

## Ćwiczenie 04

### Struktura przestrzenna kwasów nukleinowych. Analiza struktury RNA. Analiza struktury DNA. Rekordy sekwencji w bazie NCBI.

Kornelia Polok

#### 1. Struktura przestrzenna 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.
<b>Zasada azotowa</b>	<b>Puryny:</b> Adenina, Guanina <b>Pirymidyny:</b> Cytosyna, Uracyl	<b>Puryny:</b> Adenina, Guanina <b>Pirymidyny:</b> Cytosyna, Tymina
<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, przemieszczanie się transpozonów, synteza telomerów.	Jest materiałem dziedzicznym.
<b>Lokalizacja</b>	Jądro, organella, cytoplazma	Jądro, organella.

## 1.2. 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
Cytosyna	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. Białka najintensywniej pochłaniają światło przy długości fali 280 nm. 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.
- $\epsilon_{\max}$ : współczynnik ekstynkcji lub masowy współczynnik atenuacji, współczynnik określa łatwość penetracji danego materiału przez promienie świetlne.
- OD**: absorbance określa zdolność do pochłaniania światła. Stanowi ona logarytm dziesiętny stosunku światła odbitego od substancji do ilości światła dostarczonego. 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. Należy pamiętać, że OD to stężenie, a nie zawartość w próbce. **Dla kwasów nukleinowych OD = 1 odpowiada 50  $\mu$ g dsDNA, 33  $\mu$ g ssDNA i 40  $\mu$ g ssRNA w 1 ml roztworu.** Ponieważ absorbancja zależy także od długości drogi jaką musi przebyć światło, 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. Podobnie, jeżeli kuweta pomiarowa zawiera mniej niż jeden mililitr, a chcemy obliczyć ile DNA znajduje się w roztworze to musimy także to uwzględnić.

