

Základy genetiky prokaryotické buňky



Chromozomová DNA

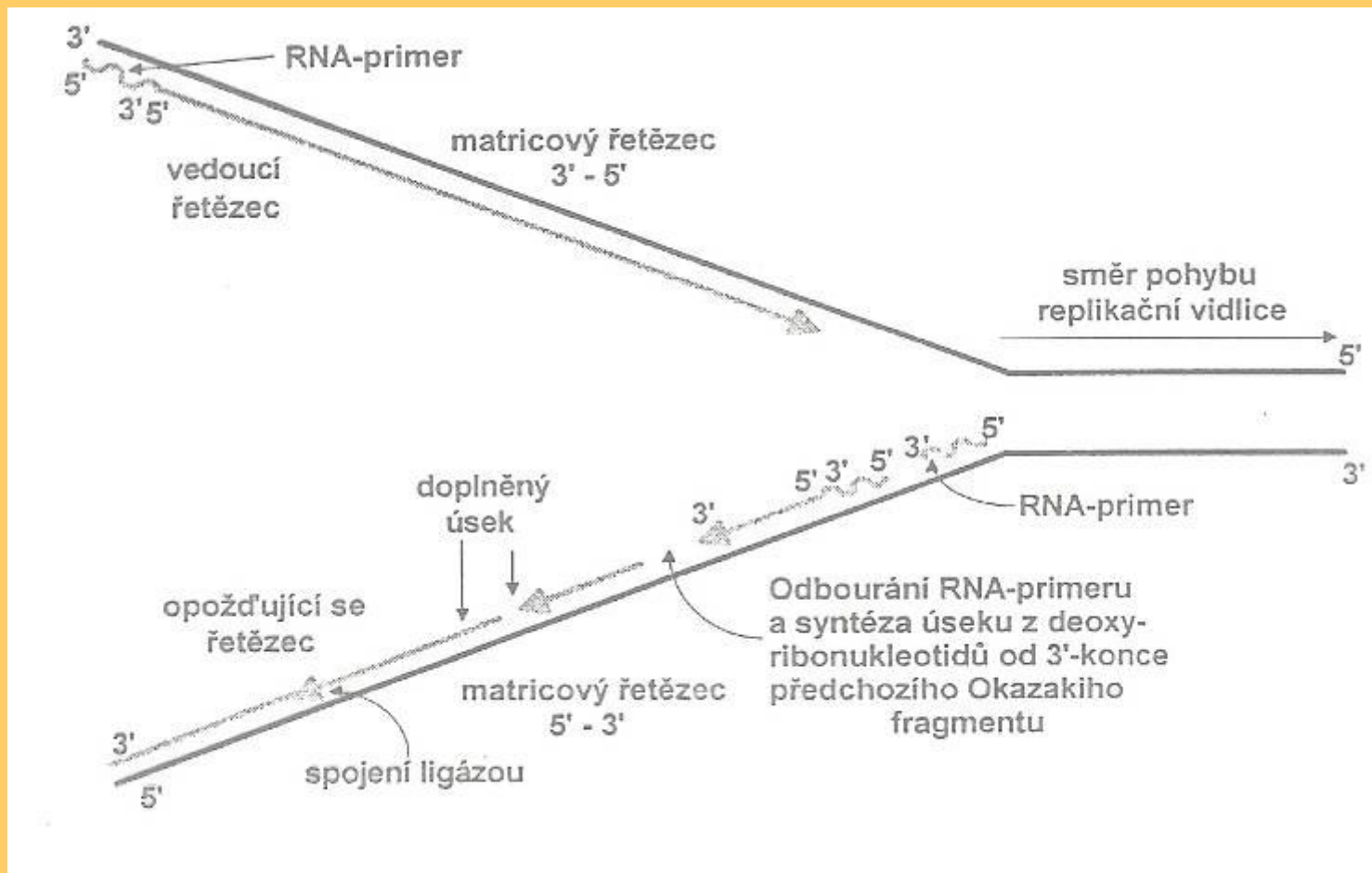
- U **prokaryot** (bakterie, archea) dvouřetězcová většinou kružnicová
- U **DNA-virů** dvouřetězcová lineární, jednořetězcová lineární nebo jednořetězcová kružnicová
- Extrachromozomální DNA - **plazmidová, chloroplastová a mitochondriová DNA** jsou většinou kružnicové

Replikace nukleových kyselin

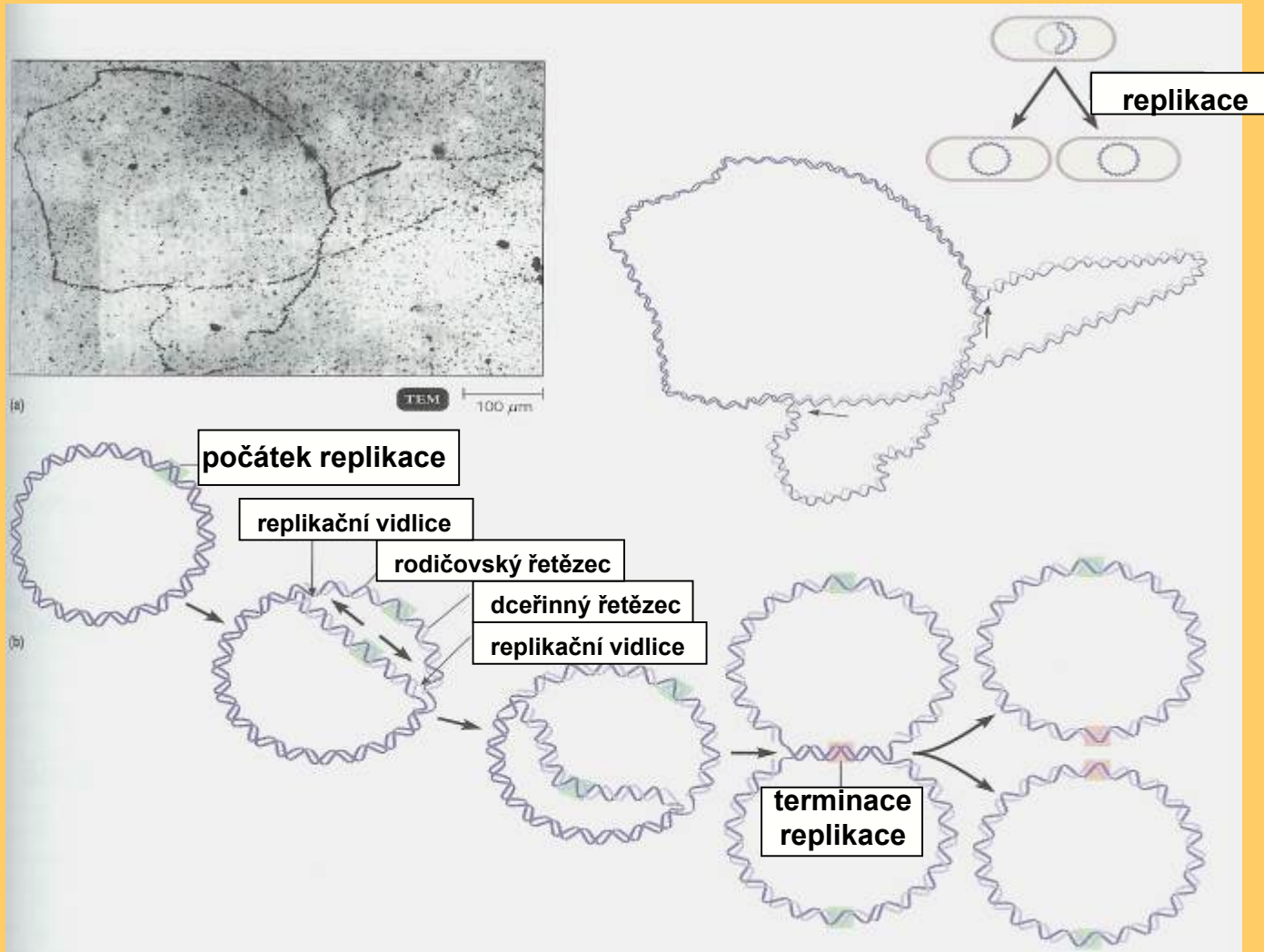
- Replikace – tvorba kopií molekul nukleových kyselin zajišťujících přenos genetické informace z DNA do DNA nebo z RNA do RNA

