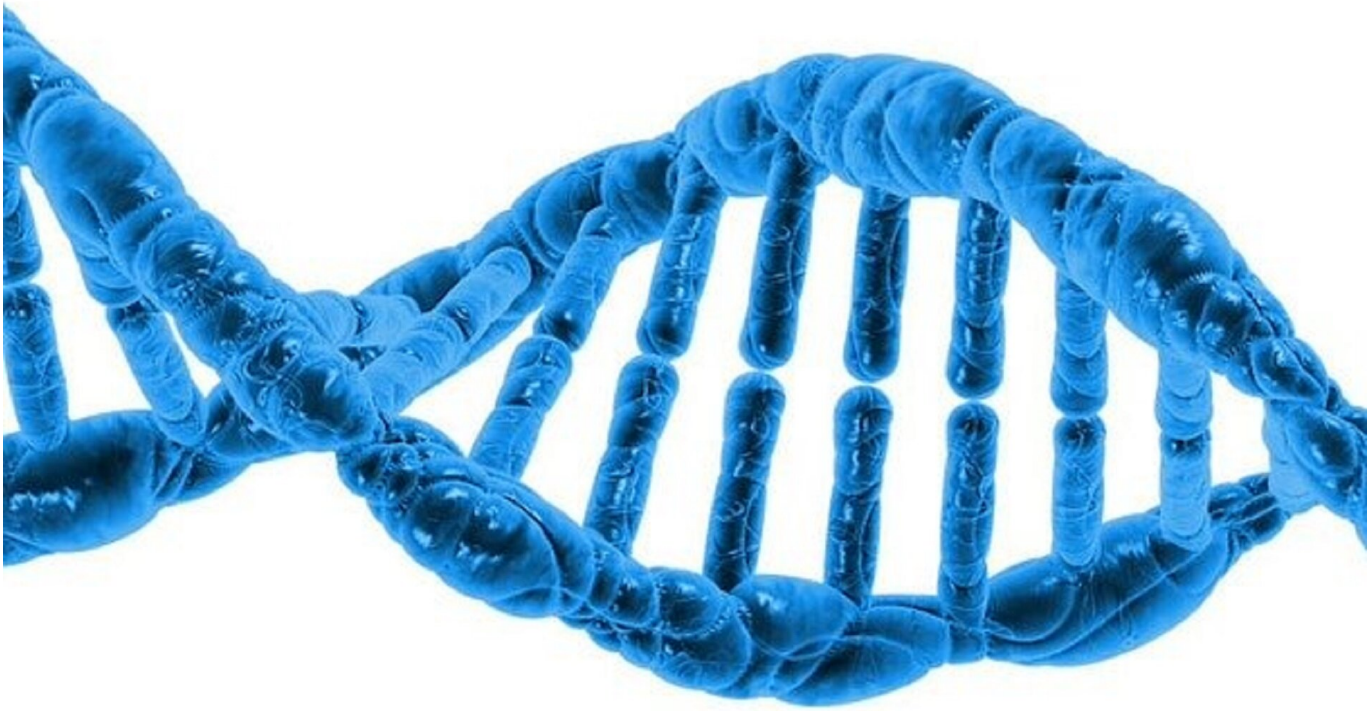


Fabryka DNA

- Wprowadzenie
- Przeczytaj
- Grafika interaktywna
- Sprawdź się
- Dla nauczyciela

Replikacja, czyli kopiowanie DNA, jest procesem, który umożliwia przekazywanie przez dzielącą się komórkę informacji genetycznej do komórek – i tym samym organizmów – potomnych.
Źródło: Pixabay, domena publiczna.

Nowo powstające organizmy mogą być klonami genetycznymi utworzonymi drogą rozmnażania bezpłciowego lub pochodzić z haploidalnych komórek rozrodczych, zawierających połowę materiału genetycznego występującego w komórkach ciała matki lub ojca. W obu przypadkach nowa komórka ma cały zasób informacji genetycznej, niezbędnej do prawidłowego funkcjonowania organizmu. W trakcie życia organizmy wzrastają, komórki dzielą się, a materiał genetyczny musi zostać powielony i rozdzielony do kolejnych komórek potomnych.

