Budowa DNA i RNA. Organizacja w genomie

Etap III · poszerzenie · genetyka · edubiologia.pl

DNA przechowuje informację genetyczną. Na konkursie liczą się: budowa nukleotydu, **reguła komplementarności**, różnice między DNA a RNA oraz sposób upakowania DNA w chromosom (helisa → nukleosom → chromatyna → chromosom). Do tego dochodzą replikacja DNA, która poprzedza każdy podział komórki, budowa genu i porównanie genomów bakterii, eukariontów i wirusów.

Nukleotydy — cegiełki kwasów nukleinowych

Nukleotydy to niewielkie cząsteczki organiczne zbudowane z pięciu pierwiastków: C, H, O, N i P. W komórce występują jako wolne nukleotydy. Mogą też łączyć się w dinukleotydy albo w długie polinukleotydy, czyli kwasy nukleinowe.

Element nukleotydu	Co to jest
Pentoza	cukier pięciowęglowy: **ryboza** (RNA) albo **deoksyryboza** (DNA)
Zasada azotowa	jedna z pięciu: G, A, C, T, U. **Puryny** mają dwa pierścienie (adenina, guanina). **Pirymidyny** mają jeden pierścień (cytozyna, tymina, uracyl).
Reszty fosforanowe(V)	od jednej do trzech. W fizjologicznym pH komórki występują jako aniony.

Dwa wiązania wewnątrz nukleotydu: pentoza + zasada → **wiązanie N-glikozydowe** → powstaje **nukleozyd**. Następnie nukleozyd + reszta fosforanowa(V) → **wiązanie estrowe** → powstaje **nukleotyd**.

Atomy węgla cukru numeruje się ze znakiem prim (1′–5′). Dzięki temu nie myli się ich z atomami węgla zasady. Nazwy nukleotydów DNA tworzy się od nukleozydów: deoksyadenozyny, deoksyguanozyny, deoksycytydyny i tymidyny. Wzór nazwy to „nukleozydo-5′-monofosforan”. Liczba 5′ oznacza, że fosforan jest przyłączony do piątego węgla deoksyrybozy.

Podział	Grupy
wg cukru i zasady	**rybonukleotydy**: ryboza + G, A, C lub U; skróty trzyliterowe, np. ATP (adenozynotrifosforan). **deoksyrybonukleotydy**: deoksyryboza + G, A, C lub T; skróty czteroliterowe, np. dATP (deoksyadenozynotrifosforan).
wg liczby fosforanów	trifosforany, difosforany i monofosforany nukleozydów, np. ATP ↔ ADP + P_i ↔ AMP + P_i. Przechodzą w siebie przez przyłączanie lub odłączanie reszt fosforanowych. Część nukleotydów tworzy formy cykliczne (pierścieniowe).

Funkcje wolnych nukleotydów (m.in.):

- przenoszą energię chemiczną (ATP);
- działają jako cząsteczki sygnałowe (cykliczny AMP, cAMP);
- są substratami do syntezy dinukleotydów i kwasów nukleinowych.

Dinukleotydy składają się z dwóch nukleotydów i przenoszą elektrony w metabolizmie:

- **NAD^+** — jeden z nukleotydów zawiera pochodną kwasu nikotynowego (witaminy B_3);
- **$NADP^+$** — ma wszystko to co NAD^+ oraz dodatkową resztę fosforanową(V);
- **FAD** — jeden z nukleotydów jest pochodną ryboflawiny (witaminy B_2).

Budowa DNA

DNA to zwykle **dwuniciowa** cząsteczka (podwójna helisa) zbudowana z **nukleotydów**. Każdy nukleotyd = cukier (**deoksyryboza**) + reszta fosforanowa + zasada azotowa. Zasady: adenina (A), tymina (T), guanina (G), cytozyna (C). Wyjątek: u niektórych wirusów występuje DNA jednoniciowe (ssDNA).

Reguła komplementarności: nici łączą się zasadami według zasady **A–T** i **G–C** (wiązania wodorowe). Znając jedną nić, można odtworzyć drugą. Nici są **antyrównoległe**.

Łańcuch (nić) polinukleotydowy. Kolejne nukleotydy łączą się **wiązaniami 3′,5′-fosfodiestrowymi**. Reszta fosforanowa(V) spina węgiel 3′ cukru jednego nukleotydu z węglem 5′ cukru następnego — stąd nazwa wiązania. Nić jest **polarna**, bo jej dwa końce mają różną budowę:

- **koniec 5′** — reszta fosforanowa(V);
- **koniec 3′** — grupa hydroksylowa (–OH) cukru.

Sekwencja to kolejność nukleotydów w nici. Zapisuje się ją literami zasad, zaczynając od końca 5′, np. 5′-ATCGT-3′ albo krótko ATCGT. W RNA zapis wygląda analogicznie, np. 5′-AUCGU-3′.

Przestrzenny kształt helisy:

- Helisa jest **prawoskrętna**, a dwie nici skręcają się wokół wspólnej osi.
- Na zewnątrz leży **szkielet cukrowo-fosforanowy** (deoksyryboza + reszty fosforanowe). Zasady są skierowane do środka.
- Dwie zasady związane wiązaniami wodorowymi tworzą **parę zasad**. Naprzeciw puryny (A lub G) zawsze stoi pirymidyna (T lub C), dzięki czemu helisa ma **stałą średnicę**.
- Helisę stabilizują wiązania wodorowe między niciami. Dodatkowo działają **oddziaływania hydrofobowe** między sąsiadującymi parami zasad w tym samym łańcuchu.
- Na jeden pełny skręt przypada **10 par nukleotydów**.

- Wzdłuż helisy biegną dwa rowki, **większy i mniejszy**. Dzięki nim białka wiążące DNA rozpoznają sekwencję bez rozplatania helisy.
- Długość dwuniciowego DNA podaje się w **parach zasad (pz)**, czyli w liczbie par nukleotydów.

Antyrównoległość w zapisie: koniec 5′ jednej nici leży naprzeciw końca 3′ drugiej. Dla nici 5′AATGCGT3′ nić komplementarna to **3′TTACGCA5′**.



Podwójna helisa DNA. Zielone wstęgi to szkielet cukrowo-fosforanowy: na przemian cukier (pięciokąt) i reszta fosforanowa (kółko). Między nićmi leżą pary zasad połączone wiązaniami wodorowymi (kreski): para A–T ma dwa takie wiązania, para G–C — trzy. U góry jedna nić kończy się resztą fosforanową (koniec 5′), a druga cukrem (koniec 3′), bo nici biegną w przeciwnych kierunkach — są antyrównoległe.

Jak poznano strukturę. DNA odkryto w 1869 r. Jego przestrzenną budowę ustalili dopiero w 1953 r. James Watson i Francis Crick. Sami nie robili doświadczeń laboratoryjnych nad DNA — oparli się na wynikach innych badaczy. Kluczowe okazały się zdjęcia rentgenowskie kryształów DNA wykonane przez Rosalind Franklin z zespołu Maurice'a Wilkinsa. Ciemne plamy ułożone w środku zdjęcia w kształt litery X wskazywały, że DNA jest helisą.

