



POLSKO-JAPONSKA  
WYŻSZA SZKOŁA  
TECHNIK KOMPUTEROWYCH

**Wiesława Widłak**

# **Wprowadzenie do biologii molekularnej dla bioinformatyków**



WYDAWNICTWO  
P.J.W.S.T.K.

## **Notka biograficzna**

Wiesława Widlak - z wykształcenia i zamiłowania biolog molekularny (Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Przyrodniczych, 1987). Uzyskała doktorat nauk biologicznych w zakresie biochemii (1996) oraz tytuł doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii, specjalność biologia komórki (2008). W swojej pracy badawczej zajmuje się m.in. mechanizmami apoptozy indukowanej przez stres komórkowy, zastosowaniem mikromacierzy oligonukleotydowych do badań ekspresji i regulacji genów, oraz modyfikacjami genetycznymi ssaków (kieruje jednym z nielicznych w Polsce laboratorium w którym powstają myszy transgeniczne). Pracuje w Centrum Onkologii - Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, w Zakładzie Biologii Nowotworów.

## **Streszczenie**

Książka zawiera absolutnie podstawowe informacje o budowie i funkcjonowaniu organizmów na poziomie molekularnym - informacje niezbędne do zrozumienia tego jak komórka żyje, rozmnaża się, naprawia bądź umiera. Opisano budowę komórki na poziomie organelli, oraz budowę i przebieg syntezy jej składników budulcowych, przede wszystkim białek i kwasów nukleinowych. Przedstawiono podstawowe procesy warunkujące prawidłowe działanie komórki: mechanizmy powstawania i naprawy uszkodzeń DNA, regulacji ekspresji genów, dystrybucję i degradację białek, różne drogi przekazywania sygnałów spoza komórki do jej wnętrza, a także sposoby podziału oraz mechanizm programowanej śmierci komórkowej (apoptozy). Książka oprócz podstawowej wiedzy encyklopedycznej na powyższe tematy opisuje również kilka mniej znanych aspektów funkcjonowania komórki, takich jak zakładki genowe, elementy graniczne w DNA czy mechanizmy wyciszania ekspresji genów na poziomie RNA. W założeniu książka przeznaczona jest dla studentów bioinformatyki, lecz przydatna może być również dla studentów innych kierunków „bio-” (biologia, biotechnologia czy medycyna), a nawet dla licealistów z klas o profilu biologicznym.

# Seria: Podręczniki akademickie

---

Edytor serii: Leonard Bolc

Tom serii: 42

**Wiesława Widłak**

# **Wprowadzenie do biologii molekularnej dla bioinformatyków**



WYDAWNICTWO  
PJWSTK

© Copyright by Wiesława Widłak Warszawa 2010

© Copyright by Wydawnictwo PJWSTK  
Warszawa 2010

Wszystkie nazwy produktów są zastrzeżonymi nazwami handlowymi lub znakami towarowymi odpowiednich firm.

Książki w całości lub w części nie wolno powielać ani przekazywać w żaden sposób, nawet za pomocą nośników mechanicznych i elektronicznych (np. zapis magnetyczny) bez uzyskania pisemnej zgody Wydawnictwa.

### **Edytor**

Leonard Bolc

### **Redaktor techniczny**

Ada Jedlińska

### **Korekta**

Anna Bittner

### **Komputerowy skład tekstu**

Grażyna Domańska-Żurek

### **Projekt okładki**

Andrzej Pilich

Wydawnictwo Polsko-Japońskiej Wyższej Szkoły Technik Komputerowych  
ul. Koszykowa 86, 02-008 Warszawa  
tel. 022 58 44 526, fax 022 58 44 503

Oprawa miękka  
ISBN 978-83-89244-89-5

Wersja elektroniczna  
ISBN 978-83-63103-50-7



**KAPITAŁ LUDZKI**  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt „Nowoczesna kadra dla e-gospodarki” – program rozwoju Wydziału Zamiejscowego Informatyki w Bytomiu Polsko-Japońskiej Wyższej Szkoły Technik Komputerowych współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Podziałania 4.1.1 „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego uczelni” Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

## **This book should be cited as:**

Widłak, W., 2010. Wprowadzenie do biologii molekularnej dla bioinformatyków.  
Warszawa: Wydawnictwo PJJWSTK.

---

## Spis treści

<b>1</b>	<b>Komórki i wirusy</b> .....	1
1.1	Budowa komórki .....	1
1.1.1	Budowa komórki prokariotycznej .....	2
1.1.2	Budowa komórki eukariotycznej .....	3
1.2	Błony biologiczne i ich składnik lipidowy .....	5
1.2.1	Fosfolipidy .....	5
1.2.2	Cholesterol i sterydy .....	6
1.3	Jądro komórkowe .....	7
1.3.1	Chromosomy i kariotyp .....	8
1.4	Organelle cytoplazmatyczne .....	9
1.4.1	Mitochondria .....	9
1.4.2	Chloroplasty .....	10
1.4.3	Siateczka wewnątrzplazmatyczna i aparat Golgiego ....	10
1.4.4	Peroksosomy, lizosomy, wakuole i glioksysomy .....	10
1.5	Wirusy i bakteriofagi .....	11
1.5.1	Klasyfikacja wirusów .....	12
<b>2</b>	<b>Budowa i funkcja białek</b> .....	13
2.1	Aminokwasy .....	13
2.2	Peptydy i białka .....	16
2.3	Struktura drugorzędowa białka .....	17
2.3.1	Wiązania wodorowe .....	18
2.3.2	Helisa alfa .....	18
2.3.3	Łańcuch beta, harmonijka beta i baryłka beta .....	19
2.3.4	Struktura trzecio- i czwartorzędowa białek .....	20
2.4	Funkcje białek .....	21
2.4.1	Enzymy .....	21
2.4.2	Białka błonowe .....	23

<b>3</b>	<b>Kwasy nukleinowe</b> .....	27
3.1	Nukleotydy .....	27
3.1.1	Pentozy .....	28
3.1.2	Zasady azotowe nukleotydów .....	28
3.2	Budowa DNA .....	29
3.2.1	Łańcuch nukleotydowy .....	29
3.2.2	Struktura DNA .....	32
3.3	Struktura i funkcja RNA .....	33
3.3.1	Informacyjny RNA .....	34
3.3.2	Transferowy RNA .....	34
3.3.3	Rybosomy i rRNA .....	35
3.3.4	Małe niekodujące cząsteczki RNA .....	36
3.4	Organizacja materiału genetycznego w jądrze - chromatyna ...	38
3.4.1	Histony i nukleosomy .....	38
3.4.2	Struktura chromatyny .....	39
3.5	Kod genetyczny .....	39
3.6	Geny i genomy .....	42
3.7	Sekwencje powtarzające się .....	42
<b>4</b>	<b>Replikacja DNA, mutacje i naprawa</b> .....	45
4.1	Mechanizm replikacji DNA .....	45
4.1.1	Polimerazy DNA .....	46
4.2	Telomerazy i starzenie komórkowe .....	48
4.3	Topoizomerazy .....	50
4.4	Mutacje i ich konsekwencje .....	51
4.4.1	Substytucja (podstawienie) .....	51
4.4.2	Delecja (usunięcie) .....	52
4.4.3	Insercja (wstawienie) .....	52
4.4.4	Pominięcie eksonu .....	52
4.5	Mechanizmy powstawania mutacji .....	53
4.5.1	Mutacje spowodowane światłem UV .....	54
4.5.2	Mutacje wywołane czynnikami chemicznymi .....	56
4.5.3	Mutacje powstające w wyniku błędów replikacyjnych ..	57
4.5.4	Metylacja DNA i wyspy CpG (CG) .....	57
4.6	Mechanizmy naprawy DNA .....	58
4.6.1	Naprawa poprzez wycinanie zasady .....	59
4.6.2	Naprawa poprzez wycinanie nukleotydu .....	60
4.6.3	Naprawa źle sparowanych zasad .....	60
<b>5</b>	<b>Transkrypcja i procesy posttranskrypcyjne</b> .....	63
5.1	Pojęcie ekspresji genów .....	63
5.2	Transkrypcja genów i polimerazy RNA .....	64
5.2.1	Polimerazy RNA .....	65
5.3	Elementy regulatorowe w DNA .....	67
5.3.1	Sekwencje wiążące swoiste czynniki transkrypcyjne ....	68

5.4	Mechanizm transkrypcji genów kodujących białka u Eukariota	69
5.5	Rola czynników transkrypcyjnych i struktury chromatyny w regulacji transkrypcji	71
5.5.1	Elementy graniczne (izolatory)	72
5.5.2	Mechanizm tworzenia zakładek genowych	72
5.6	Motywy strukturalne w czynnikach transkrypcyjnych	73
5.7	Transkrypcja genów kodujących RNA	75
5.8	Dojrzewanie RNA	76
5.8.1	Dołączenie czapeczki	77
5.8.2	Poliadenylacja	78
5.8.3	Dojrzewanie pre-rRNA i pre-tRNA	79
5.8.4	Składanie RNA	79
5.8.5	Redagowanie RNA	80
5.9	Odwrotna transkrypcja	81
<b>6</b>	<b>Synteza i obróbka posttranslacyjna białek</b>	<b>85</b>
6.1	Synteza białek	85
6.1.1	Sygnal inicjacyjny dla syntezy białka	86
6.1.2	Przesunięcia ramki odczytu	86
6.1.3	Geny nakładające się	87
6.1.4	Udział tRNA w translacji	87
6.1.5	Przebieg syntezy białka	89
6.2	Obróbka posttranslacyjna i sortowanie białek	91
6.2.1	Wprowadzanie białek do szorstkiego retikulum endopazmatycznego	91
6.2.2	Transport białek do i w poprzek aparatu Golgiego	94
6.2.3	Transport białek do lizosomów	95
6.2.4	Transport jądrowy	95
6.3	Degradacja białek	97
<b>7</b>	<b>Podział komórki</b>	<b>99</b>
7.1	Cykl komórkowy	99
7.1.1	CDK i cykliny	99
7.1.2	Mechanizm rozpoczęcia i zakończenia fazy S	100
7.2	Mitoza	101
7.2.1	MPF i inicjacja mitozy	101
7.2.2	Mechanizm terminacji mitozy	101
7.3	Mejoza	103
7.3.1	Niezależna segregacja chromosomów	105
7.4	Rekombinacja DNA	105
7.4.1	Rekombinacja homologiczna	106
7.4.2	Rekombinacja zlokalizowana	107
7.4.3	Transpozycja	108



<b>8 Szlaki sygnałowe i apoptoza</b> .....	109
8.1 Sygnalizacja przez cząsteczki hydrofobowe .....	109
8.2 Przekazywanie sygnału przez kanały jonowe .....	111
8.3 Przekazywanie sygnału przez receptory związane z białkiem G	113
8.3.1 Receptory związane z białkiem G .....	114
8.3.2 Białka G .....	114
8.3.3 Efektory i przekaźniki wtórne .....	115
8.4 Przekazywanie sygnału przez enzymy związane z błoną komórkową .....	116
8.4.1 Receptorowe kinazy tyrozynowe .....	117
8.4.2 Receptorowe kinazy serynowo-treoninowe .....	119
8.5 Sygnalizacja wewnątrzkomórkowa .....	119
8.5.1 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem cAMP .....	119
8.5.2 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem NF-kappaB ..	120
8.5.3 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem STAT .....	121
8.5.4 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem MAPK .....	122
8.6 Apoptoza .....	123
<b>Literatura</b> .....	127
<b>Skorowidz rzeczowy</b> .....	129

## Komórki i wirusy

Komórki stanowią najmniejszy element strukturalny żyjących organizmów zdolny do samodzielnego utrzymania i powielania. Wirusy nie są w stanie samodzielnie powielać się - nie są więc organizmami żywymi ani komórkami. Mimo, że komórki różnią się znacznie wyglądem czy wielkością między sobą, ich budowa jest zasadniczo podobna. Nawet komórki roślinne i zwierzęce wykazują znaczny stopień podobieństwa ogólnej organizacji.

Wszystkie komórki można podzielić na dwa typy: **prokariotyczne** i **eukariotyczne**. Główną różnicą między nimi jest sposób przechowywania materiału genetycznego: w komórkach eukariotycznych - w wydodrębnionym jądrze komórkowym, w prokariotycznych - bezpośrednio w cytoplazmie (brak jądra komórkowego).

Organizmy eukariotyczne to organizmy zbudowane z komórek eukariotycznych. Zaliczane są do nich: zwierzęta, rośliny, grzyby oraz protisty (obejmujące organizmy niekwalifikujące się do żadnej z pozostałych grup). Nowa klasyfikacja organizmów prokariotycznych wyróżnia archeowce (dawniej archebakterie) i bakterie (dawniej eubakterie). Są to organizmy jednokomórkowe. Archeowce żyją w ekstremalnych środowiskach. Zostały podzielone na trzy główne grupy pod względem środowiska bytowania: **metanogeniczne** (żyją w środowiskach beztlenowych, np. bagnistych; produkują metan i nie tolerują tlenu), **ekstremalnie halofilne** (żyją w środowiskach o dużym stężeniu soli NaCl, np. w Morzu Martwym), **ekstremalnie termofilne** (żyją w środowiskach o wysokiej temperaturze, bogatych w związki siarki i o niskim pH, np. w gorących źródłach i gejzerach).

### 1.1 Budowa komórki

Wszystkie komórki zawierają cytoplazmę, błonę komórkową i DNA (nośnik informacji genetycznej). Cytoplazma jest płynnym wypełnieniem komórki, o dużej gęstości, zawierającym makrocząsteczki i ich kompleksy (np. rybosomy zbudowane z RNA i białek, w których odbywa się proces translacji, czyli

syntezy białek; rozdz. 6), oraz substancje niskocząsteczkowe (np. jony). Błona komórkowa otacza cytoplazmę i wyodrębnia komórkę ze środowiska. Błona komórkowa zbudowana jest z podwójnej warstwy fosfolipidowej zawierającej również białka i węglowodany. Podwójna warstwa fosfolipidowa stanowi także podstawę budowy innych błon biologicznych. DNA (kwas deoksyrybonukleinowy) jest materiałem genetycznym. Komórki eukariotyczne posiadają kilka cząsteczek DNA zlokalizowanych w organellach otoczonych przez błonę fosfolipidową (w jądrze komórkowym oraz w mitochondriach). Komórki prokariotyczne posiadają pojedynczą cząsteczkę DNA bezpośrednio w cytoplazmie.

### 1.1.1 Budowa komórki prokariotycznej

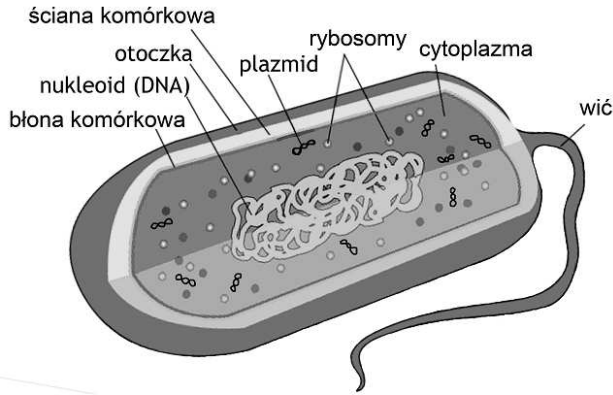
Komórka prokariotyczna zawiera DNA, cytoplazmę i struktury otaczające, czyli błonę komórkową, oraz niektóre z następujących komponentów: ścianę komórkową, kapsułę, śluz, witkę, fimbrie/pili. U bakterii ściana komórkowa zawiera unikalną strukturę nazywaną peptydoglikanem. U archeowców nie występuje peptydoglikan, co powoduje, że organizmy te są odporne na wiele antybiotyków działających na ściany komórkowe. Komórki prokariotyczne nie tworzą organizmów wielokomórkowych i nie zawierają organelli.

Na podstawie różnic w strukturze ściany komórkowej oraz możliwości jej barwienia przez barwnik Gram, bakterie mogą być podzielone na dwie grupy: Gram-ujemne i Gram-dodatnie. Ściana komórkowa w bakteriach Gram-ujemnych składa się z trzech warstw: przestrzeni peryplazmatycznej będącej otwartym obszarem na zewnątrz błony cytoplazmatycznej, następnie - z cienkiej warstwy peptydoglikanu, oraz zewnętrznej błony otaczającej peptydoglikan. W ścianie komórkowej w bakteriach Gram-dodatnich brak jest przestrzeni peryplazmatycznej oraz błony zewnętrznej, natomiast warstwa peptydoglikanu jest grubsza. W wyniku tego są one bardziej wrażliwe na lizozym (enzym naturalnie występujący m.in. w ślinie i łzach działający na ścianę komórkową bakterii) i penicylinę.

Kapsuła i śluz są hydrofilnym żelem otaczającym ścianę komórkową u większości bakterii. Kapsuła ściślej przylega do ściany niż śluz. Witka to długi, sztywny białkowy "pręt" ułatwiający poruszanie mobilnych bakterii. Fimbrie i pili są strukturami podobnymi do krótkich włosków, których zadaniem jest przytwierdzanie komórki do innych komórek, co jest istotne przy infekowaniu innych organizmów.

Spory (zarodniki) są małymi, często jednokomórkowymi strukturami służącymi do rozrodu. Występują u roślin, alg, grzybów, pierwotniaków i bakterii. Spory bakteryjne mają grubą ścianę, która umożliwia im przetrwanie w szerokim zakresie temperatur, wilgotności oraz w innych niekorzystnych warunkach, w których giną formy wegetatywne wykazujące normalną aktywność życiową.

Wszystkie informacje niezbędne do przeżycia bakterii w typowym dla niej środowisku zapisane są w jej chromosomie. Chromosom bakteryjny to na ogół jedna duża cząsteczka DNA, kolistą zamkniętą, ale zdarzają się chromosomy



**Rysunek 1.1.** Schemat budowy komórki prokariotycznej. Na podstawie: [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0d/Diagram\\_kom%C3%B3rki\\_Prokaryota.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/0d/Diagram_kom%C3%B3rki_Prokaryota.svg)

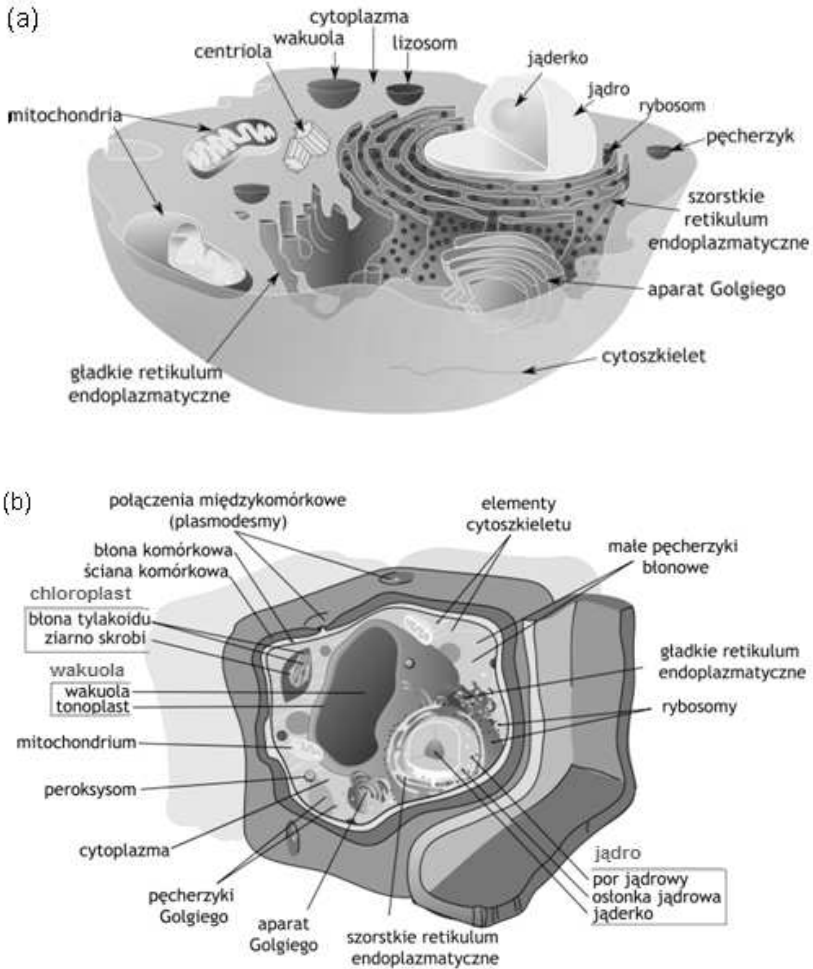
liniowe i w kilku egzemplarzach. Bardzo wiele bakterii posiada również **plazmidy**. Są to (na ogół) koliste cząsteczki DNA, które powielane są niezależnie od chromosomu. Często zawarte są w nich geny, które mogą okazać się bardzo przydatne, na przykład w plazmidzie może być zakodowana informacja, jak wykorzystać jakiś związek obecny w otoczeniu. Jeśli związek ten znajduje się w środowisku, bakteria zyskuje oczywistą przewagę nad innymi bakteriami, które zdolności spożytkowania tego związku nie posiadają. Plazmidy mogą być różnej wielkości, od malutkich po megaplazmidy przekraczające swoim rozmiarem wielkość genomów niektórych innych bakterii. Plazmidy są naturalnymi wektorami, dzięki którym pomiędzy bakteriami (czasami nawet zupełnie niespokrewnionymi) zachodzi ciągła wymiana informacji genetycznej, np. przekazywane są geny oporności na antybiotyki. Plazmidy są jednymi z podstawowych narzędzi pracy biotechnologów.

### 1.1.2 Budowa komórki eukariotycznej

Komórka eukariotyczna zawiera **organelle**, które definiuje się jako struktury otoczone błoną, np. jądro komórkowe, mitochondria, chloroplasty, siateczka wewnątrzplazmatyczna (retikulum endoplazmatyczne), aparaty Golgiego, lizosomy, wakuole, peroksysony. Komórka zwierzęca otoczona jest jedynie błoną komórkową, natomiast komórka roślinna ma dodatkową warstwę nazywaną ścianą komórkową, zbudowaną z celulozy i innych polimerów (rys. 1.2).

Jądro komórkowe jest największą strukturą komórki eukariotycznej. Pod mikroskopem w jądrze widoczne są dwa obszary: ciemniejszy - nazwany jąderkiem, i jaśniejszy - znany jako nukleoplazma. Jądro komórkowe nie jest częścią cytoplazmy, którą można określić jako wszystko to, co jest otoczone przez błonę komórkową, z wyłączeniem jądra. W języku polskim słowa „cyto-

plazma” używa się jednak często w węższym znaczeniu, mając na myśli tylko cytozol. **Cytozol** to cytoplazma po wykluczeniu organelli. Jest on płynnym, złożonym koloidem wodnym, zawierającym m.in. białka (zawieszone bądź rozpuszczone), lipidy, kwasy tłuszczowe, wolne aminokwasy oraz sole mineralne (np. wapnia, magnezu, sodu). Ważnym składnikiem cytoplazmy jest też skomplikowana przestrzenna sieć białkowych włókienek (mikrofilamenty) i mikroturek (mikrotubule), tworzących tzw. **cytoszkielet**.



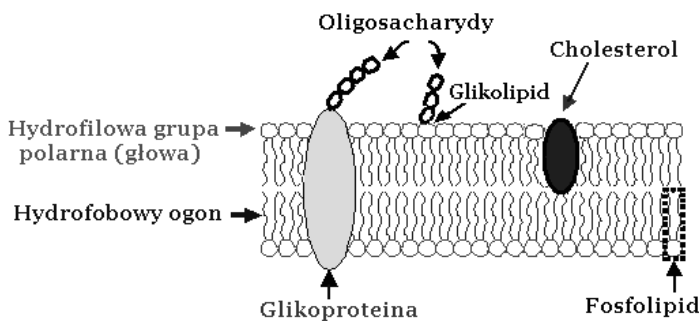
**Rysunek 1.2.** Schemat typowej komórki eukariotycznej: (a) zwierzęcej i (b) roślinnej (b). Na podstawie:

[http://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Biological\\_cell.svg](http://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Biological_cell.svg)

[http://en.wikipedia.org/wiki/Plant\\_cell](http://en.wikipedia.org/wiki/Plant_cell)

## 1.2 Błony biologiczne i ich składnik lipidowy

Wszystkie błony biologiczne (błony komórkowe i błony wszystkich organelli wewnątrzkomórkowych) są wysoce selektywnymi barierami przepuszczalności wytyczającymi granice komórek i organelli. Zbudowane są z lipidów i białek. Lipidy obecne w błonach biologicznych to głównie fosfolipidy i cholesterol. Do białek i fosfolipidów obecnych w błonach mogą być przyłączone węglowodany - powstają wtedy odpowiednio: glikoproteiny i glikolipidy (rys. 1.3). Błony są płynnymi strukturami warstwowymi: cząsteczki lipidów i większości białek mogą szybko przemieszczać się wzdłuż błony. Warto zaznaczyć, że lipidy oprócz funkcji budulcowej błon biologicznych wykorzystywane są w komórce jako cząsteczki paliwowe, jako cząsteczki magazynujące energię oraz jako cząsteczki sygnalizacyjne (rozdz. 8).

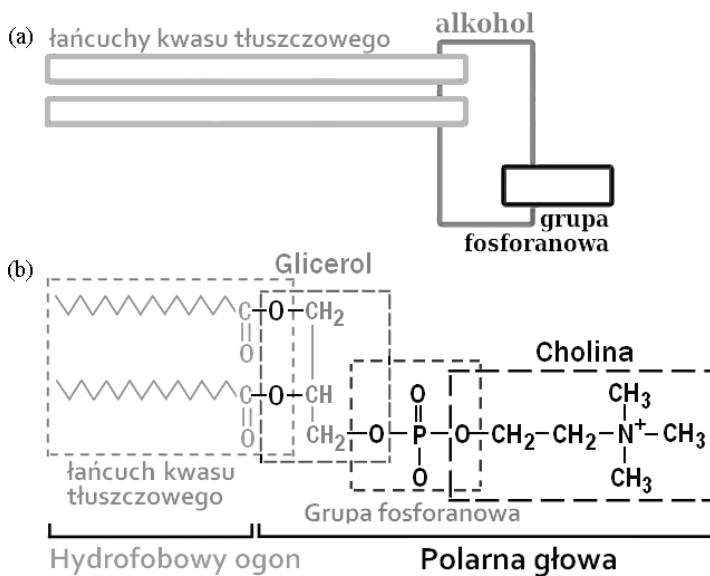


**Rysunek 1.3.** Schemat typowej błony biologicznej (dwuwarstwy lipidowo-białkowej)

### 1.2.1 Fosfolipidy

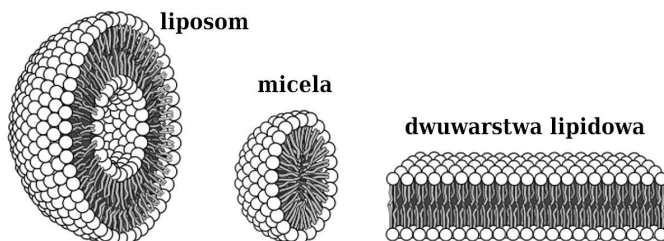
Cząsteczka fosfolipidu zbudowana jest z hydrofilowej (o dużym powinowactwie do wody) grupy polarnej, tzw. „głowy” oraz hydrofobowego (o małym powinowactwie do wody) „ogona”. Ogon hydrofobowy zawiera dwa łańcuchy węglowe, zazwyczaj reszty kwasu tłuszczowego (rys. 1.4). Większość grup polarnych fosfolipidów należy do fosfoglicerydów, które zawierają glicerol (alkohol trójwęglowy) łączący głowę z ogonem. Fosfoglicerydem jest np. fosfatydylocholina, fosfatydyloseryna, fosfatydyloetanoloamina, czy fosfatydyloinozytol. Łańcuchy kwasów tłuszczowych w błonach biologicznych zwykle zawierają parzystą liczbę atomów węgla, na ogół od 14 do 24. Mogą to być nasycone (sąsiadujące atomy węgla są połączone pojedynczym wiązaniem) lub nienasycone kwasy tłuszczowe (gdy niektóre z sąsiadujących atomów węgla są połączone podwójnym wiązaniem). Długość łańcucha oraz stopień nasycenia kwasów tłuszczowych w lipidach ma istotny wpływ na płynność błon biologicznych.

Po umieszczeniu cząsteczek fosfolipidów w wodzie hydrofilowe głowy ustawiają się przodem do cząsteczek wody, a hydrofobowe ogony unikają wody.



**Rysunek 1.4.** Struktura chemiczna fosfolipidów: (a) model ogólny; (b) struktura fosfatydylocholiny

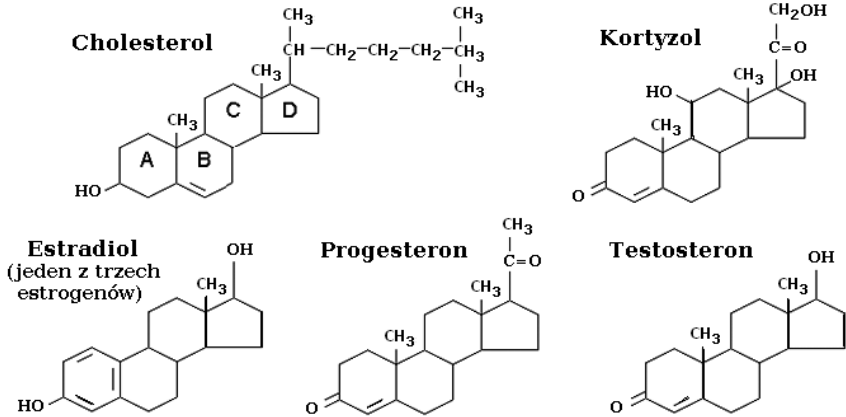
W rezultacie może powstać struktura zwana dwuwarstwą lipidową, liposom, lub - mniej uprzywilejowana energetycznie - micela (rys. 1.5).



**Rysunek 1.5.** Struktury formowane poprzez fosfolipidy w roztworach wodnych. Przedstawiono przekrój przez liposom i micelę oraz fragment dwuwarstwy lipidowej. Na podstawie: <http://en.wikipedia.org/wiki/Micelle>

### 1.2.2 Cholesterol i sterydy

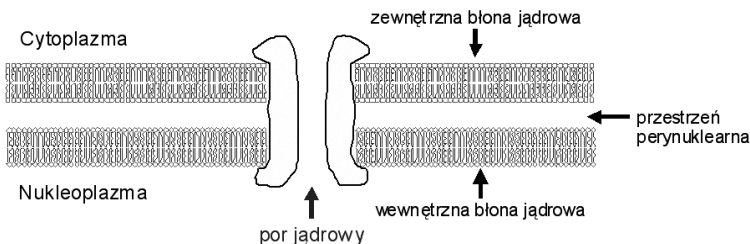
Cholesterol nie występuje w większości komórek prokariotycznych, natomiast stanowi pospolity składnik błony komórkowej u ssaków. Pełni on krytyczną rolę w regulacji płynności błony. Na bazie cholesterolu syntetyzowane są hormony sterydowe (rys. 1.6; rozdz. 8.1). Odkładanie złogów cholesterolu odgrywa kluczową rolę w miażdżycy (arteriosklerozie) - zaburzeniu, które może prowadzić do zawału serca lub wylewu.



**Rysunek 1.6.** Struktura cholesterolu i innych ważnych sterydów. Ich cechą charakterystyczną jest obecność czterech pierścieni wodorowęglowych, oznaczonych tutaj jako A, B, C i D. Dzięki obecności grupy hydroksylowej (-OH) cholesterol ma właściwości amfipatyczne (ma część hydrofobową i część hydrofilową)

### 1.3 Jądro komórkowe

Jądro komórkowe składa się z osłonki (otoczki) jądrowej (ang. *nuclear envelope*) zbudowanej z dwu błon (rys. 1.7) oraz z jąderka i nukleoplazmy. Zewnętrzna błona jądrowa pozostaje w ciągłości z szorstkim rekikulum endoplazmatycznym (ER), a przestrzeń perynuklearna (przeźródź między wewnętrzną i zewnętrzną błoną jądrową) - w ciągłości ze światłem ER. Tuż przy wewnętrznej błonie jądrowej zlokalizowana jest blaszka jądrowa zbudowana z białek włókienek pośrednich o nazwie laminy. Blaszka jądrowa wiąże wewnętrzną błonę jądrową z materiałem genetycznym. Materiał genetyczny w postaci chromatyny/chromosomów zlokalizowany jest przede wszystkim w nukleoplazmie. Jednak te części z różnych chromosomów, które zawierają grupy genów kodujących rRNA, mogą być skupione w jednym regionie, formując jąderko. Jego główną rolą jest produkcja rRNA.

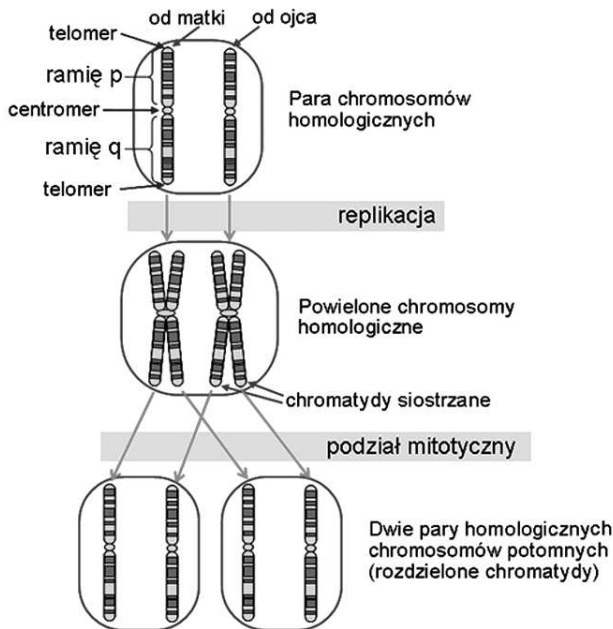


**Rysunek 1.7.** Schemat osłonki jądrowej zbudowanej z dwóch warstw podwójnej błony lipidowej. W jądrze ssaków obecnych jest około 4000 kanałów (por) jądrowych, każdy z nich zbudowany jest z ponad 100 różnych białek



### 1.3.1 Chromosomy i kariotyp

Chromosom jest skondensowaną strukturą, którą tworzy pojedyncza cząsteczka DNA i związane z nią białka. W komórkach niebędących w trakcie podziału chromosomy nie są widoczne w mikroskopie świetlnym, ponieważ DNA wraz z towarzyszącymi mu białkami (czyli chromatyna) jest luźno rozprzestrzeniony w całym jądrze. W czasie podziału komórki, w stadium metafazy, chromatyna ulega kondensacji i staje się widoczna w postaci chromosomów. DNA w chromosomie zostało wcześniej powielone i chromosom metafazowy zbudowany jest z dwóch chromatyd siostrzanych połączonych centromerem.



**Rysunek 1.8.** Chromosomy homologiczne w czasie podziału mitotycznego komórki. Chromosomy o tym samym kształcie i wielkości zawierające podobną informację genetyczną (czyli geny) to chromosomy homologiczne. W komórce diploidalnej jeden z nich pochodzi od matki, a drugi od ojca. W czasie podziału komórki, w trakcie metafazy, powielone chromosomy zawierają dwie siostrzane chromatydę połączone centromerem. Chromatyd siostrzane to identyczne kopie chromosomu, a więc zawierają te same geny i te same **allele** (czyli wersje genów w określonym miejscu - **locus** - na danym chromosomie homologicznym). Natomiast chromosomy homologiczne zawierają te same geny, ale allele mogą się różnić. W czasie podziału komórkowego pary chromosomów są rozdzielane do dwóch komórek potomnych

Każdy chromosom ma krótsze i dłuższe ramię (oznaczone odpowiednio literami p, od „petit” i q, od „queue”). Ramiona są rozdzielone przewężeniem nazywanym centromerem (rys. 1.8). Chromosomy są widoczne pod mikroskopem

dopiero po wybarwieniu. Wyglądają wtedy jak sznurki z ciemnymi i jasnymi poprzecznymi prążkami. Komplet chromosomów w komórce obecny w trakcie metafazy nazywany jest **kariotypem**. Ludzka komórka rozrodcza (jajo lub plemnik) zawiera jeden komplet chromosomów (komórka haploidalna,  $1n$ ), czyli 23 sztuki: 22 autosomy oraz  $X$  lub  $Y$ . Komórki somatyczne (pozostałe komórki ciała) normalnie zawierają dwa homologiczne komplety chromosomów, czyli 46 (komórki diploidalne,  $2n$ ). Jeden komplet pochodzi od matki, drugi od ojca. U innych gatunków liczba chromosomów waha się od 1 do 1260.

Ludzkie komórki somatyczne zawierają dwa chromosomy determinujące płeć:  $XX$  u kobiet i  $XY$  u mężczyzn. W komórkach rozrodczych znajduje się tylko jeden chromosom płci: w żeńskich jest to zawsze chromosom  $X$ , w męskich -  $X$  bądź  $Y$ .

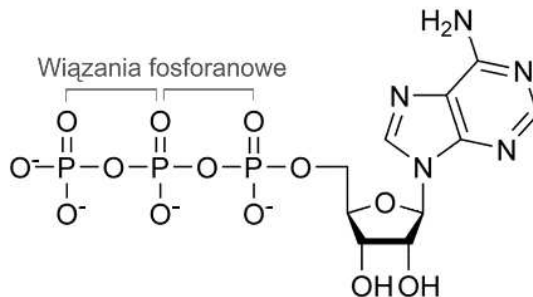
## 1.4 Organelle cytoplazmatyczne

Organelle definiuje się jako struktury wewnątrzkomórkowe ograniczone błoną białkowo-lipidową (organelłą jest więc również jądro komórkowe). Organelle obecne w cytoplazmie to mitochondria, chloroplasty, siateczka wewnątrzplazmatyczna, aparaty Golgiego, peroksysony, lizosomy, wakuole i gliksosomy.

### 1.4.1 Mitochondria

Komórki eukariotyczne mają bardzo dużo mitochondriów - mogą one zajmować nawet czwartą część objętości cytoplazmy. Są to podłużne organelle o średnicy wahającej się od  $0,5$  do  $10 \mu\text{m}$  (w przybliżeniu odpowiada to wielkości komórki bakteryjnej). Mitochondrium zbudowane jest z dwóch błon: zewnętrznej i mocno pofałdowanej wewnętrznej. Posiada swój własny DNA (oznaczany jako mtDNA) kodujący białka i RNA; jednak większość białek mitochondrialnych kodowana jest przez DNA jądrowy.

Głównym zadaniem mitochondrium jest produkcja ATP (adenozynotryfosforanu), który stanowi źródło energii dla większości procesów zachodzących wewnątrz komórki (rys. 1.9). Energia jest przechowywana w wiązaniach bezwodnikowych pomiędzy resztami fosforanowymi i może być uwalniana w czasie



Rysunek 1.9. Struktura chemiczna ATP (adenozynotryfosforanu)

hydrolizy ATP do ADP (adenozynodifosforanu) i AMP (adenozynomonofosforanu). W komórkach zwierząt głównym źródłem energii dla syntezy ATP jest katabolizm (rozkład) glukozy i kwasów tłuszczowych. Produkcja ATP wymaga ukierunkowanego transportu elektronów i protonów (tzw. fosforylacja oksydacyjna), odbywającego się w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. W wyniku zaburzeń w transporcie elektronów mogą powstawać wolne rodniki (i inne reaktywne formy tlenu), co może prowadzić do uszkodzeń struktur komórki i starzenia komórkowego.

### 1.4.2 Chloroplasty

Chloroplasty, podobnie jak mitochondria, zbudowane są z zewnętrznej i wewnętrznej błony białkowo-lipidowej. Chloroplasty również posiadają swoje własne DNA, lecz większość ich białek kodowanych jest przez DNA jądrowy. Wewnętrzna błona chloroplastu tworzy tylakoidy, w których obecny jest chlorofil absorbujący światło niezbędne dla tzw. fazy jasnej fotosyntezy. W fazie tej, dzięki zaabsorbowanej energii kwantów światła, z dwóch cząsteczek wody powstaje cząsteczka tlenu i jony wodorowe, dzięki czemu powstaje gradient stężeń w błonie tylakoidu. Przepływ jonów przez membranę związany jest z syntezą ATP. Płynnym składnikiem chloroplastów jest stroma, w której kosztem cząsteczek ATP odbywa się asymilacja CO<sub>2</sub> i synteza cukrów (tzw. faza ciemna fotosyntezy).

### 1.4.3 Siateczka wewnątrzplazmatyczna i aparat Golgiego

Siateczka wewnątrzplazmatyczna (retikulum endoplazmatyczne, ER) tworzy nieregularną sieć cystern, kanalików i pęcherzyków wewnątrz komórki odizolowanych od cytoplazmy podstawowej błonami biologicznymi. Występuje w formie gładkiej bądź szorstkiej. Główną rolą szorstkiej siateczki jest obróbka nowo syntetyzowanych białek, dlatego też jest ona zasocjowana z rybosomami (rozdz. 6.2.1). Gładkie retikulum bierze udział w syntezie i metabolizmie lipidów; występuje w największej ilości w komórkach wątroby (hepatocytach).

Po wstępnej obróbce białek w retikulum szorstkim są one zamykane w pęcherzykach transportowych i trafiają do innych struktur błoniastych - aparatów Golgiego (rozdz. 6.2.2). Struktury te są głównym miejscem sortowania i modyfikacji białek, a także lipidów. Z części białek powstają tu glikoproteiny i transportowane są dalej do swoich miejsc docelowych. Aparat Golgiego jest też miejscem syntezy polisacharydów oraz mukopolisacharydów.

### 1.4.4 Peroksysomy, lizosomy, wakuole i gliksysomy

Peroksysomy zawierają enzymy umożliwiające degradację aminokwasów oraz kwasów tłuszczowych. W reakcjach tych powstaje szkodliwy dla komórki nadtlenek wodoru, który przekształcany jest na wodę i tlen przez enzym zwany katalazą.

Podstawową funkcją lizosomów jest degradacja makrocząsteczek zbędnych w komórce. Makrocząsteczki hydrolizowane są poprzez odpowiednie enzymy: cząsteczki kwasów nukleinowych (DNA i RNA) przez **nukleazy**, białka przez **proteazy**, zaś lipidy przez lipazy. Lizosomy obecne są jedynie w komórkach zwierzęcych. W komórkach roślinnych ich funkcje pełnią wakuole.

Wakuole (wodniczki) przechowują wodę, jony, cukry, aminokwasy i inne małe cząsteczki. Mogą również przechowywać produkty zbędne komórce, które ulegają tu degradacji. Wakuole zwykle zajmują około 30% objętości komórki, mogą jednak zwiększyć swoją objętość aż do 90%.

Glioksosomy występują głównie w nasionach roślin. Ich główną funkcją jest przekształcanie kwasów tłuszczowych do cząsteczek acetyloCoA, które w cyklu glioksylanowym są przekształcane w cukry proste. Mechanizm ten jest istotny w uruchamianiu rezerw tłuszczowych nasion roślin oleistych. Dzieje się tak w czasie kiełkowania oraz gdy zachodzi potrzeba uruchomienia niewęglowodanowych rezerw energetycznych u roślin. Peroksosomy i glioksosomy nazywane są również mikrociałkami.

## 1.5 Wirusy i bakteriofagi

Wirusy są kompleksami makrocząsteczek zbudowanymi z białek i kwasów nukleinowych. Powielanie wirusów możliwe jest wyłącznie w obrębie innych komórek z wykorzystaniem enzymów zainfekowanej komórki. Wirusy są więc pasożytami wewnątrzkomórkowymi, nie mają jednak charakteru komórek czy organizmów żywych sensu stricto. Wielkość wirusów waha się od 10 do 300 nm. Cząsteczka wirusa (wirion) składa się z jednej lub kilku cząsteczek DNA lub RNA (będących nośnikiem informacji genetycznej wirusa) oraz otoczki białkowej nazywanej kapsydem. Niektóre wirusy mają dodatkowo osłonki lipidowe (ang. *envelope*) otaczające kapsyd. Większość wirusów jest patogenami - po wnikięciu do żywych komórek wywołuje choroby. Różne wirusy atakują swoje różnego typu komórki (na przykład wirus HIV atakuje wyłącznie komórki układu odpornościowego, głównie limfocyty T). Gdy wirus napotka „swoją” komórkę, za pomocą swoistych receptorów (białek na powierzchni komórki gospodarza mających normalnie inne funkcje) przyłącza się do jej błony komórkowej. Następnie może wstrzyknąć swój materiał genetyczny do komórki lub też zostaje wchłonięty w całości przez komórkę. Wewnątrz komórki, na podstawie zapisu z materiału genetycznego wirusa, tworzone są jego nowe cząsteczki. Mogą one zarówno pozostać w komórce na długo w fazie utajonej jak też ją opuścić po uprzednim zniszczeniu. Czasami zdarza się, że wirus pozostaje w komórce w postaci materiału genetycznego zintegrowanego z genomem gospodarza.

Wirusy mogą infekować również bakterie. Takie wirusy nazywane są bakteriofagami (lub fagami). Bakteriofagi stosowane mogą być do zwalczania zakażeń bakteryjnych jako alternatywa dla antybiotyków. W biotechnologii i in-

żynierii genetycznej fagi oraz inne wirusy wykorzystywane są do przenoszenia informacji genetycznej między komórkami.

Ryzyko związane z infekcjami wirusowymi może być bardzo różne. Wiele infekcji wirusowych nie wywołuje chorób; na przykład większość ludzi zainfekowana jest cytomegalowirusem (CMV), nie wykazuje jednak symptomów choroby. Są też wirusy, które bardzo często prowadzą do śmierci organizmu, na przykład koronawirusy, które wywołują ostrą niewydolność układu oddechowego (SARS) czy też wirus HIV wywołujący AIDS.

### 1.5.1 Klasyfikacja wirusów

Klasyfikacja wirusów oparta jest na rodzaju posiadanego materiału genetycznego oraz strategii powielania tego materiału (replikacji). Poza dwuniciowym DNA, nośnikiem informacji genetycznej w komórkach prokariotycznych i eukariotycznych, materiałem genetycznym wirusów może być również jednoniciowy DNA lub RNA. Wirusy podzielono na siedem klas:

1. Wirusy dsDNA - zawierające dwuniciowy DNA;
2. Wirusy ssDNA - zawierające jednoniciowy DNA;
3. Wirusy dsRNA - zawierające dwuniciowy RNA;
4. Wirusy ssRNA(+) - zawierające RNA o dodatniej polarności (może pełnić funkcje mRNA kodującego białka);
5. Wirusy ssRNA (-) - zawierające jednoniciowy RNA o ujemnej polarności (RNA musi być najpierw przepisany na mRNA);
6. Wirusy RNA używające odwrotnej transkryptazy;
7. Wirusy DNA używające odwrotnej transkryptazy;

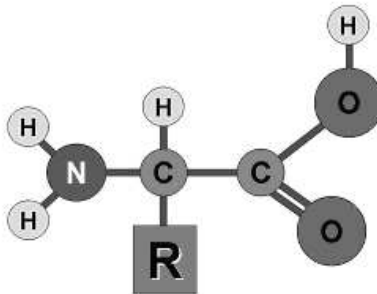
gdzie „ds” oznacza „double strand” - dwuniciowy, a „ss” oznacza „single strand” - jednoniciowy.

Dwie ostatnie klasy wirusów to tak zwane retrowirusy. Niezbędnym elementem ich cyklu replikacyjnego jest przepisanie informacji genetycznej z RNA do DNA, reakcja katalizowana przez odwrotną transkryptazę - enzym kodowany w genomie wirusa (rozdz. 5.9).

## Budowa i funkcja białek

### 2.1 Aminokwasy

Aminokwas (w skrócie: aa) definiuje się jako cząsteczkę zawierającą grupę aminową ( $-\text{NH}_2$ ), grupę karboksylową ( $-\text{COOH}$ ) i grupę zmienną, różną u różnych aminokwasów, oznaczoną jako R (rys. 2.1). Grupa R nazywana jest również łańcuchem bocznym. Ogólny zapis aminokwasu można przedstawić jako:  $\text{R}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOH}$ .



