

M U N I
S C I

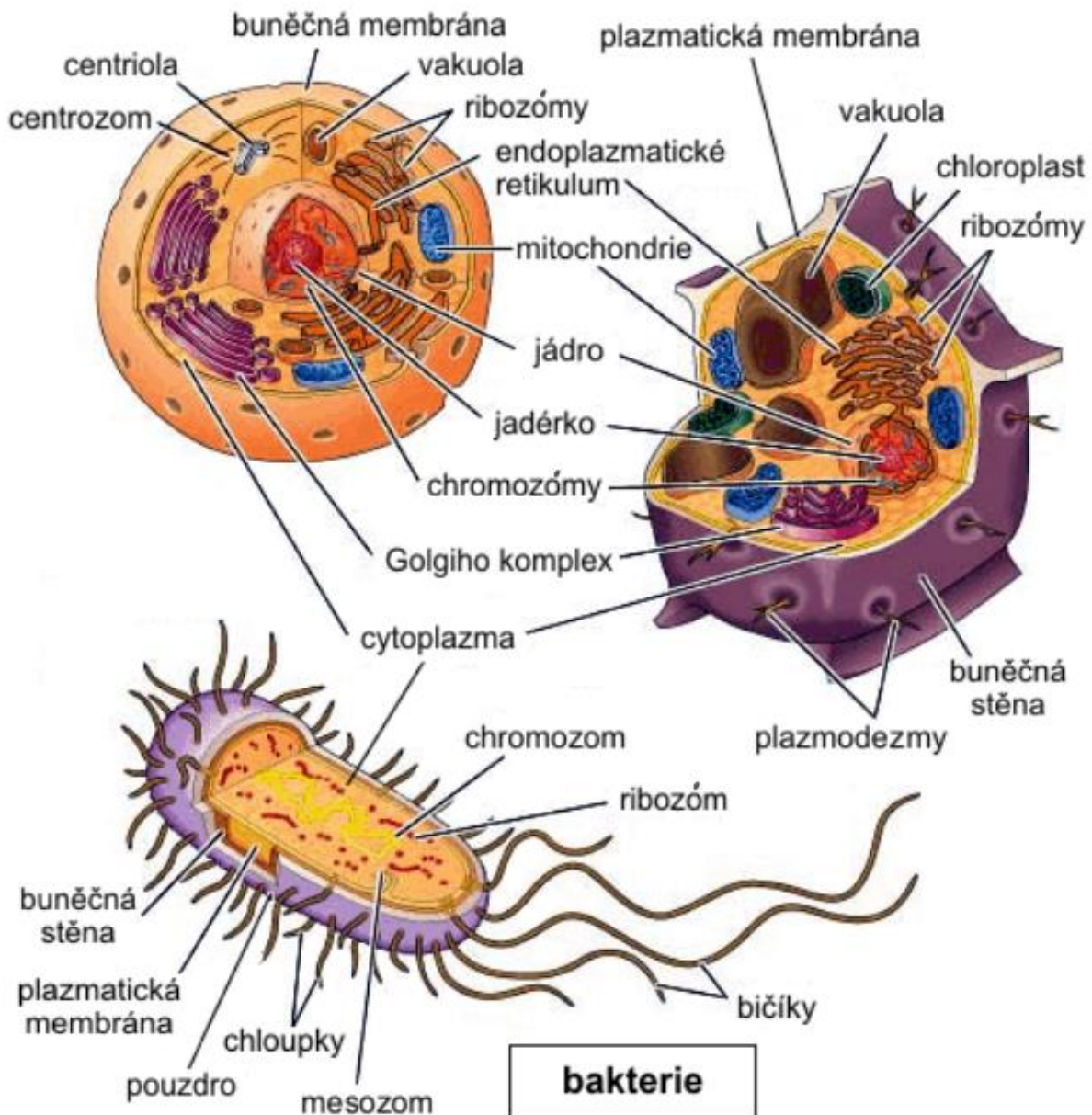
CORE075: Do světa biomolekul

1. Co jsou biomolekuly, kde je najdeme a proč by nás měly zajímat?

Jiří Fajkus

živočišná buňka

rostlinná buňka



Z **biomolekul** jsou složeny všechny živé organismy

Živé organismy se skládají z **buněk** (s výjimkou virů...pokud je ovšem vůbec považujeme za živé organismy)

Biomolekuly tedy najdeme **v buňkách a mezibuněčné hmotě**

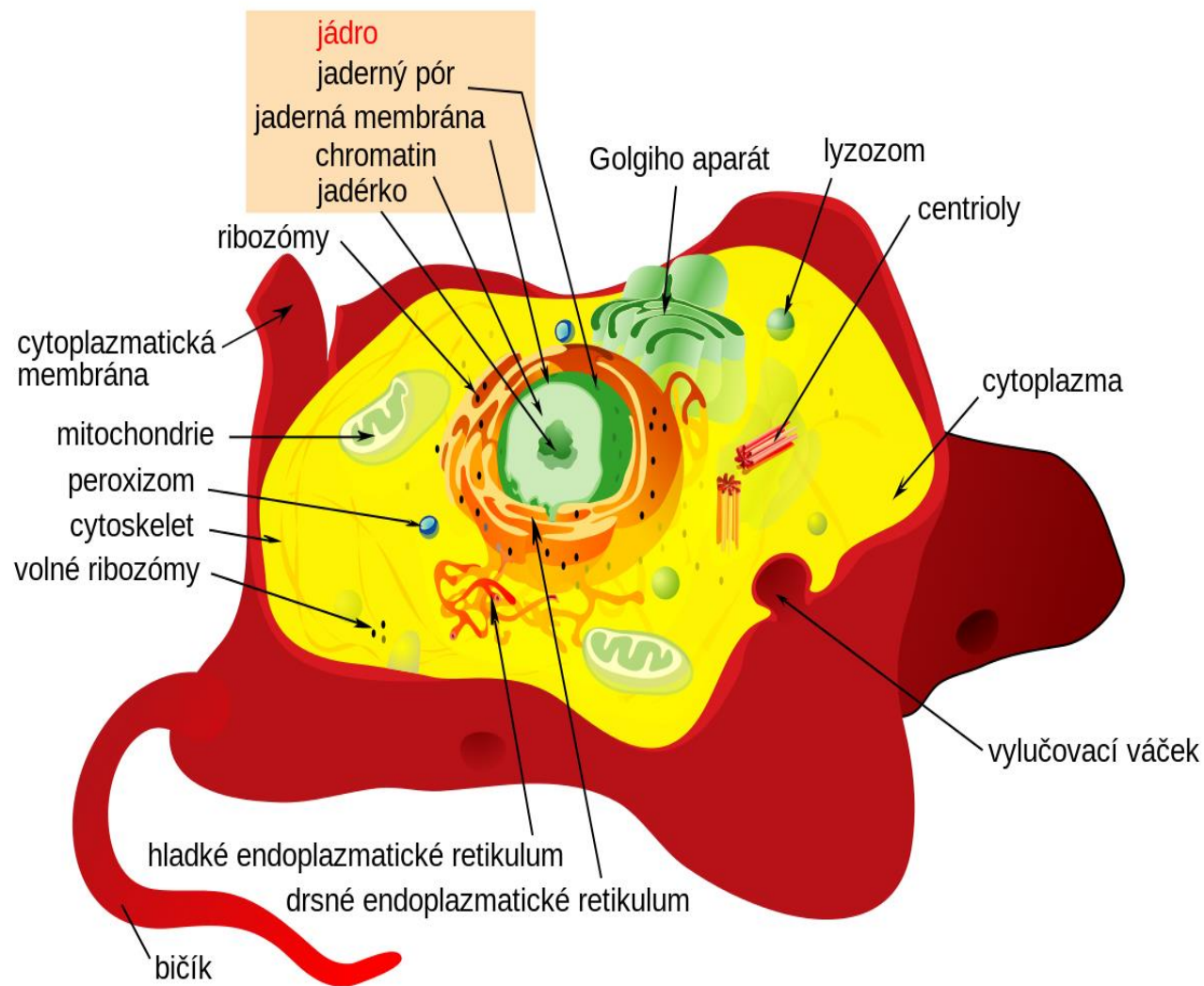
Biomolekuly můžeme třídit různým způsobem, např. na „malé“ a „velké“. Velkým se říká **biomakromolekuly**

Mezi biomakromolekuly patří zejména **nukleové kyseliny, bílkoviny a polysacharidy**

Mezi ostatní (malé) biomolekuly patří např. **cukry** (sacharidy) – kromě polysacharidů, **lipidy, aminokyseliny, vitamíny** aj.

Všechny biomolekuly jsou nějakým způsobem zapojeny do životních procesů buňky. Např. nukleové kyseliny plní role informačních molekul pro uchování a přenos genetické informace. Bílkoviny slouží např. jako enzymy umožňující metabolismus živin nebo jako strukturní složky buněk, polysacharidy tvoří např. základní součást buněčných stěn, lipidy a jejich deriváty jako základ buněčné (cytoplazmatické) membrány, cukry jsou hlavním zdrojem energie...

Živočišná buňka



•**Jádru** – zde je v případě eukaryot hlavní část genetické informace (genomu)

•**Mitochondrie** (vzniklé endosymbiózou). V buňce až několik set. Mají vlastní genom, ribozomy, proteiny...V mitochondriích se uskutečňuje buněčné dýchání - oxidace glukózy a jiných živin, čímž se vytváří energie. Tato energie zabezpečuje životní děje v buňce.

•**Endoplazmatické retikulum (ER)**- membránový systém. Na některé jeho membrány jsou připojeny ribozomy, na kterých se syntetizují buněčné bílkoviny.

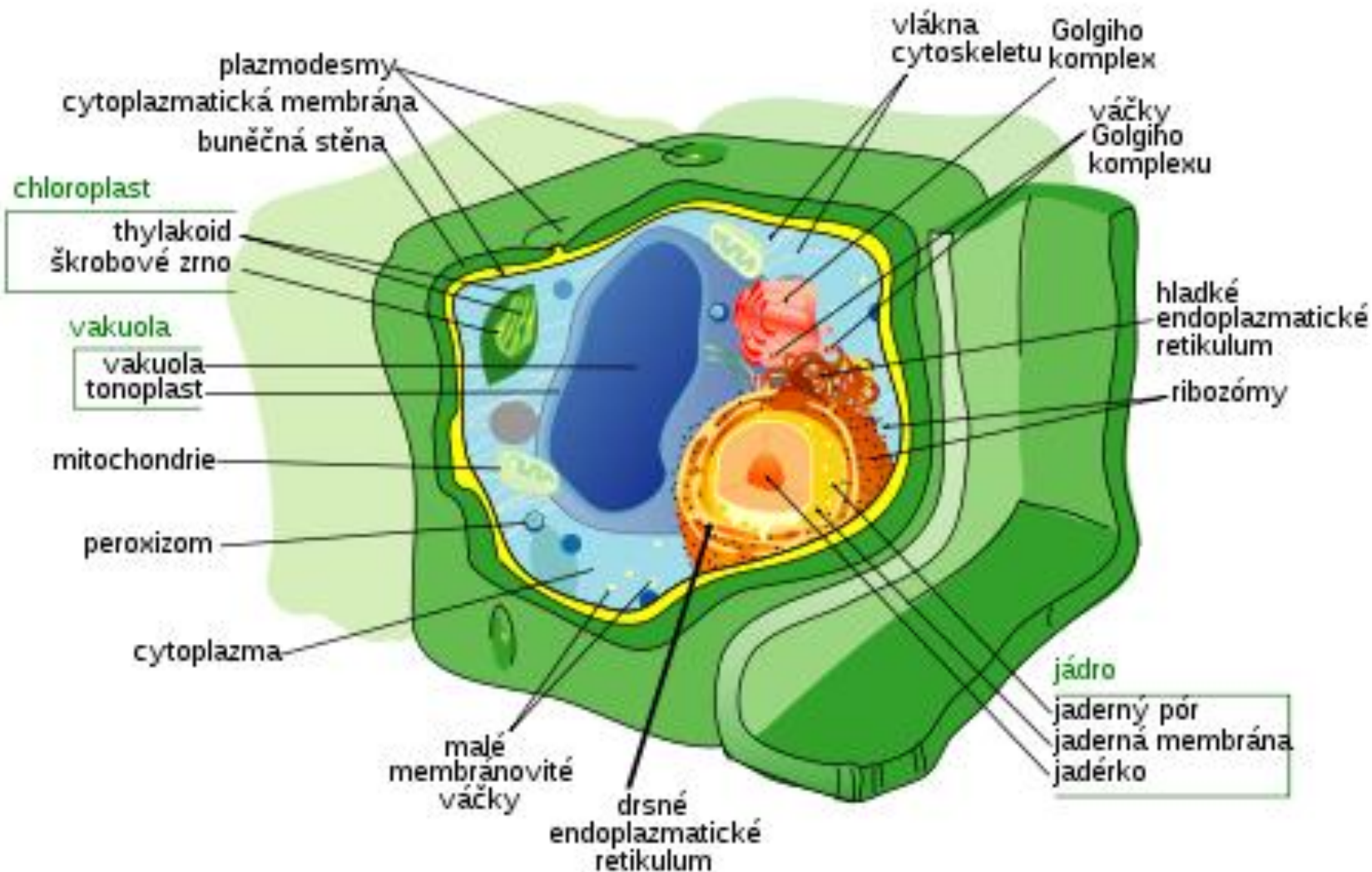
•**Golgiho systém** je soustava měchýřků, ve kterých se uskutečňují biochemické reakce upravující látky dopravované sem z drsného a z hladkého ER v malých váčcích. V živočišných buňkách se takto zpracovávají bílkoviny, lipidy a steroidy.

•**Lysozomy** - měchýřky tvořené cytoplazmatickou membránou uzavírající enzymy.

•**Cytoplazma** je hmota, která vyplňuje obsah buňky.

•Zásobní látkou živočišných buněk je polysacharid **glykogen** složený z propojených molekul glukózy.

