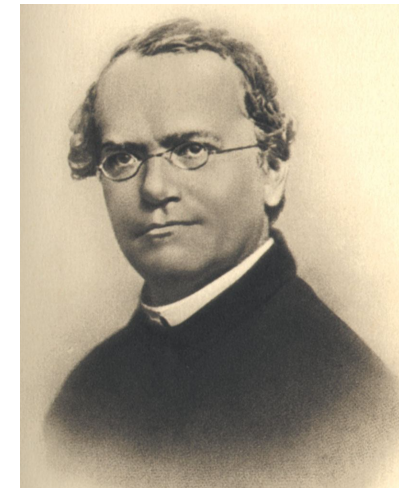
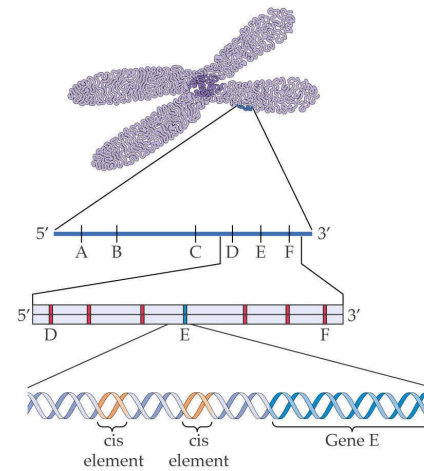
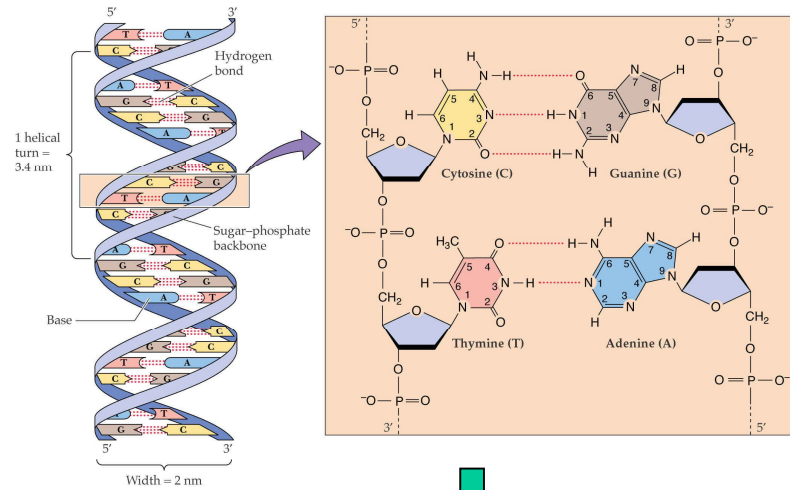


2) Exprese genů a přenos signálu

- a) Velikost a organizace rostlinného genomu**
- b) Exprese genů v rostlinách**
- c) Přenos signálu v rostlinách**

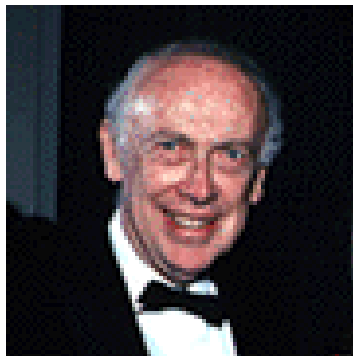
Živá buňka obsahuje instrukce pro vybudování celého organismu = GENY

Lineárně poskládané GENY tvoří chromozóm (J. G. Mendel 1865)

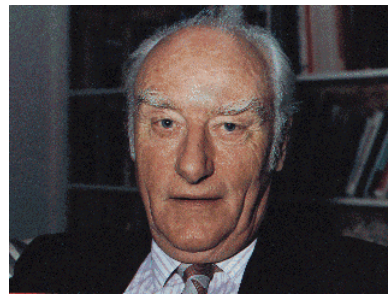


Prof. Gregor Johann Mendel

1953 - struktura DNA (Nobel Price in Medicine 1962)



Prof. James Watson (USA)

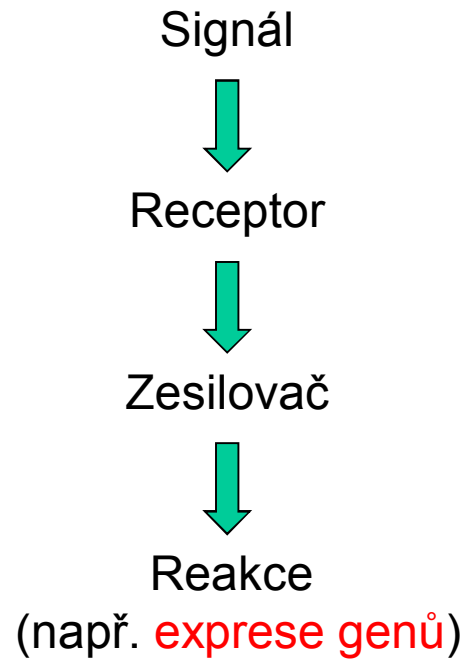
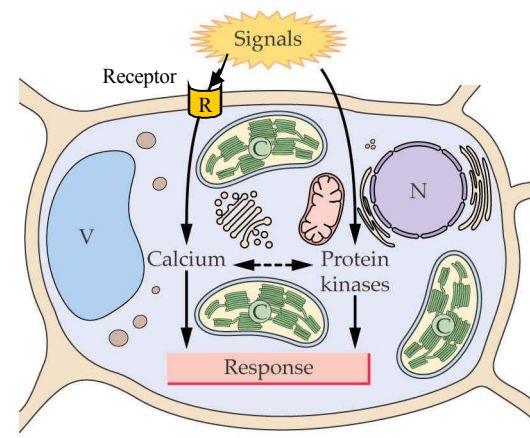
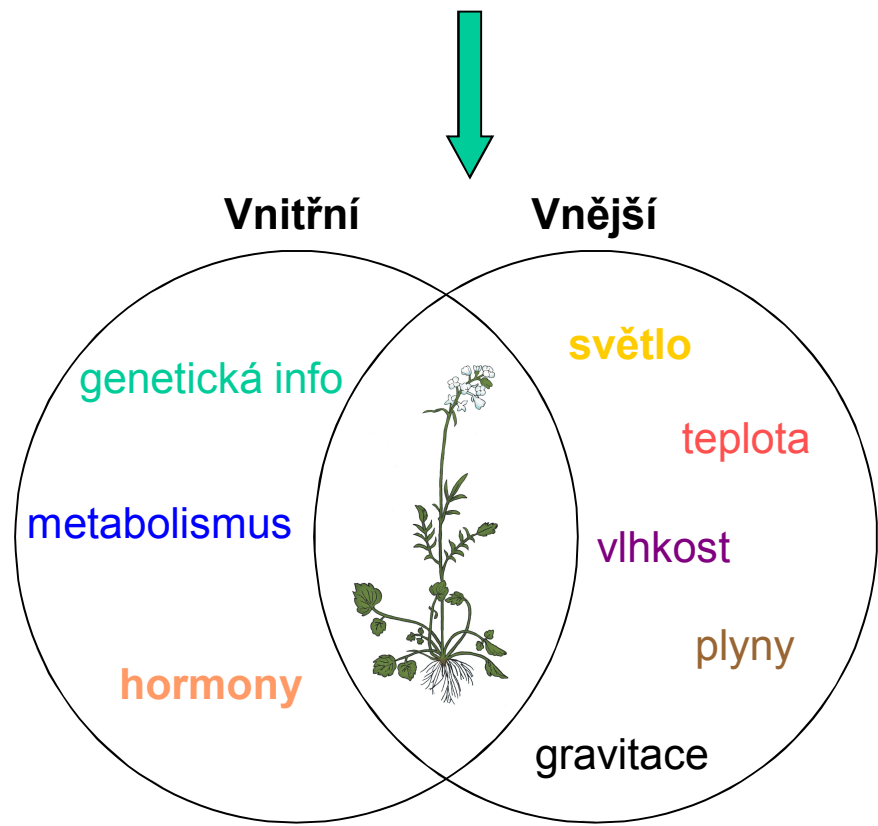


