

Obecná genetika

Genetický kód a mutace - cvičení

Prof. Ing. Dušan Gömörý, DrSc.
Katedra fyto­ló­gie,
LF, TÚ Zvolen, Slovensko

Ing. Roman Longauer, CSc.
Ústav zakládání a pěstění lesů
LDF MENDELU Brno



Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a Státním rozpočtem ČR InoBio – CZ.1.07/2.2.00/28.0018

1.1: Gén pro polypeptid, který je součástí peroxidázy buku lesního, má sekvenci

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' ...TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG...5'
5' ...AAATGTCAGGTAAGCTGAATCCCCGATTCCATGGACCTCGGGTGCAAACCCAGTAGGTC...3'
```

- a) Do jaké sekvence aminokyselin v polypeptidu se bude tento gen exprimovat, pokud se přepisuje očíslovaný řetězec začínající zleva 3' koncem, sekvence DNA neobsahuje introny a přepis začíná od pozice 0

Při transkripci se do řetězce primárního transkriptu (v tomto případě identického s řetězcem A, nakolik v sekvenci nejsou přítomny introny) seřadí nukleotidy komplementárně k přepisovanému řetězci DNA:

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
mRNA 3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid :
```

- b) Jak se změní sekvence aminokyselin v polypeptidu, pokud dojde v pozici 23 k záměně báze GC za TA (bodová mutace) a s jakými následky?

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
mRNA 3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid :
```

- c) Jak se změní sekvence aminokyselin v polypeptidu, pokud dojde v pozici 43 k záměně báze AT za CG (bodová mutace) a s jakými následky?

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
mRNA 3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid :
```

- d) Jak se změní sekvence aminokyselin v polypeptidu, pokud dojde v pozici 18 k záměně báze TA za CG (bodová mutace) a s jakými následky?

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
mRNA 3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid :
```

- e) Jak se změní sekvence aminokyselin v polypeptidu, pokud dojde v pozici 22 k deleci báze C (posunová/frameshift mutace) a s jakými následky?

```

          1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
mRNA 3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid :
```

Genetický kód - kódování prostřednictvím esenciálních aminokyselin:

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

Sekvence AUG (pro metionin) od 3'konce = START. Pak dál na řetězci UAA, UAG, UGA = STOP

Komplementitá bází: A - G
C - T (U v RNA)

ŘEŠENÍ

a) Při transkripci se do řetězce primárního transkriptu (v tomto případě identického s řetězcem A nakolik v sekvenci nejsou přítomny introny) seřaďují nukleotidy komplementárně k prepisovanému řetězci DNA:

```

      1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
mRNA 5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
```

Iničiační kodon je AUG a iniciace začíná u prvního výskytu tohoto tripletu od konce 5'. V tomto případě je triplet AUG na pozici 03. Od této pozice tedy začíná sekvence tripletů kódujících syntézu řetězce aminokyselin:

```

      1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
mRNA 5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid : MetSerGlyLysLeuHisProArgPheHisGlyProArgValGlnThrGlnSTOP
```

protože na pozici 54 je triplet UAG, který je terminačním kodónem, na tomto místě se syntéza polypeptidu ukončí. Podtržené jsou aminokyseliny, které zasáhla mutace dle bodů b), c) a d).

b) Pokud dojde k bodové mutaci na pozici 23, v důsledku které se guanozín v prepisovaném řetězci DNA zamění za tymín, v řetězci mRNA pak bude na této pozici nukleotid s bází komplementární k tymínu – tedy adenínem. Sekvence mRNA a odpovídající sekvence aminokyselin v polypeptidu bude:

```

      1         2         3         4         5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTTGGGTCATCCAG5'
mRNA 5' AAAUGUCAGGUAAGCUGAAUCCACGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC3'
Polypeptid : MetSerGlyLysLeuHisProArgPheHisGlyProArgValGlnThrGlnSTOP
```

Triplet CCA kóduje stejně jako původní triplet CCC prolín. Jedná se tedy o synonymní mutaci, u které se sekvence aminokyselin nijako nemění - tato mutace nemůže mít žádné následky ve vztahu k fenotypu.

c) Pokud dojde na pozici 43 k záměně adeninu v přepisovaném řetězci DNA za cytozin, v řetězci mRNA bude na této pozici znova nukleotid s bází komplementární ke guaninu, tedy cytozinem. Sekvence mRNA odpovídající sekvenci aminokyselin v polypeptidu bude

