

Spis treści

Przedmowa	V	2.2 Klonowanie DNA	43
Przedmowa do drugiego wydania polskiego	VI	2.2.1 Wektory do klonowania i ich zastosowania	44
Wstęp	VII	Wektory oparte na plazmidach <i>E. coli</i>	45
Spis rozdziałów	XI	<i>Metody badań 2.3</i> Oczyszczania DNA	46
Skróty	XIX	Wektory do klonowania oparte na genomach bakteriofagów <i>E. coli</i>	48
Część 1 Jak bada się genomy	1	Wektory dla dłuższych fragmentów DNA	51
Rozdział 1 Genomy, transkrypty i proteomy	3	Klonowanie w organizmach innych niż <i>E. coli</i>	53
1.1 DNA	5	2.3 Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR)	55
1.1.1 Geny zbudowane są z DNA	5	2.3.1 Przeprowadzanie PCR	55
1.1.2 Struktura DNA	8	<i>Metody badań 2.4</i> Praca z biblioteką klonów	56
Nukleotydy i polinukleotydy	8	2.3.2 Zastosowania reakcji PCR	57
Dowody wskazujące na strukturę podwójnej helisy	9	Pytania	59
Podstawowe cechy podwójnej helisy	11	Rozdział 3 Mapowanie genomów	63
Podwójna helisa jest strukturą elastyczną	12	3.1 Mapy genetyczne i fizyczne	65
1.2 RNA i transkryptom	14	3.2 Mapowanie genetyczne	65
1.2.1 Struktura RNA	15	3.2.1 Pierwszymi stosowanymi markerami były geny	66
1.2.2 Rodzaje RNA w komórce	15	3.2.2 Markery DNA do mapowania genetycznego	67
1.2.3 Dojrzewanie prekursorowego RNA	17	Polimorfizmy długości fragmentów restrykcyjnych	67
1.2.4 Transkryptom	17	Polimorfizmy długości prostych sekwencji	68
1.3 Białka i proteom	18	Polimorfizmy punktowe	69
1.3.1 Struktura białek	18	<i>Metody badań 3.1</i> Mikromacierze o małej i dużej gęstości	71
Cztery poziomy struktury białka	18	3.2.3 Podstawą mapowania genetycznego jest analiza sprzężeń	72
Różnorodność białek wynika z różnorodności aminokwasów.	19	Podstawy dziedziczenia i odkrycie sprzężenia	73
1.3.2 Proteom	20	Częściowe sprzężenie można wyjaśnić zachowaniem chromosomów w czasie mejozy	74
Powiązanie transkryptomu z proteomem	21	Od częściowego sprzężenia do mapowania genetycznego	77
Kod genetyczny nie jest uniwersalny	22	3.2.4 Przeprowadzanie analizy sprzężeń w różnych typach organizmów	77
Powiązanie proteomu z biochemią komórki	23	Analiza sprzężeń, gdy możliwe są planowane eksperymenty hodowlane	78
Pytania	26	Mapowanie genów przez analizę rodowodów u człowieka	80
Rozdział 2 Analiza DNA	31	Mapowanie genetyczne u bakterii	81
2.1 Enzymy służące do manipulacji DNA	33	3.3 Mapowanie fizyczne	82
2.1.1 Polimerazy DNA	34	3.3.1 Mapowanie restrykcyjne	84
<i>Metody badań 2.1</i> Znakowanie DNA	34	Podstawowe metody mapowania restrykcyjnego	84
Sposób działania polimerazy DNA zależnej od matrycy	35	Skalę mapowania restrykcyjnego ogranicza rozmiar fragmentów restrykcyjnych	86
Typy polimeraz DNA stosowane w badaniach naukowych	36	Bezpośrednie poszukiwanie miejsc restrykcyjnych w DNA	87
2.1.2 Nukleazy	37	3.3.2 Hybrydyzacja fluorescencyjna <i>in situ</i> (FISH)	89
Endonukleazy restrykcyjne umożliwiają cięcie cząsteczek DNA w ściśle określonych pozycjach	38	Hybrydyzacja <i>in situ</i> z sondami promieniotwórczymi i fluorescencyjnymi	89
Analiza wyników trawienia restrykcyjnego	39	Działanie FISH	90
<i>Metody badań 2.2</i> Elektroforeza w żelu agarozowym	40		
2.1.3 Ligazy DNA	42		
2.1.4 Enzymy modyfikujące końce	42		

