

Doporučená literatura

Molecular Biology of the Cell

Fifth Edition

Alberts, Johnson, Lewis, Raff, Roberts, Walter

Garland Science Publ. 2008

Principles of Genetics

Fifth Edition

Snustad, Simmons

John Wiley and Sons, Inc., 2009

Přednáška 1 - osnova

- společné vlastnosti živých systémů
- u zrodu molekulární biologie byla genetika
- milníky v molekulární biologii a genetice
- DNA jako genetický materiál
- dědičnost a evoluce
- úrovně genetických analýz
- současné aplikace molekulární biologie a genetiky

Společné vlastnosti živých systémů

- zorganizované chemické továrny, které přijímají hmotu z vnějšího okolí a využívají ji pro udržování své struktury a vytváření jejích kopií
- vykazují pozoruhodnou vnější rozmanitost
- sdílejí zákonitosti vnitřní organizace:
 - jsou složeny z buněk
 - buňky všech typů fungují na základě obdobných principů
 - tyto univerzální principy fungují u všech typů buněk a vymezují tak podstatu života

Společné vlastnosti živých systémů

základním společným principem je

- schopnost všech živých systémů **nést instrukce** pro svou vlastní organizaci (kódovat v podobě genů)
- **přenášet je do dalších buněčných generací** (replikovat, segregovat)
- podle potřeby **je vyjadřovat** (exprimovat)

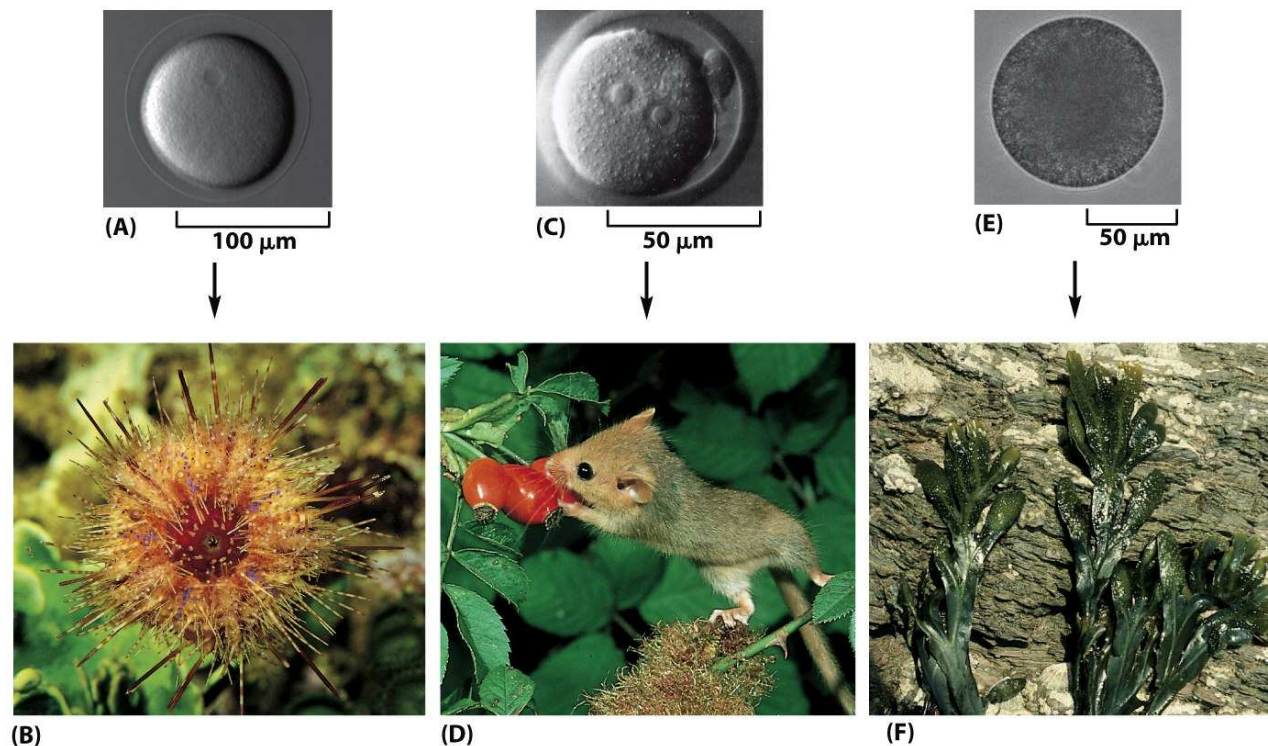
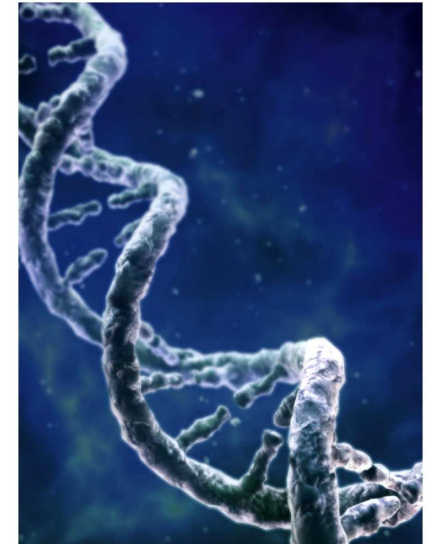


Figure 1-1 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Genom obsahuje instrukce pro organizaci buněk



- "srdce" buňky: knihovna informací o tom, jak buňku zorganizovat tak, aby mohla žít
- rozhoduje o tom, jak bude vypadat buňka i celý mnohobuněčný organizmus
- **obsahuje veškerou genetickou informaci** buňky/organismu
- je tvořen DNA
- DNA se před dělením buněk replikuje, aby se v nezměněné podobě mohla objevit v dceřiných buňkách
- studium DNA umožňuje pochopit buňku a v širším smyslu i celý organizmus

Tyto zásadní objevy přinesly výzkumu v oboru genetiky

Tři milníky v genetice

Gregor Mendel: zákony dědičnosti

James Watson a Francis Crick:
struktura DNA

Human Genome Project: podrobná
analýza lidské DNA

Johan Gregor Mendel: Geny a zákony dědičnosti (1866)

Geny—faktory, které se dědí a zodpovídají za vlastnosti organismu

Alely—různé formy genu

Zákony dědičnosti

Alely stejného genu se oddělují při tvorbě gamet

Alely různých genů se dědí nezávisle



Co je gen?

Chemicky jsou geny tvořeny **nukleovými kyselinami**

Nukleové kyseliny jsou sestaveny ze strukturních jednotek zvaných **nukleotidy**

Nukleotidy mají tři složky

Molekulu **cukru** (ribóza nebo deoxyribóza)

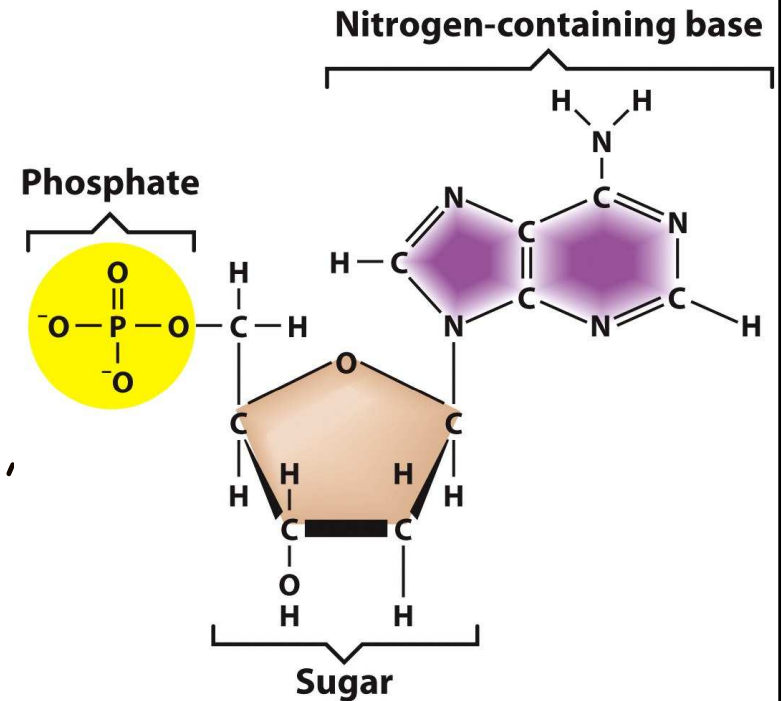
Molekulu **fosfátu**

molekulu obsahující dusík, tzv. **bázi** (adenin, guanin, cytozin, thymin, uracil)

RNA značí kyselinu ribonukleovou

DNA značí kyselinu deoxyribonukleovou

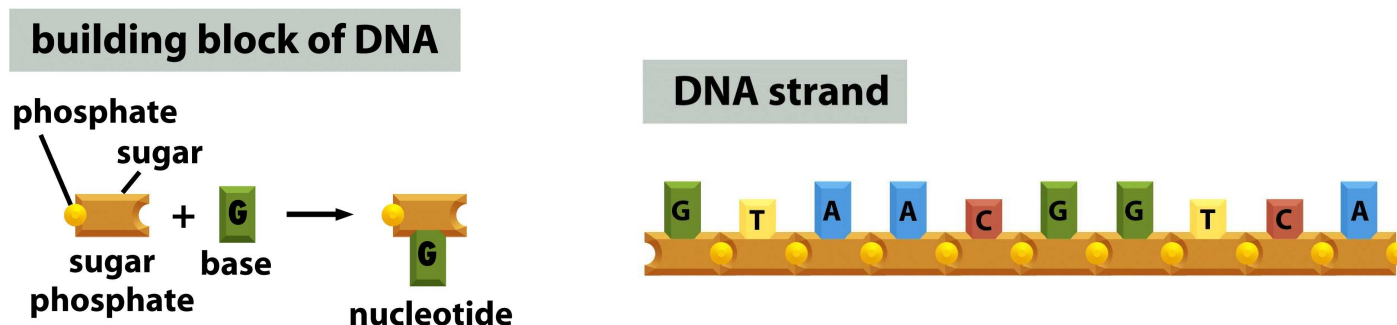
většina organismů využívá DNA jako genetický materiál, jen některé viry používají RNA



Způsob uložení instrukcí v genomu

Jak může nukleová kyselina nést informaci?

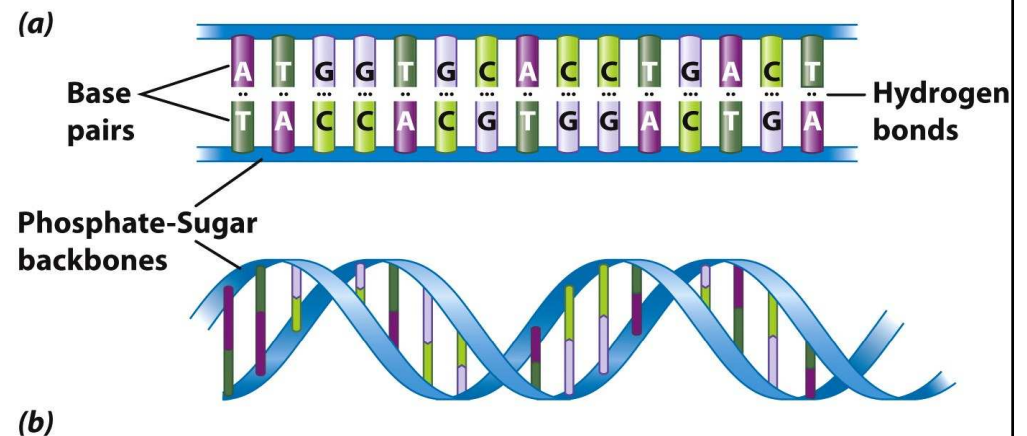
- je uložena v **pořadí (tzv. sekvenci) nukleotidů A, G, C, T**
- **genetický kód**: lineární pořadí monomerů A, G, C, T v polymeru dvouřetězcové DNA
- stejný kód používají všechny buňky na Zemi
- informace bakteriální DNA může být přenesena do lidské buňky (nebo naopak) a bude novou hostitelskou buňkou správně kopírována, přečtena a interpretována
- stálost během evoluce (3.5 miliard let)



Watson a Crick: Struktura DNA (1953)

