

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/>

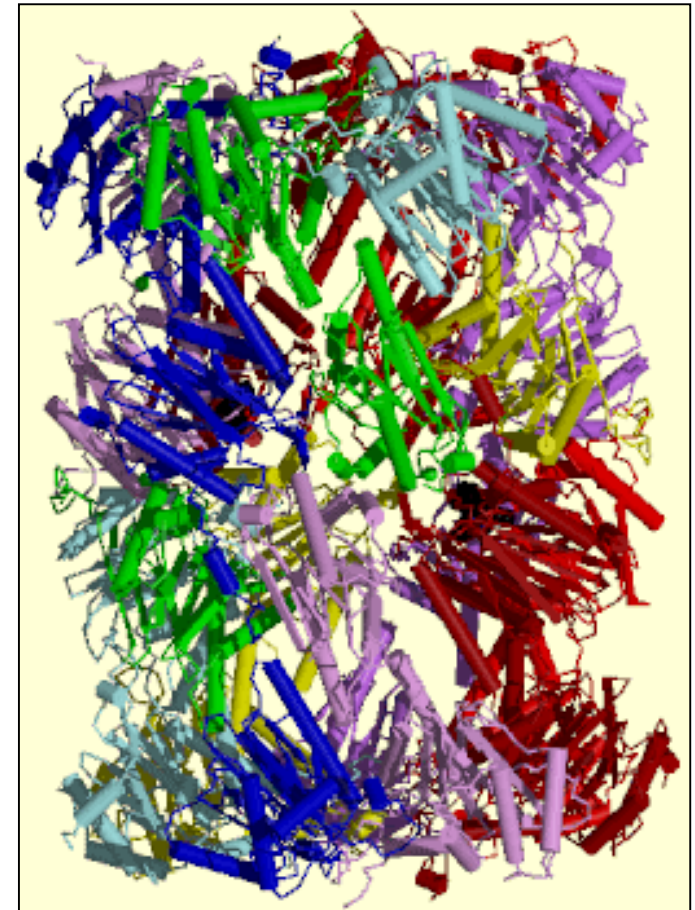
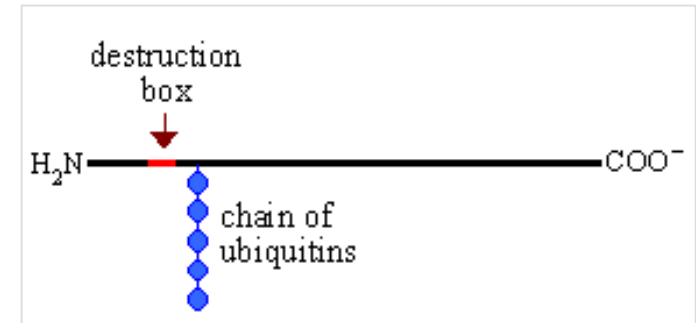
Ekspresja genów jest regulowana przez szereg procesów na wielu poziomach

- dostęp do DNA
- inicjacja transkrypcji
- terminacja transkrypcji
- splicing
- stabilność RNA
- inicjacja translacji
- transport białka
- cięcie białka
- modyfikacje posttranslacyjne białka
- degradacja białka

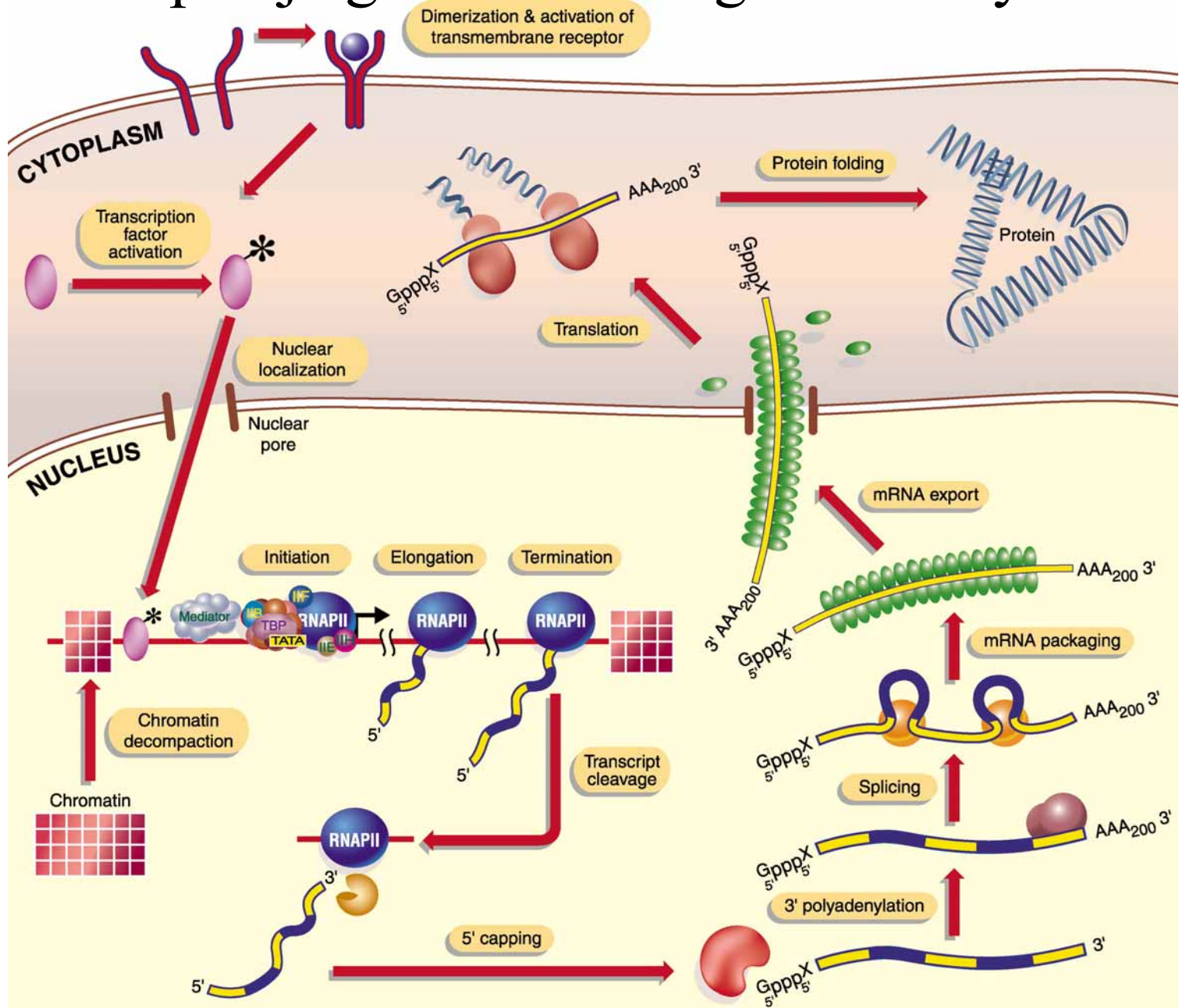
Degradacja białka

Regulacja stabilności białek

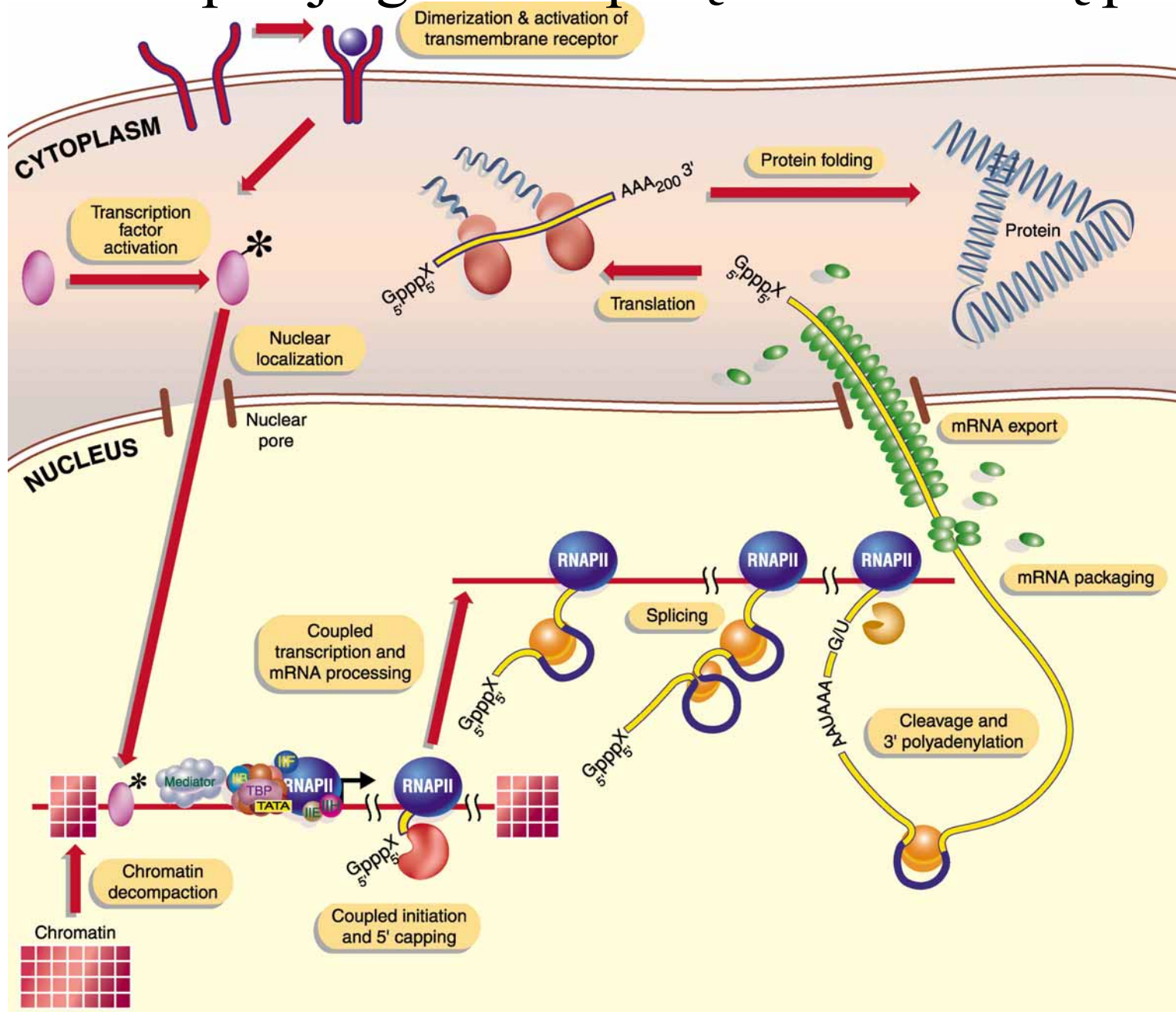
- jeden sposób na regulację negatywną
- aminokwas N-końcowy
 - Ala, Cys, Gly, Met, Pro, Ser, Thr, Val* - stabilizują
 - Arg, His, Ile, Leu, Lys, Phe, Trp, Tyr* - destabilizują
- ubikwityna
 - sekwencja degradacji
 - przyłączenie ubikwityny
 - proteasom



