

Genetyka ogólna

wykład dla studentów II roku biotechnologii

Andrzej Wierzbicki

Uniwersytet Warszawski

Wydział Biologii

andw@ibb.waw.pl

<http://arete.ibb.waw.pl/private/genetyka/>

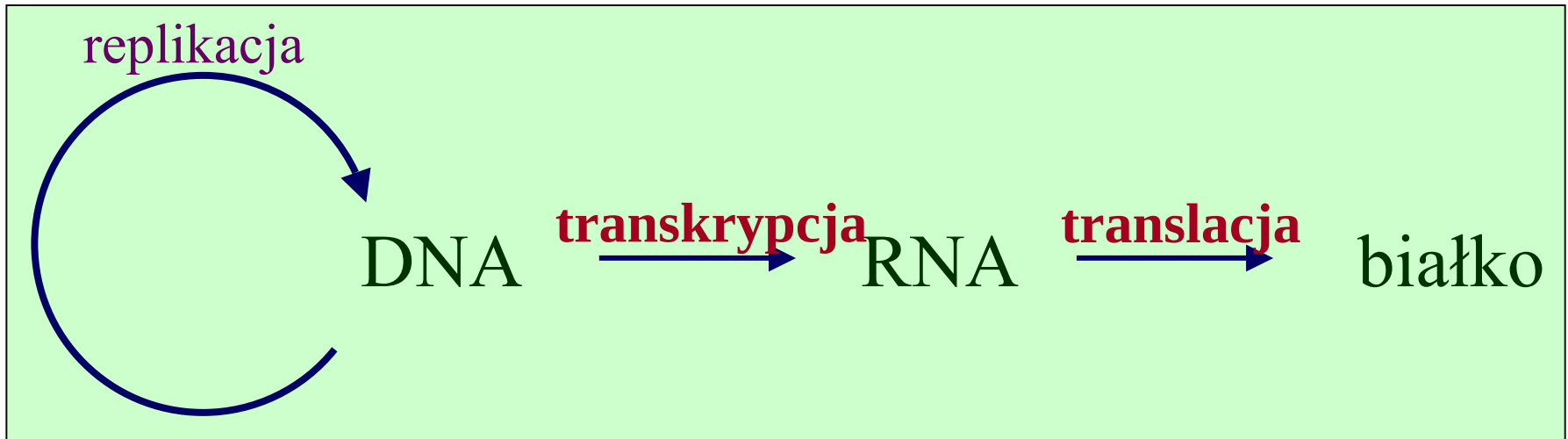
Droga od genu do białka

- Sekwencja DNA określa sekwencję białka.
- Kod genetyczny jest trójkowy, bezprzecinkowy, niezachodzący, zdegenerowany i uniwersalny.
- Pośrednikiem między DNA a białkiem jest RNA.
- Jak na matrycy DNA produkowany jest RNA?
- Co dzieje się z RNA?
- Jak na matrycy RNA produkowane jest białko?

Przepływ informacji genetycznej

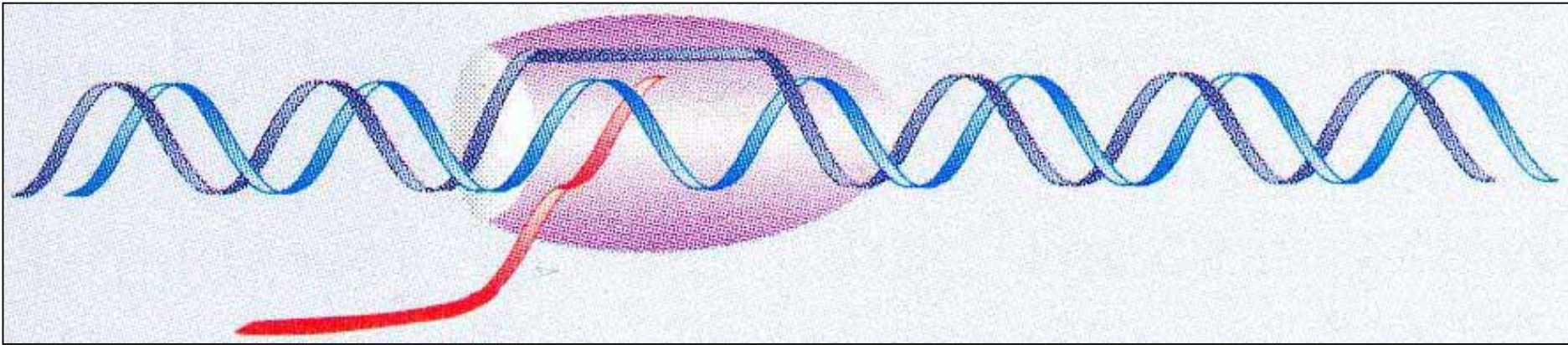
Trzy procesy przekazywania informacji

- replikacja (DNA - DNA)
- transkrypcja (DNA - RNA)
- translacja (RNA - białko)



Przebieg procesu transkrypcji - główne punkty

- synteza RNA na matrycy DNA dokonywana jest przez polimerazę RNA
- początek i koniec transkrypcji regulują sekwencje DNA i wiążące się do nich białka
- synteza RNA zachodzi od końca 5' do 3'



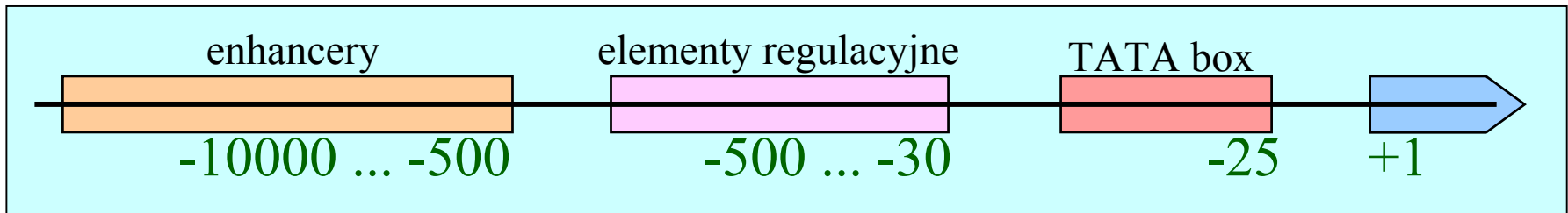
Sekwencje regulatorowe

Sekwencje regulujące inicjację transkrypcji

- sekwencje -35 i -10 *E.coli*

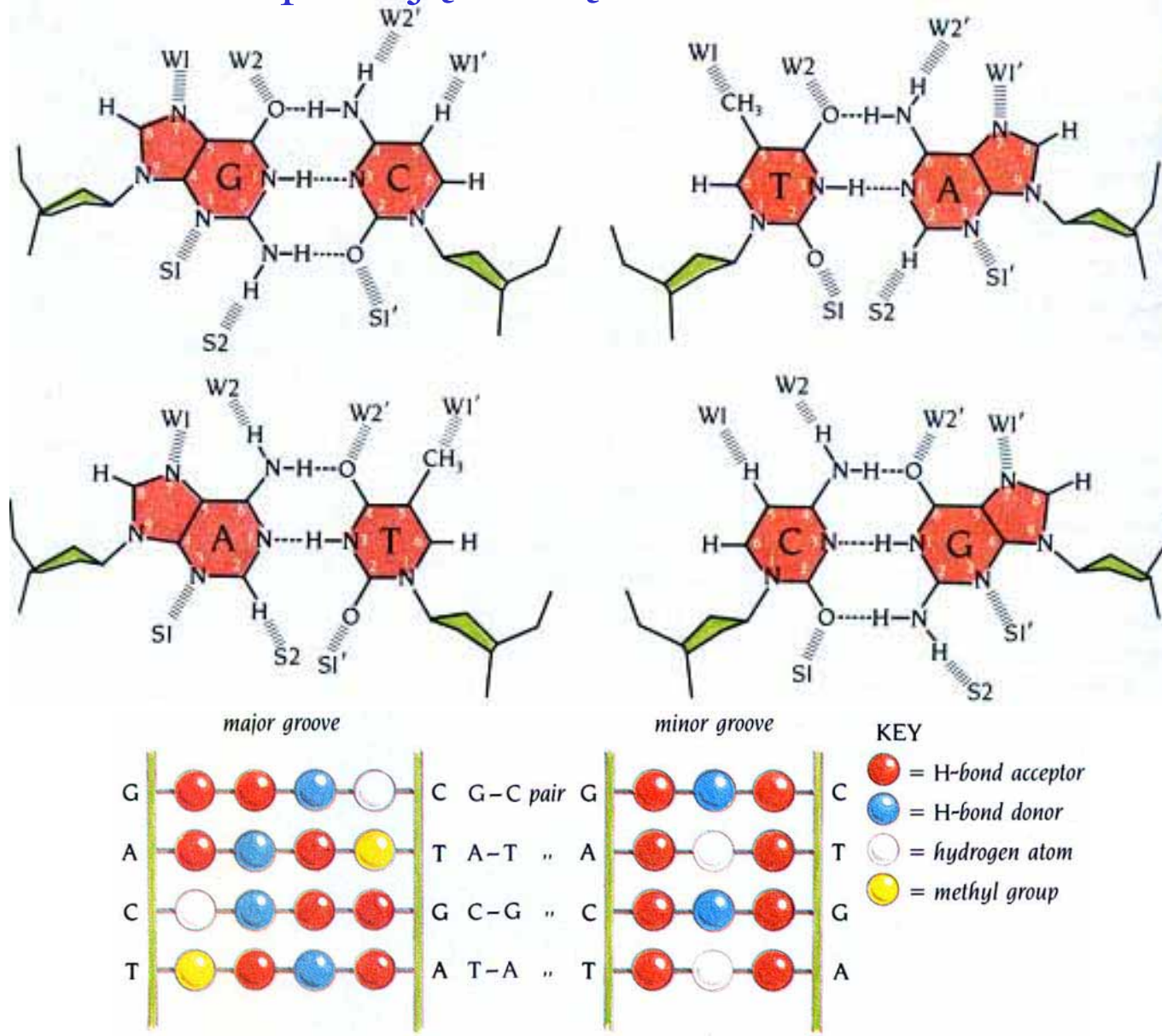
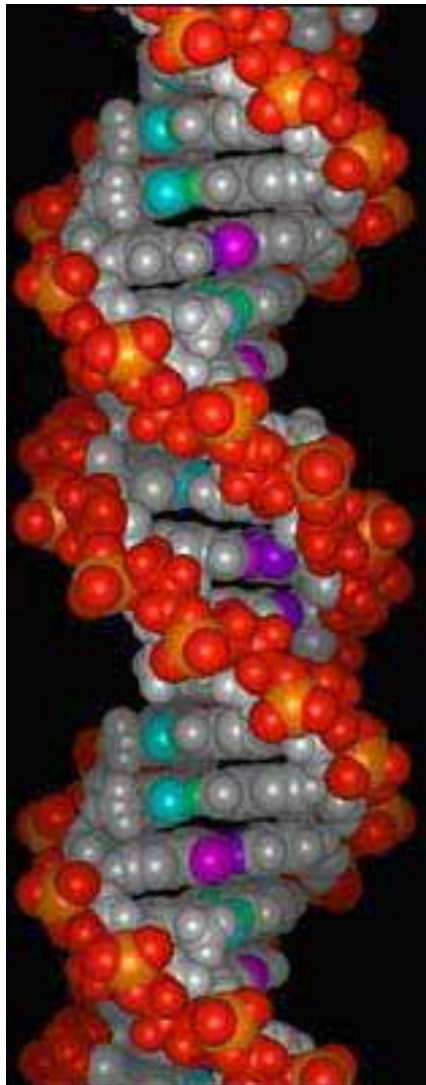
TTGACA-----16-18pz-----TATAAT---5-8pz---C(G/A)T
-35 -10 +1