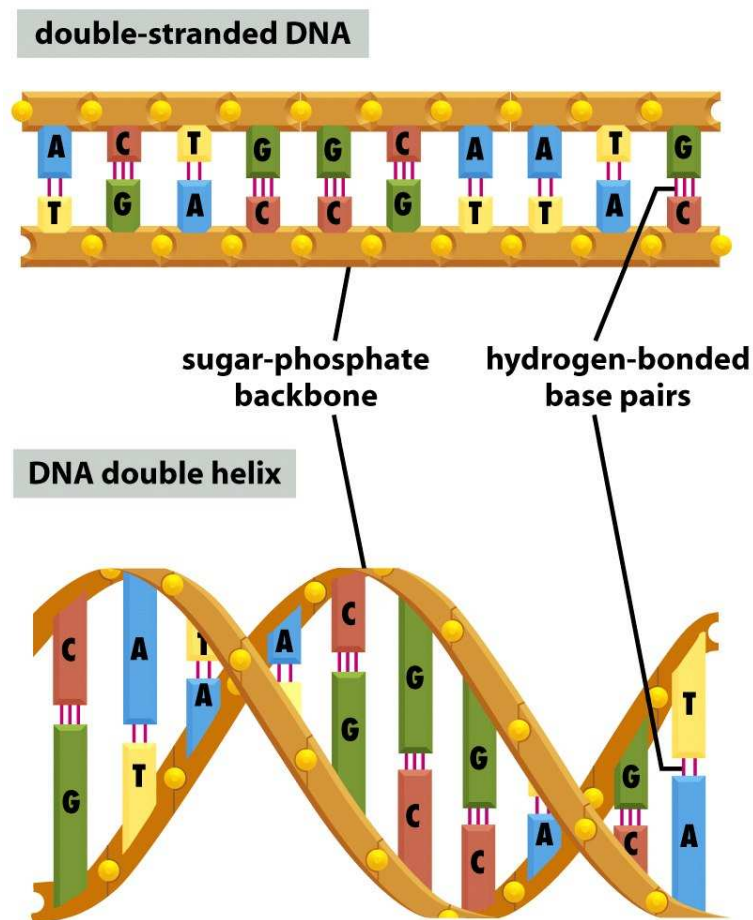
- objev způsobu organizace nukleotidů v DNA
- nukleotidy jsou spojeny do řetězců tím, že se mezi cukry a fosfáty vytvářejí kovalentní vazby
- molekuly DNA jsou tvořeny dvěma řetězci nukleotidů, které se kolem sebe obtáčí a vytvářejí šroubovici
- řetězce k sobě vážou vazby mezi páry bází

A se páruje s T
G se páruje s C



Vlastnosti dvouvláknové DNA (tzv. duplexu DNA)

- pravidla párování bází způsobují, že sekvence nukleotidů jednoho řetězce dvoušroubovicové DNA předurčuje nukleotidovou sekvenci druhého řetězce DNA: **oba řetězce jsou komplementární**
- pořadí bází v DNA (**lineární sekvence**) není náhodné, ale představuje základní vlastnost každého řetězce
- sekvencemi bází se jednotlivé geny mezi sebou liší
- molekuly DNA mohou být obrovské: desítky miliónů párů bází (více než 10 cm)



Projekt analýzy lidského genomu: (Human Genome Project - "HUGO"): sekvenování DNA a katalogizace genů

první polovina 20. století: snahy a identifikaci látky, ze které jsou geny tvořeny

druhá polovina 20. století: snahy o určení pořadí bází v molekulách DNA (sekvenování DNA)

konec 20. století: získání informací o sekvencích nukleotidů prvních organismů

Projekt analýzy lidského genomu: (Human Genome Project - "HUGO"): sekvenování DNA a katalogizace genů

Genom—soubor všech molekul DNA daného organismu

Genomika-přístup k analýze sekvencí DNA, které tvoří genom
Hlavními genomickými přístupy jsou sekvenování DNA, robotizace v kombinaci s počítačovými technologiemi

Projekt lidského genomu určil sekvenci cca 3 miliard nukleotidů DNA lidského genomu

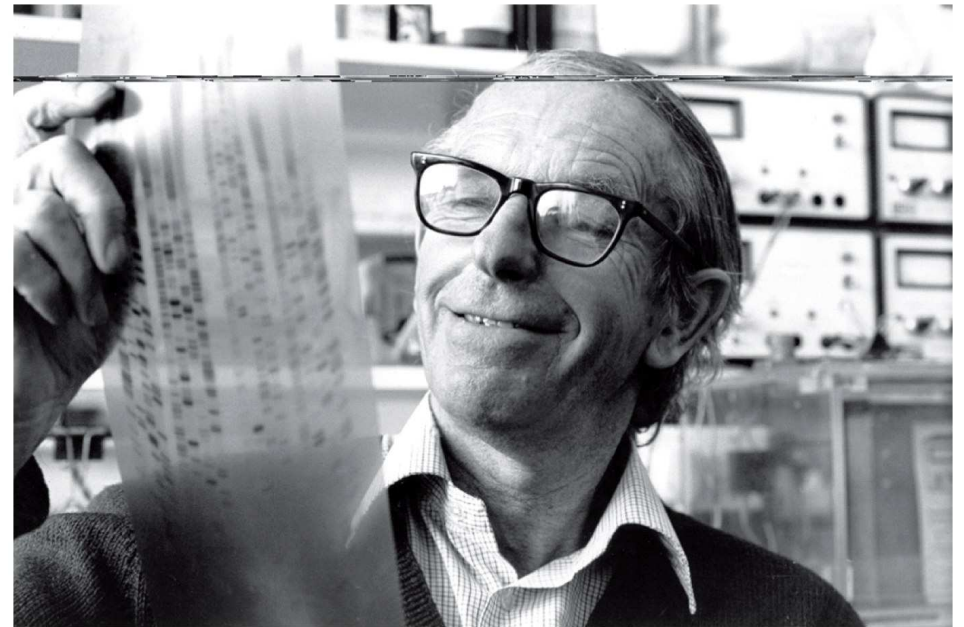


Milník: prvním sekvenovaným genomem byl genom fága ϕ X174

ϕ X174 je virus, jehož genetický materiál tvoří jednořetězcová DNA

druhý řetězec lze syntetizovat *in vitro* a využít pro zjištění sekvence bází

Frederick Sanger sekvenoval genom ϕ X174 (5375 nukleotidů) v roce 1977



Projekt lidského genomu

- snaha o určení sekvence cca 3 miliard nukleotidových párů lidské DNA
- zapojena řada laboratoří po celém světě (soukromé i státní)
- v roce 2001 publikovány dva články popisující sekvenci 2,7 miliónů nukleotidových párů
- počítačová analýza této DNA naznačila, že lidský genom obsahuje 30.000 - 40.000 genů
- pozdější upřesňující studie ukázaly, že lidský genom obsahuje 20.000 - 25.000 genů
- tyto geny byly katalogizovány podle umístění, struktury a potenciální funkce
- současné snahy jsou zaměřeny na pochopení jejich funkcí

Take home message

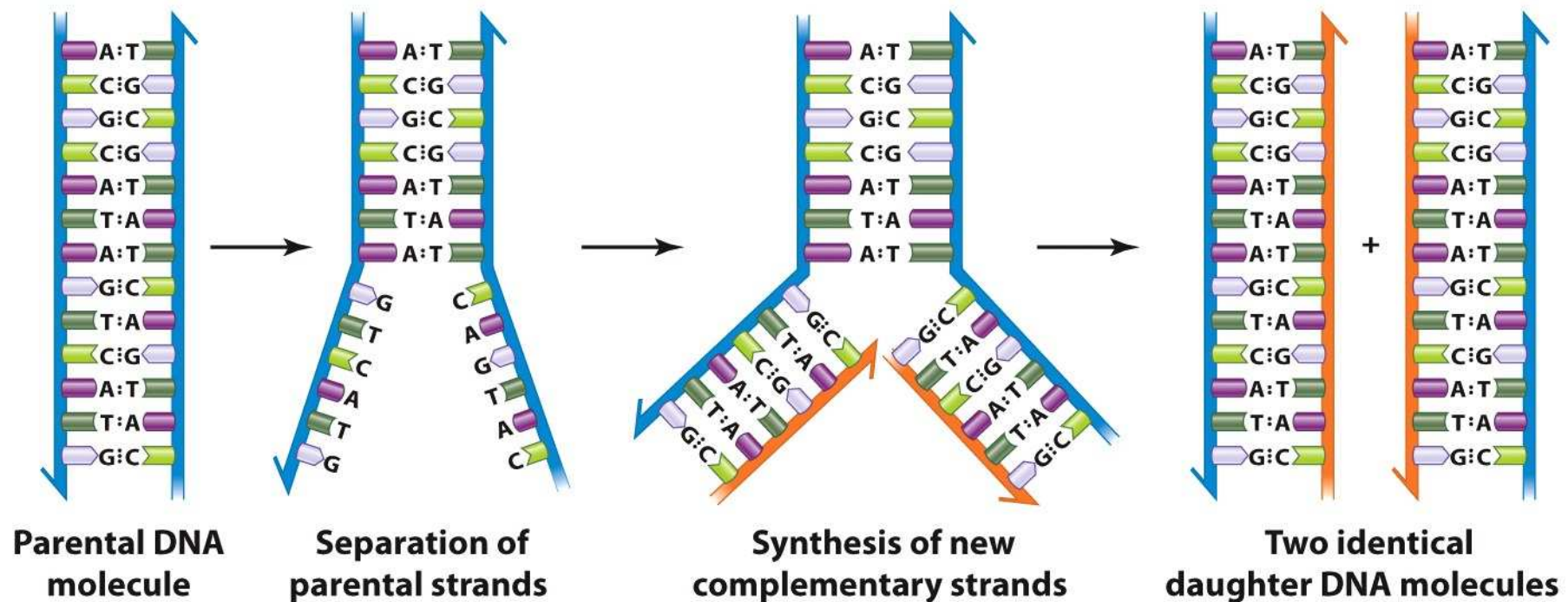
- Gregor Mendel předpověděl existenci speciálních faktorů - dnes zvaných geny-které vysvětlují způsob, jakým se znaky organismů dědí
- alely, tj. alternativní formy genů, vysvětlují dědičné rozdíly mezi jednotlivci
- James Watson a Francis Crick popsali strukturu DNA jako makromolekulu složenou ze dvou komplementárních řetězců nukleotidů
- DNA představuje genetický materiál všech forem života, s výjimkou několika virů, u kterých má dědičný materiál povahu RNA
- projekt lidského genomu určil sekvenci nukleotidů DNA lidského genomu
- sekvenování DNA genomu poskytuje údaje nutné pro identifikaci a katalogizaci všech genů organismu

DNA jako genetický materiál

- tok genetické informace: DNA → RNA → protein (genová exprese)
- všechny buněčné organizmy používají jako genetický materiál DNA
- požadavky na genetický materiál:
 - schopnost **replikace** (přenos na potomstvo v nezměněné podobě)
 - schopnost **obsáhnout informaci** (řídit aktivitu buněk, vývoj, fungování a vlastnosti organismu)
 - schopnost **přijímat změny** (adaptace organismů)

Replikace DNA

- propagace genetické informace
- podmínka přenosu informace z jedné buňky na druhou při buněčném dělení
- typická vysokou přesností (několik málo chyb na stovky miliónů replikovaných nukleotidů)

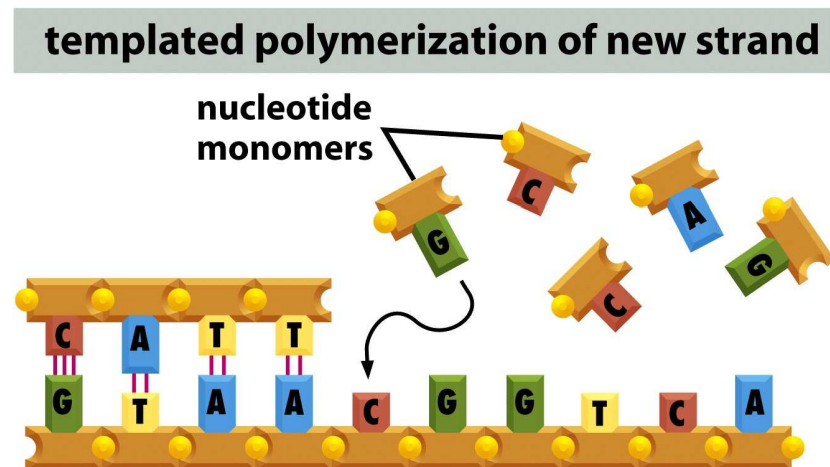


Replikace DNA probíhá přesným kopírováním předlohy - templátu

- Životodárný mechanismus replikace DNA vyplývá z její dvouřetězcové struktury:
- polymer DNA se skládá z monomerů, tzv. nukleotidů
- každý nukleotid má 3 složky:
 - **cukr** (deoxyribózu)
 - **fosfátovou skupinu** navázanou na cukr
 - **postranní bázi** obsahující dusík (adenin, thymin, cytozin nebo guanin)
- každá cukerná složka je připojena k sousední přes fosfátovou skupinu silnou kovalentní vazbou
- důsledkem je vznik polymeru složeného z opakujícího se **motivů „cukr-fosfát-cukr-fosfát-...“** a postranních bází
- pravidla párování bází způsobují, že sekvence nukleotidů jednoho řetězce dvoušroubovicové DNA předurčuje nukleotidovou sekvenci druhého řetězce DNA: oba řetězce jsou **komplementární**

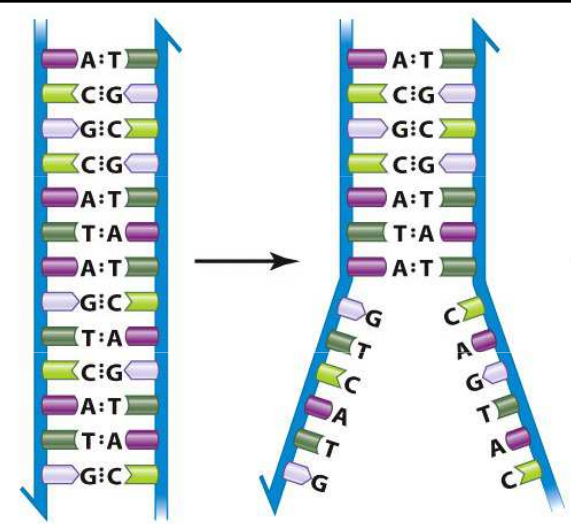
Replikace DNA probíhá přesným kopírováním předlohy - templátu