Semidiskontinuální syntéza DNA

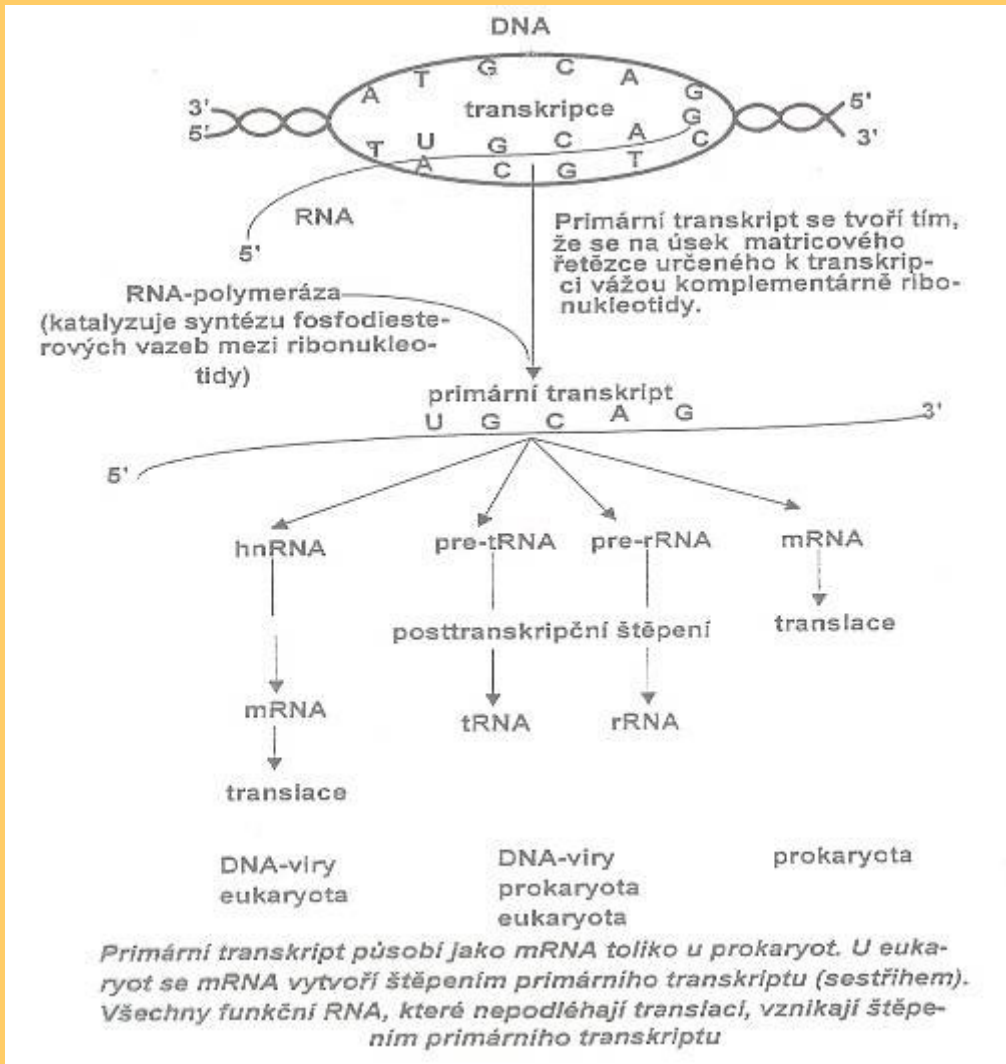
Replikace chromozómové DNA



Replikace plazmidové DNA

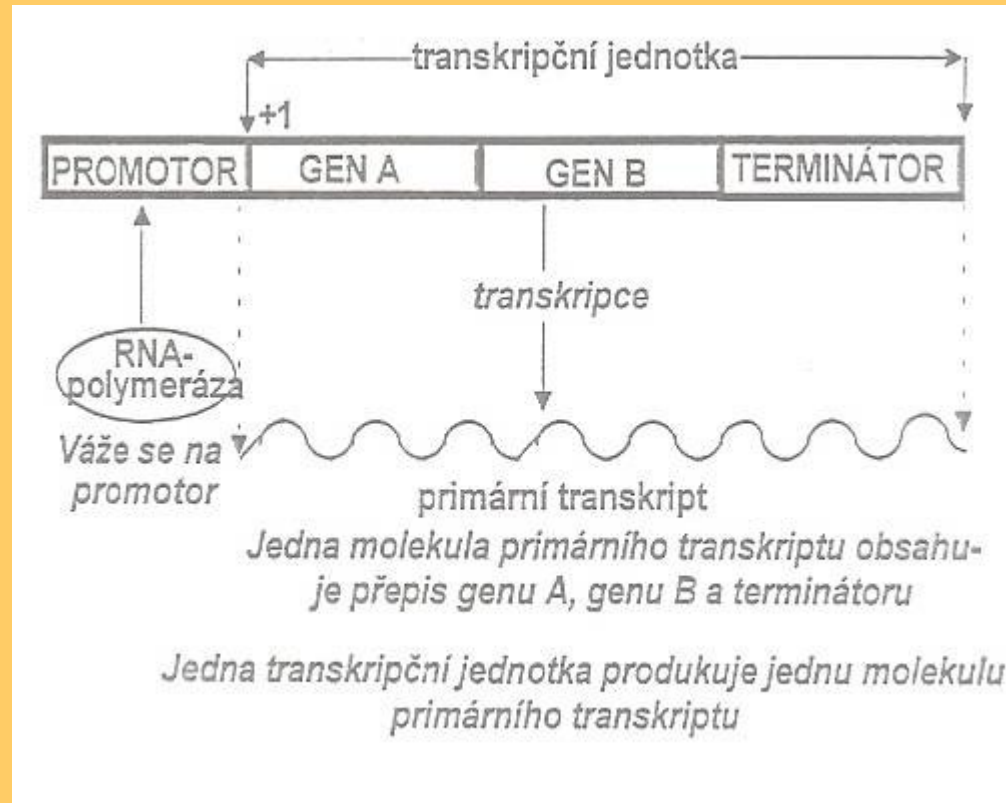


Základní schéma transkripce



u DNA-virů,
prokaryot,
eukaryot

Transkripční jednotka



Dědičnost, proměnlivost a přenos znaků u mikroorganismů

- dědičnost – souhrn znaků, které jsou v procesu reprodukce předávány na potomstvo
- dědičné znaky

Genetická informace

- Genetická informace je obsažena ve sledu (pořadí) nukleotidů – nukleotidových sekvencích funkčních typů nukleových kyselin

Nukleotidové sekvence

* v DNA nebo RNA sekvenci je obsažena informace o **primární struktuře proteinu**

* v DNA je informace o **primární struktuře biologicky funkční RNA** (tRNA, rRNA, ...)

* RNA sekvence může obsahovat **informaci o struktuře DNA**

* DNA nebo RNA sekvence může obsahovat **informace o vazbě ke specifickým proteinům** (začátek nebo konec transkripce)

Základní pojmy

■ Gen – jednotka genetické informace

Gen obsahuje genetickou informaci o primární struktuře buď

- * funkční molekuly translačního produktu (polypeptidu, proteinu)
- * funkční molekuly produktu transkripce (tRNA, rRNA atd.) nepodléhající translaci

Genetický kód

- **System pravidel determinujících způsob přepisu pořadí nukleotidů do pořadí aminokyselin v peptidickém řetězci**

Genetický kód

- Základní jednotkou genetického kódu je

kodon

tj. pořadí nukleotidů, kódující určitou aminokyselinu v peptidickém řetězci

Genetický kód

- Genetický kód je **tripoletový**
- Je sestaven ze **64 kodonů**
- **Je degenerovaný** (jedna aminokyselina je kódována několika kodony)
- Aminokyseliny kóduje pouze **61 kodonů**
- Schopnost kodonu kódovat aminokyselinu se označuje jako **smysl kodonu**

Genetický kód

Kodony					
První nukleotid (5' konec)	Druhý nukleotid				Třetí nukleotid (3' konec)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	N	N n.Secys	A
	Leu	Ser	N	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met n.I	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

N – nesmyslný kodon

I – iniciační kodon

Genetický kód

- Některé kodony jsou **nesmyslné**
 - * **UAA** - ochre
 - * **UAG** - amber
 - signalizují ukončení syntézy polypeptidu (terminační kodony)
 - * **UGA** - opal je **bifunkční**
 - terminační kodon
 - kodon pro selenocystein

