
SPIS TREŚCI

CZĘŚĆ I - Jak bada się genomy

1. Genomy, transkryptomy i proteomy

1.1. DNA

Geny zbudowane są z DNA

DNA jest polimerem zbudowanym z nukleotydów

Łączenie się zasad w pary i asocjacja warstwowa stabilizują podwójną helisę

Podwójna helisa jest strukturą elastyczną

1.2. RNA i transkryptom

RNA jest drugim rodzajem polinukleotydu

Rodzaje RNA w komórce

Wiele RNA jest syntetyzowanych jako cząsteczki prekursorowe

Różne definicje transkryptomu

1.3. Białka i proteom

Cztery hierarchiczne poziomy struktury białka

Różnorodność białek wynika z różnorodności aminokwasów

Powiązanie transkryptomu z proteomem

Kod genetyczny nie jest uniwersalny

Powiązanie proteomu z biochemią komórki

Podsumowanie
Krótkie pytania otwarte
Pytania problemowe
Literatura uzupełniająca

2. Analiza DNA

2.1. Enzymy służące do manipulacji DNA

Sposób działania polimerazy DNA zależnej od matrycy

Typy polimeraz DNA stosowane w badaniach naukowych

Endonukleazy restrykcyjne umożliwiają cięcie cząsteczek DNA w ściśle określonych pozycjach

Do analizy wyników trawienia restrykcyjnego wykorzystuje się elektroforezę w żelu

Fragmety DNA można identyfikować metodą hybrydyzacji Southerna

Ligazy łączą ze sobą fragmenty DNA

Enzymy modyfikujące końce

2.2. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR)

Przeprowadzanie PCR

Przyrost ilości produktu w reakcji PCR można śledzić

PCR ma wiele różnorodnych zastosowań

2.3. Klonowanie DNA

Dlaczego klonowanie jest ważne?

Najprostsze wektory do klonowania są oparte na plazmidach z *E. coli*

Jako wektorów do klonowania można także użyć bakteriofagów

Wektory dla dłuższych fragmentów DNA

DNA można klonować w organizmach innych niż *E. coli*

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

3. Mapowanie genomów

3.1. Dlaczego mapa genomu jest ważna

Mapy genomu są potrzebne do sekwencjonowania bardziej złożonych genomów

Mapy genomowe to nie tylko pomoc przy sekwencjonowaniu

3.2. Markery do mapowania genetycznego

Pierwszymi stosowanymi markerami były geny

RFLP i SSLP są przykładami markerów DNA

Polimorfizmy punktowe są najbardziej użytecznymi markerami DNA

3.3. Podstawy mapowania genetycznego

Podstawy dziedziczenia i odkrycie sprzężenia

Częściowe sprzężenie można wyjaśnić zachowaniem chromosomów w czasie mejozy

Od częściowego sprzężenia do mapowania genetycznego

3.4. Przeprowadzanie analizy sprzężeń w różnych typach organizmów

Analiza sprzężeń, gdy możliwe są planowane eksperymenty hodowlane

Mapowanie genów przez analizę rodowodów u człowieka

Mapowanie genetyczne u bakterii

Ograniczenia analizy sprzężeń

3.5. Mapowanie fizyczne przez bezpośrednie badanie cząsteczek DNA

Konwencjonalne mapowanie restrykcyjne można stosować tylko do małych cząsteczek DNA

Mapowanie optyczne pozwala na lokalizację miejsc restrykcyjnych w dłuższych cząsteczkach DNA

Mapowanie optyczne można wykorzystać do mapowania innych elementów w cząsteczce DNA