**Rysunek 2.1.** Schemat budowy aminokwasu: grupa aminowa po lewej, karboksylowa - po prawej, R - łańcuch boczny. Atom węgla znajdujący się pomiędzy grupą aminową i karboksylową nazywany jest węglem  $\alpha$

W roztworach wodnych aminokwasy występują jako tzw. sole wewnętrzne (amfolyty) - mogą przyłączać bądź odłączać protony do grup „funkcyjnych” (tj. aminowej i karboksylowej). Niezwykle ważnym kryterium charakteryzującym aminokwasy jest więc punkt izoelektryczny (pI), czyli taka wartość pH, przy której populacja cząsteczek zawiera średnio tyle samo ładunków dodatnich, co ujemnych (a więc ładunek całkowity wynosi zero).

Znanych jest około 300 aminokwasów występujących naturalnie, lecz jedynie 20 z nich wchodzi w skład białek (tabela 2.1). Są to tzw. **aminokwasy**

Nazwa	Symbol		Grupa R	C $\alpha$
	3-literowy	1-literowy		
Asparaginian	Asp	D		
Glutaminian	Glu	E		
Lizyna	Lys	K	$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
Arginina	Arg	R	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(\text{NH}_2)=\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	
Histydyna	His	H		
Tyrozyna	Tyr	Y		
Tryptofan	Trp	W		
Fenylalanina	Phe	F		
Cysteina	Cys	C	$\text{HS}-\text{CH}_2-$	
Metionina	Met	M	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$	

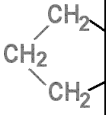
Nazwa	Symbol		Grupa R	C $\alpha$
	3-literowy	1-literowy		
Seryna	Ser	S	HO-CH <sub>2</sub>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Treonina	Thr	T	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Asparagina	Asn	N	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{CH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Glutamina	Gln	Q	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Glicyna	Gly	G	H	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Alanina	Ala	A	CH <sub>3</sub>	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Walina	Val	V	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Leucyna	Leu	L	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Izoleucyna	Ile	I	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$
Prolina	Pro	P		$\begin{array}{c} \text{H} \\   \\ \text{C}-\text{COO}^- \\   \\ \text{N} \\   \\ \text{H} \end{array}$

Tabela 2.1. Nazwy, symbole i struktura chemiczna aminokwasów budujących białka



**biogenne** (białkowe). Należą one do tak zwanych  $\alpha$ -aminokwasów, w których obie grupy funkcyjne i łańcuch boczny R połączone są z jednym atomem węgla nazywanego węglem  $\alpha$ . Aminokwasy biogenne z wyjątkiem glicyny, która nie ma asymetrycznego atomu węgla w cząsteczce (grupą R jest tu atom wodoru), to związki optycznie czynne. Aminokwasy biogenne należą do grupy L, czyli mają grupę aminową po lewej stronie łańcucha R.

Na podstawie fizycznych i chemicznych właściwości ich łańcucha bocznego aminokwasy dzieli się na:

**kwasowe** (kwas asparaginowy, czyli asparaginian, kwas glutaminowy, czyli glutaminian) - w środowisku obojętnym ich łańcuch boczny zawierający grupę karboksylową traci proton i aminokwas przyjmuje ładunek ujemny;

**zasadowe** (lizyna, arginina, histydyna) - w środowisku obojętnym ich łańcuch boczny zawierający grupę aminową lub iminową może przyłączyć proton i aminokwas przyjmuje ładunek dodatni (oddziaływania między pozytywnie i negatywnie naładowanymi łańcuchami bocznymi aminokwasów kwasowych i zasadowych mogą prowadzić do powstania „mostków solnych” stabilizujących strukturę białka);

**aromatyczne** (tyrozyna, tryptofan, fenyloalanina) - ich łańcuch boczny zawiera pierścień aromatyczny (cykliczny);

**siarkowe** (cysteina i metionina) - ich łańcuch boczny zawiera atom siarki (mostki disiarczkowe formowane między dwoma cysteinami silnie stabilizują strukturę białka, natomiast unikalną cechą metioniny jest to, że od niej rozpoczyna się synteza wszystkich białek);

**hydrofilowe** (seryna, treonina, asparagina, glutamina) - ich łańcuch boczny zawiera hydrofilową (ale nieulegającą jonizacji) grupę funkcyjną, np. hydroksylową (łańcuchy takie biorą udział w tworzeniu wiązań wodorowych stabilizujących strukturę białka);

**obojętne hydrofobowe** (glicyna, alanina, walina, leucyna, izoleucyna) - z węglowodorowym łańcuchem bocznym bez grup funkcyjnych (łańcuchy takie mogą brać udział w oddziaływaniach hydrofobowych, w strukturze białka zazwyczaj skierowane są do wnętrza);

**specjalne** - do grupy tej należy prolina, której grupa R jest bezpośrednio połączona z grupą aminową (struktura przestrzenna łańcucha polipeptydowego ulega usztywnieniu i zagięciu w miejscu występowania proliny).

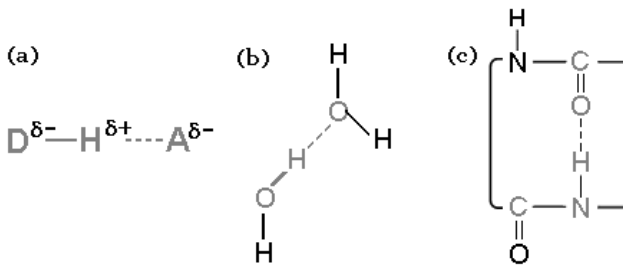
## 2.2 Peptydy i białka

Peptyd to łańcuch aminokwasów połączonych poprzez wiązania peptydowe. Nazwa polipeptydy odnosi się do długich peptydów, a oligopeptydy - do krótkich (poniżej 10 aminokwasów). Białka zbudowane są z jednego lub kilku polipeptydów dłuższych niż 50 aa.



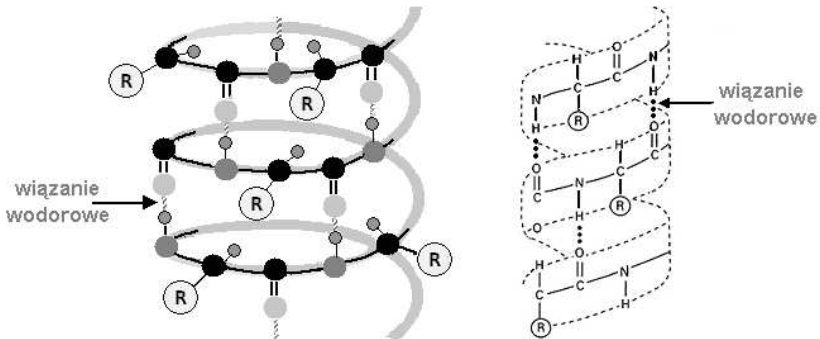
### 2.3.1 Wiązania wodorowe

Wiązanie wodorowe jest rodzajem stosunkowo słabego wiązania chemicznego polegającego głównie na przyciąganiu elektrostatycznym, ale bez jonizacji cząsteczek (rys. 2.4). Wiązanie formowane jest przez trzy atomy: jeden atom wodoru i dwa atomy naładowane ujemnie, najczęściej azotu (N) lub tlenu (O). Atom wodoru jest połączony wiązaniem kowalencyjnym z jednym z ujemnie naładowanych atomów, nazywanym **donorem**, drugi z atomów nazywany jest **akceptorem**. Ładunek elektryczny rozkłada się pomiędzy trzy atomy tworzące wiązanie: elektroujemne atomy mają częściowo negatywny ładunek, a atom wodoru ma częściowo pozytywny ładunek. Siła wiązania wodorowego zależy od donora i akceptora oraz ich otoczenia. Wiązania wodorowe są ważnym elementem stabilizującym strukturę makrocząsteczek takich jak białka czy kwasy nukleinowe.



**Rysunek 2.4.** Wiązania wodorowe (oznaczone przerywaną linią): (a) wzór ogólny; D: donor; A: akceptor; (b) wiązanie wodorowe pomiędzy dwoma cząsteczkami wody; (c) wiązanie wodorowe w polipeptydzie, np. w helisie  $\alpha$  lub pomiędzy dwoma łańcuchami  $\beta$

### 2.3.2 Helisa alfa

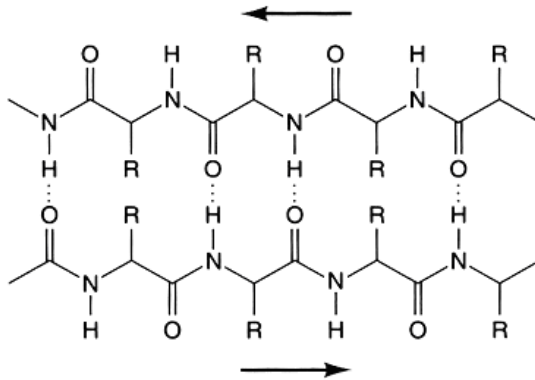


**Rysunek 2.5.** Schematy regularnej  $\alpha$  helisy. R - łańcuchy boczne aminokwasów. Na podstawie: <http://biosreenivas.blogspot.com/2008/07/secondary-structure.html> oraz <http://www.answers.com/topic/alpha-helix>

Helisa  $\alpha$  utworzona jest przez łańcuch aminokwasowy, w którym co 3,6 aminokwasy zachodzi pełny skręt. Odstęp pomiędzy dwoma skrętami wynosi 0,54 nm. Helisa  $\alpha$  kształtem przypomina cylinder tworzony przez ciasno skręconą sprężynę (rys. 2.5). Ściany cylindra tworzy łańcuch polipeptydowy, a łańcuchy boczne (podstawniki) wystają na zewnątrz. Konformacja stabilizowana jest przez periodycznie powtarzające się wiązania wodorowe pomiędzy grupą aminową i atomem tlenu grupy karbonylowej w obrębie łańcucha głównego jednej nici polipeptydowej. Helisa  $\alpha$  może być prawo- lub lewoskrętna. W przypadku, gdy po jednej stronie helisy zgrupowane są głównie hydrofilowe aminokwasy, a po drugiej hydrofobowe, helisa  $\alpha$  ma właściwości amfipatyczne.

### 2.3.3 Łańcuch beta, harmonijka beta i baryłka beta

Łańcuch  $\beta$  (nić  $\beta$ ) jest to prawie całkowicie rozciągnięty fragment polipeptydu, zwykle o długości 5-10 aminokwasów. Grupy R dwóch sąsiednich aminokwasów skierowane są w przeciwną stronę. Harmonijka  $\beta$  ( $\beta$ -kartka) zbudowana jest z dwóch lub więcej łańcuchów  $\beta$  (rys. 2.6), a jej struktura stabilizowana jest wiązaniami wodorowymi pomiędzy grupami aminowymi i atomami tlenu grup karbonylowych dwóch sąsiednich łańcuchów (taki sposób przestrzennego ułożenia aminokwasów przypomina kartkę papieru połażdaną w harmonijkę).



**Rysunek 2.6.** Schemat harmonijki  $\beta$  zbudowanej z dwóch antyrównoległych łańcuchów  $\beta$  połączonych wiązaniami wodorowymi. Na podstawie: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:BetaPleatedSheetProtein.png>

Harmonijka  $\beta$  może być: równoległa, antyrównoległa i mieszana. Struktury te (w odróżnieniu od helis  $\alpha$  zbudowanych z jednej ciągłej sekwencji) składają się z oddzielnych fragmentów łańcucha czasem znacznie od siebie oddalonych w strukturze pierwszorzędowej. Duże harmonijki  $\beta$  mogą tworzyć zamknięte struktury, w których pierwszy łańcuch łączy się wiązaniami wodorowymi z ostatnim. Powstają w ten sposób baryłki  $\beta$ .

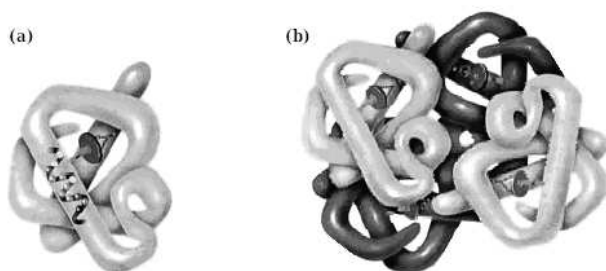
Strukturę drugorzędową białka można przewidzieć na podstawie struktury pierwszorzędowej. Służą do tego programy dostępne m.in. na stronach internetowych takich jak:

<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred/>  
[http://compbio.soe.ucsc.edu/SAM\\_T08/T08-query.html](http://compbio.soe.ucsc.edu/SAM_T08/T08-query.html)  
<http://distill.ucd.ie/porter/>  
<http://www.predictprotein.org/>  
<http://sable.cchmc.org/>

### 2.3.4 Struktura trzecio- i czwartorzędowa białek

Struktura trzeciorzędowa określa ogólne rozmieszczenie przestrzenne i wzajemne powiązania skręconych łańcuchów oraz poszczególnych reszt aminokwasowych w pojedynczych łańcuchach polipeptydowych (rys. 2.7a). Struktura trzeciorzędowa opisuje więc organizację przestrzenną białka na poziomie wyższym niż struktura drugorzędowa. Charakteryzuje się ona dużą zwartością, jest pozbawiona pustych przestrzeni w środku cząsteczki. Boczne łańcuchy hydrofilowe i/lub obdarzone ładunkiem występują zazwyczaj na powierzchni cząsteczki i oddziałują z cząsteczkami wody. Duże hydrofobowe grupy są przeważnie schowane wewnątrz cząsteczki białka.

Jeżeli białko zbudowane jest z kilku polipeptydów (jest oligomerem), struktura, którą tworzą, nazywana jest strukturą czwartorzędową (rys. 2.7b). Strukturę białek bada się głównie za pomocą dyfrakcji promieni rentgenowskich na kryształkach białka (ang. *X-ray crystallography*) oraz magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR - *nuclear magnetic resonance*).



**Rysunek 2.7.** Przykładowa struktura trzeciorzędowa (a) i czwartorzędowa (b) białka. Pojedynczy peptyd o konformacji helisy  $\alpha$  i/lub łańcucha  $\beta$  może dodatkowo zwinąć się, tworząc strukturę trzeciorzędową. Struktura czwartorzędowa powstaje po agregacji dwóch lub więcej peptydów. Na podstawie:

<http://chsweb.lr.k12.nj.us/mstanley/outlines/organicAP/aporgchem.html>

Struktura trzeciorzędowa i czwartorzędowa białek stabilizowana jest różnego typu oddziaływaniami, w których biorą udział łańcuchy boczne aminokwasów (wiązania wodorowe i jonowe, oddziaływania hydrofobowe, kowalencyjne wiązania disiarczkowe).

## 2.4 Funkcje białek

Białka są makrocząsteczkami o największym stopniu zróżnicowania. Szacuje się, że w komórkach eukariotycznych obecnych jest kilkadziesiąt-kilkaset tysięcy różnych rodzajów białek. Struktura tych białek określa funkcje, jakie pełnią one w komórce. Do najważniejszych funkcji białek należą:

- kataliza enzymatyczna - od uwadniania dwutlenku węgla do replikacji chromosomów;
- transport i magazynowanie innych cząsteczek - np. hemoglobina, transferyna;
- kontrola przenikalności błon - regulacja stężenia metabolitów w komórce;
- ruch uporządkowany (np. skurcz mięśnia) - np. aktyna, miozyna;
- ochrona immunologiczna - np. immunoglobuliny;
- funkcja budulcowa, strukturalna - np. keratyna, elastyna, kolagen;
- przyleganie komórek - np. kateniny i kadheryny;
- regulatorowa i sygnałowa (m.in. regulacja przebiegu procesów biochemicznych i przekazywanie sygnału w komórce i między komórkami - np. hormony i czynniki wzrostu oraz ich receptory).

### 2.4.1 Enzymy

Enzymy są białkami katalizującymi (przyśpieszającymi) reakcje biochemiczne w komórce. Enzymy, tak jak inne katalizatory, obniżają energię aktywacji oraz przyspieszają osiągnięcie stanu równowagi reakcji chemicznej. Niemal wszystkie przemiany chemiczne związane z funkcjonowaniem organizmów żywych (a także wirusów) wymagają współdziałania enzymów, by zapewnić wystarczającą wydajność reakcji. Enzymy są wysoce specyficzne wobec substratów i wobec tego dany enzym katalizuje zaledwie kilka reakcji spośród wielu możliwych dla danych substratów. W ten sposób enzymy determinują procesy metaboliczne i biochemiczne związane z funkcjonowaniem organizmów żywych.

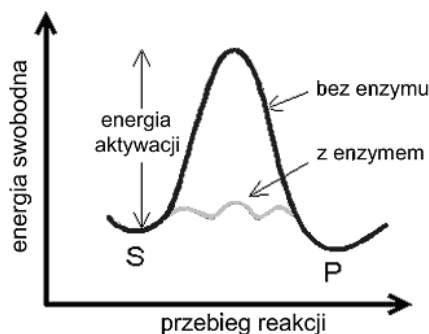
Enzymy są katalizatorami reakcji chemicznych: przyśpieszają przebieg reakcji, obniżając barierę energetyczną (energię aktywacji) pomiędzy substratem (S) a produktem (P) (rys. 2.8). Przyczyną tego, że enzym do przeprowadzenia reakcji potrzebuje niewielkiej porcji energii, jest tworzenie przez enzym (E) przejściowego połączenia z substratem (S). To połączenie nazywa się kompleksem enzym-substrat (E-S). Reakcja przebiega następująco:



Biorąc pod uwagę typ reakcji, jaką katalizują enzymy, podzielono je na następujące grupy:

**Oksydoreduktazy** (np. dehydrogenazy, oksydazy, reduktazy, katalazy) - katalizują reakcje utleniania i redukcji;

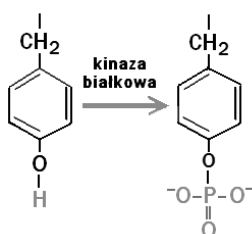
**Transferazy** (np. acetylotransferazy, metylazy, kinazy) - katalizują przenoszenie grup funkcyjnych (odpowiednio acetylowej, metylowej, fosforanowej; rys. 2.9).



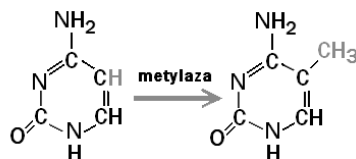
Rysunek 2.8. Obniżenie energii aktywacji w reakcji katalizowanej przez enzym



(a) Acetyljacja



(c) Fosforyljacja



(b) Metyljacja

**Rysunek 2.9.** Przykłady głównych typów reakcji chemicznych zachodzących w komórce z udziałem enzymów: (a) acetyljacja - przyłączenie przez acetylotransferazę grupy acetylowej,  $-\text{C}(=\text{O})\text{CH}_3$ , do łańcucha bocznego aminokwasu, w tym wypadku lizyny; (b) metylacja - przyłączenie przez metylazę grupy metylowej,  $-\text{CH}_3$ , do cytozyny w łańcuchu DNA; (c) fosforyljacja - przyłączenie grupy fosforanowej,  $-\text{H}_2\text{PO}_4$ , przez kinazę białkową do łańcucha bocznego tyrozyny (fosforylowane mogą być również seryny i treoniny). Podstawiane grupy oznaczono na szaro

**Hydrolazy** - katalizują reakcje hydrolizy, w której cząsteczka jest dzielona na dwie lub więcej mniejszych części z udziałem wody. Do hydrolaz należą:

- **Proteazy** - trawią cząsteczki białek, jak np. kaspazy odgrywające główną rolę w procesie apoptozy;
- **Nukleazy** - trawią kwasy nukleinowe: DNA jest trawione przez DNazy, a RNA przez RNazy. Nukleazy odcinające pojedyncze nukleotydy z koń-

ca cząsteczki DNA lub RNA to **egzonukleazy**, przecinające wewnątrz cząsteczki to **endonukleazy**;

- **Fosfatazy** - katalizują defosforylację (usunięcie grupy fosforanowej);

**Liazy** (np. dekarboksylazy i aldolazy) - katalizują cięcie wiązań C-C, C-O, C-S i C-N w sposób inny niż hydroliza czy oksydacja;

**Izomerazy** (np. rotamazy, epimerazy, racemazy) - katalizują przestawienie atomów wewnątrz cząsteczki;

**Ligazy** (np. syntetazy, ligazy DNA i ligazy RNA) - katalizują reakcję łączenia dwóch cząsteczek.

Enzymy mogą być hamowane przez różne rodzaje cząsteczek. Niektóre z tych cząsteczek są inhibitorami kompetencyjnymi, współzawodniczącymi z substratami o odwracalne wiązanie do miejsca aktywnego enzymu. Z kolei inhibitory niekompetencyjne stabilnie wiążą się z cząsteczkami enzymu, trwale „usuwając” z układu pewną jego pulę. Inhibitory enzymów są często wykorzystywane jako leki. Najbardziej znane enzymy będące celem terapii to:

- proteaza HIV - niezbędna do replikacji wirusa HIV (jej inhibitor wykorzystywany jest do leczenia AIDS);
- enzym przekształcający angiotensynę (ACE, ang. *Angiotensin Converting Enzyme*) - wywołuje skurcze naczyń krwionośnych (inhibitor ACE wykorzystywany jest do leczenia nadciśnienia);
- reduktaza HMG-CoA - istotna dla syntezy cholesterolu (jej inhibitory, np. statyny, obniżają poziom cholesterolu);
- fosfodiesteraza cGMP - katalizuje przekształcenie cGMP (GMP cyklicznego) do GMP (jest hamowana przez Viagrę wykorzystywaną do leczenia zaburzeń erekcji).

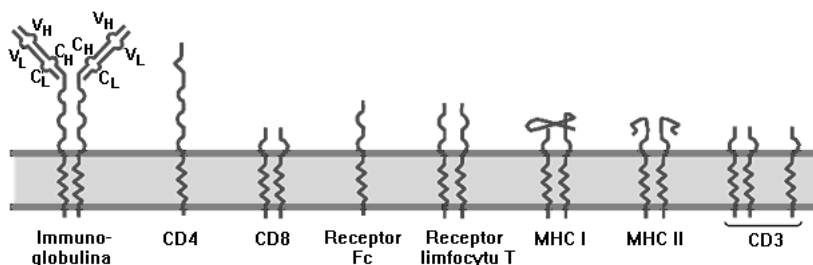
#### 2.4.2 Białka błonowe

Białko błonowe to białko związane z błoną komórki lub organelli. Szacuje się, że ponad połowa wszystkich białek komórkowych oddziałuje z błonami. Wiele z nich jest integralną częścią błon fosfolipidowych (białka transbłonowe lub trwale zatopione w błonie z jednej strony). Peryferyjne białka błonowe są przejściowo związane z błoną fosfolipidową lub z białkami integralnymi błony. Białka strukturalne obecne w błonie przytwierdzone są do mikrofilamentów cytoszkieletu, co zapewnia komórce stabilność. Białka występujące na powierzchni komórki umożliwiają komórkom wzajemne rozpoznanie i oddziaływanie. Białka te biorą udział np. w odpowiedzi immunologicznej. Enzymy błonowe produkują rozmaite substancje niezbędne do funkcjonowania komórki. Receptory błonowe umożliwiają wymianę sygnałów pomiędzy środowiskiem zewnętrznym i wewnętrznym komórki. Białka transportowe odgrywają ważną rolę w utrzymaniu prawidłowego stężenia jonów. Białka te zalicza się do dwóch grup: białek przENOŚNIKOWYCH i kanałowych.



*Białka związane z odpowiedzią immunologiczną*

Białka przekazujące sygnał związane z odpowiedzią immunologiczną posiadają jedną lub dwie domeny przechodzące przez błonę komórkową (transbłonowe) (rys. 2.10). Typowa immunoglobulina (np. przeciwciało) zbudowana jest z czterech łańcuchów białkowych: dwóch ciężkich (H, od ang. *Heavy*) i dwóch lekkich (L, od ang. *Light*). Region zmienny w obu łańcuchach, skierowany na zewnątrz komórki, jest oznaczany literą V (V, od ang. *Variable*; domeny  $V_H$  i  $V_L$ ). Region bardziej konserwowany to  $C_H$  oraz  $C_L$  (C, od ang. *Constant*). Region zmienny jest miejscem wiązania antygeny (czyli substancji, która wywołała odpowiedź immunologiczną zakończoną produkcją przeciwciała). Sygnał do wnętrza komórki przekazywany jest zwykle przez białkową kinazę tyrozynową (enzym przenoszący grupę fosforanową na tyrozynę) zlokalizowaną przy błonie komórkowej od strony cytoplazmatycznej (rozdz. 8.4.1). Przeciwciała produkowane przez obecne w krwi obwodowej limfocyty B (tzw. komórki plazmatyczne) pozbawione są domen transbłonowych i mają charakter rozpuszczalnych białek wydzielniczych (sekrecyjnych).



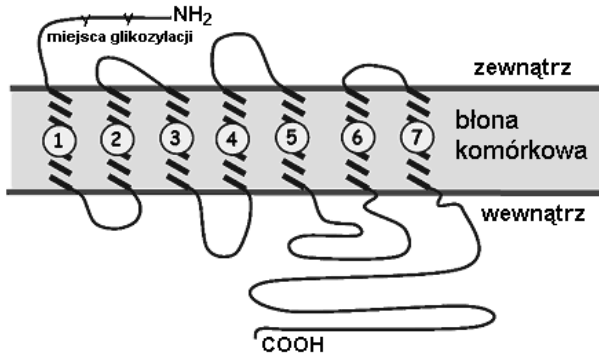
**Rysunek 2.10.** Schematyczne przedstawienie struktury białek z rodziny immunoglobulin

*Receptory związane z białkiem G*

Główną rolą receptorów błonowych związanych z białkiem G jest przekazywanie sygnału do wnętrza komórki. Są to receptory zbudowane z siedmiu przechodzących przez błonę komórkową (transbłonowych) domen (rys. 2.11). Stanowią one dużą grupę białek i mogą łączyć się z nimi różnorodne substancje sygnałowe (agoniści - aktywujący receptor, bądź antagoniści - blokujący receptor). Czynniki aktywującymi receptory mogą być fotony, substancje zapachowe, feromony, opiaty, związki niskocząsteczkowe, jak np. aminy, amino-kwasy i jony, peptydy i białka, lipidy (rozdz. 8.3).

*Kanały jonowe*

Kanały jonowe utworzone są przez białko lub białka formujące pory w błonie komórkowej. Ich funkcją jest generowanie i podtrzymywanie niewielkiego gradientu potencjałów między wewnętrzną a zewnętrzną powierzchnią błony



**Rysunek 2.11.** Schemat ułożenia w błonie receptora związanego z białkiem G ( $\beta$ -adrenergicznego)

komórkowej. Kanały jonowe obecne są w błonach wszystkich żywych organizmów. Przejście jonów przez niektóre kanały jonowe zależne jest jedynie od ładunku jonu. Średnica pora w takich kanałach jest zaledwie szerokości jednego lub dwóch atomów. W niektórych kanałach przejście jest zależne od bramki zamykanej (inaktywacyjnej) lub otwieranej (aktywacyjnej) przez sygnały chemiczne, elektryczne, temperaturę lub mechanicznie. Podział kanałów jonowych może być przeprowadzony w oparciu o rodzaj bramki, rodzaj przechodzących jonów lub ilość bramek.

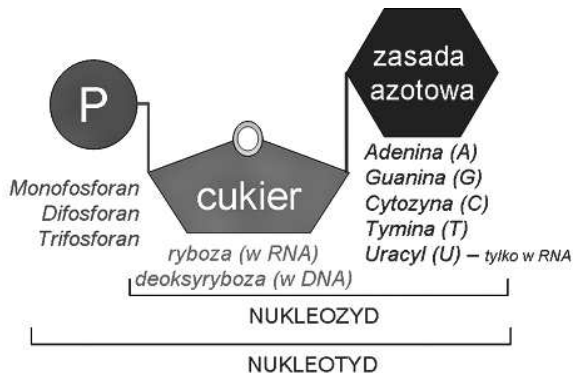
Prawidłowe działanie kanałów jonowych jest szczególnie istotne w układzie nerwowym, gdzie umożliwiają one propagację sygnału nerwowego przez synapsy. Niektóre drapieżniki produkują toksyny paraliżujące system nerwowy swoich ofiar poprzez wpływ na kanały jonowe (jady produkowane przez pająki, skorpiony, węże i inne drapieżniki). Kanały jonowe są również kluczową składową procesów biologicznych wymagających szybkich zmian w komórce, takich jak skurcze mięśni, transport składników odżywczych i jonów, aktywacja limfocytów T czy wydzielanie insuliny z komórek beta trzustki.

## Kwasy nukleinowe

Kwasy nukleinowe to DNA i RNA, czyli kwas deoksyrybonukleinowy i kwas rybonukleinowy. Są to polimery zbudowane z nukleotydów (deoksyrybonukleotydów lub rybonukleotydów).

### 3.1 Nukleotydy

**Nukleotyd** zbudowany jest z trzech części: cukru prostego zawierającego 5 atomów węgla (pentozy), zasady azotowej oraz grupy fosforanowej (rys. 3.1).

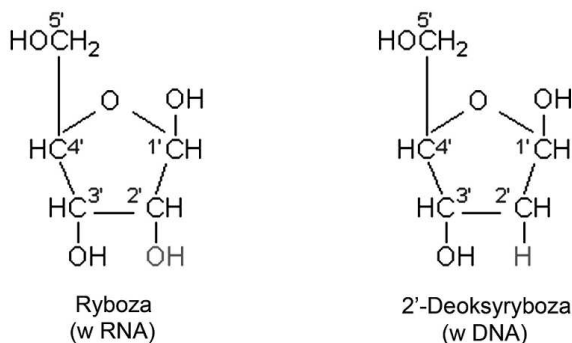


Rysunek 3.1. Podstawowa struktura nukleotydu

W DNA i RNA w nukleotydzie obecna jest jedna grupa fosforanowa połączona z pentozą, natomiast wolne nukleotydy mogą zawierać dwie (np. ADP - adenylozodifosforan) lub trzy (np. ATP - adenylozotrifosforan) grupy fosforanowe. Nukleotyd, z którego usunięto wszystkie grupy fosforanowe (czyli tylko zasada azotowa i pentoza), to **nukleozyd**.

### 3.1.1 Pentozy

Pentozy są pięciowęglowymi cukrami prostymi. Cukry, inaczej węglowodany, zbudowane są z łańcuchów węglowych posiadających boczne grupy hydroksylowe (-OH) i grupę karbonylową (>C=O) o typie aldehydu (aldozy) lub ketonu (ketozy). Ryboza jest pięciowęglową aldozą, która w kwasach nukleinowych występuje w postaci pierścieniowej (rys. 3.2). W DNA obecna jest ryboza pozabawiona grupy hydroksylowej przy węglu 2 - czyli 2-deoksyryboza.



**Rysunek 3.2.** Struktura chemiczna pentoz pierścieniowych: pięć atomów węgla oznaczono od C1' do C5'. W RNA występuje **ryboza**, zaś w DNA **deoksyryboza**, w której brak atomu tlenu przy C2'. Dlatego też RNA to "kwas rybonukleinowy", a DNA - „kwas deoksyrybonukleinowy”

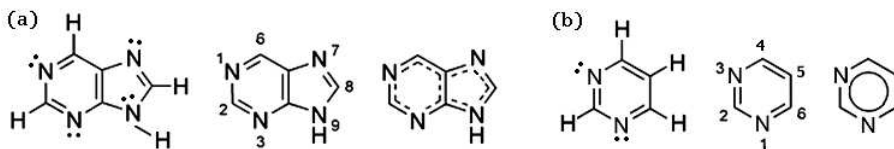
### 3.1.2 Zasady azotowe nukleotydów

Nukleotydy obecne w kwasach nukleinowych zbudowane są z pięciu różnych zasad azotowych oznaczanych jednoliterowym kodem. Są to:

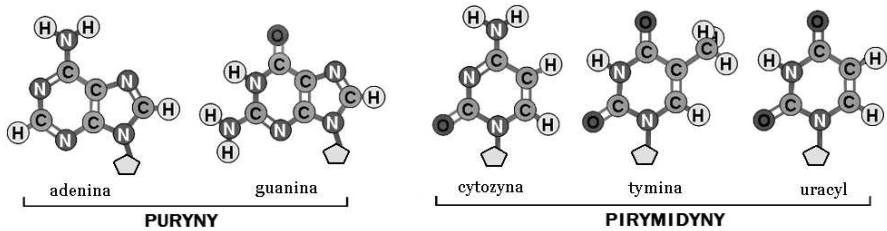
**Adenina (A), Cytosyna (C), Guanina (G), Tymina (T), Uracyl (U)**

A, C, G i T występują w DNA; A, C, G i U występują w RNA. A i G zbudowane są z dwóch złączonych pierścieni - nazywane są **purynami**. C, T i U zawierają tylko jeden pierścień - nazywane są **pirymidynami** (rys. 3.3 i 3.4).

Zasady azotowe połączone są z częścią cukrową nukleozydu za pomocą wiązania N-glikozydowego, tworzącego się między azotem pierścienia purynowego (N-9) lub pirymidynowego (N-1) a grupą hydroksylową przy węglu 1 (C-1') pentozy. W tabeli 3.1 podano obowiązujące nazwy zasad i ich pochodnych.



**Rysunek 3.3.** Wzory ogólne puryny (a) i pirymidyny (b)



**Rysunek 3.4.** Struktura chemiczna zasad azotowych występujących w DNA i RNA. Pięciokątem zaznaczono miejsce przyłączenia pentozy

**Tabela 3.1.** Nazwy zasad, nukleozydów i nukleotydów

ZASADA*	RYBONUKLEOZYD	RYBONUKLEOTYD (5'-MONOFOSFORAN)
Adenina (A)	adenozyna	adenozyno-5'-monofosforan (AMP) lub adenylan
Guanina (G)	guanozyna	guanozyno-5'-monofosforan (GMP) lub guanylan
Cytozyna (C)	cytydina	cytydino-5'-monofosforan (CMP) lub cytydylan
Uracyl (U)	urydina	urydino-5'-monofosforan (UMP) lub urydylan
ZASADA*	DEOKSYRYBONUKLEOZYD	DEOKSYRYBONUKLEOTYD (5'-MONOFOSFORAN)
Adenina (A)	deoksyadenozyna	deoksyadenozyno-5'-monofosforan (dAMP) lub deoksyadenylan
Guanina (G)	deoksyguanozyna	deoksyguanozyno-5'-monofosforan (dGMP) lub deoksyguanylan
Cytozyna (C)	deoksytydina	deoksytydino-5'-monofosforan (dCMP) lub deoksytydylan
Tymina (T)	deoksytymidina	deoksytymidino-5'-monofosforan (dTMP) lub deoksytymidylan

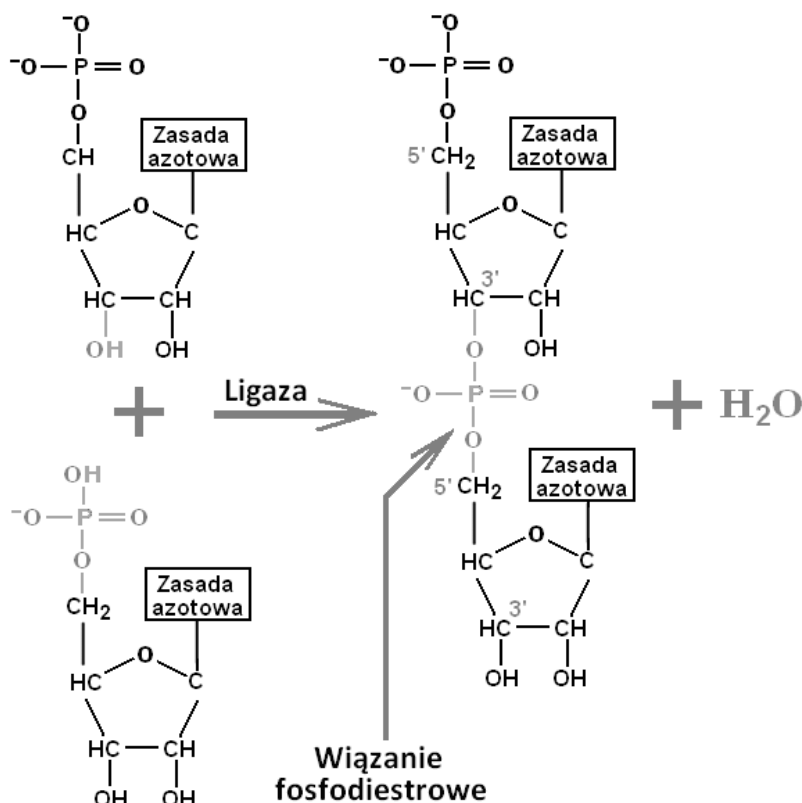
\*Polskie Słownictwo Biochemiczne rezerwuje symbole jednoliterowe tylko dla reszt rybonukleozydów w zapisie oligo- i polinukleotydów

## 3.2 Budowa DNA

### 3.2.1 Łańcuch nukleotydowy

W łańcuchu nukleotydowym następujące po sobie nukleotydy połączone są **wiązaniem fosfodiestrowym**, powstającym w reakcji kondensacji katalizowanej zazwyczaj przez odpowiednie **polimerazy** lub **ligazy** (rys. 3.5). Ligacja, czyli połączenie dwu łańcuchów kwasów nukleinowych katalizowana jest przez ligazy, natomiast synteza łańcucha kwasu nukleinowego przez przyłączanie kolejnych nukleotydów katalizowana jest przez polimerazę RNA lub

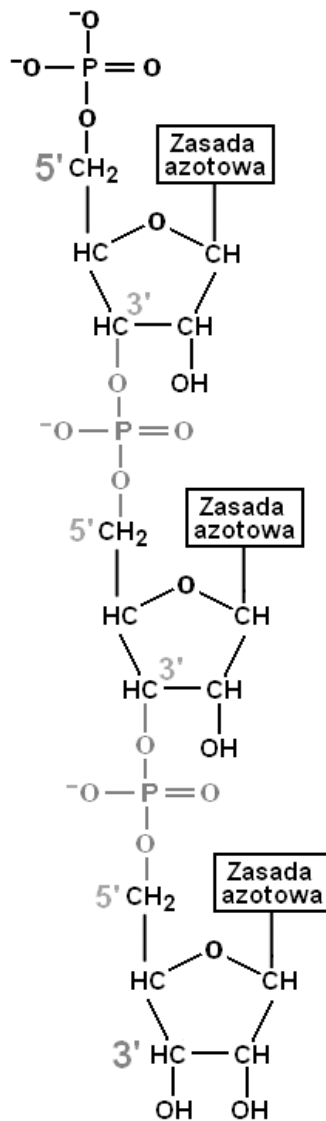
polimerazę DNA. Grupa fosforanowa tworząca wiązanie fosfodiestrowe w łańcuchu kwasów nukleinowych wiąże się z grupami hydroksylowymi przy węglach 3' i 5' kolejnych pierścieni pentozy (możliwe są również inne typy wiązań fosfodiestrowych w nukleotydach, np. wiązanie wewnątrzcząsteczkowe w tzw. cyklicznych monofosforanach: rys. 8.2).



Rysunek 3.5. Tworzenie wiązania fosfodiestrowego w reakcji kondensacji

Podobnie jak łańcuch peptydowy, łańcuch kwasu nukleinowego również ma orientację wynikającą z niesymetrycznego charakteru wiązań. Koniec 5' ma wolną grupę fosforanową przy węglu C-5' pentozy, koniec 3' - wolną grupę hydroksylową przy węglu C-3' pentozy (rys. 3.6). Synteza łańcucha kwasu nukleinowego zawsze przebiega w kierunku od 5' do 3'. Dlatego, o ile nie jest zaznaczone inaczej, sekwencja nukleotydów w łańcuchu kwasu nukleinowego jest zapisywana od końca 5' do końca 3' (od strony lewej do prawej).

Cząsteczka DNA zbudowana jest zwykle z dwóch łańcuchów, natomiast większość cząsteczek RNA - z jednego łańcucha. Długość łańcucha określa się, podając ilość zasad (lub nukleotydów) w łańcuchu. W przypadku dwuniciowego kwasu nukleinowego zasady z sąsiednich łańcuchów tworzą pary. W takim

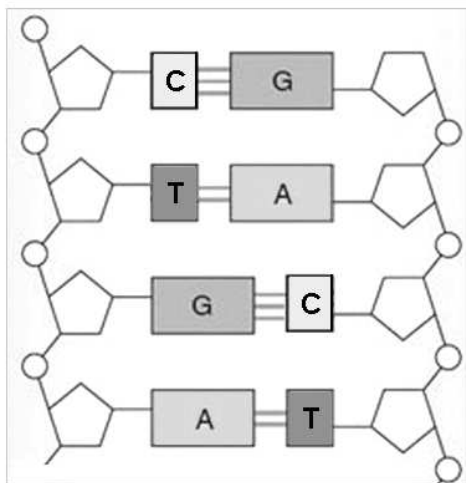


**Rysunek 3.6.** Łańcuch kwasu nukleinowego. Koniec 5' ma wolną grupę fosforanową (przy węglu C-5'), koniec 3' - wolną grupę hydroksylową (przy węglu C-3')

przypadku długość łańcucha podawana jest jako liczba **par zasad** (**pz**; ang. **bp** - *base pair*). Krótkie łańcuchy kwasów nukleinowych (poniżej 50 nukleotydów) określa się mianem oligonukleotydów. Dłuższe łańcuchy to polinukleotydy.

### 3.2.2 Struktura DNA

Dwa łańcuchy w cząsteczce DNA utrzymywane są razem poprzez wiązania wodorowe pomiędzy „sparowanymi” zasadami azotowymi. Adenina tworzy dwa wiązania wodorowe z tyminą, a cytozyna tworzy trzy wiązania z guaniną (rys. 3.7). Mimo że inne pary (np. G:T lub C:T) również mogą tworzyć wiązania wodorowe, są one słabsze niż w parach obecnych w DNA (C:G i A:T). Po zerwaniu wiązań wodorowych między komplementarnymi zasadami dwa łańcuchy DNA z łatwością się rozdzielają (denaturują, topnieją). Efekt taki można uzyskać np. przez ogrzewanie roztworu DNA. Temperatura, przy której dochodzi do utraty połowy dwuniciowej struktury, nazywana jest temperaturą topnienia ( $T_m$ , ang. *melting temperature*). Po obniżeniu temperatury nici DNA ponownie się wiążą się z sobą na zasadzie komplementarności zasad. Właściwość ta jest wykorzystywana w technikach hybrydyzacyjnych.



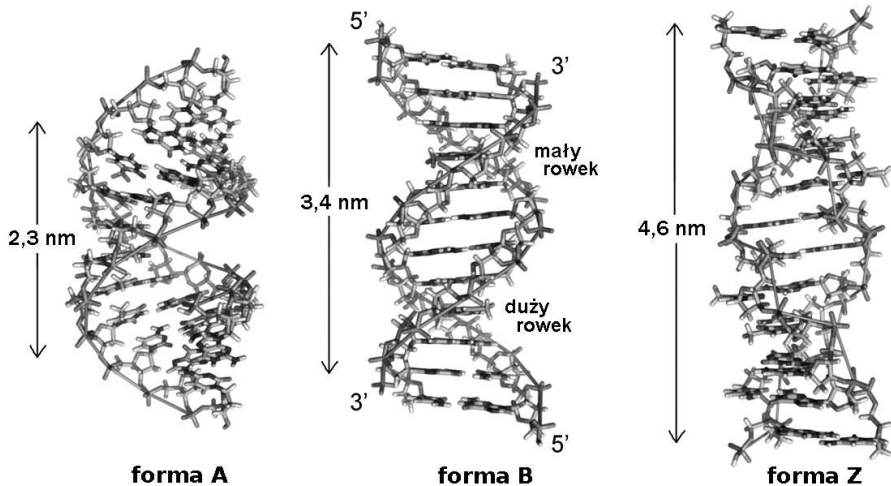
**Rysunek 3.7.** Schemat parowania zasad w DNA. Adenina (A) zawsze tworzy parę z tyminą (T), a guanina (G) z cytozyną (C). Na podstawie: [http://openlearn.open.ac.uk/file.php/2360/formats/SK195\\_2\\_rss.xml](http://openlearn.open.ac.uk/file.php/2360/formats/SK195_2_rss.xml)

Dzięki specyficznemu parowaniu zasad nici w DNA są komplementarne do siebie. Tak więc sekwencja nukleotydów w jednej nici określa sekwencję nici komplementarnej. Dlatego też w bazach danych podawana jest sekwencja tylko jednej nici (w orientacji 5' do 3').

Dwa łańcuchy polinukleotydowe w cząsteczce DNA skierowane są w przeciwnych kierunkach (czyli ułożone są antyrównoległe) i okręcają się wokół wspólnej osi, tworząc dwuniciową helisę. Zasady purynowe i pirymidynowe znajdują się wewnątrz helisy, natomiast reszty fosforanowe i deoksyrybozowe - na zewnątrz. **Podwójna helisa**, opisana po raz pierwszy w 1953 roku przez Jamesa Watsona i Francis Cricka, jest tzw. **formą B DNA**, w której helisa



jest prawoskrętna, jeden pełny skręt helisy zajmuje 3,4 nm, a odległość między dwiema sąsiednimi parami zasad wynosi 0,34 nm. Na jeden skręt helisy przypada około 10 par zasad. Splecione nici tworzą dwa rowki różnej szerokości, nazywane rowkiem dużym i małym (rys. 3.8). Struktura taka ułatwia wiązanie swoistych białek do DNA.



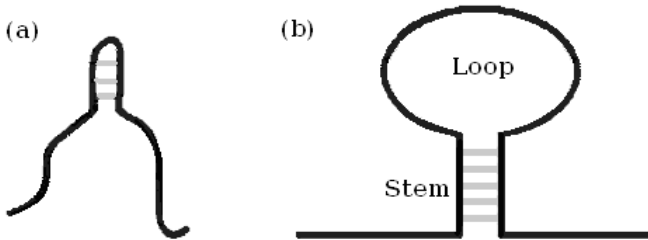
**Rysunek 3.8.** Struktury przyjmowane przez podwójną helisę DNA. Na podstawie: <http://en.wikipedia.org/wiki/DNA>

W roztworze o dużym stężeniu soli, lub po dodaniu alkoholu, struktura DNA zmienia się i przechodzi w **formę A**. Jest ona również prawoskrętna, ale pełny skręt ma miejsce co 2,3 nm, więc na jeden obrót przypada 11 par zasad. Inną strukturą DNA jest **forma Z**, której szkielet fosforanowy przypomina zygzak. Jest to forma lewoskrętna: jeden obrót zajmuje 4,6 nm i przypada na niego 12 par zasad. Strukturę taką przybiera DNA w roztworach o dużym stężeniu soli lub w alkoholu, jeśli w sekwencji DNA przeważają pary G:C (rys. 3.8).

### 3.3 Struktura i funkcja RNA

Większość cząsteczek RNA występujących w komórce zachowuje formę jednoniciową. RNA może jednak tworzyć struktury drugorzędowe, takie jak struktura spinki do włosów (ang. *hairpin*), czy struktura spinki do włosów z pętlą (ang. *stem-loop*) (rys. 3.9). Główne klasy RNA to: **mRNA** (informacyjny RNA, ang. *messenger RNA*), **tRNA** (transferowy RNA, ang. *transfer RNA*) i **rRNA** (rybosomalny RNA, ang. *ribosomal RNA*). Główną funkcją tych klas RNA jest udział w syntezie białka. Ponadto, w komórce występuje tzw. niekodujący RNA (ncRNA, ang. *non coding RNA*), niezaangażowany w klasyczny sposób w proces translacji. Co ciekawe, szereg cząsteczek RNA wykazuje, po-

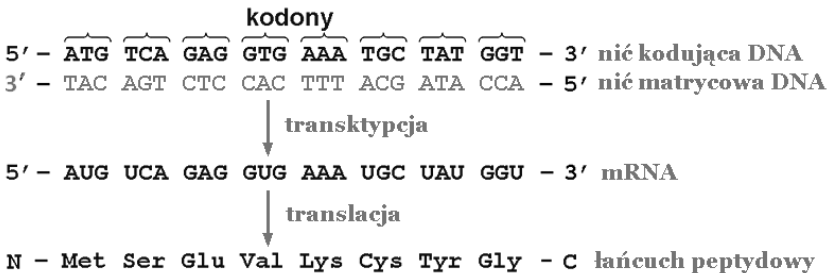
dobnie jak białka, zdolności katalityczne. Takie enzymatyczne cząsteczki RNA nazywane są **rybozymami**.



