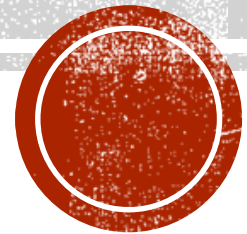


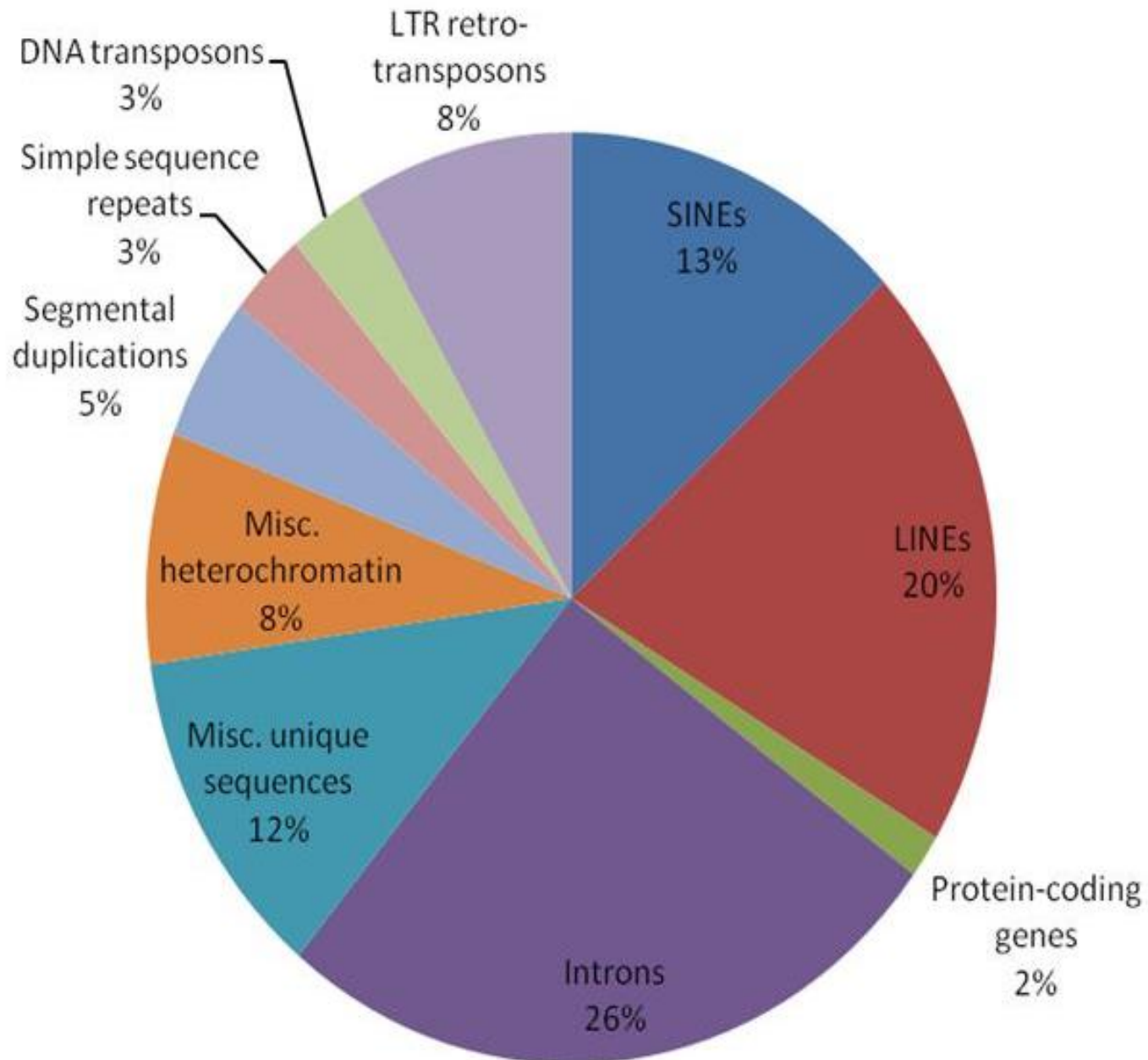
Μεταθετά, ρετρομεταθετά, επαναλήψεις

Κώστας Μαθιόπουλος

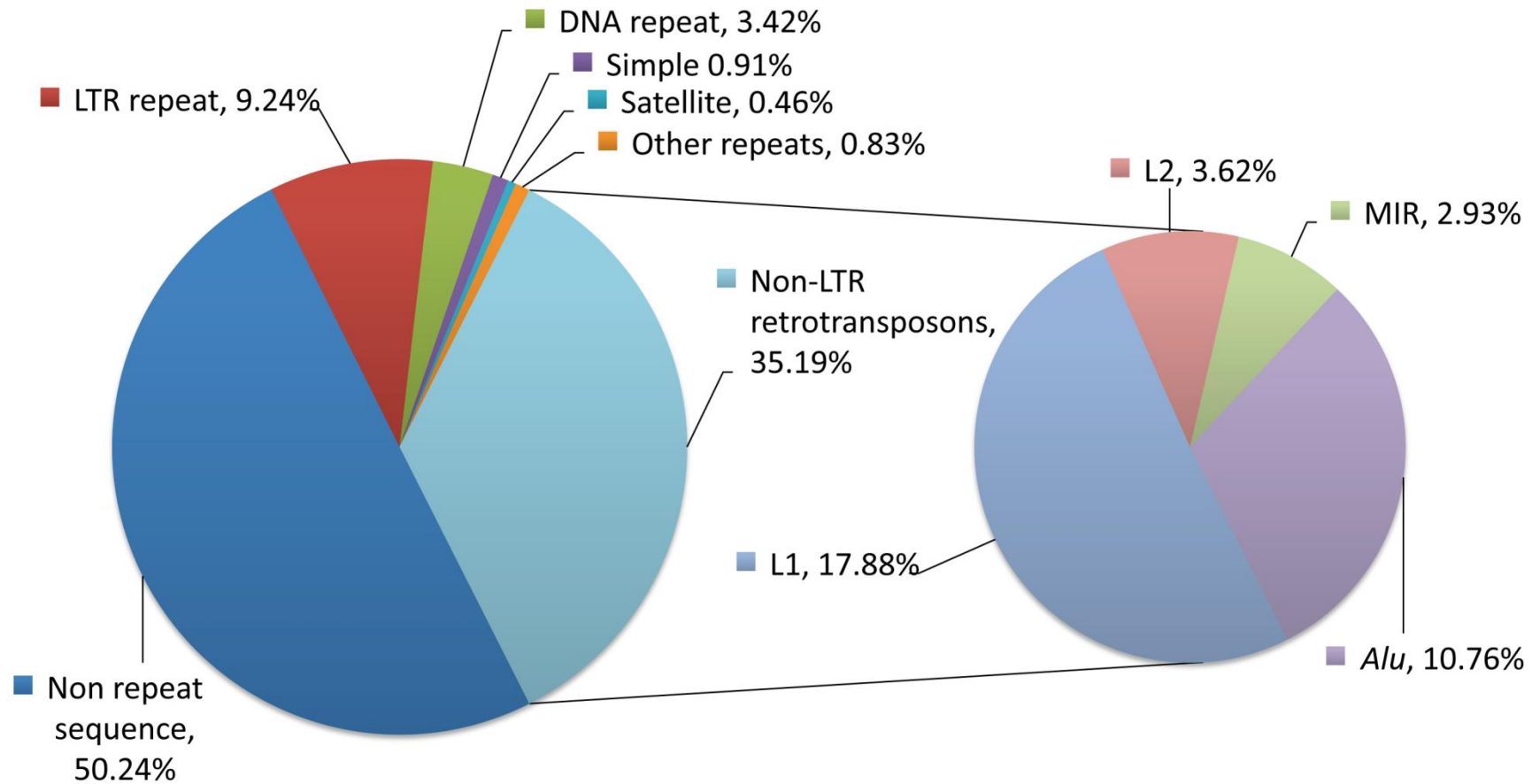
Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας



Τα συστατικά του ανθρώπινου γονιδιώματος



Repetitive sequences in the human genome.



Rodić N, Burns KH (2013) Long Interspersed Element-1 (LINE-1): Passenger or Driver in Human Neoplasms?. PLoS Genet 9(3): e1003402.
doi:10.1371/journal.pgen.1003402
<http://www.plosgenetics.org/article/info:doi/10.1371/journal.pgen.1003402>



Το DNA δεν παραμένει αναλλοίωτο

- Barbara Mc Clintock (τέλη δεκαετίας 40): "παράξενα" γενετικά στοιχεία έχουν την ικανότητα να κατευθύνουν τα ίδια τη μετάθεσή τους μέσα στο γονιδίωμα

Γεννήθηκε: 16 Ιουνίου 1902
Πέθανε: 2 Σεπτεμβρίου 1992
Nobel Ιατρικής ή Φυσιολογίας: 1983



Τα στοιχεία ελέγχου Ds στο καλαμπόκι



- Μελέτη του μηχανισμού του μωσαϊκού χρώματος του καλαμποκιού και της κληρονομικότητάς του
- ↓
- Ύπαρξη δύο γενετικών στοιχείων (Ac και Ds) με τη δυνατότητα να ενσωματώνονται και να απομακρύνονται στο γονιδίωμα



- Η ανθοκυανίνη δίνει το σκούρο βιολετί χρώμα στους κόκκους καλαμποκιού

- Σταθερές μεταλλαγές στο γονίδιο της ανθοκυανίνης: όλοι οι σπόροι χρώμα λευκό

- Ασταθείς μεταλλαγές: επανεμφάνιση μοβ χρώματος



- Ύπαρξη δύο γενετικών στοιχείων (Ac και Ds) με τη δυνατότητα να ενσωματώνονται και να απομακρύνονται στο γονιδίωμα

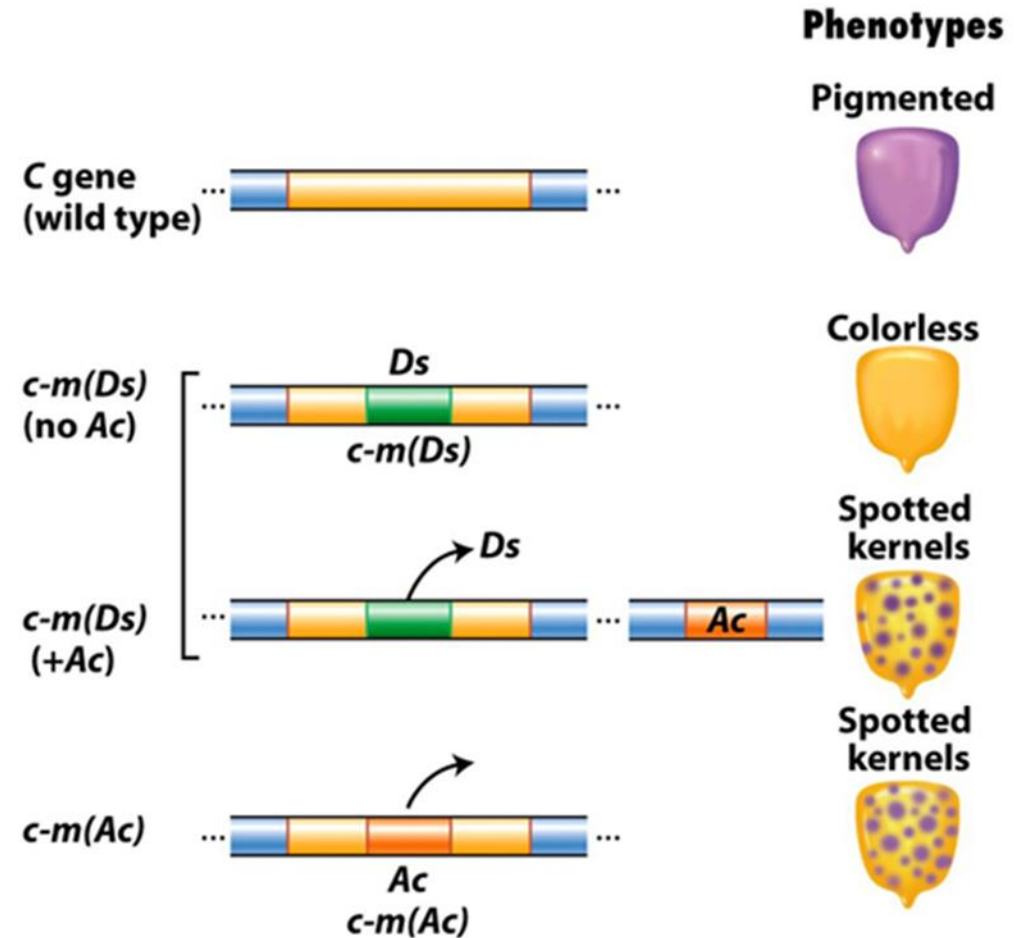


Figure 14-4
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company



Η Barbara McClintock παρατήρησε σπάνιους, παράξενους και μη αναμενόμενους φαινότυπους σπόρων στους απογόνους των διασταυρώσεων που πραγματοποίησε

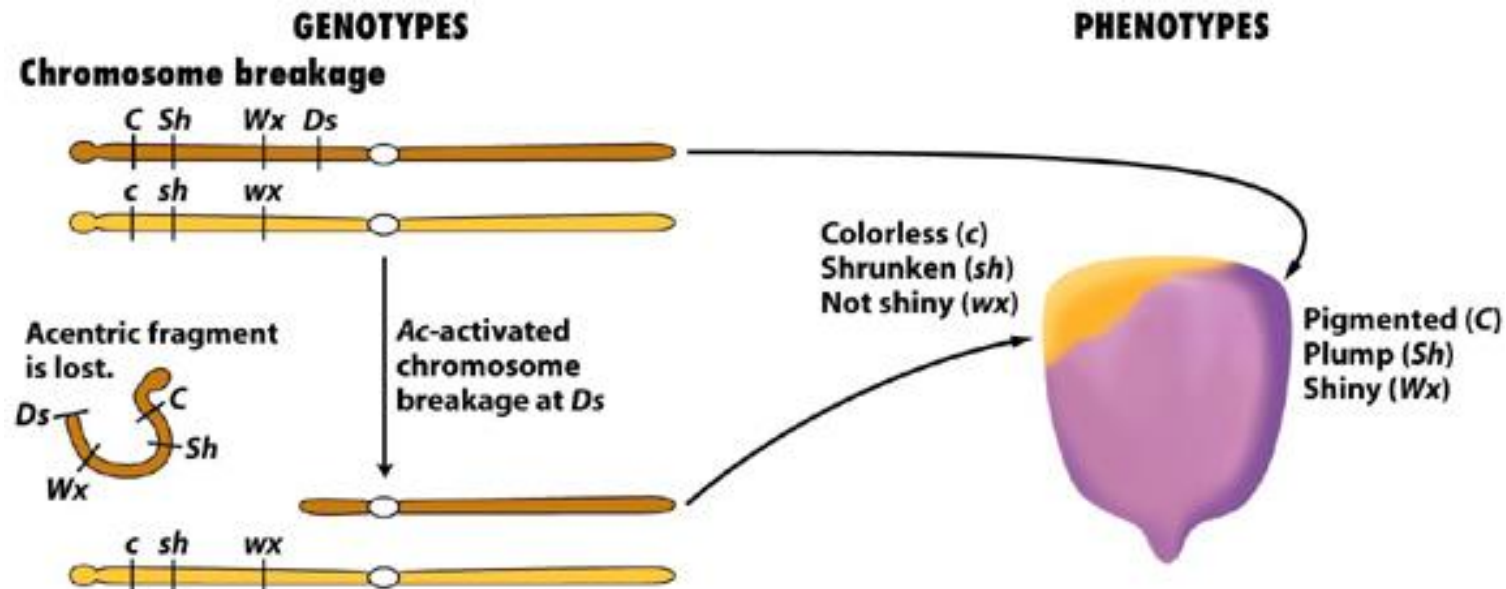
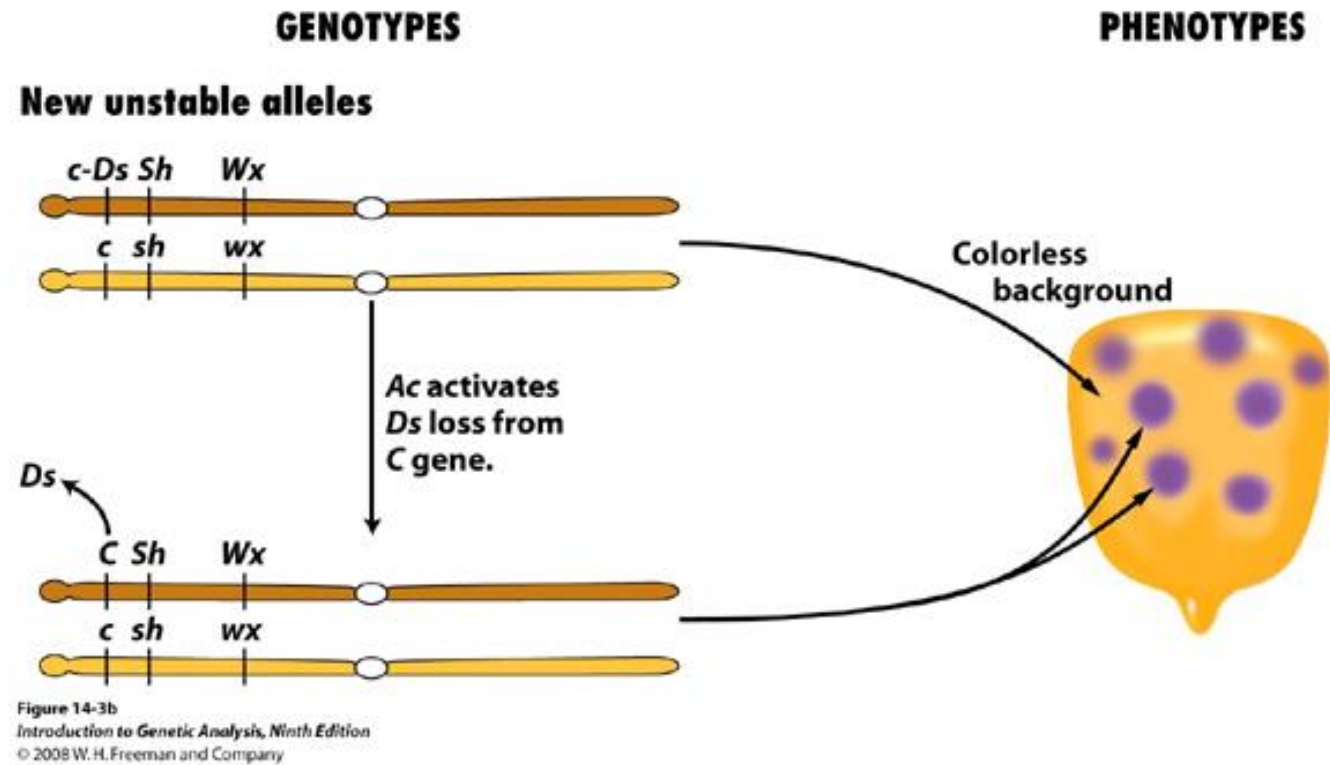


Figure 14-3a
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Στο παράδειγμα αυτό, η παρουσία του Ac αναγκάζει το Ds να αποκοπεί και το ακκεντρικό τμήμα που δημιουργείται χάνεται. Το αποτέλεσμα είναι ημιζυγωτία για όλους τους τόπους που χάνονται με το ακκεντρικό τμήμα, επιτρέποντας στους υπολειπόμενους χαρακτήρες να εκφραστούν στους απογόνους του κυττάρου που υπέστη αυτή τη θραύση νωρίς στην ανάπτυξη του σπόρου. Για το λόγο αυτό δημιουργείται ένας μωσαϊκός φαινότυπος.