3.3.3	Mapowanie miejsc znakowanych sekwencyjnie	91
	Jako STS można użyć każdej unikatowej sekwencji DNA	92
	Fragmenty DNA do mapowania STS	93
	Do analizy STS jako odczynnika do mapowania można także użyć biblioteki klonów	94
Pytania		97

Rozdział 4 Sekwencjonowanie genomów 103

4.1	Metody sekwencjonowania DNA	104
	<i>Metody badań 4.1 Elektroforeza w żelach poliakryloamidowych</i>	104
4.1.1	Sekwencjonowanie DNA metodą terminacji łańcucha	105
	Metoda terminacji łańcucha w zarysie	105
	Sekwencjonowanie metodą terminacji łańcucha wymaga matrycy w postaci jednoniciowego DNA	107
	Polimerazy DNA używane w sekwencjonowaniu metodą terminacji łańcucha	108
	Starter wyznacza sekwencjonowany region na matrycowym DNA	108
	Sekwencjonowanie cykliczne jako alternatywa tradycyjnych metod	109
4.1.2	Inne metody sekwencjonowania DNA	109
	Sekwencjonowanie metodą degradacji chemicznej	110
	Pirosekwencjonowanie stosuje się do szybkiego ustalania bardzo krótkich sekwencji	111
4.2	Składanie przylegających sekwencji DNA	112
4.2.1	Składanie sekwencji z wykorzystaniem strategii „shotgun”	112
	Możliwości strategii „shotgun” udowodniono sekwencjonując genom <i>Haemophilus influenzae</i>	113
4.2.2	Składanie sekwencji z zastosowaniem strategii układania klonów w kontigi	115
	Klony mogą być ułożone w kontigi pracochłonną metodą wędrowania wzdłuż chromosomu	115
	Szybsze metody układania klonów w kontigi	117
4.2.3	Ukierunkowana strategia typu „shotgun”	119
	Najważniejsze cechy ukierunkowanej strategii typu „shotgun”	119
4.3	Projekty poznania genomu człowieka	121
4.3.1	Etap mapowania w projekcie poznania genomu człowieka	121
4.3.2	Sekwencjonowanie ludzkiego genomu	122
4.3.3	Przyszłość projektów poznania genomu człowieka	123
Pytania		126

Rozdział 5 Zrozumieć sekwencję genomu 133

5.1	Lokalizowanie genów w sekwencjach DNA	134
5.1.1	Lokalizowanie genów przez analizę sekwencji	134
	Obszary kodujące genów są otwartymi ramkami odczytu	134
	Proste skanowania ORF są mniej wydajne dla większych DNA eukariotycznych	135
	Szukanie genów funkcjonalnych RNA	137
	Poszukiwanie homologii i genomika porównawcza nadają śledzeniu sekwencji nowy wymiar	138
	Automatyczna analiza sekwencji genomu	140

5.1.2	Eksperymentalne techniki lokalizacji genów	141
	Test hybrydacyjny pozwala ustalić, czy fragment zawiera sekwencję ulegającą ekspresji	141
	<i>Metody badań 5.1 Techniki badania RNA</i>	142
	Sekwencjonowanie cDNA umożliwia zmapowanie genów w obrębie fragmentów DNA	142
	Istnieją metody dokładnego mapowania końców transkryptów	143
	Granice ekson-intron można dokładnie zlokalizować	144
5.2	Ustalanie funkcji genu	144
5.2.1	Komputerowa analiza funkcji genu	144
	Homologia odzwierciedla związku ewolucyjnego	145
	Analiza homologii może dostarczyć informacji o funkcji całego genu lub jego segmentów	145
	Wykorzystanie poszukiwania homologii do przypisywania funkcji ludzkim genom odpowiadającym za choroby	147
5.2.2	Ustalanie funkcji genu przez analizę eksperymentalną	148
	Inaktywacja genu jest podstawą analizy funkcjonalnej	148
	Metody inaktywacji specyficznych genów opierają się na rekombinacji homologicznej	149
	Inaktywacja genu bez rekombinacji homologicznej	150
	Do określania funkcji można także wykorzystać nadmiarową ekspresję genu	151
	Efekt fenotypowy inaktywacji czasem jest trudny do zaobserwowania	152
5.2.3	Bardziej szczegółowe badania aktywności białka kodowanego przez nieznany gen	152
	Do szczegółowego badania funkcji genu można wykorzystać ukierunkowaną mutagenezę	154
	Do określania, gdzie i kiedy geny ulegają ekspresji, można wykorzystać geny reporterowe i immunocytochemię	154
5.3	Studium przypadku: Zrozumieć sekwencję genomu <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	156
	<i>Metody badań 5.2 Ukierunkowana mutageneza</i>	156
5.3.1	Anotacja sekwencji genomu drożdży	157
5.3.2	Przypisywanie funkcji genom drożdży	159
Pytania		161

