

Genom a jeho struktura  
Základy jaderné a  
mitochondriální dědičnosti

Mgr. Peter Lenárt Ph.D.



Genetika?

---

# Genetika je

---

1. Veda o dedičnosti a variabilite
2. Veda o génoch a genetickom materiále



# Genetika je

---

1. Veda o dedičnosti a variabilite
2. Veda o génoch a genetickom materiále

Veda skúmajúca dedičnosť a premenlivosť organizmov a ich príčiny

# História

---

- Rôzne teórie o dedičnosti vznikali už od staroveku







## Genesis 30, 37-43

<sup>37</sup>Jákob si tenkrát vzal čerstvé topolové, mandloňové a platanové pruty, oloupal z nich proužky kůry, a tak odkryl bílé jádro prutů. <sup>38</sup>Potom ty oloupané pruty kladl před dobytek do žlabů, totiž do koryt na vodu, k nimž zvířata přicházela pít a kde se pářila. **<sup>39</sup>Zvířata, jež se pářila před těmi pruty pak vrhala pruhovaná, skvrnitá a strakatá mlád'ata.** <sup>40</sup>Jákob ta jehňata odděloval a v Lábanově stádě obracel dobytek směrem k pruhovaným i všem načernalým kusům. Tak si Jákob pořídil svá vlastní stáda a ta nestavěl k Lábanovým zvířatům. **<sup>41</sup>A kdykoli se pářily statné kusy, Jákob jim před oči do žlabů kladl ty pruty, aby se pářily před pruty.** <sup>42</sup>Když však byla zvířata neduživá, pruty nekladl. A tak byl Lábanův dobytek neduživý, ale **Jákobův statný.** <sup>43</sup>Takto se ten muž nesmírně rozmohl, takže měl množství stád, otrokyň, otroků, velbloudů i oslů.



## Aristotelés



- Krv je základ dedičnosti
- Sperma je vyčistená krv
- Mužské a ženské vplyvy sa spoja v žene a vznikne dieťa

Z toho pochádzajú výrazy ako „pokrvní príbuzní“, a podobne

Vlastnosti rodičov ovplyvňujú vlastností detí

Kríženie najlepších mužov s najlepšími ženami (alebo najlepších zvierat) vedie k produkcii najlepších potomkov!



# História

---

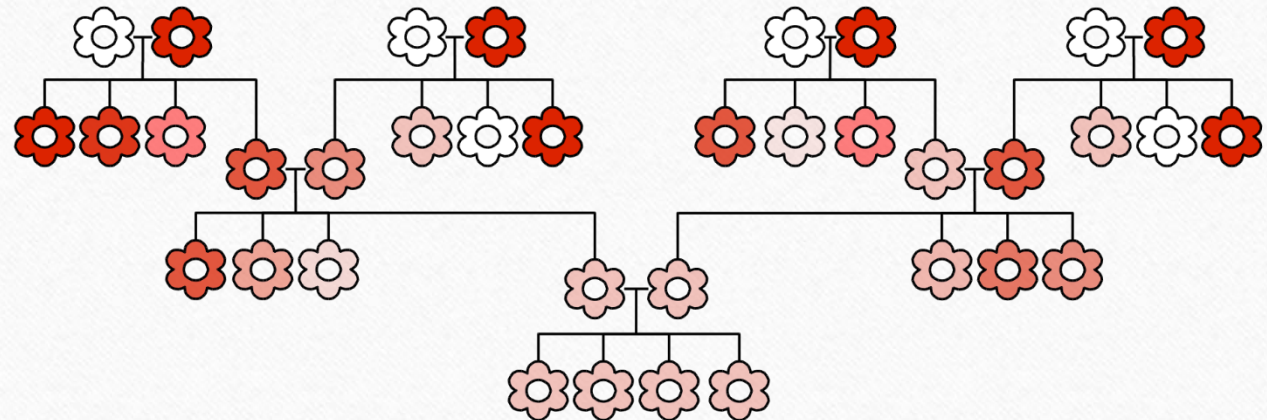
- Rôzne teórie o dedičnosti vznikali už od staroveku
- 19.storočie „blending inheritance“



## Charles Darwin



- Ako mnoho vedcov jeho doby predpokladal takzvanú „blending inheritance“
- V podstate je to predstava, že deti majú priemerné hodnoty znakov ich rodičov - ak skrížime červený a biely kvet, dostaneme kvet ružový.
- Veľký problém pre Darwina: evolúcia by s týmto typom dedičnosti nemohla fungovať!







*Figure 2. Histogram of a sample of college students arranged by height. Note that this histogram has a bi-modal shape due to the mixing of two separate groups, males and females.*



# História

---

- Rôzne teórie o dedičnosti vznikali už od staroveku
- 19.storočie „blending inheritance“
- J. G. Mendel (1822–1884)
  - 1866 - Pokusy s rostlinnými hybridy
  - 1900 - C. Correns, E. von Tschermak, H. de Vries – znovuobjavenie Mendelovej práce



## Gregor Johan Mendel



- 1822 (Hynčice) - 1884 (Brno)
- Mních (řád Augustiánov) a neskôr opát Starobrněnského kláštora

1854 -1863: Pokusy s hrachom (*Pisum sativum*)

- Vytvoril „čisté línie“
- 27 225 rostlin
- 7 párových znakov
- 1865 – predniesol svoje výsledky na zasadaní prírodovedeckého spolu v Brne
- 1866 – publikoval prácu “Pokusy s rastlinnými hybridy“








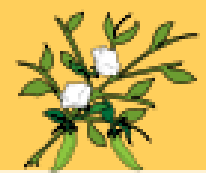








# Výber modelového organizmu



VS





semeno		květ	lusk		stonek	
tvár	dělohy	barva	tvár	barva	umístění	velikost
						
šedý & kulatý	žluté	bílá	plný	žlutý	lusky a květy podél stonku	dlouhý
						
bílý & svrasklý	zelené	fialová	příškrčený	zelený	koncové lusky, vrcholový květ	krátký
1	2	3	4	5	6	7

- Pre každý sledovaný znak Mendel najprv vytvoril „čisté“ línie (homozygotné)!
- Docielil toho opakovaným samosprašením



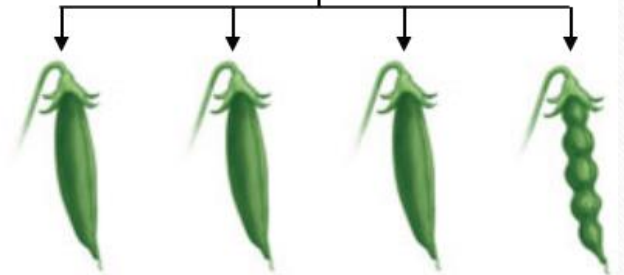
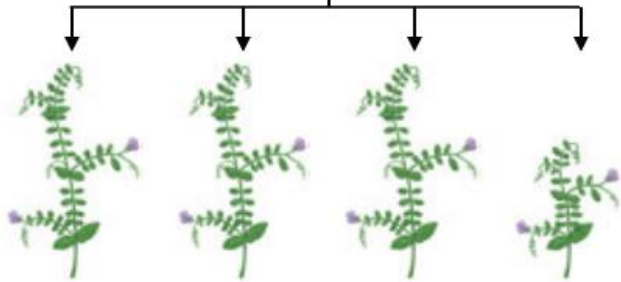
P1



F1

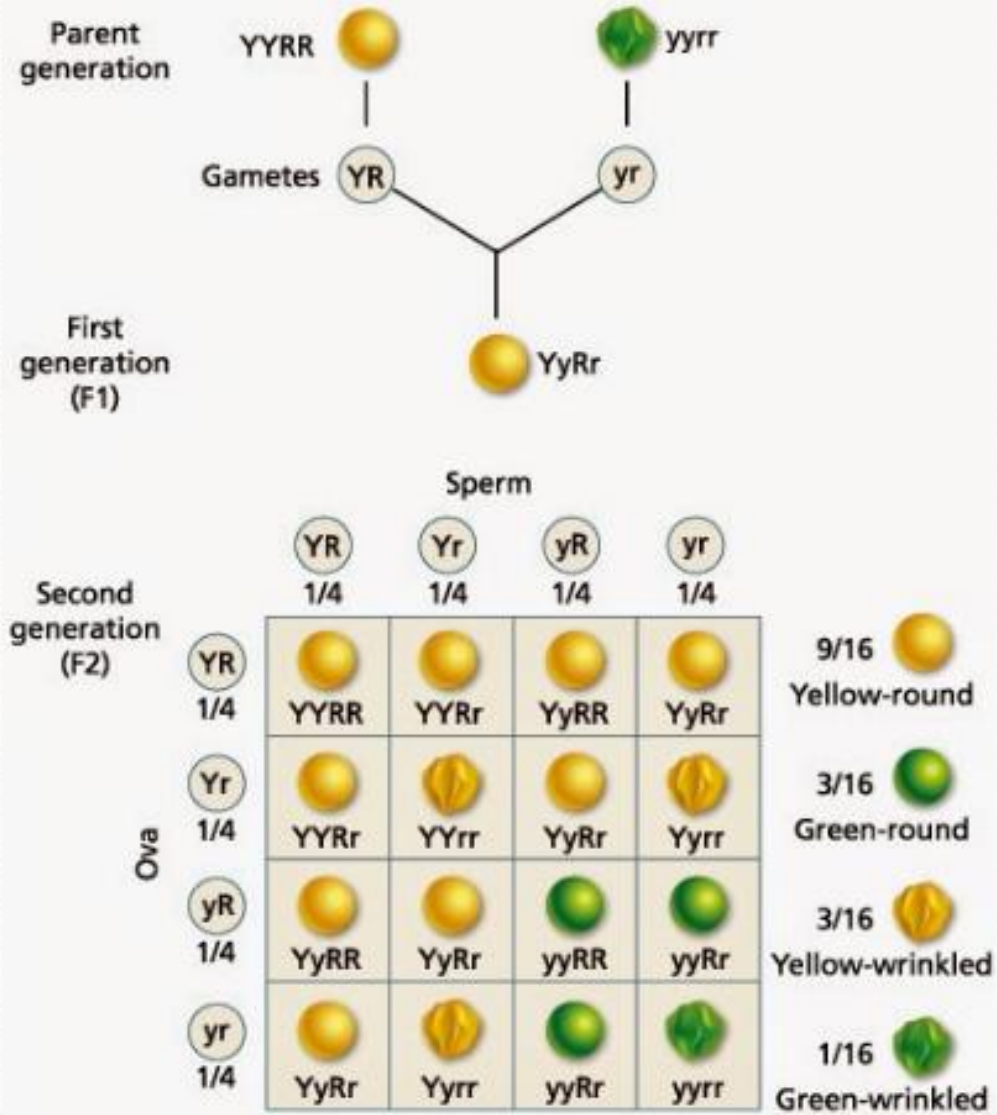


F2





## Dihybrid Cross





# Závery

---

1. Jednotky dedičnosti (geny) sa nemiešajú
2. Dedičné jednotky existujú v pároch a sú dvojakého charakteru (dominantné a recesívne)
3. Dedičné jednotky sa prenášajú do ďalšej generácie prostredníctvom pohlavných buniek (majú materiálnu povahu)



# 1. Zákon o uniformitě hybridů

- Křížíme-li dominantního homozygota s homozygotem recesivním, jsou jejich potomci F1 generace v sledovaném znaku všichni stejní

# 2. Princip dominance

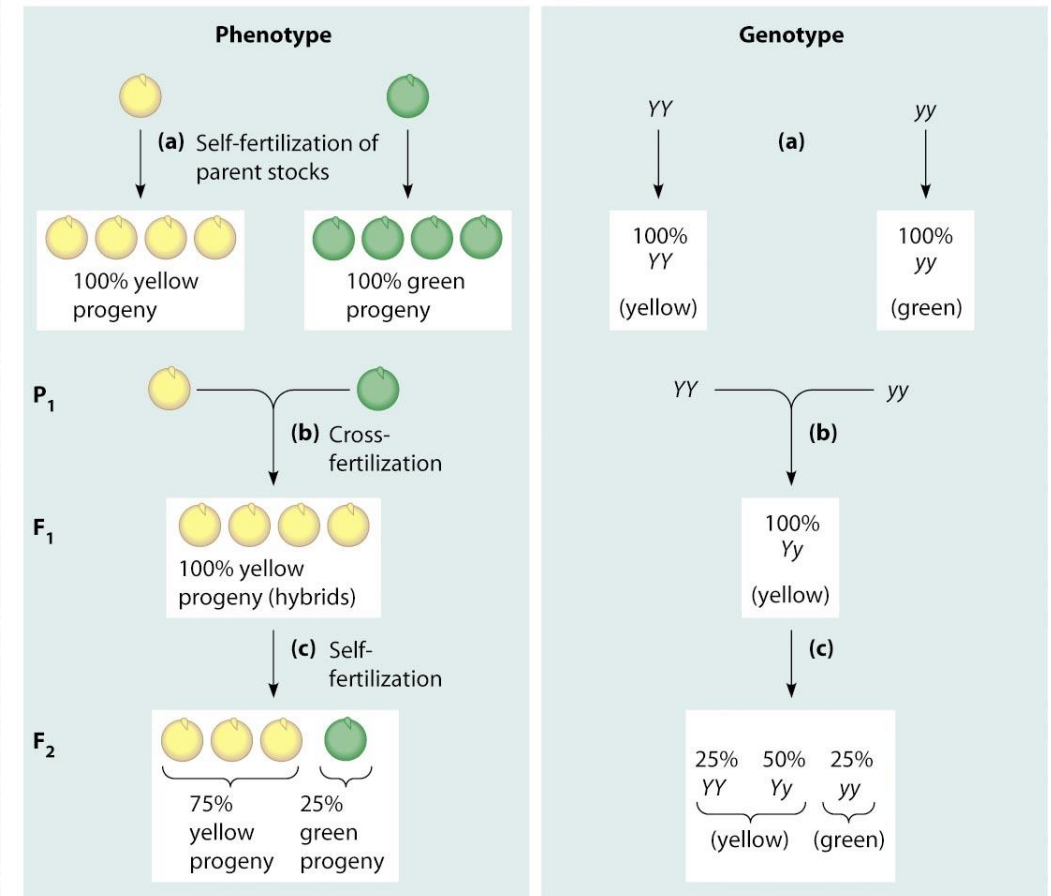
- U heterozygota může jedna alela překrýt přítomnost druhé

# 3. Princip segregace

- Dvojice samostatných alel se v průběhu tvorby gamet rozcházejí a do každé gamety přechází jedna z obou alel.

# 4. Zákon o nezávislé kombinaci alel

- Alely různých genů se kombinují (segregují) nezávisle na sobě

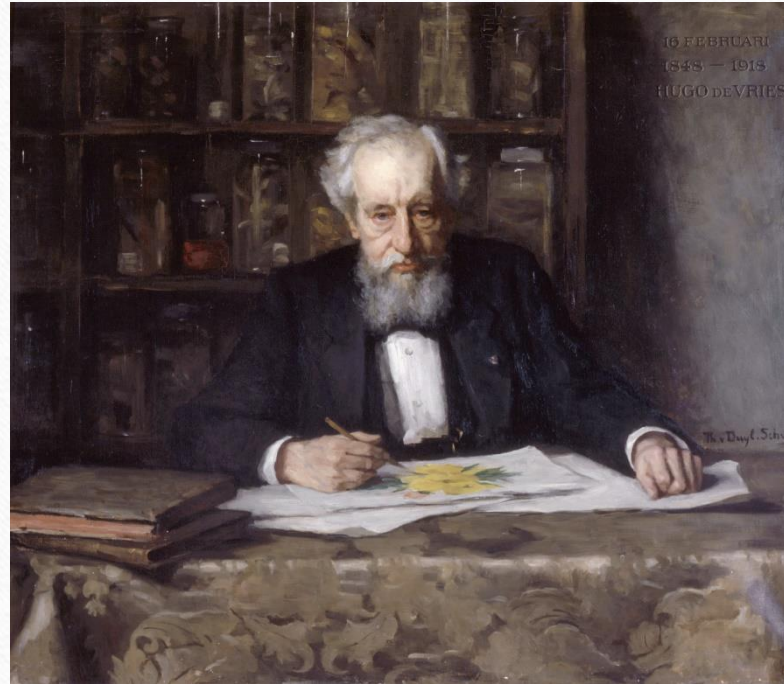




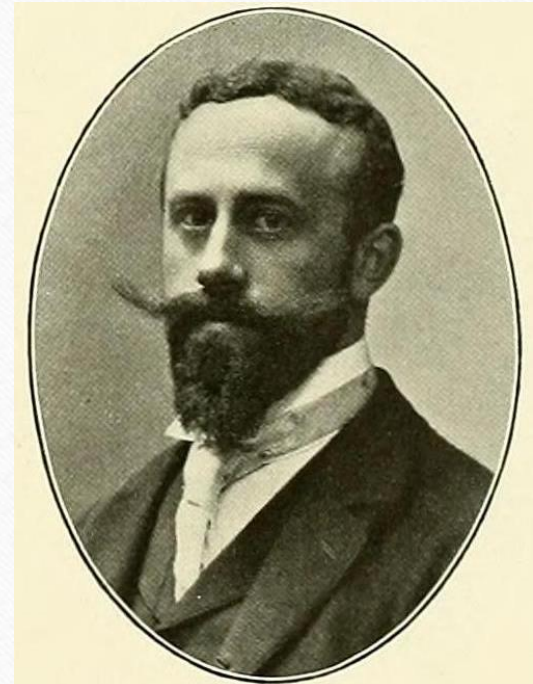
# Znovuobjavenie Mendelovej práce 1900



**Carl Correns**



**Hugo de Vries**



**Erich von Tschermak**



Brünn, Mendel-Platz



Brno, Klášterní nám.



