



Σχολή Γεωπονικών Επιστημών
Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής
και Αγροτικού Περιβάλλοντος

- Μοριακοί μηχανισμοί της αντιγραφής του DNA
- Μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA
- Μεταγραφή

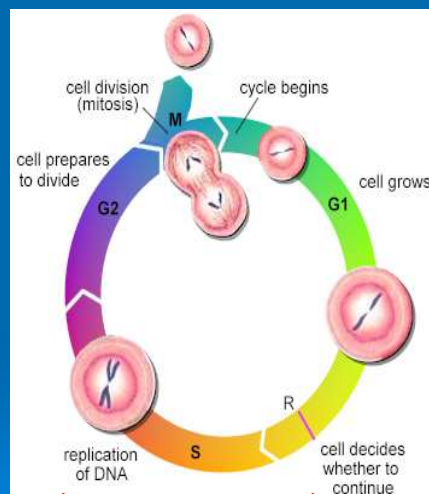
6η Διάλεξη

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΜΑΥΡΟΜΑΘΗΣ - ΤΑΝΙΑ ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ

Εργαστήριο Γενετικής & Βελτίωσης φυτών

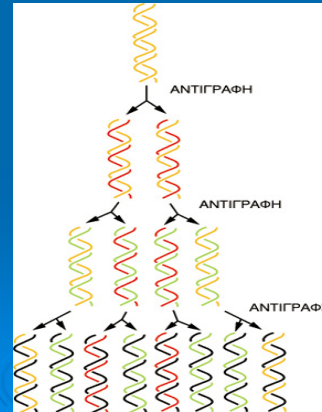
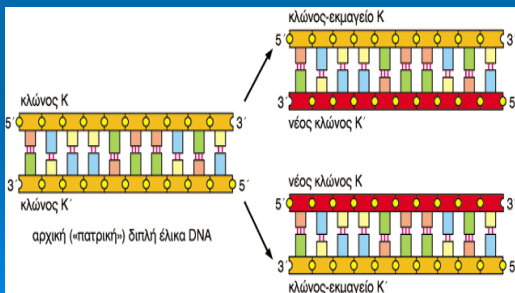
Αντιγραφή του DNA

- Ημι-συντηρητικός τρόπος αντιγραφής του DNA
- Στηρίζεται στη συμπληρωματικότητα των βάσεων (A-T, C-G)
- Αφετηρίες αντιγραφής (origins of replication)
- DNA συντίθεται με κατεύθυνση 5' to 3' διότι τα καινούργια νουκλεοτίδια προσθέτονται στην 3'-OH ομάδα του τελευταίου νουκλεοτιδίου της αλυσίδας
- DNA πολυμεράση



Φάση S του κυτταρικού κύκλου

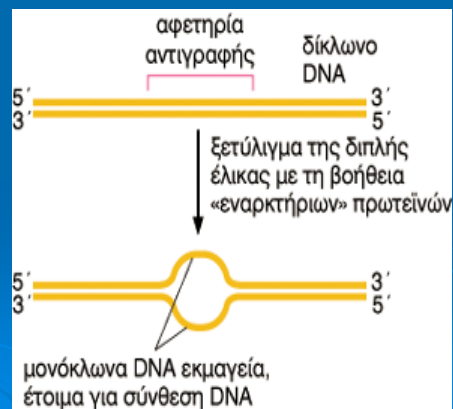
- Το γενετικό μας υλικό αντιγράφεται με εξαιρετική πιστότητα και ταχύτητα (1000 νουκλεοτίδια/sec)
- Ο ένας από τους δύο κλώνους λειτουργεί ως εκμαγείο (template)



1. Διαχωρισμός DNA κλώνων στα σημεία έναρξης αντιγραφής, **αντιγραφική θηλιά (replication bubble)**
2. Σχηματισμός **διχάλας αντιγραφής (replication fork)**
3. **Πρωτεϊνική μηχανή, ομάδα πρωτεϊνών** διενεργούν την αντιγραφή



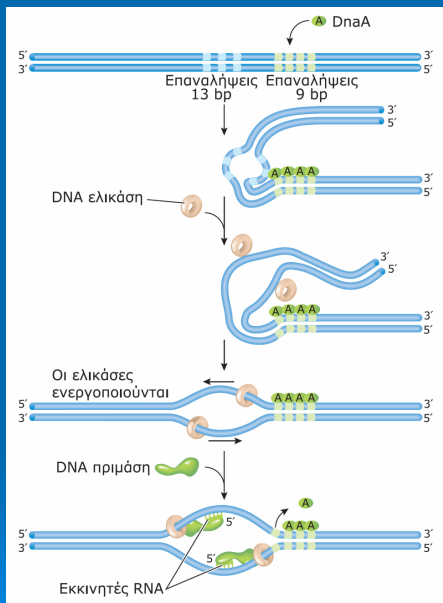
Εναρκτήριες πρωτεΐνες (initiator proteins) συνδέονται με το DNA



ΕΙΚΟΝΑ 11.5

Έναρξη της αντιγραφής στην *E. coli*.

Η εναρκτήρια πρωτεΐνη DnaA προσδένεται στο *oriC* (αντιγραφέας) και διεγείρει την αποδιάταξη του DNA. Επιστρατεύονται οι DNA ελικάσες και αρχίζουν να ξετυλίγουν το DNA για να σχηματιστούν δύο διχάλες αντιγραφής με διάταξη κεφαλής προς κεφαλή.



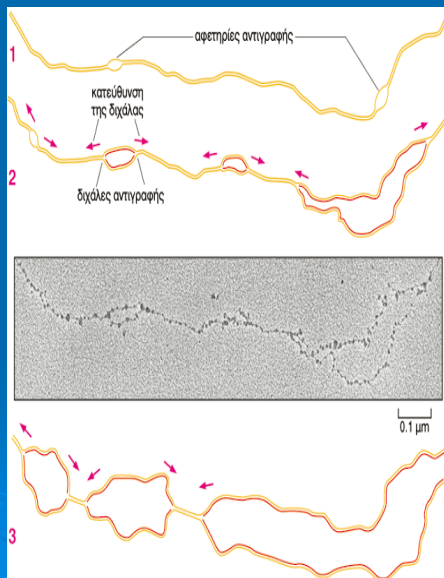
iGenetics

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

5

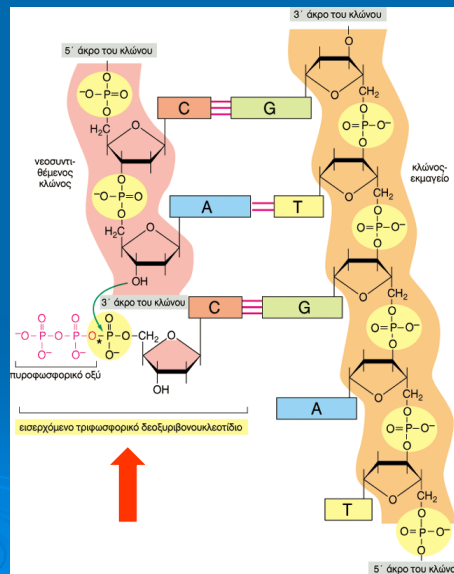
Διχάλες αντιγραφής

- 1 αφετηρία αντιγραφής = 2 διχάλες
- Ανοίγουν το DNA προς αντίθετες κατευθύνσεις
- Ταχύτητα (100 bp/sec)
- Αντιγραφή διπλής κατεύθυνσης
- DNA πολυμεράση (3'-5')
- Η διχάλα αντιγραφής είναι ασύμμετρη

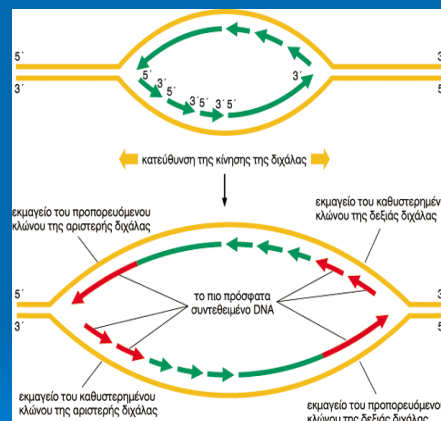


Η χημεία της σύνθεσης του DNA.

