

DNA, RNA και ροή γενετικών πληροφοριών

Αυτοδιπλασιασμός



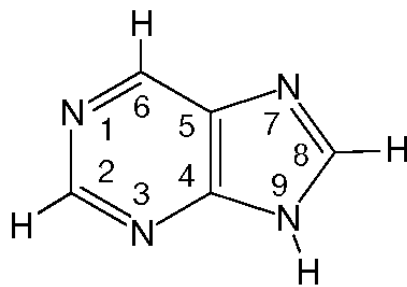
Αυτοδιπλασιασμός

Αυτοδιπλασιασμός

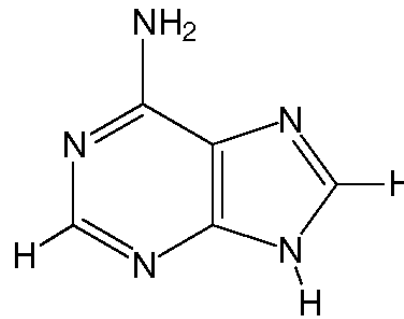


Το DNA και το RNA διαφέρουν ως προς το σάκχαρο και μια βάση

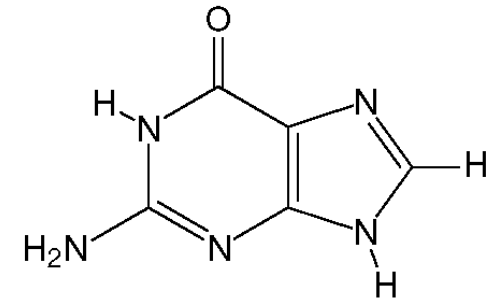
ΠΟΥΡΙΝΕΣ



Πουρίνη

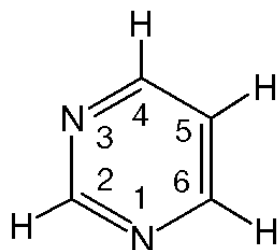


Αδενίνη

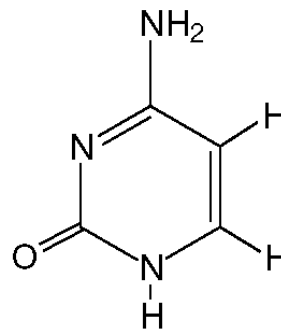


Γουανίνη

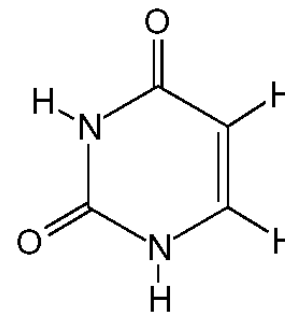
ΠΥΡΙΜΙΔΙΝΕΣ



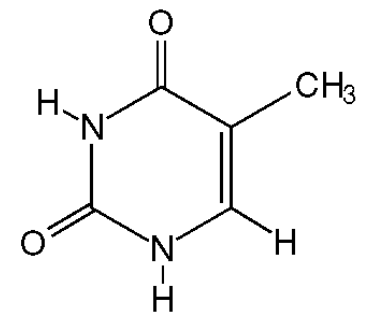
Πυριμιδίνη



Κυτοσίνη

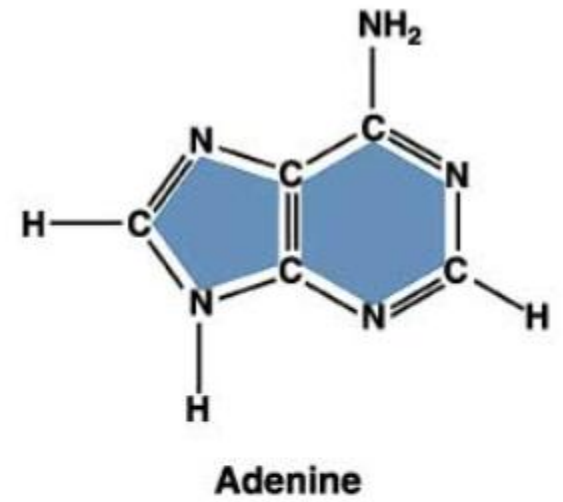
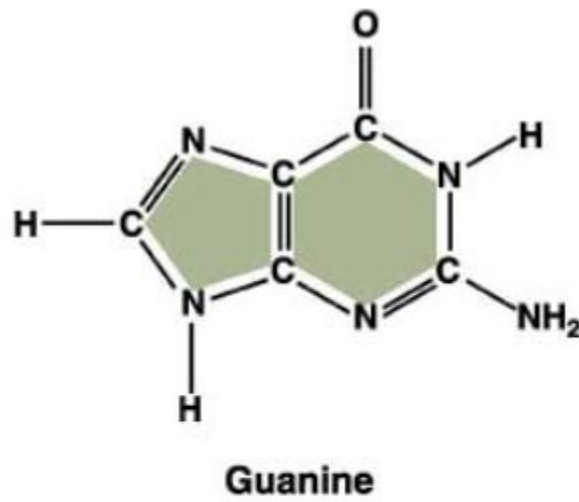
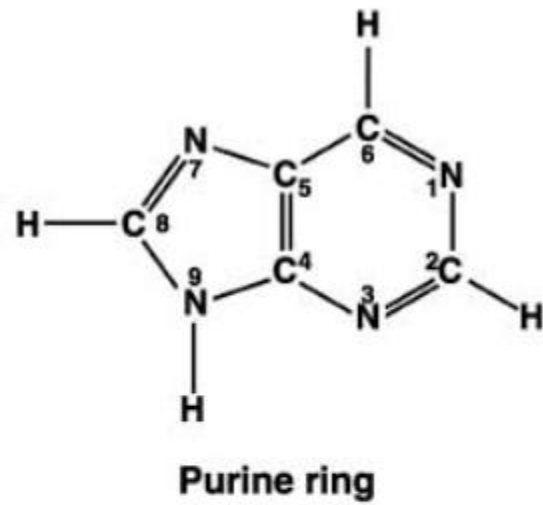
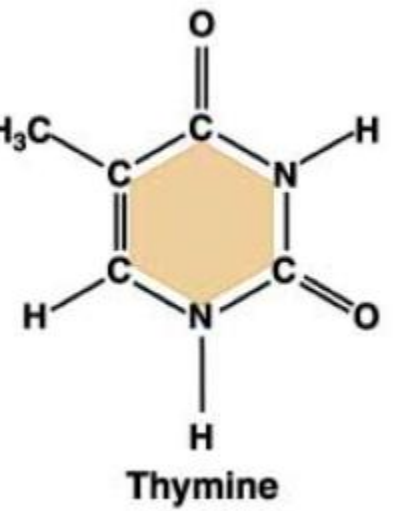
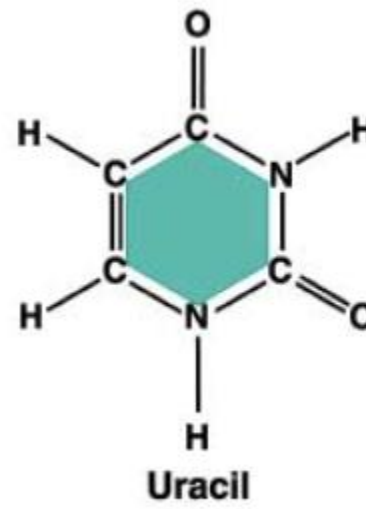
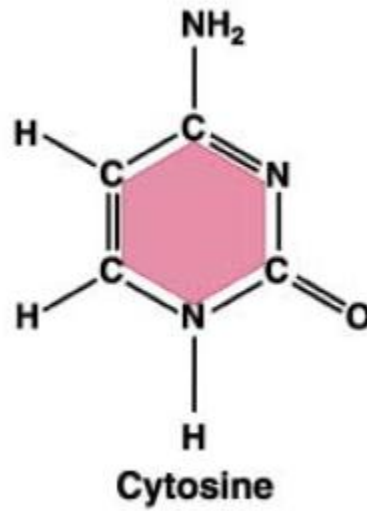
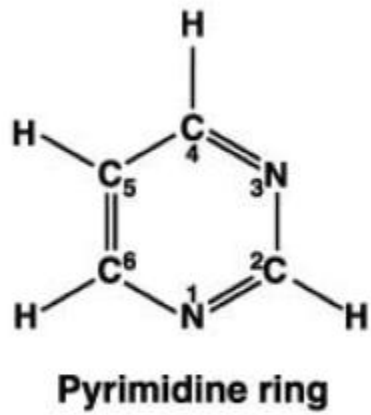


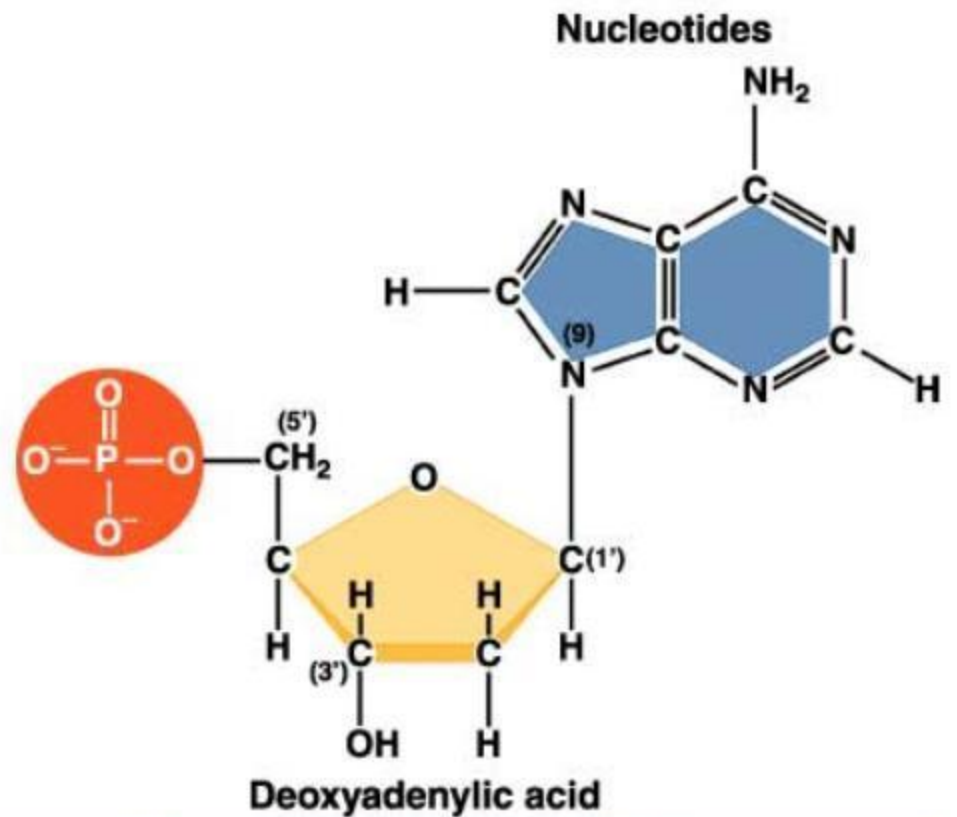
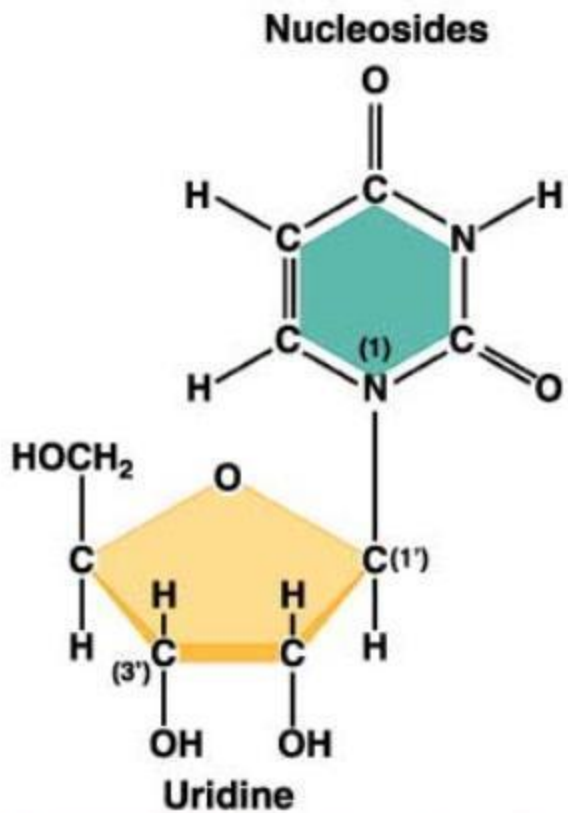
Ουρακίλη



Θυμίνη

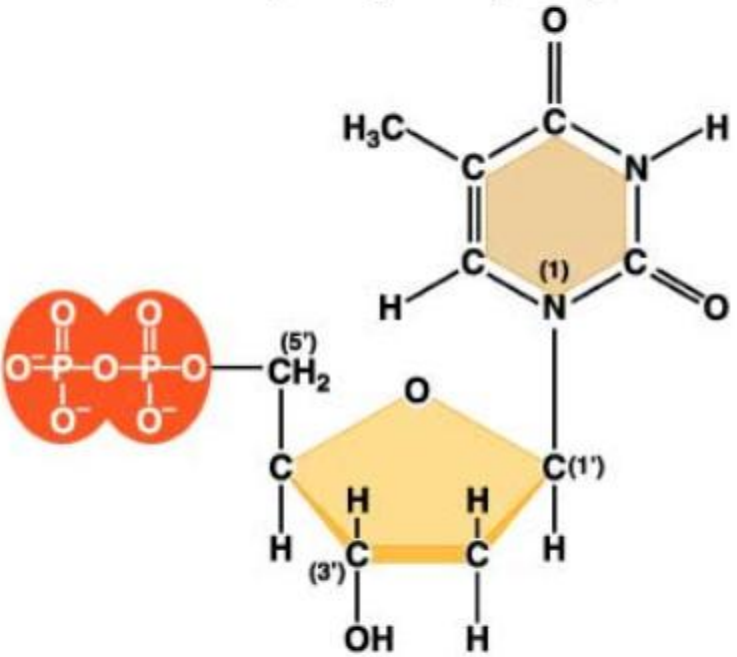
(a)





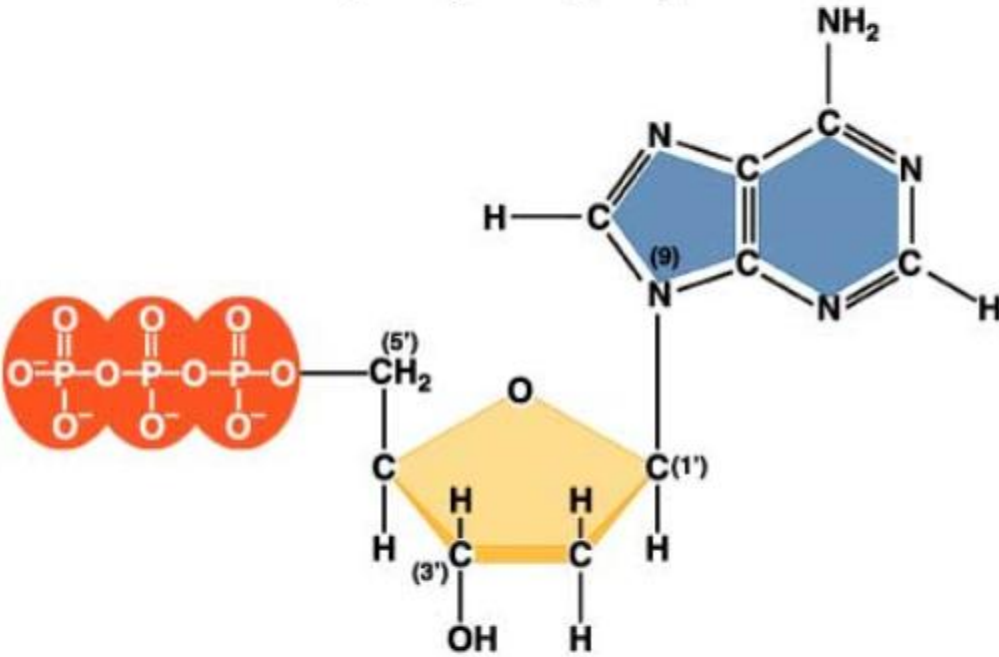
Ribonucleosides	Ribonucleotides
Adenosine Cytidine Guanosine Uridine	Adenylic acid Cytidylic acid Guanylic acid Uridylic acid
Deoxyribonucleosides	Deoxyribonucleotides
Deoxyadenosine Deoxycytidine Deoxyguanosine Deoxythymidine	Deoxyadenylic acid Deoxycytidylic acid Deoxyguanylic acid Deoxythymidylic acid

Nucleoside diphosphate (NDP)



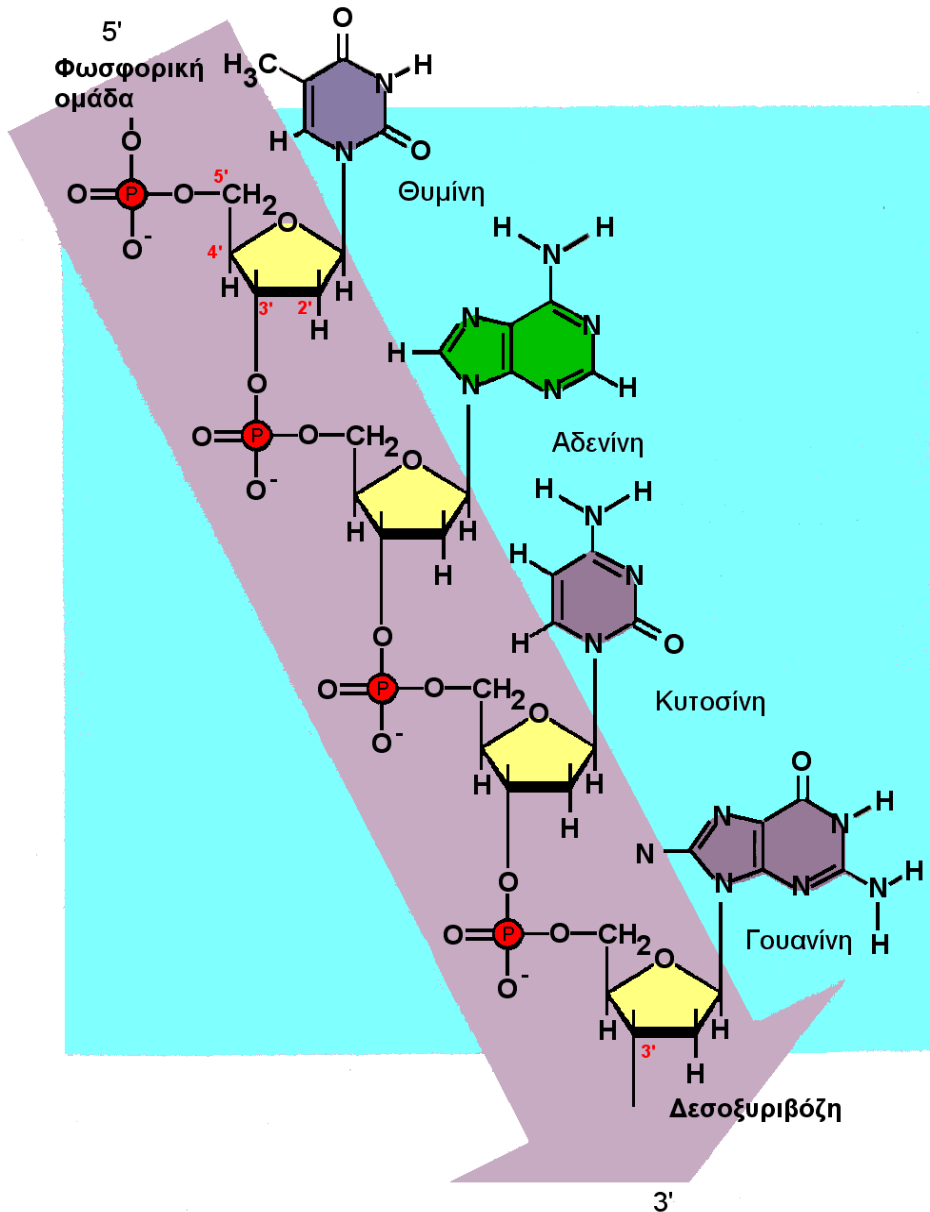
Thymidine diphosphate

Nucleoside triphosphate (NTP)



Adenosine triphosphate (ATP)

Η αλυσίδα του DNA έχει κατεύθυνση 5'-3'



Οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είναι λιγότερο ευάλωτοι στην υδρόλυση σε σχέση με άλλους εστερικούς δεσμούς

Η απουσία $-OH$ στον 2' C ενισχύει την αβντίσταση στην υδρόλυση και άρα το DNA είναι πιο σταθερό από το RNA

Η διπλή έλικα

Σταθεροποιείται με

- δεσμούς H και
- υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

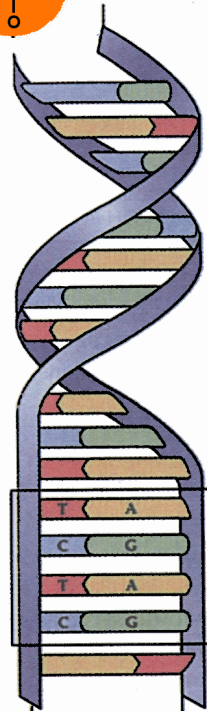
Χαρακτηριστικά διπλής έλικας κατά Watson-Crick

1. Οι 2 έλικες περιστρέφονται γύρω από κοινό άξονα. Αντιπαράλληλες
2. Κορμός από φωσφορικά-δεοξυριβόζες (εξωτερικά). Οι βάσεις εσωτερικά. (Μοιάζει με δομή/αναδίπλωση πρωτεϊνών)
3. Οι βάσεις σχεδόν κάθετες στον άξονα. Γειτονικές βάσεις απέχουν $3,4\text{\AA}$, 10 βάσεις ανά στροφή (34\AA η στροφή), 36° στροφή ανά βάση ($360^\circ/10$ βάσεις)
4. 20\AA η διάμετρος της έλικας

5' άκρο



3' άκρο



OH

3'



5'

Κάθε φωσφορική ομάδα συνδέει τον 3' άνθρακα ενός σακχάρου με τον 5' άνθρακα του επόμενου

5'

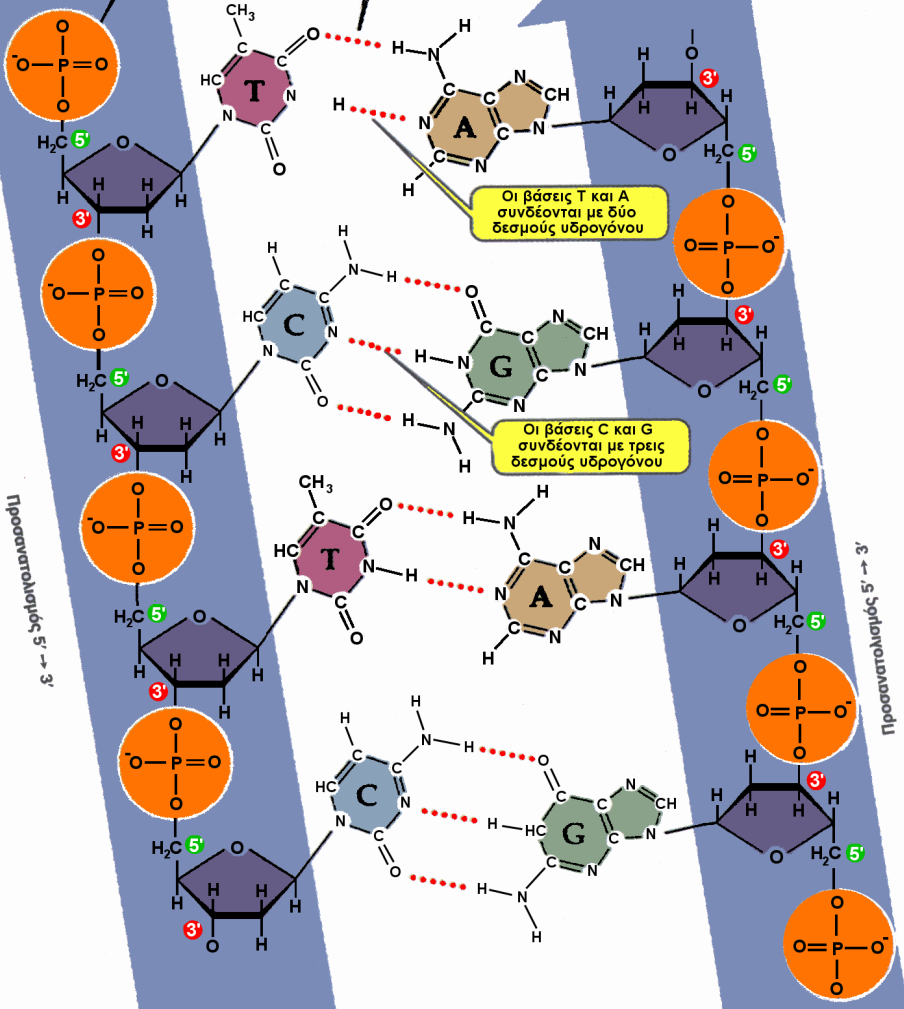
Προσανατολισμός 5' → 3'

Τα ζεύγη των συμπληρωματικών βάσεων σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου οι οποίοι συγκρατούν τις δύο αλυσίδες του DNA

3'

Οι βάσεις T και A συνδέονται με δύο δεσμούς υδρογόνου

Οι βάσεις C και G συνδέονται με τρεις δεσμούς υδρογόνου



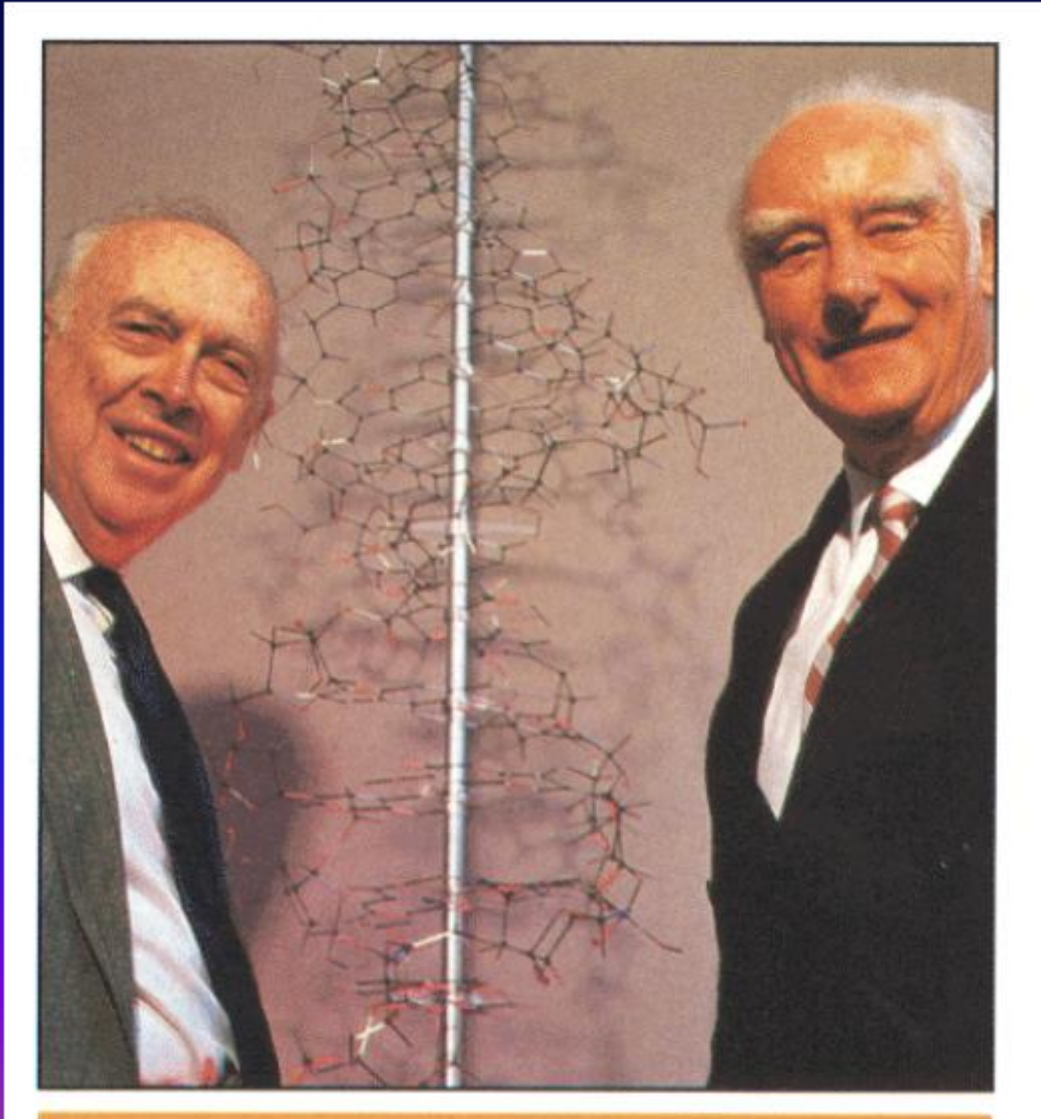
Προσανατολισμός 5' → 3'

Και οι δύο αλυσίδες στο DNA έχουν προσανατολισμό 5' προς 3' και είναι αντιπαράλληλες

3'

5'

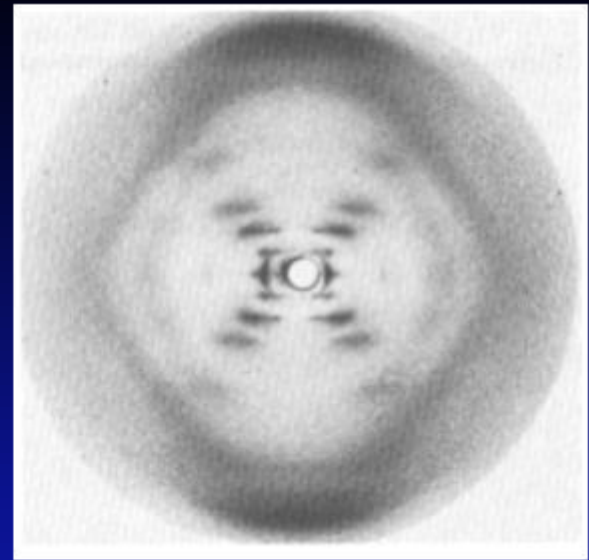
Watson and Crick (1952)