- sekwencje TATA box, elementy regulacyjne i enhancery u *Eucaryota*

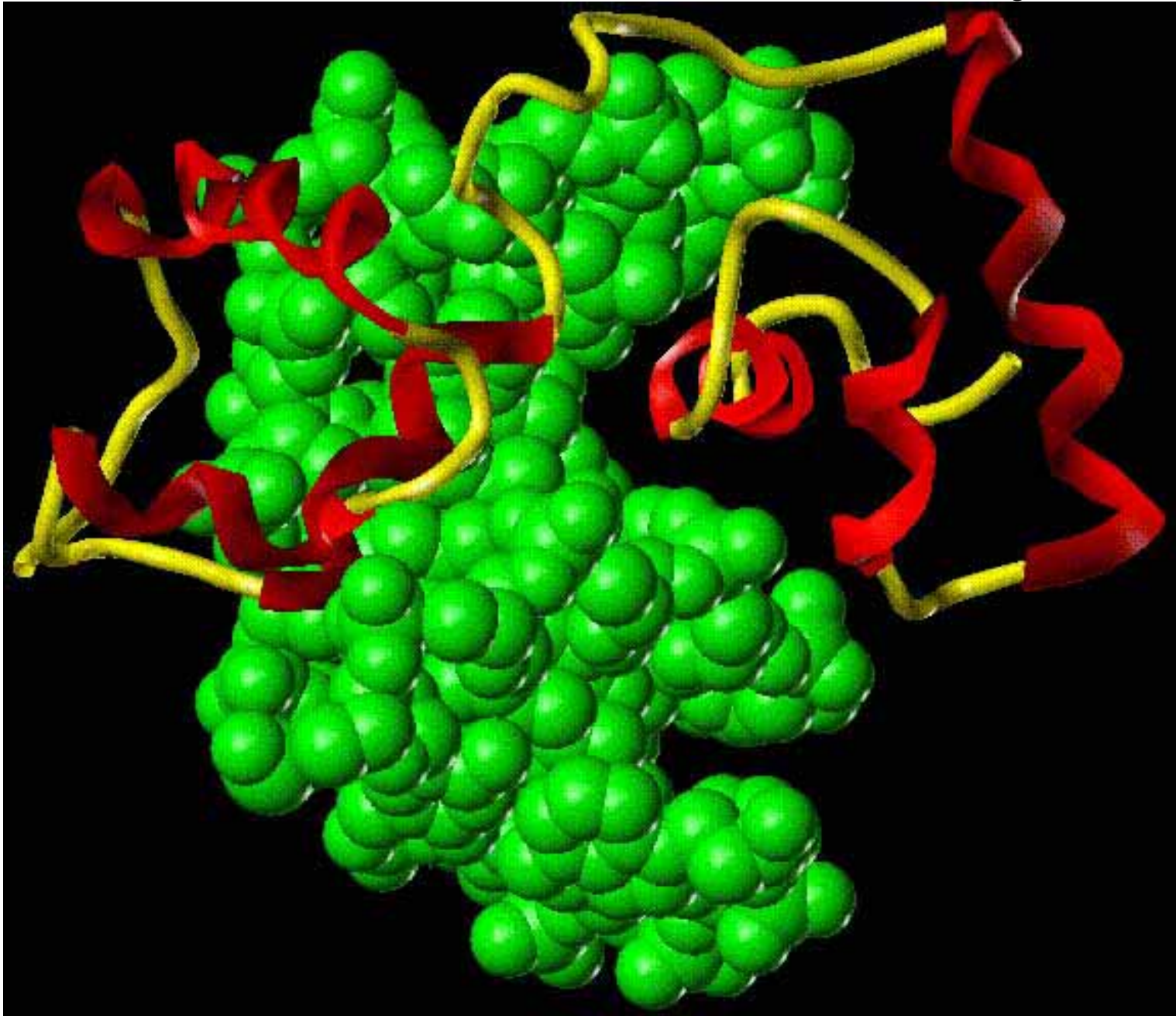


Białka oddziałujące z DNA

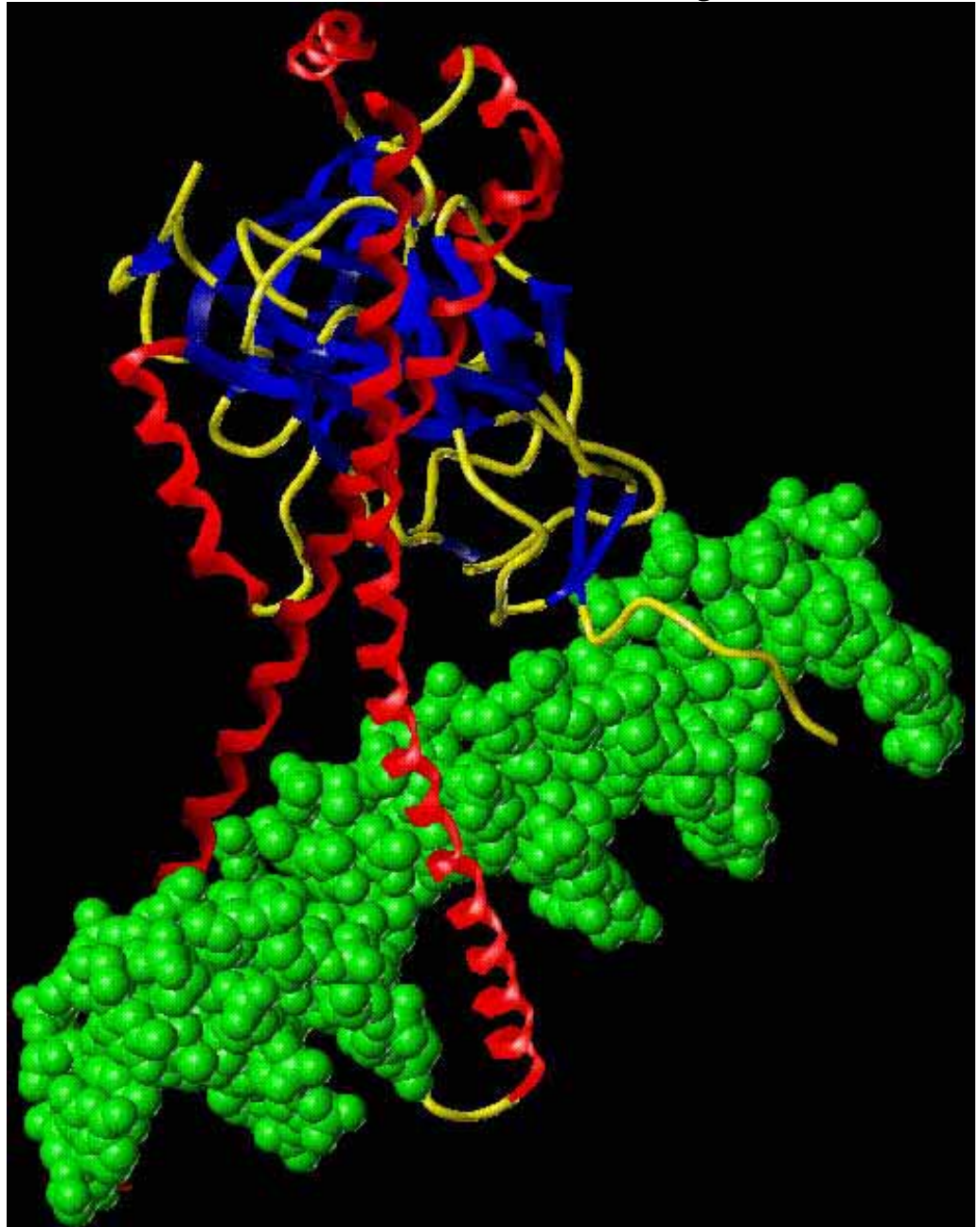
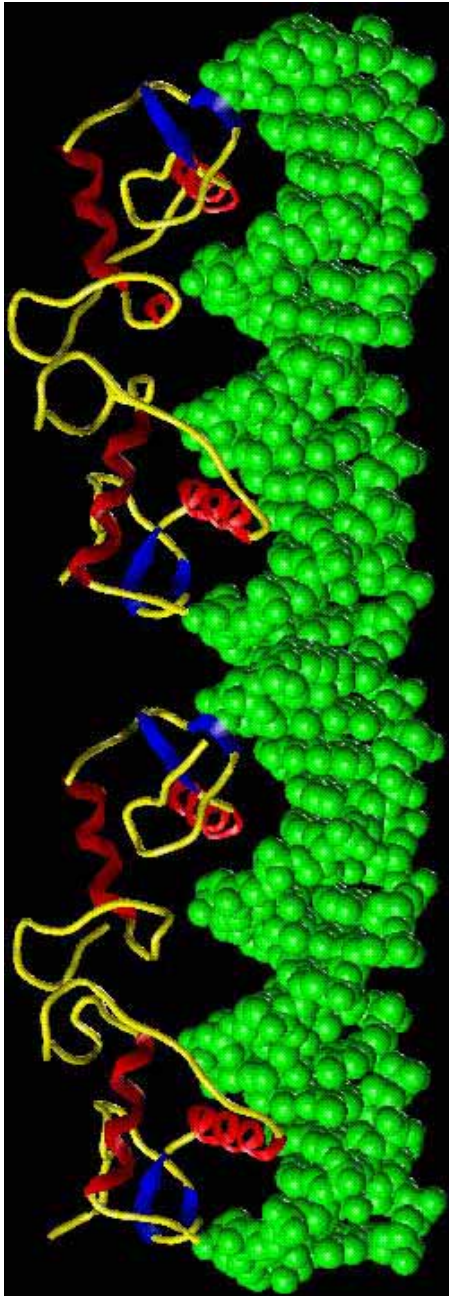
Białka oddziałujące z DNA rozpoznają krawędzie zasad w brzdach podwójnej helisy