DNA a RNA

Cecha	DNA	RNA

Nici	zwykle dwie (helisa); ssDNA u niektórych wirusów	zwykle jedna; mogą wystąpić fragmenty dwuniciowe w obrębie tej samej nici; całe dwuniciowe RNA (dsRNA) — znacznie rzadziej, m.in. u niektórych wirusów
Cukier	deoksyryboza	ryboza
Zasady	A, T, G, C	A, **U**, G, C (uracyl zamiast tyminy); pary: A–U, G–C
Rodzaje nukleotydów	4 deoksyrybonukleotydy (A, T, G, C)	4 rybonukleotydy: adeninowy, guaninowy, cytydynowy, urydynowy
Funkcja	przechowywanie informacji; materiał genetyczny wszystkich organizmów i części wirusów	udział w syntezie białka (mRNA, tRNA, rRNA); część cząsteczek działa katalitycznie (rybozymy) lub regulacyjnie; materiał genetyczny pozostałych wirusów i wiroidów
Stabilność	trwalszy jako materiał genetyczny	mniej stabilny: przy kopiowaniu powstaje więcej błędów i łatwiej ulega degradacji

Rola DNA i doświadczenia, które ją wykazały

DNA wyznacza strukturę pierwszorzędową cząsteczek RNA i białek. Od białek zależą cechy organizmu: morfologiczne, anatomiczne i fizjologiczne. Cechy te przechodzą z pokolenia na pokolenie, więc DNA jest **nośnikiem informacji genetycznej** odpowiedzialnym za dziedziczenie. Ustalono to w połowie XX w. dzięki badaniom bakterii i wirusów.

Badanie	Co zrobiono i co wyszło
Frederick Griffith, 1928	Brytyjski lekarz wojskowy leczący bakteryjne zapalenie płuc. Badał na myszach dwa szczepy dwoinki zapalenia płuc. **Szczep S** jest chorobotwórczy i ma śluzową otoczkę. **Szczep R** jest niechorobotwórczy i otoczki nie wytwarza. Próby i wyniki: • żywe S → mysz choruje i ginie; • żywe R → mysz zdrowa; • S zabite wysoką temperaturą → mysz zdrowa; • żywe R + martwe S → mysz ginie, a z jej ciała wyizolowano żywe bakterie S. Wniosek: bakterie chorobotwórcze potrafią przekazać niechorobotwórczym zdolność zakażania. Griffith nie wiedział, jaki związek za to odpowiada — tylko tyle, że jest to składnik cytoplazmy bakterii chorobotwórczych.

Oswald Avery, Colin MacLeod, Maclyn McCarty, 1944, USA	Kontynuacja prac Griffitha. Problem: białko, RNA czy DNA? Hipoteza: DNA. Do ekstraktu z bakterii chorobotwórczych dodawano jeden z enzymów: proteazy (trawią białka), deoksyrybonukleazy (DNA) lub rybonukleazy (RNA). Ekstrakt łączono z hodowlą bakterii niechorobotwórczych, a nimi zakażano myszy. Liczono chore zwierzęta, a w krwi padłych sprawdzano obecność bakterii. Próby kontrolne: same bakterie niechorobotwórcze → mysz żyje; bakterie niechorobotwórcze + ekstrakt bez enzymu → mysz ginie, we krwi bakterie chorobotwórcze. Próby badawcze: + enzym trawiący białko → mysz ginie; + enzym trawiący RNA → mysz ginie; + enzym trawiący DNA → mysz żyje. Wniosek: cechy przekazuje DNA — to on jest nośnikiem informacji genetycznej.
Alfred Hershey i Martha Chase, 1952, USA	Pytanie: która część bakteriofaga T2 wnika do bakterii i powoduje powstawanie nowych wirusów? Hipoteza: DNA jest nośnikiem informacji bakteriofagów. Białkowy kapsyd znakowano siarką promieniotwórczą (^{35}S), a DNA — fosforem promieniotwórczym (^{32}P). Fagami zakażano bakterie. Fag wstrzykuje do bakterii DNA. Wytrząsanie odrywa puste kapsydy od bakterii, a wirowanie oddziela bakterie (osad) od roztworu z kapsydami. Na końcu mierzono promieniotwórczość. Wynik: większość ^{35}S była w roztworze z kapsydami, a większość ^{32}P — w osadzie z bakteriami zawierającymi DNA faga. Wniosek: informację genetyczną wirusów przekazuje DNA, nie białko.

Informacja genetyczna a kod genetyczny

Informacja genetyczna to treść zapisana w odcinkach DNA, czyli w genach. Dotyczy syntezy białek, od których zależą cechy organizmu. **Kod genetyczny** to sposób zapisu tej treści. Jego „alfabet" stanowią cztery litery — G, A, C oraz T (w DNA) lub U (w RNA) — oznaczające kolejne nukleotydy. Kolejność nukleotydów wyznacza kolejność aminokwasów w łańcuchu polipeptydowym, czyli strukturę pierwszorzędową białka.

Informacja zawarta w genie obejmuje więcej niż sam przepis na cząsteczkę:

Element informacji	Przykład / znaczenie
budowa cząsteczki	kolejność aminokwasów w białku lub nukleotydów w RNA
warunki wytwarzania	np. podwyższona temperatura otoczenia
miejsce docelowe	dokąd w komórce ma trafić cząsteczka, np. do błony komórkowej, do mitochondrium
rodzaj komórek	w jakich komórkach ma powstawać, np. insulina — tylko w komórkach trzustki
czas obecności	jak długo cząsteczka ma istnieć, czyli jak szybko ma ulec degradacji

tempo wytwarzania	ile cząsteczek ma powstać w danym czasie

Wiązania w DNA — dwa różne typy

W cząsteczce DNA występują dwa rodzaje wiązań — nie myl ich.

Wiązanie	Co łączy
Fosfodiestrowe (3′,5′)	kolejne **nukleotydy wzdłuż jednej nici** (reszta fosforanowa–cukier); tworzy trwały „szkielet" nici — występuje też w RNA
Wodorowe	**zasady azotowe** leżące naprzeciw siebie na dwóch niciach: A z T, G z C; spinają obie nici helisy

Para **A–T** ma zawsze 2 wiązania wodorowe, a **G–C** — zawsze 3. Wiązania wodorowe między niciami są rozrywane np. przed replikacją (robi to helikaza), a wiązania fosfodiestrowe łączą kolejne nukleotydy w ciągłą nić. Wewnątrz każdego nukleotydu działają jeszcze wiązanie N-glikozydowe (cukier–zasada) i estrowe (cukier–fosforan).

Reguła Chargaffa — jak liczyć zasady

Skoro w dwuniciowym DNA A zawsze łączy się z T, a G z C, to ich ilości (i procenty) są równe. Ta prawidłowość to **reguła Chargaffa**. **Nie stosuje się** jej do jednoniciowego DNA (ssDNA) niektórych wirusów.

Zasada	Wynika z komplementarności
liczba A = liczba T	%A = %T
liczba G = liczba C	%G = %C
A + T + G + C	= wszystkie nukleotydy (100%)

Przykłady z zadań:

1. 460 nukleotydów, w tym 65 z tyminą (T). Skoro A = T, to A = 65, więc A + T = 130. Zostaje 460 − 130 = 330 na G + C. Ponieważ G = C → **C = 330 : 2 = 165**.

