

# **Mechanismy navozující změny genetické informace**

## **1. Mutace**

## **2. Rekombinace**

## **3. Transpozice**

### **Význam změn genetické informace:**

- adaptace na prostředí, evoluce druhů**
- využití ve výzkumu (identifikace genů, regulace exprese aj)**

## **Mutace**

**= dědičná změna genotypu, jejíž molekulární podstatou je nukleotidová substituce, delece, inserce nebo inverze**

**Změna primární struktury nukleové kyseliny**

Změny ve fenotypu organismů mohou mít i další příčiny

## **Standardní typ x mutanta**

**Standardní alela (alela divokého typu, wild-type allele) - standardní fenotyp**

**Mutantní alela - mutantní fenotyp (většinou recesivní)**

**Směr mutací**

- původní (přímá) mutace**
- zpětná mutace - úplná nebo částečná obnova funkce (reverze fenotypu)**

# Klasifikace mutací

## 1. Podle úrovně, na níž působí

- a) Genové (bodové) mutace – změna bází nebo sekvence bází na úrovni genu
- b) Chromozomové mutace – změna sekvence na úrovni chromozomu
- c) Genomové mutace – změna počtu chromozomů (plazmidů)

## 2. Podle typu zasažené buňky

- a) Genetické (gametické) mutace – vznikají v gametách, přenášejí se na potomstvo
- b) Somatické mutace – vznikají v somatických buňkách

## 3. Podle vlivu na životaschopnost organismu

- a) Vitální mutace – slučitelné s přežitím organismu
- b) Letální mutace – neslučitelné s přežitím organismu
- c) Podmíněně (kondicionálně) letální mutace – slučitelné s přežitím za určitých podmínek (ts, sus - supresorsenzitivní x supresorové mutace)

## 4. Podle stupně fenotypového projevu (u diploidních organismů)

- a) Dominantní mutace – projevují se plně i v heterozygotním stavu
- b) Recesivní mutace – projevuje se plně v homozygotním stavu, projev je maskován dominantní alelou (recesivní mutací obvykle vzniká nefunkční produkt)
  - neúplné (leaky) mutace: funkce genu se částečně zachovává
  - nulová (null) mutace: úplná ztráta funkce genu (často delece genu nebo jeho části)
  - posunová mutace: mění se čtecí rámeček (obvykle delece nebo inserce)
  - polární mutace: mutace ovlivňující expresi sousedních genů (např. v operonech)

## 5. Podle vzniku

- a) Spontánní mutace – vzniká bez zjevné vnější příčiny
- b) Indukovaná mutace – vzniká po vystavení organismu/buněk mutagenům

# Molekulární základ mutací

**Substituce** - záměna původní báze (ssNA) nebo páru báze (dsNA)

\* transice: pur → pur, pyr → pyr

\* transverze: pur → pyr, pyr → pur

--- kodon s pozměněným smyslem (aa 1 → aa 2)

--- nesmyslný kodon (aa → stop)

**nukleotidová synonymní substituce**

(nemění se smysl kodonu) → tichá mutace

**nukleotidová neutrální substituce**

(mění se aa, ne však funkce proteinu) → tichá mutace

**Delece** - ztráta jednoho nebo více nukleotidů

**Inzerce** - vložení jednoho nebo více nukleotidů

**Posunové mutace**

**Přestavby genomu**

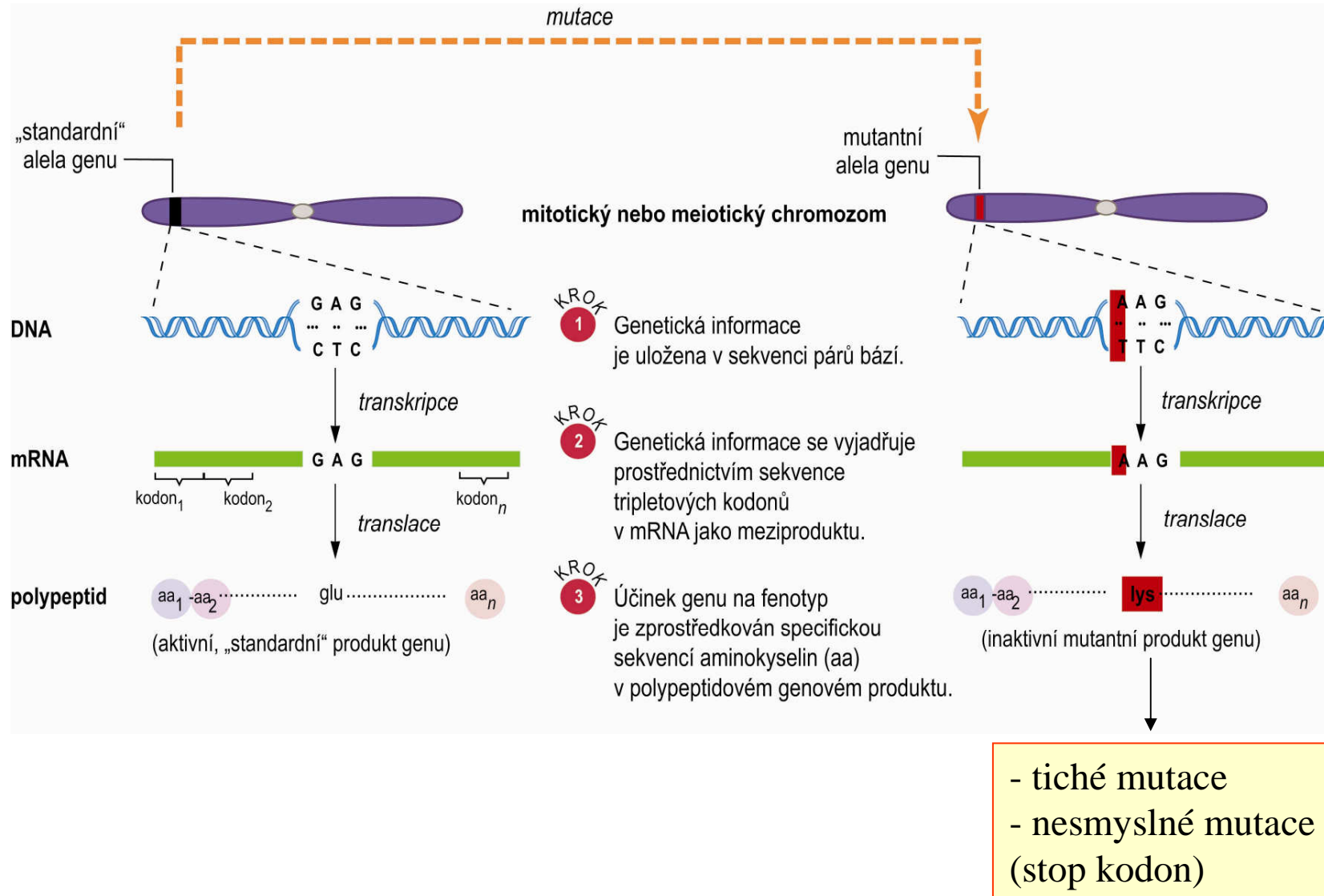
- duplikace (amplifikace)

- inverze

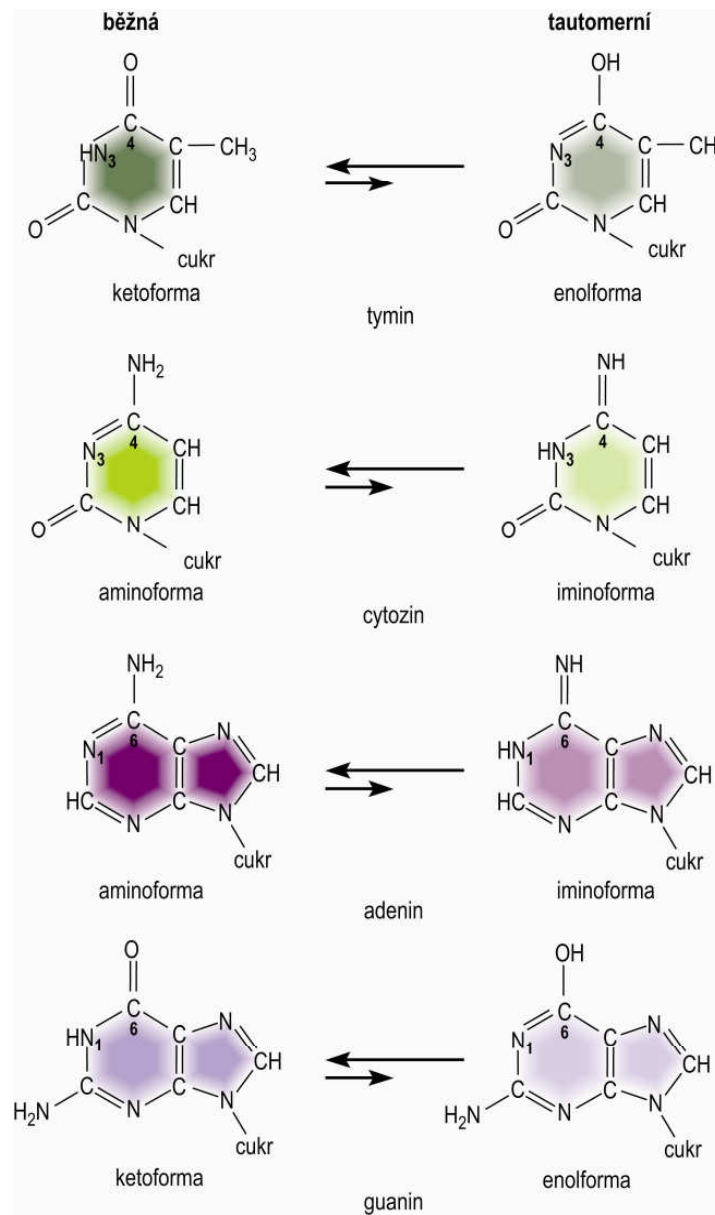
- rozsáhlejší delece

**Transpozice**

# Vznik mutace ve strukturním genu

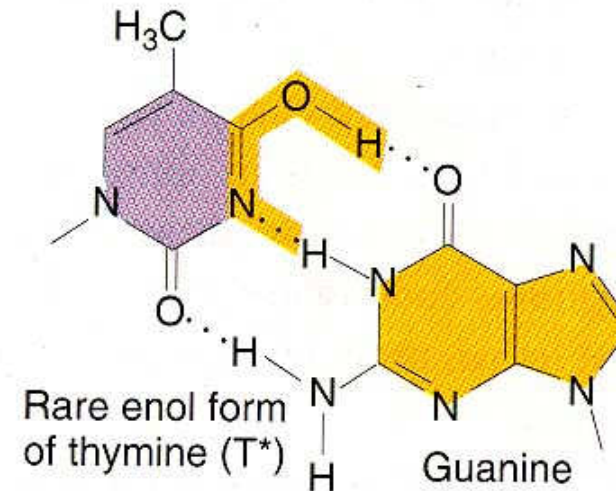
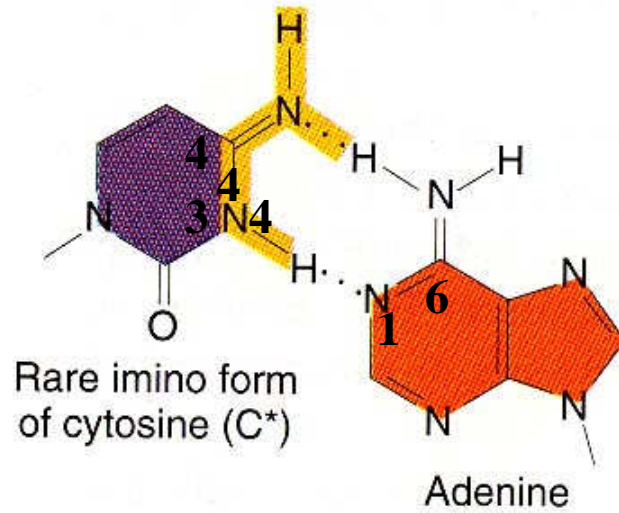


# Tautomerní formy bází v DNA

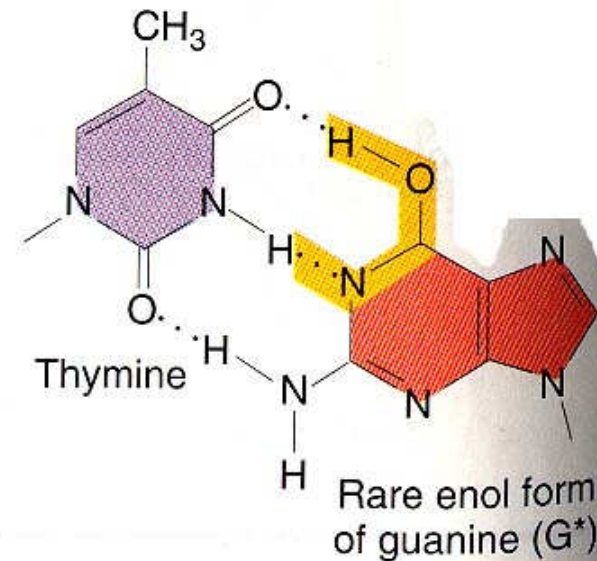
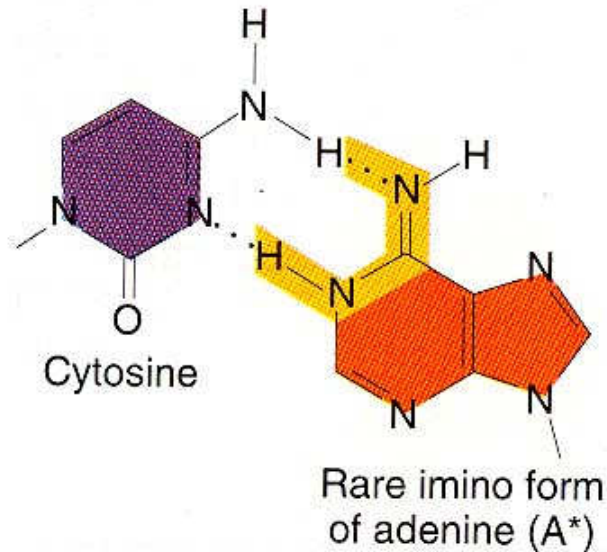


# Vznik spontánních mutací - substitute

## párování bází v nestabilních tautomerních formách



(a)

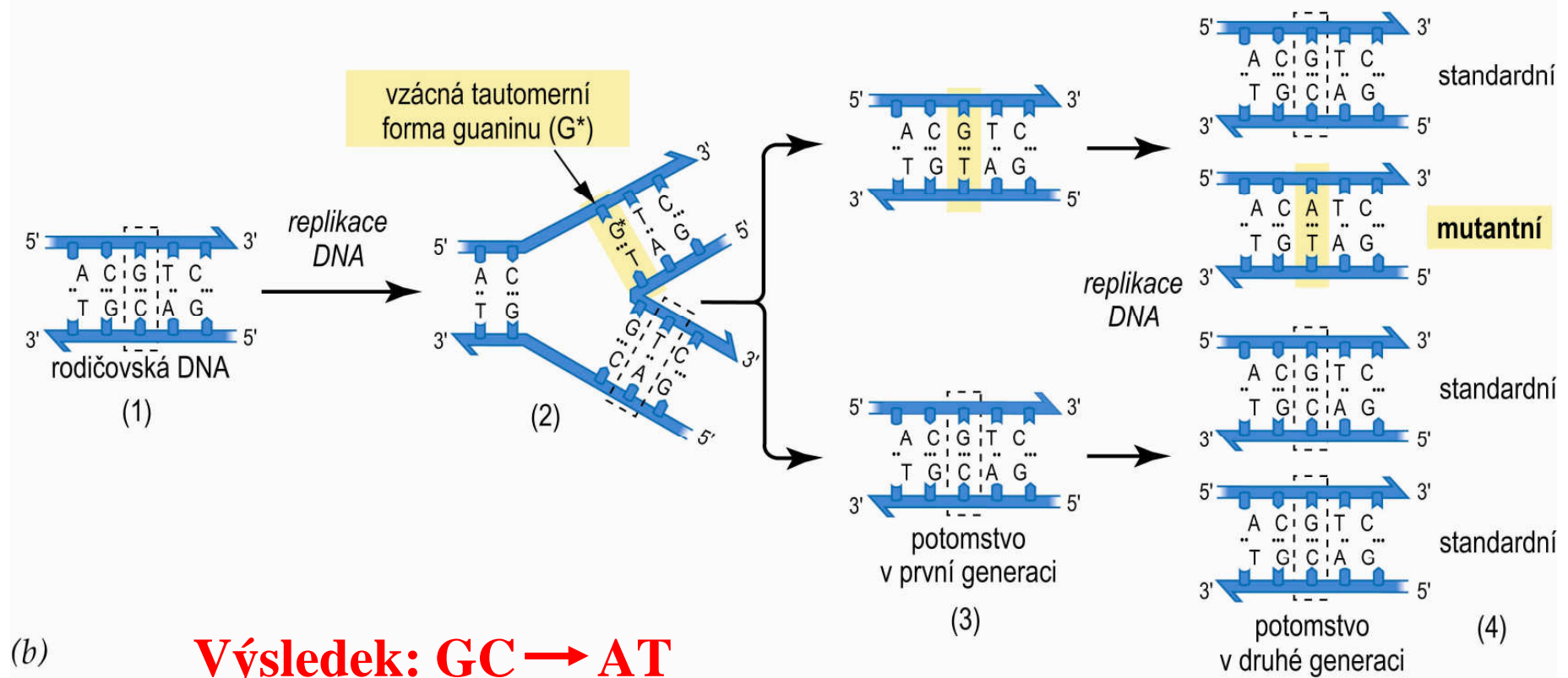


(b)

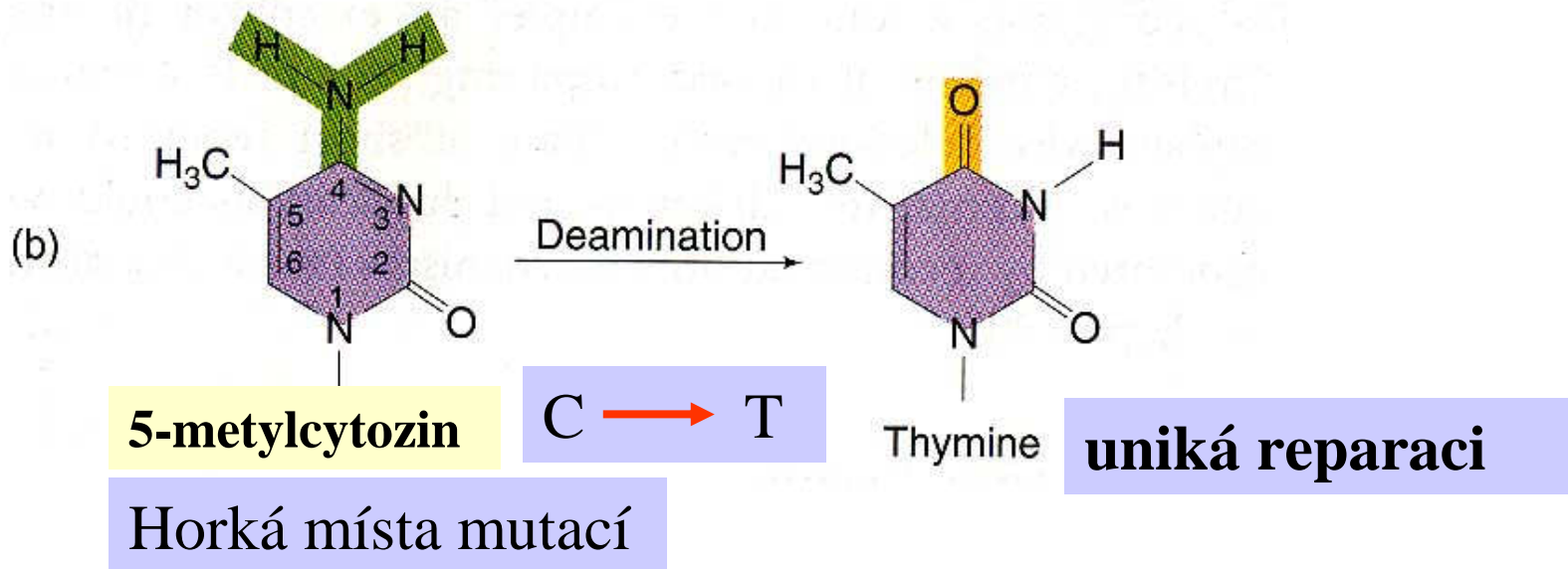
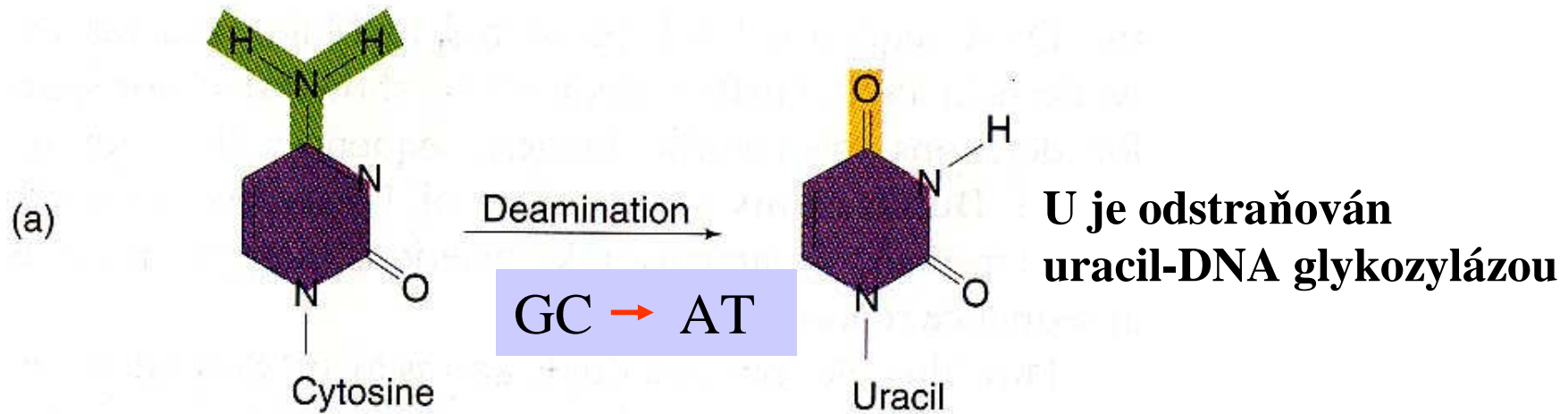


