

Fakulta elektrotechnická ČVUT

Úvod do genetiky

Základní molekuly života

Eduard Kočárek

zimní semestr 2025/2026

<https://youtu.be/nvJFI3ChOUU>

Eduard Kočárek

- Ústav biologie a lékařské genetiky 2.LF UK a FN Motol
- eduard.kocarek@lfmotol.cuni.cz
- (email na @cvut bohužel neotevřu) ☹️

K organizaci výuky

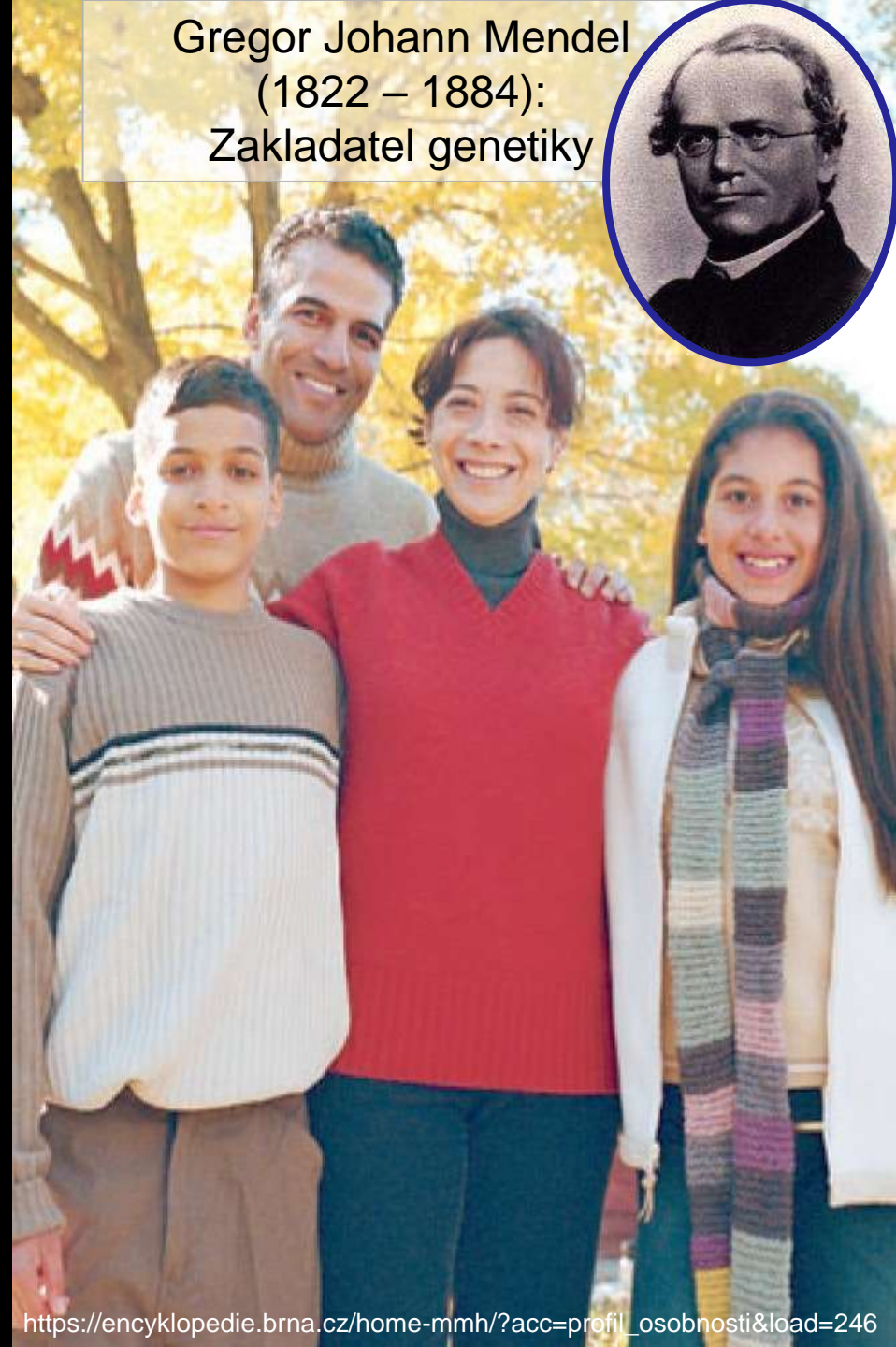
- Přednášky zde od 16:15, konec 17:45, bez přestávky
- Všechny materiály na MOODLE, kam budou průběžně umísťovány i nové prezentace z přednášek.
- Prosím, **prostudovat pravidla ke studiu** (již nyní na MOODLE).
- Konzultace, dotazy apod. e-mailem.
- Zkouška – řádné termíny (včetně předtermínů) písemně (test, 10 krátkých otázek), opravné termíny ústně (2 otázky zaměřené na delší slovní odpověď).
- **Předtermíny** po dohodě, nutný je dostatečný zájem (od 10 studentů výše).

Genetika


Gregor Johann Mendel
(1822 – 1884):
Zakladatel genetiky



- nauka o dědičnosti a proměnlivosti živých organismů
- **Dědičnost (heredita):** schopnost organismů vytvářet potomky se stejnými nebo podobnými znaky.
- **Proměnlivost (variabilita):** vzájemná odlišnost jedinců jednoho druhu.



Významné milníky v historii genetiky

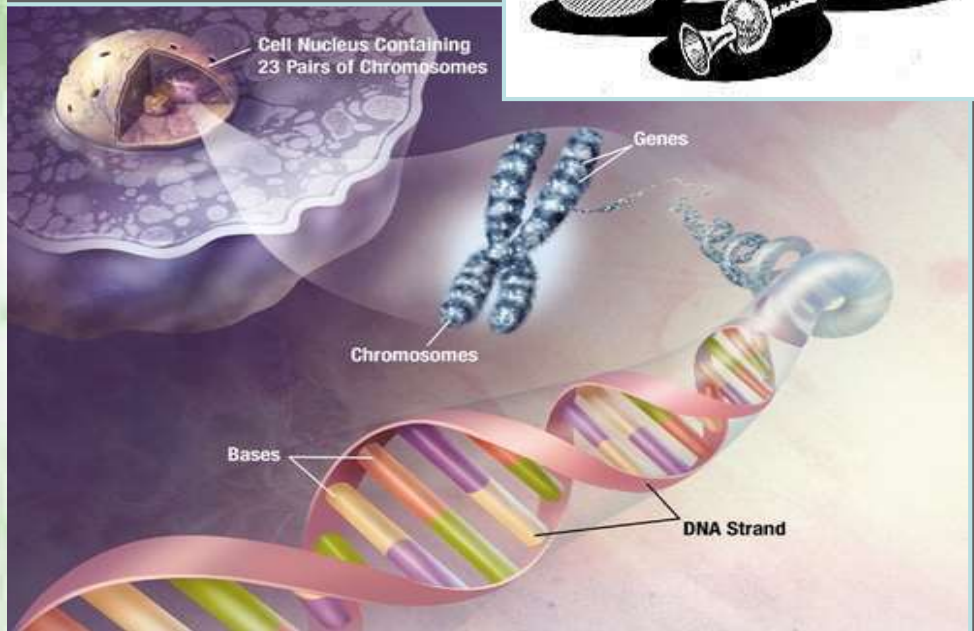
- První vědecké poznatky o dědičnosti – starověké Řecko (také Římané, Asyřané...)
 - Počátek 17. století – první mikroskopy (**Leeuwenhoek**)
 - Počátek 19. století – organismy jsou složeny z buněk: **buněčná teorie (Schleiden, Schwann)**
 - 1865 – **Gregor Johann Mendel** odvodil na základě pokusů s křížením různých odrůd hrachu základní zákonitosti dědičnosti.
 - Konec 19. století – chromozomová teorie dědičnosti (představa o tom, že buněčné jádro, resp. chromozomy jsou nositeli dědičné informace)
 - Počátek 20. století – pojmy **genetika, gen, alela**; prokázána platnost chromozomové teorie
 - 1944 – Důkaz, že genetická informace je zakódována v molekulách **deoxyribonukleové kyseliny (DNA)**
 - 1953 – Objev struktury DNA: **Watson, Crick, Franklinová**
 - Přelom 50./60. let – Objev genetického kódu
 - 1990 – 2003 – **Projekt lidského genomu (HGP)** – víceméně kompletní „přečtení“ lidské genetické informace
- 

Příklady genetických disciplín se vztahem k lidskému organismu

- **Molekulární genetika** – viz dále
- **Cytogenetika** – zabývá se stavbou, funkcí a změnami chromozomů
- **Imunogenetika** – studuje genetickou podmíněnost složek imunitního systému (důležité např. pro transplantace)
- **Klinická genetika** – zabývá se geneticky podmíněnými chorobami, jejich diagnostikou, prevencí a léčbou, úzce souvisí s genetickým poradenstvím
- **Farmakogenetika** – studium genových variant zodpovědných za přeměnu léčivých látek v lidském těle
- **Forenzní genetika** – zabývá se využitím genetických vyšetření pro účely soudních řízení a kriminalistiky (zejména paternitní testy, identifikace osob z biologických stop)
- **Sportovní genetika** – vyhledávání genových variant přímo či nepřímo podmiňujících sportovní výkon za účelem stanovení optimálního tréninkového programu
- **Genetika mikroorganismů** (genetika virů, genetika bakterií, genetika plísní) – zabývá se genetickým materiálem mikroorganismů a procesy přenosu genetické informace u nich

Molekulární genetika

- Vychází z biochemických poznatků.
- Studuje přenos genetické informace na molekulárních základech (tj. na úrovni molekul nukleových kyselin).



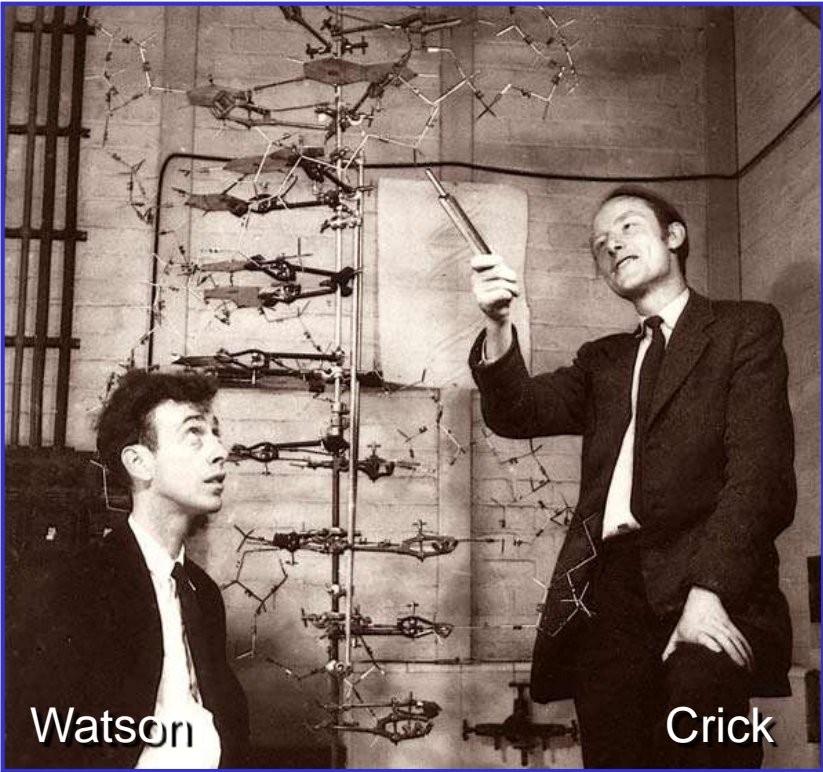
Základní „molekuly života“

= informační biomakromolekuly

- DNA (deoxyribonucleic acid; deoxyribonukleová kyselina)
- RNA (ribonucleic acid; ribonukleová kyselina)
- Proteiny (bílkoviny)



Rok 1953: Watson J. D., Crick F. H. C.



Watson

Crick



Objev dvoušroubovicové struktury DNA

Historický článek v časopise *Nature*, v němž Watson a Crick publikovali svůj objev:

no. 435 April 25, 1953 NATURE 737

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons.

(1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Pauling (in press). In this model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the small chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate ester groups joining D-2-deoxy-ribose units with 3'-5' linkages. The two chains (that not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow right-handed helices, but owing to the dyad the sequence of the atoms in the two chains run in opposite directions.

Each chain (nearly identical) resembles Pauling's model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the acids near it is close to Pauling's standard configuration; the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 18° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphate atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, this has very serious to them.

The structure is an open one, and as water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to lie so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical *z*-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 3; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric form (that is, with the keto rather than the enol configuration) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine, similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain, does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{2,3} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact⁴.

The previously published X-ray data^{5,6} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in time following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which made mainly though not entirely on published experimental data and stereo-chemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of *x*-coordinates for the atoms, will be published shortly.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J.D.W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infectious Diseases.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge, April 2.

¹ Pauling, L., and Corey, R. *Nature*, 157, 680 (1945). *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 30, 36 (1945).

² Pauling, L., *Adv. Chem. Ser.*, 6, 63 (1951).

³ Chargaff, E., for references see *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 58, 211 (1952).

⁴ Pauling, L., *Adv. Chem. Ser.*, 6, 63 (1951).

⁵ Wilkins, M. H. F., *Proc. Roy. Soc. (London)*, 180, 207 (1942).

