
Spis treści

Wstęp • PIOTR WĘGLEŃSKI	XIII
--	------

Wykaz skrótów	XVII
--------------------------------	------

1 Podstawowe koncepcje genetyczne i wybrane metody analizy genetycznej u różnych grup organizmów • PIOTR WĘGLEŃSKI	1
---	---

1.1. Dziedziczenie ma charakter jednostkowy.	1
1.2. Geny mieszczą się w chromosomach	4
1.3. Geny zajmują stałe miejsca w chromosomach i mogą rekombinować	6
1.4. Rekombinacja może zachodzić również i wewnątrz genu	9
1.5. Mutacje w różnych genach uzupełniają się (komplementują), a w jednym (na ogół) nie	9
1.6. Analiza genetyczna bakterii	12
1.6.1. Koniugacja	13
1.6.2. Transformacja	16
1.6.3. Transdukcja.	16
1.7. Nie wszystkie geny lokują się w chromosomach	18

2 Struktura, replikacja i naprawa materiału genetycznego • KRZYSZTOF STAROŃ	20
--	----

2.1. Budowa, struktura i fizyczna organizacja materiału genetycznego	20
2.1.1. Ogólna budowa podwójnej helisy oparta jest na kilku prostych regułach.	22
2.1.2. Niektóre zasady azotowe w DNA są zmetylowane	25
2.1.3. Polimorfizm strukturalny cząsteczek DNA ma znaczenie biologiczne	25
2.1.4. Z dwuniciowej budowy cząsteczki DNA wynikają problemy topologiczne, rozwiązywane przez topoizomerazy	29
2.1.5. W upakowaniu bakteryjnego DNA mają udział topoizomerazy oraz białka wiążące się do DNA	35

2.1.6.	DNA archeonów jest owinięty wokół struktur przypominających eukariotyczne nukleosomy	38
2.1.7.	Nukleosomy są podstawową strukturą organizującą eukariotyczny DNA . . .	38
2.1.8.	Włókno nukleosomowe zwija się w struktury wyższego rzędu	41
2.1.9.	Jądro komórkowe zawiera odrębne kompartmenty	42
2.1.10.	Struktura jądra komórkowego jest dynamiczna	43
2.1.11.	Podczas mitozy chromosomy ulegają kondensacji	43
2.2.	Mechanizm replikacji DNA	45
2.2.1.	Replikacja DNA polega na dołączaniu nukleotydów w kierunku 5' → 3' . . .	46
2.2.2.	Replikacja bakteryjna rozpoczyna się w pojedynczym miejscu inicjacji replikacji (<i>ori</i>)	48
2.2.3.	Replikacja eukariotyczna jest kontrolowana przez cykl komórkowy	53
2.2.4.	Wierność replikacji zależy od polimerazy DNA	57
2.2.5.	U eukariotów replikacji ulega chromatyna	58
2.2.6.	Replikacja telomerów wymaga wyjątkowych enzymów	60
2.3.	Rekombinacje, mutacje, naprawa uszkodzeń DNA i niestabilność genomu	63
2.3.1.	Podczas rekombinacji homologicznej pośrednim stadium na poziomie DNA są struktury Hollidaya	63
2.3.2.	W rekombinacji homologicznej bierze udział wiele białek	66
2.3.3.	Większość dwuniciowych pęknięć DNA ssaków jest usuwana przez rekombinację niehomologiczną	68
2.3.4.	Wyróżnia się wiele rodzajów mutacji	70
2.3.5.	W komórce zachodzą spontaniczne mutacje	71
2.3.6.	Czynniki mutagenne zwiększają częstość mutacji	74
2.3.7.	Uszkodzenia DNA są w większości naprawiane	76
2.3.8.	Niestabilność genomu jest przyczyną wielu chorób	82