3.6. Mapowanie fizyczne przez przypisywanie markerów do fragmentów DNA

Każda unikalna sekwencja może być STS

Fragmenty DNA do mapowania STS można uzyskać jako hybrydy radiacyjne

Jako odczynnik do mapowania można także użyć biblioteki klonów

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

4. Sekwencjonowanie genomów

4.1. Sekwencjonowanie metodą terminacji łańcucha

Metoda terminacji łańcucha w zarysie

Nie wszystkie polimerazy DNA można wykorzystać w sekwencjonowaniu

Sekwencjonowanie metodą terminacji łańcucha z zastosowaniem polimerazy Taq

Zalety i ograniczenia sekwencjonowania metodą terminacji łańcucha

4.2. Sekwencjonowanie metodami nowej generacji

Metody nowej generacji wymagają przygotowania bibliotek do sekwencjonowania

Opracowano różne metody sekwencjonowania nowej generacji

Metody trzeciej i czwartej generacji umożliwiają sekwencjonowanie w czasie rzeczywistym

4.3. Jak zsekwenować genom

Możliwości strategii shotgun udowodniono, sekwencjonując genom *Haemophilus influenzae*

Strategię shotgun wykorzystano do zsekwenowania wielu genomów prokariotycznych

Seqwencjonowanie genomów eukariotycznych strategią shotgun wymaga zastosowania zaawansowanych programów do składania

Do sekwencjonowania bardziej złożonych genomów można wykorzystać hierarchiczną strategię shotgun

Czym jest sekwencja genomu i czy zawsze jej potrzebujemy?

4.4. Przegląd projektów sekwencjonowania genomów eukariotycznych

Projekt Poznania Genomu Człowieka: sekwencjonowanie genomu w czasach heroicznych

Genom neandertalczyka: poznanie genomu wymarłego gatunku z wykorzystaniem genomu człowieka jako sekwencji odniesienia

Genom pandy wielkiej: sekwencjonowanie shotgun oparte wyłącznie na metodach nowej generacji

Genom jęczmienia: pojęcie przestrzeni genów

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

5. Anotacja genomu

5.1. Lokalizowanie genów w sekwencjach DNA przez komputerową analizę sekwencji

Obszary kodujące genów są otwartymi ramkami odczytu

Proste skanowania ORF są mniej wydajne dla większych DNA eukariotycznych

Szukanie genów niekodujących RNA

Poszukiwanie homologii i genomika porównawcza nadają śledzeniu sekwencji nowy wymiar

5.2. Anotacja genomu przez analizę transkryptów genów

Test hybrydacyjny pozwala ustalić, czy fragment zawiera sekwencję ulegającą ekspresji

Istnieją metody dokładnego mapowania końców transkryptów

Granice ekson–intron można dokładnie zlokalizować

5.3. Anotacja przez całogenomowe mapowanie RNA

Mikromacierze dachówkowe umożliwiają mapowanie transkryptów na chromosomach lub całych genomach

Sekwencje transkryptów można zmapować bezpośrednio w genomie

5.4. Przeglądarki genomów

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Zadania problemowe

Literatura uzupełniająca

6. Ustalanie funkcji genu

6.1. Komputerowa analiza funkcji genu

Homologia odzwierciedla związki ewolucyjne

Analiza homologii może dostarczyć informacji o funkcji całego genu lub jego segmentów

Identyfikacja domen białkowych może pomóc przypisać funkcję nieznanemu genowi

Przypisywanie funkcji genom wymaga jednolitej terminologii

6.2. Przypisywanie funkcji przez inaktywację i nadekspresję genu

Analiza funkcjonalna przez inaktywację genu

Geny można inaktywować przez rekombinację homologiczną

Inaktywacja genu bez rekombinacji homologicznej

Do określania funkcji można także wykorzystać nadekspresję genu

Fenotypowy efekt inaktywacji jest czasem trudny do zaobserwowania

6.3. Zrozumienie funkcji genu przez badania wzoru ekspresji i produktu białkowego

Do szczegółowego badania funkcji genu można wykorzystać mutagenезę ukierunkowaną

6.4. Wykorzystanie konwencjonalnej analizy genetycznej do identyfikacji funkcji genu

Identyfikacja ludzkich genów związanych z chorobami dziedzicznymi

Całogenomowe badania asocjacyjne także pozwalają na identyfikację genów związanych z chorobami i innymi cechami

