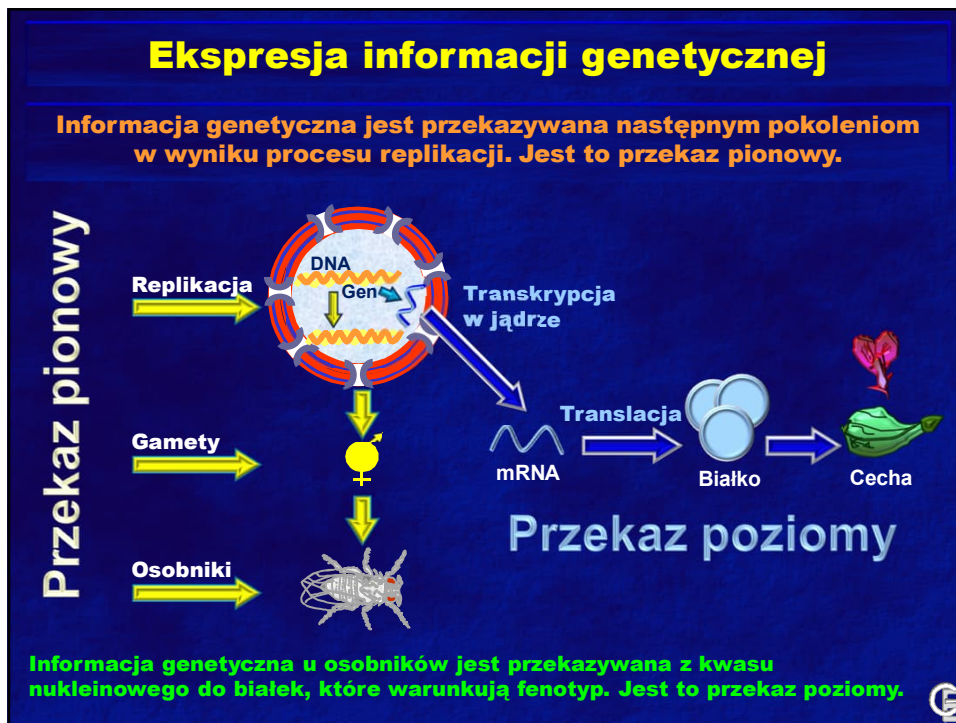




Transkrypcja i translacja

Kornelia Polok i Roman Zieliński
Biologia molekularna, kierunek lekarski
2023/2024



Transkrypcja i translacja

- 1. Transkrypcja**
 - Polimerazy RNA
 - Mechanizm transkrypcji
 - Promotory
 - Czynniki transkrypcyjne
- 2. Dojrzewanie RNA**
 - mRNA u Eukariota
 - Wycinanie intronów
- 3. Translacja**
 - Rybosomy i tRNA
 - Mechanizm translacji
 - Kod genetyczny
- 4. Struktura białek**
- 5. Proteomika**



1. Transkrypcja: definicja

Transkrypcja to proces syntezy RNA na matrycy DNA: sekwencja DNA jest odczytywana i komplementarny RNA jest syntetyzowany.

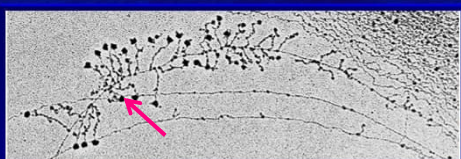
- RNA jest syntetyzowany od końca 5' do 3' na matrycy DNA o kierunku przeciwnym (3'→5').
- RNA jest syntetyzowany tylko na jednej nici. Nie wiadomo, która nić jest matrycą dla danego genu.
- Zamiast tyminy (T) nukleotydy zawierają uracyl (U), który jest komplementarny do adeniny (A).
- Transkrypcja, w przeciwieństwie do replikacji nie wymaga użycia starterów. Wynika to z właściwości polimeraz RNA.

DNA

5' AATATACCGGCTGAA 3' Nić sensowna
3' TTATATGGCCGACTT 5' Nić antysensowna


5' AAUAUACGG 3' RNA

C U



Miejsca aktywne transkrypcyjnie u *Escherichia coli*.

Transkrypcja prowadzi do powstania mRNA (informacyjny RNA), obejmuje inicjację, elongację i terminację, jest katalizowana przez polimerazy RNA.



1. Transkrypcja: polimerazy RNA

Polimerazy RNA mogą inicjować syntezę RNA *de novo* czyli bez użycia starterów oraz mogą wydłużać łańcuch RNA.

| Typ | Lokalizacja | Liczba podjednostek | Funkcja | Wrażliwość na α -amanitynę |
|------------|--------------|---------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| PROKARIOTA | | 5 | mRNA, tRNA, rRNA (23S, 16S, 5S) | |
| EUKARIOTA | | | | |
| I | Jąderko | 14 | rRNA (28S, 18S, 5.8S) | Niewrażliwa |
| II | Nukleoplazma | 12 | mRNA, snRNA | Wrażliwa od 1 μ g/ml |
| III | Nukleoplazma | 16 | tRNA, 5S rRNA, snRNA | Wrażliwa od 10 μ g/ml |

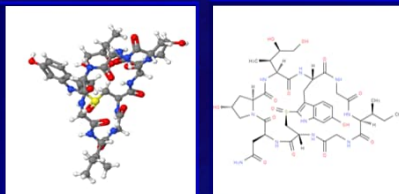
Polimerazy RNA są złożone z wielu podjednostek (tzw. holoenzym). Prokariota mają jedną polimerazę, natomiast Eukariota wykorzystują trzy różne polimerazy w zależności od klasy RNA.



1. Transkrypcja: polimerazy RNA

α -amanityna jest cyklicznym peptydem zbudowanym z 8 aminokwasów. Jest inhibitorem polimerazy RNA II i III u Eukariota.

α -amanityna jest wykorzystywana do rozróżniania typów polimeraz u Eukariota.



Model przestrzenny i wzór chemiczny α -amanityny.

Jako inhibitor polimeraz α -amanityna jest śmiertelną trucizną. Po 24 h od spożycia blokuje ona polimerazę RNA II w wątrobie, powodując lizę komórek. Po 4-5 dniach powoduje nieodwracalne zniszczenia wątroby i nerek.

α -amanityna występuje w grzybach z rodzaju *Amanita*. W Polsce śmiertelnie trujący jest muchomor sromotnikowy, *A. phalloides*.



Muchomor sromotnikowy: najczęstsza przyczyna zatrucia grzybami w Polsce.



Muchomor jadowity, *Amanita virosa*, silnie trujący, w Polsce zagrożony wymarciem, w Czerwonej Księdze.



1. Transkrypcja: polimerazy RNA

Bakteryjna polimeraza RNA jest holoenzymem składającym się z 5 podjednostek: 2 podjednostek α oraz po jednej β , β' i σ .

DNA

β $\alpha 1$

β' $\alpha 2$

Tetramer, rdzeń enzymu

6 Podjednostka (czynnik) sigma

Struktura przestrzenna bakteryjnej polimerazy RNA.

- Podjednostki α odpowiadają za powstanie tetramery.
- Podjednostka β zawiera miejsce wiązania trójfosforanów nukleotydowych.
- Podjednostka β' zawiera miejsce wiązania DNA.
- Podjednostka σ uczestniczy jedynie w inicjacji transkrypcji, rozpoznaje miejsce przyłączenia polimerazy RNA do DNA.

1. Transkrypcja: polimerazy RNA

Część podjednostek wszystkich eukariotycznych polimeraz RNA jest homologiczna z podjednostkami α , β i σ polimeraz prokariotycznych.

| Polimeraza RNA Prokariota | Polimerazy RNA Eukariota | | Podjednostki unikalne (liczba) |
|---------------------------|--|---|--------------------------------|
| | Podjednostki homologiczne do polimerazy RNA Prokariota | Podjednostki wspólne dla wszystkich Eukariota | |
| β' | I. 1 2 | ■ ◆ ● ▼ | 5 |
| β | II. 1 2 | ■ ◆ ● ▼ | 3 |
| $\alpha 1$ | III. 1 2 | ■ ◆ ● ▼ | 7 |
| $\alpha 2$ | | | |
| 6 | | | |

Eukariotyczne polimerazy RNA składają się z 5 podjednostek homologicznych do prokariotycznej polimerazy RNA, 4 podjednostek wspólnych dla wszystkich typów oraz 5-7 podjednostek unikalnych związanych ze specyfiką enzymu.

1. Transkrypcja: mechanizm, inicjacja

Transkrypcja jest inicjowana przez przyłączenie polimerazy RNA do promotora, rozplecenie nici DNA i syntezę pierwszych nukleotydów.

Polimeraza RNA przyłącza się do regionu promotorowego w pozycji od -35 do -10.

Następuje rozplecenie nici DNA, synteza około 10 rybonukleotydów. Podjednostka 6 odłącza się, a polimeraza porusza się na prawo od promotora i wydłuża łańcuch (elongacja).

Bakteryjna polimeraza RNA samodzielnie inicjuje transkrypcję. U Eukariota i Archaea wymagany jest współdziałanie czynnika transkrypcyjnego.

1. Transkrypcja: mechanizm

Na początku transkrypcji DNA jest dwuniciowy, następnie rozplata się i matrycowa nić DNA łączy się z RNA: DNA-RNA kompleks.

- Na początku transkrypcji rozplatanie DNA na obszarze trzech par zasad przed centrum aktywnym polimerazy.
- Matrycowa DNA zagina się, co prowadzi do odwrócenia o 180° kolejnej, czwartej zasady i zerwania wiązań wodorowych między nićmi DNA.
- Odwrócona czwarta zasada jednoniciowego DNA tworzy wiązanie z zasadą nowo syntetyzowanej cząsteczki RNA.

Polimeraza RNA II Eukariota na początku transkrypcji.

Kompleks DNA-RNA na ogół obejmuje 8 do 10 nukleotydów. DNA dwuniciowy połączony jest z dużymi podjednostkami (1 i 2) polimerazy II.

Kornberg, 2007

1. Transkrypcja: mechanizm

Specyfika transkrypcji wynika ze zdolności polimerazy RNA do rozpoznawania błędnych rybonukleotydów w kompleksie DNA-RNA.

1. W miejscu E polimerazy: wejście sprawdzane jest dopasowanie rybonukleotydów (NTP) do nukleotydów w matrycy DNA.
2. Prawidłowo sparowany NTP jest przenoszony do miejsca A (centrum aktywne), miejsce E jest puste.
3. Powstaje wiązanie fosfodiesterowe między łańcuchem RNA a nowym nukleotydem.
4. Translokacja (przeniesienie) kompleksu DNA-RNA i powstanie pustego miejsca A.

Polimeraza RNA sprawdza wszystkie nukleotydy w miejscu E, ale wiązanie fosfodiesterowe powstaje tylko wówczas gdy rybonukleotyd jest komplementarny do deoksyrybonukleotydu matrycy DNA.