2. C = 20% wszystkich nukleotydów. Wtedy G = 20% (bo G = C), razem G + C = 40%. Zostaje A + T = 60%, a że A = T → **A = 30%**.

3. A = 35% wszystkich nukleotydów. Wtedy T = 35%, razem A + T = 70%. Zostaje G + C = 30%, a że G = C → **G = 15%**.

4. 250 nukleotydów, w tym 75 z cytozyną. G = C = 75, więc G + C = 150. Na A + T zostaje 250 − 150 = 100, czyli **T = 100 : 2 = 50**.

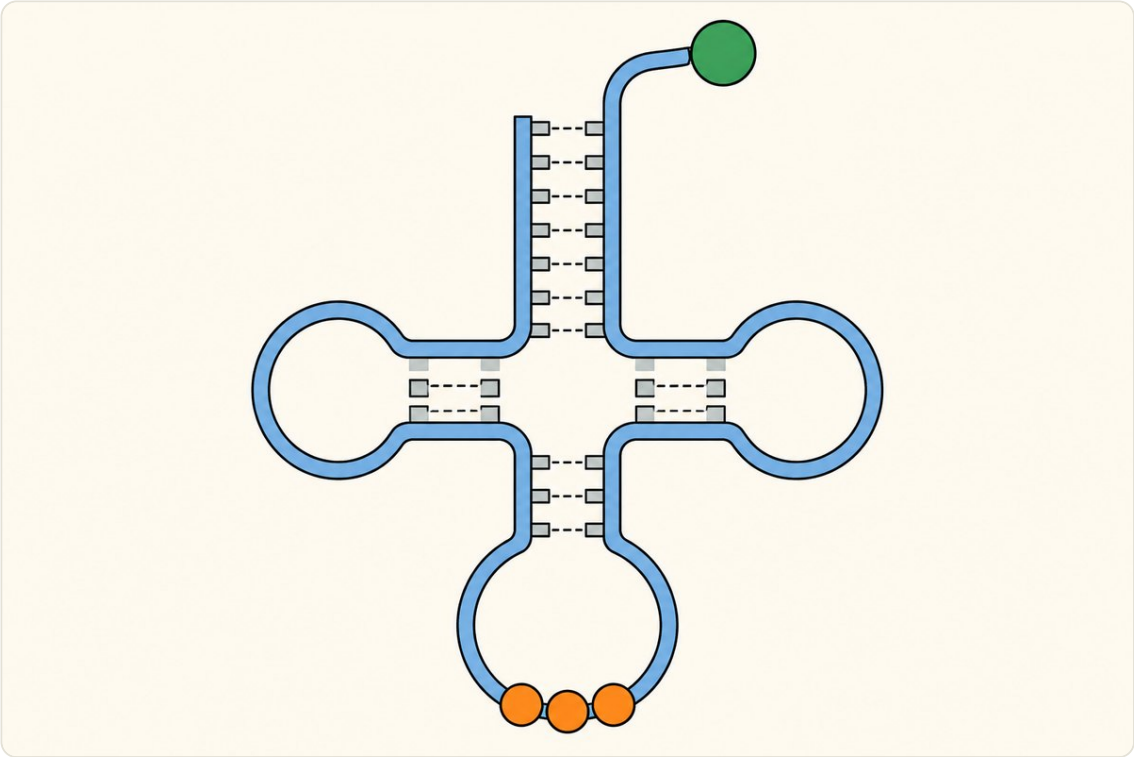
5. Czy cząsteczka jest dwuniciowa? Fragment ma 200 nukleotydów, w tym 63 z G i 56 z A. Zakładamy dwuniciowość: wtedy C = 63 i T = 56. Suma wynosi 63 + 56 + 63 + 56 = 238, a nie 200. Założenie jest więc fałszywe: zasady nie mogą być w pełni komplementarne, czyli to **DNA jednoniciowe**.

Rodzaje RNA i ich role

W komórkach jest kilka rodzajów RNA. Różnią się liczbą i kolejnością nukleotydów, kształtem przestrzennym i funkcją. Wszystkie bezpośrednio lub pośrednio biorą udział w odczytywaniu informacji genetycznej. Najważniejszą funkcją RNA jest **udział w ekspresji genów**, czyli w odczytywaniu informacji zawartej w DNA. Główną rolę odgrywają tu mRNA, rRNA i tRNA.

Rodzaj	Gdzie	Budowa i rola
mRNA (informacyjny, ang. *messenger*)	wszystkie organizmy	Stanowi 4–5% RNA komórki. Jest jedynym **RNA kodującym**, bo niesie informację o budowie białek. Przenosi tę informację z miejsca przechowywania do miejsca syntezy białek (u eukariontów głównie z jądra do cytoplazmy). Tam łączy się z rybosomami i jest matrycą. Jest jednoniciowy i krótkotrwały; zwykle liczy 1000–2000 nukleotydów.
rRNA (rybosomowy, ang. *ribosomal*)	wszystkie organizmy	Jest go w komórce najwięcej. Buduje rybosomy — kompleksy nukleoproteinowe syntetyzujące białka zgodnie z mRNA. Jedne cząsteczki pełnią funkcję budulcową, inne katalityczną (**rybozymy**). Przykład rybozymu: **transferaza peptydylowa** w dużej podjednostce, łącząca aminokwasy w białko. Rybosom ma dwie podjednostki, dużą i małą, które łączą się tylko na czas syntezy białka.
tRNA (transportujący, ang. *transfer*)	wszystkie organizmy	Dostarcza aminokwasy (substraty syntezy białka) do rybosomów. Małe cząsteczki o długości 74–90 nukleotydów. Jedna cząsteczka rozpoznaje, wiąże i przenosi **tylko jeden rodzaj** aminokwasu. Aminokwas przyłącza się do końca 3′ z wolną grupą –OH, która tworzy wiązanie estrowe z grupą –COOH aminokwasu. Ma **antykodon** — trzy nukleotydy rozpoznające komplementarny kodon w mRNA.
snRNA (mały jądrowy)	tylko eukarionty	uczestniczy w dojrzewaniu mRNA
miRNA (mikroRNA)	tylko eukarionty	reguluje ekspresję genów przez degradację mRNA lub blokowanie translacji
siRNA (mały interferujący)	tylko eukarionty	reguluje ekspresję genów, m.in. przez degradację mRNA; jest jednym z elementów obrony komórki przed wirusami RNA

Podział ilościowy: RNA kodujący (mRNA) to 4–5% całości. RNA niekodujący (rRNA, tRNA, snRNA, siRNA, miRNA i inne rodzaje) to 95–96%. W mRNA brak fragmentów dwuniciowych. W rRNA i tRNA mogą one powstawać, gdy łączą się komplementarne nukleotydy tej samej nici (A z U, G z C). Te fragmenty decydują o kształcie przestrzennym cząsteczki.