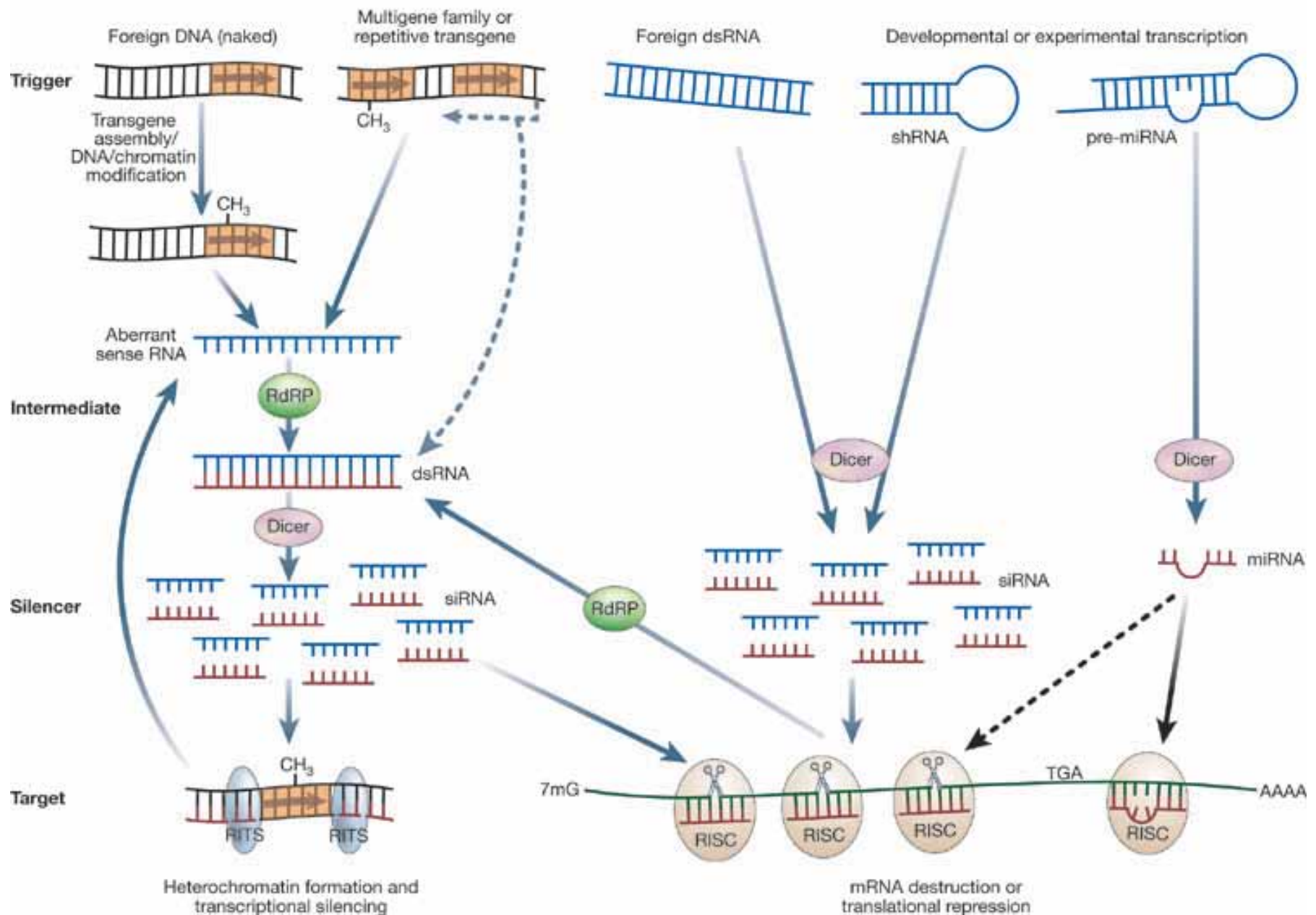
Ekspresja genów - szereg oddzielnych zdarzeń



Ekspresja genów - połączone ze sobą procesy



Interferencja RNA



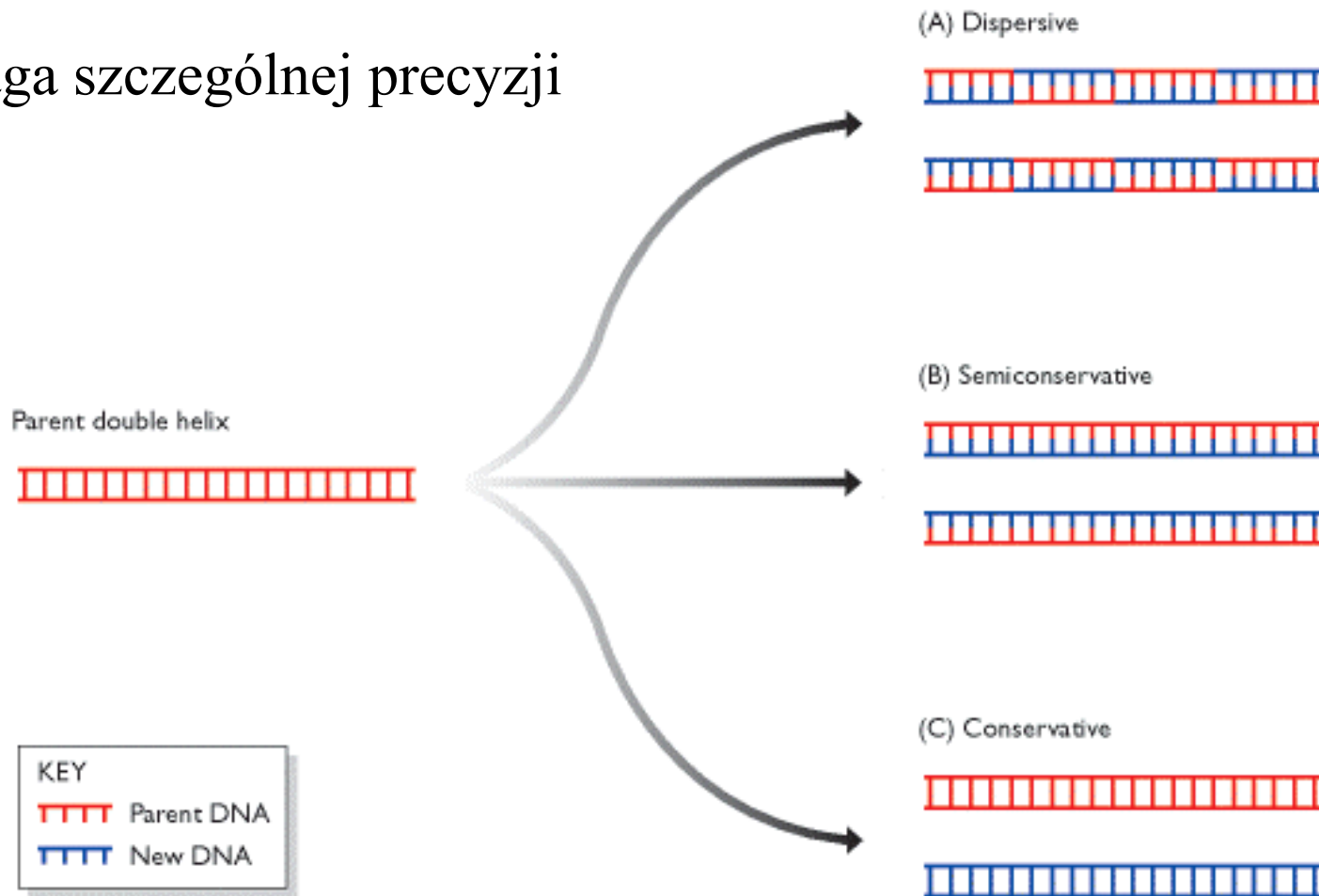
1. Ekspresja genów jest regulowana przez szereg procesów na wielu poziomach
2. Najważniejsze poziomy regulacji ekspresji genów to:
 - inicjacja transkrypcji
 - stabilność RNA
 - stabilność białka
3. Procesy regulacji ekspresji genów są ze sobą sprzężone

Replikacja, mutageneza i naprawa DNA

- Jaki jest mechanizm powielania materiału genetycznego?
- Jakie są rodzaje mutacji, ich przyczyny i skutki?
- Jak usuwane są uszkodzenia w DNA

Znaczenie replikacji DNA

- powielenie materiału genetycznego
- niezbędne do podziału komórek i rozmnażania organizmów
- wymaga szczególnej precyzji

