

Spis treści

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

3.3.3	Działanie FISH	90	5.1.2	Automatyczna analiza sekwencji genomu	140
	Mapowanie miejsc znakowanych sekwencyjnie	91		Eksperymentalne techniki lokalizacji genów	141
	Jako STS można użyć każdej unikatowej sekwencji DNA	92		Test hybrydacyjny pozwala ustalić, czy fragment zawiera sekwencję ulegającą ekspresji	141
	Fragmenty DNA do mapowania STS	93		<i>Metody badań 5.1</i> Techniki badania RNA	142
	Do analizy STS jako odczynnika do mapowania można także użyć biblioteki klonów	94		Sekwencjonowanie cDNA umożliwia zmapowanie genów w obrębie fragmentów DNA	142
Pytania		97		Istnieją metody dokładnego mapowania końców transkryptów	143
Rozdział 4 Sekwencjonowanie genomów	103			Granice ekson–intron można dokładnie zlokalizować	144
4.1 Metody sekwencjonowania DNA	104		5.2 Ustalanie funkcji genu	144	
	<i>Metody badań 4.1</i> Elektroforeza w żelach poliakryloamidowych	104	5.2.1	Komputerowa analiza funkcji genu	144
4.1.1	Sekwencjonowanie DNA metodą terminacji łańcucha	105		Homologia odzwierciedla związki ewolucyjne	145
	Metoda terminacji łańcucha w zarysie	105		Analiza homologii może dostarczyć informacji o funkcji całego genu lub jego segmentów	145
	Sekwencjonowanie metodą terminacji łańcucha wymaga matrycy w postaci jednoniciowego DNA	107		Wykorzystanie poszukiwania homologii do przypisywania funkcji ludzkim genom odpowiadającym za choroby	147
	Polimerazy DNA używane w sekwencjonowaniu metodą terminacji łańcucha	108	5.2.2	Ustalanie funkcji genu przez analizę eksperymentalną	148
	Starter wyznacza sekwencjonowany region na matrycowym DNA	108		Inaktywacja genu jest podstawą analizy funkcjonalnej	148
	Sekwencjonowanie cykliczne jako alternatywa tradycyjnych metod	109		Metody inaktywacji specyficznych genów opierają się na rekombinacji homologicznej	149
4.1.2	Inne metody sekwencjonowania DNA	109		Inaktywacja genu bez rekombinacji homologicznej	150
	Sekwencjonowanie metodą degradacji chemicznej	110		Do określania funkcji można także wykorzystać nadmiarową ekspresję genu	151
	Pirosekwencjonowanie stosuje się do szybkiego ustalania bardzo krótkich sekwencji	111		Efekt fenotypowy inaktywacji czasem jest trudny do zaobserwowania	152
4.2 Składanie przylegających sekwencji DNA	112		5.2.3	Bardziej szczegółowe badania aktywności białka kodowanego przez nieznaną gen	152
4.2.1	Składanie sekwencji z wykorzystaniem strategii „shotgun”	112		Do szczegółowego badania funkcji genu można wykorzystać ukierunkowaną mutagenezę	154
	Możliwości strategii „shotgun” udowodniono sekwencjonując genom <i>Haemophilus influenzae</i>	113		Do określania, gdzie i kiedy geny ulegają ekspresji, można wykorzystać geny reporterowe i immunocytochemię	154
4.2.2	Składanie sekwencji z zastosowaniem strategii układania klonów w kontigi	115	5.3 Studium przypadku: Zrozumieć sekwencję genomu <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	156	
	Klony mogą być ułożone w kontigi pracochłonną metodą wędrowania wzdłuż chromosomu	115		<i>Metody badań 5.2</i> Ukierunkowana mutageneza	156
	Szybsze metody układania klonów w kontigi	117	5.3.1	Anotacja sekwencji genomu drożdży	157
4.2.3	Ukierunkowana strategia typu „shotgun”	119	5.3.2	Przypisywanie funkcji genom drożdży	159
	Najważniejsze cechy ukierunkowanej strategii typu „shotgun”	119	Pytania		161
4.3 Projekty poznania genomu człowieka	121		Rozdział 6 Zrozumieć działanie genomu	167	
4.3.1	Etap mapowania w projekcie poznania genomu człowieka	121	6.1 Badanie transkryptomu	168	
4.3.2	Sekwencjonowanie ludzkiego genomu	122	6.1.1	Badanie transkryptomu przez analizę sekwencji	168
4.3.3	Przyszłość projektów poznania genomu człowieka	123	6.1.2	Badanie transkryptomu za pomocą analizy mikromacierzy o małej i dużej gęstości	169
Pytania		126		Wykorzystanie mikromacierzy do badania jednego lub większej liczby transkryptomów	169
Rozdział 5 Zrozumieć sekwencję genomu	133			Badanie transkryptomu drożdży	172
5.1 Lokalizowanie genów w sekwencjach DNA	134			Transkryptom człowieka	173
5.1.1	Lokalizowanie genów przez analizę sekwencji	134	6.2 Badanie proteomu	175	
	Obszary kodujące genów są otwartymi ramkami odczytu	134	6.2.1	Profilowanie białek – metoda identyfikacji białek w proteomie	175
	Proste skanowania ORF są mniej wydajne dla większych DNA eukariotycznych	135		Rozdzielanie białek w proteomie	175
	Szukanie genów funkcjonalnych RNA	137		Identyfikacja białek w proteomie	177
	Poszukiwanie homologii i genomika porównawcza nadają śledzeniu sekwencji nowy wymiar	138			