- Η προσθήκη ενός δεοξυριβονουκλεοτιδίου στο 3' άκρο μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι η θεμελιώδης αντίδραση με την οποία γίνεται η σύνθεση του DNA.
- Το ζευγάρι των βάσεων μεταξύ του εισερχόμενου τριφωσφορικού δεοξυριβονουκλεοτιδίου και του υπάρχοντος κλώνου εκμαγείου του DNA καθοδηγεί το σχηματισμό του νέου κλώνου με συμπληρωματική ακολουθία
- Η ενέργεια για την αντίδραση πολυμερισμού απελευθερώνεται από τη διάσπαση ενός φωσφοανδριτικού δεσμού στο εισερχόμενο τριφωσφορικό νουκλεοσίδιο

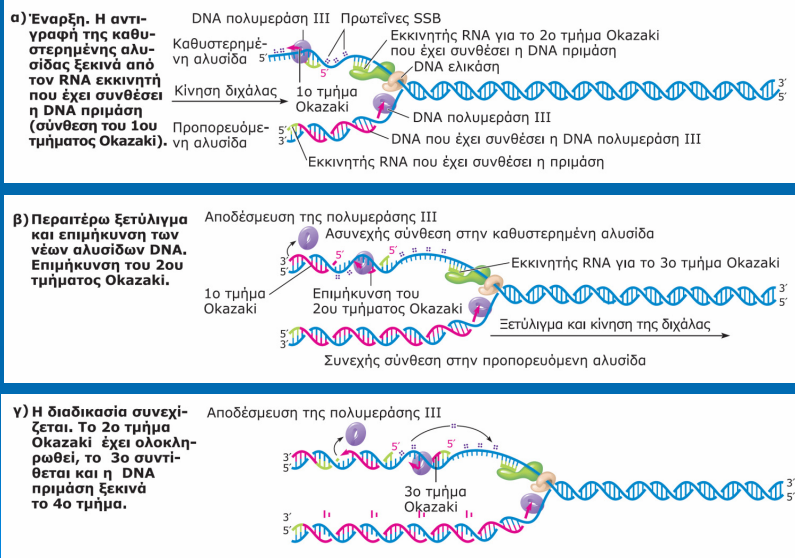


- **Πρόβλημα:** ασύμμετρη διχάλα αντιγραφής
- **Λύση:** Πισωβελονιά (backstitching)
- Κλάσματα Okazaki
- Καθυστερημένος κλώνος (lagging strand)
- Προπορευόμενος κλώνος (leading strand)



EΙΚΟΝΑ 11.6

Μοντέλο του μοριακού μηχανισμού που λαμβάνει χώρα σε μία αντιγραφική διχάλα του χρωμοσώματος της *E. coli*.



iGenetics

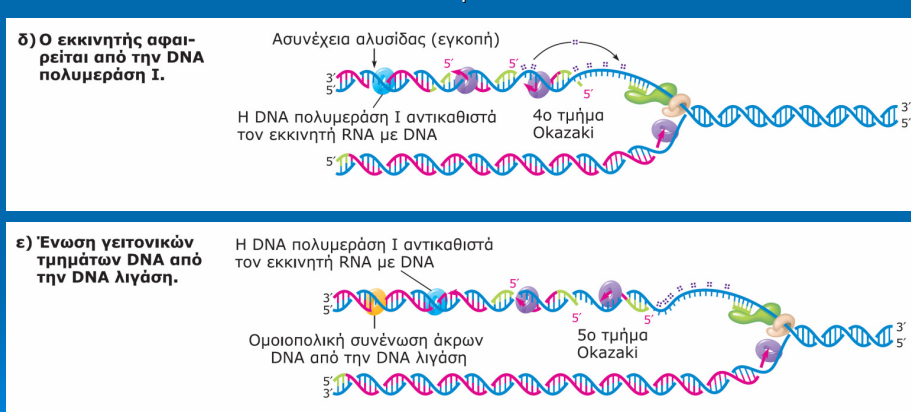
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

9

EΙΚΟΝΑ 11.6

Μοντέλο του μοριακού μηχανισμού που λαμβάνει χώρα σε μία αντιγραφική διχάλα του χρωμοσώματος της *E. coli*.

(γ) Περαιτέρω ξετύλιγμα και συνέχιση της σύνθεσης του DNA. (δ) Αφαίρεση του εκκινητή από την DNA πολυμεράση I. (ε) Ένωση γειτονικών τμημάτων DNA μέσω της δράσης της DNA λιγάσης. Πράσινο = RNA, κόκκινο = νεοσυντιθέμενο DNA.



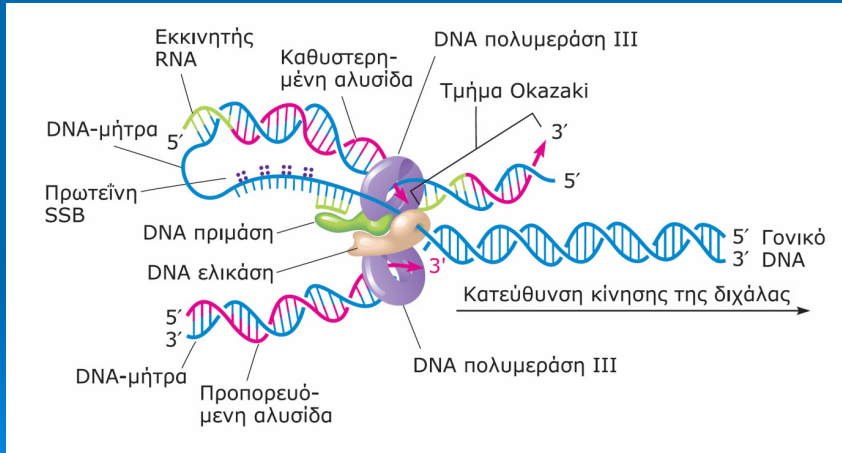
iGenetics

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

10

ΕΙΚΟΝΑ 11.8

Μοντέλο του σωματίου αντιγραφής, του συμπλόκου των κύριων πρωτεϊνών της αντιγραφής, με το DNA στην αντιγραφική διχάλα. Η DNA πολυμεράση III στη μήτρα της καθυστερημένης αλυσίδας (επάνω μέρος εικόνας) μόλις ολοκληρώνει τη σύνθεση ενός τμήματος Okazaki.



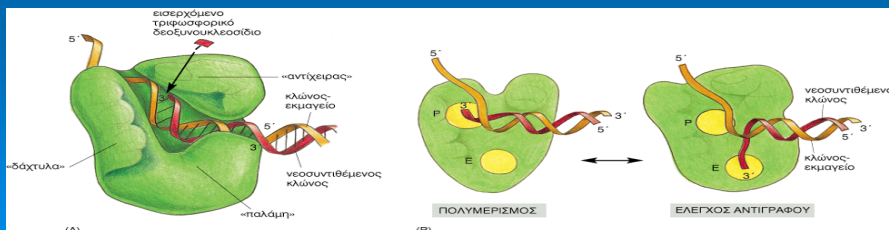
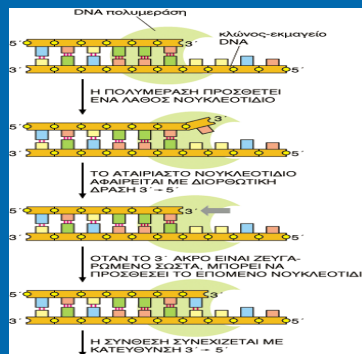
iGenetics

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

11

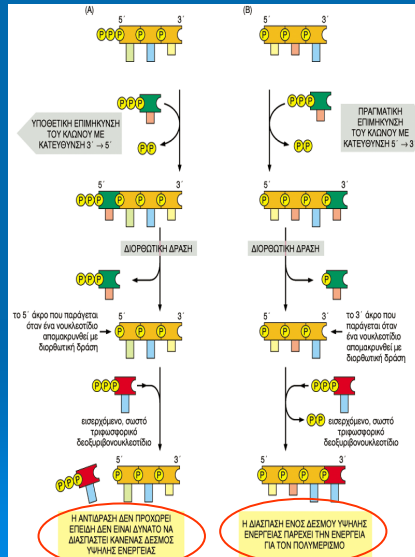
Διορθωτική δράση της πολυμεράσης

- 1 λάθος /10⁷ bp
- «διόρθωση δοκιμίων» (proofreading)
- 3'-5' ενεργότητα νουκλεάσης
- Διαφορετικές δράσεις, διαφορετικές περιοχές του ένζυμου