**Rysunek 3.9.** Struktura drugorzędowa RNA: (a) struktura spinki do włosów oraz (b) struktura spinki do włosów z pętlą. Na podstawie: <http://www.web-books.com/MoBio/Free/Ch3C.htm>

### 3.3.1 Informacyjny RNA

Informacyjny (matrycowy) mRNA powstaje w procesie transkrypcji na matrycy DNA, i stanowi zapis informacji, który w dalszym etapie służy do syntezy białka (translacji). Trzy kolejne nukleotydy (**kodon**) w mRNA kodują jeden aminokwas lub stanowią sygnał stop dla syntezy białka (rys. 3.10).

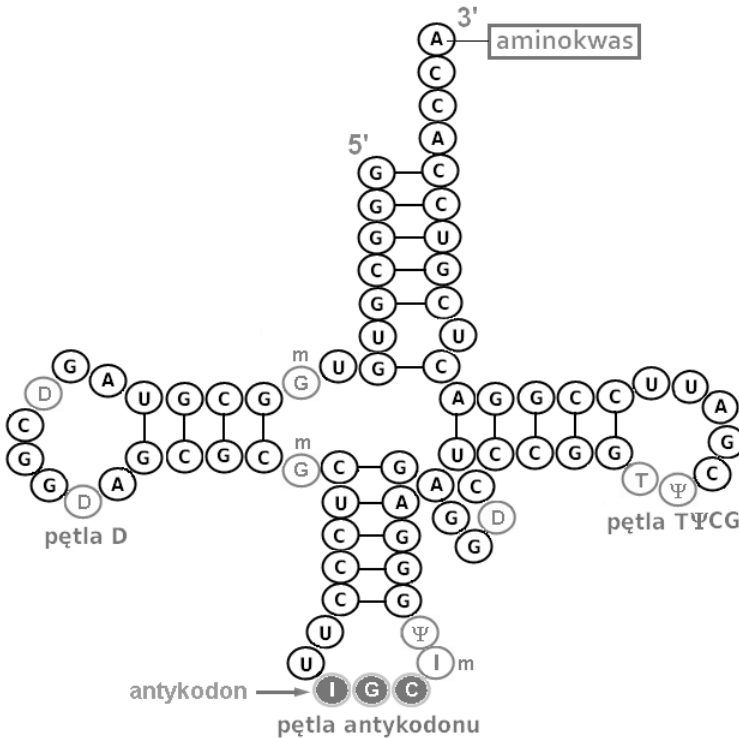


**Rysunek 3.10.** Kolejność zdarzeń przy syntezie białka: na matrycy DNA powstaje mRNA w procesie transkrypcji, na matrycy mRNA syntetyzowane jest białko w procesie translacji. Sekwencja mRNA jest komplementarna do nici matrycowej DNA, a identyczna z nicią kodującą (oprócz tego, że w RNA zamiast T występuje U). Przy zapisie sekwencji DNA podaje się jedynie sekwencję nici kodującej

### 3.3.2 Transferowy RNA

Cząsteczka transferowego (przenośnikowego) RNA (tRNA) składa się z 74-95 nukleotydów. Przybiera skomplikowaną strukturę drugorzędową podobną do listka koniczyny, w którym mniej więcej połowa nukleotydów jest sparowana (rys. 3.11). Niektóre z nukleotydów w cząsteczce tRNA są metylowane albo modyfikowane w inny sposób, np. dihydrourydyna (D), pseudouracydyna ( $\psi$ )

czy inozyna (I). Głównym zadaniem tRNA jest „przetłumaczenie” sekwencji nukleotydów w mRNA na sekwencję aminokwasów w peptydzie. Jest to możliwe dzięki temu, że w środkowej pętli tRNA umiejscowiony jest **antykodon** komplementarny do kodonu w mRNA, a koniec 3' tRNA transportuje odpowiedni aminokwas przypisany do danego kodonu (powstaje swoisty aminoacylo-tRNA).



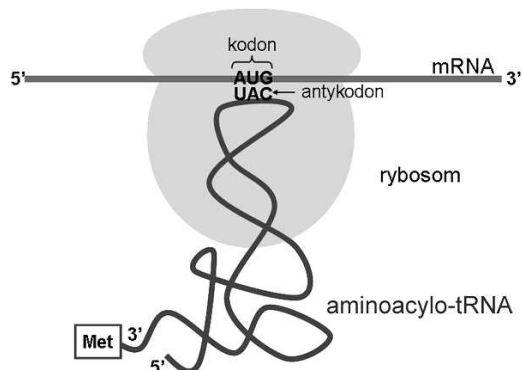
**Rysunek 3.11.** Struktura drugorzędowa tRNA. Na szaro zaznaczono nietypowe lub zmodyfikowane nukleotydy (m - metylowane). Antykodon jest trójką nukleotydów komplementarnych do kodonu w mRNA. Po związaniu aminokwasu w miejscu oznaczonym prostokątem powstała cząsteczka nazywana jest aminoacylo-tRNA

### 3.3.3 Rybosomy i rRNA

W komórkach prokariotycznych występuje rybosomalny RNA (rRNA) trzech typów: 23S, 5S i 16S. W komórkach ssaków natomiast są cztery typy rRNA: 28S, 5,8S, 5S i 18S (jednostka „S” oznacza Svedberg i jest miarą współczynnika sedimentacji). rRNA jest produkowany w jądrze i transportowany do cytoplazmy, gdzie tworzy kompleks ze swoistymi białkami, budując rybosom. Rybosom w 2/3 zbudowany jest z RNA i w 1/3 z białka. U organizmów prokariotycznych rybosom ma wielkość 70S; składa się z dwóch podjednostek: dużej

(50S) i małej (30S). Rybosom ssaków jest większy - ma 80S, a podjednostki odpowiednio 60S i 40S.

W czasie syntezy białka rybosom wiąże mRNA i tRNA w sposób przedstawiony na rys. 3.12. Tylko tRNA, który zawiera antykodon pasujący do kodonu w mRNA (znajdującego się centralnie pomiędzy jednostkami rybosomu), może się połączyć z kompleksem.



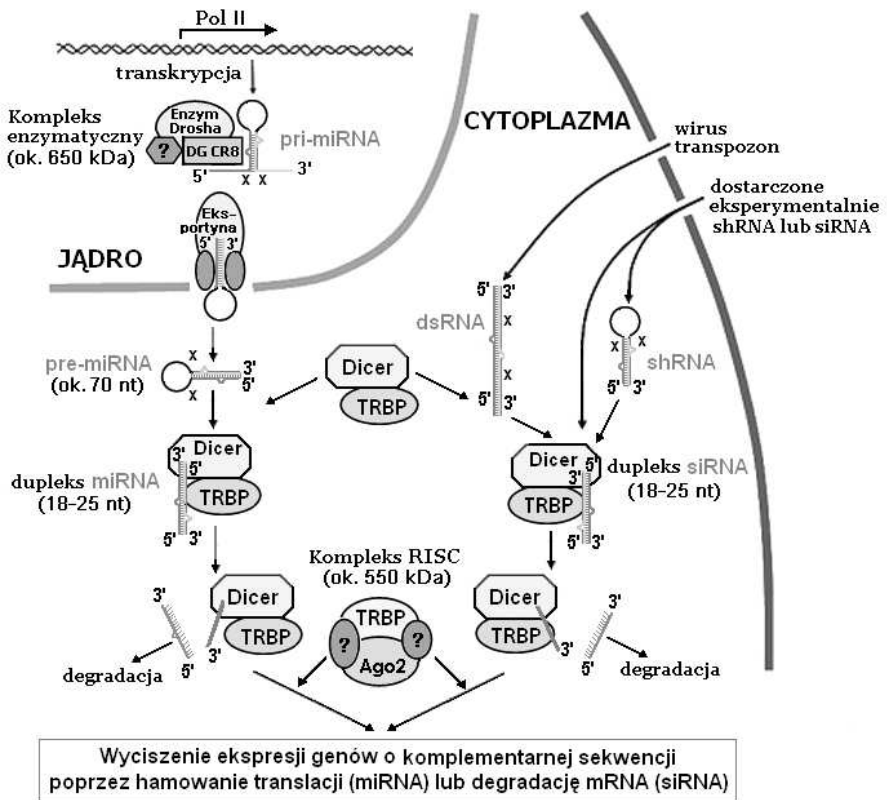
**Rysunek 3.12.** Kompleks mRNA-rybosom-aminoacylo-tRNA powstający w czasie syntezy białka

### 3.3.4 Małe niekodujące cząsteczki RNA

Poza omówionymi wyżej klasami RNA uczestniczącymi bezpośrednio w procesach syntezy białka w komórkach produkowanych jest szereg innych klas RNA, tzw. małych niekodujących cząsteczek RNA. Należą do nich:

- snRNA, niskocząsteczkowy jądrowy RNA - o długości nieprzekraczającej 300 nt (ang. *small nuclear RNA*) - biorący udział w obróbce mRNA;
- snoRNA, niskocząsteczkowy jąderkowy RNA (ang. *small nucleolar RNA*) - kierujący modyfikacjami rybosomalnego RNA;
- miRNA (ang. *micro RNA*) i siRNA (ang. *small/short interfering RNA*) - regulujący ekspresję genów.

Szczególnym zainteresowaniem w ostatnich latach cieszą się cząsteczki siRNA, ze względu na to, że są w tej chwili rutynowo wykorzystywane w laboratoriach na całym świecie do wyciszania aktywności genów na poziomie mRNA. Zarówno **miRNA**, jak i **siRNA** mają długość 18-25 nukleotydów, a ich efekt działania w komórce jest podobny (rys. 3.13). W literaturze nie ma zgodności co do definicji miRNA i siRNA. Przeważnie nazwę miRNA rezerwuje się dla cząsteczek produkowanych endogennie (czyli wewnątrz komórki), siRNA - dla dostarczonych do komórki z zewnątrz. miRNA powstaje z większego prekursora o skomplikowanej strukturze przestrzennej (pri-miRNA), transkrybowanego przez polimerazę RNA II (tę samą, która bierze udział w transkrypcji mRNA)



**Rysunek 3.13.** Metabolizm miRNA i siRNA w komórce. Na podstawie: [http://www.nature.com/cr/journal/v15/n11/fig\\_tab/7290371f1.html](http://www.nature.com/cr/journal/v15/n11/fig_tab/7290371f1.html)

w jądrze komórkowym. Transkrypt taki jest przycinany i transportowany do cytoplazmy, gdzie dociera w formie około 70-nukleotydowego pre-miRNA tworzącego strukturę „stem-loop”. Po wycięciu pętli pozostaje dupleks miRNA. Parowanie zasad w duplesie miRNA nie jest perfekcyjne i miRNA nie posiada 100% homologii sekwencji do docelowego mRNA. Natomiast siRNA powstaje bądź z dsRNA (ang. *double stranded RNA*), bądź z shRNA (ang. *small/short harpin RNA*) pochodzącego z wirusów, transpozonów lub dostarczonego do komórki eksperymentalnie. Podobnie jak w przypadku miRNA, początkowo powstaje z nich dupleks siRNA, który jest jednak w 100% homologiczny do sekwencji docelowego mRNA. Dupleksy miRNA lub siRNA są rozdzielane do pojedynczych nici. Jedna z nici jest degradowana, druga zaś hamuje translację z docelowego, homologicznego mRNA (miRNA), bądź degraduje mRNA (siRNA). Konsekwencją jest wyciszenie ekspresji odpowiedniego genu (nie powstaje kodowane przez niego białko). Hamowanie ekspresji związane z obecnością miRNA może prawdopodobnie zachodzić również poprzez indukcję epi-

genetycznego wyciszenia genu (poprzez metylację histonów prowadzącą do kondensacji chromatyny).

Zjawisko wyciszania lub wyłączenia ekspresji genu przez dwuniciowy RNA o budowie i sekwencji zbliżonej do sekwencji DNA wyłączanego genu nazwano **interferencją RNA (RNAi)**, ang. *RNA interference*). Mechanizm siRNA powstał najprawdopodobniej jako mechanizm obronny przed dwuniciowymi wirusami RNA (dsRNA). Natomiast miRNA są zaangażowane w negatywną regulację ekspresji genów podczas rozwoju. Ocenia się, że miRNA biorą udział w regulacji 30% ludzkich genów.

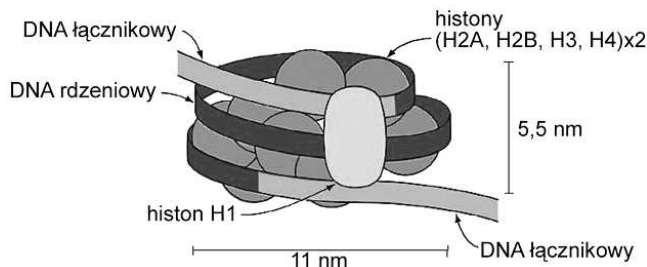
Za odkrycie zjawiska interferencji RNA w 1998 roku amerykańscy naukowcy Andrew Z. Fire i Craig C. Mello otrzymali w 2006 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny.

### 3.4 Organizacja materiału genetycznego w jądrze - chromatyna

Chromatyna jest włóknistą substancją występującą w jądrze komórkowym, która w czasie podziału komórki staje się widoczna w postaci chromosomów. Zbudowana jest z DNA, histonów, RNA oraz białek niehistonowych. Zadaniem chromatyny jest uporządkowane upakowanie DNA w małej objętości jądra oraz sprawowanie kontroli nad ekspresją i replikacją DNA. W chromatynie zachodzą procesy naprawy DNA, replikacji, rekombinacji i transkrypcji. Struktura chromatyny zmienia się dynamicznie: w rejonach, gdzie zachodzi transkrypcja, jest ona mniej skondensowana, luźna (**euchromatyna**), w rejonach nieaktywnych transkrypcyjnie - bardziej skondensowana (**heterochromatyna**) (rys. 3.16).

#### 3.4.1 Histony i nukleosomy

Podstawową jednostką strukturalną chromatyny jest **nukleosom**, na który składa się 146 pz DNA oraz osiem cząsteczek **histonów** (tzw. oktamer histonowy; rys. 3.14). Histony są silnie konserwowanymi, zasadowymi białkami zasocjowanymi z DNA, odpowiedzialnymi za strukturę chromatyny i biorącymi

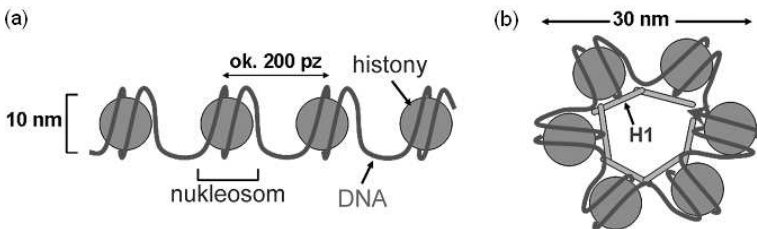


Rysunek 3.14. Struktura nukleosomu

udział w regulacji ekspresji genów. W skład nukleosomu wchodzi po dwie cząsteczki histonów H2A, H2B, H3 i H4. Tworzą rdzeń, wokół którego nawinięty jest łańcuch DNA tworzący dwie pętle. Piąty typ histonu, histon H1, luźniej związany z DNA, jest histonem łączącym nukleosomy i uczestniczącym w tworzeniu bardziej skomplikowanych struktur chromatyny. Oddziaływania między histonami i DNA zachodzą pomiędzy dodatnio naładowanymi łańcuchami bocznymi lizyny (występującymi w dużej ilości w końcu N histonów) i ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi w DNA. Po acetylacji lizyny następuje neutralizacja jej ładunku. Prowadzi to do osłabienia wiązania histonów z DNA i odgrywa decydującą rolę w regulacji transkrypcji (rozdz. 4).

### 3.4.2 Struktura chromatyny

W chromatynie skondensowanej każdy nukleosom łączy się z sąsiednim za pomocą łącznikowego histonu H1, co prowadzi do utworzenia tzw. włókna 30 nm (solenoidu) (rys. 3.15). W chromatynie aktywnej transkrypcyjnie histon H1 oddziela się od DNA, a nukleosomy mogą zmieniać pozycję, tzn. że przesuwają się po nici DNA. Nukleosom, który nigdy nie zmienia pozycji, to tzw. nukleosom pozycjonowany.

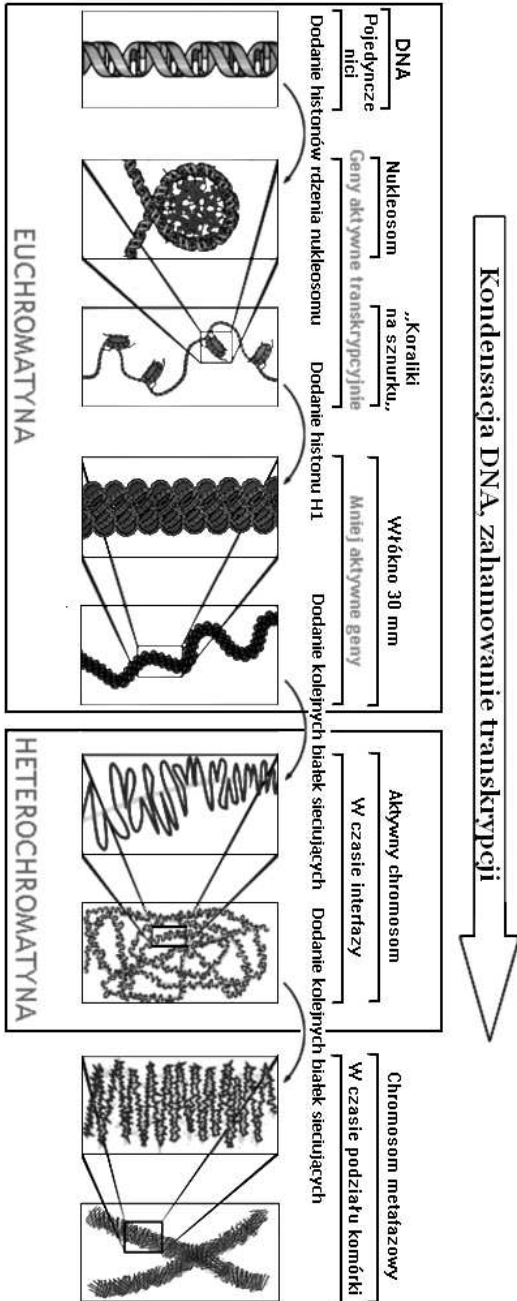


**Rysunek 3.15.** Kolejne etapy organizacji chromatyny: (a) włókno nukleosomowe („koraliki na sznurku”); (b) pojedynczy skręt solenoidu (włókno 30 nm)

Włókno nukleosomowe tworzy kolejne, bardziej skomplikowane struktury pozwalające wielopoziomowe uorganizowanie chromatyny w jądrze. Ważnym poziomem organizacji chromatyny są tzw. domeny lub pętle, tworzące się dzięki oddziaływaniom włókien nukleosomowych z białkowymi strukturami jądra (tzw. szkieletem jądrowym). Najwyższym stopniem upakowania chromatyny są chromosomy kondensujące w trakcie podziału komórki (rys. 3.16).

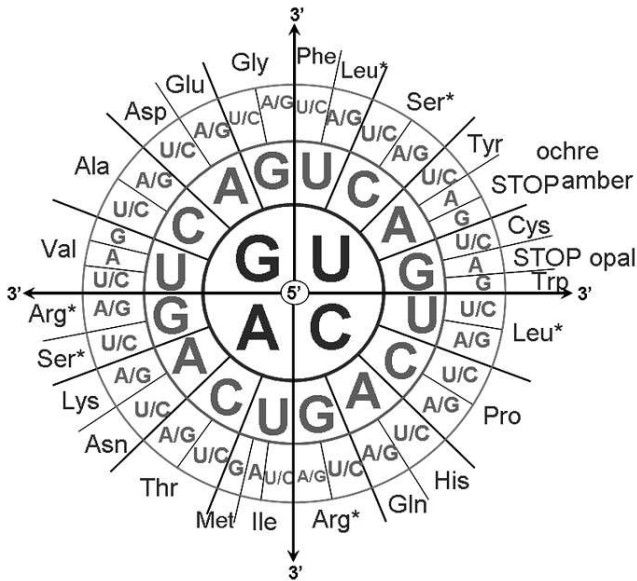
## 3.5 Kod genetyczny

Kod genetyczny to reguła, według której informacja genetyczna zawarta w sekwencji nukleotydów DNA lub RNA może ulegać „tłumaczeniu” na kolejność (sekwencję) aminokwasów w odpowiednich białkach (w procesie biosyntezy białek, czyli translacji) (rys. 3.17). Translacja zachodzi w oparciu o sekwencję



**Rysunek 3.16.** Kolejne stopnie upakowania chromatyny i towarzysząca im zmiana aktywności genów. Na podstawie: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Chromatin\\_Structures.png](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Chromatin_Structures.png)





**Rysunek 3.17.** Standardowy kod genetyczny (kodony należy odczytywać poczynając od środkowego pierścienia). Synteza peptydu zawsze zaczyna się od metioniny (Met) kodowanej przez kodon **AUG**, który koduje również wewnątrzłańcuchową metioninę. Kodony stop (UAA, UAG, UGA) kończą syntezę peptydu. W diagramie podano nukleotydy występujące w RNA (w DNA zamiast U występuje T). W DNA sekwencja od kodonu start (ATG) do kodonu stop (TAA, TAG, TGA) nazywana jest **otwartą ramką odczytu** (ORF, ang. *open reading frame*), która koduje peptyd lub białko. Aminokwasy, przy których postawiono znak \*, mogą być kodowane przez kilka kodonów różniących się pierwszymi nukleotydami (np. arginina - Arg - może być kodowana zarówno jako AGA albo AGG, jak i CGA, CGG, CGU albo CGC; różne kodony oznaczające taki sam aminokwas mogą występować nawet obok siebie w tej samej cząsteczce mRNA)

zapisaną w mRNA, który jest zbudowany z nukleotydów, podczas gdy białka zbudowane są z aminokwasów. Dlatego też konieczne jest ścisłe powiązanie sekwencji nukleotydów z sekwencją aminokwasów. Sposób powiązania tych sekwencji został rozszyfrowany w latach 60-tych XX wieku przez Marshalla Nirenberga z zespołem, który słusznie założył, że trzy kolejne nukleotydy (kodon) kodują jeden aminokwas.

Najważniejszą cechą kodu genetyczny jest jego jednoznaczność, co znaczy że dany kodon może kodować tylko jeden aminokwas. Kod genetyczny nie jest ściśle określony - jeden aminokwas może być kodowany przez kilka różnych kodonów (mówimy, że kod genetyczny jest zdegenerowany). Jeżeli aminokwas kodowany jest przez kilka kodonów, pierwsze dwie pozycje są zwykle takie same, a różnice występują w trzeciej pozycji. Poza tym, aminokwasy o zbli-

zonych właściwościach fizycznych mają podobne kodony. Dlatego też mutacje punktowe w DNA występujące w trzeciej pozycji kodonu najczęściej nie zmieniają sekwencji kodowanego białka, zaś mutacje w pierwszej lub drugiej pozycji zmieniają aminokwas, ale z dużym prawdopodobieństwem będzie on miał podobne właściwości.

W zasadzie kod genetyczny jest uniwersalny dla wszystkich organizmów. Istnieje jednak kilka wyjątków od reguły standardowego kodu genetycznego, np. w mitochondrialnym DNA wielu organizmów lub w DNA jądrowym kilku niższych organizmów są inne kodony start lub stop.

### 3.6 Geny i genomy

Definicja genu zmieniała się w czasie, poczynając od definicji wprowadzonej przez Grzegorza Mendla w XIX wieku. Jedną z popularnych, choć niezbyt już aktualnych definicji mówiła, że gen to fragment nici DNA kodujący jeden łańcuch białka. Obecnie przyjmuje się, że **gen** to *cała* sekwencja DNA niezbędna do tego, by powstał produkt białkowy lub RNA. Sekwencja genu może być podzielona na **region regulatorowy** i **region ulegający transkrypcji**. Region regulatorowy może być oddalony lub może znajdować się bezpośrednio przy regionie transkrypcyjnym. U organizmów eukariotycznych region ulegający transkrypcji zwykle posiada eksony i introny (u Prokariota geny są bezintronowe). Eksony kodują białko lub funkcjonalne RNA, a introny są usuwane po zakończeniu transkrypcji (rozdz. 5). W DNA oprócz genów występują pseudogeny, które są niefunkcjonalnymi genami. Często powstają na skutek duplikacji i mutacji genów prawidłowych. Regiony kodujące funkcjonalne białka lub RNA stanowią jedynie około 3% w genomie ludzkim.

**Genomem** określa się całość informacji genetycznej organizmu. W przypadku większości organizmów jest to kompletna sekwencja DNA (tabela 3.2). Wyjątkiem są RNA wirusów, w których genomem jest kompletna sekwencja ich RNA. Z pojęciem genomu wiąże się pojęcie **proteomu**, który obejmuje wszystkie białka obecne w komórce w danym momencie. Wszystkie komórki organizmu mają ten sam genom, mogą jednak znacznie różnić się proteomem.

### 3.7 Sekwencje powtarzające się

Większość DNA budującego geny to tzw. sekwencje unikalne. Występują one w genomie w dwóch kopiach - **allelach** zlokalizowanych w odpowiadających sobie miejscach chromosomów homologicznych. Jednak wiele sekwencji DNA wielokrotnie powtarza się w całkowitym DNA komórki. Na przykład w telomerach znajdujących się na końcach chromosomów, na przestrzeni ok. 15 tysięcy pz, tysiące razy powtarza się sekwencja „TTAGGG”. Sekwencje takie nazywamy sekwencjami powtarzającymi się (ang. *repetitive sequences*).

**Tabela 3.2.** Wielkość genomów niektórych bardziej znanych organizmów

Organizm	Rozmiar genomu(Mb*)	Liczba genów
Wirus zapalenia wątroby typu D (ang. <i>Hepatitis D virus</i> )	0,0017	2
Wirus zapalenia wątroby typu B (ang. <i>Hepatitis B virus</i> )	0,0032	4
Wirus HIV-1	0,0092	9
Bakteriofag $\lambda$	0,0485	90
<i>Escherichia coli</i>	4,6	4437
<i>S. cerevisiae</i> (drożdże piekarskie)	12	6300
<i>C. elegans</i> (nicień)	97	19000
<i>D. melanogaster</i> (muszka owocowa)	137	14000
<i>Mus musculus</i> (mysz domowa)	3000	20000-30000
<i>Homo sapiens</i> (człowiek)	3000	20000-30000

\*1 Mb=1 milion par zasad (w przypadku dwuniciowego DNA lub RNA) lub 1 milion zasad (w przypadku jednociowego DNA lub RNA)

Klasyfikację sekwencji powtarzających się dokonano pierwotnie w oparciu o kinetykę reasocjacji zdenaturowanego DNA. Całkowite DNA jest najpierw losowo cięte do fragmentów o długości około 1000 pz. Następnie zaś fragmenty DNA są podgrzewane i nici komplementarne dysocjują do pojedynczych nici (na skutek zerwania wiązań wodorowych). Po obniżeniu temperatury rozpoczyna się ponowne tworzenie fragmentów dwuniciowych (reasocjacja, hybrydyzacja) na zasadzie komplementarności zasad. Kinetykę procesu reasocjacji można mierzyć np. przez mierzenie zmian absorbancji roztworu przy 260 nm. Współczynnik absorbancji dwuniciowego DNA jest o około 40% mniejszy od współczynnika absorbancji jednociowego DNA. Jeśli fragment DNA zawiera sekwencję, która powtarza się wielokrotnie w genomie, ma większą szansę odnaleźć pasującą nić i reasocjuje szybciej niż inne fragmenty zawierające mniej powtarzających się sekwencji. Opierając się na tempie reasocjacji, sekwencje DNA podzielono na trzy klasy:

1. Wysoce powtarzalne: hybrydujące bardzo szybko (zaledwie kilka sekund). U ssaków stanowią 10-15% DNA. Zaliczane są tu krótkie sekwencje mikrosatelitarne i tzw. odwrócenia powtórzone (ang. *tandem repeats*).
2. Umiarkowanie powtarzalne: hybrydujące w pośrednim tempie. Stanowią 25-40% genomu ssaków. Zaliczają się tu powtórzenia rozproszone (ang. *interspersed repeats*), nazywane również elementami mobilnymi lub transpozonomi.
3. Pojedyncze lub o małej liczbie powtórzeń. Stanowią 50-60% DNA ssaków.

Powtórzenia rozproszone mogą być krótkimi sekwencjami, o długości od 100 do 500 pz, nazywanymi SINES (ang. *short interspersed repeats*) lub długimi powtórzeniami, o długości kilku tysięcy par zasad, czyli LINES (ang. *long in-*

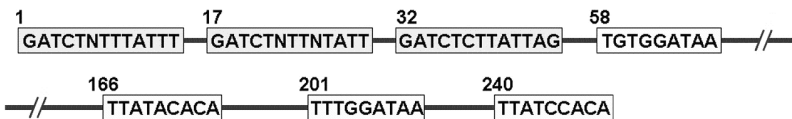
*terspersed repeats*). Przykładem sekwencji należącej do SINES są wysoko homologiczne sekwencje Alu o długości 300 pz. W genomie człowieka występują w ilości bliskiej miliona kopii. Są one rozproszone w całym genomie i mogą służyć jako miejsca inicjacji replikacji DNA. Inna klasa wielokrotnie powtarzającego się DNA występuje w centromerach (DNA satelitarny). U *Drosophila* DNA satelitarny składa się z siedmionukleotydu sekwencji powtórzonej ponad 10 000 razy. Geny kodujące rRNA 5,8S, 18S i 28S występują w zespołach umiejscowionych w jąderku i są wielokrotnie tandemowo powtórzone. Geny kodujące histony również występują w powtórzonych tandemowo zespołach.

## Replikacja DNA, mutacje i naprawa

### 4.1 Mechanizm replikacji DNA

Replikacja (czyli kopiowanie) DNA zachodzi przed podziałem komórki i regulowana jest przez czynnik transkrypcyjny nazwany u drożdży *MCB binding factor*, u ssaków - E2F. Reguluje on ekspresję enzymów niezbędnych do replikacji: polimeraz DNA, prymaz DNA i cyklin. Replikacja zaczyna się od specyficznego miejsca (ang. *replication origin*) (rys. 4.1). W DNA genomowym bakterii *E. coli* jest tylko jedno miejsce startu replikacji (zwane *oriC*), natomiast eukariotyczne DNA posiada wiele takich miejsc w każdym chromosomie. W miejscu startu replikacji przeważają pary A-T, które łatwiej jest rozwinąć niż pary C-G, ponieważ połączone są dwoma wiązaniami wodorowymi.

#### (a) Bakteryjne miejsce rozpoczęcia replikacji (OriC)



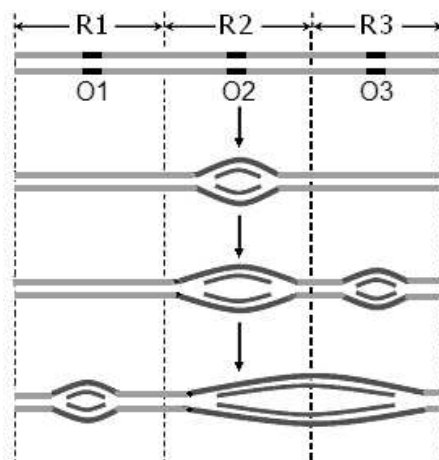
#### (b) Drożdżowe miejsce rozpoczęcia replikacji (ARS1)



**Rysunek 4.1.** Sekwencje bakteryjnego i drożdżowego miejsca startu replikacji:

(a) u bakterii jest to sekwencja o długości 245 pz zawierająca trzy tandemowo powtórzone odcinki o długości 13 pz i niemal identycznej sekwencji (kolor ciemny) oraz cztery odcinki o długości 9 pz i dużym podobieństwie sekwencji (kolor jasny); (b) drożdżowa sekwencja startu replikacji nazywana jest ARS (od autonomicznie replikujących się sekwencji; ang. *autonomously replicating sequence*). Region A jest niezbędny dla rozpoczęcia replikacji, zaś B1, B2 i B3 zwiększają wydajność replikacji

Replikacja zachodzi z obu nici DNA równocześnie (rysunek 4.2). U *E. coli* replikacja całego genomowego DNA zajmuje 42 minuty. Widełki replikacyjne przesuwają się z szybkością ok. 1000 pz na sekundę. U Eukariota przesuwają się znacznie wolniej - tylko 100 pz na sekundę. Jest to spowodowane asocjacją DNA z histonami. Replikacja całego ludzkiego genomu zajmuje około 8 godzin, muszki owocowej - jedynie 3-4 minuty (dzięki 6000 widełek replikacyjnych działających równocześnie w cząsteczce DNA).

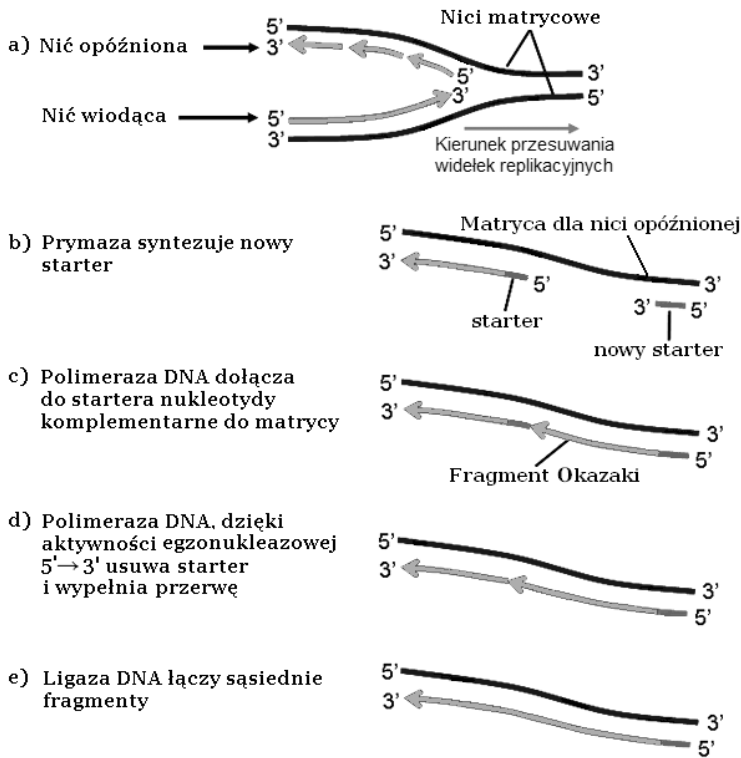


**Rysunek 4.2.** Schemat replikacji DNA u Eukariota. O1, O2 i O3 - miejsca startu replikacji dla replikonów R1, R2 i R3. Replikacja wymaga rozwinięcia podwójnej helisy. Nowe nici (potomne) są syntetyzowane przez polimerazę DNA na matrycy starych nici. Rozwinięte DNA wygląda jak rozgałęzienie (**widełki replikacyjne**) przesuwające się w jedną stronę, przez co powiększa się „bąbel replikacyjny” (ciemny szary)

Cząsteczka DNA syntetyzowana jest przez polimerazy DNA z trifosforanów deoksyrybonukleozydów (dNTP). Reakcja jest podobna do syntezy RNA (rozd. 5). Obie polimerazy, DNA i RNA, syntetyzują łańcuch kwasu nukleinowego tylko w kierunku 5' do 3'. Ponieważ dwa łańcuchy w DNA są antyrównoległe, jedynie jedna nić (tzw. wiodąca czy prowadząca) może być syntetyzowana przez polimerazę DNA w sposób ciągły. Druga nić (opóźniona) jest syntetyzowana we fragmentach (rys. 4.3). W dupleksie zawierającym nić prowadzącą pozostają stare histony, natomiast do dupleksu zawierającego nić opóźnioną przyłączają się nowe histony.

#### 4.1.1 Polimerazy DNA

Polimerazy DNA są enzymami sterowanymi przez matrycę. U *E. coli* występują trzy typy polimeraz DNA: I, II i III. Polimeraza DNA I wypełnia przerwy pomiędzy fragmentami DNA powstające podczas syntezy nici opóźnionej. Bierze też udział w naprawie DNA. Polimeraza DNA II kodowana jest przez gen



**Rysunek 4.3.** Etapy syntezy nici opóźnionej:

- porównanie nici wiodącej i opóźnionej;
- prymaza syntetyzuje nowy starter o długości ok. 10 nt. Odległość między dwoma starterami wynosi około 1000-2000 nt u bakterii, a około 100-200 nt w komórkach eukariotycznych;
- polimeraza DNA dobudowuje nukleotydy do nowego startera w kierunku od 5' do 3', do momentu, aż napotka koniec 5' sąsiedniego startera. Nowo zsyntetyzowany DNA jest nazywany fragmentem Okazaki (od nazwiska odkrywcy);
- u *E. coli*, polimeraza DNA I ma aktywność egzonukleazy i od końca 5' usuwa napotkany starter oraz wypełnia przerwę;
- ligaza DNA łączy sąsiednie fragmenty Okazaki.

Cała nić opóźniona jest syntetyzowana poprzez wielokrotne powtórzenie etapów (b) do (e)

*PolB* aktywowany w czasie odpowiedzi komórki na uszkodzenia DNA (ang. *SOS response*). Większość DNA w komórce syntetyzowana jest przez polimerazę DNA III. Jest to holoenzym o masie ok. 900 kDa, zbudowany z wielu podjednostek. Rdzeń polimerazy tworzą podjednostki  $\alpha$ ,  $\epsilon$  i  $\theta$ . Rolą pozostałych jednostek jest zapobieganie odpadnięciu enzymu od matrycy. Dwie podjednostki  $\beta$  ( $\beta_2$ ) pełnią rolę ruchomego pierścienia otaczającego matrycę DNA.

Wraz z rdzeniem polimerazy przesuują się wzdłuż cząsteczki DNA, co umożliwia ciągłą syntezę około  $5 \times 10^5$  nukleotydów. Przy braku podjednostek  $\beta$  rdzeń polimerazy odpada po zsyntetyzowaniu około 10-50 nukleotydów. Polimeraza DNA III wbudowuje ok. 1000 nt na sekundę, przy czym jest niezwykle dokładna: podjednostka  $\varepsilon$ , będąca egzonukleazą  $3' \rightarrow 5'$ , sprawdza na bieżąco poprawność replikacji.

U ssaków jest pięć kluczowych polimeraz DNA: ( $\alpha, \beta, \gamma, \delta$  i  $\varepsilon$ ) oraz kilkanaście pomniejszych. Polimeraza  $\gamma$  replikuje mitochondrialny DNA, pozostałe występują w jądrze komórkowym, gdzie pełnią różne funkcje:

- $\alpha$ : synteza nici opóźnionej;
- $\beta$ : naprawa DNA;
- $\delta$ : synteza nici wiodącej;
- $\varepsilon$ : naprawa DNA.

Do rozpoczęcia syntezy DNA konieczna jest krótka cząsteczka RNA (starter; ang. *primer*) o długości około 5-12 nukleotydów, komplementarna do jednej z nici matrycy. Syntetyzowana jest przez specjalny enzym - **prymazę**, która jest polimerazą RNA. Zastosowanie rybonukleotydów do syntezy startera oznacza, że jest to fragment tymczasowy - usuwany w końcowej fazie replikacji. Polimerazy RNA, w przeciwieństwie do polimeraz DNA, mogą syntetyzować nową nić bez startera, ponieważ nie sprawdzają, czy nukleotyd wprowadzany do łańcucha jest poprawny (są znacznie mniej dokładne). Inne białka biorące udział w replikacji to **helikazy** oraz białka wiążące jednoniciowy DNA (SSB, ang. *single strand binding protein*). Helikaza rozplata podwójną helisę, a białka SSB wiążą się do jednoniciowych fragmentów, zapobiegając ponownemu utworzeniu dupleksu.

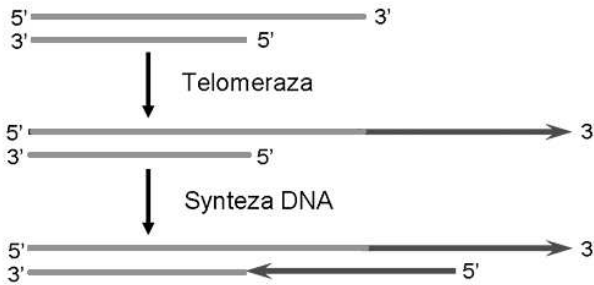
Mechanizm replikacji u bakterii i w organizmach eukariotycznych jest podobny. Jednak eukariotyczne polimerazy DNA nie posiadają podjednostki podobnej do bakteryjnej podjednostki  $\beta$ . Przytwierdzając się do DNA, wykorzystują białko PCNA (ang. *proliferating cell nuclear antigen*).

## 4.2 Telomerazy i starzenie komórkowe

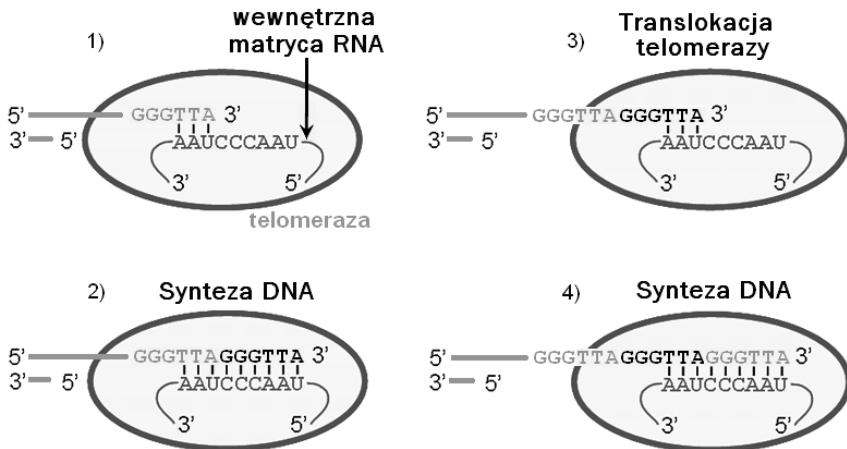
Synteza nici opóźnionej wymaga wielokrotnej syntezy startera, który w ostateczności jest usuwany. U bakterii, które mają kolistą cząsteczkę DNA nie ma problemu z replikacją całej cząsteczki. W przypadku liniowej cząsteczki DNA nić opóźniona jest zawsze krótsza od matrycy (w najlepszym przypadku - o długość startera). Sytuacja taka ma miejsce na końcu chromosomu. Na końcach chromosomów u Eukariota występują tak zwane telomery, dzięki którym problem skracania nici DNA po każdym podziale jest minimalizowany (drugą funkcją telomerów jest ochrona chromosomów przed wzajemnym łączeniem się). Telomerowy DNA zawiera setki tandemowo powtórzonych sekwencji heksanukleotydowych. Jedna nić jest bogata w guaninę, druga zaś - w cytozynę.



Telomery syntetyzowane są przez telomerazę. Jest to duży enzym rybonukleoproteinowy, który katalizuje wydłużanie 3'-końcowej nici DNA (rys. 4.4). Zawiera cząsteczkę RNA, która służy jako matryca (rys. 4.5). Tak więc jest odwrotną transkryptazą z własną matrycą, co jest zupełnie wyjątkowe: żadna inna spośród znanych polimeraz nie zawiera polinukleotydowej matrycy.



**Rysunek 4.4.** Schemat wydłużania telomerów przez telomerazę. Telomeraza najpierw dobudowuje fragment DNA do dłuższej nici, później, w mechanizmie podobnym do syntezy nici opóźnionej, wydłużana jest krótsza nić



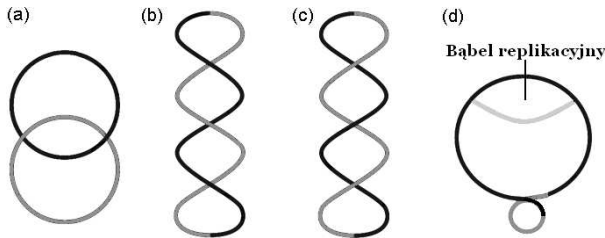
**Rysunek 4.5.** Mechanizm syntezy telomerów przez telomerazę.

W ludzkim chromosomie telomer ma około 10-15 tysięcy par zasad, na które składa się wielokrotnie tandemowo powtórzona sekwencja GGGTTA. Telomeraza zawiera RNA komplementarny do sekwencji powtarzającej się w telomerach, który służy jako matryca do syntezy DNA. Poprzez wielokrotnie powtarzany cykl syntezy DNA oraz translokacji telomerazy, telomer uzyskuje sekwencję złożoną z wielu powtórzeń

Przy braku telomerazy telomery ulegają skróceniu po każdym podziale komórki. Po osiągnięciu pewnej granicznej długości telomerów, komórka przestaje się dzielić i umiera. Tak więc telomeraza pełni kluczową rolę w procesie starzenia.

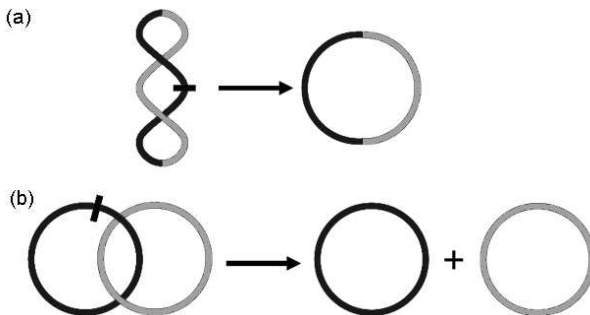
### 4.3 Topoizomerazy

Podczas rozwijania DNA w czasie replikacji mogą powstać splecione struktury: formy superhelikalne lub konkatomery (rys. 4.6). Zaplątaniu DNA zapobiegają enzymy nazywane topoizomerazami (jest to ich główna rola).



**Rysunek 4.6.** Struktura konkatomerów i form superhelikalnych DNA: (a) koliste konkatomery; (b) dodatnio superhelikalny DNA (lewoskrętny); (c) ujemnie superhelikalny DNA (prawoskrętny); (d) dodatnio superhelikalny DNA u bakterii w czasie replikacji. Częsteczka superhelikalna DNA jest bardziej zwarta niż zrelaksowany (rozluźniony) DNA tej samej długości

Znane są dwa typy topoizomeraz: typ I tworzy przejściowe pęknięcia w jednej nici DNA, typ II - w obu niciach równocześnie (rys. 4.7). Typ II jest bardziej wydajny w usuwaniu nadmiarowych skrętów w DNA, wymaga jednak energii z hydrolizy ATP, podczas gdy typ I - nie wymaga. Topo I u Prokariota i Eukariota jest topoizomerazą typu I. Eukariotyczna topo II, bakteryjna gyraza i bakteryjna topo IV - to typ II.



**Rysunek 4.7.** Działanie topo II: (a) usuwanie superskrętów; (b) rozdzielanie połączonych cząstek kolistych konkatomerów. Działania te wymagają nacięcia obu nici DNA (zaznaczone czarną kreską). Po przełożeniu nici DNA są ponownie łączone

Eukariotyczne topo I i topo II mogą relaksować zarówno dodatnio, jak i ujemnie superhelikalny DNA. U bakterii topo I katalizuje relaksację tylko ujemnie superhelikalnego DNA. Bakteryjna topo II nazywana jest **gyrazą** i pełni dwie funkcje: relaksuje dodatnio superhelikalny DNA w czasie replikacji i wprowadza ujemne skręty, by DNA mogło być upakowane w komórce. Podczas replikacji te ujemne skręty są usuwane przez topo I.