Staré Brno. Mendlovo náměstí.

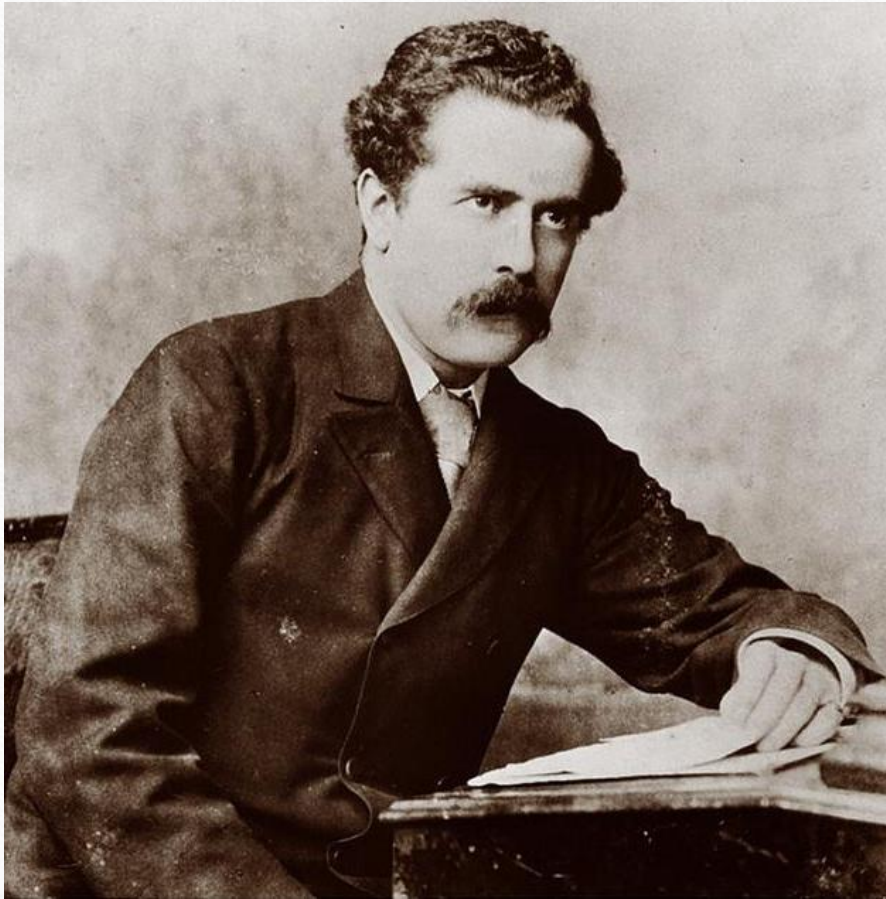






# Mendelovská dedičnosť v medicíne

## Archibal Garrod



- V **1902** publikuje štúdiu „The incidence of alkaptonuria: a study in chemical individuality.“
- Alkaptonuria má **recesívnu dedičnosť!**

**Alkaptonuria:** dedičná metabolická porucha metabolizmu tyrozínu. Prejavuje sa ukladaním kyseliny homogentizovej do spojivových tkanív (čierne sfarbenie).

**Príznaky:** tmavá moč, degeneratívne zmeny kĺbov (a s tým spojené problémy – skolióza, kyfóza), strata sluchu, obličkové kamene, kardiovaskulárne problémy

**Prevalence:** 1 : 250 000 (svet)

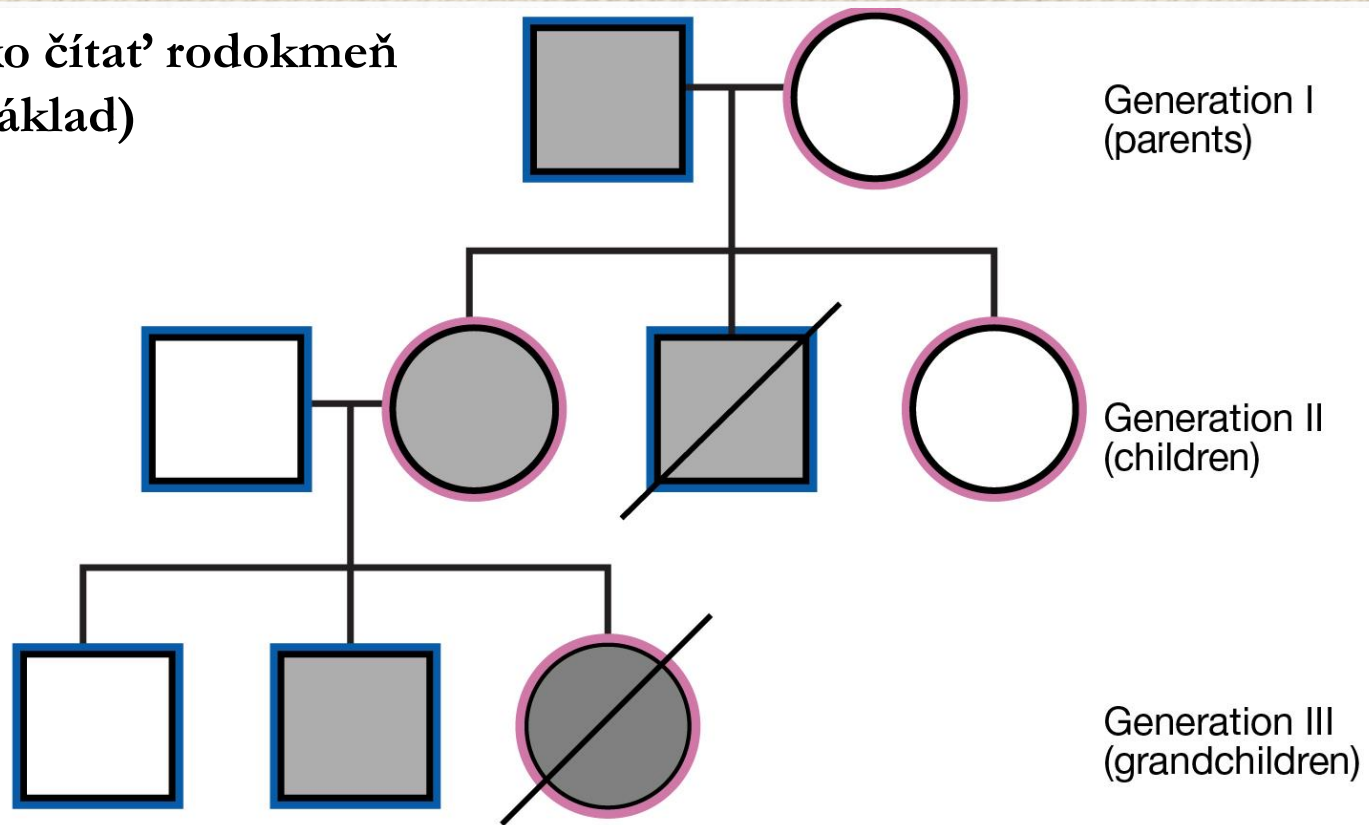
ale Slovensko 1 : 19 000 (asi najvyššia prevalencia na svete – zdroj SAV)



pigmentácia tváre



# Ako čítať rodokmeň (Základ)



Male unaffected

Male affected

Male affected deceased

Female unaffected

Female affected

Female affected deceased

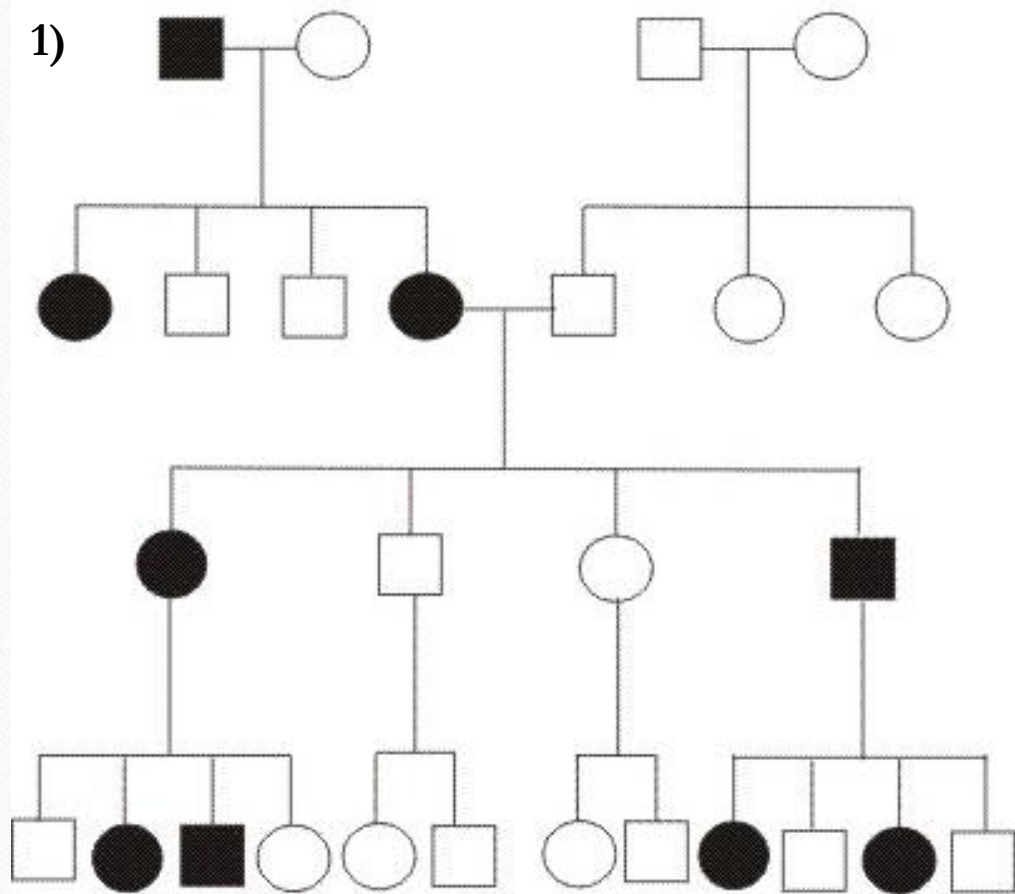


	Male	Female	Sex Unknown
Individual			
Affected individual (symbol coloured in)			
Multiple individuals			
Deceased			
Pregnancy			
Miscarriage			
Person providing pedigree information			

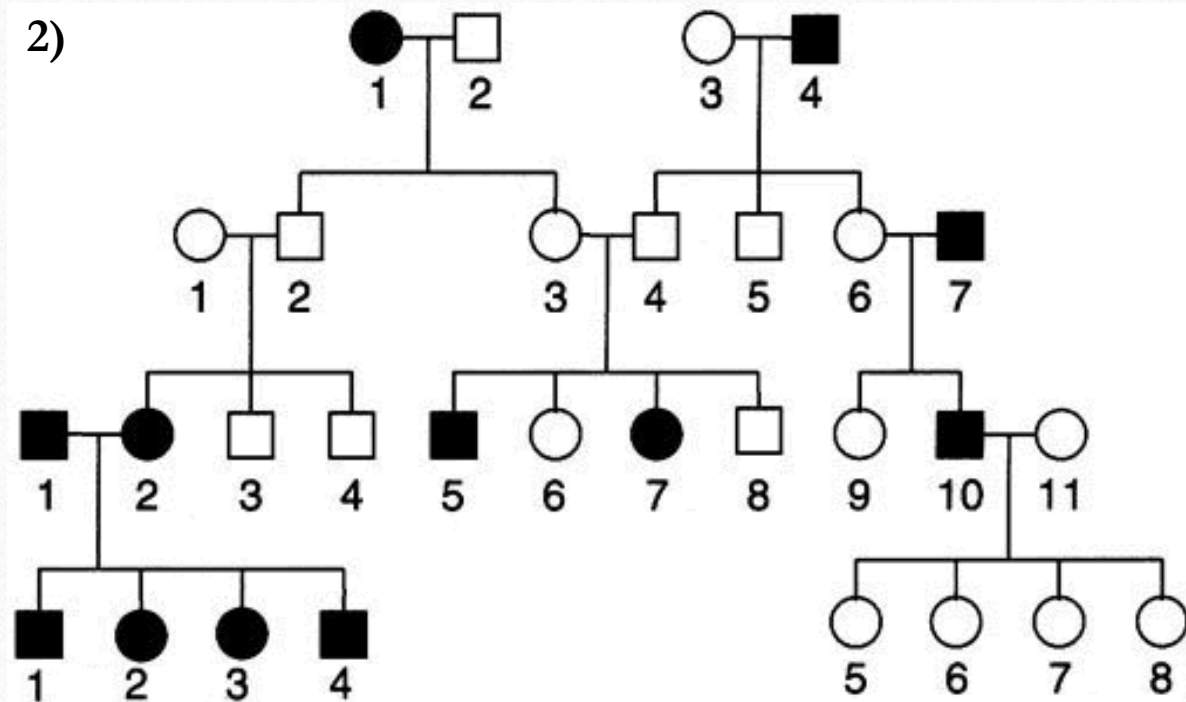
Marriage/partnership	
Divorce/separation	
Where the partners are blood relatives (consanguineous relationship)	
Children/siblings	
Identical twins (monozygotic)	
Non-identical twins (dizygotic)	



1)



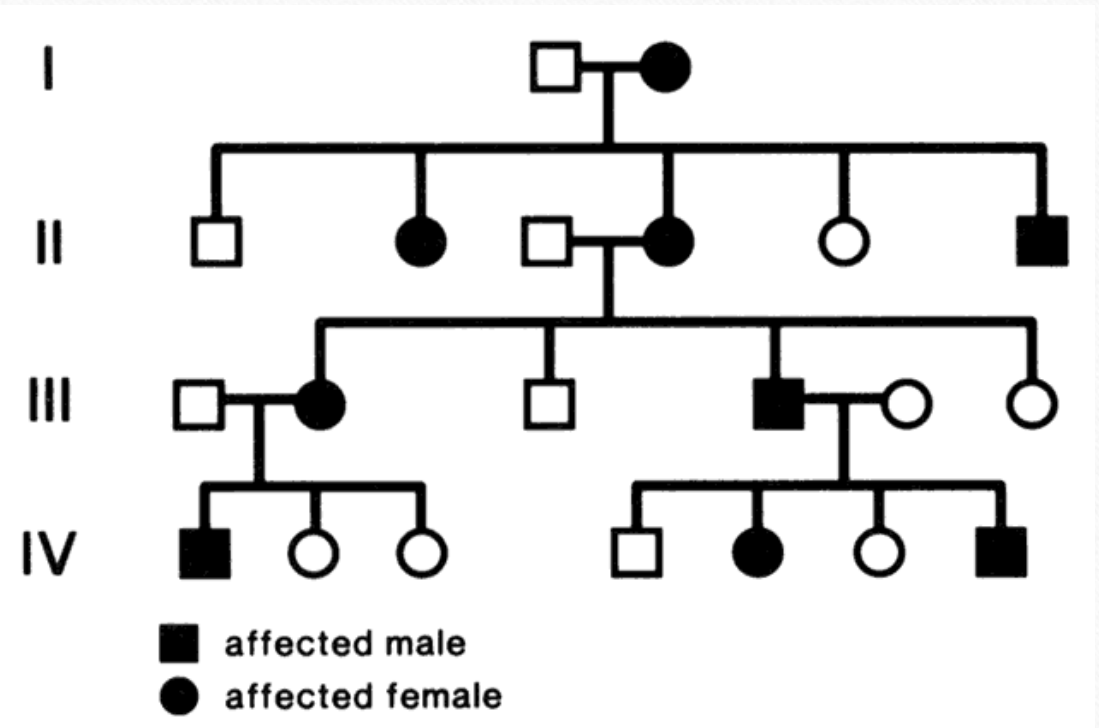
2)





## Dominantná dedičnosť' (vertikální typ dedičnosti)

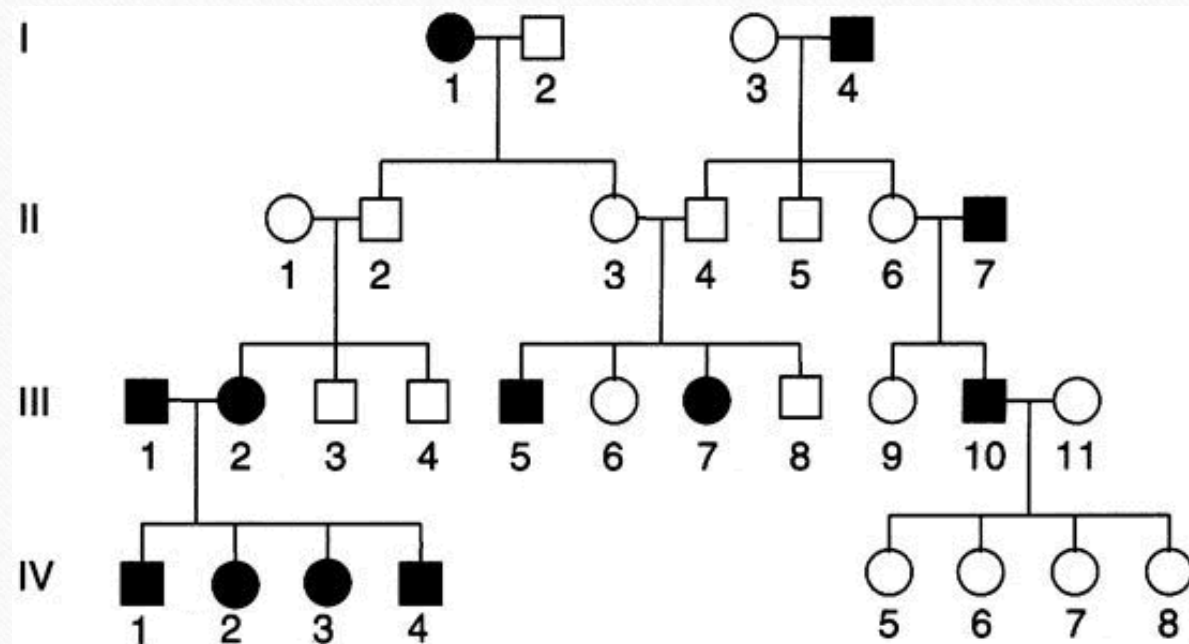
- Často rovnako postihnutý rodič
- Rovnaký výskyt u obou pohlaví
- Znak sa prejaví aj u heterozygotov
- 50% šance prenosu na potomkov a súrodencov jedinca so sledovaným znakom
- Napr. achondroplazie, Marfanov syndrom, Huntingtonova choroba, hypertrofická kardiomyopatia, syndróm dlhého QT intervalu





