

SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA V NITRE

Fakulta biotechnológie
a potravinárstva

Katedra biochémie
a biotechnológie

prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc. – Ing. Milan Chňapek, PhD.
Mgr. Želmíra Balážová, PhD. – Ing. Martin Vivodík, PhD.
Ing. Jana Moravčíková, PhD.

MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA

Nitra 2016

Vydala Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
vo Vydavateľstve SPU

Autori: prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc. (1,50 AH)
Katedra biochémie a biotechnologie
FBP, SPU v Nitre

Ing. Milan Chňápek, PhD. (4,05 AH)
Katedra biochémie a biotechnologie
FBP, SPU v Nitre

Mgr. Želmíra Balážová, PhD. (2,50 AH)
Katedra biochémie a biotechnologie
FBP, SPU v Nitre

Ing. Martin Vivodík, PhD. (2 AH)
Katedra biochémie a biotechnologie
FBP, SPU v Nitre

Ing. Jana Moravčíková, PhD. (1,50 AH)
Ústav genetiky a biotechnologií rostlin
SAV Nitra

Recenzenti: prof. RNDr. Klaudia Jomová, PhD.
doc. Ing. Katarína Ražná, PhD.

Schválil rektor Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 3. 10. 2016
ako skriptá pre študentov SPU.

© Z. Gálová a kol., Nitra 2016

ISBN 978-80-552-1550-1

OBSAH

1 PREDMET MOLEKULÁRNEJ BIOLÓGIE	3
1.1 Objekty skúmania molekulárnej biológie	3
1.2 Formy existencie živej hmoty	3
1.2.1 Nebunkové častice	4
1.2.2 Bunkové organizmy.....	5
1.2.2.1 Prokaryotické organizmy	6
1.2.2.2 Eukaryotické organizmy	7
 2 NUKLEOVÉ KYSELINY	8
2.1 Chemické zloženie nukleových kyselín	8
2.2 Deoxyribonukleová kyselina	10
2.2.1 Štruktúra DNA	11
2.2.1.1 Základné formy štruktúry DNA	12
2.2.1.2 Terciárna štruktúra DNA	13
2.3 Ribonukleové kyseliny	14
2.3.1 Mediátorová RNA	14
2.3.2 Transferová RNA	15
2.3.3 Ribozómové RNA	16
2.3.4 Ďalšie typy RNA.....	16
 3 MOLEKULÁRNA ŠTRUKTÚRA CHROMOZÓMOV	18
3.1 Biologická funkcia chromozómov	18
3.2 Štruktúra nukleových kyselín	18
3.3 Superšpiralizácia DNA	19
3.3.1 Štruktúra chromatínu	19
3.3.1.1 Históny	20
3.3.1.2 Nehistónové bielkoviny	20
3.3.1.3 Podjednotková štruktúra chromatínu	21
3.4 Nukleotidové sekvencie DNA	22
3.4.1 Opakujúce sa sekvencie	22
3.4.2 Palindrómy	22
3.4.3 Intróny a exóny	23
3.4.4 Medzerníky	23
3.4.5 Mobilné elementy	23
3.4.5.1 Inzerčné sekvencie (IS)	24
3.4.5.2 Transpozóny (Tn)	25
3.4.5.3 Bakteriofág Mu	26
 4 MIMOJADROVÁ A MIMOCHROMOZÓMOVÁ DEDIČNOSŤ	27
4.1 Mitochondriálny genóm	27