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

Część 2 Anatomia genomów 195

Rozdział 7 Eukariotyczne genomy jądrowe 197

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

Rozdział 8 Genomy prokariotów i organelli eukariotycznych 225

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

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

Rozdział 9 Genomy wirusów i ruchome elementy genetyczne 249

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

Część 3 Jak działają genomy 269

Rozdział 10 Dostępność genomu 271

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

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

12.2.3	Synteza funkcjonalnych RNA u eukariotów	363
12.2.4	Wycinanie intronów z eukariotycznych pre-rRNA i pre-tRNA	364
	Introny w eukariotycznych pre-rRNA są autokatalityczne	364
	Usuwanie intronów z eukariotycznych pre-tRNA	367
	Inne rodzaje intronów	367
12.2.5	Modyfikacje chemiczne eukariotycznych RNA	368
	Małe jąderkowe RNA działają jako sekwencje naprowadzające przy modyfikacji eukariotycznych rRNA	369
	Redagowanie RNA	369
12.2.6	Degradacja eukariotycznych RNA	371
	Organizmy eukariotyczne mają różne mechanizmy degradacji RNA	371
	Wyciszanie RNA zidentyfikowano po raz pierwszy jako sposób niszczenia inwazyjnego wirusowego RNA	373
	MikroRNA regulują ekspresję genomu powodując degradację konkretnych docelowych mRNA	374
12.2.7	Transport RNA w obrębie komórki eukariotycznej	375
	Pytania	377

Rozdział 13 Synteza i obróbka proteomu 385

13.1	Rola tRNA w syntezie białek	386
13.1.1	Aminoacylacja: przyłączanie aminokwasu do tRNA	386
	Wszystkie tRNA mają podobną strukturę	386
	Syntetazy aminoacylo-tRNA przyłączają aminokwasy do cząsteczek tRNA	388
13.1.2	Oddziaływania kodon–antykodeon: przyłączenie tRNA do mRNA	390
13.2	Rola rybosomu w procesie syntezy białek	392
13.2.1	Struktura rybosomu	393
	Metodę ultrawierowania wykorzystano w celu poznania wielkości rybosomów oraz ich składników	393
	Szczegółowe badania struktury rybosomu	394
13.2.2	Inicjacja translacji	395
	W procesie inicjacji translacji u bakterii niezbędne jest wewnętrzne miejsce wiązania rybosomu	396
	W procesie inicjacji translacji u <i>Eukaryota</i> pośredniczy czapeczka i ogon poli(A)	398
	W przypadku niektórych eukariotycznych mRNA nie następuje skanowanie w czasie inicjacji translacji	399
	Regulacja inicjacji translacji	399
13.2.3	Elongacja translacji	400
	Elongacja u bakterii i eukariotów	400
	Peptydylotransferaza jest rybozymem	402
	Zmiana fazy odczytu i inne nietypowe zdarzenia w czasie elongacji	403
13.2.4	Terminacja translacji	405
13.2.5	Translacja u archeonów	405
13.3	Potranslacyjna obróbka białek	406
13.3.1	Falowanie białka	407
	Nie wszystkie białka fałdują się spontanicznie w próbce	407