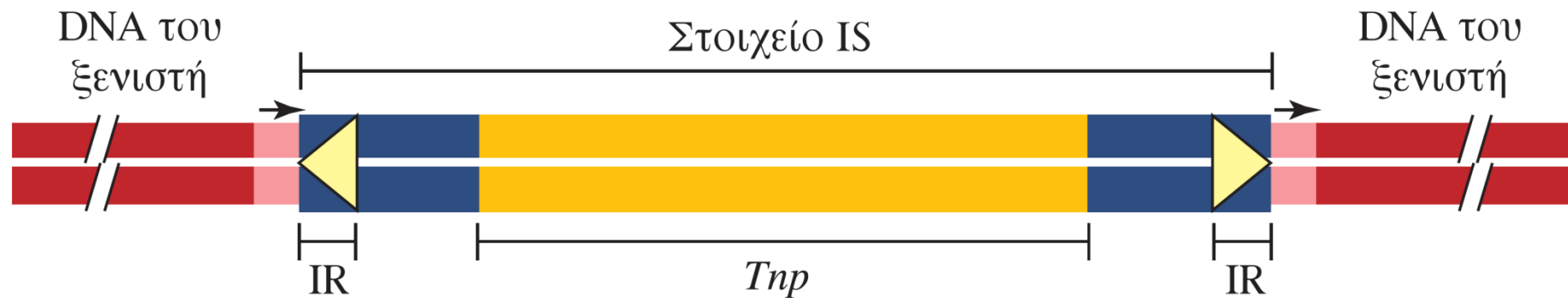




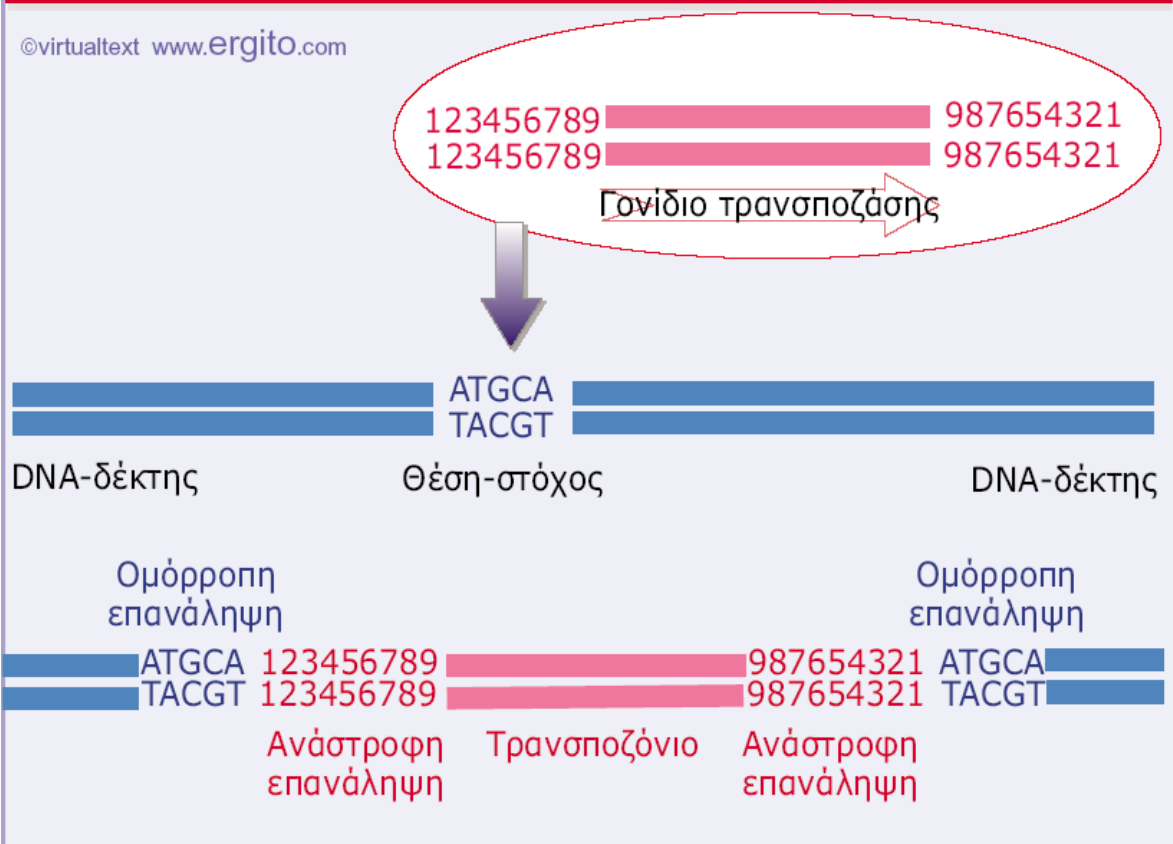
Στο παράδειγμα αυτό, το Ds εντίθεται στο C νωρίς κατά την ανάπτυξη του σπόρου, καταστέλλοντας την παραγωγή χρωστικής. Στη συνέχεια, σε μερικά από τα προκύπτοντα κύτταρα το Ds ξαφνικά εξαφανίζεται. Αυτό επιτρέπει την επανεμφάνιση της φυσιολογικής λειτουργίας του C και οι περιοχές απ' όπου έφυγε το Ds μπορούν πλέον να παράγουν χρωστική. Αυτό είναι ένα παράδειγμα του πώς ένα μεταθετό στοιχείο (Ds) μπορεί να παράγει έναν ασταθή φαινότυπο: η έκφραση αλλάζει σε διαφορετικές κυτταρικές σειρές και σε διαφορετικές χρονικές στιγμές, γιατί ποτέ δεν ξέρει κανείς πότε θα φύγει το Ds επιτρέποντας το γονίδιο να επανακτήσει την αρχική του λειτουργία.



Αλληλουχίες ένθεσης (IS)



Τα τρανσποζόνια έχουν ανάστροφες επάκριες επαναλήψεις και δημιουργούν ομόρροπες επαναλήψεις εκατέρωθεν της θέσης-στόχου



Τα τρανσποζόνια φέρουν ανάστροφες επάκριες επαναλήψεις και δημιουργούν ομόρροπες επαναλήψεις στο DNA που βρίσκεται εκατέρωθεν της θέσης ένθεσης. Σε αυτό το παράδειγμα, ο στόχος του τρανσποζονίου είναι μια αλληλουχία 5 bp. Τα άκρα του τρανσποζονίου αποτελούνται από ανάστροφες επαναλήψεις 9 bp, όπου οι αριθμοί 1 ως 9 αντιπροσωπεύουν μια αλληλουχία από ζεύγη βάσεων.

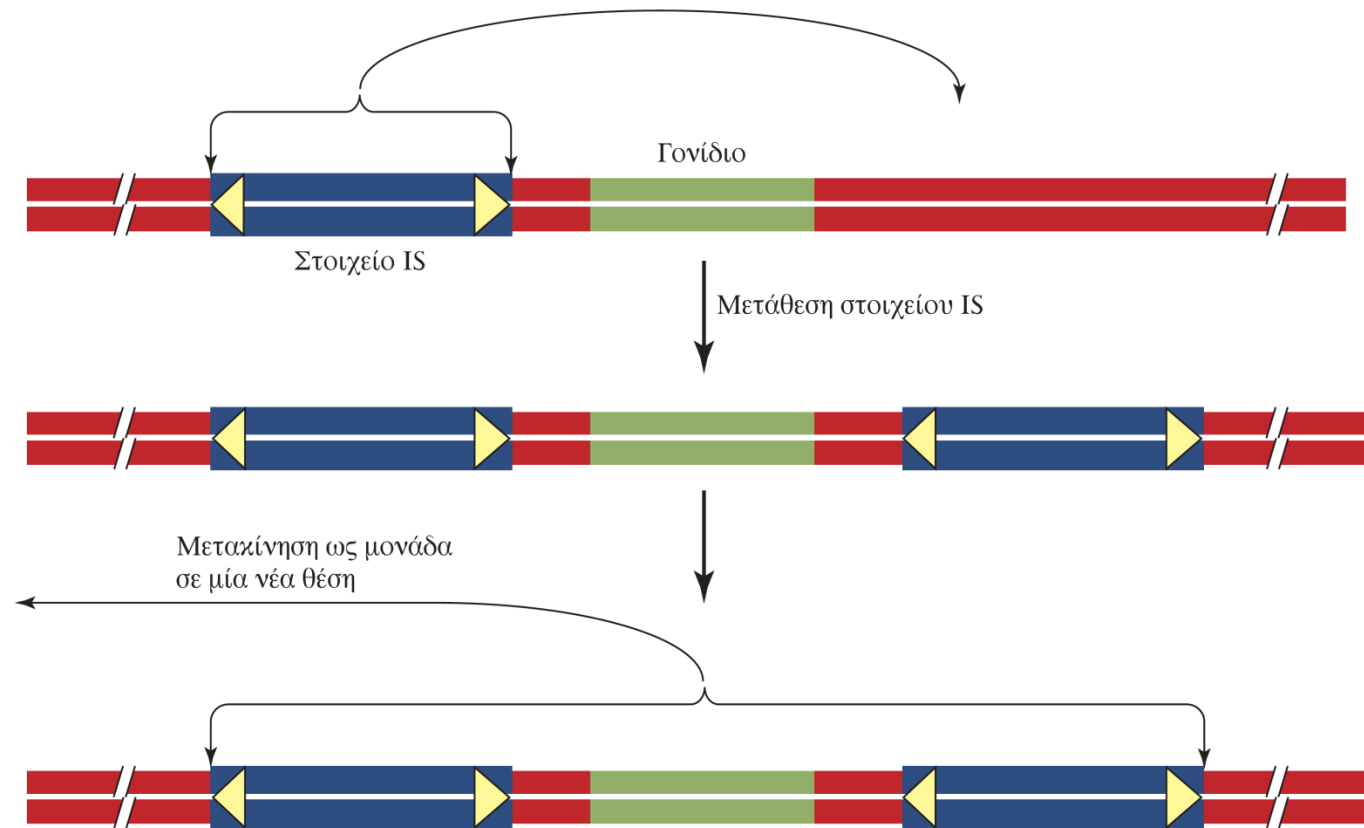
Τρανσποζόνιο	Ομόρροπες επαναλήψεις	Ανάστροφες επαναλήψεις	Συνολικό μήκος	Επιλογή στόχου
IS1	9 bp	23 bp	768 bp	τυχαία
IS2	5 bp	41 bp	1327 bp	θερμά σημεία
IS4	11-13 bp	18 bp	1428 bp	AAAN ₂₀ TTT
IS5	4 bp	16 bp	1195 bp	θερμά σημεία
IS10R	9 bp	22 bp	1329 bp	NGCTNAGCN
IS50R	9 bp	9 bp	1531 bp	θερμά σημεία
IS903	9 bp	18 bp	1057 bp	τυχαία

cis-δραστικές μεταλλάξεις που αποτρέπουν τη μετάθεση εντοπίζονται στα άκρα



Τα σύνθετα τρανσποζόνια
φέρουν μονάδες IS

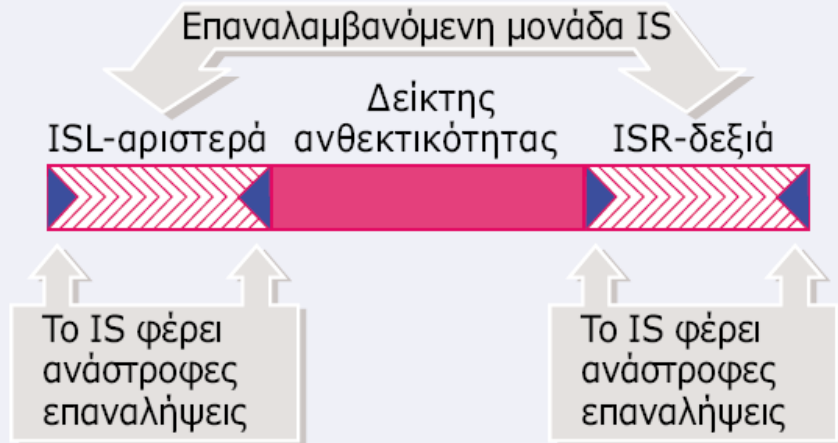




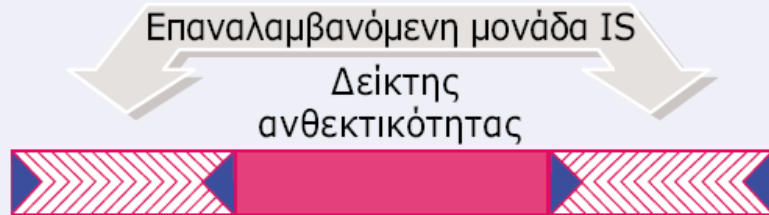
Γονιδιακή κινητοποίηση από σύνθετα τρανσποζόνια. Τα στοιχεία IS είναι οι δομικοί λίθοι μιας ακόμη πιο περίπλοκης δομής που ονομάζεται σύνθετο τρανσποζόνιο, η οποία σχηματίζεται όταν ένα στοιχείο IS εισάγεται εκατέρωθεν ενός ή περισσότερων γονιδίων. Όταν χρησιμοποιούνται για μετάθεση τα εξώτερα άκρα των δύο στοιχείων IS, επιτρέπουν τη μετακίνηση ολόκληρου του σύνθετου τρανσποζονίου (των δύο στοιχείων IS και των γονιδίων που βρίσκονται ανάμεσά τους). Με την πάροδο του χρόνου, το γονίδιο της τρανσποζάσης στο ένα στοιχείο IS μπορεί να χάσει τη λειτουργία του, με αποτέλεσμα η κινητοποίησή του να βασίζεται πλέον στο αντίστοιχο γονίδιο τρανσποζάσης που κωδικοποιείται από το άλλο στοιχείο IS.



Ένα σύνθετο τρανσποζόνιο έχει δύο στοιχεία IS



Παράδειγμα: Tn9 IS1 *cam^R* Ταυτόσημες μονάδες IS, λειτουργικές και οι δύο



Παράδειγμα	Αριστερό άκρο	Δείκτης	Δεξί άκρο
Tn903	IS903L λειτουργικό	<i>kan^R</i>	IS903R λειτουργικό
Tn10	IS10L μη λειτουργικό	<i>tet^R</i>	IS10R λειτουργικό
Tn5	IS50L μη λειτουργικό	<i>kan^R</i>	IS50R λειτουργικό

Ένα σύνθετο τρανσποζόνιο έχει μία κεντρική περιοχή η οποία φέρει δείκτες (όπως γονίδια ανθεκτικότητας σε φάρμακα) και περικλείεται από μονάδες IS. Οι μονάδες έχουν βραχείες ανάστροφες επάκριες επαναλήψεις. Αν οι μονάδες έχουν αντίθετο προσανατολισμό, οι βραχείες ανάστροφες επάκριες επαναλήψεις στα άκρα του τρανσποζονίου είναι πανομοιότυπες.

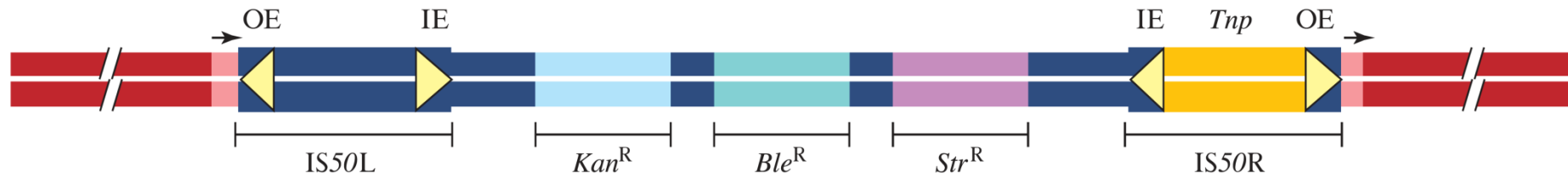
Όταν οι δυο μονάδες IS είναι ίδιες, οποιαδήποτε μπορεί να προωθήσει τη μετάθεση.

Όταν η μία εμφανίζει μειωμένη λειτουργικότητα, η μετάθεση εξαρτάται αποκλειστικά από την άλλη.



Η ανατομία του σύνθετου τρανσποζονίου Tn5

(α) Tn5



- Το τρανσποζόνιο Tn5 φέρει στοιχεία IS σε κάθε του άκρο:
 - IS50L στο αριστερό άκρο και IS50R στο δεξί
 - Το εξωτερικό άκρο κάθε στοιχείου IS συμβολίζεται με OE και το εσωτερικό άκρο με IE
 - Το άκρο IS50R έχει ένα λειτουργικό γονίδιο *Tnp*, το οποίο κωδικοποιεί μια ενεργό τρανσποζάση, ενώ το IS50L όχι
- Τα *Kan^R*, *Ble^R* και *Str^R* αντιστοιχούν σε γονίδια που προσδίδουν ανθεκτικότητα στην καναμυκίνη, στην μπλεομυκίνη και στη στρεπτομυκίνη αντίστοιχα.



Η ανατομία του σύνθετου τρανσποζονίου Tn10

(β) Tn10

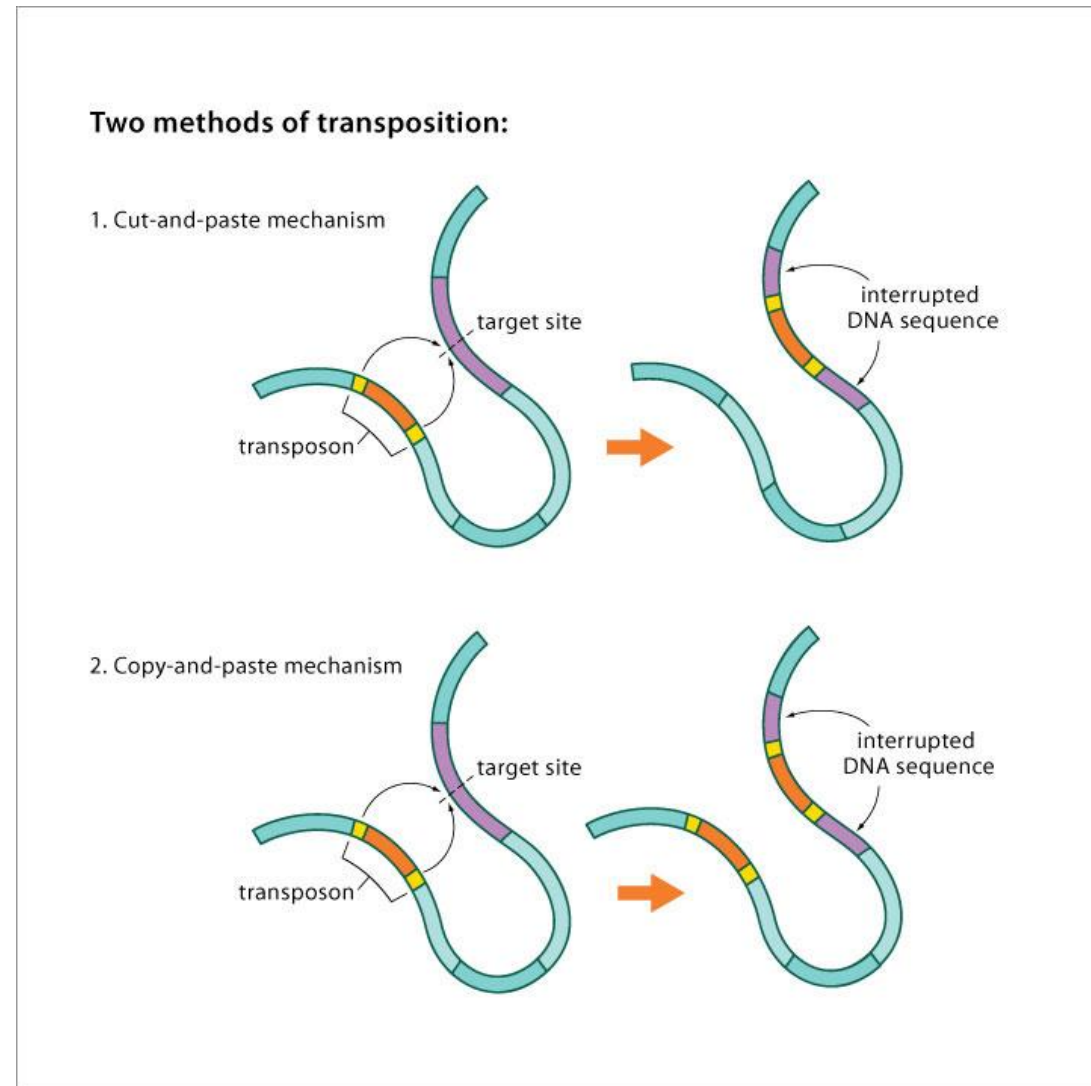


- Το Tn10 φέρει επίσης στοιχεία IS σε κάθε του άκρο, IS10L και IS10R
- Μόνο το IS10 R φέρει λειτουργικό γονίδιο *Tnp* που κωδικοποιεί για μια ενεργό τρανσποζάση
- Το *Tet^R* αντιστοιχεί στο γονίδιο ανθεκτικότητας στην τετρακυκλίνη

