

Spis treści

Przedmowa XVIII

Przedmowa do wydania polskiego XXIII

1 Wprowadzenie do biologii molekularnej 1

1.1 Wstęp 1

1.2 Perspektywa historyczna 1

Zasady dziedziczenia na podstawie analiz okrągłych i pomarszczonych ziaren grochu:
genetyka mendlowska 2

Natura materiału dziedzicznego: doświadczenie Fredericka Griffitha 5

Pomysłowość w podejściu eksperymentalnym doprowadza do sformułowania hipotezy jeden gen–jeden enzym 7

Waga postępu technologicznego: doświadczenie Hersheya–Chase 7

Model budowy DNA: dwuniciowa helisa DNA 9

Podsumowanie rozdziału 10

Pytania kontrolne 10

Literatura uzupełniająca 11

2 Budowa DNA 13

2.1 Wstęp 13

2.2 Podstawowy budulec: składniki kwasów nukleinowych 14

Pięciowęglowe cukry 14

Zasady azotowe 15

Grupy fosforanowe 15

Nukleozydy i nukleotydy 16

2.3 Znaczenie końców 5' i 3' 17

2.4 Nazewnictwo nukleotydów 17

2.5 Długość RNA i DNA 18

2.6 Struktura drugorzędowa DNA 18

Między zasadami powstają wiązania wodorowe 18

Oddziaływania warstwowe stabilizują dwuniciową helisę DNA 18

Model dwuniciowej helisy Watsona–Cricka 20

Cechy charakterystyczne różnych form strukturalnych dwuniciowej helisy DNA 22

Dwuniciowa cząsteczka DNA może podlegać odwracalnemu rozpleceniu do pojedynczych nici 24

2.7 Nietypowe struktury drugorzędowe DNA 26

Struktury zawierające wybrzuszenia 26

Struktury krzyżowe 27

Trójniciowa helisa DNA 28

Choroby. Ramka 2.1. Ataksja Friedreicha a trójniciowa helisa DNA 27

2.8 Trzeciorzędowa struktura DNA 29

Superhelikalne formy DNA 30

Topoizomerazy odpowiadają za relaksację struktur superhelikalnych DNA 31

Znaczenie obecności struktur superhelikalnych *in vivo* 33

Choroby. Ramka 2.2. Leki przeciwnowotworowe a topoizomerazy 33

Podsumowanie rozdziału 34

Pytania kontrolne 35

Literatura uzupełniająca 35

3 Organizacja genomu: od nukleotydów do chromatyny 37

3.1 Wstęp 37

3.2 Genom eukariotyczny 38

Budowa chromatyny: perspektywa historyczna 38

Histony 39

Nukleosomy 39

Paciorki nanizane na sznurek: chromatyna (włókno) 10 nm 41

Chromatyna (włókno) 30 nm 42

Wypętlenia tworzące domeny 42

Chromosomy metafazowe 43

Alternatywne struktury chromatyny 44

3.3 Genom bakteryjny 44

3.4 Plazmidy 45

3.5 Bakteriofagi i wirusy DNA ssaków 45

Bakteriofagi 46

Wirusy DNA ssaków 46

3.6 Genomy organellowe: chloroplasty i mitochondria 47

DNA chloroplastów (cpDNA) 47

DNA mitochondriów (mtDNA) 48

Choroby. Ramka 3.1. DNA mitochondrialny a choroby 48

3.7 Genomy zbudowane z RNA 48

Eukariotyczne wirusy RNA 48

Retrowirusy 50

Wiroidy 51

Inne patogeny towarzyszące wirusom 51

Choroby. Ramka 3.2. Ptasia grypa 50

Podsumowanie rozdziału 51

Pytania kontrolne 52

Literatura uzupełniająca 52

4 RNA – cząsteczka o wielu funkcjach 54

4.1 Wstęp 54

4.2 Struktura drugorzędowa RNA 55

Motywy struktury drugorzędowej RNA 55

Dwuniciowy RNA przyjmuje formę helisy typu A 56

Helisy RNA często zawierają nietypowe pary zasad 56

4.3 Struktura trzeciorzędowa RNA 57

Struktura tRNA: cząsteczka ważna w poznaniu podstawowych motywów strukturalnych RNA 58

