

WPROWADZENIE DO GENETYKI MOLEKULARNEJ

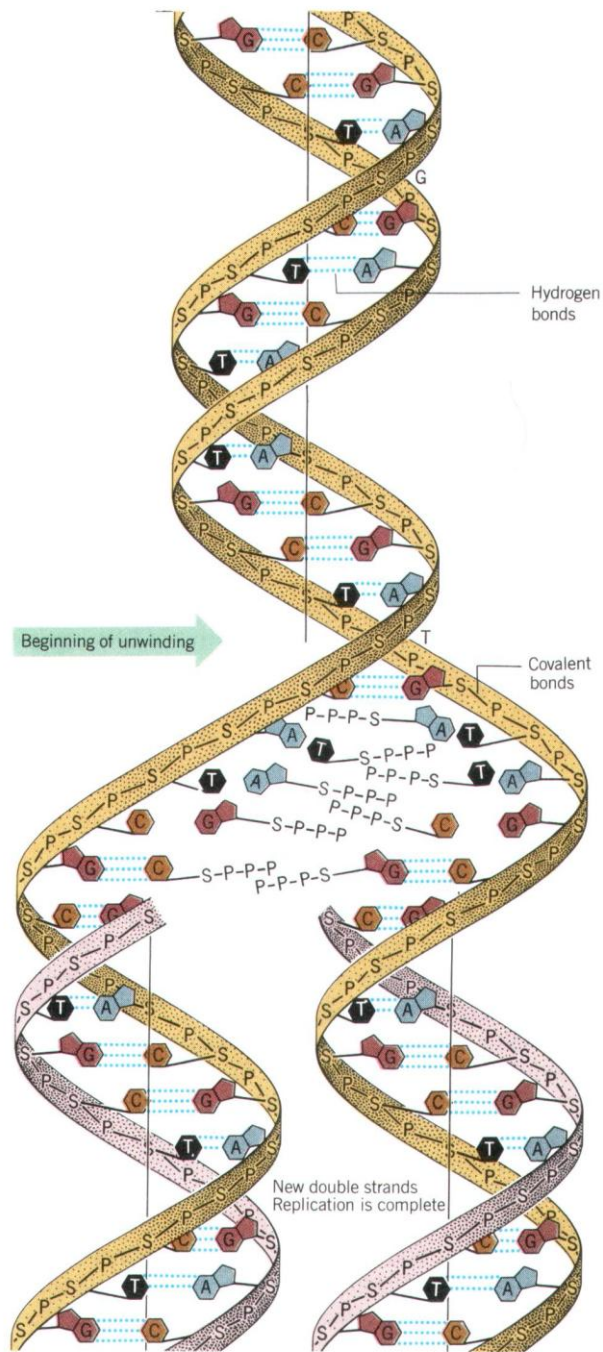
- Replikacja – organizacja widełek replikacyjnych
- Transkrypcja i biosynteza białek
- Operon – regulacja ekspresji genów

Prowadzący wykład: *prof. dr hab. Jarosław Burczyk*

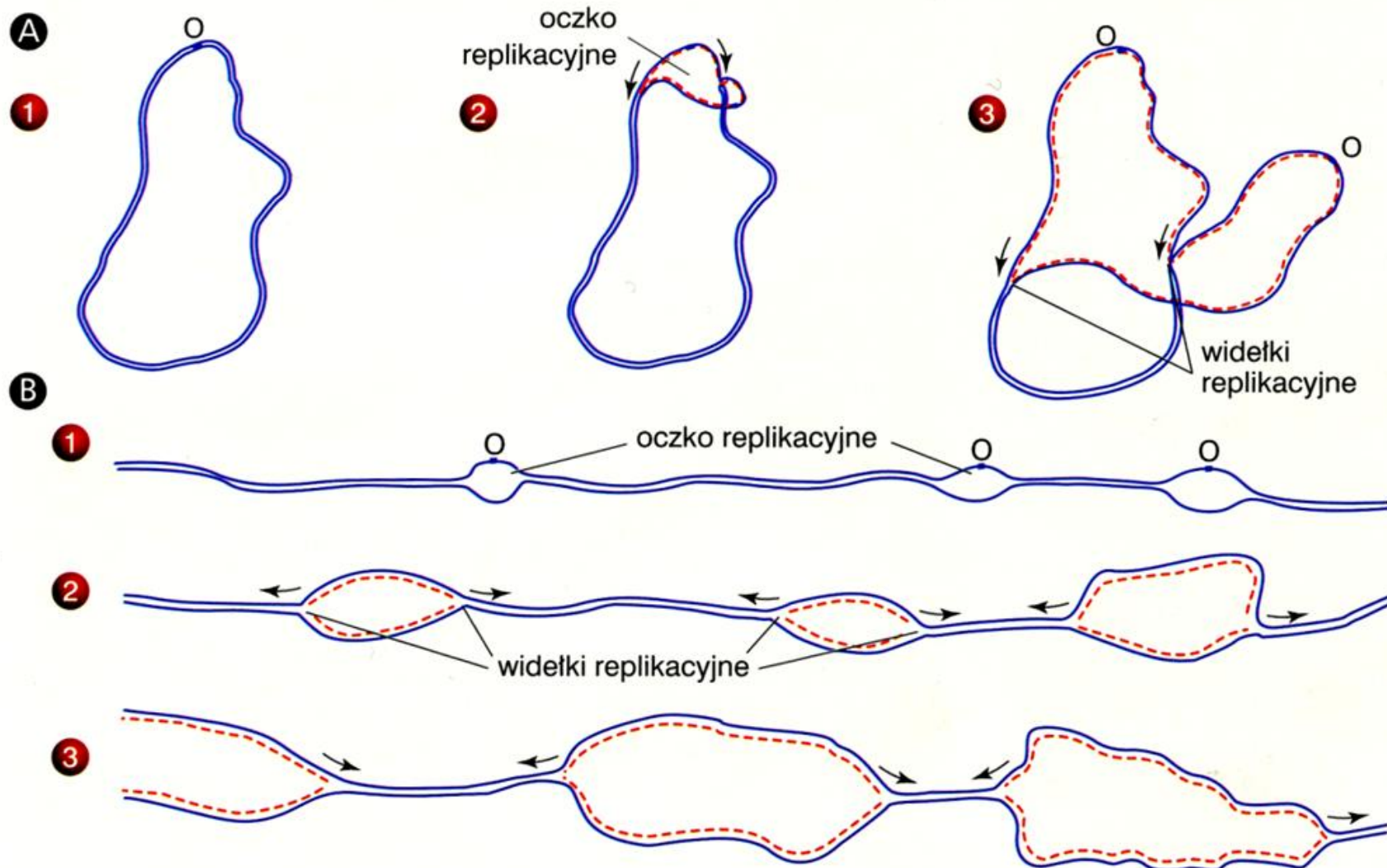
REPLIKACJA
- organizacja widełek replikacyjnych

Replikacja DNA ma charakter semikonserwatywny

- Podwojenie ilości DNA jest podstawą ciągłości życia i rozmnażania (płciowego i bez płciowego) organizmów.
- Podstawa przekazywania informacji genetycznej