Białka oddziałujące z DNA



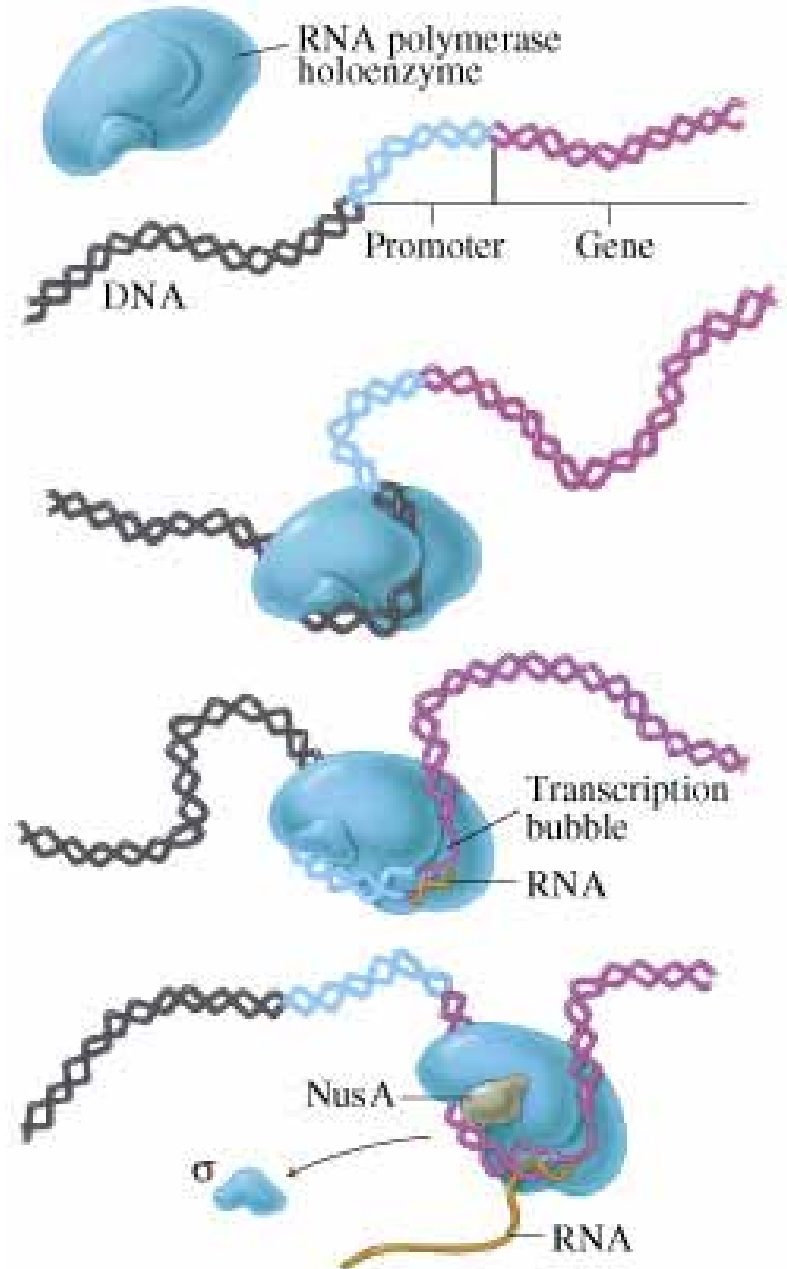
Białka oddziałujące z DNA



Inicjacja transkrypcji

Przebieg inicjacji transkrypcji *E. coli*

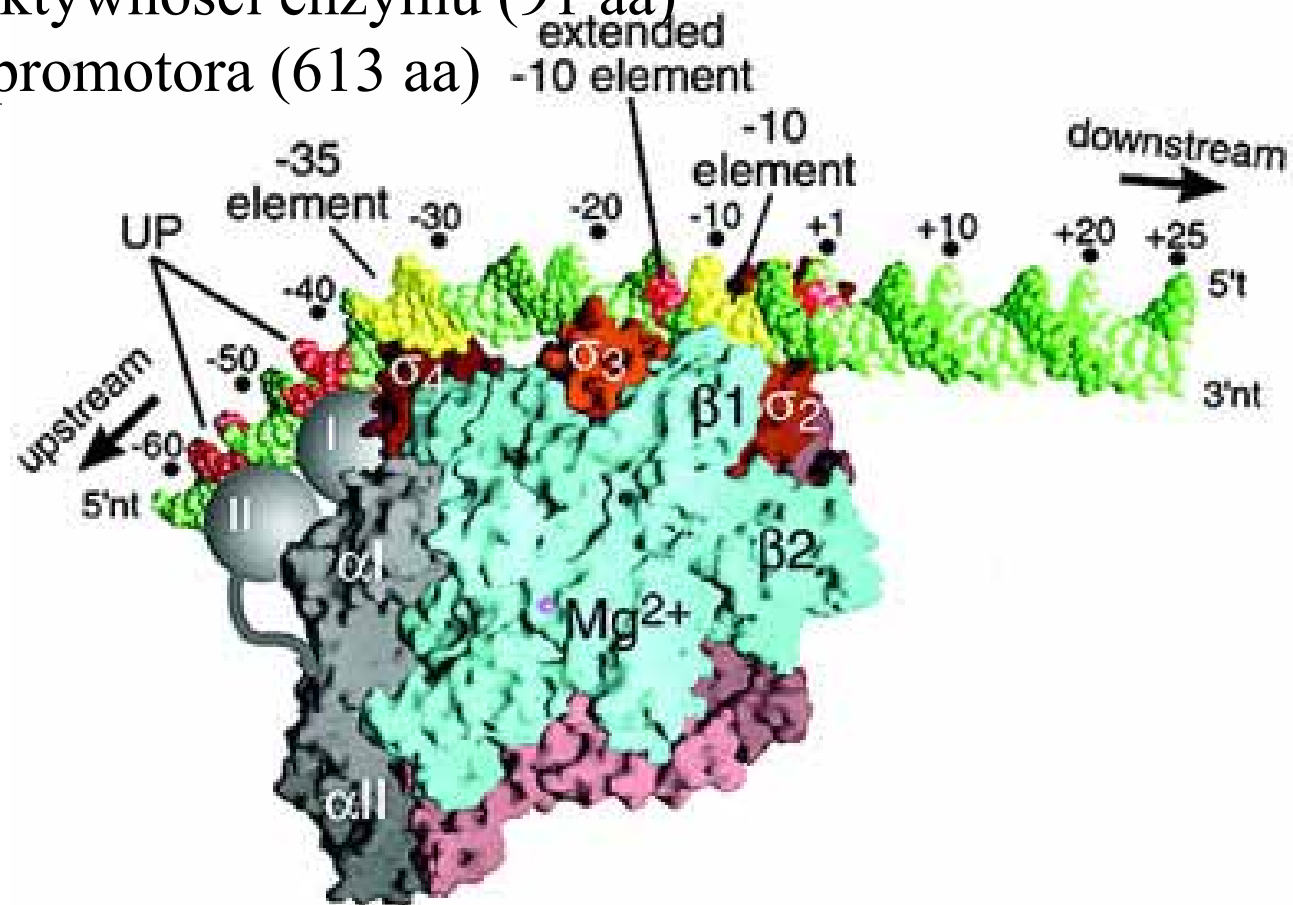
- niespecyficzne wiązanie holoenzymu polimerazy do DNA
- szukanie promotora na DNA
- związanie z promotorem
- rozplecenie DNA
- rozpoczęcie syntezy RNA



Holoenzym bakteryjnej polimerazy RNA

Podjednostki polimerazy bakteryjnej

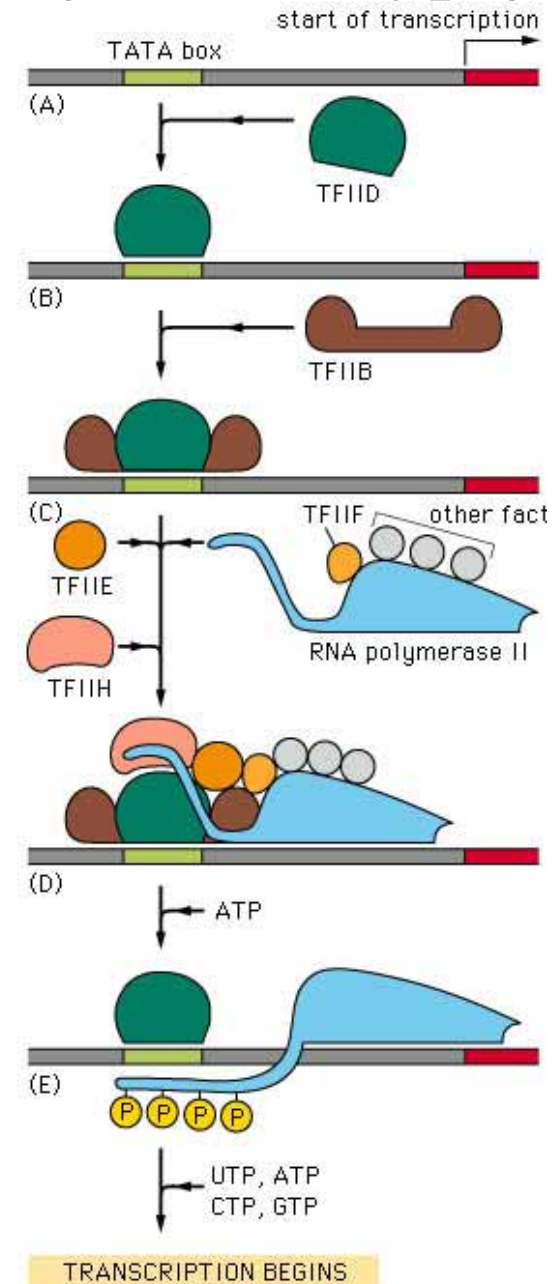
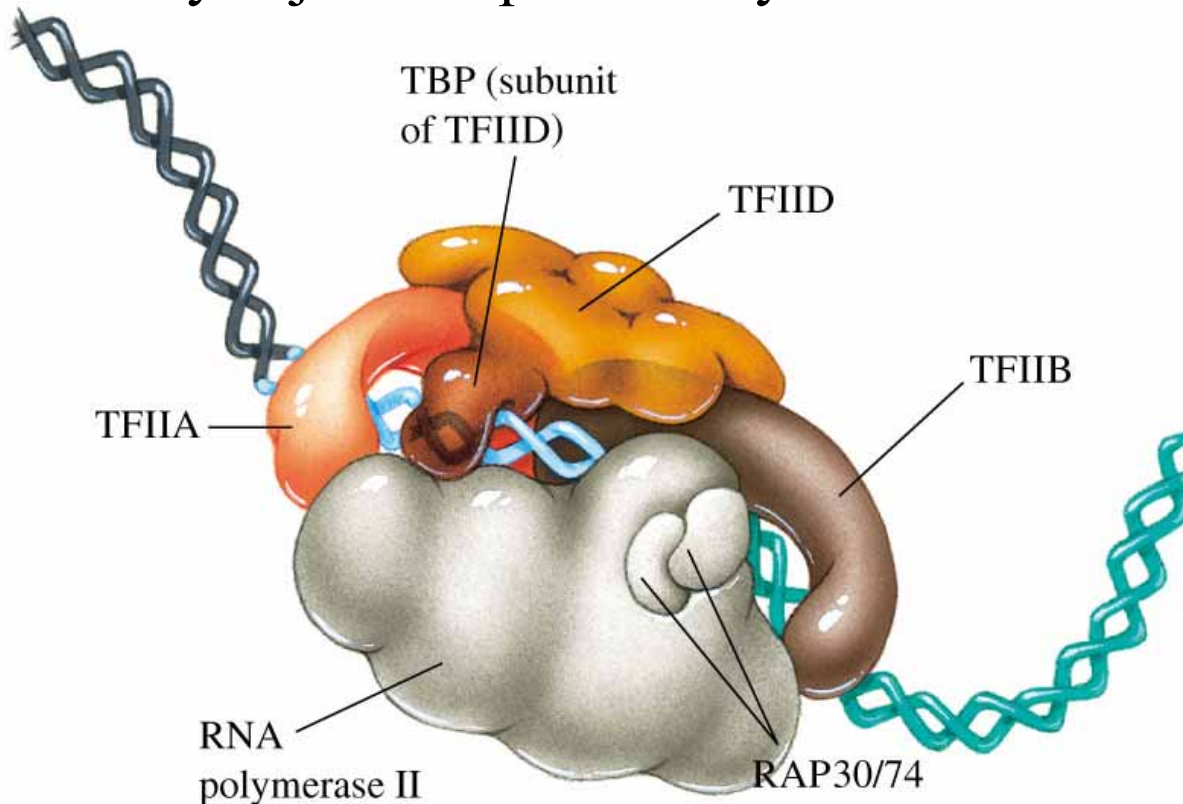
- α - składanie enzymu (329 aa)
- β - podjednostka katalityczna (1342 aa)
- β' - wiązanie z DNA (1407 aa)
- ω - utrzymywanie aktywności enzymu (91 aa)
- σ - rozpoznawanie promotora (613 aa)



