

ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

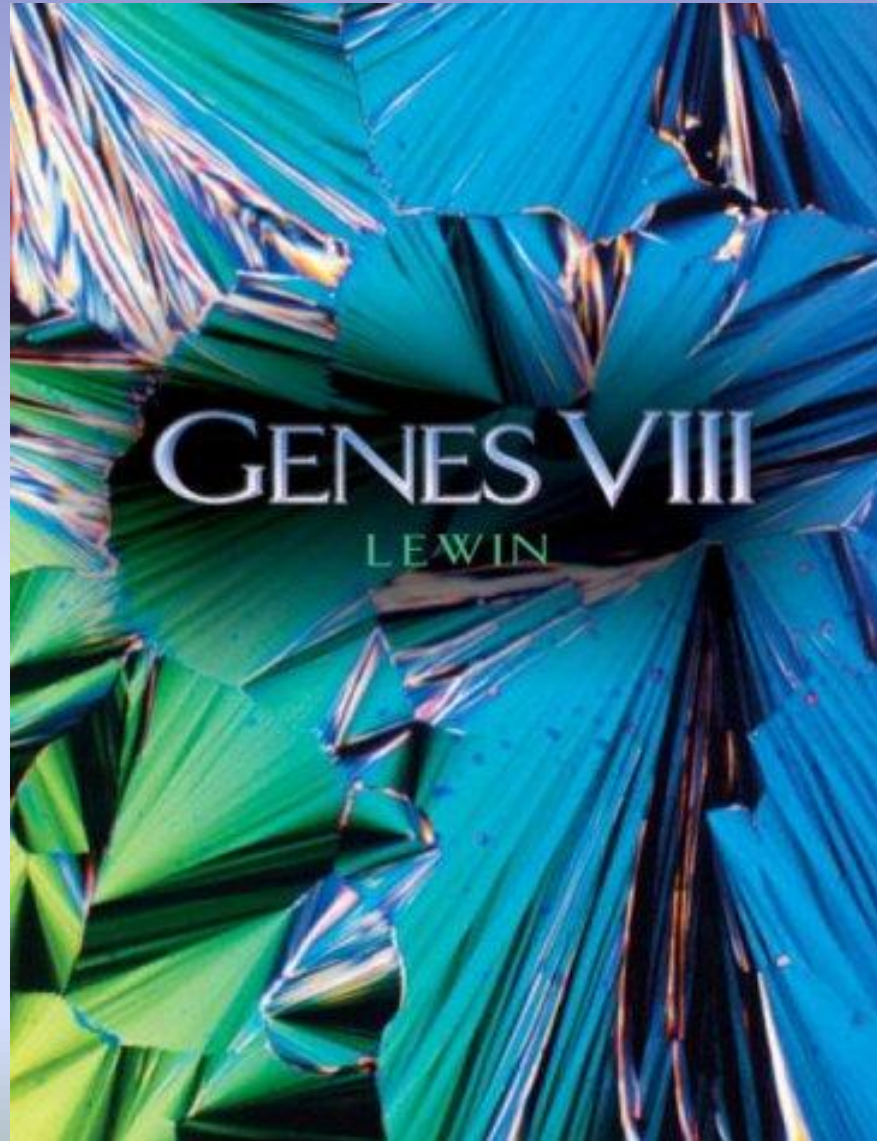
ΟΡΓΑΝΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΛΕΞΕΩΝ

1. Εισαγωγή, DNA, Δομή και Λειτουργία πρωτεϊνών
2. Κυτταρικός κύκλος: Χρωμοσώματα, καρυότυπος.
3. Η ροή της γενετικής πληροφορίας, mRNA, εξώνια και ιντρόνια, Γενετικός κώδικας, πρωτεϊνοσύνθεση.
4. Βασικά και σύγχρονα εργαλεία τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA
5. Βλάβη και επιδιόρθωση του DNA
6. Γονιδιακή αποσιώπηση μέσω μικρών RNA
7. Διαμεμβρανική μεταφορά πρωτεϊνών. Κυτταρική επικοινωνία και σύνδεση. Κυτταρική σηματοδότηση. Υποδοχείς που συνδέονται με G πρωτεΐνες.

ΟΡΓΑΝΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΛΕΞΕΩΝ

8. Αρχές της Μεντελικής κληρονομικότητας, μη Μεντελική κληρονομικότητα, εισαγωγή στην επιγενετική,
9. Εξέλιξη. Φυσική επιλογή – προσαρμογή. Ποικιλότητα ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτήρων, Πληθυσμιακή Γενετική.
10. Σύνδεση γονιδίων. Γενετικοί χάρτες. Πολυγονιδιακή και παραγοντική κληρονομικότητα: κοινά πολυπαραγοντικά νοσήματα, εξατομικευμένη ιατρική.
11. Πρόγραμμα χαρτογράφησης του γονιδιώματος του ανθρώπου: Αρχές αλληλούχισης στο επίπεδο γονιδιώματος, Γονιδιωματική. Παρουσιάσεις φοιτητών
12. Εισαγωγή στην επιγενετική, Παρουσιάσεις φοιτητών

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 : Τα γονίδια είναι DNA



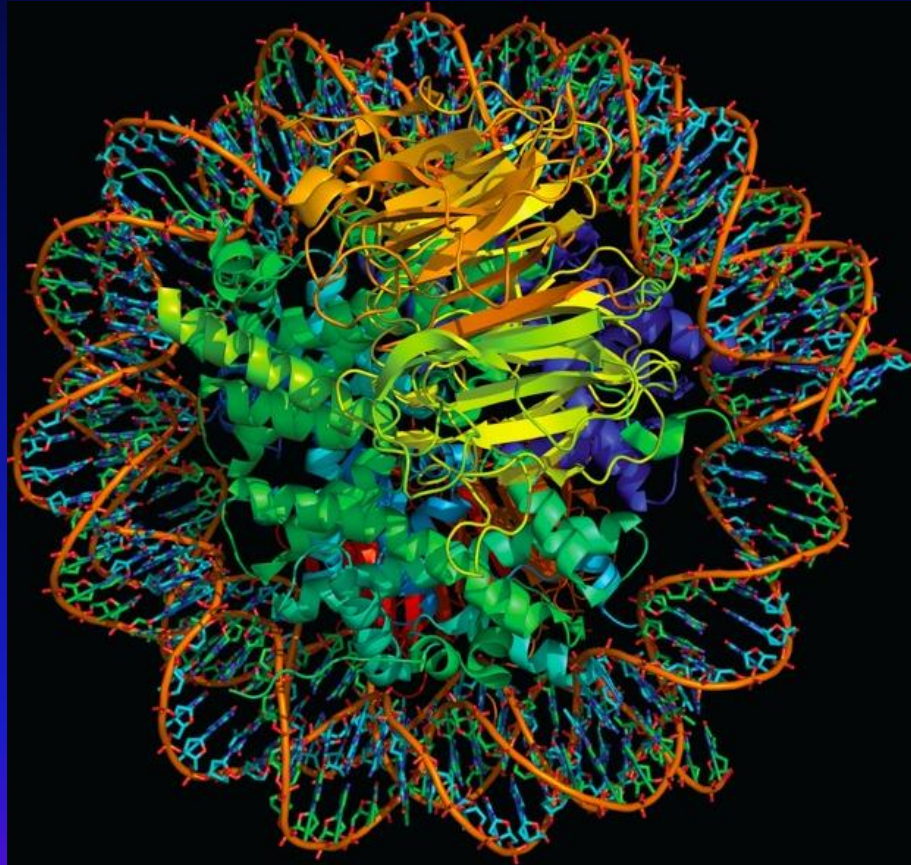
Genes VIII - Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2004

Βασικές αρχές Μοριακής Βιολογίας

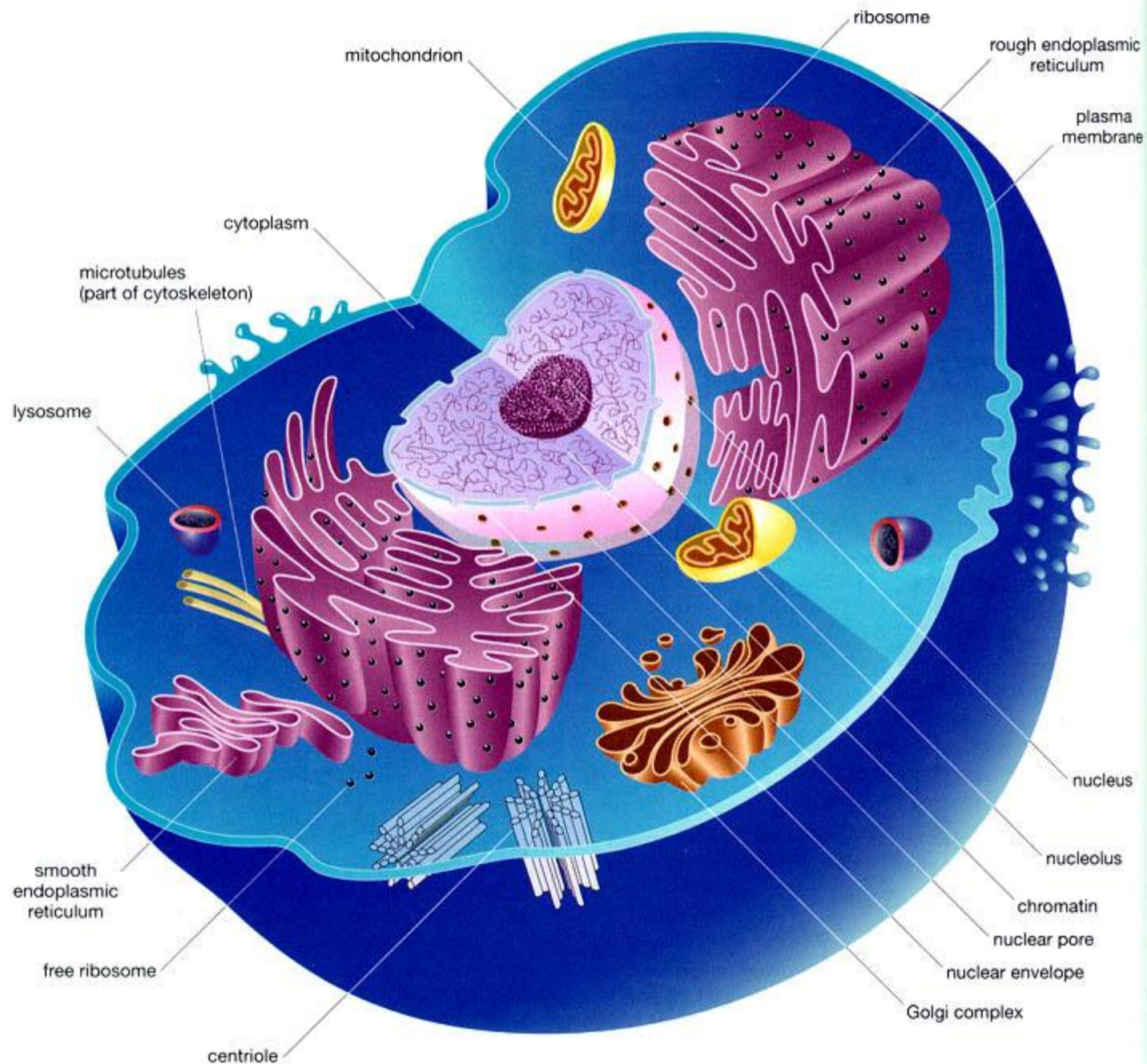


Jones & Bartlett Learning 2014
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2015

Burton E. Tropp



Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή στη μοριακή βιολογία



DNA

Το μόριο της ζωής

Τρισεκατομμύρια κυτάρων

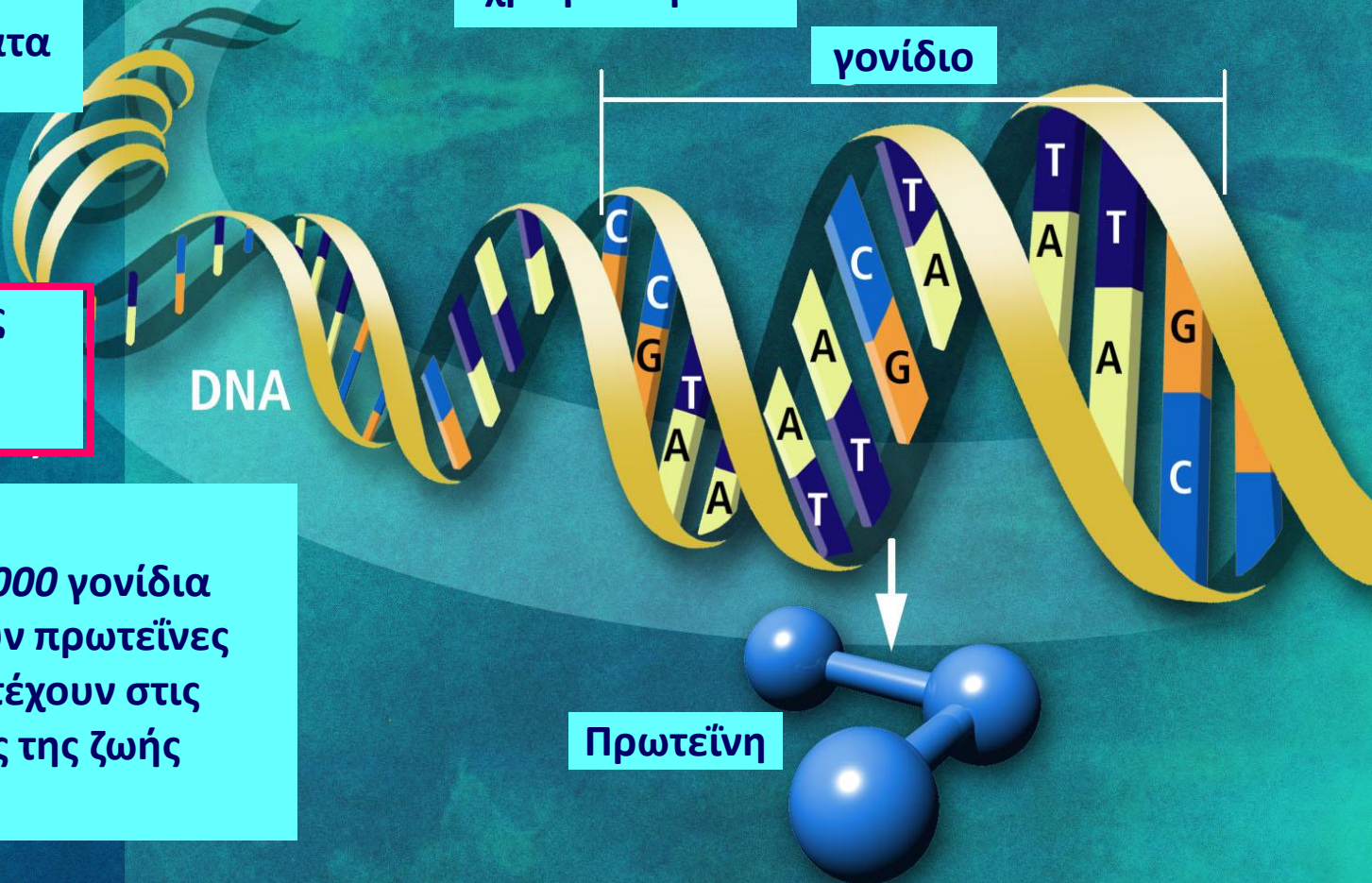
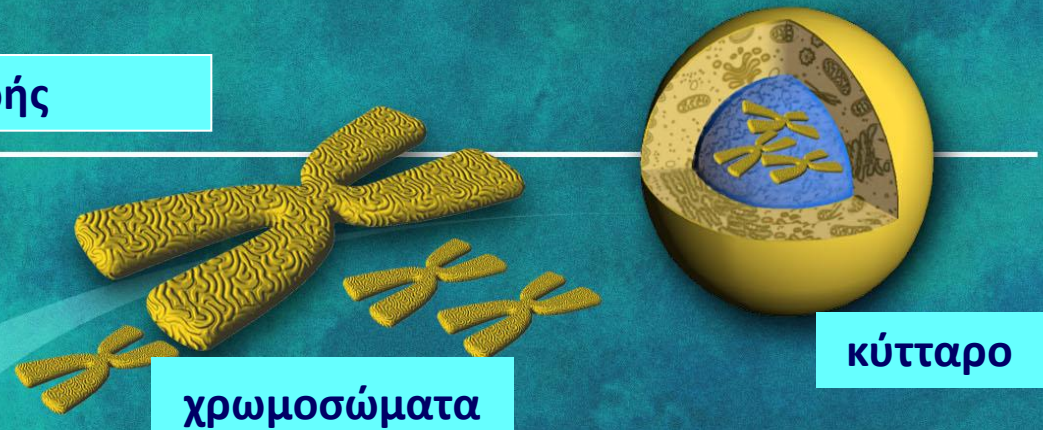
Κάθε ανθρώπινο κύτταρο

46 χρωμοσώματα

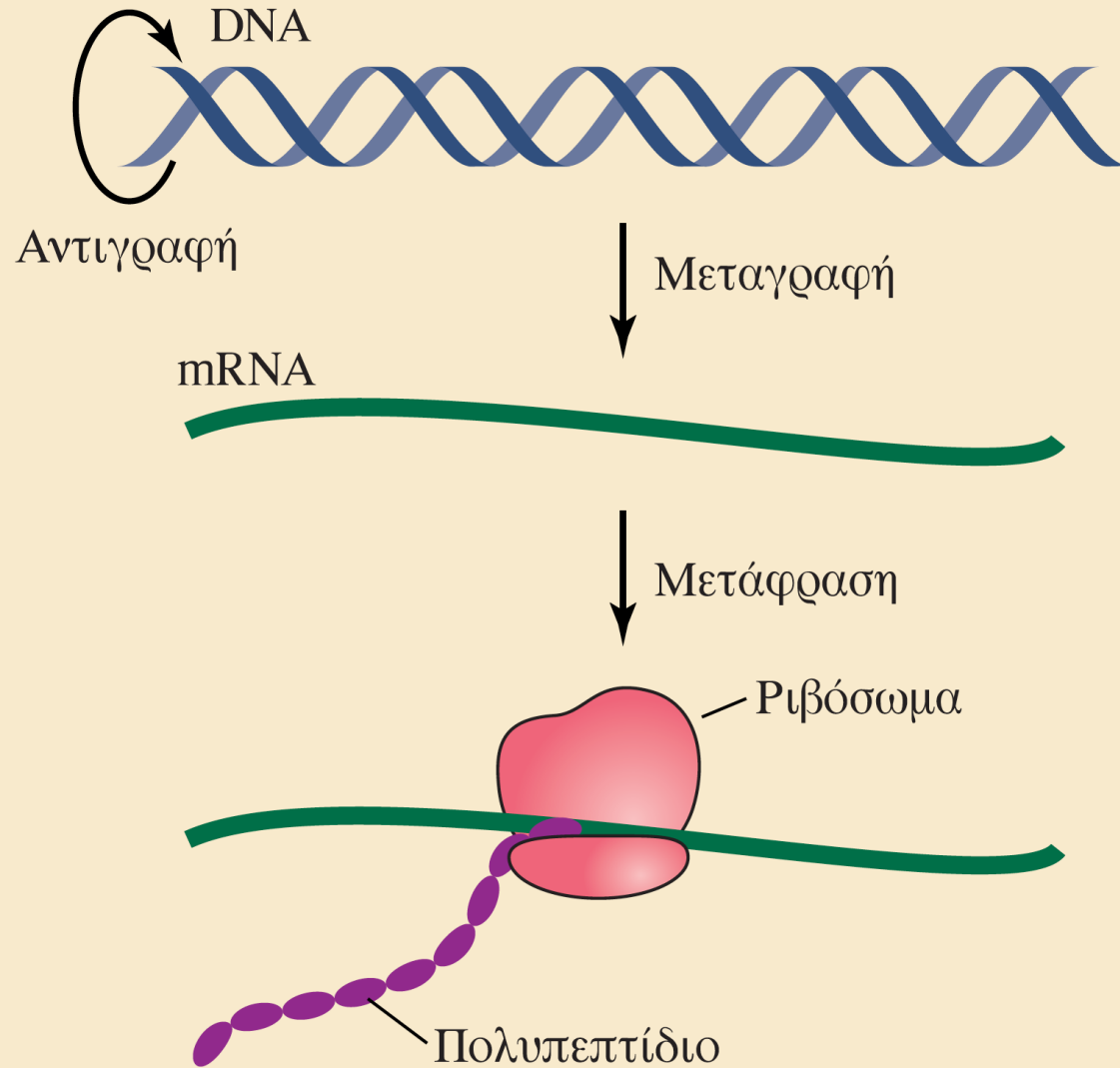
2 μέτρα DNA

6 δισ. βάσεις
DNA
(A, T, G, C)

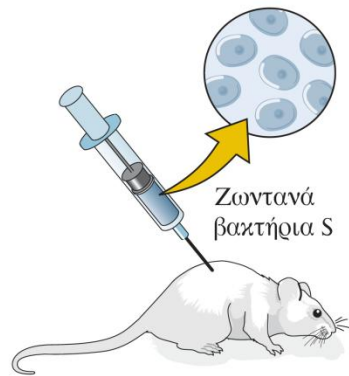
Περίπου 25.000 γονίδια
Κωδικοποιούν πρωτεΐνες
που συμμετέχουν στις
λειτουργίες της ζωής



ΕΙΚΟΝΑ 1.17 Το «κεντρικό δόγμα»

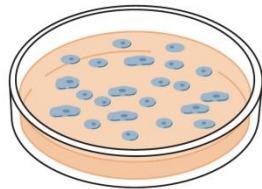


Το πείραμα βακτηριακού μετασχηματισμού του Griffith

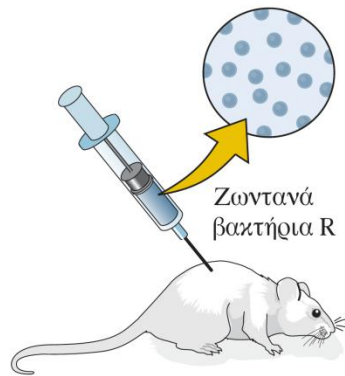


Ζωντανά
βακτήρια S

Ο ποντικός πεθαίνει από πνευμονία.

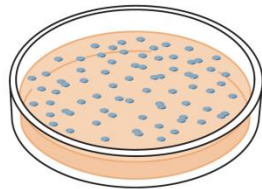


Αποικίες S από βακτήρια που απομονώθηκαν από τους ιστούς των ποντικών που πέθαναν από πνευμονία.



Ζωντανά
βακτήρια R

Ο ποντικός παραμένει υγιής.

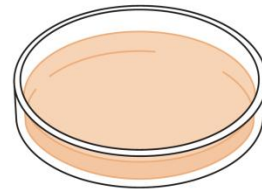


Αποικίες R από βακτήρια που απομονώθηκαν από τους ιστούς των υγιών ποντικών.



Νεκρά
βακτήρια S

Ο ποντικός παραμένει υγιής.

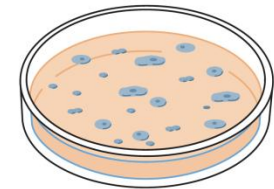


Δεν απομονώθηκαν βακτήρια από τους ιστούς των υγιών ποντικών.



Ζωντανά βακτήρια R και νεκρά βακτήρια S

Ο ποντικός πεθαίνει από πνευμονία.

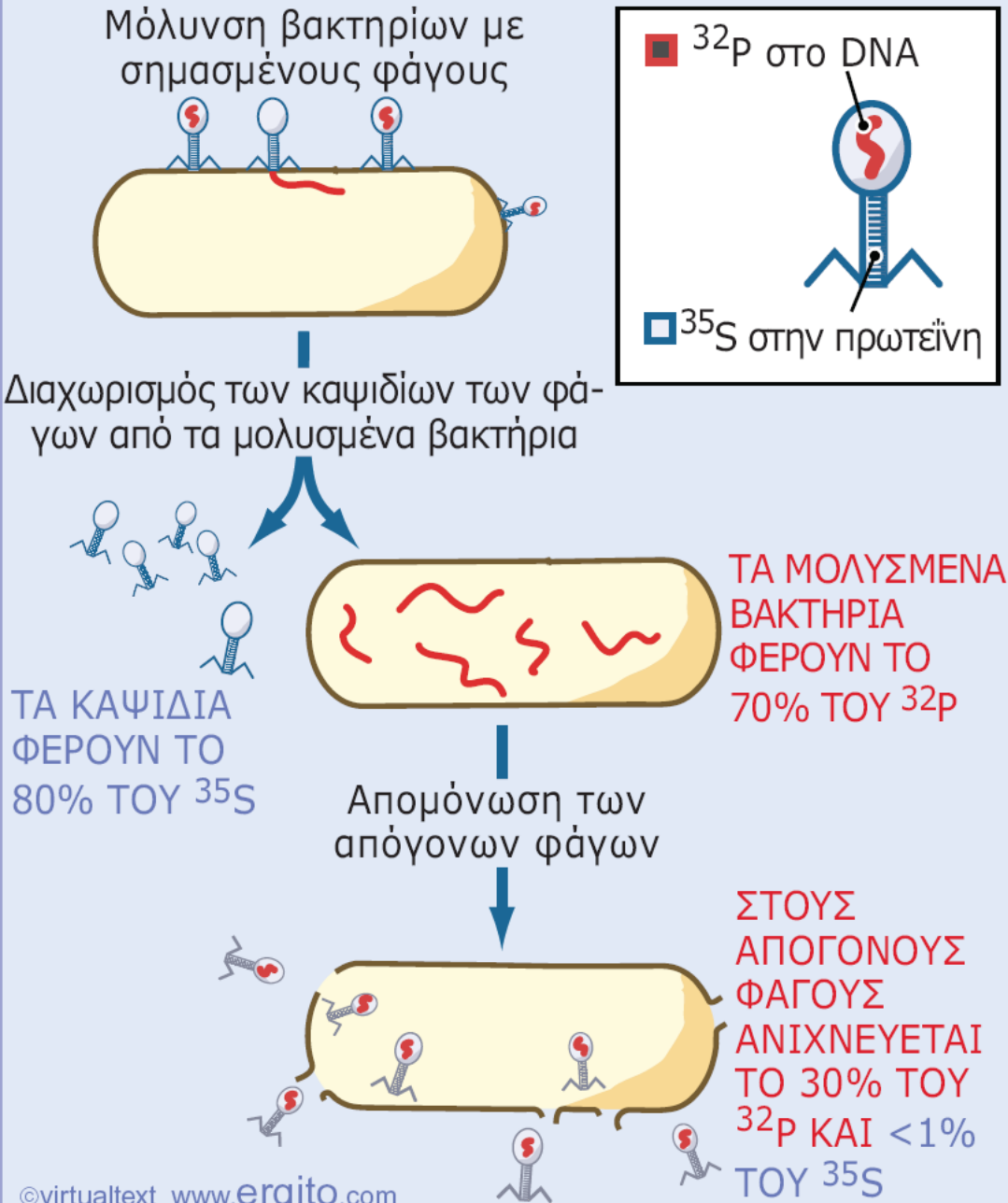


Αποικίες R και S από βακτήρια που απομονώθηκαν από τους ιστούς των ποντικών που πέθαναν από πνευμονία.

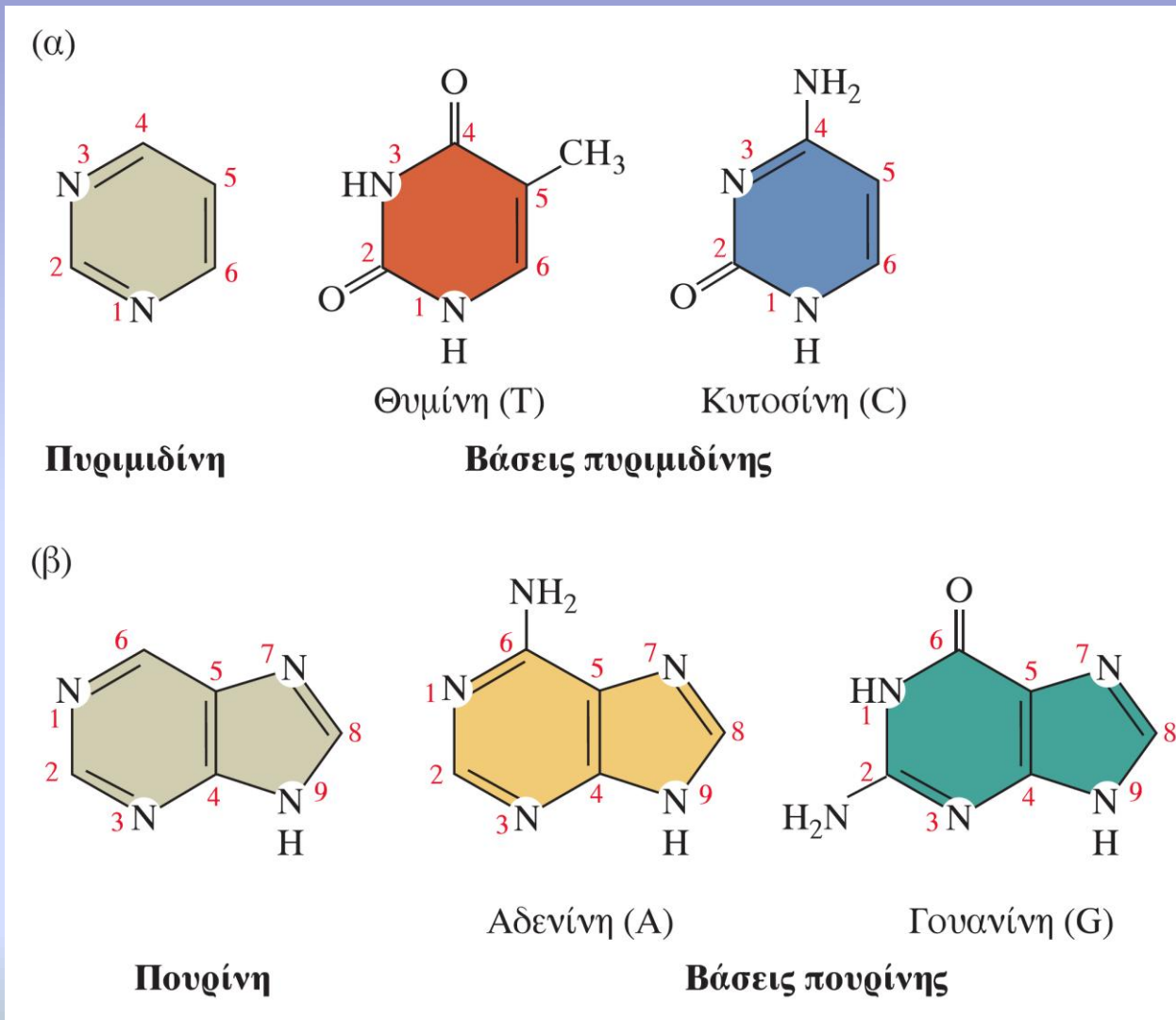
Αν ένας ποντικός μολυνθεί με το παθογόνο στέλεχος S του *Streptococcus pneumoniae*, αναπτύσσει πνευμονία και πεθαίνει. Αυτό δε συμβαίνει αν ο ποντικός μολυνθεί με το μη παθογόνο στέλεχος R ή με νεκρά, λόγω έκθεσης σε υψηλή θερμοκρασία, βακτήρια του στελέχους S. Παρουσία νεκρών, λόγω έκθεσης σε υψηλή θερμοκρασία, βακτηρίων S, τα βακτήρια R μετασχηματίζονται σε παθογόνα βακτήρια S και προκαλούν τον θάνατο του ποντικού.

Μόνο το DNA κληρονομείται από τους απόγονους φάγους

Εικόνα 1.5 Το γενετικό υλικό του φάγου T2 είναι DNA.