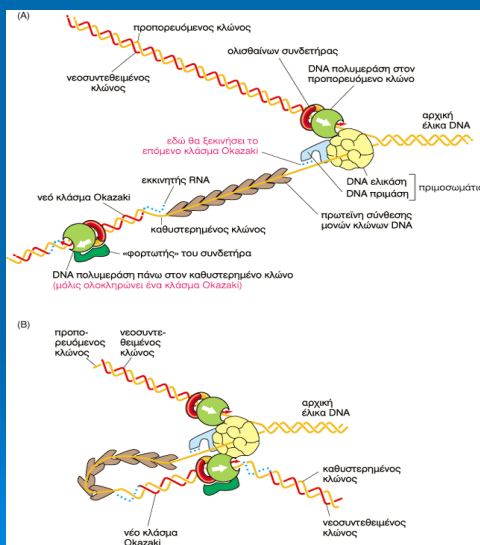
Γιατί η αλυσίδα DNA αυξάνεται μόνο με κατεύθυνση 5' - 3' ;

A. Επιμήκυνση με κατεύθυνση 3' → 5' της αλυσίδας DNA θα είχε ως αποτέλεσμα την παύση της επιμήκυνσης του DNA κλώνου μετά την επιδιορθωτική δράση της πολυμεράσης



B. Επιμήκυνση με κατεύθυνση 5' → 3' της αλυσίδας DNA της επιτρέπει να επιμηκύνεται και μετά την απομάκρυνση νουκλεοτιδίου από την επιδιορθωτική δράση της πολυμεράσης

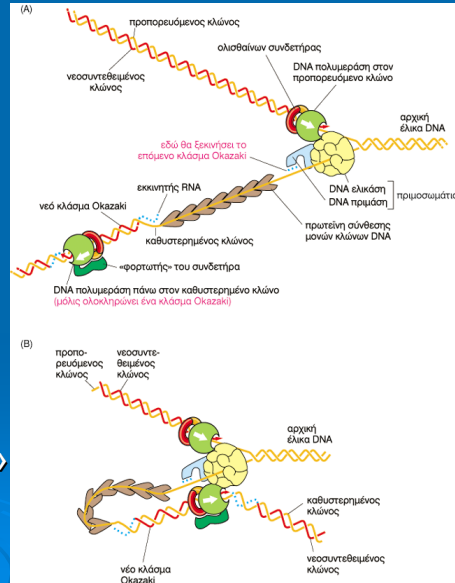
Ο ρόλος του RNA στην αντιγραφή του DNA



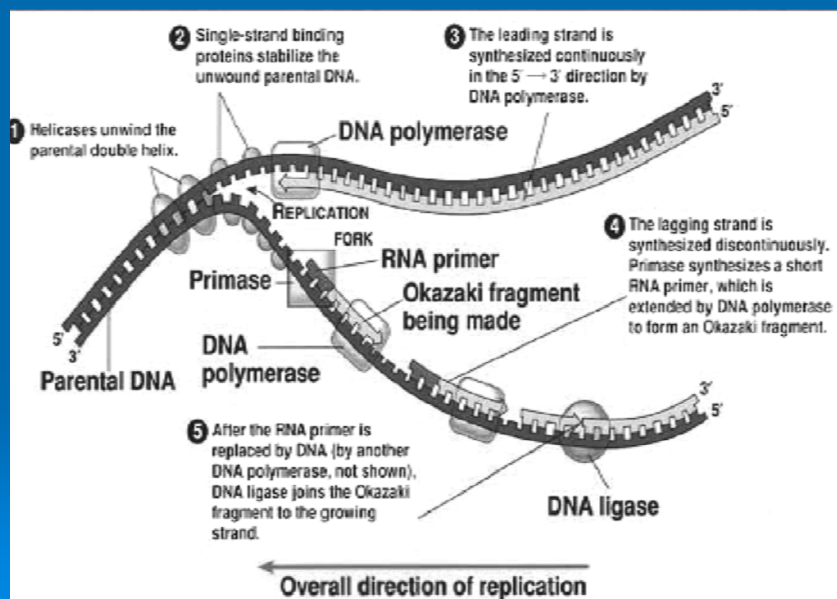
- Τμήμα RNA 10 νουκλεοτιδίων
- Λειτουργεί ως εκκινητής
- Πριμάση (primase) καταλύει τη σύνθεση
- Νουκλεάση (nuclease) αποδομεί τον εκκινητή
- Πολυμεράση επιδιόρθωσης (repair polymerase)
- Λιγάση του DNA (DNA ligase)

Πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην αντιγραφή

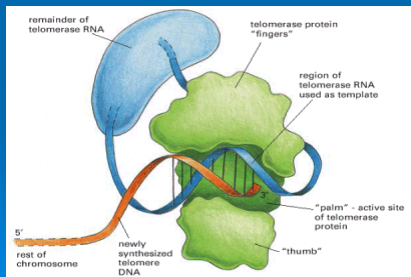
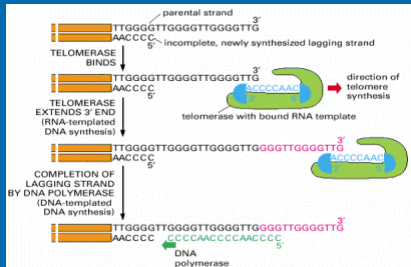
- DNA πολυμεράση
- Πριμάση
- Λιγάση
- Ελικάση (helicase)
- Πρωτεΐνη που συνδέεται σε μονούς κλώνους (single-strand binding protein)
- «ολισθαίνων συνδετήρας» (sliding clamp)



Περίληψη της διαδικασίας αντιγραφής του DNA



Αντιγραφή των τελομερών- τελομεράση



Η δομή της τελομεράσης (telomerase)

- Η τελομεράση είναι ένα σύμπλοκο πρωτεΐνης-RNA
- Η τελομεράση κουβαλά ένα εκμαγείο RNA για τη σύνθεση μιας επαναληπτικής πλούσιας σε G ακολουθίας DNA.
- Η αντίστροφη μεταγραφάση (reverse transcriptase) είναι μια ειδική μορφή ενζύμου πολυμεράσης που χρησιμοποιεί ένα εκμαγείο RNA φτιάξει έναν κλώνο DNA
- Στον άνθρωπο η ακολουθία που επαναλαμβάνεται είναι GGGTTA
- Στα ανθρώπινα κύτταρα η έκφραση της τελομεράσης είναι από μικρή ως μη-ανιχνεύσιμη

Ο ρόλος των τελομερών

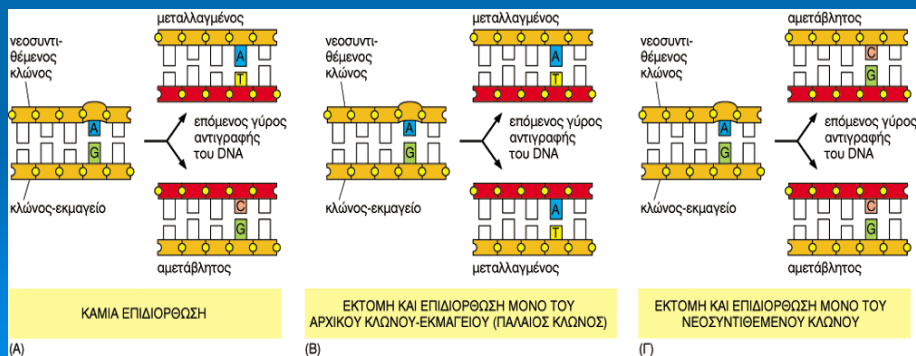
- Το φαινόμενο της κυτταρικής γήρανσης περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Hayflick και την ομάδα του ως το πεπερασμένο διάστημα αναπαραγωγής των ανθρωπίνων ινοβλαστών στην καλλιέργεια. (όριο Hayflick, Hayflick limit) [Hayflick, 1965].
- Ο έρευνες που ακολούθησαν στις επόμενες δεκαετίες οδήγησαν στο συμπέρασμα πως τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα φθάνουν στο όριο Hayflick διότι η επαναλαμβανόμενη αντιγραφή του DNA απουσία τελομεράσης ελαττώνει διαρκώς το μήκος των τελομερών [Campisi, 2005].
- Τα τελομερή είναι απαραίτητα για τη διατήρηση της ακεραιότητας του DNA συνεπώς η δυσλειτουργία τους οδηγεί σε χρωμοσωμικές ανωμαλίες και σε κακοήθη κυτταρικό μετασχηματισμό [Artandi and DePinho, 2000].
- Η γήρανση οδηγεί το κύτταρο σε μία μορφή μόνιμης κυτταρικής παύσης εξασφαλίζοντας την απομάκρυνση των κυττάρων με μη λειτουργικά τελομερή και αποτρέποντας την ανάπτυξη καρκίνου.

