

Spis treści

Przedmowa XVIII

Przedmowa do wydania polskiego XXIII

1 Wprowadzenie do biologii molekularnej 1

1.1 Wstęp 1

1.2 Perspektywa historyczna 1

Zasady dziedziczenia na podstawie analiz okrągłych i pomarszczonych ziaren grochu:

genetyka mendlowska 2

Natura materiału dziedzicznego: doświadczenie Fredericka Griffitha 5

Pomysłowość w podejściu eksperymentalnym doprowadza do sformułowania hipotezy jeden gen–jeden enzym 7

Waga postępu technologicznego: doświadczenie Hersheya–Chase 7

Model budowy DNA: dwuniciowa helisa DNA 9

Podsumowanie rozdziału 10

Pytania kontrolne 10

Literatura uzupełniająca 11

2 Budowa DNA 13

2.1 Wstęp 13

2.2 Podstawowy budulec: składniki kwasów nukleinowych 14

Pięciowęglowe cukry 14

Zasady azotowe 15

Grupy fosforanowe 15

Nukleozydy i nukleotydy 16

2.3 Znaczenie końców 5' i 3' 17

2.4 Nazewnictwo nukleotydów 17

2.5 Długość RNA i DNA 18

2.6 Struktura drugorzędowa DNA 18

Między zasadami powstają wiązania wodorowe 18

Oddziaływania warstwowe stabilizują dwuniciową helisę DNA 18

Model dwuniciowej helisy Watsona–Cricka 20

Cechy charakterystyczne różnych form strukturalnych dwuniciowej helisy DNA 22

Dwuniciowa cząsteczka DNA może podlegać odwracalnemu rozpleceniu do pojedynczych nici 24

2.7 Nietypowe struktury drugorzędowe DNA 26

Struktury zawierające wybrzuszenia 26

Struktury krzyżowe 27

Trójniciowa helisa DNA 28

Choroby. Ramka 2.1. Ataksja Friedreicha a trójniciowa helisa DNA 27

2.8 Trzeciorzędowa struktura DNA 29

Superhelikalne formy DNA 30

Topoizomerazy odpowiadają za relaksację struktur superhelikalnych DNA 31

Znaczenie obecności struktur superhelikalnych *in vivo* 33

Choroby. Ramka 2.2. Leki przeciwnowotworowe a topoizomerazy 33

Podsumowanie rozdziału 34

Pytania kontrolne 35

Literatura uzupełniająca 35

3 Organizacja genomu: od nukleotydów do chromatyny 37

- 3.1 Wstęp 37
- 3.2 Genom eukariotyczny 38
 - Budowa chromatyny: perspektywa historyczna 38
 - Histony 39
 - Nukleosomy 39
 - Paciorki nanizane na sznurek: chromatyna (włókno) 10 nm 41
 - Chromatyna (włókno) 30 nm 42
 - Wypętlania tworzące domeny 42
 - Chromosomy metafazowe 43
 - Alternatywne struktury chromatyny 44
- 3.3 Genom bakteryjny 44
- 3.4 Plazmidy 45
- 3.5 Bakteriofagi i wirusy DNA ssaków 45
 - Bakteriofagi 46
 - Wirusy DNA ssaków 46
- 3.6 Genomy organellowe: chloroplasty i mitochondria 47
 - DNA chloroplastów (cpDNA) 47
 - DNA mitochondriów (mtDNA) 48
 - Choroby. Ramka 3.1. DNA mitochondrialny a choroby 48
- 3.7 Genomy zbudowane z RNA 48
 - Eukariotyczne wirusy RNA 48
 - Retrowirusy 50
 - Wiroidy 51
 - Inne patogeny towarzyszące wirusom 51
 - Choroby. Ramka 3.2. Ptasia grypa 50
 - Podsumowanie rozdziału 51
 - Pytania kontrolne 52
 - Literatura uzupełniająca 52

4 RNA – cząsteczka o wielu funkcjach 54

- 4.1 Wstęp 54
- 4.2 Struktura drugorzędowa RNA 55
 - Motywy struktury drugorzędowej RNA 55
 - Dwuniciowy RNA przyjmuje formę helisy typu A 56
 - Helisy RNA często zawierają nietypowe pary zasad 56
- 4.3 Struktura trzeciorzędowa RNA 57
 - Struktura tRNA: cząsteczka ważna w poznaniu podstawowych motywów strukturalnych RNA 58
 - Najczęstsze motywy struktury trzeciorzędowej RNA 60
- 4.4 Kinetyka zwijania RNA 65
- 4.5 Cząsteczki RNA biorą udział w różnorodnych procesach komórkowych 67
- 4.6 Perspektywa historyczna: odkrycie właściwości katalitycznych RNA 69
 - Intron grupy I z *Tetrahymena* jest rybozymem 72
 - RNaza P jest rybozymem 72
 - Warto wiedzieć. Ramka 4.1. Świat RNA 70
- 4.7 Rybozomy katalizują szereg reakcji chemicznych 73
 - Sposób działania rybozomu 73
 - Duże rybozomy 75
 - Mate rybozomy 75