Prof. Francis Crick (UK) († 29.7. 2004)



Vývoj molekulární biologie

Vývoj organismu regulují signály (faktory)



a) Velikost a organizace rostlinného genomu

GEN = sekvence DNA, která kóduje molekuly RNA přímo zapojené ve tvorbě enzymu či strukturálního proteinu buňky (pojem gen poprvé použil v roce 1909 W. L. Johannsen)

Geny na chromozómu tvoří vazebné skupiny = dědí se společně

GENOM = celkové množství DNA (tj. genetické informace) v buňce (tj. jádře + organelách)

Růst, vývoj a reakce organismu k prostředí je naprogramované zapínání a vypínání genů (tj. naprogramovaná exprese)



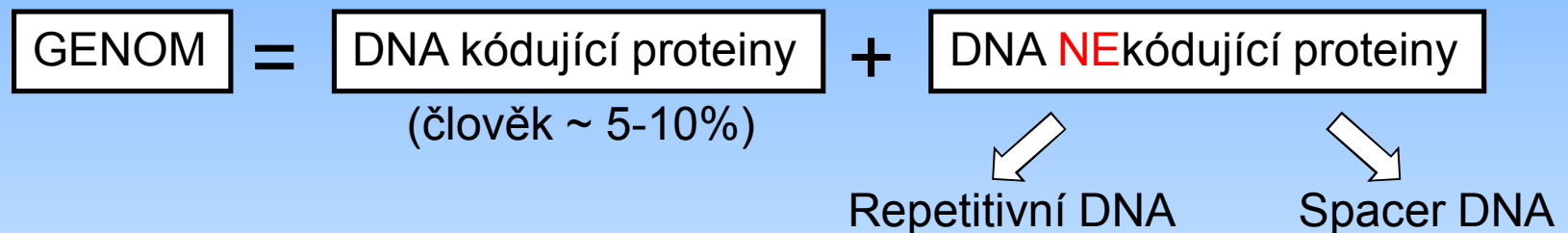
Změna v sestavách enzymů a strukturálních proteinů



Růst, vývoj, reakce organismu

Haploidní sestavy: *E. coli* = $4,7 \times 10^6$ bp
Drosophila = 2×10^8 bp
Člověk = 3×10^9 bp

Velikost eukaryontního genomu neurčuje složitost organismu, protože ne všechna DNA kóduje geny:



Velikost rostlinného genomu je velice proměnlivá:

Arabidopsis = $1,2 \times 10^8$ bp

Trillium = 10^{11} bp

Druhy rodu *Vicia* se liší i 20x velikostí svého genomu



Trillium grandiflorum

Odlišnost velikosti genomů je dána odlišným množstvím repetitivní a spacer DNA

Arabidopsis = nejmenší genom ze všech rostlin, protože jen 10% DNA je repetitivní => *Arabidopsis* - modelová rostlina



1. přednáška
KFZR

Genomické sekvenční projekty => znám genom mnoha organismů

Bakterie = 500 genů – 8 tisíc genů

Kvasinky = 6 tisíc genů

***Drosophila* = 12 tisíc genů**

***Arabidopsis* = 26 tisíc genů (1 gen = ~ 5 kb)**

Většina haploidních genomů rostlin obsahuje průměrně 20 – 30 tisíc genů

Dnešní představa - 12 tisíc genů stačí k formování eukaryontního organismu



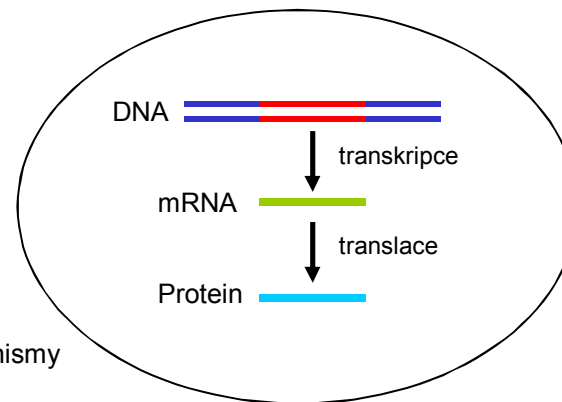
Housekeeping (provozní) geny = konstitutivní (neustálá) exprese genu (geny kódující proteiny, které mají důležitou funkci v mnoha typech buněk)



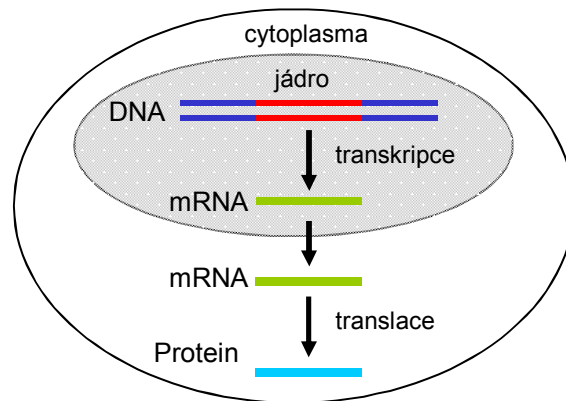
Regulované geny = geny se zapínají a vypínají podle potřeb nebo jako reakce na specifické podněty

b) Exprese genů v rostlinách

Prokaryotní organismy: transkripce a translace jsou časově i prostorově spojeny = syntéza proteinů začíná ještě před koncem syntézy mRNA; transkripce i translace probíhají v cytoplasmě



