

SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE
CZ/FMP.17A/0436



ASTROBIOLOGIE: DNA, RNA, svět molekul života

René Kizek

29. 01. 2015,

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1,
Místnost CEITEC, Kontakt: kizek@sci.muni.cz



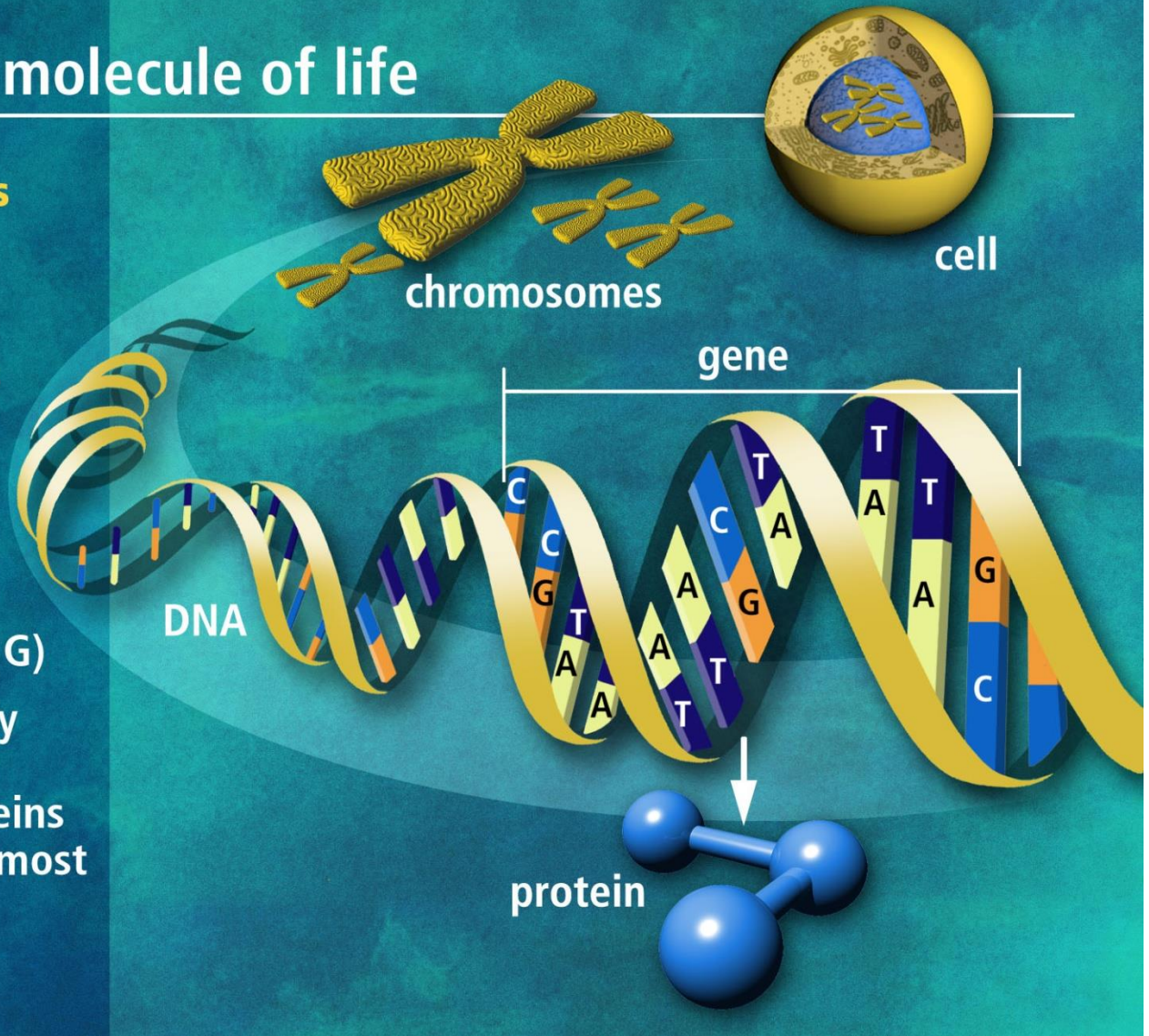
FOND MIKROPROJEKTŮ

DNA the molecule of life

Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions



Y-GG 01-0085



FOND MIKROPROJEKTŮ

Deoxyribonukleová kyselina byla popsána roku [1869](#), kdy švýcarský lékař [Friedrich Miescher](#) zkoumal složení [hnisu](#) z nemocničních [obvazů](#). Z jader bílých krvinek přítomných v tomto hnisu získal jisté množství nukleových kyselin, které souhrnně nazýval **nuklein**.^[2] Na počátku 20. století Phoebus Levene rozpoznal, že DNA se skládá z cukrů, fosfátů a bází.^[3] O funkci DNA toho dlouho nebylo moc známo. První důkaz o roli DNA v přenosu genetické informace přinesl v roce [1943 Averyho-MacLeodův-McCartyho experiment](#), který provedli [Oswald Avery](#) společně s [Colinem MacLeodem](#) a [Maclynem McCartyem](#). Sérií pokusů s [transformací pneumokoků](#) zjistili, že DNA je genetickým materiálem buněk.^[4] Další důkaz přinesl v roce [1952 Hersheyho-Chaseové experiment](#).

Patrně nejslavnějším milníkem ve výzkumu DNA bylo odhalení její trojrozměrné struktury. Správný [dvoušroubovicový](#) model poprvé představili v roce [1953](#) v časopise [Nature James D. Watson](#) a [Francis Crick](#), pozdější laureáti Nobelovy ceny.^[5] Vycházeli přitom z rentgenové difrakční analýzy, kterou o rok dříve provedli [Rosalind Franklinová](#) a [Raymond Gosling](#) a publikovali ve stejném čísle Nature. Další článek v tomto vydání předložil i [Maurice Wilkins](#).^[6] V roce 1957 předložil v té době již slavný Crick sérii pravidel, které se označují jako [centrální dogma molekulární biologie](#) a popisují vztahy mezi DNA, RNA a proteiny.^[7] O rok později slavný [Meselsonův-Stahlův experiment](#) umožnil poznat způsob [replikace DNA](#) v buňkách.^[8] Genetický kód rozluštili na počátku 60. let [Har Gobind Khorana](#), [Robert W. Holley](#) a [Marshall Warren Nirenberg](#).^[9]



