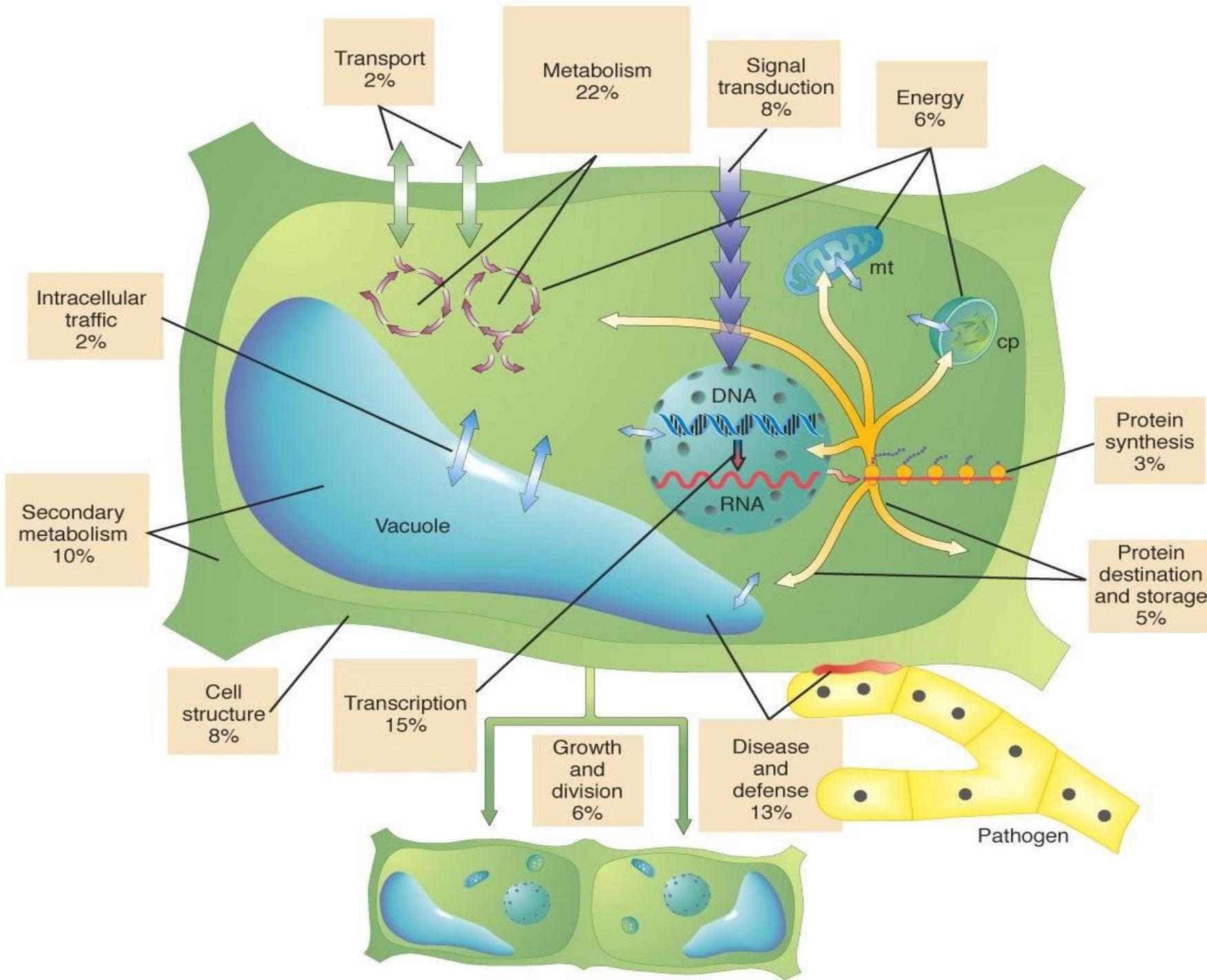




# KATEDRA HYGIENY A BEZPEČNOSTI POTRAVÍN

## Biologické analýzy I.



# História objavu DNA

Johann Friedrich Miescher  
v jadrách bielych krviniek objavil látku s  
kyslou reakciou, ktorá obsahovala fosfor  
a dusík . Nazval ju nukleín

(1871)

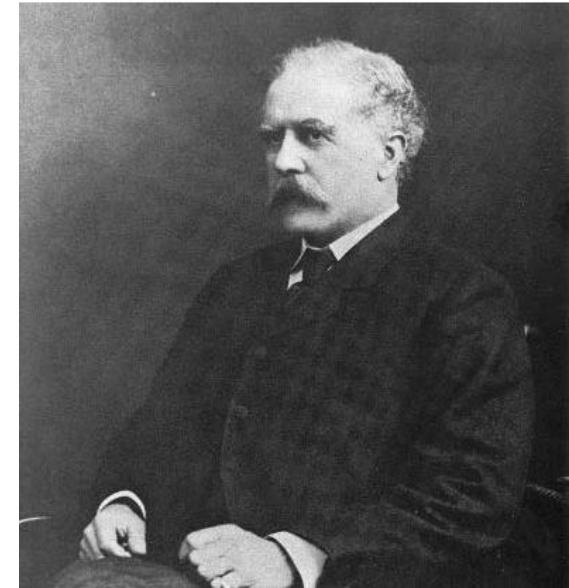


# História objavu DNA

## Archibald Garrod

Prvý poukázal na vztah medzi dedičnosťou a poruchami bielkovín v metabolizme (alkoptonúria)

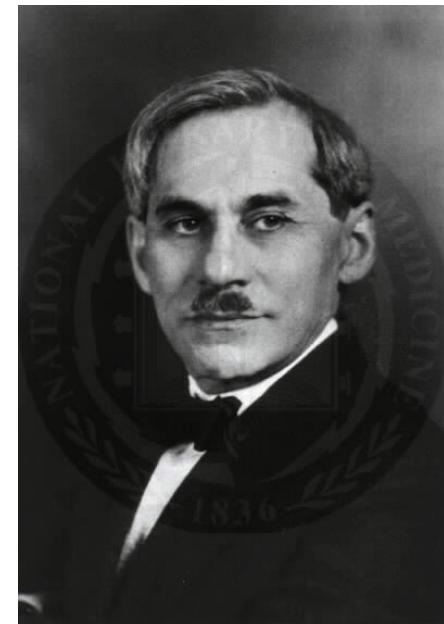
(1902)



# História objavu DNA

## Phoebus Levene

Identifikoval 5-C ribózu a podobnú deoxyribózu. Zistil, že zložky DNA (cukor, fosfát, bázy) sú prítomné v rovnakých množstvách  
(1909)



# História objavu DNA...

## Frederick Griffith

Objavil „transformačný princíp“, ktorý by sa mohol prenášať medzi bakteriálnymi kmeňmi  
(1928)

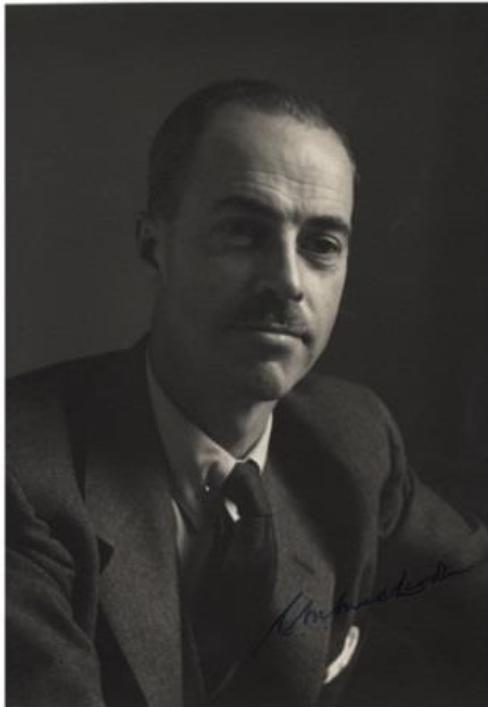


# História objavu DNA

Avery, MacLeod, McCarty

Transformačným princípom je DNA a nie  
bielkoviny

(1944)



# História objavu DNA

## Erwin Chargaff

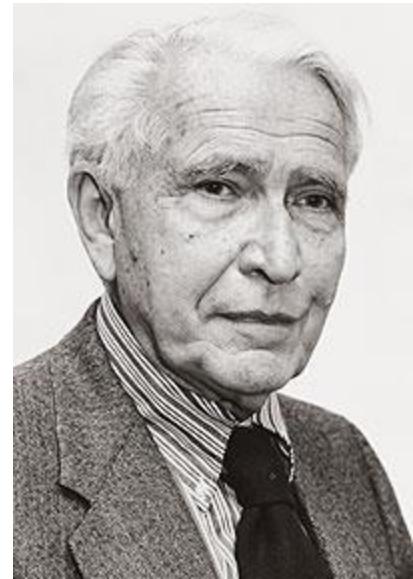
Ukázal, že DNA niektorých druhov obsahuje rovnaké množstvá adenínu a tymínu ako aj guanínu a cytozínu  
(1950)

