

Struktura a typy eukaryotních chromosomů

- chromosomy (chroma – barva, soma – tělo) byly popsány už v 19. století jako drobné **barvitelné útvary** v buňkách
- 1903 nezávisle Sutton a Boveri prokázali jejich souvislost s **dědičností**
- kromě **chromosomů jaderných** nacházíme v buňkách i jiné mimo jádro – **plasmidy** u prokaryot, chromosomy **organel** (plastidů a mitochondrií) u eukaryot
- chromosomy, jejich strukturu a funkci studuje **cytogenetika**
- cytogenetika se rozvíjí v roce 1956 kdy Tjio a Levan prokázali **46 lidských chromosomů** (ne 48 jako u primátů)
- první popsanou chorobou v důsledku chromosomální aberace byl **Downův syndrom** (Lejeune 1959)
- **druhým mezníkem** byl objev barvicích technik na začátku 70. let
- zavedení metod **molekulární cytogenetiky** v 80. a 90. letech bylo zatím posledním skokem
- cytogenetika prokázala **změny chromosomů** v etiologii vrozených vad, poruch plodnosti, nádorů a dalších chorob – chromosomální vyšetření má proto místo v **diferenciální diagnostice** a prevenci závažných **postížení** člověka

Struktura

Jsou soustředěny do jádra buněk. Obsahují **3 základní biopolymery** - DNA, bazické bílkoviny (histony), bílkoviny kyselého charakteru

DNA

- v lidských chromosomech je přibližně **20 500 genů** a DNA v chromosomech obsažená tvoří **2 x 23 molekul** obsahujících celkem 3 miliardy párů bází v haploidní sadě – celková délka cca. 2m
- každý chromosom tvoří **1 lineární molekula DNA** v komplexu s histony = jedna **chromatida**
- po replikaci DNA v **S-fázi buněčného cyklu** každý chromosom tvoří 2 chromatidy = 2 molekuly DNA – tento stav trvá až do **rozchodu sesterských chromatid** v anafázi

Histony

- bílkoviny, ve kterých je více **bazických aminokyselin** – lysinu a argininu
- jedná se o **polykationty** a tak se dobře a pevně vážou na **polyaniont** DNA
- existuje **pět typů**: H1, H2A, H2B, H3 a H4
- sekvence aminokyselin histonů a poměr histonů a DNA je obdobná u většiny druhů – histony jsou evolučně **nejkonzervativnější proteiny**

Kyselé proteiny (nehistonové)

- heterogenní skupina velkého počtu **různých bílkovin**
- množství i složení se u jednotlivých druhů liší, liší se i v různých **typech tkáně**
- ovlivňují prostorové **uspořádání DNA** v jádře a aktivitu genů

Struktura chromozomů

- DNA v chromosomech má několik **stupňů spiralizace** – vzhledem k velké délce řetězců a malému prostoru jádra musí být **DNA zkrácena** asi 10 000 x
- výsledkem spiralizace jsou **metafázové chromosomy** o délce desítek μm
- **primární spirála** (dvoušroubovice DNA), průměr 2 nm

Nukleosom

- základní **strukturní jednotka** spiralizace DNA v chromosomech
- jeví se jako **korálky** na vlákně DNA
- jádrem nukleosomu je oktamer **komplex histonů** (H2A, H2B, H3 a H4 – každý dvakrát)
- kolem jádra je obtočeno **1,75 závitů** DNA (146 párů bází)
- nukleosomy mají průměr 11 nm
- **sousedící nukleosomy** spojuje vlákně DNA lineární, překryté histonem H1 – délka této **lineární části** (spojovací, internukleosomální DNA) je druhově specifická, u člověka 60 bp
- na celý nukleosom připadá cca. **200 párů bází** DNA
- **nukleosomové vlákno** se dále svinuje do solenoidů

Solenoid (cívka) - solenoidy vytvářejí chromatinové vlákno

Chromatinové vlákno

- má průměr 30 nm
- vytváří **prostorové smyčky** ve spojení s nehistonovými proteiny
- průměr smyček je 300 nm a nazývají se někdy **scaffold**
- v této struktuře jsou vázány **proteiny, enzymy a chromosomální RNA** ve složitém komplexu chromatinu
- dynamická struktura chromatinu umožňuje **kontrakci a kondenzaci**, ale je při tom stabilní
- v průběhu profáze další **spiralizací** vznikají **metafázické chromosomy** (průměr 1400nm), které jsou dobře patrné v optickém mikroskopu
- **chromatinová DNA** představuje největší podíl DNA v buňce a nese tedy většinu genetické informace
- **konformace chromatinu** se mění s aktivitou buňky v jednotlivých částech buněčného cyklu – uspořádání chromatinu je tedy odrazem **aktivity buňky**
- v období **metabolické aktivity** (transkripce, replikace) je DNA despiralizována a jádro je tedy světlejší X buňky s jádry kondenzovanými jsou **méně aktivní**