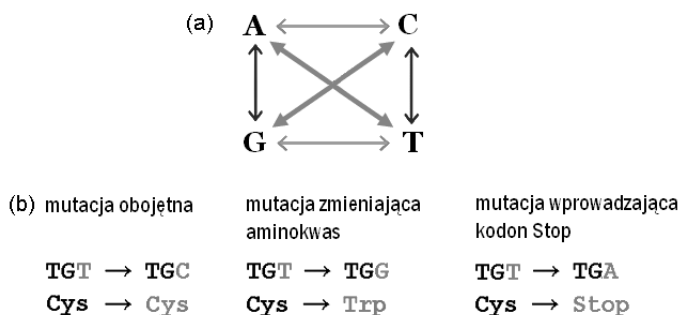
Bez topoizomeraz DNA nie może się prawidłowo replikować. Dlatego inhibitory topoizomeraz wykorzystywane są jako leki przeciwnowotworowe hamujące podziały komórkowe. Ponieważ takie inhibitory hamują podziały wszystkich komórek w organizmie, również tych prawidłowych, efektem ubocznym leczenia jest np. utrata włosów, które rosną dzięki stałym podziałom komórek w mieszkach włosowych.

## 4.4 Mutacje i ich konsekwencje

Mutacja to zmiana w sekwencji DNA dotycząca bądź tylko kilku zasad, bądź zmian na skalę chromosomu. W rozdziale tym zostaną omówione mutacje zachodzące na małą skalę, takie jak substytucje, delecje i insercje, oraz pominięcie eksonu będące skutkiem mutacji w obrębie miejsca splicingowego.

### 4.4.1 Substytucja (podstawienie)

Mutacja nazywana substytucją ma miejsce wtedy, gdy jeden lub więcej nukleotydów zastąpionych jest przez tę samą ilość innych nukleotydów. W większości przypadków jest to jedynie jeden nukleotyd. Substytucja może polegać na **tranzycji** (podstawienie jednej puryny w miejsce innej puryny, lub jednej pirymidyny w miejsce innej pirymidyny) lub **transwersji** (zamiana puryny na pirymidynę lub pirymidyny na purynę). Ze względu na konsekwencje substytucji, mogą być one podzielone na mutacje obojętne (ang. *silent*), czyli nieprowadzące zmiany w kodowanym białku, mutacje prowadzące do zmiany

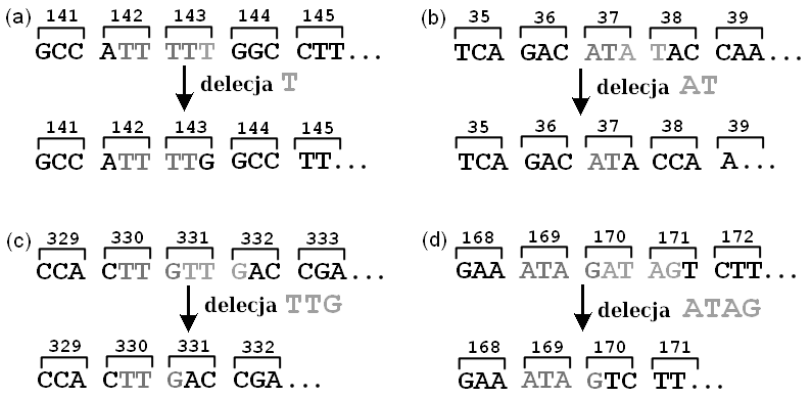


**Rysunek 4.8.** Substytucja: (a) ilustracja tranzycji (czarne strzałki) i transwersji (szare); (b) przykłady mutacji obojętnej, prowadzącej do zmiany aminokwasu w kodowanym białku i wprowadzającej przedwczesny kodon Stop

aminokwasu w kodowanym białku (ang. *missense*) oraz mutacje wprowadzające przedwczesny kodon Stop (ang. *nonsense*) (rys. 4.8).

#### 4.4.2 Delecja (usunięcie)

Delecja to mutacja polegająca na usunięciu jednego lub więcej nukleotydów z sekwencji DNA (rys. 4.9). Delecja trójki nukleotydów powoduje brak jednego aminokwasu w łańcuchu (delecja kodonu kodującego dany aminokwas lub połączenie dwóch uszkodzonych kodonów w nowy). Delecja niebędąca wielokrotnością 3 nukleotydów prowadzi do przesunięcia ramki odczytu i zmiany wszystkich kodonów od miejsca delecji począwszy.



**Rysunek 4.9.** Przykłady delecji prowadzących do rozwoju choroby: (a) i (b) delecje w genie CFTR; (c) delecja w genie FIX; (d) delecja w genie APC

#### 4.4.3 Insercja (wstawienie)

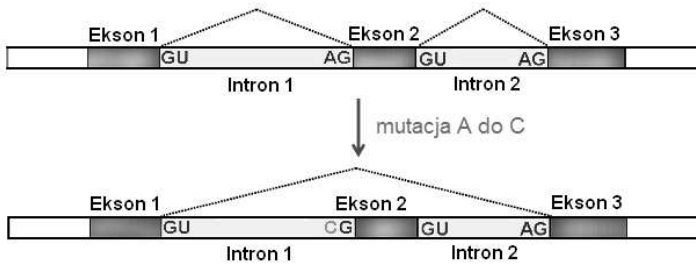
Insercja polega na wstawieniu jednego lub więcej dodatkowych nukleotydów do sekwencji. Jeżeli ilość wstawionych par zasad nie jest wielokrotnością 3, insercja powoduje przesunięcie ramki odczytu i powstanie nieprawidłowego białka. Insercje niezmiennające ramki odczytu również mogą prowadzić do poważnych chorób (tabela 4.1). Delecje i insercje często zdarzają się w sekwencjach powtarzających się.

#### 4.4.4 Pomińnięcie eksonu

Do wycięcia intronu wymagana jest obecność sygnału „GU . . . . . AG” (rys. 4.10). Jeżeli miejsce akceptorowe AG jest zmutowane (np. A do C) kompleks rybonukleoproteinowy wycinający intron będzie wyszukiwał następnego miejsca akceptorowego, czego skutkiem będzie wycięcie eksonu razem z intronami.

Tabela 4.1. Przykłady chorób wywoływanych przez insercje

Choroba	Położenie genu	Sekwencja powtarzająca się	Normalna liczba powtórzeń	Zmutowana liczba powtórzeń
Choroba Huntingtona	4p16.3	CAG	9-35	37-100
Choroba Kennedy'ego	Xq21	CAG	7-24	40-55
SCA1	6p23	CAG	19-36	43-81
DRPLA	12p	CAG	7-23	> 49
Łamliwość chromosomu X w miejscu A	Xq27.3	CGG	6-54	> 200
Łamliwość chromosomu X w miejscu E	Xq28	CCG	6-25	> 200
Łamliwość chromosomu X w miejscu F	Xq28	GCC	6-29	> 500
Dystrofia mięśniowa	19q13	CTG	5-35	50-4000

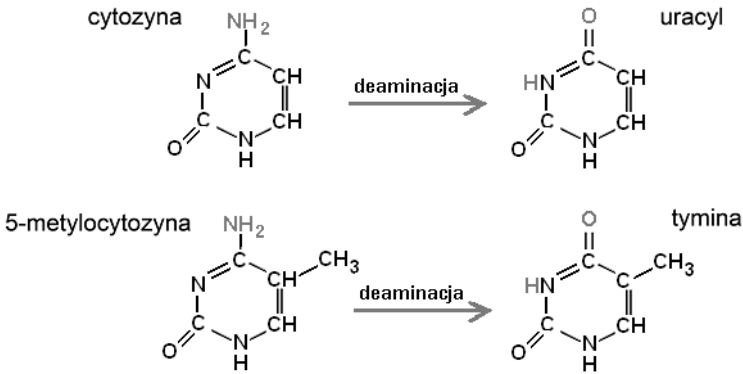


Rysunek 4.10. Ilustracja pominięcia eksonu

## 4.5 Mechanizmy powstawania mutacji

Mutacje mogą być skutkiem działania czynników zewnętrznych (światła UV, czynników chemicznych itp.) lub mogą powstawać spontanicznie (błędy replikacyjne, przypadkowe deaminacje itp.). Rysunek 4.11 ilustruje proces deaminacji.

Deaminacja cytozyny do uracylu w cząsteczce DNA jest potencjalnie mutagenna, ponieważ uracyl tworzy parę z adeniną, przez co jedna z potomnych nici będzie zawierać zmienioną parę A:U zamiast poprawnej pary G:C. Organizm chroniony jest przed tą mutacją przez system naprawczy, który rozpoznaje uracyl jako obcy dla DNA (system naprawy przez wycięcie zasady; ang. *base excision*). Struktura chemiczna uracylu jest prostsza od struktury tyminy, mimo to uracyl nie występuje w DNA. Gdyby występował, uracyl powstały przez deaminację cytozyny mógłby być odróżniany od prawidłowo wbudowanego uracylu tylko dzięki nieprawidłowemu sparowaniu z komplementarną zasadą. Deaminacja cytozyny do uracylu musiałaby być korygowana w procesie naprawy źle sparowanych zasad (ang. *mismatch repair*), który jest znacznie

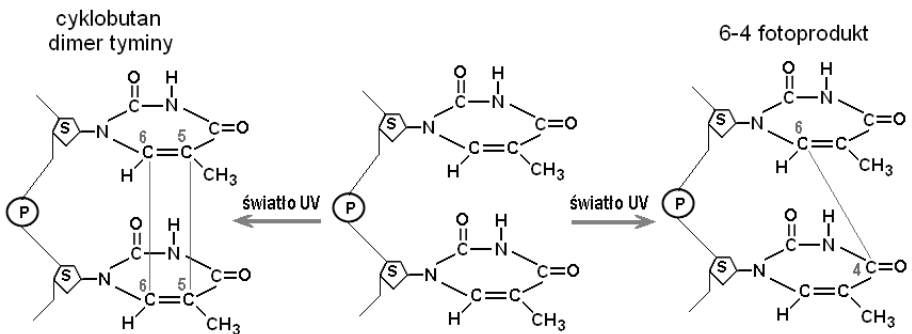


**Rysunek 4.11.** Przykłady deaminacji, czyli usunięcia grupy aminowej. Przypadkowa deaminacja może zmienić cytozynę w uracyl albo metylowaną cytozynę w tyminę

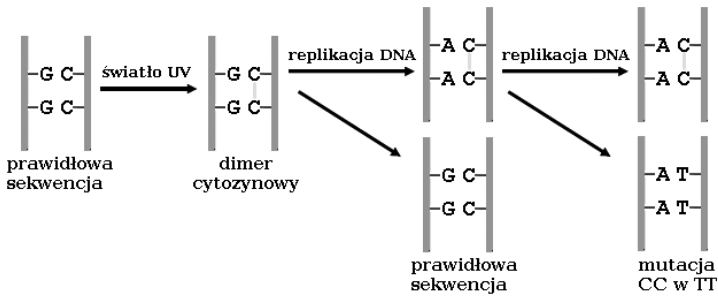
mniej efektywny. Tymina występuje w DNA, ponieważ zwiększa wierność zapisu genetycznego. RNA, w przeciwieństwie do DNA, nie podlega naprawie, dlatego do jego syntezy używany jest uracyl jako element, którego synteza wymaga mniejszego nakładu energii.

#### 4.5.1 Mutacje spowodowane światłem UV

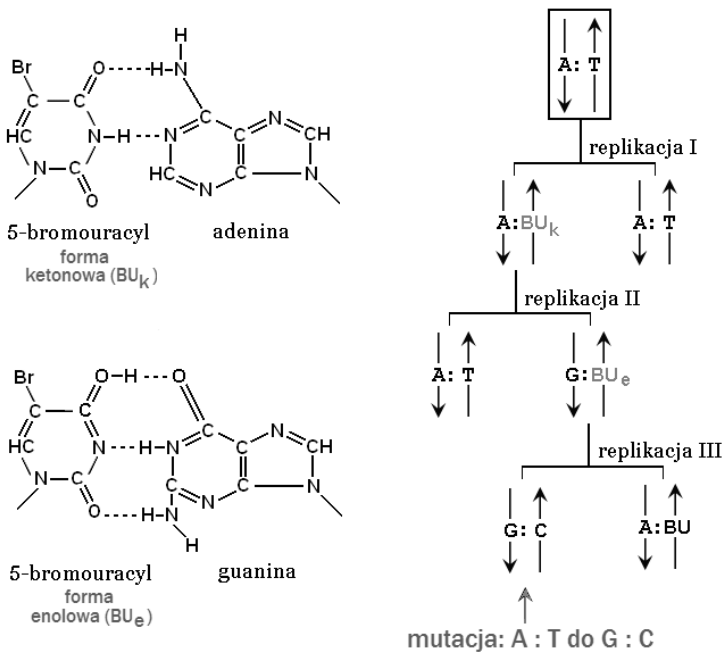
Gdy DNA narażone jest na działanie światła UV, dwie sąsiadujące pirymidyny (cytozyny lub tyminy) mogą utworzyć dimer (rys. 4.12). W prawidłowych komórkach dimery takie rozpoznawane są przez białko p53, które uruchamia proces naprawy. Gdy p53 nie działa prawidłowo, dimery pirymidynowe mogą być przyczyną mutacji (rys. 4.13).



**Rysunek 4.12.** Dimer tymidynowy indukowany przez światło UV (podobny dimer może powstać z cytozyny)



**Rysunek 4.13.** Możliwy mechanizm mutacji indukowanych przez światło UV. Jeżeli pod wpływem UV powstanie dimer cytozynowy, w czasie replikacji w nowej nici naprzeciw dimeru zostanie wbudowana adenina (zamiast guaniny). W kolejnej rundzie replikacji naprzeciw adeniny wbudowane zostaną tyminy, powstaje więc mutacja polegająca na zamianie CC w TT. Podczas gdy dimery cytozyny mogą być naprawiane, mutacja powstająca po replikacji nie jest już wykrywana przez system naprawy DNA

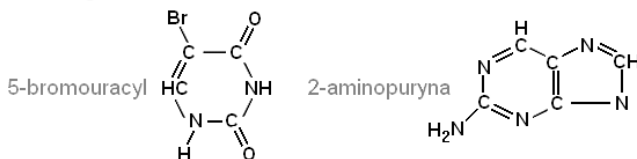


**Rysunek 4.14.** Mechanizm mutacji indukowanej przez 5-bromouracyl (BU). BU ma dwie izoformy tautomeryczne: forma ketonowa (BU<sub>k</sub>) tworzy parę z adeniną, forma enolowa (BU<sub>e</sub>) - z guaniną. Jeżeli w czasie replikacji do cząsteczki DNA zostanie włączony np. BU<sub>k</sub>, w kolejnych rundach replikacji może przejść w izoformę BU<sub>e</sub>. Spowoduje to mutację A:T do G:C

### 4.5.2 Mutacje wywołane czynnikami chemicznymi

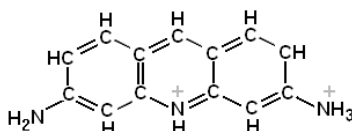
Czynniki chemiczne, które mogą wywołać mutacje, nazywane są **mutagenami**. Większość z nich jest również kancerogenami. Na rysunkach: 4.14, 4.15 oraz 4.16 przedstawiono strukturę kilku potencjalnych mutagenów jak również mechanizm mutacji indukowanych przez niektóre z nich.

#### I. Analogi zasad



#### II. Akrydyny

2,8, - diaminoakrydyna  
(proflawina)



#### III. Czynniki alkilujące

di-(2-chloroetylo)siarczek  $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$

di-(2-chloroetylo)metyloamina  $\text{Cl}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\text{N}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Cl}$

siarczan etylometanu  $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{O}-\text{SO}_2-\text{CH}_3$

#### IV. Czynniki deaminujące

kwas azotowy  $\text{HNO}_2$

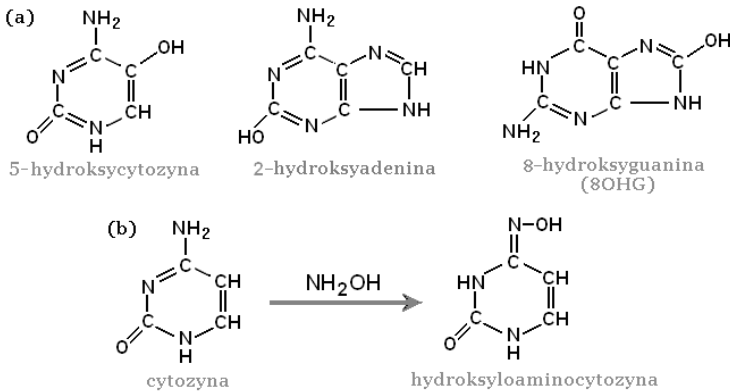
#### V. Inne

hydroksyloamina  $\text{NH}_2\text{OH}$   
wolne rodniki

**Rysunek 4.15.** Struktura potencjalnych mutagenów:

- akrydyny (np. proflawina) są cząsteczkami dodatnio naładowanymi. Mogą ulegać insercji między dwie nici DNA prowadząc do zaburzenia struktury DNA i replikacji;
- czynniki alkilujące dodają grupę alkilową ( $-\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$ ) do innych cząsteczek. Alkilacja zasady azotowej w DNA może natomiast zmienić prawidłowe parowanie zasad i w konsekwencji wywołać mutację. Niektóre czynniki alkilujące mogą również łączyć (ang. *cross-link*) cząsteczki DNA, wywołując złamania (pęknięcia) chromosomu;
- kwas azotawy jest czynnikiem deaminującym, który zamienia cytozynę w uracyl, adeninę w hipoksantynę zaś guaninę w ksantynę. Wymienione zasady mają inny potencjał do tworzenia wiązań wodorowych niż wyjściowe, co prowadzi do zmian w parowaniu zasad;
- hydroksyloamina oraz wolne rodniki modyfikują strukturę zasad, prowadząc do zmian w parowaniu zasad





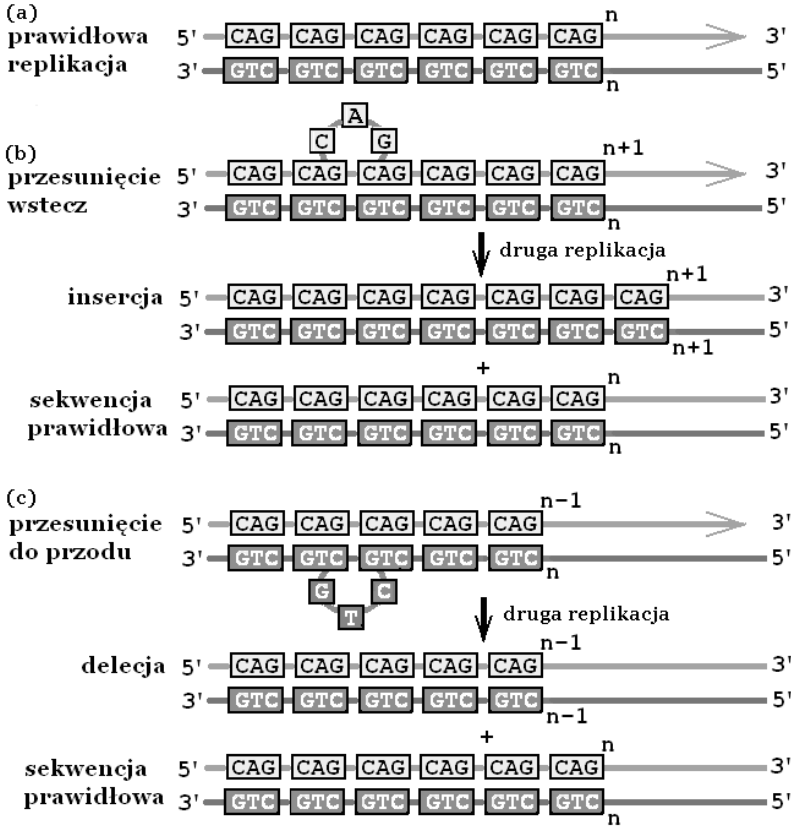
**Rysunek 4.16.** (a) Struktury zasad azotowych powstających pod wpływem działania wolnych rodników; (b) zmiana zasady indukowana przez hydroksyloaminę ( $\text{NH}_2\text{OH}$ )

### 4.5.3 Mutacje powstające w wyniku błędów replikacyjnych

Błędy replikacyjne są głównym źródłem mutacji. Częstość mutacji, które nie zostały skorygowane w czasie replikacji, wynosi jedną mutację na podział komórkowy. Powszechnie występującym błędem replikacyjnym jest przesunięcie replikacji (ang. *replication slippage*) zachodzące w sekwencjach powtarzających się, gdzie nowa nić może się błędnie sparować z nicią matrycową (rys. 4.17). Takie przesunięcia powstające w czasie replikacji prowadzą do powstania polimorfizmów, np. w obrębie sekwencji mikrosatelitarnych zawierających tysiące sekwencji powtarzających się. Jeżeli mutacja zachodzi w sekwencji kodującej białko, może skutkować produkcją niewłaściwego białka i prowadzić do choroby. Dobrze znanym przykładem jest choroba Huntingtona.

### 4.5.4 Metylacja DNA i wyspy CpG (CG)

Wyspa CG to krótki odcinek DNA, w którym częstość występowania sekwencji CG jest wyższa niż w innych rejonach. Nazywana jest również wyspą CpG, gdzie „p” oznacza, że C i G połączone są wiązaniem fosfodiestrowym. Wyspy CpG często występują w promotorach genów istotnych dla funkcjonowania komórki (tzw. *housekeeping genes*) lub genów często ulegających ekspresji. W takich promotorach sekwencje CG nie są metylowane, natomiast w genach nieaktywnych są zwykle metylowane w celu hamowania ekspresji. Metylowana cytozyna przez przypadkową deaminację może być przekształcona w tyminę. Taka zmiana może być skorygowana tylko przez naprawę źle sparowanych nukleotydów, która jest bardzo niewydolna. Tak więc, w skali ewolucyjnej, metylowane sekwencje CG przechodziłyby w TG, co wyjaśnia niedobór sekwencji CG w nieaktywnych genach.

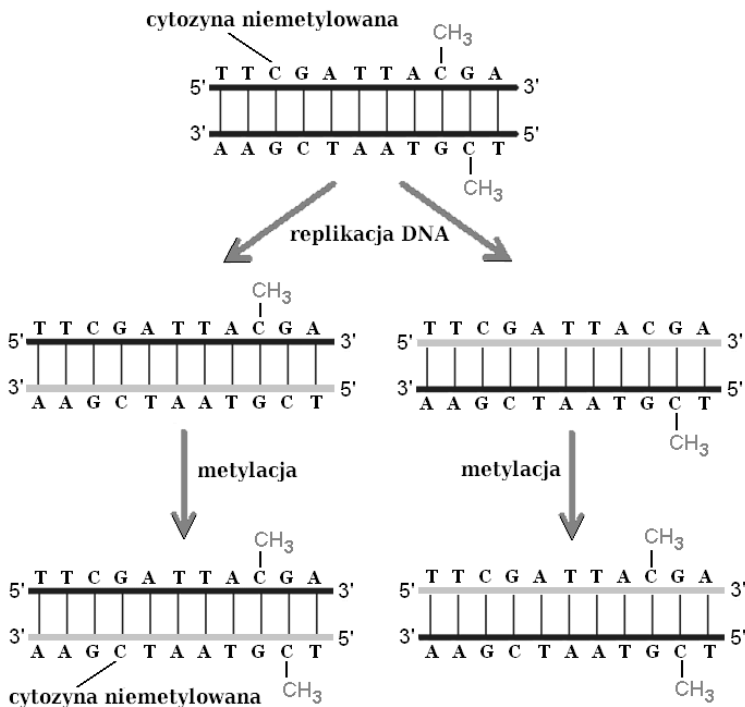


**Rysunek 4.17.** Mutacje powodowane przez przesunięcie replikacji w obrębie sekwencji powtarzających się. Na tym rysunku błędne sparowanie obejmuje tylko jedno powtórzenie, ale może ich być więcej

Każdy typ komórek ma swój własny wzór metylacji DNA, tak aby unikalny zestaw białek mógł uwidocznic się w komórce i umożliwić jej wykonywanie swoistej dla typu komórek funkcji. W czasie podziału komórkowego wzór metylacji DNA przechodzi do potomnej komórki. Dzieje się tak dzięki metylotransferazie DNA, która metyluje tylko te sekwencje CG, które są sparowane z metylowanymi CG (rys. 4.18).

## 4.6 Mechanizmy naprawy DNA

Istnieją trzy główne mechanizmy naprawy DNA: poprzez wycinanie zasady (ang. *base excision*), poprzez wycinanie nukleotydu (ang. *nucleotide excision*) i naprawa źle sparowanych zasad (ang. *mismatch repair*). W procesy naprawy zaangażowanych jest wiele białek - niektóre z nich wymieniono w Tabeli 4.2.



**Rysunek 4.18.** Dziedziczenie wzoru metylacji DNA. Metylotransferaza metyluje tylko te sekwencje CG, które są sparowane z CG metylowanymi w nici rodzicielskiej. Dzięki temu po replikacji DNA zachowany jest oryginalny wzór metylacji

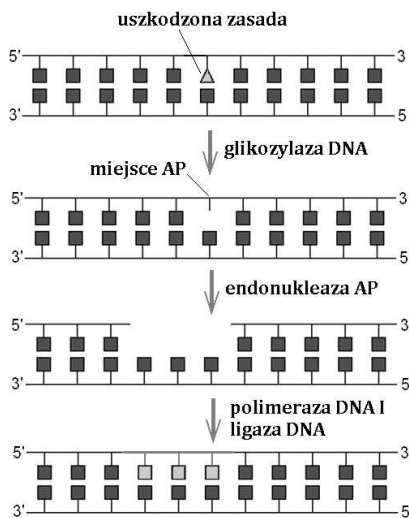
**Tabela 4.2.** Białka biorące udział w naprawie DNA u *E. coli*

System naprawy	Enzym/białko	System naprawy	Enzym/białko
Wycinanie zasady	Glikozylaza DNA	Naprawa źle sparowanych zasad	Metylaza DAM
	Endonukleaza AP		MutS, MutL, MutH
	Polimeraza DNA I		Egzonukleaza
	Ligaza DNA		Helikaza DNA II
Wycinanie nukleotydu	Uvr-A, Uvr-B, Uvr-C		Białko SSB
	Polimeraza DNA I		Polimeraza DNA III
	Ligaza DNA		Ligaza DNA

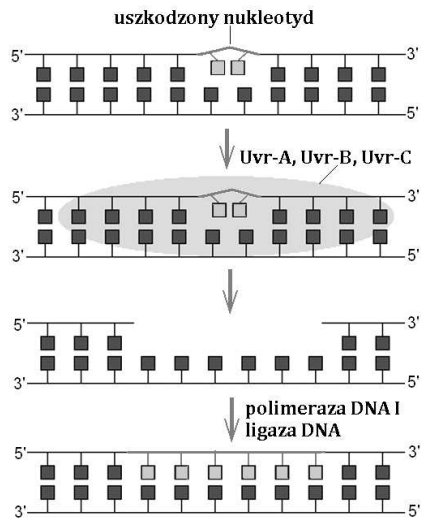
#### 4.6.1 Naprawa poprzez wycinanie zasady

Zasady azotowe w DNA mogą być modyfikowane przez deaminację lub alkylację. Pozycja takiej uszkodzonej zasady nazywana jest **miejszem AP** (apurynowym lub apirymidynowym). U *E. coli* miejsce AP rozpoznawane jest przez

glikozylazę DNA, która usuwa z niego zasadę (szkielet DNA pozostaje nietknięty). Następnie endonukleaza AP rozpoznaje to uszkodzenie oraz przecina szkielet cukrowo-fosforanowy w sąsiedztwie brakującej zasady. Przerwa wypełniana jest dzięki aktywności polimerazy DNA I i ligazy DNA (rys. 4.19).



**Rysunek 4.19** Naprawa DNA u *E. coli*: przez wycięcie zasady;



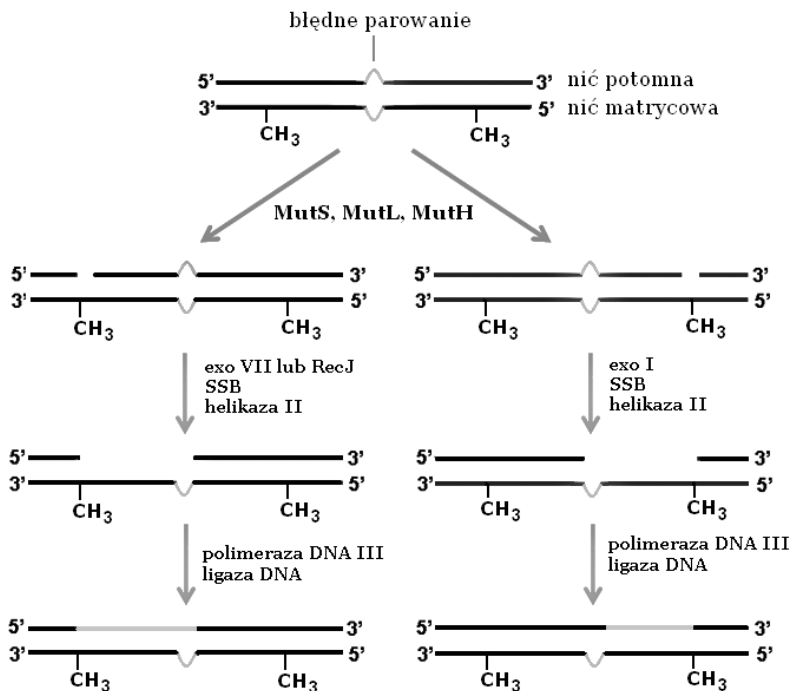
**Rysunek 4.20** Naprawa DNA u *E. coli*: przez wycięcie nukleotydu

#### 4.6.2 Naprawa poprzez wycinanie nukleotydu

Uszkodzone nukleotydy (np. dimery indukowane przez światło UV) u *E. coli* usuwane są przez białka Uvr-A, Uvr-B i Uvr-C. Przerwa wypełniana jest przez polimerazę DNA I i ligazę DNA (rys. 4.20). U drożdży białka podobne do bakteryjnych Uvr nazywane są **RADxx** („RAD” - od „radiation”), np. RAD3, RAD10 itp.

#### 4.6.3 Naprawa źle sparowanych zasad

W systemie naprawy źle sparowanych zasad konieczna jest informacja, która z nici DNA jest uszkodzona, a która prawidłowa. U *E. coli* jest to możliwe dzięki specjalnej metylazie, zwanej metylazą DAM. Metyluje ona wszystkie adeniny, które znajdują się w kontekście sekwencji 5'-GATC-3'. Tuż po zakończeniu replikacji nić rodzicielska jest metylowana w wielu takich miejscach, natomiast nić potomna - nie. Enzym usuwający nieprawidłowo wbudowane nukleotydy przecina niemetylowaną nić, pozostawiając nietkniętą nić rodzicielską, aby mogła posłużyć jako matryca podczas naprawy błędów (rys. 4.21).



**Rysunek 4.21.** Naprawa źle sparowanych zasad u *E. coli*. Proces zaczyna się od wiązania białka MutS w obrębie źle sparowanej pary zasad. Następnie przyłącza się białko MutL, co prowadzi do aktywacji MutH, które wiąże się do DNA w obrębie sekwencji GATC, rozcinając nić niemetylowaną. Sekwencja od miejsca nacięcia aż do rejonu źle sparowanego jest usuwana przez egzonukleazę działającą w asyście helikazy II i białka SSB. Jeżeli cięcie nastąpiło od strony 3' błędnego sparowania, fragment usuwany jest przez egzonukleazę I (degraduje pojedynczą nić DNA tylko w kierunku 3' do 5'). Jeżeli cięcie miało miejsce od strony 5' błędnego sparowania, nić DNA jest degradowana przez egzonukleazę VII lub RecJ. Powstała przerwa wypełniana jest przez polimerazę DNA III i ligazę DNA

Odległość pomiędzy miejscem GATC a obszarem, gdzie występują błędy w parowaniu zasad, może wynosić nawet 1000 pz. Tak więc system naprawy źle sparowanych zasad jest kosztowny i niezbyt sprawny. System działa podobnie u organizmów eukariotycznych. Białka homologiczne do MutS i MutL znaleziono u drożdży, ssaków i innych organizmów. Są to MSH1 do MSH5 (homologiczne do MutS) oraz MLH1, PMS1 i PMS2 (homologiczne do MutL). Mutacje w genach MSH2, PMS1 i PMS2 związane są ze zwiększonym ryzykiem raka odbytnicy.

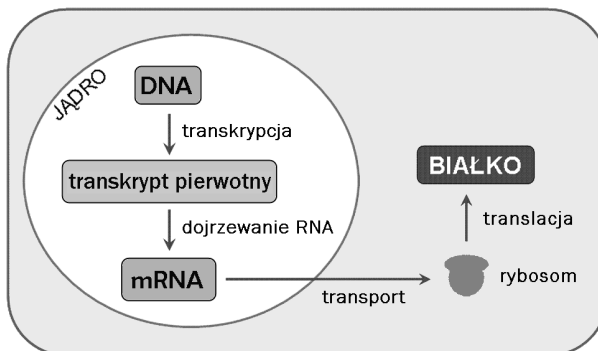
## Transkrypcja i procesy posttranskrypcyjne

### 5.1 Pojęcie ekspresji genów

W organizmach wielokomórkowych wszystkie komórki somatyczne mają ten sam zestaw DNA, różne typy komórek różnią się jednak kształtem i pełnią funkcję. Geny nie mają żadnego wpływu na funkcjonowanie komórki tak długo, dopóki nie ulegają ekspresji. Różny zestaw genów ulega ekspresji w różnych typach komórek, co warunkuje ich odmienność.

Określenie „**ekspresja genu**” oznacza, że z danego genu produkowane jest białko lub funkcjonalne RNA. Proces obejmuje kilka etapów (rys. 5.1):

- transkrypcja: na **nici matrycowej** DNA syntetyzowane jest komplementarne RNA nazywane **transkryptem pierwotnym**;
- obróbka RNA: modyfikacje transkryptu pierwotnego prowadzące do powstania dojrzałego mRNA (z genów kodujących białka), bądź funkcjonal-



**Rysunek 5.1.** Kolejne etapy ekspresji genów kodujących białka w komórkach eukariotycznych, gdzie transkrypcja i translacja są oddzielone w czasie i przestrzeni. U prokariota translacja może rozpocząć się przed zakończeniem transkrypcji genu

nych tRNA, rRNA lub ncRNA. W przypadku genów kodujących RNA ich ekspresja kończy się gdy funkcjonalne cząsteczki RNA docierają do swoich miejsc docelowych;

Ekspresja genów kodujących białka obejmuje dodatkowe dwa etapy:

- transport do cytoplazmy;
- synteza białka: w cytoplazmie mRNA wiąże się z rybosomami, gdzie zachodzi synteza białka na podstawie sekwencji mRNA.

Zgodnie z opisanym powyżej procesem przepływ informacji genetycznej zachodzi w następującym kierunku: DNA → RNA → białko. Reguła ta została nazwana „**centralnym dogmatem**”, ponieważ sądzono, że ta sama zasada będzie obowiązywać we wszystkich organizmach. Reguła nie ma jednak zastosowania w przypadku wirusów RNA, gdzie przepływ informacji genetycznej zaczyna się od RNA.

## 5.2 Transkrypcja genów i polimerazy RNA

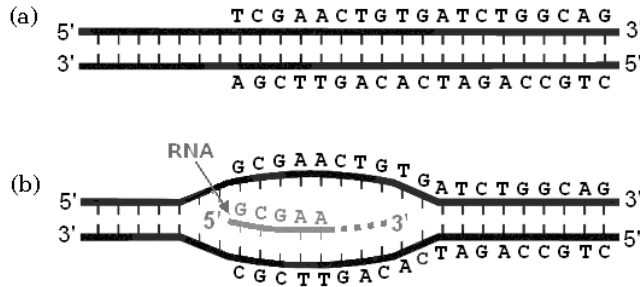
Transkrypcja jest procesem, w którym jedna nić DNA służy jako matryca do syntezy komplementarnego RNA. Przykładowo:

5' – GATGCAGTGAGCTCAGGATCTA – 3' nić kodująca w DNA (+)  
 3' – CTACGTCACCTCGAGTCCTAGAT – 5' nić matrycowa w DNA (-)  
 5' – GAUGCAGUGAGCUCAGGAUCUA – 3' RNA (+)

Nić kodująca w DNA jest również nazywana nicią plus, nicią niematrycową lub nicią sensową. Nić matrycowa, to inaczej nić minus lub nić antysensowa. Ponieważ zarówno nić kodująca DNA jak i RNA są komplementarne do nici matrycowej DNA, mają one jednakową sekwencję nukleotydową, oprócz tego, że w RNA zamiast tyminy (T) występuje uracyl (U). Nić kwasu nukleinowego zawsze jest syntetyzowana w kierunku od 5' do 3', a matryca jest odczytywana w kierunku od 3' do 5' (rys. 5.2). Reakcję katalizują enzymy nazywane **polimerazami**: RNA jest syntetyzowane przez polimerazę RNA, a DNA przez polimerazę DNA.

W pierwszym etapie transkrypcji polimeraza RNA wiąże się z DNA w miejscu inicjacji transkrypcji. Sekwencja DNA, która określa miejsce startu transkrypcji, nazywana jest **promotorem podstawowym**. Prokariotyczne polimerazy rozpoznają promotor i wiążą się do niego bezpośrednio, natomiast eukariotyczne - zależne są od innych białek nazywanych **czynnikami transkrypcyjnymi**.

Podstawowym etapem transkrypcji jest rozplecenie fragmentu DNA. Enzym, który rozplata podwójną helisę, nazywany jest **helikazą**. Prokariotyczne polimerazy mają równocześnie aktywność helikazy, eukariotyczne - nie. DNA jest u Eukariota rozwijane przez swoisty czynnik transkrypcyjny.



**Rysunek 5.2.** Schemat ilustrujący proces transkrypcji: (a) DNA przed transkrypcją; (b) w czasie transkrypcji fragment DNA ulega rozpleceniu, dzięki czemu jedna z nici może być wykorzystana jako matryca do syntezy komplementarnego RNA (powstaje tzw. bąbel transkrypcyjny)

Polimerazy RNA wykorzystują trifosfonukleozydy (NTP) do budowy łańcucha RNA (elongacji). Synteza RNA w oparciu o sekwencję DNA w nici matrycowej rozpoczyna się od pppG lub pppA (p - grupa fosforanowa). W przeciwieństwie do syntezy DNA nie jest tu konieczny żaden starter. Polimeraza RNA przesuwana się wzdłuż matrycy i pozostaje z nią związana tak długo, aż natknie się na sygnał terminacji transkrypcji. Organizmy prokariotyczne oraz eukariotyczne mają odmienne sygnały terminacji transkrypcji. (*Uwaga:* sygnał „stop” występujący w kodzie genetycznym jest sygnałem do zakończenia syntezy białka, a nie transkrypcji.)

Transkrypcja u organizmów eukariotycznych jest znacznie bardziej skomplikowana niż u prokariotycznych, częściowo dlatego, że eukariotyczne DNA jest zasocjowane z histonami, które mogą blokować dostęp polimerazy do promotora.

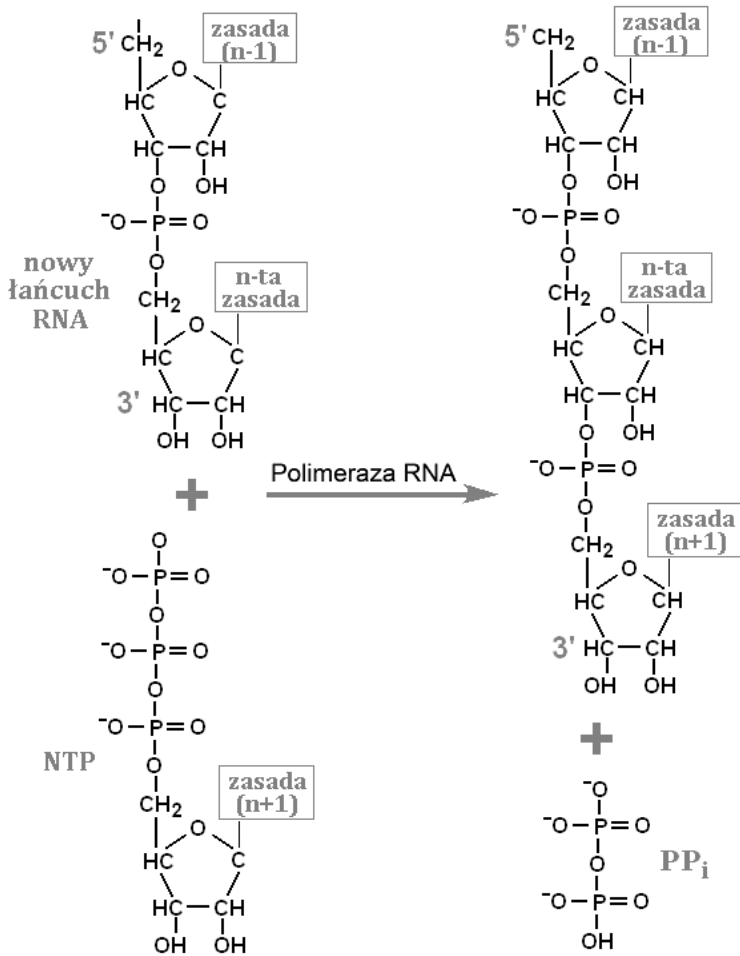
### 5.2.1 Polimerazy RNA

Zarówno polimerazy RNA jak też i DNA dodają nukleotydy do istniejącej nici kwasu nukleinowego, co prowadzi do jej wydłużenia. **Polimerazy RNA mogą jednak rozpocząć syntezę nowej nici bez żadnego startera, a polimerazy DNA wymagają obecności startera do rozpoczęcia replikacji.** Starterem takim jest oligonukleotyd (ang. *primer*) syntetyzowany przez inny enzym.

W reakcji chemicznej katalizowanej przez polimerazy RNA (por. rys. 5.3), w trakcie przyłączania nukleotydu do łańcucha RNA zwalniane są dwie grupy fosforanowe w formie pirofosforanu (PPi). **Niść kwasu nukleinowego zawsze jest syntetyzowana w kierunku od 5' do 3'.**

Prokariotyczna polimeraza RNA, np. bakteryjna z *E. coli* jest dużym (około 500 kDa) kompleksowym enzymem, składającym się z pięciu podjednostek: dwóch  $\alpha$ , jednej  $\beta$  i jednej  $\beta'$  oraz  $\sigma$ . Podjednostki  $\beta$  (151 kD) i  $\beta'$  (156 kD)





Rysunek 5.3. Reakcja chemiczna katalizowana przez polimerazy RNA

są dużo większe od podjednostki  $\alpha$  (37 kD). Podjednostka  $\sigma$  (nazywana również czynnikiem  $\sigma$ ) występuje w kilku formach o masie od 28 kD do 70 kD. Odgrywa ważną rolę w rozpoznawaniu miejsca inicjacji transkrypcji oraz wykazuje aktywność helikazy. Synteza nowego łańcucha RNA zachodzi za pośrednictwem pozostałych czterech podjednostek ( $\alpha_2\beta\beta'$ ), które nazywane są **rdzeniem polimerazy**. Cały, w pełni funkcjonalny enzym zbudowany z kilku podjednostek to **holoenzym**. W przypadku polimerazy RNA holoenzym tworzy rdzeń wraz z podjednostką  $\sigma$ .

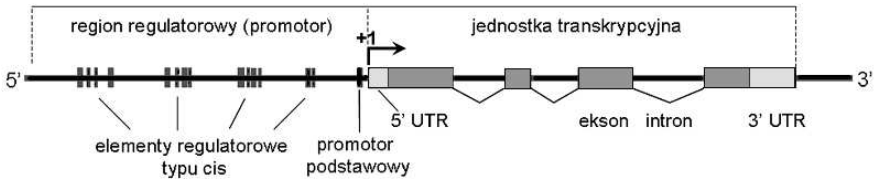
U Eukariota występują trzy klasy polimeraz RNA: I, II i III. Każda z nich składa się z dwóch dużych i 12-15 mniejszych podjednostek. Duże podjednostki są homologami prokariotycznych podjednostek  $\beta$  oraz  $\beta'$ , a dwie mniejsze

są podobne do podjednostki  $\alpha$  z *E. coli*. Eukariotyczne polimerazy nie posiadają jednak podjednostki odpowiadającej czynnikowi  $\sigma$  u *E. coli*. W inicjacji transkrypcji u Eukariota biorą więc udział inne białka.

Najważniejsza wśród eukariotycznych polimeraz RNA jest polimeraza II, która jest zaangażowana w transkrypcję genów kodujących: białka, snRNA oraz miRNA. Pozostałe dwie polimerazy prowadzą syntezę jedynie z genów kodujących RNA. Polimeraza RNA I zlokalizowana jest w jąderku i syntetyzuje rRNA (za wyjątkiem 5S rRNA). Polimeraza RNA III zlokalizowana jest poza jąderkiem i syntetyzuje 5S rRNA, tRNA U6 snRNA i niektóre małe RNA.

### 5.3 Elementy regulatorowe w DNA

Gen w najprostszej ujęciu to jednostka transkrypcyjna wraz z regionem regulatorowym (rys. 5.4). Jednostka transkrypcyjna to sekwencja DNA ulegająca transkrypcji, czyli sekwencja, która służy jako matryca dla komplementarnego transkryptu pierwotnego. W regionie regulatorowym można wyróżnić **elementy regulatorowe typu cis**. Są to swoiste DNA, do których mogą wiązać się **czynniki transkrypcyjne**, czyli białka, które po związaniu z DNA wpływają na transkrypcję (wzmacniają ją lub hamują). Sekwencje DNA, które kodują czynniki transkrypcyjne nazywane są **elementami regulatorowymi typu trans**.



**Rysunek 5.4.** Struktura typowego genu kodującego białko u Eukariota. Ciemne prostokąty w obrębie jednostki transkrypcyjnej - sekwencja kodująca białko (ang. *coding sequence*); jasne prostokąty - regiony nie ulegające translacji (UTR - ang. *untranslated region*) obecne w końcach 5' i 3' dojrzałego transkryptu. Opisuąc gen operuje się pojęciami: poniżej (ang. *downstream*) miejsca inicjacji transkrypcji (oznaczonego strzałką skierowaną w prawo: +1) i powyżej (ang. *upstream*) - numerując kolejne nukleotydy od -1 (brak pozycji 0)

Z regionem regulatorowym związane są również pojęcia promotora podstawowego, sekwencji wzmacniającej (ang. *enhancer*) i sekwencji wyciszającej (ang. *silencer*). Promotor podstawowy tworzą sekwencje DNA określające miejsce startu transkrypcji (Inr - ang. *initiator*). Sekwencja wzmacniająca jest sekwencją, która po związaniu czynnika transkrypcyjnego (w tym przypadku: aktywatora) zwiększa aktywność promotora. Sekwencja wyciszająca po związaniu czynnika transkrypcyjnego (represora) hamuje transkrypcję. Zdarza się,

że ta sama sekwencja może wzmacniać lub hamować transkrypcję w zależności od tego jakie białko jest z nią związane. Np. element **E box** (konsensus CACGTG) obecny w niektórych genach po związaniu dimeru Max/Myc aktywuje transkrypcję, a po związaniu Max/Mad - hamuje.

U Eukariota najbardziej powszechnym elementem promotora genów kodujących białka jest **TATA box**, występujący w odległości 20-35 pz powyżej miejsca inicjacji transkrypcji (czyli w pozycji -35 do -20). TATA box to nic innego jak sekwencja TATAAA. W obrębie około 200 pz powyżej miejsca inicjacji transkrypcji powszechnie występują elementy regulatorowe typu **CAAT box**, czy **GC box** (Tabela 5.1).