Najczęstsze motywy struktury trzeciorzędowej RNA 60

4.4 Kinetyka zwijania RNA 65

4.5 Cząsteczki RNA biorą udział w różnorodnych procesach komórkowych 67

4.6 Perspektywa historyczna: odkrycie właściwości katalitycznych RNA 69

Intron grupy I z *Tetrahymena* jest rybozymem 72

RNaza P jest rybozymem 72

Warto wiedzieć. Ramka 4.1. Świat RNA 70

4.7 Rybozomy katalizują szereg reakcji chemicznych 73

Sposób działania rybozomu 73

Duże rybozomy 75

Małe rybozomy 75

Podsumowanie rozdziału 77

Pytania kontrolne 77

Literatura uzupełniająca 77

5 Od genu do białka 79

5.1 Wstęp 79

5.2 Podstawowy dogmat biologii molekularnej 80

5.3 Kod genetyczny 80

Tłumaczenie kodu genetycznego 81

21. i 22. aminokwas są kodowane genetycznie 82

Rola nukleotydów modyfikowanych w odczytywaniu mRNA 82

Implikacje dla biologów molekularnych różnego odczytywania kodonów u różnych organizmów 87

5.4 Budowa białek 85

Struktura pierwszorzędowa 85

Struktura drugorzędowa 87

Struktura trzeciorzędowa 87

Struktura czwartorzędowa 91

Wielkość i złożoność białek 92

Białka zawierają wiele domen funkcjonalnych 92

Przewidywanie struktury białek 93

5.5 Funkcje białek 93

Enzymy są katalizatorami biologicznymi 93

Regulacja aktywności przez modyfikacje potranslacyjne 94

Regulacja allosteryczna aktywności białek 95

Aktywacja kinaz zależnych od cyklin 96

Kompleksy makromolekularne 97

5.6 Prawidłowe i błędne zwijanie się białek 98

Białka opiekuńcze 99

Degradacja białek zależna od ubikwityny 100

Choroby związane z nieprawidłowym zwijaniem się białek 100

Choroby. Ramka 5.1. Priony 102

Podsumowanie rozdziału 100

Pytania kontrolne 106

Literatura uzupełniająca 107

6 Replikacja DNA i dobudowa telomerów 108

6.1 Wstęp 109

6.2 Perspektywa historyczna 109

Jak odkryto sposób replikowania się DNA: doświadczenie Meselsona–Stahla 111

Jak odkryto sposób replikowania się DNA: obraz replikującego się DNA bakteryjnego 111

6.3 Synteza DNA przebiega w kierunku 5' do 3' 112

6.4 Enzymy katalizujące syntezę DNA nazywają się polimerazami DNA 112

Warto wiedzieć. Ramka 6.1. Bakteryjne polimerazy DNA 115

6.5 Jedna nić DNA jest replikowana w sposób ciągły, a druga nieciągły 112

Synteza nici wiodącej przebiega w sposób ciągły 115

Synteza nici opóźnionej przebiega w sposób nieciągły 115

6.6 Replikacja jądrowego DNA w komórkach eukariotycznych 117

Fabryki replikacyjne 118

Usuwanie histonów w miejscach inicjacji replikacji 118

- Tworzenie się kompleksów prereplikacyjnych w miejscach początku replikacji 118
- Pozwolenie na replikację: DNA replikuje się tylko raz w każdym cyklu komórkowym 124
- Rozplatanie dwuniciowej helisy DNA w widetkach replikacyjnych 127
- Inicjacja syntezy nici wiodącej i opóźnionej DNA poprzez startery RNA 128
- Wymiana polimeraz DNA 129
- Wydlużanie nici wiodącej i opóźnionej 129
- Aktywności korekcyjne 130
- Dojrzewanie nowo syntetyzowanych nici DNA 130
- Terminacja 134
- Osadzanie histonów 134
- Warto wiedzieć. Ramka 6.2. Nomenklatura genów związanych z replikacją DNA 121
- Choroby. Ramka 6.1. Toczeń rumieniowaty układowy a białko PCNA 130
- 6.7 Replikacja organellowego DNA 134**
- Modele replikacji mtDNA 134
- Replikacja cpDNA 135
- Choroby. Ramka 6.2. RNaza MRP a hipoplazja chrząstkowo-włosowa 136
- 6.8 Replikacja drogą toczonego się koła 136**
- 6.9 Dobudowa telomerów: rola telomerazy w replikacji DNA, procesach starzenia się i powstawania nowotworów 138**
- Telomery 138
- Rozwiązanie problemu replikacji końców liniowych cząsteczek DNA 138
- Dobudowa telomerów przez telomerazę 139
- Inne sposoby dobudowy telomerów 142
- Regulacja aktywności telomerazy 142
- Telomeraza, procesy starzenia się i nowotworzenia 142
- Choroby. Ramka 6.3. Dyskeratoza wrodzona: utrata aktywności telomerazy 146
- Podsumowanie rozdziału 147**
- Pytania kontrolne 149**
- Literatura uzupełniająca 149**
-
- 7 Naprawa DNA i rekombinacja 152**
- 7.1 Wstęp 152**
- 7.2 Rodzaje mutacji i ich konsekwencje fenotypowe 153**
- Tranzycje i transwersje prowadzą do mutacji typu synonimowego, zmiany sensu i nonsensownego 153
- Insercje i delecje mogą powodować zmiany ramki odczytu 155
- Wydlużanie powtórzeń trójnukleotydowych jest powodem niestabilności genetycznej 155
- 7.3 Zasadniczy podział uszkodzeń DNA 156**
- Zmiany pojedynczych nukleotydów 156
- Zaburzenia strukturalne 156
- Uszkodzenie szkieletu DNA 158
- Odpowiedź komórkowa na uszkodzenie DNA 158
- 7.4 Ominięcie uszkodzeń 159**
- 7.5 Bezpośrednia naprawa uszkodzeń DNA 159**
- 7.6 Naprawa zmiany nukleotydu lub zaburzeń strukturalnych w drodze usunięcia uszkodzenia 159**
- Naprawa przez wycięcie zasady 161
- Naprawa błędnych sparowań 163
- Naprawa przez wycięcie nukleotydów 168
- Choroby. Ramka 7.1. Dziedziczny rak jelita grubego i odbytu bez polipowatości: uszkodzenie systemu naprawy błędnych sparowań 165