**Nobel Prize
for Structure
of DNA**

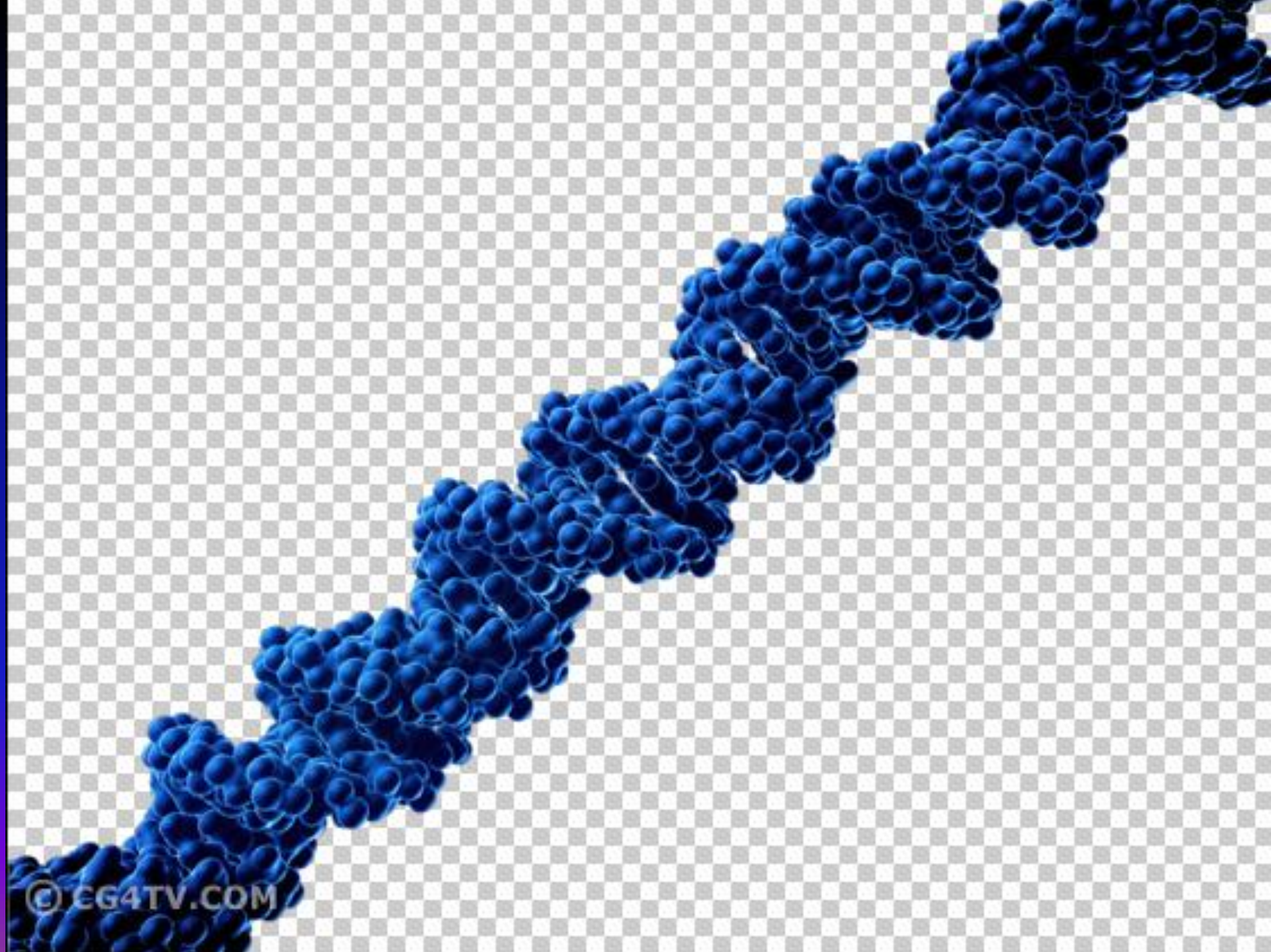


Rosalind Franklin Maurice Wilkins

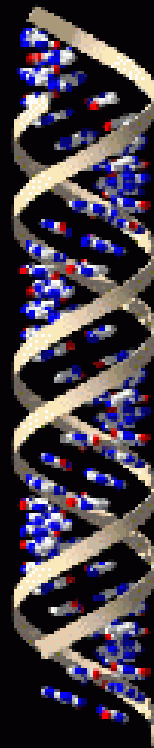
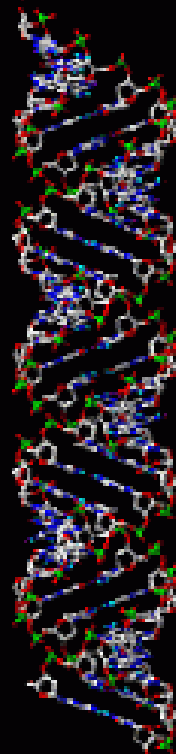
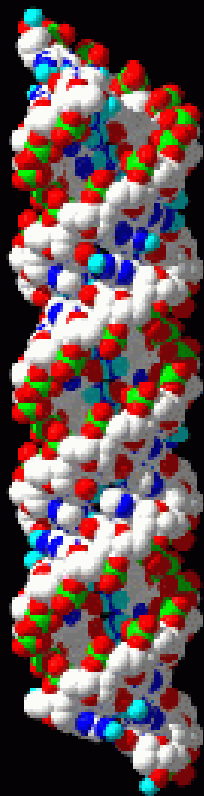
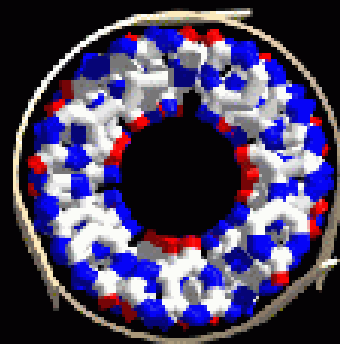
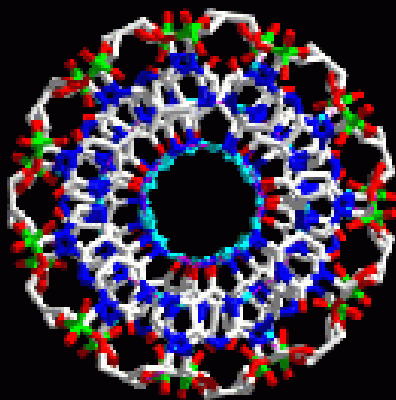
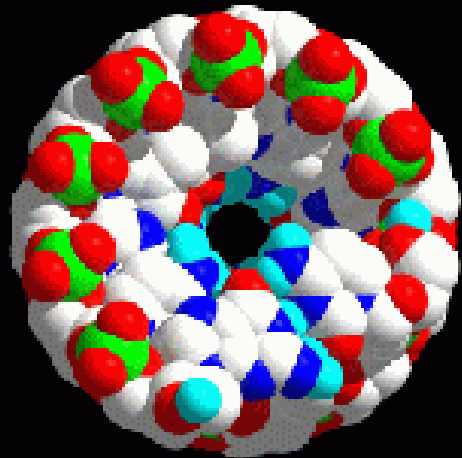


X-ray diffraction of DNA

- X-ray diffraction of Franklin and Wilkins (Co-recipient Nobel Prize) suggested helix at least double with nitrogenous bases at 90° from backbone of molecule.
- Chargaff - $A = T$
 $G = C$



© CG4TV.COM



Τήξη διπλής έλικας

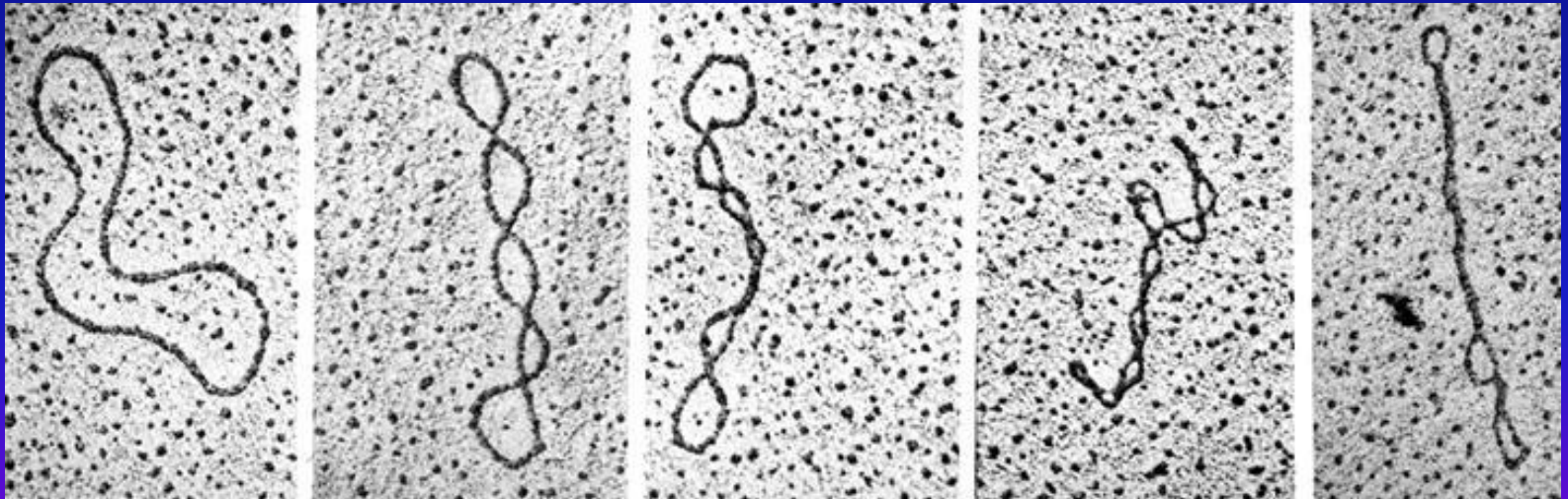
Αποδιάταξη διπλής έλικας

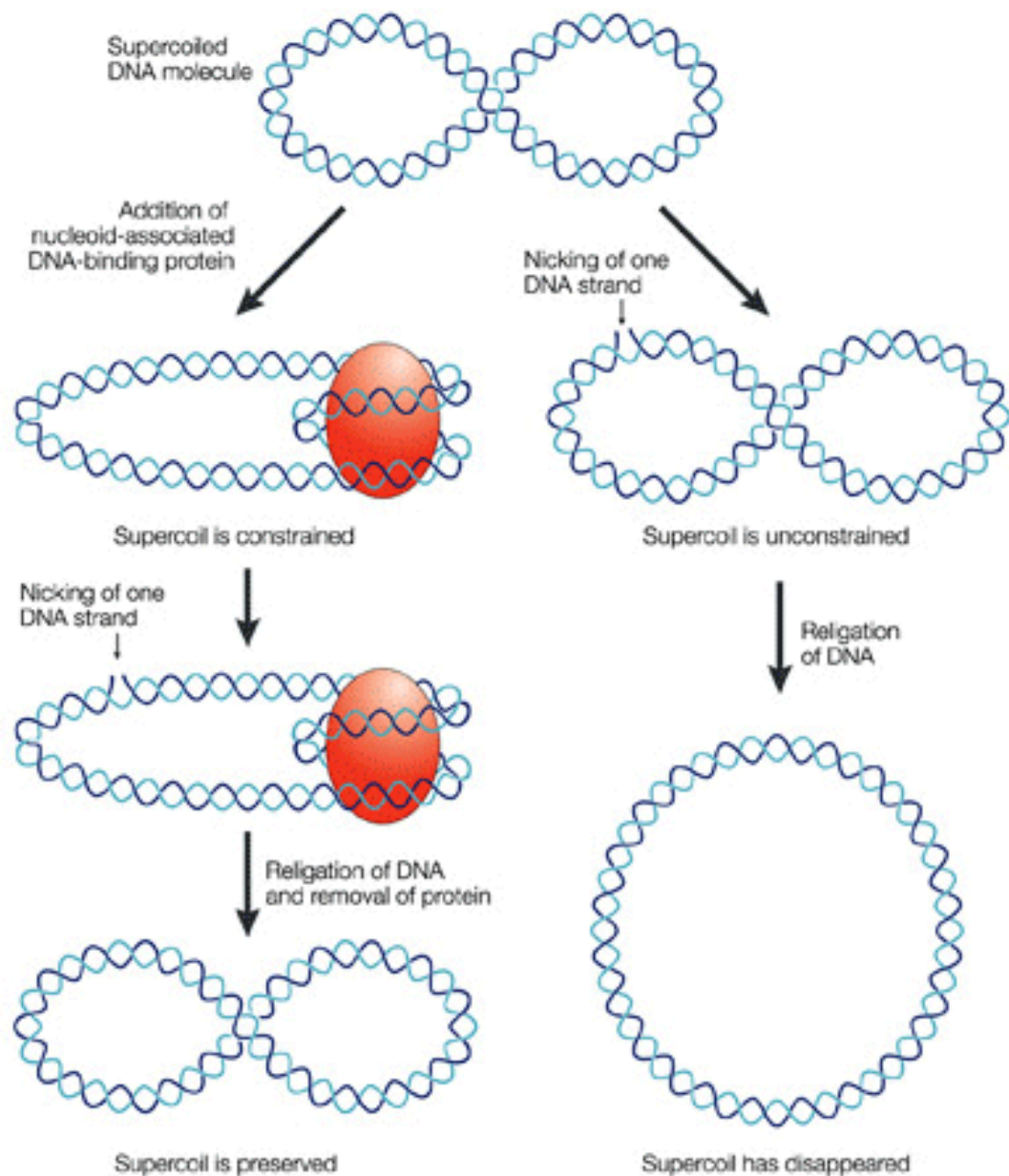
1. Κατά την αντιγραφή (φυσικά) ελικάσες
2. Θέρμανση ($T_m \sim 72^\circ\text{C}$)
3. Οξύ ή βάση

Η διπλή έλικα μπορεί να αναδιαταχθεί (annealing)

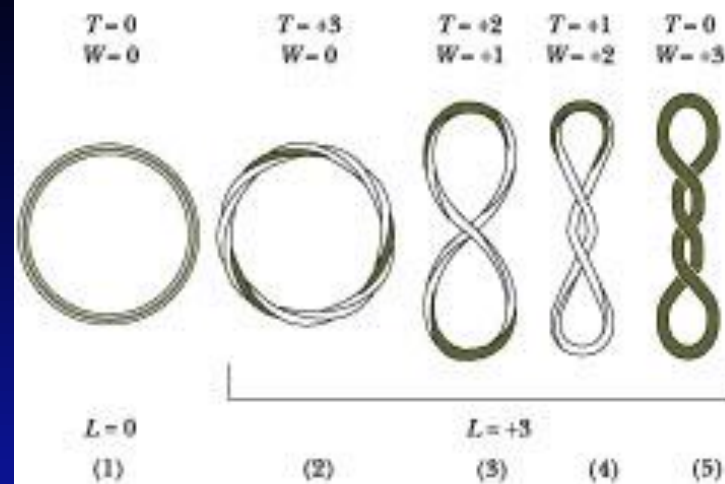
1. Με αφαίρεση αποδιατακτικού παράγοντα
2. Μέσα στο κύτταρο

Το Κυκλικό DNA συνήθως είναι υπερελικωμένο

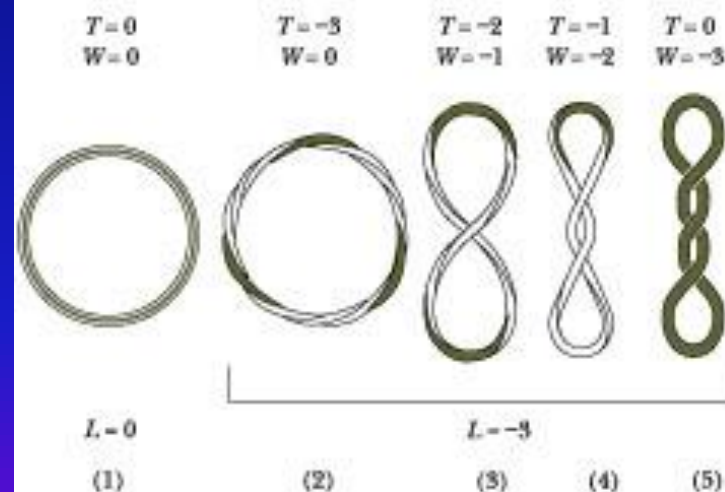




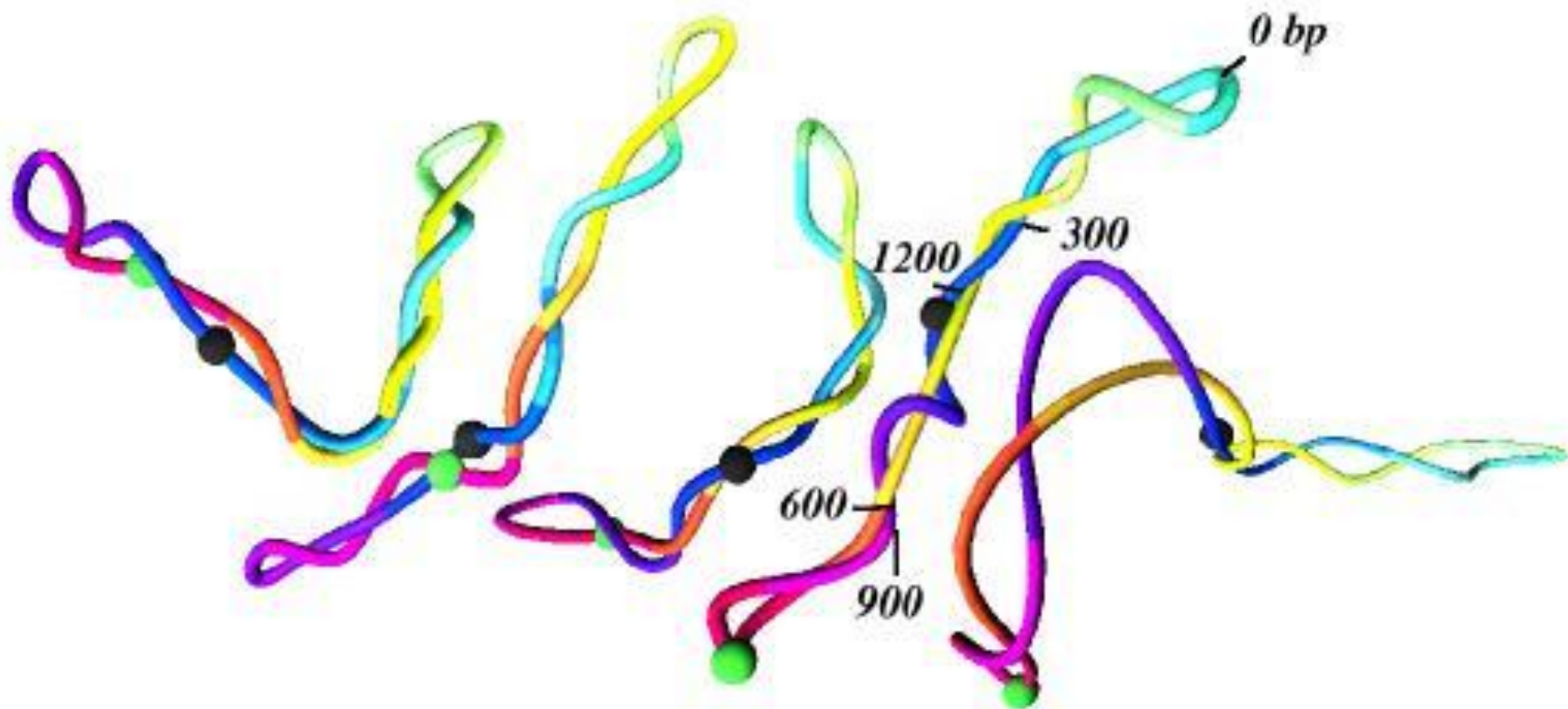
(a) Positive supercoiling



(b) Negative supercoiling

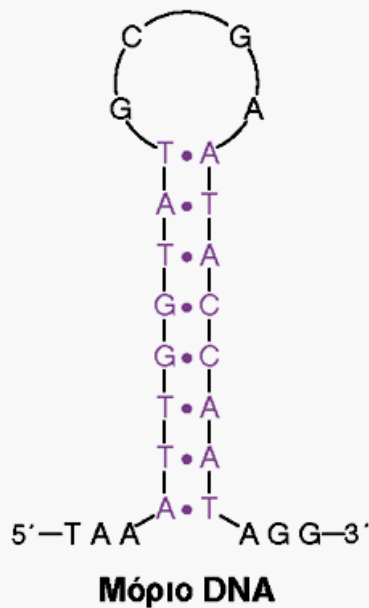


Dynamics of Supercoiled DNA

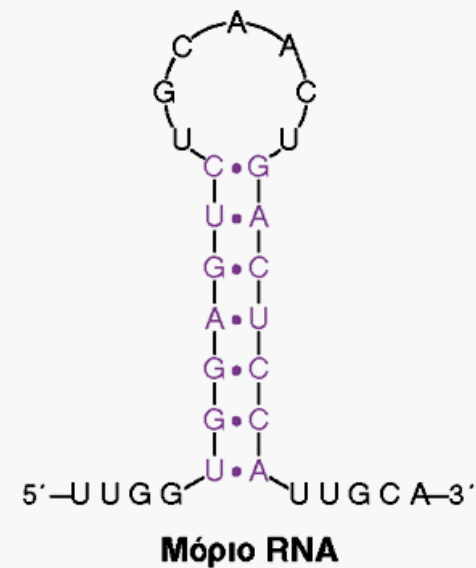


Μονόκλιωνα Νουκλεϊκά οξέα μπορούν να πάρουν πολύπλοκες τριδιάστατες διαμορφώσεις

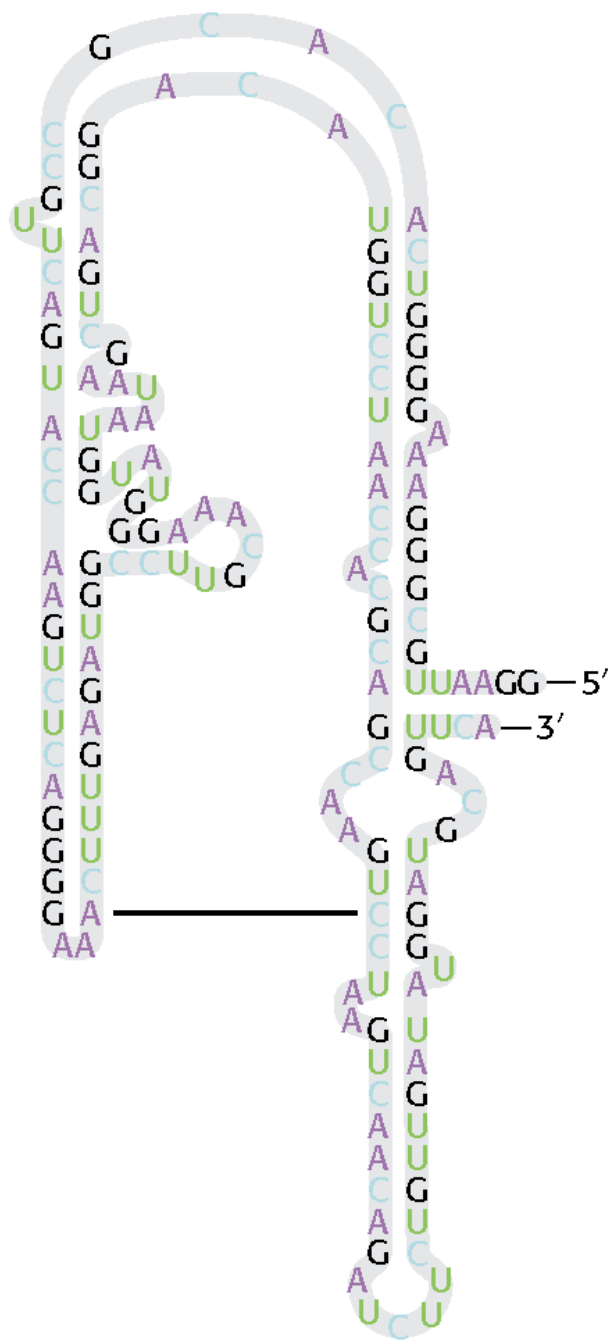
5'-TAAATTGGTATGCGAATACCAATAGG-3' 5'-UUGGUGGAGUCUGCAACUGACUC



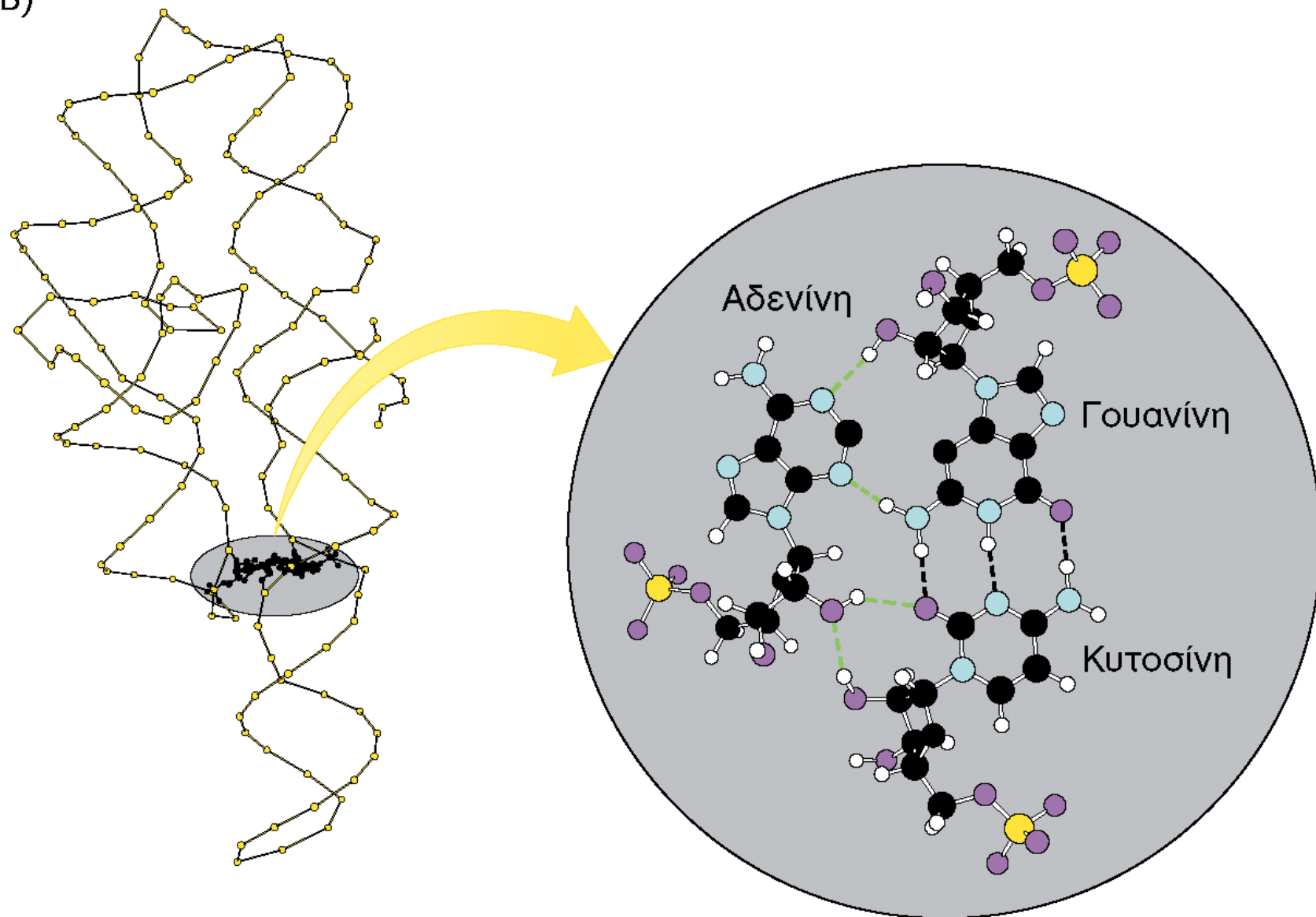
Stem-loops



(A)



(B)



Αντιγραφή DNA

Αντιγραφή DNA

Σύμπλοκο 20 πρωτεϊνών, συλλογικά αναφέρεται ως DNA πολυμεράσες

1. Ενεργοποιημένα Πρόδρομα μόρια ATP, GTP, UTP, CTP και dATP, dGTP, dTTP, d CTP
2. Εκκινητές (primers)

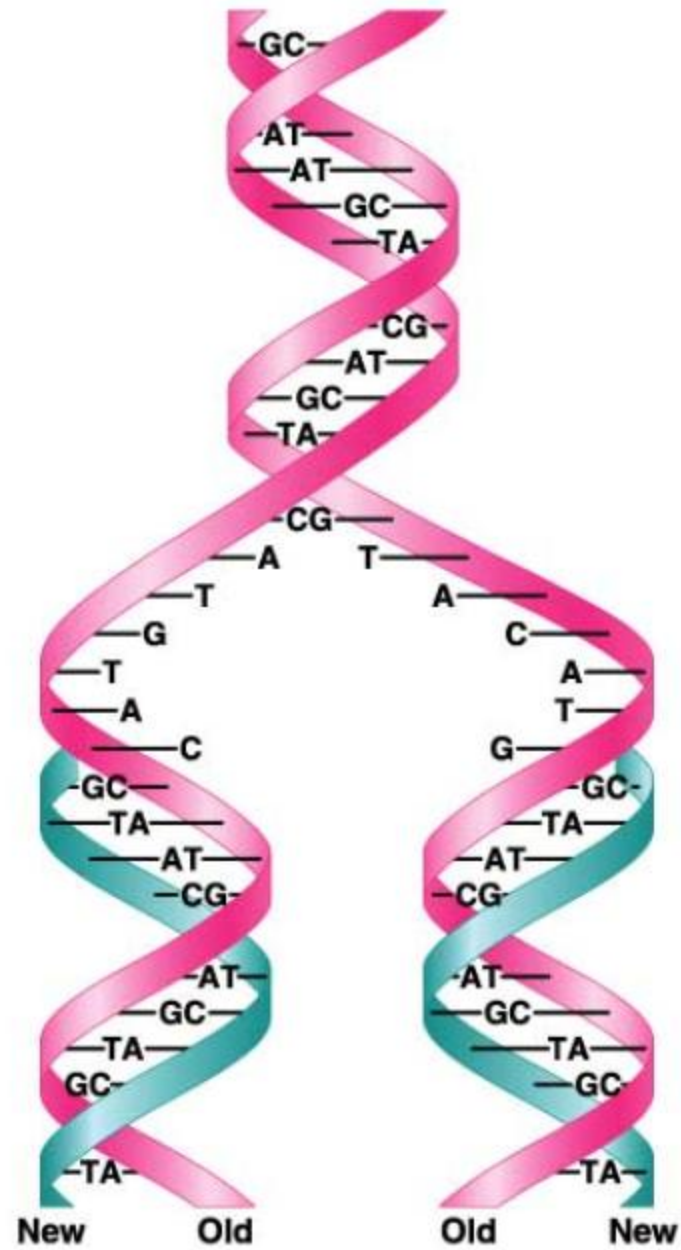
Ένζυμα που απαιτούνται

DNA polymerase III	Προσθέτει νουκλεοτίδια στην αλυσίδα (5->3)/Νουκλεάση 3->5
DNA gyrase/Topoisomerase	Ανακουφίζει την τάση από το ξεδίπλωμα των κλώνων
RNA polymerase (DNA primase)	Συνθέτει τον RNA εκκινητή
DNA helicase	Υδρολύει ATP και ξεδιπλώνει τη διπλή έλικα
Single Strand Binding Proteins (SSBP)	Σταθεροποιούν τις μονόκλωνες έλικες του DNA
DNA ligase	Ενώνει τα κομμάτια του ασύμετρου κλώνου
Nuclease (RNase)	Αποικοδομεί τον RNA εκκινητή
DNA polymerase I (repair)	Αντικαθιστά το RNA με DNA
Ολισθαίνων συνδετήρας (sliding clamp)	Επιτρέπει στην DNApol να ολισθαίνει πάνω στο DNA
Επιδιορθωτικά ένζυμα	Επιδιορθώνουν τα λάθη που δεν επιδιορθώνονται από τις DNA polymerases

SEMI-CONSERVATIVE DNA REPLICATION



Matthew Messelson Franklin Stahl



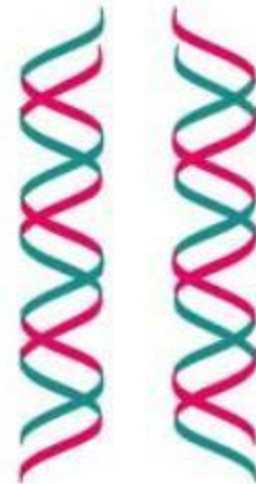
Conservative



Semiconservative



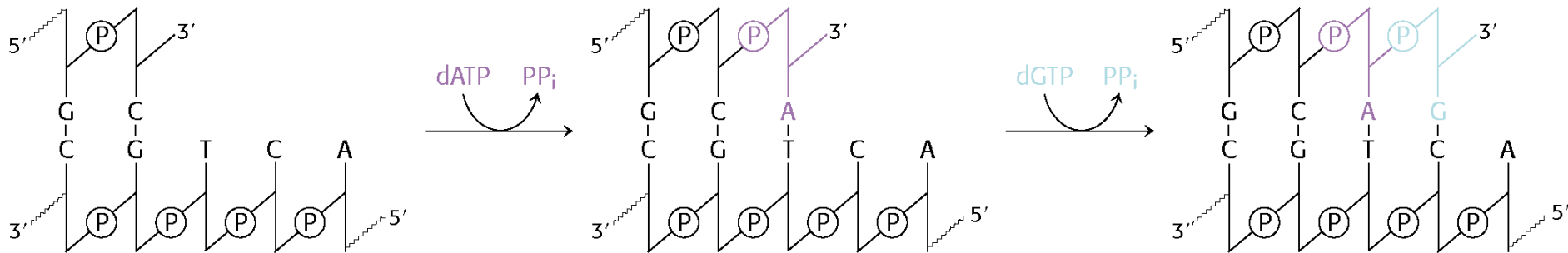
Dispersive



One round of replication — New synthesis is shown in blue

Η DNA πολυμεράση καταλύει τη δημιουργία φωσφοδιεστερικών δεσμών

- Τα νουκλεοτίδια τοποθετούνται πάνω σε εκμαγείο που ήδη υπάρχει



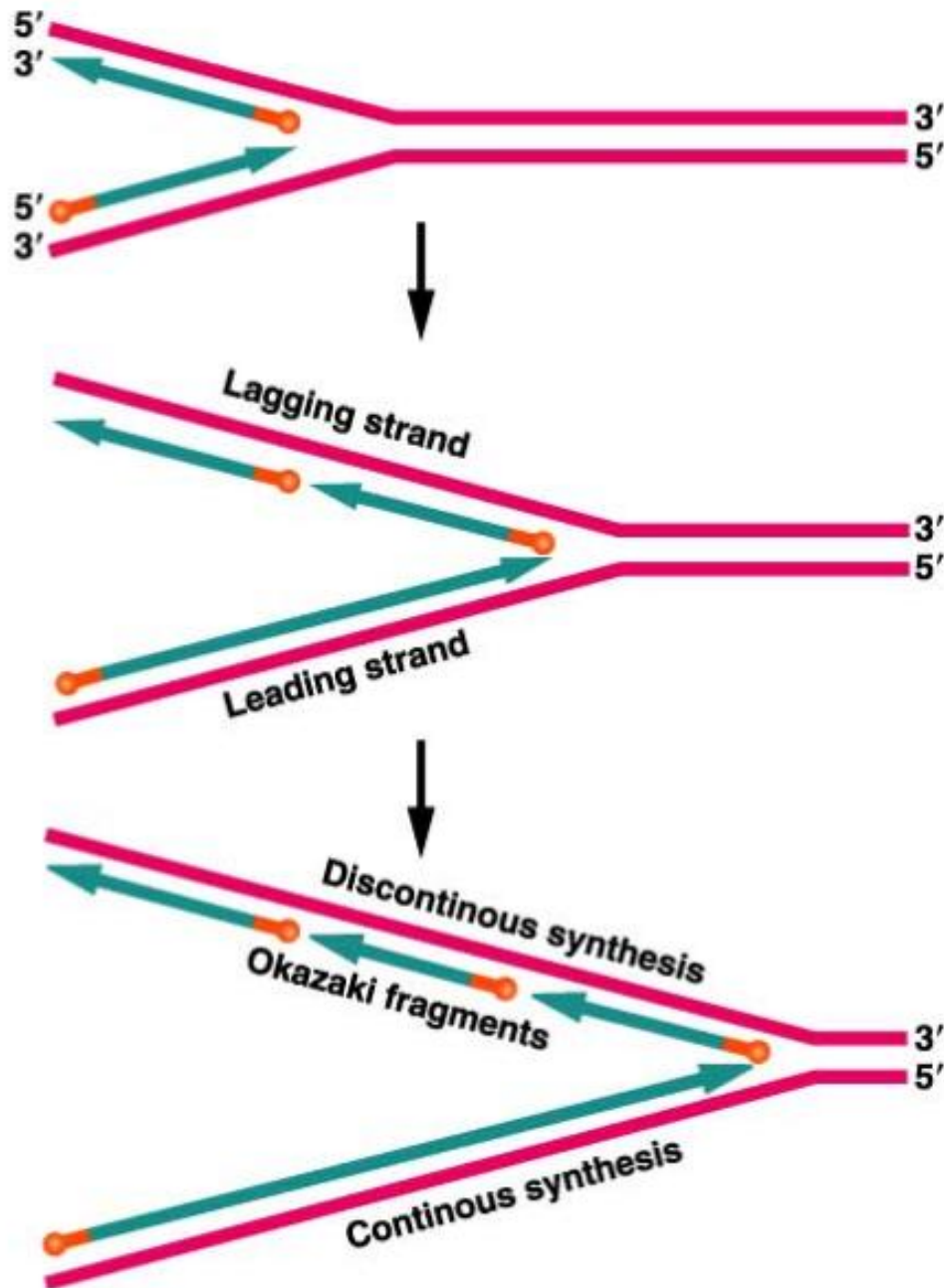
ΕΙΚΟΝΑ 5.21 Η αντίδραση πολυμερισμού του DNA που καταλύεται από DNA πολυμεράσες.