3 Kod genetyczny i biosynteza białek

• WŁODZIMIERZ ZAGÓRSKI-OSTOJA	83
3.1. Cząsteczka adaptorowa, pojęcie antykodonu	85
3.2. Schemat translacji.	86
3.3. Struktura rybosomu.	90
3.4. Rybosomowe kwasy rybonukleinowe (rRNA)	90
3.5. Białka rybosomowe	92
3.6. Rybosom – maszyna molekularna	93
3.7. Odstępstwa od kodu uniwersalnego	96
3.8. Kod nie musi być odczytany w jednej fazie	98
3.9. Zapis w mRNA może się różnić od zapisu w DNA	99
3.10. Redagowanie może wprowadzić dodatkowy kodon terminalny	99
3.11. Redagowanie może kreować kodon inicjacyjny	100
3.12. Redagowanie może przywrócić treść kodu uniwersalnego	100
3.13. Redagowanie może nadać sens informacji, kreując otwarte ramki odczytu w rezultacie licznych rozrzuconych insercji	101
3.14. Redagowanie może nadać sens informacji na skutek blokowych insercji urydyn i delecji urydyn	101
3.15. Transferowy RNA (tRNA)	102
3.16. Swoistość aminoacylacji tRNA	103
3.17. Supresorowe tRNA	104
3.18. Swoistość aminoacylacji może być określona przez nietypową parę zasad umieszczoną w ramieniu aminokwasowym	105

3.19. Supresja może zachodzić w wyniku „omyłek” rybosomów. Dwuznaczność translacji	105
3.20. Modyfikacje reszt aminokwasowych w aminoacylo-tRNA zmieniają znaczenie kodonów	108
4 Inżynieria genetyczna • PIOTR WĘGLEŃSKI, PAWEŁ GOLIK	109
4.1. Klonowanie genów	110
4.2. Enzymy restrykcyjne	112
4.3. Mapy restrykcyjne	114
4.4. Wektory	116
4.4.1. Bakteryjne wektory plazmidowe	116
4.4.2. Wektory pochodne bakteriofagów	119
4.4.3. Wektory drożdżowe	122
4.4.4. Wektory stosowane do wyższych eukariotów	123
4.4.5. Wektory ekspresyjne	129
4.5. Wprowadzanie DNA do komórek i całych organizmów	129
4.6. Sklonowany gen może ulegać ekspresji w komórkach gospodarza	131
4.7. Technika PCR pozwala na namnożenie dowolnego fragmentu DNA bez konieczności klonowania	132
4.8. Hybrydyzacja pozwala na identyfikację określonych sekwencji nukleotydowych	134
4.8.1. Sondami w technikach hybrydyzacji są wyznakowane cząsteczki kwasów nukleinowych	135
4.8.2. Metoda Southerna służy do identyfikacji fragmentów DNA	137
4.8.3. Hybrydyzacja northern wykrywa określone cząsteczki RNA	140
4.8.4. Technika western i inne techniki immunologiczne służą do badania białek	140
4.9. Mikromacierze pozwalają na analizę tysięcy genów jednocześnie	142
4.9.1. Mikromacierze cDNA służą do porównywania ekspresji genów w dwóch próbkach	142
4.9.2. Mikromacierze oligonukleotydowe służą do badania RNA i DNA	144
4.9.3. Wyniki doświadczeń wykorzystujących mikromacierze są analizowane za pomocą odpowiednich metod bioinformatycznych	146
4.10. Sekwencjonowanie DNA	146
4.11. Badanie oddziaływań białek z DNA umożliwia identyfikację sekwencji odpowiedzialnych za regulację ekspresji genów	149
4.12. Badanie białek	151
4.13. Ukierunkowana mutagenеза pozwala wytwarzać dowolne allele sklonowanego genu	152
4.14. Odwrotna genetyka – poszukiwanie funkcji genu	155
4.14.1. Rekombinację można wykorzystać do trwałego rozbicia genu	156
4.14.2. Interferencja RNA pozwala na epigenetyczne wyciszenie ekspresji wybranego genu	159
4.15. Metody bioinformatyczne	160
4.15.1. Analiza sekwencji dostarcza wielu informacji	160
4.15.2. Sekwencja pozwala niekiedy na modelowanie struktury przestrzennej	161
4.15.3. Bazy danych są jednym z najważniejszych narzędzi w biologii	162
5 Budowa i działanie genów prokariotycznych	
• ELŻBIETA K. JAGUSZTYN-KRYNICKA	164
5.1. Organizacja i ekspresja materiału genetycznego bakterii	164
5.1.1. Genomy bakteryjne są dynamicznymi, stale ewoluującymi strukturami. Jak zdefiniować podstawowe elementy materiału genetycznego bakterii?	164