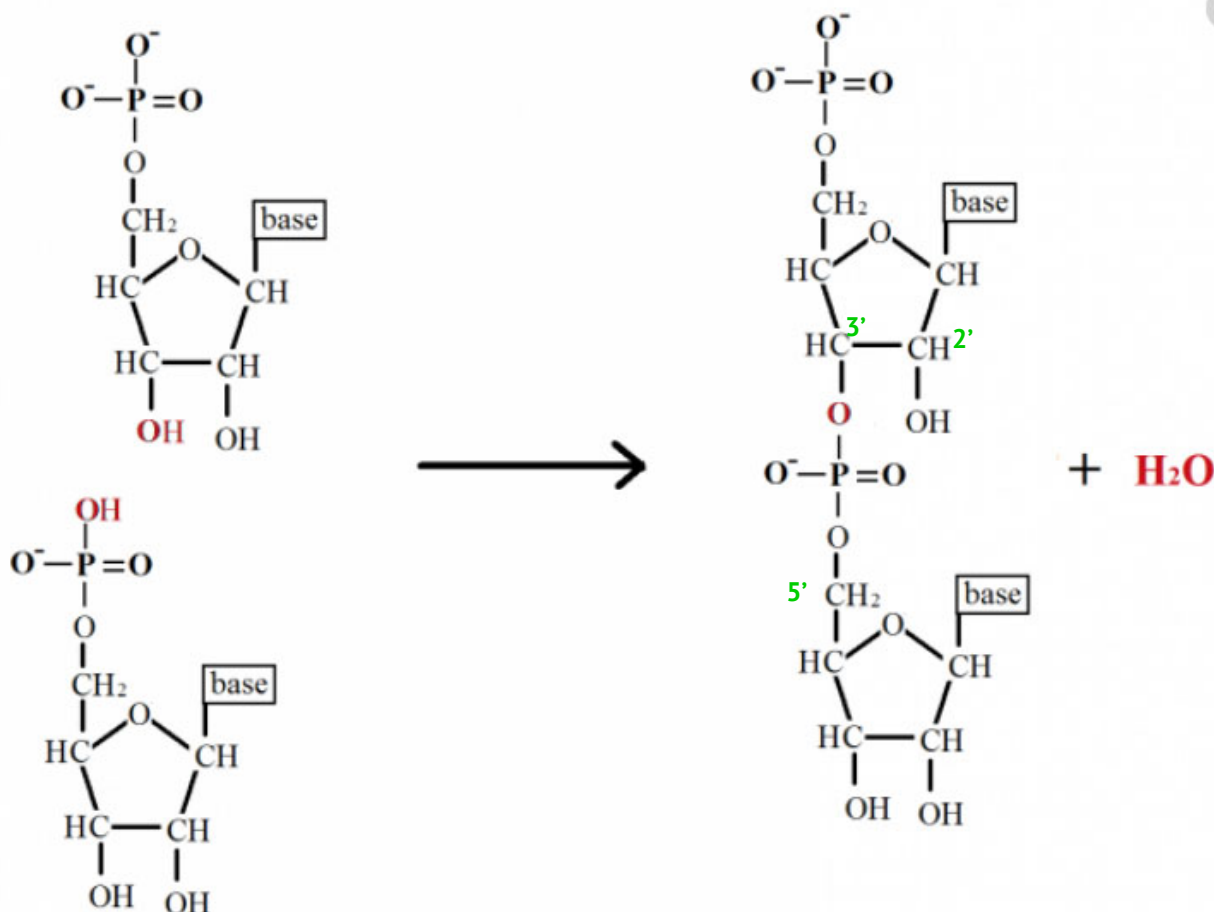
### Przykład

Wartość OD dla dsDNA wyniosła 3. Całkowita ilość wyizolowanego DNA to 2 ml. Ile DNA wyizolowano.

- 1 OD to 50  $\mu$ g DNA w 1 ml. Otrzymano 3 OD 150  $\mu$ g DNA było w 1 ml.
- Mamy 2 ml DNA czyli 300  $\mu$ g.

## 2. Struktura kwasu rybonukleinowego, RNA

➔ 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'.



**Rys. 2.1.** Tworzenie wiązania fosfodiesterowego pomiędzy grupami wodorotlenowymi w pozycji C5' rybozy jednego nukleotydu oraz w pozycji C3' drugiego nukleotydu. W wyniku reakcji powstaje cząsteczka wody.

### 2.1. 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 (2 punkty za każdą odpowiedź):

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

## 2.2. Funkcja RNA

2.2.1. Korzystając ze strony EMBL-EBI proszę podać funkcje (2 punkty za każdą odpowiedź):

- A. mRNA
- B. tRNA
- C. rRNA
- D. ncRNA


2.2.2. Proszę wyszukać w Internecie jaką funkcję mogą pełnić cząsteczki RNA:

- A. snRNA
- B. miRNA

*Czas wykonania: 15 minut*

## 3. Struktura i właściwości DNA

### 3.1. Budowa DNA

 DNA występuje w postaci dwuniciowej cząsteczki, z których każda składa się z łańcucha nukleotydów (łańcuch polinukleotydowy). Nici połączone są wiązaniami wodorowymi powstałymi pomiędzy komplementarnymi zasadami azotowymi. DNA najczęściej występuje w formie B. Nukleotydy w DNA zapisywane są jako dTMP, dCMP, dGMP, dAMP, natomiast trójfosforany jako: dTTP, dCTP, dGTP, dATP. Litera „d” oznacza deoksyrybozę i pozwala odróżnić deoksynukleotydy od rybonukleotydów.

- Nić sensowna: nić, która ma taką samą sekwencję (kolejność nukleotydów) jak mRNA.
- Nić 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.

### 3.2. Właściwości DNA



Na podstawie informacji o budowie DNA podanych na wykładzie oraz w Internecie proszę odpowiedzieć na pytania. (2 punkty za każdą odpowiedź)