Cząsteczka tRNA w kształcie liścia koniczyny. Aminokwas (zielona kulka) przyłącza się do końca 3′ — u góry po prawej. W ramionach komplementarne nukleotydy tej samej nici łączą się wiązaniami wodorowymi (kreski). W dolnej pętli leży antykodon: trzy nukleotydy (pomarańczowe), które rozpoznają komplementarny kodon w mRNA.

Gdzie w komórce jest RNA

- **Eukarionty:** RNA jest w jądrze, cytozolu i organellach półautonomicznych (mitochondriach i chloroplastach). W jądrze powstają wszystkie rodzaje RNA, przy czym rRNA tworzy się w **jąderku**. Wszystkie RNA oprócz rRNA przechodzą przez pory jądrowe do cytozolu. rRNA łączy się w jąderku z białkami w podjednostki rybosomów, które także trafiają do cytozolu. Niektóre cząsteczki, np. snRNA, wędrują w obie strony.
- W **mitochondriach i chloroplastach** powstają własne mRNA, tRNA i rRNA (dla rybosomów organellowych). Służą do ekspresji genów genomu mitochondrialnego i chloroplastowego.
- **Prokarionty** nie mają jądra ani innych organelli, więc całe ich RNA jest w cytoplazmie.
- Ilość RNA w komórce się zmienia, ale zawsze utrzymuje się równowaga między syntezą nowych cząsteczek a rozkładem niepotrzebnych.

RNA jako materiał genetyczny

- **Wiroidy** to pasożyty roślin. Ich RNA jest jednoniciowy, zamknięty (kolisty) i liczy kilkaset nukleotydów. Ma fragmenty dwuniciowe utworzone przez komplementarne nukleotydy tej samej nici.
- **Wirusy RNA** mają RNA jednoniciowe (ssRNA) lub dwuniciowe (dsRNA). Należy do nich większość wirusów atakujących rośliny, np. wirus mozaiki tytoniu. Należą też niektóre wirusy zwierzęce, np. wirusy grypy, HIV i SARS-CoV-2. Wirus grypy ma osłonkę lipidową, pod nią kapsyd, a w środku RNA.

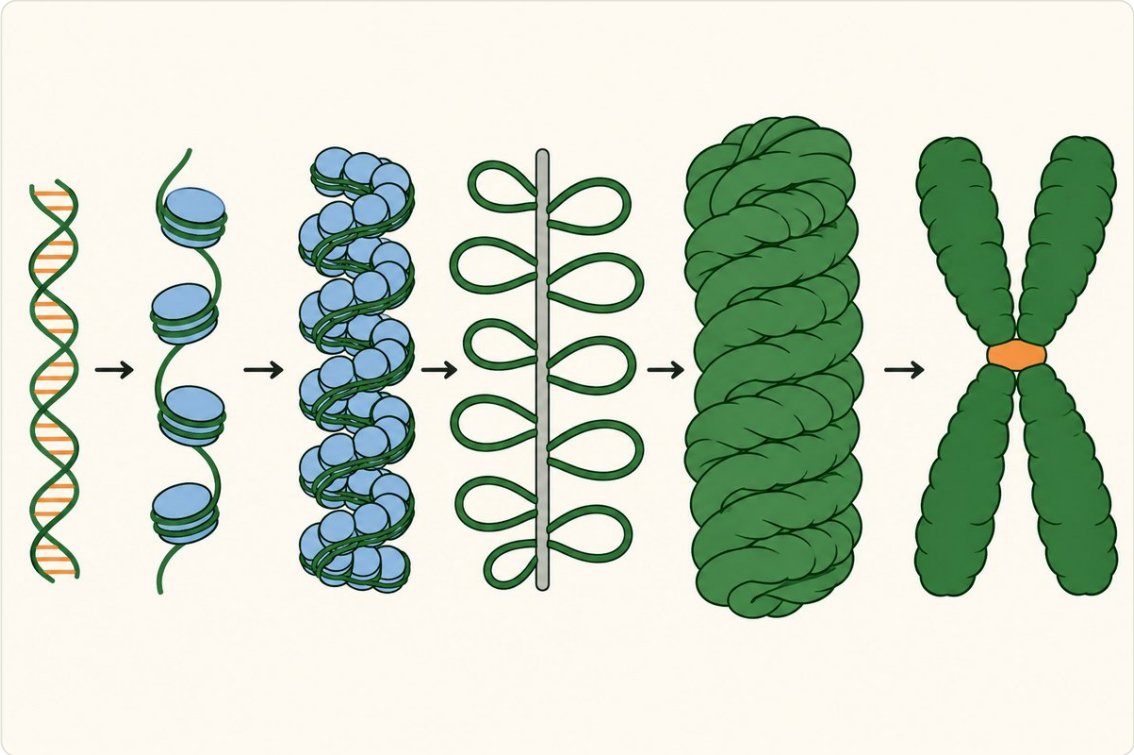
Organizacja DNA w genomie

Nić DNA jest bardzo długa, więc musi zostać upakowana: **helisa → nawinięcie na białka (histony) = nukleosom → chromatyna → chromosom**. Dzięki temu metry DNA mieszczą się w jądrze. U człowieka DNA znajduje się głównie w **jądrze**, a niewielka ilość poza nim — w **mitochondriach** (u roślin także w chloroplastach).

Łącznie DNA w jądrze komórki człowieka ma ok. **2 m** długości, a jądro ma średnicę zaledwie **5–8 µm**. Zmieszczenie DNA umożliwia wiązanie go z białkami histonowymi. DNA związane z białkami to **chromatyna**. Upakowanie przebiega w kilku stopniach:

#	Stopień	Opis
1	**wolna helisa DNA**	DNA jest wolne (nieupakowane) tylko podczas replikacji
2	**nukleosom**	Odcinek DNA owija się wokół rdzenia z **czterech par** zasadowych białek histonowych. Jeden **histon łącznikowy** działa jak klamra: nie pozwala nukleosomowi się rozpaść ani rozwinąć. Nukleosomy oddziela krótki **DNA łącznikowy**. Taka „nić nukleosomów" skraca DNA ok. **7 razy**.
3	**włókno 30 nm (solenoid)**	Między podziałami nić nukleosomów zwija się w helisę, a nukleosomy łączą się dzięki histonom i białkom niehistonowym. DNA zajmuje wtedy **40 razy** mniej miejsca niż przed upakowaniem.
4	**pętle**	na początku podziału włókna chromatyny układają się w pętle utrzymywane przez łączące je białka
5	**włókna 300 nm**	pętle zwijają się spiralnie
6	**chromosom skondensowany**	Przypomina krótką pałeczkę. Przy największej kondensacji DNA jest krótsze ok. **9 tys. razy**.

7	**chromosom w dzielącej się komórce**	dwie jednakowe cząsteczki DNA, czyli **chromatydy siostrzane**, połączone w **centromerze**; po obu stronach centromeru leżą ramiona chromosomu



Stopnie upakowania DNA (od lewej): helisa DNA → nukleosomy, czyli DNA nawinięte na białka histonowe (niebieskie) → włókno 30 nm → pętle utrzymywane przez białka → pętle zwinięte spiralnie (włókno 300 nm) → chromosom w dzielącej się komórce: dwie chromatydy siostrzane połączone w centromerze (pomarańczowy).

