

Inżynieria genetyczna

Wykład 2: ogólny schemat przepływu informacji genetycznej

Tymon Rubel

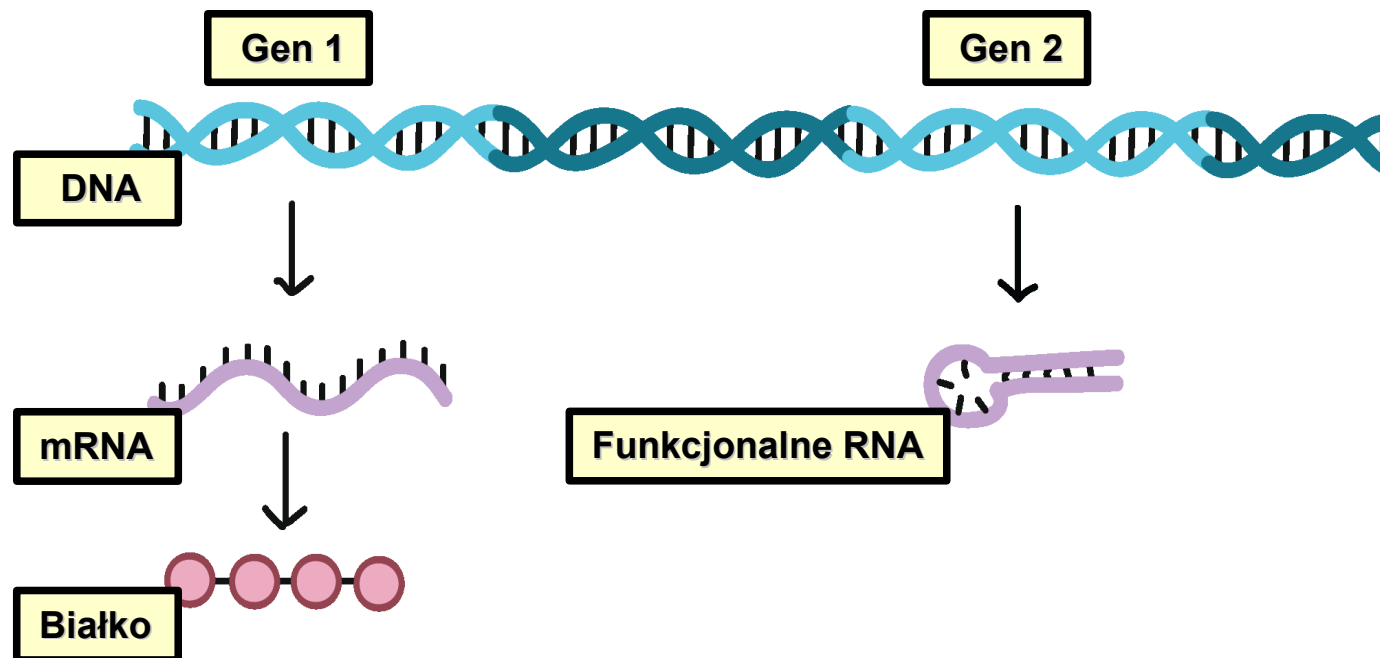
Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Przeływ informacji genetycznej: geny

Informacje o budowie i funkcjonowaniu organizmu są zakodowane w sekwencjach nukleotydów cząsteczek DNA i podzielone na dużą liczbę **genów**.

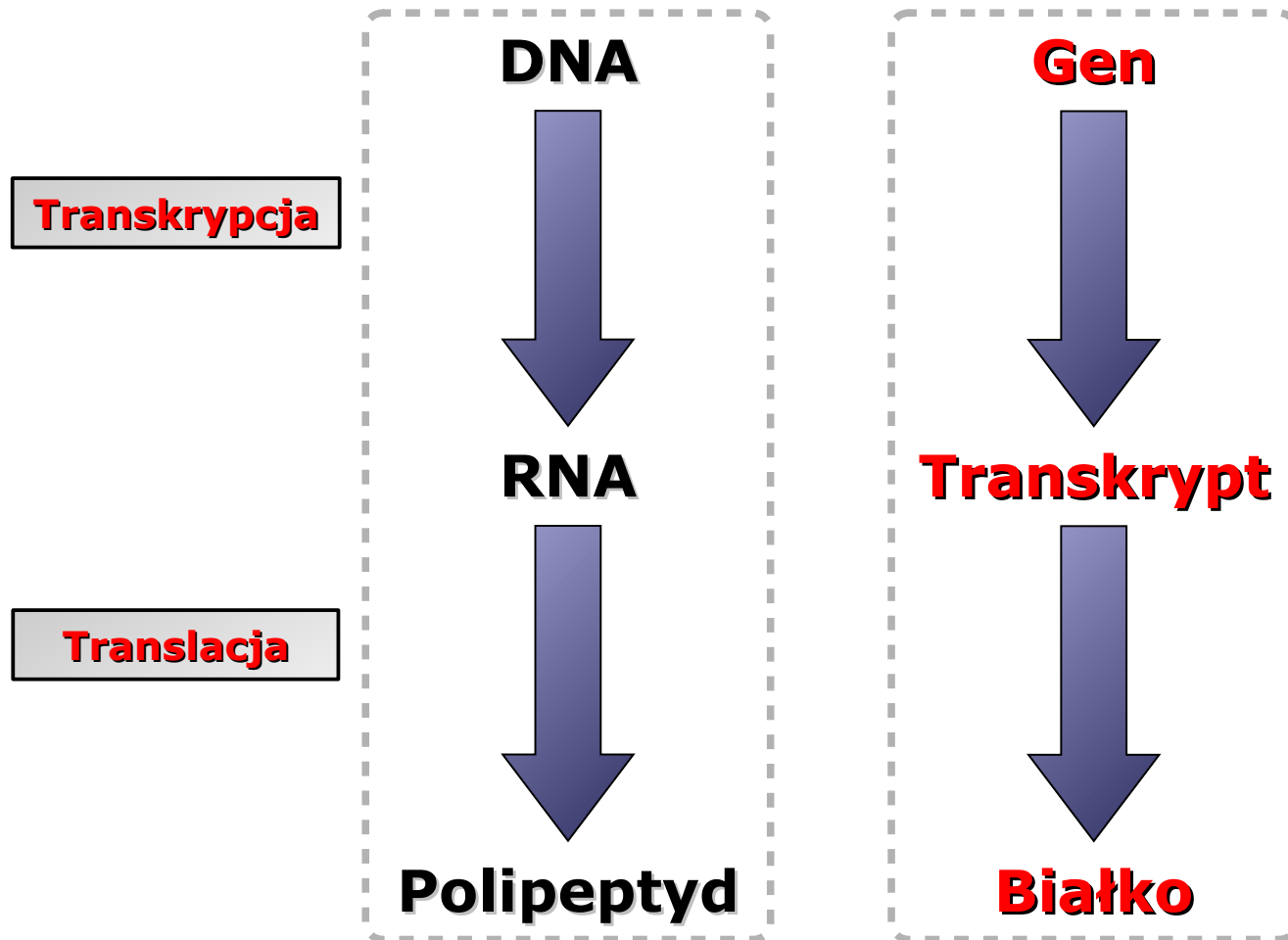
W ujęciu klasycznym gen definiowany był jako jednostka dziedziczności organizmu, determinująca jedną z jego cech (samodzielnie lub przy udziale innych genów).

Z punktu widzenia biologii molekularnej, **gen jest odcinkiem DNA, który koduje informację niezbędną do syntezy polipeptydu lub cząsteczki funkcjonalnego RNA.**



Przeptyw informacji genetycznej: ekspresja genów

Proces, w którym następuje odczyt informacji genetycznej i użycie jej do syntezy odpowiedniej cząstki określany jest **ekspresją genu**. Jest on podzielony na dwie fazy: **transkrypcję** („przepisanie” informacji z genu DNA na cząstkę RNA) i **translację** („przetłumaczenie” informacji z RNA na kolejność aminokwasów w białku).

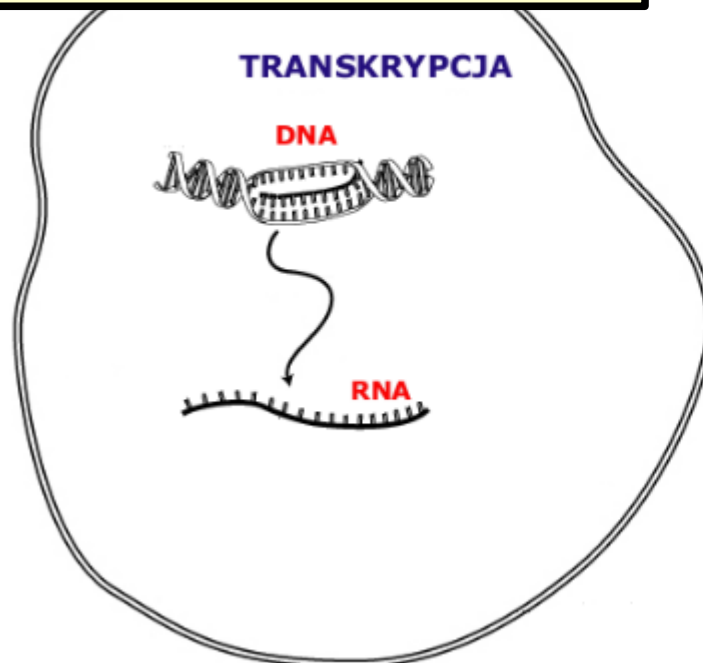


Przeptyw informacji genetycznej: ekspresja genów

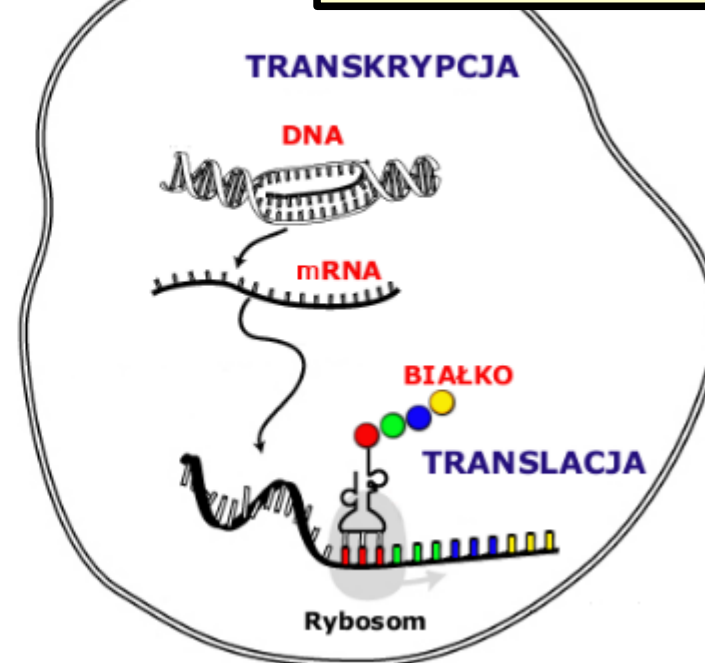
W wyniku transkrypcji genu kodującego białko powstaje cząsteczka **informacyjnego RNA (mRNA, messenger RNA)**, która stanowi bezpośrednią matrycę do syntezy białka w procesie translacji.

Część genów nie koduje białek, tylko zawiera informacje o budowie funkcjonalnego RNA, np.: **transportującego RNA (tRNA, transfer RNA)**, **rybosomalnego RNA (rRNA, ribosomal RNA)**, **mikro RNA (miRNA, micro RNA)** i innych. Dla nich translacja nie zachodzi, ale po transkrypcji może mieć miejsce edycja sekwencji powstałej cząstki.

Ekspresja genu kodującego funkcjonalne RNA

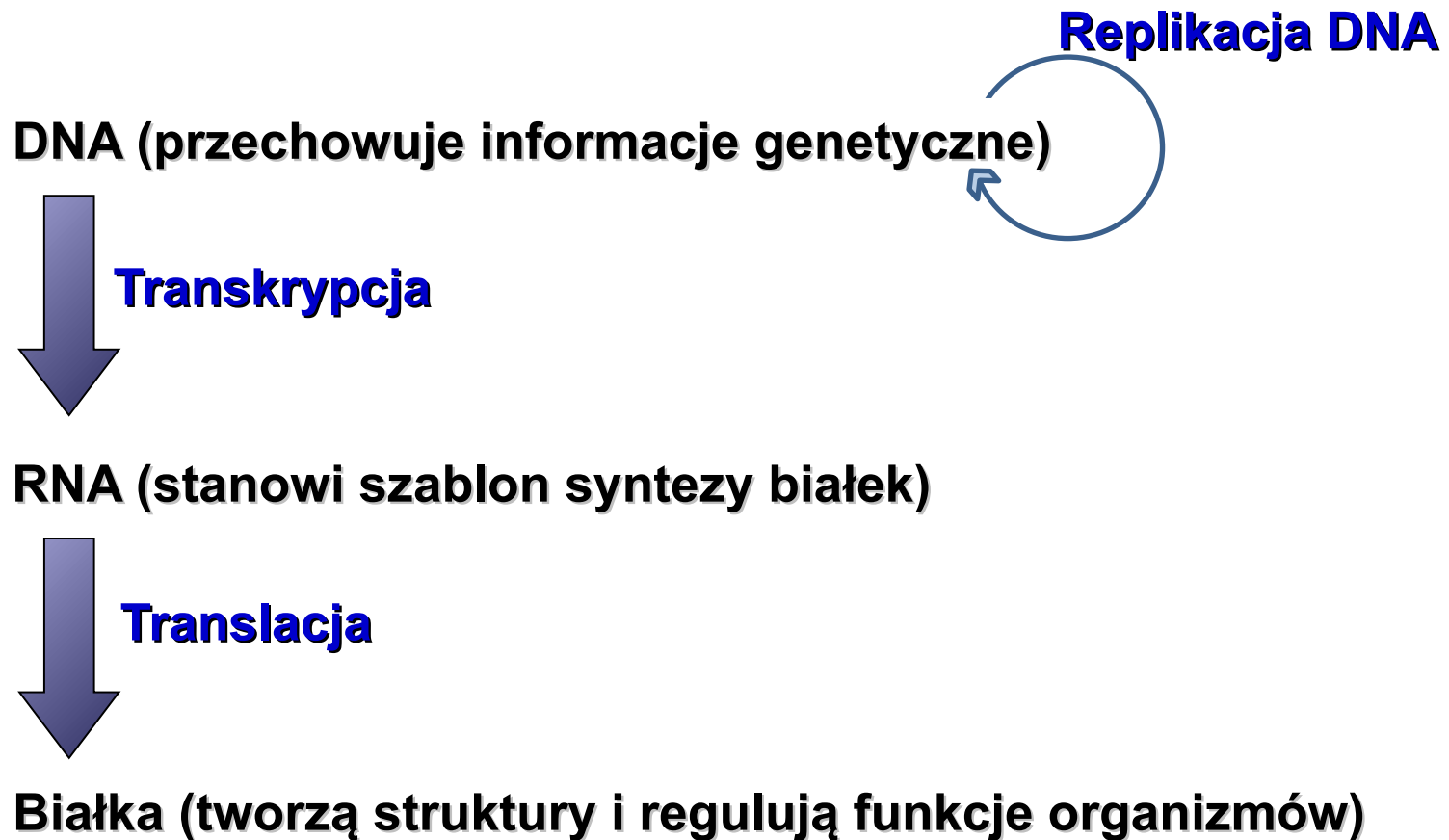


Ekspresja genu kodującego białko



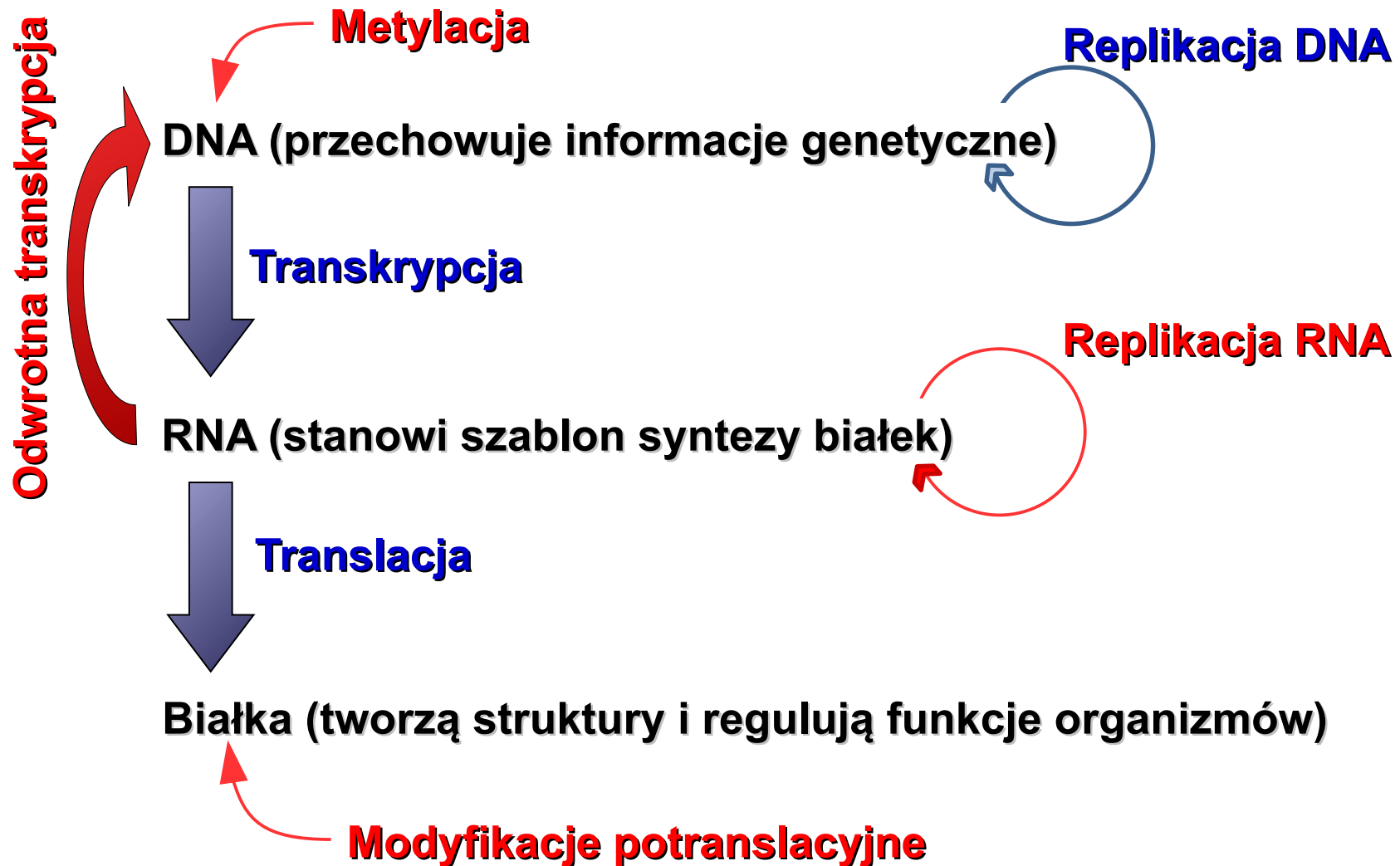
Przepływ informacji genetycznej

Ze względu historycznych jednokierunkowość przepływu informacji genetycznej nazywana jest **centralnym dogmatem biologii molekularnej**. Należy jednak pamiętać, że mechanizm ekspresji genów jest bardziej złożony i w szczególnych przypadkach możliwe są procesy nie w pełni zgodne z prostym schematem DNA → RNA → białko.



Przeptyw informacji genetycznej

Ze względu historycznych jednokierunkowość przepływu informacji genetycznej nazywana jest **centralnym dogmatem biologii molekularnej**. Należy jednak pamiętać, że mechanizm ekspresji genów jest bardziej złożony i w szczególnych przypadkach możliwe są procesy nie w pełni zgodne z prostym schematem DNA → RNA → białko.



Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny

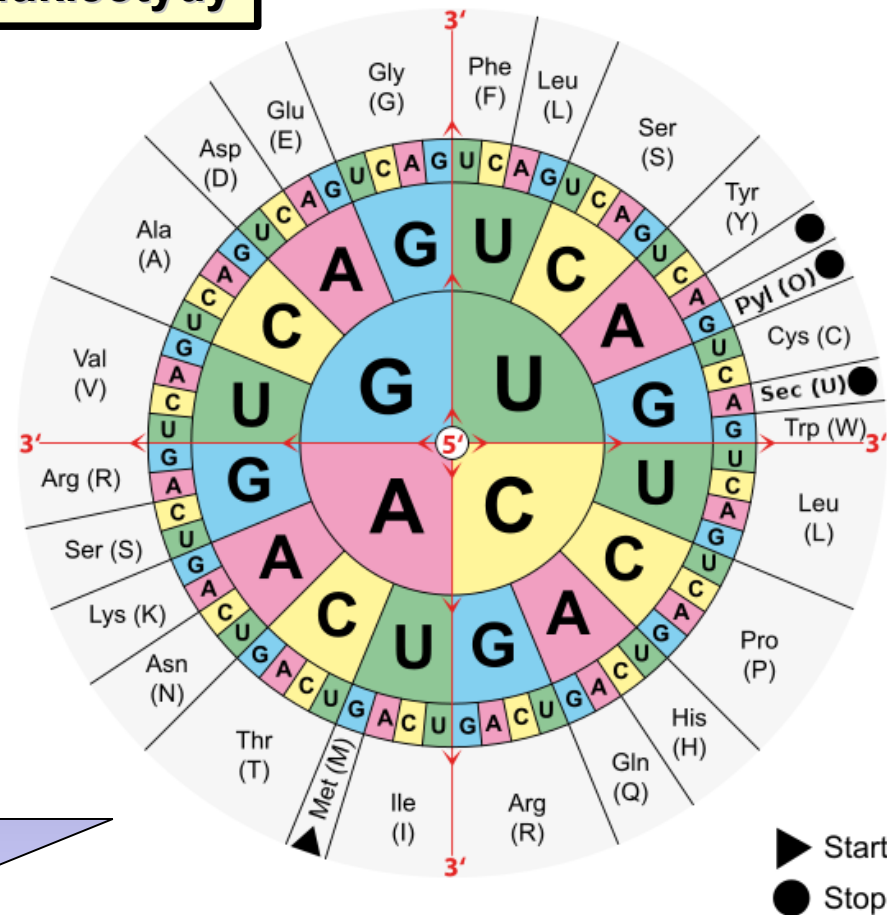
Aminokwasy budujące białka kodowane są przez grupy złożone z trzech kolejnych nukleotydów. Grupy te nazywane są **kodonami**.

Kod genetyczny określa przyporządkowanie kodonów do aminokwasów.

Alfabet kwasów nukleinowych: 4 nukleotydy

KOD
GENETYCZNY

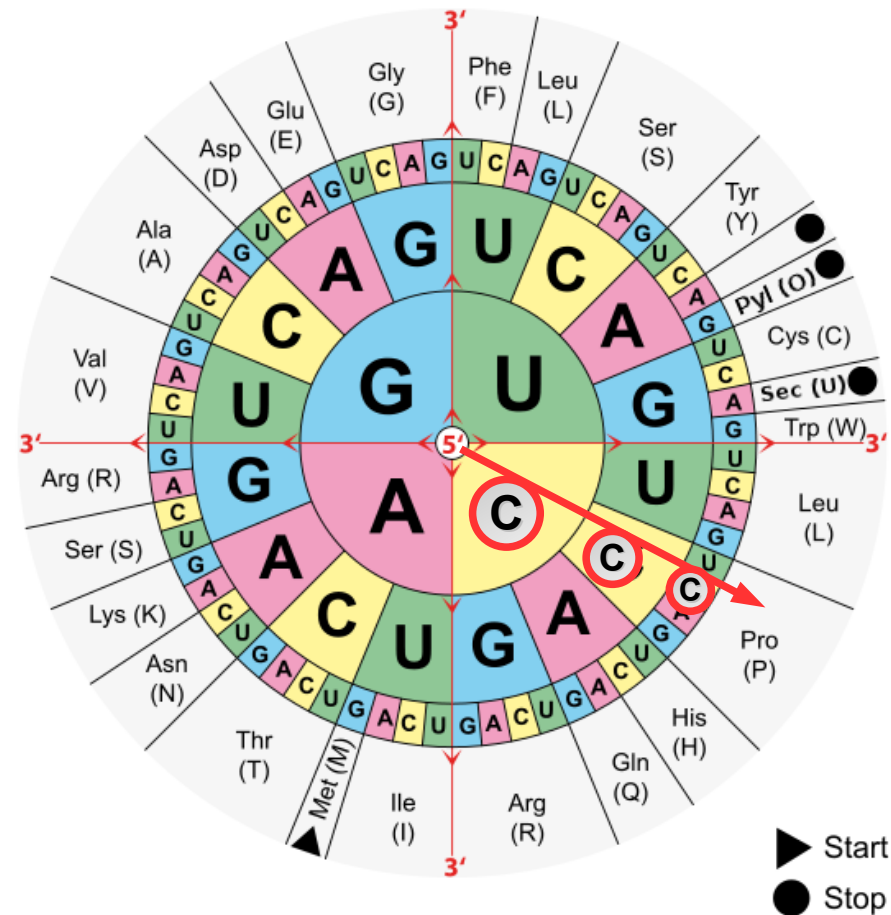
Alfabet białek: 22 aminokwasy



Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest trójkowy: każde trzy kolejne nukleotydy kodują pojedynczy aminokwas albo sygnał zakończenia translacji. Spośród 64 kodonów 61 odpowiada 20 aminokwasom a trzy stanowią sygnał zakończenia translacji (**kodony terminujące, kodony stop**). Synteza białka zawsze zaczyna się od metioniny, dlatego jej kodon jest jednocześnie **kodonom startu** translacji.