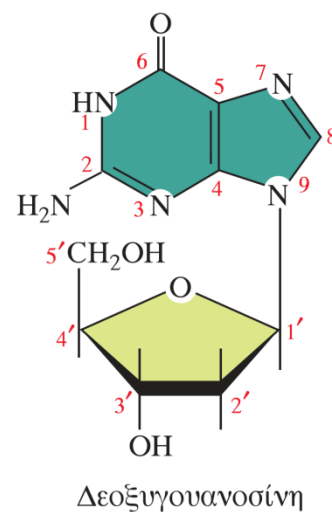
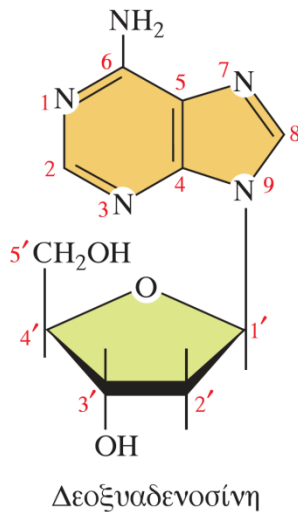
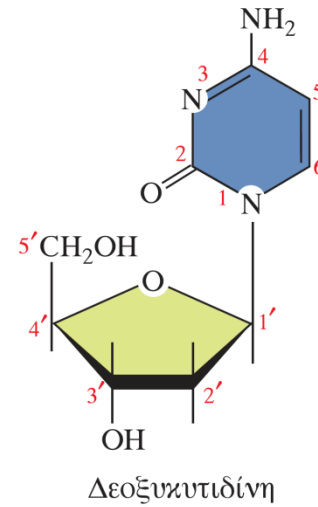
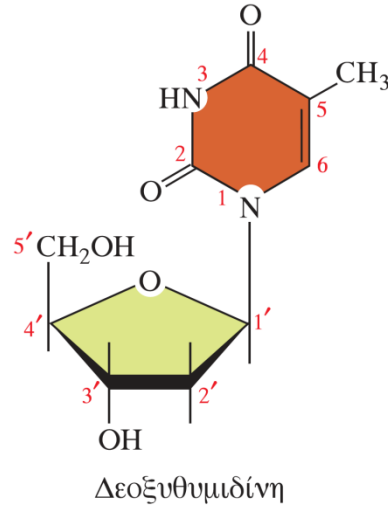


ΕΙΚΟΝΑ 1.4 Οι πυριμιδίνες και οι πουρίνες του DNA



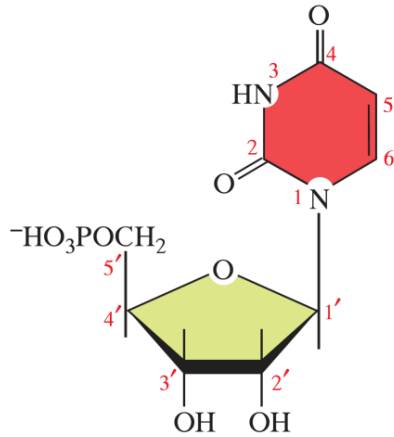
(α) Πυριμιδίνες και (β) πουρίνες.

ΕΙΚΟΝΑ 1.6 Τα δεοξυριβονουκλεοσίδια

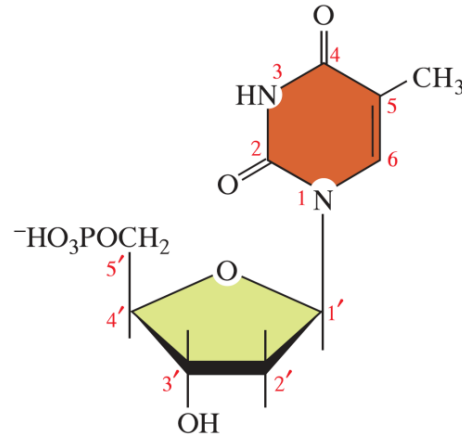


ΕΙΚΟΝΑ 1.8 Τα νουκλεοτίδια

(α) 5'-μονοφωσφορικά νουκλεοσίδια

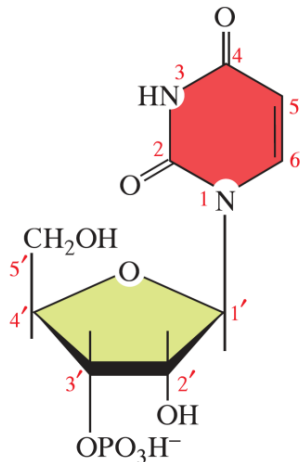


5'-μονοφωσφορική ουριδίνη
ή 5'-ουριδυλικό (5'-UMP)

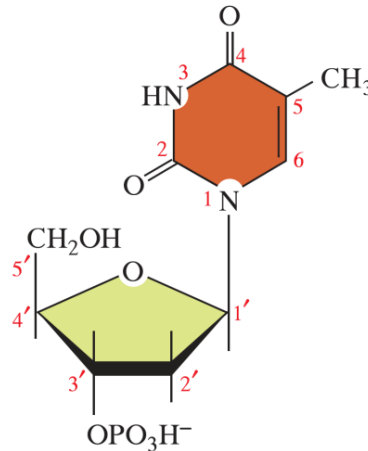


5'-μονοφωσφορική θυμιδίνη
ή 5'-θυμιδυλικό (5'-dTMP)

(β) 3'-μονοφωσφορικά νουκλεοσίδια



3'-μονοφωσφορική ουριδίνη
ή 3'-ουριδυλικό (3'-UMP)

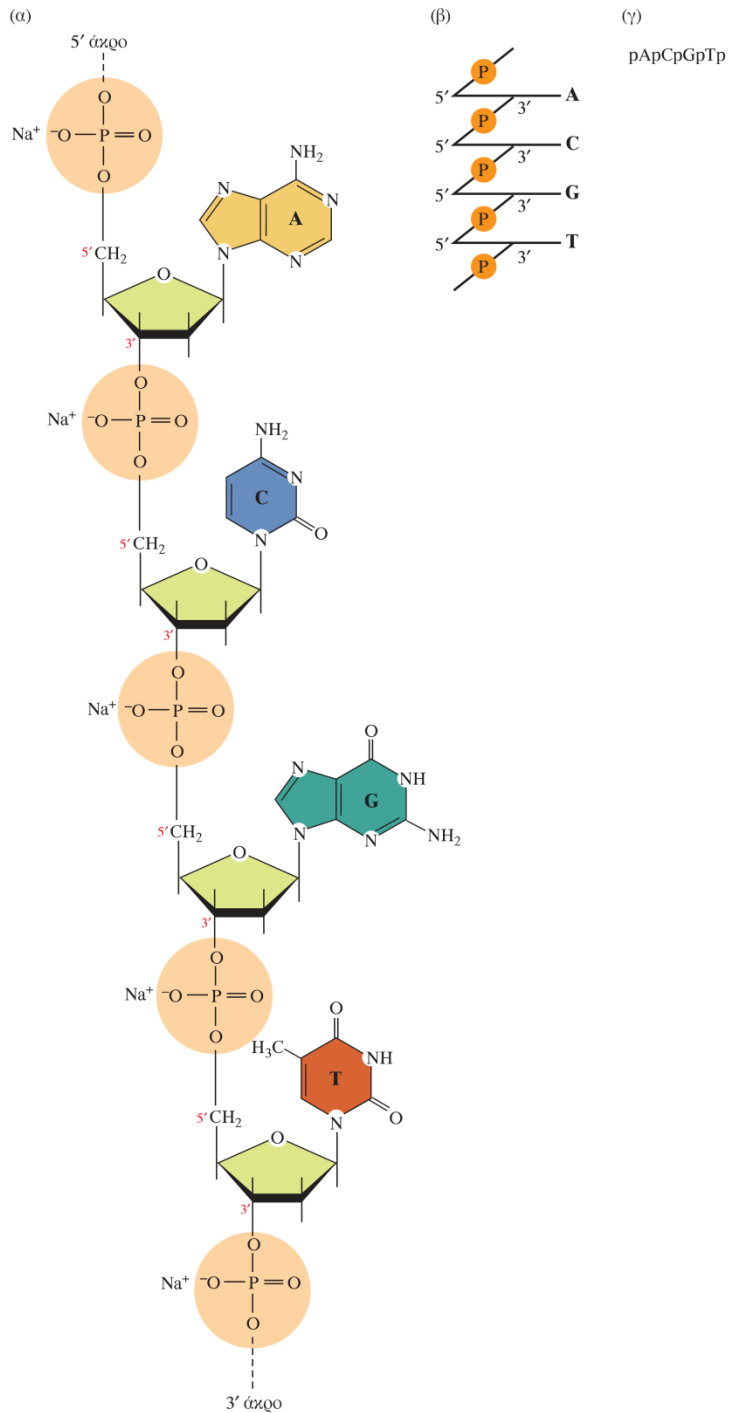


3'-μονοφωσφορική θυμιδίνη
ή 3'-θυμιδυλικό (3'-dTMP)

Τα νουκλεοτίδια σχηματίζονται με την προσθήκη φωσφορικών ομάδων στον δακτύλιο της πεντόζης ενός νουκλεοσιδίου.

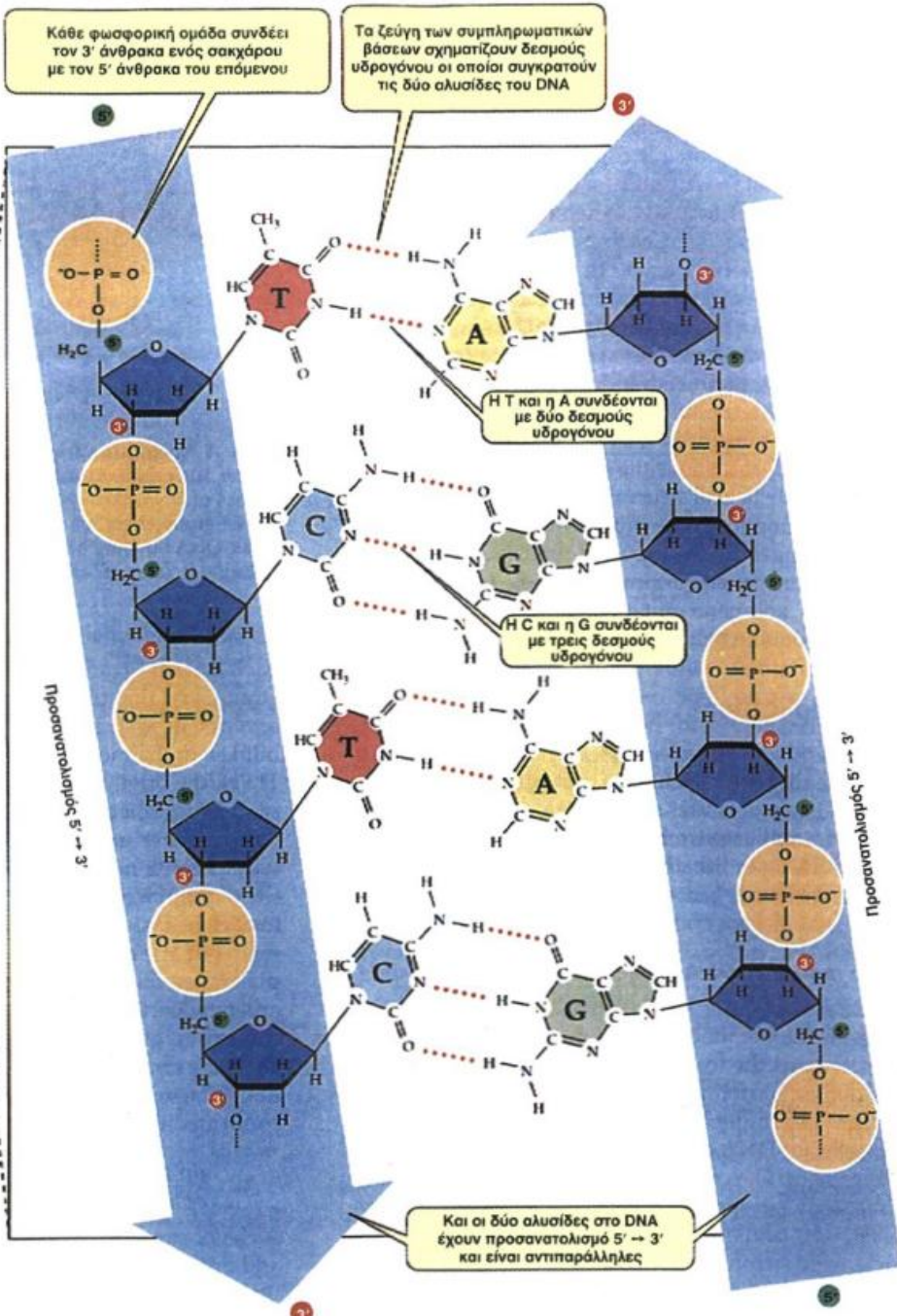
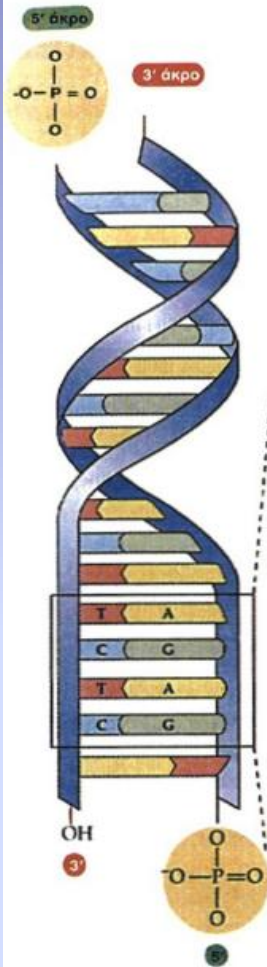
(α) Νουκλεοτίδια που σχηματίζονται με προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας στην 5'-υδροξυλομάδα της ουριδίνης ή της θυμιδίνης.

(β) Νουκλεοτίδια που σχηματίζονται με προσθήκη μιας φωσφορικής ομάδας στην 3'-υδροξυλομάδα της ουριδίνης ή της θυμιδίνης.

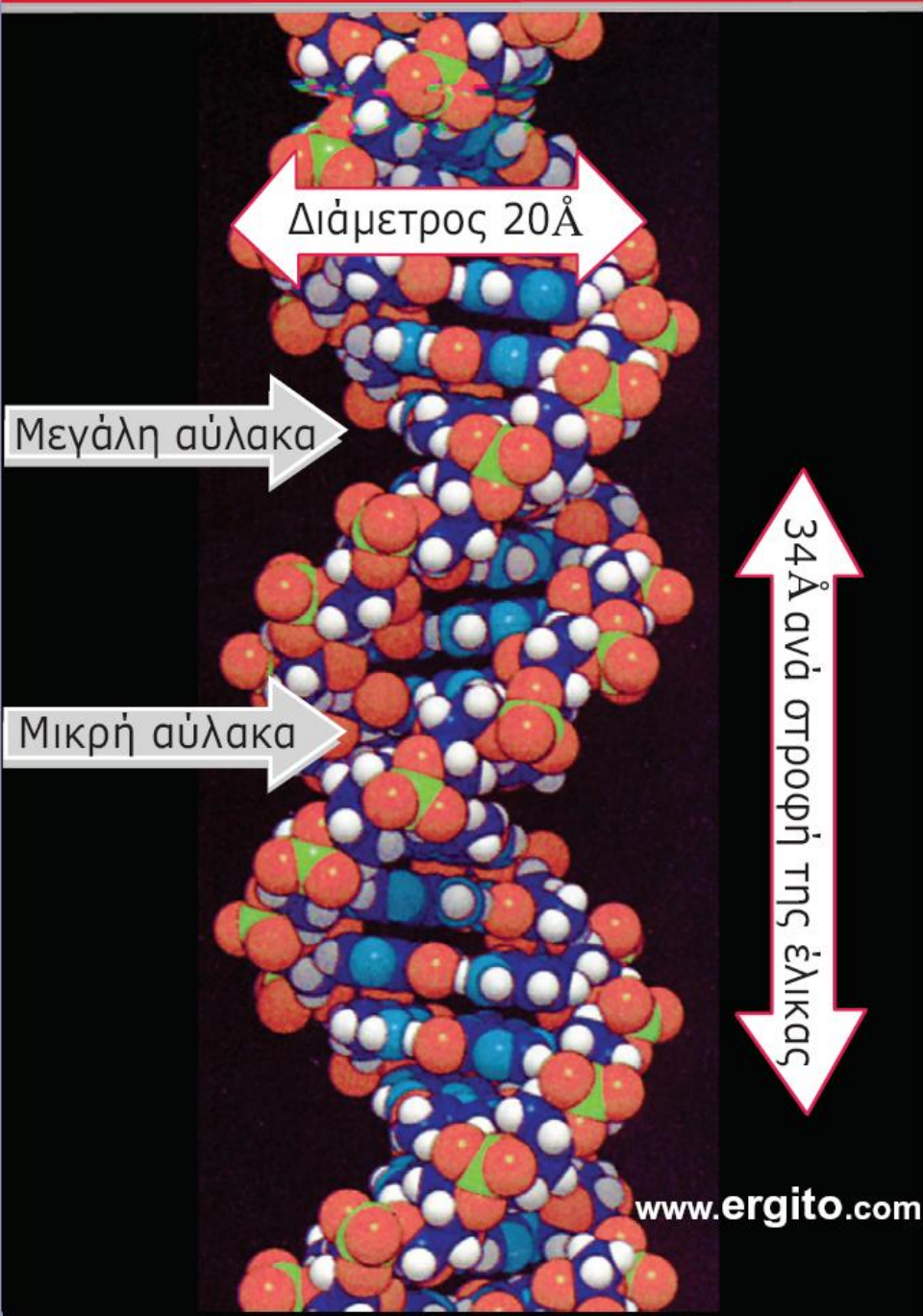


ΕΙΚΟΝΑ 1.9 Αναπαράσταση τμήματος ενός πολυδεοξυριβονουκλεοτιδίου

(α) Εκτενής αναπαράσταση στη μορφή άλατος νατρίου,



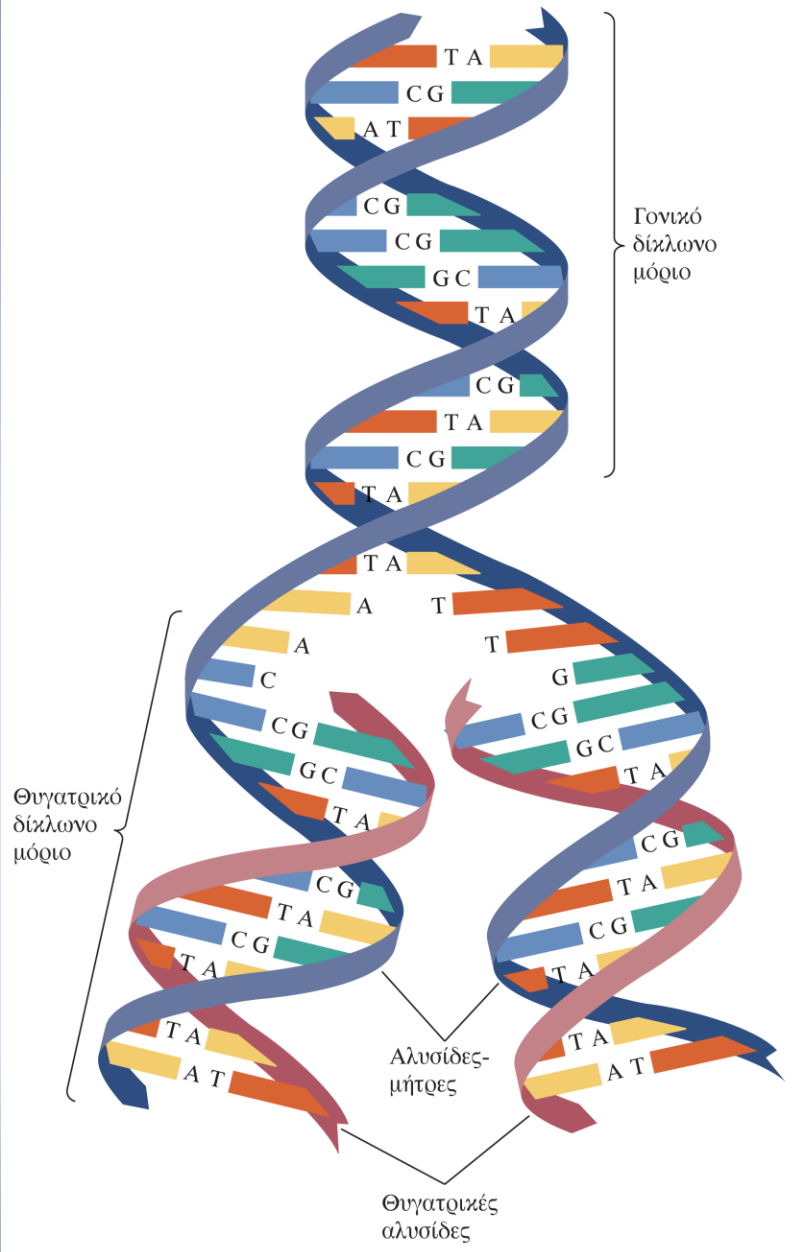
Η διπλή έλικα του DNA έχει δύο αύλακες



Εικόνα 1.10 Οι δύο αλυσίδες του DNA σχηματίζουν διπλή έλικα.

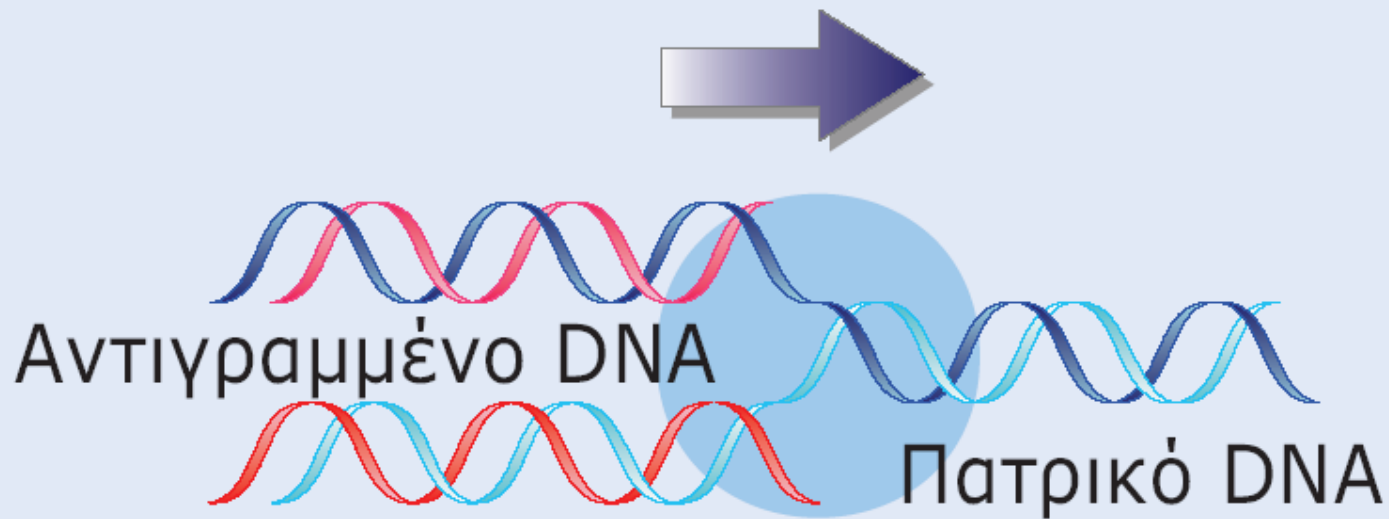
http://en.wikipedia.org/wiki/DNA#/media/File:ADN_animation.gif

Η αντιγραφή του DNA



<http://www.youtube.com/watch?v=AGUuX4PGI Cc&feature=related>

Η αντιγραφική διχάλα κινείται κατά μήκος του DNA

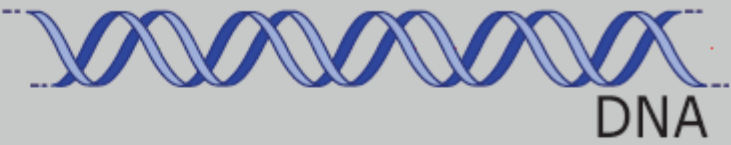
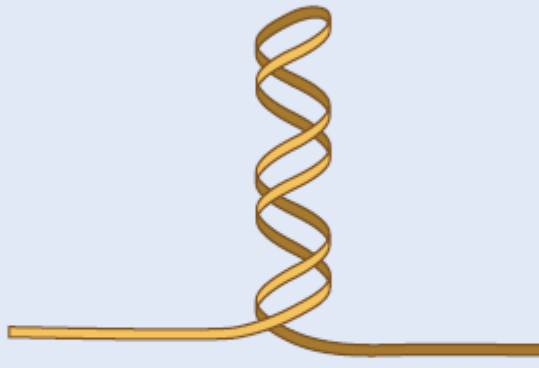
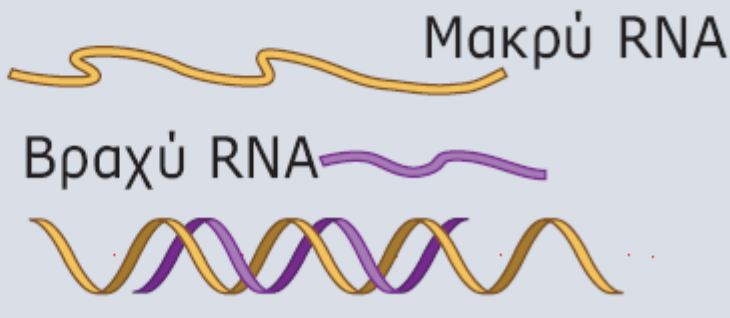


Αντιγραφική διχάλα

©virtualtext www.ergito.com

Εικόνα 1.13 Η αντιγραφική διχάλα είναι η περιοχή του DNA στην οποία το αποδιαταγμένο γονικό δίκλωνο μετατρέπεται σε αντιγραμμένα θυγατρικά δίκλωνα.

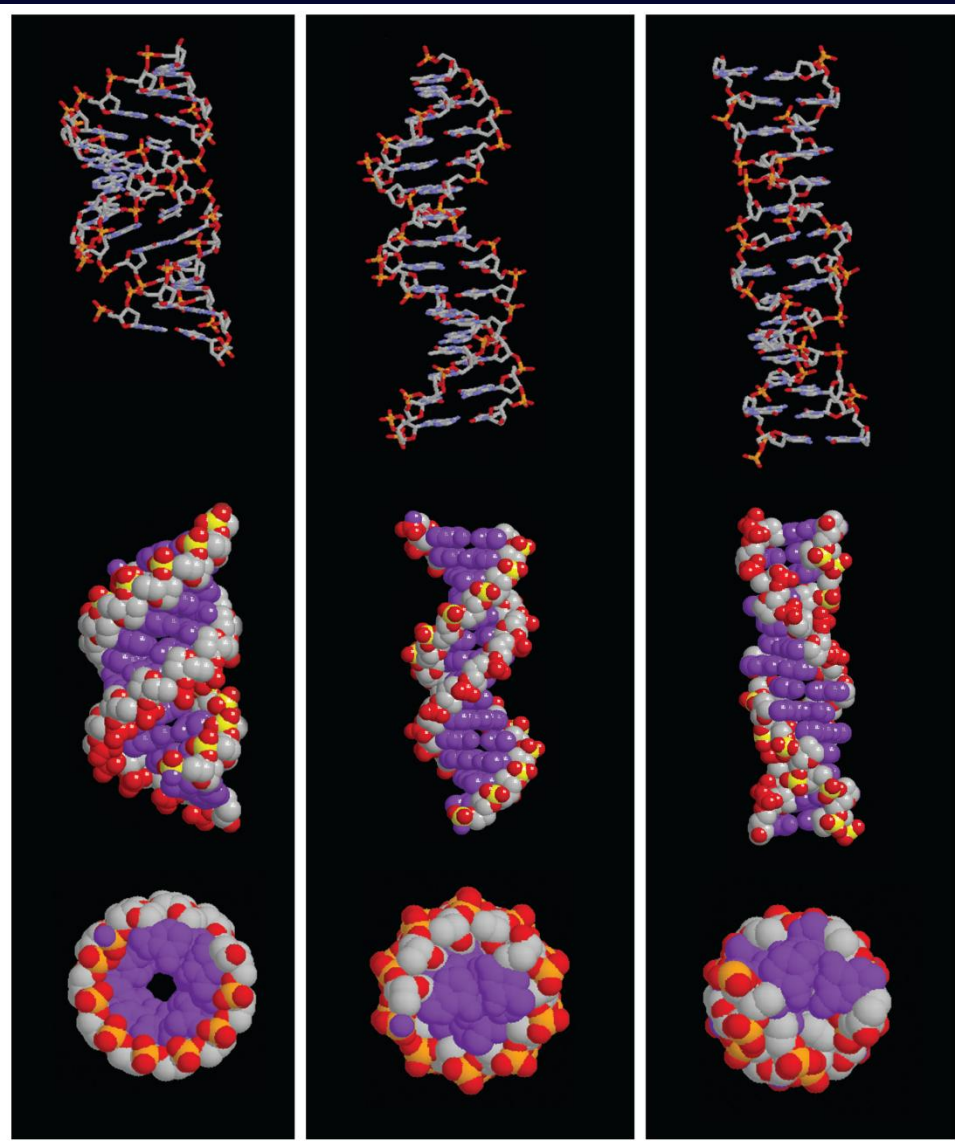
Τα δίκλινα νουκλεϊκά οξέα απαντώνται σε διάφορες μορφές

DNA	 <p>DNA</p>
Ενδομοριακό ζευγάρι αλυσίδας RNA	 <p>RNA</p>
Διαμοριακό ζευγάρι ανάμεσα στο μακρύ και στο βραχύ RNA	 <p>Μακρύ RNA Βραχύ RNA</p>

©virtualtext www.ergito.com

Εικόνα 1.16 Το ζευγάρι των βάσεων απαντάται στο δίκλινο DNA, καθώς και στις ενδο- και διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μονόκλωνων RNA (ή DNA).

ΕΙΚΟΝΑ 3.17 Στερεοδιαμορφώσεις του DNA



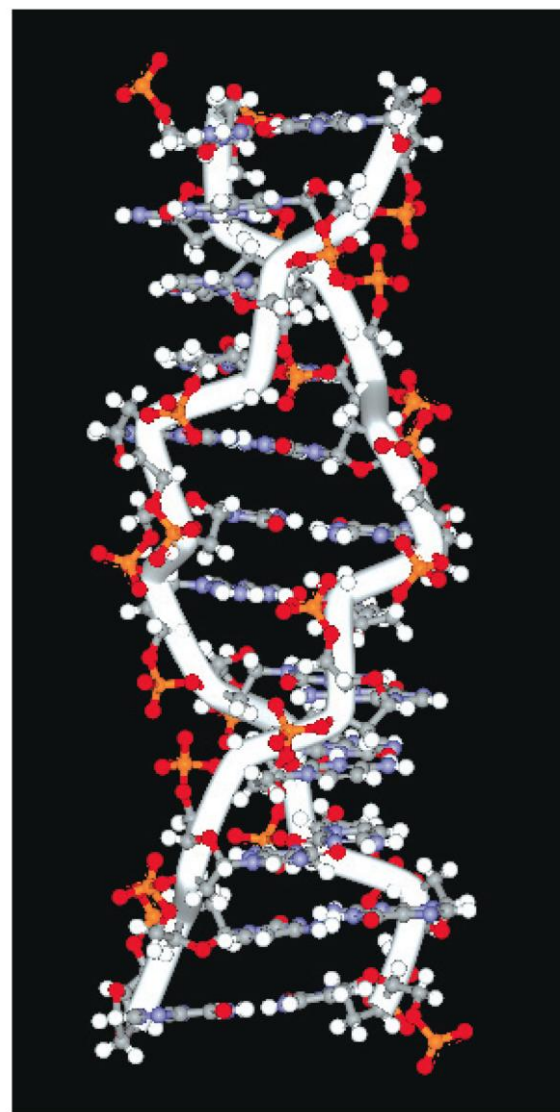
(α) A-DNA

(β) B-DNA

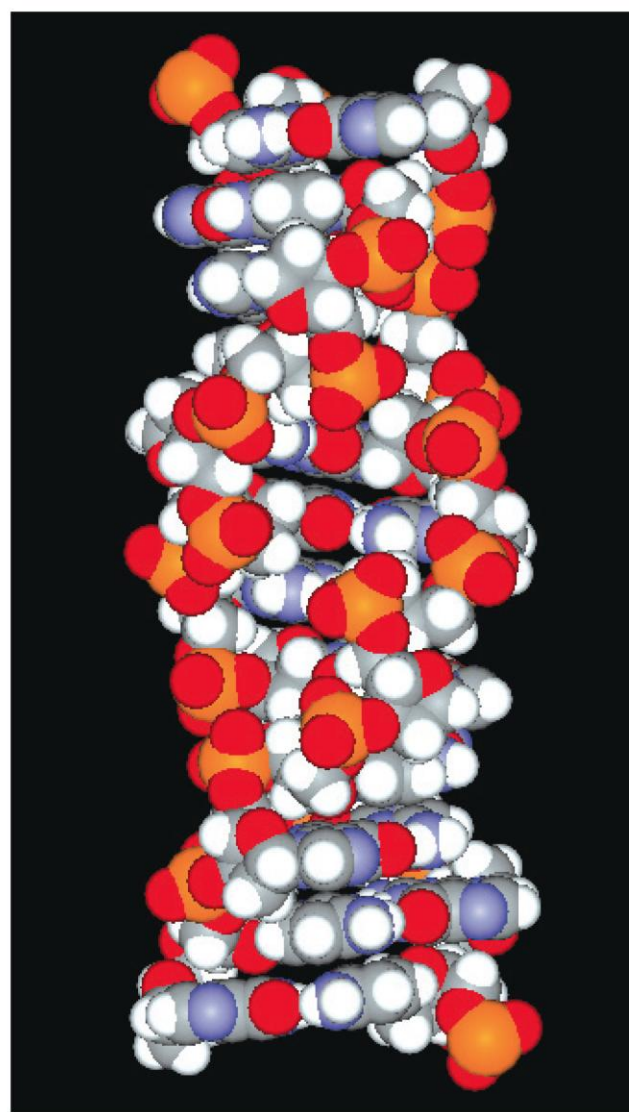
(γ) Z-DNA

Απεικονίζονται τρεις στερεο-διαμορφώσεις του DNA: (α) A-DNA, (β) B-DNA και (γ) Z-DNA. Άνω τμήμα: Οι δομές απεικονίζονται με το μοντέλο «ράβδων και σφαιρών» (ball and stick), ώστε να φαίνεται ο προσανατολισμός των ζευγών βάσεων ως προς τον άξονα της έλικας. Μεσαίο τμήμα: Οι δομές απεικονίζονται με χωροπληρωτικά μοντέλα, με τη ραχοκοκαλιά χρωματισμένη σύμφωνα με τον κώδικα CPK, ενώ τα ζεύγη βάσεων είναι χρωματισμένα μοβ, ώστε να ξεχωρίζουν οι αύλακες. Κάτω τμήμα: Απεικονίζονται κατόψεις των μορίων DNA, επίσης με χωροπληρωτικά μοντέλα. Κάθε μόριο DNA αποτελείται από 12 ζεύγη βάσεων.

