

# ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

## ΕΠΙΣΚΟΠΗΣΗ ΤΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

**Μακρομόρια και γενετική πληροφορία**

**Τι είναι ένα γονίδιο και ποια η λειτουργία του;**

**Τα περισσότερα γονίδια είναι οντότητες που καθορίζουν τη δομή μίας πολυπεπτιδικής ή πρωτεϊνικής αλυσίδας. Το γονίδιο είναι το πληροφοριακό στοιχείο (στοιχείο-φορέας της πληροφορίας) που καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης.**

**Τα γονίδια είναι αποθηκευμένη πληροφορία, ενώ οι πρωτεΐνες αποτελούν τις λειτουργικές οντότητες του κυττάρου.**

**Σε όλα τα κύτταρα, τα γονίδια αποτελούνται από δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA). Η πληροφορία στο γονίδιο υφίσταται με τη**

**μορφή της αλληλουχίας των βάσεων του DNA. Η πληροφορία που εδράζεται στο DNA καθορίζει πάντα την αλληλουχία μιας πρωτεΐνης μόνο μέσω ενός ενδιάμεσου μακρομορίου του ριβονουκλεϊκού οξέος (RNA)**

## Τα στάδια ροής της πληροφορίας

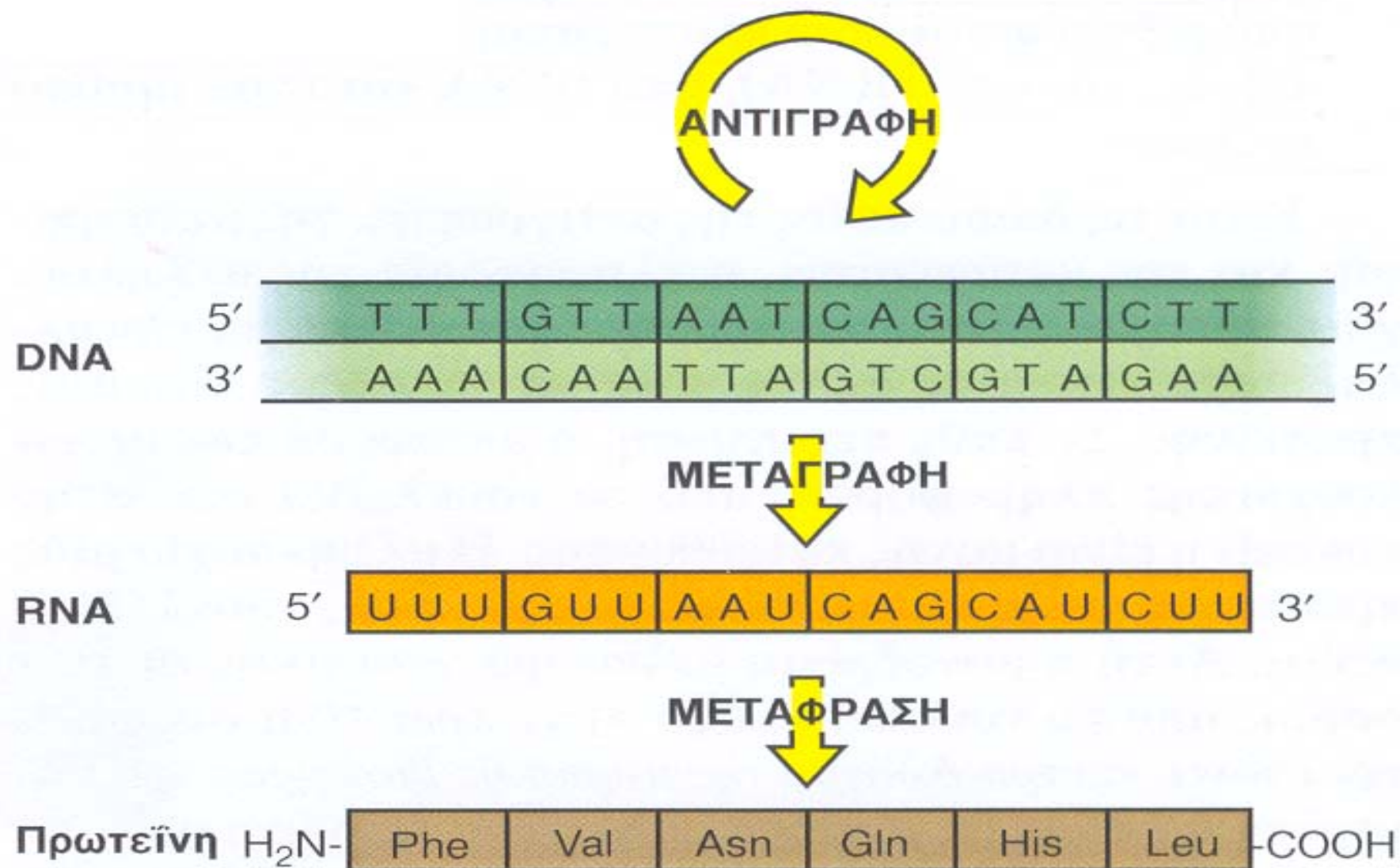
Οι μοριακές διεργασίες στις οποίες βασίζεται η ροή της γενετικής πληροφορίας μπορούν να διακριθούν σε τρία στάδια, που παρουσιάζονται συνοπτικά παρακάτω (Εικόνα 7.1).

*Αντιγραφή.* Το μόριο DNA που χρησιμεύει ως γενετικό υλικό του κυττάρου, είναι μια **διπλή έλικα** αποτελούμενη από δύο μακρές αλυσίδες.

**Κατά την αντιγραφή, το DNA διπλασιάζεται παράγοντας δύο διπλές έλικες.**

*Μεταγραφή.* Το DNA δεν συμμετέχει άμεσα στη σύνθεση των πρωτεϊνών, αλλά μόνο μέσω ενός ενδιάμεσου μορίου RNA. Η μεταφορά της πληροφορίας στο RNA ονομάζεται **μεταγραφή** και το μόριο RNA που φέρει τη πληροφορία, η οποία αποκωδικοποιείται σχηματίζοντας πρωτεΐνη, ονομάζεται **αγγελιοφόρο RNA (mRNA)**. Στις περισσότερες περιπτώσεις, σε κάθε συγκεκριμένη θέση του χρωμοσώματος,

**μεταγράφεται μόνο η μία από τις δύο αλυσίδες του DNA** (Εικόνα 7.1). Μερικές από



**Εικόνα 7.1** Σύνθεση των τριών τύπων πληροφοριακών μακρομορίων. Σημειώστε ότι σε κάθε συγκεκριμένη περιοχή μεταγράφεται μόνο μία από τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας.

**τις περιοχές του DNA που μεταγράφονται δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες αλλά περιέχουν την πληροφορία για διαφορετικούς τύπους μορίων RNA, όπως είναι το μεταφορικό RNA (tRNA) και το ριβοσωματικό RNA (rRNA).**

Συνεπώς, είμαστε υποχρεωμένοι να επεκτείνουμε τον ορισμό του γονιδίου, ώστε να συμπεριλάβει και περιοχές του DNA που κωδικοποιούν κάποιον από τους παραπάνω τύπους RNA.

**Μετάφραση.** Η ειδική αλληλουχία αμινοξέων της κάθε πρωτεΐνης καθορίζεται από μια ειδική αλληλουχία βάσεων στο mRNA (το οποίο έχει μεταγραφεί από το DNA). Μεταξύ της αλληλουχίας βάσεων ενός γονιδίου και της αμινοξικής αλληλουχίας ενός πολυπεπτιδίου, υφίσταται μια γραμμική αντιστοιχία (Εικόνα 7.1). Απαιτούνται *τρεις* (συνεχόμενες) βάσεις επί του mRNA για να κωδικοποιηθεί ένα αμινοξύ και μια τέτοια τριάδα βάσεων ονομάζεται **κωδικόνιο**. Αυτός ο **γενετικός κώδικας** μεταφράζεται τελικά σε πρωτεΐνη μέσω του **συστήματος της πρωτεϊνοσύνθεσης**. Το σύστημα αυτό αποτελείται από **ριβοσώματα** (που επίσης

**απαρτίζονται από πρωτεΐνες, και από rRNA), από tRNA και έναν αριθμό ενζύμων.**

### **Προκαρυωτική και ευκαρυωτική γενετική**

Η αντιγραφή, η μεταγραφή και η μετάφραση λαμβάνουν χώρα σε όλους τους κυτταρικούς οργανισμούς. Εντούτοις, υπάρχουν κάποιες διαφορές στους μηχανισμούς αυτών των διεργασιών μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών. Ένα τυπικό προκαρυωτικό γονιδίωμα αποτελείται από ένα και μόνο *κυκλικό* μόριο DNA με ομοιοπολικά συνδεδεμένα μεταξύ τους άκρα, το οποίο βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου, ενώ το ευκαρυωτικό γονιδίωμα *απαρτίζεται από πολλά γραμμικά τεμάχια DNA*, οργανωμένα σε *χωριστά χρωμοσώματα στον κυτταρικό πυρήνα*. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, όμως, τα χρωμοσώματα *εδράζονται στο εσωτερικό του πυρήνα*, ενώ τα ριβοσώματα στο *κυτταρόπλασμα*, με αποτέλεσμα η μεταγραφή να είναι χωρικά *διακριτή από τη μετάφραση*.