Επιδιόρθωση του DNA

- Διορθωτική δράση της DNA πολυμεράσης (proofreading activity)
- Σύστημα επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων στο DNA (mismatch repair)
- Επιδιόρθωση με τη δράση της φωτολύασης
- Επιδιόρθωση με απομάκρυνση νουκλεοτιδίων (nucleotide excision repair)
- Επιδιόρθωση με ανασυνδυασμό (recombination repair)
- SOS επιδιόρθωση (SOS repair)

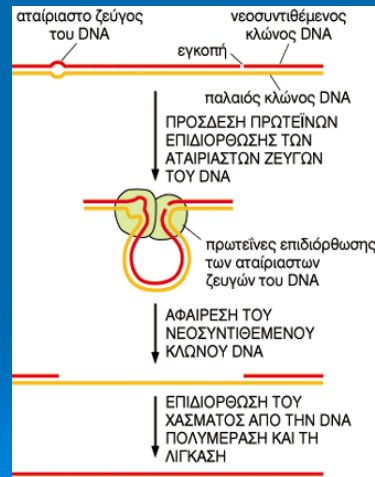
Επιδιόρθωση του DNA

- Εφεδρικό σύστημα υποστήριξης → σύστημα επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων του DNA
- Επιδιορθώνει το 99% των λαθών
- Για να είναι αποτελεσματικός πρέπει να διορθώνει μόνο το αταίριαστο νουκλεοτίδιο από τον νεοσυντιθέμενο κλώνο



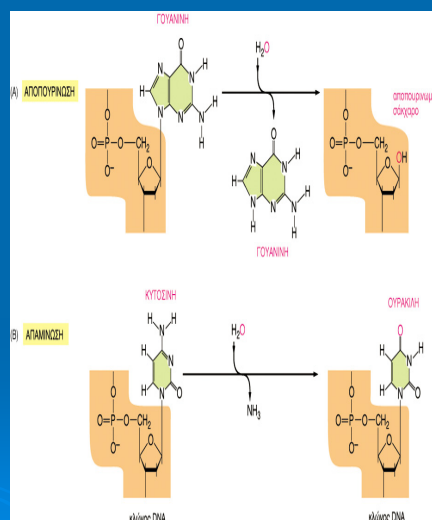
Μηχανισμός επιδιόρθωσης αταίριαστων βάσεων (DNA mismatch repair system)

1. Σύμπλοκο πρωτεϊνών αναγνωρίζει και αφαιρεί τα αταίριαστα ζεύγη του DNA
 2. Το κενό συμπληρώνεται από μία DNA πολυμεράση
 3. Τα επιμέρους τμήματα συνενώνονται από το ένζυμο λιγκάση του DNA.
- Η εγκοπή είναι το σήμα που αναγνωρίζουν οι πρωτεΐνες επιδιόρθωσης για να διακρίνουν τον νεοσυντιθέμενο κλώνο του DNA
 - Εγκοπές όμως συμβαίνουν και στους καθυστερημένους κλώνους όπως και στους προπορευόμενους (πολύ σπανιότερα) οι οποίες διατηρούνται για πολύ λίγο χρόνο.
 - Συνεπώς η επιδιόρθωση πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ γρήγορα



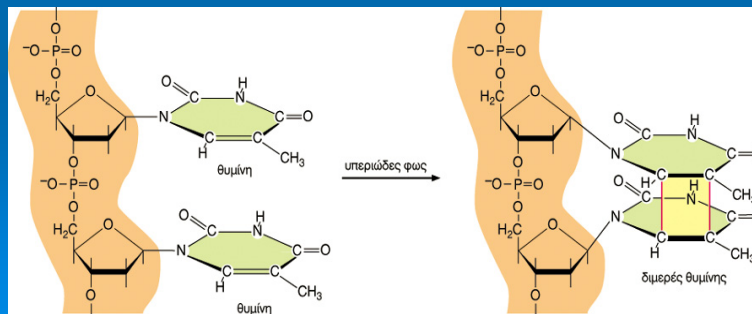
Αιτίες μεταβολών του DNA στα κύτταρα

- Το DNA των κυττάρων μας υφίσταται συνεχώς θερμικές συγκρούσεις οι οποίες προκαλούν χημικές μεταβολές
- **Αποπουρίνωση (depurination)** απώλεια A και G βάσεων οδηγεί στη δημιουργία χασμάτων
- **Απαμίνωση (deamination)** απώλεια αμινομάδας από την C με αποτέλεσμα τη δημιουργία U



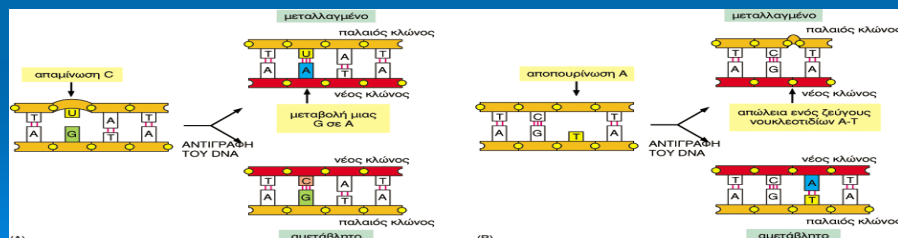
Αιτίες μεταβολών του DNA στα κύτταρα

- Δραστικά παραπροϊόντα του μεταβολισμού → μεταβάλουν την ιδιότητα σχηματισμού ζευγών
- Υπεριώδης ακτινοβολία του ήλιου → ομοιοπολική σύνδεση δύο γειτονικών βάσεων πυριμιδίνης πχ διμερές θυμίνης



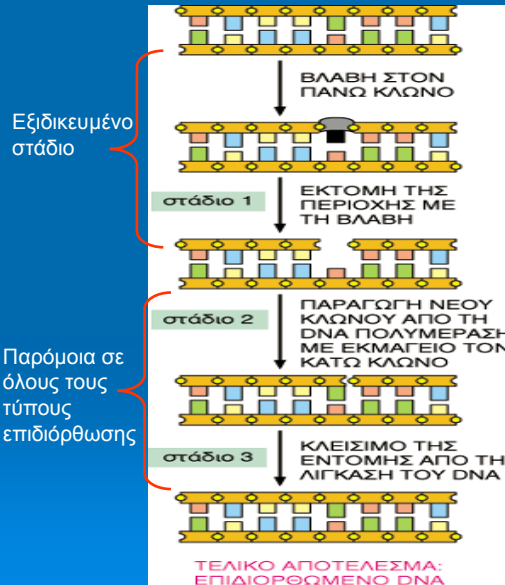
Αποτελέσματα των χημικών μεταβολών του DNA

- Μη επιδιόρθωση της απαμίνωσης της C οδηγεί σε αντικατάσταση της από άλλη βάση.
- Π.χ. απαμίνωση C σε U σημαίνει ότι η U σχηματίζει ζεύγος με A
- Συνεπώς κατά την αντιγραφή όπου U στον παλαιό κλώνο θα ενσωματώνεται A στον καινούργιο
- Μη επιδιόρθωση της αποπουρίνωσης οδηγεί σε απώλεια ζεύγους νουκλεοτιδίων.
- Κατά την αντιγραφή η θέση στην οποία βρισκόταν μπορεί να παρακαμφτεί
- Συνεπώς, θα διαγραφεί ένα νουκλεοτίδιο στο νεοσυντιθέμενο κλώνο.