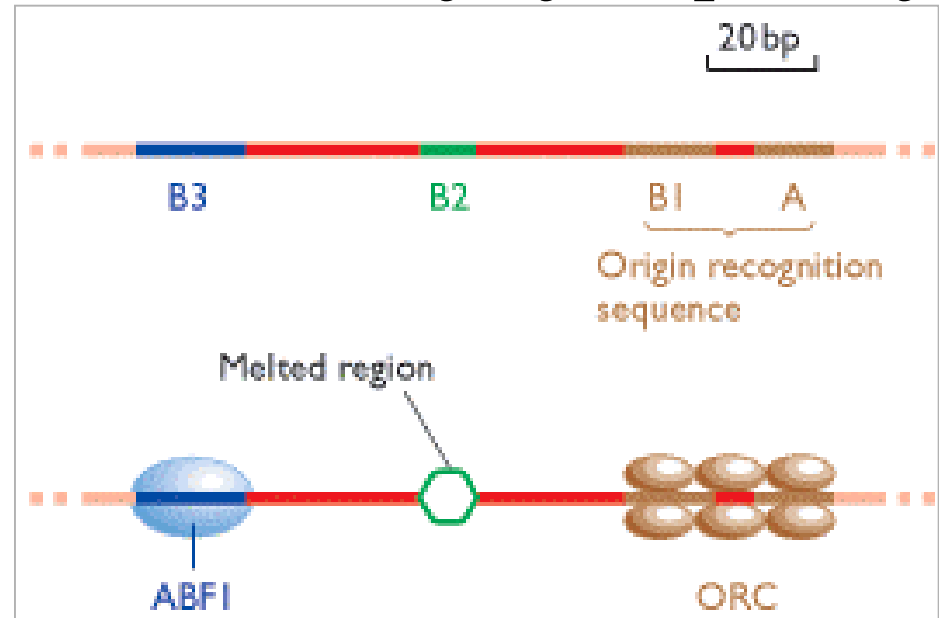


Inicjacja replikacji

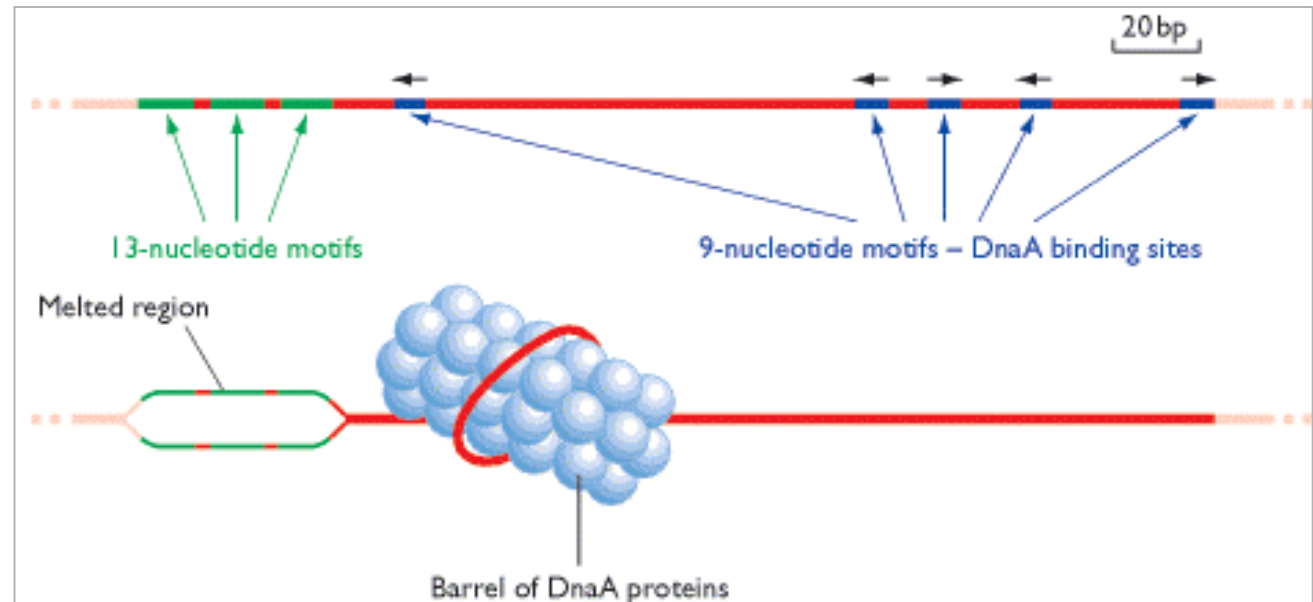
Miejsce inicjacji replikacji (ori)

- motyw 9bp
 - 5 powtórzeń
 - wiązanie białka DnaA
- motyw 13bp
 - 3 powtórzenia
 - rozłączanie nici DNA

drożdże



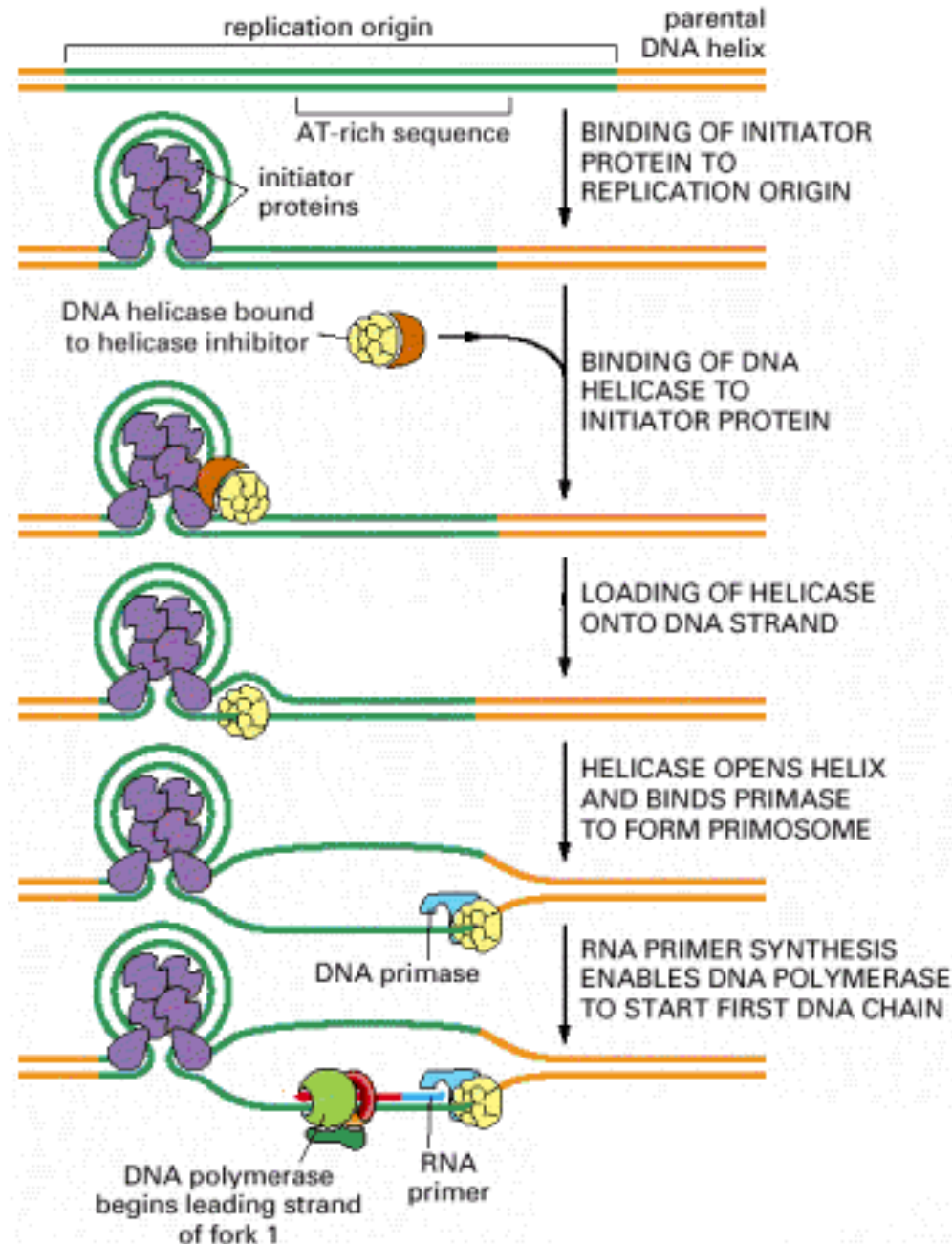
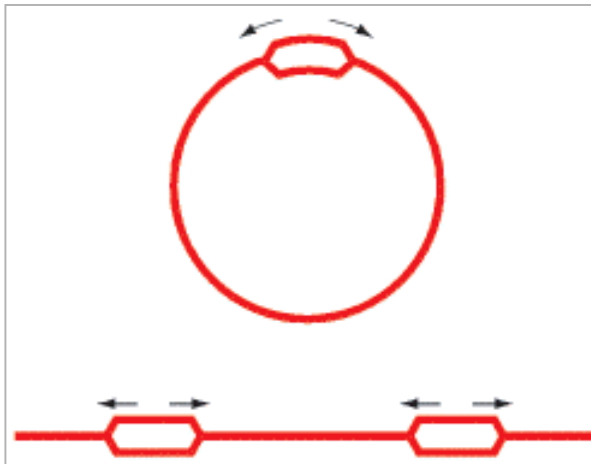
E. coli



Inicjacja replikacji

Przebieg inicjacji replikacji

- DNA nawija się na baryłkę zbudowaną z białka DnaA
- fragment DNA ulega rozpleceniu
- helikaza DNA powiększa rozplecenie
- przyłącza się polimeraza DNA



