

Zdenka Gálová, Katarína Ražná, Želmíra Balážová,
Milan Chňapek, Martin Vivodík

MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA

Nitra 2023

Názov: Molekulárna biológia

Autori:

prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc. (AH 3,18)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Ústav biotechnológie

prof. Ing. Katarína Ražná, PhD. (AH 2,52)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Ústav rastlinných a environmentálnych vied

doc. Mgr. Želmíra Balážová, PhD. (AH 2,50)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Ústav biotechnológie

Ing. Milan Chňapek, PhD. (AH 3,90)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Ústav biotechnológie

doc. Ing. Martin Vivodík, PhD. (AH 2,00)
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta biotechnológie a potravinárstva
Ústav biotechnológie

Recenzenti:

prof. PaedDr. Ing. Jana Žiarovská, PhD.
Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre
Fakulta agrobiológie a potravinových zdrojov
Ústav rastlinných a environmentálnych vied

doc. Ing. Jana Moravčíková, PhD.
Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave
Fakulta prírodných vied
Ústav biológie a biotechnológie, Oddelenie biotechnológií

Ing. Eva Boszorádová, PhD.
Centrum biológie rastlín a biodiverzity SAV, v. v. i., Nitra
Ústav genetiky a biotechnológií rastlín

Vydanie učebnice bolo podporené projektom KEGA 026SPU-4/2021.

Schválila rektorka Slovenskej poľnohospodárskej univerzity v Nitre dňa 2. novembra 2023 ako vysokoškolskú učebnicu pre študentov SPU v Nitre.

ISBN 978-80-552-2664-4

OBSAH

Úvod.....	7
1. kapitola	
Predmet molekulárnej biológie	9
1.1 Objekty skúmania molekulárnej biológie	10
1.2 Formy existencie živej hmoty	10
1.2.1 Nebunkové častice	11
1.2.2 Bunkové organizmy	13
1.2.2.1 Prokaryotické organizmy	13
1.2.2.2 Eukaryotické organizmy	15
2. kapitola	
Nukleové kyseliny	17
2.1 Chemické zloženie nukleových kyselín	18
2.2 Deoxyribonukleová kyselina	19
2.2.1 Štruktúra DNA	21
2.3 Ribonukleové kyseliny	23
2.3.1 Mediátorová RNA	24
2.3.2 Transferová RNA	25
2.3.3 Ribozómové RNA	26
2.3.4 Ďalšie typy RNA	27
3. kapitola	
Molekulárna štruktúra chromozómov	29
3.1 Biologická funkcia a štruktúra chromozómov	30
3.2 Nukleotidové sekvencie DNA	32
4. kapitola	
Mimojadrová dedičnosť	37
4.1 Genóm mitochondrií	38
4.2 Genóm chloroplastov	38
4.3 Genóm plazmidov	39
4.4 Mierne fágy	40
5. kapitola	
Replikácia DNA	43
5.1 Enzýmy zúčastňujúce sa replikácie DNA	44
5.1.1 DNA polymerázy prokaryotických buniek	44
5.1.2 DNA polymerázy eukaryotických buniek	46

5.1.3	DNA ligázy.....	47
5.2	Mechanizmus replikácie DNA	47
5.2.1	Replikácia lineárnej dvojvláknovej DNA prokaryotov	47
5.2.2	Replikácia dvojzávitnicovej kruhovej DNA	49
5.2.2.1	Dvojsmerná replikácia	49
5.2.2.2	Replikácia mechanizmom otáčajúcej sa kružnice	50
5.2.3	Replikácia jednovláknovej kruhovej DNA	51
5.2.4	Replikácia DNA v bunkách eukaryotov.....	52
6. kapitola		
Transkripcia – biosyntéza molekúl RNA		55
6.1	Spôsoby biosyntézy molekúl RNA	57
6.1.1	Syntéza molekúl RNA závislá od matrice RNA	57
6.1.2	Syntéza molekúl RNA katalyzovaná enzýmom polynukleotiddifosforyláza	57
6.1.3	Syntéza molekúl RNA závislá od matrice DNA	58
6.2	Charakteristika RNA polymeráz.....	58
6.2.1	Prokaryotická RNA polymeráza	58
6.2.2	Eukaryotické RNA polymerázy.....	59
6.3	Mechanizmus transkripcie	59
6.3.1	Iniciácia transkripcie	59
6.3.2	Elongácia transkripcie	62
6.3.3	Terminácia transkripcie	62
6.4	Tvorba funkčných molekúl RNA z príslušných prekursorov	63
6.4.1	Posttranskripčné úpravy rRNA.....	64
6.4.2	Posttranskripčné úpravy tRNA	64
6.4.3	Posttranskripčné úpravy mRNA.....	65
6.5	Reverzná transkripcia.....	68
7. kapitola		
Genetický kód a jeho vlastnosti		69
8. kapitola		
Biosyntéza bielkovín		73
8.1	Charakteristika ribozómov	76
8.2	Štádiá proteosyntézy	77
8.2.1	Aktivácia aminokyselín.....	77
8.2.2	Biosyntéza polypeptidového reťazca v prokaryotickej bunke	79
8.2.2.1	Iniciácia tvorby polypeptidového reťazca.....	79
8.2.2.2	Elongácia polypeptidového reťazca.....	81
8.2.2.3	Terminácia translácie	84
8.3	Inhibitory translácie.....	86
8.4	Posttranslačné úpravy polypeptidového reťazca	86
9. kapitola		
Základné princípy regulácie biochemických procesov		89
9.1	Metabolická regulácia.....	90
9.2	Regulácia exprese génov na úrovni DNA	93
9.2.1	Regulácia proteosyntézy na úrovni transkripcie.....	94
9.2.2	Regulácia na úrovni translácie	98