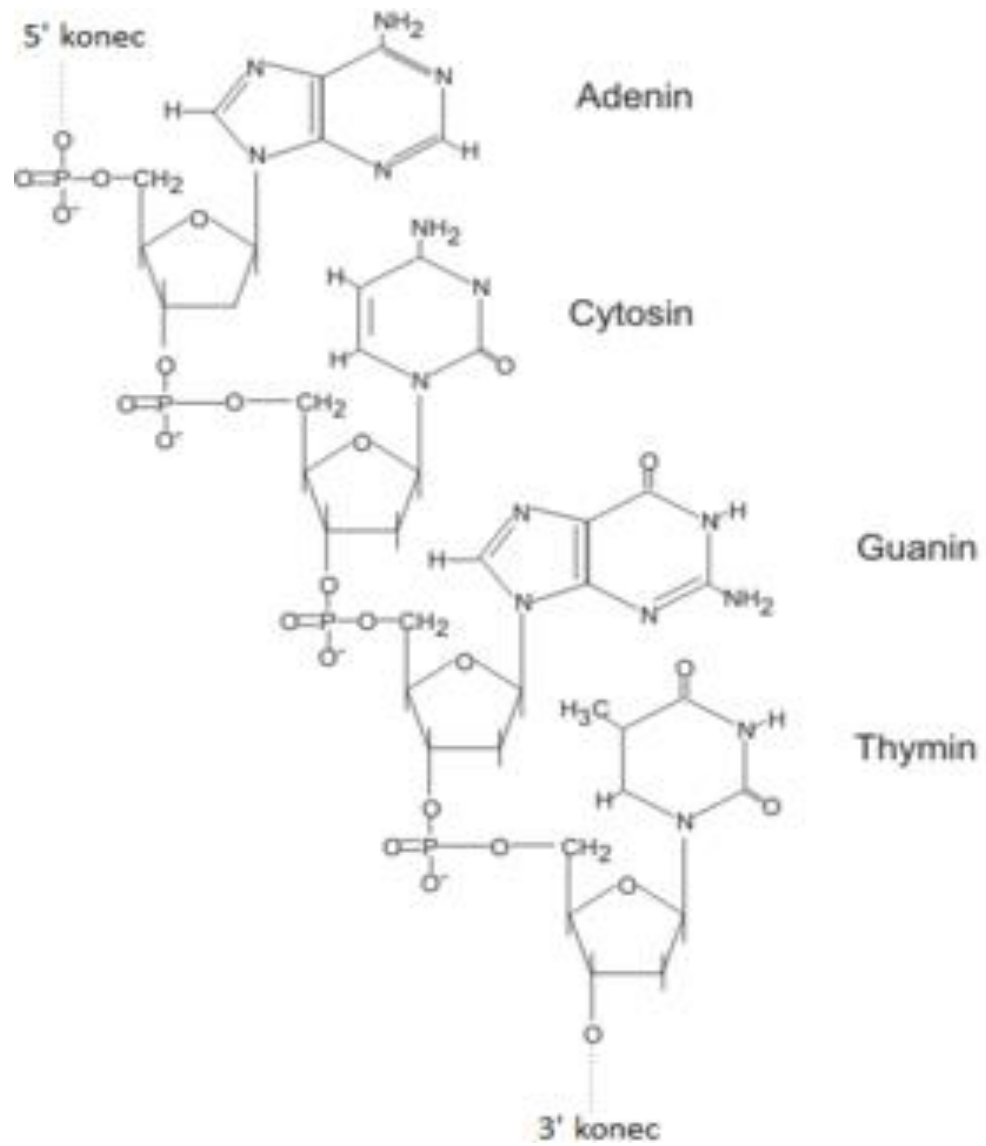


Friedrich přemýšlel nad různými roztoky [solí](#), nakonec vyprodukoval jeden vzorek smícháním leukocytů se [síranem sodným](#). Buňky následně přefiltroval. Vzhledem k tomu, že [odstředivky](#) se ještě nepoužívaly, buňky se mohly maximálně nechat usadit na dně kádinky. Pak se Miescher pokusil izolovat čistá jádra bez [cytoplazmy](#). Podrobil vyčištěná jádra alkalické extrakci následované [acidifikací](#). Výsledkem byl vznik [sraženiny](#), kterou Miescher nazval „nuclein“ (nyní známý jako [chromatin](#) či vlastně [DNA](#)). Zjistil, že tento nuklein obsahuje [fosfor](#) a [dusík](#), ale ne [síru](#). To, že sraženina byla nebílkovinné povahy, dokázal aplikací proteolytického enzymu [pepsinu](#) – sraženina se nerozložila. Objev byl tak odlišný od pokusů v té době známých, že Hoppe-Seyler zopakoval celý Miescherův výzkum sám před jeho vlastním zveřejněním ve vědeckém časopise. Miescher pak pokračoval ve studiu fyziologie v laboratoři [Carla Ludwiga](#) v [Lipsku](#) po celý jeden rok. Pak se vrátil do Basileje, kde byl na místní univerzitě jmenován profesorem fyziologie. Miescher a jeho studenti se v následujících letech věnovali výzkumu chemie nukleových kyselin, ale jejich funkce zůstala ještě dlouho neznámá (viz [Averyho-MacLeodův-McCartyho experiment](#)). Miescher věřil, že nositelem dědičnosti jsou [proteiny](#).