4. 2	Chloroplastový genóm	28
4. 3	Plazmidy	29
4. 4	Mierne (temperované) fágy	30
5	REPLIKÁCIA DNA	32
5. 1	Enzýmy zúčastňujúce sa replikácie DNA	32
5. 1. 1	<i>DNA polymerázy prokaryotov</i>	<i>33</i>
5. 1. 2	<i>DNA polymerázy eukaryotov</i>	<i>35</i>
5. 1. 3	<i>DNA ligázy</i>	<i>35</i>
5. 2	Mechanizmy replikácie	36
5. 2. 1	<i>Replikácia lineárnej dvojvláknovej DNA prokaryotov</i>	<i>36</i>
5. 2. 2	<i>Replikácia dvojzávitnicovej kruhovej DNA</i>	<i>38</i>
5. 2. 2. 1	<i>Dvojsmerná replikácia kruhovej dvojzávitnicovej DNA</i>	<i>38</i>
5. 2. 2. 2	<i>Replikácia dvojzávitnicovej kruhovej DNA mechanizmom otáčajúcej sa kružnice</i>	<i>38</i>
5. 2. 2. 3	<i>Replikácia jednovláknovej kruhovej DNA</i>	<i>39</i>
5. 2. 3	<i>Replikácia DNA v bunkách eukaryotov</i>	<i>40</i>
6	TRANSKRIPCIA – BIOSYNTÉZA MOLEKÚL RNA	42
6. 1	Spôsoby biosyntézy RNA	42
6. 1. 1	<i>Syntéza RNA závislá na RNA</i>	<i>43</i>
6. 1. 2	<i>Biosyntéza RNA katalyzovaná polynukleotidfosforylázou</i>	<i>43</i>
6. 1. 3	<i>Biosyntéza RNA závislá na DNA</i>	<i>43</i>
6. 1. 4	<i>RNA polymerázy</i>	<i>44</i>
6. 1. 4. 1	<i>Prokaryotická RNA polymeráza</i>	<i>44</i>
6. 1. 4. 2	<i>Eukaryotické RNA polymerázy</i>	<i>45</i>
6. 2	Mechanizmus transkripcie	45
6. 2. 1	<i>Iniciácia transkripcie</i>	<i>45</i>
6. 2. 2	<i>Elongácia transkripcie</i>	<i>47</i>
6. 2. 3	<i>Terminácia transkripcie</i>	<i>47</i>
6. 3	Tvorba funkčných RNA z príslušných prekurzorov	48
6. 3. 1	<i>Posttranskripčné úpravy rRNA</i>	<i>49</i>
6. 3. 2	<i>Posttranskripčné úpravy tRNA</i>	<i>49</i>
6. 3. 3	<i>Posttranskripčné úpravy hnRNA</i>	<i>49</i>
6. 4	Reverzná transkripcia	52
6.4.1	<i>RNA závislá DNA polymeráza.....</i>	<i>53</i>
7	GENETICKÝ KÓD A JEHO VLASTNOSTI	54
8	BIOSYNTÉZA BIELKOVÍN (PROTEOSYNTÉZA)	56
8. 1	Ribozómy	58
8. 2	Aktivácia aminokyselín	59
8. 3	Biosyntéza polypeptidového reťazca v procese translačných reakcií v prokaryotických bunkách	60

8. 3. 1	<i>Iniciácia</i>	60
8. 3. 2	<i>Elongácia peptidového reťazca</i>	62
8. 3. 3	<i>Terminácia translácie</i>	65
8. 4	<i>Inhibítory translácie</i>	66
8. 5	<i>Posttranslačné úpravy bielkovín</i>	67
9	ZÁKLADNÉ PRINCÍPY REGULÁCIE BIOCHEMICKÝCH PROCESOV	69
9. 1	<i>Metabolická regulácia</i>	69
9. 1. 1	<i>Regulácia aktivity enzýmov</i>	69
9. 1. 2	<i>Regulácia syntézy enzýmov</i>	72
9. 1. 2. 1	<i>Regulácia proteosyntézy na úrovni transkripcie</i>	72
9. 1. 2. 2	<i>Regulácia na úrovni translácie</i>	75
9. 1. 3	<i>Spôsoby regulácie multienzymových systémov</i>	76
9. 2	<i>Medzibunková regulácia</i>	79
9. 2. 1	<i>Humorálny systém</i>	79
9. 2. 1. 1	<i>Mechanizmus regulácie hormónmi</i>	80
10	MUTAGÉNY A MUTAGENÉZA	82
10. 1	<i>Klasifikácia mutácií</i>	82
10. 1. 1	<i>Bodové mutácie</i>	83
10. 1. 2	<i>Chromozómové mutácie</i>	84
10. 1. 3	<i>Genómové mutácie</i>	85
10. 2	<i>Frekvencia mutácií</i>	87
10. 3	<i>Indukcia mutácií – účinok mutagénov</i>	87
10. 3. 1	<i>Fyzikálne mutagénne činitele</i>	87
10. 3. 2	<i>Chemické mutagénne činitele</i>	89
10. 3. 2. 1	<i>Substitúcia analógmi báz</i>	90
10. 3. 2. 2	<i>Chemické zmeny DNA a jej nukleotidov</i>	91
10. 3. 2. 3	<i>Väzba chemických látok na DNA</i>	92
10. 3. 2. 4	<i>Depolymerizácia DNA</i>	93
10. 3. 3	<i>Biologické mutagény</i>	94
10. 3. 4	<i>Antimutagény</i>	94
10. 3. 5	<i>Metódy testovania mutagenézy</i>	95
10. 4	<i>Oprava genetického poškodenia – reparačné mechanizmy</i>	96
10. 4. 1	<i>Fotoreaktivácia katalyzovaná enzýmami</i>	96
10. 4. 2	<i>Mechanizmus reparácie poškodenej DNA excíziou</i>	96
10. 4. 3	<i>Postreplikačný reparačný proces</i>	97
11	METÓDY MOLEKULÁRNEJ BIOLÓGIE	98
11. 1	<i>Metódy analýz nukleových kyselín</i>	98
11. 1. 1	<i>Frakcionácia nukleových kyselín</i>	98