Αυτοδιπλασιασμός

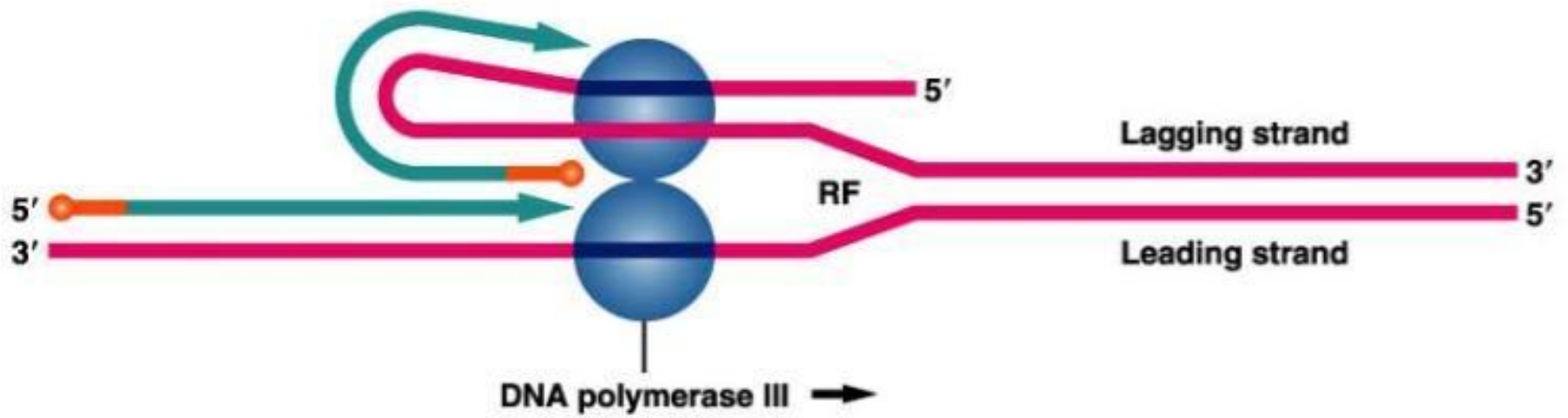


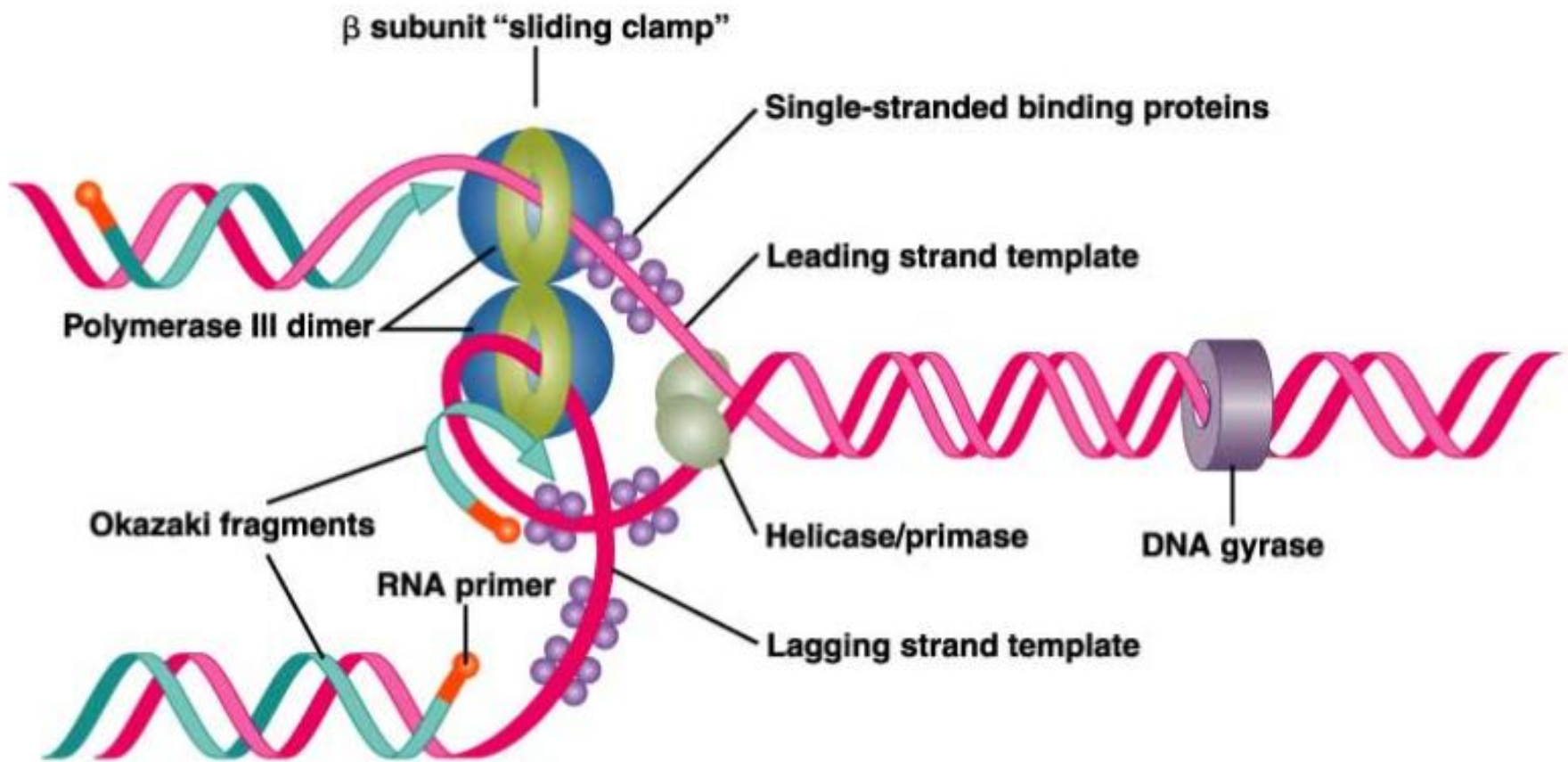
Αντιγραφή

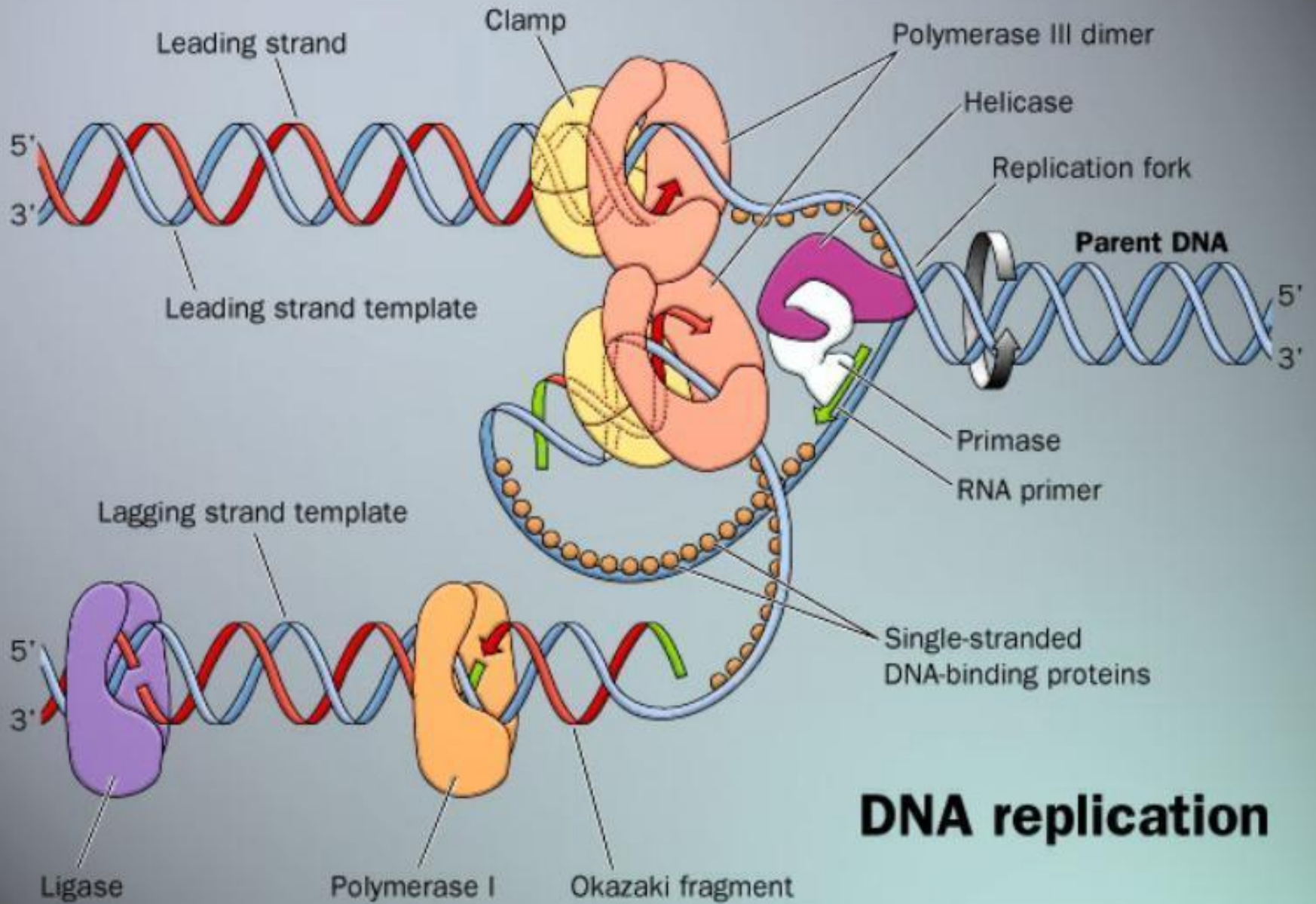




Key ● Initiation
■ RNA primer
▶ DNA synthesis

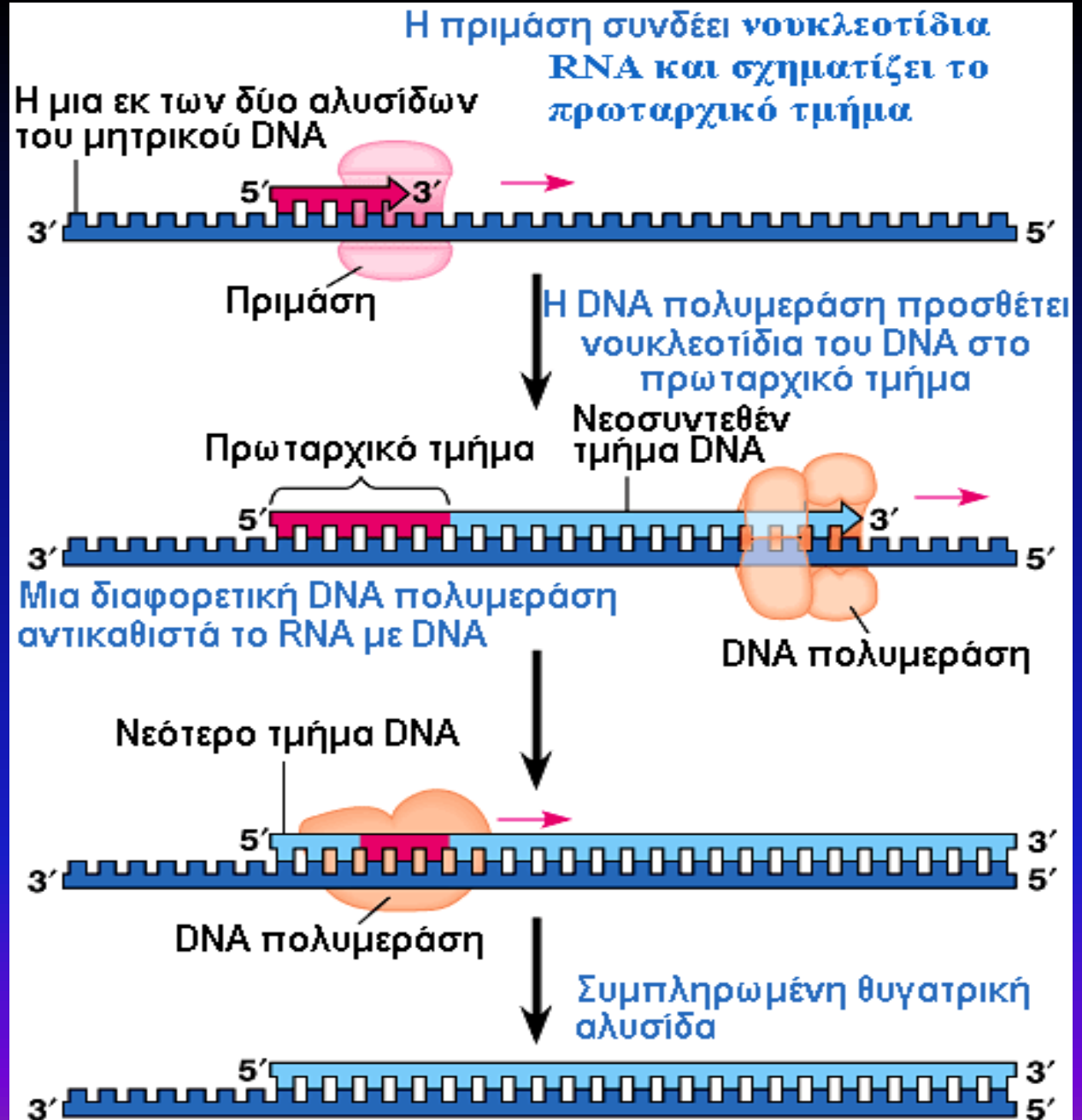




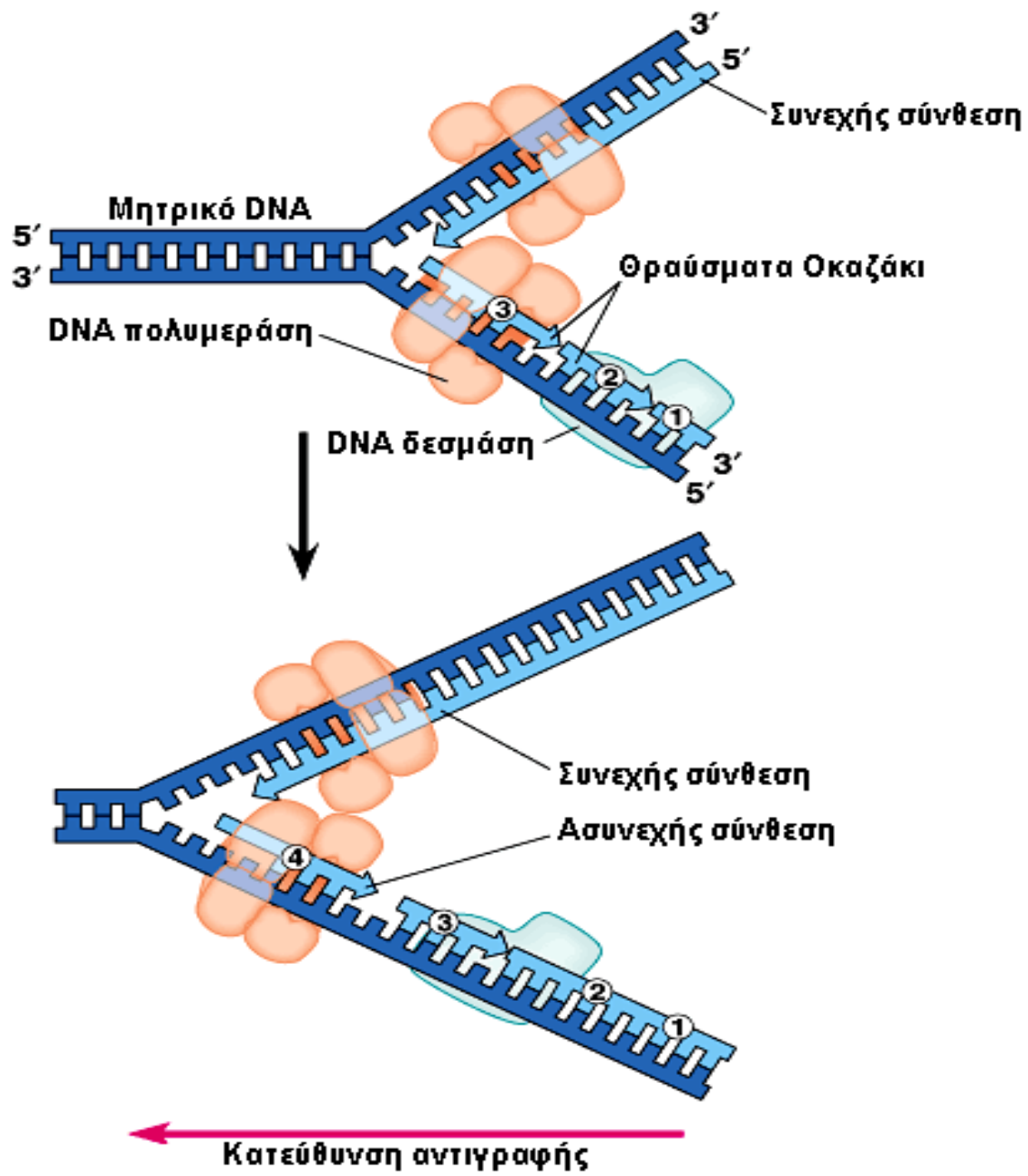


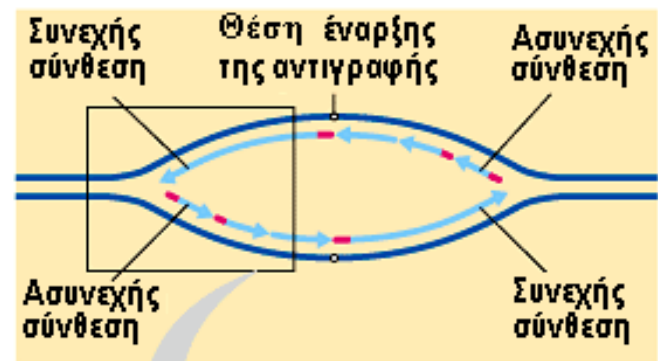
DNA replication

Αντιγραφή

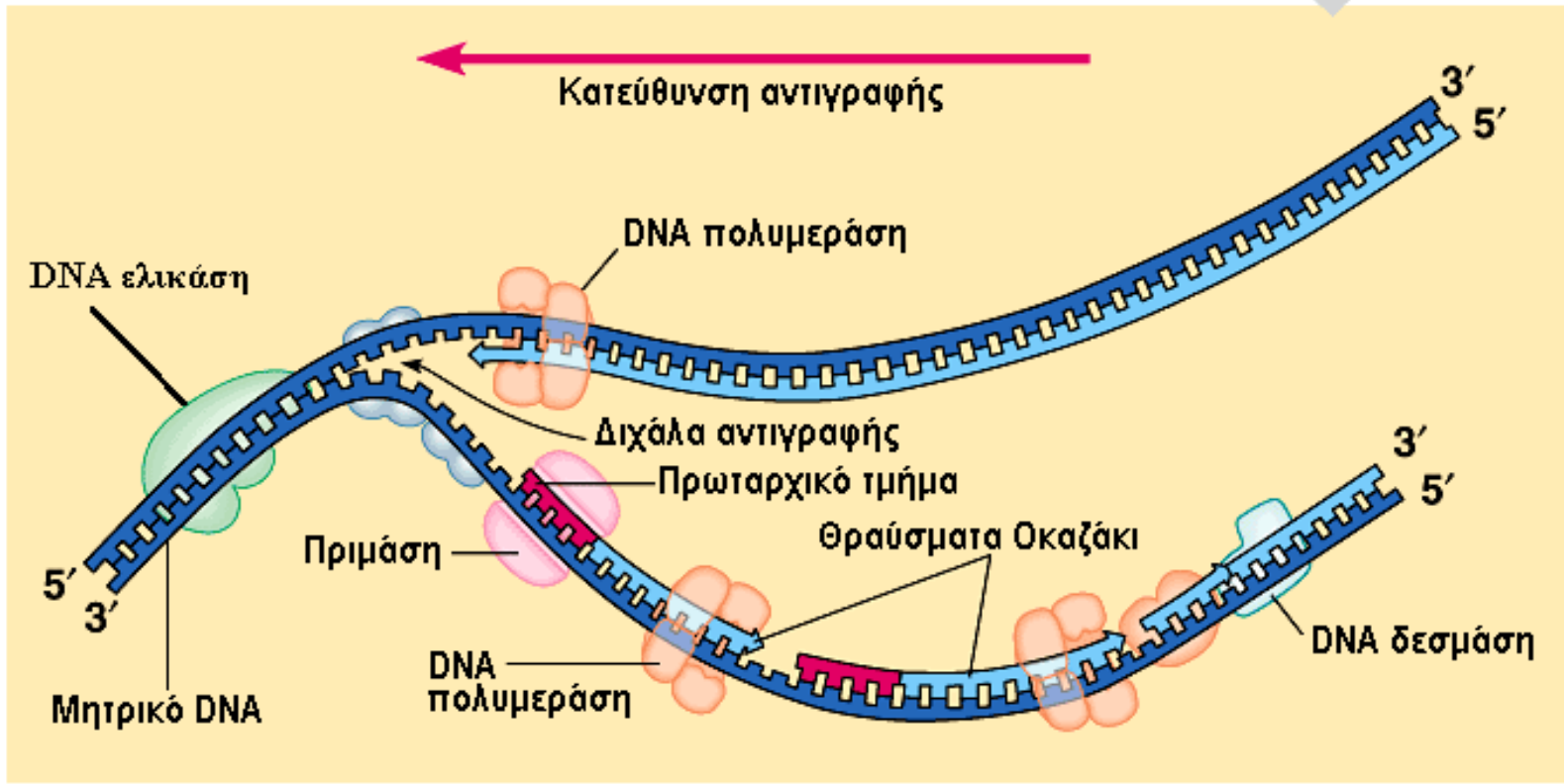


<http://www.youtube.com/watch?v=AGUuX4PGICc&feature=related>





ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ



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

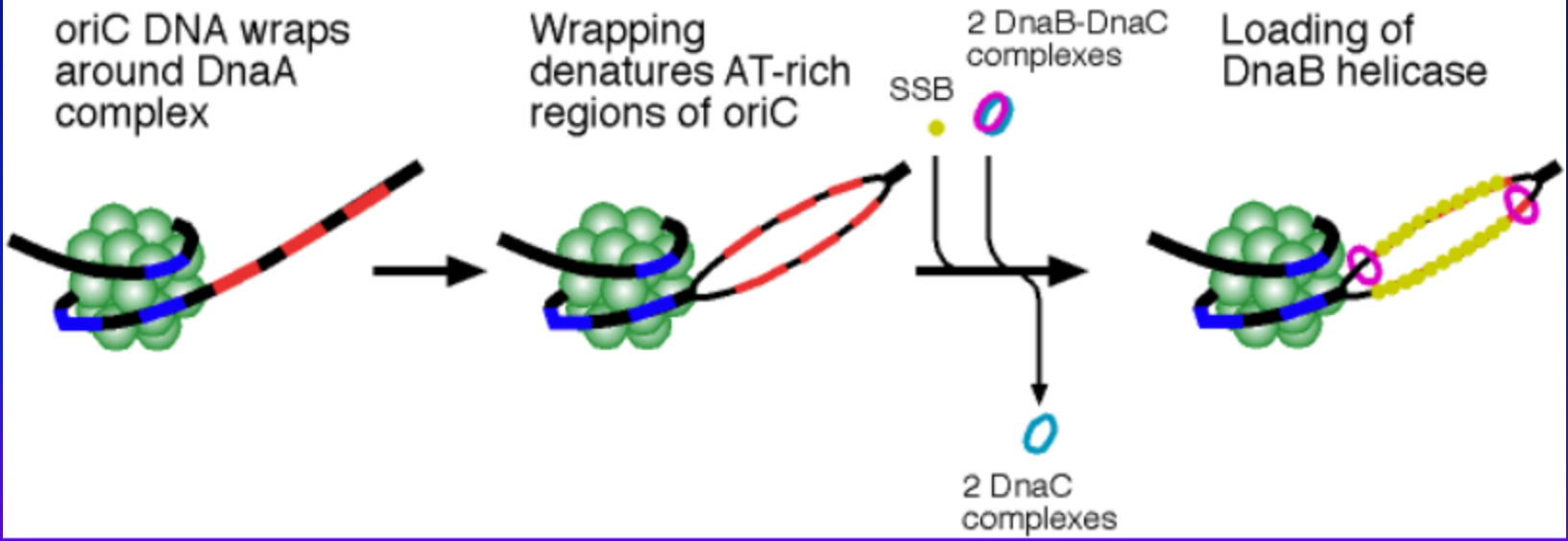
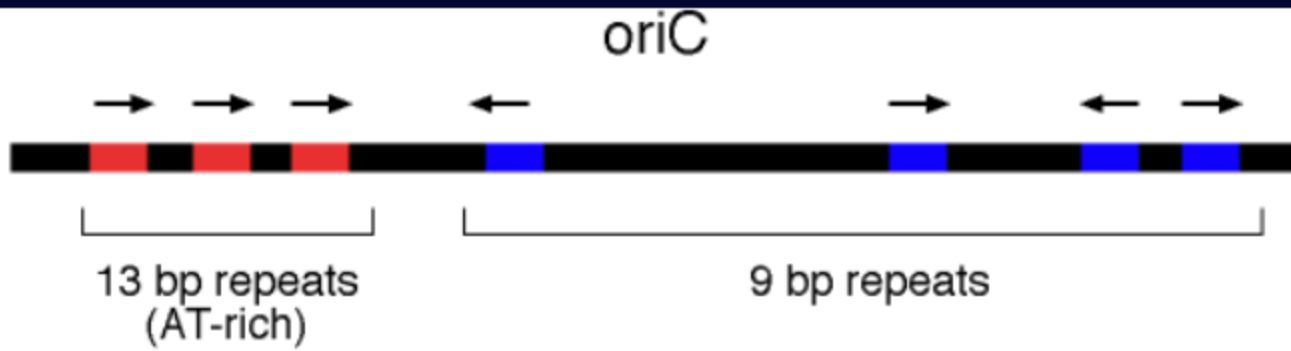
<http://www.youtube.com/watch?v=4jtmOZalvS0&feature=related>

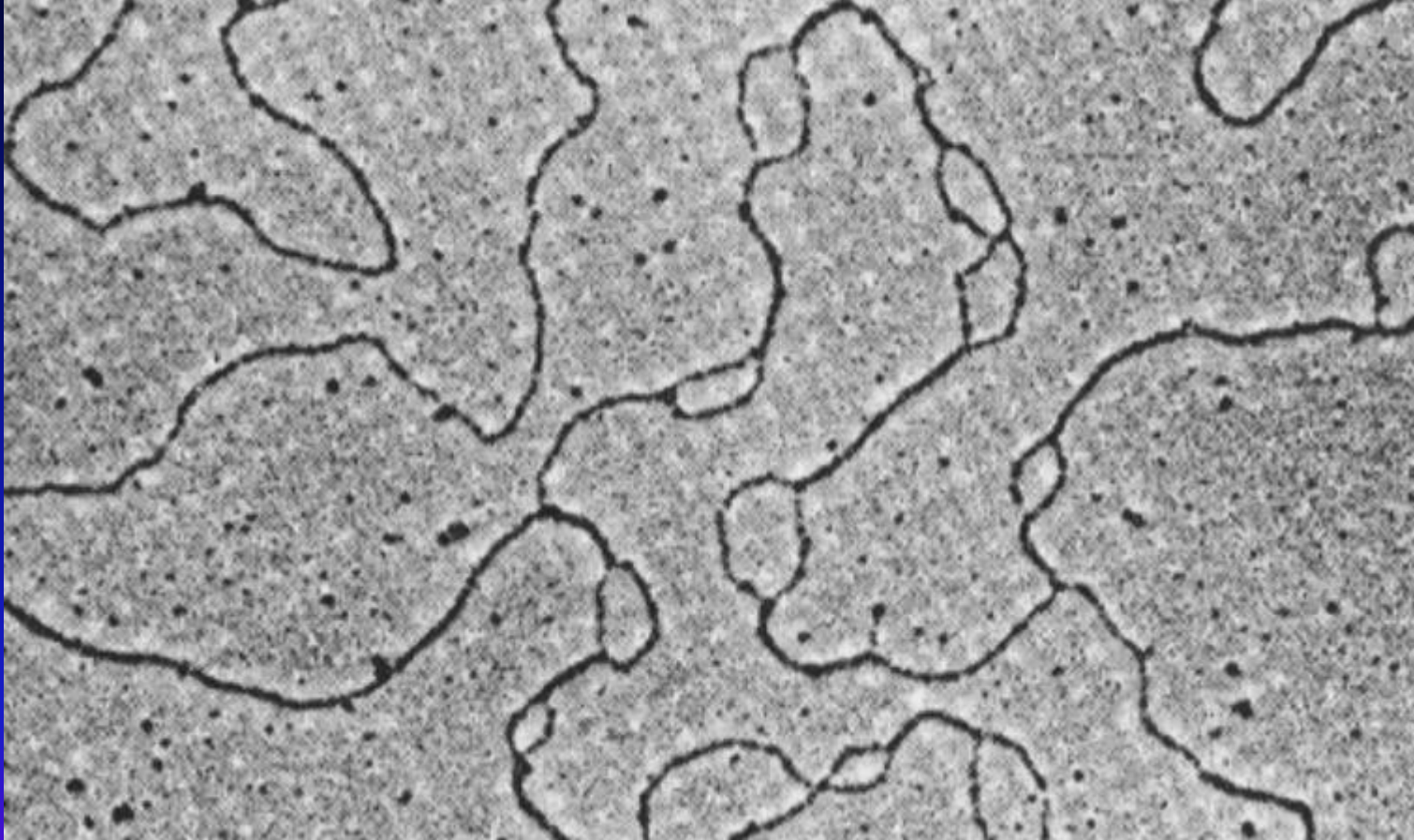
<http://www.youtube.com/watch?v=4PKjF7OumYo&feature=related>

περιεκτικό

Έναρξη αντιγραφής

- Ειδικές αλληλουχίες έναρξης
- 1 μόνο στους προκαρυωτικούς οργανισμούς
- Περισσότερες από 1 στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς
- Η αντιγραφή πιο αργή στους προκαρυωτικούς (?)

