

Topologie DNA

In vivo dsDNA bývá převážně uzavřenou strukturou; virové, bakteriální a mitochondriální genomy jsou totiž často cirkulární molekuly a eukaryotické chromosomální DNA jsou složeny v kličky, jejichž konce jsou fixovány na proteinovém komplexu. Tyto uzavřené struktury dsDNA mohou být svinuty ve šroubovici druhého řádu **nadšroubovici**. Posuzujeme-li konformaci DNA na tomto stupni struktury, mluvíme o topologii DNA.

Vinutí helixu

Pokud je jeden konec lineární pravotočivé dvoušroubovice fixován a druhý rotuje tak, aby se vinutí helixu „utahovalo“, tedy proti směru hodinových ručiček, stáčí se DNA do **pozitivní (levotočivé) nadšroubovice** (superhelixu). Rotací fixované dsDNA ve směru hodinových ručiček se může stočit v **negativní nadšroubovici**, která se v buňkách běžně vyskytuje. Energie uložená v negativní nadšroubovici usnadňuje rozvinování řetězců dsDNA při replikaci. Při ní se parentální dsDNA otáčí proti směru hodinových ručiček a negativní nadšroubovice se rozplétá. Tento jev lze dobře demonstrovat na rotaci a svinování delší a silnější gummy.

Topologie dsDNA, negativní nadšroubovice



A - Touto rotací ve směru hodinových ručiček v modelovém pokusu by se navodila negativní šroubovice
B - Takto rotuje parentální helix před replikační vidličkou, čímž rozplétá enzymově navozenou negativní nadšroubovici dsDNA

Topologie dsDNA, negativní nadšroubovice

Číselný popis vinutí

Změny topologických (a energetických!) stavů DNA se vyjadřují číselně:

- **Celkové číslo vinutí L** (linking number) udává, kolikrát se v posuzované struktuře vine jeden řetězec DNA kolem druhého, bez ohledu, zda-li ve šroubovici nebo nadšroubovici.
- **Dvoušroubovicové číslo T** (twisting number) je počet otáček řetězců v helixu.
- **Nadšroubovicové číslo W** (writhing number) udává, kolikrát se kříží dvoušroubovice jako celek.

Z toho vyplývá, že $L = T + W$. Molekuly DNA, které se liší pouze v čísle L, jsou **topoizomery**. Prakticky se posuzují spíše změny v křížení, než jejich absolutní počet, tedy AL, AT, AW.

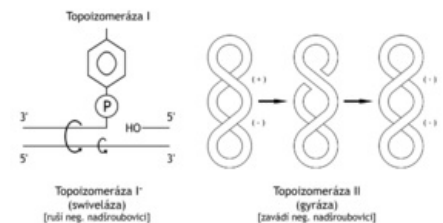
Topoizomerázy

Topoizomerázy jsou enzymy, které nadšroubovici zavádějí nebo ji naopak ruší.

Topoizomeráza I

- Topoizomerázy **I. typu** vytvoří zlom na jednom z řetězců, při čemž se 5'-konec zlomu váže na skupinu -OH tyrosinového zbytku enzymu. Případné pnutí v nadšroubovici se uvolní otáčením helixu kolem s-vazeb neporušeného řetězce. Pak enzym bez dodání energie přerušeny řetězec opět zcelí. Energie pro znovunavázání řetězce se zachovala ve vazbě 5'-konec zlomu na enzym. Topoizomerázy I byly popsány v bakteriích i živočišných buňkách. Příkladem budiž ω -protein čili **swivelasa** v *E. coli* (swivel = obrtlík). Topoizomerázy I ruší negativní nadšroubovici.

Mechanismus účinku topoizomeráz I. a II. typu (*E. coli*)



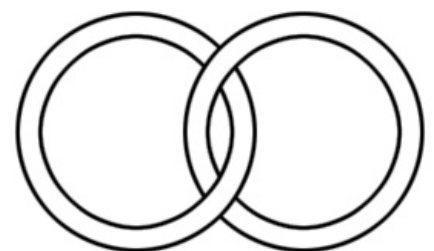
Topoizomeráza I a II

Topoizomeráza II

- Topoizomerázy **II. typu** štěpí najednou oba řetězce dsDNA, místem přerušení přemístí jiný, neporušený úsek dsDNA na druhou stranu helixu a oba řetězce opět zcelí.

