



RADOVAN KOMEL

GENETIKA

od dvojne vijačnice
do kloniranja

Priročnik za učitelje



GENETIKA **od dvojne vijačnice do kloniranja**

Priročnik za učitelje

Avtor: dr. Radovan Komel

Recenzentka: Marjeta Dobravc, prof. biol.

Ilustratorica: Mojca Sekulič Fo

Fotografije: Fotospring, Iztok Bončina, Peter Skoberne, Petra Korenjak, Petra Golja, Marjan Richter, Krištof Istinič, Janez Papež, Franc Celar, Beti Jazbec, Jelka Pogačnik, Vasja Kožuh, Arhiv založbe Rokus

Fotografija na naslovnici: Fotospring

Oblikovanje naslovnice: Petra Korenjak in Beti Jazbec

Oblikovanje notranjih strani: Beti Jazbec

Lektorica: Jasna Kamin



knjigarna.com

Vse knjige in dodatna gradiva Založbe Rokus
dobite tudi na naslovu www.knjigarna.com

©2006 Založba Rokus d.o.o. Vse pravice pridržane.

Brez pisnega dovoljenja založnika je prepovedano reproduciranje, javna priobčitev, predelava ali druga uporaba avtorskega dela ali njegovih delov v kakršnem koli obsegu in postopku, kot tudi fotokopiranje, tiskanje ali shranitev v elektronski obliki. Tako ravnanje pomeni, razen v primerih od 46. do 57. člena Zakona o avtorski in sorodnih pravicah, kršitev avtorske pravice.



ROKUS

Založba Rokus d.o.o.
Stegne 9b, 1000 Ljubljana
Telefon: 01 513 46 00
Telefaks: 01 523 46 99
E-pošta: rokus@rokus.com
www.rokus.com

CIP - Kataložni zapis o publikaciji
Narodna in univerzitetna knjižnica, Ljubljana

371.3:575(035)

KOMEL, Radovan

Genetika : od dvojne vijačnice do kloniranja. Priročnik za gimnazije in srednje tehniške šole / Radovan Komel ; ilustratorica Mojca Sekulič Fo ; fotografije Fotospring ... et al.]. - 1. izd., 1. natis. - Ljubljana : Rokus, 2006

ISBN 961-209-635-X

227286784

VSEBINA

UVOD	5
RAZLAGA POSAMEZNIH POGLAVIJ	9
II. Vesolje, Zemlja in začetek življenja	10
III. DNA – nosilka informacije	17
IV. Kako se prenaša genetski zapis	22
V. Genom in njegovo izražanje	26
VI. Uravnavanje izražanja genov	31
VII. S spremembami genoma se spreminjajo tudi lastnosti organizmov	36
VIII. Dedovanje lastnosti – Mendlovi eksperimenti	40
IX. Populacijska genetika	43
X. Gensko inženirstvo in biotehnologija	46
XI. Genska tehnologija in medicina	49
XII. Uporaba genske tehnologije v medicini odpira etična vprašanja	54
DODATEK	56
Osnovna literatura	57
Priporočene spletne strani z animacijami	57
Popravki besedila v učbeniku	58

I. UVOD

Genetika je veda, ki v človekovi zavesti zavzema posebno mesto. Zbuja strah in spoštovanje, podzavesten odpor in obenem velika pričakovanja. Generacija naših starih staršev in staršev jo je po nacistični evgeniki druge svetovne vojne doživljala kot nekaj zavrženega. Menili so, da je genetika nekaj, kar, »če ji ne pristrižemo kril«, vodi v razlikovanje ljudi na »večvredne« in »manjvredne«, čeprav je bilo slutiti, da obenem tudi ponuja neskončne možnosti napredka v kmetijstvu in medicini, ki bi z njeno pomočjo lahko premagala povojno pomanjkanje in bedo svetovnega prebivalstva. Bile so tudi skrajnosti v drugo smer, ko se je vede polastila »boljša« ideologija in prav na področju kmetijstva poskušala dokazati svojo prednost pred drugimi – in spet je bila žrtev genetika. Grenak priokus neomejene možnosti njene zlorabe je ostal tudi v današnji podzavesti, kjer se meša s strahom pred »brskanjem po najglobljih skrivnostih naše intime« in občutkom sramu, razkritih pomanjkljivosti in bojazni zaradi prizadetega dostojanstva. Po drugi strani je odkritje dvojne vijačnice in molekularnih osnov dedovanja razkrilo tudi »matematičnost« in predvidljivost vede in s tem odprlo širna obzorja njenega natančnega načrtovanja v dobro človeka. Pridobivanje novih pasem in vrst z načrtnim parjenjem domačih živali in žlahtnjenjem rastlin je povzročilo pravo revolucijo v kmetijstvu in prehrani. S pravilno selekcijo mikroorganizmov in v

nadaljevanju

z genskim inženirstvom

smo pridobili pomembne farmacevtske učinkovine, z razkrivanjem skrivnosti genoma pa smo dobili nove, natančnejše diagnostične metode in prišli na prag učinkovitega zdravljenja hudih in do zdaj neozdravljivih bolezni.

Projekt Človeški genom, je bil ob svojem rojstvu pred dobrimi petnajstimi leti drugi največji znanstveni podvig v zgodovini človeštva, primerljiv z osvajanjem Lune. Za razvozlanje njegovega zaporedja nukleotidov so namenili za tiste čase nepojmljiv znesek 3 milijard ameriških dolarjev. Vendar to ni bilo najpomembnejše; kar ga je razlikovalo od dotedanjih znanstvenih projektov, je bilo dejstvo, da so prvič v zgodovini znanosti poskušali predvideti tudi možne negativne posledice pričakovanih izsledkov! Zato so dobro tretjino vseh sredstev namenili preučevanju učinkov projekta na družbo, spodbujanju javnih razprav in polemik ter iskanju odgovorov na porajajoča se vprašanja še pred nastopom resničnih problemov in zagat. Široka javna razprava ni zajela samo znanstvenikov, temveč je pritegnila tudi strokovnjake z drugih področij, kot so filozo-

fija, pravo, sociologija, teologija, zgodovina, politologija, številna druga področja naravoslovja in medicine, in seveda tudi najširšo laično javnost. Ugotovili so, da je bolje, da se o nečem pripravimo, preden se bo to izpostavilo kot dejanski družbeni problem, tudi če do njega sploh nikoli ne bo prišlo! Samo z vključitvijo najširše javnosti namreč lahko pridemo do sporazumnih rešitev, ki jih bo podprla večina, družba pa bo pripravljena na soočenje s problemom. Zanimivo je, da na tak način že v samem začetku niso razmišljale tudi druge »vede prihodnosti«, kot so računalništvo in informatika, nanotehnologija in robotika ipd. Verjetno se je genomika zavedala, da podobno kot raziskovanje vesolja posega v nedoumljivost makrokozmosa, ona posega v naš mikrokozmos, v katerem prav tako iščemo odgovore o svojem izvoru, bitju in prihodnosti – s to razliko, da se mikrokozmos dotika intime vsakega posameznika in obenem družbe kot celote. Zato ne sme presenečati, da je številne polemike o npr. gensko spremenjeni hrani, o »popravljanju« oziroma prirejanju genomov in v zadnjem času o kloniranju, pravzaprav čisto načrtno izzval sam projekt Človeški genom, saj je med vodilnimi znanstveniki prevladalo prepričanje, da je morda v skrajnih primerih bolje, če se včasih celo z demagoškimi prijemi kakšna raziskava začasno omeji in se da družbi čas, da ob soočanju argumentov za in proti

dozorijo spoznanja, ki bodo na koncu pripeljala do sporazumnih in dobrih odločitev.

Dobre sporazumne rešitve pa se bodo rojevale samo v družbi, v kateri prevladujejo poučeni in razgledani posamezniki. Vloga sredstev javnega obveščanja je pri tem zelo pomembna, odločilen pa je dober izobraževalni sistem. Pri nas se še premalo zavedamo, kako pomembna je široka izobrazba iz naravoslovnih ved, posebno iz biologije, ki bi morala biti človeku blizu, saj pomeni njegov prvi spoznavni stik z okoljem in njegovo vlogo v njem ter utrjuje občutek občudovanja, spoštovanja in povezanosti z naravo, kar v končnih posledicah lahko prispeva tudi k osebni skromnosti posameznika ter k njegovi odgovornosti in spoštovanju ljudi tudi na drugih področjih življenja, kot so poklic in delo, občutek za lepo, skrb za okolje ipd. Posameznik, oborožen z omenjenimi kvalitetaми, bo zagotovo bolje prispeval k strokovnim odločitvam na najrazličnejših področjih našega življenja, tudi tistih, ki so včasih navidez daleč od same »biologije«.

V zadnjih letih pogosto slišimo, da učenci srednjih šol biologije ne marajo, ker »se morajo učiti gore podatkov, ki jih v življenju nikoli več ne bodo potrebovali!« Posebno »na udaru« je genetika, ki se jim zdi preveč zapletena in nerazumljiva. Ta učbenik si ne jemlje vnaprejšnje pravice, da bi bil

»boljši« od obstoječih učbenikov, vendar pomeni poskus razlage genetike na strnjen in čim bolj preprost način, ki naj na ravni srednje šole ne bi potreboval dodatnih razlag. Napisan je nekoliko drugače od večine učbenikov o genetiki, ki imajo izhodišče v »klasični«, »mendelski« genetiki in se šele nato obrnejo k dvojni vijačnici DNA. Naš učbenik temelji na molekulskih osnovah, saj je znanost v preteklih desetletjih že zelo razkrila molekulske osnove življenja in tudi dokazala, da pojmi, kot so »lastnost«, »dedovanje« ipd., niso nekakšna skrivnostna sila, temveč jih lahko lepo razložimo s fizikalnimi in biokemijskimi zakonitostmi oziroma z zgradbo molekul in njihovim spreminjanjem. Učbenik po uvodnem poglavju, ki ponovi zgodovino nastajanja bioloških ter v nadaljevanju informacijskih molekul in življenja na Zemlji, začne z razlago zgradbe nukleinskih kislin in iz nje izhajajočih posledic, kot sta samopodvojevanje ter genetska informacija in njeno prenašanje iz generacije v generacijo. »Klasična, Mendlova genetika« je (upam, da na prijazen način) predstavljena šele na sredini, ko so se učenci že dodobra seznanili z razmerjem med zgradbo nukleinskih kislin, zgradbo proteinov in vidnimi lastnostmi, z molekulskimi osnovami prenosa genetske informacije in s posledicami spreminjanja genetskih zapisov. Poglavju o dedovanju lastnosti sledi kratko poglavje o populacijski genetiki, ki vsebuje nanujnejše

matematične izpeljave in jih na koncu oriše s konkretnim primerom redke bolezni. Nato pa sledijo poglavja o sodobnih vidikih uporabe genetike v vsakdanjem življenju: gensko inženirstvo, biotehnologija, genska tehnologija v medicini, kloniranje, (bio)etika.

Predlagam pouk genetike, ki bi od učencev zahteval čim manj učenja podatkov na pamet, saj se bodo tisti, ki jih bo ta veda zanimala, s tem srečali na bolj poglobljen način pri nadaljnjem izobraževanju. Menim, da je pomembno, da natančneje poznajo strukturo nukleinskih kislin ter povezavo med osnovnimi pojmi »kromosom«, »gen«, »genom«, »protein«, »lastnost« in seveda Mendlovimi zakoni dedovanja. Poznajo naj tudi osnove prenosa genetske informacije: podvajanje DNA (replikacijo), transkripcijo in translacijo. Vse drugo pa naj bo informativno. Popolnoma zgrešeno bi bilo, če bi od njih zahtevali, da si natančno zapomnijo npr. molekulske mehanizme mutacij, transpozicij ali medceličnih prenosov genetskega materiala. Enako velja tudi za opis tehnik molekulskega kloniranja, genske diagnostike in uporabe genskih metod v sodni medicini. Res je, da tudi ta poglavja, tako kot druga, vsebujejo kar nekaj pomembnih informacij, vendar je bolje, da do njih dijaki pridejo spontano, s pogovorom, tudi prepiranjem oziroma soočanjem različnih stališč in pogledov.

Zato priporočam, da pouk poteka s spodbujanjem razprave, in ne takojšnjim ocenjevanjem »neznaja« ali »napačnih stališč«. Menim, da poglavja o praktičnih vidikih genske tehnologije ponujajo dovolj priložnosti za zanimive razprave, pri katerih lahko na nevsiljiv način tudi utrjujemo poznavanje pomembnih dejstev, ki so jih učenci izvedeli v predhodnih poglavjih, in to znanje povezujemo s konkretnimi primeri iz življenja. Nato vse skupaj, kar se mi zdi izredno pomembno, ocenjujemo tudi z etičnimi merili. Za nadaljnje znanje biologije je bolje, če kakšnega podatka »malce bolj neroden« dijak ne zna čisto na pamet, da pa vseeno razume bistvo in »rdečo nit« genetike, kot da bi to vedo zasovražil in si vzpostavil blokado oziroma negativen odnos do vsega, kar je povezano z biologijo ali celo z naravo. Spodbujajte radovednost in razpravo, vzpostavite zavest, da nobeno vprašanje (tudi »napačno«) ni neumno (s tem boste utrjevali samozavest učencev) in ocenjujte povezovanje dejstev v lahko razumljivo celoto! Če bo učbenik pri tem pomagal, je dosegel svoj namen!

Avtor



RAZLAGA POSAMEZNIH POGLAVIJ

II. VESOLJE, ZEMLJA IN ZAČETEK ŽIVLJENJA

CILJI

1. Dojeti časovno dimenzijo evolucije molekul in evolucije življenja.
2. Ponoviti že znane osnove združevanja molekul v organizirane skupke: hidrofobne interakcije in vodikova vez.
3. Znova razložiti pojav koacervatov oziroma liposomov.
4. Razložiti, da je bila v veliki množici enakih ali podobnih molekulskih združb verjetnost nastanka samopodvojevanja velika.

KLJUČNE BESEDE

- veliki pok
- Zemlja
- pramorja
- polimeri
- protenoidi
- koacervati
- liposomi
- kataliza
- samopomnoževanje
- RNA
- praelice

OSNOVNI KONCEPTI

1. Voda je najpomembnejša spojina na Zemlji. Zaradi dipolarne sestave omogoča topnost polarnih molekul: vsaka molekula, na površini katere so kemijske skupine, ki z vodo lahko tvorijo vodikove vezi ali ionizirajo, se bo obdala z molekulami vode in tako prostorsko ločila od drugih. Same molekule vode so tudi povezane med seboj, in sicer z vodikovimi vezmi. Zaradi svoje kohezivnosti se voda razmeroma počasi segreva in tudi počasi ohlaja. To omogoča veliko temperaturno stabilnost in enakomeren potek življenjskih procesov. Voda je glavna sestavina organizmov na Zemlji; predstavlja najmanj 70% mase celic živih organizmov in večina biokemijskih reakcij (življenjskih procesov) poteka v njenem okolju (vodni raztopini).
2. Amfipatične so molekule, sestavljene iz polarne (hidrofilne) in nepolarne (hidrofobne) dela. V vodni raztopini se s hidrofobnimi deli združijo v agregate. Tako se zmanjša površina, izpostavljena vodi, kar pomeni manjše število molekul vode, ki so urejene okoli te površine. S tem je število neurejenih molekul večje: vode je veliko več od amfipatičnih oz. hidrofobnih molekul, ki so v njej, kot bi bilo v primeru njihove urejenosti okrog vsake posamezne hidrofobne molekule. Urejenost v sistemu (vodni raztopini) je samo navidezna, saj je v urejenem agregatu in ob njem veliko manj molekul, kot je prosto gibajočih se molekul vode v ostalem delu. Čim bolj je sistem neurejen, tem bolj je stabilen.
3. Katalizator je snov, ki (zelo) pospeši kemijsko reakcijo, sam pa se pri tem ne spremeni. Na svojo površino veže molekule reaktantov, ki imajo s tem veliko večjo verjetnost, da se uspešno srečajo in med seboj zreagirajo. V evoluciji so se kot univerzalni biološki katalizatorji izkazali predvsem proteini (encimi); to so polimerne molekule z zelo strukturirano površino, ki se dinamično prilaga spremembam. Prvi prakatalizatorji so bile verjetno ribonukleinske kisline, ki so na svojo površino vezale različne snovi, predvsem nukleotide, in jim tako omogočile povezovanje v nove polimerne molekule. Tudi v današnji celici nekatere RNA opravljajo vlogo katalizatorja; poznane so kot ribocimi.
4. Nastajanje kompleksnih organskih molekul, ki so temeljne molekule življenja, in tudi prvih oblik življenja je potekalo v dolgem časovnem razdobju ter je posledica dolgotrajne prisotnosti velikega števila enostavnejših molekul in velikega števila naključnih dogodkov (srečanj oz. združevanja molekul).