Rostlinná buňka a její specifické rysy

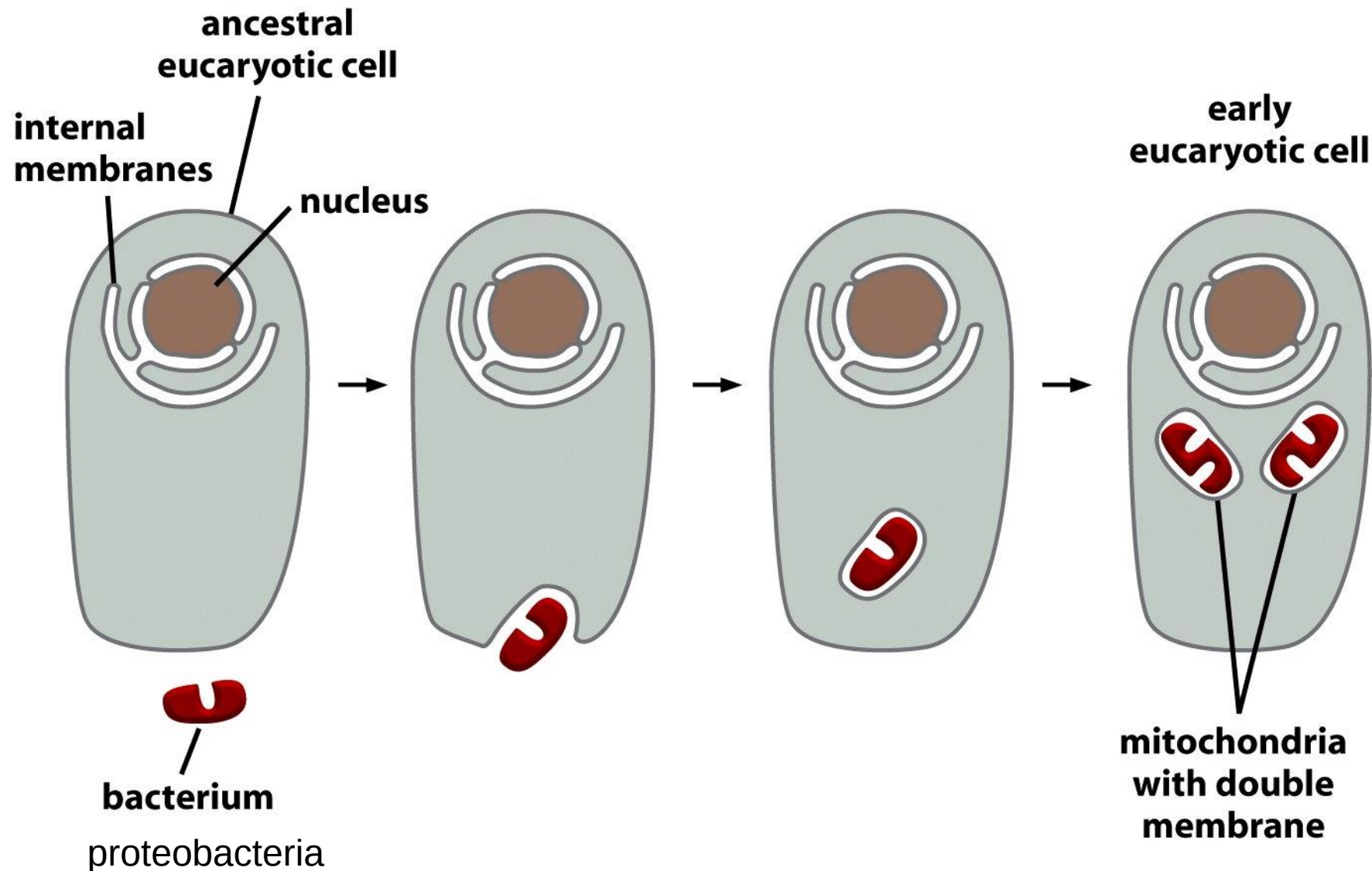


- **Centrální vakuola** obsahuje organické i anorganické látky a je obklopená membránou zvanou tonoplast.
- **Buněčná stěna** je složená z celulózy a hemicelulózy, pektinu a mnohdy i ligninu
- Mezbuněčné spoje- **plazmodezmy**, otvory v primární buněčné stěně, skrz něž prochází cytoplazmatická membrána a provazce ER
- **Plastidy** vzniklé endosymbiózou. Patří k nim především **chloroplasty**, obsahující chlorofyl a biomolekuly sloužící k fotosyntéze, u mnohých rostlin také amyloplasty, obsahující škrob a chromoplasty bohaté na barevné pigmenty bez fotosyntetické funkce.
- Zásobní látkou je **škrob** (rovněž z podjednotek glukózy).

Endosymbiotický původ mitochondrií

MBoC, 2008

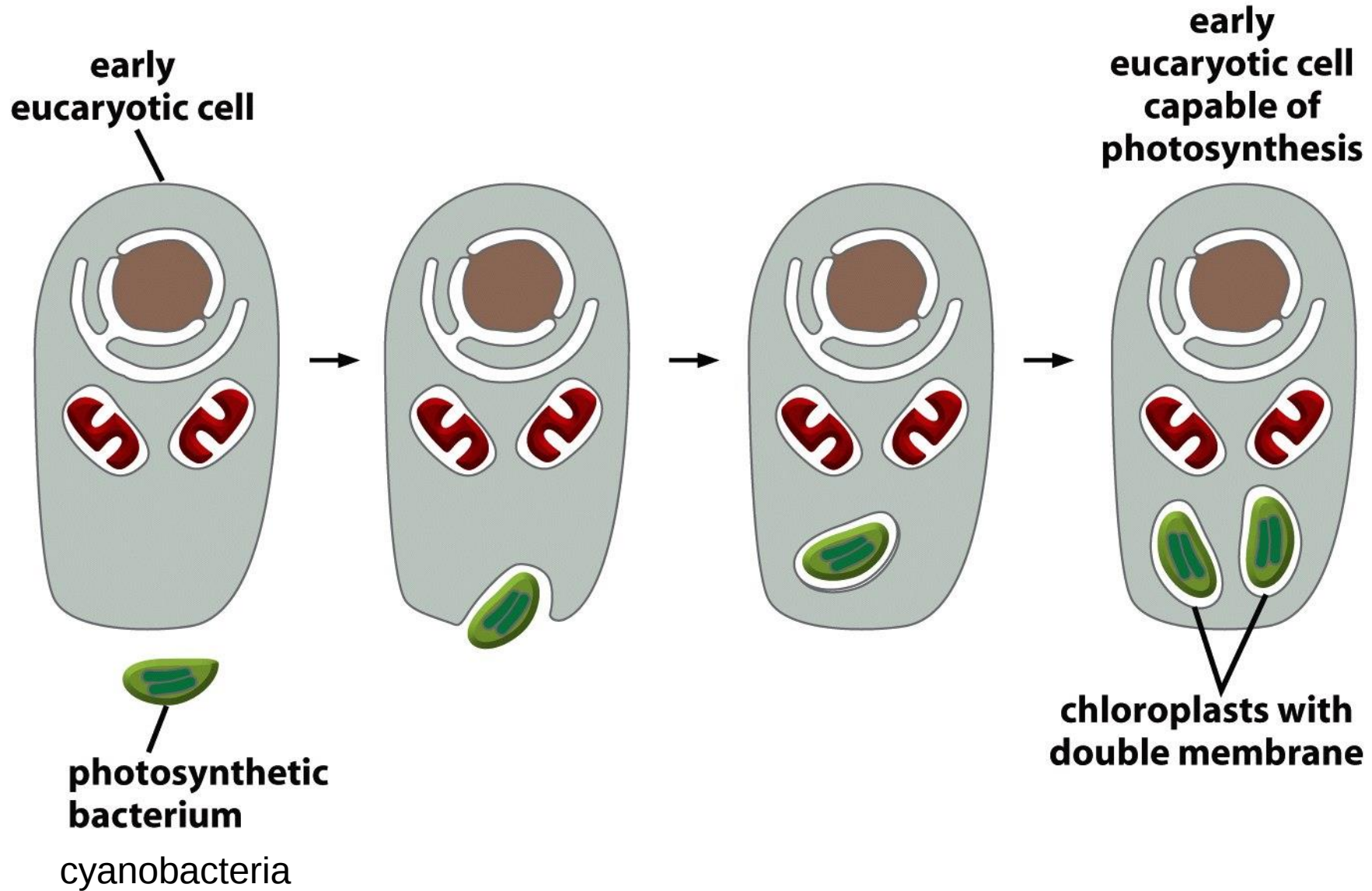
- Konstantin Merežkovskij 1905 **teorie symbiogeneze** (dokonce i jádro vzniklo jako kolonie endosymbiontů)



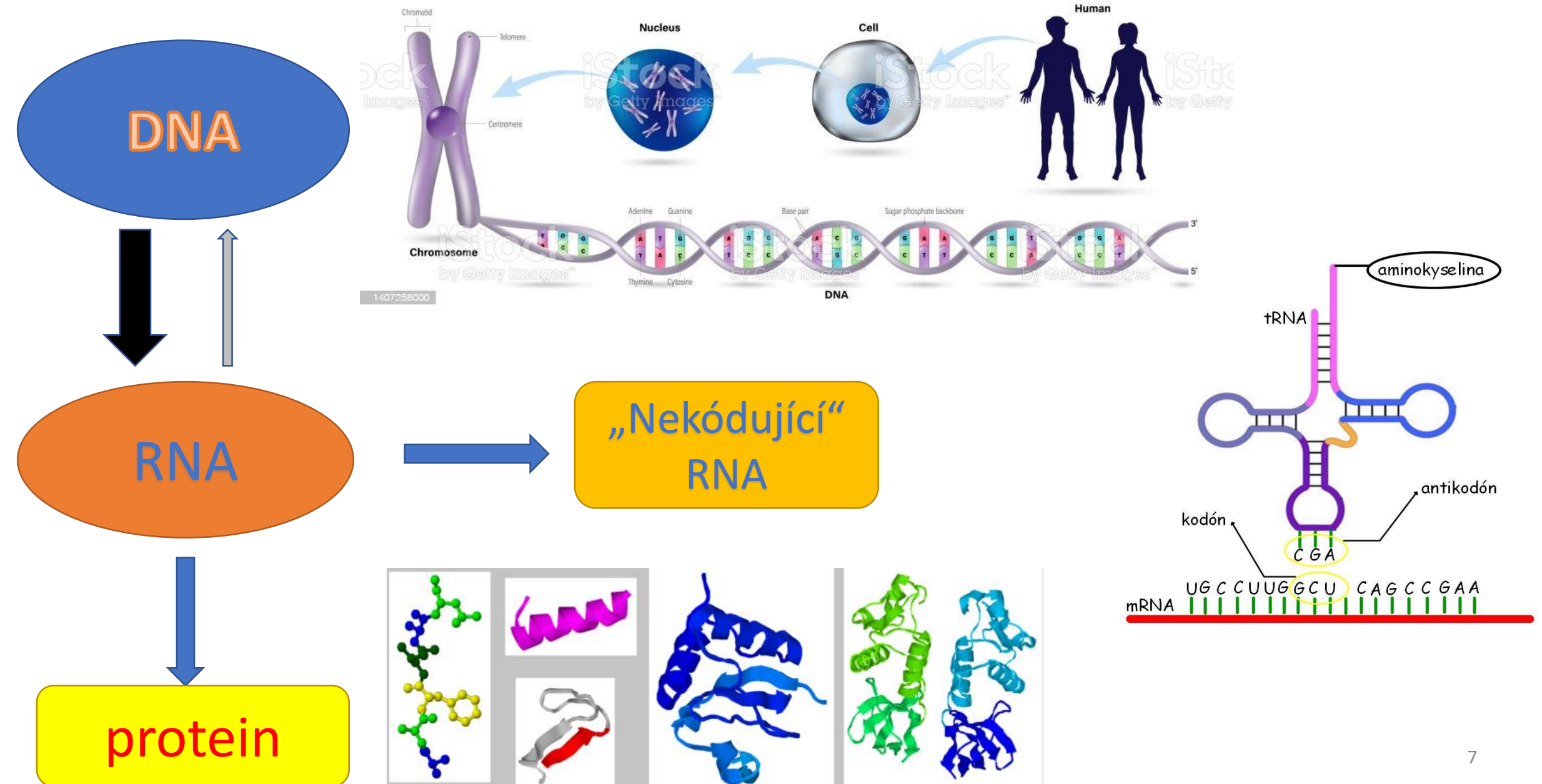
Endosymbiotický původ chloroplastů

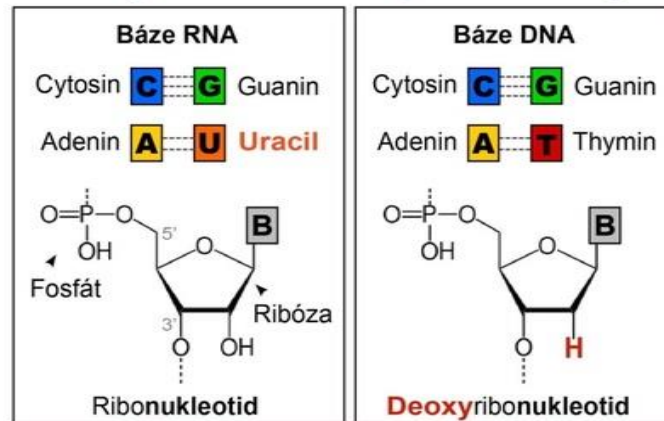
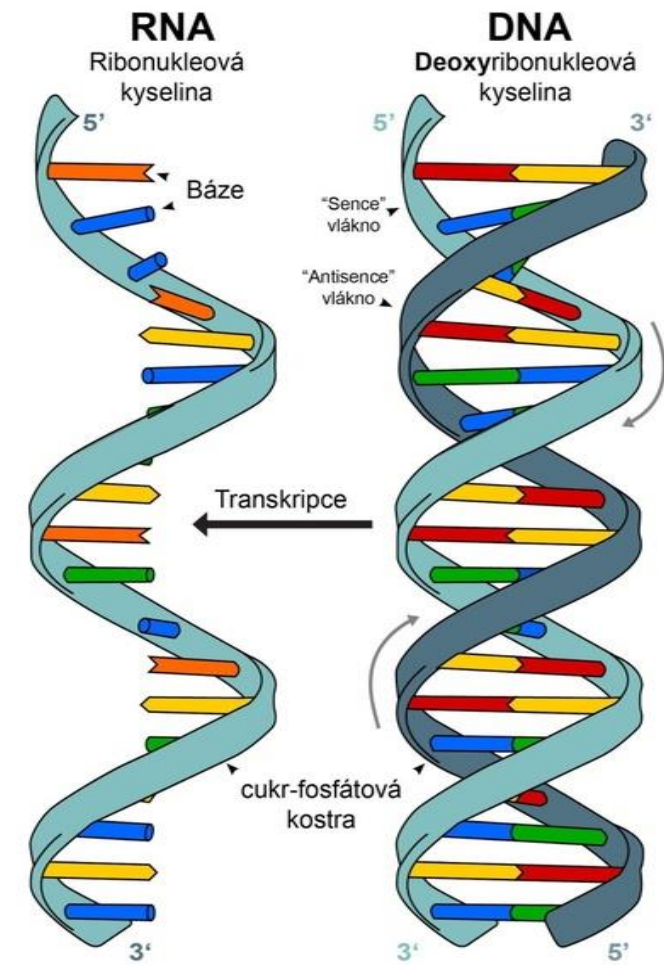
MBoC, 2008