7.7 Naprawa podwójnych pęknięć w DNA 168

Rekombinacja homologiczna 169

Łączenie niehomologicznych końców 174

Choroby. Ramka 7.2. Skóra pergaminowata barwnikowa i pokrewne schorzenia: uszkodzenia w systemie naprawy przez wycięcie nukleotydów 170

Choroby. Ramka 7.3. Zespoły dziedzicznego raka piersi: mutacje w genach *BRCA1* i *BRCA2* 173

Podsumowanie rozdziału 177

Pytania kontrolne 178

Literatura uzupełniająca 178

8 Technologia rekombinowanego DNA i klonowanie DNA 180

8.1 Wstęp 181

8.2 Perspektywa historyczna 181

Obecność lepkich końców w DNA bakteriofaga lambda (λ) 181

Bakteryjne systemy restrykcji–modyfikacji 181

Pierwsze doświadczenia klonowania DNA 184

8.3 Rozcinanie i łączenie DNA 184

Główne klasy endonukleaz restrykcyjnych 184

Nazewnictwo endonukleaz restrykcyjnych 186

Sekwencje DNA rozpoznawane przez endonukleazy restrykcyjne klasy II 186

Ligaza DNA 189

Warto wiedzieć. Ramka 8.1. Strach przed rekombinowanymi cząsteczkami DNA 185

8.4 Klonowanie DNA 189

Wektory DNA 192

Wybór wektora zależy od długości klonowanego insertu i zastosowania 193

Wektory plazmidowe 195

Wektory oparte na DNA bakteriofaga lambda (λ) 197

Sztuczne chromosomy 199

DNA do klonowania może pochodzić z różnych metod izolacji 202

Warto wiedzieć. Ramka 8.2. *EcoRI*: zginanie i cięcie DNA 190

Narzędzia. Ramka 8.1. Chromatografia cieczowa 199

8.5 Konstrukcja bibliotek DNA 202

Biblioteka genomowa 202

Biblioteka cDNA 203

8.6 Sondy 203

Sondy heterologiczne 209

Sondy homologiczne 209

Narzędzia. Ramka 8.2. Synteza komplementarnego DNA (cDNA) 204

Narzędzia. Ramka 8.3. Reakcja łańcuchowa polimerazy (PCR) 206

Narzędzia. Ramka 8.4. Metody izotopowego i nieizotopowego znakowania sondy 208

Narzędzia. Ramka 8.5. Znakowanie kwasów nukleinowych 210

8.7 Przeszukiwanie bibliotek 214

Przeniesienie kolonii na membranę wiążącą DNA 214

Hybrydyzacja kolonijna 214

Identyfikacja kolonii dających pozytywny sygnał 216

8.8 Biblioteki ekspresyjne 216

8.9 Mapowanie restrykcyjne 216

8.10 Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP) 217

RFLP może być markerem chorób genetycznych 219

Narzędzia. Ramka 8.6. Elektroforeza 218

- Narzędzia. Ramka 8.7. Hybrydyzacja metodą Southerna 220
- Choroby. Ramka 8.1. Test PCR-RFLP do diagnozowania choroby syropu klonowego 222
- 8.11 Sekwencjonowanie DNA 224**
 - Sekwencjonowanie ręczne metodą „dideoksy” Sangera 224
 - Sekwencjonowanie automatyczne 226
 - Podsumowanie rozdziału 226**
 - Pytania kontrolne 229**
 - Literatura uzupełniająca 231**