Inicjacja transkrypcji

Przebieg inicjacji transkrypcji u *Eucaryota*

- wiązanie TBP do promotora
- wiązanie pozostałych ogólnych czynników transkrypcyjnych
- wiązanie polimerazy RNA
- fosforylacja CTD polimerazy



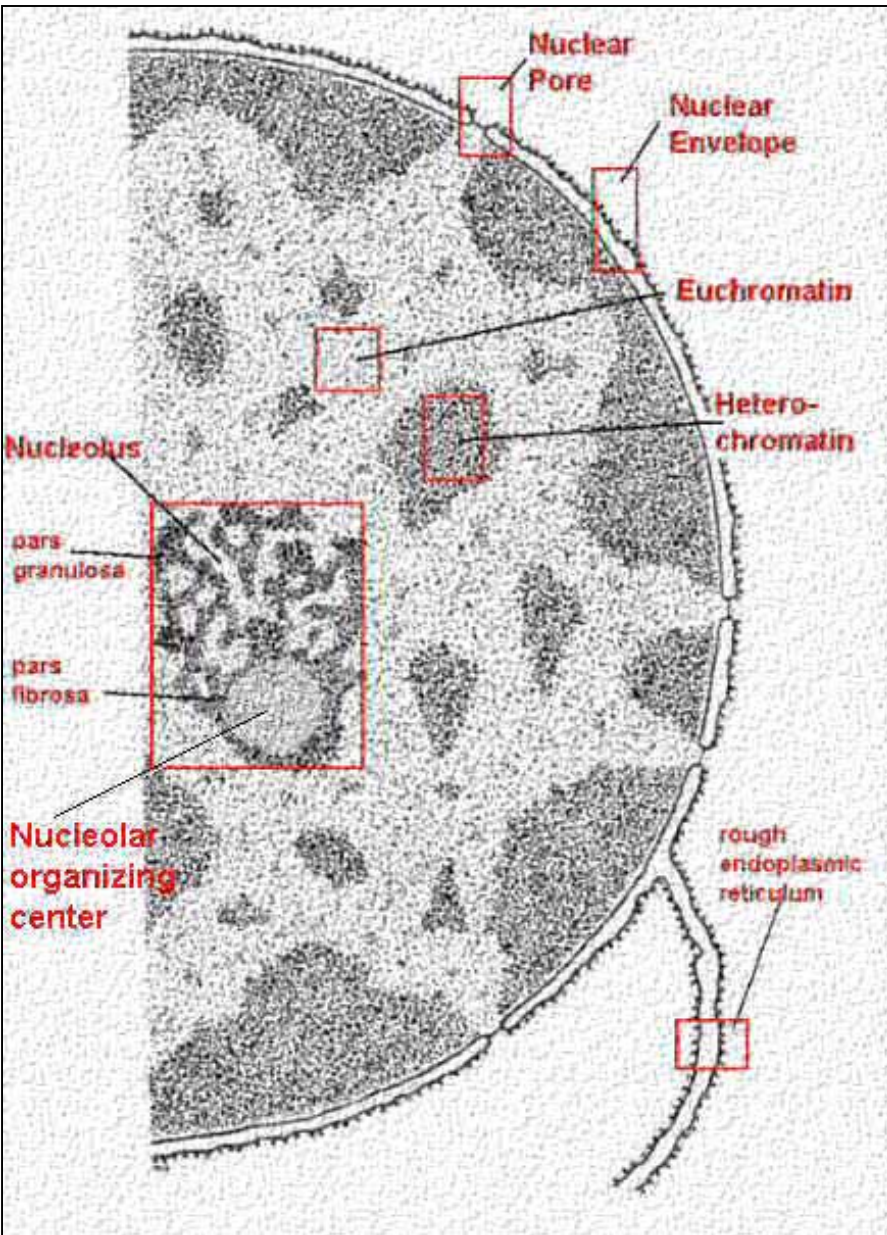
Eukariotyczne polimerazy RNA

U *Eucaryota* są trzy główne jądrowe polimerazy RNA

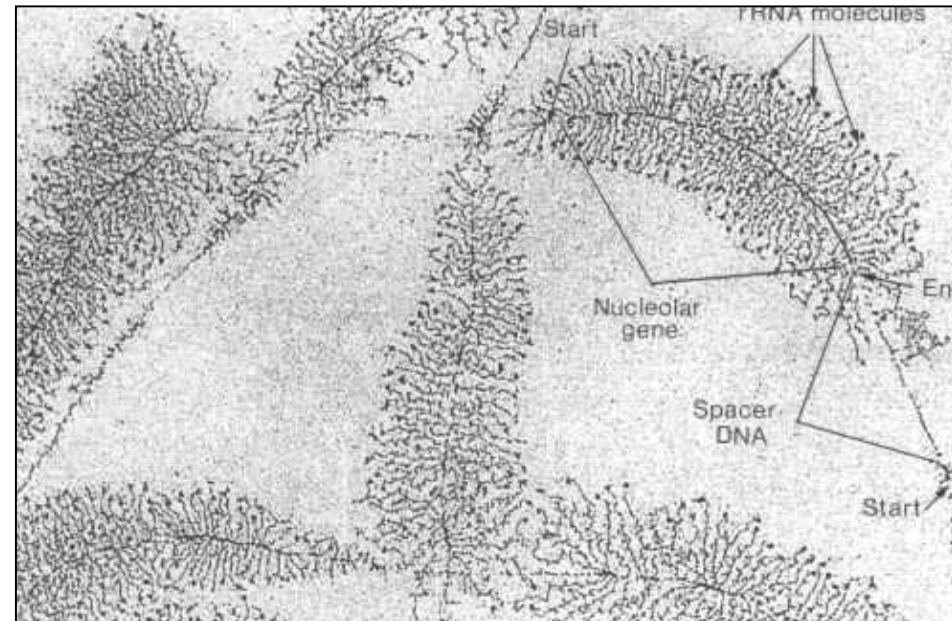
- polimeraza I - rybosomalne RNA
- polimeraza II - geny kodujące białka
- polimeraza III - geny tRNA i 5S rRNA

Rybosomalne RNA

- strukturalne składniki rybosomów
- kodowane przez zespoły genów tworzące jąderka
- potrzebne w ogromnych ilościach



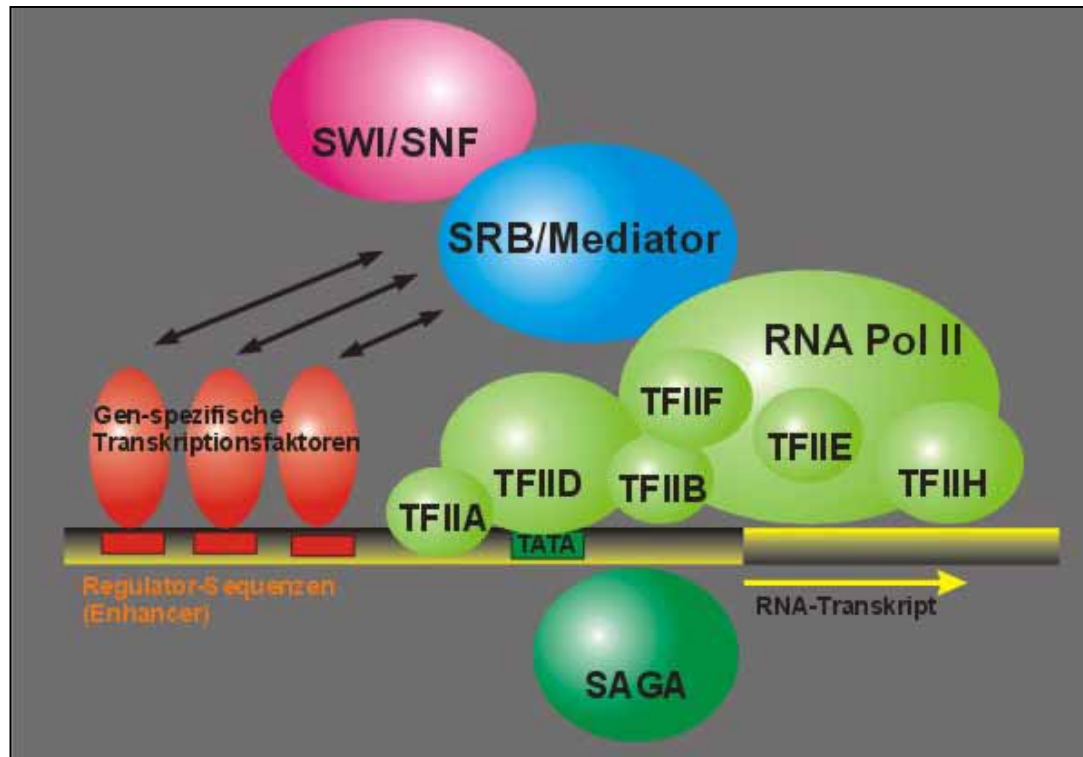
elementy jądra komórkowego



transkrypcja rybosomalnego RNA

Transkrypcja genów kodujących białka

- zdecydowana większość genów koduje białka
- aktywność regulowana przez sekwencje TATA box, elementy regulacyjne i enhancery
- mRNA powstaje z transkryptu w wyniku dojrzewania