- Andreas Schimper (1856-1901): 1883 plastidy jako symbionti



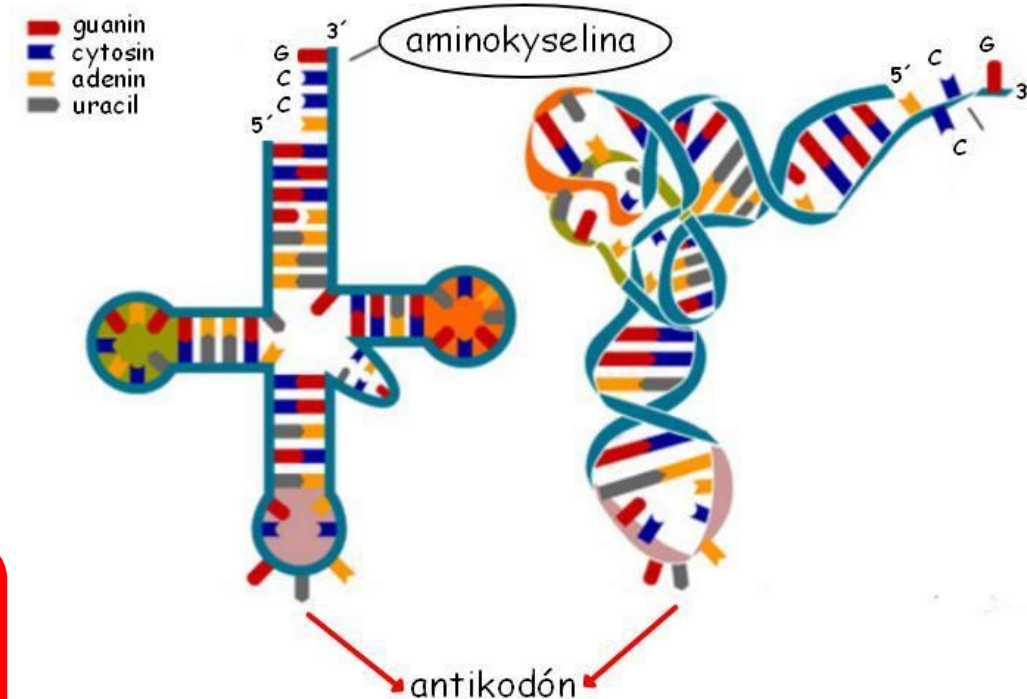
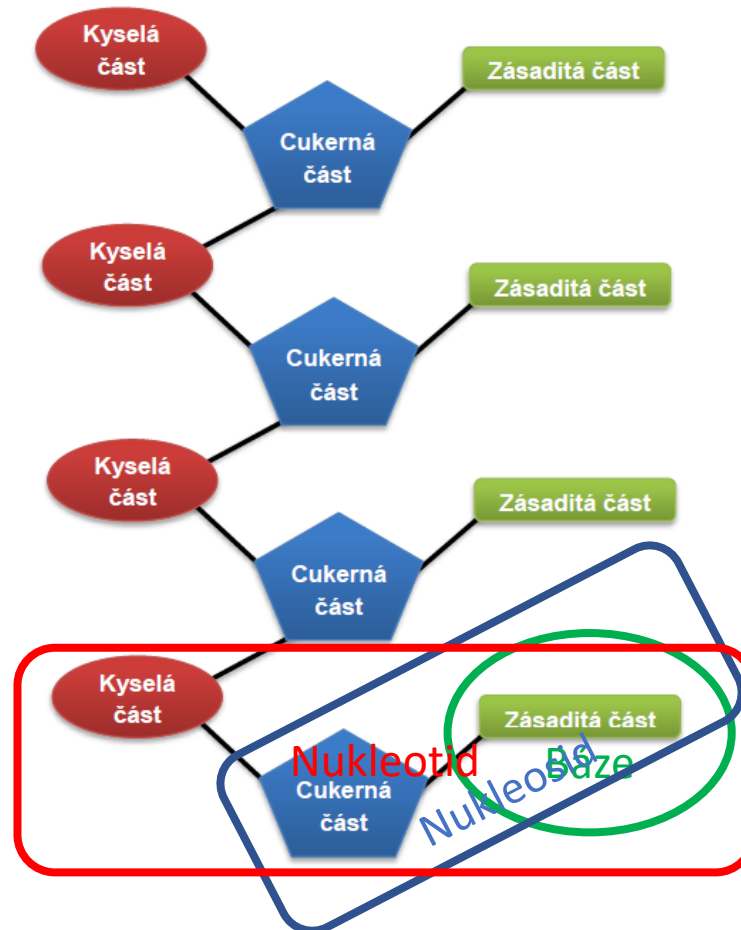
Informační biomakromolekuly - nukleové kyseliny a proteiny





Obecná struktura nukleových kyselin: Dvoušroubovicová struktura DNA je založena na vzájemné **komplementaritě bází**. Pořadí bází v řetězcích DNA/RNA (primární struktura), resp. trojice po sobě následujících bází, definuje jednotlivé aminokyseliny a jejich pořadí v řetězci proteinu (tzv. genetický kód) - viz dále.

RNA má kromě primární struktury i schopnost prostorového uspořádání do sekundární a terciární struktury – např. transferová RNA (tRNA) na obrázku vpravo. Díky tomu může RNA plnit i jiné funkce než přenos informace – např. i katalýzu.



Předpokládá se, že **první živé systémy (LUCA)** fungovaly **na bázi RNA** – vzhledem k jejím schopnostem jak skladování a přenosu genetické informace, tak i (auto)katalytických reakcí – např. štěpení a spojování RNA.

Definice života? Jaké je minimum jeho atributů?

Funkční propojení mezi nukleovými kyselinami (NA) a proteiny se vytvořilo teprve později a došlo k specializaci funkcí (NA-genetická informace pro syntézu proteinů, proteiny jako enzymy pro biochemické procesy (včetně syntézy NA), a stavební prvky buněk). Funkce skladování genetické informace převzala od RNA chemicky stabilnější DNA (dosud ale RNA funguje jako genetická informace některých virů). Proteiny převzaly většinu katalytických funkcí.

RNA (*Last Universal Common Ancestor*, LUCA) – poslední společný předek všech dnešních organismů

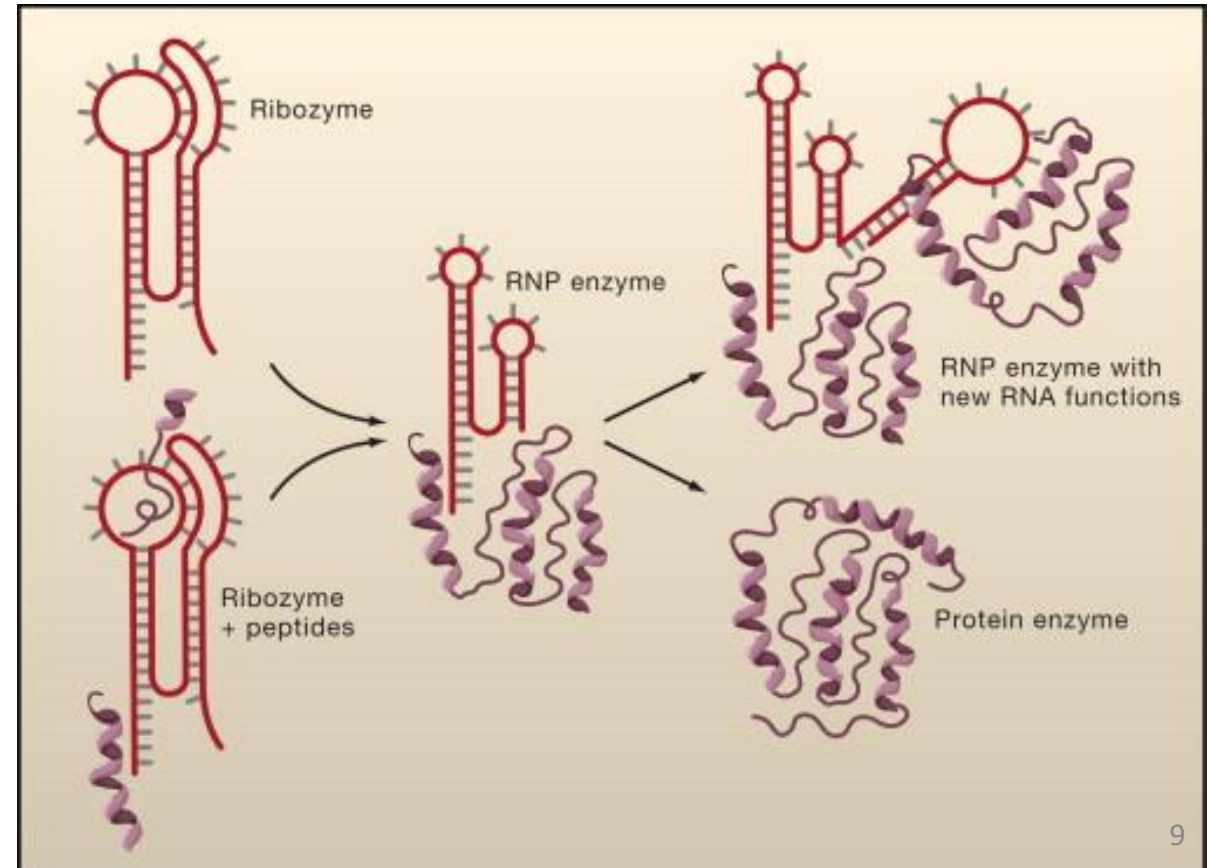


Dnešní organismy (prokaryota, eukaryota)

DNA

RNA

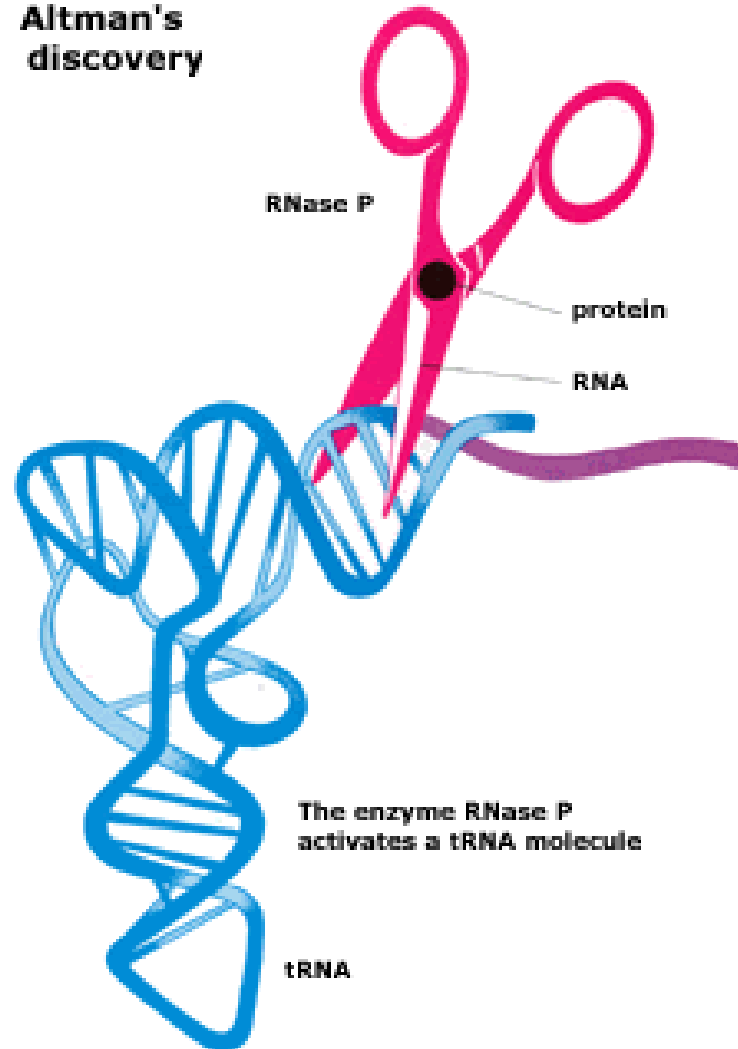
Proteiny



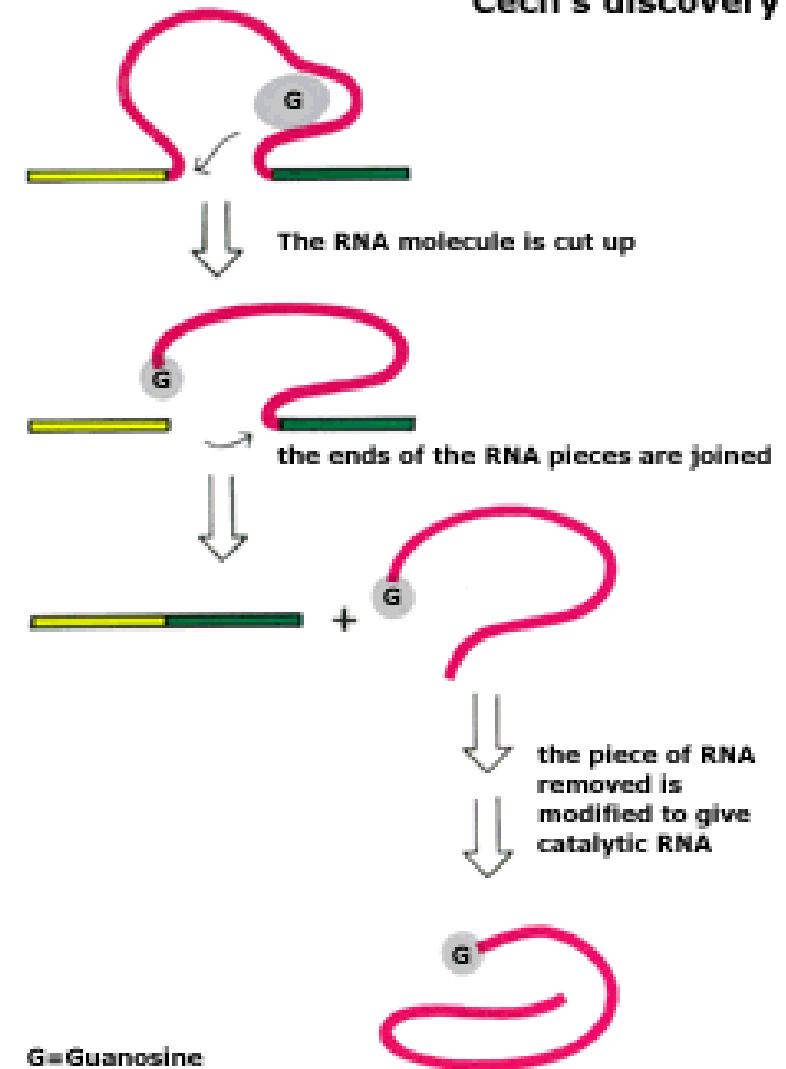
O souvislostech RNA se vznikem života, viz **prezentaci č. 4**

Katalyticky aktivní RNA: Thomas R. Cech (1982) a Sidney Altman (1983) – Nobelova cena za chemii 1989

Altman's discovery



Cech's discovery



Stopy „ztraceného“ RNA světa

- Lze najít např. v evoluci enzymů

Ribozymy – funkce 100% zajištěna RNA (kromě přirozeně se vyskytujících lze vytvářet i umělé)

RNA-proteinové enzymové komplexy (RNP komplexy).

- podobné zastoupení RNA a proteinové složky.

Evolučně velmi staré, vysoce konzervativní...