Twoje cele

- Przedstawisz proces replikacji DNA, uwzględniając sposób tworzenia przez polimerazy wiązania fosfodiestrowego.
- Opiszesz, na czym polega synteza DNA *de novo*.
- Porównasz przebieg replikacji DNA oraz syntezy DNA *de novo.*

Przeczytaj

Synteza nici DNA

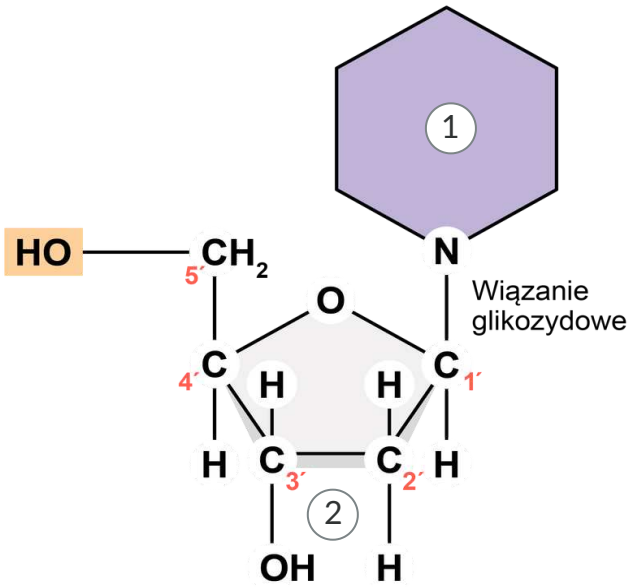
Replikacja DNA zachodzi w jądrze komórkowym, stąd można je określić „fabryką DNA”. Proces ten odbywa się w fazie S interfazy. Chromatyna występuje wtedy w postaci rozluźnionych włókien, co umożliwia aktywność replikacyjną.

Jądro komórkowe jest przystosowane do replikacji DNA pod względem budowy, zawiera bowiem pory w otoczce jądrowej, którymi do wnętrza jądra przedostają się:

- trifosforany nukleozydów niezbędne do produkcji nici DNA;
- enzymy katalizujące replikację.

DNA, czyli kwas deoksyrybonukleinowy, zbudowany jest z nukleotydów składających się z pięciowęglowego cukru deoksyrybozy, reszty fosforanowej(V) oraz jednej z czterech zasad azotowych: adeniny (A), cytozyny (C), guaniny (G) lub tyminy (T).

Nukleotydy połączone są wiązaniem 3′,5′-fosfodiestrowym, które występuje między deoksyrybozą jednego nukleotydu a resztą fosforanową kolejnego nukleotydu. W ten sposób układają się one w łańcuch polinukleotydowy, którego koniec w pozycji 5′ tworzy reszta fosforanowa(V), natomiast na końcu 3′ występuje grupa hydroksylowa (-OH) deoksyrybozy.



1

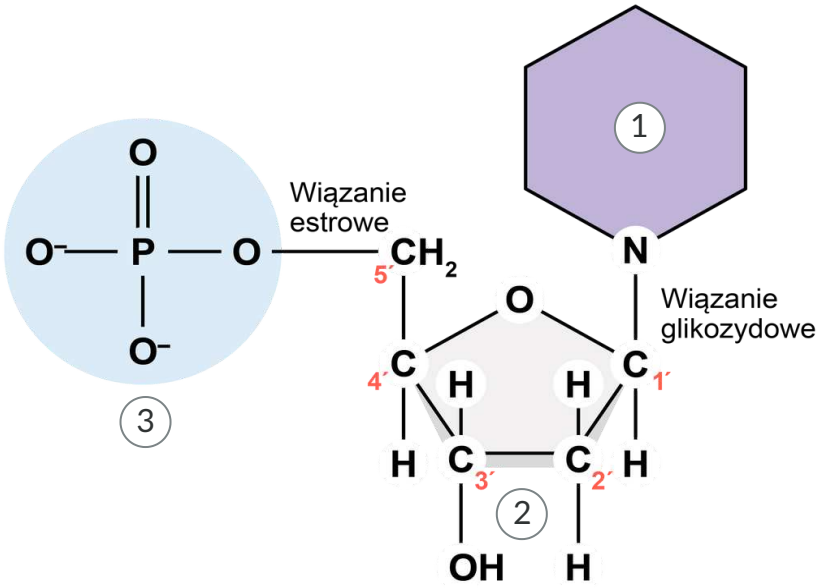
Zasada azotowa

2

Pentoza

Nukleozyd składa się z pentozy oraz zasady azotowej. Liczby od 1 do 5 oznaczają numery atomów węgla w cząsteczce pentozy.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.