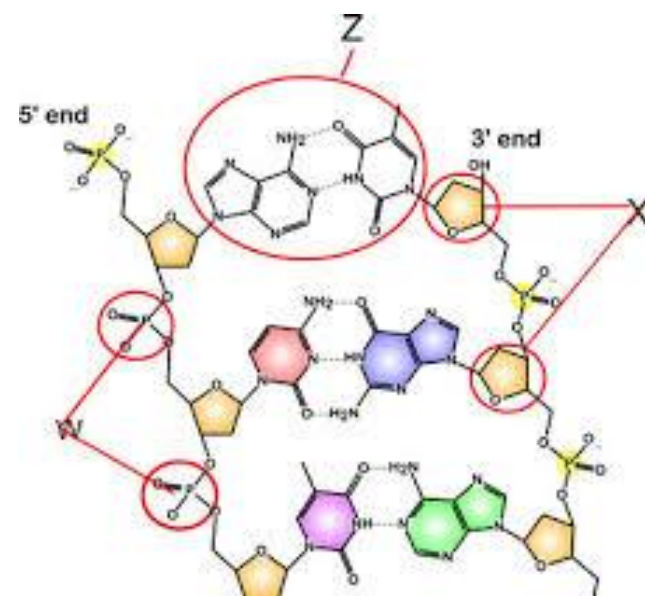




Přítomnost nukleových kyselin, tedy DNA a RNA, je společnou vlastností všech známých pozemských [organismů](#). Veškerý život je založen na koexistenci těchto nukleových kyselin s [bílkovinami](#), nicméně není zcela jasné, jak se vztah mezi DNA a bílkovinami vyvinul. Podle některých hypotéz nejprve existovaly bílkoviny a až následně vznikly nukleové kyseliny, nicméně nejvíce příznivců má zřejmě v současnosti představa, že prapůvodní látkou byla nukleová kyselina, která byla schopna [biologické evoluce](#). Podle teorie [RNA světa](#) však hlavní roli hrála nejprve spíše RNA a teprve posléze přejala hlavní roli DNA.^[10] Doklady ve prospěch takových hypotéz jsou však vždy nepřímé, protože nejsou k dispozici dostatečně staré vzorky DNA. Život vznikl již před několika miliardami let, jenže už po několika desítkách tisíců let klesá množství DNA na setinu původního stavu. Studie v časopise [Nature](#) z let 2000 a 2002 nicméně popisují nález až 450 milionů let starých vzorků [bakteriální](#) DNA uchovaných v [solných](#) krystalech,^{[11][12]} dále existuje i řada dalších, více nebo méně spolehlivých studií.