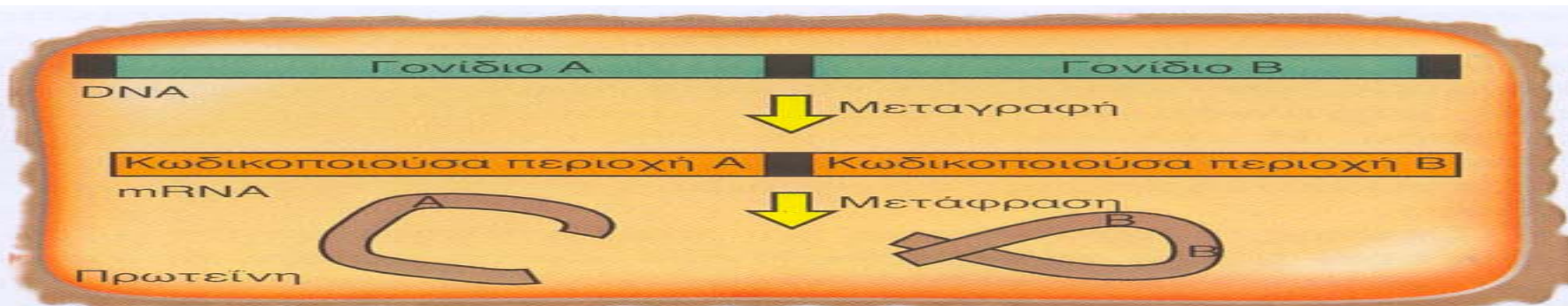
Για όλους τους τύπους κυττάρων, ο ορισμός του γονιδίου είναι ο ίδιος : -

**πρόκειται για ένα τμήμα DNA το οποίο καθορίζει μια πρωτεΐνη (μέσω ενός mRNA), ένα tRNA, ή ένα rRNA. Ωστόσο στους ευκαρυώτες, τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες είναι συχνά διασπαρμένα σε δύο ή περισσότερες κωδικοποιούσες περιοχές, οι οποίες διαχωρίζονται μεταξύ τους από μη κωδικοποιούσες περιοχές. Οι κωδικοποιούσες περιοχές ονομάζονται **εξώνια**, και οι παρεμβαλλόμενες μη κωδικοποιούσες **εσώνια** (ή **ιντρόνια**). Τόσο οι περιοχές των εσώνιων όσο και των εξωνίων μεταγράφονται σε ένα πρωτοταγές μεταγράφημα, ή **προ-mRNA**, ενώ το λειτουργικό mRNA σχηματίζεται στη συνέχεια με την απομάκρυνση των μη κωδικοποιούντων περιοχών.**

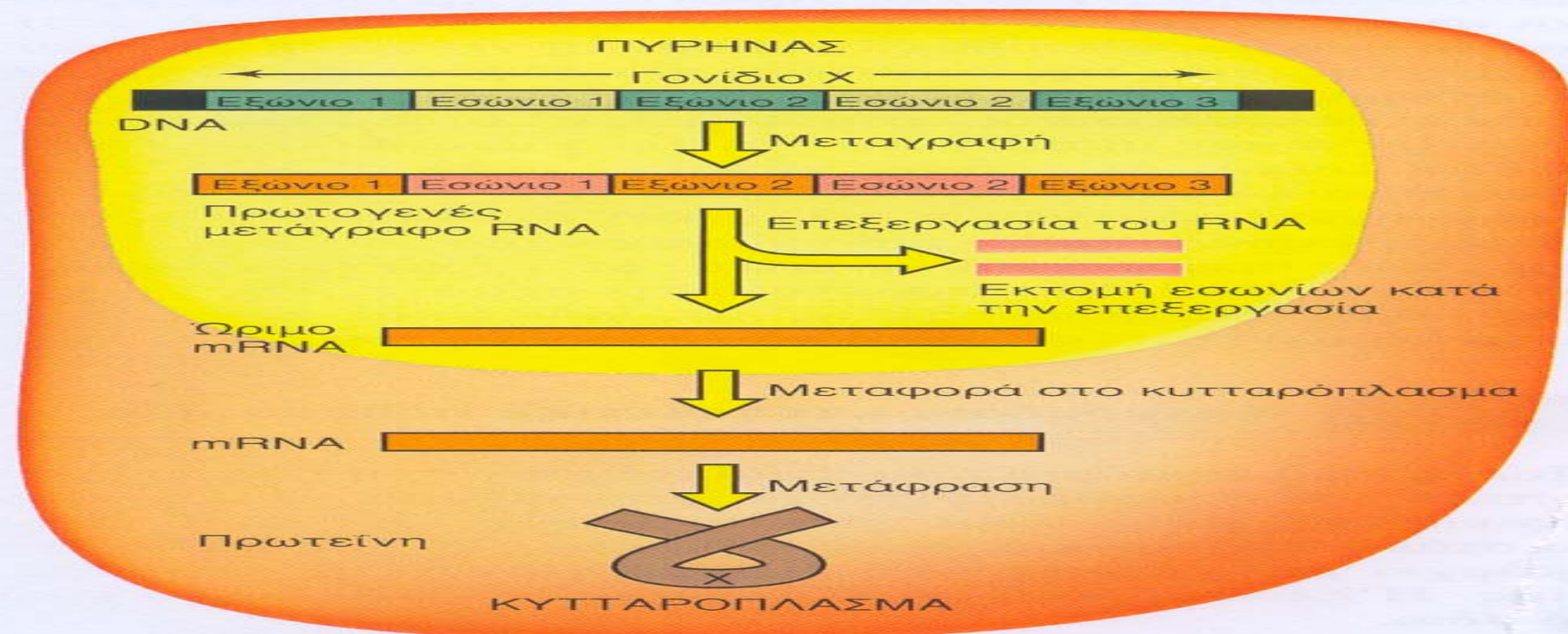
Η Εικόνα 7.2 αντιπαραβάλλει τις διαφορές μεταξύ αυτών των γενετικών φαινομένων μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών.

### **Δομή του DNA: Η διπλή έλικα**

Στο DNA απαντούν μόνο τέσσερα διαφορετικά είδη βάσεων των νουκλεϊκών οξέων : η αδενίνη(A), η γουανίνη (G), η κυτοσίνη (C) και η θυ-



(α) Προκαρυώτης



(β) Ευκαρυώτης

**Εικόνα 7.2** Αντιπαραβολή των διαδικασιών μεταφοράς της πληροφορίας σε προκαρυώτες και ευκαρυώτες. (α) Προκαρυώτης. Συχνά ένα μόριο RNA περιέχει περισσότερες από μία κωδικοποιούσες περιοχές (αυτού του είδους τα mRNA ονομάζονται *πολυκιστρονικά*). (β) Ευκαρυώτης. Οι μη κωδικοποιούσες περιοχές (*εσώνια* ή *ιντρόνια*) αφαιρούνται από το πρωτογενές μετάγραφο RNA πριν από τη μετάφραση. Τα mRNA των ευκαρυωτών είναι σχεδόν πάντοτε *μονοκιστρονικά*. Σημειώστε ότι οι δύο τύποι κυττάρων δεν αναπαρίστανται στην ίδια κλίμακα. Ένα τυπικό προκαρυωτικό κύτταρο έχει διάμετρο 1 έως 2 μm, ενώ ένα τυπικό ευκαρυωτικό (ζωικό) κύτταρο έχει διάμετρο περίπου 25 μm (Εικόνα 2.3)