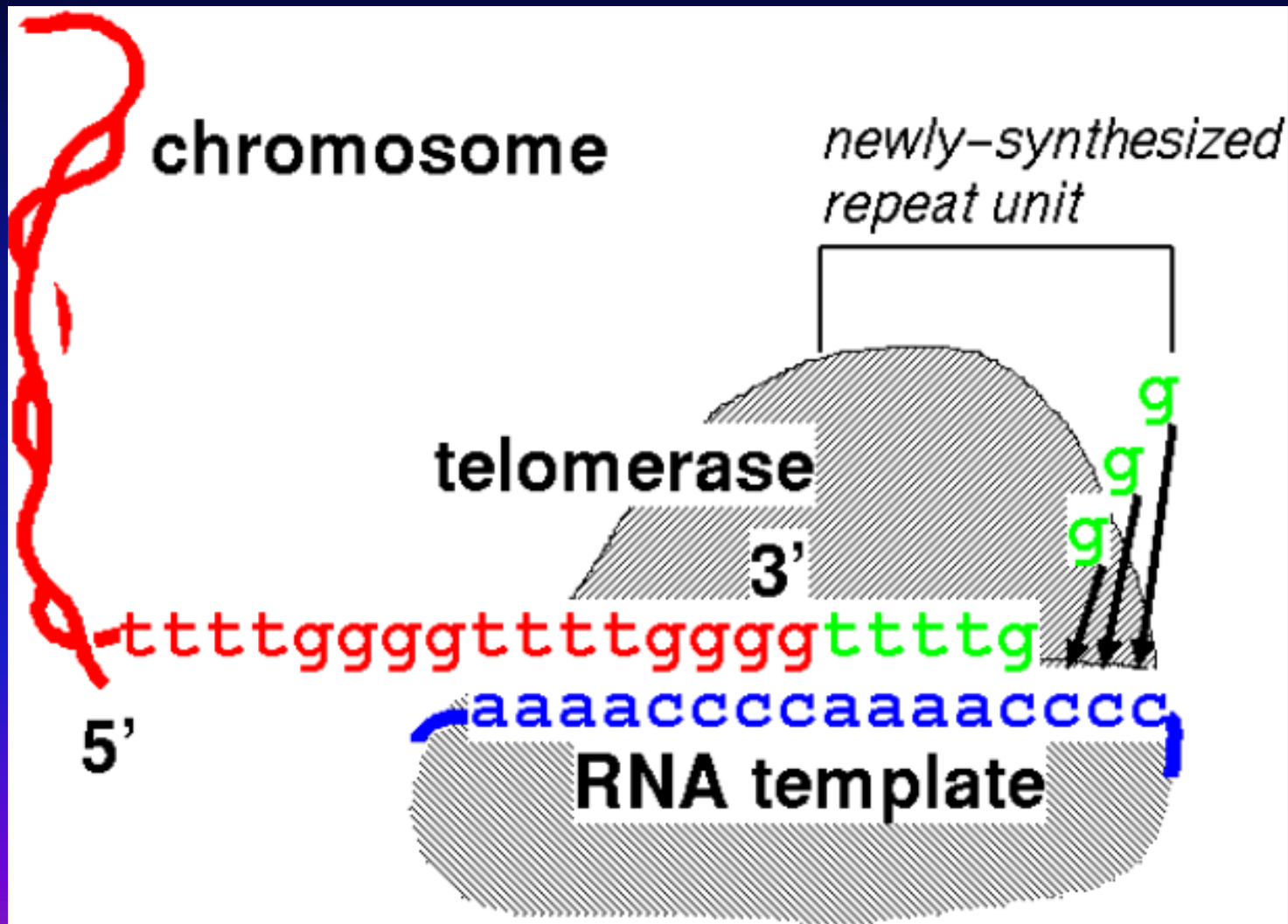




Τι συμβαίνει στα άκρα?

- Βακτήρια κυκλικό χρωμόσωμα
- Ευκαρυωτικά χρωμοσώματα?

Τελομεράση





Telomerase model

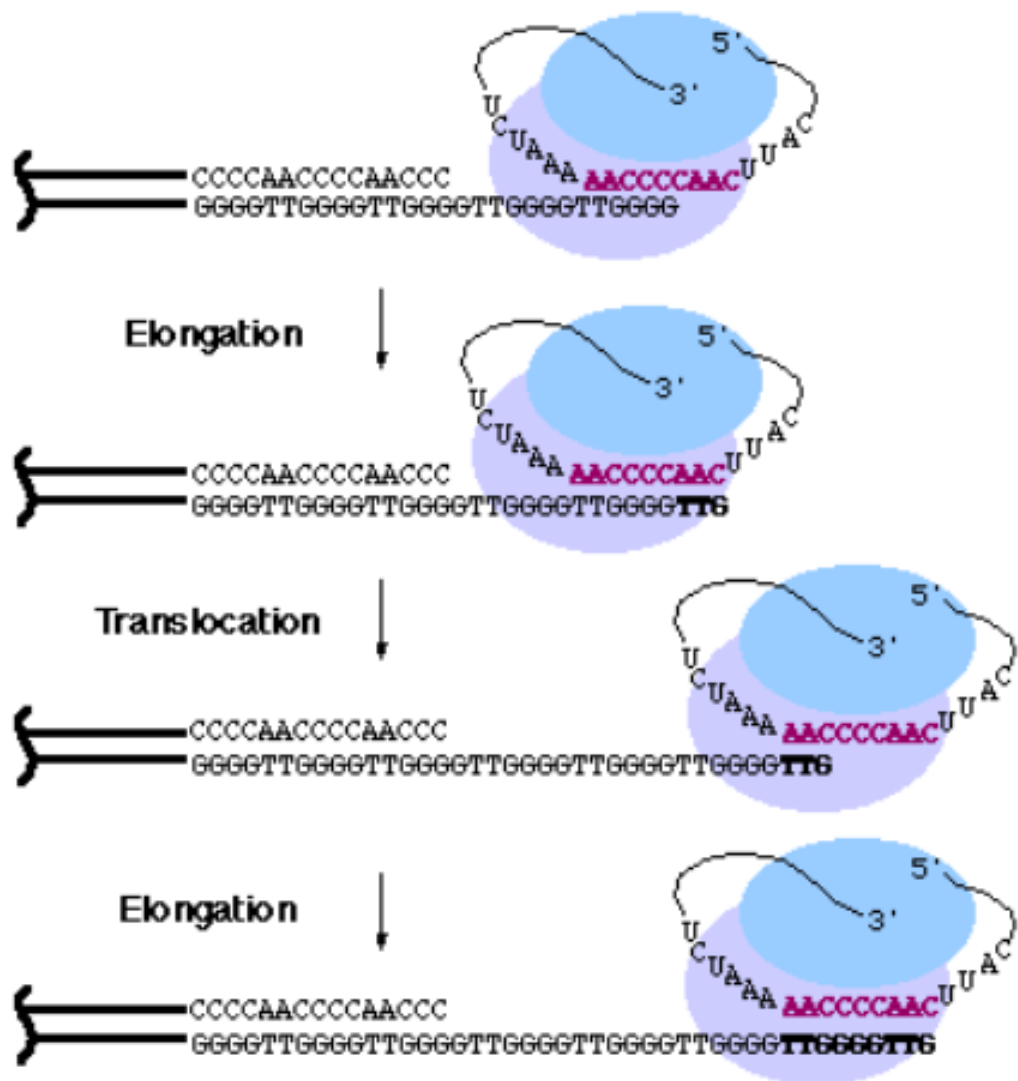
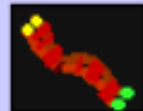
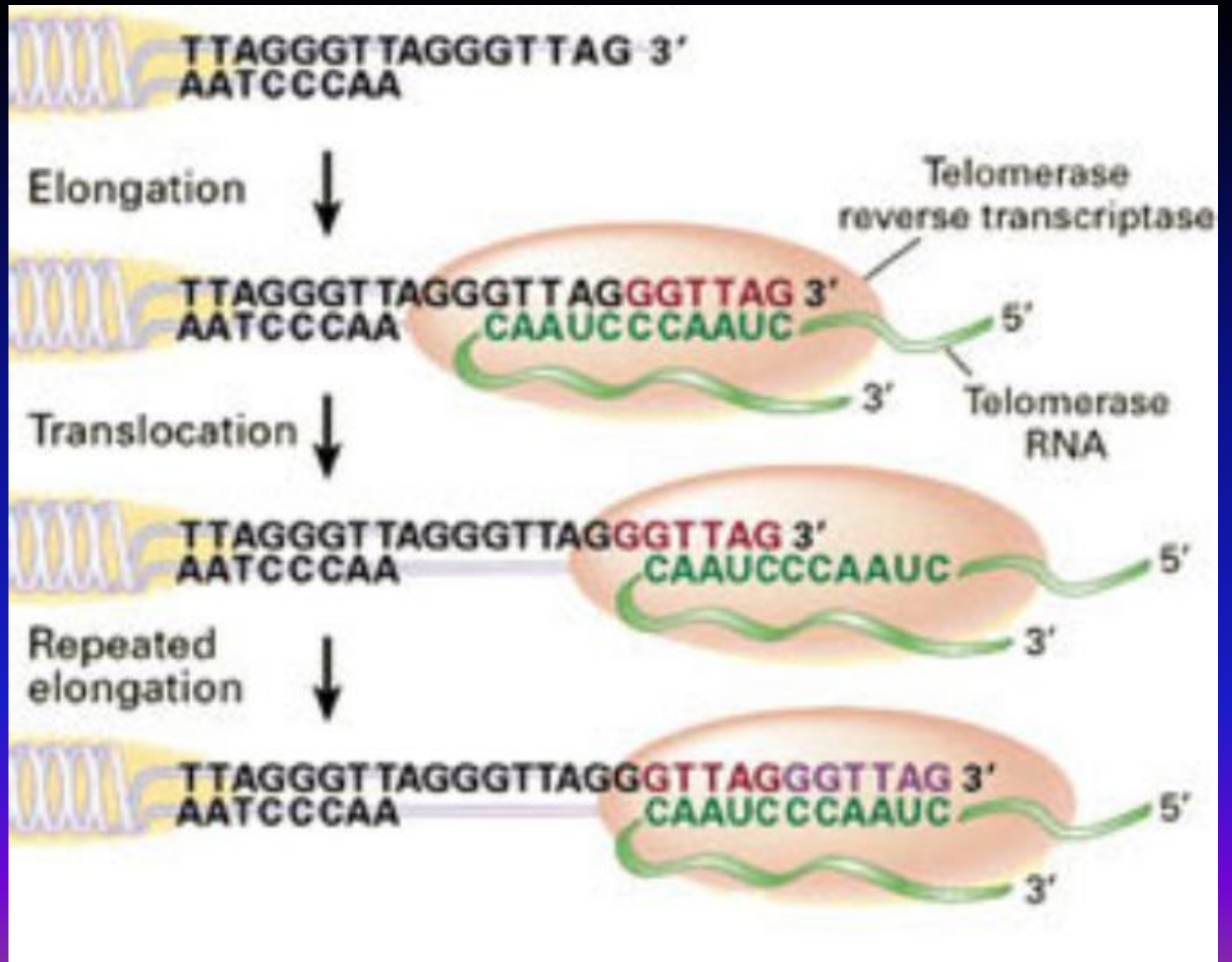


Figure modified & reproduced with permission from Carol Greider.



<https://www.youtube.com/watch?v=vtXrehpCPEE>

<https://www.youtube.com/watch?v=AJNoTmWsEOs>

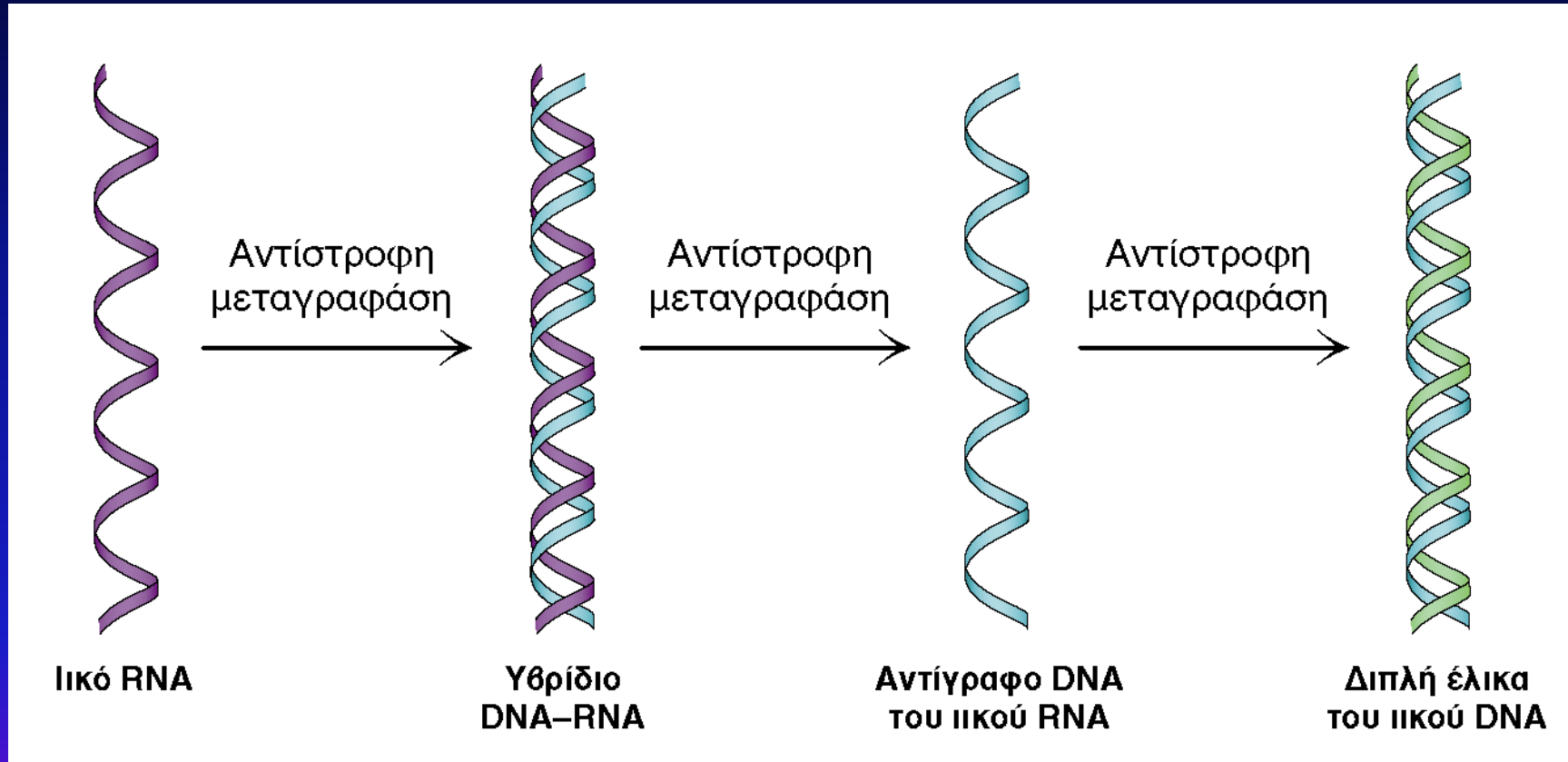
<https://www.youtube.com/watch?v=qQCecSuPa1w>

https://www.youtube.com/watch?v=bB_sS15o9Do

<http://www.tasciences.com/telomerase-activation/>

φάρμακο από εταιρία

Τα γονιδιώματα μερικών ιών αποτελούνται από RNA



Ασκήσεις

1. Μια από τις δυο αλυσίδες του DNA που έχει τη σύνθεση βάσεων 21%A, 29% G, 29% και 21% T διπλασιάζεται για να δώσει τη συμπληρωματική της αλυσίδα. Η συμπληρωματική αυτή αλυσίδα μεταγράφεται στη συνέχεια σε RNA. Να δοθεί η σύνθεση των βάσεων του σχηματιζόμενου RNA. Να αιτιολογηθεί η απάντηση.
2. Ένα μόριο DNA έχει μήκος, αν ξετυλιχθεί, 340.000 nm, και μεταξύ των νουκλεοτιδίων του σχηματίζονται 2.250.000 δεσμοί υδρογόνου. Ποια θα είναι η επί τοις εκατό αναλογία των βάσεων στο μόριο αυτό αν είναι γνωστό ότι το μήκος 10 ζευγαριών βάσεων είναι 3,4nm;
3. Το σωματικό κύτταρο μιας γυναίκας περιέχει $6,18 \cdot 10^9$ βάσεις ενώ το αντίστοιχο σωματικό κύτταρο ενός άνδρα περιέχει $6,05 \cdot 10^9$ βάσεις. α) Πώς δικαιολογείτε αυτή τη διαφορά; β) Πόσες βάσεις περιέχονται στα ωάρια και πόσες στα σπερματοζωάρια του ανθρώπου;

4. Στο έντομο δροσόφιλα, που είναι διπλοειδής οργανισμός το φύλο καθορίζεται όπως και στον άνθρωπο (XY αρσενικό, XX θηλυκό). Το Y χρωμόσωμα της δροσόφιλα αποτελείται από DNA μήκους 3 Mbp (1 Mbp = 1 εκατομμύριο ζεύγη βάσεων) ενώ το X χρωμόσωμα από DNA μήκους 27 Mbp. Το γονιδίωμα των γαμετών του εντόμου αυτού περιέχει εκτός του γενετικού χρωμοσώματος και τρία επιπλέον μόρια DNA μήκους 52 Mbp, 48 Mbp και 2 Mbp αντίστοιχα. Ποιος ο συνολικός αριθμός ζευγών βάσεων που περιέχονται α) σε ένα σωματικό κύτταρο θηλυκού ατόμου κατά την αρχή της μεσόφασης β) σε ένα σωματικό κύτταρο αρσενικού ατόμου κατά την αρχή της μεσόφασης γ) σε ένα σωματικό κύτταρο αρσενικού ατόμου κατά την μετάφαση δ) σε ένα ωάριο και ε) σε ένα σπερματοζωάριο;
5. Προσοχή στις ερωτήσεις που αναφέρουν λόγους $(A+T)/(G+C)$ και $(A+G)/(T+C)$
6. Ερμηνεία των Dot-Plots

Μεταγραφή DNA

Αυτοδιπλασιασμός



Αυτοδιπλασιασμός

Αυτοδιπλασιασμός



Γονιδιακή έκφραση - μεταγραφή, μετάφραση

Είδη RNA

1. Αγγελιοφόρο **m**
 2. Μεταφορικό **t** (περίπου 75 νουκλεοτίδια)
 3. Ριβοσωμικό **r** (δομικό και καταλυτικό ρόλο)
 4. Μικρό πυρηνικό **sn** σε ευκαρυωτικά κύτταρα
- Ριβοσωμικό (**r**) το πιο άφθονο και το αγγελιοφόρο (**m**) το πιο λίγο σε ένα κύτταρο

Σύνθεση RNA (κατεύθυνση 5'→3')

1. Εκμαγείο DNA
 2. Ενεργοποιημένα Πρόδρομα μόρια ATP, GTP, UTP, CTP
 3. Δισθενές μεταλλικό ιόν Mg^{2+} ή Mn^{2+}
 4. Μεταγραφικοί παράγοντες
 5. RNA πολυμεράση
- Η RNA πολυμεράση δεν χρειάζεται εκκινητή
 - Η RNA πολυμεράση δεν επιδιορθώνει (δεν έχει δράση νουκλεάσης)
 - Υπάρχουν 3 RNA πολυμεράσες στα ευκαρυωτικά , μια για κάθε τύπο RNA

Κωδικεύουσα και μεταγραφόμενη αλυσίδα DNA

5'—GCGGCGACGCGCAGUUAUCCACAGCCGCCAGUUCGCGUGGCGGCAUUUU—3'

mRNA

3'—CGCCGCTGCGCGTCAATTAGGGTGTCTGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAAA—5'

Αλυσίδα-εκμαγείο DNA

5'—GCGGCGACGCGCAGTTAATCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCATTTT—3'

Κωδικεύουσα αλυσίδα DNA

ΕΙΚΟΝΑ 5.26 Συμπληρωματικότητα μεταξύ mRNA και DNA. Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA (κόκκινο) είναι συμπληρωματική της αλληλουχίας των βάσεων του εκμαγείου DNA (μπλε). Η αλληλουχία που βλέπουμε εδώ είναι από το σπερόνιο της θρυπτοφάνης, δηλαδή ένα τμήμα DNA που περιέχει τα γονίδια των πέντε ενζύμων που καταλύουν τη σύνθεση της θρυπτοφάνης. Η άλλη αλυσίδα του DNA (μαύρο) ονομάζεται κωδικεύουσα διότι έχει την ίδια αλληλουχία με το αντίγραφο του RNA, εκτός από την τροποποίηση της βάσης θυμίνης (T) που αντικαθιστά τη βάση ουρακίλης (U).

RNA

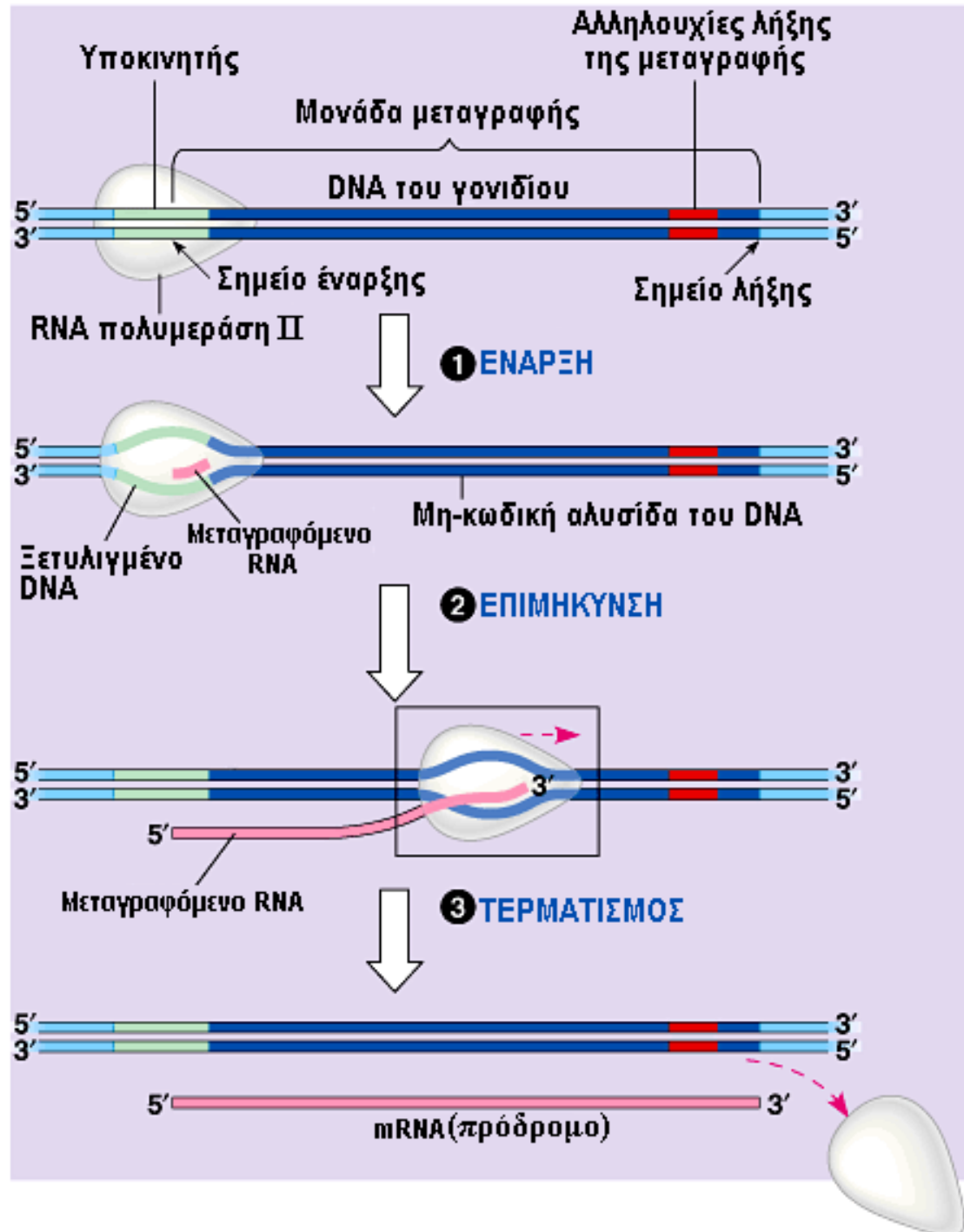
- Διαφορές RNA-DNA
- Διαφορές αντιγραφής-μεταγραφής
- Διαφορές RNA πολυμεράσης-DNA πολυμεράσης

RNA polymerase

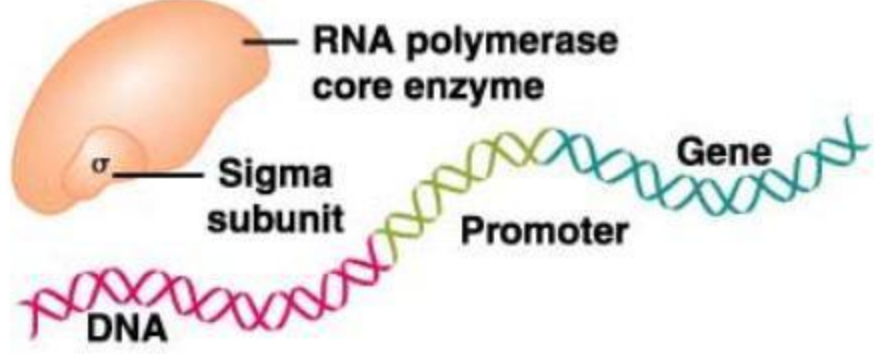
- ❖ Στους προκαρυωτικούς 1 είδος
- ❖ Στους ευκαρυωτικούς 3 (I, II, III)

RNA polymerase

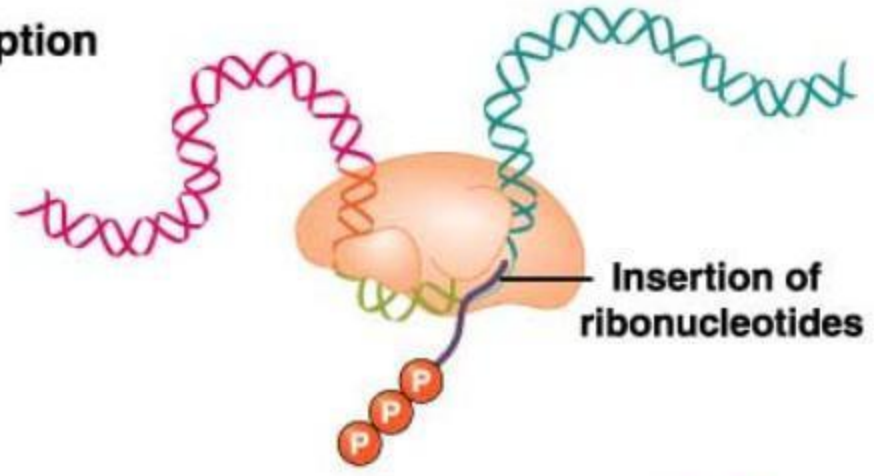
- RNA polymerase I
 - rRNA
- RNA polymerase II
 - Παράγει mRNA
 - TATA box
 - Υποκινητής 150-250bp
- RNA polymerase III
 - Small RNAs - tRNA, 5sRNA