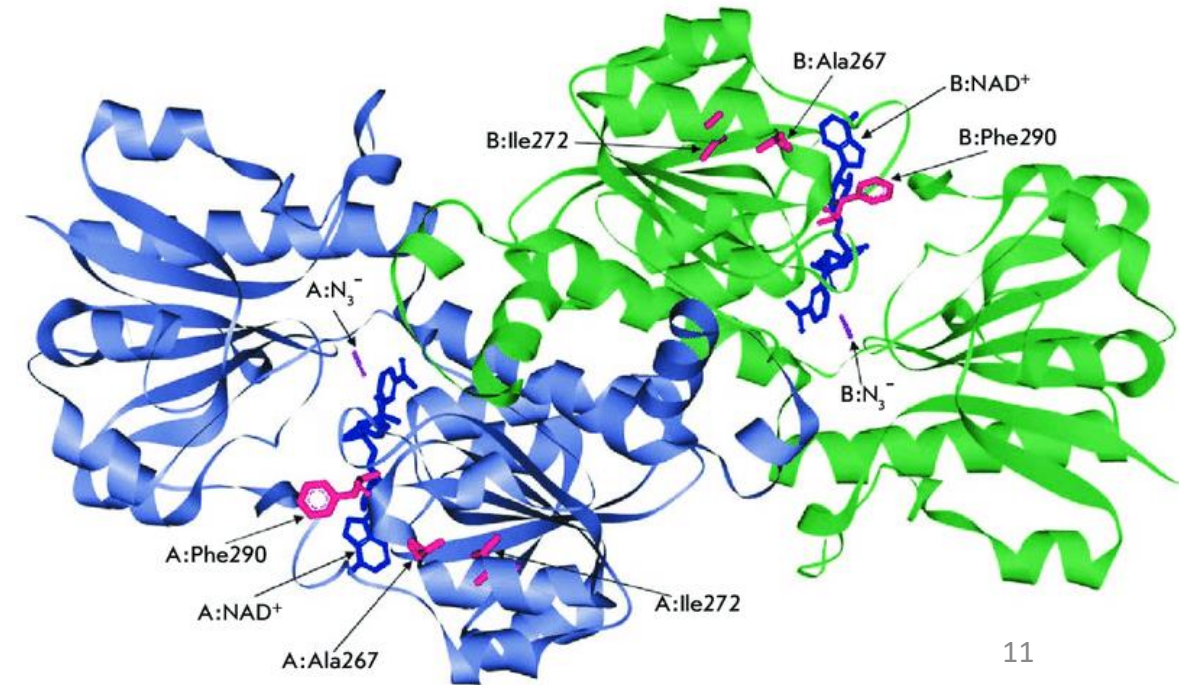
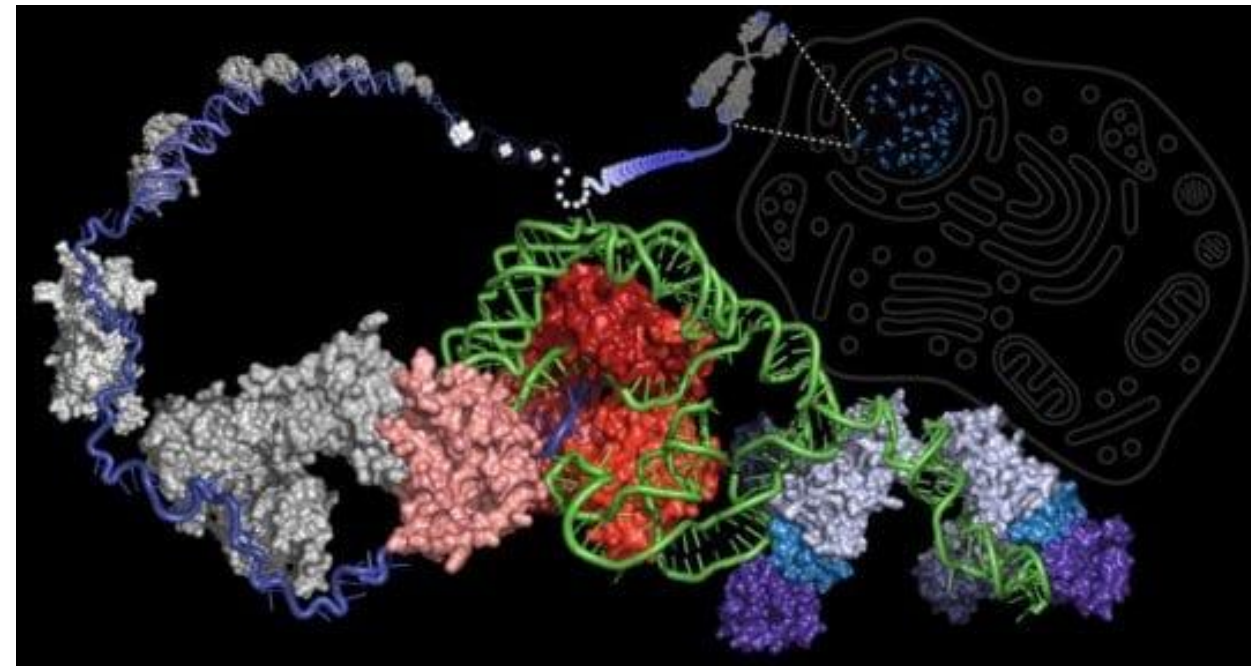
Příklady: **telomeráza** (komplex RNA podjednotky poskytující předlohu pro syntézu telomerové DNA) a bílkoviny (TERT) katalyzující zpětný přepis této RNA do telomerové DNA

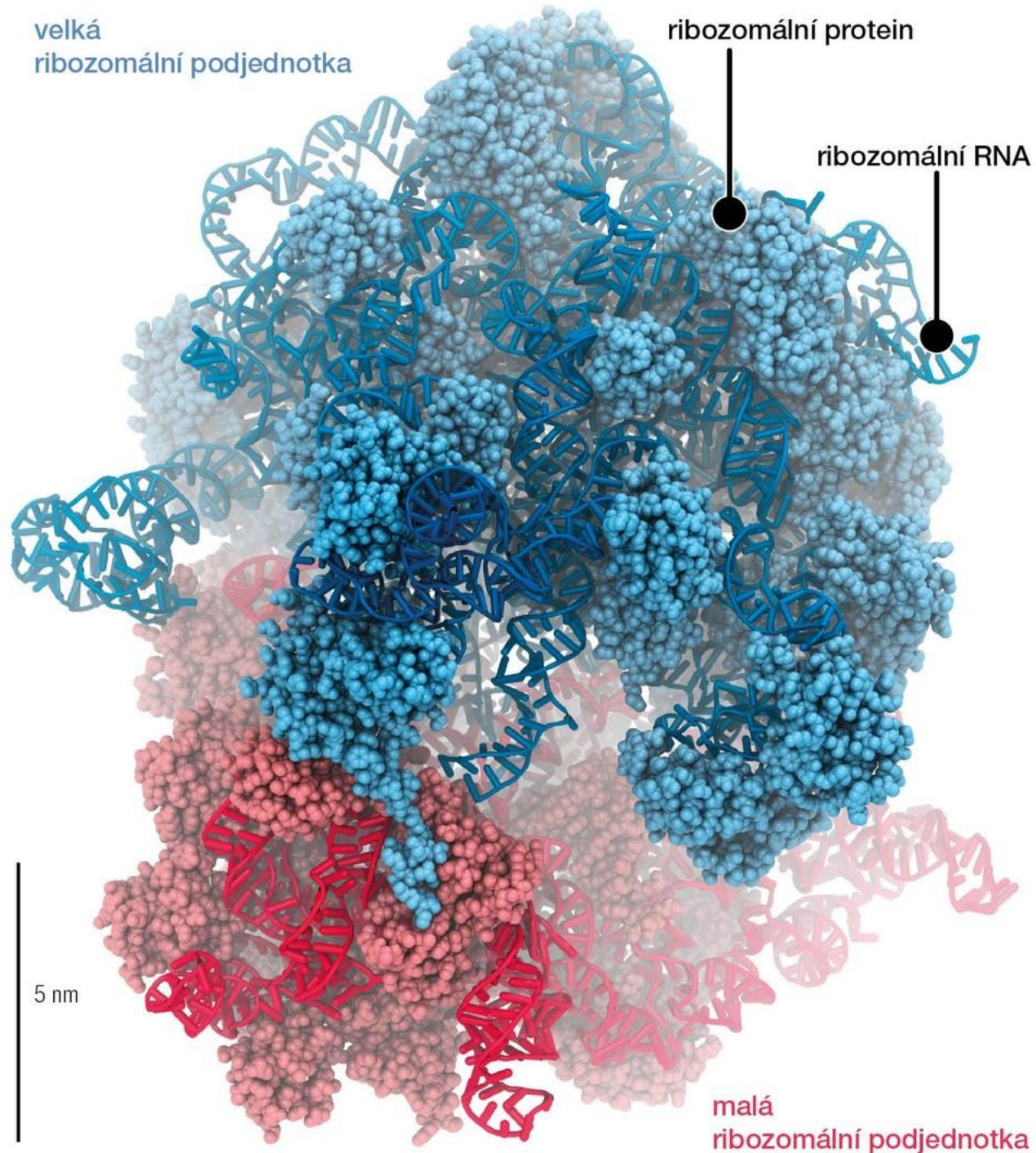
Ribozóm – nástroj k syntéze bílkovin podle RNA předlohy (mRNA, viz další slide)

Enzymy s výraznou bílkovinnou složkou a malou nukleotidovou částí – **koenzymem** - nutným k uskutečnění reakce (NAD, ATP, GTP...) – běžné v současných organismech

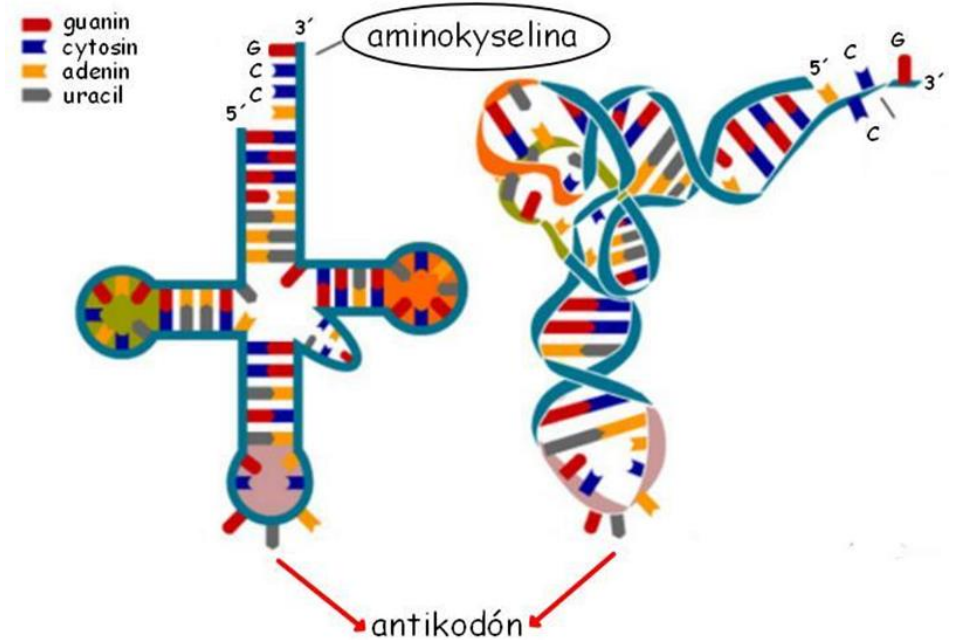
CRISPR/Cas systém (objeven u prokaryot, kombinace RNA a nukleázy, RNA určuje místo štěpení).

čas
↓





Ribozóm: továrna na výrobu proteinů...podle mRNA, s pomocí zmíněné tRNA



Další stopy zašlého RNA světa:

RNA viry, viroidy, retrotranspozóny...

Schéma proteosyntézy.

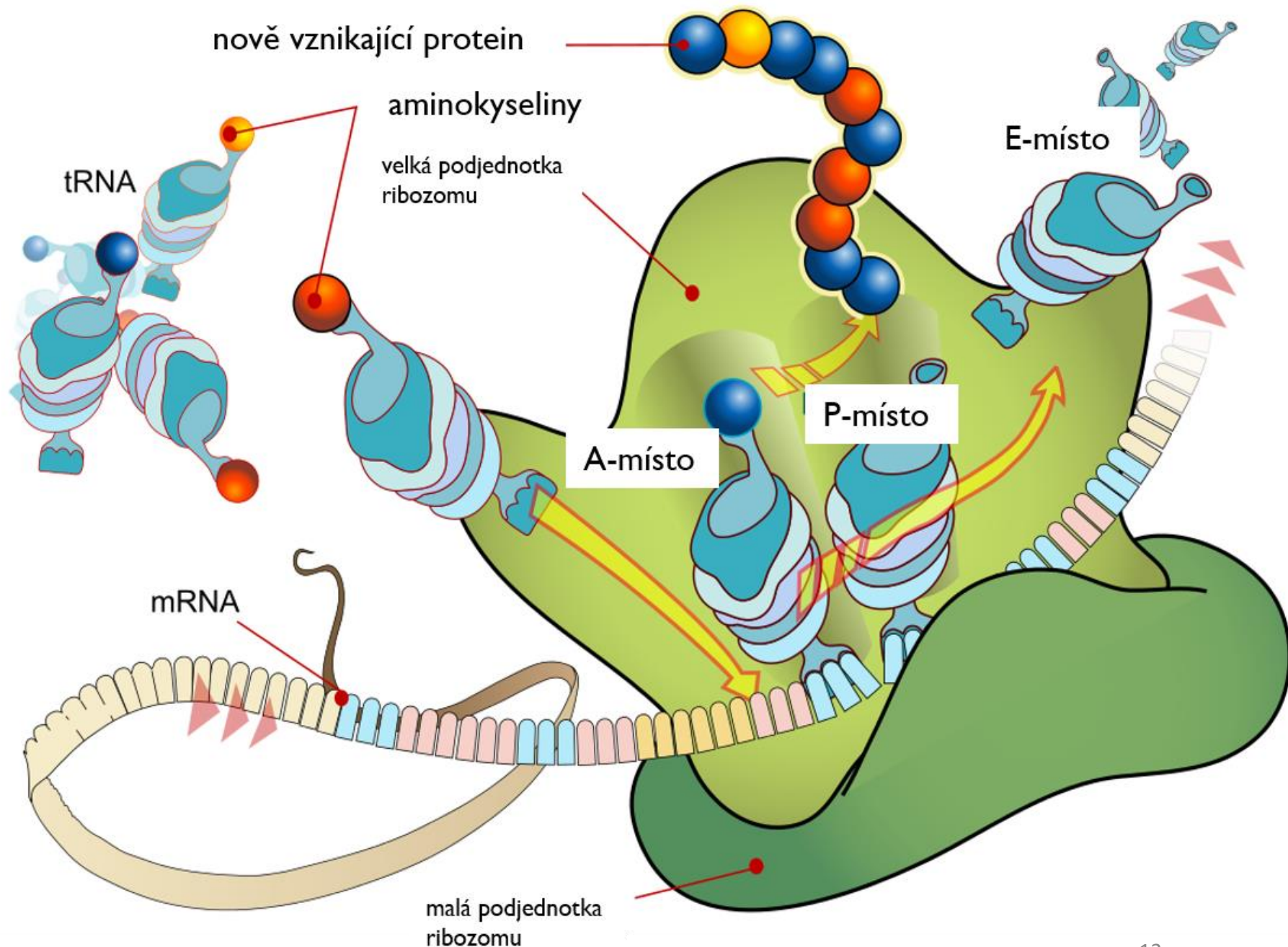
mRNA (přepsaná z DNA) prochází ribozómem (složeným z RNA a bílkovin).

K ribozómu přicházejí **tRNA** s navázanou **aminokyselinou** na svém konci (pro jednotlivé aminokyseliny existují specifické tRNA, připojení správné aminokyseliny navíc zajišťuje enzym AA-tRNA syntáza).

Každá tRNA nese na sobě dále trojici nukleotidů (**antikodon**), kterými se páruje s komplementární trojicí nukleotidů **v mRNA (kodónem)**.

Na ribozómu dochází k připojení nové aminokyseliny k rostoucímu polypeptidovému řetězci.

Proces nazýváme **translace** – **překlad** genetické informace ze sekvence nukleotidů v mRNA do pořadí aminokyselin v bílkovině.



Důležité milníky v cestě za poznáním genetické úlohy DNA

První popis DNA: **Johann Friedrich Miescher**, 1871: *nuklein* – látka izolovaná z hnisu z obvazů, odolává působení enzymů, štěpících bílkoviny, obsahuje kromě uhlíku a vodíku velké množství dusíku a fosforu. **Neznámá funkce.**

Důkaz, že genetická informace je uložena v DNA:

1. náznak: Frederick Griffith (1928) – transformaci *Streptococcus pneumoniae* způsobuje nějaká složka usmrčených buněk, tzv. **transformační princip**.