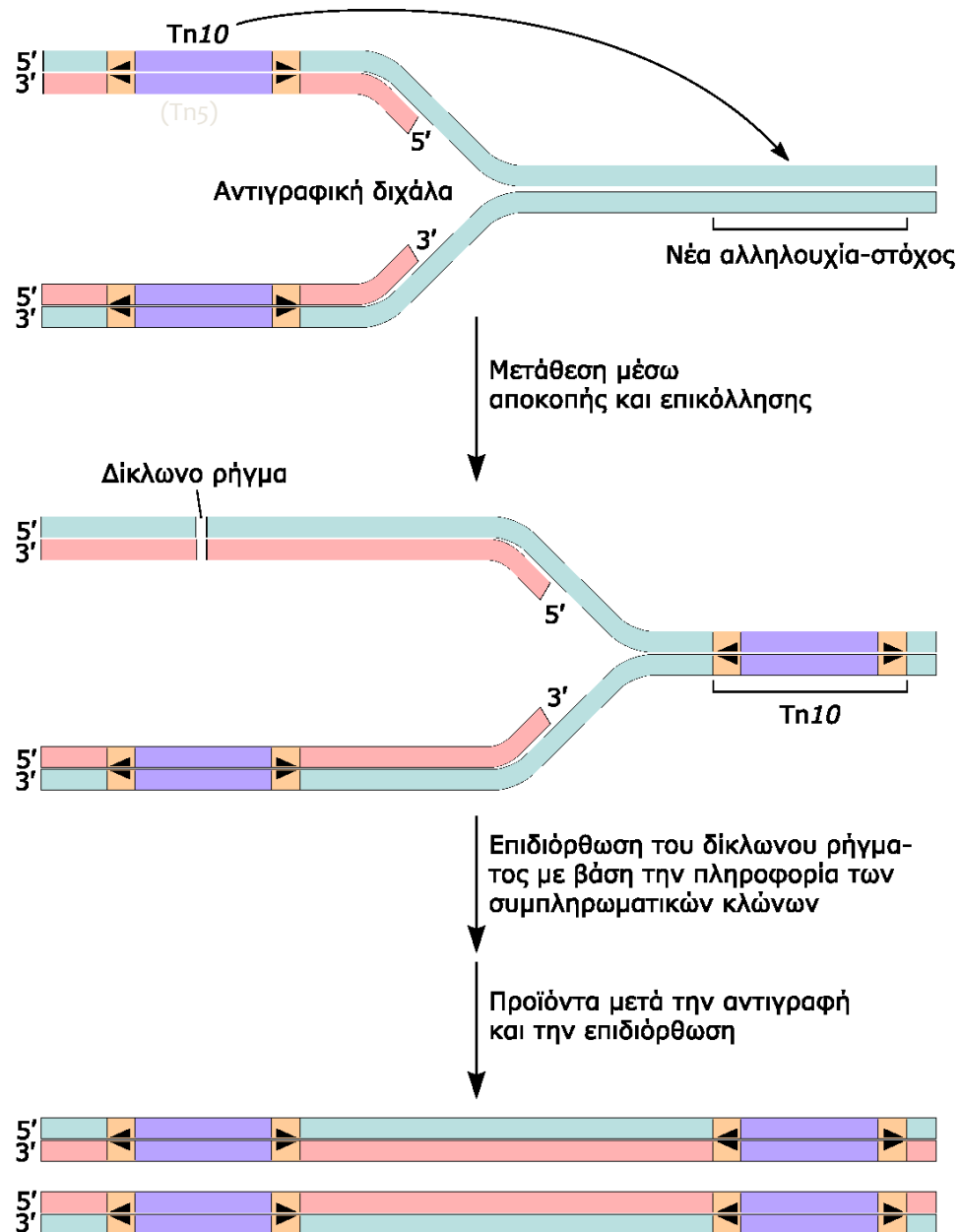


Τα μεταθετά στοιχεία DNA μετακινούνται μέσω δύο διαφορετικών μηχανισμών

- Αποκοπή και επικόλληση (cut-and-paste) (μη αντιγραφικός μηχανισμός)
- Αντιγραφή και ανασυνδυασμός (copy-and-paste) (αντιγραφικός μηχανισμός)



Συντονισμός της μετάθεσης με την αντιγραφή του DNA



Μετάθεση του Tn10 ή του Tn5 μετά το πέραςμα μιας διχάλας αντιγραφής.

Η μετάθεση ενεργοποιείται από την παρουσία ημιμεθυλιωμένου DNA, ακριβώς μετά την αντιγραφή. Αυτό συμβαίνει διότι η τρανσποζάση προσδένεται ικανοποιητικά μόνο σε ημιμεθυλιωμένο DNA.

Το αποτέλεσμα είναι ότι από ένα αντίγραφο στο μητρικό χρωμόσωμα καταλήγουμε με 4 στα δύο θυγατρικά.



Τα τρανσποζόνια είναι χρήσιμα εργαλεία

(α) «Φυσικό» αυτόνομο στοιχείο



Τρανσποζάση

(β) Συνθετικό μη αυτόνομο στοιχείο



Ανθεκτικότητα σε αντιβιοτικό

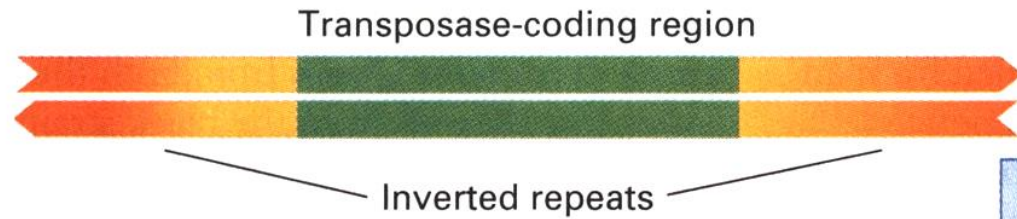


Εργαλεία για τη δημιουργία διαγωνιδιακών οργανισμών

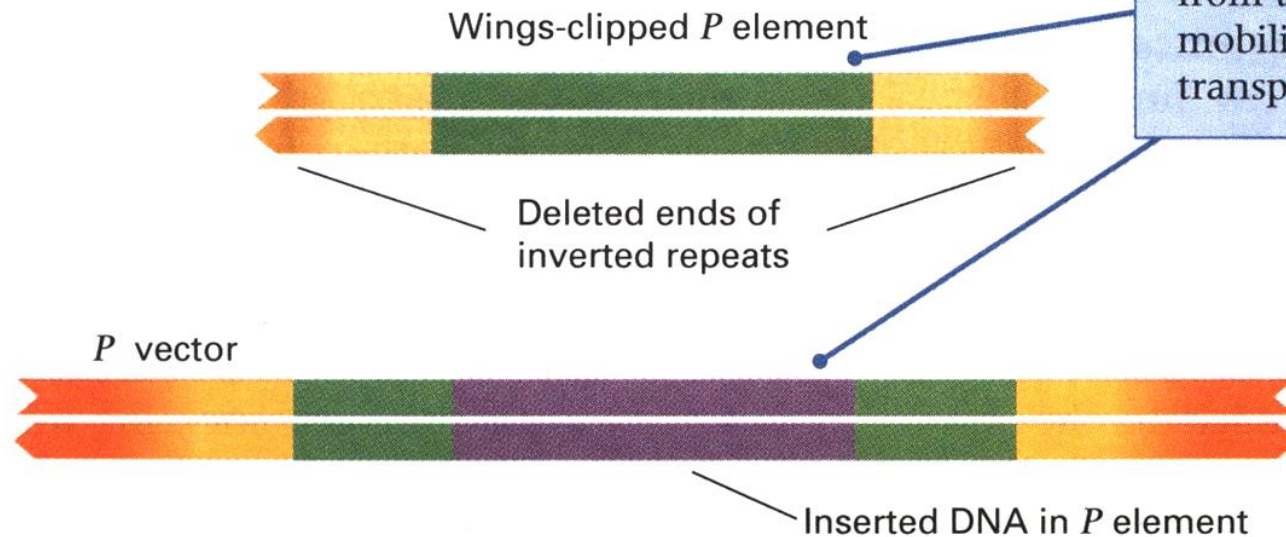


Μετασχηματισμός μέσω P στη *Drosophila*

(A) Complete *P* element



(B) Transformation with *P* element

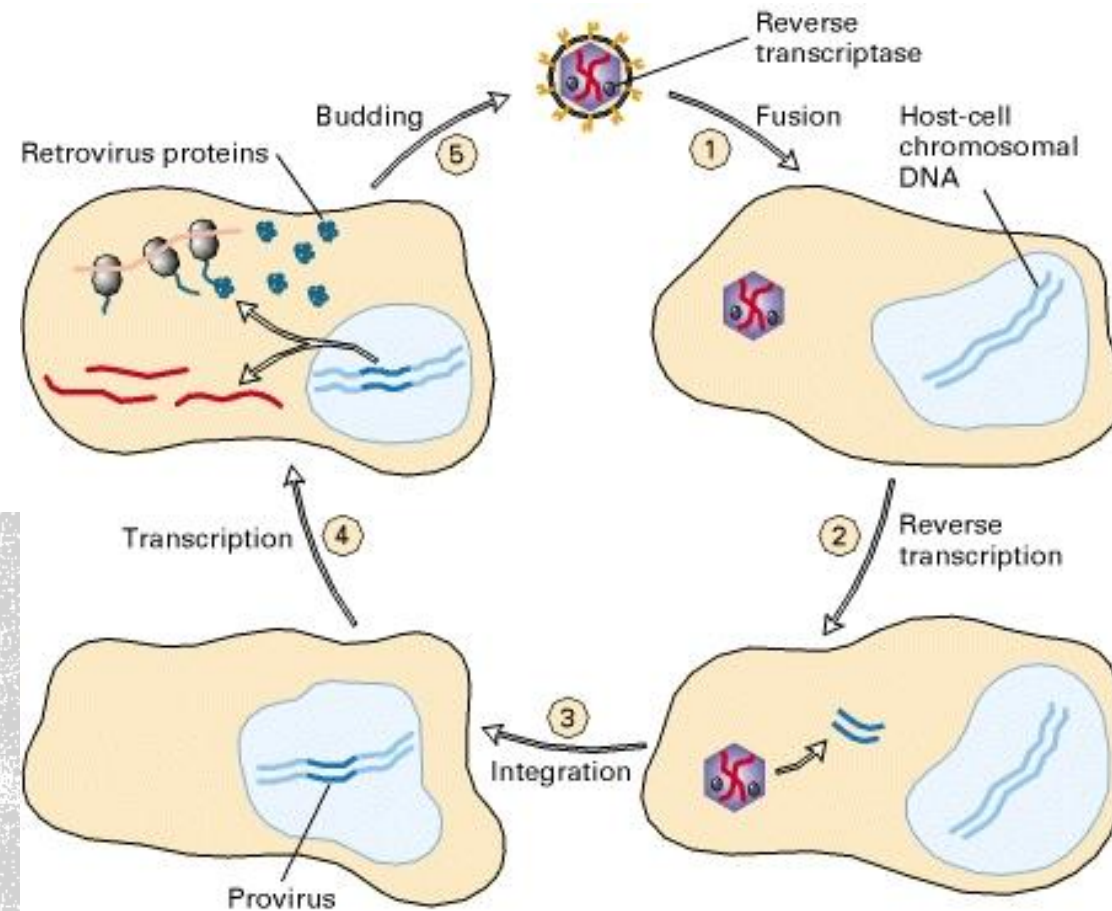
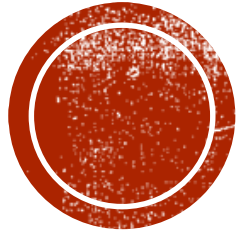


The wings-clipped *P* element and the *P* vector are injected together and taken up by the germ cells. The transposase from the wings-clipped *P* mobilizes the *P* vector, which transposes into a chromosome.

The *P* vector can insert into the genome at any of a large number of different sites.



Μεταθετά στοιχεία στα ευκαρυωτικά γονιδιώματα - Ρετροτρανσποζόνια



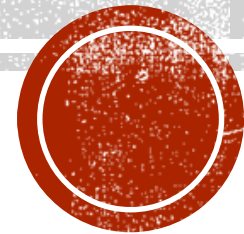
Ευκαρυωτικά μεταθετά στοιχεία

- Τάξη I: η μετάθεσή τους απαιτεί ενδιάμεσο μόριο RNA
- Τάξη II: η μετάθεσή τους απαιτεί μόνο DNA και ο μηχανισμός μοιάζει με τον μηχανισμό αποκοπής και επικόλλησης των προκαρυωτών



Ρετρομετάθεση

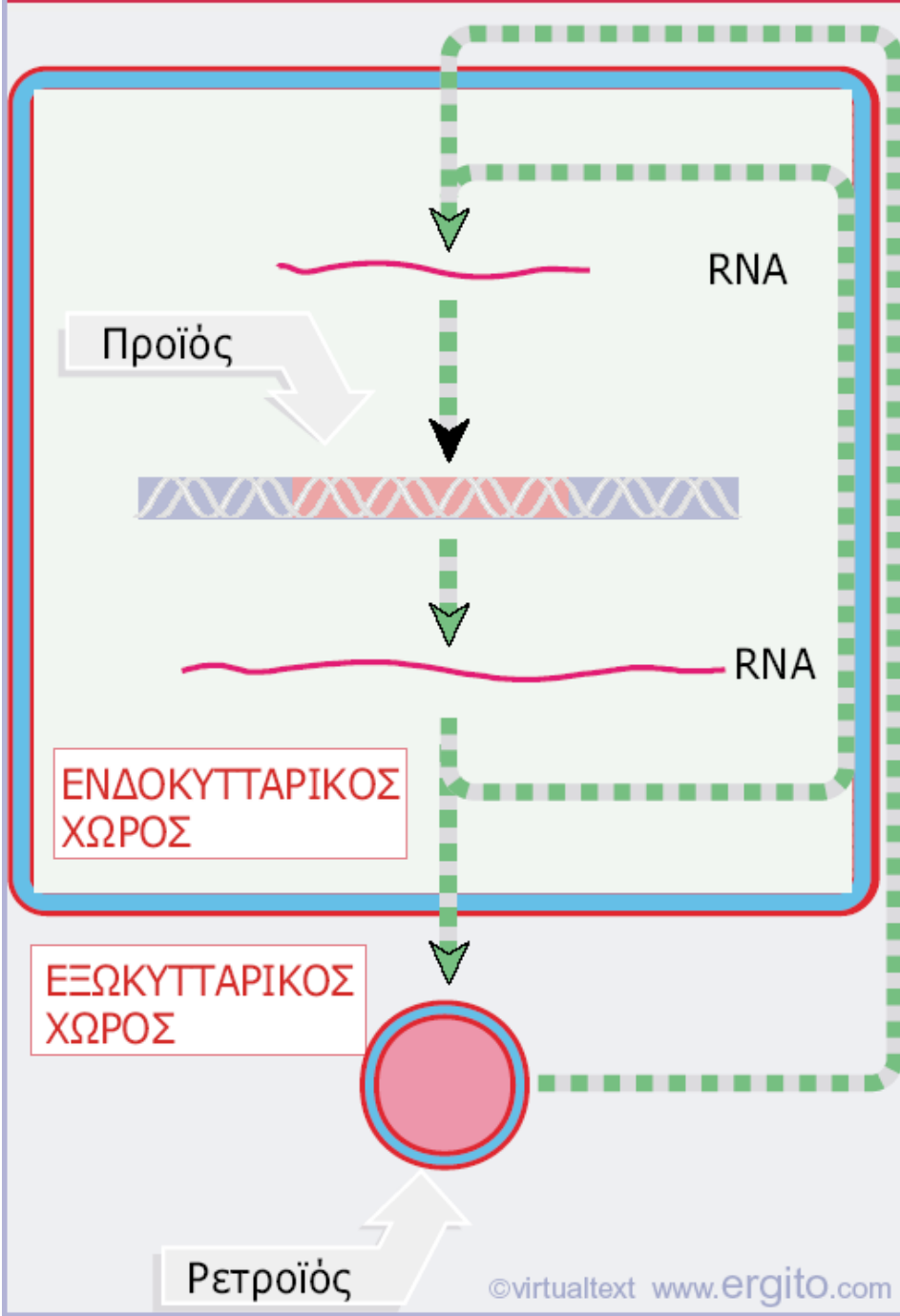
(μεταθετά τάξης I)



Η μετάθεση στην οποία εμπλέκεται υποχρεωτικά η σύνθεση ενός ενδιάμεσου μορίου RNA είναι ένα φαινόμενο που απαντάται αποκλειστικά στους ευκαρυώτες



Μόνο οι ρετροϊοί έχουν εξωκυτταρική μορφή



Οι αναπαραγωγικοί κύκλοι των ρετροϊών και των ρετροποζονίων περιλαμβάνουν εναλλαγή ανάμεσα στο στάδιο όπου γίνεται αντίστροφη μεταγραφή από RNA σε DNA και στο στάδιο όπου γίνεται μεταγραφή από DNA σε RNA. Μόνο οι ρετροϊοί μπορούν να σχηματίσουν μολυσματικά σωματίδια. Τα ρετροποζόνια περιορίζονται σε έναν ενδοκυτταρικό κύκλο.