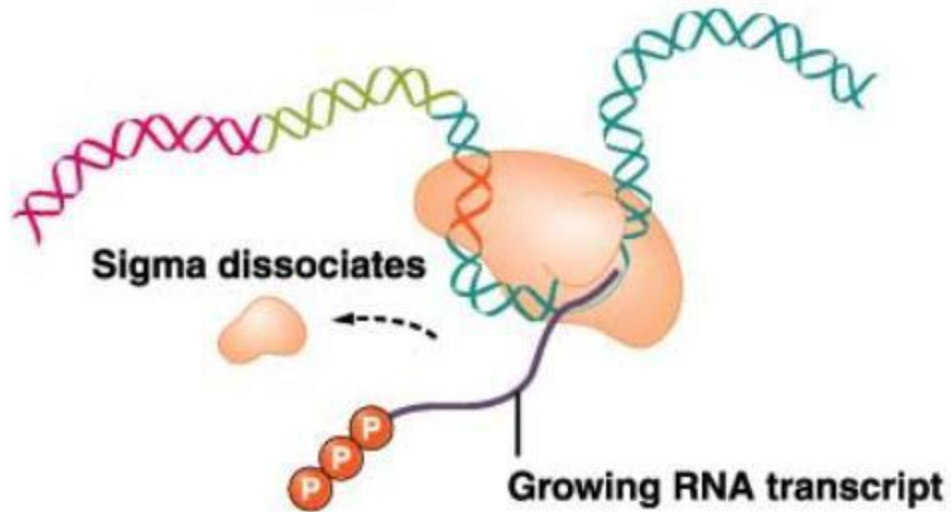
(a) Transcription components

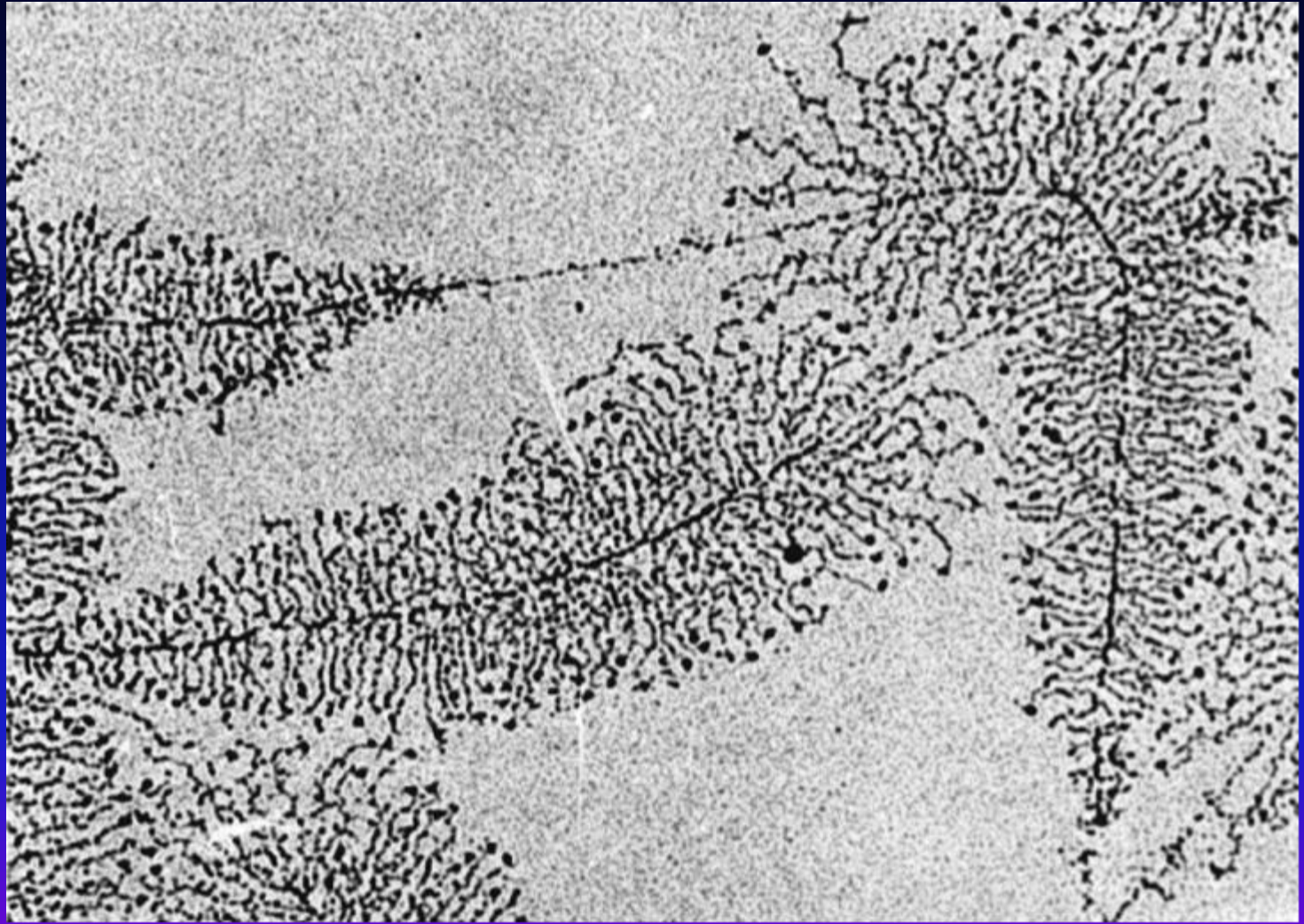


(b) Template binding and initiation of transcription

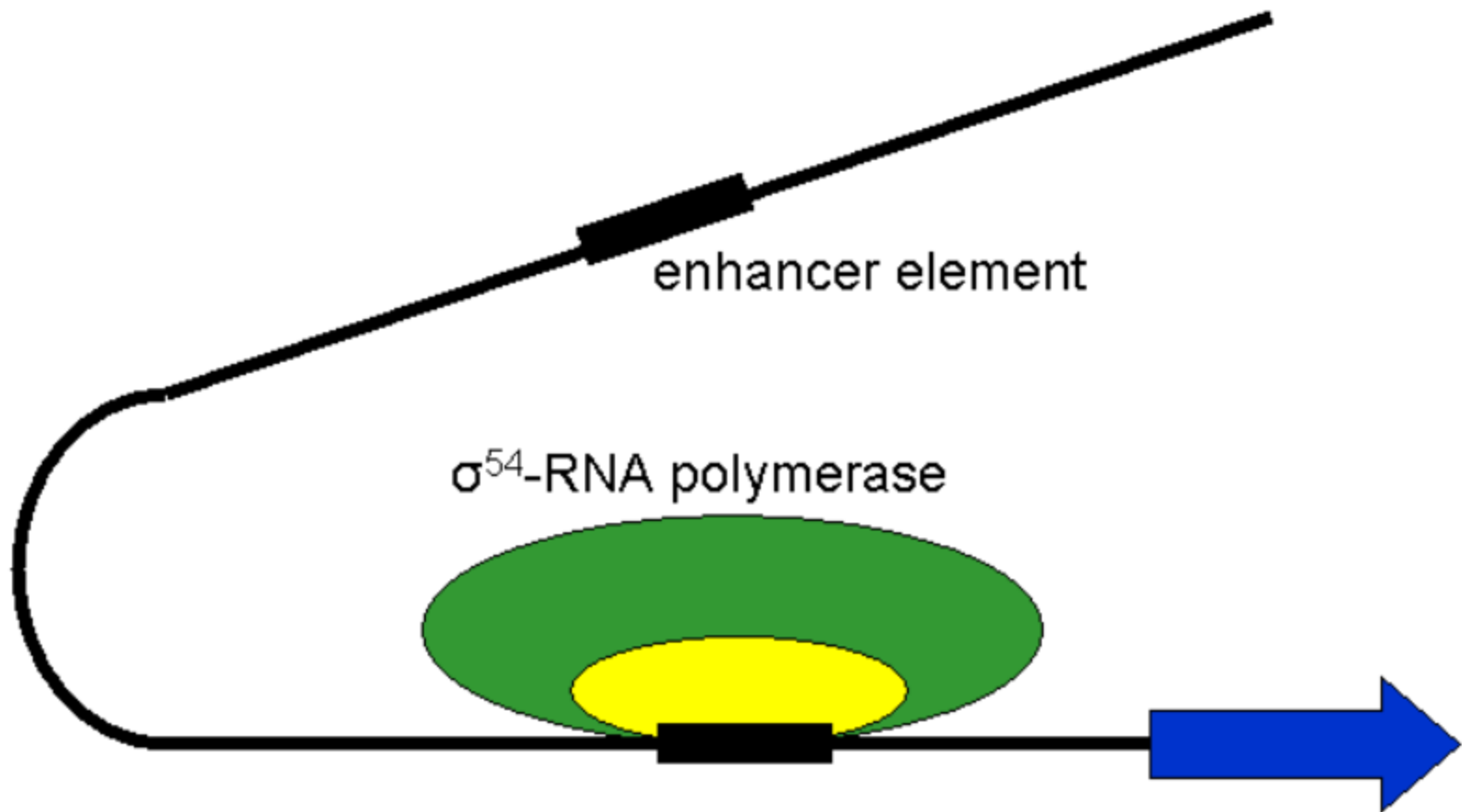


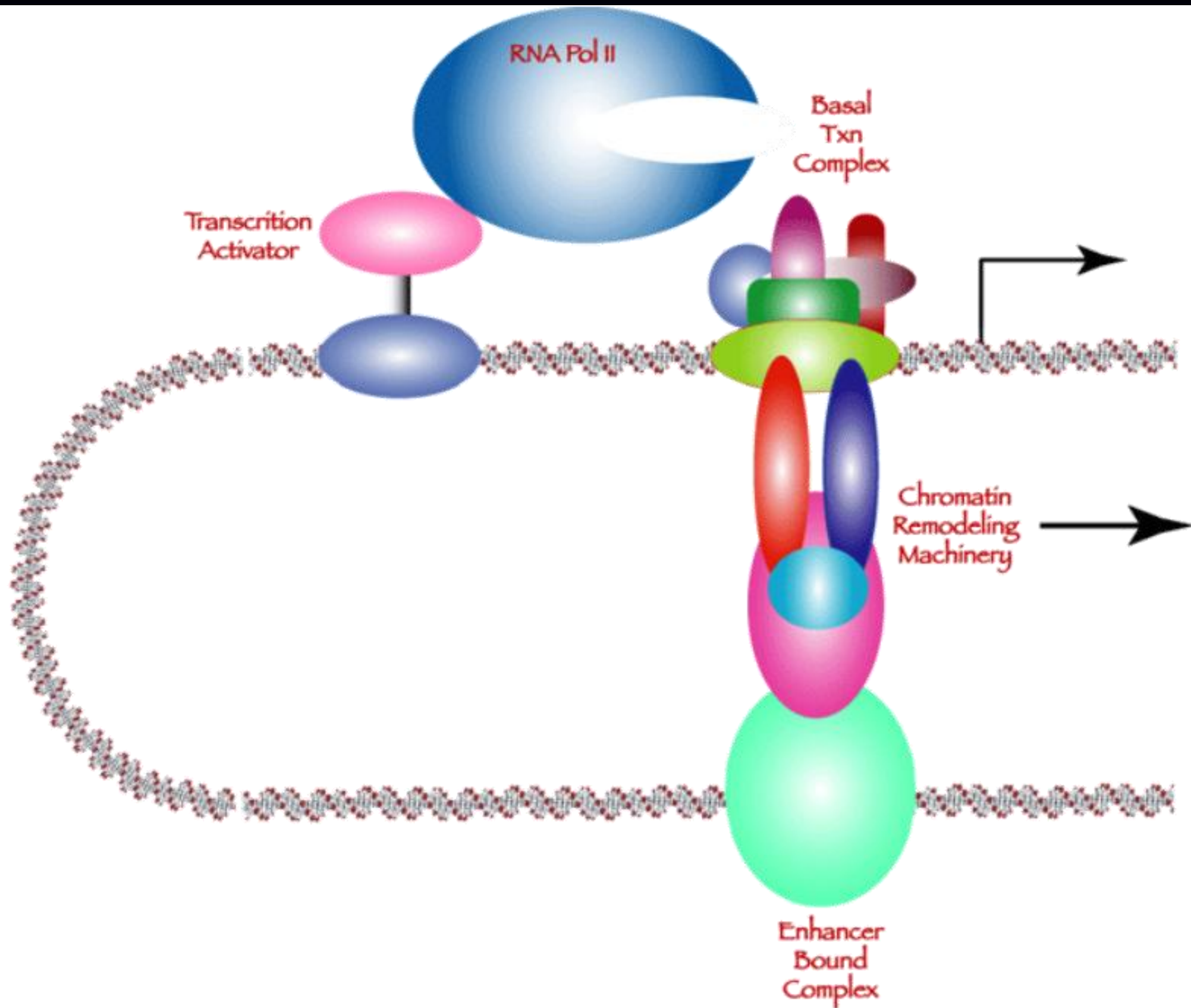
(c) Chain elongation



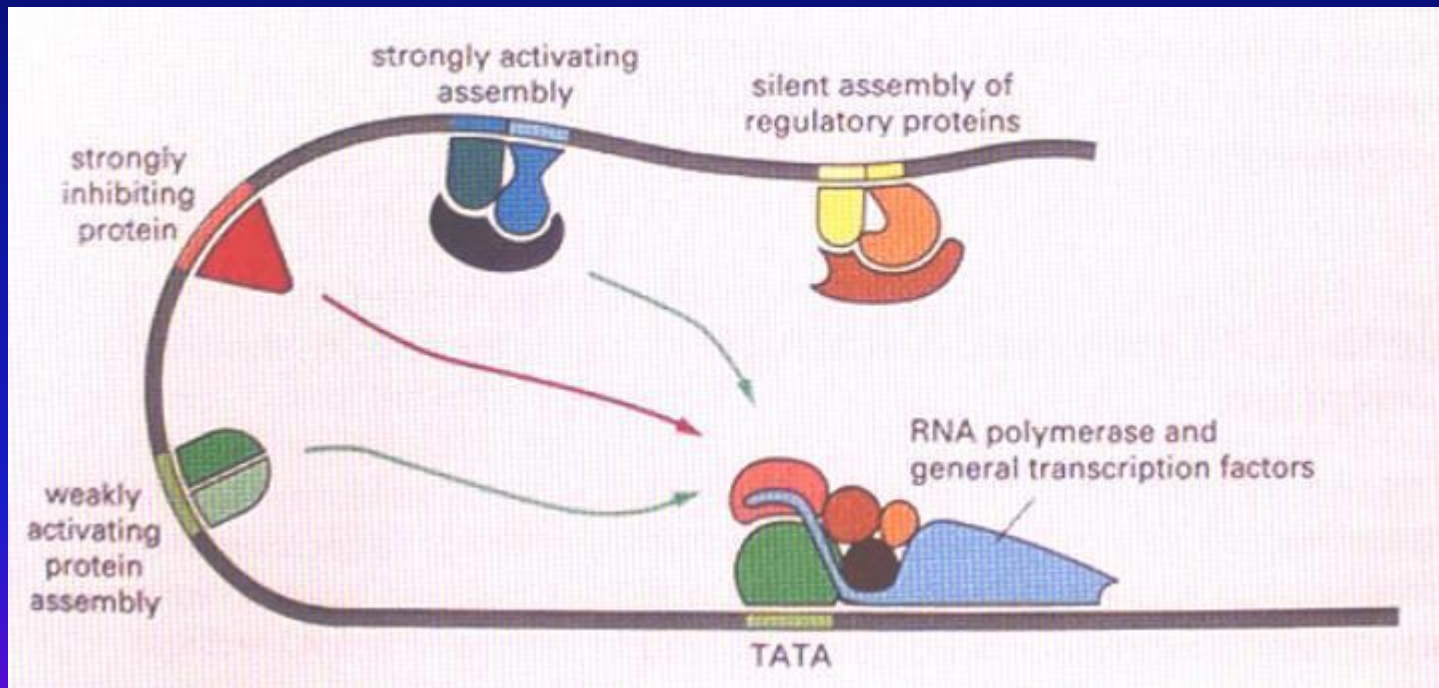


The σ^{54} -RNAP cannot initiate transcription until ...

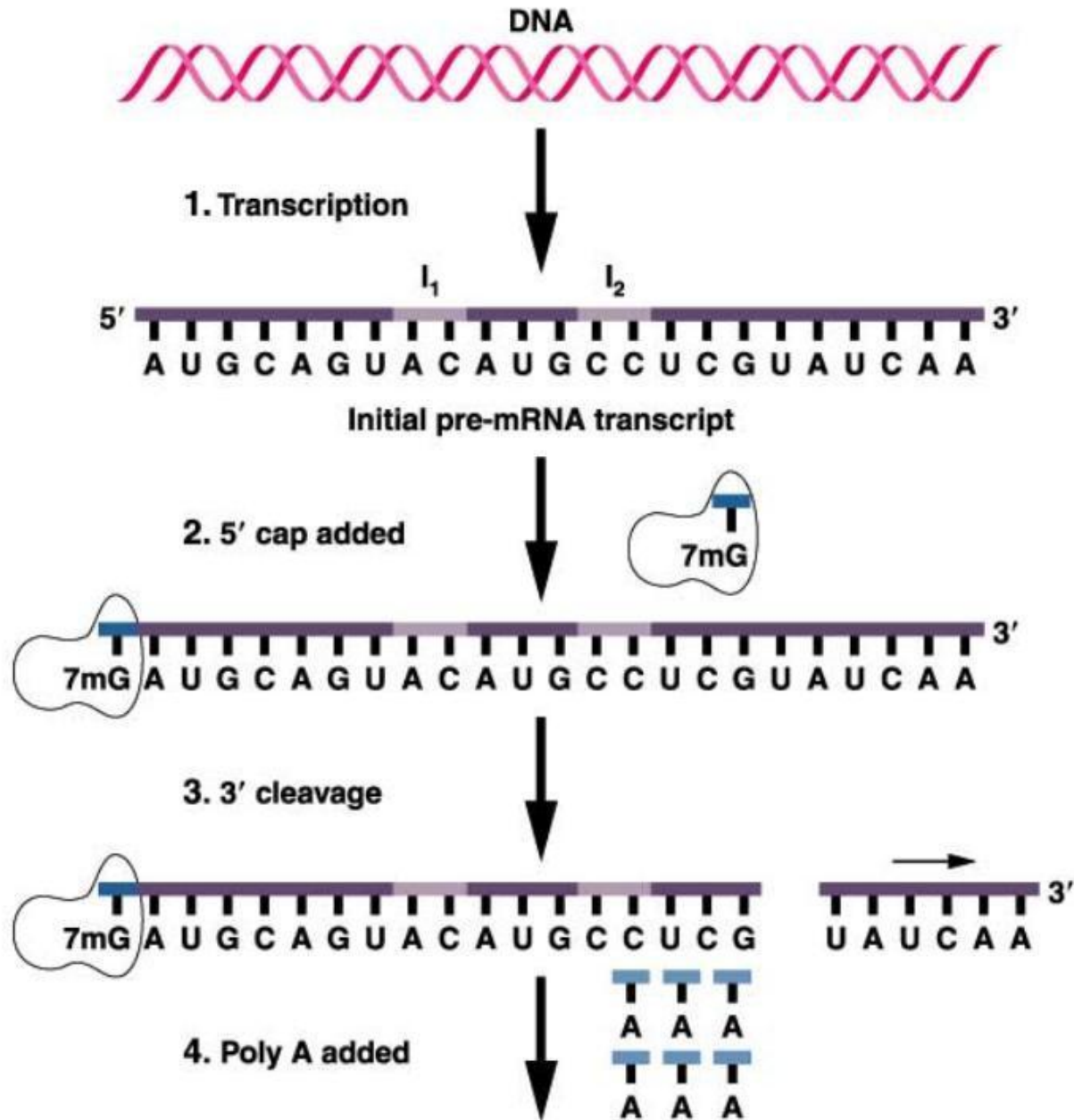


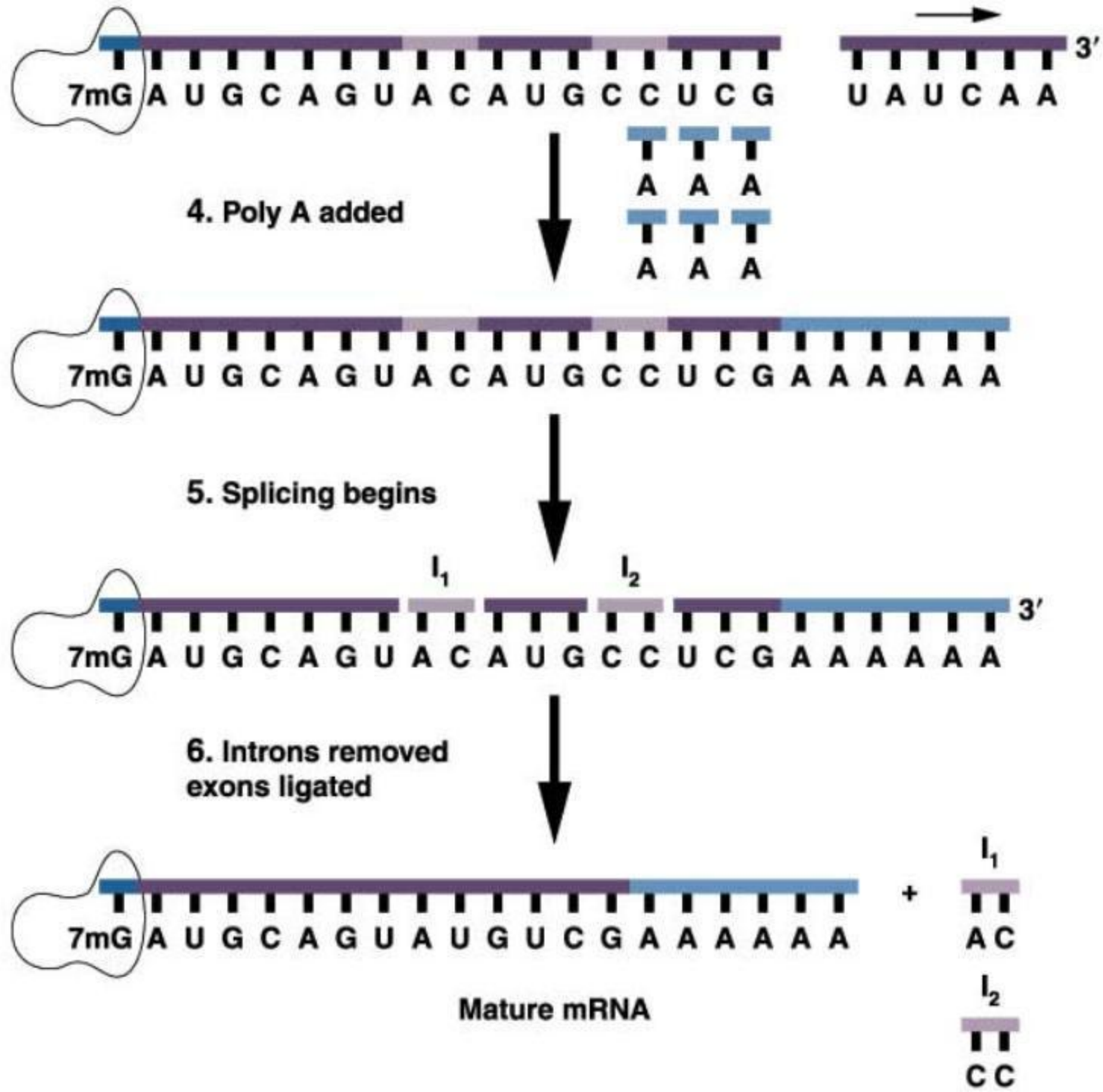


Έλεγχος της μεταγραφής σε πολλά επίπεδα από πολλούς παράγοντες



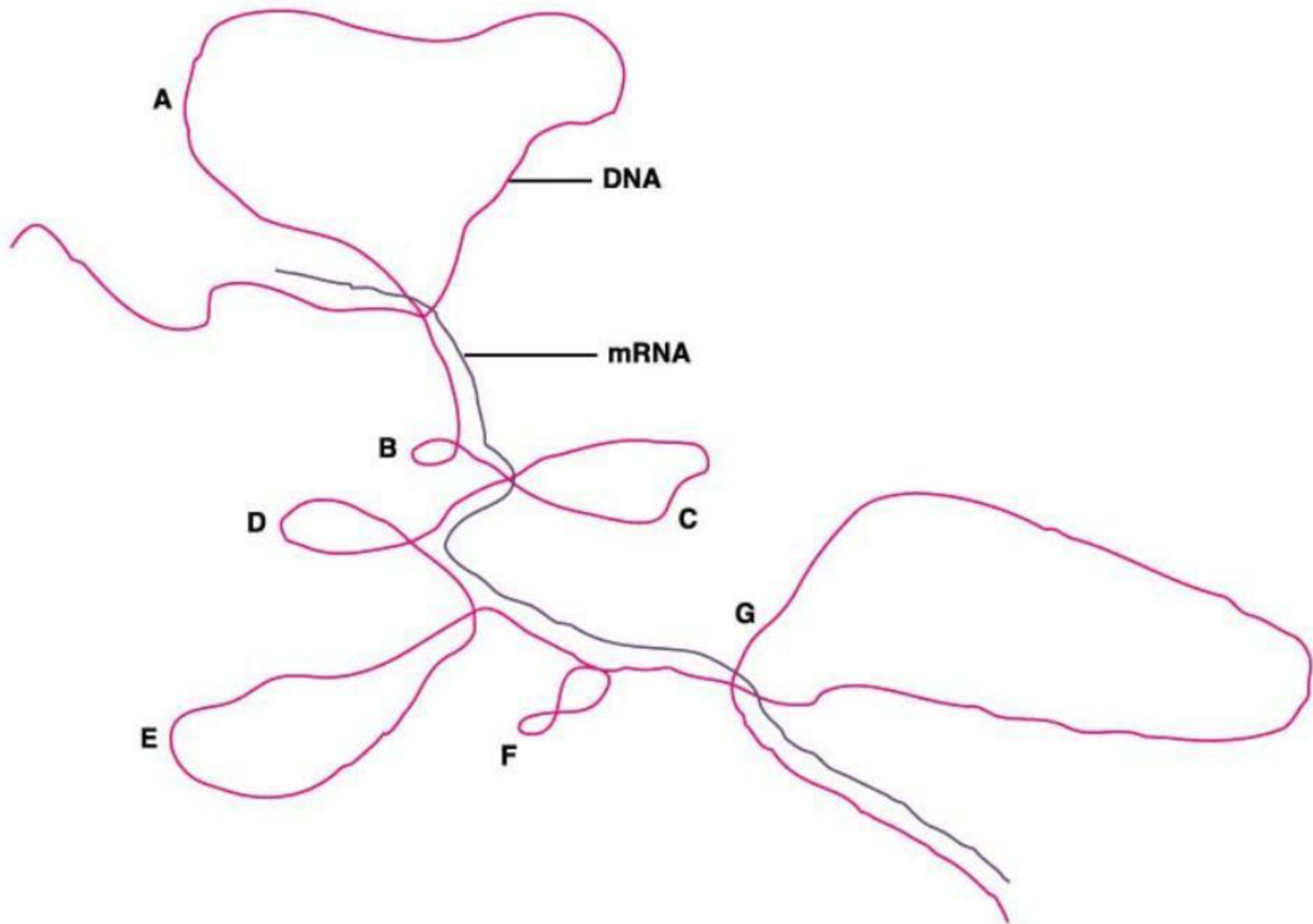
Ωρίμανση του mRNA

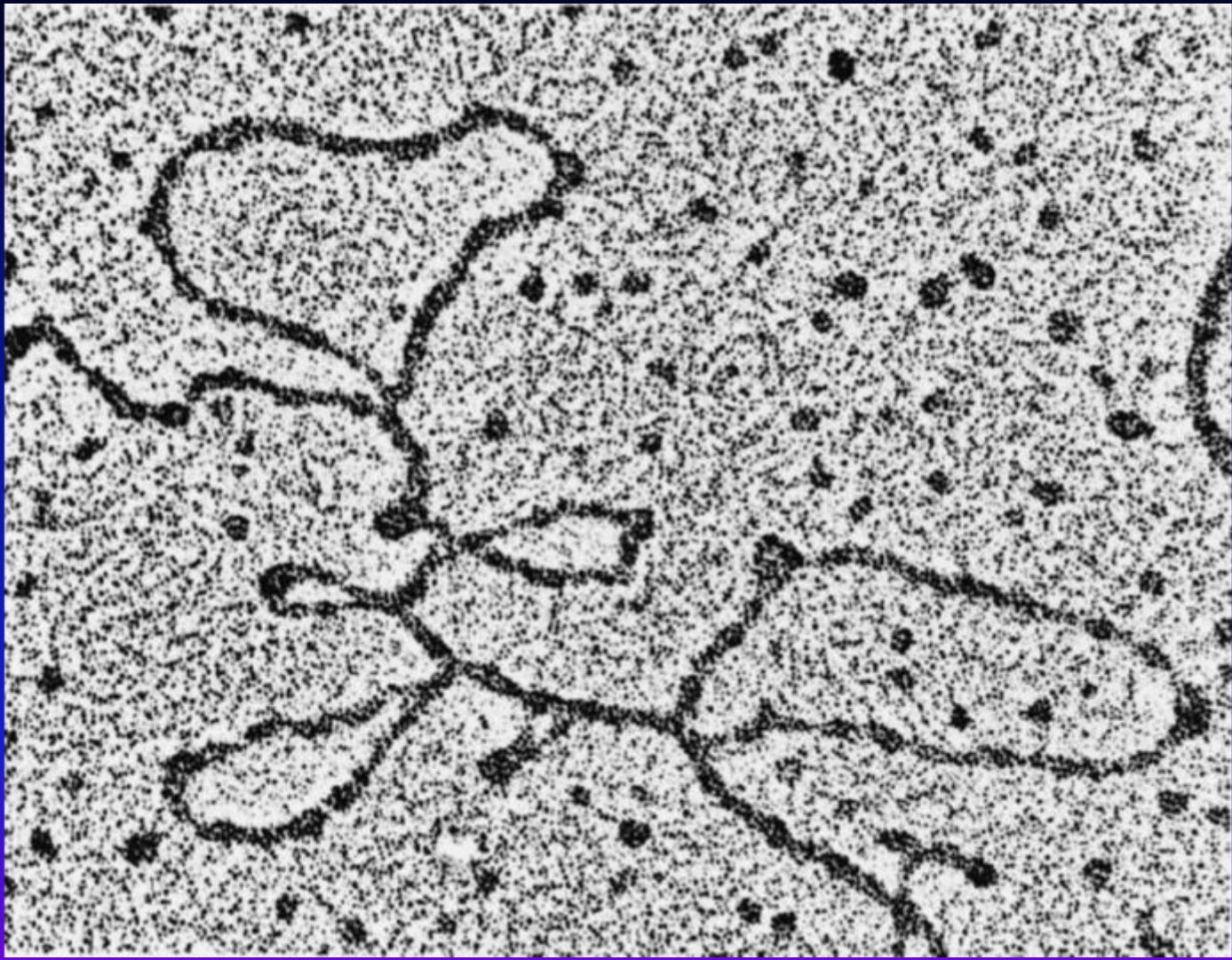




Τα περισσότερα ευκαρυωτικά γονίδια αποτελούνται από ιντρόνια και εξώνια

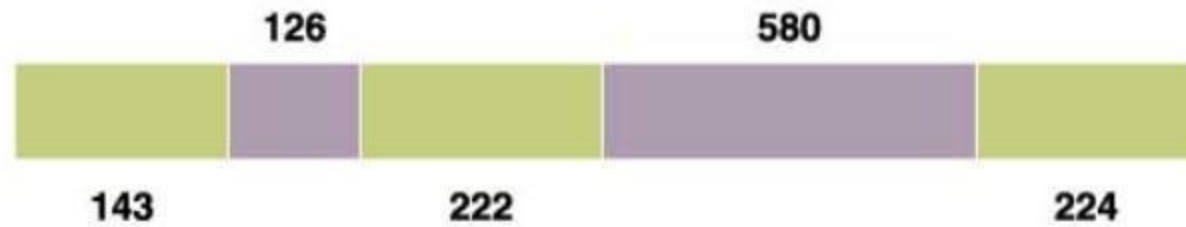
- Τα προκαρυωτικά γονίδια είναι συνεχή
- Τα περισσότερα ευκαρυωτικά είναι ασυνεχή
- Για να βγει το RNA από τον πυρήνα πρέπει να ωριμάσει