9 Narzędzia do analizy ekspresji genów 232

- 9.1 Wstęp 233**
- 9.2 Transfekcja o charakterze przejściowym i stabilnym 234**
- 9.3 Geny reporterowe 236**
 - Powszechnie stosowane geny reporterowe 236
 - Analiza regulacji aktywności genu 238
 - Oczyszczanie i identyfikacja etykiet białkowych: białka fuzyjne 238
 - Narzędzia. Ramka 9.1. Produkcja białek rekombinowanych 242
- 9.4 Mutageneza *in vitro* 243**
 - Narzędzia. Ramka 9.2. Mikroskopia fluorescencyjna, konfokalna i wielofotonowa 244
- 9.5 Analiza ekspresji genu na poziomie transkrypcyjnym: ekspresja i lokalizacja RNA 249**
 - Hybrydyzacja metodą northern 249
 - Hybrydyzacja *in situ* 249
 - Analiza RNA techniką ochrony przed aktywnością RNazy (RPA) 251
 - Reakcja odwrotnej transkrypcji sprzężona z PCR (RT-PCR) 251
- 9.6 Analiza ekspresji genu na poziomie translacyjnym: ekspresja i lokalizacja białka 251**
 - Immunodetekcja metodą western 255
 - Analiza *in situ* 257
 - Test immunoenzymatyczny (ELISA) 257
 - Narzędzia. Ramka 9.3. Elektroforeza żelowa białek 252
 - Narzędzia. Ramka 9.4. Produkcja przeciwciał 254
- 9.7 Technologie związane ze stosowaniem antysensu 258**
 - Oligonukleotydy antysensowne 258
 - Interferencja RNA (RNAi) 259
- 9.8 Analiza oddziaływań DNA–białko 265**
 - Retardacja żelowa (EMSA) 265
 - Technika odcisku stopy z użyciem DNazy I 266
 - Immunoprecypitacja chromatyny (CHIP) 266
 - Choroby. Ramka 9.1. Terapie z zastosowaniem RNAi 266
- 9.9 Analiza oddziaływań białko–białko 266**
 - Technika pull-down 267
 - Drożdżowy system dwuhybrydowy 267
 - Koimmunoprecypitacja 267
 - Rezonansowe przeniesienie sygnału emisji fluorescencji (FRET) 267
- 9.10 Analiza strukturalna białek 267**
 - Krystalografia rentgenowska 269
 - Spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR) 269
 - Mikroskopia krioelektronowa 271
 - Mikroskopia sił atomowych (AFM) 271
- 9.11 Organizmy modelowe 271**
 - Drożdże: *Saccharomyces cerevisiae* i *Schizosaccharomyces pombe* 272

Nicienie: <i>Caenorhabditis elegans</i>	272
Owady: <i>Drosophila melanogaster</i>	272
Ryby: <i>Danio rerio</i>	272
Rośliny: <i>Arabidopsis thaliana</i>	272
Myszy: <i>Mus musculus</i>	273
Płazy: <i>Xenopus laevis</i> i <i>Xenopus tropicalis</i>	273
Podsumowanie rozdziału	273
Pytania kontrolne	275
Literatura uzupełniająca	277

10 Transkrypcja u prokariotów 278

- 10.1 Wstęp 278
- 10.2 W bakteriach transkrypcja jest sprzężona z translacją 279
- 10.3 Mechanizm transkrypcji 279
 - Budowa promotora bakteryjnego 279
 - Budowa bakteryjnej polimerazy RNA 282
 - Etapy transkrypcji 284
 - Wierność przepisywania 292
 - Kierunek transkrypcji wokół chromosomu *E. coli* 293
 - Warto wiedzieć. Ramka 10.1. Co się porusza: polimeraza RNA czy DNA? 290
- 10.4 Perspektywa historyczna: model regulacji aktywności operonu według Jacoba–Monoda 293
 - Model operonu doprowadził do odkrycia mRNA 294
 - Charakterystyka represora Lac 295
- 10.5 Regulacja operonu laktozowego (*lac*) 296
 - Indukcja operonu *lac* 296
 - Podstawowa transkrypcja operonu *lac* 299
 - Regulacja operonu *lac* przez czynnik Rho 299
 - Promotor *lac* i gen strukturalny *lacZ* są szeroko wykorzystywane w technikach biologii molekularnej 299
- 10.6 Sposób działania regulatorów transkrypcyjnych 299
 - Kooperatywne wiązanie białek z DNA 300
 - Modyfikacje allosteryczne a wiązanie z DNA 300
 - Wypętlanie DNA 301
- 10.7 Kontrola ekspresji genów przez RNA 305
 - Alternatywne związanie się RNA: atenuacja transkrypcyjna operonu tryptofanowego 305
 - Ryboprzełączniki 305
 - Ryboprzełączniki rybozymowe 308
 - Podsumowanie rozdziału** 308
 - Pytania kontrolne** 310
 - Literatura uzupełniająca** 310