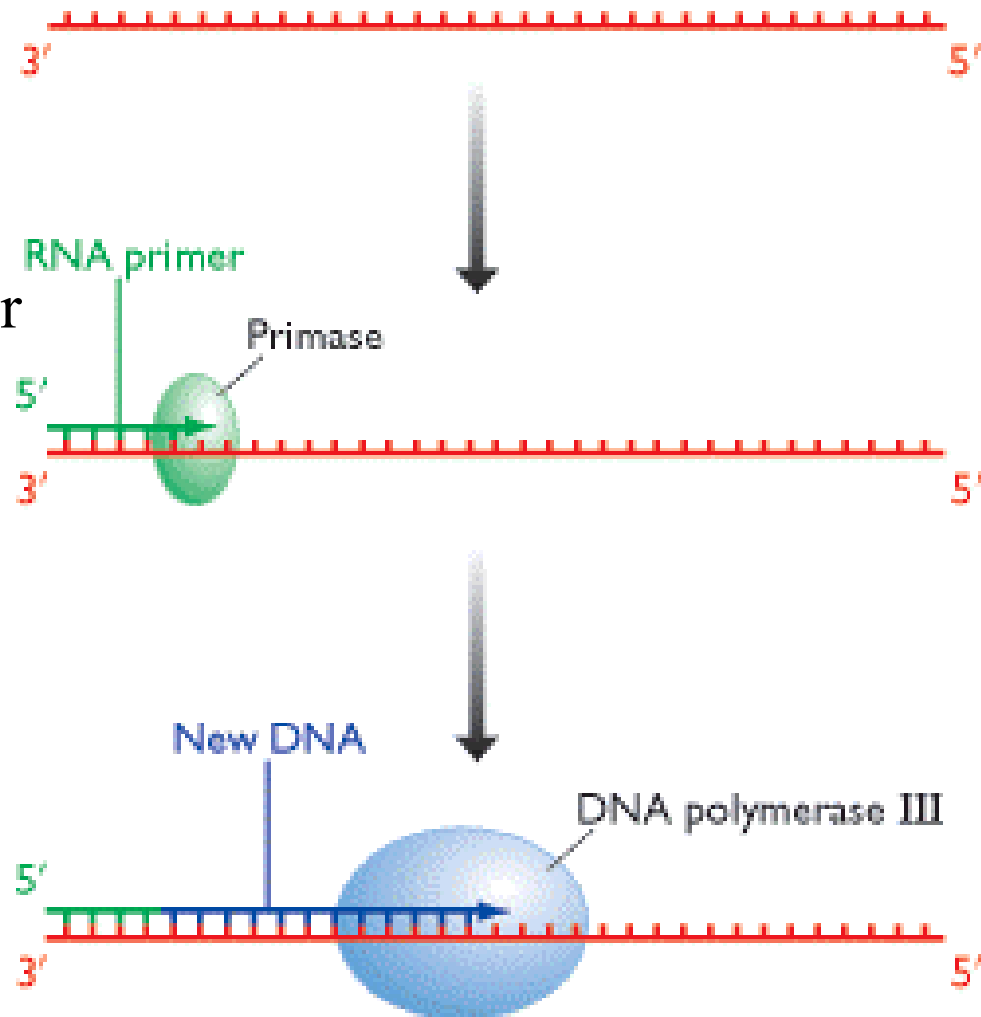
Ograniczenia procesu replikacji

- niezdolność polimerazy DNA do samodzielnego rozpoczynania syntezy DNA
- synteza wyłącznie w kierunku 5' - 3'
- konieczność rozplatania podwójnej helisy DNA

Elongacja replikacji

Synteza DNA zaczyna się od startera

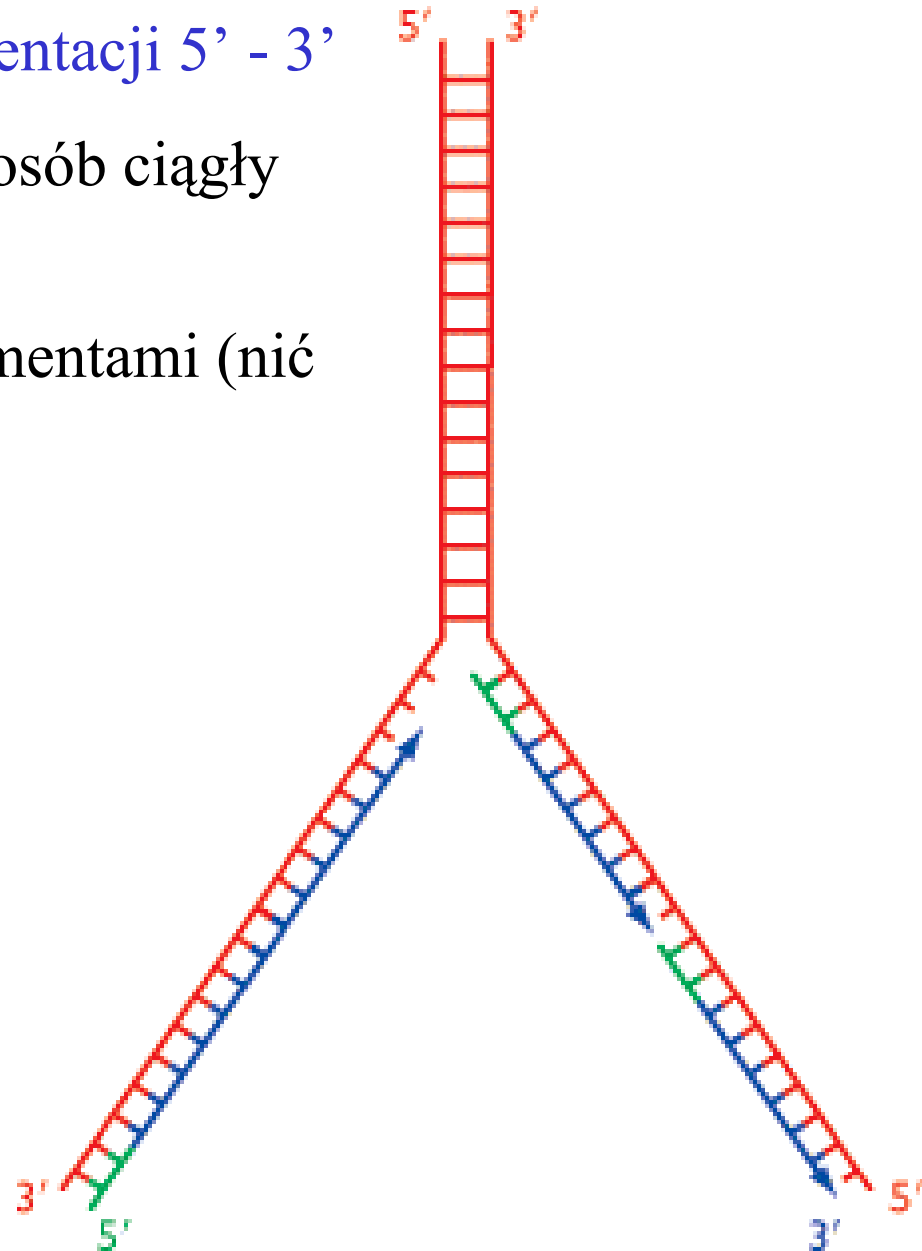
- starter jest syntetyzowany przez polimerazę RNA (primazę)
- polimeraza DNA wydłuża starter syntetyzując DNA



Elongacja replikacji

Synteza DNA zachodzi tylko w orientacji 5' - 3'

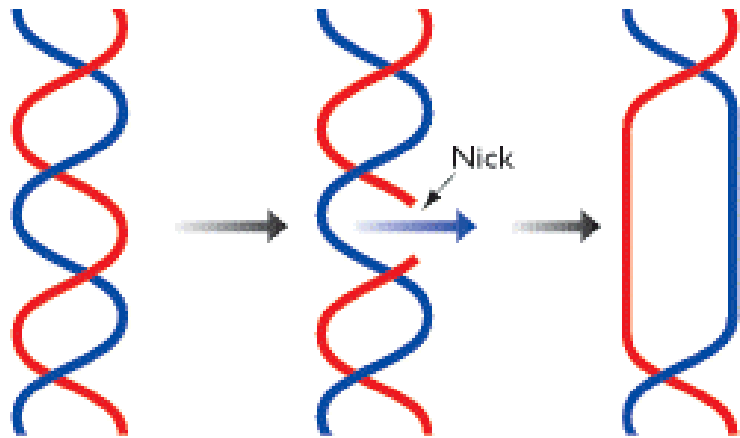
- jedna nić syntetyzowana jest w sposób ciągły (nić wiodąca)
- druga nić syntetyzowana jest fragmentami (nić opóźniona; fragmenty Okazaki)



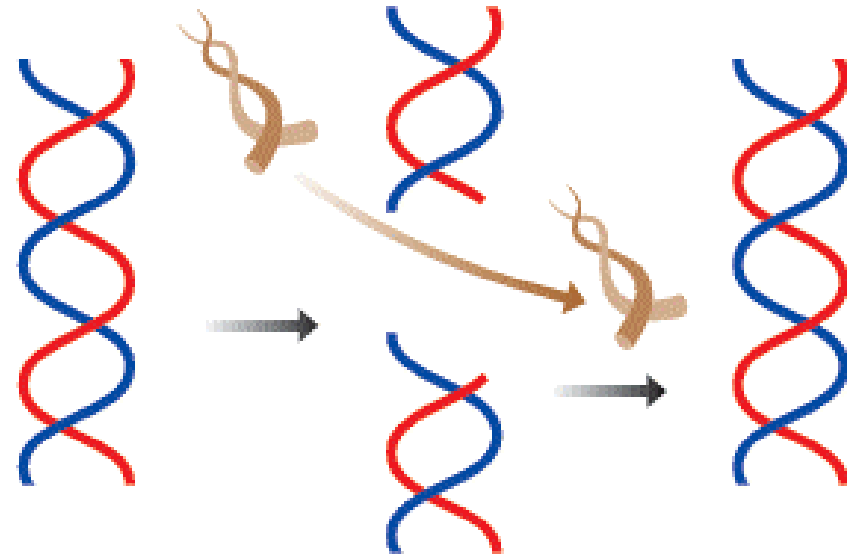
Rozplatanie dwuniciowej cząsteczki DNA przez topoizomerazy DNA