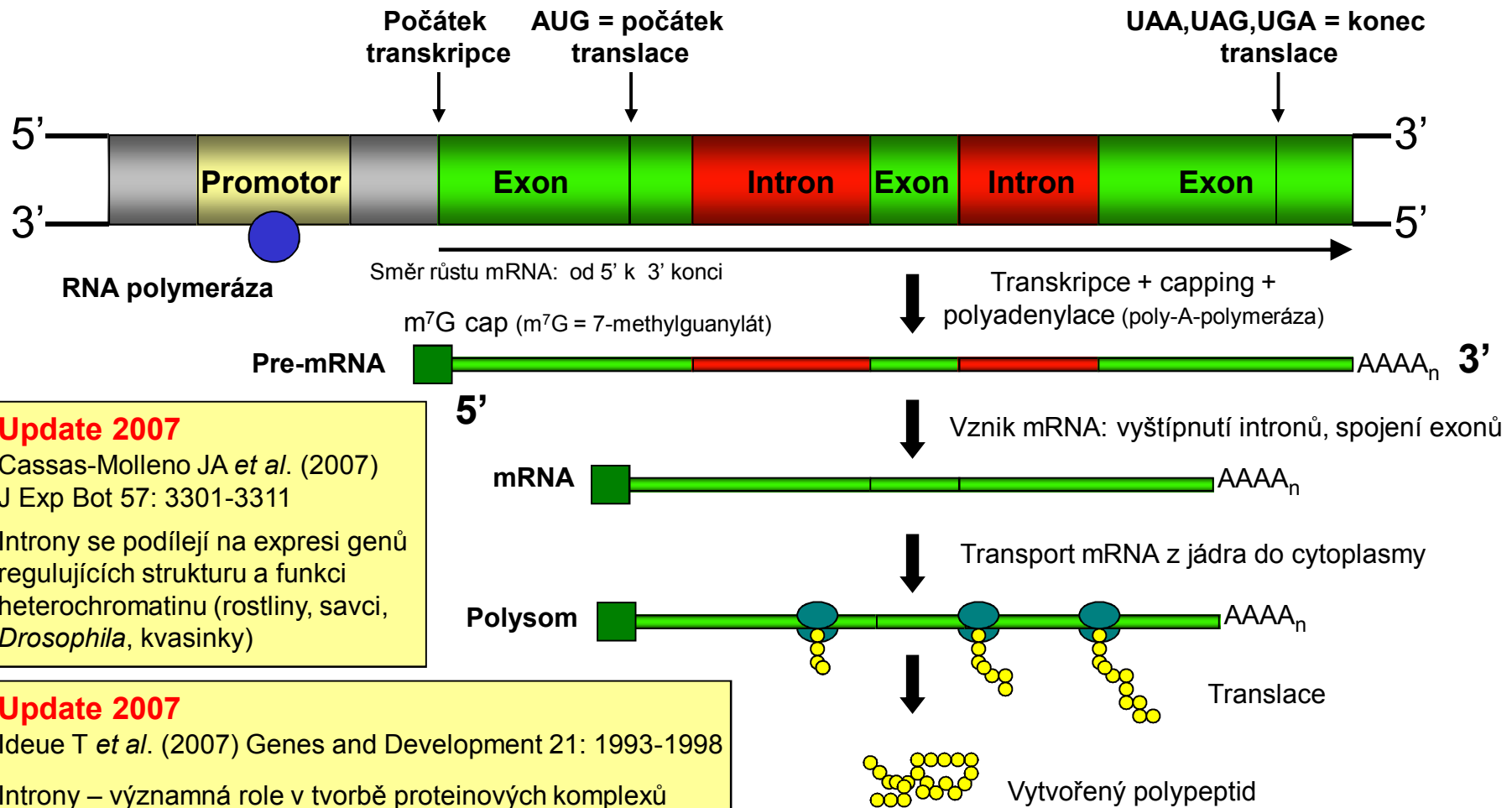
Eukaryotní organismy: transkripce a translace jsou časově i prostorově odděleny = mRNA je transportována do cytoplasmy, kde probíhá syntéza proteinů.



Potřeba dalších kontrolních regulačních mechanismů

Organizace genomu u eukaryontních organismů:

- jeden gen kóduje jeden polypeptid
- jaderný genom neobsahuje operony
- místo operonů jsou exony a nekódující oblasti DNA se nazývají introny



Update 2007

Cassas-Molleno JA *et al.* (2007)
J Exp Bot 57: 3301-3311

Introny se podílejí na expresi genů regulujících strukturu a funkci heterochromatinu (rostliny, savci, *Drosophila*, kvasinky)

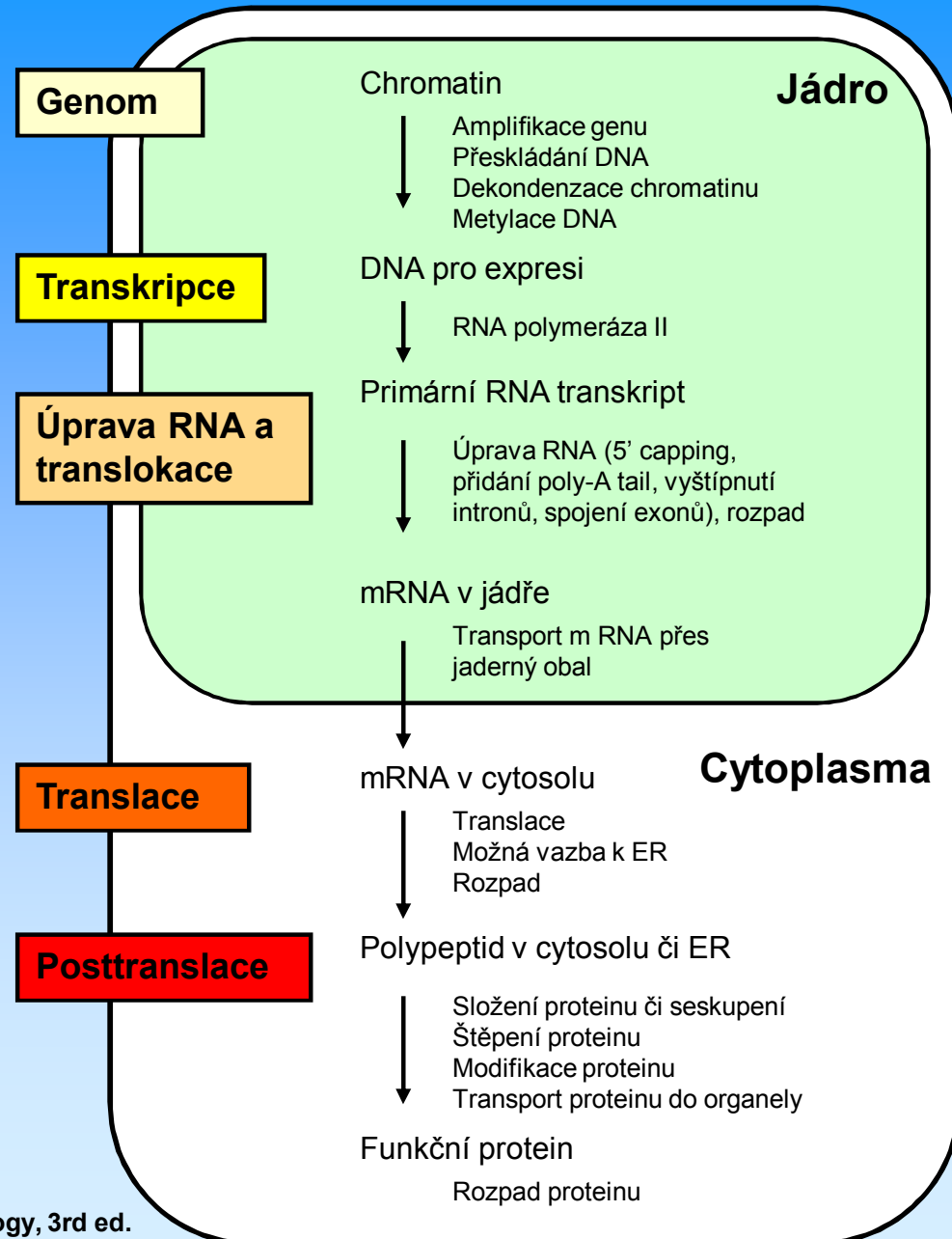
Update 2007

Ideue T *et al.* (2007) Genes and Development 21: 1993-1998

Introny – významná role v tvorbě proteinových komplexů vážících se k exonu před procesem splicing => regulace splicing

Podle
Taiz L and Zeiger E (2002) Plant Physiology, 3rd ed.

Různé úrovně regulace exprese eukaryotického genu



Podle
Taiz L and Zeiger E (2002) Plant Physiology, 3rd ed.