11 Transkrypcja u eukariotów 312

- 11.1 Wstęp 313
- 11.2 Przegląd sposobów regulacji ekspresji na poziomie transkrypcyjnym 313
- 11.3 Elementy regulatorowe genów kodujących białka 314
 - Budowa i działanie elementów promotorowych 314
 - Budowa i działanie elementów regulatorowych dalekiego zasięgu 319
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.1 Efekt pozycji i elementy regulatorowe dalekiego zasięgu 320
 - Choroby. Ramka 11.1 Latynoska talasemia i miejsca nadwrażliwe na działanie DNazy I 324

- 11.4 **Podstawowa maszyna transkrypcyjna 332**
 - Składniki podstawowej maszyny transkrypcyjnej 332
 - Budowa polimerazy RNA II 332
 - Podstawowe czynniki transkrypcyjne i tworzenie kompleksu preinicjującego 335
 - Mediator: most molekularny 337
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.2 Czy istnieje macierz jądrowa? 328
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.3 Swoiste obszary chromosomowe i fabryki transkrypcyjne 331
- 11.5 **Czynniki transkrypcyjne 340**
 - Czynniki transkrypcyjne odpowiadają za swoistą dla genów aktywację lub represję transkrypcji 341
 - Czynniki transkrypcyjne są białkami modularnymi 342
 - Domeny wiążące DNA 342
 - Domeny transaktywacyjne 351
 - Domeny dimeryzacyjne 352
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.4 Homeobloki i homeodomeny 344
 - Choroby. Ramka 11.2 Cefalopolisyndaktylia Greiga i sygnalizacja typu Sonic hedgehog 348
 - Choroby. Ramka 11.3 Uszkodzona acetylotransferaza histonowa w zespole Rubinsteina–Taybiego 350
- 11.6 **Koaktywatory i korepresory transkrypcyjne 352**
 - Kompleksy modyfikujące chromatynę 353
 - Warianty histonów łącznikowych 357
 - Kompleksy przekształcające chromatynę 357
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.5 Czy istnieje kod histonowy? 354
- 11.7 **Tworzenie się kompleksu transkrypcyjnego: model stopniowy i holoenzymowy 361**
 - Kolejność wiązania się różnych białek regulujących transkrypcję 362
 - Model stopniowy 362
 - Model holoenzymowy 362
 - Model łączony 365
- 11.8 **Transkrypcja prowadzona przez polimerazę RNA II 365**
 - Opuszczenie promotora 365
 - Elongacja: polimeryzacja RNA 365
 - Aktywność korekcyjna i cofanie się polimerazy RNA II 367
 - Elongacja transkrypcji a pokonywanie bariery nukleosomowej 368
 - Choroby. Ramka 11.4 Uszkodzenia w Elongatorze i dysautonomia rodzinna (choroba Riley–Daya) 370
- 11.9 **Jądrowy import i eksport białek 372**
 - Karioferyny 372
 - Sygnaty lokalizacji jądrowej (NLS) 375
 - Sygnaty eksportu jądrowego (NES) 375
 - Szlak importu do jądra komórkowego 376
 - Szlak eksportu z jądra komórkowego 380
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.6 Kompleks poru jądrowego 374
 - Warto wiedzieć. Ramka 11.7 Odkrycie pierwszej sekwencji sygnału jądrowego 378
- 11.10 **Regulacja importu do jądra i ścieżki transdukcji sygnału 380**
 - Regulacja importu czynnika NF- κ B do jądra komórkowego 381
 - Regulacja importu jądrowego receptora glukokortykoidowego 383
 - Podsumowanie rozdziału 384**
 - Pytania kontrolne 387**
 - Literatura uzupełniająca 388**