Gen

- v genu je kodována
 - * primární struktura bílkovinného řetězce (strukturní geny)
 - * struktura tRNA
 - * struktura rRNA
 - * mají regulační funkci

Gen

- **Lokus** - umístění genu kódujícího daný enzym metabolické dráhy na různých místech chromozomu (u eukaryot)

Genom – souhrn všech genů buňky nebo viru

- U **eukaryot** jsou geny lokalizovány v různých organelách → jádro, mitochondrie nebo chloroplasty (případně plazmidy)
- U **prokaryot** jsou geny lokalizovány na chromozomové DNA a plazmidech

Genotyp

- Souhrn všech genů představujících genetickou informaci
 - * nesených na chromozomální i extrachromozomální DNA
- Projev genotypu (potenciál pro projev v podobě znaků) je závislý na podmínkách vnějšího prostředí

Fenotyp

- Projev genotypu za daných vnějších podmínek
- Znamená to, že daný genotyp se může v různých podmínkách projevit různě

Fenotyp

- Pokud je změna vnějších podmínek tak intenzivní, že vede k nápadné změně fenotypu, označuje se tato změna jako **modifikace fenotypu**
- Modifikace se projevuje u **převážné části** mikrobiální populace
- Modifikace **je jev reverzibilní**. Po odeznění podmínek vyvolávajících změnu, se vrací populace do “normálního“ stavu

Plazmidy

- Samostatný replikon tvořený dsDNA (cirkulární nebo lineární)
- **Nenese informace o dělení buňky**
- Nese informace o specifickém fenotypovém projevu



plazmid

Plazmidy

- Každý plazmid obsahuje
 - * lokus **ori** – počátek replikace
 - * lokus **inc** – místo pro připojení na biologickou membránu při replikaci

Plazmidy

- Plazmid je

- * **jednokopiový** – pouze jedna kopie DNA v buňce
- * **vícekopiový** – několik kopií téhož plazmidu v buňce

Plazmidy

■ Plazmid je

- * **kompatibilní** – dva různé plazmidy v jedné buňce mají odlišný lokus **inc**, mohou se replikovat současně
- * **inkompatibilní** – mají stejný lokus **inc**

Plazmidy

- Plazmid může být v
 - * **autonomním stavu** - samostatný replikon lokalizovaný volně v základní cytoplazmě (replikuje se nezávisle na replikaci chromozomu)
 - * **integrovaném stavu** – navázaný **mezi** geny v chromozomální DNA (replikuje se současně s replikací chromozomu)

Plazmidy

- Plazmid je

- * **konjugativní** – obsahuje geny **tra** (označované i jako fertilitní faktor) zodpovědné za syntézu sexuálních pilusů, a průběh konjugace
- * **nekonjugativní** – neobsahují geny **tra**

Plazmidy u bakterií

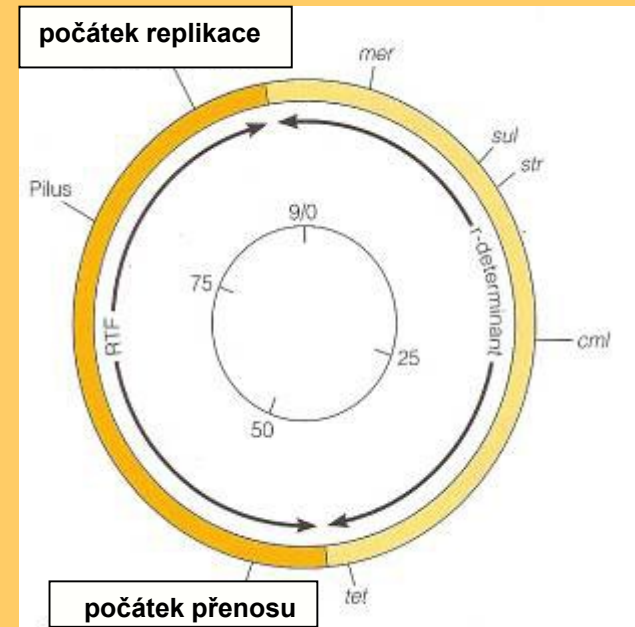
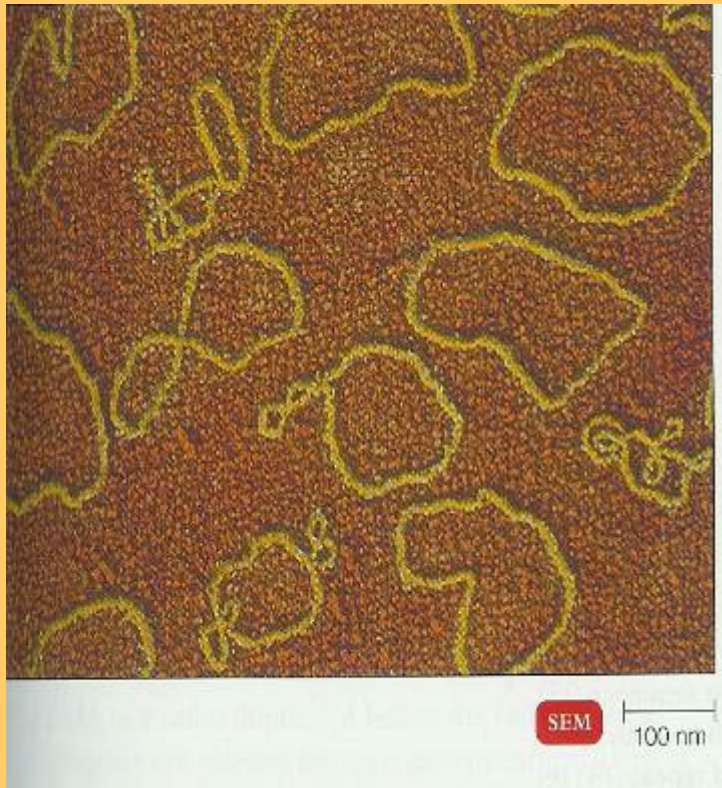
Plazmidy se u bakterií vyskytují velice často – málo druhů bez plazmidů

- Plazmidy F a F' - konjugativní plazmidy u *E.coli* K12
 - * F faktor (fertilní faktor)
 - * Jsou zodpovědné za průběh konjugace
 - * Jsou zodpovědné za syntézu sexuálních pilusů

R - plazmidy

- R faktory jsou zodpovědné za rezistenci k
 - * antibiotikům
 - * těžkým kovům
 - * buněčným toxinům
- Objeveny byly v Japonsku v r. 1950 při epidemii dysenterie
- Jeden plazmid může nést informaci o rezistenci k několika látkám – vznik polyrezistentních kmenů