## Recesívna dedičnosť' (horizontální typ dedičnosti)

- Rodičia môžu byť obaja zdraví
- Rovnaký výskyt u oboch pohlaví
- Postižení sú len homozygoti
- Šanca prenosu 25 %
- Častejší výskyt u príbuzenských sňatkov
- Napr. Albinismus, alkaptonurie a fenylketonurie, cystická fibróza, galaktosemie (porucha metabolismu sacharidů), srpkovitá anémia (porucha v hemoglobínu), Wernerov syndróm





# Kde sa gény nachádzajú?

## Thomas Hunt Morgan



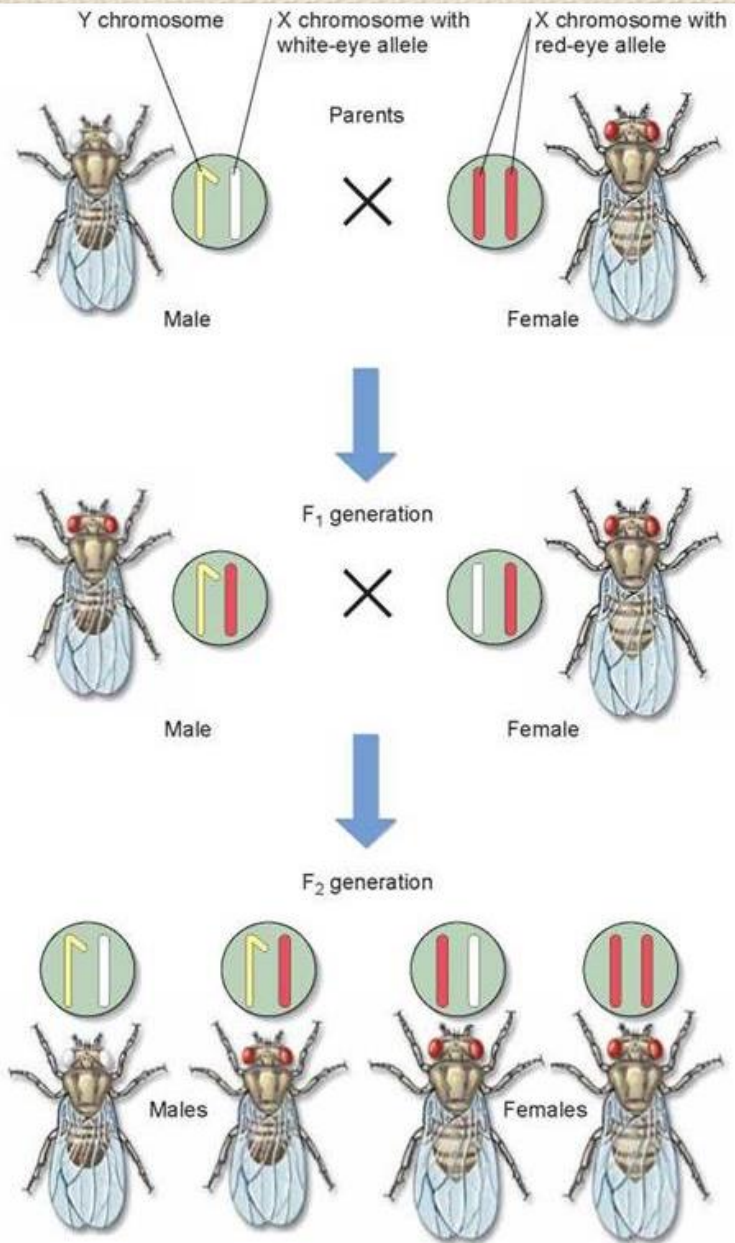
- Gény sú lokalizované na chromozómoch!



- Niektoré chromozómy u octomilky obecnej (*Drosophila Melanogaster*) sú pohlavne špecifické (Samičky XX, Samci XY)
- Jeho študent Alfred Sturtevant v roku 1913 vytvoril prvú genetickú mapu!









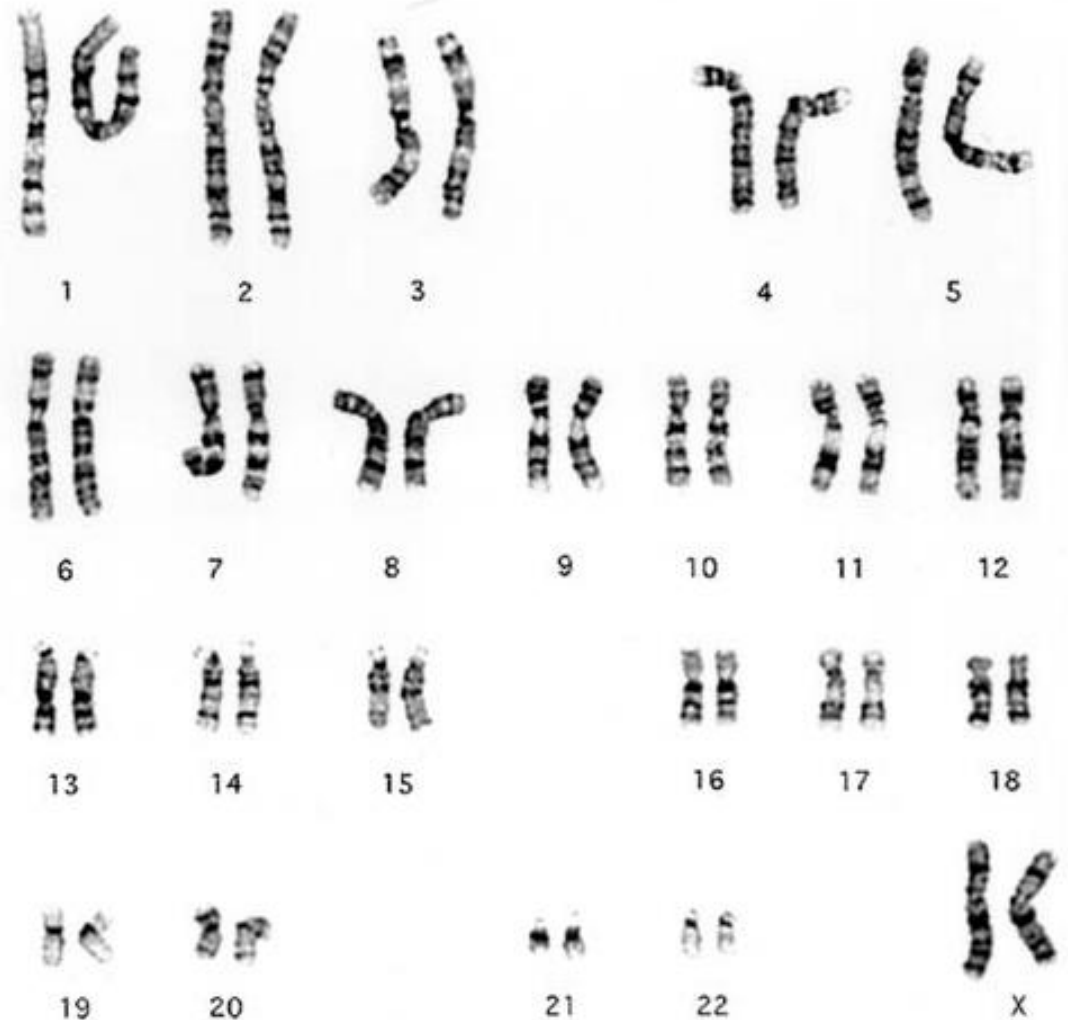
# Karyotyp člověka

- 1956, **Joe Hin Tjio** a **Albert Levan**
- Diploidná lidská buňka obsahuje 46 chromozomů – 22 párů autozómů a jeden pár pohlavních chromozómů (gonozómů)

## THE CHROMOSOME NUMBER OF MAN

By *JOE HIN TJIO* and *ALBERT LEVAN*

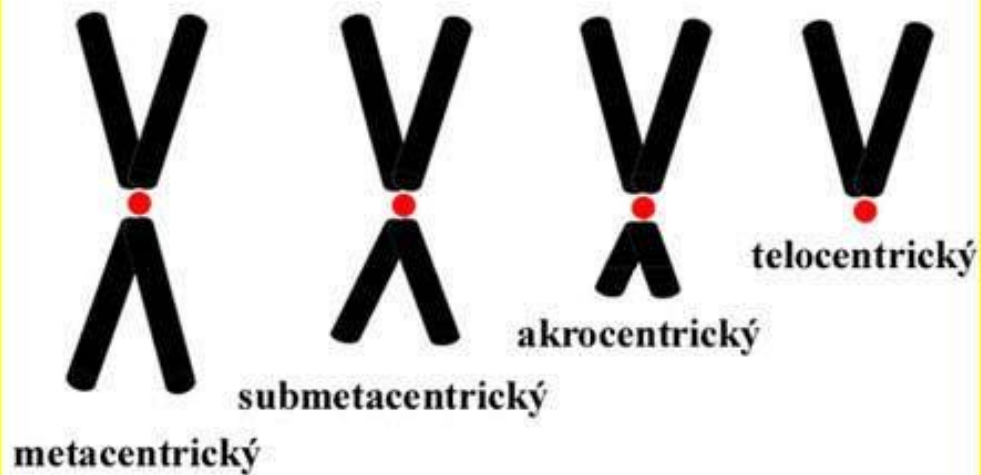
ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI, ZARAGOZA, SPAIN, AND CANCER CHROMOSOME  
LABORATORY, INSTITUTE OF GENETICS, LUND, SWEDEN



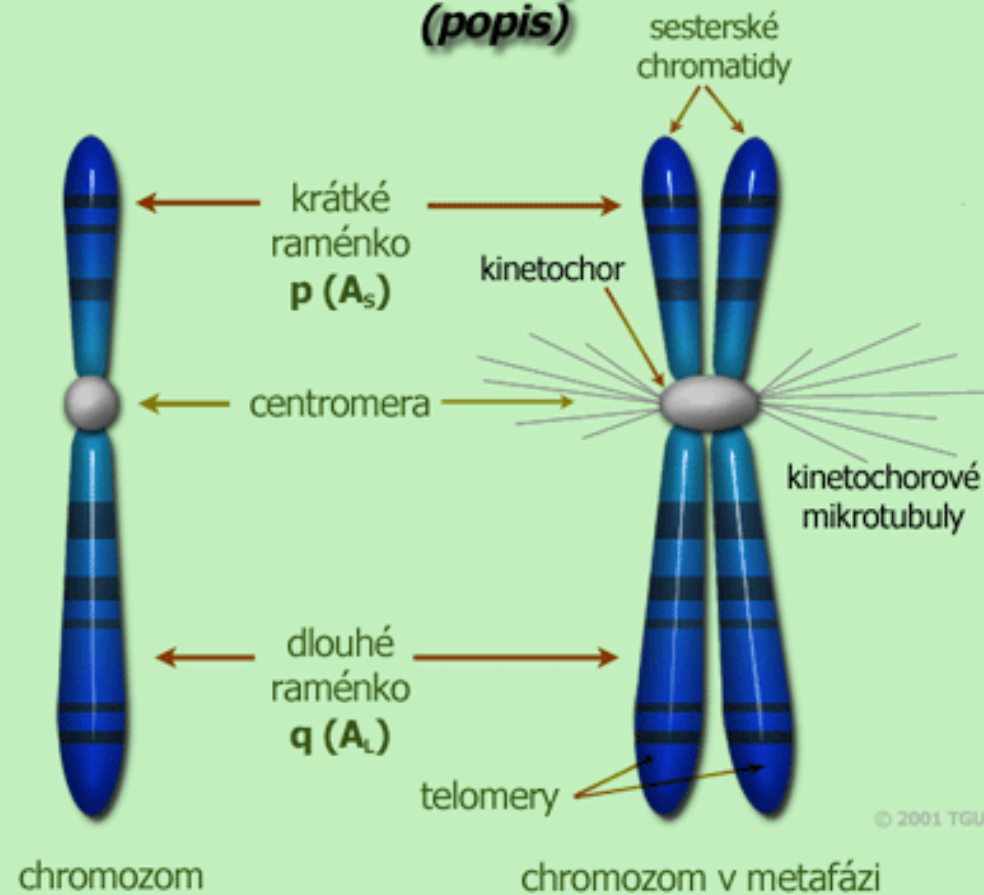
Courtesy of Dr. K. Phelan, Greenwood Genetic Center.  
Noncommercial, educational use only.