12 Epigenetyka i monoalleliczna ekspresja genów 392

- 12.1 **Wstęp** 393
- 12.2 **Markery epigenetyczne** 393
 - Metylacja cytozyn w DNA znakuje geny przeznaczone do wyciszenia 394
 - Trwałe utrzymywanie modyfikacji histonów 398
 - Choroby. Ramka 12.1 Nowotwór a epigenetyka 396
- 12.3 **Rodzicielskie piętno genomowe** 398
 - Ustalenie i utrzymywanie piętna 399
 - Mechanizmy ekspresji monoallelicznej 402
 - Rodzicielskie piętno genomowe jest ważne dla prawidłowego rozwoju osobniczego 409
 - Pochodzenie rodzicielskiego piętna genomowego 409
 - Choroby. Ramka 12.2 Zespół łamliwego chromosomu X a metylacja DNA 400
 - Choroby. Ramka 12.3 Rodzicielskie piętno genomowe a zaburzenia rozwoju układu nerwowego 404
- 12.4 **Inaktywacja chromosomu X** 410
 - Przypadkowa inaktywacja chromosomu X u ssaków 410
 - Mechanizmy molekularne trwałego utrzymania inaktywacji chromosomu X 410
 - Czy wszystkie geny chromosomu X ulegają ekspresji monoallelicznej? 412
- 12.5 **Fenotypowe objawy obecności transpozonów** 412
 - Perspektywa historyczna: odkrycie transpozonów kukurydzy przez Barbarę McClintock 415
 - Transpozony DNA charakteryzują się szerokim spektrum gospodarzy 416
 - Transpozony DNA przenoszą się w inne miejsca na zasadzie „tnij i wklej” 417
 - Retrotranspozony przenoszą się w inne miejsca na zasadzie „kopiuj i wklej” 418
 - Niektóre retrotranspozony typu LTR są aktywne w genomach ssaków 421
 - Do retrotranspozonów nie oskrzydłonych sekwencjami LTR należą sekwencje SINE i LINE 422
 - Narzędzia. Ramka 12.1 Mutageneza transpozycyjna 414
 - Choroby. Ramka 12.4 Geny skaczące a choroby człowieka 420
- 12.6 **Kontrola epigenetyczna transpozonów** 423
 - Metylacja transpozonów 423
 - Formowanie heterochromatyny w procesie RNAi i RNA-zależnej metylacji DNA 425
- 12.7 **Wykluczenie alleliczne** 426
 - Powstawanie typu ptci drożdży – włączanie i wyciszenie 427
 - Przełączanie antygenowe u świdrowców 432
 - Rekombinacja V(D)J i adaptacyjna odpowiedź immunologiczna 439
 - Choroby. Ramka 12.5 Choroby wywoływane przez świdrowce: śpiączka afrykańska 434
 - Warto wiedzieć. Ramka 12.1 Czy system V(D)J powstał z transpozonu? 442
 - Podsumowanie rozdziału** 444
 - Pytania kontrolne** 448
 - Literatura uzupełniająca** 449

13 Dojrzewanie RNA i regulacja ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym 452

- 13.1 **Wstęp** 453
- 13.2 **Splicing RNA: perspektywa historyczna i przegląd informacji** 453
- 13.3 **Autokatalitycznie wycinające się introny grupy I i II** 455
 - Do splicingu intronów grupy I niezbędna jest obecność zewnętrznego kofaktora G 455
 - Do splicingu intronów grupy II niezbędna jest obecność wewnętrznej, wypętłonej reszty A 458
 - Ruchome introny grupy I i II 458
 - Warto wiedzieć. Ramka 13.1 Małe jąderkowe RNA kodowane w intronach i „geny odwrócone na drugą stronę” 457

- 13.4 **Introny w jądrowych i archebakteryjnych genach tRNA 460**
 - Endorybonukleaza wycina introny archebakteryjne 460
 - Niektóre jądrowe geny tRNA zawierają introny 460
- 13.5 **Kotranskrypcyjne dojrzewanie jądrowych pre-mRNA 461**
 - Przyłączenie 7-metyloguanozyny do końca 5' pre-mRNA 462
 - Terminacja i poliadenylacja 464
 - Splicing 466
 - Choroby. Ramka 13.1 Dystrofia oczno-gardłowa: zwielokrotnienie powtórzeń trinukleotydowych w genie kodującym białko wiążące się z poli(A) 461
 - Choroby. Ramka 13.2 Rdzeniowy zanik mięśni: uszkodzenia w biogenezie snRNP 468
 - Choroby. Ramka 13.3 Mutacje w genie *prp8* wywołują zwyrodnienie barwnikowe siatkówki 475
- 13.6 **Splicing alternatywny 477**
 - Wpływ splicingu alternatywnego na ekspresję genetyczną 478
 - Regulacja splicingu alternatywnego 478
 - Warto wiedzieć. Ramka 13.2 Gen *DSCAM*: skrajny przykład splicingu alternatywnego 479
- 13.7 **Trans-splicing 481**
 - Trans-splicing nieciągłych intronów grupy II 483
 - Trans-splicing sekwencji liderowej 483
 - Trans-splicing pre-tRNA 485
 - Warto wiedzieć. Ramka 13.3 Apoptoza 482
- 13.8 **Redagowanie RNA 485**
 - Redagowanie RNA u świdrowców 486
 - Redagowanie RNA u ssaków 488
 - Choroby. Ramka 13.4 Stwardnienie zanikowe boczne: uszkodzenie w redagowaniu RNA? 492
- 13.9 **Modyfikacje zasad RNA mogą być zależne od matych, jąderkowych, naprowadzających cząsteczek RNA 495**
- 13.10 **MikroRNA jako potranskrypcyjne regulatory ekspresji genetycznej 496**
 - Perspektywa historyczna: odkrycie miRNA u *Caenorhabditis elegans* 496
 - Dojrzewanie miRNA 496
 - miRNA rozcinają mRNA i blokują translację 498
- 13.11 **Przemiana RNA w jądrze i cytoplazmie 500**
 - Egzosomy jądrowe i kontrola jakości 501
 - Kontrola jakości i tworzenie cząsteczek RNP jądrowych, gotowych do eksportu jądrowego 502
 - Cytoplazmatyczna przemiana RNA 503
 - Podsumowanie rozdziału 505**
 - Pytania kontrolne 508**
 - Literatura uzupełniająca 509**

