

## Seznam použitých zkratek (v abecedním pořadí)

A	Adenin
ADH	Alkoholdehydrogenasa
ADP	Adenosindifosfát
AMP	Adenosinmonofosfát
ATP	Adenosintrifosfát
BM	Bazální metabolismus
C	Cytosin
CAM	Crassulacean Acid Metabolism (metabolismus kyselin u tučnolistých)
CoA	Koenzym A
CoQ	Ubichinon (koenzym Q)
CoQH <sup>•</sup>	Ubisemichinon
CoQH <sub>2</sub>	Ubichinol
CTP	Cytidintrifosfát
cyt	Cytochrom
dAMP	Deoxyadenosinmonofosfát
dATP	Deoxyadenosintrifosfát
dCMP	Deoxycytidinmonofosfát
dCTP	Deoxycytidintrifosfát
dGMP	Deoxyguanosinmonofosfát
dGTP	Deoxyguanosintrifosfát
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
dTMP	Deoxythymidinmonofosfát
dTTP	Deoxythymidintrifosfát
ER	Endoplasmatické retikulum
FAD	Oxidovaný flavinadenindinukleotid
FADH <sub>2</sub>	Redukovaný flavinadenindinukleotid
Fd	Ferredoxin
FMN	Oxidovaný flavinmononukleotid
FMNH <sub>2</sub>	Redukovaný flavinmononukleotid
G	Guanin
GA	Golgiho aparát
GTP	Guanosintrifosfát
HDL	Lipoproteinová částice o vysoké hustotě (high density lipoprotein)
hnRNA	Heterogenní jaderná ribonukleová kyselina
IDL	Intermediální lipoproteinová částice (intermediate density lipoprotein)
LDH	Laktátdehydrogenasa
LDL	Lipoproteinová částice o nízké hustotě (low density lipoprotein)
mRNA	Mediatorová ribonukleová kyselina
NA	Nukleová kyselina
NAD <sup>+</sup>	Oxidovaný nikotinamidadenindinukleotid
NADH	Redukovaný nikotinamidadenindinukleotid
NADP <sup>+</sup>	Oxidovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NADPH	Redukovaný nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NTP	Nukleosidtrifosfát
P (P <sub>i</sub> )	Anorganický fosfát (HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup> )
P <sub>680</sub>	Pigment reakčního centra fotosystému II
P <sub>700</sub>	Pigment reakčního centra fotosystému I

pC	Plastocyanin
PCR	Polymerase chain reaction
PP <sub>i</sub>	Anorganický difosfát (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> <sup>4-</sup> )
pQ	Plastochinon
pre-mRNA	Primární transkript
PS	Fotosystém
RNA	Ribonukleová kyselina
rRNA	Ribosomální ribonukleová kyselina
RuBisCo	Rubilosabisfosfátkarboxylasa
SSB	Svírací protein (single-strand binding protein)
T	Thymin
tRNA	Transferová ribonukleová kyselina
U	Uracil
UTP	Uridintrifosfát
vit.	Vitamin
VLDL	Lipoproteinová částice o velmi nízké hustotě (very low density lipoprotein)

## 2 Nukleové kyseliny a syntéza bílkovin

### 2.1 Struktura DNA a RNA

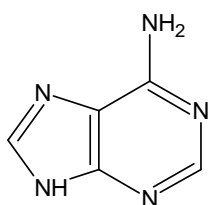
Existují dva typy nukleových kyselin (NA, z anglických slov *nucleic acid*): **deoxyribonukleová (DNA)** a **ribonukleová (RNA)**.

DNA je lokalizována v buněčném jádře, RNA v cytoplasmě.

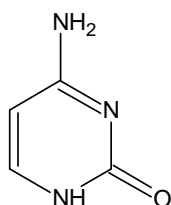
#### Jaká je primární struktura DNA a RNA?

DNA a RNA jsou tvořeny z **nukleotidů**. Nukleotidy se skládají:

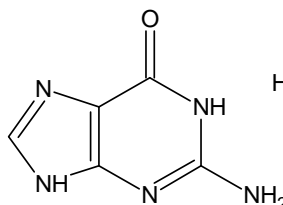
- z dusíkaté heterocyklické báze (z **adeninu, cytosinu, guaninu, thyminu a uracilu**);
- z pentosy (z **deoxyribosy** v DNA, z **ribosy** v RNA);
- ze zbytku kyseliny fosforečné.



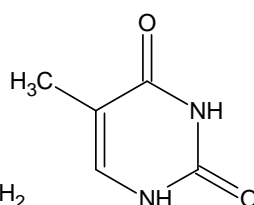
Adenin



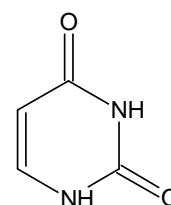
Cytosin



Guanin

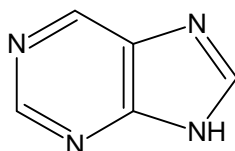


Thymin

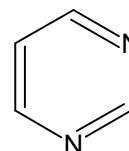


Uracil

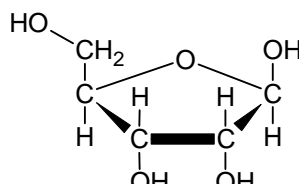
Adenin a guanin patří mezi deriváty purinu; thymin, cytosin a uracil patří mezi pyrimidinové deriváty. Thymin, adenin, guanin a cytosin jsou složky DNA, kdežto RNA tvoří adenin, guanin, cytosin a uracil;



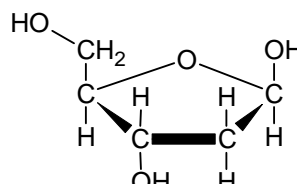
Purin



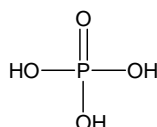
Pyrimidin



D-Ribosa



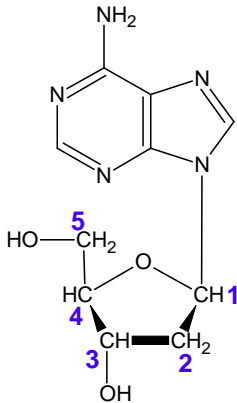
2-deoxy-D-ribose



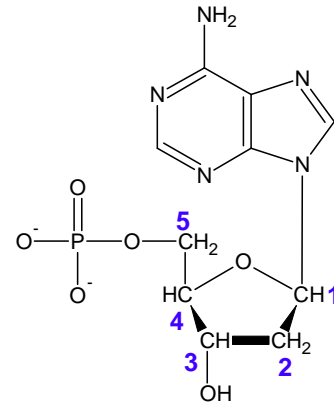
Kyselina fosforečná (ve vodných roztocích ve formě iontu – viz kap. 4.1)

### Jaký je rozdíl mezi nukleotidem a nukleosidem?

**Nukleosid** se skládá pouze z dusíkaté báze a pentosy.



*Nukleosid (pentosa + báze)*

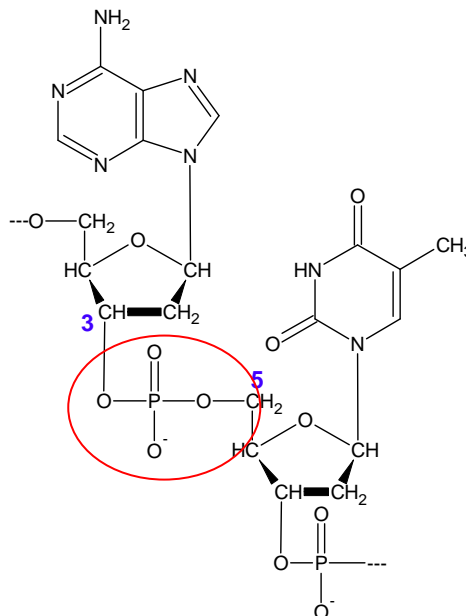


*Nukleotid (pentosa + báze + zbytek od kyseliny fosforečné)*

V uvedených vzorcích jsou uhlíky pentosy modře očíslovány (viz dále).