Kornberg, 2007

1. Transkrypcja: mechanizm

„Pętla wyzwalająca” (trigger loop): ruchomy element polimerazy RNA odpowiedzialny za przyłączenie prawidłowego rybonukleotydu.

Wiązanie pomiędzy rybonukleotydem, który nie jest komplementarny do matrycy DNA lub deoksyrybonukleotydem jest węższe (np. o 2-3 Å), co jest rozpoznawane przez „pętlę wyzwalającą”.

Precyzyjna pozycja histydyny względem grupy fosforanowej nukleotydu odpowiada za rozpoznawanie prawidłowo sparowanego rybonukleotydu.

„Pętla wyzwalająca” jest donorem protonów do grup fosforanowych z NTP. Jeżeli rybonukleotyd jest prawidłowo sparowany inicjuje ona tworzenie wiązania fosfodiesterowego.

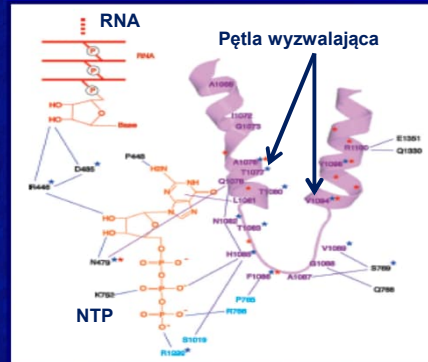
Kornberg, 2007

1. Transkrypcja: mechanizm

„Pętla wyzwalająca” zapewnia specyfikę transkrypcji dzięki sieci powiązań pomiędzy wszystkimi elementami rybonukleotydów.

- Mutacja asparaginy w pozycji 479 prowadzi do braku zdolności rozpoznawania obecności grupy OH na końcu 3' nukleotydu.
- Interakcja z grupą OH w pozycji 2' rybozy umożliwia rozróżnienie między rybonukleotydami i deoksyrybonukleotydami.
- Zmiany konformacji DNA (prosty lub zagięty) koordynują zmianę pozycji (translokację) DNA-RNA po przyłączeniu nukleotydu

„Pętla wyzwalająca” jest konserwatywną strukturą polimerazy RNA II Eukariota oraz polimerazy RNA Archaea. Uczestniczy ona we wszystkich etapach transkrypcji.



Sieć powiązań „pętli wyzwalającej” z zasadą azotową, grupą fosforanową i rybozą nukleotydu.

Kornberg, 2007

1. Transkrypcja: promotory

Promotor: region DNA (100-1000 bp), który zlokalizowany jest w pobliżu miejsca początku transkrypcji genu.

Modelowy promotor bakterii.



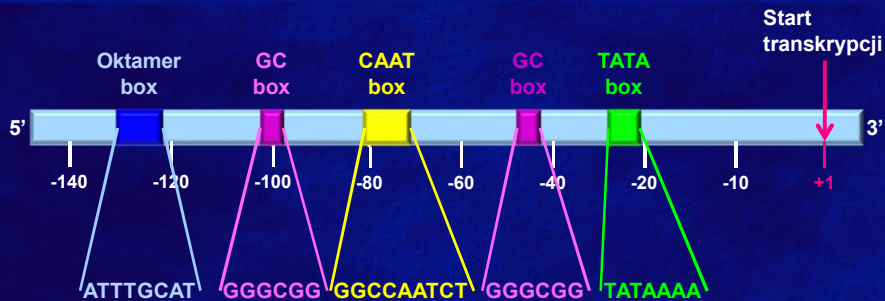
Przykłady sekwencji promotorowych u *Escherichia coli*.

| Gen | Funkcja | -35 | Przerwa | -10 |
|-------------|--------------------------------|----------|---------|----------|
| <i>fliA</i> | Flagelina | CTAAA | 15 | GCCGATAA |
| <i>rpoH</i> | Szok termiczny | CCCTTGAA | 13-15 | CCCGATNT |
| <i>rpoS</i> | Niedobór pożywienia | TTGACA | 16-18 | CTATACT |
| <i>rpoN</i> | Metabolizm azotu | CTGGNA | 6 | TTGCA |
| <i>rpoD</i> | Funkcje życiowe (housekeeping) | TTGACA | 16-18 | TATAAT |

Promotory bakteryjne najczęściej składają się z dwóch krótkich, konserwatywnych sekwencji w pozycjach -35 (TTGACA) i -10 (TATA).

1. Transkrypcja: promotory

Promotory Eukariota są złożone, składają się z kilku sekwencji, które różnią się w zależności od typu polimerazy.



Oktamer box:

może być nieobecny, występuje pojedynczo lub w wielu kopiach.

GC box:

jeżeli występuje to w wielu kopiach.

CAAT box:

w pozycji -80, występuje zawsze, wzmacnia transkrypcję.

TATA box:

w pozycji -25, występuje zawsze, wiąże się z polimerazą.

Promotory polimerazy RNA II u Eukariota mają 3-4 sekwencje konserwatywne, które występują w większości genów u różnych gatunków.

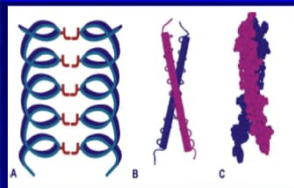


1. Transkrypcja: czynniki transkrypcyjne

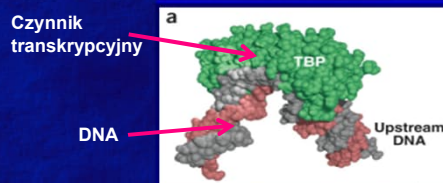
Czynnik transkrypcyjny to białko wiążące się z DNA w specyficznym miejscu (np. promotor) i regulujące transkrypcję.

Typy czynników transkrypcyjnych:

- **Globalne:** niezbędne, tworzą kompleks preinicjacyjny, który reaguje z polimerazą. Nie zawsze wiążą się z DNA.
- **Wiodące:** przyłączają się do DNA przed miejscem inicjacji transkrypcji, indukują lub hamują transkrypcję:
 - odpowiadają za różnicowanie i rozwój;
 - indukują odpowiedź na stresy środowiskowe;
 - regulują cykl komórkowy.



Motyw strukturalny α -helisy w czynnikach transkrypcyjnych typu „zamek leucynowych”.



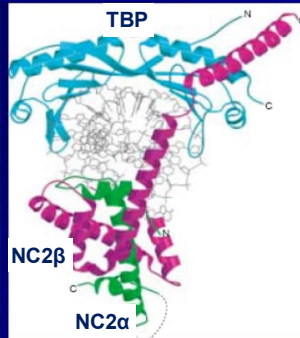
Czynniki transkrypcyjne działają samodzielnie lub w kompleksach. Ułatwiają one przyłączenie polimerazy RNA do promotora (aktywacja) lub blokują przyłączenie polimerazy (inhibicja).



1. Transkrypcja: czynniki transkrypcyjne

Polimeraza RNA II Eukariota wymaga obecności kilku globalnych czynników transkrypcyjnych: TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF i TFIIH.

- **TFIID: jako pierwszy przyłącza się do promotora, zawiera podjednostkę TBP (TATA binding protein), która wiąże się z sekwencją TATA.**
- **Następnie przyłączają się TFIIA, TFIIB oraz TFIIF.**
- **TFIIE umożliwia przyłączenie TFIIH. Oba czynniki stymulują aktywność polimerazy RNA w przenoszeniu grup fosforanowych z NTP (aktywność kinazy).**



Czynnik NC2-TBP-DNA: tetramer, wyizolowany z komórek HeLa, drożdży i muszki owocowej.

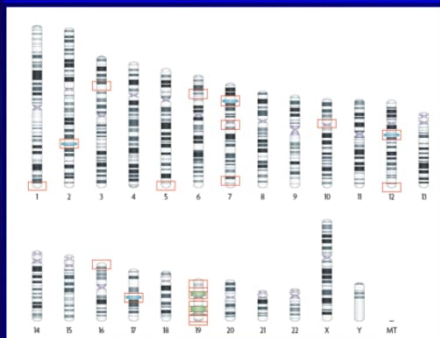
NC2-TBP-DNA jest inhibitorem transkrypcji. Region TBP przyłącza się do TATA i uniemożliwia przyłączenie się kolejnych TF.

TBP (TATA binding protein) umożliwia przyłączenie pozostałych TF, tworzy platformę dla polimerazy RNA. TBP wprowadza łańcuch aminokwasów pomiędzy nukleotydy DNA i rozplata helisę.

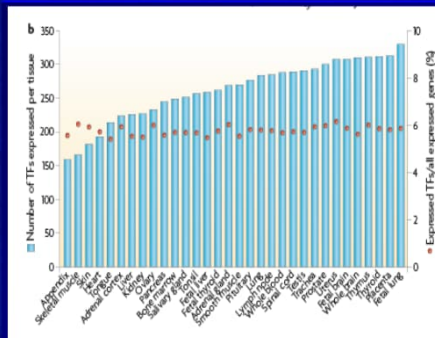


1. Transkrypcja: czynniki transkrypcyjne

U człowieka występuje 2000-3000 sekwencji (ORF) potencjalnie kodujących czynniki transkrypcyjne.



Rozmieszczenie genów kodujących czynniki transkrypcyjne u człowieka (TF). Miejsca zaznaczone na czerwono to regiony o podwyższonej gęstości genów kodujących TF.



Aktywność czynników transkrypcyjnych w tkankach człowieka. Najwięcej czynników jest aktywnych w płucach płodu (>300), najmniej w wyrostki robaczkowym (150).

Czynniki transkrypcyjne podlegają ekspresji we wszystkich tkankach człowieka, średnio 200 różnych czynników jest aktywnych w komórkach.

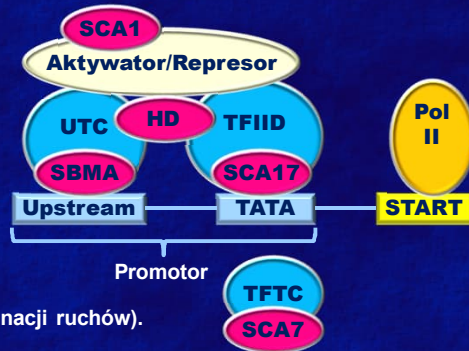
Vaquerizas et al., 2009



1. Transkrypcja: czynniki transkrypcyjne

Niektóre choroby neurodegeneracyjne człowieka związane są z mutacjami w czynnikach transkrypcyjnych.

Czynniki transkrypcyjne zawierają na N-końcu łańcuch glutaminowy, który reguluje inicjację transkrypcji. Mutacje zwiększające liczbę CAG prowadzą do wydłużenia łańcucha glutaminowego.



- SCA1: ataksja (zaburzenie koordynacji ruchów).
- SCA7: ataksja, retinopatia.
- SCA17: ataksja.
- HD: zaburzenia psychiczne, motoryczne, poznawcze.
- SBMA: atrofia mięśniowa.

Łańcuch poliglutaminowy w czynnikach transkrypcyjnych jest przyczyną objawów typowych dla chorób neurodegeneracyjnych.