Chromatyna między podziałami. W tym czasie (poza fazą S) chromatyna ma postać mniej lub bardziej upakowanych włókien 30 nm. Występuje w dwóch postaciach:

- **euchromatyna** — luźno upakowana. Uważa się, że zawiera geny aktywne; przy odczytywaniu informacji rozluźnia się dodatkowo. W obrazie spod TEM jest rozproszona po jądrze.
- **heterochromatyna** — ściśle upakowana. Uważa się, że zawiera geny nieaktywne i większość pozagenowego DNA. Leży zwykle pod otoczką jądrową i wokół jąderka.

Chromatyna w czasie podziału. Chromosomy widać w mikroskopie optycznym już w **profazie**, a najsilniej skondensowane są w **metafazie**. Ich wyodrębnienie warunkuje dokładny rozdział materiału genetycznego do komórek potomnych. W regulacji stopnia upakowania chromatyny uczestniczy niekodujący RNA.

Replikacja DNA — powstają dwie takie same cząsteczki

Podczas replikacji (faza S) nici helisy rozplatają się, a na każdej z nich — zgodnie z komplementarnością — dobudowywana jest nić nowa. Replikacja jest **półzachowawcza**

(semikonserwatywna): każda z dwóch cząsteczek potomnych ma **jedną nić starą (matrycową) i jedną nowo powstałą**.

Znaczenie. Replikacja podwaja ilość DNA w komórce i daje dwie identyczne kopie materiału genetycznego. W podziale (faza M) trafiają one do komórek potomnych. Dlatego replikacja jest podstawą przekazywania informacji genetycznej komórkom i organizmom potomnym. Zachodzi przed każdym podziałem komórki, co pozwala organizmom rosnąć i się rozmnażać. To **proces anaboliczny** katalizowany przez enzymy. Udział biorą DNA macierzysty (matryca) i wolne nukleotydy (substraty).

Przykład. Na matrycy o sekwencji **G T A A T G T A G T A A** powstaje nić komplementarna. Podstawiamy A↔T, G↔C (to DNA, więc **T, nie U**):

Nić matrycowa (stara)	Nić nowa
G T A A T G T A G T A A	**C A T T A C A T C A T T**

Uwaga: wynik z U (np. CAUUACAUCAUU) byłby błędny — uracyl występuje w RNA, a nie w DNA.

Enzym	Rola w replikacji
helikaza DNA	rozplata helisę, rozrywając wiązania wodorowe między niciami
prymaza (polimeraza RNA)	na matrycy DNA tworzy **startery** — krótkie odcinki RNA (ok. 10 nukleotydów), syntetyzowane w kierunku 5′ → 3′
polimerazy DNA	Budują nową nić na matrycy starej, zawsze w kierunku **5′ → 3′**, na matrycy o polarności 3′ → 5′. Same nie zaczynają syntezy — tylko dokładają nukleotydy do końca 3′ istniejącego łańcucha, np. startera.
ligaza	łączy nowe fragmenty nici w jeden ciągły łańcuch

Przebieg u pałeczki okrężnicy (*Escherichia coli*), gdzie mechanizm poznano najlepiej. *E. coli* ma pięć polimeraz DNA (I–V); główną rolę grają **III i I**. Chromosom ma postać kolistego DNA o długości 4,6 mln pz. Kopiuje się przed każdym podziałem w niecałe 40 minut, z **jednego** miejsca inicjacji.

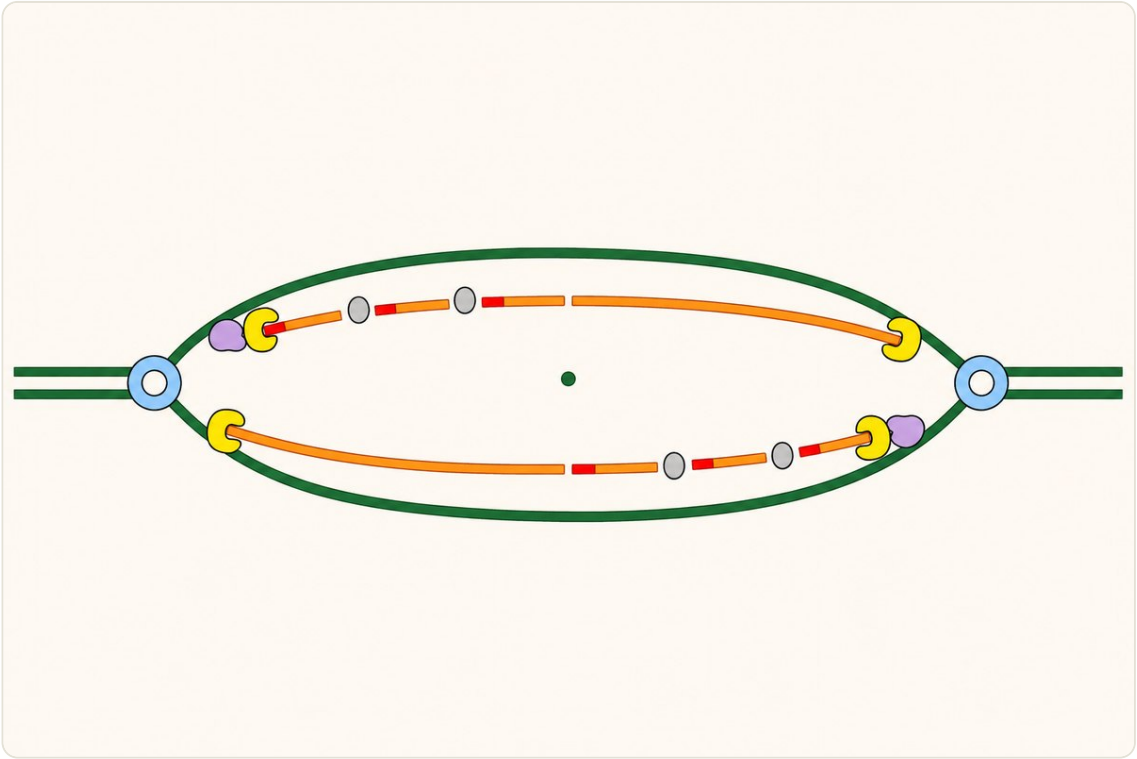
1. **Inicjacja.** Białko regulatorowe przyłącza się do miejsca inicjacji replikacji, czyli **miejsca *ori*** (ang. *origin of replication*). Na krótkim odcinku helisa się rozplata i powstaje **oczko replikacyjne**. Jego boki mają kształt litery Y — to **widełki replikacyjne**. Dołączają się tu kolejne białka potrzebne w następnym etapie.
2. **Elongacja.** Helikazy rozrywają wiązania wodorowe. Widełki rozchodzą się w dwie przeciwne strony, a oczko rośnie — replikacja jest **dwukierunkowa**. Prymaza tworzy startery na obu niciach, a do ich końców 3′ przyłącza się **polimeraza III** i buduje nić komplementarną. Replikowany odcinek DNA to **replikon**.
   Nici są antyrównoległe, a synteza idzie tylko 5′ → 3′, więc obu nowych nici nie da się budować w sposób ciągły w stronę widełek:

- **nić wiodąca** rośnie w sposób ciągły w stronę widełek; starter wstawia się na niej tylko raz;
- **nić opóźniona** rośnie w przeciwną stronę, z wielu kolejnych startów. Startery wstawiane są mniej więcej co 1000 nukleotydów, a powstają krótkie **fragmenty Okazaki**, nazwane od odkrywcy.