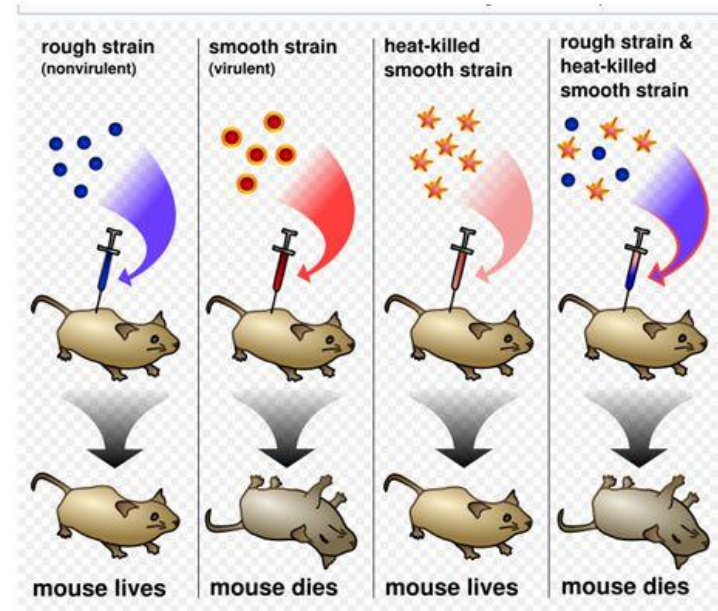
2. Avery, MacLeod a McCarty (1944): prokázali, že „**transformačním principem**“ je **DNA**, nikoli protein. „Transformační princip“ je citlivý k DNázám, ale odolný k proteinázám a RNázám

3. Objasnění **dvoušroubovicové struktury DNA** (J. Watson, F. Crick, R. Franklinová, M. Wilkins). Z ní vyplýval i možný mechanismus kopírování (replikace) na principu komplementarity bází.

4. **Rozluštění genetického kódu** – M. Nirenberg - první experiment – poly-U RNA vytváří při translaci peptidový řetězec složený z fenylalaninu (1961). **UUU => Phe**

1966: Marshall Nirenberg, Heinrich Matthaei a Severo Ochoa – kompletní rozluštění tripletového genetického kódu

Přeměna neškodných bakterií ve virulentní



1928 - Fred Griffith: experimenty na *Streptococcus pneumoniae*

Dva kmeny:

Smooth (S) - virulentní

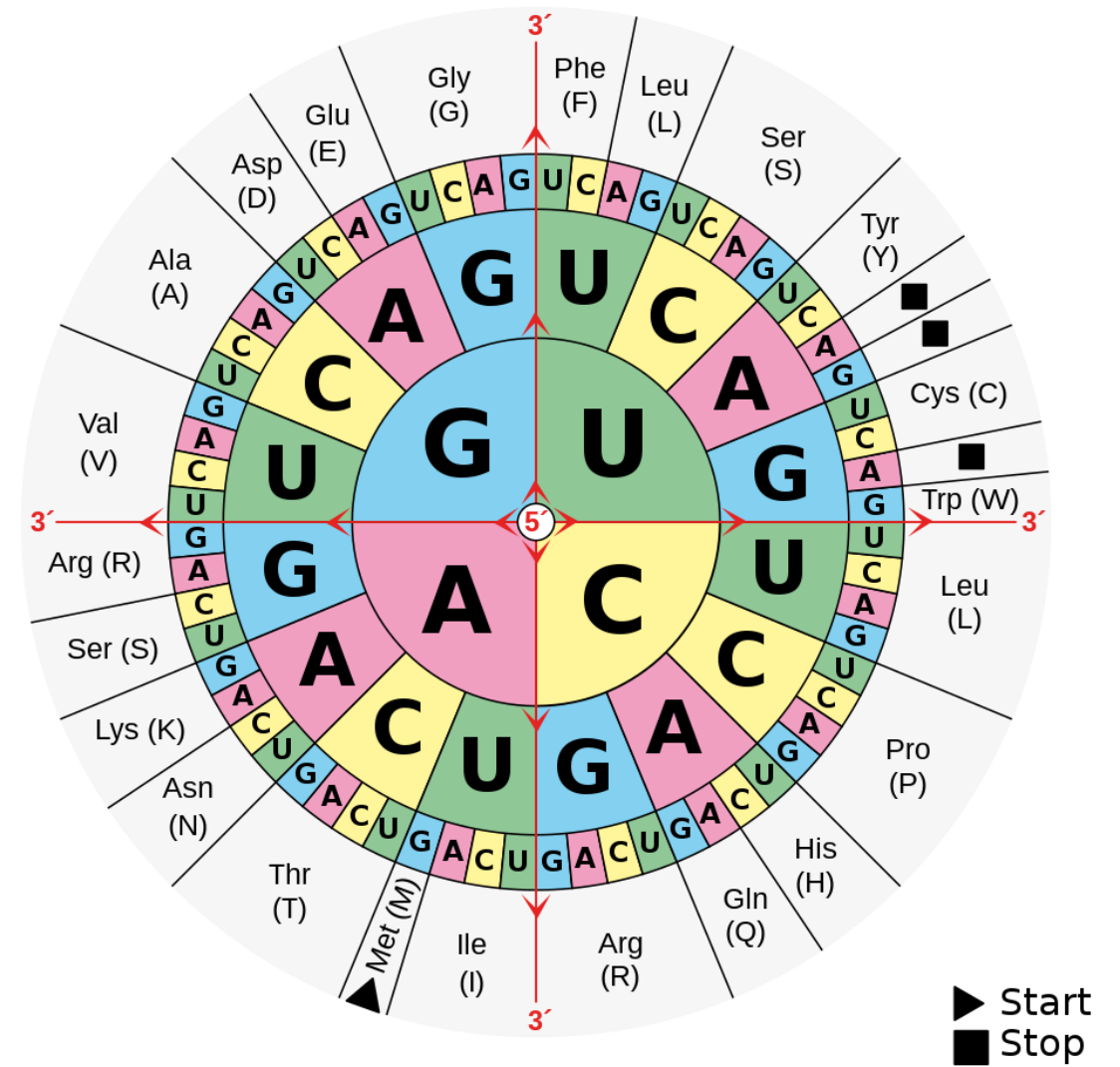
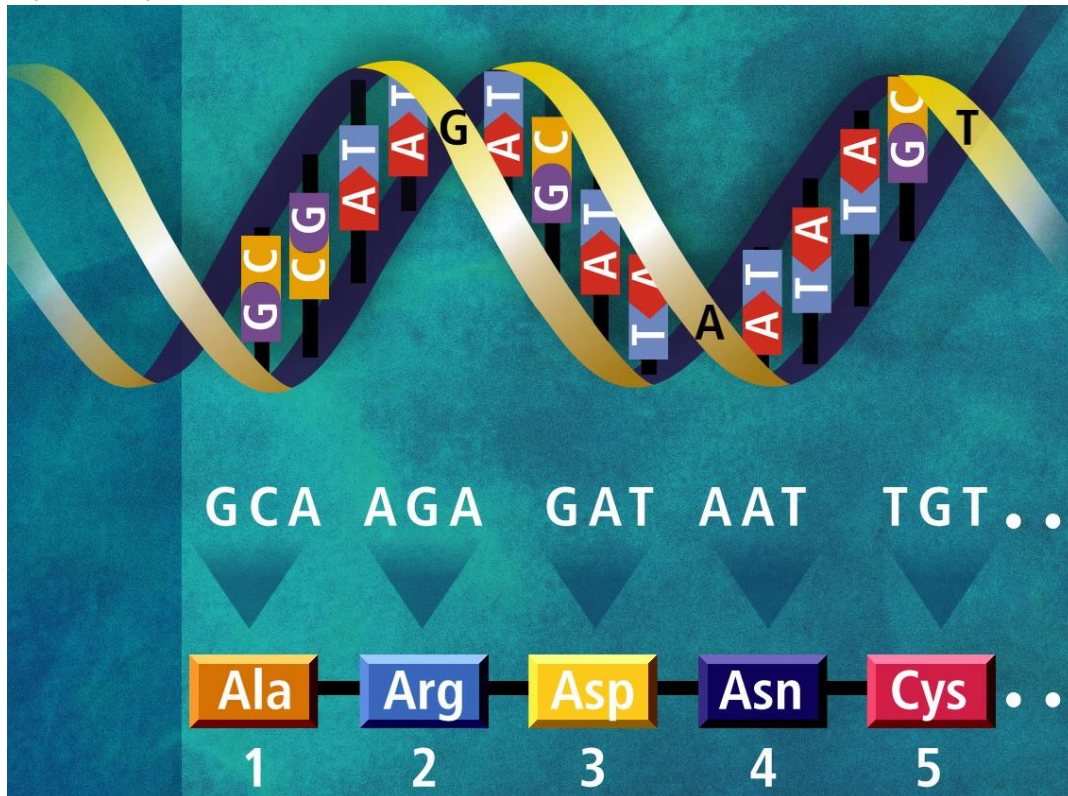
Rough (R) - nevirulentní

Injekce R a tepelně inaktivovaných S usmrtí myši, v nich se najdou živé buňky typu S, které se dále množí jako S, tj. **změna je dědičná**

Genetický kód - soubor pravidel, podle kterých se genetická informace (v DNA, resp. mRNA) převádí na pořadí aminokyselin v bílkovinách. Skládá se z trojic po sobě jdoucích bází (tedy $4^3 = 64$ kombinací). To tedy stačí ke kódování celkem 20 různých aminokyselin, které se vyskytují v proteinech.

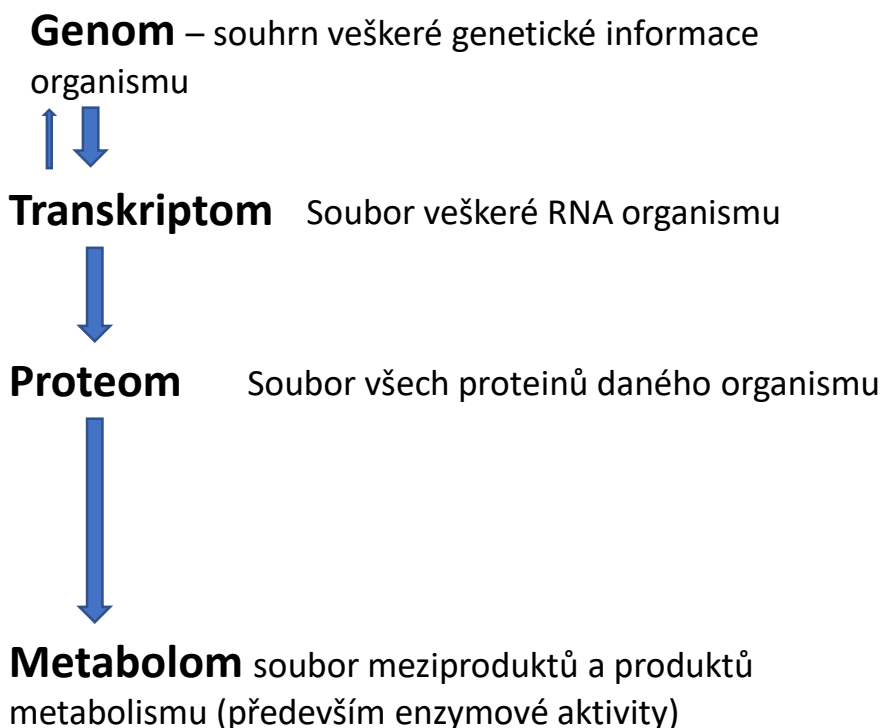
Některé aminokyseliny jsou kódovány více kodóny, které se zpravidla liší jen bází na 3. pozici (tzv. degenerace genetického kódu).

Kromě toho existují kodóny definující začátek translace (**START**, kóduje methionin) a její ukončení (**STOP**)

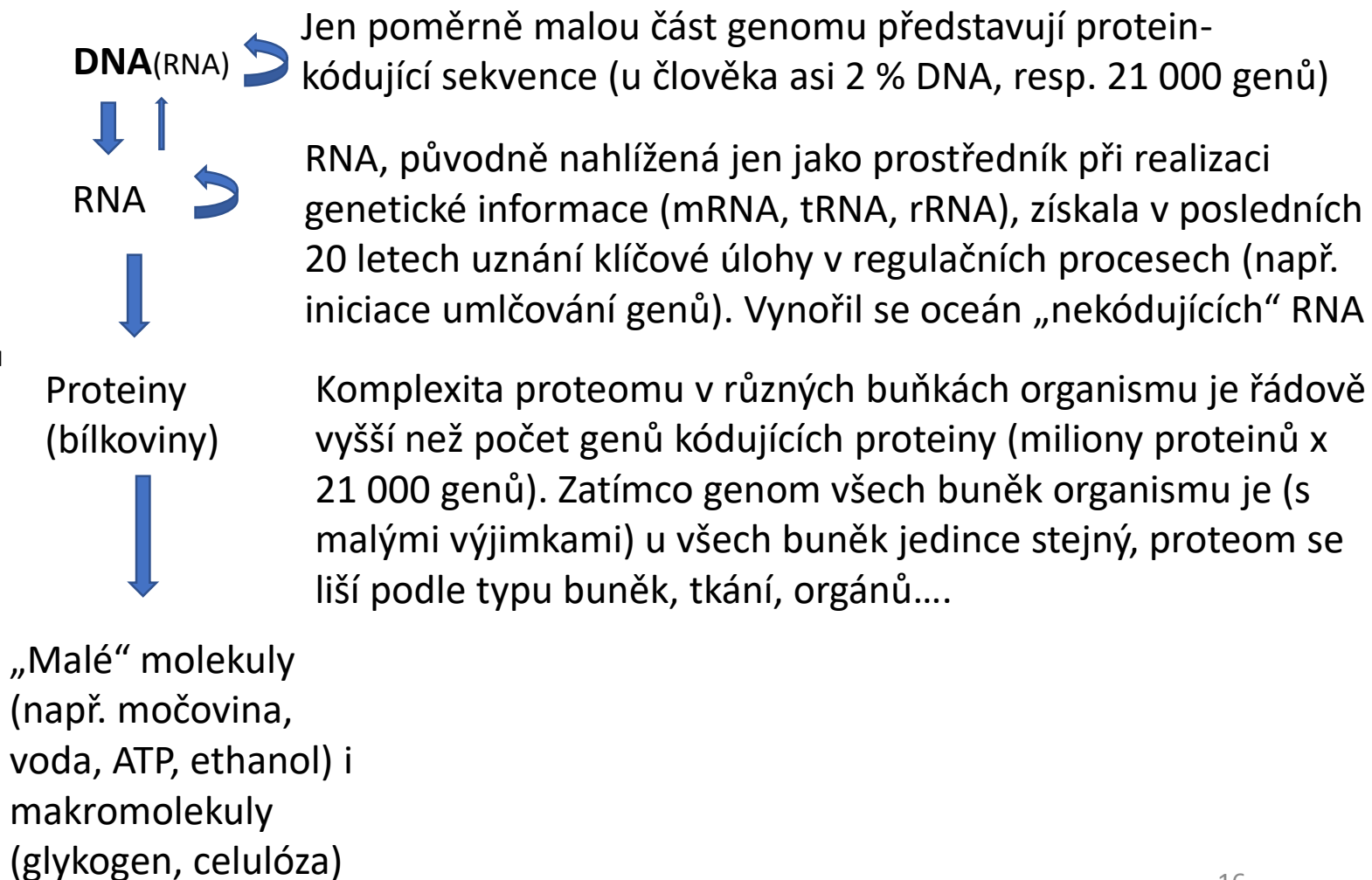


Tzv. centrální dogma molekulární biologie – nešikovný název (dogma, které se muselo během několika desítek let několikrát měnit, není žádné skutečné dogma...a ve vědě stejně nemají dogmata místo).