5.2.	Regulacja ekspresji genów na poziomie transkrypcji jest głównym mechanizmem regulującym skład proteomu bakteryjnego	171
5.2.1.	Podjednostka sigma (σ) RNAP odgrywa zasadniczą rolę w rozpoznaniu sekwencji promotorowych	172
5.2.2.	Inicjacja transkrypcji wymaga aktywności czynników transkrypcyjnych	174
5.2.3.	Przykłady negatywnej i pozytywnej regulacji inicjacji transkrypcji – operon laktozowy, galaktozowy i arabinozowy	181
5.2.4.	Fosforylacja białek odpowiada za procesy transdukcji sygnału i modulowanie aktywności wielu czynników transkrypcyjnych	184
5.2.5.	Metylacja DNA reguluje inicjację transkrypcji wielu genów bakteryjnych i wpływa na poziom wirulencji bakterii patogennych	187
5.3.	Kontrola ekspresji genów jest także modulowana potranskrypcyjnie	188
5.3.1.	Stabilność bakteryjnego mRNA decyduje o poziomie ekspresji genów	188
5.3.2.	Zadziwiająco wiele mechanizmów moduluje strukturę drugorzędową obszaru liderowego RNA warunkując przedwczesną terminację transkrypcji	191
5.3.3.	Regulatorowe małe cząsteczki RNA kontrolują potranskrypcyjnie ekspresję genów także w komórkach prokariotycznych	195
5.4.	Potranslacyjne modyfikacje białek oraz właściwa lokalizacja decydują o ich aktywności	200
5.4.1.	Fosforylacja i glikozylacja białek decydują o ich funkcji	201
5.4.2.	Wprowadzanie mostków dwusiarczkowych zachodzące na terenie peryplazmy jest etapem niezbędnym do prawidłowego zwijania wielu białek	202
5.4.3.	Modyfikacja prekursorów lipoprotein oraz ich sortowanie decydują o właściwościach tej klasy białek	204
5.4.4.	Potranslacyjne modyfikacje wielu białek bakterii patogennych zachodzą na terenie komórek eukariotycznych	206
5.4.5.	Proteoliza białek jest procesem decydującym o aktywności białek strukturalnych i efektorowych, regulującym poziom białek regulatorowych oraz kontrolującym jakość wytwarzanych protein	208
5.4.6.	Pasożytniczy, samolubny DNA obecny jest w komórkach prokariotycznych – introny i inteiny	210
5.5.	Globalne systemy regulacji, regulony, zapewniają szybką adaptację ekspresji wielu operonów do zmieniających się warunków środowiska	213
5.5.1.	Kaskadowy model regulacji ekspresji czynników wirulencji warunkuje precyzję odpowiedzi	216
5.5.2.	W populacji bakteryjnej poszczególne komórki wykazują różne właściwości fenotypowe	219
5.6.	Analiza transkryptomów i proteomów bakteryjnych dostarcza wielu nowych informacji, których często nie potrafimy wytłumaczyć.	223

6 Budowa i działanie genów eukariotycznych

•	ANDRZEJ JERZMANOWSKI	226
6.1.	Budowa genów eukariotycznych	226
6.1.1.	Rodzaje sekwencji występujące w genomach eukariotycznych	226
6.1.2.	Geny nieciągłe	228
6.2.	Transkrypcja	229
6.2.1.	Ogólna charakterystyka transkrypcji u eukariotów	229
6.2.2.	Rodzaje jądrowych polimeraz RNA i transkrybowane przez nie geny	230
6.2.3.	Sekwencje regulatorowe	231
6.2.4.	Metylacja DNA, wyspy CpG i transkrypcja	233