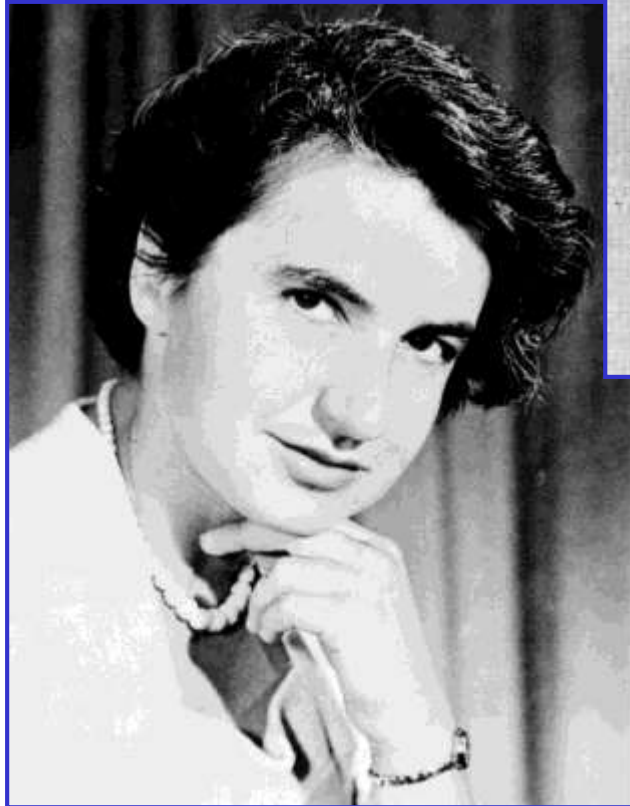
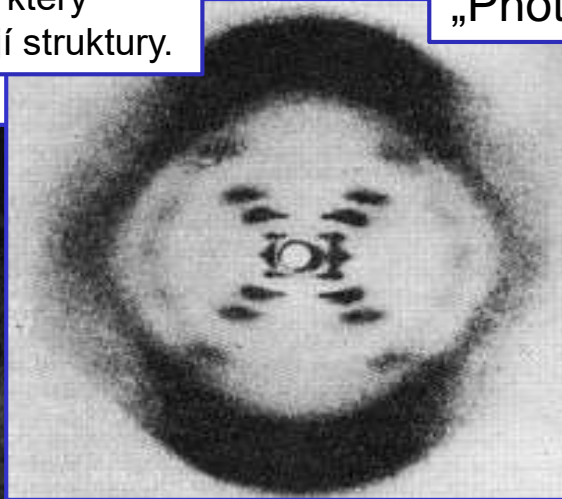
⁶ Wilkins, M. H. F., *Proc. Roy. Soc. (London)*, 180, 207 (1942).

This figure is purely diagrammatic. The two chains are held together by two hydrogen bonds per pair of bases. The bases are perpendicular to the fibre axis.

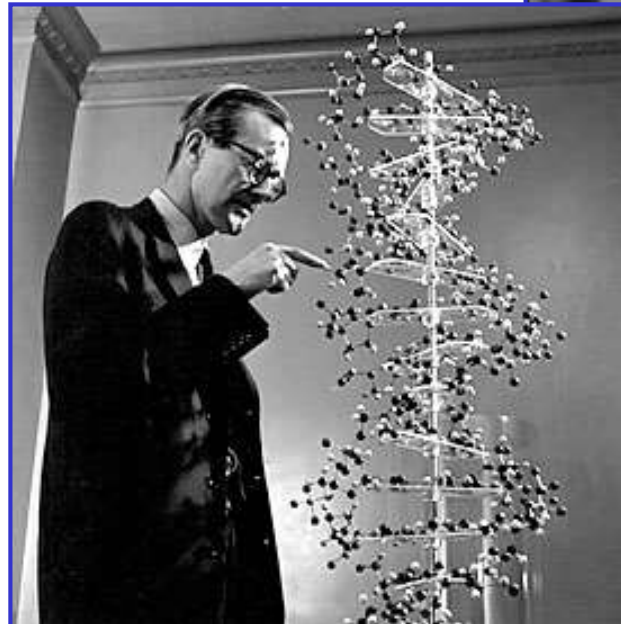
Nejen Watson a Crick...

Rentgenový snímek krystalu DNA, který významně napomohl k odhalení její struktury.

„Photo 51“



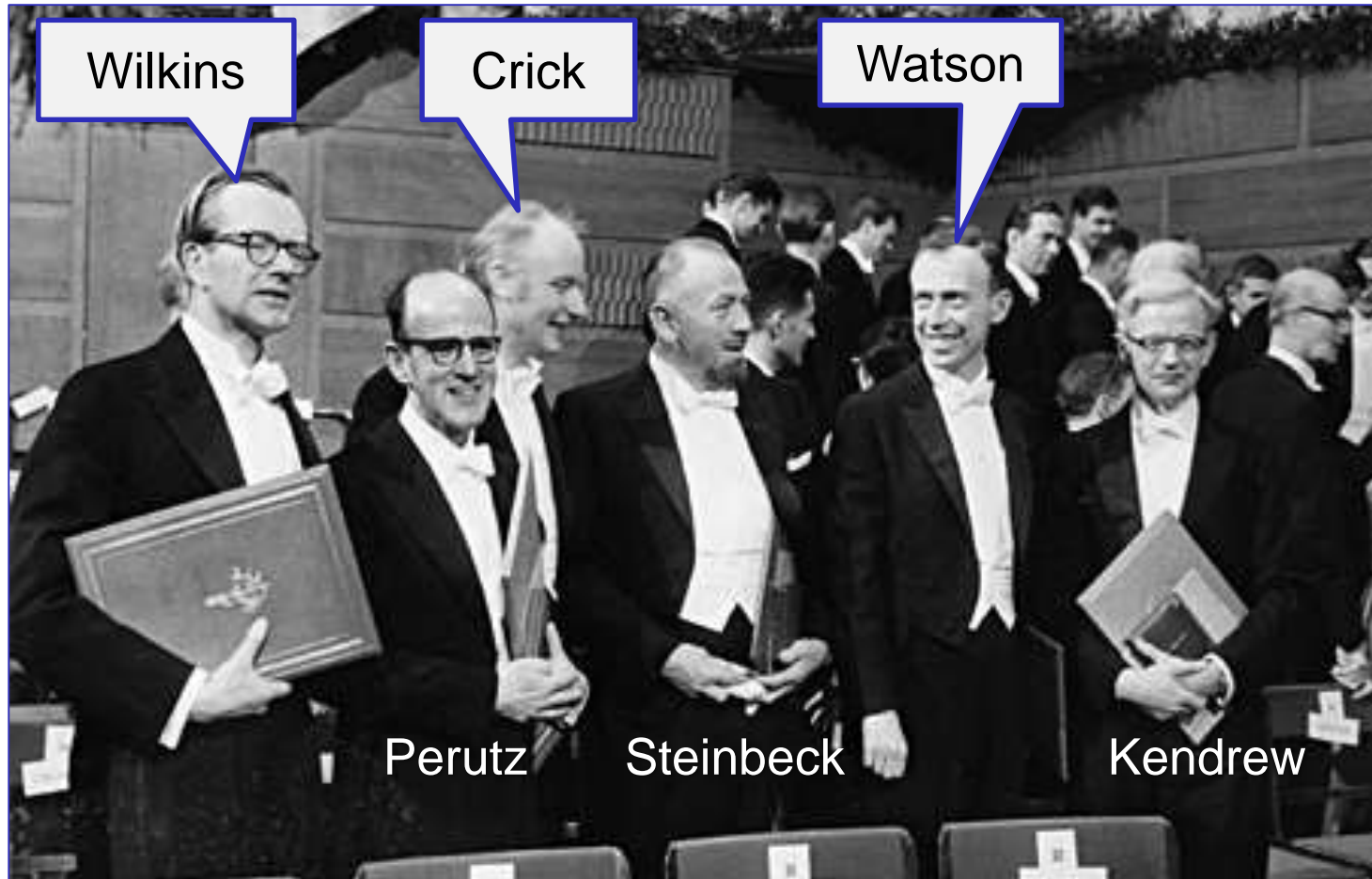
Rosalind
Franklinová



Maurice
Wilkins



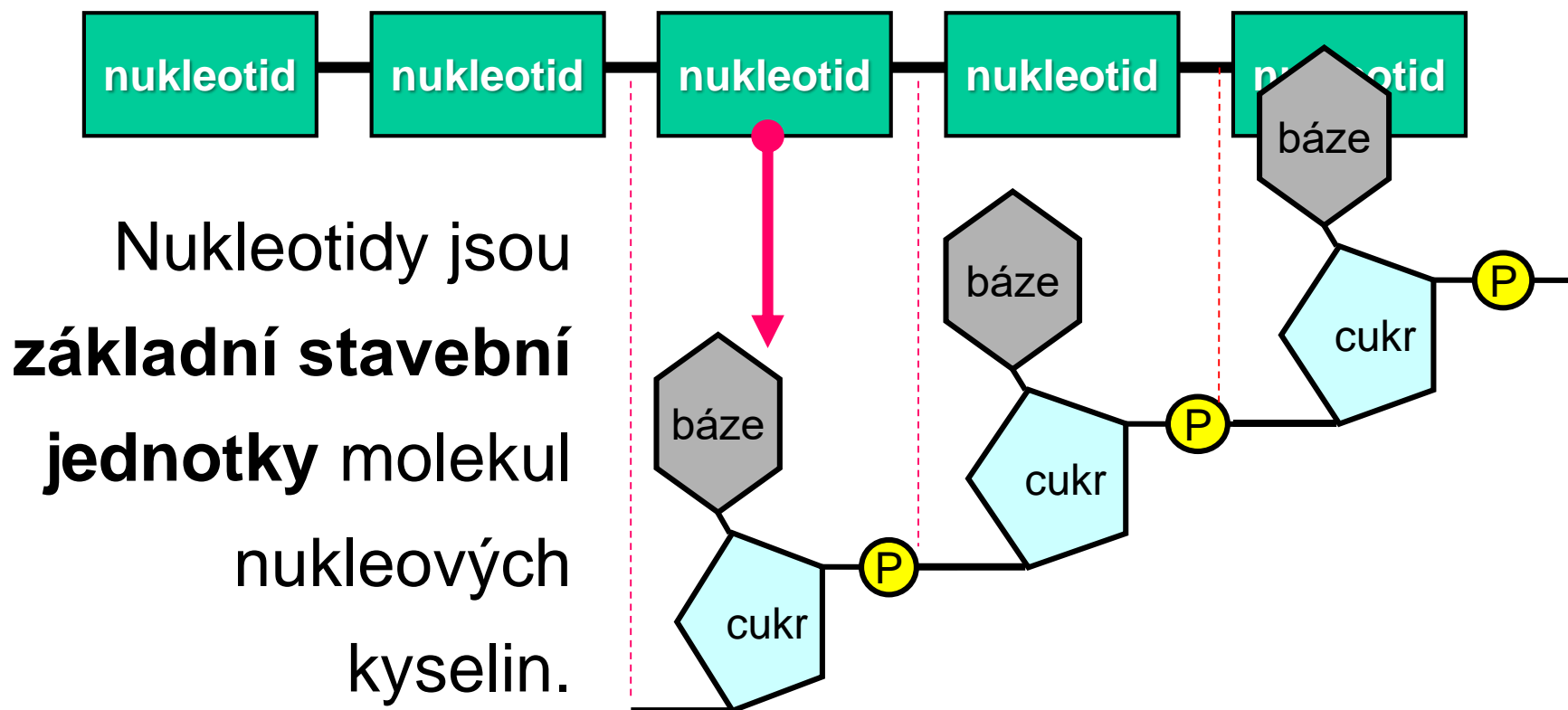
Laureáti Nobelovy ceny v r. 1962



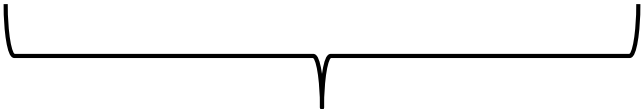
R. Franklinová Nobelovu cenu nedostala, neboť zemřela před jejím udělením.

Struktura nukleových kyselin

- Nukleové kyseliny jsou **biopolymery**.
- Základem je cukrfosfátový polynukleotidový řetězec.



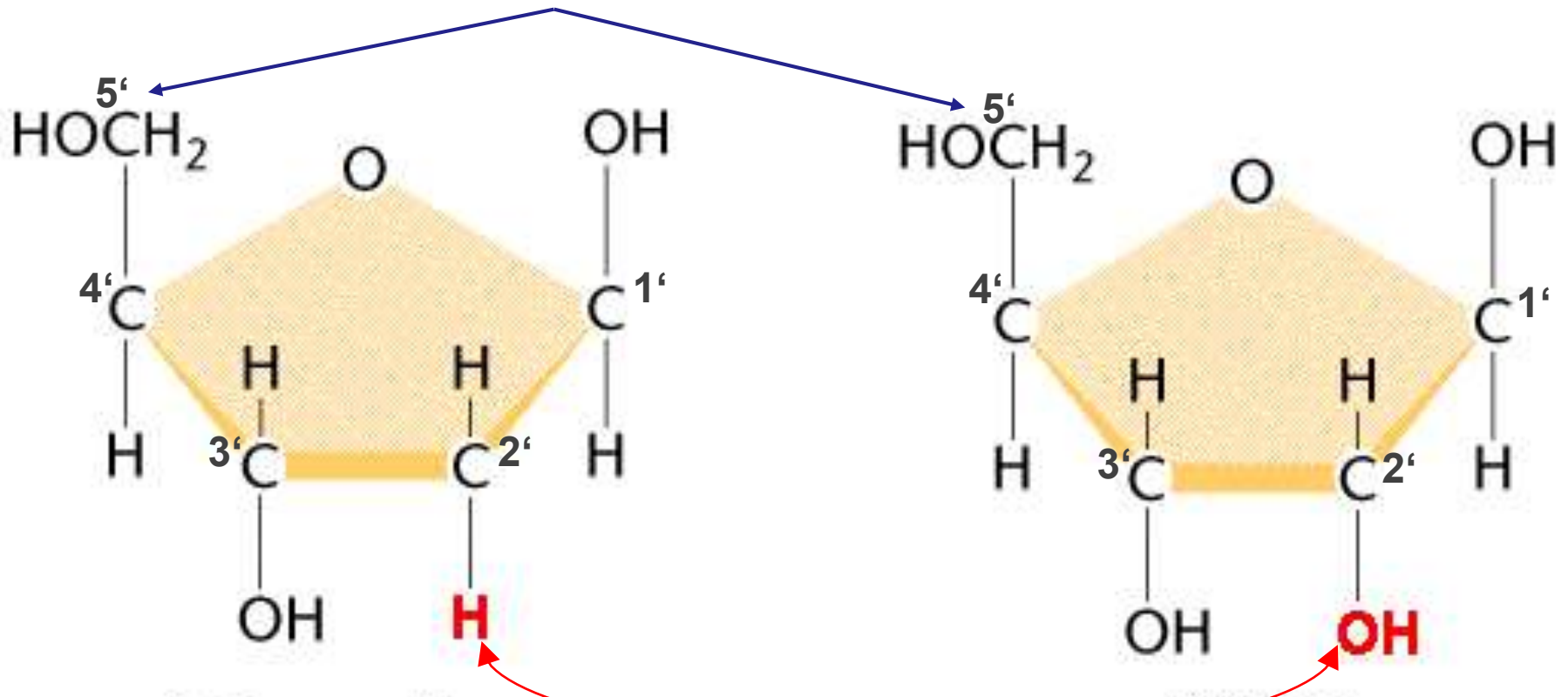
Nukleotid = cukr + báze + fosfát



Nukleosid

Cukr: deoxyribóza × ribóza

Atomy uhlíku jsou číslovány (1' – 5').