1

Zasada azotowa

2

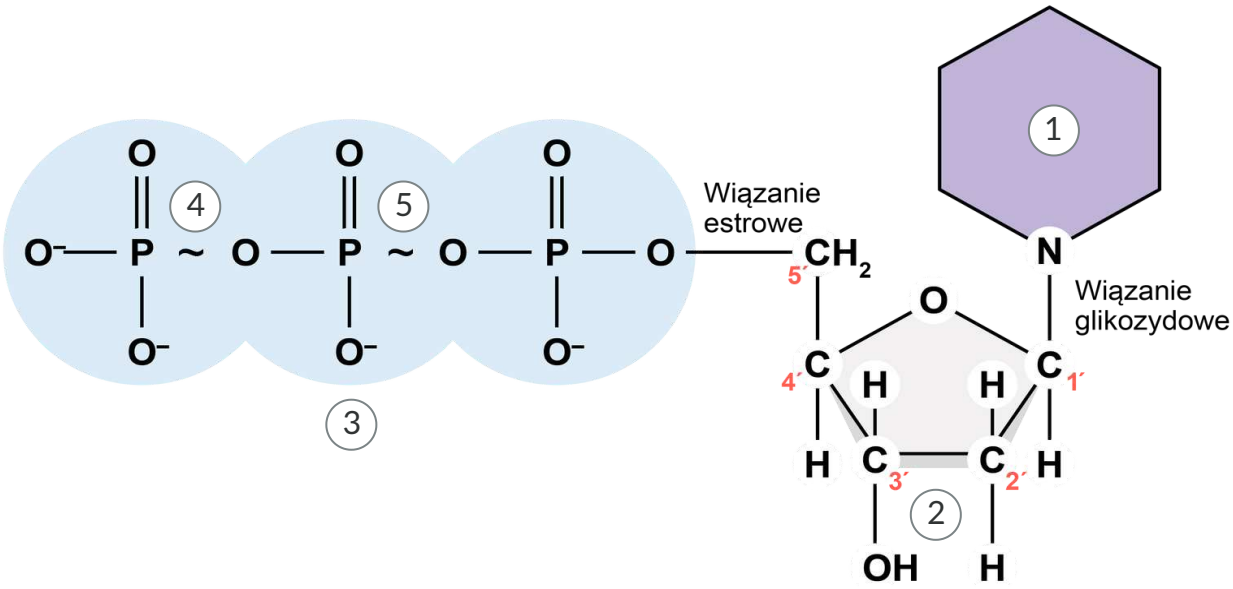
Pentoza

3

Reszta fosforanowa(V)

Nukleotyd składa się z pentozy, zasady azotowej oraz reszty fosforanowej(V). Liczby od 1 do 5 oznaczają numery atomów węgla w cząsteczce pentozy.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.



1

Zasada azotowa

2

Pentoza

3

Trzy reszty fosforanowe(V)