**Tabela 5.1.** Sekwencje pospolicie występujące w promotorach genów eukariotycznych i wiążące się z nimi czynniki transkrypcyjne

Nazwa sekwencji	Pozycja	Czynnik transkrypcyjny	Sekwencja
TATA box	-35 do -20	TBP	TATAAA
CAAT box	-200 do -70	CBF, NF1, C/EBP	CCAAT
GC box	-200 do -70	SP1	GGGCGG

TBP - ang. *TATA-box binding protein*; CBF - ang. *CAAT binding protein*;  
C/EBP - ang. *CAAT/enhancer binding protein*

Do rozpoczęcia transkrypcji wymagana jest obecność generalnych czynników transkrypcyjnych, oraz, w większości przypadków, regulatorowych czynników transkrypcyjnych. Przykładowe aktywatory transkrypcji jak również sekwencje przez nie rozpoznawane podano w Tabeli 5.2.

**Tabela 5.2.** Aktywatory transkrypcji u ssaków i sekwencje przez nie rozpoznawane

Aktywator transkrypcji	Rozpoznawana sekwencja	Aktywator transkrypcji	Rozpoznawana sekwencja
AP-1	TGAGTCA	p53	PuGPuCATGPyCPy
AP-2	CCC(A/C)N(C/G) <sub>3</sub>	NF- $\kappa$ B	GGGPuNTPyPyCC
Oct-1	ATGCAAAT	NFAT	GGAGAP <sub>u</sub>
GATA-1	(A/T)GATAP <sub>u</sub>	NF-E2	TGACTCAG

Pu = Puryna (A lub G); Py = Pirymidyna (C lub T); N = dowolna zasada

### 5.3.1 Sekwencje wiążące swoiste czynniki transkrypcyjne

Krótkie sekwencje DNA rozpoznawane przez pewne czynniki transkrypcyjne nazwano elementami odpowiedzi (ang. *response elements*). Większość z nich zlokalizowana jest w obrębie 1 tysiąca pz powyżej miejsca startu transkrypcji. W Tabeli 5.3 podano niektóre z eukariotycznych elementów odpowiedzi.

CRE, czyli element odpowiedzi na cAMP (ang. *cAMP response element*) oddziałuje z białkiem CREB (ang. *CRE-binding protein*), które jest regulowane przez cAMP (rozdz. 8.5.1).

ERE, inaczej mówiąc element odpowiedzi na estrogen (ang. *estrogen response element*) oraz GRE (ang. *glucocorticoid response element*) rozpoznawane są odpowiednio przez receptory estrogenów lub glikokortykoidów, należących do hormonów sterydowych. Hormony nie są czynnikami transkrypcyjnymi, ale mogą wpływać na ekspresję genów poprzez swoje receptory będące czynnikami transkrypcyjnymi (rozdz. 8.1).

W odpowiedzi na stres komórkowy (np. podniesioną temperaturę) aktywowany jest czynnik transkrypcyjny stresu termicznego HSF (ang. *heat shock factor*). Wiąże się z sekwencjami HSE (ang. *heat shock element*) i stymuluje ekspresję białek stresu komórkowego Hsp, co umożliwi komórce przeżycie niekorzystnych warunków.

Do elementu odpowiedzi na surowicę SRE (ang. *serum response element*) wiąże się czynnik odpowiedzi na surowicę SRF (ang. *serum response factor*), aktywowany przez czynniki wzrostu obecne w surowicy. Elementy SRE obecne są na ogół w promotorach genów zaangażowanych w progresję cyklu komórkowego.

**Tabela 5.3.** Eukariotyczne elementy odpowiedzi i wiążące się z nimi czynniki transkrypcyjne

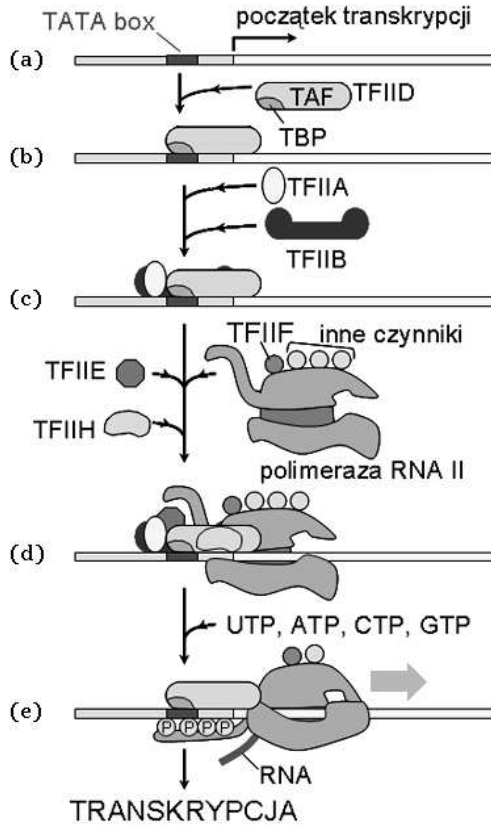
Nazwa sekwencji	Czynnik transkrypcyjny	Rozpoznawana sekwencja
CRE	Białko wiążące element odpowiedzi na cAMP (CREB)	TGACGTCA
ERE	Receptor estrogenów (ER)	AGGTCANNNTGACCT
GRE	Receptor glikokortykoidów (GR)	AGAACANNNTGTTCT
HSE	Czynnik szoku termicznego (HSF)	GAANN TTCNNGAA
SRE	Czynnik odpowiedzi na surowicę (SRF)	CC(A/T) <sub>6</sub> GG

(A/T)<sub>6</sub> = sześć A lub T; N = dowolna zasada

## 5.4 Mechanizm transkrypcji genów kodujących białka u Eukariota

Eukariotyczna polimeraza RNA II nie posiada podjednostki podobnej do prokariotycznego czynnika  $\sigma$ , który rozpoznaje promotor i rozkręca podwójną helisę DNA. Funkcje te pełnione są u Eukariota przez białka nazwane **generalnymi czynnikami transkrypcyjnymi** (GTF; ang. *general transcription factors*). Polimeraza RNA II może oddziaływać z sześcioma takimi czynnikami, oznaczonymi TFIIA, TFIIB, TFIID, TFII E, TFIIF i TFIIF (TF - *transcription factor*, II - dla polimerazy RNA II). Większość z nich ma złożoną budowę: składają się z wielu podjednostek. Dokładna kolejność przyłączania generalnych czynników transkrypcyjnych do promotora nie jest znana, tym bardziej, że może być różna dla różnych promotorów. W niektórych przypadkach kompleks preinicjacyjny zawierający generalne czynniki transkrypcyjne oraz polimerazę montowany jest niezależnie od DNA i dopiero w całości wiąże się do

DNA. Na ogół jednak proces montowania kompleksu na DNA zachodzi w kilku etapach (rys. 5.5).



**Rysunek 5.5.** Inicjacja transkrypcji w komórkach eukariotycznych: (a) w większości promotorów obecna jest sekwencja TATA box zlokalizowana około 25 pz powyżej miejsca inicjacji transkrypcji; (b) w miejscu TATA box wiąże się TFIID; (c) przyłączenie TFIIA stabilizuje kompleks. TFIIB wiąże się do DNA pomiędzy TFIID a przyszłą lokalizacją polimerazy RNA II; (d) pozostałe generalne czynniki transkrypcyjne oraz polimeraza RNA II wiążą się z promotorem; (e) TFIIH z wykorzystaniem energii z ATP rozwija DNA w miejscu inicjacji transkrypcji, co umożliwia rozpoczęcie syntezy RNA. TFIIH również fosforyluje polimerazę, co prowadzi do oddysocjowania generalnych czynników transkrypcyjnych i rozpoczęcia elongacji

Pierwszym etapem inicjacji transkrypcji jest odnalezienie promotora podstawowego przez czynnik **TFIID** i asocjacja z sekwencją TATA box. TFIID składa się z dwóch podjednostek: **TBP** (ang. *TATA-box binding protein*) oraz **TAF** (ang. *TBP associated factor*). TAF wspomaga TBP w wiązaniu do DNA. Niektóre promotory nie posiadają sekwencji TATA. Wówczas TAF wiąże się

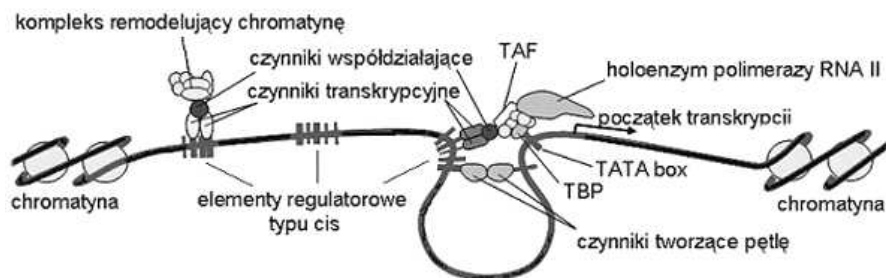
pierwszy do DNA i wymusza wiązanie TBP. W ludzkich komórkach TAF jest zbudowany z 12 podjednostek. Jedna z nich może przyłączać grupy acetylowe do histonów, co prowadzi do rozluźnienia oddziaływań pomiędzy histonami i DNA w obrębie nukleosomu (nukleosom może być przesunięty).

Po zmontowaniu kompleksu preinicjacyjnego czynnik TFIIF rozwija DNA zaczynając od pozycji ok. -10. Polimeraza RNA II rozpoczyna syntezę, wykorzystując trifosforany nukleozydów (NTP). W czasie elongacji łańcucha RNA TFIIF pozostaje związany z polimerazą, a pozostałe czynniki transkrypcyjne oddysocjują. Polimeraza w czasie elongacji musi być ufosforylowana.

Elongacja łańcucha RNA przebiega tak długo, dopóki polimeraza nie napotka sygnału „stop” dla transkrypcji. Tylko niektóre eukariotyczne RNA kończą się w sposób podobny do terminacji transkrypcji u Prokariota, czyli poprzez utworzenie struktury spinki do włosów (zawierającej ramię oraz pętlę), a za nią reszty U. Większość eukariotycznych mRNA ma ogon zbudowany z reszt A [poli(A)] na końcu 3'. Taki ogon nie jest kodowany przez DNA. Eukariotyczne geny kodujące białka zawierają **sygnał poliadenylacji**, ale transkrypcja często kończy się 500 - 2000 pz poniżej tego sygnału, a mechanizm terminacji nie jest dokładnie znany.

## 5.5 Rola czynników transkrypcyjnych i struktury chromatyny w regulacji transkrypcji

Zmontowanie kompleksu preinicjacyjnego z generalnych czynników transkrypcyjnych i polimerazy RNA II na ogół nie wystarcza do uruchomienia transkrypcji. Z białkami zgromadzonymi wokół miejsca inicjacji transkrypcji oddziałują czynniki transkrypcyjne (aktywatory) wiążące się z elementami regulacyjnymi typu cis, niejednokrotnie położonymi w dużej odległości od promotora podstawowego (rys. 5.6). W ostatnich latach wykazano, że w regulacji ekspresji wielu genów biorą również udział cząsteczki RNA.



**Rysunek 5.6.** Współdziałanie czynników transkrypcyjnych oraz zmiany struktury chromatyny przy aktywacji transkrypcji

W regulacji ekspresji biorą również udział czynniki tworzące pętlę DNA oraz inne czynniki współdziałające (koaktywatory), np. acetylotransferazy histonów (**HAT**, ang. *histone acetyltransferases*), których zadaniem jest remodelowanie struktury chromatyny. Ich obecność jest na ogół niezbędna do wzmacniania transkrypcji przez aktywatory. Acetylacja reszt lizynowych w histonach katalizowana przez HAT osłabia oddziaływania pomiędzy DNA a histonami, umożliwiając wiązanie czynników transkrypcyjnych, co prowadzi do wzmocnienia transkrypcji. Natomiast wiązanie represorów do sekwencji wyciszających transkrypcję na ogół związane jest z działaniem deacetylaz histonów (oznaczanych skrótem **HD** lub HDAC), co związane jest ze ściślejszym upakowaniem DNA. Jedną z ważniejszych acetylotransferaz jest białko **CBP** (ang. *CREB Binding Protein*) oraz silnie z nim spokrewnione białko **p300**. Oba białka tworzą rodzinę koaktywatorów transkrypcji oznaczaną CPB/p300.

Dodatkowym mechanizmem regulującym ekspresję genów jest metylacja DNA, czyli dołączanie grup metylowych (-CH<sub>3</sub>) do cytozyn w łańcuchu DNA. Sposób metylacji DNA w genomie jest odtwarzany po podziale komórkowym (rozdz. 4.5.4). Badaniem takich dziedzicznych zmian w chromatynie związanych z ekspresją genów, które nie są związane ze zmianami w sekwencji DNA, zajmuje się **epigenetyka**. Do elementów epigenetycznej regulacji ekspresji genów, oprócz metylacji DNA i modyfikacji (fosforylacji, metylacji, acetylacji) histonów rdzeniowych należy również zjawisko interferencji RNA (RNAi) (rozdz. 3.3.4), oraz tworzenie zakładek genowych, m.in. oddziaływania białek z grupy Polycomb i Tritorax z DNA w obrębie tzw. modułów pamięci komórkowej (ang. *cellular memory modules*).

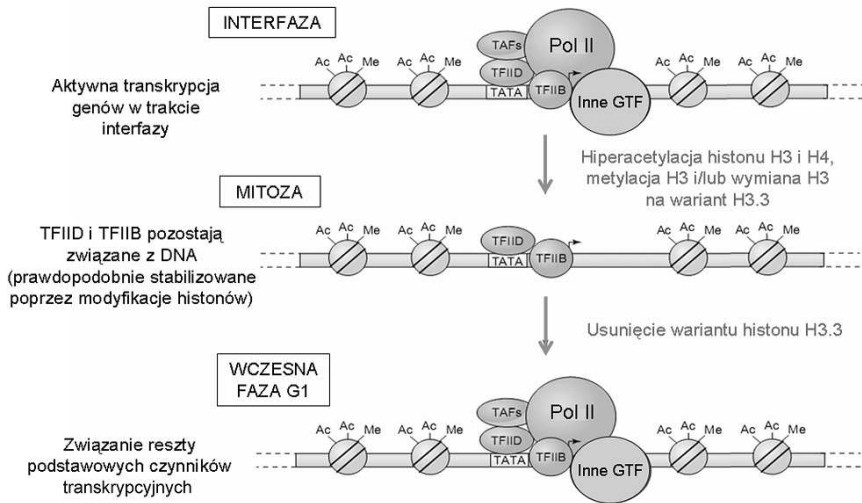
### 5.5.1 Elementy graniczne (izolatory)

Sekwencje DNA stanowiące barierę chroniącą gen przed wpływem otaczającej chromatyny nazywane są izolatorami (ang. *insulator*). Występują naturalnie w genomach, a w laboratoriach wykorzystuje się je przy konstruowaniu sztucznych genów, które są wprowadzane do komórek. Najbardziej znany jest izolator z końca 5' kurzej ( $\beta$ -globiny, który stanowi granicę między chromatyną „otwartą” i „skondensowaną”. Izolatory pomagają zachować niezależne funkcjonowanie genów znajdujących się w otoczeniu sekwencji regulatorowych, które powinny być ignorowane.

### 5.5.2 Mechanizm tworzenia zakładek genowych

Zakładki genowe (ang. *gene bookmarking*) to mechanizm pamięci epigenetycznej mający na celu przekazanie do potomnych komórek informacji, które geny mają być aktywne, lub które mogą być aktywowane. Służy to utrzymaniu fenotypu (czyli zespołu charakterystycznych cech) linii komórkowej. Do promotorów genów, które tuż przed podziałem komórki (mitozą) są aktywne transkrypcyjnie, wiążą się białka lub promotory są zaznaczone w jakiś inny sposób. Zapobiega to całkowitemu „upakowaniu” DNA w tym *locus* na czas

mitozy. Dzięki temu we wczesnej fazie G1 ułatwione jest wiązanie kompleksu białek uruchamiającego transkrypcję i komórki zachowują niezmienny profil ekspresji genów. Do utworzenia zakładek genowych najczęściej wykorzystywane są czynniki transkrypcyjne tworzące podstawowy kompleks preinicjacyjny: TFIID i TFIIB. Służą one do „zaznaczania” całej puli aktywnych genów. Równocześnie modyfikowane są histony rdzeniowe (rys. 5.7). Zakładki bardziej swoiste powstają z białek z grupy Polycomb (PcG) i Trithorax (TrxG), które regulują ekspresję istotnych dla rozwoju organizmu genów homeotycznych. Również czynnik transkrypcyjny Hsf2 pozostaje związany na czas podziału komórkowego z promotorem genów *Hsp70*, co utrzymuje je w stanie gotowości do rozpoczęcia transkrypcji natychmiast po zakończeniu podziału, jeżeli zajdzie taka potrzeba.



**Rysunek 5.7.** Model tworzenia zakładek genowych na całej puli aktywnie transkrypcyjnie genów. W czasie mitozy główne czynniki transkrypcyjne TFIID i TFIIB pozostają związane z promotorami genów, które były aktywne przed rozpoczęciem mitozy, przez co struktura chromatyony pozostaje nieco rozluźniona. Równocześnie modyfikowane są histony rdzeniowe. Umożliwia to rozpoczęcie transkrypcji z tych genów po zakończeniu podziału, co podtrzymuje fenotyp komórki. Podstawa: Sarge K. D. i Park-Sarge O.K. (2005) Gene bookmarking: keeping the pages open. Trends Biochem. Sci. 30, 605-610

## 5.6 Motywy strukturalne w czynnikach transkrypcyjnych

Czynnik transkrypcyjny musi mieć możliwość oddziaływania z DNA. W domenie wiążącej DNA (DBD - ang. *DNA binding domain*) może występować jeden lub kilka strukturalnych motywów białkowych umożliwiających wiązanie do DNA: struktura palca cynkowego (ang. *zinc finger*), helisa-zwrot-helisa



(ang. *helix-turn-helix*), zamek leucynowy (ang. *leucine zipper*) lub helisa-pętla-helisa (ang. *helix-loop-helix*).

**Struktura palca cynkowego** jest wydłużoną podjednostką białkową składającą się z 30 aa. Utrzymuje swoją strukturę dzięki koordynacyjnemu wiązaniu jonu cynku przez dwie cysteiny i dwie histydyny łańcuchów bocznych. Tandemowo ułożone palce cynkowe rozpoznają dłuższe sekwencje DNA. Jednym z pierwszych białek, w których stwierdzono obecność tego motywu był czynnik transkrypcyjny TFIIIA. Do czynników transkrypcyjnych posiadających palec cynkowy należą również: SP1 (wiążący się do DNA w rejonach bogatych w pary GC), receptor estrogenów (wiążący się do sekwencji ERE - ang. *estrogen response element*) i inne receptory hormonów steroidowych. Nazwa wielu białek z motywem palca cynkowego rozpoczyna się od „Zfp” (ang. *zinc finger protein*).

**Helisa-zwrot-helisa** to struktura zawierająca dwie helisy  $\alpha$  i krótki rozciągnięty łańcuch aminokwasowy pomiędzy nimi. Helisa bliższa końcowi C białka wiąże się z dużym rowkiem w DNA. Motyw występuje w tysiącach białek wiążących się do DNA. Specjalną odmianą motywu jest homeodomena, która jest kodowana przez geny homeotyczne, odgrywające kluczową rolę w rozwoju.

**Zamek (suwak) leucynowy** wiąże się z DNA jako dimer (homodimer lub heterodimer), podobnie zresztą jak wiele innych czynników transkrypcyjnych. Zbudowany jest z dwóch skreconych ze sobą łańcuchów o strukturze helisy  $\alpha$  utrzymywanych razem dzięki oddziaływaniom hydrofobowym pomiędzy resztami lizyn. Dzięki temu, że lizyny umiejscowione są w co siódmej reszcie aminokwasowej, wszystkie znajdują się wewnątrz helisy. Struktura zamka leucynowego przypomina literę Y. Lizyny występują w części zwiniętej (od końca karboksylowego), natomiast „ramiona” (od końca aminowego) utworzone są z aminokwasów zasadowych, co umożliwia wiązanie z DNA. Ramiona mogą się zagiąć, przez co zdolne są do wpasowania się w duży rowek DNA. Strukturę zamka leucynowego mają np. AP-1 (ang. *activator protein 1*), Gcn4 czy CREB.

U wyższych Eukariota białka suwaka leucynowego pośredniczą w oddziaływaniu cyklicznego AMP (cAMP) na transkrypcję (rozdz. 8.5.1). Geny będące pod kontrolą cAMP mają element odpowiedzi na cAMP (CRE - ang. *cAMP response element*) - czyli palindromową sekwencję DNA o długości 8 pz (rozdz. 5.3.1). Z sekwencją tą wiąże się białko nazwane białkiem wiążącym element odpowiedzi na cAMP (CREB - ang. *cAMP response element binding protein*). Dimeryzacja CREB i utworzenie zamka leucynowego łączy w parę dwa zasadowe elementy wiążące DNA, ustawiając je tak, żeby wiązały się z palindromową sekwencją CRE.

**Helisa-pętla-helisa** charakteryzuje się dwoma helisami  $\alpha$  połączonymi pętlą. Strukturalnie motyw jest zupełnie odmienny od motywu helisa-skręt-helisa, przypomina raczej zamek leucynowy. Czynniki transkrypcyjne zawierające domenę helisa-pętla-helisa działają zwykle jako heterodimery. Przykładowy

czynnik transkrypcyjny z taką strukturą to MyoD (ang. *myoblast determination protein*).

## 5.7 Transkrypcja genów kodujących RNA

Produkty genów kodujących RNA to rRNA, tRNA oraz małe cząsteczki RNA. U ssaków trzy geny rRNA (28S, 18S i 5,8S) są zgrupowane razem jako gen pre-rRNA. Jest on transkrybowany przez polimerazę RNA I. tRNA, 5S rRNA i U6 snRNA transkrybowane są przez polimerazę RNA III. Natomiast większość genów snRNA jest transkrybowana przez polimerazę RNA II (podobnie jak geny kodujące białka).

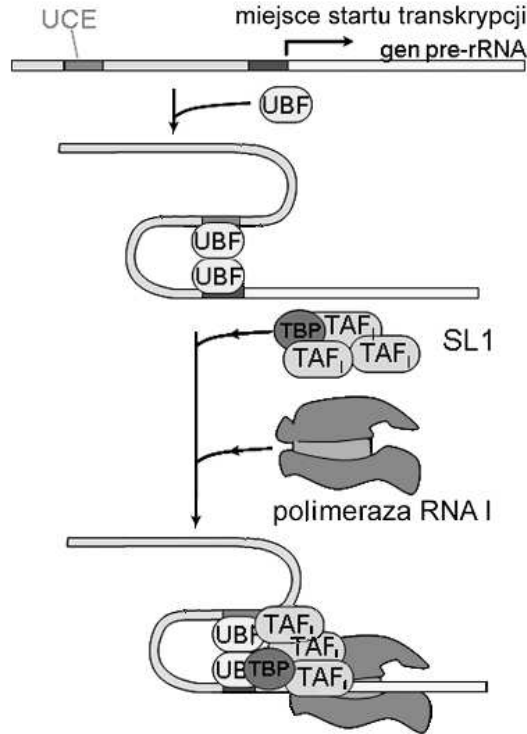
Podczas syntezy pre-rRNA tworzony jest kompleks preinicjacyjny, w którym dwa białka UBF (ang. *upstream binding factor*) łączą się z DNA, tworząc pętlę pomiędzy sekwencją bezpośrednio poprzedzającą miejsce startu transkrypcji (ang. *core element*) i elementem UCE (ang. *upstream control element*). Następnie w kompleks wchodzi: TBP (ang. *TATA-binding protein*) i TAF<sub>I</sub> (ang. *TBP-associated factor*) oraz polimeraza RNA I, co umożliwia rozpoczęcie transkrypcji (rys. 5.8).

Geny kodujące tRNA mają dwa elementy regulatorowe (box A i box B) zlokalizowane wewnątrz jednostki transkrypcyjnej. Montowanie kompleksu preinicjacyjnego rozpoczyna się od związania TFIIC do tych elementów. Transkrypcja genu kodującego 5S rRNA również zależna jest od elementu regulatorowego zlokalizowanego wewnątrz jednostki transkrypcyjnej (box C). Wiąże się do niego TFIIIA, a następnie TFIIC. Dalej przyłączanie kolejnych białek koniecznych do rozpoczęcia syntezy tRNA i 5S rRNA przebiega podobnie: wiązany jest TBP, BRF, B'' i polimeraza RNA III (rys. 5.9). Białko TBP (ang. *TATA-binding protein*) konieczne jest do utworzenia kompleksu preinicjacyjnego dla każdej z trzech polimeraz RNA.

## 5.8 Dojrzewanie RNA

Obróbka posttranskrypcyjna RNA dąży do uzyskania dojrzałego mRNA lub funkcjonalnego tRNA i rRNA z transkryptu pierwotnego. U organizmów prokariotycznych cząsteczki mRNA są modyfikowane w niewielkim stopniu lub wcale. Wiele z nich ulega translacji jeszcze przed zakończeniem transkrypcji. U eukariontów pre-mRNA musi zostać poddany obróbce posttranskrypcyjnej, by można go było wykorzystać do translacji. W przeciwnym przypadku mRNA po wydostaniu się z jądra zostałyby zniszczone w cytozolu przez białka, których zadaniem jest niszczenie kwasów nukleinowych. Jest to metoda obrony przed wtargnięciem do komórki obcego kwasu nukleinowego, np. wirusa.

Obróbka pre-mRNA jest wielostopniowa i obejmuje następujące procesy (rys. 5.10):



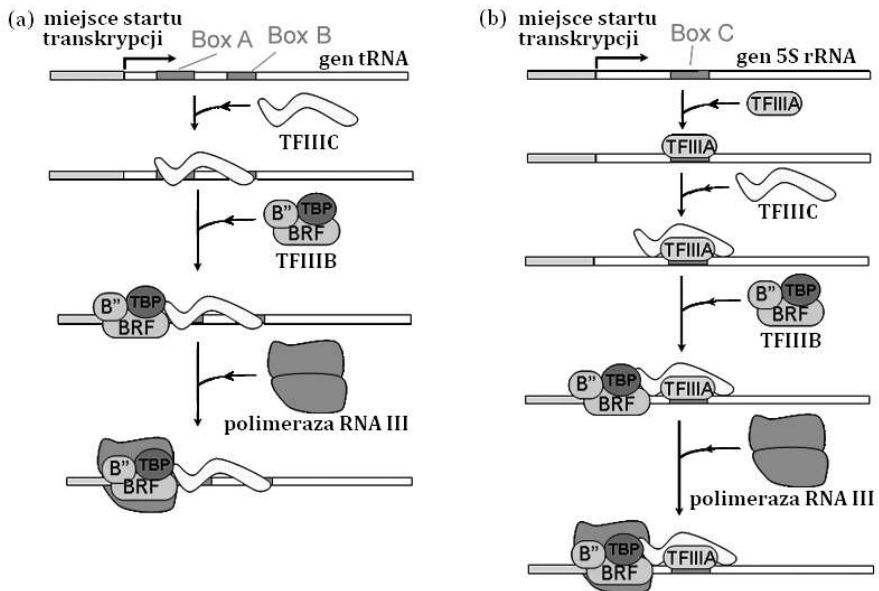
**Rysunek 5.8.** Montowanie kompleksu preinicjacyjnego dla polimerazy RNA I

- dołączenia czapeczki guanylowej (ang. *capping*), czyli 7-metyloguanozyny (m<sup>7</sup>G) do końca 5’;
- poliadenylacji, czyli dołączenia ogona poli(A) do końca 3’;
- składania (ang. *splicing*), czyli usunięcia intronów i połączenia eksonów.

W niektórych przypadkach zachodzi również redagowanie (ang. *editing*) RNA.

### 5.8.1 Dołączenie czapeczki

Dołączenie struktury nazywanej czapeczką zachodzi wkrótce po rozpoczęciu transkrypcji. Jedna reszta fosforanowa z końca 5’ transkryptu jest uwalniana przez hydrolizę i w jej miejsce włączane jest GTP (guanozynotrifosforan): tworzone jest niezwykle wiązanie 5’-5’-trifosforanowe. Następnie zaś azot w pozycji 7 (N-7) guaniny jest metylowany. U większości organizmów metylowany jest również pierwszy (a często także drugi) nukleotyd w pozycji 2’-hydroksylowej rybozy (rys. 5.11). Czapeczka wpływa na stabilność mRNA, chroniąc koniec 5’ przed fosfatazami i nukleazami. Jest również ważnym elementem w transporcie mRNA do cytoplazmy: gromadzą się wokół niej białka kompleksu eksportują-



**Rysunek 5.9.** Montowanie kompleksu preinicjacyjnego dla polimerazy RNA III: (a) transkrypcja genu tRNA; (b) transkrypcja genu 5S rRNA

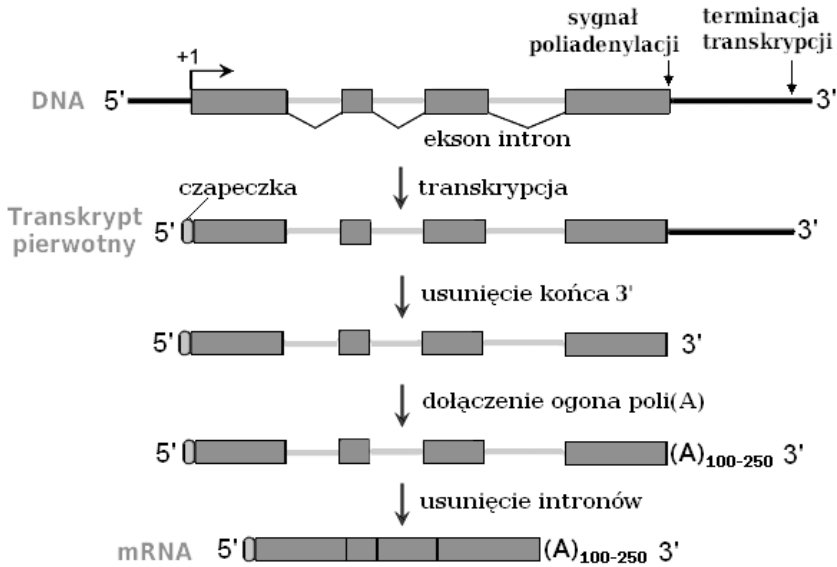
cego TREX (ang. *transcription export protein complex*) przeprowadzającego transkrypt przez pory jądrowe i doprowadzającego do rybosomów.

### 5.8.2 Poliadenylacja

Do końca 3' transkryptu dodawane są reszty adenylanowe. W pierwszym etapie poliadenylacji transkrypt pierwotny rozcinany jest przez specyficzną endonukleazę rozpoznającą sekwencję AAUAAA będącą sygnałem poliadenylacji. Cięcie zachodzi około 10-35 nukleotydów poniżej. Dodatkowym wyznacznikiem miejsca cięcia jest sekwencja bogata w GU (lub U) zlokalizowana około 50 nt poniżej. Po rozcięciu cząsteczki RNA polimeraza poli(A) dodaje ok. 250 reszt A (u drożdży - ok. 100) (rys. 5.12). Dzięki ogonowi poli(A) cząsteczka mRNA jest rozpoznawana jako własny, a nie obcy kwas nukleinowy i jest zabezpieczona przed strawieniem przez nukleazy. Niektóre wirusy, np. wirus grypy, potrafią dołączać do swoich nici mRNA ogonek poli(A), przez co nie są niszczone w cytozolu. Ogon poli(A) podnosi również efektywność translacji.

### 5.8.3 Dojrzwianie pre-rRNA i pre-tRNA

U ssaków w transkrypcie pre-rRNA znajdują się trzy rRNA: 18S, 5,8S i 28S. Transkrypcja zachodzi w jąderku, w którym obecne są U3 snRNA jak również inne snRNA bogate w U oraz białka im towarzyszące, zaangażowane w cięcie



Rysunek 5.10. Schemat obróbki mRNA u Eukariota

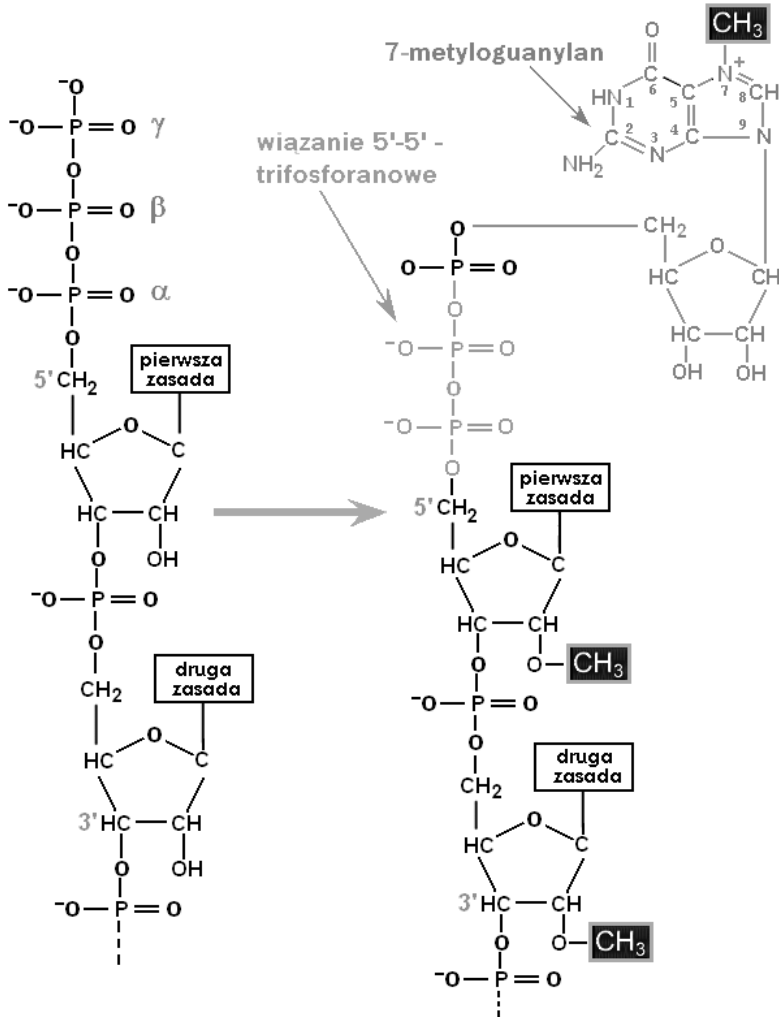
pre-rRNA. Syntetyzowany w nukleoplazmie 5S rRNA nie wymaga obróbki posttranskrypcyjnej. Kiedy jest gotowy, przemieszcza się do jąderka i razem z 28S rRNA i 5,8S rRNA tworzy dużą podjednostkę rybosomu.

Prekursory tRNA u Eukariota przekształcane są w dojrzałe cząsteczki w serii zmian obejmujących:

- usunięcie sekwencji liderowej (ok. 16 nt) z końca 5' przez RNazę P;
- usunięcie intronu (ok. 14 nt) z pętli antykodonu;
- zastąpienie dwóch reszt UU na końcu 3' cząsteczki przez CCA;
- modyfikację niektórych zasad.

#### 5.8.4 Składanie RNA

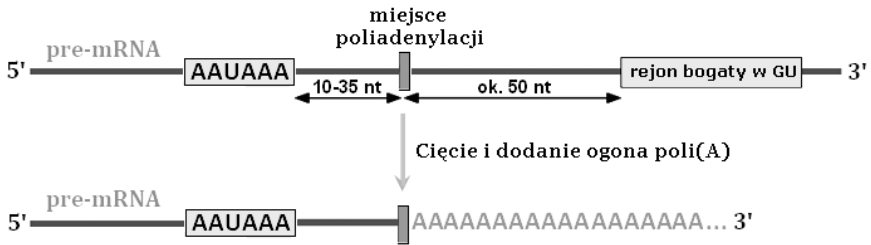
W procesie składania RNA (splicing) z transkryptu pierwotnego usuwane są introny i łączone są ze sobą eksony. Wycinanie intronów musi zachodzić bardzo precyzyjnie, ponieważ nawet jednonukleotydowe przesunięcie może przesunąć ramkę odczytu i całkowicie zmienić sekwencję aminokwasową. W intronach zwykle obecny jest wyraźny sygnał do splicingu. Większość intronów zaczyna się od sekwencji GU od końca 5' (miejsce donorowe splicingu), a kończy AG (miejsce akceptorowe splicingu). Istotna jest również obecność sekwencji CU(A/G)A(C/U) (gdzie **A** jest zachowane we wszystkich genach), nazwanej miejscem rozgałęzienia, 20-50 nt powyżej miejsca akceptorowego (rys. 5.13). W 60% przypadków ekson ma w miejscu donorowym sekwencję (A/C)AG, a w miejscu akceptorowym - G.



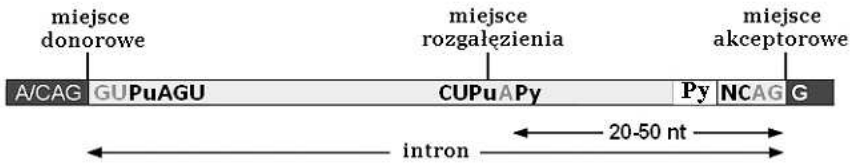
Rysunek 5.11. Tworzenie czapeczki na końcu 5' eukariotycznych mRNA

W niektórych przypadkach sygnał do splicingu jest maskowany przez białka regulatorowe, co skutkuje alternatywnym splicingiem. Czasami zdarza się również, że pre-mRNA może zawierać kilka niejednoznacznych sygnałów splicingowych, co prowadzi do powstania kilku alternatywnych mRNA.

W wycinaniu intronów bierze udział pięć klas niskocząsteczkowych RNA (snRNA) oraz białka z nimi zasocjowane. Pojedynczy snRNA wraz z białkami tworzy kompleks nazywany snRNP (ang. *small nuclear ribonucleoprotein particles*; oznaczone od U1 do U6). Duży (60S) konglomerat snRNP i prekursorów

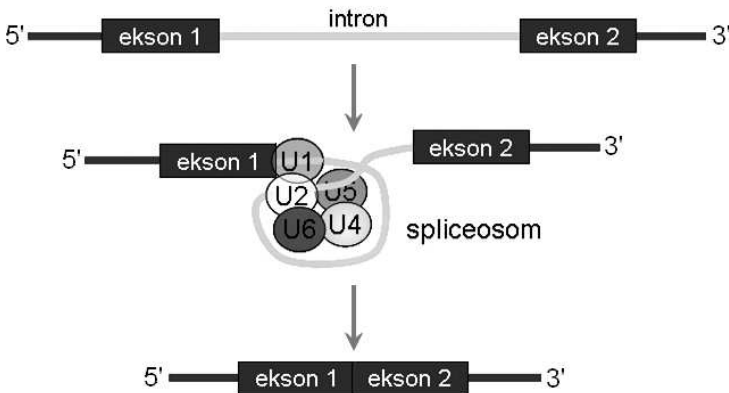


Rysunek 5.12. Schemat poliadenylacji transkryptu pierwotnego u Eukariota



Rysunek 5.13. Sygnały splicingowe. Pu - puryna (A lub G), Py - pirymidyna (C lub U). Białe prostokąt - sekwencja bogata w pirymidyny

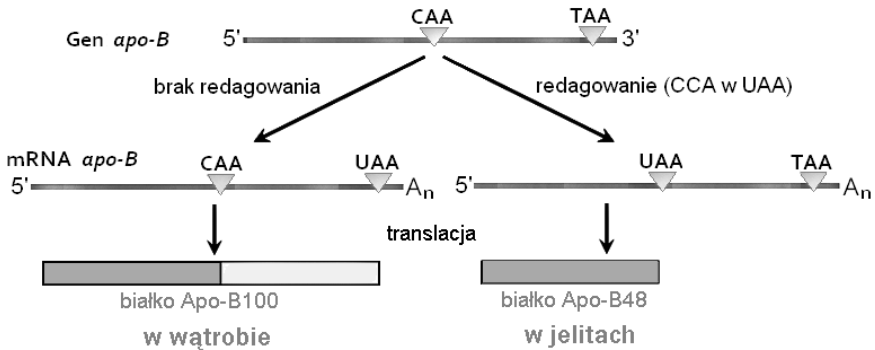
mRNA nazwany jest **spliceosomem** (rys. 5.14). Mechanizm reakcji usuwania intronów jest dosyć skomplikowany. Biorą w nim udział kompleksy U1, U2, U4, U5 i U6 (U3 uczestniczy w obróbce rRNA). Krytyczna dla reakcji enzymatycznej jest obecność reszty adenylanowej w miejscu rozgałęzienia.



Rysunek 5.14. Schemat tworzenia spliceosomu w trakcie wycinania intronów. U1- U6 - kompleksy snRNA z białkami (snRNP)

### 5.8.5 Redagowanie RNA

Informacja zawarta w niektórych mRNA może być zmieniona już po zakończeniu transkrypcji w procesie innym niż splicing. Zmiana pojedynczego nukleotydu w mRNA może powodować zmianę kodonu, na przykład deaminacja cytozyny w kodonie glutaminy CAA prowadzi do powstania uracylu i kodonu stop UAA, a więc wcześniejszą terminację translacji, jak to ma miejsce w przypadku apolipoproteiny B (rys. 5.15).



**Rysunek 5.15.** Redagowanie RNA apolipoproteiny B. U ssaków gen *apo-B* ulega ekspresji w wątrobie oraz w nabłonku jelita cienkiego. W wątrobie powstaje białko o masie 500 kDa (nazywane Apo-B100), w jelicie - dużo mniejsze (nazywane Apo-B48). Apo-B100 jest produkowane bez redagowania RNA, natomiast Apo-B48 jest produkowane z mRNA, w którym cytozyna w kodonie CAA uległa deaminacji przez enzym obecny w komórkach nabłonkowych jelita (ale nie w wątrobie), co powoduje powstanie kodonu stop i wcześniejsze zakończenie translacji

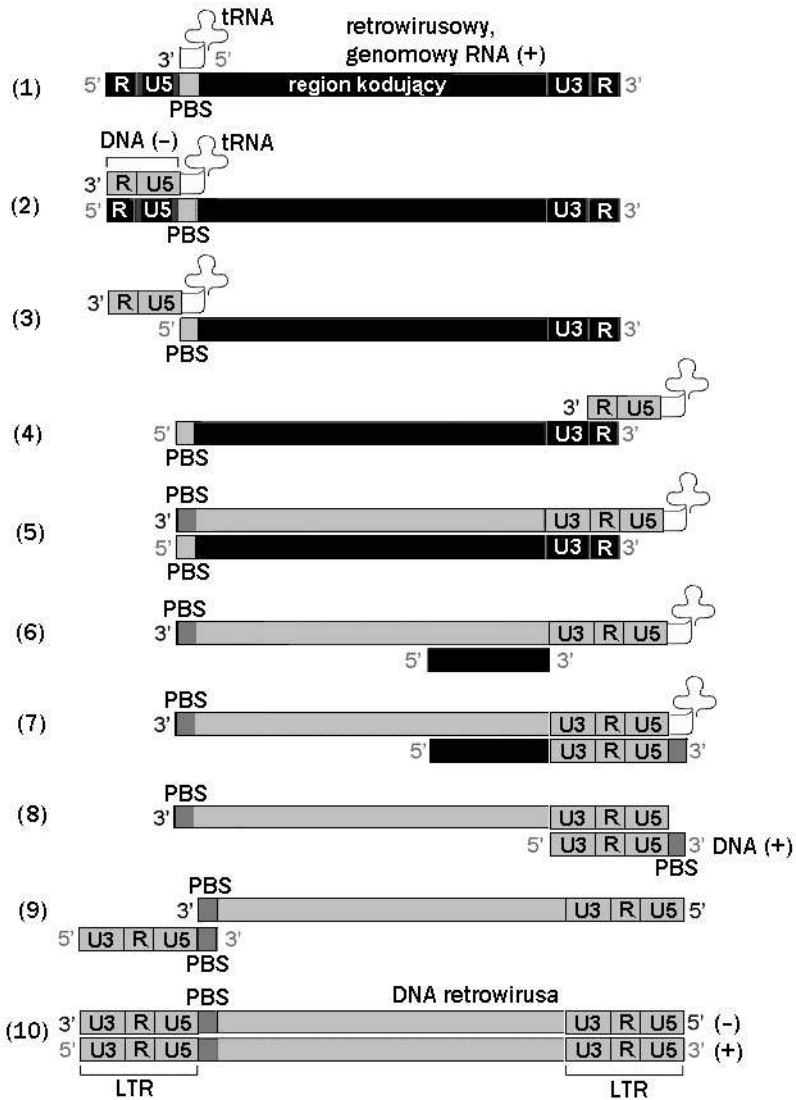
## 5.9 Odwrotna transkrypcja

U wirusów RNA (nazywanych retrowirusami) nośnikiem informacji genetycznej jest RNA. Po wnikięciu do komórki, RNA wirusa jest transkrybowane do dwuniciowego DNA (w procesie nazwanym **odwrotną transkrypcją**) i ulega integracji z DNA gospodarza. Odwrotna transkrypcja katalizowana jest przez odwrotną transkryptazę wprowadzaną przez cząstkę wirusa w trakcie infekcji. Odwrotna transkryptaza przeprowadza trzy typy reakcji: syntezę DNA na matrycy RNA, syntezę DNA na matrycy DNA oraz hydrolizę RNA.

W punktach 1-10 (rys. 5.16) przedstawiono kolejne etapy syntezy wirusowego DNA.

1. Komórkowe tRNA swoiste dla retrowirusa hybryduje z regionem komplementarnym, tzw. miejscem wiążącym starter (PBS, ang. *primer-binding site*).



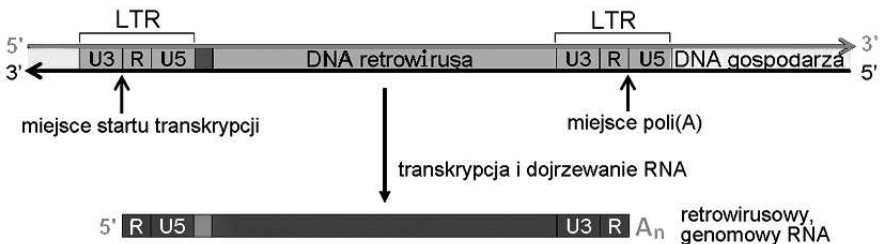


**Rysunek 5.16.** Mechanizm odwrotnej transkrypcji. Proces jest katalizowany przez odwrotną transkryptazę - enzym, który ma aktywność zarówno polimerazy DNA, jak i RNazy H

2. Od grupy 3'-OH przyłączonego tRNA rozpoczyna się synteza DNA na matrycy genomowego RNA retrowirusa. Powstaje fragment DNA (-) komplementarny do sekwencji U5 i R.

3. Wirusowe sekwencje RNA U5 i R są usuwane przez domenę enzymu o aktywności RNazy H.
4. Pierwsze przesunięcie: nić DNA (-) hybrydyzuje z sekwencją R obecną w końcu 3' wirusowego RNA.
5. Nić DNA (-) jest wydłużana od końca 3'.
6. Większość RNA wirusa jest usuwana przez RNazę H.
7. Z wykorzystaniem pozostałego fragmentu RNA wirusa jako startera, syntetyzowana jest druga nić DNA (+).
8. Pozostały RNA wirusa oraz tRNA jest usuwany przez RNazę H.
9. Drugie przesunięcie: region PBS drugiej nici DNA (+) hybrydyzuje regionem PBS pierwszej nici DNA (-).
10. Synteza brakujących części obu nici. Na końcach retrowirusowego DNA powstają długie powtórzenia końcowe, tzw. sekwencje LTR (ang. *long terminal repeat*). U3 i U5 to różne unikalne sekwencje, R - to sekwencja powtórzona. LTR zawierają sekwencje sygnałowe dla procesów integracji oraz transkrypcji

Transkrypcja retrowirusowego DNA następuje jedynie wtedy, gdy zostanie on włączony do DNA gospodarza (rys. 5.17). Integracja zachodzi dzięki białku integracyjnemu IN (ang. *integration protein*; integraza), które wirus wnosi do komórki razem z odwrotną transkryptazą. IN jest endonukleazą rozpoznającą swoiste sekwencje w LTR. Integracja DNA wirusa może nastąpić w dowolnym miejscu w genomie gospodarza.



