



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávací materiál vytvořený v projektu OP VK

Název školy:	Gymnázium, Zábřeh, náměstí Osvobození 20
Číslo projektu:	CZ.1.07/1.5.00/34.0211
Název projektu:	Zlepšení podmínek pro výuku na gymnáziu
Číslo a název klíčové aktivity:	III/2 - Inovace a zkvalitnění výuky prostřednictvím ICT

Anotace

Název tematické oblasti:	Biochemie
Název učebního materiálu:	Biosyntéza nukleových kyselin
Číslo učebního materiálu:	VY_32_INOVACE_Ch0219
Vyučovací předmět:	Seminář z chemie
Ročník:	4. ročník čtyřletého studia, 8. ročník osmiletého studia
Autor:	Jana Drlíková
Datum vytvoření:	10. 4. 2013
Datum ověření ve výuce:	16. 4. 2013
Druh učebního materiálu:	pracovní list
Očekávaný výstup:	Uplatnění dosud získaných znalostí z oblasti obecné, organické chemie, biochemie a biologie na vyvozování nového učiva v probíraném tématu.
Metodické poznámky:	Pracovní list studenta je doplněn vypracovanou verzí pro učitele. Ve výuce je pracovní list používán jako text, na jehož základě je procvičováno již probrané učivo, jsou vyvozovány nové poznatky a řešeny drobné problémové úlohy ze zadaného tématu.

Biosyntéza RNA, transkripce

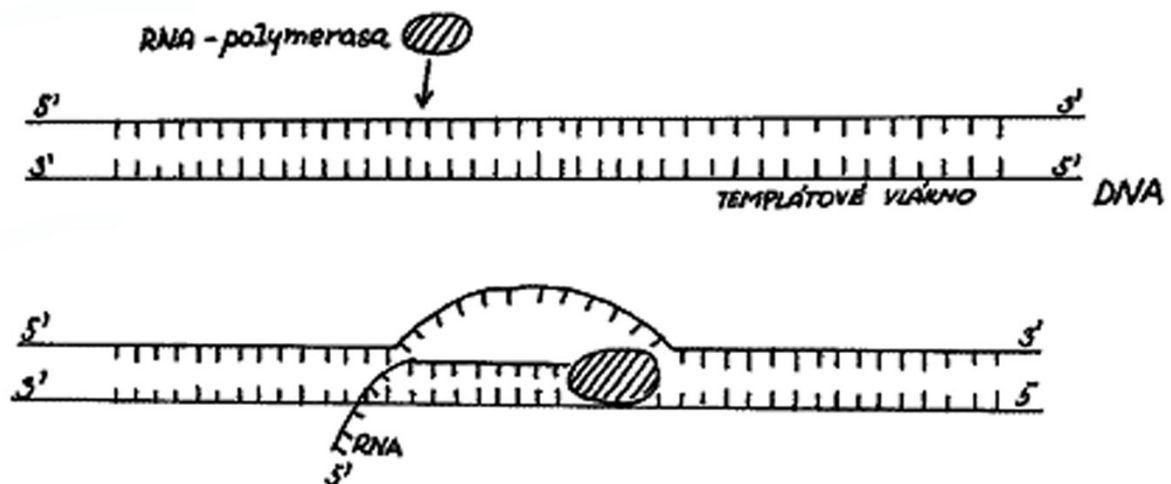
pracovní list

Většinou se všechny typy RNA syntetizují v procesu transkripce.

Transkripce u prokaryot	Transkripce u eukaryot
Katalýza	
.....	4 až 5 RNA-polymeras, každá katalyzuje syntézu jiného typu RNA RNA-polymerasa I : jádérko, r-RNA RNA-polymerasa II: jádro, m-RNA RNA-polymerasa III: jádro, r-RNA, t-RNA a další RNA-polymerasy v mitochondriích a chloroplastech
Iniciace	
Syntéza RNA je iniciována na specifických místech DNA. RNA-polymerasa se váže k určité oblasti na templátovém vlákně DNA, která se označuje jako promotor, což je sekvence asi 40 párů bází. Báze na 5' konci je často purin.	Promotory RNA-polymeras jsou komplexní a rozmanité a nejsou příliš prozkoumány. Promotory mohou být umístěny v podstatě kdekoli v oblasti přepisovaných genů. Na molekule DNA rovněž existují místa, která fungují jako enhancery (zesilovače).
Elongace	
=	
Rychlost a přesnost transkripce	
Rychlost je asi 20-50 nukleotidů za sekundu při teplotě 37°C. Za RNA-polymerasou může další následovat hned, jak je to stericky možné. Chybovost je 1 chybný nukleotid na 10 ⁴ přepsaných bází.	