4

Wiązanie wysokoenergetyczne

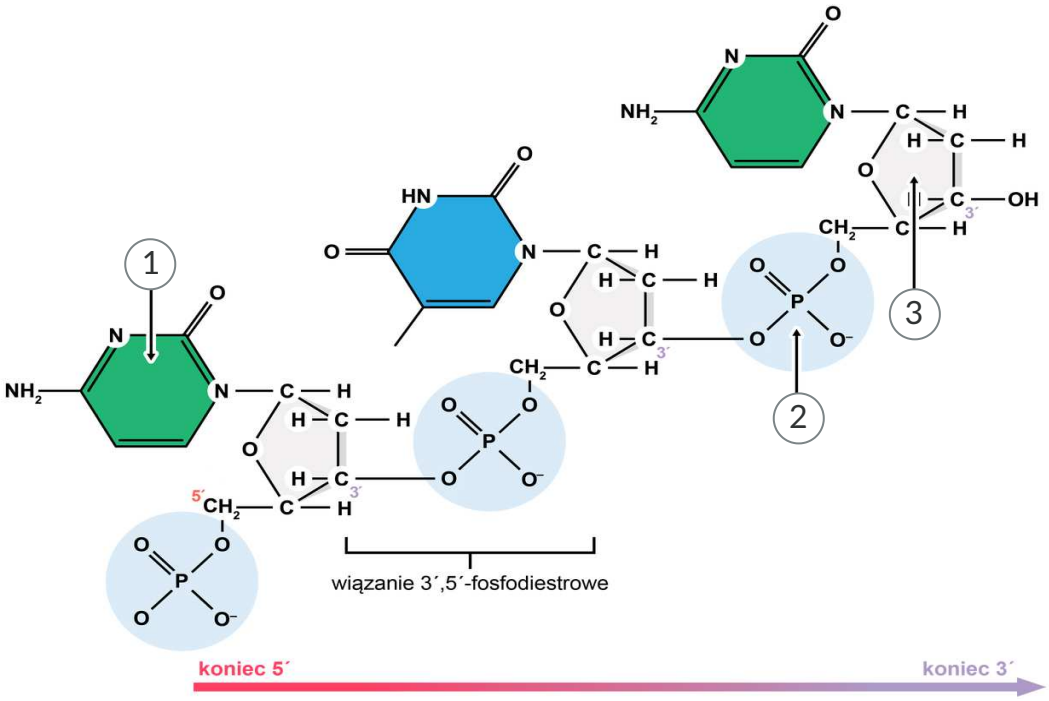
Wiązanie wysokoenergetyczne

Trifosforan nukleozydu składa się z pentozy, zasady azotowej oraz trzech reszt fosforanowych(V), pomiędzy którymi występują wiązania wysokoenergetyczne. Liczby od 1 do 5 oznaczają numery atomów węgla w cząsteczce pentozy.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Za tworzenie nici DNA odpowiada enzym polimeraza DNA, który bierze udział w procesie replikacji DNA. Tworzenie nowej nici DNA zachodzi zawsze na matrycy, którą jest nić pochodząca z macierzystej (powielanej) cząsteczki DNA. Aby mogło zajść niezbędne jest więc rozdzielenie nici budujących cząsteczkę DNA poprzez zerwanie wiązań wodorowych pomiędzy zasadami azotowymi obydwu nici, za co jest odpowiedzialny enzym helikaza. Następnie prymaza dołącza krótkie odcinki nukleotydów RNA, do których może przyłączyć się polimeraza DNA. Proces replikacji polega na dołączeniu nowego nukleotydu do końca 3′ nici, na którym występuje nukleotyd z wolną grupą OH przy węglu 3 deoksyrybozy, więc nowa nić powstaje w kierunku od 5′ do 3′.

Reakcja tworzenia wiązania fosfodiestrowego pomiędzy nukleotydami wymaga dostarczenia energii z hydrolizy wiązań wysokoenergetycznych cząsteczki trifosforanu nukleozydu. To właśnie w takiej formie nukleotydy są wykorzystywane do syntezy DNA, podczas której hydrolizie ulegają wiązania wysokoenergetyczne pomiędzy resztami fosforanowymi wbudowywanej cząsteczki. W konsekwencji od trifosforanu nukleozydu uwalniane są dwie reszty fosforanowe, a trzecia stanowi element budowy szkieletu cząsteczki DNA, czyli nukleotydu.



1

Zasada azotowa

2

Reszta fosforanowa (V)

3

Deoksyryboza

Schemat przedstawia dołączanie kolejnych nukleotydów do węgla 3' poprzedniego nukleotydu. Wydłużanie łańcucha polinukleotydowego zachodzi w kierunku od 5' do 3'.

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Tworzenie cząsteczki DNA *de novo*

W przeciwieństwie do syntezy DNA u żywych organizmów na drodze replikacji, w sztucznych systemach do syntezy DNA niepotrzebne jest matrycowe DNA.

Nukleotydy są przyłączane do siebie bezpośrednio dzięki wywołaniu odpowiednich reakcji chemicznych. Metoda ta pozwala na syntezę praktycznie każdej, dowolnej sekwencji DNA.