Rozdział 6 Zrozumieć działanie genomu 167

6.1	Badanie transkryptomu	168
6.1.1	Badanie transkryptomu przez analizę sekwencji	168
6.1.2	Badanie transkryptomu za pomocą analizy mikromacierzy o małej i dużej gęstości	169
	Wykorzystanie mikromacierzy do badania jednego lub większej liczby transkryptomów	169
	Badanie transkryptomu drożdży	172
	Transkryptom człowieka	173
6.2	Badanie proteomu	175
6.2.1	Profilowanie białek – metoda identyfikacji białek w proteomie	175
	Rozdzielanie białek w proteomie	175
	Identyfikacja białek w proteomie	177

6.2.2	Identyfikacja białek oddziałujących ze sobą	179
	Identyfikacja oddziałujących ze sobą białek metodą prezentacji fagowej i w systemie dwuhybrydowym	179
	Identyfikacja składników kompleksu wielu białek	181
	Identyfikacja białek współdziałających ze sobą	182
	Mapy oddziaływań białek	183
6.3	Wyjść poza proteom	184
6.3.1	Metabolom	184
6.3.2	Zrozumieć systemy biologiczne	186
Pytania		189

Część 2 Anatomia genomów 195

Rozdział 7 Eukariotyczne genomy jądrowe 197

7.1	Genomy jądrowe znajdują się w chromosomach	198
7.1.1	Upakowanie DNA w chromosomach	198
7.1.2	Specyficzne właściwości chromosomów metafazowych	199
	Oddziaływania DNA-białko w centromerach i telomerach	202
7.2	Właściwości genetyczne eukariotycznych genomów jądrowych	203
7.2.1	Gdzie w genomie jądrowym znajdują się geny?	204
	Metody badań 7.1 Techniki ultrawiwowania	205
7.2.2	W jaki sposób geny są zorganizowane w genomie jądrowym?	205
	Geny stanowią tylko małą część genomu człowieka	206
	Genom drożdży jest bardzo zwarty	207
	Organizacja genów u innych eukariotów	210
7.2.3	Ile jest genów i jakie są ich funkcje?	211
	Katalog ludzkich genów	212
	Katalogi genów ujawniają wyróżniające cechy różnych organizmów	212
	Rodziny genów	214
	Pseudogeny i inne relikty ewolucyjne	216
7.2.4	Zawartość powtarzającego się DNA w eukariotycznych genomach jądrowych	216
	DNA powtórzony tandemowo znajduje się w centromerach i gdzie indziej w chromosomach eukariotycznych	217
	Minisatelity i mikrosatelity	217
	Powtórzenia rozproszone	218
Pytania		220

Rozdział 8 Genomy prokariotów i organelli eukariotycznych 225

8.1	Właściwości fizyczne genomów prokariotycznych	226
8.1.1	Chromosomy prokariotów	226
	Tradycyjny obraz chromosomu prokariotycznego	226
	Niektóre bakterie mają genomy liniowe lub wieloczęściowe	228
8.2	Właściwości genetyczne genomów prokariotycznych	230
8.2.1	Jak zorganizowane są geny w genomie prokariotycznym?	230

	Organizacja genów w genomie <i>E. coli</i>	231
	Operony są cechą charakterystyczną genomów prokariotycznych	232
8.2.2	Ile jest genów i jakie są ich funkcje?	234
8.2.3	Genomy prokariotyczne i pojęcie gatunku	236
8.3	Eukariotyczne genomy organellarne	238
8.3.1	Pochodzenie genomów organellarnych	238
8.3.2	Właściwości fizyczne genomów organellarnych	239
8.3.3	Skład genetyczny genomów organellarnych	239
Pytania		244