Terminace	
=	
U E.coli série 4-10 párů A-T s adeninovými zbytky na templátu a oblast bohatá na C-G, někdy je pro terminaci vyžadována přítomnost proteinu ρ.	
Inhibice	
Některá aktinomycin D, rifamycin B	Některé chemoterapeutika na léčbu nádorů (daunomycin, adriamycin) Amatoxiny (.....) Smrtelná dávka je asi 40g čerstvých hub, působí pomalu po odeznění vlivu jiných toxinů, smrt nastává obvykle v důsledku jaterního selhání.
Posttranskripční úpravy	
=	
m-RNA obvykle bez úprav	m-RNA: rozsáhlé úpravy, jsou v ní kódující oblasti (exony) odděleny poměrně rozsáhlými nekódujícími oblastmi (introny). Introny jsou vystřiženy a exony jsou velmi přesně pospojovány.
r-RNA jsou často methylovány	

Schéma transkripce:



Reverzní transkripce:

RNA-viry (např.: a další) obsahují enzym reverzní transkriptasu (objev: Howard Temin a David Baltimore, 1970) který katalyzuje syntézu DNA na matrici, kterou je v-RNA. Syntéza se děje ve směru $5' \rightarrow 3'$ na matricích opatřených RNA-primery, enzymaticky se pak odbourá templátové vlákno v-RNA, replikuje se jednovláknová DNA, čímž vznikne dvoušroubovice DNA, která je zabudována do genomu hostitelské buňky, jež může podle „podstrčené“ genetické informace produkovat viriony.

Centrální dogma biochemie

Biosyntéza RNA, transkripce

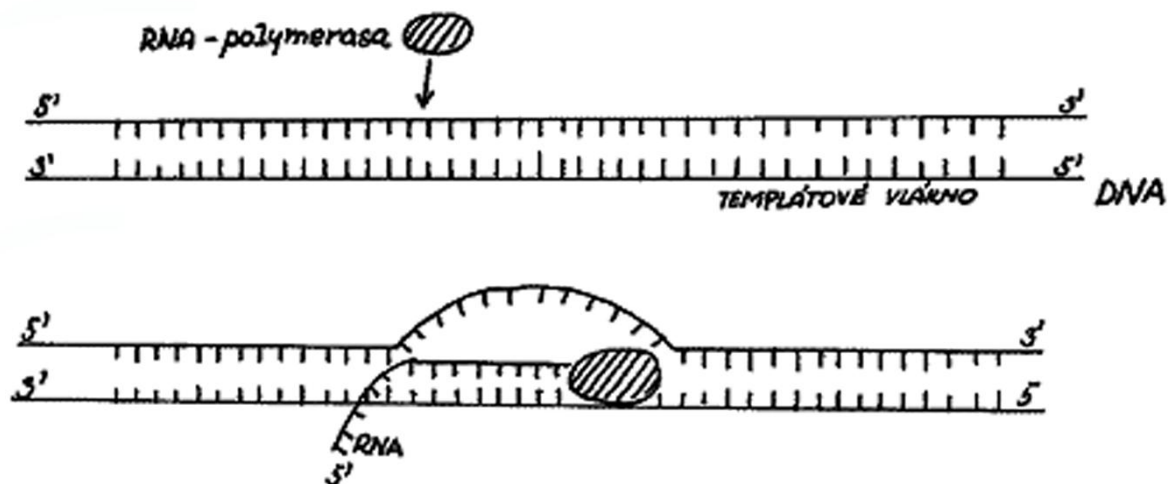
pracovní list – vyplněná verze

Většinou se všechny typy RNA syntetizují v procesu transkripce.