Podsumowanie rozdziału	77
Pytania kontrolne	77
Literatura uzupełniająca	77

5 Od genu do białka 79

5.1 Wstęp	79
5.2 Podstawowy dogmat biologii molekularnej	80
5.3 Kod genetyczny	80
Tłumaczenie kodu genetycznego	81
21. i 22. aminokwas są kodowane genetycznie	82
Rola nukleotydów modyfikowanych w odczytywaniu mRNA	82
Implikacje dla biologów molekularnych różnego odczytywania kodonów u różnych organizmów	87
5.4 Budowa białek	85
Struktura pierwszorzędowa	85
Struktura drugorzędowa	87
Struktura trzeciorzędowa	87
Struktura czwartorzędowa	91
Wielkość i złożoność białek	92
Białka zawierają wiele domen funkcjonalnych	92
Przewidywanie struktury białek	93
5.5 Funkcje białek	93
Enzymy są katalizatorami biologicznymi	93
Regulacja aktywności przez modyfikacje potranslacyjne	94
Regulacja allosteryczna aktywności białek	95
Aktywacja kinaz zależnych od cyklin	96
Kompleksy makromolekularne	97
5.6 Prawidłowe i błędne zwijanie się białek	98
Białka opiekuńcze	99
Degradacja białek zależna od ubiquityny	100
Choroby związane z nieprawidłowym zwijaniem się białek	100
Choroby. Ramka 5.1. Priony	102
Podsumowanie rozdziału	100
Pytania kontrolne	106
Literatura uzupełniająca	107

6 Replikacja DNA i dobudowa telomerów 108

6.1 Wstęp	109
6.2 Perspektywa historyczna	109
Jak odkryto sposób replikowania się DNA: doświadczenie Meselsona–Stahla	111
Jak odkryto sposób replikowania się DNA: obraz replikującego się DNA bakteryjnego	111
6.3 Synteza DNA przebiega w kierunku 5' do 3'	112
6.4 Enzymy katalizujące syntezę DNA nazywają się polimerazami DNA	112
Warto wiedzieć. Ramka 6.1. Bakteryjne polimerazy DNA	115
6.5 Jedna nić DNA jest replikowana w sposób ciągły, a druga nieciągły	112
Synteza nici wiodącej przebiega w sposób ciągły	115
Synteza nici opóźnionej przebiega w sposób nieciągły	115
6.6 Replikacja jądrowego DNA w komórkach eukariotycznych	117
Fabryki replikacyjne	118
Usuwanie histonów w miejscach inicjacji replikacji	118

Tworzenie się kompleksów prereplikacyjnych w miejscach początku replikacji	118
Pozwolenie na replikację: DNA replikuje się tylko raz w każdym cyklu komórkowym	124
Rozplatanie dwuniciowej helisy DNA w widelkach replikacyjnych	127
Inicjacja syntezy nici wiodącej i opóźnionej DNA poprzez startery RNA	128
Wymiana polimeraz DNA	129
Wydłużanie nici wiodącej i opóźnionej	129
Aktywności korekcyjne	130
Dojrzewanie nowo syntetyzowanych nici DNA	130
Terminacja	134
Osadzanie histonów	134
Warto wiedzieć. Ramka 6.2. Nomenklatura genów związanych z replikacją DNA	121
Choroby. Ramka 6.1. Toczeń rumieniowaty układowy a białko PCNA	130
6.7 Replikacja organellowego DNA	134
Modele replikacji mtDNA	134
Replikacja cpDNA	135
Choroby. Ramka 6.2. RNaza MRP a hipoplazja chrząstkowo-włosowa	136
6.8 Replikacja drogą toczącego się koła	136
6.9 Dobudowa telomerów: rola telomerazy w replikacji DNA, procesach starzenia się i powstawania nowotworów	138
Telomery	138
Rozwiązanie problemu replikacji końców liniowych cząsteczek DNA	138
Dobudowa telomerów przez telomerazę	139
Inne sposoby dobudowy telomerów	142
Regulacja aktywności telomerazy	142
Telomeraza, procesy starzenia się i nowotworzenia	142
Choroby. Ramka 6.3. Dyskeratoza wrodzona: utrata aktywności telomerazy	146
Podsumowanie rozdziału	147
Pytania kontrolne	149
Literatura uzupełniająca	149
7 Naprawa DNA i rekombinacja	152
7.1 Wstęp	152
7.2 Rodzaje mutacji i ich konsekwencje fenotypowe	153
Tranzykcje i transwersje prowadzą do mutacji typu synonimowego, zmiany sensu i nonsensownego	153
Insercje i delecje mogą powodować zmiany ramki odczytu	155
Wydłużanie powtórzeń trójnukleotydowych jest powodem niestabilności genetycznej	155
7.3 Zasadniczy podział uszkodzeń DNA	156
Zmiany pojedynczych nukleotydów	156
Zaburzenia strukturalne	156
Uszkodzenie szkieletu DNA	158
Odpowiedź komórkowa na uszkodzenie DNA	158
7.4 Ominięcie uszkodzeń	159
7.5 Bezpośrednia naprawa uszkodzeń DNA	159
7.6 Naprawa zmiany nukleotydu lub zaburzeń strukturalnych w drodze usunięcia uszkodzenia	159
Naprawa przez wycięcie zasady	161
Naprawa błędnych sparowań	163
Naprawa przez wycięcie nukleotydów	168
Choroby. Ramka 7.1. Dziedziczny rak jelita grubego i odbytu bez polipowatości: uszkodzenie systemu naprawy błędnych sparowań	165