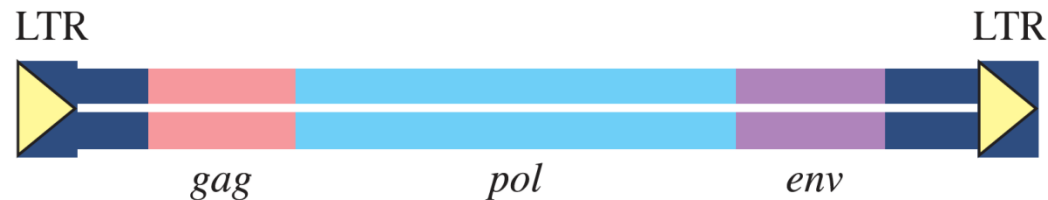


Σύγκριση ρετροτρανσποζονίου LTR και ρετροϊικού DNA

(α) Ρετροτρανσποζόνιο LTR



(β) Ρετροϊικό DNA

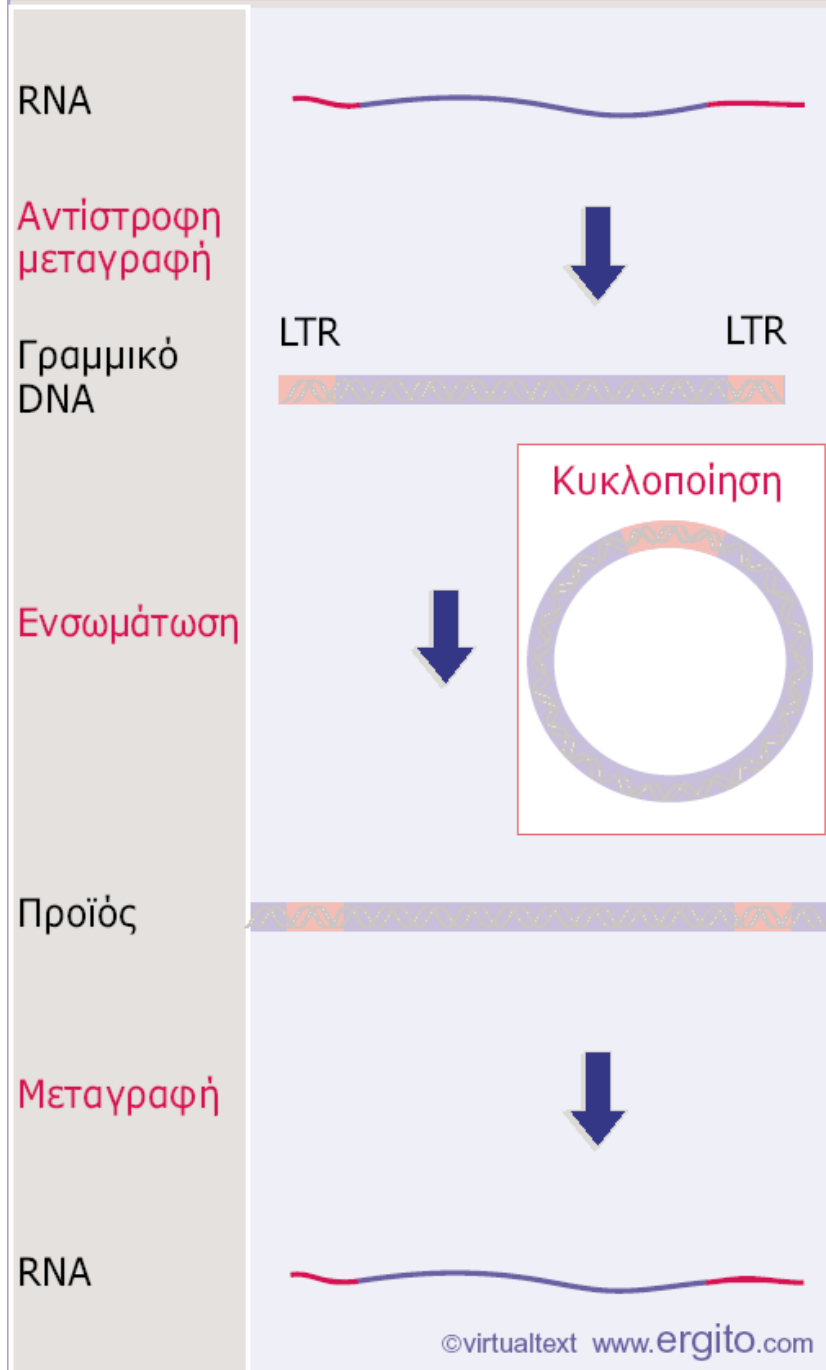


(α) Ρετροτρανσποζόνιο LTR: Ένα τυπικό ρετροτρανσποζόνιο LTR φέρει ευθείες επαναλήψεις μήκους περίπου 300 έως 500 bp (κίτρινα βέλη) εκατέρωθεν της περιοχής που περιέχει τα γονίδια *gag* και *pol*. Το γονίδιο *gag* κωδικοποιεί για μία δομική πρωτεΐνη, γνωστή ως αντιγόνο ειδικής ομάδας, η οποία αλληλεπιδρά με το RNA σχηματίζοντας ένα ιοειδές σωματίο. Το γονίδιο *pol* κωδικοποιεί για ένα πολυπεπτίδιο μεγάλου μήκους, από τη διάσπαση του οποίου θα προκύψει μία αντίστροφη μεταγραφάση, μία ιντεγκράση και μία πρωτεάση.

(β) Ρετροϊικό DNA: Μία κύρια διαφορά ανάμεσα στα ρετροτρανσποζόνια LTR και στα ρετροϊικά DNA είναι ότι τα ρετροϊικά DNA διαθέτουν γονίδια *env*, ενώ τα περισσότερα ρετροτρανσποζόνια όχι. Το προϊόν του γονιδίου *env*, μία πρωτεΐνη του φακέλου, είναι απαραίτητο για τη δημιουργία ενός μολυσματικού ιικού σωματίου.



RNA ⇒ DNA ⇒ RNA

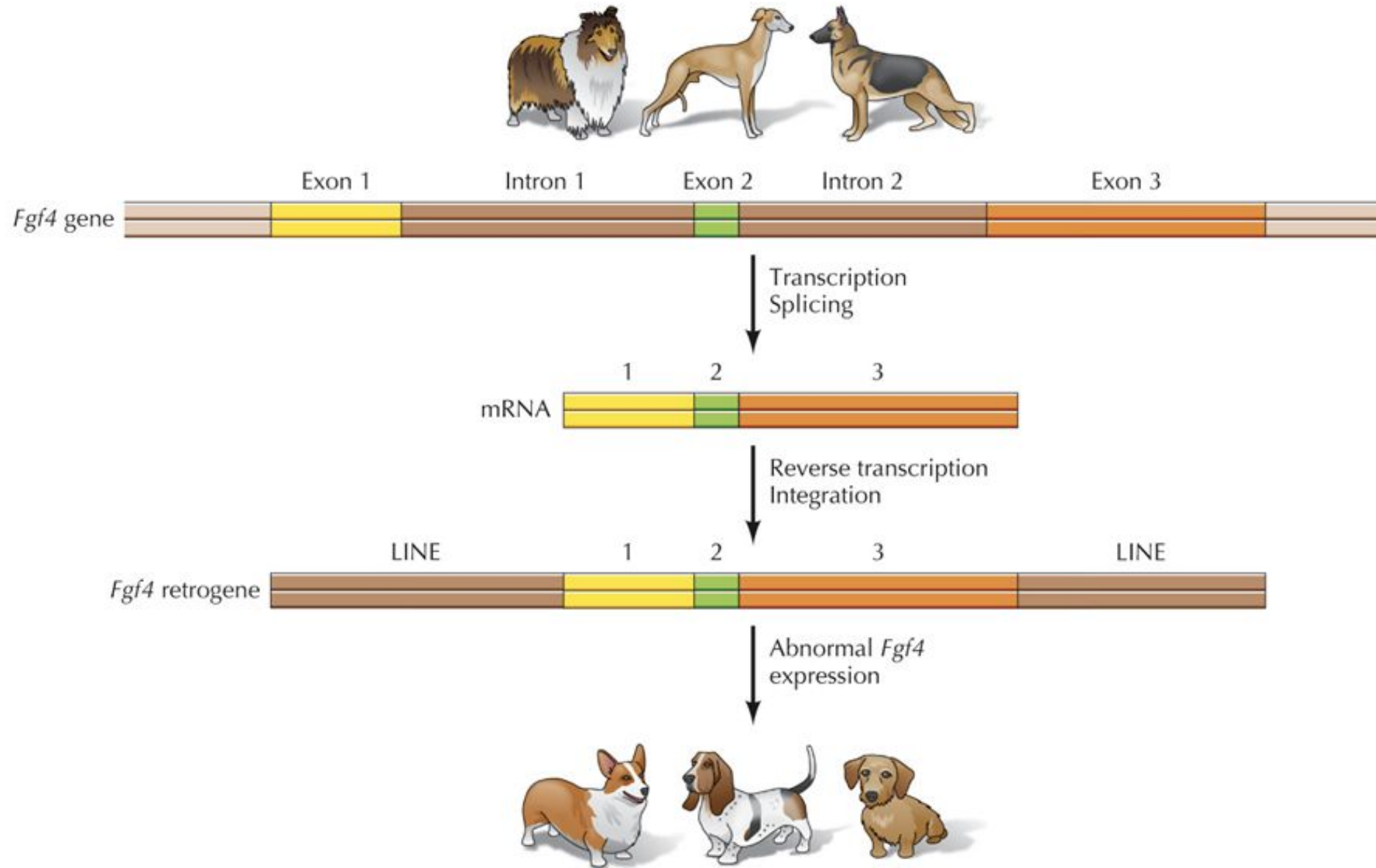


Ο βιολογικός κύκλος του ρετροϊού περιλαμβάνει αντίστροφη μεταγραφή του RNA γονιδιώματος σε δίκλωνο DNA, το οποίο εισάγεται στο γονιδίωμα του ξενιστή ώστε να μεταγραφεί σε RNA.



- Η μεταγραφή και το μάτισμα ενός γονιδίου αποδίδει ένα μόριο mRNA από το οποίο έχουν απομακρυνθεί τα ιντρόνια. Το μόριο mRNA μπορεί να αντιγραφεί από την αντίστροφη μεταγραφάση, αποδίδοντας ένα αντίγραφο cDNA χωρίς ιντρόνια.
- Η ενσωμάτωση αυτού του cDNA στο χρωμοσωμικό DNA οδηγεί στο σχηματισμό ενός επεξεργασμένου ψευδογονιδίου.
- Το ψευδογονίδιο αυτό βρίσκεται σε διαφορετικό «περιβάλλον» από το αρχικό γονίδιο, συνεπώς η έκφρασή του μπορεί να διαφέρει σημαντικά.





- Τα κοντά πόδια σε ορισμένες ράτσες σκύλων οφείλονται στη μετάθεση ενός ρετρογονιδίου.
- Το γονίδιο *Fgf4* στις ποικιλίες σκύλων με μακριά πόδια εκφράζεται μόνο από τη φυσιολογική χρωμοσωμική του θέση.
- Στις ποικιλίες σκύλων με κοντά πόδια, ένα αντίγραφο του γονιδίου έχει ενσωματωθεί στη μέση ενός στοιχείου LINE μέσω ρετρομετάθεσης.
- Στο ανώμαλο πρότυπο έκφρασης αυτού του αντιγράφου του *Fgf4* οφείλεται ο πρόωρος τερματισμός της ανάπτυξης των οστών και τα χαρακτηριστικά κοντά πόδια σε ορισμένες ράτσες σκύλων



Οι ρετροϊοί και τα τρανσποζόνια αποτελούν το μισό του ανθρώπινου γονιδιώματος						
Στοιχείο	Οργάνωση		Μήκος (Kb)	Ανθρώπινο γονιδίωμα		
				Αριθμός	Ποσοστό	
Ρετροϊοί / ρετροποζόνια	LTR	<i>gag pol (env)</i>	LTR	1-11	450.000	8%
LINES (αυτόνομα), π.χ. L1		<i>ORF1 (pol)</i>	(A) _n	6-8	850.000	17%
SINES (μη αυτόνομα), π.χ. Alu			(A) _n	<0,3	1.500.000	15%
Τρανσποζόνια DNA	▶ Τρανσποζάση ◀			2-3	300.000	3%

©virtualtext www.ergito.com

Τέσσερα είδη μεταθετών στοιχείων αποτελούν σχεδόν το μισό ανθρώπινο γονιδίωμα.

- Το γονιδίωμα του ποντικού περιέχει πολλούς ενεργούς ρετροϊούς με ικανότητα οριζόντιας μόλυνσης
- Το γονιδίωμα του ανθρώπου δεν περιέχει ενεργούς ρετροϊούς: έπαψαν να είναι ενεργοί ~50 εκατ. χρόνια πριν
- Όμως, περιέχει ενεργά μη-LTR ρετροτρανσποζόνια (L1)



- Παρά την ύπαρξη περισσότερων από 500,000 αντιγράφων μη-LTR ρετρομεταθετών (L1) στο ανθρώπινο γονιδίωμα, τα περισσότερα είναι αδρανή εξαιτίας σημειακών μεταλλάξεων, αναδιατάξεων ή ελειμμάτων. Μόνο ένα μικρό υποσύνολο 80–100 τέτοιων στοιχείων είναι ενεργό σε έναν άνθρωπο



Στα περισσότερα γονιδιώματα συναντώνται πολυάριθμα μεταθετά στοιχεία

Είδος	Κοινή ονομασία	Ρετροτρανσποζόνια LTR	Ρετροτρανσποζόνια μη LTR	Μεταθετά στοιχεία DNA
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Μαγιά	100,0	0,0	0,0
<i>Dictyostelium discoideum</i>	Μυξομύκητας	45,8	38,5	15,6
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Νηματώδης σκόληκας	1,7	6,9	91,4
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Αραβίδοψη	46,0	5,0	48,9
<i>Drosophila melanogaster</i>	Μύγα ξιδιού	69,2	22,7	8,1
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	18,6	75,2	6,3
<i>Oryza sativa</i>	Ρύζι	56,2	3,7	40,1
<i>Zea mays</i>	Αραβόσιτος (καλαμπόκι)	95,0	1,7	3,3

Τα ποσοστά των διαφορετικών οικογενειών μεταθετών στοιχείων σε διάφορους οργανισμούς



Τα μεταθετά στοιχεία συνιστούν ένα μεγάλο ποσοστό του γονιδιώματος.

Είδος	Κοινή ονομασία	Γονιδίωμα (Mb)	Αριθμός γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες	% του γονιδιώματος που συνίσταται από μεταθετά στοιχεία
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Μαγιά	12	5.773	3
<i>Dictyostelium discoideum</i>	Μυξομύκητας	34	9.000	10
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Νηματώδης σκώληκας	100	18.400	6
<i>Arabidopsis thaliana</i>	Αραβίδοψη	125	25.498	14
<i>Drosophila melanogaster</i>	Μύγα ξιδιού	180	13.600	15
<i>Anopheles gambiae</i>	Ανωφελής κώνωπας	278	13.000	16
<i>Takifugu rubripes</i>	Είδος ψαριού που δεν υπάρχει στην Ελλάδα	400	38.000	2
<i>Oryza sativa</i>	Ρύζι	400	37.544	35
<i>Zea mays</i>	Αραβόσιτος (καλαμπόκι)	3.200	50.000	60
<i>Homo sapiens</i>	Άνθρωπος	3.000	25.000	44
<i>Mus musculus</i>	Ποντικός	2.500	30.000	40
<i>Hordeum vulgare</i>	Κριθάρι	4.800	40.000	70



Alu ρετροστοιχεία

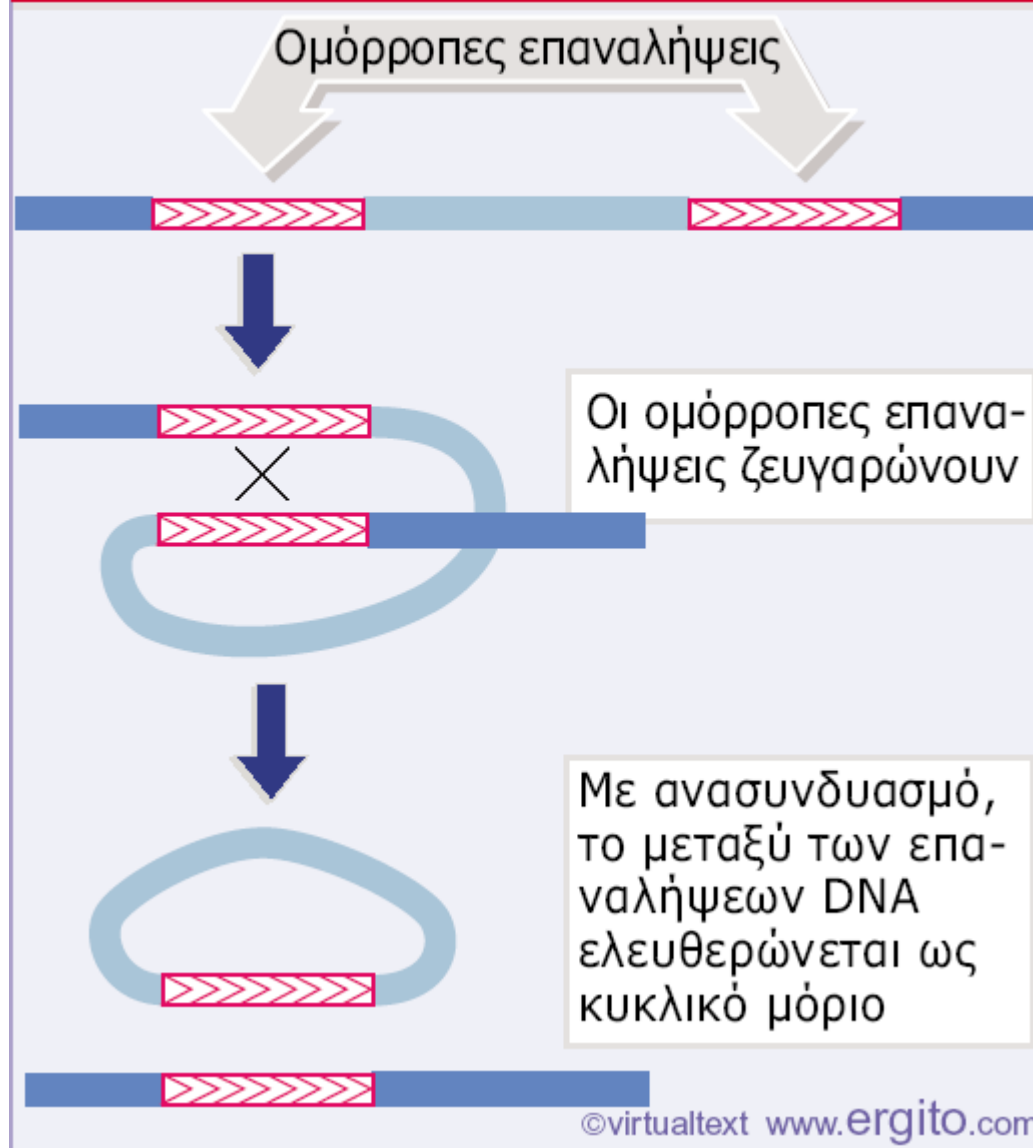
- Τα ρετροστοιχεία Alu αποτελούν περίπου το 11% του ανθρώπινου γονιδιώματος
- Το όνομα προέρχεται από την ιδιότητά τους να πέπτονται από το περιοριστικό ένζυμο που προέρχεται από τον *Arthrobacter luteus* (Alu: AGCT).
- Τα ρετροστοιχεία Alu ανήκουν στην οικογένεια των SINEs.
- Τα Alus έχουν μήκος περίπου 300 bp και περιέχουν αριστερά και δεξιά μονομερή.
- Τα Alus εμπλέκονται σε ανασυνδυασμούς με άλλα Alus καθώς και των γειτονικών τους περιοχών.
- Τα Alus δεν κωδικοποιούν την αντίστροφη μεταγραφάση και επομένως είναι μη-αυτόνομα στοιχεία. Για την ενεργοποίησή τους η αντίστροφη μεταγραφάση πρέπει να δοθεί από ένα LINE.



