**Nukleové kyseliny: Štruktúra, funkcie a genetická rozmanitosť**

Nukleové kyseliny sú základnými molekulami, ktoré uchovávajú a prenášajú genetickú informáciu všetkých organizmov. Ich prítomnosť a štruktúra sú nevyhnutné pre život a evolúciu. Rozlišujeme dva hlavné typy: DNA (deoxyribonukleová kyselina) a RNA (ribonukleová kyselina).

**Štruktúra nukleových kyselín**

Nukleové kyseliny sú tvorené polynukleotidovými reťazcami, ktoré sú postavené zo základných stavebných jednotiek – nukleotidov. Každý nukleotid obsahuje:

1. **Dusíkaté bázy**
   * Puríny,  heterocyklické (kvôli dusíku) aromatické organické zlúčeniny pozostávajúce z dvoch cyklov, pyrimidínu a imidazolu. Puríny sú Adenín (A) a guanín (G).
   * Pyrimidíny, heterocyklické (kvôli dusíku) aromatické organické zlúčeniny pozostávajúce z jedného benzénového jadra. Pyrimídy sú Tymín (T) v DNA, uracil (U) v RNA a cytosín (C).

Známe pravidlo párovania (Watson-Crickove pravidlo) uvádza, že A sa viaže s T, respektíve U v RNA, a G sa viaže s C prostredníctvom vodíkových väzieb.

1. **Pentózy**

* DNA obsahuje **2-deoxy-D-ribózu**, RNA **D-ribózu**.

1. **Kyselina trihydrogénfosforečná**
   * Sú zdrojom negatívneho náboja a umožňujú vytvoriť fosfodiesterové väzby, ktoré držia jednotlivé nukleotidy v reťazci.

**Nukleotidy v bunke**

Nenachádzajú sa iba v nukleových kyselinách. Sú v bunke rôzne umiestnené a napriek tomu, že sú to nukleotidy, sú aj štrukturálne odlišné. **ATP**, adenozíntrifosfát je hlavným energetickým nosičom v bunke. Slúži ako "energetická mena," ktorá poháňa biologické procesy ako svalové kontrakcie, aktívny transport cez membrány a syntéza makromolekúl. Vzniká predovšetkým v mitochondriách prostredníctvom oxidačnej fosforylácie, no môže vzniknúť aj v cytoplazme počas glykolýzy. Energia sa uvoľňuje hydrolytickým štiepením kys. Trihydrofosforečnej, čím vzniká **ADP** (adenozíndifosfát) alebo **AMP** (adenozínmonofosfát), ktoré sa môžu znova fosforylovať na ATP a pokračovať v cykle. cAMP (cyklický adenozínmonofosfát) vzniká, keď sa AMP cyklizuje pomocou enzýmu adenylátcyklázy. Slúži ako druhý posol (second messenger) v bunkovej signalizácii, prenáša signály a reguluje bunkovú odpoveď.

**NAD** (nikotínamid - adenín-dinukleotid) existuje v dvoch formách: **NAD⁺** (oxidovaná forma) a **NADH** (redukovaná forma). Funguje ako kľúčový koenzým, ktorý je dôležitý pri redoxných reakciách v metabolizme a hrá úlohu v produkcii energie. Zapája sa do procesu glykolýzy a dýchania v mitochondriách, kde prenáša vodíky. **FAD** (flavín-adenín-dinukleotid) je ďalší koenzým zúčastňujúci sa redoxných reakcií. V redukovanej forme (FADH₂) nesie elektróny do dýchacieho reťazca, kde prispieva k tvorbe ATP.

**Primárna štruktúra DNA**

Nukleotidy sú v reťazci spojené fosfodiesterickými väzbami. Deoxyribóza obsahuje dve voľné OH skupiny na C-3’ a C-5’ atómoch, ktoré sa podieľajú na spájaní nukleotidov prostredníctvom väzby so zvyškom kyseliny fosforečnej. Konce polynukleotidového reťazca sa označujú ako 3’ a 5’ konce.

