

3. Funkce DNA: exprese genu

Dobrý den. V této přednášce se budeme zabývat procesy, které se dějí během exprese genu. Přednáška je součástí modulu 1, genetika zvířat. Vytvoření této prezentace bylo podpořeno grantem ERASMUS + KA2 v rámci projektu ISAGREED, Inovace obsahu a struktury studijních programů v oblasti managementu živočišných genetických a potravinových zdrojů s využitím digitalizace.

Geny obsahují biologickou informaci, ale samy o sobě nejsou schopny tuto informaci v buňce realizovat. Její využití vyžaduje koordinovanou činnost enzymů a dalších druhů bílkovin, které se podílejí na řadě událostí tvořících genovou expresi.

Na genovou expresi se obvykle pohlíží jako na dvoufázový proces, který zahrnuje transkripci, neboli přepis genetické informace ze sekvence DNA do její kopie v sekvenci RNA. Druhý proces je translace (překlad), kdy dochází k přeložení genetické informace ze sekvence RNA do sekvence aminokyselin, tedy do proteinu.

Všechny tyto procesy jsou založeny na strukturálních vlastnostech nukleových kyselin - a to na komplementaritě bází a antiparalelismu v dvoušroubovicových strukturách NK.

Funkce DNA souhrnně popisuje tzv. ústřední dogma molekulární biologie. To popisuje tok genetické informace mezi biologickými molekulami (tzn. nukleovými kyselinami a proteiny) a vychází z poznatků popsání struktury DNA jejími objeviteli Watsonem a Crickem. Mezi běžné přenosy patří kopírování neboli replikace DNA, tvorba RNA na základě DNA neboli transkripce a přenos GI z RNA na protein neboli translace. Pouze u specifických skupin RNA virů se vyskytuje i schopnost replikace RNA a tvorba DNA na základě RNA, neboli zpětná transkripce. V žádném případě však nelze přenést GI z proteinu zpět na nukleovou kyselinu.

Genová exprese neboli vyjádření genů je proces, při kterém se informace z genu využívá k syntéze funkčního genového produktu, tj. proteinu nebo nekódující RNA se specifickou funkcí a nakonec ovlivňuje fenotyp. Exprese genetické informace je proces zahrnující dva kroky: **transkripci a translaci**. Při těchto procesech vznikají proteiny, které jsou základem správného složení a funkce buňky a celého organismu.

Později bylo prokázáno, že procesem exprese genů nemusí docházet jen k tvorbě proteinů. Pouze malá část buněčné RNA, obvykle ne více než 4 % celkové RNA, je tvořena mediátorovou RNA. Většina RNA vznikající v buňce slouží k podpoře procesu translace případně k regulaci genové exprese, tzn. jsou to molekuly RNA, které nebudou přeloženy do bílkovin. Hrají tedy v buňce přímou roli jako samotné RNA - malé jaderné RNA (snRNA), malé jadéřkové RNA (snoRNA), malé cytoplazmatické RNA (scRNA), mikroRNA (miRNA) a případně malé interferující RNA (siRNA).

Na schématu exprese lze vidět podrobně většinu procesů týkající se exprese strukturního genu, tedy genu, který kóduje protein. Kromě základních dvou procesů transkripce a translace jsou zde uvedeny i posttranskripční modifikace RNA a posttranslační modifikace proteinů. Jedná se o řadu regulačních kroků, které mohou ovlivňovat výslednou podobu proteinu, kódovaného v sekvenci DNA označované jako gen. Existuje zde dále vliv prostředí, ve kterém se buňka nebo organismus nachází a může také modifikovat výsledek daného kroku exprese.

Asi nejdůležitější fází transkripce je první fáze, tzv. iniciace transkripce. Ne všechny geny jsou neustále transkribovány. Naopak existují mechanismy, které zajišťují zapínání genů podle potřeby. Je nutno říci, že většina genů v buňce je v daný okamžik utlumená. Jak však RNA polymeráza pozná, kde je v DNA gen a že má právě tento gen transkribovat? Hlavním mechanismem spouštění exprese je funkce promotoru genu, což je sekvence DNA, která iniciuje transkripci určitého genu vazbou RNA polymerázy a dalších složek transkripčního aparátu, tzv. transkripčních faktorů. RNA polymerázy jsou enzymy, které provádí vlastní transkripci - polymeraci RNA na základě templátového řetězce v DNA. U eukaryot jsou tři základní typy RNA polymeráz (I – III), každá s typickými promotory. Jádro promotoru RNA polymerázy II u eukaryot se skládá ze dvou hlavních segmentů. První je v oblasti –25, **TATA box**, který má konsenzuální sekvenci 5'-TATAWAAR-3'. Druhou částí jádra promotoru je **sekvence iniciátoru (Inr)**, který se např. u savců nachází v okolí nukleotidu +1.

Všechny geny procházejí první fází genové exprese, která se nazývá transkripce a jejímž výsledkem je syntéza molekuly RNA. Transkripce je jednoduchá kopírovací reakce. RNA je stejně jako DNA polynukleotid, chemicky se liší pouze tím, že v RNA je cukr ribóza, nikoli 2'-deoxyribóza, a že báze thymin je nahrazena bází uracil (U), která se stejně jako thymin páruje s adeninem.

Při transkripci genu slouží jedno vlákno dvojité šroubovice DNA jako templát pro syntézu molekuly RNA a její sekvence nukleotidů vzniká na základě komplementarity, tzn. standardních pravidel párování bází.