- topoizomerazy typu I - przecinają jedną nić i pozwalają na obroty wokół drugiej
- topoizomerazy typu II - przecinają obie nici i pozwalają przejście cząsteczki DNA

(A) Type I

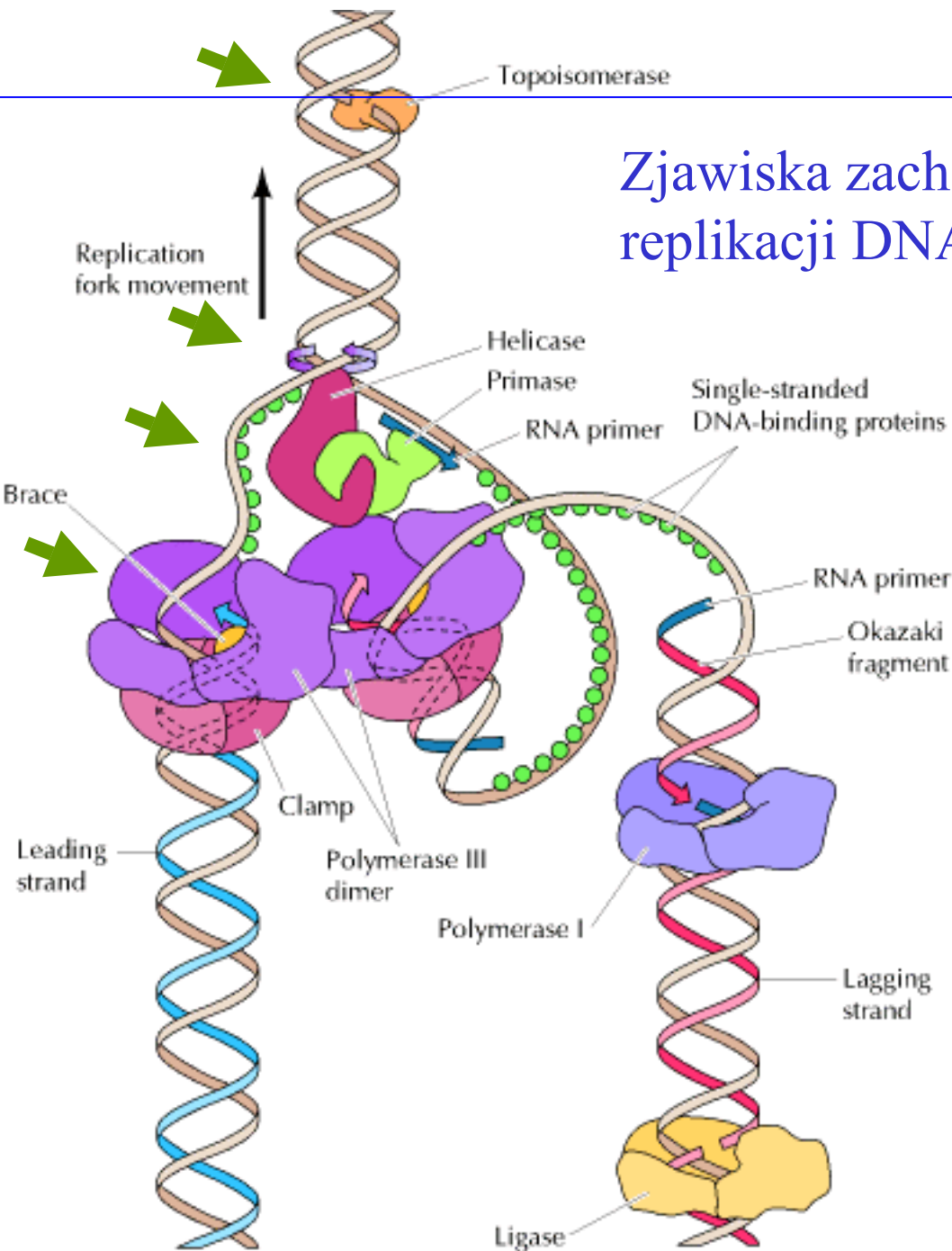


(B) Type II



Elongacja replikacji

Zjawiska zachodzące podczas elongacji replikacji DNA



cząsteczka macierzysta

- rozplatanie podwójnej helisy przez **topoizomerazy**
- rozdzielanie nici DNA przez **helikazę**

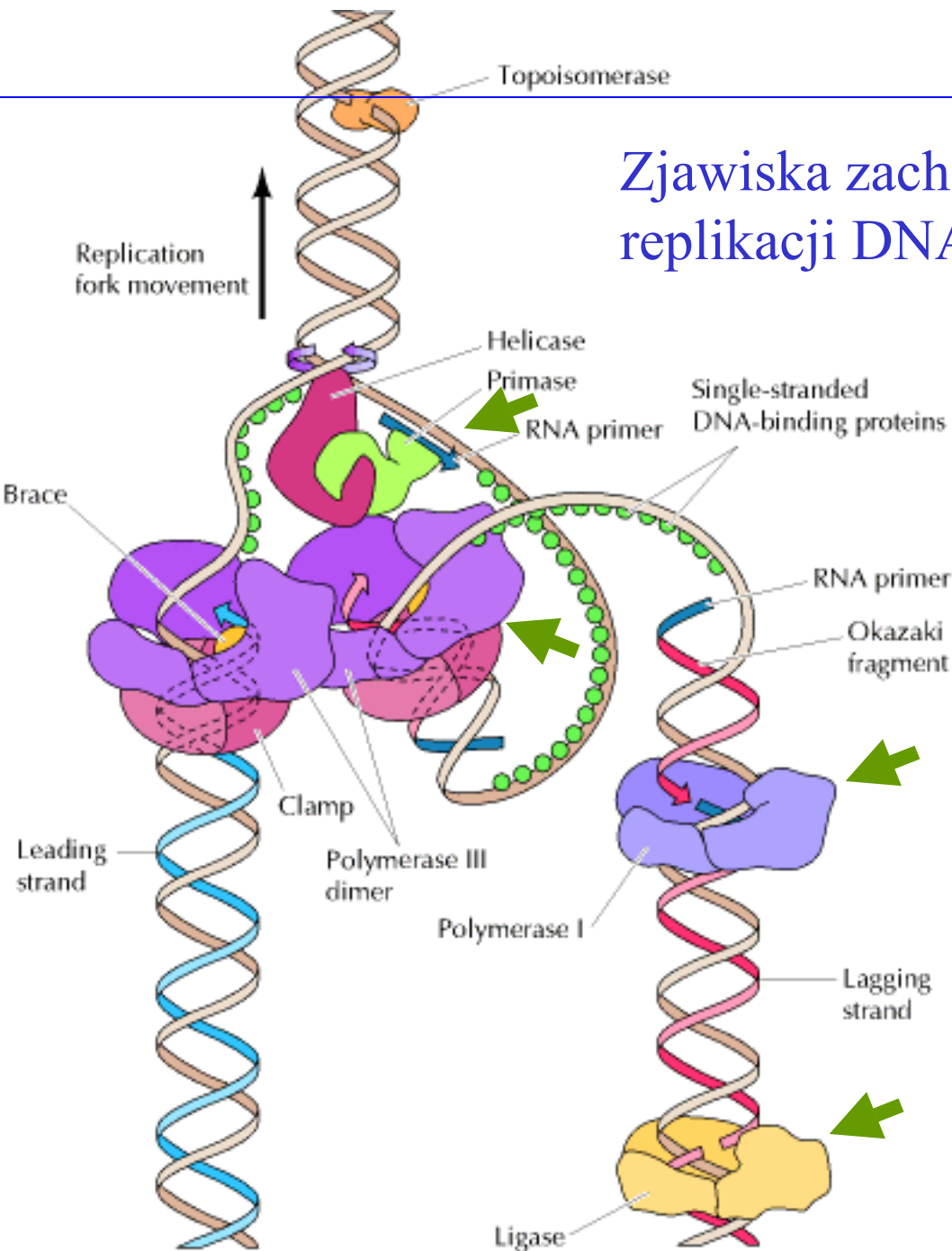
- zabezpieczenie jednoniciowego DNA przez **białka wiążące ssDNA**

nić wiodąca

- synteza DNA nici wiodącej przez **polimerazę DNA III**

Elongacja replikacji

Zjawiska zachodzące podczas elongacji replikacji DNA



nić opóźniona

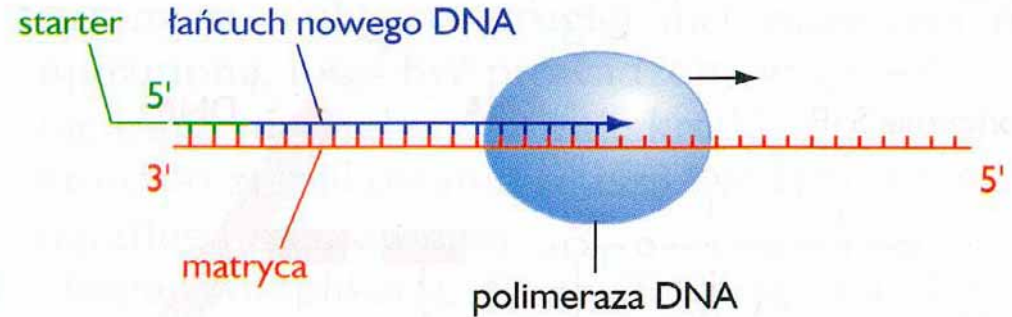
- synteza primerów fragmentów Okazaki przez **prymazę**
- synteza DNA nici opóźnionej przez drugą **polimerazę DNA III**
- usunięcie starterów i uzupełnienie luk deoksyryonukleotydami przez **polimerazę DNA I**
- łączenie fragmentów Okazaki przez **ligazę**