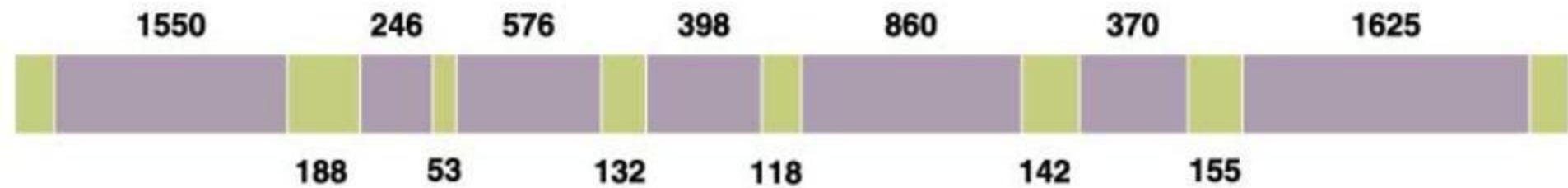




Mouse insulin

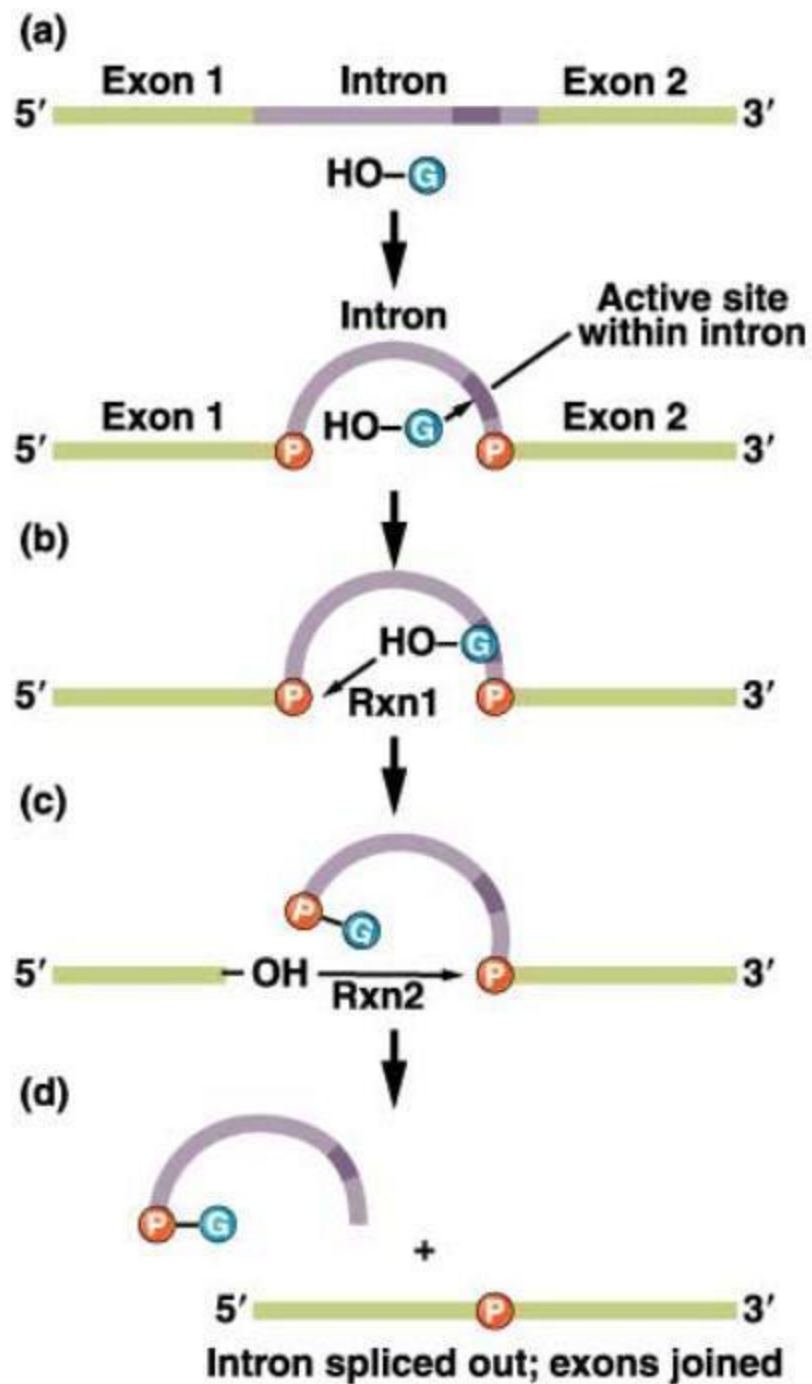


Rabbit β -globin

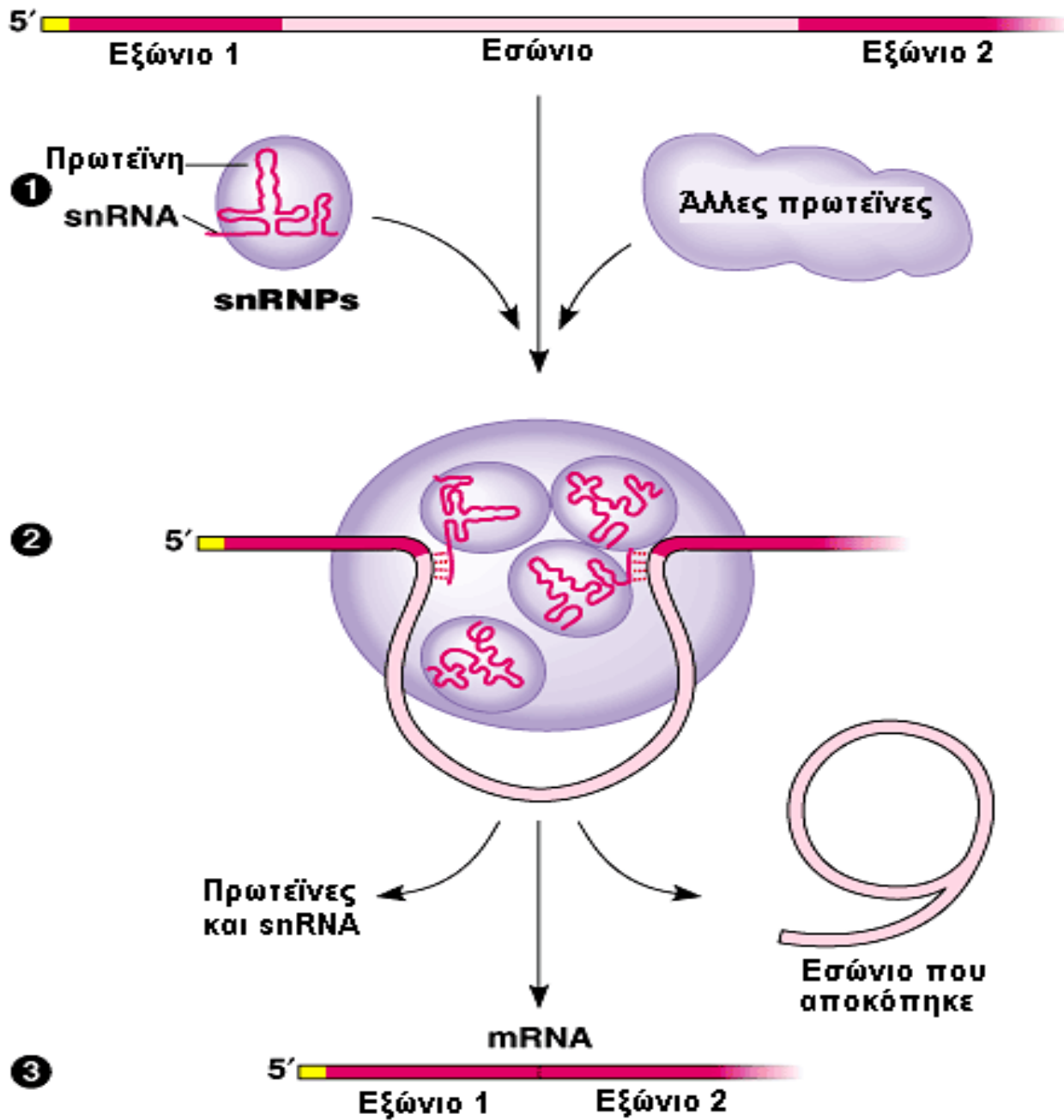


Chicken ovalbumin

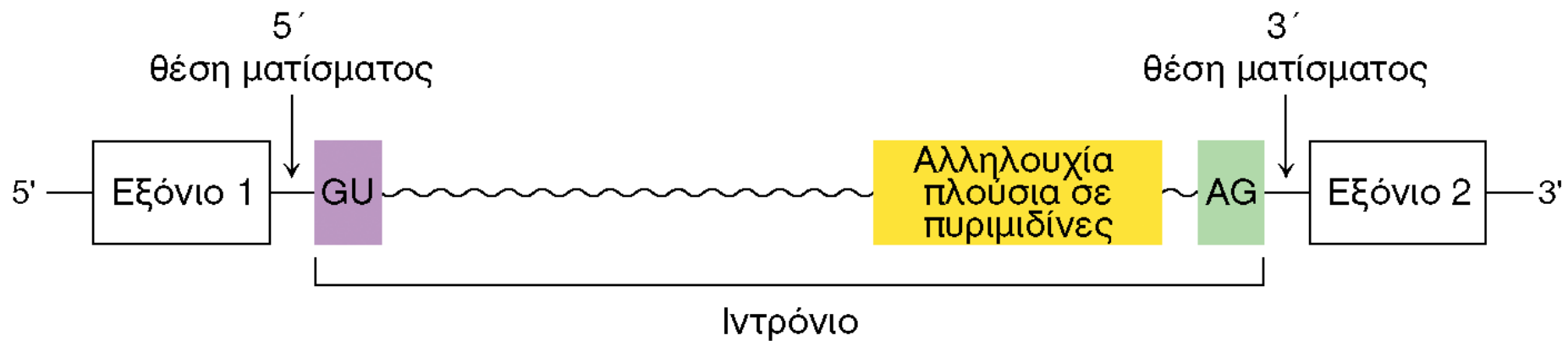




Πρόδρομο mRNA



Αλληλουχίες αναγνώρισης για αποκοπή ιντρονίων



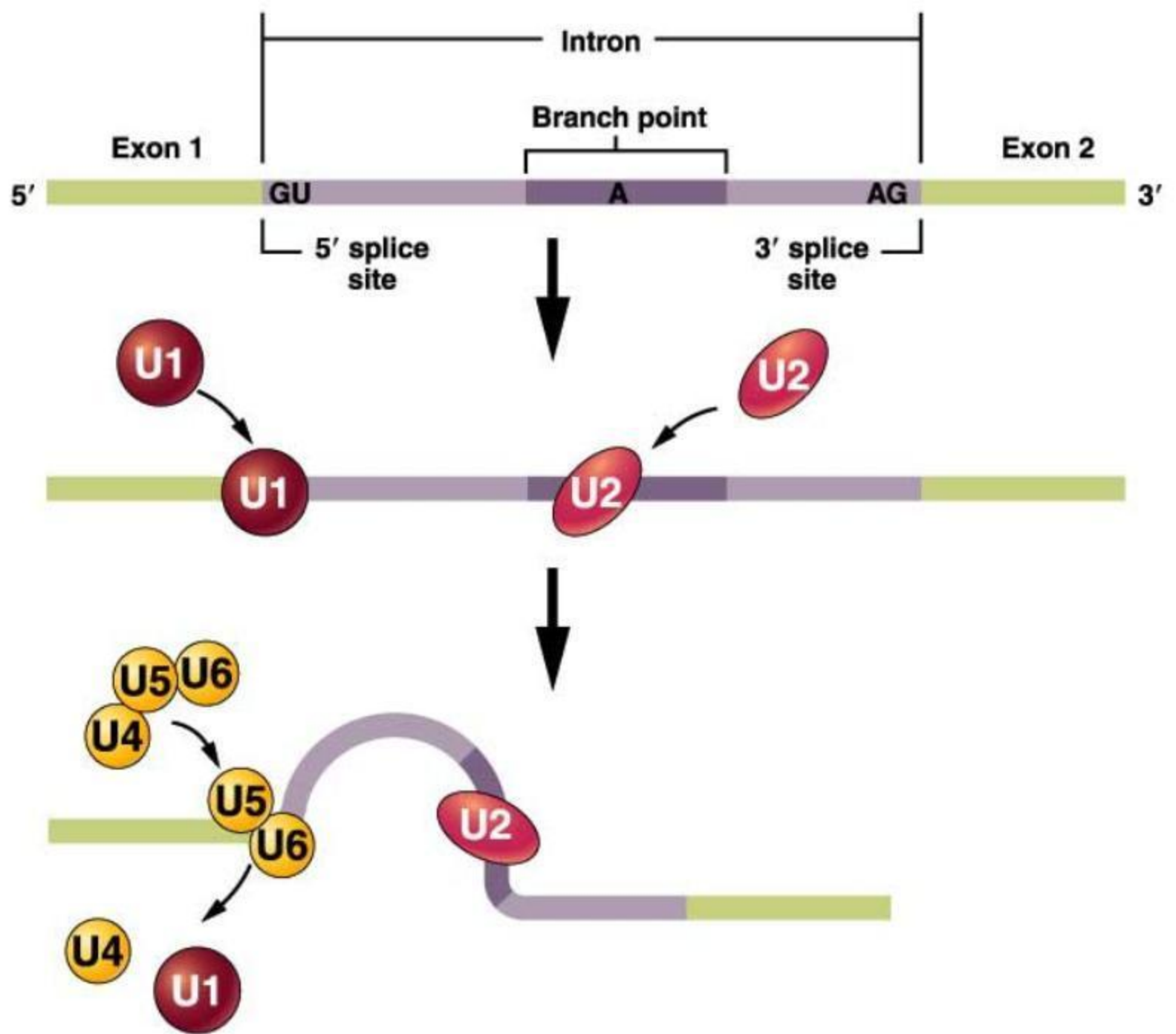
ΕΙΚΟΝΑ 5.35 Ομόφωνες αλληλουχίες για το μάτισμα των προδρόμων mRNA.

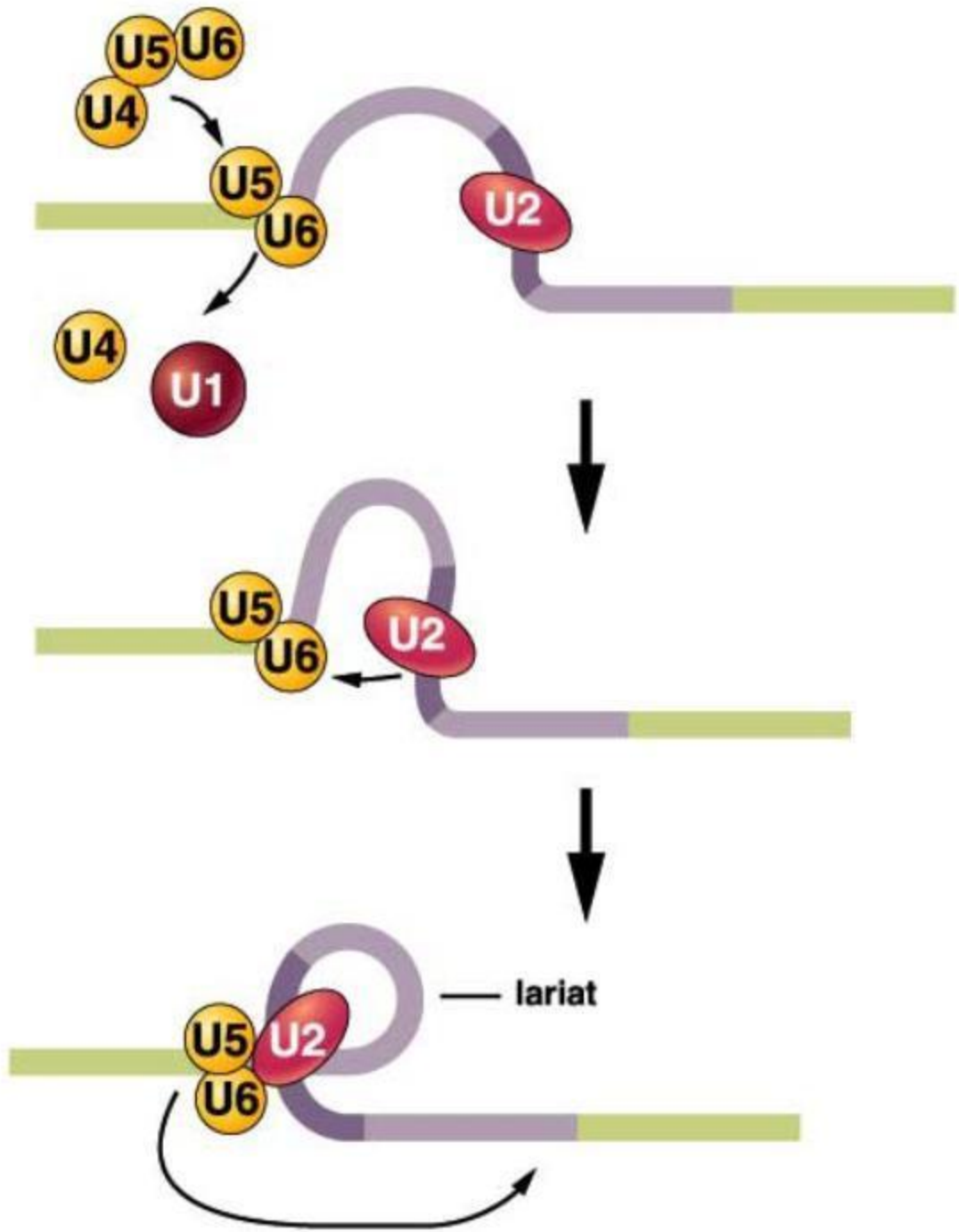
Splicing

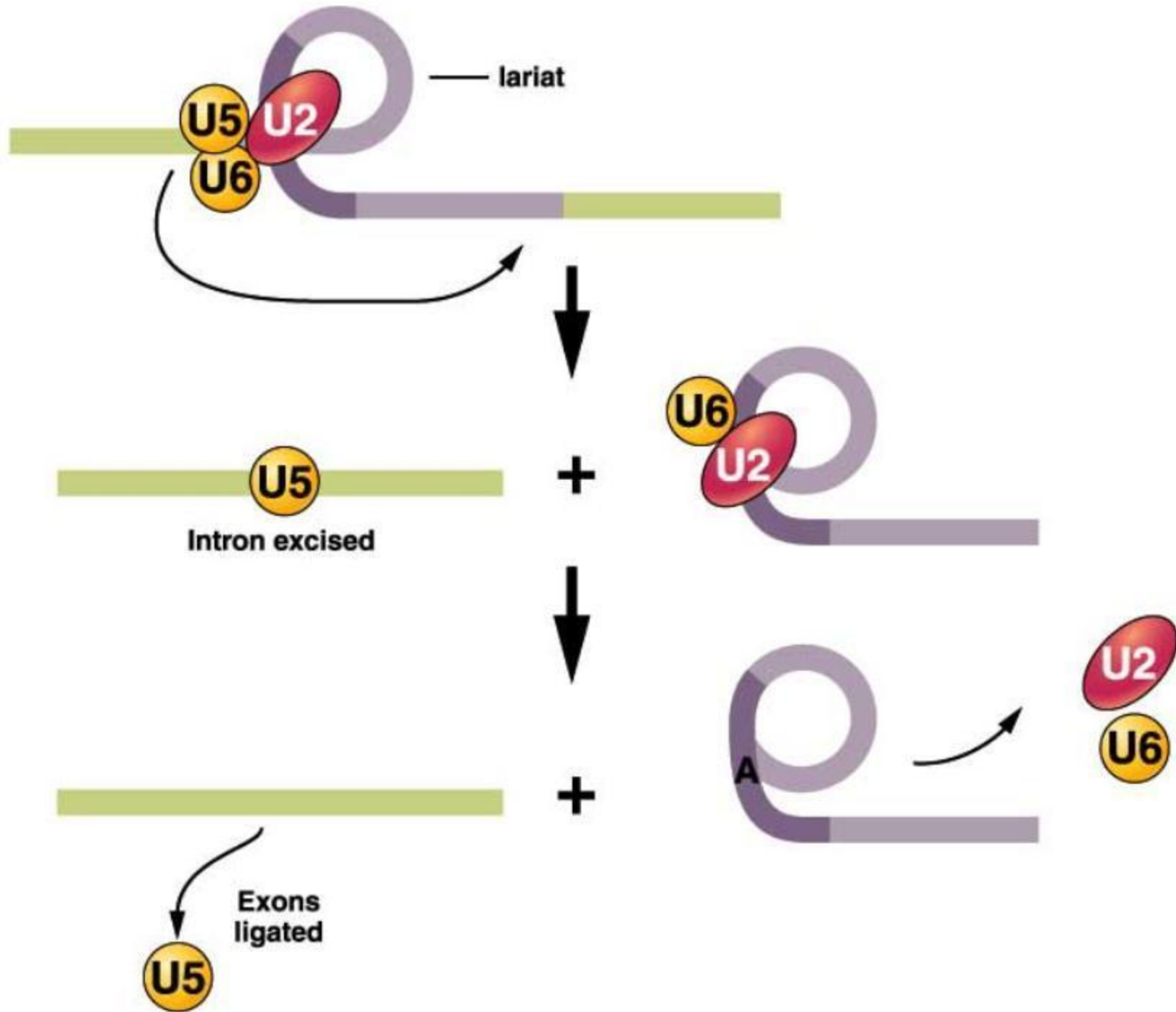
Μάτισμα

https://www.youtube.com/watch?v=FVuAwBGw_pQ

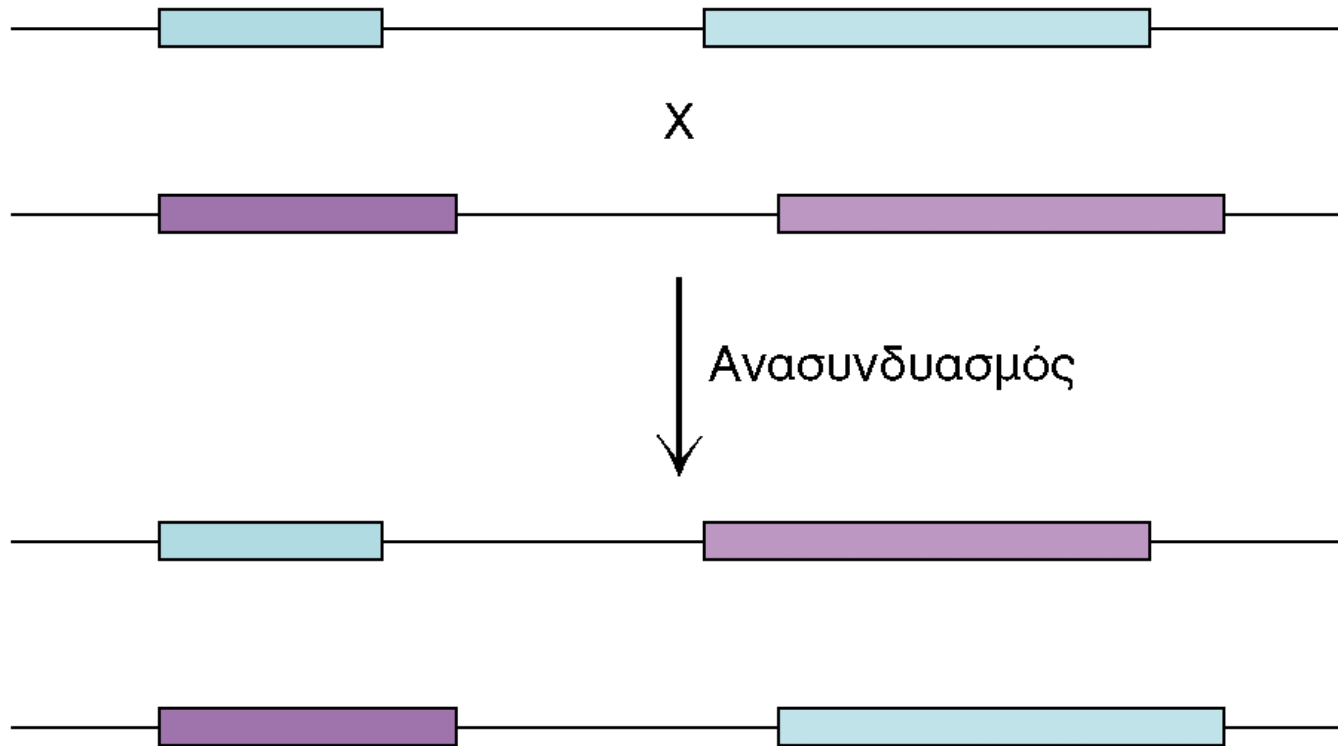
<https://www.youtube.com/watch?v=aVgwr0QpYNE>





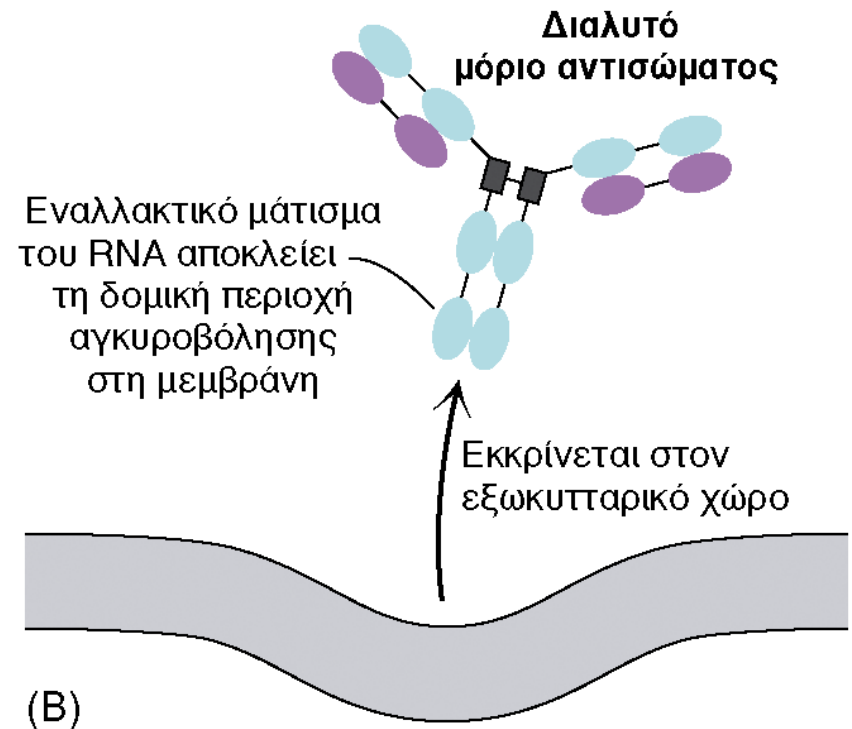
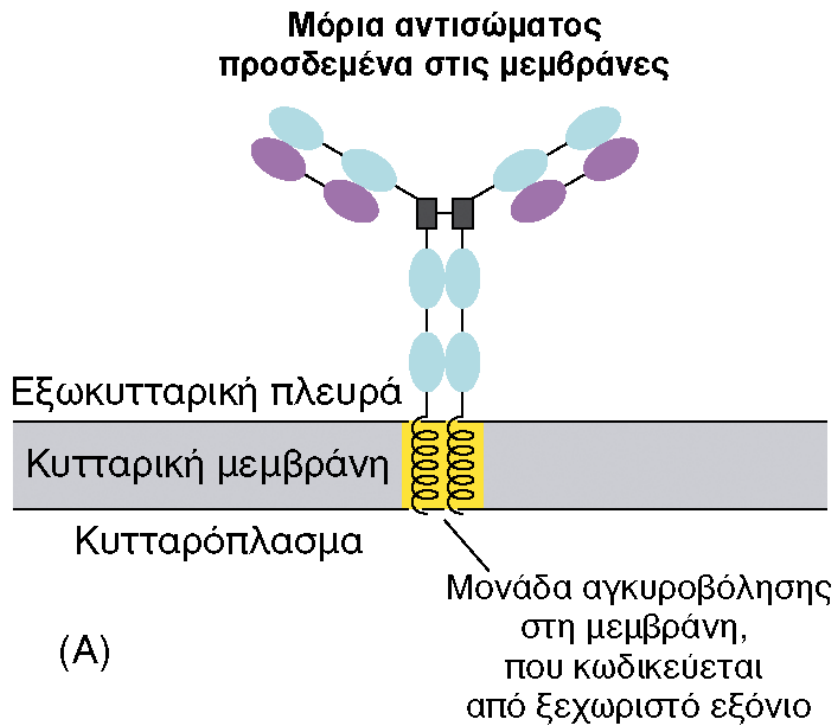


Εξέλιξη πρωτεϊνών - ανακατανομή εξωνίων



ΕΙΚΟΝΑ 5.36 Ανακατανομή εξονίων. Η γενετική ποικιλία αυξάνεται όταν ο ανασυνδυασμός του DNA ανακατανέμει τα εξόνια.

Το Εναλλακτικό Μάτισμα Δημιουργεί Νέες Πρωτεΐνες Χωρίς Να Απαιτούνται Νέα Γονίδια



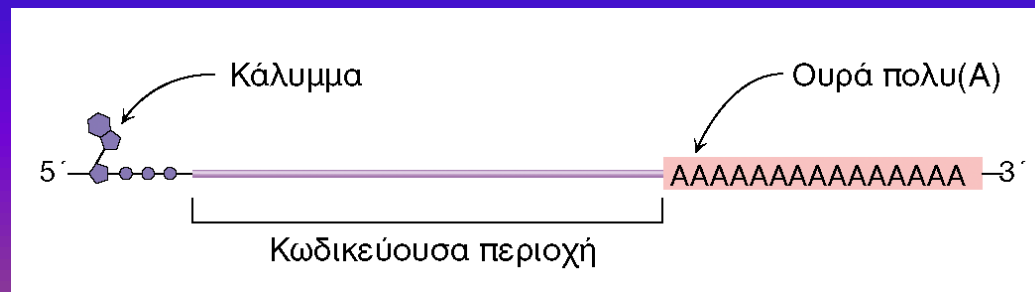
Τερματισμός σύνθεσης RNA

Προκαρυωτικά

- GC rich hairpin loop που ακολουθείται από polyU

Ευκαρυωτικά

- Αλληλουχίες λήξης ???
- Μεταμεταγραφική τροποποίηση του RNA

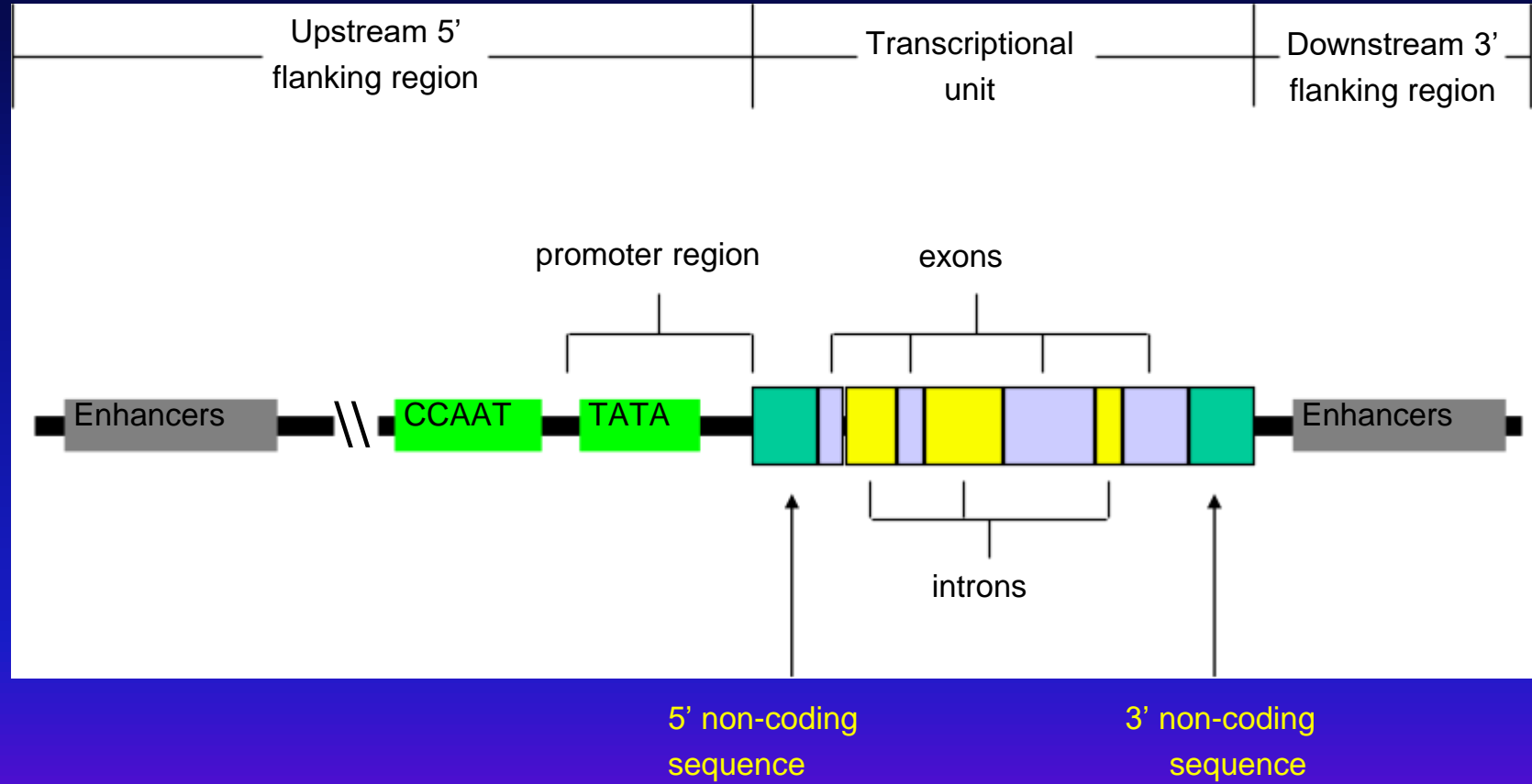


<http://www.youtube.com/watch?v=7ZpZ4fu7PAU>

http://www.youtube.com/watch?v=hQ7fFjjdhRs&playnext=1&list=PL-SdslcwpGchtEzphk7tkqL3IFL6aOy_Q&feature=results_video

οχι

http://www.youtube.com/watch?v=0GXMxFuFVd4&feature=autoplay&list=PL-SdslcwpGchtEzphk7tkqL3IFL6aOy_Q&playnext=2