Transkripce u prokaryot	Transkripce u eukaryot
Katalýza	
RNA-polymerasa	4 až 5 RNA-polymeras, každá katalyzuje syntézu jiného typu RNA RNA-polymerasa I : jádérko, r-RNA RNA-polymerasa II: jádro, m-RNA RNA-polymerasa III: jádro, r-RNA, t-RNA a jiné RNA-polymerasy v mitochondriích a chloroplastech
$(RNA)_n + \text{nukleosidtrifosfát} \xrightarrow{\text{RNA-polymerasa}} (RNA)_{n+1} + PP_i$ <p>Reakce je poháněna uvolněním difosfátu a jeho následnou hydrolýzou.</p>	
Iniciace	
Syntéza RNA je iniciována na specifických místech DNA. RNA-polymerasa se váže k určité oblasti na templátovém vlákně DNA, která se označuje jako promotor, což je sekvence asi 40 párů bází. Báze na 5' konci je často purin.	Promotory RNA-polymeras jsou komplexní a rozmanité a nejsou příliš prozkoumány. Promotory mohou být umístěny v podstatě kdekoli v oblasti přepisovaných genů. Na molekule DNA rovněž existují místa, která fungují jako enhancery (zesilovače).
Elongace	
= prodlužování řetězce RNA se vždy děje ve směru od 5' k 3'. Dvouvláknový templát DNA musí být v místě transkripce otevřen, na jednom z vláken jsou k bázím DNA přikládány komplementární ribonukleotidy.	
Rychlost a přesnost transkripce	
Rychlost je asi 20-50 nukleotidů za sekundu při teplotě 37°C. Za RNA-polymerasou může další následovat hned, jak je to stericky možné. Chybovost je 1 chybný nukleotid na 10 ⁴ přepsaných bází.	

Terminace	
= ukončení transkripce a uvolnění molekuly RNA od templátového vlákna DNA.	
U E.coli série 4-10 párů A-T s adeninovými zbytky na templátu a oblast bohatá na C-G, někdy je pro terminaci vyžadována přítomnost proteinu ρ.	
Inhibice	
Některá antibiotika: aktinomycin D, rifamycin B	Některé chemoterapeutika na léčbu nádorů (daunomycin, adriamycin) Amatoxiny (jedy muchomůrky hlíznaté) Smrtelná dávka je asi 40g čerstvých hub, působí pomalu po odeznění vlivu jiných toxinů, smrt nastává obvykle v důsledku jaterního selhání.
Posttranskripční úpravy	
= změny ve struktuře a složení RNA po transkripci	
m-RNA obvykle bez úprav	m-RNA: rozsáhlé úpravy, jsou v ní kódující oblasti (exony) odděleny poměrně rozsáhlými nekódujícími oblastmi (introny). Introny jsou vystříženy a exony jsou velmi přesně pospojovány.
r-RNA jsou často methylovány	

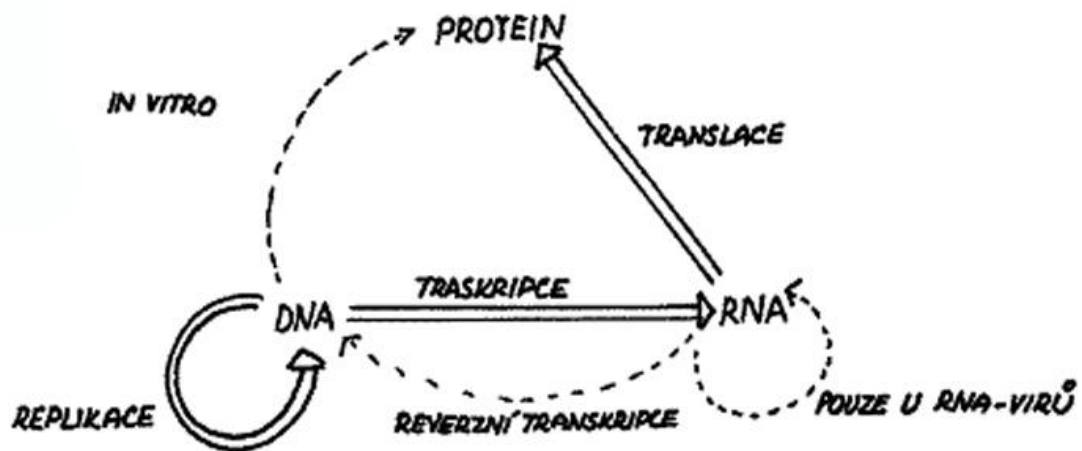
Schéma transkripce:



Reverzní transkripce:

RNA-viry (např.: některé onkoviry, virus HIV a další) obsahují enzym reverzní transkriptasu (objev: Howard Temin a David Baltimore, 1970) který katalyzuje syntézu DNA na matrici, kterou je v-RNA. Syntéza se děje ve směru $5' \rightarrow 3'$ na matricích opatřených RNA-primery, enzymaticky se pak odbourá templátové vlákno v-RNA, replikuje se jednovláknová DNA, čímž vznikne dvoušroubovice DNA, která je zabudována do genomu hostitelské buňky, jež může podle „podstrčené“ genetické informace produkovat viriony.