### Jak jsou jednotlivé nukleotidy mezi sebou vázány?

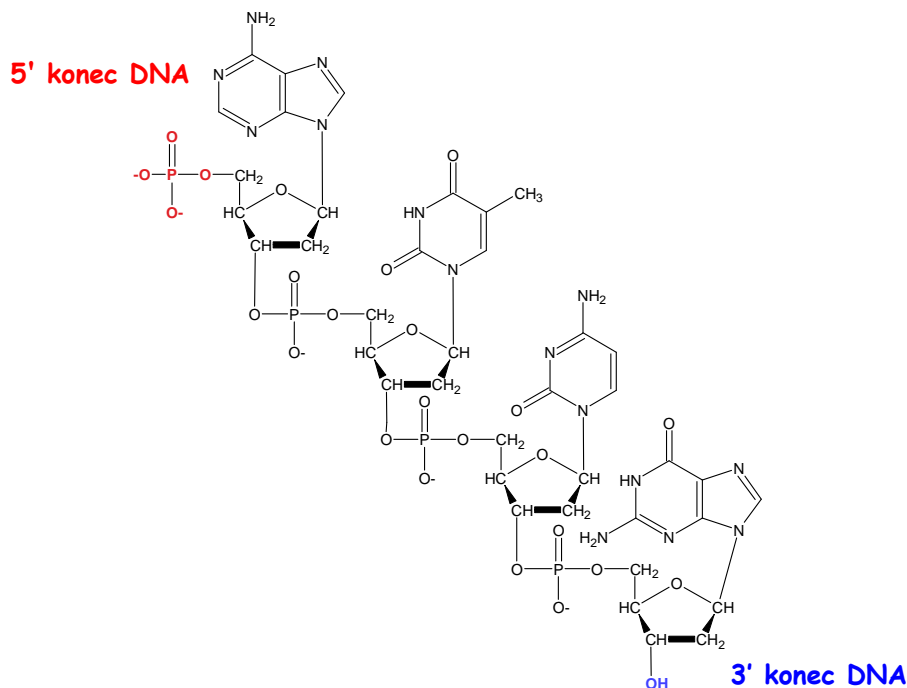
Mezi fosfátovou skupinou na 5. uhlíku pentosy prvního nukleotidu a hydroxylovou skupinou na 3. uhlíku pentosy druhého nukleotidu vzniká tzv. **fosfodiesterová vazba**.



*Obr. 20. Fosfodiesterová vazba*

Na jednom konci DNA je hydroxylová skupina -OH pentosy (**3' konec**). Na druhém konci DNA je fosfátová skupina od zbytku kyseliny fosforečné (**5' konec**).

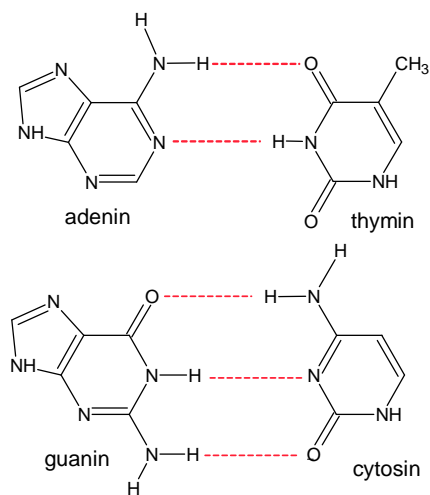
Na povrchu je NA velmi silně záporně nabitá.



Obr. 21. Úsek řetězce DNA

### Co je komplementarita bází?

Dusíkaté báze se mohou mezi sebou pomocí vodíkových vazeb párovat. To, které báze se budou mezi sebou párovat, není dáno náhodně. Je to dáno jejich **komplementaritou**, tj. adenin se páruje buď s thyminem (v DNA) nebo s uracilem (v RNA), guanin s cytosinem a naopak. Toto komplementární párování bází umožňuje párům bází zaujmout energeticky nejvýhodnější konformaci v rámci **dvoušroubovice**.

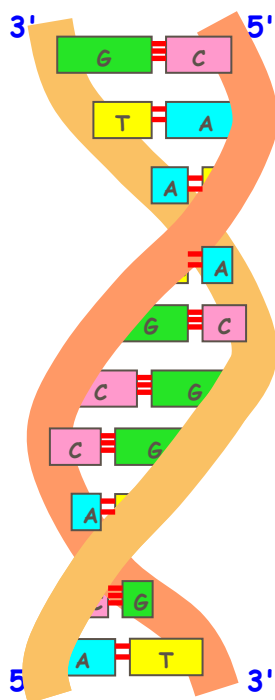


Obr. 22. Párování bází

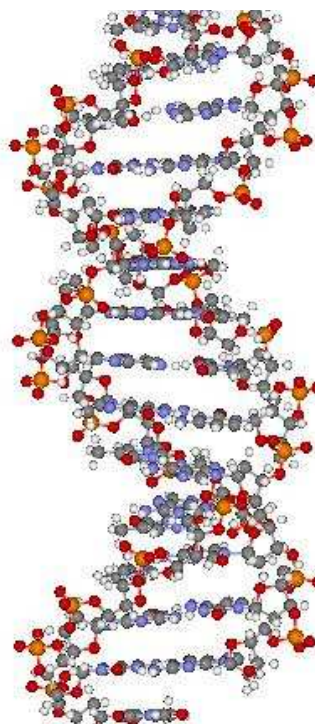
### Jaká je sekundární struktura DNA?

DNA je stočena do **pravotočivé dvoušroubovice**, která je stočena ze dvou komplementárních vláken DNA.

Řetězce v dvoušroubovici DNA jsou vůči sobě **antiparalelní**, tzn. že polarita jednoho řetězce je opačná k polaritě druhého řetězce DNA.



Obr. 23. Polarita pravotočivé dvoušroubovice



Obr. 24. Počítačový model DNA

Vodíkové vazby a tato zdvojená šroubovice přispívají k co největší stabilizaci molekuly DNA.

#### Typy DNA:

**B DNA** (nejčastější) – jedná se o pravotočivou dvoušroubovici mající zhruba 10 bází na závit; báze tvořící pár leží vždy v jedné rovině; dvoušroubovice DNA má na svém povrchu dva typy žlábků (malý a velký);

**A DNA** – opět se jedná o pravotočivou dvoušroubovici; má 11 párů bází na závit;

**Z DNA** – jedná se o levotočivou dvoušroubovici; vytváří se, pokud se ve šroubovici objeví pravidelné opakování bází adeninu a thyminu;

**cirkulární DNA** (kruhová DNA) – prokaryotní DNA i DNA semiautonómních organel (např. mitochondrií) jsou kruhové.

#### Jaká je sekundární struktura RNA?

RNA je složena pouze z jednoho různě stočeného vlákna. Pokud se blízko sebe ocitnou dva komplementární úseky vlákna RNA, mohou se mezi bázemi vytvořit vodíkové vazby.

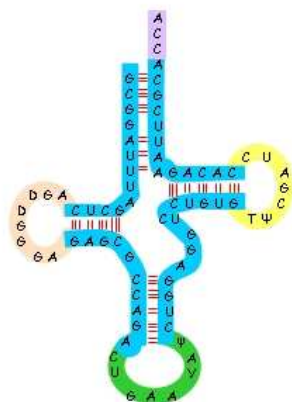
#### Typy RNA:

**mRNA** (informační, mediatorová) – vzniká přepisem genů kódujících aminokyselinovou sekvenci proteinů a její základní funkcí je řídit vznik proteinu;

**rRNA** (ribosomální) – tvoří jádro ribosomů, na kterých je mRNA překládána do proteinu;

**tRNA** (transferová) – vybírá správné aminokyseliny a umísťuje je do správného místa na ribosomu, aby mohly být začleněny do rostoucího aminokyselinového řetězce.

rRNA a tRNA vznikají přepisem genů nekódujících aminokyselinovou sekvencí proteinu a jedná se o tzv. neinformační RNA.



Obr. 25. Molekula tRNA

## 2.2 Chromosom

### Jakou podobu zaujímá molekula DNA v lidské buňce?

DNA každého organismu kóduje veškerou RNA a proteiny, které jsou potřebné pro vznik jeho buněk.

Jádro typické lidské buňky má průměr přibližně 5-8  $\mu\text{m}$  a obsahuje DNA o délce asi 2 metry,<sup>(1)</sup> proto v eukaryotních buňkách jsou enormně dlouhé molekuly DNA asociovány se specifickými proteiny a sbaleny do **chromosomů**. U eukaryotních organismů je DNA v jádře rozdělena mezi sadu různých chromosomů. Každý chromosom se skládá z jedné molekuly DNA a komplexu bílkovin – **histonů**, které jsou navázané na DNA, aby umožnily svinutí DNA do kompaktnější struktury. Komplex DNA a proteinů se nazývá **chromatin**.

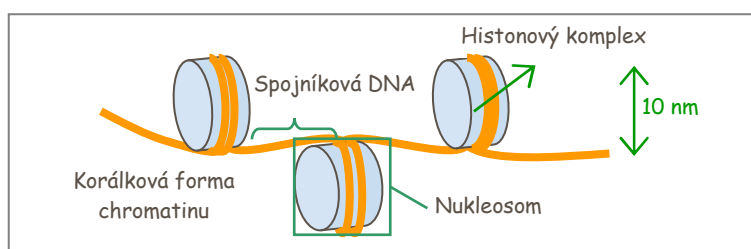
Chromosomy se vyskytují v kondenzovaném stavu (sbaleném) jen v malé části buněčného cyklu, a to v době buněčného dělení (jedná se o tzv. **mitotické chromosomy**). Jinak jsou obvykle chromosomy značně rozvolněné a vypadají jako jedna dlouhá, tenká, vzájemně propletená vlákna (tzv. **interfázové chromosomy**).