# Vznik spontánní mutace po začlenění tautomerní formy báze do DNA při replikaci

mechanismus vzniku mutací v DNA v důsledku tautomerních přesmyků

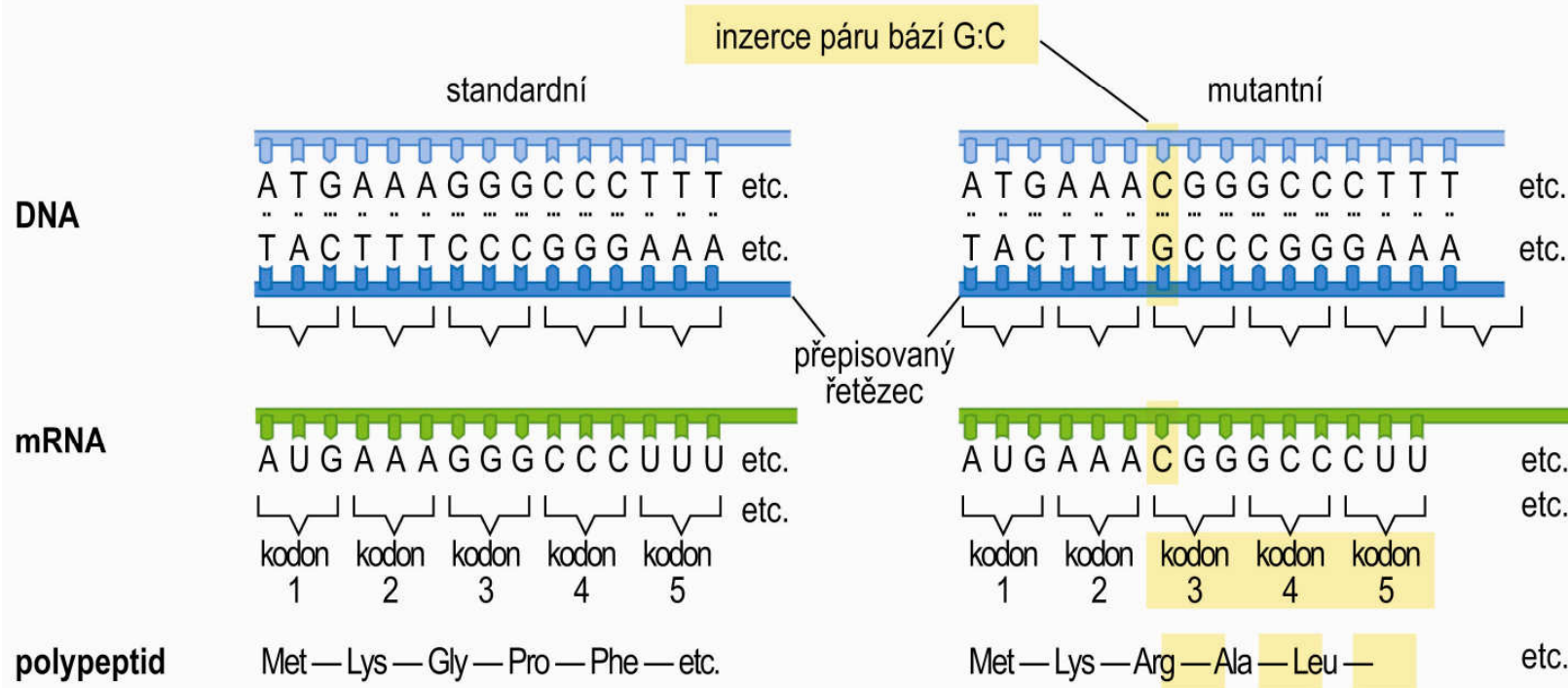


# Důsledky spontánní deaminace bází



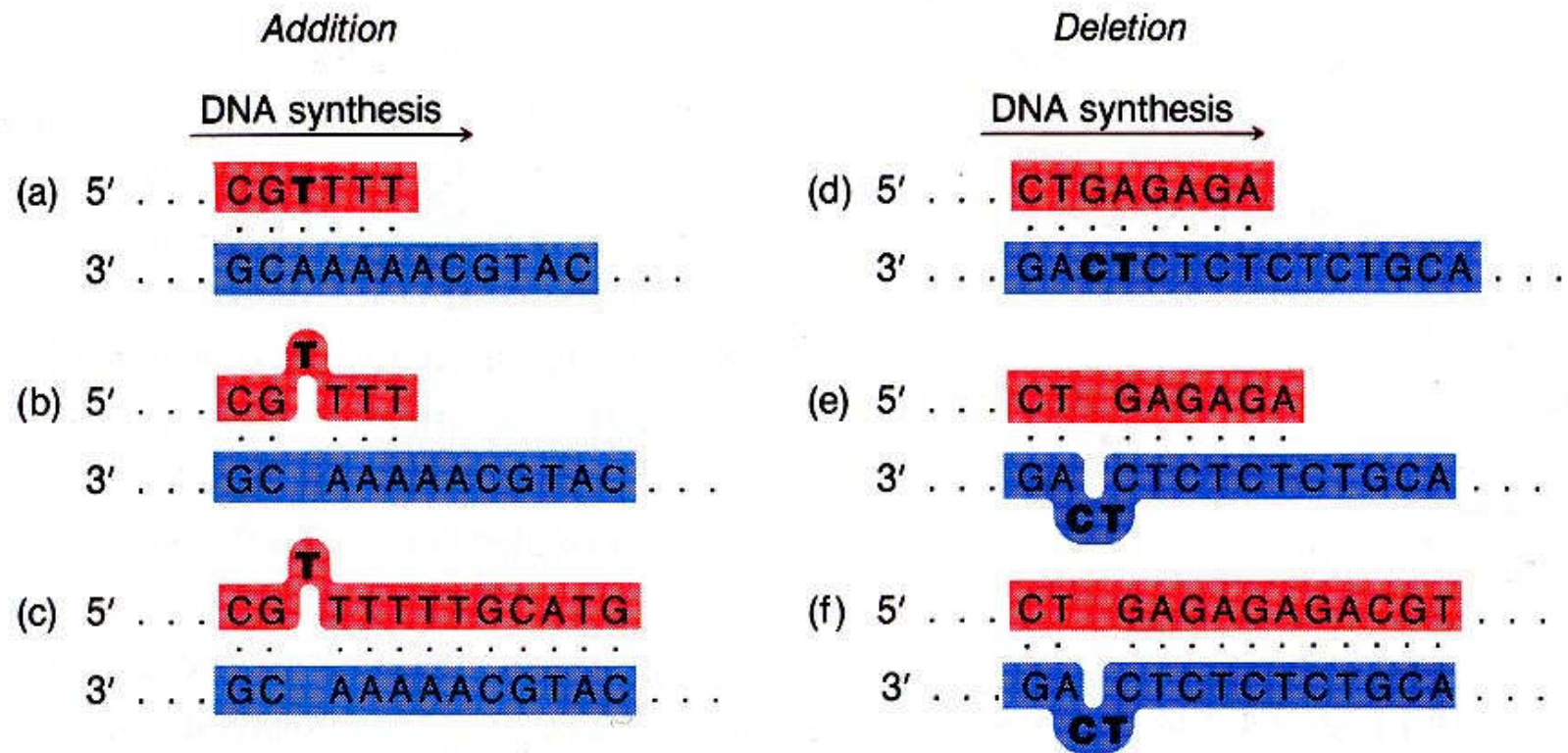
# Posunová mutace vede k posunu čtecího rámce

inzerce nebo delece jednoho nebo dvou párů bází  
mění čtecí rámec v genu od místa mutace



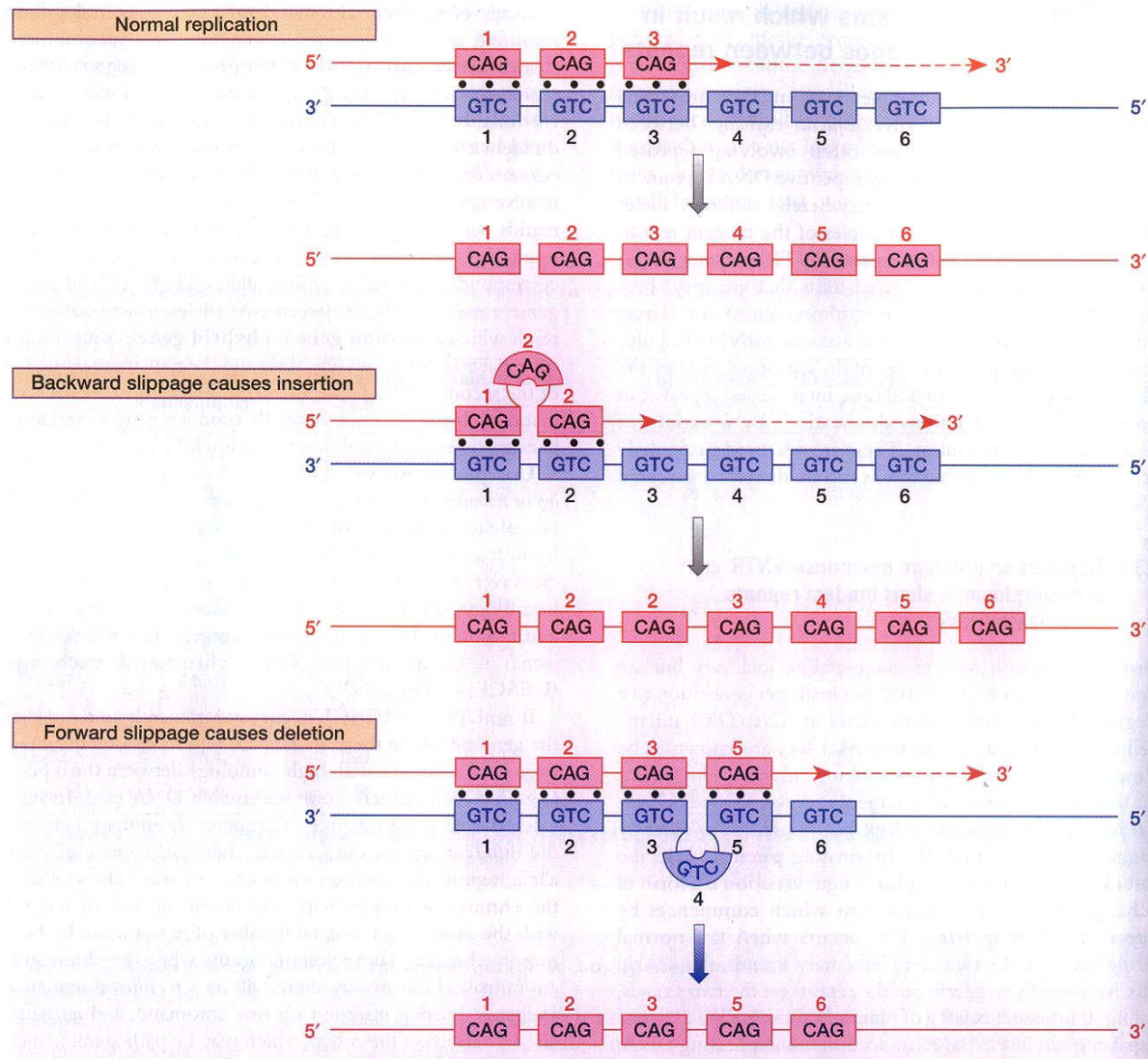
(b)

## Vznik inzercí a delecí - horká místa (Hot-spots) - oblasti repeticí



**Figure 19-4** A simplified version of the Streisinger model for frameshift formation. (a) to (c) During DNA synthesis, the newly synthesized strand slips, looping out one or several bases. This loop is stabilized by the pairing afforded by the repetitive-sequence unit (the A bases, in this case). An addition of one base pair, A–T, will result at the next round of replication in this example. (d) to (f) If instead of the newly synthesized strand, the template strand slips, then a deletion results. Here the repeating unit is a CT dinucleotide. After slippage, a deletion of two base pairs (C–G and T–A) would result at the next round of replication.

# Vznik inzercí a delecí „skluzáváním“ řetězců při replikaci



„replication slippage“  
„polymerase slippage“

Expanze trinukleotidů:  
dědičné neurologické  
choroby

# Syndromy způsobené expanzí trinukleotidových repetic

## **Huntingtonova chorea**

5' konec genu – repetice CAG

normálně 10–34 opakování

postižení mají 42–100 kopií

## **Myotonická dystrofie**

za 3' koncem genu repetice tripletu CTG

postižení mají 50 repetic a více

## **Friedreichova ataxie**

GAA opakování v intronu genu

## **Syndrom fragilního X (fraX)**

Amplifikace tripletů CCG v genu FMR1 v regionu FRAXA (fragilní místo), který se nachází na dlouhých raménkách chromozomu X.

Do 50 repetic – normální alela

50–200 repetic – premutace, zpravidla bez fenotypového projevu

200–230 repetic – plná mutace

## Chemomutageny

**A. analogy bází** ----- po inkorporaci do DNA během replikace se vlivem tautomerie mohou párovat s různými bázemi

**5- BROMURACIL (BU) - analog tyminu**

A-BU (ketoforma) <=====> BU (enolforma)-G

AT <=====> GC

(8-azaguanin, 5-azacytidin, 5-joddeoxyuridin)

**B. látky chemicky modifikující báze** -----> změny v párování  
(působí i na DNA, kteřá se nereplikuje)

\* kyselina dusitá - deaminace C na U .... GC-->AT  
                  -"-      A na H .... AT-->GC  
                  -"-      G na X .... GC-->AT

\* hydrogensířičitan - deaminace C na U .... GC--> AT

\* hydroxylamin - NH<sub>2</sub>->/NHOH ..... GC-->AT (AT-->GC)

\* alkylační látky - (alkylsulfáty, N-nitrozosloučeniny)

- dimetylsulfát

- etylmetansulfonát

- nitrozoguanidin

alkylované báze se nepárují nebo vytvářejí chybné páry bází, případně meziřetězcové křížové vazby

\* interkalační látky -----> posunové mutace

akridiny

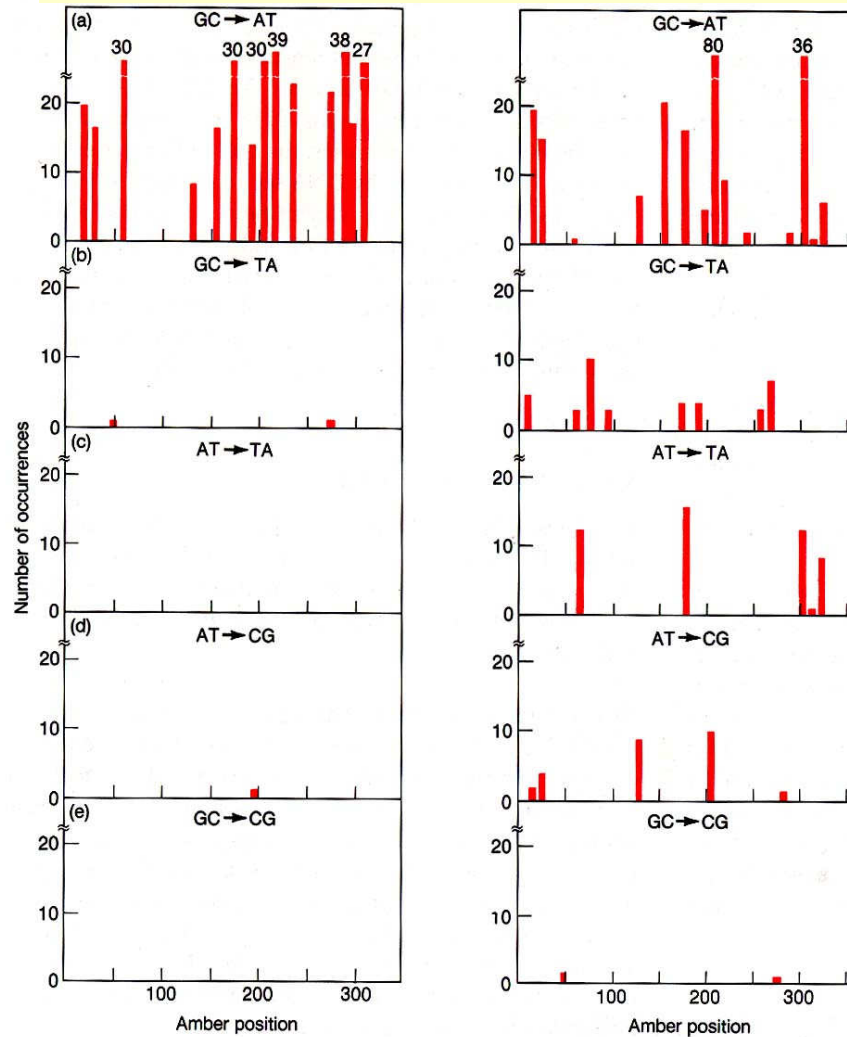
etidumbromid

psoraleny (furokumariny)

# Specificita mutagenů - distribuce mutací různého typu vyvolaných různými mutageny v genu *lacI*

EMS

UV-záření





# Mutageneze pomocí 5-BU

účinek enolformy 5-bromuracilu během:

začleňování

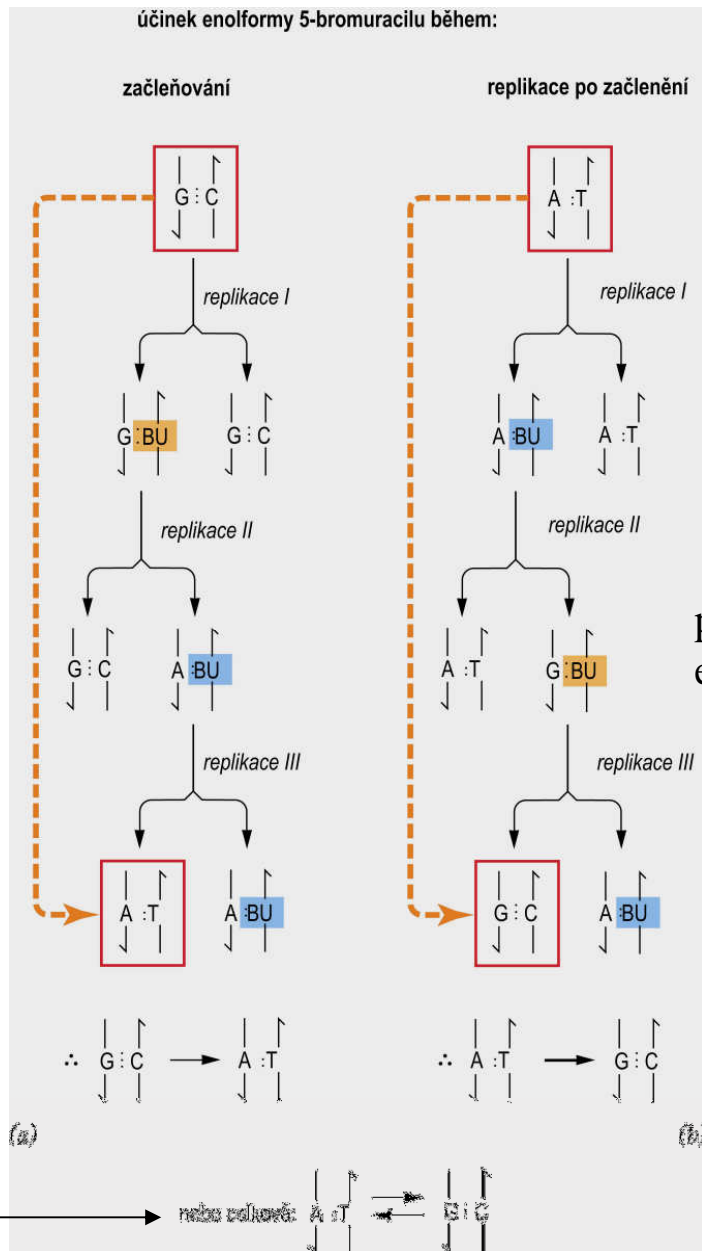
replikace po začlenění

Začlenění vzácnější enolformy BU proti G

Začlenění běžnější ketoformy BU proti A

přechod enolformy BU na ketoformu a párování s A

přechod ketoformy BU na enolformu a párování s G



**Výsledek: transice oběma směry**



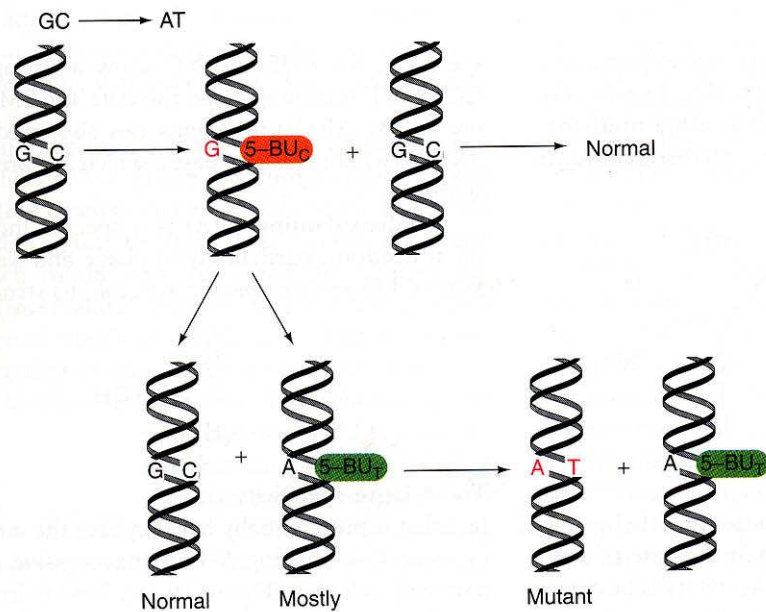
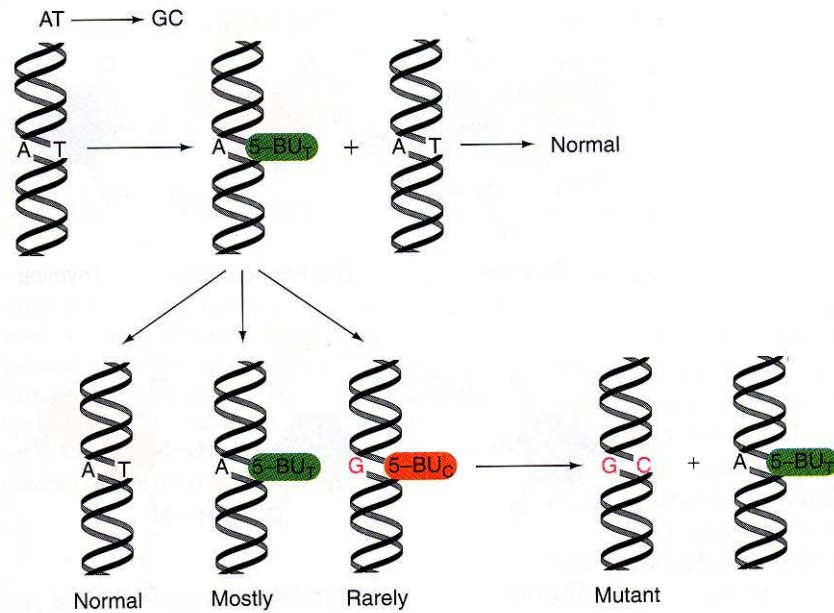
## Mutagenese pomocí 5-BU

(analog tyminu)