Transkrypcja i translacja

1. Transkrypcja
 - Polimerazy RNA
 - Mechanizm transkrypcji
 - Promotory
 - Czynniki transkrypcyjne
2. Dojrzewanie RNA
 - mRNA u Eukariota
 - Wycinanie intronów
3. Translacja
 - Rybosomy i tRNA
 - Mechanizm translacji
 - Kod genetyczny
4. Struktura białek
5. Proteomika



2. Dojrzwanie RNA: mRNA u Eukariota

U Prokariota w wyniku transkrypcji powstaje mRNA. U Eukariota powstaje pierwotny transkrypt, który jest poddawany obróbce.

Dojrzwanie mRNA:

■ Etap 1:

Dodanie CAP (zmetylowana guanozyna) na końcu 5' podczas elongacji RNA. Powstaje pierwotny transkrypt: hnRNA



■ Etap 2:

Dodanie sekwencji polyA na końcu 3': pre-mRNA.



■ Etap 3:

Wycinanie intronów, dojrzały mRNA, transport do rybosomów (cytoplazma).



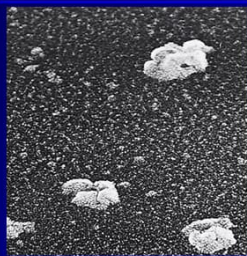
Etapy dojrzwania mRNA u Eukariota wynikają z mozaikowej budowy genów (egzony i introny) oraz z rozdziału przestrzennego transkrypcji (jądra) i translacji (rybosomy w cytoplazmie).



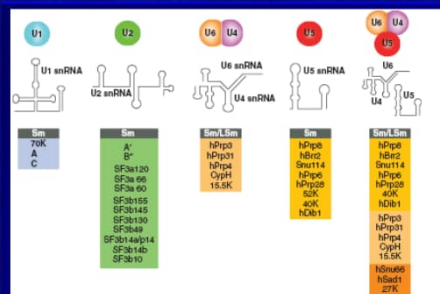
2. Dojrzwanie RNA: mRNA u Eukariota

Introny wycinane są z pre-mRNA Eukariota w jądrze za pomocą spliceosomu: kompleksu zbudowanego z RNA i białek.

Kompleks RNA i białek w spliceosomie to rybonukleoproteiny, snRNP.



Spliceosom drożdży



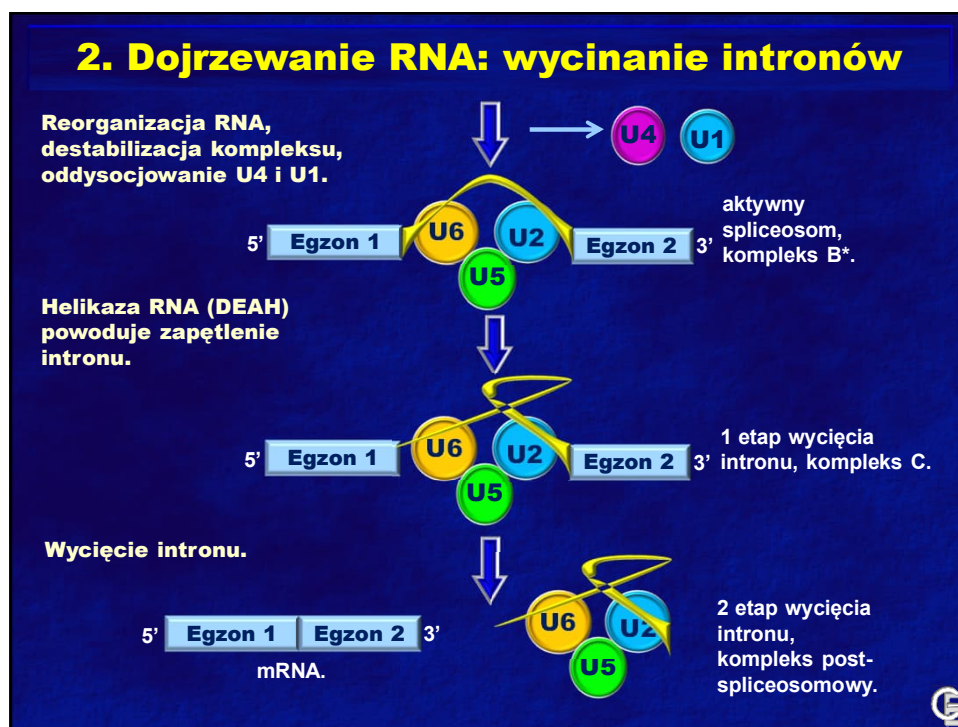
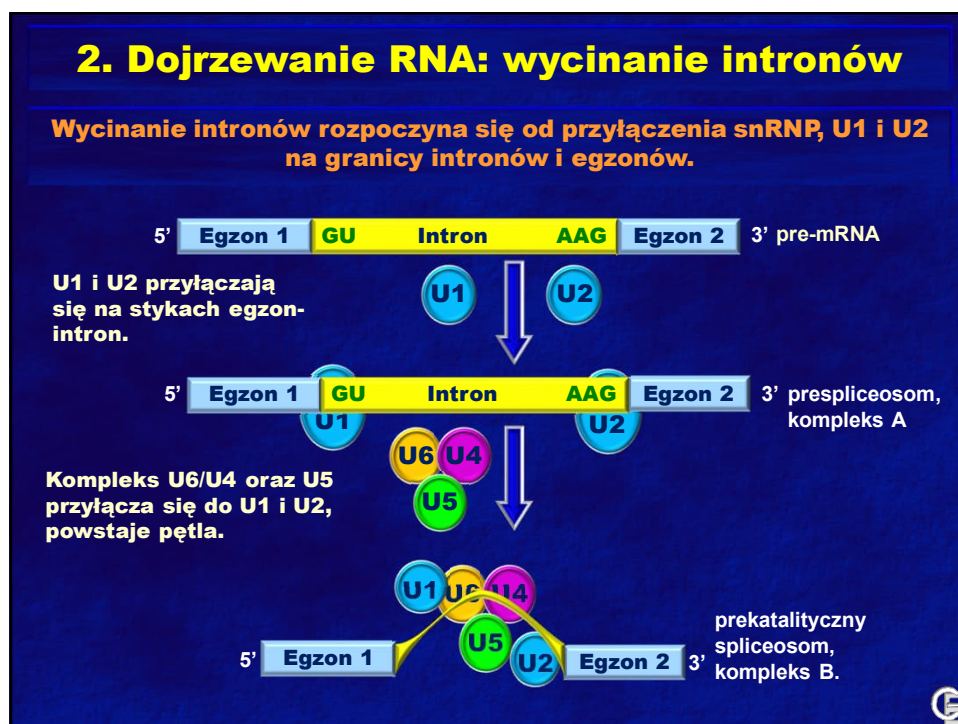
Struktura drugorzędowa oraz białka najważniejszych snRNP człowieka. Występują dwa typy białek Sm oraz LSm.

W skład snRNP wchodzi:

- 1-2 cząsteczki snRNA (niekodujący, jądrowy RNA, ~150 bp);
- zestaw 7 białek Sm – B/B', D3, D2, D1, E, F, G;
- zmienna liczba białek specyficznych w zależności od typu spliceosomu.

Spliceosom najczęściej tworzą rybonukleoproteiny (snRNP) U1 i U2, U4/U6 oraz U5 oraz szereg innego typu białek.



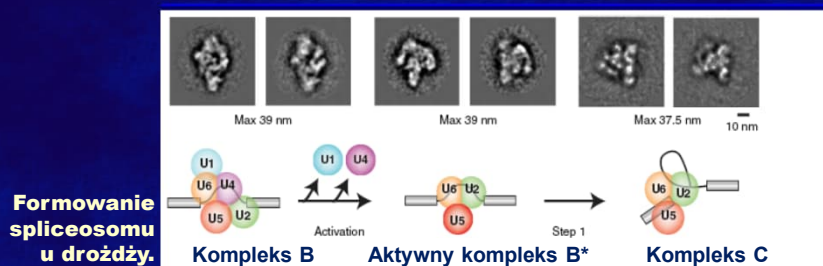


2. Dojrzwanie RNA: wycinanie intronów

Spliceosomy są strukturą dynamiczną. RNA wchodzący w jego skład jest przetwarzany w trakcie wycinania intronów.



Model spliceosomu człowieka.



Willi Luhrmann 2011



Transkrypcja i translacja

1. Transkrypcja
 - Polimerazy RNA
 - Mechanizm transkrypcji
 - Promotory
 - Czynniki transkrypcyjne
2. Dojrzwanie RNA
 - mRNA u Eukariota
 - Wycinanie intronów
3. **Translacja**
 - Rybosomy i tRNA
 - Mechanizm translacji
 - Kod genetyczny
4. Struktura białek
5. Proteomika



3. Translacja: rybosomy

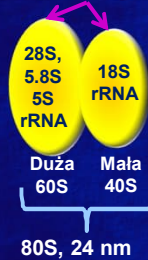
W procesie translacji informacja zawarta w mRNA zostaje przepisana na sekwencję aminokwasów w polipeptydach/białkach.

Podjednostki

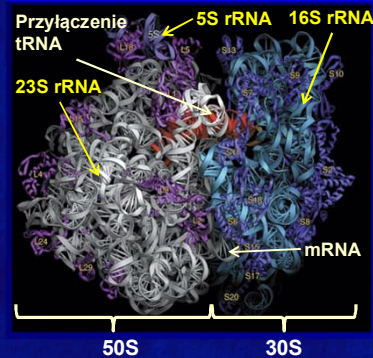


Rybosom Prokariota: cytoplazma.

Podjednostki



Rybosom Eukariota: cytoplazma, retikulum endoplazmatyczne.



Struktura przestrzenna rybosomu Prokariota (70S).

Translacja zachodzi w rybosomach, które są kompleksem białek i kwasu rybonukleinowego rRNA (65%). Rybosomy zbudowane są z dwóch podjednostek: małej i dużej.



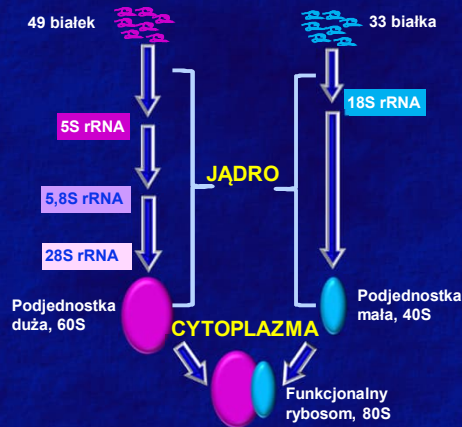
3. Translacja: rybosomy

Rybosom ssaków, w tym człowieka zbudowany jest z 82 białek rybosomalnych, które tworzą strukturę rybosomu.