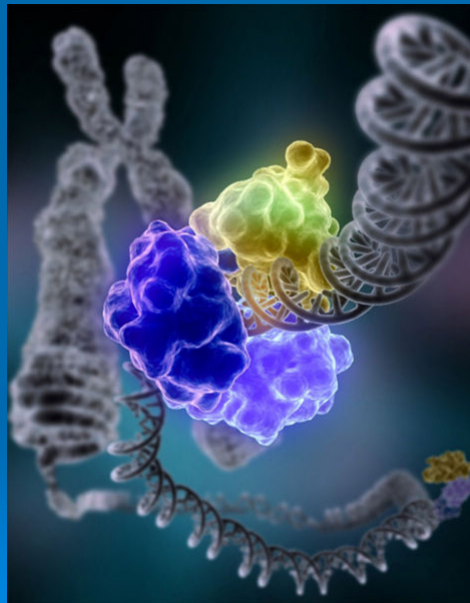
🚫 Τα διμερή θυμίνης καθυστερούν το σύστημα αντιγραφής στο σημείο της βλάβης

Τα στάδια του βασικού μηχανισμού επιδιόρθωσης



Παρόμοια σε όλους τους τύπους επιδιόρθωσης

1. Αναγνώριση και αφαίρεση της βλάβης από νουκλεάσες
2. Η DNA πολυμεράση επιδιόρθωσης (DNA repair polymerase) συμπληρώνει το κενό
3. Κλείσιμο της εγκοπής από το ένζυμο λιγκάση του DNA



Λιγκάση του DNA (DNA ligase)

Κληρονομικές διαταραχές της επιδιόρθωσης του DNA

Οι ατέλειες στο μηχανισμό NER είναι αρμόδιες για διάφορες γενετικές διαταραχές που περιλαμβάνουν:

1. **pigmentosum xeroderma**: υπερευαίσθησία σε υπεριώδης ηλιακή ακτινοβολία, με συνέπεια την αυξανόμενη εμφάνιση καρκίνου του δέρματος και την πρόωρη γήρανση
2. **Σύνδρομο Cockayne**: υπερευαίσθησία σε UV και χημικούς παράγοντες
3. **Trichothiodystrophy**: ευαίσθητο δέρμα, εύθραυστη τρίχα

Η διανοητική καθυστέρηση συνοδεύει συχνά τις τελευταίες δύο αναταραχές, που προτείνουν την αυξανόμενη ευπάθεια των αναπτυξιακών νευρώνων.

■ Άλλες αναταραχές επισκευής DNA περιλαμβάνουν:

1. **Σύνδρομο Werner**: πρόωρη γήρανση και καθυστερημένη ανάπτυξη
2. **Σύνδρομο Blom**: υπερευαίσθησία φωτός του ήλιου, υψηλή συχνότητα κακοηθιών.
3. **Ataxia telangiectasia**: ευαίσθησία στην ακτινοβολία και μερικούς χημικούς παράγοντες

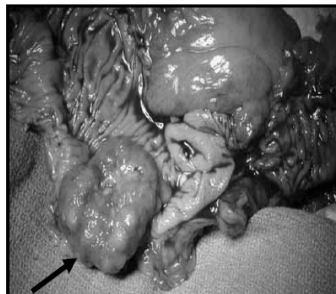
Όλες οι ανωτέρω ασθένειες προκαλούν πρόωρη γήρανση

■ Άλλες ασθένειες που συνδέονται με τη μειωμένη λειτουργία επισκευής DNA περιλαμβάνουν αναιμία Fanconi, κληρονομικός καρκίνος του μαστού και κληρονομικός καρκίνος παχέως εντέρου.

Επιδιόρθωση του DNA και καρκίνος

Βλάβες στο σύστημα επιδιόρθωσης των αταρτιστων βάσεων στο DNA προκαλούν καρκίνο στον άνθρωπο.

Hereditary Non-Polyposis Colon Cancer (HNPCC)



Ογκος

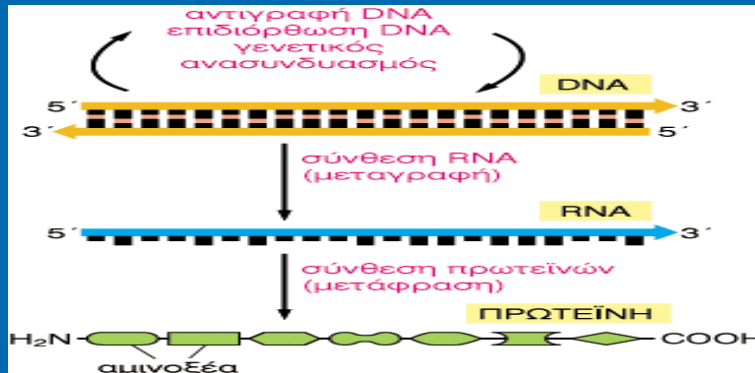
BRCA1 και BRCA2, δύο πολύ γνωστές μεταλλάξεις οι οποίες αυξάνουν την πιθανότητα ανάπτυξης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες σχετίζονται με βλάβες στις πορείες επιδιόρθωσης του DNA

- Το κεντρικό δόγμα
- Μεταγραφή: από το DNA στο RNA
- Επεξεργασία του RNA - Μάτισμα

Πως διαβάζουν τα κύτταρα το γονιδίωμα

- Οι γενετικές πληροφορίες κωδικοποιούνται από τα 4 νουκλεοτίδια του DNA
- Πως όμως αποκωδικοποιούνται από το κύτταρο;
- Οι γενετικές πληροφορίες κατευθύνουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών
- Οι ιδιότητες και η λειτουργία μιας πρωτεΐνης καθορίζονται από την - μοναδική για κάθε πρωτεΐνη - αλληλουχία των αμινοξέων που σχηματίζουν την πολυπεπτιδική αλυσίδα
- Οι γενετικές πληροφορίες καθορίζουν την αλληλουχία των αμινοξέων των πρωτεϊνών
- Το DNA δεν κατευθύνει την πρωτεϊνοσύνθεση αλλά δρα σαν επόπτης, δηλαδή αναθέτει τις απαραίτητες εργασίες σε ομάδα μορίων

Το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας

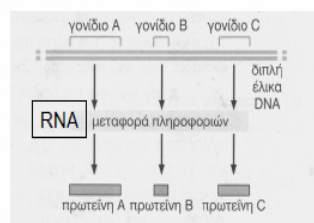


Σε όλα τα κύτταρα από τα βακτήρια έως τον άνθρωπο η ροή των γενετικών πληροφοριών είναι από το DNA στο RNA και από το RNA στις πρωτεΐνες

Οι ρετροϊοί (retroviruses) παράγουν DNA από RNA:
Αντιστροφή του κεντρικού δόγματος.