	W komórce białka opiekuńcze pomagają innym białkom w procesie fałdowania	409
13.3.2	Cięcie proteolityczne białka	410
	Usunięcie końców polipeptydu	410
	Proteolityczna obróbka poliprotein	411
13.3.3	Chemiczna modyfikacja białka	412
13.3.4	Inteiny	413
13.4	Degradacja białek	414
	Pytania	417

Rozdział 14 Regulacja aktywności genomu 423

14.1	Krótkotrwale zmiany w aktywności genomu	425
14.1.1	Przekazywanie sygnału poprzez wnikięcie do komórki związku sygnalizującego	427
	Laktoferyna jest zewnątrzkomórkowym związkiem sygnalizującym, który działa jako aktywator transkrypcji	428
	Niektóre związki sygnalizujące wnikaące do komórki bezpośrednio wpływają na aktywność obecnych w niej białek regulacyjnych	428
	Niektóre związki sygnalizujące wnikaące do komórki wpływają na aktywność genomu w sposób pośredni	429
14.1.2	Przekazywanie sygnałów za pośrednictwem powierzchniowych receptorów komórkowych	432
	Przekazywanie sygnałów z jednym etapem między receptorem i genomem	433
	Przekazywanie sygnałów z wieloma etapami między receptorem i genomem	434
	Przekazywanie sygnału przez przekazywanie drugorzędowe	435
	Ustalenie przebiegu drogi przekazywania sygnału	436
14.2	Stale i długotrwale zmiany w aktywności genomu	437
14.2.1	Rearanżacje genomu	438
	Typy płciowe drożdży zależą od konwersji genu	438
	Rearanżacje genomu są odpowiedzialne za różnorodność immunoglobulin i receptorów komórek T	439
14.2.2	Zmiany w strukturze chromatyny	441
14.2.3	Regulacja genomu poprzez sprzężenie zwrotne	443
14.3	Regulacja aktywności genomu w czasie rozwoju	443
14.3.1	Cykl lizogeniczny bakteriofaga λ	444
	Bakteriofag λ musi dokonać wyboru między lizą a lizogenią	444
14.3.2	Sporulacja u <i>Bacillus</i>	446
	Sporulacja wymaga skoordynowania procesów zachodzących w dwóch różnych typach komórek	446
	Specjalne podjednostki σ kontrolują aktywność genomu w czasie sporulacji	446
14.3.3	Rozwój otworu płciowego u <i>Caenorhabditis elegans</i>	449
	<i>C. elegans</i> stanowi model dla rozwoju wielokomórkowego eukariota	449
	Określenie losu komórek w czasie rozwoju otworu płciowego <i>C. elegans</i>	449
14.3.4	Rozwój u <i>Drosophila melanogaster</i>	451
	Geny matczyne wytwarzają gradienty białkowe w zarodku <i>Drosophila</i>	452