Rozdział 9 Genomy wirusów i ruchome elementy genetyczne 249

9.1	Genomy bakteriofagów i wirusów eukariotycznych	250
9.1.1	Genomy bakteriofagów	250
	Genomy bakteriofagów mają różne struktury i organizację	250
	Strategie replikacji genomów bakteriofagowych	251
9.1.2	Genomy wirusów eukariotycznych	253
	Struktury i strategie replikacji genomów wirusów eukariotycznych	253
	Genomy na granicy życia	254
9.2.	Ruchome elementy genetyczne	256
9.2.1	Transpozycja za pośrednictwem RNA	257
	Transpozony RNA z długimi końcowymi powtórzeniami są spokrewnione z retroelementami wirusowymi	257
	Transpozony RNA bez LTR	258
9.2.2	Transpozony DNA	259
	Transpozony DNA występują powszechnie w genomach prokariotycznych	260
	Transpozony DNA są mniej powszechne w genomach eukariotycznych	261
Pytania		264

Część 3 Jak działają genomy 269

Rozdział 10 Dostępność genomu 271

10.1	Wewnątrz jądra	272
10.1.1	Wewnętrzna struktura jądra eukariotycznego	272
	Jądro ma wysoce uporządkowaną strukturę wewnętrzną	273
	Metody badań 10.1 Przywracanie fluorescencji po fotowycieplaniu	274
	Każdy chromosom zajmuje w jądrze swoje własne terytorium	274
10.1.2	Domeny chromatyny	275
	Izolatory wyznaczają granice domen funkcjonalnych	276
	Niektóre domeny funkcjonalne zawierają region kontrolny locus	278
10.2	Modyfikacje chromatyny a ekspresja genomu	279
10.2.1	Chemiczne modyfikacje histonów	280
	Acetylacja histonów wpływa na wiele funkcji jądrowych łącznie z ekspresją genomu	280