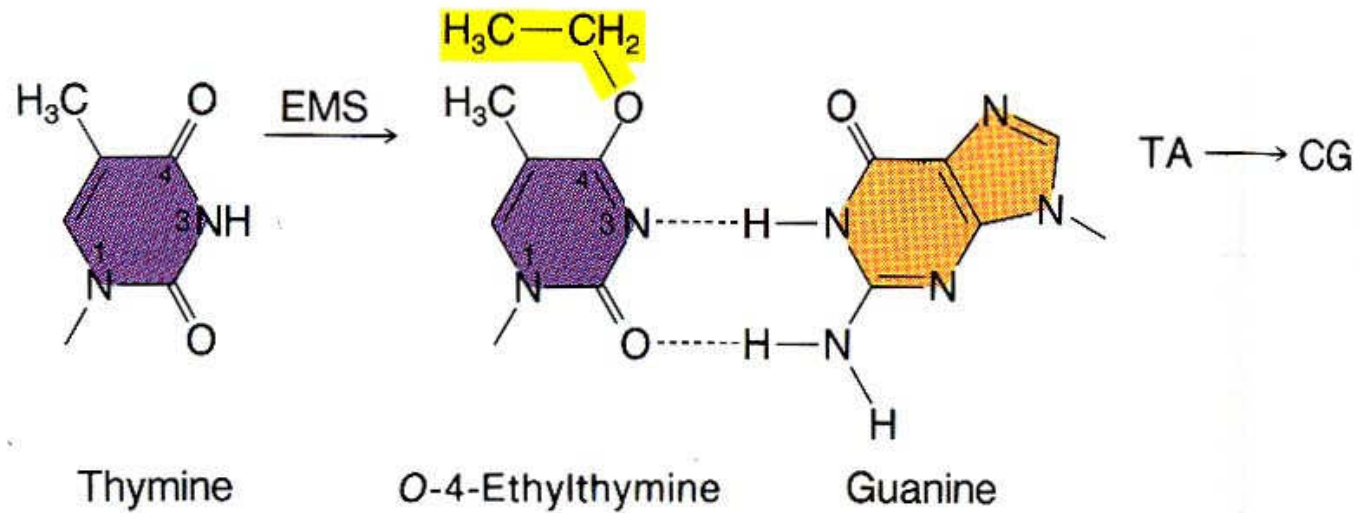
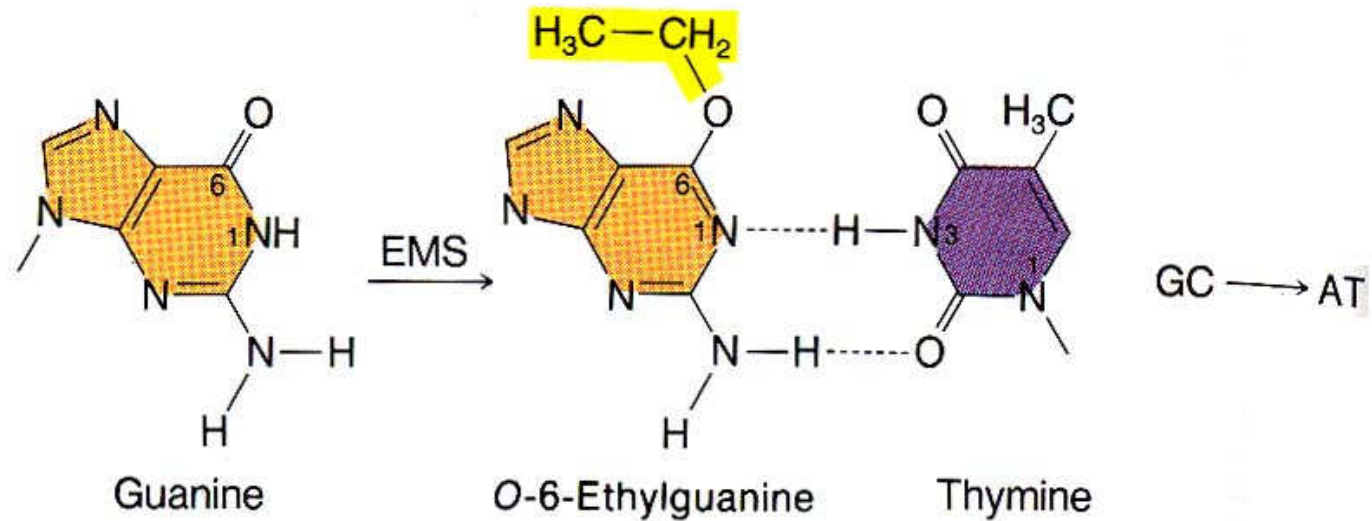
transice v obou směrech:

5-BU(keto) - A

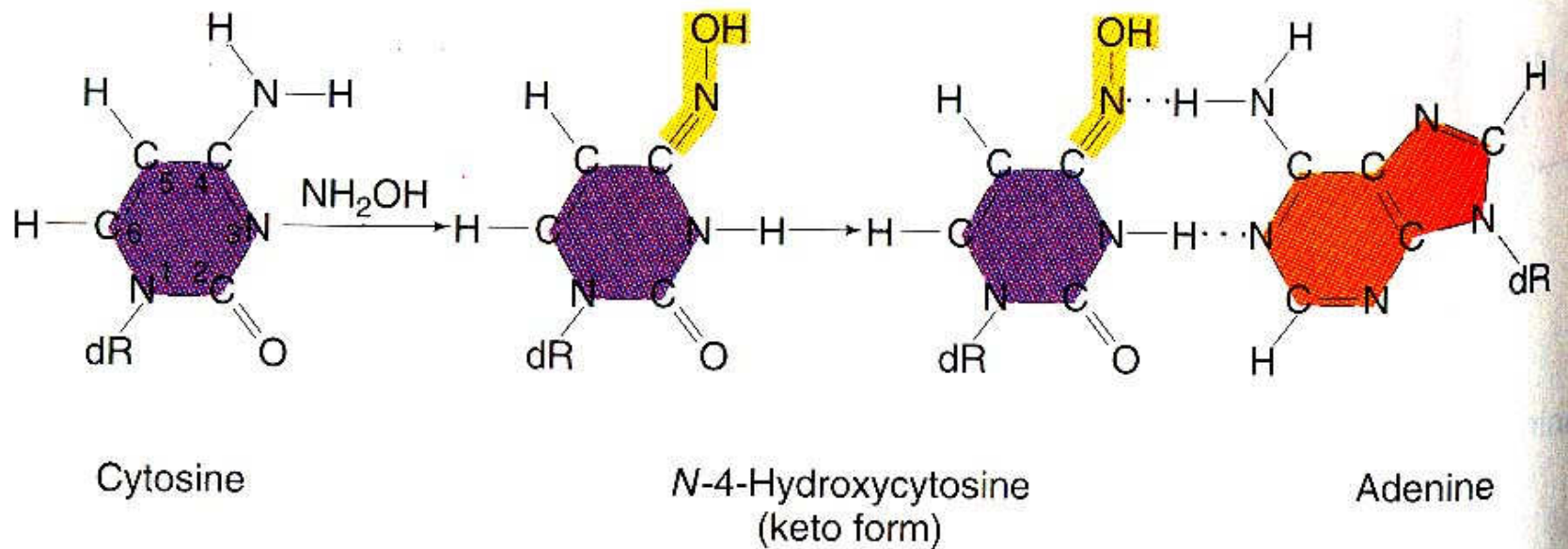
5-BU(enol, ioniz) - G



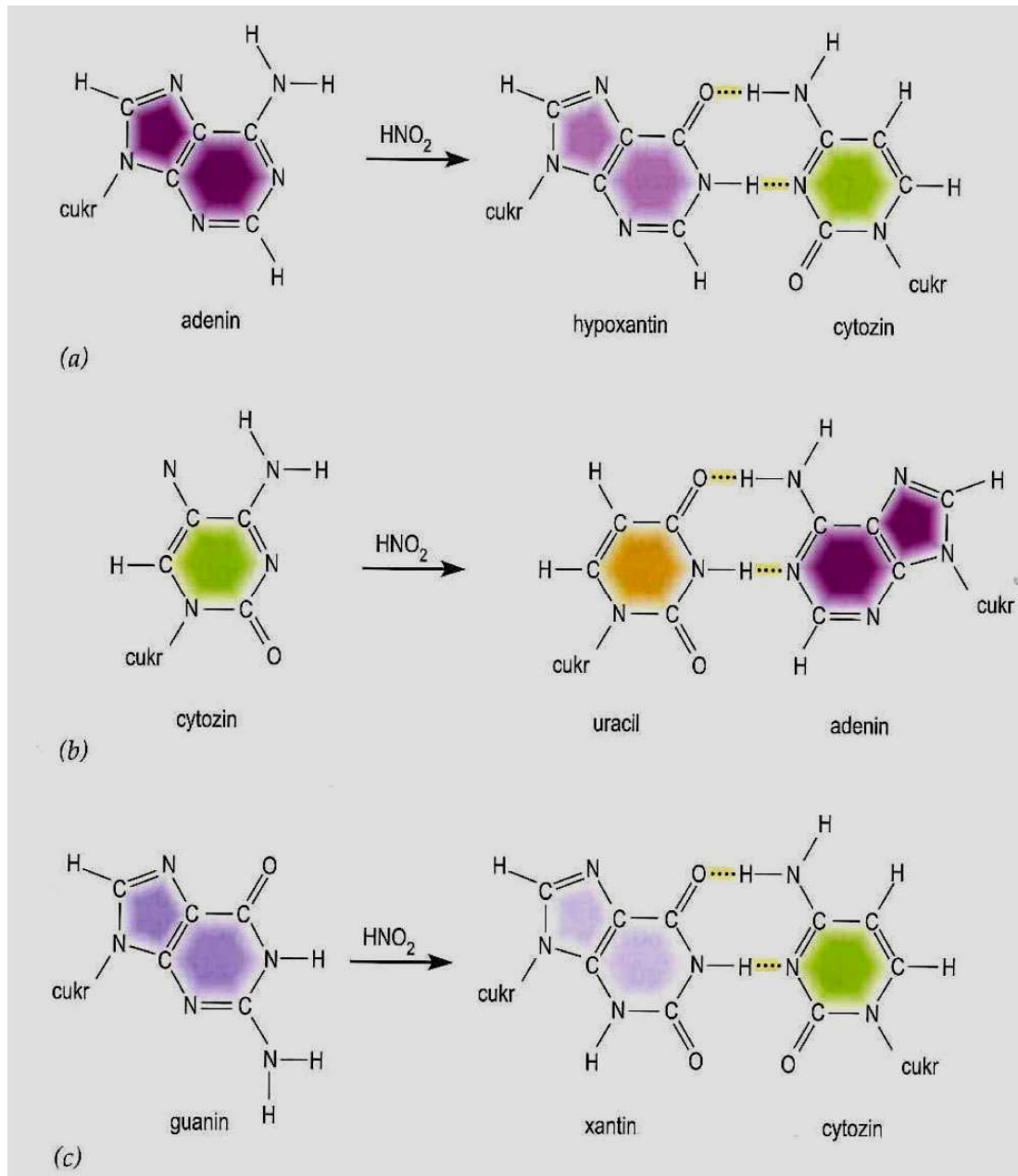
# Působení alkylačních činidel



Působení hydroxylaminu: specifické transice **GC** → **AT**  
(preferenční hydroxylace **N** na C-4 cytozinu)



# Indukce mutací kyselinou dusitou – oxidativní deaminace báží



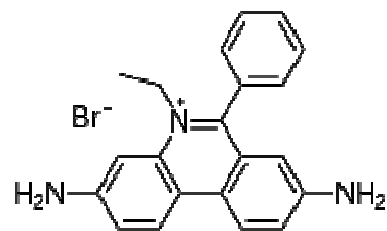
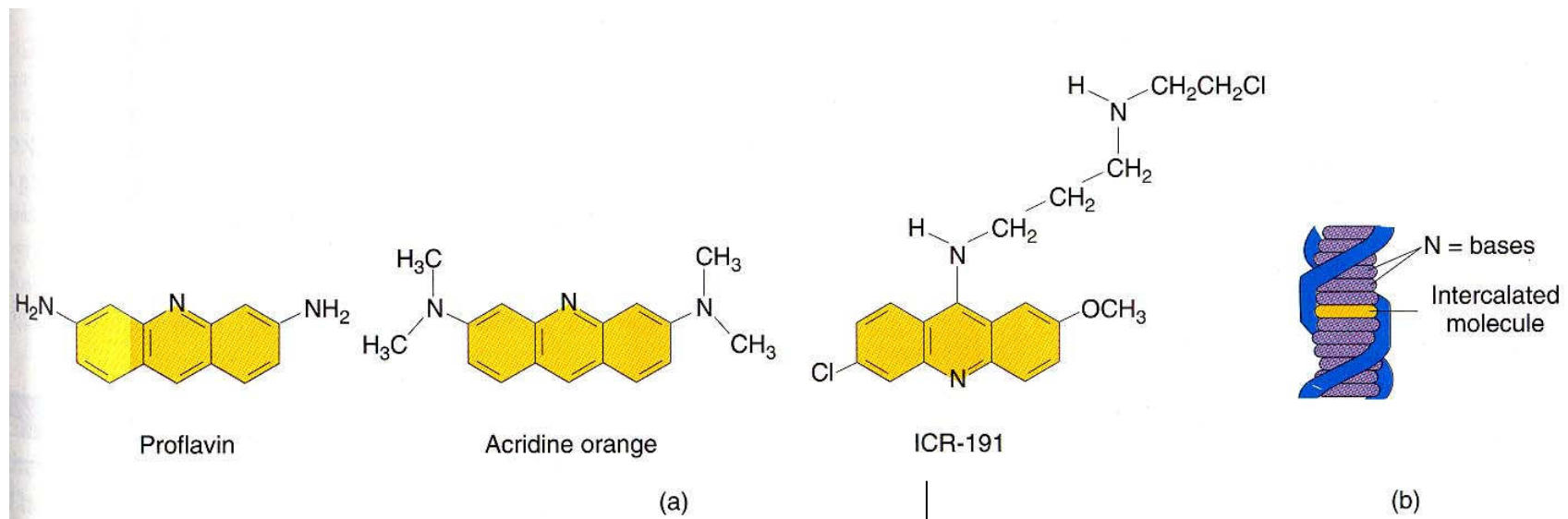
**AT → GC**

**GC → AT**

**xantin není  
mutagenní**

# Interkalační činidla

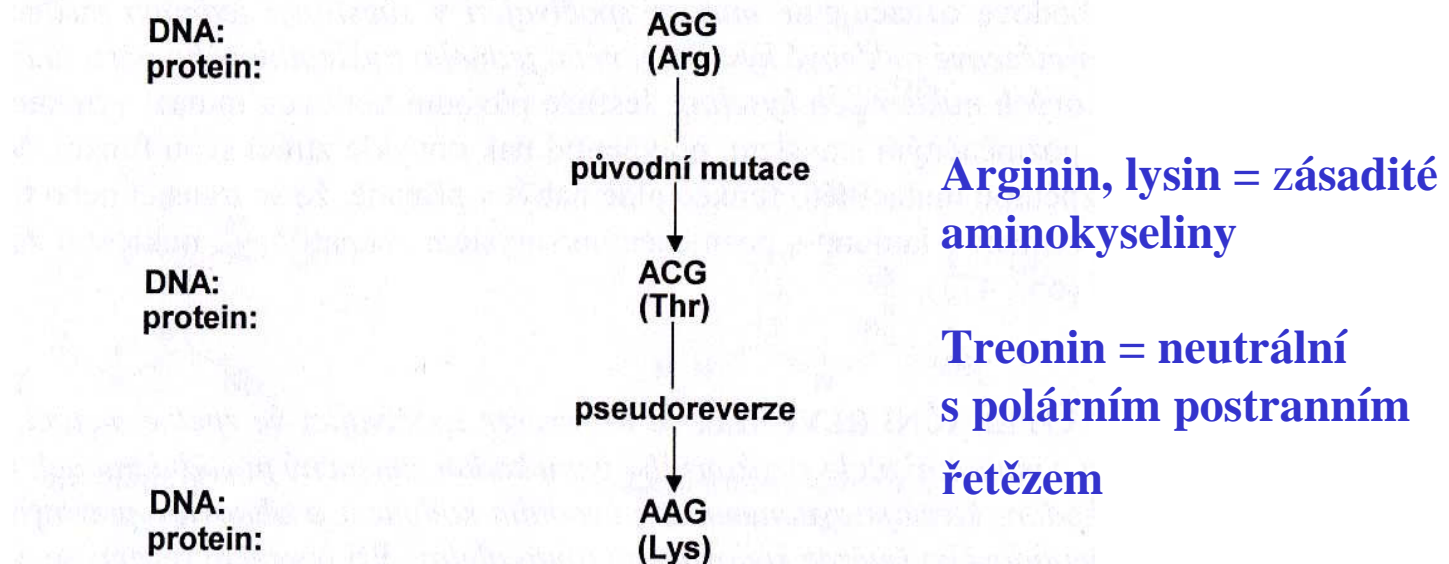
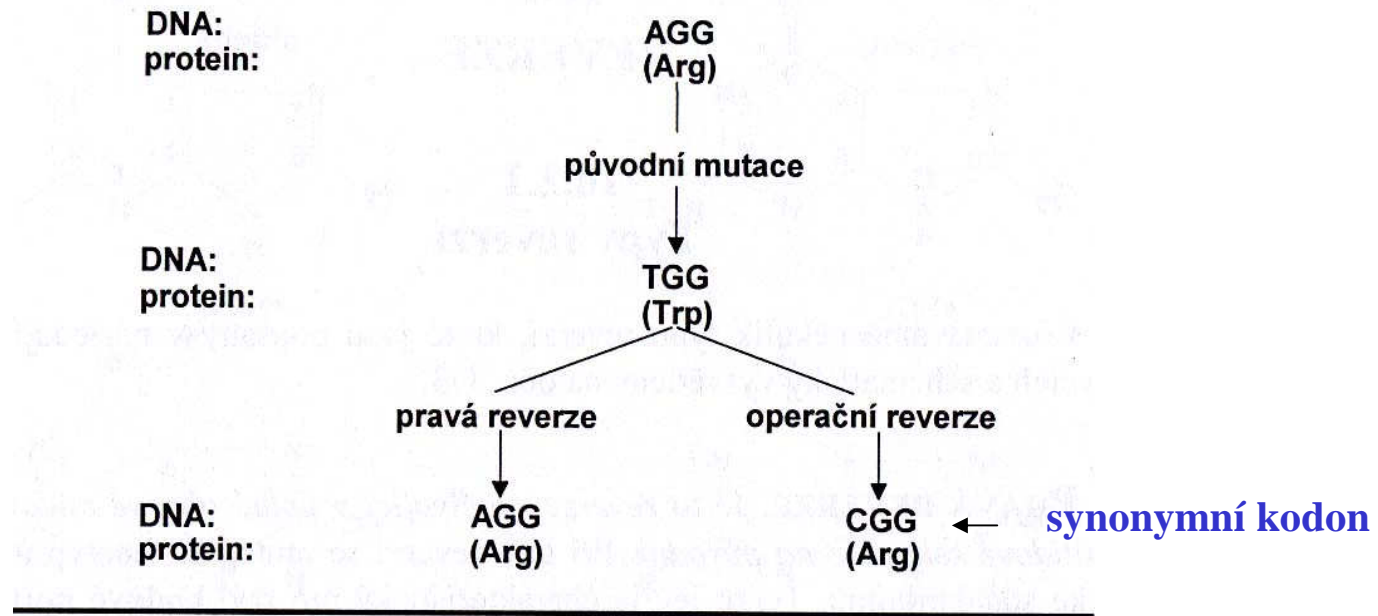
## Vytváření posunových mutací



**etidium bromid**

Inst.Cancer.Res.  
(akridinový derivát)

# Typy reverzí (záměny bází ve stejné pozici kodonu)



## **Supresorová mutace**

**Definice: mutace, která částečně nebo úplně ruší účinek jiné mutace (supresorsenzitivní mutace)**

- a) intragenová: vzniká uvnitř téhož genu**
- b) intergenová: vzniká v jiném genu**

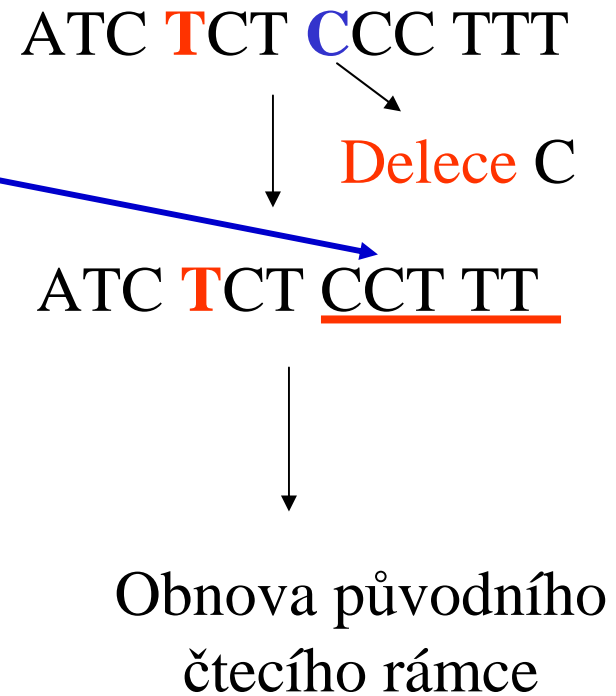
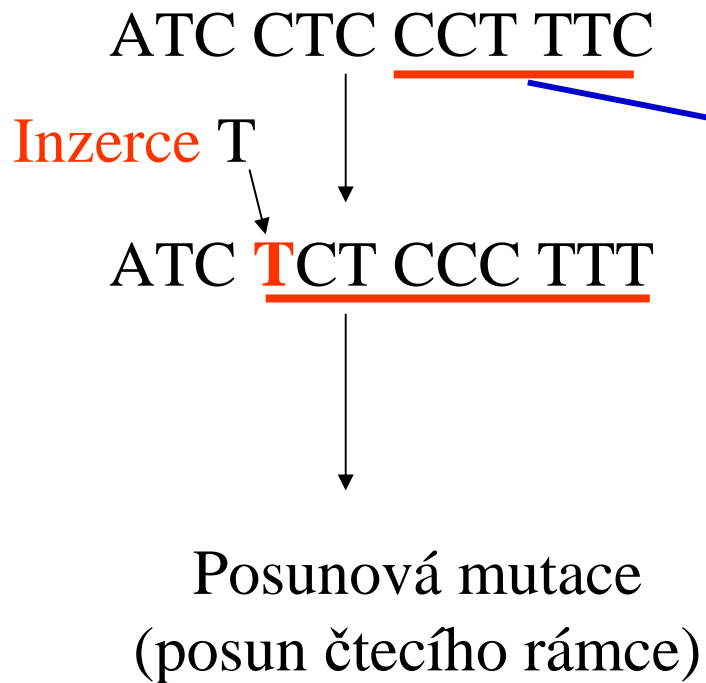
**Na rozdíl od reverzí, mutace proběhne v jiném místě DNA**