6.2.5. Składniki kompleksu transkrypcyjnego i ich działanie w trakcie inicjacji transkrypcji	234
6.2.6. Dalszy przebieg transkrypcji z udziałem pol RNA II: elongacja i terminacja oraz ochrona początku i końca transkryptu	238
6.3. Mechanizm wycinania intronów i spajania eksonów (splicing)	243
6.4. Chromatyna i regulacja transkrypcji	246
6.4.1. Euchromatyna i heterochromatyna	246
6.4.2. Potranslacyjne modyfikacje histonów (kod histonowy) i metylacja DNA	247
6.4.3. Mechanizmy odpowiedzialne za tworzenie heterochromatyny	248
6.4.4. Zjawisko interferencji RNA	248
6.4.5. Warianty histonów	252
6.4.6. Białka Polycomb i Trithorax	253
6.5. Geny związane z regulacją cyklu komórkowego	253
6.6. Geny związane z apoptozą	256
6.7. Geny związane z przewodzeniem sygnałów	257
6.8. Geny związane z uczeniem się i pamięcią	258
7 Genomika • PAWEŁ GOLIK	259
7.1. Od genów do genomów.	259
7.2. Główne działy współczesnej genomiki	261
7.3. Sekwencje i genomy.	262
7.3.1. Pierwszymi poznanymi genomami były genomy mikoplazm	262
7.3.2. Genomy bakterii sekwencjonowane są z wykorzystaniem metody losowej fragmentacji	263
7.3.3. Do sekwencjonowania pierwszych złożonych genomów eukariotycznych zastosowano metodę hierarchiczną.	264
7.3.4. Zastosowanie metody losowej fragmentacji przyspieszyło prace nad sekwencją genomu człowieka	266
7.3.5. Identyfikacja genów w genomach wyższych eukariotów nie jest oczywista	267
7.3.6. Genom człowieka zawiera zaskakująco niewiele genów	268
7.3.7. Genomy wyższych eukariotów zawierają wiele sekwencji repetytywnych	269
7.4. Genomika porównawcza i ewolucja	270
7.4.1. Analiza genomów pozwala odtwarzać najwcześniejsze etapy ewolucji życia	270
7.4.2. Genomika porównawcza ujawnia przystosowania genomu do zajmowanej przez organizm niszy ewolucyjnej	271
7.4.3. Analiza genomów bakterii ujawnia wiele przypadków horyzontalnego transferu genów	273
7.4.4. Genomika środowiskowa analizuje całe zbiorowiska mikroorganizmów	273
7.4.5. Genomy eukariotyczne zawierają wiele wspólnych genów	274
7.4.6. Porównanie genomu człowieka i szympansa jest drogą do wyjaśnienia ewolucji człowieka	275
7.5. Genomika funkcjonalna i pokrewne dziedziny.	276
7.5.1. Poznanie sekwencji genomów zmienia strategię badania funkcji genów	276
7.5.2. Analiza porównawcza dostarcza wstępnych hipotez odnośnie do funkcji genu	277
7.5.3. Odwrotna genetyka i transkryptomika to dwie główne strategie analizy funkcjonalnej	277
7.5.4. Analiza funkcjonalna genomu drożdży jest bardzo zaawansowana	279
7.5.5. Proteomika bada białka kodowane przez geny zawarte w genomie	280
7.6. Genomika różnic indywidualnych i farmakogenomika	282
7.6.1. Średnio 1 na 300 nukleotydów w genomie wykazuje zmienność	282

7.6.2. Niektóre zmiany nukleotydowe są przyczyną chorób genetycznych	282
7.6.3. Zmienność nukleotydowa ma znaczenie medyczne	283
7.6.4. Zmienność genetyczna pozwala na odtworzenie historii populacji	284
7.7. Przyszłość genomiki – nadzieje i obawy	284