Biogeneza rybosomów u Eukariota

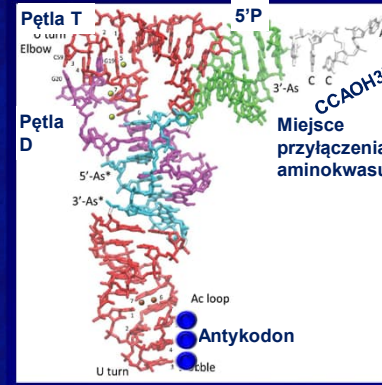
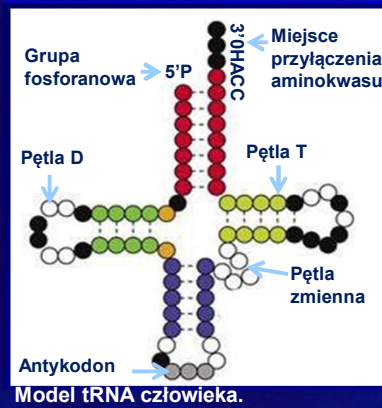
- Rybosomy syntetyzowane są w jądrze i cytoplazmie.
- Transkrypcja genów rDNA dla 18S, 5,8S i 28S rRNA odbywa się w jąderku.
- 5S rRNA jest transkrybowany poza jąderkiem.
- Białka i rRNA są składane w jąderku, tworząc podjednostkę małą i dużą.
- Podjednostki rybosomu są transportowane do cytoplazmy.
- Podczas translacji podjednostki łączą się, tworząc funkcjonalny rybosom.

Funkcjonalny rybosom występuje tylko podczas translacji. Po jej zakończeniu podjednostki rybosomu oddysocjują.



3. Translacja: tRNA

tRNA (transportujący): nieduże cząsteczki RNA (76-90 bp), które dostarczają aminokwasy do rybosomów - miejsca syntezy białek.



Aminokwas jest kowalentnie przyłączany do grupy OH na końcu 3' tRNA i tworzy aminoacyl tRNA. Sekwencja CCA jest rozpoznawana przez syntetazy aminoacyl-tRNA i dlatego jest krytyczna dla translacji.



3. Translacja: tRNA

U Eukariota występuje tRNA cytoplazmatyczne (translacja genów jądrowych) i organellowe (translacja genów organellowych).

Geny dla danego typu tRNA

- Mają taką samą sekwencję dla antykodonu.
- Różnią się sekwencją poza antykodonem.
- Tworzą liczne paralogi, np.
 - 32 paralogi dla tRNA^{tyr}
 - wszystkie mają sekwencję ATA dla antykodonu.
- Paralogi chronią przed zaburzeniami związanymi z mutacjami w genach tRNA.

Funkcjonowanie tRNA zależy od genów kodujących enzymy uczestniczące w obróbce potranslacyjnej białek, w tym uczestniczących dojrzeniu i aminoacylacji oraz w metabolizmie tRNA.



Choroby związane z mutacjami w enzymach uczestniczących w dojrzewaniu tRNA, np. PCH.

Choroby związane z mutacjami w genach aminoacylo-tRNA syntetaz, np. CMT.

W genomie jądrowym człowieka występuje około 500 genów dla 61 rodzajów tRNA cytoplazmatycznego. W genomie mitochondrialnym zlokalizowane są 22 geny kodujące mitochondrialne tRNA (mt-tRNA).



3. Translacja: tRNA

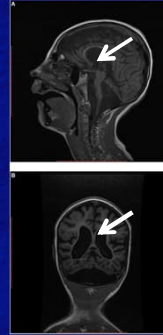
PCH (pontocerebellar hypoplasia): recesywne autosomalne choroby objawiające się niedorozwojem mózgu i/lub pnia mózgu.

Genetyczne uwarunkowania PCH

- Mutacje w genach kodujących endonukleazy spliceosomu tRNA, TSEN2 (chr. 3), TESEN15 (chr. 1), TSEN34 (chr. 19), TSEN54 (chr. 17):

- TSEN2 – zamiana tyrozyny na cysteinę w pozycji 309,
- TSEN34: zamiana argininy na tryptofan w pozycji 58,
- TSEN54 - zamiana alaniny na serynę w pozycji 307 białka.

- Mutacje w genie *CLP1* kodującym kinazę RNA, uczestniczącą w tworzeniu łańcucha polyA.



Niedorozwój mózdzku spowodowany mutacją w genie TSEN54.

Objawy PCH:

- mikrocefalia związana z nierównomiernym rozwojem mózgu,
- opóźniony rozwój,
- problemy ruchowe w tym trudność w poruszaniu się, chwytaniu przedmiotów,
- problemy intelektualne, trudność w mówieniu.

PCH związane są z mutacjami w genach kodujących endonukleazy uczestniczące w potranskrypcyjnej obróbce tRNA (dojrzewanie, splicing).



3. Translacja: tRNA

CMT: neuropatie czuciowo-ruchowe wywołane recesywnymi lub dominującymi mutacjami hamującymi rozwój osłonek mielinowych.

CMT może być wywołane mutacjami w genach *ARS*:

- DARS – syntetaza tRNA kwasu asparaginowego,
- EARS – syntetaza tRNA kwasu glutaminowego,
- GARS – syntetaza glicylo-tRNA,
- HARS – syntetaza histydylo- tRNA,
- KARS – syntetaza lizylo-tRNA,
- LARS – syntetaza leucylo-tRNA,
- MARS – syntetaza metionylo-tRNA,
- QARS – syntetaza glutamylo-tRNA,
- YARS: syntetaza tyrozylo-tRNA.



CMT: Choroba Charcot-Marie-Tooth:

- dotyczy nerwów obwodowych;
- utrata masy mięśniowej w nogach i stopach,
- skręcone palce rąk,
- utrata czucia,
- trudności w podnoszeniu nóg.

Objawy CMT.

CMT wywołane są mutacjami w 80 genach, w tym 30 mutacji (37,5%) dotyczy genów *ARS*, które kodują syntetazy aminoacylo-tRNA.



3. Translacja: tRNA

Mutacje w genach kodujących mt-tRNA prowadzą do chorób, które objawiają się w tkankach o wysokim zapotrzebowaniu na energię.

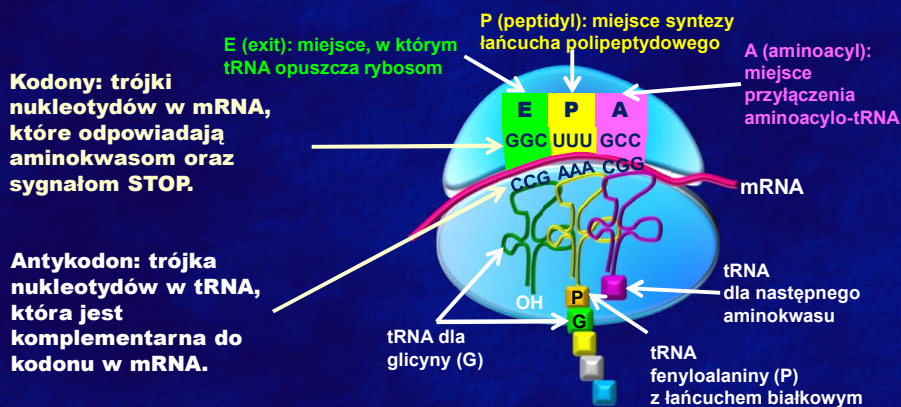
| Gen | Pozycja/ Mutacja | Miejsce w tRNA | Efekt biologiczny | Choroba |
|-------|------------------|-----------------------|---|---|
| MTTL1 | 3243: A→G | Antykodon dla leucyny | Wadliwa modyfikacja tauryny | MELAS: miopatia, kwasica mleczanowa, incydenty udarowe >40 lat |
| MTTI | 4277: C→T | Pętla D, skręt U, H | Zmniejszona ekspresja w komórkach mięśnia sercowego | CMH1: kardiomiopatia przerostowa, nadmierny rozwój lewej komory serca |
| MTTH | 4302: A→G | Pętla zmienna | Zaburzenie parowania zasad | CM: kardiomiopatia, nieprawidłowa struktura mięśnia sercowego |
| MTTE | 1466: G→A | Pętla T | Zaburzenie parowania zasad | Katarakta, niedowład kończyn (paraplegia spastyczna), ataksja |

W komórce występuje wiele kopii mtDNA. Jeżeli liczba kopii z mutacją w genie tRNA przekroczy pewien poziom (50-90%) pojawiają się symptomy chorobowe. Choroby mitochondrialne dziedziczą się w linii żeńskiej.



3. Translacja: mechanizm

Translacja wymaga obecności trzech typów RNA: mRNA (informacja o sekwencji genu), tRNA (dostarcza aminokwasy) oraz rRNA.



Centrum katalityczne rybosomu stanowi rRNA, dlatego rybosom można uznać za rybosom będący pozostałością po „świecie RNA”.



3. Translacja: kod genetyczny

Kod genetyczny jest to sposób w jaki informacja genetyczna (DNA lub RNA) jest przepisywana na sekwencję aminokwasów w białkach.

- **G. Gamow:** 3 spośród 4 możliwych nukleotydów dają $4^3=64$ kombinacje trójek, kodonów.
- **Jest tylko 20 aminokwasów a więc jeden aminokwas może być kodowany przez kilka trójek.**
- **M. Nirenberg:** UUU koduje fenyloalaninę.
- **S. Ochoa:** AAA koduje lizynę, CCC koduje prolinę.
- **HG. Khorana:** identyfikacja wszystkich kodonów.
- **RW. Holley:** struktura tRNA.



G. Gamow, Rosjanin, kosmolog



M. Nirenberg, Amerykanin, chemik



HG. Khorana Hindu, biolog



S. Ochoa, Hiszpan, fizyk, biochemik



RW. Holley, Amerykanin, biochemik

Złamanie kodu genetycznego było jednym z najważniejszych odkryć w biologii (1968: Nobel dla M. Nirenberga, HG. Khorany i RW. Holleya).



4. Translacja: kod genetyczny

Kod genetyczny obejmuje zestaw 64 trójek nukleotydów (kodonów) w mRNA, które determinują 20 aminokwasów, START i STOP.

Cechy kodu genetycznego:

- **61 kodonów dla 20 aminokwasów;**
- **3 kodony STOP: UAA, UAG, UGA;**
- **degeneracja – jeden aminokwas może być kodowany przez więcej niż jeden kodon;**
- **ciągłość – nie ma przecinków;**
- **uniwersalność – kod jest prawie identyczny u wszystkich organizmów; niewielkie odstępstwa występują w mitochondriach, bakteriach, Archaea i grzybach.**

Table 3.1 Standard genetic code

| 1 st base | 2 nd base | | | | 3 rd base |
|----------------------|----------------------|-----|-----|-----|----------------------|
| | U | C | A | G | |
| U | UUU | UCU | UAU | UGU | U |
| | UUC | UCC | UAC | UGC | C |
| | UUA | UCA | UAA | UGA | A |
| | UUG | UCG | UAG | UGG | G |
| C | CUU | CCU | CAU | CGU | U |
| | CUC | CCC | CAC | CGC | C |
| | CUA | CCA | GAA | CGA | A |
| | CUG | CCG | CAG | CGG | G |
| A | AUU | ACU | AAU | AGU | U |
| | AUC | ACC | AAC | AGC | C |
| | AUA | ACA | AAA | AGA | A |
| | AUG ¹ | ACG | AAG | AGG | G |
| G | GUU | GCU | GAU | GGU | U |
| | GUC | GCC | GAC | GGC | C |
| | GUA | GCA | GAA | GGA | A |
| | GUG | GCG | GAG | GGG | G |

¹PHE/F - abbreviations.
The codon AUG has two functions: it codes for both methionine and an initiation site.
Nonpolar: Polar Basic Acidic

Kodony są rozpoznawane przez antykodony: trójki nukleotydów w tRNA są komplementarne do kodonów w mRNA.