ΕΙΚΟΝΑ 3.18 Z-DNA



(α)



(β)

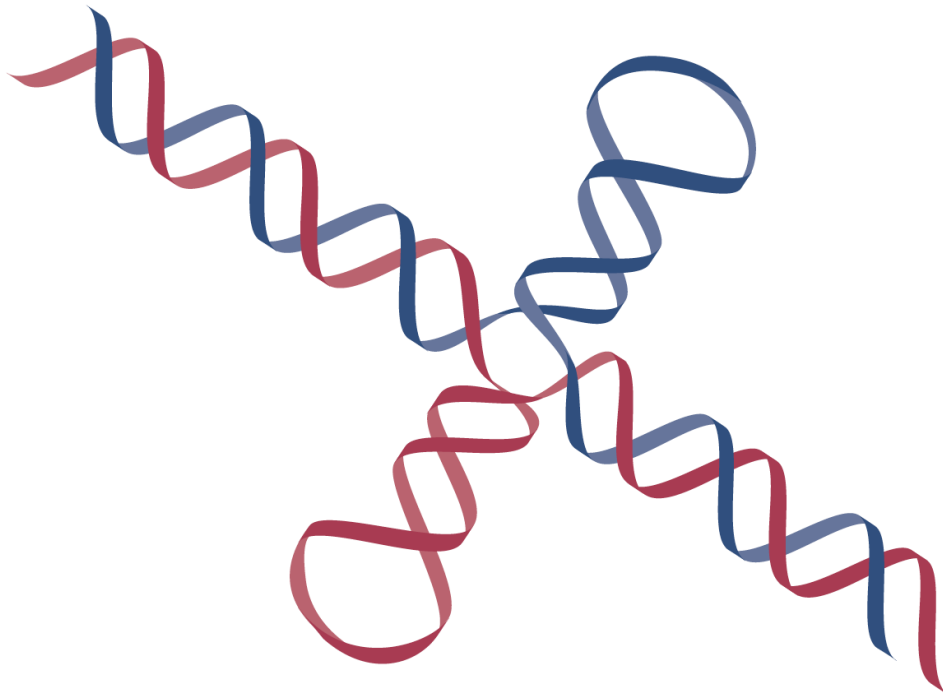
(α) Z-DNA με τις ζιγκ ζαγκ ραχοκοκαλιές να απεικονίζονται ως λεκοί σωλήνες. Οι βάσεις, τα σάκχαρα και οι φωσφορικές ομάδες απεικονίζονται με «ράβδους και σφαίρες». (β) Το ίδιο Z-DNA απεικονίζεται ως χωρο-πληρωτικό μοντέλο.

ΕΙΚΟΝΑ 3.19 Σταυροειδής δομή

(α) Ανάστροφες επαναλήψεις



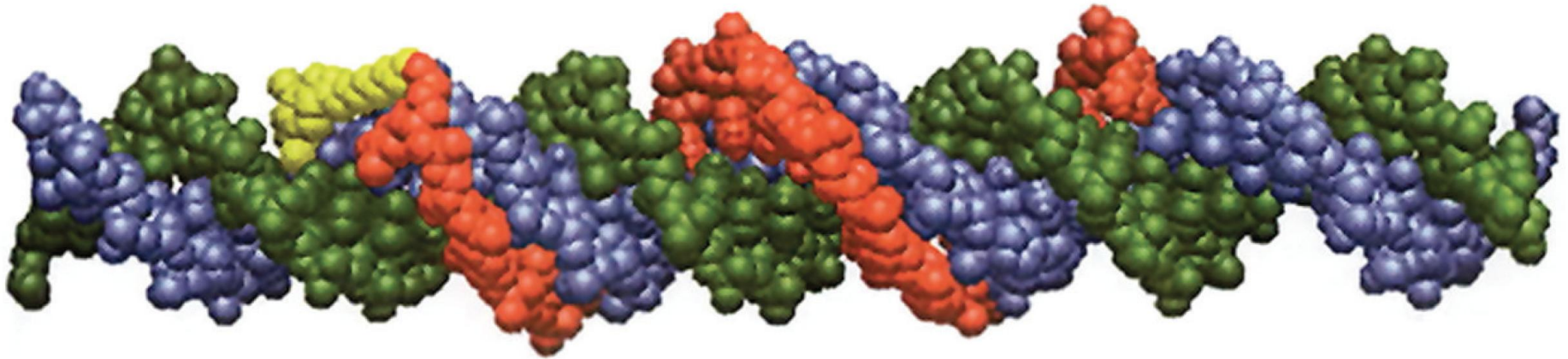
(β) Σταυροειδής δομή



(α) Τμήμα DNA με ανάστροφες επαναλήψεις. Τα βέλη πάνω και κάτω από τη δομή δείχνουν τις ανάστροφες επαναλήψεις.

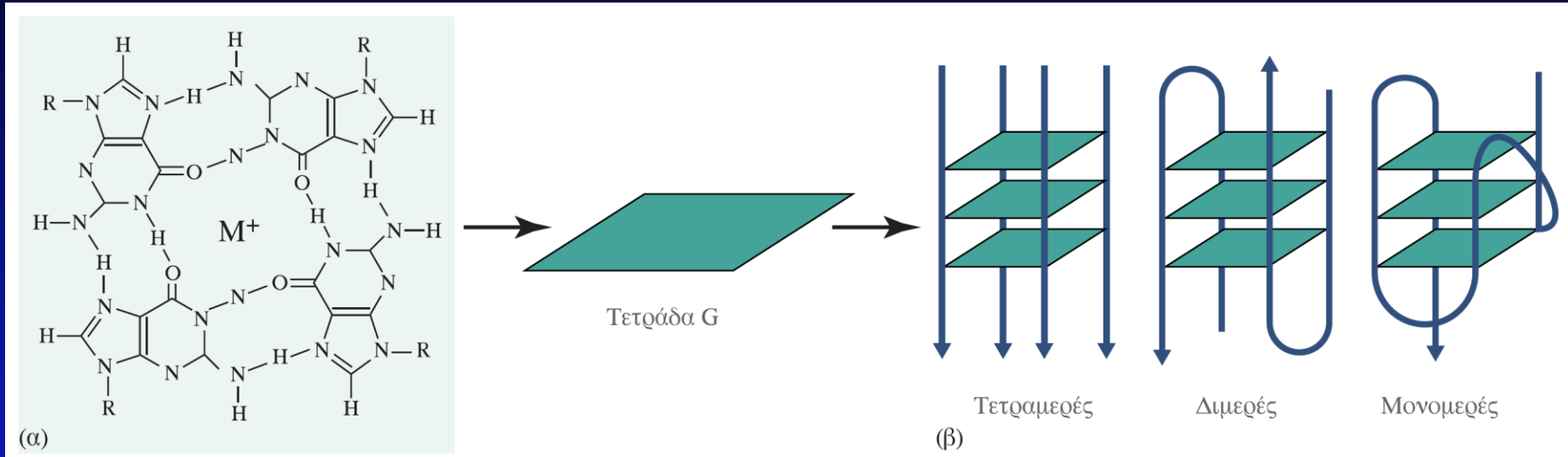
(β) Ένα μόριο DNA που διαθέτει ανάστροφη επανάληψη μπορεί να σχηματίσει σταυροειδή δομή.

ΕΙΚΟΝΑ 3.20 Χωροπληρωτικό μοντέλο τρίκλωνου DNA



Οι αλυσίδες της διπλής έλικας κατά Watson-Crick απεικονίζονται με πράσινο και μοβ χρώμα. Το τρίκλωνο ολιγονουκλεοτίδιο (κόκκινο) που έχει σχηματιστεί μέσα στη μεγάλη αύλακα είναι σημασμένο με μια ομάδα φωσφαλενίου (κιτρινοπράσινο) στο 5' άκρο του.

ΕΙΚΟΝΑ 3.21 Τετράκλινη δομή



(α) Τετράδα γουανινών.

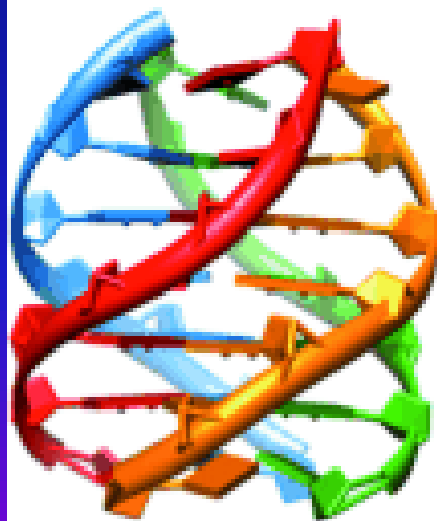
(β) Τετραμερής δομή που απαρτίζεται από τρεις τετράδες γουανινών οι οποίες προέρχονται από τέσσερις, δύο ή μία μόνο αλυσίδα DNA.



Duplex DNA



Three-way DNA junction



G-quadruplex DNA

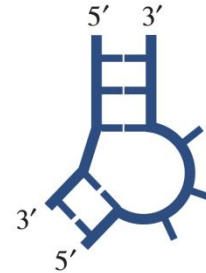


Four-way DNA junction

ΕΙΚΟΝΑ 3.22 Στοιχεία δευτεροταγούς δομής του RNA: βρόχοι και προεξοχές



(α) Διόγκωση ενός νουκλεοτιδίου



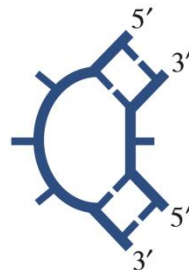
(β) Διόγκωση τριών νουκλεοτιδίων



(γ) Αταίριαστο ζεύγος



(δ) Συμμετρικός εσωτερικός βρόχος

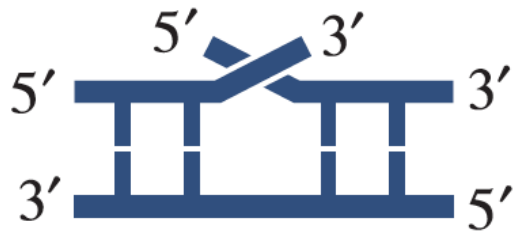


(ε) Ασύμμετρος εσωτερικός βρόχος

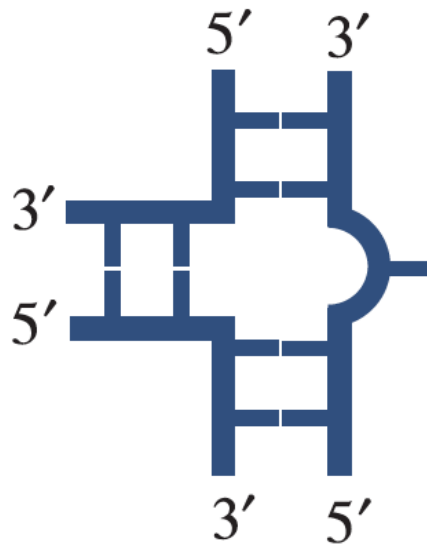


(στ) Βρόχος φουρκέτας

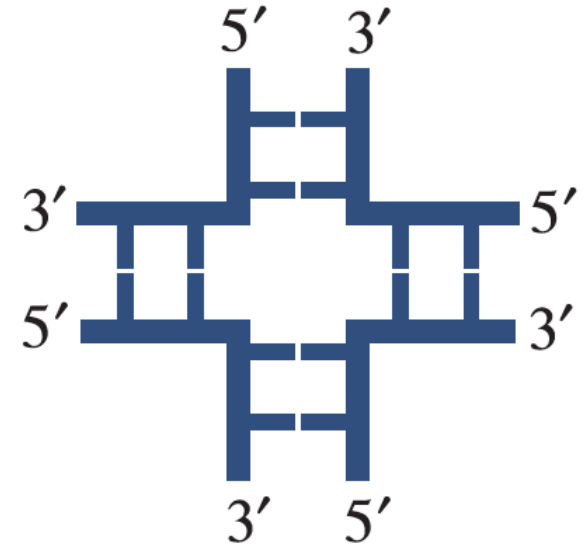
ΕΙΚΟΝΑ 3.23 Στοιχεία δευτεροταγούς δομής του RNA που σχηματίζουν ενδομοριακές και διαμοριακές συνδέσεις



(α) Σύνδεση με δύο στελέχη

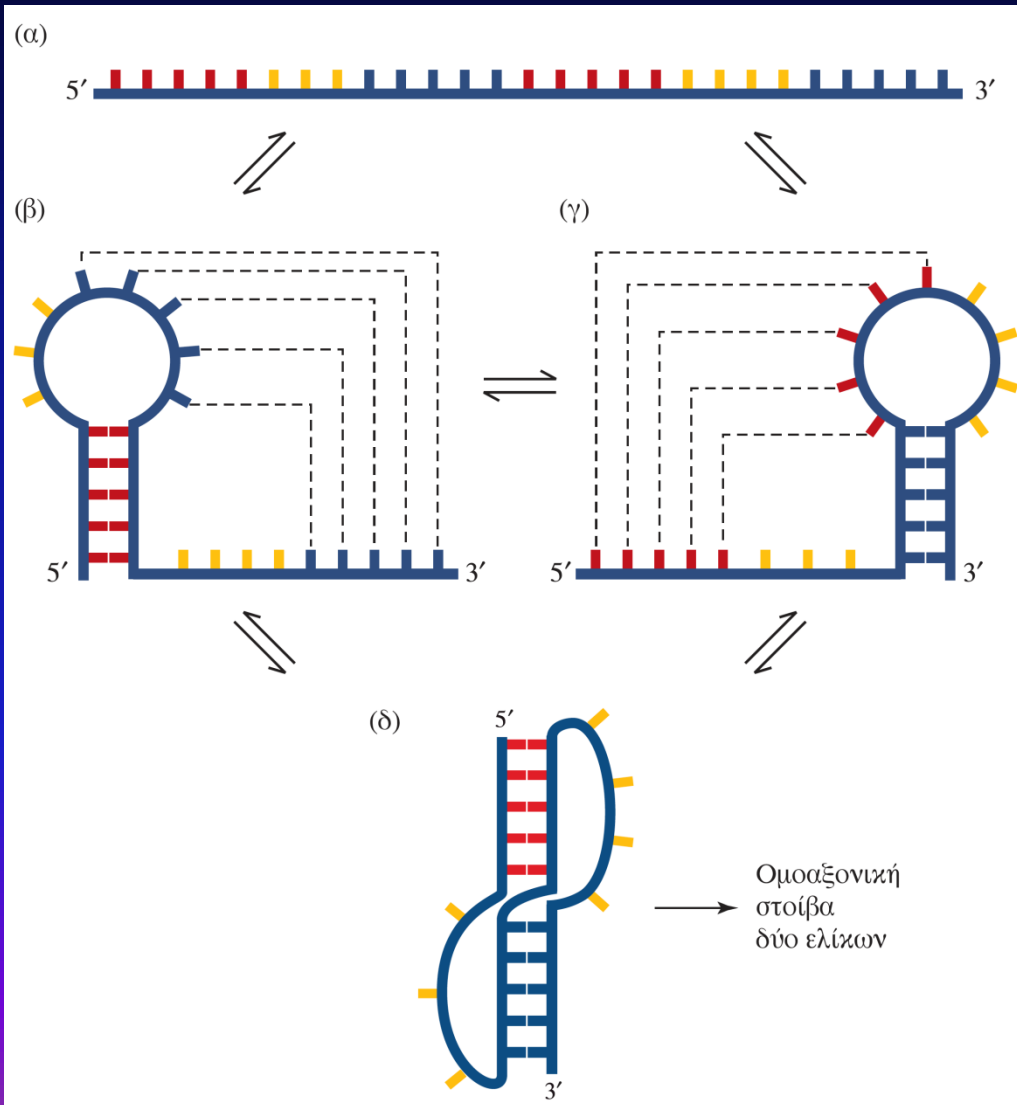


(β) Σύνδεση με τρία στελέχη

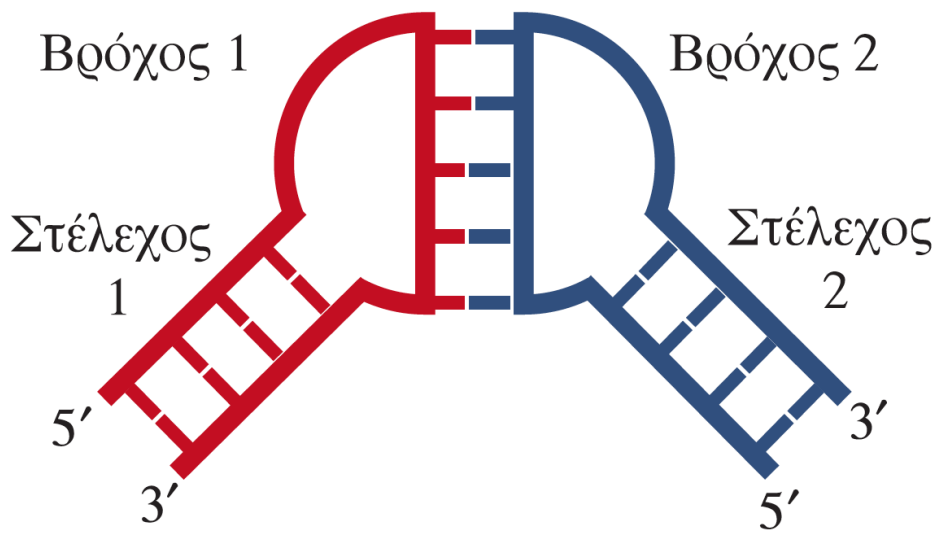


(γ) Σύνδεση με τέσσερα στελέχη

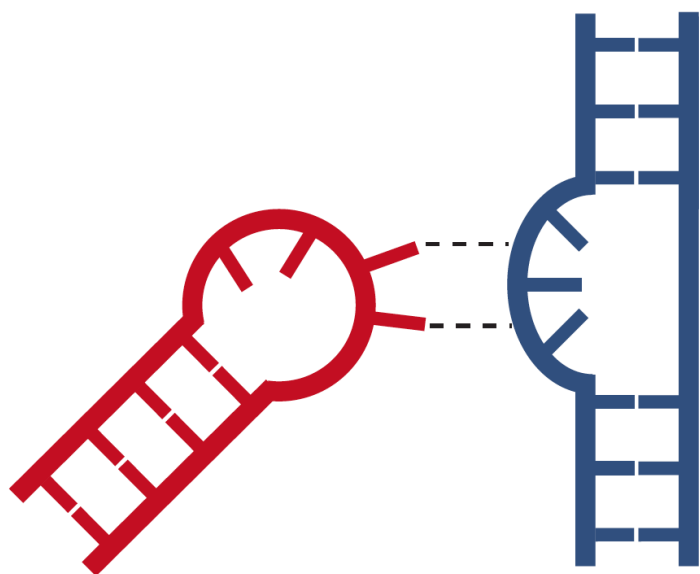
ΕΙΚΟΝΑ 3.24 Δομή ψευδοκόμπου του RNA



(α) Η πρωτοταγής δομή ενός RNA με δύο ζευγάρια συμπληρωματικών αλληλουχιών βάσεων. Το ένα ζεύγος απεικονίζεται κόκκινο και το άλλο μπλε. (β) Η δομή φουρκέτας (στέλεχος-βρόχος) σχηματίζεται όταν ζευγαρώσουν οι κόκκινες συμπληρωματικές βάσεις. (γ) Η δομή φουρκέτας (στέλεχος-βρόχος) σχηματίζεται όταν ζευγαρώσουν οι μπλε συμπληρωματικές βάσεις. (δ) Ο ψευδοκόμπος σχηματίζεται όταν οι βάσεις του βρόχου ζευγαρώσουν με μία συμπληρωματική μονόκλωνη περιοχή η οποία βρίσκεται δίπλα στο στέλεχος της φουρκέτας. Οι δίκλωνες περιοχές που προκύπτουν σχηματίζουν μία ομοαξονική στοίβα.



(α) Φουρκέτες σε επαφή

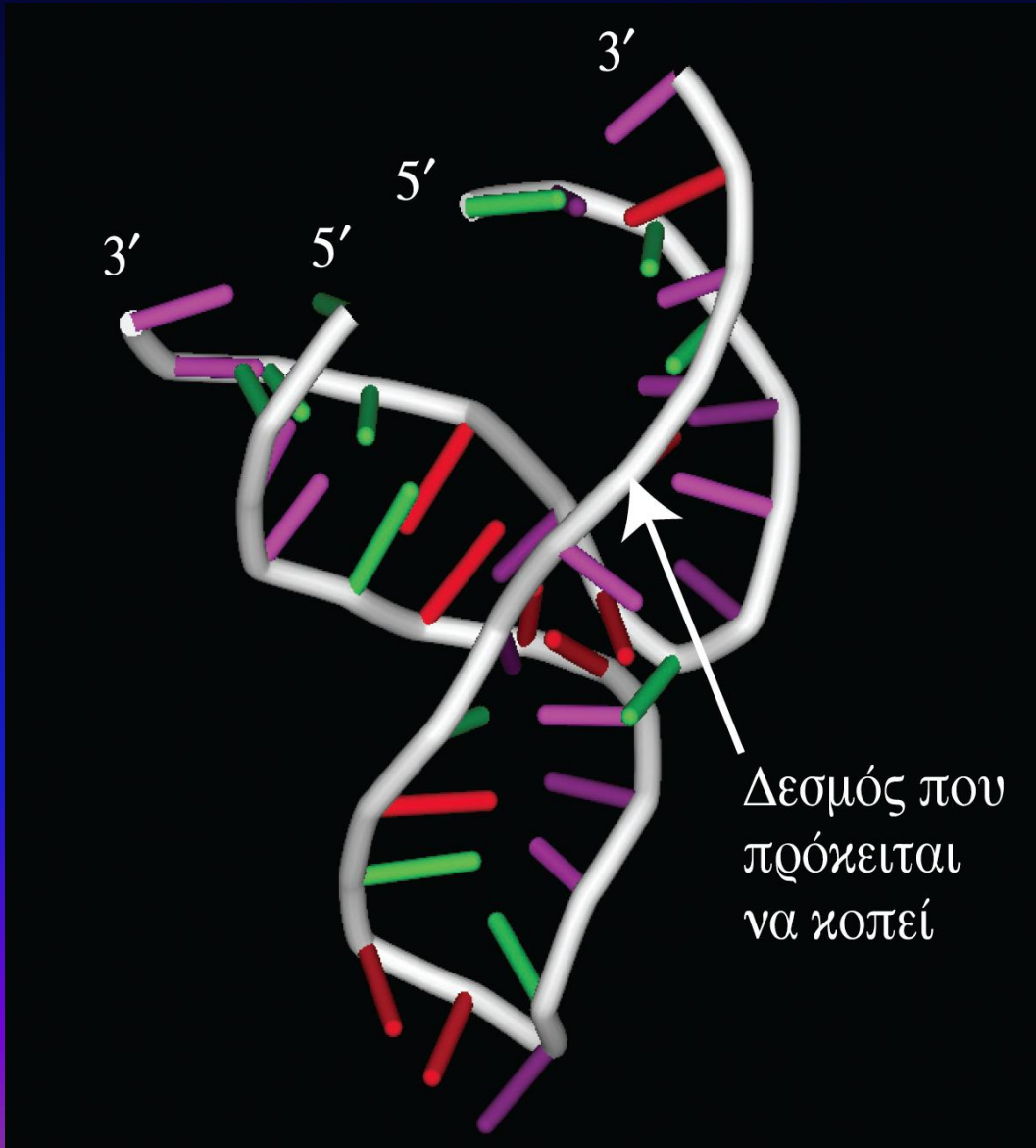


(β) Επαφή διόγκωσης με βρόχο φουρκέτας

ΕΙΚΟΝΑ 3.25 Αλληλεπιδράσεις που συνδέουν απομακρυσμένα τμήματα RNA

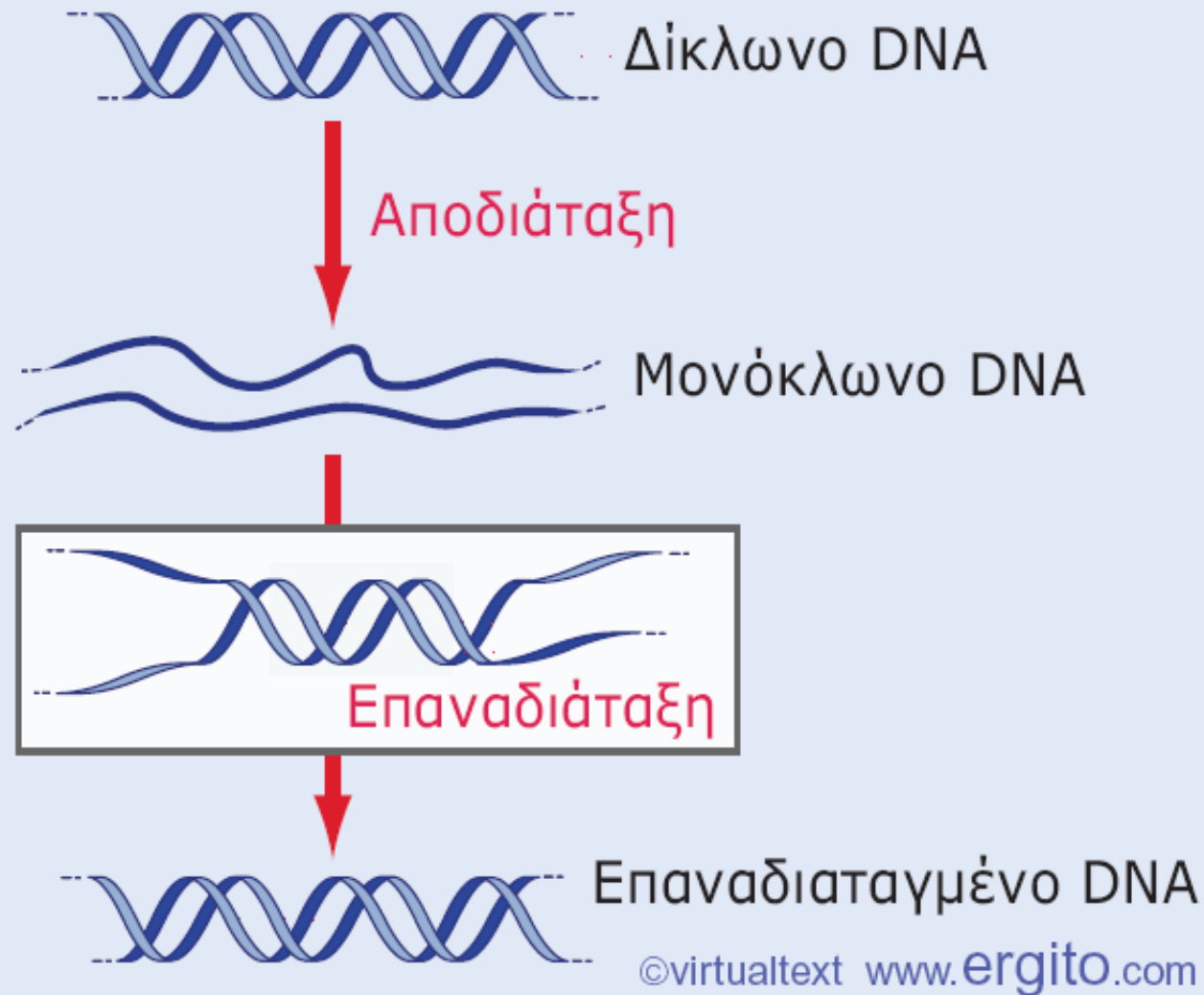
(α) Αλληλεπίδραση σύνδεσης φουρκετών (φίλημα φουρκετών) και (β) αλληλεπίδραση βρόχου φουρκέτας με προεξοχή.

ΕΙΚΟΝΑ 3.26 Κρυσταλλική δομή του σφυροκέφαλου ριβοενζύμου



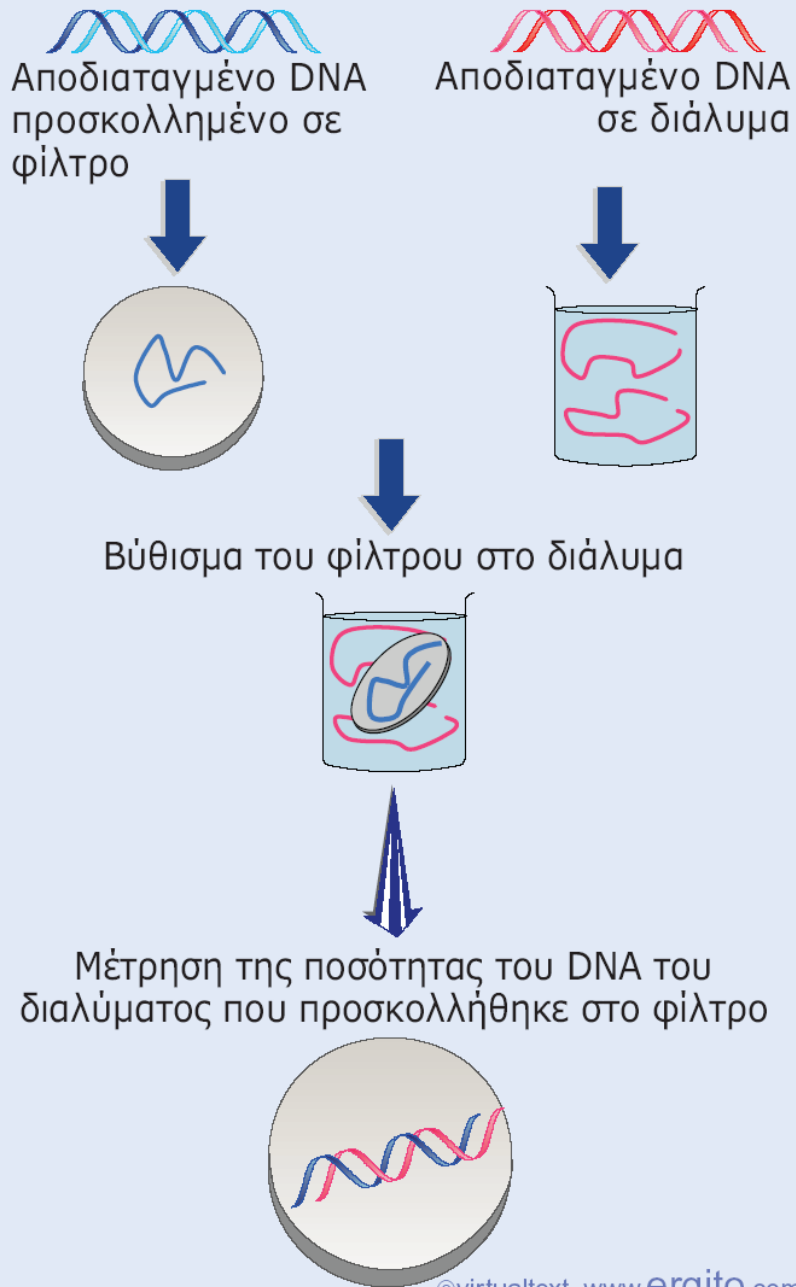
Το βέλος δείχνει τον φωσφοδιεστερικό δεσμό που κόβεται με αυτοκατάλυση.