Před každým dělením buňky se každý chromosom musí samostatně zreplikovat (viz kap. 2.4) a jeho kopie musí být rozděleny do obou dceřiných buněk.

V mitotických chromosomech se nachází již zreplikovaná DNA a transkripce (viz kap. 2.5) je během mitosy zastavena.

### Jaká je struktura interfázového chromosomu?

Zjistilo se, že DNA je obtočena okolo histonového komplexu. Kolem histonového komplexu, jenž je tvořen 8 monomery histonů a má tvar nízkého válce o průměru 8 nm, je molekula DNA obtočena necelými dvěma závitů - vzniká tak **10 nm vlákno**. Komplex histonů a dvouřetězcové DNA, která ho obtáčí, se nazývá **nukleosom**.



Obr. 26. 10 nm vlákno

Jednotlivé nukleosomy spolu souvisejí kratšími úseky DNA. Histony jsou malé proteiny s vysokým obsahem kladně nabitých aminokyselin (lysin a arginin). Tyto pozitivní náboje umožňují pevné navázání histonů na negativně nabitou molekulu DNA (viz kap. 2.1).

### Jaká je struktura mitotického chromosomu?

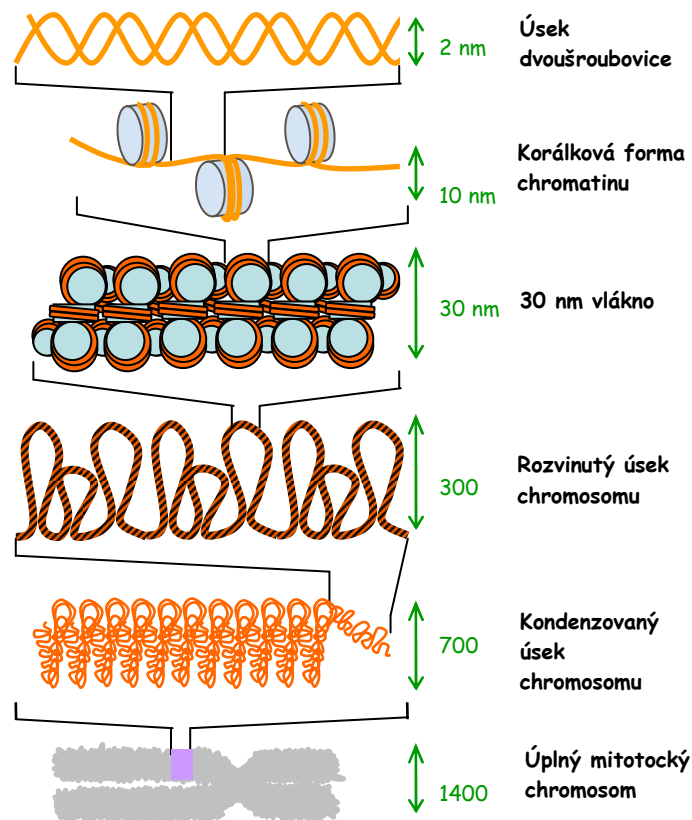
Před vstupem do mitosy (jedno ze stadií buněčného dělení) dochází k postupnému sbalování chromatinu. Chromatin se dále stáčí za vzniku tzv. **solenoidu**. Na jeden závit solenoidu připadá přibližně 6 nukleosomů. Vzniká tak **30 nm vlákno**.

30 nm vlákno je dále organizováno do smyček připojených k centrální ose – tzv. lešení (**scaffold**), které je bílkovinné povahy (nehistonové proteiny).

Jak se stávají chromosomy kompaktnější (vznikají tzv. **mitotické chromosomy**), transkripce je zablokována, neboť RNA-polymerasa (viz kap. 2.5) a ostatní proteiny nutné pro transkripci se nemohou vázat na DNA. Proto v mitotické fázi jsou již všechny chromosomy zreplikovány (viz kap. 2.4).

Solenoid se dále stáčí až na **chromatidu**. Mitotický chromosom je složený ze dvou dceřinných chromatid.

Molekula DNA je stočena do chromatid pouze během jaderného dělení (v mitose).



Obr. 27. Struktura mitotického chromosomu

## 2.3 Genetická informace

### Co je nositelem genetické informace?

Při buněčném dělení dochází k přenosu dědičné informace z mateřské buňky do dceřinné. Tato informace je v každé buňce uložena v podobě **genů** (nositelů genetické informace), což jsou úseky řetězce molekuly DNA, ve kterých je zakódována kompletní informace o určitém polypeptidovém řetězci (bílkovině). Molekula DNA je pro každého



člověka univerzální (s výjimkou jednovaječných dvojčat). Najdeme ji v každé buňce lidského těla. DNA např. určuje jakou barvu očí či vlasů bude mít ten který člověk. Způsobuje to právě ten strukturální gen, jenž je zmíněným úsekem DNA zodpovídající za barvu očí, vlasů popř. za jiné vlastnosti.

Kompletní soubor genetické informace uložené v DNA se nazývá **genom**.

Informace kódovaná ve struktuře DNA je dána pořadím nukleotidů v řetězci (lineární sekvence nukleotidů v DNA je překládána pomocí genetického kódu do lineární sekvence aminokyselin – viz kap. 2.5 a 2.6).

## 2.4 Replikace DNA

### K čemu dochází během procesu replikace DNA?

Před každým dělením buňky se každý chromosom musí samostatně **zreplikovat** a jeho kopie musí být rozděleny do obou dceřinných buněk. Při tomto procesu dochází k přenosu dědičné informace z mateřské buňky do dceřinné. Oba řetězce DNA obsahují navzájem komplementární sekvence nukleotidů, proto oba mohou sloužit jako **templát** (matrice, předloha) pro syntézu nového komplementárního řetězce.

Replikace DNA je **semikonzervativní**, protože výsledkem replikace jsou dvě dceřinné dvoušroubovice, z nichž každá má jedno vlákno původní (mateřské) a jedno nově nasyntetizované.

### Jak začíná replikace?

Celý proces replikace začínají **iniciační proteiny**, které se vážou na DNA a rozvíjejí její dvoušroubovicovou strukturu přerušováním vodíkových vazeb. Místům, kde je struktura dvoušroubovice nejdříve narušena, se říká **replikační počátky** a jsou určeny speciální nukleotidovou sekvencí.

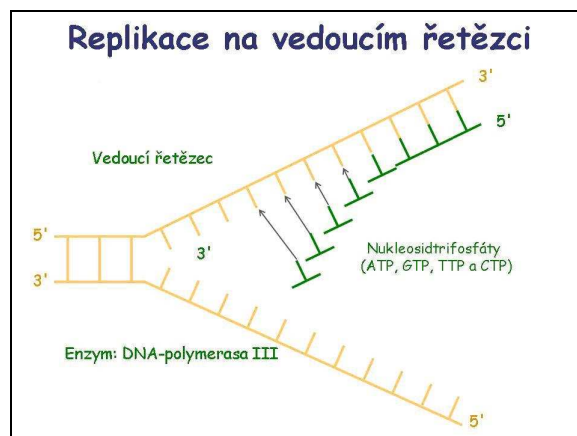
Bakteriální genom, který je obvykle tvořen jednou kruhovou DNA o délce několika miliónů bází má jediný replikační počátek. Lidský genom, který má přibližně  $3 \times 10^9$  nukleotidů má zhruba 10 000 takovýchto počátků.<sup>(1)</sup> Jejich velký počet umožňuje lidské buňce zreplikovat veškerou DNA během relativně krátké doby.

### Co jsou replikační vidličky?

Pro počátky replikace jsou typické útvary ve tvaru písmena Y, které se nazývají **replikační vidličky**. V replikačních vidličkách jsou navázány proteiny replikačního aparátu (viz dále), které se pohybují ve směru replikace a rozvíjejí dvoušroubovicovou strukturu za současné syntézy nového řetězce. V jednom replikačním počátku se vytvoří dvě replikační vidličky, které se pohybují směrem od sebe, proto je tato replikace nazývána **obousměrná**.

### Jakou funkci má enzym DNA-polymerasa?

Nejdůležitějším replikačním enzymem je **DNA-polymerasa** (viz tab. 1), která syntetizuje nové vlákno DNA podle původního řetězce. Tento enzym katalyzuje připojování nukleotidů na 3' konec rostoucího řetězce DNA za vzniku fosfodiesterové vazby mezi hydroxylovou skupinou na 3. uhlíku pentosy rostoucího řetězce a fosfátovou skupinou na 5. uhlíku pentosy přidávaného nukleotidu. **DNA je syntetizována ve směru 5' → 3'** (tzn., že narůstá na 3' konci).