Elongacja replikacji

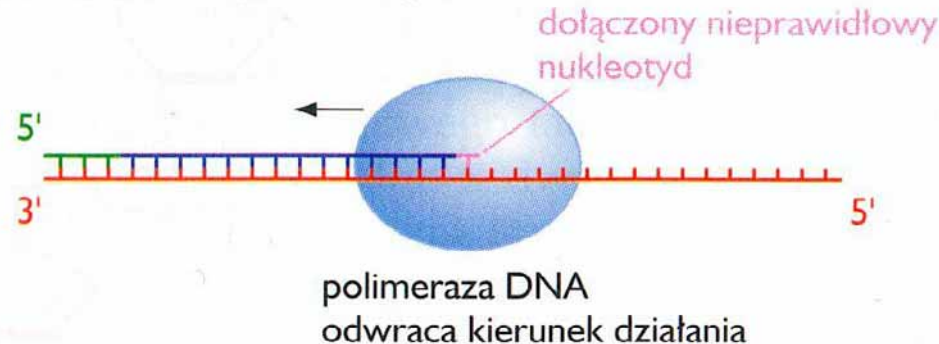
Aktywności enzymatyczne polimeraz DNA

- polimeraza 5' - 3' - synteza nici DNA
- egzonukleaza 3' - 5' - usuwanie błędów
- egzonukleaza 5' - 3' - usuwanie starterów

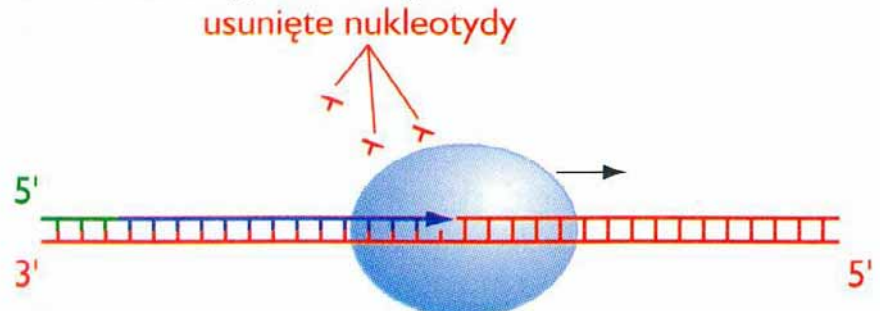
(A) Kierunek syntezy DNA 5'→3'



(B) Kierunek działania egzonukleazy: 3'→5'



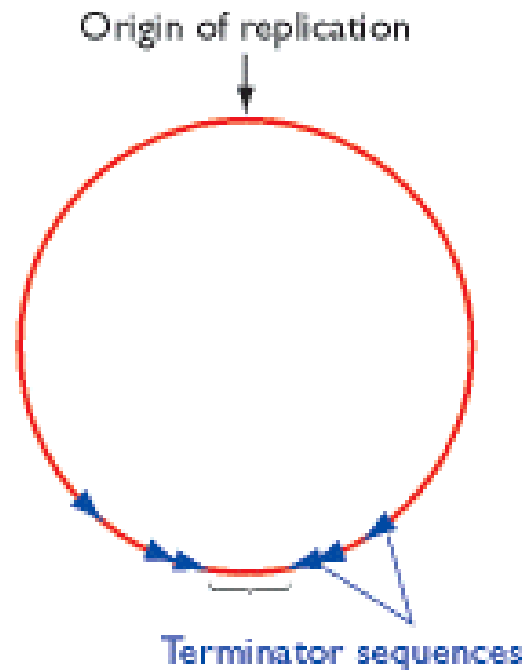
(C) Kierunek działania egzonukleazy: 5'→3'



Terminacja replikacji

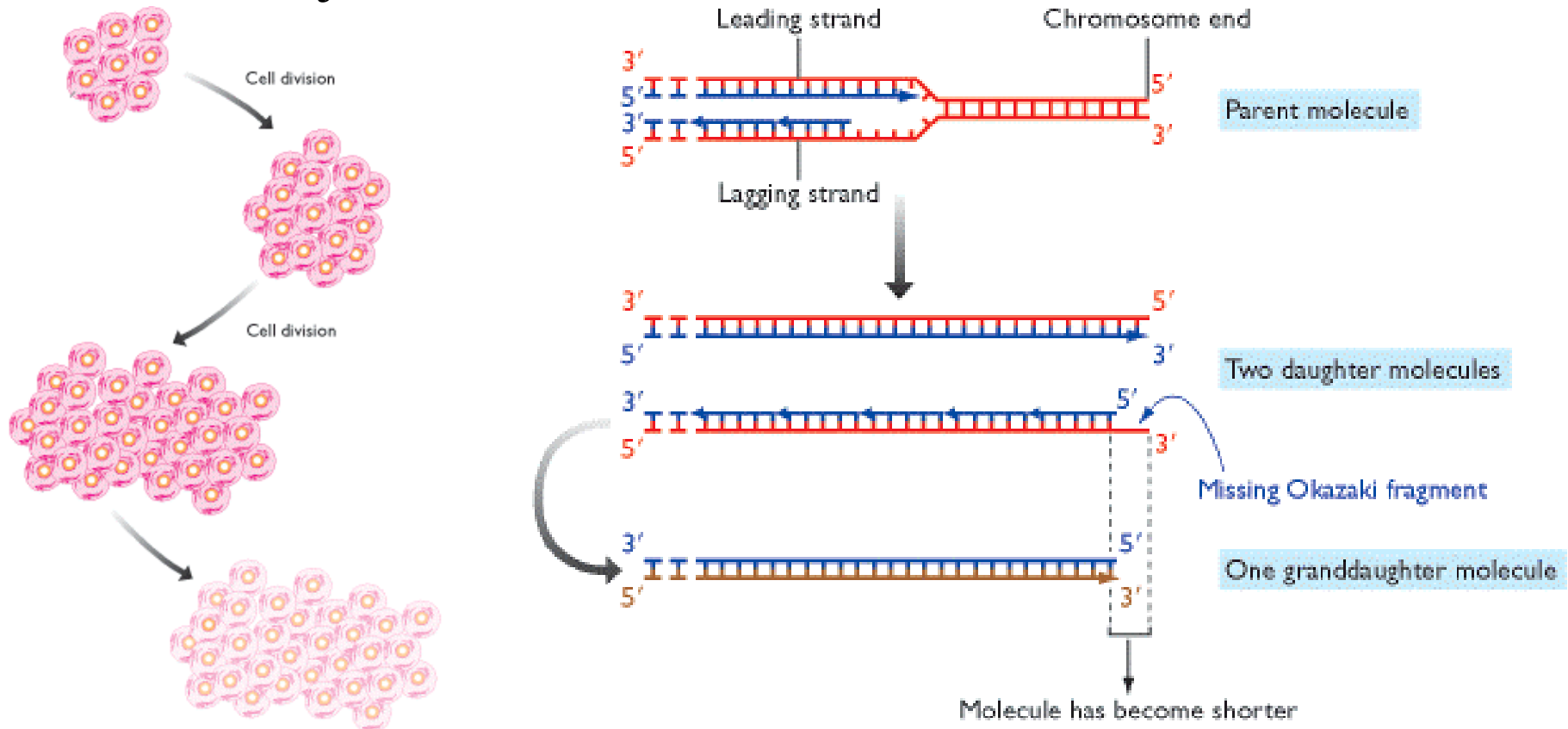
Terminacja replikacji u bakterii jest regulowana

- sekwencje terminatorowe
- wiążące się do nich białko przepuszcza polimerazę DNA tylko w jednym kierunku



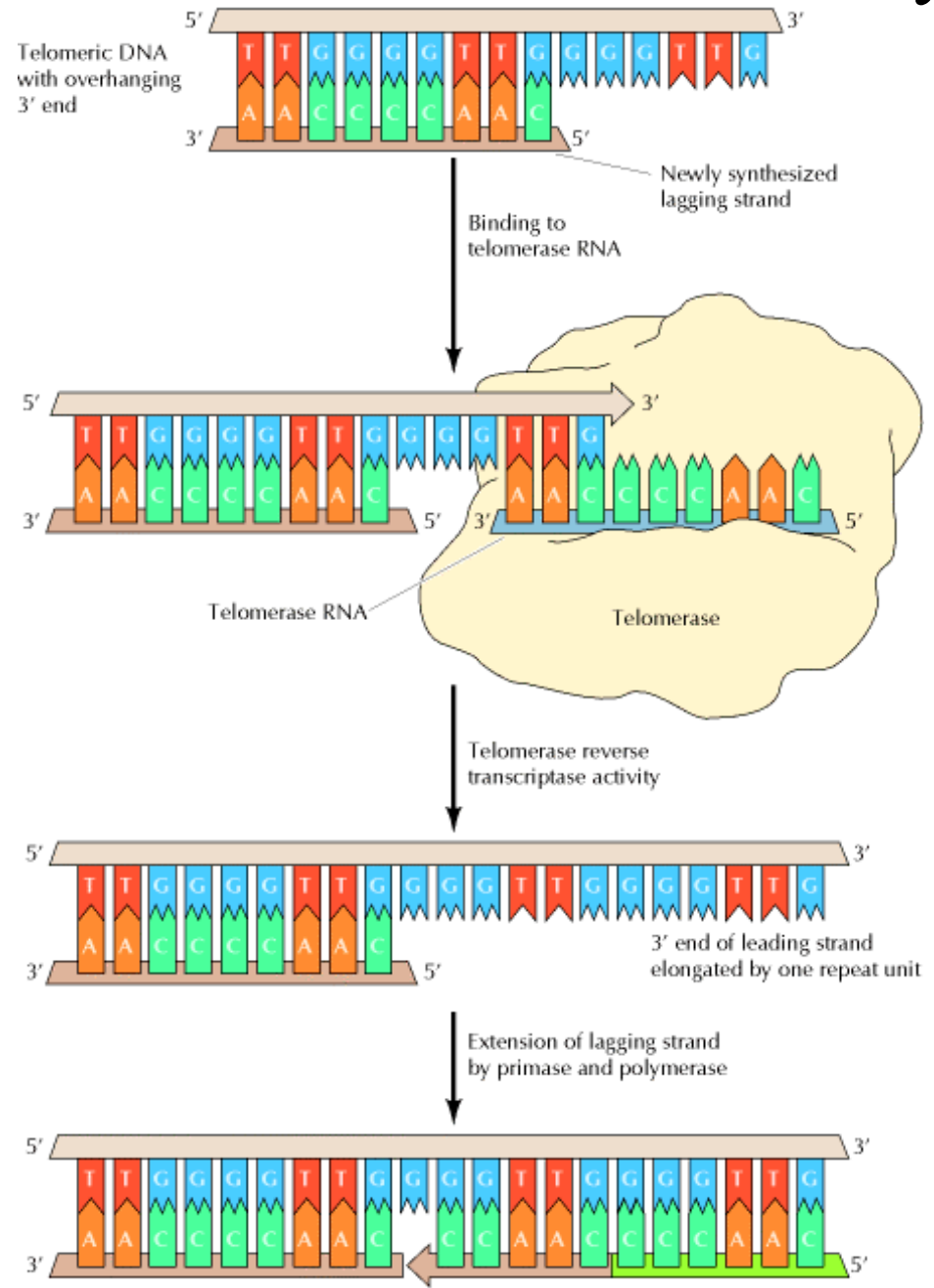
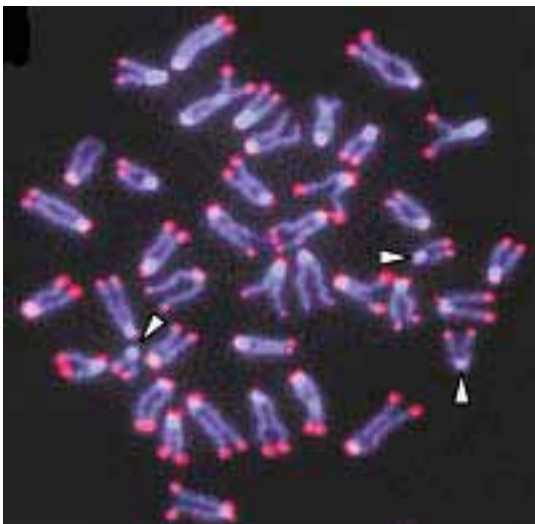
Jak zreplikować końcówkę chromosomu?