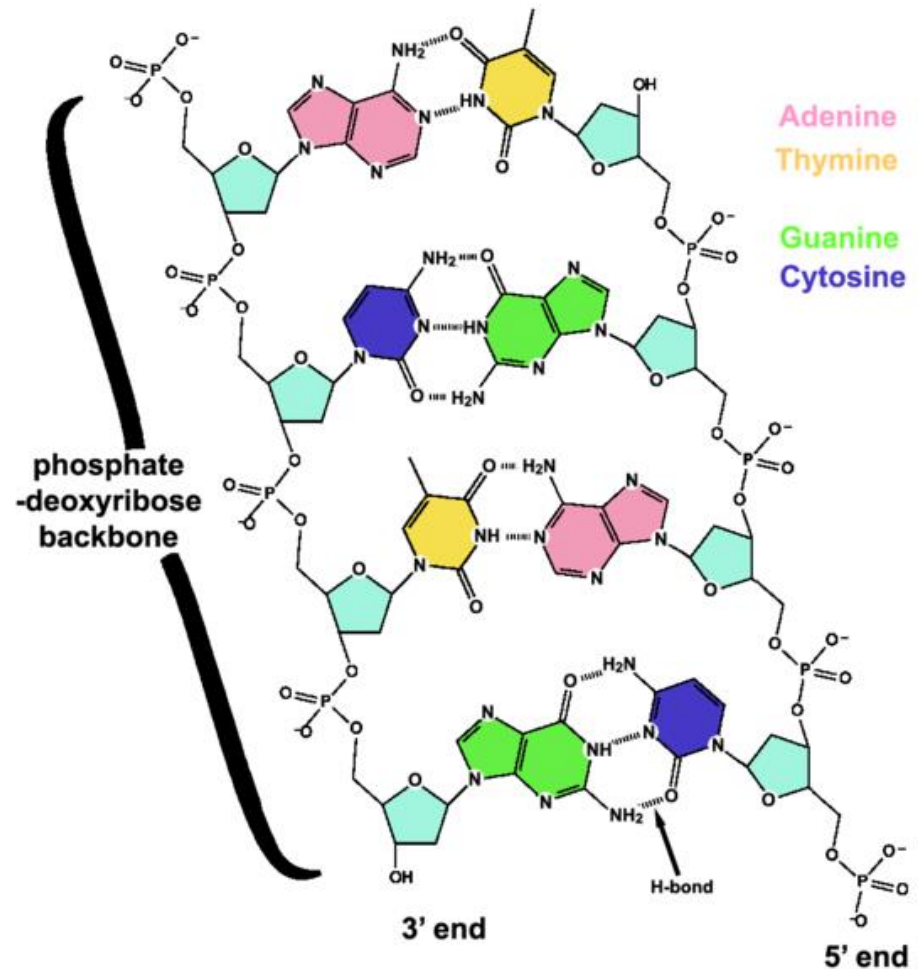
Deoxyribonukleová kyselina (DNA) může existovat jako samostatná jednovláknová molekula (tzv. [ssDNA](#)), nicméně velmi často vytváří vícevláknové struktury, které jsou složené z několika řetězců spojených vodíkovými můstky. Vodíkové můstky jsou jedním z typů poměrně [slabých vazebných interakcí](#), mezi dvěma či více vlákny DNA však jich může vzniknout obrovské množství, a tak je výsledná vícevláknová struktura poměrně stabilní. Typickou formou takového vícevláknového uspořádání DNA je [dvoušroubovice](#), notoricky známá molekula DNA (připomínající „stočený žebřík“) tvořená dvěma lineárními řetězci. Aby vznikla pravidelná struktura s velkým množstvím vodíkových můstků, je žádoucí, aby se vedle sebe „v příčli žebříku“ vyskytovaly vždy určité nukleové báze, které spolu ve správném prostorovém uspořádání vytváří několik vodíkových můstků. V typickém případě (ne však vždy) se nukleové báze spojují navzájem s odpovídající bází podle jednoduchého klíče:



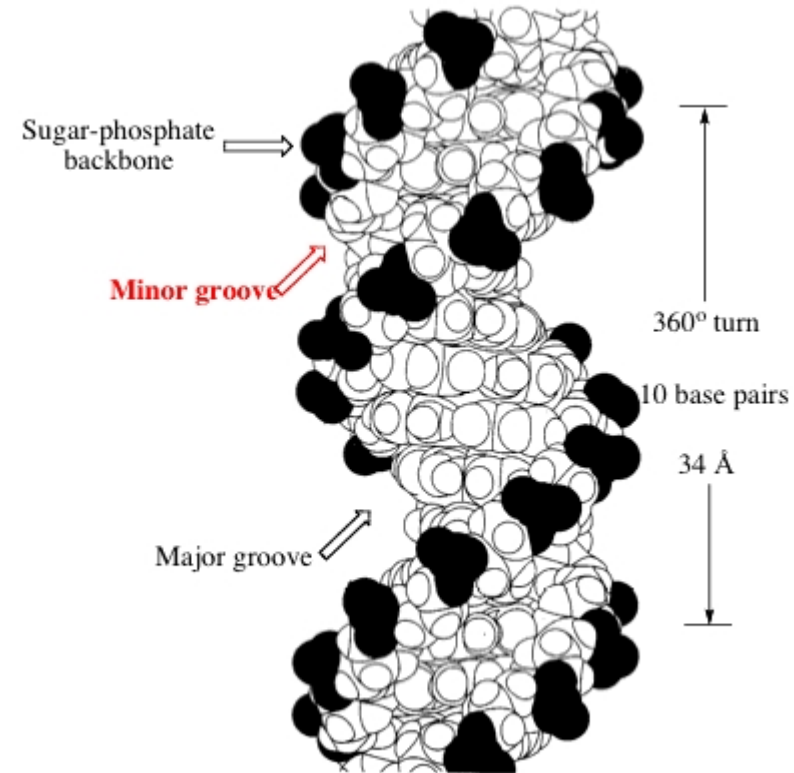
A se páruje s **T** (vzájemně jsou spojeny dvěma vodíkovými vazbami)

G se páruje s **C** (vzájemně jsou spojeny třemi vodíkovými vazbami)

Jedná se o tzv. [komplementaritu bází](#), z ní vychází vzájemná komplementarita obou vláken DNA. Vždy je na určité pozici v molekule jeden nukleotid z dvojice a v protějším vlákně druhý z nich. Takto se uchovává v každém z vláken tatáž informace, i když jedno z vláken je „negativem“ vlákna druhého – podle jednoho vlákna je možné přiřazením komplementárních bází vytvořit vlákno druhé. Poměr AT a GC párů v molekule DNA je velmi různý: tzv. [obsah GC](#) se pohybuje u [bakterií](#) od 25 do 75 %, u savců v rozmezí 39–46 %.^[20]