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Ob tem uvodnem poglavju naj dijaki na nevsiljiv način ponovijo nekatera dejstva, ki jih poznajo že iz pouka fizike, kemije in celične biologije. Povežejo naj jih med seboj, kot so jih povezale okoliščine po nastanku Zemlje. Ničesar naj se ne učijo na pamet, o snovi naj se pogovarjajo spontano; naj bo to zanje kot nekakšna igra!
2. Poglavje je namenjeno temu, da bi dijaki dojele časovno razsežnost nastajanja snovi in razvoja življenja. Da bi razumeli, da so molekule enostavnih snovi imele dovolj časa, da so se srečevale in preurejale v nove kombinacije, in da je imela evolucija dovolj časa, da je med stotinami milijonov naključnih dogodkov, neuspešnih poskusov vznikla življenja, en poskus le uspel.
3. Naše dožemanje časa je omejeno na življenjsko obdobje; večinoma v to zajamemo še stare starše, vendar se nam že njihova mladost zdi zelo oddaljena. Zanimivo je, da se nam čas znova skrči, ko preskočimo na zgodovino, ki je zgodovina človeštva: Napoleon, kot da bi živel predvčerajšnjim, stari Grki ali celo Egipčani pa ne dolgo pred tem, čeprav je od takrat minilo že dobrih 4000 let. In vendar se je bitje, ki je bilo podobno človeku, pojavilo že/šele pred 3,6 milijona let. Koliko današnjih generacij je to? Koliko generacij pa traja »tehnološko obdobje« človeka, od začetka 19. stoletja naprej? Zemlja je stara 4,6 milijarde let.

Zamislimo si, da bi to ogromno obdobje prevedli v čas 1 ure (1 leta); obdobje od nastanka človeka bi potem trajalo manj kot 3 sekunde (dobro četrtno dneva ali manj kot 7 ur), od starih Rimljanov do danes pa le dobro tisočinko sekunde (14 sekund). Si lažje predstavljamo, da naša civilizacija od začetka krščanstva traja le tisočinko sekunde v obdobju 1 ure obstoja Zemlje? In človeštvo ne več kot 3 sekunde, dinozavri 3 minute, prvi preprosti evkariontski organizmi 20 minut in bakterije 45 minut. Prvih 15 minut je bilo potrebnih za evolucijo molekul, od anorganskih do preprostih organskih in polimernih molekul. Na strani 8 je narisana temperaturni diagram nastajanja vesolja in Zemlje. Narišite na tablo uro, na kateri označite tudi minute, ter dijakom nazorno predstavite trajanje in obdobja molekulske in biološke evolucije!

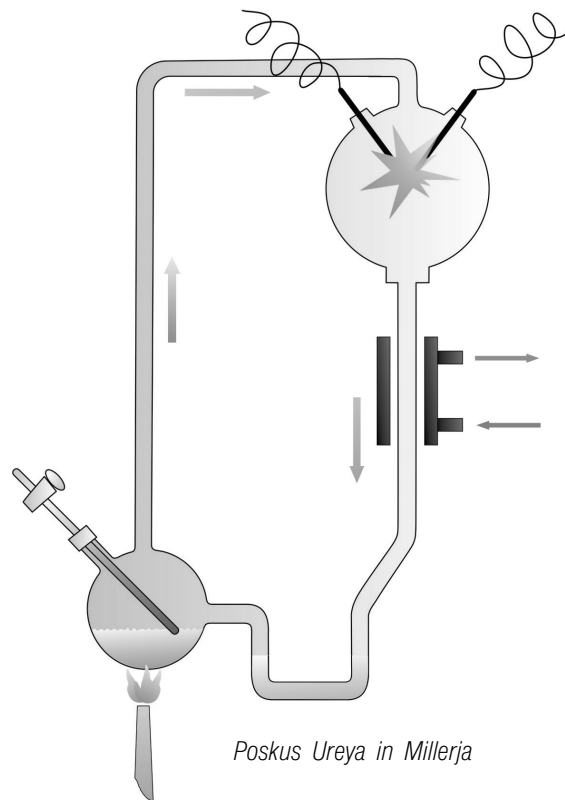
4. Zakaj je bilo prvih »15 minut« dovolj za nastanek kompleksnih polimernih molekul? Leta 1953 sta ameriški profesor Harold Urey in njegov študent Stanley Miller sestavila stekleno aparaturu in jo napolnila z mešanico vode, vodika, metana in amoniaka – plinov, ki naj bi sestavljali redukcijsko atmosfero (kisika še ni bilo) mlade Zemlje. Mešanico sta nekaj tednov segrevala in ohlajala in jo izpostavljala električnim bliskom. Po nekaj tednih sta preiskala vsebino in v njej našla pestro zmes organskih spojin, med njimi nekatere ami-

nokisline, enostavne organske kisline, aldehide in vodikov cianid, v plinasti fazi pa poleg preostanka izhodiščnih plinov tudi ogljikov monoksid in ogljikov dioksid. S tem poskusom sta dokazala, da je možen nastanek organskih molekul na nebiološki (abiotski) način v razmeroma kratkem časovnem obdobju in v blagih razmerah. Sledili so poskusi drugih znanstvenikov, ki so v plinasto zmes dodajali še ogljikov monoksid, ogljikov dioksid in žveplovodik in po končanih poskusih poleg že omenjenih enostavnih našli tudi nekatere kompleksnejše organske spojine, npr. sestavine nukleinskih kislin, in celo njihove polimere. Danes vemo, da polimerne molekule RNA lahko katalizirajo nekatere biološko pomembne reakcije, in predpostavimo lahko, da je prav RNA v predbiotski evoluciji odigrala pomembno vlogo – kot katalizator in kot nosilec informacije. Dijakom pokažite sliko: Poskus Ureya in Millerja.

5. Pomembno je, da se dijaki zavedajo, da so se v pra-

morjih molekule zelo verjetno pogosto srečevale, saj so bila ta razmeroma plitva in zelo nasičena s snovmi, ki jih je vanje v stotinah milijonov let prinašalo deževje. »Gosta juha«, kot pogosto imenujemo sestavo pramorij, je bila seveda tudi ugodno okolje za pojav prvih večmolekulskih združb, med katerimi so bile nekatere stabilnejše in med njimi nekatere po naključju tudi »uspešnejše« na poti do nastanka prvih »pracelic«. Če je v neki raz-

topini veliko enakih molekul, je zelo verjetno, da si bodo na enak ali podoben način v različnih točkah sistema (raztopine) poiskale enake partnerske molekule; verjetnost nastanka enakih ali podobnih združb je velika. Primer za ponazoritev: v Blejskem jezeru, ki je razmeroma toplo in bolj nasičeno z organskimi snovmi (neurejena kanalizacija, spiranje umetnih gnojil z okoliških njiv, manjši pretok), vsako pomlad ob ugodnih raz-



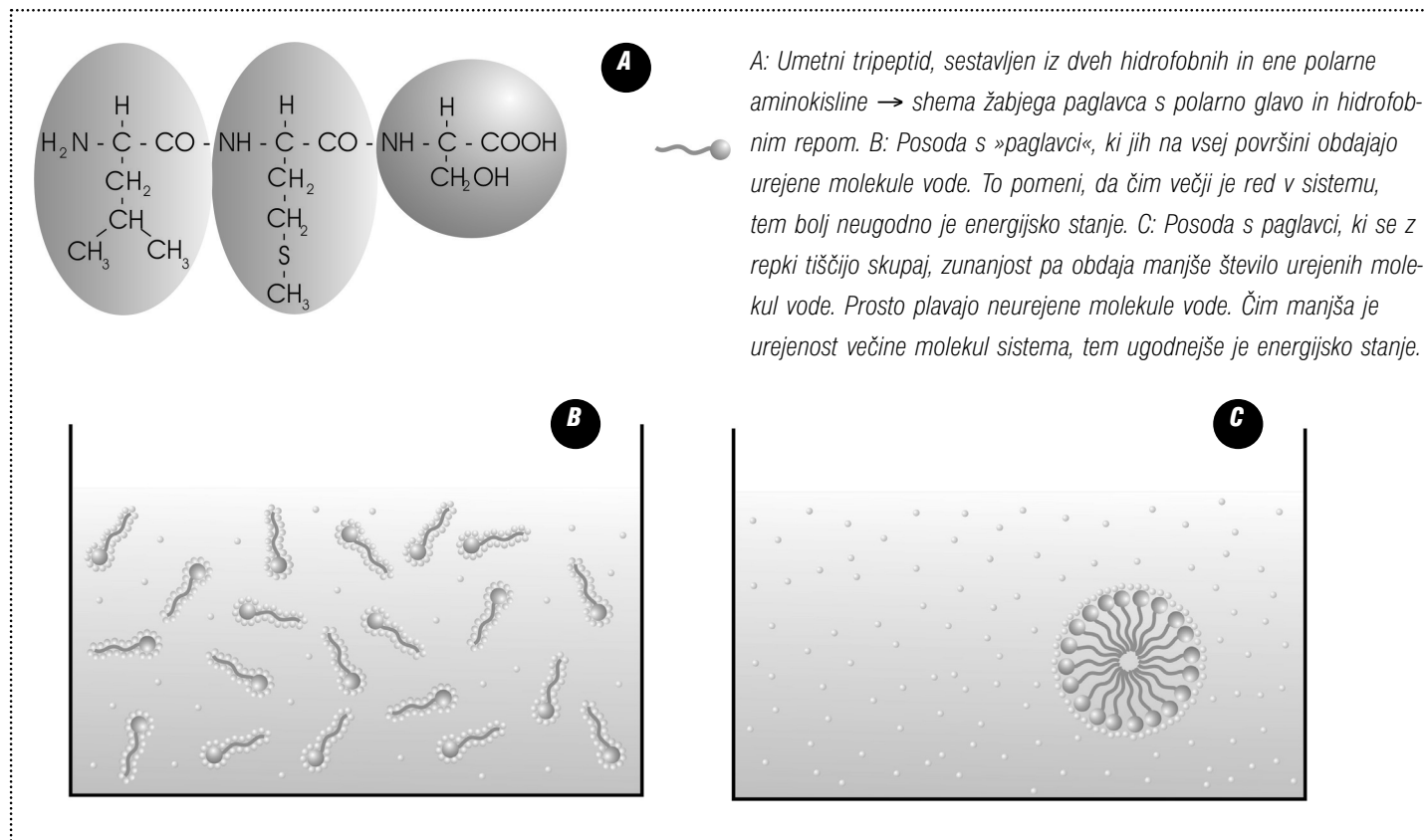
Poskus Ureya in Millerja

merah pride do pojava »cvetenja«, ko hkrati na tisoče mikroorganizmov sreča podobne organske molekule (hraniva) in se začnejo neodvisno drug od drugega pospešeno razmnoževati. Hladnejše in čistejše Bohinjsko jezero pa je siromašnejše z organskimi snovmi in verjetnost »cvetenja« je manjša.

6. Načela katalize so v učbeniku slikovno prikazana in razložena na strani 11. Pomembno je, da vedo, da je lahko vsaka površina »katalizator«, saj se nanjo vežejo molekule (zato so tam »gostejše«) in počakajo svoje partnerje. Nasprotno pa je srečanje molekul v raztopini bolj naključen in bolj redek pojav. Čim več molekul se sreča in med seboj reagira, tem hitrejša je kemijska reakcija. Polimerne molekule, ki so nastajale med molekulsko evolucijo, so imele veliko površino in so se lahko obnašale kot katalizatorji. Polimerna molekula RNA je na svoje izpostavljene dušikove baze z vodikovimi vezmi lahko vezala baze prihajajočih nukleotidov in te so se med seboj povezale v novo polimerno verigo RNA. V začetku so se verjetno povezovali naključno prispeli nukleotidi in načelo komplementarnosti baznih parov še ni veljalo. Šele nadaljnja evolucija je izpostavila DNA kot stabilnejšo molekulo in primernejšo, da skupaj z drugimi partnerskimi molekulami (protenoidi oz. polipeptidi, predhodniki današnjih proteinov) poskrbi za ohranjanje enakosti ugodne združbe molekul, ki je zaradi fizi-

kalnih sil (v začetku) ali zaradi povečanja svojega obsega razpadla na dva dela.

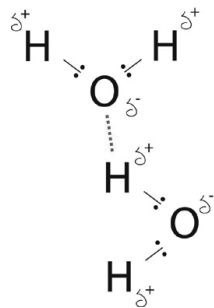
7. Z dijaki ponovite osnove hidrofobnih interakcij. »Hidrofilen« pomeni »imeti rad vodo«, se v njej raztapljati, »hidrofoben« pa »bati se vode«, bežati proč od nje. Hidrofilne so npr. kemijske skupine, ki z vodo tvorijo vodikove vezi, ali ionizirane skupine, ki se obdajo z ioni vode, hidrofobne pa so nepolarizirane kemijske skupine. Molekule, ki so sestavljene iz hidrofilnega in hidrofobnega dela, vstopajo v hidrofobne interakcije. Taka molekula se bo s svojim hidrofilnim delom usmerila proti vodi, s hidrofobnim delom pa bo poiskala hidrofobne dele partnerskih molekul, tako da bodo skupaj ustvarile strukturo, ki bo s polarnimi deli molekul imela stik z obdajajočo vodo, hidrofobna notranjost pa bo pred njo skrita. Taka struktura vsem hidrofobnim molekulam omogoča, da imajo čim manjši stik z vodo, in skupna površina agregata je zato kar se da majhna. S tem je število »svobodnih« molekul vode veliko večje, kot bi bilo sicer v primeru, da bi morale obdajati vsako molekulo (tudi njen hidrofobni del) posebej. In narava ima rada svobodne, kaotično gibajoče se molekule, saj se s tem podreja osnovnim zakonom fizike, ki zapovedujejo večji nered. Manjše število hidrofobnih molekul se je s svojo povezavo žrtvovalo, da so podarile svobodo večjemu številu molekul vode.



8. Poudarite načelo polarnosti vode in nastanek vodikove vezi. Vodikova vez je elektrostatski privlak med deli dveh molekul, ki imata različen naboj. Pri tem je na eni molekuli vodik tisti, ki nosi + naboj, na drugi molekuli pa je nosilec – naboja lahko kisik, dušik oz. kateri koli »elektronegativen« atom. »Elektronegativen« pomeni, da bi si rad zagotovil stabilno stanje v svojem oblaku elektronov, zato jih poskuša »ukrasti« svojemu partnerju, s katerim je

povezan v neki molekuli. Tako je npr. v molekuli vode, v kateri sta dva vodika povezana s kisikom. Posamezna vez kisik-vodik sestavljata en kisikov in en vodikov elektron. Povedano drugače: dva atoma v molekulo poveže skupen elektronski par, v katerega je vsak od partnerjev prispeval po en elektron. Ker pa je kisik v taki povezavi »nezadovoljen« s svojim elektronskim stanjem, saj je celo kar dva svoja elektrona prispeval v povezavo z vodikom,

ma, bo skupna elektronska para pritegoval v svoje območje in s tem pridobil negativen naboj, ki ga označujemo δ^- , vodikoma pa bo zapustil pozitiven naboj, kar označujemo δ^+ . Molekula vode bo tako imela različno nabiti območji in ji zato rečemo dipol. Dva dipola se bosta privlačila z elektrostatičnim privlakom in v primeru vode, kjer je pri tem udeležen vodik, nastali povezavi rečemo »vodikova vez«.



Vodikova vez torej nastane med vodikom, ki je v molekuli povezan z elektronegativnim atomom, in nekim elektronegativnim atomom druge molekule. Tako se med seboj lahko povezujejo tudi baze nukleotidov. Posamezna vodikova vez je sicer šibka (10–20 kJ/mol; za primerjavo: kovalentna vez je močna 150–200 kJ/mol), vendar lahko v polimerni molekuli, kot je DNA, kjer jih je zelo veliko, bistveno prispeva k stabilnosti molekule. Njena primernost je tudi v tem, da lahko hitro nastane in se tudi hitro poruši, brez velikega vložka energije, kar je pomembno pri podvajanju DNA in izražanju genov, ko se morata verigi v dvojni vijačnici DNA razkleniti.