- 7.7 Naprawa podwójnych pęknięć w DNA 168**
 Rekombinacja homologiczna 169
 Łączenie niehomologicznych końców 174
 Choroby. Ramka 7.2. Skóra pergaminowata barwnikowa i pokrewne schorzenia: uszkodzenia w systemie naprawy przez wycięcie nukleotydów 170
 Choroby. Ramka 7.3. Zespoły dziedzicznego raka piersi: mutacje w genach *BRCA1* i *BRCA2* 173
 Podsumowanie rozdziału 177
 Pytania kontrolne 178
 Literatura uzupełniająca 178

8 Technologia rekombinowanego DNA i klonowanie DNA 180

- 8.1 Wstęp 181**
- 8.2 Perspektywa historyczna 181**
 Obecność lepkich końców w DNA bakteriofaga lambda (λ) 181
 Bakteryjne systemy restrykcji-modyfikacji 181
 Pierwsze doświadczenia klonowania DNA 184
- 8.3 Rozcinanie i łączenie DNA 184**
 Główne klasy endonukleaz restrykcyjnych 184
 Nazewnictwo endonukleaz restrykcyjnych 186
 Sekwencje DNA rozpoznawane przez endonukleazy restrykcyjne klasy II 186
 Ligaza DNA 189
 Warto wiedzieć. Ramka 8.1. Strach przed rekombinowanymi cząsteczkami DNA 185
- 8.4 Klonowanie DNA 189**
 Wektory DNA 192
 Wybór wektora zależy od długości klonowanego insertu i zastosowania 193
 Wektory plazmidowe 195
 Wektory oparte na DNA bakteriofaga lambda (λ) 197
 Sztuczne chromosomy 199
 DNA do klonowania może pochodzić z różnych metod izolacji 202
 Warto wiedzieć. Ramka 8.2. *EcoRI*: zginanie i cięcie DNA 190
 Narzędzia. Ramka 8.1. Chromatografia cieczowa 199
- 8.5 Konstrukcja bibliotek DNA 202**
 Biblioteka genomowa 202
 Biblioteka cDNA 203
- 8.6 Sondy 203**
 Sondy heterologiczne 209
 Sondy homologiczne 209
 Narzędzia. Ramka 8.2. Synteza komplementarnego DNA (cDNA) 204
 Narzędzia. Ramka 8.3. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) 206
 Narzędzia. Ramka 8.4. Metody izotopowego i nieizotopowego znakowania sondy 208
 Narzędzia. Ramka 8.5. Znakowanie kwasów nukleinowych 210
- 8.7 Przeszukiwanie bibliotek 214**
 Przeniesienie kolonii na membranę wiążącą DNA 214
 Hybrydyzacja kolonijna 214
 Identyfikacja kolonii dających pozytywny sygnał 216
- 8.8 Biblioteki ekspresyjne 216**
- 8.9 Mapowanie restrykcyjne 216**
- 8.10 Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) 217**
 RFLP może być markerem chorób genetycznych 219
 Narzędzia. Ramka 8.6. Elektroforeza 218

Narzędzia. Ramka 8.7. Hybrydyzacja metodą Southerna	220
Choroby. Ramka 8.1. Test PCR-RFLP do diagnozowania choroby syropu klonowego	222
8.11 Sekwencjonowanie DNA	224
Sekwencjonowanie ręczne metodą „dideoksy” Sangera	224
Sekwencjonowanie automatyczne	226
Podsumowanie rozdziału	226
Pytania kontrolne	229
Literatura uzupełniająca	231