	Deacetylacja histonów prowadzi do zablokowania aktywnych rejonów genomu	282	11.3.2	Regulacja inicjacji transkrypcji u <i>Eukaryota</i>	320
	Acetylacja nie jest jedynym rodzajem modyfikacji histonów	282		Promotory eukariotyczne zawierają moduły regulacyjne	320
10.2.2	Wpływ remodelowania nukleosomów na ekspresję genomu	284		Aktywatory i koaktywatory inicjacji transkrypcji u <i>Eukaryota</i>	322
10.3	Modyfikacje DNA a ekspresja genomu	285		Mediator pośredniczy w oddziaływaniach między aktywatorem a kompleksem preinicjacyjnym	
10.3.1	Wyciszenie genomu przez metylację DNA	285		polimerazy RNA II	323
	Metylotransferazy DNA a represja aktywności genomu	286		Represory inicjacji transkrypcji u <i>Eukaryota</i>	324
	Metylacja wiąże się z piętnowaniem genomowym i inaktywacją chromosomu X	287		Kontrola aktywności aktywatorów i represorów	325
Pytania		290	Pytania		327
Rozdział 11 Budowanie kompleksu inicjującego transkrypcję		295	Rozdział 12 Synteza i dojrzewanie RNA		333
11.1 Białka wiążące DNA i ich miejsca wiązania		297	12.1 Synteza i dojrzewanie RNA bakteryjnych		334
11.1.1	Specyficzne cechy białek wiążących DNA	297	12.1.1	Synteza transkryptów bakteryjnych	335
	Domena typu helisa–skręt–helisa występuje w białkach prokariotycznych i eukariotycznych	297		Elongacja transkryptu przez bakteryjną polimerazę RNA	335
	<i>Metody badań 11.1</i> Krytalografia rentgenowska i spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)	298		Zakończenie transkrypcji bakteryjnej	337
	W białkach eukariotycznych wiążących się z DNA często występują palce cynkowe	301	12.1.2	Kontrola wyboru między elongacją i terminacją	338
	Inne rodzaje domen specyficznie wiążących DNA	301		Antyterminacja powoduje ignorowanie sygnałów terminacji	338
11.1.2	Identyfikacja w genomie miejsc wiążących białka	302		Atenuacja powoduje przedwczesną terminację	339
	Badanie spowolnienia migracji w żelu pozwala zidentyfikować fragmenty DNA wiążące białka	303		Białka przecinające transkrypt mogą zapobiegać utknięciu cofającej się polimerazy	341
	Testy ochrony przed modyfikacją precyzyjnie określają położenie miejsc wiążących białko	303	12.1.3	Dojrzewanie bakteryjnych RNA	343
	Nukleotydy bezpośrednio oddziałujące z białkiem można zidentyfikować stosując test zakłócania modyfikacji	304		Cięcie RNA uwalnia dojrzałe rRNA i tRNA z cząsteczek prekursorowych	343
11.1.3	Oddziaływanie między DNA a wiążącymi go białkami	306		Modyfikacje nukleotydów poszerzają właściwości chemiczne tRNA i rRNA	345
	Bezpośredni odczyt informacji zawartej w sekwencji nukleotydów	306	12.1.4	Degradacja bakteryjnych RNA	346
	Sekwencja nukleotydów pośrednio wpływa na strukturę helisy	306		Bakteryjne mRNA są degradowane w kierunku 3'→5'	346
	Oddziaływania między DNA i białkami	307	12.2 Synteza i dojrzewanie eukariotycznych RNA		347
11.2 Oddziaływania między białkami i DNA podczas inicjacji transkrypcji		308	12.2.1	Synteza eukariotycznych mRNA przez polimerazę RNA II	348
11.2.1	Polimerazy RNA	308		Dołączanie czapeczki do transkryptów wytwarzanych przez polimerazę RNA II następuje natychmiast po rozpoczęciu transkrypcji	348
11.2.2	Sekwencje rozpoznawane w procesie inicjacji transkrypcji	309		Elongacja eukariotycznych mRNA	350
	Bakteryjna polimeraza RNA wiąże się z sekwencjami promotora	309		Terminacja syntezy większości mRNA jest połączona z poliadenylacją	351
	Promotory eukariotyczne są bardziej złożone	310		Regulacja syntezy mRNA u eukariotów	353
11.2.3	Budowanie kompleksu inicjującego transkrypcję	312	12.2.2	Wycinanie intronów z jądrowego pre-mRNA	354
	Inicjacja transkrypcji u <i>E. coli</i>	312		Konserwatywne motywy sekwencji wskazują na istotne miejsca w intronach GU–AG	355
	Inicjacja transkrypcji przez polimerazę RNA II	313		Ogólny schemat szlaku wycinania intronów GU–AG	356
	Inicjacja transkrypcji przez polimerazy RNA I i III	315		snRNA i związane z nimi białka są centralnymi składnikami aparatu do wycinania intronów	357
11.3 Regulacja inicjacji transkrypcji		315		Alternatywne składanie RNA jest powszechne u wielu eukariotów	359
11.3.1	Strategie kontrolowania inicjacji transkrypcji u bakterii	316		Składanie RNA w układzie trans łączy eksony z różnych jednostek transkrypcyjnych	362
	Struktura promotora określa podstawowy poziom inicjacji transkrypcji	316		Introny AU–AC są podobne do intronów GU–AG, ale wymagają odmiennego aparatu wycinania	363
	Regulacja inicjacji transkrypcji u bakterii	317			