Na schématu na slajdu 9 vidíme, že DNA je dvoušroubovice a genetická informace je zapsána jen v jednom vlákně, které se označuje jako kódující, nebo pozitivní. Zde je zapsána informace o sekvenci aminokyselin v kódovaném proteinu. Z důvodu komplementarity bází však jako templát slouží druhé tzv. negativní vlákno, označované často též jako antikódující. Po tomto vlákně se pohybuje enzym RNA polymeráza a na základě komplementarity bází polymeruje vznikající RNA řetězec. Vzniklý primární transkript RNA nese stejnou informaci, tedy stejnou sekvenci jako kódující pozitivní vlákno i se stejným směrováním. Jako 5' a 3' označujeme konce, které jsou v rámci vlákna DNA neměnné.

Primární transkript musí být dále upravován. Dochází k zpracování RNA jehož součástí je přidávání čepičky (capping), **RNA sestřih (neboli splicing)** a polyadenylace. Čepička a polyadenylace slouží k ochraně vznikající RNA před degradací v buňce. Sestřihem se specificky odstraňují nekódující vnitřní části genu, neboli introny. Jako příklad **alternativního sestřihu** je na schématu uveden sestřih pre-mRNA transkriptu genu alfa-tropomyosinu u potkana v různých typech buněk. Z jednoho genu může vznikat 9 různých finálních transkriptů, s devíti navzájem poněkud odlišnými, ale podobnými proteiny. Světle zelené rámečky představují introny; ostatní barvy představují exony. Polyadenylační signály jsou označeny písmenem A. Čárkované jsou označeny oblasti, které byly odstraněny sestřihem.

U některých genů je samotný transkript RNA konečným produktem genové exprese. U strukturních genů je transkript krátkodobou zprávou, která řídí druhou fázi genové exprese, nazývanou translace. Jedná se o překlad genetické informace (sekvence nukleotidů kódujících aminokyselinu peptidu) do primární struktury polypeptidu (neboli sekvence aminokyselin). Bílkovina je další typ polymerní molekuly, ale zcela odlišný od DNA a RNA. V bílkovině se monomery nazývají aminokyseliny a existuje jich standardně 20 různých, z nichž každá má své

specifické chemické vlastnosti. Translace je založena na komplementaritě bází mezi kodonem na mRNA (tzn. kopií genu) a antikodonem tRNA (nosičem aminokyselin). Využívá se genetický kód – systém pravidel kódování aminokyselin. Zatímco transkripce probíhá v jádře, translace probíhá na ribozomech v cytoplazmě.

Párování kodonu a antikodonu je zásadním mechanismem překlada genetické informace do proteinu. Molekula mRNA přináší do místa translace genetickou informaci. Molekuly tRNA přináší aminokyseliny, které jsou na ně navázány. Každá tRNA je specifická pro danou aminokyselinu a odlišují se od sebe antikodonem. Např. tRNA s antikodonem CGU má vždy na sobě navázanou aminokyselinu alanin. A při translaci se tato tRNA může navázat jen na kodon GCA v mRNA.

Při translaci je sekvence aminokyselin určena sekvencí nukleotidů v mRNA. Každý triplet sousedících ribonukleotidů určuje jednu aminokyselinu proteinu, přičemž identita aminokyseliny odpovídající každému tripletu je dána genetickým kódem. Genetický kód je systém pravidel pro překlad, je to v podstatě překladový slovník, který je univerzální, tzn. až na několik výjimek stejný pro všechny organizmy na světě. Formálně bývá genetický kód zobrazen ve formě tabulky nebo grafu umožňující jednoduchý odečet. Kodonů je celkem 64, z nichž jsou tři nesmyslné (stop kodony) a jeden je iniciační (zároveň kóduje aminokyselinu metionin). Funkcí stopkodonu je zástava syntézy polypeptidu, musí tedy ležet vždy na konci kódující sekvence genu. Protože je základních aminokyselin 20, tak je genetický kód degenerovaný, tedy platí že jedna aminokyselina může být kódována vícero kodony, ale naopak to neplatí, tj. jeden kodon vždy kóduje stejnou aminokyselinu. Všimněte si, že např. aminokyselina leucin může být kódována 6 různými kodony, naproti tomu tryptofan pouze jedním.

Proces translace lze rozdělit do tří fází: iniciace, elongace a terminace. Kromě ribozomu, mRNA a tRNA jsou pro úspěšné dokončení každé fáze zapotřebí další proteiny. mRNA se navazuje na malou podjednotku ribozomu spolu s iniciačními faktory. Iniciační komplex tRNA^{met} se váže na sekvenci kodonu mRNA AUG svým antikodonem UAC v peptidylovém místě. Velká podjednotka ribozomu se naváže na tento komplex. Druhá aktivovaná tRNA s navázanou aminokyselinou vstoupí do místa A a mezi oběma aminokyselinami vznikne peptidická vazba. První tRNA bez aminokyseliny se odpojí a vzniká dipeptid navázaný na druhou tRNA.

Řetězec mRNA se posune o tři nukleotidy, tedy druhá tRNA se posune do místa P a třetí tRNA se může napojit v místě A na mRNA. Tímto způsobem dochází k prodlužování sekvence aminokyselin přesně podle genetické informace v mRNA. Jakmile se dosáhne v mRNA stop kodonu, tak se proces ukončí, celý komplex se rozpadne a uvolní se protein. Ten pak bývá dále upravován v různých buněčných organelách a vznikají finální prostorové 3D struktury umožňující specifickou funkci daného proteinu.

A to je vše k této krátké prezentaci vysvětlující základy exprese genetické informace. Děkuji za pozornost.