Podľa počtu monomérov, mononukleotidov spájaných fosfodiesterovou väzbou, reťazce nukleotidov delíme na **oligonukleotidy** (desiatky nukleotidov) a na **polynukleotidy** (viac ako sto nukleotidov).

DNA najčastejšie kóduje proteíny, nukleotidy sú zodpovedné za aminokyseliny a ich poradie v proteíne. Tieto nukleotidy, ktoré kódujú produkt, sa spoločne nazývajú **gén**.

**Sekundárna štruktúra DNA**

**Komplementarita dusíkatých báz**

Komplementarita umožňuje vznik dvojšpirály DNA. A – T je bázový pár spojený dvomi vodíkovými väzbami, G - C bázový pár je spojený tromi vodíkovými väzbami. Pyrimidíny a puríny sa v dvojzávitnici vyskytujú v rovnakom množstve. Komplementarita je fenomén, vďaka ktorému sú nukleové kyseliny replikovateľné.

Sekundárna štruktúra spočíva v ikonickej pravotočivej dvojzávitnici, kde sa dva komplementárne reťazce otáčajú do špirály. Tieto závitnice sú antiparalelné (5' do 3' a opačne). Priemer dvojzávitnice je dva nm. Tvorí **dvojitý α-helix.**

V závislosti od poradia nukleotidov a vonkajších fyzikálno-chemických podmienok (pH, teplota, iónová sila) sa DNA môže nachádzať v rôznych konformačných stavoch.

Najdôležitejšie konformácie DNA (rozdiely sú v geometrických vlastnostiach):

* **pravotočivé - A, B**
* **ľavotočivá - Z**

V biologických organizmoch je najčastejšia B konformácia.

**Terciárna štruktúra**

Zo závitníc sa tvoria superzávitnice, tzv. supercoils. Superzávitnice sa môžu vyskytovať aj pri lineárnej DNA, ale obavujú sa aj u kruhovej DNA, ktorá sa vyskytuje v DNA bunkových organel (mitochondrie, chloroplasty), vírusov a baktérií.

* Dĺžka sekvencií sa udáva v bázických pároch (bp). Humánna DNA napríklad obsahuje približne 3 miliardy bp (bázových párov).

**Štruktúra a lokalizácia nukleových kyselín podľa organizmov**

**1. Prokaryoty (Baktérie a archeóny):**

* DNA je uložená vo forme kruhovej molekuly v nukleoidnej oblasti bunky. Na rozdiel od eukaryotov sa DNA zriedka spája s histónmi, no stabilizuje ju proteín HU.
* Plazmidy sú kruhové DNA nesúce informácie napr. na rezistenciu voči antibiotikám. Nachádzajú sa mimo nukleoidu a používajú sa v horizontálnom transfere genetickej informácie. Vďaka tomu si dokážu baktérie vymieňať kúsky génov, ktoré im pomohli prežiť. Takto sa šíri aj rezistencia na antibiotiká.

**2. Eukaryoty**

* Genetická informácia je organizovaná do chromozómov viazaných histónmi, ktoré formujú chromatín. Chromatín sa vyskytuje vo forme **euchromatínu**, ktorý je pod elektrónových mikroskopom vidno svetlejšie, DNA nie je tak kompaktne usporiadané, pretože sa tieto gény používajú na expresiu veľmi aktívne. **Heterochromatín** je tvorený na husto uloženými DNA vláknami, ktoré nepodliehajú aktívnej transkripcii.

**3. Vírusy**

Vírusy majú rozmanité typy genetického materiálu, čo im umožňuje adaptovať sa na rôznych hostiteľov:

* **RNA vírusy**: Genóm RNA vírusov môže byť jedno- (ssRNA) alebo dvojvláknový (dsRNA).
* **DNA vírusy**: Ich genóm môže byť jedno- (ssDNA) alebo dvojvláknový (dsDNA).

