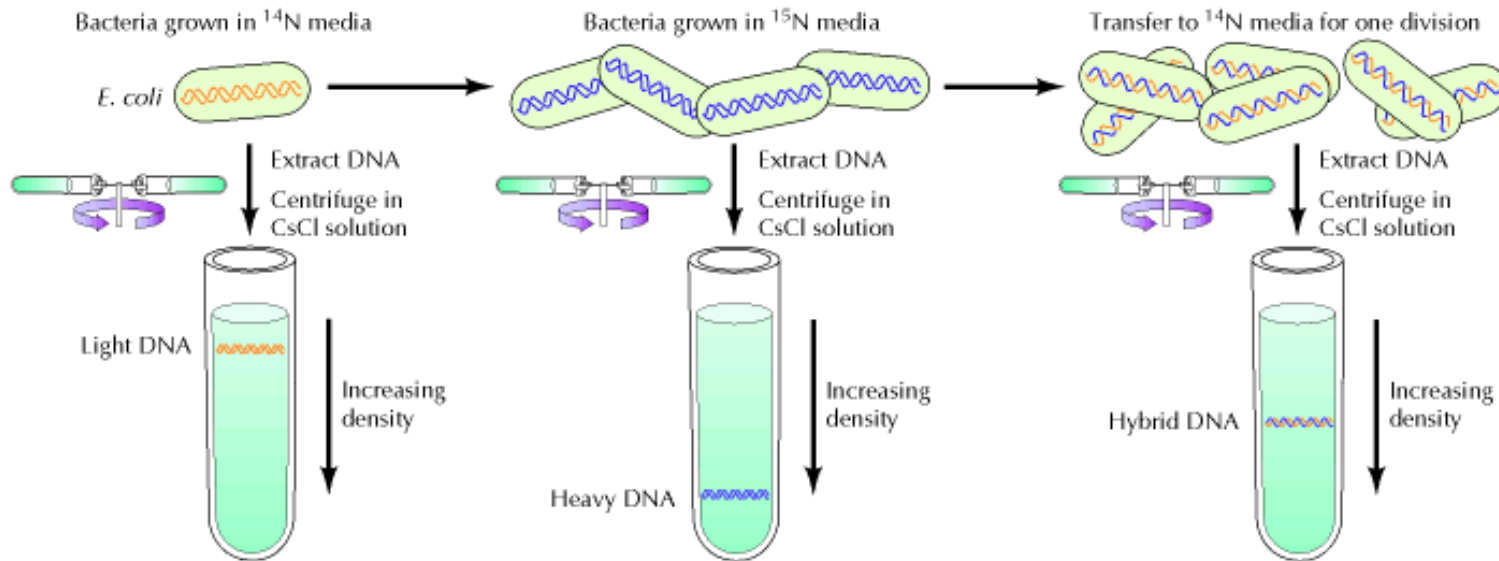


Figure 4-8. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.

Syntéza DNA prebieha v jednom reťazci kontinuálne a v druhom v krátkych úsekoch (Okazakiho fragmenty)

- vedúce (*leading*) vlákno
- zaostávajúce (*lagging*) vlákno

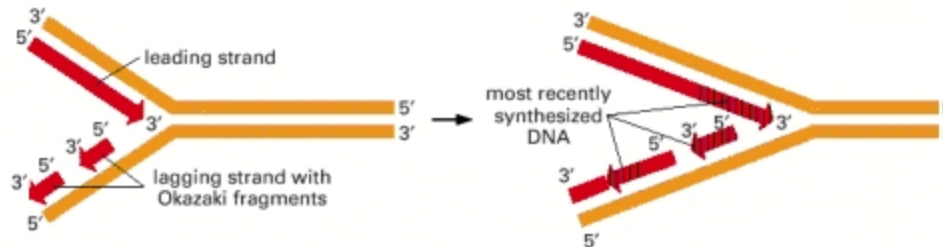


Figure 5.8. Molecular Biology of the Cell. 4th edition.

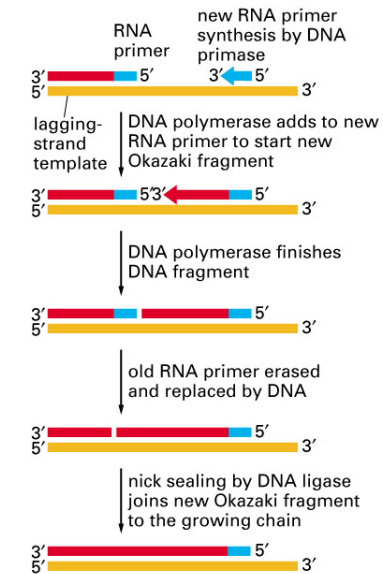
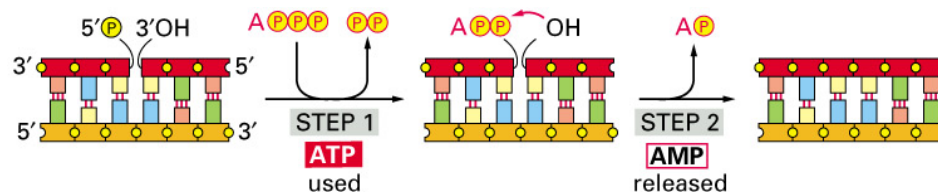