Chargaffove pravidlá :

$$\%A = \%T$$

$$\%G = \%C$$

1 purín: 1 pyrimidín



# James Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins :

## Dovtedajšie údaje o DNA:

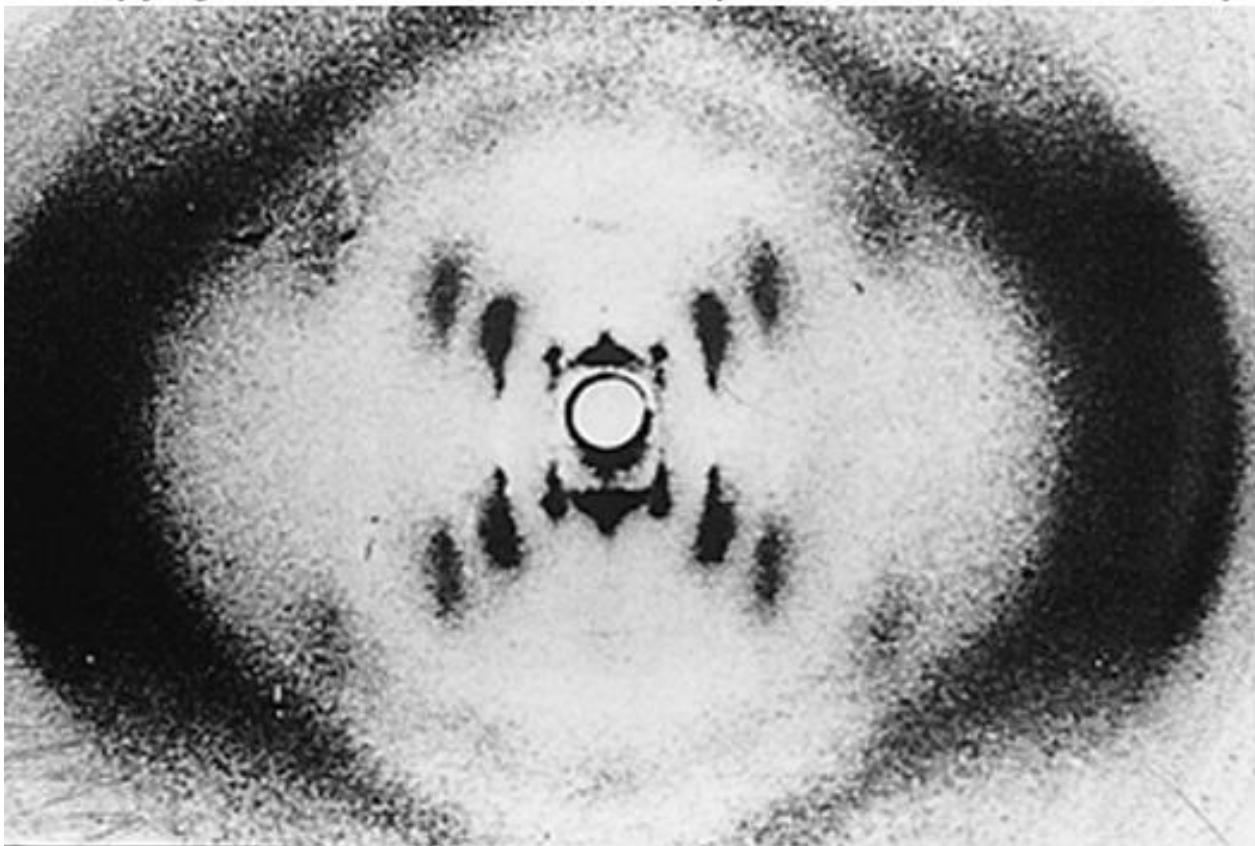
- 1 - Bázy, cukrové a fosfátové skupiny sú spojené do polynukleotidového ret'azca
- 2 - Chargaffove pravidlá:  $A = T$  a  $G = C$ .
- 3 - Rosalind Franklinová a Maurice Wilkins zistili pomocou röntgenovej difrakcie, že molekula DNA má závitnicovú štruktúru

Watson a Crick použili tieto údaje na vytvorenie trojdimenzionálneho modelu štruktúry DNA

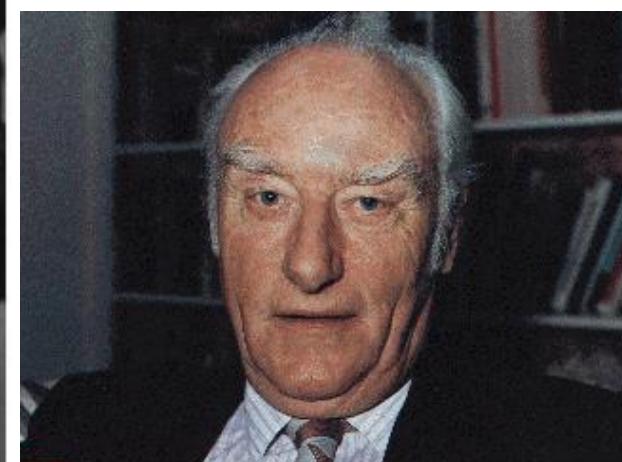
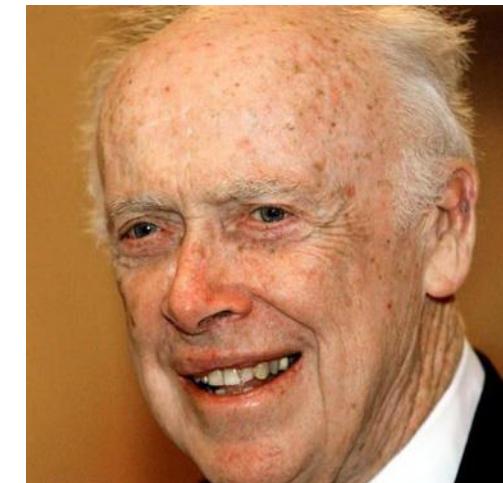
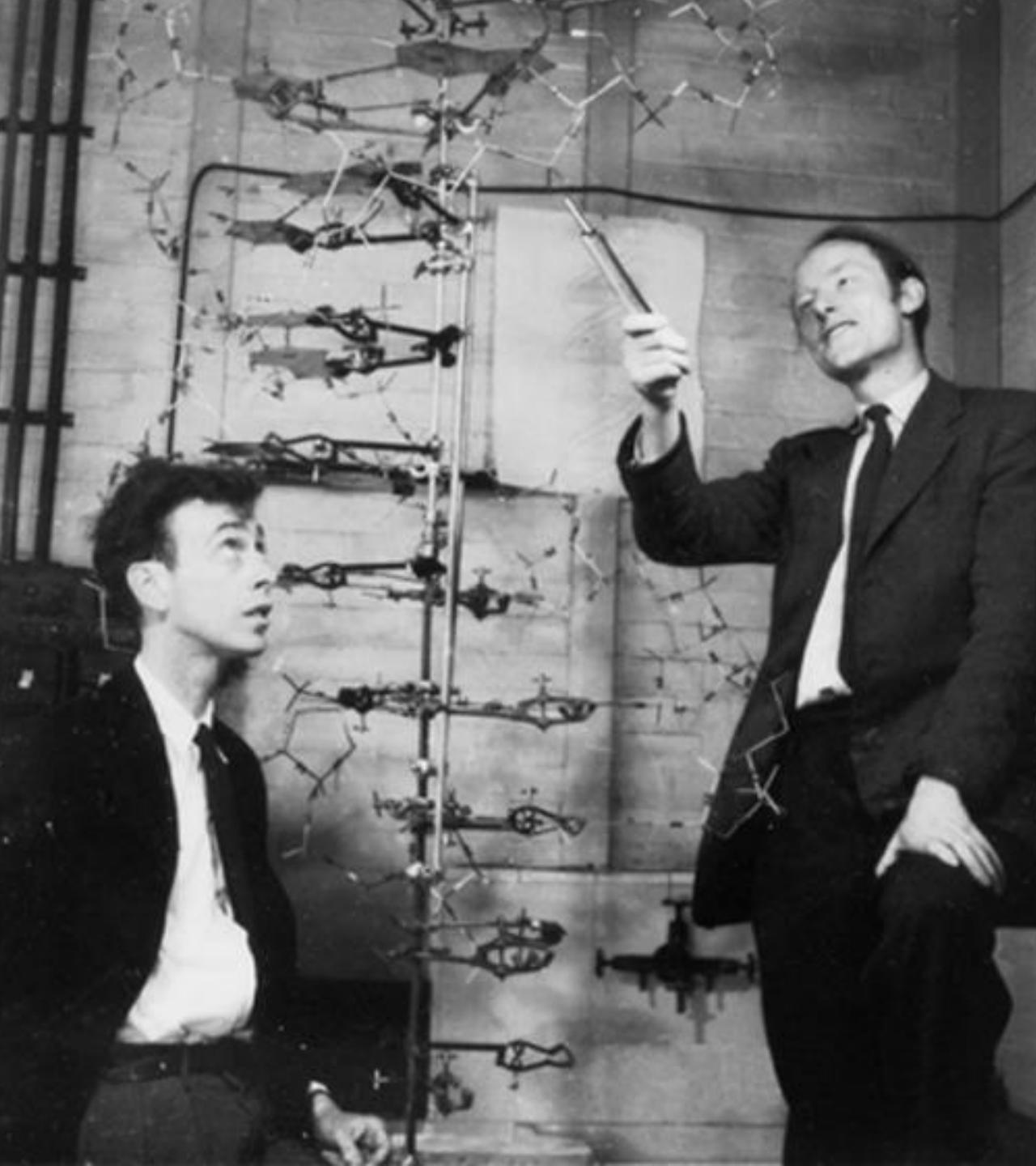
# Pozorovania Watsona & Cricka :