Post-transkripční regulační mechanismy

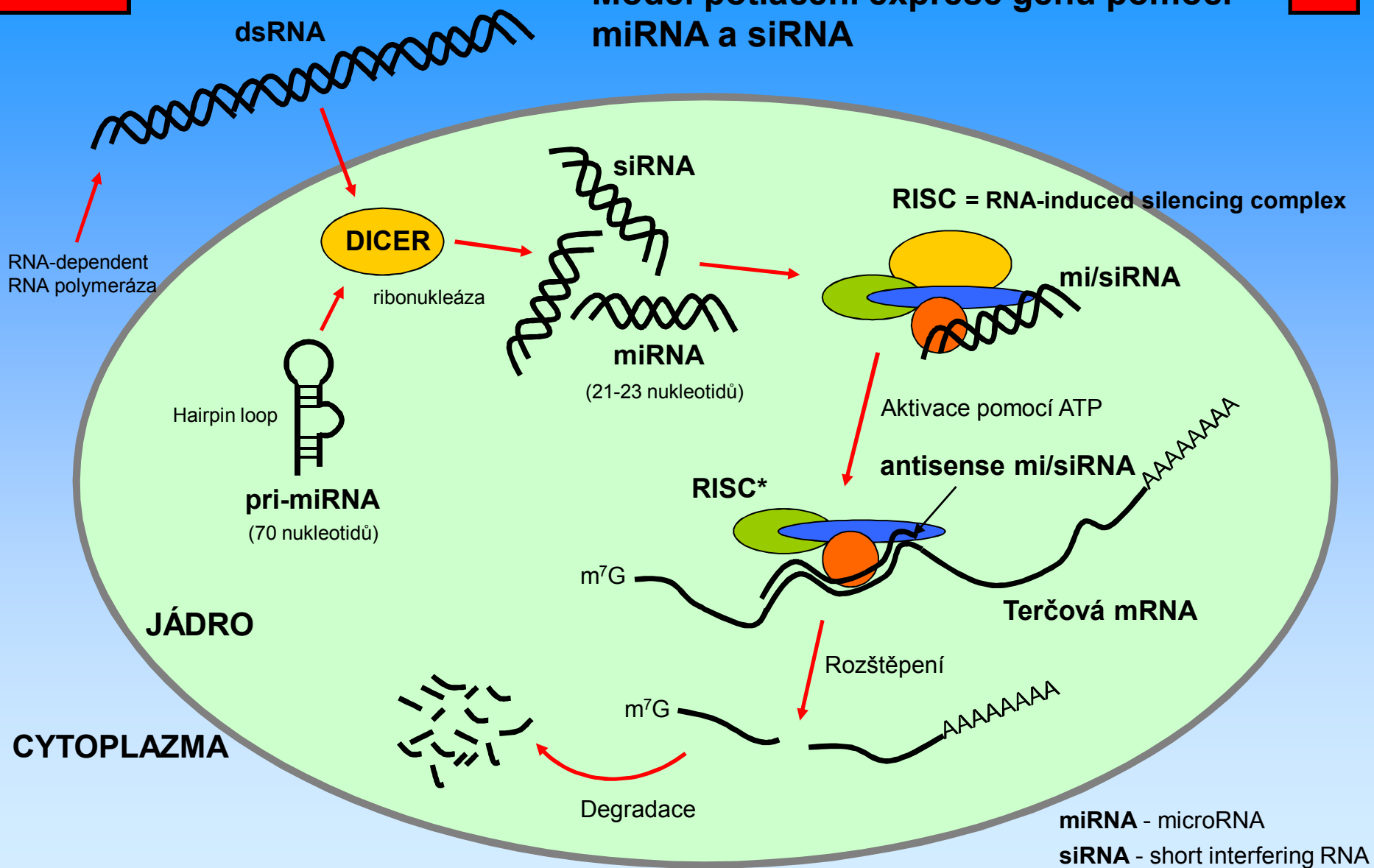
1) Stabilita (turnover rate) mRNA – závisí na pletivu a fyziologických podmínkách rostliny

2) Translatabilita molekuly mRNA = schopnost mRNA být přeložena do molekuly proteinu

Faktory ovlivňující translatabilitu:

- **Sekundární a terciální struktura RNA – přístupnost AUG k ribozómu**
- **Predispozice kodónu (codon bias) – množství vzácných kodónů**
- **Buněčná lokalizace translace – volné polyzomy či polyzomy vázané na ER**

Model potlačení exprese genu pomocí miRNA a siRNA



Podle
 Taiz L and Zeiger E (2006) Plant Physiology, 4th ed.

Regulace genové exprese na úrovni transkripce

Transkripce u eukaryontů je mnohem složitější než u prokaryontů. Tři základní rozdíly v transkripci mezi eu- a prokaryonty:

- 1) **Eukaryonti využívají 3 různé RNA polymerázy: I, II a III**
 - I - lokalizovaná v jadérku, role v syntéze ribozomální RNA
 - **II** - lokalizována v nukleoplazmě, role v syntéze **pre-mRNA**
 - III - lokalizována v nukleoplazmě, role v syntéze tRNA či 5S RNA

- 2) **Eukaryontní RNA polymerázy vyžadují další proteiny- tzv. obecné transkripční faktory** - zajišťují správnou pozici RNA polymerázy ve startovacím místě; transkripční faktory tvoří složité komplexy