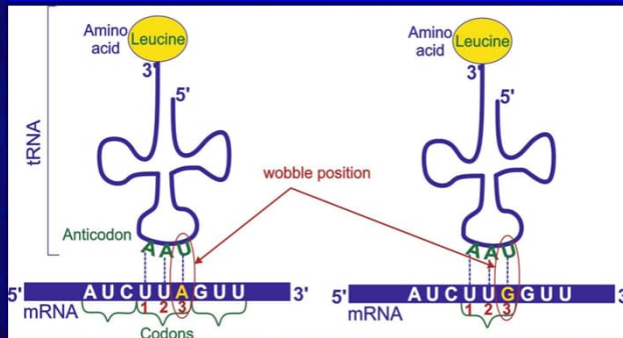


3. Translacja: kod genetyczny

Kodony w mRNA są rozpoznawane przez antykonon w tRNA ponieważ tworzy się między nimi wiązanie wodorowe.

Dla leucyny, antykononowi AAU może odpowiadać kodon UUA lub UUG. Trzecia zasada od końca 5' kodonu to A lub G. G nie jest komplementarne do U.

Tolerancja w 3-ciej pozycji kodonu powoduje, że dany aminokwas może być kodowany przez co najmniej 2 kodony.



Kodony zawsze podajemy od końca 5'.

Pomiędzy trzecią zasadą od końca 5' kodonu i 3' antykononu nie zawsze występuje komplementarność. Jest to zasada tolerancji Crick'a, która odpowiada za degenerację kodu genetycznego.



3. Translacja: kod genetyczny

W literaturze czasami spotyka się błędne użycie pojęcia „kodu genetycznego”.



SPAeden.pl: portal o zdrowiu opisujący testy genetyczne. „Twój kod genetyczny” jest błędnie użyte, gdyż kod genetyczny jest identyczny u wszystkich. Autorom chodzi o sekwencję DNA czyli informację genetyczną, która jest unikalna.

kod genetyczny
Słownik języka polskiego PWN
kod genetyczny «kod zawarty w cząsteczkach kwasu deoksyrybonukleinowego w jądrze komórkowym, który zapewnia zachowanie właściwości dziedzicznych»

The screenshot shows the Medonet.pl website interface. The article title is 'Kod genetyczny człowieka - jego zadania i cechy'. The text below the title discusses genetic information and its role in an organism's development and health.

Definicja w SJP (PWN) jest błędna, gdyż utożsamia kod genetyczny z informacją genetyczną zawartą w DNA.



Medonet.pl, serwis ekspercki o zdrowiu. Artykuł błędnie opisuje genom człowieka jako kod genetyczny. Kod genetyczny człowieka nie różni się od kodu genetycznego np., kota, lipy, żaby, glonu, pijawki itd.

Kodem genetycznym NIE JEST informacja zawarta w DNA. Nie można mówić, że np. „poznaliśmy kod genetyczny człowieka” ponieważ kod ten jest taki sam jak u innych organizmów żywych.



Transkrypcja i translacja

- 1. Transkrypcja**
 - Polimerazy RNA
 - Mechanizm transkrypcji
 - Promotory
 - Czynniki transkrypcyjne
- 2. Dojrzwanie RNA**
 - mRNA u Eukariota
 - Wycinanie intronów
- 3. Translacja**
 - Rybosomy i tRNA
 - Mechanizm translacji
 - Kod genetyczny
- 4. Struktura białek**
- 5. Proteomika**



4. Struktura białek: aminokwasy

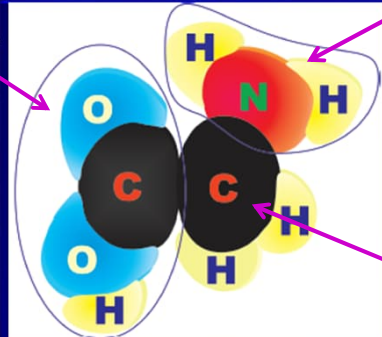
Białka zbudowane są z aminokwasów: organicznych związków chemicznych zawierających grupę aminową i karboksylową.

COOH: kwasowa grupa karboksylowa

NH₂: zasadowa grupa aminowa

Wzór chemiczny glicyny:


- NH₂CH₂COOH lub
- C₂H₅NO₂



Centralny atom węgla: C α (alfa), do którego przyłączają się grupy boczne, R. W glicynie R = H₂.

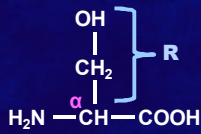
Struktura przestrzenna glicyny, najprostszego aminokwasu

W przyrodzie występuje około 500 aminokwasów, jednakże tylko 20 z nich buduje białka organizmów żywych.



4. Struktura białek: aminokwasy

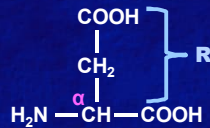
Aminokwasy różnią się grupami bocznymi (R), które wiążą się z C α . Są one odpowiedzialne za zróżnicowanie białek.



Seryna:

- grupa wodorotlenowa
- polarny;
- hydrofilowy;
- w fizjologicznym pH pozbawiona ładunku.

Grupy boczne, R wpływają na właściwości fizyczne aminokwasów: rozmiary, ładunek, hydrofobowość.



Kwas asparaginowy (Asp): Asparagina (Asn):

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ➤ grupa karboksylowa; ➤ kwasowy, hydrofilowy ➤ polarny; ➤ w fizjologicznym pH ma ładunek ujemny. | <ul style="list-style-type: none"> ➤ grupa amidowa; ➤ polarny; ➤ hydrofilowy ➤ w fizjologicznym pH ma pozbawiona ładunku. |
|---|---|

Kwas asparaginowy (kwas) i asparagina (amid) to różne aminokwasy, podobnie jak kwas glutaminowy (kwas) i glutamina (amid).

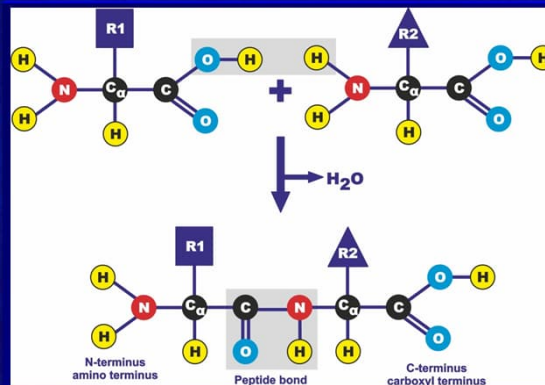


4. Struktura białek: aminokwasy

Struktura pierwszorzędowa białka (polipeptydu) to sekwencja aminokwasów (np. Ala-leu-Gly...).

Wiązanie peptydowe powstaje pomiędzy grupą COOH jednego aminokwasu oraz grupą NH₂ drugiego.

Aminokwasy różnią się grupami bocznymi (R), które wiążą się z centralnym atomem węgla (C α). Grupy boczne odpowiedzialne są za zróżnicowanie białek.

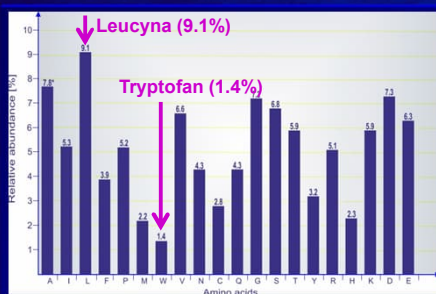


Aminokwasy połączone są wiązaniem peptydowym. Sekwencję białka czyta się od lewej do prawej, czyli od końca N (N-terminus) do końca C (C-terminus).

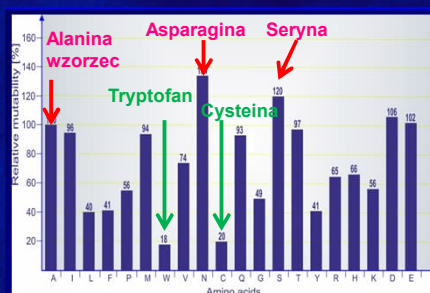


4. Struktura białek: aminokwasy

Aminokwasy nie występują z jednakową częstością w białkach. Najczęściej występuje leucyna a najrzadziej tryptofan.



Częstość aminokwasów w białkach.



Częstość substytucji w kodonach względem alaniny (100%).

Mutacje w DNA, które skutkują zamianą jednej zasady w kodonie i następnie zamianą aminokwasu to substytucje niesynonimiczne.

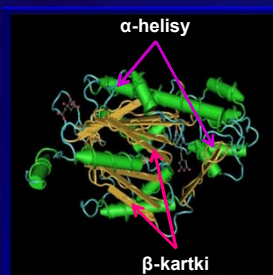


4. Struktura białek: drugorzędowa

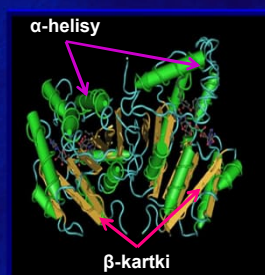
Struktura drugorzędowa to przestrzenna organizacja aminokwasów w białku, które tworzą motywy typu α -helisy i β -kartek.

α -helisy to 4-10 aminokwasów, prawoskrętnie zwinionych w formie cylindra/walca.

β -kartka to 5-10 aminokwasów, które tworzą „zig-zag”, a następnie łączą się w grupy.



Syntetaza stilbenowa *Vitis vinifera*.



Katalaza-peroksydaza *Mycobacterium tuberculosis*.

Struktury α -helisy i β -kartek ułatwiają tworzenie stabilizujących wiązań wodorowych.



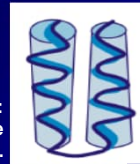
4. Struktura białek: trzeciorzędowa

Struktura trzeciorzędowa dotyczy motywów tworzonych przez elementy drugorzędowe w trójwymiarowej przestrzeni.

- Struktura trzeciorzędowa utrzymywana jest przez słabe wiązania kowalencyjne oraz mostki dwusiarczkowe S-S.
- Kilka α -helis i/lub β -kartek tworzy segmenty oddzielone przez pętle.
- Pętle są wrażliwe na trawienie enzymami proteolitycznymi.



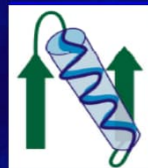
Motyw β -zakręt: prosty motyw złożony z β -kartek.



Motywy $\alpha\alpha$: antyrównoległe α -helisy.