**Rysunek 5.17.** Powstawanie retrowirusowego genomowego RNA

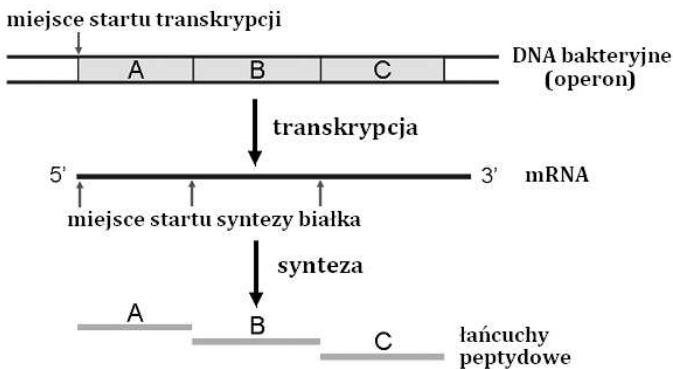
Retrowirusy wykorzystują strategie genetyczne obserwowane w różnych eukariotycznych elementach genetycznych. Elementy Ty są transpozonomi (czyli ruchomymi elementami genetycznymi) znalezionymi w drożdżach (T - transpozon; y - ang. *yeast* - drożdże). Ty1 jest transpozonomem o długości 6 kbp zintegrowanym z genomem drożdży. Ma sekwencje graniczne LTR i jest oskrzydłony przez krótkie sekwencje powtórzone. Koduje białka podobne do odwrotnej transkryptazy i integrazy retrowirusów. Powielanie i przenoszenie (czyli transpozycja) w inne miejsce genomu zachodzi z udziałem produktu pośredniego - RNA, który powstaje w wyniku transkrypcji. Na matrycy RNA Ty zachodzi

następnie synteza dwuniciowego DNA włączanego do genomu. Przepływ informacji transpozonu Ty - od DNA do RNA i z powrotem do DNA- jest więc taki jak u retrowirusów. Elementy genetyczne wykorzystujące tę strategię nazywano **retrotranspozonami** lub retropozonami. Podobne elementy znaleziono u *Drosophila* (tzw. elementy *copia*).

## Synteza i obróbka posttranslacyjna białek

### 6.1 Synteza białek

Synteza białek (czyli translacja) to proces, w którym dochodzi do skoordynowanej współpracy ponad stu makrocząsteczek. Translacja zachodzi w rybosomach (rozdz. 3.3.3; rys. 3.12), na matrycy sekwencji mRNA (rozdz. 3.3.1; rys. 3.10). Łańcuch peptydowy jest syntetyzowany w kierunku od końca aminowego do końca karboksylowego: zawsze zaczyna się od **metioniny**, czyli od kodonu **AUG** (kodon inicjacyjny). U bakterii pojedyncza cząsteczka mRNA może kodować kilka białek (nazywana jest **transkryptem policistronowym**), zawiera więc kilka kodonów inicjacyjnych (rys. 6.1). Białko może zawierać również kilka wewnętrznych metionin, także kodowanych przez AUG. Kodony AUG będące kodonami inicjacyjnymi muszą być w jakiś sposób odróżniane od wewnętrznych kodonów AUG. Rozpoznanie to zachodzi dzięki tzw. **sygnałom inicjacyjnym**.



**Rysunek 6.1.** Ekspresja bakteryjnego operonu (czyli fragmentu DNA kodującego kilka wspólnie transkrybowanych białek, np. strukturalnych poprzedzonych sekwencjami kontrolnymi - promotorową i operatorową). Powstające mRNA jest nazywane transkryptem policistronowym

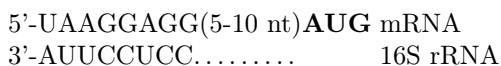
Synteza peptydu to przekład sekwencji mRNA na sekwencję białka zgodnie z kodem genetycznym (rozdz. 3.5; rys. 3.17). Zaczyna się od kodonu inicjacyjnego i przesuwają się wzdłuż sekwencji mRNA od końca 5' do końca 3' ściśle według trójliterowego kodu (trzy nukleotydy na jeden aminokwas), czyli według ramki odczytu. Tak więc, nawet niewielka zmiana w sekwencji mRNA może prowadzić do produkcji zupełnie innego białka, np. kiedy kodon dla aminokwasu jest zamieniony na kodon stop, powstające białko będzie krótsze. Może też dojść do przesunięcia ramki odczytu (ang. *frameshift*).

Translacja jest prowadzona przez cząsteczki tRNA (rozdz. 3.3.2; rys. 3.11). Cały proces podzielono na etapy: inicjacji, elongacji i terminacji.

### 6.1.1 Sygnał inicjacyjny dla syntezy białka

Choć prawda synteza peptydu zawsze rozpoczyna się od metioniny, ale pierwszy aminokwas funkcjonalnego białka nie zawsze jest metioniną. Po zakończeniu syntezy białka może być ono modyfikowane - jedną z modyfikacji może być odcięcie N-końca białka. Organizmy prokariotyczne i eukariotyczne mają odmienne sposoby rozpoznawania kodonu inicjacyjnego (mimo że cały sposób translacji jest bardzo podobny).

Wiele mRNA u Prokariota jest policistronowych, czyli koduje więcej niż jedno białko. Takie mRNA zawiera kilka kodonów inicjacyjnych. Są one rozpoznawane dzięki temu, że 5-10 nt powyżej obecna jest specyficzna sekwencja, UAAGGAGG, nazwana sekwencją **Shine-Dalgamo** (od nazwiska odkrywcy). Cząsteczka 16S rRNA rybosomu zawiera sekwencję komplementarną do sekwencji Shine-Dalgamo:



Asocjacja tych dwóch sekwencji prowadzi do przyłączenia pozostałych części rybosomu w miejscu inicjacji syntezy białka.

Mechanizm rozpoznawania kodonu inicjacyjnego u Eukariota nie jest zupełnie jasny. Być może rybosom eukariotyczny po prostu skanuje mRNA, rozpoczynając od czapeczki w końcu 5', w poszukiwaniu pierwszego kodonu AUG. Wydaje się to racjonalne, ponieważ prawie wszystkie eukariotyczne mRNA są monocistronowe (kodują pojedyncze białko). Tym niemniej niektóre wirusowe mRNA są policistronowe lub nie mają czapeczki, a mimo to ulegają translacji w komórce eukariotycznej. Udowodniono, że tzw. sekwencja **Kozak** (od nazwiska odkrywcy) - 5'-ACCAUGG - zlokalizowana w mRNA wokół kodonu inicjacyjnego zwiększa efektywność translacji.

### 6.1.2 Przesunięcia ramki odczytu

Do przesunięcia ramki odczytu (rys. 6.2) w większości przypadków dochodzi na skutek insercji lub delecji pojedynczego nukleotydu w mRNA (rozdz. 4.4). Powstaje wtedy zupełnie inne białko.



**Rysunek 6.2.** Przykład przesunięcia ramki odczytu. mRNA(a) i mRNA(b) różnią się jedynie jednym nukleotydem - jest to dodatkowy nukleotyd G w trzeciej pozycji mRNA(b) (zaznaczony na szaro). Sekwencja aminokwasów syntetyzowanych na matrycy mRNA(b) jest zupełnie inna, począwszy od miejsca insercji

### 6.1.3 Geny nakładające się

Przesuwanie ramki odczytu umożliwia kodowanie kilku (maksymalnie trzech), kompletnie różnych białek z jednej sekwencji DNA (ang. *gene overlapping*). Sytuacja taka ma często miejsce w niewielkich genomach wirusowych. U Eukariota nakładanie genów zachodzi w mitochondrialnym DNA, gdzie zachodzą na siebie np. geny podjednostek ATPazy 6 i 8 (rys. 6.3).



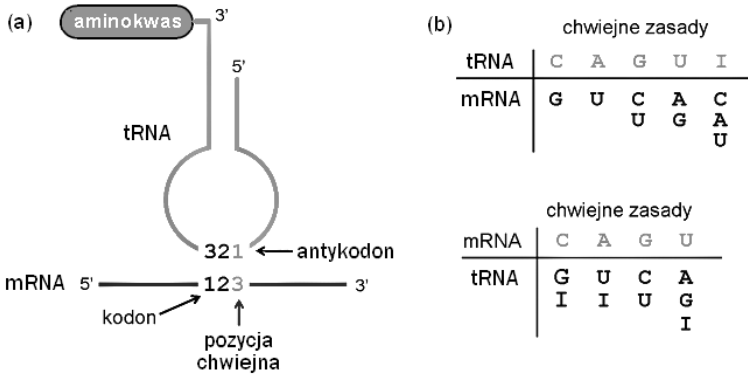
**Rysunek 6.3.** Przykład nakładania się genów. Gen podjednostki 8 ATPazy umiejscowiony jest pomiędzy 8366 a 8569 ludzkiego genomu mitochondrialnego, a gen podjednostki 6 ATPazy - pomiędzy 8527 a 9204. ATPaza 8 zbudowana jest z 68 aminokwasów, ATPaza 6 - z 226. Ich sekwencja aminokwasowa jest odmienna nawet w rejonie kodowanym przez wspólną sekwencję DNA. Interesujące jest, że w genie ATPazy 6 nie ma klasycznego kodonu stop, tylko dwa pierwsze nukleotydy kodonu stop, czyli „TA”. Kodon stop „TAA” powstaje dopiero po dodaniu ogona poli(A) w trakcie obróbki RNA

### 6.1.4 Udział tRNA w translacji

Translacja jest prowadzona poprzez tRNA dzięki temu, że istnieje ścisły związek pomiędzy antykodonom a aminokwasem związanym w końcu 3' tRNA.

W momencie gdy tRNA wchodzi do rybosomu, gdzie dochodzi do komplementacji pomiędzy jego antykodonem i odpowiednim kodonem w mRNA, aminokwas jest dodawany do syntetyzowanego peptydu (a właściwie - syntetyzowany peptyd do aminokwasu). U bakterii występuje 30-40 cząsteczek tRNA z różnymi antykodonami. U organizmów wyższych jest ich około 50-ciu. Natomiast różnych kodonów dla aminokwasów jest 61, a więc znacznie więcej. Zakładając, że każdy kodon będzie tworzył parę tylko z całkowicie pasującym antykodonem, musiałoby występować 61 różnych tRNA.

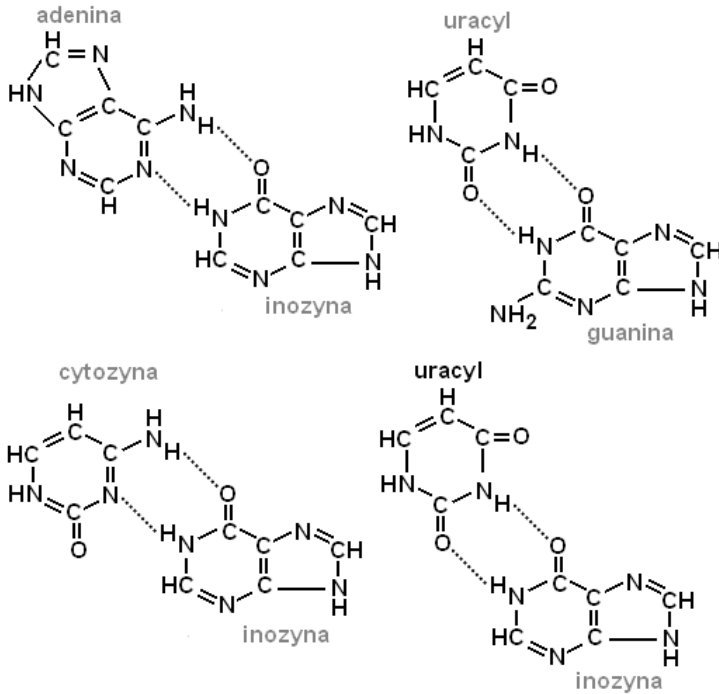
Dysproporcja pomiędzy liczbą kodonów a liczbą cząsteczek tRNA jest wynikiem tego, że istnieje pewna tolerancja przestrzenna w tworzeniu par przez trzecią zasadę kodonu, która jest tzw. chwiejną pozycją (ang. *wobble position*) (rys. 6.4a). W pozycji tej nie obowiązują standardowe zasady tworzenia par: zasada może utworzyć parę z jedną spośród kilku zasad. Często w pierwszej pozycji w antykodonach (tworzącej parę z trzecią pozycją kodonu) pojawia się inozyna (I), która umożliwia odczytanie cząsteczki tRNA maksymalnej liczby trzech kodonów (rys. 6.4b i 6.5).



**Rysunek 6.4.** Tworzenie pary pomiędzy antykodonem tRNA, a kodonem mRNA: (a) kryteria przestrzenne parowania się trzeciej zasady kodonu są mniej rygorystyczne niż w przypadku pozostałych dwóch zasad; (b) możliwości parowania w trzeciej pozycji kodonu: np. G może tworzyć parę z C lub U; I - z C, A lub U

Pierwsze dwie zasady kodonu tworzą pary z zasadami antykodonu w sposób standardowy. Rozpoznanie jest precyzyjne. Swobodniejsze parowanie trzeciej zasady kodonu z pierwszą antykodonu (rys. 6.5) sprawia, że **kod genetyczny jest zdegenerowany**: niektóre cząsteczki tRNA mogą rozpoznawać więcej niż jeden kodon.

Cząsteczka tRNA, do której przyłączony jest aminokwas na końcu 3' nazywana jest **aminoacylo-tRNA** (czasami również naładowanym tRNA). Same aminokwasy nie mają możliwości rozpoznawania kodonów w mRNA. Aminokwas musi być więc dostarczony do rybosomu w postaci związanej ze swoistym tRNA - z takim, którego antykodon pasuje do kodonu dla danego aminokwasu.



Rysunek 6.5. Niestandardowe parowanie zasad w trzeciej pozycji kodonu

Przyłączanie aminokwasu do tRNA katalizowane jest przez klasę enzymów nazywanych syntetazami aminoacylo-tRNA (lub enzymami aktywującymi), które rozpoznają antykodon i odpowiadający mu aminokwas. W komórce obecnych jest 20 różnych syntetaz aminoacylo-tRNA. Każda może dodać tylko jeden z 20 aminokwasów do odpowiadającego mu tRNA. Zapis „aa-tRNA” (aminokwas-tRNA, np. Lys-tRNA) oznacza tRNA z przyłączonym aminokwasem (np. lizyną), natomiast zapis „tRNA<sup>aa</sup>” (np. tRNA<sup>Lys</sup>) oznacza tRNA z antykodonom dla kodonu danego aminokwasu. Zapis „Lys-tRNA<sup>Lys</sup>” reprezentuje specyficzny dla lizyny tRNA z przyłączoną lizyną.

### 6.1.5 Przebieg syntezy białka

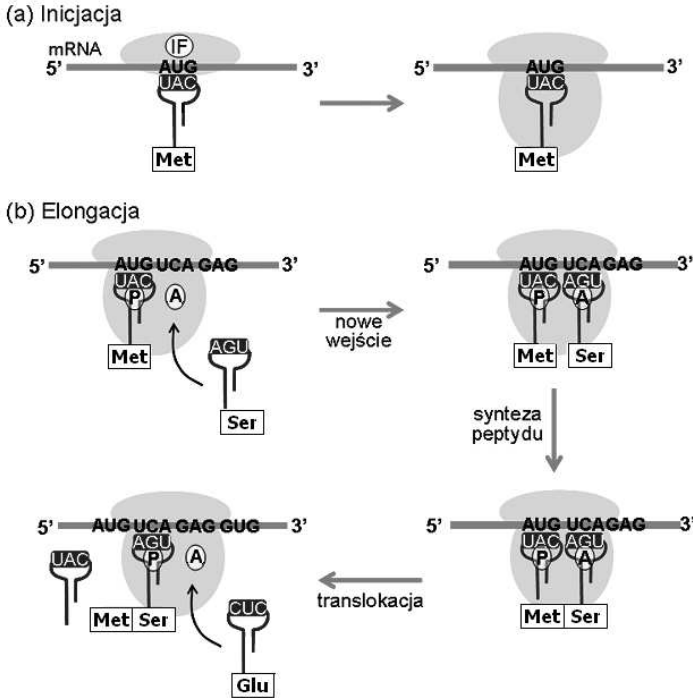
#### *Inicjacja translacji*

Ponieważ synteza białka zawsze zaczyna się od metioniny, pierwszym aminoacylo-tRNA jest Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>, gdzie „i” oznacza inicjację. U bakterii metionina w inicjatorowym aminoacylo-tRNA jest zmodyfikowana przez dodanie grupy formylowej (-HCO) do grupy aminowej. Powstaje w ten sposób **formylometionina** (fMet), która jest unikalna dla bakterii (u ssaków wywołuje ona silną odpowiedź układu immunologicznego).



*Elongacja translacji*

Rybosom zawiera dwa główne miejsca wiązania tRNA: **miejsce A** (aminoacylowe) i **miejsce P** (peptydydowe). Po związaniu dużej podjednostki rybosomu z kompleksem czynników inicjujących inicjatorowa Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> wchodzi



**Rysunek 6.6.** Etapy syntezy białka: (a) bez mRNA duża i mała podjednostka rybosomu egzystują oddzielnie. Synteza białka rozpoczyna się, gdy czynniki inicjujące (IF, ang. *initiation factors*) łączą się z małą podjednostką rybosomową, gdzie łączy się również mRNA i inicjatorowy aminoacylo-tRNA. W momencie przyłączenia dużej podjednostki uwalniane są czynniki inicjujące; (b) w procesie elongacji jeden cykl obejmuje następujące etapy:

- **nowe wejście:** nowy aminoacylo-tRNA wraz z odpowiednim antykodonem wchodzi w miejsce A. U Prokariota etap jest katalizowany przez czynniki elongacyjne Tu i Ts, u Eukariota - przez EF<sub>1</sub> i EF<sub>1β</sub>.
- **synteza peptydu:** aminokwas związany z aminoacylo-tRNA w miejscu P przenoszony jest do aminoacylo-tRNA obecnego w miejscu A, gdzie powstaje wiązanie peptydowe katalizowane przez peptydylotransferazę; generowany jest peptydylo-tRNA, którego łańcuch peptydowy wydłuża się po każdym cyklu elongacji.
- **translokacja:** puste tRNA w miejscu P jest wyrzucane z rybosomu i peptydylo-tRNA z miejsca A zajmuje opuszczone miejsce P. Równocześnie mRNA przesuwa się o jeden kodon. U bakterii translokacja jest katalizowana przez czynnik elongacyjny G, u Eukariota - przez czynnik elongacyjny EF<sub>2</sub> (ang. *elongation factor*)

w miejsce P, natomiast aminoacylo-tRNA odpowiadający następnemu kodonowi wchodzi w miejsce A (rys. 6.6). Metionina może być wtedy przeniesiona do nowego aminoacylo-tRNA i związana wiązaniem peptydowym z jego aminokwasem. Powstaje peptydylo-tRNA, czyli peptyd związany z tRNA. Pusty tRNA z miejsca P jest usuwany z rybosomu, rybosom przesuwa się po łańcuchu mRNA o jeden kodon dalej i równocześnie peptydylo-tRNA przeskakuje z miejsca A do miejsca P. Podobne etapy powtarzane są w kolejnych cyklach elongacji.

### *Terminacja translacji*

Synteza białka kończy się, gdy rybosom napotka kodon stop. Normalne komórki nie posiadają tRNA z antykodonami komplementarnymi do kodonów stop. Natomiast kodony stop są rozpoznawane przez białkowe czynniki uwalniające. Ich asocjacja stymuluje uwalnianie peptydylo-tRNA z rybosomu. Następnie łańcuch peptydowy oddziela się od tRNA. Rybosom rozpada się na małą i dużą podjednostkę i gotowy jest do syntezy następnego peptydu.

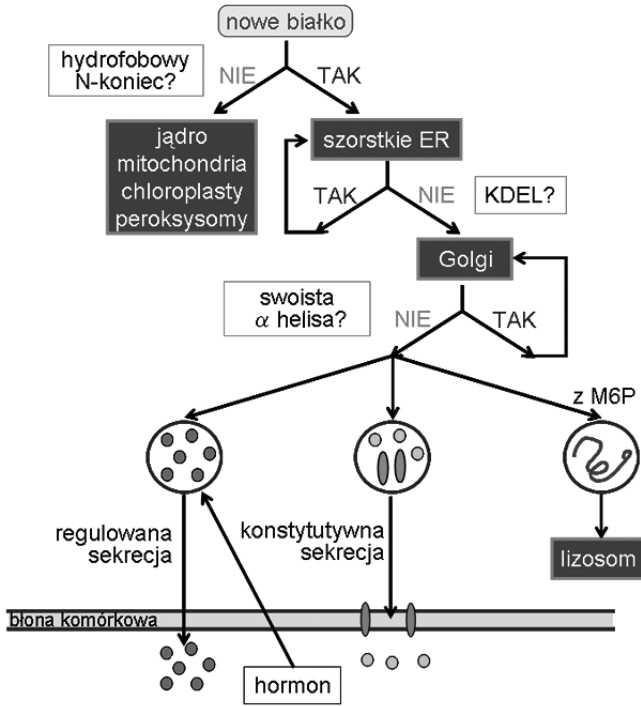
## **6.2 Obróbka posttranslacyjna i sortowanie białek**

Białka są syntetyzowane na rybosomach, a więc głównie w cytoplazmie. Tylko niewielka liczba rybosomów zlokalizowanych jest w mitochondriach oraz chloroplastach, a syntetyzowane tam białka mogą być wykorzystane na miejscu. Większość mitochondrialnych i chloroplastowych białek kodowana jest przez DNA jądrowy i syntetyzowana na rybosomach w cytoplazmie. Tak więc białka muszą zostać przetransportowane do swojego miejsca docelowego. Jest to możliwe dzięki sekwencjom sygnałowym obecnym w nowo powstałych peptydach. Generalnie wyróżnia się szlak segregacji związany z retikulum endoplazmatycznym (ER) i niezwiązany z ER (rys. 6.7). Niezwiązany z ER jest transport białek do mitochondriów, chloroplastów, jądra komórkowego i peroksysomów. Sekwencją sygnałową kierującą do peroksysomów jest sekwencja „Ser-Lys-Leu” (SKL w zapisie jednoliterowym) na końcu C białka.

### **6.2.1 Wprowadzanie białek do szorstkiego retikulum endoplazmatycznego**

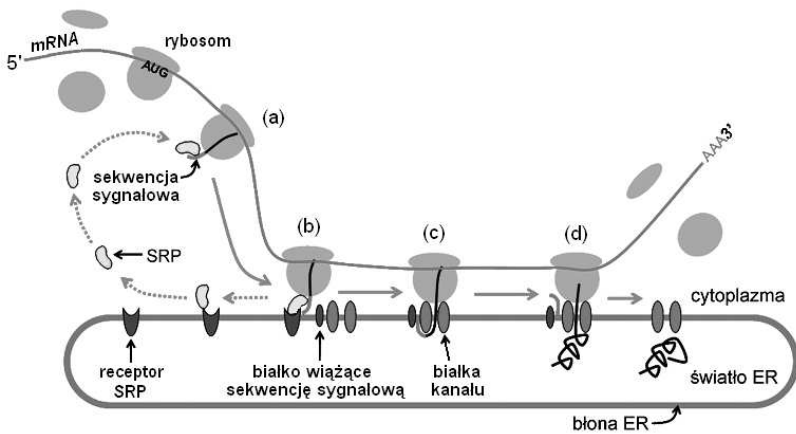
Białka wydzielnicze oraz białka błonowe powstają na rybosomach związanych z retikulum endoplazmatycznym (tzw. szorstkim ER). O tym, czy dany rybosom pozostanie wolny, czy dołączy do szorstkiego ER decyduje tylko rodzaj białka tworzonego przez rybosom (rys. 6.8).

W świetle ER odbywa się proces fałdowania białek. Białka szoku termicznego zależne od ATP służą jako białka opiekuńcze (ang. *chaperones*), które wiążą rosnące białka i pomagają w ich fałdowaniu (rys. 6.9).

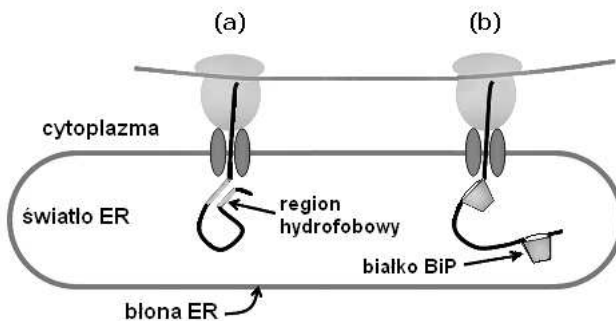


Rysunek 6.7. Ogólny schemat sortowania białek:

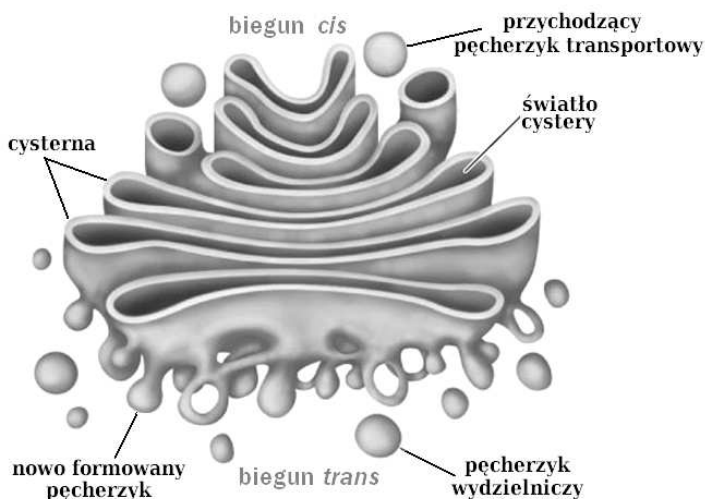
1. Jeżeli w N-końcu nowego peptydu znajduje się fragment z aminokwasami hydrofobowymi, peptyd przekazywany jest do retikulum endoplazmatycznego (ER) do dalszego sortowania. Jeżeli nie ma hydrofobowego N-końca jego sortowanie nie jest związane z retikulum.
2. Peptyd jest zatrzymywany w ER jeśli jego koniec C zawiera sekwencję „Lys-Asp-Glu-Leu” (KDEL w zapisie jednoliterowym). Jeżeli nie - przechodzi do aparatu Golgiego.
3. W aparacie Golgiego pozostają białka posiadające swoistą transmembranową helisę  $\alpha$ .
4. Do lizosomów kierowane są białka, które w aparacie Golgiego uległy glikozylacji polegającej na dołączeniu mannozo-6-fosforanu (M6P).
5. Białka, które agregują z chromograniną B (sekretograniną I) lub sekretograniną II są przekazywane do pęcherzyków sekrecyjnych, z których zwalniane są w razie potrzeby (sekrecja kontrolowana). Inne typy pęcherzyków przesuują się w kierunku błony komórkowej i ich zawartość stale uwalniana jest na zewnątrz komórki (sekrecja konstytutywna).



**Rysunek 6.8.** Wprowadzenie nowo syntetyzowanego peptydu do szorstkiego ER: (a) po zsyntetyzowaniu około 70 aminokwasów z rybosomu wyłania się sekwencja sygnałowa obecna w końcu N białka. Częstka rozpoznająca sygnał (SRP - ang. *signal recognition particle*) wykrywa sekwencję sygnałową (synteza peptydu zostaje przyhamowana) i kieruje peptyd wraz z rybosomem w stronę błony ER; (b) SRP wiąże się ze swoim receptorem w błonie ER; (c) sekwencja sygnałowa przewlekana jest przez błonę ER przy pomocy białka wiążącego sekwencję sygnałową. Kilka białek tworzy kanał, przez który rosnący łańcuch przenika do wnętrza. Uwolnienie SRP z rybosomu powoduje wznowienie elongacji polipeptydu; (d) sekwencja sygnałowa jest odcinana i degradowana. Po zakończeniu syntezy białka podjednostki rybosomu odpadają od mRNA i mogą ponownie rozpocząć poszukiwanie matrycy. Również uwolniony SRP może wiązać następną, wyłaniającą się z rybosomu sekwencję sygnałową



**Rysunek 6.9.** Zapobieganie nieprawidłowemu fałdowaniu białek w ER: (a) jeszcze przed ukończeniem syntezy peptyd może rozpocząć fałdowanie (hydrofobowe fragmenty mają tendencję do agregacji); (b) białko BiP wiąże się do hydrofobowych części powstającego peptydu zanim ulegną nieprawidłowemu sfaldowaniu i zapobiega przedwczesnej agregacji



**Rysunek 6.10.** Aparat Golgiego. Transport białek do i w poprzek aparatu Golgiego zachodzi za pośrednictwem małych pęcherzyków.

Na podstawie:

<http://media-2.web.britannica.com/eb-media/52/116252-004-9615DB80.jpg>

## 6.2.2 Transport białek do i w poprzek aparatu Golgiego

Do aparatu Golgiego trafiają białka nieposiadające sekwencji KDEL w końcu C, kierowane z retikulum endoplazmatycznego za pośrednictwem pęcherzyków. Podstawową jednostką strukturalną aparatu Golgiego jest **diktiosom**. Składa się on z 4 do 6 talerzyków (podłużnych cystern), na których tworzą się wypuklenia w postaci pęcherzyków (rys. 6.10). Diktiosom tworzy się z retikulum endoplazmatycznego, do którego zwrócony jest wypukłą częścią (biegun *cis*, biegun formowania). Sieć *cis* stanowi „przedział ratunkowy” dla białek powstałych w retikulum endoplazmatycznym, które zostały przypadkowo złapane w pęcherzyki płynące do aparatu Golgiego (zostają one wylapane przez enzymy i skierowane z powrotem). Po stronie wklęsłej talerzyka (biegun *trans*, biegun dojrzewania), zachodzi m.in. przyłączanie reszt cukrowych do struktur białkowych. Część ta stanowi również stację rozdzielczą i sortującą, w której produkty z wnętrza diktiosomu zostają rozdzielone zależnie od przeznaczenia i zapakowane do odpowiedniego typu pęcherzyków:

- dostarczających białka i lipidy do błony komórkowej;
- skierowanych do lizosomów (zawierających enzymy lizosomalne), endosomów i innych;
- skierowanych do egzosomów (gromadzących substancje, które mają być wydzielone poza komórkę).

### 6.2.3 Transport białek do lizosomów

Białka ulegające glikozylacji w aparacie Golgiego dostarczane są do lizosomów, jeżeli jedna lub więcej cząsteczek mannozy jest fosforylowanych przy atomie węgla w pozycji 6. Sieć *trans* aparatu Golgiego zawiera receptor mannozo-6-fosforanu, który wiążąc się z mannozo-6-fosforanem obecnym w enzymach lizosomalnych oraz dostarcza je do pęcherzyków wydzielniczych kierowanych do lizosomów.

### 6.2.4 Transport jądrowy

Wiele białek wyprodukowanych w cytoplazmie wędruje do jądra, aby pełnić tam swoją funkcję. Z drugiej strony, RNA wyprodukowane w jądrze komórkowym musi być przetransportowane do cytoplazmy, gdzie jest konieczne do syntezy białka. Ruch cząsteczek przez osłonkę jądrową zachodzi za pośrednictwem białek zaliczanych do **eksportyn** i **importyn**. Eksportyny wiążą cząsteczkę (ładunek; ang. *cargo*) i umożliwiają jej eksport do cytoplazmy. Importyny ułatwiają import do jądra komórkowego.

Małe białka o masie 15 kDa, np. histony mogą przechodzić przez pory jądrowe bez udziału innych białek, natomiast białka duże (powyżej 90 kDa) nie mogą przejść przez osłonkę jądrową, jeżeli nie posiadają specyficznych sygnałów. Sygnały takie mogą również przyspieszać wejście do jądra małych białek. Specyficzna sekwencja sygnałowa jest bądź bezpośrednio rozpoznawana przez importyny i eksportyny, bądź przez białko adaptorowe. Przykładowo importyna  $\beta$  nie rozpoznaje specyficznej sekwencji transportowanego białka, lecz wspomagana jest przez importynę  $\alpha$  będącą adaptorem. Z kolei importyna dla hnRNP (ang. *heterogeneous nuclear ribonucleoprotein*) rozpoznaje samodzielnie specyficzną sekwencją w hnRNP. Ta importyna nazywana jest **transportyną**.

#### *Sygnał lokalizacji jądrowej oraz sygnał eksportu z jądra*

Import białek do jądra komórkowego warunkowany jest przez sygnał lokalizacji jądrowej (NLS; ang. *nuclear localization signal*). Zidentyfikowano dwa typy takich sygnałów: typu SV40 i dwuczłonowy (ang. *bipartite type*). Sygnał typu SV40 po raz pierwszy znaleziono w dużym antygenie T wirusa SV40. Ma on sekwencję aa: PKKKRKV. Charakteryzuje go obecność kilku z rzędu aminokwasów zasadowych; w wielu przypadkach zawiera również prolinę.

Typ dwuczłonowy po raz pierwszy zaobserwowano w neoplazminie *Xenopus*. Zawiera on sekwencję **KR**[PAATKKAGQA]**KKKK**. Cechy charakterystyczne to: dwa aa zasadowe, przerywnik o długości 10 aa, następny region zasadowy zawierający co najmniej 3-5 aa zasadowych.

Sygnał dla eksportu z jądra (NES; ang. *nuclear export signal*) jest domeną bogatą w leucyny rozpoznawaną przez klasę eksportyn nazywanych eksportyną 1 lub Crm1. Domena ma sekwencję **LQLPLERLTL**. Obecna jest ona np. w białku rev wirusa HIV-1.

Białka, które przemieszczane są wahadłowo między jądrem a cytoplazmą, zawierają oba sygnały transportowe: NLS i NES.

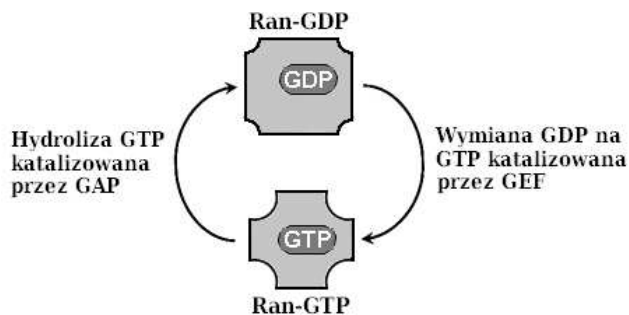
Do wyszukiwania *in silico* NLS i NES w sekwencji białka służą programy dostępne m.in. na stronach internetowych:

<http://cubic.bioc.columbia.edu/cgi/var/nair/resonline.pl>

<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetNES/>

### *Mechanizm działania importyn i eksportyn*

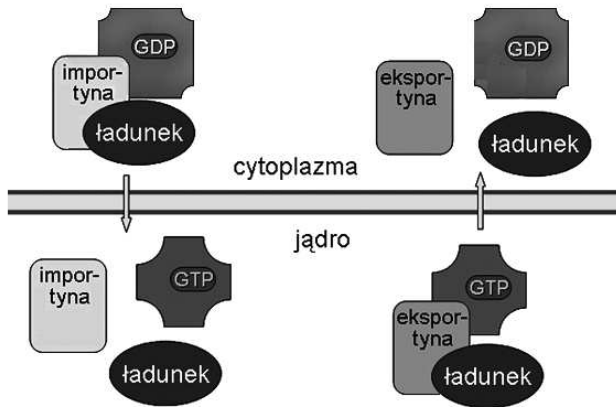
Działanie eksportyn i importyn regulowane jest przez białko G o nazwie **Ran**. Zaliczane jest ono do rodziny monomerycznych białek G (inaczej: małych białek G), do której należą też białka Ras, Rho, Rab, Arf. Inną rodzinę białek G (ang. *GTP-binding proteins*) stanowią heterotrimeryczne białka G (rozdz. 8.3). Podobnie jak pozostałe białka G, białko Ran może być związane z GDP (guanozynodifosforanem) lub z GTP (guanozynotrifosforanem). Przejście między formą związaną z GTP a formą związaną z GDP jest katalizowane przez białko GAP (ang. *GTPase-activating protein*), które hydrolizuje związane z białkiem GTP. Odwrotne przejście jest katalizowane przez czynnik GEF (ang. *guanine nucleotide exchange factor*), który indukuje wymianę między GDP związanym z białkiem a komórkowym GTP (rys. 6.11).



**Rysunek 6.11.** Dwie formy Ran: związana z GTP i związana z GDP

Forma Ran związana z GTP (Ran-GTP) znajduje się głównie w jądrze, natomiast forma związana z GDP (Ran-GDP) - wyłącznie w cytoplazmie. Bazując na tej asymetrii w dystrybucji obu form, skonstruowano ogólny model działania eksportyn i importyn. Wiązanie między eksportyną lub importyną a ich ładunkiem zależne jest od oddziaływania z Ran: Ran-GTP wzmacnia wiązanie między eksportyną i jej ładunkiem, a stymuluje zwalnianie ładunku z importyną; Ran-GDP działa na odwrót, czyli stymuluje zwalnianie ładunku eksportyną, a wzmacnia wiązanie między importyną i jej ładunkiem. Eksportyna z ładunkiem przemieszcza się razem z Ran-GTP w jądrze, ale ładunek jest zwalniany jak tylko kompleks znajdzie się w cytoplazmie (po przejściu przez

pory w błonie jądrowej), gdzie Ran-GTP przekształcany jest w Ran-GDP. Podobnie, importyna ze swoim ładunkiem może przemieszczać się w cytoplazmie, ale ładunek jest zwalniany w jądrze, gdzie Ran-GDP jest przekształcany do Ran-GTP (rys. 6.12).



Rysunek 6.12. Ogólna funkcja importyn i eksportyn

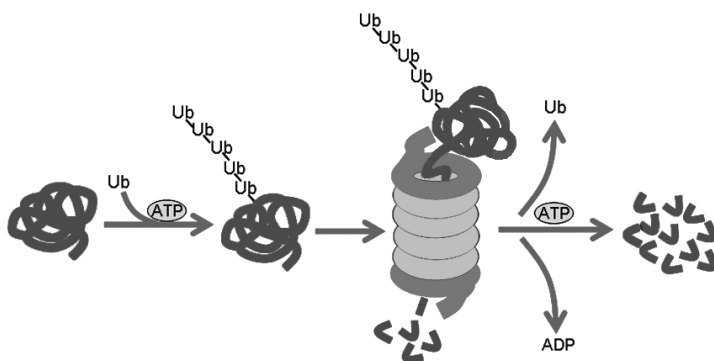
### 6.3 Degradacja białek

Niektóre białka pozostają w komórce bardzo krótko (np. enzymy regulujące metabolizm komórki - tylko przez kilka minut), inne są bardzo stabilne (pozostają przez wiele dni). Białka, które już spełniły swoją funkcję w komórce, lub białka uszkodzone kierowane są do degradacji. Kontrolowana degradacja białek jest niezwykle istotna dla prawidłowego funkcjonowania komórki: zachodzi bądź to w lizosomach (zawierających aktywne enzymy proteolityczne), bądź w proteasomach. Częsteczki przeznaczone do degradacji w lizosomach otaczane są błoną komórkową, która następnie ulega fuzji z lizosomem. W lizosomach degradowane są głównie białka pochodzące z zewnątrz komórki oraz białka długo żyjące. Białka krótko żyjące oraz uszkodzone degradowane są w proteasomach.

Proteasomy (kompleks proteazy 26S) są dużymi kompleksami białkowymi obecnymi zarówno w cytoplazmie, jak i jądrze komórkowym. Białka budujące proteasom tworzą cylinder: na rdzeń składają się cztery ułożone w stos pierścienie, każdy zbudowany z siedmiu białek. U wejścia i wyjścia z cylindra znajdują się jednostki regulatorowe. Centralnie wewnątrz pierścieni zlokalizowane jest centrum katalityczne o właściwościach proteolitycznych, przez które musi przejść degradowane białko.

Białka, które mają ulec zniszczeniu w proteasomie, naznaczane są poprzez dołączenie kilku cząsteczek **ubikwityny**. Ubikwityna jest małym białkiem





**Rysunek 6.13.** Schematyczne przedstawienie degradacji białek w proteasomie. Białko, by zostało rozpoznane przez podjednostkę regulatorową proteasomu (szara), musi mieć przyłączone łańcuchowo co najmniej 4 cząsteczki ubikwityny (Ub). Przyłączanie ubikwityny odbywa się przy udziale trzech enzymów oraz ATP. Przed wprowadzeniem do wnętrza proteasomu białko musi być chociaż częściowo rozwinięte, co zachodzi również przy udziale energii z ATP. Po przejściu przez centralną część proteasomu białka są degradowane do fragmentów przeważnie o długości 7-9 aminokwasów

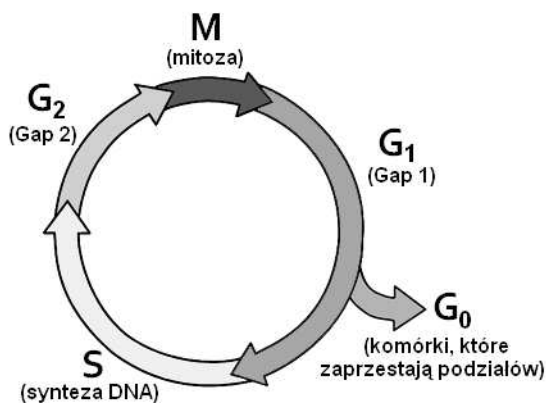
o masie 8,5 kDa, obecnym w każdej komórce i bardzo konserwowanym ewolucyjnie. Białko naznaczone cząsteczkami ubikwityny jest trawione przez proteasom, a ubikwityna jest przywracana do wtórnego obiegu (rys. 6.13). Niektóre z białek są degradowane w sposób niezależny od ubikwitynacji. Dotyczy to głównie białek niestabilnych, które nie uzyskały właściwej struktury lub utraciły ją w warunkach stresu komórkowego.

W wyniku degradacji w proteasomie powstają na ogół bardzo krótkie peptydy. Zdarza się jednak, że produktem trawienia w proteasomie jest funkcjonalna, biologicznie aktywna cząsteczka. Niektóre czynniki transkrypcyjne, na przykład składowe NF- $\kappa$ B syntetyzowane są jako nieaktywne prekursorzy. Ich ubikwitynacja i degradacja w proteasomie konieczna jest do przekształcenia w formę aktywną. Taki mechanizm selektywnej degradacji znany jest jako regulowana obróbka zależna od ubikwityny/proteasomu (RUP, ang. *regulated ubiquitin/proteasome dependent processing*).

## Podział komórki

### 7.1 Cykl komórkowy

Dla zrozumienia molekularnego mechanizmu podziału komórki ważne jest poznanie jej cyklu życiowego, czyli cyklu komórkowego. Składa się on z czterech faz: **G<sub>1</sub>**, **S**, **G<sub>2</sub>** oraz **M**, gdzie „G” oznacza przerwę (ang. *gap*), „S” - syntezę, a „M” - mitozę. Komórka po podziale może rozpocząć nową rundę podziałową lub pozostać na dłuższy okres w tak zwanej fazie spoczynkowej, **G<sub>0</sub>**. Komórka, po odpowiedniej stymulacji, może wyjść z fazy **G<sub>0</sub>** i ponownie wejść w fazę **G<sub>1</sub>** (rys. 7.1).

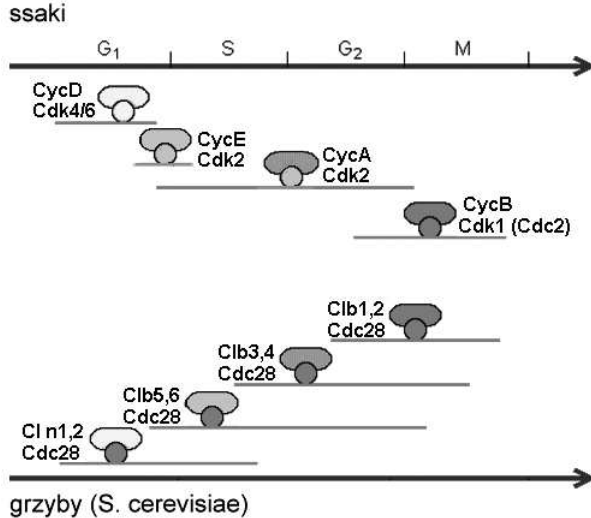


**Rysunek 7.1.** Fazy eukariotycznego cyklu komórkowego. W przypadku większości komórek ssaków cykl komórkowy trwa 12-24 godzin (bez fazy **G<sub>0</sub>**). Bakterie dzielą się znacznie szybciej, np. *E. coli*. - co 20-30 minut

#### 7.1.1 CDK i cykliny

Progresja cyklu komórkowego jest katalizowana przez kinazy zależne od cyklin (CDK; ang. *cyclin-dependent kinase*) (rys. 7.2). Jak sama nazwa wskazuje,

CDK są aktywowane przez specjalną klasę białek zwanych **cyklinami**. Kinazy CDK i cykliny to duże grupy białek. U ssaków różne kinazy CDK oznaczają się Cdk z kolejnym numerem, a cykliny - kolejnymi literami alfabetu. U grzybów CDK mają nazwę **Cdc** (ang. *cell division control*) i kolejny numer. Np. Cdc2 *S. pombe* jest odpowiednikiem Cdk1 ssaków. Natomiast cykliny grzybów to Cln1 do Cln3 i Clb1 do Clb6.



**Rysunek 7.2.** Kompleksy cyklina-CDK zaangażowane w różne fazy cyklu komórkowego u ssaków i u grzybów. Linia szara wskazuje etapy cyklu, w jakich poszczególne kompleksy są obecne w komórce. U drożdży cykl komórkowy rozpoczyna się po związaniu Cln1 lub Cln2 do Cdc28. Następnie Clb5 lub Clb6 wiąże się do Cdc28, co powoduje postępowanie cyklu do przodu. W końcowej fazie biorą udział Clb1 oraz Clb2. U ssaków cykl komórkowy rozpoczyna się po utworzeniu kompleksu Cykliny D (CycD) z Cdk4 lub Cdk6. Etap końcowy jest katalizowany przez kompleks Cykliny B (CycB) z Cdk1. Kompleks ten jest znany jako czynnik pobudzający dojrzewanie (MPF; ang. *maturation promoting factor* lub *mitosis promoting factor*)

### 7.1.2 Mechanizm rozpoczęcia i zakończenia fazy S

W fazie S zachodzi replikacja DNA. Jak wspomniano w rozdziale 4.1 replikacja DNA jest uruchamiana wtedy, gdy w komórce pojawiają się wszystkie potrzebne białka. U ssaków ekspresja tych białek aktywowana jest przez czynnik transkrypcyjny **E2F**, który z kolei regulowany jest przez białko pRB (retinoblastoma). Wiązanie pRB do E2F inaktywuje jego aktywność transkrypcyjną, a więc hamuje replikację DNA. Tak więc białko pRB odgrywa kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego - nazywane jest głównym hamulcem cyklu komórkowego (ang. „*master brake of cell division*”) (rys. 7.3).