Το DNA μπορεί να αποδιαταχθεί και να επαναδιαταχθεί



Εικόνα 1.17 Οι αποδιαταγμένες αλυσίδες DNA μπορούν να επαναδιαταχθούν και να σχηματίσουν τη δίκλινη μορφή.

Η μέθοδος του υβριδισμού σε φίλτρα "μετρά" τη συμπληρωματικότητα

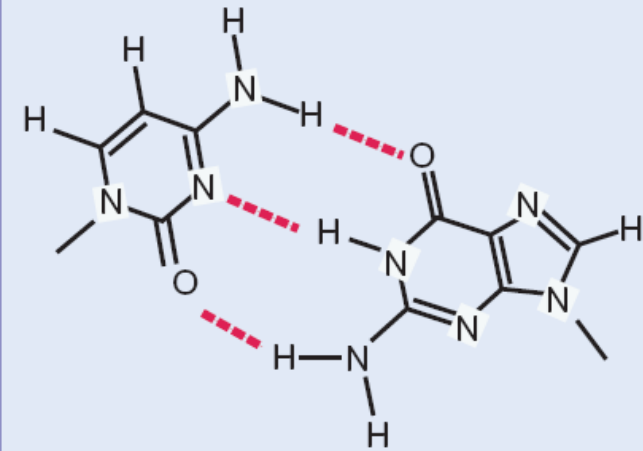


Εικόνα 1.18 Με τον υβριδισμό σε φίλτρα μπορεί να ελεγχθεί αν ένα διάλυμα αποδιαταγμένου DNA (ή RNA) περιέχει αλληλουχίες οι οποίες είναι συμπληρωματικές με τις αλυσίδες που είχαν ακινητοποιηθεί στο φίλτρο.

Μεταλλάξεις

- Όλες οι μεταλλάξεις είναι αλλαγές στην αλληλουχία του DNA
- Συμβαίνουν αυθόρμητα ή επάγονται
- Χημική μετατροπή
- Κατά την αντιγραφή

Ο ρυθμός εμφάνισης μεταλλάξεων σε ένα τμήμα DNA είναι ανάλογος του μεγέθους του

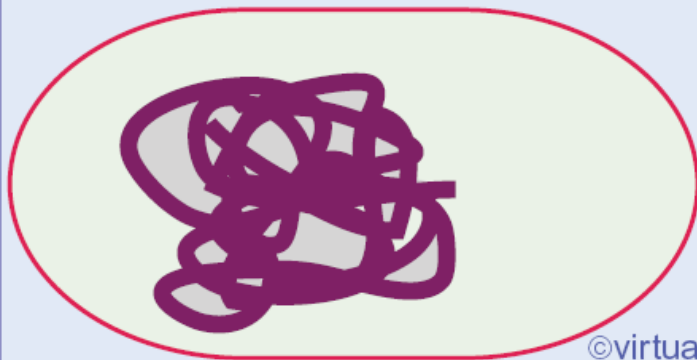


Συχνότητα
μεταλλάξεων

Σε ένα
ζεύγος βάσεων
 $1/10^9 - 10^{10}$
γενιές

....ATCGGACTTACCGGTTA....
....TAGCCTGAATGGCCAAT....

Σε ένα
γονίδιο
 $1/10^5 - 10^6$
γενιές



Στο γονιδίωμα
 $1/300$ γενιές

Εικόνα 1.19 Ένα ζεύγος βάσεων μεταλλάσσεται με ρυθμό $10^{-9} - 10^{-10}$ ανά γενιά, ένα γονίδιο 1.000 bp μεταλλάσσεται με ρυθμό $\sim 10^{-6}$ ανά γενιά και ένα βακτηριακό γονιδίωμα με ρυθμό 3×10^{-3} ανά γενιά.

Μερικές μεταλλάξεις μπορούν να αναστραφούν

ATCGGACTTACCGGTTA
TAGCCTGAATGGCCAAT

Σημειακή
μετάλλαξη ↓

ATCGGACT **C**ACCGGTTA
TAGCCTGA **G**TGGCCAAT

Αναστροφή ↓

ATCGGACT **T**ACCGGTTA
TAGCCTGA **A**TGGCCAAT

ATCGGACTTACCGGTTA
TAGCCTGAATGGCCAAT

Προσθήκη ↓

ATCGGACTT **XXXXX**ACCGGTTA
TAGCCTGAA **YYYYY**TGGCCAAT

Αναστροφή
με έλλειμμα ↓

ATCGGACTTACCGGTTA
TAGCCTGAATGGCCAAT

Πρόσθιες και ανάστροφες μεταλλάξεις

Οι σημειακές μεταλλάξεις και οι προσθήκες **μπορεί να αναστραφούν**, ενώ τα ελλείμματα δεν αναστρέφονται ποτέ.

- Αληθινή αναστροφή
- Ισοδύναμη αναστροφή

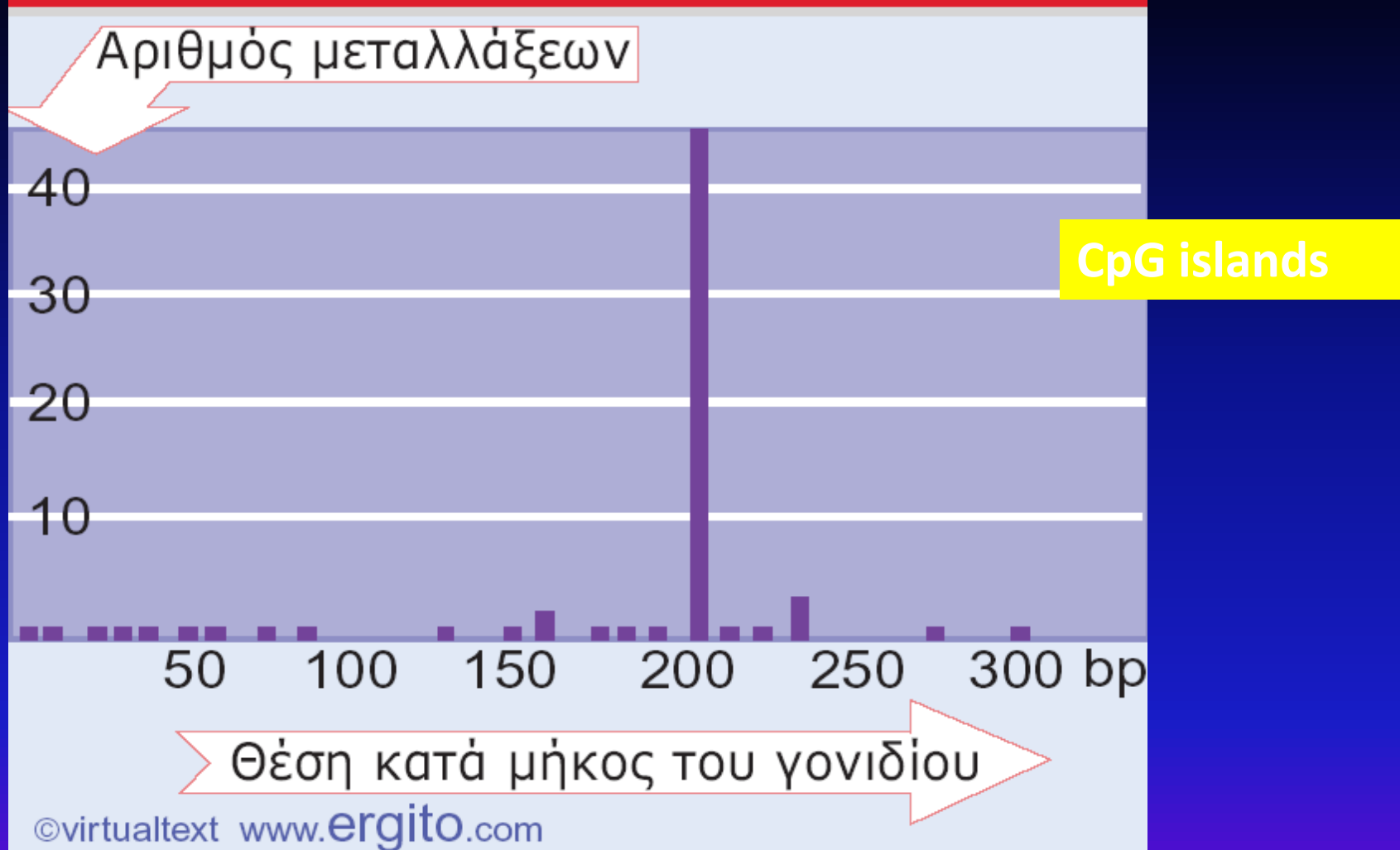
ATCGGACTTACCGGTTA
TAGCCTGAATGGCCAAT

Έλλειμμα ↓

ATCGGACGGTTA
TAGCCTGCCAAT

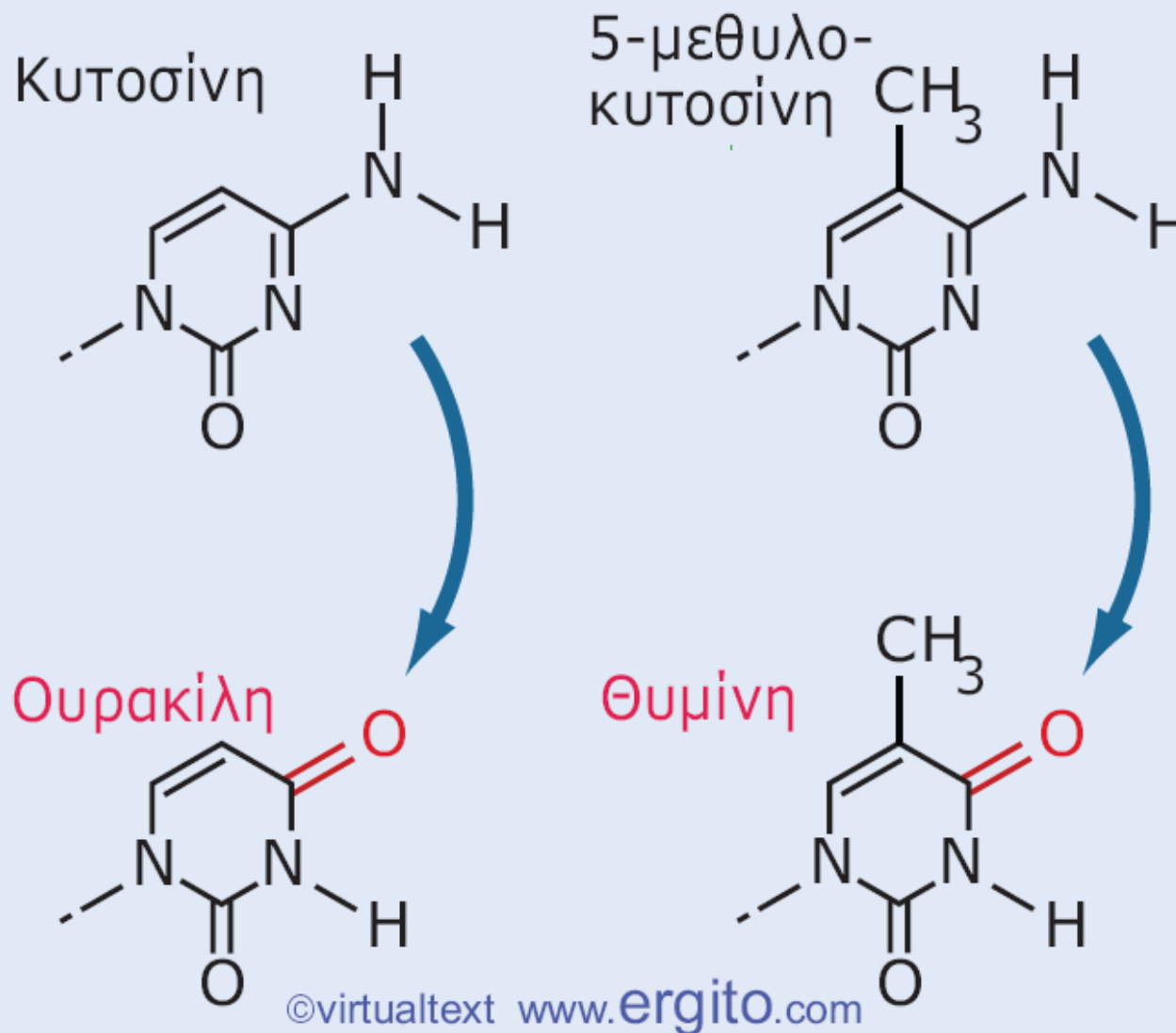
Η αναστροφή δεν είναι εφικτή

Στα θερμά σημεία, η συχνότητα εμφάνισης μεταλλάξεων είναι υπερδεκαπλάσια



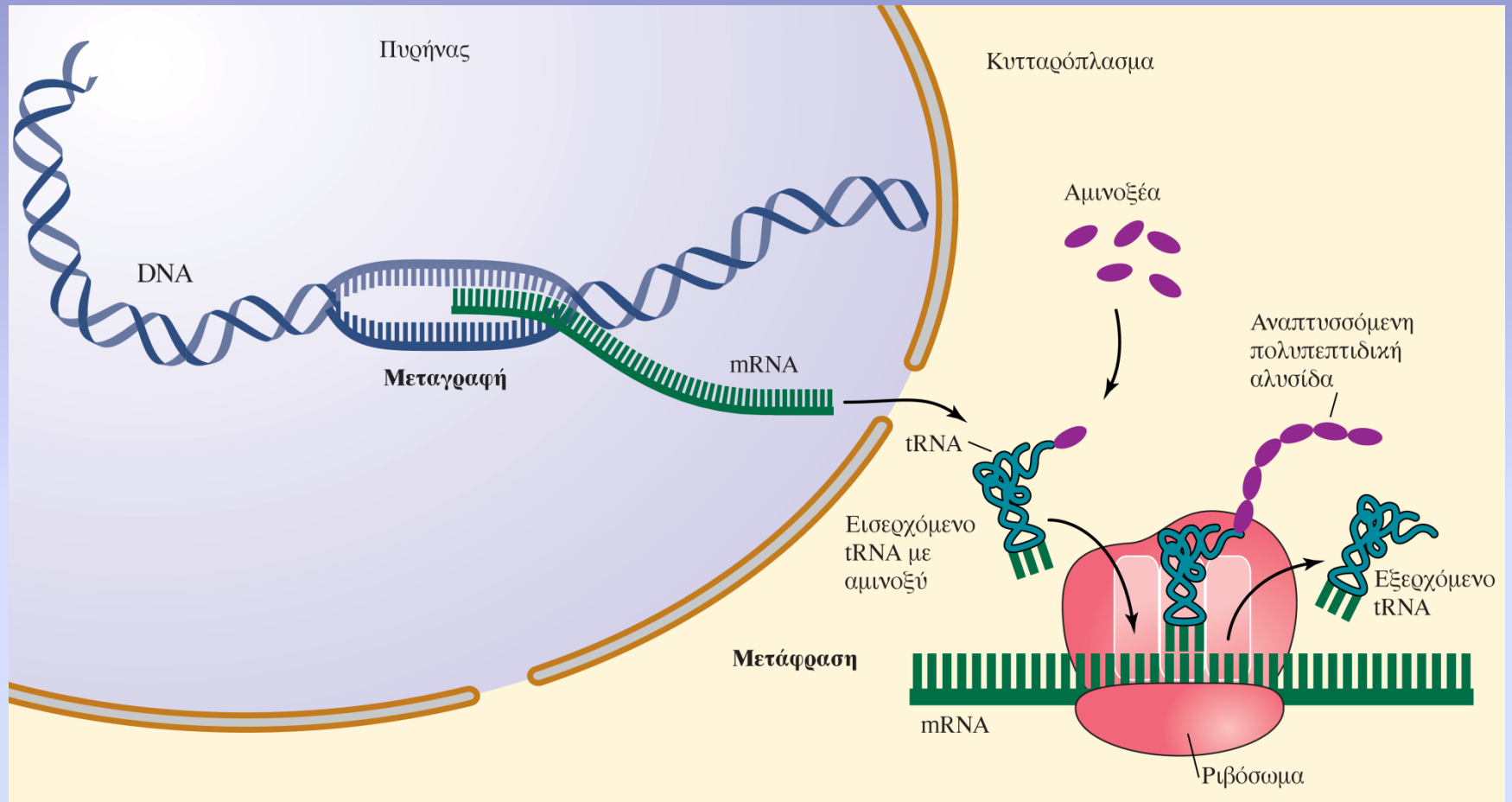
Εικόνα 1.23 Αυθόρμητες μεταλλάξεις συμβαίνουν σε όλο το γονίδιο *lacI* της *E. coli*, αλλά η συγκέντρωσή τους αυξάνεται στα θερμά σημεία.

Η αυθόρμητη απαμίνωση αλλάζει τις βάσεις



Εικόνα 1.24 Η απαμίνωση της κυτοσίνης παράγει ουρακίλη, ενώ η απαμίνωση της 5-μεθυλοκυτοσίνης παράγει θυμίνη.

ΕΙΚΟΝΑ 1.18 Απλουστευμένο διάγραμμα του μηχανισμού της πρωτεϊνοσύνθεσης σε κύτταρα ζώων, φυτών ή ζυμομυκήτων



Το μεταφορικό RNA (tRNA) μεταφέρει στο ριβόσωμα το αμινοξύ που πρέπει να συνδεθεί στο άκρο της επιμηκυνόμενης πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Το ριβόσωμα αναγνωρίζει τη συμπληρωματική τρινουκλεοδική αλληλουχία του tRNA (το αντικωδικόνιο) που ταιριάζει με το mRNA (το κωδικόνιο) και μεταφέρει την επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα στο εισερχόμενο αμινοξύ ενώ αυτό βρίσκεται συνδεδεμένο στο tRNA.

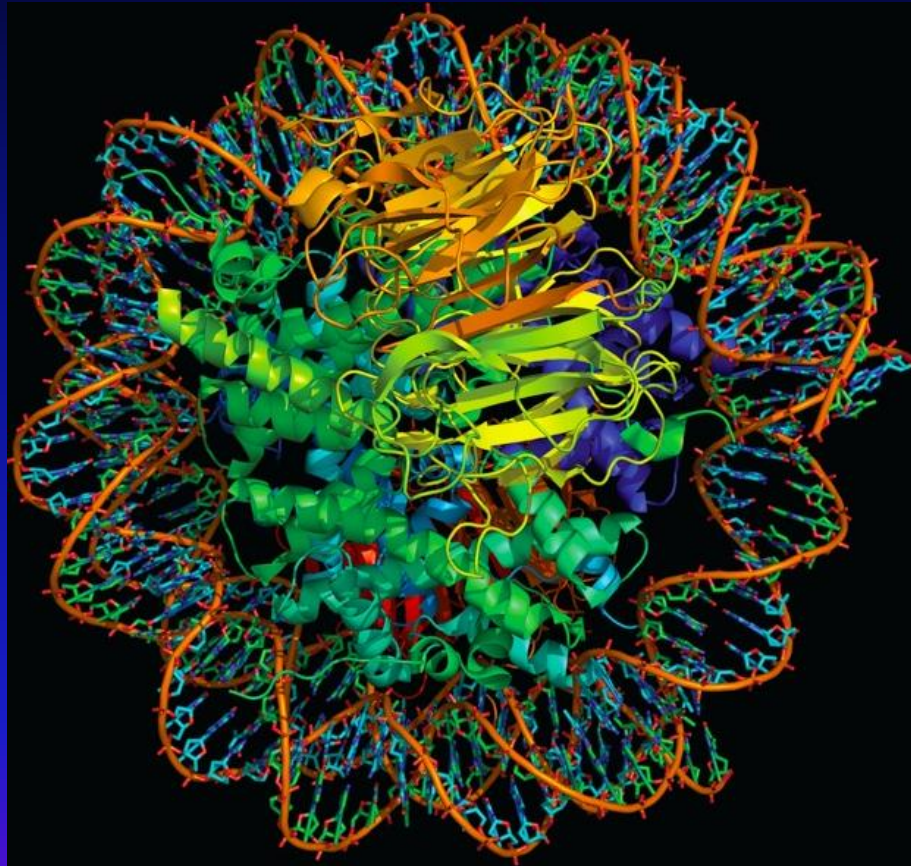
Βασικές αρχές Μοριακής Βιολογίας



Cambridge & Bartlett Learning 2014
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2015

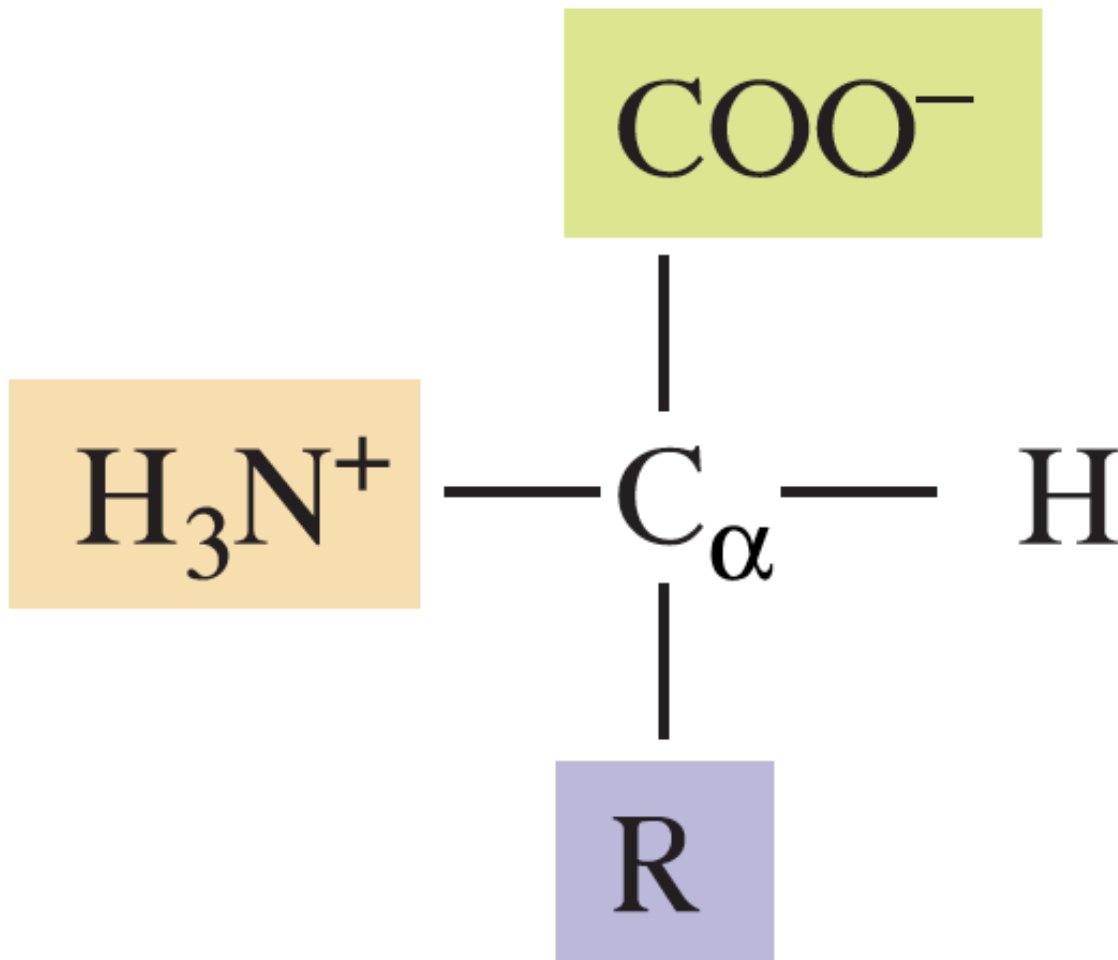


Burton E. Tropp



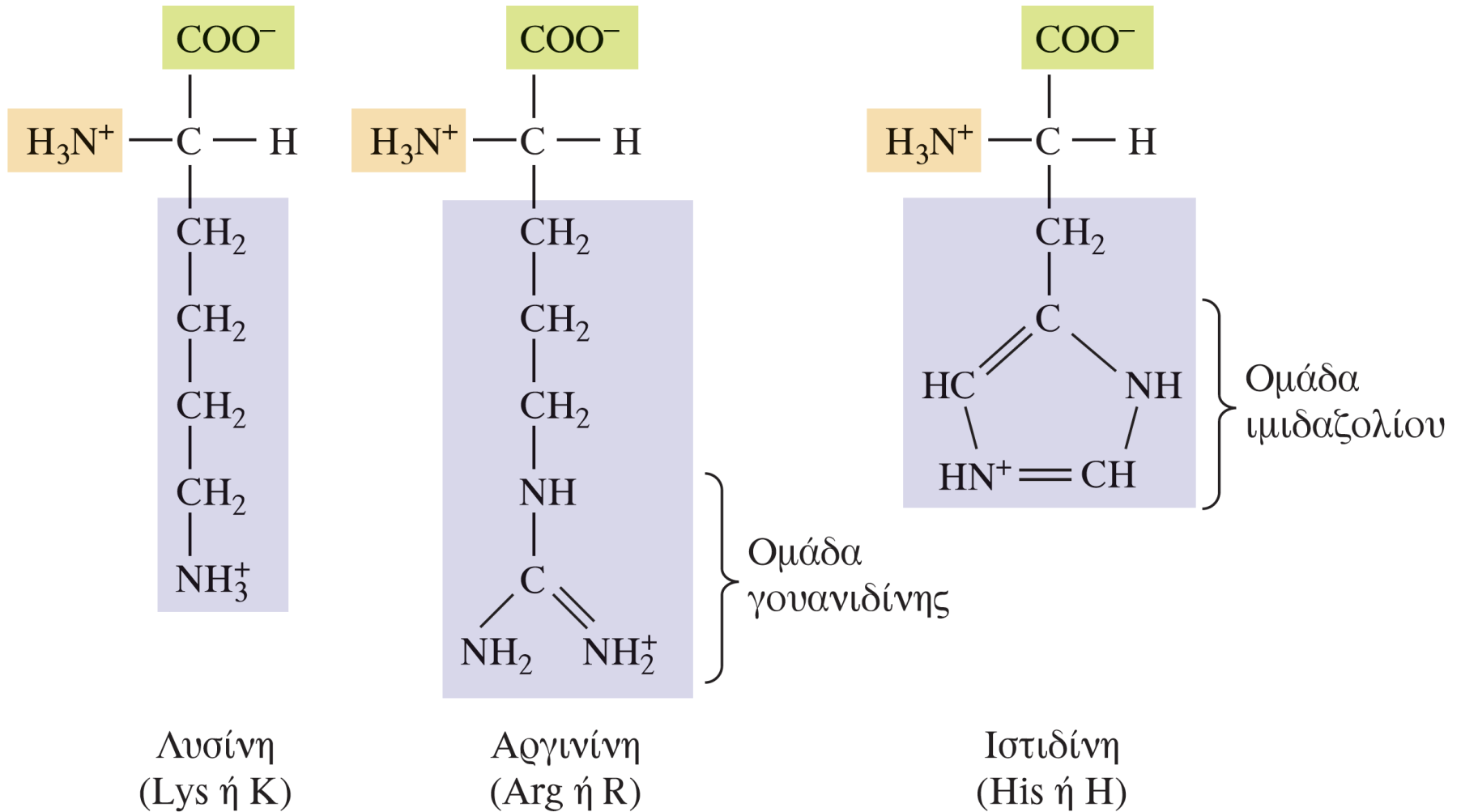
Κεφάλαιο 2: Δομή και λειτουργία των πρωτεϊνών

ΕΙΚΟΝΑ 2.1 Η δομή ενός α-αμινοξέος

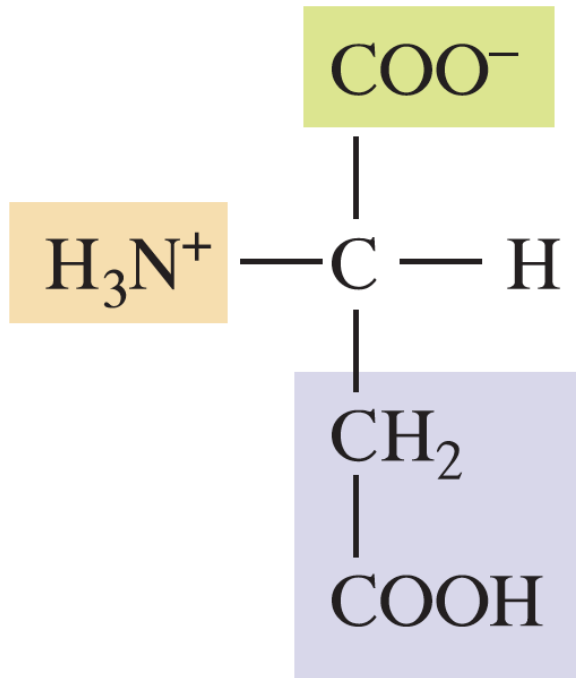


Ένα τυπικό α-αμινοξύ στο οποίο το κεντρικό άτομο άνθρακα ενώνεται με μία αμινομάδα ($-NH_3^+$), μία ρίζα καρβοξυλίου ($-COO^-$), ένα άτομο υδρογόνου και μία πλευρική αλυσίδα ($-R$).

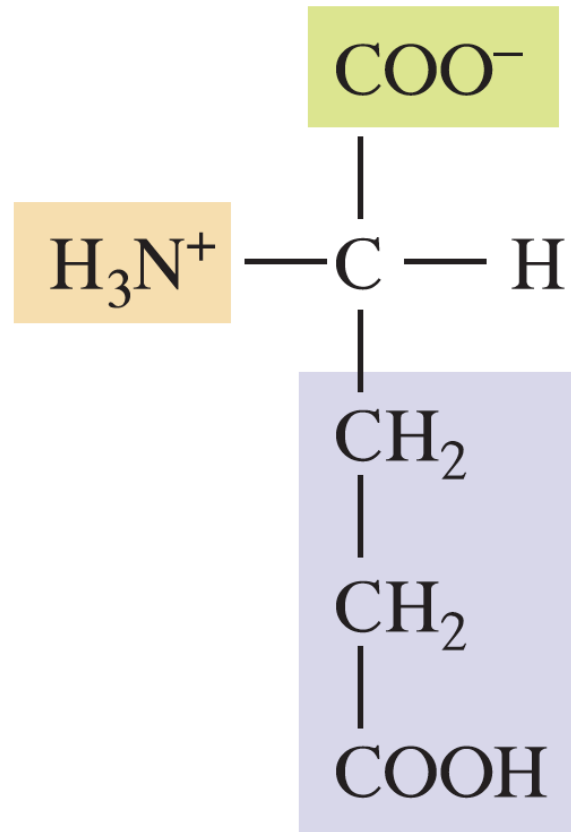
ΕΙΚΟΝΑ 2.3 Αμινοξέα με βασικές πλευρικές αλυσίδες



ΕΙΚΟΝΑ 2.4 Αμινοξέα με όξινες πλευρικές αλυσίδες

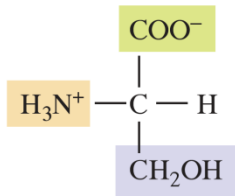


Ασπαρτικό οξύ
(Asp ή D)

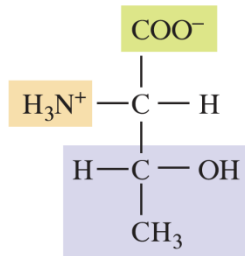


Γλουταμικό οξύ
(Glu ή E)

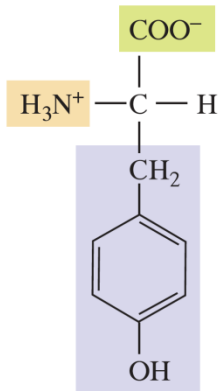
ΕΙΚΟΝΑ 2.5 Αμινοξέα με πολικές αλλά μη φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες σε pH 7,0.