Τα τρανσποζόνια προκαλούν
αναδιατάξεις στο DNA



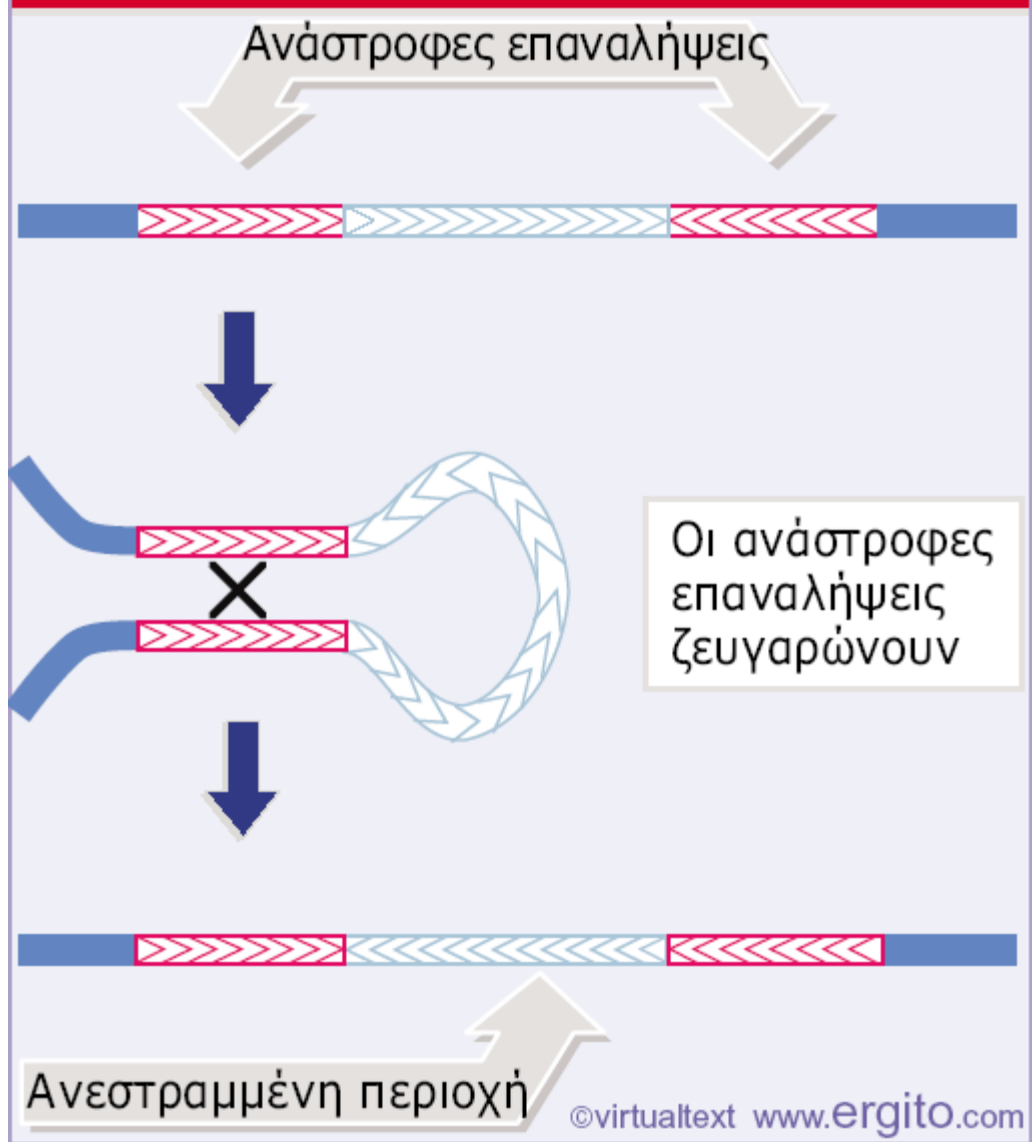
Ο ανασυνδυασμός ανάμεσα σε ομόρροπες επαναλήψεις εξαλείφει το μεταξύ τους DNA



Ο αμοιβαίος ανασυνδυασμός ανάμεσα σε ομόρροπες επαναλήψεις εξαλείφει το υλικό ανάμεσά τους. Κάθε προϊόν του ανασυνδυασμού έχει ένα αντίγραφο της ομόρροπης επανάληψης.



Ο ανασυνδυασμός ανάμεσα σε ανάστροφες επαναλήψεις αναστρέφει το μεταξύ τους DNA



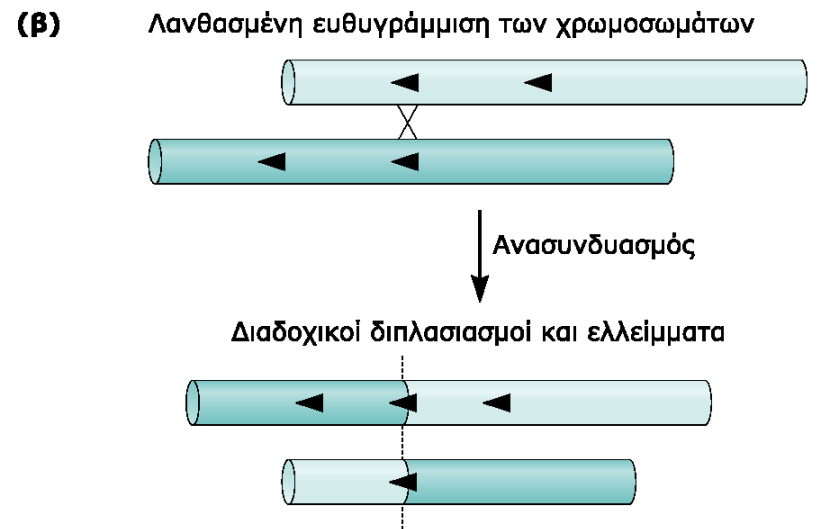
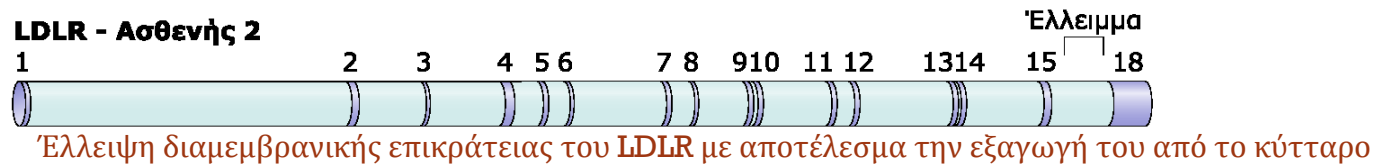
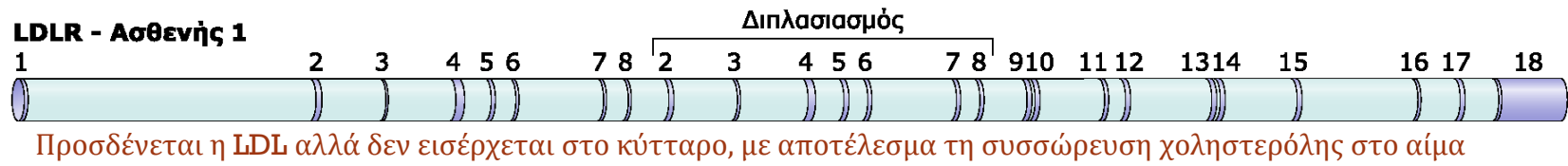
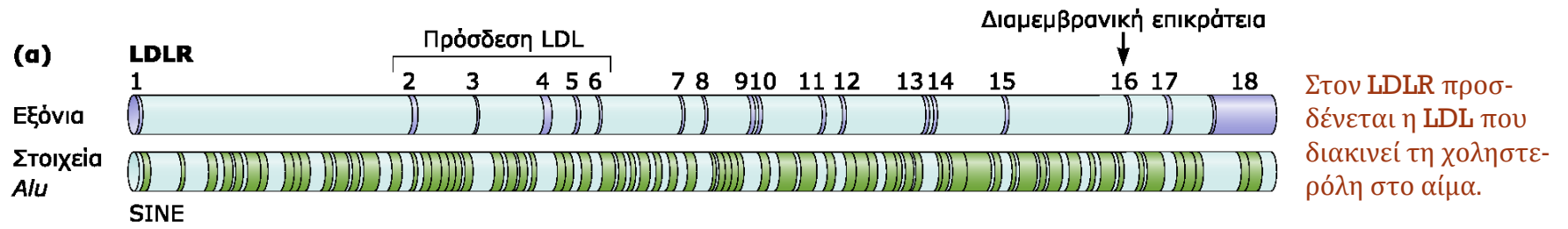
Ο αμοιβαίος ανασυνδυασμός ανάμεσα σε ανάστροφες επαναλήψεις αναστρέφει την περιοχή ανάμεσά τους.



Τα Alus εμπλέκονται σε ανθρώπινες παθήσεις

- Οι εισαγωγές των στοιχείων Alu συχνά διασπούν γονίδια και ως αποτέλεσμα καταλήγουν σε κληρονομήσιμες ασθένειες.
- Η πρώτη αναφορά ανασυνδυασμού με βάση στοιχεία Alu ο οποίος επέφερε μια επικρατή, κληρονομίσημη προδιάθεση για καρκίνο ήταν μια αναφορά του 1995 για *hereditary nonpolyposis colorectal cancer* [Nystrom-Lahti].
- Οι επόμενες ασθένειες του ανθρώπου έχουν συνδεθεί με εισαγωγές στοιχείων Alu:
 - Καρκίνος του στήθους
 - Σάρκωμα του Ewing
 - Οικογενειακή υπερχοληστερολαιμία
 - Αιμοφιλία
 - Neurofibromatosis
 - Diabetes mellitus type II





Ο ανασυνδυασμός ανάμεσα στα στοιχεία *Alu* προκαλεί μεταλλαγές στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDLR).

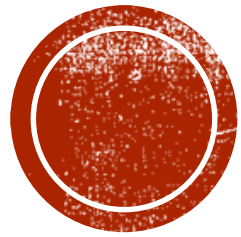


Τα μεταθετά στοιχεία είναι
δυνατόν να προκαλέσουν
μεταλλάξεις



- Στον άνθρωπο έχουν χαρακτηριστεί νέες ενθέσεις ρετροτρανσποζονίων σε ~50 μεμονωμένες περιπτώσεις 34 διαφορετικών ασθενειών.
 - Αιμοφιλία
 - Μυϊκή δυστροφία
 - β-θαλασσαιμία
 - Οξεία ολική ανοσοανεπάρκεια
- Σύμφωνα με τις τρέχουσες εκτιμήσεις, 1 στις 600 μεταλλαγές στον άνθρωπο οφείλονται σε ενθέσεις ρετροτρανσποζονίων