Deoxyribóza

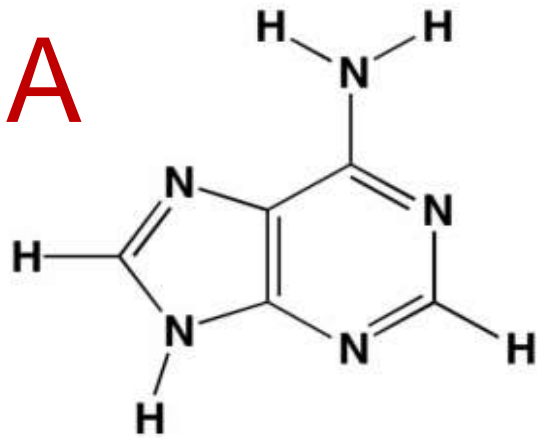
Složka
DNA

Ribóza

Složka
RNA

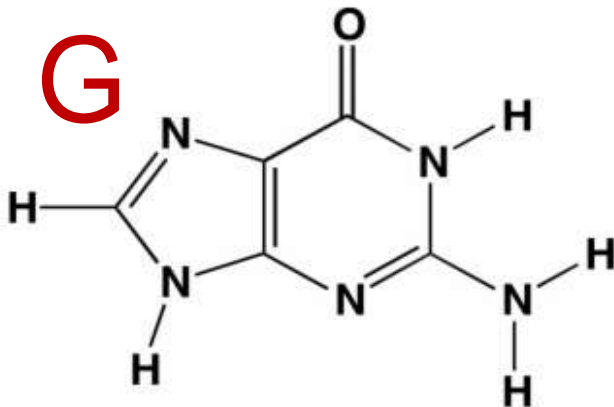
Báze = dusíkaté heterocyklické
sloučeniny; puriny a pyrimidiny

A



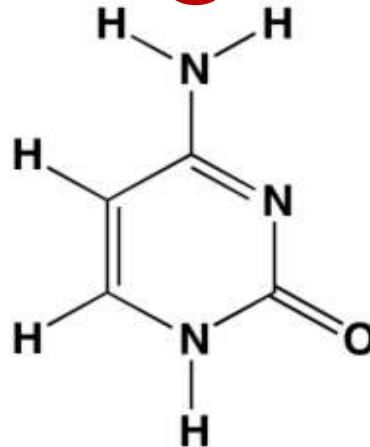
A, Adenin

G

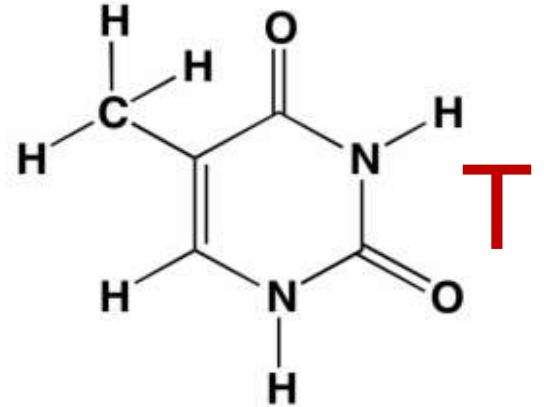


G, Guanin

C



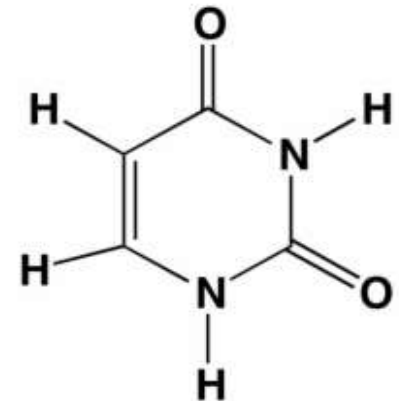
C, Cytosin



T, Thymin

T

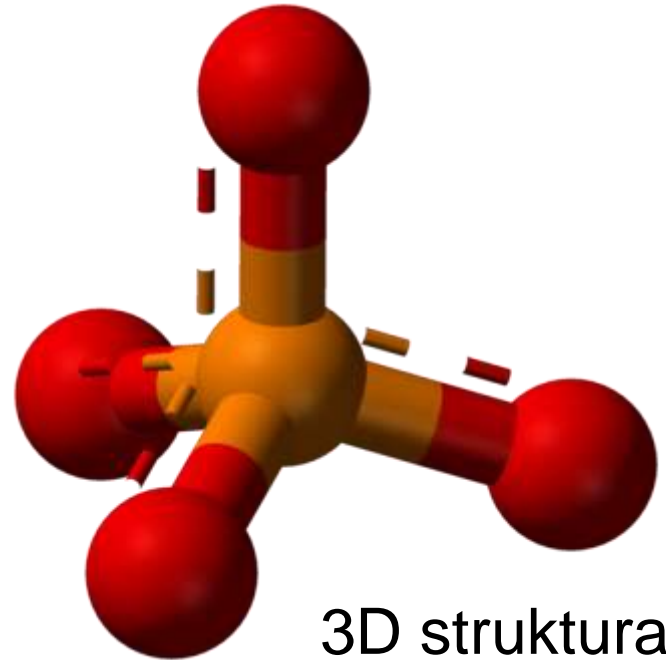
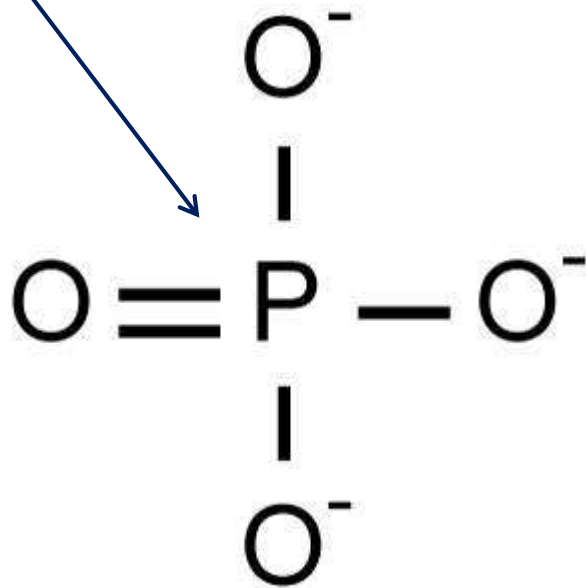
U



U, Uracil

Fosfát není fosfor...

H_3PO_4
Kyselina fosforečná

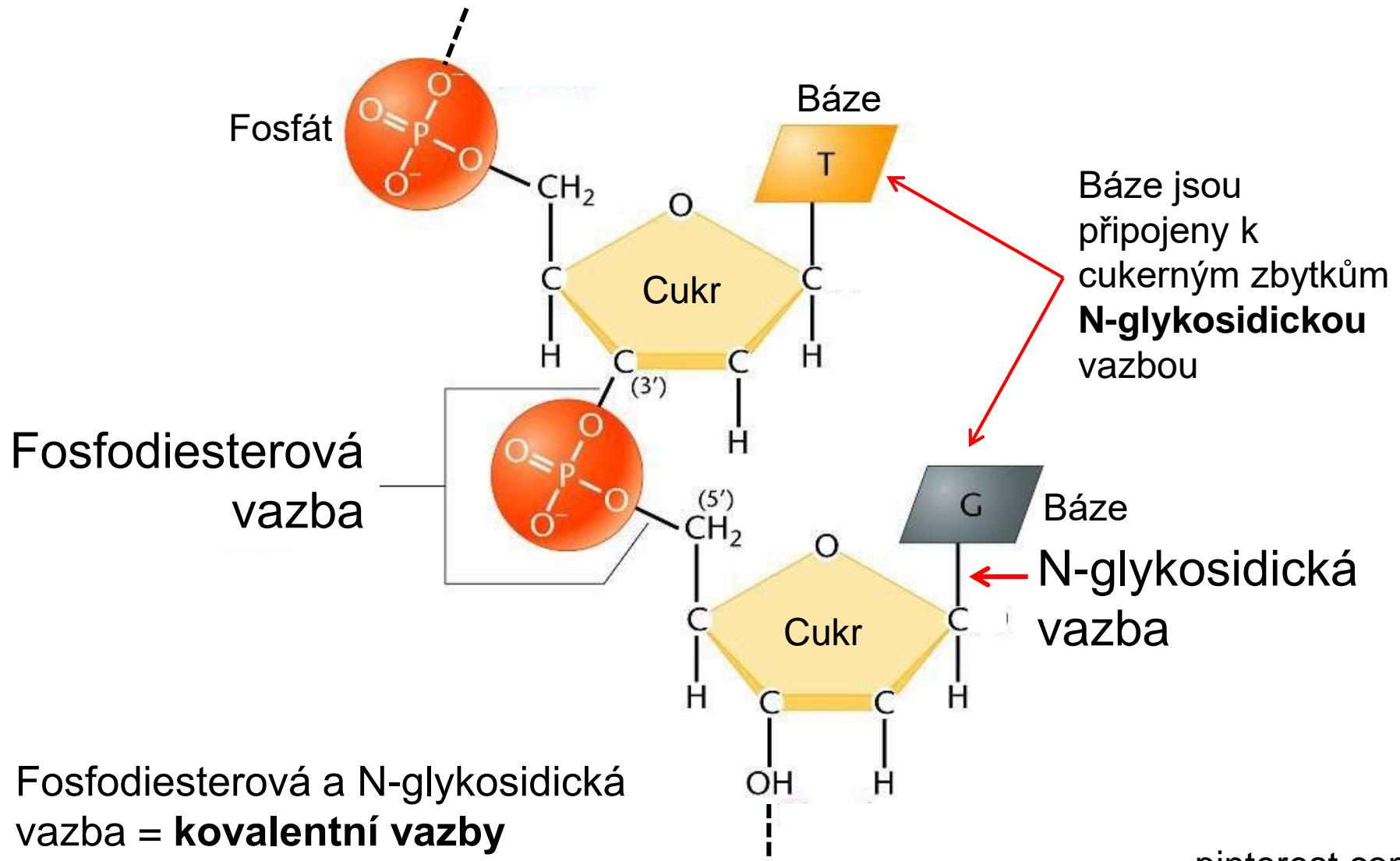


3D struktura
iontu PO_4^{3-}

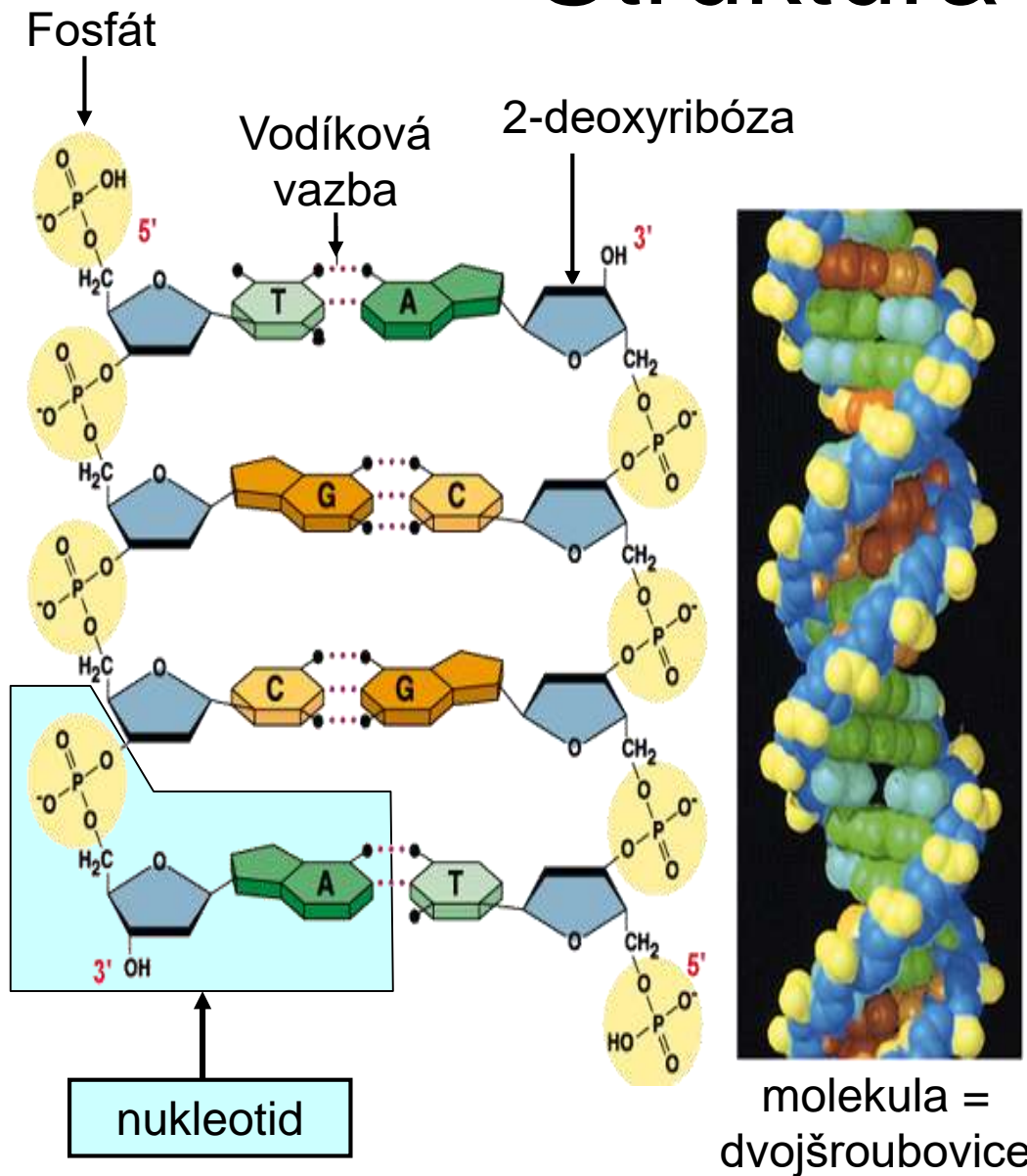
„Zbytek“
kyseliny
fosforečné

PO_4^{3-}
Fosfát (fosforečnan)