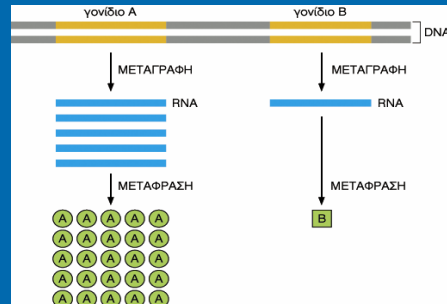
Η ροή της γενετικής πληροφορίας:
το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας



DNA → RNA → protein
Αντιγραφή Μεταγραφή Μετάφραση

Από το DNA στο RNA: Μεταγραφή

- Τα γονίδια εκφράζονται μέσω της αντιγραφής και της μετάφρασης
- Ένα γονίδιο μπορεί να παράγει πολλά πανομοιότυπα αντίγραφα RNA
- Κάθε μόριο RNA είναι ικανό να κατευθύνει τη σύνθεση πολλών πανομοιότυπων μορίων μίας πρωτεΐνης.
- Η διαδικασία αυτή επιτρέπει τη σύνθεση της αναγκαίας ποσότητας μίας πρωτεΐνης ταχύτερα τη χρήση του DNA ως απευθείας εκμαγείο

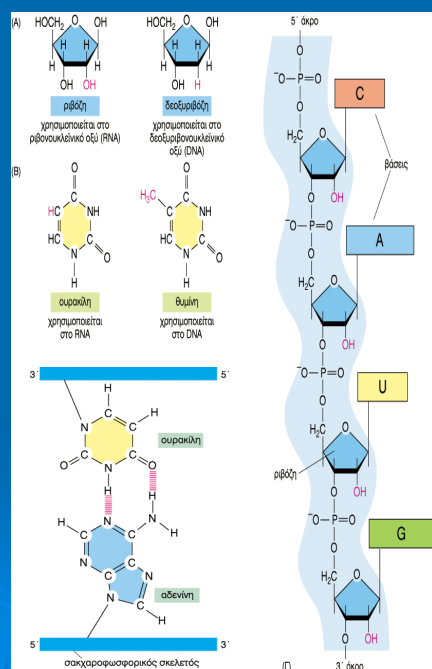


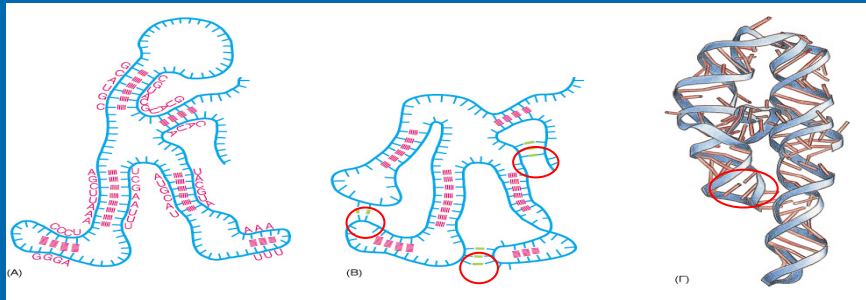
Το κύτταρο ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων του.

Κάθε γονίδιο μεταγράφεται και μεταφράζεται με διαφορετική αποτελεσματικότητα και έτσι τα κύτταρα μπορούν να συνθέτουν την απαραίτητα ποσότητα πρωτεΐνης ανάλογα με τις ανάγκες τους

Δομή του RNA

- Ριβονουκλεϊκό οξύ
- Σάκχαρο = ριβόζη, διαθέτει μία επιπλέον ομάδα -OH
- Ουρακίλη (U) ομόλογη με την T στο DNA, έχει μία λιγότερη -CH₃ ομάδα από την T και ζευγαρώνει με A
- Μονόκλωνο μόριο
- Ικανότητα δίπλωσης σε πολλαπλές δομές
- Η δίπλωση σε πολύπλοκες τρισδιάστατες δομές προσδίδει, δομικές, πληροφοριακές και καταλυτικές λειτουργίες



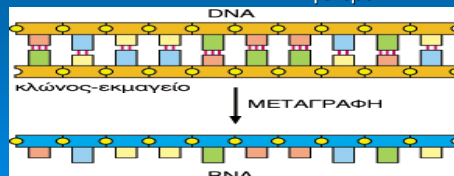


- Το RNA μπορεί να σχηματίσει ενδομοριακά, συμβατικά και μη συμβατικά ζεύγη βάσεων
 - Οι σχηματισμοί αυτοί επιτρέπουν στο RNA να πτυχώνεται σε μία τρισδιάστατη δομή η οποία καθορίζεται από την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων
- A. Διάγραμμα πτυχωμένης δομής μόνο με συμβατικά ζεύγη βάσεων
- B. Δομή με συμβατικά (κόκκινο) και μη συμβατικά (πράσινο) ζεύγη βάσεων
- C. Δομή μορίου RNA που εμπλέκεται στη συρραφή του RNA (γέφυρες = συμβατικό ζεύγος, σπασμένες γέφυρες = μη συμβατικό ζεύγος)

Μεταγραφή (transcription)

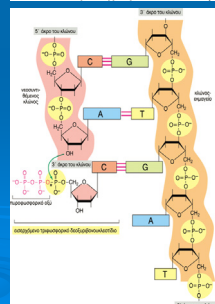
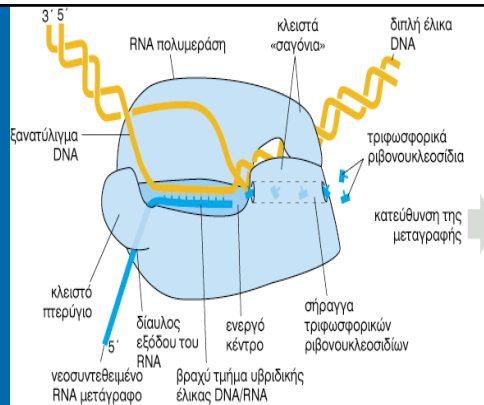
Η αντιγραφή του κατάλληλου γονιδίου σε μία αλληλουχία νουκλεοτιδίων του RNA

- Ομοιότητες με την αντιγραφή του DNA
1. Έναρξη της μεταγραφής με με το άνοιγμα και το ξείπλωμα μικρού τμήματος της διπλής έλικας του DNA
 2. Ένας από τους δύο κλώνους DNA δρα ως εκμαγείο
 3. Η αλληλουχία του της αλυσίδας RNA καθορίζεται από τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων
- Διαφορές με την αντιγραφή του DNA
1. Ο νεοσχηματισμένος κλώνος δεν παραμένει συνδεδεμένος με δεσμούς υδρογόνου με το εκμαγείο. Πίσω από την περιοχή σύνθεσης το η έλικα του DNA αναδιοργανώνεται και εκτοπίζει τα νουκλεοτίδια.
 2. Τα μόρια που παράγονται είναι μονόκλινα
 3. Αντιγράφονται από περιορισμένη περιοχή του DNA συνεπώς έχουν μικρότερο μήκος. Ένα χρωμόσωμα έως και 250 εκ. bp DNA, ένα μόριο RNA λίγες χιλιάδες νουκλεοτίδια ή και λιγότερα



Η νέα αλυσίδα RNA ονομάζεται μετάγραφο ((transcript)

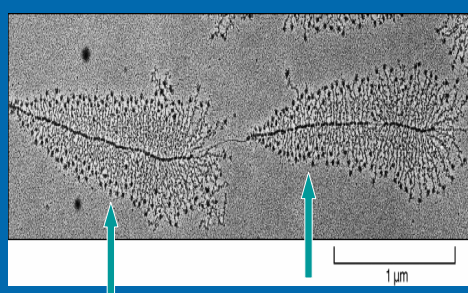
- Η μεταγραφή επιτελείται από RNA πολυμεράσες (RNA polymerases)
- Οι πολυμεράσες καταλύουν το σχηματισμό των φωσφοδιεστερικών δεσμών και δημιουργούν τον σακχαροφωσφορικό σκελετό της αλυσίδας του RNA
- Η πολυμεράση μετακινείται νουκλεοτίδιο-νουκλεοτίδιο κατά μήκος του DNA ξετυλίγοντας στην πορεία της τη διπλή έλικα
- Η αλυσίδα του RNA αυξάνεται κατά ένα νουκλεοτίδιο τη φορά με κατεύθυνση 5'-3'
- Τα εισερχόμενα νουκλεοτίδια έχουν τη μορφή



Τα εισερχόμενα νουκλεοτίδια έχουν τη μορφή τριφωσφορικών νουκλεοσίδων ATP, UTP, CTP, GTP. Η υδρόλυση τους παρέχει ενέργεια για την αντίδραση του πολυμερισμού.