# Intragenová supresorová mutace (I)

Supresorsenzitivní mutace

Supresorová mutace



## Intragenová supresorová mutace (II)

TCA původní kodon



**Supresorsenzitivní mutace (první mutace)**

**TAA** stop kodon, ztráta funkce produktu



**Supresorová mutace (druhá mutace)**

**TAT** kodon pro jinou aminokyselinu, obnova funkce produktu

## **Intergenová supresorová mutace**

nemění se mutovaný gen, ale je ovlivněn způsob, jímž je překládána jeho mRNA

vlastní mutace = supresorsenzitivní (*sus*-)

- změna určitého kodonu na kodon nesmyslný nebo kodon s pozměněným smyslem

supresorová mutace = mutace v genu pro tRNA, kterou vzniká tRNA s pozměněným kodonem

**gen supresor = mutantní alela genu pro tRNA (*sup*-)**

**Kmen obsahující supresor = supresorpozitivní  $Su^+$**

**neobsahující -"- = supresornegativní  $Su^-$**

# Intergenová supresorová mutace v genu pro tRNA

Standardní gen

TTC CCA ACA GCT TTA

Supresorsenzitivní  
mutace

TTC CCA ACA GCT TAA

Přepis do mRNA

UUC CCA ACA GCU UAA  
STOP

Předčasné zakončení translace

gen pro tRNA<sup>Leu</sup>

XYZXYZXYZ-AAT-XYZ

Supresorová mutace

Gen - supresor

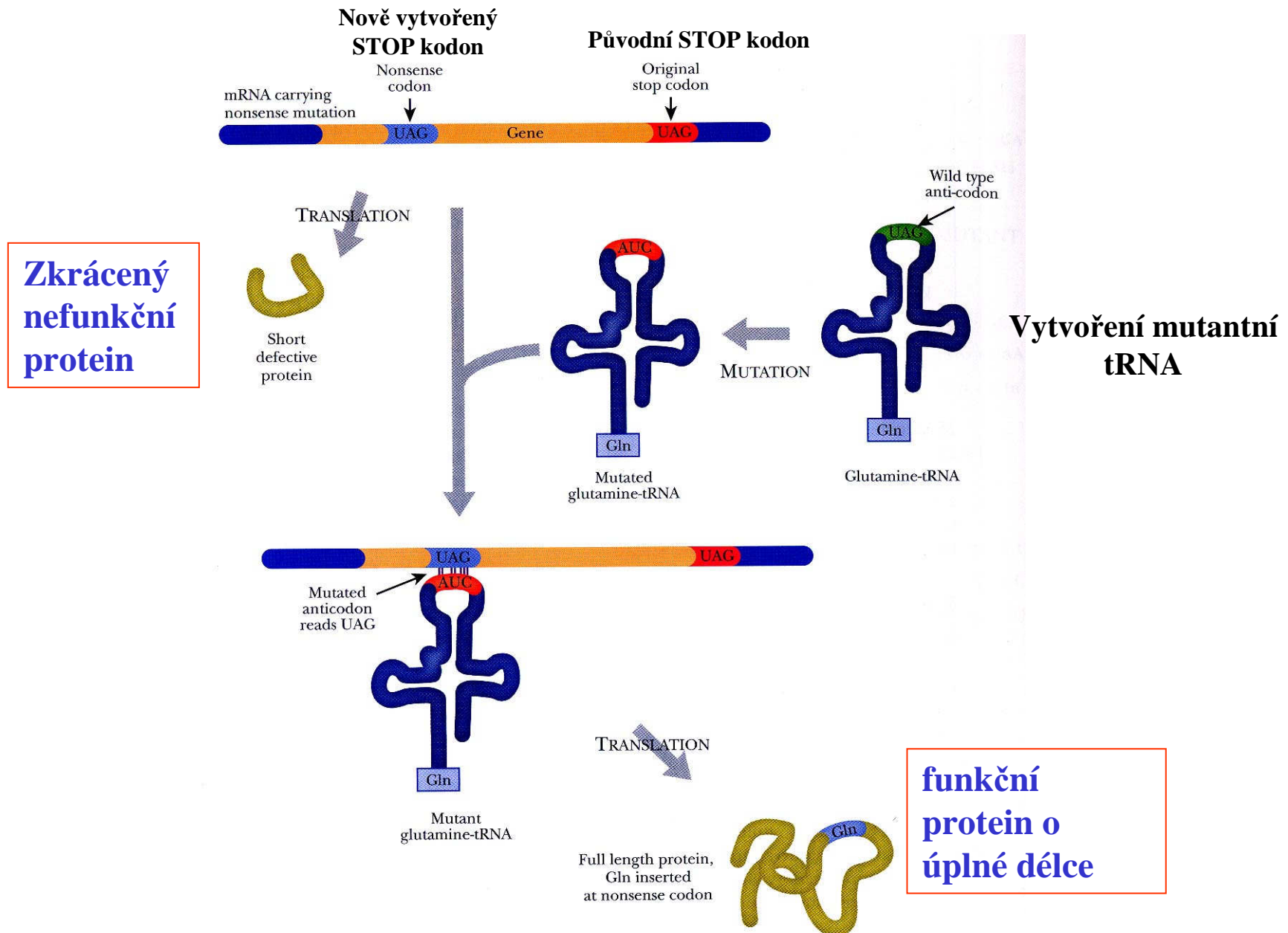
XYZXYZXYZ-ATT-XYZ

Sekvence  
přepisovaná do  
antikodonu

Přepis do tRNA s  
antikodonem AUU, který  
se bude párovat s  
terminačním kodonem  
UAA

syntéza proteinu pokračuje

# Mechanismus intergenové supresorové mutace



**Metabolická aktivace - změna promutagenu na mutagen**  
**(většinou alkylační látka) enzymovou přeměnou v organismu**

- **dusičnany** (mění se nejdříve na metylnitrozomocovinu, která se mění na ionty  $\text{CH}_3^+$ , které alkylují DNA )

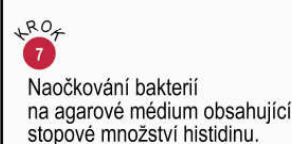
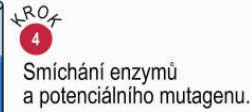
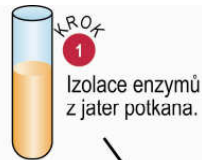
**Polycyklické uhlovodíky**

- **benzpyren** - cigar, výfuky - mění se arylhydroxylázami, např. na epoxidy
- **N-alkyl-N-nitrózaminy** - vytváří se aktivní  $\text{CH}_3^+$
- **aromatické aminy**
- **přírodní produkty (aflatoxin)**- aspergillus

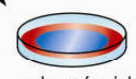
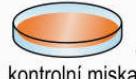
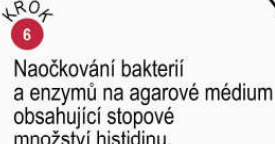
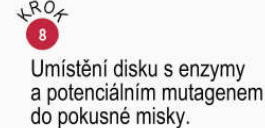
Proteiny cytochromového systému P-450 vyznačující se oxygenázovou aktivitou (detoxikace nepolárních látek),  
+ řada dalších enzymů

# Amesův test na mutagenitu

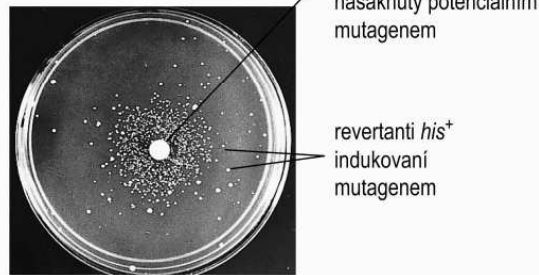
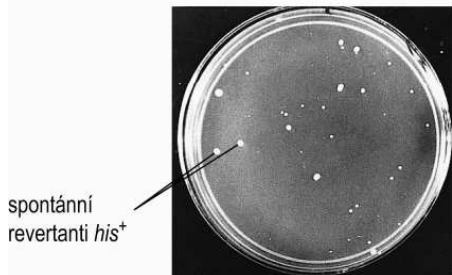
**Zajištění  
metabolické  
aktivace**



disk z filtračního papíru



KROK 9  
Inkubace misek při 37 °C.



**His- → His+**  
**reverze**

**Kmeny obsahují různé typy mutací, jsou reparačně deficientní a mají změny lipopolysacharidů usnadňujících příjem látek**

**Promutagen není přítomen**

# REPARACE MUTAČNĚ POŠKOZENÉ DNA

- **A. Přímé reparace**
  - 1. fotoreaktivace
  - 2. dealkylace
- **B. Nepřímé reaparace**
  - 1. Excizní reparace
    - bázová
    - nukleotidová
    - řízená metylací
  - 2. rekombinační /postreplikační/
  - 3. reaparace kroslinků
- **C. Inducibilní reparace**
  - 1. SOS-odpověď
  - 2. adaptivní odpovědi
    - na alkylační poškození
    - na environmentální stres

## Genetický aparát pro reparaci DNA

- velmi konzervativní
- asi 100 genů
- distinktní dráhy,  
které se mohou  
prolínat



# TYPY REPAROVATELNÝCH POŠKOZENÍ NA DNA

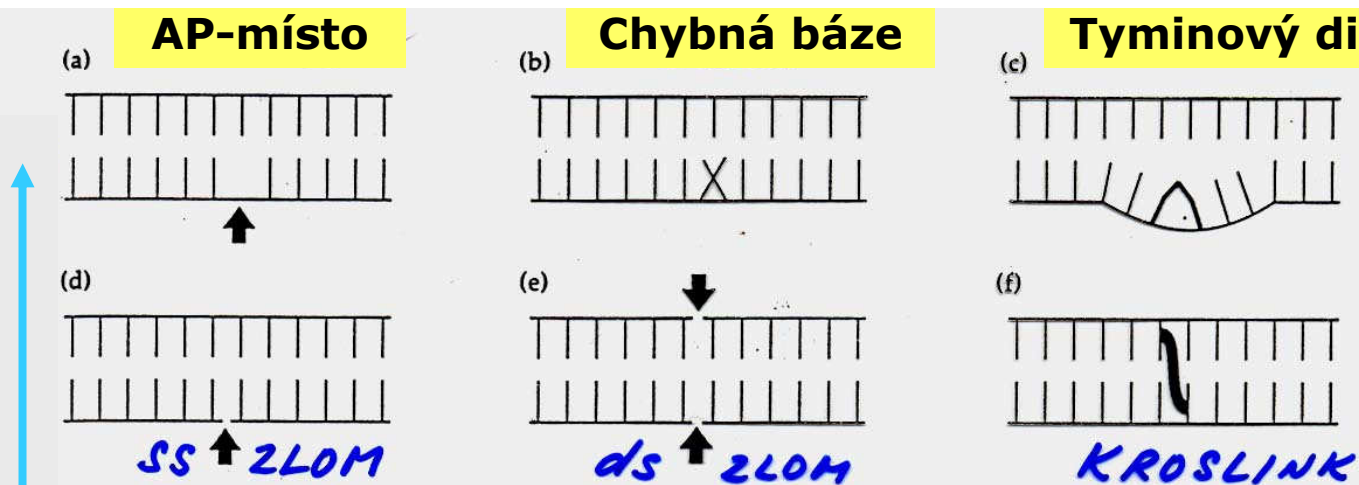
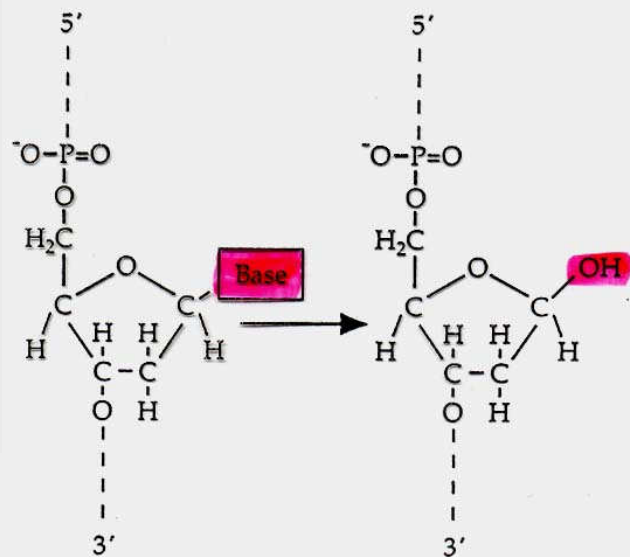


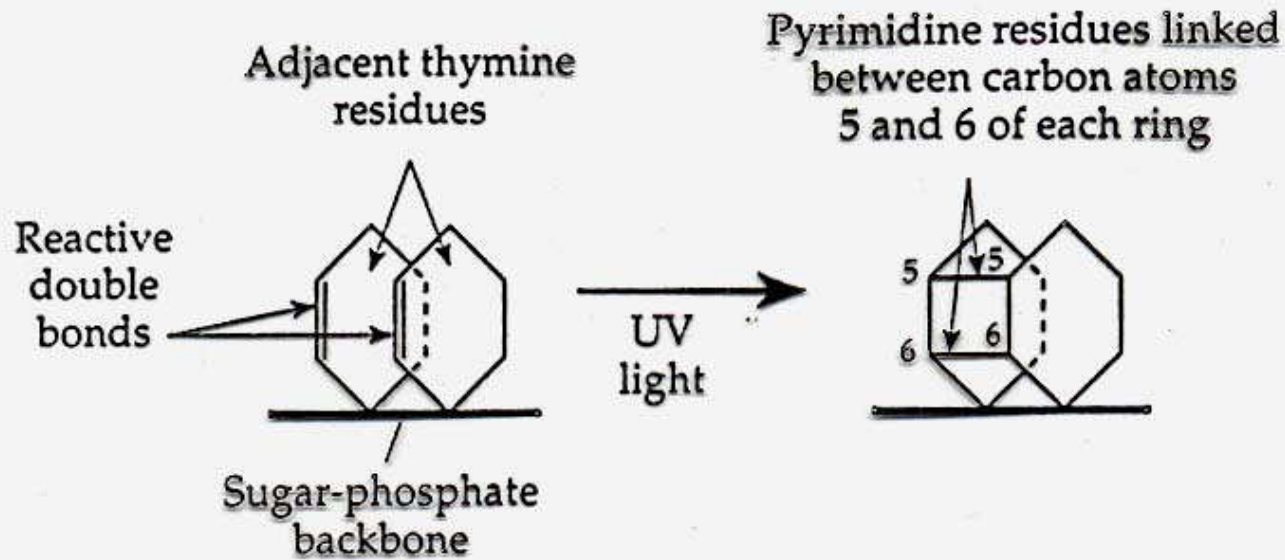
Fig. 8.1 Classification of repairable lesions. (a) Missing base; (b) incorrect base; (c) modified base (distorting the double helix); (d) single-strand break; (e) double-strand break; (f) interstrand cross-link.



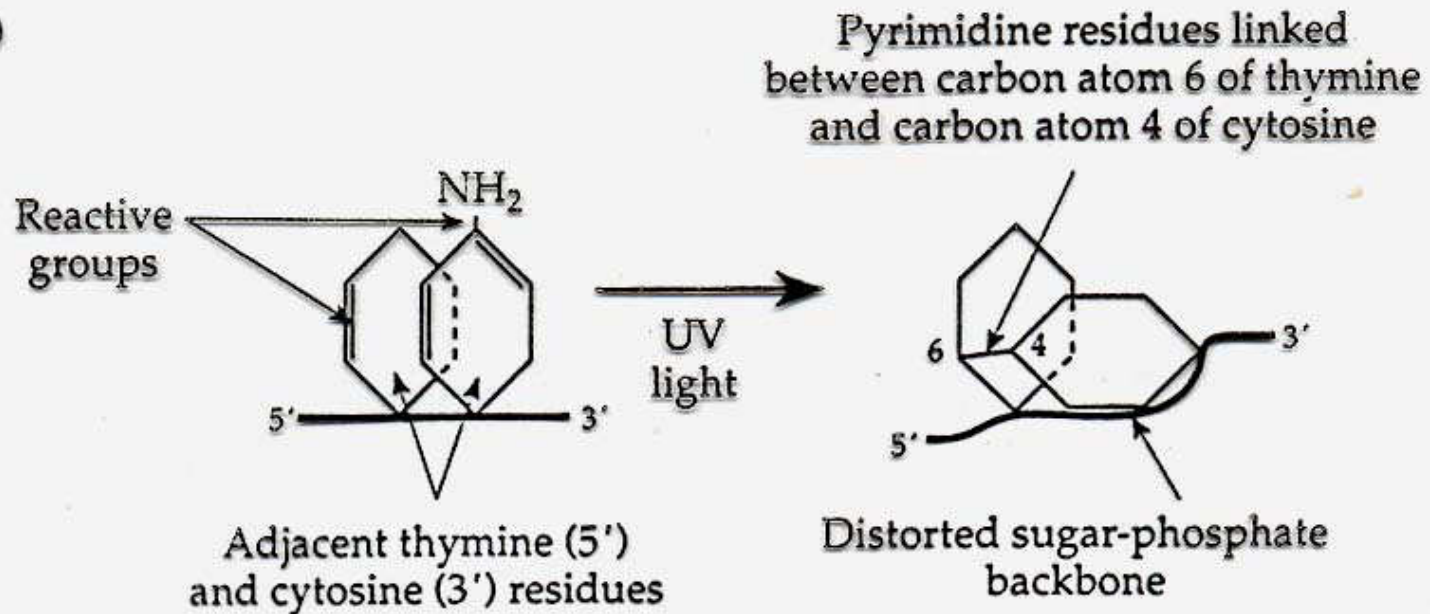
**Vznik AP míst = nejčastější spontánní mutace (depurinace je 100x častější než depyrimidinace)**

Fig. 8.2 Formation of an AP (apurinic/apyrimidinic) site.

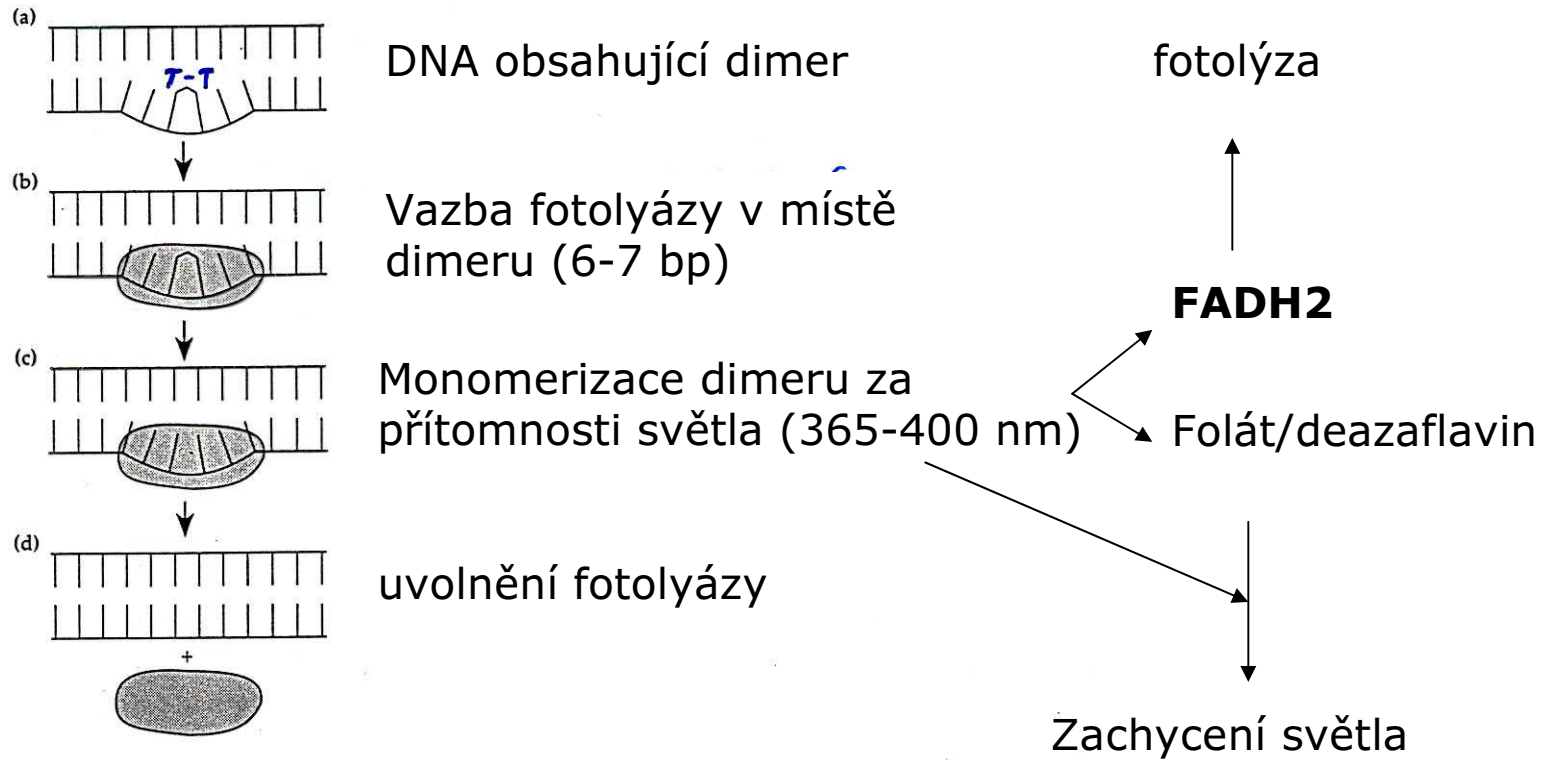
(a)



(b)