Tworzenie cząsteczki DNA *de novo* zachodzi w dwóch etapach. Pierwszy to tzw. drukowanie DNA, które prowadzi do wytworzenia oligonukleotydów o długości ok. 200 par zasad. Drugi etap polega na połączeniu tych fragmentów różnymi metodami np. przy użyciu ligaz DNA.

Co ciekawe, w trakcie syntezy oligonukleotydów łańcuch DNA rośne w kierunku odwrotnym niż podczas biosyntezy DNA. Kolejne nukleotydy przyłączane są końcem 3′ do końca 5′. W miejscu 5′-OH nukleotydy posiadają grupę ochronną – np. grupę dimetoksytrytylową (DMTr). Jest ona chemicznie usuwana tuż przed dodaniem kolejnego nukleotydu, dzięki czemu pomiędzy określonymi dwoma nukleotydami może powstać zredukowane wiązanie fosforynowe, a następnie, po utlenieniu, wiązanie fosfodiestrowe. Dzięki obecności grup ochronnych możliwe jest więc kontrolowanie sekwencji powstałego łańcucha nukleotydowego, ponieważ zapobiegają one losowemu tworzeniu wiązań pomiędzy nukleotydami.

Sztuczna synteza fragmentów DNA, które mogą kodować całe geny, stanowi użyteczne narzędzie w inżynierii biomedycznej. Umożliwia badania naukowe, prowadzące m.in. do tworzenia szczepionek biotechnologicznych i do opracowywania nowych metod terapii genowej.

Słownik

inżynieria biomedyczna

dziedzina nauk technicznych zajmująca się opracowywaniem środków (metod, materiałów, aparatury, programów komputerowych itp.) do wspomagania badań w naukach biologicznych oraz do diagnostyki, terapii i rehabilitacji medycznej

ligaza DNA

enzym katalizujący wytwarzanie wiązania fosfodiestrowego między końcem 3′, a 5′ wolnych końców cząsteczek DNA

matryca

odcinek łańcucha polinukleotydowego, którego sekwencja jest podstawą do syntezy nowego, komplementarnego łańcucha

nukleotyd

pochodna nukleozydu, w której grupa hydroksylowa (–OH) przy węglu piątym części cukrowej jest połączona wiązaniem estrowym (estry fosforanowe nukleozydów, fosforany nukleozydów) z cząsteczką kwasu fosforowego

nukleozyd

związek organiczny zbudowany z zasady azotowej połączonej wiązaniem beta-N-glikozydowym z pierwszym atomem węgla cukru pięciowęglowego
oligonukleotydy

fragmenty kwasów nukleinowych o długości zwykle od kilkunastu do kilkudziesięciu nukleotydów
polimeraza DNA

enzym katalizujący syntezę DNA w czasie replikacji; syntetyzuje nową nić polinukleotydową, komplementarną do nici macierzystej powielanej cząsteczki DNA
trifosforan nukleozydu

powstaje w wyniku estryfikacji reszty kwasu fosforowego w nukleotydzie następnymi cząsteczkami kwasu fosforowego
wiązanie fosfodiestrowe

wiązanie chemiczne powstające w wyniku połączenia dwóch grup hydroksylowych przez grupę fosforanową

Grafika interaktywna

Zasób interaktywny dostępny pod adresem https://zpe.gov.pl/a/DQph7gQfD

Źródło: Englishsquare.pl Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Polecenie 1

Przeanalizuj grafikę interaktywną i porównaj tworzenie DNA w wyniku replikacji oraz *de novo*, zwracając uwagę na obecność matrycy, rodzaj substratów i kierunek powstawania nici.

Polecenie 2

Opisz sposób powstawania wiązania fosfodiestrowego.