R - plazmidy

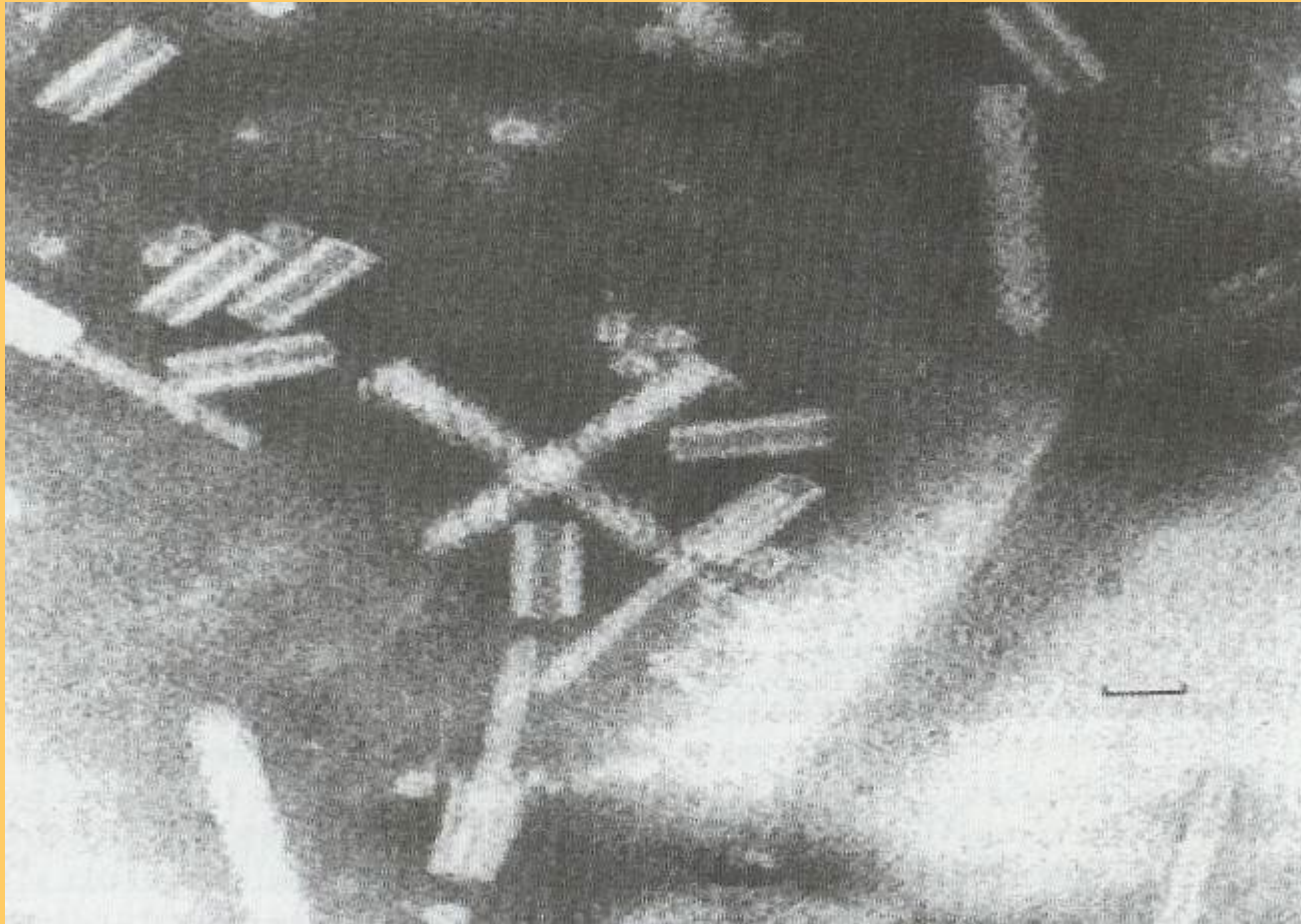


R plazmid *Bacteroides fragilis* kodující rezistenci ke clindamycinu

Bakteriocinové faktory

- Bakteriocin – bílkovina usmrcující citlivé kmeny téhož druhu nebo jiných druhů
- Bakteriociny působí na cytoplazmatickou membránu nebo na syntézu bílkovin. Mohou také blokovat vazebná místa na buněčné stěně (receptory)
- Col plazmidy (koliciny)

Bakteriocin



Pyocin R - *Pseudomonas aeruginosa*

Plazmidy

■ Kryptické

Představují skupinu plazmidů, jejichž fenotypový projev není dosud znám

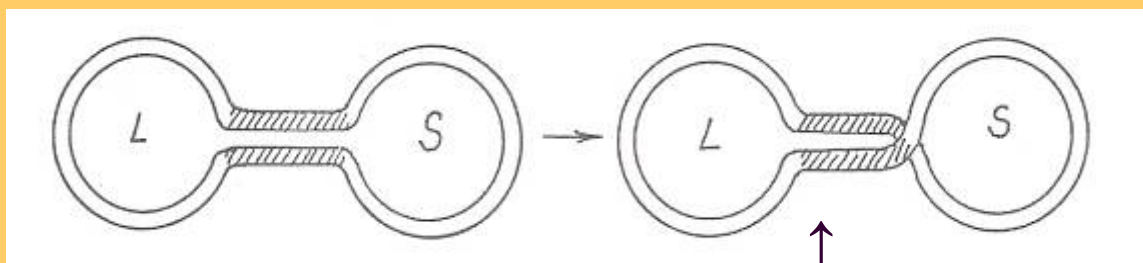
■ Degradativní

Nesou informaci o schopnosti využívat “neobvyklé“ látky (toluen, oktan, kafr, kys. salicylovou,)

Plazmidy kvasinek

- Dosud popsány u některých druhů rodu *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Schizosaccharomyces*, *Candida* a *Zygosaccharomyces*
- Nejlépe prostudovaným je plazmid označený 2 μ m *Saccharomyces cerevisiae*
- Vyskytuje se v **nukleoplazmě** v 60-100 kopiích na diploidní buňku
- Plazmid 2 μ m se používá v genovém inženýrství jako vektor pro klonování