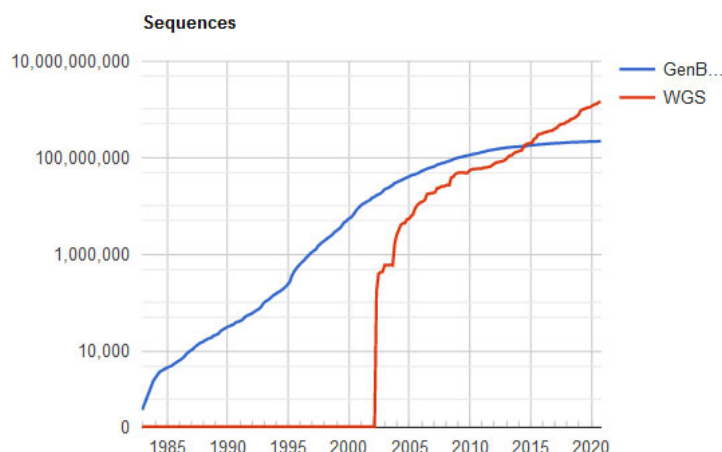
- Co oznacza, że nić DNA jest polinukleotydem?
- Jakie komponenty wchodzi w skład nukleotydów DNA?
- Dlaczego nukleotydy w DNA określa się jako deoksynukleotydy?
- Jaka jest orientacja nici DNA i dlaczego?
- Jak połączone są dwie nici DNA w podwójnej helisie?
- Co oznacza pojęcie „para zasad”?

*Czas wykonania: 15 minut*

## 4. Rekordy sekwencji w bazie NCBI

### 4.1. Baza NCBI

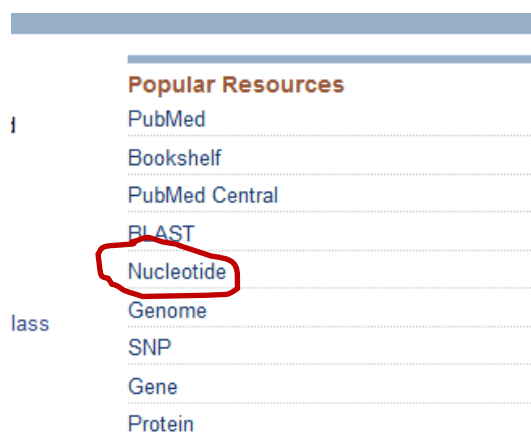
➔ Sekwencje nukleotydowe zdeponowane są w bazach danych. Jedną z najczęściej wykorzystywanych baz jest NCBI (National Centre for Biotechnology Information), która zawiera zarówno sekwencje nukleotydowe, białkowe, genomowe jak i narzędzia do analizy.



**Rys. 4.1a.** Liczba sekwencji nukleotydowych zdeponowanych w Banku Genów.

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.

Aby poszukać sekwencji w Banku Genów należy ze strony NCBI wejść do bazy oznaczonej jako „nucleotide”, wpisać nazwę lub numer poszukiwanej sekwencji, np. „hemoglobin” i zaakceptować. Wyniki wyszukiwania zawierają



**Rys. 4.1b.** Wybór Banku Genów na stronie NCBI.

wiele sekwencji oraz dane z sekwencjonowania genomów, co utrudnia poruszanie się po bazie. Przykładowo poszukiwanie sekwencji hemoglobiny zwraca 188 017 wyników, które należy zawęzić, aby znaleźć interesujące nas sekwencje. Wyniki możemy zawęzić do *Homo sapiens*. Wówczas otrzymamy 18 727 sekwencji. Kolejne zawężenie może objąć 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.

The screenshot shows the NCBI Gene database search results for the query 'hemoglobin'. At the top, there is a search bar with 'hemoglobin' entered and a dropdown menu set to 'Nucleotide'. Below the search bar, there are links for 'Create alert' and 'Advanced'. A red banner at the top right contains a warning icon and text about COVID-19, with links to CDC and NIH resources. On the left side, there are filters for 'Species' (Animals, Plants, Fungi, Protists, Bacteria, Archaea, Viruses, Customize) and 'Molecule types' (genomic DNA/RNA, mRNA). The main content area shows a summary box with a link to 'HB2 (HEMOGLOBIN) hemoglobin\_2' and a list of items. The first item is '1. 1,353 bp linear mRNA' from *Pseudoterranova decipiens (frameshift mutated)*, with accession number M85050.1 and GI: 160796. Links for 'Protein' and 'Taxonomy' are provided for this item.