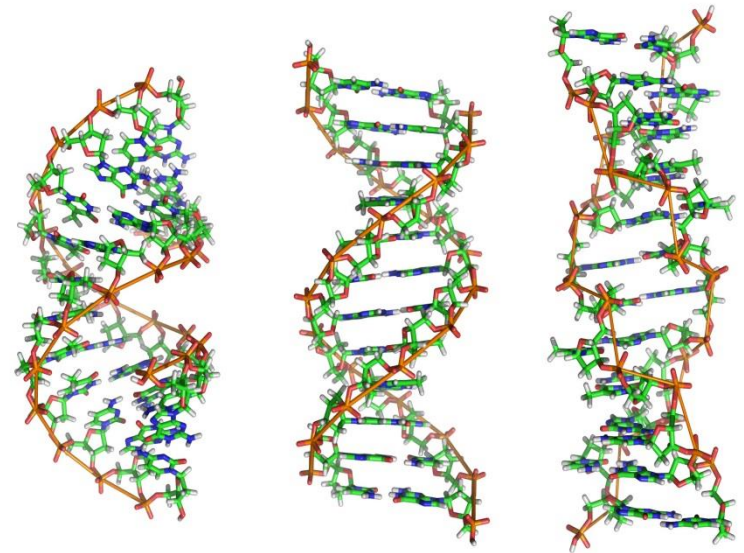
Existuje celá řada dalších možností, jak pomocí vodíkových můstků spárovat báze, neboť atomů schopných podílet se na vzniku vodíkových vazeb je na molekulách purinů i pyrimidinů celá řada. Samostatnou kapitolou je tzv. [hoogsteenovské párování](#) pojmenované podle [Karsta Hoogsteena](#), který je v 60. letech 20. století jako první popsal.^[21] Jinou možností je tzv. [wobble párování](#), které umožňuje úsporné rozeznávání kodonů pomocí [tRNA](#) molekul. Při wobble párování může například guanin vytvářet vazbu s uracilem; někdy je rekrutován [inosin](#), jenž má velmi obecné vazebné schopnosti a je schopen vázat se na C, A a U.^[22]



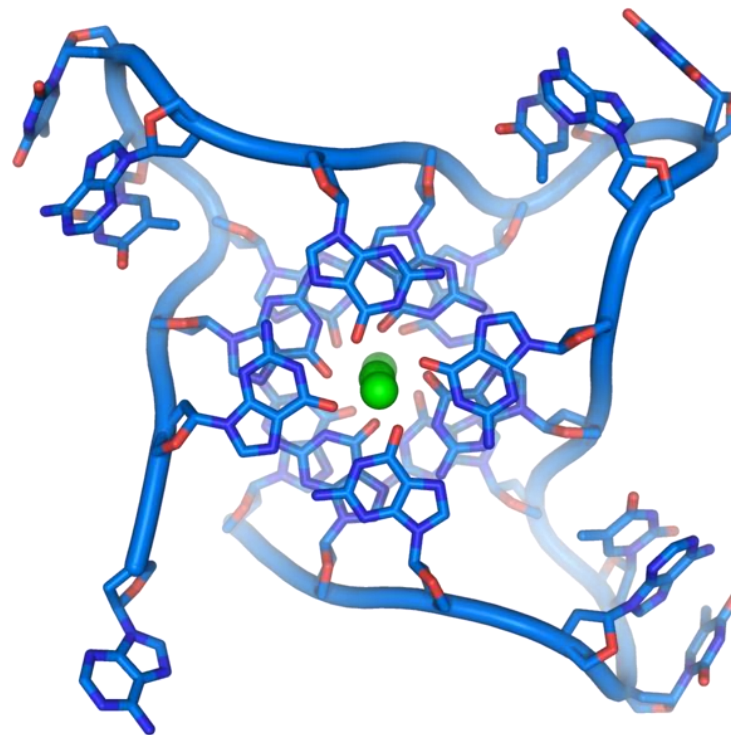
Podrobnější informace naleznete v článku dvoušroubovice.

V drtivém procentu případů se DNA za běžných podmínek uchovává ve formě pravotočivé dvoušroubovice. Dvoušroubovice DNA je tvořena dvěma vlákny DNA, které se obtáčí kolem společné osy a interagují spolu. Vlákna jsou tzv. antiparalelní, tzn. směřují opačnými směry[23] – zatímco jedno vlákno můžeme jedním směrem popsat jako 5'-3', druhé je ve stejném směru 3'-5'. Čísla 3' a 5' označují čísla uhlíku na deoxyribóze, na které se upínají fosfátové skupiny v cukr-fosfátové kostře DNA. Mezi bázemi v rámci jednoho „patra“ dvoušroubovice platí pravidla Watson-Crickovské komplementarity.