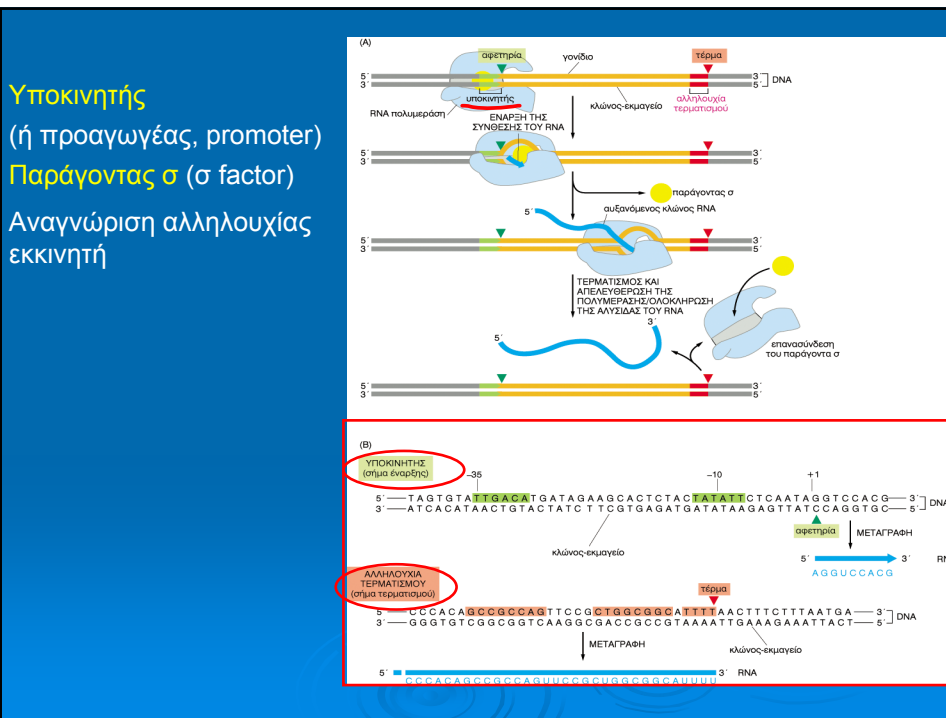
- 1 μόριο πολυμεράσης μεταγράφει 1500 bp σε 50sec
- Το μετάγραφο RNA απελευθερώνεται σχεδόν άμεσα
- Έως και 15 μόρια RNA πολυμεράσης σε ένα τμήμα DNA, μπορούν να συνθέσουν χιλιάδες μετάγραφα σε λιγότερο από 1 ώρα
- 1 λάθος / 10⁴ νουκλεοτίδια

Η μεταγραφή όπως γίνεται ορατή με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

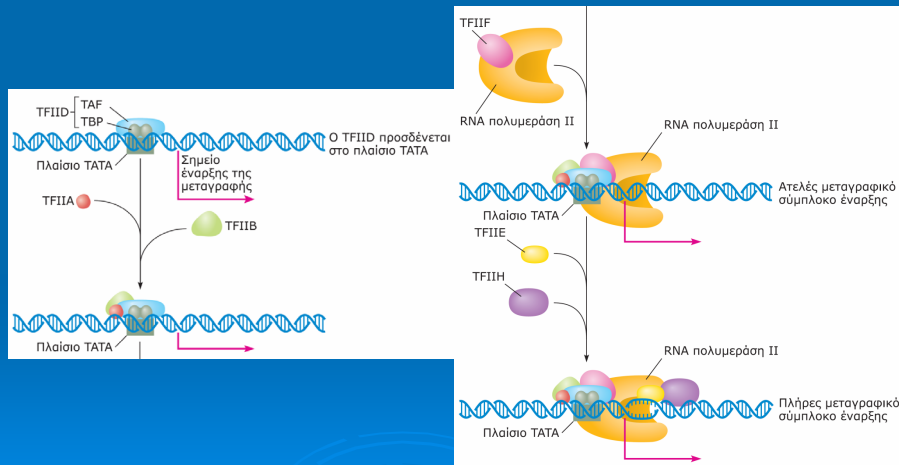


Είδη RNA

| Είδος RNA | Λειτουργία |
|-------------------------------|--|
| mRNA Αγγελιοφόρο (messenger) | Κωδικοποιεί πρωτεΐνες |
| rRNA ριβοσωματικό (ribosomal) | Είναι συστατικό του ριβοσωματίου και συμμετέχει στην πρωτεϊνσύνθεση |
| tRNA μεταφορικό (transfer) | Χρησιμοποιείται στην πρωτεϊνσύνθεση ως μόριο προσαρμογής μεταξύ του mRNA και των αμινοξέων |
| snRNA | Χρησιμοποιούνται στη συρραφή του προ-mRNA, στη μεταφορά των πρωτεϊνών στο ενδοπλασματικό δίκτυο και σε άλλες διεργασίες του κυττάρου |



ΕΙΚΟΝΑ 13.7
Συγκρότηση της μεταγραφικής μηχανής κατά την έναρξη.



iGenetics

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

41

Σύγκριση μεταγραφής προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών γονιδίων

Βακτηριακή Μεταγραφή

- στο κυτταρόπλασμα
- μεταγραφή/μετάφραση σε ένα στάδιο
- όχι επεξεργασία του RNA
- μία RNA πολυμεράση
- Υποκινητές με 2 σημαντικές αλληλουχίες έναρξης της μεταγραφής.
- Εναρξη απο την RNA pol.
- μεταγράφημα δεν περιέχει ιντρόνια

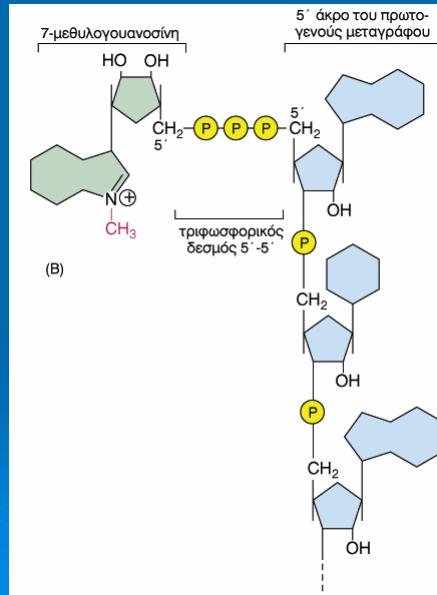
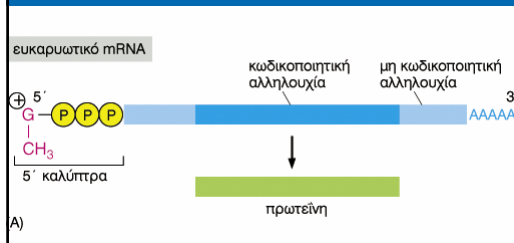
Ευκαρυωτική Μεταγραφή

- στο κυτταρόπλασμα
- μεταγραφή/μετάφραση σ' ένα στάδιο
- όχι επεξεργασία του RNA
- μία RNA πολυμεράση
- Υποκινητές με 2 σημαντικές αλληλουχίες έναρξης της μεταγραφής.
- Εναρξη απο την RNA pol.
- μεταγράφημα δεν περιέχει ιντρόνια

Επεξεργασία (processing) του ευκαρυωτικού mRNA

Συμβαίνουν ταυτόχρονα με τη μεταγραφή

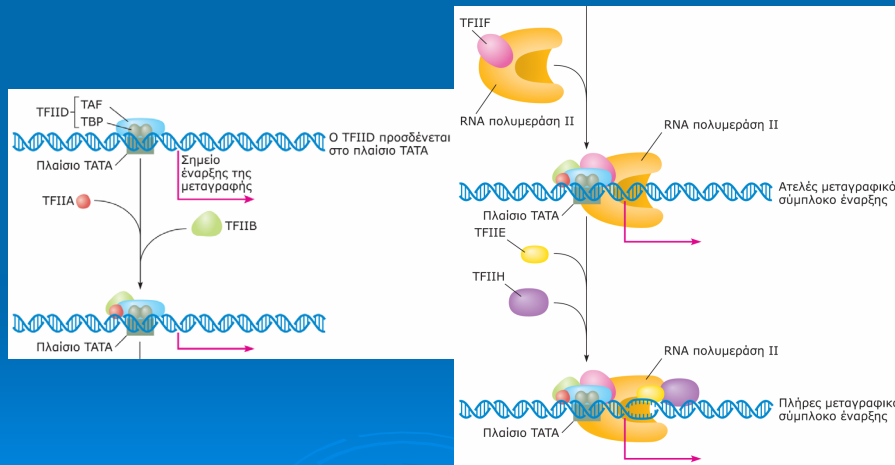
- Σχηματισμός καλύπτρας (RNA capping): κάλυψη του 5' με μία μεθυλιωμένη G μόλις η RNA pol συνθέσει 25 νουκλεοτίδια
- Πολυαδενυλίωση (polyadenylation) προσθήκη ουράς πολύ(A) [poly(A)tail]



Ωρίμανση του mRNA

- 1η τροποποίηση: 5' άκρο --> προσθήκη καλύμματος.
- 2η τροποποίηση: 3' άκρο --> προσθήκη πολυΑουράς.
- Ύστερα, ακολουθεί, η **αφαίρεση** των ιντρονίων, κι η **συρραφή** των εξωνίων.
- Εν συνεχεία, **ελέγχεται** από το εσωτερικό της πυρηνικής μεμβράνης, κι αν βρεθεί ότι έχει συντεθεί σωστά, τότε, περνά από τον πυρηνικό πόρο.