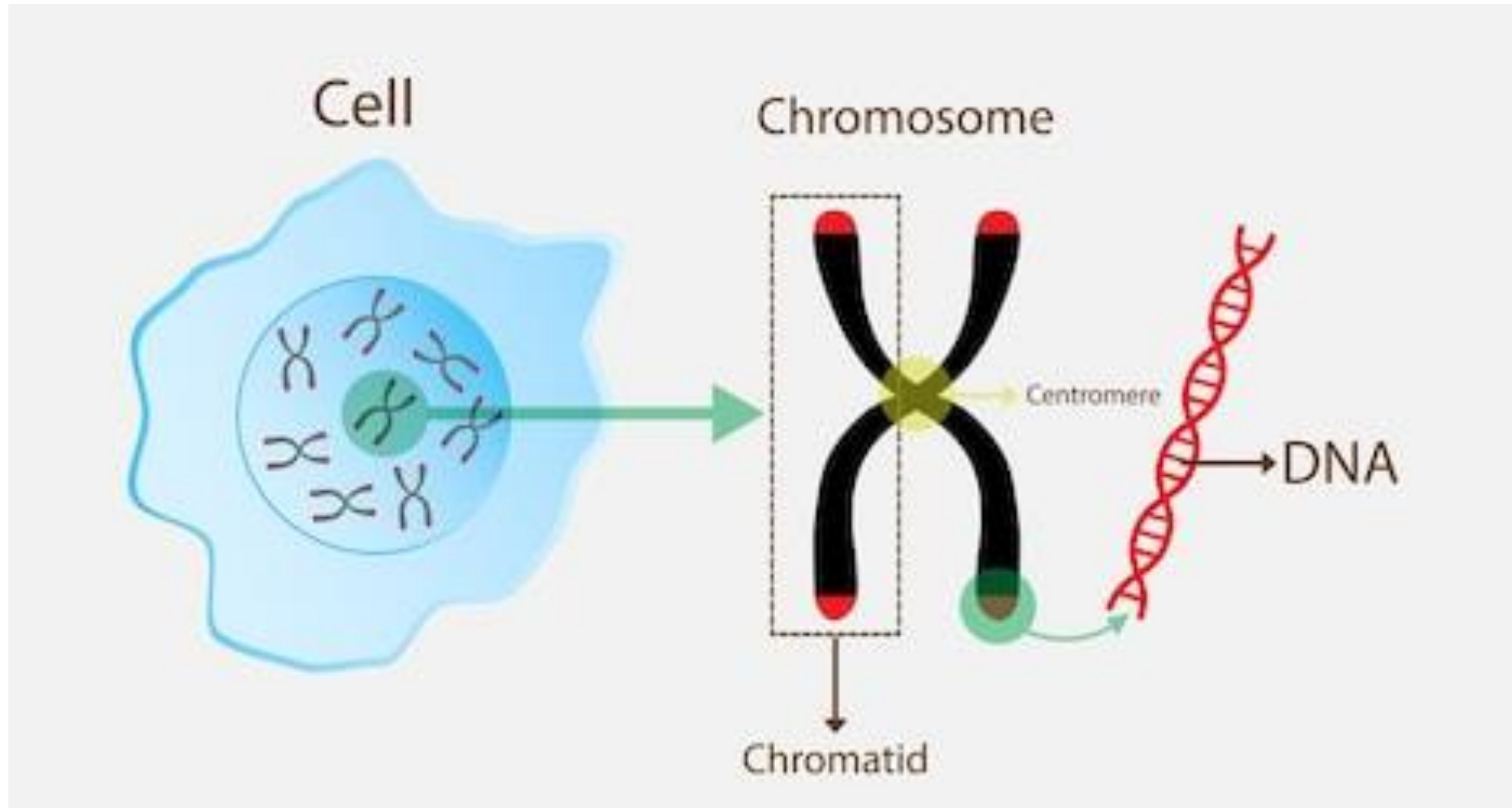
Άλλες σημαντικές επαναλήψεις

Κεντρομερή

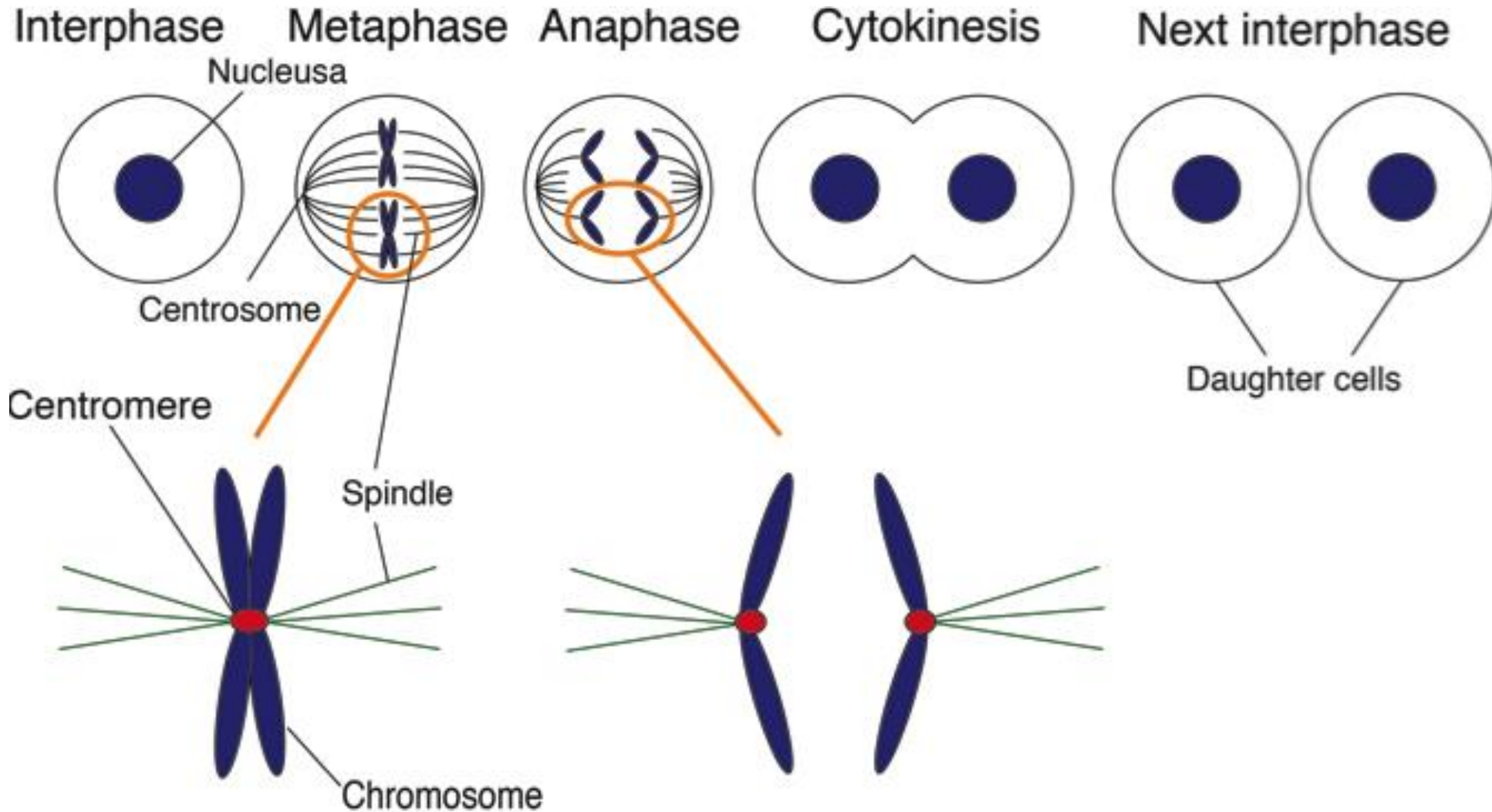
Τελομερή

Μικροδορυφόροι

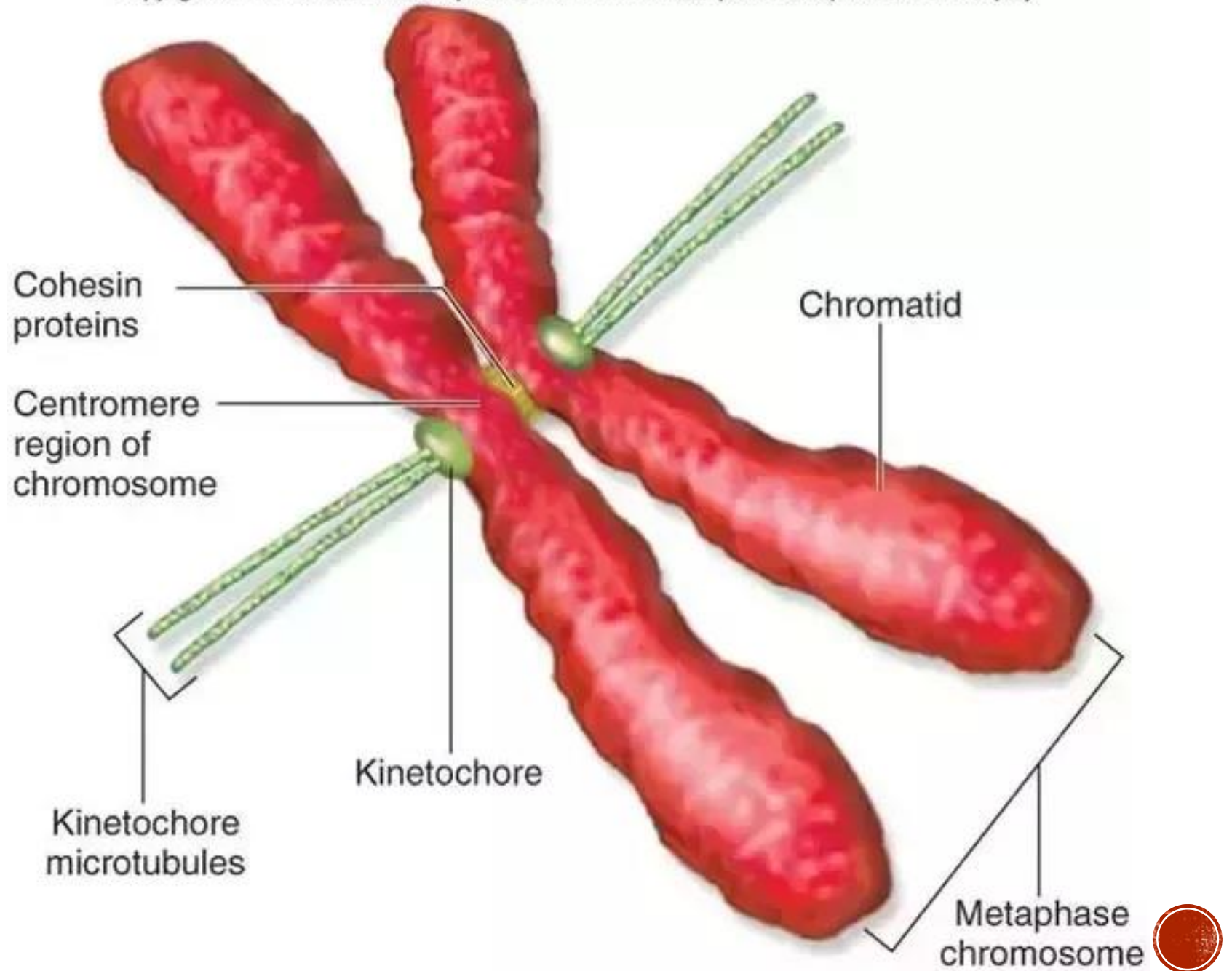
Κεντρομερή



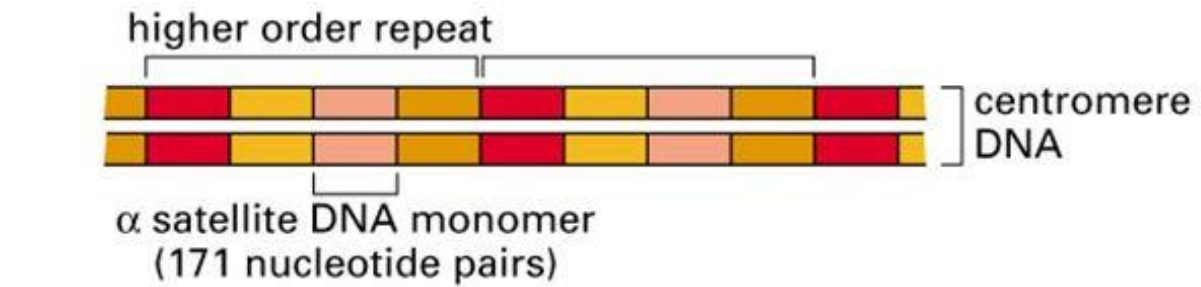
Κεντρομερή



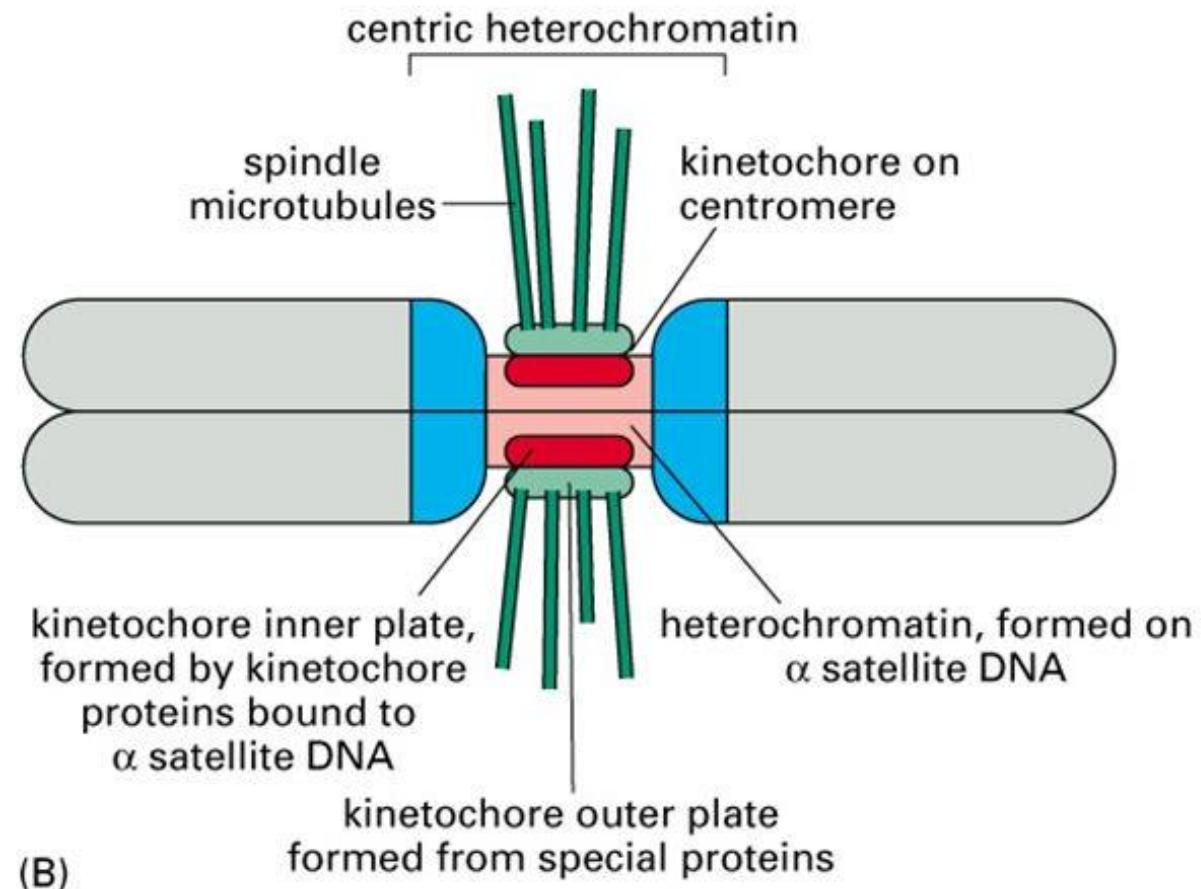
Μεταφασικό χρωμόσωμα



Η δομή του κεντρομερούς ενός ανθρώπινου χρωμοσώματος

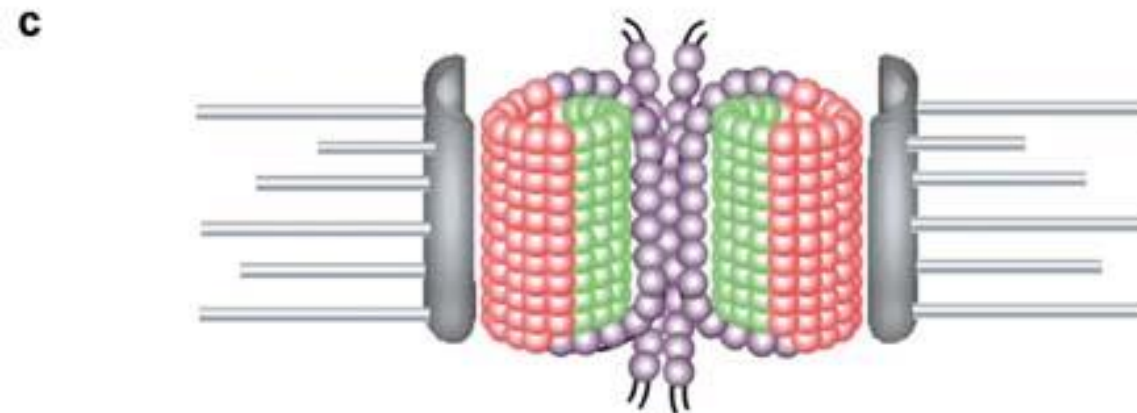
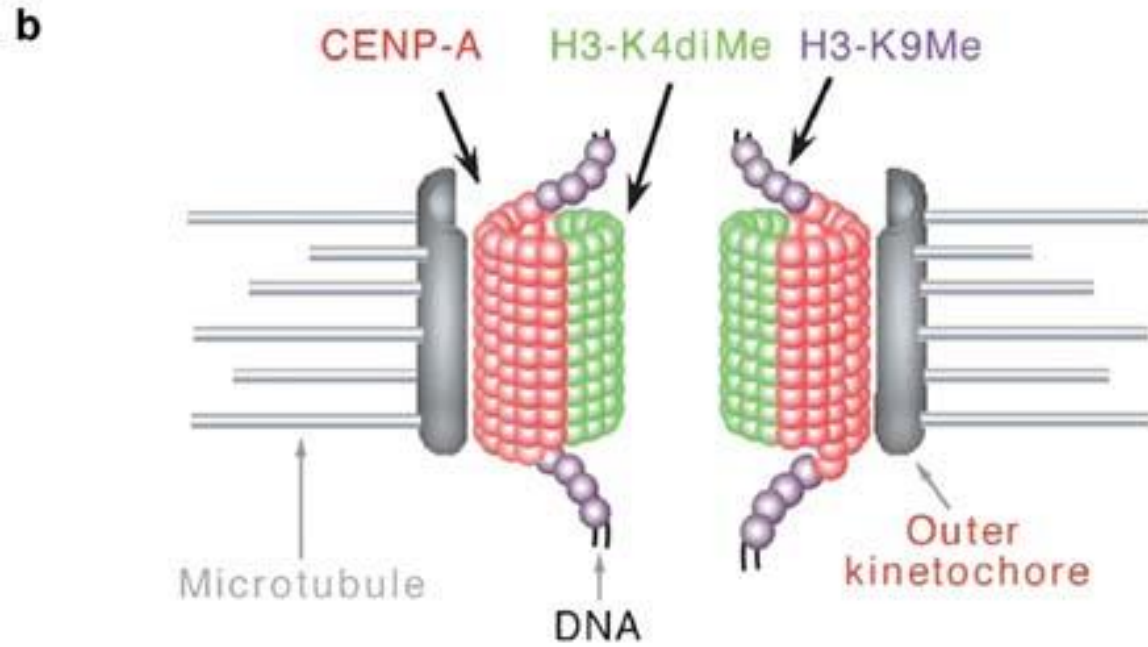
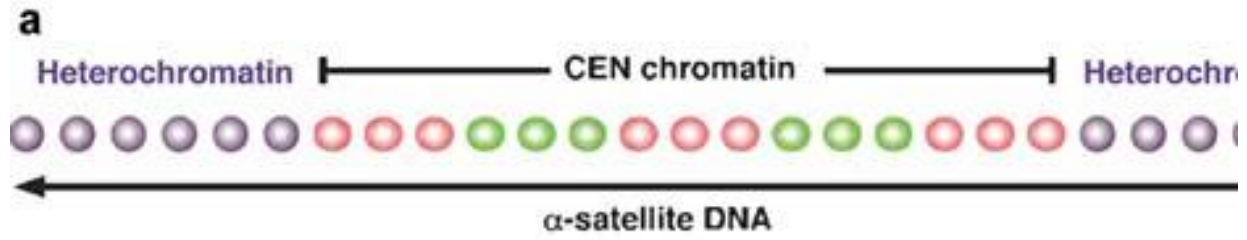


(A)

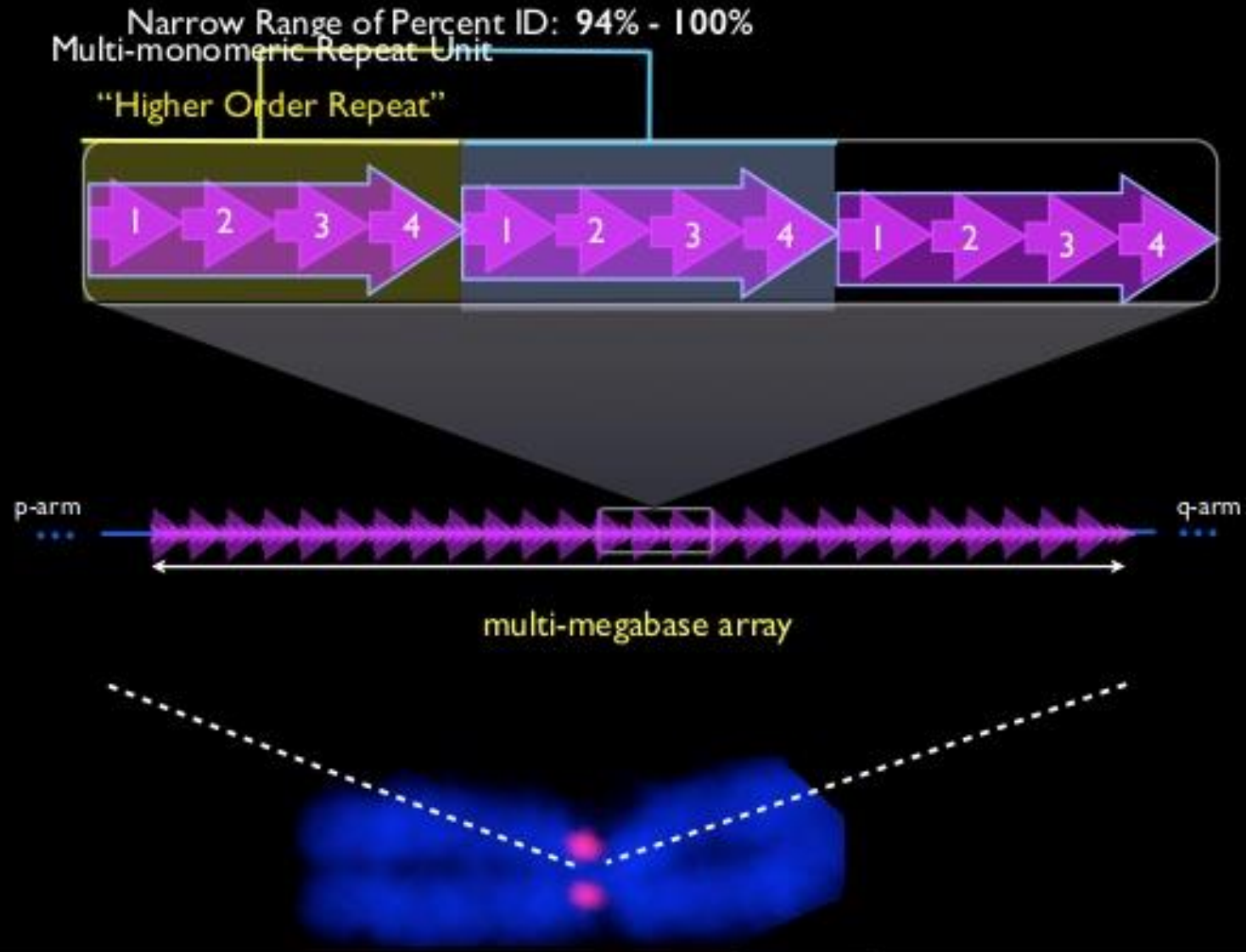


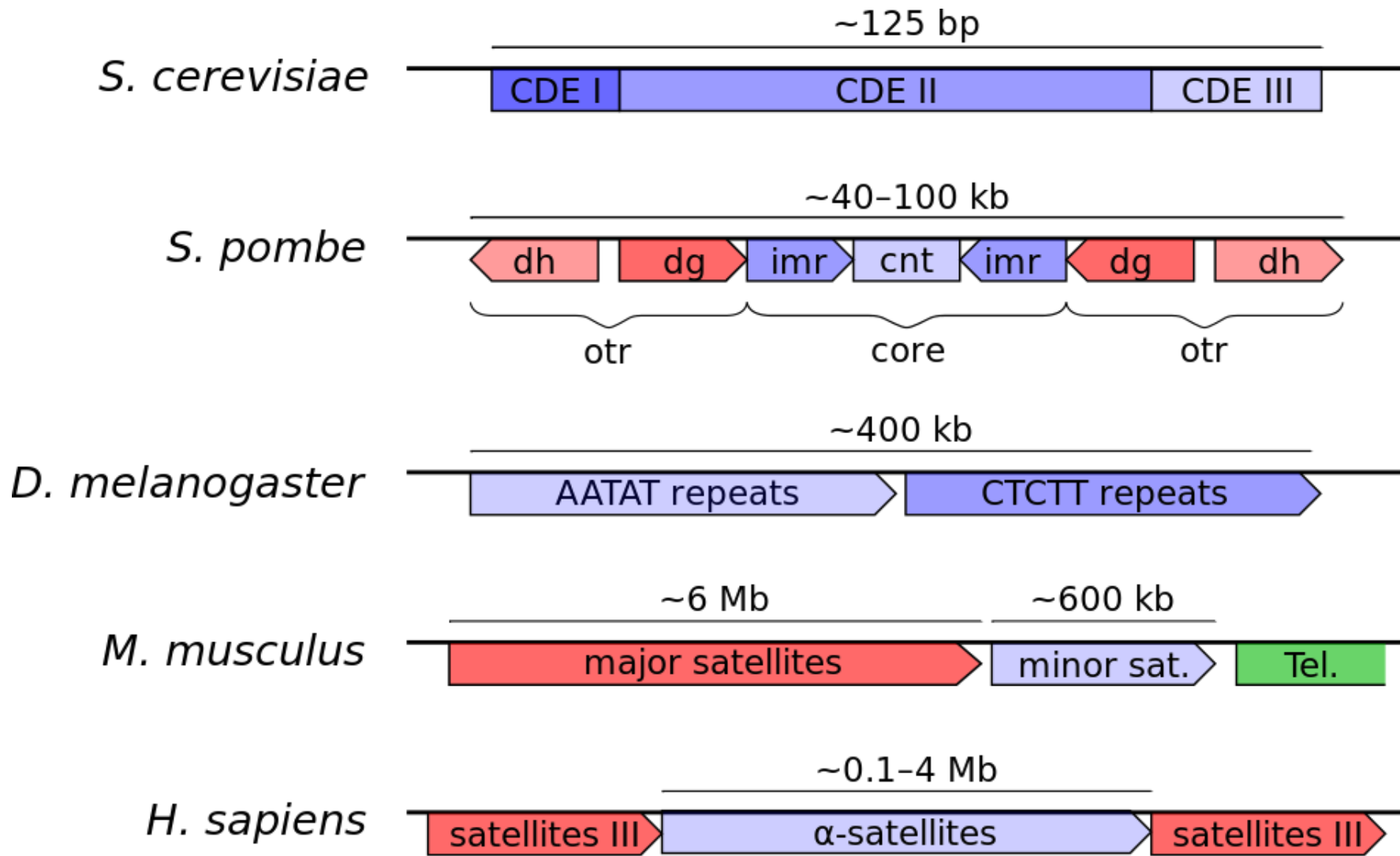
(B)





Human Centromeric DNA: Higher Order Repeats





CDE: centromere DNA element
cnt: central core
imr: innermost repeats
otr: outer repeats
Tel.: telomeric DNA