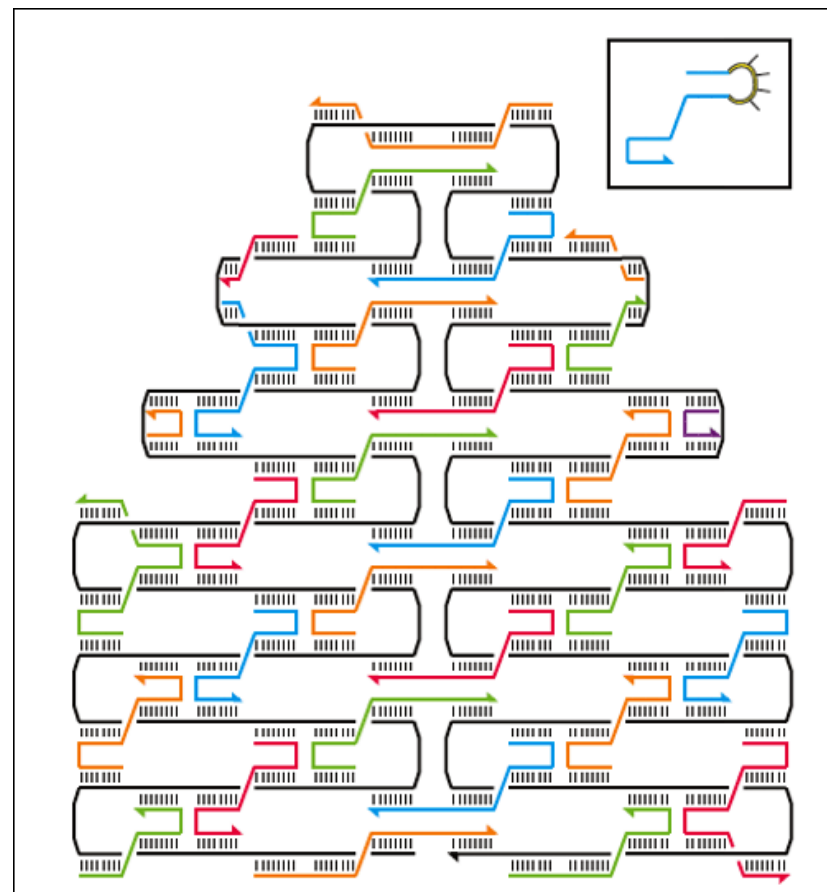
Existuje několik tzv. helikálních forem (konformací) DNA, které se liší celou řadou parametrů. Typická Watson-Crickovská pravotočivá dvoušroubovice (tzv. B-DNA) je nicméně zcela převažující a ostatní formy (zejména pravotočivá A-DNA a levotočivá Z-DNA) se sice mohou vyskytovat i v podmínkách živé buňky, nicméně spíše vzácně a jen za specifických okolností.[24][25][26]



V obecném povědomí DNA tvoří dvoušroubovici, nicméně existují i jiné způsoby uspořádání. Některé se vyskytují i v buňkách („in vivo“), jiné jsou spíše laboratorní záležitost. Mnohdy se využívá neobvyklých párovacích míst na molekulách bází. To je případ tzv. G-kvartetů, čtyřvláknových úseků DNA v telomerických oblastech chromozomů, v nichž do kruhu párují čtyři guaninové báze.[27] Co se týče trojšroubovice DNA,[28][29] možná dočasně vzniká při tzv. crossing-overu;[30] laboratorně může být trojvláknová struktura připravena např. z vláken poly(A) a polydeoxy(U).[31]



DNA se také může větvit a vznikají např. třívláknová či čtyřvláknová spojení. V některých případech dvoušroubovicová DNA na jednom svém konci lokálně denaturuje a na uvolněné konce se připojí třetí řetězec – v prostředí buňky by tato struktura mohla vzniknout při crossing-overu, pokud nedošlo k replikaci v jednom z genomů.[32] Jindy takto vlastně denaturují dvě dvoušroubovice a vzájemně se komplementárně přiloží, čímž vzniká čtyřvláknové spojení. V případě crossing-overu se jedná o známý Hollidayův spoj, který umožňuje vlastní výměnu homologních vláken.[33] Při replikaci DNA či při opravě DNA mohou větvení vznikat také. V laboratoři nicméně vznikají ještě mnohem fantastičtější prostorové struktury DNA – byly vyrobeny např. krychle či osmistěn složené celé pouze z DNA molekul. Tyto a další syntetické struktury DNA jsou v centru zájmu DNA nanotechnologů



Děkuji vám za pozornost