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:

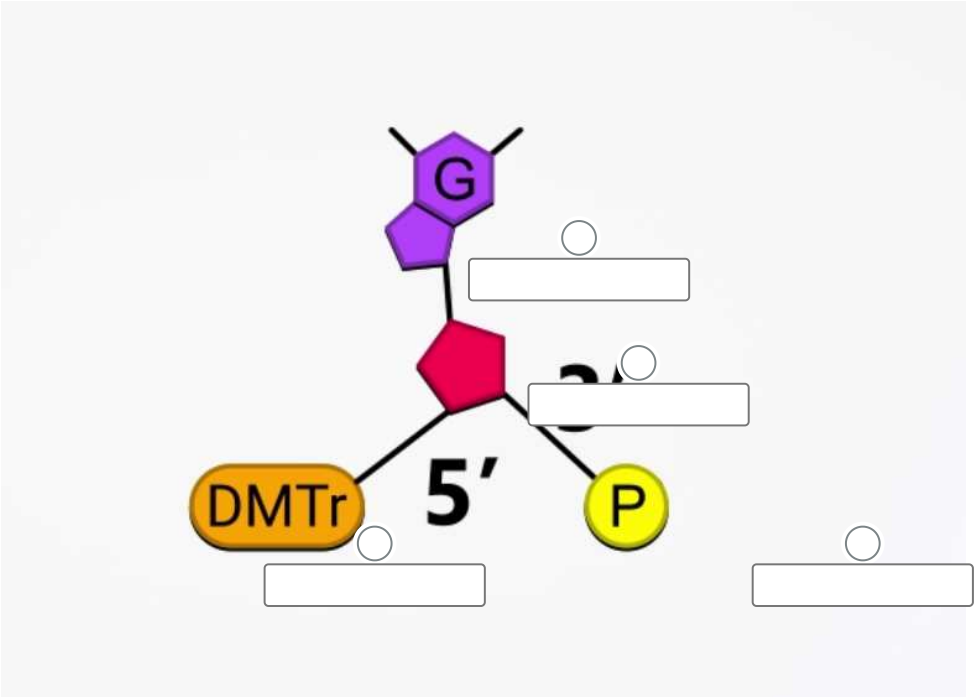
Ćwiczenie 1

Skąd pochodzi energia potrzebna do replikacji DNA? Zaznacz poprawną odpowiedź.

- Replikacja DNA nie wymaga dostarczania energii, bo jest reakcją egzoenergetyczną.
- Hydroliza wiązań wodorowych pomiędzy zasadami obydwu nici DNA.
- Hydroliza wiązań wysokoenergetycznych trifosforanów nukleotydów.
- Hydroliza wiązań wysokoenergetycznych ATP.

Ćwiczenie 2

Wstaw nazwy fragmentów cząsteczki widocznych na ilustracji.



Grupa fosforanowa | Zasada azotowa | Grupa ochronna | Deoksyryboza

Dopasuj informacje do elementów budujących przedstawioną wyżej cząsteczki.

Grupa ochronna	blokuje węgiel 5 przed losowym tworzeniem wiązań
Grupa fosforanowa	bierze udział w tworzeniu wiązania fosfodiestrowego
Zasada azotowa	różni się w zależności o nukleotydu

Ćwiczenie 3

Zaznacz fałszywe stwierdzenia na temat syntezy *de novo*.

- [ ] Podczas syntezy *de novo* łańcuch DNA rośnie w kierunku od 3′ do 5′.
- [ ] Do syntezy DNA *de novo* nie jest konieczne użycie matrycowego DNA.
- [ ] Podczas syntezy *de novo* łańcuch DNA rośnie w kierunku od 5′ do 3′.
- [ ] Do syntezy DNA *de novo* konieczne jest użycie matrycowego DNA.

Ćwiczenie 4

Zaznacz prawdziwe stwierdzenia dotyczące polimerazy DNA.

- [ ] Ma zdolność hydrolizy wiązań wodorowych pomiędzy zasadami azotowymi obydwu nici DNA.
- [ ] Ma zdolność budowania nici DNA 3'-5' oraz 5'-3'.
- [ ] Wymaga obecności jednoniciowej matrycy.
- [ ] Do rozpoczęcia replikacji wymaga obecności krótkiego fragmentu RNA, do którego przyłącza pierwszy nukleotyd DNA.
- [ ] Jest wykorzystywana w procesie syntezy DNA *de novo*.

Ćwiczenie 5

Przyporządkuj podane cechy do odpowiednich sposobów powstawania cząsteczek DNA.