Centrální dogma biochemie



Biosyntéza DNA – replikace DNA

pracovní list

Dvoušroubovice DNA se replikuje **semikonzervativně** v **replikačních vidličkách** (očích, bublinách).....

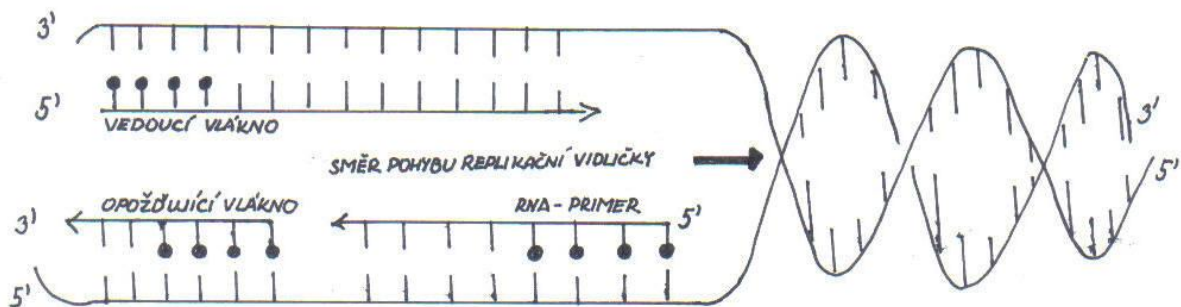
U prokaryot se obvykle tvoří jedno replikační očko, u eukaryot je DNA rozsáhlejší a replikace paralelně probíhá v několika replikačních bublinách.

Na oddálených vláknech DNA se jako na matici syntetizuje komplementární vlákno DNA přidáváním vhodných (komplementárních) deoxynukleotidtrifosfátů. Reakce je poháněna eliminací anorganického difosfátu (PP_i) a jeho následnou hydrolýzou.

nukleotidový řetězec-P + nukleotid-P-P-P → nukleotidový řetězec o 1 nukleotid delší-P + PP_i

Vznikají tak v ideálním případě dvě identické dceřinné molekuly DNA, které obsahují jedno vlákno z původní molekuly a druhé nově nasyntetizované.

Deoxyribonukleotidtrifosfáty mohou být přikládány pouze k 3'-hydroxyly deoxyribofuranosy narůstajícího polynukleotidového vlákna, takže řetězce DNA jsou prodlužovány pouze ve směru od 5' k 3'.

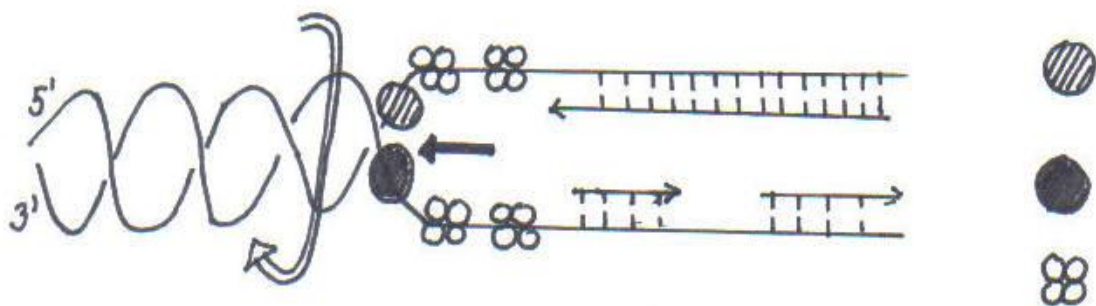


Vedoucí vlákno: nový řetězec roste ve směru od 5' k 3' ve směru pohybující se replikační vidličky, což je bod oddělení obou vláken v replikačním očku, a syntetizuje se kontinuálně.