9. S preprostimi življenjskimi primeri prikažite, da je verjetnost nekega dogodka tem večja, čim večje je število udeležencev in čim dlje so ti navzoči na nekem mestu. Ob gozdarski hišici v gozdu je verjetnost prometne nesreče neizmerno manjša kot v središču mesta. Tako rekoč je ni. V mestu, ko gremo ob določeni uri vsi z avtomobilom na cesto, pa se ta možnost zelo poveča. Vznik življenja, povezan s tem, da so se v molekulskih združbah molekule prepoznale kot kompatibilne in »prepoznale«, kakšna združba je po strukturi in v danem okolju energijsko najbolj stabilna, je bil posledica milijard neuspešnih poskusov ogromnega števila partnerjev (molekul) skozi dolgo časovno razdobje, od katerih je na koncu en vendarle uspel (podobno kot zadetek na loteriji: majhna verjetnost, da se bo to zgodilo vam, vendar se v državi to vseeno komu le zgodi) – v trenutku, ko si je molekulska združba s samopodvojevanjem molekul zagotovila enako »potomstvo«. Tako je število enakih »praelic« začelo naglo naraščati. Neki drug »uspeli dogodek« je morda rodil drugačno »praelico« in ko so se njeni potomci srečali s potomci druge vrste, se je dogajalo marsikaj: lahko so se med seboj uničevali (spojili v nove združbe, ki so bile manj uspešne), lahko pa tudi združevali v boljše ...

III. DNA — NOSILKA INFORMACIJE

CILJI

1. Poznati sestavo in strukturo molekule DNA.
2. Razumeti komplementarno parjenje dušikovih baz kot način povezovanja dveh verig DNA.
3. Spoznati velezvitje molekule DNA v kromosom.
4. Povezati pojme »gen«, »molekula DNA«, »kromosom« in »genom«.
5. Razlikovati med genetskim materialom prokariot-ske in evkariontske celice.

KLJUČNE BESEDE

- DNA
- nukleotid
- deoksiriboza
- dušikova baza
- fosfodiestrski vez
- adenin
- timin
- gvanin
- citozin
- komplementarnost
- enojna veriga
- antiparalelnost
- dvojna vijačnica
- prokarioti
- evkarioni
- kromosom
- kromatin
- geni
- genom

OSNOVNI KONCEPTI

1. Molekula DNA je zgrajena iz nukleotidov. Nukleotid je sestavljen iz dušikove baze, sladkorja deoksiriboza in fosfatne skupine. Ogljikove atome obročev dušikovih baz in deoksiriboze številčimo; zaradi razlikovanja so številke atomov deoksiriboze opremljene s črtico, npr. 1' za razliko 1 v dušikovi bazi.
2. Nukleotidi so med seboj povezani s fosfatnimi skupinami svojih deoksiriboz: vsak nukleotid estrsko poveže svojo 3'-OH skupino s 5'-fosfatno skupino naslednjega nukleotida. Ker ima prvi nukleotid prosto 5'-fosfatno skupino, zadnji pa 3'-OH skupino, je smer poteka polimerne verige DNA 5'→3'.
3. Prvi verigi DNA je v nasprotni smeri postavljena druga veriga DNA: potekata nasprotno vzporedno (antiparalelno).
4. Verigi DNA z vodikovini vezmi povezujejo dušikove baze njunih nukleotidov. V paru je vedno ena baza purinska (dvojni ogljiko-dušikov aromatski obroč) in druga pirimidinska (enojni obroč). Parijo se komplementarne (dopolnjuje se) baze: adenin (A) s timinom (T) z dvema vodikovima vezema; gvanin (G) s citozinom (C) s tremi vodikovini vezmi.
5. Komplementarno sparjeni verigi DNA sta prostorsko v obliki dvojne vijačnice; molekula je tako najbolj stabilna, saj so razdalje med obema verigama povsod enake, enaki so tudi nakloni baznih parov, ki so v enakih razdaljah nakopičeni drug nad drugim.
6. Molekule DNA so velevzite v kromosome.

V zgradbi kromosoma, ki je ena velika molekula dvojno verižne DNA, so udeleženi tudi histonski in še nekateri drugi proteini.

7. Odsek v molekuli DNA, ki je sporočilo oz. zapis za neko molekulo RNA in prek nje lahko tudi za protein, je gen. Pravimo, da je zaporedje nukleotidov v genu kodirajoče zaporedje. V vsakem kromosomu je večje število genov, ki jih ločujejo nekodirajoča zaporedja nukleotidov. Pri evkariontih so tudi v samih genih kodirajoča zaporedja prekinjena z nekodirajočimi.
8. Prokariontska celica ima en sam kromosom, ki ni obdan z jedrno membrano. V njej je lahko tudi večje ali manjše število mnogo manjših molekul DNA, imenovanih plazmidi.
9. V evkariontski celici notranje membrane od citoplazme ločujejo posamezni organeli. Eden od teh je tudi celično jedro, v katerem je shranjeno večje število kromosomov. Ti so pod mikroskopom vidni šele ob koncu celičnega cikla, ko jih dodatno zgostijo posebni proteini, sicer pa so med seboj prepleteni v obliki tako imenovanega »amorfnega (brezobličnega) kromatina«.
10. Kromosomi sestavljajo celični genom, h katerega prispevajo (manj kot en odstotek) tudi druge eventuelno navzoče vrste molekul DNA (pri prokariontih plazmidi, pri evkariontih pa majhen mitohondrijski ali kloroplastni kromosom).

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Zgradba oz. struktura DNA je pomembna osnova za nadaljnje razumevanje genetike. Zato naj jo dijaki dobro razumejo. V učbeniku je na strani 18 njena primerjava s stopniščem v stolpu ljubljanskega gradu. Če imajo čas, naj si dijaki to ogledajo (v drugih krajih Slovenije se bo morda v javnih zgradbah tudi našlo kakšno podobno stopnišče): videli bodo, da so stopnice (»bazni pari«) enako široke in v enakih razdaljah položene druga nad drugo. Stopnišče je trdno in hoja po njem je stabilna.
2. Zelo pomembno je, da spoznajo, da je komplementarnost baz obeh prilegajočih se verig DNA posledica težnje po zgoraj omenjeni stabilni strukturi dvoverižne vijačnice DNA. Če bi nukleotide v čaši vode pomešali med seboj, bi našli vse možne naključne povezave, ne samo »pravilne« G-C in A-T, temveč tudi A-A, A-C, C-T ipd. Fizikalne zakonitosti pa poskrbijo, da se med sintezo dvojne vijačnice DNA zgodi optimalen izbor nukleotidnih povezav, ki novonastali molekuli zagotovi čim manjšo napetost oziroma čim večjo stabilnost. V učbeniku je na strani 18 prikazano, kakšna bi bila lestev (ponazoritev dvojne verige DNA), če temu ne bi bilo tako!
3. Na straneh 19 in 20 v učbeniku obravnavamo velezvitje molekul DNA v kromosome. Če bi kromosome ene evkariontske celice raztegnili v linearne molekule DNA in te povezali, bi bila nitka dolga skoraj 2 metra. Evkariontske celice pa imajo premer nekaj stotink milimetra in njihova jedra nekaj tisočink milimetra; da vanje spravimo vse kromosome, morajo biti molekule DNA velezvite. Velezvitje smo ponazorili z zvijanjem kabla med telefonskim aparatom in slušalko. V današnjem času, ko so v modi prenosni telefonski aparati, je morda bolje, da velezvitje ponazorimo s sukanjem elastike med pari prstov obeh rok, kot je v učbeniku prikazano na strani 19.
4. Dijakom naj bo že na tej stopnji jasno, da je kromosom ena sama velezvita molekula dvoverižne DNA. Povejte jim, da so geni odseki v tej molekuli, ki so zapis za neko drugo molekulo (razne vrste RNA oz. proteinov). Strukturo prokariontskih in evkariontskih genov bomo sicer podrobneje obravnavali v nadaljevanju. V vsakem kromosomu je večje število genov, ki jih navadno ločujejo daljša nekodirajoča zaporedja nukleotidov. Radovednejši dijaki bodo zagotovo vprašali, čemu služijo ta nekodirajoča zaporedja. Odgovorite, da skrbijo za pravilno prostorsko obliko kromosomov oz. za tako strukturo kromatina, ki omogoča njegovo sodelovanje v življenju celice, predvsem pri uravnavanju izražanja genov.
5. Tudi o genomu bomo podrobneje govorili v nadaljevanju. Na tej stopnji naj dijaki vedo, da je celični genom seštevek vseh vrst molekul DNA (kromo-

somov + manj kot en odstotek drugih vrst DNA) v celici. Poudarjam »vseh vrst«, saj bomo v nadaljevanju spoznali, da imajo diploidni evkarionti dvojen

niz kromosomov in je zato pri njih genom en niz »vseh vrst« kromosomov.

DODATEK

Če bi koga zanimalo, kako so odkrivali strukturo DNA, prilagam neobvezen dodatek – povzetek Watsonovega pogleda na omenjeno dogajanje:

Odkritje dvoverižne vijačne strukture DNA in njenega pomena za ohranjanje in prenašanje genetske informacije iz roda v rod je bilo eno največjih dogodkov v znanosti 20. stoletja. Pri tem je v glavnem sodelovalo pet ljudi: Maurice Wilkins, Rosalind Franklin, Linus Pauling, Francis Crick in James Watson. Začelo se je leta 1951 s prihodom petintridesetletnega biokemika Jamesa Watsona v Cambridge, da bi se pridružil skupini, ki je raziskovala trodimenzionalno strukturo proteinov. Vendar ga proteini niso kaj dosti zanimali; raje je na skrivaj razmišljal o DNA, ki je bila takrat še velika neznanka, čeprav so slutili, da prav ona sestavlja »gene«, kot so že takrat imenovali enote dedovanih lastnosti, ne da bi vedeli, kakšni v resnici tudi so. Le s težavo je prepričal prijatelja, fizika Francis Cricka, ki se je ukvarjal s kristali proteinov, da sta skupaj začela raziskovati, večkrat tudi proti volji predpostavljenih,

kakšna bi lahko bila struktura DNA. Za to sta seveda potrebovala kristale te molekule in tudi dobre razlagalce uklonskih slik, ki so jih dobili s presevanjem kristalov z žarki X. V tem času je bil v Angliji glavna avtoriteta na področju raziskovanja struktur kristalov bioloških molekul fizik Maurice Wilkins, ki je delal na Kraljevem kolidžu v Londonu, in delo okoli DNA je bilo nekakšna njegova »osebna last«. Njegova sodelavka je bila sposobna kristalografinja Rosalind Franklin, ki so jo vsi imeli za zelo bojovito in »po značaju težko«. Menili so, da je z njo nemogoče sodelovati, a da je obenem dragocen vir informacij o uklonskih slikah kristalov DNA. Šele pozneje, po njeni prezgodnji smrti, ji je Watson dal priznanje za njen prispevek in z obžalovanjem ugotovil, da je bila njena »bojevitost« v veliki meri obramba v »moškem okolju«, ki je prevladovalo na Kraljevem kolidžu. Njihov velik tekmeč je bil ameriški kemik Linus Pauling, ki je razrešil skrivnost strukture proteinov, zdaj pa ga je živo začela zanimati DNA oziroma lov na najvišjo znanstveno nagrado, ki je bila obljubljena odkritelju njene strukture. Pauling

je prvi izdelal model, ki je bil v obliki trojne vijačnice, vendar so Watson, Crick in Franklinova hitro ugotovili, da ta »kemija« ne vzdrži primerjave z dvojno vijačnico, ki so jo na osnovi merjenja medatomskih razdalj predlagali oni. Vendar tudi pri njihovem modelu nekaj ni bilo v redu, saj so predpostavili, da se dve verigi parita z enakimi dušikovimi bazami. Šele natančnejše meritve, ki so jih omogočile uklonske slike Rosalinde Franklin in Mauricea Wilkinsona in ki sta jih Watson in Crick upoštevala pri gradnji modela iz kositrnih ploščic (ki so predstavljale dušikove baze), so omogočile, da je nekega lepega dne leta 1953

preskočila iskrica spoznanja. Do takrat so vsi malce sodelovali in malce tekmovali, drug drugemu »kukali« v zapiske in vohunili za hipotezami, genialen preskok pa je bil v tem, da sta Watson in Crick doumela model strukture DNA v povezavi z njenimi biološkimi posledicami in prav zato izmed številnih možnosti, ki so se ponujale, izbrala pravo. Nobelova nagrada za to veličastno odkritje je bila podeljena v Stockholmu leta 1962: Mauriceu Wilkinsu, Francisu Cricku in Jamesu Watsonu. Rosalind Franklin je umrla leta 1958, stara sedemintrideset let, Nobelovih nagrad pa posmrtno žal ne podeljujejo.

IV. KAKO SE PRENAŠA GENETSKI ZAPIS

CILJI

1. Razumeti, kako se podvaja DNA. Podvajanje kromosomov razumeti kot del življenja celice, ki se pripravlja na delitev.
2. Doumeti, da podvajanje DNA in porazdelitev njenih enakih kopij v dve hčerinski celici pomeni ohranjanje genetske informacije (zaporedja nukleotidov) iz roda v rod.
3. Razlikovati med dogajanjem na ravni DNA (kromosomov) med enostavno delitvijo celice (mitoza) in med mejozo (nastanek haploidnih gamet).
4. Poznati razlike med haploidnimi in diploidnimi organizmi (celicami).

KLJUČNE BESEDE

- celični cikel
- podvajanje DNA, replikacija
- samoohranjevalno (semikonzervativno) podvajanje
- ori
- podvojevalne vilice
- podvojevalni mehurček
- polimeraza DNA
- Okazakijevi fragmenti
- delitev celice
- interfaza
- sestrski kromatidi
- mitoza
- mejoza
- haploidni organizmi
- diploidni organizmi
- homologni kromosomi
- zarodne celice
- spolne celice, gamete
- zigota

OSNOVNI KONCEPTI

1. Življenje celice je obdobje, ki ga označujemo kot celični cikel. Življenje bakterije je kratko, celica v okolju, bogatem s hranivi, hitro raste in se neprestano deli. Njena DNA se podvaja že med samo rastjo. V nasprotju s tem je pri evkariontih celični cikel razdeljen na fazi, ko celica raste in si sintetizira proteine, potrebne za nadaljnja dogajanja, vmesno fazo, v kateri si podvoji DNA (kromosome), in končno fazo, ko se celica deli.
2. Med delitvijo celice delitveno vreteno porazdeli sestrski kromatidi (enaki kopiji podvojene DNA oz. kromosoma) vsakega kromosoma v nastajajoči hčerinski celici.
3. Podvajanje DNA se začne na mestu *ori* (začetno mesto replikacije), kamor se vežejo podvojevalni proteini, ki odvijajo in razklenijo dvojno verigo DNA. Nastanejo »podvojevalne vilice« in za njimi »podvojevalni mehurček« (območje razklenjenih verig DNA, kamor se vežejo encimi podvojevanja, med njimi polimeraza DNA). Podvojevalne vilice s podvojevalnim mehurčkom potujejo vzdolž molekule DNA, za njima pa ostajata podvojeni verigi DNA.
4. Podvajanje DNA je samoohranjevalno (semikonzervativno). Nekateri ga imenujejo tudi »polohranjeno«, saj polimeraza DNA na vsaki od obeh »starševskih verig« dvoverižne DNA z dodajanjem komplementarnih nukleotidov sintetizira po eno novo komplementarno verigo. Posledica je nastanek dveh popolnoma enakih dvoverižnih DNA, v katerih je ena veriga »stara« in ena »nova«.
5. Ena veriga DNA se podvaja zvezno, kontinuirno (vodilna veriga), druga (zaostajajoča veriga) pa po koščkih, imenovanih Okazakijevi fragmenti, ki jih šele encim ligaza poveže v enotno verigo.
6. Bakterija si mora podvojiti en sam kromosom, medtem ko imajo višji organizmi več različnih kromosomov. Številni evkarionti so diploidni, kar pomeni, da imajo dva niza homolognih kromosomov. Dva istovrstna kromosoma kromosomskega niza sta homologa in predstavljata kromosomski par.
7. Med mejozo, tj. nastajanjem spolnih celic (gamet), se vsi kromosomi najprej podvojijo (vsak je zato podvojen v dve sestrski kromatidi). Podvojena homologa kromosomskega para se nato prekrižata in si izmenjata dele sestrskih kromatid; nastanejo prerazporejeni homologi kromosomskih parov. Posledica so nove kombinacije zaporedij nukleotidov in s tem novi vzorci zapisov za celične lastnosti. Prva celična delitev porazdeli prerazporejene homologe kromosomskih parov v dve hčerinski celici, naslednja celična delitev obeh hčerinskih celic pa loči še kromatide vsakega kromosoma v po dve novi hčerinski celici. Nastanejo štiri haploidne celice, v katerih je po ena prerazporejena različica vsakega kromoso-

ma izvirne diploidne celice (glej sliko v učbeniku na strani 27!).

