

## Ćwiczenie C04A

### Struktura materiału genetycznego

#### Struktura kwasów nukleinowych

#### Sekwencje nukleotydowe w bazach danych

#### Struktura rekordu w bazie NCBI

#### Ewolucja sekwencji DNA

Prof. dr hab. Roman Zieliński

### 1. Struktura kwasów nukleinowych

#### 1.1. Składniki kwasów nukleinowych



Tabela 1. Porównanie kwasu rybonukleinowego i deoksyrybonukleinowego		
Cecha	RNA	DNA
<b>Pentoza</b>	Ryboza	Deoksyryboza, w pozycji 2' pentozy występuje H zamiast OH. Powstaje w wyniku redukcji rybonukleotydów.
<b>Zasada azotowa</b>	<b>Puryny:</b> adenina, guanina. <b>Pirymidyny:</b> cytozyna, uracyl.	<b>Puryny:</b> adenina, guanina. <b>Pirymidyny:</b> cytozyna, tymina. Tymina jest analogiem uracylu.
<b>Kwas ortofosforowy</b>	<b>Tak.</b> Reszta kwasu ortofosforowego nadaje ładunek ujemny.	<b>Tak.</b> Reszta kwasu ortofosforowego nadaje ładunek ujemny.
<b>Struktura przestrzenna</b>	<b>Jednoniciowa:</b> składa się z pojedynczej nici nukleotydów, jednakże mogą powstawać złożone struktury przestrzenne. Czasami może powstawać dwuniciowa, np. u wirusów lub siRNA.	<b>Dwuniciowa:</b> dwie nici tworzą podwójną helisę.
<b>Funkcja</b>	Synteza białka, regulacja ekspresji genów, inicjacja replikacji, wycinanie intronów, przemieszczanie się transpozonów, synteza telomerów.	Jest materiałem dziedzicznym.
<b>Lokalizacja</b>	Jądro, organella, cytoplazma.	Jądro, organella.

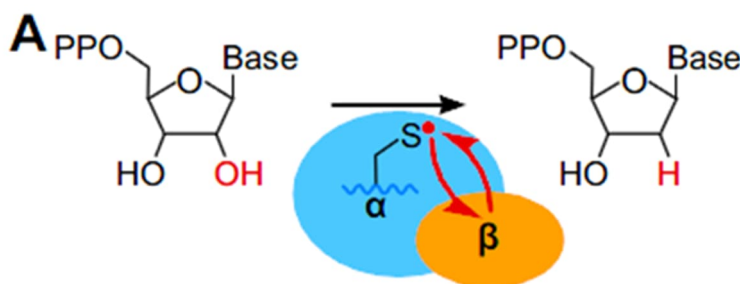
## 1.2. Synteza nukleotydów w komórce

**W komórce deoksyrybonukleotydy powstają z rybonukleotydów przez redukcję rybozy do deoksyrybozy.**

Rybonukleotydy są zawsze syntetyzowane *de novo*, natomiast deoksyrybonukleotydy powstają w wyniku modyfikacji rybonukleotydów, redukcji i metylacji.

### 1.2.1. Redukcja

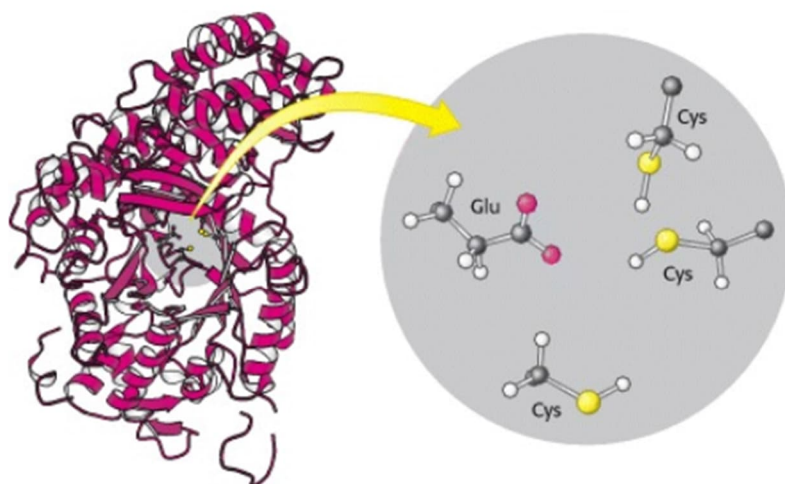
Redukcja to przejście z wyższego stopnia utlenienia na niższy poziom. Redukcja rybozy polega na zastąpieniu grupy OH w pozycji 2' przez atom wodoru (Rys. 1.2.1a).



Reakcja redukcji rybonukleotydów jest przeprowadzana

przez **Rys. 1.2.1a.** Reakcja redukcji rybonukleotydów do deoksyrybonukleotydów.

reduktazę rybonukleotydową. Enzym zbudowany jest z dwóch homodimerycznych podjednostek. Centrum aktywne zawiera trzy cząsteczki cysteiny i jedną glutaminy (Rys. 1.2.1b).



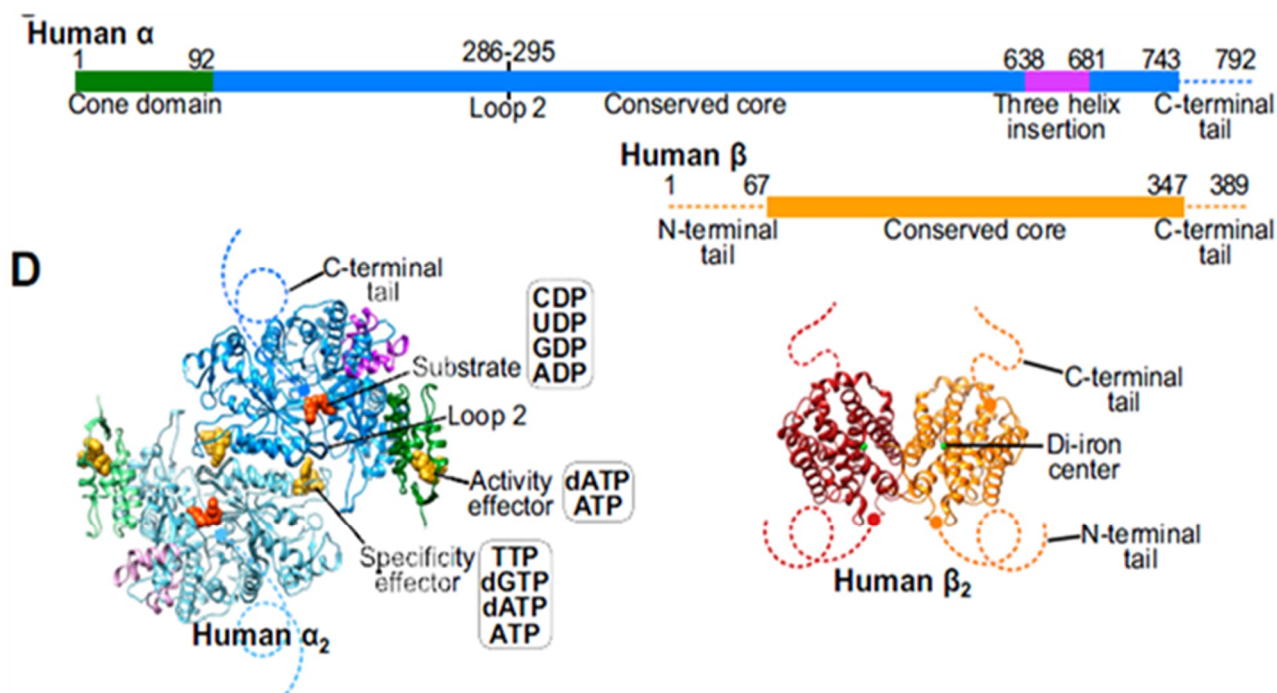
**Rys. 1.2.1b.** Podjednostka R1 reduktazy rybonukleotydowej. Centrum aktywne zawiera trzy cząsteczki cysteiny i jedną glutaminy. Dwie podjednostki tworzą aktywny dimer.

aktywne jest niemal identyczne u wszystkich Pro- i Eukariota, co wskazuje na wspólnego przodka oraz pochodzenie tego enzymu z okresu przed ewolucją DNA jako materiału genetycznego.

Podjednostki ludzkiej reduktazy rybonukleotydowej (hRR) to podjednostka  $\alpha$  (R1) zawierająca centrum aktywne oraz mniejsza podjednostka  $\beta$  (R2), która zawiera kofaktor w postaci wolnych rodników. Dwie identyczne podjednostki

$\alpha$  łączą się z dwoma identycznymi podjednostkami  $\beta$ , tworząc aktywny enzym,  $\alpha_2\beta_2$  (Rys. 1.2.1c).