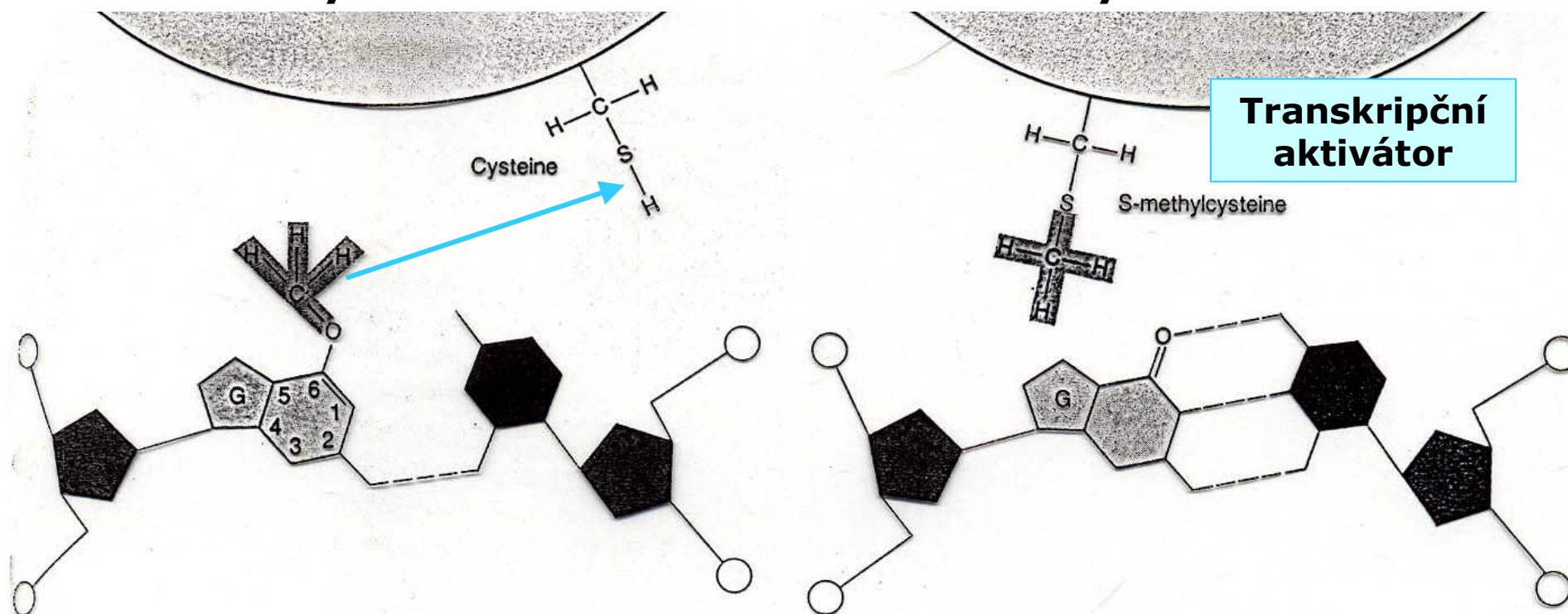
# FOTOREAKTIVACE



# Alkyltransferáza: <sup>6</sup>O-Metylguanin-DNA-metyltransferáza (<sup>6</sup>O-MGT= Ada-protein)

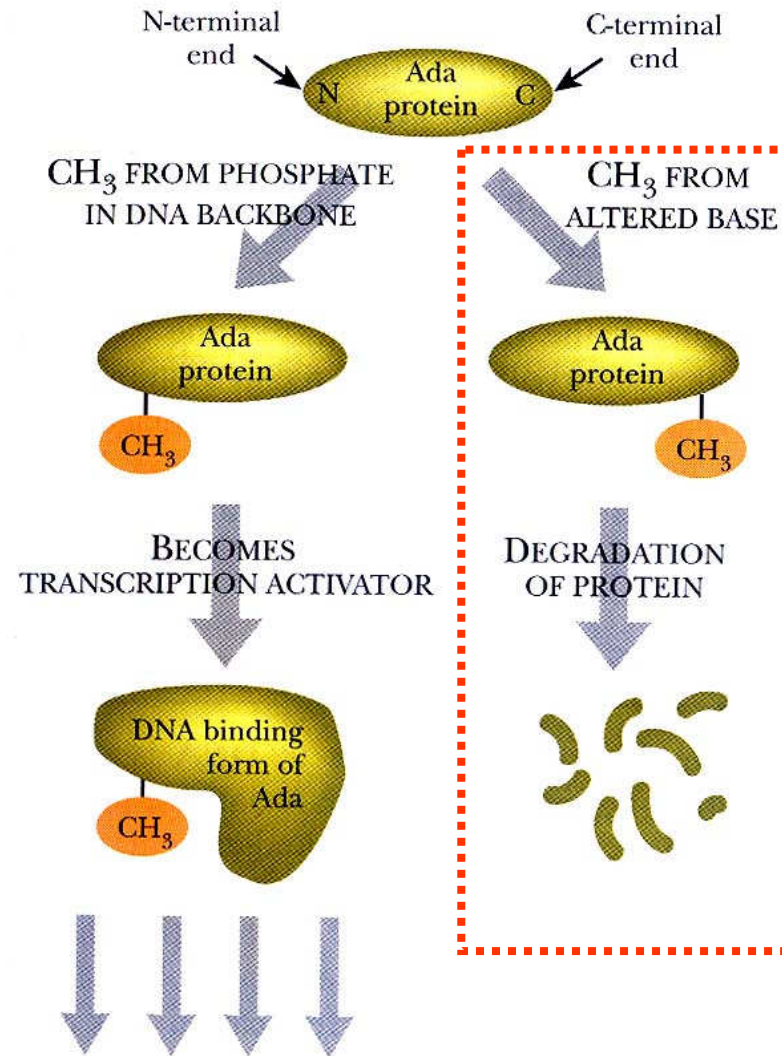
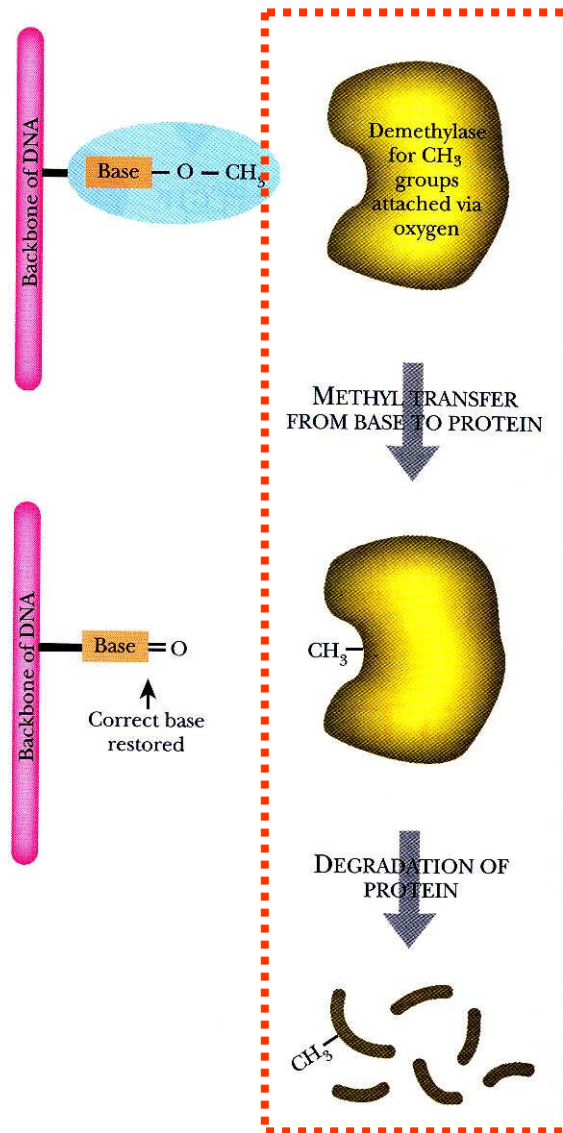
nemetylovaná forma

metylovaná forma



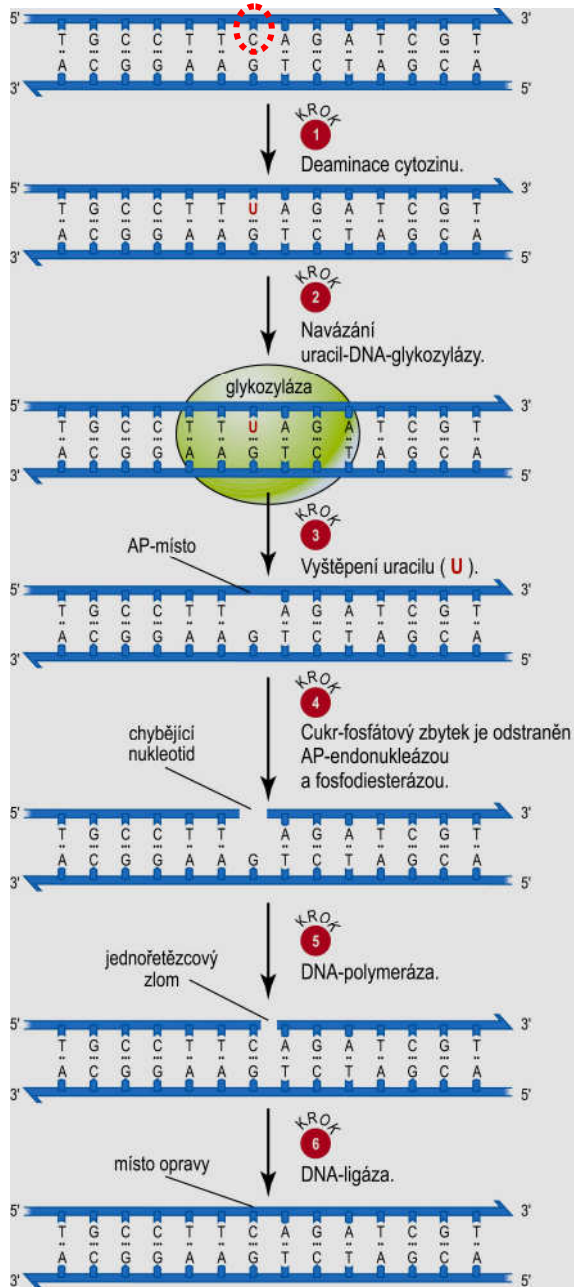
**Figure 19-29** Direct reversal of DNA damage by an alkyltransferase. Methylation of a guanine residue by nitrosoguanidine (NG) is repaired by this novel process. The NG adds a methyl group (CH<sub>3</sub>) at various sites in the DNA, including an oxygen atom at position 6 of guanine (*left*). This disrupts the hydrogen bonding of guanine to a cytosine. The repair is accomplished by a methyl-acceptor protein, one of the enzymes known as *alkyltransferases*. A cysteine residue on the protein acts as the methyl acceptor: it binds the CH<sub>3</sub> group, thereby restoring the guanine to its original state (*right*). (From P. Howard-Flanders, "Inducible Repair of DNA." Copyright © 1981 by Scientific American, Inc. All rights reserved.)

# Dvojitá úloha proteinu Ada při reparaci alkylované DNA



**Aktivace genů zodpovědných za reparaci**

# Bázová excizní oprava



1. Abnormální báze v DNA

2. Rozpoznání **specifickou glykozylázou**

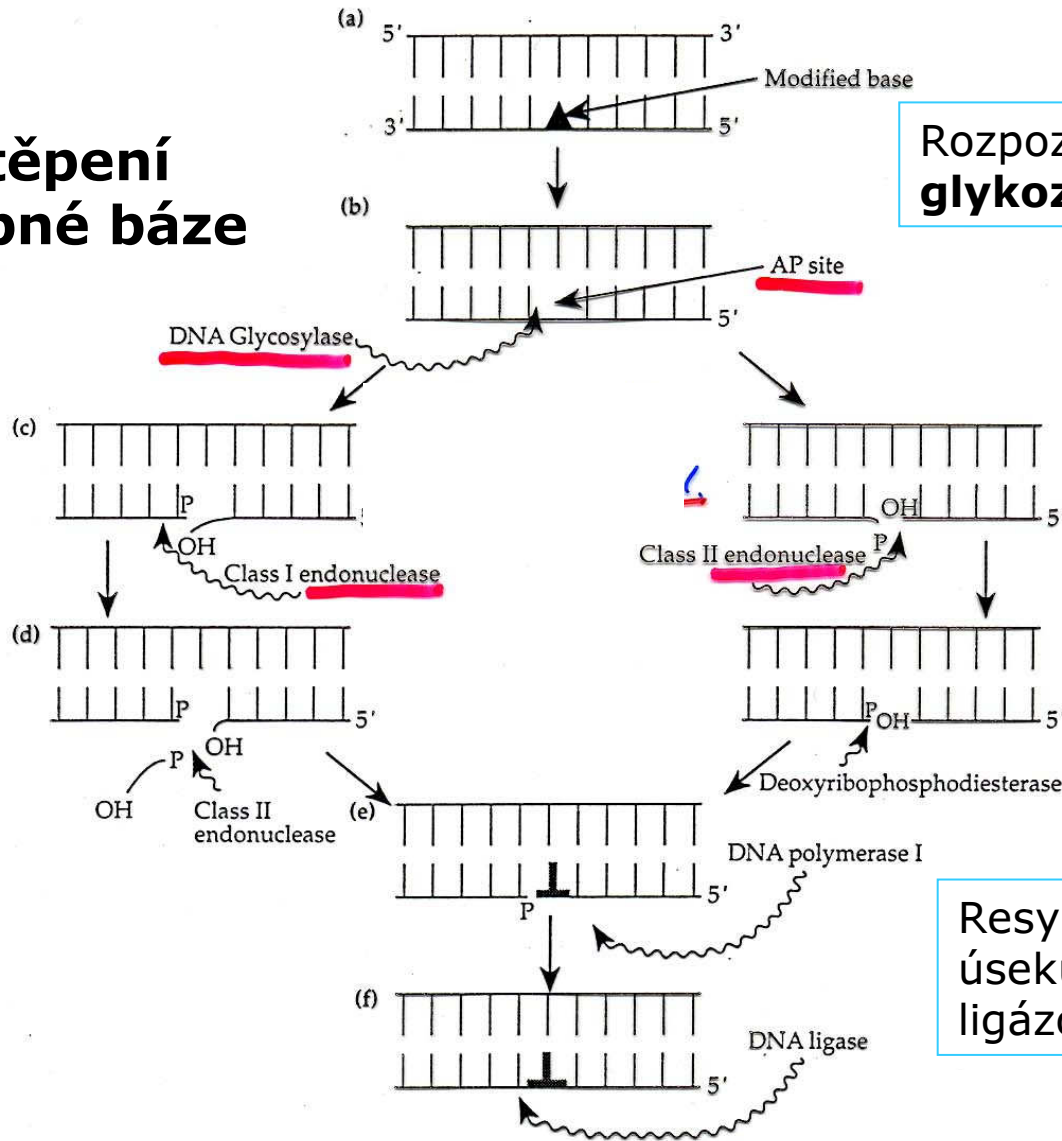
3. Vyštěpení abnormální báze

4. Odstranění cukrfosfátového zbytku

5. Zacelení mezery

# BÁZOVÁ EXCIZNÍ REPARACE

## Vyštěpení chybné báze



Rozpoznání chybné báze  
**glykozylázou**, vznik AP-místa

Přerušení cukr-  
fosfátových vazeb  
**AP-endonukleázami**

Odstranění dR  
s chybějící bází

Resyntéza chybějícího  
úseku, spojení mezery DNA-  
ligázou

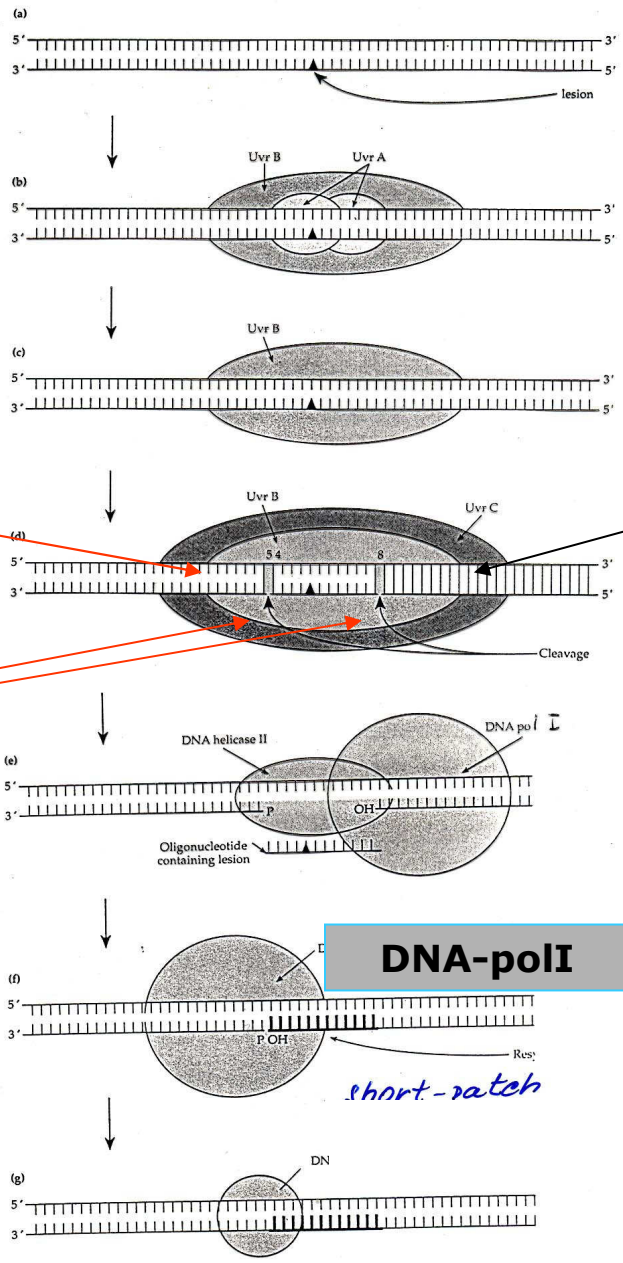
# DNA-GLYKOZYLÁZY PŮSOBÍCÍ NA POŠKOZENÉ DNA

Enzyme	Substrate	Products
Ura-DNA glycosylase	DNA containing uracil	Uracil + AP sites
Hmu-DNA glycosylase	DNA containing hydroxymethyluracil	Hydroxymethyluracil + AP sites
5-mC-DNA glycosylase	DNA containing 5-methylcytosine	5-methylcytosine + AP sites
Hx-DNA glycosylase	DNA containing hypoxanthine	Hypoxanthine + AP sites
Thymine mismatch-DNA glycosylase	DNA containing G-T mispairs	Thymine + AP sites
MutY-DNA glycosylase	DNA containing G-A mispairs	Adenine + AP sites
3-mA-DNA glycosylase I	DNA containing 3-methyladenine	3-Methyladenine + AP sites
3-mA-DNA glycosylase II	DNA containing 3-methyladenine, 7-methylguanine, or 3-methylguanine	3-Methyladenine, 7-methylguanine, or 3-methylguanine + AP sites
FaPy-DNA glycosylase	DNA containing formamidopyrimidine moieties, or 8-hydroxyguanine	2,6-Diamino-4-hydroxy-5-N-methylformamido-pyrimidine and 8-hydroxyguanine + AP sites
5,6-HT-DNA glycosylase (endonuclease III)	DNA containing 5,6 hydrated thymine-moieties	5,6-Dihydroxydi-hydrothymine or 5,6 dihydrothymine + AP sites
PD-DNA glycosylase	DNA containing pyrimidine dimers	Pyrimidine dimers in DNA with hydrolyzed 5' glycosyl bonds + AP sites

SOURCE: E. C. Friedberg, G. C. Walker, and W. Siede, *DNA Repair and Mutagenesis*. ASM Press, Washington, D.C.



# NUKLEOTIDOVÁ EXCIZNÍ REPARACE (SHORT PATCH REPAIR)



DNA obsahující poškození (T-T, chybný pár bazí aj)