Motyw β -meandry: złożony z kilku β -kartek.



Motyw α - β - α : α -helisa łączy się z dwoma β -kartkami.



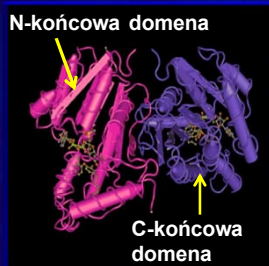
Motyw β -beczułka: β -kartki i pętle tworzą cylinder.

Motyw funkcjonalny: zestaw drugorzędowych elementów, które łączą się i zwijają tworząc fragment domeny o znaczeniu funkcjonalnym.



4. Struktura białka: czwartorzędowa

Struktura czwartorzędowa to łączenie się 2 lub więcej polipeptydów (domen) w wielofunkcyjne struktury białkowe.



Monomer katalazy- peroksydazy *Mycobacterium tuberculosis*. Domena N-końcowa jest miejscem aktywnym enzymu. Enzym jest aktywny jako dimer (homodimer). Domenowa struktura enzymu jest efektem duplikacji genu kodującego katalazę-peroksydazę u bakterii.

Podjednostki β (HBB)



Podjednostki α (HBA1)

Strukturę czwartorzędową hemoglobiny człowieka tworzą dwa łańcuchy α -globin i dwa łańcuchy β -globin. Domenowa struktura jest wynikiem interakcji produktów dwóch genów w aktywnej cząsteczce.

Czwartorzędowe struktury utrzymywane są przez wiązania wodorowe, interakcje hydrofobowe (pomiędzy cząsteczkami niepolarnymi) oraz wiązania jonowe.



4. Struktura białka: przykłady

W jaju kurzym występuje wiele białek, w tym największy udział ma owoalbumina w białku oraz foswityna i lipowitelina w żółtku.

Skład jaja kurzego:

| | |
|------------------|------|
| ■ Białko: | |
| ▪ woda | 86% |
| ▪ białka | 11% |
| ▪ tłuszcz | 0.1% |
| ▪ Mikroelementy | 0.9% |
| ■ Żółtko: | |
| ▪ woda | 52% |
| ▪ białka | 16% |
| ▪ tłuszcz | 27% |
| ▪ Węglowodany | 4% |
| ▪ Witaminy | 0,8% |
| ▪ Mikroelementy | 0.2% |

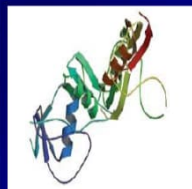
Białka występujące w białku jaja kurzego (% białek w białku):



Owoalbumina (54%)



Owootransferyna (12%)



Owingukoidyna (11%)



Lizozym (3.4%)



4. Struktura białka: zastosowanie

Właściwości fizyko-chemiczne białek jaja kurzego wykorzystywane są w produkcji żywności.



Różnice w zawartości tłuszczu w białku (0.1%) i żółtku (27%) pozwalają łatwo oddzielić je od siebie.



Białka i tłuszcze żółtka tworzą „emulgator” – system 2-fazowy typu koloidu, który pozwala utworzyć gładką emulsję (majonez).



Podczas ubijania białka niszczone są mechanicznie wiązania tworzące strukturę drugo- i trzeciorzędową (denaturacja).

Łańcuchy częściowo się rozplatają a w wolne miejsca wchodzą pęcherzyki powietrza. Zdenaturowane białka łączą się otaczając powietrze. Dodanie NaCl, miedzi lub zakwaszenie stabilizuje nowe wiązania i umacnia pianę.



Transkrypcja i translacja

- 1. Transkrypcja**
 - Polimerazy RNA
 - Mechanizm transkrypcji
 - Promotory
 - Czynniki transkrypcyjne
- 2. Dojrzewanie RNA**
 - mRNA u Eukariota
 - Wycinanie intronów
- 3. Translacja**
 - Rybosomy i tRNA
 - Mechanizm translacji
 - Kod genetyczny
- 4. Struktura białek**
- 5. Proteomika**

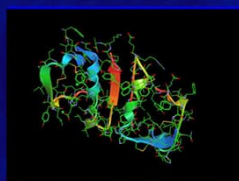



5. Proteomika

Geny warunkują budowę i funkcję organizmów poprzez białka, które są budulcem oraz uczestniczą w większości procesów życiowych.

Białka (gr. proteios: pierwotny)

- 1838: G.J. Mulder opisał białka, nazwę nadał J.J. Berzelius.
- Carl von Voit: białka są elementem strukturalnym organizmu.
- Rola białek jako enzymów opisana została po 1926 r.
- 1949: F. Sanger podał sekwencję aminokwasów w insulynie. Tym samym było to pierwsze zsekwencjonowane białko.
- 1958: scharakteryzowano hemoglobinę i mioglobinę.




Frederick Sanger, nagroda Nobla w 1958 r. za zsekwencjonowanie insuliny bydłowej. Struktura przestrzenna ludzkiej insuliny.

Fragment sekwencji otrzymanej przez Sangerą.

| | |
|--------------------------------|--------------------------|
| GIVEQCCASVCSLYQLENYCN | A chain (21 amino acids) |
| FVNQHLCGSHLVEALYLVCGERGFFYTPKA | B chain (30 amino acids) |

Funkcje komórek, tkanek, organów wynikają ze struktury białek, które wchodzą w ich skład. Poznanie struktury białka umożliwia poznanie funkcji.

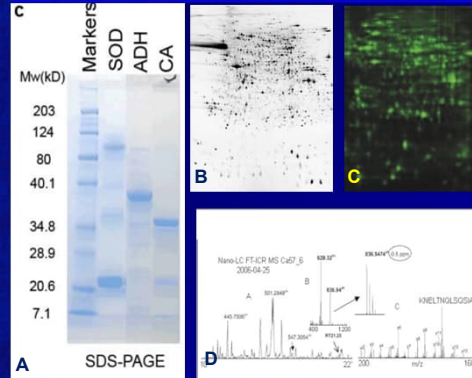


5. Proteomika: techniki badania białek

Techniki analizy białek obejmują: rozdzielanie białek, western blotting (immunoblotting) oraz identyfikację sekwencji aminokwasów.

Metody rozdzielania białek:

- **SDS-PAGE:** elektroforeza z wykorzystaniem soli sodowej siarczanu dodecylu oraz żelu poliakrylamidowego umożliwia rozdzielanie białek na podstawie długości łańcucha aminokwasowego.
 - **2D SDS-PAGE:** elektroforeza w dwóch kierunkach.
- **Chromatografia:** rozpuszczenie białek w roztworze, następnie rozdzielanie na podłożu stałym lub żelowym. Najczęściej wykorzystuje się wysokosprawną chromatografię kolumnową (HPLC).



Rozdzielenie białek metodą SDS-PAGE (A), SDS-PAGE w dwóch kierunkach, barwienie tradycyjnie (B) i fluorescencyjnie (C) oraz wydruk rozdzielania chromatograficznego (D).

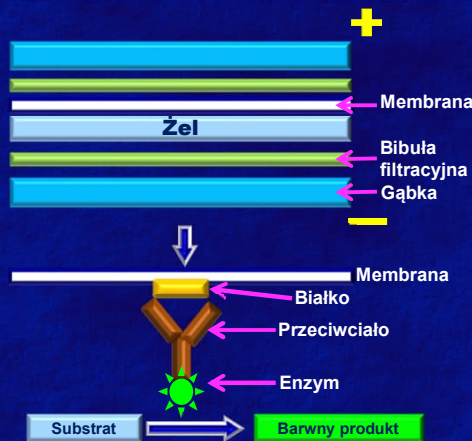
Podstawową metodą rozdzielania białek jest elektroforeza, która umożliwia rozdzielanie białek w zależności od ich ruchliwości w polu elektrycznym.

5. Proteomika: techniki badania białek

Western blotting (immunoblotting): identyfikacja białek rozdzielonych elektroforetycznie przy pomocy przeciwciał.

Western blotting: metodyka

- Po elektroforezie białka przenoszone są z żelu na membranę z polifluorku winylidenu (PVDF) lub nitrocelulozy.
- **Elektroblotting (elektrotransfer):** pod wpływem pola elektrycznego białka o ładunku ujemnym są przemieszczane w kierunku elektrody dodatniej i membrany.
- **Traktowanie membrany przeciwciałami specyficznymi dla danego białka.** Przeciwciała są związane z enzymem, który katalizuje reakcję barwną.



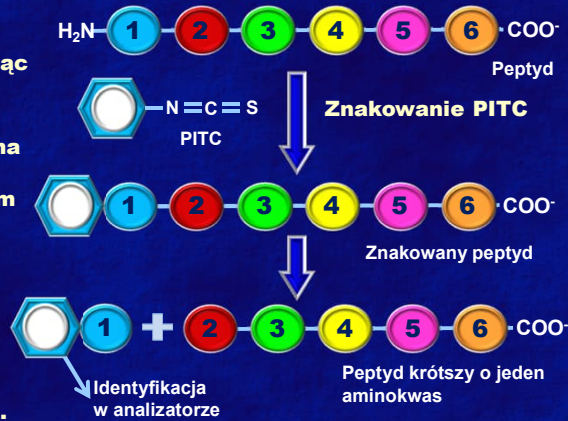
Western blotting jest wykorzystywany do wykrywania zakażenia HIV, boreliozą, a także do wykrywania dopingu w sporcie.

5. Proteomika: techniki badania białek

Degradacja Edmana i spektrometria masowa umożliwiają poznanie sekwencji aminokwasowej białka.

Degradacja Edmana

- Polega na systematycznej degradacji białek poczynając od końca aminowego (N-terminus).
- Pierwszy z aminokwasów na N-końcu reaguje z izotiocyanianem fenylowym (PITC).
- W niskim pH, powstaje pochodna aminokwasowa: tiohydantoina fenylowa (PTH), która jest identyfikowana w analizatorze opartym o metody chromatograficzne.



Degradacja Edmana jest pracochłonna. Nie nadaje się do analizy wielu białek jednocześnie. Jest 10-100 razy mniej czuła od spektrometrii.

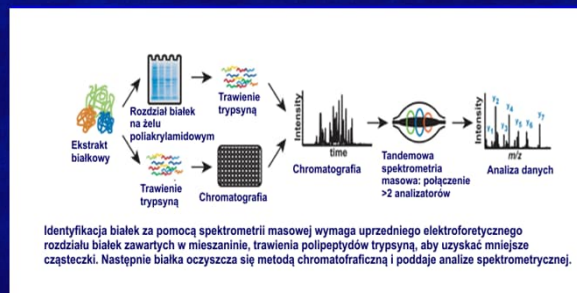


5. Proteomika: techniki badania białek

Spektrometria masowa polega na identyfikacji zjonizowanej cząsteczki na podstawie stosunku masy do ładunku elektrycznego.

Spektrometria mas w proteomice umożliwia:

- ustalenie składu mieszaniny złożonej z wielu polipeptydów i/lub białek;
- stworzenie katalogu białek organizmów jednokomórkowych;
- stworzenie katalogu białek organizmów wielokomórkowych, w tym myszy i człowieka.