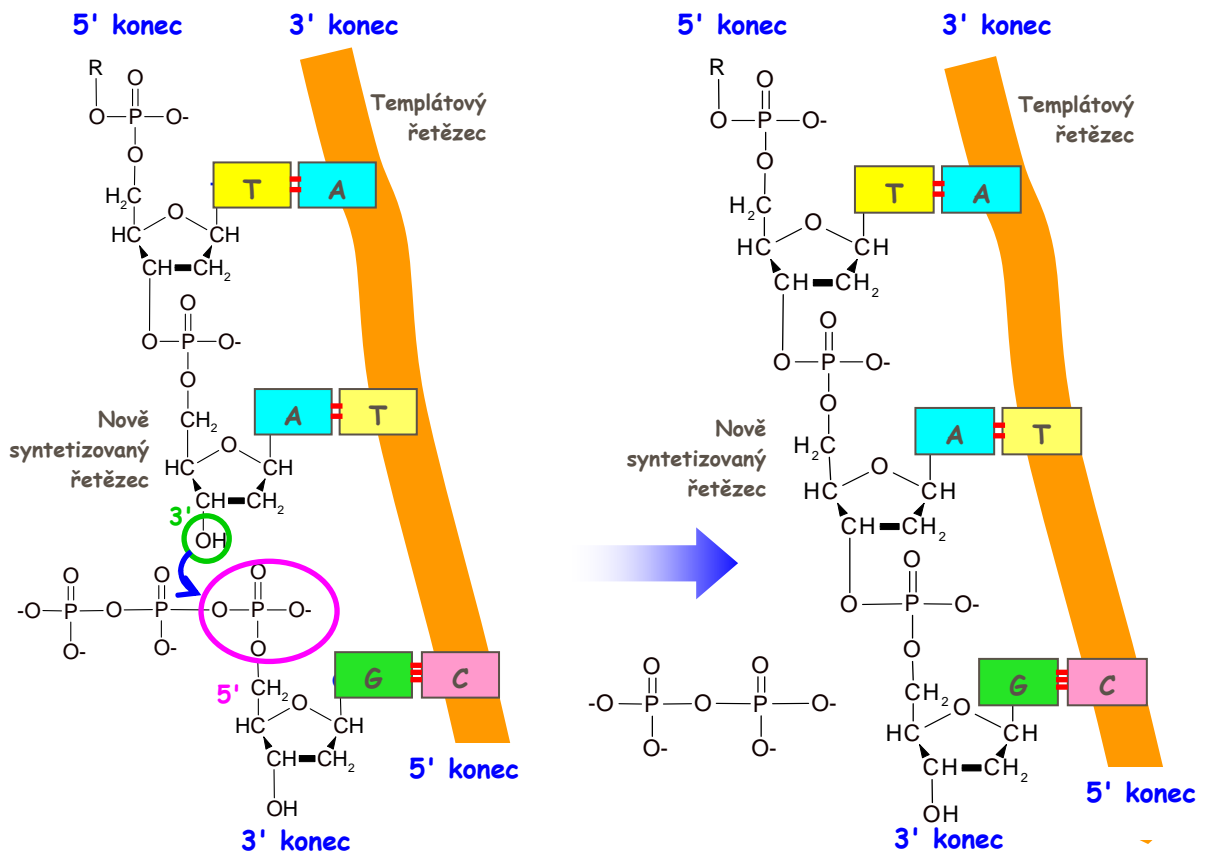


Obr. 28. Replikace na vedoucím řetězci

Tab. 1. Funkce enzymu DNA-polymerasy I resp. III

DNA-polymerasa I	vyplňuje vzniklé mezery v řetězci DNA
	opravovač chyb v párování bází v DNA (3' → 5' exonukleasová aktivita, hydrolyzuje DNA od 3' konce); viz korektorská schopnost DNA-polymerasy
	odbourává primery (5' → 3' exonukleasová aktivita, hydrolyzuje DNA od 5' konce)
DNA-polymerasa II	funkce není zcela objasněna, předpokládá se, že je funkčně podobná DNA-polymerase I <sup>(23)</sup>
DNA-polymerasa III	<b>syntetizuje DNA</b>
	opravovač chyb v párování bází v DNA (3' → 5' exonukleasová aktivita, hydrolyzuje DNA od 3' konce); viz korektorská schopnost DNA-polymerasy

Nukleotidy vstupují do reakce jako **energeticky bohaté deoxynukleosidtrifosfáty** (dATP, dTTP, dGTP a dCTP) a dodávají energii polymerizační reakci. Energie uvolněná hydrolýzou jedné fosfodiesterové vazby v deoxynukleosidtrifosfátu je dostatečná pro kondenzační reakci, při které se váže deoxynukleotidový monomer (dAMP, dTMP, dGMP a dCMP) do nově syntetizovaného řetězce za současného uvolnění difosfátu. DNA-polymerasa se neodděluje od DNA po každém přidání nukleotidu, ale zůstává navázána na DNA a během polymerace se podél ní pohybuje.

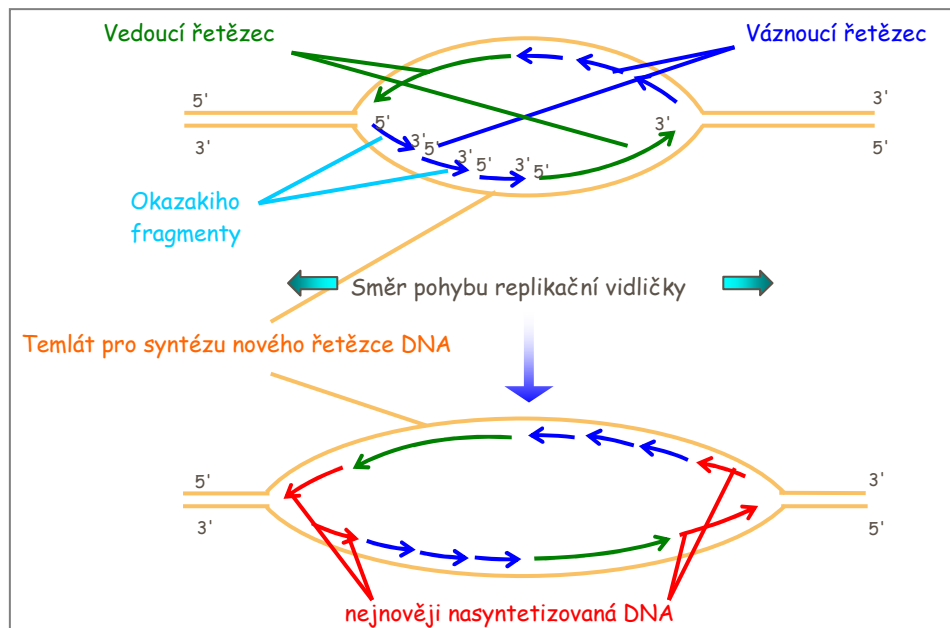


Obr. 29. a 30. Vznik fosfodiesterové vazby

### Proč jsou replikační vidličky asymetrické?

DNA-polymerasa je schopna syntetizovat nové vlákno pouze prodlužováním 3' konce DNA. V replikační vidličce nastává problém, protože původní dvoušroubovice se skládá ze dvou antiparalelních řetězců (je asymetrická). Jeden nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru 3' → 5'. (Vzniká 5' → 3' řetězec). Druhý nový řetězec je v replikační vidličce syntetizován podle templátu ve směru 5' → 3'. Avšak neexistuje DNA-polymerasa, která by dokázala prodlužovat 5' konec DNA. Tudíž v tomto směru roste **diskontinuálně** tzn., že jsou ve směru 5' → 3' syntetizovány krátké úseky DNA (tzv. **Okazakiho fragmenty**), které jsou následně spojovány v kontinuální řetězec.

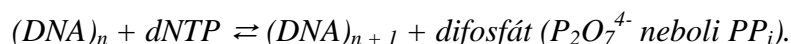
Řetězec, který je tvořen kontinuálně, se nazývá **vedoucí řetězec**. Řetězec, který je tvořen diskontinuálně, se nazývá **opoždující se** nebo též **vážnucí řetězec**.



Obr. 31. Asymetričnost replikační vidličky

### Co znamená korektorská schopnost DNA-polymerasy?

DNA-polymerasa katalyzuje reakci:



DNA-polymerasa je schopna hydrolyzovat DNA od 3' konce ( $3' \rightarrow 5'$  exonukleasová aktivita). Připojí-li se chybný nukleotid, vznikne nestabilní produkt (nukleotid se chybně páruje s nukleotidem v templátu), čímž dojde k posunutí rovnováhy ve směru výchozích látek. Proto DNA-polymerasa je velice přesně párující enzym, který udělá průměrně jednu chybu na  $10^7$  zreplikovaných párů bází. Proto taky DNA-polymerasa neumí začít syntetizovat nové vlákno (neboť přidává další nukleotid po kontrole správného párování předcházejících bází).