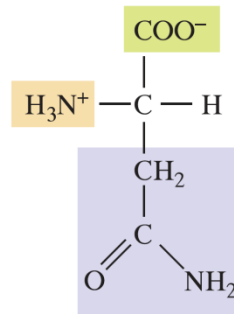
Σερίνη
(Ser ή S)



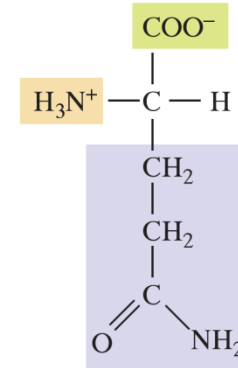
Θρεονίνη
(Thr ή T)



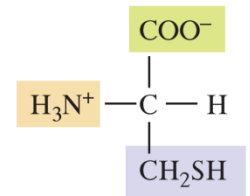
Τυροσίνη
(Tyr ή Y)



Ασπαραγίνη
(Asn ή N)

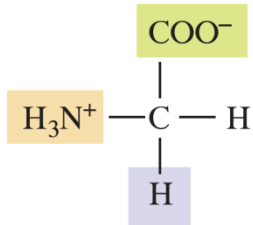


Γλουταμίνη
(Gln ή Q)

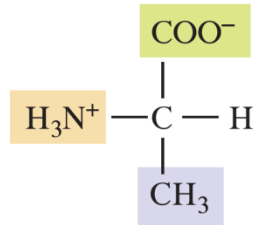


Κυστεΐνη
(Cys ή C)

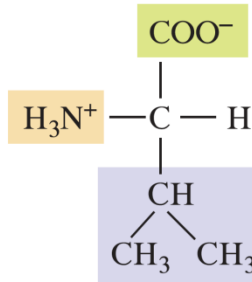
ΕΙΚΟΝΑ 2.7 Αμινοξέα με μη πολικές πλευρικές αλυσίδες



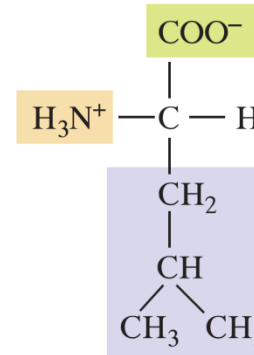
Γλυκίνη
(Gly ή G)



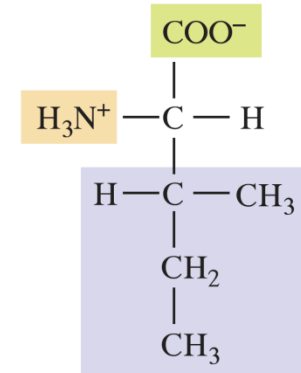
Αλανίνη
(Ala ή A)



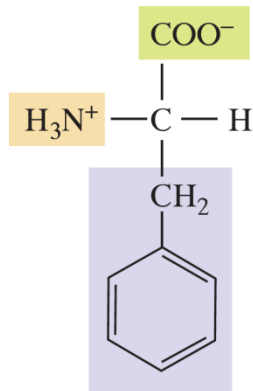
Βαλίνη
(Val ή V)



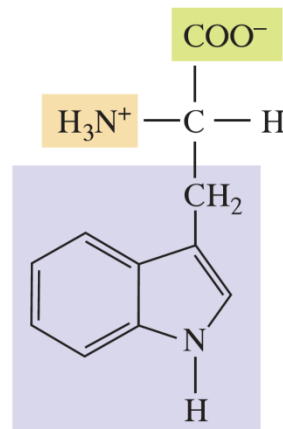
Λευκίνη
(Leu ή L)



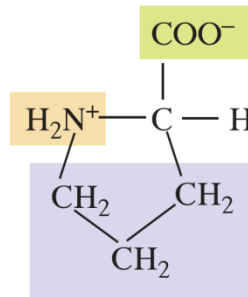
Ισολευκίνη
(Ile ή I)



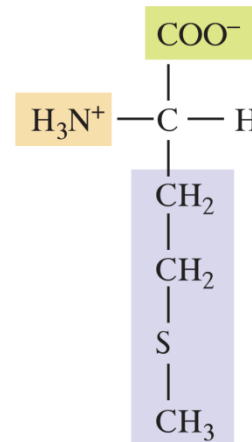
Φαινυλαλανίνη
(Phe ή F)



Τρυπτοφάνη
(Trp ή W)

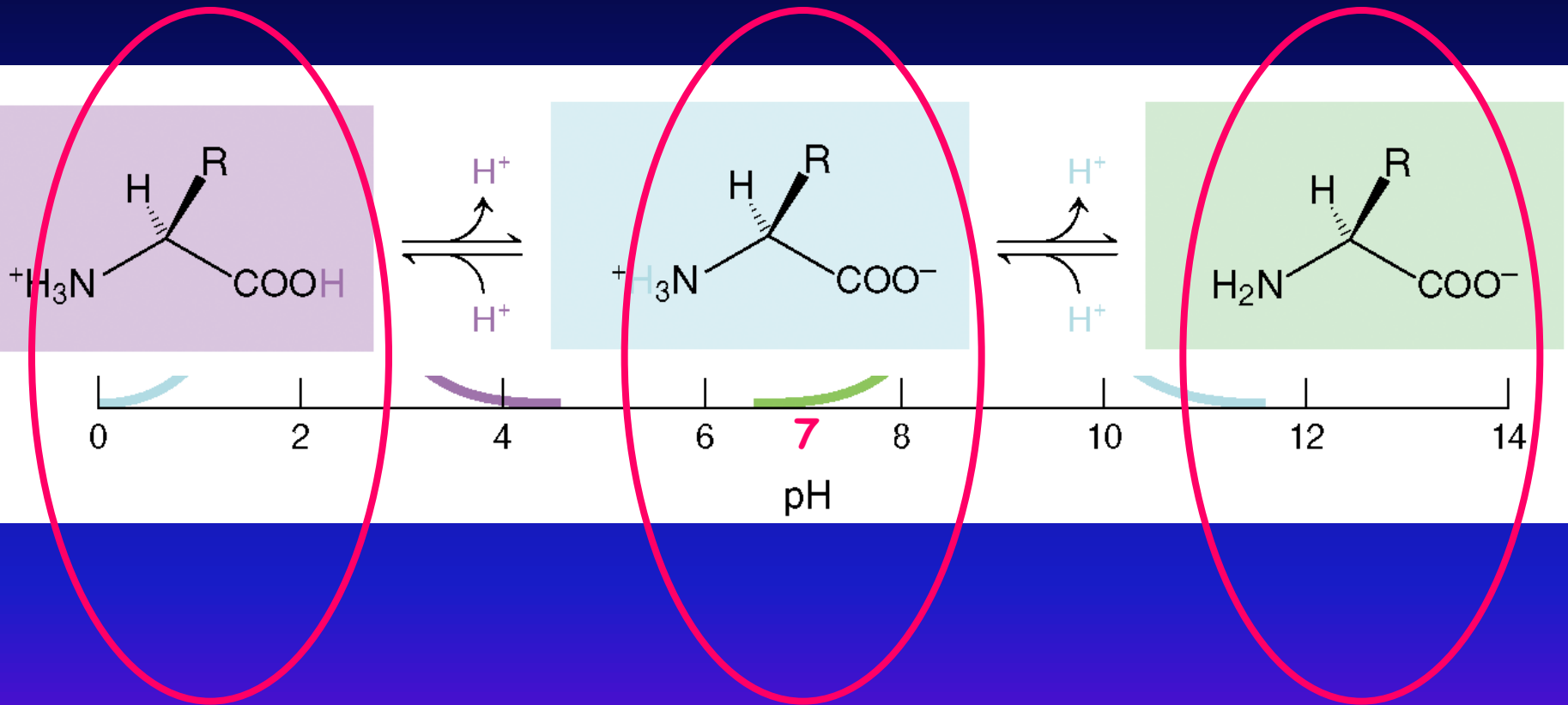


Προλίνη
(Pro ή P)

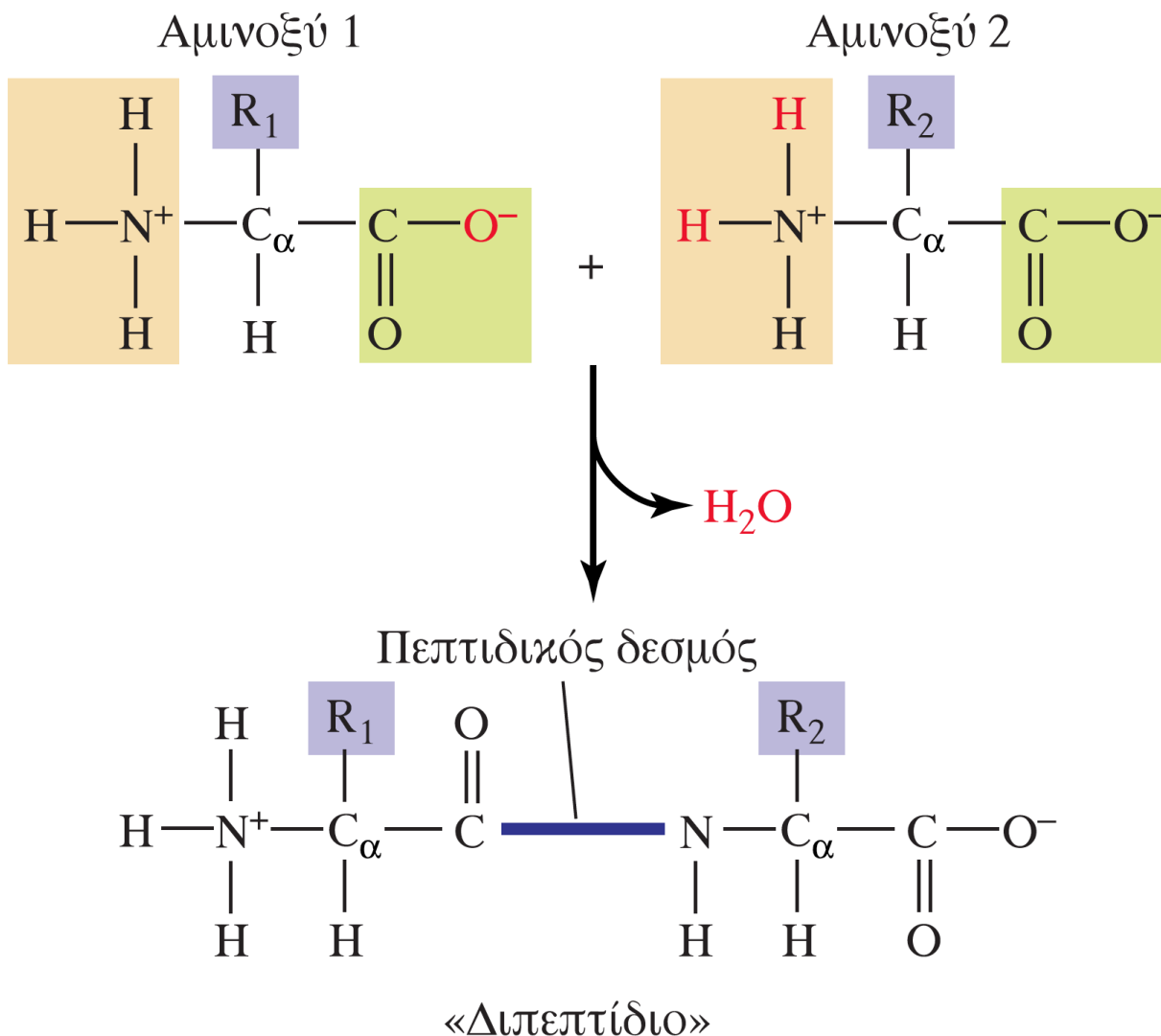


Μεθειονίνη
(Met ή M)

Τα αμινοξέα σε ουδέτερο pH συμπεριφέρονται ως δίπολα

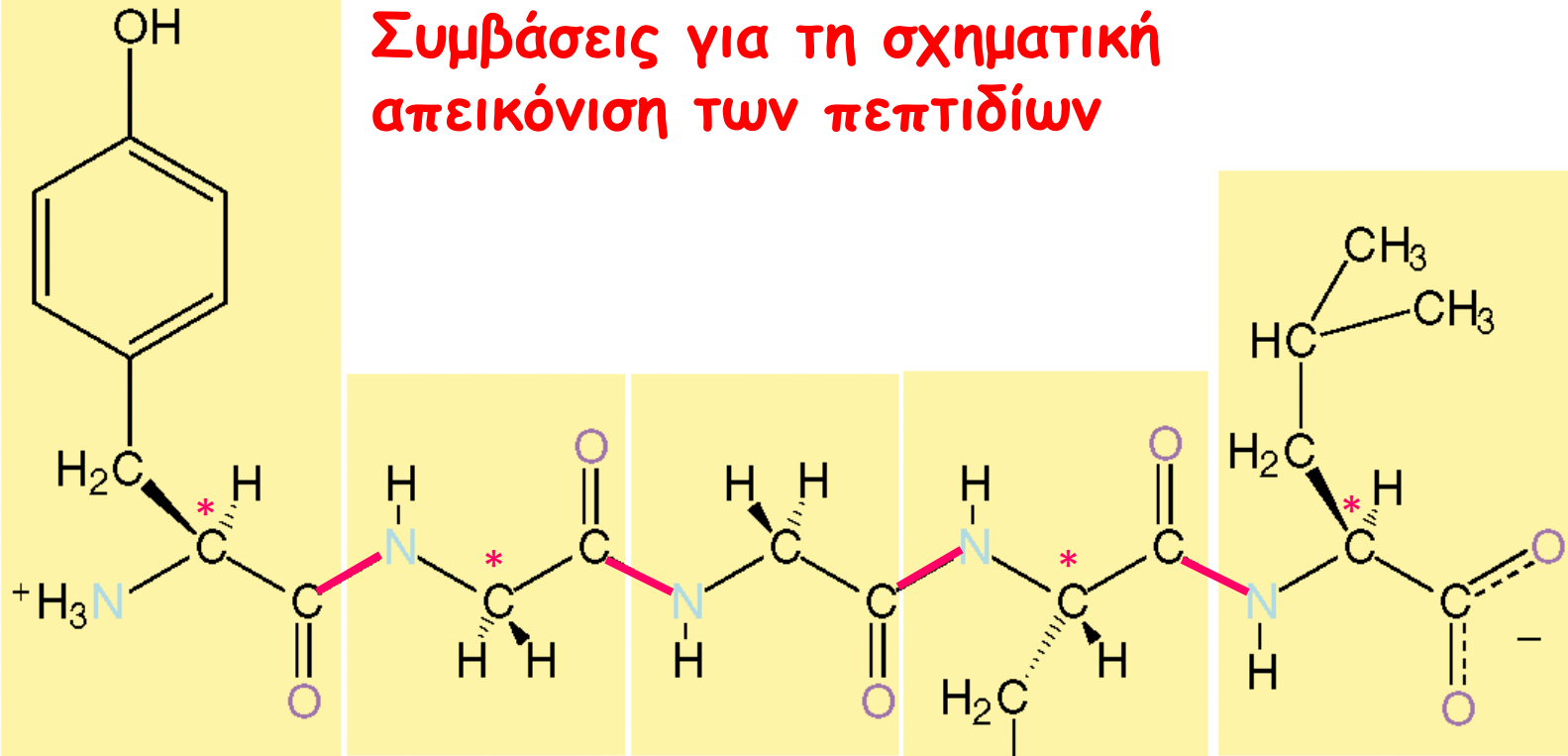


ΕΙΚΟΝΑ 2.8 Σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού



Για τον σχηματισμό ενός διπεπτιδίου δύο αμινοξέα συνδέονται ομοιοπολικά μεταξύ τους με ταυτόχρονη αποβολή ενός μορίου νερού. Ο πεπτιδικός δεσμός φαίνεται με πορφυρό χρώμα.

Συμβάσεις για τη σχηματική απεικόνιση των πεπτιδίων



Αμινο-τελικό
άκρο
(N-τελικό)

Καρβοξυ-τελικό
άκρο
C-τελικό

Tyr

Gly

Gly

Phe

Leu

Αμινο-τελικό
κατάλοιπο



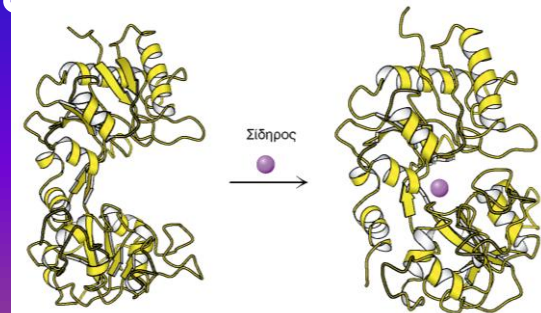
Καρβοξυ-τελικό
κατάλοιπο

Ρόλος πρωτεϊνών

- Κατάλυση
- Μεταφορά και αποθήκευση άλλων μορίων
- Μηχανική στήριξη
- Ανοσοπροστασία
- Κίνηση
- Διαβίβαση νευρικών ώσεων
- Ανάπτυξη
- Διαφοροποίηση

Χαρακτηριστικές ιδιότητες πρωτεϊνών

- Γραμμικά πολυμερή αμινοξέων
- Περιέχουν πολλά ήδη λειτουργικών ομάδων (-OH, -SH, -O-, -COOH)
- Αλληλεπιδρούν και δημιουργούν πολύπλοκα συσσωματώματα
- Άκαμπτες ή εύκαμπτες ανάλογα με τη δράση τους



- Πρωτεΐνες: αποτελούνται από 50 ως 2000 αμινοξέα
- Πεπτίδια: έχουν λιγότερα από 50αα
- Μέσο ΜΒ αα =110
- ΜΒ πρωτεΐνης από 5500 - 220000 ή
5,5 kd- 220 kd

Μια πρωτεΐνη έχει απόλυτα καθορισμένη αλληλουχία από το DNA

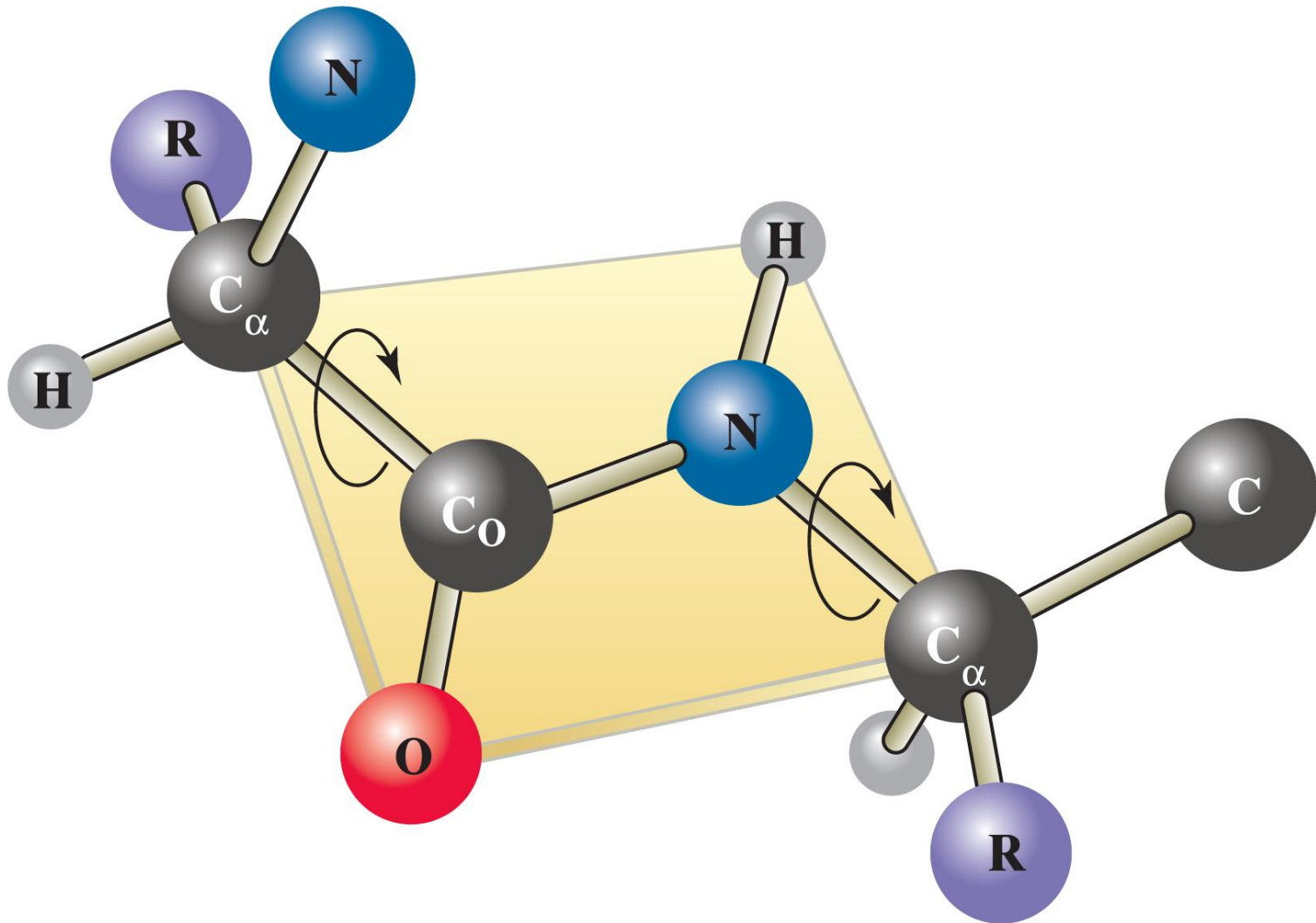
- Τροποποίηση της αλληλουχίας (από φύση) μπορεί να οδηγήσει σε ασθένεια
- Μπορεί ο άνθρωπος να δημιουργήσει τροποποιημένες πρωτεΐνες με νέες ιδιότητες (πχ φάρμακα)

Πεπτιδικός δεσμός

1. Πρωτοταγής δομή πρωτεΐνης

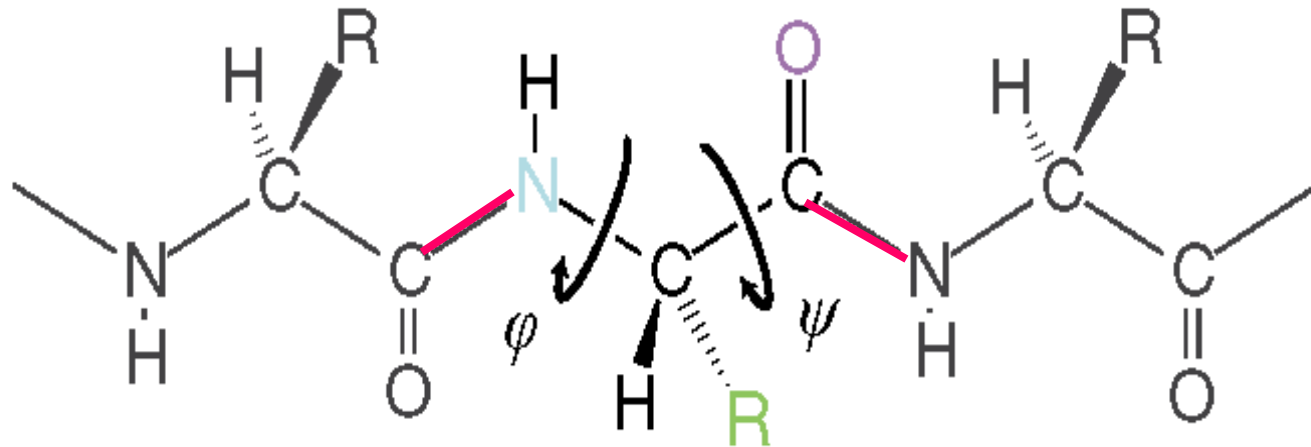
ΔΟΜΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Ελευθερία περιστροφής γύρω από τους δεσμούς $C\alpha-C_0$ και $N-C\alpha$



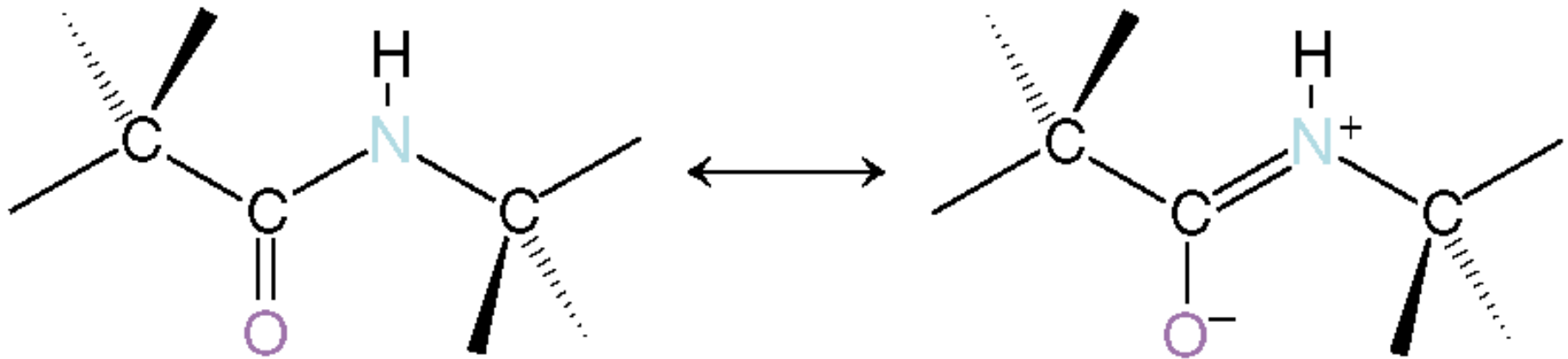
Δομή - λειτουργία του πεπτιδικού δεσμού

- Υπάρχει ελεύθερη περιστροφή γύρω από τους άλλους δεσμούς το σκελετού ($C-C^*$ και $N-C^*$) →
- Οι πρωτεΐνες μπορούν να αναδιπλωθούν με πολλούς τρόπους



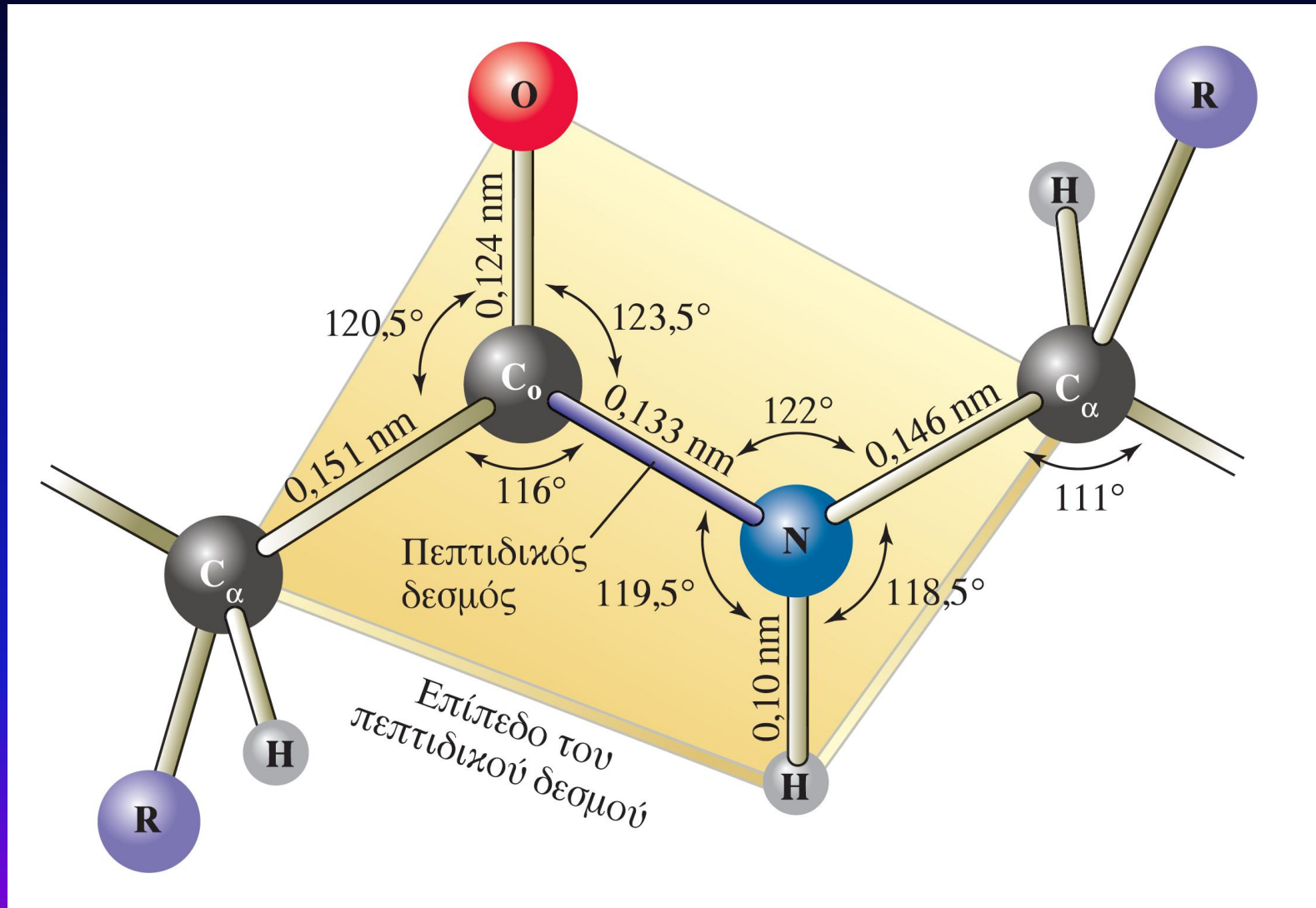
Δομή - λειτουργία του πεπτιδικού δεσμού

- Ο Πεπτιδικός δεσμός είναι επίπεδος (6 άτομα). Έχει εν μέρει χαρακτήρα διπλού δεσμού



Δομές συντονισμού του πεπτιδικού δεσμού

ΕΙΚΟΝΑ 2.9 Ο ΠΕΠΤΙΔΙΚΟΣ δεσμός



(α) Πεπτιδικός δεσμός trans

Στερικός αποκλεισμός (Steric hindrance)

- Οι γωνίες φ και ψ δεν μπορούν να πάρουν οποιεσδήποτε τιμές λόγω στερεοχημικής παρεμπόδισης από ογκώδεις (ή έντονα ομοειδώς φορτισμένες) πλευρικές αλυσίδες
- Για κάποιους συνδυασμούς αα υπάρχουν πολλές πιθανές δομές ενώ για άλλους λίγες

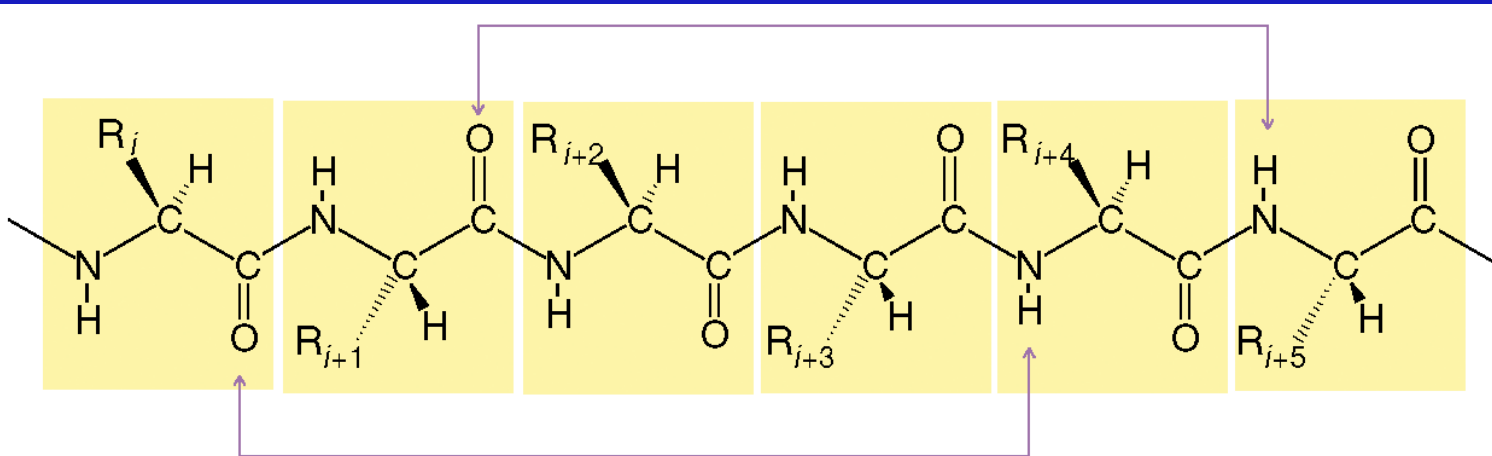
2. Δευτεροταγής δομή

- Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες αναδιπλώνονται σε κανονικές δομές
- α-έλικα
- β-πτυχωτή επιφάνεια