- polymer DNA se zvětšuje přidáváním monomerů k jednomu konci podle templátu v podobě dříve vytvořeného řetězce DNA
- báze vyčnívající z existujícího řetězce vážou báze nově se tvořícího řetězce na základě přísných pravidel komplementarity (A se páruje s T, G s C) nekovalentními vodíkovými vazbami
- vzniká dvouřetězcová DNA složená ze dvou zcela komplementárních řetězců, které se kolem sebe obtáčí a tvoří dvoušroubovici



Replikace DNA:

1. krok - separace řetězců

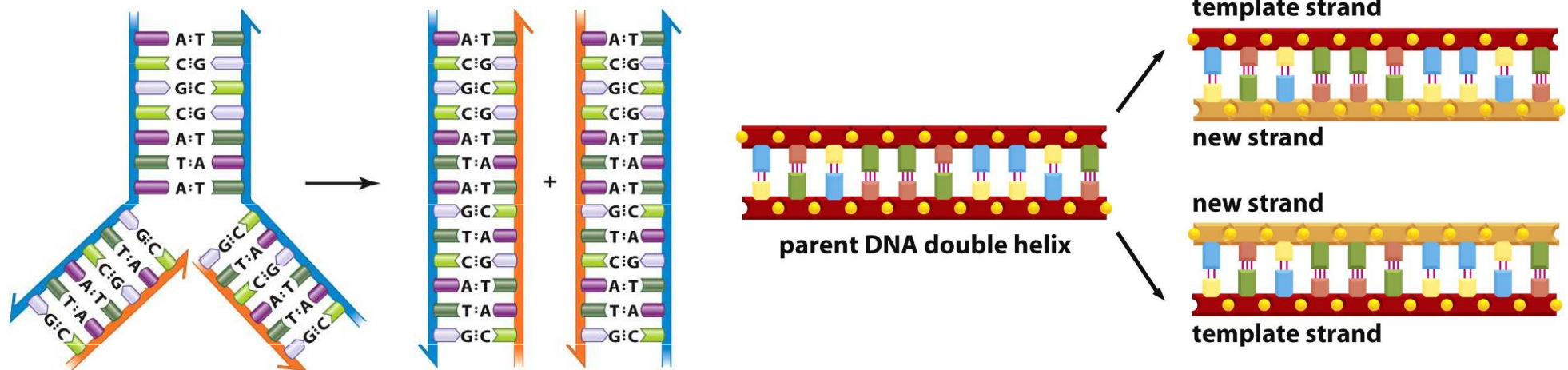


- řetězce dvoušroubovice DNA mají komplementární povahu a drží pohromadě vodíkovými vazbami mezi bázemi
- vodíkové vazby mezi páry bází jsou mnohem slabší než kovalentní vazby v cukr-fosfátové kostře
- porušením vodíkových vazeb se řetězce oddělují
- proto je možné oddělení řetězců od sebe, aniž by byla cukr-fosfátová kostra poškozena
- každý řetězec pak může sloužit jako templát pro syntézu komplementárního vlákna, tj. pro vytvoření kopie dědičné informace

Replikace DNA:

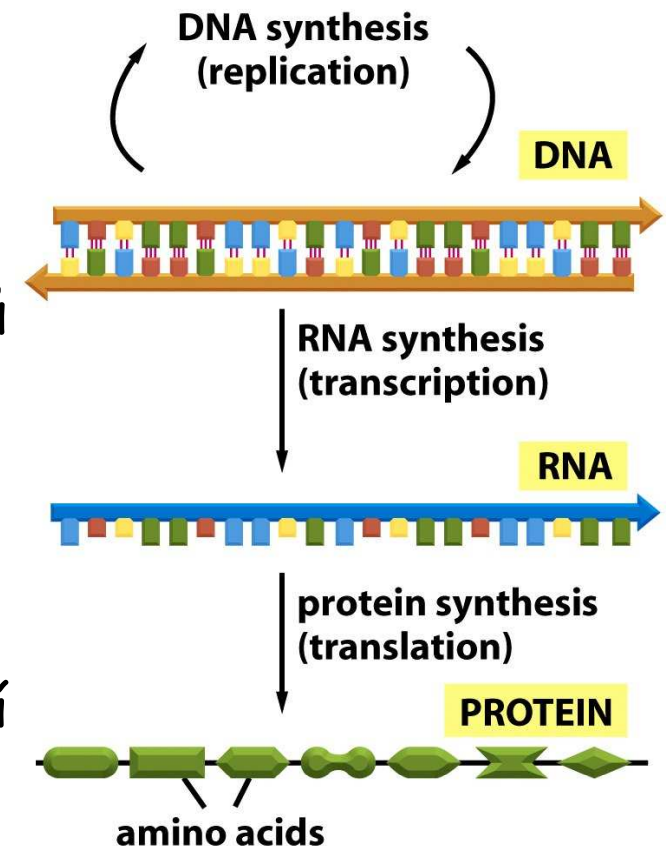
2.krok - syntéza komplementárních vláken

- oddělené řetěze slouží jako templáty pro syntézu nových vláken (diktuje pořadí nukleotidů v nově syntetizovaných vláknech na základě pravidel o párování bází)
- proces replikace neprobíhá spontánně, ale vyžaduje účast speciálních enzymů
- po skončení replikace je každé templátové vlákno spárováno s nově vytvořeným partnerským vláknem



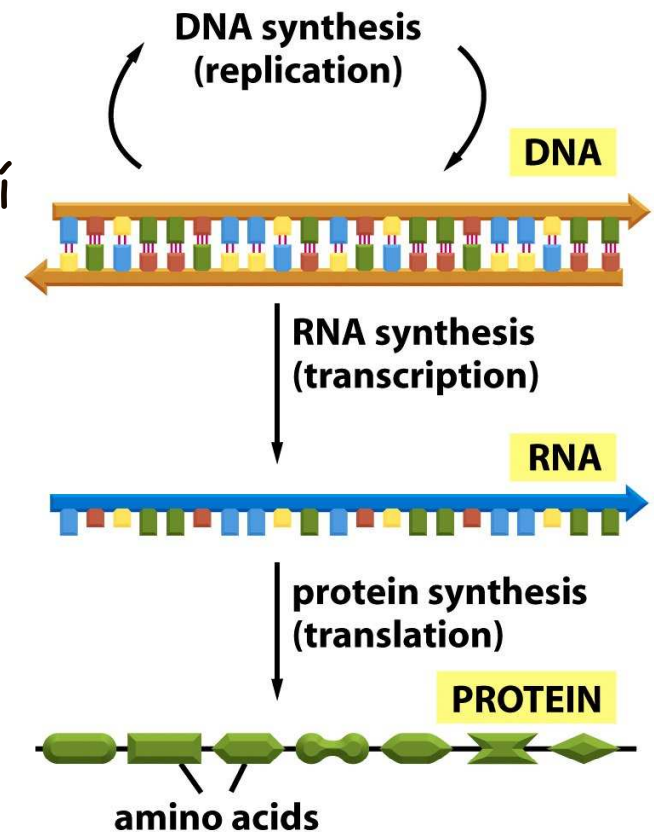
Genová exprese: využití genetické informace

- **exprese genetické informace** uložené v DNA: vyjádření do podoby jiných molekul v buňce
- mechanismus genové exprese je stejný u všech živých organismů
- podstatou genové exprese je postupná tvorba dalších dvou buněčných polymerů: RNA a proteinů
- probíhá ve dvou stupních:
 - sekvence DNA se použijí jako templáty pro syntézu příbuzného polymeru - **ribonukleové kyseliny (transkripce)**
 - později se většina těchto molekul RNA podrobí **translaci**, tj. bude řídit tvorbu polymerů odlišné chemické povahy - **proteinů**
- genová exprese determinuje aktivita buněk, vývoj, funkci a chování organismů složených



Jak se genetická informace exprimuje?

- geny obsahují instrukce pro syntézu proteinů
- **proteiny** se skládají z polypeptidů a **polypeptidy** se skládají z lineárně seřazených **aminokyselin**
- existuje 20 různých aminokyselin a jejich pořadí je charakteristickým rysem každého proteinu
- genová exprese se dá vyjádřit jako způsob, kterým se genetická informace (sekvence nukleotidů) převede do sekvence aminokyselin v polypeptidových řetězcích proteinů
- **genetický kód** je založen na základních kódovacích jednotkách - trojicích sousedních nukleotidů (**kodonech**), které určují která aminokyselina má být do syntetizovaného polypeptidového řetězce zařazena

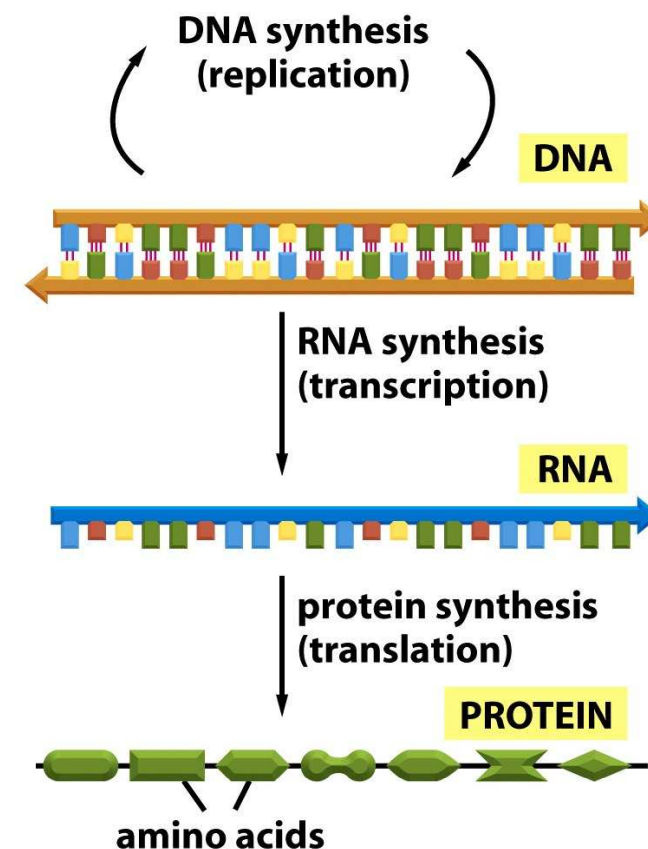


Genová exprese je dvoufázová

(1) transkripcí se DNA genu kopíruje do molekuly RNA (DNA je templátem pro syntézu RNA na základě párování bází)

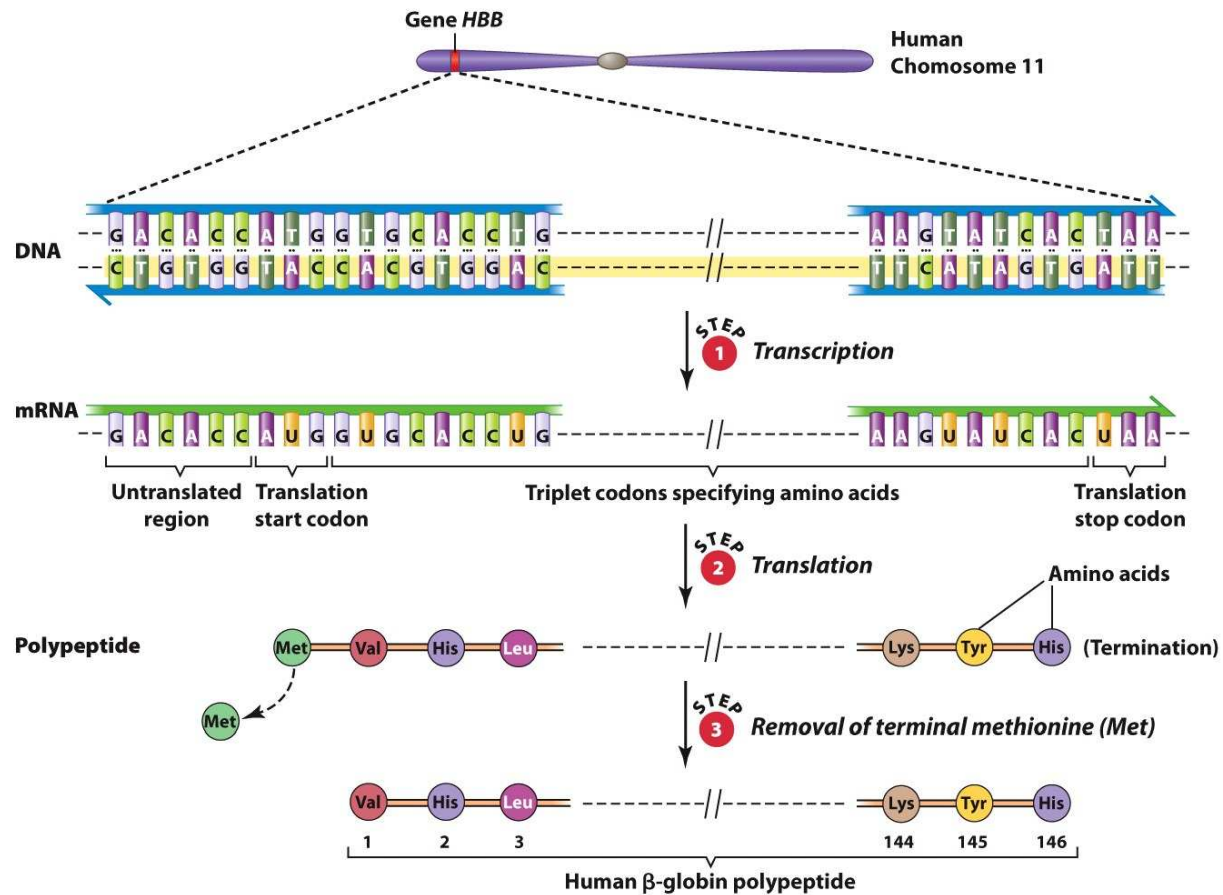
vzniká tak molekula messenger RNA (mRNA), která obsahuje informaci potřebnou pro syntézu polypeptidu

při (2) translaci se podle pořadí kodonů v mRNA začleňují aminokyseliny do polypeptidového řetězce (mRNA je templátem pro syntézu polypeptidu)