Vazba UvrA2B1 } **SOS**  
 disociace UvrA

vytvoření **preincizního komplexu**

vazba UvrC

vytvoření **incizního komplexu** štěpení cukr-fosfátové kostry

vyštěpení krátkého oligonukleotidu o délce 11-13 b

resyntéza chybějícího úseku DNA - jako templát slouží řetězec bez poškození

spojení mezery DNA-ligázou

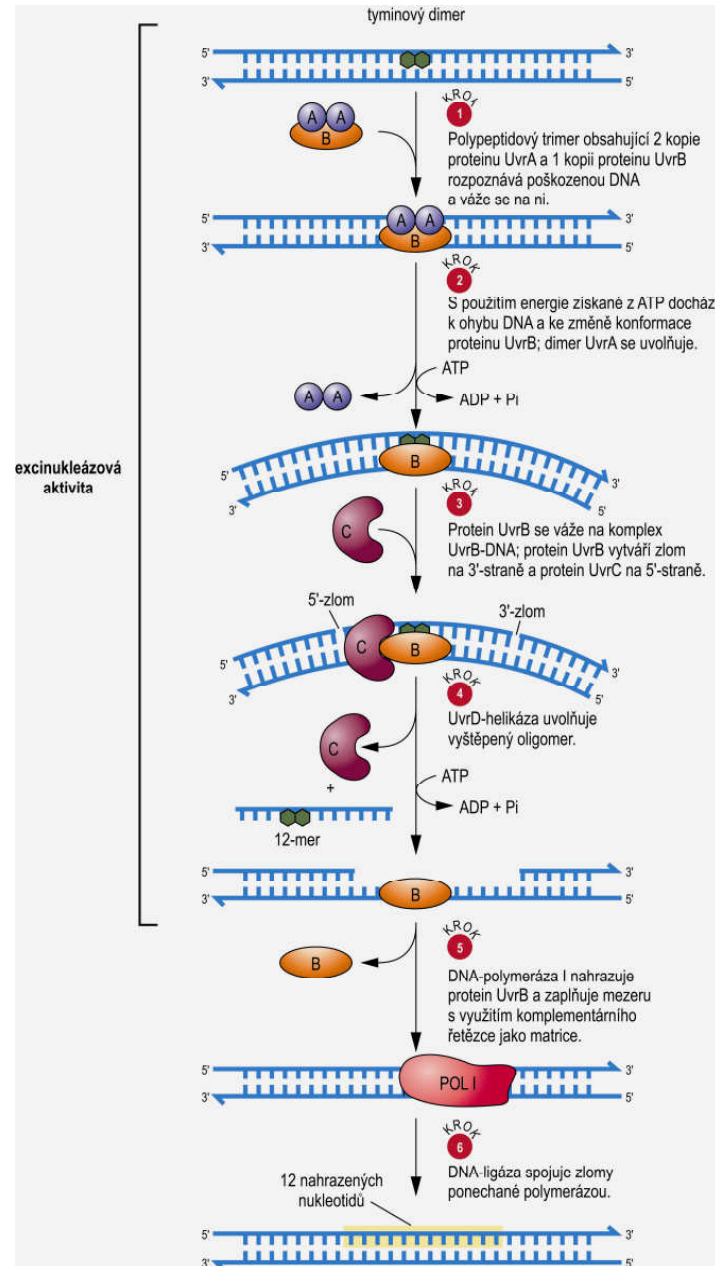
**UvrABC excinukleáza**

**4-5b -x-- 8b**

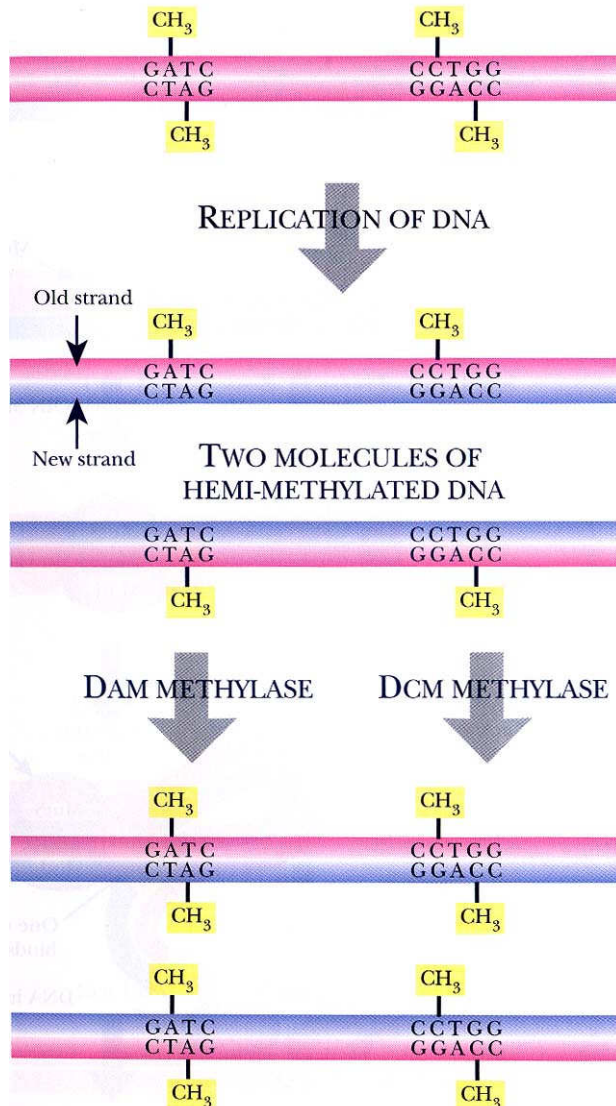
**DNA-pol I**

*short-patch*

# Nukleotidová excizní oprava



# Metylace DNA místně-specifickými metylázami

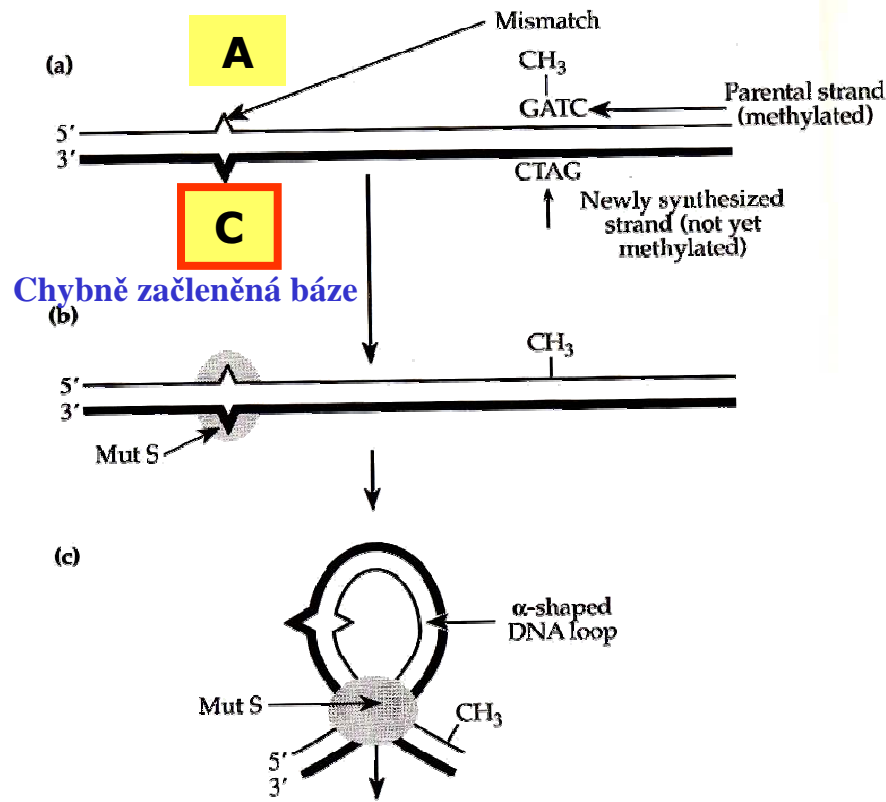


Rodičovská molekula

Dceřiné molekuly DNA  
krátce po replikaci

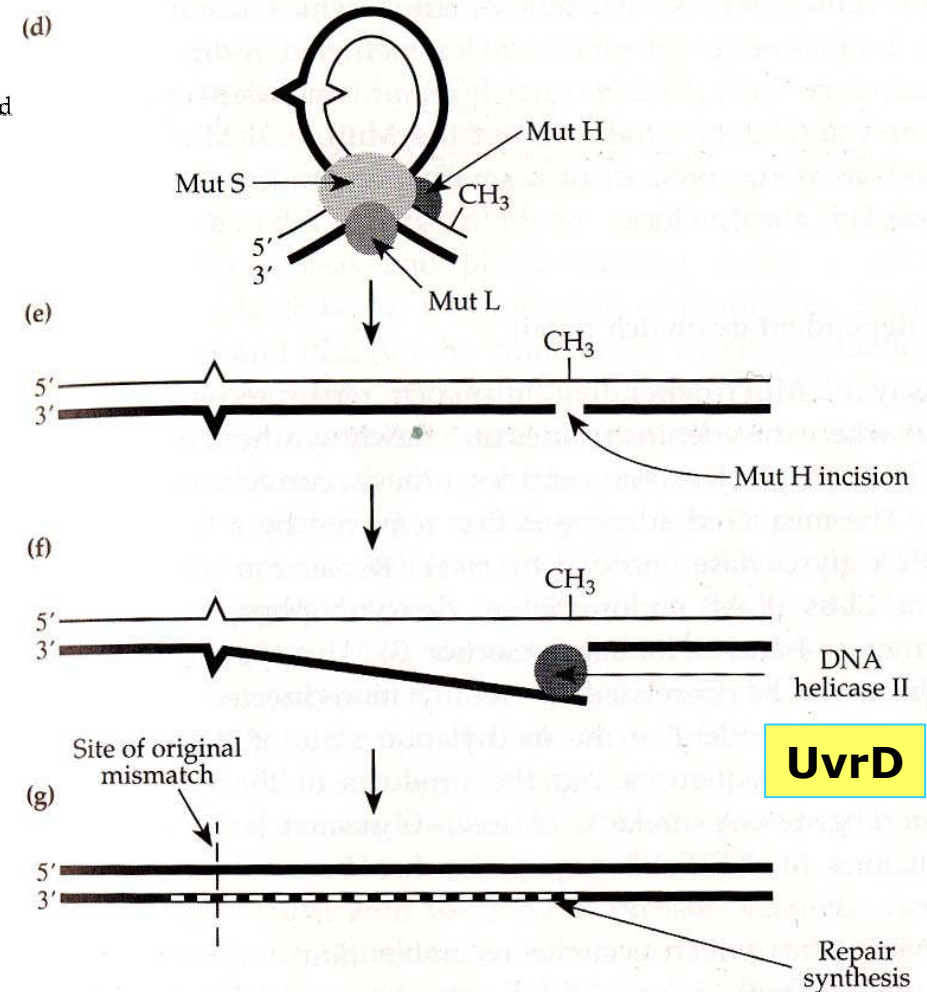
Plně metylované dceřiné  
molekuly DNA

# REPARACE ŘÍZENÁ METYLACÍ (REPARACE NA DLOUHOU VZDÁLENOST, mismatch repair)



Chybně začleněná báze

MutS rozpozná chybnou bázi a vytvoří smyčku na DNA, na kterou se váže MutL, což umožní navázání a aktivaci MutH, která štěpí G v GATC - poté DNA-helikáza odmotá jednořetězec a ten je nahrazen reparační syntézou

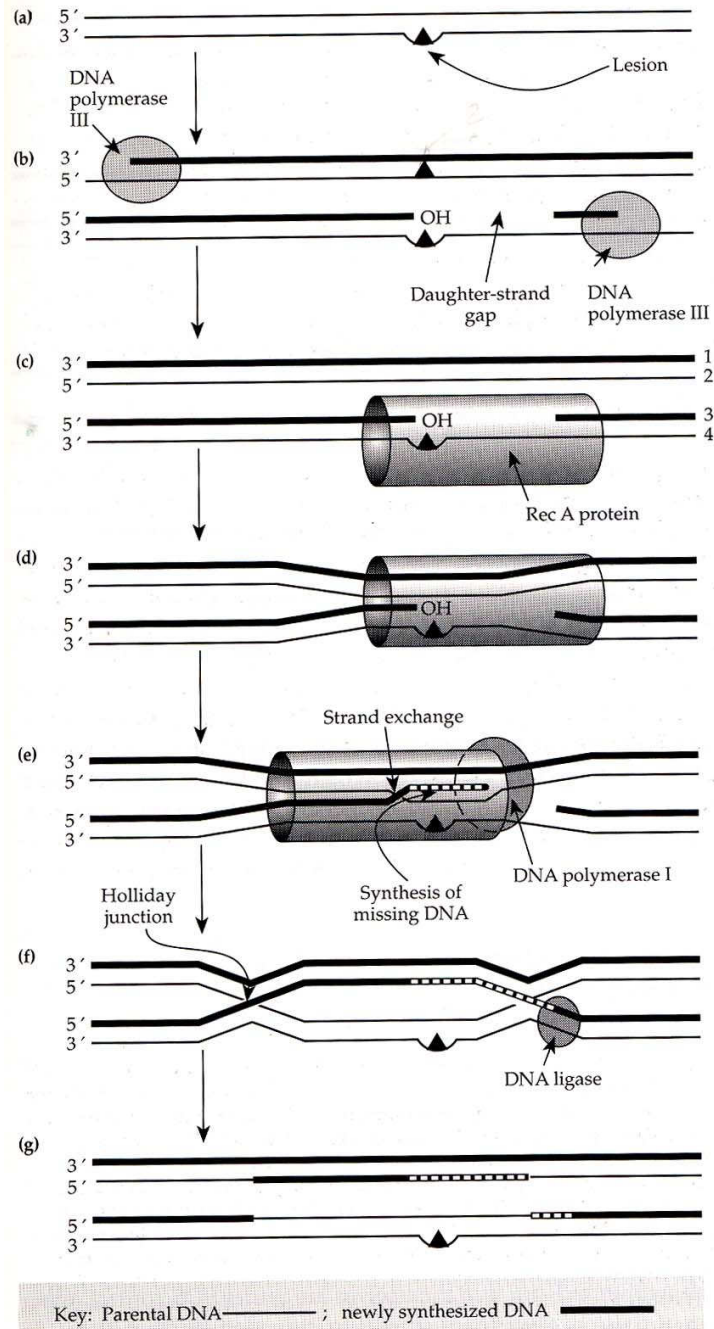


UvrD

A-C → A-T

DNA polymeráza

# POSTREPLIKAČNÍ REKOMBINAČNÍ REPARACE



Vznik mezery při syntéze DNA

vazba proteinu RecA

navození homologního párování  
neporušeného a porušeného řetězce

reparační syntéza DNA podle sesterského  
řetězce

rekombinace homologních řetězců

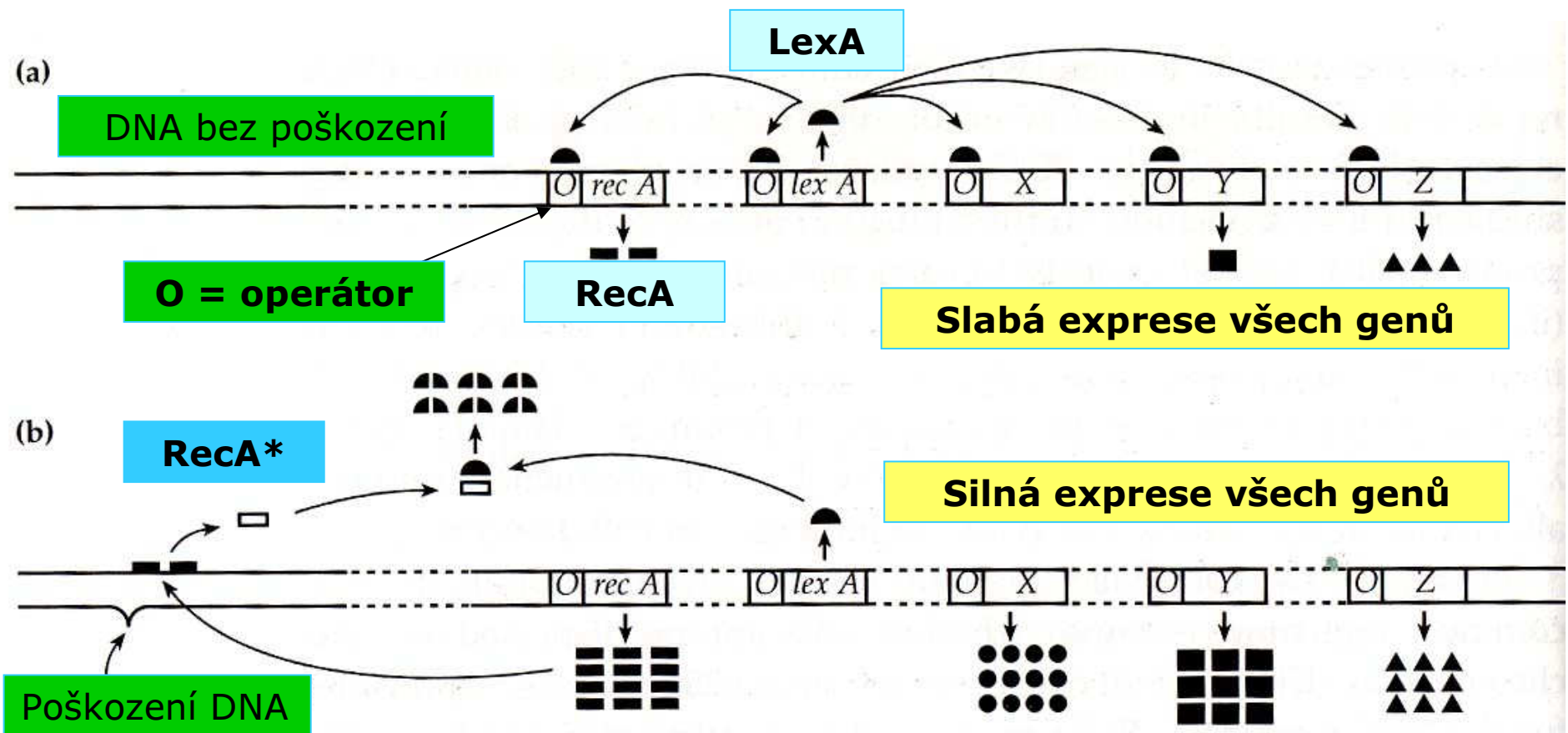
poškození zůstává v jedné z molekul a je  
opraveno později

# SOS-ODPOVĚĎ

*geny din = damage induced, SOS-genes (31 genů u E. coli)*

- **1. Indukce SOS mutagenese – vznik adaptivních mutací (mutagenese adaptivní fáze)**
- **2. Excizní reparace dlouhých úseků**
- **3. Zvýšená schopnost reparace ds zlomů**
- **4. Indukce profágů (lambda, P22, f80)**
- **5. Indukce tvorby kolicinů**
- **6. Zmírnění restrikce**
- **7. Inhibice buněčného dělení**

# PRŮBĚH SOS-REPARACE

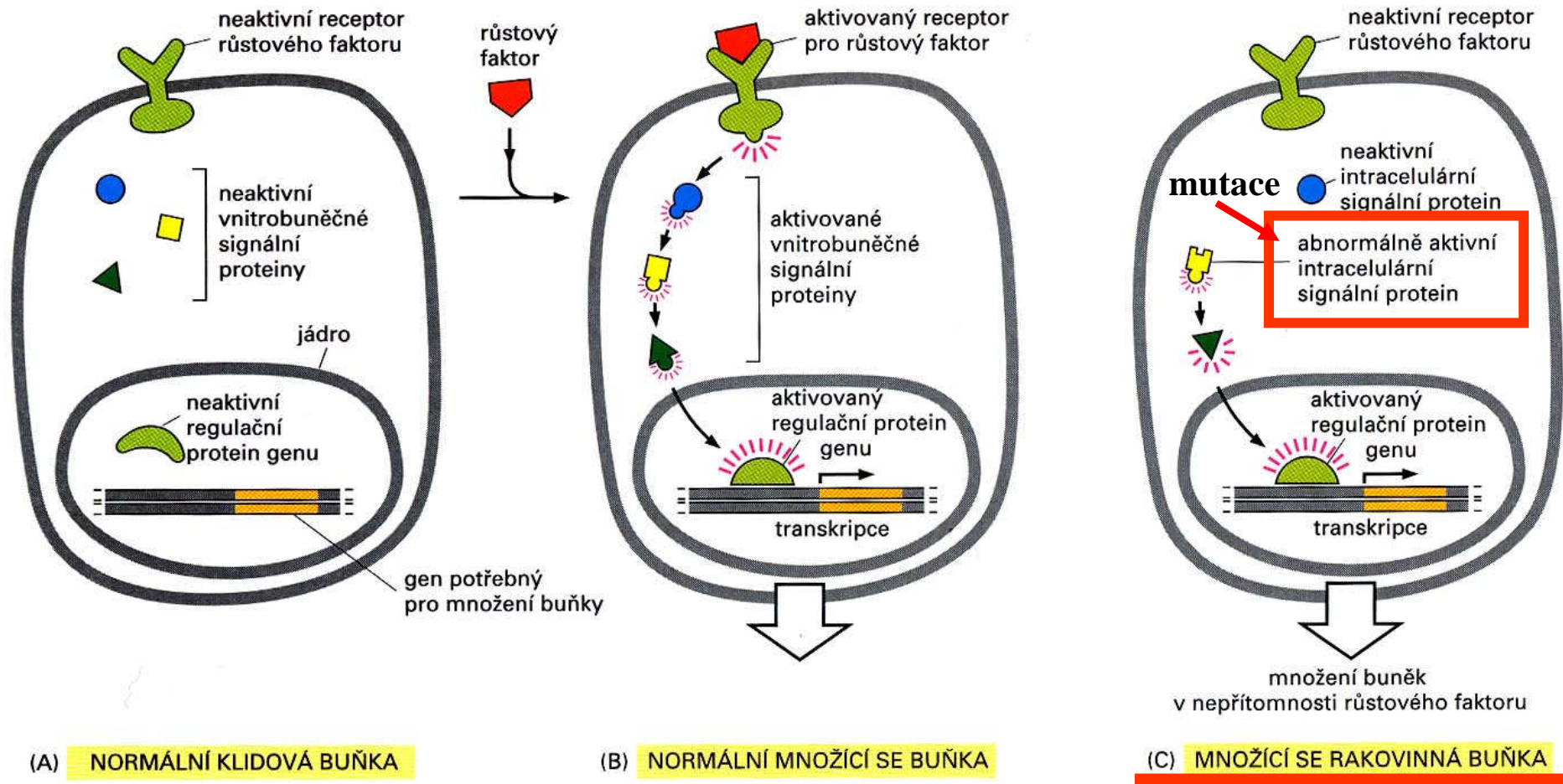


Key: Proteins

●	Lex A;	■	Rec A;	●	X;	■	Y;	▲	Z;
■	inactive	} Rec A protease;	●	inactive	} Lex A repressor.	●			
□	activated		◐	activated					

**LexA = dimer, podrobující se autokatalytickému štěpení za účasti RecA\* (koproteáza) helikální filament RecA-DNA**

# Změny růstových vlastností buněk navozené mutacemi regulačních genů

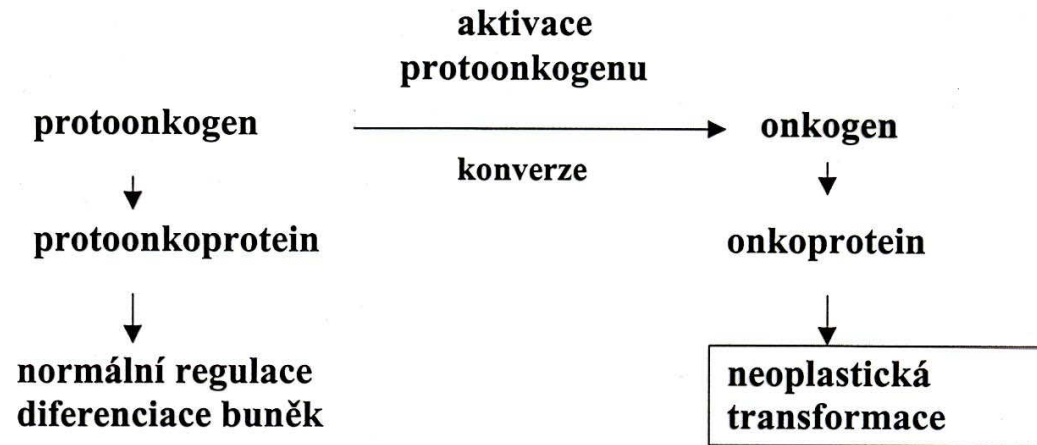




## Mutace týkající se rakoviny

### Dva typy mutací :

- \* **dominantní mutace vedoucí ke vzniku onkogenů**
  - **mutací je v buňce aktivován protein, kodovaný onkogenem (buňky se chovají, jako by byly stále pod vlivem signálu pro dělení buňky)**
  
- \* **recesivní mutace v nádorových supresorových genech (antionkogenech)**
  - **mutacemi se inaktivují proteiny, které normálně brzdí proliferaci (p53, Rb-protein)**
  - **jsou mutovány geny reparující poškození DNA.**



#### Klasifikace protoonkogenů podle funkce jejich produktů

- *protoonkogeny kódující:*

1. Růstové faktory
2. Receptory růstových faktorů
3. Proteinkinázy
4. Produkty podobné G-proteinům
5. Transkripční faktory

#### Umístění protoonkoproteinů v buňkách

- cytoplazmatická membrána
- cytoplazma
- jádro
- sekrece mimo buňku

#### Způsoby aktivace protoonkogenů:

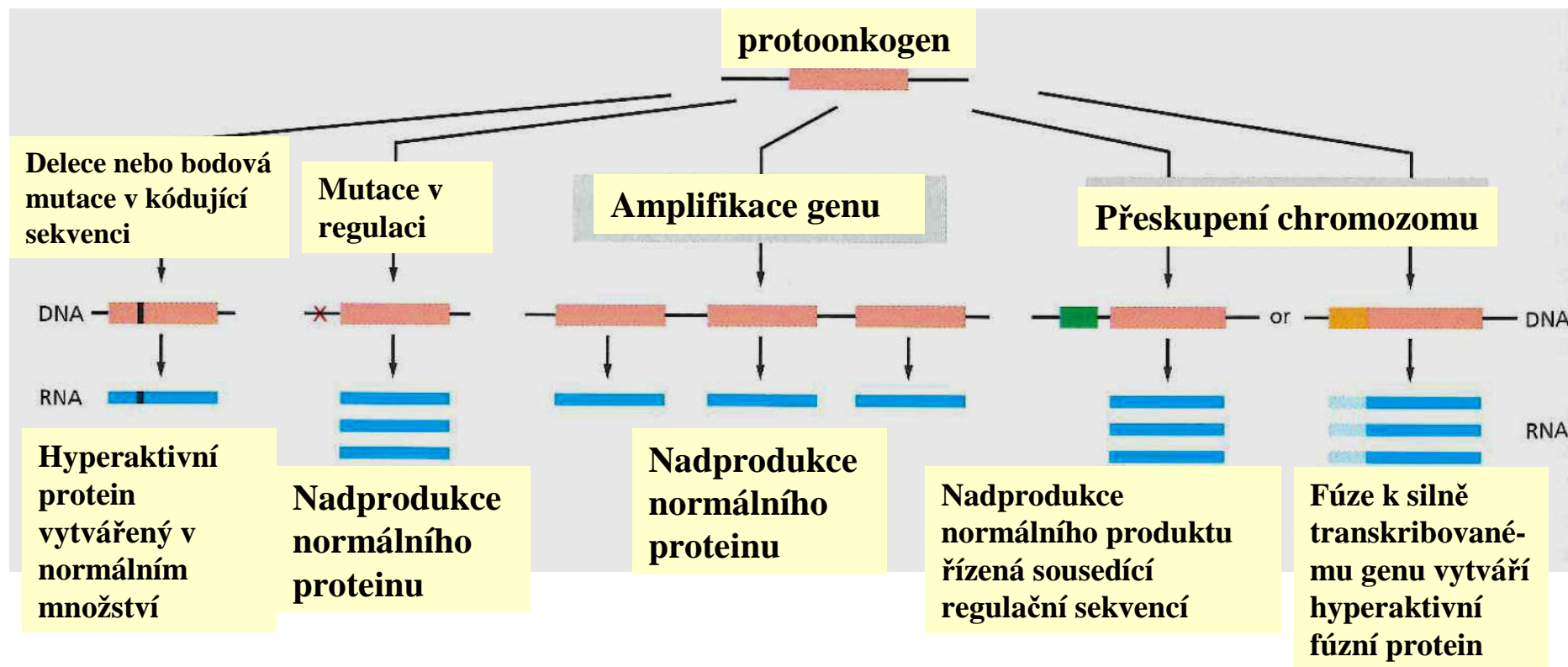
- mutacemi
- amplifikací
- translokací
- promotorem viru (c-onc x v-onc)

#### Obecné rysy **onkoproteinů**

- vytváří se v buňce, kde se normálně netvoří
- vytváří se v nadměrném množství
- vytváří se ve formě, která není regulovatelná

Porucha regulace  
buněčného cyklu

# Způsoby konverze protoonkogenů na onkogeny



## Some Oncogene Proteins Classified by Cellular Location and Function

---

Location	Protein	Function
Secreted	<i>sis</i>	growth factor derived from PDGF
Transmembrane	<i>erbB</i>	EGF receptor, tyrosine protein kinase
	<i>erbB-2</i>	tyrosine protein kinase
	<i>fms</i>	CSF-1 receptor, tyrosine protein kinase
	<i>ros</i>	tyrosine protein kinase
Plasma membrane	<i>src</i>	tyrosine protein kinase
	<i>abl</i>	tyrosine protein kinase
	<i>ras</i>	guanine-nucleotide-binding
Cytoplasm	<i>fes</i>	tyrosine protein kinase
	<i>mos</i>	serine/threonine protein kinase
	<i>erbA</i>	thyroid hormone receptor
Nucleus	<i>myc</i>	DNA-binding protein
	<i>fos</i>	DNA-binding protein
	<i>jun</i>	DNA-binding protein
	<i>Rb</i>	DNA-binding protein?