α-έλικα

α-έλικα

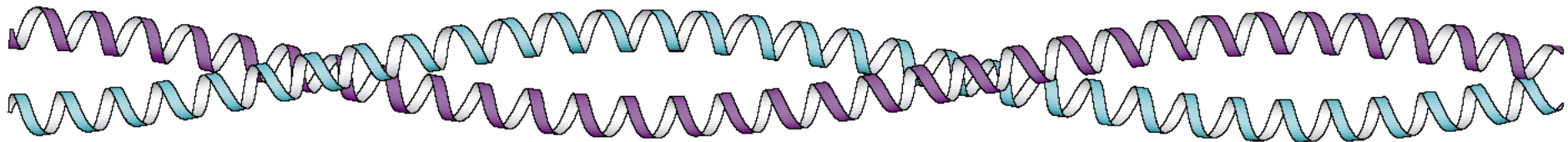
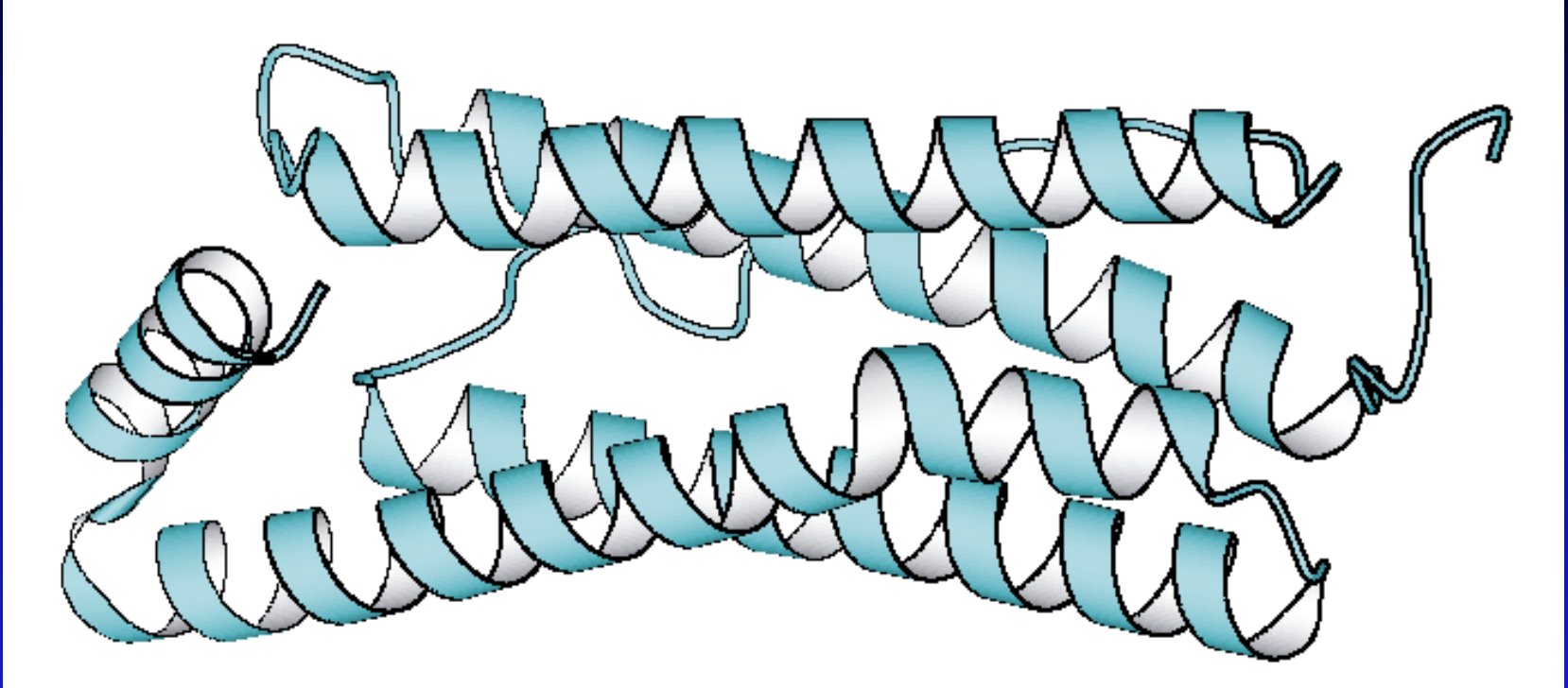
- Ο κορμός της πεπτικής αλυσίδας στο εσωτερικού του σπειράματος
- Οι πλευρικές αλυσίδες εκτείνονται προς τα έξω
- Σταθεροποιείται με δH ανά 4 αμινοξέα
- δH μεταξύ NH και $C=O$



α-έλικα

- Κάθε αμινοξύ απέχει από το διπλανό του $1,5^{\circ}\text{A}$
- Το βήμα της έλικας είναι $3,6$ αμινοξέα ή $5,4^{\circ}\text{A}$
- Όλες οι φυσικές πρωτεΐνες έχουν δεξιόστροφη έλικα (λιγότερες στερικές συγκρούσεις)
- Οι α-έλικες βρίσκονται ως τμήματα πρωτεϊνών $\text{max } 45^{\circ}\text{A}$
- Αλλά και ως υπερελικομένου (συσπειρωμένου) σπειράματος

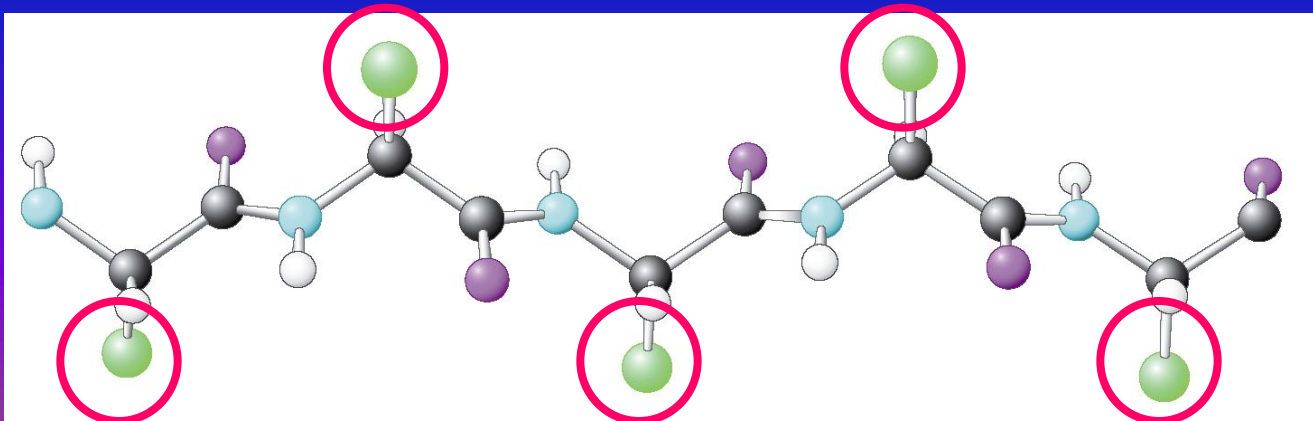
α -έλικα



20 Å

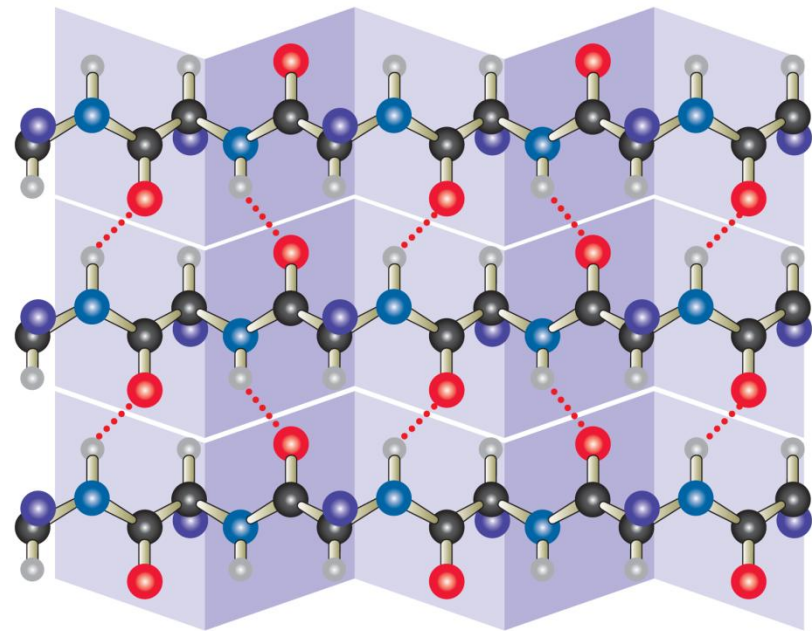
β-πτυχωτή επιφάνεια

- Αποτελούνται από απλωμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες τις β-πτυχώσεις
- Η απόσταση γειτονικών αμινοξέων είναι $3,5^{\circ}\text{A}$ (και όχι $1,5^{\circ}\text{A}$)
- Οι πλευρικές αλυσίδες γειτονικών αμινοξέων έχουν αντίθετη κατεύθυνση

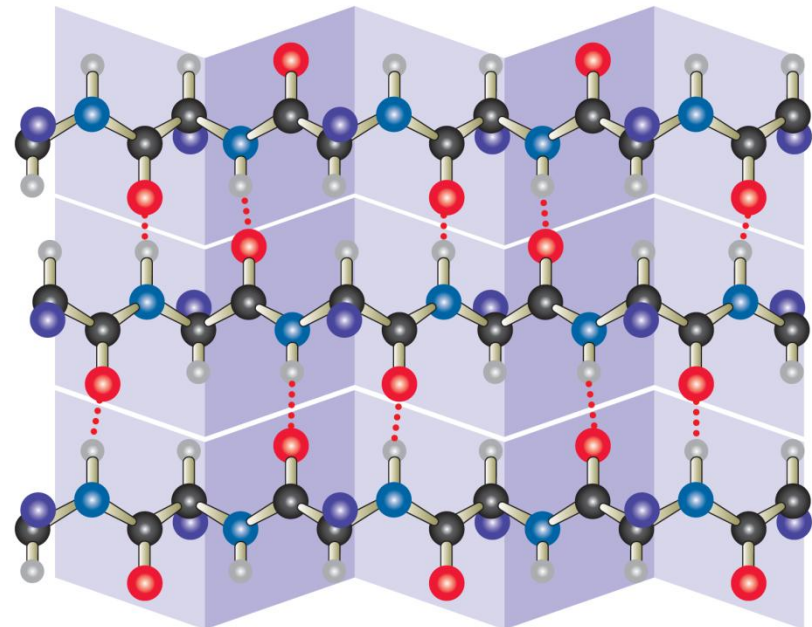


- Η β -πτυχωτή επιφάνεια δημιουργείται όταν 2 ή περισσότερες β -πτυχώσεις συνδεθούν με δH
- Οι πτυχώσεις μπορεί να είναι
 - παράλληλες
 - αντιπαράλληλες
 - μεικτές

(α) Παράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια

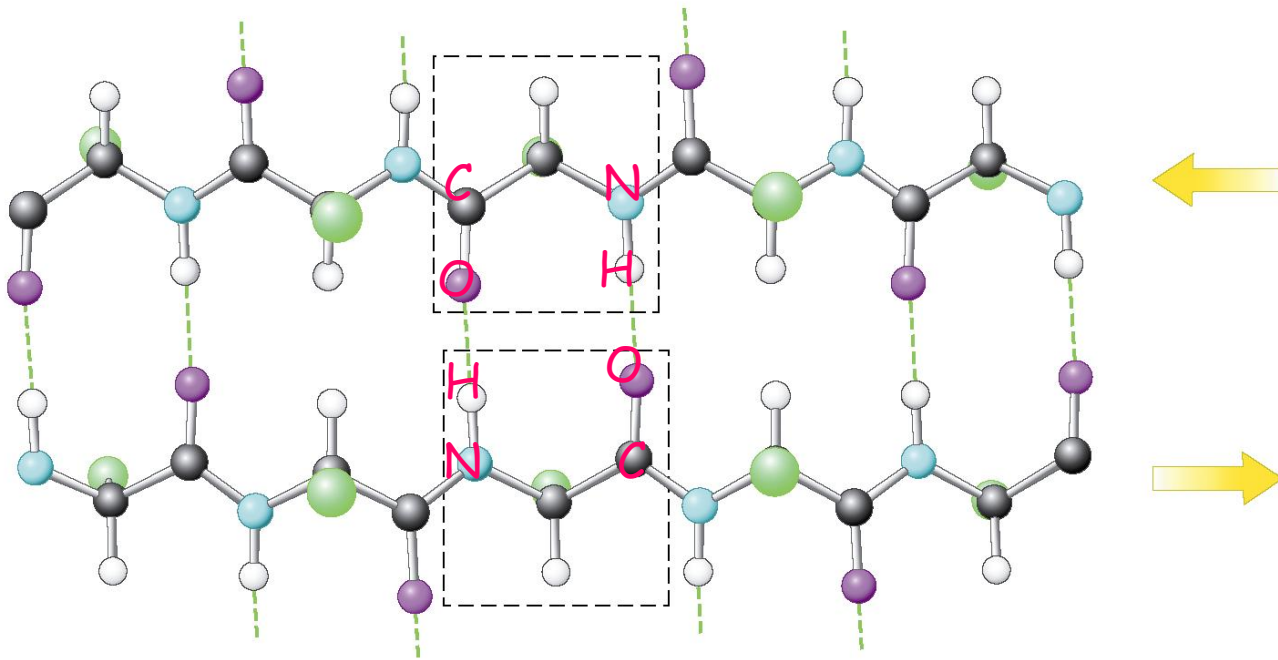


(β) Αντιπαράλληλη β-πτυχωτή επιφάνεια

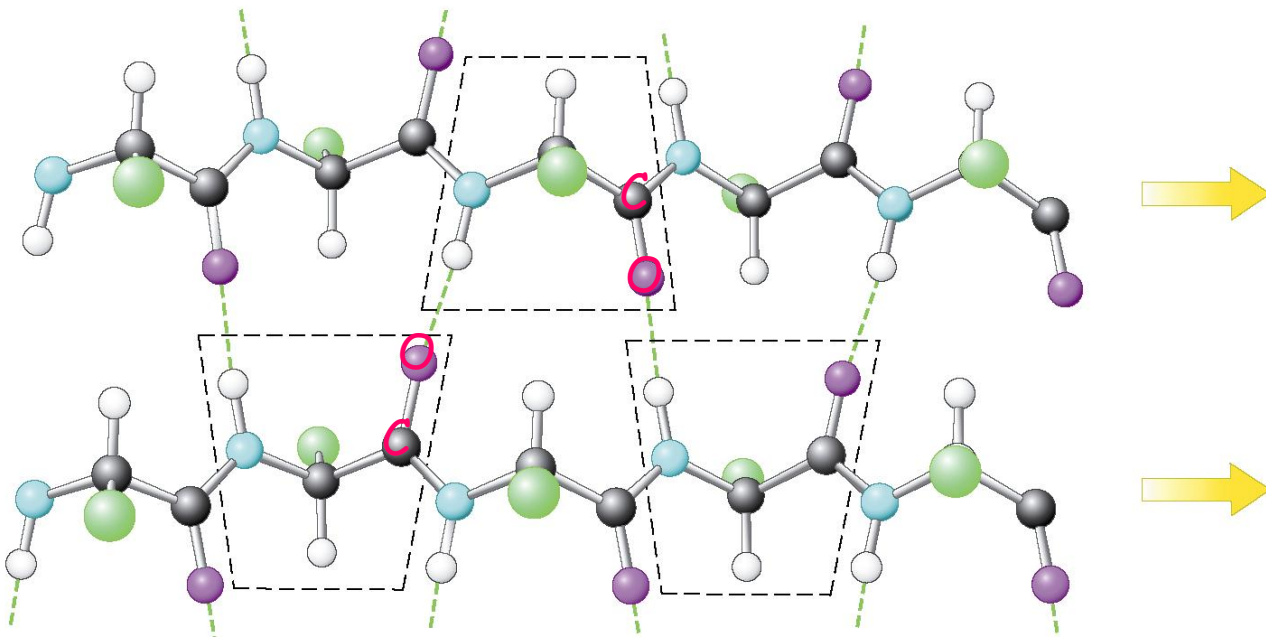


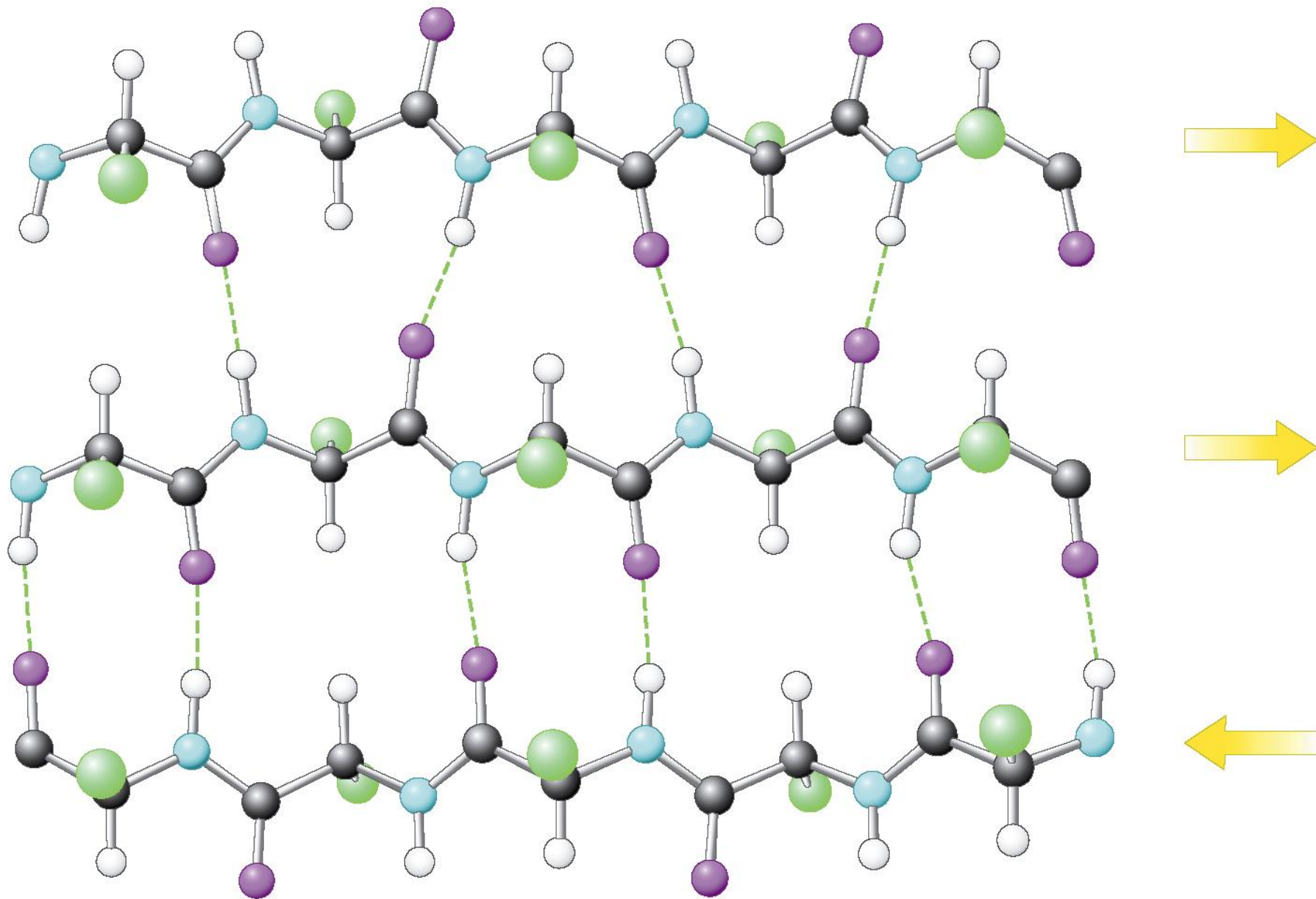
ΕΙΚΟΝΑ 2.24 Η β-διαμόρφωση των πολυπεπτιδικών αλυσίδων

Πολυπεπτιδικές αλυσίδες που βρίσκονται σε β-διαμόρφωση μπορούν να στοιχηθούν μεταξύ τους σε τέτοια διάταξη, ώστε οι ομάδες C=O και N-H των γειτονικών αλυσίδων να αλληλεπιδρούν μέσω δεσμών υδρογόνου, σχηματίζοντας μία σχεδόν επίπεδη δομή που ονομάζεται β-επιφάνεια ή β-φύλλο. Η διάταξη αυτή προσδίδει στη β-επιφάνεια πτυχωτή εμφάνιση, με τα διαδοχικά άτομα Cα κάθε πολυπεπτιδικής αλυσίδας να βρίσκονται εναλλάξ λίγο ψηλότερα ή λίγο χαμηλότερα από το επίπεδο της επιφάνειας. Η δομή της β-επιφάνειας είναι οργανωμένη με τέτοιον τρόπο, ώστε να σχηματίζει (α) μία παράλληλη πτυχωτή επιφάνεια, στην οποία όλες οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες προσανατολίζονται στην ίδια κατεύθυνση από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό τους άκρο, ή (β) μία αντιπαράλληλη πτυχωτή επιφάνεια, στην οποία οι διαδοχικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες προσανατολίζονται σε αντίθετες κατευθύνσεις. Ο χρωματικός κώδικας που χρησιμοποιείται είναι ίδιος με αυτόν της Εικόνας 2.23.



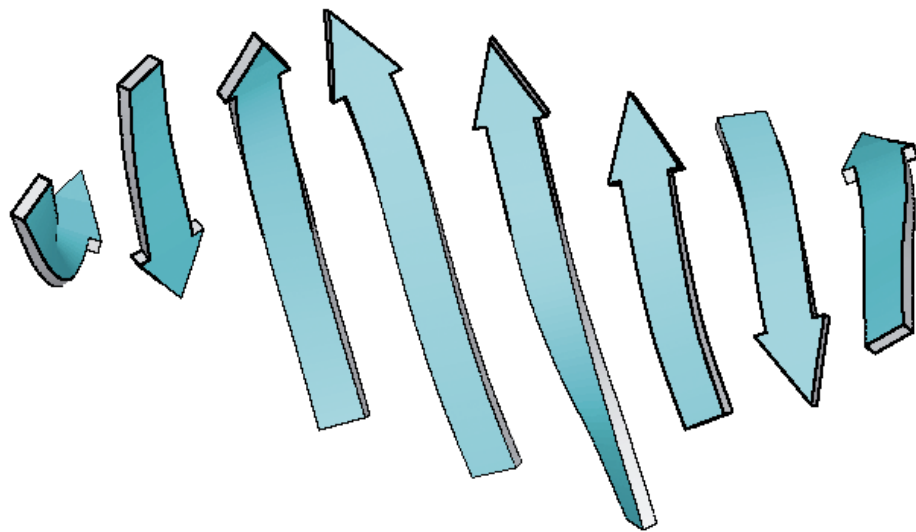
δH
C=O και NH



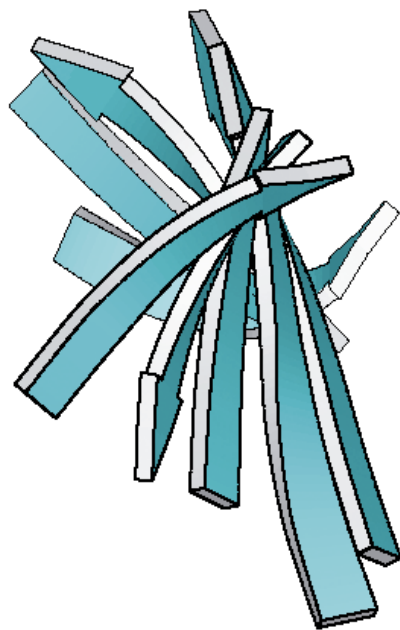


ΕΙΚΟΝΑ 3.39 Δομή μιας μεικτής β-επιφάνειας.

(B)

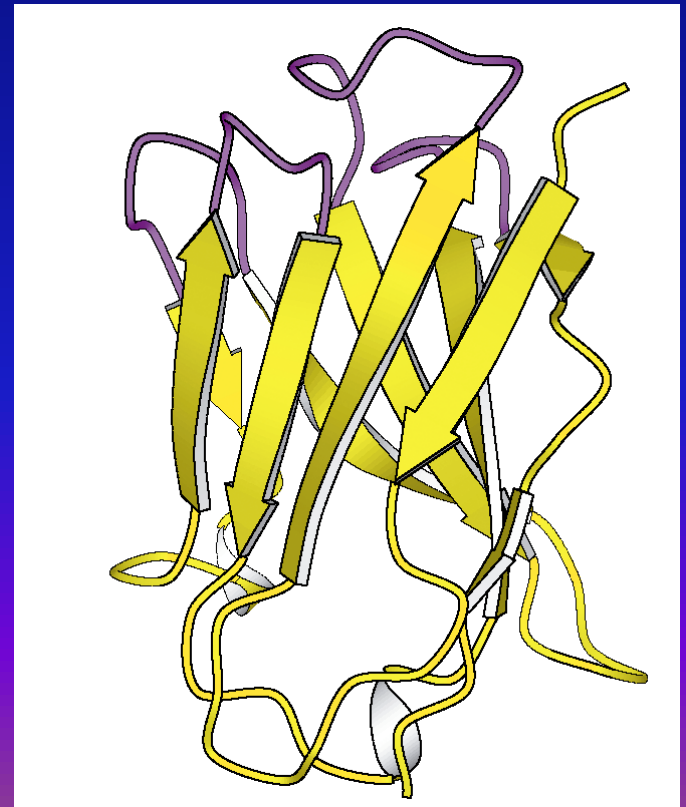
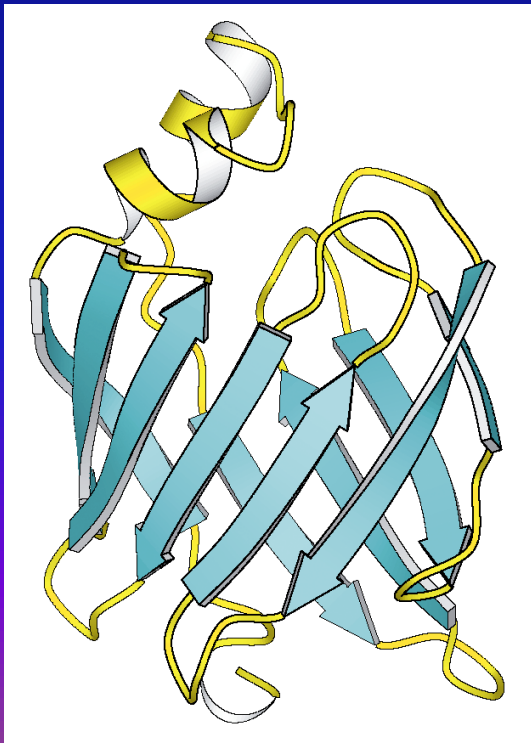


(Г)



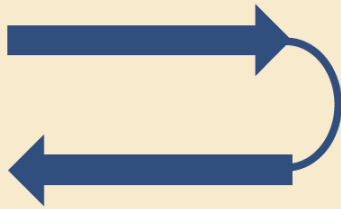
Ένωση πολυπεπτιδικών αλυσίδων

- Με β -στροφή (κάμψη φουρκέτας, hairpin loop)
- Ω -θηλιές

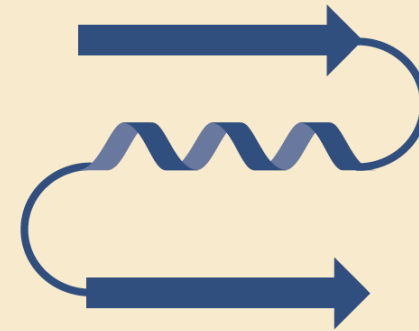


ΕΙΚΟΝΑ 2.26 Παραδείγματα υπερδευτεροταγών πρωτεϊνικών δομών

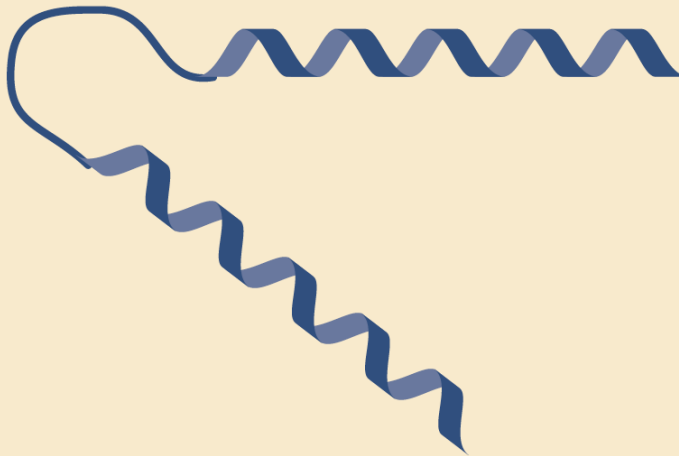
(α) Στροφή φουρκέτας



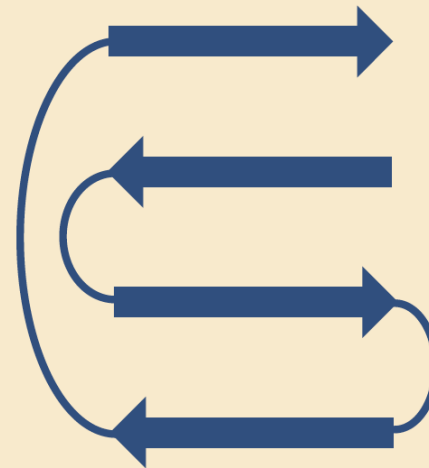
(β) Μοτίβο β-α-β



(γ) Έλικο-βρόχος-κλειδί



(δ) Ελληνικό κλειδί

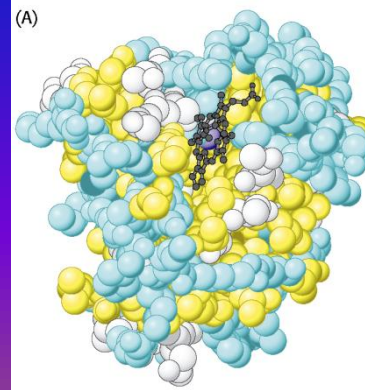
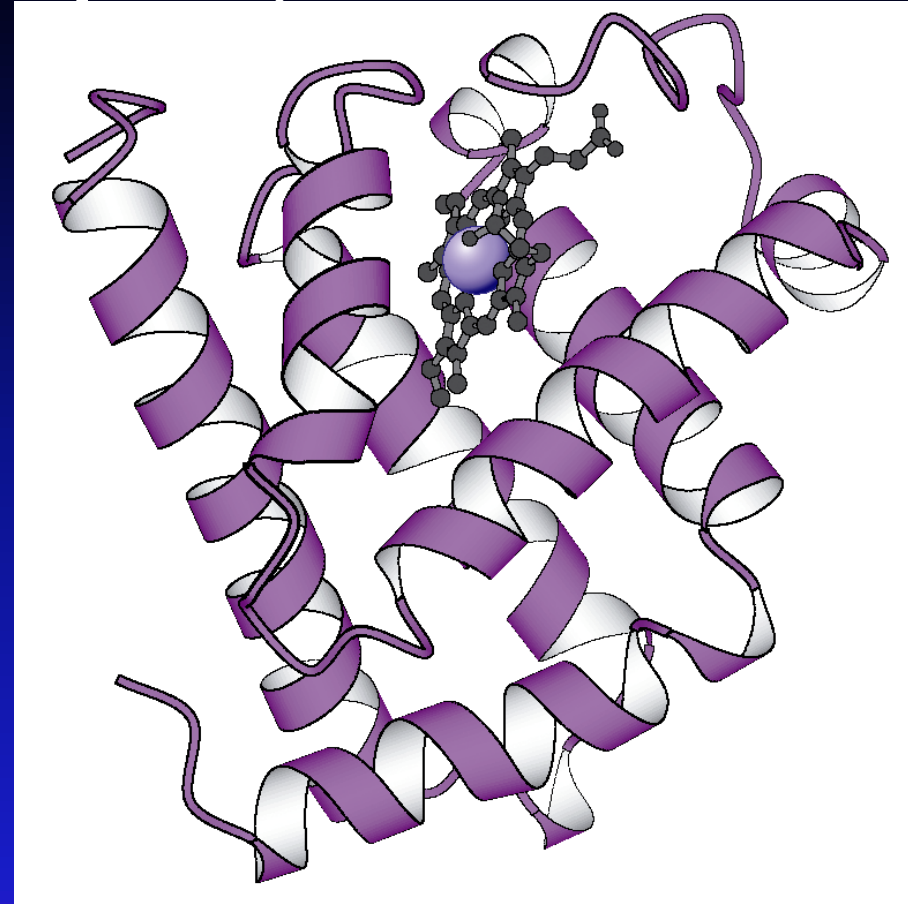