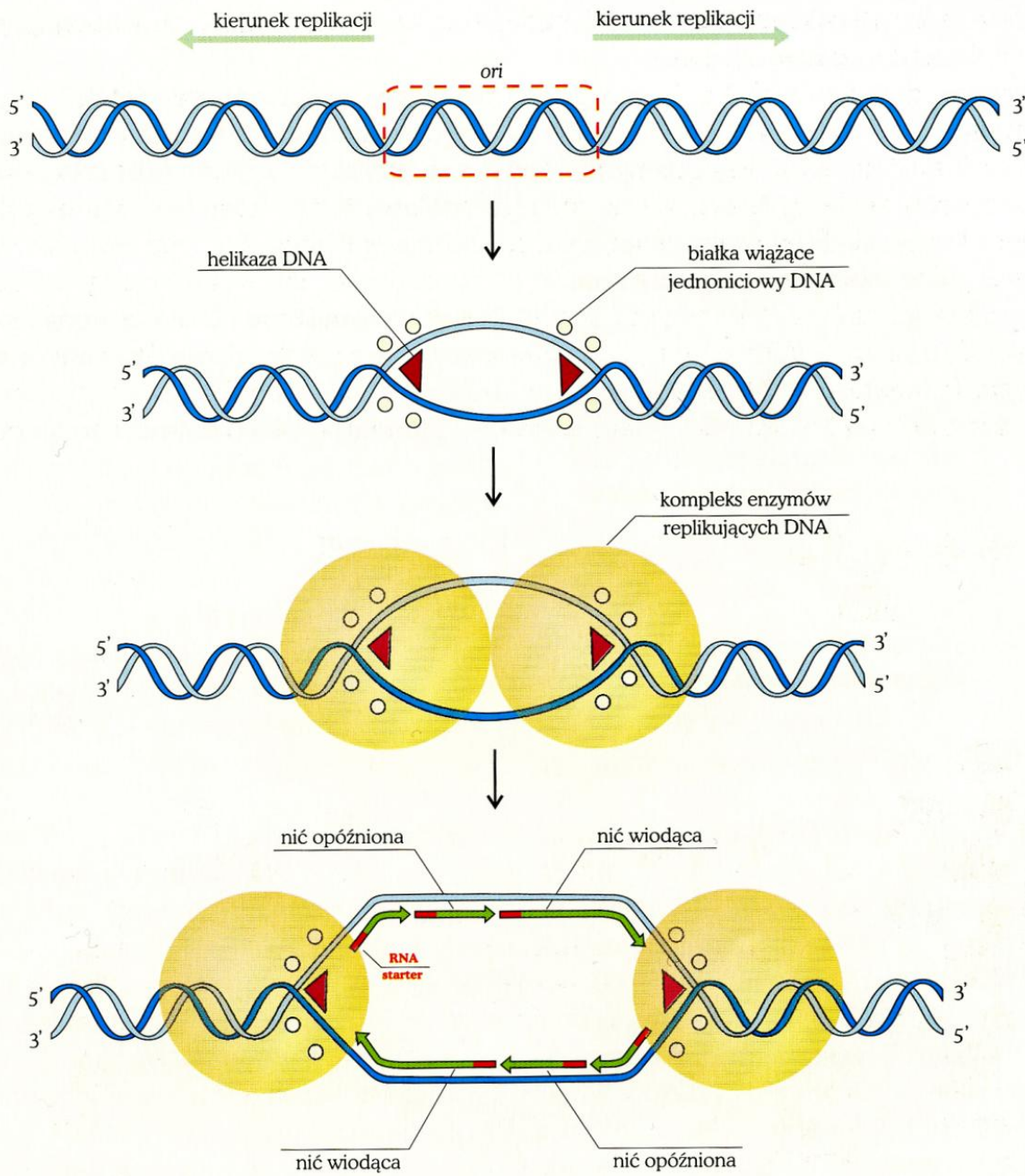


Klasyczny model Replikacji DNA



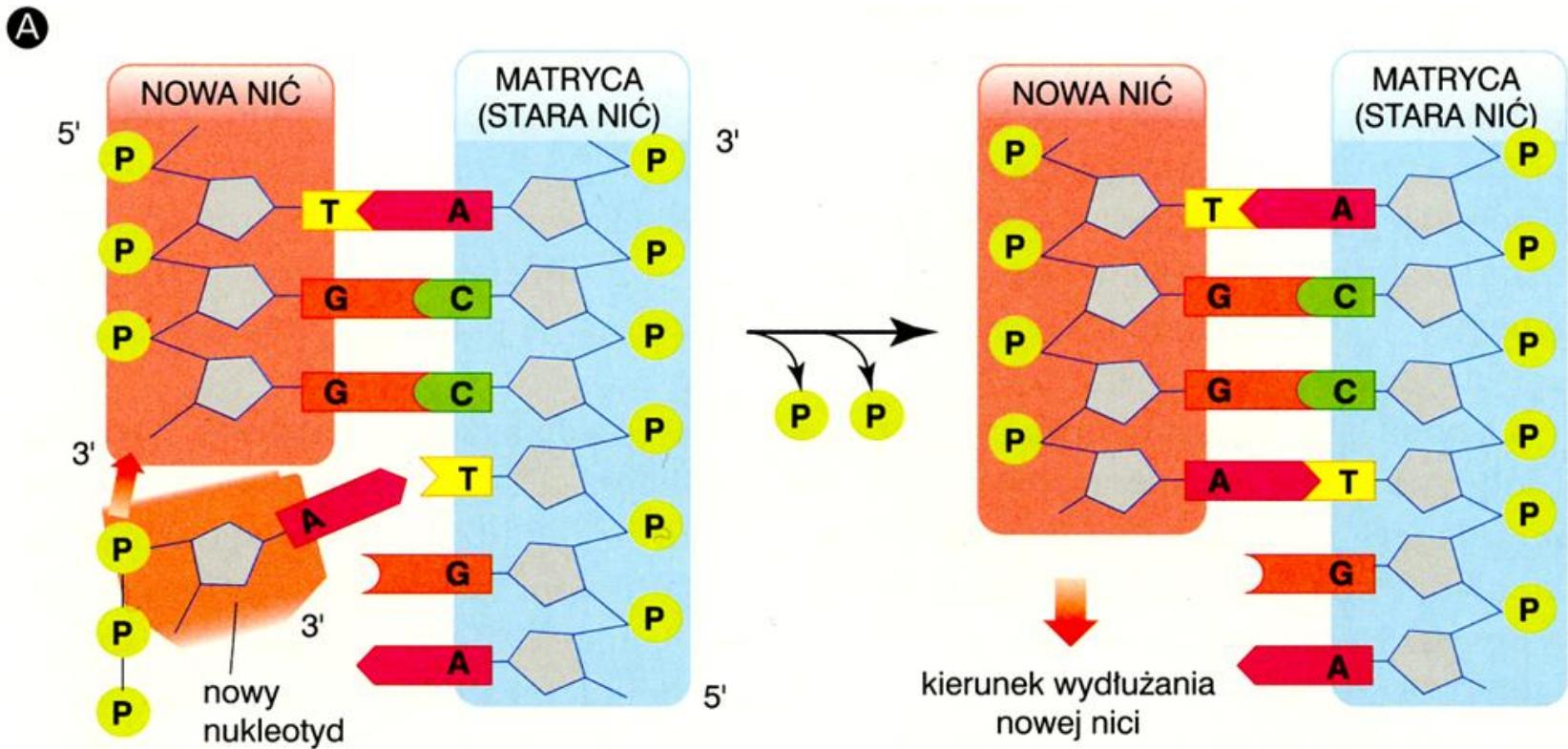
Ryc. 1.13. Model tworzenia się oczka replikacyjnego i rozchodzenia widełek replikacyjnych: A – u prokariotów, B – u eukariotów (O – *origin*; 1, 2 i 3 – postępujący proces replikacji)

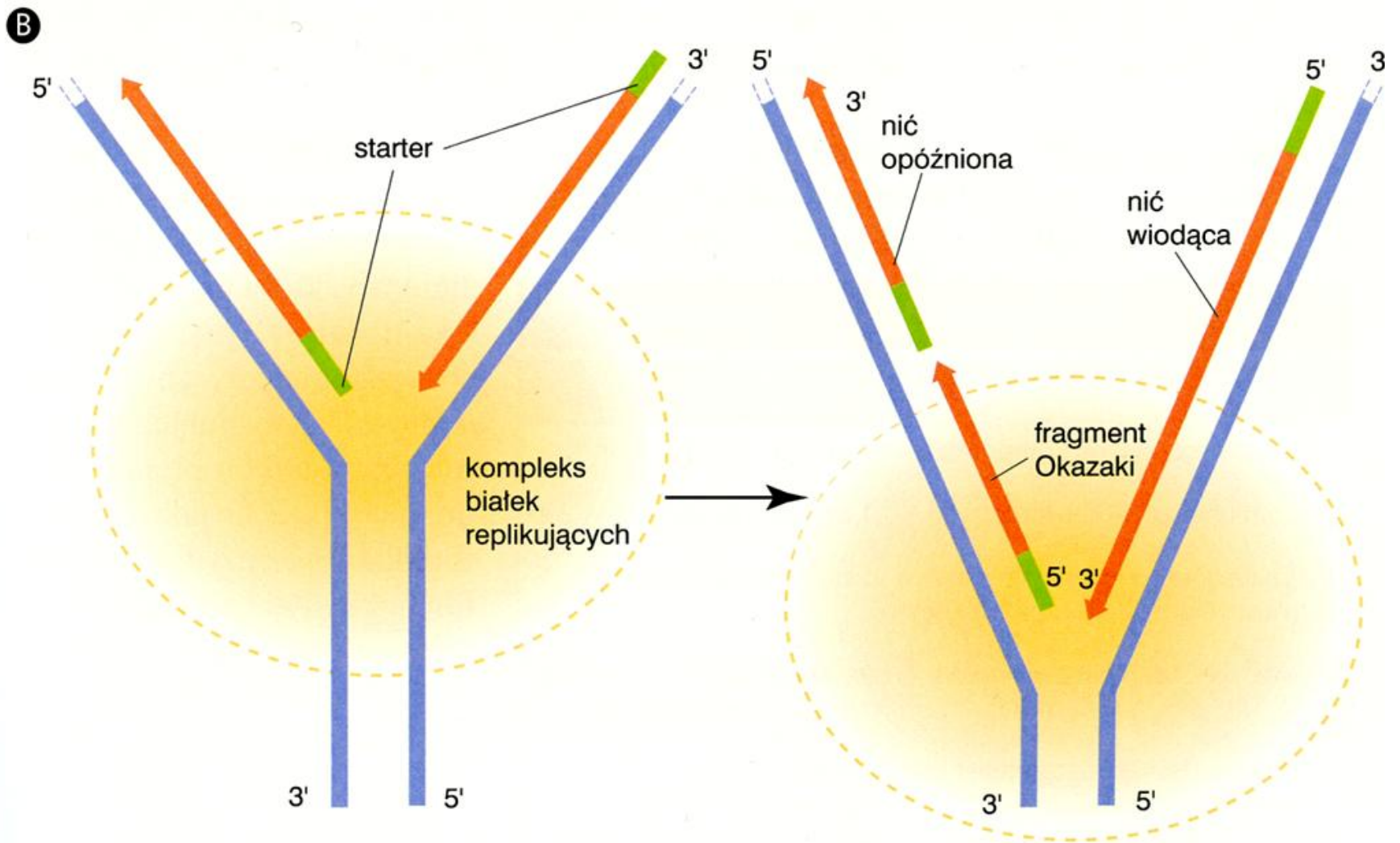
Inicjacja replikacji



Ryc. 9. Rozpoczęcie replikacji DNA

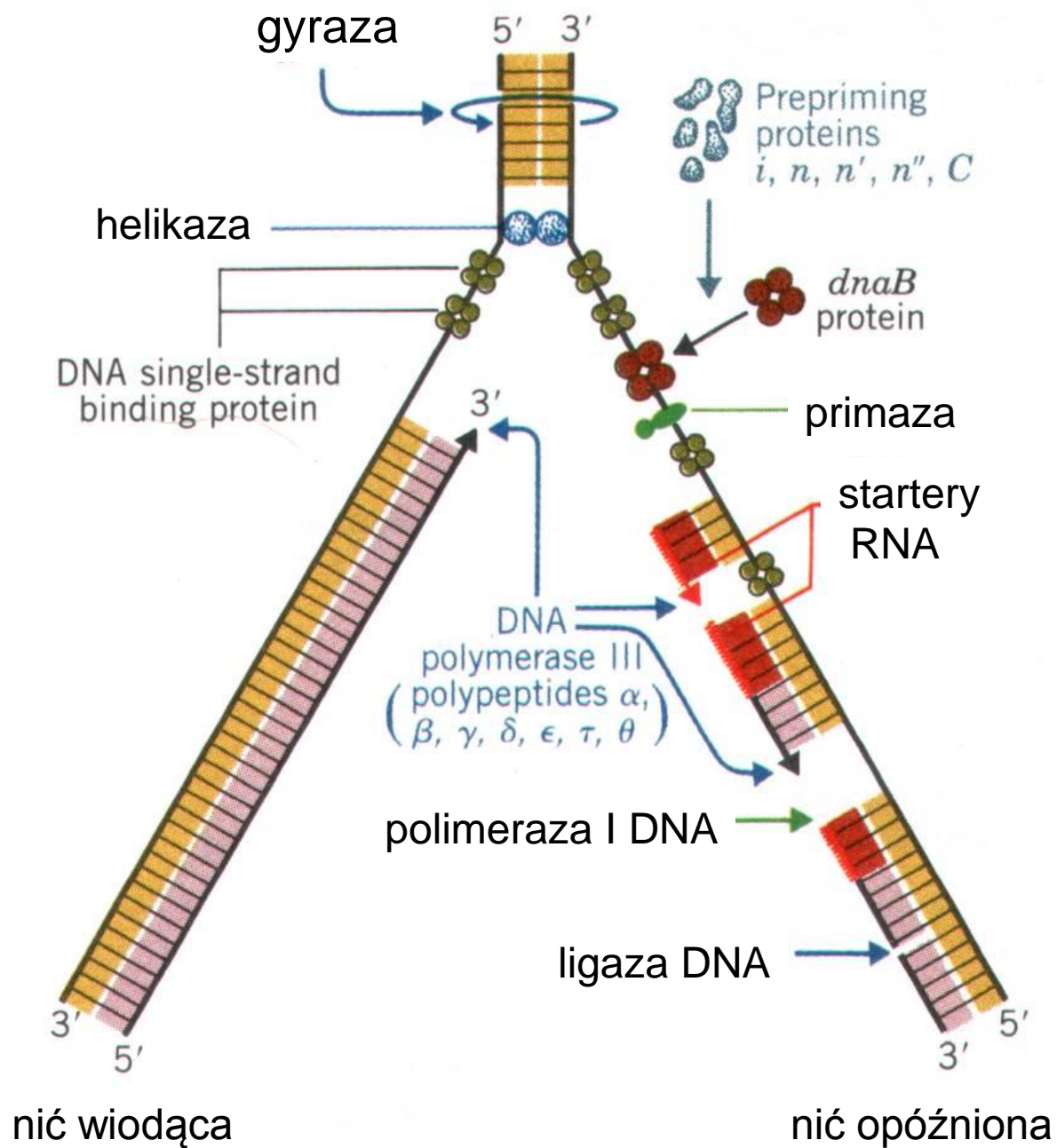
Nukleotydy dobudowywane są do wolnego końca 3'