Produktem genové exprese je protein (nebo některý z typů RNA)

- po dokončení translace se vzniklý polypeptid oddělí od mRNA a složí se do přesné trojrozměrné struktury
- v této konformaci může plnit svou úlohu v buňce
- některé polypeptidy se modifikují odstraněním některých aminokyselin (často se odštěpuje první metionin)



Struktura ribonukleové kyseliny (RNA)

- RNA se od DNA liší ve dvou faktorech:
 - kostru polymeru tvoří **ribóza** místo deoxyribózy
 - jedna ze 4 bází je částečně odlišná: thymin je nahrazen **uracilem**
- systém komplementárního párování bází je zachován (G-C, U-A)
- vznik RNA transkripcí je obdobný replikaci DNA:
 - ribonukleotidy se při polymeraci řadí v pořadí diktovaném pořadím nukleotidů v templátové DNA
 - výsledkem je polymer RNA (přepis, transkript), jehož sekvence ribonukleotidů přesně odpovídá části dědičné informace dané buňky
- molekuly RNA jsou **jednořetězcové**, ale často se ohýbají a jedna část molekuly tak může být slabými vazbami v kontaktu s jinou
- i v těchto případech se uplatňuje **princip komplementarity** bází
- řetězce RNA tak mohou zaujímat specifické tvary, které jsou určeny vnitřní nukleotidovou sekvencí

Struktura ribonukleové kyseliny (RNA)

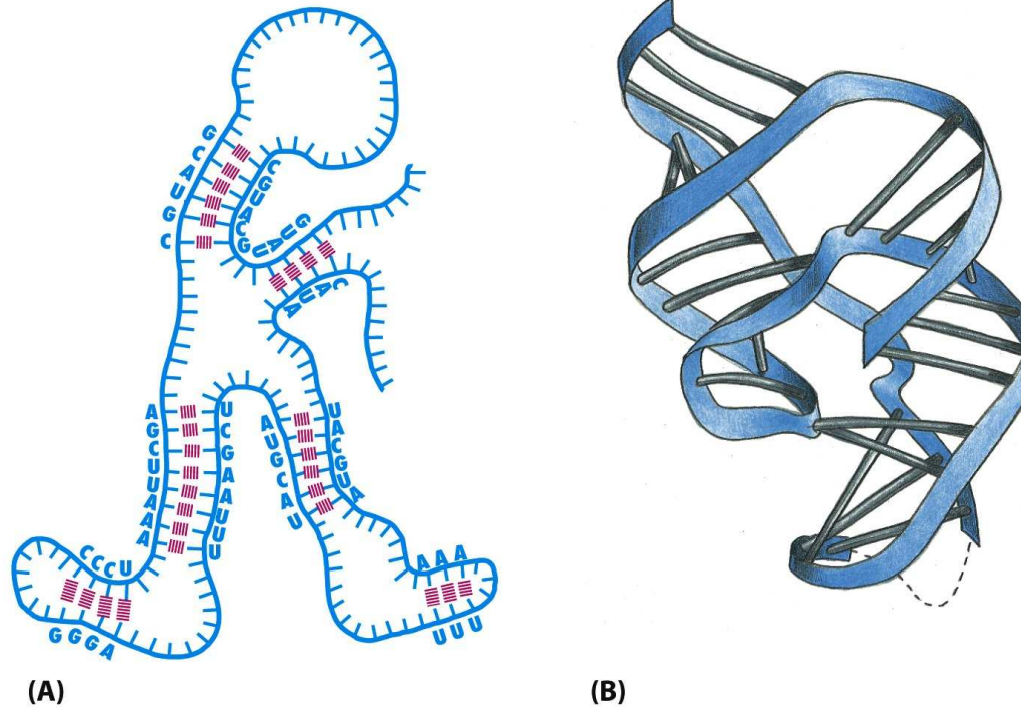
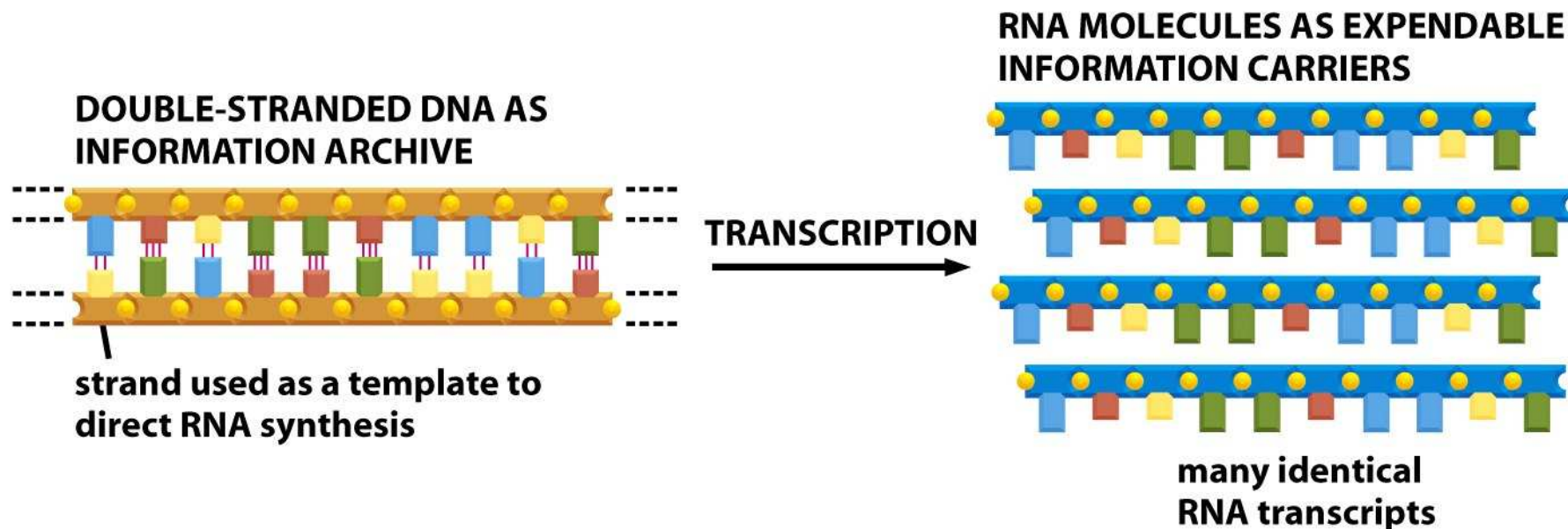


Figure 1-6 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

- tvar RNA umožňuje selektivní rozeznání a vazbu jiných molekul
- v některých případech umožňuje katalyzovat chemické změny ve struktuře vázaných molekul
- katalytická schopnost RNA zřejmě hrála významnou roli v raných fázích vývoje života

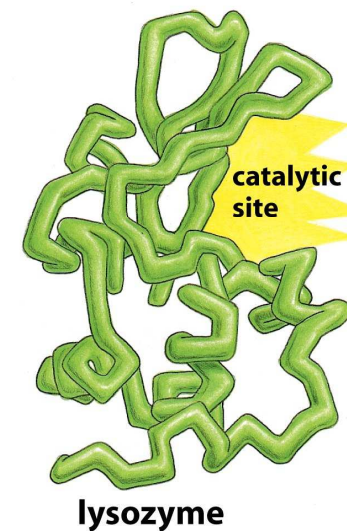
Míra transkripce daného úseku DNA je proměnlivá

- dědičná informace je v DNA archivována a využije se jen tehdy, je-li pro buňku potřebná
- transkripce daného úseku DNA může probíhat opakovaně
- transkripty nejsou na rozdíl od DNA stabilní
- transkripty mají většinou funkci prostředníků v přenosu dědičné informace z DNA do proteinů: slouží jako mRNA, které řídí syntézu proteinů podle genetických instrukcí uchovaných v DNA



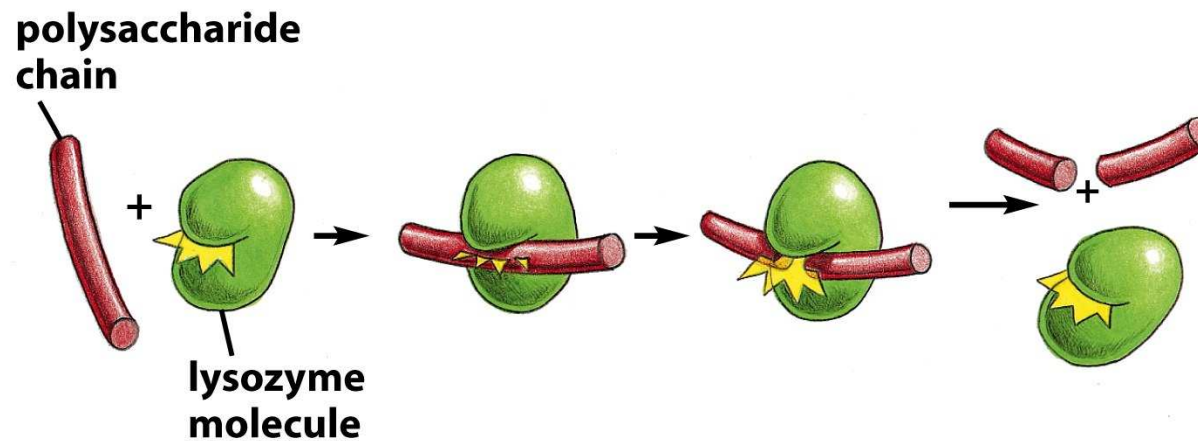
Proteiny se v buňkách uplatňují jako katalyzátory chemických reakcí

- proteiny jsou podobně jako RNA a DNA dlouhé nevětvené polymery složené z monomerů - aminokyselin
- počet typů monomerů je omezen (20 AK) a jejich nabídka je stejná u všech živých organismů
- v lineárním pořadí monomerů je obsažena informace podobně jako v řazení písmen a slov ve větách
- existuje 20 typů aminokyselin, jejichž postranní řetězce jim dávají specifické chemické vlastnosti
- spojování různých aminokyselin do polypeptidových řetězců vede k skládání proteinu do přesné trojrozměrné struktury a vzniku specifických reakčních míst



Funkce proteinů v buňkách

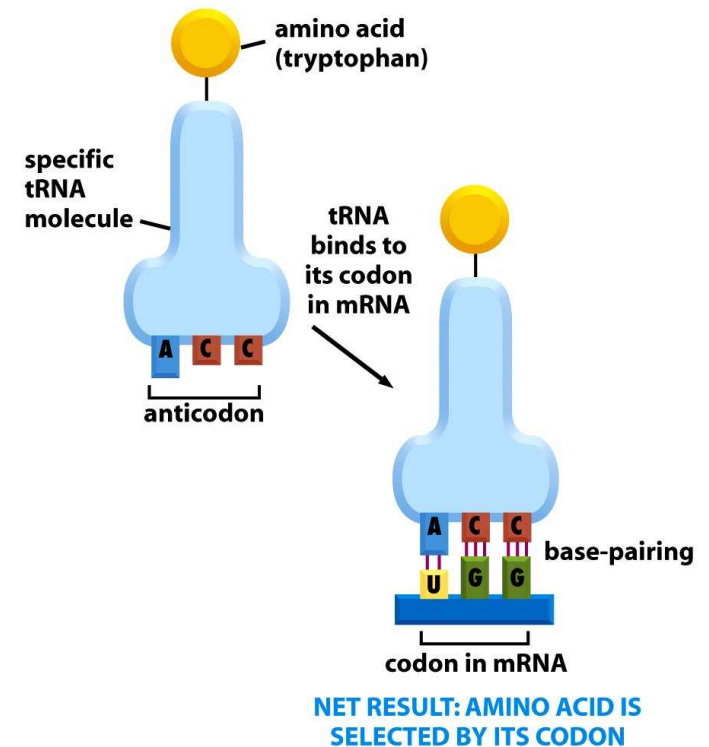
- **enzymatická** (katalytická) funkce, jejíž podstatou je
 - schopnost proteinů vázat jiné molekuly (substráty) s vysokou specifitou
 - zajišťovat tvorbu nebo štěpení kovalentních vazeb u navázaných substrátů proteiny