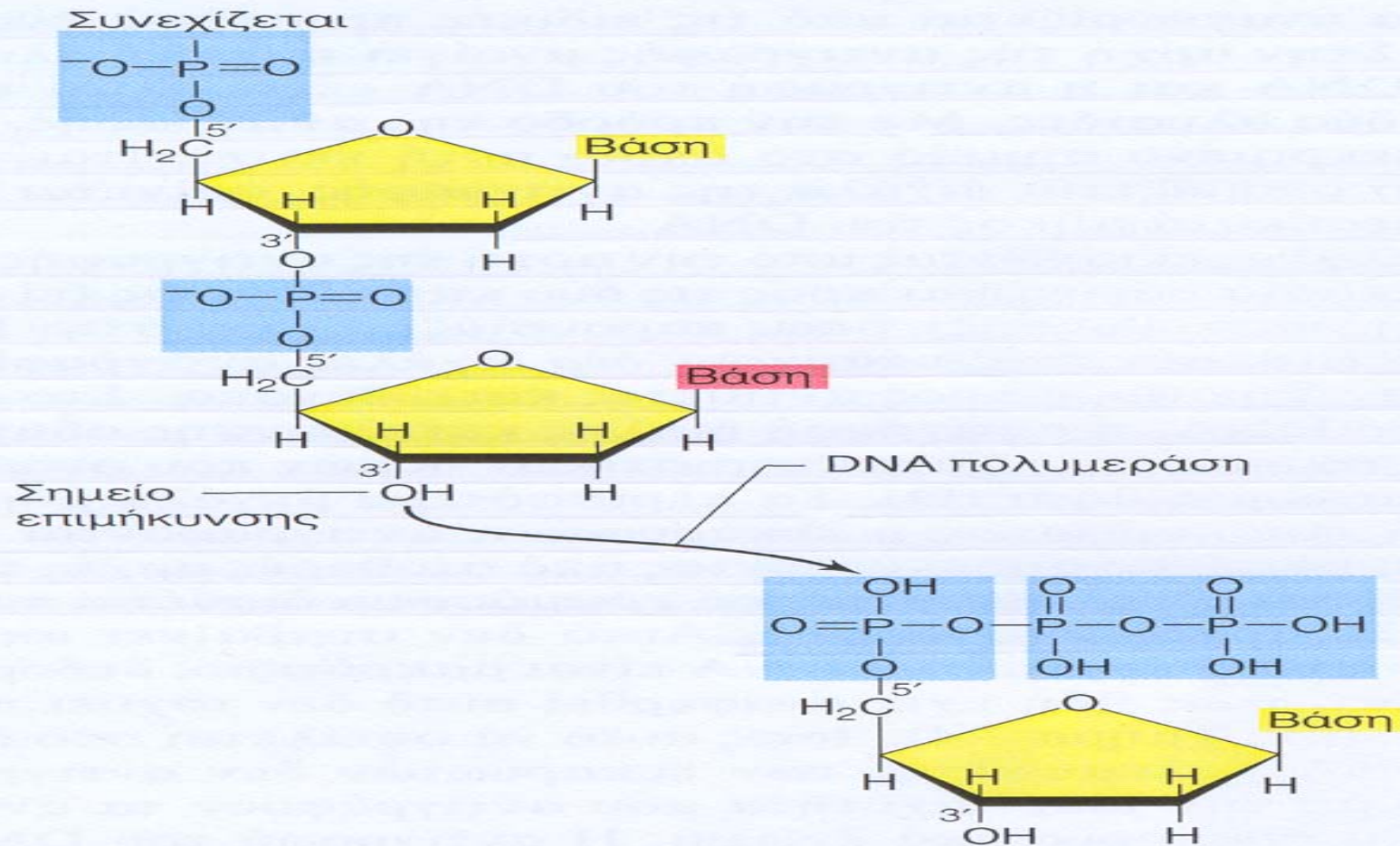
μίνη (Τα). Ο σκελετός μιας αλυσίδας DNA συνίσταται από εναλλασσόμενες μονάδες φωσφορικών καταλοίπων και του σακχάρου δεοξυριβόζη· κάθε βάση νουκλεϊκού οξέος είναι συνδεδεμένη με ένα σάκχαρο. Το φωσφορικό κατάλοιπο που συνδέει δύο σάκχαρα εκτείνεται από το 3' -άτομο άνθρακα του ενός σακχάρου έως το 5' - άτομο άνθρακα του διπλανού σακχάρου (βλ. Εικόνα 7.14). Το σάκχαρο που βρίσκεται στο ένα άκρο του μορίου DNA φέρει μία φωσφορική ομάδα στο 5' -υδροξυλικό άκρο, ενώ το σάκχαρο του άλλου άκρου (του μορίου DNA) φέρει στην 3' -θέση ένα ελεύθερο υδροξύλιο.

### **Το DNA ως διπλή έλικα**

**Στα χρωμοσώματα όλων των κυτταρικών οργανισμών το DNA υφίσταται ως μια δομή αποτελούμενη από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, που η αλληλουχία των βάσεων τους είναι συμπληρωματική (της μιας προς την άλλη).**

**Η συμπληρωματικότητα των αλυσίδων του DNA προέρχεται από την εκλεκτική ζεύξη των πουρινών με τις πυριμιδίνες:**





**Εικόνα 7.14** Η δομή της αλυσίδας του DNA και ο μηχανισμός επιμήκυνσής της, μέσω προσθήκης στο άκρο 3' της αλυσίδας τμήματος του τριφωσφορικού δεοξυριβονουκλεοσιδίου. Η επιμήκυνση συντελείται πάντοτε από την 5'-φωσφορική ομάδα προς την 3'-υδροξυλομάδα. Το ένζυμο DNA πολυμεράση είναι αυτό που καταλύει την αντίδραση προσθήκης. Τα τέσσερα δεοξυριβονουκλεοτίδια που χρησιμεύουν ως πρόδρομες ενώσεις είναι η τριφωσφορική δεοξυθυμιδίνη (dTTP), η τριφωσφορική δεοξαδενοσίνη (dATP), η τριφωσφορική δεοξυγουανοσίνη (dGTP) και η τριφωσφορική δεοξυκυτιδίνη (dCTP). Οι δύο ακραίες φωσφορικές ομάδες των τριφωσφορικών αποκόπτονται ως μόρια πυροφωσφορικού (PP<sub>i</sub>). Συνεπώς, για την προσθήκη ενός και μόνο νουκλεοτιδίου δαπανάται η ενέργεια δύο φωσφορικών δεσμών μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου.

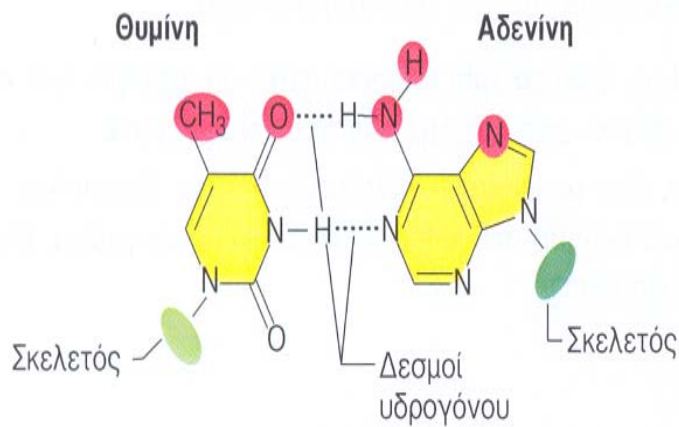
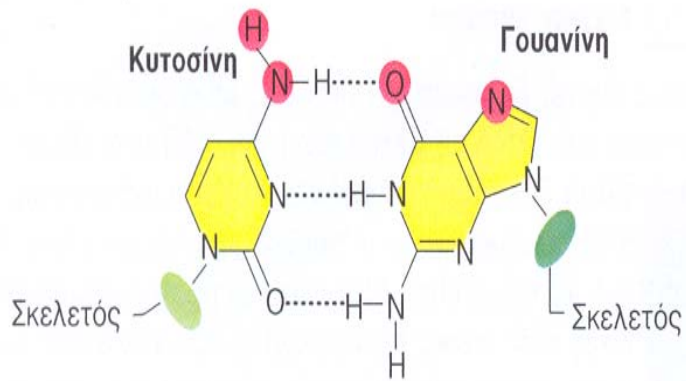
η αδερίνη σχηματίζει ζεύγη πάντοτε με τη θυμίνη και η γουανίνη πάντοτε με την κυτοσίνη (βλ. Εικόνα 7.4).