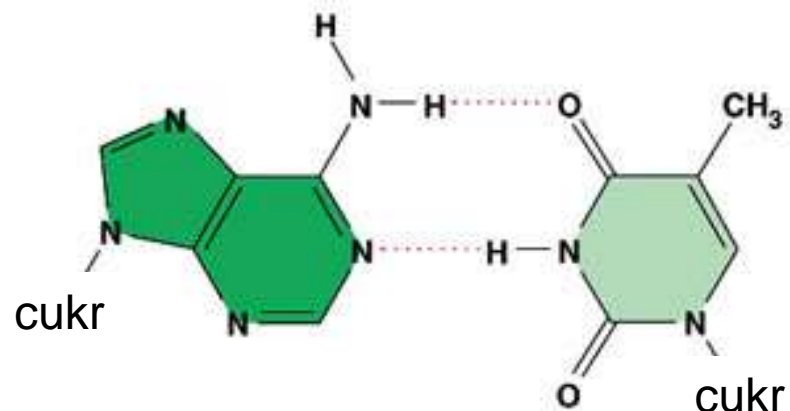
Nukleotidy jsou vzájemně propojeny
fosfodiesterovou vazbou



Struktura DNA

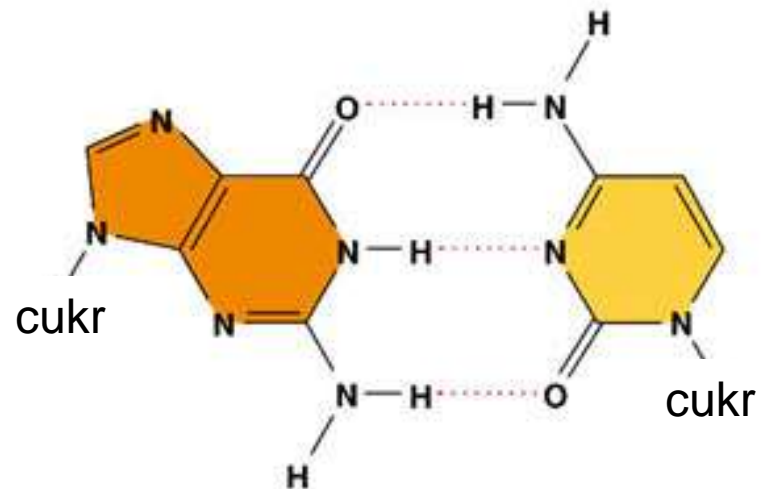


Komplementární báze



Adenin (A)

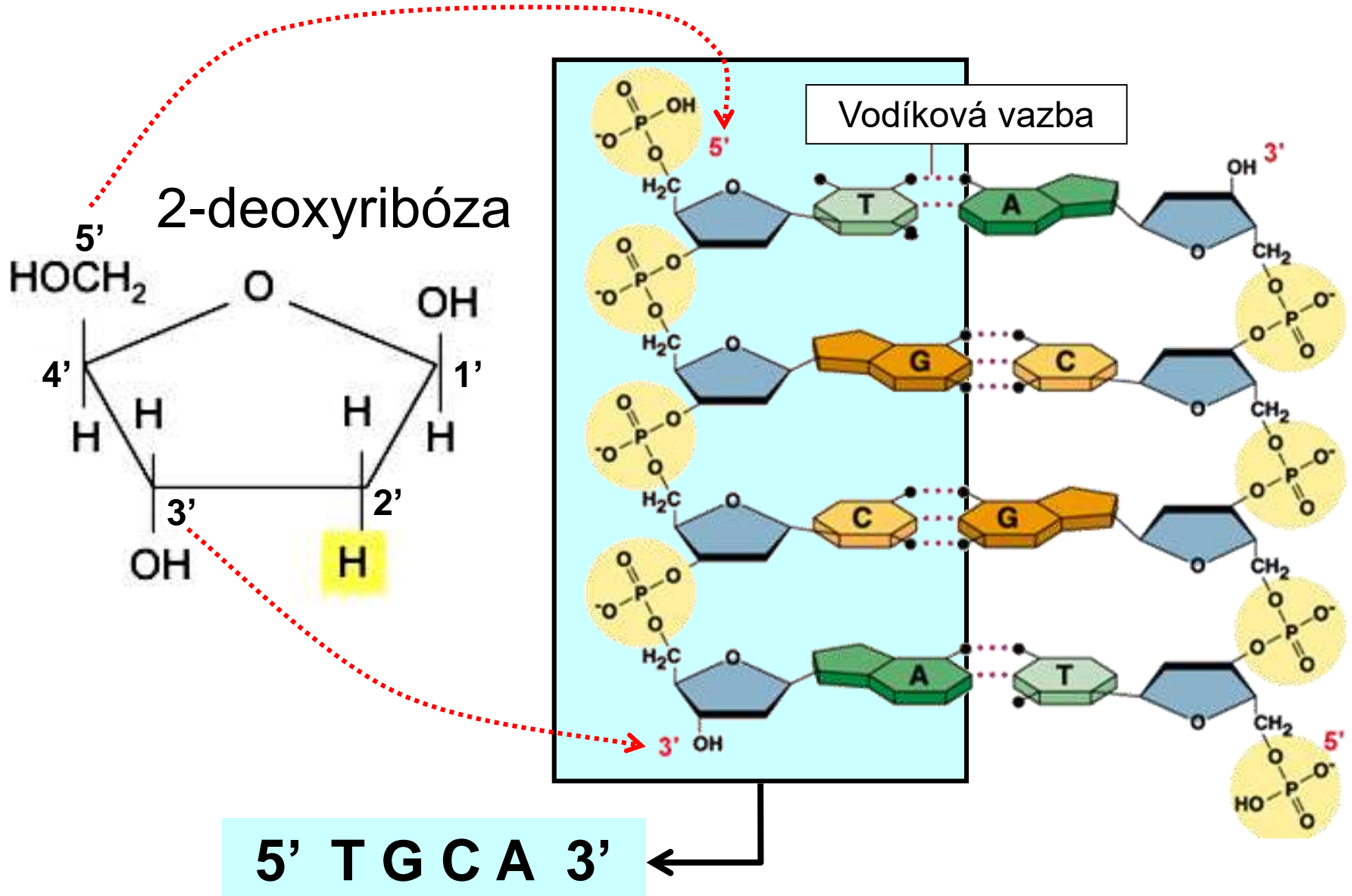
Thymin (T)



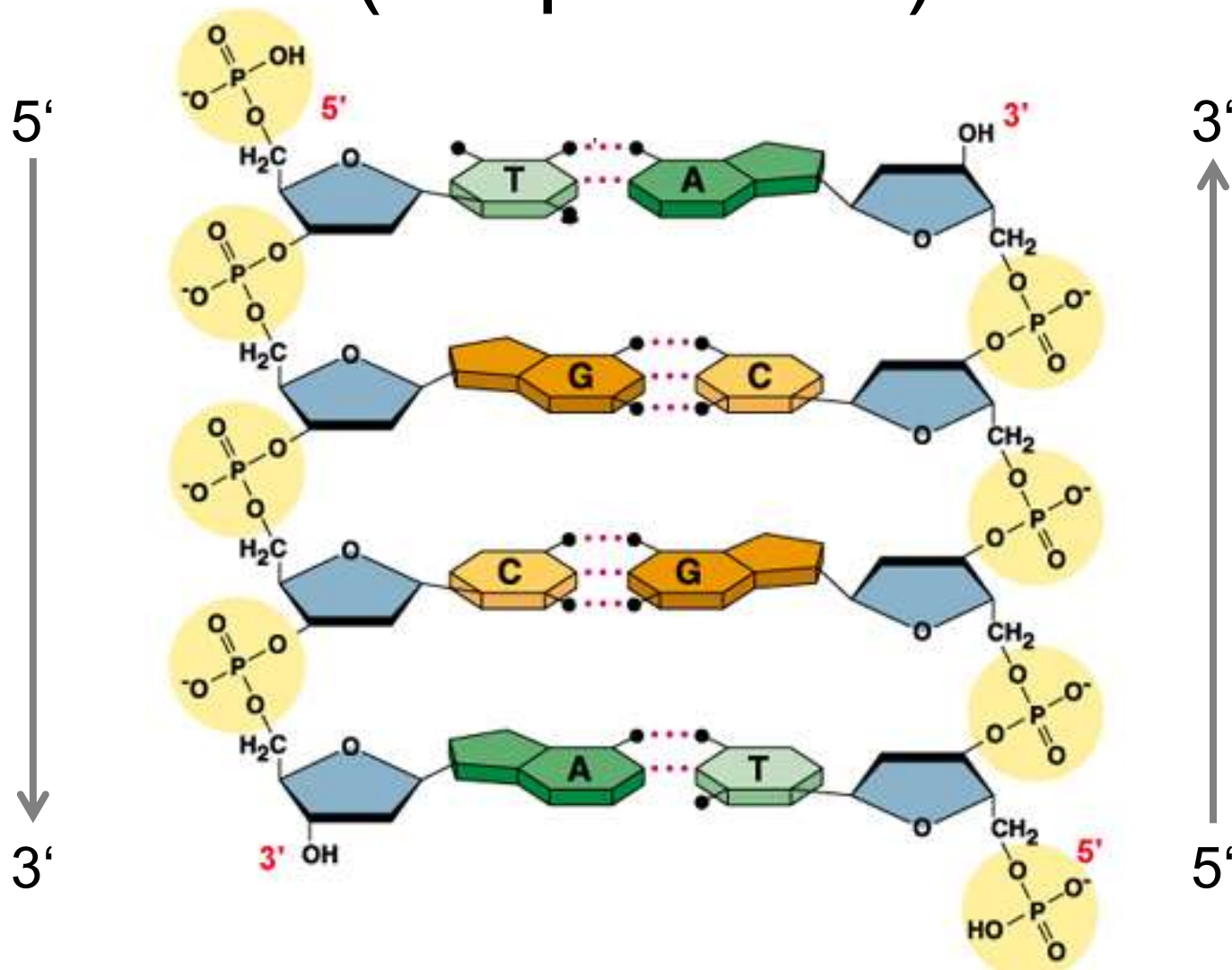
Guanin (G)

Cytosin (C)

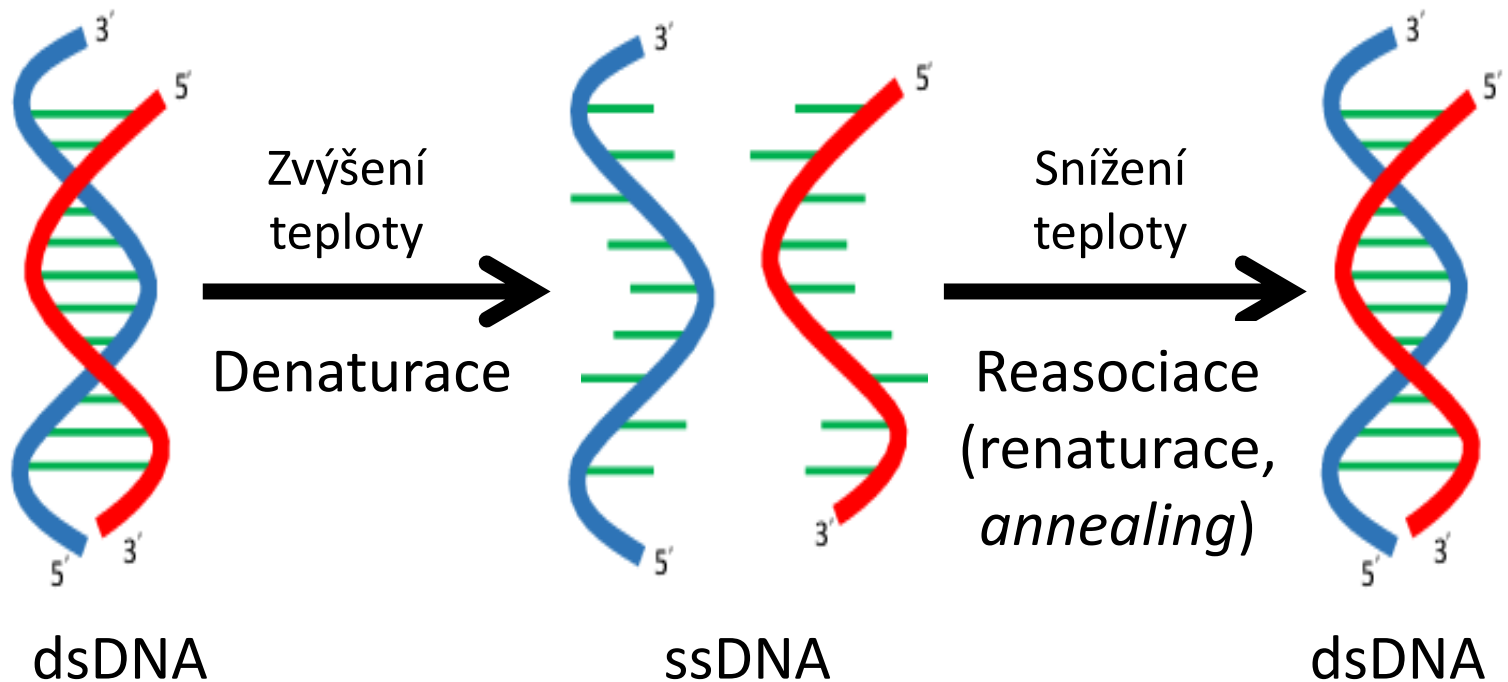
Sled nukleotidů = sekvence DNA



Orientace řetězců DNA je opačná (antiparalelní)



Denaturace a reasociace (renaturation) DNA



*ds = double
stranded*

*ss = single
stranded*

Důležité součásti
mnoha vyšetřovacích
technik!