- **strukturní**
- **pohybová**
- **signalizační**, atd.
- ve všech případech proteiny představují vlastní realizátory genetické informace

Translace RNA do proteinů probíhá stejným způsobem u všech buněk

- informace obsažená v sekvenci mRNA se čte po třech nukleotidech: každá trojice (triplet, kodón) specifikuje jednu aminokyselinu daného proteinu
- jednotlivé kodóny jsou čteny speciální skupinou malých molekul RNA, zvaných transferové RNA (tRNA)
- každý typ tRNA má na jednom svém konci připojenu jednu specifickou aminokyselinu a na druhém konci nese specifickou sekvenci tří nukleotidů, tzv. antikodón, prostřednictvím kterého se tRNA váže na jeden nebo několik kodónů v mRNA



Translace RNA do proteinů probíhá stejným způsobem u všech buněk

- pro syntézu proteinu musí být k dispozici molekuly tRNA s navázanými aminokyselinami, které se postupně řadí vedle sebe na základě komplementarity bází kodónů mRNA a antikodónů tRNA

- spojené aminokyseliny rostoucího polypeptidového řetězce a tRNA zbavené svých aminokyselin musí být následně uvolněny

- složitý proces proteosyntézy probíhá v **ribosomech** složených ze dvou hlavních řetězců RNA (rRNA) a více než 50 různých proteinů

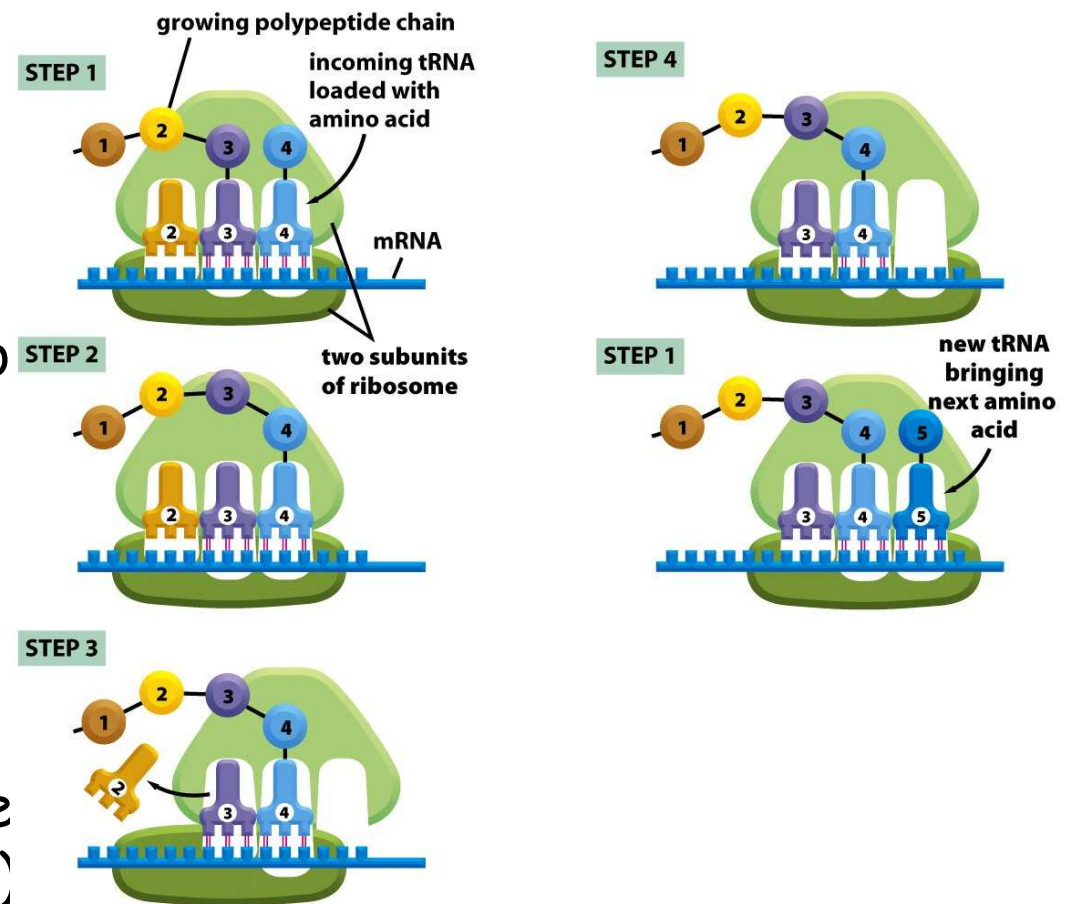
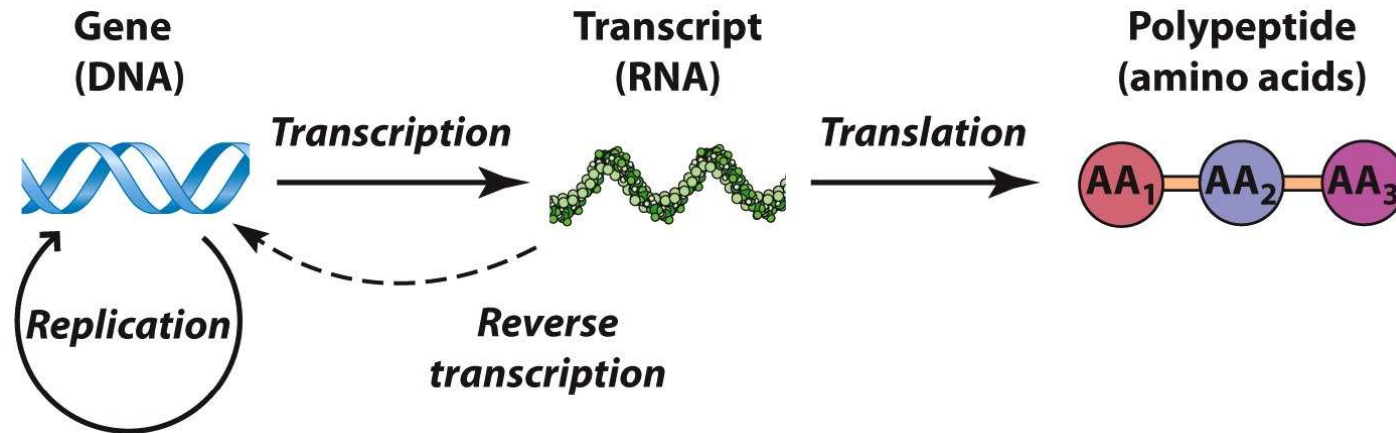


Figure 1-10a *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Centrální dogma molekulární biologie



- genetická informace se realizuje přenosem z DNA do RNA a do proteinu (tento postulát se označuje jako centrální dogma MB)
- některé viry (např. HIV) používají RNA jako templát pro syntézu DNA **reverzní transkripcí**
- mnoho genů nekóduje polypeptidy, ale molekuly RNA, které v buňce mají důležité úlohy

Život je autokatalytický proces

- polynukleotidy určují pořadí aminokyselin ve struktuře proteinů
- proteiny katalyzují mnoho chemických reakcí, včetně těch, které jsou nutné pro syntézu DNA a expresi dědičné informace z DNA do RNA a proteinů
- tato zpětnovazebná smyčka je základem autokatalytického a sebe-reproduktivního chování živých organismů

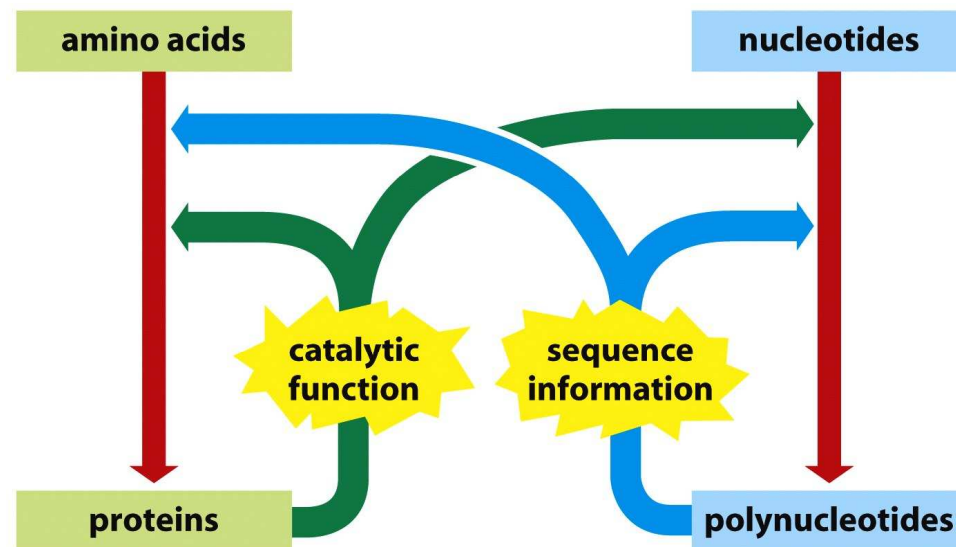


Figure 1-8 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Gen je ta část genetické informace, která kóduje jeden polypeptidový řetězec

- DNA je zpravidla obrovská molekula kódující tisíce proteinů
- části DNA se přepisují do jednotlivých molekul mRNA a každá z nich se překládá do struktury určitého proteinu
- každá část DNA kódující jeden protein se označuje jako gen
- molekuly RNA vzniklé přepisem stejného úseku DNA mohou být zpracovány do odlišných forem, což vede k vzniku alternativních forem proteinu
- **gen se proto definuje jako část sekvence DNA kódující buď jediný protein nebo soubor několika alternativních proteinových variant nebo jednu molekulu RNA**

Expese genů je regulována

- buňka se chová ekonomicky a v daném okamžiku exprimuje pouze ty geny, které právě potřebuje
- rychlost transkripce a translace jednotlivých genů se přizpůsobuje okamžitým potřebám
- proto se kódující úseky DNA střídají s nekódujícími, ve kterých se nacházejí vazebná místa pro regulační proteiny ovlivňující lokální rychlost transkripce

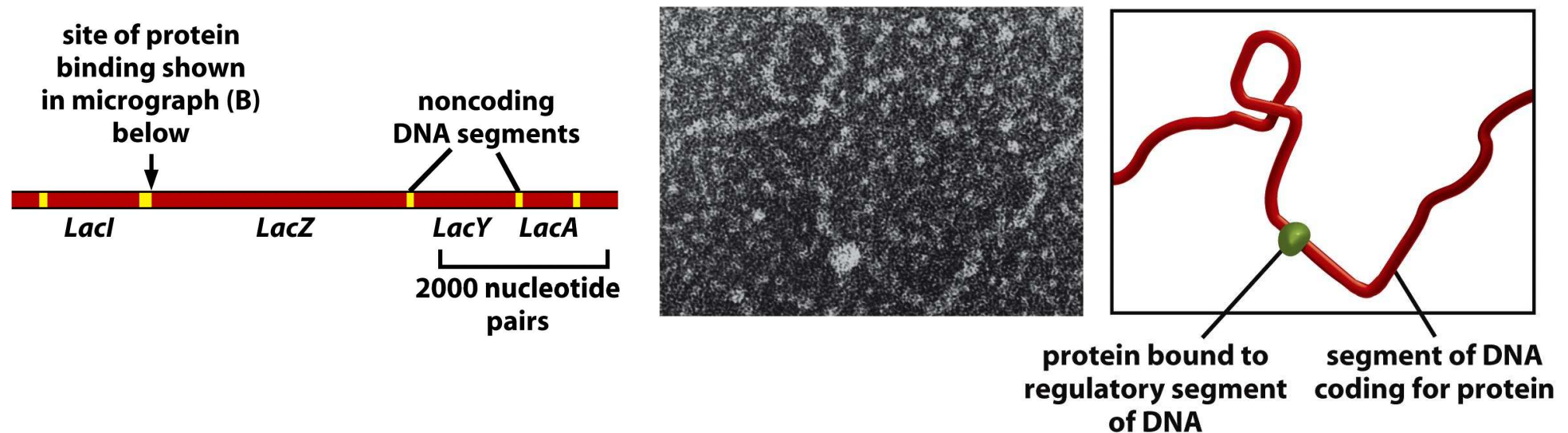


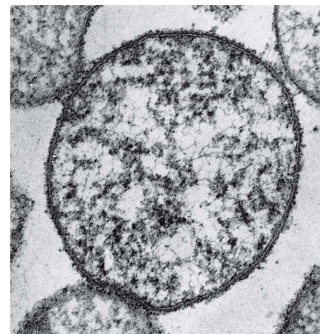
Figure 1-11 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Pro existenci živých buněk postačuje méně než 500 genů

- bakterie *Mycoplasma genitalium* má jeden z nejmenších známých genomů
- bakterie parazituje na savcích, hostitel poskytuje řadu malých molekul
- genom o velikosti 580.070 pb obsahuje 477 genů, což odpovídá 145.015 bytů informace (přibližně stejně jako záznam textu 45 stran textu učebnice molekulární biologie)
- minimální počet genů požadovaných pro život buňky pravděpodobně nepřesahuje 200-300
- pouze 60 je klíčových genů, které jsou přítomny ve všech živých organismech bez jediné známé výjimky