**Rys. 4.1c.** Wyniki przeszukiwania Banku Genów za pomocą hasła „hemoglobina”.

## 4.2. Struktura rekordu sekwencji nukleotydowej

4.2.1. 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.

3.1.2. 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.
- **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](#)

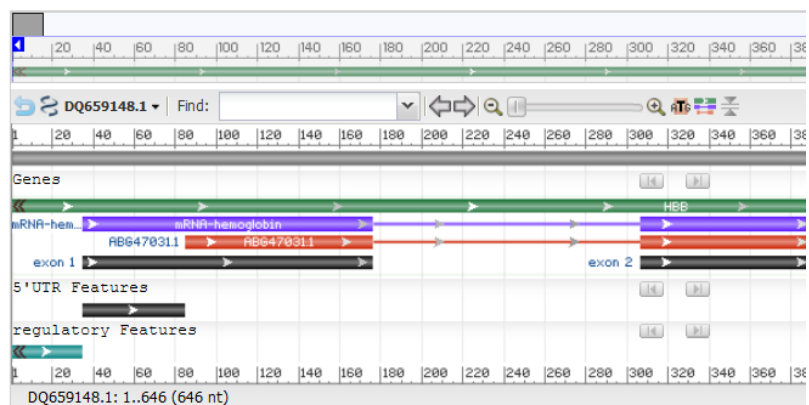
```

>DQ659148.1 Homo sapiens hemoglobin (HBB) gene, promoter region, exons 1,
cds
GGCATGAAAGTCAGGGCAGAGCCATCTATTGCTTACATTGCTTCTGACACAACCTGTGTCTACTAGCAAC
CTCAACACAGACACCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGT
GAACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAAGCCCTGGGCAGGTTGGTATCAAGTTACAAGACAGGTTTAAAGGAG
ACCAATAGAACTGGGCATGTGGAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTTCTGATAGGCACCTGACTCTCTCTGC
CTATTGGTCTATTTCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTACCCCTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCTCT
TTGGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATGGGCAACCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAGAAAGTCT
CGGTGCCTTTAGTGATGGCCTGGCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTTGCCACACTGAGTGAGCTG
CACTGTGACAAGCTGCACGTGGATCCTGAGAACTTCAGGGTGAGTCTATGGGACCCTTGATGTTTTCTTT
CCCCCTCTTTTCTATGGTTAAGTTCATGTCATAGGAAGGGGAGAAGTAAACAGGGTACAGTTTGAATGGG
AAACAGACGAATGATT
  
```

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

GenBank: DQ659148.1

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



**Rys. 4.2a.** Widok sekwencji w Banku Genów, od góry: GenBank, Fasta, Graphics.



- **SOURCE:** z jakiej tkanki otrzymano sekwencję, pozycja na mapie.
- **GENE:** długość genu i nazwa.
- **REGULATORY:** długość i pozycja sekwencji regulatorowych.
- **VARIATION:** możliwe mutacje, pozycja.
- **mRNA:** jakie fragmenty tworzą mRNA, tutaj 35-176 oraz 307-529, instrukcja jak należy połączyć poszczególne elementy sekwencji.
- **EXON:** zidentyfikowane egzony.
- **CDC:** część kodująca wraz z translacją i odnośnikiem do białka.
- **ORIGIN:** sekwencja, w linii po 60 nukleotydów: 6 x 10.

4.2.2. W widoku graficznym można odczytać dodatkowe informacje o elementach strukturalnych sekwencji. W tym celu należy „najechać myszą” na dany element. Po załadowaniu informacji można ją przypiąć do widoku. Pokazane są także egzony. Korzystając z suwaka można odczytać kodony.

```

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
                        SFGDLSTPDAVMGNPKVKAHGKKVLGAFSDGLAHLDI
                        NFR"
    exon                 307..529
                        /gene="HBB"
                        /number=2

ORIGIN
    1  ggcataaag  tcagggcaga  gccatctatt  gcttacatt  gct
    61 cactagcaac  ctcaaacaga  caccatgggtg  cacctgactc  ctg
    121 actgcccctgt  ggggcaaggt  gaacgtggat  gaagttgggt  gtg
    181 ctatcaagat  tacaagcag  atttaagcag  accaatgag  act

```

Rys. 4.2b. Widok sekwencji w Banku Genów, część dotycząca struktury sekwencji

Rys. 4.2c. Widok graficzny sekwencji w Banku Genów.