Αυτό σημαίνει ότι οι δύο αλυσίδες διατάσσονται έτσι, ώστε η αρχή της κάθε μίας να άπτεται του τέλους της άλλης.

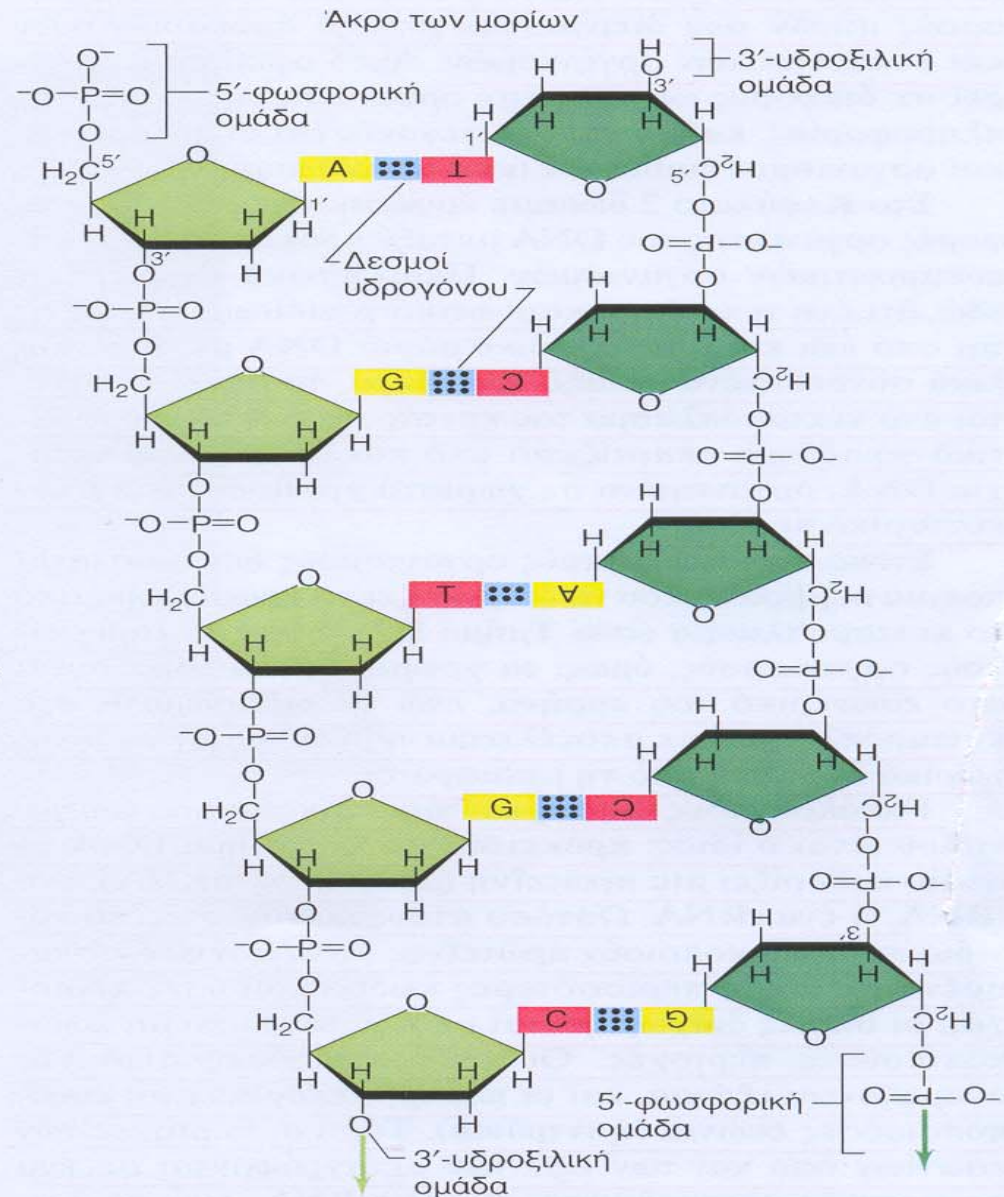
Στην Εικόνα 7.4, η αριστερή αλυσίδα είναι διατεταγμένη με κατεύθυνση 5' -προς- 3' από την κορυφή προς τη βάση, ενώ η άλλη αλυσίδα με κατεύθυνση 5' -προς- 3' από τη βάση προς την κορυφή. Οι δύο αλυσίδες τυλίγονται η μία γύρω από την άλλη, σχηματίζοντας μια διπλή έλικα (Εικόνα 7.5).

Σε αυτή τη δομή, το DNA σχηματίζει δύο διαφορετικές αύλακες, τη μείζονα και την ελάσσονα. Οι περισσότερες από τις πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν ειδικά με το DNA δεσμεύονται κυρίως στη μείζονα αύλακα, όπου υπάρχει σημαντικά μεγαλύτερος χώρος.

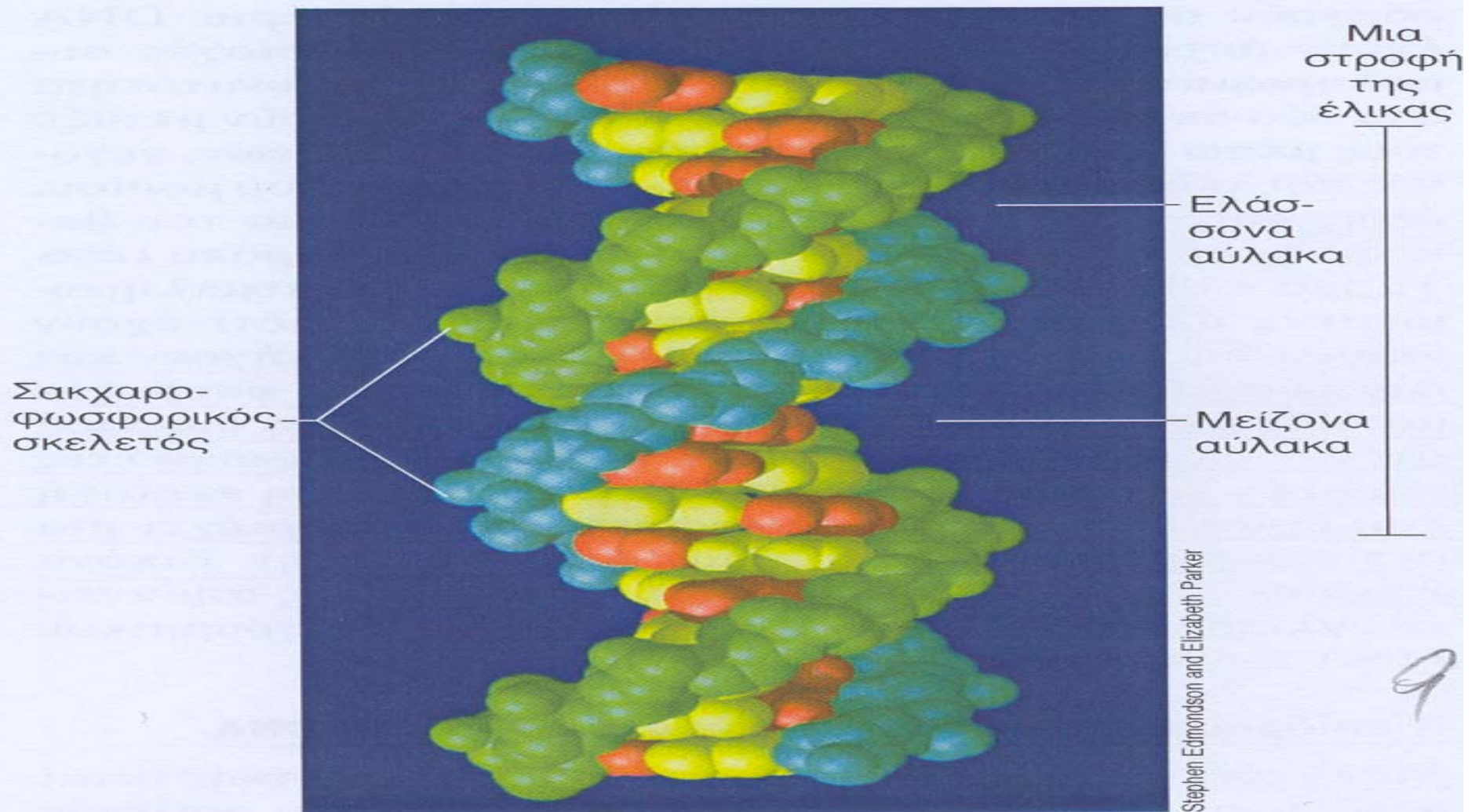
Λόγω της κανονικότητας που χαρακτηρίζει τη δομή της διπλής έλικας, ορισμένα άτομα των βάσεων βρίσκονται πάντοτε εκτεθειμένα στη μείζονα αύλακα (και ορισμένα άλλα πάντοτε στην ελάσσονα). Το μέγεθος ενός μορίου DNA μπορεί να εκφραστεί με βάση το μοριακό βάρος