```

      1           2           3           4           5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCC GTTGGGTCATCCAG5'
mRNA 5' AA AUG UCAGGUAAGCUGAAUCCCCGAUCCAUGGACCUCGG GCG CAAACCCAG UAG GUC3'
Polypeptid: MetSerGlyLysLeuHisProArgPheHisGlyProArgValGlnThrGln STOP

```

Triplet GUG, kódující valin sa tedy změnil na triplet GCG, kódující alanin. Valin i alanin jsou ovšem aminokyseliny s rovnakými vlastnostmi, obě mají alkylový hydrofóbní a nepolární zbytek (Ala: $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, Val: $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), takže vlastností a struktura vytvářeného polypeptidu sa s největší pravděpodobností nezmění.

d) Pokud dojde na pozici 18 k záměně thyminu v přepisovaném řetězci DNA za cytozin, v řetězci mRNA, bude na této pozici zařazen nukleotid s bází komplementární k cytozinu, tedy guanin. Sekvence mRNA a odpovídající sekvence aminokyselin v polypeptidu bude

```

      1           2           3           4           5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTGGGTCATCCAG5'
mRNA 5' AA AUG UCAGGUAAGCUG GAU CCCC GAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAG UAG GUC3'
Polypeptid: MetSerGlyLysLeuAspProArgPheHisGlyProArgValGlnThrGln STOP

```

Triplet CAU, kódující histidin sa tedy změnil na triplet GAU, kódující kyselinu asparagovou. Zatím co histidin je aminokyselina se zbytkem obsahujícím aminoskupinu, a tedy ve vodném roztoku se nabíjí kladně, kyselina asparagová obsahuje další karboxylový zbytek, ve vodném roztoku teda odštěpuje proton a nabíjí se záporně. I když obě aminokyseliny mají polární a tedy hydrofilní zbytek, elektrický náboj vytvářeného polypeptidu se změní o 2 jednotky. Takováto změna může vést k změně funkce proteinu a může teda vzniknout nová alela.

e) Pokud dojde na pozici 22 k delecii páru bazí GC, pak v řetězci mRNA vypadne nukleotid zařazen na této pozici a tedy dojde k posunu celého čtecího rámce. Sekvence mRNA a odpovídající sekvence aminokyselin v polypeptidu bude následovná:

```

      1           2           3           4           5
12345678901234567890123456789012345678901234567890123456789
3' TTTACAGTCCATTTCGACTTAGGGGCTAAGGTACCTGGAGCCCACGTTGGGTCATCCAG5'
mRNA: 5' AA AUG UCAGGUAAGCUGCAUCCCGAUCCAUGGACCUCGGGUGCAAACCCAGUAGGUC.3'
Polypeptid: MetSerGlyLysLeuHis ProAspSerMetAspLeuGlyCysLysProSerArgSer. .

```

Počínajíc 7. aminokyselinou se všechny až do konce řetězce můžou změnit (v tomto případě nedošlo k změně prolinu, protože k mutaci došlo na 3. pozici tripletu). Navíc tím, že sa posunul čtecí rámec, zanikl terminační kodon na pozici 54, tedy syntéza polypeptidu pokračuje, dokud se náhodně v mRNA nevyskytne některý z terminačních kodonů. Vytvářený polypeptid bude tedy mnohem delší než původní. Je velice málo pravděpodobné, že by tento polypeptid bol schopný plnit nejenom původní funkci, ale jakoukoliv funkci. Alela, která by vznikla takovouto mutací tedy kóduje nefunkční produkt. Pokud by šlo o gen kódující životně důležitý proces (kupř. rozklad peroxidických vazeb), takováto alela bude pro svého nositele **letální**.