Plazmid 2 μ m u *Saccharomyces cerevisiae*



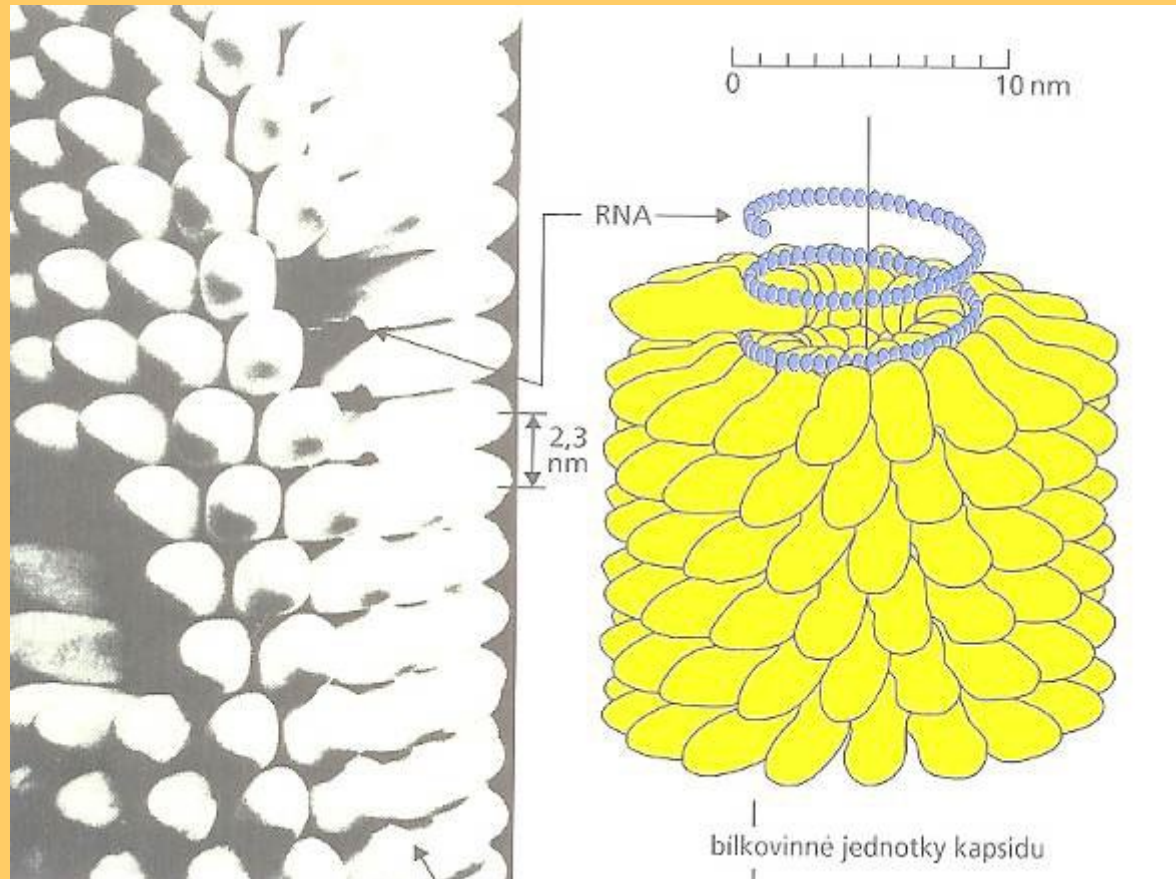
Překřížení

ds cirkulární DNA

obvodová délka 2 μ m

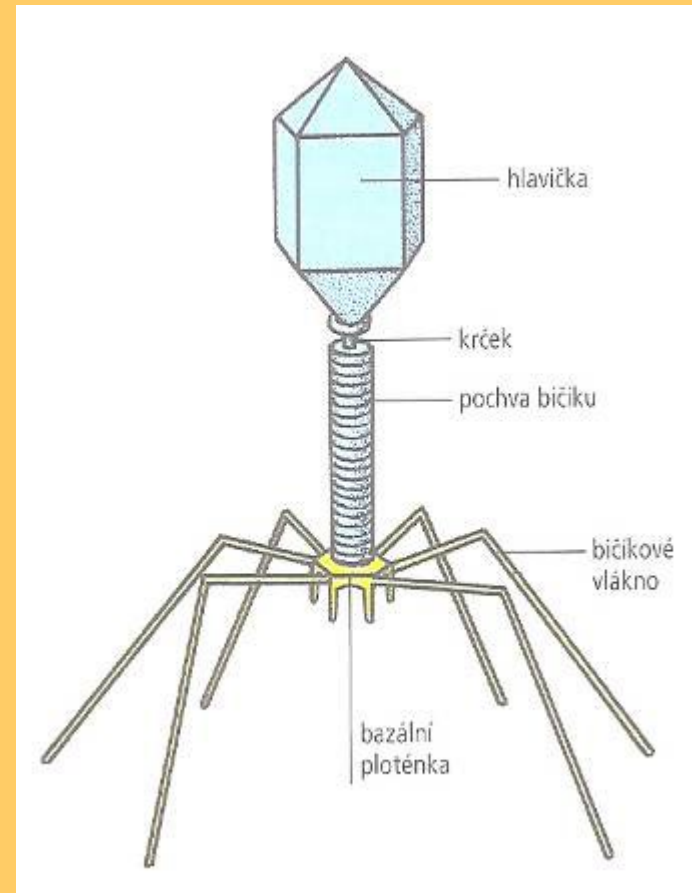
6 kb

Virus tabákové mozaiky

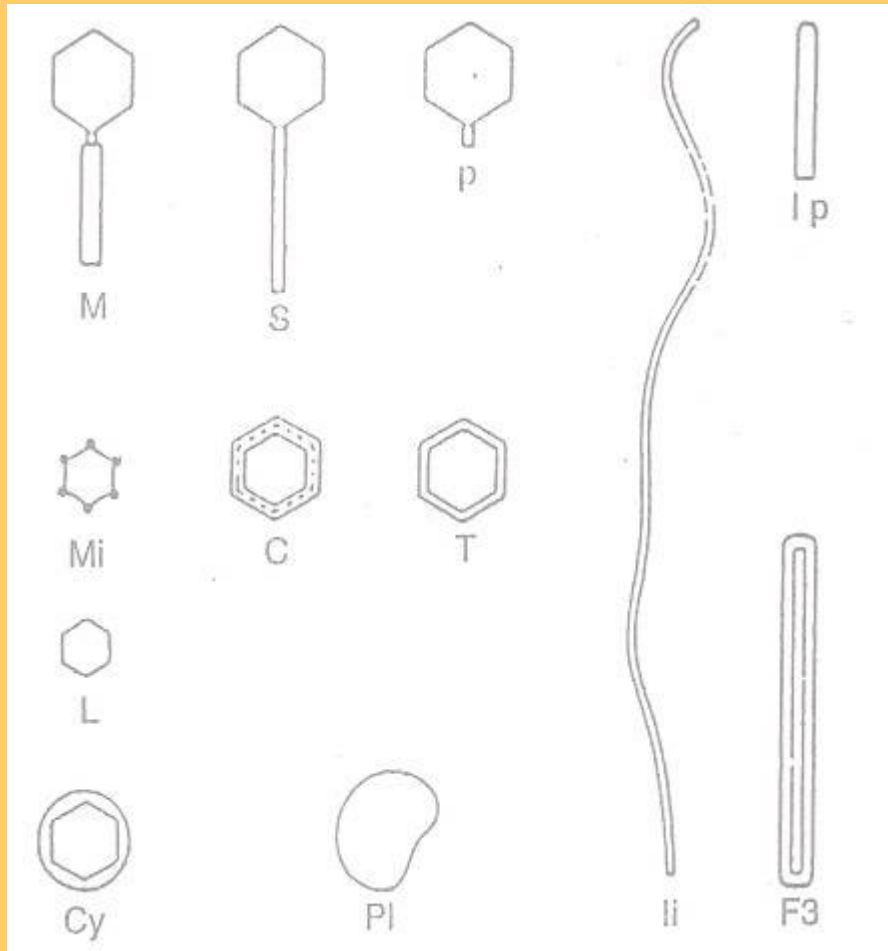


Bakteriofágy

- Viry bakterií
- Mají specifickou strukturu
- Klasifikace je velmi nesnadná a je založena především na morfologické stavbě



Morfologie a taxonomie bakteriofágů



- M – Myoviridae
- S – Siphoviridae
- li – Inoviridae
- lp – jiný morfologický typ čel. Inoviridae
- Mi – Microviridae
- C – Corticoviridae
- T – Tectiviridae
- Cy – Cystoviridae
- PI – Plasmoviridae
- F3 – Skupina F3

Bakteriofágy – životní cyklus

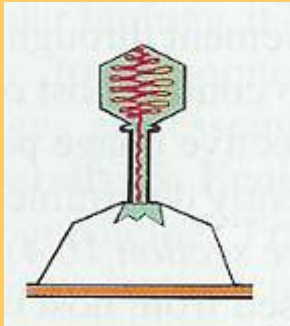
■ Virulentní bakteriofág

- Adsorpce
- Penetrace
- Injekce
- Replikace
- Lyze buňky

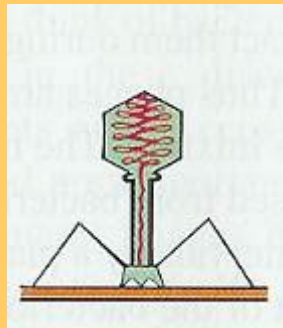
■ Temperovaný bakteriofág

- * adsorpce
 - * penetrace
 - * injekce
 - * začlenění do chromozomu bakt.buňky
- ↓
- * uvolnění z chromozomu
 - * replikace
 - * lyze buňky

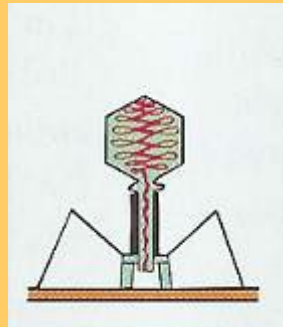
Bakteriofág – adsorpce, penetrace, injekce



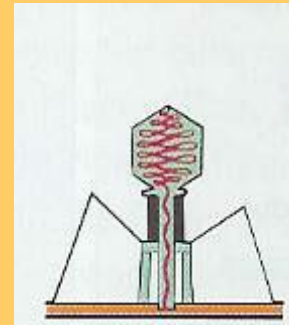
vazba
na
povrch



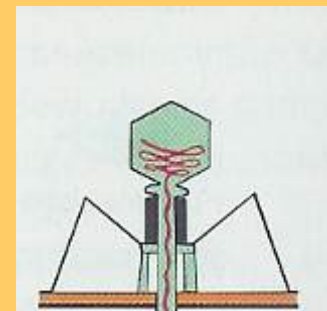
adsorpce
(irreverzibilní)