Zależność od wolnych rodników jest unikalną cechą wszystkich reduktaz rybonukleotydowych. Wolne rodniki na ogół są szkodliwe na organizmu. W przypadku reduktazy rybonukleotydowej powstają one w podjednostce  $\beta$ , a następnie przemieszczane są do podjednostki  $\alpha$ , gdzie wytwarzane są deoksyrybonukleotydy.



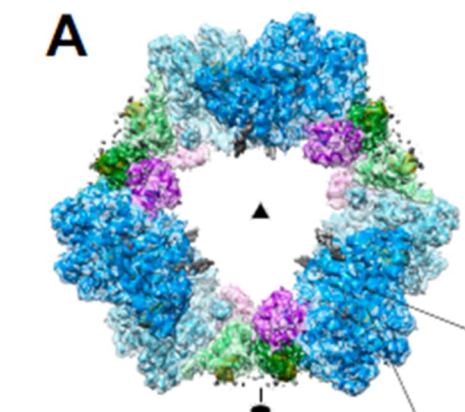
**Rys. 1.2.1c.** Struktura ludzkiej reduktazy rybonukleotydowej, hRR (Brignole et al. 2018).

Aktywność reduktazy rybonukleotydowej jest regulowana za pomocą stężenia ATP/dATP aby nie dopuścić do nagromadzenia się zbyt dużej ilości deoksyrybonukleotydów. Jeżeli stężenie ATP w komórce jest wysokie, ATP przyłącza się do miejsca A w enzymie, co jest sygnałem do dimeryzacji i produkcji deoksyrybonukleotydów. Jeżeli w komórce jest wysokie stężenie dATP, to dATP przyłącza się do miejsca A. Prowadzi to do połączenia się trzech par podjednostek  $\alpha$  i utworzenia stabilnej heksamerycznej struktury w kształcie pierścienia (Rys. 1.2.1d). Struktura ta zapobiega dalszej syntezie deoksyrybonukleotydów.

Ze względu na istotną rolę reduktazy rybonukleotydowej w replikacji enzym ten jest ważnym

celem chemioterapii antynowotworowej. Jednym z najwcześniej opisanych inhibitorów hRR jest hydroksymocznik – związek organiczny z grupy amidów, hydroksylowa pochodna mocznika. Blokują on centrum dwużelazowe i tym samym blokuje działanie enzymu.

Inhibitory reduktazy rybonukleotydowej najczęściej rozwijano na bazie modyfikacji naturalnie występujących nukleozydów. Przykładem jest gemcytabina, która jest analogiem 2'deoksycytyny. Związek ten po wstawieniu do DNA powoduje zahamowanie syntezy. Ponadto prowadzi on do nieodwracalnej inhibicji hRR. Gemcytabina jest wykorzystywana do leczenia nowotworów trzustki, jednakże nieodwracalne hamowanie syntezy DNA prowadzi do licznych efektów ubocznych.

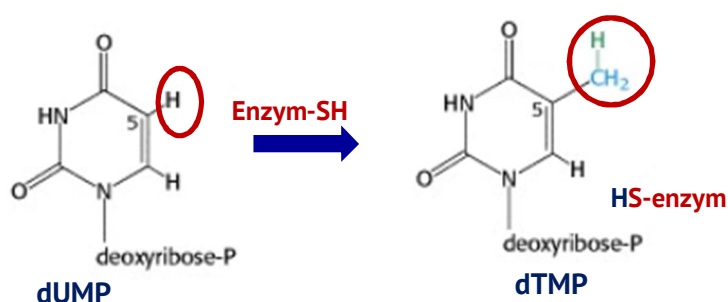


**Rys. 1.2.1d.** Nieaktywna forma ludzkiej reduktazy rybonukleotydowej w kształcie pierścienia złożonego z trzech par podjednostek  $\alpha$  (heksamer).

Nowa generacja leków przeciwnowotworowych odchodzi od wykorzystywania analogów nukleozydów. Poszukuje się związków o wyższej selektywności i działaniu odwracalnym. Przykładem takiego związku jest NSAH (acylohydrazon naftylo-salicylowy). NSAH blokuje miejsce interakcji rybonukleotydu z hRR przez tworzenie silnych wiązań wodorowych z seryną w pozycji 217 i cysteiną w pozycji 218. W efekcie wyczerpuje się pula deoksyrybonukleotydu i zostaje zahamowana synteza DNA.

### 1.2.2. Metylacja

Metylecja to przyłączenie grupy metylowej. W trakcie syntezy pirymidyn w komórce powstaje uracyl, który nie jest składnikiem DNA. Syntetaza tymidyłowa katalizuje metylecję dUMP (kwas deoksyurydyłowy) do dTMP (kwas deoksytymidyłowy). Metylecja ułatwia identyfikację uszkodzeń DNA i ich naprawę. Donorem grup metylowych jest N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-metylenotetrahydrofolian, rzadziej S-adenozylometionina.



**Rys. 1.2.2a.** Reakcja metylecji dUMP katalizowana przez syntetazę tymidyłową.



**Rys. 1.2.2b.** Kompleks syntetazy tymidyłowej z dUMP.

Szybko dzielące się komórki wymagają dużych ilości dTMP dla syntezy DNA, co związane jest z wysoką aktywnością syntetazy tymidyłowej. W komórkach nowotworowych często obserwuje się nadekspresję tego enzymu. Dlatego terapia przeciwnowotworowa często polega na inhibicji syntetazy tymidyłowej. Strategia ta jest skuteczna w przypadku nowotworów jelita grubego, piersi i trzustki.

Wyróżnia się inhibitory syntetazy tymidyłowej będące analogami pirymidyn, inhibitory będące analogami kwasu foliowego oraz inne specyficzne inhibitory. Do analogów pirymidyny zalicza się fluorouracyl, który przekształca się w kwas fluorodeoksyurydyłowy. Ten ostatni jest

inhibitorem syntetazy tymidyłowej, co prowadzi do niedoboru dTTP i zahamowania syntezy DNA. Ponadto fluorouracyl może być włączany do RNA w miejsce UMP. Prowadzi to do zahamowania syntezy białka.

## 1.3. Charakterystyka składników kwasów nukleinowych

Tabela 2. Właściwości chemiczne kwasów nukleinowych				
Składnik	Masa cząsteczkowa	$\lambda_{\max}$	$\epsilon_{\max} \times 10^{-3}$ [ml/ $\mu$ mol]	OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>
Ryboza	150	-	-	-
Deoksyryboza	134	-	-	-
Kwas ortofosforowy	98	-	-	-
Adenina	135	260,5	13,40	0,13
Guanina	151	276,0	8,15	1,04
Cytozyna	111	267,0	6,10	0,58
Tymina	126	264,5	7,90	0,53
Uracyl	112	259,0	8,20	0,17

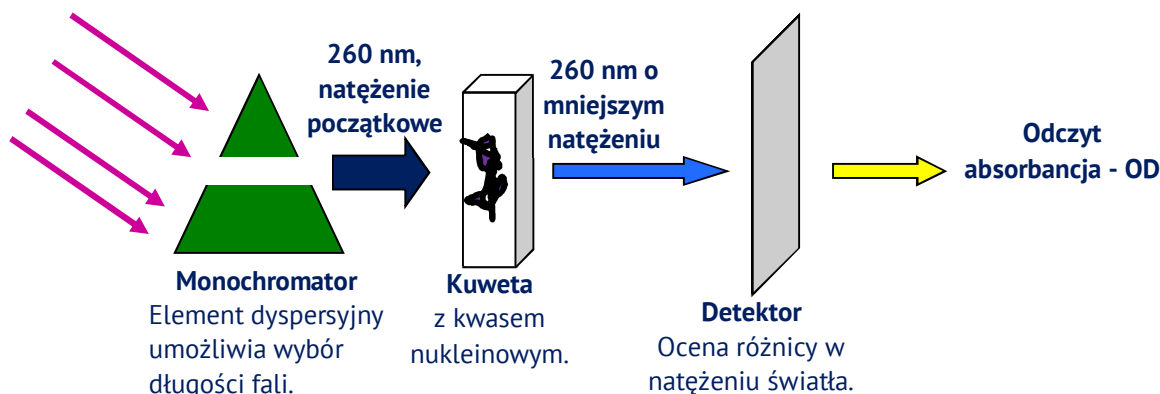
•  $\lambda_{\max}$ : długość fali, przy której dana substancja maksymalnie pochłania światło. Kwasy nukleinowe pochłaniają światło w zakresie długości fali 260 nm, co oznacza zakres promieniowania UV-C. Białka najintensywniej pochłaniają światło przy długości fali 280 nm (UV-B, na granicy z UV-C). Różnica pomiędzy kwasami nukleinowymi a białkami w odniesieniu do długości fali, przy której maksymalnie jest pochłaniane światło wykorzystywana jest w spektrofotometrycznej ocenie ilości DNA i obecności zanieczyszczeń. Jeżeli stosunek absorbancji przy 260 nm do absorbancji przy 280 nm wynosi 1,8-2,0 to próba zawierająca kwasy nukleinowe nie zawiera zanieczyszczeń. Jeżeli stosunek wynosi 1,5, to 50% substancji w próbce stanowią białka.