1. DNA pozostáva z dvoch ret'azcov v pravotočivom usporiadaní (double helix).
2. Priemer je 2 nm.
3. Ret'azce sú antiparalelné (opačná polarita).
4. Cukornato-fosfátová kostra je na vonkajšej strane molekuly a bázy sú vo vnútri.
5. Bázy sú navzájom spojené slabými vodíkovými väzbami.
6. Bázové páry sú od seba vzdialené 0,34 nm. Kompletná  $360^\circ$  závitnica obsahuje 10 bázových párov a je 3,4 nm dlhá.
7. Kvôli spôsobu väzby párových báz dochádza k nerovnakej veľkosti medzi antiparalelnými vláknami (malá a veľká ryha). Toto usporiadanie je významné z hľadiska interakcií DNA s bielkovinami

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Rosalind Franklin



# Double helix štruktúra DNA

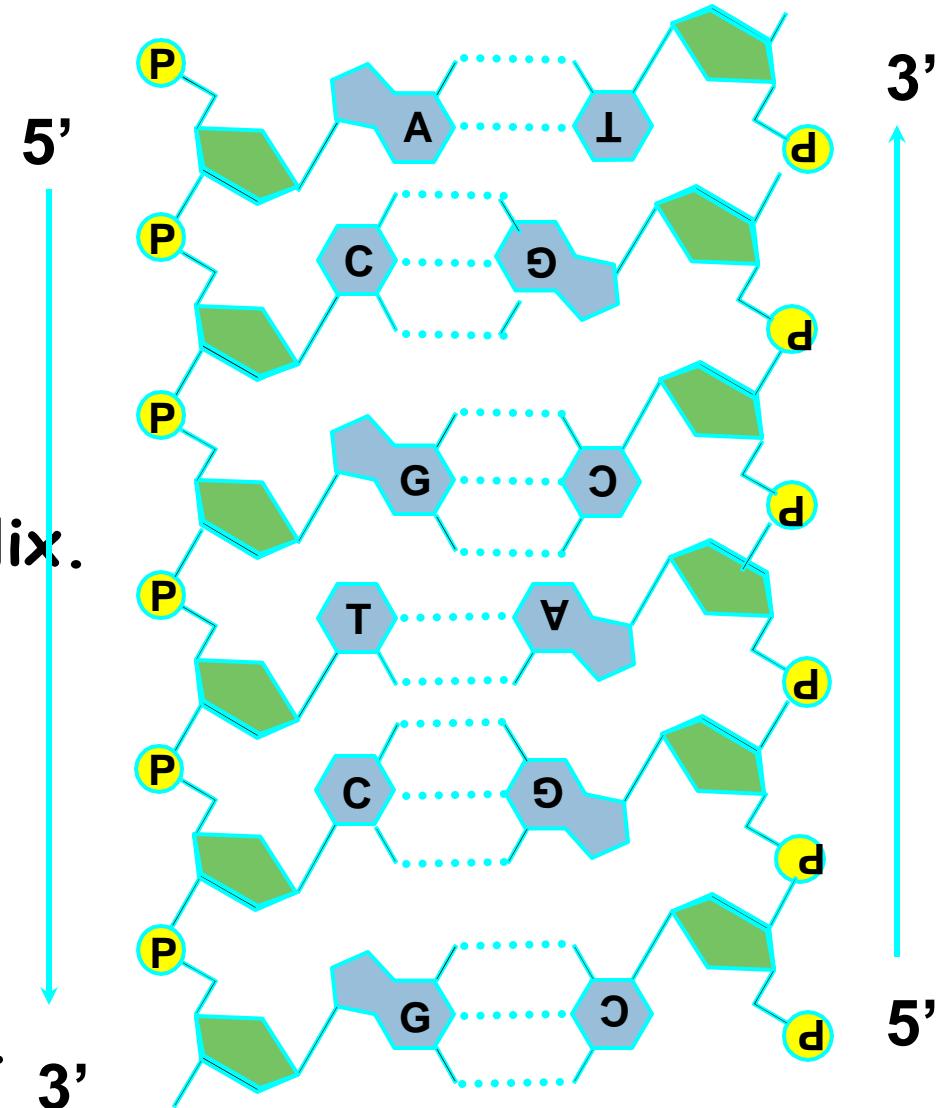
Väzba pentózy a fosfátu vytvára kostru, ktorá spája nukleotidy do ret'azca.

DNA je smerovaná.

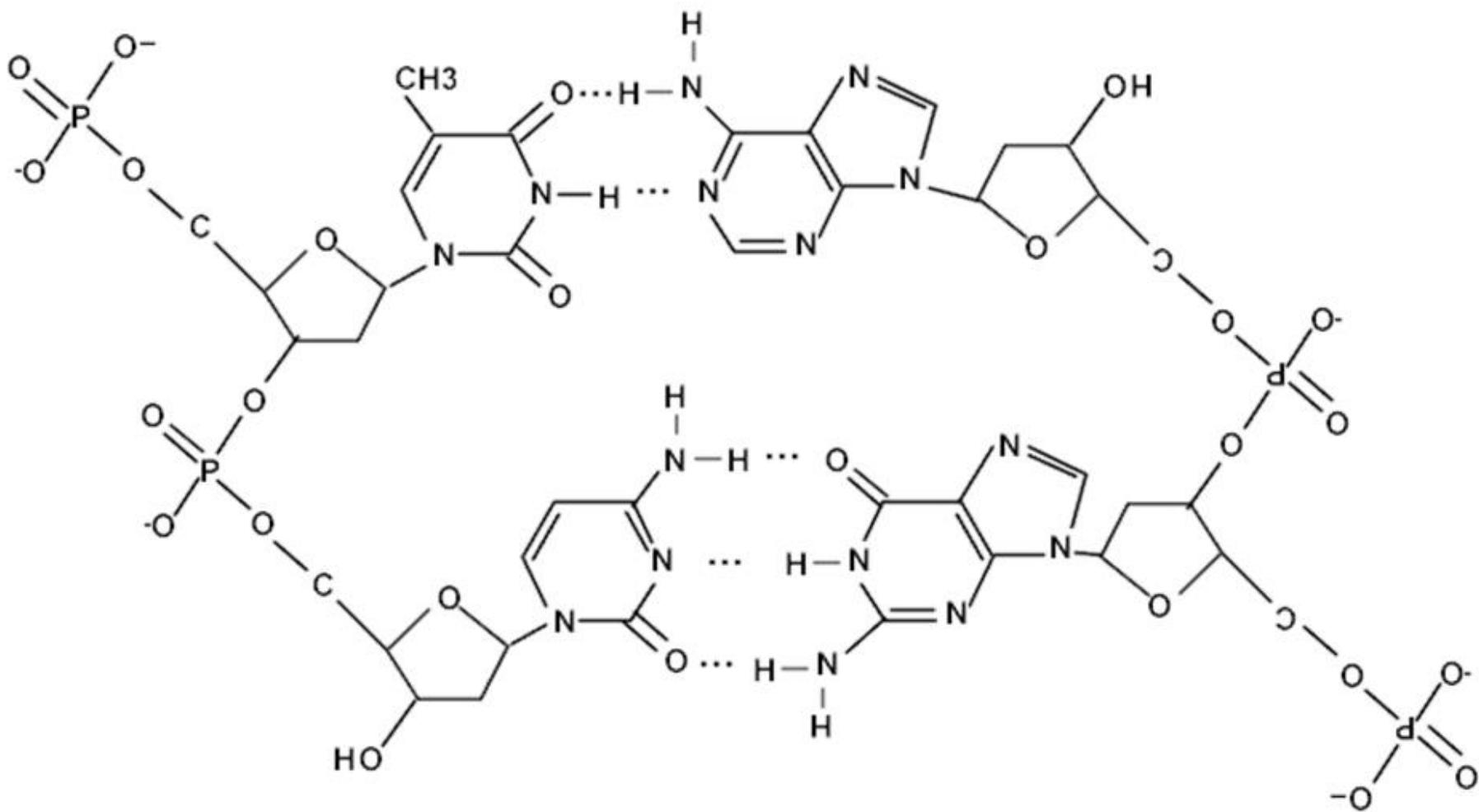
Dva nukleotidové ret'azce sa stáčajú do závitnice - helix.