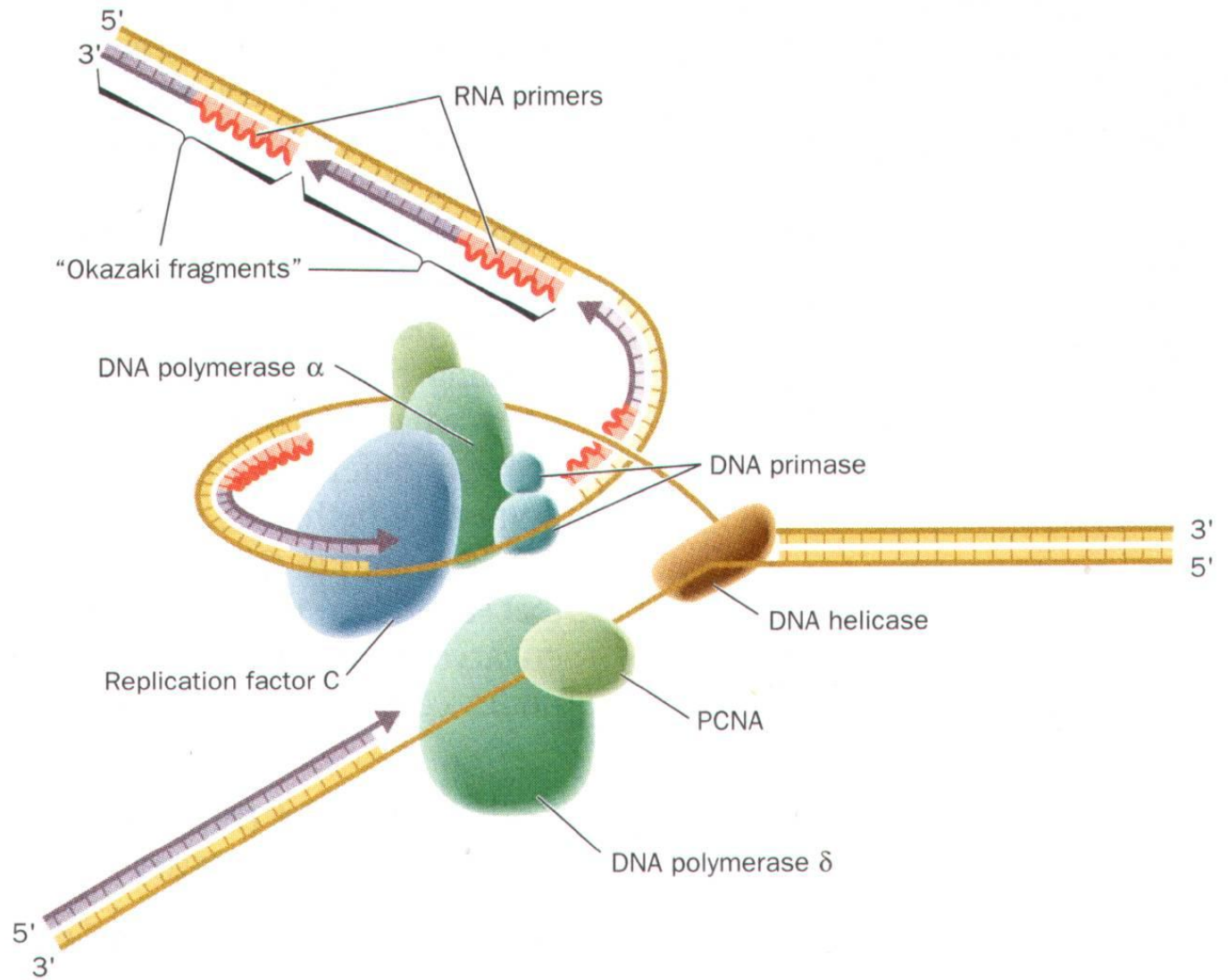




Ryc. 1.14. Replikacja: A – ogólna zasada włączania nowych nukleotydów – rozwijanie nowej nici DNA, B – schemat przesuwania pojedynczych widełek replikacyjnych

Organizacja widełek replikacyjnych u Prokariota



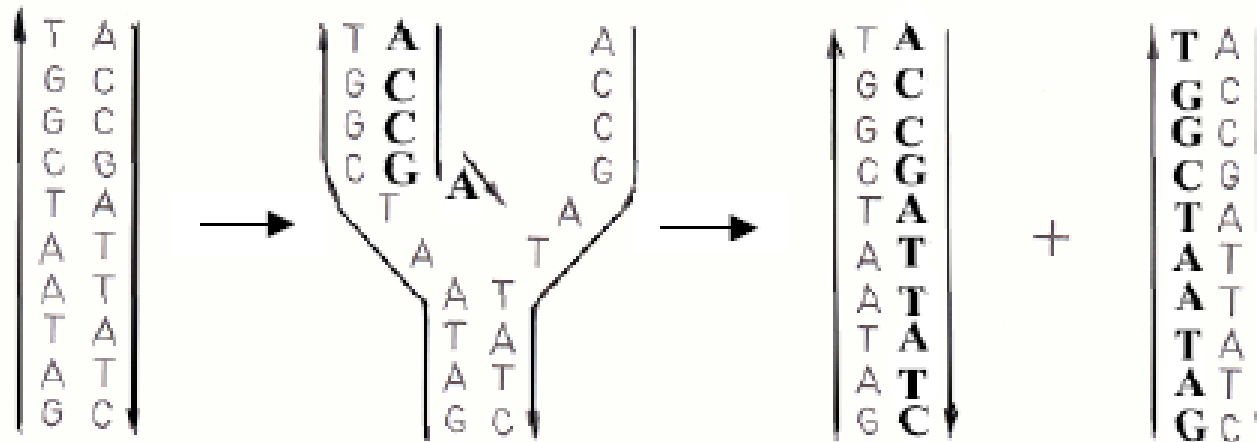


(Principles of Genetics, 8 ed, Gardner et al. Wiley)

Przykłady zadań

Zadanie 20. (2 pkt)

Schemat przedstawia w uproszczony sposób przebieg replikacji DNA:



łańcuch DNA
macierzysty

potomne łańcuchy DNA

Opisz przedstawiony na schemacie przebieg replikacji DNA.

.....

.....

.....

.....

Zadanie 24. (2 pkt)

Naukowcy zbadali materiał genetyczny pewnego wirusa. Wyniki swoich badań przedstawili w tabeli.

Rodzaj nukleotydu	Procentowa zawartość nukleotydu w badanym materiale genetycznym
A (adeninowy)	10
G (guaninowy)	50
C (cytozynowy)	20
T (tyminowy)	20

Na podstawie analizy przedstawionych wyników badań określ rodzaj:

- kwasy nukleinowego (RNA, czy DNA), który jest materiałem genetycznym tego wirusa.
- cząsteczki (jednoniciowa, czy dwuniciowa), którą ma kwas nukleinowy tego wirusa.

Każdą z odpowiedzi uzasadnij jednym argumentem.

a)

.....

b)

.....

Zadanie 24. (2 pkt)

Naukowcy zbadali materiał genetyczny pewnego wirusa. Wyniki swoich badań przedstawili w tabeli.

Rodzaj nukleotydu	Procentowa zawartość nukleotydu w badanym materiale genetycznym
A (adeninowy)	10
G (guaninowy)	50
C (cytozynowy)	20
T (tyminowy)	20

Na podstawie analizy przedstawionych wyników badań określ rodzaj:

- kwasu nukleinowego (RNA, czy DNA), który jest materiałem genetycznym tego wirusa.
- cząsteczki (jednoniciowa, czy dwuniciowa), którą ma kwas nukleinowy tego wirusa.

Każdą z odpowiedzi uzasadnij jednym argumentem.

a) **DNA – bo występuje T**

b) **Jednoniciowa – bo w przypadku cząsteczki dwuniciowej**
..... **%A =%T oraz %G =%C**

Zadanie 20. (1 pkt)

W DNA pewnej bakterii cytozyna stanowi 37% wszystkich zasad.

Oblicz poniżej, jaka jest zawartość procentowa każdej z pozostałych zasad azotowych (A, T i G) w DNA tej bakterii. Uzyskane wyniki zapisz w wyznaczonych miejscach.

.....
.....
.....

C = 37%, A =, T =, G =

Zadanie 20. (1 pkt)

W DNA pewnej bakterii cytozyna stanowi 37% wszystkich zasad.

Oblicz poniżej, jaka jest zawartość procentowa każdej z pozostałych zasad azotowych (A, T i G) w DNA tej bakterii. Uzyskane wyniki zapisz w wyznaczonych miejscach.

.....
.....
.....

C = 37%, **A** = **13%**, **T** = **13%**, **G** = **37%** .

Zadanie 25. (1 pkt)

Zaznacz zdania, które poprawnie opisują proces replikacji cząsteczki DNA.

- A. Podczas replikacji DNA dwuniciowa helisa rozplata się i każda pojedyncza nić służy jako matryca do syntezy komplementarnej nici potomnej.
- B. Syntezę nowych nici DNA przeprowadza enzym polimeraza DNA, którego cząsteczki są wbudowywane w powstającą nić DNA.
- C. Kierunek syntezy obydwu potomnych nici DNA (nici prowadzącej i nici opóźnionej) jest zgodny z kierunkiem przesuwania się widełek replikacyjnych i synteza odbywa się w sposób ciągły.
- D. Replikacja DNA ma charakter semikonserwatywny, ponieważ w skład każdej potomnej cząsteczki DNA wchodzi jedna oryginalna nić macierzysta i jedna nowo zsyntetyzowana.