CCC → prolina (Pro, P)

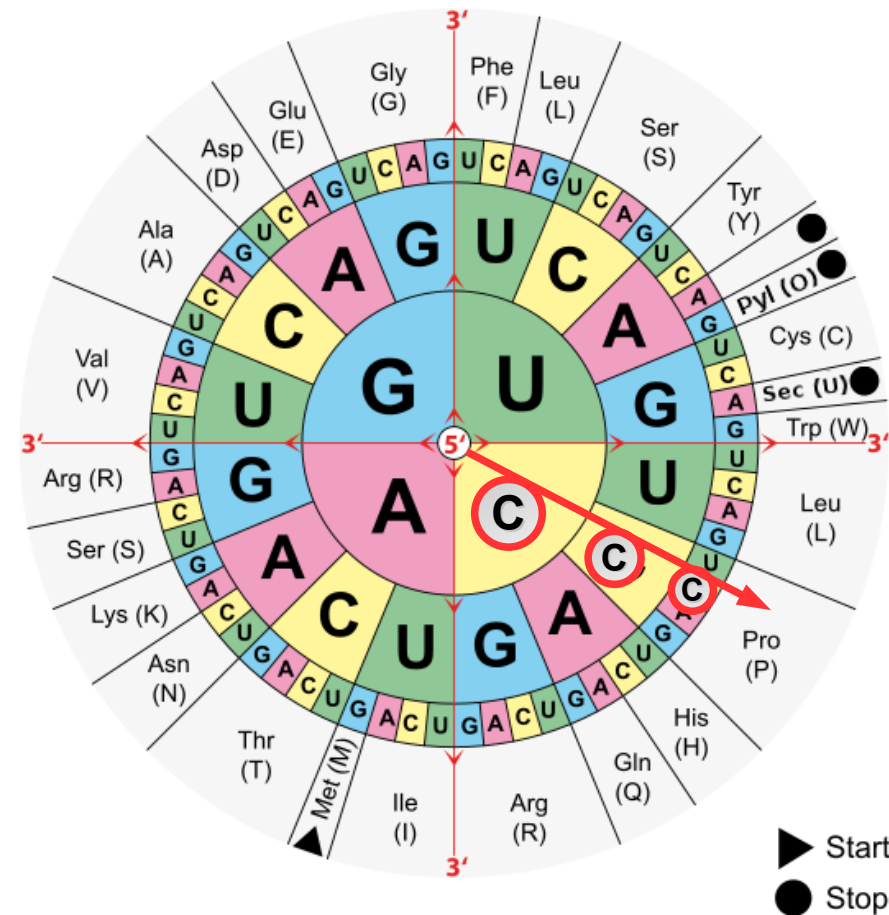


Przeływ informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest (niemal) jednoznaczny: każdy kodon koduje ściśle określony aminokwas lub sygnał zakończenia transkrypcji. Wyjątkami są dwa kodony stop (UGA i UAG), które – w zależności od kontekstu – mogą też kodować selenocysteinę i pirolizynę, czyli dwa aminokwasy spoza zestawu 20 najczęściej występujących.

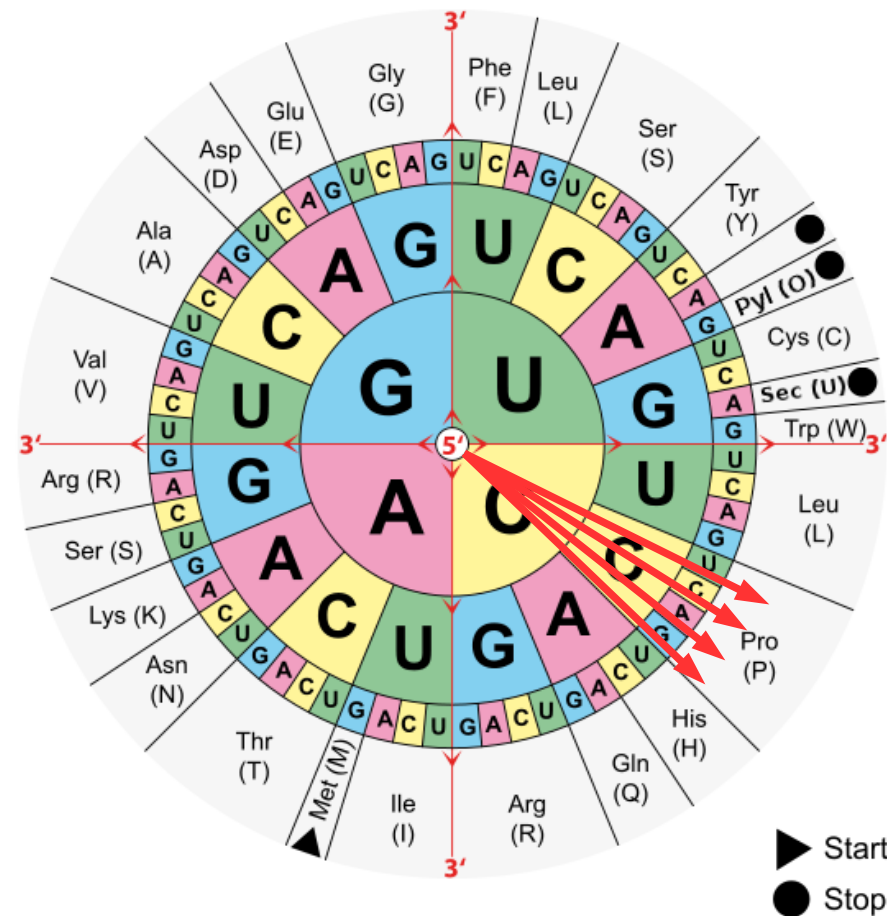
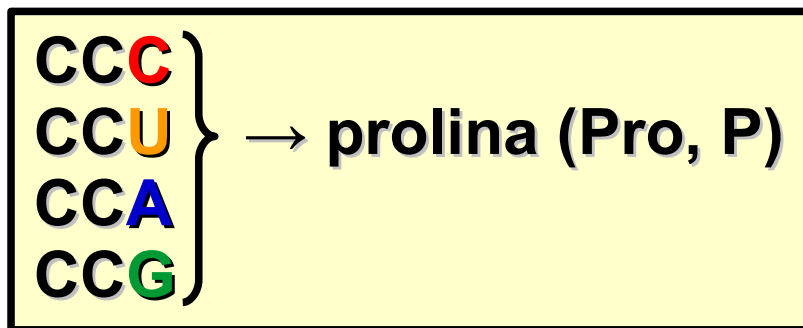
CCC → prolina (Pro, P)

~~CCC → lizyna (Lys, K)~~



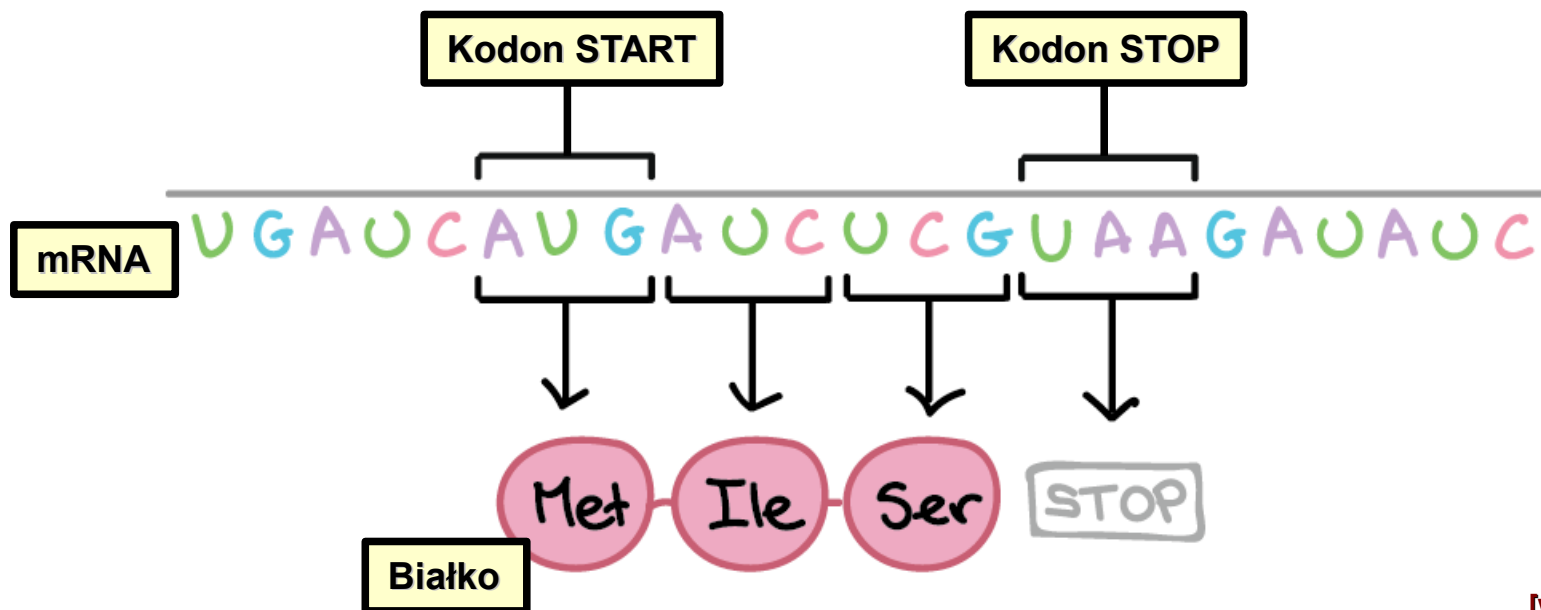
Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest redundantny (zdegenerowany): większość aminokwasów może być kodowanych przez wiele różnych kodonów (od 2 do 6). Kodony odpowiadające tym samym aminokwasom mają zwykle podobne sekwencje i różnią się nukleotydem na trzeciej pozycji (tzw. **pozycja tolerancji**).



Przepływ informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest niezachodzący i bezprzecinkowy: następujące po sobie trójki nukleotydów w sekwencji kwasu nukleinowego tworzą kolejne kodony, pomiędzy którymi nie ma przerw. W efekcie **kod genetyczny zapewnia kolinearność**, co oznacza, że kolejność aminokwasów w białku w pełni odpowiada ułożeniu kodonów na cząstce RNA stanowiącej matrycę do jego syntezy.

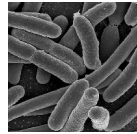


Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest (prawie) uniwersalny i wspólny dla zdecydowanej większości organizmów ze wszystkich trzech domen życia komórkowego (bakterii, archeonów i jądrowców). Odstępstwa od uniwersalności są niewielkie i zwykle dotyczą zmiany znaczenia pojedynczych kodonów.

Prokarionty

Bakterie



Spirochetes

Green
Filamentous
bacteria

Gram
positives

Proteobacteria

Cyanobacteria

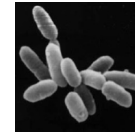
Planctomyces

Bacteroides
Cytophaga

Thermotoga

Aquifex

Archeony



Methanosarcina

Methanobacterium

Methanococcus

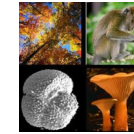
T. celer

Thermoproteus

Pyrodicticum

Halophiles

Eukarionty



Entamoebae

Slime
molds

Animals

Fungi

Plants

Ciliates

Flagellates

Trichomonads

Microsporidia

Diplomonads

Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny (właściwości)

Kod genetyczny jest (prawie) uniwersalny i wspólny dla zdecydowanej większości organizmów ze wszystkich trzech domen życia komórkowego (bakterii, archeonów i jądrowców). Odstępstwa od uniwersalności są niewielkie i zwykle dotyczą zmiany znaczenia pojedynczych kodonów.

Prokarionty

Bakterie



Spirochetes

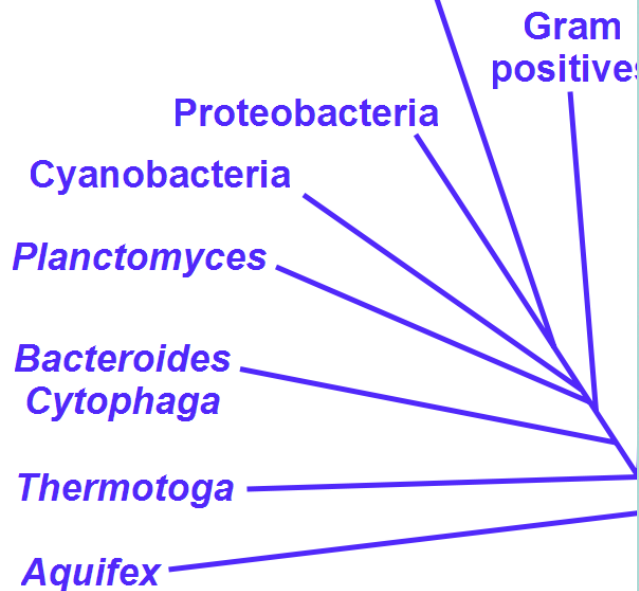
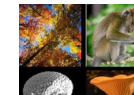
Archeony



Green

Filamentous

Eukarionty



Organism	Codon	Should code for	Actually codes for
Nuclear and prokaryotic genomes			
Several protozoa	UAA, UAG	Stop	Gln
<i>Candida cylindracea</i>	CUG	Leu	Ser
<i>Micrococcus</i> sp.	AGA	Arg	Stop
	AUA	Ile	Stop
<i>Euplotes</i> sp.	UGA	Stop	Cys
<i>Mycoplasma</i> sp.	UGA	Stop	Trp
	CGG	Arg	Stop
Mitochondrial genomes			
Mammals	UGA	Stop	Trp
	AGA, AGG	Arg	Stop
	AUA	Ile	Met
<i>Drosophila</i>	UGA	Stop	Trp
	AGA	Arg	Ser
	AUA	Ile	Met
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	UGA	Stop	Trp
	CUN	Leu	Thr
	AUA	Ile	Met
Fungi	UGA	Stop	Trp
Maize	CGG	Arg	Trp

Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny


Kod genetyczny raka złamany - X +

https://www.tvp.info/1181989/kod-genetyczny-r...

TVP INFO

Kod genetyczny raka złamany

ANND, KAN 17.12.2009, 07:24



■ Odkrycie genomu nowotworu daje nadzieję chorym (fot. arch.PAP/EPA)

Naukowcy złamali kod genetyczny nowotworu skóry i płuc. Lekarze terapii do każdego pacjenta indywidualnie – mówią badacze z Uniw

Udało się zbadać zmiany jakie zachodzą w materiale genetycznym dwóch ro... podczas rozwoju tych nowotworów – informują naukowcy z Wielkiej Brytan... opublikowanych w najnowszym numerze czasopisma „Nature”.


Kod genetyczny goryla złamany - X +

https://www.tvp.info/6686251/informacje/nauka/

TVP INFO

Kod genetyczny goryla złamany

PL, ZBYT 07.03.2012, 21:54



■ Nauka rozwiązała następną genetyczną zagadkę (fot. wikipedia.org/Mila)


Naukowcy złamali kod genetyczny goryla. Nowa wiedza może posłużyć do lepszego zrozumienia ewolucji człowieka. Być może zostanie wykorzystana do leczenia niektórych chorób. Wyniki badań publikuje prestiżowy tygodnik naukowy „Nature”.

Genomy innych człowiekowatych – szympansa, orangutana czy człowieka – są już znane. Teraz dzięki pracy grupy międzynarodowych naukowców dołączył do nich goryl. Do badań posłużyła samica – jak żartują naukowcy:

Przeptyw informacji genetycznej: kod genetyczny

Kod genetyczny raka złamany

ANND, KAN 17.12.2009, 07:24




Odkrycie genomu nowotworu daje nadzieję chorym (fot. arch.PAP/EPA)




Naukowcy złamali kod genetyczny nowotworu skóry i płuc. Lekarze terapii do każdego pacjenta indywidualnie – mówią badacze z Uniw

Udało się zbadać zmiany jakie zachodzą w materiale genetycznym dwóch ro podczas rozwoju tych nowotworów – informują naukowcy z Wielkiej Brytan opublikowanych w najnowszym numerze czasopisma „Nature”.

Kod genetyczny goryla złamany



THE NOBEL PRIZE IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE 1968

 <p>Robert W. Holley (1922-1993) Prize share: 1/3</p>	 <p>H. Gobind Khorana (1922-2011) Prize share: 1/3</p>	 <p>Marshall W. Nirenberg (1927-2010) Prize share: 1/3</p>
---	--	--

"for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis".

Nobelprize.org
The Official Web Site of the Nobel Prize

Inżynieria genetyczna

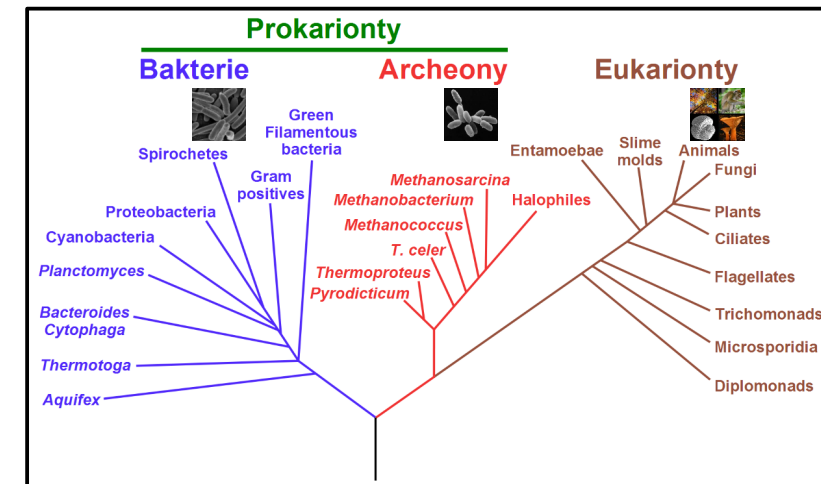
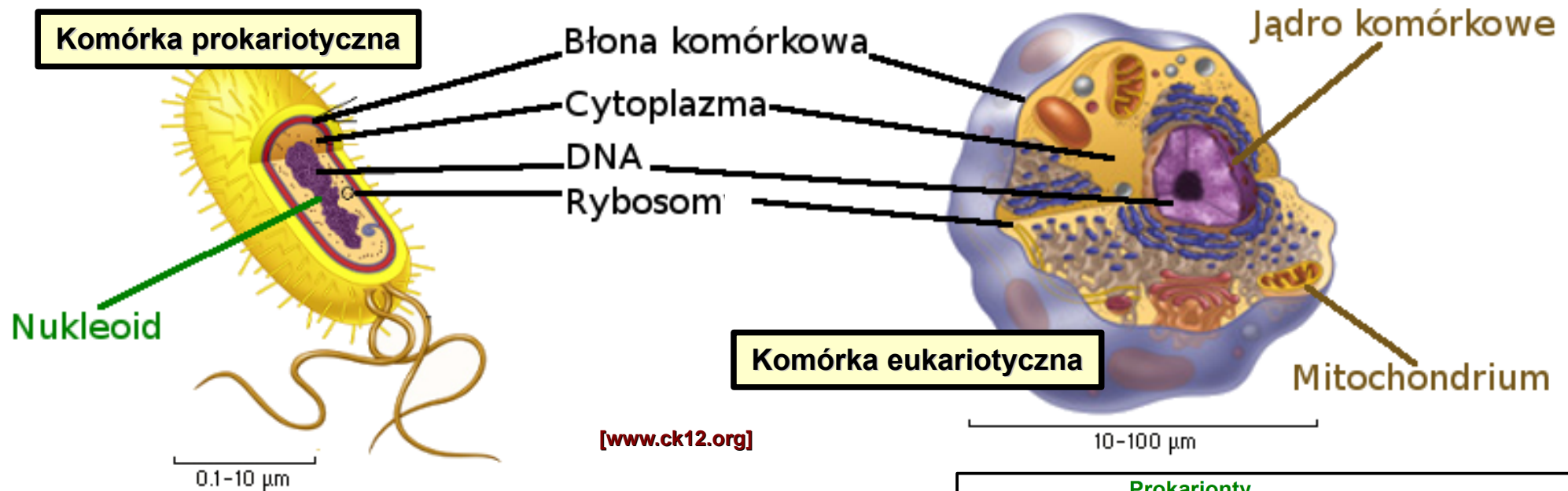
Wykład 2: geny i ich ekspresja

Tymon Rubel

Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Organizmy prokariotyczne i eukariotyczne

Jakkolwiek ogólny schemat ekspresji jest jednakowy dla całego życia komórkowego, to szczegóły tego procesu nieco różnią się pomiędzy organizmami, których komórki zawierają otoczone błoną jądro komórkowe (**eukariotami**), a tymi nie posiadającymi wyodrębnionego jądra (**prokariotami**).

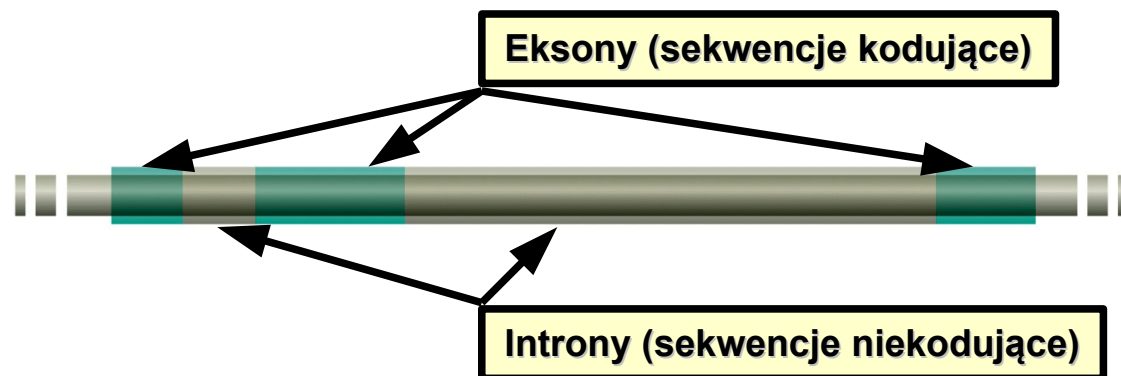


Budowa genów

U bakterii w zdecydowanej większości przypadków cała sekwencja genu koduje cząsteczkę białka lub funkcjonalnego RNA.



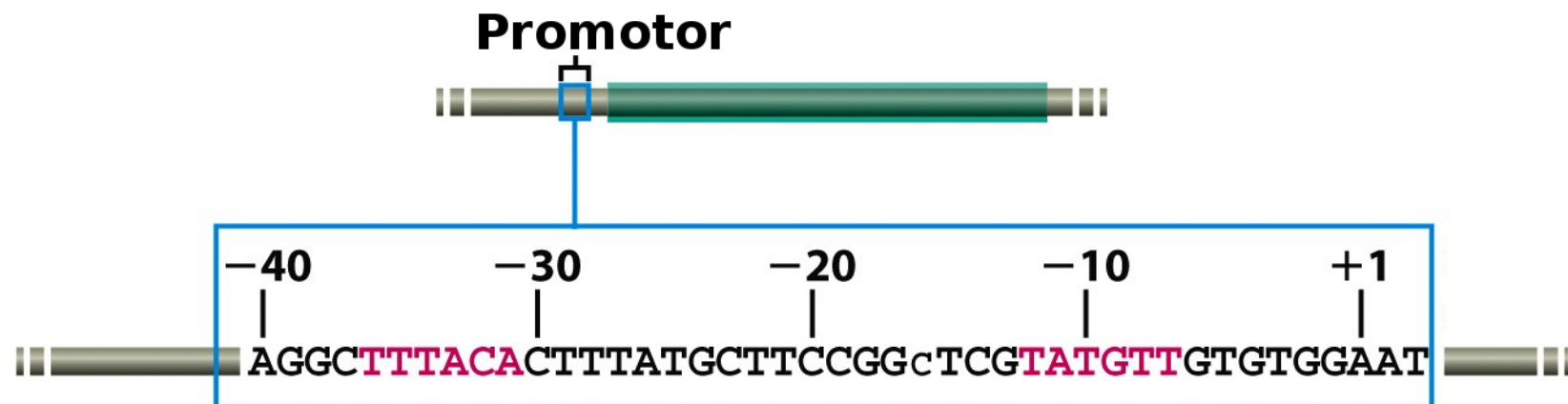
W genach eukariontów sekwencje kodujące (**eksony**) zwykle przedzielone są długimi odcinkami sekwencji niekodujących (**intronami**).



Budowa genów

Z genem związane są **sekwencje regulatorowe**. Tworzące je nukleotydy nie kodują bezpośrednio informacji o budowie cząsteczki białka lub funkcjonalnego RNA, ale wpływają na proces transkrypcji genu.

Najważniejszym regionem regulatorowym jest **promotor**, czyli sekwencja znajdująca się powyżej genu, z którą wiążą się białka inicjujące proces jego transkrypcji. Poniżej genu funkcję sygnału zakończenia transkrypcji pełni **region terminacji**.