Vodíkové väzby medzi párovými bázami držia dohromady obidva ret'azce spolu.

DNA vlákna sú antiparalelné.

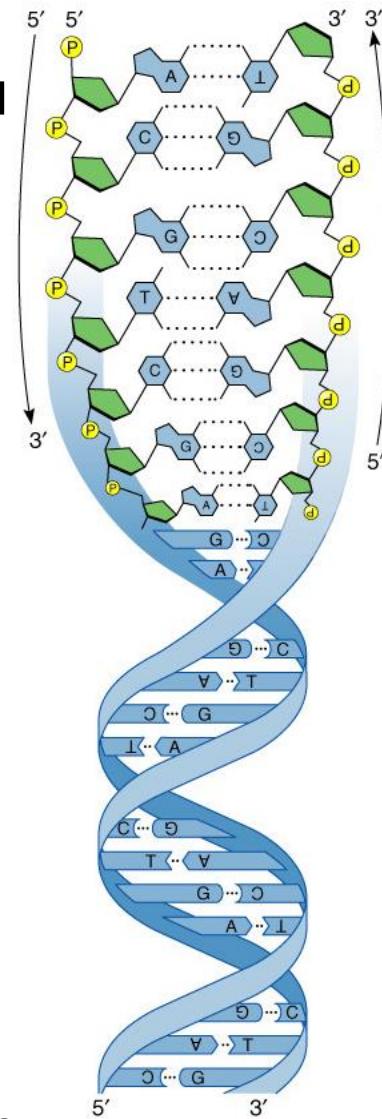
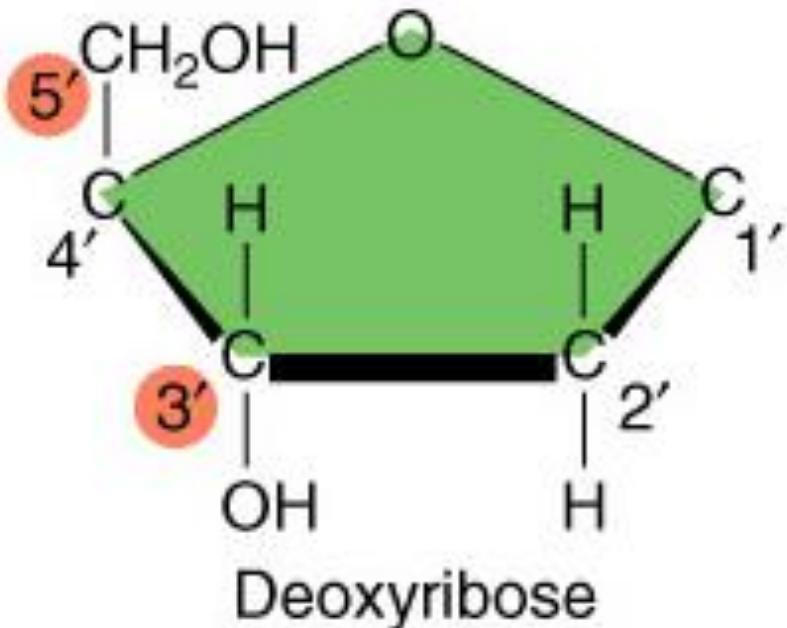


# Čo sú nukleové kyseliny?

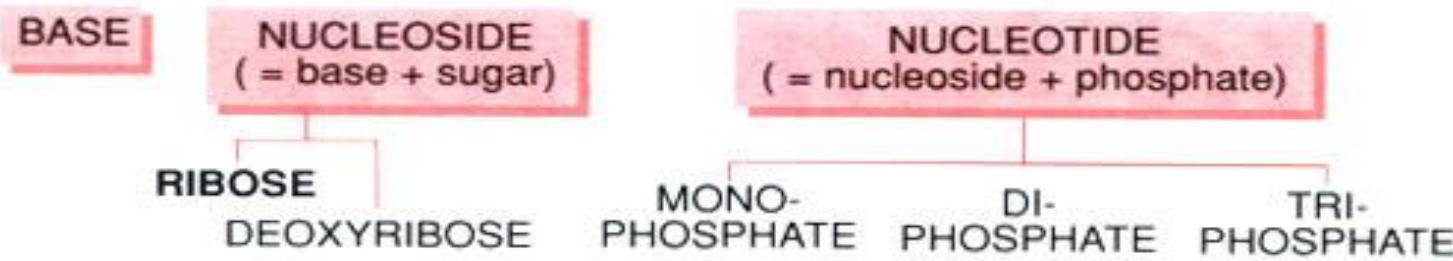


# Orientácia DNA

Atómy uhlíka v cyklickej molekule cukru sa číslujú. 5' a 3' hydroxylové skupiny viažu fosfátové skupiny.



- Smerovosť DNA ret'azcov je spôsobená orientáciou fosfo-pentózových skupín



**PURINES**

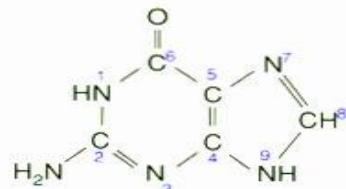
Adenine	Adenosine	AMP	ADP	ATP
	Deoxyadenosine	dAMP	dADP	dATP
Guanine	Guanosine	GMP	GDP	GTP
	Deoxyguanosine	dGMP	dGDP	dGTP

**PYRIMIDINES**

Cytosine	Cytidine	CMP	CDP	CTP
	Deoxycytidine	dCMP	dCDP	dCTP
Thymine	Thymidine	[TMP]	[TDP]	[TPP]
	Deoxythymidine	dTMP	dTDP	dTPP
Uracil	Uridine	UMP	UDP	UTP
	Deoxyuridine	dUMP	dUDP	dUTP