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Zadania problemowe

Literatura uzupełniająca

CZEŚĆ II - Anatomia genomów

7. Eukariotyczne genomy jądrowe

7.1. Genomy jądrowe znajdują się w chromosomach

Chromosomy są znacznie krótsze niż zawarte w nich cząsteczki DNA

Specyficzne właściwości chromosomów metafazowych

Oddziaływania DNA–białko w centromerach i telomerach

7.2. W jaki sposób geny są zorganizowane w genomie jądrowym?

Geny nie są rozmieszczone równomiernie w obrębie genomu

Odcinek genomu człowieka

Genom drożdży jest bardzo zwarty

Organizacja genów u innych eukariontów

7.3. Ile jest genów i jakie są ich funkcje?

Liczby genów mogą być mylące

Katalogi genów ujawniają cechy charakterystyczne różnych organizmów

Rodziny genów

Pseudogeny i inne relikty ewolucyjne

7.4. Zawartość powtarzającego się DNA w eukariotycznych genomach jądrowych

DNA powtórzone tandemowo znajduje się w centromerach i innych miejscach w chromosomach eukariotycznych

Minisatelity i mikrosatelity

Powtórzenia rozproszone

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

8. Genomy prokariotów i organelli eukariotycznych

8.1. Właściwości fizyczne genomów prokariotycznych

Tradycyjny obraz chromosomu prokariotycznego

Niektóre bakterie mają genomy liniowe lub wieloczęściowe

8.2. Właściwości genetyczne genomów prokariotycznych

Organizacja genów w genomie *E. coli* K12

Operony są cechą charakterystyczną genomów prokariotycznych

Rozmiary genomów i liczba genów u prokariotów różnią się w zależności od złożoności biologicznej

Rozmiary genomów i liczba genów różnią się w obrębie poszczególnych gatunków

Rozróżnienie między gatunkami prokariotycznymi rozmywa się jeszcze bardziej za sprawą poziomego transferu genów

Metagenomy opisują członków społeczności

8.3. Eukariotyczne genomy organellarne

Teoria endosymbiozy wyjaśnia pochodzenie genomów organellarnych

Większość genomów organellarnych jest kolista

Katalogi genów z genomów organellarnych

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

9. Genomy wirusów i ruchome elementy genetyczne

9.1. Genomy bakteriofagów i wirusów eukariotycznych

Genomy bakteriofagów mają zróżnicowane struktury i organizację

Strategie replikacji genomów bakteriofagowych

Struktury i strategie replikacji eukariotycznych genomów wirusowych

Niektóre retrowirusy powodują nowotwory

Genomy na granicy życia

9.2. Ruchome elementy genetyczne

Transpozony RNA z długimi końcowymi powtórzeniami są spokrewnione z retroelementami wirusowymi

Niektóre transpozony RNA nie mają długich końcowych powtórzeń

Transpozony DNA występują powszechnie w genomach prokariotycznych

Transpozony DNA są mniej powszechne w genomach eukariotycznych

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

CZĘŚĆ III - Jak działają genomy?

10. Dostępność genomu

10.1. Wewnątrz jądra

Jądro ma uporządkowaną strukturę wewnętrzną

W niedzielącym się jądrze stopień upakowania DNA jest różny

Uważa się, że chromosomowy DNA jest połączony z macierzą jądrową

Każdy chromosom zajmuje w jądrze swoje własne terytorium

Każdy chromosom zawiera grupy domen powiązanych topologicznie

Izolatory wyznaczają granice domen powiązanych topologicznie

10.2. Modyfikacje nukleosomów a ekspresja genomu

Acetylacja histonów wpływa na wiele funkcji jądrowych, łącznie z ekspresją genomu