Zadanie 25. (1 pkt)

Zaznacz zdania, które poprawnie opisują proces replikacji cząsteczki DNA.

- A. Podczas replikacji DNA dwuniciowa helisa rozplata się i każda pojedyncza nić służy jako matryca do syntezy komplementarnej nici potomnej.
- B. Syntezę nowych nici DNA przeprowadza enzym polimeraza DNA, którego cząsteczki są wbudowywane w powstającą nić DNA.
- C. Kierunek syntezy obydwu potomnych nici DNA (nici prowadzącej i nici opóźnionej) jest zgodny z kierunkiem przesuwania się widełek replikacyjnych i synteza odbywa się w sposób ciągły.
- D. Replikacja DNA ma charakter semikonserwatywny, ponieważ w skład każdej potomnej cząsteczki DNA wchodzi jedna oryginalna nić macierzysta i jedna nowo zsyntetyzowana.

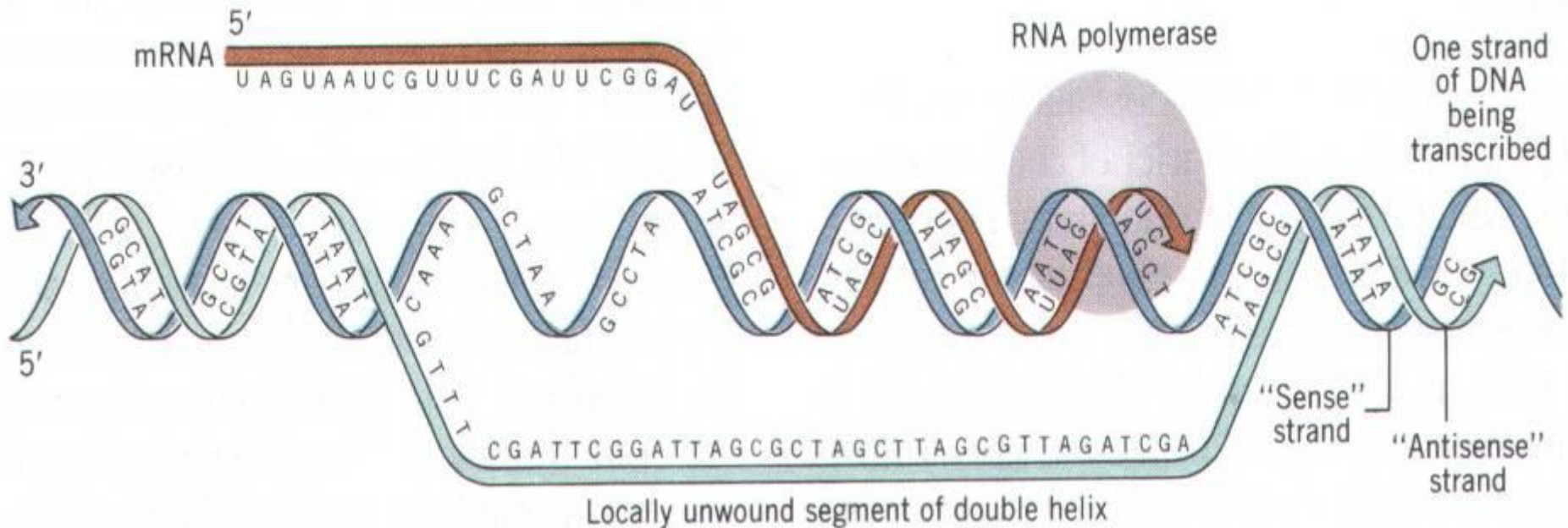
TRANSKRYPCJA i TRANSLACJA

Centralny dogmat genetyki:

Informacja genetyczna może być przenoszona

- **(1) z DNA na DNA podczas replikacji,**
- **(2) z DNA na RNA podczas transkrypcji**
(ewentualnie dalej z RNA na polipeptyd podczas translacji).

Transkrypcja



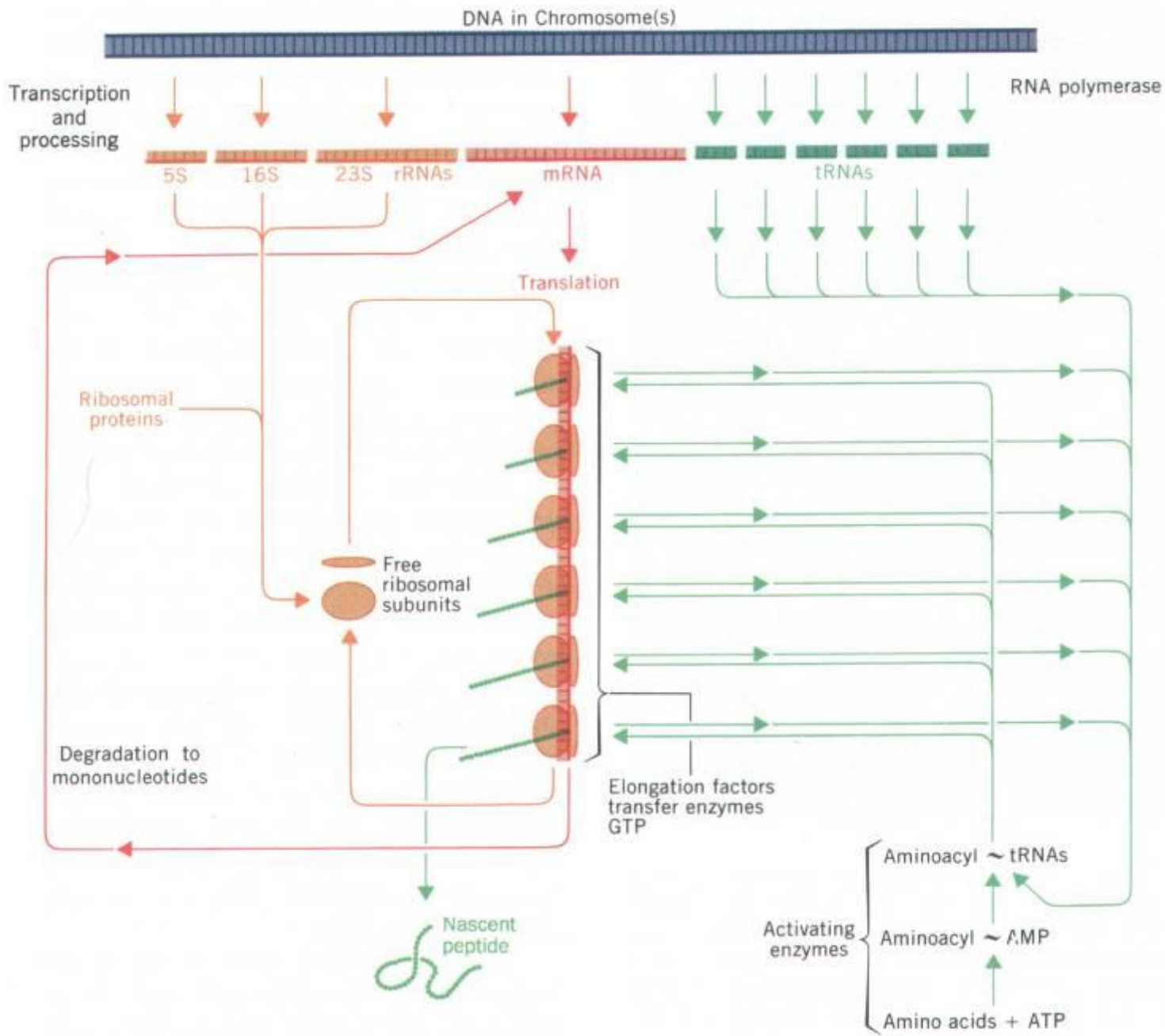
Translacja

Proces tłumaczenia sekwencji nukleotydów na sekwencję aminokwasów.

Kompleks translacyjny wymaga:

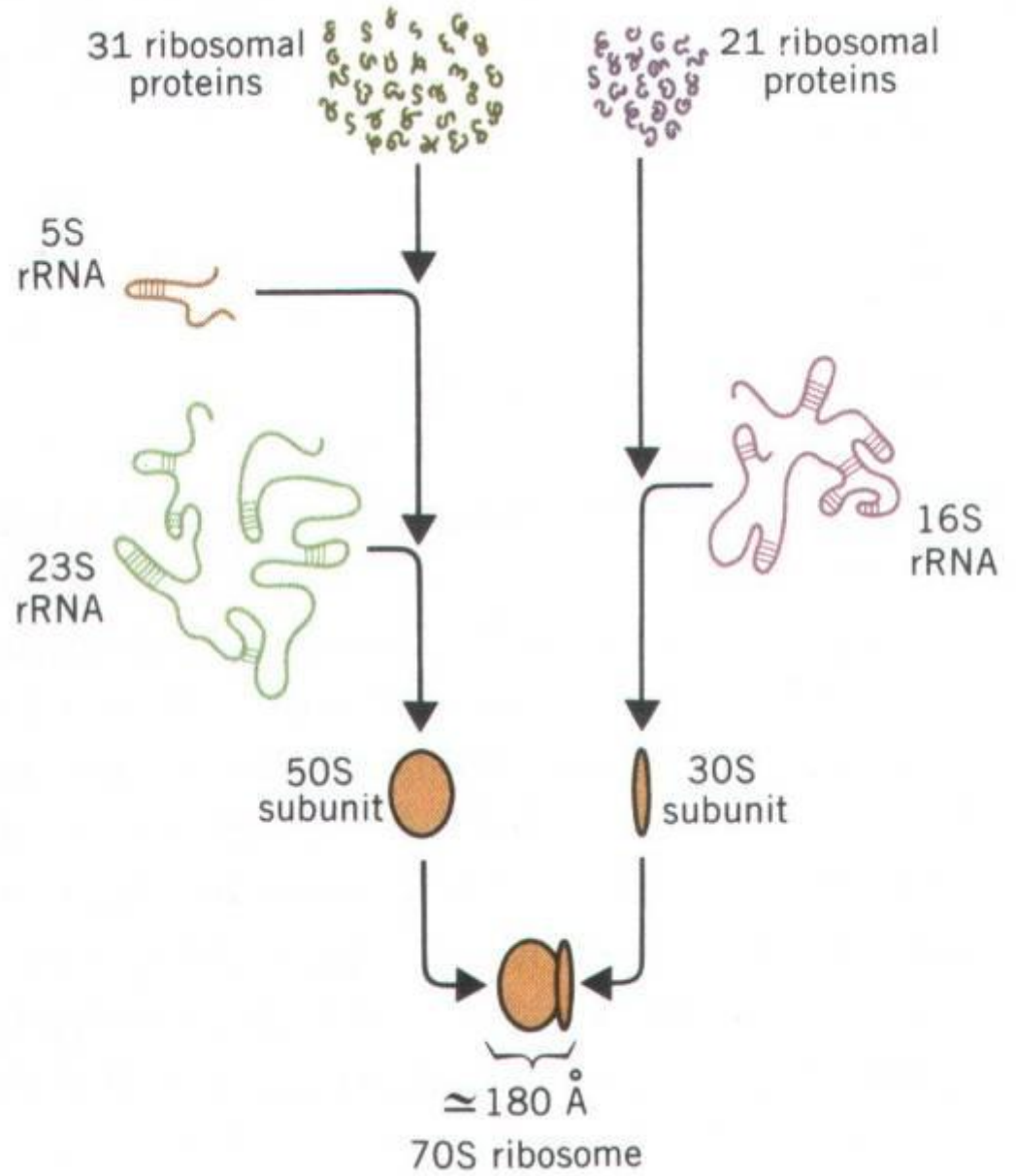
- **(1)** ponad 50 polipeptydów i 3 do 5 cząsteczki RNA stanowiących rybosomy (ich skład jest odmiennych dla różnych grup taksonomicznych),
- **(2)** co najmniej 20 enzymów aktywujących aminokwasy (syntetazy aminoacylo-tRNA),
- **(3)** 40-60 różnych cząsteczek tRNA,
- **(4)** co najmniej 9 białek kontrolujących inicjację, elongację i terminację syntezy polipeptydów.