3. Τριτοταγής δομή

- Βρίσκεται με κρυσταλλογραφία με ακτίνες X και φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR)
- Μυοσφαιρίνη:
- 153 αα,
- διαστάσεις $45 \times 35 \times 25^\circ \text{A}$,
- οκτώ έλικες,
- συμπαγής πολύπλοκη δομή
- στερείται συμμετρίας

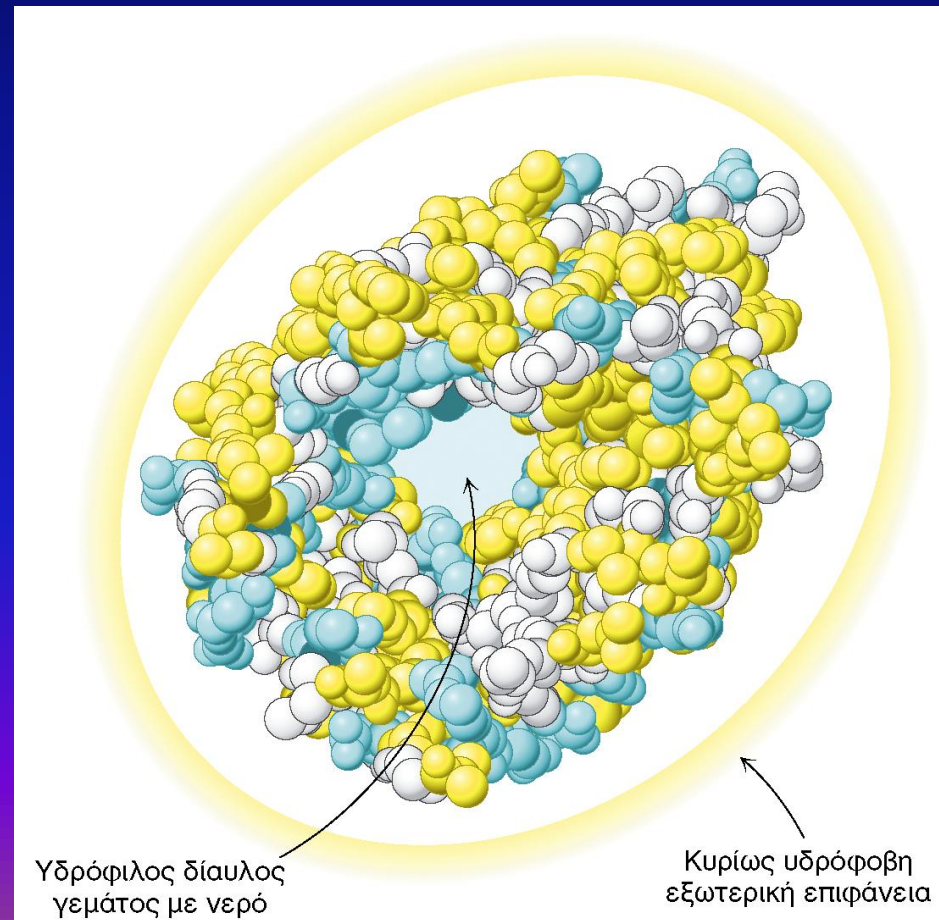
Μυοσφαιρίνη

- Μη πολικά αμινοξέα στο εσωτερικό
- Πολικά αμινοξέα στο εξωτερικό
- Οι πολυπεπτιδικοί δεσμοί έχουν H και C=O που προτιμούν το νερό για δημιουργία δH.
- Όμως καταλαμβάνονται όλα σε μια α-έλικα ή σε β-επιφάνεια
- Οι αλληλεπιδράσεις van der Waals σταθεροποιούν ακόμη περισσότερο



Διαφορά πρωτεϊνών σε υδρόφιλο και υδρόφοβο περιβάλλον

- Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν την κυτταρική μεμβράνη έχουν εξωτερικά τα υδρόφοβα αμινοξέα και εσωτερικά τα υδρόφιλα



Αλυσίδα Α

Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn

5

10

15

21

Αλυσίδα Β

Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala

5

10

15

20

25

30

S

S

S

S

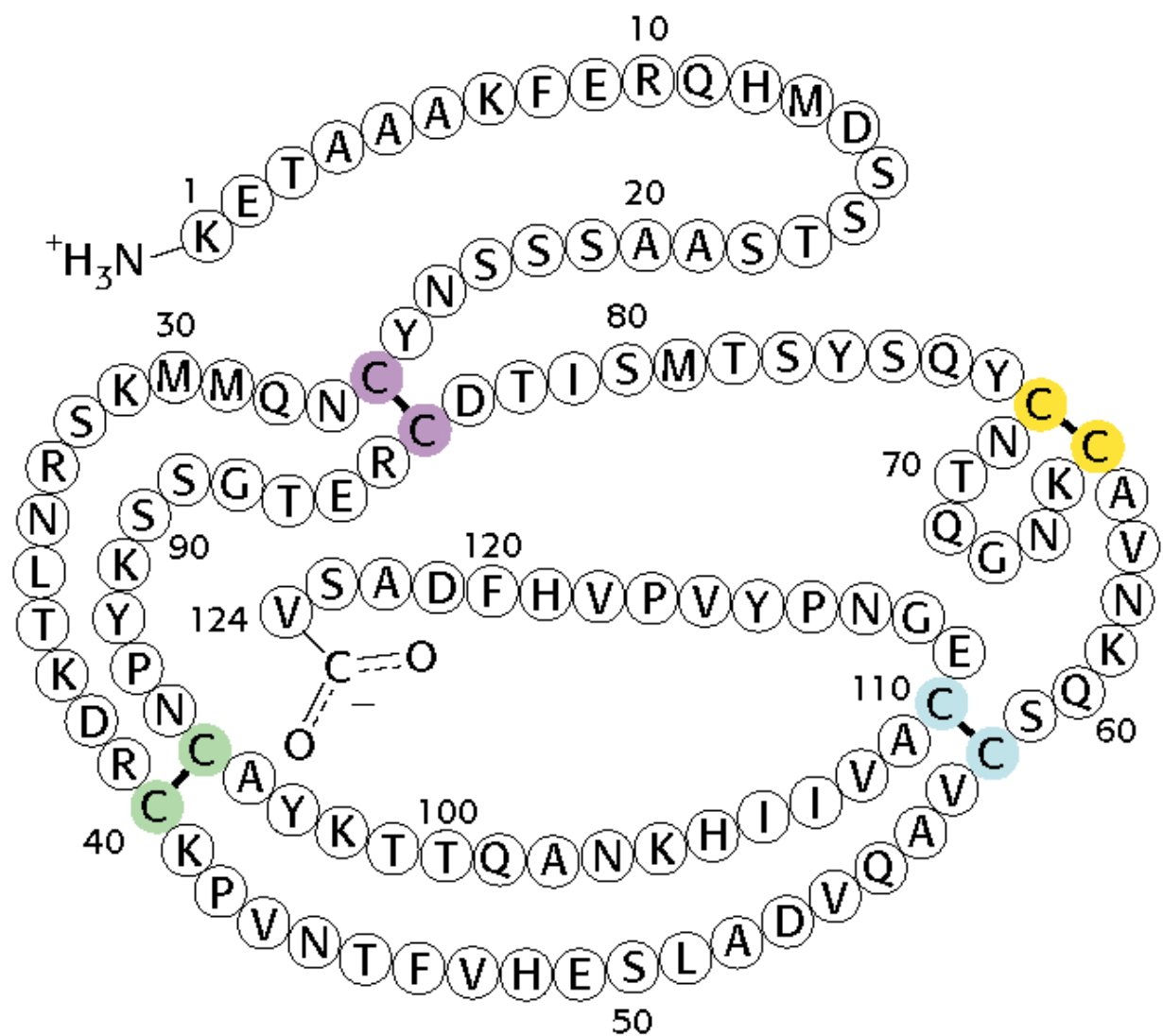
S

S

ΕΙΚΟΝΑ 3.22 Η αλληλουχία αμινοξέων βόειας ινσουλίνης.

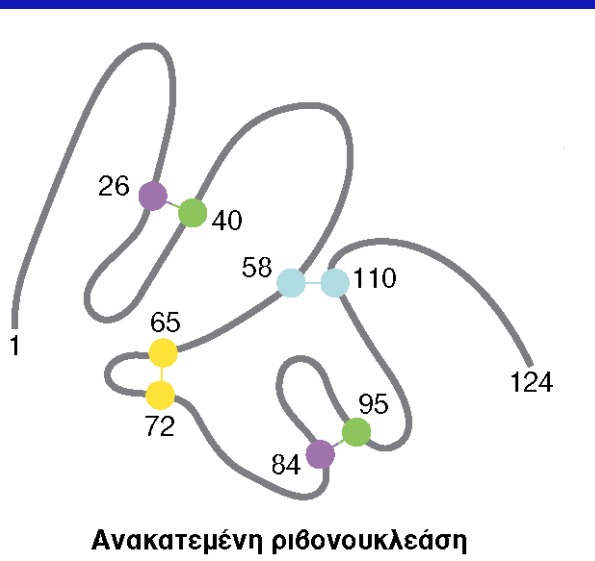
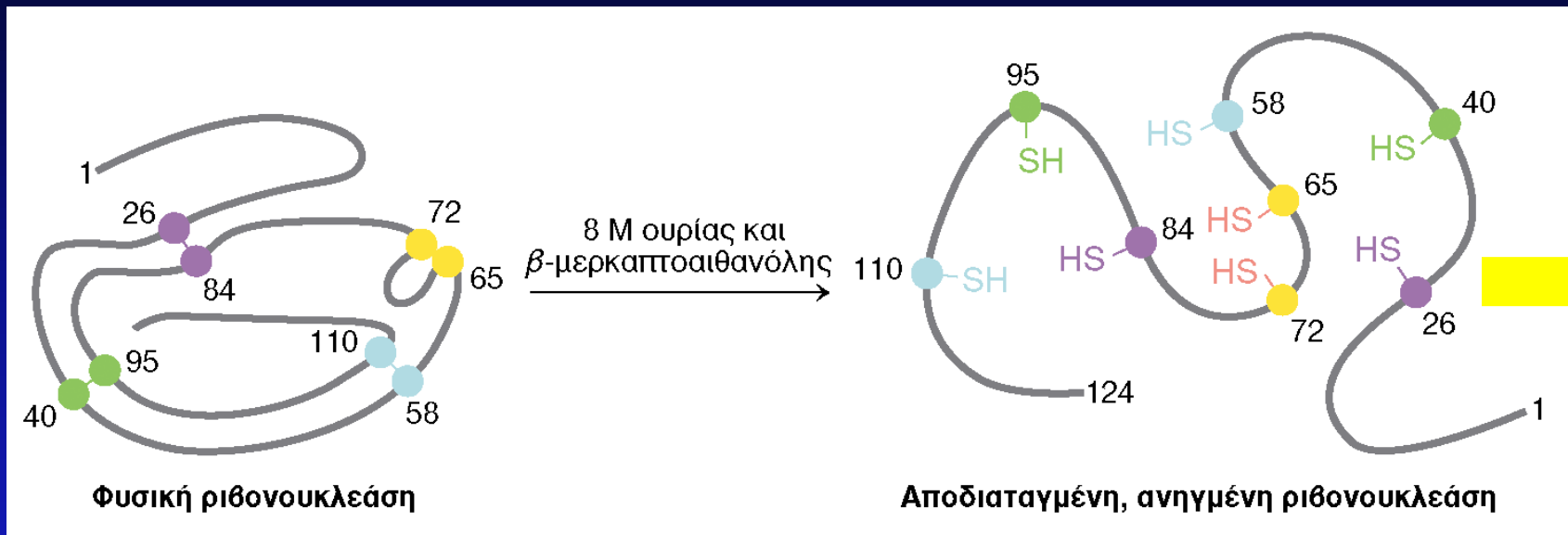
Τι καθορίζει την τρισδιάστατη δομή των πρωτεϊνών

- Αλληλουχία
- δH
- Δεσμοί S-S
- Ελάττωση Ελεύθερης Ενέργειας

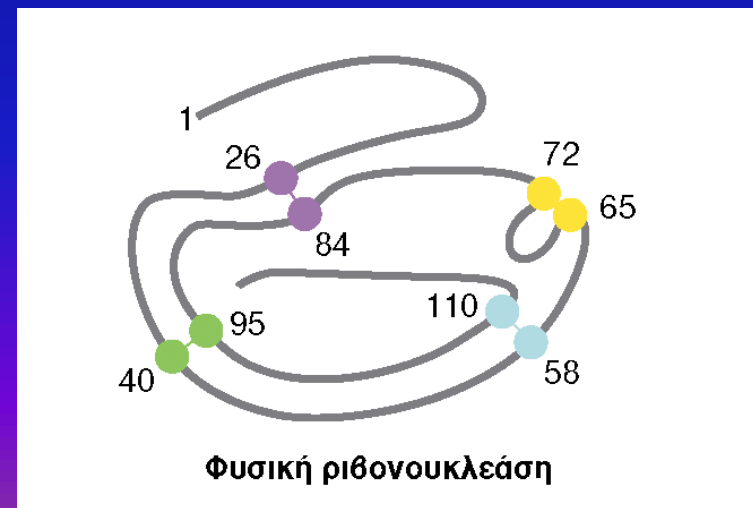


ΕΙΚΟΝΑ 3.51 Η αλληλουχία αμινοξέων της βό-
 ρειας ριβονουκλεάσης. Οι τέσσερις δισουλφιδι-

Αναγωγή και αποδιάταξη της ριβονουκλεάσης



Με διαπίδυση αποκτά σταδιακά ενζυμική δραστικότητα



Αποδιάταξη ή μετουσίωση πρωτεϊνών (αντιστρέψιμη και μη)

Μετουσίωση: η αποδιάταξη των πρωτεϊνικών αλυσίδων (με συνέπεια τη μείωση ή και την απώλεια της λειτουργικότητάς τους), λόγω της έκθεσης σε ακραίες θερμοκρασίες ή χημικά μέσα (αλλαγή pH).

Αποδιατακτικά μέσα

- Θέρμανση
- Ουρία, β-μερκαπτοεθανόλη, υδροχλωρική γουανιδίνη (οργανικοί διαλύτες)
- Σάπωνες (απορρυπαντικά)
- Οξέα -αλκάλια
- Υπερηχητικές δονήσεις

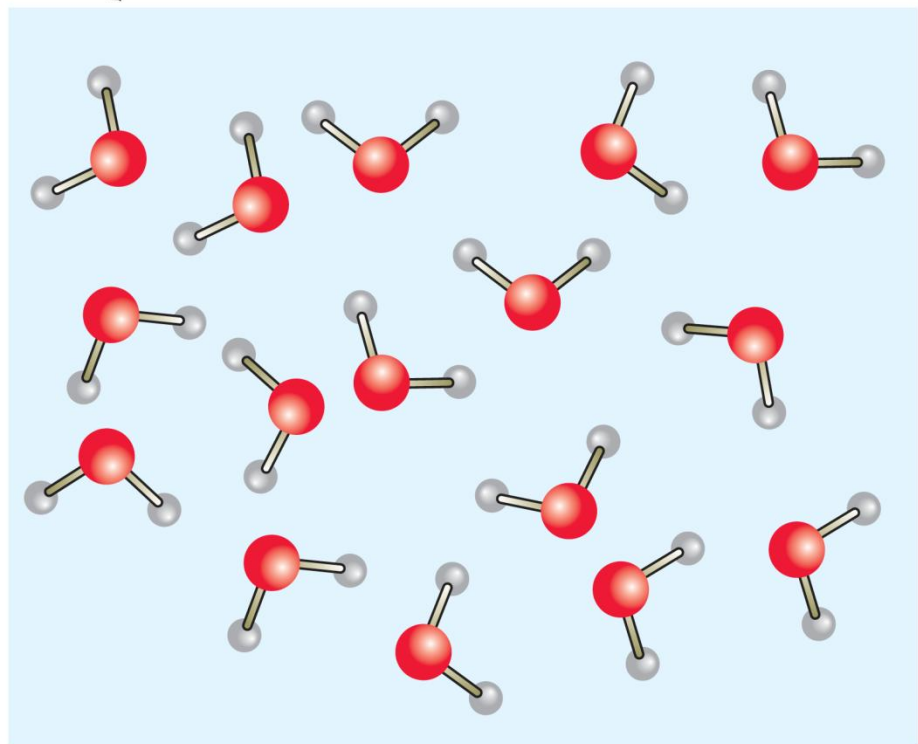
Οι πρωτεΐνες αναδιπλώνονται αναζητώντας σταδιακά τη σωστή δομή

- Αν μια πρωτεΐνη 100 αα «δοκίμαζε» όλους τους δυνατούς συνδυασμούς αναδίπλωσης (με 10^{-13} sec για μετατροπή της μιας δομής σε άλλη) θα χρειαζόταν $1,6 \times 10^{27}$ χρόνια
- Η πρωτεΐνη διατηρεί μερικώς σωστές αναδιπλώσεις
- Για κάποιες πρωτεΐνες υπάρχουν τα chaperons που καθοδηγούν την σωστή αναδίπλωση

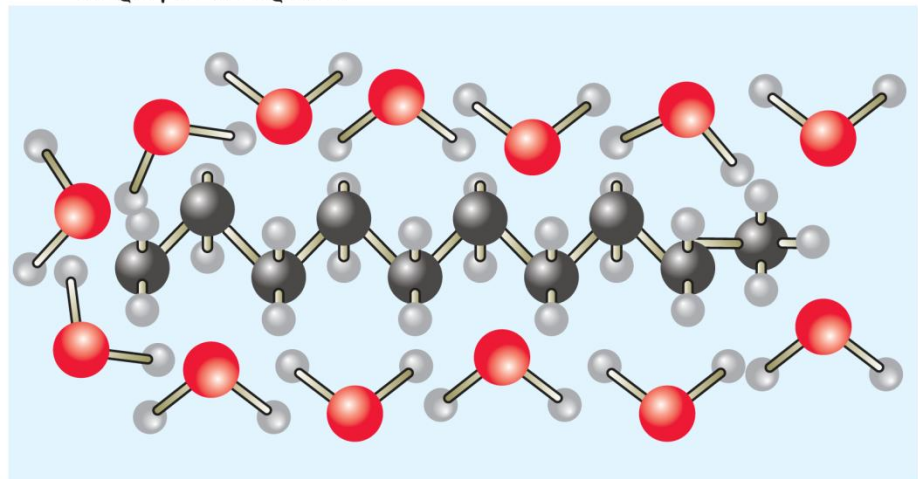
3. Τεταρτοταγής δομή

- Δεν έχουν όλες οι πρωτεΐνες τεταρτοταγή δομή

(α) Μόρια νερού στο μεγαλύτερο μέρος του όγκου του νερού



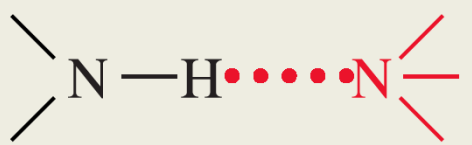
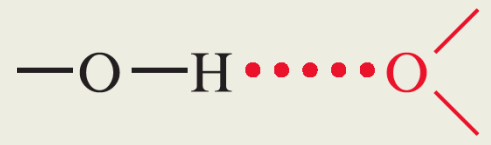
(β) Μόρια νερού σε κλωβό γύρω από έναν υδρογονάνθρακα



ΕΙΚΟΝΑ 2.21 Η υδρόφοβη αλληλεπίδραση

(α) Τα μόρια του νερού κινούνται τυχαία απουσία μη πολικών (υδρόφοβων) μορίων.
(β) Τα μόρια του νερού σχηματίζουν κλωβούς υψηλού βαθμού οργάνωσης γύρω από τα υδρόφοβα μόρια ή ομάδες. Επειδή η αταξία (εντροπία) ευνοείται έναντι της τάξης (οργάνωσης), η πιο ευνοϊκή κατάσταση είναι αυτή στην οποία χρησιμοποιούνται όσο το δυνατόν λιγότερα μόρια νερού για τον σχηματισμό των κλωβών. Για καθαρά γεωμετρικούς λόγους, ο αριθμός των μορίων νερού που απαιτούνται για τον σχηματισμό ενός κλωβού γύρω από μία ομάδα υδρόφοβων μορίων είναι μικρότερος απ' ό,τι ο αριθμός που απαιτείται για τον σχηματισμό δύο ξεχωριστών κλωβών, ενός γύρω από κάθε μόριο. Κατά συνέπεια τα υδρόφοβα μόρια (ή ομάδες) έχουν την τάση να συναθροίζονται μεταξύ τους όταν βρεθούν στο νερό.

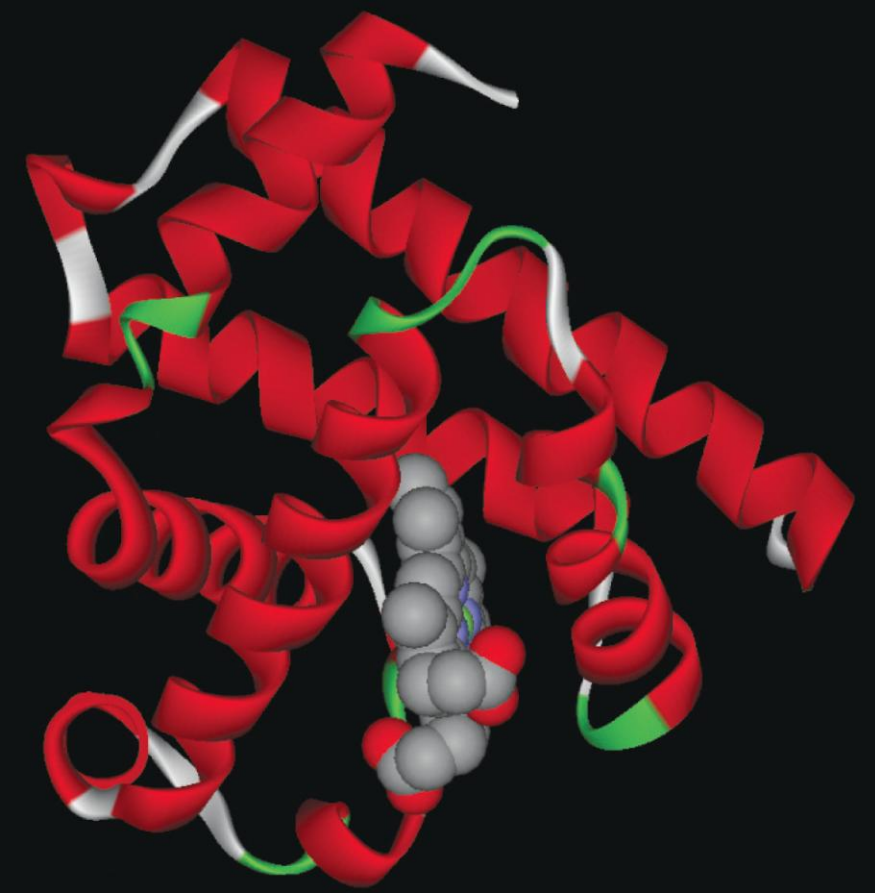
Δότης υδρογόνου Δέκτης υδρογόνου



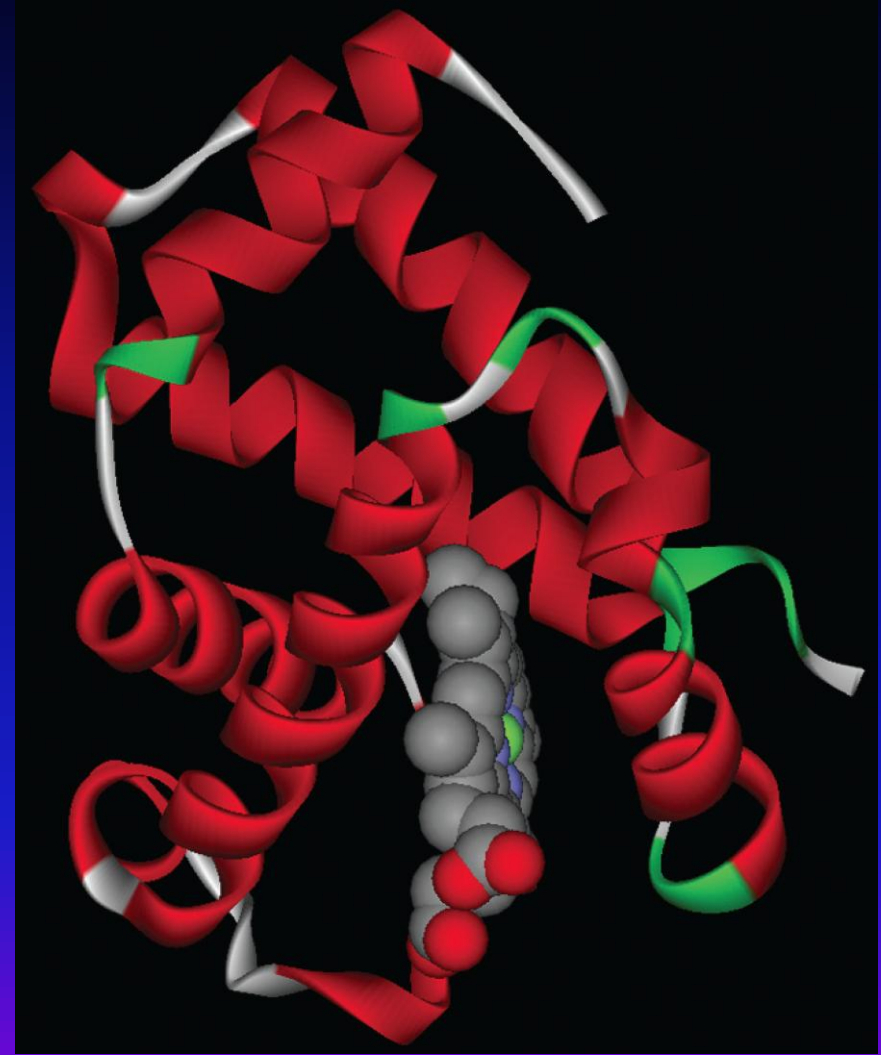
ΕΙΚΟΝΑ 2.20 Ορισμένοι τυπικοί δεσμοί υδρογόνου που συναντώνται στις πρωτεΐνες

Το κατάλοιπο αμινοξέος που παρέχει το άτομο υδρογόνου ορίζεται ως δότης και το κατάλοιπο αμινοξέος που προσδένει το άτομο υδρογόνου ορίζεται ως δέκτης.

ΕΙΚΟΝΑ 2.31 Το πρότυπο αναδίπλωσης της μυοσφαιρίνης και της αιμοσφαιρίνης



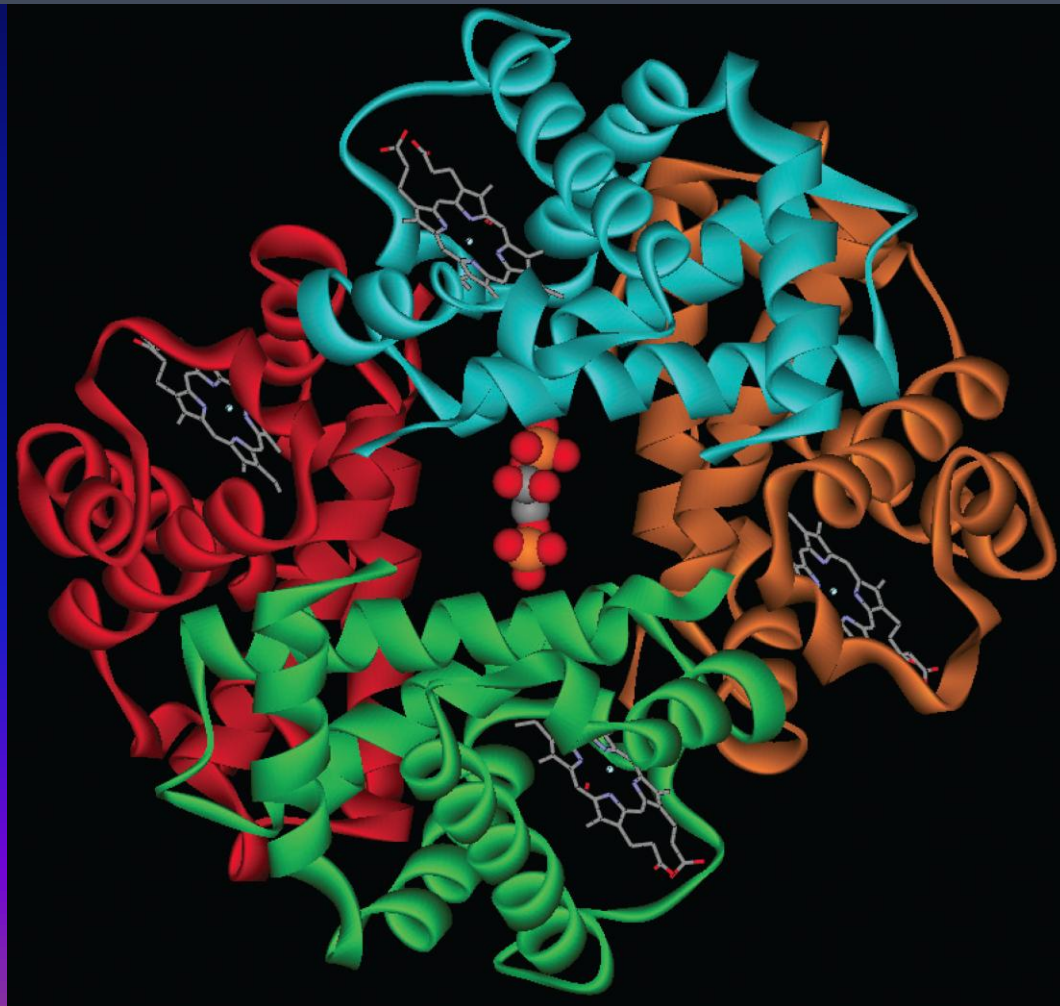
(α) Μυοσφαιρίνη
φάλαινας φουσητήρα.