Rys. 1.3a. Spektrofotometr do pomiaru zawartości i oceny czystości kwasów nukleinowych.

•  $\epsilon_{\max}$ : współczynnik ekstynkcji lub masowy współczynnik atenuacji, współczynnik określa łatwość penetracji danego materiału przez promienie świetlne.

OD: absorbancja określa zdolność substancji do pochłaniania światła. Stanowi ona logarytm dziesiętny stosunku światła odbitego od substancji do ilości światła dostarczonego do substancji. Ilość światła, która została pochłonięta przez materiał zależy od gęstości, a w przypadku roztworów gęstość zależy od stężenia. Pomiar absorbancji wykorzystuje się do oceny zawartości kwasów nukleinowych w próbce (Rys. 1.3b).



**Rys. 1.3b.** Zasada pomiaru spektrofotometrycznego zawartości kwasów nukleinowych w próbce.

Absorbancja zależy także od długości drogi, którą musi przebyć światło. Na ogół podaje się ją zazwyczaj dla drogi równej 10 mm (1 cm). Oznacza to, że kuweta, w której mierzy się zawartość DNA powinna mieć szerokość 10 mm. Jeżeli jest ona szersza lub węższa to należy dokonać odpowiedniego przeliczenia.

**Należy pamiętać, że OD to stężenie, a nie zawartość w próbce. Dla kwasów nukleinowych OD = 1 odpowiada 50 µg dsDNA, 33 µg ssDNA i 40 µg ssRNA w 1 ml roztworu.** Jeżeli kuweta pomiarowa zawiera mniej niż jeden mililitr, a chcemy obliczyć ile DNA znajduje się w roztworze to musimy także to uwzględnić.



1.3.1. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek człowieka otrzymano 3 ml roztworu DNA. Wartość OD dla badanej próby wyniosła 2,5. Pomiaru dokonano w kuwecie o długości drogi 10 mm oraz objętości 1 ml.

- A. Ile DNA wyizolowano?
- B. Ile DNA było w kuwecie?

1.3.2. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek *Escherichia coli* otrzymano 1,5 ml roztworu RNA. Wartość OD dla badanej próby wyniosła 3,8. Pomiaru dokonano w kuwecie o długości drogi 10 mm oraz objętości 0,5 ml.

- A. Ile RNA wyizolowano?
- B. Ile RNA było w kuwecie?

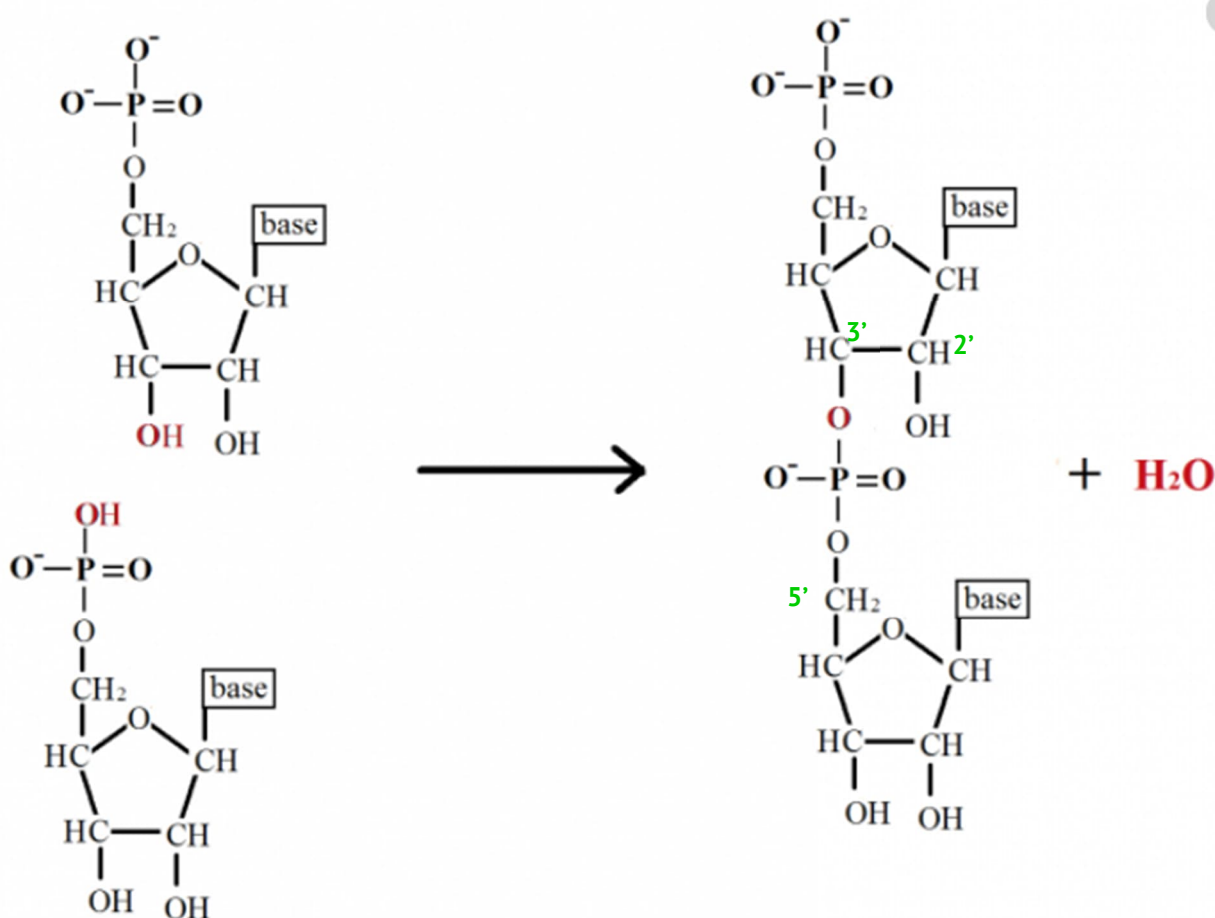
1.3.3. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek człowieka otrzymano 0,5 ml roztworu DNA. Z roztworu pobrano 0,1 ml, uzupełniono wodą do 1 ml i przeniesiono do kuwety o pojemności 1 ml i długości drogi 10 mm. Absorbancja wyniosła 0,4 OD.

- A. Ile DNA było w kuwecie?
- B. Ile DNA wyizolowano?
- C. Ile DNA pozostało w próbce po dokonaniu pomiaru?

## 1.4. Kwas rybonukleinowy

### ➔ 1.4.1. Wiązanie fosfodiesterowe

W rybonukleotydach zasady azotowe połączone są z rybozą w pozycji 1' natomiast grupa fosforanowa jest przyłączona w pozycji 5' rybozy. Rybonukleotydy oznaczamy jako UMP, CMP, AMP, GMP w przypadku pojedynczej reszty fosforanowej, natomiast trójfosforany zapisujemy jako UTP, CTP, ATP, GTP. Rybonukleotydy łączą się ze sobą za pomocą wiązania fosfodiesterowego, które powstaje pomiędzy grupą OH pentozy w pozycji 3' oraz OH reszty kwasu ortofosforowego w pozycji 5'. W RNA występują monofosforany, natomiast substratem do reakcji syntezy RNA są trójfosforany. Synteza RNA zachodzi w procesie transkrypcji, czyli przepisaniu informacji zawartej w DNA na RNA. Nowa cząsteczka RNA powstaje w kierunku od 5' do 3' na nici DNA o orientacji przeciwnej – 3' do 5'. Proces syntezy jest katalizowany przez polimerazy RNA.



**Rys. 1.4a.** Tworzenie wiązania fosfodiesterowego pomiędzy grupami wodorotlenowymi w pozycji C5' rybozy jednego nukleotydu oraz w pozycji C3' drugiego nukleotydu. W wyniku reakcji powstaje cząsteczka wody.



### 1.4.2. Właściwości RNA

Proszę wejść na stronę: <https://www.ebi.ac.uk/training/online/course/biomacromolecular-structures-introduction-ebi-reso/rna>

Jest to strona EMBL-EBI, Europejskiego Instytutu Bioinformatyki. Korzystając z zawartych na tej stronie informacji proszę podać.

- A. Na czym polega różnica chemiczna między deoksyrybozą i rybozą?
- B. Jak różnica między rybozą i deoksyrybozą wpływa na stabilność cząsteczki?
- C. Jakie zasady azotowe występują w RNA i czym różnią się od zasad w DNA?
- D. Czy struktura RNA zawsze jest jednoniciowa? Uzasadnij odpowiedź.

### 1.4.3. Funkcja RNA

Korzystając ze strony EMBL-EBI oraz zasobów Internetu proszę podać funkcje.