kontrakce
pochvy



penetrace

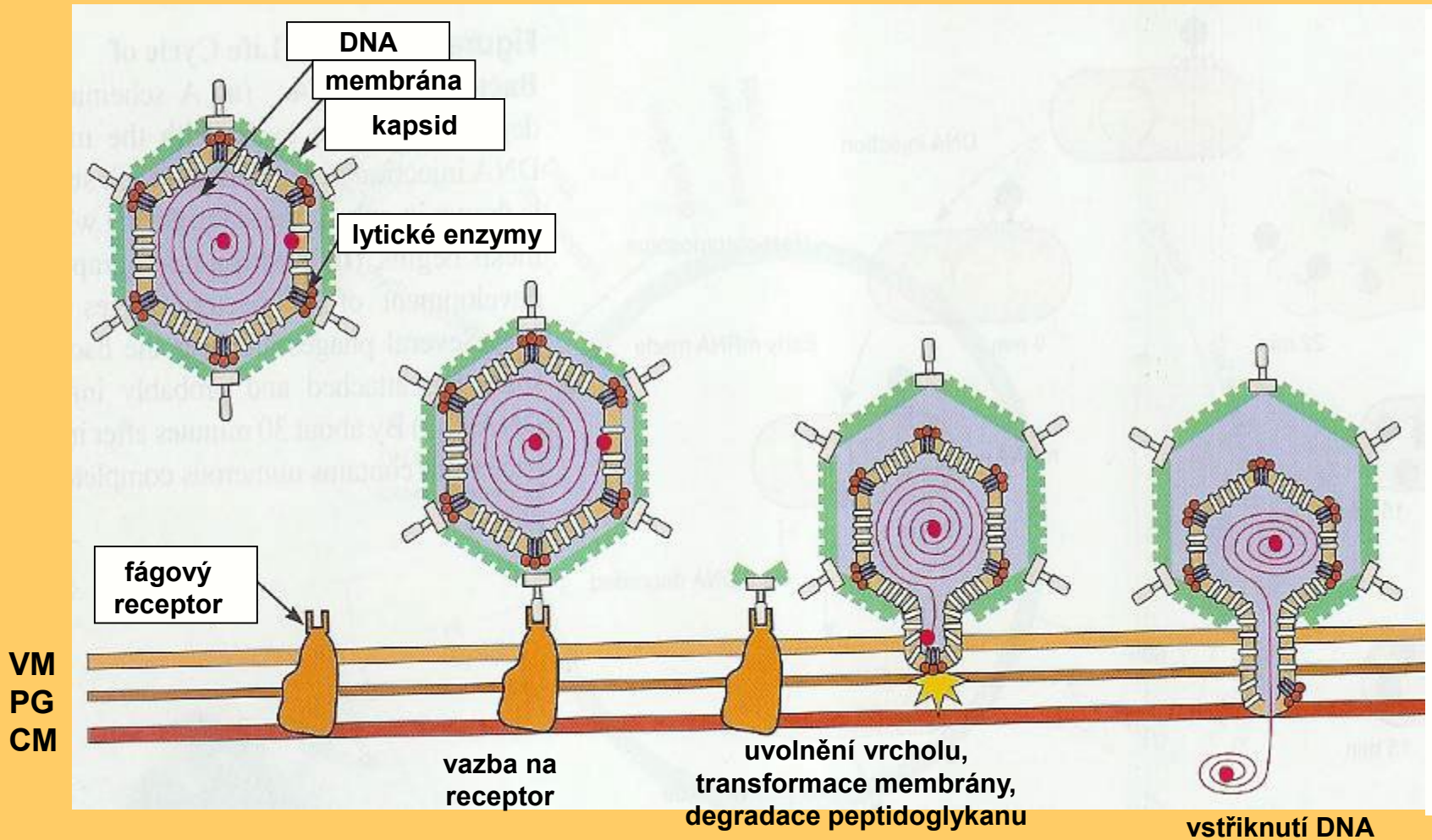


injekce DNA



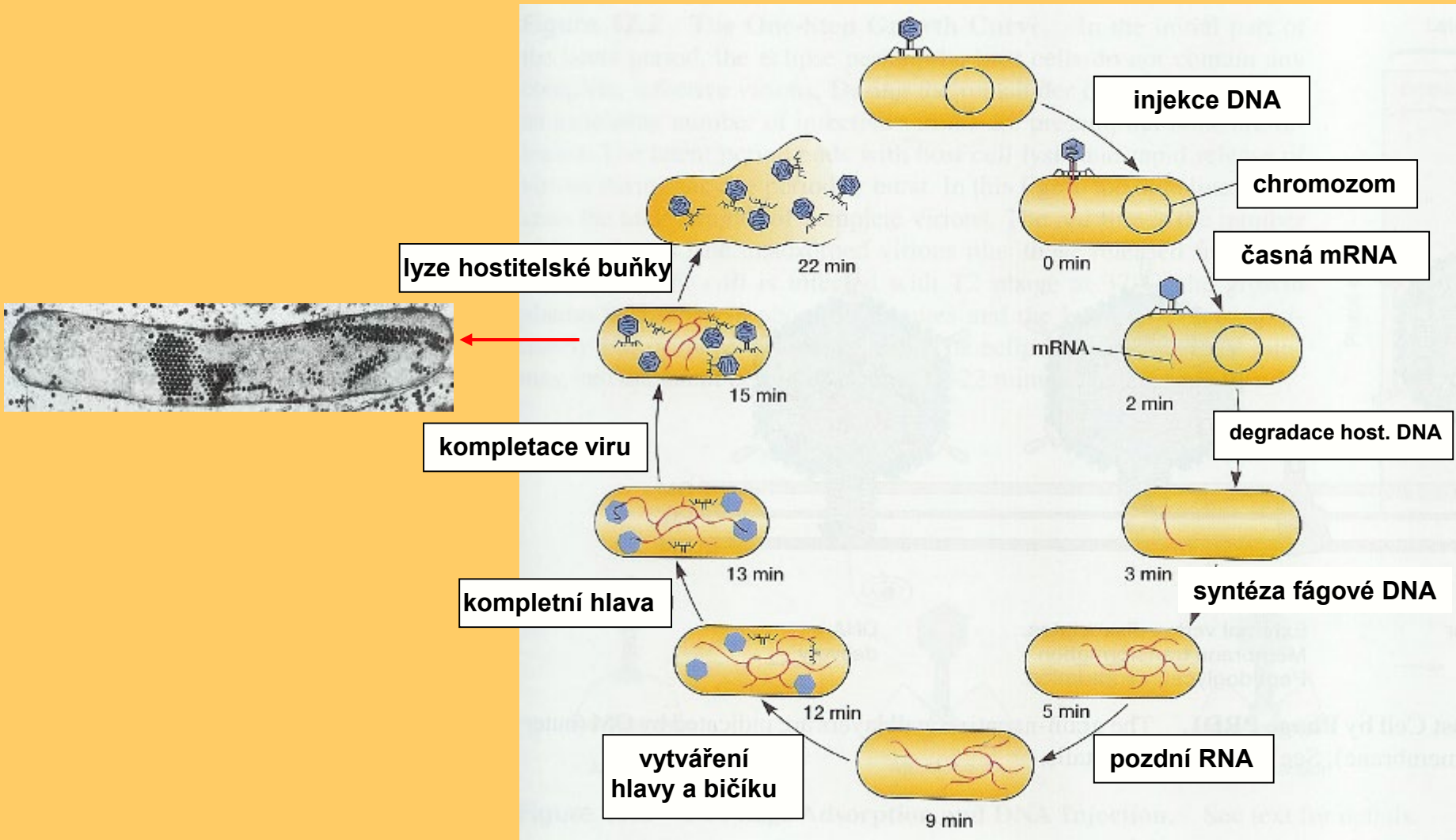
Bakteriofág – adsorpce, penetrace, injekce

(fág PRD1 – *Tectiviridae*, host.buňky *Enterobacteriaceae*)