9 Narzędzia do analizy ekspresji genów 232

9.1 Wstęp	233
9.2 Transfekcja o charakterze przejściowym i stabilnym	234
9.3 Geny reporterowe	236
Powszechnie stosowane geny reporterowe	236
Analiza regulacji aktywności genu	238
Oczyszczanie i identyfikacja etykiet białkowych: białka fuzyjne	238
Narzędzia. Ramka 9.1. Produkcja białek rekombinowanych	242
9.4 Mutageniza in vitro	243
Narzędzia. Ramka 9.2. Mikroskopia fluorescencyjna, konfokalna i wielofotonowa	244
9.5 Analiza ekspresji genu na poziomie transkrypcyjnym: ekspresja i lokalizacja RNA	249
Hybrydyzacja metodą northern	249
Hybrydyzacja in situ	249
Analiza RNA techniką ochrony przed aktywnością RNazy (RPA)	251
Reakcja odwrotnej transkrypcji sprzężona z PCR (RT-PCR)	251
9.6 Analiza ekspresji genu na poziomie translacyjnym: ekspresja i lokalizacja białka	251
Immunodetekcja metodą western	255
Analiza in situ	257
Test immunoenzymatyczny (ELISA)	257
Narzędzia. Ramka 9.3. Elektroforeza żelowa białek	252
Narzędzia. Ramka 9.4. Produkcja przeciwciał	254
9.7 Technologie związane ze stosowaniem antysensu	258
Oligonukleotydy antysensowne	258
Interferencja RNA (RNAi)	259
9.8 Analiza oddziaływań DNA-białko	265
Retardacja żelowa (EMSA)	265
Technika odcisku stopy z użyciem DNazy I	266
Immunoprecypitacja chromatyny (CHIP)	266
Choroby. Ramka 9.1. Terapie z zastosowaniem RNAi	266
9.9 Analiza oddziaływań białko-białko	266
Technika pull-down	267
Drożdżowy system dwuhybrydowy	267
Koimmunoprecypitacja	267
Rezonansowe przeniesienie sygnału emisji fluorescencji (FRET)	267
9.10 Analiza strukturalna białek	267
Krystalografia rentgenowska	269
Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR)	269
Mikroskopia krioelektronowa	271
Mikroskopia sił atomowych (AFM)	271
9.11 Organizmy modelowe	271
Drożdże: <i>Saccharomyces cerevisiae</i> i <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	272

Nicienie: <i>Caenorhabditis elegans</i>	272
Owady: <i>Drosophila melanogaster</i>	272
Ryby: <i>Danio rerio</i>	272
Rośliny: <i>Arabidopsis thaliana</i>	272
Myszy: <i>Mus musculus</i>	273
Płazy: <i>Xenopus laevis</i> i <i>Xenopus tropicalis</i>	273
Podsumowanie rozdziału	273
Pytania kontrolne	275
Literatura uzupełniająca	277

10 Transkrypcja u prokariotów 278

10.1 Wstęp	278
10.2 W bakteriach transkrypcja jest sprzężona z translacją	279
10.3 Mechanizm transkrypcji	279
Budowa promotora bakteryjnego	279
Budowa bakteryjnej polimerazy RNA	282
Etapy transkrypcji	284
Wierność przepisywania	292
Kierunek transkrypcji wokół chromosomu <i>E. coli</i>	293
Warto wiedzieć. Ramka 10.1. Co się porusza: polimeraza RNA czy DNA?	290
10.4 Perspektywa historyczna: model regulacji aktywności operonu według Jacoba–Monoda	293
Model operonu doprowadził do odkrycia mRNA	294
Charakterystyka represora Lac	295
10.5 Regulacja operonu laktozowego (<i>lac</i>)	296
Indukcja operonu <i>lac</i>	296
Podstawowa transkrypcja operonu <i>lac</i>	299
Regulacja operonu <i>lac</i> przez czynnik Rho	299
Promotor <i>lac</i> i gen strukturalny <i>lacZ</i> są szeroko wykorzystywane w technikach biologii molekularnej	299
10.6 Sposób działania regulatorów transkrypcyjnych	299
Kooperatywne wiązanie białek z DNA	300
Modyfikacje allosteryczne a wiązanie z DNA	300
Wypętlanie DNA	301
10.7 Kontrola ekspresji genów przez RNA	305
Alternatywne zwijanie się RNA: atenuacja transkrypcyjna operonu tryptofanowego	305
Ryboprzetłaczniki	305
Ryboprzetłaczniki rybozymowe	308
Podsumowanie rozdziału	308
Pytania kontrolne	310
Literatura uzupełniająca	310

11 Transkrypcja u eukariotów 312

11.1 Wstęp	313
11.2 Przegląd sposobów regulacji ekspresji na poziomie transkrypcyjnym	313
11.3 Elementy regulatorowe genów kodujących białka	314
Budowa i działanie elementów promotorowych	314
Budowa i działanie elementów regulatorowych dalekiego zasięgu	319
Warto wiedzieć. Ramka 11.1 Efekt pozycji i elementy regulatorowe dalekiego zasięgu	320
Choroby. Ramka 11.1 Latynoska talasemia i miejsca nadwrażliwe na działanie DNazy I	324