Transkrypcja genów 5S rRNA i tRNA

- 5S rRNA - rRNA produkowany niezależnie poza jądrem
- tRNA - cząsteczki biorące udział w syntezie białek
- promotory często w obrębie transkryptu

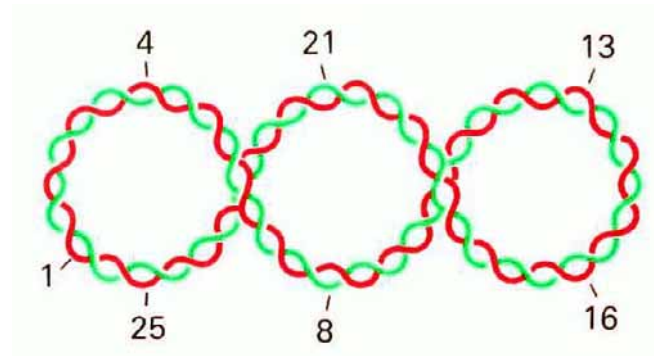
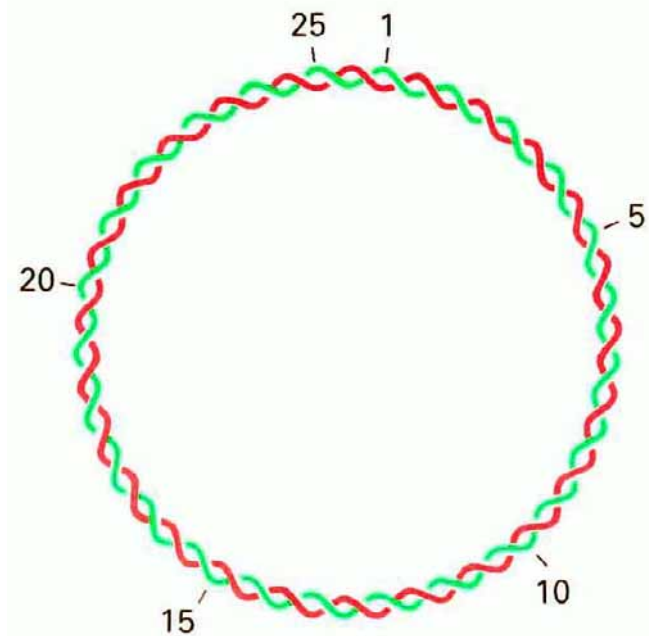
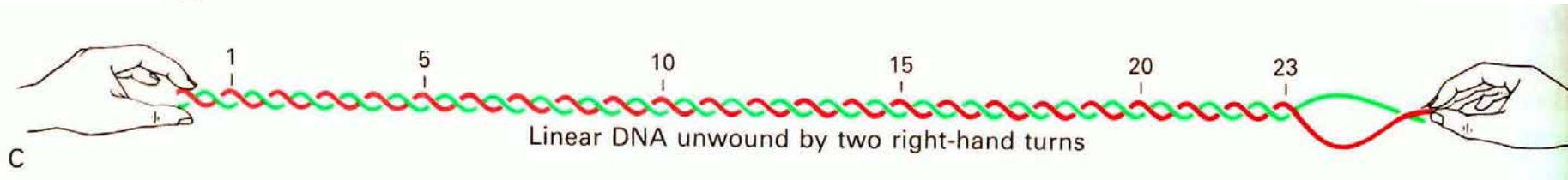
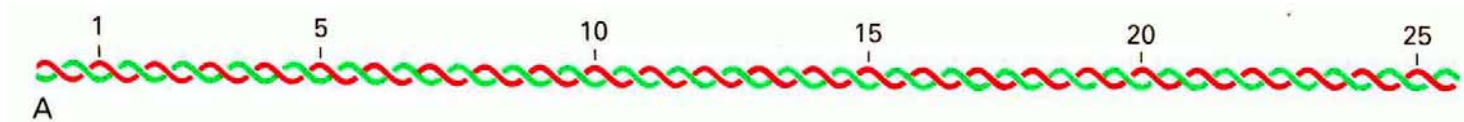
Elongacja transkryptu

Elongacja - sam proces syntezy RNA na matrycy DNA

- synteza z ATP, TTP, GTP i CTP (źródło energii)
- dołączania nowego nukleotydu zawsze do końca 3'
- konieczność rozplatania podwójnej helisy DNA

Topologia DNA

Superhelikalne formy DNA



Terminacja transkrypcji

Sygnały powodujące zakończenie transkrypcji

- struktura spinki do włosów
- miejsce terminacji zależnej od **rho**
- sygnał poliadenylacji

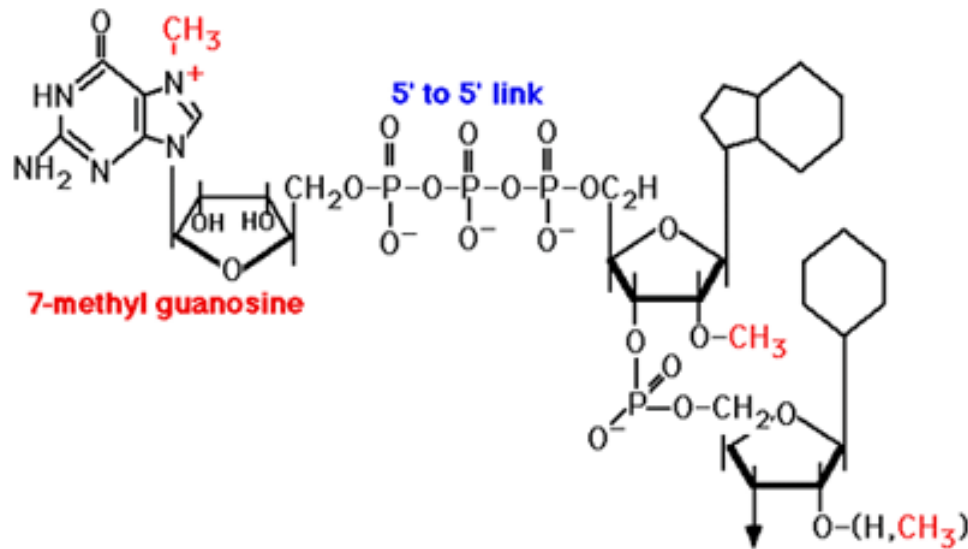
Modyfikacje jakim ulega pre-mRNA

- dołączanie czapeczki na 5' końcu
- poliadenylacja 3' końca
- splicing
- redagowanie

Dołączanie czapeczki na 5' końcu

czapeczka

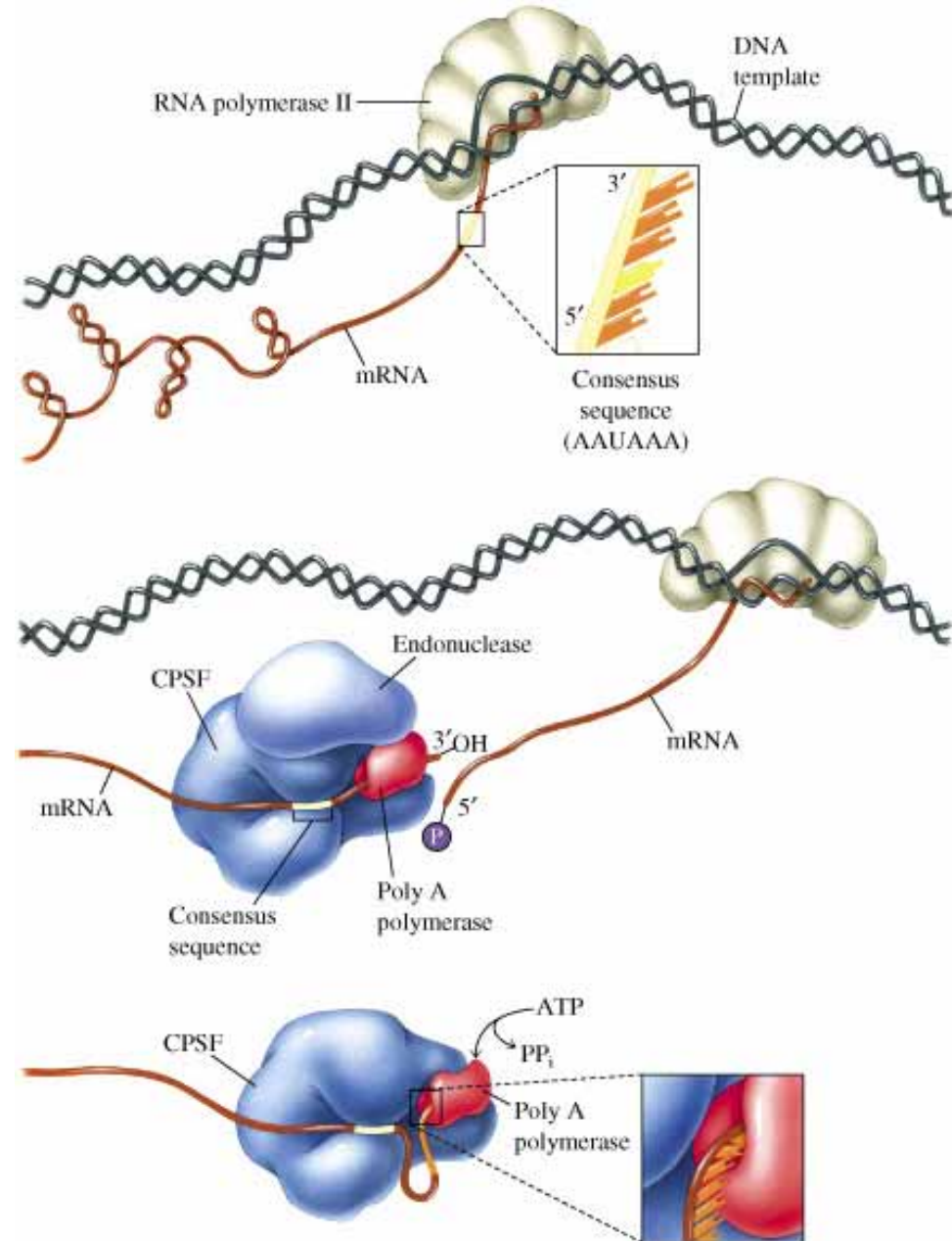
- zabezpieczenie przed degradacją przez egzonukleazy
- guanozyna
- wiązanie 5'-5'