Kaskada ekspresji genów przekształca dane o położeniu we wzór segmentacji	453	15.3.2	Kontrola wewnątrz fazy S	498
Tożsamość segmentów jest określana przez geny homeotyczne	454		Wczesne i późne miejsca inicjacji replikacji	498
Geny homeotyczne kierują rozwojem wyższych eukariotów	455		Punkty kontrolne wewnątrz fazy S	499
Geny homeotyczne leżą również u podstaw rozwoju kwiatów	456		Pytania	502
Pytania	459		Rozdział 16 Mutacje i naprawa DNA	507
Część 4 W jaki sposób genomy ulegają replikacji i ewolucji	465	16.1	Mutacje	508
Rozdział 15 Replikacja genomu	467	16.1.1	Przyczyny mutacji	508
15.1 Problem topologiczny	468		<i>Metody badań 16.1</i> Wykrywanie mutacji	510
15.1.1 Doświadczalne potwierdzenie replikacji DNA według modelu Watsona–Cricka	469		Błędy w replikacji są źródłem mutacji punktowych	511
Doświadczenie Meselsona–Stahla	470		Błędy w replikacji mogą też doprowadzić do mutacji typu insercji i delecji	512
15.1.2 Odkrycie topoiizomeraz DNA pozwoliło na rozwiązanie problemu topologicznego	472		Mutacje są również wywoływane przez mutageny chemiczne i fizyczne	514
15.1.3 Wariacje na temat replikacji semikonserwatywnej	474	16.1.2	Skutki mutacji	517
15.2 Proces replikacji DNA	475		Efekty mutacji na poziomie genomu	518
15.2.1 Inicjacja replikacji genomu	476		Wpływ mutacji na organizmy wielokomórkowe	520
Inicjacja replikacji DNA w komórkach <i>E. coli</i>	476		Wpływ mutacji na mikroorganizmy	521
Obszary inicjacji replikacji DNA w komórkach drożdży są równie dobrze poznane	477	16.1.3	Hipermutacje i hipotetyczne mutacje programowane	523
Identyfikacja miejsc inicjacji replikacji DNA w komórkach wyższych eukariotów okazała się znacznie trudniejsza	478		Hipermutacje są rezultatem nieprawidłowego działania systemu naprawy DNA	523
15.2.2 Faza elongacji replikacji DNA	479		Mutacje programowane pozornie wspierają teorię ewolucji Lamarcka	524
Polimerazy DNA komórek bakteryjnych i eukariotycznych	480	16.2 Naprawa DNA	525	
Synteza nici nieciągłej i problem z jej inicjacją	482	16.2.1	Systemy naprawy bezpośredniej wypełniają pęknięcia i korygują niektóre rodzaje modyfikacji nukleotydów	526
Zjawiska zachodzące w obrębie bakteryjnych widełek replikacyjnych	483	16.2.2	Naprawa przez wycinanie	527
Eukariotyczne widełki replikacyjne. Wariacje na tle widełek bakteryjnych	485		Wycinanie zasad naprawia wiele rodzajów uszkodzonych nukleotydów	527
Replikacja genomu w komórkach archeonów	488		Naprawa przez wycinanie nukleotydów koryguje bardziej rozległe uszkodzenia	529
15.2.3 Terminacja replikacji DNA	489	16.2.3	Naprawa błędnie sparowanych nukleotydów: poprawianie błędów replikacji	531
Terminacja replikacji genomu <i>E. coli</i> zachodzi w ściśle określonym regionie	489	16.2.4	Naprawa pęknięć DNA	532
Bardzo niewiele wiadomo o terminacji replikacji w komórkach eukariotów	490	16.2.5	Pomijanie uszkodzeń DNA podczas replikacji genomu	533
15.2.4 Utrzymywanie stałej długości końców linearnej cząsteczki DNA	491		Odpowiedź SOS jest awaryjną reakcją na uszkodzenia genomu	533
Telomerowy DNA jest syntetyzowany przez specyficzny enzym telomerazę	491	16.2.6	Defekty w naprawie DNA stanowią podłoże chorób człowieka, w tym nowotworów	534
Na długość telomerów wywiera wpływ starzenie się komórek oraz występowanie raka	493		Pytania	537
Telomery komórek <i>Drosophila</i>	495	Rozdział 17 Rekombinacja	543	
15.3 Regulacja replikacji genomu eukariotycznego	495	17.1 Rekombinacja homologiczna	545	
15.3.1 Koordynacja procesu replikacji genomu i podziału komórkowego	495	17.1.1	Modele rekombinacji homologicznej	545
Utworzenie kompleksu prereplikacyjnego umożliwia rozpoczęcie replikacji genomu	496		Modele rekombinacji homologicznej Hollidaya i Meselsona–Raddinga	545
Regulacja składania kompleksu pre-RC	497		Model pęknięć dwuniciowych w rekombinacji homologicznej	547
		17.1.2	Biochemiczny mechanizm rekombinacji homologicznej	548
			Szlak RecBCD u <i>Escherichia coli</i>	548
			Inne szlaki rekombinacji homologicznej u <i>E. coli</i>	549
			Szlaki rekombinacji homologicznej u eukariotów	550
		17.1.3	Rekombinacja homologiczna i naprawa DNA	551
		17.2 Rekombinacja umiejscowiona	552	

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