Synteza DNA w jądrze komórkowym

Tworzenie cząsteczki DNA *de novo*

- Wymaga obecności jednoniciowej matrycy
- Substratami są trifosforany nukleozydów
- Zachodzi przy udziale enzymu polimerazy DNA
- Wymaga obecności zmodyfikowanych nukleotydów zawierających grupy ochronne
- Produktem jest dwuniciowa cząsteczka DNA
- Produktem jest jednoniciowa cząsteczka DNA
- Ma zastosowanie w pracy laboratoryjnej

Ćwiczenie 6

Zaznacz, czy poniższe stwierdzenia dotyczące organizmu człowieka są prawdziwe czy fałszywe.

Stwierdzenie	Prawda	Fałsz
Niezależnie od sposobu tworzenia DNA wiązanie fosfodiestrowe pomiędzy nukleotydami łączy węgiel w pozycji 3. jednego nukleotydu z węglem 5. drugiego nukleotydu.	○	○
W wyniku replikacji DNA, jak i tworzenia DNA *de novo* możliwe jest powstawanie bardzo długich cząsteczek DNA zbudowanych z kilku tysięcy nukleotydów.	○	○
Tworzenie DNA *de novo* umożliwia uzyskanie cząsteczki o dowolnej, wybranej sekwencji.	○	○
Cząsteczka DNA powstała w wyniku replikacji jest złożona z dwóch nowopowstałych nici.	○	○

Ćwiczenie 7

Wszystkie komórki somatyczne człowieka zawierają dokładnie taki sam zestaw genów. Powodem, dla którego nie wszystkie geny ulegają ekspresji w danej komórce, jest m. in. stopień kondensacji odpowiednich rejonów chromatyny.

Na podstawie powyższego tekstu i własnej wiedzy oceń, czy replikacja DNA może zachodzić w czasie, gdy chromatyna przyjmuje formę silnie skondensowaną. Uzasadnij odpowiedź.

Ćwiczenie 8

Za pomocą dwóch argumentów uzasadnij stwierdzenie, że obecność porów w otoczce jądrowej jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania „fabryki DNA”, jaką jest jądro komórkowe.

Dla nauczyciela

Autor: Anna Juwan
Przedmiot: Biologia

Temat: Fabryka DNA

Grupa docelowa: uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres podstawowy

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

IV. Podziały komórkowe. Uczeń:

3) przedstawia istotę procesu replikacji DNA i uzasadnia jego konieczność przed podziałem komórki;

Zakres rozszerzony

Treści nauczania – wymagania szczegółowe

IV. Podziały komórkowe. Uczeń:

2) wyjaśnia mechanizm replikacji DNA, z uwzględnieniem roli enzymów (helikaza, prymaza, polimeraza DNA, ligaza);

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii.

Cele operacyjne (językiem ucznia):

- Przedstawisz proces replikacji DNA, uwzględniając sposób tworzenia przez polimerazy wiązania fosfodiestrowego.
- Opiszesz, na czym polega synteza DNA *de novo*.
- Porównasz przebieg replikacji DNA oraz syntezy DNA *de novo.*

Strategie nauczania:

- konstruktywizm;
- konektywizm.

Metody i techniki nauczania:

- z użyciem komputera;
- ćwiczenia interaktywne;
- symulacja;
- gra dydaktyczna;
- śniegowa kula.

Formy pracy:

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca całego zespołu klasowego.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami, słuchawkami i dostępem do internetu;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, pisak/kreda.

Przed lekcją:

1. Uczniowie zapoznają się z treścią w sekcji „Przeczytaj".
2. Uczniowie przypominają sobie informacje na temat replikacji DNA.

Przebieg lekcji

Faza wstępna:

1. Nauczyciel wyświetla i odczytuje temat lekcji oraz zawarte w sekcji „Wprowadzenie" cele zajęć. Prosi uczniów lub wybraną osobę o sformułowanie kryteriów sukcesu.
2. **Wprowadzenie do tematu – odwołanie do wcześniejszej wiedzy.** Nauczyciel prosi uczniów o wyjaśnienie, czym jest replikacja, a następnie wykonanie ćwiczeń nr 4 i 5 z sekcji „Sprawdź się", dotyczących replikacji. Wybrane osoby przedstawiają rozwiązania na forum klasy.