Poliadenylacja 3' końca

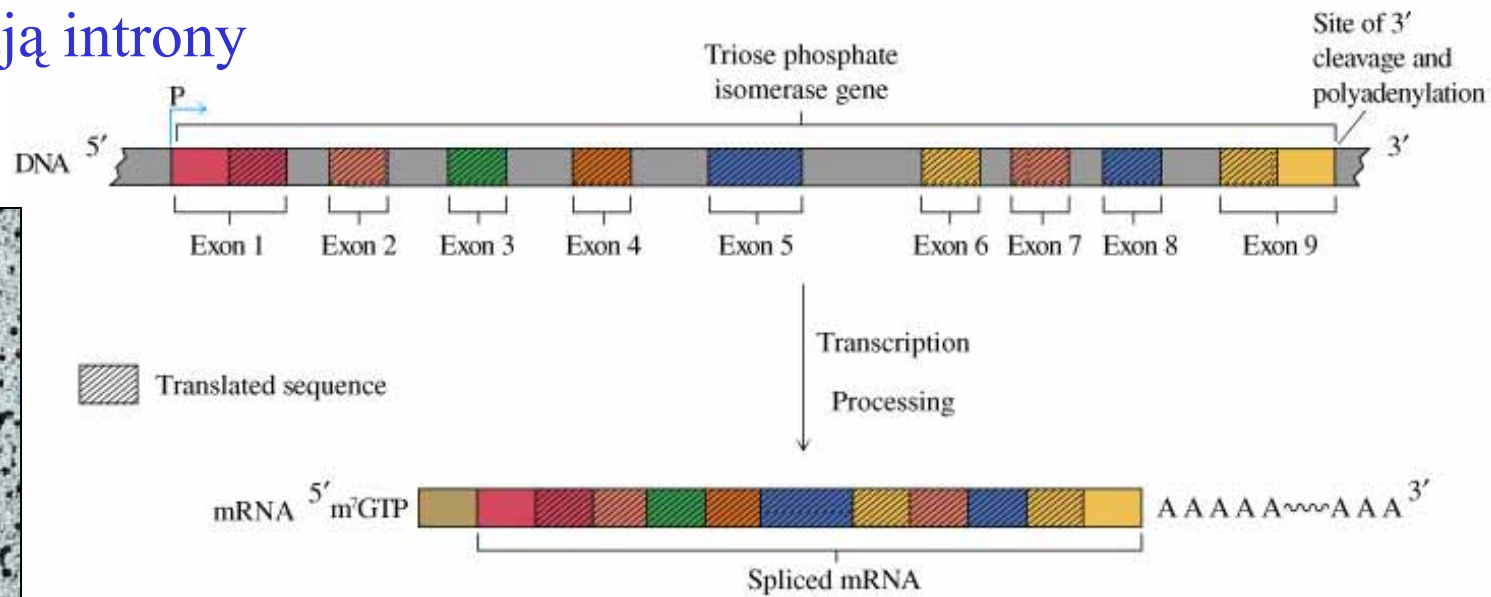
Poli A

- zwiększa stabilność RNA
- ~200 Adenin dodanych potranskrypcyjnie
- miejsce wyznaczone przez sekwencję

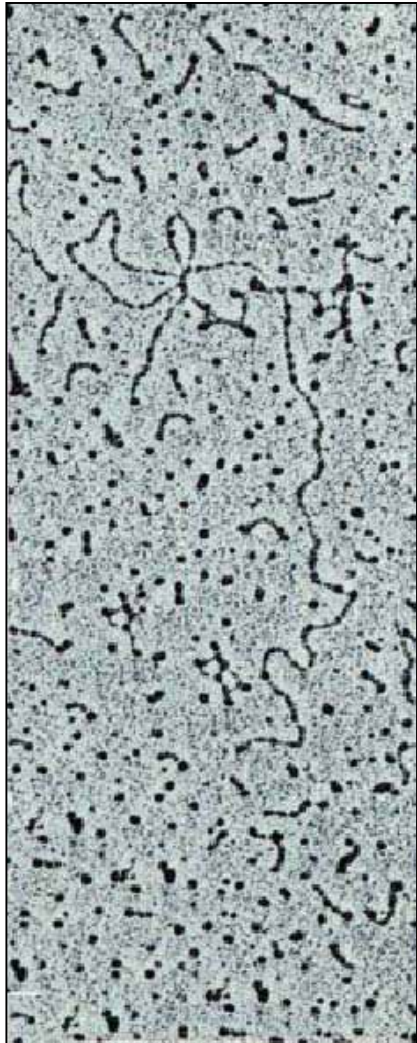
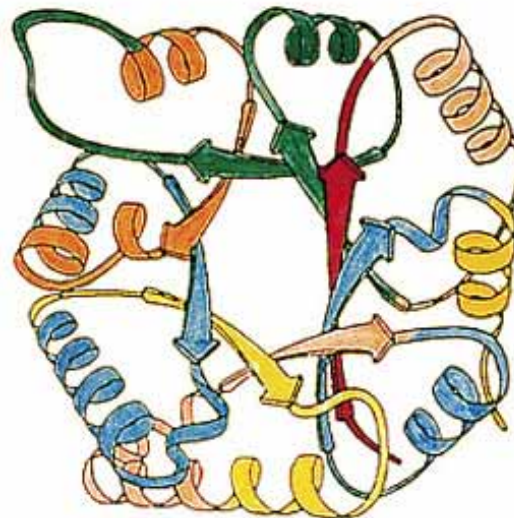


Splicing

Geny zawierają introny

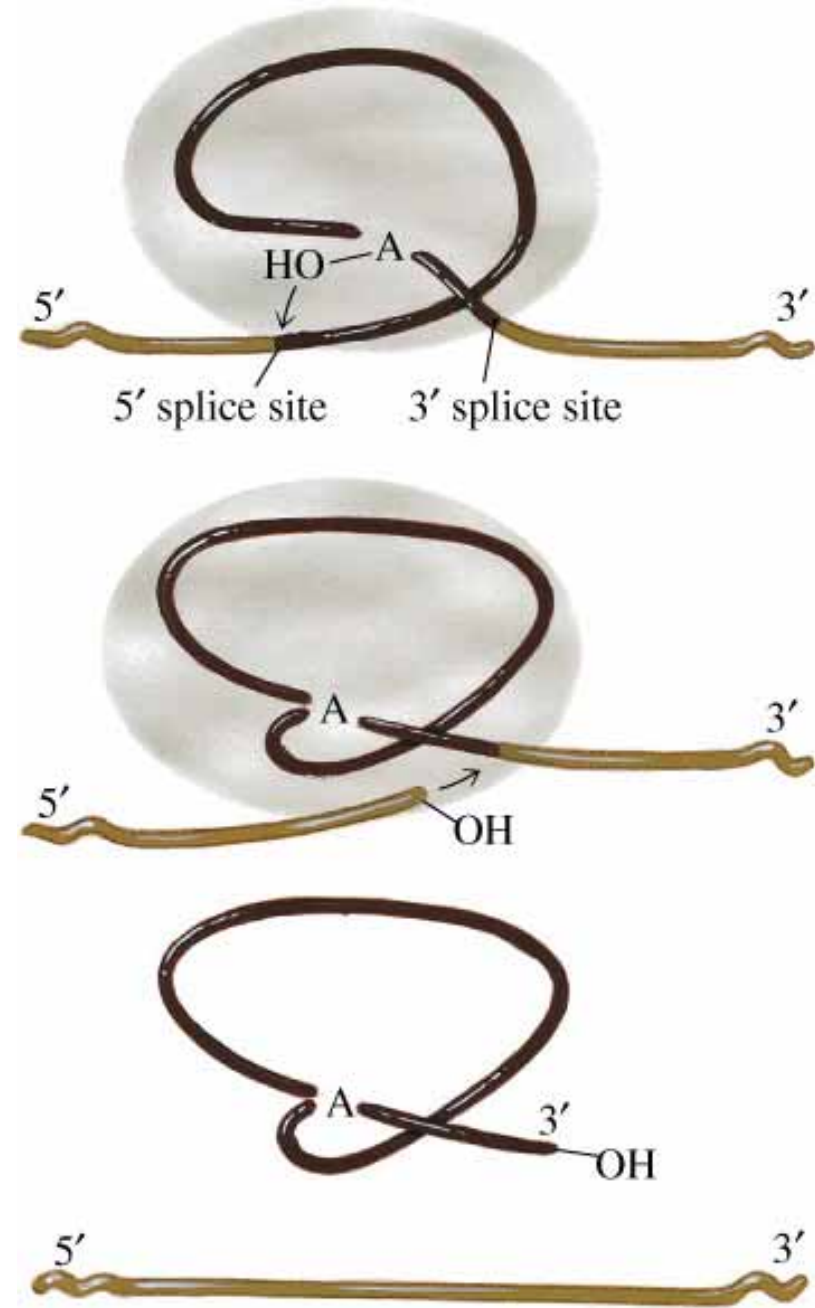


(b)