Vírusy môžu mať lineárny alebo kruhový genóm, pričom ich balenie je vysoko efektívne a umožňuje maximálne využiť obmedzený priestor viriónu.

**Hlbšie pochopenie zloženia genómu**

Genómy obsahujú viac ako len kódujúce sekvencie. Patria sem:

* **Teloméry**, čo sú špecializované štruktúry na koncoch chromozómov pozostávajúce z opakujúcich sa sekvencií DNA, napríklad TTAGGG v ľudskej DNA. Chránia konce chromozómov pred degradáciou, zabraňujú ich fúzii a zabezpečujú úplnú replikáciu DNA. S pribúdajúcim vekom sa teloméry skracujú. Tým, že chránia konce chromozómov pred degradáciou, sa časom degradujú, čo sa považuje za jednu z príčin starnutia.
* **Satelitová DNA** predstavuje krátke, repetitívne sekvencie DNA, ktoré sa často nachádzajú v centromérach a ďalších špecifických oblastiach chromozómov. Hoci nekódujú proteíny, hrajú dôležitú úlohu v chromatínovej štruktúre a segregácii chromozómov počas delenia bunky. Satelitová DNA je tiež využívaná v kriminalistike a genealógii.
* **Transpozóny** sú mobilné sekvencie DNA, ktoré majú schopnosť meniť svoju polohu v genóme. Tieto elementy môžu spôsobiť mutácie, regulovať expresiu génov alebo vytvárať genetickú diverzitu. V ľudskom genóme tvoria značné percento (približne 45%).
* **Pseudogény** sú génové sekvencie podobné funkčným génom, avšak bez svojej pôvodnej biologickej funkcie. Vznikajú prostredníctvom duplikácií alebo **retrotranspozície**. Pseudogény môžu byť niekedy reaktivované a získať novú funkciu.
* **miRNA** a **lncRNA**. MikroRNA (miRNA) sú malé nekódujúce RNA molekuly, ktoré regulujú expresiu génov na post-transkripčnej úrovni. LncRNA (dlhé nekódujúce RNA, long non-coding RNA) zabezpečujú epigenetickú reguláciu, chromozómovú dynamiku a ďalšie procesy.
* **Regulačné oblasti** zahŕňajú enhancery, promotory a iné cis-regulačné elementy, ktoré rozhodujú o transkripcii génov. Tieto oblasti sú kľúčové pre diferenciáciu buniek a správne načasovanie a množstvo génovej expresie.

**Väzby v nukleových kyselinách**

* **Fosfodiesterová väzba** drží cukor (pentózu) a fosfát v chrbtici molekúl DNA a RNA.
* **Vodíkové väzby** sú väzby, ktoré viažu dusíkaté bázy v dvojzávitnici špecificky na bázy reťazca oproti (A-T dvojitou väzbou, G-C trojitou väzbou).
* **Van der Waalsove sily** stabilizujú špirálovitú štruktúru DNA.

**Obsah chromatínu**

Chromatín je dynamickou zmesou DNA, proteínov a RNA, ktorá sa nachádza v jadre eukaryotických buniek. Umožňuje organizovanie genómu, reguláciu génovej expresie a ochránu DNA pred poškodením.

* **Histónové proteíny**
  + Základné proteíny (H1, H2A, H2B, H3, H4), okolo ktorých je DNA obtočená a vytvára nukleozómy, základné jednotky chromatínu. Každý nukleozóm obsahuje približne 146 párov báz DNA obtočených okolo oktameru histónov.
  + Históny podliehajú post-translačným modifikáciám, ako je acetylácia, metylácia a fosforylácia, ktoré ovplyvňujú dostupnosť DNA pre transkripčné faktory.