**Εικόνα 7.3** Απεικόνιση της επιλεκτικής ζεύξης μεταξύ αδενίνης (A) και θυμίνης (T) και μεταξύ γουανίνης (G) και κυτοσίνης (C), μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Αυτά τα δύο ζεύγη βάσεων είναι τα ζεύγη που απαντούν κατά κανόνα στο δίκλωνο DNA. Τα άτομα που βρίσκονται στην μείζονα αύλακα της διπλής έλικας και που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες, επισημαίνονται με κόκκινο χρώμα. Επισημαίνεται επίσης ο σακχαροφωσφορικός σκελετός των δύο αλυσίδων του DNA.



**Εικόνα 7.4** Η δομή του DNA. Η συμπληρωματική και αντιπαράλληλη φύση του DNA. Σημειώστε ότι η μία αλυσίδα καταλήγει σε μια 5'-φωσφορική ομάδα, ενώ η άλλη, σε μια 3'-υδροξυλική ομάδα. Οι βάσεις με κόκκινο χρώμα αντιπροσωπεύουν τις πυριμιδίνες, κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T), και οι βάσεις με κίτρινο χρώμα τις πουρίνες, αδενίνη (A) και γουανίνη (G).



**Εικόνα 7.5** Υπολογιστικό μοντέλο ενός μικρού τμήματος DNA, που παρουσιάζει τη συνολική διάταξη της διπλής έλικας. Ο ένας σακχαροφωσφορικός σκελετός παρουσιάζεται με κυανό και ο άλλος με πράσινο χρώμα. Οι βάσεις πυριμιδίνης υποδηλώνονται με κόκκινο χρώμα και οι πουρίνες με κίτρινο. Σημειώστε τις θέσεις της μείζονος και της ελάσσονος αύλακας. Η σύνθεση του μοντέλου έγινε με τη χρήση λογισμικού του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικών Υπολογιστικών Γραφικών, του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας στο San Francisco.

του, αλλά επειδή το κάθε νουκλεοτίδιο έχει μοριακό βάρος περίπου 330, και επειδή τα μόρια DNA αποτελούνται από πολλά νουκλεοτίδια, το μοριακό τους βάρος φθάνει σε πολύ μεγάλους αριθμούς. (Για παράδειγμα, το μοριακό βάρος των νουκλεϊνικών οξέων που περιέχονται ακόμη και σε μικρούς ιούς, μπορεί να ανέλθει σε εκατομμύρια, ενώ εκείνο του DNA των κυττάρων σε δισεκατομμύρια).

**Κάθε ζεύγος βάσεων καταλαμβάνει στην έλικα χώρο μήκους 0,34 νανομέτρων (nm), και κάθε στροφή της έλικας περιέχει 10 ζεύγη βάσεων. Συνεπώς, μία κιλοβάση του DNA περιέχει 100 στροφές και έχει μήκος 0,34 μικρομέτρων ( $\mu\text{m}$ ).**

Ας σημειωθεί ότι, σε αντίθεση με το μοριακό βάρος, το οποίο σχετίζεται με τη μάζα, η μέτρηση των νουκλεϊκών οξέων σε αριθμό περιεχόμενων βάσεων, ή ζευγών βάσεων, συνιστά μέτρηση του μήκους των μορίων αυτών. Συνεπώς, οι μοριακοί βιολόγοι χρησιμοποιούν τη σύντμηση kb του όρου *κιλοβάση*, για να περιγράψουν το μήκος ενός μορίου, είτε αυτό είναι δίκλωνο είτε είναι μονόκλωνο.

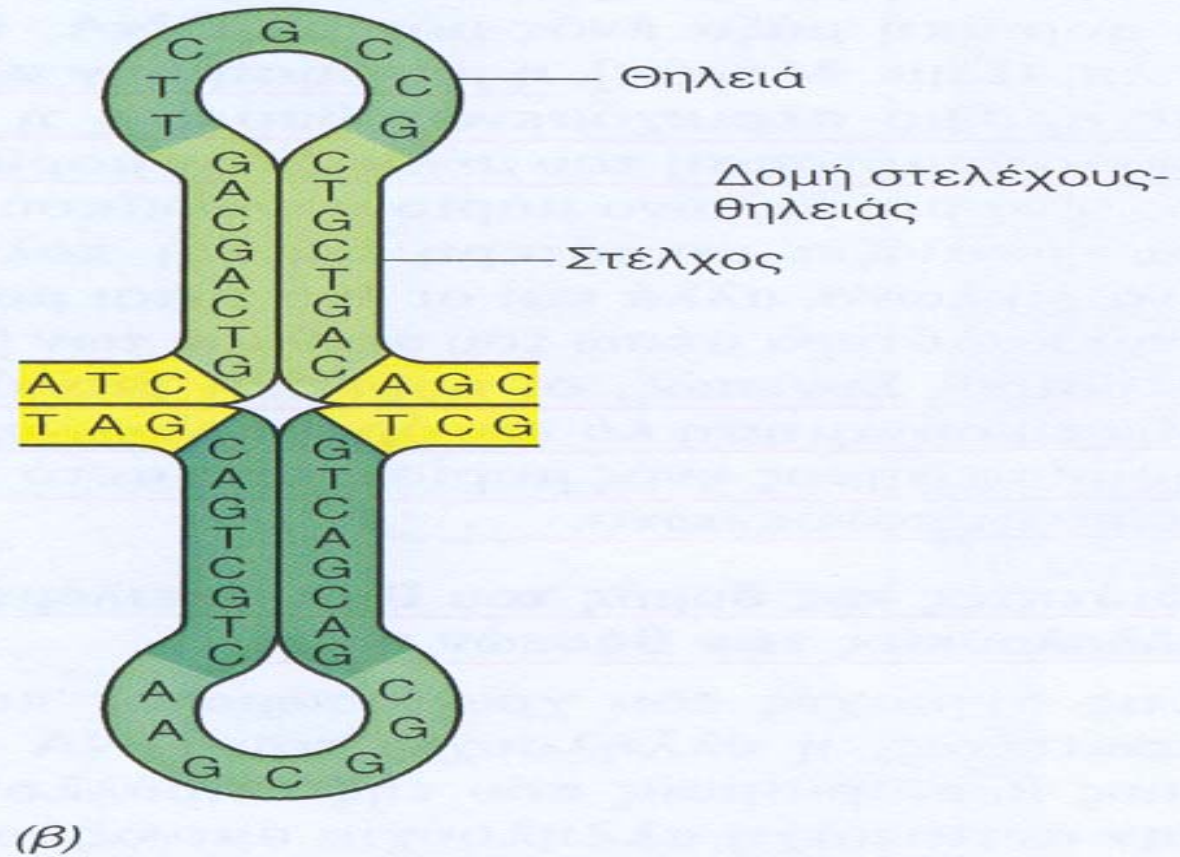
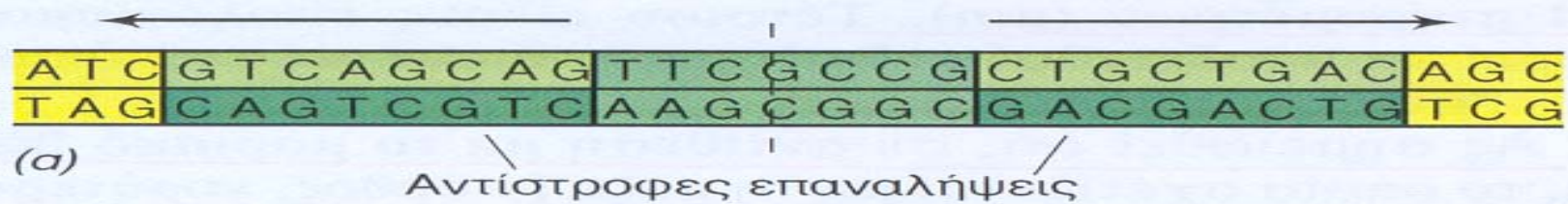
## Ιδιότητες της δομής του DNA οφειλόμενες σε ειδικές αλληλουχίες των βάσεων του

