Hodina biochemie pro obecná gymnázia/sš (3.ročník, popř. septima pro osmiletá gymnázia)

**STAVBA A FUNKCE DNA, REPLIKACE**

Postupuji dle TP, který byl vytvořen pro Dr. Šulcovou, tj. na strukturu, syntézu a přepis RNA/DNA mám vymezené 4hodiny. Stavbu nukeových kyselin mají studenti již probranou.

*Výrazy zvýrazněné tučně, prosím poznamenat na tabuli a studentům zdůraznit jejich důležitost.*

ÚVOD HODINY(0.-10.min):

*Opakování (deoxy)nukleových kyselin, nukleotidů a nukleosidů. Nejprve dotaz na to, co je nuleotid/nuleosid/nukleová kyselina/ báze/ rozdíl deoxy- a ribo nukleotidů. Vyjmenovat.*

STRUKTURA DNA A RNA (11.-17.min):

*Vyučující rozdá listy s obrázky.* *Studenti se soustředí na obrázek 1 a 2.*

DNA – dva polynukleotidové řetězce tvořené z deoxyribonukleotidů

RNA – obvykle jednovláknová, tvořená ribonukleotidy

**Primární struktura: pořadí bází v řetězci.** DNA – A, C, G, T; RNA – A, C, G, U

**Sekundární struktura:** Spojení dvou řetězců (DNA) nebo jednoho řetězce (RNA) pomocí vodíkových můstků. **DNA – pravotočivá dvoušroubovice,** **párování bazí A-T** (2 vodíkové můstky) a **C-G** (tři vodíkové můstky). Řetezce jsou komplementární (v jednom A, v druhém T) a antiparalelní (jeden 5´-3´, druhý 3´-5´).

*Dotaz: Víte, kdo poprvé objevil sekudární strukturu DNA? A kdy? A typnuli byste si, od kdy je DNA lidstvu známa?*

Poprvé popsána Watsonem a Crickem v roce 1953 (NC 1962). Poprvé popsána 1869 švýcarským lékařem Fridrichem Miescherem.

RNA – jeden řetězec stočen do kliček a vlásenek, stabilizován párováním bazí (A=U, CΞG).

Terciální srtuktura: Uspořádání sekundární struktury v prostoru, interakce s bílkovinami, nadšroubovicové vinutí. V buňce je dále uspořádána do mikroskopických útvarů zvaných chromosomy.

FUNKCE DNA A RNA (18.-25.min):

*Dotaz:* *Jaká je funkce DNA? (očekávaná odpověď – nositel genetické informace) – Co to znamená, že je DNA nositelem genetické informce?* *Co je to gen?*

**DNA je nositelem genetické informace**. **Gen je úsek DNA se specifickou funkcí**, tj. určitá sekvence nukleotidů s informací o určité bílkovině nebo RNA. Geny dělíme na geny strukturní, geny RNA a geny regulační. Geny se mohou v řetězci DNA překrývat.

*Dotaz: Tipnuli byste si, kolik má lidský genom genů? (20-25 000, záleží na zdroji).*

RNA má v těle hodně funkcí. Významnou úlohu zastává při syntéze bílkovin. Všechny typy RNA vznikají při transkripci *(o jednotlivých typech a tomto procesu si povíme blíže příští hodinu)*.

AKTIVIZAČNÍ HRA – PEXESO (5-10min):

*Rozdám pexeso do čveřice – 16 polí, struktura deoxynuleosidů a ribonukleosidů (8) a jejich názvů (8)*

REPLIKACE (30.-45.min):

Obecně se jedná o **tvorbu kopií nukeových kyselin zajišťujících přenos genetické informace**, a to z DNA do DNA a RNA do RNA. Je lokalizovaná v jádře.

My se budeme věnovat replikaci **dvouřetězcové molekuly DNA**, kdy **z tzv. matrice**, nebo též **templátu**  **vznikají dvě** nové molekuly, neboli **repliky**. Je tzv. **semikonzervativní**, tzn. jedno vlákno pochází z původní molekuly a druhé je nově syntetizováno pomocí komplementarity bází.

3 fáze (podobně jako u tvorby jakéhokoli polymeru):

Iniciace

Elongace (*Dotaz: jak se nazývá toto stádium u polymerů/radikálových reakcí?)*

Terminace

Účasní se mnoho enzymů, z nichž nejvýznamnější: DNA polymeráza (I, II, III), primáza, ligáza, helikáza, topoizomeráza.

Průběh:

*Učitel připomene, že studenti mají před ebou pracovní listy a budou si všímat obrázku 3 a 4.*

**Iniciace:**

**Helikáza** vytvoří tzv. **replikační vidlici**, kde se začne dvouřetězcová DNA rozplétat. Ná jednotlivá vlákna se naváže **ssb protein** (single strang biding protein = vazebný protein pro jednoduchý řetězec), který zamezuje molekule DNA aby zaujala svoji přirozenou sekundární strukturu.

Na určené místo, tzv. **replikačním počátek** (ori) nasedá **DNA primáza**, která nasyntetizuje **krátký ribooligonukleotid s volným 3´OH, tzv. primer**, který je po vytvoření nového řetězce, vystřižen. Takovýchto počátků je v molekule DNA u eukaryot několik set, u prokaryot výrazně méně. Úsek NK, který se syntetizuje z jednoho počátku, se nazývá replikon.

Elongace:

Vázání jednotlivých nukleotidů na 3´ uhlík předchozího deoxyribonukleotidu podle komplementární báze na řetězci matrice **pomocí enzymového komplexu DNA polymerázy III**. Syntéza probíhá **vždy ve směru 5´->3´** *(proč to tak je je ukázáno na obrázku 7 v pracovních listech, v případě zájmu si o tom pohovoříme příští hodinu, až budou mít čas e všichni zamyslet)* (řetězec matrice je ve směru 3´->5´, tzv.vedoucí řetězec), druhý **antiparalelní řetězec je syntetizován po částech, také ve směru 5´->3´**, tzv.**zpožďující se řetězec**. Tyto části se nazývají **Okazakiho fragmenty**, a jsou poté **spojeny DNA ligázou** *(obrázek 5)*. Každý Okazakiho fragment začíná primerem, který je před spojením vystřihnut. Takto nasyntetizovaná DNA je k nerozeznání od vedoucího řetězce. Takovýto způsob replikace se nazývá **semidiskontinuální** a je typickým rysem dvouřetězcové DNA.

Nukleotidy přistupují ve formě trifosfátů s energetick bohatou fosfodiesterovou vazbou . Jejím rozštěpením se uvolňuje energie na připojení tohoto nukleotidu k nově vznikajícímu řetězci *(obrázek 6)*. Během rozevírání replikační vidlice vzniká **napětí které je uvolňováno topoizomerázou**. Ta vždy templátový řetězec přestřihne, uvolní o několik závitů a zase spojí.

Terminace:

1. kruhová DNA (některé bakterie) – setkání replikačních vidlic
2. lineární DNA (eukaryota) – splynutí replikačních vidlic po dosyntetizování replikonu.

OPAKOVÁNÍ (zbyde-li čas):

Primární, sekundární struktura

Párování bází

Pojem replikace

Fáze replikace

Směr růstu řetězce DNA

Enzymy, uplatňující se při replikaci