8. Oploditev je združitev dveh haploidnih spolnih celic (gamet) v diploidno zigoto.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. To poglavje je že malo bolj zahtevno. Celični cikel dijaki verjetno že poznajo iz pouka celične biologije. Pomembno je, da ga povežete s podvajanjem DNA. Dijakom je potrebno dopovedati, da običajne slike kromosomov v obliki črke X, ki jih vidijo v številnih učbenikih, pomenijo podvojeni kromosom (podvojeno molekulo DNA), kjer sta obe kopiji (sestrski kromatidi) še vedno skupaj. Loči ju šele delitveno vreteno, ki ju porazdeli v dve hčerinski celici. Enostavno animacijo mitoze boste našli na spletnih straneh <http://www.stolaf.edu/people/gianini/flashanimat/celldivision/crome3.swf> in <http://www.cell-salive.com/mitosis.htm>. Mejozo prikazuje animacija na spletni strani <http://www.johnkyrk.com/meiosis.html>.
2. Za podvajanje DNA se je uveljavil izraz »replikacija«. Razumevanje njenega poteka je težavno. Ne vztrajajte pri zahtevi, da ga bodo dijaki takoj razumeli, raje problem zastavite tekmovalno. Kot uganke, kdo bo prej ugotovil, za kaj gre! Polimeraza DNA lahko začne delovati samo iz dvoverižnega začetka. To omogoči encim primaza, ki na vsako od obeh razprtih verig DNA doda majhen komple-

mentaren košček RNA. Pri vodilni verigi razumevanje dogajanja ni problem: polimeraza DNA lepo napreduje po vodilni verigi in ji dodaja komplementarne nukleotide. Zagata nastopi pri nasproti potekajoči zaostajajoči verigi. Ker polimeraza DNA za replikacijskimi vilicami napreduje po vodilni verigi, se sprošča vedno nov odsek zaostajajoče verige in vsakič vskoči primaza, ki doda nov RNA-začetnik. Večina učbenikov prikazuje sintezo nove verige, ki po koščkih poteka na zaostajajoči verigi DNA, kot da bi jo v nasprotni smeri počela druga molekula polimeraze DNA. Tako smo zaradi lažjega razumevanja v učbeniku prikazali tudi na slikah na straneh 23 in 24. V resnici pa ima polimeraza DNA dve podenoti; s prvo podenoto sintetizira komplementarno DNA na vodilni verigi, kot smo prikazali, druga (na zaostajajoči verigi) pa si vsak nov odsek zaostajajoče verige, ki pride izpod napredujočih replikacijskih vilic, ovije okoli sebe in Okazakijev fragment sintetizira v isti smeri, kot sicer deluje njena prva enota na vodilni verigi. Nato se nastala dvoverižna DNA (z Okazakijevim fragmentom) z

nje odvije in se usmeri v svojo naravno nasprotno smer.

3. Poenostavljeno shemo replikacije prikazujejo animacije na spletnih straneh <http://www.bioteach.ubc.ca/TeachingResources/MolecularBiology/DNAReplication.swf> in <http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/mol-genetics/dna-rna2.swf>.

Popolnejši, vendar še vedno poenostavljen prikaz je na spletni strani http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072437316/student_view0/chapter14/animations.html# (DNA Replication Fork).

Zapleten prikaz z ovijanjem zaostajajoče verige pa prikazuje spletna stran http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072437316/student_view0/chapter14/animations.html# (How Nucleotides Are Added In DNA Replication).

4. Ko boste začeli z razlago kromosomskih parov oz. homolognih kromosomov pri diploidnih organizmih, bo dijake verjetno zanimalo, ali sta homolo-

gna kromosoma popolnoma enaka. Povedati jim je potrebno, da je v celici en homolog materin, drugi pa očetov, da sta načeloma enaka, vendar se razlikujeta v podrobnostih, ki jim rečemo genetski polimorfizmi. To podprite z razlago prekrivanja homologov med mejozo (nastajanjem spolnih celic), ko si izmenjata kromatidne segmente in s tem ustvarita nove kombinacije polimorfizmov. Polimorfna sta na primer homologna gena (pozneje bomo uvedli pojem »genska alela«), ki se med seboj razlikujeta v nekem nukleotidu njunega zaporedja. Taki genski različici (alela) lahko kodirata tudi nekoliko različna proteina, kar ima za posledico razliko lastnosti, ki jo pogojuje omenjeni protein. Ker sta v celici navzoča oba homologna kromosoma z različicama omenjenega gena, bo skupna lastnost, ki jo kodira omenjeni gen, rezultanta delovanja obeh genskih alelov.

V. GENOM IN NJEGOVO IZRAŽANJE

CILJI

1. Razlikovati med pojmi kariotip, kariogram in genom.
2. Vedeti, kako je sestavljen človeški genom.
3. Spoznati biološki pomen genov in da se ti prepisujejo v različne vrste molekul RNA.
4. Seznaniti se s potekom prepisovanje genov (transkripcijo).
5. Spoznati, da je zapis (zaporedje nukleotidov) v večini genov zapis (informacija) za zaporedje aminokislin, ki gradijo proteine. Vedeti, kakšen je pretok genetske informacije od gena do proteina.
6. Poznati ključne partnerje pri sintezi proteinov: mRNA, tRNA, ribosome. Poznati načela genetskega koda.
7. Seznaniti se s potekom prevajanja genetske informacije (translacijo).
8. Vedeti, kakšen je pomen proteinov za celico oziroma organizem.

KLJUČNE BESEDE

- kariotip
- kariogram
- genom
- gen
- prepisovanje DNA, transkripcija
- polimeraza RNA
- RNA
- prevajanje DNA, translacija
- genetski kod
- antikodon
- kodon
- tRNA
- ribosom
- protein

OSNOVNI KONCEPTI

1. Eni garnituri kromosomov celice rečemo celični genom. Vse telesne celice imajo enak genom, torej lahko govorimo o genomu organizma. Celice diploidnih organizmov, ki vsebujejo dve garnituri (niza) kromosomov, imajo dve kopiji genoma.
2. Celice višjih organizmov imajo tudi organelne kromosome (mitohondriji, kloroplasti); čeprav so ti prisotni v več kopijah, jih v celičnem genomu upoštevamo le enkrat, in ker so majhni, je njihov prispevek k celičnemu genomu manj kot 1 odstotek.
3. Človeški genom je velik približno 3 milijarde nukleotidnih parov (dvoverižne molekule DNA kromosomov). Sestavlja ga 22 nespolnih kromosomov + spolni kromosom X + spolni kromosom Y + mali mitohondrijski kromosom.
4. Kadar govorimo o genomu in pri tem upoštevamo njegovo definicijo, ki pravi, da »pri diploidnih organizmih genom predstavlja niz kromosomov v haploidnih gametah«, nekoliko poenostavljeno rečemo, da je človeški genom sestavljen iz 23 kromosomov: 22 nespolnih kromosomov + en spolni kromosom (X ali Y, odvisno od vrste gamete).
5. Kariotip človeka sestavlja 46 kromosomov: 22 parov nespolnih kromosomov in oba spolna kromosoma, X in Y. Če omenjene kromosomske pare razporedimo po vrsti od največjega do najmanjšega, tak prikaz imenujemo kariogram.
6. Genomi organizmov se zelo razlikujejo po velikosti in po številu genov. Človeški genom po današnjih ocenah vsebuje 30.000–35.000 genov.
7. Gen je odsek v molekuli DNA (kromosomu), ki nosi informacijo (zaporedje nukleotidov) za sintezo »genskega produkta«. Primarni genski produkt je vedno molekula RNA: tRNA, rRNA oziroma mRNA. Večina genov nosi zapise za molekule mRNA, ki so vmesna stopnja pri prevajanju zaporedja nukleotidov v zaporedje aminokislin genu ustrežajočega proteina (v tem primeru »končni genski produkt«). Molekuli mRNA zato rečemo »sporočilna RNA« ali »informacijska RNA«.
8. Prepisovanje zaporedja nukleotidov gena imenujemo transkripcija; pravimo, da se gen »izraža«. Prepisovalni proteini se vežejo na regulacijsko zaporedje na začetku gena (nekodirajoče zaporedje), razklenejo dvoverižno DNA in encim polimeraza RNA na eno od obeh verig (kodirajoči verigi nasprotna veriga) začne v smeri 5'→3' polagati komplementarne ribonukleotide in jih povezovati v enojno verigo RNA.
9. Ko RNA-polimeraza pride do konca gena, je sinteza ustrezne RNA končana. Molekule RNA so zgrajene po enakem načelu kot DNA, vendar so enoverižne in namesto deoksiribonukleotidov jih gradijo ribonukleotidi. V enem od njih namesto dušikove baze timin (T) nastopa uracil (U).

10. V številnih molekulah RNA lahko pride do parjenja komplementarnih baz iste verige; izoblikujejo se zanke, ki pogojujejo nadaljnje zvitje molekule v prostorsko obliko.
11. Transportne RNA (tRNA) vežejo in prenašajo aminokisline na mesto sinteze proteinov (ribosomi). Imajo značilno obliko v prostoru zvite deteljice, kjer je izpostavljena zanka s tremi, za vsako tRNA značilnimi nukleotidi, imenovanimi antikodon.
12. Ribosomske RNA (rRNA) predstavljajo mrežo, v katero se ujamejo majhni ribosomski proteini, in skupaj z njimi sestavijo malo in veliko podenoto ribosoma. Ribosom je »celična tovarna« za sintezo proteinov, ki poteka v citoplazmi.
13. Sporočilne RNA (mRNA) so prepisi tistih genov, ki kodirajo proteine. Po sintezi v celičnem jedru (pri evkariontih) gredo v citoplazmo, kjer skupaj z ribosomi sestavijo translacijske enote za sintezo ustreznih proteinov. Zaporedje nukleotidov v mRNA je prepis kodirajočega zaporedja nukleotidov v genu in zato je mRNA matrica za prevod tega zaporedja v zaporedje aminokislin ustreznega proteina (translacija).
14. Po trije nukleotidi v mRNA so zapis za ustrezno

aminokislino. Tripletu nukleotidov v mRNA pravimo kodon. Tega s svojim komplementarnim antikodonom prepozna ustrezna tRNA, ki na ribosom prinese ustrezno aminokislino. Ker se ribosom giblje vzdolž mRNA, se s prihajajočimi tRNA prinesene aminokisline povezujejo v protein. Njihovo zaporedje je tako odraz zaporedja kodonov v mRNA oziroma zaporedja nukleotidov v ustreznem genu. Zaporedje aminokislin določa strukturo in lastnosti proteina.

15. Genetski kod je »izrojen«, kar pomeni, da za večino aminokislin velja več vrst tripletov nukleotidov (kodonov). Genetski kod je tudi »univerzalen«, kar pomeni, da na enak način velja za vse organizme na Zemlji. To dokazuje, da vse oblike življenja izhajajo iz skupnega prednika.
16. Proteini so ključne molekule življenja: gradijo celično in medcelično strukturo, v celico prenašajo hraniva in druge snovi ter iz nje odnašajo metabolite, celicam posredujejo signale iz okolja, tudi same so lahko sporočilne molekule, so tudi obrambne molekule, kot katalizatorji omogočajo potek življenjskih procesov ipd.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. To je pomembno poglavje, ki govori o izražanju genov. Pomembno je, da dijaki dojamajo pretok genetske informacije od gena do končnega pro-

dukta, ki je navadno celični protein. Genetska informacija je zaporedje nukleotidov v kodirajočem predelu gena, ki se prepiše v zaporedje nukleo-

tidov enoverižne mRNA, ki je podloga (matrica) za prevod tega zaporedja v zaporedje aminokislin proteina. Kakršno je zaporedje nukleotidov v genu, takšno bo ustrezno zaporedje aminokislin proteina in od njega je v nadaljevanju odvisno zvitje proteina v prostoru, ki določa njegovo funkcijo oziroma aktivnost.

2. Dijaki bodo morda vprašali, ali imamo ljudje tudi približno 35.000 različnih proteinov, če imamo približno 35.000 različnih genov. Odgovor je: veliko več, morda tudi nekaj milijonov! Zakaj? Posamezni geni se lahko izražajo na več načinov, v različnih bralnih okvirih. V različnih celičnih tipih se med zorenjem mRNA lahko introni različno izrezujejo (posledica so različno dolge kodirajoče mRNA istega gena). V nekem genskem zaporedju je lahko skritih tudi več manjših genov, nekateri se lahko tudi prekrivajo. Po končani sintezi lahko proteini doživijo zelo različne spremembe – lahko se kot podenote in v različnih kombinacijah združujejo v sestavljene proteinske združbe. V genih med njihovim izražanjem lahko tudi prihaja do številnih prerazporeditev (primer: nastajanje velikega števila različnih protiteles) ipd.
3. V odgovoru na zgornje vprašanje se skriva tudi del odgovora na vprašanje, zakaj se ljudje tako razlikujemo od opic, kljub veliki podobnosti genomov. Evolucija je pri nas izpostavila kompleksnejše kombinacije izražanja genov. Koruza ima več genov od človeka, vendar je uravnavanje njihovega izražanja

manj zapleteno in posledica je manjše število proteinov.

4. V tem poglavju smo malce tudi napredovali pri povezovanju gen – protein – lastnost. Povedali smo, da je posamezen protein »odgovoren za svojo lastnost«, in tudi omenili, da se večina lastnosti izoblikuje kot vsota »individualnih lastnosti« številnih proteinov. Pri tem ne smemo pozabiti, da je pri diploidnih organizmih vsak gen prisoten v dveh kopijah (genska alela), ki sta na enakem mestu (lokusu) v obeh homolognih kromosomih. Odnos med obema aleloma posameznega gena vpliva na »individualno lastnost« posameznega proteina in s tem seveda tudi na skupne lastnosti.
5. Dijaki naj razumejo osnovna načela transkripcije in translacije, nikakor pa ne bi od njih zahteval, da se na pamet natančno naučijo posamezne stopnje obeh procesov. Morda jim bo po uvodnem natančnem opisu dobrodošel še prikaz z ustreznimi animacijami. Preprost prikaz transkripcije je na spletni strani <http://www.fed.cuhk.edu.hk/~johnson/teaching/genetics/animations/transcription.htm> oz. <http://www.ncc.gmu.edu/dna/mRNAanim.htm>, malo boljši pa na straneh <http://www.johnkyrk.com/DNAtranscription.html> in http://www-class.unl.edu/biochem/gp2/m_biology/animation/gene/gene_a2.html. Meni je zelo všeč preprosta animacija na spletni strani <http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/molgenetics/transcription.swf>.
6. Translacija je lepo prikazana z animacijo na spletni strani <http://highered.mcgraw-hill.com/sites/0072437316/>

student_view0/chapter15/animations.html (Protein Synthesis) in tudi na spletnih straneh **http://www.biostudio.com/demo_freeman_protein_synthesis.htm** in **http://www-class.unl.edu/biochem/gp2/m_biology/animation/gene/gene_a3.html**.

Zelo nazoren in obenem preprost prikaz je na strani **<http://www.cat.cc.md.us/biotutorials/protosyn/translat.html>** ali **<http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/mol-genetics/translation.swf>**.