**Rysunek 7.3.** Rozpoczęcie i zakończenie fazy S. W trakcie fazy  $G_0$  lub wczesnej fazy  $G_1$  czynnik transkrypcyjny E2F jest inaktywowany przez pRB. W późnej fazie  $G_1$  kompleks Cykliny D-Cdk4 fosforyluje w specyficznych miejscach białko pRB, co prowadzi do uwolnienia E2F. Aktywny on geny potrzebne do rozpoczęcia syntezy DNA. E2F stymuluje również produkcję Cykliny E, Cykliny A i swoją własną. Kompleks Cykliny E-Cdk2 również może fosforylować pRB przyspieszając fazę syntezy DNA. Z drugiej strony, kompleks Cykliny A-Cdk2 może fosforylować E2F, hamując jego aktywność transkrypcyjną, czego skutkiem jest zakończenie replikacji DNA. Należy podkreślić, że kompleks Cykliny E-Cdk2 nie może fosforylować E2F. Gdyby tak było, replikacja DNA mogłaby zakończyć się przedwcześnie

## 7.2 Mitoza

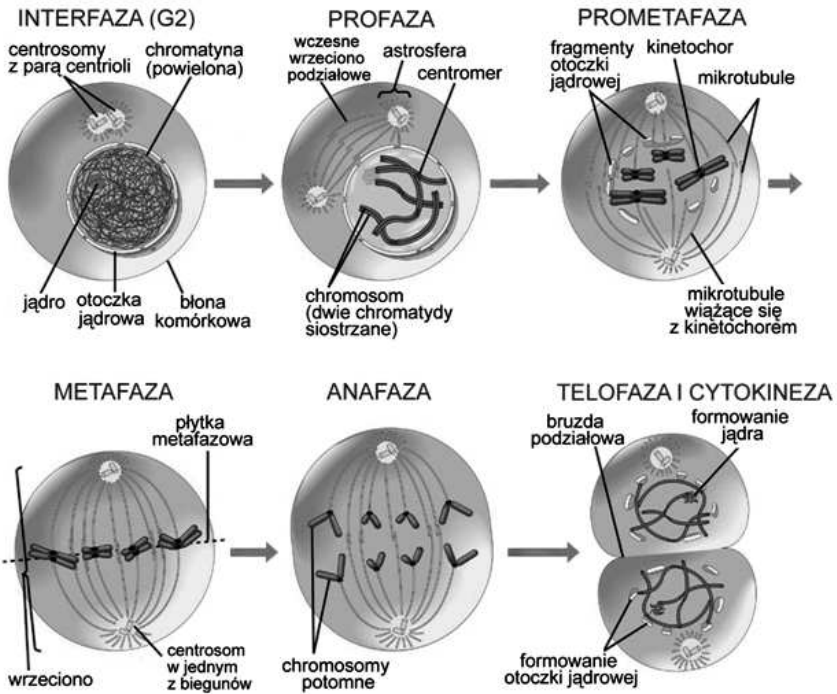
Mitoza jest podziałem komórki prowadzącym do powstania dwóch genetycznie równoważnych komórek potomnych (rys. 7.4; rys. 1.8). Okres między mitozami nazywany jest **interfazą** (obejmuje fazy  $G_1$ , S i  $G_2$ ). W fazie  $G_2$  DNA jest już powielone i liczba chromosomów wynosi  $4n$ . W czasie interfazy chromosomy nie są widoczne w mikroskopie świetlnym, ponieważ chromatyna jest rozproszona w jądrze komórkowym.

### 7.2.1 MPF i inicjacja mitozy

Zmiany morfologiczne we wczesnym etapie mitozy wywołane są głównie przez fosforylację grupy spokrewnionych białek katalizowaną przez czynnik pobudzający mitozę (MPF, ang. *mitosis promoting factor*), który jest właściwie kompleksem cykliny B z Cdk1. Aktywowany MPF może fosforylować histony H1, co prowadzi do kondensacji chromatyny. MPF fosforyluje też laminy jądrowe (białka filamentowe blaszki jądrowej), co rozbija osłonkę jądrową. Struktura mikrotubul jest zależna od białek z nimi zasocjowanych (MAP; ang. *microtubule-associated proteins*), które również mogą być fosforylowane przez MPF, co prowadzi do utworzenia wrzeciona podziałowego. Aktywność MPF zależna jest od sposobu jego fosforylacji (rys. 7.5).

### 7.2.2 Mechanizm terminacji mitozy

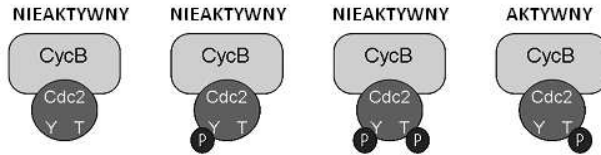
Mitoza kończy się po aktywacji białka degradującego cykliny (DBRP, ang. *destruction box recognition proteins*), które może degradować Cyklinę B i Cyklinę A (rys. 7.6). DBRP jest aktywowany przez fosforylację katalizowaną przez MPF (kompleks Cykliny B-Cdk1). W momencie mitozy aktywność MPF



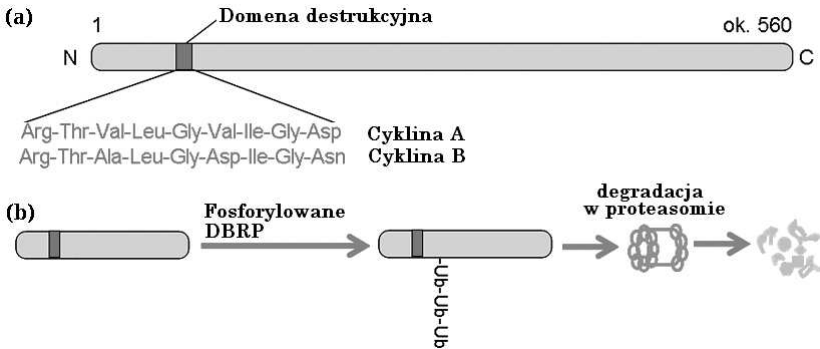
**Rysunek 7.4.** Etapy mitozy (dla uproszczenia pokazano tylko dwie pary chromosomów homologicznych). Na podstawie: [http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/mitosis\\_phases.html](http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/mitosis_phases.html)

1. **Profaza:** chromatyna kondensuje, organizując się w chromosomy. Dwie centriole wędrują do przeciwnych biegunów (ang. *poles*) komórki. Z każdej centrioli rozchodzą się promieniście mikrotubule, formując strukturę nazywaną wrzecionem podziałowym (ang. *mitotic spindle*). Pod koniec profazy osłonka jądrowa rozpada się na małe pęcherzyki.
2. **Metafaza:** chromosomy ustawiają się w płaszczyźnie równikowej komórki pomiędzy dwoma centriolami. Kierowane są przez mikrotubule przytwierdzone do kinetochoru obecnego w centromerze każdego chromosomu.
3. **Anafaza:** Siostrzane chromatydy rozdzielają się i oddalają od siebie. Rozdzielanie zachodzi równocześnie we wszystkich chromosomach. Kluczową rolę w tym procesie odgrywają mikrotubule związane z kinetochorem.
4. **Telofaza:** Chromosomy zaczynają rozwijać się - stają się mniej skondensowane. Wrzeciono zanika i pojawia się osłonka jądrowa. Komórka wydłuża się i ostatecznie dzieli się na dwie komórki potomne. Proces podziału komórki nazywany jest **cytokinezą**.

wzrasta do momentu kiedy fosforyluje on DBRP - w rezultacie hamując swoją aktywność. Przy braku aktywnego MPF grupy fosforanowe z lamin i pozostałych białek zostają usunięte przez fosfatazy. Prowadzi to do odtworzenia osłonki jądrowej i struktur komórki interfazowej.



**Rysunek 7.5.** Możliwości fosforylowania MPF (kompleksu cycB-Cdc2) i jego aktywność. Cdc2 jest synonimem Cdk1. Fosforylacja może zachodzić na tyrozynie (Y) albo treoninie (T). MPF jest aktywny tylko wtedy, gdy jest fosforylowany na swoistej treoninie



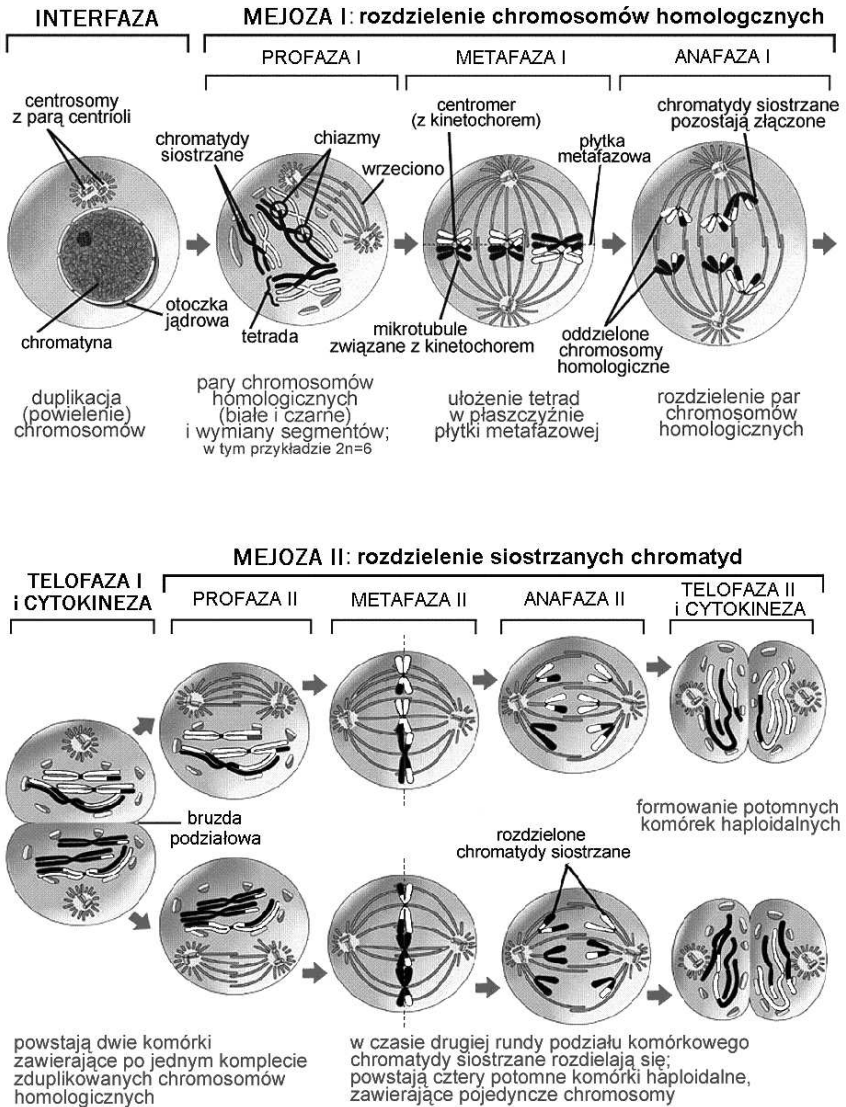
**Rysunek 7.6.** Degradacja Cykliny A i Cykliny B: (a) obie cykliny zawierają specjalną sekwencję nazywaną domeną destrukcyjną (ang. *destruction box*). Na rysunku przedstawiono przykładowo sekwencję występującą u żaby (*Xenopus*): (b) po fosforylacji białka degradującego cyklinę (DBRP) następuje degradacja cyklin poprzez przyłączenie ubikwityny (Ub) i degradację w proteasomach

## 7.3 Mejoza

Mejoza jest specjalnym typem podziału, który prowadzi do powstania czterech genetycznie nierównoważnych komórek potomnych zawierających połowę liczby chromosomów komórek rodzicielskich (czyli  $1n$ ). Powstają w ten sposób komórki rozrodcze, czyli żeńskie jaja i męskie plemniki (rys. 7.7).

Podczas mejozy zachodzą dwa następujące po sobie podziały komórki. Każdy składa się z czterech etapów podobnych do etapów mitozy. Pierwszy podział mejotyczny różni się jednak od mitozy w dwóch ważnych aspektach:

1. W metafazie I każda para siostrzanych chromatyd ustawia się wraz z parą homologiczną, tworząc dwie linie siostrzanych chromatyd w płaszczyźnie równikowej (w mitozie jest tylko jedna linia). Takie ustawienie nazywane jest koniugacją chromosomów (ang. *synapsis*). Na tym etapie zachodzi też **crossing-over**, czyli wymiana fragmentów chromatyd siostrzanych pomiędzy homologicznymi chromosomami (rozd. 7.4.1).



**Rysunek 7.7.** Schemat mejozy.

Na podstawie: [http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/meiosis\\_1.jpg](http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/meiosis_1.jpg)

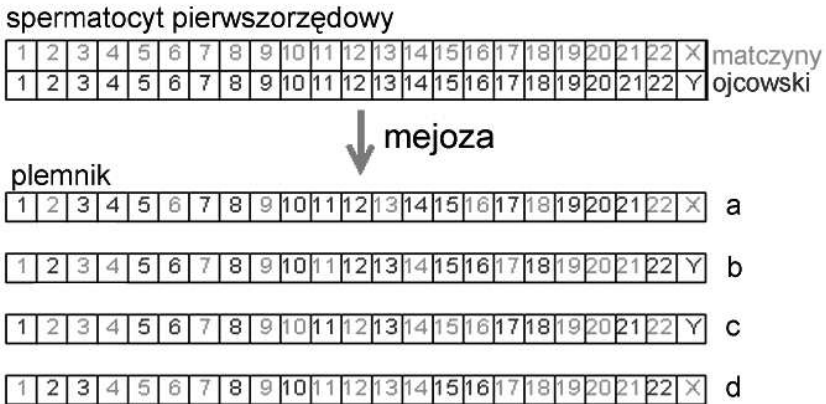
[http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/meiosis\\_2.jpg](http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/meiosis_2.jpg)

2. W anafazie I każda para siostrzanych chromatyd odsuwa się od swojej homologicznej pary, ale chromatyny siostrzane nie są rozdzielone.

Po pierwszym podziale liczba chromosomów w każdej komórce potomnej wynosi  $2n$ . Drugi podział meiotyczny wygląda podobnie jak mitoz, oprócz tego, że nie zachodzi replikacja DNA przed podziałem. Wynikiem podziałów jest uzyskanie komórek haploidalnych ( $1n$ ).

### 7.3.1 Niezależna segregacja chromosomów

W metafazie I mejozy pary chromosomów homologicznych (każdy składający się z dwóch siostrzanych chromatyd) ustawiają się wspólnie koło siebie. Jeden chromosom z pary (homolog matczyzny) pochodzi z jaja, zaś drugi chromosom z pary (homolog ojcowski) pochodzi z plemnika. Chromosomy homologiczne rozchodzą się do dwóch różnych komórek potomnych. Ponieważ pary chromosomów homologicznych ułożone są losowo, rozdzielane są do komórek potomnych w sposób przypadkowy. W rezultacie każda komórka potomna zawiera część chromosomów od ojca, a część od matki. W ludzkich komórkach jest możliwych 8,4 miliona ( $= 2^{23}$ ) kombinacji (rys. 7.8).



**Rysunek 7.8.** Ilustracja niezależnej segregacji. Plemniki powstają z dzielących się meiotycznie spermatocytów. Na 23 chromosomy (reprezentowane tutaj jako kwadraciki) obecne w jednym plemniku niektóre są dziedziczone po matce, inne po ojcu. Spośród 8,4 miliona możliwych kombinacji pokazano 4.

## 7.4 Rekombinacja DNA

Określenie rekombinacja DNA odnosi się do procesu, w którym segment DNA przenosi się z jednej cząsteczki DNA do innej. Występują głównie trzy typy rekombinacji:

1. Rekombinacja homologiczna (ang. *homologous recombination* albo *DNA crossover*) - zachodzi między dwoma homologicznymi cząsteczkami DNA.

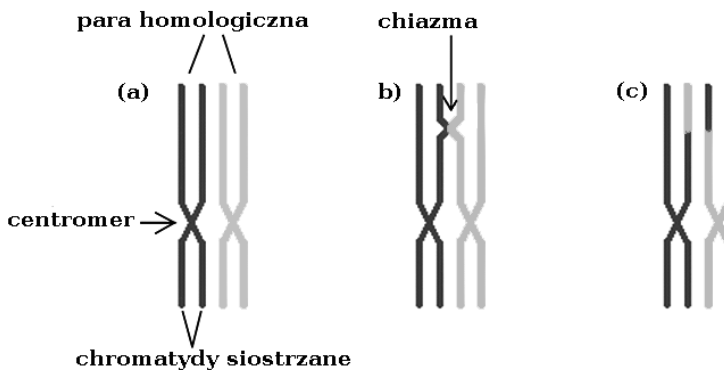


2. Rekombinacja zlokalizowana (ang. *site-specific recombination*) - zachodzi pomiędzy dwoma swoistymi, jednakowymi sekwencjami DNA, obecnymi w niehomologicznym DNA.
3. Transpozycja (ang. *transpositional recombination*) - kiedy mobilne elementy są włączane do docelowego DNA.

Rekombinacja homologiczna często ma miejsce w czasie mejozy. Inne typy rekombinacji nie są specyficznym związane z podziałem komórkowym.

#### 7.4.1 Rekombinacja homologiczna

Rekombinacja homologiczna zachodzi pomiędzy dwoma homologicznymi, czyli identycznymi albo podobnymi cząsteczkami DNA. Zachodzi w czasie mitozy (gdzie wykorzystywana jest do naprawy dwuniciowych pęknięć w DNA) oraz w profazie I mejozy (pachytenie), gdzie prowadzi do utworzenia nowych kombinacji sekwencji DNA (nazywana jest crossing-over). Crossing-over jest procesem o dużym znaczeniu dla różnorodności genetycznej, ponieważ prowadzi do powstania komórek potomnych o genotypie innym od rodzicielskiego. Polega na tworzeniu połączeń - chiazm - pomiędzy chromatydami sąsiadujących chromosomów homologicznych, a następnie rozrywaniu tych połączeń, tak że następuje wymiana ich odcinków (rys. 7.9).



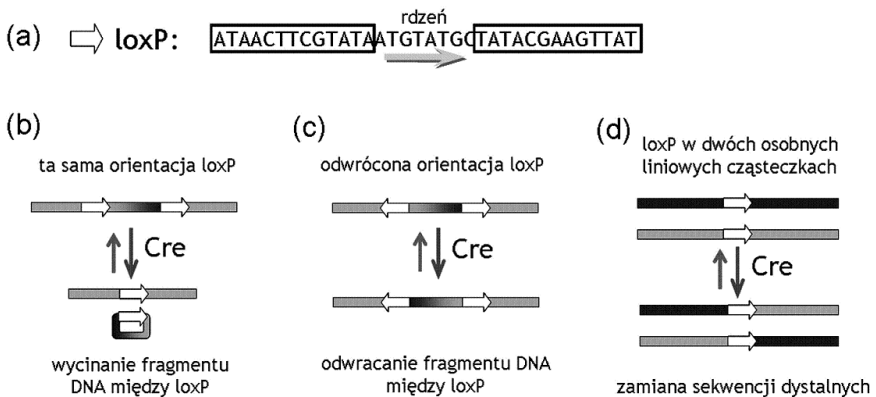
**Rysunek 7.9.** Crossing-over: (a) dwie homologiczne pary chromatyd siostrzanych ustawiają się naprzeciwko siebie; (b) dwa homologiczne ramiona łączą się, tworząc chiazmę; (c) ramiona wymieniają fragment DNA od chiazmy do końca chromosomu

Rekombinacja homologiczna jest wykorzystywana w biologii molekularnej jako technika służąca wprowadzeniu zmian genetycznych do organizmu. Dzięki umiejętności przeprowadzenia rekombinacji homologicznej w komórkach ssaków (prace Capecchiego i Smithies'a) oraz utrzymania w hodowli pierwotnych komórek zarodkowych (ES, ang. *embryonic stem cells*) i uzyskiwania zwierząt chimericznych (prace Martina Evans'a) w 1989 r. powstał pierwszy organizm z inaktywowanym genem (tzw. knock-out genowy). Prace te zostały uhonorowane Nagrodą Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny w 2007 roku.

### 7.4.2 Rekombinacja zlokalizowana

Rekombinacja zlokalizowana (ang. *site-specific recombination*) zachodzi między dwoma cząsteczkami DNA w obrębie krótkich, swoistych sekwencji DNA wykazujących pewien stopień homologii. Po raz pierwszy zaobserwowano taką rekombinację przy integracji DNA faga  $\alpha$  do genomu *E. coli*. Obie cząsteczki DNA zawierają sekwencję 5' - TTTATAC - 3' (nazywaną miejscem wiązania) umożliwiającą łączenie dwóch nici DNA na zasadzie parowania zasad. Następnie enzym integraza katalizuje powstanie dwóch pojedynczych pęknięć (po jednym w każdej cząsteczce DNA). Po translokacji wolnych końców integraza nacina dwie pozostałe nici i DNA faga zostaje włączone do genomu.

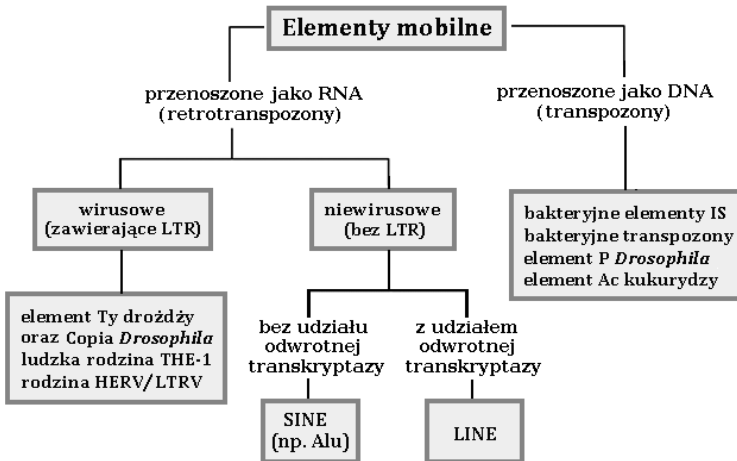
Rekombinacja zlokalizowana jest bardzo swoista, szybka, wydajna i przebiega bez udziału kofaktorów. Wykorzystywana jest jako narzędzie inżynierii genetycznej: umożliwia manipulację materiałem genetycznym w celu badania funkcji genów. Szczególnie rozpowszechniony jest tak zwany system Cre-loxP. Rekombinaza Cre (ang. *causes recombination*) z faga P1 infekującego *E. coli* rozpoznaje sekwencję nazywaną loxP (ang. *locus of crossing-over*), a jej naturalną funkcją jest rozdzielanie złączonych razem genomów faga. Sekwencja loxP, o całkowitej długości 34 pz, to dwa odwrócone powtórzenia po 13 pz oraz asymetryczny rdzeń o długości 8 pz wprowadzający orientację do loxP. System Cre-loxP umożliwia wycięcie lub wstawienie fragmentu DNA z/do innej cząsteczki, obrócenie fragmentu DNA zawartego pomiędzy dwoma miejscami loxP obecnymi w jednej cząsteczce DNA lub wymianę sekwencji dystalnych w dwóch osobnych, liniowych cząsteczkach DNA (rys. 7.10).



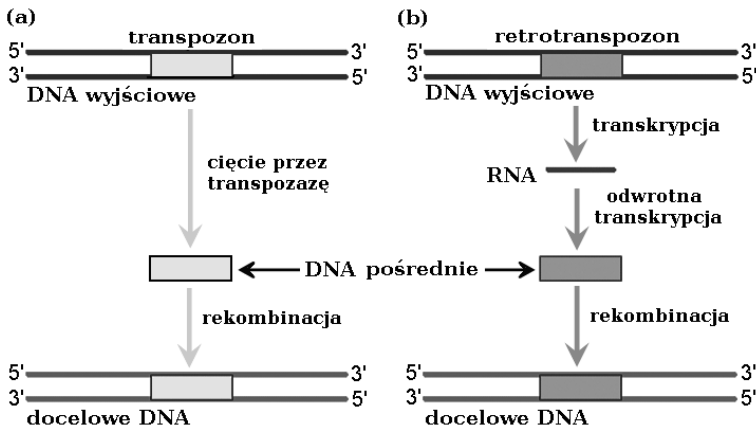
**Rysunek 7.10.** Charakterystyka systemu Cre-loxP: (a) struktura loxP; (b) rekombinaza wycina fragment DNA zawarty pomiędzy dwoma sekwencjami loxP o tej samej orientacji obecnymi w liniowej cząsteczce DNA; (c) gdy loxP jest zwrócone przeciwnie, rekombinaza obraca fragment DNA zawarty pomiędzy; (d) gdy loxP znajduje się w dwóch różnych cząsteczkach DNA, rekombinaza wymienia sekwencje dystalne. Reakcja rekombinacji może zachodzić w obie strony. Sekwencje loxP oznaczono białą strzałką blokową

### 7.4.3 Transpozycja

Transpozycja, czyli przemieszczanie elementów mobilnych z jednego miejsca w genomie do innego, może przebiegać dwoma sposobami: poprzez bezpośrednie przeniesienie DNA lub poprzez RNA (rozdz. 5.9). Mobilne elementy DNA nazywane są transpozonami, natomiast te, które przenoszone są poprzez RNA - retrotranspozonami (rys. 7.11 i 7.12).



Rysunek 7.11. Klasyfikacja elementów mobilnych



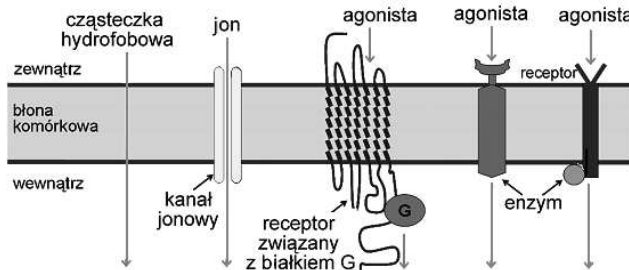
Rysunek 7.12. Mechanizm transpozycji: (a) transpozon jest wycinany z DNA wyjściowego za pomocą specjalnego enzymu (u bakterii jest to transpozaza, o aktywności nukleazy i ligazy), po czym jest wstawiony do DNA docelowego; (b) Retrotranspozony są najpierw transkrybowane z DNA wyjściowego, a powstały RNA jest „przepisywany” na DNA przez odwrotną transkryptazę i wstawiany do DNA docelowego

## Szlaki sygnałowe i apoptoza

Komórki komunikują się ze swoim otoczeniem i odpowiadają na sygnały płynące z zewnątrz. Sygnał zewnętrzny może być przekazany do komórki na cztery różne sposoby (rys. 8.1):

1. Jako cząsteczka hydrofobowa bezpośrednio przez błonę komórkową;
2. Przez kanały jonowe;
3. Przez receptory związane z białkiem G;
4. Przez receptory będące enzymami lub związane z enzymami.

W wielu przypadkach sygnał zewnętrzny dociera do jądra komórkowego i wywiera wpływ na ekspresję genów.



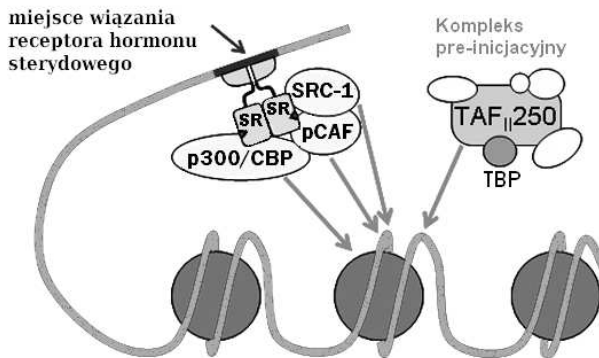
Rysunek 8.1. Główne szlaki przekazywania sygnału do wnętrza komórki

### 8.1 Sygnalizacja przez cząsteczki hydrofobowe

Cząsteczki hydrofobowe, takie jak tlenek azotu, kwas arachidonowy czy steroidy (steroidy), odgrywają ważną rolę w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, mogą przemieszczać się do lub z komórki bezpośrednio przez błonę komórkową. W przeciwieństwie do innych kaskad sygnałowych działających w obrębie jednej komórki, powstający pod wpływem sygnałów zewnętrznych NO lub kwas arachidonowy mogą opuścić komórkę i działać na komórki sąsiednie.



Hormony sterydowe (glikokortykoidy, mineralokortykoidy, androgeny oraz hormony płciowe żeńskie; ogólna struktura na rys. 1.6 w rozdz. 1.2.2) należą do nadrodziny hormonów rozpuszczalnych w tłuszczach, do której zalicza się również hormony tyroidowe, retinoidy (pochodne witaminy A) i witaminę D3. Większość z nich wnika do komórki, gdzie wiąże się ze swoim receptorem obecnym w cytoplazmie lub w jądrze (tylko niektóre hormony sterydowe wiążą się ze specyficznymi receptorami białkowymi w błonie komórkowej). Receptor hormonu sterydowego po związaniu ligandu (hormonu) zwykle tworzy formę dimeryczną. Główną rolą hormonów rozpuszczalnych w tłuszczach jest regulowanie transkrypcji: jeżeli kompleks ligand - receptor powstaje w cytoplazmie, musi być przetransportowany do jądra, gdzie działa jako czynnik transkrypcyjny. Wiąże się do swoistych sekwencji obecnych w regionach regulatorowych genów i aktywuje lub hamuje ich transkrypcję (rys. 8.4).



**Rysunek 8.4.** Mechanizm aktywacji transkrypcji przez receptory hormonów sterydowych. Receptor hormonu sterydowego (SR) po przyłączeniu ligandu (hormonu sterydowego) tworzy dimer, który po związaniu z DNA działa wspólnie z koaktywatorami (SRC - ang. *steroid receptor coactivator*) i acetylotransferazami histonowymi (p300/CBP i p300/CBP-associated factor - pCAF), co stymuluje transkrypcję. Pod nieobecność ligandu niektóre receptory sterydowe wiążą korepresory (np. SMRT i NCoR) i deacetylazy histonowe, co prowadzi do hamowania transkrypcji

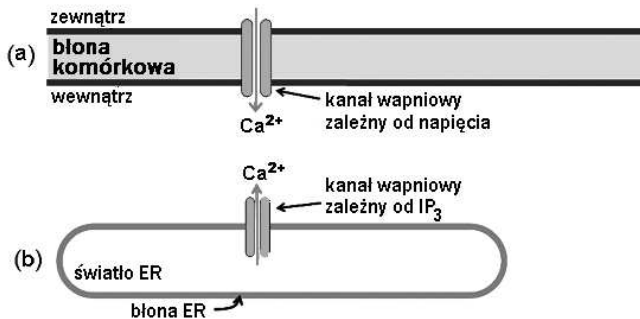
## 8.2 Przekazywanie sygnału przez kanały jonowe

Kanały jonowe zbudowane są z białek wbudowanych w błonę fosfolipidową - posiadają zdolność do kontrolowanego przepuszczania jonów (rozdz. 2.4.2.3). Hydrofilowa przestrzeń wewnątrz kanału (pora wodna) ulega otwarciu lub zamknięciu w zależności od czynników zewnętrznych, co umożliwia przenikanie jonów przez błonę komórkową. Ze względu na rodzaj czynnika otwierającego (czyli aktywującego), kanały jonowe podzielono na trzy zasadnicze grupy: kanały zależne od napięcia, kanały zależne od ligandu i kanały aktywowane naprężeniem mechanicznym. Ze względu na **selektywność**, czyli zdolność do

przepuszczania ściśle określonych typów jonów, kanały podzielono na kationowe lub anionowe, a gdy kanały są jeszcze bardziej „wyspecjalizowane” - określane są jako sodowe, potasowe itd. Trzeba jednak zaznaczyć, że określenie np. kanał sodowy oznacza jedynie, że kanał ten najlepiej przepuszcza jony sodu. Oprócz nich, choć znacznie gorzej, mogą przez ten kanał przechodzić także inne kationy.

Większość żywych komórek utrzymuje stałą wartość różnicy potencjałów pomiędzy swym wnętrzem a otoczeniem nazywaną **potencjałem spoczynkowym**. Dla większości komórek najważniejszymi z punktu widzenia potencjału spoczynkowego są jony sodu, potasu oraz chlorkowe. Zwykle na zewnątrz komórki stężenie jonów sodowych i chlorkowych jest większe niż wewnątrz komórki, natomiast stężenie jonów potasu jest większe wewnątrz komórki. Przez błonę komórki zachodzi swobodna dyfuzja jonów, a utrzymanie stałej różnicy stężeń jonów pomiędzy wnętrzem a otoczeniem komórki jest możliwe dzięki aktywnemu (tzn. wymagającemu nakładu energii) transportowi zachodzącemu w przeciwnym niż dyfuzja kierunku. Klasycznym przykładem takiego aktywnego mechanizmu transportu jest **pompa sodowo-potasowa**.

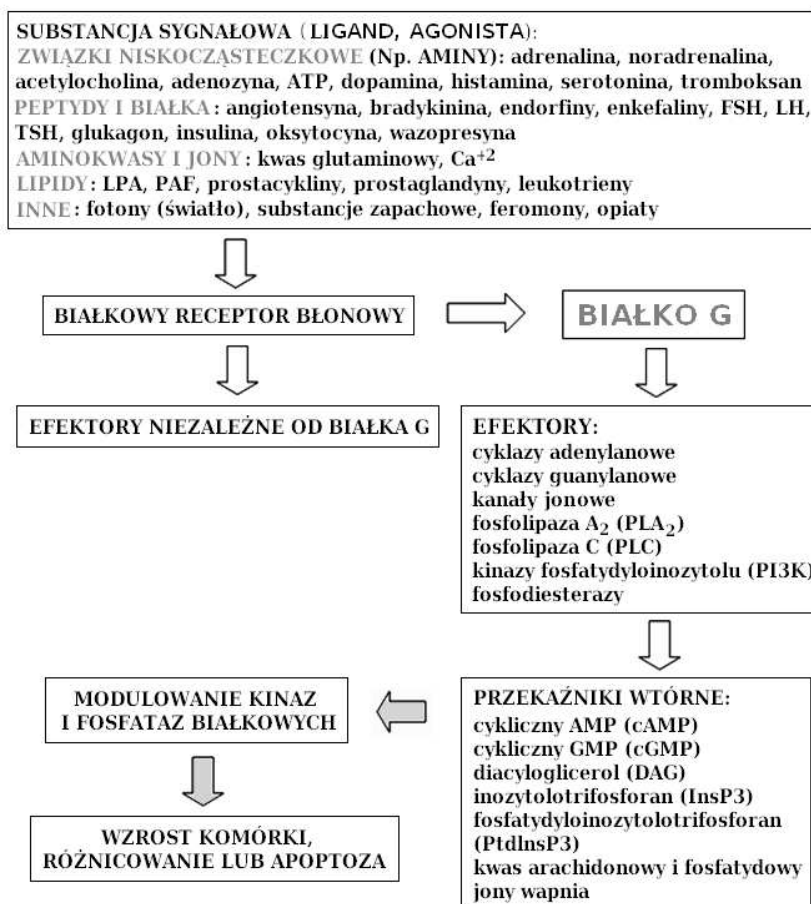
Niektóre z komórek (np. komórki nerwowe), oprócz utrzymywania potencjału spoczynkowego są zdolne dodatkowo do szybkiej i krótkotrwałej zmiany potencjału błonowego (są to tzw. komórki pobudliwe). Chwilowa, impulsowa zmiana potencjału błony komórkowej to **potencjał czynnościowy**. Powstaje on w komórce pobudliwej, gdy potencjał jej błony przekroczy pewną graniczną wartość. Wielokrotna generacja potencjałów czynnościowych umożliwiająca przepływ jonów sodu oraz potasu w kierunku zgodnym z różnicą stężeń w konsekwencji prowadziłaby do wyrównania zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych stężeń tych jonów. We wszystkich komórkach pobudliwych istnieje jednak mechanizm aktywnego transportu pompujący jony wbrew różnicy stężeń i utrzymujący w ten sposób stężenia jonów na stałym poziomie.



**Rysunek 8.5.** Dwa typy kanałów wapniowych: (a) kanał wapniowy zależny od napięcia zlokalizowany w błonie komórkowej; (b) kanał wapniowy zależny od ligandu (IP<sub>3</sub> - trifosforan inozytoli) zlokalizowany w błonie relikulum endoplazmatycznego (ER)

Ważną rolę w komórce odgrywają również jony wapnia, regulując między innymi pracę wielu enzymów (np. kalmodulin). Stężenie jonów wapnia w cytoplazmie jest zwykle bardzo niskie, a wewnątrzkomórkowy wapń gromadzony jest w retikulum endoplazmatycznym i mitochondriach. Jony wapnia mogą dostać się do cytoplazmy z zewnątrz komórki przez zależne od napięcia kanały wapniowe obecne w błonie komórkowej lub mogą być uwolnione z retikulum endoplazmatycznego przez kanały zależne od ligandu (rys. 8.5).

### 8.3 Przekazywanie sygnału przez receptory związane z białkiem G



Rysunek 8.6. Schemat przekazywania sygnału w komórce poprzez receptor związany z białkiem G

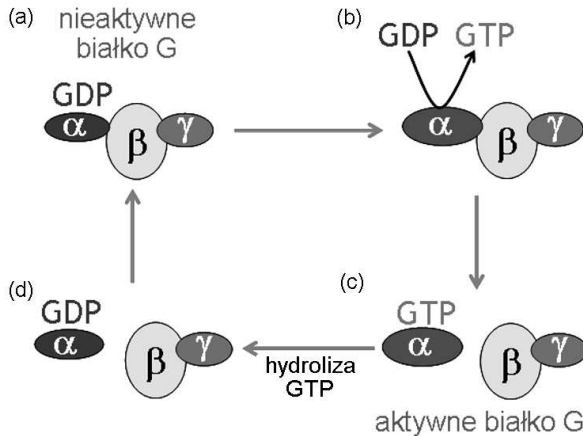


### 8.3.1 Receptory związane z białkiem G

Receptory związane z białkiem G (ang. *G protein-coupled receptors, GPCRs*) to duża rodzina białek transbłonowych (u ludzi około 350 białek) działających jako receptory dla cząsteczek zewnątrzkomórkowych aktywujących kaskadę sygnałową wewnątrz komórki. Receptory takie występują tylko u Eukariota i mogą wiązać się z szeregiem ligandów wymienionych na schemacie przedstawionym na rysunku 8.6 (każdy z ligandów rozpoznaje swój własny receptor). Substancja łącząca się z receptorem (ligand) i wywołująca reakcję w komórce nazywana jest **agonistą**. Jest przeciwieństwem **antagonisty**, który łącząc się z receptorem, blokuje go, nie wywołując reakcji. Antagonista blokuje także receptor przed aktywowaniem go przez agonistę.

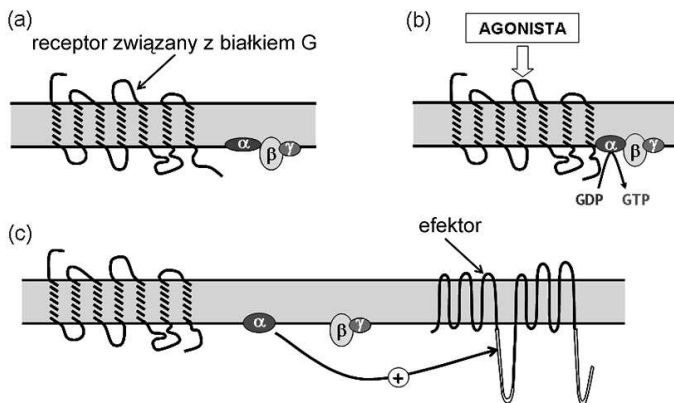
### 8.3.2 Białka G

Związanie ligandu do receptora GPCR powoduje zmiany konformacyjne prowadzące do zmiany GDP na GTP w białku G (ang. *GTP-binding protein*) zasocjowanym z receptorem, przez co z formy nieaktywnej przechodzi ono w formę aktywną (rys. 8.7). Białko G zasocjowane z receptorem GPCR należy do rodziny heterotrimerycznych białek G (trimer z podjednostki  $\alpha$  oraz tworzą-



**Rysunek 8.7.** Zmiany pomiędzy nieaktywną i aktywną formą białka G: (a) w formie nieaktywnej podjednostka  $\alpha$  zasocjowana jest z GDP (difosforanem guanozyny); (b) oddziaływania pomiędzy receptorem aktywowanym przez agonistę a podjednostką  $\alpha$  prowadzą do zwolnienia GDP. W wolnym miejscu wiąże się GTP (jego stężenie w komórce jest dużo wyższe niż stężenie GDP); (c) związana z GTP podjednostka  $\alpha$  ma małe powinowactwo do kompleksu podjednostek  $\beta\gamma$ , co prowadzi do oddzielenia podjednostek, dzięki czemu mogą one aktywować kolejne cząsteczki sygnałowe; (d) ponieważ podjednostka  $\alpha$  ma aktywność GTP-azy, hydrolizuje GTP do GDP

cych trwałe kompleksy podjednostek  $\beta$  i  $\gamma$ ), zasocjowane jest z błoną komórkową i pełni rolę „tablicy rozdzielczej” na drodze pomiędzy receptorem a efekтором (rys. 8.8). Białka G są bardzo zróżnicowane: samych genów kodujących podjednostki  $\alpha$  sklonowano dotychczas kilkanaście; również podjednostki  $\beta$  i  $\gamma$  mogą występować w różnych wariantach (Tabela 8.1).



**Rysunek 8.8.** Przekazywanie sygnału z receptora związanego z białkiem G na efektor: (a) przed związaniem agonisty do receptora trzy podjednostki białka G tworzą kompleks; (b) po związaniu agonisty (w miejscu oznaczonym strzałką blokową) receptor wpływa na białko G, zmieniając GDP na GTP, przez co podjednostka staje się aktywna; (c) dochodzi do oddzielenia podjednostki  $\alpha$  od kompleksu  $\beta\gamma$  i jej oddziaływania z białkiem efektorowym (na tym rysunku pokazano oddziaływanie z cyklazą adenylanową odpowiedzialną za produkcję cAMP). Zarówno podjednostka  $\alpha$ , jak i kompleks  $\beta\gamma$  mogą oddziaływać z różnymi efektorami (wymienionymi na rys. 8.6)

### 8.3.3 Efekторы i przekaźniki wtórne

Dalszy wpływ białek G na procesy komórkowe przebiega za pośrednictwem tak zwanych efektorów i przekaźników wtórnych (wymienionych na schemacie na rysunku 8.6). W tabeli 8.1 podano główne efekторы, na które działają podjednostki  $\alpha$ . Również kompleks  $\beta\gamma$  może działać na takie same efekторы. Cyklaza adenylanowa, będąca białkiem błonowym, katalizuje przekształcanie ATP do cyklicznego cAMP, jednego z ważniejszych przekaźników wtórnych (rys. 8.2; rozdz. 8.5.1). Natomiast cyklaza guanylowa, występująca zarówno w formie błonowej, jak i cytozolowej, katalizuje powstanie cGMP. Fosfolipaza  $A_2$  (PLA<sub>2</sub>) trawi fosfolipidy, generując powstanie kwasu arachidonowego (rys. 8.3). Fosfolipaza C (PLC) także trawi fosfolipidy, ale w innym miejscu niż PLA<sub>2</sub>, prowadząc do powstania diacyloglicerolu (DAG) (rys. 8.9). Spośród wielu różnych PLC ( $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  i innych) celem działania białka G jest PLC- $\beta$ .

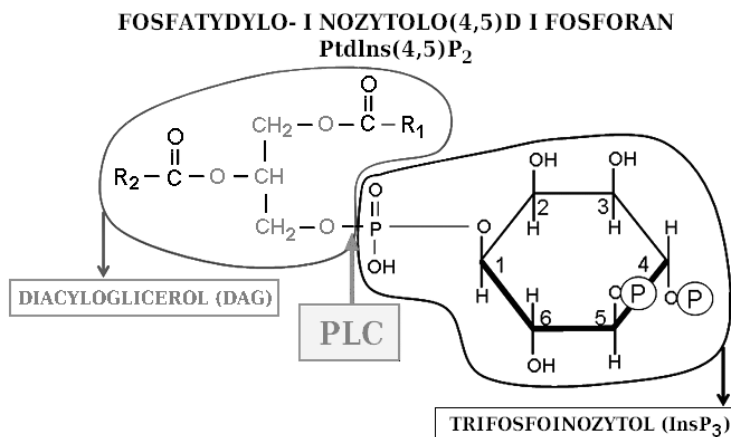
**Tabela 8.1.** Podjednostki  $\alpha$  białka G i efekторы, na które działają

Klasa	Wariant genu	Efektor	Wrażliwość na toksyny
$G_s$	$\alpha_{s(s)}$ $\alpha_{s(L)}$	(+) cyklaza adenylanowa (+) kanał wapniowy (-) kanał sodowy	Cholery
	$\alpha_{olf}$	(+) cyklaza adenylanowa	Cholery
$G_i$	$\alpha_{i1}$ $\alpha_{i2}$ $\alpha_{i3}$	(-) cyklaza adenylanowa (-) kanał wapniowy (+) kanał sodowy	Krztuśca
	$\alpha_{oa}$ $\alpha_{ob}$	(-) kanał wapniowy (+) fosfolipaza C (+) fosfolipaza A <sub>2</sub>	Krztuśca
	$\alpha_{t1}$ $\alpha_{t2}$	(+) fosfodiesteraza cGMP	Cholery i krztuśca
	$\alpha_g$	(+) fosfolipaza C	Krztuśca
	$\alpha_2$	(-) cyklaza adenylanowa	
$G_q$	$\alpha_q$ $\alpha_{11}$ $\alpha_{14}$ $\alpha_{15}$ $\alpha_{16}$	(+) fosfolipaza C	
	$G_{12}$	$\alpha_{12}$ $\alpha_{13}$	?

**Objaśnienia:** (+) aktywacja; (-) hamowanie. Po związaniu toksyny cholery, GTP związany z  $G_\alpha$  nie może być hydrolizowany do GDP i białko G pozostaje cały czas w formie aktywnej. Natomiast toksyna krztuśca zapobiega zwalnianiu GDP z podjednostki  $\alpha$  i białko G jest zablokowane w stanie nieaktywnym.

## 8.4 Przekazywanie sygnału przez enzymy związane z błoną komórkową

Enzymy błonowe lub związane z receptorami błonowymi to głównie kinazy tyrozynowe lub serynowo/treoninowe. Kinazy te fosforylują w białkach docelowych odpowiednio tyrozynę lub serynę albo treoninę; mogą fosforylować same siebie (autofosforylacja). Fosforylacja białka prowadzi do zmiany jego aktywności enzymatycznej bądź lokalizacji wewnątrzkomórkowej lub oddziaływań z innymi białkami. Kinazy białkowe występują także w cytozolu jako enzymy niezwiązane z receptorami.

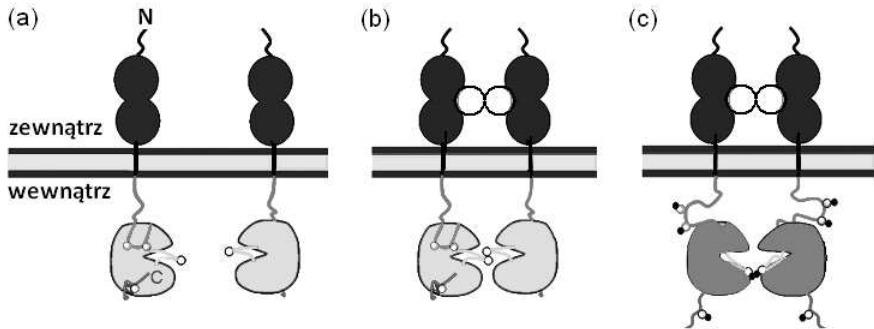


**Rysunek 8.9.** Przykładowa reakcja katalizowana przez fosfolipazę C (PLC): hydrolizując fosfatydylo-inozytolodifosforan generuje powstanie przekazników wtórnych: diacyloglicerolu (DAG) i trifosfoinozytoli (InsP<sub>3</sub>). DAG pozostaje w błonie i aktywuje kinazę białkową C (PKC)

Nieprawidłowe działanie kinaz receptorowych jest częstą przyczyną chorób, zwłaszcza nowotworowych. Dzięki postępowi wiedzy o roli kinaz w sygnalizacji wewnątrzkomórkowej opracowuje się nowe terapie; kilka leków będących inhibitorami kinaz białkowych jest już dopuszczonych do leczenia, inne leki są w stadium prób klinicznych.