POJMY



Typický molekulární „nosič“



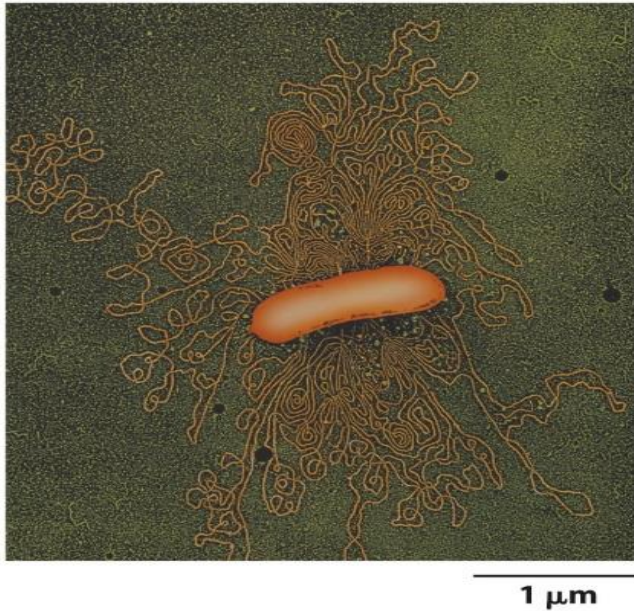
Housenka a motýl: stejný genom, různé proteomy. Stejný genotyp, různý fenotyp



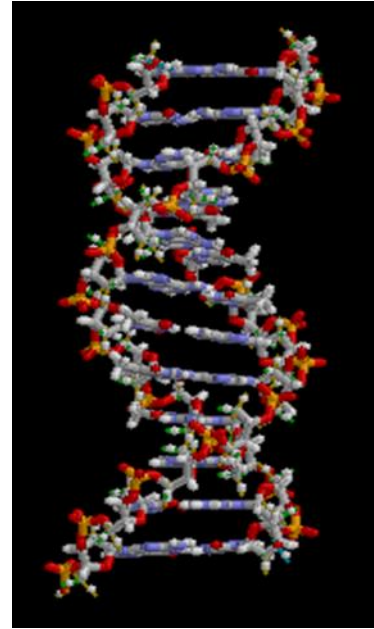
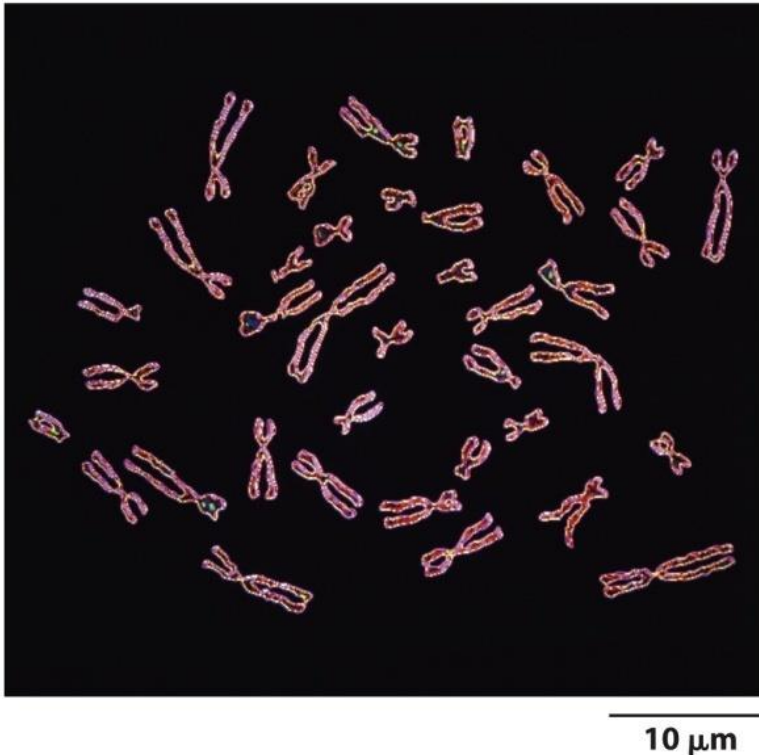
Jak je to možné?

Chromozómy

- Dvouvláknové DNA, někdy asociované s RNA a s proteiny
- Prokaryotické buňky (bakterie) obsahují většinou 1 větší kružnicovou (cirkulární) DNA a případně další – menší cirkulární molekuly DNA (plazmidy)
- Většina eukaryotických organismů (živočichové, rostliny, houby) obsahují zpravidla několik lineárních chromozómů (v buněčném jádře), a dále cirkulární DNA v organelách (mitochondrie, chloroplasty). Společně tvoří genom organismu



Dr. Gopal Murti/Photo Researchers, Inc.



Eukaryotický chromozóm

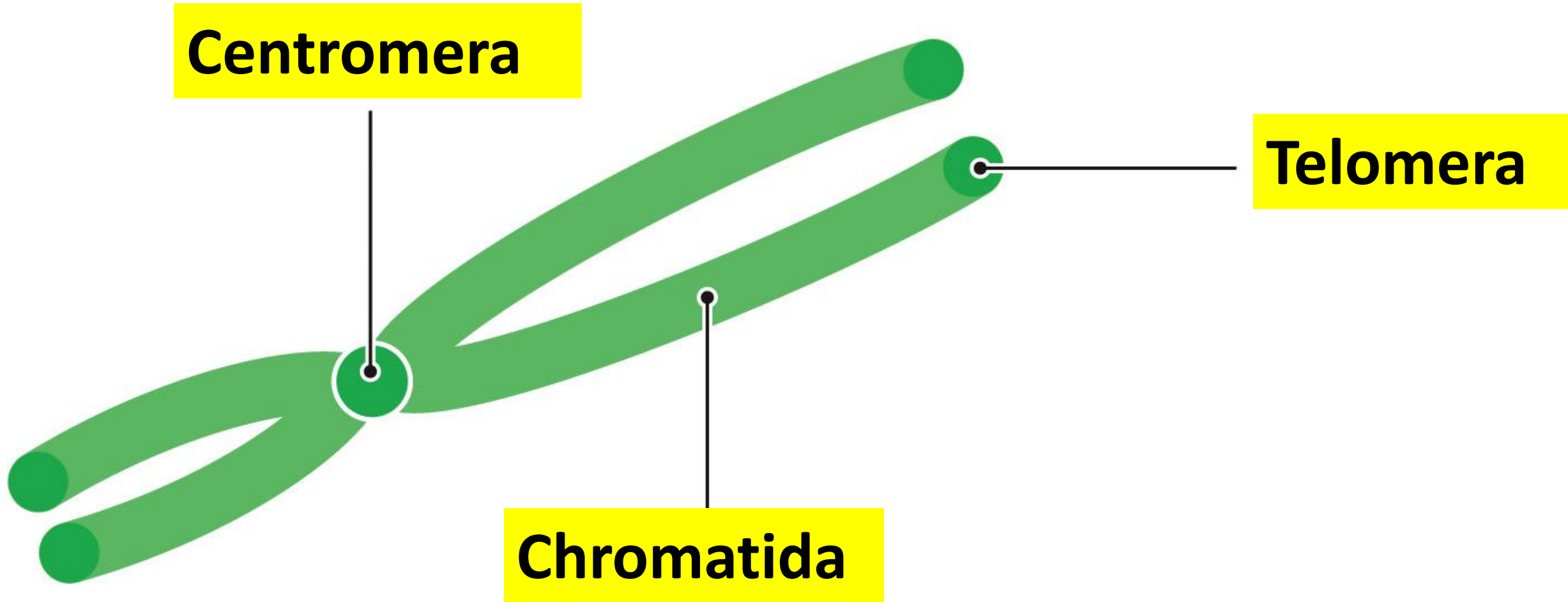


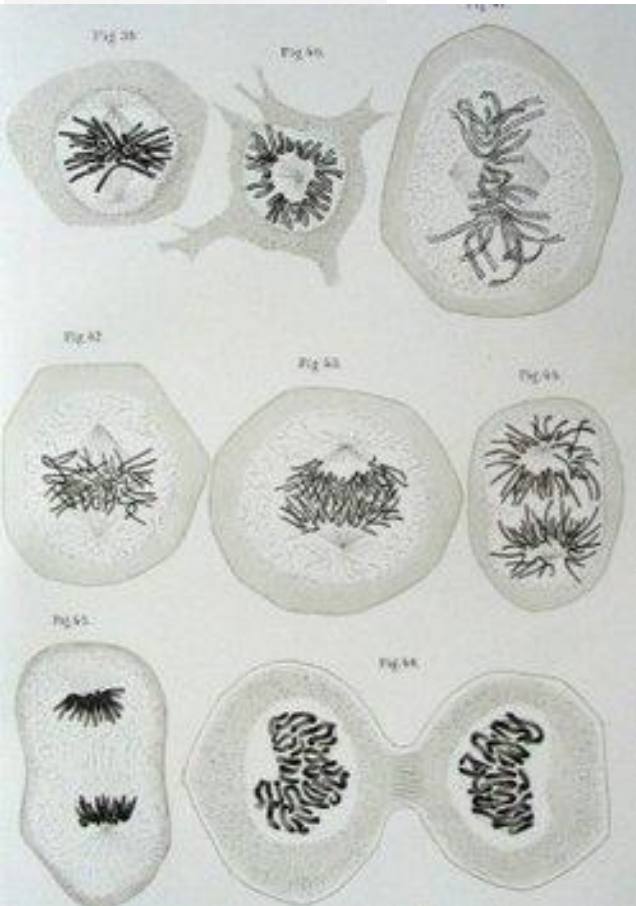
Figure 7.5 Genomes 4 (© Garland Science 2018)



Pojem CHROMATIN - Walther Flemming (1843-1905)

1873-6 Univerzita Karlova, Praha

1882 – kniha Cytoplasma, jádro a buněčné dělení – objev mitózy a chování chromatinu při buněčném dělení. **1888** – jeho kolega von Waldeyer-Hartz zavedl pojem **chromozóm**. Role chromozómů jako přenašečů dědičné informace - **Walter Sutton** a **Theodor Boveri** – spojili chromozómy s Mendelovou teorií dědičnosti (nezávisle v r. 1902)

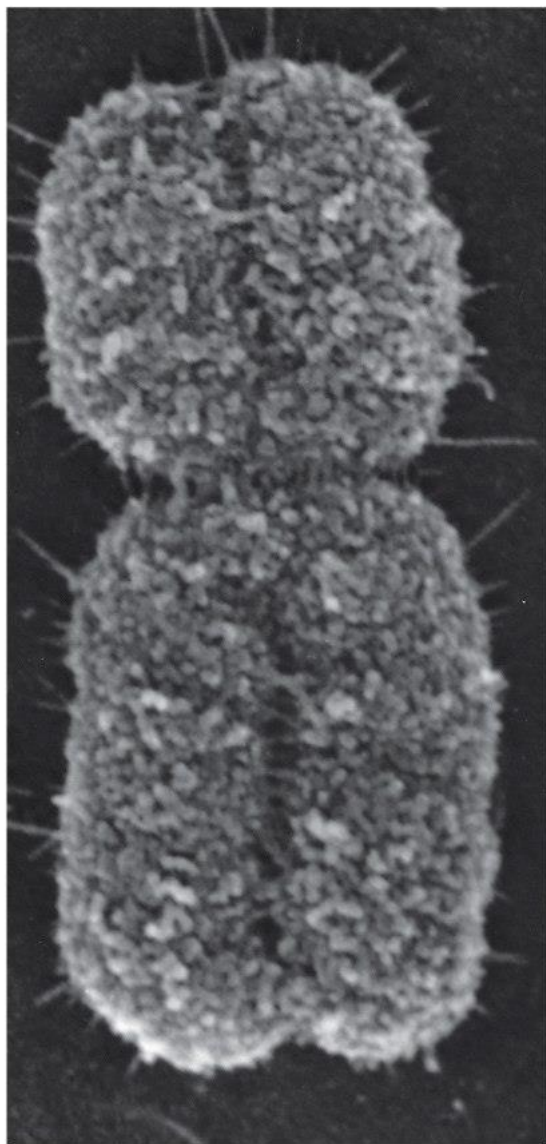


Buňky s chromozómy v mitóze – z knihy *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung*, 1882

(„*omnis nucleus e nucleo*“)

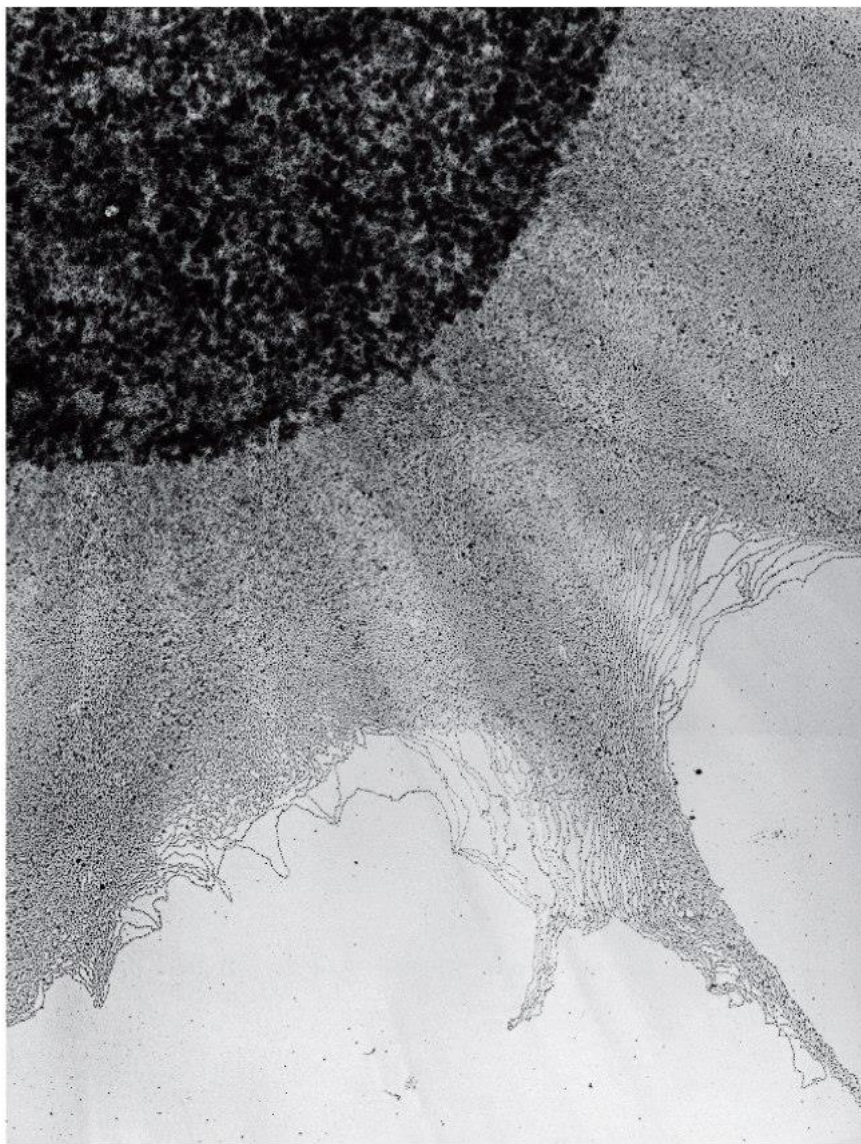


Polytenní chromozómy ze slinných žláz komára *Chironomus*, jedna z více než 100 kreseb z Flemingovy knihy *Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung*, 1882



(A)

1 μm

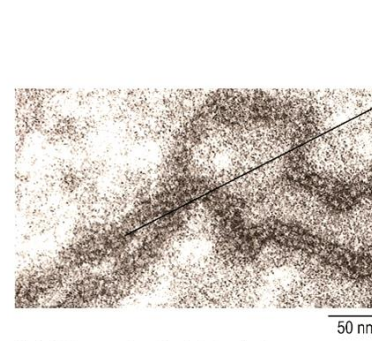
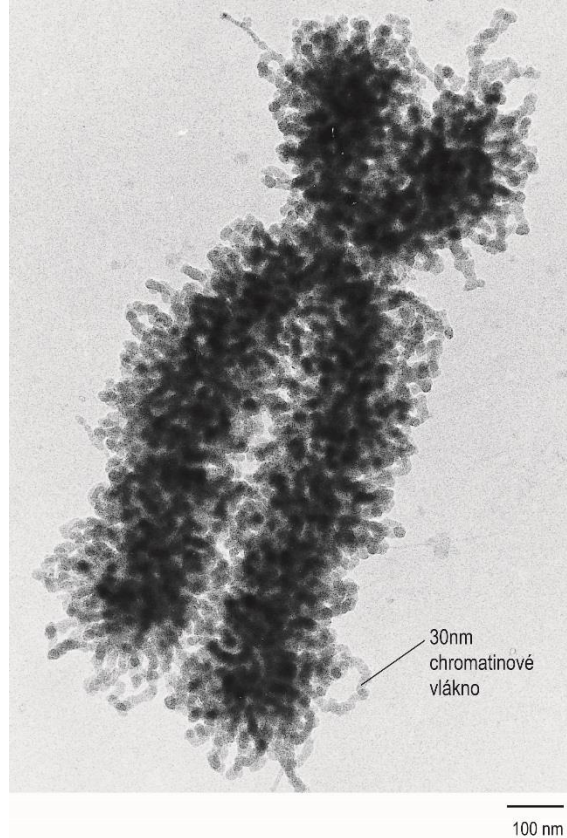


(B)

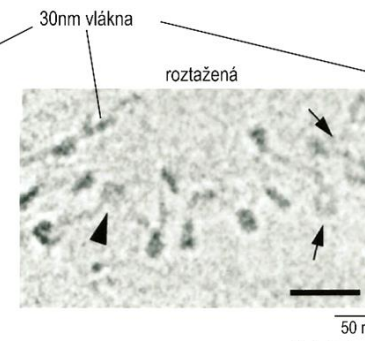
10 μm

Elektronmikroskopický snímek chromozómu (vlevo) a expandující DNA z buněčného jádra po přidání 2M NaCl (vpravo).