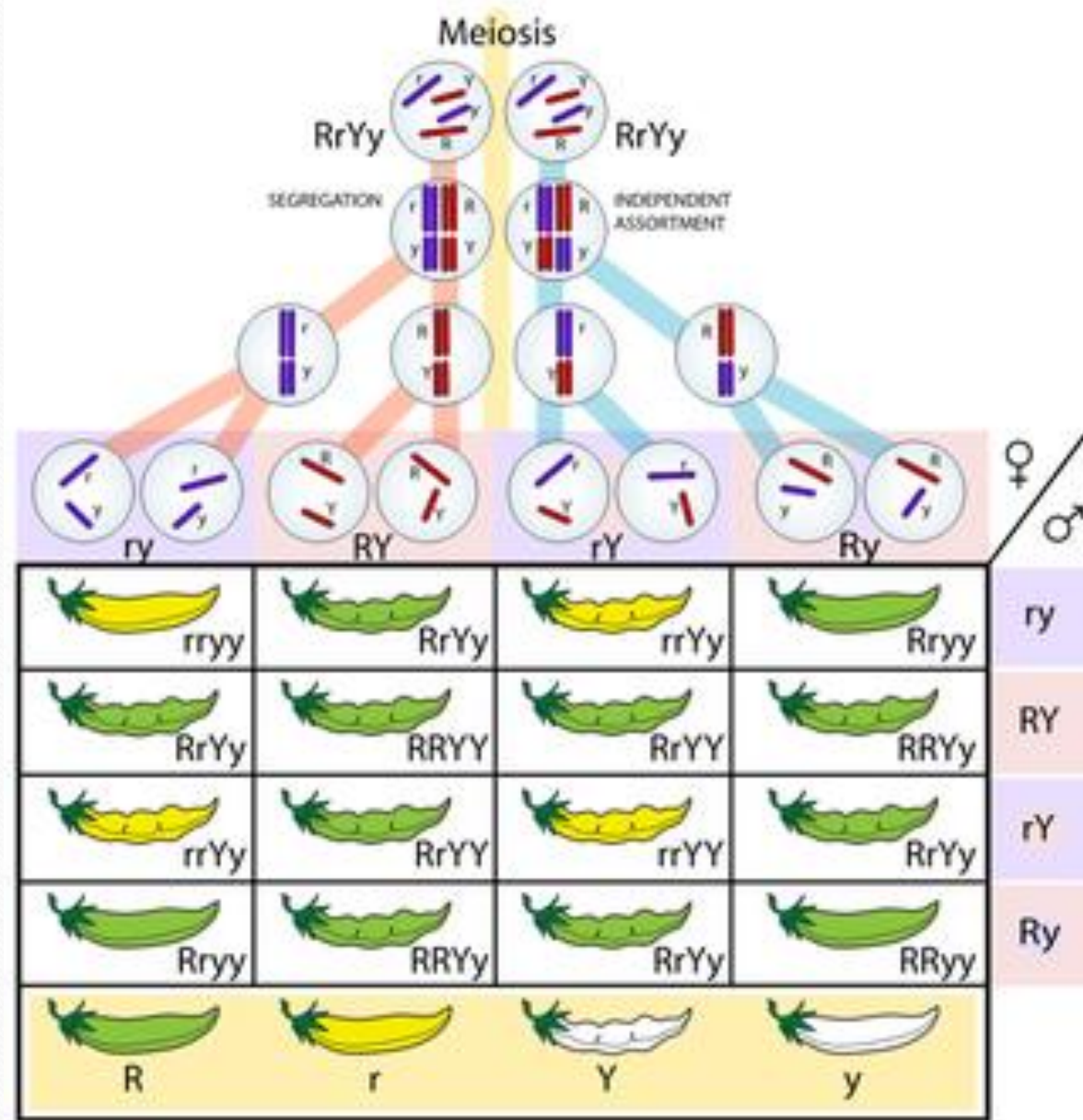
## Základní typy chromosomů



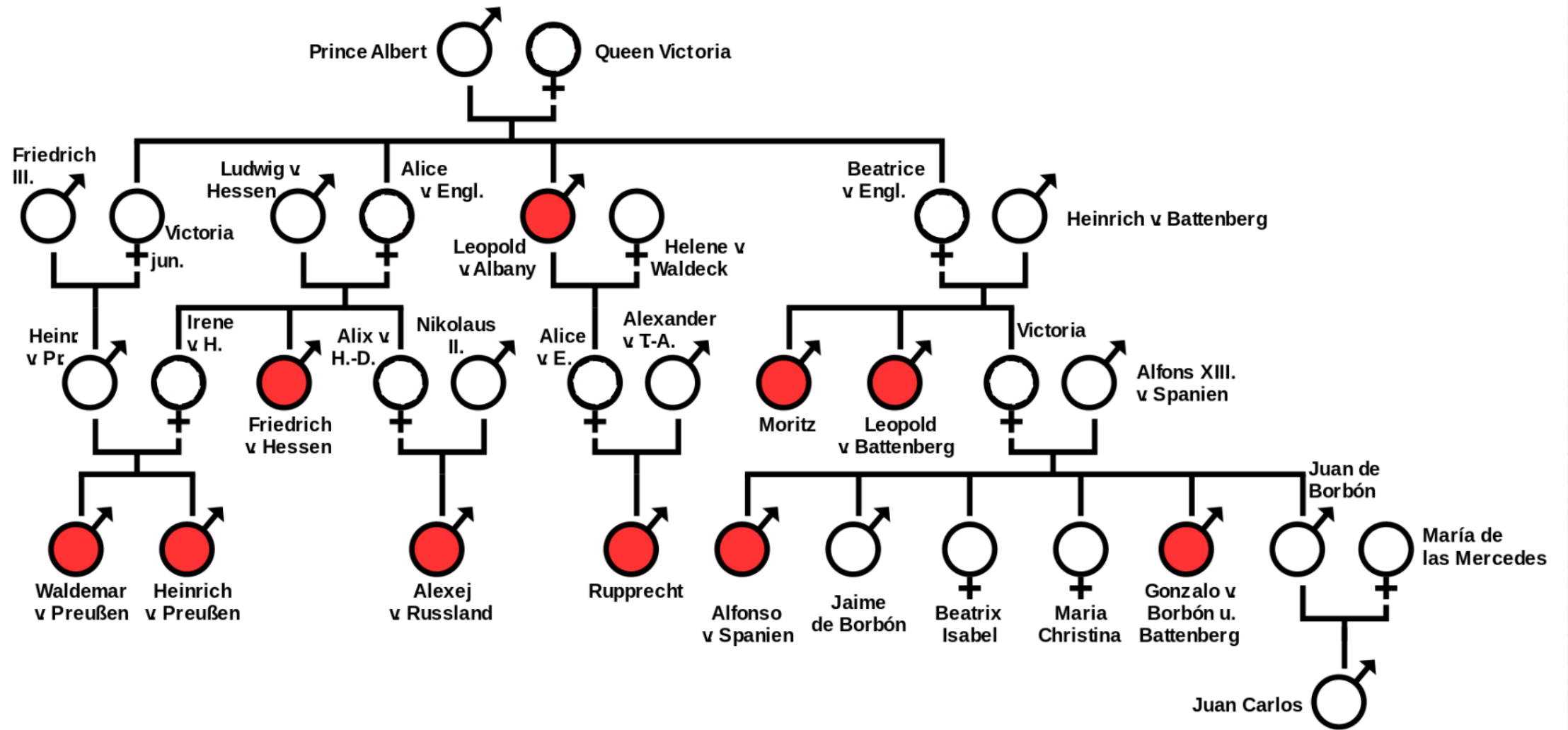
## Submetacentrický chromozom (popis)



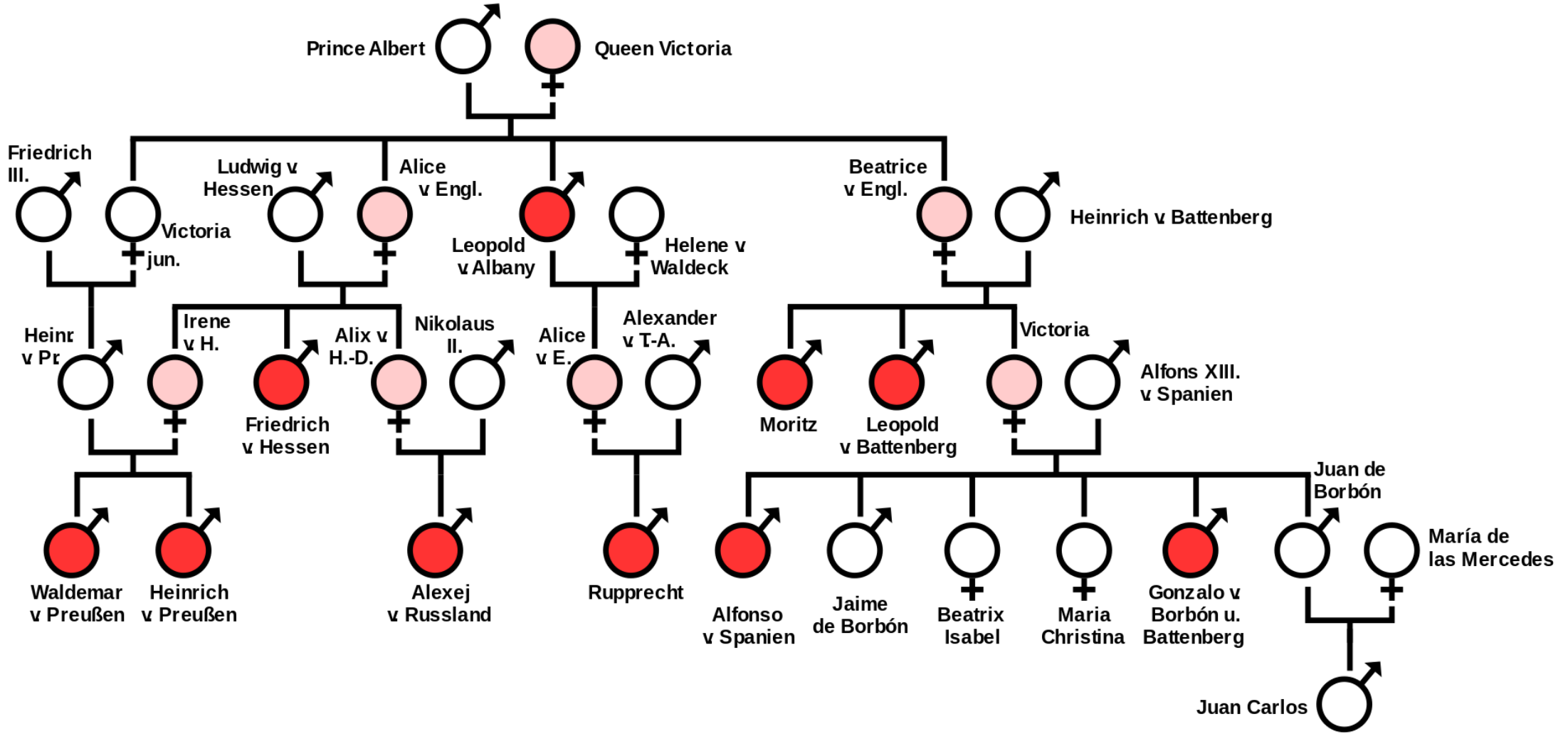








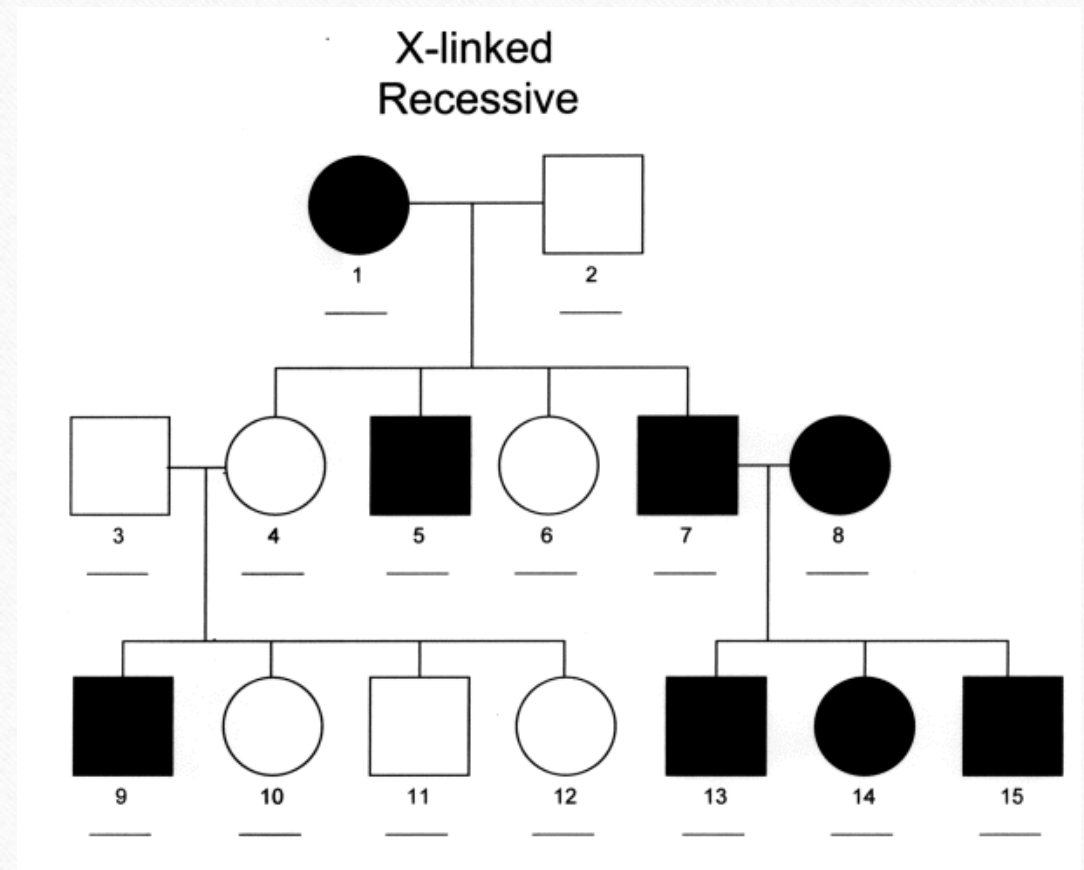






## X-viazaná recesívna dedičnosť

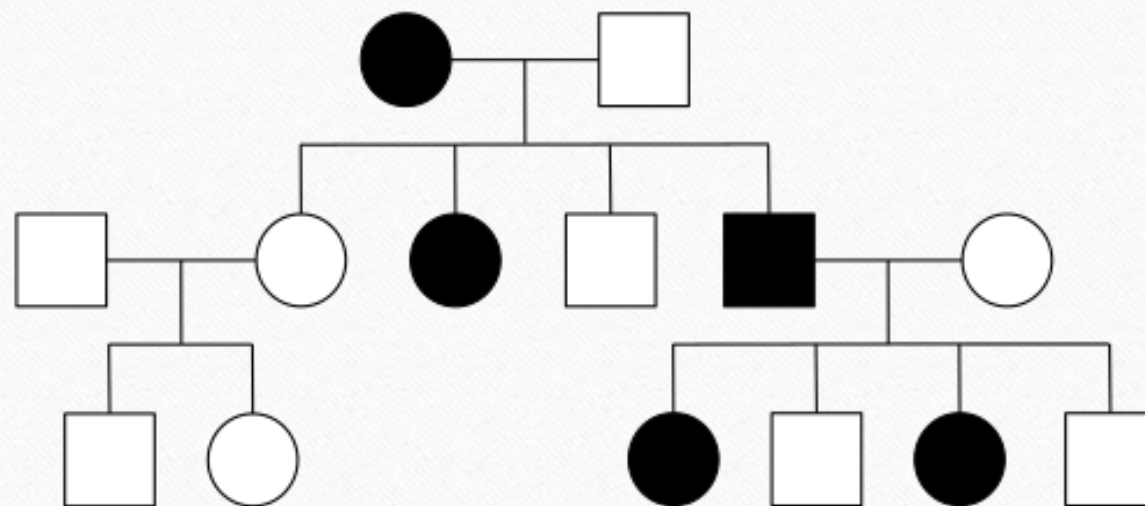
- Pohlavné chromozómy: XX ženy, XY muži
- Postihnutý muž + zdravá žena = všetky deti zdravé
- Žena prenášačka + zdravý muž = 50 % synov chorých a všetky dcéry zdravé
- Vzácnny výskyt X-viazaných ochorení u žien
- Napr. hemofílie, Duchennova svalová dystrofia, farbosleposť





## X-viazaná dominantná dedičnosť

- Zasahuje mužov aj ženy, ale muži väčšinou majú závažnejšie symptómy. Niektoré sú pre mužov embryonálne letálne.
- 50 % detí postihnutej ženy bude postihnutých
- Všetky dcéry postihnutého muža budú postihnuté ale žiadny syn nebude postihnutý
- Napr. amelogenesis imperfekta, Alportův syndrom, Blochův-Sulzbergův syndrom





## Interakcie aliel



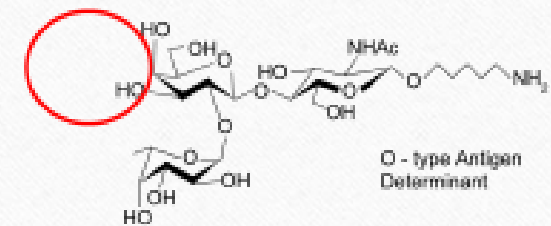
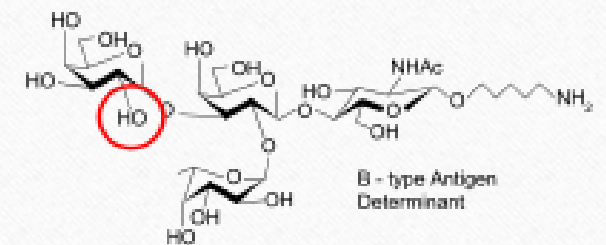
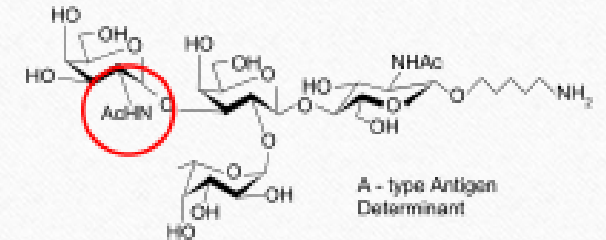
- Neúplná dominancia
- Kodominancia
- Mnohonásobný alelismus / alelové série
- Letálne alely
- Penetrance
- Expresivita
- Genové interakcie



# Kodominance

- Heterozygot má fenotypové znaky oboch homozygotov
- Alely fungujú nezávisle
- Krevně skupinový systém AB0 (ABh), MN


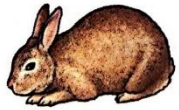



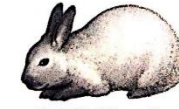


Krevní skupina	Genotyp
A	$I^A I^A$ alebo $I^A i$
B	$I^B I^B$ alebo $I^B i$
AB	$I^A I^B$
0	$ii$





## Alelové série

- Geny s více alelami
- Př. Barva srsti králíků
  - $c^+ > c^{ch} > c^h > c$ 
    - $c^+$  plně funkční (standardní)
    - $c^{ch}$ ,  $c^h$  částečně funkční (hypomorfní)
    - $c$  nefunkční (nulová)

	<u>genotyp</u>	<u>fenotyp</u>	<u>fenotyp</u>	<u>genotyp</u>
 albinotický	$cc$	bílá srst na celém těle	 standardní	$c^+c$ $c^+c^{ch}$ $c^+c^h$
 himálajský	$c^hc^h$	černá srst na koncových částech těla; bílá srst na zbytku těla	 světlá činčila	$c^{ch}c$
 činčila	$c^{ch}c^{ch}$	srst na celém těle tvoří bílé chlupy s černými špičkami	 světlá činčila s černými koncovými částmi těla	$c^{ch}c^h$
 standardní	$c^+c^+$	barevná srst na celém těle	 himálajský	$c^hc$

**Obr. 4.3** ► Barva srsti u králíků. Odlišné fenotypy jsou podmíněny čtyřmi různými alelami genu  $c$ .



# Letální alely

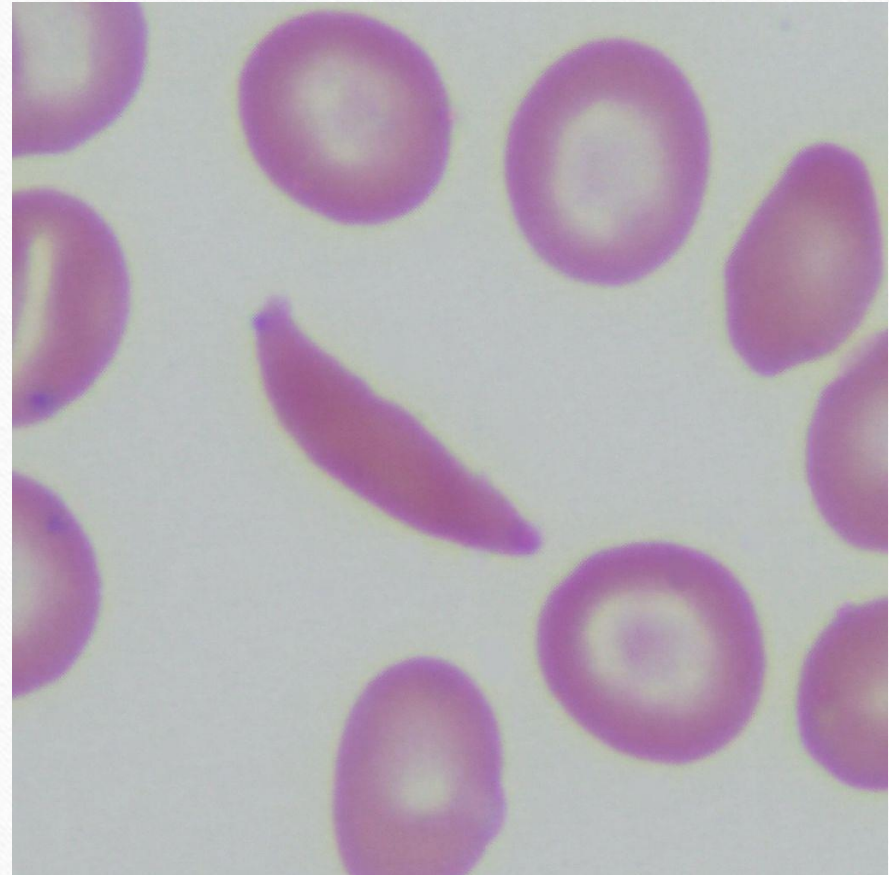
- Recesivní letalita – recesivní homozygoti umírají
- Dominantní letalita – dominantní homozygoti i heterozygoti umírají
- Recesivní letalita dominantní alely
- Př. Tay Sachsova choroba – recesivně letální, achondroplázia