7. Med translacijo se po mRNA ne premika samo en, temveč, sočasno drug za drugim, večje število ribosomov. Tako na eni matrici mRNA lahko nastane večje število proteinskih molekul. Proces je zelo hiter in v celici lahko v eni sekundi nastane tudi nekaj tisoč novih proteinov.
8. Še na nekaj bi rad opozoril: če pogledamo kariogram, ki je v učbeniku prikazan na strani 30, lahko dijake zavede, da so prikazani samo posamezni podvojeni metafazni kromosomi, ne pa tudi pari

homolognih kromosomov (kot primer: kromosom 2). To ni res. Na sliki so resnično pari homolognih kromosomov, vendar sta v posameznih kromosomih, ki so videti paličasti, sestrski kromatidi slabo vidni, vidi pa se, da so kromosomi zoženi v centromernih področjih – kar pomeni, da so to resnično podvojeni kromosomi, sestavljeni iz po dveh sestrskih kromatid. To poudarjam zato, ker je večina kariogramov, ki jih najdemo v knjigah, zaradi tehničnih razlogov podobno zavajajočih in na videz v nasprotju z definicijo kariotipa. Če bodo učenci vprašali, zakaj so kromosomi na kariogramu progasti, jim odgovorite, da zaradi barvanja s posebnim barvilom, ki jih naredi bolj vidne za opazovanje pod mikroskopom; barvilo se na nekatera območja kromosomov veže bolj, na nekatera pa manj, in to je razlog za progavost, po kateri se kromosomi med seboj tudi razlikujejo (tako jih lažje razvrstimo).

VI. DNA — URAVNAVANJE IZRAŽANJA GENOV

CILJI

1. Ugotoviti, da sta katabolizem in anabolizem skrbno uravnotežena in uravnavana procesa metabolizma, da so za to odgovorni encimi, v ozadju pa so geni, ki skrbijo za dovolj veliko prisotnost ali odsotnost encimov na pravem mestu v celici in v pravem trenutku.
2. Prepoznati razlike v zgradbi prokariontskega in evkariontskega gena. Vedeti, kako so organizirani geni v bakterijah in kako v evkariontskih celicah.
3. Povezati organizacijo genov v operon z racionalnostjo oziroma življenjskimi potrebami bakterije.
4. Sklepati, zakaj so evkariontski geni večinoma samostojni in zakaj je tako zelo veliko DNA v evkariontskem genomu nekodirajoče.
5. Poznati osnove pozitivnega in negativnega uravnavanja izražanja genov.

KLJUČNE BESEDE

- metabolizem
- anabolizem
- katabolizem
- operon
- promotor
- operator
- zaviralec (represor)
- regulacijski gen
- vzpodbujevalec (induktor)
- večgenska (poligenska) DNA
- policistronska mRNA
- negativno uravnavanje
- aktivator
- pozitivno uravnavanje
- ekson
- intron

OSNOVNI KONCEPTI

1. Celični metabolizem sestavljata dva dela, ki se ves čas dopolnjujeta. Katabolizem je encimska razgradnja hraniv in tudi celičnih sestavin. Celica tako pridobiva energijo za življenjske procese in enostavnejše molekule za gradnjo svojih sestavnih delov in drugih življenjsko pomembnih molekul. Gradnja celičnih oz. življenjsko potrebnih molekul je anabolizem. Oba dela metabolizma sta usklajena. Za pravilen in uravnotežen potek biokemijskih reakcij skrbijo encimi, ki so tudi količinsko skrbno uravnavani. Za to skrbijo geni, katerih izražanje je prav tako zelo natančno uravnavano.
2. Prokariotski gen sestavlja kodirajoče področje (zaporedje nukleotidov, ki je zapis za zaporedje aminokislin proteina), pred njim pa je nekodirajoče promotorsko zaporedje, ki služi uravnavanju delovanja gena. Nanj se vežejo pomožni proteini, ki odvijajo in razprejo dvojno vijačnico, ter encim polimeraza RNA. Vežejo se tudi spodbujevalne ali zaviralne molekule, ki omogočijo/onemogočijo polimerazi RNA napredovanje po razpirajoči se DNA in sintezo ustrezne mRNA. Na koncu kodirajočega zaporedja gena pa je načeloma (pri samostojnih genih) še eno nekodirajoče področje, zaključek gena, ki je signal za konec sinteze mRNA.
3. Bakterijski geni, ki kodirajo povezane lastnosti (npr. verigo encimov za razgradnjo nekega sladkorja), so razporejeni tesno drug za drugim, za uravnavanje njihovega izražanja pa skrbi en sam skupen promotor, ki je pred kodirajočim območjem prvega gena v verigi. Taki enotni transkripcijski enoti rečemo »operon«. Iz poligenkega operona se s transkripcijo prepiše tako imenovana »policistronska mRNA«.
4. Uravnavanje izražanja genov operona je lahko »negativno« ali »pozitivno«. Pri negativnem načinu je na del promotorja, imenovan operator, vezan zaviralni protein (represor), ki onemogoča polimerazi RNA začetek transkripcije genov operona. Transkripcija je mogoča šele takrat, ko neki vzpodbujevalec (induktor) s promotorja (oz. njegovega operatorja) odmakne represor. Induktor je npr. tisti sladkor, ki ga bodo razgrajevali encimi genov tega operona.
5. Izražanja operona pa pozitivno uravnava aktivator, tj. molekula, ki se veže na aktivatorsko mesto pred promotorjem; s tem preoblikuje promotor, tako da ta postane dostopnejši za polimerazo RNA in začetek transkripcije genov operona.
6. Pri bakterijah, kjer celični kromosom ni obdan z jedrno membrano, potekata transkripcija in translacija v citoplazmi in tudi sočasno; na mRNA se že med njenim nastajanjem (še preden se transkripcija gena konča) vežejo ribosomi in sintetizirajo molekule ustreznega proteina. Iz policistronske

mRNA se drug za drugim prevajajo proteini genov operona.

7. Tudi evkariontski gen ima pred kodirajočim območjem promotor in za kodirajočim območjem tako imenovani terminator (nekodirajoče zaporedje, ki označuje konec transkripcije). Velika posebnost pa je v tem, da je »kodirajoče območje« sestavljeno iz krajših kodirajočih zaporedij (eksonov), ki jih prekinjajo daljša nekodirajoča zaporedja (introni). V jedru se med transkripcijo prepíše vse »kodirajoče območje«, kar pomeni, da je začetna mRNA prepis eksonov in intronov. Šele nato, med njenim »zorenjem«, se introni izrežejo, kodirajoči eksoni pa se spojijo v zvezno, kodirajočo mRNA. Ta gre iz jedra v citoplazmo, se vgradi v ribosome in sinteza ustreznega proteina se lahko začne. Transkripcija gena in translacija v protein sta torej pri evkariontih prostorsko in časovno ločena procesa.

8. Prokariontski genom (kromosom) je razmeroma majhen in je skoraj v celoti zaseden z geni, večinoma organiziranimi v operone. Po drugi strani so evkariontski genomi veliko večji in samo deloma zasedeni z geni. Človeški genom, ki je velik 3 milijarde nukleotidov, je samo v nekaj odstotkih zaseden z geni, vse drugo je nekodirajoča DNA, ki skrbi za pravilno strukturo kromatina in njegovo delovanje. Evkariontski geni so večinoma samostojni, kar pomeni, da vsakega uravnava lasten promotor. Pozitivno in negativno uravnavanje izvajajo različni proteinski dejavniki, ki jih kot odgovor na zunanje in notranje dejavnike izločajo okolne celice tkiva ali bolj oddaljena tkiva, ali pa tisti, ki pridejo iz okolja. Pri evkariontih je to uravnavanje večinoma posredno, saj poteka prek več stopenj medceličnega in celičnega signaliziranja.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Mislim, da ne bo težko dijakom razložiti, zakaj je organizacija genov v operon za bakterijo ugodna. »Uboga bakterija« je zelo odvisna od sprememb v okolju, ki so nenadne in hitre. Zato se jim mora hitro prilagajati. Če bi vsak gen encimov metabolične poti za razgradnjo sladkorja (hraniva), na katerega je nenadoma naletela, uravnaval lasten promotor,

bi bil odziv počasnejši in energijsko potratnejši. V operonu pa se odzove en sam skupen promotor, tako da transkripcija vseh genov, skoraj istočasno pa tudi translacija, kar zdrvita naprej. Ko hraniva zmanjka, pa vse skupaj takoj spet ugasne, ne da bi se trošila energija in čas za pretvarjanje nečesa, česar več ni. V evoluciji se je pri bakterijah izka-

zalo kot prednost tudi dejstvo, da je genom skoraj v celoti pokrit z geni; ohranjanje nekodirajoče DNA bi bilo nepotrebno »energijsko razkošje«, saj je sinteza DNA (replikacija) energijsko zahteven proces.

2. Po drugi strani pa celice v večceličnih organskih sistemih evkariontov živijo v razmeroma stabilnejšem okolju in se morajo podrežati sožitju. V človeškem telesu je na milijarde milijard celic, ki se morajo obnašati skupnosti primerno. Zato mora biti uravnavanje delovanja vsakega gena v sozvočju z uravnavanjem delovanja vseh ostalih genov v celici in tudi genov v drugih, bližnjih in bolj oddaljenih celicah. Geni so uravnavani samostojno, vendar koordinirano, in uravnavanje poteka prek številnih stopenj sporočanja med celicami in v sami celici. Za usklajeno delovanje genoma je odgovorna prostorska zgradba kromatina, zato je ta tako zapleten in večinoma zaseden z nekodirajočo, vendar skrivnostno DNA, ki deluje na polju uravnavanja. Evolucija je pri višjih organizmih ohranila nekodirajočo DNA, saj je bilo njihovo preživetje odvisno od zapletenih vedenjskih odzivov na okolje, in ne od takojšnjih »požrešnih« odzivov na spremembe, kot je to pri bakterijah.
3. Dijake bo zagotovo zanimalo, kakšna je vloga nekodirajočih intronov v evkariontskih genih. Odgovor je deloma podan že zgoraj: zaradi intronov so evkariontski geni lahko zelo veliki in zato v ogromnem kromatinu »bolj opazni«, odzivnejši in

primerneje izpostavljeni dejavnikom, ki uravnavajo njihovo izražanje. Poleg tega so se v evoluciji z mutacijami v njih rojevali tudi novi geni ali vsaj dodatni kodirajoči odseki matičnih genov, ki so tem (oziroma njihovim proteinskim produktom) izboljšali lastnosti. Zanimiva je primerjava velikosti: ves genom (kromosom) črevesne bakterije je velik 5 milijonov baznih parov, največji človeški gen pa je zaradi številnih intronov (eksoni so majhni, navadno veliki samo nekaj sto baznih parov) velik kar 2,5 milijona baznih parov, torej polovico genoma črevesne bakterije; to je gen, ki kodira distrofin, oporni protein mišičnih vlaken.

4. V učbeniku na strani 44 je na sliki prikazano izrezovanje intronov. Dijaki bodo morda vprašali, zakaj sta v zreli mRNA poleg združenih prepisov kodirajočih eksonov tudi (z rumeno barvo označeni) območji na začetku in na koncu mRNA. Razlaga je na strani 36 in tudi na strani 33: območje na začetku služi za pravilno postavitve mRNA v ribosom, območje na koncu pa zaradi zapletene sekundarne strukture (parjenje odsekov komplementarnih baz v verigi mRNA) ščiti mRNA pred prezgodnjo razgradnjo.
5. Delovanje operona je v učbeniku opisano na primeru laktoznega operona (slika na strani 42); upam, da dovolj nazorno, da bodo dijaki razumeli. Zelo lepo animacijo (čeprav na malo zahtevnejši ravni) boste našli na spletni strani <http://vcell.ndsu.nodak.edu/animations/lacOperon/movie.htm>, preprostejšo

(ki ustreza tudi sliki v našem učbeniku) pa na spletni strani <http://www.csam.montclair.edu/%7Esmalley/LacOperon.mov>.

6. Delovanje evkariontskega gena oziroma posredno, večstopenjsko uravnavanje njegovega izražanja je v učbeniku prikazano na primeru aktivacije nekega gena s hormonom, na str. 45. Ko se ustrašimo, se najprej odzovejo naši možgani, hipotalamus v njih kot odgovor sintetizira specifičen peptid, ta deluje na žlezo hipofizo, ki odgovori s sintezo drugega specifičnega peptida, ki po krvi pride do ustrezne

endokrine žleze (ima zanj receptorje), in ta odgovori s sintezo ustreznega hormona. Hormon bo deloval na celice, ki imajo zanj ustrezne receptorje. Vse drugo je na sliki. Tega se seveda dijakom ni potrebno učiti, temveč naj služi za ponazoritev zapletenih odnosov med okoljem, geni in proteini, še posebno, če se zavedamo, da naš primer obravnava en sam gen, v resnici pa jih na stres lahko odgovori veliko število in odgovor mora biti med njimi koordiniran.

VII. S SPREMEMBAMI GENOMA SE SPREMINJAJO TUDI LASTNOSTI ORGANIZMOV

CILJI

1. Razumeti povezavo gen – protein – lastnost. Razumeti pojma genotip in fenotip ter njuno povezavo. Vedeti, kaj so kompleksne lastnosti.
2. Vedeti, da se genomi pod vplivom različnih dejavnikov neprestano spreminjajo.
3. Razumeti načelo mutacije in genetskega polimorfizma.
4. Informativno spoznati vrste fizikalnih in kemijskih mutagenov in načine njihovega delovanja.
5. Razumeti kromosomske in genske spremembe ter njihov vpliv na celico.
6. Povezati vrste genskih mutacij z usodo proteinskega produkta.
7. Seznaniti se z načeli rekombinacije.
8. Spoznati osnove delovanja mobilnih genetskih elementov in jih primerjati z delovanjem virusov.
9. Dobiti informacijo o osnovnih načinih medceličnega prenosa genetskega materiala.

KLJUČNE BESEDE

- genotip
- fenotip
- lastnost
- mutacija
- genetski polimorfizmi
- spontane in inducirane mutacije
- fizikalni in kemijski mutageni
- kromosomske spremembe
- genske mutacije
- popravljalni sistemi
- rekombinacija
- mobilni elementi, transpozicija
- medcelični prenosi
- transdukcija, konjugacija, transformacija

OSNOVNI KONCEPTI

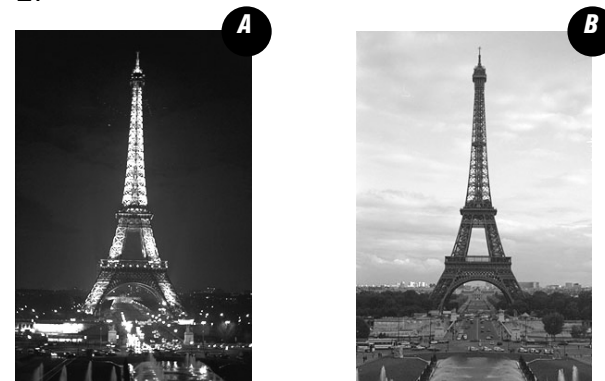
1. Genska zgradba organizma (torej zapis o njegovi zgradbi in delovanju) je genotip. Tudi v primeru, ko se dva osebka razlikujeta v enem samem genu, imata različna genotipa.
2. Celota vseh vidnih lastnosti organizma je njegov fenotip. Tudi vsaka različica istega gena ima lahko za posledico svoj fenotip.
3. Diploidni organizmi imajo homologne kromosomske pare. Na obeh homologih nekega kromosomskega para sta niza enakih genov, vendar se homologni geni lahko v podrobnostih razlikujejo (manjše razlike v nukleotidnem zaporedju). Tem razlikam pravimo genetski polimorfizem, različicama istega gena pa genska alela. Genska alela sta v obeh homolognih kromosomih nameščena v enakem kromosomskem lokusu (enak položaj).
4. Kompleksne lastnosti so posledica medsebojnega vpliva genskih alelov posameznih genov in medsebojnega vpliva alelov vseh drugih genov, pa tudi vpliva zunanjih in notranjih okoljskih dejavnikov.
5. Mutacija je trajna sprememba števila ali vrste nukleotidov, ki se prenaša iz ene celične generacije v drugo ali iz roda v rod.
6. Kromosomske spremembe prizadenejo velika območja kromosomov, s tem pa obenem tudi večje število tam prisotnih genov. Genske spremembe so večje ali manjše spremembe v območju posameznih genov.
7. Mutacija, ki prizadene regulacijsko področje gena, lahko vodi v povečanje ali zmanjšanje količine ali celo odsotnost prizadetega proteina. Mutacija, ki prizadene kodirajoče zaporedje gena, ima za posledico spremenjeno zgradbo proteina in s tem tudi spremembo njegove lastnosti oz. funkcionalnosti (aktivnosti).
8. V celici so prisotni popravilni sistemi, ki odpravljajo okvare v DNA. Če ne delujejo pravilno, se okvara prenese v naslednjo celično generacijo in govorimo o mutaciji.
9. Prerazporeditev ali rekombinacija je pojav, pri katerem si dve molekuli DNA izmenjata posamezne dele. Z rekombinacijo se lahko tudi neka (manjša) molekula DNA vključi v drugo.
10. Segmenti DNA se lahko tudi premeščajo z enega na drugo mesto v genomu; govorimo o mobilnih genetskih elementih ali transpozonih. Na podoben način se v genom vključujejo tudi nekateri virusi.
11. Deli genetskega materiala se lahko prenašajo tudi iz ene celice v drugo. Tak prenos lahko izvedejo nekateri virusi (transdukcija), do njega pa lahko pride tudi ob fizičnem stiku dveh celic (konjugacija, v primeru, da prenos izvedejo posebni prenašalci; transformacija, ko pride do neposrednega prenosa »gole« DNA).