Opožděné vlákno: syntéza probíhá také ve směru od 5' k 3', ale diskontinuálně, ve formě kratších úseků (u prokaryot 1000-2000 nukleotidů, u eukaryot 100-200 nukleotidů), kterým říkáme Okazakiho fragmenty.

DNA-polymerasy nejsou schopny katalyzovat iniciační syntézy polynukleotidového řetězce. Iniciační úlohu hrají komplementární úseky RNA o několika nukleotidech (1-60), které označujeme jako RNA-primery. Vznik těchto RNA-primerů katalyzuje enzym DNA-dependentní primasa, a to jak vytvoření jednoho RNA-primeru pro vedoucí vlákno, tak RNA-primery pro jednotlivé Okazakiho fragmenty.

Enzymové zajištění replikace:



a) **DNA-gyrasa, topoizomerasa**

Rozvolňuje šroubovicové vinutí DNA a zajišťuje, aby se DNA před replikační vidličkou nestáhla a nezamotala.

b) **Rep-protein, helikasa**

Pohybují se podél řetězce DNA a oddělují vlákna dvoušroubovice na způsob „zipu“. Děj spotřebovává ATP.

c) **SSB proteiny (single strand binding)**

Tetramerní bílkovina se váže na vlákna DNA za helikasu a rep-proteinem a brání opětovnému spárování bází.

d) **DNA-primasa**

Jde o enzym, který katalyzuje vznik RNA-primerů.

e) **DNA-polymerasy**

Katalyzují vznik komplementárního řetězce DNA na vedoucím vlákně i u úseků polynukleotidových řetězců Okazakiho fragmentů a navázání chybějících deoxyribonukleotidů v místech, kde byly odštěpeny RNA-primery. Podílejí se i na odstraňování chyb vznikajících při replikaci i na opravách poškozených úseků DNA. Polymerasa po syntéze řetězce DNA zkontroluje a opraví chyby.

f) **enzym odstraňující RNA-primery**

g) **DNA-ligasa**

Katalyzuje zacelení mezer mezi Okazakiho fragmenty a jejich kovalentní spojení.

Replikační rychlost u *E. coli* je asi 1000 nukleotidů za sekundu. U eukaryot je replikace asi 20x pomalejší, u člověka je rychlost polymerasy asi 50 zabudovaných nukleotidů za sekundu. Chybovost je u bakterií odhadována asi na 1 chybu na 10^9 navázaných nukleotidů.

Biosyntéza DNA – replikace DNA

pracovní list – vyplněná verze

Dvoušroubovice DNA se replikuje **semikonzervativně** v **replikačních vidličkách** (očcích, bublinách). **V dceřinné molekule DNA je jedno vlákno z mateřské molekuly a jedno vlákno nové.**

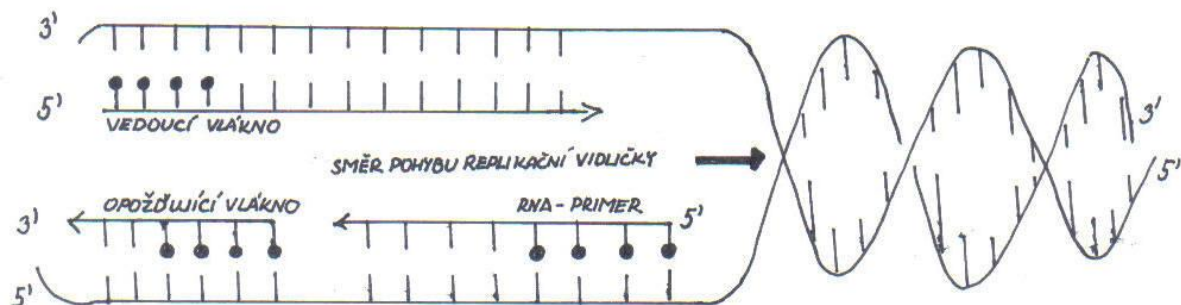
U prokaryot se obvykle tvoří jedno replikační očko, u eukaryot je DNA rozsáhlejší a replikace paralelně probíhá v několika replikačních bublinách.