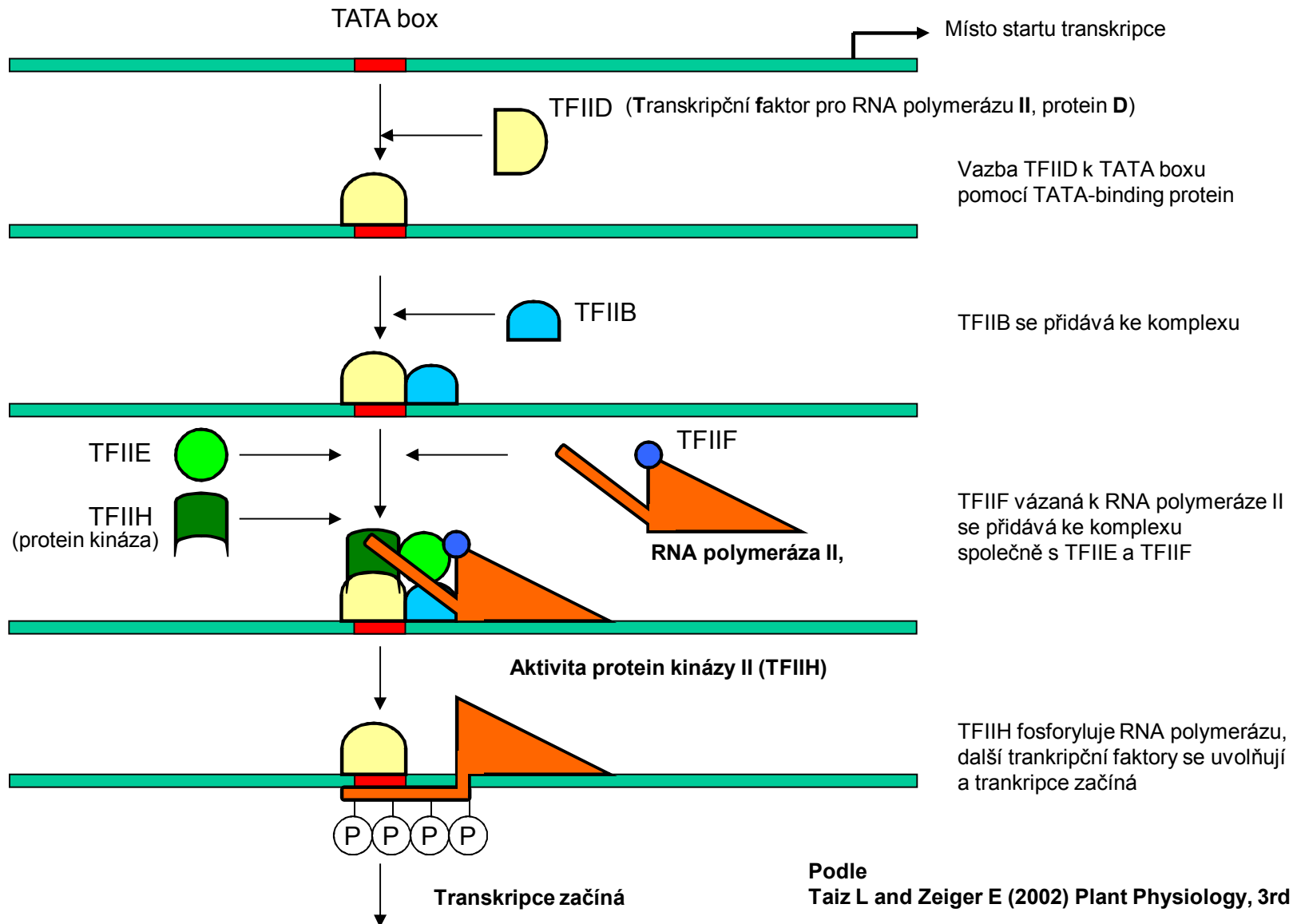
Update 2008

Hobert O et al. (2008) Science 319: 1785-1786

TF a miRNA sdílí obecnou regulační logiku:

- 1) TF i miRNA jsou vymezeny pro individuální typy buněk
- 2) TF i miRNA kontrolují desítky či stovky terčových genů
- 3) Většina genů je regulována kombinací TFs nebo miRNAs

Komplex transkripčních faktorů regulujících transkripci



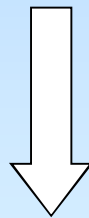
3) Eukaryontní promotory (= sekvence před iniciačním místem) jsou složité

Struktura eukaryontního promotoru:

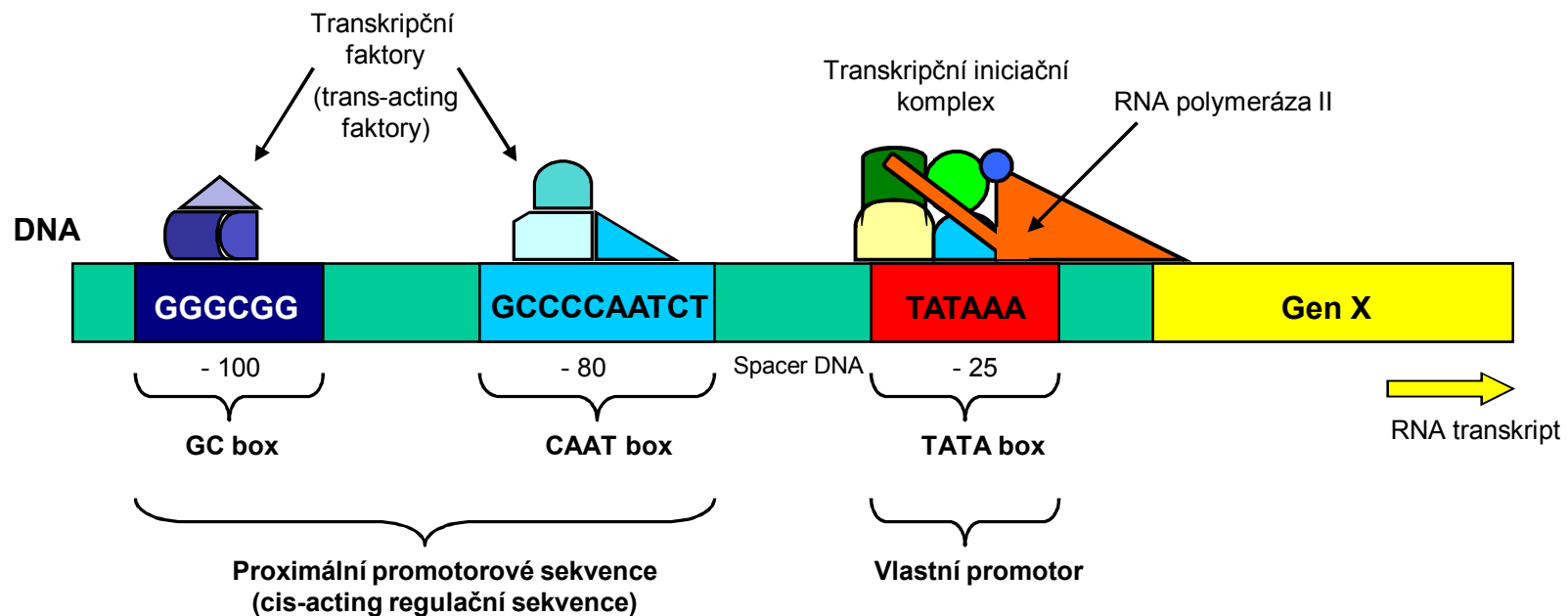
- core (minimální promotor) = minimální sekvence potřebná pro expresi
- regulační sekvence = sekvence kontrolující aktivitu minimálního promotoru

Každá z polymeráz I, II a III vyhledává odlišný typ promotoru.

Typický promotor pro **RNA polymerázu II**

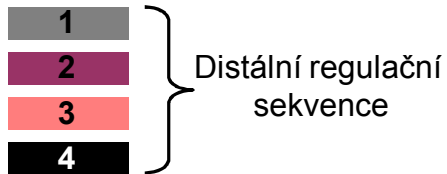
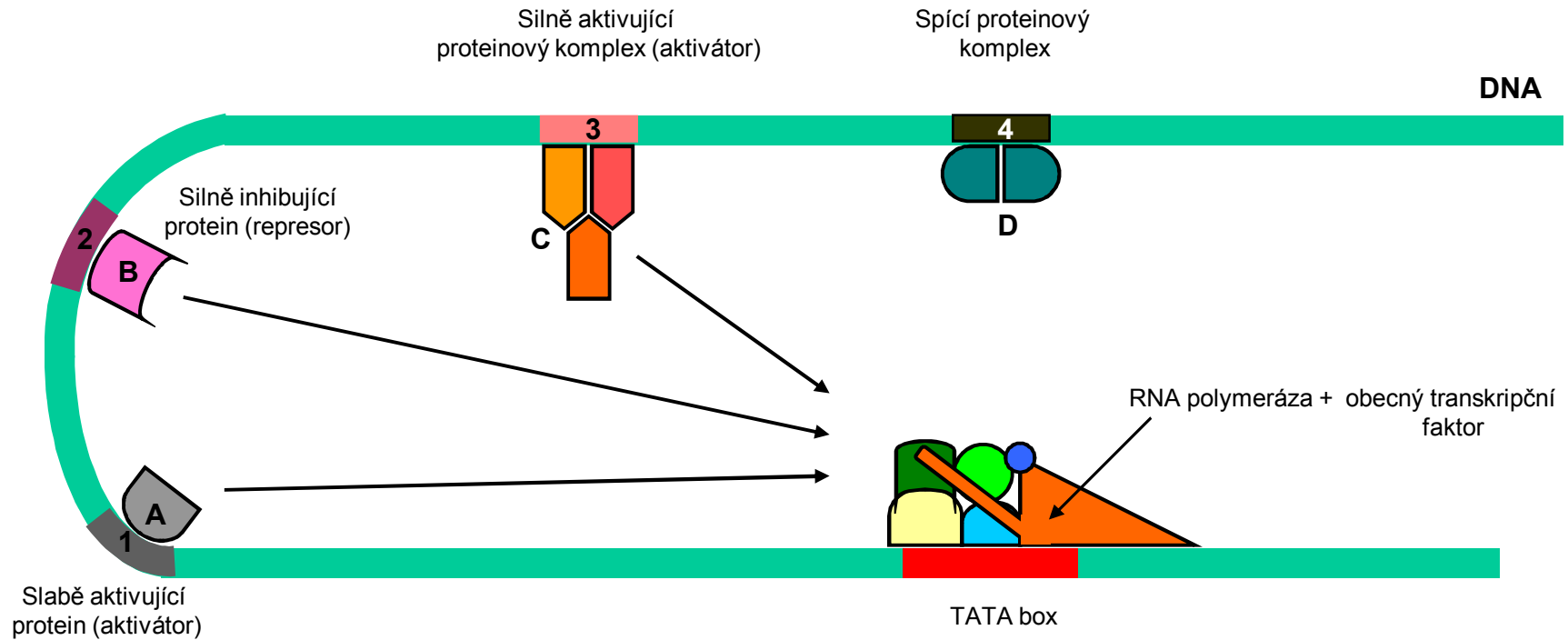