Z uwagi na swoją wagę, kompleks ten stanowi zasadniczą część maszynerii metabolicznej komórki.



(Principles of Genetics, 8 ed, Gardner et al. Wiley)

Rybosom bakteryjny



Rybosom bakteryjny

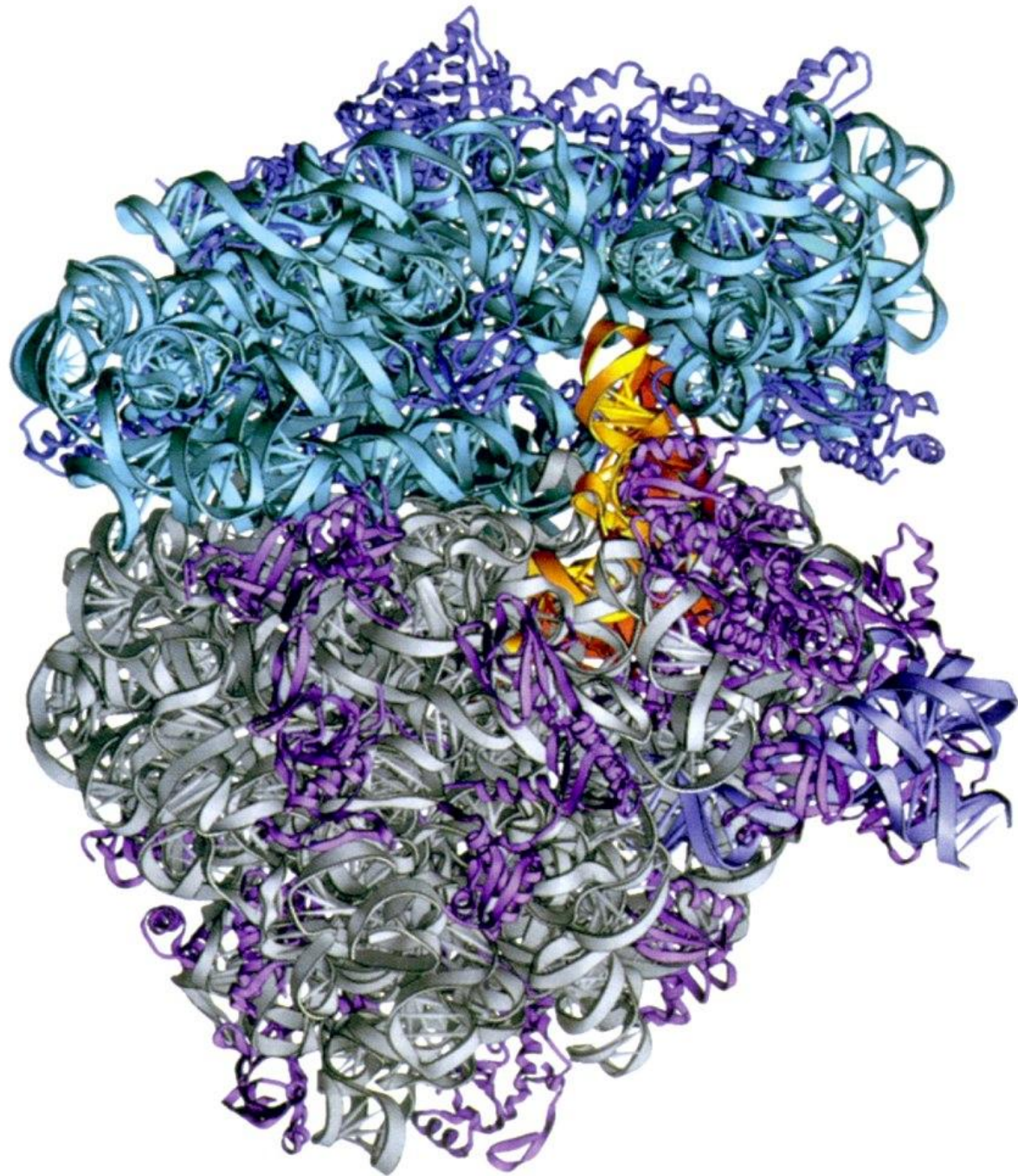
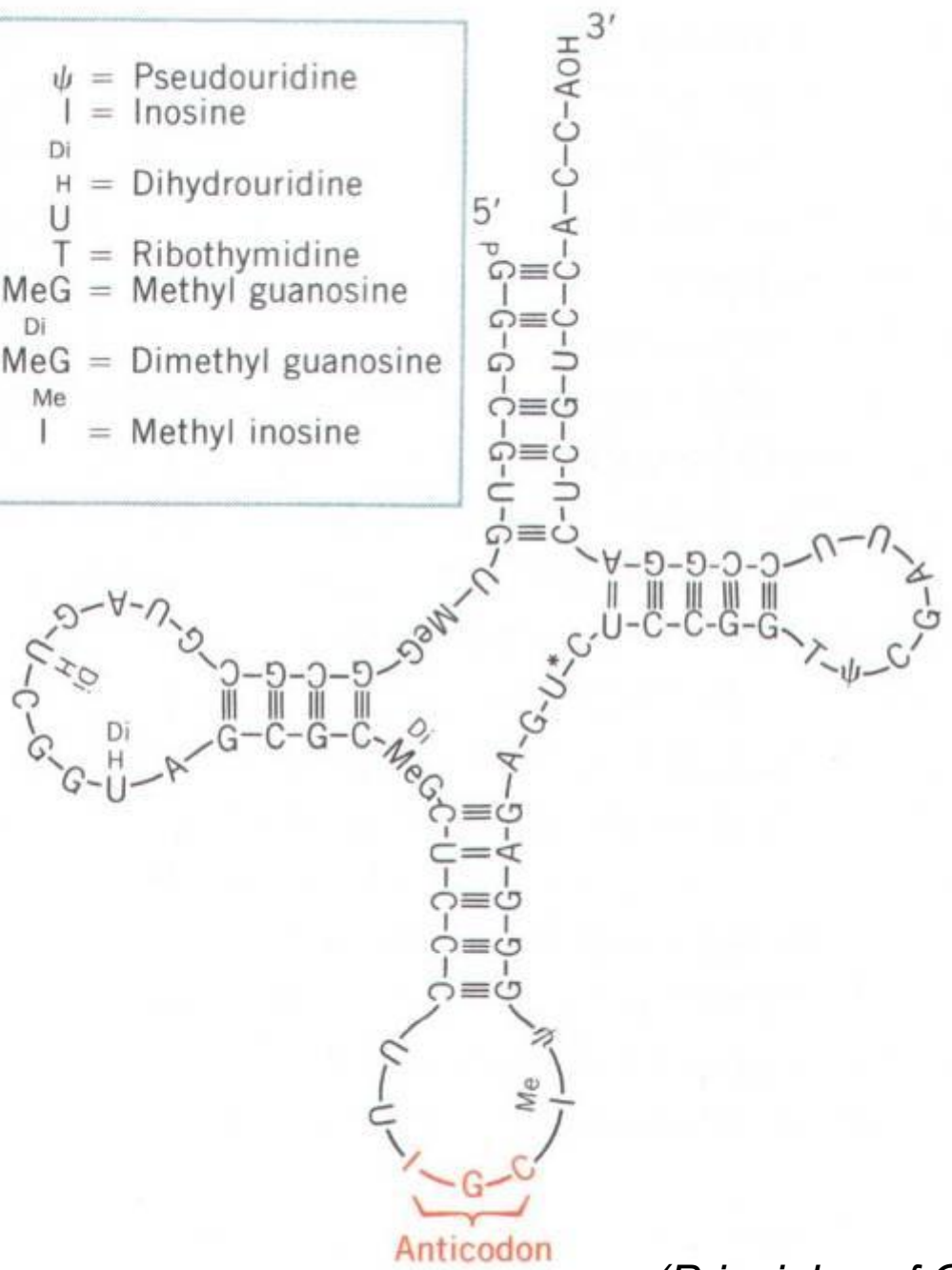
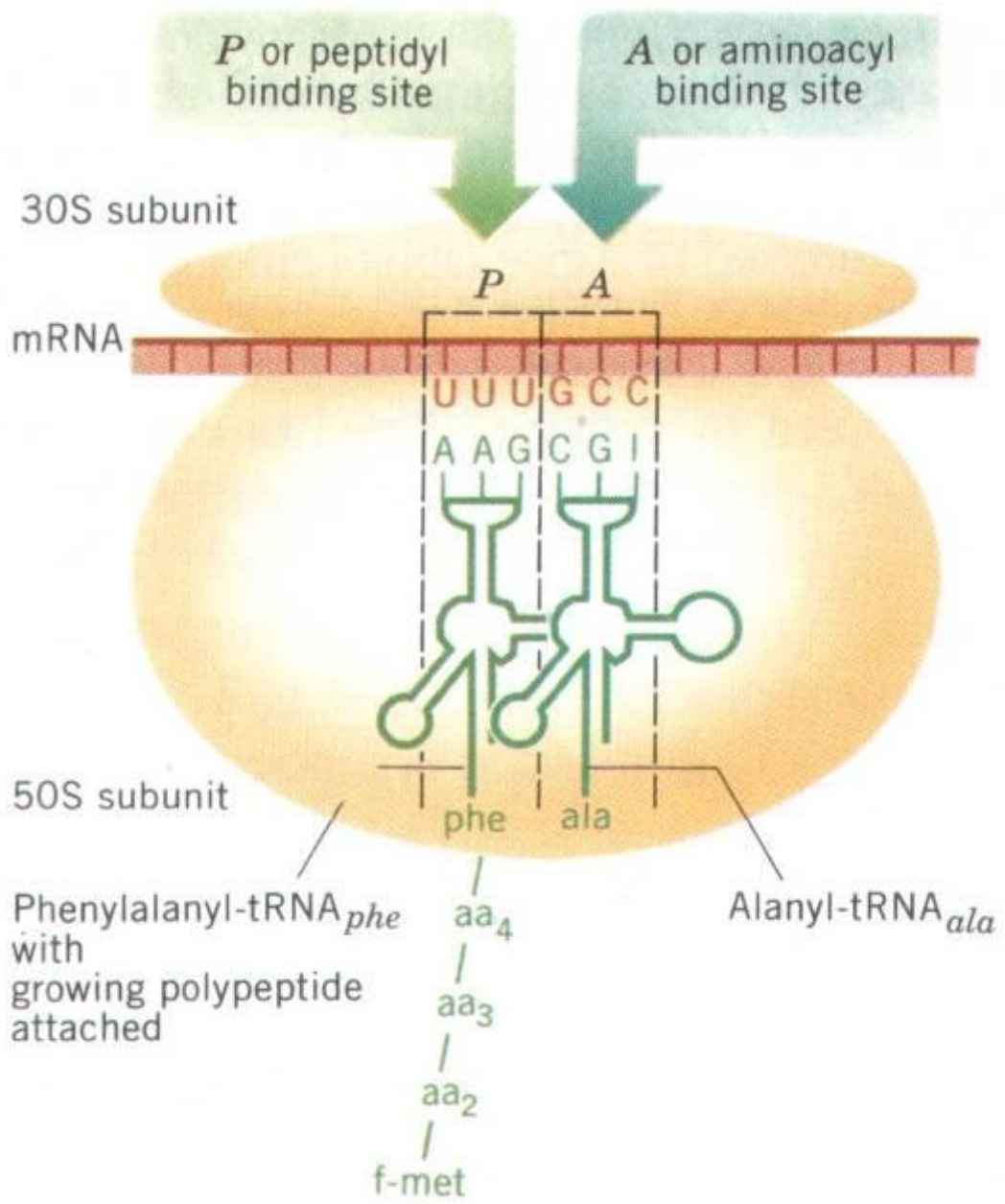