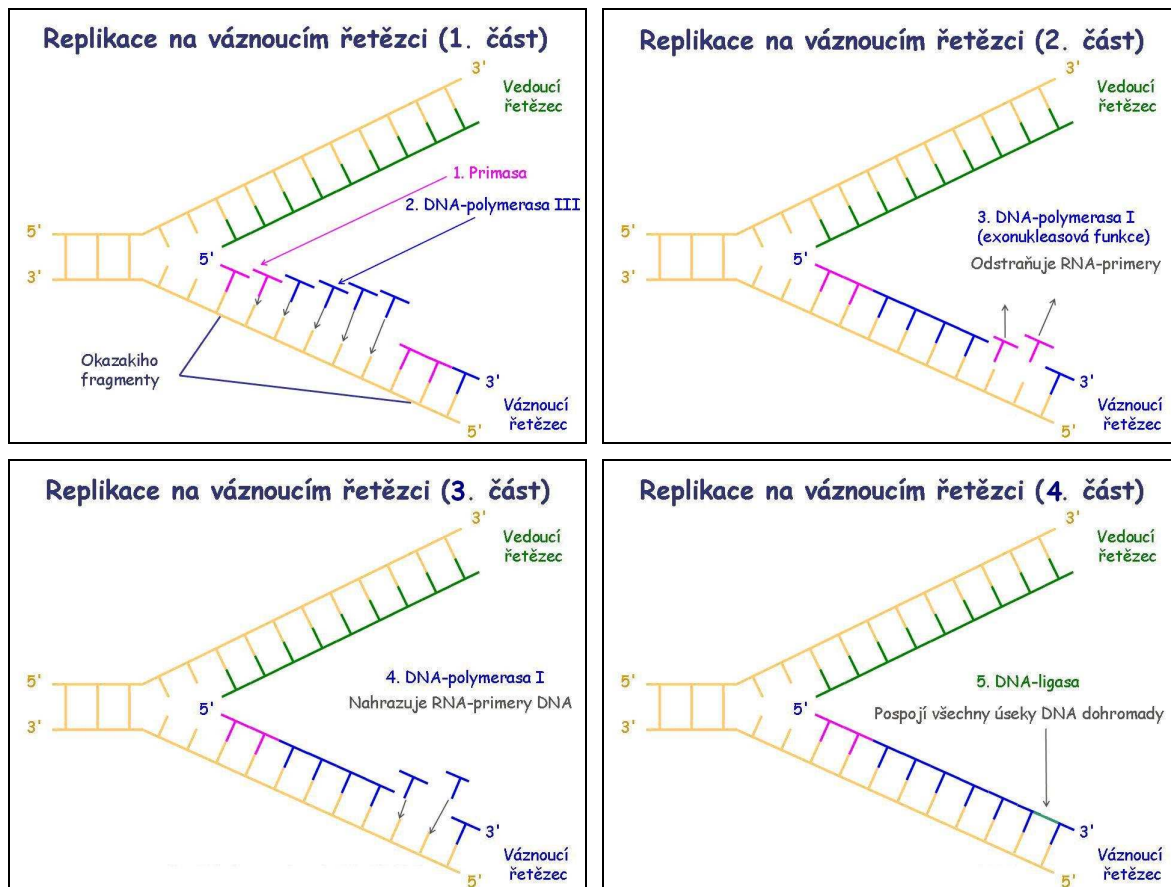
### Jaká je funkce enzymu primasy?

Protože DNA-polymerasa neumí začít syntetizovat nové vlákno, musí existovat jiný enzym, který by dokázal spojit dva volné nukleotidy a začal syntetizovat nové vlákno podle jednořetězcové DNA. Tento enzym se nazývá **primasa**. Primasa ale nesyntetizuje DNA, ale krátké úseky RNA mající cca 10 nukleotidů. Tyto úseky se párují na základě komplementarity s templátovým řetězcem a poskytují 3' konec pro DNA-polymerasu. Slouží tedy jako **primery** pro syntézu DNA. Při syntéze vedoucího řetězce je třeba pouze jeden RNA-primer. Syntéza opožďujícího se řetězce je však diskontinuální a vyžaduje neustále tvorbu RNA-primerů.

### Jak vzniká souvislé vlákno DNA z Okazakiho fragmentů?

Opoždující řetězec je tvořen mnoha oddělenými úseky DNA tzv. **Okazakiho fragmenty**. Na vytvoření souvislého vlákna DNA z Okazakiho fragmentů jsou třeba tyto enzymy: **DNA-polymerasa I** – odstraňuje RNA-primery (exonukleasová funkce) a nahrazuje RNA-primery DNA a **DNA-ligasa** – pospojuje všechny úseky dohromady.

Primasa nemá schopnost provádět korekce, proto v primerech vzniká mnoho chyb. Primery jsou však určeny k degradaci a DNA-polymerasa I má obdobně jako replikační DNA-polymerasa III korektorskou schopnost, proto replikační aparát zajišťuje přesnost kopírování templátu.



Obr. 32-35. Replikace na váznoucím řetězci

Nejprve enzym primasa nasyntetizuje krátký úsek RNA (tzv. RNA-primer, na obrázku znázorněno fialově). Poté enzym DNA-polymerasa III nahradí primasu a začne syntetizovat nové vlákno DNA napojením na nasyntetizovaný RNA-primer. Vzniká tzv. Okazakiho fragment (viz 1. část). V momentě, kdy již není volné místo pro pokračování syntézy DNA, nasedá enzym DNA-polymerasa I, která odstraňuje RNA-primery (viz 2. část) a nahrazuje je vláknem DNA (viz 3. část). Nakonec enzym DNA-ligasa spojí všechny úseky DNA (resp. Okazakiho fragmenty) dohromady (viz 4. část).

### Jaká je funkce replikačního aparátu?

Replikace DNA vyžaduje spolupráci několika druhů enzymů. Replikační aparát umožňuje vznik a posun replikační vidličky a syntézu nové DNA.

Hlavní složky replikačního aparátu:

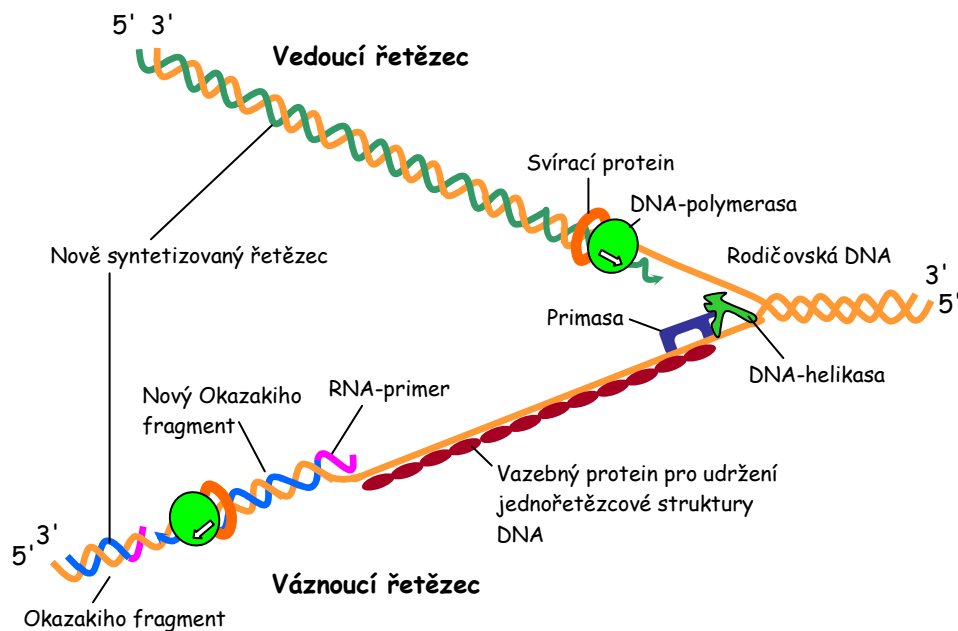
**DNA-polymerasa** (viz výše);

**primasa** (viz výše);

**helikasa** – využívá energii z hydrolýzy ATP k pohybu podél DNA a současněmu rozvíjení dvoušroubovicové struktury;

**SSB-proteiny** (single-strand binding proteins) – ochraňují jednořetězcovou DNA uvolněnou helikasou před znovuspárováním;

**svírací protein** (sliding clamp) – pevně váže DNA-polymerasu na templát. Má tvar prstence, který obemyká DNA a pohybuje se podél ní i s navázanou DNA-polymerasou ve směru replikace.



Obr. 36. Replikační aparát

Takto popsaný průběh procesu replikace probíhá u prokaryotních organismů. U eukaryotních organismů probíhá obdobným způsobem. U eukaryotních organismů existuje 5 druhů DNA-polymeras:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  a  $\epsilon$ .