RNA

- Obsahuje ribózu namísto deoxyribózy.
- Báze: adenin, guanin, cytosin, uracil
- Známe různé typy molekul RNA:
 - Mediátorová (*messenger*) – mRNA
 - Heterogenní nukleární – hnRNA
 - Ribozomová – rRNA
 - Transferová – tRNA
 - Malá jaderná – snRNA
 - Malá jadérková – snoRNA
 - a mnoho dalších...

Uracil je v RNA
místo thyminu
(páruje se s
adeninem)

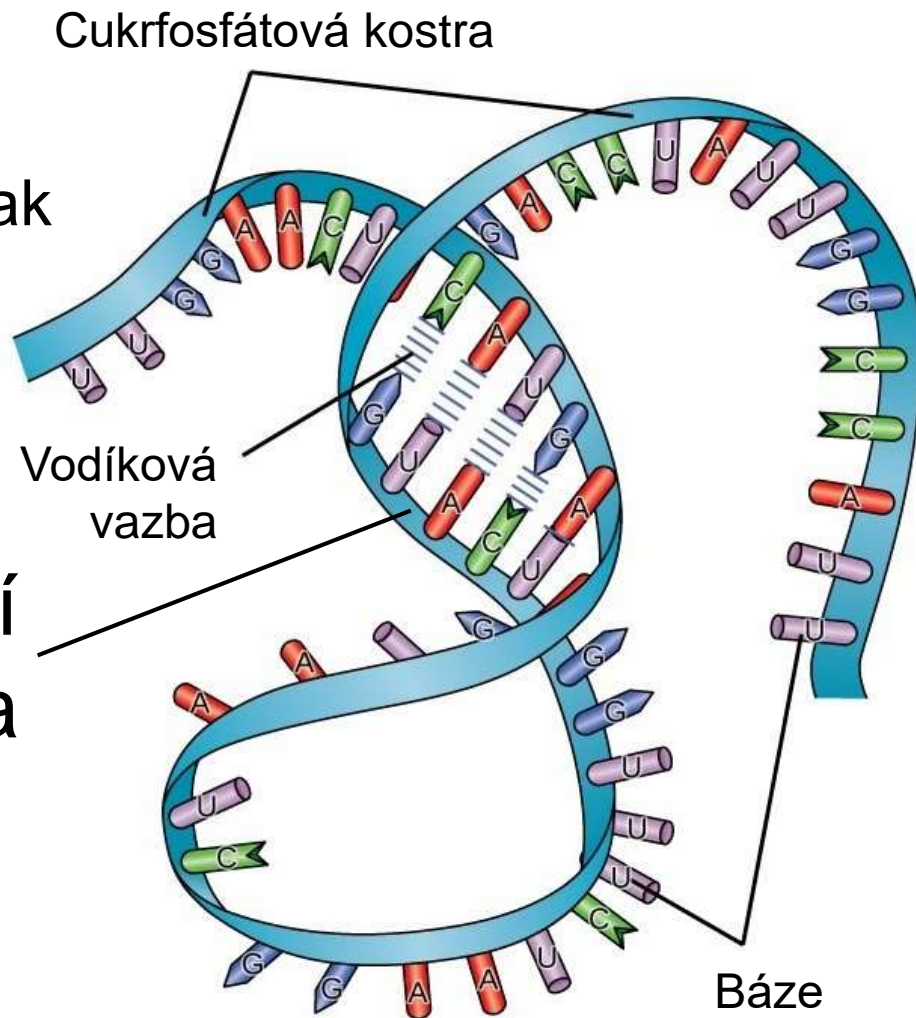
Viz další
přednášky

Obecná struktura RNA

Molekula RNA je většinou jednořetězcová, mohou se však párovat i báze ze stejného řetězce za vzniku **duplexní struktury**.

Duplexní
struktura

Dvojřetězcová RNA (dsRNA)
např. u některých virů.



RNA × DNA

- RNA i DNA tvoří polynukleotidový řetězec.
- Cukrem v RNA je ribóza, v DNA je deoxyribóza.
- V RNA je thymin vzácný, namísto něho je zde uracil.
- RNA je méně chemicky stabilní, snadněji podléhá změnám (mutacím) → patrně proto se v evoluci vyvinula DNA jako ústřední „paměťový disk“ nesoucí genetickou informaci.

Zápis sekvencí nukleových kyselin

- Postupujeme vždy od 5' k 3' konci (tj. ve směru, v němž je DNA i RNA v buňce syntetizována).
- K označení nukleotidů používáme jednopísmenná označení bází:
 - A = adenin
 - G = guanin
 - C = cytosin
 - T = thymin
 - U = uracil
- Důležité pro zadávání dat o sekvenci DNA do webových aplikací, resp. do databází.

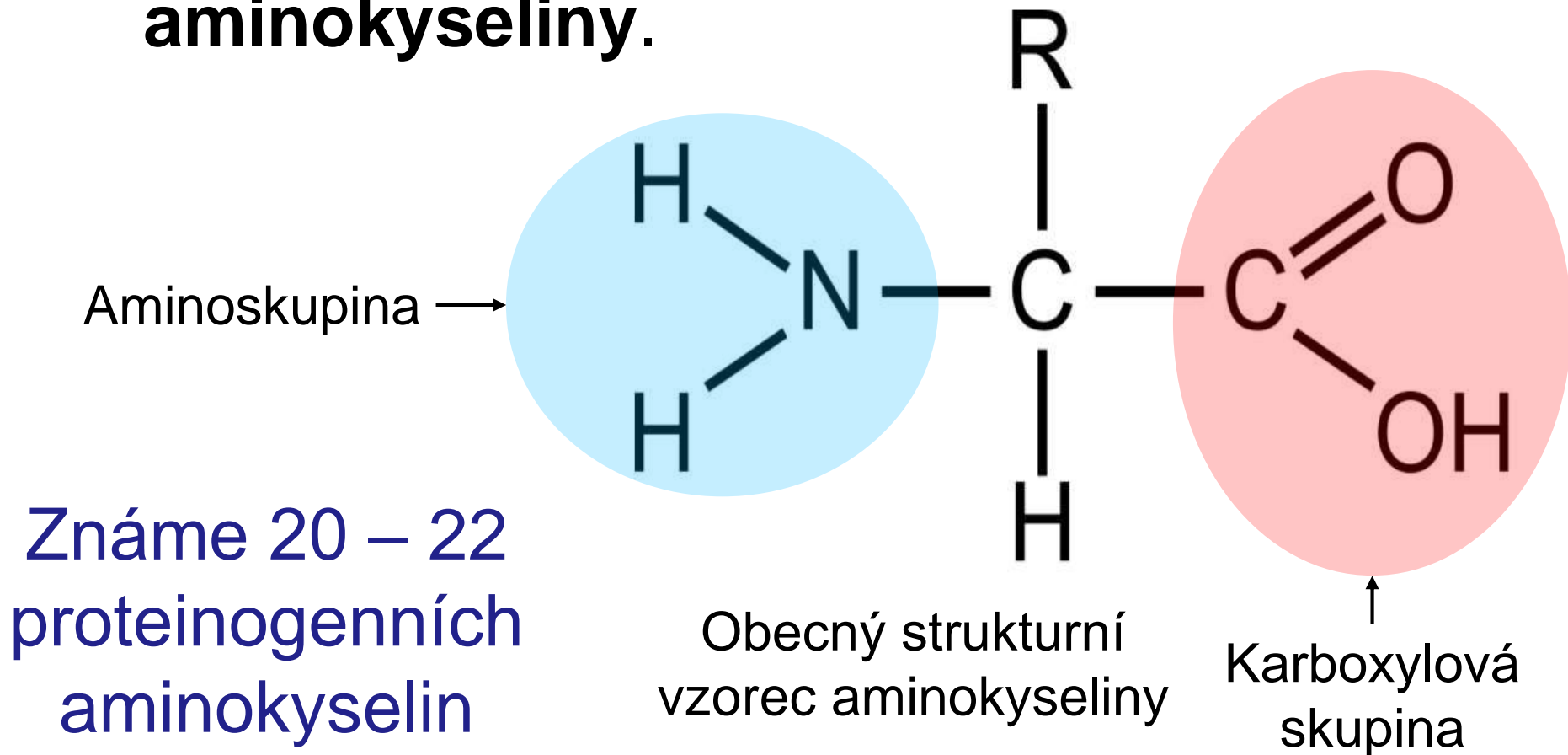
Příklady zápisů sekvencí

DNA: AGCTATTCGCGT

RNA: UCGAUAAGCGCA

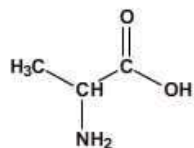
Proteiny

- Makromolekuly – polypeptidový řetězec
- Základní stavební kameny jsou **aminokyseliny**.

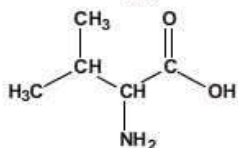


Přehled základních aminokyselin

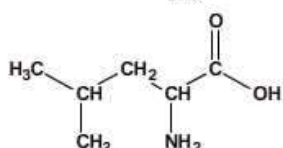
alanin (Ala)



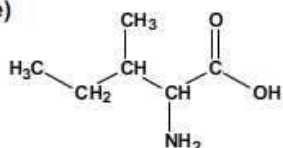
valin (Val)



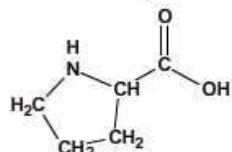
leucin (Leu)



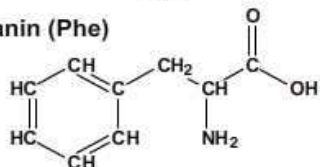
isoleucin (Ile)



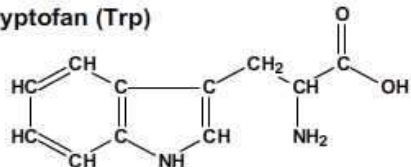
prolin (Pro)



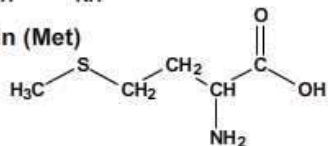
phenylalanin (Phe)



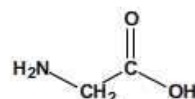
tryptofan (Trp)



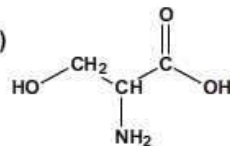
methionin (Met)



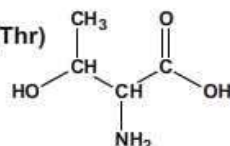
glycin (Gly)



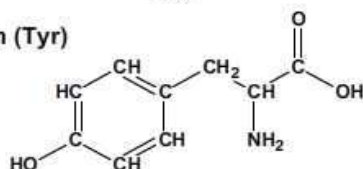
serin (Ser)



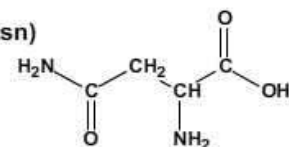
threonin (Thr)



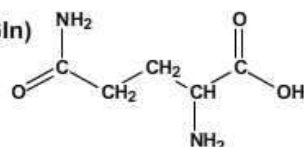
tyrosin (Tyr)



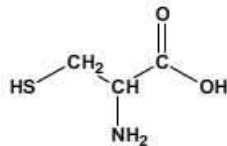
asparagin (Asn)



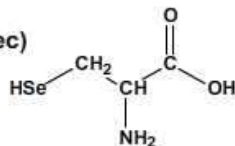
glutamin (Gln)



cystein (Cys)

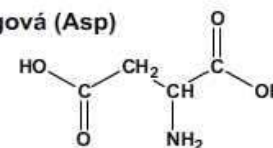


selenocystein (Sec)

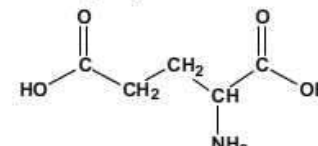


http://www.studiumbiochemie.cz/prirodni_latky_bilkoviny.html

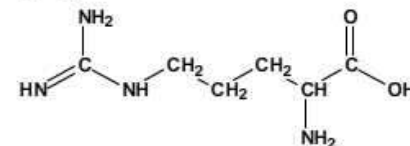
kyselina asparagová (Asp)



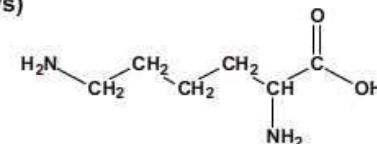
kyselina glutamová (Glu)



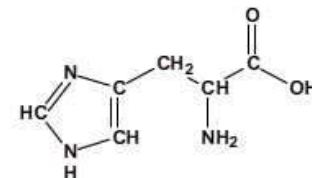
arginin (Arg)



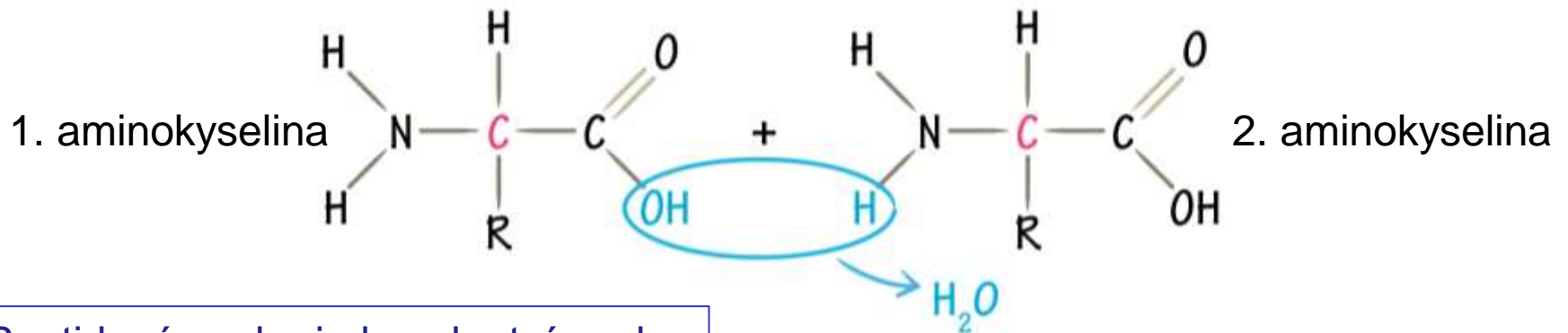
lysin (Lys)



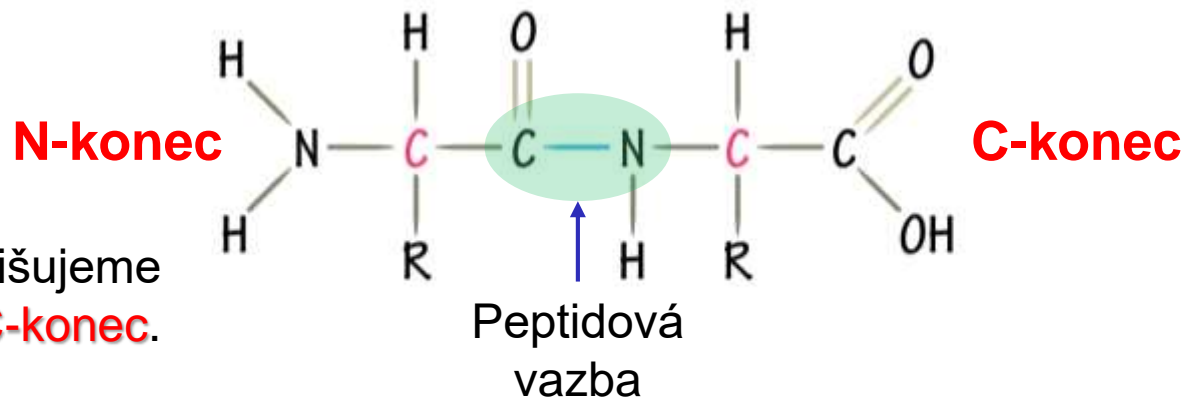
histidin (His)



Aminokyseliny v proteinech jsou spojeny peptidovou vazbou.