5 μm



0.2 μm

genom - transkriptom - proteom

genom: soubor všech genů dané buňky/tkáně/organismu

transkriptom: soubor všech transkriptů. přítomných v dané buňce / tkáni / organismu v daném čase

proteom: soubor všech proteinů přítomných v dané buňce / tkáni / organismu v daném čase

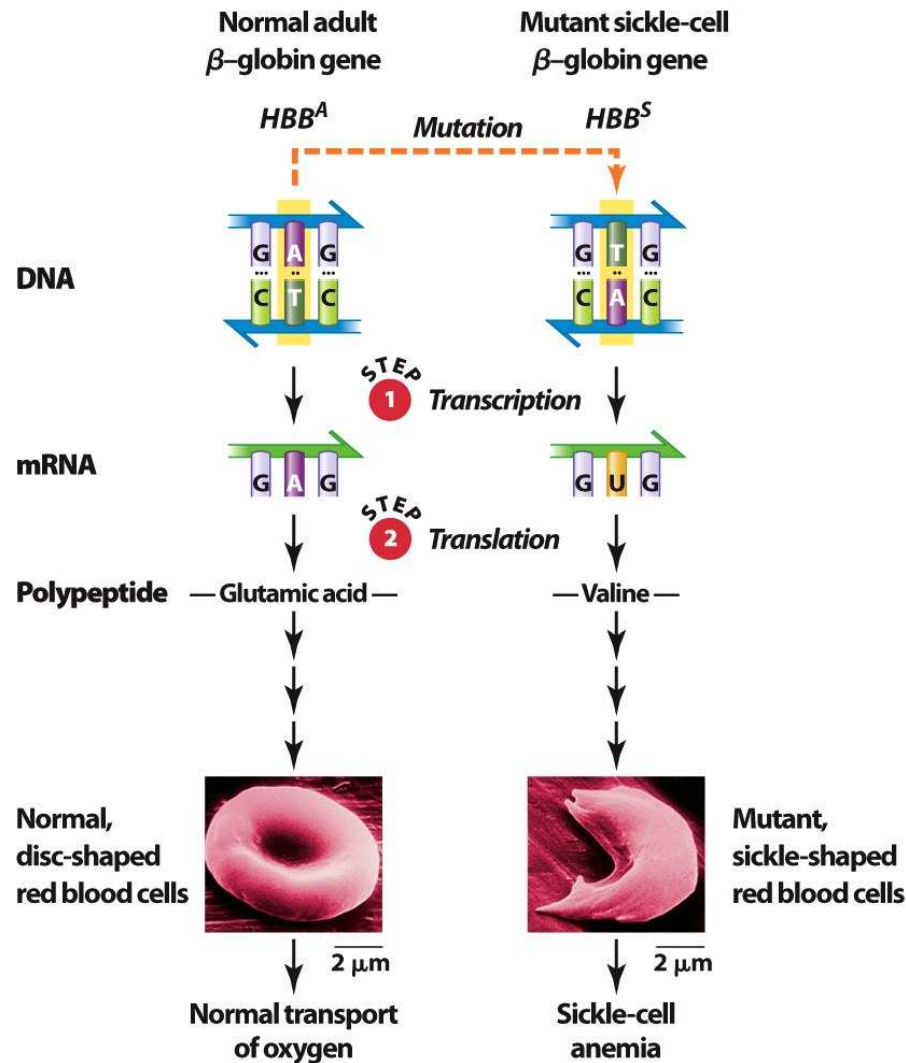
Genom člověka zahrnuje 20,000 až 25,000 genů, zatímco proteom člověka zahrnuje stovky tisíc proteinů (jednou z příčin je to, že jeden gen může kódovat několik příbuzných, ale odlišných polypeptidů a tyto polypeptidy se mohou různými způsoby kombinovat za vzniku různých proteinů)

Proteomika—studium složení všech buněčných proteinů, jejich aminokyselinové složení, funkce, apod.

Mutace: způsob změny genetické informace

- replikace DNA je výjimečně přesný, ale ne zcela přesný proces
- v nízké, ale měřitelné frekvenci, se nukleotidy do rostoucího řetězce začleňují nesprávně
- chemikálie nebo záření mohou molekuly DNA poškodit
- tyto změny (**mutace**) mohou znemožnit expresi určitého genu nebo pozměnit produkt jeho exprese (změna vlastnosti organismu)
- změny se budou předávat do dalších buněčných generací

Mutace: způsob změny genetické informace



- jediná mutace může způsobit závažnou chorobu (např. srpkovitá anémie u člověka)

- mutace ale také mohou být výhodné: zvýšená variabilita genetického materiálu organismu (základ evoluce organismů)

Take home message

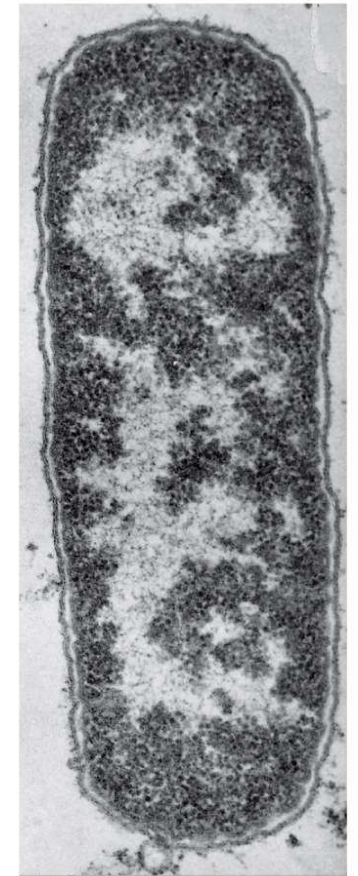
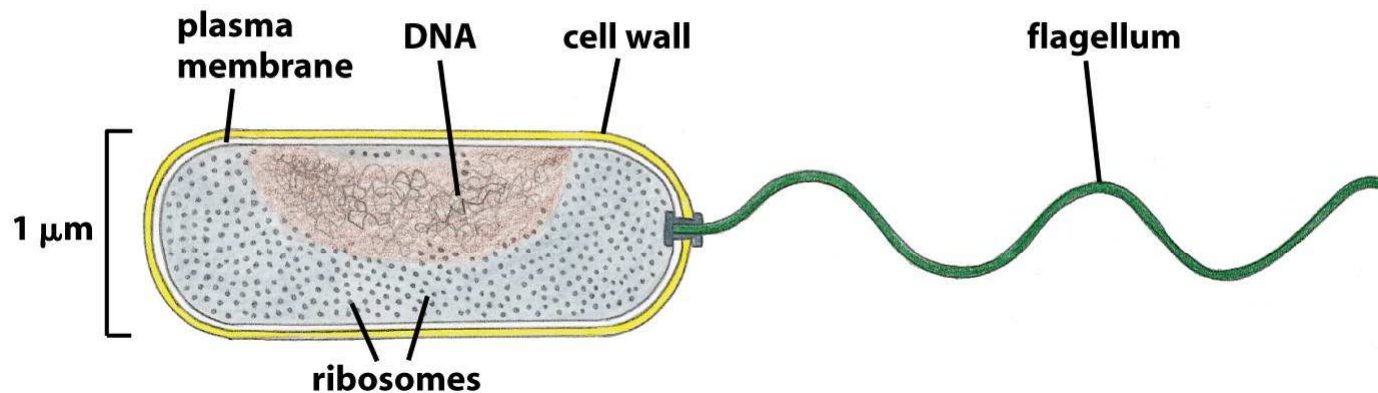
- při replikaci DNA se uplatňuje každé vlákno duplexu jako templát pro syntézu komplementárního vlákna
- při expresi genetické informace se jedno vlákno DNA genu použije jako templát pro syntézu komplementárního vlákna RNA (vzniká RNA transkript)
- informace zakódovaná v mRNA se translací přenese do sekvence aminokyselin polypeptidu
- mutace mohou změnit sekvenci genové DNA
- genetická variabilita plynoucí z existence mutací je základem biologické evoluce

Diversita genomů

- **genom** je definován jako veškerá dědičná informace obsažená v DNA dané buňky nebo organismu
- struktura genomu je charakteristickou vlastností každého organismu, která může sloužit jako měřítko pro charakterizaci, katalogizaci a porovnání organismů a jejich skupin mezi sebou: tvorba „stromu života“
- mikroskopickou analýzou bylo prokázáno, že živé organismy mohou být klasifikovány podle struktury svých buněk do dvou hlavních skupin: eukaryota a prokaryota
- **eukaryota** (rostliny, houby, živočichové) mají svou DNA obsaženu v jádře, zatímco **prokaryota** (bakterie, archea) nemají pro DNA speciální buněčný kompartment

Prokaryotické buňky

- malá velikost (cca 1 μm), jednoduchost
- žijí většinou nezávisle nebo v slabě organizovaných komunitách, netvoří mnohobuněčné organismy
- kulovitý nebo tyčinkovitý tvar
- často obklopeny ochrannou buněčnou stěnou
- vnitřní obsah není rozdělen do distinktních kompartmentů

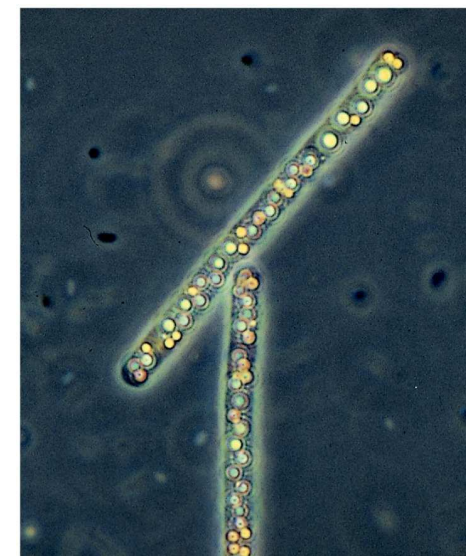
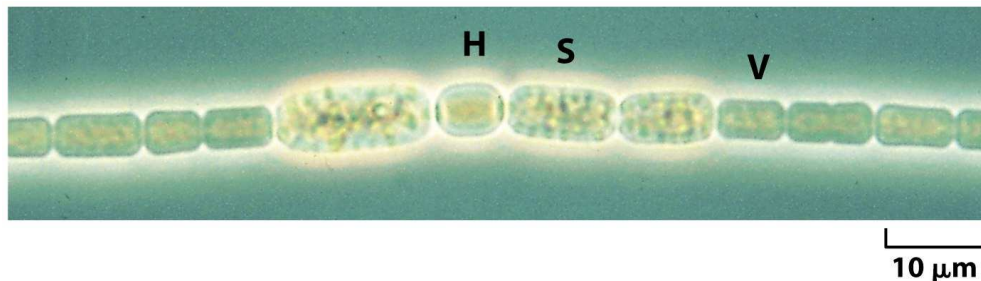


Prokaryotické buňky

- žijí ve velmi rozmanitých ekologických nikách
- jsou velmi variabilní ve svých biochemických vlastnostech - mnohem rozmanitější než eukaryotické buňky: organotrofní druhy mohou využívat téměř každý typ organické molekuly jako potravu (cukry, aminokyseliny, uhlovodíky, metan), fototrofní druhy využívají energii světla, litotrofní druhy mohou využívat anorganické látky, uhlík z CO_2 a H_2S jako zdroj energie
- odhaduje se, že až 99% prokaryotických druhů dosud nebylo charakterizováno

Litotrofní bakterie *Beggiatoa*

Fototrofní bakterie *Anabaena cylindrica*



Strom života má 3 hlavní větve: bakterie, archaeobakterie a eukaryota

- klasifikace živých organismů byla tradičně založena na **srovnání jejich vnějšího vzhledu**
- tento přístup má své limity, **jakmile jsou odlišnosti přílišné nebo naopak zanedbatelné, nelze rozhodnout o stupni příbuznosti** (např. nelze rozhodnout, zda jsou houby bližší rostlinám nebo živočichům, nelze stanovit příbuznost podobných prokaryotických buněk)
- mikrobiologové se proto snažili pro klasifikaci prokaryot využít jejich **biochemických vlastností a požadavků na živiny**, nelze však na základě podobných biochemických vlastností jednoduše usuzovat na evoluční příbuznost

Strom života má 3 hlavní větve: bakterie, archaeobakterie a eukaryota

- analýza genomu je jednodušší a přesnější
- počet odlišností mezi srovnávanými sekvencemi DNA dvou organismů poskytuje přímé, objektivní a kvantitativní údaje o jejich evoluční vzdálenosti
- tento přístup ukázal, že organismy tradičně klasifikované jako „bakterie“ mohou být tak významně divergentní jako kterýkoliv prokaryotický organismus od kteréhokoliv eukaryotického
- prokaryota tvoří 2 skupiny, které divergovaly v rané historii života na Zemi buď před a nebo zároveň se vznikem eukaryot: **bakterie (eubakterie) a archaea (archaeobakterie)**