Figure 5-13. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

- syntéza oboch vlákien je iniciovaná z krátkeho (~ 10 nt) RNA oligonukleotidu (primer), ktorý syntetizuje enzým RNA polymeráza (DNA primáza)
- po ukončení syntézy je RNA odstránená a chýbajúce úseky sú doplnené DNA polymerázou
- vedúce vlákno syntetizuje DNA polymeráza δ (eukaryoty) / DNA polymeráza III (prokaryoty)
- zaostávajúce vlákno syntetizuje DNA polymeráza α (eukaryoty) / DNA polymeráza I (prokaryoty)
- dĺžka Okazakiho fragmentov je ~ 200 nt (eukaryoty) alebo ~ 1000 nt (prokaryoty)



susedné úseky spája DNA ligáza

Figure 5-14. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Replikácia DNA vyžaduje súhrn viacerých proteínov

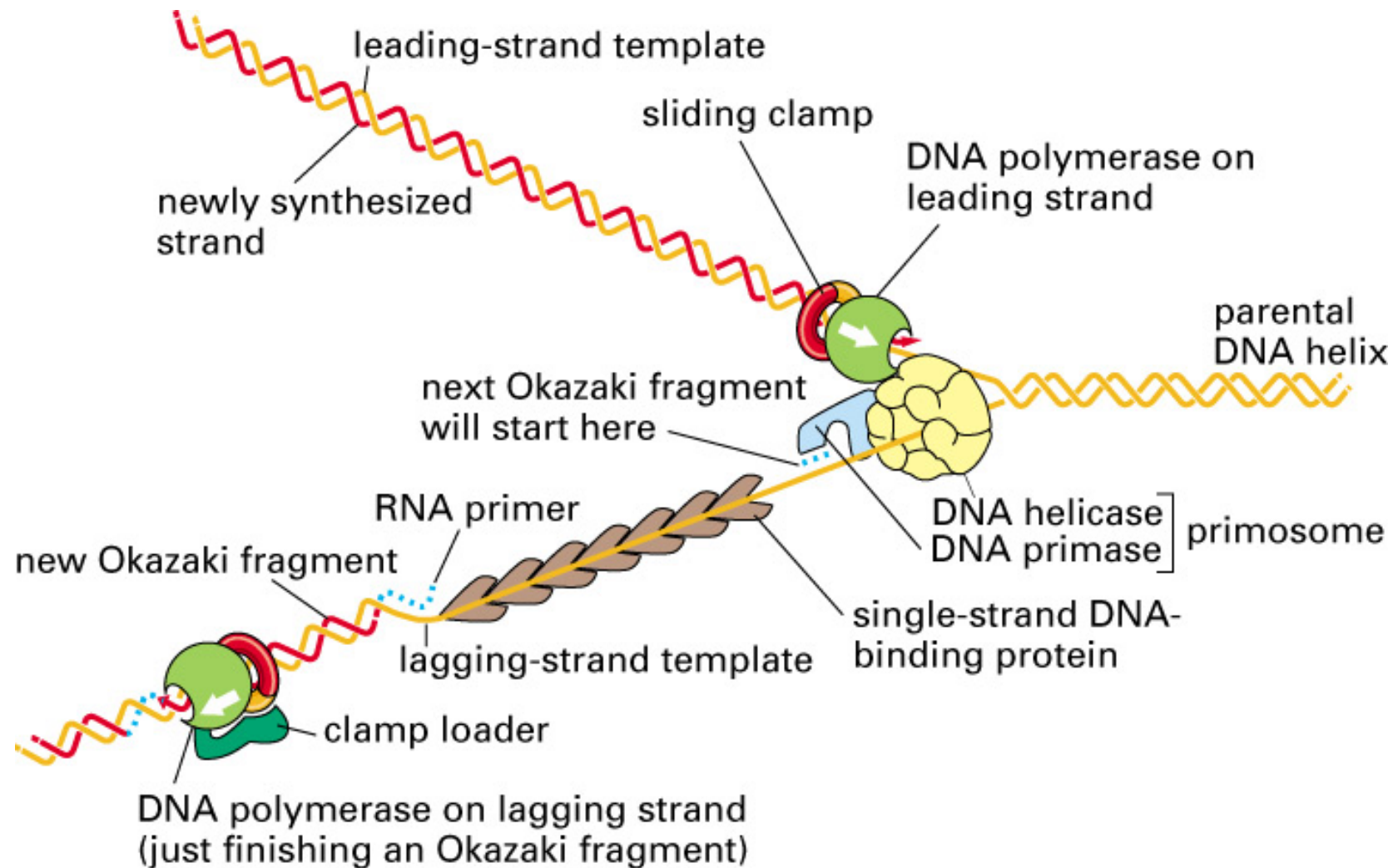


Figure 5–21. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Replikácia DNA prebieha súbežne na oboch reťazcoch