11. 1. 2	<i>Sekvenovanie nukleových kyselín</i>	99
11. 1. 2. 1	<i>Terminálna metóda podľa Sanger-Coulsona</i>	101
11. 1. 2. 2	<i>Chemická metóda podľa Maxama a Gilberta</i>	101
11. 1. 2. 3	<i>Sekvenácia RNA</i>	102
11. 2	Enzýmy používané pri metódach molekulárnej biológie	102
11. 2. 1	<i>Restrikčné endonukleázy</i>	103
11. 2. 2	<i>Ďalšie enzýmy používané v molekulárnej biológii</i>	105
11. 3	Analýza nukleových kyselín v zmesiach	108
11. 3. 1	<i>Southern blotting</i>	108
11. 3. 2	<i>Northern blotting</i>	109
11. 3. 3	<i>In situ hybridizácia</i>	110
11. 4	<i>Polymerázová reťazová reakcia (PCR)</i>	110
11. 5	<i>Biolistická metóda</i>	112
12	KLONOVANIE DNA	114
12. 1	Klonovacie vektory	115
12. 1. 1	<i>Plazmidové vektory</i>	115
12. 1. 1. 1	<i>Prenos plazmidových vektorov do bakteriálnych buniek</i>	116
12. 1. 1. 2	<i>Selekcia rekombinovaných molekúl</i>	117
12. 1. 2	<i>Vektory odvodené od vírusov</i>	117
12. 1. 2. 1	<i>Bakteriofág λ</i>	118
12. 1. 2. 2	<i>Bakteriofág M13</i>	119
12. 1. 2. 3	<i>Kozmidy</i>	119
12. 1. 2. 4	<i>Vírus SV40</i>	119
12. 1. 2. 5	<i>Rastlinné vírusy</i>	120
12. 1. 3	<i>Detekcia-selekcia fagových klónov</i>	121
12. 1. 4	<i>Iné vektory</i>	121
13	REKOMBINAČNÉ PROCESY BAKTÉRIÍ	122
13. 1	Transformácia baktérií	122
13. 2	Konjugácia baktérií	123
13. 3	Transdukcia baktérií	125
14	METÓDY SELEKCIE REKOMBINOVANEJ DNA	127
14. 1	Genetická metóda	127
14. 2	Imunochemická metóda	128
14. 3	Fyzikálnochemická metóda	128
15	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATÚRY	130
16	OBSAH	131

Autori	prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc. Ing. Milan Chňápek, PhD. Mgr. Želmíra Balážová, PhD. Ing. Jana Moravčíková, PhD. Ing. Martin Vivodík, PhD.
Názov	MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA
Určené	Pre študentov SPU
Vydavateľ	Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Vydanie	Prvé
Vytlačené	Október 2016
Náklad	100 kusov
Počet strán	134
AH-VH	11,55–11,76
Tlač	Vydavateľstvo SPU v Nitre
ISBN 978-80-552-1550-1	Cena 4,20 €

Rukopis neprešiel redakčnou úpravou vo vydavateľstve.
Za odbornú náplň vydania zodpovedajú autori.