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. To je zelo obsežno in zahtevno poglavje; zaradi gostote podatkov v njem je nevarno, da bi dijakom upadlo zanimanje za predmet. Priporočam, da se bolj posvetijo razumevanju posameznih temeljnih pojmov in fenomenov, ne pa toliko učenju golih podatkov. Bistveno je, da razumejo odnose med genotipom in fenotipom ter med mutacijo in njenimi posledicami. Prav tako je pomembno, da dojamajo, kaj je »lastnost«. V bistvu je primarna lastnost oblika in aktivnost proteina, ki ga kodira neki gen. Kakšna bo ta lastnost, je odvisno od razmerja med obema aleloma tega gena (to problematiko bomo podrobneje obravnavali v naslednjem poglavju). V nadaljevanju se proteinska različica sooči s proteinskimi različicami ostalih genov, ki vplivajo druga na drugo – proteini se namreč združujejo v strukturne ali funkcijske sklope, če so encimi, njihovi produkti vplivajo na ostale proteine, proteini lahko posredno ali neposredno vplivajo tudi na izražanje tretjih genov ipd. V vsej tej mreži interakcij je prispevek posamezne proteinske različice sicer lahko majhen, vendar ni nepomemben, vsota vseh prispevkov pa je neka splošna lastnost, ki pa je spet po svoji strani podvržena vplivom iz okolja. Končni fenotip je vsota vseh delnih in prepletajočih se lastnosti in delovanja okolja. V učbeniku smo vpliv notranjega in zunanjega okolja na splošne lastnosti prikazali na

primeru telesne višine in na primeru enojajčnih dvojčic (na strani 48).

2.



Dve sliki Pariza: ista splošna fenotipska lastnost, ki je seštevek delovanja številnih genov (lučk). Pri sliki A se izražajo eni genski aleli (svetle lučke), pri sliki B pa drugi (temnejše oziroma ugasnjene lučke in nekatere na novo prižgane na obzorju). Fenotipsko sta zato osebka (Pariza) različna.

3. Za razumevanje bistva mutacije je pomembna slika na strani 49. Načeloma govorimo o mutaciji, ko gre za stalno spremembo, ki ima neposredno fenotipsko posledico (spremembo proteina). V medicini mutacije, ki se zgodijo v nekodirajočih predelih genoma in ne vplivajo neposredno na fenotipske značilnosti, obravnavamo kot genetske polimorfizme – spremembe v strukturi DNA, po katerih se posamezniki razlikujemo. Te so osnova

za izdelovanje tako imenovanih »DNA prstnih odtisov«, uporabnih v kriminalistiki in sodni medicini.

4. Sedaj pa pozor! Odstavki, ki obravnavajo spontane in inducirane mutacije ter načine delovanja fizikalnih in kemijskih mutagenov, so namenjeni zahtevnejšim dijakom oziroma učiteljem v informacijo. Pri vsakem primeru sem se potrudil za natančno in čim preprostejšo razlago, vendar je tega preveč, da bi se povprečen dijak z veseljem posvetil snovi. Zato predlagam nekakšen »mini seminarski« način obravnave. Naj posamezen učenec doma v miru prouči enega od naštetih dejavnikov in način njegovega delovanja ter nato o svojih ugotovitvah poroča v razredu; to poročanje naj bo neobvezujoče in sproščeno.
5. Podoben pristop lahko uporabite tudi pri obravnavi oblik mutacij (v učbeniku na straneh 56–59). Ta del snovi je sicer enostavnejši od predhodnega, je pa tudi pomemben za razumevanje odnosa med gensko spremembo in fenotipom proteina.
6. Popravljalnih sistemov sem se dotaknil samo informativno, več pozornosti pa namenil rekombinaciji. Dijaki naj razumejo, da je rekombinacija prerazporeditev zaporedja DNA, torej vsaka izmenjava odsekov med dvema molekulama DNA ali pa vcep manjše molekule DNA v večjo. Med prekrižanjem kromosomov v mejozi pride do rekombi-

nacije – izmenjave odsekov (sicer homolognih, ki pa vsebujejo polimorfizme) med dvema homolognima kromosomoma. Vsak od njiju bo tako prejel nekoliko drugačen del DNA od predhodnega, in ta »novi del« bo skupaj s preostalimi, ki se niso izmenjali, tvoril »novo različico« prejšnjega zaporedja DNA kromosoma, kar bo zagotovo vplivalo na kompleksne fenotipske lastnosti.

7. Tudi mobilni genetski elementi, ki preskakujejo iz enega v drug del genoma, se tja vrivajo z rekombinacijo in posledica je prerazporejeno zaporedje ožjega okolja dogodka. Podobno je z virusi. Na strani 61 smo v učbeniku predstavili zanimivi hipotezi o poreklu virusov in mobilnih elementov; morda bosta dijake pritegnili. Bistveno je, da spoznajo, da so genomi podvrženi neprestanemu spreminjanju zaradi zunanjih in notranjih dejavnikov. Poenostavljen model recipročne rekombinacije je na strani 60 prikazan zato, da bi razumeli, kako se lahko med dvema molekulama DNA izmenjata odseka, ne pa zato, da bi se ga dijaki učili na pamet!
8. Tudi za medcelične prenose genetskega materiala velja isto: gre za informacijo, da tudi prihod DNA »iz tujine« lahko vnaša spremembe v celični genom.

VIII. DEDOVANJE LASTNOSTI — MENDLOVI EKSPERIMENTI

CILJI

1. Utrditi znanje o povezanosti med genskim alelom in lastnostjo oz. genskimi aleli in lastnostmi.
2. Razumeti načelo dominantnega in recesivnega alela.
3. Vedeti, da je dominantnost/recesivnost posledica odnosa med aleli, in to povezati s pojavom popolne ali nepopolne dominantnosti ali pa soizraznosti.
4. Poznati prvi Mendlov zakon, ki razlaga segregacijo alelov in pojem recesivnosti oz. dominance, ter drugi Mendlov zakon, ki razlaga neodvisno razporejanje alelov.
5. Razumeti pojav multiplih alelov.
6. Razumeti tudi X-vezano ter mitohondrijsko dedovanje.

KLJUČNE BESEDE

- alel
- dominantnost, recesivnost
- segregacija alelov
- homozigot, heterozigot
- dominantne, recesivne in mešane lastnosti
- soizrazni aleli
- multipli aleli
- neodvisno razporejanje alelov
- poligeni
- X-vezano dedovanje
- mitohondrijsko dedovanje

OSNOVNI KONCEPTI

1. Osnovne enote, nosilke dedovanja lastnosti, so geni.
2. Posamezno lastnost določata različici gena, imenovani alela.
3. Organizmi (celice) z enakima aleloma so homozigoti, z različnima pa heterozigoti.
4. Med mejozo se aleli, ki se pri diploidnem organizmu (celici) pojavljajo v parih, razdružijo in ločeno razporedijo (segregirajo) v haploidne spolne celice (gamete); te si torej razdelijo alele starševskih genskih parov. Vsaka gameta ima le po en alel za posamezno lastnost.
5. Aleli različnih lastnosti se v gamete razporedijo neodvisno drug od drugega.
6. Gamete se združujejo naključno, ne glede na oblike njihovih alelov. To omogoča naključen pojav vzorcev lastnosti oz. pojav mešanih lastnosti.
7. Lastnost, ki se pojavi v prvi potomski generaciji, je dominantna (prevladujoča), tista, ki se v četrtini primerov pojavi v drugi filialni generaciji, pa je recesivna (prikrita).
8. Dominanca oziroma recesivnost sta posledica odnosa med aleli. Dominantni genski alel navedno izraža protein, ki je funkcijsko učinkovitejši. Če je odnos med aleloma popolna prevlada oziroma popolna prikritost, govorimo o popolni dominantnosti. Poznamo pa tudi primere nepopolne dominantnosti; v teh primerih se pri heterozigotih pojavi mešan fenotip, saj se izražata oba alela, dominantni in recesivni. Pri tem recesivna različica (ki je sicer manj funkcionalna) vseeno nekoliko zmanjša absolutno prevlado dominantnega fenotipa (ker je tega proteina pol manj kot v homozigotnem stanju). Genska alela sta lahko tudi kodominantna (soizrazna); tudi v tem primeru se izražata oba, vendar sta enakovredna in noben ne more prevladati. Pri heterozigotih enakovredno prispevata k fenotipu, ki je v tem primeru poseben (ne mešan!) fenotip.
9. Nekateri geni imajo lahko tudi večje število alelov. Pravimo, da imajo »multiple alele«. Vseeno pa velja, da ima posameznik lahko le izbor dveh alelov od vseh možnih, sicer prisotnih v populaciji.
10. Poligen je gen, ki sam po sebi ne bi imel velikega vpliva na neko lastnost, v skupini z drugimi pa njegova različica (alel) lahko povzroči vidne razlike v fenotipu. Govorimo o genih z majhnimi, seštevajočimi se učinki. Značilen primer so nekatere duševne motnje, pri katerih je verjetno vpletenih veliko genov z majhnimi posamičnimi učinki.
11. X-vezano dedovanje je spolno vezano dedovanje, povezano z recesivnimi aleli na kromosomu X. Ženske z enim poškodovanim alelom na kromosomu X so prenašalke mutacije, vendar je to prikrito z dominantnim učinkom nepoškodovanega alela na njihovem drugem kromosomu X. Mutacija

prizadene moške potomce, ki prejmejo poškodovani kromosom X, saj nimajo drugega, nepoškodovanega kromosoma X, temveč kromosom Y.

12. Mitohondrijsko dedovanje odstopa od Mendlovega vzorca dedovanja. Na potomce prehaja izključno materina mitohondrijska DNA (iz njenega jajčeca,

mali spermij praktično nima citoplazme in mitohondrijev). Ker v mitohondrijih ne prihaja do prerazporeditev kromosomske DNA, se v nasprotju z jedrno DNA ta iz generacije v generacijo zelo malo spreminja. Zato je pri številnih vrstah mogoče raziskovati sorodstvo »po materini liniji« več generacij nazaj.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Končno smo prek molekularne genetike prišli do načel »klasične, Mendelske genetike«, ki opisuje dedovanje lastnosti. Pojem »lastnost« smo že pri prejšnjih poglavjih na molekularen način povezali z geni oz. genotipom in s proteini oz. fenotipom. Molekularno razlago smo, kolikor se je dalo, ohranili tudi pri razlagi dominantnosti in recesivnosti, natančnejša obravnava molekulskih osnov vseh možnosti odnosa med aleli pa bi bila prezahtevna za gimnazijsko raven. Nekaj malega o tem smo se sicer dotaknili v prvi točki didaktičnih priporočil pri prejšnjem poglavju.
2. Poskuse z grahovimi rastlinami in zrnjem, kot jih je izvedel Gregor Mendel, smo skušali predstaviti slikovno v poenostavljeni in čim bolj nazorni obliki. Upam, da bo dijakom prijazna. Enako velja za prikaz soizraznosti alelov, ki jo v učbeniku na strani 70 razlagamo s primerom dedovanja krvnih skupin.
3. Morda bo dijake pritegnil primer južnoafriške deklince Sandre Laing, ki je v učbeniku opisan na strani 73. Povežite ta primer z znanjem, ki so ga dijaki dobili s proučevanjem Mendlovih poskusov z grahovimi zrnji!
4. Druge oblike dedovanja (X-vezano in mitohondrijsko) so na poljuden način v učbeniku obravnavane na strani 47.
5. Dijaki naj razumejo pojav multiplih alelov in poligenskih lastnosti. Enostavni razlagi sta v učbeniku na straneh 70 in 73.



IX. POPULACIJSKA GENETIKA

CILJI

1. Razumeti povezavo med številom kombinacij različnih genskih alelov in genetsko pestrostjo.
2. Poznati pojem genetska populacija.
3. Razlikovati med fenotipsko, genotipsko in alelno frekvenco. Poznati izračun vsake od omenjenih frekvenc.
4. Poznati Hardy-Weinbergov zakon in njegov pomen pri preračunavanju med vrstami frekvenc.

KLJUČNE BESEDE

- genetska populacija
- fenotipska/genotipska frekvenca
- alelna frekvenca
- Hardy-Weinbergov zakon
- genetsko ravnotežje

OSNOVNI KONCEPTI

1. Genetska populacija je skupina posameznikov (osebkov), ki imajo značilen vzorec genskih alelov.
2. Fenotipska frekvenca je delež (izražen v odstotkih) neke vidne lastnosti (fenotipa) v populaciji. Če neka lastnost v skupini nastopa v oblikah različnih fenotipov, je vsota vseh fenotipskih frekvenc enaka 1.
3. Genotipska frekvenca je delež (izražen v odstotkih) nekega genotipa v populaciji, ki nastopa pri izražanju neke lastnosti; npr. delež heterozigotov Aa oz. homozigotov AA oz. homozigotov aa.
4. Alelna frekvenca pa je delež enega od v populaciji sicer prisotnih alelov nekega gena. Če npr. ugotovljamo delež alela A, moramo upoštevati, da je pri homozigotih AA prisoten v dveh kopijah in pri heterozigotih Aa v eni kopiji. Zato moramo ugotoviti število homozigotov in tudi heterozigotov; število prvih pomnožimo z 2 in prištejemo število heterozigotov. Na ta način ugotovljeno število alela A delimo s številom vseh alelov v populaciji (dvakratno število posameznikov). Seveda je izračun alelne frekvence bolj zapleten pri multiplih alelih. Tudi seštevek vseh alelnih frekvenc je enak 1.
5. Če v sistemu dveh alelov frekvenco alela A izrazimo s črko p, frekvenco alela a pa s črko q, velja enačba: $p + q = 1$. To razmerje alelov se v game-tah ohrani in pri naključnem parjenju velja Hardy-Weinbergov zakon, ki ga ponazarja enačba: $(p + q) \times (p + q) = p^2 + 2pq + q^2 = 1$. To pomeni, da pri naključnem parjenju pričakujemo naslednje frekvence genotipov: p^2 (frekvenca homozigotov AA), $2pq$ (frekvenca heterozigotov Aa) in q^2 (frekvenca homozigotov aa).
6. Če je populacija v »genetskem ravnotežju«, se frekvence alelov iz generacije v generacijo ne spreminjajo in frekvence genotipov bodo v razmerjih: p^2 , $2pq$ in q^2 .
7. Če je v populaciji frekvenca enega od alelov zelo nizka, bo tudi frekvenca homozigotov za ta alel nizka.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Poglavje, ki bi zaradi matematičnega pristopa lahko pri številnih dijakih vzbudilo odpor do snovi, sem skrčil na najnujnejšo informacijo. Vedo naj, kaj je genetska populacija in zakaj v njej lahko vlada velika genetska pestrost (raznolikost). To je razloženo v prvem odstavku poglavja.
2. Sledijo definicije fenotipske, genotipske in alelne frekvence ter preprost prikaz njihovih izračunov.

3. Nadaljujemo z uvedbo pojma »genetsko ravnotežje«, ki ga ponazarja Hardy-Weinbergov zakon.
4. Najpomembnejši je konec poglavja, kjer je na primeru redke recesivne bolezni prikazano, da nizka frekvenca recesivnega alela v populaciji še ne pomeni tudi njegovega majhnega vpliva. Primer je poučen, saj temelji na preračunavanju med vsemi tremi omenjenimi oblikami frekvenc in tako lepo oriše njihovo vlogo pri pridobitvi pomembne medicinske informacije. Naj se dijaki malo poigrajo z računanjem, in videli bodo, da lahko iz podatka, da

redka recesivna bolezen prizadene 1 na 40.000 prebivalcev, s pravilnim preračunavanjem med frekvencami lahko izračunajo delež prenašalcev te bolezni v populaciji. Pogoji za pravilno računanje je, da so se pred tem naučili, kaj pomeni posamezna frekvenca in kako jo izračunamo.