Příkladem těchto enzymů je **gyráza** v bakterii *E. coli*. Určitý stupeň supersvinutí DNA, potřebný k rozvinování dvoušroubovice, je tedy v buňce zajištěn protichůdně působícími enzymy: topoizomeráza I rozvinuje negativní nadšroubovici, gyráza ji naopak zavádí.

Negativní nadšroubovice má vyšší volnou energii než relaxovaná dsDNA. Gyráza tuto energii získá štěpením ATP.



Provlečené cirkulární dsDNA

Provlečené cirkulární dsDNA

Navazování řetězců DNA na enzym je **inhibováno kyselinou nalidixovou** (antibiotikum), a **navazování ATP** je **rušeno antibiotikem novobiocinem**. Zaváděním negativní nadšroubovice topoizomerázy II. typu napomáhají rozvinovat helix DNA v replikační vidlici. Katalyzují též uvolnění provlečených cirkulárních dsDNA vzniklých po replikaci virového genomu.

Odkazy

Související články

- Struktura nukleových kyselin
- Základní složky nukleových kyselin
- Primární struktura nukleových kyselin
- Štěpení nukleové kyseliny hydrolýzou
- Metody sekvencování
- Sekundární struktura DNA
- Denaturace nukleových kyselin, molekulární hybridizace
- Sekundární struktura RNA
- Interakce DNA s proteiny
- Bakteriální chromozom
- Eukaryotické chromosomy
- DNA mitochondrií

Další kapitoly z knihy ŠTÍPEK, S.: Stručná biochemie uchování a exprese genetické informace:

Struktura nukleových kyselin: Základní složky nukleových kyselin • Primární struktura nukleových kyselin • Řetězec nukleové kyseliny lze štěpit neenzymovou nebo enzymovou hydrolýzou • Metody sekvencování •

Sekundární a vyšší struktura nukleových kyselin: Sekundární struktura DNA • Denaturace a reasociace řetězců nukleových kyselin, molekulární hybridizace • Sekundární struktura RNA • Topologie DNA; • Interakce DNA s proteiny, struktura chromosomu • Bakteriální chromozom • Eukaryotické chromosomy • DNA mitochondrií

Biosyntéza nukleových kyselin: Replikace DNA • Transkripce

Biosyntéza polypeptidového řetězce - translace: Transferové RNA (tRNA) • Aktivace aminokyselin, syntéza aminoacyl-tRNA • Funkce ribozómů v translaci • Translace u prokaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace translace • Elongace peptidů • Terminace translace • Inhibitory bakteriální translace • Translace u eukaryotů • Struktura ribozómů • Iniciace eukaryotické translace • Elongace eukaryotické translace • Terminace eukaryotické translace • Inhibitory eukaryotické translace

Genetický kód

Biosyntéza nukleových kyselin a proteosyntéza v mitochondriích: Replikace mitochondriální DNA • Mitochondriální transkripce • Mitochondriální translace

Řízení genové exprese a proteosyntézy: Řízení genové exprese a proteosyntézy u prokaryot • Regulace na úrovni transkripce • Regulace sigma-faktory • Jacobův-Monodův operonový model • Regulační význam cAMP u bakterií • Variace operonového řízení genů • Tryptofanový a arabinosový operon • Řízení terminace transkripce • Regulace bakteriální proteosyntézy na úrovni translace • Řízení genové exprese a proteosyntézy u eukaryot • Regulace na úrovni uspořádání genů • Regulace na úrovni transkripce • Regulace posttranskripčních úprav pre-mRNA • Regulace na úrovni translace • Řízení rychlosti degradace mRNA • Regulace funkce proteinu kotranslačními a posttranslačními úpravami

Posttranslační úpravy a targeting proteinů: Signální sekvence polypeptidu, volné a vázané ribozómy • Posttranslační glykosylace proteinů • Targeting nezávislý na glykosylaci proteinů • Targeting mitochondriálních proteinů • Targeting jaderných proteinů • Rozhodovací mechanismus k destrukci nefunkčních proteinů • Receptorem zprostředkovaná endocytóza

Biochemie virů: Reprodukce DNA virů • Reprodukce RNA virů • Interferony

Biochemie genového inženýrství: Štěpení DNA na definovaném místě řetězce • Účinné dělení fragmentů DNA elektroforézou • Identifikace restrikčních fragmentů • Syntéza umělé DNA • Pomnožení a exprese izolovaného nebo umělého genu v hostitelské buňce

Zdroje

- ŠTÍPEK, Stanislav. *Stručná biochemie : Uchování a exprese genetické informace*. 1. vydání. Medprint, 1998. 92 s. s. 19-20. ISBN 80-902036-2-0.