[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

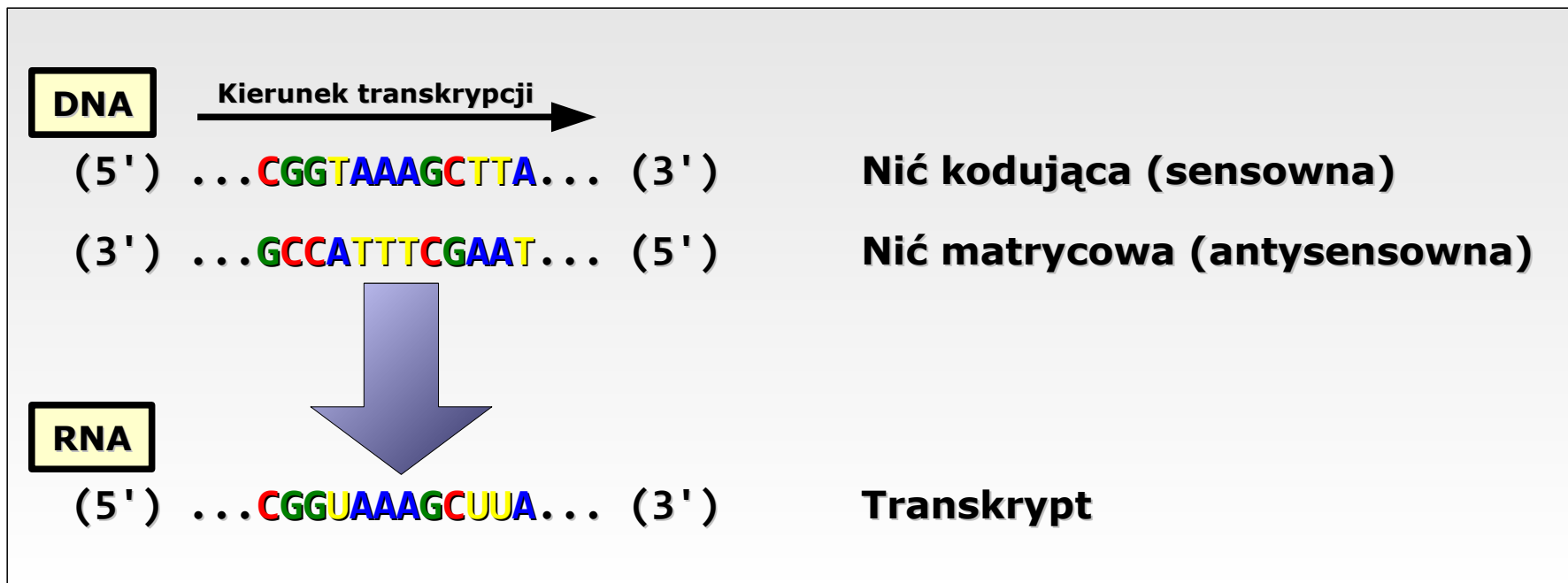
Geny bakteryjne mogą być zgrupowane w tzw. **operony**, czyli zespoły sąsiadujących ze sobą genów, mających wspólny promotor i ulegających jednoczesnej ekspresji, ale kodujących osobne polipeptydy.

Ekspresja genów: transkrypcja

Pierwszym etapem ekspresji genu jest **transkrypcja**, czyli proces syntezy cząsteczki RNA na matrycy, którą stanowi jedna z nici DNA.

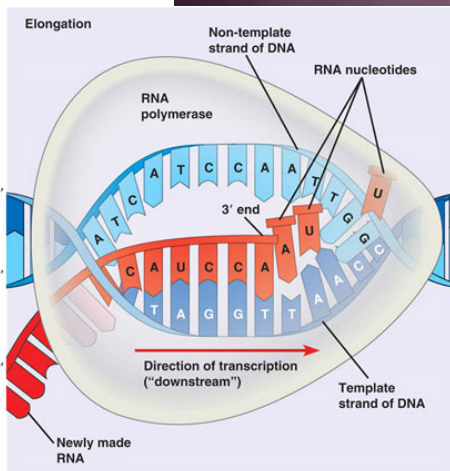
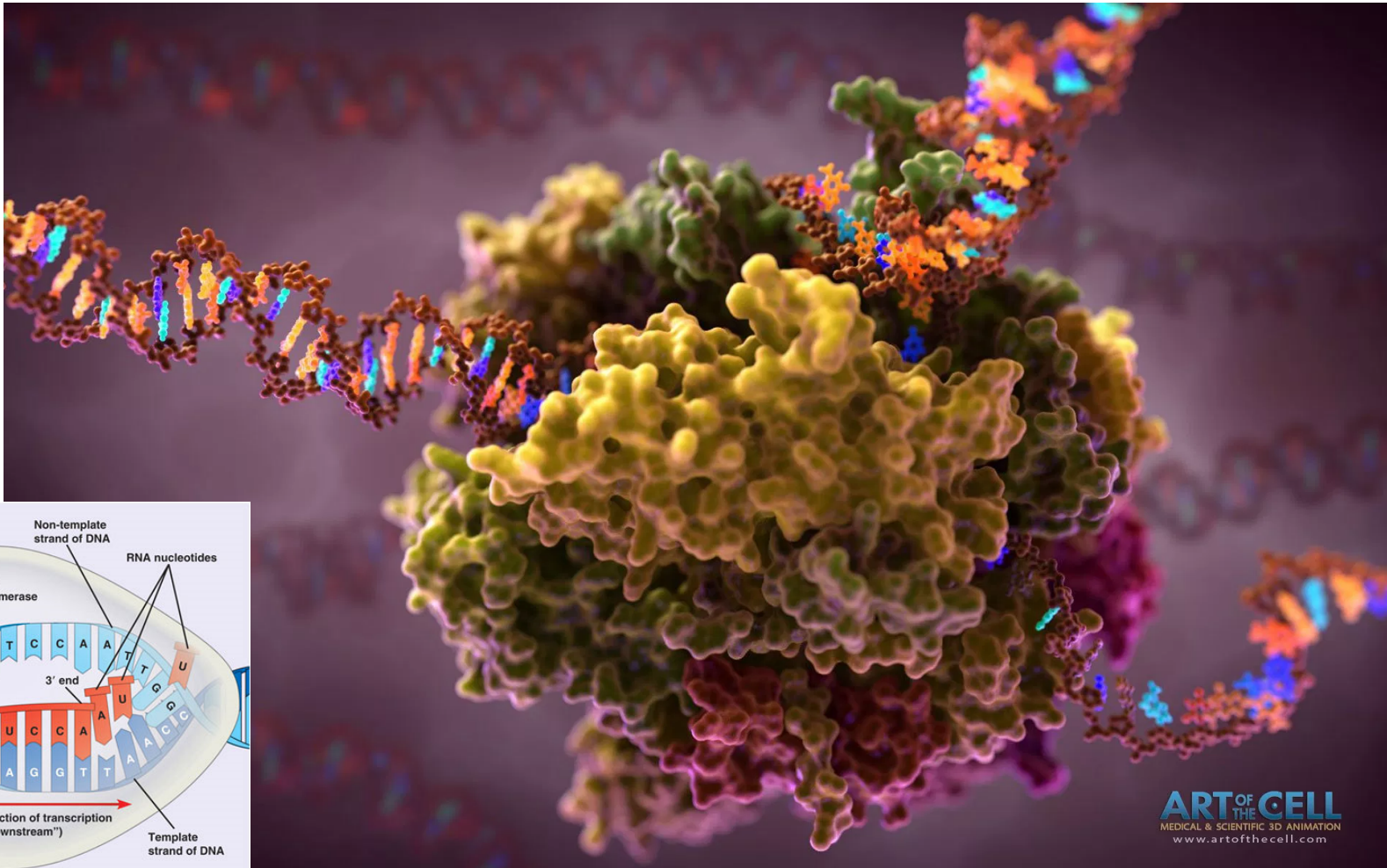
Cząstka RNA (**transkrypt**) powstaje w kierunku 5'→3' (kolejne nukleotydy dołączane są do końca 3') zgodnie z regułami komplementarności zasad azotowych.

Sekwencja nukleotydów RNA jest komplementarna **nici matrycowej**, czyli taka sama (z dokładnością do zastąpienia tyminy przez uracyl) jak sekwencja drugiej z nici, zwanej **nicią kodującą**.



Ekspresja genów: transkrypcja

Synteza RNA jest katalizowana przez enzym białkowy nazywany **polimerazą RNA zależną od DNA**. Białko to ma specyficzną budowę, które pozwala mu związać się z DNA w miejscu występowania promotora genu, a następnie polimeryzować kolejne nukleotydy zgodnie z sekwencją nici matrycowej.



Ekspresja genów: transkrypcja u bakterii (etapy)

Transkrypcja odbywa się w trzech krokach:

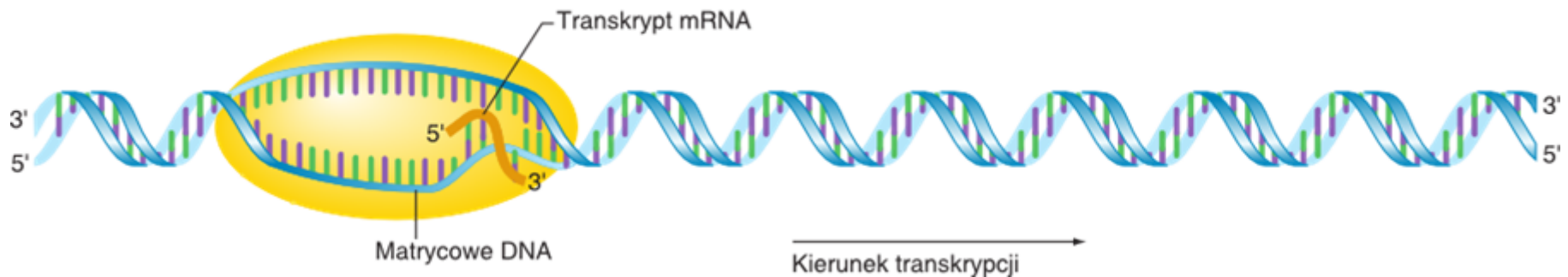
- **inicjacja** – bezpośrednie połączenie się polimerazy RNA do sekwencji promotora genu, rozplecenie podwójnej helisy DNA na odcinku kilkunastu par zasad, rozpoczęcie syntezy RNA przez dołączenie pierwszych nukleotydów;
- **elongacja** – przesuwanie się polimerazy RNA wzdłuż cząsteczki DNA, któremu towarzyszy rozplatanie helisy i dołączanie nukleotydów komplementarnych do sekwencji nici matrycowej DNA. Syntetyzowana cząsteczka RNA jest początkowo sparowana z nicią matrycową, potem jednak następuje jej oddzielenie i przywrócenie struktury podwójnej helisy;
- **terminacja** – zakończenie transkrypcji po dotarciu do regionu terminacji, oddysocjowanie transkryptu i polimerazy.



Ekspresja genów: transkrypcja u bakterii (etapy)

Transkrypcja odbywa się w trzech krokach:

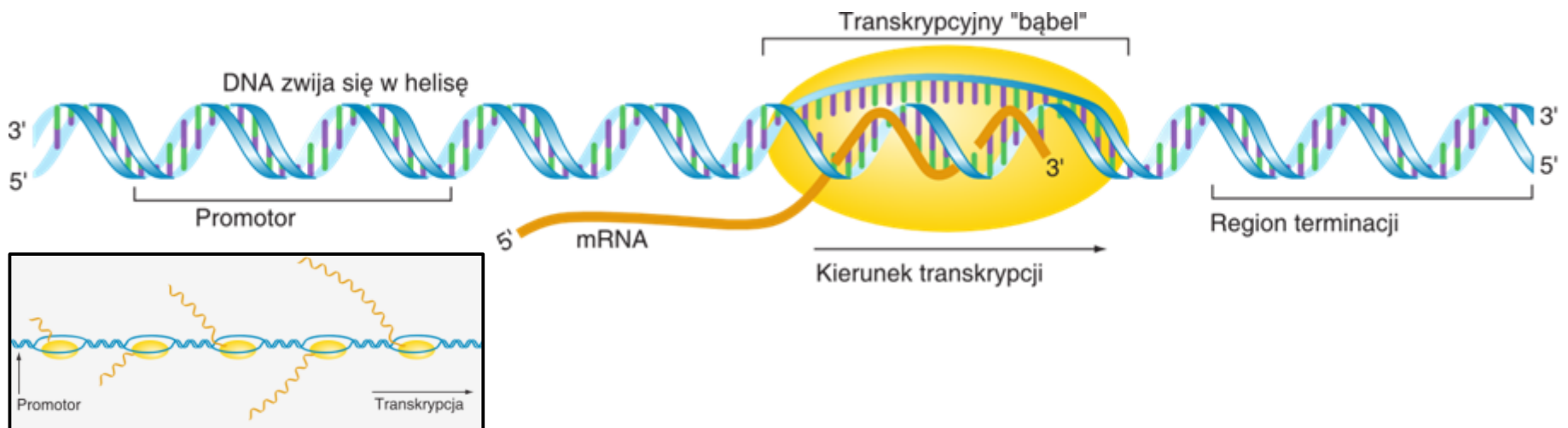
- **inicjacja** – bezpośrednie połączenie się polimerazy RNA do sekwencji promotora genu, rozplecenie podwójnej helisy DNA na odcinku kilkunastu par zasad, rozpoczęcie syntezy RNA przez dołączenie pierwszych nukleotydów;
- **elongacja** – przesuwanie się polimerazy RNA wzdłuż cząsteczki DNA, któremu towarzyszy rozplatanie helisy i dołączanie nukleotydów komplementarnych do sekwencji nici matrycowej DNA. Syntetyzowana cząsteczka RNA jest początkowo sparowana z nicią matrycową, potem jednak następuje jej oddzielenie i przywrócenie struktury podwójnej helisy;
- **terminacja** – zakończenie transkrypcji po dotarciu do regionu terminacji, oddysocjowanie transkryptu i polimerazy.



Ekspresja genów: transkrypcja u bakterii (etapy)

Transkrypcja odbywa się w trzech krokach:

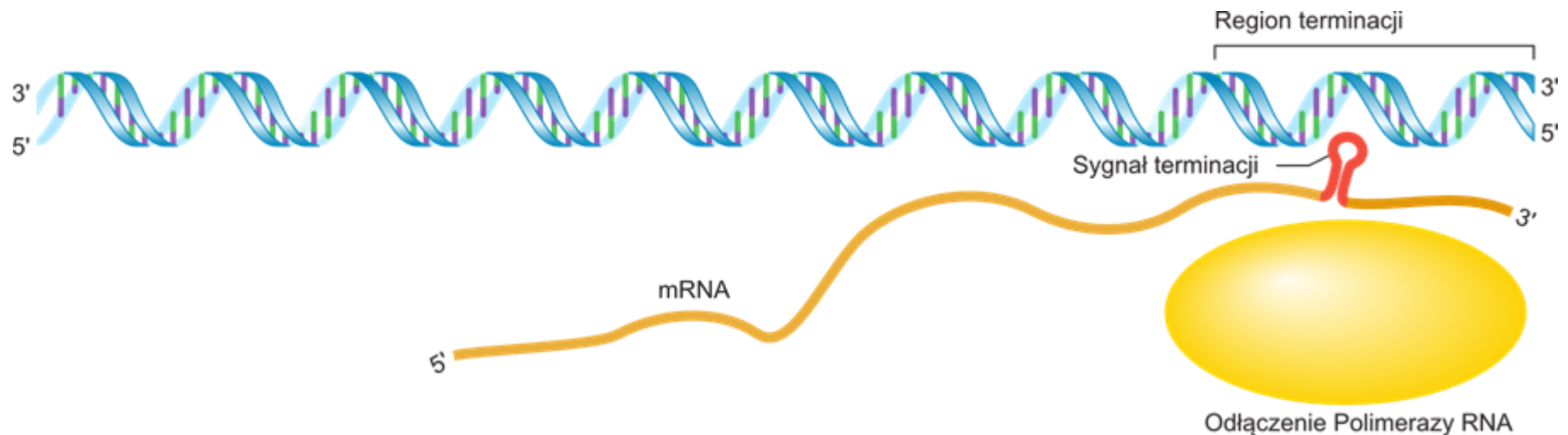
- **inicjacja** – bezpośrednie połączenie się polimerazy RNA do sekwencji promotora genu, rozplecenie podwójnej helisy DNA na odcinku kilkunastu par zasad, rozpoczęcie syntezy RNA przez dołączenie pierwszych nukleotydów;
- **elongacja** – przesuwanie się polimerazy RNA wzdłuż cząsteczki DNA, któremu towarzyszy rozplatanie helisy i dołączanie nukleotydów komplementarnych do sekwencji nici matrycowej DNA. Syntetyzowana cząsteczka RNA jest początkowo sparowana z nicią matrycową, potem jednak następuje jej oddzielenie i przywrócenie struktury podwójnej helisy;
- **terminacja** – zakończenie transkrypcji po dotarciu do regionu terminacji, oddysocjowanie transkryptu i polimerazy.



Ekspresja genów: transkrypcja u bakterii (etapy)

Transkrypcja odbywa się w trzech krokach:

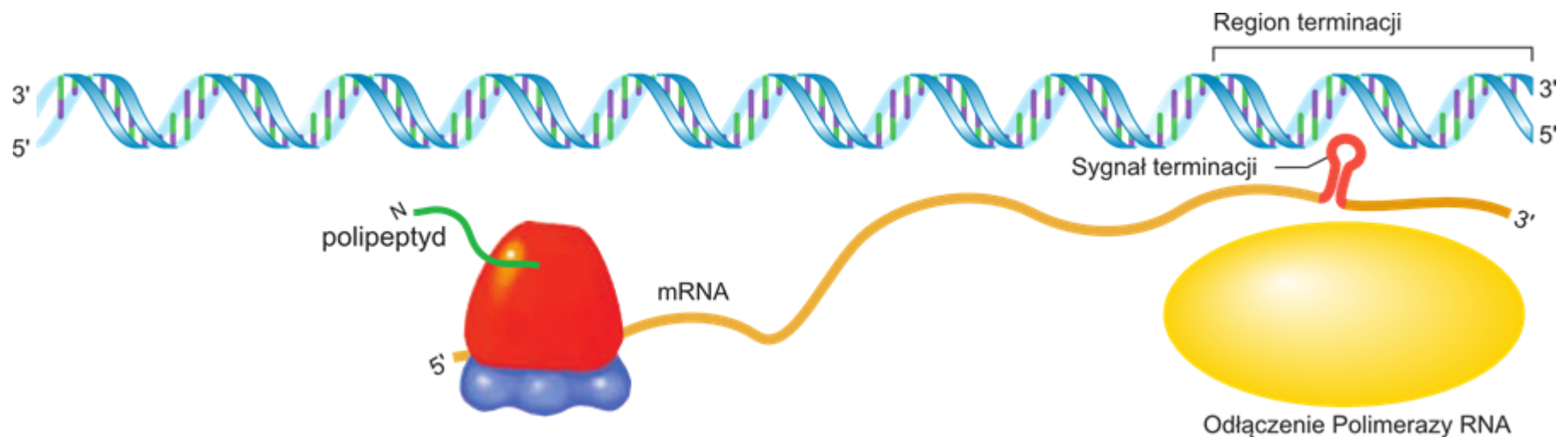
- **inicjacja** – bezpośrednie połączenie się polimerazy RNA do sekwencji promotora genu, rozplecenie podwójnej helisy DNA na odcinku kilkunastu par zasad, rozpoczęcie syntezy RNA przez dołączenie pierwszych nukleotydów;
- **elongacja** – przesuwanie się polimerazy RNA wzdłuż cząsteczki DNA, któremu towarzyszy rozplatanie helisy i dołączanie nukleotydów komplementarnych do sekwencji nici matrycowej DNA. Syntetyzowana cząsteczka RNA jest początkowo sparowana z nicią matrycową, potem jednak następuje jej oddzielenie i przywrócenie struktury podwójnej helisy;
- **terminacja** – zakończenie transkrypcji po dotarciu do regionu terminacji, oddysocjowanie transkryptu i polimerazy.



Ekspresja genów: transkrypcja u bakterii (etapy)

Transkrypcja odbywa się w trzech krokach:

- **inicjacja** – bezpośrednie połączenie się polimerazy RNA do sekwencji promotora genu, rozplecenie podwójnej helisy DNA na odcinku kilkunastu par zasad, rozpoczęcie syntezy RNA przez dołączenie pierwszych nukleotydów;
- **elongacja** – przesuwanie się polimerazy RNA wzdłuż cząsteczki DNA, któremu towarzyszy rozplatanie helisy i dołączanie nukleotydów komplementarnych do sekwencji nici matrycowej DNA. Syntetyzowana cząsteczka RNA jest początkowo sparowana z nicią matrycową, potem jednak następuje jej oddzielenie i przywrócenie struktury podwójnej helisy;
- **terminacja** – zakończenie transkrypcji po dotarciu do regionu terminacji, oddysocjowanie transkryptu i polimerazy. U bakterii transkrypcja może odbywać równocześnie z translacją.



Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów

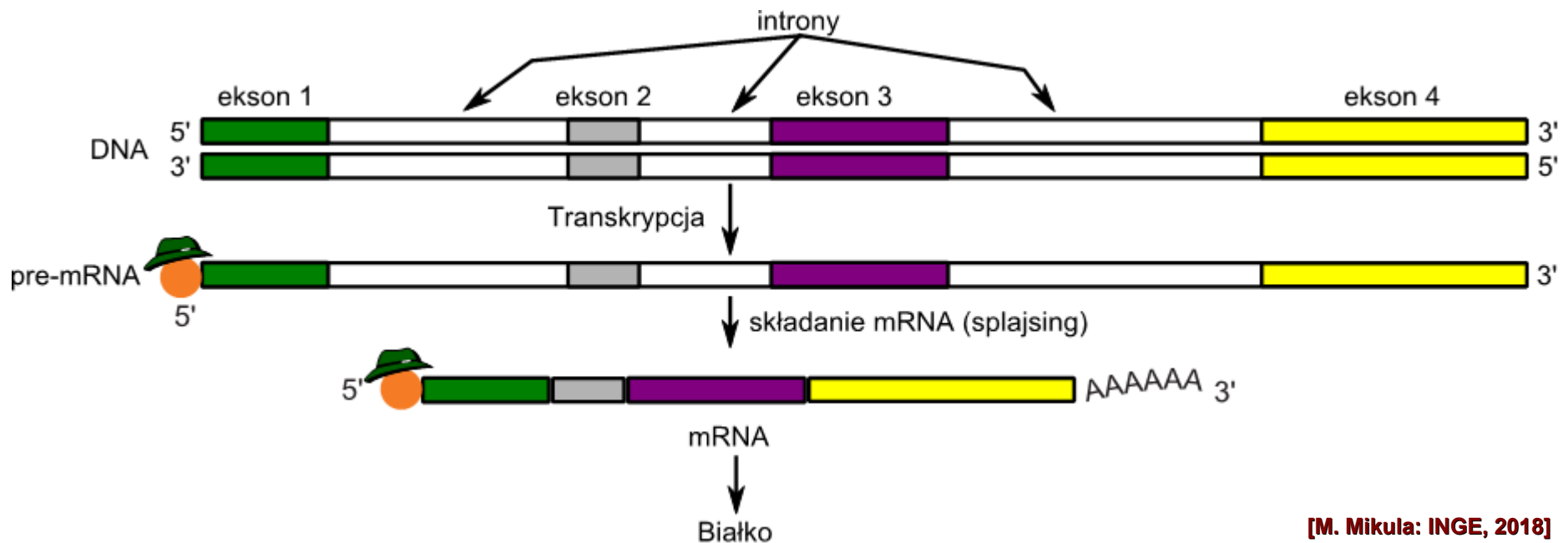
U organizmów eukariotycznych transkrypcja dzieli się na podobne etapy, jednak jej przebieg jest bardziej złożony niż to ma miejsce w przypadku bakterii:

- w zależności od rodzaju genu synteza RNA odbywa się przy udziale jednej z trzech polimeraz RNA: **polimeraza II** (geny kodujące białka, snRNA i miRNA), **polimeraza I** (geny rRNA) oraz **polimeraza III** (geny tRNA i 5S rRNA);
- podczas inicjacji eukariotyczne polimerazy RNA nie wiążą się promotorem genu bezpośrednio, lecz za pośrednictwem „platformy” złożonej z białek nazywanych **ogólnymi czynnikami transkrypcyjnymi**, które tworzą tzw. **kompleks preinicjacyjny**;
- rozpoczęcie elongacji może wymagać udziału dodatkowych białek, które wiążą się z sekwencjami regulatorowymi wpływającymi na ekspresję genu (enhancerami);
- odmienny (i słabiej poznany) mechanizm terminacji transkrypcji polimerazy II.

Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (dojrzewianie mRNA)

Podczas transkrypcji kopiowana jest cała sekwencja genu, a powstała cząstka RNA zawiera zarówno kodujące eksony, jak i niekodujące introny. Powoduje, że **pierwotny transkrypt** wymaga dalszej obróbki, co jest określane **dojrzewianiem mRNA**.