Peptidová vazba je kovalentní vazba mezi dusíkem (z aminoskupiny) a uhlíkem (z karboxylové skupiny).



U proteinů rozlišujeme
N-konec a **C-konec**.

Zápis sekvence proteinu

- Uvádíme jednotlivé aminokyseliny
- Postupujeme od N-konce k C-konci (neboť protein je v tomto směru syntetizován)
- Pro zadávání sekvence do webových aplikací, resp. databází používáme jednopísmenné kódy aminokyselin stanovené IUPAC (Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii).

Příklady jednopísmenných kódů aminokyselin podle IUPAC

Název aminokyseliny	Původní třípísmenná zkratka	Jednopísmenný kód IUPAC
Glycin	Gly	G
Cystein	Cys	C
Alanin	Ala	A
Threonin	Thr	T
Arginin	Arg	R
Tyrosin	Tyr	Y
Asparagin	Asn	N
Glutamin	Gln	Q
Fenylalanin	Phe	F

IUPAC = International Union for Pure and Applied Chemistry

Příklady zápisu sekvence proteinu

- Starý zápis:

Gly Cys Ala Thr Arg Tyr Asn Phe

- Stejný zápis jednopísmennými kódy IUPAC:

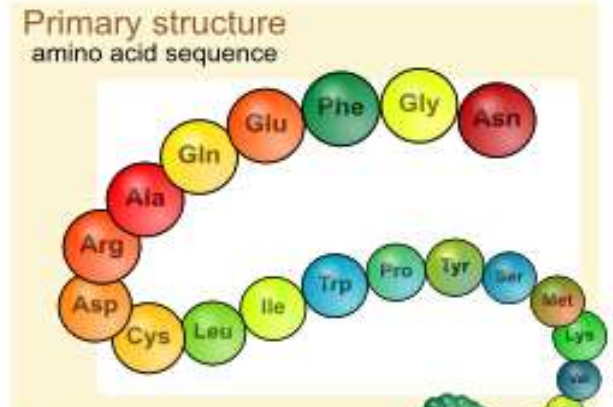
GCATRYNF

N konec

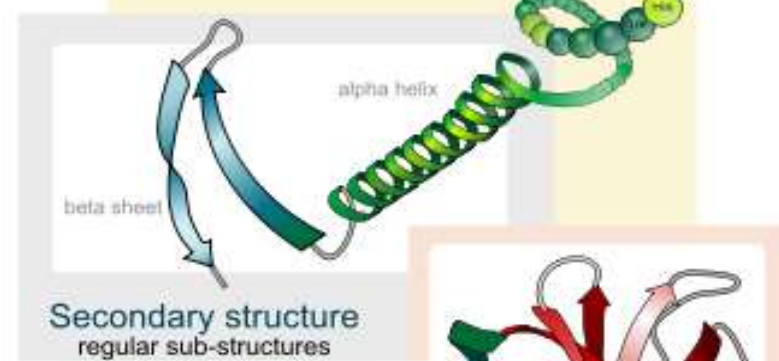
C konec

Struktura proteinů

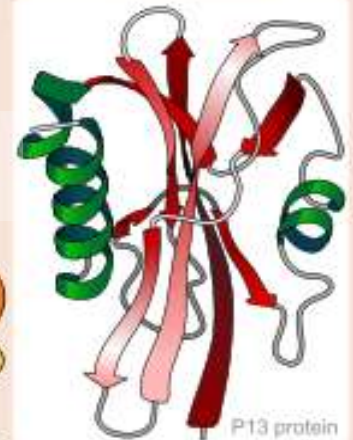
Primární struktura
(sekvence aminokyselin)



Sekundární struktura (3D, alfa helix nebo beta skládaný list)



Terciární struktura (3D)



Kvartérní struktura (komplex více proteinových molekul)



Quaternary structure
complex of protein molecules

Fakulta elektrotechnická ČVUT

Bioinformatika a genetika

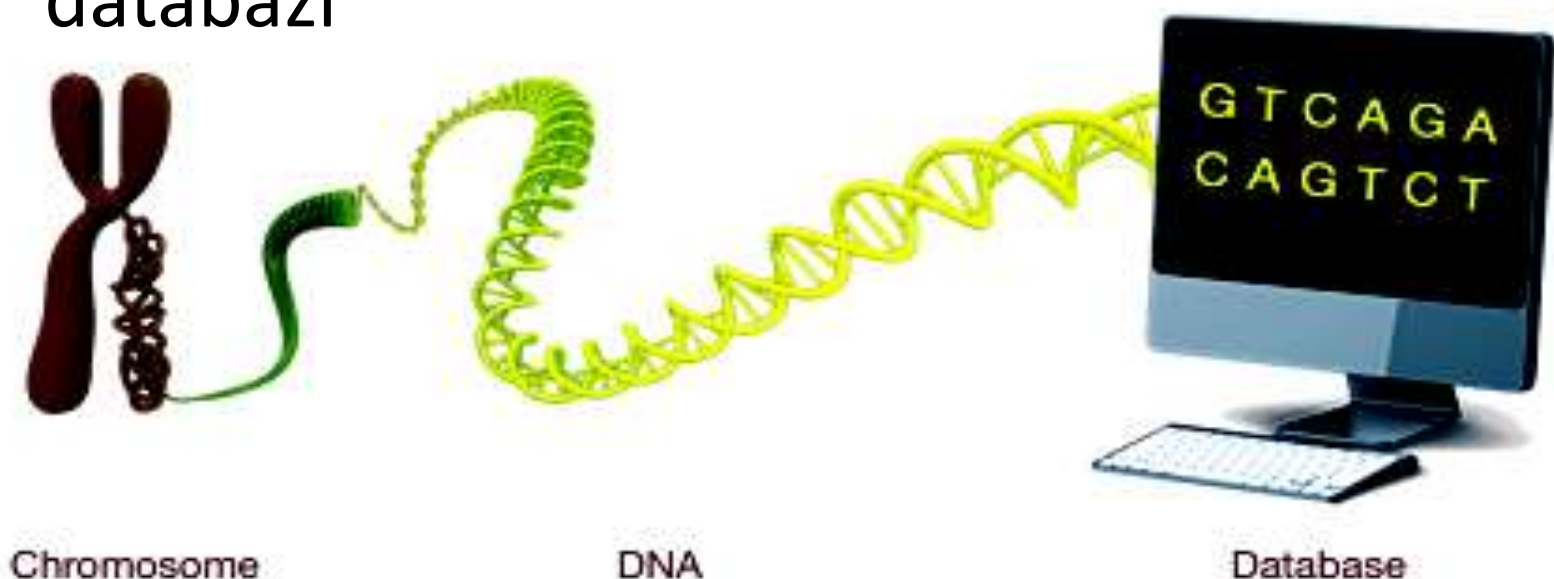
Eduard Kočárek

zimní semestr 2025/2026

<https://www.yourgenome.org/theme/what-is-bioinformatics-and-how-do-we-use-it/>

Bioinformatika

- Aplikace informačních technologií v biologii.
- Analýza a srovnávání biologických dat (zejména sekvencí DNA, RNA, proteinů) pomocí počítačového hardwaru a softwaru, vytváření databází



IT, bioinformatika a genetika

Mikroskop, skener genových
čipů, sekvenátor apod.



Preparát na mikroskopickém skle, genový
čip, výsledek elektroforézy apod.



Základní techniky práce s DNA, vybavení genetické laboratoře

Materiál k vyšetření DNA

- Cokoliv, co obsahuje DNA
- Např. periferní krev, bukální stěry, vlasové kořínky, jiné tkáně obsahující buňky s jádry.
- Prenatálně též buňky z plodové vody (amniocyty), buňky z plodových obalů (buňky choriových klků)
 - Fetální DNA je obsažena i v krvi matky
- Před vlastním vyšetřením DNA je třeba biologický materiál homogenizovat, ošetřit detergentem (eventuálně též proteolytickými enzymy) a centrifugací oddělit pevné části.

Manipulace se vzorky nukleových kyselin

Pipeta

Zkumavka =
Eppendorfka



Jeden ze základních problémů

- Práce s malými objemy tekutin – řádově 0,1 – 1000 mikrolitrů (malé množství DNA, drahé chemikálie, technické důvody ...)

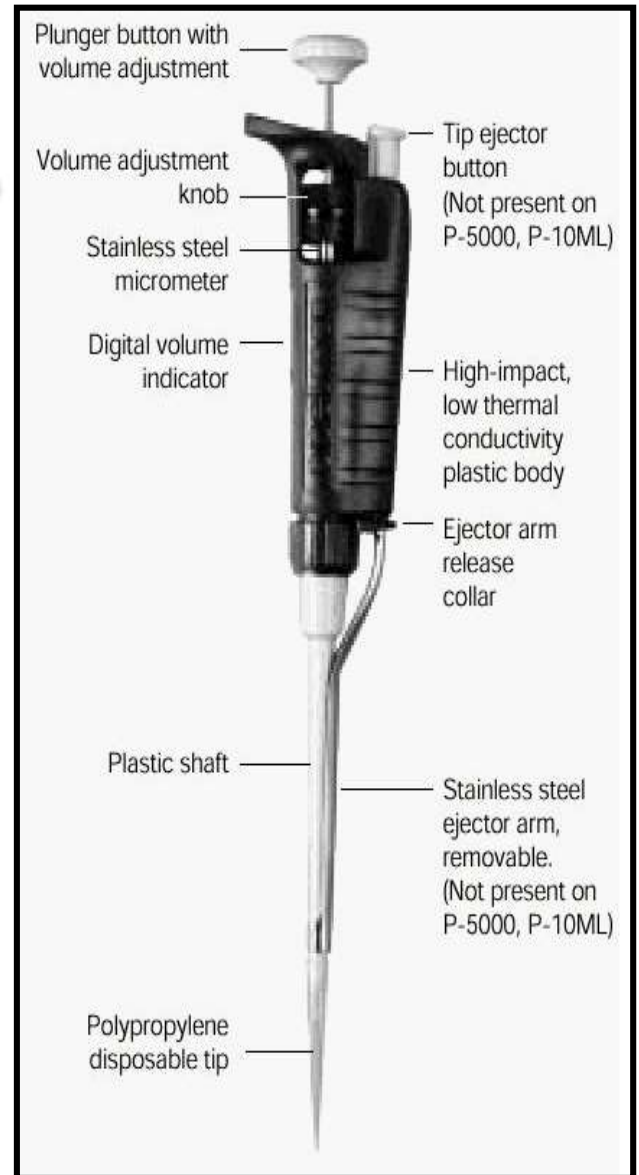
Plastové mikrozukumavky (Eppendorfky)



Pipety



*20 Racks
of Free Tips!*



Další vybavení laboratoře

- Centrifugy
- Chladničky, mrazničky (skladování vzorků DNA, popř. RNA)
- Termocyklery – viz zvláštní přednášku věnovanou technice PCR
- Zařízení pro elektroforézu – viz dále
- Mikroskopy (optické světelné nebo fluorescenční – v cytogenetických laboratořích)
- ... a mnoho dalších přístrojů (podle zaměření laboratoře)

Pozor!

- Jedovaté chemikálie, některé způsobují nádorová onemocnění
 - V některých laboratořích se pracuje s radioaktivně značenými molekulami.
- Hořlaviny, žíraviny
- Vzorky lidské DNA mohou obsahovat původce infekcí (zejména viry)
- **Zachování mlčenlivosti** při práci se vzorky DNA od pacientů – ochrana osobních dat – důležitá prevence genetické diskriminace!