Identyfikacja białek za pomocą spektrometrii masowej wymaga uprzedniego elektroforetycznego rozdzielu białek zawartych w mieszaninie, trawienia polipeptydów trypsyną, aby uzyskać mniejsze cząsteczki. Następnie białka oczyszczą się metodą chromatograficzną i poddaje analizie spektrometrycznej.

Kluczowym etapem spektrometrii masowej jest identyfikacja białek przez ich porównanie z teoretycznymi profilami spektralnymi fragmentów otrzymanych z baz danych.

W spektrometrii masowej białka przenosi się do fazy gazowej, która pozwala na ich jonizację.

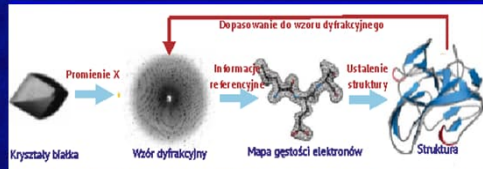


5. Proteomika: techniki badania białek

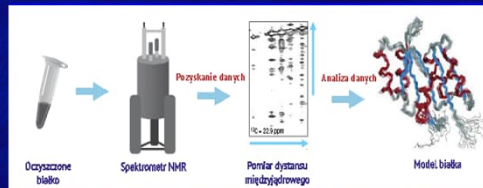
Struktura przestrzenna białek może być określona eksperymentalnie lub w wyniku modelowania komputerowego.

Techniki eksperymentalne

- **Rentgenografia strukturalna:**
 - kryształy białek bombardowane są promieniami X;
 - obraz utrwalany jest na kliszy lub elektronicznie.
- **NMR: spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego:**
 - próbkę umieszcza się w polu magnetycznym,
 - fale radiowe wzbudzają próbkę,
 - sygnał odbierany jest przez czuły odbiornik radiowy.



Schemat rentgenografii strukturalnej.



Schemat NMR.

Obraz białka otrzymany w rentgenografii strukturalnej jest statyczny, natomiast obraz w NMR jest dynamiczny.

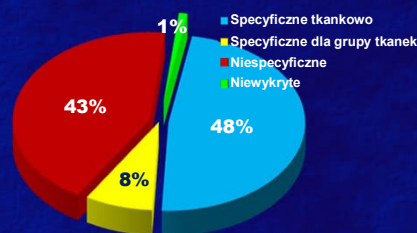


5. Proteomika: proteom człowieka

Na podstawie sekwencjonowania genomu ustalono, że potencjalna liczba białek u człowieka wynosi 19 670 zakładając 1 gen = 1 białko.

Projekt poznania ludzkiego proteomu (HPP)

- Jest to projekt prowadzony przez kilkanaście zespołów.
- Celem projektu jest eksperymentalna identyfikacja wszystkich białek ludzkich, których istnienie przewiduje się na podstawie sekwencji DNA i modelowania.
- Istnienie około 10,5 tys. potwierdzono eksperymentalnie, ale tylko 1278 białek (6%) scharakteryzowano ilościowo i jakościowo.



W proteomie człowieka najwięcej jest białek specyficznych tkankowo, 48% (9432) oraz niespecyficznych 43% (8385). Białka specyficzne dla grupy tkanek stanowią zaledwie 8% (1637), natomiast 1% (216) przewidywanych białek nie wykryto.

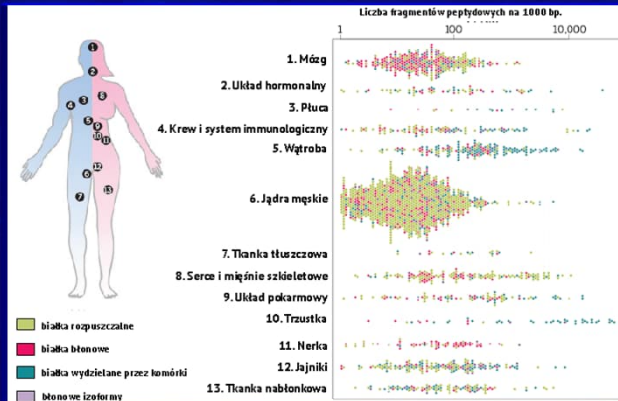
Białka potencjalne to takie, których struktura i funkcja została określona jedynie poprzez modelowanie na podstawie sekwencji genu.



5. Proteomika: proteom człowieka

Wiele białek jest specyficznych tkankowo. Najwięcej ich jest w jądrach męskich oraz w mózgu.

- 999 genów koduje białka specyficzne dla jąder męskich, białka te mają liczne izoformy.
- 318 genów koduje białka podlegające specyficznej ekspresji w mózgu.
- Geny podlegające specyficznej ekspresji w wątrobie kodują białka plazmatyczne, żółciowe, związane z detoksykacją i gromadzeniem glikogenu.



Białka identyfikowane w proteomie człowieka.

W męskich jądrach większość białek specyficznych tkankowo jest rozpuszczalna w wodzie (białka cytoplazmatyczne i nukleoplazmatyczne), podczas gdy białka specyficzne dla mózgu są głównie białkami błonowymi.

5. Proteomika: proteom człowieka, izoformy

Dane białko może występować w różnych formach (izoenzymy, izoformy), co znacznie zwiększa zróżnicowanie proteomu.

- Izoformy to białka, które pełnią taką samą funkcję biologiczną ale różnią się spektrum aktywności, lokalizacją komórkową, właściwościami regulacyjnymi.
- Izoformy są produktami jednego genu lub wielu genów, które pochodzą od wspólnego przodka.
- Izoformy będące produktami jednego genu wynikają z alternatywnego splicingu lub obróbki potranslacyjnej.
- Izoenzymy to izoformy białek enzymatycznych.

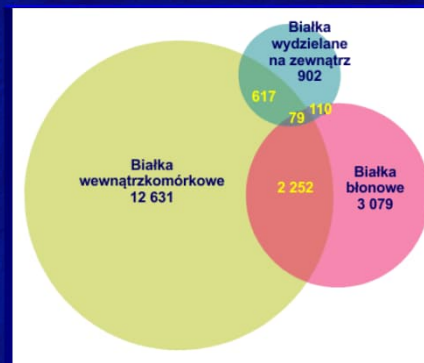


Diagram Venna pokazujący nakładanie się funkcji niektórych białek (na żółto).

Większość proteomu stanowią białka wewnątrzkomórkowe, mniej jest białek błonowych, a najmniej białek sekrecyjnych. Cześć białek pełni wiele funkcji.

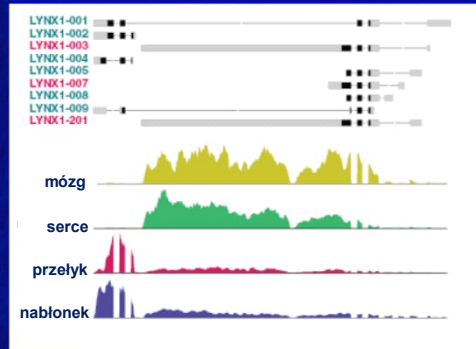
5. Proteomika: proteom człowieka, izoformy

LYNX1 to białko kodowane przez gen na chromosomie 8, należy do rodziny Ly-6, wzmacnia funkcję receptorów acetylocholinowych.

Białko LYNX1

- W mózgu i w sercu aktywne są izoformy błonowe.
- W mózgu białko LYNX1 moduluje receptory neuroprzebieżników:
 - u dorosłych redukuje plastyczność kory wzrokowej;
 - inhibicja genu *LYNX1* u myszy prowadzi do większej plastyczności i szybszego wychodzenia z amblyopii – „leniwego oka”.
- W przelyku i nabłonku aktywne są formy sekrecyjne białka LYNX1:
 - w nabłonku uczestniczy w patogenezie łuszczycy.

Izoformy białka LYNX1 zawierają konserwatywną domenę złożoną z 8-10 cystein, które tworzą charakterystyczną strukturę przestrzenną.



W wyniku różnego splicingu genu *LYNX1* powstają transkrypty dające początek białkom błonowym (czerwone) oraz sekrecyjnym (niebieskie). Wykresy pokazują aktywność izoform w różnych organach.

Jhlen et al., 2015.

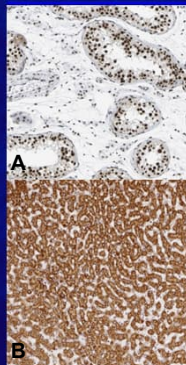


5. Proteomika: proteom człowieka, izoformy

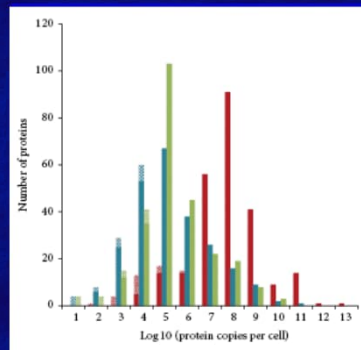
Białka występują w komórkach w milionach kopii, na które składają się różne izoformy danego białka.

Liczba kopii białek

- Średnio 10^8 różnych kopii białek jest w $1 \mu\text{l}$ krwi.
- Średnio 10^5 różnych kopii białek jest w wątrobie/hepatocytach.
- Białka w krwi ludzkiej występują w większej liczbie kopii niż białka w wątrobie.
- 10^7 kopii różnych IgG jest w ciele człowieka.



Polimeraza RNA (A) oraz dehydrogenaza pirogronianowa (B) - białka, które występują we wszystkich komórkach.



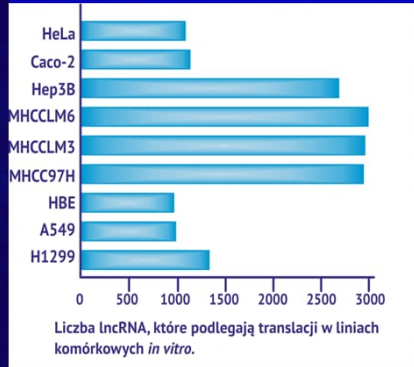
Liczba różnych kopii białek we krwi (czerwone), wątrobie (niebieskie) i hepatocytach (zielone). Liczba kopii pokazana jako logarytm dziesiętny.

Część białek jest kodowana przez geny, których ekspresja zachodzi w każdej komórce. Są one niezbędne do utrzymania podstawowych funkcji komórek (ang. housekeeping).



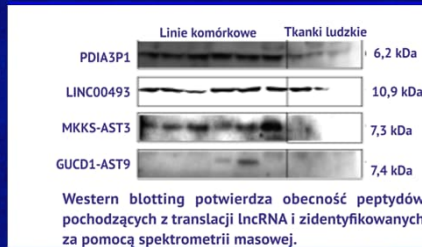
5. Proteomika: proteom człowieka

lncRNA: transkrypty RNA, długości >200 nukleotydów, które nie podlegają translacji. Stanowią nawet 80% transkryptów.



■ lncRNA występuje u wszystkich Eukariota, w tym u ssaków.