5. Za zahtevnejše obstaja spletna stran, posvečena Hardy-Weinbergovemu zakonu, na kateri so predstavljeni računski problemi iz populacijske genetike: <http://science.nhmccd.edu/biol/hwe.html>.

X. GENSKO INŽENIRSTVO IN BIOTEHNOLOGIJA

CILJI

1. Razlikovati med molekulskim in celičnim kloniranjem ter kloniranjem osebkov.
2. Razumeti postopek molekulskega kloniranja in genskega inženirstva.
3. Spoznati verižno pomnoževanje DNA s polimerazo (PCR).
4. Seznaniti se z biotehnološkim pomenom genske tehnologije.
5. Vedeti, kaj so transgenski organizmi, kakšen je njihov biotehnološki pomen ter kakšna družbeno-etična in ekološka vprašanja se postavljajo v zvezi z njimi.
6. Razpravljati o argumentih za ali proti gensko spremenjeni hrani.

KLJUČNE BESEDE

- klon
- celično in molekulsko kloniranje
- vektor
- restrikcijski encim
- rekombinantna DNA
- genska tehnologija, gensko inženirstvo
- PCR – verižna reakcija s polimerazo
- biotehnologija
- transgen (gen organizma A, ki ga prenesemo v organizem B)
- transgenski organizem (v tem primeru organizem B)
- gensko spremenjena hrana
- biološka pestrost

OSNOVNI KONCEPTI

1. Celični klon je kolonija celic, ki so vse potomke ene celice in imajo zato enako dedno zasnovo. Klon je tudi višji organizem, ki ima enako gensko zasnovo kot njegov dvojnik; enojajčna dvojčka sta drug drugemu klon.
2. Postopek pomnoževanja molekul DNA ali delov teh molekul je molekulsko kloniranje. Pri genskem inženirstvu molekule DNA načrtno spreminjamo in jih pomnožujemo. Z restrikcijskimi encimi režemo DNA na manjše fragmente in te prerazporejamo v želena nova zaporedja, ki jih nato pomnožimo v hitro rastočih oz. pomnožujočih se gostiteljskih celicah (npr. bakterijah). Če DNA (npr. neki gen), ki smo jo vnesli v npr. bakterijske celice, v njih tudi izrazimo, lahko pridobimo velike količine »rekombinantnega« proteina. »Rekombinanten« je zato, ker smo njegov gen pred tem vcepili v nosilno molekulo DNA (vektor: plazmid ali virus).
3. Sodobna biotehnološka proizvodnja temelji na genski tehnologiji, s katero uvajamo gene za uporabne proteine v gostiteljske celice, kjer se ti na preprost način razmnožijo in izrazijo v obliki svojih proteinskih produktov.
4. Verižna reakcija s polimerazo (PCR) je način hitrega pomnoževanja odsekov molekul DNA, katerih robna zaporedja nukleotidov poznamo. Nanje, potem ko smo toplotno razprli dvoverižno DNA, večemo komplementarna oligonukleotidna začetnika, iz katerih termostabilen encim DNA-polimeraza Taq po načelu replikacije DNA sintetizira obe novi komplementarni verigi. Ker je encim temperaturno obstojen, postopek ponavljamo in v nekaj urah pridobimo na milijone kopij omenjenega odseka DNA.
5. Transgen je gen, ki ga prenesemo iz enega organizma v drugega. Prejemnik gena je v primeru, ko se tuji gen vgradi v njegov genom (v vse telesne celice), transgenski oziroma gensko spremenjeni organizem. Gensko spremenjeni organizem je tudi tisti, pri katerem smo v njegovem genomu spremenili ali odstranili njegov lastni gen; tudi tukaj je pogoj, da je sprememba prisotna v vseh celicah, zato se postopki transgeneze oziroma spreminjanja genov izvajajo v zarodnih celicah oz. v zgodnjih zarodkih.
6. Gensko spremenjene živali uporabljamo za preučevanje delovanja genov in molekularnih mehanizmov bolezni ter za poskuse pridobivanja organov za presajanje. V kmetijstvu uporabljamo gensko spremenjene rastline, ki so odpornejše proti vremenskim spremembam ali škodljivcem ali pa imajo izboljšane kakovostne oz. prehranske lastnosti. So osnova »gensko spremenjene hrane«, ki po svetu zbuja zelo različne odzive. Znanstveno ni bilo dokazano, da bi gensko spremenjena hrana škodljivo vplivala na zdravje ljudi in živali.
7. Vnos gensko spremenjenih organizmov v naravo načelno povečuje biološko pestrost, v primeru

izpodrinjanja avtohtonih vrst pa jo zmanjšuje. Zato so pred vsakim izpustom v okolje potrebna dolgo-

letna preučevanja morebitnih neželenih učinkov; ta preučevanja potekajo v zaprtih sistemih.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Verjetno bo to poglavje za učence zanimivo, saj jih seznanja z aktualnim področjem uporabe genetike v znanosti in biotehnologiji. Potrebno je, da razumejo različne vrste kloniranja in da se seznanijo s postopkom molekulskega kloniranja. Na strani 87 so v učbeniku prikazani življenjski primeri dosežkov genskega inženirstva. Dijakom povejte, da danes v epruveti lahko po svojih željah prerazporejamo ali spreminjamo nukleotidna zaporedja genov, in sicer na osnovi računalniškega predvidevanja strukture in lastnosti proteina, ki ga bo kodiral spremenjeni gen. Tak gen nato razmnožimo in izrazimo v primernih gostiteljskih celicah in pridobimo želeno biološko učinkovino.
2. Precej besed je namenjenih reakciji verižnega pomnoževanja DNA s polimerazo, saj je to resnično učinkovita in sodobna metoda hitrega pridobivanja velikih količin želenih fragmentov DNA. Te lahko uporabimo za izdelovanje genskih konstruktov (kot smo omenili zgoraj), za raziskave zanimivih področij genomov in za natančne preiskave v medicinski diagnostiki. Verjetno ste opazili, da je slika postopka PCR na strani 86 precej poeno-

stavljena. V besedilu razlage sem povedal, da s PCR-začetnikoma omejimo območje DNA, ki ga želimo pomnožiti, na sliki pa je v vrstici C razvidno, da gre pomnoževanje v obeh smereh izven te omejitve. To je sicer res pri prvem ciklu PCR, že v nekaj naslednjih ciklih pa se pojavijo fragmenti, ki resnično potekajo samo od enega do drugega PCR-začetnika. Teh je z naraščanjem števila ciklov vedno več in kmalu zelo prevladajo nad daljšimi pomnožki. Če se vam zdi primerno, se učenci lahko o tem prepričajo tako, da si na list papirja narišejo npr. deset zaporednih ciklov PCR.

3. Na straneh od 89 naprej so temeljito predstavljeni argumenti za in proti genski tehnologiji, o gensko spremenjeni hrani in o vplivih na okolje. Naj dijaki o tem razpravljajo, vendar naj pri oblikovanju svojih stališč uporabijo že pridobljeno znanje genetike in razmišljajo racionalno. Pustite jim pravico do lastnega mnenja, vendar vodite razpravo tako, da se ob vsakem (naj bo za ali proti) postavi nasprotno alternativno mnenje. Dilemo, katero je pravo, poskušajte rešiti z uporabo argumentov znanja iz genetike.

XI. GENSKA TEHNOLOGIJA IN MEDICINA

CILJI

1. Vedeti, da okvare genov lahko povzročijo bolezni. Povezati genske vzroke in posledice na ravni proteinov oz. fenotipa.
2. Razlikovati med somatskimi genskimi okvarami (okvarami v celicah odraslega organizma) in genskimi okvarami, ki so vzrok za genetske bolezni.
3. Razlikovati med dominantnimi, recesivnimi in X-vezanimi boleznimi. Vedeti, kaj so enogenske, večgenske in večfaktorske bolezni.
4. Razumeti načelo nagnjenosti h genetski bolezni.
5. Poznati osnove genske diagnostike. Seznaniti se z metodami, ki jih uporabljamo pri genski preiskavi.
6. Seznaniti se z osnovami genetske preiskave za identifikacijo oseb.
7. Spoznati osnovne principe genskega zdravljenja.
8. Razumeti osnovne spodbude diferenciacije celic. Seznaniti se z vrstami matičnih celic.
9. Razumeti postopek kloniranja osebkov s prenosom jedra. Seznaniti se z vzroki, ki omejujejo neuspešnost postopka.

KLJUČNE BESEDE

- monogenske bolezni
- poligenske bolezni
- večfaktorske bolezni
- genske okvare
- dominantne, recesivne in X-vezane bolezni
- genska diagnostika
- hibridizacija
- DNA-lovka, sonda
- elektroforeza
- genetsko svetovanje
- mikrosateliti
- identifikacija oseb
- gensko zdravljenje
- matične celice
- kloniranje osebkov

OSNOVNI KONCEPTI

1. Kadar okvare genov prizadenejo dovolj veliko število celic, se odražajo kot okvare metabolizma in okvare tkiv oziroma organov. Če se genska okvara zgodi v zarodni oziroma spolni celici ali kadar prizadene vse celice zgodnjega zarodka, bo posledično prisotna v vseh celicah odraslega organizma in se bo tudi prenašala iz roda v rod. Govorimo o trajnih genskih spremembah oziroma mutacijah, katerih posledica so genetske bolezni.
2. Če je bolezen posledica okvare enega samega gena, govorimo o enogenski (monogenski) bolezni. Če je okvarjenih več genov, je bolezen večgenska (poligenska). Na obliko (fenotip) bolezni pa lahko poleg okvar genov vplivajo tudi nekateri drugi dejavniki (npr. dejavniki okolja); takrat govorimo o večfaktorskih boleznih.
3. Številne večgenske bolezni so posledica kombinacije podedovanih genskih mutacij in v življenju pridobljenih genskih okvar. Podedovane genske spremembe v teh primerih pomenijo večje nagnjenje k bolezni, do katere pride le v primeru, ko dovolj veliko število telesnih celic po naključju doživi spremembe še v nekaterih drugih genih.
4. Genetska bolezen je dominantna, če za njen nastop zadostuje poškodba enega samega alela. Pri recesivni bolezni sta poškodovana oba genska alela, heterozigoti (imajo en poškodovan in en normalen alel) so zdravi, vendar prenašalci bolezni.
5. Genska diagnostika temelji na ugotavljanju razlik med genskimi aleli, odgovornimi za bolezen. Razlike odkrijemo s preiskavo dela DNA (fragmenta DNA), v katerem je kritična sprememba. Fragmente DNA lahko pridobimo z razrezom molekul DNA z restrikcijskimi encimi ali s pomnoževanjem s PCR (verižna reakcija s polimerazo), pri kateri uporabimo PCR-začetnika, ki omejujeta območje DNA, ki ga želimo preiskati.
6. Z elektroforezo želimo fragment ločiti od drugih, ugotovimo pa ga z vezavo preiskovanemu zaporedju komplementarne verige DNA (hibridizacija gensko-specifične DNA-sonde oz. DNA-lovke), ki smo jo pred tem primerno označili. Včasih že iz dolžine fragmenta pridobimo diagnostičen podatek, sicer pa so potrebne nadaljnje preiskave, npr. določitev nukleotidnega zaporedja. V primeru pomnoževanja s PCR identitete fragmenta ni potrebno ugotavljati, saj je ta oblika pomnoževanja specifična.
7. Genska diagnostika je lahko klinična (potrditev bolezni), predrojstvena (ugotavljanje prisotnosti bolezni že pri zarodku) ali neonatalna (ugotavljanje bolezni takoj po rojstvu). Rezultat preiskave skupaj s prizadeto družino obravnava zdravnik – genetski svetovalec. Genska diagnostika je zgodnja, hitra in natančna in lahko prispeva k pravočasnosti ali

izboljšanju zdravljenja oz. lajšanju poteka bolezni. Lahko pomaga tudi omejevati širjenje genetskih bolezni. Večinoma jo izvajamo pri družinah s tveganjem (»rizične družine«); to so družine, v katerih je bolezen prisotna ali je bila prisotna pri posameznikih v prejšnjih generacijah. Z gensko preiskavo kritičnih genov pri članih rizičnih družin oz. pri osebah s tveganjem lahko ugotavljamo tudi prenašalstvo bolezni in v nekaterih primerih tudi nagnjenost k bolezni. Ker genetskih bolezni v večini primerov še ne znamo pozdraviti, genska preiskava odpira številna etična vprašanja.

8. Z gensko preiskavo zelo polimorfnih zaporedij v genomu lahko ugotavljamo razlike med posamezniki. Mikrosateliti so zaporedja ponavljajočih se nukleotidov oz. sledečih si ponovitev več različnih nukleotidov, za katera so značilne velike alelne razlike pri posamezniku in med posamezniki. Z elektroforezo izoliranih mikrosatelitskih fragmentov ugotovimo, da se po njihovih dolžinah posamezniki zelo razlikujemo. Elektroforezna slika večjega števila (7–9) mikrosatelitov je podobna črtasti kodi, kot jo sicer uporabljajo pri označevanju trgovskih izdelkov; verjetnost, da se bosta dve osebi ujela v vseh 14–18 »črtah« (dolžinah alelov) je zelo majhna. Na opisani preiskavi temelji določevanje razlik med posamezniki oz. identifikacija oseb, ki jo uporabljamo v sodni medicini in kriminalistiki.
9. Gensko zdravljenje temelji na zamenjavi poškodovanega gena z normalnim v čim večjem številu

celic obbolelega organa oziroma na dodajanju več kopij normalnega gena v celice obbolelega organa. Somatsko gensko zdravljenje je zdravljenje telesnih celic odrasle osebe; poseg sicer spremeni celični genom, vendar se ta sprememba ne more prenesti na potomce. Zarodno gensko zdravljenje pa je poseg v zarodne celice oziroma v vse celice zgodnjega zarodka; posledica je prisotnost spremembe v vseh celicah bodoče odrasle osebe in seveda tudi njen prenos na potomce. Iz varnostnih in etičnih razlogov so posegi v genom zarodnih celic ali zarodka prepovedani.

10. Kloniranje osebkov s prenosom jedra pomeni odvzem jedra iz telesne celice odrasle osebe, njegov vnos v jajčno celico, iz katere je bilo predhodno odstranjeno njeno jedro, ter vnos tako nastalega konstrukta v maternico ženskega osebkov, ki razvije zarodek in nato rodi klon osebe, dajalca jedra telesne celice. Dajalec jedra in klon imata namreč popolnoma enako genetsko zasnovo. Tudi enojajčna dvojčka sta drug drugemu klon, vendar sta nastala s cepitvijo zgodnjega zarodka in sta njuna (sicer enaka) genoma normalni kombinaciji materinega in očetovega dednega materiala – v nasprotju s prej omenjenim klonom, ki je nastal s prenosom jedra.
11. Kloniranje s prenosom jedra je pospešilo raziskave matičnih celic in njihove diferenciacije. Potrdilo je, da na razvoj ne vplivajo samo geni, temveč tudi okolje med samim razvojem in v življenju osebkov.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. V prvem delu tega poglavja obravnavamo povezavo med mutacijami in gensko pogojenimi boleznimi. Ta del se navezuje na snov, ki smo jo že obravnavali v poglavju o mutacijah (poglavje VII). Pomembno je, da dijaki razumejo povezavo med vzroki (genskimi spremembami oz. mutacijami) in končnimi posledicami na ravni proteinov oz. fenotipa celice. Na strani 97 smo v učbeniku tako povezavo prikazali s konkretnim primerom bolezni (srpasta celična anemija). Ko govorimo o dominantnih, recesivnih in X-vezanih boleznih, se bomo spomnili VIII. poglavja, ki obravnava osnovna načela dedovanja, in tudi primera recesivne bolezni iz IX. poglavja.
2. V delu, ki obravnava gensko diagnostiko, poudarite, da genska preiskava temelji na preiskavi manjših delov (fragmentov) DNA, ki jih moramo pridobiti v dovolj veliki količini, da jih lahko opazujemo. Velike molekule DNA (kromosomsko DNA) razrežemo z restrikcijskimi encimi in dobljene fragmente DNA ločimo po velikosti z elektroforezo. Pozor! Posamezna črtica v nosilni podlogi (gelu) po končani elektroforezi ne predstavlja samo »enega fragmenta« (čeprav v žargonu govorimo tako), temveč veliko število enakih molekul (fragmentov), toliko, kolikor je bilo celic, iz katerih smo v začetku poskusa izolirali DNA; dovolj velike koncentracije posameznih fragmentov so pogoj, da sploh vidimo črtice na elektroforeznem gelu! Po končani elektroforezi iskani »fragment« poiščemo z označeno DNA-sondo, ki je zanj specifična (komplementarna); postopek poteka po načelu hibridizacije in je v učbeniku ilustriran na strani 102. Fragmente DNA lahko dobimo tudi z verižnim pomnoževanjem z reakcijo PCR; v tem primeru že takoj dobimo iskani košček DNA. Nadaljnja preiskava v obeh primerih ugotovi, ali je v fragmentu prisotna mutacija in kakšna je. Menim, da je dovolj, da se dijaki samo seznani z opisanimi metodami in da dobijo občutek, kako vse skupaj poteka!
3. Enako velja za opis genetske preiskave za potrebe sodne medicine in kriminalistike. Na elektroforeznih slikah na straneh 104 in 105 so zaradi poenostavitve prikazani homozigotni primeri, kot da bi vse osebe za vsako mikrosatelitsko zaporedje imele enako dolga alela. To seveda ni verjetno, saj so mikrosateliti med najbolj variabilnimi zaporedji v genomu. Pravilno bi bilo, da bi pri vsakem preiskovancu za posamezen mikrosatelit prikazali po dve različno dolgi črtici. Kadar pri preiskavi uporabljamo 7–9 različnih mikrosatelitskih označevalcev, po njihovi pomnožitvi s PCR in elektroforezi tako dobimo 14–18 črtic, kar je »genetski profil« posameznika, ki ga razlikuje od drugih. Podobno kot na blagajni v trgovini optična naprava razlikuje med črtastimi kodami posameznih izdelkov!