■ centromeric regions
 ■ pericentromeric regions



CDEI

CDEII

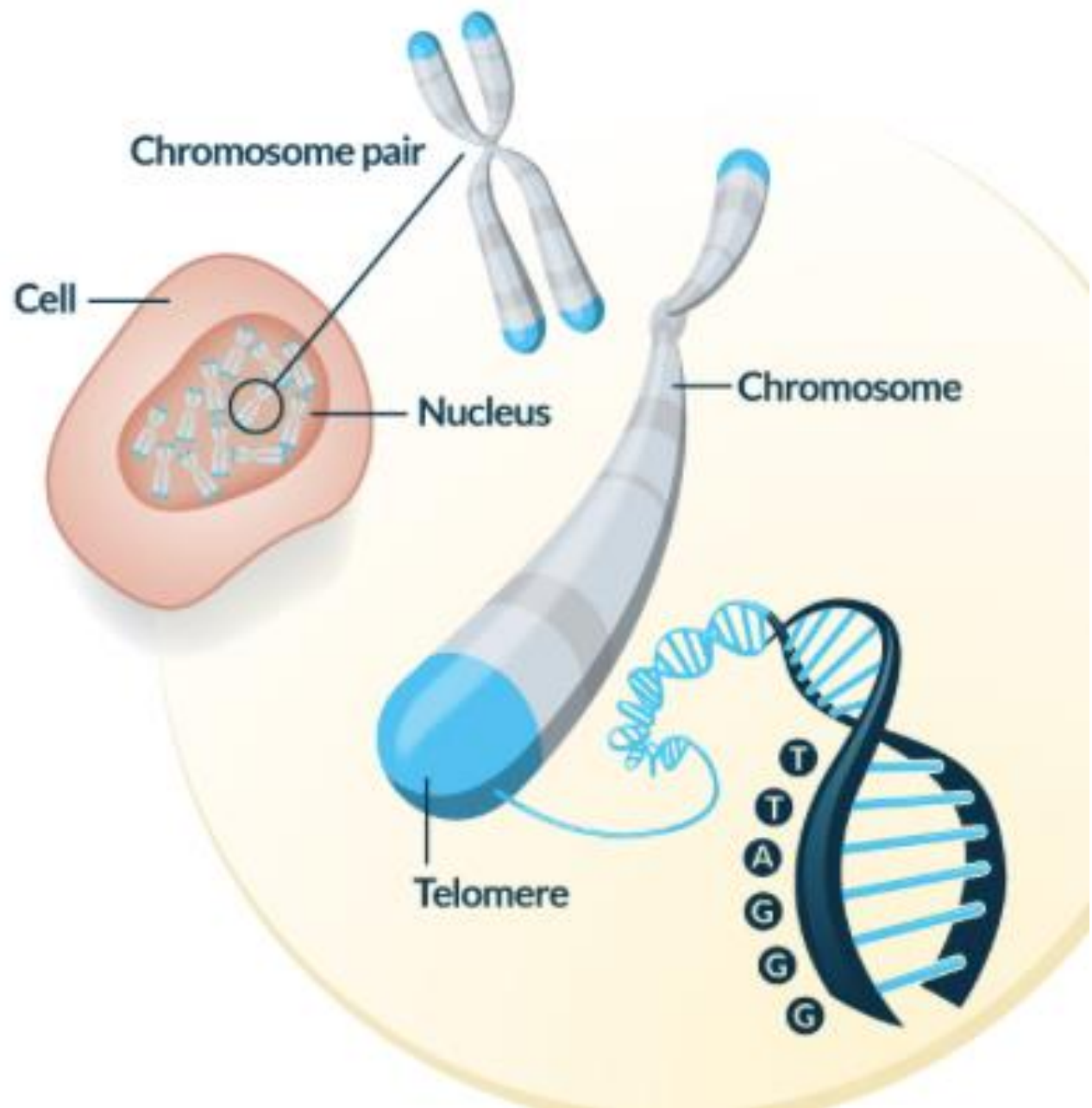
CDEIII

ATCACATG G G	78-87bp; 87-98% AT	TGTATATGATTTC CGAAAAAAAAAAAA T T T C TT
-----------------	--------------------	--

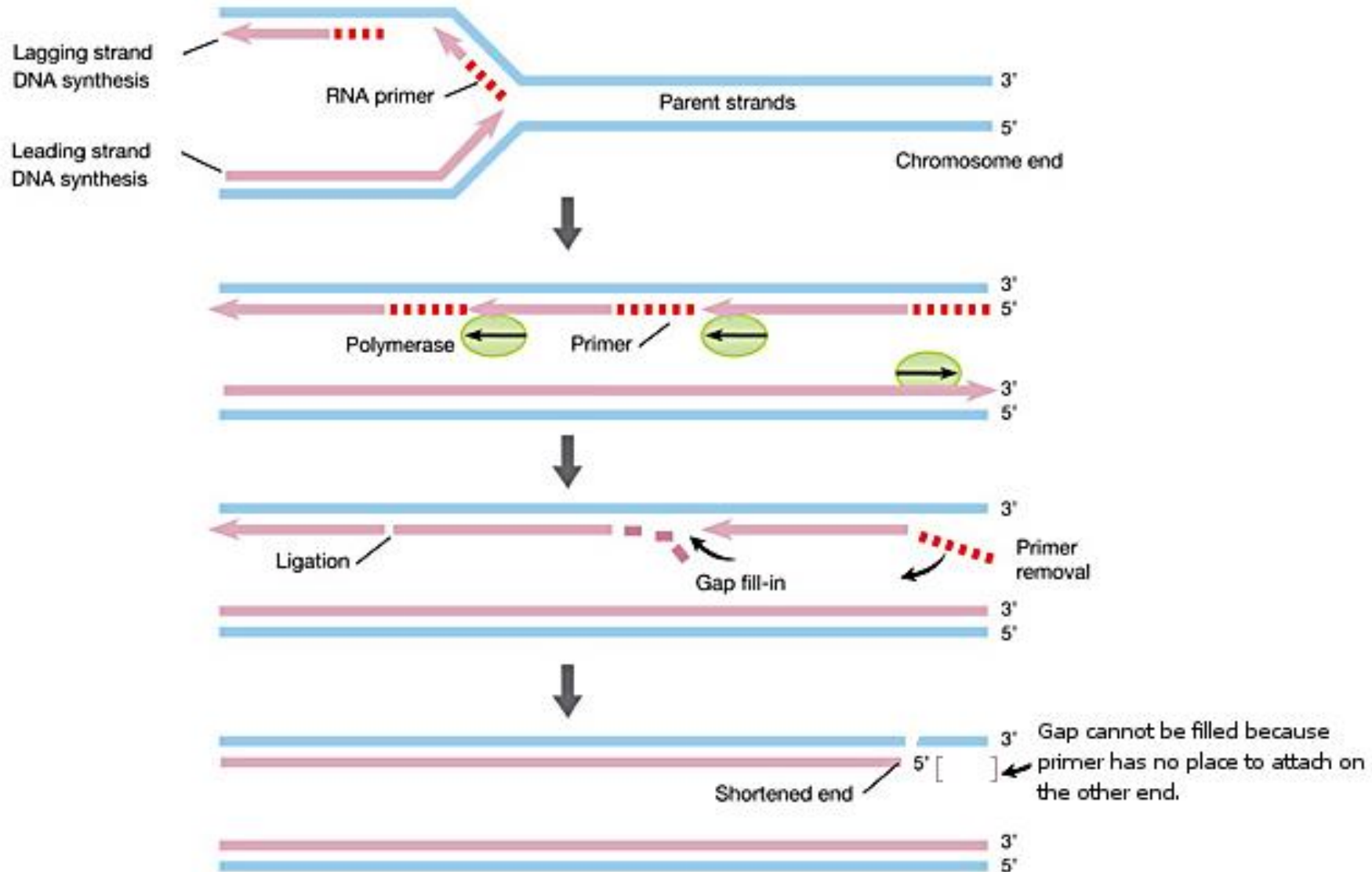
Budding yeast (*S. cerevisiae*) centromere DNA



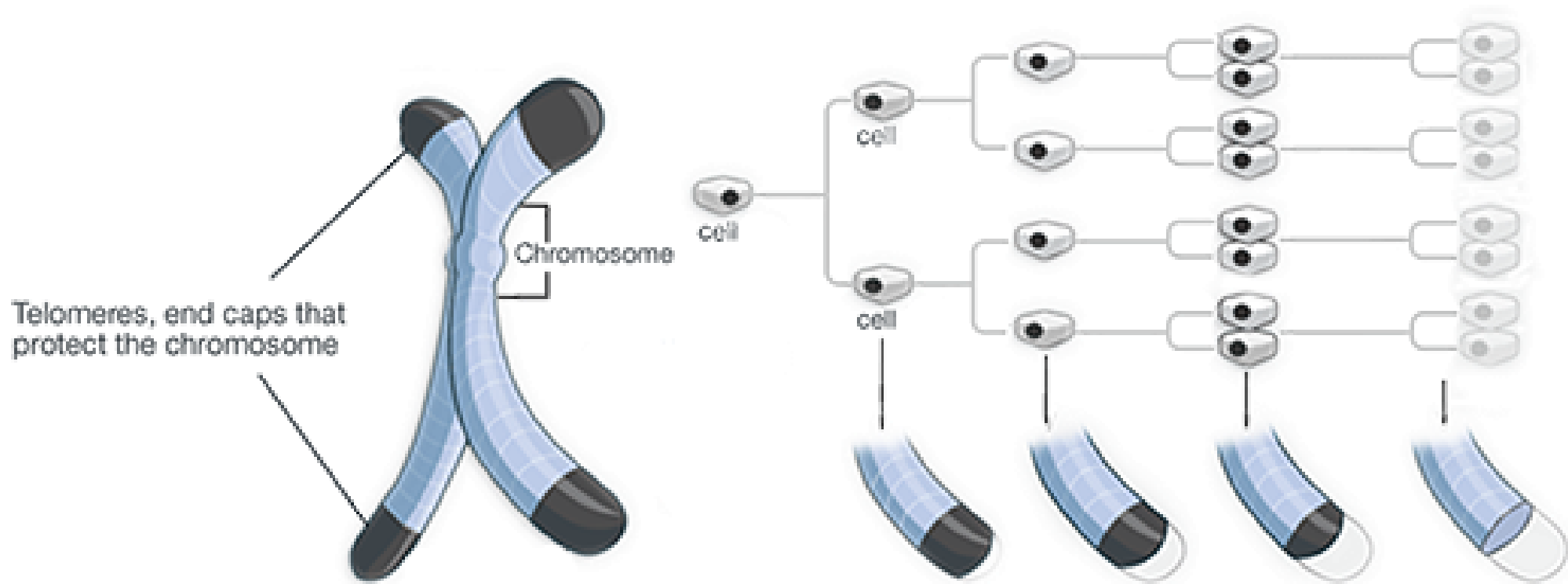
Τελομερή



Το πρόβλημα των άκρων

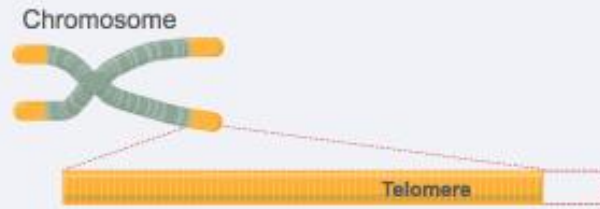


Το πρόβλημα των άκρων

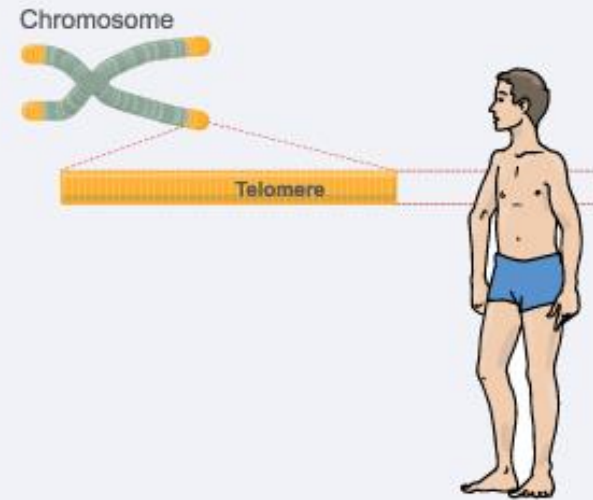


As cells divide over time...telomeres shorten, and eventually cell division stops.





Telomere length of an infant.



Telomere length of a teenager.



Telomere length of an adult.



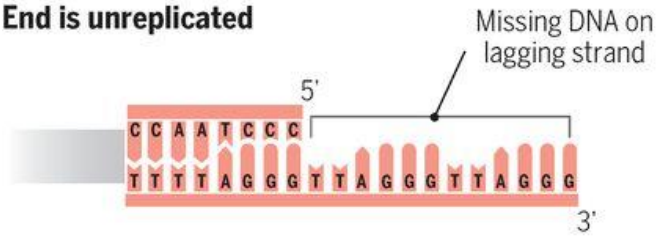
Telomere length of an elderly adult.



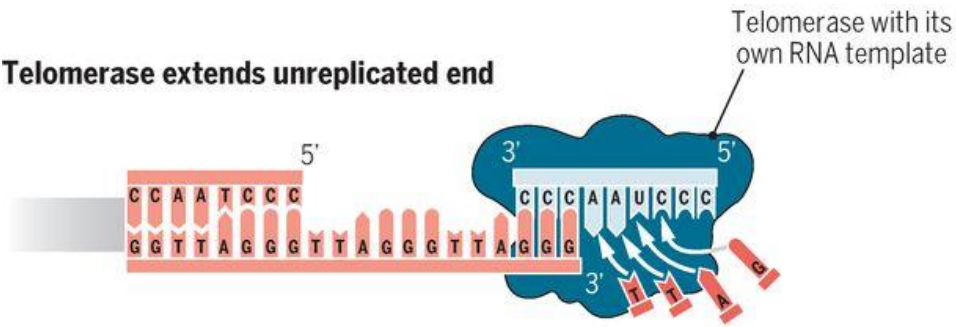
Η λύση

A

End is unreplicated



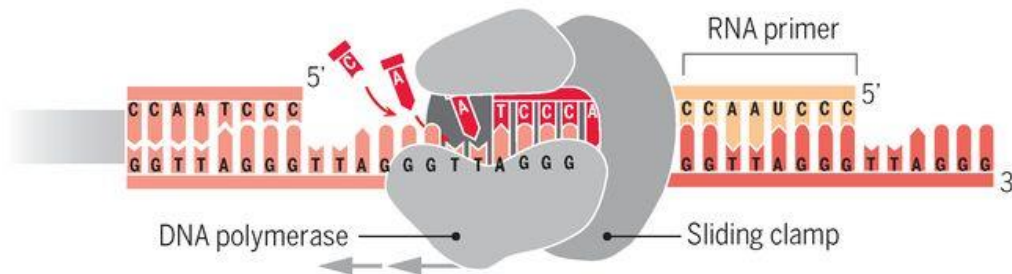
Telomerase extends unreplicated end



Again, telomerase extends unreplicated end



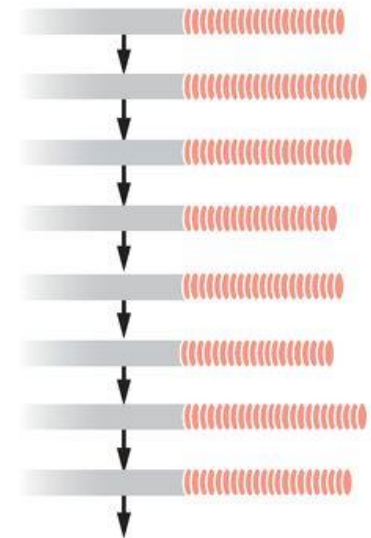
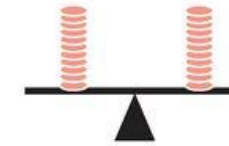
Lagging strand is completed