Figure 13-13 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

tRNA alaniny u drożdży

- ψ = Pseudouridine
- I = Inosine
- Di
H = Dihydrouridine
- U
- T = Ribothymidine
- MeG = Methyl guanosine
- Di
MeG = Dimethyl guanosine
- Me
I = Methyl inosine





(Principles of Genetics, 8 ed, Gardner et al. Wiley)

TABLE 10.1 The Genetic Code^a

		SECOND LETTER				
		U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U	
	UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C	
	UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } <i>Ocbre</i> (terminator)	UGA } <i>Opal</i> (terminator)	A	
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } <i>Amber</i> (terminator)	UGG } Trp	G	
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U	
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C	
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A	
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G	
A	AUU } Ileu	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U	
	AUC } Ileu	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C	
	AUA } Ileu	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A	
	AUG } Met (initiator)	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G	
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U	
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C	
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A	
	GUG } (initiator)	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G	

^aEach triplet nucleotide sequence or codon refers to the nucleotide sequence in mRNA (not DNA) that specifies the incorporation of the indicated amino acid or polypeptide chain termination.

Cechy kodu genetycznego

- Trójkowy
- Jednoznaczny
- Zdegenerowany
- Bezprzecinkowy
- Niezachodzący
- Uniwersalny

Przykłady zadań

2005 pp

Zadanie 23. (1 pkt)

Z podanych niżej przykładów wybierz zapis na pewno nieprawidłowy.

A) kodon ACU → treonina

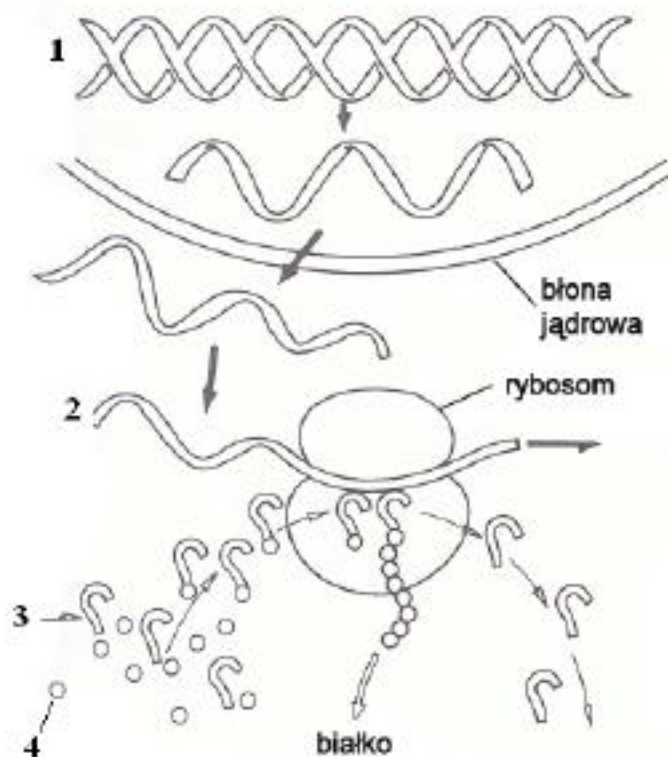
B) kodon GAU → asparagina

C) kodon AGC → arginina
lizyna

D) kodony: AGU → seryna
AGC

Zadanie 23. (2 pkt)

Schemat przedstawia przebieg biosyntezy białka:



Przyporządkuj każdemu ze związków organicznych oznaczonych na rysunku cyframi 1 – 4, jego poprawną nazwę spośród A – E.

- 1 -
- 2 -
- 3 -
- 4 -

- A. aminokwas
- B. DNA
- C. mRNA
- D. rRNA
- E. tRNA

Zadanie 49. (1 pkt)

Według najnowszych badań, w co najmniej 16 organizmach z oddzielnych gałęzi ewolucyjnych kodonom są przypisane aminokwasy inne niż standardowo. Wiele gatunków glonu *Acetabularia* odczytuje kodony UAG i UAA, powszechnie oznaczające „stop”, jako glicynę. Kodon CUG, który normalnie oznacza leucynę, w komórkach grzybów z rodzaju *Candida* jest tłumaczony jako seryna.

Podaj cechę kodu genetycznego, od której odstępstwa zostały przedstawione w tekście.

.....

.....

Zadanie 49. (1 pkt)

Według najnowszych badań, w co najmniej 16 organizmach z oddzielnych gałęzi ewolucyjnych kodonom są przypisane aminokwasy inne niż standardowo. Wiele gatunków glonu *Acetabularia* odczytuje kodony UAG i UAA, powszechnie oznaczające „stop”, jako glicynę. Kodon CUG, który normalnie oznacza leucynę, w komórkach grzybów z rodzaju *Candida* jest tłumaczony jako seryna.

Podaj cechę kodu genetycznego, od której odstępstwa zostały przedstawione w tekście.

.....

.....

Kod genetyczny jest uniwersalny

Poniższe informacje wykorzystaj do rozwiązania zadań nr 22 i 23.
 Na rysunku przedstawiono fragment procesu translacji.

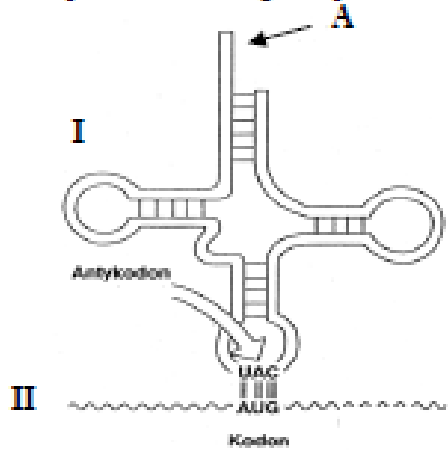


Tabela z fragmentem kodu genetycznego:	
kodon	aminokwas
UAC	tyrozyna
UAU	tyrozyna
UAA	stop
UAG	stop
AUG	metionina
AUA	izoleucyna
AUC	izoleucyna

Zadanie 22. (1 pkt)

Podaj nazwę aminokwasu, który zostanie przyłączony w miejscu A (wykorzystaj załączoną tabelę z fragmentem kodu genetycznego).

Zadanie 23. (3 pkt)

Wypełniając poniższą tabelę, podaj nazwy kwasów nukleinowych oznaczonych na rysunku, jako I i II oraz określ rolę każdego z nich w procesie biosyntezy białka.

	Nazwa kwasu nukleinowego	Rola kwasu nukleinowego w biosyntezie białka
I		
II		

Poniższe informacje wykorzystaj do rozwiązania zadań nr 22 i 23.
 Na rysunku przedstawiono fragment procesu translacji.

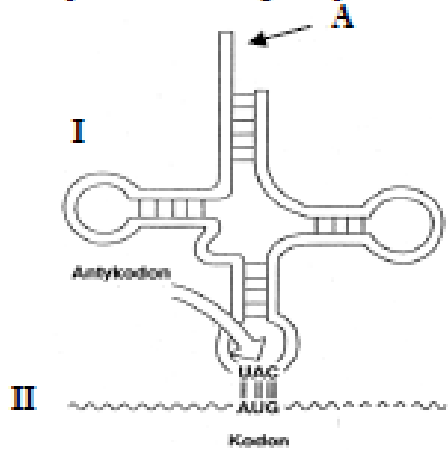


Tabela z fragmentem kodu genetycznego:

kodon	aminokwas
UAC	tyrozyna
UAU	tyrozyna
UAA	stop
UAG	stop
AUG	metionina
AUA	izoleucyna
AUC	izoleucyna

Zadanie 22. (1 pkt)

Podaj nazwę aminokwasu, który zostanie przyłączony w miejscu A (wykorzystaj załączoną tabelę z fragmentem kodu genetycznego).

metionina

Zadanie 23. (3 pkt)

Wypełniając poniższą tabelę, podaj nazwy kwasów nukleinowych oznaczonych na rysunku, jako I i II oraz określ rolę każdego z nich w procesie biosyntezy białka.