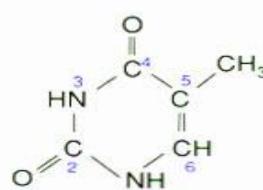
**Adenine (A)**



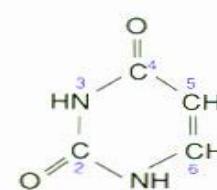
**Guanine (G)**



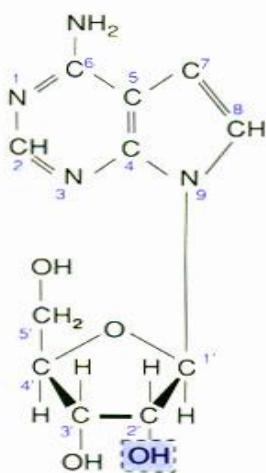
**Cytosine (C)**



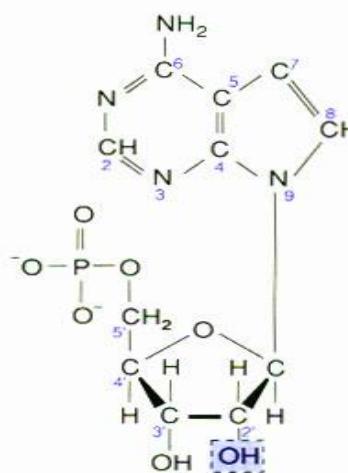
**Thymine (T)**



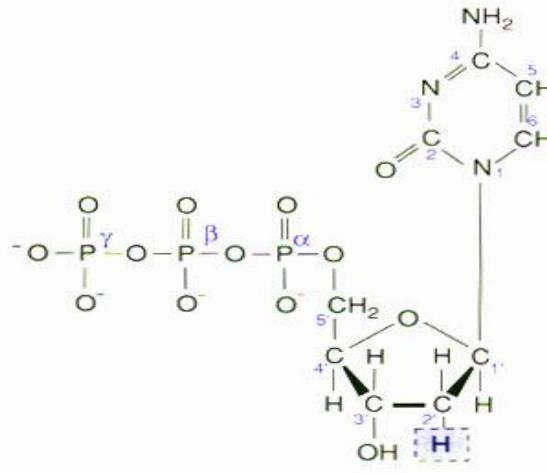
**Uracil (U)**



**Adenosine**

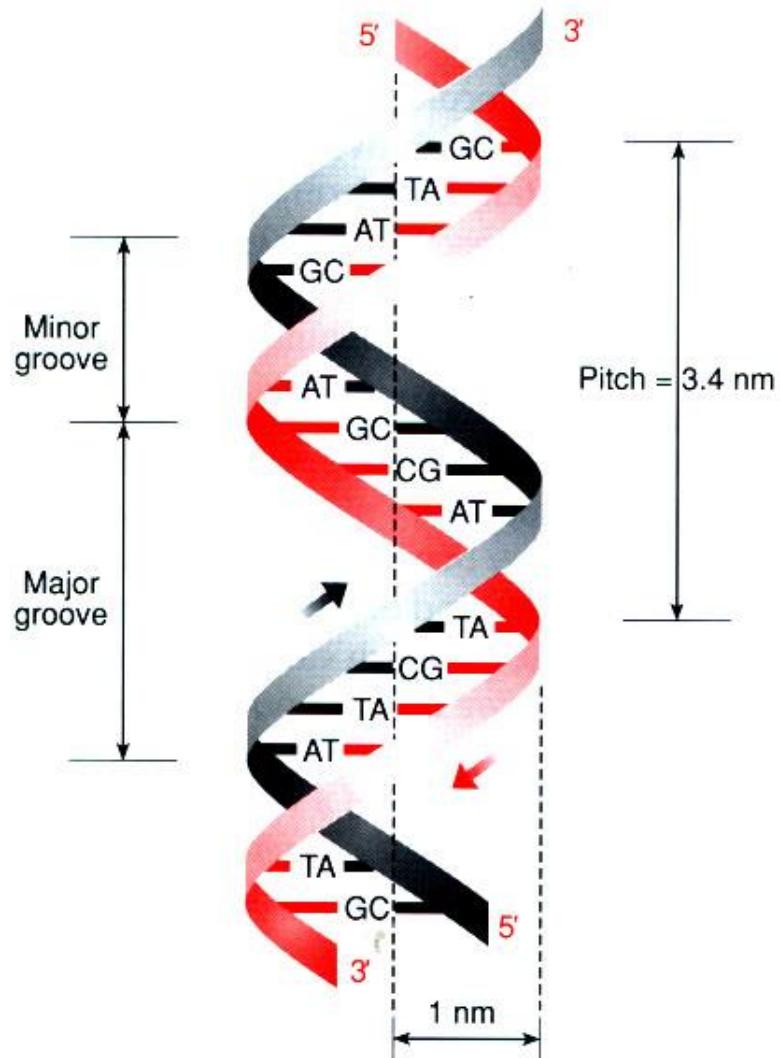
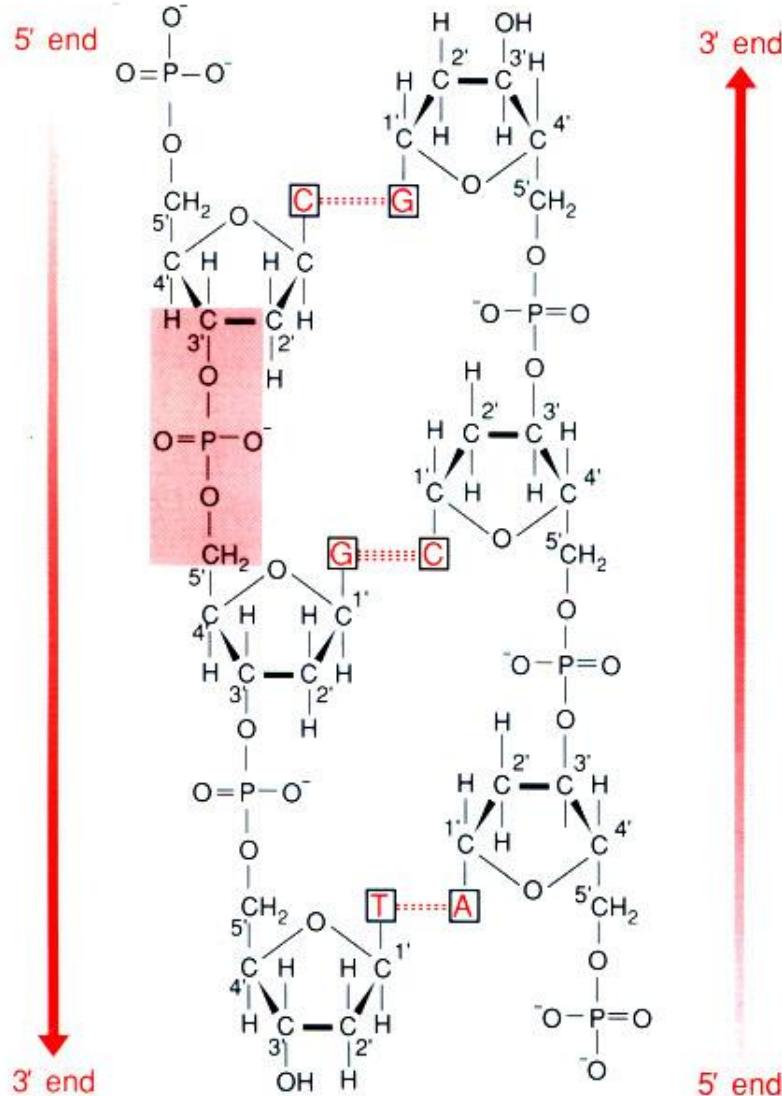


**Adenosine 5'- monophosphate (AMP)**



**2'-Deoxycytidine 5'- triphosphate (dCTP)**

# Molekulárna štruktúra B formy DNA

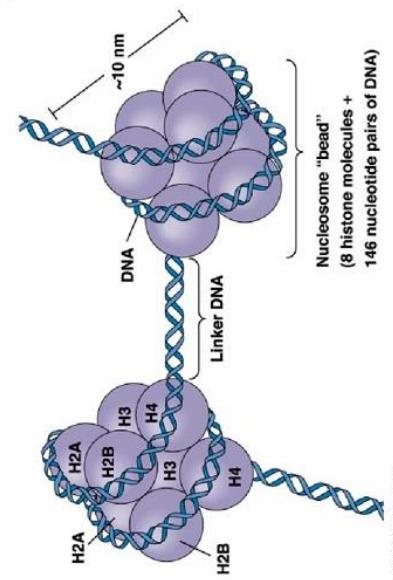


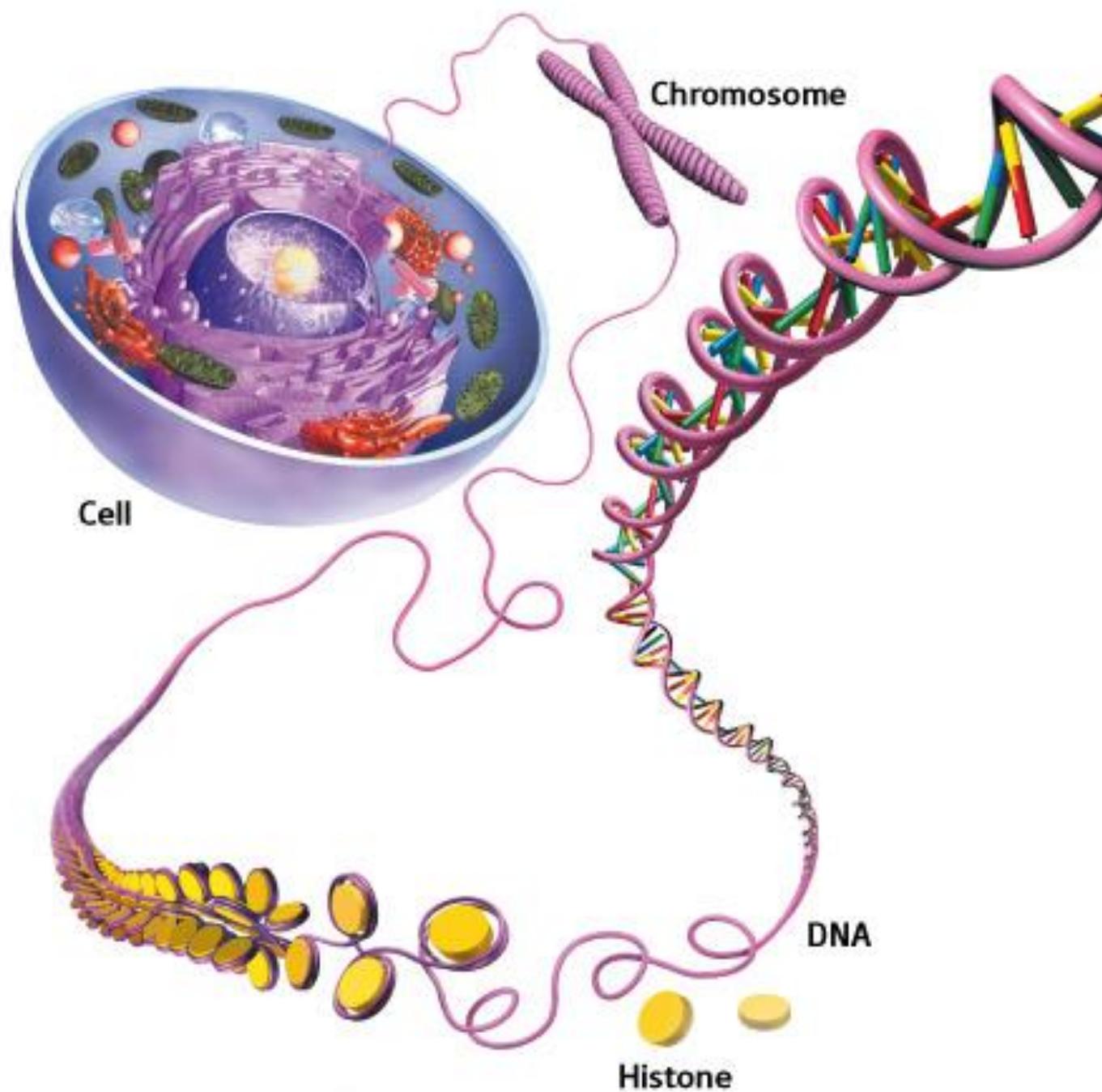
The structure of DNA is a double-stranded, antiparallel helix.