## 2.5 Transkripce

### K čemu dochází během procesu transkripce?

Jestliže buňka potřebuje nějaký konkrétní protein, je nukleotidová sekvence v patřičné oblasti dlouhé molekuly DNA v chromosomu nejprve zkopírována do **mRNA** (mediatorová, informační RNA). Tato RNA je přímo využívána jako **templát** (předloha, matrice) pro tvorbu proteinů. Genetická informace je tedy předávána z DNA do RNA procesem zvaným transkripce a následně z RNA do proteinu procesem zvaným translace.

Prvním krokem pro uplatnění genetické informace v buňce je přepsání části nukleotidové sekvence DNA – genu – do nukleotidové sekvence RNA. Tento proces se nazývá **transkripce** a je v mnoha krocích podobný replikaci DNA. Přepis celého genu označujeme jako **expresi** (vyjádření) **genu**.

Veškerá RNA v buňce vzniká transkripcí.

### Jak začíná transkripce?

**Transkripce** začíná rozvolňováním krátkého úseku dvoušroubovice DNA, jeden z řetězců pak slouží jako templát pro syntézu RNA. Ribonukleotidová sekvence RNA je určena komplementárním párováním bází. Jestliže se volný ribonukleotid páruje s deoxyribonukleotidem v templátové DNA, je tento ribonukleotid kovalentně připojen fosfodiesterovou vazbou k rostoucímu řetězci RNA v enzymově katalyzované reakci.

U eukaryotních organismů nejprve musí dojít ke vzniku poměrně složitého transkripčního iniciačního komplexu za přítomnosti několika transkripčních faktorů (= regulační proteiny).

### Co vzniká během transkripce a proč je RNA jednovláknová?

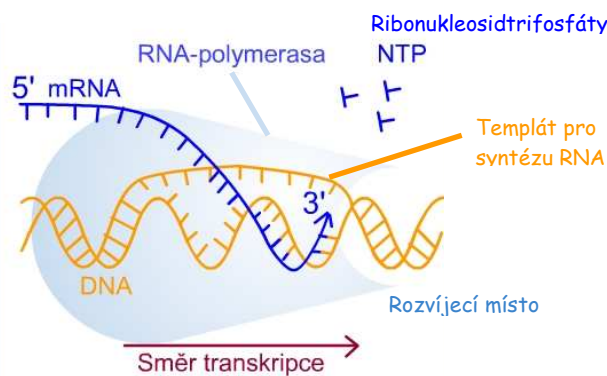
Řetězec RNA vznikající transkripcí se nazývá **transkript**. Transkript je prodlužován a má stejnou sekvenci jako vlákno DNA, které je komplementární k templátovému řetězci DNA. RNA nezůstává spojena s templátovou DNA vodíkovými vazbami. Místo toho dochází za místem, kde byl přidán ribonukleotid, k obnově dvoušroubovicové struktury DNA a vytěsnění vlákna RNA. Proto jsou molekuly RNA jednovláknové.

Vzhledem k tomu, že dochází k přepisu pouze malé části DNA, jsou molekuly RNA mnohem kratší (cca několik 1000 ribonukleotidů).

### Jaká je funkce enzymu RNA-polymerasy?

Enzymy, které přepisují DNA do RNA, se nazývají **RNA-polymerasy**. Katalyzují vznik fosfodiesterové vazby, která spojuje jednotlivé ribonukleotidy a vytváří tak cukr-fosfátovou kostru RNA. RNA-polymerasa se pohybuje krok po kroku po DNA, rozvíjí její dvoušroubovicovou strukturu a uvolňuje tak vlákno pro komplementární párování s volnými ribonukleotidy. RNA je syntetizována ve směru 5' → 3'. Pro její syntézu je využívána energie vznikající hydrolyzou ribonukleosidtrifosfátu (ATP, UTP, GTP a CTP) – viz kap. 2.4.

U prokaryotních organismů existuje pouze jeden typ RNA-polymerasy, u eukaryotních organismů existují tři typy RNA-polymerasy: I, II a III.



Obr. 37. Transkripce a RNA-polymerasa

### Proč transkripce není tak přesná jako replikace?

RNA-polymerasa **postrádá korektorskou schopnost**, tzn., že před přidáním dalšího ribonukleotidu do řetězce RNA nekontroluje, zda se předcházející ribonukleotid správně páruje, a proto může RNA-polymerasa začít syntetizovat nový RNA řetězec bez potřeby primeru.

Transkripce (1 chyba na  $10^4$  nukleotidů) není a ani nemusí být tak přesná jako replikace (1 chyba na  $10^7$  nukleotidů), protože RNA není určena k trvalému uchování genetické informace v buňkách.

### Co jsou posttranskripční úpravy?

U eukaryotních organismů je DNA uzavřena v jádře, ale ribosomy se nacházejí v cytoplasmě. mRNA musí být transportována z jádra do cytoplasmy malými jadernými póry. Před opuštěním z jádra však mRNA podléhá **posttranskripčním úpravám**.

Transkripce vzniká nejprve **primární transkript** (pre-mRNA) neboli **heterogenní jaderná RNA** (hnRNA), která se dále upravuje. Upravená mRNA je transportována do cytoplasmy a tam překládána na proteiny (translace).

U prokaryotních organismů se vzniklá mRNA posttranskripčně neupravuje, slouží ihned jako matrice pro tvorbu proteinu.

### Co jsou exony a introny?

Eukaryotní DNA obsahuje kromě kódujících sekvencí (tzv. **exony**) i nekódující sekvence (tzv. **introny**). Celá DNA včetně intronů je transkribována do mRNA (přesněji do Pre-mRNA). Introny jsou odstraňovány enzymy a exony jsou spojeny dohromady. Tento krok se nazývá sestřih (anglicky splicing).

## 2.6 Translace

Jakmile vznikne funkční mRNA, informace v ní obsažená může být ihned použita pro syntézu proteinu. Genetická informace je předávána z mRNA do proteinu procesem zvaným **translace**.

### Jak je zpráva o pořadí aminokyselin v peptidovém řetězci zakódována v řetězci DNA?

Pořadí aminokyselin je v peptidovém řetězci kódováno pomocí **tripletů (kodonů)** nukleotidů. Dohromady lze vytvořit 64 ( $4^3$ ) kombinací trojic nukleotidů. Z toho plyne, že některé aminokyseliny přísluší i několika tripletům, ale naopak jednomu tripletu přísluší nanejvýš jedna aminokyselina. Triplet UAA, UAG, UGA nekódují žádnou aminokyselinu, jedná se o tzv. **terminační kodony (stop kodony)**, které signalizují konec kódující sekvence. Kodon AUG slouží jako tzv. **iniciační kodon** (signalizuje začátek translace) a také jako kodon, ke kterému je přiřazen methionin.

Pravidla, kterými se řídí prostřednictvím mRNA přenos z nukleotidové sekvence DNA do aminokyselinové sekvence, jsou definovaná jako **genetický kód**. V genetickém kódu platí konvence, že 5' konec nukleotidové sekvence mRNA je vždy zapisován vlevo! Genetický kód je univerzální pro všechny dnes žijící organismy.

V principu může být mRNA překládána ve všech třech čtecích rámcích podle toho, u kterého nukleotidu translace začne, avšak jen v jednom čtecím rámci vzniká požadovaný protein.

Tab. 2. Genetický kód

		Druhý nukleotid					
		U	C	A	G		
První nukleotid	U	UUU fenyalanin	UCU serin	UAU tyrosin	UGU cystein	U	Třetí nukleotid
		UUC fenyalanin	UCC serin	UAC tyrosin	UGC cystein	C	
		UUA leucin	UCA serin	UAA stop kodon	UGA stop kodon	A	
		UUG leucin	UCG serin	UAG stop kodon	UGG tryptofan	G	
	C	CUU leucin	CCU prolin	CAU histidin	CGU arginin	U	
		CUC leucin	CCC prolin	CAC histidin	CGC arginin	C	
		CUA leucin	CCA prolin	CAA glutamin	CGA arginin	A	
		CUG leucin	CCG prolin	CAG glutamin	CGG arginin	G	
	A	AUU isoleucin	ACU threonin	AAU asparagin	AGU serin	U	
		AUC isoleucin	ACC threonin	AAC asparagin	AGC serin	C	
		AUA isoleucin	ACA threonin	AAA lysin	AGA arginin	A	
		AUG methionin	ACG threonin	AAG lysin	AGG arginin	G	
	G	GUU valin	GCU alanin	GAU kyselina asparagová	GGU glycin	U	
		GUC valin	GCC alanin	GAC kyselina asparagová	GGC glycin	C	
		GUA valin	GCA alanin	GAA kyselina glutamová	GGA glycin	A	
		GUG valin	GCG alanin	GAG kyselina glutamová	GGG glycin	G	