12.2.3	Synteza funkcjonalnych RNA u eukariotów	363		W komórce białka opiekuńcze pomagają innym	
12.2.4	Wycinanie intronów z eukariotycznych pre-rRNA i pre-tRNA	364	13.3.2	Cięcie proteolityczne białka	409
	Introny w eukariotycznych pre-rRNA są autokatalityczne	364		Usunięcie końców polipeptydu	410
	Usuwanie intronów z eukariotycznych pre-tRNA	367	13.3.3	Chemiczna modyfikacja białka	411
	Inne rodzaje intronów	367	13.3.4	Inteiny	412
12.2.5	Modyfikacje chemiczne eukariotycznych RNA	368			413
	Małe jąderkowe RNA działają jako sekwencje naprowadzające przy modyfikacji eukariotycznych rRNA	369	13.4	Degradacja białek	414
	Redagowanie RNA	369		Pytania	417
12.2.6	Degradacja eukariotycznych RNA	371			
	Organizmy eukariotyczne mają różne mechanizmy degradacji RNA	371	Rozdział 14	Regulacja aktywności genomu	423
	Wyciszanie RNA zidentyfikowano po raz pierwszy jako sposób niszczenia inwazyjnego wirusowego RNA	373	14.1	Krótkotrwałe zmiany w aktywności genomu	425
	MikroRNA regulują ekspresję genomu powodując degradację konkretnych docelowych mRNA	374	14.1.1	Przekazywanie sygnału poprzez wniknięcie do komórki związku sygnalizującego	427
12.2.7	Transport RNA w obrębie komórki eukariotycznej	375		Laktoferyna jest zewnątrzkomórkowym związkiem sygnalizującym, który działa jako aktywator transkrypcji	428
Pytania		377		Niektóre związki sygnalizujące wnikające do komórki bezpośrednio wpływają na aktywność obecnych w niej białek regulacyjnych	428
				Niektóre związki sygnalizujące wnikające do komórki wpływają na aktywność genomu w sposób pośredni	429
Rozdział 13	Synteza i obróbka proteomu	385	14.1.2	Przekazywanie sygnałów za pośrednictwem powierzchniowych receptorów komórkowych	432
13.1	Rola tRNA w syntezie białek	386		Przekazywanie sygnałów z jednym etapem między receptorem i genomem	433
13.1.1	Aminoacylacja: przyłączanie aminokwasu do tRNA	386		Przekazywanie sygnałów z wieloma etapami między receptorem i genomem	434
	Wszystkie tRNA mają podobną strukturę	386		Przekazywanie sygnału przez przekazniki drugorzędowe	435
	Syntetazy aminoacylo-tRNA przyłączają aminokwasy do cząsteczek tRNA	388		Ustalenie przebiegu drogi przekazywania sygnału	436
13.1.2	Oddziaływania kodon–antykodon: przyłączenie tRNA do mRNA	390	14.2	Stale i długotrwałe zmiany w aktywności genomu	437
13.2	Rola rybosomu w procesie syntezy białek	392	14.2.1	Rearanżacje genomu	438
13.2.1	Struktura rybosomu	393		Typy płciowe drożdży zależą od konwersji genu	438
	Metodę ultrawirowania wykorzystano w celu poznania wielkości rybosomów oraz ich składników	393		Rearanżacje genomu są odpowiedzialne za różnorodność immunoglobulin i receptorów komórek T	439
	Szczegółowe badania struktury rybosomu	394	14.2.2	Zmiany w strukturze chromatyny	441
13.2.2	Inicjacja translacji	395	14.2.3	Regulacja genomu poprzez sprzężenie zwrotne	443
	W procesie inicjacji translacji u bakterii niezbędne jest wewnętrzne miejsce wiązania rybosomu	396	14.3	Regulacja aktywności genomu w czasie rozwoju	443
	W procesie inicjacji translacji u <i>Eukaryota</i> pośredniczy czapeczka i ogon poli(A)	398	14.3.1	Cykl lizogeniczny bakteriofaga λ	444
	W przypadku niektórych eukariotycznych mRNA nie następuje skanowanie w czasie inicjacji translacji	399		Bakteriofag λ musi dokonać wyboru między lizą a lizogenią	444
	Regulacja inicjacji translacji	399	14.3.2	Sporulacja u <i>Bacillus</i>	446
13.2.3	Elongacja translacji	400		Sporulacja wymaga skoordynowania procesów zachodzących w dwóch różnych typach komórek	446
	Elongacja u bakterii i eukariotów	400		Specjalne podjednostki σ kontrolują aktywność genomu w czasie sporulacji	446
	Peptydylotransferaza jest rybozymem	402	14.3.3	Rozwój otworu płciowego u <i>Caenorhabditis elegans</i>	449
	Zmiana fazy odczytu i inne nietypowe zdarzenia w czasie elongacji	403		<i>C. elegans</i> stanowi model dla rozwoju wielokomórkowego eukariota	449
13.2.4	Terminacja translacji	405		Określenie losu komórek w czasie rozwoju otworu płciowego <i>C. elegans</i>	449
13.2.5	Translacja u archeonów	405	14.3.4	Rozwój u <i>Drosophila melanogaster</i>	451
13.3	Potranslacyjna obróbka białek	406		Geny matczyne wytwarzają gradienty białkowe w zarodku <i>Drosophila</i>	452
13.3.1	Fałdowanie białka	407			
	Nie wszystkie białka fałdują się spontanicznie w próbówce	407			