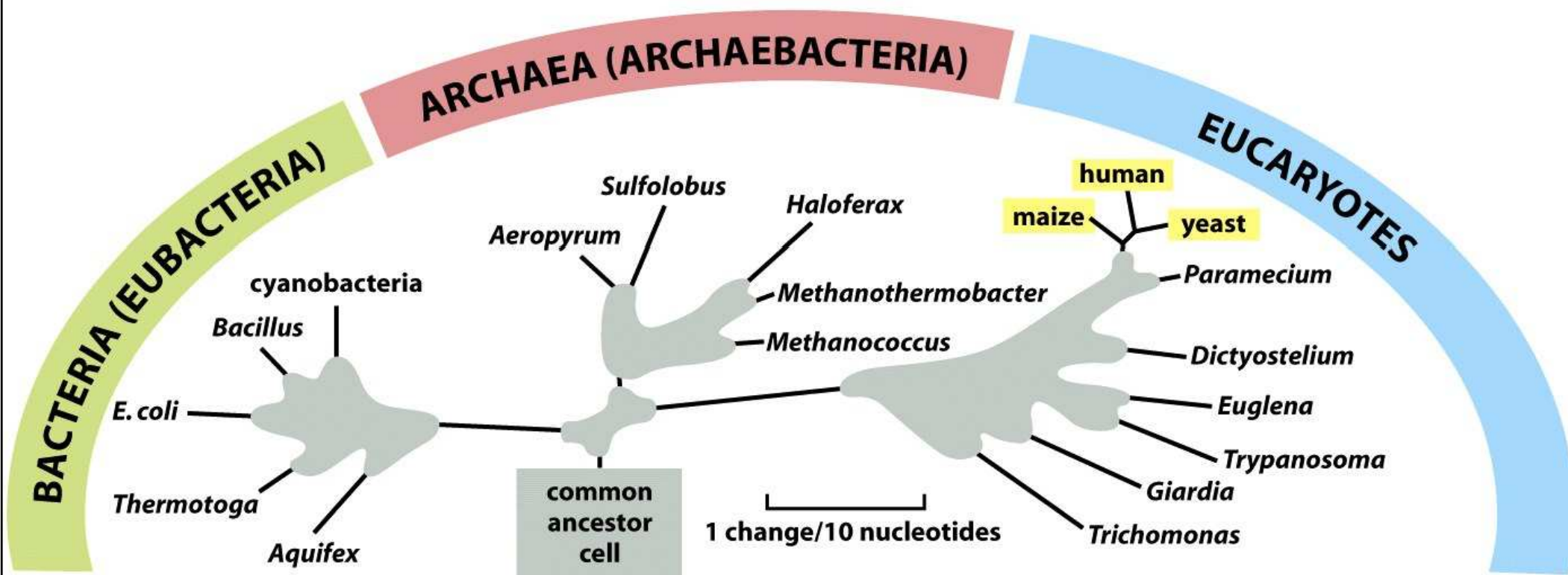


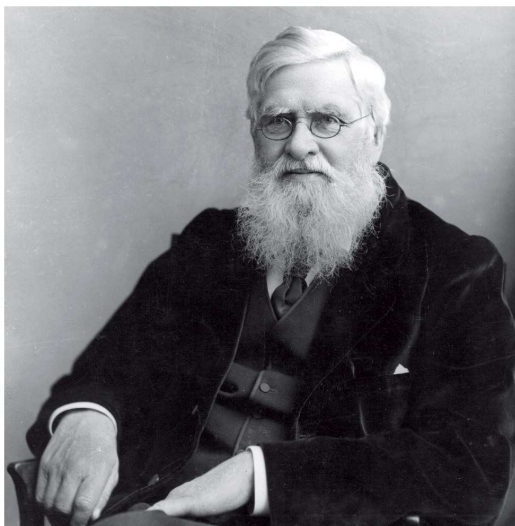
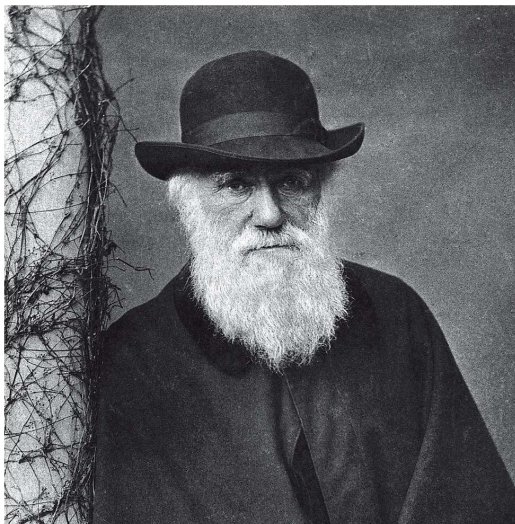
Figure 1-21 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Archea

- často žijí v nehostinných podmínkách pro člověka: močálech, hloubkách oceánů, horkých pramenech, apod.
- byly nalezeny i v jezerech, v půdě nebo žaludcích dobytka
- morfologicky jsou podobné eubaktériím
- z hlediska metabolismu a způsobu přeměny energie jsou bližší eubaktériím
- ve způsobu, jakým provádějí procesy replikace, transkripce a translace jsou bližší eukaryotům

Genetika a evoluce

Charles Darwin



Alfred Wallace

- během generací se v DNA hromadí mutace a způsobují odlišnosti mezi organizmy
- variabilita sekvencí DNA umožňuje druhům vývoj v čase
- organizmy s podobnými sekvencemi DNA pocházejí ze společného předka

Evolutione organismů je založena na střídání cyklů mutace a přirozené selekce

- při uchovávání a kopírování genetické informace dochází k náhodným chybám ve struktuře DNA - mutacím, které mají různé důsledky:
- buňce prospívají (vzácné) - budou v populaci udržovány, protože přinášejí výhodu v přirozené selekci
- buňku významně neovlivní - v populaci se budou nebo nebudou udržovat v závislosti na okamžitých podmínkách
- způsobí významné poškození, např. poškodí sekvenci kódující nějaký klíčový protein - buňka nemůže v selekci uspět, umírá, aniž se může přenést do potomstva („slepá ulička evoluce“)

Genetika a evoluce

- výzkum biologické evoluce nastartovalo znovuobjevení Mendlových zákonů na začátku 20. století a později po zavedení technologie sekvenování DNA koncem 20. století
- pomocí sekvenování DNA můžeme zviditelnit podobnosti a odlišnosti genetického materiálu různých organismů
- za předpokladu, že sekvence nukleotidů DNA se proměňují v čase, lze podobnosti a odlišnosti interpretovat v časovém rámci
- organizmy s velmi podobnými sekvencemi DNA se vyvinuly ze společného předka relativně nedávno, organizmy s méně podobnými DNA pocházejí ze vzdálenějšího společného předka: možnost stanovení historických vztahů mezi organizmy (tzv. fylogenetické vztahy)

Různé části genomu se liší v ochotě přijímat změny

- část DNA, která nemá kódující ani regulační funkci se může volně měnit a hromadit mutace
- gen, kódující důležitý protein nebo RNA se nemůže libovolně měnit - je „**evolučně konzervativní**“
- během evoluce se mnohé úseky DNA změnily k nepoznání, ale konzervativní geny si svou strukturu udržují ve všech organizmech bez podstatných změn

Table 1–1 Some Genomes That Have Been Completely Sequenced

SPECIES	SPECIAL FEATURES	HABITAT	GENOME SIZE (1000s OF NUCLEOTIDE PAIRS PER HAPLOID GENOME)	ESTIMATED NUMBER OF GENES CODING FOR PROTEINS
BACTERIA				
<i>Mycoplasma genitalium</i>	has one of the smallest of all known cell genomes	human genital tract	580	468
<i>Synechocystis</i> sp.	photosynthetic, oxygen-generating (cyanobacterium)	lakes and streams	3573	3168
<i>Escherichia coli</i>	laboratory favorite	human gut	4639	4289
<i>Helicobacter pylori</i>	causes stomach ulcers and predisposes to stomach cancer	human stomach	1667	1590
<i>Bacillus anthracis</i>	causes anthrax	soil	5227	5634
<i>Aquifex aeolicus</i>	lithotrophic; lives at high temperatures	hydrothermal vents	1551	1544
<i>Streptomyces coelicolor</i>	source of antibiotics; giant genome	soil	8667	7825
<i>Treponema pallidum</i>	spirochete; causes syphilis	human tissues	1138	1041
<i>Rickettsia prowazekii</i>	bacterium most closely related to mitochondria; causes typhus	lice and humans (intracellular parasite)	1111	834
<i>Thermotoga maritima</i>	organotrophic; lives at very high temperatures	hydrothermal vents	1860	1877

Genome size and gene number vary between strains of a single species, especially for bacteria and archaea. The table shows data for particular strains that have been sequenced. For eucaryotes, many genes can give rise to several alternative variant proteins, so that the total number of proteins specified by the genome is substantially greater than the number of genes.

Table 1–1 Some Genomes That Have Been Completely Sequenced

SPECIES	SPECIAL FEATURES	HABITAT	GENOME SIZE (1000s OF NUCLEOTIDE PAIRS PER HAPLOID GENOME)	ESTIMATED NUMBER OF GENES CODING FOR PROTEINS
ARCHAEA				
<i>Methanococcus jannaschii</i>	lithotrophic, anaerobic, methane-producing	hydrothermal vents	1664	1750
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	lithotrophic or organotrophic, anaerobic, sulfate-reducing	hydrothermal vents	2178	2493
<i>Nanoarchaeum equitans</i>	smallest known archaean; anaerobic; parasitic on another, larger archaean	hydrothermal and volcanic hot vents	491	552
EUCARYOTES				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (budding yeast)	minimal model eucaryote	grape skins, beer	12,069	~6300
<i>Arabidopsis thaliana</i> (Thale cress)	model organism for flowering plants	soil and air	~142,000	~26,000
<i>Caenorhabditis elegans</i> (nematode worm)	simple animal with perfectly predictable development	soil	~97,000	~20,000
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	key to the genetics of animal development	rotting fruit	~137,000	~14,000
<i>Homo sapiens</i> (human)	most intensively studied mammal	houses	~3,200,000	~24,000

Genome size and gene number vary between strains of a single species, especially for bacteria and archaea. The table shows data for particular strains that have been sequenced. For eucaryotes, many genes can give rise to several alternative variant proteins, so that the total number of proteins specified by the genome is substantially greater than the number of genes.

Většina eubakterií a archebakterií má 1000-6000 genů

- u prokaryotických organismů selekce favorizuje rychlost: rychlý příjem živin (velký povrch jednobuněčného organismu), rychlá reprodukce
- proto jen genom prokaryotických buněk kompaktní: malý, geny následují jeden za druhým s malým prostorem pro regulační elementy
- lze relativně snadno sekvenovat a najít geny, které se jsou společné pro všechny 3 větve stromu života a které jsou typické jen některé z nich

Evolve genů

- nové geny vznikají z dříve existujících genů
- inovace starých sekvencí mohou nastat několika způsoby:
 - **intragenovou mutací** (většinou v důsledku chyby při replikaci)
 - **genovou duplikací** (vzniká pár původně identických genů v jedné buňce, který usnadňuje divergenci v průběhu evoluce)
 - **přestavbou úseků DNA** (dva nebo více genů může být přerušeno zlomem a znovu spojeno za vzniku fúzních, tj. hybridních genů)
 - **horizontálním přenosem** části DNA z jedné buňky do druhé