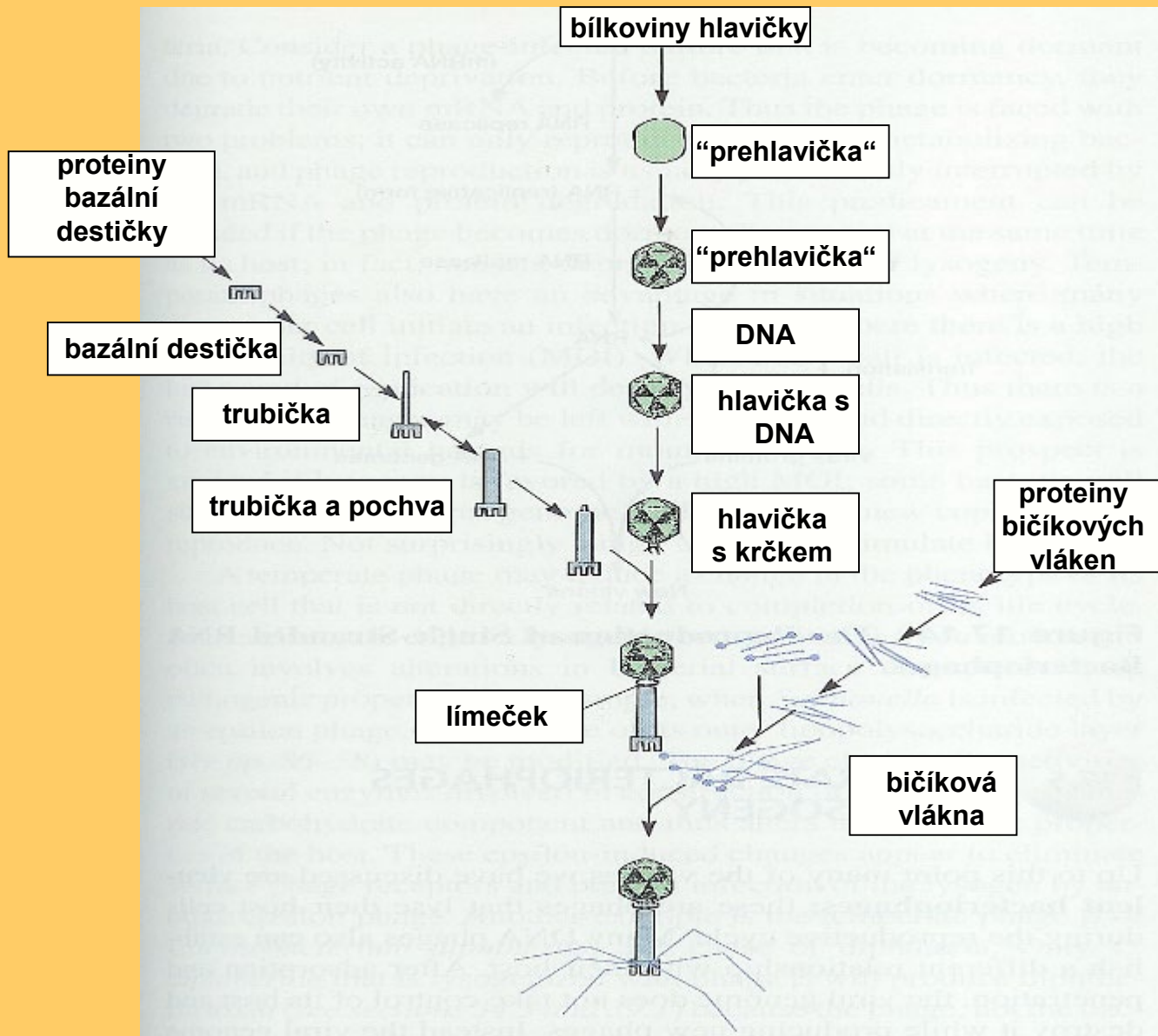


VM-vnější membrána , PG-peptidoglykan , CM-cytoplazmatická membrána

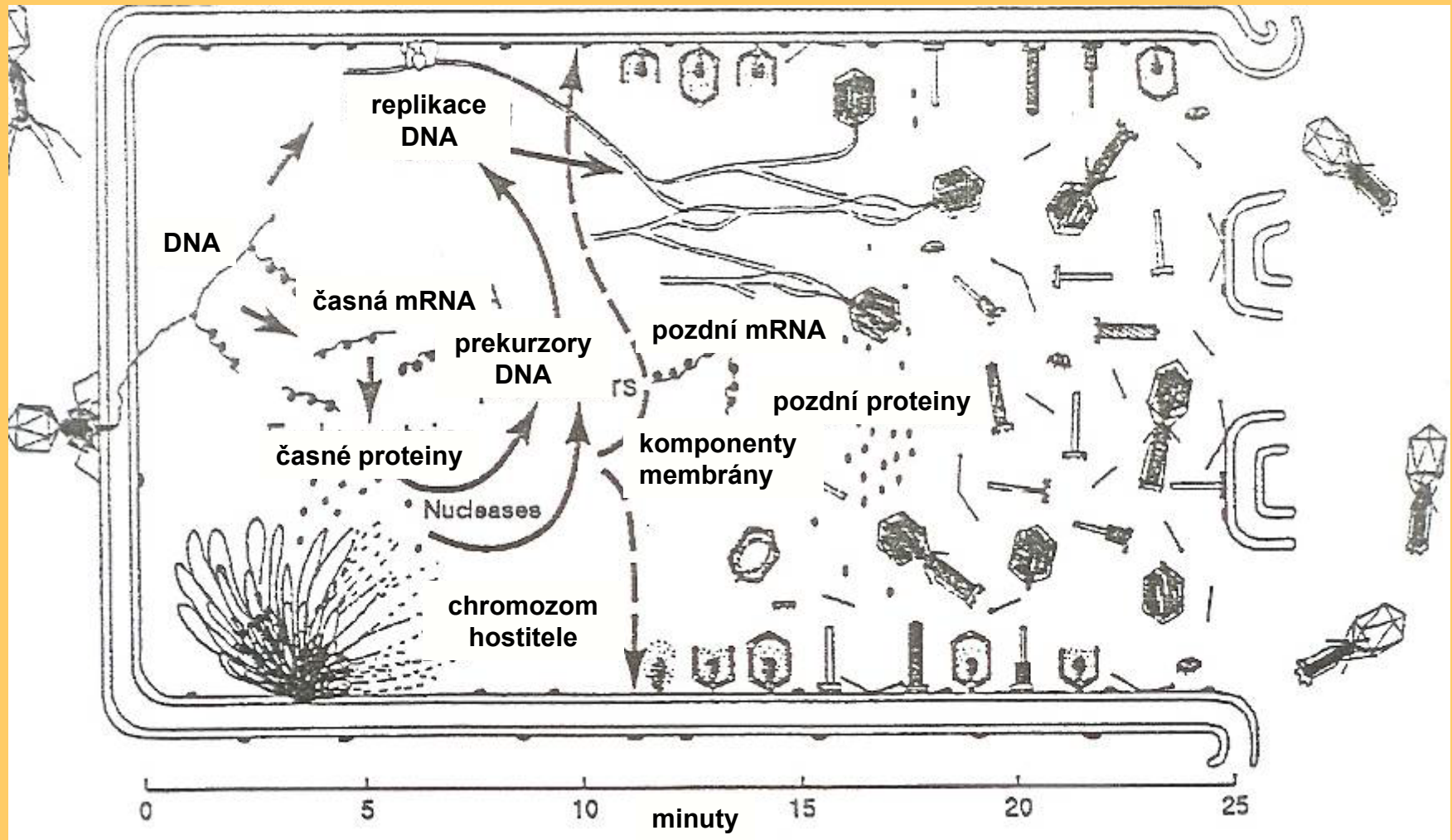
Bakteriofágy – životní cyklus fága T4



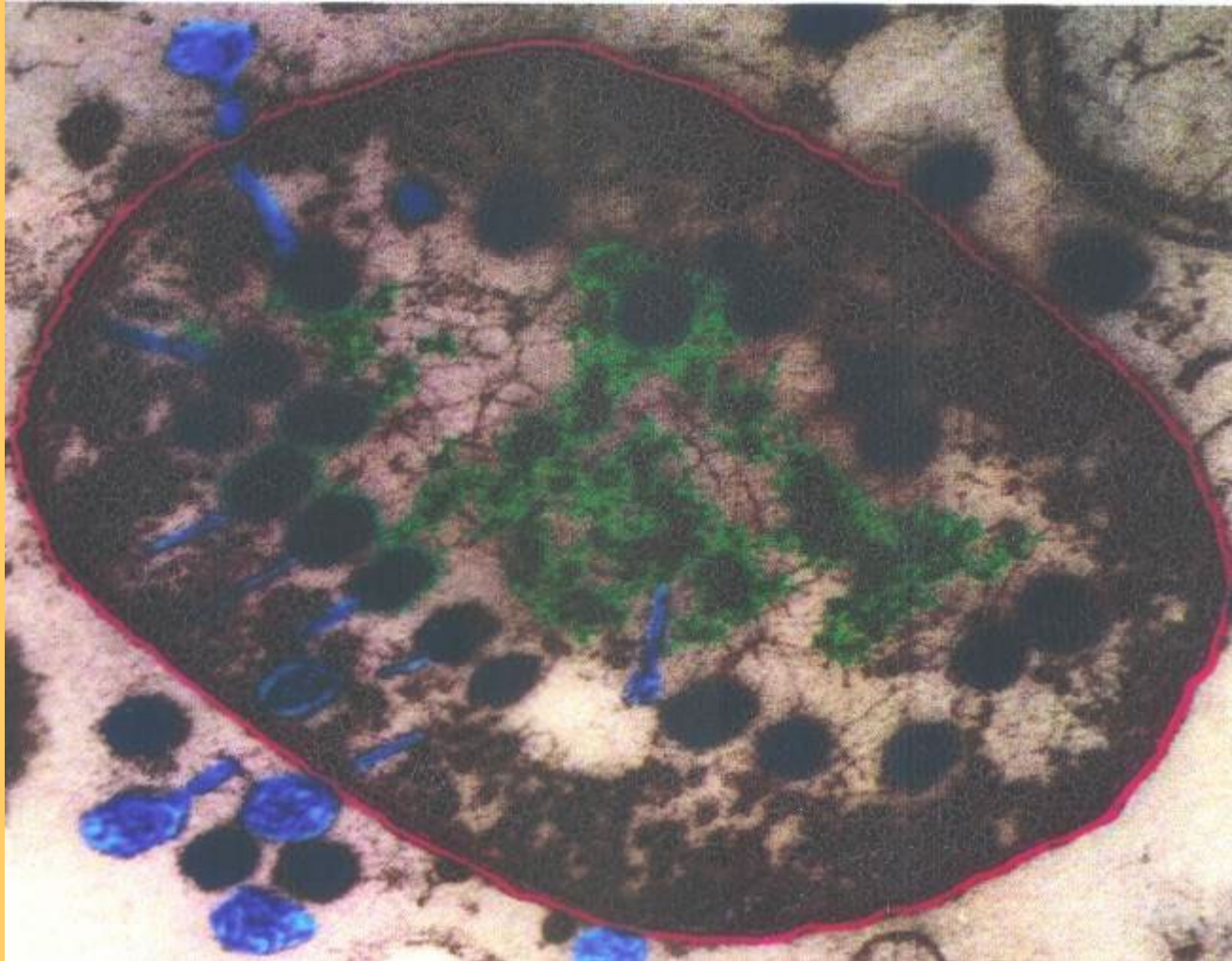
Bakteriofágy – “tvorba“ fága T4



Množení fágové částice v hostitelské buňce (shrnutí)



Maturace fágové částice



Bakteriofágy – životní cyklus

■ Virulentní bakteriofág

- Adsorpce
- Penetrace
- Injekce
- Replikace
- Lyze buňky

■ Temperovaný bakteriofág

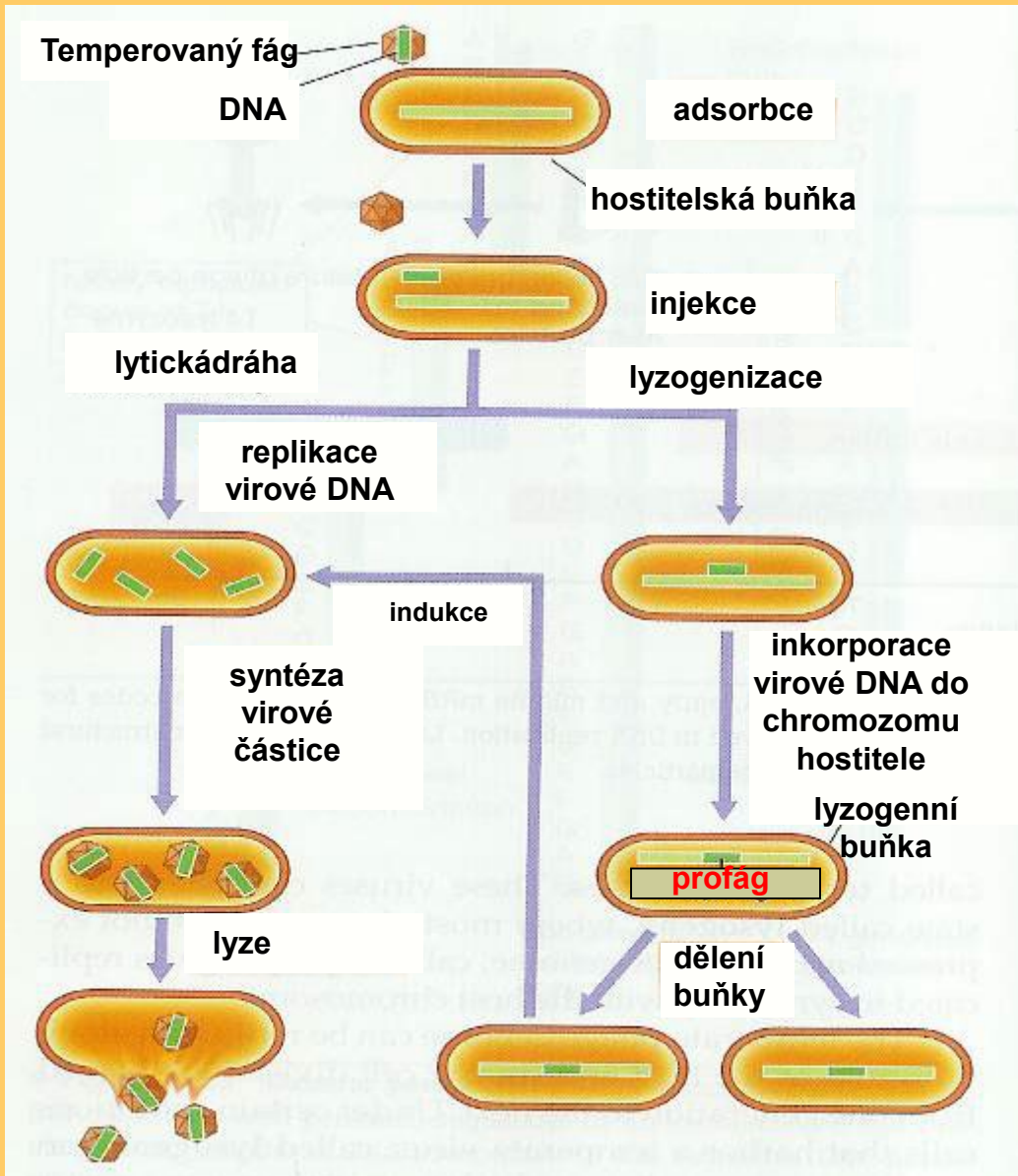
- * adsorpce
 - * penetrace
 - * injekce
 - * začlenění do chromozomu bakt.buňky