### 4.3. Analiza sekwencji zdeponowanej w NCBI

Dla sekwencji o numerze akcesyjnym **AB193820.1** proszę podać następujące informacje:



- Z jakiego gatunku pochodzi sekwencja?
  - Jaki gen został podany?
  - Jaki kwas nukleinowy był wykorzystany do otrzymania tej sekwencji?
  - Czy sekwencja zdeponowana w NCBI zawiera introny? Uzasadnij odpowiedź.
  - Podaj długość zdeponowanej cząsteczki.
  - Proszę podać lokalizację miejsca przyłączenia hemu (heme binding site) za pomocą pozycji aminokwasów oraz długość tego miejsca.
  - Proszę podać nukleotydy od 700 do 712 na nici 5' do 3'
  - Proszę podać aminokwasy odpowiadające tym nukleotydom, proszę użyć jednoliterowych symboli i rozszyfrować je.
- (4 punkty)

**Samodzielne wykonanie: 4 punkty**

**Termin: 09.04.2021. 23:59**

Odpowiedzi proszę przysłać na mail: [polokkornelia@gmail.com](mailto:polokkornelia@gmail.com)

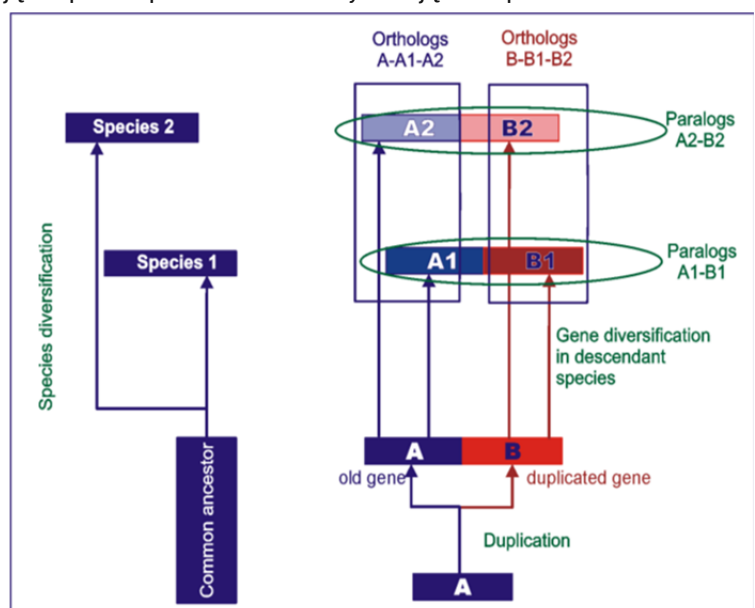
Format: dokument tekstowy, pdf lub scan/fotografia pisma ręcznego

Plik proszę podpisać „C04 Nazwisko Imie”, bez polskich czcionek, np. C04 Polok Kornelia

## 5. 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 objawia się jako wspólne fragmenty sekwencji. Na poziomie białka podobieństwo jest obserwowane jako wspólne fragmenty sekwencji aminokwasowej, podobną strukturę.
- Ortologi to geny pochodzące od wspólnego przodka, które różnicowały 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. 5. Ortologi i paralogi.

## Odpowiedzi

### 2. Struktura kwasu rybonukleinowego

#### 2.1 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 (2 punkty za każdą odpowiedź):

**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?**

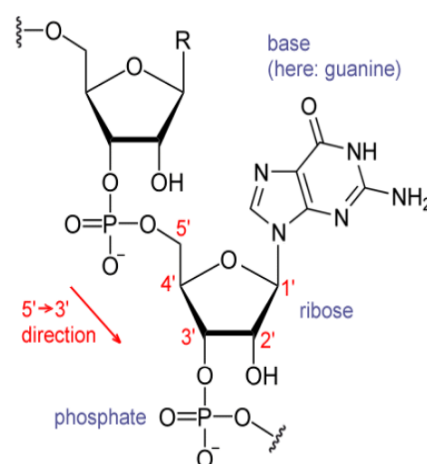
Cząsteczka rybozy jest mniej stabilna, gdyż grupa hydroksylowa czyni ją bardziej podatną na hydrolizę.