Deacetylacja histonów prowadzi do zablokowania aktywnych rejonów genomu

Acetylacja nie jest jedynym rodzajem modyfikacji histonów

Remodelowanie nukleosomów również wpływa na ekspresję genomu

10.3. Modyfikacje DNA a ekspresja genomu

Wyciszanie genomu przez metylację DNA

Metylacja wiąże się z piętnowaniem genomowym i inaktywacją chromosomu X

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

11. Rola białek wiążących DNA w ekspresji genomu

11.1. Metody badania białek wiążących DNA i ich miejsc wiązania

Krystalografia rentgenowska dostarcza danych dotyczących struktury dla każdego białka, które uda się skryształizować

Spektroskopia NMR jest wykorzystywana do badania struktury małych białek

Badanie spowolnienia migracji w żelu pozwala zidentyfikować fragmenty DNA wiążące białka

Testy ochrony przed modyfikacją precyzyjniej określają położenie miejsc wiążących białko

Nukleotydy bezpośrednio oddziałujące z białkiem można zidentyfikować, stosując test zakłócania modyfikacji

Wyszukiwanie w genomie miejsc wiążących białka

11.2. Specyficzne cechy białek wiążących DNA

Domena typu helisa–skręt–helisa występuje w białkach prokariotycznych i eukariotycznych

W białkach eukariotycznych wiążących się z DNA często występują palce cynkowe

Inne rodzaje domen wiążących kwasy nukleinowe

11.3. Oddziaływanie między DNA a wiążącymi je białkami

Bezpośredni odczyt informacji zawartej w sekwencji nukleotydów

Sekwencja nukleotydów pośrednio wpływa na strukturę helisy

Oddziaływania między DNA a białkami

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

12. Transkryptomy

12.1. Składniki transkryptomu

mRNA jest mało liczną, ale za to złożoną częścią transkryptomu

Krótkie niekodujące RNA mają różne funkcje

Długie niekodujące RNA są zagadkowymi transkryptami

Do badania zawartości transkryptomów wykorzystuje się analizy na mikromacierzach i sekwencjonowanie RNA

12.2. Synteza składników transkryptomu

Polimerazy RNA są maszynami molekularnymi do wytwarzania RNA

Miejsca rozpoczęcia transkrypcji są wskazywane przez sekwencje promotorowe

Synteza RNA bakteryjnych jest regulowana przez białka represorowe i aktywatorowe

Synteza bakteryjnego RNA jest również regulowana przez kontrolowanie terminacji transkrypcji

Synteza eukariotycznego RNA jest regulowana głównie przez białka aktywatorowe

12.3. Degradacja składników transkryptomu

Znanych jest kilka procesów nieswoistego rozkładu RNA

Wyciszanie RNA zidentyfikowano po raz pierwszy jako sposób niszczenia inwazyjnego wirusowego RNA

MikroRNA regulują ekspresję genomu, powodując degradację konkretnych docelowych mRNA

12.4. Wpływ obróbki RNA na skład transkryptomu

Szlak wycinania intronów z eukariotycznych pre-mRNA

Proces składania RNA musi mieć wysoki stopień precyzji

Elementy wzmacniaczy i wyciszaczy determinują szlaki alternatywnego składania RNA

12.5. Badania transkryptomów

Analizy transkryptomów jako narzędzie do anotacji genomu

Transkryptomy komórek nowotworowych

Badania transkryptomów w odpowiedzi roślin na stres

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

13. Proteomy

13.1. Badanie składu proteomu

Etap rozdziału białek w analizie profili białkowych

Etap identyfikacji białek w analizie profili białkowych

Porównywanie składu dwóch proteomów

Analityczne mikromacierze białkowe są alternatywną metodą w analizie profili białkowych

13.2. Identyfikacja białek, które oddziałują ze sobą

Identyfikacja par oddziałujących ze sobą białek

Identyfikacja składników kompleksów zbudowanych z wielu białek

Identyfikacja interakcji funkcjonalnych

Mapy interakcji białko–białko pokazują oddziaływanie w proteomie

13.3. Synteza i degradacja składników proteomu

Rybosomy są molekularnymi maszynami wytwarzającymi białka

Bakterie w czasie stresu inaktywują rybosomy, by zredukować swój proteom

Czynniki inicjacyjne pośredniczą w przebudowie proteomu eukariotycznego na dużą skalę