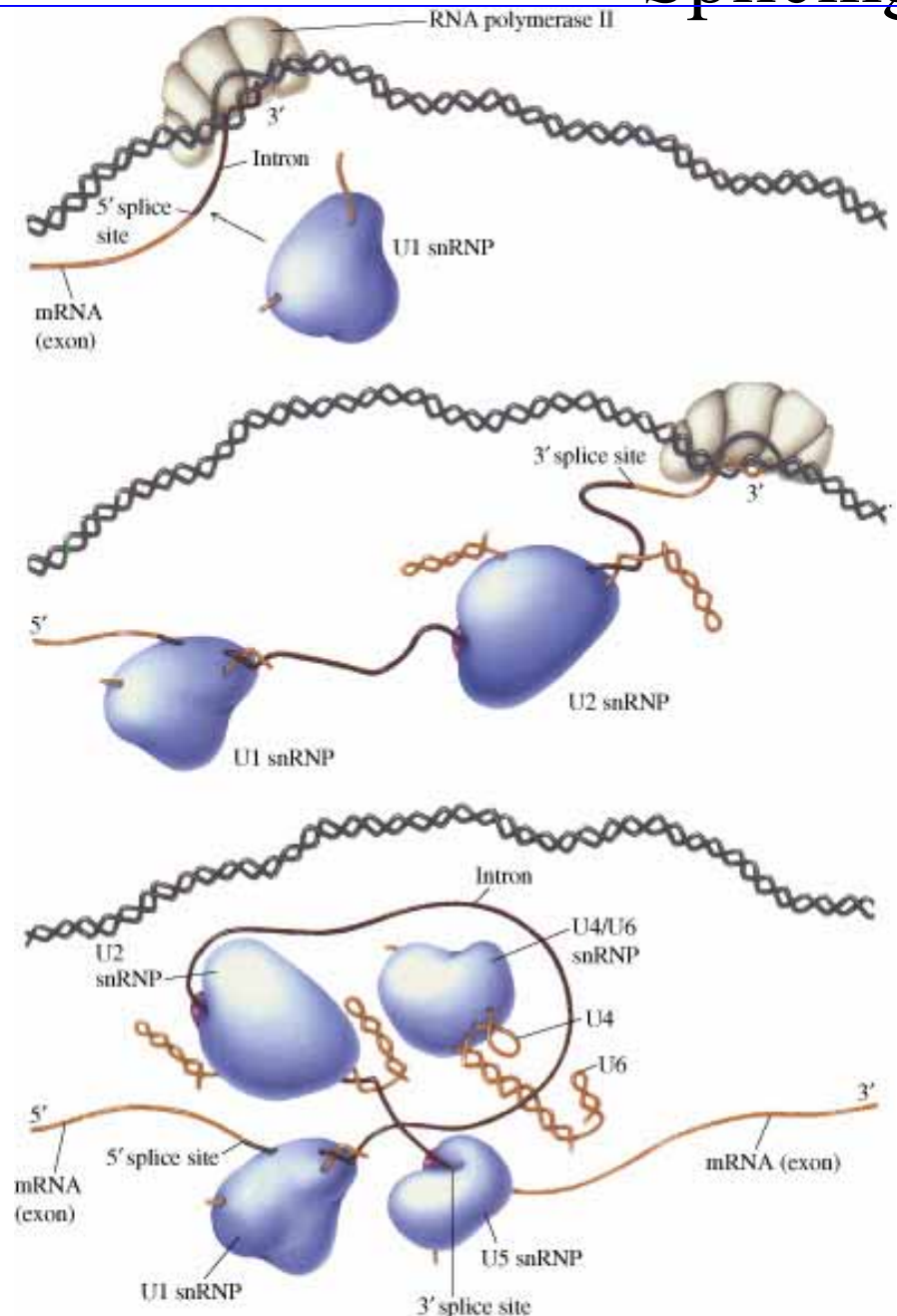
Mechanizm splicingu

- miejsce wyznaczają słabo konserwowane sekwencje
- najpierw koniec 5' intronu dołącza się do sekwencji rozgałęzienia tworząc cząsteczkę w kształcie lasa
- potem miejsce splicingowe 3' jest rozcinane i koniec 3' pierwszego egzonu przyłącza się do końca 5' drugiego egzonu



Mechanizm splicingu

- splicing jest katalizowany przez cząsteczki snRNA (small nuclear ribonucleo protein)
- obecne w nich RNA rozpoznają miejsca splicingowe i miejsce rozgałęzienia
- kompleks pre-mRNA i snRNP tworzy spliceosom

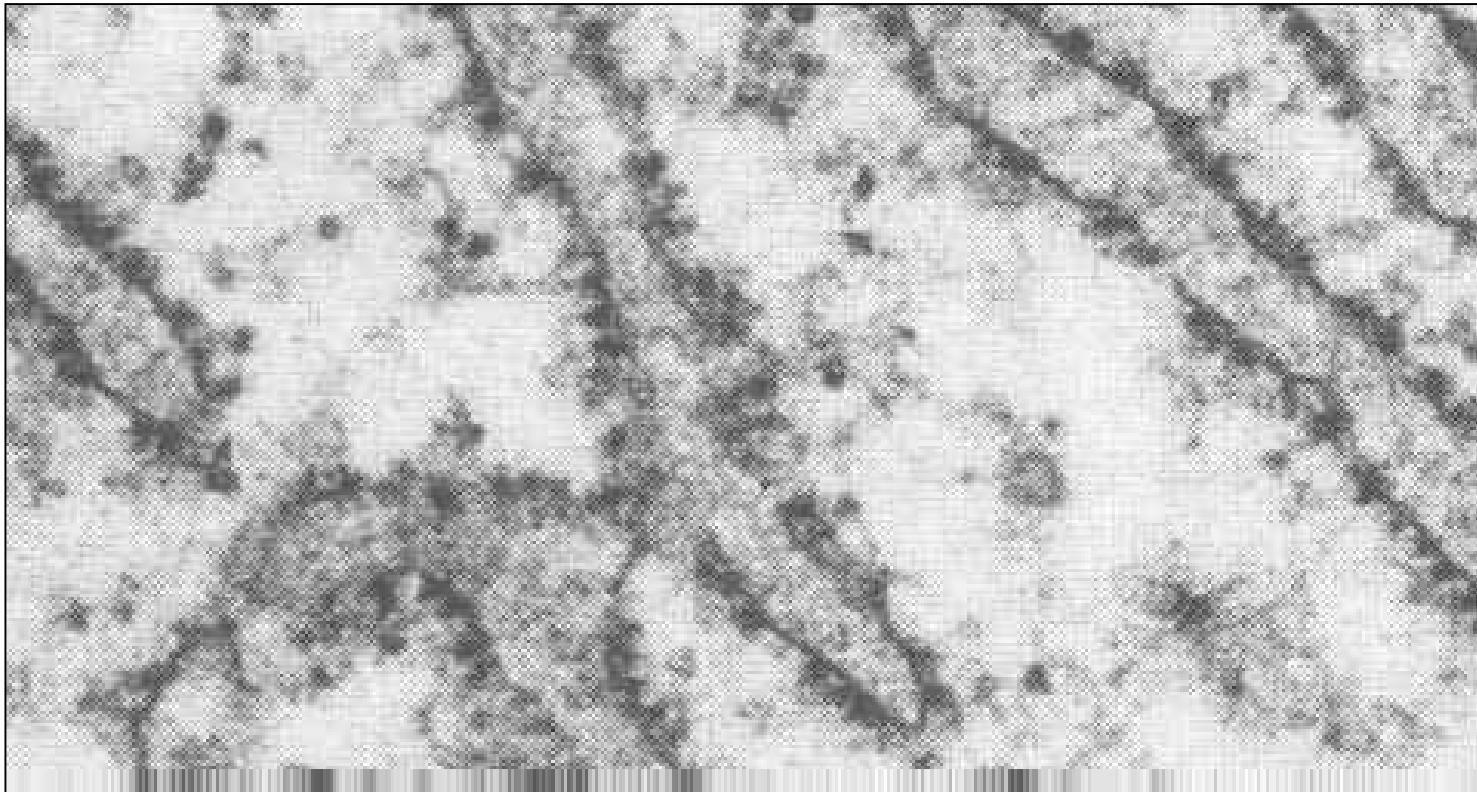


Co to jest redagowanie RNA

- posttranskrypcyjna zmiana sekwencji RNA
- u większości organizmów zjawisko sporadyczne
- u niektórych bardzo częste

Na czym polega proces translacji

- synteza białka na matrycy mRNA
- przebiega w rybosomach
- za interpretację kodu genetycznego odpowiadają tRNA