Organizace a regulace typického eukaryotického minimálního promotoru (core promotoru) pro **RNA polymerázu II**



Podle
Taiz L and Zeiger E (2002) Plant Physiology, 3rd ed.

Regulace transkripce distálními regulačními sekvencemi



A – D = Trans-acting faktory

Podle
Taiz L and Zeiger E (2002) Plant Physiology, 3rd ed.

Strukturální motivy transkripčních faktorů

Transkripční faktory se skládají ze 3 strukturálních částí

- **DNA-binding (vázající) doména**
- **Transkripce-aktivující doména**
- **Ligand-binding doména**

Aby se DNA-binding doména transkripčního faktoru mohla vázat k DNA musí intenzívně interagovat s double helix DNA tvorbou vodíkových můstků, iontových a hydrofobních vazeb.



DNA-binding motifs (motivy)

DNA-binding motifs (motivy)

Helix-turn-helix 2 α helixy odděleny smyčkou polypeptidového řetězce; funguje jako dimer; často kódovaný homeotickými geny

Leucine zipper α helix asi 30 aminokyselin, každá sedmá aminokyselina je leucin; funguje jako dimer

Zinc finger Různorodé struktury, kde Zn hraje důležitou roli; k DNA se váže jako monomer či dimer; *COP1*-hraje roli ve fotomorfogenezi

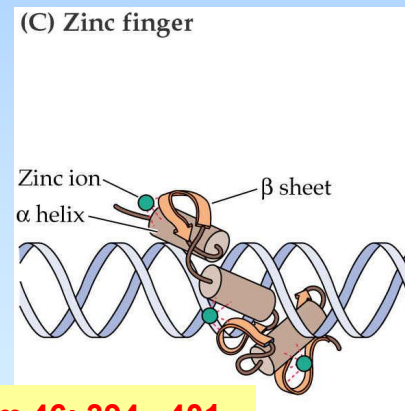
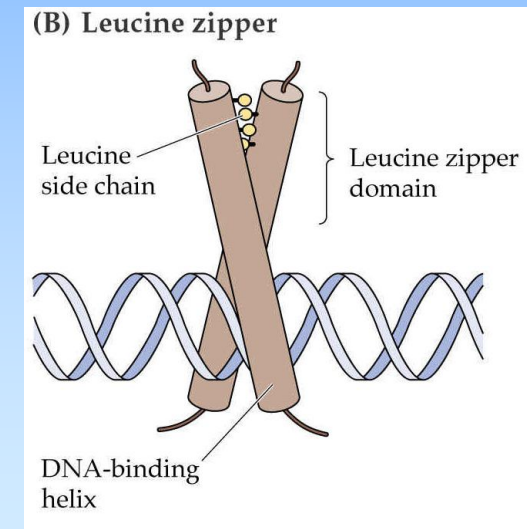
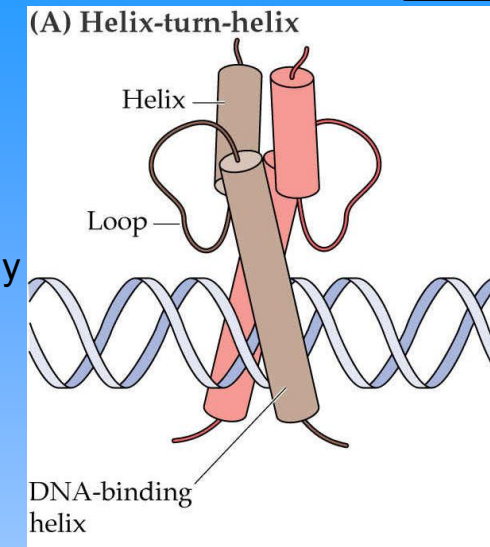
Basic zipper (bZip) (např. vazba k ABA-response elementu)

Helix-loop-helix (např. exprese genů regulovaných fytochromy)

Update 2008

Yamasaki K *et al.* (2008) Plant Physiol Biochem 46: 394 - 401

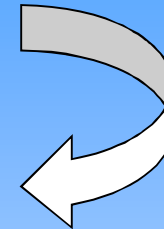
Struktura a evoluční vývoj DNA-binding domén u rostlin. Většina DNA-binding domén specifických pro rostliny má původ v nerostlinných druzích organismů.



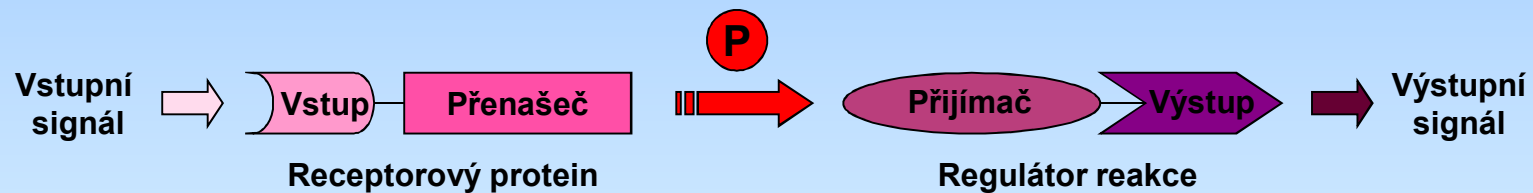
c) Přenos signálu v rostlinách

Signální dráhy koordinují expresi genů s životními podmínkami obklopujícími rostlinu či se změnami v jejich vývoji.

Schopnost rostliny reagovat na vše kolem



Dvoustupňový systém přenosu signálu a regulace exprese:



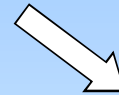
Podle
Taiz L and Zeiger E (2006) Plant Physiology, 4th ed.