- 11.4 **Podstawowa maszyneria transkrypcyjna 332**
Składniki podstawowej maszynerii transkrypcyjnej 332
Budowa polimerazy RNA II 332
Podstawowe czynniki transkrypcyjne i tworzenie kompleksu preinicjującego 335
Mediator: most molekularny 337
Warto wiedzieć. Ramka 11.2 Czy istnieje macierz jądrowa? 328
Warto wiedzieć. Ramka 11.3 Swoiste obszary chromosomowe i fabryki transkrypcyjne 331
- 11.5 **Czynniki transkrypcyjne 340**
Czynniki transkrypcyjne odpowiadają za swoistą dla genów aktywację lub represję transkrypcji 341
Czynniki transkrypcyjne są białkami modularnymi 342
Domeny wiążące DNA 342
Domeny transaktywacyjne 351
Domeny dimeryzacyjne 352
Warto wiedzieć. Ramka 11.4 Homeobloki i homeodomeny 344
Choroby. Ramka 11.2 Cefalopolisyndaktylia Greiga i sygnalizacja typu Sonic hedgehog 348
Choroby. Ramka 11.3 Uszkodzona acetylotransferaza histonowa w zespole Rubinsteina–Taybiego 350
- 11.6 **Koaktywatory i korepresory transkrypcyjne 352**
Kompleksy modyfikujące chromatynę 353
Warianty histonów łącznikowych 357
Kompleksy przekształcające chromatynę 357
Warto wiedzieć. Ramka 11.5 Czy istnieje kod histonowy? 354
- 11.7 **Tworzenie się kompleksu transkrypcyjnego: model stopniowy i holoenzymowy 361**
Kolejność wiązania się różnych białek regulujących transkrypcję 362
Model stopniowy 362
Model holoenzymowy 362
Model łączony 365
- 11.8 **Transkrypcja prowadzona przez polimerazę RNA II 365**
Opuszczenie promotora 365
Elongacja: polimeryzacja RNA 365
Aktywność korekcyjna i cofanie się polimerazy RNA II 367
Elongacja transkrypcji a pokonywanie bariery nukleosomowej 368
Choroby. Ramka 11.4 Uszkodzenia w Elongatorze i dysautonomia rodzinna (choroba Riley–Daya) 370
- 11.9 **Jądrowy import i eksport białek 372**
Karioferyny 372
Sygnały lokalizacji jądrowej (NLS) 375
Sygnały eksportu jądrowego (NES) 375
Szlak importu do jądra komórkowego 376
Szlak eksportu z jądra komórkowego 380
Warto wiedzieć. Ramka 11.6 Kompleks poru jądrowego 374
Warto wiedzieć. Ramka 11.7 Odkrycie pierwszej sekwencji sygnału jądrowego 378
- 11.10 **Regulacja importu do jądra i ścieżki transdukcji sygnału 380**
Regulacja importu czynnika NF- κ B do jądra komórkowego 381
Regulacja importu jądrowego receptora glukokortykoidowego 383
Podsumowanie rozdziału 384
Pytania kontrolne 387
Literatura uzupełniająca 388

12 Epigenetyka i monoalleliczna ekspresja genów 392

12.1 Wstęp 393

12.2 Markery epigenetyczne 393

Metylacja cytozyn w DNA znakuje geny przeznaczone do wyciszenia 394

Trwałe utrzymywanie modyfikacji histonów 398

Choroby. Ramka 12.1 Nowotwór a epigenetyka 396

12.3 Rodzicielskie piętno genomowe 398

Ustalenie i utrzymywanie piętna 399

Mechanizmy ekspresji monoallelicznej 402

Rodzicielskie piętno genomowe jest ważne dla prawidłowego rozwoju osobniczego 409

Pochodzenie rodzicielskiego piętna genomowego 409

Choroby. Ramka 12.2 Zespół łamliwego chromosomu X a metylacja DNA 400

Choroby. Ramka 12.3 Rodzicielskie piętno genomowe a zaburzenia rozwoju układu nerwowego 404

12.4 Inaktywacja chromosomu X 410

Przypadkowa inaktywacja chromosomu X u ssaków 410

Mechanizmy molekularne trwałego utrzymania inaktywacji chromosomu X 410

Czy wszystkie geny chromosomu X ulegają ekspresji monoallelicznej? 412

12.5 Fenotypowe objawy obecności transpozonów 412

Perspektywa historyczna: odkrycie transpozonów kukurydzy przez Barbarę McClintock 415

Transpozony DNA charakteryzują się szerokim spektrum gospodarzy 416

Transpozony DNA przenoszą się w inne miejsca na zasadzie „tnij i wklej” 417

Retrotranspozony przenoszą się w inne miejsca na zasadzie „kopiuj i wklej” 418

Niektóre retrotranspozony typu LTR są aktywne w genomach ssaków 421

Do retrotranspozonów nie oskrzydłonych sekwencjami LTR należą sekwencje SINE i LINE 422

Narzędzia. Ramka 12.1 Mutageneza transpozycyjna 414

Choroby. Ramka 12.4 Geny skaczące a choroby człowieka 420

12.6 Kontrola epigenetyczna transpozonów 423

Metylacja transpozonów 423

Formowanie heterochromatyny w procesie RNAi i RNA-zależnej metylacji DNA 425

12.7 Wykluczenie alleliczne 426

Powstawanie typu ptci drożdży – włączanie i wyciszenie 427

Przetaczanie antygenowe u świdrowców 432

Rekombinacja V(D)J i adaptacyjna odpowiedź immunologiczna 439

Choroby. Ramka 12.5 Choroby wywoływane przez świdrowce: śpiączka afrykańska 434

Warto wiedzieć. Ramka 12.1 Czy system V(D)J powstał z transpozonu? 442

Podsumowanie rozdziału 444

Pytania kontrolne 448

Literatura uzupełniająca 449

13 Dojrzwanie RNA i regulacja ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym 452

13.1 Wstęp 453

13.2 Splicing RNA: perspektywa historyczna i przegląd informacji 453

13.3 Autokatalitycznie wycinające się introny grupy I i II 455

Do splicingu intronów grupy I niezbędna jest obecność zewnętrznego kofaktora G 455