Komplex replikačných proteínov - replizóm

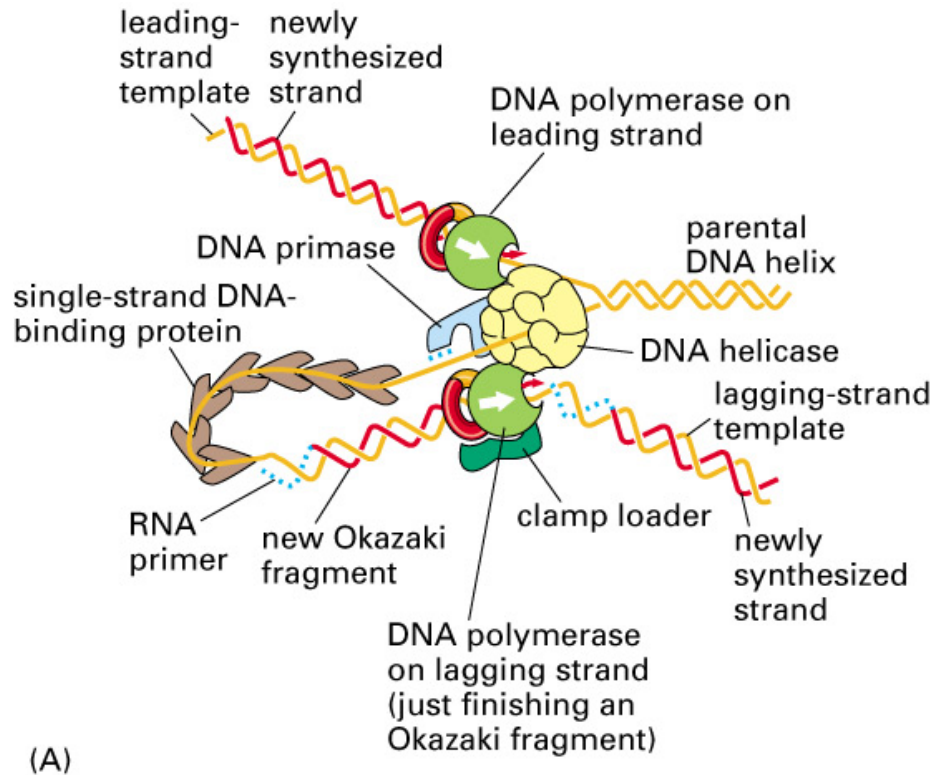


Figure 5–22 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

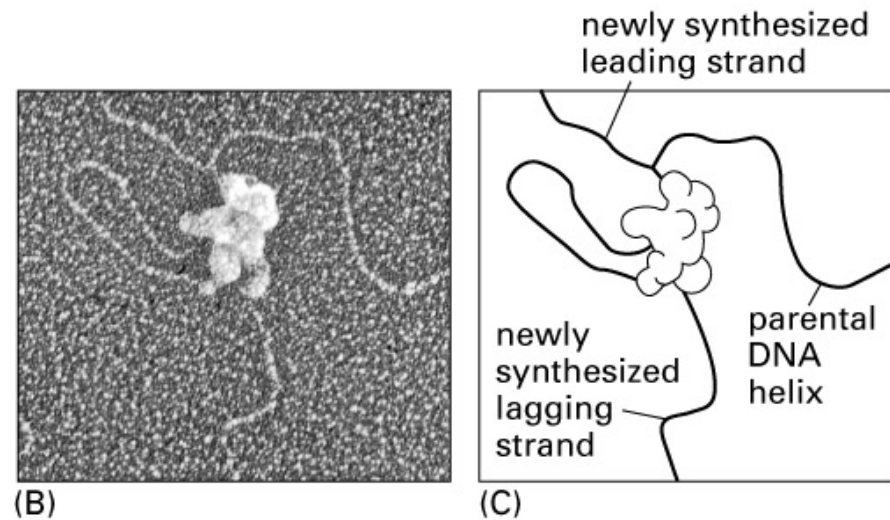


Figure 5–22 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.