Kaskada ekspresji genów przekształca dane o położeniu we wzór segmentacji	453	15.3.2	Kontrola wewnątrz fazy S	498
Tożsamość segmentów jest określana przez geny homeotyczne	454		Wczesne i późne miejsca inicjacji replikacji	498
Geny homeotyczne kierują rozwojem wyższych eukariotów	455		Punkty kontrolne wewnątrz fazy S	499
Geny homeotyczne leżą również u podstaw rozwoju kwiatów	456	Pytania		502
Pytania	459	Rozdział 16 Mutacje i naprawa DNA		507
Część 4 W jaki sposób genomy ulegają replikacji i ewolucji	465	16.1 Mutacje		508
Rozdział 15 Replikacja genomu	467	16.1.1	Przyczyny mutacji	508
15.1 Problem topologiczny	468		<i>Metody badań 16.1</i> Wykrywanie mutacji	510
15.1.1 Doświadczalne potwierdzenie replikacji DNA według modelu Watsona–Cricka	469		Błędy w replikacji są źródłem mutacji punktowych	511
Doświadczenie Meselsona–Stahla	470		Błędy w replikacji mogą też doprowadzić do mutacji typu insercji i delecji	512
15.1.2 Odkrycie topoizomeraz DNA pozwoliło na rozwiązanie problemu topologicznego	472		Mutacje są również wywoływane przez mutageny chemiczne i fizyczne	514
15.1.3 Wariacje na temat replikacji semikonserwatywnej	474	16.1.2	Skutki mutacji	517
15.2 Proces replikacji DNA	475		Efekty mutacji na poziomie genomu	518
15.2.1 Inicjacja replikacji genomu	476		Wpływ mutacji na organizmy wielokomórkowe	520
Inicjacja replikacji DNA w komórkach <i>E. coli</i>	476		Wpływ mutacji na mikroorganizmy	521
Obszary inicjacji replikacji DNA w komórkach drożdży są równie dobrze poznane	477	16.1.3	Hipermutacje i hipotetyczne mutacje programowane	523
Identyfikacja miejsc inicjacji replikacji DNA w komórkach wyższych eukariotów okazała się znacznie trudniejsza	478		Hipermutacje są rezultatem nieprawidłowego działania systemu naprawy DNA	523
15.2.2 Faza elongacji replikacji DNA	479		Mutacje programowane pozornie wspierają teorię ewolucji Lamarcka	524
Polimerazy DNA komórek bakteryjnych i eukariotycznych	480	16.2 Naprawa DNA		525
Synteza nici nieciągłej i problem z jej inicjacją	482	16.2.1	Systemy naprawy bezpośredniej wypełniają pęknięcia i korygują niektóre rodzaje modyfikacji nukleotydów	526
Zjawiska zachodzące w obrębie bakteryjnych widełek replikacyjnych	483	16.2.2	Naprawa przez wycinanie	527
Eukariotyczne widełki replikacyjne. Wariacje na tle widełek bakteryjnych	485		Wycinanie zasad naprawia wiele rodzajów uszkodzonych nukleotydów	527
Replikacja genomu w komórkach archeonów	488		Naprawa przez wycinanie nukleotydów koryguje bardziej rozległe uszkodzenia	529
15.2.3 Terminacja replikacji DNA	489	16.2.3	Naprawa błędnie sparowanych nukleotydów: poprawianie błędów replikacji	531
Terminacja replikacji genomu <i>E. coli</i> zachodzi w ściśle określonym regionie	489		Naprawa pęknięć DNA	532
Bardzo niewiele wiadomo o terminacji replikacji w komórkach eukariotów	490	16.2.5	Pomijanie uszkodzeń DNA podczas replikacji genomu	533
15.2.4 Utrzymywanie stałej długości końców linearnej cząsteczki DNA	491		Odpowiedź SOS jest awaryjną reakcją na uszkodzenia genomu	533
Telomerowy DNA jest syntetyzowany przez specyficzny enzym telomerazę	491	16.2.6	Defekty w naprawie DNA stanowią podłoże chorób człowieka, w tym nowotworów	534
Na długość telomerów wywiera wpływ starzenie się komórek oraz występowanie raka	493	Pytania		537
Telomery komórek <i>Drosophila</i>	495	Rozdział 17 Rekombinacja		543
15.3 Regulacja replikacji genomu eukariotycznego	495	17.1 Rekombinacja homologiczna		545
15.3.1 Koordynacja procesu replikacji genomu i podziału komórkowego	495	17.1.1	Modele rekombinacji homologicznej	545
Utworzenie kompleksu prereplikacyjnego umożliwia rozpoczęcie replikacji genomu	496		Modele rekombinacji homologicznej Hollidaya i Meselsona–Raddinga	545
Regulacja składania kompleksu pre-RC	497		Model pęknięć dwuniciowych w rekombinacji homologicznej	547
		17.1.2	Biochemiczny mechanizm rekombinacji homologicznej	548
			Szlak RecBCD u <i>Escherichia coli</i>	548
			Inne szlaki rekombinacji homologicznej u <i>E. coli</i>	549
			Szlaki rekombinacji homologicznej u eukariotów	550
		17.1.3	Rekombinacja homologiczna i naprawa DNA	551
		17.2 Rekombinacja umiejscowiona		552