---

## **Nádorové supresorové geny**

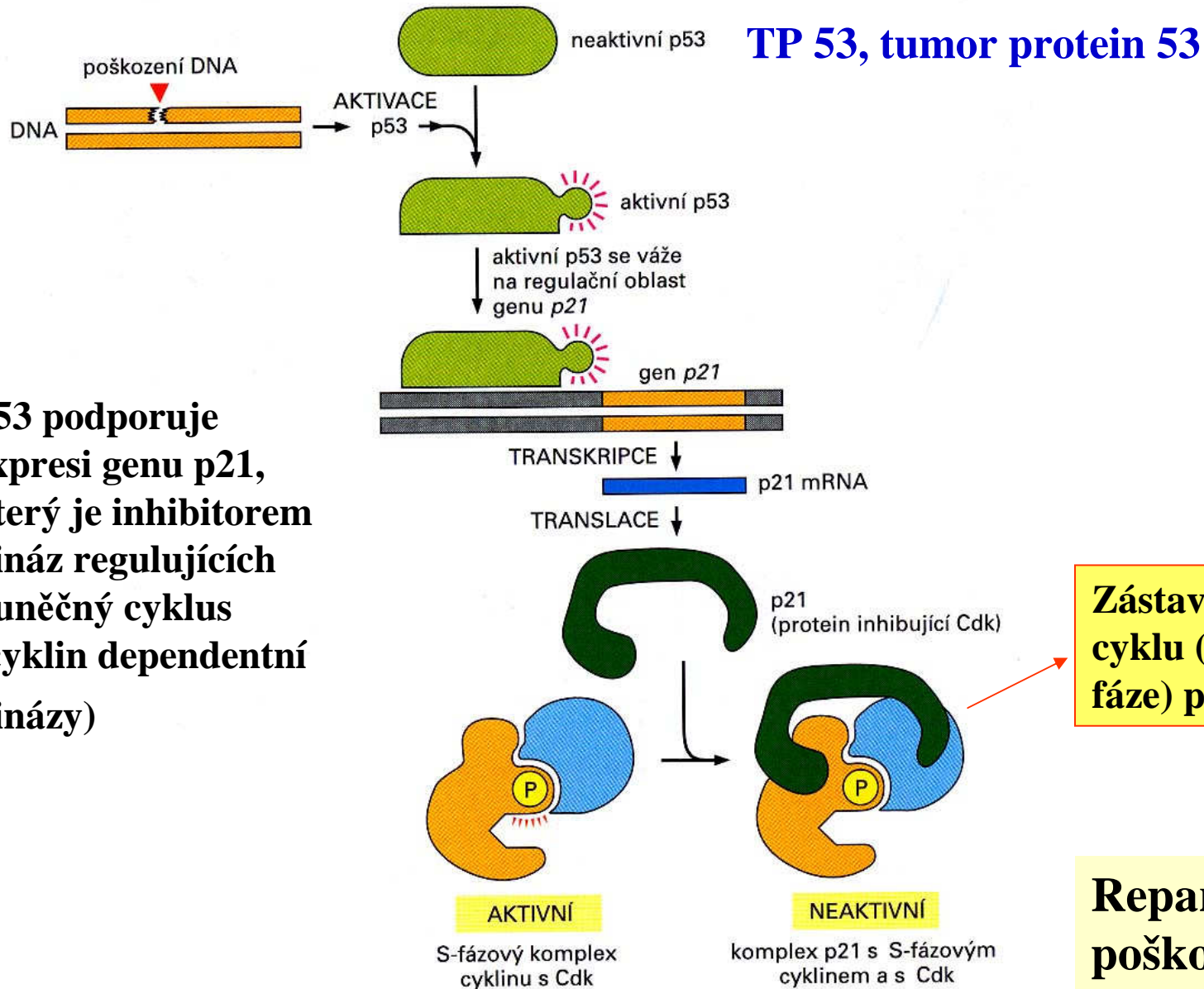
### **Nádorové supresorové geny (antionkogeny)**

- kódují proteiny, které proliferaci buněk potlačují
- mutace v nich vznikají v zárodečných buňkách a dědí se
- mutace vedou k familiálním formám nádorů

### **Protein p53 - strážce genomu**

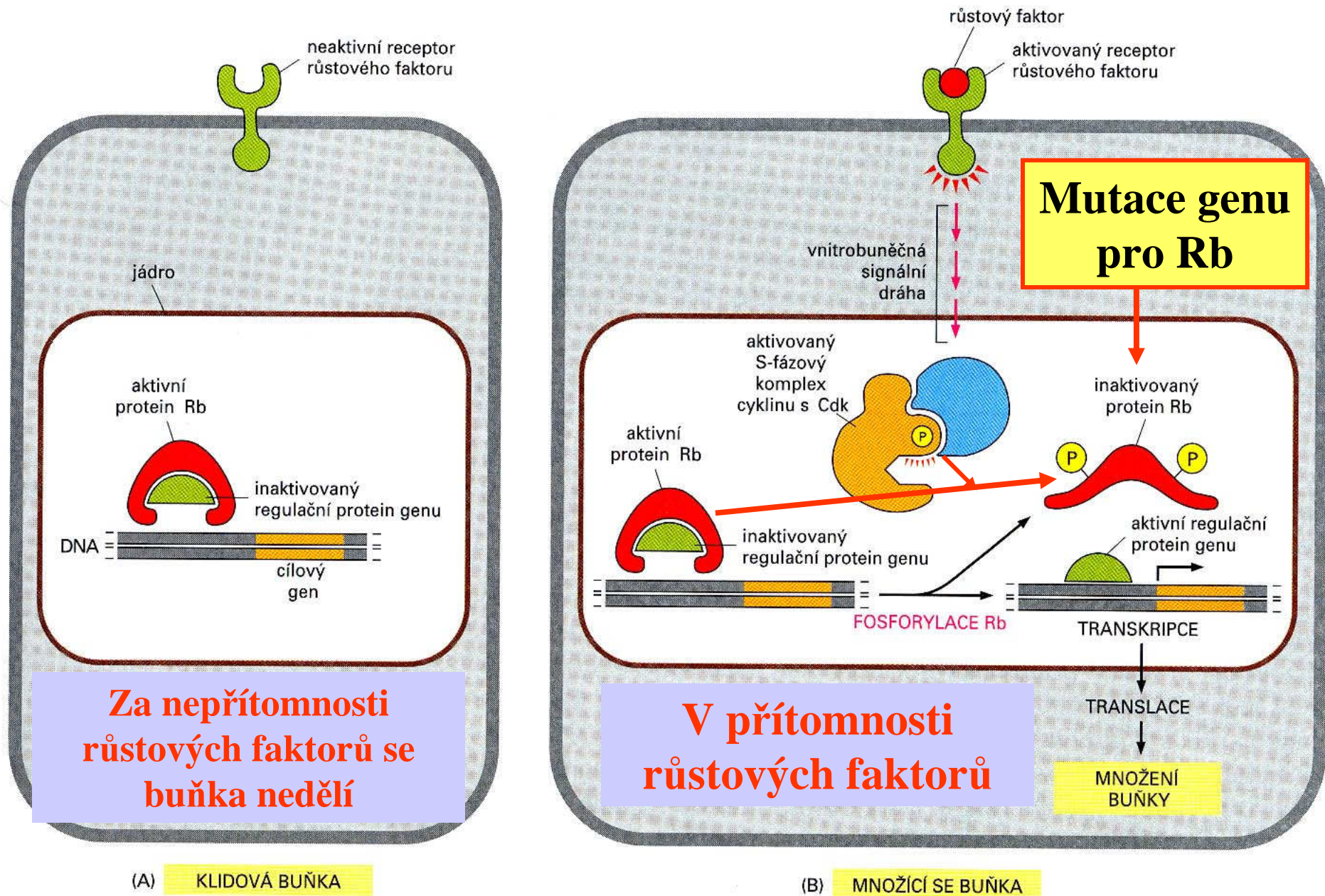
- koordinovaně zastavuje dělení buněk
- aktivuje se vazbou na poškozenou DNA
- stimuluje reparace DNA
- působí jako aktivní TF genů, jejichž produkt brzdí dělení buněk
- stimuluje apoptózu (programovaná buněčná smrt)

# Funkce proteinu p53 při zástavě buněčného cyklu

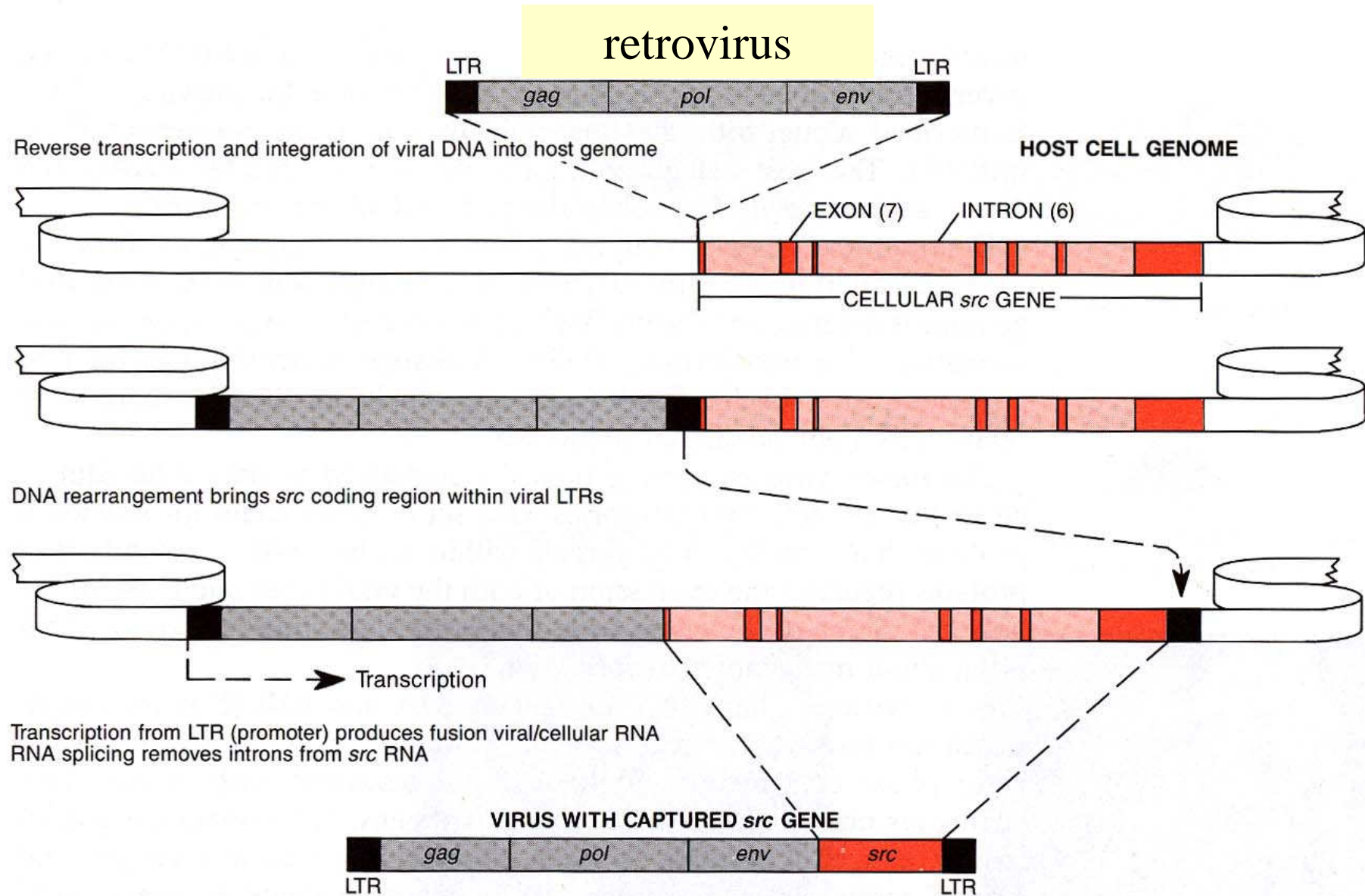


p53 podporuje expresi genu p21, který je inhibítoem kináz regulujících buněčný cyklus (cyklin dependentní kinázy)

# Model stimulace proliferace buněk růstovými faktory a účast Rb-proteinu



# Vznik retrovirů přenášejících onkogeny

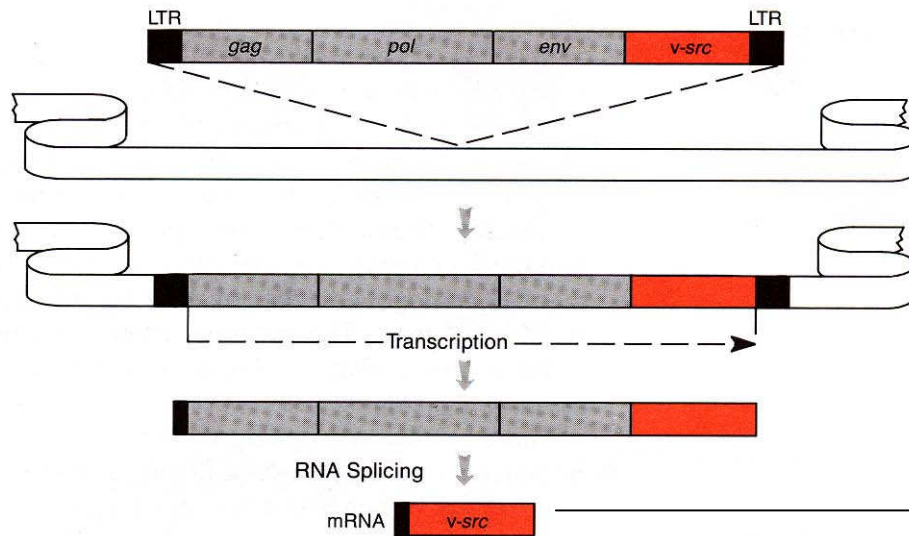


**Capture of the Cellular *src* Oncogene by a Progenitor Rous Sarcoma Virus**



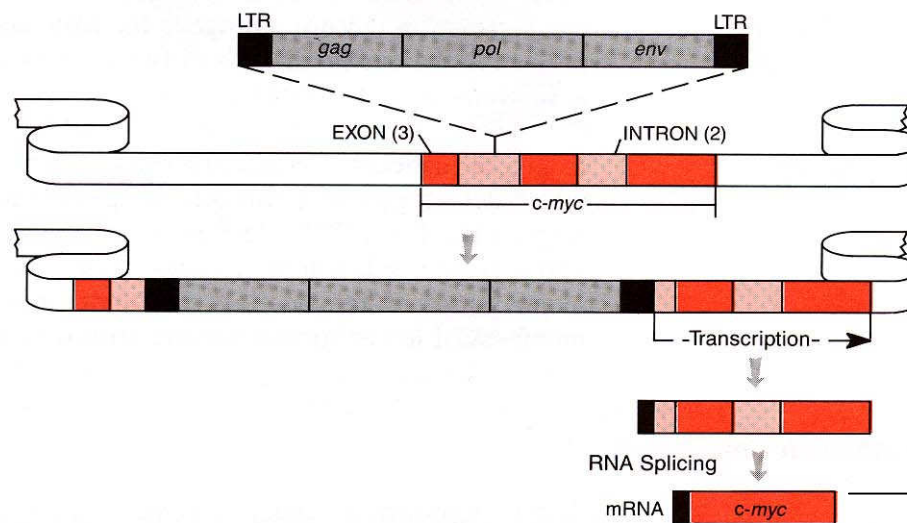
## Akutně a pomalu transformující retroviry

ACUTE TRANSFORMATION: ROUS SARCOMA VIRUS (RSV)



Transdukce onkogenu akutně transformujícími retroviry

CHRONIC TRANSFORMATION: AVIAN LEUKOSIS VIRUS (ALV)



Inzerční aktivace protoonkogenu pomalu transformujícími retroviry

Acute vs. Chronic Transformation by Retroviruses

nádor

## **Rekombinace - proces vzniku nové kombinace genů**

- **obecná (homologická, RecA-závislá) – vyžaduje dlouhé úseky DNA s vysokým stupněm sekvenční homologie**
- **místně-specifická, nehomologická, (ilegitimní) – probíhá mezi molekulami DNA, které obsahují jen krátké specifické sekvence rozpoznávané místně-specifickými rekombinázi, nikoliv RecA-proteinem**

## jednoduchý crossing-over

	Meiotic chromosomes	Meiotic products	<i>GAMETY</i>
Meioses with no crossover between the genes			Parental
			Parental
			Parental
			Parental
Meioses with a crossover between the genes			Parental
			Recombinant
			Recombinant
			Parental

nesesterské chromatidy

## dvojnásobný crossing-over

Possible gene orders	Double recombinant chromatids

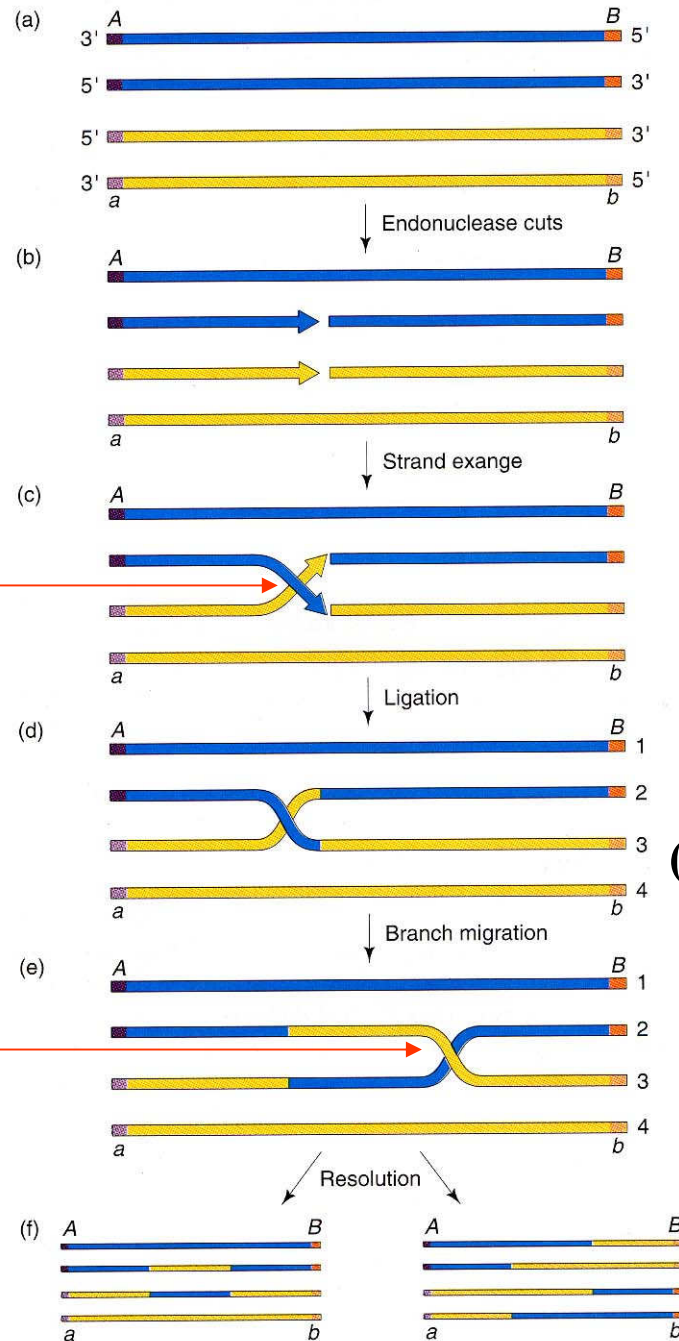
# Průběh homologní rekombinace

Vznik náhodných zlomů

Bod překřížení

Spojení řetězců

Posun bodu překřížení

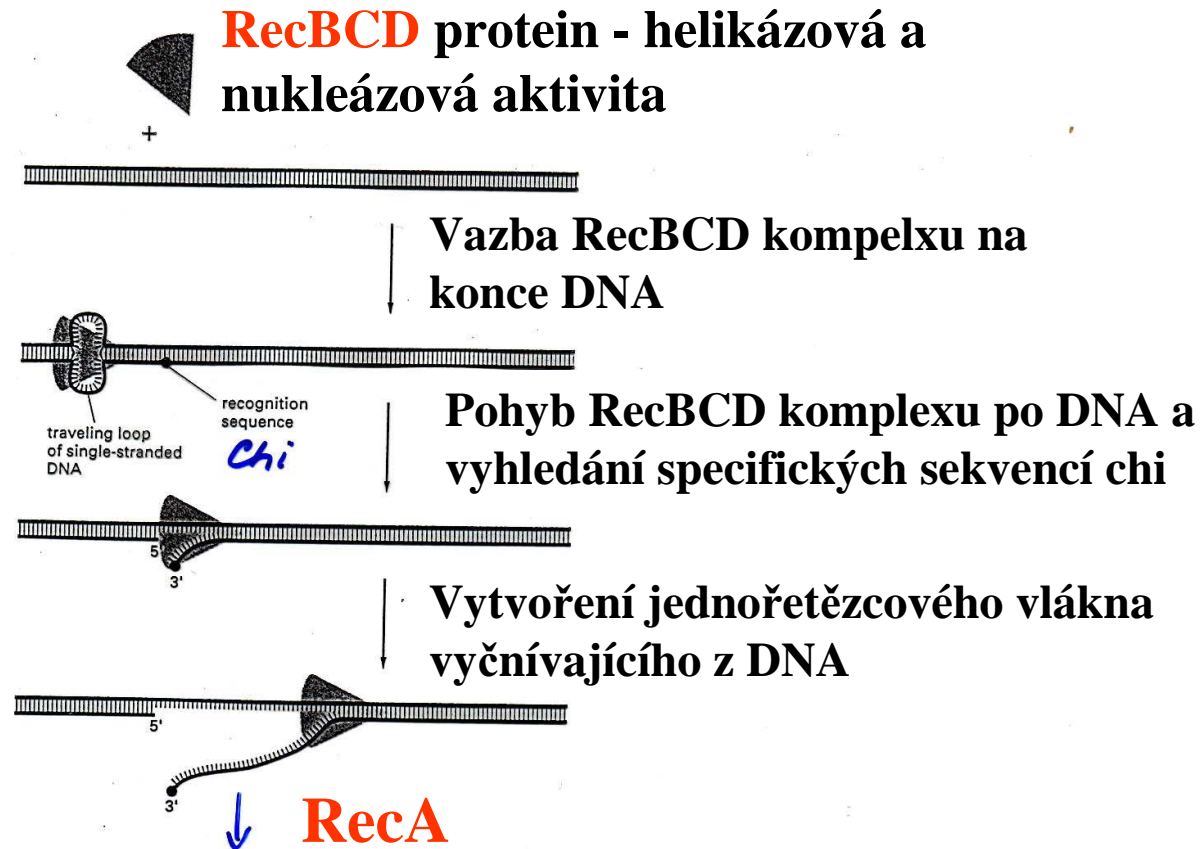


Homologické molekuly dsDNA (dsDNA x ssDNA)