	Nazwa kwasu nukleinowego	Rola kwasu nukleinowego w biosyntezie białka
I		
II		

Zadanie 29. (1 pkt)

W poniższej tabeli przedstawiono fragment kodu genetycznego.

AUU – Ile	ACU – Thr	AAU – Asn	AGU – Ser
AUC – Ile	ACC – Thr	AAC – Asn	AGC – Ser
AUA – Ile	ACA – Thr	AAA – Lys	AGA – Arg
AUG – Met	ACG – Thr	AAG – Lys	AGG – Arg

W procesie translacji został utworzony łańcuch białka, którego fragment budują następujące aminokwasy:

metionina (Met) – lizyna (Lys) – izoleucyna (Ile) – seryna (Ser).

Korzystając z tabeli kodu genetycznego zamieszczonej powyżej, zaznacz nić DNA spośród A-D, która zawiera informację potrzebną do syntezy przedstawionego łańcucha aminokwasów.

- A. TATTTGTAATCC
- B. TACTTTTAGTCA
- C. TACTTTTAATCT
- D. TACTCTTCATGG

Zadanie 29. (1 pkt)

W poniższej tabeli przedstawiono fragment kodu genetycznego.

AUU – Ile	ACU – Thr	AAU – Asn	AGU – Ser
AUC – Ile	ACC – Thr	AAC – Asn	AGC – Ser
AUA – Ile	ACA – Thr	AAA – Lys	AGA – Arg
AUG – Met	ACG – Thr	AAG – Lys	AGG – Arg

W procesie translacji został utworzony łańcuch białka, którego fragment budują następujące aminokwasy:

metionina (Met) – lizyna (Lys) – izoleucyna (Ile) – seryna (Ser).

Korzystając z tabeli kodu genetycznego zamieszczonej powyżej, zaznacz nić DNA spośród A-D, która zawiera informację potrzebną do syntezy przedstawionego łańcucha aminokwasów.

- A. TATTTGTAATCC
- B. TACTTTAGTCA
- C. TACTTTAATCT
- D. TACTCTTCATGG

B)

TAC | TTT | TAG | TCA

AUG | AAA | AUC | AGU

Met | Lys | Ile | Ser

Zadanie 22. (2 pkt)

Uszkodzenia DNA polegające na zmianach pojedynczych par nukleotydów nazywamy mutacjami genowymi. Mutacje te są przypadkowe, a ich przyczyną są zazwyczaj nienaprawione błędy powstające podczas replikacji DNA lub działanie mutagenów. Skutki mutacji genowych zależą od rodzaju zmiany spowodowanej w sekwencji nukleotydów.

Podaj, jakie skutki mogą wywołać w organizmie mutacje genowe, w wyniku których następuje zamiana jednego kodonu na inny (mutacja zmiany sensu),

a) jeżeli nowy kodon jest kodonem stop i znajduje się w środku kodowanej sekwencji białka.

.....
.....

b) jeżeli nowy kodon koduje inny aminokwas.

.....
.....

Zadanie 22. (2 pkt)

Uszkodzenia DNA polegające na zmianach pojedynczych par nukleotydów nazywamy mutacjami genowymi. Mutacje te są przypadkowe, a ich przyczyną są zazwyczaj nienaprawione błędy powstające podczas replikacji DNA lub działanie mutagenów. Skutki mutacji genowych zależą od rodzaju zmiany spowodowanej w sekwencji nukleotydów.

Podaj, jakie skutki mogą wywołać w organizmie mutacje genowe, w wyniku których następuje zamiana jednego kodonu na inny (mutacja zmiany sensu),

a) jeżeli nowy kodon jest kodonem stop i znajduje się w środku kodowanej sekwencji białka.

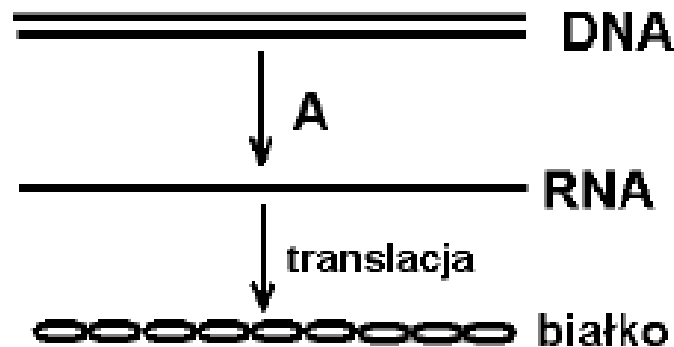
Przedwczesna terminacja translacji – polipeptyd zbyt krótki, jeśli gen koduje enzym, wiąże się to zazwyczaj z utratą funkcji

b) jeżeli nowy kodon koduje inny aminokwas.

Dochodzi do zamiany (podstawienia) aminokwasu – skutek zależny od specyficznej lokalizacji i roli jaką w danym polipeptydzie pełni aminokwas (np. nowy enzym może posiadać nadal te same właściwości, może utracić funkcje, może też zyskać nowe właściwości).

Zadanie 24. (3 pkt)

Na schemacie przedstawiono w uproszczony sposób dwa etapy syntezy białka w komórce, na podstawie informacji genetycznej zawartej w DNA. W procesie tym uczestniczą trzy rodzaje RNA (tRNA, mRNA i rRNA), z których uwzględniono tylko jeden.



a) Podaj nazwę procesu oznaczonego na schemacie jako A.

.....

b) Podaj, który z wymienionych w tekście rodzajów RNA uwzględniono na schemacie.

.....

c) Przedstaw rolę tRNA w procesie syntezy białka.

.....

Zadanie 27. (1 pkt)

Podczas replikacji DNA doszło do mutacji w obrębie genu kodującego kluczowe dla rozwoju organizmu białko. Zamiast sekwencji CAA na nici DNA pojawiła się sekwencja CAC.

*Fragment tabeli
kodu genetycznego*

CUU leucyna	GUU walina	GAA glutaminian
CUC leucyna	GUG walina	GAC asparaginian
GCC alanina	CCA prolina	CAA glutamina
GCA alanina	CAC histydyna	CAG glutamina

Oceń, czy opisana mutacja ma negatywne znaczenie dla funkcjonowania organizmu. Uzasadnij odpowiedź, uwzględniając bezpośredni skutek tej mutacji.

.....

.....

.....

Zadanie 27. (1 pkt)

Podczas replikacji DNA doszło do mutacji w obrębie genu kodującego kluczowe dla rozwoju organizmu białko. Zamiast sekwencji CAA na nici DNA pojawiła się sekwencja CAC.

*Fragment tabeli
kodu genetycznego*

CUU leucyna	GUU walina	GAA glutaminian
CUC leucyna	GUG walina	GAC asparaginian
GCC alanina	CCA prolina	CAA glutamina
GCA alanina	CAC histydyna	CAG glutamina

Oceń, czy opisana mutacja ma negatywne znaczenie dla funkcjonowania organizmu. Uzasadnij odpowiedź, uwzględniając bezpośredni skutek tej mutacji.

-
- **Jest to mutacja synonimowa – bez negatywnych konsekwencji.**
- **Nowy kodon powstały na skutek mutacji koduje ten sam aminokwas**

Zadanie 21. (2 pkt)

Fragment cząsteczki białka składa się z 24 aminokwasów.

a) Podaj, ile kodonów kodowało informację dotyczącą tego fragmentu białka.

.....

b) Oblicz, ile nukleotydów składało się na fragment nici DNA kodującej ten fragment białka.

.....

Zadanie 21. (2 pkt)

Fragment cząsteczki białka składa się z 24 aminokwasów.

a) Podaj, ile kodonów kodowało informację dotyczącą tego fragmentu białka.

..... **24**

b) Oblicz, ile nukleotydów składało się na fragment nici DNA kodującej ten fragment białka.

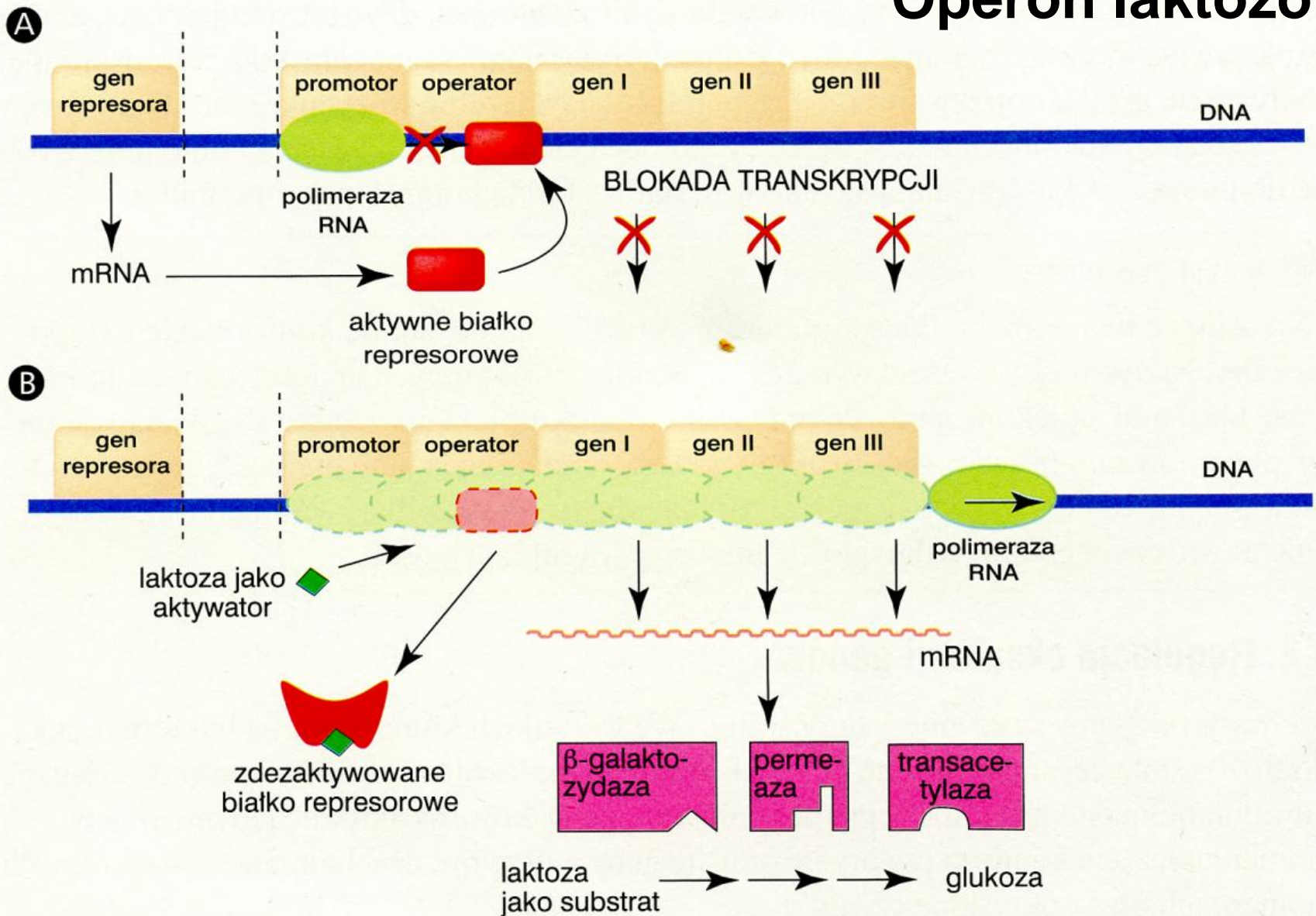
.....