17.2.1	Integracja DNA λ do genomu <i>E. coli</i>	552	19.2.2	Konstruowanie drzew	603
17.2.2	Rekombinacja umiejscowiona jest pomocnym narzędziem w inżynierii genetycznej	553		Przyrównanie sekwencji jest zasadniczym wstępnym etapem budowania drzewa	604
17.3	Transpozycja	554		Przekształcanie danych z przyrównania sekwencji w drzewo filogenetyczne	605
17.3.1	Transpozycja replikatywna i konserwatywna transpozonów DNA	554		<i>Metody badań 19.1</i> Analiza filogenetyczna	606
17.3.2	Transpozycja retroelementów	555		Określanie dokładności skonstruowanego drzewa	607
17.3.3	W jaki sposób komórki minimalizują szkodliwe skutki transpozycji?	558		Zegar molekularny pozwala oszacować czas, jaki upłynął od rozdzielenia się sekwencji	608
Pytania		560		Niektóre zbiory danych sekwencji DNA wymagają zastosowania innych metod	609
Rozdział 18 Drogi ewolucji genomów		565	19.3	Zastosowania filogenetyki molekularnej	611
18.1	Genomy: pierwszych dziesięć miliardów lat	566	19.3.1	Przykłady użycia drzew filogenetycznych	611
18.1.1	Pochodzenie genomów	567		Filogenetyka wykorzystująca analizę sekwencji DNA wyjaśniała związki ewolucyjne między człowiekiem a innymi naczelnymi	611
	Pierwsze systemy biochemiczne opierały się na RNA	567		Pochodzenie AIDS	612
	Pierwsze genomy zbudowane z DNA	568	19.3.2	Filogenetyka molekularna w badaniu prehistorii człowieka	613
	W jakim stopniu życie jest niepowtarzalne?	569		Badanie genów w populacjach	613
18.2	Powstawanie nowych genów	570		Pochodzenie współczesnych ludzi – Pożegnanie z Afryką?	614
18.2.1	Powstawanie nowych genów przez duplikacje	572		Neandertalczycy nie byli przodkami współczesnych Europejczyków	615
	Sekwencje genomów kryją wiele śladów dawnych duplikacji genów	573		Szlaki niedawnych migracji do Europy również są kontrowersyjne	617
	Duplikacja genu może zająć na skutek wielu różnych procesów	575		Prehistoryczne migracje ludzkie do Nowego Świata	619
	Możliwa jest też duplikacja całego genomu	576	Pytania		623
	Analiza współczesnych genomów dostarcza dowodów na duplikacje genomu w przeszłości	578		Dodatek. Odpowiedzi na pytania	629
	W różnych genomach, w tym w genomie człowieka, można odnaleźć też ślady mniejszych duplikacji	579		Słowniczek	655
	W ewolucji genomu następują również rearanżacje istniejących genów	580		Indeks	685
18.2.2	Nabywanie genów od innych gatunków	583			
18.3	DNA niekodujący i ewolucja genomu	584			
18.3.1	Transpozony i ewolucja genomów	584			
18.3.2	Pochodzenie intronów	585			
	„Introny wcześniej” i „introny późno” – dwie konkurencyjne hipotezy	585			
	Aktualne dowody nie obalają żadnej z hipotez	586			
18.4	Genom człowieka: ostatnich pięć milionów lat	587			
Pytania		591			
Rozdział 19 Filogenetyka molekularna		597			
19.1	Od klasyfikacji do filogenetyki molekularnej	598			
19.1.1	Początki filogenetyki molekularnej	598			
	Fenetyka i kladystyka wymagają dużych zbiorów	598			
	Badanie cech molekularnych pozwala na uzyskanie dużych zbiorów danych	599			
19.2	Rekonstrukcja drzew filogenetycznych na podstawie sekwencji DNA	601			
19.2.1	Główne cechy drzew filogenetycznych zbudowanych na podstawie DNA	601			
	Drzewa genów nie są tożsame z drzewami gatunków	602			