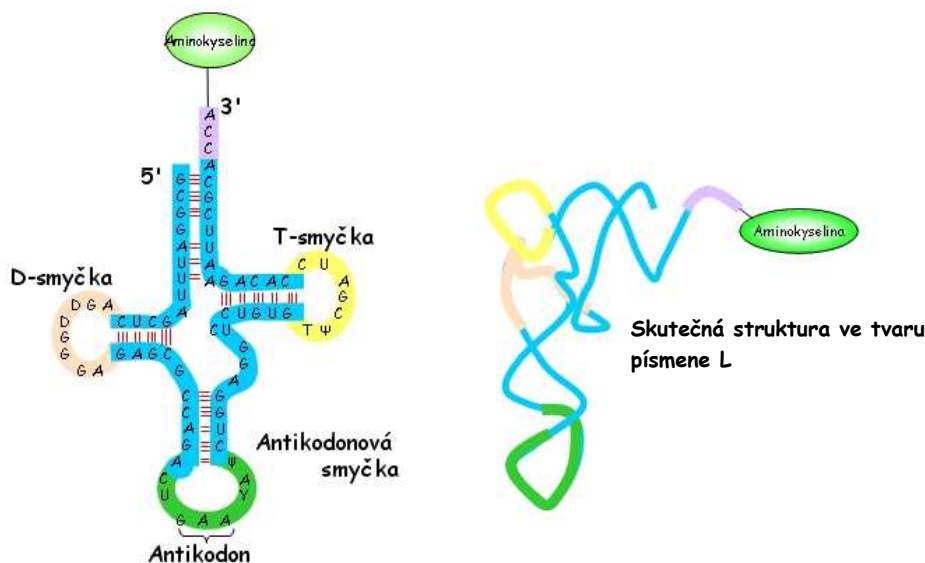
### Jaká je struktura tRNA a jaká je její funkce během translace?

Kodony v mRNA nerozpoznávají přímo aminokyseliny, které specifikují. Translace mRNA do proteinu závisí na **tRNA** (transferová RNA), která je schopna jednou částí molekuly rozpoznat a spárovat se s kodonem v mRNA a jinou částí vázat aminokyselinu.

Všechny molekuly tRNA jsou přibližně 80 nukleotidů dlouhé. Jejich struktura připomíná jetelový lístek, který podléhá ještě dalšímu sbalení a vytváří konečnou strukturu ve tvaru písmene L.

Jedna z částí tRNA se nazývá **antikodon**, což jsou tři nukleotidy komplementární ke kodonu v mRNA. Další důležitou oblastí je 3' konec, na který je esterovou vazbou navázána příslušná aminokyselina. Esterová vazba vzniká mezi karboxylovou skupinou aminokyseliny a hydroxylovou skupinou na 2. či 3. uhlíku pentosy na 3' konci tRNA.

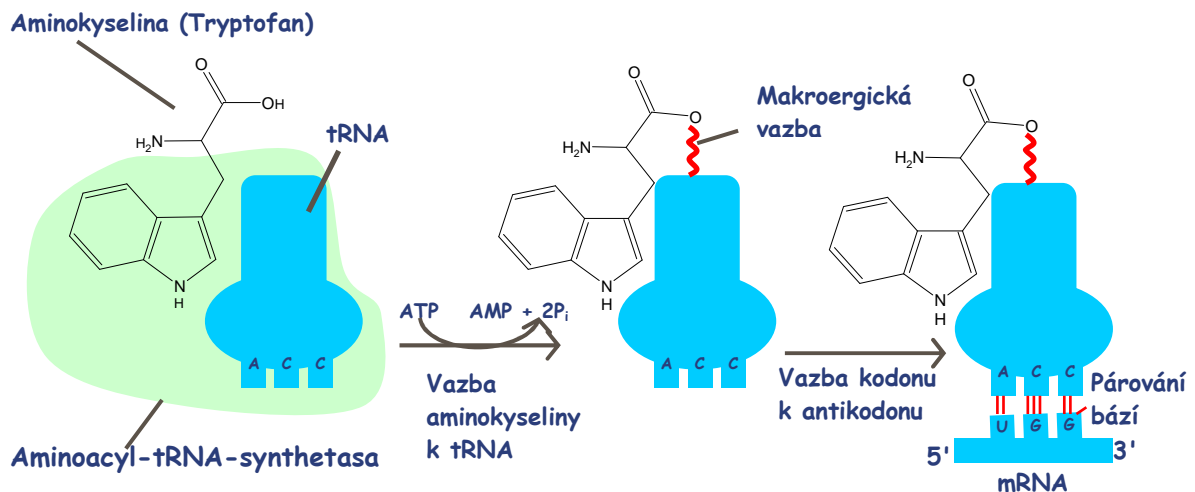
Pro některé aminokyseliny existuje i více tRNA, na které se mohou vázat. Některým tRNA umožňuje jejich struktura vázat se na více kodonů.



Obr. 38. tRNA

### Jaká je funkce enzymu aminoacyl-tRNA-synthetasy?

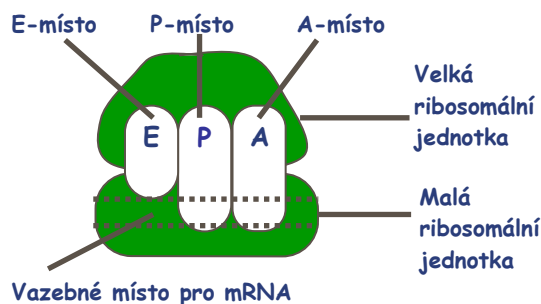
Rozeznání a připojení správné aminokyseliny je funkcí enzymů nazývaných **aminoacyl-tRNA-synthetasy**. Každá buňka má 20 různých synthetas, pro každou aminokyselinu jednu. Specifické nukleotidy v obou ramenech, antikodonovém i vázajícím aminokyselinu, umožňují rozpoznání každé tRNA vlastní aminoacyl-tRNA-synthetasou. Reakce katalyzovaná aminoacyl-tRNA-synthetasou vyžaduje dodání energie hydrolyzou ATP. Při této reakci vzniká vysokoenergetická vazba mezi tRNA a aminokyselinou. Tato energie je později využita pro tvorbu kovalentní vazby mezi rostoucím polypeptidovým řetězcem a nově navázanou aminokyselinou.



Obr. 39. Aminoacyl-tRNA-synthetasa

### Jak probíhá iniciace translace?

Translace probíhá na **ribosomu** (viz. kap. 1). Proces začíná na iniciačním kodonu AUG a pro iniciaci je třeba **iniciační tRNA**, která má na sobě vázaný methionin (u prokaryotních organismů formyl-methionin). U eukaryotních organismů je iniciační tRNA s navázaným methioninem připojena k **malé ribosomální jednotce** za asistence několika proteinů tzv. iniciačních faktorů. Po navázání iniciační tRNA se malá podjednotka váže na 5' konec mRNA a začne se pohybovat podél mRNA ve směru 5' → 3' a hledat první kodon AUG, který je rozpoznán antikodonem iniciační tRNA. Jakmile ho nalezne, odpoutá se od malé ribosomální podjednotky několik iniciačních faktorů, což umožní připojení **velké ribosomální podjednotky**. Protože se iniciační tRNA váže rovnou do **P-místa** na ribosomu, může prodlužování řetězce (elongace) ihned začít navázáním druhé tRNA s aminokyselinou do **A-místa** na ribosomu.



Obr. 40. Struktura ribosomu

### Jak probíhá elongace translace?

Ribosom se pohybuje podél mRNA, překládá nukleotidovou sekvenci do aminokyselinové za použití tRNA a po dosyntetizování proteinu se obě podjednotky ribosomu opět oddělí.

Ribosom obsahuje čtyři vazebná místa pro molekuly RNA: jedno pro mRNA a tři pro tRNA (**E-místo**, **A-místo**, **P-místo**). Při proteosyntéze je neustále opakován tříkrokový cyklus:

- v prvním kroku je aminoacyl-tRNA navázána do A-místa;
- ve druhém kroku vzniká nová peptidová vazba mezi přicházející aminokyselinou a prodlužujícím se peptidovým řetězcem;