- lncRNA ma cechy funkcjonalnych transkryptów ale rzadko potwierdza się ich biologiczną funkcję.
- Może przyłączać się do rybosomów, które uczestniczą w translacji.
- lncRNA mogą wskazywać na szybką, specyficzną gatunkowo selekcję.



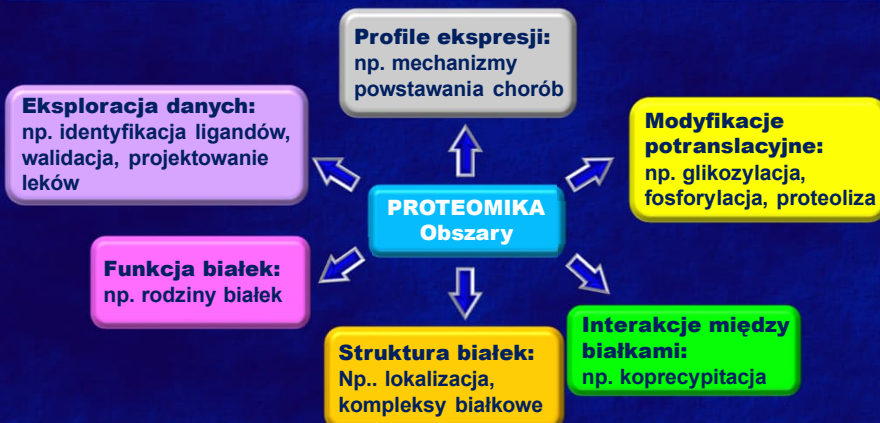
Wiele lncRNA może podlegać translacji dając funkcjonalne nieznane do tej pory białka. U człowieka odpowiadają one białkom, które pojawiły się podczas ewolucji naczelnych.

Lu et al. 2019



5. Proteomika: podsumowanie

Proteomika to analiza całego zestawu białek komórki, tkanki, organu lub organizmu, w tym interakcji, modyfikacji, struktury i funkcji.



Celem proteomiki jest charakterystyka biologiczna białek komórki jako całości a nie jako pojedynczej cząsteczki.



Zagadnienia 1-2

1. Transkrypcja

- Podaj definicję transkrypcji.
- Na ilu niciach jednocześnie odbywa się transkrypcja danego fragmentu DNA?
- Jaki związek powstaje podczas transkrypcji?
- Czy kierunek transkrypcji jest taki sam jak replikacji? Uzasadnij odpowiedź.
- W stosunku do której nici DNA (sensowna, antysensowna) jest identyczny mRNA?
- ATGCTTTGGGCCAAA jest fragmentem genu zdeponowanym w banku genów (np. NCBI). Podaj sekwencję mRNA dla tego fragmentu?



2. Transkrypcja: polimerazy RNA

- Jakie startery są niezbędne do inicjacji syntezy RNA?
- Czym różni się polimeraza DNA od polimerazy RNA pod względem inicjacji syntezy kwasu nukleinowego?
- Do syntezy, którego kwasu nukleinowego niezbędne są startery RNA: DNA czy RNA? Uzasadnij odpowiedź.
- Ile polimeraz występuje u Prokariota a ile u Eukariota?
- Podaj funkcję polimeraz I, II i III Eukariota.



Zagadnienia 3-4

3. Transkrypcja: polimerazy RNA

- Jak rozróżniamy polimerazy Eukariota?
- Co to jest α -amanityna i gdzie ona występuje?
- Dlaczego zjedzenie muchomora sromotnikowego często prowadzi do śmierci?
- Inhibitorem jakiego enzymu jest α -amanityna?
- Z jakich jednostek składa się bakteryjna polimeraza RNA?
- Która z jednostek bakteryjnej polimerazy RNA rozpoznaje miejsce inicjacji transkrypcji.
- Czy polimerazy Eukariota i Prokariota są podobne? Uzasadnij odpowiedź.
- Które podjednostki polimerazy RNA Prokariota są homologiczne do polimeraz Eukariota?
- Z ilu podjednostek składają się eukariotyczne polimerazy RNA?
- Ile podjednostek jest wspólnych dla wszystkich polimeraz RNA Eukariota?
- Które podjednostki decydują o specyficy polimeraz RNA Eukariota?



4. Transkrypcja: inicjacja

- Jakie procesy rozpoczynają transkrypcję?
- Kiedy rozpoczyna się elongacja w procesie transkrypcji?
- Czy polimerazy RNA wszystkich organizmów mogą samodzielnie inicjować transkrypcję? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Na czym polega różnica pomiędzy bakteriami, Archaea i Eukariota pod względem inicjacji transkrypcji przez polimerazy RNA?



Zagadnienia: 5

5. Transkrypcja: czynniki transkrypcyjne

- Proszę podać definicję czynnika transkrypcyjnego.
- Na czym polega rola czynnika transkrypcyjnego?
- Jakie typy czynników transkrypcyjnych wyróżniamy?
- Na czym polega różnica między czynnikami transkrypcyjnymi globalnymi i wiodącymi?
- Na których chromosomach człowieka zlokalizowane są geny kodujące czynniki transkrypcyjne?
- W jakim stadium rozwojowym człowieka jest aktywnych najwięcej czynników transkrypcyjnych?
- W których tkankach człowieka podlegają ekspresji czynniki transkrypcyjne?
- Z jakim procesem genetycznym związane jest udomowienie kukurydzy? Proszę wyjaśnić odpowiedź.
- Co może być przyczyną zmienności cech ilościowych u roślin?
- Jakie efekty dla populacji ludzkich miała mutacja w genie *tb1* u teosinte?
- Co łączy kukurydzę z teosinte?



Zagadnienia 6-7

6. Transkrypcja: promotor

- Podaj definicję promotora.
- O czym świadczy obecność sekwencji TTGACA w pozycji -35 oraz TATA w pozycji -10 u Prokariota?
- Ile sekwencji konserwatywnych najczęściej występuje w typowym promotorze polimerazy II Eukariota?
- Czy sekwencja TATA występuje u Eukariota? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Proszę porównać promotor Prokariota i Eukariota?

7. Transkrypcja: mRNA u Eukariota

- Czy produkty transkrypcji u Prokariota i Eukariota są takie same? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Na czym polega dojrzewanie mRNA i gdzie występuje?
- Proszę wyjaśnić dlaczego produkt transkrypcji Eukariota musi podlegać procesowi dojrzewania?
- Co oznacza hnRNA, pre-mRNA, CAP, polyA?
- Gdzie zachodzi dojrzewanie mRNA.
- Który z produktów transkrypcji jest transportowany do cytoplazmy, hnRNA, pre-mRNA, mRNA?



Zagadnienia 8-9

8. Transkrypcja: mRNA u Eukariota, introny

- Gdzie odbywa się wycinanie intronów?
- Co to jest spliceosom?
- Co oznacza skrót snRNP?
- Jakie rybonukleoproteiny wchodzi w skład spliceosomu?
- Jaki proces rozpoczyna wycinanie intronów?
- Jaką funkcję pełnią rybonukleoproteiny U1 i U2?
- Co jest efektem działania spliceosomu?



9. Translacja: rybosomy i tRNA

- Na czym polega translacja?
- Gdzie zachodzi translacja?
- Jaką funkcję pełnią rybosomy?
- Jak zbudowane są rybosomy Prokariota i Eukariota?
- Jaki rodzaj RNA wchodzi w skład rybosomu?
- Dlaczego rybosom możemy nazwać rybozymbem?
- Co jest centrum katalitycznym rybosomu?
- Co oznaczają miejsca E, P, A w strukturze rybosomu?
- Proszę podać definicję tRNA?
- Jaką funkcję pełni tRNA?
- Gdzie przyłączany jest aminokwas w cząsteczce tRNA?
- Jaka sekwencja jest krytyczna dla procesu translacji? Dlaczego?
- Co oznacza pojęcie aminoacyl tRNA?
- Co to jest kodon i antykodon, w jakiej cząsteczce występują?



Zagadnienia 10

10. Translacja: kod genetyczny

- Proszę podać definicję kodu genetycznego?
- Jak obliczyć liczbę wszystkich możliwych kodonów?
- Ile wynosi maksymalna liczba kodonów?
- Ile kodonów koduje aminokwas?
- Co to są kodony STOP?
- Co wynika z faktu, że istnieją 64 kodony i tylko 20 aminokwasów?
- Na czym polega degeneracja kodu genetycznego?
- Proszę wymienić cechy kodu genetycznego?
- Na czym polega uniwersalność kodu genetycznego?
- W jaki sposób rozpoznawany jest kodon przez antykodon?
- Czy wszystkie zasady kodonu są zawsze komplementarne do zasad antykodonu?
- Na czym polega zasada tolerancji Crick'a?
- Dlaczego leucyna może być kodowana zarówno przez UUA jak i UUG?
- Z czego wynika degeneracja kodu genetycznego?
- Czy kod genetyczny człowieka i kota jest taki sam?
- Czy kod genetyczny człowieka, jaszczurki, dębu jest taki sam?
- Czy zdanie: „poznałem swój kod genetyczny” jest prawidłowe? Proszę uzasadnić odpowiedź?
- Proszę ustosunkować się do stwierdzenia „ kod genetyczny człowieka – jego zadania i cechy”.
- Czy informacja genetyczna zawarta w DNA jest kodem genetycznym?



Zagadnienia 11

11. Translacja: struktura białek

- Co to jest struktura pierwszorzędowa białka?
- Jeżeli zapiszemy: AlaGlyPheIsoLeu..., gdzie skróty oznaczają aminokwasy, to którego rzędu strukturę opisujemy?
- Jak powstaje wiązanie peptydowe?
- Czym różnią się poszczególne aminokwasy?
- Co oznacza N-koniec i C-koniec białka?
- Jeżeli zbadamy skład 100 różnych białek to jakiego rozkładu częstości aminokwasów możemy się spodziewać (czy wszystkie aminokwasy wystąpią z jednakową częstością)?
- Na czym polega substytucja niesynonimiczna?
- W kodonie CUU zamieniona została II zasada i otrzymano kodon CCU. W efekcie leucyna została zastąpiona proliną? Z jakim typem mutacji mamy do czynienia?
- Czym charakteryzuje się struktura drugorzędowa białka?
- Proszę scharakteryzować struktury α -helisy i β -kartki.
- Co to jest struktura trzeciorzędowa białka?
- Co to jest struktura czwartorzędowa białka?
- Jeżeli białko składa się z kilku domen, które dodatkowo pełnią różne funkcje to jaki typ struktury reprezentuje?
- Gdzie jest większa zawartość procentowa białek: w białku czy żółtku jaja kurzego?
- Z przekształceniem jakiego typu struktur białkowych wiąże się ubijanie piany z białka jaja kurzego?




Centre for Evolution, Genomics and Biomathematics, e-Gene



polokkornelia@gmail.com

<https://www.matgen.pl>

**Centre for Evolution, Genomics
and Biomathematics, e-Gene**



e-Gene

prof.romanzielinski@gmail.com

<https://www.matgen.pl>