Do splicingu intronów grupy II niezbędna jest obecność wewnętrznej, wypętłonej reszty A 458

Ruchome introny grupy I i II 458

Warto wiedzieć. Ramka 13.1 Małe jąderkowe RNA kodowane w intronach

i „geny odwrócone na drugą stronę” 457

- 13.4 **Introny w jądrowych i archebakteryjnych genach tRNA** 460
Endorybonukleaza wycina introny archebakteryjne 460
Niektóre jądrowe geny tRNA zawierają introny 460
- 13.5 **Kotranskrypcyjne dojrzewanie jądrowych pre-mRNA** 461
Przylączenie 7-metyloguanozyny do końca 5' pre-mRNA 462
Terminacja i poliadenylacja 464
Splicing 466
Choroby. Ramka 13.1 Dystrofia oczno-gardłowa: zwielokrotnienie powtórzeń trinukleotydowych w genie kodującym białko wiążące się z poli(A) 461
Choroby. Ramka 13.2 Rdzeniowy zanik mięśni: uszkodzenia w biogenezie snRNP 468
Choroby. Ramka 13.3 Mutacje w genie *prp8* wywołują zwyrodnienie barwnikowe siatkówki 475
- 13.6 **Splicing alternatywny** 477
Wpływ splicingu alternatywnego na ekspresję genetyczną 478
Regulacja splicingu alternatywnego 478
Warto wiedzieć. Ramka 13.2 Gen *DSCAM*: skrajny przykład splicingu alternatywnego 479
- 13.7 **Trans-splicing** 481
Trans-splicing nieciągłych intronów grupy II 483
Trans-splicing sekwencji liderowej 483
Trans-splicing pre-tRNA 485
Warto wiedzieć. Ramka 13.3 Apoptoza 482
- 13.8 **Redagowanie RNA** 485
Redagowanie RNA u świdrowców 486
Redagowanie RNA u ssaków 488
Choroby. Ramka 13.4 Stwardnienie zanikowe boczne: uszkodzenie w redagowaniu RNA? 492
- 13.9 **Modyfikacje zasad RNA mogą być zależne od matych, jąderkowych, naprowadzających cząsteczek RNA** 495
- 13.10 **MikroRNA jako potranskrypcyjne regulatory ekspresji genetycznej** 496
Perspektywa historyczna: odkrycie miRNA u *Caenorhabditis elegans* 496
Dojrzewanie miRNA 496
miRNA rozcinają mRNA i blokują translację 498
- 13.11 **Przemiana RNA w jądrze i cytoplazmie** 500
Egzosomy jądrowe i kontrola jakości 501
Kontrola jakości i tworzenie cząsteczek RNP jądrowych, gotowych do eksportu jądrowego 502
Cytoplazmatyczna przemiana RNA 503
Podsumowanie rozdziału 505
Pytania kontrolne 508
Literatura uzupełniająca 509

14 Translacja 512

- 14.1 **Wstęp** 512
- 14.2 **Budowa rybosomów i ich składanie** 513
Budowa rybosomów 513
Jąderko 515
Biogeneza rybosomów 516
Warto wiedzieć. Ramka 14.1 Co to jest „S”? 514
- 14.3 **Syntetazy aminoacylo-tRNA** 516
Reakcja aminoacylacji 517
Aktywność korekcyjna (naprawcza) syntetaz aminoacylo-tRNA 518

- 14.4 **Inicjacja translacji** 521
 - Powstawanie kompleksu trójskładnikowego i związanie go z podjednostką rybosomu 40S 521
 - Przyłączenie mRNA do podjednostki rybosomu 40S 522
 - Skanowanie i rozpoznanie kodonu AUG 523
 - Połączenie podjednostek rybosomu 40S i 60S 525
 - Narzędzia. Ramka 14.1 Technika odcisku palca stopy (ang. toeprinting assay) 524
 - Choroby. Ramka 14.1 Eukariotyczny czynnik inicjacji translacji eIF2B a leukodystrofia 527
- 14.5 **Elongacja** 527
 - Dekodowanie 529
 - Tworzenie wiązania peptydowego i translokacja 529
 - Aktywność peptydylotransferazowa 529
 - Wydarzenia w tunelu rybosomowym 535
- 14.6 **Terminacja** 535
- 14.7 **Kontrola translacyjna i potranslacyjna** 536
 - Fosforylacja eIF2 α blokuje powstawanie trójskładnikowego kompleksu inicjacyjnego 537
 - Fosforylację eIF2 α przeprowadzają cztery różne kinazy białkowe 538
 - Podsumowanie rozdziału 541
 - Pytania kontrolne 543
 - Literatura uzupełniająca 543