- ↓
- * uvolnění z chromozomu
 - * replikace
 - * lyze buňky

Bakteriofágy – lyzogenie

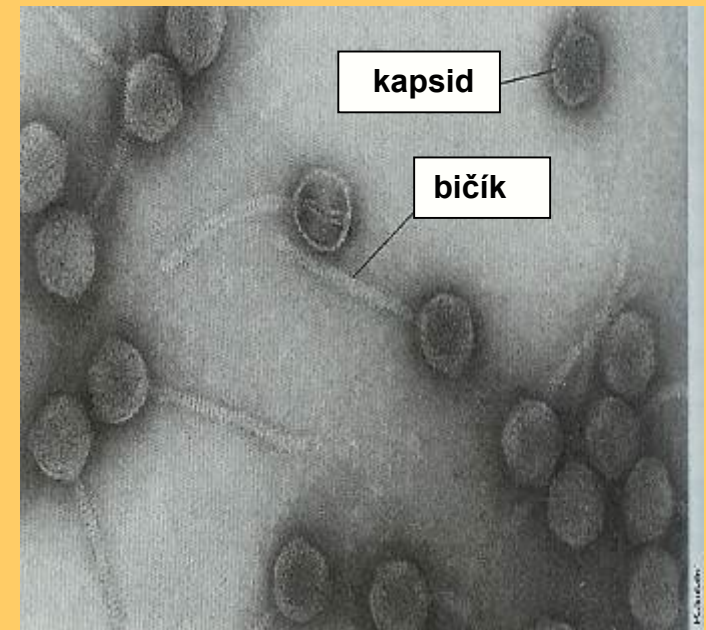
- Infekce buňky temperovaným (mírným) fágem
 1. proběhne normální **lytický cyklus**
 2. fágový chromozom se integruje do chromozomu hostitelské buňky (buňka infekci “přežije”) – **lyzogení buňka**

Integrovaný fág se označuje jako **profág**

Bakteriofágy – životní cyklus (temperovaný fág)



Fág λ - hostitel: *E.coli*



Okázky 12

- 1. Replikace DNA
- 2. Transkripce a translace
- 3. Gen, genom, mikrobiom
- 4. Genotyp a fenotyp
- 5. Lytický a lysogenní životní cyklus fágů