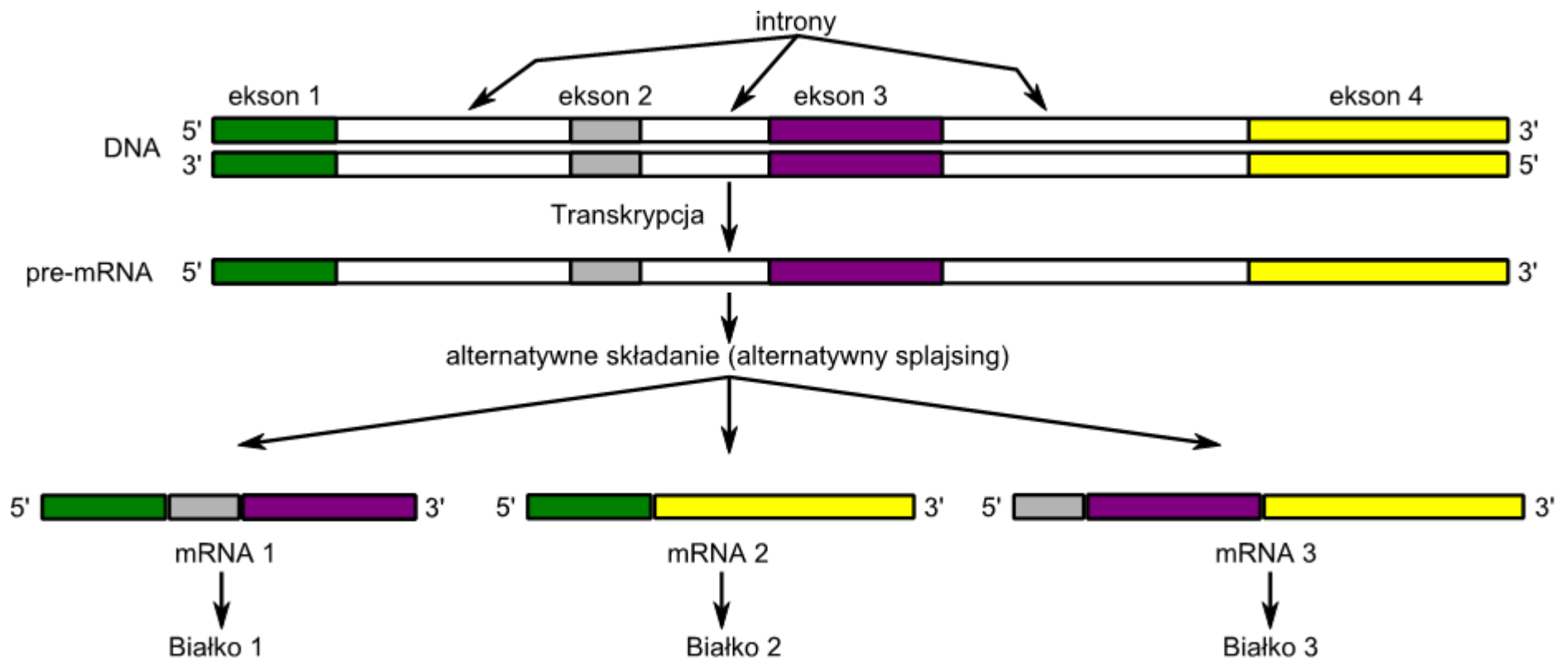
Cząstka będąca bezpośrednim efektem transkrypcji nazywana jest **prekursorowym mRNA (pre-mRNA)**. Przekształcenie jej w **dojrzałe mRNA** odbywa się w procesie **składania (splicing)**, polegającym na usunięciu sekwencji intronów.



Dodatkowo modyfikowane są końce 5' i 3' transkryptu przez dodanie: **czapeczki 5'** (zmodyfikowanego nukleozydu G) i **ogona poly A** (około 250 nukleotydów A); Dopiero tak przetworzona cząstka jest matrycą do syntezy białka.

Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (alternatywne składanie)

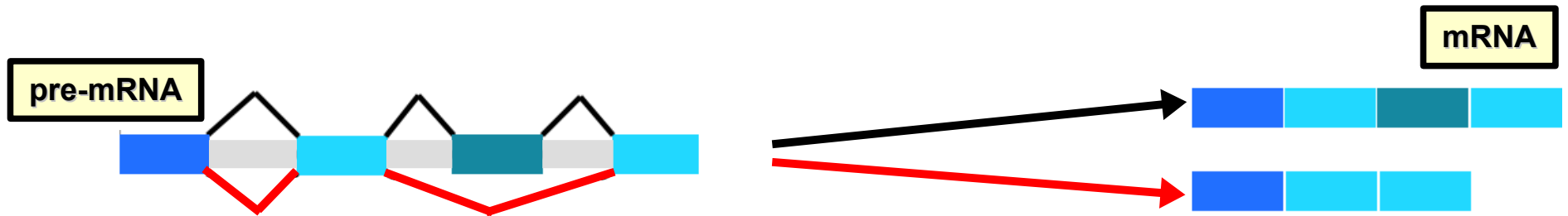
Cząsteczki pre-mRNA mogą podlegać różnym sposobom składania. W wyniku tego mechanizmu, zwanego **alternatywnym składaniem**, z jednego transkryptu mogą powstać różne cząsteczki mRNA, kodujące białka o odmiennych właściwościach.



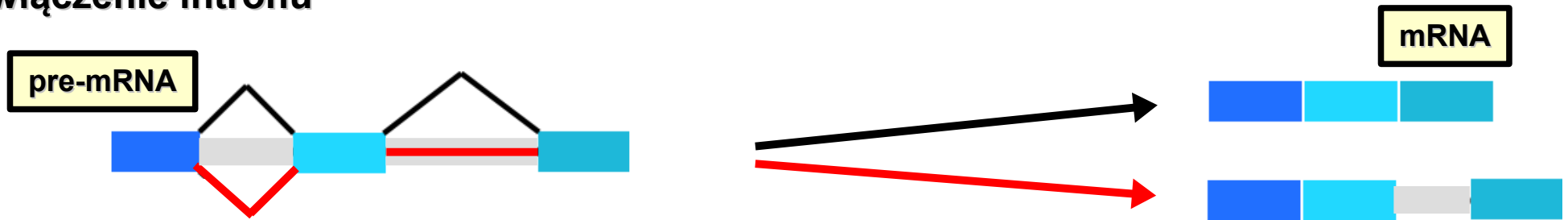
Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (alternatywne składanie)

Istnieje wiele schematów alternatywnego składania. Przykładami mogą być:

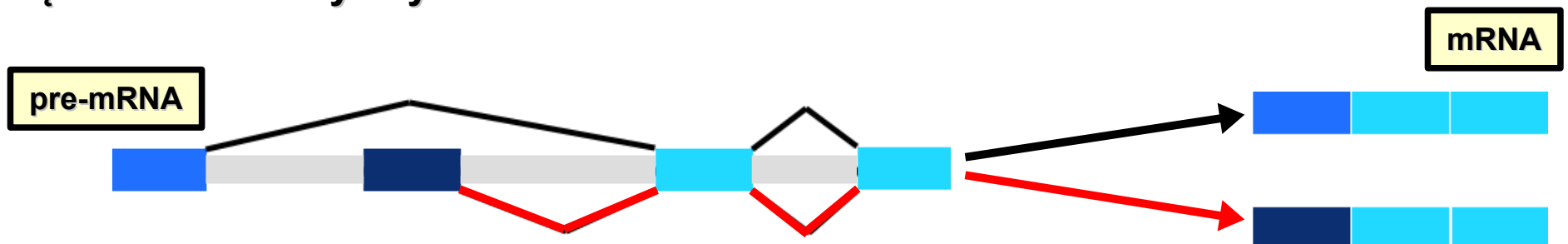
▪ pominięcie eksonu



▪ włączenie intronu

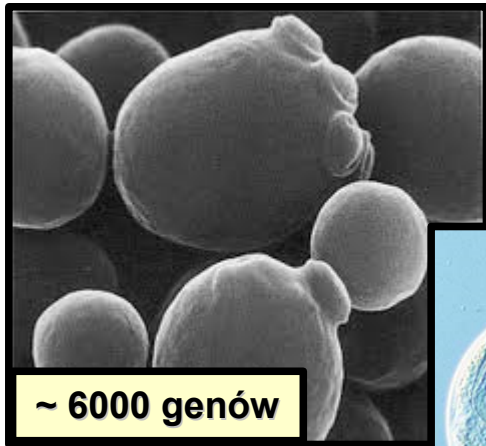


▪ włączanie alternatywnych eksonów

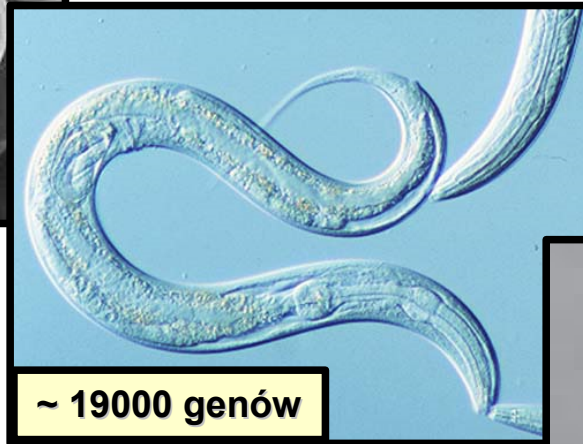


Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (alternatywne składanie)

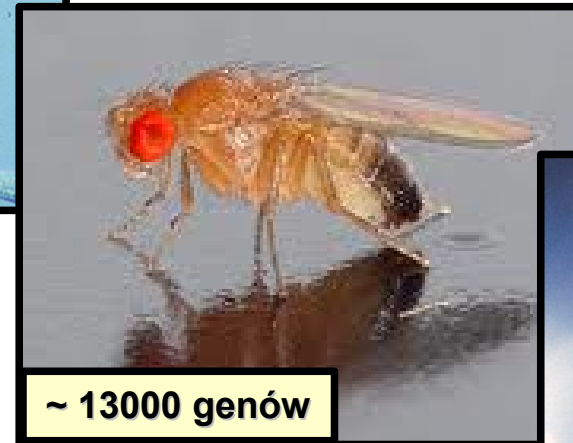
Obecnie wydaje się, że alternatywne składanie może być jednym z najważniejszych mechanizmów wpływających na złożoność organizmów eukariotycznych. Oznacza to, że istotna jest nie tylko liczba genów kodujących białka, ale także efektywność ich wykorzystania, rozumiana jako liczba możliwych form białkowych kodowanych przez poszczególne geny.



~ 6000 genów



~ 19000 genów



~ 13000 genów



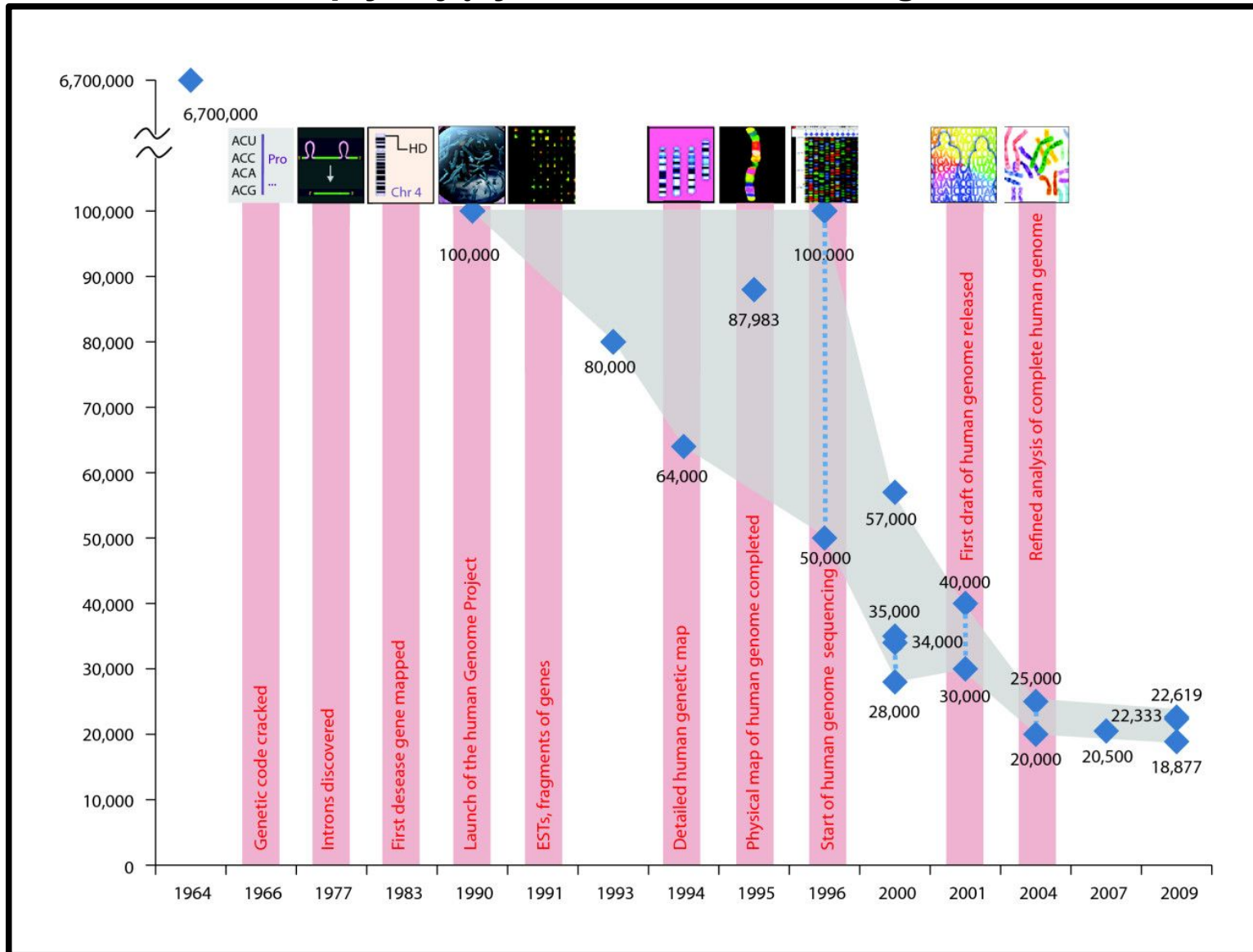
~ 20000 genów

UWAGA: podane liczby dotyczą genów kodujących białka

Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (alternatywne składanie)

Obecnie wydaje się, że alternatywne składanie może być jednym z najważniejszych mechanizmów wpływających na złożoność organizmów eukariotycznych. Oznacza

także efektywność
tych kodowanych

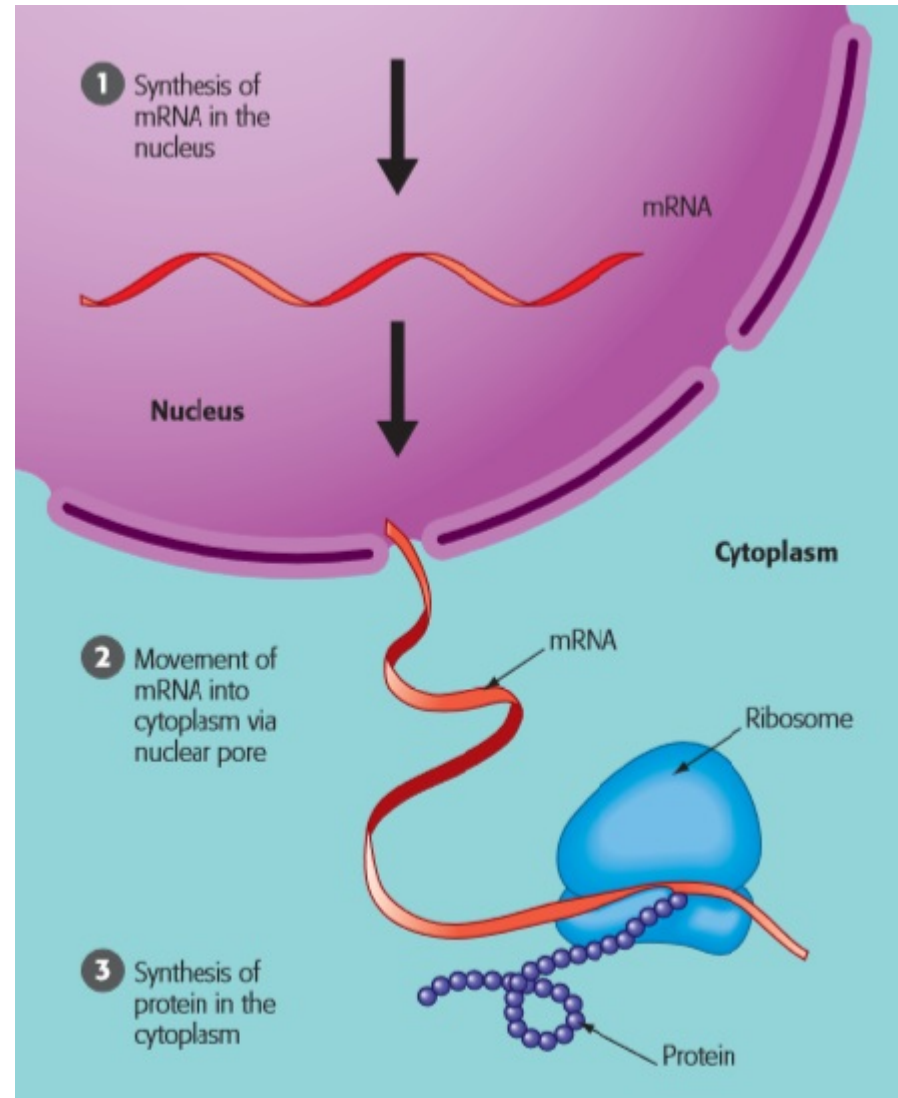


~ 20000 genów

UWAGA: podane liczby dotyczą genów kodujących białka

Ekspresja genów: transkrypcja u eukariontów (transport mRNA)

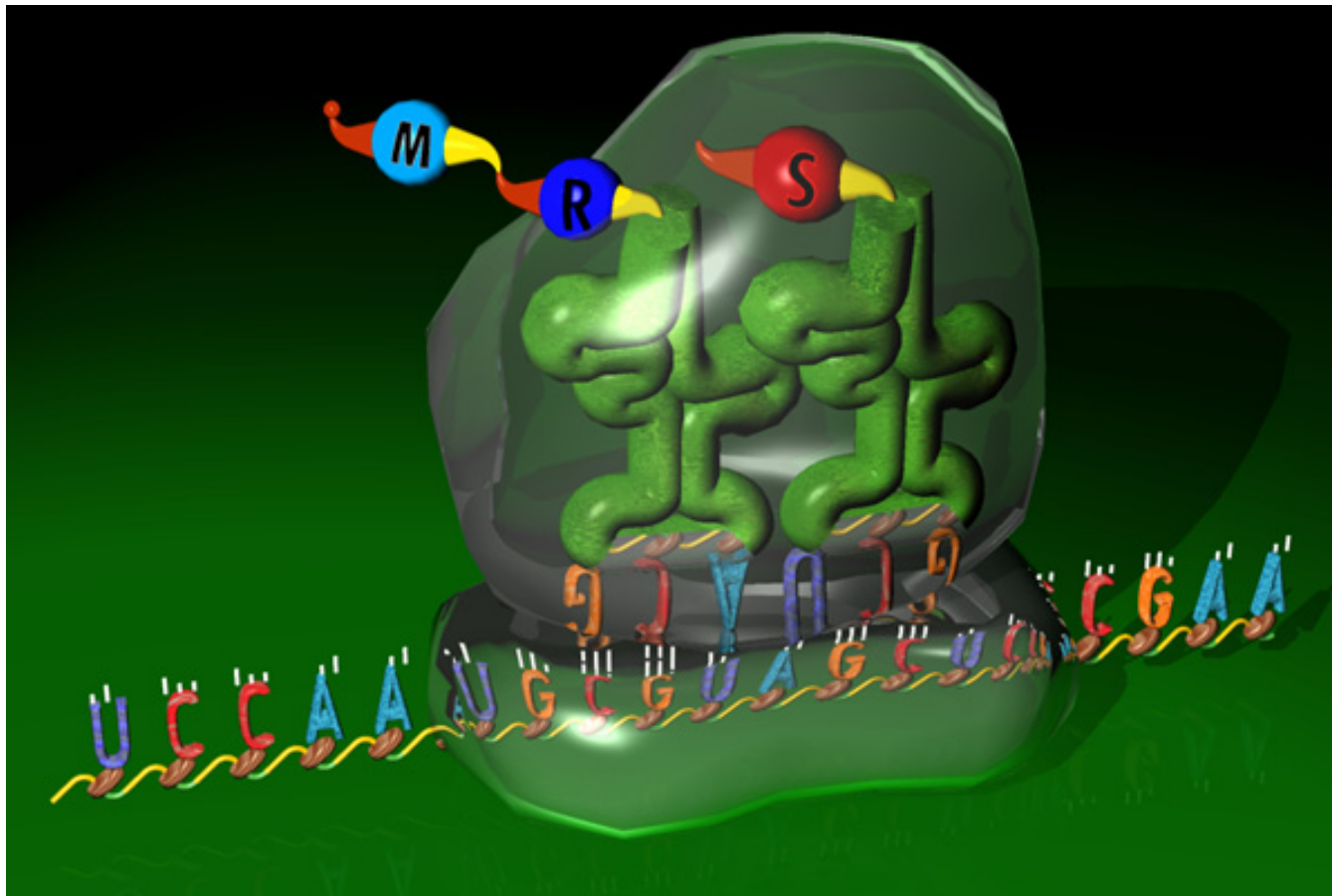
W przypadku eukariontów – inaczej niż u bakterii – translacja nie może odbywać się jednocześnie z transkrypcją.



Ekspresja genów: translacja

Translacja jest procesem syntezy łańcucha polipeptydowego białka lub peptydu o kolejności aminokwasów odpowiadającej kolejności kodonów cząstki mRNA.

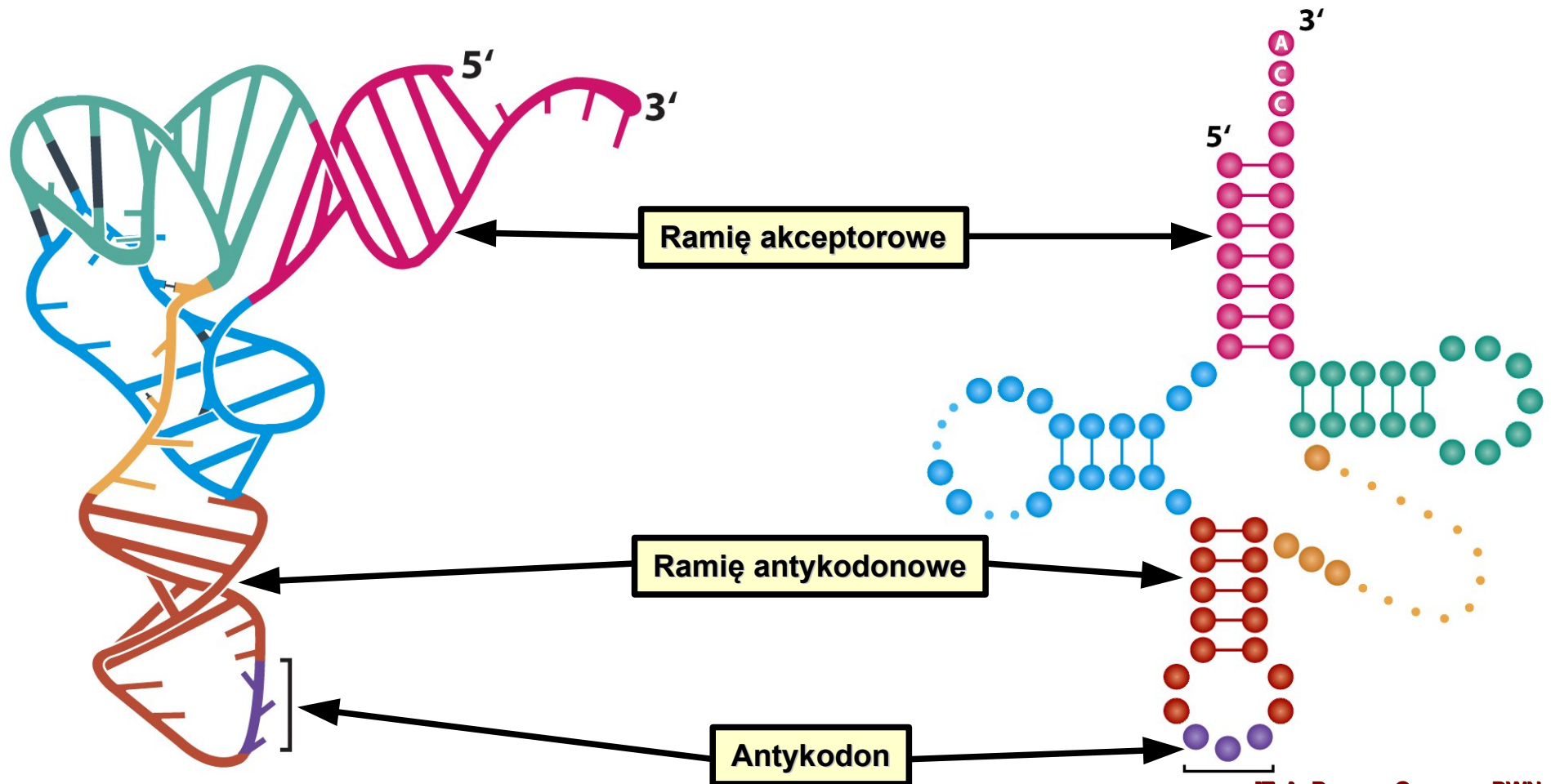
Synteza łańcucha polipeptydowego zachodzi w **rybosomach** przy udziale cząsteczek **transportującego RNA (tRNA)** oraz szeregu enzymów białkowych, zwanych **czynnikami translacyjnymi**.