Translacja poszczególnych mRNA może być również regulowana specyficznie

Degradacja składników proteomu

13.4. Wpływ procesów dojrzewania białek na skład proteomu

Sekwencja aminokwasowa białka zawiera instrukcję jego fałdowania

Niektóre białka są aktywowane przez cięcie proteolityczne

Istotne zmiany w aktywności białka mogą wynikać z modyfikacji chemicznych

13.5. Wyjść poza proteom

Metabolom jest kompletnym zbiorem metabolitów występujących w komórce

Biologia systemów umożliwia opisanie aktywności komórki w sposób zintegrowany

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

14. Ekspresja genomu w kontekście komórek i organizmów

14.1. Odpowiedź genomu na sygnały zewnętrzne

Przesyłanie sygnału przez import zewnątrzkomórkowego związku sygnalizującego

Białka receptorowe przenoszą sygnały przez błony komórkowe

Niektóre szlaki przekazywania sygnału mają tylko kilka etapów między receptorem a genomem

Niektóre szlaki przekazywania sygnału mają wiele etapów między receptorem a genomem

Niektóre szlaki przekazywania sygnału działają za pośrednictwem przekaźników wtórnych

14.2. Zmiany w aktywności genomu prowadzące do różnicowania komórkowego

Niektóre procesy różnicowania obejmują zmiany w strukturze chromatyny

Typy płciowe drożdży są determinowane przez konwersję genu

Rearanżacje genomu są odpowiedzialne za różnorodność immunoglobulin i receptorów komórek T

14.3. Zmiany w aktywności genomu leżące u podstaw rozwoju

Bakteriofag λ : przełącznik genetyczny umożliwia dokonanie wyboru między alternatywnymi szlakami rozwojowymi

Sporulacja u *Bacillus*: koordynacja aktywności dwóch odrębnych typów komórek

Caenorhabditis elegans: podstawa genetyczna informacji pozycyjnej i określania losu komórek

Muszka owocowa: przekształcenie informacji pozycyjnej w plan segmentacji ciała

Udział genów homeotycznych jest uniwersalną cechą rozwoju wyższych eukariontów

Geny homeotyczne leżą również u podstaw rozwoju u roślin

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

CZEŚĆ IV - replikacja i ewolucja genomów

15. Replikacja genomu

15.1. Topologia replikacji genomu

Struktura podwójnej helisy utrudnia proces replikacji

Doświadczenie Meselsona–Stahla dowiodło semikonserwatywności replikacji

Odkrycie topoizomerasz DNA pozwoliło na rozwiązanie problemu topologicznego

Wariacje na temat replikacji semikonserwatywnej

15.2. Faza inicjacji replikacji genomu

Inicjacja replikacji DNA w komórkach E. coli

Obszary inicjacji replikacji DNA w komórkach drożdży są równie dobrze poznane

Identyfikacja miejsc inicjacji replikacji DNA w komórkach wyższych eukariontów okazała się znacznie trudniejsza

15.3. Zjawiska zachodzące w obrębie widełek replikacyjnych

Polimerazy DNA to maszyny molekularne produkujące (i degradujące) DNA

Ograniczenia polimeraz DNA utrudniające replikację genomu

Do ukończenia replikacji nici opóźnionej konieczne jest połączenie fragmentów Okazaki

15.4. Terminacja replikacji genomu

Terminacja replikacji genomu E. coli zachodzi w ściśle określonym obszarze

Niewiele wiadomo o terminacji replikacji w komórkach eukariontów

W niektórych komórkach to telomeraza kończy replikację cząsteczek chromosomowego DNA