$$24 \cdot 3 = 72$$

Regulacja ekspresji genów

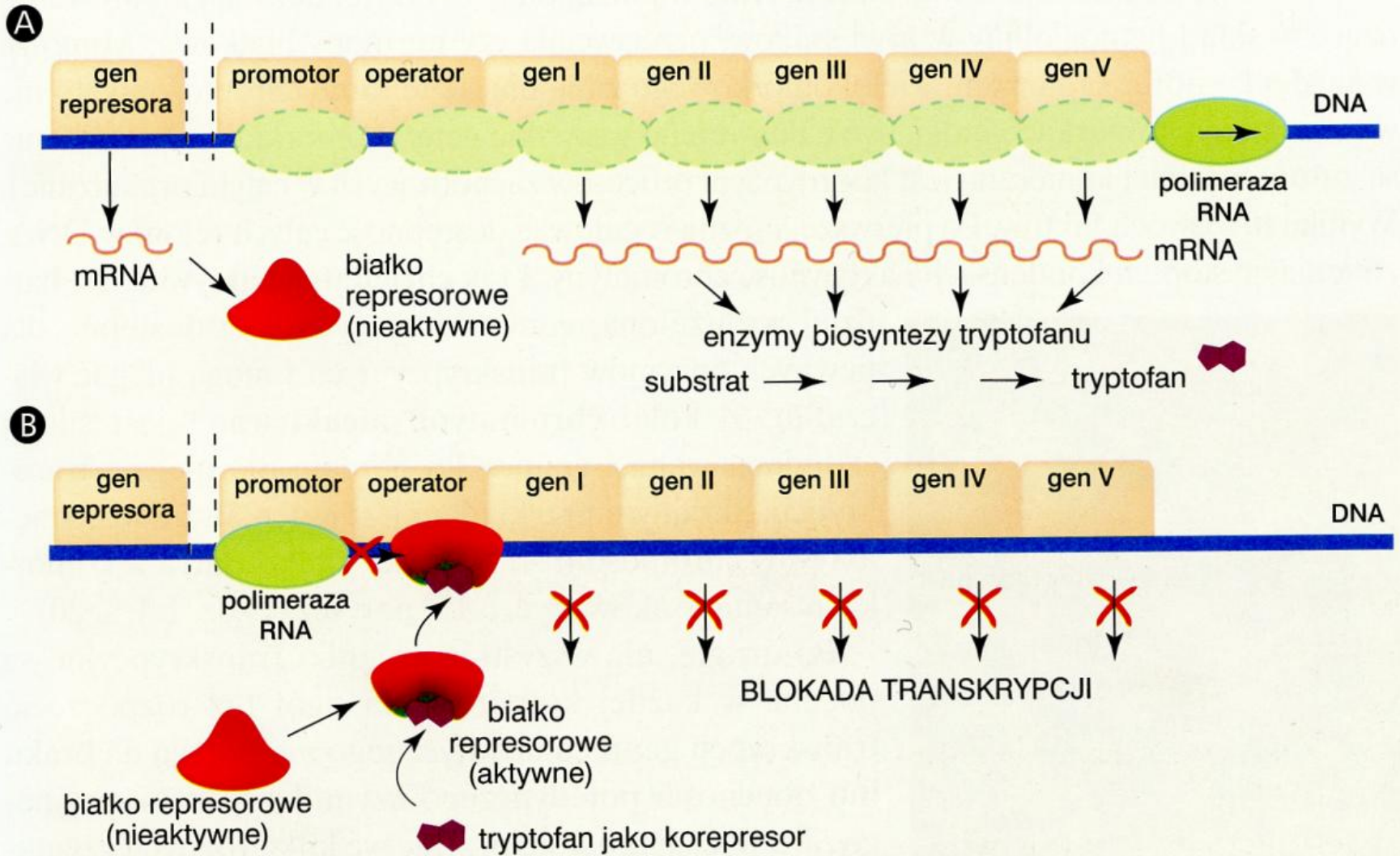
OPERON

Operon laktozowy



Ryc. 3.13. Operon laktozowy: A – nieaktywny, B – aktywny

Operon tryptofanowy



Ryc. 3.14. Operon tryptofanowy: A – aktywny, B – nieaktywny

- **Operon laktozowy**

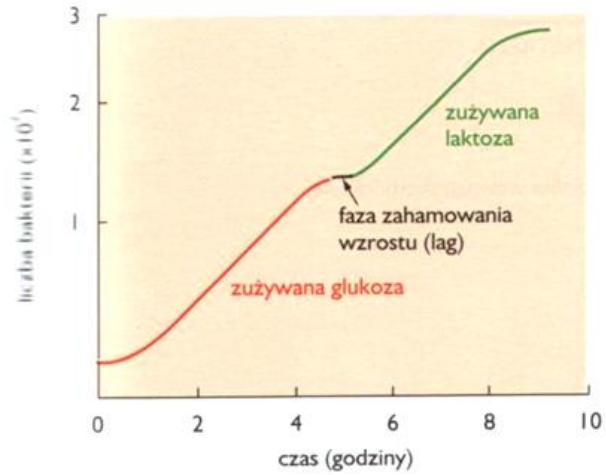
- Przykład operonu indukcyjnego (charakterystyczny dla procesów katabolicznych)

- **Operon tryptofanowy**

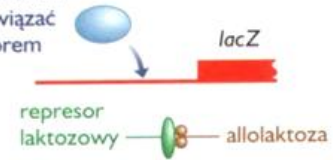
- Przykład operonu represyjnego (charakterystyczny dla procesów anabolicznych)

Represja kataboliczna - DIAUKSJA

- Co się dzieje gdy w środowisku jest zarówno laktoza, jak i glukoza ?
- Najpierw wykorzystywana jest glukoza, a dopiero po wykorzystaniu glukozy laktoza.



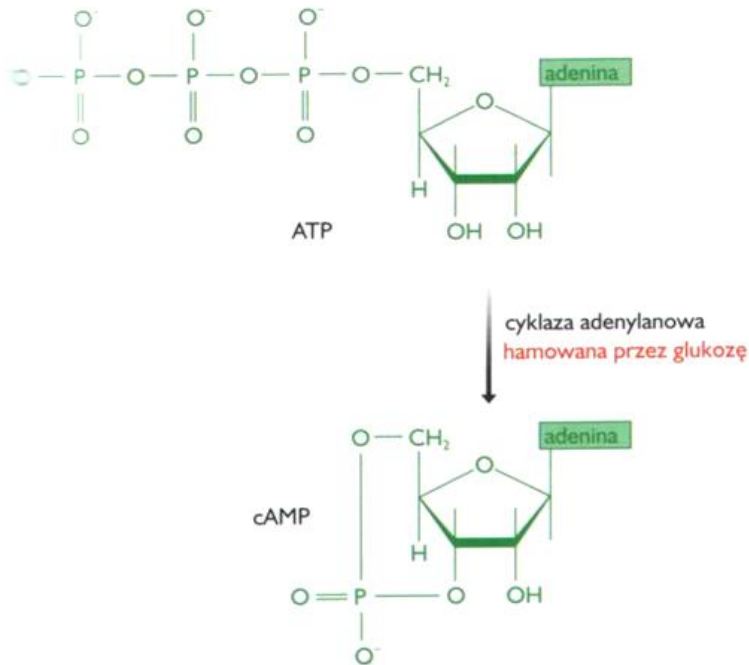
polimeraza RNA
może się wiązać
z promotorem



LAKTOZA OBECNA
kompleks represor-
allolaktoza nie może
się związać z operatorem

ALE... OBECNA RÓWNIEŻ GLUKOZA
transkrypcja nie zachodzi

D



poziom glukozy jest wysoki
poziom cAMP jest niski



poziom glukozy jest niski
poziom cAMP jest wysoki



Przykłady zadań

Zadanie 27. (2 pkt)

Pewne bakterie mogą pobierać z podłoża tryptofan (Trp) lub, gdy w podłożu brak jest Trp, bakterie mogą go same syntetyzować. W komórkach tych bakterii występuje białko regulatorowe – represor Trp, które jest aktywne tylko po połączeniu się z tryptofanem. Aktywne białko represorowe wiąże się z promotorem operonu i hamuje transkrypcję genów kodujących enzymy potrzebne do syntezy tryptofanu.

- a) Opisz, w jaki sposób działa operon tryptofanowy u bakterii, gdy tryptofan nie występuje w podłożu.

.....

.....

.....

- b) Wyjaśnij, jak na działanie operonu tryptofanowego wpłynie mutacja w genie kodującym białko represorowe, polegająca na tym, że represor bez połączenia z Trp będzie wiązał się z promotorem.

.....

.....

.....

Zadanie 27. (2 pkt)

Pewne bakterie mogą pobierać z podłoża tryptofan (Trp) lub, gdy w podłożu brak jest Trp, bakterie mogą go same syntetyzować. W komórkach tych bakterii występuje białko regulatorowe – represor Trp, które jest aktywne tylko po połączeniu się z tryptofanem. Aktywne białko represorowe wiąże się z promotorem operonu i hamuje transkrypcję genów kodujących enzymy potrzebne do syntezy tryptofanu.

- a) Opisz, w jaki sposób działa operon tryptofanowy u bakterii, gdy tryptofan nie występuje w podłożu.

Represor Trp nie jest aktywny i nie wiąże się z operatorem operonu tryptofanowego. Umożliwia to transkrypcję genów potrzebnych do syntezy tryptofanu

- b) Wyjaśnij, jak na działanie operonu tryptofanowego wpłynie mutacja w genie kodującym białko represorowe, polegająca na tym, że represor bez połączenia z Trp będzie wiązał się z promotorem.

Taka mutacja prowadzi będzie do wiązania się represora Trp z operatorem operonu tryptofanowego nawet w przypadku braku Trp w podłożu. Transkrypcja genów tego operonu będzie stale zahamowana.