Ekspresja genów: translacja (tRNA)

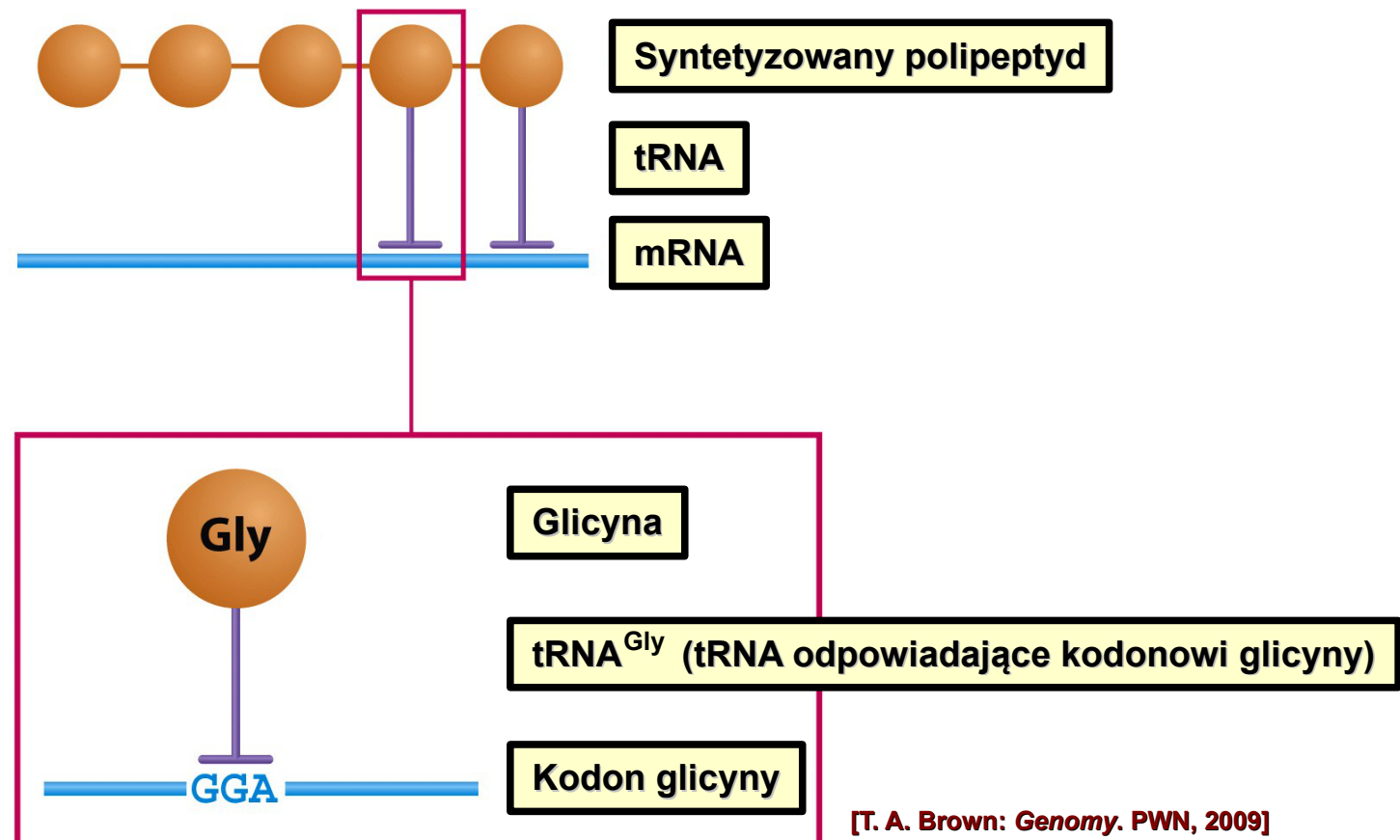
Transportujące RNA to krótkie cząsteczki (o długości 74-95 nukleotydów). Sekwencje ich nukleotydów tworzą strukturę „liścia koniczyny”, której głównymi elementami są:

- **ramię antykodonowe**, zawierające **antykonon** złożony z trzech nukleotydów łączących się w czasie translacji z określonym kodonem mRNA;
- **ramię akceptorowe**, wiążące aminokwas odpowiadający temu kodonowi.



Ekspresja genów: translacja (tRNA)

Struktura cząstek tRNA pozwala im pełnić rolę pośrednika pomiędzy mRNA a aminokwasami podczas translacji. Ich zadaniem jest dostarczanie do rybosomów aminokwasów i zapewnienie aby kolejność ich włączania do syntezowanego białka była zgodna z kolejnością występowania kodonów w cząsteczce mRNA.

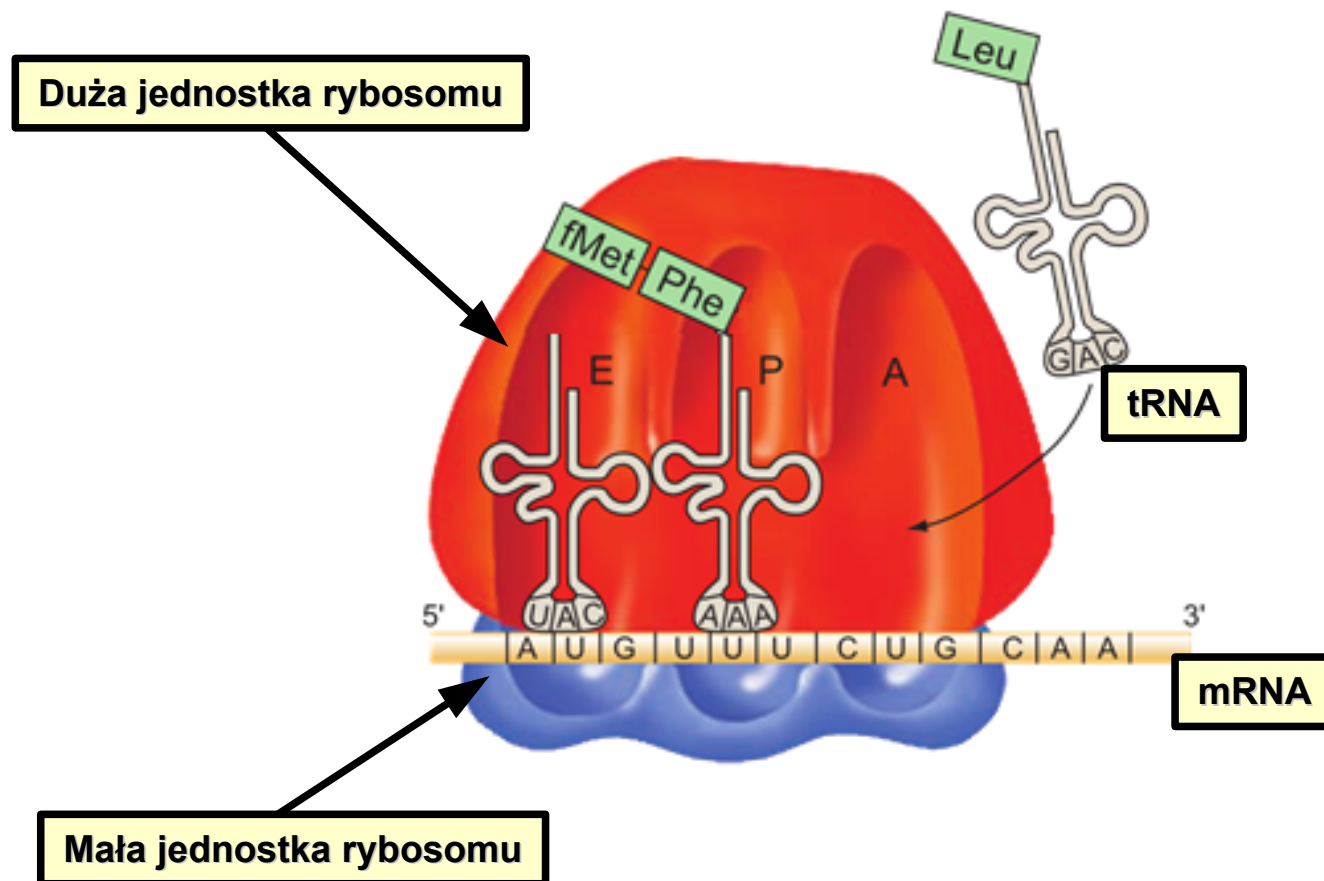


[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Ekspresja genów: translacja (rybosomy)

Rybosomy są strukturami komórkowymi zbudowanymi z **rybosomalnego RNA (rRNA)** i związanych z nim białek.

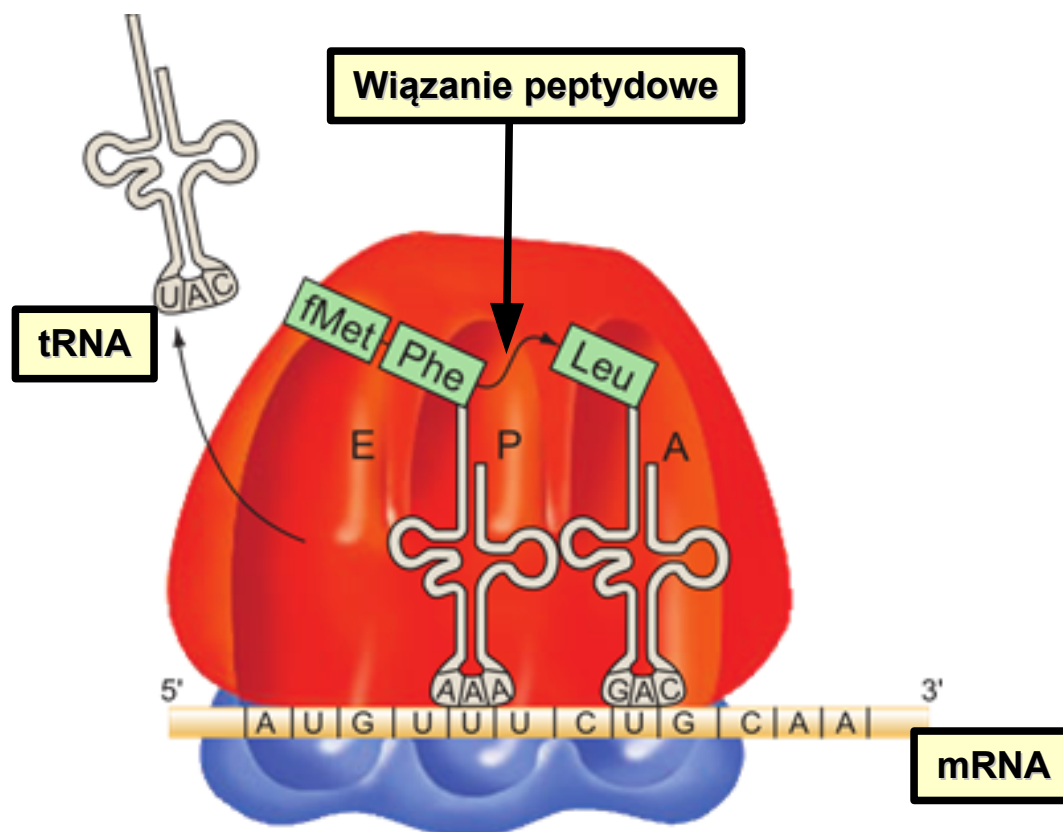
Składają się z **małej** i **dużej podjednostki**, które po połączeniu koordynują translację poprzez umieszczenie we właściwych pozycjach względem siebie cząsteczek mRNA i tRNA (z przyłączonymi aminokwasami). Jednocześnie rRNA i białka rybosomalne katalizują reakcje chemiczne zachodzące podczas translacji.



Ekspresja genów: translacja (rybosomy)

Rybosomy są strukturami komórkowymi zbudowanymi z **rybosomalnego RNA (rRNA)** i związanych z nim białek.

Składają się z **małej** i **dużej podjednostki**, które po połączeniu koordynują translację poprzez umieszczenie we właściwych pozycjach względem siebie cząsteczek mRNA i tRNA (z przyłączonymi aminokwasami). Jednocześnie rRNA i białka rybosomalne katalizują reakcje chemiczne zachodzące podczas translacji.



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

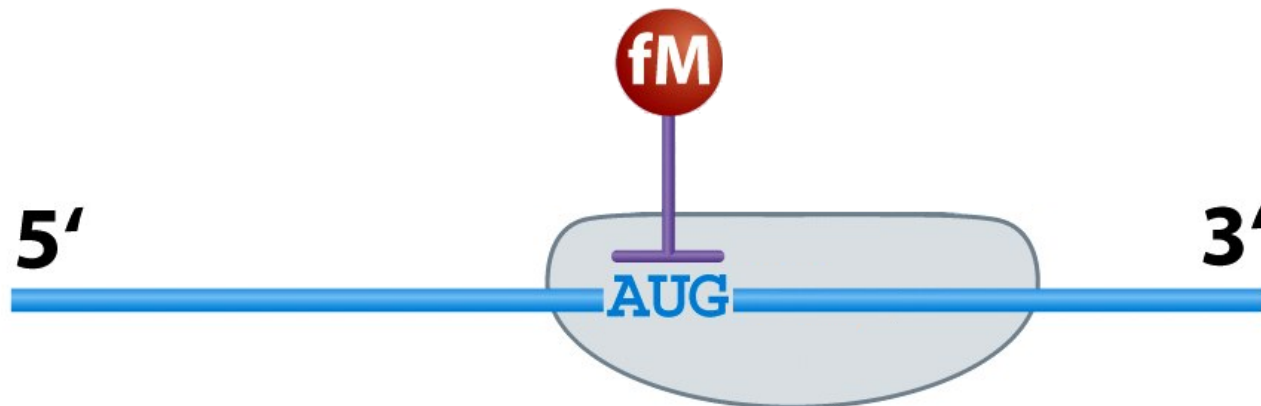
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczka tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

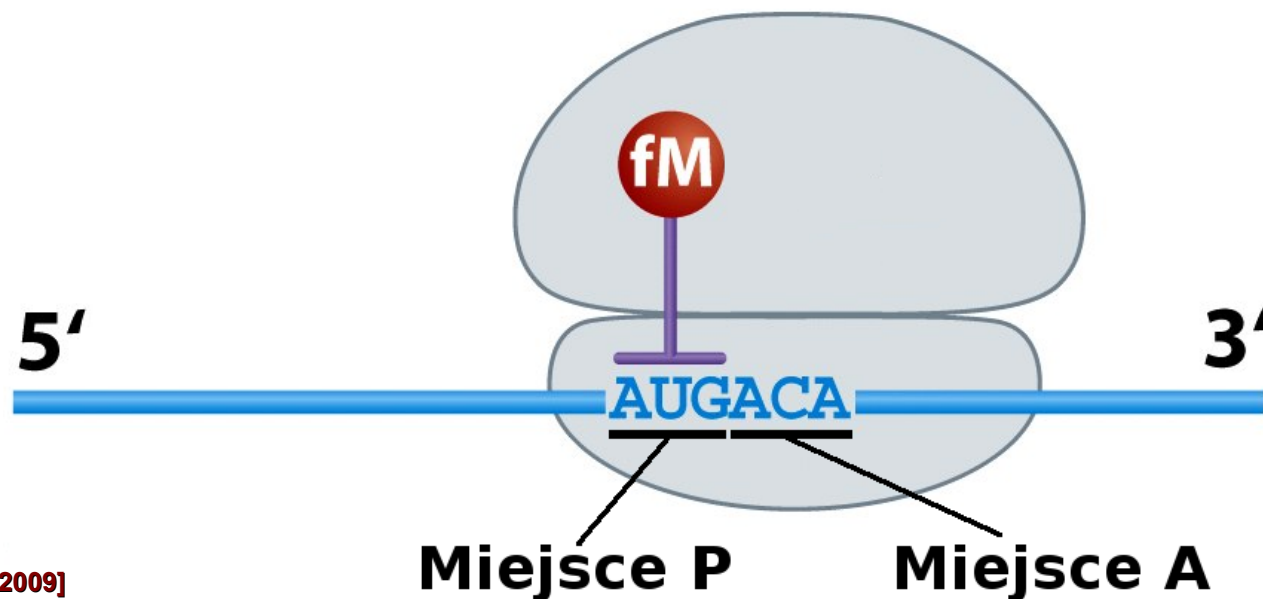
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczka tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

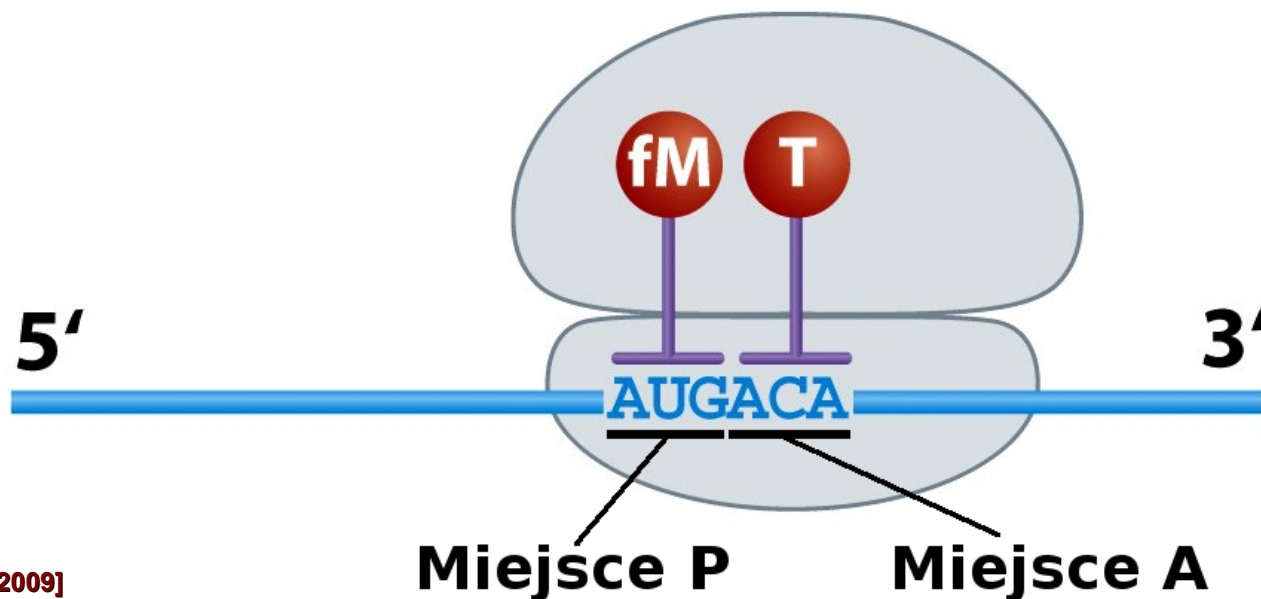
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczka tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

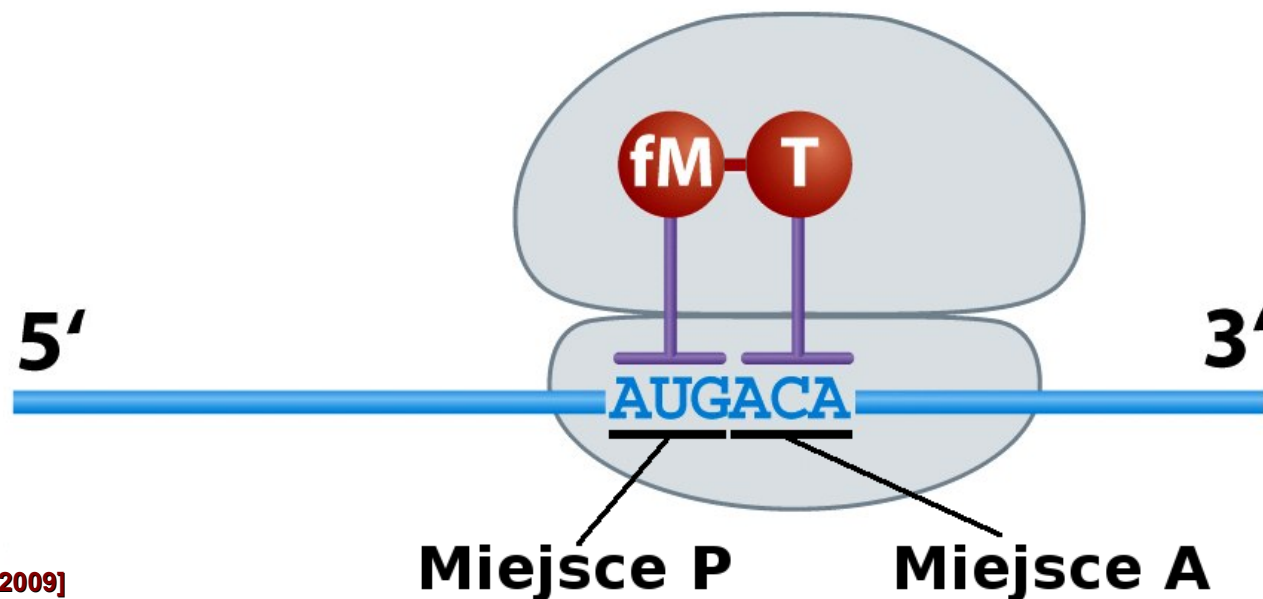
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczka tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

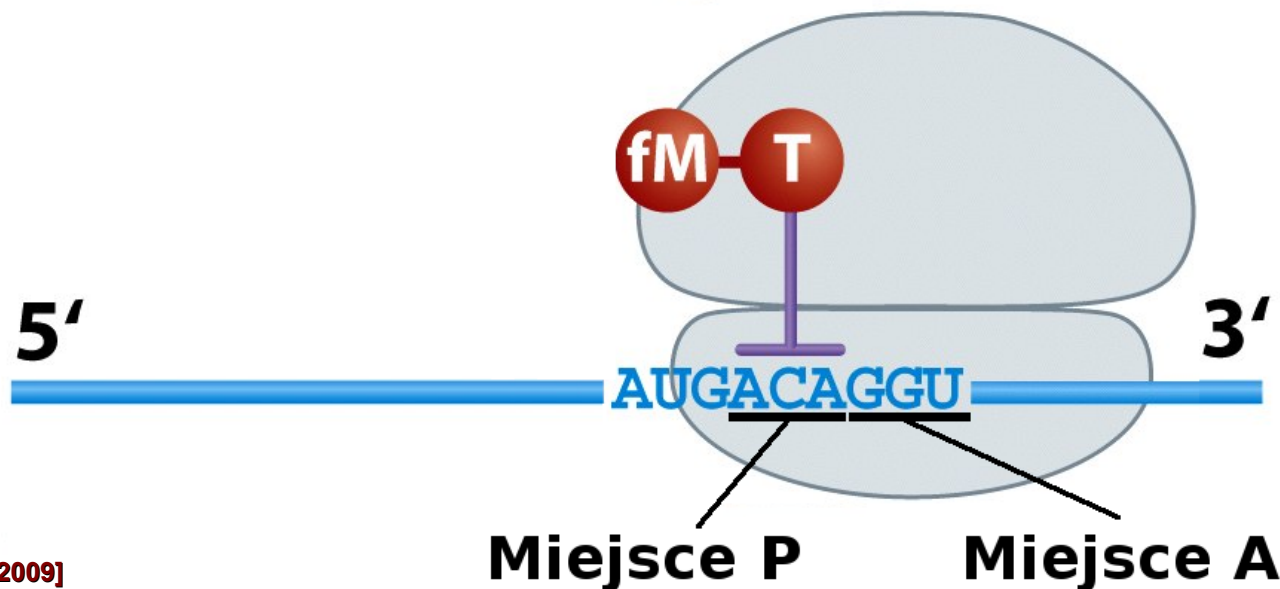
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczką tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

Translacja odbywa się w trzech krokach:

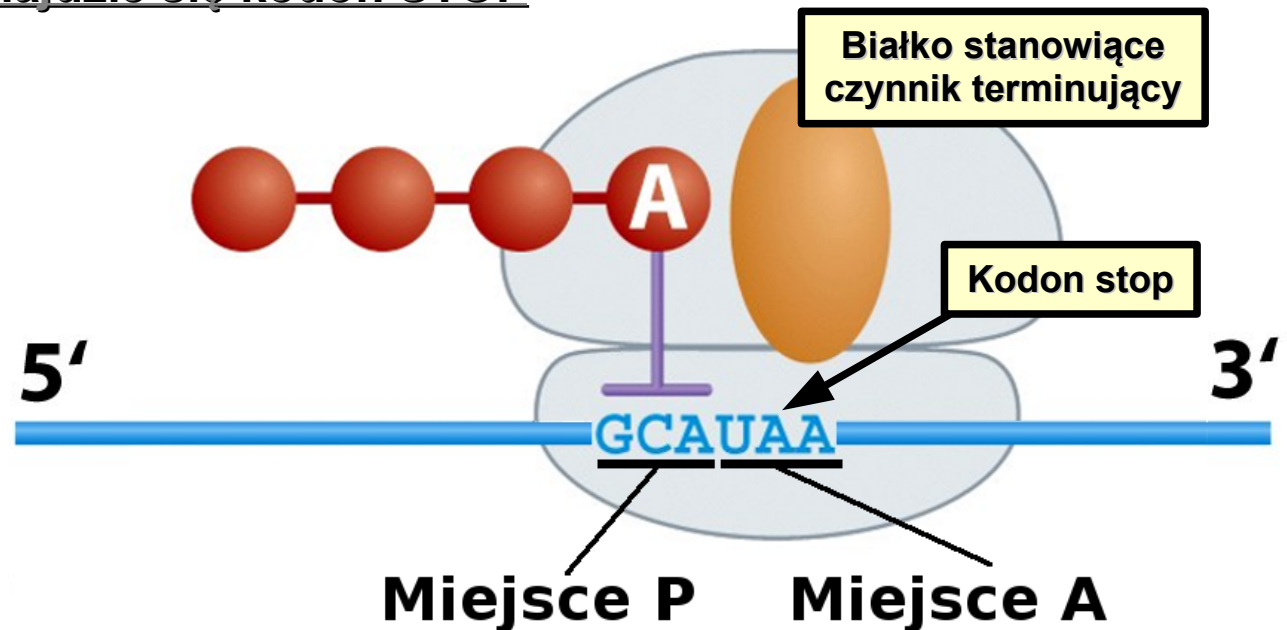
- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczka tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (etapy)