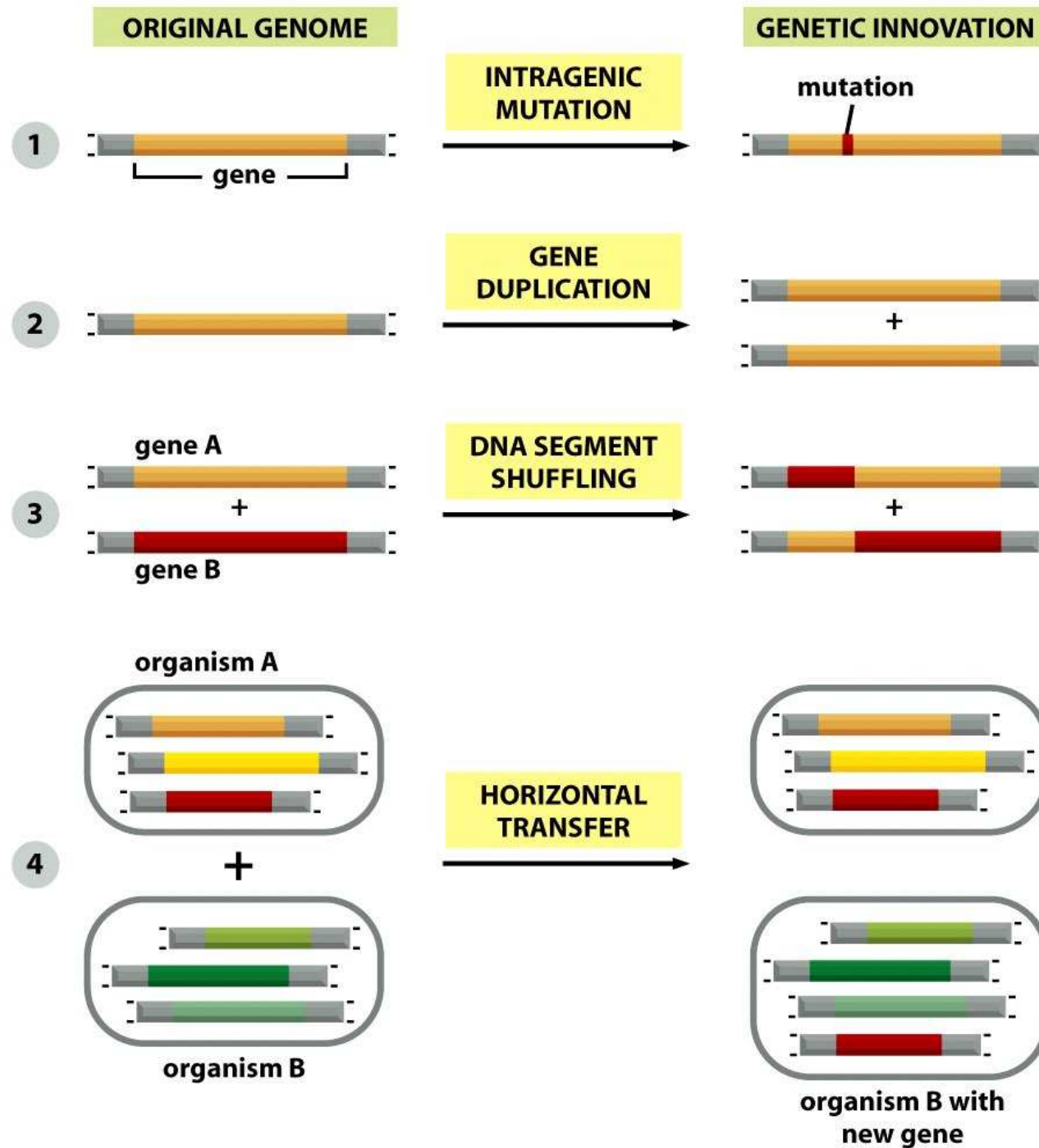
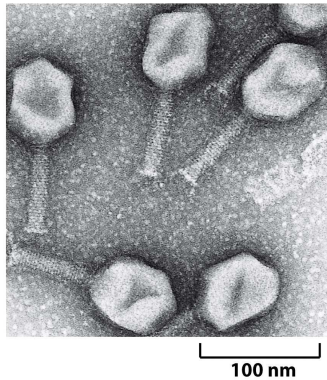
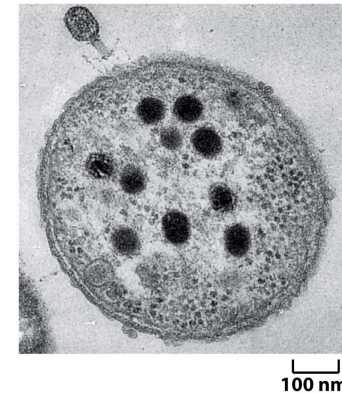


Figure 1-23 *Molecular Biology of the Cell*, Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Geny se mohou přenášet mezi organizmy (přirozeně i uměle)



horizontální přenos genů mezi bakteriálními buňkami zajišťují bakteriální viry (bakteriofágy)



- viry nejsou živé, ale fungují jako vektory pro přenos genů: parazitují na reprodukčním a biosyntetickém systému hostitelské buňky
- infikují buňku, uvnitř replikují svou DNA, sestaví nové virové částice, buňku opustí a infikují jinou
- napadená buňka většinou infekci virem nepřežije
- může však dojít i k situaci, kdy virová DNA se nepoužívá k okamžité produkci nových virových částic, ale perzistuje v hostiteli po několik generací jako neškodný cestující: buď se stává součástí genomu hostitele nebo jako samostatný fragment DNA
- viry mohou náhodně přenést část genomu jednoho hostitele do druhého

Horizontální přenos genů

- horizontální přenos genů mezi eukaryontními buňkami různých druhů je velmi vzácný, zřejmě není podstatný pro evoluci eukaryot
- přenosy genů z bakteriálních do eukaryotických genomů byl významný při evoluci mitochondrií a chloroplastů
- přenos mezi různými druhy prokaryot je běžný vzhledem k jejich pozoruhodné schopnosti přijmout cizorodou (i nevirovou) DNA ze svého okolí
- geny zajišťující rezistenci k antibiotikům nebo produkci toxinů se šíří, protože hostitelům poskytují selekční výhodu
- horizontální přenos genů může vést ke vzniku nebezpečných bakterií např. během 40 let se rozšířily druhy *Neisseria gonorrhoeae* (původce kapavky) rezistentní k penicilinu
- odhaduje se, že alespoň 18% všech genů *E.coli* bylo přeneseno horizontálním přenosem z jiných druhů

Take home message

- evoluce závisí na vzniku, přenosu a rozšíření mutantních genů v populacích organizmů
- studium sekvencí DNA představuje způsob, jak studovat proces evoluce

Úrovně genetické analýzy

Klasická genetika

- založená na studiu křížení různých druhů organismů (dlouhodobý proces provázející lidstvo od počátku civilizace: šlechtění kulturních plodin, křížení dobytka, atd.)
- zahrnuje studium struktury a funkce chromozomů
- zahrnuje transmisní genetiku a studie povahy genetického materiálu



Angus



Beefmaster



Simmental

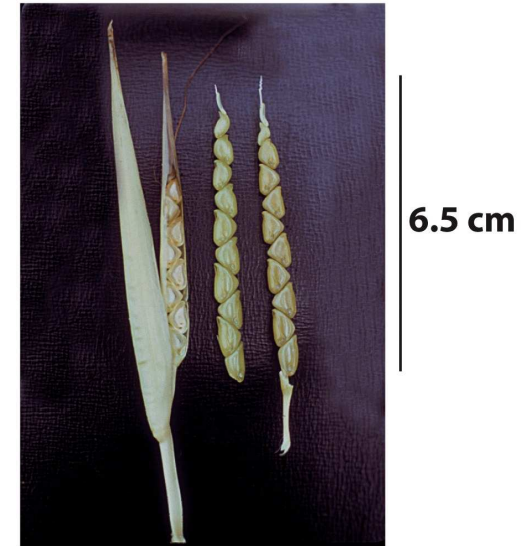


Charolais

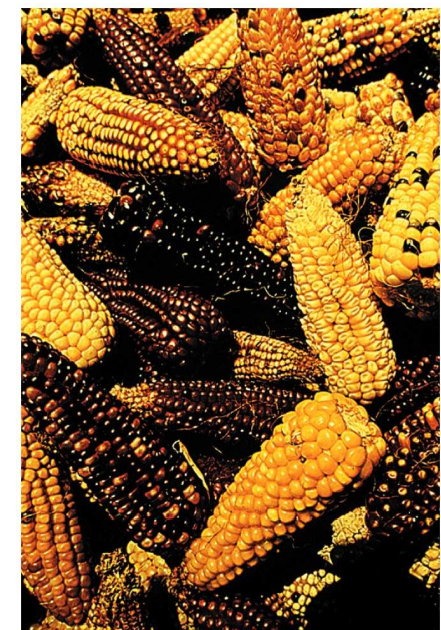
Úrovně genetické analýzy

Molekulární genetika

- proniká do klasických principů šlechtění v zemědělství od 80. let 20. století
- studie replikace, exprese a mutace genů na molekulární úrovni
- základem jsou studie sekvencí DNA a manipulace s molekulami DNA
- po identifikaci genů zodpovědných za důležité vlastnosti (odolnost k nemocem, prudkce zrno, apod.) snahy o přenos příslušných alel do zemědělských plodin



Courtesy John Doebley, Genetics, University Wisconsin



Courtesy John Doebley, Genetics, University Wisconsin

Úrovně genetické analýzy

Populační genetika

- jednotlivci uvnitř populace mohou být nositeli různých alel
- populační genetika je založena na studiu frekvencí alel v populaci a určení, zda jsou tyto frekvence v čase stálé nebo proměnlivé
- populační genetika zahrnuje studium evoluce a dědičnost komplexních znaků

Take home message

- **klasická genetik**a: studium genů podle přenosu znaků křížených organismů
- **molekulární genetik**a: studium genů po izolaci, sekvenování a manipulaci DNA a sledování produktů genové exprese
- **populační genetik**a: studium genů na základě sledování variability mezi jednotlivci uvnitř skupin organismů

Současná genetik v zemědělství: Geneticky modifikované organizmy

- Geneticky modifikované organizmy (GMO) byly pozměněny tím, že přijaly cizorodé geny
- např. v USA je rozšířená kukuřice s uměle vneseným genem z *Bacillus thuringiensis*, který kóduje protein toxický pro hmyz (plodina produkuje svůj vlastní insekticid)



Současná mol. genetika v lékařství

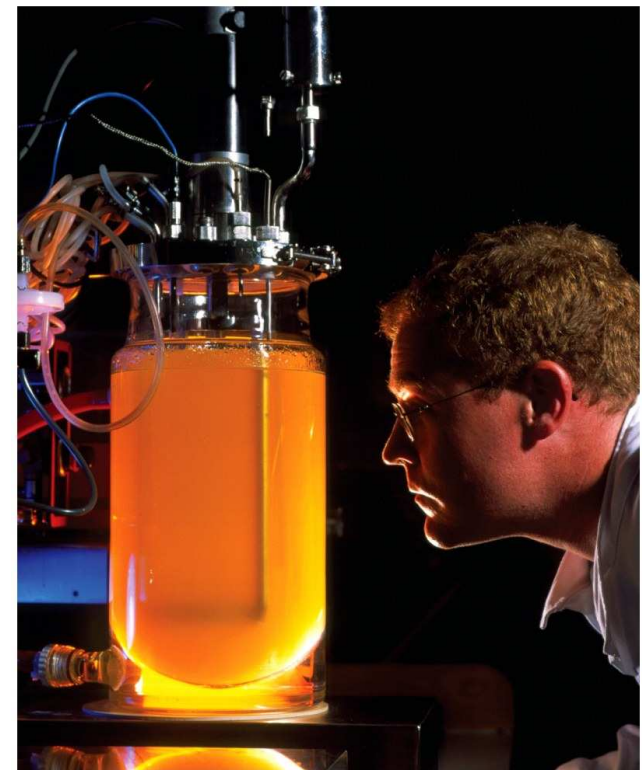
- Existuje mnoho nemocí způsobených mutantními geny
- jejich studium začalo krátce po znovuobjevení Mendlovy práce
- v r. 1909 britský lékař **Sir Archibald Garrod** publikoval knihu *Inborn Errors of Metabolism*
- význam:
 - poprvé prokázáno, že **poruchy metabolismu mohou být způsobeny mutantními alelami**
 - vyprovokován další výzkum, kterým se během několika dalších desetiletí podařilo odhalit velký počet dědičných poruch člověka
 - lékaři se naučili diagnostikovat dědičné choroby studiem rodin a předpovídat jejich výskyt u potomků
 - i dnes mají nemocnice genetické poradce, kteří mají za úkol informovat o rizicích přenosu dědičných poruch

Současná mol. genetika v lékařství

- nové způsoby **detekce** mutantních genů - **diagnostické testy** pro analýzu DNA, např. z krevního vzorku nebo stěru sliznice lze snadno zjistit přítomnost mutantní alely genu *BRCA1*, která signalizuje vysokou pravděpodobnost vzniku rakoviny prsu
- nové způsoby **léčby** chorob (dříve se pro léčbu cukrovky používal inzulín izolovaný z prasat, dnes je k dispozici lidský vyráběný bakteriálními buňkami, které nesou lidský gen kódující tento protein)

Současná mol. genetika v biotechnologiích

- lidský růstový hormon se dříve získával z mrtvol, nyní je rovněž produkován bakteriálními buňkami
- léčba dětí, které nemají dost hormonu, protože nesou mutantní alelu příslušného genu
- bez aplikace hormonu - dwarfismus
- biotechnologicky z baterií se získává mnoho proteinů, které jsou pro medicínu důležité



Genové terapie

jiný způsob aplikace technologií molekulární genetiky

- začlenění zdravé (funkční kopie) určitého genu do buněk člověka, který nese jeho mutantní (nefunkční) variantu
- nový gen kompenzuje nedostatečnou funkci vlastního genu
- dosavadní výsledky nejsou ideální (např. se nezdařila léčba cystické fibrózy přenosem genu *CF* do plicních buněk)
- úspěšnější jsou výsledky léčby poruch imunitního systému a nemocí krve přenosem genů do buněk kostní dřeně

Společenské a hospodářské aspekty aplikací mol. biol.

- **ekonomický:** biotechnologický a farmaceutický průmysl přispívají k zajištění potravy a lékařské péče
- **právní:** pomocí DNA lze dosáhnout jednoznačné identifikace člověka: testy otcovství, kriminalistika, identifikace mrtvých, spory o dědictví, apod.
- **filozofický:** DNA je součástí každého z nás, provokuje otázky: kdo jsme? odkud pocházíme? do jaké míry je naše povaha zděděna a tak determinována? ovlivňuje způsob, jakým organizujeme svou společnost?

Take home message

- objevy mol. genetiky mění postupy v zemědělství a lékařství
- pokroky v mol. genetice provokují etické, právní, politické, společenské a filozofické otázky