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

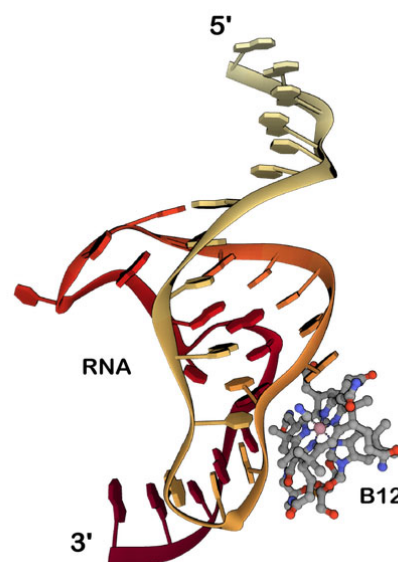
Adenina, guanina, cytozyna, uracyl

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

Nie, występują fragmenty dwuniciowe, które powstają poprzez parowanie zasad w obrębie jednej nici. Są to tzw. struktury drugorzędowe. Regiony niesparowane tworzą pętle typu „szpilki do włosów”, pętle zewnętrzne, które mogą mieć znaczenie funkcjonalne. RNA może tworzyć także duplekisy RNA-RNA oraz duplekisy (hybrydy) RNA-DNA. Cząsteczki RNA mogą zawierać centra aktywne, które stanowią miejsca przyłączenia a np. witaminy B12 regulującej funkcję wirusa zapalenia wątroby typu C.



Rys. 1.2.1a. Struktura chemiczna RNA



Rys. 1.2.1b. Połączenie RNA z witaminą B12.

## 2.2. Funkcja RNA

2.2.1. Korzystając ze strony EMBL-EBI proszę podać funkcje:

### A. 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.

### B. 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.

### C. rRNA

RNA zawarty 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.

### D. 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.

2.2.2. Proszę wyszukać w Internecie jaką funkcję mogą pełnić cząsteczki RNA:

### A. snRNA

Krótkie cząsteczki RNA, do 150 nukleotydów występujące w ciałkach jądrowych, np. ciałkach Cajala. Biorą udział w obróbce hnRNA (prekursor mRNA) w jądrze, gdzie tworzą spliceosom. Uczestniczą także w regulacji czynników transkrypcyjnych. Najczęściej występują w kompleksach z białkami – rybonukleoproteiny.

### B. miRNA

Jest to niekodujący RNA określany 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.

### 3. Struktura DNA

#### 3.2. Właściwości DNA

Na podstawie informacji o budowie DNA podanych na wykładzie oraz w Internecie proszę odpowiedzieć na pytania. **(2 punkty)**

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

Zbudowana jest z wielu nukleotydów.

**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.

**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.

## 4. Analiza rekordu w bazie NCBI

### 4.3. Analiza sekwencji zdeponowanej w NCBI

Dla sekwencji o numerze akcesyjnym **AB193820.1** proszę podać następujące informacje:

**A.** Z jakiego gatunku pochodzi sekwencja?

*Pisum sativum*, Groch siewny

**B.** Jaki gen został podany?

Peroksydaza

**C.** Jaki kwas nukleinowy był wykorzystany do otrzymania tej sekwencji?

mRNA

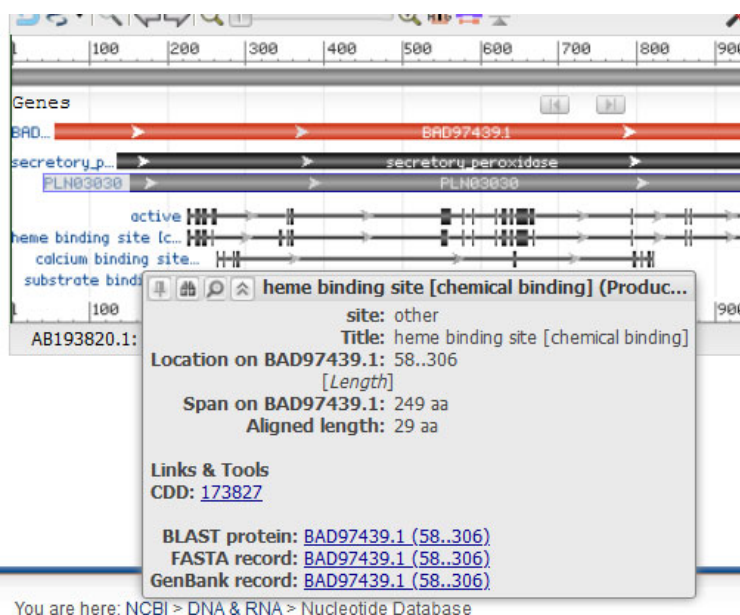
**D.** Czy sekwencja zdeponowana w NCBI zawiera introny? Uzasadnij odpowiedź.

Nie, ponieważ materiałem wyjściowym było mRNA, które nie zawiera intronów. Introny zostały wycięte w procesie obróbki RNA.

**E.** Podaj długość zdeponowanej cząsteczki.

1 462 pz

**F.** Proszę podać lokalizację miejsca przyłączenia hemu (heme binding site) za pomocą pozycji aminokwasów oraz długość tego miejsca (Rys. 4.3.a)



**Rys. 4.3a.** Miejsce przyłączenia hemu.

- Pozycja pomiędzy 58 a 306 aminokwasem
- Długość 249 aa

G. Proszę podać nukleotydy od 700 do 712 na nici 5' do 3' (Rys. 3.2.1b).

ACC GGA AAG CCT G

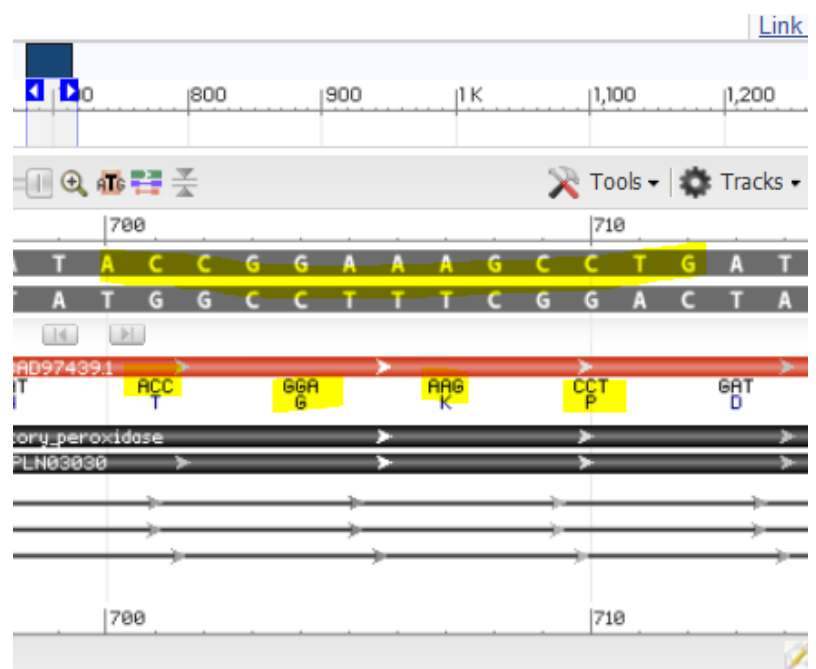
H. Proszę podać aminokwasy odpowiadające tym nukleotydom, proszę użyć jednoliterowych symboli i rozszyfrować je.

T: Treonina

G: Glicyna

K: Lizyna

P: prolina



**Rys. 3.2.1b.** Sekwencja nukleotydowa nici sensownej oraz odpowiadające jej kodony i aminokwasy.