# Pleiotropia

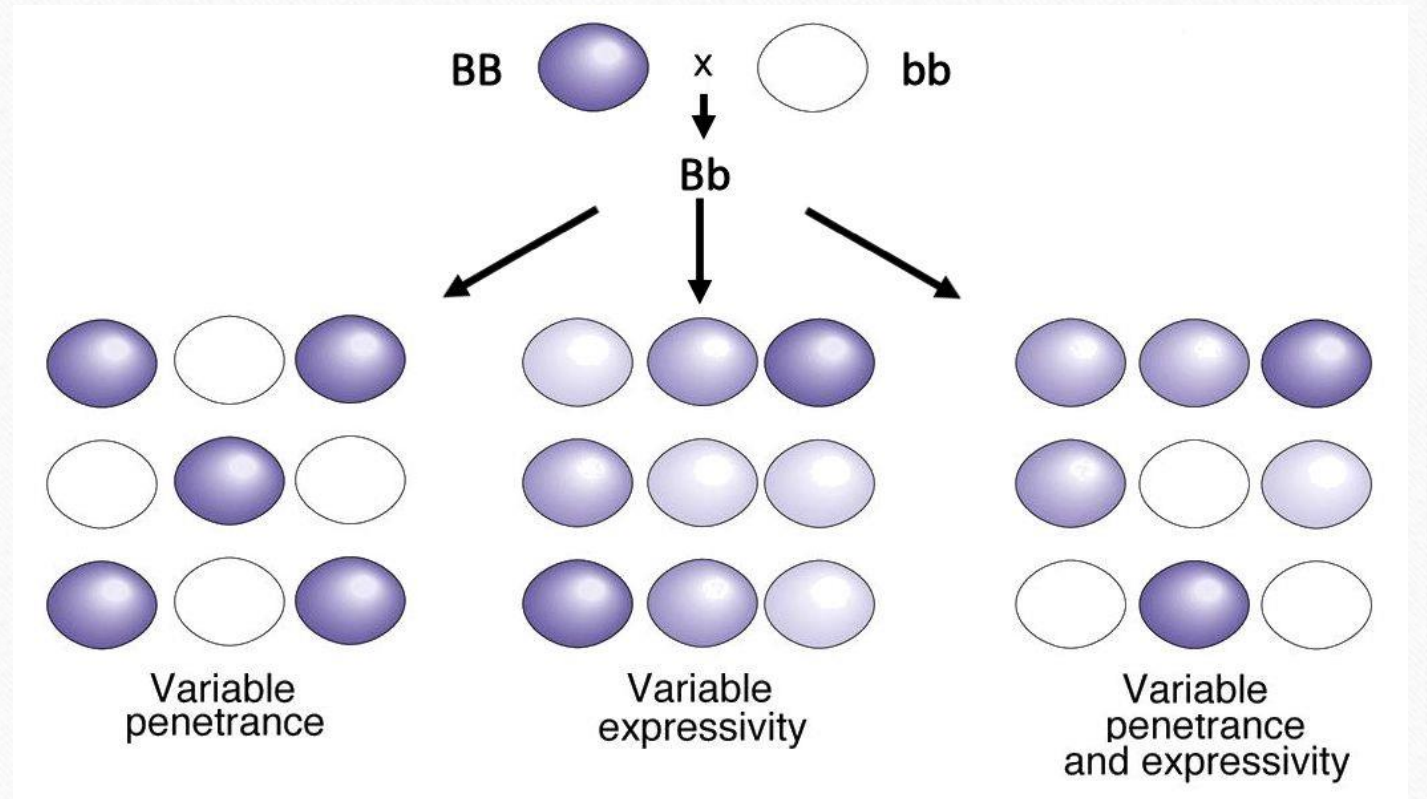
- Jeden gén ovplyvňuje viac znakov
- Gén môže byť dominantný pre jeden fenotyp a recesívny pre iný
- Napr. mutácie spôsobujúca sprkovitú anémiu je:
  - a) Autozomálne recesívna – vzhľadom na symptómy srpkovitej anémie
  - b) Autozomálne dominantná – vzhľadom na rezistenciu voči malárii





# Penetrance a expresivita

- **Neúplná penetrance**  
znak se u jedinců  
neprojeví, i když mají  
odpovídající genotyp
- **Variabilní expresivita**  
znak se manifestuje různě  
silně u všech jedinců,  
kteří jej nesou





# Genové interakce

- Spolupůsobení dvou nebo více genů z různých alelických párů
- Různé kombinace alel dvou různých genů způsobují různé fenotypy
- Produkty genů spolu interagují, na sebe navazují, ve fenotypu se překrývají apod.
- Interakce většího množství genů - plynulá proměnlivost – přechod od kvalitativních znaků ke kvantitativním

	ABC	ABc	AbC	Abc	aBC	aBc	abC	abc
ABC	AABBCC	AABBcC	AABbCC	AABbCc	AaBBCC	AaBBcC	AaBbCC	AaBbCc
ABc	AABBcC	AABBcc	AABbCc	AABbcc	AaBBcC	AaBBcc	AaBbCc	AaBbcc
AbC	AABbCC	AABbCc	AAbbCC	AAbbCc	AaBbCC	AaBbCc	AabbCC	AabbCc
Abc	AABbCc	AABbcc	AAbbCc	AAbbcc	AaBbCc	AaBbcc	AabbCc	Aabbcc
aBC	AaBBCC	AaBBcC	AaBbCC	AaBbCc	aaBBCC	aaBBcC	aaBbCC	aaBbCc
aBc	AaBBcC	AaBBcc	AaBbCc	AaBbcc	aaBBcC	aaBBcc	aaBbCc	aaBbcc
abC	AaBbCC	AaBbCc	AabbCC	AabbCc	aaBbCC	aaBbCc	aabbCC	aabbCc
abc	AaBbCc	AaBbcc	AabbCc	Aabbcc	aaBbCc	aaBbcc	aabbCc	aabbcc

Copyright © J. Montiel 2011

1 : 6 : 15 : 20 : 15 : 6 : 1





Genotyp



Vplyvy prostredia



Fenotyp



Cystická fibróza je autozomálne recesívne ochorenie s incidenciou približne 1 : 10 000.

Prečo nemá incidenciu 1 : 3?



# Hardy–Weinbergov zákon

$$p + q = 1$$
$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad (p + q)^2$$

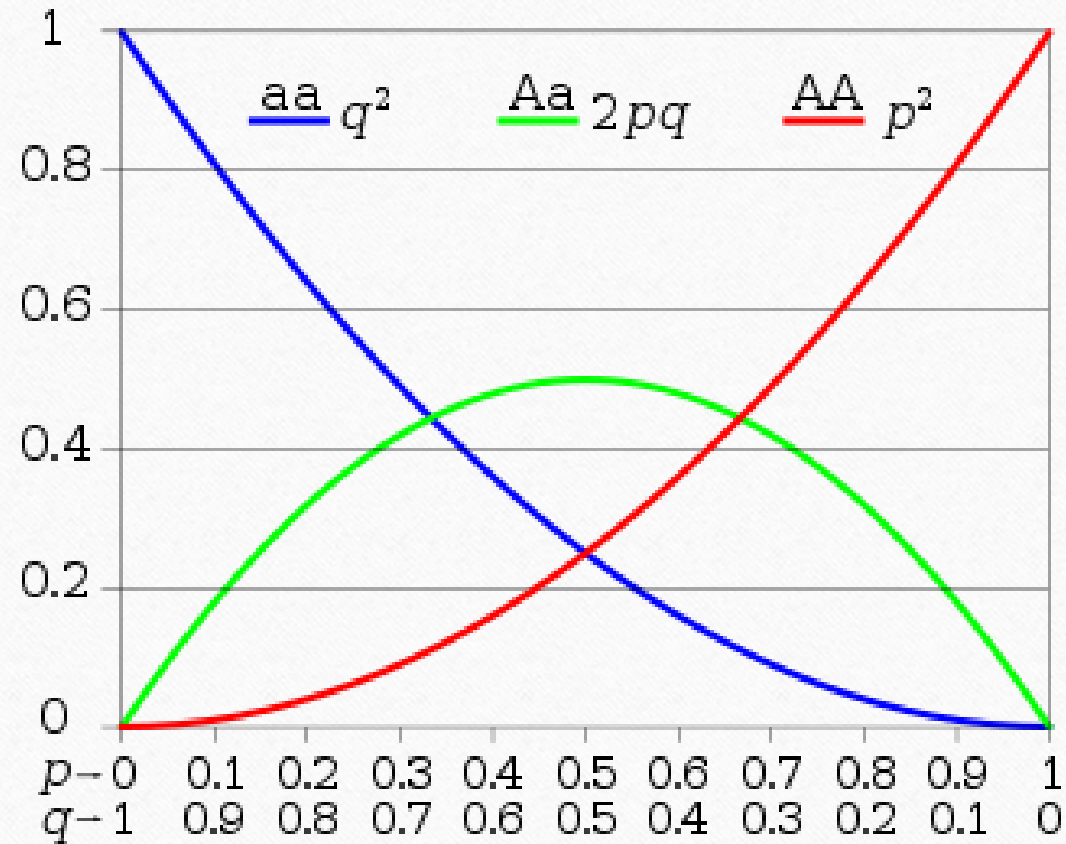
Ak na dané alely nepôsobia evolučné sily (selekce, drift, mutace, génový tok) a rozmnožovanie je náhodné tak sa frekvencia aliel a genotypov v populácii s časom nemení



G. H. Hardy



Wilhelm Weinberg





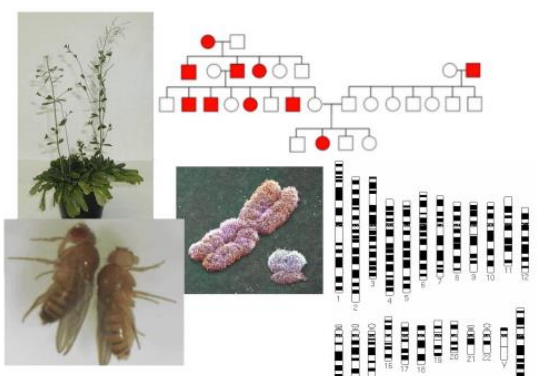
# Materiály na precvičenie/rozšírenie základov genetiky

- <https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/ps15/genetika/web/index.html>

**PRAKTIKUM Z OBECNÉ GENETIKY**  
Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity  
RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

**Praktikum z obecné genetiky**

- » Úvod
- » Segregace vloh
- » Kombinace vloh
- » Chi kvadrát
- » Arabidopsis thaliana jako genetický model
- » Pravděpodobnost v genetické analýze a předpovědi
- » Interakce vloh
- » Rodokmeny
- » Drosophila melanogaster jako genetický model
- » Vazba na pohlaví
- » Karyotyp člověka
- » Vazba genů
- » Třibodové mapování
- » Dědičnost kvantitativních znaků



**PRAKTIKUM Z OBECNÉ GENETIKY – ŘEŠENÉ PŘÍKLADY**  
Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity  
RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

**1. Segregace vloh**

**Příklad 1** [nahoru]

Krátkosrstý králik A byl křížen s dlouhosrstým králíkem B za vzniku krátkosrstého potomstva. Jiný krátkosrstý králik C po křížení s dlouhosrstým králíkem D měl v potomstvu stejný počet krátko i dlouhosrstých jedinců.

Jsou-li dlouhosrstí jedinci (B a D) kříženi navzájem, vždy tvoří potomstvo stejného fenotypu. Na základě těchto křížení odvoďte, jak se dědí dlouhosrstost u králíků, a napište genotypy všech jedinců.

Dlouhosrstost je znak:

Genotyp králíka A:  Genotyp králíka B:

Genotyp králíka C:  Genotyp králíka D:

**Příklad 2** [nahoru]

V lidské populaci se vyskytuje zajímavý znak, kterým je schopnost srolování jazyka do tzv. korýtky (viz obrázek). Tento znak je podmíněn dominantní alelou (označme jako *B*), naopak jedinci *bb* tuto schopnost nemají.

[Ukázat řešení](#)



# Prvá polovica 20-teho storočia

**Gény sa nachádzajú na chromozómoch.**

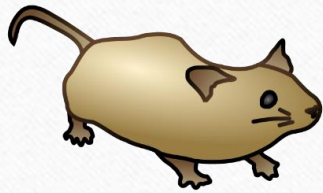
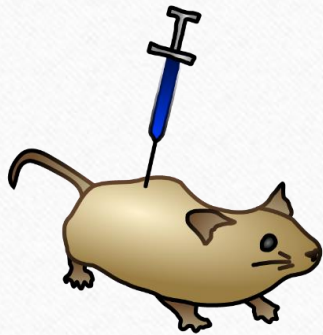
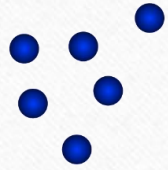
**Chromozómy sú tvorené z:**

- a) proteínov
- b) nukleovej kyseliny

Väčšina vedcov predpokladala, že gény budú kódované proteínmi, DNA považovali za „príliš jednoduchú“ nato aby mohla vykonávať tak dôležitú funkciu

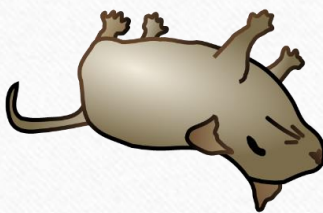
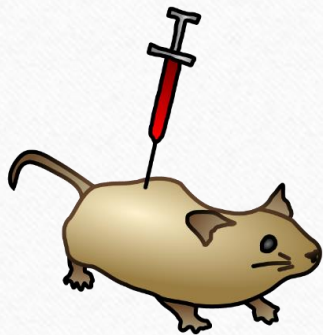
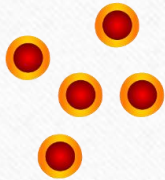


rough strain  
(nonvirulent)



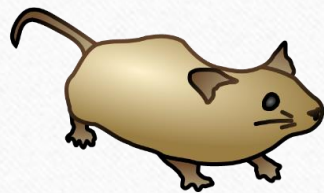
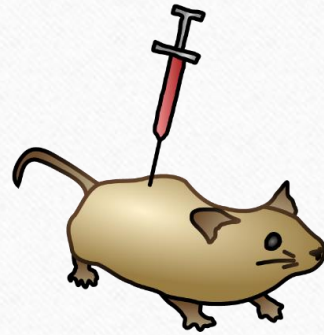
mouse lives

smooth strain  
(virulent)