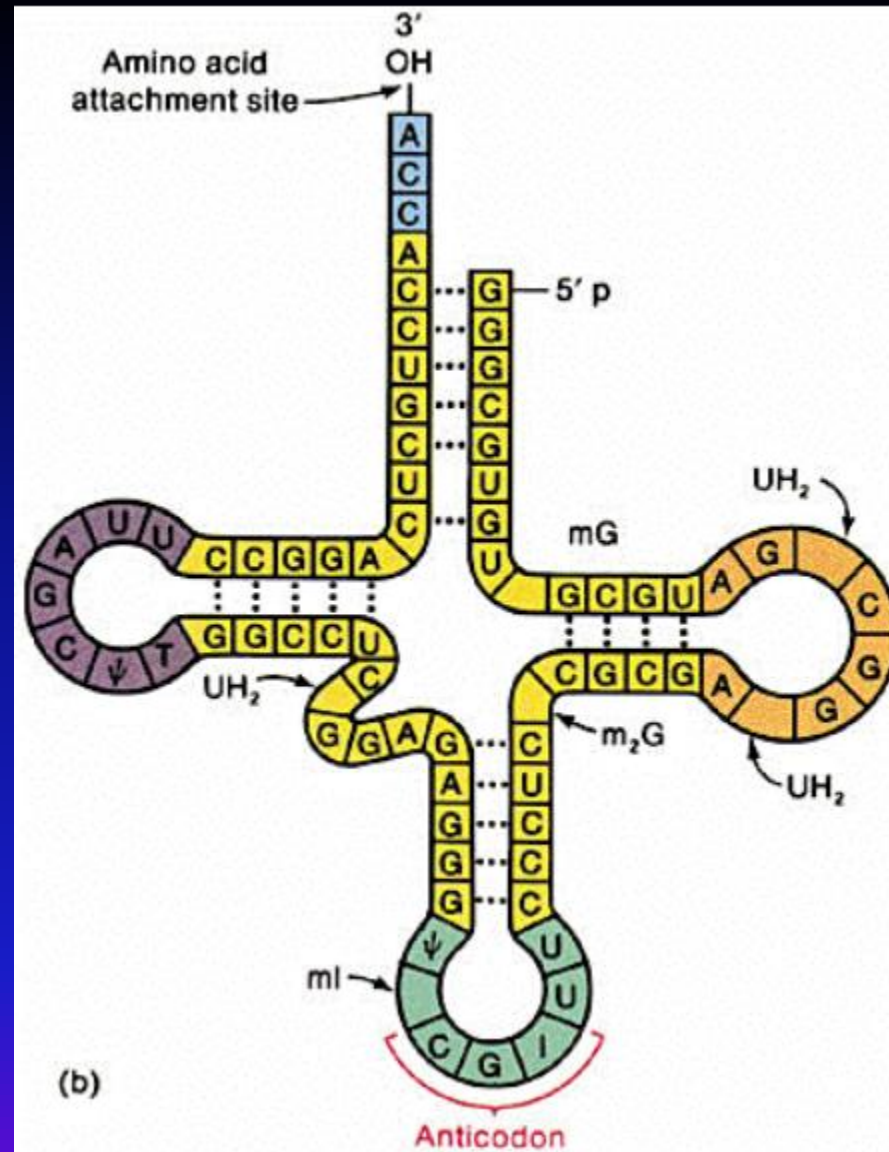


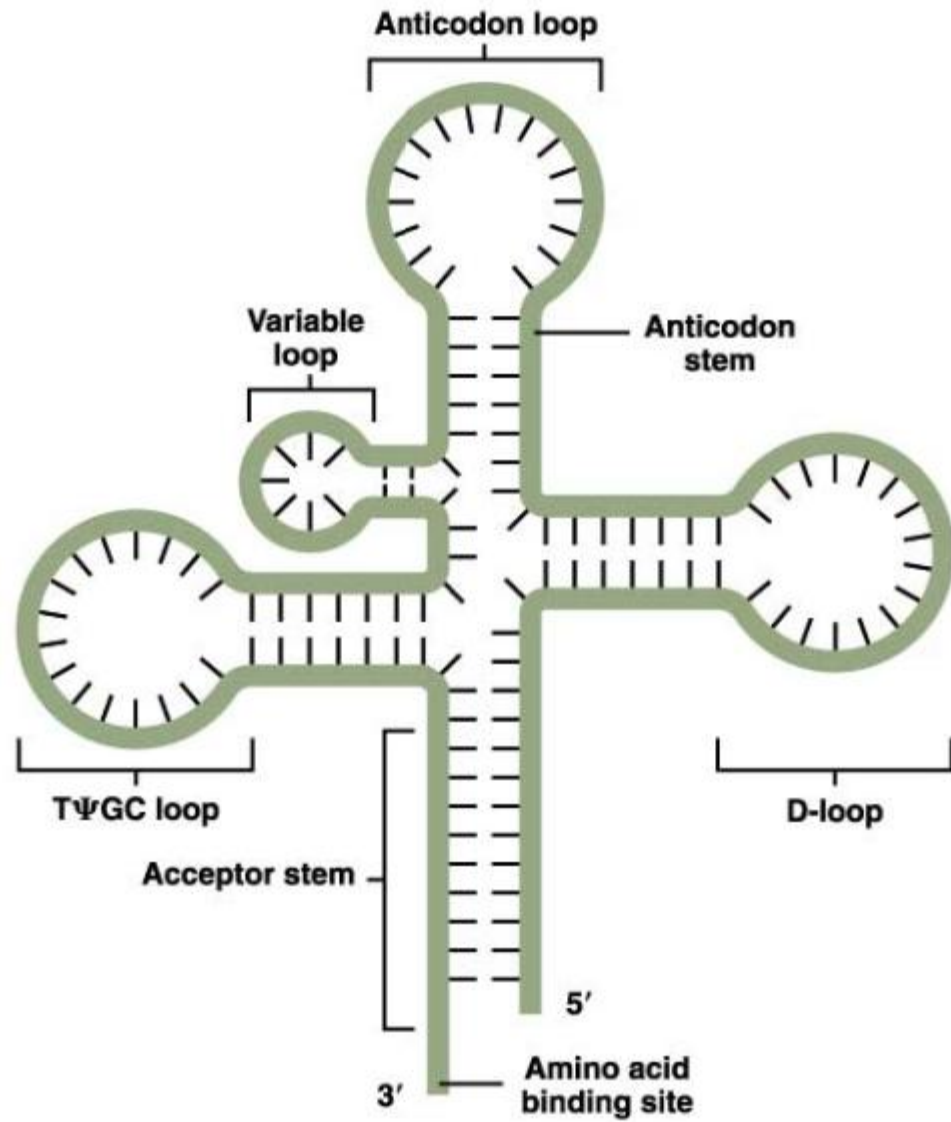
Υποθέσεις για τα εξώνια

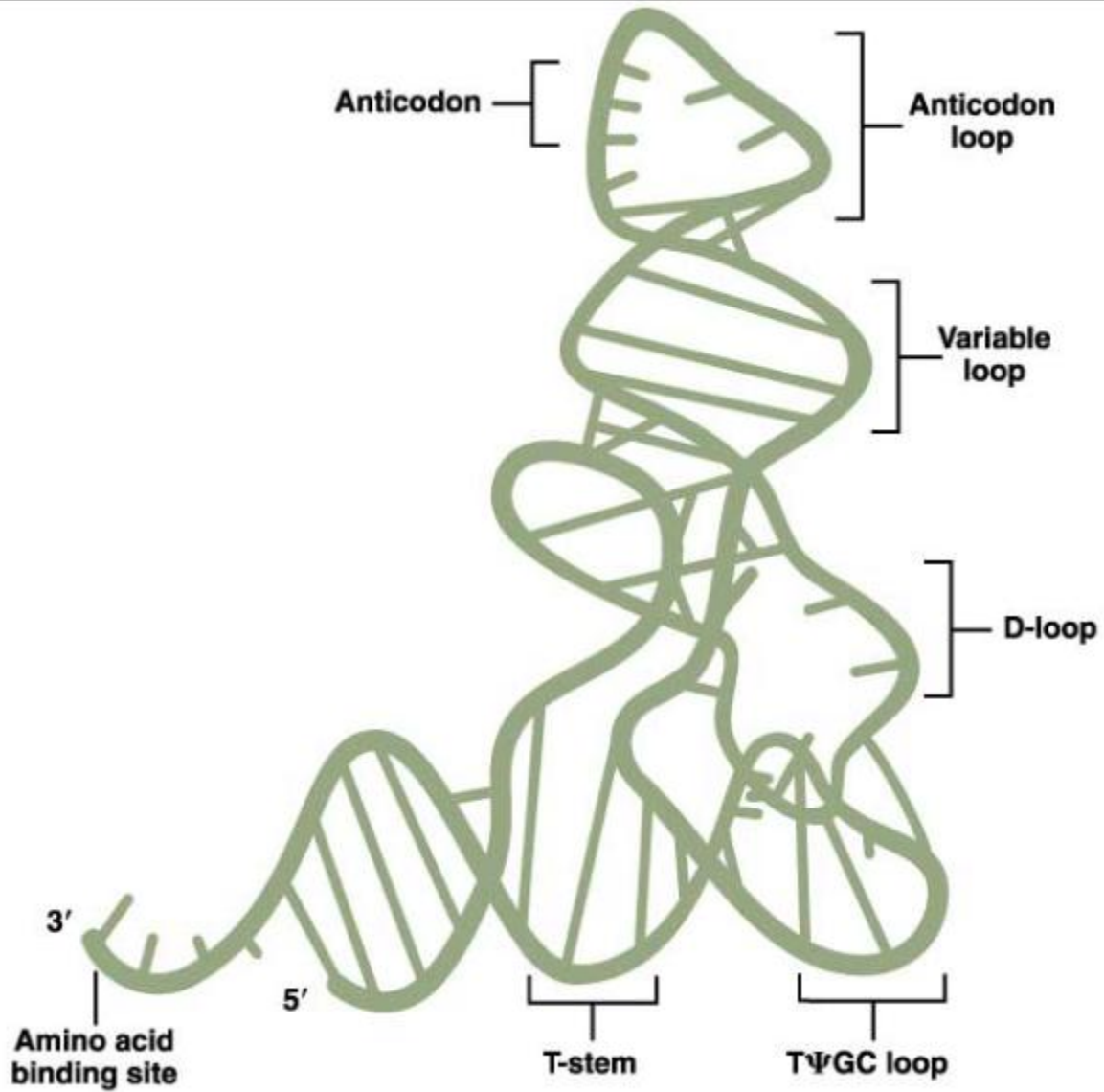
- Προϋπήρχαν στον κοινό πρόγονο ευκαρυωτικών-προκαρυωτικών οργανισμών
- Εμφανίστηκαν στην εξέλιξη των ευκαρυωτικών οργανισμών (μεταθετά στοιχεία)

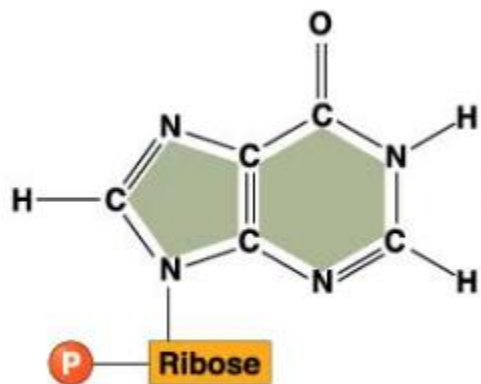
Structure of tRNA:

- tRNA coded directly from DNA, single stranded
- Specific sequence of yeast alanine tRNA
- Several bases posttranscriptionally modified
- I = inosine, pairs like guanine, wobble base
- Note partial pairing of bases
- Anticodon helps specify selection of alanine as the appropriate amino acid

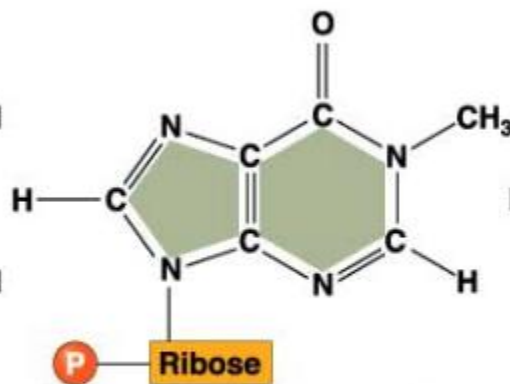




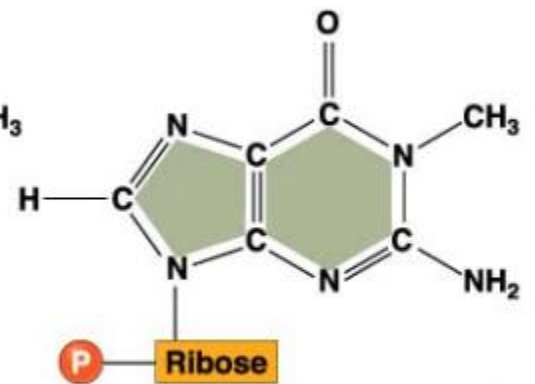




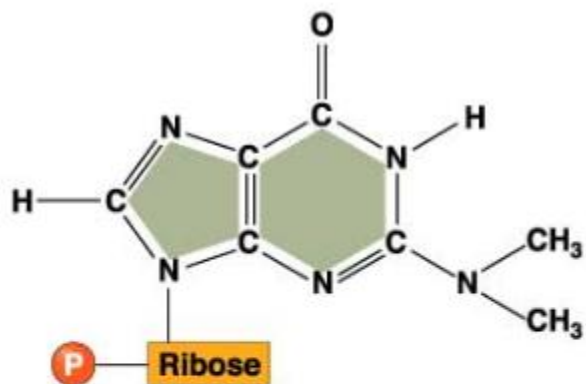
Inosinic acid (I)



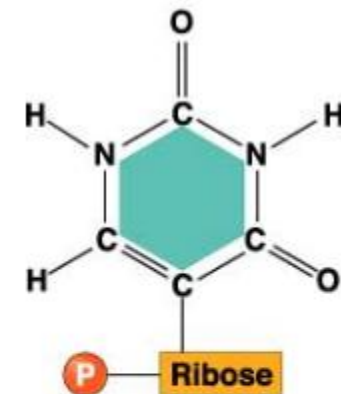
1-methyl inosinic acid (I^m)



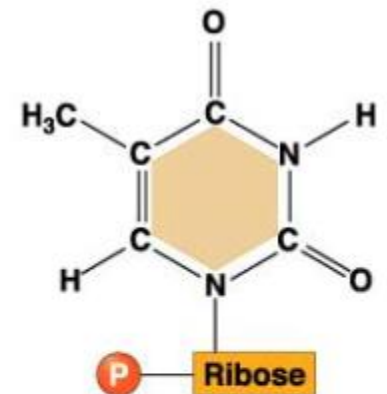
1-methyl guanylic acid (G^m)



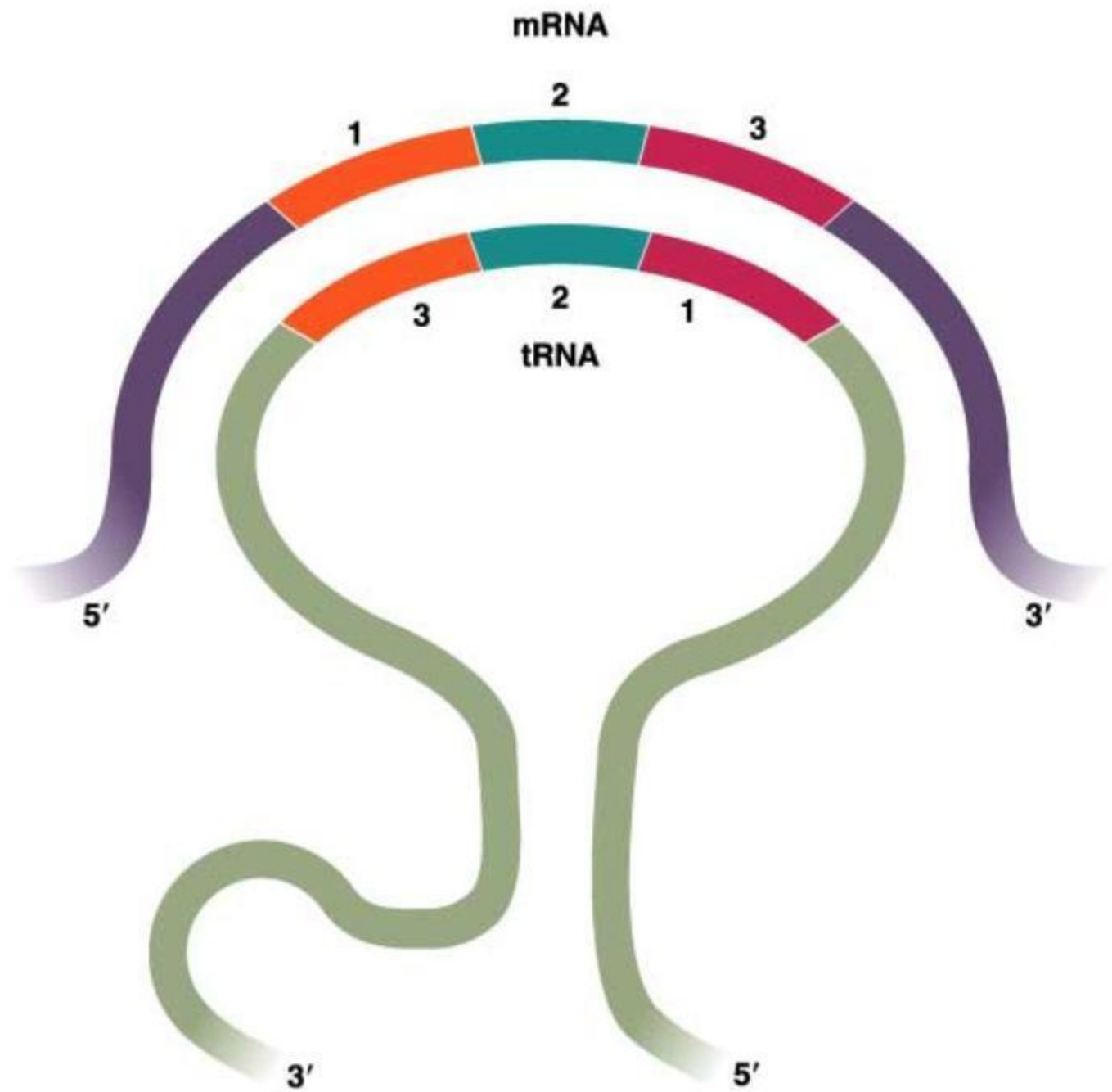
NN-dimethyl guanylic acid (G^m)



Pseudouridylic acid (Ψ)



Ribothymidylic acid (T)



Μετάφραση DNA

Κωδικοποίηση αμινοξέων

4 νουκλεοτίδια αν συνδυαστούν

- Ανά 1 δίνου $4^1 = 4$ αμινοξέα
- Ανά 2 δίνου $4^2 = 16$ αμινοξέα
- Ανά 3 δίνου $4^3 = 64$ αμινοξέα

- Ο γενετικός κώδικας είναι εκφυλισμένος γιατί υπάρχουν μόνο 20 αμινοξέα

Γενετικός κώδικας

- Κώδικας τριπλέτας
- Συνεχής
- Μη επικαλυπτόμενος
- Εκφυλισμένος (συνώνυμα κωδικόνια)
- Υπάρχουν κωδικόνια έναρξης και λήξης
- Σχεδόν παγκόσμιος

Εκφυλισμός Γενετικού Κώδικα

1η Βάση	2η Βάση								3η Βάση
	U		C		A		G		
U	UUU	φαινυλανονίνη	UCU	σερίνη	UAU	τυροσίνη	UGU	κυστεΐνη	U C A G
	UUC	φαινυλανονίνη	UCC	σερίνη	UAC	τυροσίνη	UGC	κυστεΐνη	
	UUA	λευκίνη	UCA	σερίνη	UAA	STOP	UGA	STOP	
	UUG	λευκίνη	UCG	σερίνη	UAG	STOP	UGG	τρυπτοφάνη	
C	CUU	λευκίνη	CCU	προλίνη	CAU	ιστιδίνη	CGU	αργινίνη	U C A G
	CUC	λευκίνη	CCC	προλίνη	CAC	ιστιδίνη	CGC	αργινίνη	
	CUA	λευκίνη	CCA	προλίνη	CAA	γλουταμίνη	CGA	αργινίνη	
	CUG	λευκίνη	CCG	προλίνη	CAG	γλουταμίνη	CGG	αργινίνη	
A	AUU	ισολευκίνη	ACU	θρεονίνη	AAU	ασπαραγγίνη	AGU	σερίνη	U C A G
	AUC	ισολευκίνη	ACC	θρεονίνη	AAC	ασπαραγγίνη	AGC	σερίνη	
	AUA	ισολευκίνη	ACA	θρεονίνη	AAA	λυσίνη	AGA	αργινίνη	
	AUG	μεθειονίνη	ACG	θρεονίνη	AAG	λυσίνη	AGG	αργινίνη	
G	GUU	βαλίνη	GCU	αλανίνη	GAU	ασπαρτικό οξύ	GGU	γλυκίνη	U C A G
	GUC	βαλίνη	GCC	αλανίνη	GAC	ασπαρτικό οξύ	GGC	γλυκίνη	
	GUA	βαλίνη	GCA	αλανίνη	GAA	γλουταμινικό οξύ	GGA	γλυκίνη	
	GUG	βαλίνη	GCG	αλανίνη	GAG	γλουταμινικό οξύ	GGG	γλυκίνη	

Ο εκφυλισμός επιτρέπει σε οργανισμούς με υψηλό GC περιεχόμενο να φτιάχνουν κοινές πρωτεΐνες (πχ. θερμοανθεκτικά βακτήρια)

Second position

		U	C	A	G				
First position (5'-end)	U	UUU	UCU	UAU	UGU	U	U		
		UUC	UCC	UAC	UGC			C	
		UUA	UCA	UAA	UGA			A	
		UUG	UCG	UAG	UGG			G	
	C	CUU	CCU	CAU	CGU	G	U	C	
		CUC	CCC	CAC	CGC				A
		CUA	CCA	CAA	CGA				G
		CUG	CCG	CAG	CGG				U
	A	AUU	ACU	AAU	AGU	G	C	A	
		AUC	ACC	AAC	AGC				
		AUA	ACA	AAA	AGA				
		AUG	ACG	AAG	AGG				
	G	GUU	GCU	GAU	GGU	G	C	A	
		GUC	GCC	GAC	GGC				
		GUA	GCA	GAA	GGA				
		GUG	GCG	GAG	GGG				

Initiation
 Termination

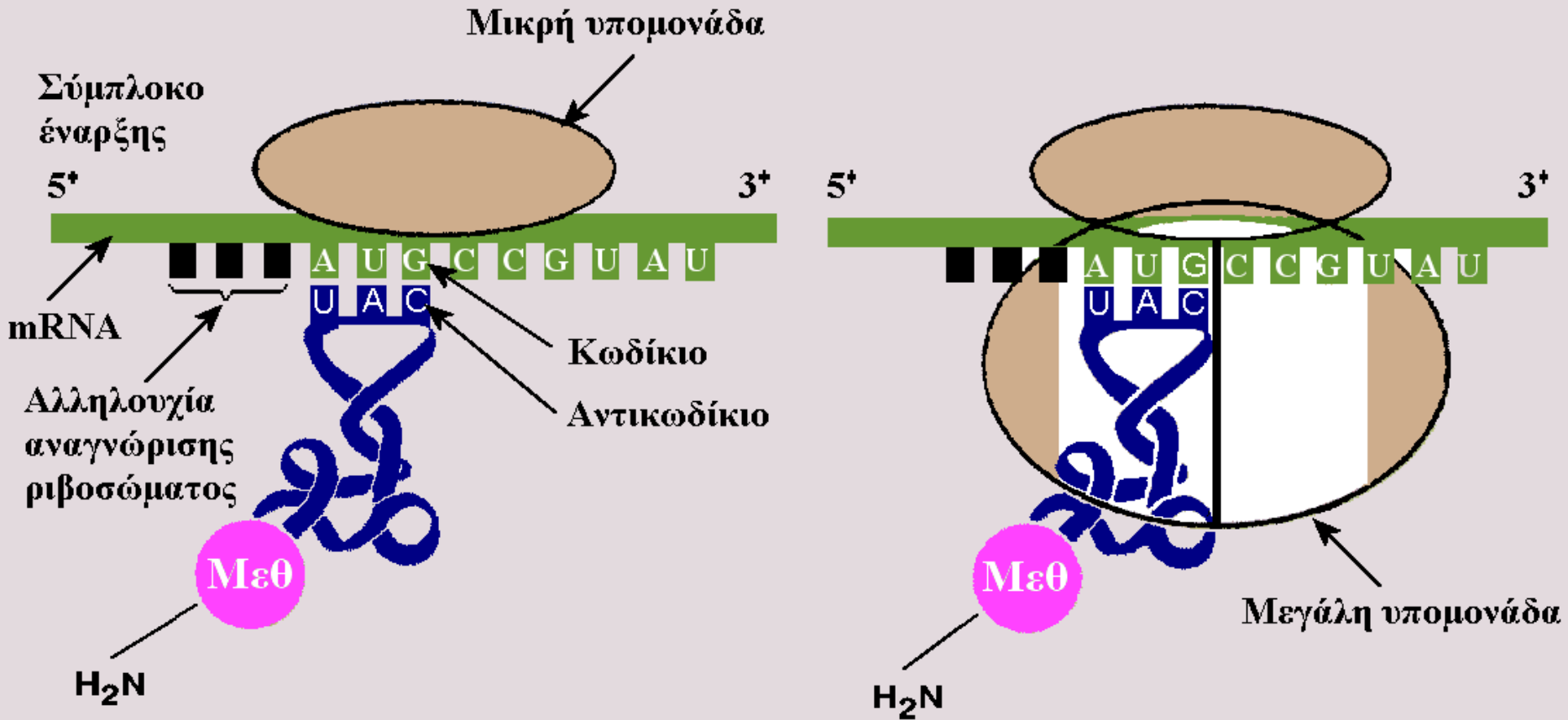
Μετάφραση

- 61 κωδικόνια (+3 της λήξης)
- Στον άνθρωπο: 497 γονίδια tRNA, 48 αντικωδικόνια
- Για κάθε αμινοξύ 1 αμινο-ακυλο-tRNA συνθετάση
- Ριβόσωμα (πεπτυδιλοτρανσφεράση)

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.5 Κωδίκια ειδικά για τα ανθρώπινα μιτοχόνδρια.

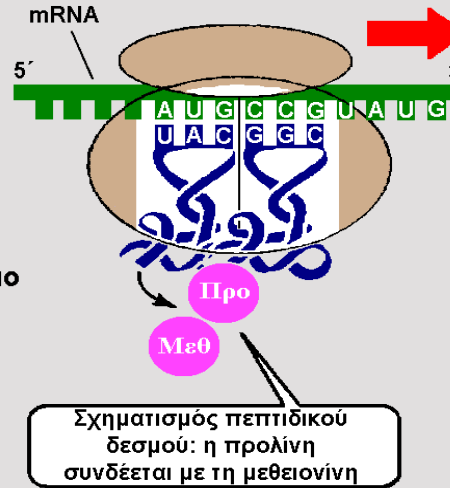
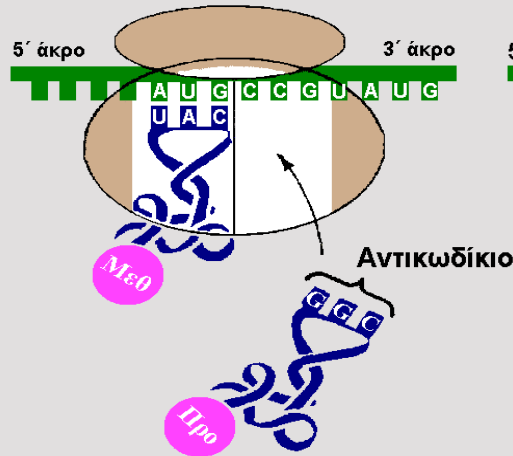
<i>Κωδίκιο</i>	<i>Πρότυπος κώδικας</i>	<i>Κώδικας στα μιτοχόνδρια</i>
UGA	Stop	Trp
UGG	Trp	Trp
AUA	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop

Μετάφραση



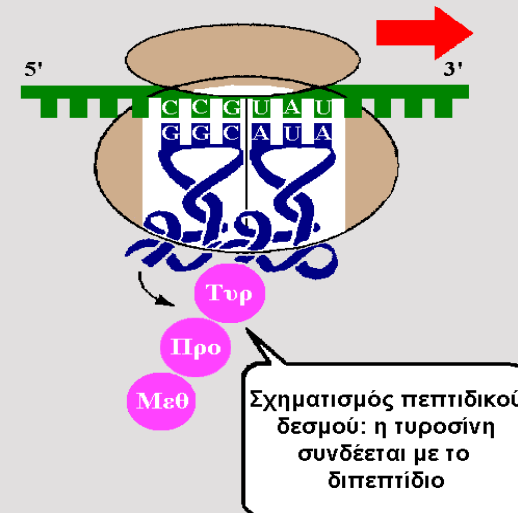
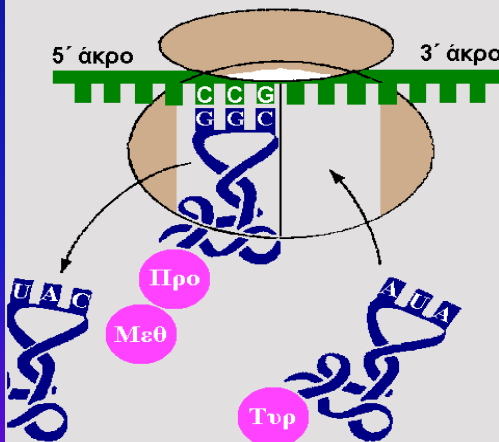
Πλαίσιο ανάγνωσης, open reading frame, ORF

Επιμήκυνση



Αναγνώριση κωδικίου: το αντικωδίκιο του tRNA που φέρει το αμινοξύ προλίνη συνδέεται με το αντίστοιχο κωδίκιο.

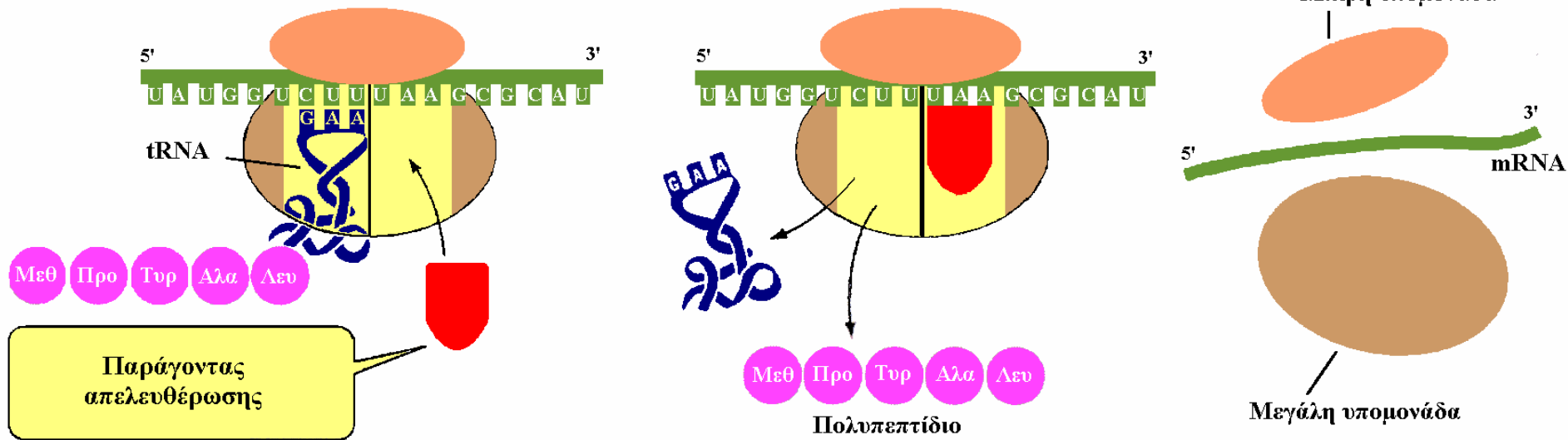
Επιμήκυνση: το ελεύθερο tRNA απελευθερώνεται και το ριβόσωμα μετακινείται κατά μία τριπλέτα.

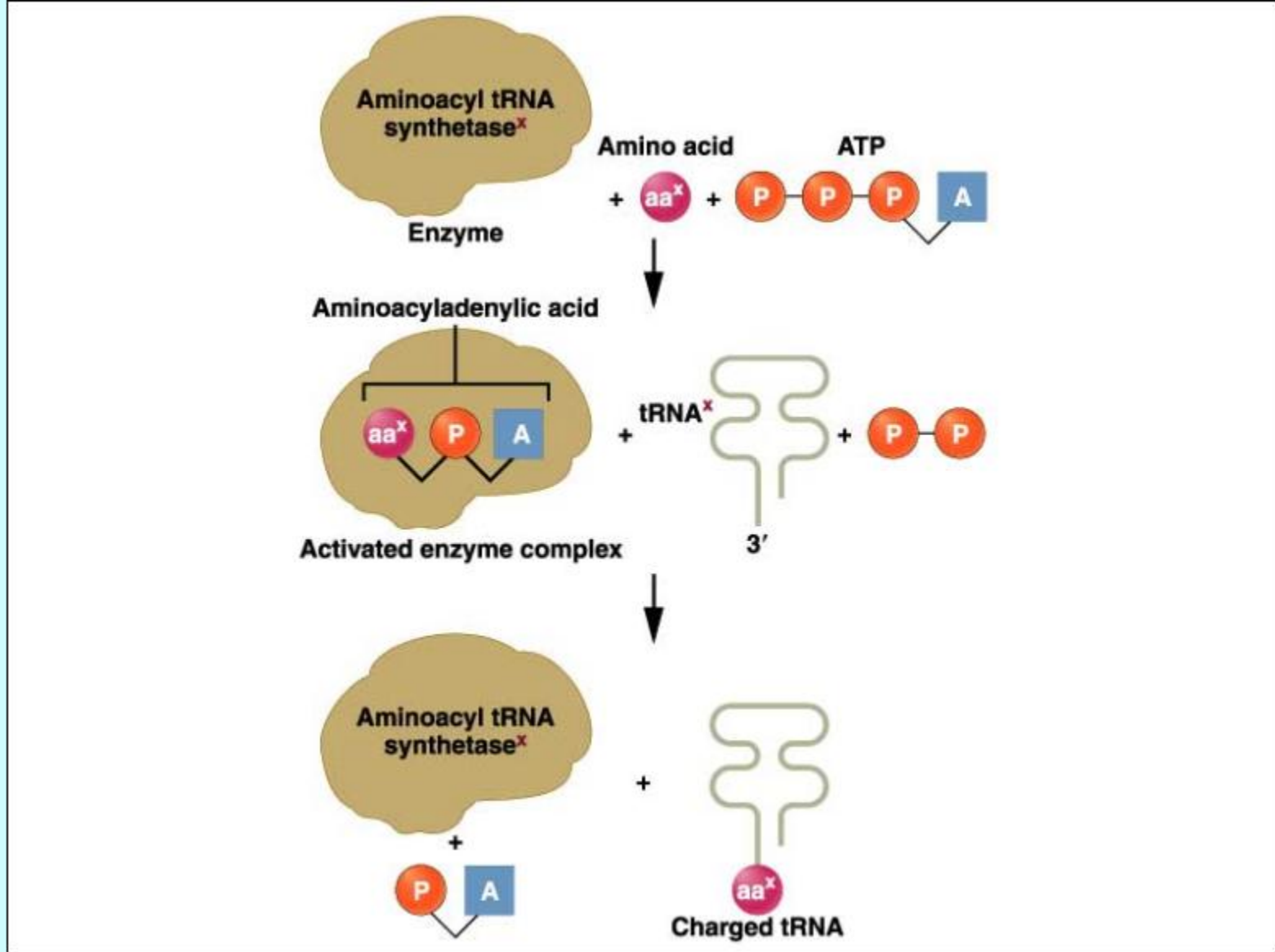


Αναγνώριση κωδικίου: το αντικωδίκιο του tRNA που φέρει το αμινοξύ τυροσίνη συνδέεται με το αντίστοιχο κωδίκιο.