14 Translacja 512

- 14.1 **Wstęp 512**
- 14.2 **Budowa rybosomów i ich składanie 513**
 - Budowa rybosomów 513
 - Jąderko 515
 - Biogeneza rybosomów 516
 - Warto wiedzieć. Ramka 14.1 Co to jest „S”? 514
- 14.3 **Syntetazy aminoacylo-tRNA 516**
 - Reakcja aminoacylacji 517
 - Aktywność korekcyjna (naprawcza) syntetaz aminoacylo-tRNA 518

- 14.4 **Inicjacja translacji 521**
 - Powstawanie kompleksu trójskładnikowego i związanie go z podjednostką rybosomu 40S 521
 - Przyłączenie mRNA do podjednostki rybosomu 40S 522
 - Skanowanie i rozpoznanie kodonu AUG 523
 - Połączenie podjednostek rybosomu 40S i 60S 525
 - Narzędzia. Ramka 14.1 Technika odcisku palca stopy (ang. toeprinting assay) 524
 - Choroby. Ramka 14.1 Eukariotyczny czynnik inicjacji translacji eIF2B a leukodystrofia 527
- 14.5 **Elongacja 527**
 - Dekodowanie 529
 - Tworzenie wiązania peptydowego i translokacja 529
 - Aktywność peptydylotransferazowa 529
 - Wydarzenia w tunelu rybosomowym 535
- 14.6 **Terminacja 535**
- 14.7 **Kontrola translacyjna i potranslacyjna 536**
 - Fosforylacja eIF2 α blokuje powstawanie trójskładnikowego kompleksu inicjacyjnego 537
 - Fosforylację eIF2 α przeprowadzają cztery różne kinazy białkowe 538
 - Podsumowanie rozdziału 541**
 - Pytania kontrolne 543**
 - Literatura uzupełniająca 543**

15 Organizmy modyfikowane genetycznie: w badaniach podstawowych i zastosowania praktyczne 545

- 15.1 **Wstęp 546**
- 15.2 **Myszy transgeniczne 547**
 - Jak „zrobić” mysz transgeniczną? 547
 - Indukowane myszy transgeniczne 550
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.1 Patent „onkomysz” 547
- 15.3 **Modele myszy ze zmienionym określonym genem 550**
 - Myszy typu knock-out 552
 - Myszy typu knock-in 555
 - Myszy typu knock-down 556
 - Myszy z ekspresją warunkową typu knock-out i knock-in 556
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.2 Mysz na zamówienie 553
- 15.4 **Inne zastosowania technologii uzyskiwania zwierząt transgenicznych 557**
 - Transgeniczne naczelne 557
 - Transgeniczne zwierzęta gospodarcze 560
 - Zwierzęta – bioreaktory farmaceutyczne 561
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.3 Sztuka a transgeneza: króliczek GFP 560
- 15.5 **Klonowanie w drodze transferu jądra komórkowego 561**
 - Genetyczna równoważność jąder komórek somatycznych: doświadczenia nad klonowaniem żab 561
 - Klonowanie ssaków przez transfer jądra komórkowego 564
 - „Przebój roku”: sklonowanie Dolly 564
 - Metoda klonowania przez transfer jądra komórkowego 565
 - Źródło mtDNA w klonach 567
 - Dlaczego klonowanie przez transfer jądra komórkowego jest niewydajne? 567
 - Zastosowania klonowania przez transfer jądra komórkowego 572
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.4 Genetycznie modyfikowane zwierzęta domowe 570