- A. mRNA
- B. tRNA
- C. rRNA
- D. ncRNA
- E. circRNA
- F. miRNA

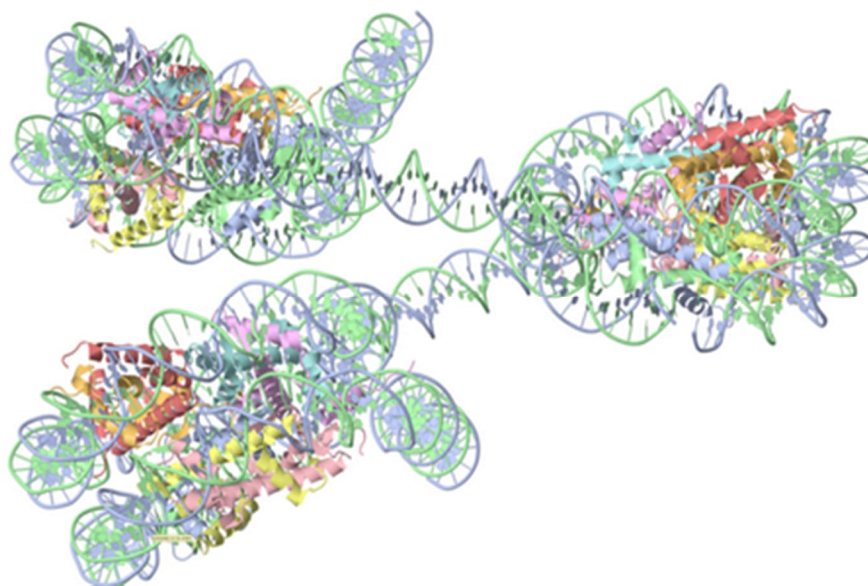
## 1.5. Kwas deoksyrybonukleinowy



DNA odkrył Friedrich Miescher w 1869 r. Zauważył on, że jądra leukocytów traktowanych kwasem wykazywały tendencję do strącania się. Otrzymany osad nazwał on nukleiną. Albrecht Kossel wykazał, że kwasy nukleinowe zawierają zasady azotowe: puryny i pirymidyny, cukier oraz resztę kwasu ortofosforowego.

Kwas deoksyrybonukleinowy (DNA) jest organicznym polimerem. Chemicznie DNA jest zmodyfikowanym RNA – jego zredukowaną i zmetylowaną formą.

Podobnie jak RNA, DNA zbudowany jest z czterech typów monomerów zwanych nukleotydami. Różnią się one zasadą azotową. Każdy nukleotyd zawiera cukier: deoksyrybozę, resztą kwasu ortofosforowego oraz jedną z czterech zasad azotowych: cytozynę (C), tyminę (T), adeninę (A), guaninę (G). Nukleotydy w DNA



**Rys. 1.5.** Model DNA połączonego z białkami, głównie histonami.

zapisywane są jako dCMP, dTMP, dAMP, dGMP, natomiast trójfosforany jako: dCTP, dTTP, dATP,



dGTP. Litera „d” oznacza deoksyrybozę i pozwala odróżnić deoksynukleotydy od rybonukleotydów. Nić DNA łączy się z nią komplementarną tworząc dwuniciową cząsteczkę (podwójną helisę). Nici połączone są wiązaniami wodorowymi powstałymi pomiędzy komplementarnymi zasadami azotowymi. Optymalizacja kątów między wiązaniami wodorowymi powstałymi między parami A-T i G-C powoduje, że 10,4 par zasad przypada na pojedynczy skręt. Jest to tzw. forma B. Odczytanie sekwencji DNA wymaga rozerwania wiązań wodorowych pomiędzy dwoma niciami – jest to tzw. **topnienie**.



### 1.5.1. Właściwości DNA

Na podstawie informacji o budowie DNA podanych na wykładzie oraz w Internecie proszę odpowiedzieć na pytania.

- A. Co oznacza, że nić DNA jest polinukleotydem?
- B. Jakie komponenty wchodzi w skład nukleotydów DNA?
- C. Dlaczego nukleotydy w DNA określa się jako deoksynukleotydy?
- D. Jaka jest orientacja nici DNA i dlaczego?
- E. Jak połączone są dwie nici DNA w podwójnej helisie?
- F. Co oznacza pojęcie „para zasad”?

### 1.5.2. Materiał genetyczny wirusów

Proszę wejść na stronę: <https://viralzone.expasy.org/> i wykorzystując pasek przeszukiwania proszę podać typ materiału genetycznego, który występuje u następujących wirusów ludzkich.

- A. Metapneumovirus
- B. Cytomegalovirus
- C. Rotavirus B
- D. Hepatitis delta virus
- E. Dependoparvovirus
- F. Flavivirus
- G. PTLV-1

## 2. Sekwencje nukleotydowe w bazach danych

### 2.1. Bazy danych



Wraz ze wzrostem liczby sekwencji w biologicznych bazach danych, bioinformatyka oraz biologia obliczeniowa stały się nieodłącznym elementem biologii molekularnej i genetyki. Metody bioinformatyczne wykorzystywane są do identyfikacji genów, polimorfizmu nukleotydów (SNP), ale także analizy dużych zbiorów danych jakie otrzymujemy z projektów sekwencjonowania genomów i transkryptomów. Większość badań dotyczy analizy sekwencji, składania genomów, poszukiwania genów, projektowania leków, modelowania i porównywania białek, analizy interakcji, analizy sprzężeń, analiz ewolucyjnych i filogenetycznych. Narzędzia, które umożliwiają analizy wykorzystują matematykę dyskretną, teorię mnogości, teorię systemów, teorię grafów, analizę matematyczną, statystykę i geometrię.

Liczba baz danych systematycznie zwiększa się. W 2019 roku było 148 baz danych, z czego 59 baz było nowych, a 79 baz było uzupełnione i unowocześnione. Bazy danych są corocznie opisywane w czasopiśmie Nucleic Acid Research, w specjalnym numerze poświęconym bazom danych. Bazy pogrupowane są według typów:

- sekwencje nukleotydowe, struktury i regulacja transkrypcji;
- sekwencje aminokwasowe i struktury białek;
- szlaki metaboliczne i sygnałowe;
- genomy wirusów, bakterii, pierwotniaków i grzybów;
- genom człowieka i organizmów modelowych;
- zmienność genomu ludzkiego;
- bazy roślinne;
- inne.

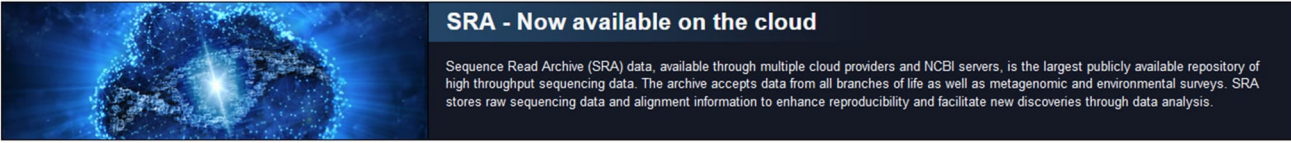
### 2.1.1. INSD: Międzynarodowa baza danych sekwencji nukleotydowych

INSD (International Nucleotide Sequence Database) jest międzynarodową inicjatywą, która skupia trzy bazy danych, będące repozytoriami sekwencji nukleotydowych wszystkich organizmów. Są to:

- DNA Data Bank of Japan
- EMBL: European Bioinformatics Institute
- GenBank (National Center for Biotechnology Information. NCBI).

Bazy są synchronizowane w trybie dziennym tak aby każda zawierała tę samą informację. Natomiast dane nie są podawane według jednego standardu, co utrudnia krzyżowe korzystanie z baz nawet w zakresie liczby zdeponowanych danych. Pomimo koordynacji otrzymane wyniki podawane są w różniących się formatach. W przypadku dużych genomów, dane z EMBL mogą ułatwiać analizę, gdyż podawana jest sumaryczna strona z odnośnikami do informacji o genach, transkryptach etc.

Bazy współpracują z Archiwum zawierającym odczyty z sekwenatorów: SRA (Sequence Read Archive). Archiwum znajduje się na stronach NCBI i można pobierać dane lub pracować w chmurze. Wówczas konieczne jest zalogowanie się z kontem w Google oraz utworzenie wirtualnej maszyny (np. Oracle VM Virtual Box).



**SRA - Now available on the cloud**

Sequence Read Archive (SRA) data, available through multiple cloud providers and NCBI servers, is the largest publicly available repository of high throughput sequencing data. The archive accepts data from all branches of life as well as metagenomic and environmental surveys. SRA stores raw sequencing data and alignment information to enhance reproducibility and facilitate new discoveries through data analysis.