- na nici opóźnionej zostaje kawałek niedoreplikowany
- skracanie chromosomów ogranicza liczbę podziałów
- znaczenie tego zjawiska w rozwoju i transformacji nowotworowej



Telomeraza

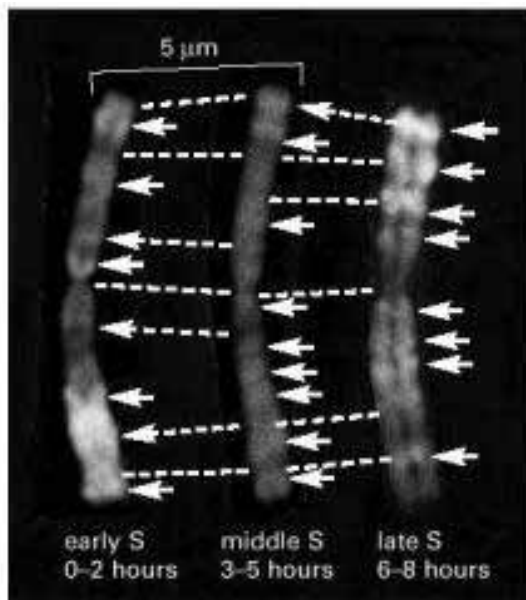
- dostawia na końcu chromosomu sekwencję TTAGGG
- synteza na matrycy wbudowanego w telomerazę RNA
- regulowana w rozwoju



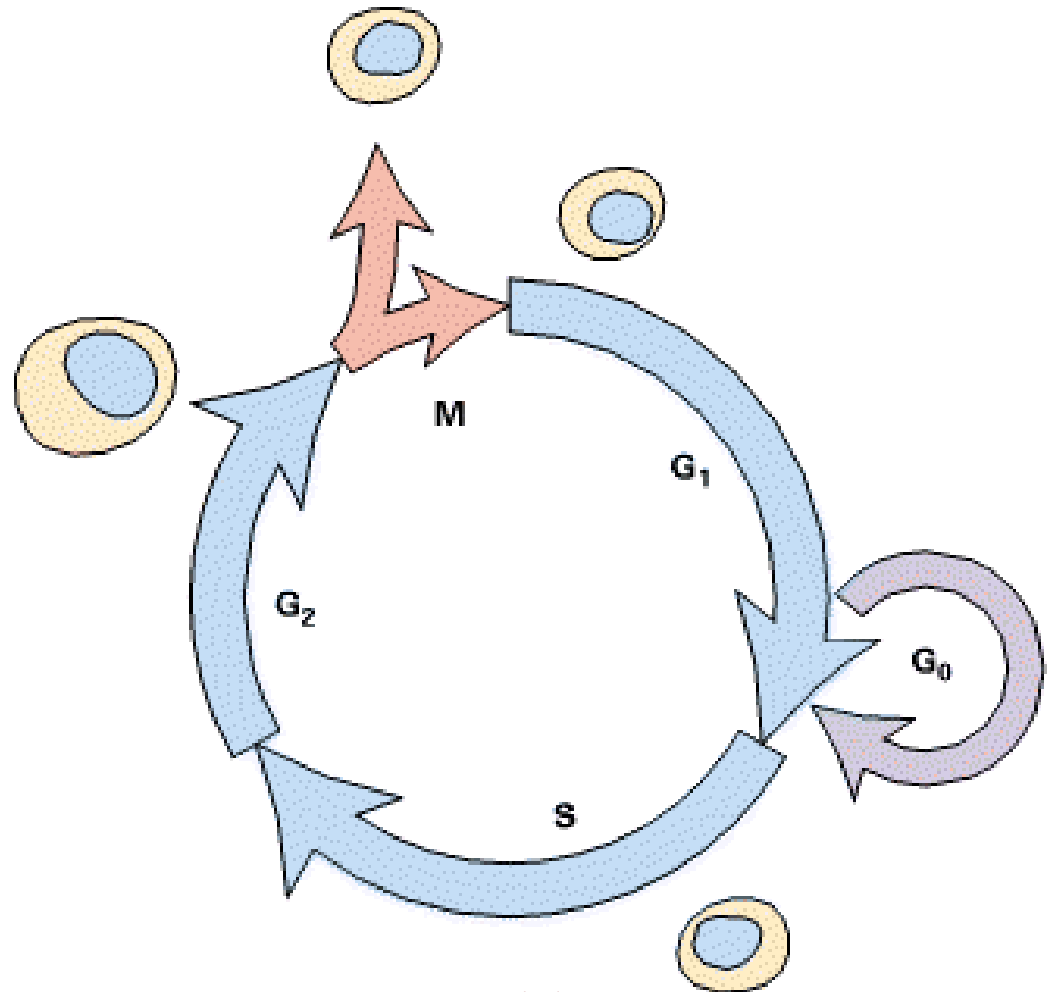
Regulacja replikacji

Znaczenie regulacji replikacji

- zapobieganie niepełnej lub nadmiernej replikacji
- zapobieganie nadmiernej proliferacji



wczesne i późne miejsca
replikacji DNA



cykl
komórkowy

Rodzaje zmian sekwencji DNA

- punktowe aatc**t**tggtt -> aatc**g**tggtt
- delecje aat**c**ttggtt -> aat tggtt
- insercje aatc**act**tggtt -> aatc**act**tggtt

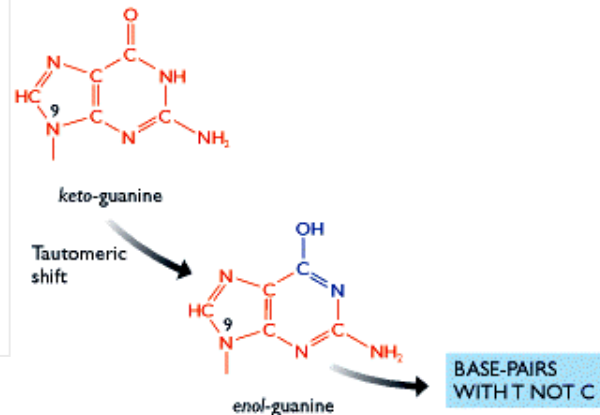
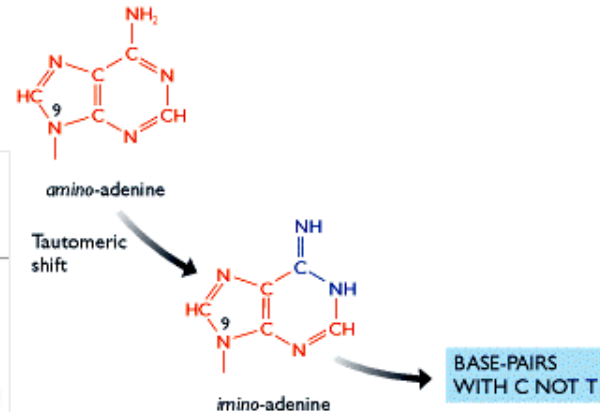
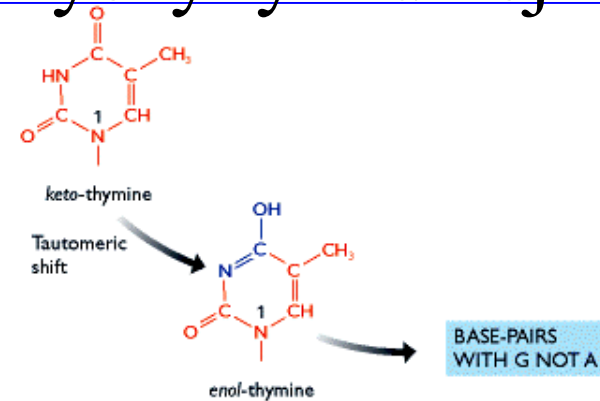
Wpływ mutacji na funkcjonowanie genu