15 Organizmy modyfikowane genetycznie: w badaniach podstawowych i zastosowania praktyczne 545

- 15.1 **Wstęp** 546
- 15.2 **Myszy transgeniczne** 547
 - Jak „zrobić” mysz transgeniczną? 547
 - Indukowane myszy transgeniczne 550
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.1 Patent „onkomysz” 547
- 15.3 **Modele myszy ze zmienionym określonym genem** 550
 - Myszy typu knock-out 552
 - Myszy typu knock-in 555
 - Myszy typu knock-down 556
 - Myszy z ekspresją warunkową typu knock-out i knock-in 556
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.2 Mysz na zamówienie 553
- 15.4 **Inne zastosowania technologii uzyskiwania zwierząt transgenicznych** 557
 - Transgeniczne naczelne 557
 - Transgeniczne zwierzęta gospodarcze 560
 - Zwierzęta – bioreaktory farmaceutyczne 561
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.3 Sztuka a transgeneza: króliczek GFP 560
- 15.5 **Klonowanie w drodze transferu jądra komórkowego** 561
 - Genetyczna równoważność jąder komórek somatycznych: doświadczenia nad klonowaniem żab 561
 - Klonowanie ssaków przez transfer jądra komórkowego 564
 - „Przebój roku”: sklonowanie Dolly 564
 - Metoda klonowania przez transfer jądra komórkowego 565
 - Źródło mtDNA w klonach 567
 - Dlaczego klonowanie przez transfer jądra komórkowego jest niewydajne? 567
 - Zastosowania klonowania przez transfer jądra komórkowego 572
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.4 Genetycznie modyfikowane zwierzęta domowe 570

15.6	Rośliny transgeniczne	575
	Wprowadzanie genów z wykorzystaniem T-DNA	576
	Elektroporacja i mikrowstrzeliwanie	578
	Warto wiedzieć. Ramka 15.5 Rośliny GM: czy jadasz modyfikowane pomidory?	576
	Podsumowanie rozdziału	578
	Pytania kontrolne	579
	Literatura uzupełniająca	579
16	Analiza genomu: genotypowanie DNA, genomika i dalej	581
16.1	Wstęp	581
16.2	Genotypowanie DNA	582
	Polimorfizmy DNA: podstawa genotypowania DNA	584
	Analiza minisatelitów	587
	Analiza z wykorzystaniem tańcuchowej reakcji polimerazy	589
	Analiza krótkich powtórzeń tandemowych (STR)	590
	Analiza DNA mitochondrialnego	590
	Analiza chromosomu Y	593
	Analiza losowo powielonego polimorficznego DNA (RAPD)	594
	Warto wiedzieć. Ramka 16.1 Profile DNA konopi indyjskich	583
	Warto wiedzieć. Ramka 16.2 Genotypowanie DNA organizmów różnych gatunków	584
16.3	Genomika i początki postgenomiki	594
	Co to jest bioinformatyka?	595
	Genomika	595
	Proteomika	598
	Wiek „omik”	598
16.4	Projekt Poznania Genomu Człowieka	598
	Metoda sekwencjonowania i składania genomu „klon po klonie”	598
	Metoda sekwencjonowania fragmentów uzyskanych z wykorzystaniem strategii „shotgun”	599
	Sekwencja genomu: wersja robocza versus pełna sekwencja genomu	600
16.5	Inne zsekwencjonowane genomy	600
	Co to jest gen i ile ich jest w genomie człowieka?	604
	Warto wiedzieć. Ramka 16.3 Analiza porównawcza genomów: od rozdymki do kura	602
16.6	Wysokoprzepustowa analiza funkcji genów	604
	Mikromacierze DNA	604
	Mikromacierze białkowe	605
	Spektrometria mas	607
16.7	Polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP)	609
	Warto wiedzieć. Ramka 16.4 Proteom jąderka	610
	Podsumowanie rozdziału	611
	Choroby. Ramka 16.1 Mapowanie SNP związanych z chorobami: choroba Alzheimera	612
	Pytania kontrolne	615
	Literatura uzupełniająca	616
17	Biologia molekularna w medycynie	618
17.1	Wstęp	618
17.2	Biologia molekularna nowotworu	619
	Aktywacja onkogenów	619
	Inaktywacja genów kodujących supresory nowotworowe	625
	Nieprawidłowa ekspresja mikroRNA w schorzeniach nowotworowych	634

Przegląd	
Rearanżacje chromosomowe a nowotwory	636
Wirusy a nowotwory	638
Karcynogeneza o podłożu chemicznym	643
Warto wiedzieć. Ramka 17.1 Jak komórki rakowe dają przerzuty: rola Src	626
Choroby. Ramka 17.1 Teoria dwóch zdarzeń Knudsona a siatkówczak (retinoblastoma)	628
Choroby. Ramka 17.2 Terapia genowa nowotworów	632
Warto wiedzieć. Ramka 17.2 Odkrycie p53	633
Choroby. Ramka 17.3 Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV) a nowotwór szyjki macicy	640
17.3 Terapia genowa	645
Wektory w terapii genowej komórek somatycznych	646
Terapia genowa w ulepszaniu cech na drodze inżynierii genetycznej	649
Terapia genowa w zespołach dziedzicznego niedoboru odporności	652
Terapia genowa w leczeniu mukowiscydozy	654
Terapia genowa zakażenia HIV-1	655
Warto wiedzieć. Ramka 17.3 Transfer genów przy użyciu retrowirusów: jak skonstruować „bezpieczny” wektor?	650
Warto wiedzieć. Ramka 17.4 Pierwsza ofiara śmiertelna terapii genowej	652
Warto wiedzieć. Ramka 17.5 Cykl życiowy wirusa HIV-1	657
17.4 Geny a ludzkie zachowania	657
Zachowania agresywne, impulsywne i z użyciem przemocy	661
Loci odpowiadające za podatność na schizofrenię	662
Podsumowanie rozdziału	663
Pytania kontrolne	665
Literatura uzupełniająca	666