- Natiahnutá DNA najmenšieho humánneho chromozómu má dĺžku 14 mm ( $14 \times 10^{-3}$  m)
- Dĺžka chromozómu počas replikácie =  $2 \mu\text{m}$  ( $2 \times 10^{-6}$  m)
- DNA sa musí skrátit' 7000 x, aby sa zmestila do jadra bunky!

# Štruktúra chromatínu

- Nukleozóm = osem histónových bielkovín ( po 2 molekuly H2a, H2b, H3, and H4 = nukleozómové základné čästice)
    - Približne 200 bp DNA spojených do nukleozómu (10 nm "korálok na vlákne")
    - Histón H1 ukotvuje na krátke väzbové úseky DNA za vzniku 30 nm vlákna
    - Nehistónové výstuže stáčajú a upevňujú DNA-histónové komplexy do chromatínu
- Chromatín = 30% histónových bielkovín, 30% DNA väzbových bielkovín, 30% DNA, a 10% RNA





# Link

- [Link](#)
- <https://www.youtube.com/watch?v=gbSIBhFwQ4s>

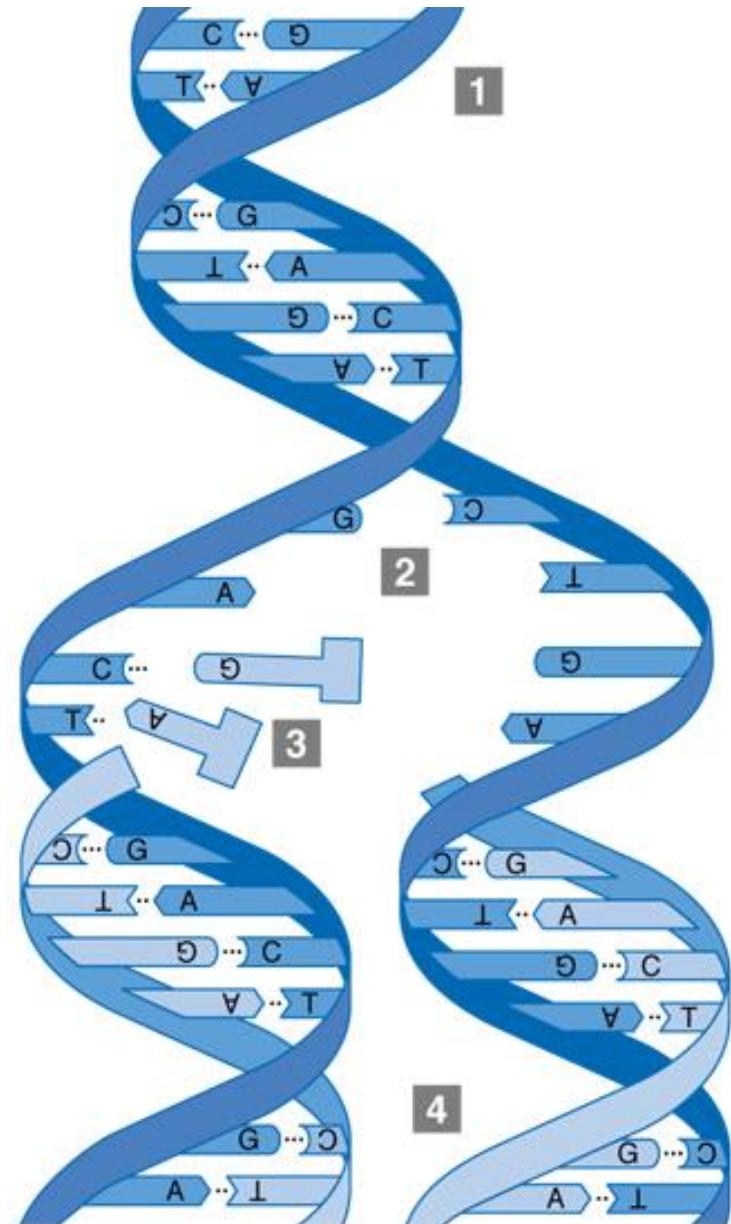
# Replikácia ako proces

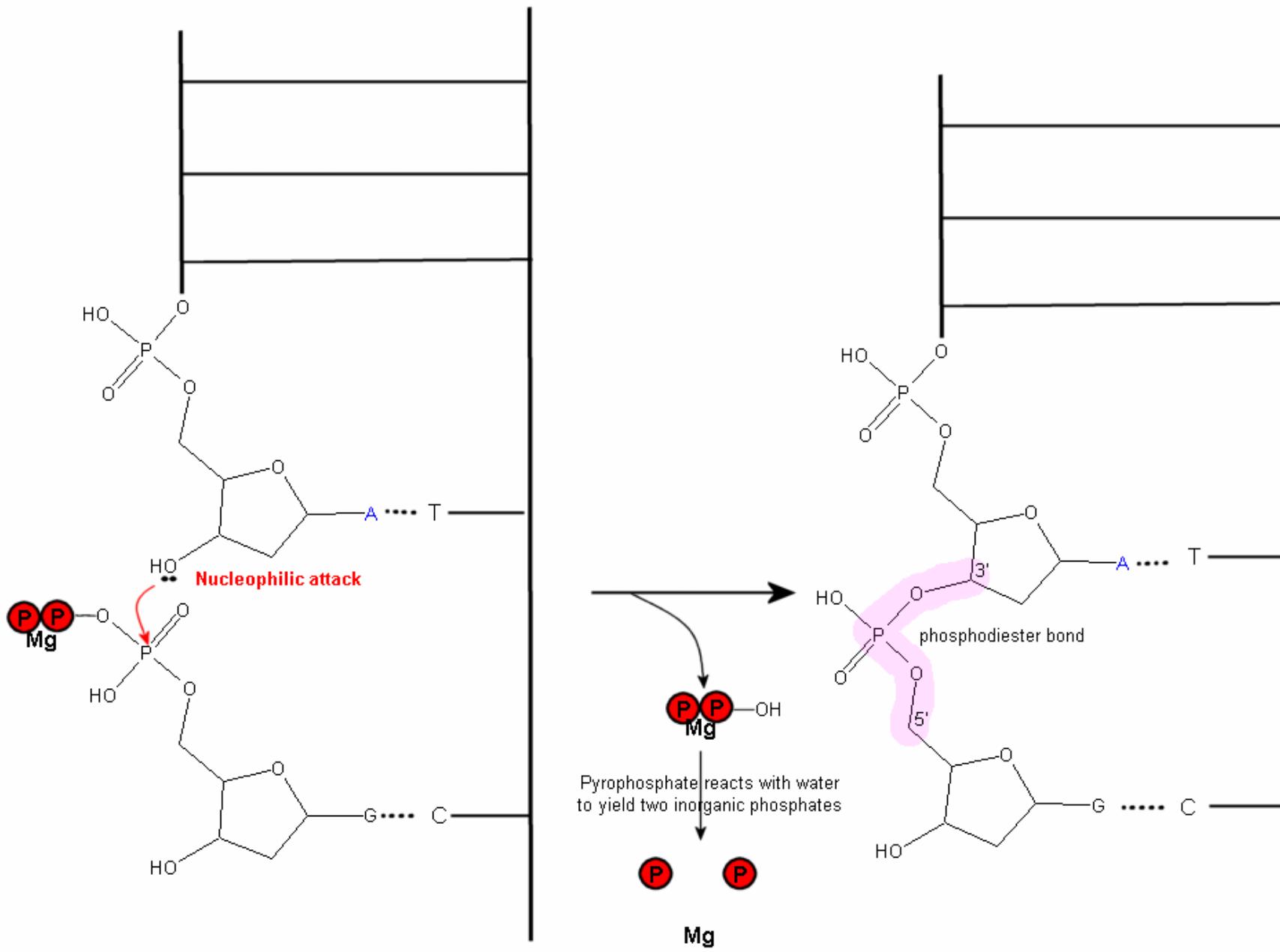
1. Dvojitá špirála DNA sa rozpletá.