Multibuněčné organismy → Nutnost koordinace vývojových reakcí a reakcí k vnějším podnětům



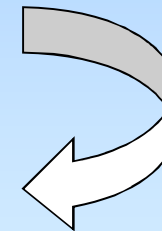
Potřeba nových signálních mechanismů složitějších než dvoustupňový systém

Rostliny se nepohybují



Není nervový systém

Potřeba nových signálních mechanismů = chemičtí poslové – secondary messengers



Pochopení základních mechanismů signálních drah u živočichů



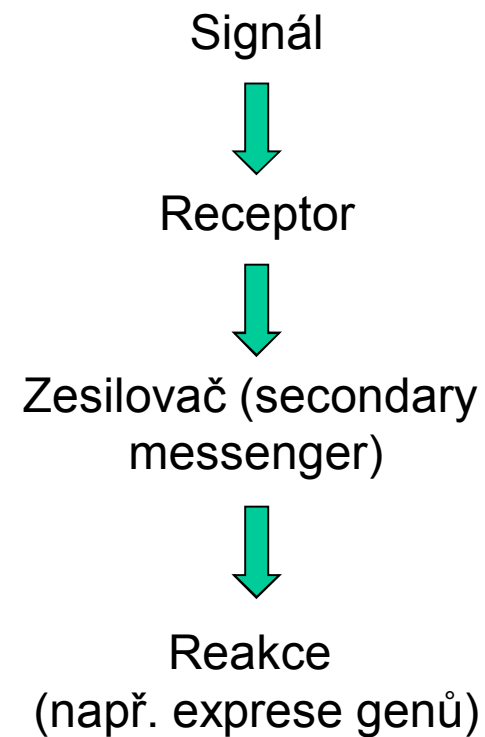
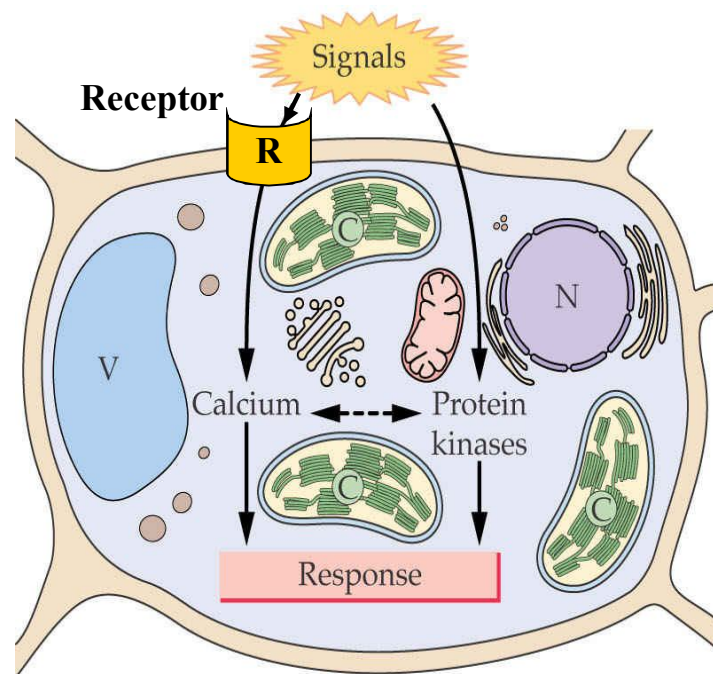
Nalezeny paralely u rostlin (např. brassino**steroidy**)



Pochopeny podobné signální mechanismy u rostlin

Přednášky
Molek. fyziologie

Schéma přenosu signálu u rostlin

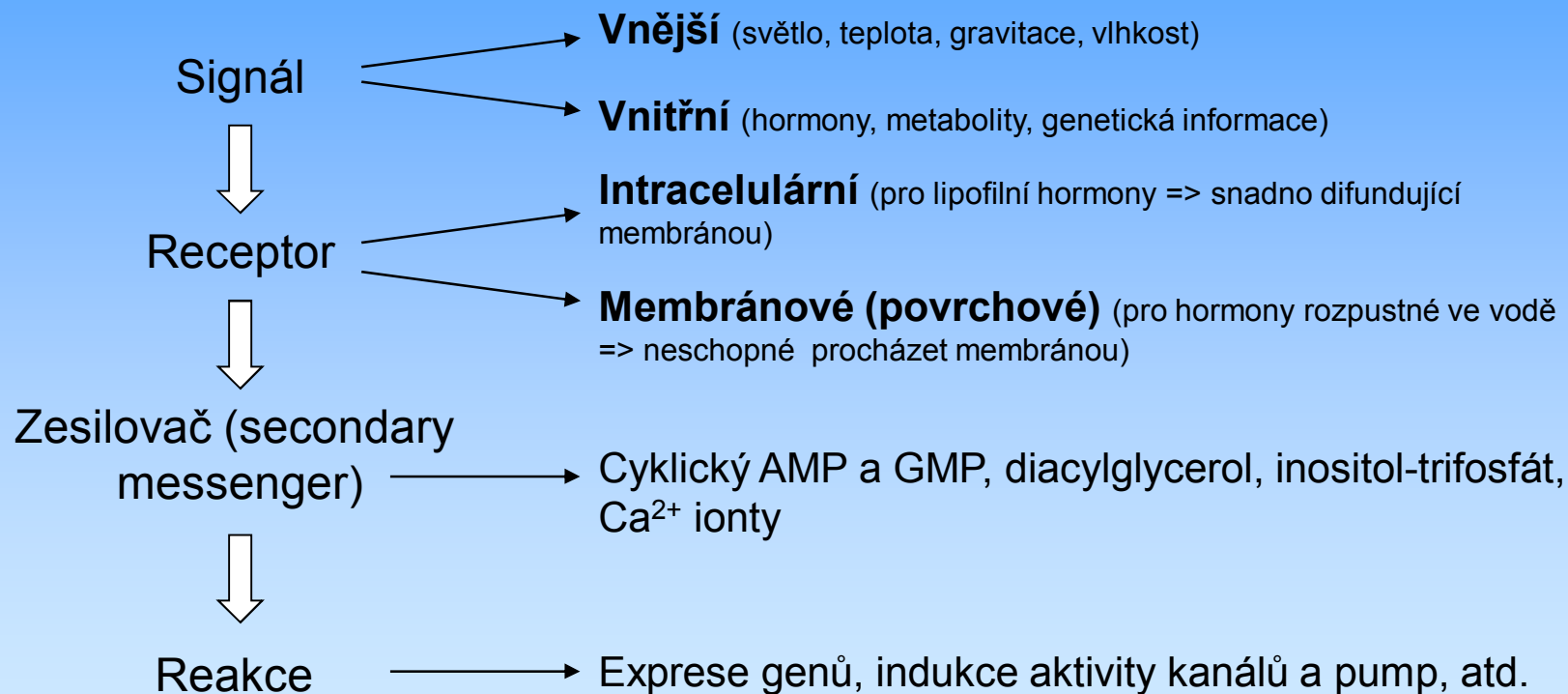


Update 2006

López-Bucio et al. (2006) Current Opinion in Plant Biology 9: 523 - 529

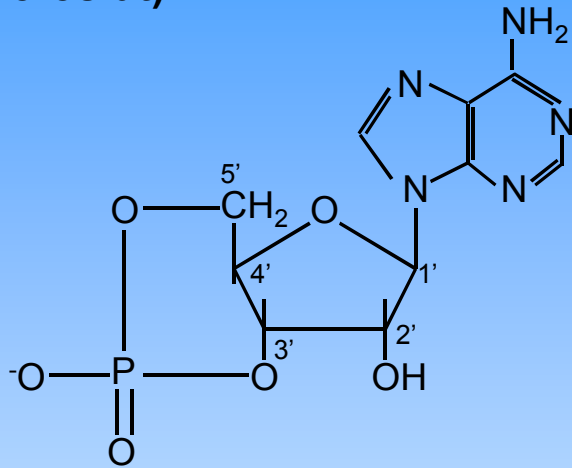
Nové druhy signálních molekul důležitých pro růst a vývoj rostlin

Schéma přenosu signálu u rostlin



Zesilovače (přenašeče, secondary messengers)

Cyklický AMP (cyklický adenosin monofosfát)