Słowniczek 668

Indeks 716

Główną ideą podręcznika jest wyłożenie biologicznego znaczenia zarówno podstawowych cech genów i genomów, budowy i funkcji RNA i białek, jak i złożonych, wielopoziomowych oddziaływań ważnych dla organizmów. Przedstawiłam wiele różnych technik biologii molekularnej, które opracowano i zastosowano w celu analizy układów złożonych, w tym podstawowe zasady regulacji ekspresji genów w czasie wzrostu i różnicowania komórki oraz w czasie odpowiedzi na zmiany środowiska, a także omówiłam, które są bardziej związane z zastosowaniami produkcyjnymi i medycznymi. W podręczniku podkreślono aktualny postęp technologiczny, proces dokonywania odkrycia oraz związany z nim dreszcz emocji, a także twarde rozwizania biologiczne.

W książce położyłam nacisk na przebieg całości procesu, który tkwi w odkryciu: obserwacje, pytania, projektowanie doświadczenia w celu przetestowania stworzonego modelu, wyniki i wnioski. Są tu zatem nie tylko „gołe” fakty, ale również sposoby ich odkrywania. Starłam się zapoznać studenta ze słownictwem biologii molekularnej, a przedstawione jej podstawy są oparte na wynikach przeprowadzonych doświadczeń. Nie trzeba opisywać każdego szczegółu danego procesu, by przedstawić jego ogólną ideę. Niemniej jednak, gdy tylko to było możliwe, zamieściłam przykłady „oryginalnych” danych, jak np. wyniki testów EMSA, techniki western czy analizy splien-

Obszerny, a zarazem lapidarny w ujęciu poszczególnych zagadnień podręcznik biologii (genetyki) molekularnej. Wyjątkowy wśród innych tego typu pozycji, jest to bowiem nie tyle książka o faktach, ile książka stawiająca pytania badawcze i opisująca eksperymentalne podejścia prowadzące do uzyskania odpowiedzi. Znakomicie zilustrowana – dzięki kolorowym zdjęciom oraz doskonale skonstruowanym schematom i rycinom przebieg poszczególnych procesów staje się jasny i zrozumiały. Autorka, Lizabeth A. Allison jest profesorem biologii w College of William and Mary w Stanach Zjednoczonych i wielokrotną laureatką nagród dla najlepszego nauczyciela akademickiego – jej talent dydaktyczny z całą siłą uwidacznia się w tym podręczniku.

- RAMKI „CHOROBY” – zawierają opis chorób genetycznych człowieka, u których podstaw leżą zaburzenia poszczególnych procesów zachodzących w komórkach
- RAMKI „NARZĘDZIA” – omawiają najważniejsze metody i techniki biologii molekularnej, dokładnie opisując strategie eksperymentalne i wskazując możliwości dalszego zgłębiania wiedzy
- RAMKI „WARTO WIEDZIEĆ” – podają dodatkowe informacje o poszczególnych zagadnieniach
- PODSUMOWANIA kolejnych rozdziałów – pomagają uporządkować świeżo zebraną wiedzę i ułatwiają szybkie jej odtworzenie, kiedy zachodzi taka potrzeba
- PYTANIA KONTROLNE zamieszczone na końcu każdego rozdziału – umożliwiają sprawdzenie własnej wiedzy na określone tematy
- SPIS LITERATURY do każdego rozdziału – ułatwia dotarcie do dodatkowych lektur poświęconych wybranym zagadnieniom
- SŁOWNICZEK terminów na końcu książki – podaje definicje pojęć, których wyjaśnienie może okazać się przydatne w trakcie lektury podręcznika

Od dawna nie widziałam tak znakomitej książki do biologii molekularnej. Co więcej, jest to jej pierwsze wydanie, nowoczesne i przystępne, a nie coś, co powstało kiedyś i było wielokrotnie poprawiane i uzupełniane. Doskonały podręcznik dla studentów nie tylko biologii, ale i medycyny – przy każdym omawianym zjawisku podany jest bowiem przykład ludzkiej choroby uwarunkowanej przez mutację w wybranym układzie czy mechanizmie regulacji. Znakomicie są tu omówione zagadnienia, takie jak siRNA, piętno genomowe, struktury DNA i RNA, RNA jako katalizator itp. Jest spora część o metodach, od analizy restrykcyjnej, klonowania i sekwencjonowania poprzez techniki analizy zmienności w populacji i zastosowania w medycynie sądowej, po różne „omiki” (genomika, proteomika itp.), klonowanie i organizmy modelowe. Całością tej książki mogę się tylko zachwycać.