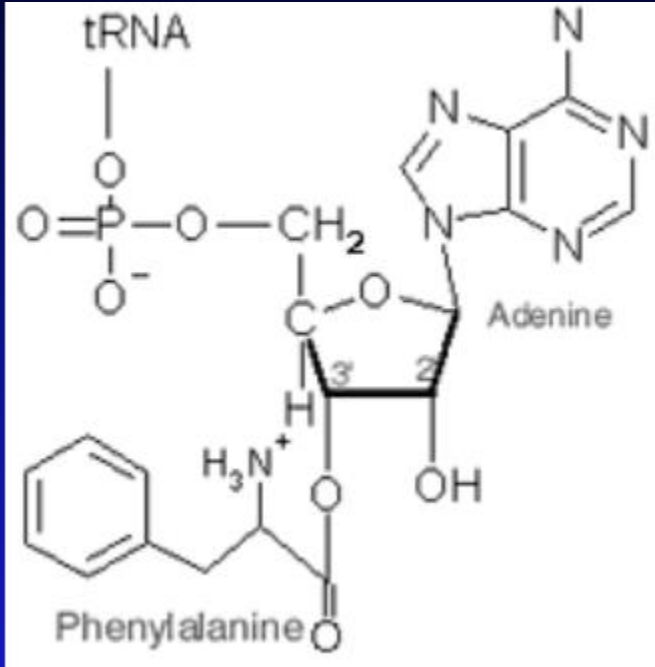
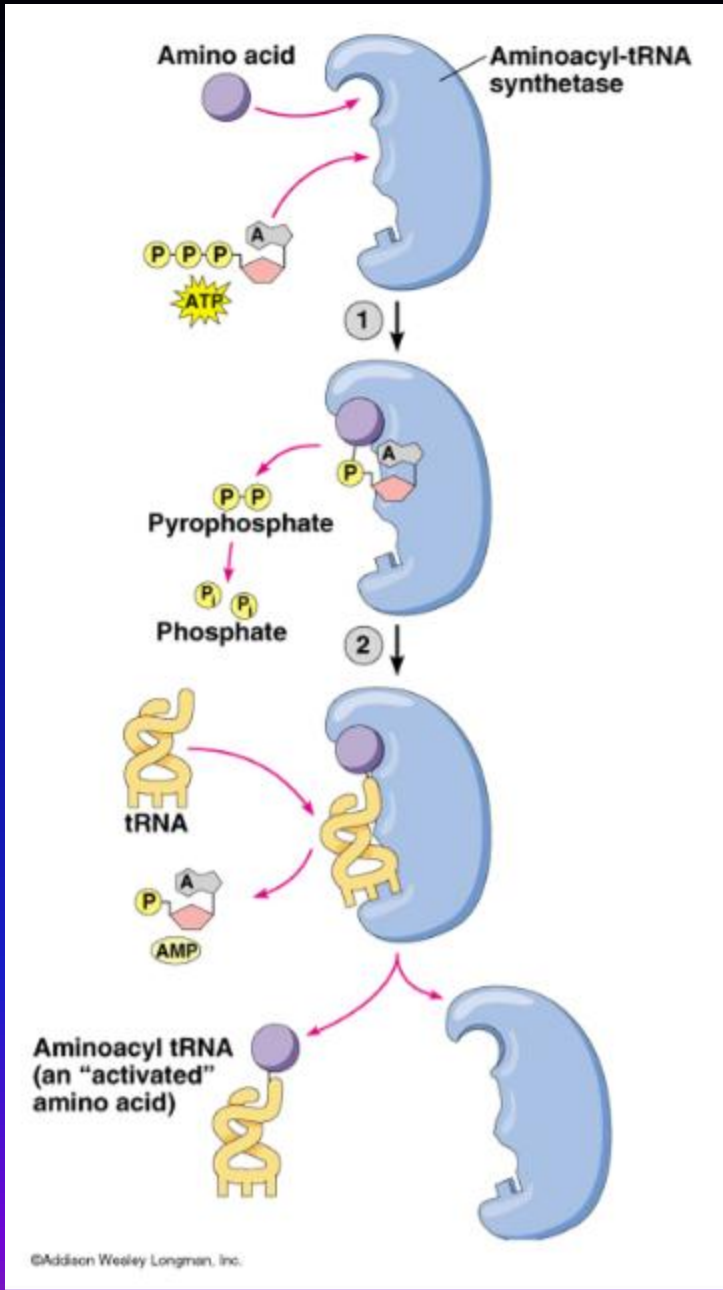
Επιμήκυνση: το ελεύθερο tRNA απελευθερώνεται και το ριβόσωμα μετακινείται κατά τρεις βάσεις πάνω στο mRNA

Λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης





1. amino acid + [ATP](#) → aminoacyl-AMP + [PPi](#)
2. aminoacyl-AMP + tRNA → aminoacyl-tRNA + [AMP](#)



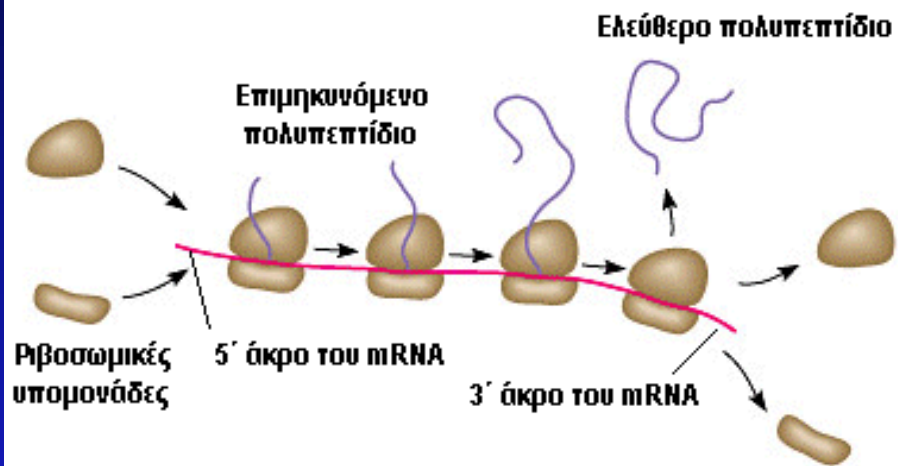
<https://www.youtube.com/watch?v=0B-CFLNAnX8>

καλό

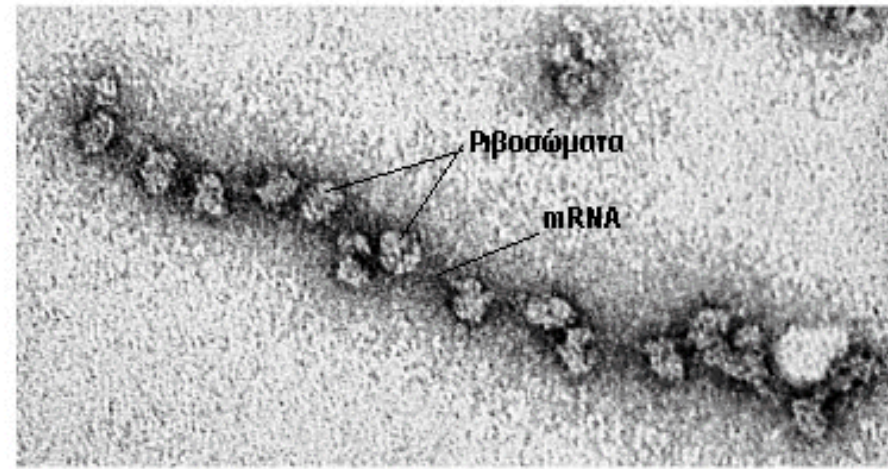
<http://www.youtube.com/watch?v=4PKjF7OumYo&feature=related>

http://www.youtube.com/watch?v=ZjRCmU0_dhY&feature=fvw

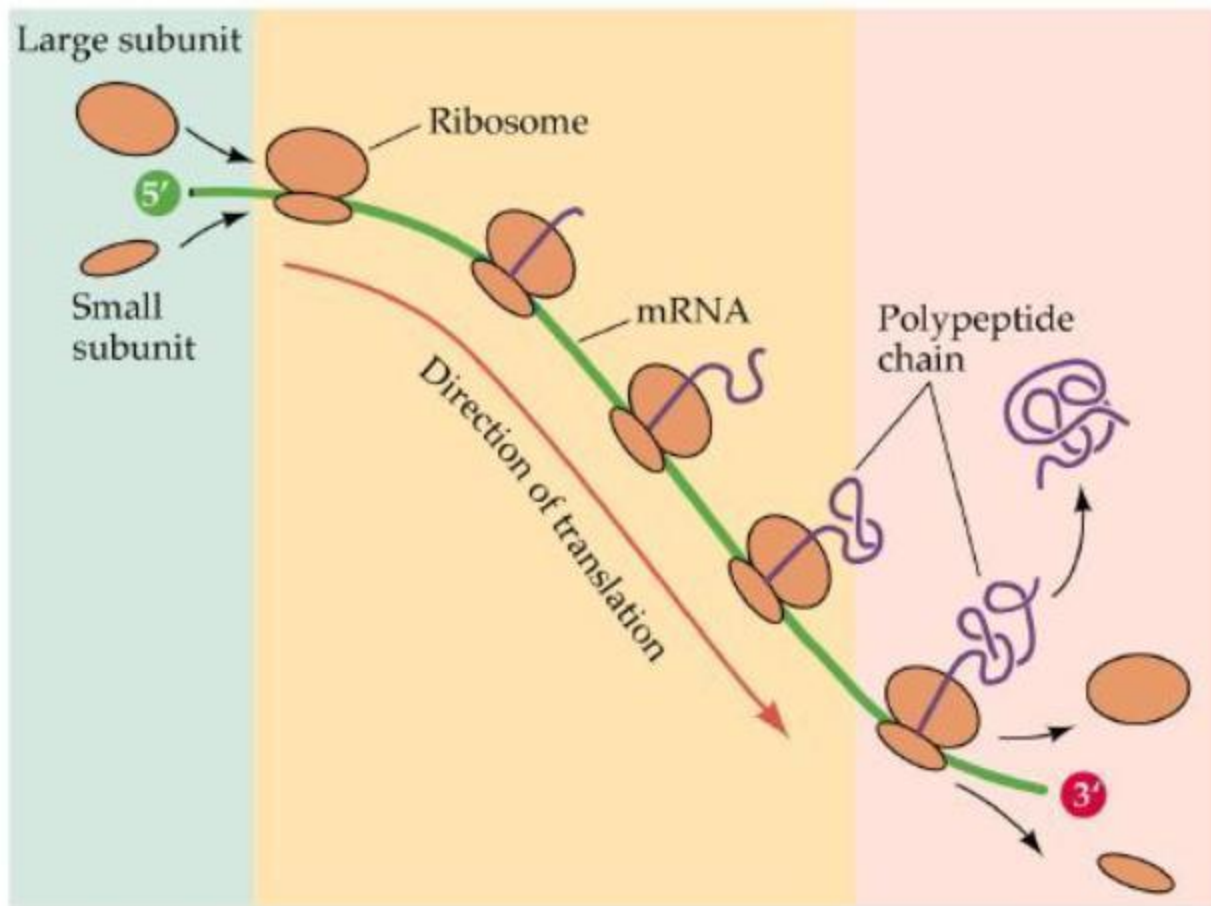
Central dogma

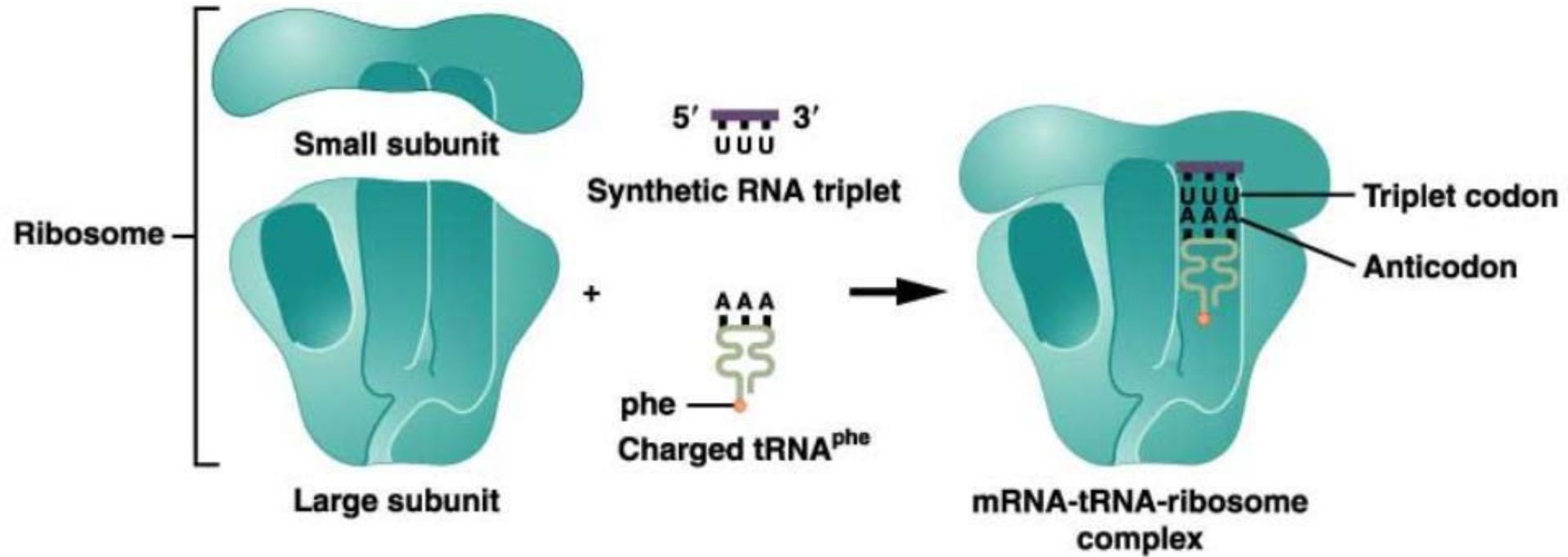


(α) Συνήθως, το κάθε μόριο mRNA μεταφράζεται ταυτόχρονα από πολλά ριβοσώματα που λειτουργούν κατά ομάδες και ονομάζονται πολυριβοσώματα



(β) Στο πιο πάνω μικροφωτογράφημα φαίνεται πολυριβόσωμα σε προκαρυωτικό κύτταρο





Prokaryotes
Monosome 70S (2.5×10^6 MW)



Eukaryotes
Monosome 80S (4.2×10^6 MW)



Large subunit		Small subunit		Large subunit		Small subunit	
50S	1.6×10^6 MW	30S	0.9×10^6 MW	60S	2.8×10^6 MW	40S	1.4×10^6 MW
23S rRNA (2904 nucleotides)		16S rRNA (1541 nucleotides)		28S rRNA (4718 nucleotides)		18S rRNA (1874 nucleotides)	
+ 31 proteins		+ 21 proteins		+ 49 proteins		+ 33 proteins	
+ 5S rRNA (120 nucleotides)				5S rRNA (120 nucleotides) + 5.8S rRNA (160 nucleotides)			

Ασκήσεις

- 1.** Ενα μόριο DNA έχει μήκος, αν ξετυλιχθεί, 340.000 nm, και μεταξύ των νουκλεοτιδίων του σχηματίζονται 2.250.000 δεσμοί υδρογόνου. Ποια θα είναι η επί τοις εκατό αναλογία των βάσεων στο μόριο αυτό αν είναι γνωστό ότι το μήκος 10 ζευγαριών βάσεων είναι 3,4nm;
- 2.** Αλυσίδα DNA αποτελείται κατά 30% από αδερίνη, 30% από γουανίνη, 20% από θυμίνη. Αν το μόριο αυτό έχει 2.000.000 νουκλεοτίδια, πόσοι δεσμοί υδρογόνου συγκρατούν ενωμένες τις δύο αλυσίδες του DNA;
- 3.** Μόριο DNA έχει την ακόλουθη αλληλουχία βάσεων:

3'-TACTGGAATGGTCGCCCCTGCATT-5'

5'-ATGACCTTACCAGCGGGGACGTAA-3'

Να βρεθεί :

- α.** Ποιο θα είναι το μόριο του mRNA που θα προκύψει από τη μεταγραφή του DNA;
- β.** Πόσοι δεσμοί υδρογόνου συγκρατούν ενωμένες τις δύο αλυσίδες του μορίου;
- γ.** Να δώσετε τα αντικωδικόνια που αντιστοιχούν στο τμήμα του DNA.
- δ.** Πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί συγκρατούν τα νουκλεοτίδια του mRNA που προκύπτει;
- ε.** Πόσοι πεπτιδικοί δεσμοί αναπτύσσονται μεταξύ των αμινοξέων της ολιγοπεπτιδικής αλυσίδας που συντίθεται και πόσα νερά παράγονται κατά τη σύνθεση αυτής της αλυσίδας;

4. Δίνονται βάσεις από τα μόρια DNA , mRNA και αντικωδικόνια tRNA καθώς και τα αμινοξέα που αντιστοιχούν. Συμπληρώστε τον πίνακα και βρείτε ποιά αντικωδικόνια αντιστοιχούν στα αμινοξέα σερίνη και γλουταμίνη, αντίστοιχα.

α. UGT , GTT β. CCA , UGG γ. AGU , GUA δ. AGU , GUU

Δίκλωνο μόριο	T												
DNA							G	T	A				
mRNA		C	A				C						
tRNA				A	C	C				G	C	A	
αμινοξέα	σερίνη			τρυπτοφάνη			γλουταμίνη			γλυκίνη			

5. Μόριο mRNA που προέρχεται από τη μεταγραφή βακτηριακού DNA αποτελείται κατά 30% από αδείνη, 30% G, 20% C. Ποια θα είναι η αναλογία των βάσεων στο μόριο από το οποίο προήλθε;

6. Ένα τμήμα DNA του βακτηρίου E. coli αποτελείται από $1,2 \times 10^5$ νουκλεοτίδια. Αν το MB των αμινοξέων είναι 100, πόσες διαφορετικές πρωτεΐνες MB=19900, μπορεί να κωδικοποιήσει αυτό το μόριο DNA. Να υποθέσετε ότι μεταξύ του τέλους ενός γονιδίου και της αρχής του επόμενου δεν παρεμβάλλονται νουκλεοτίδια.

❖ Οι πρωτεΐνες γενικά έχουν μικρή περιεκτικότητα σε Met και Trp, ενδιάμεση σε His και Cys και υψηλή σε Leu και Ser. Ποια είναι η σχέση μεταξύ του αριθμού κωδικονίων ενός αμινοξέος και της συχνότητας εμφάνισής του στις πρωτεΐνες; Ποιο μπορεί να είναι το επιλεκτικό πλεονέκτημα στη σχέση αυτή;

1η Βάση	2η Βάση								3η Βάση
	U		C		A		G		
U	UUU	φαινυλανανίνη	UCU	σερίνη	UAU	τυροσίνη	UGU	κυστεΐνη	U
	UUC	φαινυλανανίνη	UCC	σερίνη	UAC	τυροσίνη	UGC	κυστεΐνη	C
	UUA	λευκίνη	UCA	σερίνη	UAA	STOP	UGA	STOP	A
	UUG	λευκίνη	UCG	σερίνη	UAG	STOP	UGG	τρυπτοφάνη	G
C	CUU	λευκίνη	CCU	προλίνη	CAU	ιστιδίνη	CGU	αργινίνη	U
	CUC	λευκίνη	CCC	προλίνη	CAC	ιστιδίνη	CGC	αργινίνη	C
	CUA	λευκίνη	CCA	προλίνη	CAA	γλουταμίνη	CGA	αργινίνη	A
	CUG	λευκίνη	CCG	προλίνη	CAG	γλουταμίνη	CGG	αργινίνη	G
A	AUU	ισολευκίνη	ACU	θρεονίνη	AAU	ασπαραγγίνη	AGU	σερίνη	U
	AUC	ισολευκίνη	ACC	θρεονίνη	AAC	ασπαραγγίνη	AGC	σερίνη	C
	AUA	ισολευκίνη	ACA	θρεονίνη	AAA	λυσίνη	AGA	αργινίνη	A
	AUG	μεθειονίνη	ACG	θρεονίνη	AAG	λυσίνη	AGG	αργινίνη	G
G	GUU	βαλίνη	GCU	αλανίνη	GAU	ασπαρτικό οξύ	GGU	γλυκίνη	U
	GUC	βαλίνη	GCC	αλανίνη	GAC	ασπαρτικό οξύ	GGC	γλυκίνη	C
	GUA	βαλίνη	GCA	αλανίνη	GAA	γλουταμινικό οξύ	GGA	γλυκίνη	A
	GUG	βαλίνη	GCG	αλανίνη	GAG	γλουταμινικό οξύ	GGG	γλυκίνη	G

❖ Η αλληλουχία αμινοξέων μεταξύ μιας πρωτεΐνης από ζυμομύκητες και μιας ανθρώπινης που επιτελούν την ίδια λειτουργία βρέθηκε να έχουν ομοιότητα κατά 60%. Όμως, τα αντίστοιχα DNA είναι μόνο κατά 45% όμοια. Πώς γίνεται να υπάρχει αυτή η διαφορά σε ποσοστό ομοιότητας;

Ασκήσεις

1. Μια από τις δυο αλυσίδες του DNA που έχει τη σύνθεση βάσεων 21%A, 29% G, 29% C και 21% T διπλασιάζεται για να δώσει τη συμπληρωματική της αλυσίδα. Η συμπληρωματική αυτή αλυσίδα μεταγράφεται στη συνέχεια σε RNA. Να δοθεί η σύνθεση των βάσεων του σχηματιζόμενου RNA. Να αιτιολογηθεί η απάντηση.
2. Ένα μόριο DNA έχει μήκος, αν ξετυλιχθεί, 340.000 nm, και μεταξύ των νουκλεοτιδίων του σχηματίζονται 2.250.000 δεσμοί υδρογόνου. Ποια θα είναι η επί τοις εκατό αναλογία των βάσεων στο μόριο αυτό αν είναι γνωστό ότι το μήκος 10 ζευγαριών βάσεων είναι 3,4nm;
3. Το σωματικό κύτταρο μιας γυναίκας περιέχει $6,18 \cdot 10^9$ ζεύγη βάσεων ενώ το αντίστοιχο σωματικό κύτταρο ενός άνδρα περιέχει $6,05 \cdot 10^9$ bp.
α) Πώς δικαιολογείτε αυτή τη διαφορά; β) Πόσες βάσεις περιέχονται στα ωάρια και πόσες στα σπερματοζωάρια του ανθρώπου;

4. Στο έντομο δροσόφιλα, που είναι διπλοειδής οργανισμός το φύλο καθορίζεται όπως και στον άνθρωπο (XY αρσενικό, XX θηλυκό). Το Y χρωμόσωμα της δροσόφιλα αποτελείται από DNA μήκους 3 Mbp (1 Mbp = 1 εκατομμύριο ζεύγη βάσεων) ενώ το X χρωμόσωμα από DNA μήκους 27 Mbp. Το γονιδίωμα των γαμετών του εντόμου αυτού περιέχει εκτός του γενετικού χρωμοσώματος και τρία επιπλέον μόρια DNA μήκους 52 Mbp, 48 Mbp και 2 Mbp αντίστοιχα. Ποιος ο συνολικός αριθμός ζευγών βάσεων που περιέχονται α) σε ένα σωματικό κύτταρο θηλυκού ατόμου κατά την αρχή της μεσόφασης β) σε ένα σωματικό κύτταρο αρσενικού ατόμου κατά την αρχή της μεσόφασης γ) σε ένα σωματικό κύτταρο αρσενικού ατόμου κατά την μετάφαση δ) σε ένα ωάριο και ε) σε ένα σπερματοζωάριο;
5. Προσοχή στις ερωτήσεις που αναφέρουν λόγους $(A+T)/(G+C)$ και $(A+G)/(T+C)$

6. Αλυσίδα μονοκλωνου DNA αποτελείται κατά 30% από αδενίνη, 30% από γουανίνη, 20% από θυμίνη. Αν το μόριο αυτό έχει 2.000.000 νουκλεοτίδια, πόσοι δεσμοί υδρογόνου συγκρατούν ενωμένες τις δύο αλυσίδες του DNA

7. Μόριο DNA έχει την ακόλουθη αλληλουχία βάσεων:

3'-TACTGGAATGGTCGCCCTGCATT-5'

5'-ATGACCTTACCAGCGGGGACGTAA-3'

Να βρεθεί :

- α. Ποιο θα είναι το μόριο του mRNA που θα προκύψει από τη μεταγραφή του DNA Κωδικός κλώνος ο κατω.
- β. Πόσοι δεσμοί υδρογόνου συγκρατούν ενωμένες τις δύο αλυσίδες του μορίου;
- γ. Να δώσετε τα αντικωδικόνια που αντιστοιχούν στο τμήμα του DNA.
- δ. Πόσοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί συγκρατούν τα νουκλεοτίδια του mRNA που προκύπτει;
- ε. Πόσοι πεπτιδικοί δεσμοί αναπτύσσονται μεταξύ των αμινοξέων της ολιγοπεπτιδικής αλυσίδας που συντίθεται και πόσα νερά παράγονται κατά τη σύνθεση αυτής της αλυσίδας;

6. Για να βρούμε το εκμαγείο. Ένα διάλυμα περιέχει DNA πολυμεράση I και τα άλατα μαγνησίου των dATP, dGTP, dCTP και dTP. Τα ακόλουθα μόρια DNA προστίθενται σε μικρές ποσότητες στο διάλυμα αυτό. Ποια από αυτά θα οδηγήσουν σε σύνθεση;

α) Ένα κλειστό κυκλικό μονόκλωνο DNA με 1000 νουκλεοτίδια.

β) Ένα κλειστό κυκλικό δίκλωνο DNA με 1000 ζεύγη νουκλεοτιδίων.

γ) Ένα κλειστό κυκλικό μονόκλωνο DNA με 1000 νουκλεοτίδια ζευγαρωμένα με μια γραμμική αλυσίδα 500 νουκλεοτιδίων με ελεύθερο 3'-OH άκρο.

δ) Ένα γραμμικό δίκλωνο μόριο 1000 νουκλεοτιδίων με ελεύθερο 3'-OH σε κάθε άκρο.

12. Οι κύριες πολυμεράσες. Να συγκρίνετε την DNA πολυμεράση I και την RNA πολυμεράση της *E. coli* αναφορικά με τα εξής χαρακτηριστικά:

- (α) Ενεργοποιημένα πρόδρομα μόρια
- (β) Κατεύθυνση επιμήκυνσης
- (γ) Διατήρηση του εκμαγείου
- (δ) Απαίτηση για εκκινητή

- Η αλληλουχία βάσεων αποτελεί τμήμα μητρικής αλυσίδας DNA που αρχίζει να αντιγράφεται από το σημείο που υποδεικνύει το βέλος.

–

Θέση έναρξης αντιγραφής

- 5' ...A A A T T T A C C A A T C ↓ G T A T C C G G A C A
T G A T... 3'
- Α. Να εξηγήσετε τι είναι το πρωταρχικό τμήμα και για ποιο λόγο σχηματίζεται. Να γράψετε την αλληλουχία βάσεων του πρωταρχικού τμήματος που σχηματίζεται στη θέση έναρξης αντιγραφής αυτού του τμήματος, δεδομένου ότι αυτό αποτελείται από 6 νουκλεοτίδια. Να σημειώσετε τα άκρα του.

- Να εξηγήσετε για ποιους λόγους σε κάθε τμήμα DNA που αντιγράφεται η αντιγραφή συμβαίνει με συνεχή τρόπο στη μία αλυσίδα και με ασυνεχή στην άλλη. Να αναφέρετε ποια από τα δύο τμήματα της αλυσίδας (το AAATTTACCAATC ή το GTATCCGGACATGAT) αντιγράφεται με τρόπο συνεχή.

- Το ακόλουθο τμήμα αποτελείται από μη ραδιενεργά νουκλεοτίδια.
- 5' ... Τ Τ Α C C Α Α G C G Τ Α C C G G Α C Α Τ G Α Τ 3'
- 3' ... Α Α Τ G G Τ Τ C G C Α Τ G G C C Τ G Τ Α C Τ Α 5'
- Το τμήμα αυτό μεταφέρθηκε σε περιβάλλον με μη ραδιενεργά νουκλεοτίδια Α, G και C και με νουκλεοτίδια Τ που είχαν ιχνηθετηθεί με ραδιενεργό P.
- i. Να περιγράψετε το πείραμα το οποίο μέσω της ιχνηθέτησης βιολογικών μορίων απέδειξε ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.
- ii. Δεδομένου ότι το τμήμα αντιγράφηκε μία φορά στο περιβάλλον με τα ραδιενεργά νουκλεοτίδια Τ, να εξηγήσετε πόσα ραδιενεργά νουκλεοτίδια έφερε το κάθε νέο τμήμα μετά το τέλος της αντιγραφής.

- Η ανάλυση βάσεων σε ένα από τα θραύσματα του μιτοχονδριακού DNA έδειξε ότι περιέχεται η αλληλουχία βάσεων:
- (α) AATTCTAAACATAT **TTAAA** ATGTTATATGATAAAGTGCATTTA **TATATA** AATACAG
- (β) GATTTGTATA **AATTT** TACAATATACTATTTACGTA AAT **ATATAT** TTATGTCTCAA
- **Υποκινητής 1** **Υποκινητής 2**
- Η αλληλουχία περιέχει ένα ακέραιο συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί πεπτίδιο, τμήμα ενός άλλου γονιδίου, που επίσης κωδικοποιεί πεπτίδιο, καθώς και τους υποκινητές τους (οι οποίοι υποδεικνύονται με έντονα γράμματα).
- Να εξηγήσετε ποιος είναι ο υποκινητής (1 ή 2) του ακέραιου γονιδίου και να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου που κωδικοποιεί το εν λόγω γονίδιο.

- Η ανάλυση βάσεων σε ένα από τα θραύσματα του μιτοχονδριακού DNA έδειξε ότι περιέχεται η αλληλουχία βάσεων:
- (α) AATTCTAAACATAT **TTAAA** **ATGTTA** **TAT** GATAAAGTGCATTTA **TATATA** AATACAG
- (β) GATT**GT**ATA **AATTT** TACAATATACTATTTCA**CGT**AAAT **ATATAT** TT**ATG**TCTCAA
- **Υποκινητής 1** **Υποκινητής 2**
- Η αλληλουχία περιέχει ένα ακέραιο συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί πεπτίδιο, τμήμα ενός άλλου γονιδίου, που επίσης κωδικοποιεί πεπτίδιο, καθώς και τους υποκινητές τους (οι οποίοι υποδεικνύονται με έντονα γράμματα).
- Να εξηγήσετε ποιος είναι ο υποκινητής (1 ή 2) του ακέραιου γονιδίου και να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου που κωδικοποιεί το εν λόγω γονίδιο.

- Η ανάλυση βάσεων σε ένα από τα θραύσματα του μιτοχονδριακού DNA έδειξε ότι περιέχεται η αλληλουχία βάσεων:
- (α) **AA**TCTAAACATAT **TTAAA** **ATGTTA** **TAT**GATAAAGTGCAATTA **TATATA** AATACAG
- (β) **GA**T **T**GTATA **AA**TTT TACAATATACTATTTCAC**GT**AAAT **AT**ATAT **TT**ATGTCTCAA
- **Υποκινητής 1** **Υποκινητής 2**
- Η αλληλουχία περιέχει ένα ακέραιο συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί πεπτίδιο, τμήμα ενός άλλου γονιδίου, που επίσης κωδικοποιεί πεπτίδιο, καθώς και τους υποκινητές τους (οι οποίοι υποδεικνύονται με έντονα γράμματα).
- Να εξηγήσετε ποιος είναι ο υποκινητής (1 ή 2) του ακέραιου γονιδίου και να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου που κωδικοποιεί το εν λόγω γονίδιο.

Shine-Dalgarno Sequence

In prokaryotes, the signal for initiation of protein synthesis consists primarily, but not exclusively, of an AUG codon and a rRNA-complementary sequence, the Shine Dalgarno sequence:

AGGAGG

This sequence usually locates 4-7 nucleotides 5' of the initiator AUG of many mRNAs. The sequence is complementary to `gaucaCCUCCUuaOH` at the 3' end of 16S rRNA.

References:

Shine J, Dalgarno L. Determinant of cistron specificity in bacterial ribosomes. [Nature. 1975 Mar 6;254\(5495\):34-38.](#)

Kozak Sequence

Most eukaryotic mRNAs contain a short recognition sequence that greatly facilitate the initial binding of mRNA to the small subunit of the ribosome. The consensus sequence for initiation of translation in vertebrates (also called Kozak sequence) is:

ACCATGG

More general it is:

(GCC)RCCATGG

where R is a purine (A or G).

To improve expression levels, it may be advantageous to design the cloned insert according to Kozak's rules.

References:

Kozak, M. Point mutations define a sequence flanking the AUG initiator codon that modulates translation by eukaryotic ribosomes. [Cell. 1986, 44\(2\):283-92.](#)

Kozak, M. An analysis of 5'-noncoding sequences from 699 vertebrate messenger RNAs. [Nucleic Acids Res. 1987, 15\(20\):8125-48](#)

- Η ανάλυση βάσεων σε ένα από τα θραύσματα του μιτοχονδριακού DNA έδειξε ότι περιέχεται η αλληλουχία βάσεων:
- (α) AATTCTAAACATAT **TTAAA** **ATG**TTA**TAT**GATAAAGTGCAATTA **TATATA** AATACAG
- (β) GATT**GT**ATA **AATTT** TACAATATACTATTTCAC**CGT**AAAT **ATATAT** TT**ATG**TCTCAA

Υποκινητής 1

Υποκινητής 2

- Η αλληλουχία περιέχει ένα ακέραιο συνεχές γονίδιο που κωδικοποιεί πεπτίδιο, τμήμα ενός άλλου γονιδίου, που επίσης κωδικοποιεί πεπτίδιο, καθώς και τους υποκινητές τους (οι οποίοι υποδεικνύονται με έντονα γράμματα).
- Να εξηγήσετε ποιος είναι ο υποκινητής (1 ή 2) του ακέραιου γονιδίου και να γράψετε την αλληλουχία των αμινοξέων του πεπτιδίου που κωδικοποιεί το εν λόγω γονίδιο.