- 15.6 **Rośliny transgeniczne 575**
 - Wprowadzanie genów z wykorzystaniem T-DNA 576
 - Elektroporacja i mikrowstrzeliwanie 578
 - Warto wiedzieć. Ramka 15.5 Rośliny GM: czy jadasz modyfikowane pomidory? 576
 - Podsumowanie rozdziału 578**
 - Pytania kontrolne 579**
 - Literatura uzupełniająca 579**

- 16 Analiza genomu: genotypowanie DNA, genomika i dalej 581**
 - 16.1 **Wstęp 581**
 - 16.2 **Genotypowanie DNA 582**
 - Polimorfizmy DNA: podstawa genotypowania DNA 584
 - Analiza minisatelitów 587
 - Analiza z wykorzystaniem łańcuchowej reakcji polimerazy 589
 - Analiza krótkich powtórzeń tandemowych (STR) 590
 - Analiza DNA mitochondrialnego 590
 - Analiza chromosomu Y 593
 - Analiza losowo powielonego polimorficznego DNA (RAPD) 594
 - Warto wiedzieć. Ramka 16.1 Profile DNA konopi indyjskich 583
 - Warto wiedzieć. Ramka 16.2 Genotypowanie DNA organizmów różnych gatunków 584
 - 16.3 **Genomika i początki postgenomiki 594**
 - Co to jest bioinformatyka? 595
 - Genomika 595
 - Proteomika 598
 - Wiek „omik” 598
 - 16.4 **Projekt Poznania Genomu Człowieka 598**
 - Metoda sekwencjonowania i składania genomu „klon po klonie” 598
 - Metoda sekwencjonowania fragmentów uzyskanych z wykorzystaniem strategii „shotgun” 599
 - Sekwencja genomu: wersja robocza versus pełna sekwencja genomu 600
 - 16.5 **Inne zsekwencjonowane genomy 600**
 - Co to jest gen i ile ich jest w genomie człowieka? 604
 - Warto wiedzieć. Ramka 16.3 Analiza porównawcza genomów: od rozdymki do kura 602
 - 16.6 **Wysokoprzepustowa analiza funkcji genów 604**
 - Mikromacierze DNA 604
 - Mikromacierze białkowe 605
 - Spektrometria mas 607
 - 16.7 **Polimorfizm pojedynczych nukleotydów (SNP) 609**
 - Warto wiedzieć. Ramka 16.4 Proteom jąderka 610
 - Podsumowanie rozdziału 611**
 - Choroby. Ramka 16.1 Mapowanie SNP związanych z chorobami: choroba Alzheimera 612
 - Pytania kontrolne 615**
 - Literatura uzupełniająca 616**

- 17 Biologia molekularna w medycynie 618**
 - 17.1 **Wstęp 618**
 - 17.2 **Biologia molekularna nowotworu 619**
 - Aktywacja onkogenów 619
 - Inaktywacja genów kodujących supresory nowotworowe 625
 - Nieprawidłowa ekspresja mikroRNA w schorzeniach nowotworowych 634

	Rearanżacje chromosomowe a nowotwory	636
	Wirusy a nowotwory	638
	Karcynogeneza o podłożu chemicznym	643
	Warto wiedzieć. Ramka 17.1 Jak komórki rakowe dają przerzuty: rola Src	626
	Choroby. Ramka 17.1 Teoria dwóch zdarzeń Knudsona a siatkówczak (retinoblastoma)	628
	Choroby. Ramka 17.2 Terapia genowa nowotworów	632
	Warto wiedzieć. Ramka 17.2 Odkrycie p53	633
	Choroby. Ramka 17.3 Wirus brodawczaka ludzkiego (HPV) a nowotwór szyjki macicy	640
17.3	Terapia genowa	645
	Wektory w terapii genowej komórek somatycznych	646
	Terapia genowa w ulepszaniu cech na drodze inżynierii genetycznej	649
	Terapia genowa w zespołach dziedzicznego niedoboru odporności	652
	Terapia genowa w leczeniu mukowiscydozy	654
	Terapia genowa zakażenia HIV-1	655
	Warto wiedzieć. Ramka 17.3 Transfer genów przy użyciu retrowirusów: jak skonstruować „bezpieczny” wektor?	650
	Warto wiedzieć. Ramka 17.4 Pierwsza ofiara śmiertelna terapii genowej	652
	Warto wiedzieć. Ramka 17.5 Cykl życiowy wirusa HIV-1	657
17.4	Geny a ludzkie zachowania	657
	Zachowania agresywne, impulsywne i z użyciem przemocy	661
	Loci odpowiadające za podatność na schizofrenię	662
	Podsumowanie rozdziału	663
	Pytania kontrolne	665
	Literatura uzupełniająca	666
	Słowniczek	668
	Indeks	716