- synonimiczne (Aminokwas X -> Aminokwas X)
- zmiany sensu (Aminokwas X -> Aminokwas Y)
- nonsens (Aminokwas X -> STOP)
- ominięcie kodonu terminacyjnego (STOP -> Aminokwas X)
- zmiana miejsca splicingowego
- wstawienie aminokwasów
- usunięcie aminokwasów
- zmiana sekwencji regulacyjnej

Przyczyny mutacji

Błędy replikacji

- wstawienie nukleotydu niekomplementarnego
- wstawienie nukleotydu komplementarnego do formy enolowej
- poślizg polimerazy

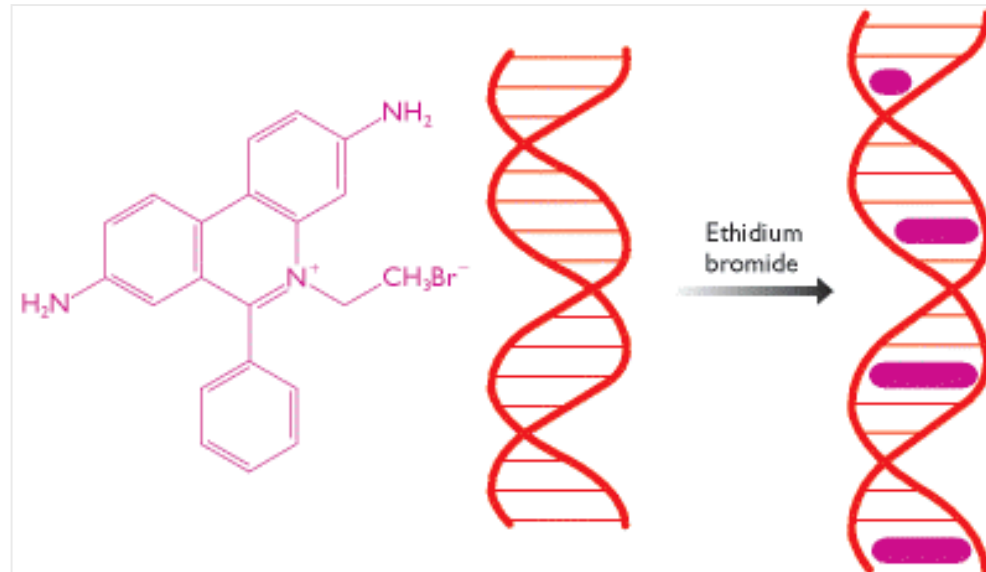
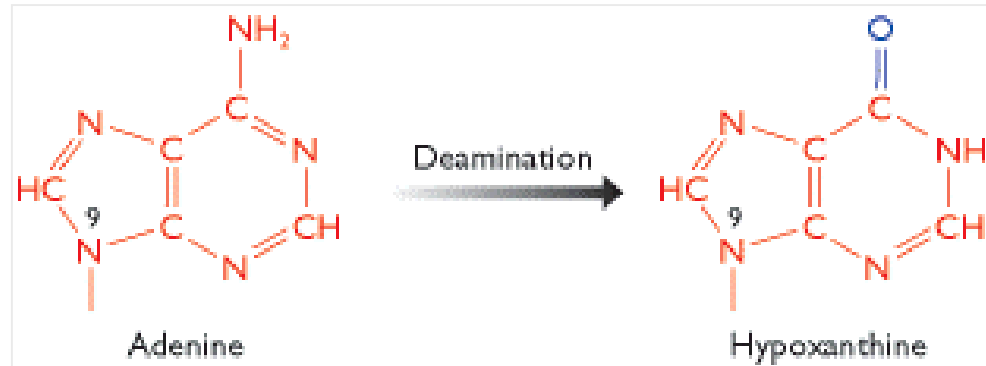
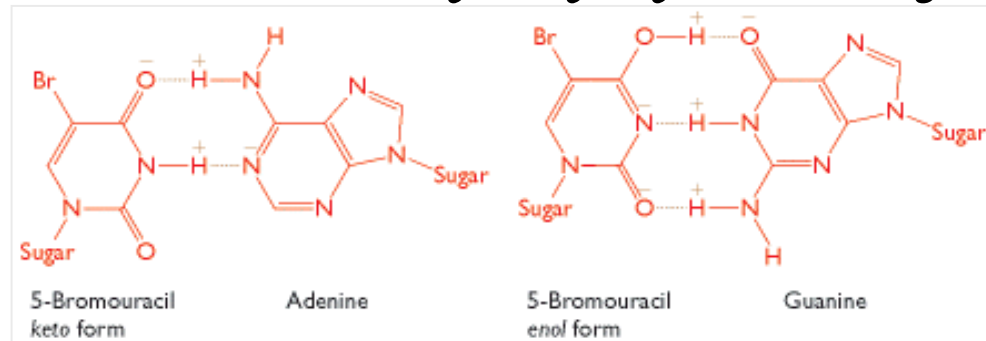


Locus	Repeat sequence		Associated disease
	Normal	Mutated	
Polyglutamine expansions (all in coding regions of genes)			
HD	(CAG) _{6–35}	(CAG) _{36–121}	Huntington's disease
AR	(CAG) _{9–36}	(CAG) _{38–62}	Spinal and bulbar muscular atrophy
DRPLA	(CAG) _{6–35}	(CAG) _{49–88}	Dentatoribral-pallidoluysian atrophy
SCA1	(CAG) _{6–44}	(CAG) _{39–82}	Spinocerebellar ataxia type 1
SCA3	(CAG) _{12–40}	(CAG) _{55–84}	Machado-Joseph disease
Fragile site expansions (both in the untranslated leader regions of genes)			
FRM1	(CGG) _{6–53}	(CGG) _{60-over 230}	Fragile X syndrome
FRM2	(GCC) _{6–35}	(GCC) _{61-over 200}	Fragile XE mental retardation
Other expansions (positions described below)			
DMPK	(CTG) _{5–37}	(CTG) _{50–3000}	Myotonic dystrophy
X25	(GAA) _{7–34}	(GAA) _{34-over 200}	Friedreich's ataxia

Przyczyny mutacji

Mutageny chemiczne i fizyczne

- analogi puryn i pirymidyn
- czynniki deaminujące
- czynniki alkilujące
- czynniki interkalujące
- promieniowanie UV
- promieniowanie jonizujące
- wysoka temperatura



Mutacje chromosomowe

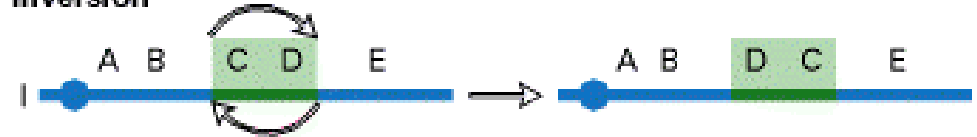
Mutacje chromosomowe strukturalne

- inwersja
- delecja
- translokacja
- insercja

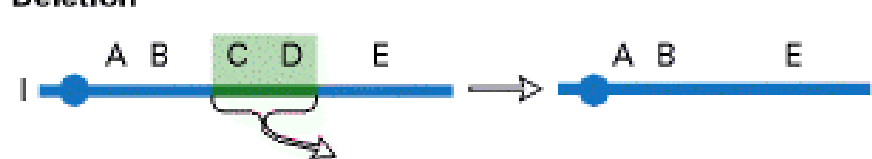
Mutacje chromosomowe liczbowe

- poliploidalność
- aneuploidalność (monosomia i trisomia)

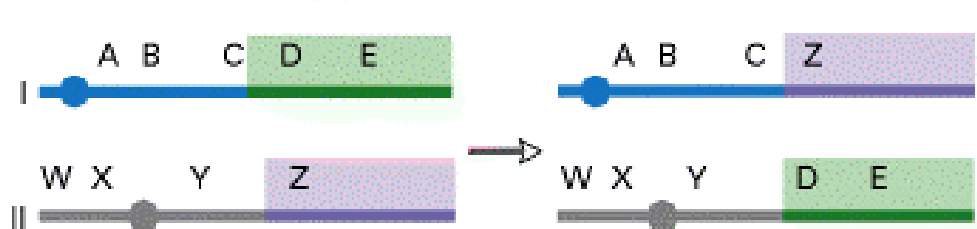
Inversion



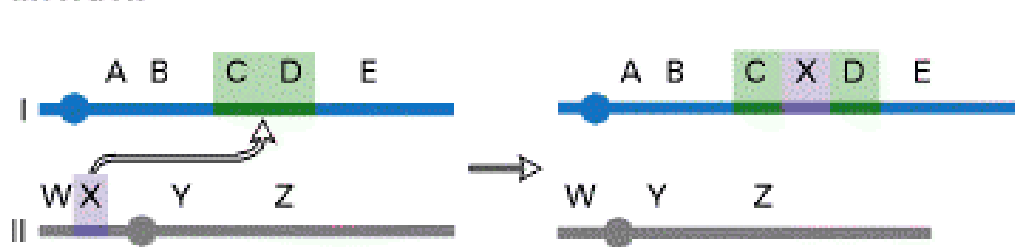
Deletion



Balanced translocation



Insertion



Mutacje chromosomowe

Skutki mutacji chromosomowych u człowieka

- szereg zaburzeń powodujących śmierć podczas rozwoju zarodka
- zespół Downa, zespół Turnera
- inne dolegliwości

Rośliny poliplidalne mogą mieć korzystniejsze cechy od diploidalnych

- rzepak
- pszenica
- tytoń
- ziemniak
- kawa
- bananowiec
- trzcina cukrowa
- truskawka
- szpinak
- jabłoń
- winogrona
- kwiaty ozdobne