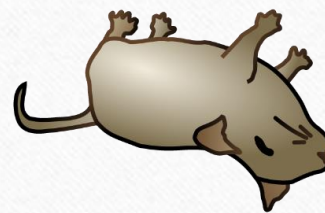
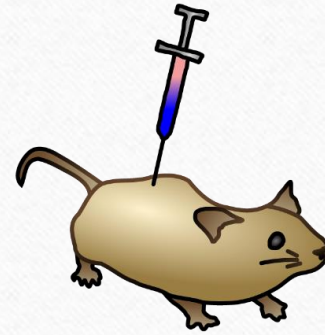
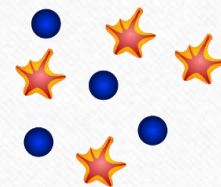
mouse dies

heat-killed  
smooth strain



mouse lives

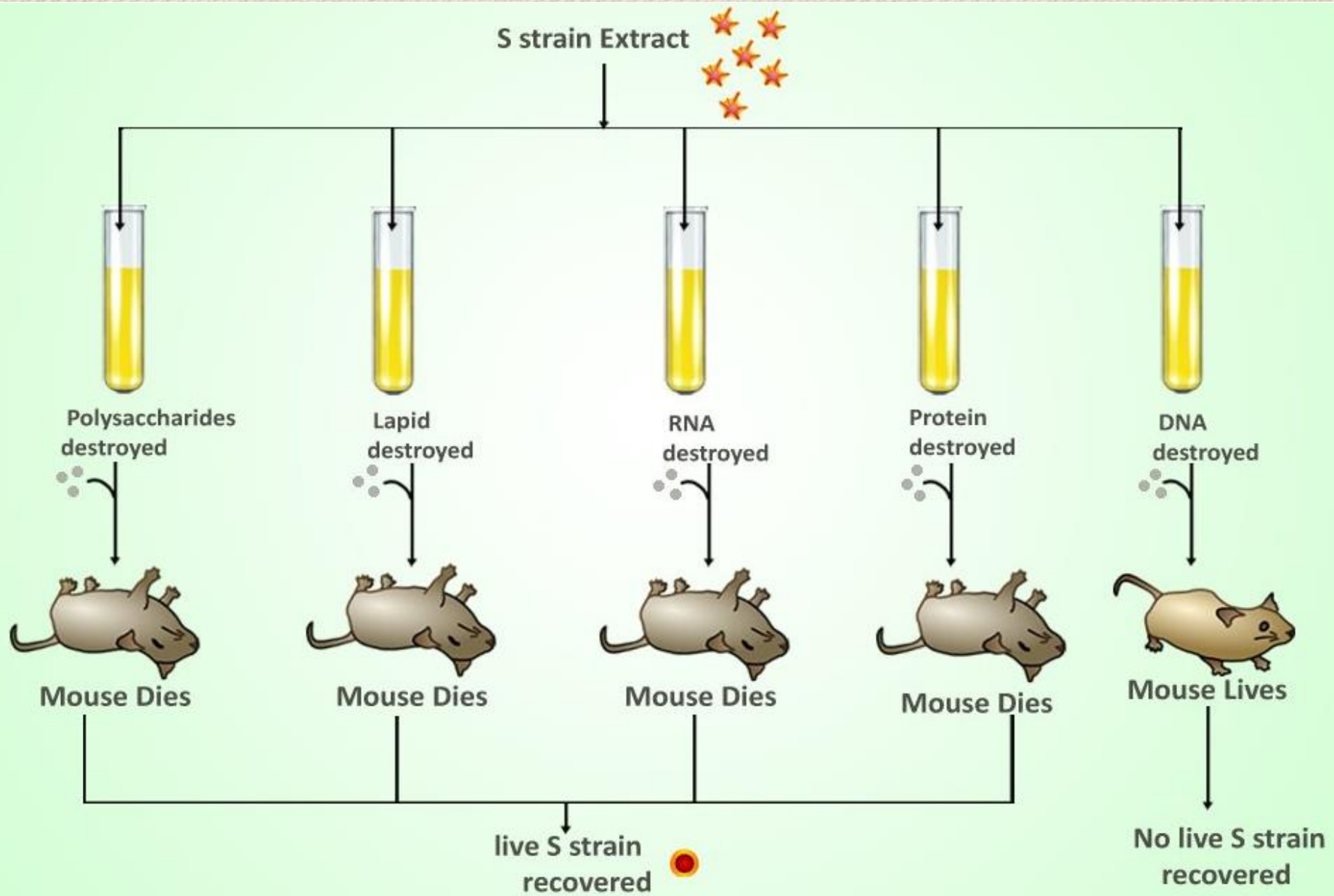
rough strain &  
heat-killed  
smooth strain



mouse dies

Griffit 1928





Avery, MacLeod, and McCarty 1944



# Chargaffove pravidla



Erwin Chargaff



=



=



Purines

=

Pyrimidines

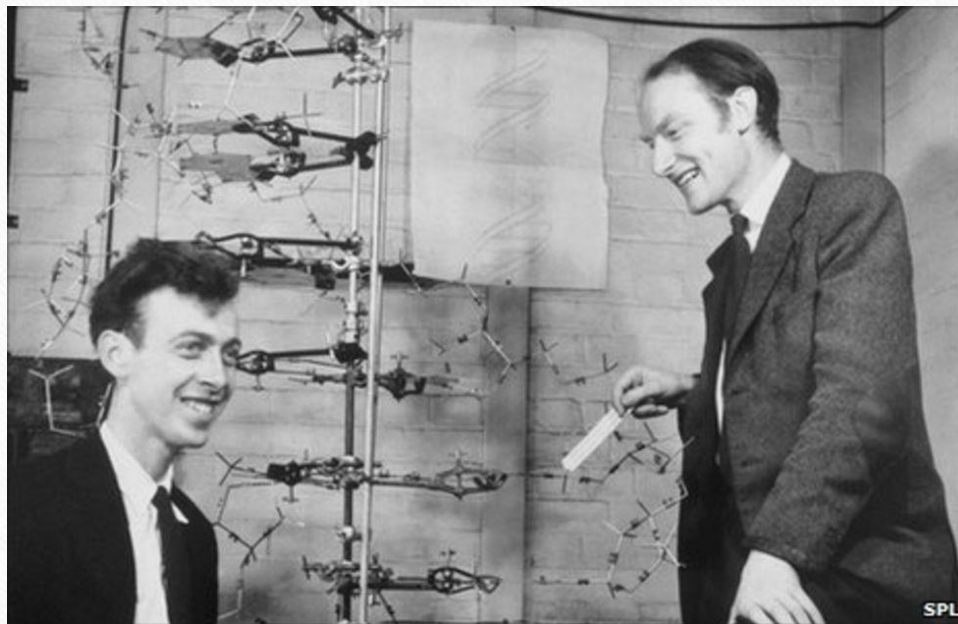


# Štruktúra DNA

---

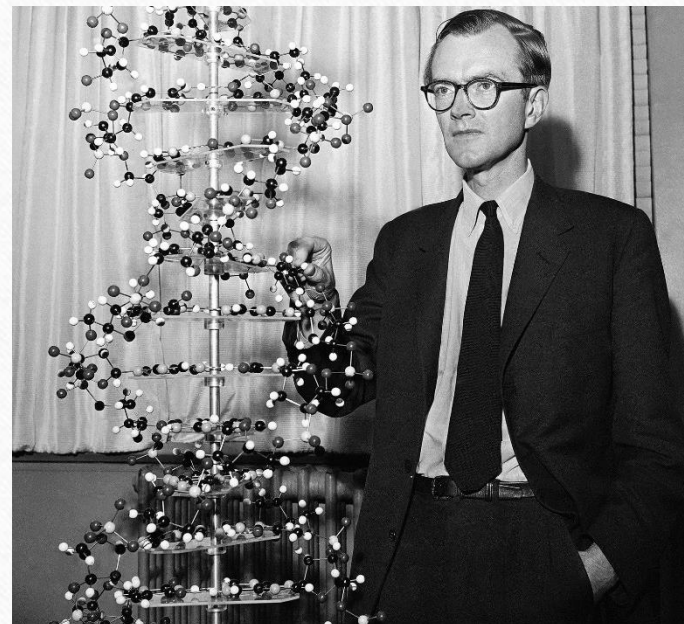
Story time (bonus)





**James Watson**

**Francis Crick**



**Maurice Wilkins**



**Rosalind Franklin**



**Raymond Gosling**





Gosling pod vedením Wilkinsa úspěšně kryštalizuje DNA. Wilkins prezentuje ich výsledky na konferenci v Neapole



Watson na Konferenci v Neapole zjistí, že v Británii úspěšně kryštalizovali DNA. Okamžite sa rozhodne ísť do Cambridge.



Watson sa na Cambridge dostane do skupiny vedenej Maxom Perutzom, kde sa zoznámi s Francisom Crickom. V tej dobe bo Crick stále Ph.D. študentom s fyzikálnym vzdelaním a Watson ho presvedčí, aby s ním pracoval na rozlúšení štruktúry DNA.



„Interestingly, Gosling's account diverges somewhat from that given by Wilkins in his Nobel lecture (Box 3). Another - understandable - omission from Wilkins' lecture is a somewhat unorthodox, and nevertheless essential, contribution he made to Gosling's first X-ray images of crystalline DNA (Figure 2). Gosling had "sealed the conventional camera onto its base and the lid and so forth with vacuum wax and stuff that you used in order to keep air out. This was to keep the hydrogen in, of course. The collimator was made of heavy brass and although I could seal it to the outside of the camera, **there was no way I could think of to really prevent the gas coming out of the collimator tube. To my great surprise,** when I was showing him how far I had got, **this rather shy Assistant Director of the MRC Unit said: 'Try this.'** And he pulled out from his pocket a packet of Durex." By a quirky twist of irony, the introduction of condoms to the story occurs after Gosling had ceased working on sperm, having switched to Signer's DNA, which was derived from calf thymus“





V medzičase šéf Wilkinsa a Goslinga (John Randall) nadobudol pocit, že Wilkins a Gosling sa sami nikdy nenaučia dost' kryštalografie na to, aby rozlúštili štruktúru DNA, a tak najal Rosalindu Franklinovú.

Gosling bol preradený pod Franklinovú a tej bolo povedané, že má celý projekt viesť. Problém bol, že to John Randall nepovedal nikomu inému (ani Wilkinsovi) a tak si Wilkins aj Franklinová mysleli, že majú projekt viesť, a správanie toho druhého bolo pre nich nepochopiteľné. To viedlo k veľkým konfliktom.

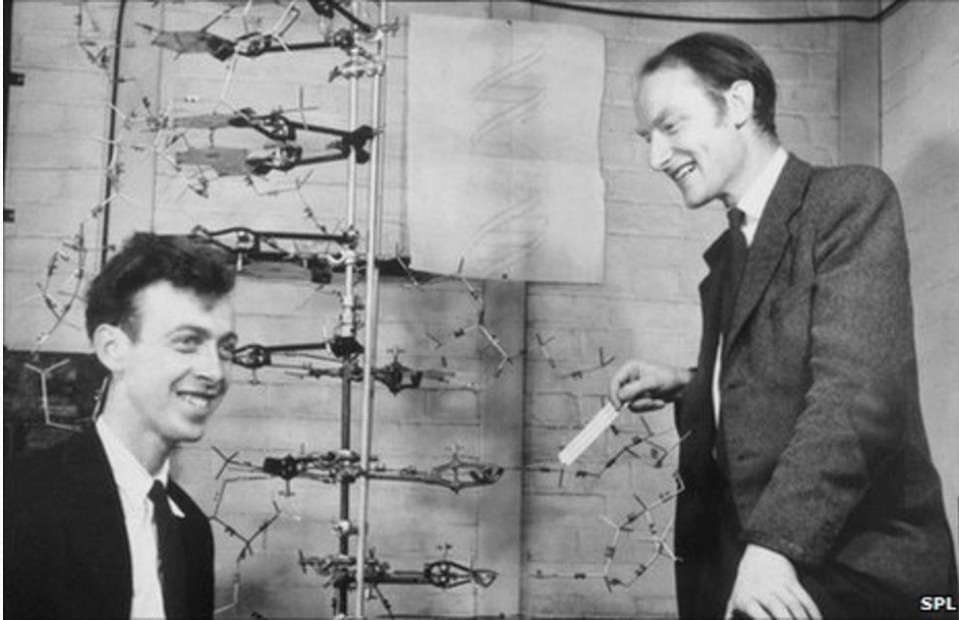


"It was a very curious thing. Randall actually wrote to Rosalind saying that she would be asked to direct the X-ray crystallographic work on the Signer DNA material, and I didn't know that he'd done that." As with Gosling, Wilkins himself was not made aware of this letter until many years later.

Gosling believes that the misunderstanding was "deliberate" on Randall's part, rather than an unfortunate oversight. When he eventually discovered the truth of the matter, Gosling was "really shocked" because "it was against all Randall's principles as I understood them. Up until then, everybody would freely discuss their work and interact with Wilkins probably more often than interacting with Randall directly."

Later on, Wilkins was "beset by worry that he had been responsible for not integrating Rosalind into the group" and it very much lingered with him, to the extent that, for the rest of his life, he would frequently ask Gosling whether he had been unkind to her.





Watson a Crick spolu vytvorili prvý model DNA.  
Prezentujú ho Wilkinsovi, Franklinovej a Goslingovi.



Celý model špatne.  
Elementárne chyby!



Lawrence Bragg (šéf inštitútu kde  
Crick a Wotson pracoval) sa o tomto  
incidente dozvedel a prikázal  
Watsonovi a Crickovi, aby prestali na  
štruktúre DNA pracovať.





**Linus Pauling**

V tej dobe začal na štruktúre DNA pracovať Linus Pauling – jeden z najväčších chemikov 20. storočia (chemická väzba, 2 Nobelove ceny).

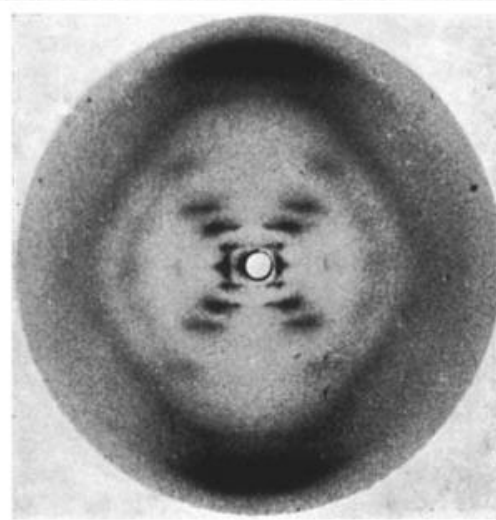
Jeho syn Peter Pauling bol v tej dobe v Cambridge a tak sa o tom dozvedel Bragg, ktorý nechcel aby ho Pauling znova v niečom predbehol, a dovolil Watsonovi a Crickovi obnoviť prácu na štruktúre DNA.

Pauling skoro nato naozaj publikoval článok navrhujúci štruktúru DNA. Urobil ale rovnakú chybu ako Watson a Crick v ich prvom modeli (plus pár ďalších).

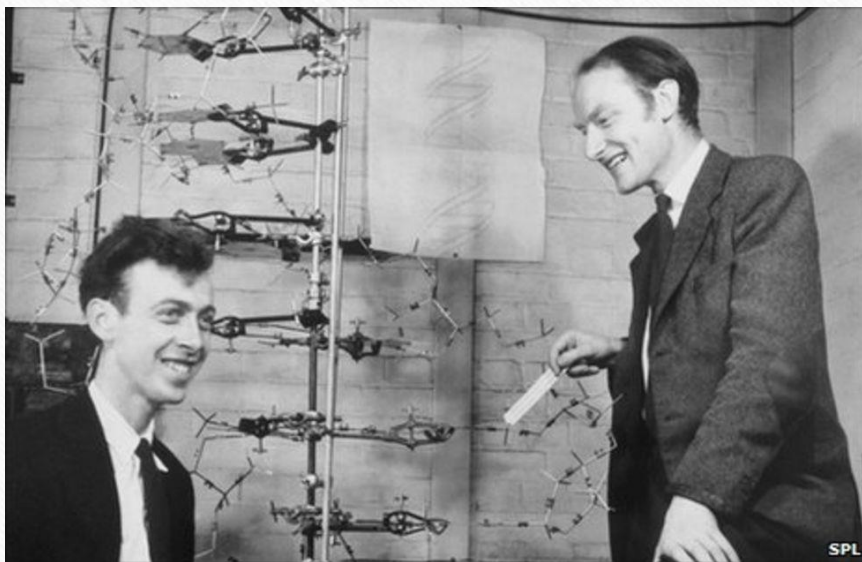




Franklinová a Gosling získali veľmi kvalitné snímky z rentgenové kryštalografie.



Tie sa dostali k Watsonovi a Crickovi.



To Crickovi a Watsonovi pomohlo veľmi rýchlo vytvoriť druhý, tentokrát správny model štruktúry DNA, ktorý následne znova prezentovali Franklinovej, Wilkinsovi a Goslingovi.

Watson a Crick publikujú svoj čisto teoretický článok o štruktúre DNA v Nature – o dátach Franklinovej ani zmienka. Ale v tom istom čísle bol hneď ďalší článok od Franklinovej, Goslinga a Wilkinsa.



equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

<sup>1</sup> Young, F. B., Gerrard, H., and Jevons, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1925).

<sup>2</sup> Longuet-Higgins, M. S., *Mon. Not. Roy. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **5**, 285 (1949).

<sup>3</sup> Von Arx, W. S., Woods Hole Papers in Phys. Oceanog. Meteor., **11** (3) (1950).

<sup>4</sup> Ekman, V. W., *Arkiv. Mat. Astron. Fysik. (Stockholm)*, **2** (11) (1935).

## 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 Corey<sup>1</sup>. 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 Fraser (in the press). In his 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 usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining  $\beta$ -D-deoxyribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but 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 sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions. Each chain loosely resembles Furburg's<sup>2</sup> 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 atoms near it is close to Furburg's 'standard configuration', the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There

This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphate-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° 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 phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt 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 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) 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<sup>3,4</sup> 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 contact.

The previously published X-ray data<sup>5,6</sup> 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 the following communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereochemical 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 co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

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 Infantile Paralysis.

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.

<sup>1</sup> Pauling, L., and Corey, R. B., *Nature*, **171**, 346 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 84 (1953).

<sup>2</sup> Furburg, S., *Acta Chem. Scand.*, **6**, 634 (1952).

<sup>3</sup> Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Braverman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, **9**, 402 (1952).

<sup>4</sup> Wyatt, G. R., *J. Gen. Physiol.*, **36**, 201 (1952).

<sup>5</sup> Astbury, W. T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1**, Nucleic Acid, 66 (Camb. Univ. Press, 1947).

<sup>6</sup> Wilkins, M. H. F., and Randall, J. T., *Biochim. et Biophys. Acta*, **10**, 192 (1953).

### Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids

WHILE the biological properties of deoxypentose nucleic acid suggest a molecular structure containing great complexity, X-ray diffraction studies described here (cf. Astbury<sup>1</sup>) show the basic molecular configuration has great simplicity. The purpose of this communication is to describe, in a preliminary way, some of the experimental evidence for the polynucleotide chain configuration being helical, and existing in this form when in the natural state. A fuller account of the work will be published shortly.

The structure of deoxypentose nucleic acid is the same in all species (although the nitrogen base ratios alter considerably) in nucleoprotein, extracted or in cells, and in purified nucleate. The same linear group of polynucleotide chains may pack together parallel in different ways to give crystalline<sup>1-3</sup>, semi-crystalline or paracrystalline material. In all cases the X-ray diffraction photograph consists of two regions, one determined largely by the regular spacing of nucleotides along the chain, and the other by the longer spacings of the chain configuration. The sequence of different nitrogen bases along the chain is not made visible.