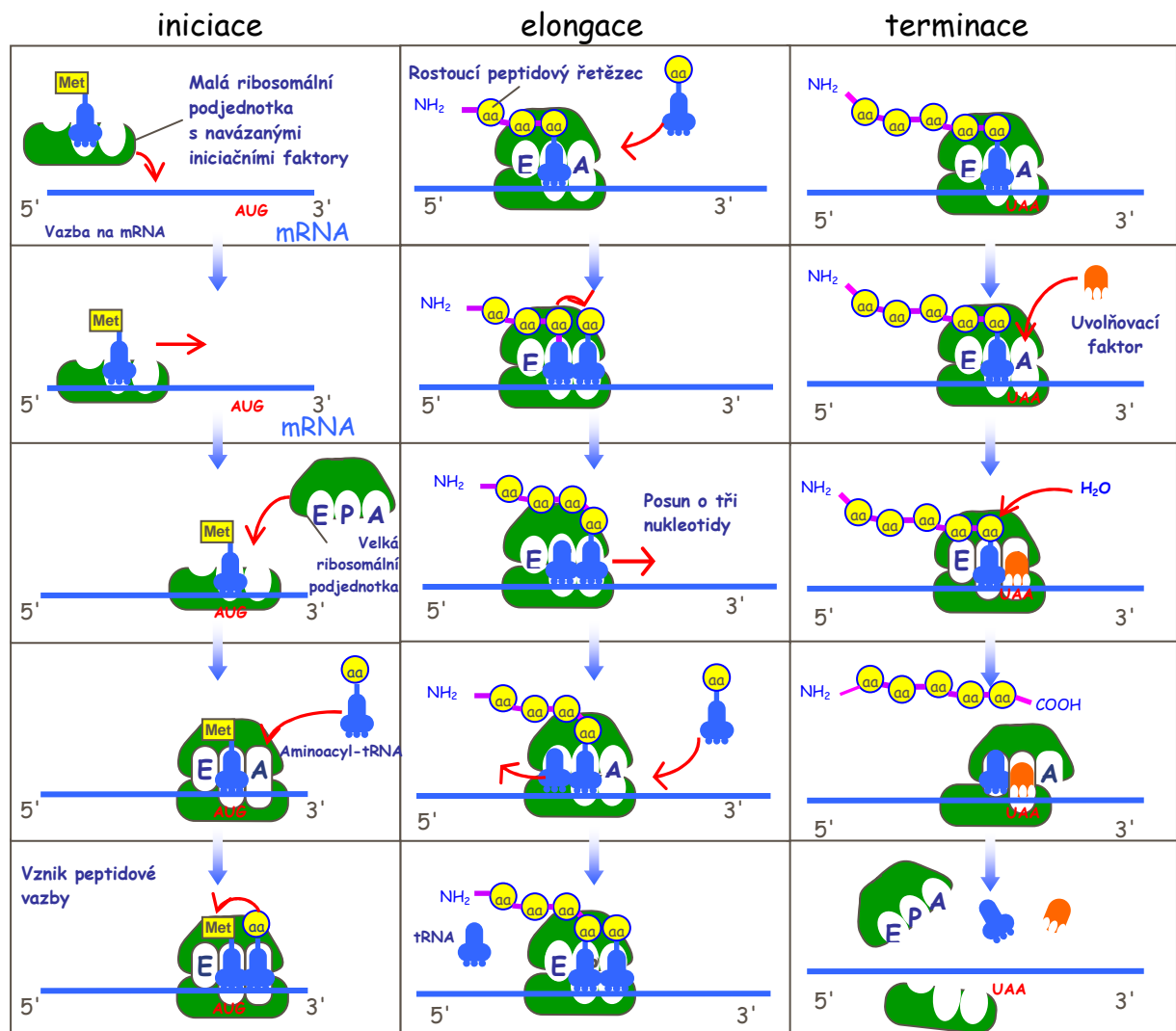
ve třetím kroku se ribosom posune o 3 nukleotidy podél mRNA, čímž se uvolní tRNA bez navázané aminokyseliny z E-místa a tRNA z A-místa se přenese do P-místa; do volného A-místa se může okamžitě vázat další tRNA s připojenou aminokyselinou.

mRNA je překládána ve směru 5' → 3' a nejprve vzniká N-konec proteinu, z čehož vyplývá, že polypeptidový řetězec roste směrem od N-konce k C-konci.

Celý cyklus všech tří kroků je opakován při každém předávání nové aminokyseliny do polypeptidového řetězce, dokud ribosom nenarazí na stop-kodon.

### Jak probíhá terminace translace?

Konec proteinu je signalizován přítomností jednoho ze tří **terminačních** neboli **stop kodonů** (UAA, UAG, UGA). Těmto kodonům není přiřazená žádná aminokyselina. Místo tRNA se na stop kodon v A-místě vážou tzv. **terminační (uvolňovací) faktory**. Místo aminokyseliny se váže molekula vody, čímž se uvolní karboxylový konec hotového polypeptidového řetězce z tRNA v P-místě. Protein se uvolňuje do cytoplasmy. Po skončení proteosyntézy je mRNA odpojena od ribosomu a dojde k disociaci obou podjednotek ribosomu, které se mohou navázat na jinou molekulu mRNA a začít novou translaci.



Obr. 41. Iniciace, elongace a terminace translace

## 5 Seznam použité literatury

1. Alberts, B. a kol.: *Základy buněčné biologie*. Ústí nad Labem: Espero Publishing, 1997.
2. Alters, S.: *Biology – Understanding Life*. Mosby-Year Book, Inc.: St. Luis, 1996.
3. Armstrong, F. B.: *Biochemistry* (Third edition). United States of America: Oxford University Press, 1989.
4. Baldwin, E.: *Co je biochemie*. Praha: Orbis, 1968.
5. Banýr, J., Beneš, P., Hally, J., Halada, K., Novotný, P., Pospíšil, J.: *Chemie pro střední školy*. Praha: SPN, 1999.
6. Benešová, M., Satrapová, H.: *Odmaturuj z chemie*. Brno: Didaktis, 2002.
7. Bloomfield, M. M.: *Chemistry and the Living Organism*. Canada: John Wiley & Sons, Inc., 1992.
8. Burnie, D.: *Stručná encyklopedie lidského těla* (the Consise Encyklopedia of the Human Body). Talentum, 1996.
9. Cibis, N., Dobler, H. J., Lauer, V., Meyer, R., Schmale, E., Strecker, H.: *Člověk*. Praha: Scientia, 1996.
10. Dostál, P., Řeháček, Z., Ducháč, V.: *Kapitoly z obecné biologie*. Praha: SPN, 1994.
11. Engel-Arieli, S. L.: *Jak pracuje lidské tělo*. Brno: UNIS, 1995.
12. Graaff Van De, K. M., Fax, S. I.: *Concepts of human anatomy & physiology (fifth edition)*. The McGraw-Hill Companies, 1999.
13. Hančová, H., Vlková, M.: *Biologie I v kostce*. Havlíčkův Brod: Fragment, 1999.
14. Holum, J. R.: *Elements of General and Biological Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc., 1975.
15. Karlson, P.: *Základy biochemie*. Praha: Academia, 1981.
16. Karlson, P., Gerok, W., Gross, W.: *Pathobiochemie*. Praha: Academia, 1987.
17. Kolář, K., Kodíček, M., Pospíšil, J.: *Chemie II (organická a biochemie) pro gymnázia*. Praha: SPN, 2000.
18. Kotlík, B., Růžičková, K.: *Chemie II. V kostce*. Havlíčkův Brod: Fragment, 1997.
19. Kubišta, V.: *Buněčné základy životních dějů*. Praha: Scientia, 1998.
20. Leblová, S., Sofrová, D.: *Biochemie fotosynthesy*. Praha: skriptum PřF UK, 1982
21. Löwe, B.: *Biochemie*. Bamberg: C.C. Buchners Verlag, 1989.
22. Mareček, A., Honza, J.: *Chemie pro čtyřletá gymnázia 3*. Olomouc: 2000.
23. McKee, T., McKee, J. R.: *Biochemistry: An Introduction (Second Edition)*. United States of America: The McGraw-Hill Companies, 1999.
24. Nečas, O. a kol.: *Obecná biologie pro lékařské fakulty*. Jinočany: Nakladatelství H&H, 2000
25. Pacák, J.: *Jak porozumět organické chemii*. Praha: Karolinum, 1997.
26. Pavlová, L.: *Fyziologie rostlin*. Praha: skriptum PřF UK, 2005.
27. Pokorný, P., Hlásná, D.: *Chemie 3 – Biochemie pro 2. ročník středních průmyslových škol chemických, potravinářských a střední školy pro pracující*. Praha: SNTL, 1983.
28. Sofrová, D., Tichá, M. a kol.: *Biochemie – základní kurz*. Praha: skripta UK, 1993.
29. Stockleyová, C., Oxlade, CH., Wertheimová, J.: *Velká ilustrovaná encyklopedie*. Havlíčkův Brod: Fragment, 1997.
30. Vacík, J., Barthová, J., Pacák, J.: *Přehled středoškolské chemie*. Praha: SPN, 1999.
31. Vodrážka, Z.: *Biochemie pro studenty středních škol a všechny, které láká tajemství živé přírody*. Scientia, 1998.
32. Voet, D., Voet, J. G.: *Biochemie*. Praha: Victoria Publishing, 1995.

33. Voet, D., Voet, J. G., Pratt, Ch. W.: *Fundamentals of biochemistry* (2. vydání). John Wiley & Sons, Inc., 2006.
34. *Domácí lékař od A do Z (Rádce pro zdraví)*. Překlad: Ulrich, A. Praha: IMP s.r.o.
35. *Lidské tělo (The Human Body)*. Překlad: Hořejší, J. – Prah, R. Bratislava: GEMINI, 1992.

Ilustrace Markéta Roštejnská: obr. 1-4, 6, 7, 9, 61-68