Morfologie chromozomů

- cytogenetické vyšetření je zaměřeno na **chromosomy v metafázi**, kdy jsou maximálně spiralizovány – dobře hodnotitelné v mikroskopu
- na chromosomu rozlišujeme **centromeru a ramena s telomerami**

Centromera

- primární konstrikce
- oblast **spojující** obě sesterské chromatidy (po replikaci) metafázního chromosomu
- je patrná jako **zaškrcení** a dělí chromosom na krátká a dlouhá raménka
- k centromere přiléhá **specializovaná struktura – kinetochor**, místo úponu dělicího aparátu
- chromosomy bez centromery (**acentrické** fragmenty) zůstávají na konci buněčného dělení v cytoplasmě a **nejsou pravidelně děděny** – postupně se ztrácí
- při přípravě **umělých chromosomů** (YAC – yeast artificial chromosome) musí být oblast centromery přenesena do jejich struktury pro zajištění jejich **stability**
- centromerické oblasti chromosomů jsou tvořeny **konstitutivním heterochromatinem**
 - **repetitivní sekvence** tohoto chromatinu jsou druhově specifické
 - centromery lidských chromosomů obsahují **alfa-satelitní DNA** s repetitivními sekvencemi 171 bp
- na některých chromosomech (**akrocentrických**) lze nalézt i **konstrikci sekundární** – místo tzv. **organizátoru jádérka** (NOR – nucleolus organizing region)
 - funkcí organizátoru jádérka je **formování a udržování jádérka** v interfázním jádru
 - obsahuje vysoký **počet kopií genů** pro rRNA
 - **sekundární konstrikce** rozděluje krátká ramena akrocentrických chromosomů na dvě části, z nichž **distální** se nazývá **satelit**

Telomery

- terminální části **chromosomových ramének**
- komplexní specifická struktura, má vliv na **stabilitu chromosomu** a brání vzájemnému **propojení chromosomů** v jádře buňky
- dále chrání vlákno DNA před **destrukcí exonukleasami**
- specifická funkce při **dokončení replikace** DNA na koncích chromosomů
 - po replikaci DNA DNA-polymerasou jeden řetězec přesahuje a zbývající úsek je **doreplikován** specifickým enzymem – **telomerasou**
- telomera je tvořena **tandemovou repeticí** sekvencí nukleotidů (TTAGGG)
- tyto repetitivní úseky jsou **velmi konzervativní**, jejich počet je druhově specifický a liší se i v buňkách a u jednotlivých chromosomů
- jedna z hypotéz o významu telomer jim přikládá význam jako **polyA ocásku** u mRNA – předpokládá se, že při každé replikaci se telomera **zkracuje** – limitující faktor počtu **buněčných dělení**
- tento omezený počet dělení je v buňce **naprogramován**
- v zárodečných buňkách dochází k **opakovanému prodlužování** telomer – telomerasa tu je aktivní
- v somatických buňkách je téměř neaktivní – telomery se postupně **zkracují**
- tyto buňky jsou schopny rozpoznat, kdy je telomera už **příliš krátká** – navození **apoptózy**
- některé nádory ale tento mechanismus nemají a **aktivita telomerasy** je v nich vysoká – jejich buňky se chovají jak **nesmrtelné** (stále se neomezeně dělí)

= **Morfologii chromosomů** určuje délka jejich krátkého (p) a dlouhého (q) raménka a **centromerický index** (poměr p : celkové délce chromosomu)

Euchromatin a heterochromatin

Na chromosomech rozlišitelné dvě formy chromatinu:

Euchromatin

- slaběji barvitelné, **méně kompaktní** a transkripčně velmi aktivní úseky
- v interfázním jádře **despiralizován**, proto organizovaná struktura pozorovatelná pouze v **elektronovém mikroskopu**
- tvořen především **unikátními sekvencemi DNA**, je zde lokalizována většina genů