Ordered paracrystalline deoxypentose nucleic acid ('structure B' in the following communication by Franklin and Gosling) gives a fibre diagram as shown in Fig. 1 (cf. ref. 4). Astbury suggested that the strong 3.4-Å. reflexion corresponded to the inter-nucleotide repeat along the fibre axis. The ~34 Å. layer lines, however, are not due to a repeat of a polynucleotide composition, but to the chain configuration repeat, which causes strong diffraction as the nucleotide chains have higher density than the interstitial water. The absence of reflexions on or near the meridian immediately suggests a helical structure with axis parallel to fibre length.

### Diffraction by Helices

It may be shown<sup>5</sup> (also Stokes, unpublished) that the intensity distribution in the diffraction pattern of a series of points equally spaced along a helix is given by the squares of Bessel functions. A uniform continuous helix gives a series of layer lines of spacing corresponding to the helix pitch, the intensity distribution along the  $n$ th layer line being proportional to the square of  $J_n$ , the  $n$ th order Bessel function. A straight line may be drawn approximately through

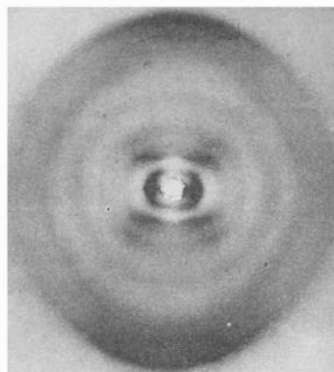


Fig. 1. Fibre diagram of deoxypentose nucleic acid from *B. coli*. Fibre axis vertical.

the innermost maxima of each Bessel function and the origin. The angle this line makes with the equator is roughly equal to the angle between an element of the helix and the helix axis. If a unit repeats  $x$  times along the helix there will be a meridional reflexion ( $J_0^2$ ) on the  $n$ th layer line. The helical configuration produces side-bands on this fundamental frequency, the effect<sup>5</sup> being to reproduce the intensity distribution about the origin around the new origin, on the  $n$ th layer line, corresponding to  $C$  in Fig. 2.

We will now briefly analyse in physical terms some of the effects of the shape and size of the repeat unit or nucleotide on the diffraction pattern. First, if the nucleotide consists of a unit having circular symmetry about an axis parallel to the helix axis, the whole diffraction pattern is modified by the form factor of the nucleotide. Second, if the nucleotide consists of a series of points on a radius at right-angles to the helix axis, the phases of radiation scattered by the helices of different diameter passing through each point are the same. Summation of the corresponding Bessel functions gives reinforcement for the inner-

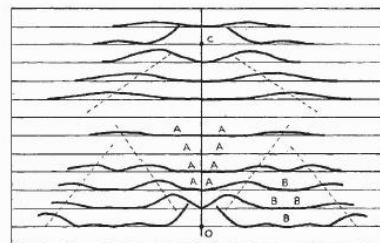


Fig. 2. Diffraction pattern of system of helices corresponding to structure of deoxypentose nucleic acid. The squares of Bessel functions are plotted about 0 on the equator and on the first, second, third and fifth layer lines for half of the nucleotide mass at 20 Å. diameter and remainder distributed along a radius, the mass at a given radius being proportional to the radius. About  $C$  on the tenth layer line similar functions are plotted for an outer diameter of 12 Å.



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



**1953** články Cricka a Watsona a Franklinovej, Goslinga a Wilkinsa vychádzajú v Nature

**1958** Franklinová zomiera na rakovinu vaječníkov

**1963** Nobelova cena pre Watsona, Cricka a Wilkinsa

**1968** Watson píše knižku o objave DNA (The double helix) – Pulitzerova cena, negatívne vykreslenie Franklinovej (podľa Goslinga to bola pomsta Watsona za to, ako ho zhodila ten ich prvý model DNA) – paradoxne zvýšilo záujem o Franklinovú.



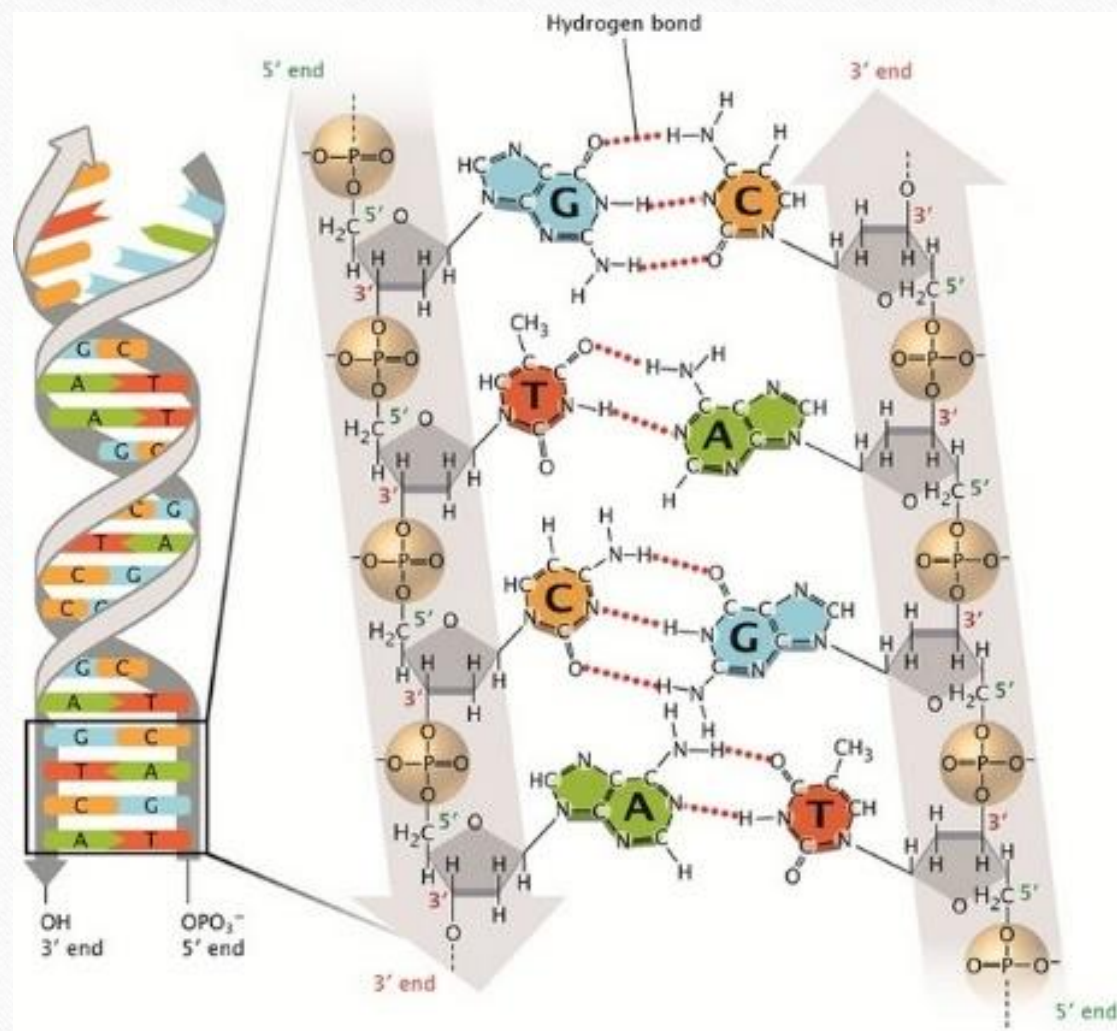
## Na čo vlastne prišli

DNA je tvorená dvoma polynukleotidovými vláknami. Tie sú spojené vodíkovými väzbami a majú tvar dvoušroubovice (double-helix). Adenín sa páruje s thymínom a guanín s cytozínom, čo je konzistentné a vysvetľuje Chargaffovo pravidlo.

Väčšina DNA dvoušroubovice je pravotočivá.

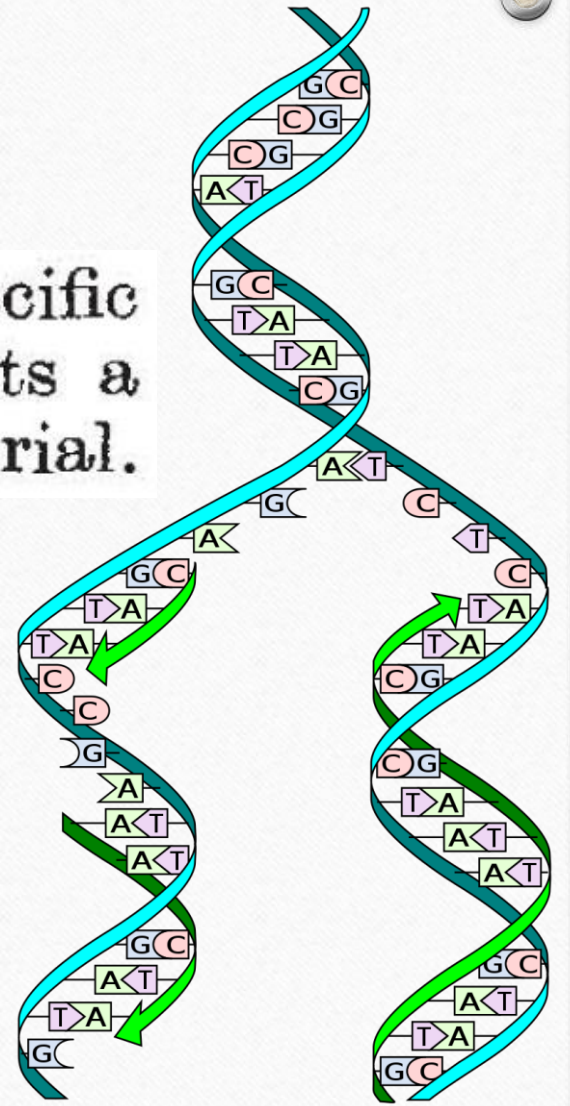
Dvoušroubovica DNA je anti-paralelná, to znamená, že 5' koniec jedného retazca je spojený s 3' koncom komplementárneho retazca a naopak. Nukleotidy v retazci sú spojené ich fosfátovou skupinou.

DNA báze sú spojené vodíkovými väzbami, zároveň sú ale ich vonkajšie časti prístupné pre tvorbu ďalších vodíkových väzieb. Toto umožňuje jednoduchý prístup ďalších molekúl k DNA (replikace, exprese).

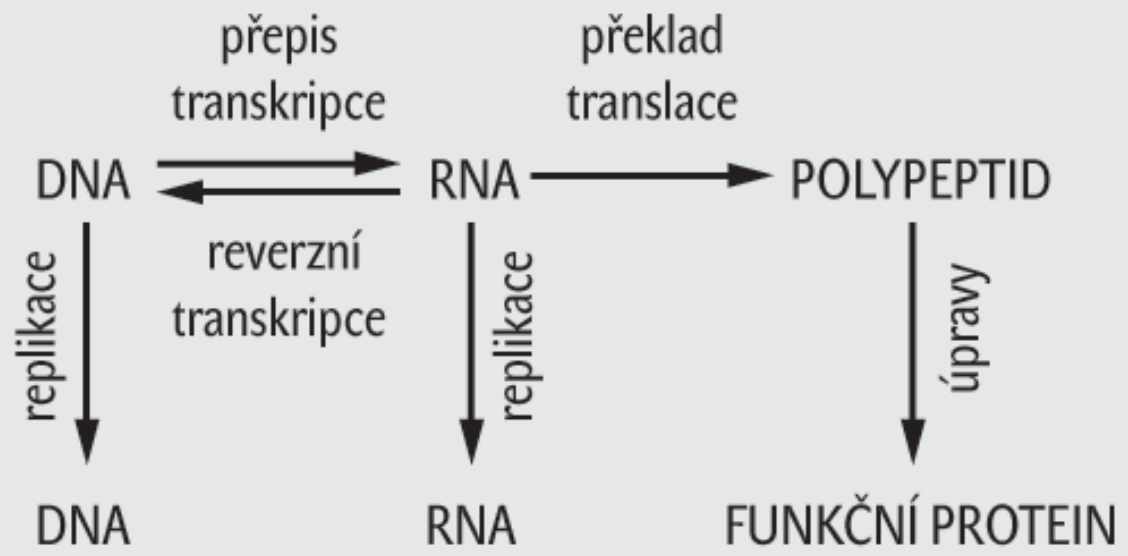




It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.







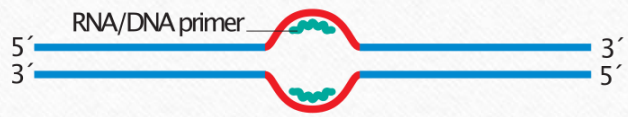
# Ústředná dogma molekulárnej biologie

1958 – Francis Crick

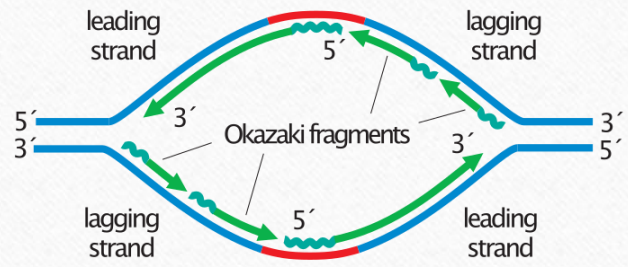




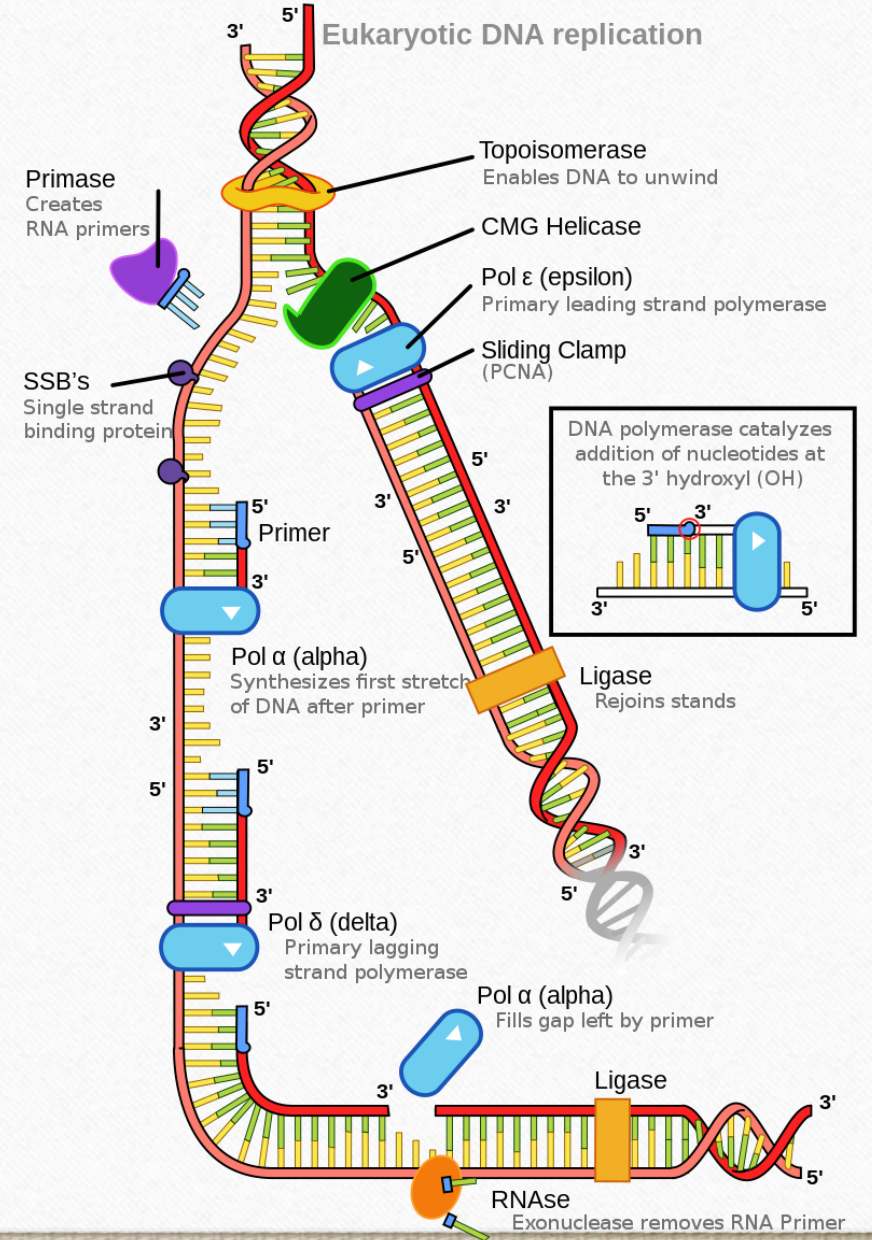
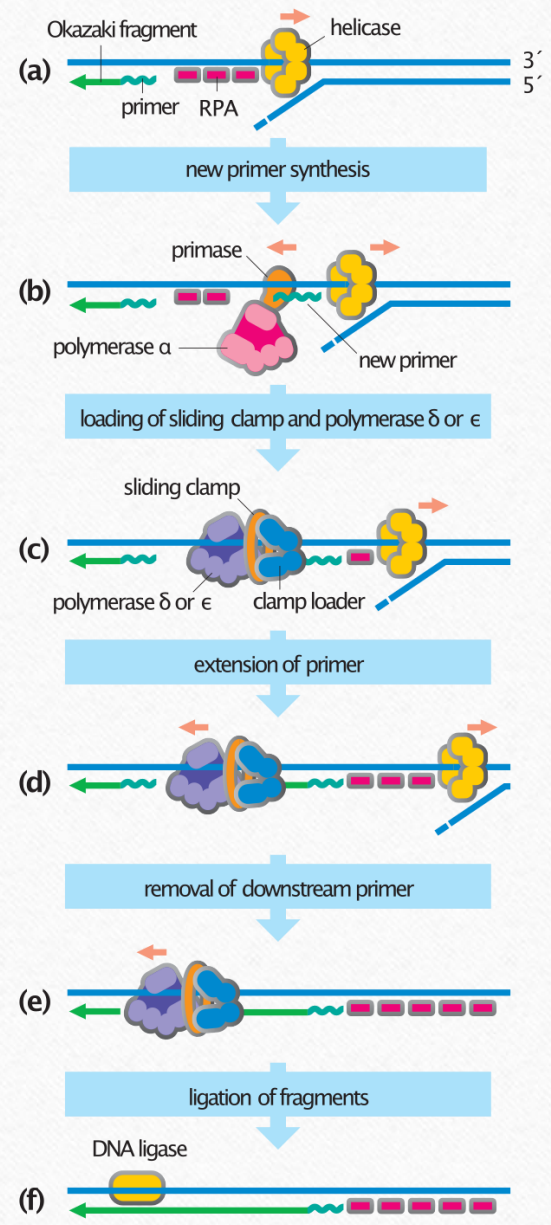
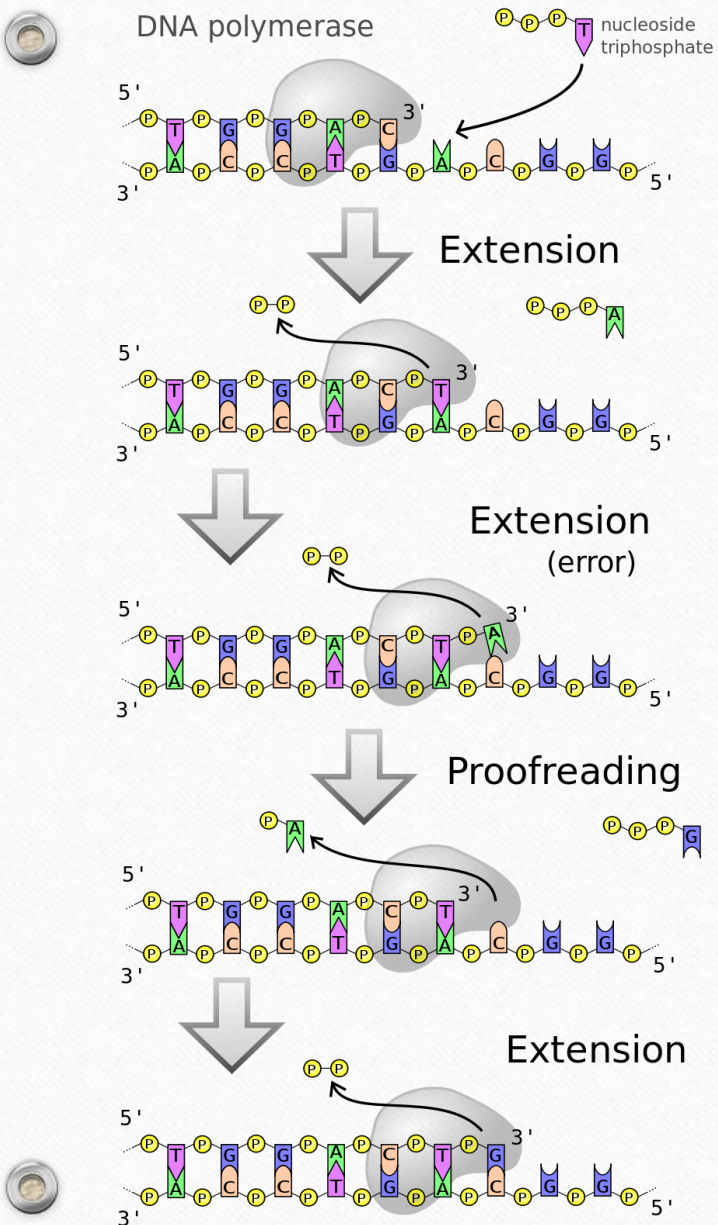
origin unwinding  
primer synthesis (primase)