  Polimeraza I wycina startery i wypełnia luki nukleotydami DNA, a **ligaza** łączy fragmenty Okazaki. Wydłużanie trwa, aż skopiowana zostanie cała cząsteczka.

3. **Terminacja.** Koniec wyznaczają **sekwencje terminacyjne**, leżące u *E. coli* naprzeciw miejsca *ori*. Tam białka replikacyjne odłączają się od DNA i powstają dwie identyczne cząsteczki.

Replisom to duży kompleks białkowy powstający w rejonie widełek. Tworzą go **prymosom** (mniejszy kompleks, m.in. helikaza i prymaza) oraz **polimeraza III**. Połączenie enzymów pozwala im działać precyzyjnie i zgodnie. Helikaza rozplata helisę, prymaza wstawia startery, a tuż za nią polimeraza III buduje DNA od końców 3′ starterów. Replisom *E. coli* pracuje z szybkością ok. 2000 pz/s.



Oczko replikacyjne. Replikacja zaczyna się w miejscu ori (kropka w środku) i biegnie w obie strony, do dwóch widełek. Ciemnozielone są nici stare (matrycowe), pomarańczowe — nowe. Przy każdych widełkach jedna nowa nić rośnie w sposób ciągły (nić wiodąca), a druga powstaje z fragmentów Okazaki, z których każdy zaczyna się starterem RNA (czerwony) — to nić opóźniona. Dlatego nić ciągła jest raz u góry, a raz na dole. Enzymy: helikaza (niebieski pierścień), prymaza (fioletowa), polimeraza DNA (żółta), ligaza łącząca fragmenty (szara).

Cecha	Prokarionty (*E. coli*)	Eukarionty

kształt chromosomu	kolisty	liniowy
miejsca *ori*	jedno; synteza w obu kierunkach	wiele w jednym chromosomie, więc wiele oczek naraz; synteza w obu kierunkach
polimerazy DNA	5 (I–V); główne III i I	co najmniej 9, oznaczane literami greckimi. Główne to **α** i **δ**. Polimeraza α ma aktywność prymazy: tworzy startery RNA i wydłuża je o ok. 20 nukleotydów DNA. Dalej syntezę prowadzi polimeraza δ.
zakończenie	sekwencja terminacyjna naprzeciw *ori*	Słabo poznane. Przypuszcza się, że widełki spotykają się w przypadkowych miejscach i tam odłączają się białka. Wszystkie oczka muszą się połączyć.
ilość DNA	4,6 mln pz	komórka somatyczna człowieka — ok. 3 mld pz; wiele miejsc startu znacznie skraca czas replikacji

Replikacja u eukariontów jest znacznie bardziej złożona, choć ogólny przebieg jest podobny. Największe różnice dotyczą inicjacji i terminacji.

Końce chromosomów — telomery. Liniowe DNA eukariontów skraca się przy każdej replikacji. Po usunięciu ostatniego startera na końcu nici opóźnionej polimeraza nie może uzupełnić tego fragmentu. Końce odbudowuje **telomeraza**: dokłada nukleotydy do końca matrycy nici opóźnionej. Powstają **sekwencje telomerowe (telomery)** — wiele razy powtórzone krótkie odcinki o tej samej kolejności zasad. Telomeraza działa w komórkach embrionalnych, linii płciowej i macierzystych. W większości dojrzałych komórek jest nieaktywna, więc ich telomery stopniowo się skracają. Tracone są jednak wcześniej utworzone telomery, a nie sekwencje kodujące genów. Telomeraza nie działa też w komórkach starzejących się, w których podziały i replikacja są zahamowane. W komórkach nowotworowych zwykle ulega ponownej aktywacji.

Korekta błędów. Polimeraza wstawia błędny nukleotyd mniej więcej raz na 100 tys. poprawnych. Kontroluje jednak swoją pracę:

1. przyłącza nukleotyd (czasem niewłaściwy);
2. sprawdza parę z nicią matrycową i usuwa błędny nukleotyd;
3. wstawia właściwy;
4. kontynuuje syntezę.

Dzięki temu zostaje ok. **1 błąd na 100 mln** nukleotydów.

Regulacja. Replikacja zachodzi tylko raz przed każdym podziałem. Białka startujące odłączają się od DNA zaraz po utworzeniu oczka, co zapobiega powstawaniu wielu kopii. W niekorzystnych warunkach replikacja jest wstrzymywana. Przy uszkodzeniu DNA (np. przez promieniowanie jonizujące) powstają białka naprawcze. Zatrzymują one replikację do czasu usunięcia uszkodzeń, by nie powstały wadliwe cząsteczki DNA.

Dodatkowo: replikacja RNA u wirusów

Niektóre wirusy RNA, m.in. koronawirusy, powielają swój RNA. Robi to **polimeraza RNA zależna od RNA**, kodowana przez genom wirusa. Uproszczony cykl koronawirusa:

1. **adsorpcja** — glikoproteiny osłonki rozpoznają receptory na powierzchni komórki i wiążą się z nimi;
2. **wnikanie** — kapsyd z materiałem genetycznym wchodzi do cytoplazmy i rozpada się, uwalniając ssRNA;
3. **replikacja RNA** — polimeraza RNA powiela genom (przez dsRNA) i powstają nowe genomy ssRNA;
4. **translacja** — białka wirusa powstają na rybosomach gospodarza (na podstawie mRNA);
5. **składanie** — z elementów powstają nowe wirusy;
6. **uwolnienie** — wirus opuszcza komórkę.

Jak udowodniono semikonserwatywność — Meselson i Stahl (1958, USA)

Model	Cząsteczki potomne	Przewidywania (wirowanie)
konserwatywny (zachowawczy)	jedna ma obie nici stare, druga obie nowe	po 1. rundzie: dwa pasma tej samej grubości — u góry (^{14}N–^{14}N) i u dołu (^{15}N–^{15}N); po 2. rundzie: grubsze u góry, cieńsze u dołu
semikonserwatywny (półzachowawczy)	każda ma jedną nić starą i jedną nową	po 1. rundzie: jedno pasmo pośrodku (^{14}N–^{15}N); po 2. rundzie: dwa pasma tej samej grubości — u góry i pośrodku
dyspersyjny (przypadkowy)	każda składa się z fragmentów nici starej i nowej	po 1. rundzie: jedno cieńsze pasmo pośrodku; po 2. rundzie: jedno grubsze pasmo pośrodku

Problem: który z trzech modeli opisuje replikację? **Hipoteza:** model semikonserwatywny.

Metoda. Bakterie hodowano na podłożu z ciężkim izotopem azotu (^{15}N), a potem przenoszono na podłoże z lekkim (^{14}N). Nowe nici wbudowywały azot dostępny w podłożu. Stare nici zawierały więc zawsze ^{15}N, a nowe — zawsze ^{14}N. Badano DNA po pierwszym i drugim podziale.