Getting Started	Tools and Software	Related Resources
<a href="#">How to Submit</a>	<a href="#">Download SRA Toolkit</a>	<a href="#">Submission Portal</a>
<a href="#">How to search and download</a>	<a href="#">SRA Toolkit Documentation</a>	<a href="#">Trace Archive</a>
<a href="#">How to use SRA in the cloud</a>	<a href="#">SRA-BLAST</a>	<a href="#">dbGaP Home</a>
<a href="#">Submit to SRA</a>	<a href="#">SRA Run Browser</a>	<a href="#">BioProject</a>
	<a href="#">SRA Run Selector</a>	<a href="#">BioSample</a>

**Rys. 2.1a.** Zrzut ekranu strony dostępowej do SRA.

Rys. 2.1b. Zrzut ekranu strony dostępowej do NCBI (GenBank)

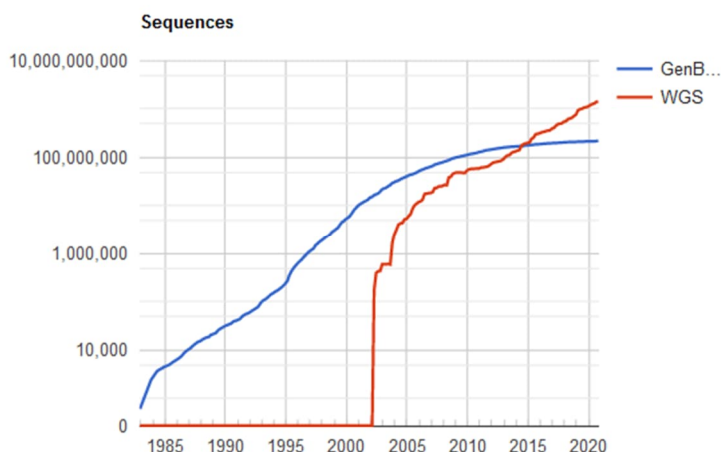
## 2.2. Definicje

- **Niść sensowna:** nić, która ma taką samą sekwencję (kolejność nukleotydów) jak mRNA.
- **Niść antysensowna** ma sekwencję komplementarną do nici sensownej i stanowi matrycę do transkrypcji.
- Pojęcie nici sensownej i antysensownej ma znaczenie porządkujące, umożliwia zachowanie standardu w zapisie DNA w bazach. W rzeczywistości nie ma nici sensownej, gdyż jedna nić DNA może zawierać zarówno fragmenty sensowne jak i antysensowne. Przykładowo, dana nić może być nicią sensowną dla genu A, natomiast dla genu B może być nicią antysensowną.
- W bazach danych zawsze podawana jest jedna nić DNA, zawsze od końca 5' do 3'. Dla genów, których produkty (mRNA, białko) są znane zawsze jest to nić sensowna. Dla pozostałych sekwencji, potencjalnych genów nie wiemy, czy nić zapisana w bazie jest nicią sensowną. Dlatego, gdy na jej podstawie przewidujemy sekwencję mRNA oraz białka należy uwzględnić wszystkie możliwości transkrypcji zarówno na nici zapisanej w bazie jak i komplementarnej do niej. Jeżeli sekwencja DNA w bazie została otrzymana na bazie mRNA (tzw. cDNA) to nie zawiera ona intronów i jest sekwencją sensowną.

### 3. Struktura rekordu sekwencji nukleotydowej w bazie NCBI

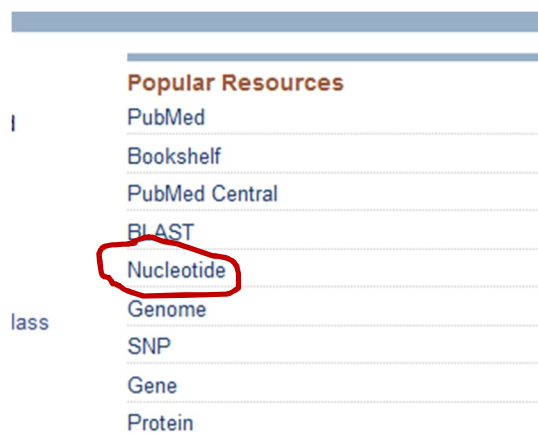
#### ➔ 3.1. Baza NCBI

Jedną z najczęściej wykorzystywanych baz jest NCBI (National Centre for Biotechnology Information), która zawiera zarówno sekwencje nukleotydowe, białkowe, genomowe jak i narzędzia do analizy. Liczba zdeponowanych sekwencji w NCBI znacznie wzrosła w latach 1990-2010. Od 2010 r. obserwuje się wzrost zdeponowanych sekwencji całych genomów (Rys. 3.1a)



**Rys. 3.1a.** Liczba sekwencji nukleotydowych zdeponowanych w Banku Genów. Linia niebieska oznacza pojedyncze sekwencje. Linia czerwona to sekwencje pochodzące z sekwencjonowania genomów.


Baza NCBI połączona jest z podobnymi bazami w Japonii (DDBJ) oraz w Europie (ENA). Sekwencje nukleotydowe zdeponowane są w Banku Genów (GenBank) dostępnym z poziomu NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Dane w Banku Genów uaktualniane są co dwa miesiące.



**Rys. 3.1b.** Wybór Banku Genów na stronie NCBI.

typ cząsteczki, np. nukleotydową. Oczywiście możemy dodać np. HBB jako typ hemoglobiny. Oznacza to, że przeszukując Bank Genów należy mieć pewną wiedzę na temat poszukiwanej sekwencji.

Aby poszukać sekwencji w Banku Genów należy ze strony NCBI wejść do bazy oznaczonej jako „nucleotide” (Rys. 3.1b), wpisać nazwę lub numer poszukiwanej sekwencji, np. „hemoglobin” i zaakceptować. Wyniki wyszukiwania zawierają wiele sekwencji oraz dane z sekwencjonowania genomów, co utrudnia poruszanie się po bazie. Przykładowo, poszukiwanie sekwencji hemoglobiny zwraca 197 960 wyników (Rys. 3.1c), które należy zawęzić, aby znaleźć interesujące nas sekwencje. Wyniki możemy zawęzić do *Homo sapiens*. Wówczas otrzymamy 18 9835 sekwencji (Rys. 3.1d). Kolejne zawężenie może objąć


National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

---

Nucleotide
Nucleotide

Create alert   Advanced

---

**Species**

- Animals (148,304)
- Plants (1,748)
- Fungi (411)
- Protists (177)
- Bacteria (39,309)
- Archaea (236)
- Viruses (51)
- Customize ...

**Molecule types**

- genomic DNA/RNA (69,007)
- mRNA (28,446)
- Customize ...

**Source databases**

- INSDC (GenBank) (186,590)
- RefSeq (11,300)
- Customize ...

**Sequence Type**

- Nucleotide (181,633)
- EST (16,307)
- GSS (20)

**Genetic compartments**

- Mitochondrion (277)
- Plasmid (189)
- Plastid (3)

Summary ▾ 20 per page ▾ Sort by Default order ▾ Send to: ▾

See [HB2 \(HEMOGLOBIN\) hemoglobin 2](#) in the Gene database  
**hemoglobin** reference sequences [Transcript \(1\)](#) [Protein \(1\)](#)

**Items: 1 to 20 of 197960**

<< First < Prev Page 1 of 9898 Next > Last >>

- [Pseudoterranova decipiens \(frameshift mutated\) hemoglobin mRNA, complete cds](#)  
 1. **1,353 bp linear mRNA**  
 Accession: M85050.1 GI: 160796  
[Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- [Trema virgata gene encoding hemoglobin, isolate T5](#)  
 2. **1,104 bp linear DNA**  
 Accession: AJ131352.1 GI: 6599362  
[Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- [Trema virgata gene encoding hemoglobin, isolate T4](#)  
 3. **1,104 bp linear DNA**  
 Accession: AJ131351.1 GI: 6599360  
[Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

**Rys. 3.1c.** Wyniki przeszukiwania Banku Genów za pomocą hasła „hemoglobina”.

**Species**

- Animals (18,983)
- Customize ...

**Molecule types**

- genomic DNA/RNA (9,345)
- mRNA (9,595)
- Customize ...

**Source databases**

- INSDC (GenBank) (18,727)
- RefSeq (242)
- Customize ...

**Sequence Type**

- Nucleotide (9,616)
- EST (9,357)
- GSS (10)

**Sequence length**

- Custom range...

**Release date**

- Custom range...

**Revision date**

- Custom range...