Ορισμένα μικρής έκτασης τμήματα του DNA μπορούν να υποστούν κάμψη από πρωτεΐνες που αλληλεπιδρούν με αυτά. Ωστόσο, συγκεκριμένες αλληλουχίες προκαλούν από μόνες τους την κάμψη του DNA. Οι αλληλουχίες ενός τέτοιου **κεκαμμένου DNA** περιέχουν συνήθως πολλαπλές επαναλήψεις από πέντε ή έξι αδερίνες (στην ίδια αλυσίδα), μεταξύ των οποίων παρεμβάλλονται τέσσαρες ή πέντε άλλες βάσεις. Στα μόρια DNA απαντούν συχνά μικρές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες. Πολλές πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με περιοχές του DNA οι οποίες περιέχουν επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που όμως επαναλαμβάνονται με αντίστροφη κατεύθυνση η μία ως προς την άλλη. Αυτός ο τύπος επανάληψης ονομάζεται **αντίστροφη επανάληψη**. Οι αντίστροφες επαναλήψεις προσδίδουν στο DNA διπλή συμμετρία. Όπως φαίνεται στην εικόνα 7.6, δύο γειτονικές αντίστροφες επαναλήψεις θα μπορούσαν θεω-

ρητικά να οδηγήσουν στον σχηματισμό, στο DNA, μιας δομής **στελέχους-θηλειάς**. Συνεπώς, ορισμένες αντίστροφες επαναλήψεις που ενίοτε απαντούν σε μεταγραφόμενα τμήματα DNA θα μπορούσαν να είναι σημαντικές λόγω των δομών στελέχους-θηλειάς που θα υφίστανται στο RNA. Τέτοιες *δευτεροταγείς δομές* που σχηματίζονται μέσω ζεύξης βάσεων στο εσωτερικό ενός μονόκλωνου μορίου νουκλεϊκού οξέος, είναι εξαιρετικά σημαντικές τόσο για το μεταφορικό RNA όσο και για το ριβοσωματικό RNA. Μερικά μόρια DNA καταλήγουν και στα δύο άκρα τους σε δομή **φουρκέτας**. Μια φουρκέτα μοιάζει με τη δομή στελέχους-θηλειάς, με τη διαφορά ότι δεν υπάρχει σχεδόν καθόλου θηλειά. Οι φουρκέτες μπορούν να σχηματιστούν από μια μονόκλωνη περιοχή που βρίσκεται στο άκρο ενός μορίου και περιέχει μια αντίστροφη επανάληψη, όπως φαίνεται στην Εικόνα 7.8.

### **Η επίδραση της θερμοκρασίας στη δομή του DNA.**

Μολονότι ο κάθε υδρογονικός δεσμός που υφίσταται μεταξύ των βάσε-



**Εικόνα 7.6** Οι αντίστροφες επαναλήψεις και ο σχηματισμός δομής στελέχους-θηλειάς. (α) Γειτνιάζουσες αντίστροφες επαναλήψεις σε μόριο DNA. Τα βέλη υποδεικνύουν τη συμμετρία περί τον νοητό άξονα (στικτή ευθεία γραμμή). (β) Σχηματισμός δομών στελέχους-θηλειάς (σταυροειδών δομών) μέσω της ζεύξης συμπληρωματικών βάσεων της ίδιας αλυσίδας.

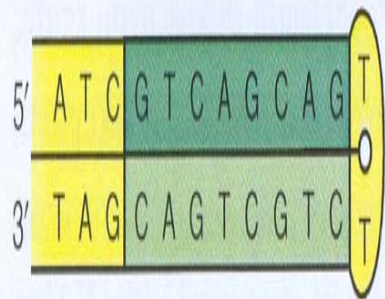
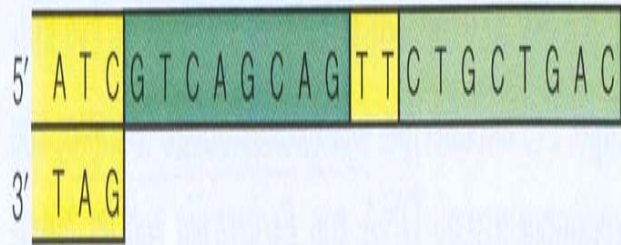


ων ενός ζεύγους είναι πολύ ασθενής, πολλοί τέτοιοι δεσμοί επαρκούν για να συγκρατήσουν ενωμένες τις αλυσίδες ενός τυπικού μορίου DNA. Ανάλογα με τον αριθμό των ζευγών βάσεων που συνιστούν ένα μόριο, μπορεί σε αυτό να υφίστανται εκατομμύρια ή ακόμη και εκατοντάδες εκατομμύρια δεσμοί υδρογόνου. Υπενθυμίζεται ότι, όπως φαίνεται και στην Εικόνα 7.3, κάθε ζεύγος αδενίνης-θυμίνης σχηματίζει δύο τέτοιους δεσμούς, ενώ κάθε ζεύγος γουανίνης-κυτοσίνης σχηματίζει τρεις. Αυτό καθιστά τα ζεύγη GC ισχυρότερα από τα ζεύγη AT. Εάν αυξηθεί η θερμοκρασία, οι δεσμοί υδρογόνου θα διαρραγούν, ενώ οι ομοιοπολικοί δεσμοί που συγκρατούν τα μόρια της κάθε διαφορετικής αλυσίδας θα παραμείνουν άθικτοι, συνεπώς οι δύο αλυσίδες του DNA θα διαχωριστούν. Αυτή η διαδικασία ονομάζεται γενικά *τήξη* και μπορεί να μετρηθεί πειραματικά, επειδή τα μονόκλινα νουκλεϊκά οξέα διαφέρουν από τα δίκλινα ως προς την ικανότητα απορρόφησης υπεριώδους φωτός συγκεκριμένων μηκών κύματος, ακόμη και όταν έχουν την ίδια άλλη-