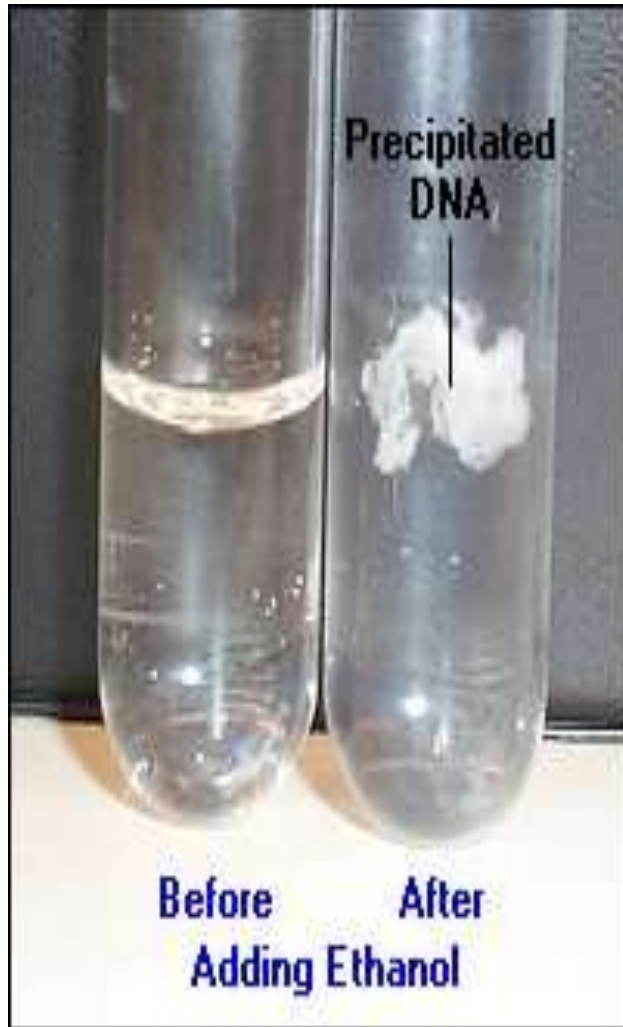
Základní nástroje molekulární genetiky



A close-up photograph of a clear plastic test tube. The tube is partially filled with a translucent blue liquid. At the bottom of the tube, there is a visible white, clumpy precipitate. The test tube has white measurement markings, with '10' and '5' clearly visible. The background is dark and out of focus, with some blue light reflecting off a surface at the bottom.

Izolace DNA

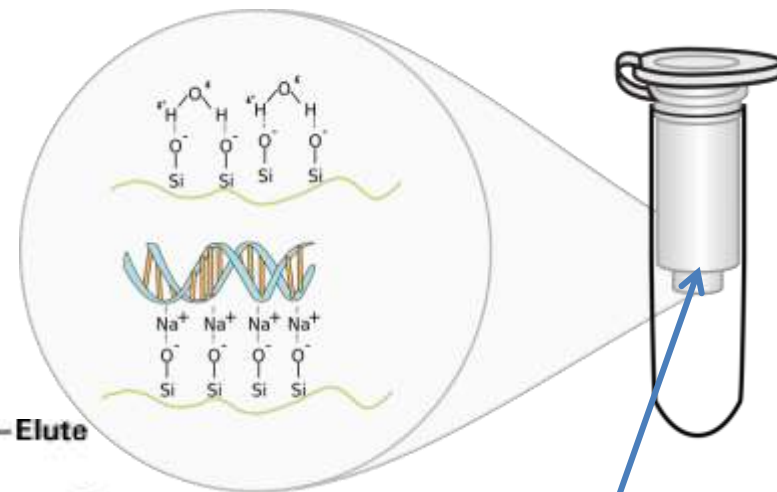
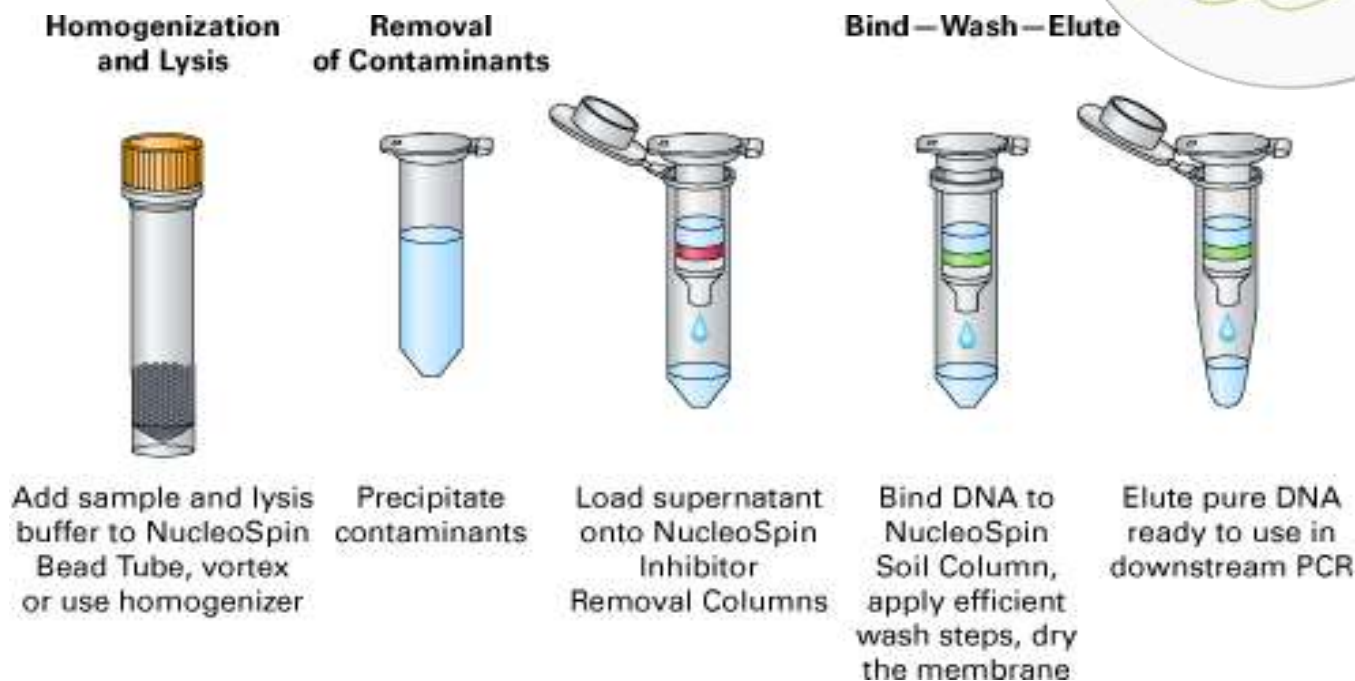
Precipitate DNA ethanolem (popř. jiným alkoholem – např. izopropanolem)



- Přidáním alkoholu do roztoku dochází k vyloučení (precipitaci) DNA.
- Oddělená DNA se rozpustí v pufru a použije k další analýze.

Izolace, resp. purifikace DNA na silikátovém povrchu

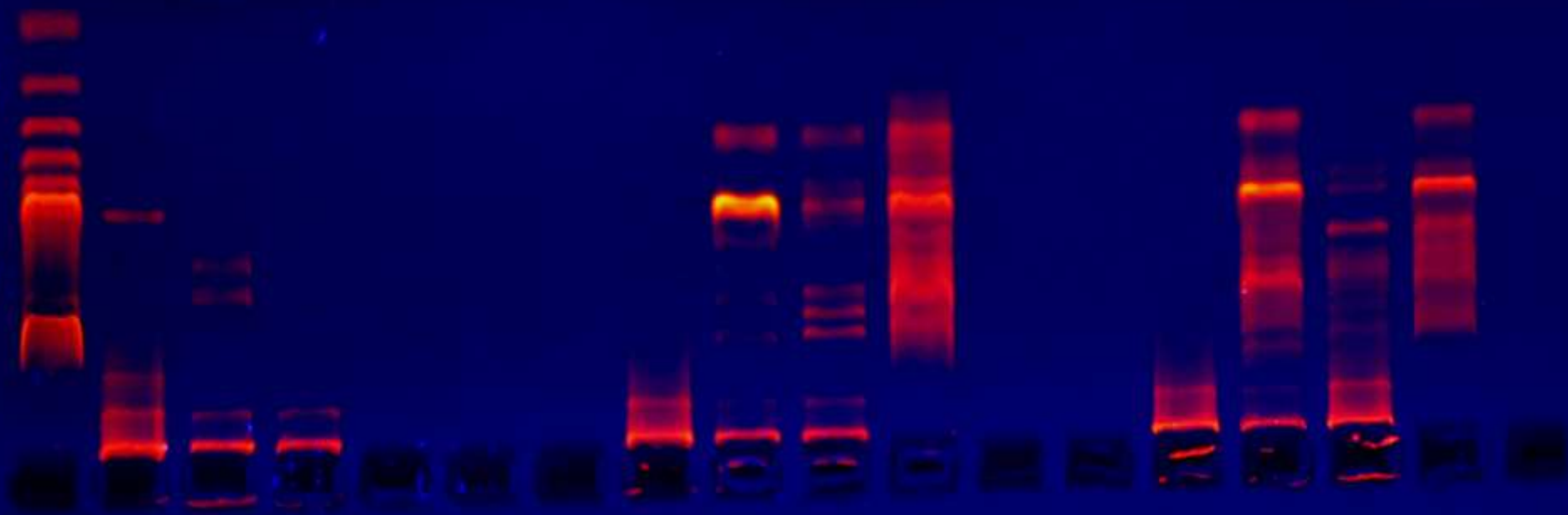
- Spin column-based nucleic acid purification
- DNA se váže na silikátový povrch a potom je oddělena



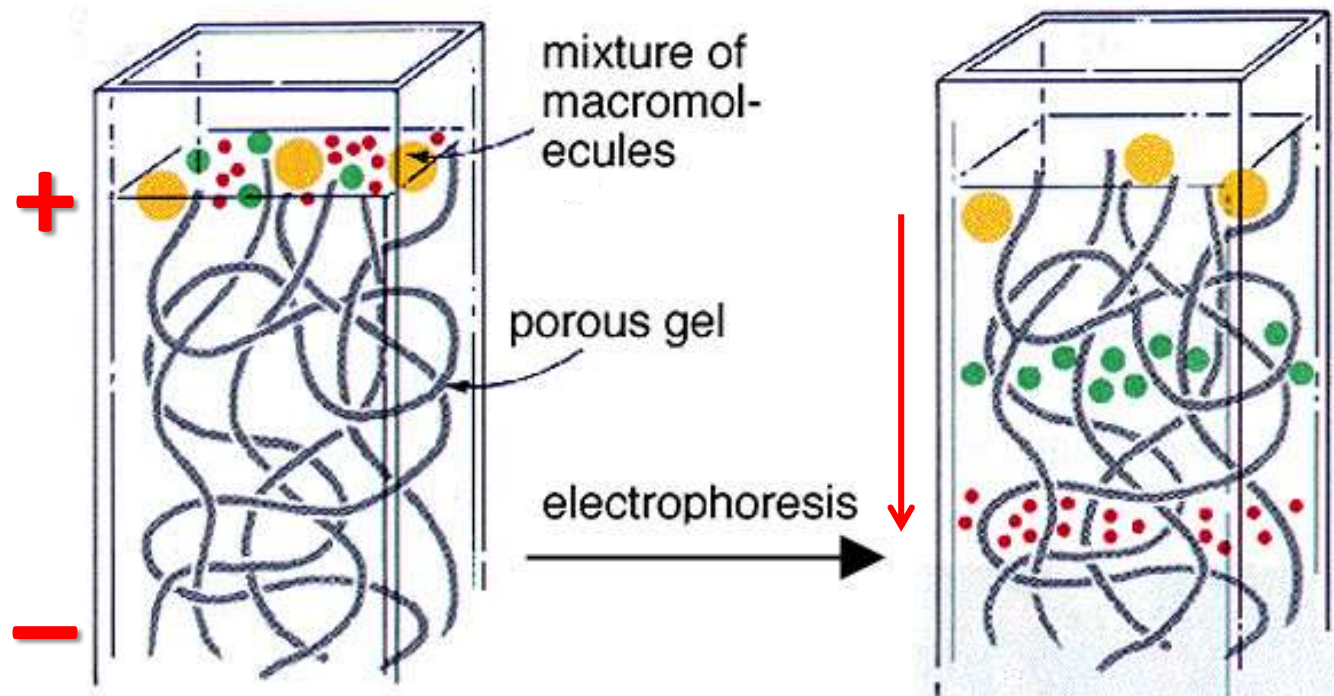
„kolonka“ se silikátovou membránou

Elektroforéza nukleových kyselin

- Gelová elektroforéza
- Kapilární elektroforéza



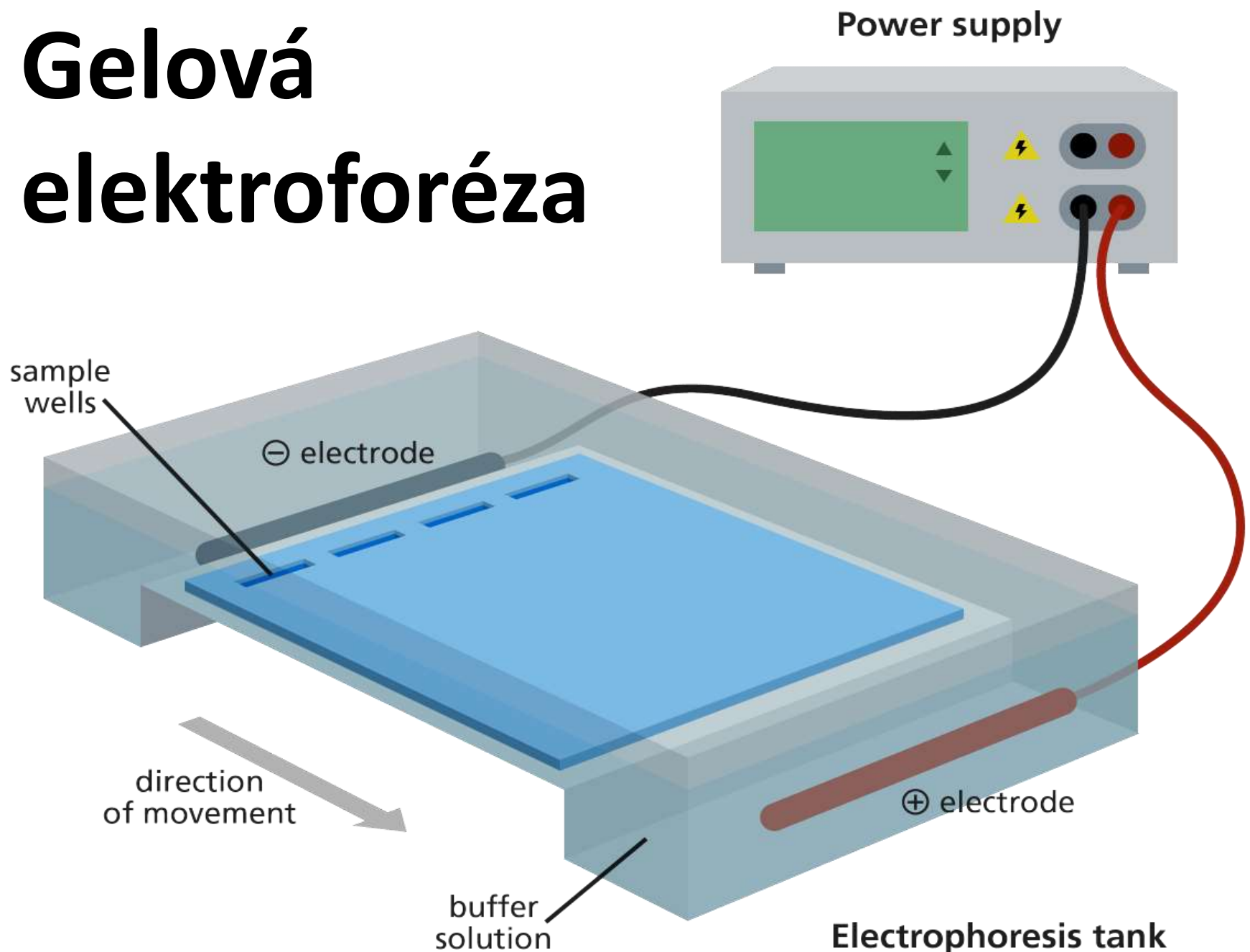
Elektroforetický gel je molekulární síto