Summary ▾ 20 per page ▾ Sort by Default order ▾ Send to: ▾

**Items: 1 to 20 of 18983**

<< First < Prev Page 1 of 950 Next > Last >>

- [Homo sapiens hemoglobin \(HBB\) gene, promoter region, exons 1, 2 and partial cds](#)  
 1. **646 bp linear DNA**  
 Accession: DQ659148.1 GI: 109893890  
[Protein](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- [Homo sapiens hemoglobin subunit alpha 2 \(HBA2\), mRNA](#)  
 2. **576 bp linear mRNA**  
 Accession: NM\_000517.6 GI: 1441565460  
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)
- [Homo sapiens hemoglobin subunit gamma 2 \(HBG2\), mRNA](#)  
 3. **586 bp linear mRNA**  
 Accession: NM\_000184.3 GI: 1520685244  
[Protein](#) [PubMed](#) [Taxonomy](#)  
[GenBank](#) [FASTA](#) [Graphics](#)

**Rys. 3.1d.** Wyniki przeszukiwania Banku Genów za pomocą hasła „hemoglobina” oraz zawężenia dla *Homo sapiens*.

### 3.2. Struktura rekordu w bazie NCBI

3.2.1. Rekordy w bazie NCBI mogą być przedstawione jako:

- **GenBank:** podane są cechy sekwencji, skąd pochodzi, a także długość sekwencji, kolejność nukleotydów;
- **FASTA:** tylko sama sekwencja, ten widok jest wykorzystywany w analizach;
- **Graphics:** widok graficzny przedstawiający nici DNA, egzony, miejsca aktywne.

3.2.2. Informacje w widoku GenBank:

- **LOCUS:** podany jest numer akcesyjny, który jest unikalny dla danego rekordu.
- **646 bp:** długość sekwencji w parach zasad,
- **DNA:** cząsteczka, która została wykorzystana do sekwencjonowania. Zawsze podana jest wyjściowa cząsteczka.
- **DEFINITION:** nazwa genu, regiony
- **ACCESSION:** numer akcesyjny
- **VERSION:** wersja.
- **SOURCE, ORGANISM:** systematyka gatunku, od którego pochodzi sekwencja.

#### Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons

GenBank: DQ659148.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to:

```
LOCUS       DQ659148                646 bp    DNA     linear   PRI 14-JUL-2016
DEFINITION Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons 1, 2 and
            partial cds.
ACCESSION   DQ659148
VERSION     DQ659148.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Homo sapiens (human)
            ORGANISM   Homo sapiens
            Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;
            Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;
            Catarrhini; Hominidae; Homo.
REFERENCE   1 (bases 1 to 646)
AUTHORS     Kutlar, F., Davis, D.H., Kollipara, P., Nechtman, J. and Kutlar, A.
TITLE       Homozygous-29 A->G mutation detected at the promoter region of beta
            globin gene on a black patient with beta-thalassemia major
```

#### Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region,

GenBank: DQ659148.1

[GenBank](#) [Graphics](#)

```
>DQ659148.1 Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons 1,
cds
GGCATGAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGCTTGCACACAACCTGTGTTCACTAGCAAC
CTCAACAGACACCATTGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGT
GAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGGAGCCCTGGGCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGTTAAGGAG
ACCAATAGAAACTGGGCATGTGGAGACAGAGAAGACTCTGGGTTTCTGATAGGCCTGACTCTCTCTGC
CTATTGGTCTATTTCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTACCCCTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCT
TTGGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATGGGCAACCCCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAGAAAGTGT
CGGTGCCTTTAGTGAATGGCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTTGCCACACTGAGTGAGCTG
CACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACTTCAGGGTGAGTCTATGGGACCCCTTGATGTTTTCTTT
CCCCTTCTTTCTATGGTTAAGTTCATGTCATAGGAAGGGGAGAAGTAACAGGGTACAGTTTAGAATGGG
AAACAGACGAATGATT
```

#### Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons

GenBank: DQ659148.1

[GenBank](#) [FASTA](#)



Rys. 3.2.2a. Widok sekwencji w Banku Genów, od góry: GenBank, Fasta, Graphics.

- **FEATURES, source:** z jakiej tkanki otrzymano sekwencję, pozycja na mapie cytogenetycznej, np. 11p15.5 to chr. 1 ramię krótkie, prążek 15.5.
- **FEATURES, gene:** długość genu i nazwa.
- **FEATURES, regulatory:** długość i pozycja sekwencji regulatorowych.
- **FEATURES, variation:** możliwe mutacje, pozycja, np. 6 – pozycja 6, należy zastąpić istniejący nukleotyd (g) przez a.
- **FEATURES, mRNA:** jakie fragmenty tworzą mRNA, tutaj 35-176 oraz 307-529, instrukcja jak należy połączyć poszczególne elementy sekwencji i jaki produkt się otrzymuje.
- **FEATURES, exon:** pozycja zidentyfikowanych egzonów, egzony mogą być podane w kilku miejscach, tutaj w dwóch.
- **FEATURES, 5'UTR:** lokalizacja regionu UTR.
- **FEATURES, CDC:** część kodująca wraz z translacją i odnośnikiem do białka (numer akcesyjny).
- **ORIGIN:** sekwencja, w linijce po 60 nukleotydów: 6 x 10.

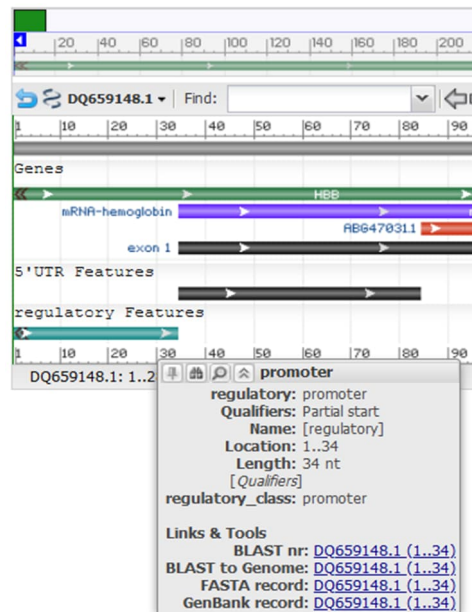
```

FEATURES
  source          Location/Qualifiers
                  1..646
                  /organism="Homo sapiens"
                  /mol_type="genomic DNA"
                  /db_xref="taxon:9606"
                  /chromosome="11"
                  /map="11p15.5"
                  /sex="male"
                  /tissue_type="whole blood"
  gene            <1..>646
                  /gene="HBB"
  regulatory      <1..34
                  /regulatory_class="promoter"
                  /gene="HBB"
  variation       6
                  /gene="HBB"
                  /note="homozygous mutation"
                  /replace="a"
  mRNA           join(35..176,307..>529)
                  /gene="HBB"
                  /product="hemoglobin"
  exon           35..176
                  /gene="HBB"
                  /number=1
  5'UTR          35..84
                  /gene="HBB"
  CDS            join(85..176,307..>529)
                  /gene="HBB"
                  /note="beta-globin"
                  /codon_start=1
                  /product="hemoglobin"
                  /protein_id="ABG47031.1"
                  /translation="MVHLTPEEKSAVTALWGKVNVDI
                  SFGDLSTPDAVMGNPKVKAHGKKV L GAPSDGLAHLDI
                  NFR"
  exon           307..529
                  /gene="HBB"
                  /number=2

ORIGIN
    1  ggcatgaaag  tcagggcaga  gccatctatt  gttacattt  gctt
   61  cactagcaac  ctcaaacaga  caccatgggt  cacctgactc  ctg:
  121  actgccctgt  ggggcaaggt  gaacgtggat  gaagttgggt  gtg:
  181  atataaagt  tacaagacag  atttaagcag  accaatagaa  act:

```

Rys. 3.2.2b. Widok sekwencji w Banku Genów, część dotycząca struktury sekwencji.



Rys. 3.2.2c. Widok graficzny sekwencji w Banku Genów.

### 3.3. Analiza rekordów wybranych sekwencji DNA zdeponowanych w NCBI.



3.3.1. Dla sekwencji o numerze akcesyjnym **AF135372.1** proszę podać następujące informacje:

- Z jakiego gatunku pochodzi sekwencja?
- Jaki gen został podany?
- Z jakich tkanek/komórek wyizolowano kwas nukleinowy?
- Jaki kwas nukleinowy był wykorzystany do otrzymania tej sekwencji?
- Czy sekwencja zdeponowana w NCBI zawiera introny? Uzasadnij odpowiedź.
- Podaj długość zdeponowanej sekwencji.

Proszę podać za pomocą pozycji nukleotydów lokalizację genu znajdującego się w obrębie tej sekwencji.

G. Proszę podać, które fragmenty tej sekwencji tworzą mRNA.

H. Proszę przełączyć się na widok polipeptydu i podać, który fragment tego polipeptydu zawiera motyw SNARE i z ilu aminokwasów składa się ten motyw?