8 Geny a różnicowanie się i rozwój • PIOTR BĘBAS 286

8.1. Różnicowanie się komórek jest związane ze zmianą ich potencji rozwojowej.	286
8.2. Skierowanie komórek na określony szlak rozwoju zależy od materiału odziedziczonoego od komórki macierzystej lub jest wynikiem oddziaływań międzykomórkowych	287
8.3. Istnieją trzy mechanizmy, poprzez które dochodzi do ustalenia losów komórek w rozwijającym się organizmie	289
8.4. Genetyczna kontrola determinacji i rozwoju płci u zwierząt	290
8.4.1. Mechanizm kompensacyjny odpowiada za regulację poziomu transkrypcji genów położonych na chromosomach X	292
8.4.2. W różnicowaniu płci somatycznej u ssaków bierze udział czynnik TDF	297
8.4.3. Sry determinuje płć męską komórek somatycznych jąder oraz odpowiada za przebieg różnicowania się pierwszorzędowych cech płciowych u ssaków	299
8.4.4. Potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów jest głównym elementem szlaku różnicowania się płci somatycznej u <i>D. melanogaster</i>	302
8.4.5. Osiąganie stanu przeznaczenia komórek rozrodczych	305
8.5. Wybrane zagadnienia z zakresu genetycznej kontroli embriogenezy zwierząt	306
8.5.1. Hierarchiczny system działania genów podczas rozwoju <i>D. melanogaster</i>	306
8.5.2. Geny matczyne odpowiadają za wczesne etapy kształtowania planu budowy zarodka wzdłuż jego osi przednio-tylnej poprzez regulację aktywności genów ubytku	308
8.5.3. Geny segmentacji	314
8.5.4. Rozwój zarodka wzdłuż jego osi grzbietowo-brzuszej również zależy od genów matczynych	319
8.5.5. Pierwsze z genów zarodkowych aktywowanych podczas rozwoju owada wzdłuż osi grzbietowo-brzuszej wzajemnie regulują swą aktywność (analogicznie do genów ubytku)	322
8.5.6. Geny homeotyczne	324
8.5.7. Inicjacja oraz utrzymywanie ekspresji genów homeotycznych	327
8.5.8. Homeoboksy, homeodomeny oraz geny <i>Hox</i>	329
8.6. Wybrane zagadnienia z zakresu genetycznej kontroli rozwoju roślin	330
8.6.1. Geny zaangażowane w rozwój siewki	331
8.6.2. Genetyczna kontrola rozwoju kwiatu	333
8.6.3. Rola genów homeotycznych w tworzeniu wzoru kwiatu	335

9 Molekularne podstawy procesów odpornościowych

• BARBARA LIPIŃSKA, MARTA NUREK	338
9.1. Antygeny wywołują odpowiedź immunologiczną humoralną i komórkową	339
9.2. Przeciwciała wiążą się z determinantami antygenowymi	340
9.3. Przeciwciała dzielą się na klasy pełniące różne funkcje	342
9.4. Przeciwciała są wytwarzane przez limfocyty B	345
9.5. Odpowiednie przeciwciała wytwarzane są dzięki selekcji określonych klonów limfocytów B.	346
9.6. Układ odpornościowy ma pamięć immunologiczną	348

9.7. Limfocyty T są podstawą odpowiedzi komórkowej i niezbędnym elementem odpowiedzi humoralnej	348
9.8. Makrofagi są ważnymi komórkami wspomagającymi odpowiedź immunologiczną	351
9.9. Komórki układu immunologicznego krążą po całym organizmie	351
9.10. Przeciwciała mają wspólny plan budowy, lecz są bardzo różnorodne	352
9.11. Potrafimy wytwarzać przeciwciała monoklonalne	358
9.12. Są dwa zasadnicze mechanizmy prowadzące do różnorodności przeciwciał	360
9.13. Geny immunoglobulin ulegają somatycznej rekombinacji	360
9.14. Regulacja transkrypcji genów immunoglobulin	370
9.15. Limfocyty T mają receptory TCR	371
9.16. Receptory komórek T wiążą antygeny prezentowane na powierzchni komórki	376
9.17. Białka MHC uczestniczą w odrzucaniu przeszczepów	379
9.18. Białka MHC uczestniczą w stymulacji syntezy immunoglobulin	381
9.19. Białka MHC są polimorficzne i należą do nadrodziny immunoglobulin	382
9.20. Geny MHC mają bardzo wiele alleli	384
9.21. Edukacja grasicowa uczy komórki T reagować z obcymi białkami i tolerować własne	385
9.22. Odpowiedź immunologiczna zależna od antygeny	387
9.23. Antygeny stymulujące syntezę przeciwciał niezależnie od komórek T	391
9.24. Zaktywowana komórka B wydziela przeciwciała	391
9.25. Zaktywowany limfocyt B wytwarza wtórne przeciwciała	393
9.26. Geny immunoglobulin ulegają somatycznym mutacjom	395
9.27. Tolerancja komórek B wobec własnych antygenów organizmu	396
9.28. Wirus HIV wywołuje AIDS	396
10 Genetyczne podłoże chorób nowotworowych • JANUSZ LIMON	400
10.1. Wprowadzenie do procesu transformacji nowotworowej.	400
10.2. Większość czynników rakotwórczych pośrednio lub bezpośrednio uszkodza DNA	401
10.3. Rozwój nowotworów złośliwych może być współuwarunkowany przez czynniki, które nie uszkodzają DNA	403
10.4. Udział wirusów i innych czynników infekcyjnych w indukcji nowotworów złośliwych	403
10.5. Promieniowania jonizujące i nadfioletowe wywołują liczne uszkodzenia DNA	405
10.6. Większość raków powstaje z jednej nieprawidłowej komórki	407
10.7. Nowotwory są bardzo różnorodnymi chorobami	408
10.8. Geny związane z procesem powstawania i rozwoju nowotworów	409
10.8.1. Protoonkogeny a onkogeny	410
10.8.2. Geny supresorowe	413
10.8.3. Geny ochraniające integralność genomu.	415
10.9. Czym różnią się nowotwory uwarunkowane mutacjami somatycznymi od nowotworów powstających na podłożu mutacji germinalnych?	416
10.10. Tylko nieliczne raki są wywoływane mutacjami germinalnymi – większość indukujących mutacji zachodzi w komórkach somatycznych podczas życia osobniczego	418
10.11. Uszkodzenia DNA i chromosomów występujące w komórkach rakowych są złożone	421
10.11.1. Zaburzenia liczby chromosomów, czyli aneuploidie.	421
10.11.2. Translokacje chromosomowe	423
10.11.3. Amplifikacje genów	425
10.12. Metody identyfikacji uszkodzeń genomu komórek nowotworowych	427
11 Ewolucja molekularna • PAWEŁ GOLIK	430
11.1. Homologia i zmienność sekwencji	431
11.1.1. Podobieństwo sekwencji świadczy o ich homologii	431