Na oddálených vláknech DNA se jako na matici syntetizuje komplementární vlákno DNA přikládáním vhodných (komplementárních) deoxynukleotidtrifosfátů. Reakce je poháněna eliminací anorganického difosfátu (PP_i) a jeho následnou hydrolýzou.

nukleotidový řetězec-P + nukleotid-P-P-P \rightarrow nukleotidový řetězec o 1 nukleotid delší-P + PP_i

Vznikají tak v ideálním případě dvě identické dceřinné molekuly DNA, které obsahují jedno vlákno z původní molekuly a druhé nově vytvořené.

Deoxyribonukleotidtrifosfáty mohou být přikládány pouze k 3'-hydroxyly deoxyribofuranosy narůstajícího polynukleotidového vlákna, takže řetězce DNA jsou prodlužovány pouze ve směru od 5' k 3'.

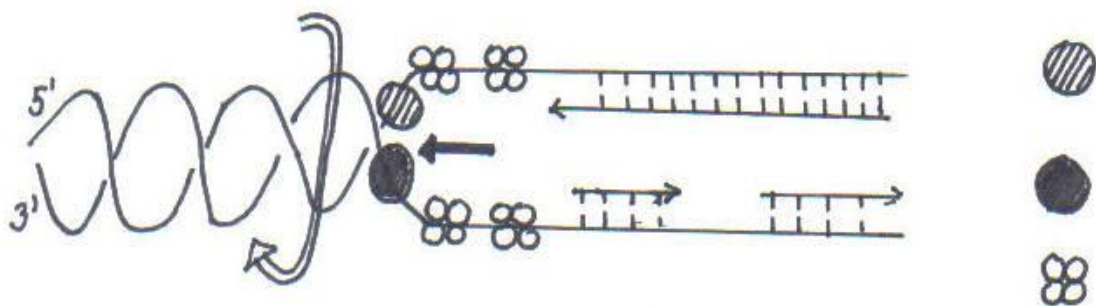


Vedoucí vlákno: nový řetězec roste ve směru od 5' k 3' ve směru pohybující se replikační vidličky, což je bod oddělení obou vláken v replikačním očku, a syntetizuje se kontinuálně.

Opožděné vlákno: syntéza probíhá také ve směru od 5' k 3', ale diskontinuálně, ve formě kratších úseků (u prokaryot 1000-2000 nukleotidů, u eukaryot 100-200 nukleotidů), kterým říkáme Okazakiho fragmenty.

DNA-polymerasy nejsou schopny katalyzovat iniciační syntézy polynukleotidového řetězce. Iniciační úlohu hrají komplementární úseky RNA o několika nukleotidech (1-60), které označujeme jako RNA-primery. Vznik těchto RNA-primerů katalyzuje enzym DNA-dependentní primasa, a to jak vytvoření jednoho RNA-primeru pro vedoucí vlákno, tak RNA-primery pro jednotlivé Okazakiho fragmenty.

Enzymové zajištění replikace:



a) DNA-gyrasa, topoizomerasa

Rozvolňuje šroubovicové vinutí DNA a zajišťuje, aby se DNA před replikační vidličkou nestáhla a nezamotala.

b) Rep-protein, helikasa

Pohybují se podél řetězce DNA a oddělují vlákna dvoušroubovice na způsob „zipu“. Děj spotřebovává ATP.

c) SSB proteiny (single strand binding)

Tetramerní bílkovina se váže na vlákna DNA za helikasou a rep-proteinem a brání opětovnému spárování bází.

d) DNA-primasa

Jde o enzym, který katalyzuje vznik RNA-primerů.

e) DNA-polymerasy

Katalyzují vznik komplementárního řetězce DNA na vedoucím vlákně i u úseků polynukleotidových řetězců Okazakiho fragmentů a navázání chybějících deoxyribonukleotidů v místech, kde byly odštěpeny RNA-primery. Podílejí se i na odstraňování chyb vznikajících při replikaci i na opravách poškozených úseků DNA. Polymerasa po syntéze řetězce DNA zkontroluje a opraví chyby.

f) enzym odstraňující RNA-primery

g) DNA-ligasa

Katalyzuje zacelení mezer mezi Okazakiho fragmenty a jejich kovalentní spojení.

Replikační rychlost u *E. coli* je asi 1000 nukleotidů za sekundu. U eukaryot je replikace asi 20x pomalejší, u člověka je rychlost polymerasy asi 50 zabudovaných nukleotidů za sekundu. Chybovost je u bakterií odhadována asi na 1 chybu na 10^9 navázaných nukleotidů.

Zdroje: archiv autorky