9.3	Spôsoby regulácie multienzymových systémov	98
9.4	Medzibunková regulácia	101
9.4.1	Humorálny systém	102
10. kapitola		
Mutácie a mutagenéza		105
10.1	Klasifikácia mutácií	106
10.1.1	Bodové mutácie	108
10.1.2	Chromozómové mutácie	109
10.1.3	Genómové mutácie	110
10.2	Frekvencia mutácií	112
10.3	Indukcia mutácií – účinok mutagénov	112
10.3.1	Fyzikálne mutagénne činitele	113
10.3.2	Chemické mutagénne činitele	115
10.3.2.1	Substitúcia analógmi dusíkatých báz	116
10.3.2.2	Chemická zmena DNA a jej nukleotidov	117
10.3.2.3	Väzba chemických látok na DNA	118
10.3.2.4	Depolymerizácia DNA	119
10.3.3	Biologické mutagény	120
10.4	Antimutagény	121
10.5	Metódy testovania mutagenity	121
10.6	Oprava genetického poškodenia	122
10.6.1	Fotoreaktivácia enzýmom fotolýzou	123
10.6.2	Reparácie poškodenej DNA excíziou	123
10.6.3	Postreplicačný reparačný proces	123
11. kapitola		
Genomika a techniky mapovania genómu		125
11.1	Genomika	126
11.2	Techniky mapovania genómu	141
12. kapitola		
Metódy analýzy nukleových kyselín		155
12.1	Izolácia nukleových kyselín	156
12.2	Frakcionácia nukleových kyselín	156
12.3	Analýza nukleových kyselín v zmesiach	157
12.3.1	Southern blotting	157
12.3.2	Northern blotting	158
12.3.3	<i>In situ</i> hybridizácia	159
12.3.4	Polymerázová reťazová reakcia	159
13. kapitola		
Úvod do molekulového klonovania		161
13.1	Restričné endonukleázy	163
13.2	Klonovacie vektory	166
13.2.1	Plazmidové vektory	167
13.2.1.1	Prenos plazmidových vektorov do bakteriálnych buniek	168
13.2.1.2	Selekcia rekombinantných molekúl	169
13.2.2	Vektory odvodené od vírusov	170

OBSAH

13.2.2.1 Bakteriofág lambda	170
13.2.2.2 Bakteriofág <i>M13</i>	171
13.2.2.3 Kozmidy.....	171
13.2.2.4 Živočíšne vírusy	172
13.2.2.5 Rastlinné vírusy	172
13.2.2.6 Detekcia fágových klonov.....	173
13.2.3 Vektory na špeciálne účely.....	173
14. kapitola	
Rekombinačné procesy baktérií	175
14.1 Transformácia baktérií	176
14.2 Konjugácia baktérií.....	177
14.3 Transdukcia baktérií.....	178
15. kapitola	
Metódy selekcie rekombinovanej DNA	181
15.1 Metóda založená na strate rezistencie voči antibiotikám	182
15.2 Metóda založená na expresii preneseného génu	183
15.3 Metódy založené na hybridizácii biomolekúl.....	184
Terminologický slovník	187
Zoznam použitej literatúry	203
Internetové zdroje.....	207

ÚVOD

Molekulárna biológia sa vyprofilovala ako nová vedná disciplína v druhej polovici 20. storočia, aj napriek tomu, že už v roku 1944 bolo dokázané, že nositeľom genetickej informácie je deoxyribonukleová kyselina (DNA). Za prevratný sa však považuje rok 1953, kedy bola objavená jej sekundárna štruktúra vedcami Watsonom a Crickom, za ktorú dostali v roku 1962 Nobelovu cenu.