Cząsteczki rozdzielano wirowaniem w gradiencie gęstości chlorku cezu (CsCl). Gęstość stężonego roztworu rośnie ku dnu probówki. Każda cząsteczka DNA zatrzymuje się tam, gdzie jej gęstość równa się gęstości roztworu, i tworzy pasmo. DNA z ^{15}N jest gęstsze, więc układa się bliżej dna.

Wynik: po 1. rundzie jedno pasmo pośrodku, po 2. rundzie dwa pasma — u góry i pośrodku. Próby kontrolne: hodowla stale na ^{14}N daje pasma tylko u góry, a stale na ^{15}N — tylko u dołu.

Wniosek: wynik zgadza się z modelem semikonserwatywnym, więc replikacja DNA jest semikonserwatywna.

Geny — budowa

U wszystkich organizmów i większości wirusów **gen** to fragment DNA niosący informację potrzebną do wytworzenia białka lub RNA.

- **Geny kodujące białka.** Jeden gen koduje jeden łańcuch polipeptydowy. Jeśli białko ma kilka różnych łańcuchów (podjednostek), każdy jest zapisany w innym genie.
- **Geny kodujące RNA** kodują wszystkie rodzaje RNA z wyjątkiem mRNA.

Każdy gen ma **części strukturalne** i **części regulatorowe**. Części regulatorowe uczestniczą w regulacji odczytywania informacji. U eukariontów część strukturalna jest podzielona na:

- **eksony** — kodują kolejność aminokwasów w białku lub nukleotydów w RNA;
- **introny** — nie pełnią funkcji kodujących.

Introny i części regulatorowe to **sekwencje niekodujące genu**. Ich udział zależy od organizmu. U prostych organizmów, np. drożdży, stanowią niewielką część genu. U bardziej złożonych, np. kręgowców, są znacznie dłuższe od sekwencji kodujących i mogą przekraczać 90% genu.

Typ genu	Budowa	Gdzie głównie
gen ciągły	brak intronów; środek genu to wyłącznie sekwencje kodujące, otoczone częściami regulatorowymi	prokarionty
gen nieciągły	eksony przeplatane intronami, otoczone częściami regulatorowymi	eukarionty

Genom — komplet informacji genetycznej

Genom to cała informacja genetyczna komórki zapisana w DNA. Tym słowem nazywa się też materiał genetyczny wirusów (RNA lub DNA) i wiroidów (RNA). Genom tworzą **geny** oraz odcinki DNA między nimi, czyli **pozagenowy DNA**. Liczba genów i ilość pozagenowego DNA są cechami gatunkowymi. U człowieka pozagenowy DNA to ok. 70% genomu.

Geny	DNA pozagenowy

eksony	introny	części regulatorowe	sekwencje powtarzalne	pseudogeny	pozostałe sekwencje

- **Sekwencje powtarzalne** to odcinki o długości nawet 10 tys. pz z powtarzającymi się sekwencjami nukleotydów. Występują m.in. w centromerach (sekwencje centromerowe) i telomerach (sekwencje telomerowe). Ich funkcje są wciąż intensywnie badane.
- **Pseudogeny** to fragmenty podobne do genów. Uważa się, że kiedyś były czynnymi genami.
- Liczba genów nie zależy od wielkości genomu. U organizmów o złożonej budowie dużą część genomu zajmuje pozagenowy DNA, a geny mają introny, co dodatkowo powiększa genom.

Genom komórki prokariotycznej

- **Chromosom bakteryjny** to zwykle jedna cząsteczka DNA o wielkości kilku mln pz, najczęściej kolista. U niektórych bakterii chromosom tworzy więcej cząsteczek, np. u przecinkowca cholery (*Vibrio cholerae*) dwie. Chromosom leży w obszarze cytozolu zwanym **nukleoidem**. Mieści się tam dzięki białkom, które tworzą centralny rdzeń, z którego promieniście wychodzi 40–50 skręconych pętli DNA.
- **Plazmidy** to znacznie mniejsze, najczęściej koliste cząsteczki DNA. Ich geny dotyczą cech przydatnych, ale nie zawsze niezbędnych, np. oporności na antybiotyki. Bakteria może mieć jeden lub wiele plazmidów, a każdy nawet w kilkudziesięciu kopiach. Plazmidy replikują się niezależnie od chromosomu. Dlatego część badaczy uważa, że nie należą do genomu prokariotycznego.

Plazmid	Wielkość	Bakteria	Cecha
Col E1	6,6 tys. pz	pałeczka okrężnicy (*Escherichia coli*)	wytwarzanie toksyny zabijającej inne bakterie
RP4	60 tys. pz	pałeczka ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*)	oporność na tetracyklinę
Ti	206 tys. pz	*Agrobacterium tumefaciens*	wywoływanie guzowatych narośli na korzeniach roślin dwuliściennych

Ciekawostka: najmniejsze genomy bakterii mają pasożyty i symbionty. Rekordzistka *Tremblaya princeps* żyje w symbiozie z owadami z rzędu pluskwiaków. Jej genom ma 140 tys. pz i tylko 120 genów.

Genom komórki eukariotycznej

- Genomy eukariontów są bardzo duże: od kilku mln do nawet 100 mld pz. Wielkość wiąże się przede wszystkim ze złożonością organizmu. Najmniejsze mają proste eukarionty, m.in. grzyby, a największe — zaawansowane ewolucyjnie kręgowce i rośliny okrytozalążkowe.
- **Genom jądrowy** to przeważająca część genomu. Tworzą go chromosomy eukariotyczne, czyli długie **liniowe** cząsteczki DNA związane z **histonami**. Liczba chromosomów to cecha gatunku — najczęściej mieści się w przedziale od kilku do kilkudziesięciu; w komórkach somatycznych człowieka jest ich 46. Genom jądrowy koduje niemal wszystkie białka i cząsteczki RNA komórki.
- **Genom organellowy** obejmuje **genom mitochondrialny** i **chloroplastowy**. Replikuje się niezależnie od jądrowego. Przypomina genom prokariotyczny: zwykle tworzą go **koliste** cząsteczki DNA z białkami **niehistonowymi**, obecne w wielu kopiach (np. 10–100 cząsteczek w mitochondrium). Jego geny kodują tylko część białek i RNA potrzebnych organellum; resztę koduje genom jądrowy. Dlatego mitochondria i chloroplasty to **organella półautonomiczne**.
- Niektóre eukarionty, np. drożdże *Saccharomyces cerevisiae*, mają też **plazmidy**. Ich geny pozwalają np. syntetyzować nukleotydy, gdy brakuje ich w środowisku.
- W komórce zwierzęcej genom leży w jądrze i mitochondriach, a w roślinnej — w jądrze, mitochondriach i chloroplastach.
- **Genom mitochondrialny człowieka** to kolista cząsteczka DNA o długości 16 569 pz z 37 genami. Jest mały, bo jego geny nie mają intronów, a w jednym miejscu dwa geny zachodzą na siebie. Koduje tRNA i rRNA mitochondriów oraz część białek łańcucha oddechowego.