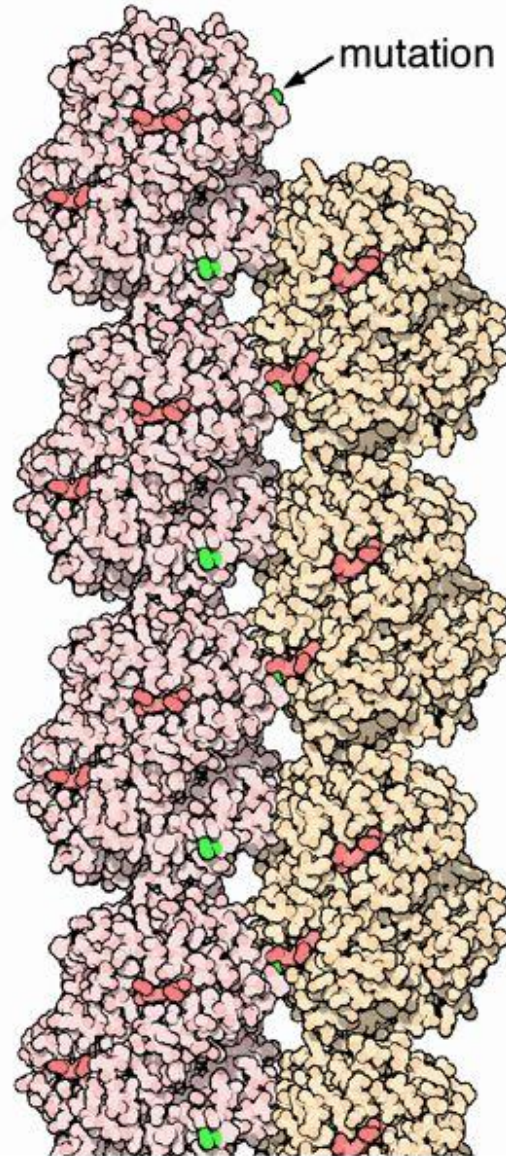
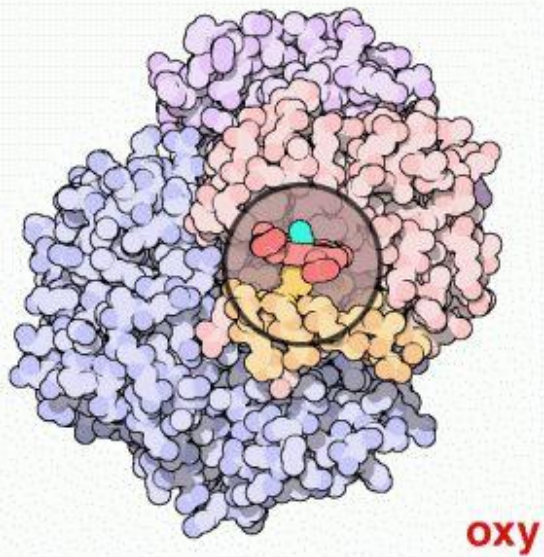
(β) β-αλυσίδα αιμοσφαιρίνης
ανθρώπου

ΤΕΤΑΡΤΟΤΑΓΗΣ ΔΟΜΗ ΠΡΩΤΕΙΝΩΝ

Δεοξυαιμοσφαιρίνη ανθρώπου με ένα μόριο 2,3-διφωσφογλυκερικού οξέος ενωμένο με τις δύο αλυσίδες β-σφαιρίνης



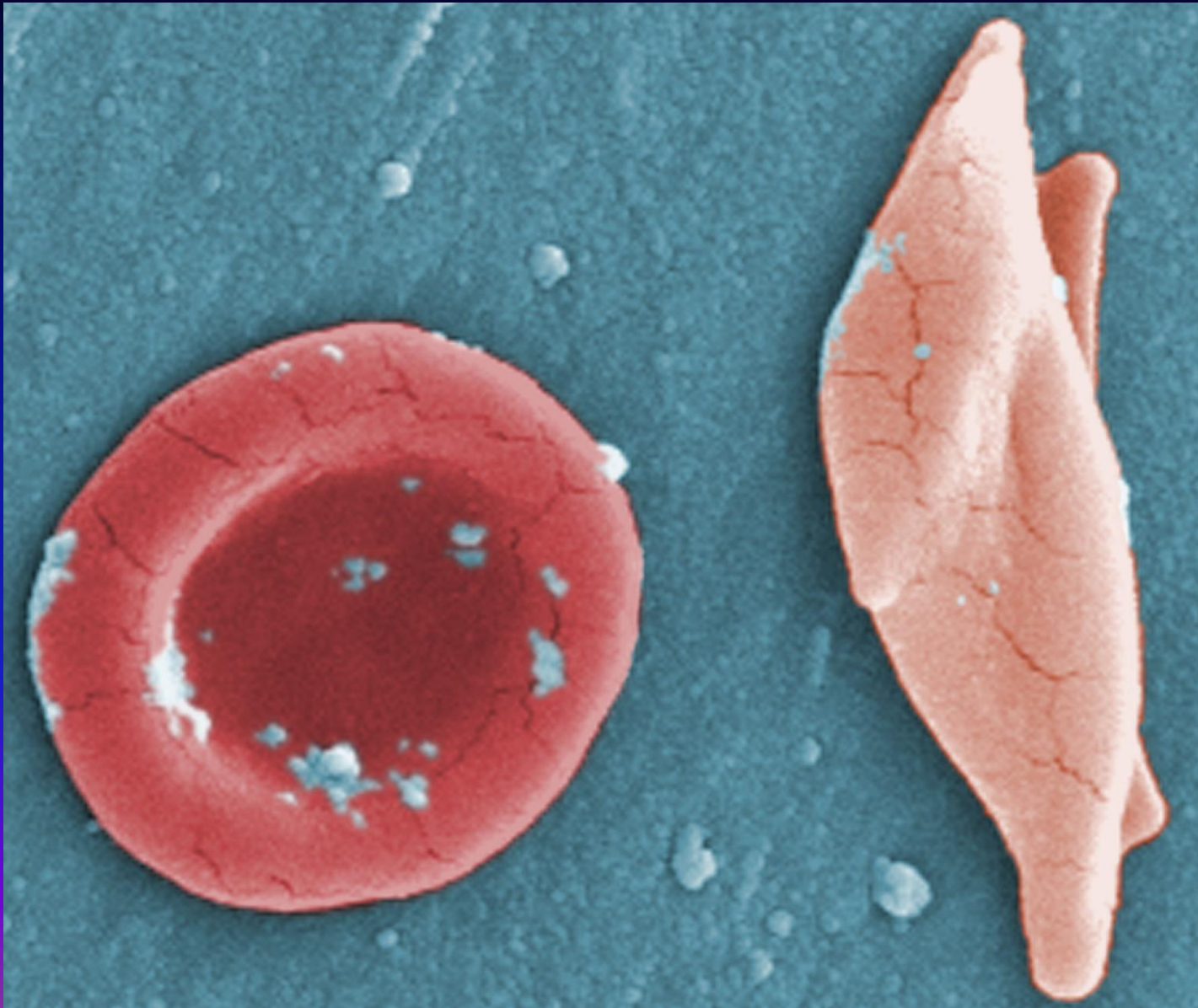
Οι αλυσίδες σφαιρίνης παρουσιάζονται σε μο-ντέλο ταινιών, με κάθε αλυσίδα να παριστά-νεται με διαφορετικό χρώμα. Οι ομάδες της αίμης απεικονίζονται σε μοντέλο ράβδων και το BPG, ενωμένο με τις δύο αλυσίδες β-σφαιρίνης στην κοιλότητα που σχη-ματίζεται από τις τέσσε-ρις αλυσίδες σφαιρίνης, παριστάνεται σε α-πεικόνιση van der Waals.



This is normally a benign mutation, causing *no* apparent effects on the secondary, tertiary, or quaternary structure of hemoglobin. What it does allow for, under conditions of low oxygen concentration, is the polymerization of the HbS itself.

GAG to GUG

ΕΙΚΟΝΑ Π2.2α Ερυθρά αιμοσφαίρια αμφίκοιλου και δρεπανοειδούς σχήματος



Πώς προβλέπεται η δομή των πρωτεϊνών

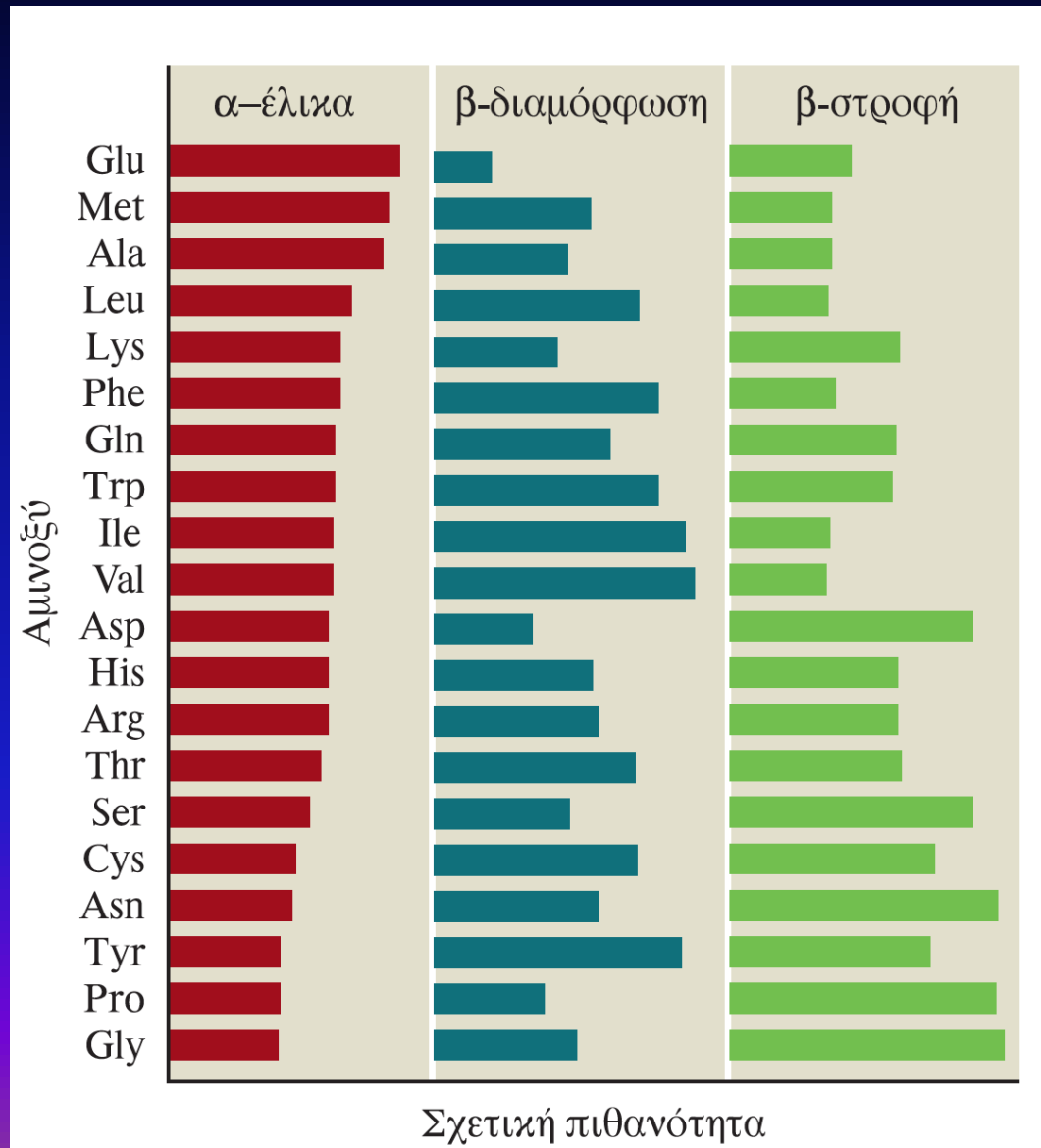
- Στατιστική εύρεση του ποια αα βρίσκονται πιο συχνά σε α-έλικες, β-επιφάνειες και β-στροφές
- 60-70% σωστή πρόβλεψη για εξαπεπτίδια
- Κάποια πεπτίδια έχουν πάντα την ίδια δομή (σε οποιαδήποτε πρωτεΐνη και αν βρεθούν) και κάποια όχι

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.3 Σχετικές συχνότητες παρουσίας καταλοίπων αμινοξέων σε δευτεροταγείς δομές.

Αμινοξύ	α -έλικα	β -πτυχωτή επιφάνεια	Στροφή
Ala	1,29	0,90	0,78
Cys	1,11	0,74	0,80
Leu	1,30	1,02	0,59
Met	1,47	0,97	0,39
Glu	1,44	0,75	1,00
Gln	1,27	0,80	0,97
His	1,22	1,08	0,69
Lys	1,23	0,77	0,96
Val	0,91	1,49	0,47
Ile	0,97	1,45	0,51
Phe	1,07	1,32	0,58
Tyr	0,72	1,25	1,05
Trp	0,99	1,14	0,75
Thr	0,82	1,21	1,03
Gly	0,56	0,92	1,64
Ser	0,82	0,95	1,33
Asp	1,04	0,72	1,41
Asn	0,90	0,76	1,28
Pro	0,52	0,64	1,91
Arg	0,96	0,99	0,88

Σημείωση: Τα αμινοξέα ομαδοποιήθηκαν σύμφωνα με την τάση τους να βρίσκονται σε α -έλικες (πρώτη ομάδα), β -πτυχωτές επιφάνειες (δεύτερη ομάδα) ή στροφές (τρίτη ομάδα). Η αργινίνη δεν δείχνει καμία ιδιαίτερη προτίμηση για κάποια από τις τρεις δομές. [Κατά: T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2d ed. (W.H. Freeman and Company, 1992), p. 256.]

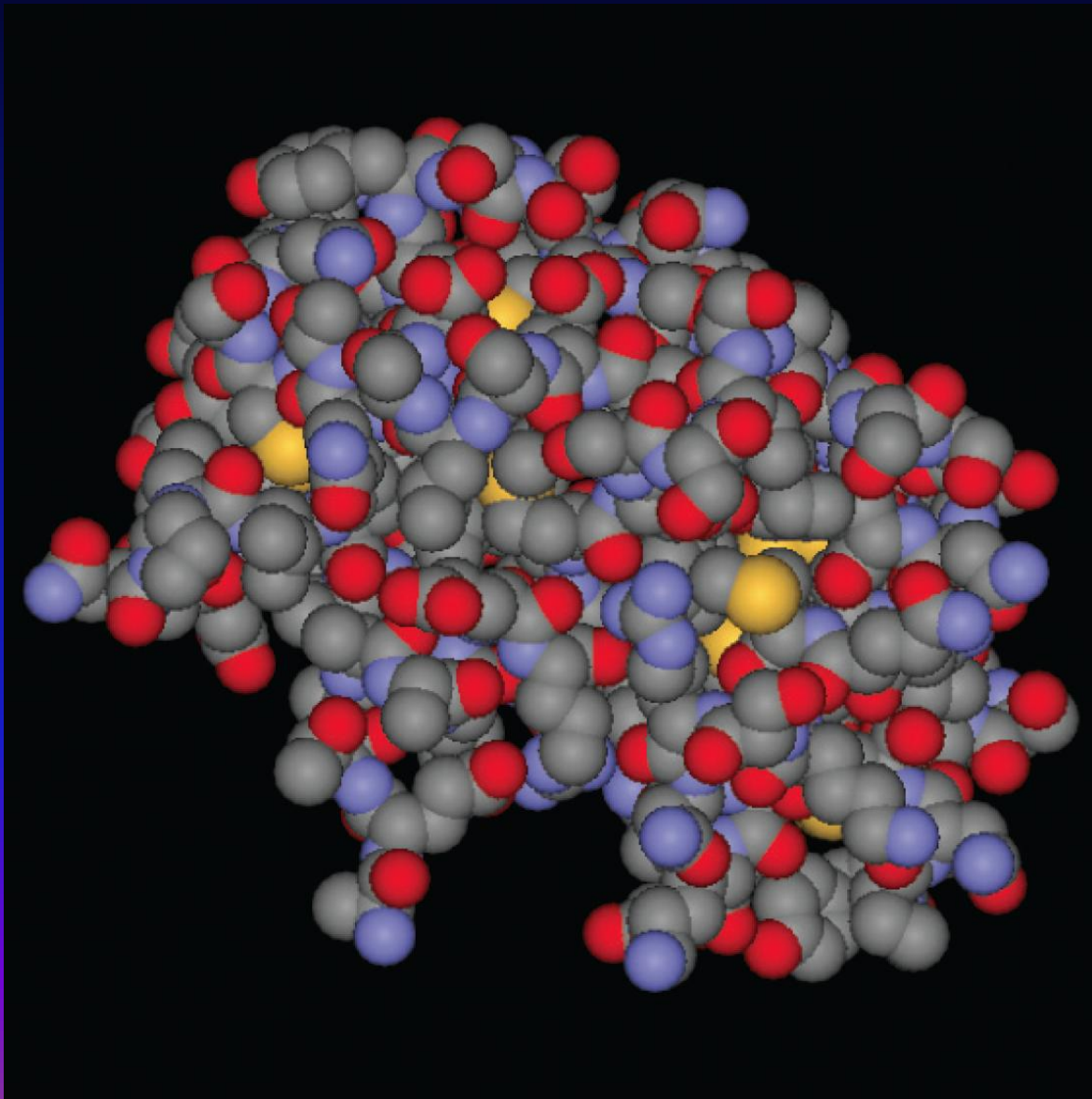
ΕΙΚΟΝΑ 2.27 Σχετικές πιθανότητες εύρεσης ενός δεδομένου αμινοξέος σε καθέναν από τους τρεις συνήθεις τύπους δευτεροταγούς δομής



Τροποποιήσεις πρωτεϊνών και λειτουργικότητα

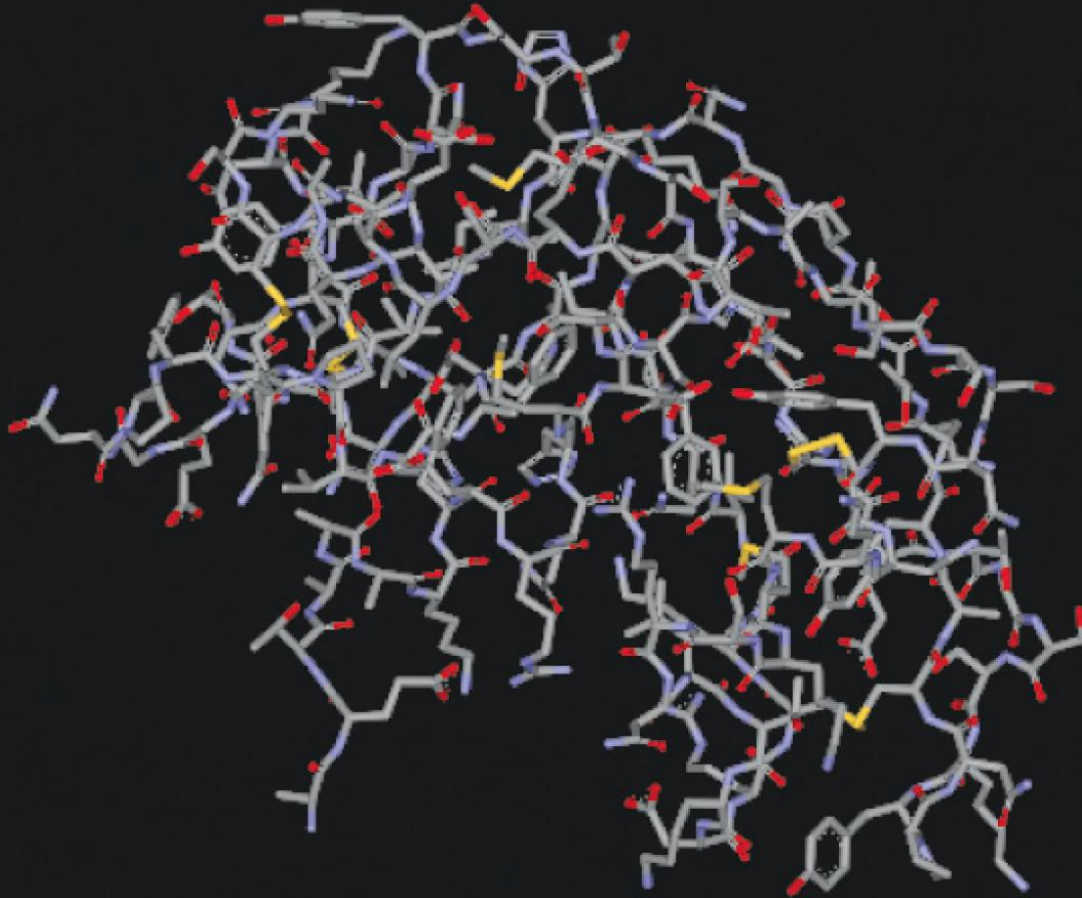
- Υδροξυλίωση (-OH) προλίνης κολλαγόνου (βιτανίνη C)
- γ-καρβοξυλίωση γλουταμινικού προθρομβίνης (Βιταμίνη K-αιμορραγίες)
- Γλυκοζυλίωση για αύξηση υδροφιλικότητας-αλληλεπίδρασης
- Προσθήκη λιπαρού οξέος
- Φωσφορυλίωση Ser, Thr Tyr (αντιστρεπτός διακόπτης για επιτέλεση λειτουργιών)
- Αποκοπή N- και C-τελικών αμινοξέων ή ενδιάμεσων πεπτιδίων

ΕΙΚΟΝΑ 2.29 Η κρυσταλλική δομή της ριβονουκλεάσης Α



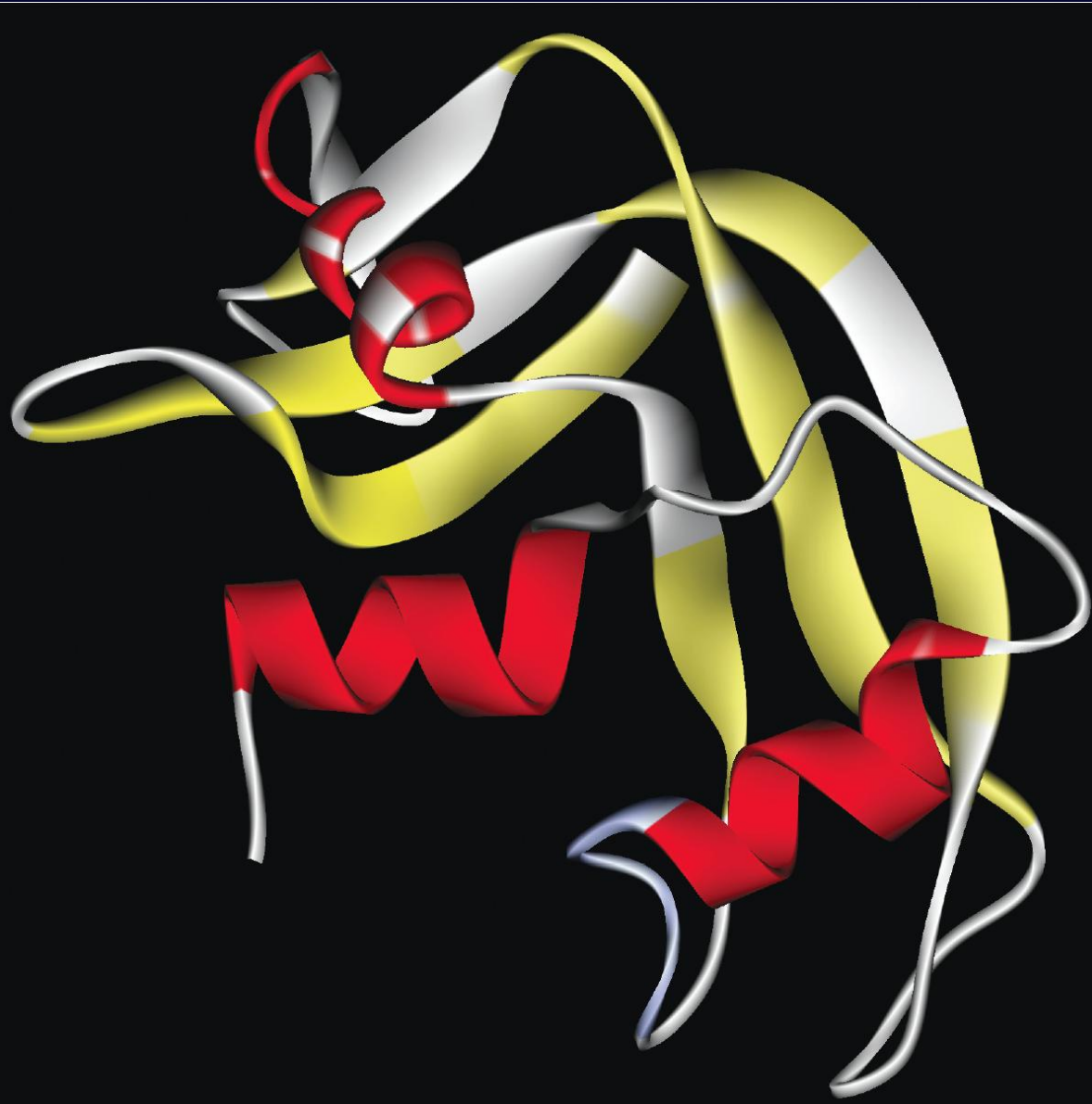
(α) Η κρυσταλλική δομή του μορίου σε χωροπληρωτικό μοντέλο. Τα χρώματα των ατόμων είναι σύμφωνα με τον κοινό χρωματικό κώδικα CPK (Corey, Pauling, Koltin). Άτομα C φαίνονται με γκρίζο, άτομα H με λευκό, άτομα N με μπλε, άτομα O με κόκκινο και άτομα S με κίτρινο.

ΕΙΚΟΝΑ 2.29 Η κρυσταλλική δομή της ριβονουκλεάσης Α



(β) Η ίδια κρυσταλλική δομή σε μοντέλο ράβδων. Χρησιμοποιείται επίσης ο χρωματικός κώδικας CPK. Ο προσανατολισμός είναι όπως στο (α).

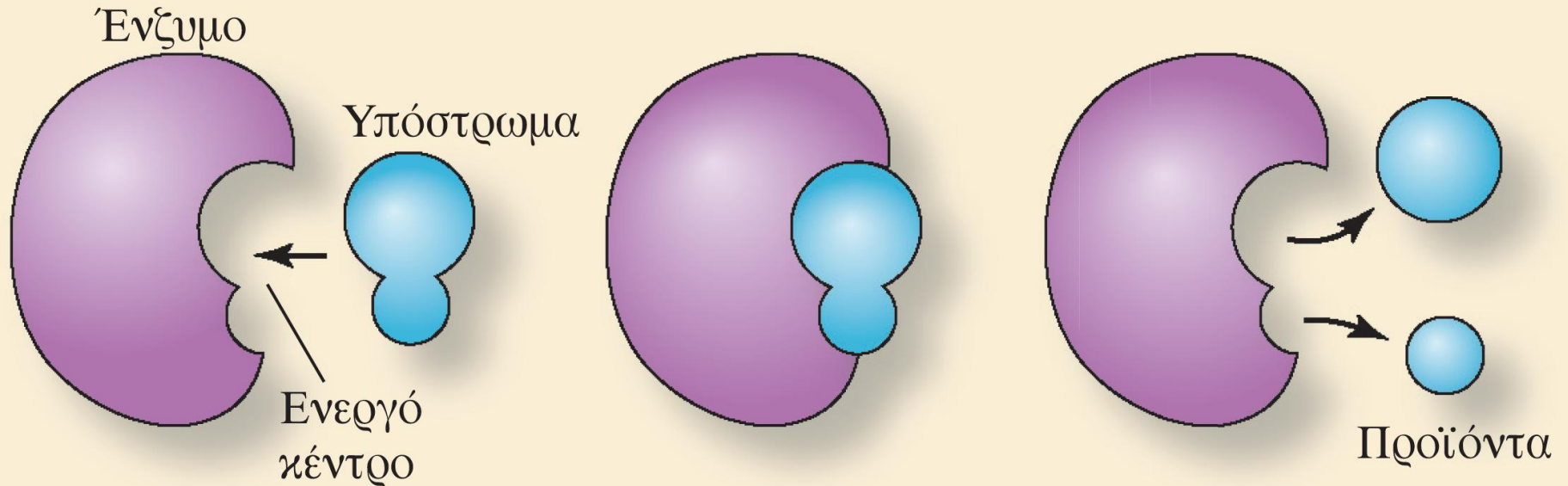
ΕΙΚΟΝΑ 2.29 Η κρυσταλλική δομή της ριβονουκλεάσης Α



(γ) Η ίδια κρυσταλλική δομή σε μοντέλο ταινιών. Οι α-έλικες φαίνονται με κόκκινο χρώμα και οι β-διαμορφώσεις με κίτρινο.

ΕΙΚΟΝΑ 2.42 Αλληλεπίδραση ενζύμου-υποστρώματος

(α) Μοντέλο κλειδιού-κλειδαριάς



Υπάρχουν δύο μοντέλα σχετικά με τον μηχανισμό πρόσδεσης του ενζύμου με το υπόστρωμά του:

(α) το μοντέλο κλειδιού-κλειδαριάς και

(β) το μοντέλο επαγόμενης προσαρμογής. Σύμφωνα με το πρώτο μοντέλο, το σχήμα του ενεργού κέντρου του ενζύμου είναι συμπληρωματικό προς το σχήμα του υποστρώματος.

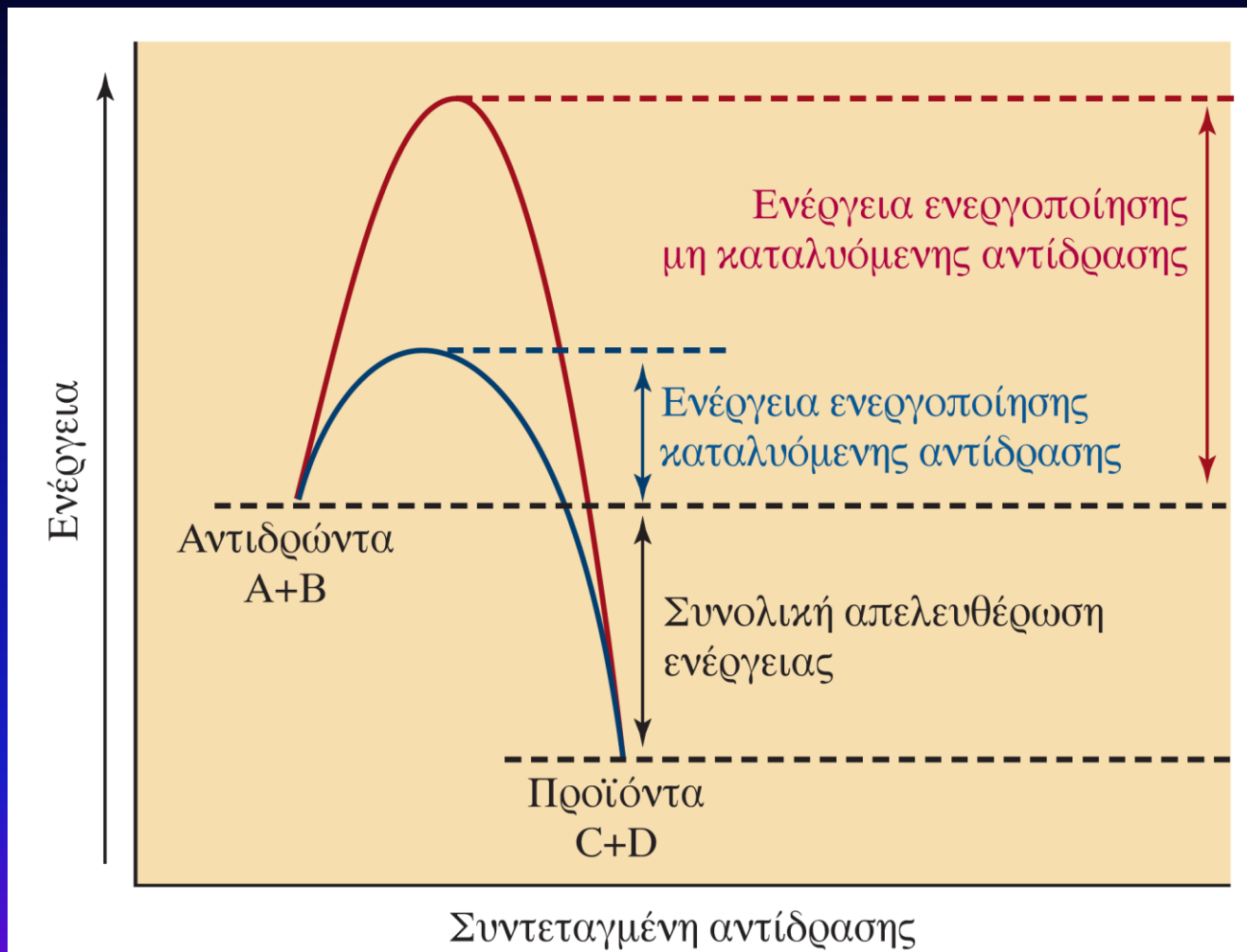
ΕΙΚΟΝΑ 2.42 Αλληλεπίδραση ενζύμου-υποστρώματος

(β) Μοντέλο επαγόμενης προσαρμογής



Σύμφωνα με το δεύτερο μοντέλο, το ένζυμο αλλάζει σχήμα κατά την πρόσδεση του υποστρώματος και το ενεργό κέντρο έχει σχήμα συμπληρωματικό προς αυτό του υποστρώματος μόνο μετά την πρόσδεση του υποστρώματος.

ΕΙΚΟΝΑ 2.40 Διάγραμμα συντεταγμένων αντίδρασης για μία μη καταλυόμενη αντίδραση (κόκκινο) και για μία αντίδραση που καταλύεται από ένζυμο (μπλε)



Το ένζυμο μειώνει την ενέργεια ενεργοποίησης, αλλά δεν επηρεάζει την ενέργεια που αποδίδεται από την αντίδραση. Επομένως το ένζυμο αυξάνει την ταχύτητα της αντίδρασης, αλλά δεν επηρεάζει τη χημική ισορροπία.