- Pro dělení fragmentů DNA používáme buď agarózu nebo polyakrylamid



Gelová elektroforéza

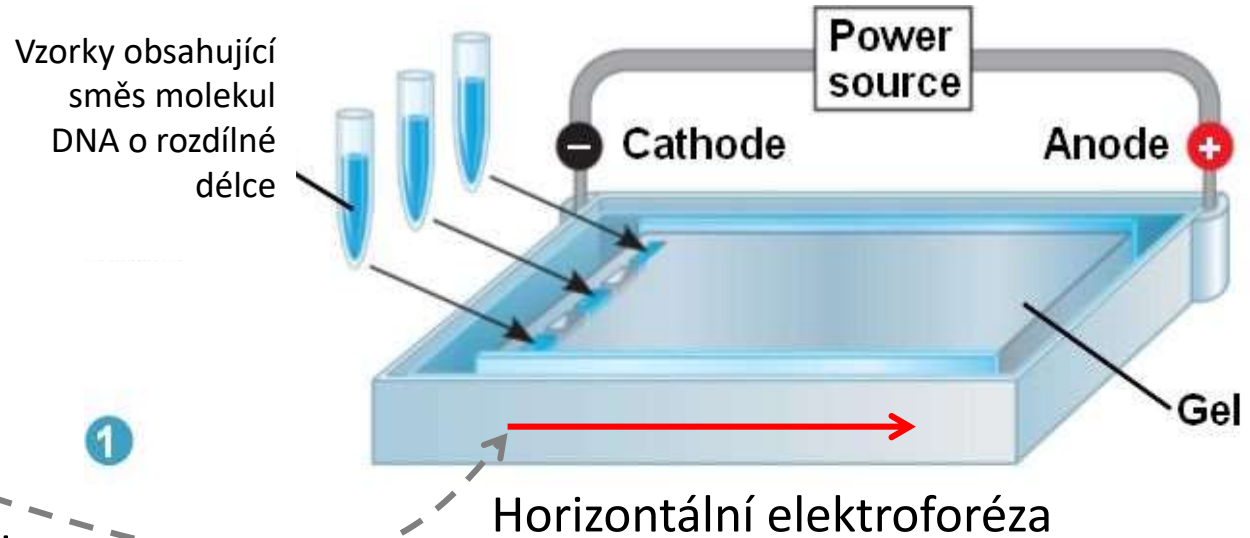


Elektroforéza nukleových kyselin

- Molekula DNA je záporně nabitá, proto putuje **od katody k anodě**.

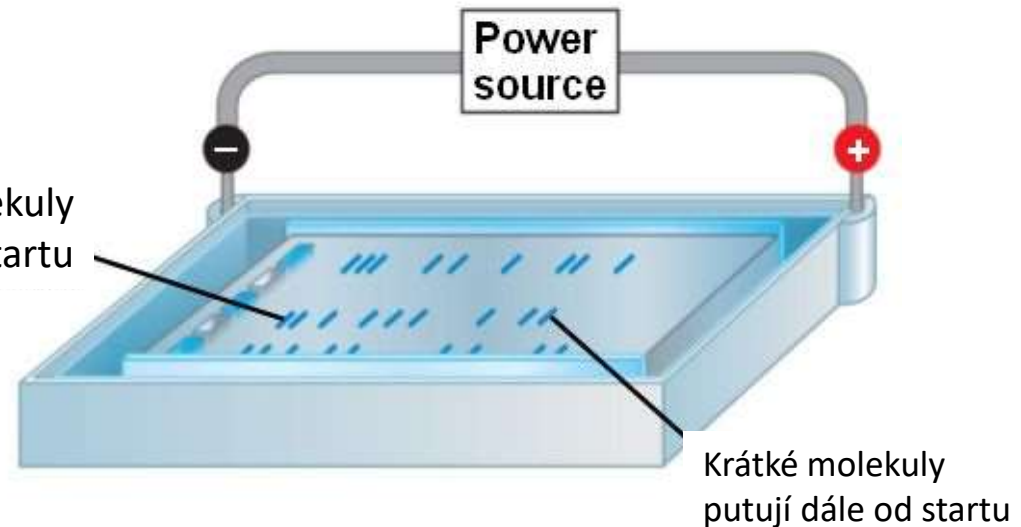
- Čím delší molekula, tím putuje pomaleji.

- Vhodné k rozdělení molekul DNA o rozdílné délce (např. restričních fragmentů)



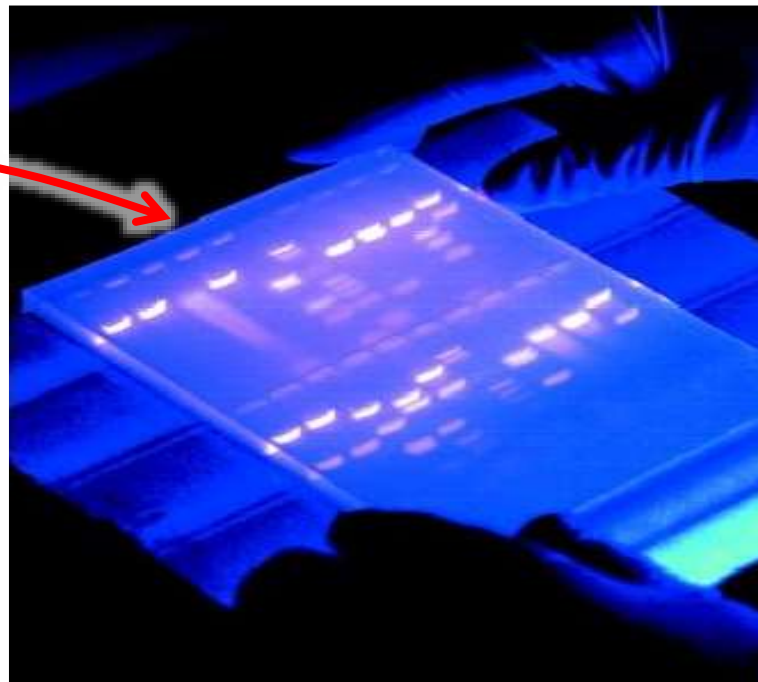
2

Dlouhé molekuly zůstávají blíže ke startu



Výsledky gelové elektroforézy

DNA je obarvena fluorescenčním barvivem – výsledky prohlížíme pomocí **transiluminátoru**.



Pruhy DNA na
elektroforetickém gelu

Transiluminátor obsahuje **zdroj UV záření**.

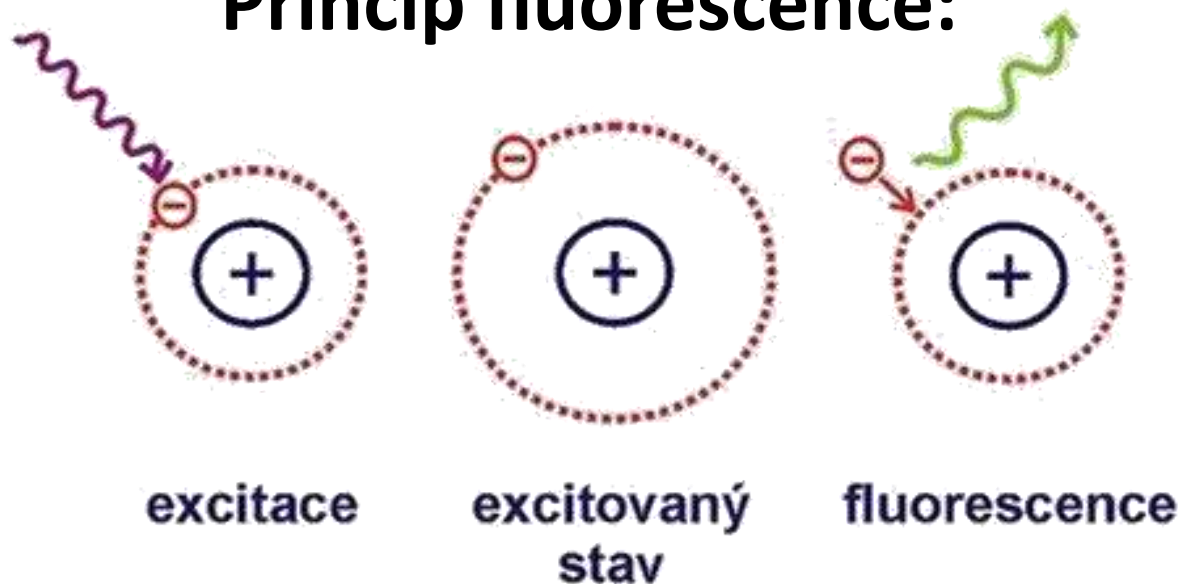
Vizualizace DNA



Vizualizace DNA

- Používáme většinou fluorescenčních barviv
- Mnohá z nich jsou vysoce specifická pro DNA, některá barví i RNA

Princip fluorescence:



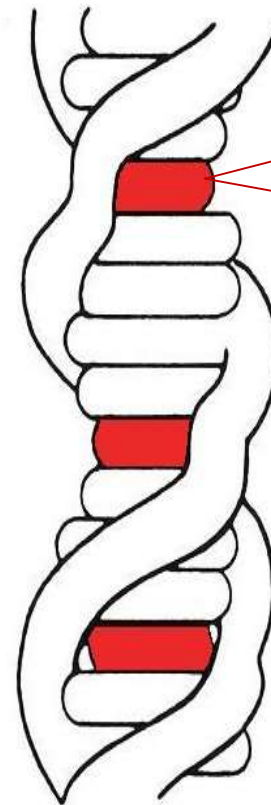
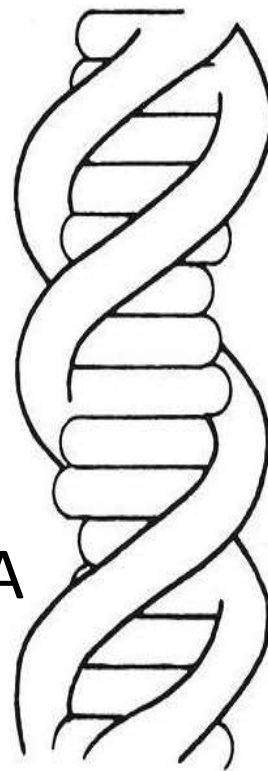
Proč se fluorescenční barviva v genetice používají?

- Vážou se specificky mezi páry bází v DNA.
- Tzv. **interkalátory**

POZOR! Interkalátory mohou způsobovat **mutace!**

Normální
molekula DNA

Příklad: ethidiumbromid

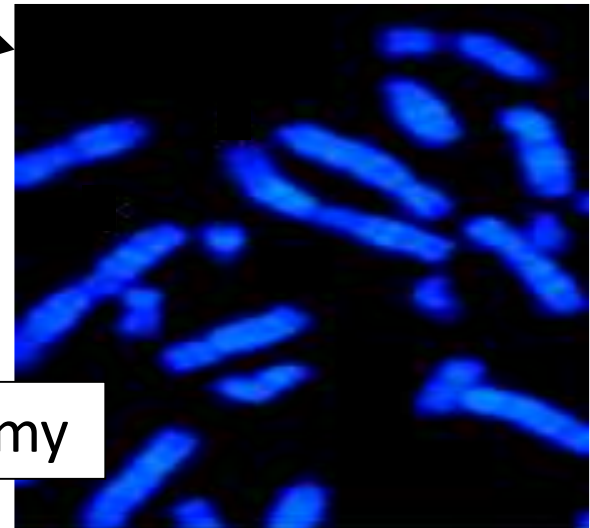
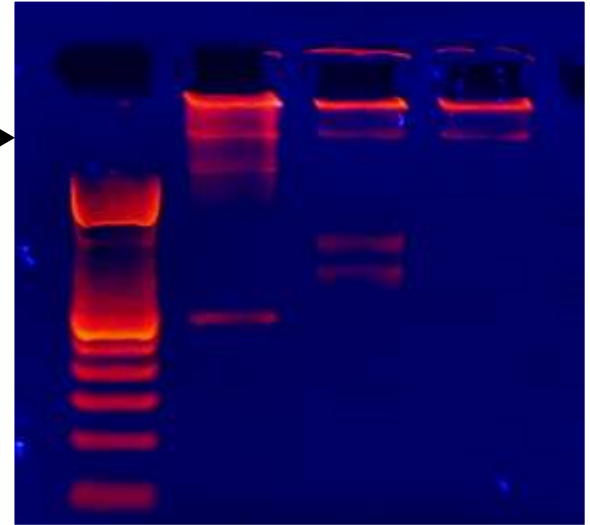


Molekula
interkalátoru

Molekula
DNA po
interkalaci

Fluorescenční barviva v genetice (dva příklady z mnoha)

- Ethidium bromid —————→
 - barví DNA na elektroforetickém gelu
- Diamidinoofenylyndol —————→
 - (4',6-diamidino-2-phenylindole, **DAPI**)
 - Používá se k barvení chromozomů



Fluorescenčně obarvené chromozomy

Na shledanou!