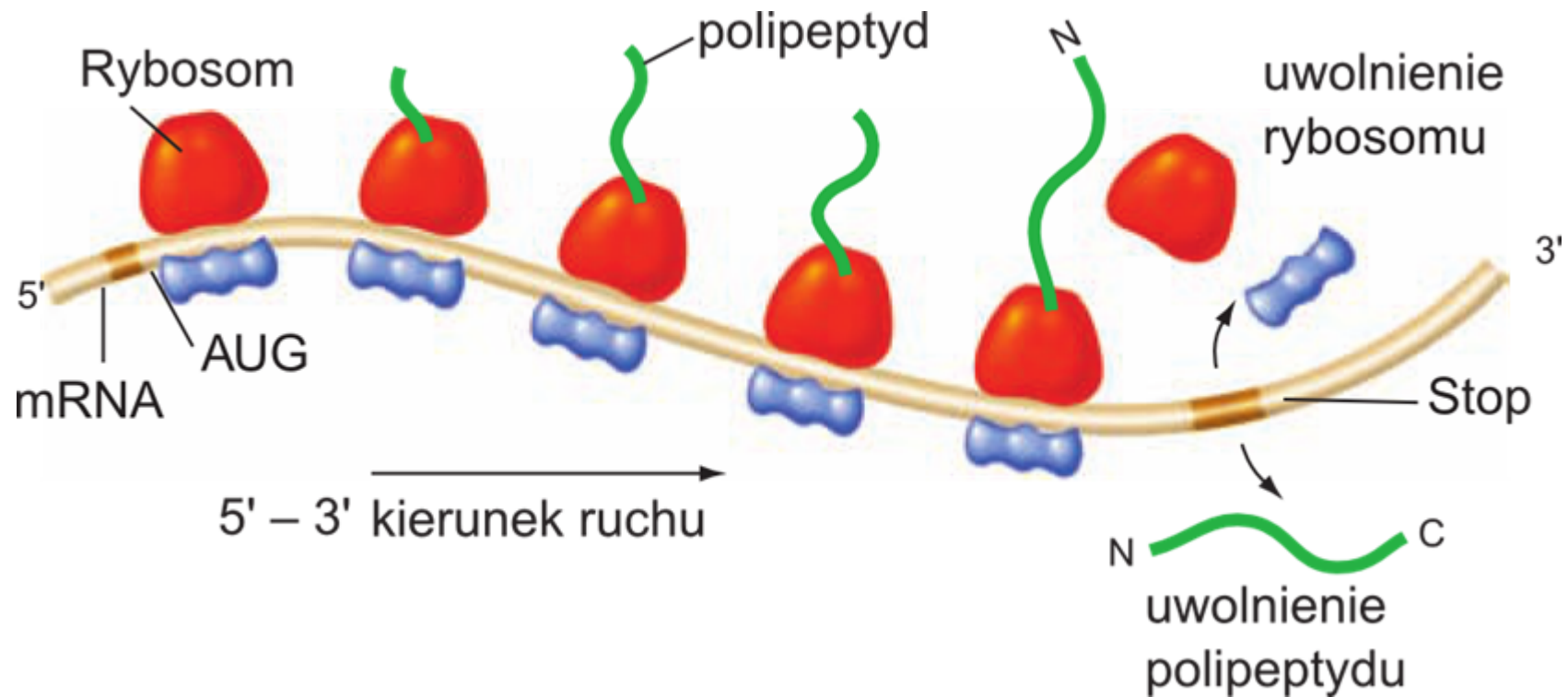
Translacja odbywa się w trzech krokach:

- **Inicjacja** – mała podjednostka rybosomu wiąże się z cząsteczką mRNA i przesuwa się w kierunku jej końca 3'. W momencie napotkania kodonu inicjującego translację (kodon metioniny – AUG) przyłącza się do niego komplementarna cząsteczką tRNA^{Met}. Związanie tRNA^{Met} powoduje dołączenie dużej podjednostki rybosomu
- **Elongacja** – gdy miejsca A i P są zajęte przez dwie cząsteczki tRNA (tworzące pary z dwoma kolejnymi kodonami) powstaje wiązanie peptydowe pomiędzy niesionymi przez nie aminokwasami. Po utworzeniu wiązania rybosom przesuwa o jeden kodon, następuje uwolnienie tRNA z miejsca P i proces powtarza się
- **Terminacja** – zakończenia wydłużania łańcucha aminokwasów następuje w momencie gdy w miejscu A znajdzie się kodon STOP



Ekspresja genów: translacja (polirybosomy)

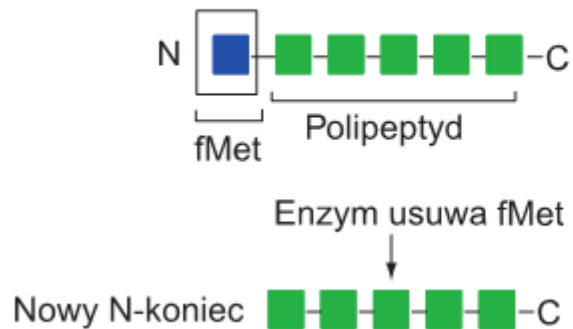
Polirybosomy umożliwiają jednoczesną syntezę wielu kopii tego samego łańcucha polipeptydowego na podstawie pojedynczej cząsteczki mRNA.



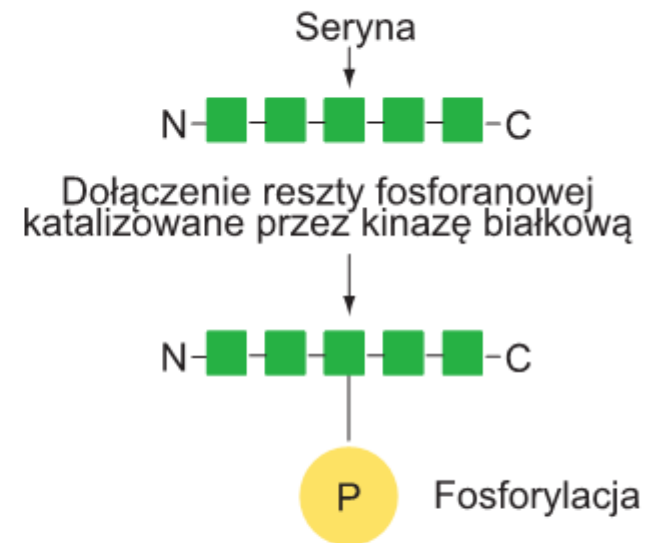
Ekspresja genów: modyfikacje potranslacyjne białek

Już po translacji sekwencje białek mogą podlegać dalszej edycji. Ponadto na właściwości białek i ich aktywność biologiczną wpływają również tzw. **modyfikacje potranslacyjne (PTM – Posttranslational Modifications)**, polegające na przyłączeniu do aminokwasów cząstek niewielkich związków chemicznych.

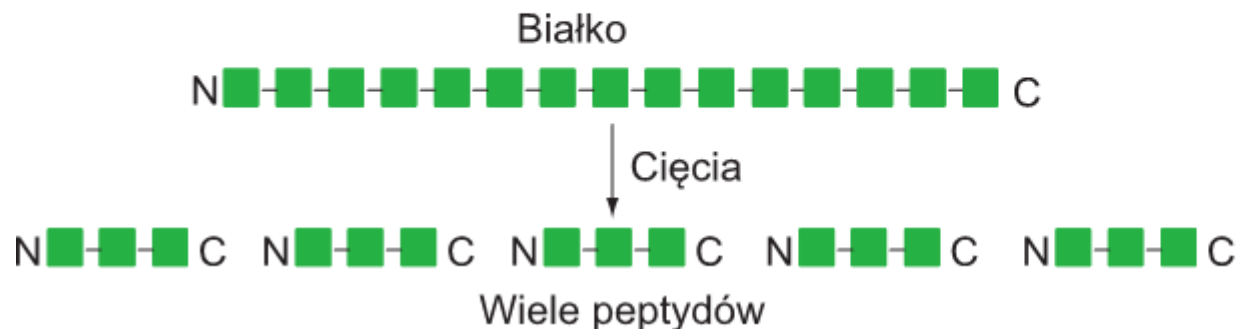
(a) Cięcie usuwające aminokwas



(c) Chemiczna modyfikacja aminokwasów

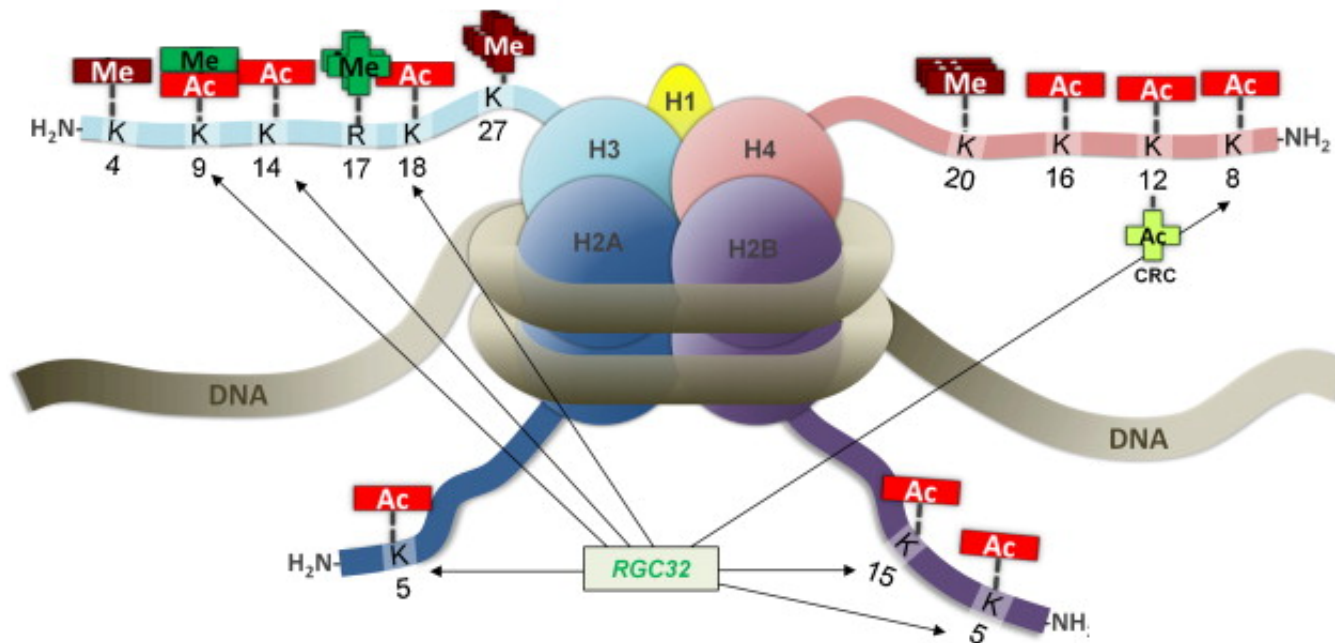


(b) Cięcie na wiele mniejszych polipeptydów



Ekspresja genów: modyfikacje potranslacyjne białek

Przykładami roli chemicznych modyfikacji potranslacyjnych mogą być acetylacja (dodanie grupy acetylowej COCH_3 do lizyn) i metylacja (dodanie jednej, dwóch lub trzech grup metylowych CH_3 do lizyn lub arginin) białek histonowych, z którymi połączone jest DNA w chromosomach organizmów eukariotycznych.



Inną bardzo ważną modyfikacją jest fosforylacja (dodanie reszty fosforanowej PO_4 do seryn, treonin i tyrozyn), mająca kluczowe znaczenie dla sygnalizacji komórkowej.

Inżynieria genetyczna

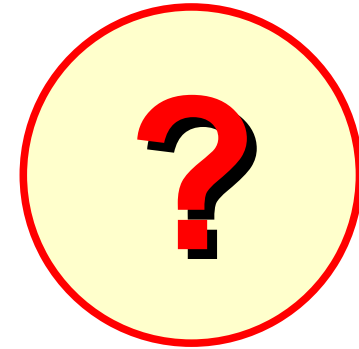
Wykład 2: genom

Tymon Rubel

Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

GENOM – kompletna informacja genetyczna żywego organizmu [1]

GENOM – całkowite DNA występujące w każdej komórce organizmu [2]



GENOM – całkowity DNA zawarty w chromosomach danego gatunku [3]

GENOM – materiał genetyczny zawarty w haploidalnym zespole chromosomów [4]

GENOM – materiał genetyczny organizmu [5]

GENOME – the entirety of an organism's hereditary information [6]

[1] T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009.

[2] A. D. Baxevanisa, B.F.F. Ouellette'a: *Bioinformatyka podręcznik do analizy genów i białek*. PWN, 2006.

[3] J. Mulawka: *Metody bioinformatyki (slajdy z wykładów)*.

[4] H. Krzyżanowska: *Genom. Encyklopedia biologiczna*. Agencja OPRES, 1998.

[5] P. G. Higgs, T. K. Attwood: *Bioinformatyka i ewolucja molekularna*. PWN, 2011.

[6] M. Ridley: *Genome*. Harper Perennial, 2006.

GENOM – kompletna informacja genetyczna żywego organizmu [1]

GENOM – całkowite DNA występujące w każdej komórce organizmu [2]

GENOM – całkowity DNA zawarty w chromosomach danego gatunku [3]

GENOM – materiał genetyczny zawarty w haploidalnym zespole chromosomów [4]

GENOM – materiał genetyczny organizmu [5]

GENOME – the entirety of an organism's hereditary information [6]

[1] T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009.

[2] A. D. Baxevanisa, B.F.F. Ouellette'a: *Bioinformatyka podręcznik do analizy genów i białek*. PWN, 2006.

[3] J. Mulawka: *Metody bioinformatyki (slajdy z wykładów)*.

[4] H. Krzyżanowska: *Genom. Encyklopedia biologiczna*. Agencja OPRES, 1998.

[5] P. G. Higgs, T. K. Attwood: *Bioinformatyka i ewolucja molekularna*. PWN, 2011.

[6] M. Ridley: *Genome*. Harper Perennial, 2006.

Inżynieria genetyczna

Wykład 2: genomy organizmów eukariotycznych

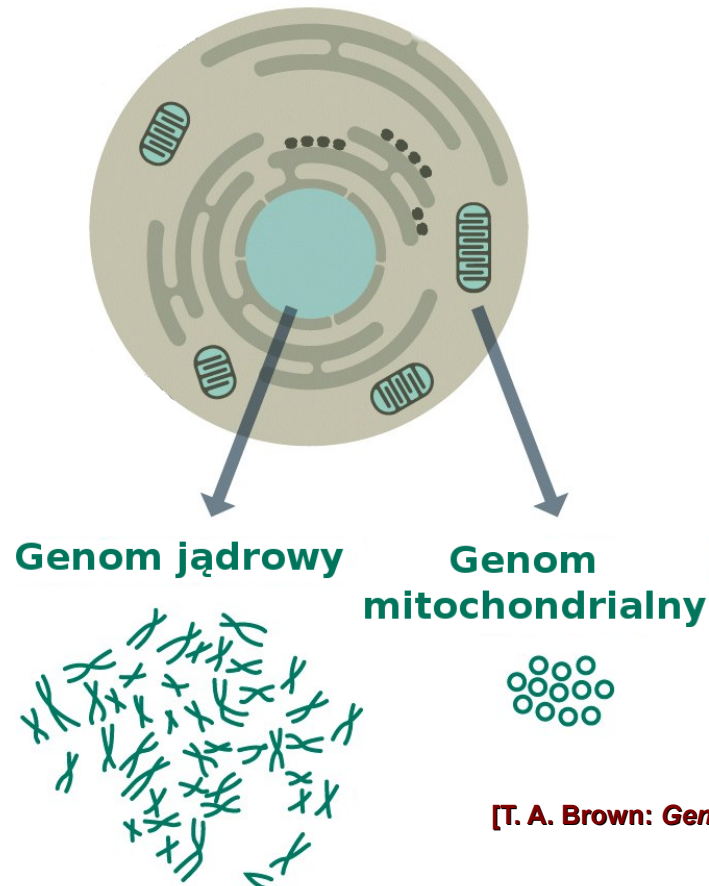
Tymon Rubel

Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Genomy organizmów eukariotycznych

Całkowite DNA komórek eukariotycznych jest rozdzielone pomiędzy:

- **genom jądrowy** (u wszystkich eukariontów);
- **genom mitochondrialny** (u zdecydowanej większości eukariontów);
- **genom plastydowy** (u wszystkich eukariontów fotosyntetyzujących).



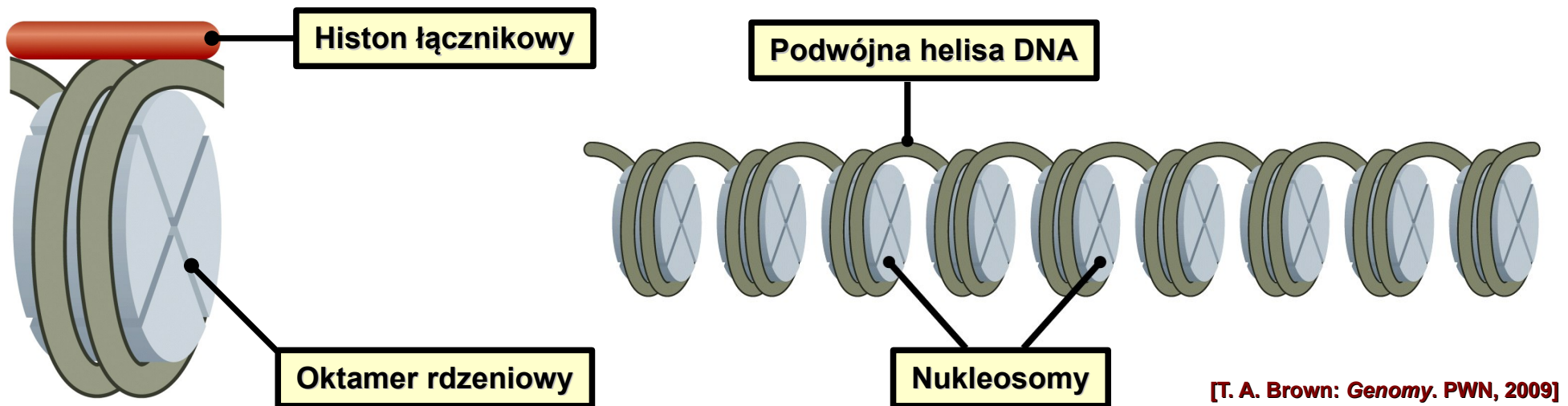
[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

Genom jądrowy eukariotów składa się ze zbioru liniowych cząsteczek dwuniciowego DNA znajdujących się w **chromosomach**.

Chromosomy zbudowane są z kompleksu białek i DNA nazywanego **chromatyną**.

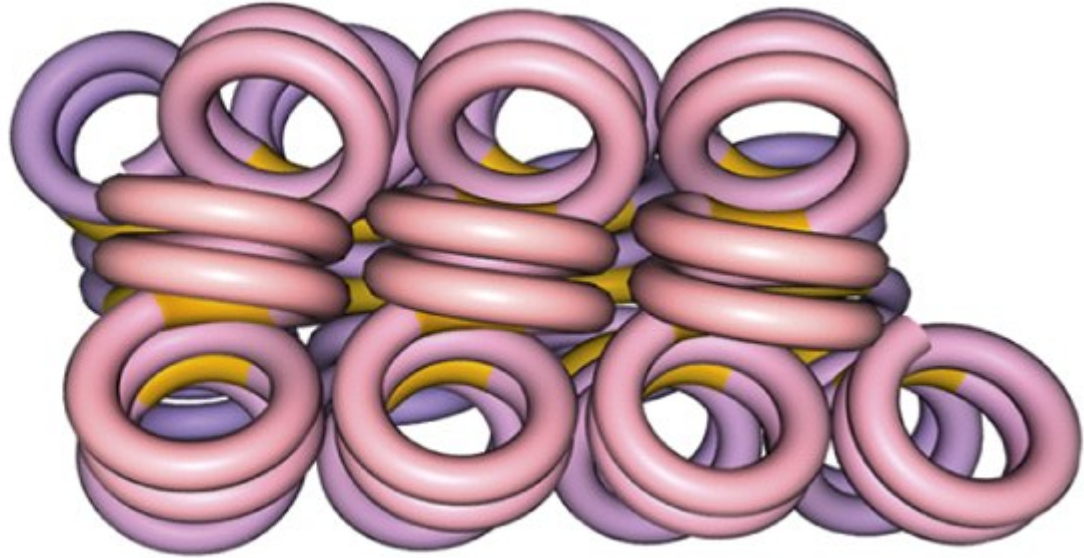
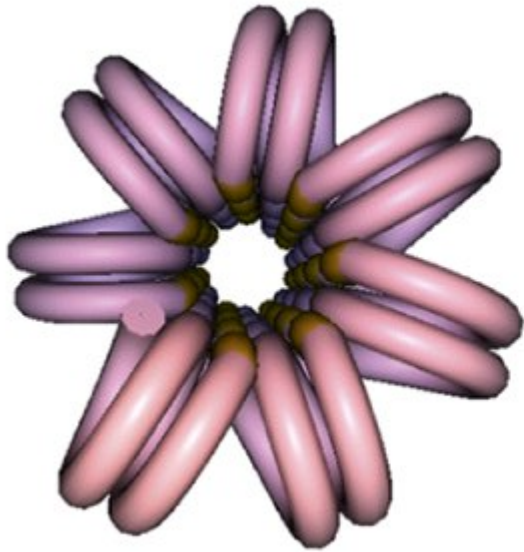
Podstawową jednostką chromatyny jest **nukleosom**, składający się z białkowego rdzenia, wokół którego owinięta jest podwójna helisa DNA. Rdzeń zbudowany jest z ośmiu cząsteczek białek histonowych. Dodatkowa cząsteczka histonu łącznikowego pełni rolę klamry zapobiegającej oddzieleniu się zwojów DNA od rdzenia.



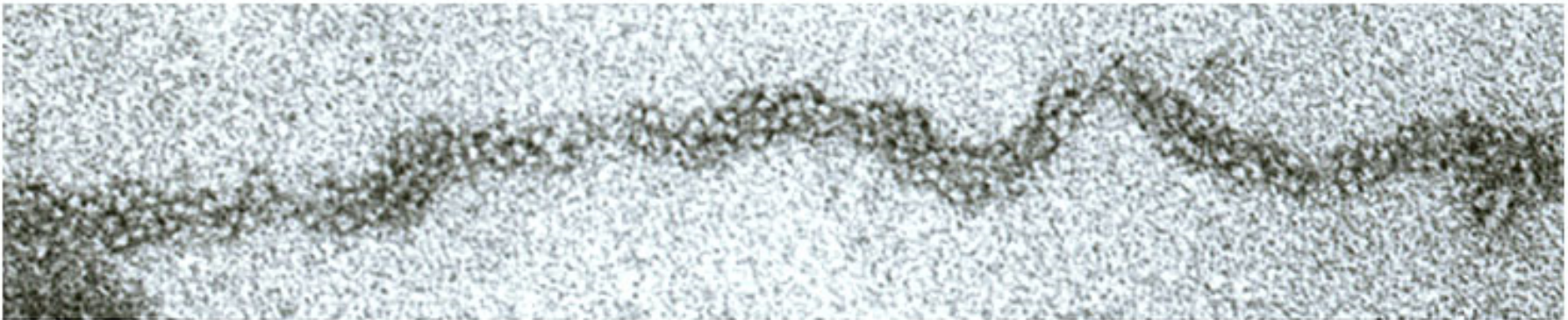
Całość tworzy strukturę „koralików na sznurku”, która dzięki swej kurczliwości może powodować zmianę upakowania struktury chromosomów.

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

W okresie pomiędzy podziałami komórkowymi nukleosomy i DNA łącznikowe układają się w strukturę solenoidu o średnicy 30 nm (tzw. **włókno 30 nm**).