## 4. Ewolucja DNA: ortologi i paralogi

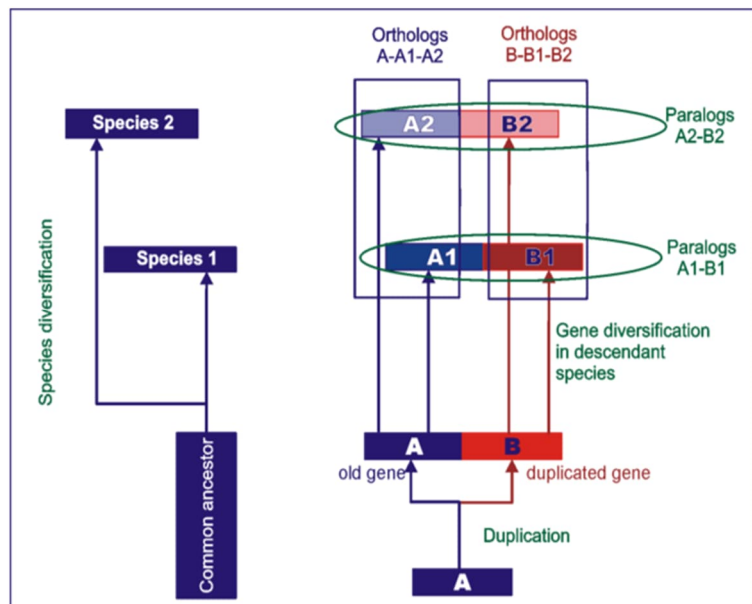
➔ Organizmy mają wspólne sekwencje DNA. Organizmy bardziej złożone rozwijały się z prostszych, co doprowadziło do obecności u nich genów o wspólnym pochodzeniu. Przykładowo, człowiek ma 30% genów wspólnych z bakteriami. Z kolei geny syncytyny wykazują 30% podobieństwo do genów wirusa HIV, co również świadczy o wspólnej ewolucji.

● **Homologi:** geny, sekwencje, które mają wspólne pochodzenie. Wykazują one podobieństwo na poziomie DNA, które polega na

występowaniu wspólnych fragmentów sekwencji. Na poziomie białka podobieństwo jest obserwowane jako wspólne fragmenty sekwencji aminokwasowej, podobna struktura.

● **Ortologi** to geny pochodzące od wspólnego przodka, które zróżnicowały się w wyniku specjacji. Ortologami są geny A-A1, A-A2, A1-A2, B-B1, B-B2, B1-B2.

● **Paralogi** to geny, które powstały w wyniku duplikacji. Paralogami są: A2-B2, A1-B1, A-B, A1-B2, A2-B1.



Rys. 4. Ortologi i paralogi.



## Odpowiedzi

### 1. Struktura kwasów nukleinowych

#### 1.3. Charakterystyka składników kwasów nukleinowych



1.3.1. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek człowieka otrzymano 3 ml roztworu DNA. Wartość OD dla badanej próby wyniosła 2,5. Pomiaru dokonano w kuwecie o długości drogi 10 mm oraz objętości 1 ml.

**A. Ile DNA wyizolowano?**

- DNA izolowano z komórek człowieka, zatem jest to dsDNA. 1 OD dla dsDNA odpowiada 50 µg dsDNA. Zatem 2,5 OD odpowiada 125 µg dsDNA.
- Wartość OD to ilość substancji w 1 ml przy długości drogi 10 mm. Kuweta użyta do pomiaru spełniała ten warunek zatem odczytane 2,5 OD odpowiada 125 µg dsDNA w 1 ml roztworu.
- W sumie otrzymano 3 ml roztworu. Zatem ilość wyizolowanego dsDNA wynosiła **375 µg**.

**B. Ile DNA było w kuwecie?**

- W kuwecie był 1 ml, co odpowiada 125 µg dsDNA.

1.3.2. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek *Escherichia coli* otrzymano 1,5 ml roztworu RNA. Wartość OD dla badanej próby wyniosła 3,8. Pomiaru dokonano w kuwecie o długości drogi 10 mm oraz objętości 0,5 ml.

**A. Ile RNA wyizolowano?**

- Izolowano RNA z bakterii, a więc jest to jednoniciowy RNA.
- 1 OD dla ssRNA odpowiada 40 µg. Zatem 3,8 OD odpowiada 152 µg.
- Wartość OD to ilość substancji w 1 ml przy długości drogi 10 mm.
- Długość drogi kuwety użytej do pomiaru wynosiła 10 mm, ale jej objętość to tylko 0,5 ml. Jednakże dla oceny całkowitej ilości RNA w tym przykładzie długość drogi nie ma znaczenia, gdyż mamy określić ile RNA było w 1,5 ml, wiedząc, że w 1 ml jest 152 µg. Stąd w próbce 1,5 ml było **228 µg**.

**B. Ile RNA było w kuwecie?**

- 152 µg to ilość ssRNA w 1 ml. W 0,5 ml, które użyto do pomiaru było tylko 76 µg.

1.3.3. W wyniku izolacji kwasów nukleinowych z komórek człowieka otrzymano 0,5 ml roztworu DNA. Z roztworu pobrano 0,1 ml, uzupełniono wodą do 1 ml i przeniesiono do kuwety o pojemności 1 ml i długości drogi 10 mm. Absorbancja wynosiła 0,4 OD.

**A. Ile DNA było w kuwecie?**

- Izolowano DNA z komórek człowieka, zatem mamy do czynienia z dsDNA.
- Dla dsDNA, 1 OD odpowiada 50 µg w 1 ml. Absorbancja wynosiła 0,4 OD, czyli ilość DNA w 1 ml wynosiła  $0,4 \times 50 \mu\text{g} = 20 \mu\text{g}$ .

- W kuwecie był 1 ml roztworu, zatem w kuwecie było 20 µg DNA.

### B. Ile DNA wyizolowano?

- Do pomiaru nie wykorzystano oryginalnego roztworu, lecz go rozcieńczono.
- Pobrano 0,1 ml i uzupełniono do 1 ml. Zawartość DNA zmierzono w tym rozcieńczonym roztworze. Wynosiła ona 20 µg. DNA to pochodziło z 0,1 ml próby, zatem wiemy iż w 0,1 ml było 20 µg DNA.
- W sumie wyizolowano 0,5 ml, czyli 5 x 0,1 ml, a więc wyizolowano  $(0,5 \text{ ml} \times 20 \text{ µg})/0,1 \text{ ml} = 100 \text{ µg}$ .

### C. Ile DNA pozostało w próbie po dokonaniu pomiaru?

- Do pomiaru wykorzystano 0,1 ml, który zawierał 20 µg.
- W próbie zostało 0,5 ml - 0,1 ml = 0,4 ml, które odpowiada **80 µg**.

## 1.4. Kwas rybonukleinowy

### 1.4.2. Właściwości RNA

Proszę wejść na stronę: <https://www.ebi.ac.uk/training/online/course/biomacromolecular-structures-introduction-ebi-reso/rna>

Jest to strona EMBL-EBI, Europejskiego Instytutu Bioinformatyki. Korzystając z zawartych na tej stronie informacji proszę podać.

- A. Na czym polega różnica chemiczna między deoksyrybozą i rybozą?

- Obecność grupy hydroksylowej w pozycji 2' w rybozie i wodoru w deoksyrybozie (brak tlenu).

- B. Jak różnica między rybozą i deoksyrybozą wpływa na stabilność cząsteczki?

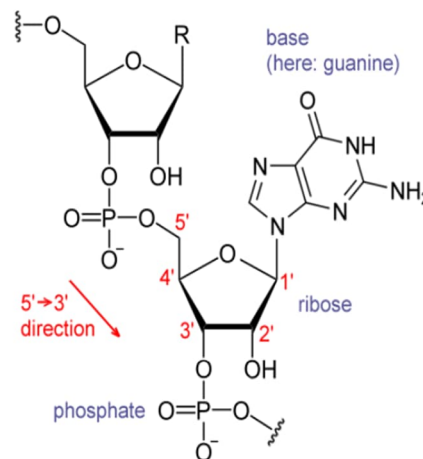
- Cząsteczka rybozy jest mniej stabilna, gdyż grupa hydroksylowa czyni ją bardziej podatną na hydrolizę.

- C. Jakie zasady azotowe występują w RNA i czym różnią się od zasad w DNA?

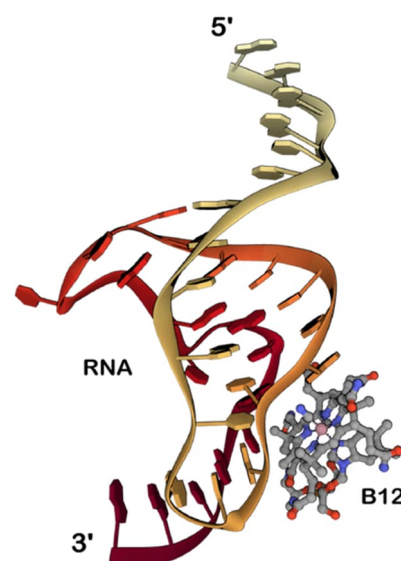
- Adenina, guanina, cytozyna, uracyl. Tymina występująca w DNA jest zmetylowaną formą uracylu.

- D. Czy struktura RNA zawsze jest jednoniciowa? Uzasadnij odpowiedź.

- Nie, występują fragmenty dwuniciowe, które powstają przez parowanie zasad w obrębie jednej nici. Są to tzw. struktury drugorzędowe. Regiony niesparowane tworzą pętle typu „szpilki do



Rys. 1.4a. Struktura chemiczna RNA.