Heterochromatin

- intenzivně se barvící, **kondenzované** a geneticky inaktivní oblasti chromosomu
- i v interfázi je více či **méně spiralizovaný** a ve světelném mikroskopu má podobu **hrudek**
- replikuje se později než DNA euchromatinu
- je složen z převážně **vysoce repetitivních sekvencí**, které neobsahují geny
- **uplatňuje se při**
 - organizaci chromosomální struktury
 - párování homologních chromosomů
 - crossing-overu
 - ochraně důležitých strukturních genů
- **funkci** řady úseků dosud neznáme
- rozlišují se dva typy – **konstitutivní a fakultativní**

Konstitutivní heterochromatin

- lokalizován v **okolí centromery** (centromerický hch)
- druhově **specifický**, na určitých chromosomech - u člověka přítomen na chromosomech 1, 9, 16 a Y (jejich velikost je variabilní, např. velké rozdíly u Y)
- v souvislosti s různou **délkou heterochromatinu** nebyl popsán žádný **fenotypový efekt**

Fakultativní heterochromatin

- **spiralizací druhého** (a každého dalšího) **X chromosomu**
- většina genů tohoto X chromosomu je tak **inaktivována**
- kondenzovaný X chromosom je patrný v **interfázním jádře** jako plankonvexní tělísko při jaderné membráně – **sex chromatin** / X chromatin / Baarovo tělísko
- hodnocení X chromatinu umožňuje **orientační vyšetření heterochromosomů** v interfázních **jádrech**
- vyšetřují se buňky **stěrů bukalní sliznice** nebo vlasových folikulů
- muži mají X chromatin negativní, ženy pozitivní v 10-40%
- hodnocení se používá i jako tzv. **sex test** při závodech a podobně
- může upozornit na **odchyly** v počtu X chromosomů

Inaktivace X chromosomu

- nastává cca. **14. den embryonálního vývoje**
- postihuje obecně 2. a každý další X chromosom – kompenzace **nerovnováhy** genetické výbavy mužů a žen
- této inaktivaci ale uniká tzv. **pseudoautosomální oblast** lokalizovaná v distálních částech obou ramen chromosomu X
- tato oblast (PAR1, PAR2) je **komplementární** k odpovídající oblasti na **chromosomu Y** – geny zde ležící jsou exprimovány ve dvou kopiích bez ohledu na pohlaví, stejně jako geny na **autosomech**
- **spiralizace** buď paternálního nebo maternálního X chromosomu v buňkách zárodku je děj **náhodný**, ale **nevratný** – v linii dalších buněk je vždy spiralizován stejný chromosom X
- žena je z hlediska většiny genů, lokalizovaných na X chromosomu **mozaikou** buněčných linií s inaktivovaným X chromosomem buď od otce nebo od matky
- výjimkou z pravidla o **náhodné inaktivaci** je případ morfologicky změněného X chromosomu – přednostně je inaktivován **chromosom aberovaný**
- **fenotypové projevy** X inaktivace se nazývají **lyonizace**
- spiralizovaný chromatin X chromosomu se replikuje **opožděně**

Počet a typy chromosomů

Chromosomy prokaryot

- z 1 kruhové **molekuly DNA**, bílkovin (polyaminy + enzymy) a variabilního množství RNA
- není tu **jaderná membrána** – chromosomy jsou umístěny volně v cytoplazmě a ukotveny v jednom místě do

buněčné membrány

- DNA je vysoce **kondenzovaná** – suprahelikální šroubovice

Chromosomy mitochondrií

- genom tvoří **kruhová molekula DNA** od 16 kb až k několika stům kb

Chromosomy eukaryot

- soustředěny do **jádra buněk**
- obsahují 3 základní **biopolymery** - DNA, histony, kyselé proteiny

Počet chromosomů

	chromosomy	bivalenty	molekuly DNA
pachyten	46	23	92
diploten	46	23	92
diakineze	46	23	92
anafáze I	46	0	92
telofáze I	23	0	46
profáze II	23	0	46
metafáze II	23	0	46
telofáze II	23	0	23

Typy chromosomů

metacentrický

- centromera leží zhruba uprostřed chromosomu

submetacentrický

- centromera je umístěna tak, že p raménka jsou výrazně kratší než q raménka

akrocentrický

- centromera je posunuta k jednomu konci chromosomu
- raménka p jsou velmi krátká

telocentrický

- centromera leží na úplném konci chromosomu
- chromosom má pouze dlouhá q raménka
- **u člověka se nevyskytuje**

holocentrický

- útvary plnící funkci centromery jsou roztroušené po celé délce chromosomu
- **u člověka se nevyskytuje, je velmi vzácný (u hlístů vzácně)**