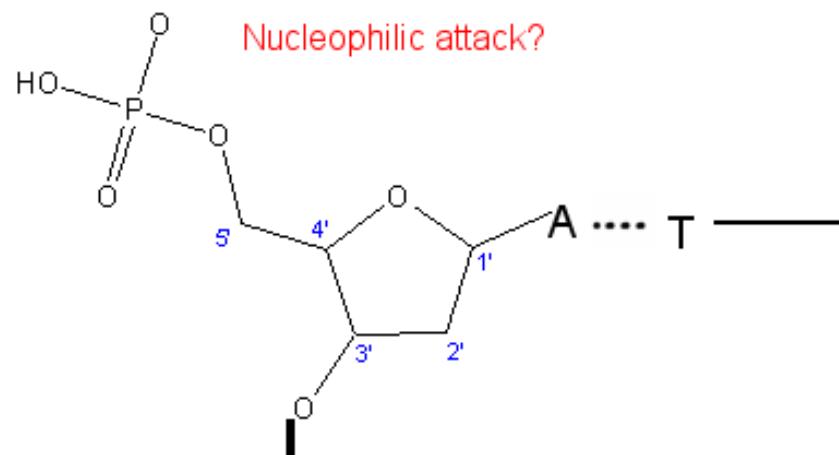
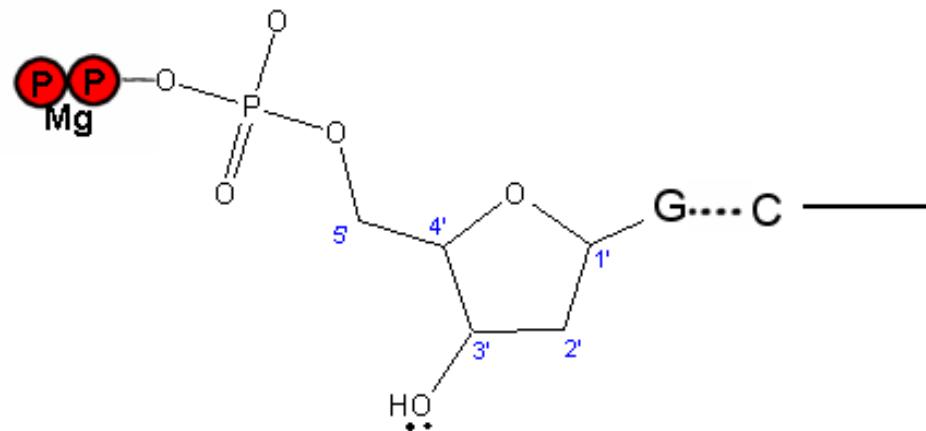
2. Rozpletenie spojených vlákien - replikačná vidlička.

3. Nové vlákno sa tvorí párovaním komplementárnych báz s pôvodným ret'azcom.

4. Výsledkom je vznik dvoch molekúl DNA s jedným pôvodným a jedným novosyntetizovaným vláknom.

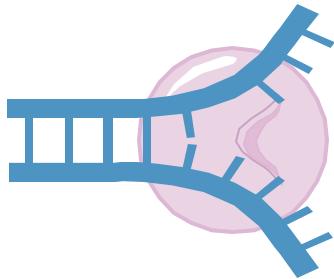




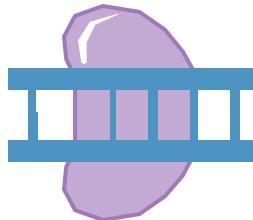


Nucleophilic attack?

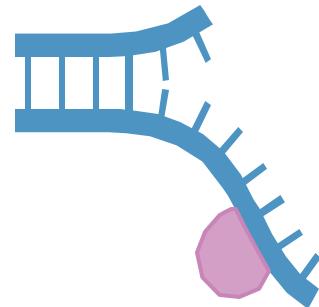
# Enzýmy pri DNA replikácii



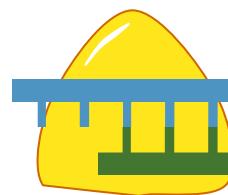
Helikáza rozpletá pôvodnú dvojvláknovú molekulu



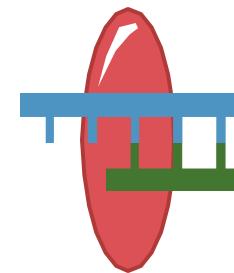
DNA polymeráza viaže nukleotidy do nových vláken



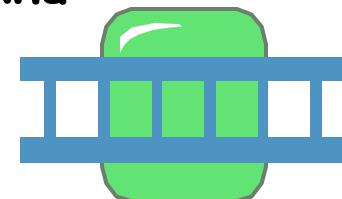
Väzbové bielkoviny stabilizujú separované vlákna



Exonukleáza odstraňuje RNA primer a vkladá správne bázy



Primáza prikladá krátky primer k šablónovému vláknu



Ligaza spája Okazakiho fragmenty a stabilizuje

Link

[https://www.youtube.com/watch?  
v=mxAjSBhDkBQ](https://www.youtube.com/watch?v=mxAjSBhDkBQ)

Link

[https://www.youtube.com/watch?  
v=bee6PWUgPo8](https://www.youtube.com/watch?v=bee6PWUgPo8)

# Porovnanie presnosti replikácie DNA:

Včasné doručenie poštových zásielok - 5 chybných na 100 zásielok

Letisková batožina - 1 stratená batožina z 200

Pisárka so 120 údermi/min - 1 chyba na 250 znakov

Nehodovosť v automobilovej doprave - 1 mrtvý na 10 000

DNA replikácia (bez opravy) - 1 chyba na  $10^7$  kópií nukleotidov

DNA replikácia (po oprave) - 1 chyba na  $10^9$  kópií nukleotidov

# Transkripcia\*

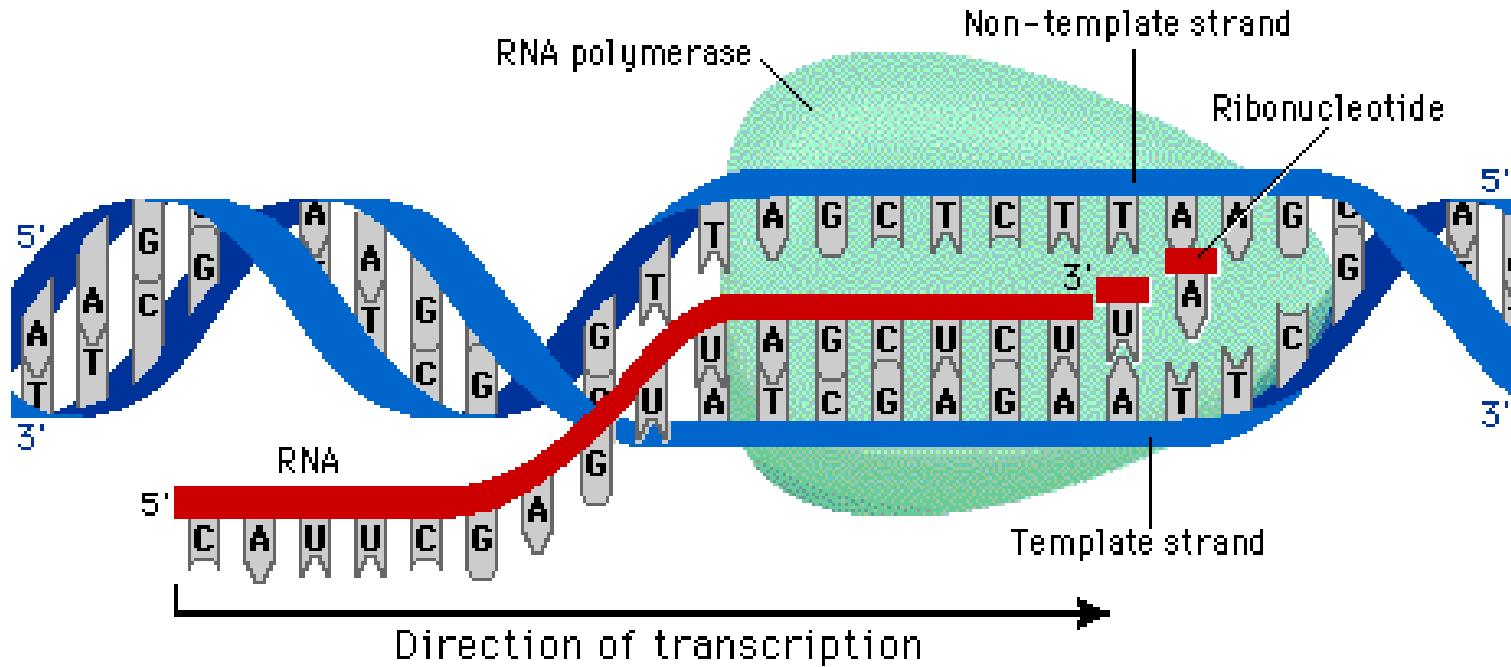
Trans-scribo - prepisujem

# Ribonukleové kyseliny

- Jednovláknové
- Namiesto tymínu je uracyl
- mRNA, tRNA, rRNA

# Produkty transkripcie

typ RNA	angl. názov	skratka	miesto syntézy
mediátorová RNA	messenger RNA	mRNA	jadro
transferová RNA	transfer RNA	tRNA	jadro
ribozomálna RNA	ribosomal RNA	rRNA	hlavne jadierko
malé jadrové RNA	small nuclear RNA	snRNA	jadro
malé jadierkové RNA	small nucleolar RNA	snoRNA	jadierko



Syntéza mRNA spočíva v rozpletení DNA reťazcov a v tvorbe mRNA molekuly od 5' ku 3' konca. Reakciu katalyzuje **RNA-polymeráza**, ktorá používa reťazec DNA ako templát.