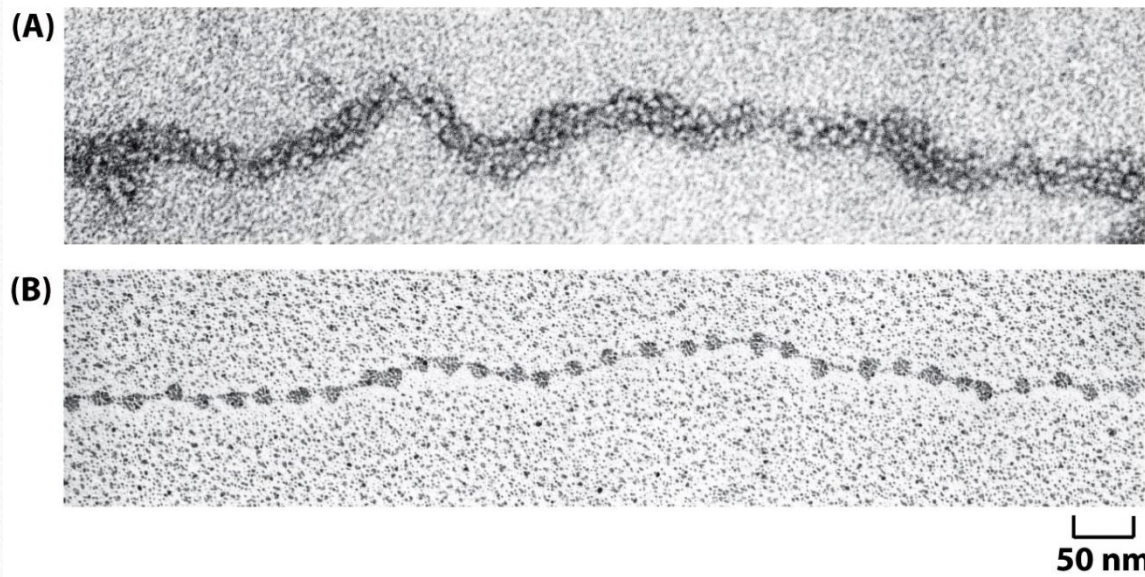
extension of primers (polymerase  $\delta$  or  $\epsilon$ )  
new primers on lagging strand





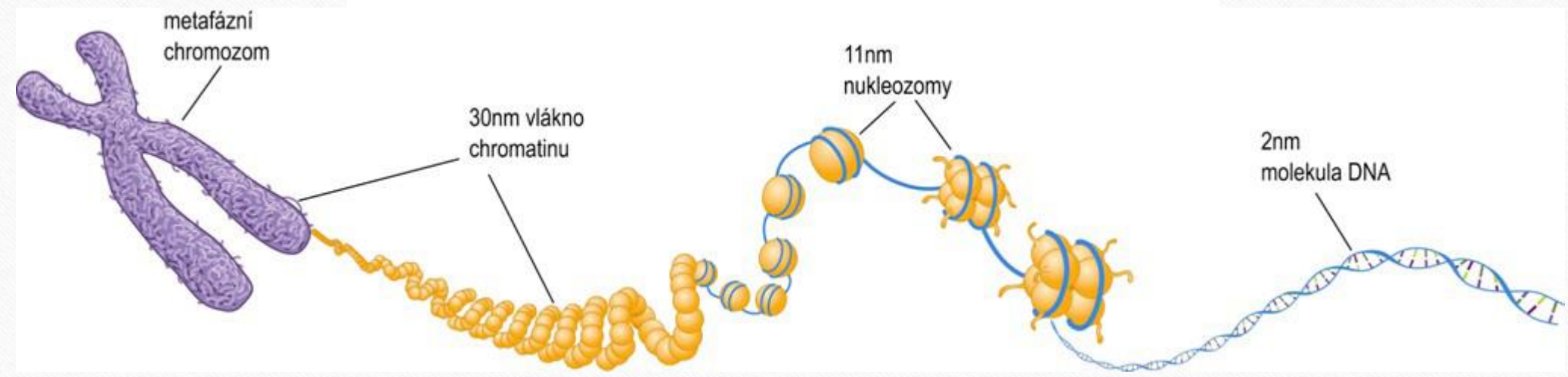






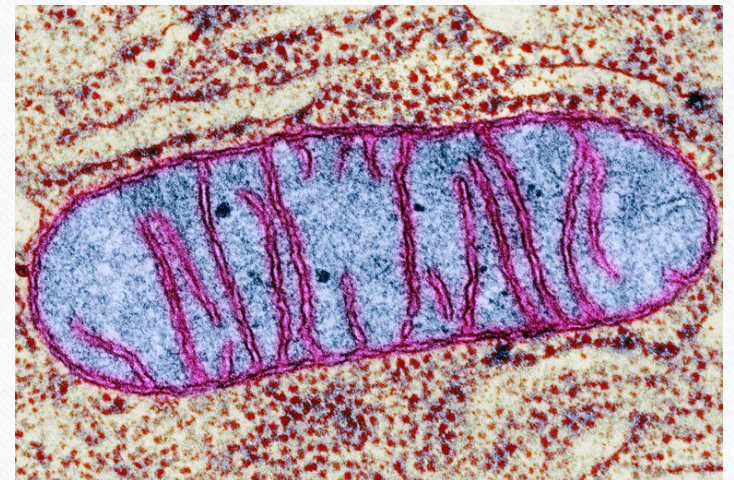
30nm interfázni chromatin

11nm „korálky na niti“





- Mitochondrie sú ohraničené dvojitou membránou
- Významná úloha v energetickom metabolizme
- Evolučne endosymbióza prokaryotických buniek – vlastní genom
- mtDNA – kružnicová molekula
- Využívajú produkty vlastných genů, ale i proteiny, kódované jadernými geny, ktoré jsou do mitochondrií přeneseny z cytosolu
- Lidská mtDNA
  - 16 571 bp
  - 37 genů
    - 2 pro rRNA, 22 pro tRNA, 13 polypeptidy podílející se na enzymatické výbavě mitochondrií





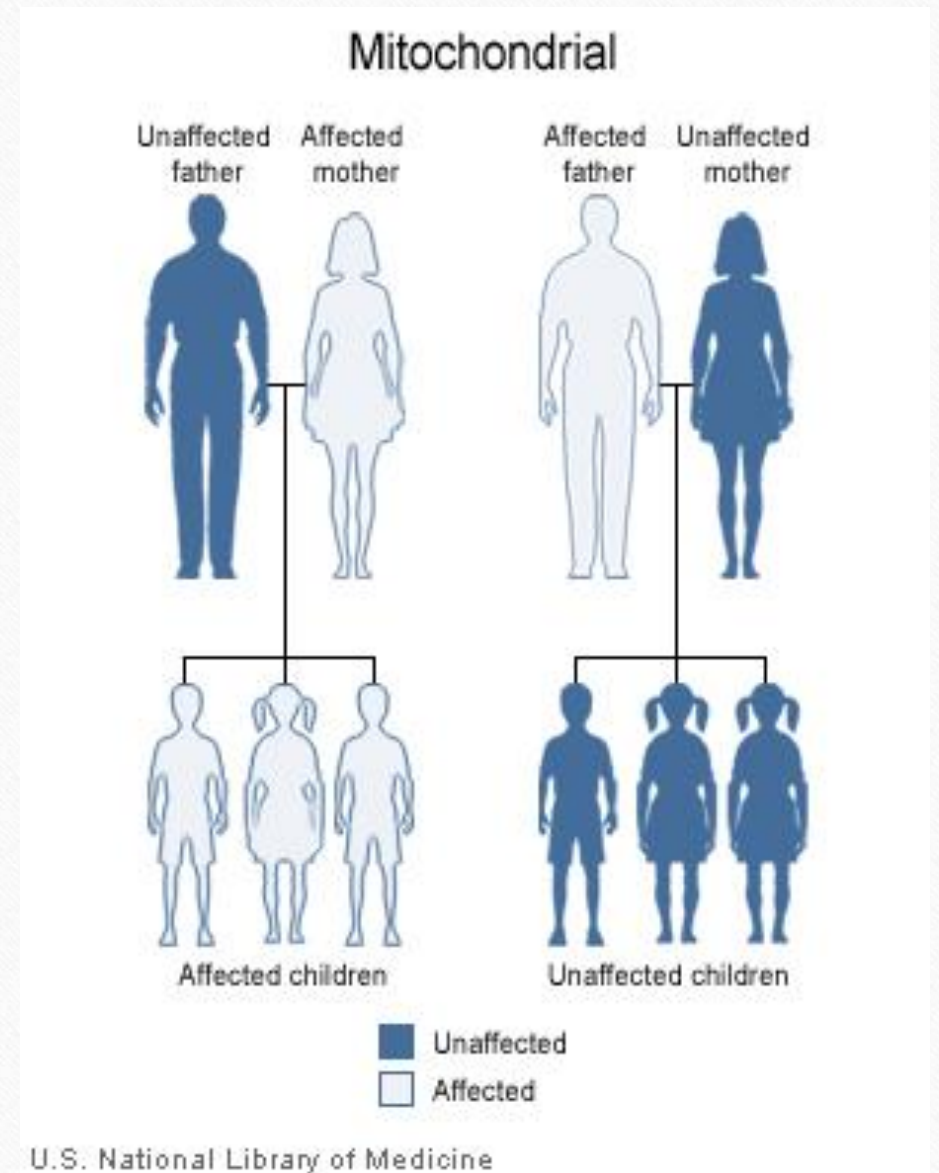
# Mutácie mitochondriálnych génov

- Vedú k poruchám oxidatívnej fosforylácie
- Mutácie v mtDNA vznikajú častejšie ako v jaderné DNA
  - Dôsledok vyššieho výskytu mutagenných voľných radikálov, iná DNA polymeráza, menej reparačných mechanizmov
- Míra postihnutí
  - Homoplazmie – mutácie vo všetkých molekulách mtDNA v bunke
  - Heteroplazmie – mutácia iba v niektorých molekulách mtDNA- hladina sa môže v rôznych tkanivách líšiť (svalová, srdcová a nervová tkaná majú malý replikačný potenciál, a je v nich preto vysoká heteroplazmie)



# Genetická klasifikace mitochondriálních chorob

- Defekty v jaderné DNA
  - defekty v transportu a využití substrátu
  - defekty v importu proteinů
  - defekty v Krebsově cyklu
  - defekty v oxidačně-fosforylačních krocích
  - defekty v respiračním řetězci
- Defekty v mtDNA
  - velká přeuspořádání mtDNA – delece velkých úseků
  - bodové mutace mtDNA
- Defekty v komunikaci mezi mtDNA a jadernou DNA
- Získané defekty mtDNA – vlivem toxinů, léčiv, stárnutí





# Vzácné mitochondriální choroby

- Nejčastější neurologické příznaky
  - obrna okohybných svalů, poškození zrakového nervu, mozková mrtvice, křeče, svalová poškození, únava a neschopnost fyzické zátěže, ataxie, demence, periferní neuropatie
- Projevy poškození orgánů v důsledku poruch v mtDNA
  - poruchy vedení srdečního vzruchu, kardiomyopatie, diabetes mellitus, šedý zákal, laktázová acidóza, poškození ledvinných glomerulů, poškození sluchu, poškození jater, poškození slinivky břišní, intersticiální pseudoobstrukce, epizodické zvracení, pancytopenie, deprese
- **Chronická externí oftalmoplegie (CPEO)**
  - bodová mutace v tRNA7
  - napřed paralýza okohybných svalů, později paralýza svalů dolních končetin
- **Kearns-Sayrův syndrom (KSS)**
  - delece v různých částech mtDNA
  - příznaky: od 20. roku věku (ztráta vidění, sluchu, srdeční choroby, demence, ataxie, malý vzrůst)



# Vzácné mitochondriální choroby

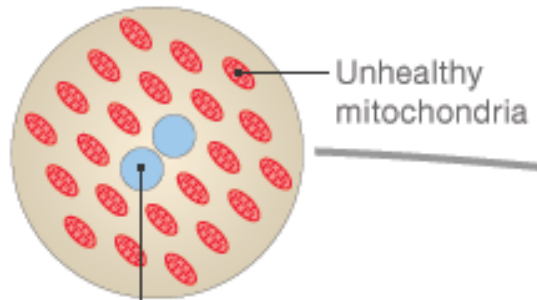
- **Leberova dědičná oční neuropatie (LHON)**
  - většinou homoplazmické mutace v genech pro podjednotku NADH dehydrogenázy (MT-ND1, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND6)
  - postižení očního nervu a náhlá ztráta zraku (jedno nebo obě oči) průměrně ve věku 27 let, také srdeční dysrytmie
  - incidence 1:50 000, diagnostikováno častěji u mužů – je zde předpokládán určitý druh interakce genů vázaných na X-chromozom s mtDNA



## Method one: Embryo repair

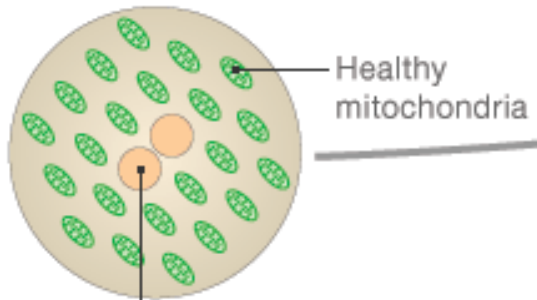
### Step 1

Parents' embryo



Parents' nucleus

Donor embryo



Donor's nucleus

### Step 2

Parents' nucleus removed

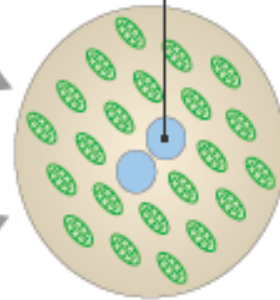


Donor's nucleus removed and destroyed



### Step 3

Parents' nucleus now in donor embryo



Source: HFEA