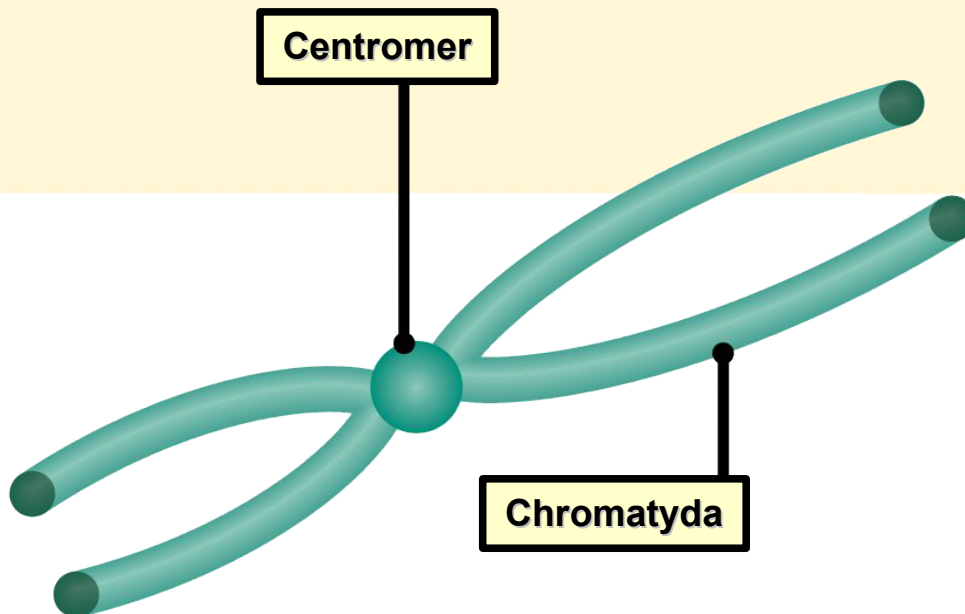
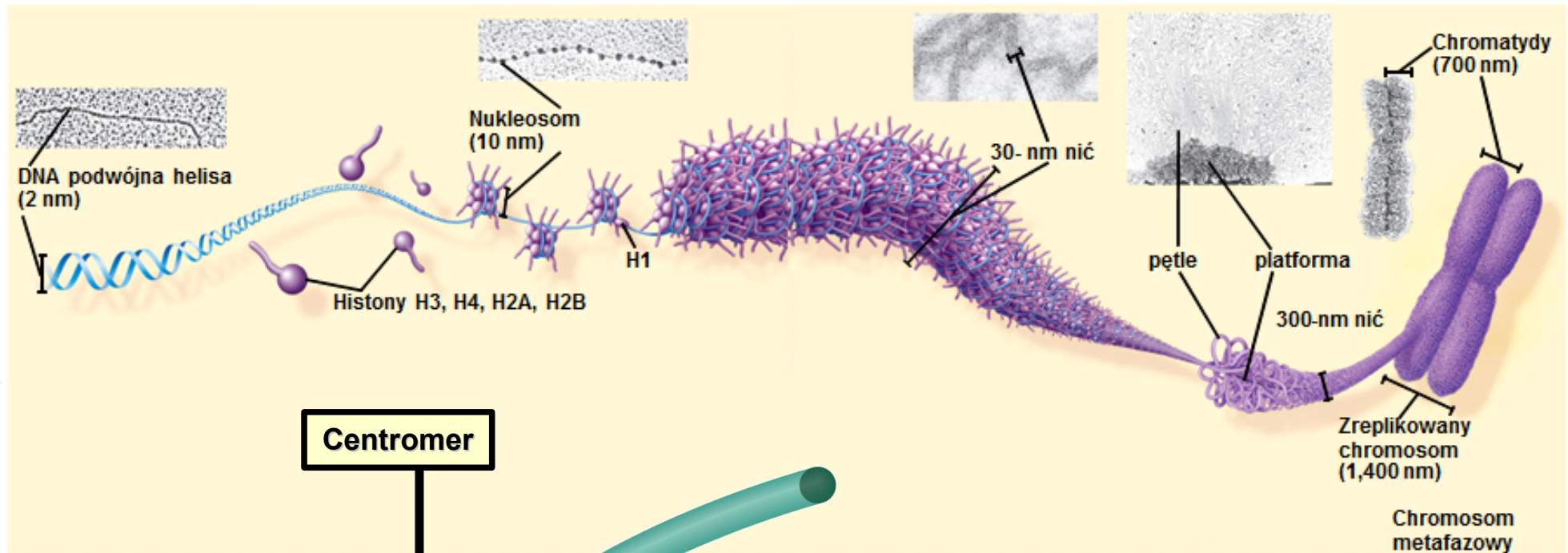
[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]



Courtesy of Dr. B. Hamkalo, University of California, Irvine. Noncommercial, educational use only.

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

W czasie podziału jądra (w metafazie) chromatyna przybiera bardziej upakowaną formę. Chromosomy są wówczas złożone z dwóch kopii zreplikowanego DNA (**chromatyd**) utrzymanych razem w obszarze **centromeru**.



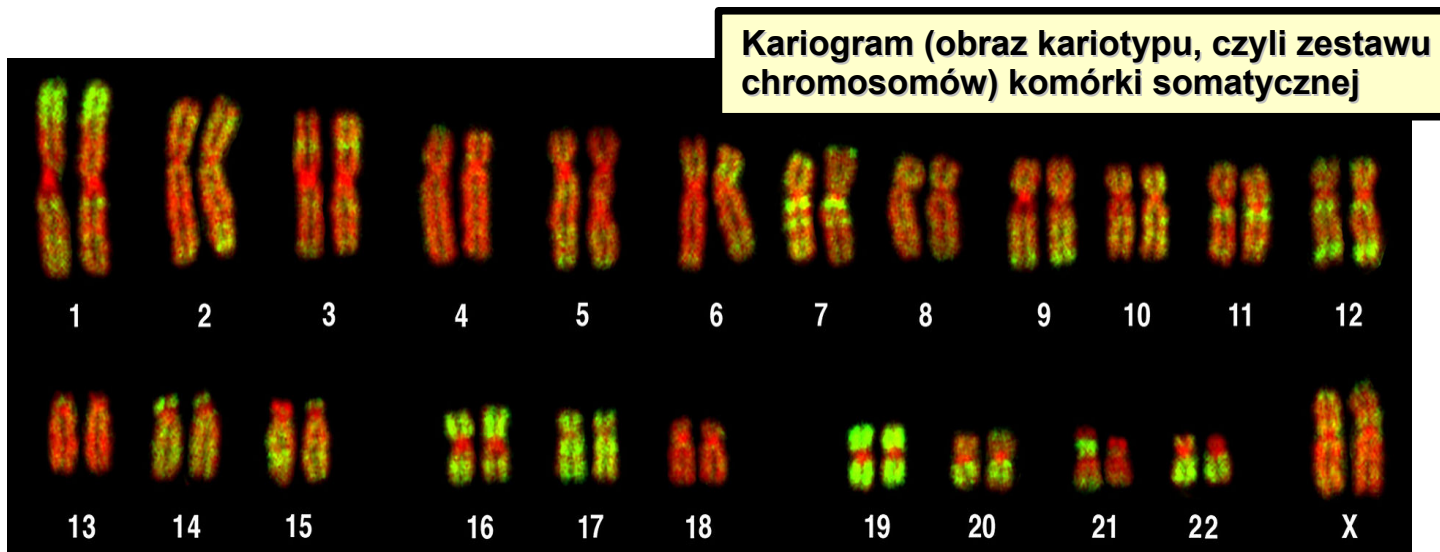
[M. Mikula: INGE, 2018]

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

Liczba i wielkość chromosomów są zależne od gatunku. U człowieka genom jądrowy podzielony jest na 24 rodzaje chromosomów: **22 autosomy** (ponumerowane od 1 do 22, zgodnie z wielkością) i **2 chromosomy płci** (X i Y).

Komórki somatyczne są diploidalne i zawierają 23 pary chromosomów (każdej parze jeden chromosom pochodzi od matki, drugi od ojca):

- 22 pary autosomów;
- 1 parę chromosomów płci (XX u kobiet lub XY u mężczyzn).



Komórki rozrodcze (gamety) są haploidalne i zawierają 23 chromosomy:

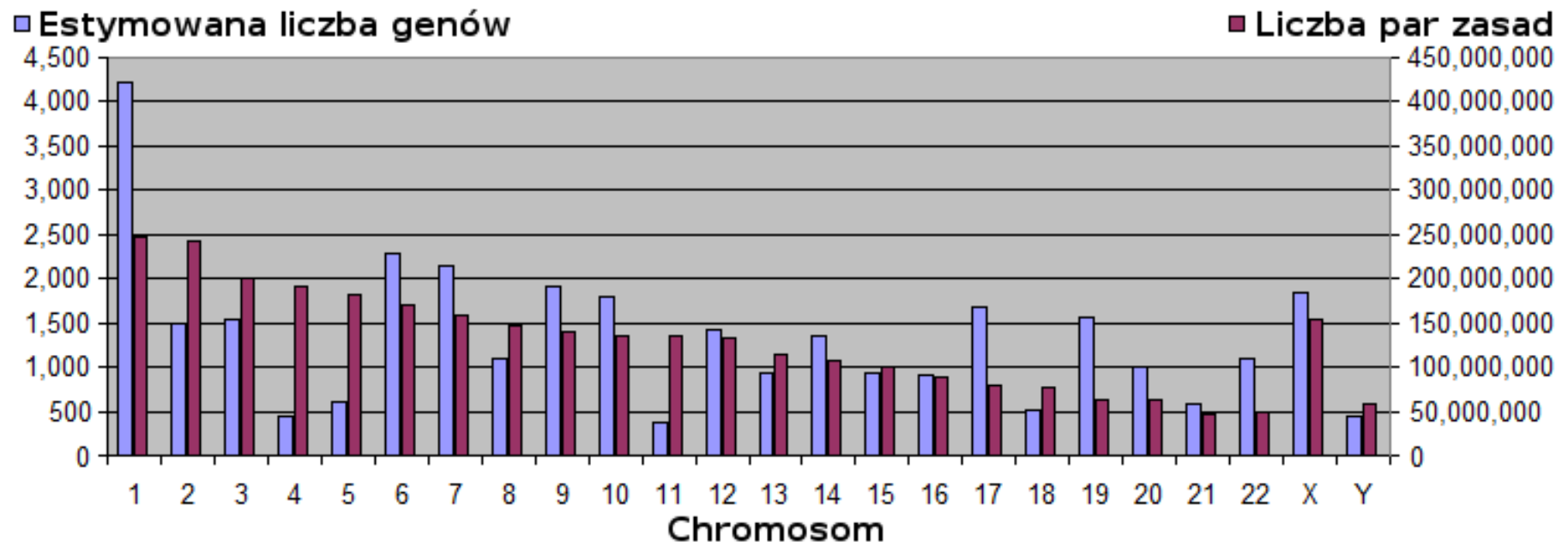
- 22 autosomy;
- 1 chromosom płci.

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

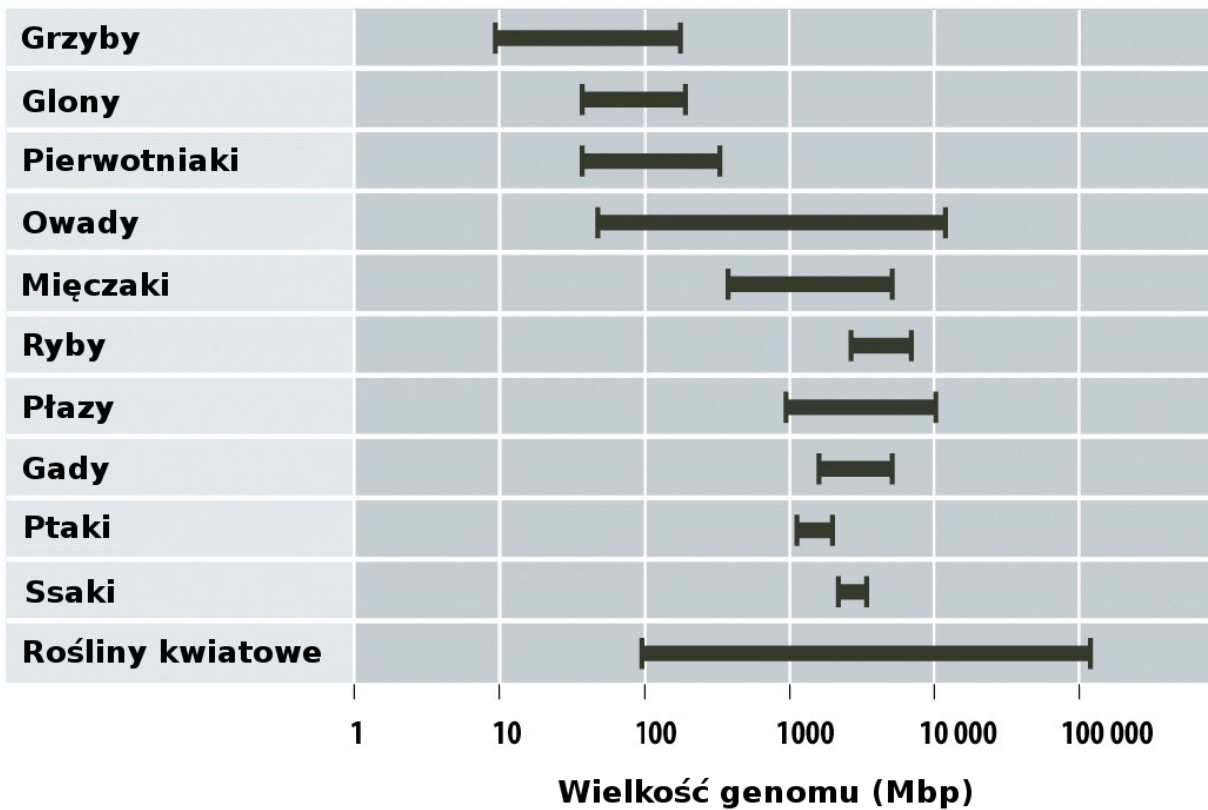
Określenie „wielkość genomu” organizmu eukariotycznego odnosi się zwykle do sekwencji haploidalnej (z uwzględnieniem obu chromosomów płci, jeżeli organizm rozmnaża się płciowo).

Rozmiar genomu wyrażany jest najczęściej w **parach zasad [bp] (*base pairs*)** lub w **pikogramach [pg]** (1 [pg] = 978 [Mbp]).

Genom człowieka ma rozmiar około 3,2 mld bp.



Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

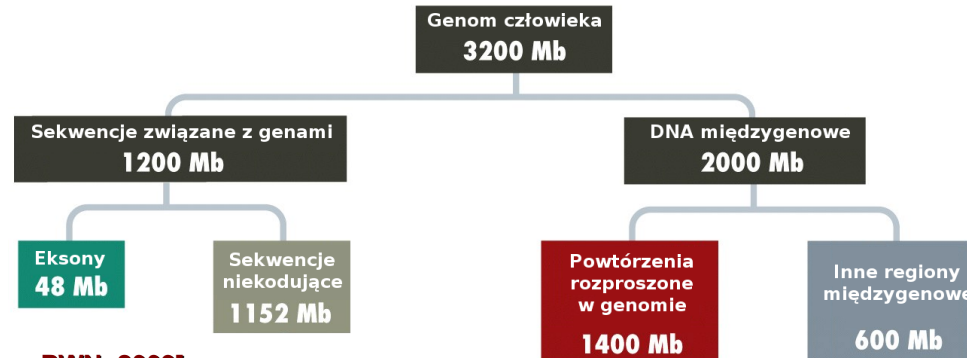


[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Gatunek	Liczba chromosomów	Rozmiar genomu [Mbp]	Przybliżona liczba genów
Drożdże pączkujące [<i>Saccharomyces cerevisiae</i>]	8	12,1	6100
Nicień [<i>Caenorhabditis elegans</i>]	6	97	19000
Muszka owocówka [<i>Drosophila melanogaster</i>]	4	180	13600
Ryż siewny [<i>Oryza sativa</i>]	12	466	40000
Człowiek [<i>Homo sapiens</i>]	24	3200	20000
Bezskrzydlak pieszy [<i>Podisma pedestris</i>]	11	16500	?

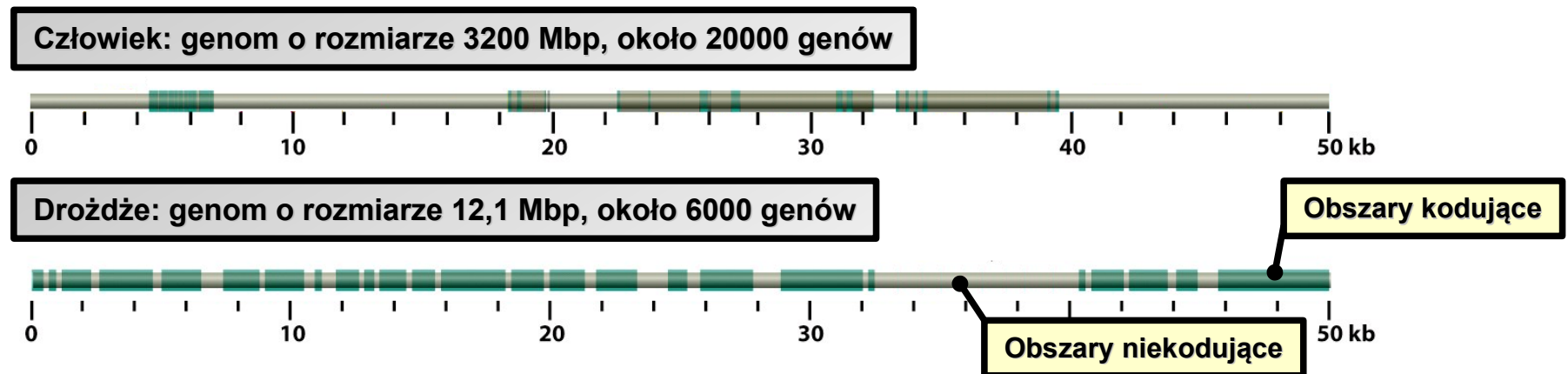
Genomy organizmów eukariotycznych: genomy jądrowe

Geny organizmów eukariotycznych są rozdzielone niekodującymi sekwencjami DNA, które nie pełnią **znanych** funkcji regulacyjnych (**DNA międzygenowe**). Przykładowo u człowieka sekwencje kodujące białka stanowią jedynie około 1,5% ogółu genomu.



[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Wśród eukariontów obserwuje się też istotne różnice w efektywności wykorzystania genomowego DNA, a relacje między wielkością genomu a liczbą genów nie są stałe.

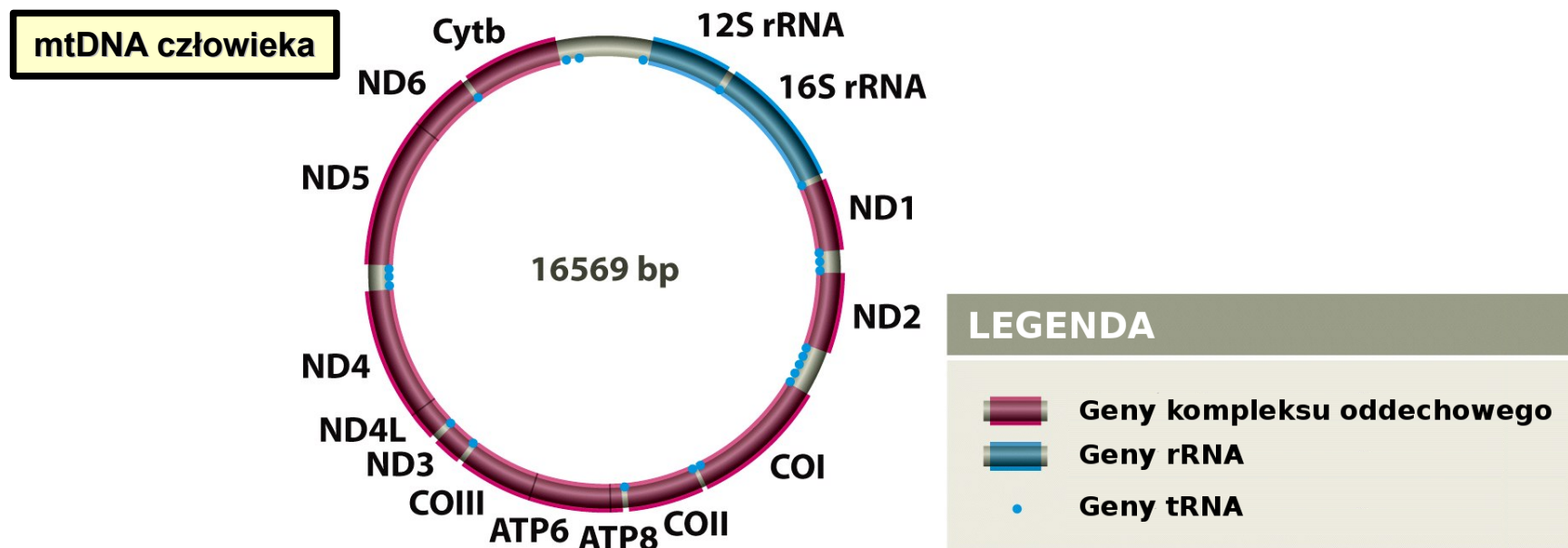


Dodatkowo, istnienie alternatywnego splicingu powoduje, że liczba genów nie może być traktowana jako bezpośrednia miara złożoności organizmu.

Genomy organizmów eukariotycznych: genomy organelli komórkowych

Mitochondria i chloroplasty mają własne genomy, niezależne od genomu jądrowego. Organelle te mają również własne rybosomy, w których zachodzi synteza białek. Większość genomów organellarnych ma postać kolistych cząsteczek występujących w wielu kopiach (1000-10000 kopii na komórkę).

Genomy mitochondrialne (mtDNA) mają wielkość 6-2500 kbp (u człowieka jest to 16569 bp) i zawierają od 5 do 100 genów (u człowieka 37), kodujących funkcjonalne RNA oraz białka związane z łańcuchem oddechowym.



[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Genomy chloroplastowe (chlDNA) mają wielkość 100-200 kbp. Zawierają około 200 genów, kodujących funkcjonalne RNA i białka związane z fotosyntezą.

Inżynieria genetyczna

Wykład 2: genomy organizmów prokariotycznych

Tymon Rubel

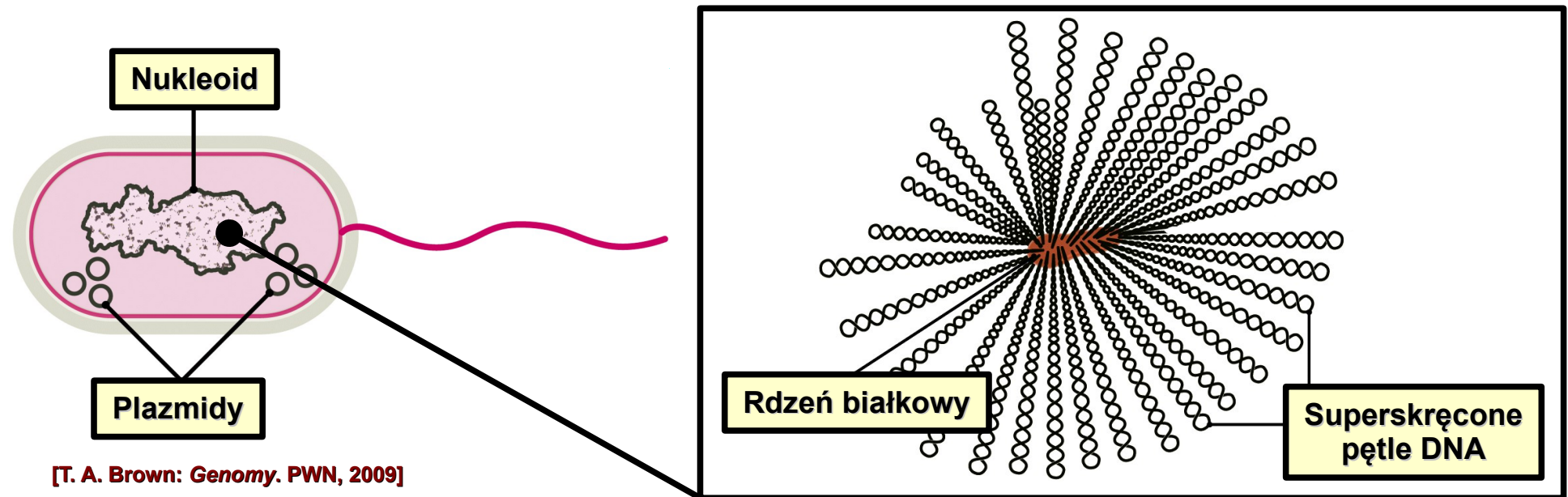
Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Genomy organizmów prokariotycznych

Genom organizmów prokariotycznych ma najczęściej postać pojedynczej kolistej cząsteczki DNA zlokalizowanej w **nukleoidzie**. Zdecydowanie rzadziej spotykane są genomy liniowe lub wieloczęściowe.

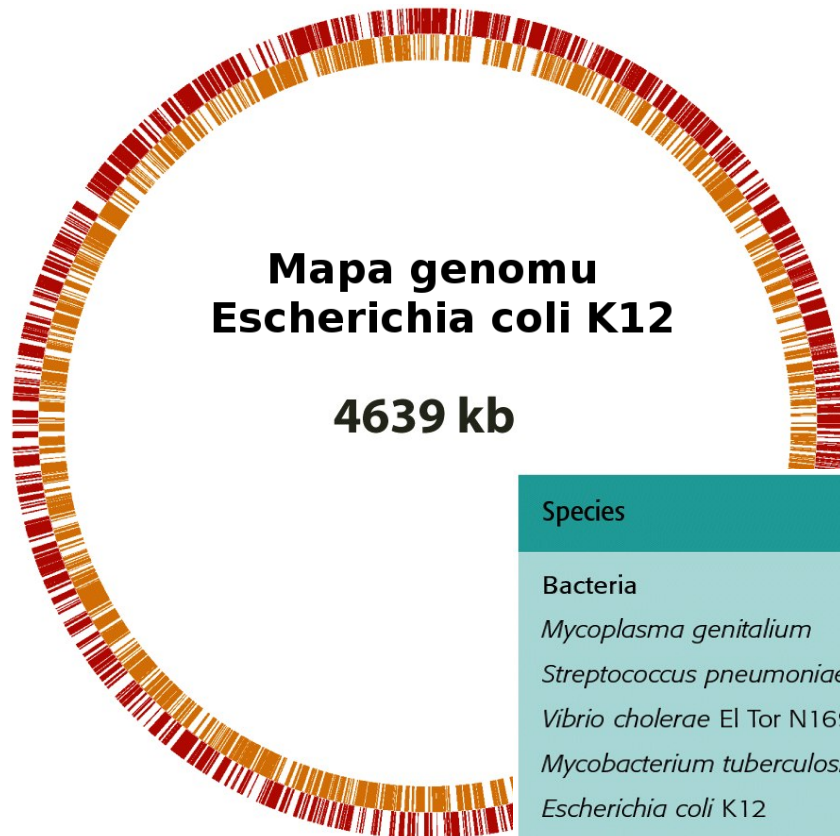
DNA prokariotyczne nie występuje w postaci chromatyny. Wymagany poziom upakowania uzyskiwany jest poprzez **superskręcenie** podwójnej helisy DNA. Utrzymanie upakowanej struktury jest możliwe dzięki białkom wiążącym DNA.