Link

<https://www.youtube.com/watch?v=5MfSYnItYvg>

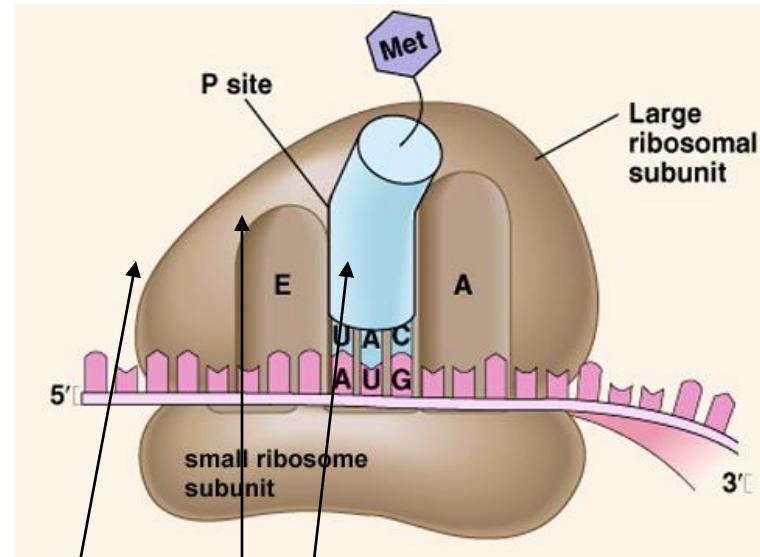
# Translácia\*

\*translatio - prenášanie

- preklad GI z poradia nukleotidov mRNA do poradia AMK v peptidovom reťazci
- mRNA opustí jadro a dostane sa do kontaktu s ribozómami v cytoplazme
- na ribozómy sa ku kodónom mRNA komplementárne pripájajú antikodóny tRNA
- antikodóny tRNA nesú jednotlivé AMK zo zásoby voľných molekúl
- tRNA utvorí peptidový reťazec s primárhou štruktúrou
- na tomto deji sa zúčastňuje aj rRNA

# Ribozómy

- Ribozómy sú organely, na ktorých prebieha translácia mRNA
- Ribozóm pozostáva z dvou podjednotek, ktoré obsahujú rRNA a proteíny



na ribozóme sú tri miesta:  
Exit  
Peptydylové  
Aminoacylové

# tRNA



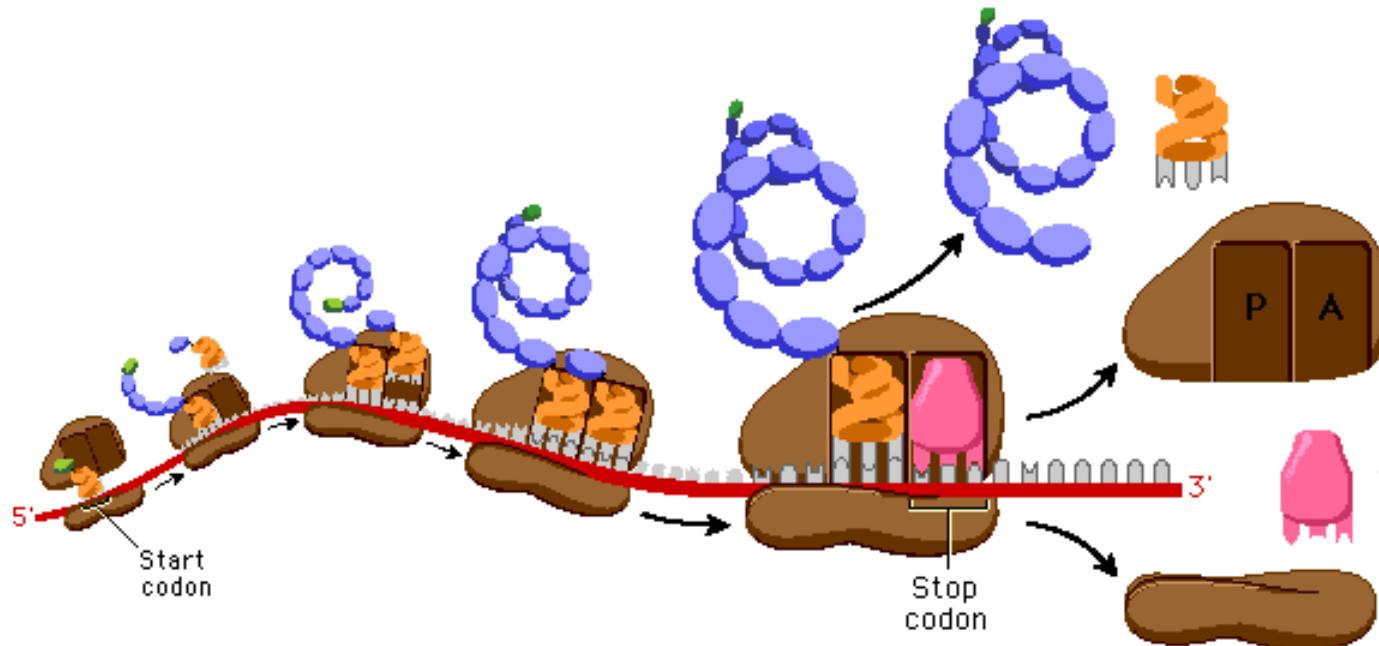
tRNA sú kódované tRNA génmi  
všetky tRNA majú podobný tvar a  
veľkosť

Všetky tRNA končia na 3' konci  
sekvenciou CCA; tu sa k nim  
viaže príslušná aminokyselina

Na opačnom „konci“ tRNA  
molekuly je antikodón, ktorý  
počas translácie „číta“ kodóny  
na mRNA

# Polyzómy

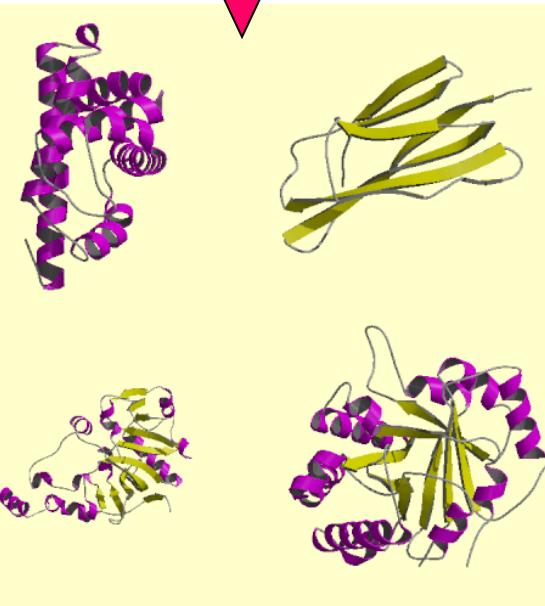
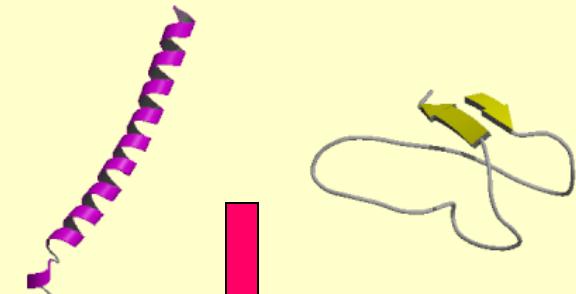
V danom čase môže rovnakú mRNA čítať niekoľko ribozómov  
Celý útvar sa označuje polyribozóm alebo polyzóm



**Primárna štruktúra (sekvencia aminokyselín)**

VHLTPEEKSAVTALWGKVNVDE  
VGGEALGRLLVVYPWTQRFFE  
SFGDLSTPDAVMGNPKVKAHG  
KKVLGAFSDGLAHLNDNLKGTFA  
TLSELHCDKLHVDPENFRLLGN  
VLVCVLAHHFGKEFTPVQAAAY  
QKVVAGVANALAHKYH

**Sekundárna štruktúra (helix, list)**



**Tertiárna štruktúra (skladanie)**

Link

[https://www.youtube.com/watch?v=I\\_c8GIWRQJo](https://www.youtube.com/watch?v=I_c8GIWRQJo)

Link

<https://www.youtube.com/watch?v=8dsTvBaUMvw>