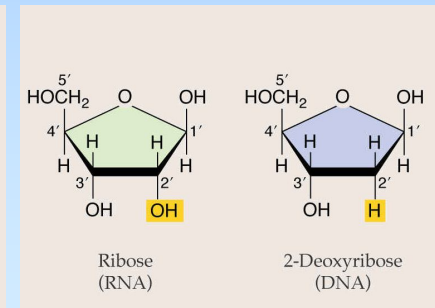
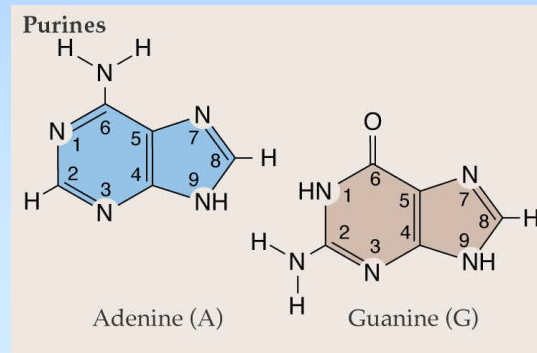
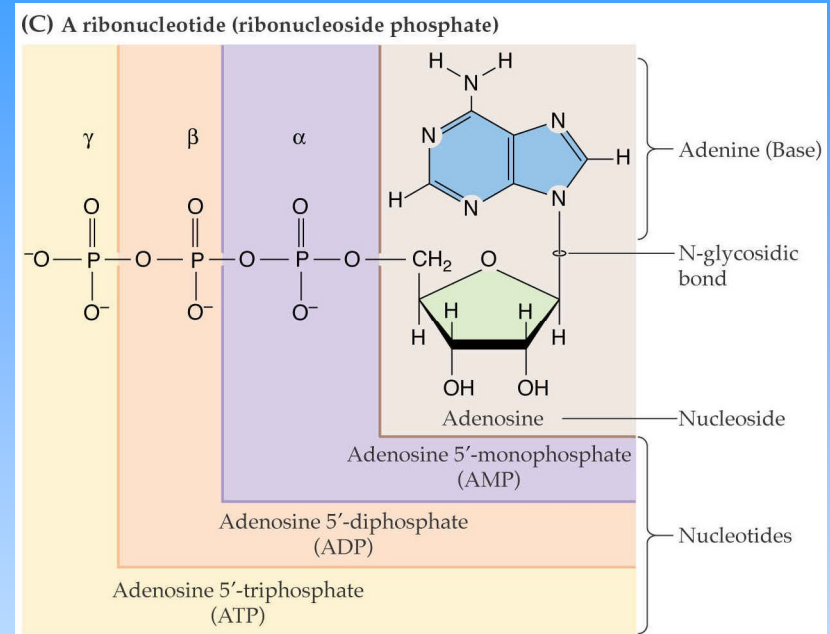


Cyklický GMP (cyklický guanosine monofosfát)

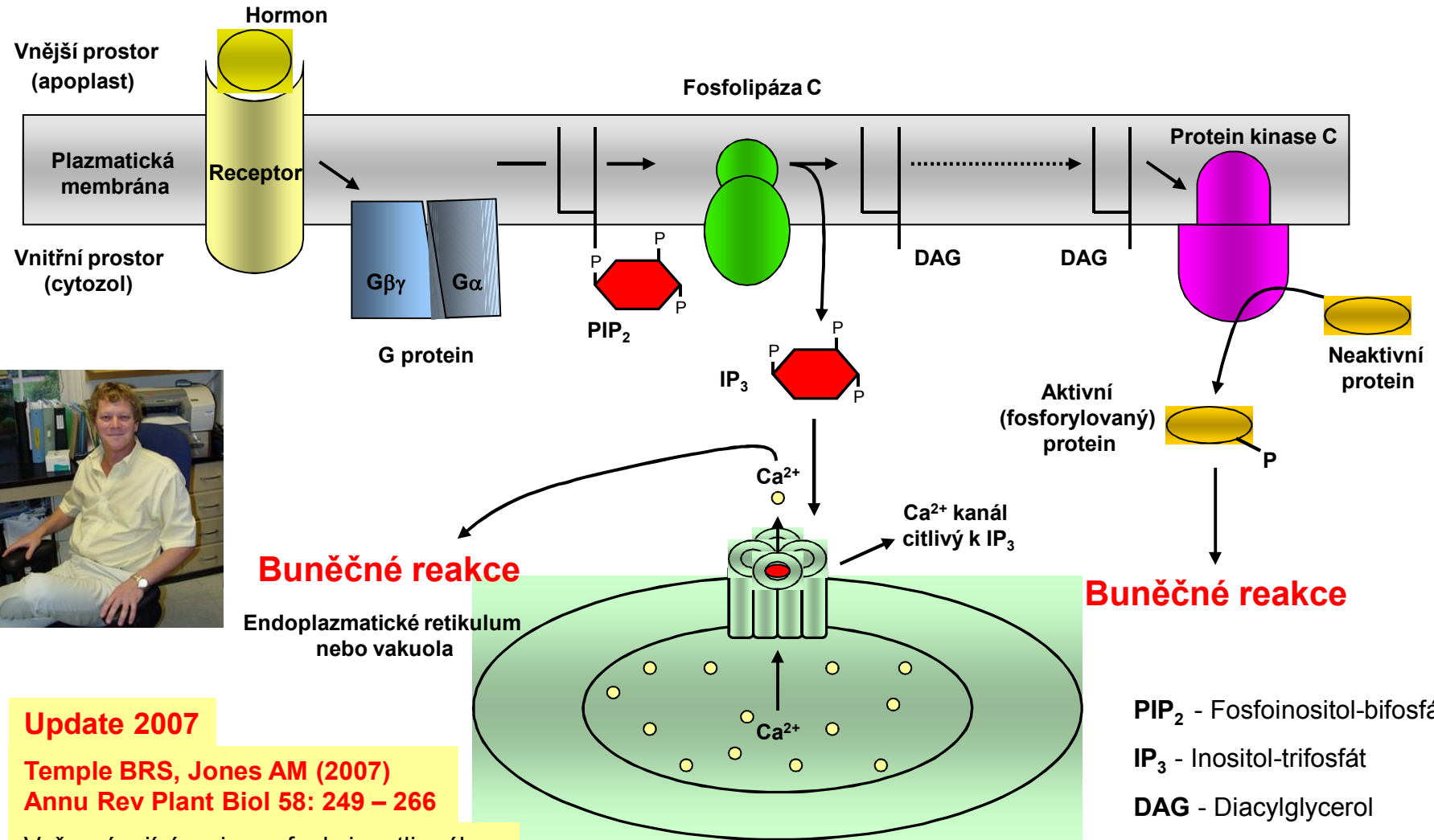
1,2-Diacylglycerol (DAG)

Inositol-1,4,5-trifosfát (IP₃)

Ca²⁺ ionty oxid dusnatý N ≡ O



Obečné schéma inositol-lipidové signální dráhy



Update 2007

Temple BRS, Jones AM (2007)
 Annu Rev Plant Biol 58: 249 – 266

Vyčerpávající review o funkci rostlinného heterotrimerického komplexu G proteinu

PIP₂ - Fosfoinositol-bifosfát
 IP₃ - Inositol-trifosfát
 DAG - Diacylglycerol

Podle
 Taiz L and Zeiger E (2006) Plant Physiology, 4th ed.

Použitá literatura

Taiz L, Zeiger E **(2006)** Plant Physiology. 4th Edition, Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts

Alberts B et al. **(2004)** Essential Cell Biology. 2nd Edition, Garland Science Publishing, Inc., New York & London

Buchanan BB et al. **(2000)** Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland

Nejnovější odborné publikace