Hollidayovo spojení (Hollidayova struktura)

Dva možné výsledky

# Počáteční fáze procesu homologní rekombinace



Párování jednořetězce s homologickou sekvencí DNA

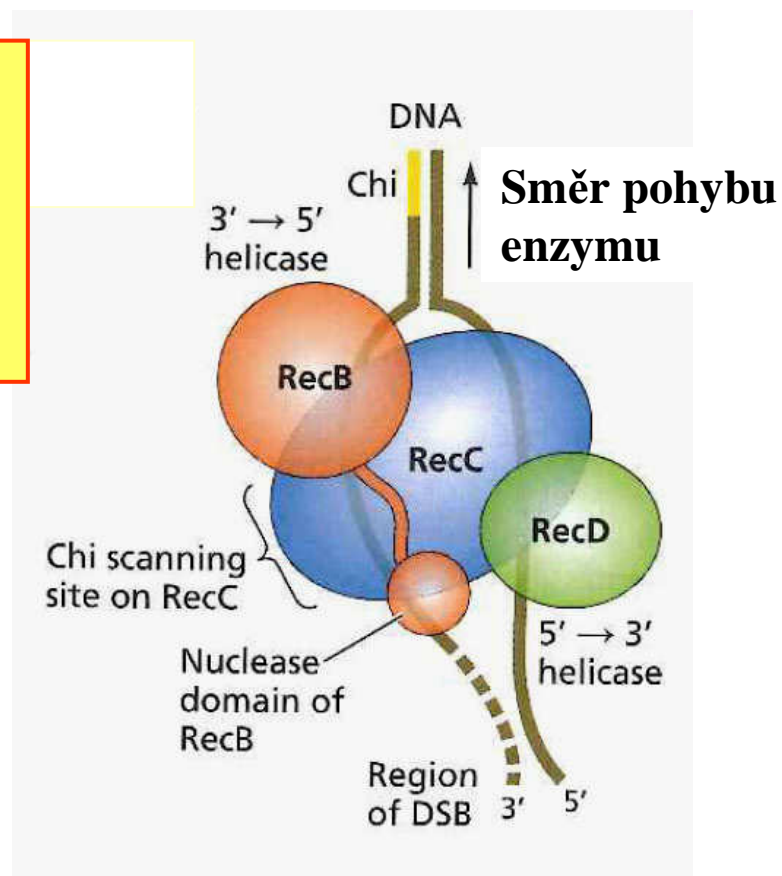
chi = cross-over hot-spot instigator

*E. coli* 5'GCTGGTGG 3'

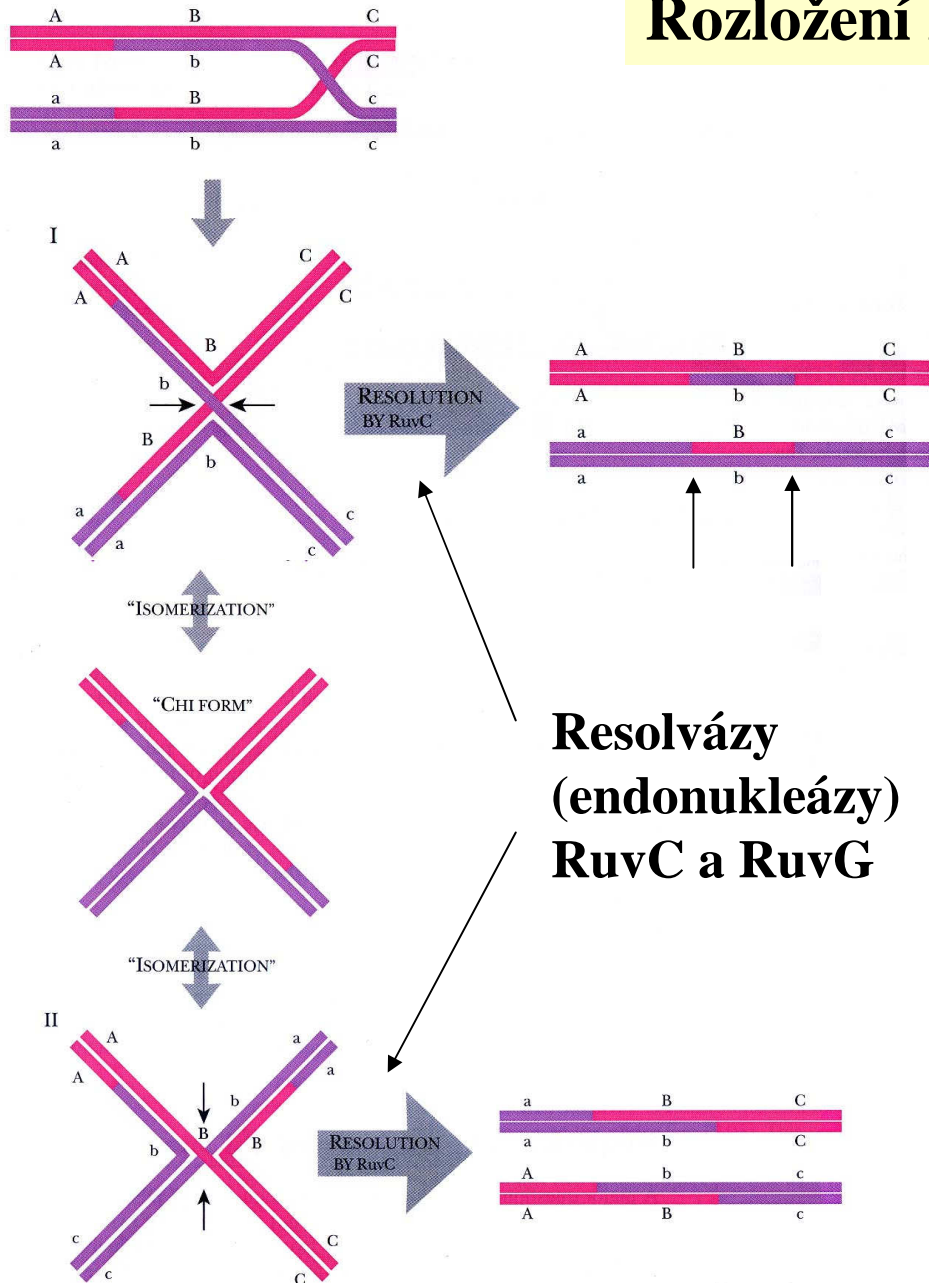
## Schematické znázornění RecBCD komplexu s vyznačením funkcí jednotlivých podjednotek

### Enzymové aktivity:

- helikázová
- endonukleázová
- exonukleázová



# Rozložení Hollidayova spojení



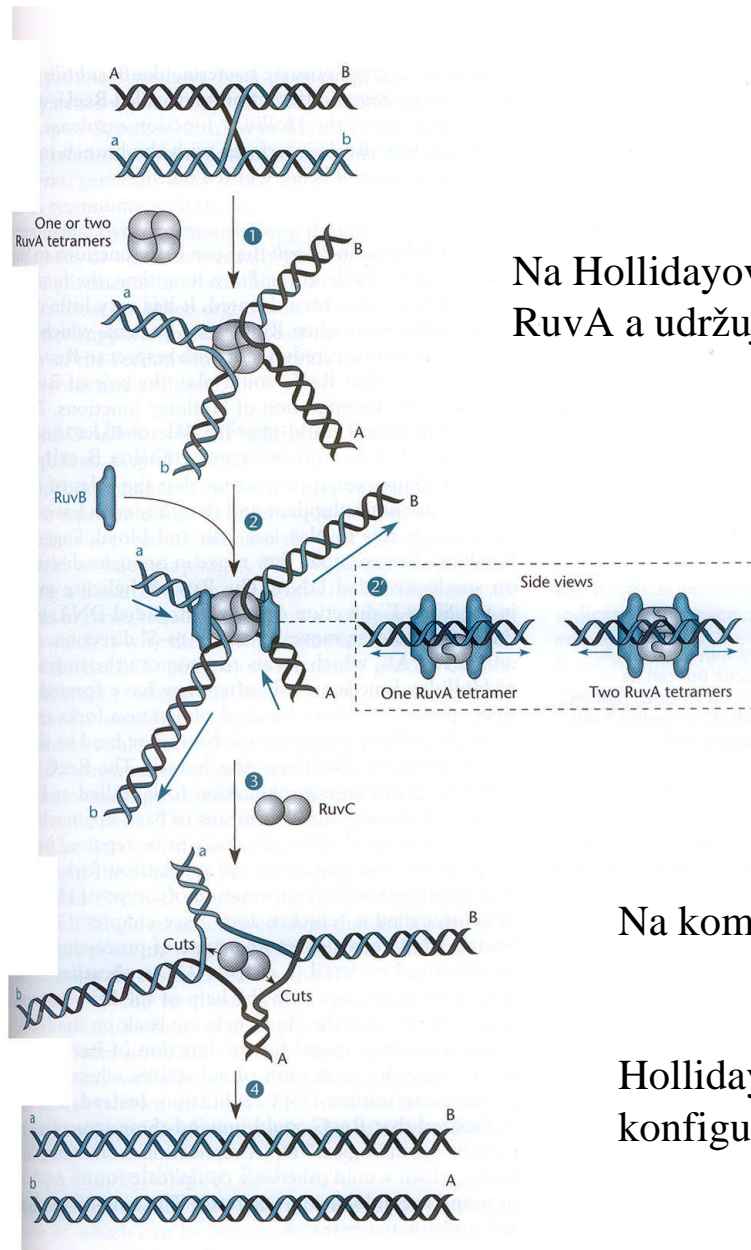
**I. regenerace původních molekul DNA obsahujících krátkou heteroduplexní oblast**

Konformace I a II se neliší

**Resolvázy (endonukleázy) RuvC a RuvG**

**II. vytvoření hybridních molekul DNA obsahujících krátkou heteroduplexní oblast a zaměněné krajní úseky**

# Model působení RuvABC proteinů při rekombinaci



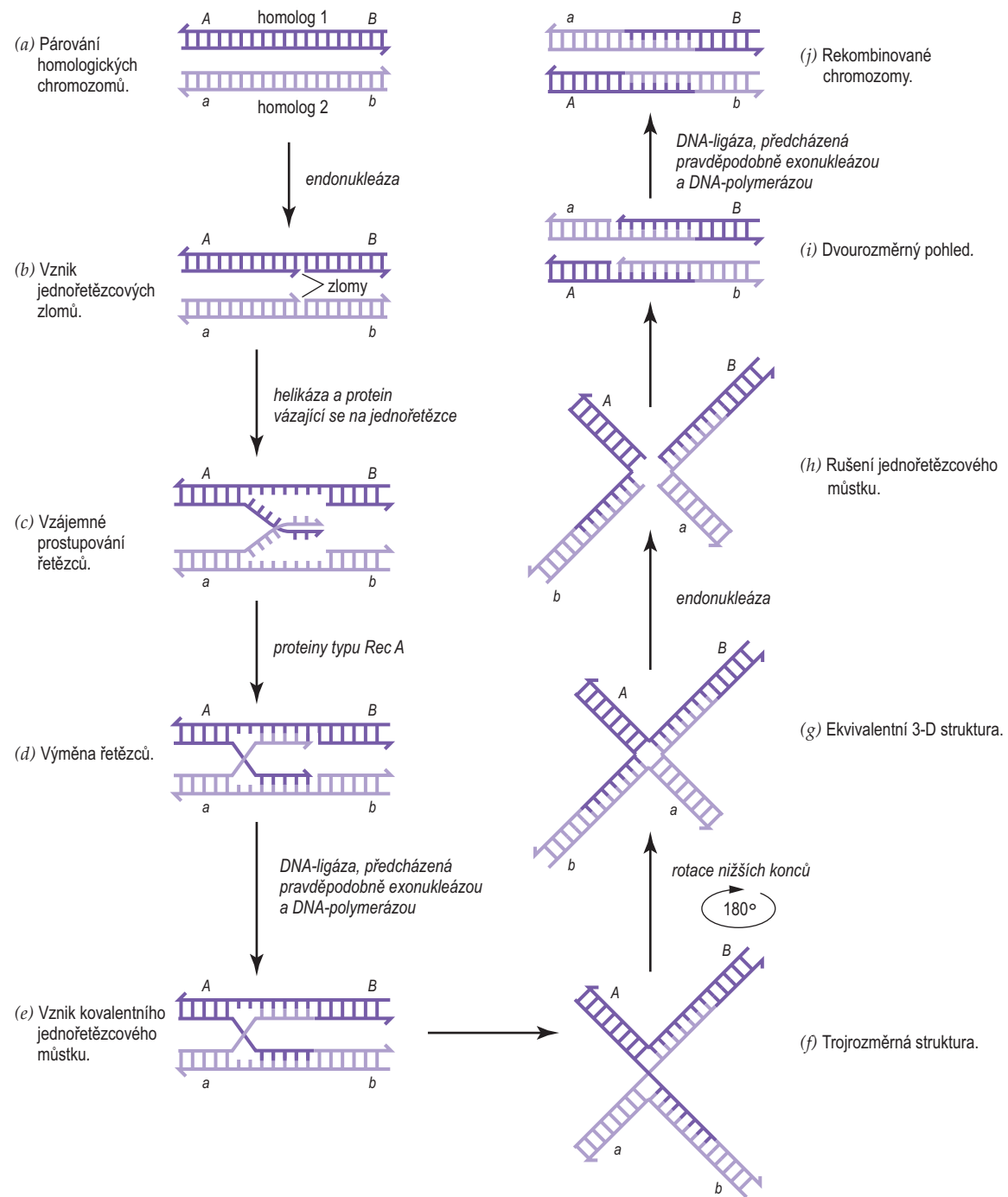
Na Hollidayovo spojení se váže jeden nebo dva tetramery RuvA a udržují ho v planární rovině

Na komplex s RuvA se vážou dva hexamery proteinu RuvB, z nichž každý tvoří kruh okolo řetězce DNA

Na komplex se váže RuvC a štěpí dva z řetezců.

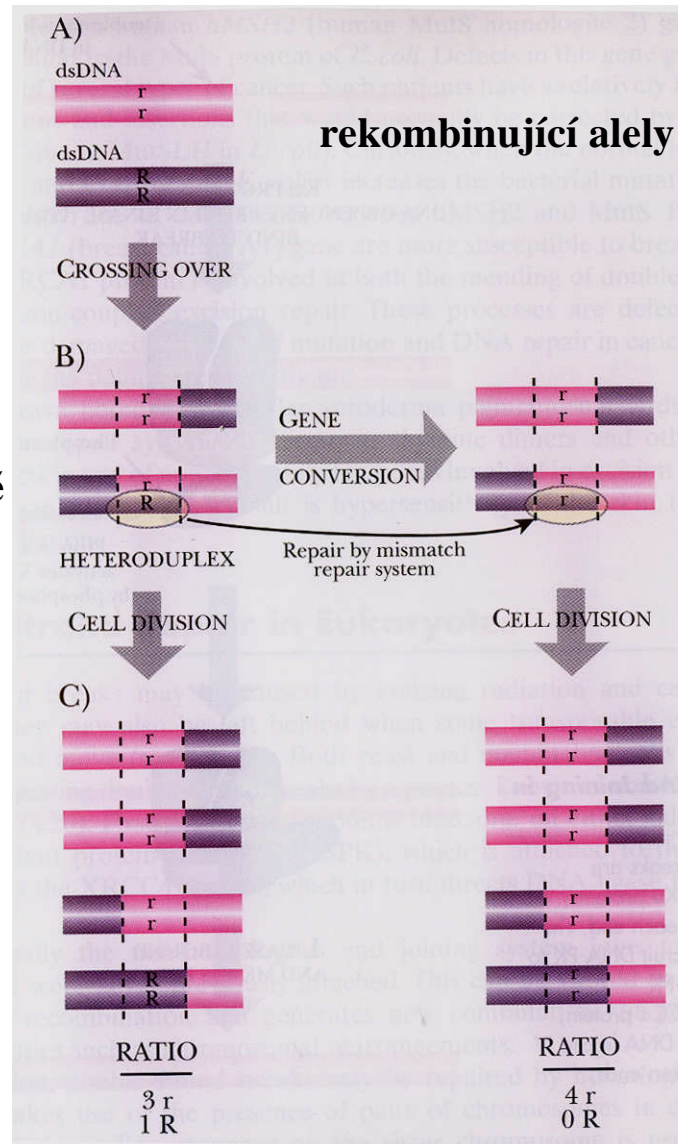
Hollidayovo spojení se rozloží na jednu z možných konfigurací podle toho, které řetězce budou štěpeny.





# Genová konverze následující po crossing-overu

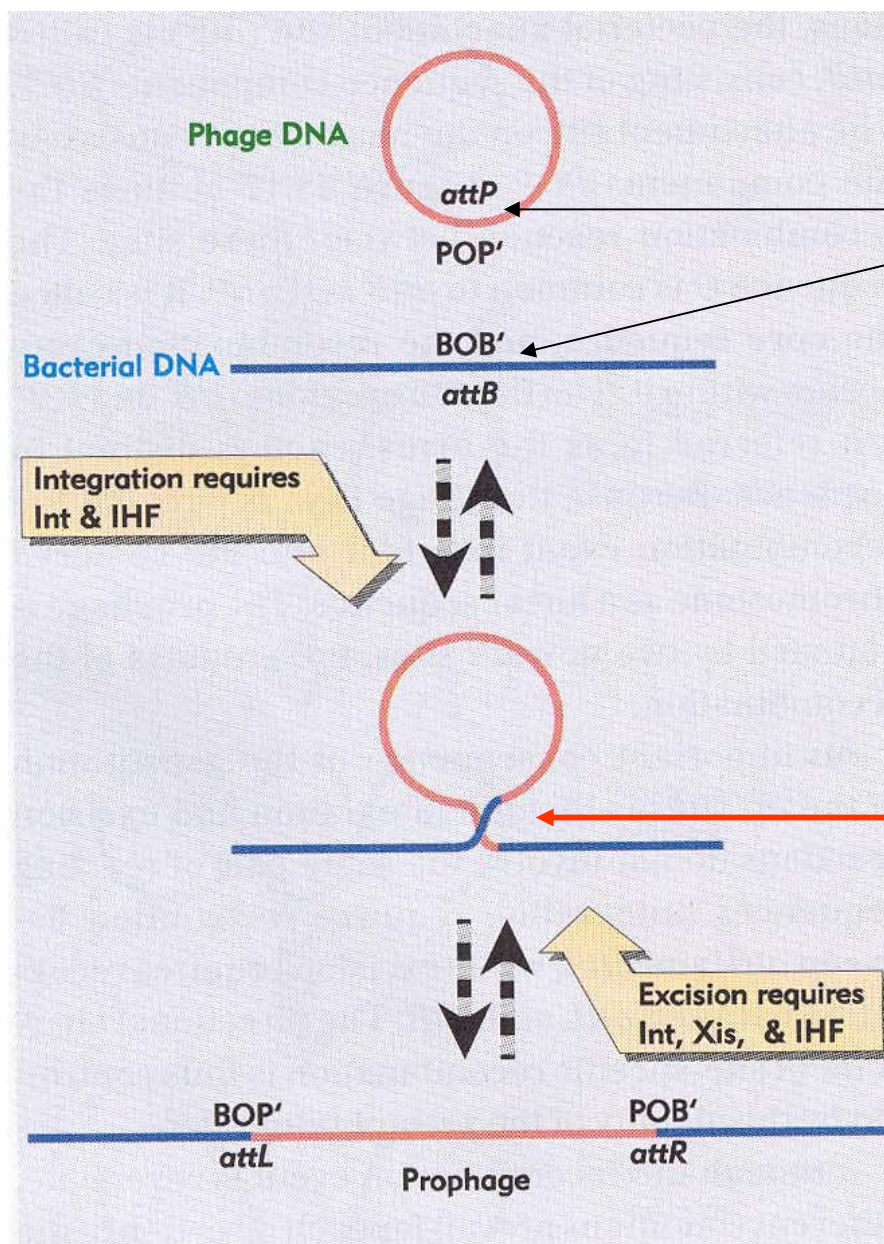
vytvoření krátké heteroduplexní oblasti v místě Hollidayova spojení



Reparace vede k záměně R za r

Opravná syntéza DNA po crossing-overu

# Začlenění fágového genomu do chromozomu hostitelské buňky procesem místně-specifické rekombinace



Krátké homologické sekvence

Integráza, integrační faktor hostitele, excizionáza

Jednoduchý crossing-over

# Začlenění DNA bakteriofága lambda do chromozomu *E. coli*