Cześć materiału genetycznego może być ulokowana w **plazmidach** – małych, zwykle kolistych cząsteczkach DNA występujących poza obszarem nukleoidu. Niektóre typy plazmidów mają zdolność włączania się do głównego genomu.



Genomy organizmów prokariotycznych

Genomy prokariotów są mniejsze od genomów eukariotycznych (około 0,5 – 8 Mbp) i mają bardziej zwartą organizację, z niewielkimi odstępami pomiędzy genami. Brak alternatywnego splicingu i zwarta budowa genomu powodują, że jego rozmiar jest ściśle powiązany z liczbą genów i stopniem złożoności organizmu.

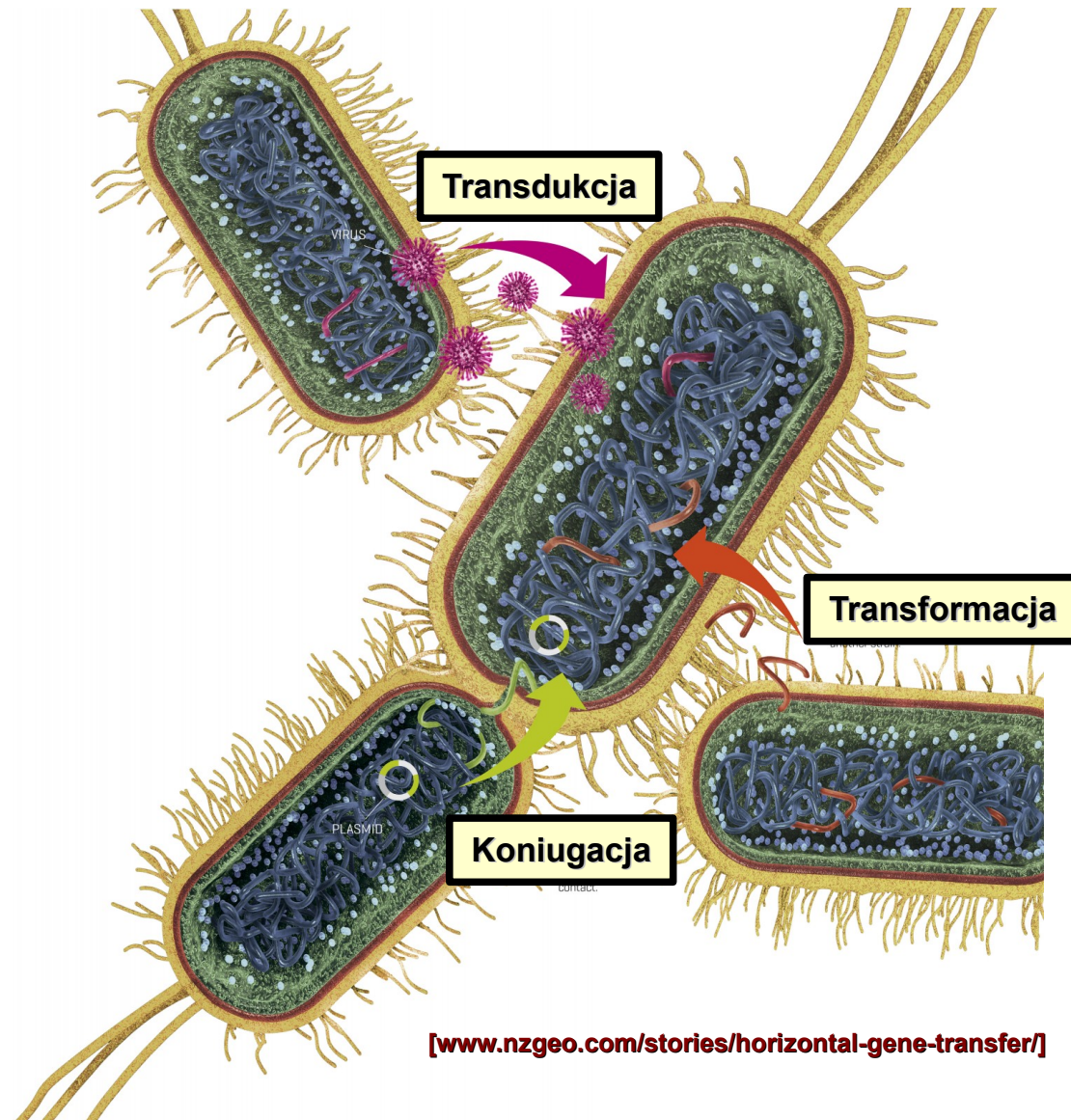


[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]

Species	Size of genome (Mb)	Approximate number of genes
Bacteria		
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0.58	500
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2.16	2300
<i>Vibrio cholerae</i> El Tor N16961	4.03	4000
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv	4.41	4000
<i>Escherichia coli</i> K12	4.64	4400
<i>Yersinia pestis</i> CO92	4.65	4100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	6.26	5700
Archaea		
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1.66	1750
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2.18	2500

Genomy organizmów prokariotycznych

U organizmów prokariotycznych często obserwuje się **horyzontalny transfer genów** pomiędzy różnymi osobnikami, szczepami i gatunkami. Może się on odbywać przez bezpośrednie przekazanie plazmidów (**koniugacja**), przeniknięcie krótkich odcinków DNA z otoczenia (**transformacja**) lub za pośrednictwem wirusów (**transdukcja**).



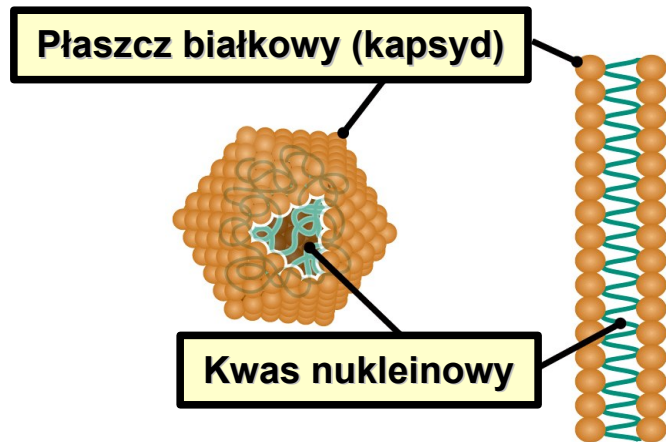
Inżynieria genetyczna

Wykład 2: genomy wirusów i bakteriofagów

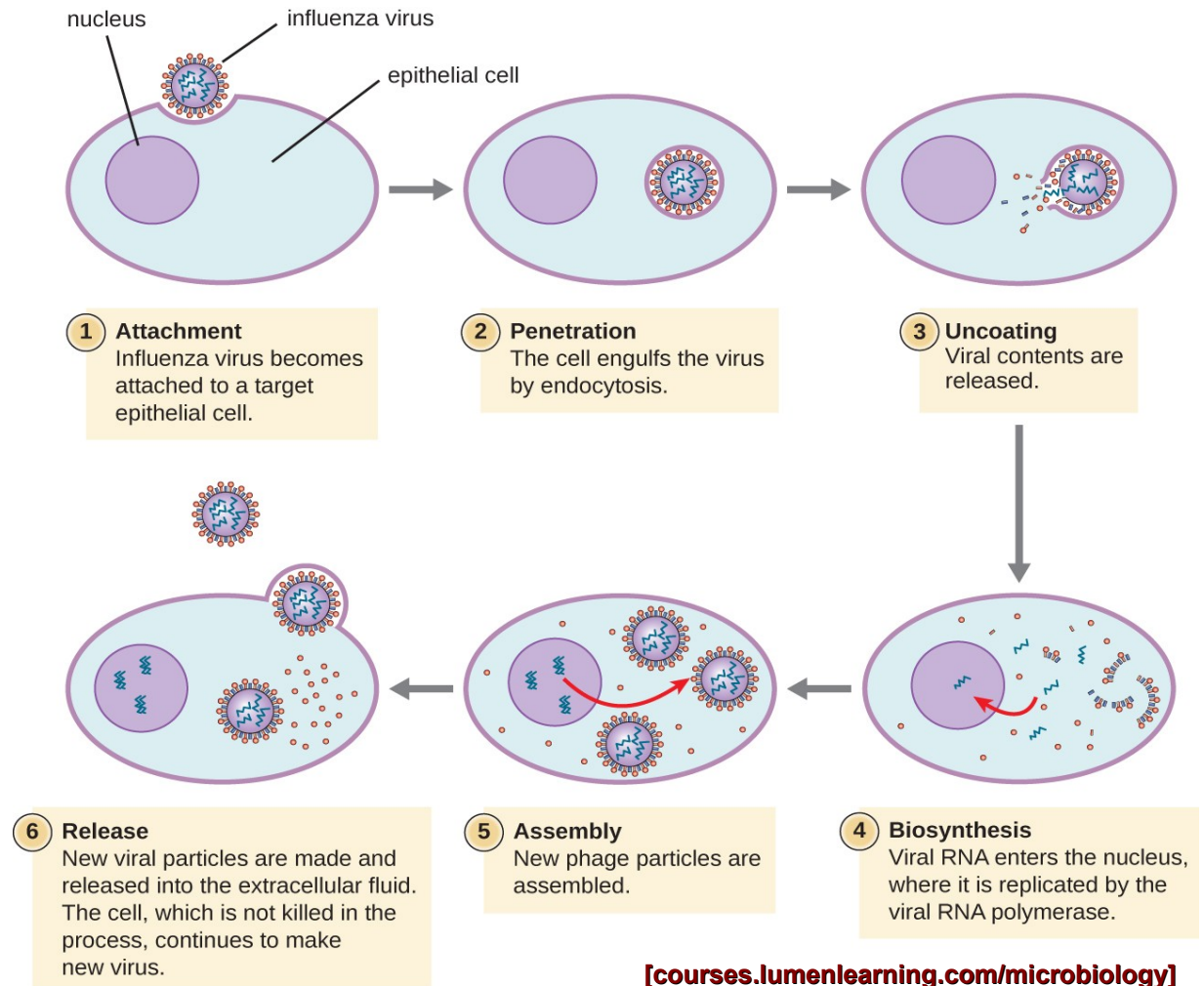
Tymon Rubel

Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Bakteriofagi i wirusy organizmów eukariotycznych są obligatoryjnymi pasożytami, które mogą namnażać się jedynie w komórce gospodarza, wykorzystując w tym celu mechanizmy ekspresji informacji genetycznej tego ostatniego.

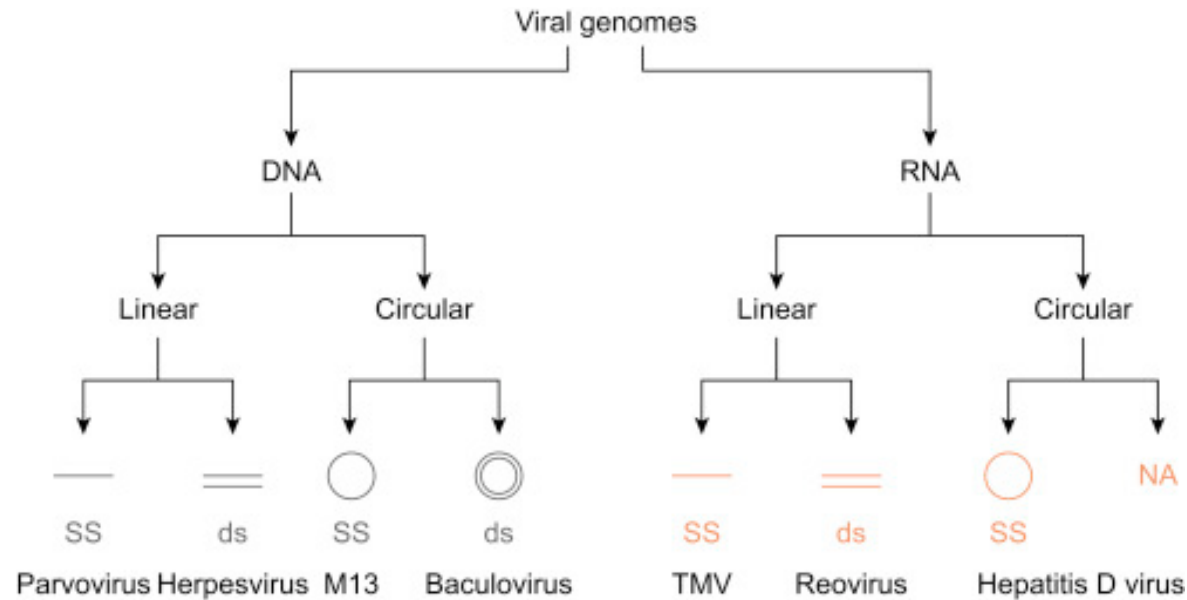


[T. A. Brown: *Genomy*. PWN, 2009]



Genomy „na granicy życia”

Wirusy i bakteriofagi wykazują bardzo różnicowaną strukturę genomów. Materiałem genetycznym może być DNA lub RNA, zarówno jedno-, jak i dwuniciowe, zaś genomy mogą być koliste lub liniowe, podzielone na odcinki lub niepodzielone.



[Roger Hull, *Plant Virology (Fifth Edition)*, 2014]

Virus	Host	Genome structure	Genome size (kb)	Number of genes
Adenovirus	Mammals	Double-stranded linear DNA	36.0	30
Hepatitis B	Mammals	Partly double-stranded circular DNA	3.2	4
Influenza virus	Mammals	Single-stranded segmented linear RNA	22.0	12
Parvovirus	Mammals	Single-stranded linear DNA	1.6	5
Poliovirus	Mammals	Single-stranded linear RNA	7.6	8
Reovirus	Mammals	Double-stranded segmented linear RNA	22.5	22
Retroviruses	Mammals, birds	Single-stranded linear RNA	6.0–9.0	3
SV40	Monkeys	Double-stranded circular DNA	5.0	5
Tobacco mosaic virus	Plants	Single-stranded linear RNA	6.4	6
Vaccinia virus	Mammals	Double-stranded circular DNA	240	240

Inżynieria genetyczna

Wykład 2: replikacja genomu

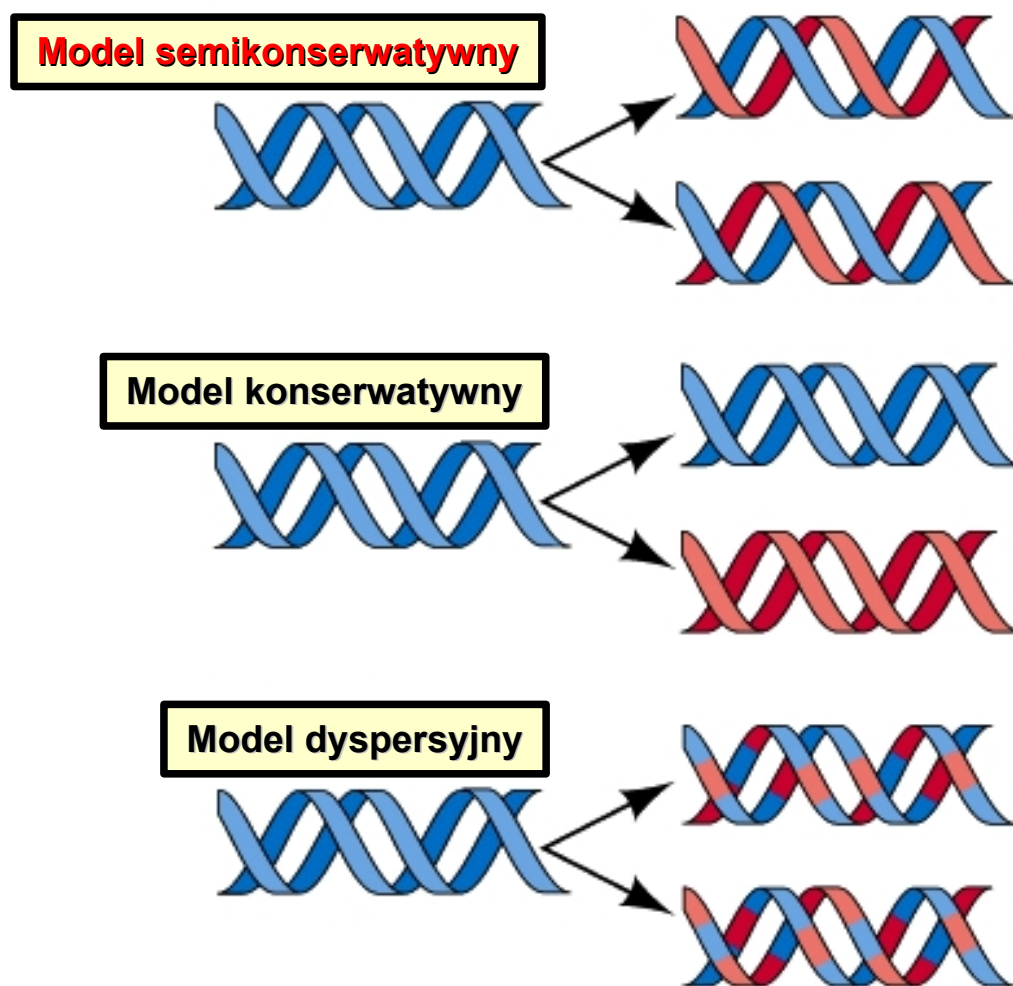
Tymon Rubel

Zakład Elektroniki Jądrowej i Medycznej
Instytut Radioelektroniki i Techniki Multimedialnych PW

Replikacja genomu

Replikacja jest procesem kopiowania całego DNA komórki, w celu przekazania zawartej w nim informacji genetycznej komórkom potomnym.

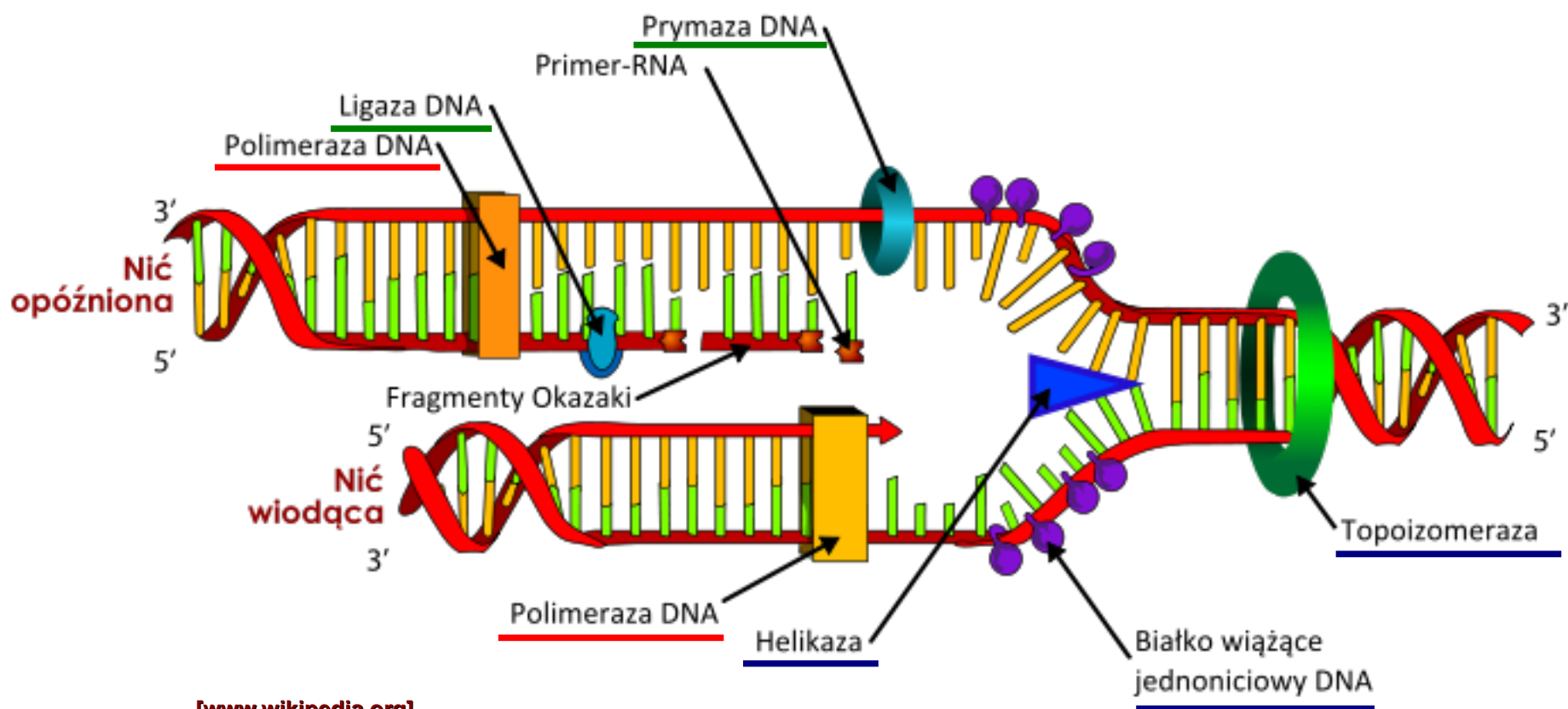
Jest ona procesem **semikonserwatywnym**, czyli każda z powstałych cząsteczek DNA zawiera jedną nić z cząsteczki rodzicielskiej i jedną nowo zsyntetyzowaną.



Replikacja genomu

Replikacja rozpoczyna się w ściśle określonym miejscu (miejscach u eukariontów) cząstki DNA, gdzie podwójna helisa jest rozplataną (**ORI – ORIGins of replication**). Odbywa się jednocześnie dla obu nici, zwykle w obu kierunkach. Miejsca, w których następuje synteza nowego DNA nazywa się **widelkami replikacyjnymi**.

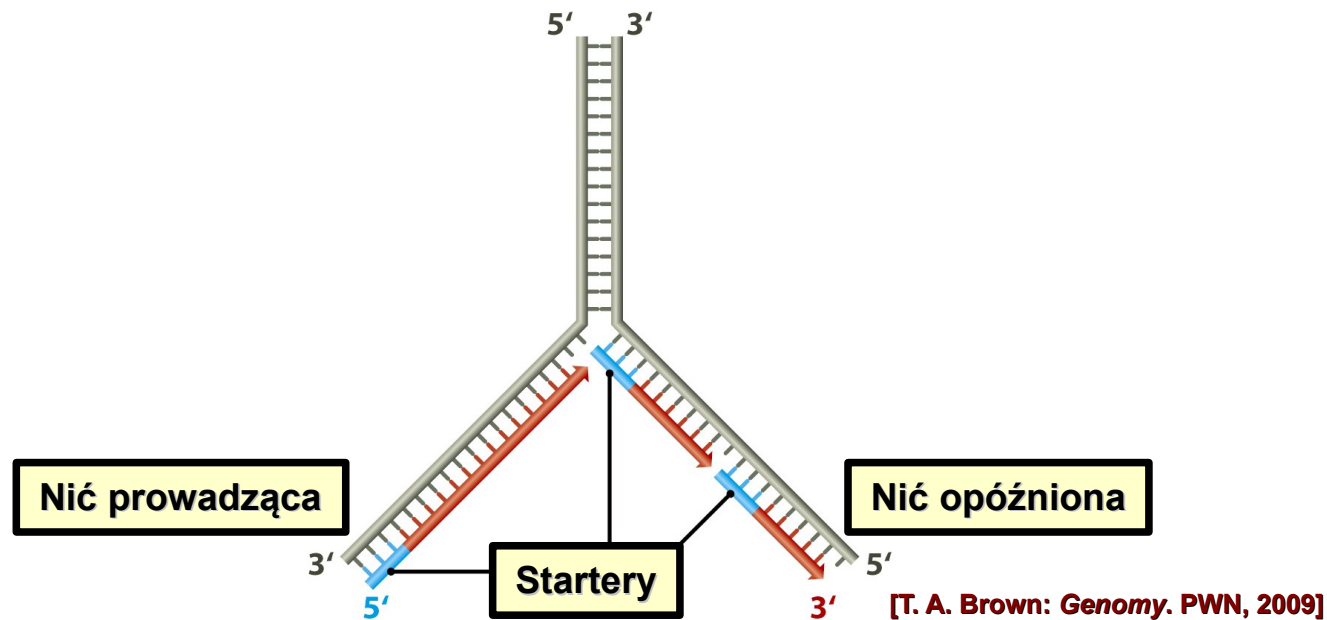
Za syntezę nowej nici DNA odpowiedzialne są enzymy białkowe zwane **polimerazami DNA zależnymi od DNA**, które polimeryzują nukleotydy zgodnie z regułami komplementarności wobec nici DNA stanowiącej matrycę.



Replikacja genomu

Właściwości polimeraz DNA i ich skutki dla procesu replikacji:

- synteza nici DNA odbywa się w kierunku $5' \rightarrow 3'$. Oznacza to, że tylko jedna z nici podwójnej helisy może być kopiowana w sposób ciągły (tzw. **nić prowadząca**). Druga z nici (**nić opóźniona**) replikowana jest jako seria krótkich fragmentów, które następnie muszą być połączone w spójną nić przez **ligazę**;
- polimerazy DNA nie są zdolne do rozpoczęcia syntezy nowej nici DNA na matrycy, która jest jednoniciowa na całej długości (musi być choćby krótki odcinek dwuniciowy z wolnym końcem $3'$). Oznacza to, że synteza DNA wymaga obecności **starterów (primerów)** tworzonych przez polimerazę RNA, zwaną **prymazą**;



- polimerazy mają zdolność usuwania nieprawidłowo wprowadzonych nukleotydów i zastąpienia ich prawidłowymi. Szacuje się, że nieprawidłowo inkorporowany jest jeden nukleotyd na 10^9 (przy transkrypcji 1 na 10^4).