1. **Enzýmy a regulačné proteíny**
   * **DNA-polymerázy** sa účastnia na replikácii DNA, každý typ sa na procese podieľa iným spôsobom. Napríklad DNA polymeráza I nahrádza RNA primery DNA fragmentami. DNA polymeráza III tiež pridáva nové DNA fragmenty na 3' koniec vlákna
   * **Topoizomerázy** zmierňujú torzné napätie DNA počas replikácie a transkripcie.
   * **Helikázy** lámu vodíkové väzby medzi dvoma vláknami DNA na mieste, kde začína replikácia DNA.
   * **Primázy** syntetizujú RNA primery komplementárne k DNA vláknu, ktoré je replikované.
   * **Jednovláknové väzbové proteíny** (single-strand binding proteins) držia pokope vlákno, ktoré je oddialené od svojho komplementárneho DNA vlákna počas replikácie.
   * **Chromatín-remodelačné komplexy** zaisťujú reorganizáciu chromatínu pre lepší prístup k DNA.
   * **Ligázy** spájajú medzery medzi fragmentami DNA, ktoré boli práve syntetizované.
2. **RNA molekuly**

* Keď sa povie RNA, väčšina pomyslí na rRNA, tRNA alebo mRNA. rRNA sa nachádza v jadierku, mRNA sa tvorí v jadre a potom sa presúva do cytoplazmy, kde sa nachádza aj tRNA. Chromatín ale okrem toho interaguje s ďalšími, nekódujúcimi RNA, ktoré usmerňujú epigenetické zmeny alebo stabilizujú štruktúru chromatínu.
* **miRNA (mikro RNA)**: Reguluje expresiu génov na post-transkripčnej úrovni.
* **siRNA (small interfering RNA)**: Tlmí expresiu génov prostredníctvom procesu zvaného RNA interference (RNAi), kedy tento proces expresie naruší.
* **lncRNA (dlhá nekódujúca RNA)**: Nekóduje proteíny, nie všetky jej úlohy sú objasnené, ale pomáha regulovať génovú expresiu.
* **snRNA (small nuclear RNA)**: Účasť na spracovaní pre-mRNA počas zostrihu (splicing).
* **snoRNA (small nucleolar RNA)**: Pôsobí pri chemických modifikáciách rRNA, tRNA a ďalších RNA molekúl.

1. **Epigenetické značky**

Modifikácie na histónoch a DNA priamo ovplyvňujú dostupnosť génov pre transkripciu. Epigenetické zmeny, ako napríklad acylácia a metylácia báz sa dejú počas bunkovej diferenciácie a vývinu, kedy sa tieto epigenetické zmeny regulujú, ktoré gény budú aktívne používané.

**Ľudská DNA**

Ľudská DNA je nositeľom genetickej informácie, ktorá určuje všetky biologické znaky a procesy. Genóm ľudí obsahuje približne 20 000 až 25 000 génov, pričom len okolo 1,5 % tejto DNA kóduje proteíny. Zvyšok je tvorený nekódujúcimi sekvenciami.

Pre predstavu, veľká časť proteínových génov sa zameriava na kódovanie napríklad:

* **Enzýmov**, ktoré katalyzujú chemické reakcie, ktoré udržiavajú metabolizmus.
* **Signalizačných molekúl**, ktoré zabezpečujú komunikáciu medzi bunkami a systémami.
* **Receptorov**, ktoré sa zúčastňujú na prijímaní signálov, napríklad hormónov.
* **Transmembránových proteínov**, ktoré upravujú transport látok cez bunkové membrány.

Ľudská DNA je organizovaná do 23 párov chromozómov v jadre každej bunky. Set všetkých párov ľudského genómu sa nazýva ľudský karyotyp. Okrem jadrovej DNA obsahujú ľudské bunky aj mitochondriálnu DNA/mitochondriálny genóm, ktorá sa dedí výlučne po materskej línii.