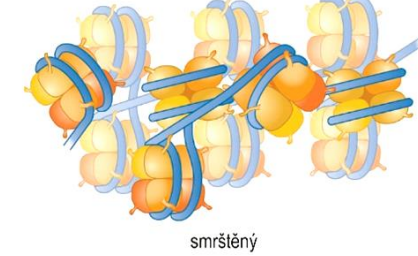
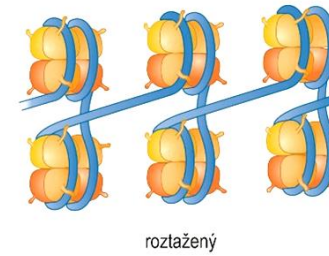
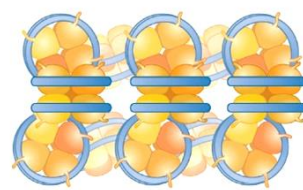
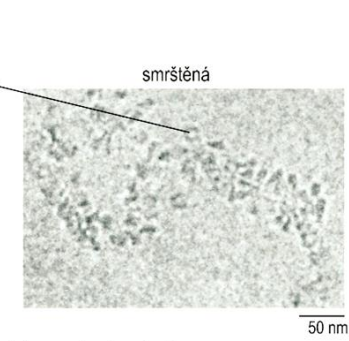
Jak je možné, že asi **2,5 m DNA**, tvořící jaderný genom člověka, se vejde do jádra o průměru kolem **10 μm** ?



(a) Elektronmikroskopický snímek.

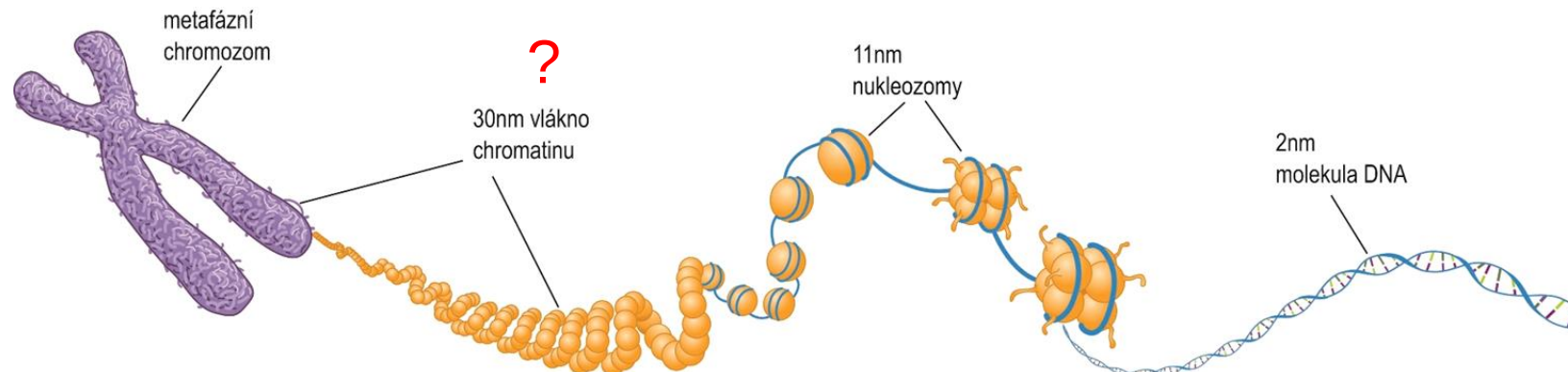


(b) Snímek z kryoelektronové mikroskopie.



(d) Model cik-cak.

Strukturní úrovně uspořádání chromatinu



Základní jednotkou chromatinové struktury je NUKLEOZÓM

Objev: - použitím elektronové mikroskopie:
Don and Ada Olins (Olins AL, Olins DE
(January 1974). "Spheroid chromatin units (v
bodies)". *Science* **183** (4122): 330–2.
doi:10.1126/science.183.4122.330

Interpretace: Roger Kornberg - Kornberg RD
(May 1974). "Chromatin structure: a repeating
unit of histones and DNA". *Science* **184** (4139):
868–71. – chromatin tvoří DNA společně s
bílkoviny - HISTONY

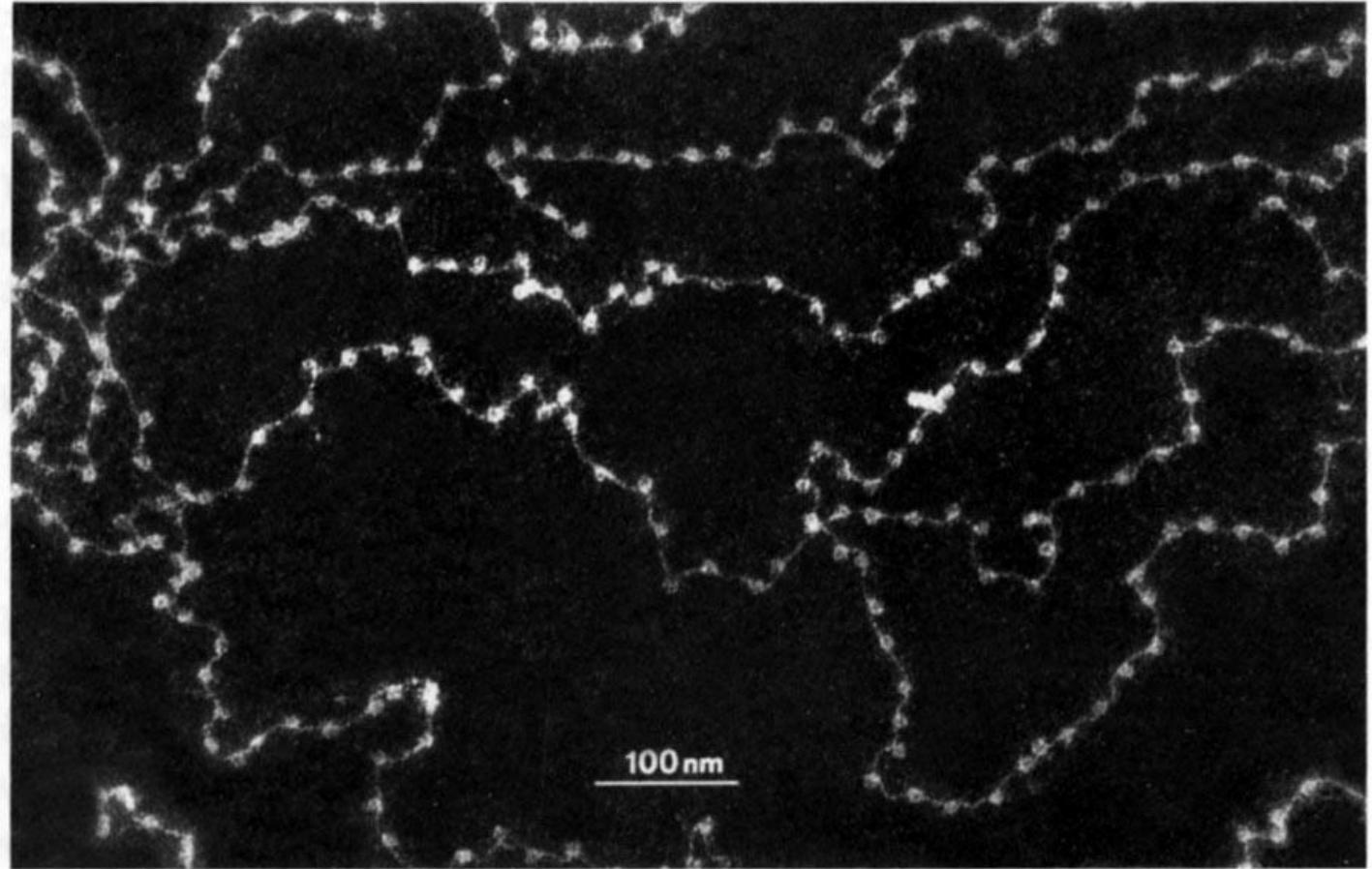


Fig. 3.2 Darkfield electron micrograph showing nucleosomes and linker DNA. Chicken erythrocyte nuclei were lysed in dilute salt solution. Released chromatin was fixed in formaldehyde, spread onto a carbon-coated grid by centrifugation and stained with uranyl acetate. (Photograph provided by Donald and Ada Olins.)

Nukleozómy v elektronovém mikroskopu. Interfázní chromatin se jeví jako 30 nm vlákno (A) které může být nataženo – např. přidavkem solí, odstraněním linkerových histonů nebo acetylací histonů – na strukturu zvanou „korálky na niti“ (“beads on a string”)

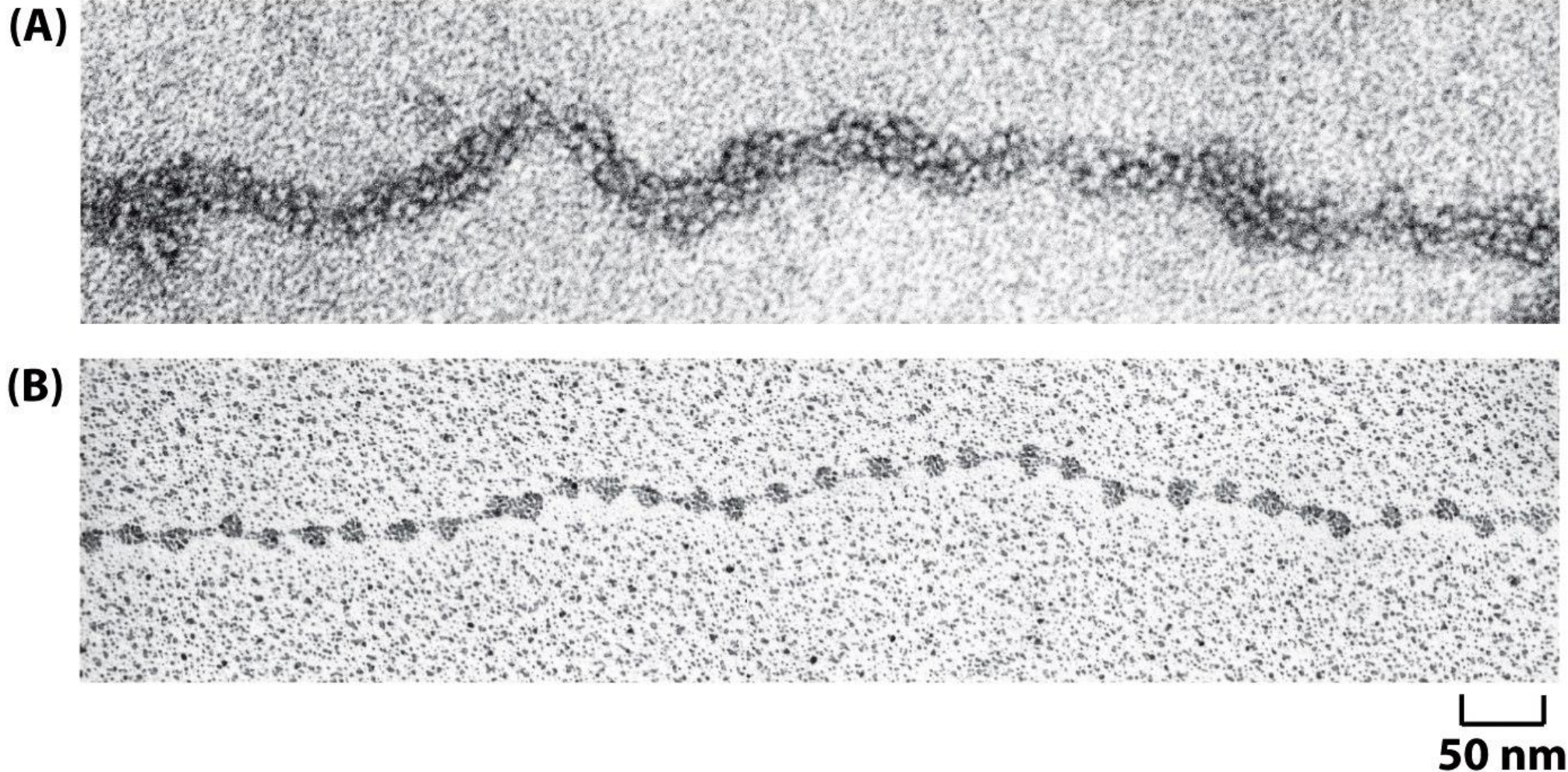
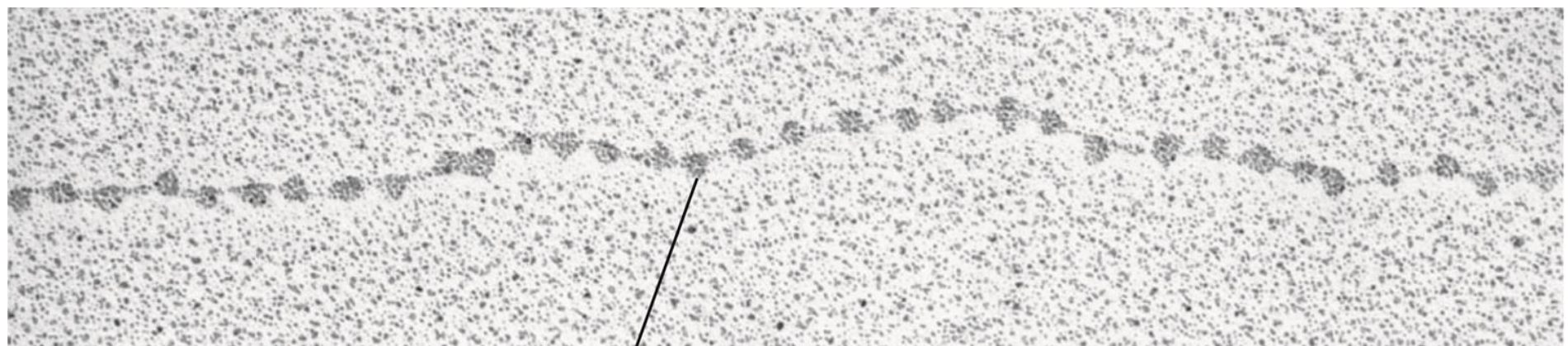