4. Tudi gensko zdravljenje obravnavajte kot zanimivo informacijo. Kljub temu pa naj dijaki le razlikujejo somatsko gensko zdravljenje od zarodnega! Čeprav zamenjava poškodovanega gena z nepoškodovanim (ki ga imenujemo tudi »terapevtski gen«) poteka po načelu recipročne rekombinacije, s posegom ta del genoma vseeno lahko nekoliko »zrahljamo«, kar se lahko pokaže kot šibka (za mutacije bolj dovzetna) točka v naslednjih generacijah. Poleg tega nam zadeva lahko »uide iz rok« in terapevtski gen vgradimo na napačno mesto, s čimer uničimo kakšen drug gen ali izzovemo nepotrebno aktivacijo kakšnega gena. Postopek torej tehnično še ni dovolj obvladljiv, da bi z njim tvegali pri zarodnih celicah. Zato poskusi zarodnega genskega zdravljenja (še?) niso dovoljeni pri človeku. Z dijaki razpravljajte tudi o etičnih omejitvah!
5. V delu, ki obravnava kloniranje sesalcev (kar se nanaša tudi na človeka), naj se dijaki samo sezna-

nijo z osnovnimi podatki o matičnih celicah in njihovem razvoju oz. diferenciaciji. Dobro pa bi bilo, da bi razumeli postopek kloniranja s prenosom jedra, saj je to tema, ki bo v prihodnosti še zelo burila duhove! Razumejo naj tudi razliko med omenjenim postopkom in kloniranjem s cepitvijo zarodka (kot se zgodi pri nastanku enojajčnih dvojčkov). Pojasnite jim, zakaj s prenosom jedra pravzaprav ni mogoče ustvariti »popolnih klonov«. Če bi npr. hoteli na ta način ustvariti 10 klonov, bi potrebovali 10 celic nekega dajalca, v katerih so celična jedra (čeprav imajo enak genom) pred tem lahko doživela različne poškodbe (mutacije). Potrebovali bi tudi 10 jajčec različnih darovalk, kar že predstavlja razlike v notranjem okolju. Še večje bi bile razlike notranjega okolja 10 različnih »mater«, v katerih bi se razvijali klonirani zarodki. Rojeni otroci bi sicer bili zelo podobni drug drugemu, nikakor pa ne povsem enaki.

XII. UPORABA GENSKE TEHNOLOGIJE V MEDICINI ODPIRA ETIČNA VPRAŠANJA

CILJI

1. Razpravljati o etičnih dilemah uporabe genske tehnologije v medicini.
2. Seznaniti se z možnimi zlorabami genske tehnologije pri preiskavah genoma človeka.
3. Zavzeti stališče glede reprodukcijskega in terapevtskega kloniranja.
4. Razpravljati o prihodnosti genetskih raziskav.

KLJUČNE BESEDE

- etičnost genske diagnostike
- nagnjenost k bolezni
- delodajalci in zavarovalnice
- blastocista
- zarodek
- onnipotentnost (totipotentnost), pluripotentnost
- reprodukcijsko in terapevtsko kloniranje

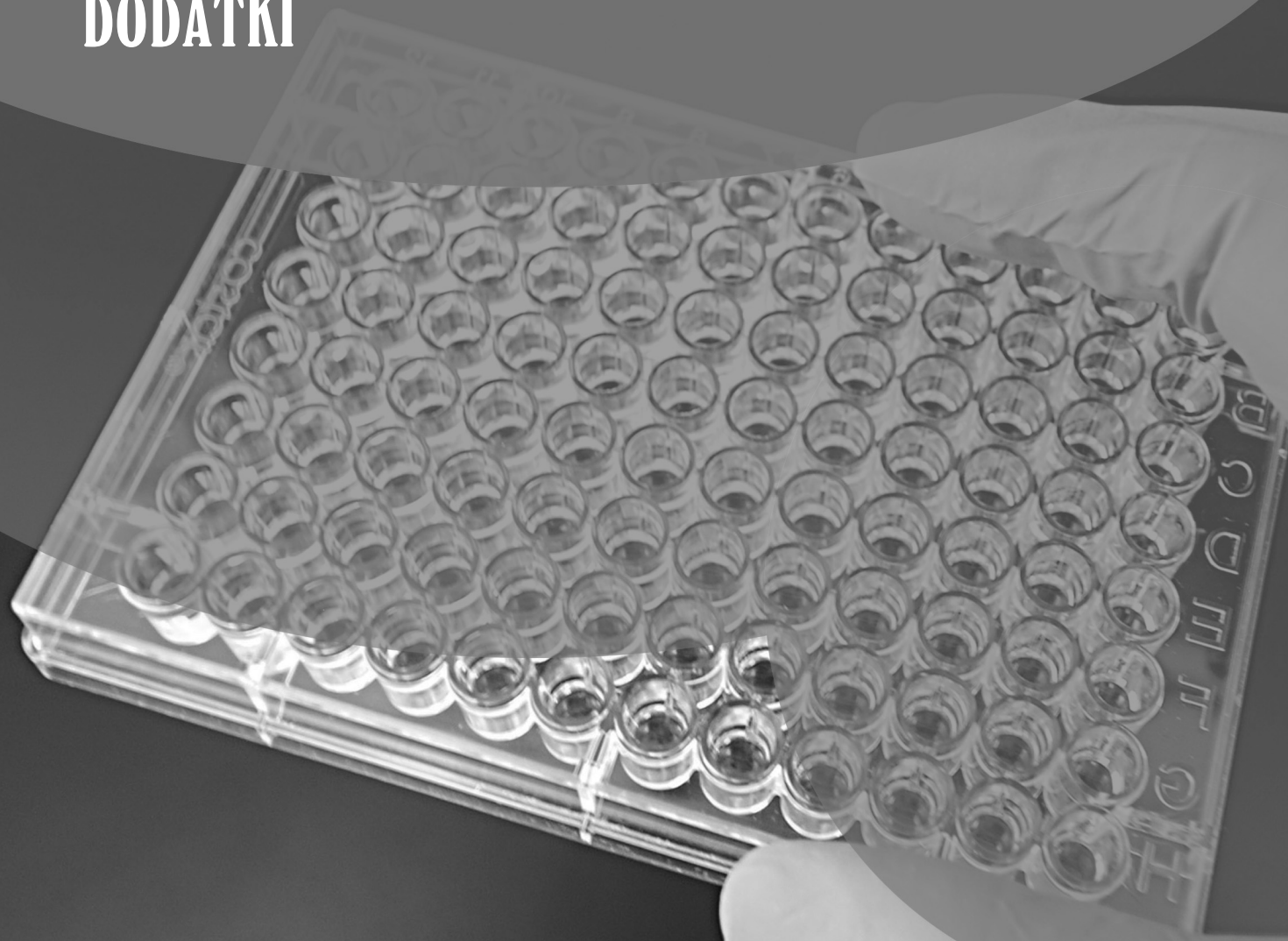
OSNOVNI KONCEPTI

1. Genska preiskava omogoča zgodnjo, hitro in natančno diagnostiko genetskih bolezni in okvar.
2. Čeprav večine genetskih bolezni še ne zdravimo, je zgodnja diagnostika pomembna za zgodnje, pravočasno in primernejše ukrepanje. S tem v številnih primerih lahko zavremo ali vsaj močno olajšamo potek bolezni.
3. Odkrivanje nagnjenosti k bolezni omogoči izogibanje dejavnikom tveganja in poveča pripravljenost na ustrezno zgodnje ukrepanje ob morebitnih prvih sumljivih znakih v prihodnosti. Po drugi strani lahko te informacije zlorabijo delodajalci in zavarovalnice.
4. Reprodukcijsko kloniranje človeka je nevarno, in tudi etično ni sprejemljivo.
5. Možnosti terapijskega kloniranja so v različnih družbah sprejete zelo različno, kljub temu pa pri našajo upanje za uspešnejše zdravljenje hudih, danes še neozdravljivih bolezni in poškodb.

DIDAKTIČNA PRIPOROČILA

1. Poglavje prikazuje tako poglede, ki sprejemajo različne pristope genske tehnologije, kot tudi tiste, ki jih zavračajo. Spodbujajte razpravo, v kateri naj dijaki povedo svoje osebno stališče in tega soočijo z nasprotnim. Ko posredujete, bodite nevtralni, vendar uporabite znanstveno utemeljene argumente!
2. Dijaki naj razumejo razliko med normalnim spolnim razmnoževanjem in kloniranjem s prenosom jedra. Prav tako tudi razliko med reprodukcijskim in terapijskim kloniranjem.

DODATKI



OSNOVNA LITERATURA

P. A. Bauerle, N. Landa: V svetu celice in genov. Šolska enciklopedija. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, 1998. ☞ Knjiga, namenjena otrokom med 10. in 14. letom. Preproste razlage, povezava z znanjem, ki so ga učenci osvojili v osnovni šoli. Informacija o predhodnem znanju.

D. L. Nelson, M. M. Cox: Lehninger Principles of Biochemistry. 4. izdaja. W.H. Freeman and Company, New York, 2005. ☞ Odličen univerzitetni učbenik s poglavji iz molekularne biologije in molekularne genetike.

B. D. Hames, N. M. Hooper: Biochemistry. Instant Notes. 2. izdaja. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 2001. ☞

Zelo sistematičen in preprost učbenik za hiter pregled nad poglavji iz molekularne biologije in genetike. Zelo priporočljiv!

P. C. Winter, G. J. Mickey, M. L. Fletcher: Genetics. Instant Notes. 2. izdaja. BIOS Scientific Publishers Limited, Oxford, 2001. ☞ Zelo sistematičen in preprost učbenik za hiter pregled nad poglavji iz genetike. Zelo priporočljiv!

P. J. Russell: Genetics. 3. izdaja. Harper Collins Publishers, New York, 1992. ☞ Eden boljših in najpopolnejših univerzitetnih učbenikov iz genetike.

PRIPOROČENE SPLETNE STRANI Z ANIMACIJAMI

<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/> ☞ Kimball's Biology Pages: zelo dober povezovalni spletni učbenik biologije.

<http://web.mit.edu/esgbio/www/> ☞ MIT Biology HyperText Book: zelo dober spletni učbenik biologije in genetike.

<http://www.biologycorner.com/bio4/unit1.php> ☞ Biology 4A Syllabus: odlične povezave na ustrezna besedila, probleme in animacije.

<http://science.nhmccd.edu/biol/bio1.html> ☞ Biology Reference Sites: seznam poglavij, odlične povezave na ustrezna besedila in animacije.

<http://www.kensbiorefs.com/MolecularGen.html#anchor149018>

☞ Biology Web Site References for Teachers and Students: zelo dobre povezave na besedila in ilustracije po posameznih pojmi.

<http://www.dnafb.org/dnafb/> ☞ DNA From the Beginning: zelo dobre animacije in razlage.

http://www.edumedia.fr/m217_l2-genetics.html ☞ EduMedia: odlične animacije.

Popravki besedila v učbeniku

Opravičujemo se za spregledane napake. Ker pomenijo tudi pomenske spremembe, opozarjamo nanje.

Stran 8

V toplotnem diagramu nastajanja vesolja je na koncu osi X napačno število 12×10^{32} . Pravilna številka je 12×10^9 , saj govorimo o milijardah let.

Stran 22

Desni odstavek, šesta vrstica; pravilno: »... Celica je lahko tudi v tako imenovani »fazi mirovanja« ...«

Stran 26

Levi odstavek, četrta vrstica; pravilno: »... kvasovka 1×16 , ...«

Stran 37

Genetski kod – tabela:

Četrty kvadrant v zgornji vrstici: kodon UGG (Trp) ne bi smel biti v poudarjenem tisku.

Drugi kvadrant v drugi vrstici: pri vseh štirih Trp kodonih bi moral prvi nukleotid biti C in ne U. V prvem kodonu je napaka tudi pri drugem nukleotidu; pravilno je CCU namesto UUU.

Četrty kvadrant v drugi vrstici: napačen je četrty Arg kodon; pravilno je CGG namesto CCG.

Napis nad tabelo bi se moral glasiti: »Drugi nukleotid v kodonu«.

Napis na desni strani ob tabeli bi se moral glasiti: »Tretji nukleotid v kodonu«.

Stran 55

Slika kromosomskih aberacij, prva vrstica, zadnja aberacija; nepravilno: »inverzija odseka BC BC«; pravilno: »inverzija odseka BC«.

Stran 88

Slika paradižnikovih rastlin: v spremljajočem besedilu sta povsod zamenjani besedi »desno« in »levo«. Pravilno besedilo je: »Paradižnikova rastlina na levi je transgenska, saj so vanjo

vnesli bakterijski gen, katerega produkt je za nekatere žuželke strupen protein. Rastlina na desni je navadna paradižnikova rastlina. Obe so izpostavili gosenicam, ki se prehranjujejo z listi paradižnika. Rastlina na desni je zato popolnoma objedena, transgenska rastlina na levi pa nedotaknjena.«

Stran 100

Tretji odstavek na desni, prva vrstica; pravilno: »Temeljna metoda genske preiskave ...«.

Slovarček ključnih izrazov

Stran 119

antikodon, druga vrstica; tiskovna napaka: nepravilna beseda »nukelotidov«; pravilno: »nukleotidov«.

avtotrof, druga vrstica; tiskovna napaka: nepravilna beseda »doioksid«; pravilno: »dioksid«.

biološka membrana, peta/šesta vrstica: nepravilno »in celičnih organelov«; pravilno: »in celične organele« ...

Stran 120

degeneriranost, predzadnja vrstica, prvi kodonski triplet: namesto UAA je pravilno UUA.

Stran 121

genetska dogma, zadnja vrstica: namesto »DNA – RNA« je pravilno »DNA ↔ RNA«.

Stran 124

oligonukleotid, druga vrstica: namesto »5' – 3'« je pravilno »5' → 3'«.

Stran 125

polimeraza, druga vrstica: namesto »5' > 3'« je pravilno »5' → 3'«.

primaza, druga vrstica: namesto »5' > 3'« je pravilno »5' → 3'«.

ZAPISKI

Radovan Komel

GENETIKA

OD DVOJNE VIJAČNICE DO KLONIRANJA

Priročnik za učitelje

Izdala in založila: Založba Rokus d.o.o.

Za založbo: Rok Kvaternik

Glavni urednik: Vasja Kožuh

Urednica: Jelka Pogačnik

Likovno grafična urednica: Beti jazbec

Vodja produkcije: Klemen Fedran

Oblikovanje notranjih strani in prelom: Beti Jazbec

Tisk: Mond grafika d.o.o.

Naklada: 500 izvodov

Ljubljana, junij 2006

Založba je za objavljeno besedilo in slikovni material poskusila pridobiti ustrezne materialne pravice. V primerih, ko nam to ni uspelo, se morebitni upravičenci lahko obrnejo na naš naslov.