Rys. 1.4b. Połączenie RNA z witaminą B12.

włosów”, pętle zewnętrzne, które mogą mieć znaczenie funkcjonalne. RNA może tworzyć także duplekisy RNA-RNA oraz duplekisy (hybrydy) RNA-DNA. Częsteczki RNA mogą zawierać centra aktywne, które stanowią miejsca przyłączenia np. witaminy B12 regulującej funkcję wirusa zapalenia wątroby typu C.

### 1.4.3. Funkcja RNA

Korzystając ze strony EMBL-EBI oraz zasobów Internetu proszę podać funkcje mRNA.

- RNA informacyjny, powstaje na bazie DNA w wyniku transkrypcji. Zawiera informację o składzie białka. U Eukariota na ogół odpowiada egzonom. Uczestniczy w syntezie białka. Stanowi matrycę do syntezy białka. Trójki nukleotydów w RNA, tzw. kodony, wyznaczają kolejność aminokwasów w białku.

#### E. tRNA

- RNA transportowy, stanowi fizyczne połączenie między mRNA i białkiem, zawiera antykodon, który jest komplementarny do kodonu w mRNA. Dopasowanie kodonu i antykodonu prowadzi do wstawienia odpowiedniego aminokwasu do syntetyzowanego łańcucha polipeptydowego.

#### F. rRNA

- rRNA występuje w rybosomach. rRNA stanowi rybozym, który przeprowadza syntezę białka. rRNA jest syntetyzowany w jądrze na bazie genów dla rRNA – rDNA. U Eukariota zlokalizowane są one w organizatorach jąderkotwórczych (NOR). rRNA łączy się z białkami rybosomalnymi tworząc małą i dużą podjednostkę rybosomu. Rybosomy są składane na obszarze jąderka, dokąd są transportowane białka rybosomalne syntetyzowane w cytoplazmie.

#### G. ncRNA

- Jest to RNA, który nie zawiera informacji o białkach. Określa się go jako niekodujący RNA ponieważ nie jest matrycą do syntezy białek. Może pełnić różne funkcje w komórce. rRNA oraz tRNA również należą do ncRNA.

#### H. circRNA

- Jest to jednoniciowy, kolisty RNA, powszechnie występujący u organizmów żywych i wirusów. Uczestniczy w regulacji transkrypcji, a także reguluje przemiany białek, zmienia interakcje między białkami, tworzy kompleks circRNA-białko-mRNA podczas inicjacji translacji. Ma dłuższy czas półtrwania oraz jest odporny na działanie RNazy.

#### I. miRNA

- Jest to niekodujący RNA, określane także jako mały interferujący RNA o długości 20-27 nukleotydów. Często tworzy dwuniciowe struktury. Pełni funkcję wyciszania genów poprzez interakcję z mRNA. Polega ona na degradacji mRNA i zapobieżeniu translacji.

## 1.5. Kwas deoksyrybonukleotydowy

### 1.5.1. Właściwości DNA

Na podstawie informacji o budowie DNA podanych na wykładzie oraz w Internecie proszę odpowiedzieć na pytania.

**A.** Co oznacza, że nić DNA jest polinukleotydem?

- Zbudowana jest z wielu nukleotydów, które stanowią monomery.

**B.** Jakie komponenty wchodzi w skład nukleotydów DNA?

- Cukier - pentoza, zasada azotowa, reszta kwasu ortofosforowego.

**C.** Dlaczego nukleotydy w DNA określa się jako deoksynukleotydy?

- Ponieważ w pozycji 2' pentozy zamiast grupy OH jest wodór, H – czyli w pozycji 2' brak tlenu. Stąd nazwa deoksy.

**D.** Jaka jest orientacja nici DNA i dlaczego?

- Nici są antyrównoległe. Z zasady górną nić zapisuje się jako 5' do 3' (nić Watsona), a dolną od 3' do 5' (nić Cricka).

**E.** Jak połączone są dwie nici DNA w podwójnej helisie?

- Za pomocą podwójnych wiązań wodorowych między zasadami A i T oraz potrójnych wiązań wodorowych między C i G.

**F.** Co oznacza pojęcie „para zasad”?

- Jednostka obejmująca dwie zasady połączone wiązaniem wodorowym. Długość DNA podaje się w parach zasad (pz, ang. bp), chociaż faktycznie DNA składa się z nukleotydów i raczej powinno się podawać długość w nukleotydach. Zasady są jedynie elementem nukleotydów. Podawanie w parach zasad ma uzasadnienie historyczne, gdyż Watson i Crick opisując cząsteczkę DNA zwrócili uwagę na rolę wiązań wodorowych utrzymujących regularną strukturę DNA. Ponadto to zasady azotowe różnicują poszczególne nukleotydy. Zapis nukleotydowy byłby niepraktyczny, gdyż należałoby pisać: dAMPdTMP zamiast AT. Dlatego sekwencję DNA zapisujemy i mierzymy za pomocą zasad azotowych, które domyślnie symbolizują nukleotydy. Również tradycyjnie mówi się o parach zasad chociaż faktycznie są to pary nukleotydów.

### 1.5.2. Materiał genetyczny wirusów

Proszę wejść na stronę: <https://viralzone.expasy.org/> i wykorzystując pasek przeszukiwania proszę podać typ materiału genetycznego, który występuje u następujących wirusów ludzkich:

**A.** Metapneumovirus

- ssRNA (-)

**B.** Cytomegalovirus

- dsDNA

**C.** *Rotavirus B*

- dsRNA

**D.** *Hepatitis delta virus*

● Kolisty ssRNA (-), wiroid

E. *Dependoparvovirus*

● ssDNA

F. *Flavivirus*

● ssRNA (+)

G. PTLV-1

● ssRNA(+)

### 3. Struktura rekordu sekwencji nukleotydowej w bazie NCBI

#### 3.3. Analiza rekordów wybranych sekwencji DNA zdeponowanych w bazie NCBI

3.3.1. Dla sekwencji o numerze akcesyjnym **AF135372.1**; proszę podać następujące informacje:

**Homo sapiens synaptobrevin 2 (VAMP2) gene, complete cds**  
 GenBank: AF135372.1  
[FASTA](#) [Graphics](#)

---

Go to: (v)

LOCUS AF135372 6885 bp DNA linear PRI 21-SEP-2000  
 DEFINITION Homo sapiens synaptobrevin 2 (VAMP2) gene, complete cds.  
 ACCESSION AF135372  
 VERSION AF135372.1  
 KEYWORDS .  
 SOURCE Homo sapiens (human)  
 ORGANISM Homo sapiens  
 Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi;  
 Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini;  
 Catarrhini; Hominidae; Homo.  
 REFERENCE 1 (bases 1 to 6885)  
 AUTHORS Zoraqi,G.K., Paradisi,S., Falbo,V. and Taruscio,D.  
 TITLE Genomic organization and assignment of VAMP2 to 17p12 by FISH  
 JOURNAL Cytogenet Cell Genet 89 (3-4), 199-203 (2000)  
 PUBMED [10965122](#)  
 REFERENCE 2 (bases 1 to 6885)  
 AUTHORS Taruscio,D., Zoraqi,K.G. and Falbo,V.  
 TITLE Direct Submission  
 JOURNAL Submitted (17-MAR-1999) Ultrastrutture, Istituto Superiore di  
 Sanita, Viale Regina Elena, 299, Rome, RM 00161, Italy

FEATURES  
 source Location/Qualifiers  
 1..6885  
 /organism="Homo sapiens"  
 /mol\_type="genomic DNA"  
 /db\_xref="taxon:9606"  
 /chromosome="17"  
 /map="17p12"  
 /clone="pISSHG2b3A"  
 /cell\_type="leukocyte"  
 /tissue\_type="blood"  
 gene 2701..6532  
 /gene="VAMP2"  
 /gene\_synonym="SYB2"  
 mRNA join(2701..2796,3305..3425,3907..4065,4149..4200,  
 4802..6532)  
 /gene="VAMP2"  
 /gene\_synonym="SYB2"  
 CDS join(2795..2796,3305..3425,3907..4065,4149..4200,  
 4802..4818)  
 /gene="VAMP2"  
 /gene\_synonym="SYB2"  
 /note="SYB-2; VAMP-2; vesicle protein"  
 /codon\_start=1  
 /product="synaptobrevin 2"  
 /protein\_id="AA15551.1"  
 /translation="MSATAATAPPAAPAGEGGPPAPPNLTSNRRLQQTQAQVDEVVD  
 IMRVNVDKVLDERDOKLSELDDRADALOAGASOFETSAAKLKRKYWKNLKMIIILGVI"

Rys. 3.3.1a. Sekwencja **AF135372.1** w formacie GenBank.

A. Z jakiego gatunku pochodzi sekwencja?

● *Homo sapiens*