Faza realizacyjna:

1. **Praca z tekstem.** Uczniowie zapisują w zeszycie minimum pięć pytań do tekstu w sekcji „Przeczytaj". Uwaga: każde z pytań musi rozpoczynać się od słowa „dlaczego". Następnie zadają swoje pytania dowolnie wybranej osobie i odpowiadają na pytania kolegi lub koleżanki.

2. **Praca z multimedium („Grafika interaktywna”).** Uczniowie za pomocą grafiki interaktywnej porównują powstawanie nici DNA w wyniku replikacji oraz syntezy *de novo*.
   Następnie nauczyciel informuje uczniów, że będą pracować metodą kuli śniegowej, wykonując polecenia nr 1 i 2:
   – Przeanalizuj grafikę interaktywną i porównaj tworzenie DNA w wyniku replikacji oraz *de novo*, zwracając uwagę na obecność matrycy, rodzaj substratów i kierunek powstawania nici.
   – Opisz sposób powstawania wiązania fosfodiestrowego.
   Nauczyciel objaśnia metodę kuli śniegowej i wynikające z niej kolejne etapy pracy:
   1) najpierw uczniowie będą indywidualnie opracowywać odpowiedzi na polecenia;
   2) potem połączą się w pary i porównają swoje propozycje, a na osobnej kartce zapiszą wspólne odpowiedzi;
   3) kolejnym krokiem będzie połączenie się par w czwórki, które – jak poprzednio – skonfrontują swoje odpowiedzi;
   4) uczniowie utworzą 8-osobowe zespoły i znów porównają swoje propozycje;
   5) przedstawiciele poszczególnych zespołów 8-osobowych zaprezentują na forum klasy uzgodnione w grupie odpowiedzi.
3. **Utrwalenie wiedzy i umiejętności.** Uczniowie samodzielnie wykonują ćwiczenie nr 7 (w którym mają za zadanie – na podstawie przedstawionego tekstu i własnej wiedzy – ocenić, czy replikacja DNA może zachodzić w czasie, gdy chromatyna przyjmuje formę silnie skondensowaną) z sekcji „Sprawdź się”. Następnie w 4-osobowych grupach omawiają prawidłowe rozwiązanie. Po upływie wyznaczonego czasu wskazany przez nauczyciela przedstawiciel grupy prezentuje odpowiedź wraz z jej uzasadnieniem. Klasa ustosunkowuje się do niej. Nauczyciel udziela uczniom informacji zwrotnej.
4. Uczniowie w 4-osobowych grupach wykonują ćwiczenie nr 8 (w którym mają za zadanie uzasadnić za pomocą dwóch argumentów stwierdzenie, że obecność porów w otoczce jądrowej jest niezbędna do prawidłowego funkcjonowania „fabryki DNA”, jaką jest jądro komórkowe), a po upływie wyznaczonego czasu dzielą się swoimi odpowiedziami na forum klasy.

Faza podsumowująca:

1. Uczniowie rozwiązują ćwiczenie nr 6 (typu „prawda/fałsz”) z sekcji „Sprawdź się”. Następnie przygotowują podobne zadanie dla osoby z pary: tworzą trzy prawdziwe lub fałszywe zdania dotyczące tematu lekcji. Uczniowie wykonują ćwiczenie otrzymane od kolegi lub koleżanki.
2. Nauczyciel wyświetla treści zawarte w sekcji „Wprowadzenie” i na ich podstawie dokonuje podsumowania najważniejszych informacji przedstawionych na lekcji. Wyjaśnia także wątpliwości uczniów.

Praca domowa:

1. Wykonaj ćwiczenia od 1 do 3 z sekcji „Sprawdź się”.

Materiały pomocnicze:

- Jane B. Reece i in., „Biologia Campbella”, tłum. K. Stobrawa i in., Dom Wydawniczy REBIS, Poznań 2021.
- „Encyklopedia szkolna. Biologia”, red. Marta Stęplewska, Robert Mitoraj, Wydawnictwo Zielona Sowa, Kraków 2006.

Dodatkowe wskazówki metodyczne:

- Nauczyciel może wykorzystać medium zamieszczone w sekcji „Grafika interaktywna” do podsumowania lekcji.