11.1.2. Przyrównywanie jest konieczne do porównywania sekwencji	433
11.1.3. Zmienność sekwencji białkowych	434
11.1.4. Zmienność sekwencji nukleotydowych	440
11.2. Tworzenie nowej informacji i ewolucja genomów	445
11.2.1. Ekspansja rodzin paralogicznych może prowadzić do powstawania nowych genów	446
11.2.2. Duplikacje genów homeotycznych leżały u podstaw ewolucji planów budowy zwierząt	449
11.2.3. Duplikacje wewnątrzgenowe i tasowanie domen umożliwiły powstawanie bardziej złożonych białek	451
11.2.4. Introny ułatwiały ewolucję białek	452
11.2.5. Duplikacje i fuzje całych genomów powodowały przyrost złożoności organizmów	454
11.2.6. Horyzontalny transfer genów odegrał ważną rolę w ewolucji bakterii	455
11.3. Filogenetyka molekularna	456
11.3.1. Wybór i przygotowanie sekwencji	458
11.3.2. Drzewa filogenetyczne – rodzaje i terminologia	459
11.3.3. Filogenetyka a taksonomia	461
11.3.4. Metody odległościowe	462
11.3.5. Metoda parsymonii (oszczędnościowa)	462
11.3.6. Metoda największej wiarygodności i inne metody statystyczne	464
11.3.7. Analiza statystyczna wiarygodności drzew i drzewa uzgodnione	465
11.3.8. Filogenetyka molekularna pozwala odtwarzać historię człowieka	466
11.4. Powstanie życia na Ziemi	468
11.4.1. Związki organiczne powstawały na Ziemi w procesach prebiotycznych	469
11.4.2. Replikacja pojawiła się w świecie RNA	470
11.4.3. Od świata RNA do komórek współczesnych	472
12 Nowy wspaniały świat biotechnologii • MAGDALENA FIKUS	475
12.1. Zakres stosowania technik inżynierii genetycznej w projektach biotechnologicznych	476
12.1.1. Badania dla biotechnologii	476
12.1.2. Przemysł biotechnologiczny	477
12.2. Problematyka podejmowana w badaniach i produkcji biotechnologicznej	480
12.2.1. Czerwona biotechnologia – badania	481
12.2.2. Czerwona biotechnologia – przemysł	494
12.2.3. Zielona biotechnologia	497
12.2.4. Biała biotechnologia	502
12.3. Biotechnologia a bioinformatyka	508
12.4. Niektóre aspekty etyczne biotechnologii	509
12.5. Biotechnologia w Polsce	510
Słownik wybranych terminów	512
Skorowidz	519