**Poškodenie DNA**

DNA môže byť poškodená rôznymi faktormi, čo môže viesť k mutáciám, bunkovej dysfunkcii alebo dokonca k rakovine. Medzi hlavné príčiny poškodenia patria:

* **UV žiarenie**

Ultrafialové svetlo môže spôsobiť tvorbu tymínových dimérov, čo narušuje komplementárne párovanie báz.

* **Ionizujúce žiarenie**

Rádiové vlny, gama žiarenie alebo rentgenové lúče môžu spôsobiť zlomy v dvojzávitnici DNA.

* **Chemikálie**

Karcinogény, napríklad benzén, peroxidy alebo aflatoxíny, môžu chemicky modifikovať bázy DNA.

**Mitochondriálna DNA (mtDNA)**

Mitochondriálna DNA je malý kruhový genóm nachádzajúci sa v mitochondriách, energetických organelách bunky. Táto DNA obsahuje 37 génov, ktoré kódujú esenciálne proteíny a RNA potrebné pre oxidačnú fosforyláciu – proces, ktorým mitochondrie vyrábajú ATP. Mitochondriálna DNA sa odlišuje od jadrovej DNA niekoľkými rozdielmi.

* Je dedičná výhradne po materskej línii.
* Má vyššiu mutačnú rýchlosť, čo je čiastočne spôsobené väčšou expozíciou voči reaktívnym kyslíkom.
* Neobsahuje intróny a len minimálny počet kódujúcich sekvencií.

Štúdie mitochondriálnej DNA poskytujú dôležité informácie v evolučnej biológii, paleogenetike a tiež pri skúmaní dedičných ochorení.

**RNA**

**Typy RNA molekúl**

**mRNA (messenger/ mediátorová)**

**tRNA (transferová)**

**rRNA (ribozomálna)**

**mtRNA (mitochondriálna)**

Väčšinou sú to jednovláknové molekuly, v ktorých je sekundárna štruktúra stabilizovaná vnútromolekulovými vodíkovými väzbami medzi jednotlivými bázami. Odlišnosť RNA od DNA je v štruktúre RNA, kde sa namiesto tymínu vyskytuje uracil a namiesto deoxyribózy sa nachádza ribóza.

**mRNA (messenger/mediátorová)**

Je tvorená v jadre enzýmom RNA polymeráza pri procese transkripcie podľa komplementarity templátovej DNA. U eukaryotov obsahuje intróny (nekódujúce úseky) a exóny (kódujúce úseky). Exóny sa začínajú start kodónom a končia stop kodónom. Kodón je trojica nukleotidov, ktorá kóduje jednu aminokyselinu výsledného proteínu.

**tRNA (transferová)**

Nachádza sa v cytoplazme, tvorí sa v jadre. Jej funkciou je špecificky viazať aktivované aminokyseliny a podľa antikodónov ich prenášať k ribozómom na základe mRNA, ktorá sa v ribozóme nachádza. Takto sa tvoria polypeptidové reťazce. Antikodón je trojica nukleotidov, ktorá musí byť komplementárna ku kodónu na mRNA, ktorý ribozóm práve číta. Pre svoju funkciu majú špecifickú sekundárnu a terciárnu štruktúru.

**rRNA (ribozomálna)**

Tvorí až 90% RNA v bunke, je transkribovaná z rDNA a následne naviazaná na ribozomálne proteíny, aby vytvorila veľké a malé ribozomálne podjednotky. Tieto podjednotky sú rozlišované pomocou sedimentačného koeficientu, S. Tento koeficient neoznačuje hmotnosť, ale čím väčší koeficient, tým väčšia bude hmotnosť.

**Záver**

Nukleové kyseliny zohrávajú zásadnú úlohu nielen ako nositelia genetickej informácie, ale aj ako centrálne molekuly moderného biochemického výskumu. Ich preskúmanie otvára nové možnosti v genetike a biotechnológii.