B

Abundant telomerase as cell divides

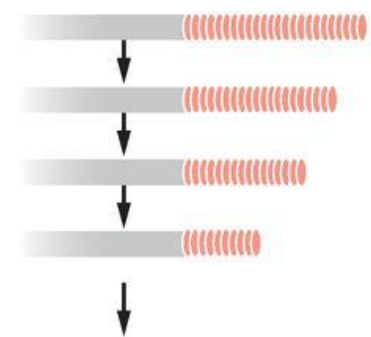
Addition and shortening stay balanced



Cells keep dividing
Most human cancers

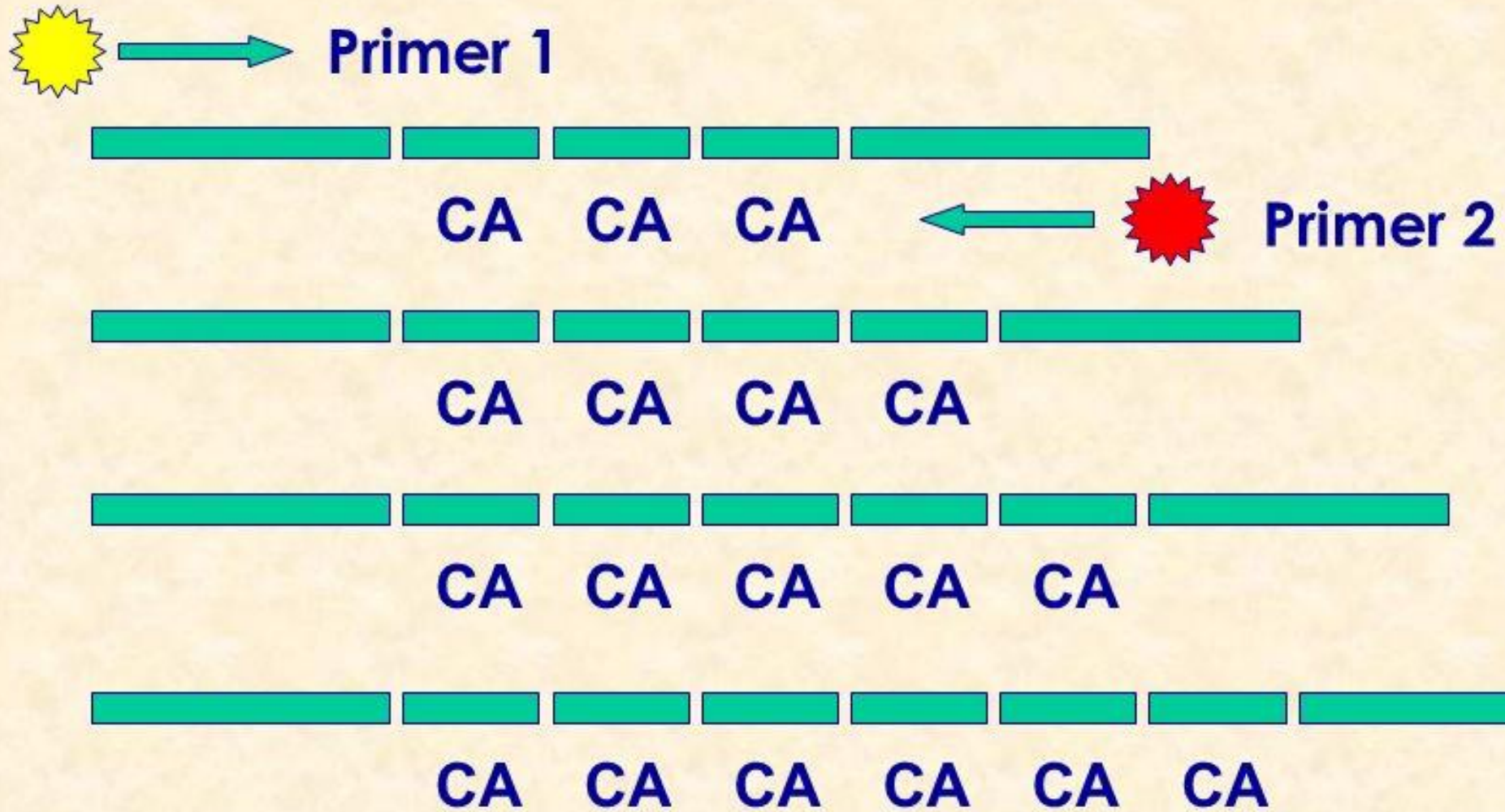
C

Insufficient telomerase as cell divides

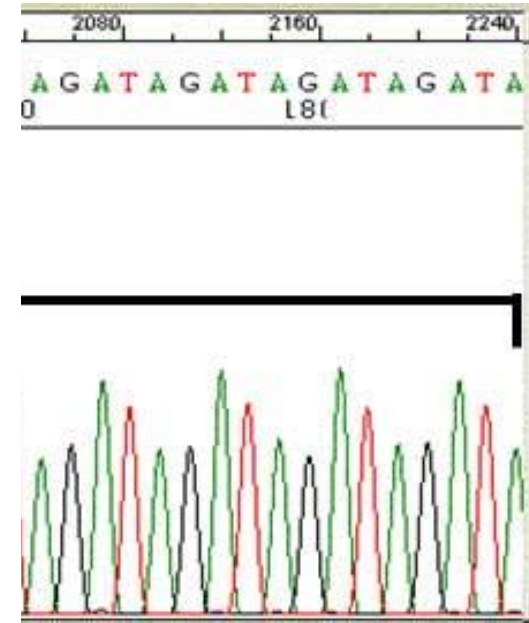
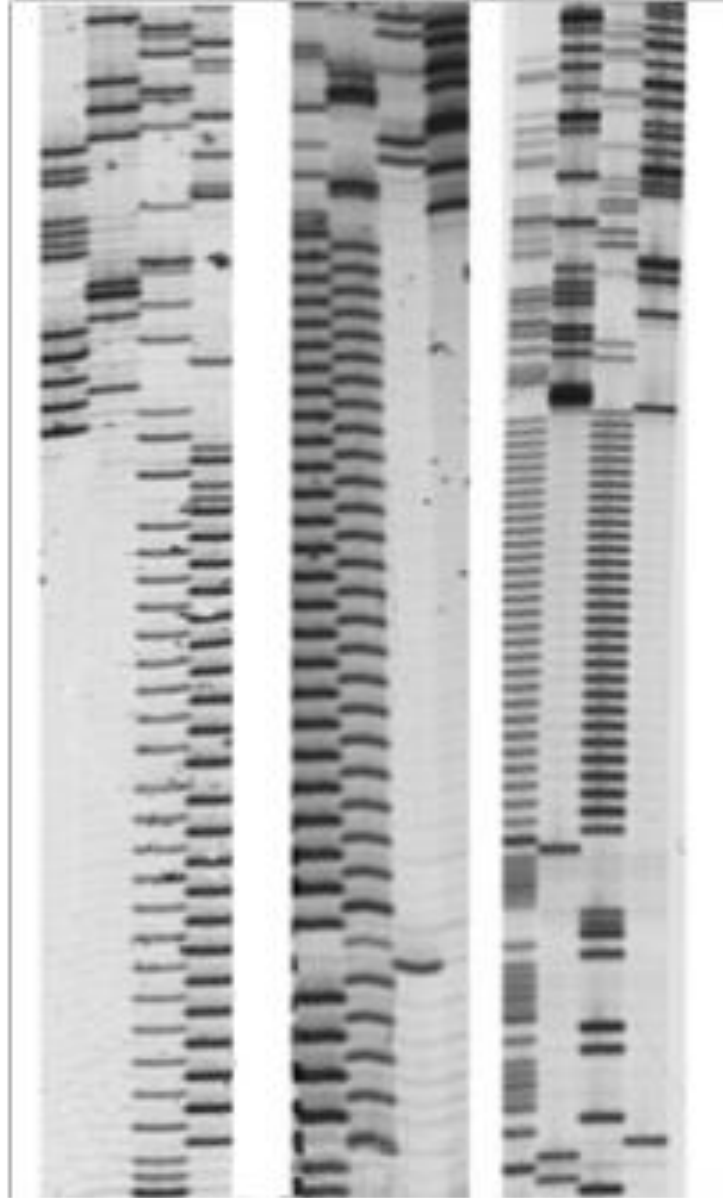
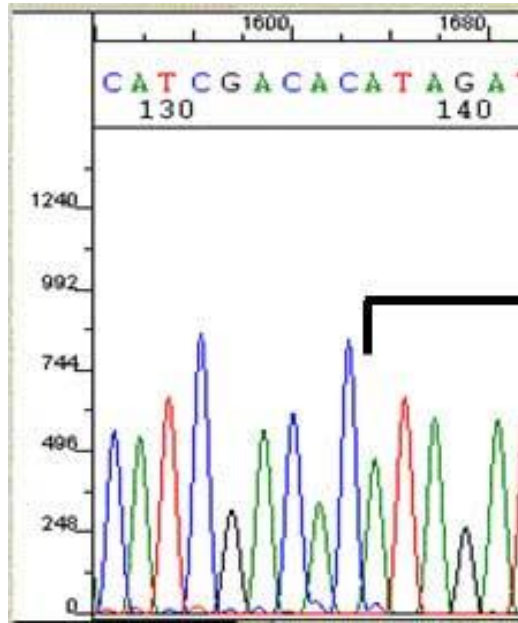


Cell division STOPS after a delay
Senescence; cell malfunctions; genomic instability
Mitochondrial malfunction, pro-inflammatory, tumorigenic factors

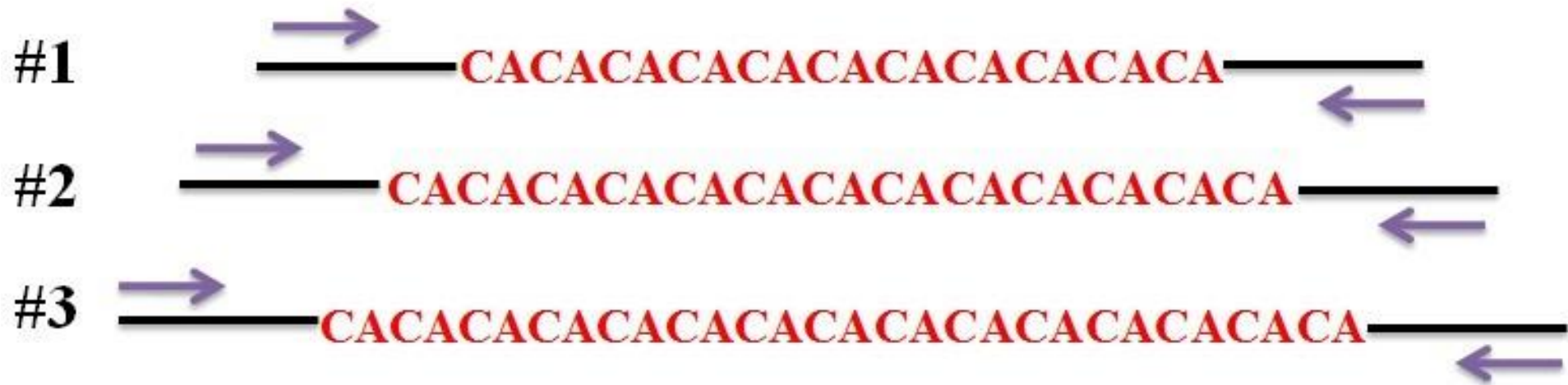
Μικροδορυφόροι



(GT)_n (AC)_n (AG)_n

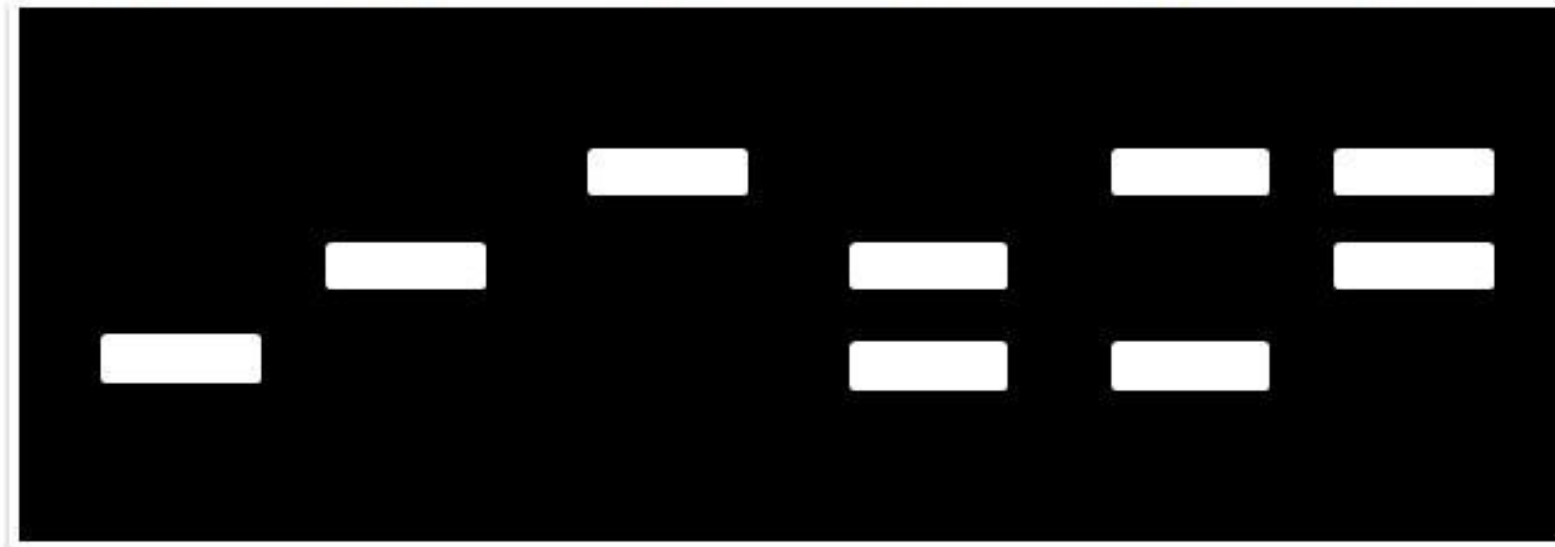


Alleles



Genotypes

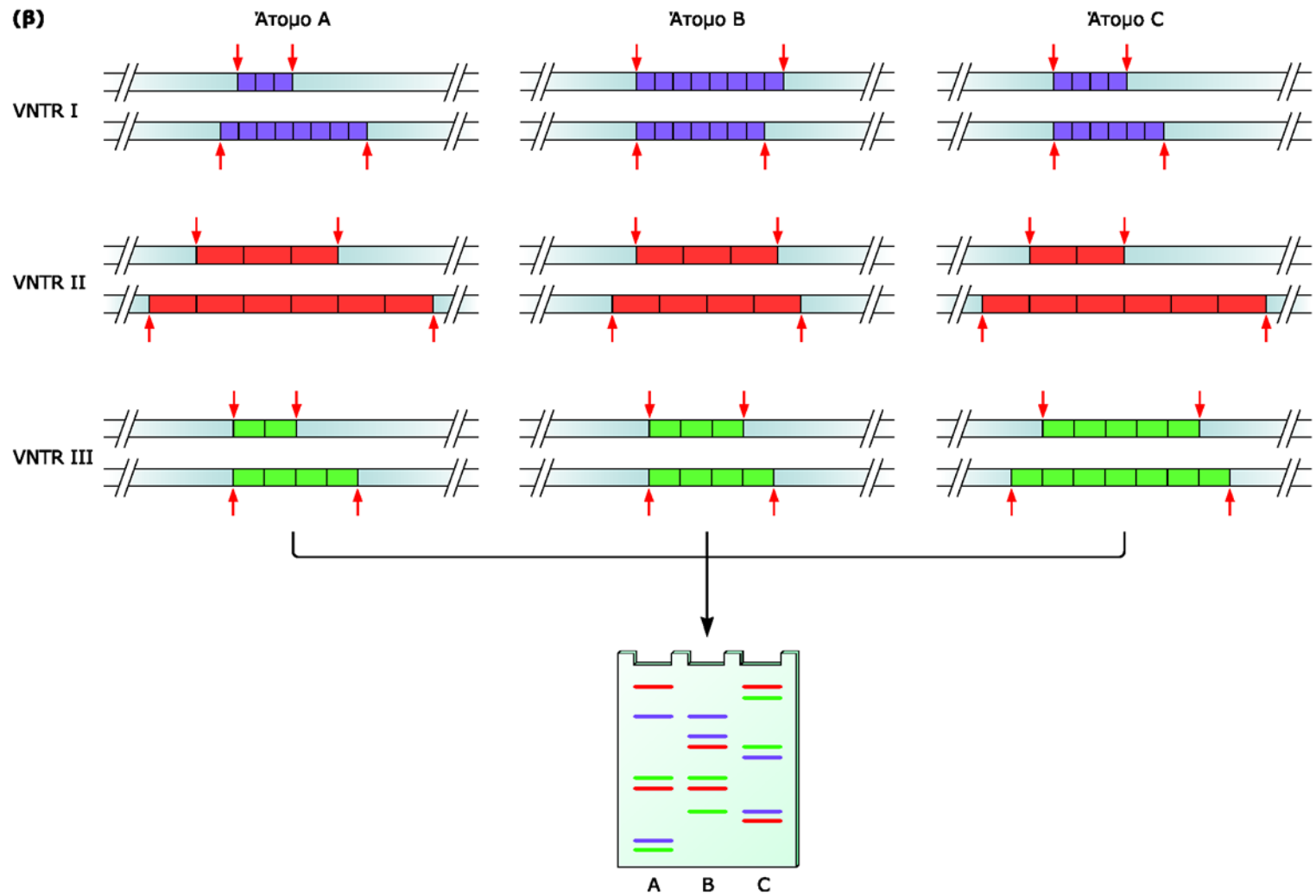
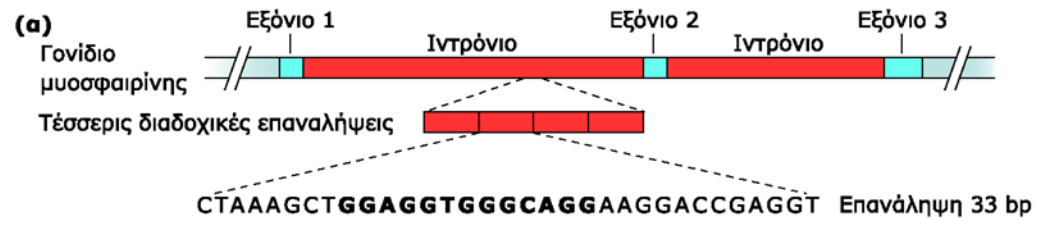
1/1 2/2 3/3 1/2 1/3 2/3



Μικροδορυφόροι

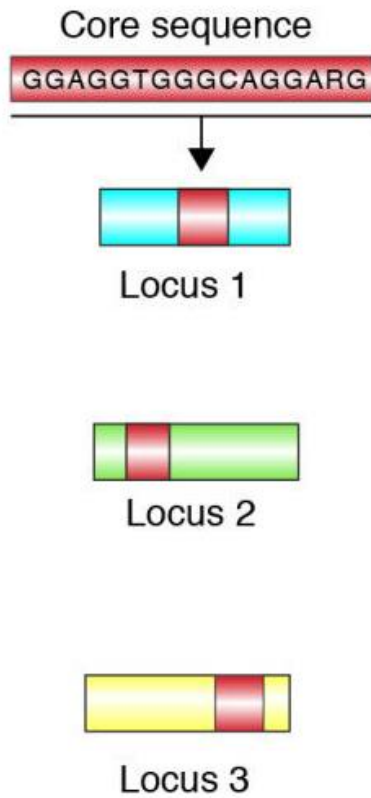
- Short Tandem Repeats
 - Επαναλήψεις 1-7 bp
 - Τυχαία και ευρεία κατανομή στα γονιδιώματα
 - Ιδιαίτερα μεταβλητοί τόποι
 - Δυνατότητα ενίσχυσης μέσω PCR
 - Συνεπικρατείς χαρακτήρες, δηλαδή είναι εμφανείς οι ετεροζυγώτες



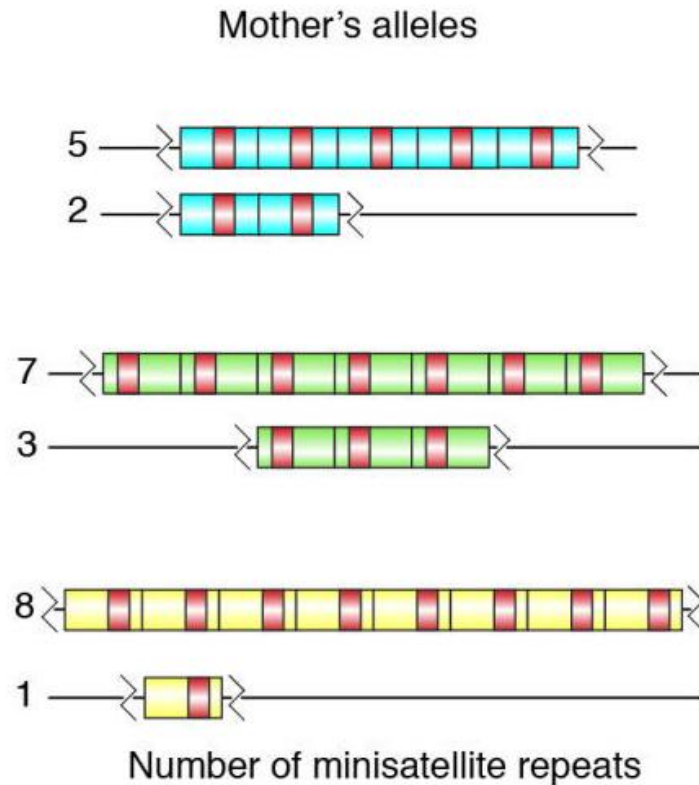


Μοριακή ταυτοποίηση

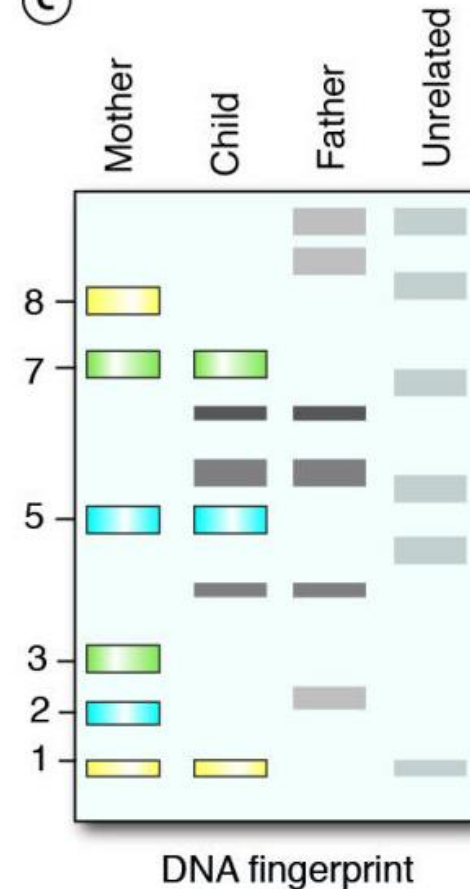
(A)



(B)



(C)



Χρησιμοποιείται σε...

- Πληθυσμιακές και εξελικτικές μελέτες
- Διερεύνηση εγκλημάτων
- Ανίχνευση πατρότητας
- Προσδιορισμός καταγωγής
- Αναγνώριση θυμάτων



Το FBI χρησιμοποιεί 16 διαφορετικούς μικροδορυφορικούς δείκτες για την ταυτοποίηση οποιουδήποτε ατόμου στον πλανήτη

Γενετικός τόπος	Επανάληψη	Αριθμός αλληλομόρφων	FBI	FSS	Interpol
D2S1338	[TGCC][TTCC]	20		✓	
D3S1358	[TCTG][TCTA]	10	✓	✓	✓
D5S818	AGAT	10	✓		
D7S820	GATA	11	✓		
D8S1179	[TCTA][TCTG]	10	✓	✓	✓
D13S317	TATC	8	✓		
D16S539	GATA	8	✓	✓	
D18S51	AGAA	15	✓	✓	✓
D19S433	AAGG	19		✓	
D21S11	[TCTA][TCTG]	69	✓	✓	✓
CSF1P0	TAGA	15	✓		
FGA	CTTT	19	✓	✓	✓
TH01	TCAT	7	✓	✓	✓
TPOX	GAAT	7	✓		
vWA	[TCTG][TCTA]	10	✓	✓	✓
Αμελογενίνη	106 bp/112 bp	2	✓	✓	✓

- Η συνδυαστική πιθανότητα οποιουδήποτε ατόμου να έχει ένα συγκεκριμένο συνδυασμό 13 μικροδορυφορικών αλληλομόρφων είναι 1/840 τρισεκατομμύρια!!!
- Σκεφτείτε ότι ο πληθυσμός της γης είναι ~7,6 δισεκατομμύρια



ΤΕΛΟΣ!!!