Organizm	Wielkość genomu jądrowego [mln pz]	Szacowana liczba genów
drożdże *Saccharomyces cerevisiae*	12,1	6100
ryż	466	40 000
nicień *Caenorhabditis elegans*	97	19 000
muszka owocowa	180	14 000
kura domowa	1200	20 000
człowiek	3200	20 000

Tabela pokazuje, że liczba genów nie rośnie razem z wielkością genomu: ryż ma więcej genów niż człowiek.

Haplonty, diplonty i ilość DNA w cyklu komórkowym

Haplonty (m.in. bakterie i niektóre protisty) mają genom pojedynczy (haploidalny, 1n). Diplonty (większość eukariontów, m.in. człowiek) mają genom podwójny (diploidalny, 2n). Bakteria przed replikacją ma jedną kopię genomu (1n, 1c), a po replikacji dwie (1n, 2c).

Komórki człowieka	Zmiany
linii somatycznej (budują ciało, 2n, dzielą się mitotycznie)	2n, 2c (jedna kopia genomu, łącznie 3200 mln pz) → replikacja → 2n, 4c (dwie kopie, 6400 mln pz) → mitoza → dwie komórki 2n, 2c (po 3200 mln pz)
linii płciowej (tworzą gamety, dzielą się mejotycznie, z redukcją 2n → 1n)	2n, 2c (3200 mln pz) → replikacja → 2n, 4c (6400 mln pz) → I i II podział mejotyczny → cztery komórki 1n, 1c (pojedynczy genom, 1600 mln pz)

Genomy wirusów

Genomy wirusów to DNA lub RNA. Liczba genów jest różna: od 3 u najprostszych wirusów do ponad 200 u wirusów o złożonej budowie. Wirusom wystarcza niewiele genów, bo korzystają z informacji genetycznej zakażonej komórki (gospodarza). Ich geny mogą zachodzić na siebie, co pozwala ciaśniej upakować informację. Takie geny mają wspólne sekwencje nukleotydów, ale kodują różne białka.

Przykład: genom bakteriofaga ΦX174 to kolista, jednoniciowa cząsteczka DNA o długości 5386 nukleotydów (ok. 5,4 tys.). Ma 11 genów (A–H), z których część zachodzi na siebie (A i B, D i E). Pozagenowy DNA to tylko 5% genomu.

Rodzaj kwasu	Liczba nici	Struktura
RNA lub DNA	jednoniciowy, dwuniciowy lub jednoniciowy z fragmentami dwuniciowymi	liniowy lub kolisty

Co różni DNA organizmów; gdzie powstają białka

DNA myszy i kota (i wszystkich organizmów) jest zbudowane z tych samych 4 zasad, takich samych nukleotydów i takich samych wiązań. Pod względem chemicznym różni je **sekwencja (kolejność) zasad azotowych** — i to ona niesie inną informację genetyczną. Gatunki różnią się też wielkością genomu, liczbą genów i liczbą chromosomów.

Informacja z DNA jest realizowana w białkach. Białka powstają podczas **translacji** na **rybosomach** (zbudowanych m.in. z rRNA) — to one bezpośrednio uczestniczą w łączeniu aminokwasów. Szczegóły w lekcji 12.3.

Sprawdź się

1. Cytozyna stanowi 18% zasad dwuniciowego DNA. Ile procent stanowi adenina? *Rozwiązanie: G = 18%, G + C = 36%, A + T = 64%, więc A = 32%.*

2. Zapisz nić komplementarną do 5′-GCCATCATCCTTACC-3′. *Rozwiązanie: 3′-CGGTAGTAGGAATGG-5′.*

3. Podaj dwie różnice między replikacją u prokariontów i eukariontów. *Przykładowo: jedno miejsce ori kontra wiele; chromosom kolisty kontra liniowy (patrz tabela w części o replikacji).*

⚠️ Pułapki: wiązania i obliczenia

- **Dwa wiązania**: fosfodiestrowe łączą nukleotydy **wzdłuż nici**, wodorowe łączą zasady **między nićmi**. Pytanie „co łączy nukleotydy w łańcuchu?" → fosfodiestrowe.
- **Chargaff**: A = T i G = C. Najpierw policz parę, którą znasz, potem odejmij od całości i podziel przez 2. Reguła dotyczy tylko DNA dwuniciowego.
- **Replikacja półzachowawcza** — każda cząsteczka potomna ma 1 nić starą + 1 nową (nie „dwie stare i dwie nowe").
- **Nić nowa w DNA ma T, nie U** — U pojawia się dopiero w RNA (transkrypcja).
- Organizmy różni **kolejność zasad**, a nie rodzaj zasad czy budowa nukleotydów.

⚠️ Pułapki konkursowe — tu najczęściej tracisz punkty

- **A łączy się z T, G z C** — nie „A z G". Zawsze purynę z pirymidyną.
- **W RNA jest uracyl (U)**, nie tymina; RNA jest zwykle jednoniciowe (fragmenty dwuniciowe bywają, a dsRNA mają m.in. niektóre wirusy).
- **Deoksyryboza w DNA, ryboza w RNA** — nie mylić cukrów.
- **Kolejność upakowania**: helisa → nukleosom → chromatyna → chromosom.
- DNA jest też **poza jądrem** — w mitochondriach (i chloroplastach roślin).

⚠️ Pułapki: replikacja, RNA, genomy

- **Polimeraza DNA nie zaczyna sama** — potrzebuje startera RNA od prymazy i dokłada nukleotydy tylko do końca 3′. Synteza zawsze biegnie 5′ → 3′.
- **Fragmenty Okazaki** powstają na nici **opóźnionej**, a nie wiodącej. Starter na nici wiodącej wstawia się raz.
- U *E. coli* polimeraza **III** buduje nici, a polimeraza **I** usuwa startery i wypełnia luki. U eukariontów główne są α i δ.
- **Nukleosom** to 4 pary histonów (8 cząsteczek) plus nawinięty DNA. Histon łącznikowy jest osobnym, dodatkowym białkiem.
- Kodującym RNA jest **tylko mRNA** (4–5%). Geny kodujące RNA odpowiadają za wszystkie rodzaje RNA **poza** mRNA.
- snRNA, miRNA i siRNA występują **tylko u eukariontów**; mRNA, rRNA i tRNA — u wszystkich organizmów.
- Genom organellowy tworzą **zwykle koliste cząsteczki DNA z białkami niehistonowymi**, a jądrowy — **liniowe cząsteczki z histonami**.
- Większy genom nie oznacza więcej genów (ryż 40 000 genów, człowiek ok. 20 000).

Mini-powtórka — zapamiętaj 5 rzeczy

1. Nukleotyd = cukier + reszta fosforanowa + zasada azotowa.
2. Komplementarność: A–T, G–C (wiązania wodorowe), nici antyrównoległe.
3. RNA: zwykle jedna nić, ryboza, uracyl zamiast tyminy; mRNA, tRNA, rRNA.
4. Upakowanie: helisa → nukleosom → chromatyna → chromosom.
5. Replikacja jest semikonserwatywna: każda z dwóch nowych cząsteczek DNA ma jedną nić starą (matrycową) i jedną nową — dowiodło tego doświadczenie Meselsona i Stahla.