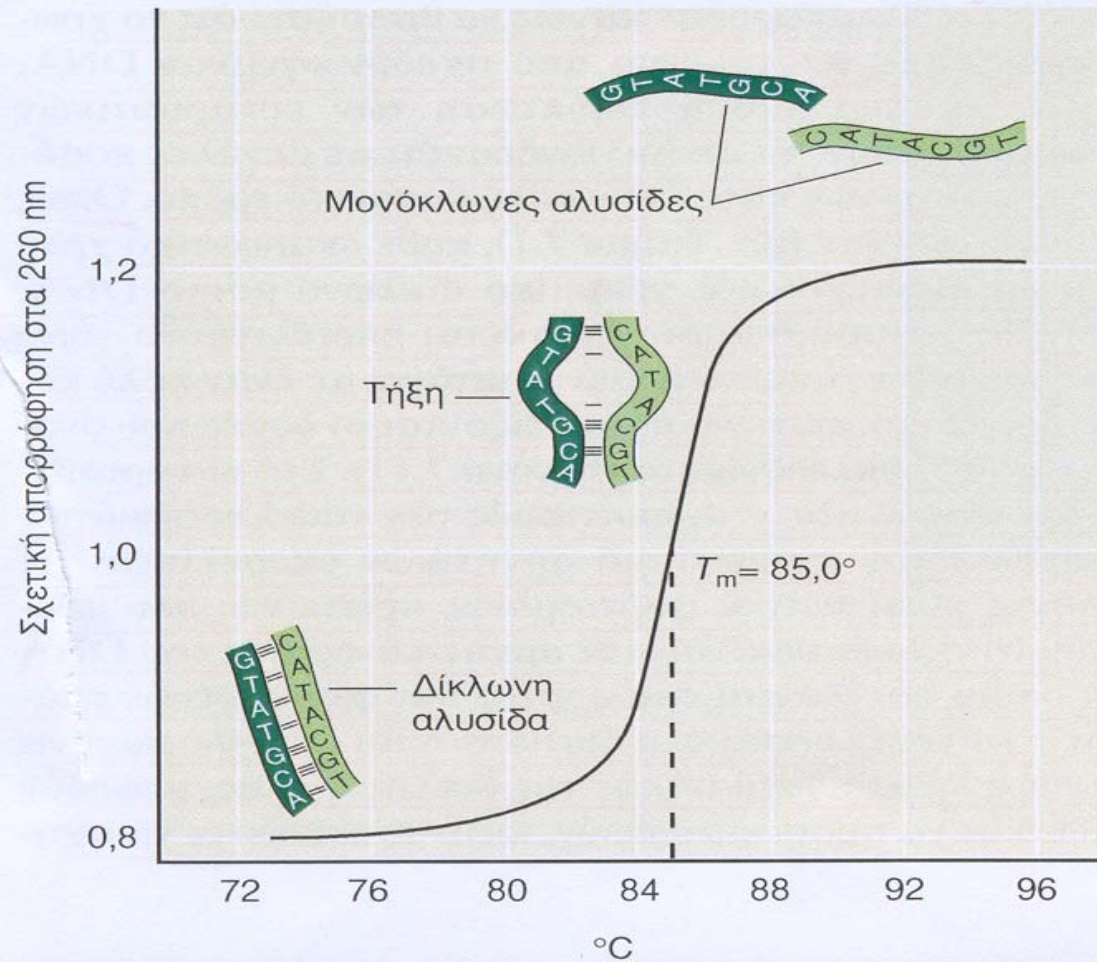
λουχία (Εικόνα 7.9). Τα μόρια του DNA που συνίστανται από μεγάλο αριθμό ζευγών GC τήκονται σε υψηλότερες θερμοκρασίες απ' ό,τι μόρια περίπου ίδιου μήκους, που αποτελούνται από μεγαλύτερο αριθμό ζευγών AT. Εάν επιτρέψουμε στο θερμανθέν DNA να ψυχθεί αργά, τότε θα σχηματιστεί ξανά το δίκλωνο DNA. Παρουσιάζει ενδιαφέρον το ότι μια τέτοια διαδικασία μπορεί να οδηγήσει τόσο στον σχηματισμό των φυσικών μορίων όσο και στον σχηματισμό *υβριδικών* μορίων, των οποίων η κάθε αλυσίδα προέρχεται από διαφορετική πηγή. Η **υβριδοποίηση**, δηλαδή η τεχνητή κατασκευή δίκλωνων μορίων νουκλεϊκού οξέος από δύο διαφορετικά μονόκλιωνα μόρια, μέσω της ζεύξης συμπληρωματικών βάσεων, αποτελεί μια εξαιρετικά αποτελεσματική και χρήσιμη τεχνική.

### **Δομή του DNA: Υπερελίκωση**

Ένα *χαλαρό* μόριο DNA είναι ένα μόριο του οποίου η διπλή έλικα εμφανίζει ακριβώς εκείνο τον αριθμό σπειρών που προβλέπεται βάσει του



**Εικόνα 7.8** Δομή φουρκέτας στο ένα άκρο γραμμικού μορίου DNA. Εάν το γραμμικό DNA ήταν εξ ολοκλήρου δίκλωνο, οι αλληλουχίες που υποδηλώνονται με πράσινο χρώμα θα συνιστούσαν αντίστροφες επαναλήψεις.



**Εικόνα 7.9** Η θερμική αποδιάταξη του DNA. Το DNA απορροφά τόσο περισσότερο υπεριώδες φως όσο περισσότερο αποδιάτάσσεται η διπλή έλικα. Η μετάβαση από τη δίκλωνη στη μονόκλωνη κατάσταση είναι ένα ιδιαίτερο αιφνίδιο συμβάν. Το θερμοκρασιακό σημείο στο μέσο της φάσης της μετάβασης, το  $T_m$ , εξαρτάται ευθέως από τη περιεκτικότητα του DNA σε GC. Το αποδιατεταγμένο DNA μπορεί να αναδιαταχθεί μέσω βραδείας ψύξης, αλλά η διαδικασία αυτή δεν ακολουθεί την ίδια καμπύλη. Η αναδιάταξη βαίνει προοδευτικά προς την ολοκλήρωσή της σε θερμοκρασίες πολύ μικρότερες του  $T_m$ , αλλά και τότε, ύστερα από σημαντικά μεγαλύτερο χρόνο επώασης.

αριθμού ζευγών βάσεων από τις οποίες αυτό συνίσταται. Ένα παράδειγμα τέτοιου μορίου παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.10. εάν υπολογίσουμε το μήκος του χρωμοσωματικού DNA του *Escherichia coli* θα διαπιστώσουμε ότι αυτό υπερβαίνει το 1mm, δηλαδή είναι περίπου **500 φορές μακρύτερο από το μήκος ενός κυττάρου *E. coli***. Πώς επιτυγχάνεται λοιπόν η «συσκευασία» τόσο μεγάλων DNA σε τόσο μικρό χώρο; Η λύση δίνεται με την *υπερέλικωση* (ή *υπερσπείρωση*).

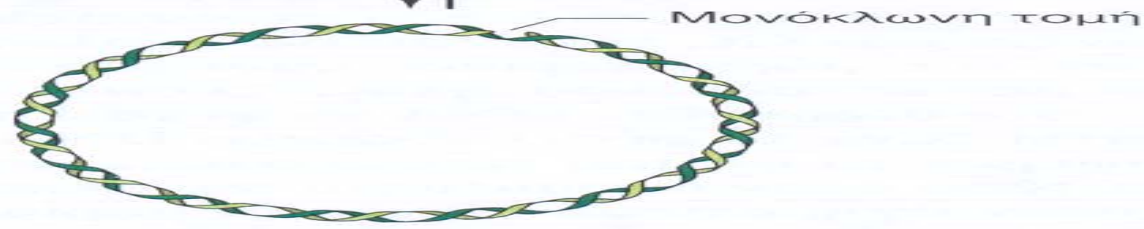
### **Το υπερελικωμένο DNA**

Υπερέλικωση ονομάζεται η κατάσταση κατά την οποία τα δίκλινα μόρια DNA είναι συνεστραμμένα περαιτέρω. Η εικόνα 7.10 περιγράφει πώς μπορεί αυτό να επιτευχθεί με ένα κυκλικό δίκλινο DNA. Η υπερέλικωση θέτει ένα μόριο DNA υπό μηχανική τάση λόγω στρέψης. Το DNA μπορεί να υπερελικωθεί είτε κατά τη *θετική* είτε κατά την *αρνητική* φορά. Η **αρνητική υπερέλικωση** προκύπτει όταν το DNA συστρέφεται περί τον άξονά του προς κατεύθυνση *αντίθετη* αυτής που έχει η