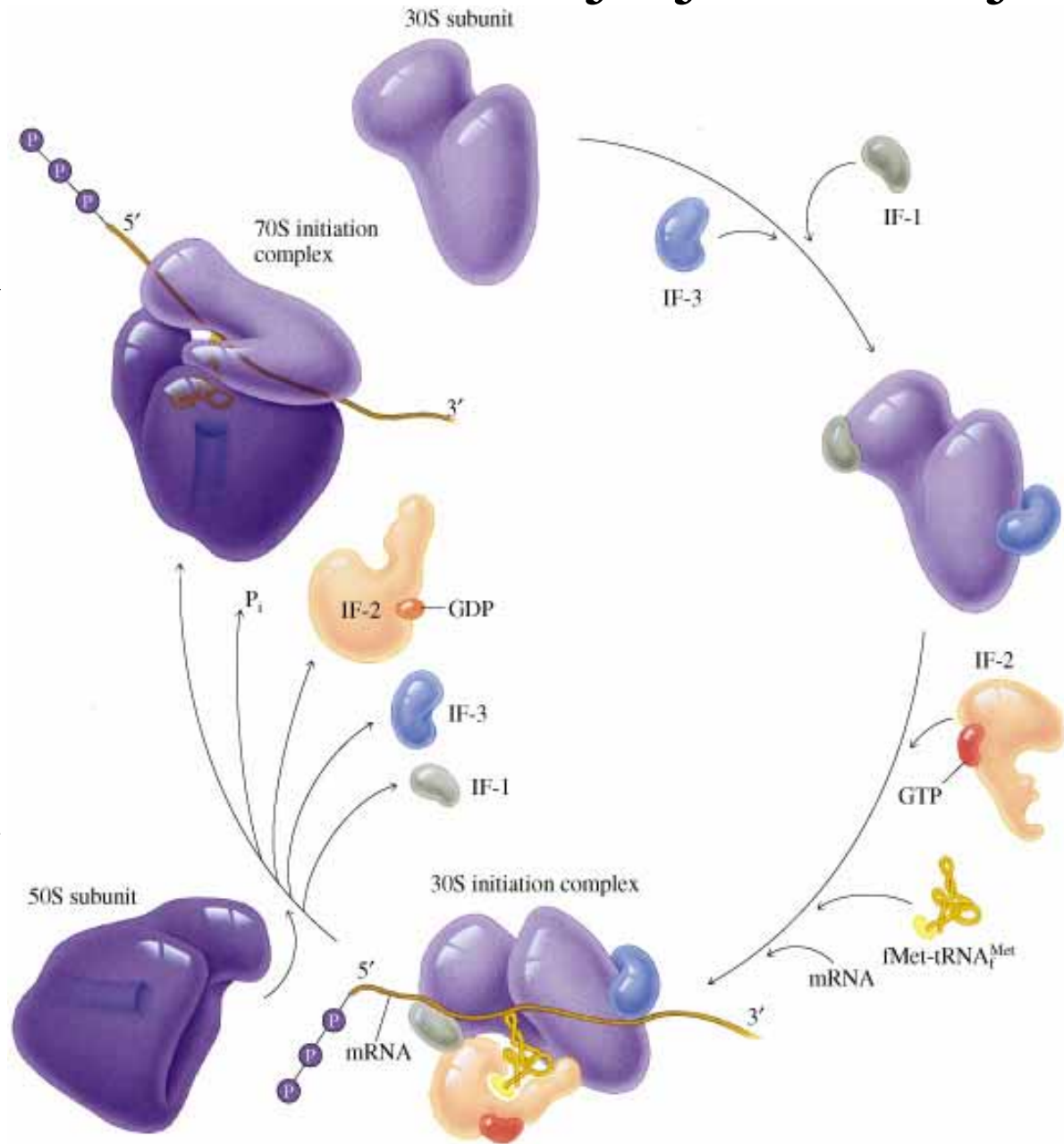


rybosomy widziane w mikroskopie elektronowym

Inicjacja translacji

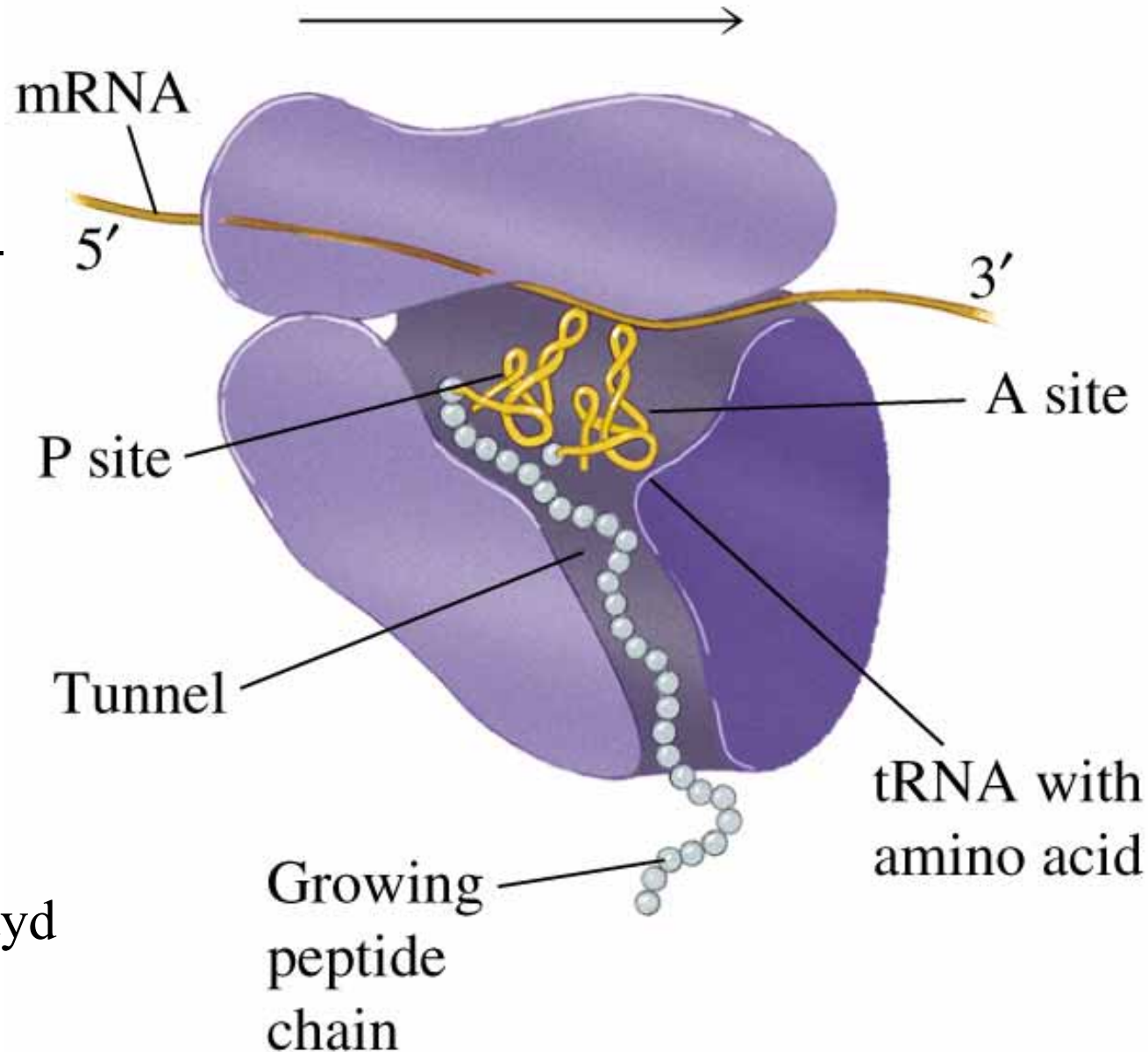
Utworzenie kompleksu rybosomu na mRNA

- czynniki inicjujące (IF) wiążą się do podjednostki 30S rybosomu
- podjednostka 30S wiąże się do sekwencji wiązania rybosomu w mRNA
- przyłącza się inicjatorowy tRNA i wiąże się z kodonem start w mRNA
- przyłącza się podjednostka 50S



Budowa rybosomu

- mRNA
- mała podjednostka - wiązanie mRNA
- duża podjednostka - katalityczna
 - miejsce A (aminoacylowe)
 - miejsce P (peptydylowe)
- powstający polipeptyd



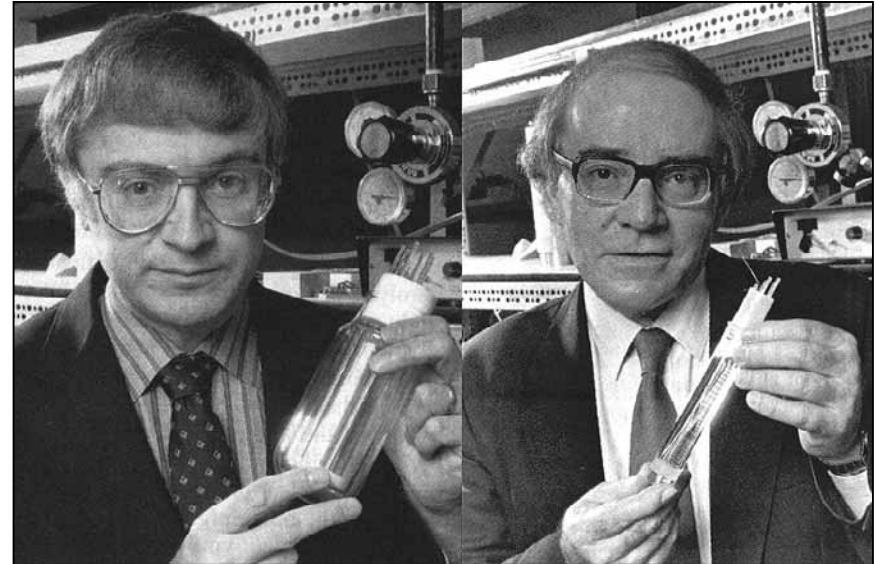
1. transkrypcja to synteza RNA na matrycy DNA
2. u Eucaryota RNA podlega intensywnej obróbce posttranskrypcyjnej
3. translacja to synteza białka na matrycy mRNA

Elementy publikacji naukowej

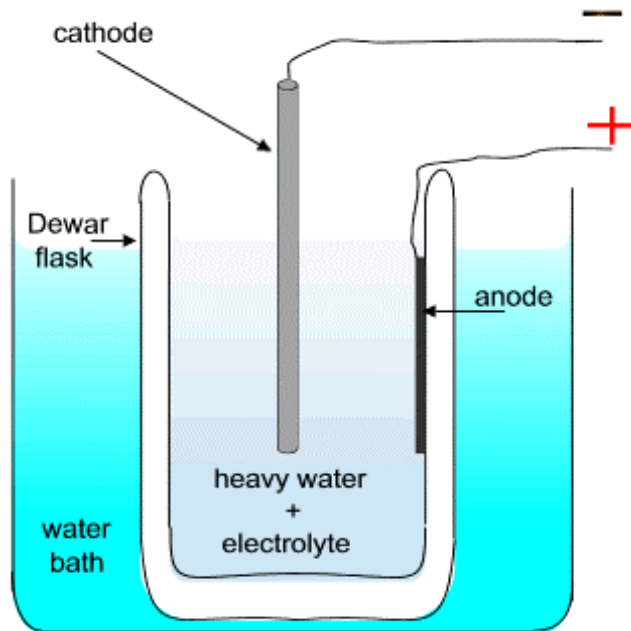
- wstęp
- metody
- wyniki
- dyskusja
- literatura

Zimna fuzja

- ogromne potencjalne zastosowania
- sensacyjne artykuły w Nature
- okazała się być błędem eksperymentalnym



Fleischmann i Pons



Hendrik Schon

- młody (ur. 1970) genialny fizyk, kandydat do Nobla
- w różnych pracach pojawia się ten sam wykres
- nikomu nie udało się powtórzyć jego wyników
- wszystkie najciekawsze wyniki fabrykował

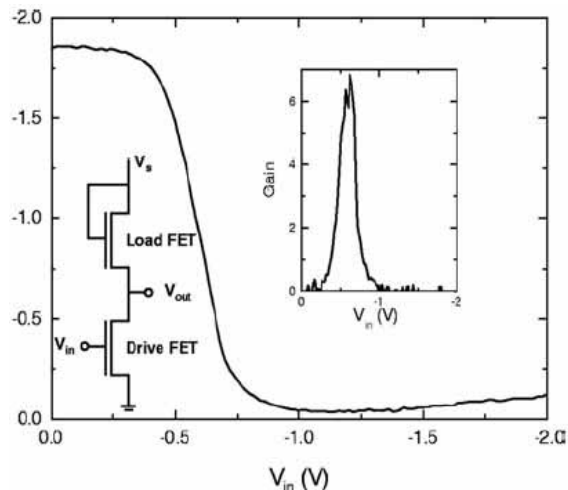


Figure 10. Inverter characteristic from "SingleMolecule" (XIII), Fig. 4: SAMFET with diluted active ingredient, at $T = 4$ K.

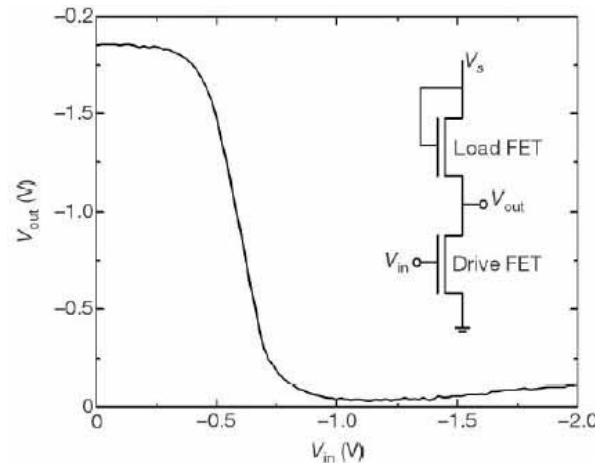


Figure 11. Inverter characteristic from "SAMFET" (XII), Fig. 4: "self-assembled monolayer transistor." Note the inconsistency in labeling the vertical axis.

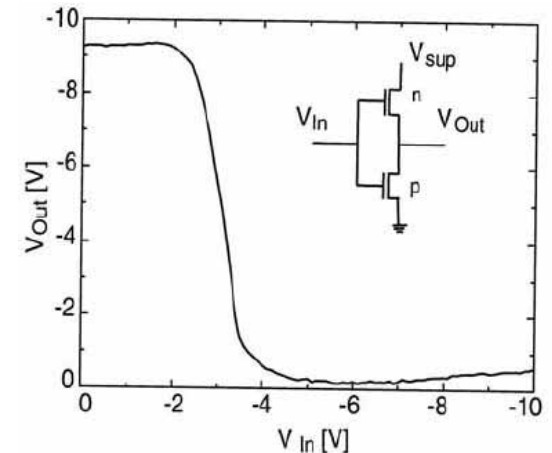


Figure 12. Inverter characteristic from "AmbipolarPentacene" Paper (II), Fig. 4: "pentacene."

Parametry oceny prac i czasopism naukowych

- indeks cytowań - liczba cytowań danej pracy w innych pracach
- Impact Factor - ile razy przeciętny artykuł z danego pisma jest cytowany w ciągu roku w innych pismach

czasopismo

IF

KBN

<i>Nature</i>	31	24
<i>Science</i>	29	24
<i>EMBO J</i>	10	21
<i>Genetics</i>	4	21
<i>Plant Science</i>	1	16
<i>Acta Biochimica Polonica</i>	0,5	6