ΕΙΚΟΝΑ 13.7
Συγκρότηση της μεταγραφικής μηχανής κατά την έναρξη.



iGenetics

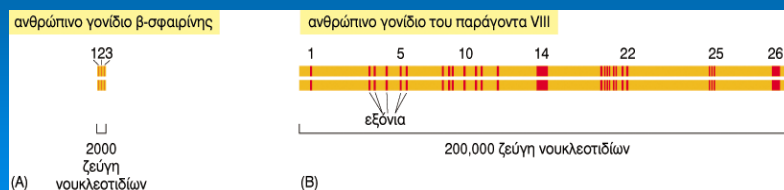
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2009

45

Ευκαρυωτικά γονίδια



Ιντρόνια: μη κωδικοποιητικές αλληλουχίες, 80-10.000 νουκλεοτίδια
Εξόνια: κωδικοποιητικές αλληλουχίες, βραχύτερες από τα ιντρόνια





Ο γενετικός κώδικας

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| AGA | | | UUA | | | AGC | | | | | | | | | | | | | | |
| AGG | | | UUG | | | AGU | | | | | | | | | | | | | | |
| GCA | CGA | | GGA | | | CUA | | | CCA | UCA | ACA | GUA | | | | | | | | |
| GCC | CGC | | GGC | | | AUA | | | CUC | CCC | UCC | ACC | GUC | UAA | | | | | | |
| GCG | CGG | GAC | AAC | UGC | GAA | CAA | GGG | CAC | AUC | CUG | AAA | UUC | CCG | UCG | ACG | UAC | GUG | UAG | | |
| GCU | CGU | GAU | AAU | UGU | GAG | CAG | GGU | CAU | AUU | CUU | AAG | AUG | UUU | CCU | UCU | ACU | UGG | UAU | GUU | UGA |
| Ala | Arg | Asp | Asn | Cys | Glu | Gln | Gly | His | Ile | Leu | Lys | Met | Phe | Pro | Ser | Thr | Trp | Tyr | Val | τερματισμός |
| A | R | D | N | C | E | Q | G | H | I | L | K | M | F | P | S | T | W | Y | V | |

Χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα

1. Κώδικας τριπλέτας
2. Συνεχής 5' → 3'
3. Μη επικαλυπτόμενος
4. Εκφυλισμένος
5. Σχεδόν καθολικός
6. Κωδικόνια έναρξης και λήξης

1. Κώδικας τριπλέτας

| | | Second letter | | | | |
|--------------|---|--|--------------------------------------|--|---|------------------|
| | | U | C | A | G | |
| First letter | U | UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG } | UCU } UCC } Ser UCA } UCG } | UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG } Stop | UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp | U C A G |
| | C | CUU } CUC } Leu CUA } CUG } | CCU } CCC } Pro CCA } CCG } | CAU } His CAC } CAA } Gln CAG } | CGU } CGC } Arg CGA } CGG } | U C A G |
| | A | AUU } AUC } Ile AUA } AUG } Met | ACU } ACC } Thr ACA } ACG } | AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG } | AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG } | U C A G |
| | G | GUU } GUC } Val GUA } GUG } | GCU } GCC } Ala GCA } GCG } | GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG } | GGU } GGC } Gly GGA } GGG } | U C A G |

• Ο γενετικός κώδικας αποτελείται από τριπλέτες νουκλεοτιδίων που ονομάζονται κωδικόνια

2. Συνεχής 5' → 3'

5'-UCUAAAUGGGUGACAGGCCA.....-3'

3. Μη επικαλυπτόμενος

* Ο γενετικός κώδικας δεν αυτο-επικαλύπτεται,
δηλ. διαδοχικές τριπλέτες διαβάζονται στην σειρά

CAUGGAUUACGG
┌┐
└┘

CAUGGAUUACGG
┌┌┌

4. Εκφυλισμένος

| | | Second letter | | | | |
|--------------|---|--|--------------------------------------|--|---|------------------|
| | | U | C | A | G | |
| First letter | U | UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG } | UCU } Ser UCC } UCA } UCG } | UAU } Tyr UAC } UAA } Stop UAG } Stop | UGU } Cys UGC } UGA } Stop UGG } Trp | U C A G |
| | C | CUU } Leu CUC } CUA } CUG } | CCU } Pro CCC } CCA } CCG } | CAU } His CAC } CAA } Gln CAG } | CGU } Arg CGC } CGA } CGG } | U C A G |
| | A | AUU } Ile AUC } AUA } AUG } Met | ACU } Thr ACC } ACA } ACG } | AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG } | AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG } | U C A G |
| | G | GUU } Val GUC } GUA } GUG } | GCU } Ala GCC } GCA } GCG } | GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG } | GGU } Gly GGC } GGA } GGG } | U C A G |

- ❖ Τα αμινοξέα μπορούν να καθοριστούν από περισσότερα από ένα κωδικόνια
- ❖ Την καθορίζει από ACG, ACA, ACC, ACU

5. Σχεδόν καθολικός

- Σπάνιες εξαιρέσεις
- Μιτοχόνδρια (AUA → Met όχι Ile)
- Μερικά πρωτόζωα

6. Κωδικόνια έναρξης και λήξης

| | | Second letter | | | | |
|---|------------------|---------------|------------|------------|---|--|
| | | U | C | A | G | |
| U | UUU } Phe | UCU } Ser | UAU } Tyr | UGU } Cys | U | |
| | UUC } Phe | UCC } Ser | UAC } Tyr | UGC } Cys | C | |
| | UUA } Leu | UCA } Ser | UAA } Stop | UGA } Stop | A | |
| | UUG } Leu | UCG } Ser | UAG } Stop | UGG } Trp | G | |
| C | CUU } Leu | CCU } Pro | CAU } His | CGU } Arg | U | |
| | CUC } Leu | CCC } Pro | CAC } His | CGC } Arg | C | |
| | CUA } Leu | CCA } Pro | CAA } Gln | CGA } Arg | A | |
| | CUG } Leu | CCG } Pro | CAG } Gln | CGG } Arg | G | |
| A | AUU } Ile | ACU } Thr | AAU } Asn | AGU } Ser | U | |
| | AUC } Ile | ACC } Thr | AAC } Asn | AGC } Ser | C | |
| | AUA } Ile | ACA } Thr | AAA } Lys | AGA } Arg | A | |
| | AUG } Met | ACG } Thr | AAG } Lys | AGG } Arg | G | |
| G | GUU } Val | GCU } Ala | GAU } Asp | GGU } Gly | U | |
| | GUC } Val | GCC } Ala | GAC } Asp | GGC } Gly | C | |
| | GUA } Val | GCA } Ala | GAA } Glu | GGA } Gly | A | |
| | GUG } Val | GCG } Ala | GAG } Glu | GGG } Gly | G | |

Ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης
(open reading frame ORF)



- 1) UCU AAA **AUG** GGU GAC
- 2) ..CUA AAA UGG GUG AC
- 3)**UAA** AAU GGG UGA C