Wpływ długości telomerów na procesy starzenia komórkowego i nowotworzenia

Unikalne rozwiązanie problemu skracania telomerów w komórkach *Drosophila*

15.5. Regulacja replikacji genomu eukariotycznego

Replikacji genomu wymaga synchronizacji z cyklem komórkowym

Warunkiem przejścia punktu kontrolnego G1-S jest udzielenie miejscom inicjacji „licencji na replikację”

Nie wszystkie miejsca inicjacji replikacji są wykorzystywane jednocześnie

Komórka ma różne opcje na wypadek uszkodzenia genomu

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

16. Mutacje i naprawa DNA

16.1. Przyczyny mutacji

Błędy w replikacji są źródłem mutacji punktowych

Błędy w replikacji mogą też doprowadzić do mutacji typu insercji i delecji

Mutacje są również wywoływane przez mutageny chemiczne i fizyczne

16.2. Naprawa mutacji i innych typów uszkodzeń DNA

Systemy naprawy bezpośrednio wypełniają pęknięcia i korygują niektóre rodzaje modyfikacji nukleotydów

Wycinanie zasad naprawia wiele rodzajów uszkodzonych nukleotydów

Naprawa przez wycinanie nukleotydów koryguje bardziej rozległe uszkodzenia

Naprawa błędnie sparowanych nukleotydów poprawia błędy replikacji

Pęknięcia jedno- i dwuniciowe mogą być naprawiane

Uszkodzenia DNA mogą być pomijane podczas replikacji genomu

Defekty w naprawie DNA stanowią podłoże chorób człowieka, w tym nowotworów

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

17. Rekombinacja i transpozycja

17.1. Rekombinacja homologiczna

Modele rekombinacji homologicznej Hollidaya i Meselsona-Raddinga

Model pęknięć dwuniciowych w rekombinacji homologicznej

RecBCD jest najważniejszym szlakiem rekombinacji homologicznej u bakterii

E. coli może także przeprowadzać rekombinację homologiczną za pomocą szlaku RecFOR

Szlaki rekombinacji homologicznej u eukariontów

Główną rolą rekombinacji DNA jest naprawa DNA

17.2. Rekombinacja umiejscowiona

Bakteriofag λ wykorzystuje rekombinację umiejscowioną podczas cyklu lizogennej infekcji

Rekombinacja umiejscowiona jest pomocnym narzędziem w konstruowaniu roślin modyfikowanych genetycznie

17.3. Transpozycja

Transpozycja replikatywna i konserwatywna transpozonów DNA

Retroelementy podlegają transpozycji replikatywnej za pośrednictwem kopii RNA

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

18. Drogi ewolucji genomów

18.1. Genomy: pierwsze 10 miliardów lat

Pierwsze systemy biochemiczne opierały się na RNA

Pierwsze genomy zbudowane z DNA

W jakim stopniu życie jest niepowtarzalne?

18.2. Ewolucja coraz bardziej złożonych genomów

Sekwencje genomów kryją wiele śladów dawnych duplikacji genów

Duplikacja genu może zajść na skutek wielu różnych procesów

Możliwa jest też duplikacja całego genomu

W różnych genomach, w tym w genomie człowieka, można odnaleźć też ślady mniejszych duplikacji

Prokaryoty i eukaryoty mogą nabywać geny od innych gatunków

W ewolucji genomu następują również rearanżacje istniejących genów

Konkurencyjne hipotezy wyjaśniają pochodzenie intronów

Ewolucja epigenomu

18.3. Genomy: ostatnie 6 milionów lat

Genomy człowieka i szympansa są bardzo do siebie podobne

Paleogenomika pomaga zrozumieć niedawną ewolucję genomu człowieka

18.4. Genomy dziś: zróżnicowanie populacji

Pochodzenia HIV i AIDS

Pierwsze migracje ludzi z Afryki

Różnorodność genomów ułatwia uprawę roślin

Podsumowanie

Krótkie pytania otwarte

Pytania problemowe

Literatura uzupełniająca

Słowniczek

Przypisy