Figure 4-22 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



(a)

50 nm

nukleozomy



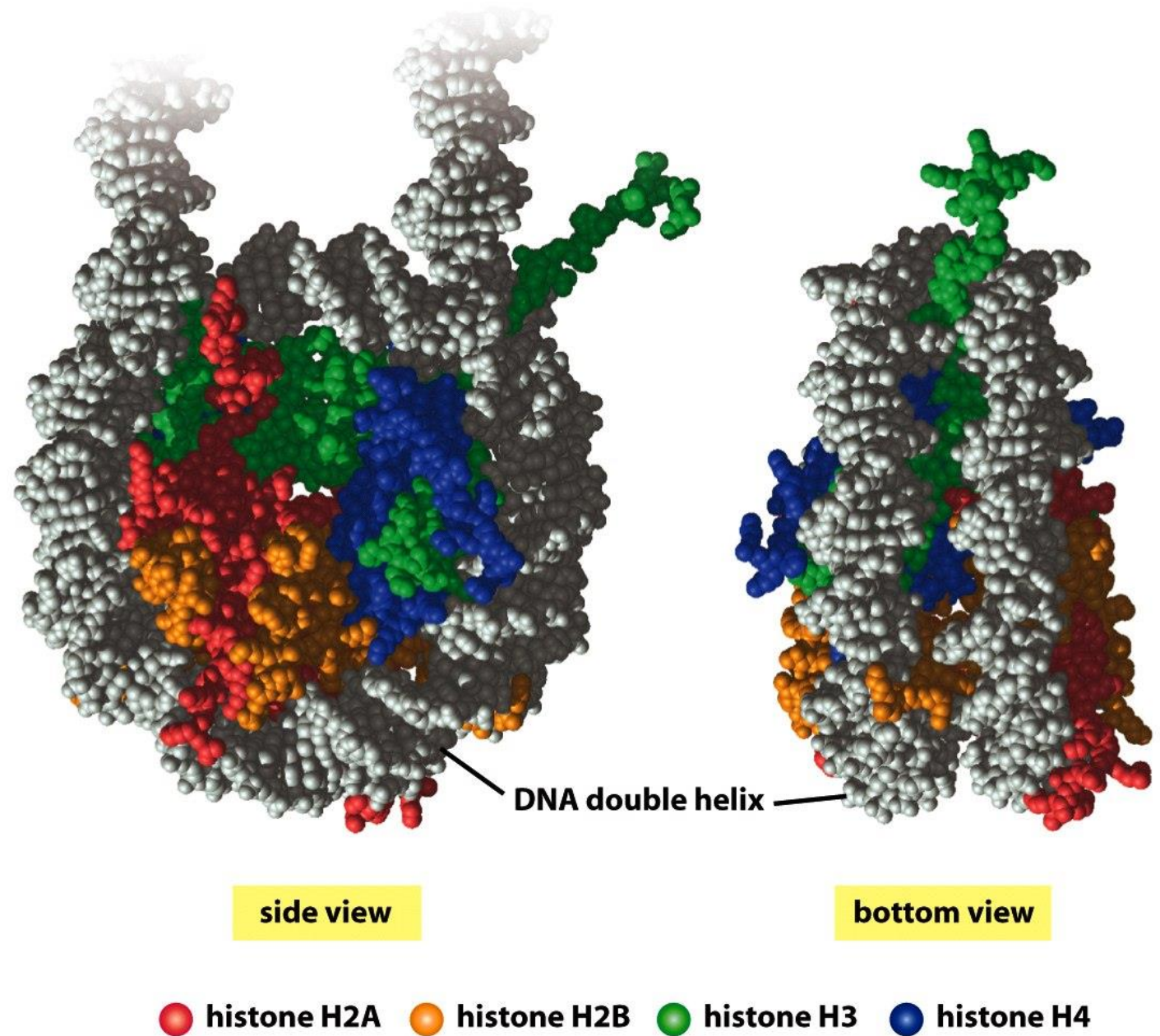
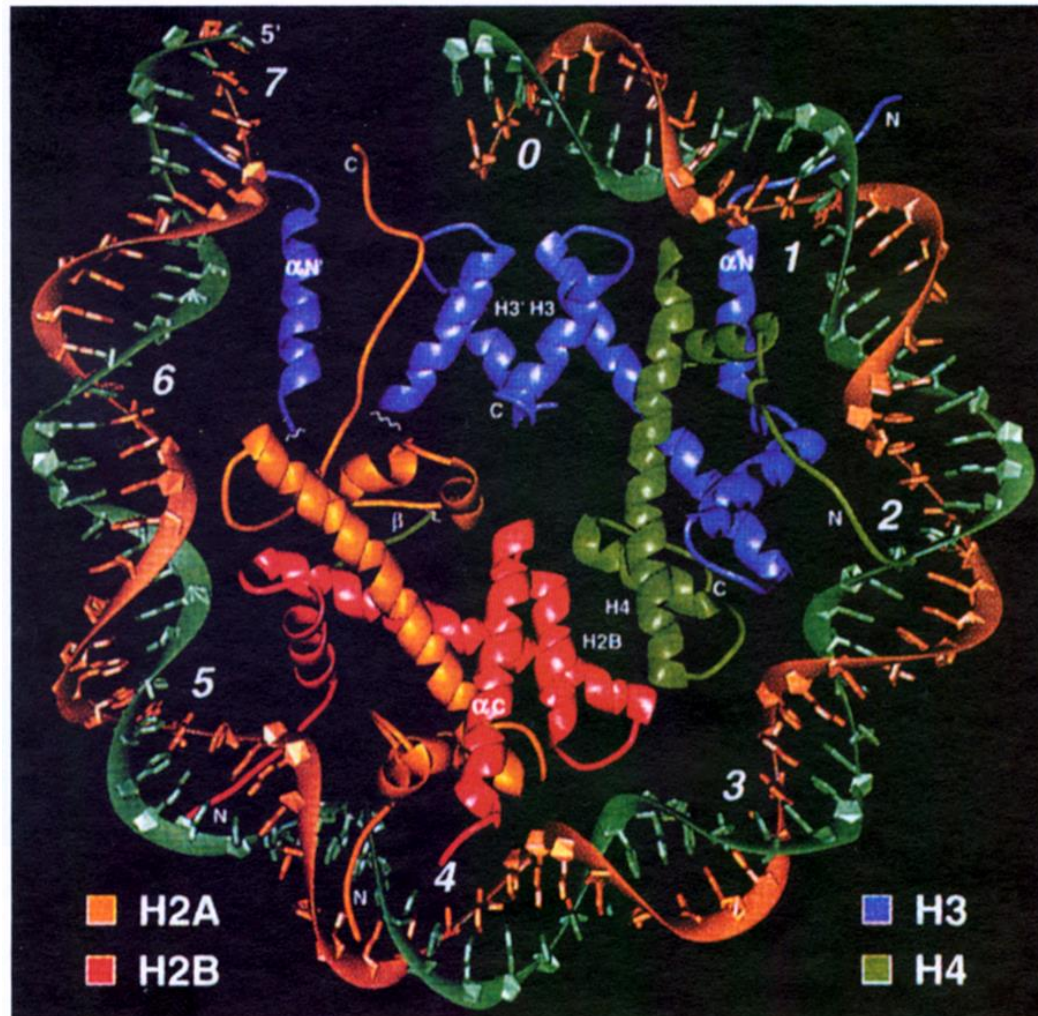
11 nm

jádro nukleozomu,
146 párů nukleotidů
DNA ovinutých jako
 $1\frac{3}{4}$ otáčky okolo
oktameru histonů

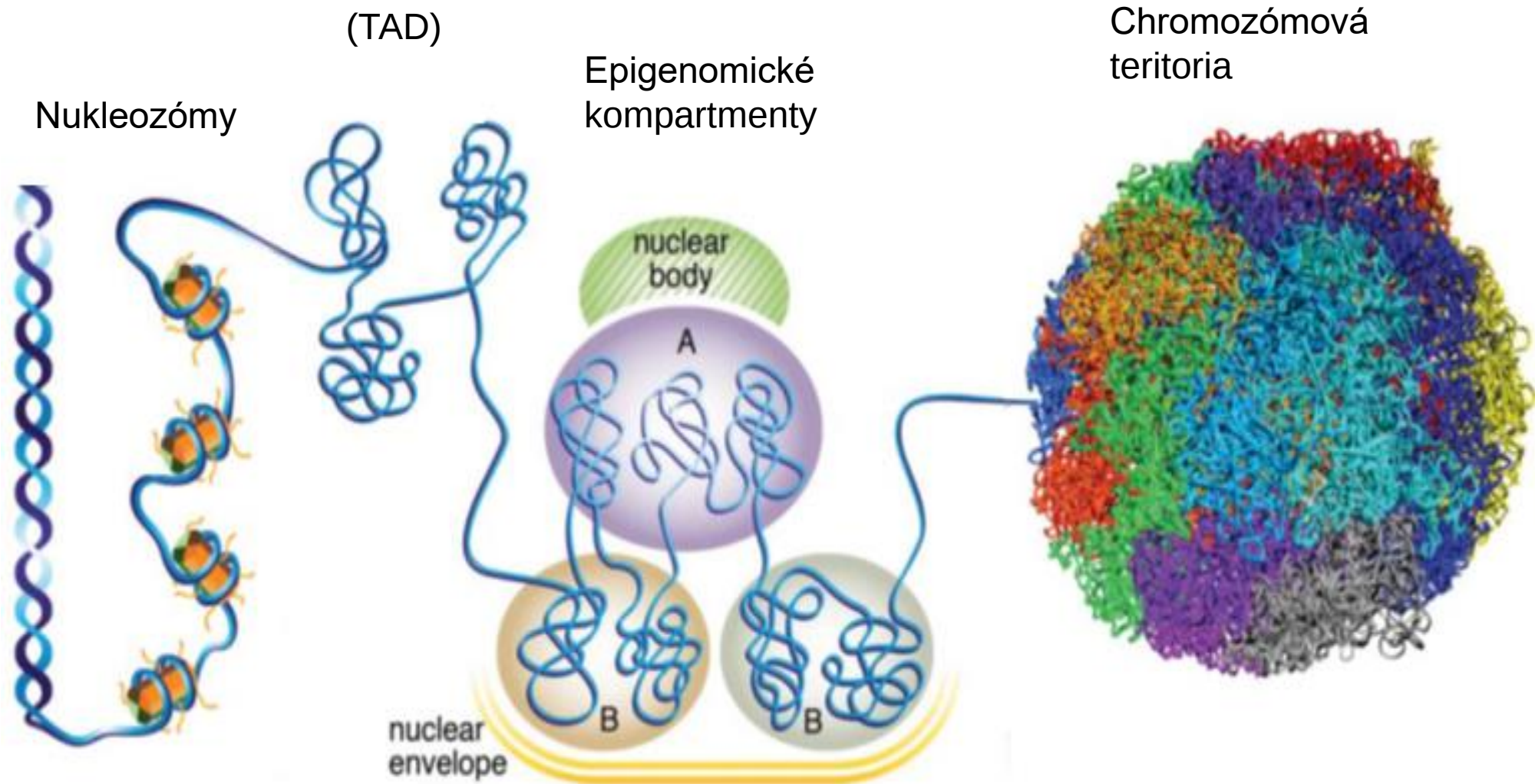
spojovací DNA
o délce pohybující
se mezi 8 až 114 páry
nukleotidů

(b)

Struktúra nukleozómu (Luger et al., 1997)



Současný pohled na uspořádání chromatinu v jádře



Souhrn:

1. Mezi nevýznamnější biomakromolekuly v buňce patří nukleové kyseliny (DNA, RNA) a bílkoviny (proteiny).
2. **Nukleové kyseliny** plní především úlohy při skladování genetické informace a jejímu přenosu do dalších generací přes buněčné dělení (mitóza, meióza). V dnešních organismech plní tuto roli především chemicky poměrně stabilní **DNA**. **RNA** může kromě svých funkcí při realizaci genetické informace (mRNA, rRNA, tRNA) plnit různé regulační funkce (nekódující - ncRNA) a dále katalytické funkce, ať už samostatně (**ribozomy** – např. tzv. samosestřih RNA) nebo v komplexu s bílkovinami (RNP **komplexy**, např. ribozómy, telomeráza...).
3. **Bílkoviny** plní jednak funkce katalyzátorů biochemických procesů v buňkách (zpracování živin, syntéza biologicky významných látek – včetně nukleových kyselin a dalších bílkovin, produkce energie aj.), strukturní role (např. buněčný skelet, vnitřní jaderná obálka, dělicí vřeténko, membránové přenašeče a antigeny, funkce protilátek v imunitní odpovědi).
4. Dalšími významnými biomakromolekulami jsou **polysacharidy** a jejich deriváty. Tvoří např. buněčnou stěnu rostlinných buněk (celulóza, lignin), zásobní látky rostlinných i živočišných buněk (škrob, glykogen). Tvoří také rozpoznávací struktury na povrchu buněk (antigeny) důležité pro imunitní odpověď.
5. **Genetická informace** je uložena u prokaryotických organismů (bakterií) v cytoplazmě, u eukaryot převážně v jádře. **Kompletní genom** eukaryot dále tvoří DNA chloroplastů, případně mitochondrií.
6. Jaderný genom existuje jako tzv. **chromatin** - komplex DNA s bílkovinami (histony). Během dělení buněk dochází ke kondenzaci chromatinu do tělísek zvaných **chromozomy**

Otázky k hodnocení/testu na základě úvodní přednášky – J. Fajkus

1. Eukaryotické organismy se vyznačují přítomností buněčného jádra. Jaká je jeho hlavní funkce?

- a) chrání buňku před bakteriální infekcí
- b) je úložištěm hlavní části genetické informace buňky
- c) fotosyntéza na jaderné membráně

2. Které z uvedených látek patří mezi biomakromolekuly?

- a) nukleové kyseliny, bílkoviny a polysacharidy
- b) aminokyseliny, glukóza a ATP
- c) ionty zinku a hořčíku

3. Znalost genomu daného organismu umožňuje přímo zjistit

- a) které geny jsou aktivní, a které ne
- b) dobu trvání buněčného cyklu (čas mezi dvěma buněčnými děleními)
- c) přesnou nukleotidovou sekvenci jednotlivých genů a dalších (nekódujících) oblastí genomu

4. Jak je možné, že se lidský genom, tvořený asi 2,5 m DNA, vejde do jádra o průměru kolem 10 μm ?

- a) DNA je v jádře rozštěpena na krátké cirkulární molekuly – plazmidy – které jsou naskládány těsně na sebe
- b) DNA je asociována s histony a dalšími bílkovinami, které ji pomáhají kondenzovat na několika úrovních do struktury chromatinu.
- c) vzhledem k mikroskopickým rozměrům jádra dochází k relativistickému efektu kontrakce délek a dilatace času

5. Co z uvedených možností je v případě organismu nejvyšší?

- a) počet různých genů, kódujících proteiny
- b) počet různých molekul RNA
- c) počet různých proteinů a jejich konkrétních forem