Molekulárna biológia študuje živé systémy, ako sú vírusy, mikroorganizmy, rastliny, živočíchy a ich samotné bunky na molekulárnej úrovni. Má interdisciplinárny charakter, nakoľko sa prekrýva s inými oblasťami biológie a chémie, najmä s genetikou a biochémiou. Na rozdiel od molekulárnej biológie, biochémie sa zaoberá štúdiom chemických procesov v živých sústavách a genetika sleduje dedičnosť a premenlivosť živých organizmov.

Predmetom štúdia molekulárnej biológie sú biologické makromolekuly – hlavne DNA, RNA a bielkoviny, pričom pozornosť sa venuje pochopeniu vzájomných vzťahov medzi nimi a ich funkciou v rôznych bunkových systémoch. Uvedené zahŕňa predovšetkým procesy prenosu genetickej informácie medzi bunkami (replikácia DNA), ako aj v rámci bunky (expresia génov, biosyntéza bielkovín) a štúdium zákonitostí regulačných mechanizmov, ktoré tieto procesy ovplyvňujú. Koncom 20. storočia prešla molekulárna biológia zásadným prehĺbením svojho výskumu. V roku 1970 boli objavené plazmidy a restriktčné endonukleázy v baktériách, ďalej enzým reverzná transkriptáza v RNA vírusoch, čo viedlo k realizácii cieľených zmien v genóme organizmov aplikáciou metód a techník génových manipulácií. Uvedené dáva obrovské možnosti človeku zasahovať do genetickej informácie živého organizmu, a tak cieľavedome pripravovať zdravé a bezpečné potraviny, liečivá, diagnostické kity v medicíne, či sa zaoberať ochranou genofondu živých systémov, ako aj životného prostredia.

Cieľom vydania učebnice je poskytnúť študentom aktuálny súbor poznatkov z celej šírky oblastí molekulárnej biológie. Text sa skladá z pätnástich kapitol a terminologického slovníka, ktorý vhodne dopĺňa a objasňuje najdôležitejšie pojmy používané v tejto oblasti. V prvej kapitole sa charakterizujú jednotlivé formy existencie živej hmoty. Druhá a tretia kapitola sa venujú jednotlivým typom nukleových kyselín z hľadiska chemického zloženia, štruktúry a funkcie. V štvrtej kapitole sa charakterizuje mimojadrová a mimochromozomálna dedičnosť. Piata až ôsma kapitola popisuje prenos genetickej informácie medzi jednotlivými bunkami, ako aj v rámci bunky. V deviatej kapitole sú uvedené základné princípy regulácie expresie génov a biochemických procesov v bunke. Následne, v desiatej kapitole sú charakterizované mutácie, mutagénne činitele a možnosti opravy genetického poškodenia. V ďalších dvoch kapitolách sa

ÚVOD

popisuje odbor genomika a metódy analýz využívaných v molekulárnej biológii. Posledné tri kapitoly sa zaoberajú základnými princípmi molekulového klonovania.

V obsahovom zameraní predmetu sa kladie dôraz nielen na hlboké teoretické vedomosti, ale aj na praktické skúsenosti s metódami molekulárnej biológie v laboratórnych podmienkach. Študentom sa vytvára priestor v rámci výučby pre praktickú realizáciu experimentov z problematiky techník molekulárnej biológie, čím nadobúdajú praktické zručnosti a kompetencie.

Predkladaná učebnica je určená študentom a doktorandom Fakulty biotechnológie a potravinárstva, Fakulty agrobiológie a potravinových zdrojov, Fakulty záhradníctva a krajinného inžinierstva SPU v Nitre a študentom iných vysokých škôl biologického zamerania v SR, ktorí majú vo svojich študijných programoch predmet molekulárna biológia, molekulárna genetika, genetické inžinierstvo, biotechnológie, biochemické technológie a ďalšie.

Autori

Zdenka Gálová, Katarína Ražná, Želmíra Balážová,
Milan Chňapek, Martin Vivodík

MOLEKULÁRNA BIOLÓGIA

Vydala: Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

Vydanie: prvé

Náklad: 150 ks

Počet strán: 208

Jazyková korektúra: Ľubica Ďudáková, Katarína Drábiková

Grafická úprava a návrh obálky: Tatiana Šmehilová

Tlač: Tlačiareň Nikara – Róbert Jurových – Krupina

AH-VH: 14,10-14,40

ISBN 978-80-552-2664-4