#### 8.4.1 Receptorowe kinazy tyrozynowe

Spośród 91 zidentyfikowanych kinaz tyrozynowych 59 jest formami receptorowymi zasocjowanymi z błoną komórkową. Są to białka transmembranowe: domena o aktywności kinazy tyrozynowej znajduje się po stronie cytoplazmatycznej (razem z domeną regulatorową). Po zewnętrznej stronie błony zlokalizowana jest domena wiążąca ligand. Może być ona oddzielną jednostką związaną z resztą receptora przez mostek disiarczkowy. Receptorowe kinazy tyrozynowe biorą udział w przekazywaniu sygnału do wnętrza komórki, a ich aktywność jest niezwykle istotna w regulacji podziałów komórkowych, różnicowaniu oraz morfogenezie. Działają przede wszystkim jako receptory czynników wzrostu, takich jak np. EGF - czynnik wzrostu naskórka (ang. *Epidermal Growth Factor*), VEGF - czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*), PDGF - płytkowy czynnik wzrostu (ang. *Platelet-derived growth factor*), insulina, FGF - czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *Fibroblast Growth Factor*), M-CSF - czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (ang. *Macrophage Colony-Stimulating Factor*).



**Rysunek 8.10.** Ogólny model regulacji aktywności receptorowych kinaz tyrozynowych: (a) pod nieobecność ligandu domena kinazy tyrozynowej receptora (szary) utrzymuje podstawową, niską aktywność dzięki inhibitorowym oddziaływaniom z regionem sąsiadującym z błoną i z końcem karboksylowym. Ponadto segment aktywacyjny ma strukturę blokującą dostęp do centrum katalitycznego; (b) po związaniu ligandu (biały) i dimeryzacji domen zewnętrznych (czarne), domeny cytoplazmatyczne ustawiają się koło siebie, co ułatwia *trans*-autofosforylację tyrozyn w regionie sąsiadującym z błoną, w segmencie aktywacyjnym i w końcu karboksylowym; (c) po fosforylacji (czarne punkty) i zmianie struktury segmentu inhibitorowego, domena kinazowa staje się w pełni aktywna (szary- ciemny). Fosfotyrozyny oddziałują następnie z białkami zawierającymi domeny SH2 lub domeny wiążące fosfotyrozyny.

Podstawa: [http://www.nature.com/nrm/journal/v5/n6/fig\\_tab/nrm1399\\_F1.html](http://www.nature.com/nrm/journal/v5/n6/fig_tab/nrm1399_F1.html)  
 Hubbard SR (2004) Juxtamembrane autoinhibition in receptor tyrosine kinases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 5, 464-471

Związanie ligandu do receptora prowadzi do oligomeryzacji (przeważnie dimeryzacji) monomerycznej kinazy receptorowej lub stabilizacji już istniejących luźnych dimerów. W następnej kolejności zachodzi *trans*-autofosforylacja kinaz (czyli fosforylacja sąsiedniej kinazy w dimerze). Generowane na skutek fosforylacji zmiany w strukturze przestrzennej powodują otwarcie domeny kinazowej i związanie ATP w centrum katalitycznym (rys. 8.10). Aktywna kinaza tyrozynowa fosforyluje swoiste białka docelowe - często są to również enzymy, np. cytoplazmatyczne kinazy tyrozynowe. Uruchamia to kaskadę kinaz, w której fosforylowane i aktywowane są kolejne typy kinaz. W efekcie prowadzi to do fosforylacji i aktywacji lub inaktywacji czynników transkrypcyjnych i zmiany ekspresji swoistych genów.

Wiele ligandów receptorowych kinaz tyrozynowych ma szeroki zakres działania. Również niektóre receptory mogą tworzyć heterodimery z podobnymi, ale nie identycznymi kinazami. W rezultacie odpowiedź na sygnał zewnątrzkomórkowy może być bardzo zróżnicowana.

Komórka musi mieć możliwość zatrzymania odpowiedzi na sygnał. Stała aktywność receptorów np. czynników wzrostu prowadziłyby do niekontrolowanych podziałów, w rezultacie zaś do nowotworzenia. Kompleks ligand-receptor w przypadku receptorowych kinaz tyrozynowych jest pochłaniany i niszczone na drodze endocytozy receptorowej.

Klasa kinaz tyrozynowych werbowanych do receptora dopiero po przyłączeniu do niego ligandu bierze udział w kaskadach sygnałowych uruchamianych między innymi przez cytokiny. **Cytokiny** są cząsteczkami białkowymi wpływającymi na wzrost, proliferację i pobudzenie komórek biorących udział w odpowiedzi odpornościowej oraz komórek krwiotwórczych (hematopoetycznych). Jedną z kinaz tyrozynowych wiążących się z receptorem po związaniu ligandu jest kinaza JAK (ang. *Janus kinase*) regulująca aktywność białek STAT (rozdz. 8.5.3).

#### 8.4.2 Receptorowe kinazy serynowo-treoninowe

Co najmniej 125 z ponad 500 ludzkich kinaz białkowych stanowią kinazy serynowo-treoninowe (STK). Ich aktywność jest regulowana przez cAMP/ cGMP, diacyloglicerol (DAG),  $\text{Ca}^{2+}$ /kalmodulinę czy uszkodzenia DNA. STK fosforylują seryny lub treoniny w białkach docelowych, ale o fosforylacji konkretnego aminokwasu decyduje również jego sąsiedztwo tworzące łącznie tzw. sekwencję konsensusową (ang. *consensus sequence*) rozpoznawaną przez kinazy.

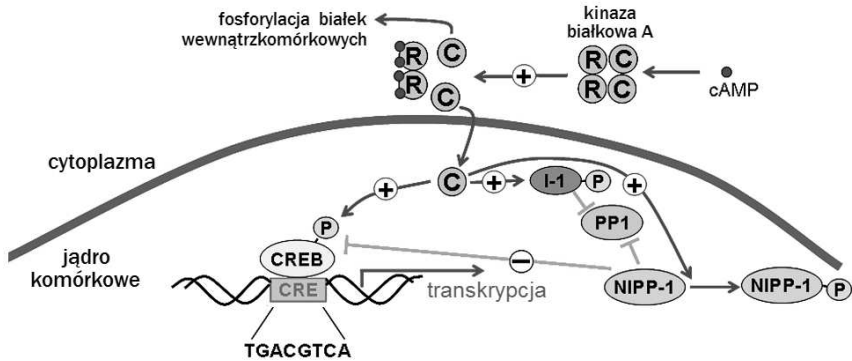
Receptorowe kinazy serynowo/treoninowe to głównie kinazy przekazujące sygnał indukowany przez czynniki wzrostu należące do rodziny TGF- $\beta$  (ang. *transforming growth factor*). Występują jako heterodimery złożone z receptora typu I i typu II. Domena wiążąca ligand obecna jest w receptorze typu II. Receptor typu II wiąże ligand, po czym rekrutuje receptor typu I i go fosforyluje. Aktywowany w ten sposób receptor typu I fosforyluje swoiście białka SMAD, które po przetransportowaniu do jądra regulują ekspresję genów.

## 8.5 Sygnalizacja wewnątrzkomórkowa

Droga sygnału w komórce na każdym etapie może zostać zmieniona przez sygnał płynący z innej ścieżki sygnałowej. Wzajemne oddziaływania (pozytywne oraz negatywne) układów wtórnych przekaźników (tzw. *cross-talk*) rzutują na końcową aktywność poszczególnych systemów i zależną od nich odpowiedź biologiczną. Poznano wiele szlaków sygnałowych w komórce, są to jednak układy dynamiczne i mogą różnie przebiegać w różnych typach komórek. Poniżej opisano kilka przykładów lepiej poznanych sygnalizacji wewnątrzkomórkowych.

### 8.5.1 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem cAMP

Cykliczny AMP wpływa na funkcjonowanie kinazy białkowej A (PKA), kanałów jonowych zależnych od cyklicznych nukleotydów oraz innych czynników. Kinaza białkowa A jest głównym celem cAMP. PKA występuje w cytoplazmie w formie nieaktywnej jako tetramer (R2C2) składający się z dwóch podjednostek katalitycznych (C) i dwóch podjednostek regulatorowych (R). Przeważnie zlokalizowana jest w przestrzeni wokołodądowej (dzięki białku AKAP -



**Rysunek 8.11.** Przykład złożoności procesów zależnych od cAMP/PKA. PKA (kinaza białkowa zależna od cAMP) składa się z dwóch podjednostek katalitycznych (C) oraz dwóch podjednostek regulatorowych (R). cAMP wiąże się do dwóch miejsc w każdej z podjednostek regulatorowych. Uwolnione podjednostki katalityczne fosforylują seryny i treoniny w białkach docelowych. Długoterminowe działanie PKA związane jest z wpływem na ekspresję genów za pośrednictwem CREB. Aktywność CREB może być również regulowana przez inne enzymy: kalmuliny, czynnik wzrostu nerwu NGF (ang. *nerve growth factor*) czy fosfatazy. PKA fosforylując CREB równocześnie fosforyluje białko I-1, które w formie ufosforylowanej jest inhibitorem fosfatazy białkowej PP1, oraz białko NIPP-1, które w formie fosforylowanej ma działanie przeciwne do fosforylowanego I-1. Aktywność PP1 jest wypadkową działania fosforylowanych białek I-1 i NIPP-1. Jeżeli PP1 jest aktywna, defosforyluje białka fosforylowane przez PKA.

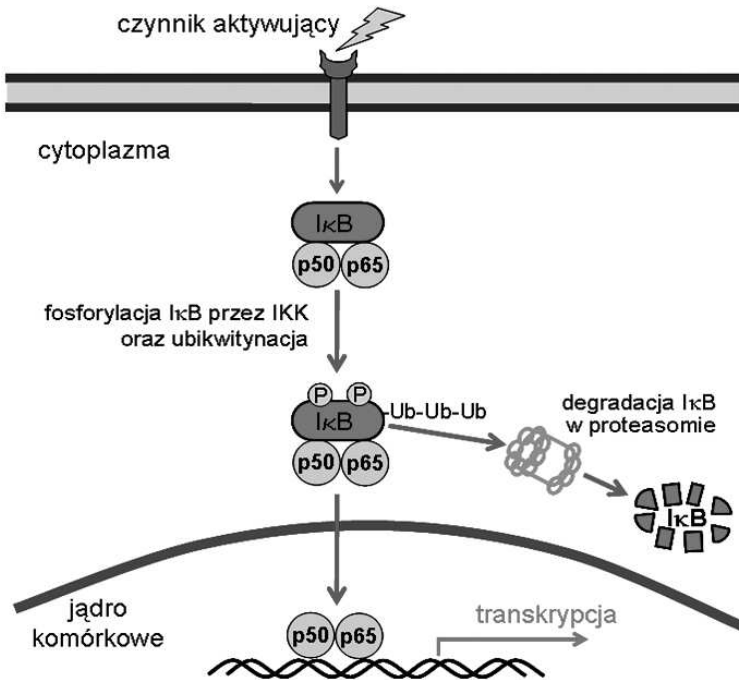
ang. *membrane-associated anchoring proteins*). Cykliczny AMP wiąże się do podjednostek regulatorowych, co prowadzi do uwolnienia podjednostek katalitycznych. Aktywna PKA może fosforylować m.in. enzymy związane z syntezą neuroprzekaźników i metabolizmem cyklicznych nukleotydów, receptory neuroprzekaźników, białka kanałów jonowych, białka związane z regulacją transkrypcji i translacji czy białka cytoszkieletu. Procesy zależne od cAMP/PKA (jak również cGMP/PKG) to w większości procesy krótkotrwałe, ponieważ zachodzi szybka defosforylacja białek. Bardziej długotrwałe odpowiedzi komórkowe wiążą się z wpływem cAMP na ekspresję genów (rys. 8.11). Zwolnione podjednostki C wędrują do jądra (pasywna dyfuzja), gdzie fosforylują białko CREB (ang. *cAMP response element-binding protein*) uruchamiając transkrypcję genów posiadających sekwencję CRE (ang. *cAMP response element*) w regionach promotorowych (rozd. 5.3.1).

### 8.5.2 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem NF-kappaB

Czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B może być aktywowany przez wiele sygnałów, m.in. poprzez TNF- $\alpha$  (ang. *tumor necrosis factor  $\alpha$* ), interleukiny 1 (IL-1), związki indukujące mitozę (mitogeny) limfocytów T i B, bakteryjne lipopolisacharydy (LPS), białka wirusowe i inne. Kontroluje ekspresję genów zaangażowanych

zowanych w odpowiedź immunologiczną, apoptozę i regulację cyklu komórkowego. Tak więc nieprawidłowa regulacja NF- $\kappa$ B może być przyczyną stanów zapalnych, chorób autoimmunologicznych, infekcji wirusowych i nowotworzenia. U ssaków do rodziny NF- $\kappa$ B zaliczono 5 białek: NF- $\kappa$ B1 (inaczej p50), NF- $\kappa$ B2 (inaczej p52), RelA (inaczej p65), RelB oraz c-Rel. Wszystkie one posiadają zachowaną w trakcie ewolucji domenę Rel odpowiedzialną za dimeryzację i wiązanie do DNA oraz za wiązanie I $\kappa$ B (inhibitora NF- $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B działa tylko wtedy, gdy utworzy dimer. Najbardziej powszechna aktywna forma NF- $\kappa$ B zawiera podjednostki p50 lub p52 oraz p65.

W cytoplazmie NF- $\kappa$ B jest hamowany przez wiązanie z I $\kappa$ B. Sygnał aktywujący płynący z receptora (np. po związaniu TNF- $\alpha$  do jego receptora) prowadzi do fosforylacji inhibitora za pośrednictwem kinazy IKK (ang. *I $\kappa$ B kinase*). Powoduje to ubikwitynację i degradację I $\kappa$ B w proteasomie. Uwolniony NF- $\kappa$ B wędruje do jądra, gdzie aktywuje transkrypcję różnych genów, między innymi swojego inhibitora, który w ciągu godziny od zadziałania bodźca pojawia się z powrotem w komórce (rys. 8.12).



Rysunek 8.12. Ogólny model aktywacji NF- $\kappa$ B

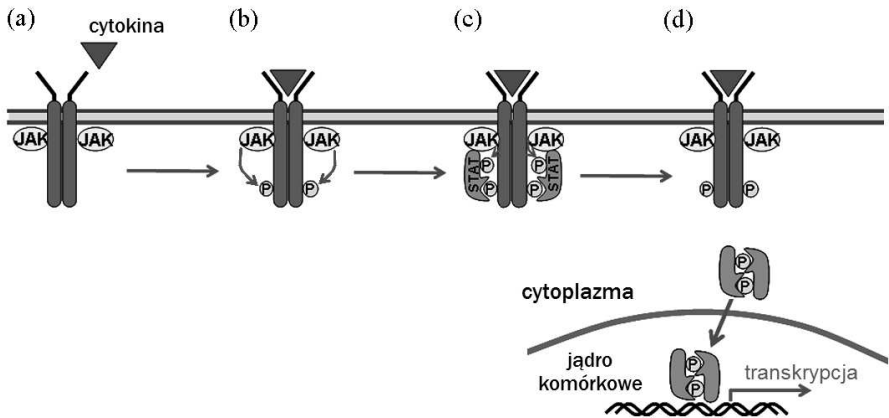
### 8.5.3 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem STAT

Białka STAT (ang. *Signal Transducer and Activator of Transcription*) (rodzina siedmiu białek) są białkami zarówno przekazującymi sygnał, jak i aktywującymi.



jącymi transkrypcję. Nieaktywna forma jest monomerem i jest w stałym ruchu pomiędzy cytoplazmą a jądrem w oczekiwaniu na sygnał aktywujący.

Sygnał aktywujący białka STAT pochodzi z receptora błonowego. Wiązanie cytokiny do receptora indukuje aktywację wewnątrzkomórkowej kinazy JAK, która fosforyluje swoistą tyrozynę w białku STAT. Prowadzi to do utworzenia dimeru STAT (przez domenę SH2). Taki dimer jest następnie aktywnie transportowany do jądra przez importynę a/b i kompleks RanGDP. W jądrze wiąże się do regionów regulatorowych genów regulowanych przez cytokiny posiadających motyw GAS (ang. *gamma activated site*) i aktywuje transkrypcję (rys. 8.13). Białko STAT jest defosforylowane i dezaktywowane przez fosfatazy jądrowe, następnie transportowane do cytoplazmy przez eksportynę crm1/RanGTP.



Rysunek 8.13. Ogólny model aktywacji białek STAT

#### 8.5.4 Przekazywanie sygnału za pośrednictwem MAPK

Kinazy aktywowane mitogenami (MAPK, ang. *Mitogen-Activated Protein Kinase*) przenoszą różnorodne sygnały zewnętrzne, wywołując bądź wzrost komórki lub różnicowanie, bądź stany zapalne lub apoptozę. Generalnie sygnał jest przekazywany następującą drogą:

**bodziec** → MAPKKK → MAPKK → MAPK → **odpowieź**,

gdzie MAPKK jest kinazą MAPK, a MAPKKK - kinazą MAPKK. W większości przypadków MAPKKK są aktywowane przez małe, monomeryczne białka G, takie jak Ras, Rac czy też Rap1. Mogą być również aktywowane przez inne enzymy.

U ssaków opisano trzy różne szlaki sygnałowe związane z MAPK: MAPK/ERK, SAPK/JNK oraz p38 MAPK.

## 8.6 Apoptoza

Ważnym procesem komórkowym uruchamianym przez swoiste szlaki sygnałowe w odpowiedzi na niektóre bodźce zewnętrzne i wewnętrzne jest apoptoza, nazywana również programowaną śmiercią komórkową. Apoptoza jest ściśle regulowanym, aktywnym procesem autodestrukcji struktur komórkowych. Morfologicznie we wczesnych stadiach proces ten charakteryzuje się kondensacją chromatyny i kurczeniem się komórki, a następnie - fragmentacją jądra i cytoplazmy. W efekcie powstają otoczone błoną komórkową ciała apoptotyczne, które są pochłaniane przez fagocyty. W przeciwieństwie do apoptozy, komórki, które umierają na drodze nekrozy (inaczej martwicy), pęcznieją i rozpadają się, uwalniając zawartość, co indukuje stany zapalne.

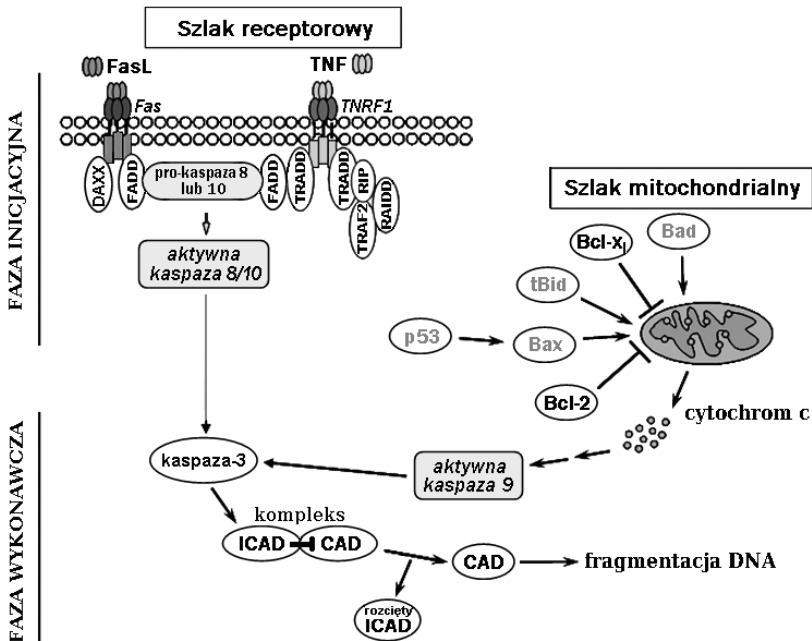
Apoptoza jest ważnym procesem dla prawidłowego rozwoju organizmów. Na drodze apoptozy usuwane są zbędne komórki (np. u ssaków w życiu płodowym usuwane są komórki tworzące błony między palcami, będące pozostałością ewolucyjną). Apoptoza ma także ważne znaczenie w procesie starzenia oraz w wielu chorobach. Nadmierna apoptoza ma miejsce w wielu chorobach autoimmunologicznych i autodegeneracyjnych, natomiast niewystarczająco sprawne procesy apoptozy są często jedną z przyczyn procesu nowotworzenia.

Charakterystyczną cechą molekularną komórek ulegających apoptozie jest aktywacja swoistych proteaz cysteinowych nazywanych **kaspazami**. Dotychczas zidentyfikowano ponad 10 różnych kaspaz. Kaspazy biorą udział w kaskadzie sygnałowej, w której kolejne enzymy aktywowane są na drodze ograniczonej proteolizy. Niektóre z nich, nazywane inicjatorowymi (np. kaspazy 8, 9 i 10), aktywowane są przez swoiste bodźce i uruchamiają kaskadę. Inne, nazywane wykonawczymi (np. kaspazy 3, 6 i 7), aktywowane są przez kaspazy inicjatorowe i katalizują proteolizę innych białek istotnych dla funkcjonowania komórki. Związany z kaspazami szlak przekazywania sygnału obejmuje:

1. Aktywację kaspaz inicjatorowych przez swoiste sygnały, np. zmianą stanu receptorów błonowych.
2. Aktywację kaspaz wykonawczych (egzekutorowych) przez kaspazy inicjatorowe, które przecinają nieaktywne kaspazy (prokaspazy) w swoistych miejscach.
3. Swoistą proteolizę ważnych białek komórkowych przez kaspazy wykonawcze. Jednym z substratów kaspaz wykonawczych jest inhibitor nukleazy apoptotycznej, białko DFF40/CAD. Aktywacja kaspaz prowadzi więc do aktywacji nukleazy, a w efekcie do degradacji DNA, które jest nieodwracalnym etapem apoptotycznej śmierci komórki.

Sygnały wywołujące apoptozę mogą docierać do komórki z zewnątrz. Jest uruchamiany wtedy tzw. szlak receptorowy apoptozy (rys. 8.14). Tzw. „ligandy śmierci” (np. FasL/CD95L, TRAIL, APO-3L czy TNF) wiążą się z obecnymi w błonie komórkowej swoistymi receptorami śmierci (Fas/CD95, DR3, DR4,

DR5, TNFR) posiadającymi domeny śmierci (ang. *death domain*, DD). Związanie ligandu do receptora indukuje jego trimeryzację oraz przyłączenie białek adaptorowych, również wyposażonych w domeny śmierci (FADD, TRADD, RAIDD, DAXX i innych). W rezultacie aktywowane są inicjatorowe kaspazy 8 lub 10.



Rysunek 8.14. Uproszczony schemat przekazywania sygnałów prowadzących do apoptozy

Apoptoza może być również wywołana przez czynniki wewnątrzkomórkowe, głównie przez sygnały płynące z mitochondriów (szlak mitochondrialny apoptozy). Czynniki powodujące wzrost przepuszczalności błon mitochondrialnych mogą wpływać na uwalnianie do cytozolu czynników proapoptycznych, np. cytochromu c. Uwolniony z mitochondriów do cytoplazmy cytochrom c, wspólnie z białkiem Apaf1, aktywuje inicjatorową kaspazę 9, która następnie aktywuje wykonawczą kaspazę 3.

Proces uwalniania z mitochondriów cytochromu c (i innych białek apoptycznych) w komórkach ulegających apoptozie regulowany jest przez wiele białek pomocniczych z rodziny Bcl-2. Rodzina ta składa się z trzech podrodzin. Dwie z nich tworzone są przez białka obecne w zewnętrznej błonie mitochondrialnej: proapoptyczne białka Bax i Bak oraz antyapoptyczne białka Bcl-2 i Bcl-x<sub>L</sub>. Białka te mogą tworzyć w błonie mitochondrialnej homo lub heterodimery. Trzecia podrodzina białek tych białek, m.in. Bid, Bik i Bim, to

białka proapoptotyczne obecne w cytoplazmie. Mogą one oddziaływać z błonowymi białkami z rodziny Bcl-2 i modyfikować ich aktywność. Uważa się, że błonowe białka z rodziny Bcl-2 mogą tworzyć pory błonowe umożliwiające wypływ cytochromu c do cytoplazmy lub też oddziaływać z białkami tworzącymi kanał jonowy VDAC (ang. *voltage-dependent anion channel*) i modulować jego przepuszczalność dla cytochromu c.

---

## Literatura

1. *Biologia Molekularna w Internecie*. Podręcznik:  
<http://zguw.ibb.waw.pl/knbm/bmwi/>.
2. P.C. Turner, A.G. McLennan, A.D. Bates, M.R.H. White; *Biologia molekularna. Krótkie wykłady*, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2007.
3. Berg Jeremy M., Tymoczko John L., Stryer Lubert, *Biochemia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, 2009.

---

## Skorowidz rzeczowy

### A

adenina

acetylacja

acetyloCoA

acetylotransferaza

adenina (A)

adenozyna

adenozynodifosforan p. ADP

adenozyno-5'-monofosforan p. AMP

adenozynotrifosforan p. ATP

adenylan p. AMP

ADP

agonista

aktyna

alanina

aldehyd

aldolazy

aldoza

alkilacja

allel

amfipatyczne

amfolity

aminoacylo-tRNA

aminokwas(y)

- alifatyczne

- aromatyczne

- biogenne

- hydrofilowe

- kwasowe

- łańcuch boczny (R)

- obojętne hydrofobowe

- siarkowe

- specjalne

- zasadowe

AMP (adenozyno-5'-monofosforan, adenylan)

cAMP (cykliczny adenzynomonofosforan)

androgeny

antagonista

antybiotyk

antygen

antykodon

aparat Golgiego

apolipoproteina B

archebakterie

archeowce ekstremalnie halofilne

- metanogeniczne

- ekstremalnie termofilne

arginina

arterioskleroza p. miażdżycy

asparagina  
 asparagininian (p. kwas asparaginowy)  
 ATP (adenozynotrifosforan)  
 autofosforylacja  
 autosomy  
**B**  
 bakterie  
 - Gram dodatnie  
 - Gram ujemne  
 bakteriofag (fag)  
 baryłka  $\beta$  (p. też białka, struktura  $\beta$ )  
 bąbel transkrypcyjny  
 białko(a)  
 - błonowe  
 - opiekuńcze  
 - CBP  
 - CREB (wiążące element odpowiedzi na cAMP)  
   — domena  
   — fałdowanie  
   — funkcje  
 - G  
 - GEF  
 - GEF helisa  $\alpha$   
 - integracyjne IN (p. też integraza)  
 - kanałowe  
   — C-koniec  
   — N-koniec  
 - Polycomb (PcG)  
 - retinoblastoma (pRB)  
   — sekwencja sygnałowa  
   — sortowanie  
   — struktura  $\beta$   
   — czwartorzędowa  
   — drugorzędowa  
   — pierwszorzędowa  
   — trzeciorzędowa  
 - szoku termicznego (HSP)  
 - TBP (białko wiążące się do TATA box)  
 - transbłonowe  
 - Trithorax (TrxG)  
 - wydzielnicze (sekrecyjne)  
 biotechnologia

blaszka jądrowa  
 błona białkowo-lipidowa  
 - biologiczna  
 - fosfolipidowa  
 - jądrowa  
 - komórkowa  
 - mitochondrialna  
 - retikulum endoplazmatycznego

**C**

cytozyna  
 celuloza  
 centromer  
 centrosom  
 centrum katalityczne  
 chlorofil  
 chloroplast  
 cholesterol  
 chromatydy  
 - siostrzane  
 chromatyna lu"xna  
 - skondensowana  
 chromosom(y)  
 - bakteryjny  
 - homologiczne  
 - metafazowy  
 - płciowy X  
 - płciowy Y  
   — ramię dłuższe (q)  
   — ramię krótsze (p)  
 CMP (cytydino-5'-monofosforan, cytydylan)  
 CRE p. sekwencja CRE  
 crossing-over  
 cukry p. węglowodany  
 cykl glioksylanowy  
 - komórkowy  
 cyklaza adenylanowa  
 cykliczny AMP p. cAMP  
 - GMP p. cGMP  
 cyklina  
 cyklooksygenaza  
 cysteina  
 cytomegalowirus (CMV)

- cytochrom c  
cytokineza  
cytoplazma  
cytoszkielet  
cytozol  
cytozyna (C)  
cytydylan p. CMP  
cytydyna  
cytydino-5'-monofosforan p. CMP  
cząsteczka rozpoznająca sygnał (SRP)  
czynnik elongacyjny (EF)  
- wzrostu fibroblastów (FGF)  
— naskórka (EGF)  
— nerwu (NGF)  
— płytkowy (PDGF)  
— śródbłonna naczyniowego (VEGF)  
- stymulujący wzrost kolonii makrofagów (M-CSF)  
czynniki inicjujące IF  
czynniki transkrypcyjne (TF)
- D**
- dalton (Da)  
deacetylaza  
deaminacja  
defosforylacja  
dehydrogenazy  
dekarboksylaza  
delecja  
deoksyadenozyna  
deoksytydyna  
deoksyguanozyna  
deoksyrybonukleotydy  
deoksyrybonukleozydy  
deoksyryboza  
deoksytymidyna  
diacyloglicerol (DAG)  
difosforan  
dihydrourydyna  
diktiosom  
dimer cytozynowy  
- pirymidynowy  
- tymidynowy  
dimeryzacja  
DNA (kwas deoksyrybonukleinowy)  
— denaturacja  
— forma A  
— forma B  
— - duży rowek  
— - mały rowek  
— forma superhelikalna  
— forma Z  
— dsDNA  
- genomowy - jednoniciowy (ssDNA)  
- kolisty  
- mitochondrialny (mtDNA)  
— mutacje  
— nić kodująca  
— matrycowa  
— opóźniona  
— prowadząca (wiodąca)  
— parowanie zasad, p. też parowanie zasad w DNA  
— podwójna helisa p. też helisa dwuniciowa DNA  
— redagowanie  
— rekombinacja genetyczna p. rekombinacja  
— relaksacja  
— replikacja p. replikacja DNA  
- satelitarny  
- sekwencja nukleotydowa  
- sekwencje homologiczne  
- superhelikalny  
- telomerowy p. telomer  
- temperatura topnienia, p. też temperatura topnienia DNA  
— transkrypcja p. transkrypcja  
— widełki replikacyjne p. widełki replikacyjne  
ssDNA p. DNA jednoniciowy  
domena białkowa (p. też białka, domena)  
dupleks  
duplikacja genu



dwuwarstwa lipidowa  
- lipidowo-białkowa

**E**

EF p. czynnik elongacyjny  
efektor  
EGF p. czynnik wzrostu naskórka  
egzonukleaza  
ekson(y)  
eksporyna(y)  
ekspresja genów  
elastyna  
element(y) *copia*  
- E box  
- graniczne p. izolatory  
- mobilne DNA  
- odpowiedzi na estrogen (ERE)  
- regulatorowe  
- Ty  
endogeny  
endonukleaza  
endosom  
energia aktywacji  
enzym(y)  
- aktywujący p. syntetaza aminoacylo-tRNA  
- błonowe  
- lizosomalne  
  — produkt  
- proteolityczne  
- przekształcający angiotensynę,  
ACE  
  — reakcja  
  — substrat  
epigenetyka  
epimerazy  
*E. coli (Escherichia coli)*  
estrogen  
eubakterie  
euchromatyna p. chromatyna luźna  
Eukariota

**F**

fag p. bakteriofag  
fenotyp  
fenyloalanina  
fimbrie (p. też pili)  
fosfataza(y) - białkowa  
fosfatydylocholina  
fosfatydyloetanolamina  
fosfatydyloinozytol  
fosfatydyloinozytolidifosforan  
fosfatydyloseryna  
fosfodiesteraza cGMP  
fosfogliceryd  
fosfolipaza  
fosfolipidy  
fosforylacja  
- oksydacyjna  
fotosynteza  
  — faza ciemna  
  — faza jasna

fragmenty Okazaki

fuzja

**G**

guanina  
GDP (guanozyno-5-difosforan)  
gen(y), definicja  
  — duplikacja  
  — ekspresja  
- homeotyczne  
  — inaktywacja p. knock-out genowy - kodujące białka  
  — histony  
  — RNA  
- nakładające się  
  — region regulatorowy  
  — ulegający transkrypcji  
  — wyciszenie aktywności  
generalne czynniki transkrypcyjne (GTF)  
genom  
glicerol  
glicyna

- glikokortykoidy  
 glikolipidy  
 glikoproteiny  
 glikozydaza DNA  
 glikozylacja  
 glioksysom  
 $\beta$ -globina  
 glukoza  
 glutamina  
 glutaminian (p. kwas glutaminowy)  
 GMP (guanozyno-5'-monofosforan, guanylan)  
 cGMP (cykliczny GMP)  
 grupa(y) acetylowe  
 - alkilowa  
 - aminowa  
 - formylowa  
 - fosforanowa  
 - funkcyjna  
 - hydroksylowa  
 - iminowa  
 - karboksylowa  
 - karbonylowa  
 - metylowa  
 - polarna  
   — hydrofilowa  
   — hydrofobowa  
 - R (łańcuch boczny)  
 grzyby  
 GTP (guanozynotrifosforan)  
 guanina (G)  
 guanozyna  
 guanozyno-5'-monofosforan p. GMP  
 guanozynotrifosforan p. GTP  
 guanylan p. GMP  
 gyraza
- H**
- harmonijka  $\beta$  (p. też białka, struktura  $\beta$ )  
 helikaza  
 helisa dwuniciowa DNA  
 helisa  $\alpha$  p. białka, helisa  $\alpha$   
 helisa-pętla-helisa  
 helisa-zwrot-helisa  
 hemoglobina  
 hepatocyty  
 heterochromatyna p. chromatyna skondensowana  
 hipoksantyna  
 histon(y)  
 histydyna  
 HIV p. wirus HIV  
 holoenzym  
 homeodomena  
 hormon(y) steroidowe  
 hybrydyzacja  
 hydrolazy  
 hydroliza  
 hydroksyloamina
- I**
- czynnik inicjujący  
 immunoglobulina(y) (p. też przeciwciało)  
   — łańcuch ciężki H  
   — lekki L  
 importyna(y)  
 infekcja  
 informacja genetyczna  
 inhibitor(y) enzymów  
 - fosfatazy białkowej  
 - fosfodiesterazy  
 - kinaz białkowych  
 - kompetencyjne  
 - NF- $\kappa$ B  
 - niekompetencyjne  
 - nukleazy apoptotycznej  
 - topoizomera
- inozyna  
 insercja  
 insulina

- integraza (p. też białko integracyjne  
 IN  
 interfaza  
 interferencja RNA (p. też RNAi)  
 interleukina  
 intron(y)  
 inżynieria genetyczna  
 IP<sub>3</sub> p. trifosforan inozytolu  
 izoformy tautomeryczne  
 izoleucyna  
 izomeraza  
 izolatory p. elementy graniczne  
**J**  
 jajo  
 jąderko  
 jądro komórkowe  
 jon(y)  
**K**  
 kadheryny  
 kalmodulina  
 kanał(y)  
 - anionowy  
 - jądrowy  
 - jonowy  
   — bramki aktywacyjne  
   — bramki inaktywacyjne  
 - kationowy  
 kapsuła  
 kapsyd  
 kancerogeny  
 kariotyp  
 kaskada kinaz - sygnałowa  
 kaspaza(y)  
 katabolizm  
 katalaza  
 kataliza enzymatyczna  
 katalizator  
 kateniny  
 KDEL p. sekwencja KDEL  
 keratyna  
 keton  
 ketoza  
 kilodalton  
 kinaza(y) aktywowane miogenami  
 (MAPK)  
 - białkowa A (PKA)  
 - białkowa C (PKC)  
 - IKK  
 - JAK  
 - receptorowe  
 - serynowo/treoninowe (STK)  
 - tyrozynowe  
 - zależne od cyklin (CDK)  
 kinetochor  
 knock-out genowy  
 koaktywator  
 kod genetyczny  
 kodon(y)  
 kolagen  
 komórka(i) diploidalna  
 - haploidalna  
 - eukariotyczne  
 - plazmatyczne  
   — podział  
 - prokariotyczne  
 - roślinna  
 - somatyczne  
 - układu odpornościowego  
 - zwierzęca  
 kompleks enzym-substrat (E-S)  
 - ligand-receptor  
 - preinicjacyjny  
 - rybonukleoproteinowy  
 komplementarność zasad  
 konkatamery  
 korepresor  
 koronawirusy  
 ksantyna

kwasy(y) arachidonowe (AA lub ARA)  
 - asparaginowy p. asparaginian  
 - dezoksyrybonukleinowy p. DNA  
 - glutaminowy p. glutaminian  
 - nukleinowy p. też łańcuch kwasu nukleinowego  
   — koniec 5'  
   — koniec 3'  
 - rybonukleinowy p. RNA  
 - tłuszczowe  
   — nasycone  
   — nienasycone

**L**

lamina  
 lek(i), inhibitory enzymów  
 - przeciwnowotworowe  
 leucyna  
 liaza  
 ligacja  
 ligand  
 ligaza  
 limfocyt(y)  
 liNES p. sekwencje LINES  
 lipazy  
 lipid(y)  
 lipooksygenaza  
 lipopolisacharydy (LPS)  
 liposom  
 lizosom  
 lizozym  
 lizyna  
 locus  
 LTR (długie powtórzenia końcowe)

**Ł**

łańcuch(y)  $\beta$  (p. też białka, struktura  $\beta$ )  
 - boczny aminokwasu p. też aminokwas(y), łańcuch boczny  
 - ciężki i lekki przeciwciał p. immunoglobulina  
 - kwasu nukleinowego

— koniec 3'  
 — koniec 5'  
 - kwasów tłuszczowych - mRNA  
 - peptydowy  
 - polipeptydowy  
 - węglowe  
 magnetyczny rezonans jądrowy (NMR)  
 makrofagi  
 materiał genetyczny  
 matryca  
 megaplazmidy  
 mejoza  
 metabolizm  
 metafaza  
 metionina  
 metylacja  
 metylazy  
 7-metyloguanozyna ( $m^7G$ )  
 metylotransferaza DNA  
 miążdżycza  
 micela  
 miejsce akceptorowe splicingu  
 - aktywne enzymu - A (aminoacylowe) p. rybosom(y), miejsce A  
 - AP  
 - donorowe splicingu  
 - katalityczne  
 - P (peptydylowe) p. rybosom(y), miejsce P  
 - rozgałęzienia  
 - splicingowe  
 - startu replikacji  
 - startu transkrypcji (Inr)  
 - wiązania antygeny  
 mikrociałka  
 mikrofilamenty  
 mikrotubule  
 mineralokortykoidy  
 miozyna  
 mitochondria  
 mitoza

monomer  
 monomeryczne białka G  
 mostek disiarczkowy  
 - solny  
 mukopolisacharydy  
 mutacja(e)  
 mutagen(y)

**N**

nadtlenek wodoru  
 naprawa DNA  
 - poprzez wycinanie nukleotydu  
 - poprzez wycinanie zasady  
 - źle sparowanych zasad  
 dNTP p. trifosforan deoksyrybonukleozydu  
 nukleaza  
 nukleoplazma  
 nukleosom  
 nukleotyd(y)  
 nukleozyd(y)

**O**

odwrotna transkrypcja  
 - transkryptaza  
 ogon poli(A)  
 oksydacja  
 oksydazy  
 oksydoreduktazy  
 oligomer  
 oligonukleotyd  
 oligopeptyd  
 operon  
 organelle  
 ostonka (otoczka) jądrowa  
 otwarta ramka odczytu (ORF)

**P**

palec cynkowy  
 parowanie zasad w DNA  
 patogen

penicylina  
 pentoza  
 — aldoza  
 — ketoza  
 peptyd  
 peptydoglikan  
 peptydylotransferaza  
 peroksysonomy  
 pęcherzyki sekrecyjne (wydzielnicze)  
 - transportowe  
 pI p. punkt izoelektryczny  
 pierścień aromatyczny (cykliczny)  
 - pirymidynowy  
 - purynowy  
 - wodorowęglowy  
 pierwotniaki  
 pili  
 pirofosforan (PPi)  
 pirymidyna  
 PKA p. kinaza białkowa A  
 PKC p. kinaza białkowa C  
 plazmid  
 plemnik  
 podwójna warstwa fosfolipidowa  
 podział mitotyczny p. mitoza  
 poliadenylacja  
 polimer  
 polimeraza DNA - RNA  
 polimorfizm  
 polinukleotyd  
 polipeptyd  
 polisacharydy  
 pompa sodowo-potasowa  
 potencjał błonowy  
 - czynnościowy  
 - spoczynkowy  
 prekursor  
 prokaspazy  
 prokariota

- proliferacja  
 prolina  
 promotor  
 proteasom  
 proteazy  
 - cysteinowe  
 proteoliza  
 proteom  
 protisty  
 prymaza  
 przeciwciało p. też immunoglobulina  
 przekaźnik wtórny  
 przestrzeń perynuklearna  
 - peryplazmatyczna  
 przesunięcie ramki odczytu  
 - replikacji  
 pseudogeny  
 pseudourydyna  
 punkt izoelektryczny (pI)  
 puryna  
 pz (para zasad)
- R**
- racemazy  
 ramka odczytu (p. też przesunięcie ramki odczytu)  
 reakcja(e) hydrolizy  
 - kondensacji  
 - redukcji  
 - utleniania  
 receptor(y) ( $\beta$ -adrenergiczny)  
 - błonowe  
 - czynników wzrostu  
 - estrogenów  
 - glikokortykoidów  
 - hormonów sterydowych  
 - mannozo-6-fosforanu  
 - neuroprzekaźników  
 - śmierci  
 - związane z białkiem G  
 receptorowe kinazy tyrozynowe
- serynowo-treoninowe (STK)  
 redagowanie RNA  
 reduktazy  
 rekombinacja homologiczna  
 - zlokalizowana  
 rekombinaza Cre  
 replikacja DNA  
 replikon  
 represor  
 retikulum endoplazmatyczne (ER, p. też siateczka wewnątrzplazmatyczna)  
 — gładkie  
 — szorstkie  
 retinoidy  
 retrotranspozon (retropozon)  
 retowirus  
 RNA (kwas rybonukleinowy)  
 - dsRNA  
 - miRNA  
 - mRNA (informacyjny RNA)  
 - niekodujący (ncRNA)  
 - rRNA (rybosomalny RNA)  
 - shRNA  
 - siRNA  
 - snoRNA (niskocząsteczkowy jąderkowy)  
 - snRNA (niskocząsteczkowy jądrowy)  
 — struktura spinki do włosów -  
 tRNA (transferowy RNA)  
 RNAi p. interferencja RNA  
 snRNP  
 rodniki  
 rotamazy  
 rośliny  
 rybonukleaza A (RNaza A)  
 rybonukleotyd(y)  
 rybonukleozyd(y)  
 rybosom(y)  
 ryboza  
 rybozy

**S**

sekwencja(e) Alu  
 - CG  
 - CRE (element odpowiedzi na cAMP)  
 - KDEL  
 - LINES  
 - mikrosatelitarne  
 - powtarzające się  
 - SINES  
 - wyciszająca transkrypcję (ang. *silencer*).  
 - wzmacniająca transkrypcję (ang. *enhancer*)  
 sekrecja  
 sekretogranina  
 seryna  
 siateczka wewnątrzplazmatyczna p. retikulum endoplazmatyczne  
 SINES p. sekwencje SINES  
 sole mineralne  
 solenoid  
 spliceosom  
 splicing  
 spory  
 starter  
 statyny  
 sterydy (steroidy)  
 stroma  
 substytucja  
 suwak leucynowy p. zamek leucynowy  
 svedberg  
 syntaza tlenu azotu  
 syntetazy  
 system naprawy  
**Ś**  
 ściana komórkowa  
 śluz

**T**

tymina  
 telomer(y)  
 telomeraza  
 temperatura topnienia DNA ( $T_m$ )  
 tlenek azotu  
 toksyna cholery  
 - krztuśca  
 topoizomeraza  
 - typu I - typu II  
 transferyna  
 transkrypcja  
 transkrypt pierwotny  
 - policistronowy  
 translacja  
 translokacja  
 transferazy  
 transport  
 transportyna  
 transpozony  
 transpozycja  
 traswersja  
 tranzycja  
 treonina  
 trifosforan nukleozydu (trifosfonukleozyd, NTP) - deoksyrybonukleozydu (dNTP) - inozytolu (trifosfoinozytol, InsP<sub>3</sub>)  
 trimeryzacja  
 tryptofan  
 tylakoidy  
 tymina (T)  
 tyrozyna  
**U**  
 uracyl  
 ubikwityna  
 ubikwitynacja

- UMP (urydyno-5'-monofosforan, ury-  
'dylan)
- uracyl (U)
- urydyna
- V**
- Viagra
- W**
- walina
- wakuole p. też wodniczki
- wapń
- węgiel  $\alpha$
- węglowodany (cukry)
- wiązanie(a) amidowe
- bezwodnikowe
  - disiarczkowe
  - fosfodiestrowe
  - N-glikozydowe
  - jonowe
  - kowalencyjne
  - peptydowe
- trifosforanowe
  - wodorowe
- widelki replikacyjne
- wirion
- wirus
- witaminy
- witka
- włókno 30 nm (solenoid)
- nukleosomowe
- wodniczki p. wakuole
- wolne rodniki
- wrzeciono podziałowe
- Z**
- zamek leucynowy
- zarodniki p. spory
- zasada(y) azotowe
- komplementarności zasad
    - parowanie
- zwierzęta





Jedna z najlepszych uczelni w Polsce – wyróżniana przez pracodawców, studentów i media.

Akredytacja Państwowej Komisji Akredytacyjnej

### Informatyka

Studia inżynierskie, magisterskie uzupełniające, podyplomowe, studia doktoranckie, uprawnienia habilitacyjne, studia przez internet.

#### Specjalizacje:

animacja 3D, bazy danych, eksploracja www, inteligentne systemy przetwarzania danych, inżynieria oprogramowania i baz danych, multimedia, programowanie aplikacji biznesowych, programowanie gier, programowanie systemowe i sieciowe, robotyka, sieci urządzeń mobilnych, systemy rozproszone i równoległe.

### Architektura Wnętrz

Studia licencjackie

### Kultura Japonii

Studia licencjackie

### Sztuka Nowych Mediów (Grafika)

Studia licencjackie, magisterskie uzupełniające

### Zarządzanie Informacją

Studia inżynierskie

#### Kursy:

Akademia Sieciowa CISCO; LPI Linux; Microsoft

Akademickie Liceum Ogólnokształcące przy PJWSTK

02-008 Warszawa, ul. Koszykowa 86

tel.: 22 58 44 500, fax: 22 58 44 501

e-mail: [pjwstk@pjwstk.edu.pl](mailto:pjwstk@pjwstk.edu.pl)

[www.pjwstk.edu.pl](http://www.pjwstk.edu.pl)

### PJWSTK w Bytomiu

#### Informatyka

#### Sztuka Nowych Mediów, Grafika

Studia inżynierskie, licencjackie

41-902 Bytom, Aleja Legionów 2

tel.: 32 387 16 60

e-mail: [bytom@pjwstk.edu.pl](mailto:bytom@pjwstk.edu.pl)

[www.bytom.pjwstk.edu.pl](http://www.bytom.pjwstk.edu.pl)

### PJWSTK w Gdańsku

#### Informatyka

Studia inżynierskie

80-045 Gdańsk, ul. Brzeży 55

tel. 58 683 59 75

e-mail: [gdansk@pjwstk.edu.pl](mailto:gdansk@pjwstk.edu.pl)

[www.gdansk.pjwstk.edu.pl](http://www.gdansk.pjwstk.edu.pl)



KAPITAŁ LUDZKI  
NARODOWA STRATEGIA SPÓJNOŚCI

UNIA EUROPEJSKA  
EUROPEJSKI  
FUNDUSZ SPOŁECZNY



Projekt "Nowoczesna kadra dla e-gospodarki" – program rozwoju Wydziału Zamiejscowego Informatyki w Bytomiu Polsko-Japońskiej Wyższej Szkoły Techniki Komputerowych, współfinansowany przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Podziałania 4.1.1. "Wzmocnienie potencjału dydaktycznego uczelni" Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki

ISBN 978-83-89244-89-5