(α) Χαλαρό, ομοιοπολικά κλειστό κυκλικό μόριο DNA

Θραύση μίας αλυσίδας ↓ ↑ Σύνδεση άκρων

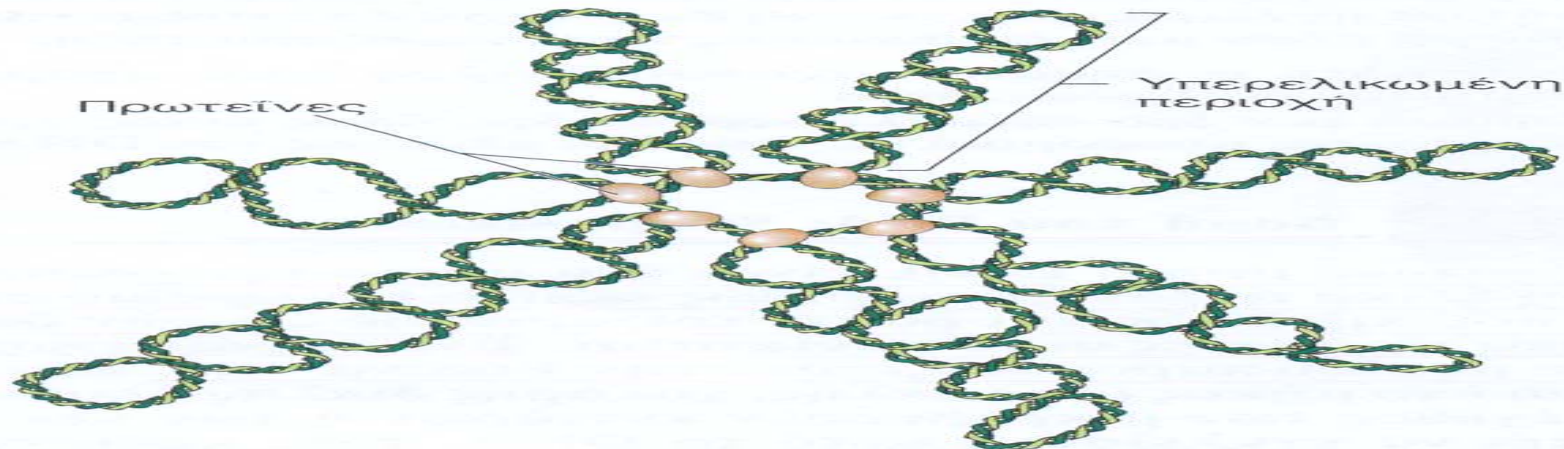


(β) Χαλαρό, κυκλικό μόριο DNA, με μονόκλωνη τομή

Θραύση μίας αλυσίδας ↑ ↓ Περιστροφή του ενός άκρου της κομμένης αλυσίδας γύρω από την έλικα και δεσμοποίηση



(γ) Υπεροπτερωμένο κυκλικό μόριο DNA

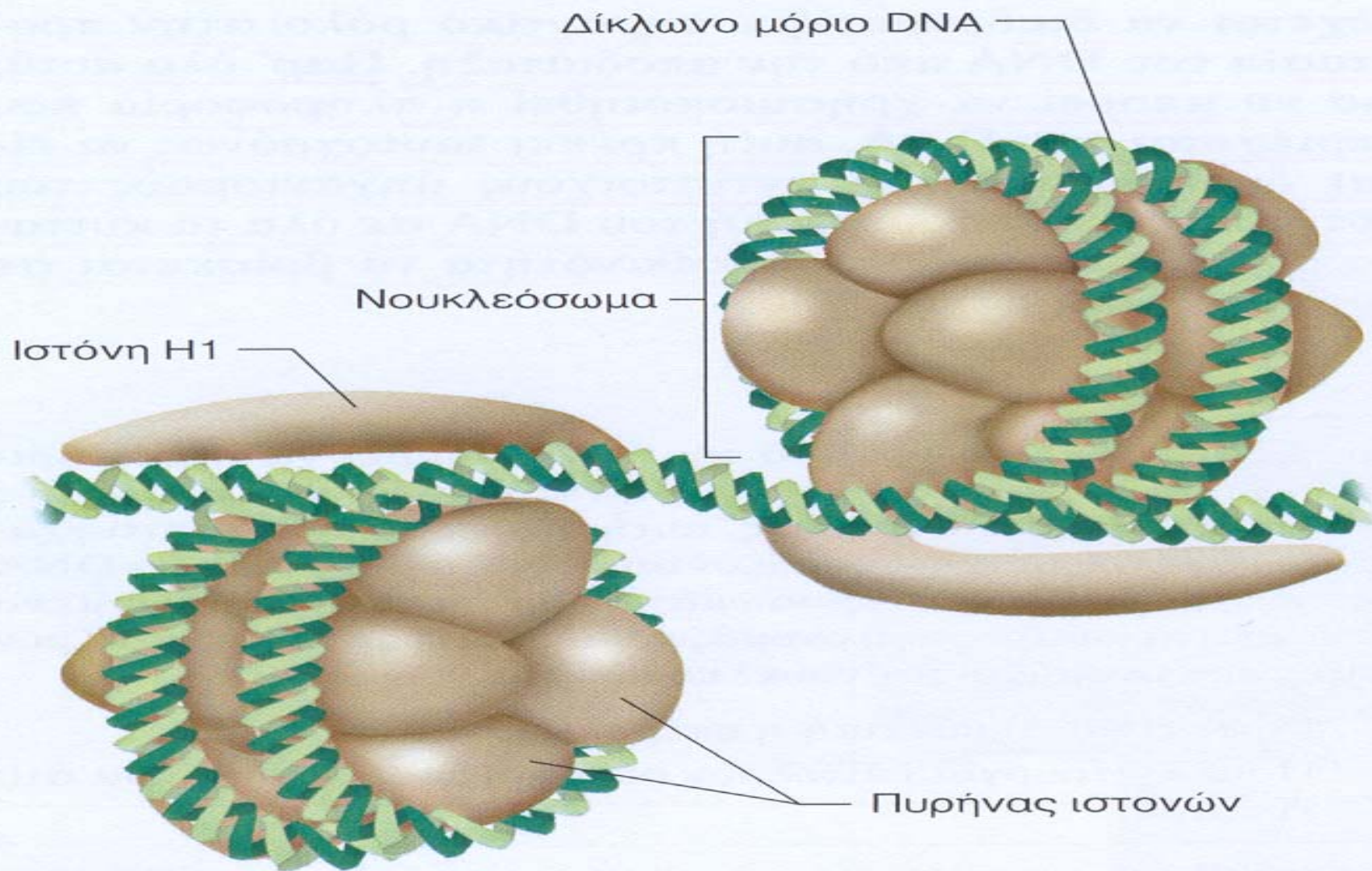


(δ) Χρωμασματικό DNA με υπερελικωμένες περιοχές

**ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ** Το υπερελικωμένο DNA, το φέρει το ζευγάρι πρωτεϊνών του μορίου όπως απεικονίζεται κυκλικό DNA και άλλα μοριακά άκρα του σε χαλαρό, μονόκλωνη τετρημένο DNA. Μονόκλωνη τομή του DNA είναι η διακοπή της μιας από τις δύο αλυσίδες σε ένα σημείο της αλυσίδας της ίδιας έλικας. (β) Στην πρόνευστικότητα, το ελικωμένο DNA του βακτηριακού χρωμοσώματος είναι διατεταγμένο σε αρκετές υπερελικωμένες περιοχές όπως φαίνεται και δεν έχει τη μορφή ενός απλού κυκλικού μορίου. Στο **χρωματικό DNA** το υλικό του υπερελικωμένου DNA από τα υπερελικωμένες περιοχές καθορίζεται από τις οποίες σταθεροποιείται μέσω δεσμοποίησης με ειδικές πρωτεΐνες.

**δεξιόστροφη δίκλωνη έλικά. Στη φύση, το υπερελικωμένο DNA απαντά κυρίως υπ' αυτή τη μορφή.**

Μολονότι το DNA των προκαρυωτών συνδέεται με πρωτεΐνες, θα μπορούσε κανείς να θεωρήσει ότι το χρωμόσωμά τους αποτελείται από σχεδόν «γυμνό» DNA. Αυτό δεν ισχύει στη περίπτωση των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων, τα οποία συνδέονται με μεγάλες ποσότητες πρωτεϊνών κατά έναν πολύ κανονικό τρόπο. Όπως προαναφέρθηκε, κάθε ευκαρυωτικό χρωμόσωμα περιέχει ένα γραμμικό δίκλωνο μόριο DNA. Αυτό το γραμμικό μόριο βρίσκεται περιελιγμένο γύρω από πρωτεΐνες αποκαλούμενες **ιστόνες** με έναν πολύ κανονικό τρόπο, ώστε να σχηματίζονται οι δομές που ονομάζονται **νουκλεοσώματα** (Εικόνα 7.11). Στα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα, ο σχηματισμός των νουκλεοσωμάτων προκαλεί τον σχηματισμό αρνητικών υπερελίκων. **Οι ιστόνες είναι θετικά φορτισμένες πρωτεΐνες που μπορούν να εξουδετερώσουν τα αρνητικά φορτία του DNA (τα οποία οφείλονται στα φορτία των φωσφορικών ομάδων).**



**Εικόνα 7.11** «Πακετάρισμα» του DNA γύρω από έναν πυρήνα πρωτεϊνών ιστονών, που οδηγεί στον σχηματισμό νουκλεοσώματος. Τα νουκλεοσώματα διατάσσονται κατά μήκος ενός μορίου DNA, όπως οι χάντρες σε ένα περιδέραιο. Αυτή η διάταξη είναι η τυπική διάταξη του DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων.

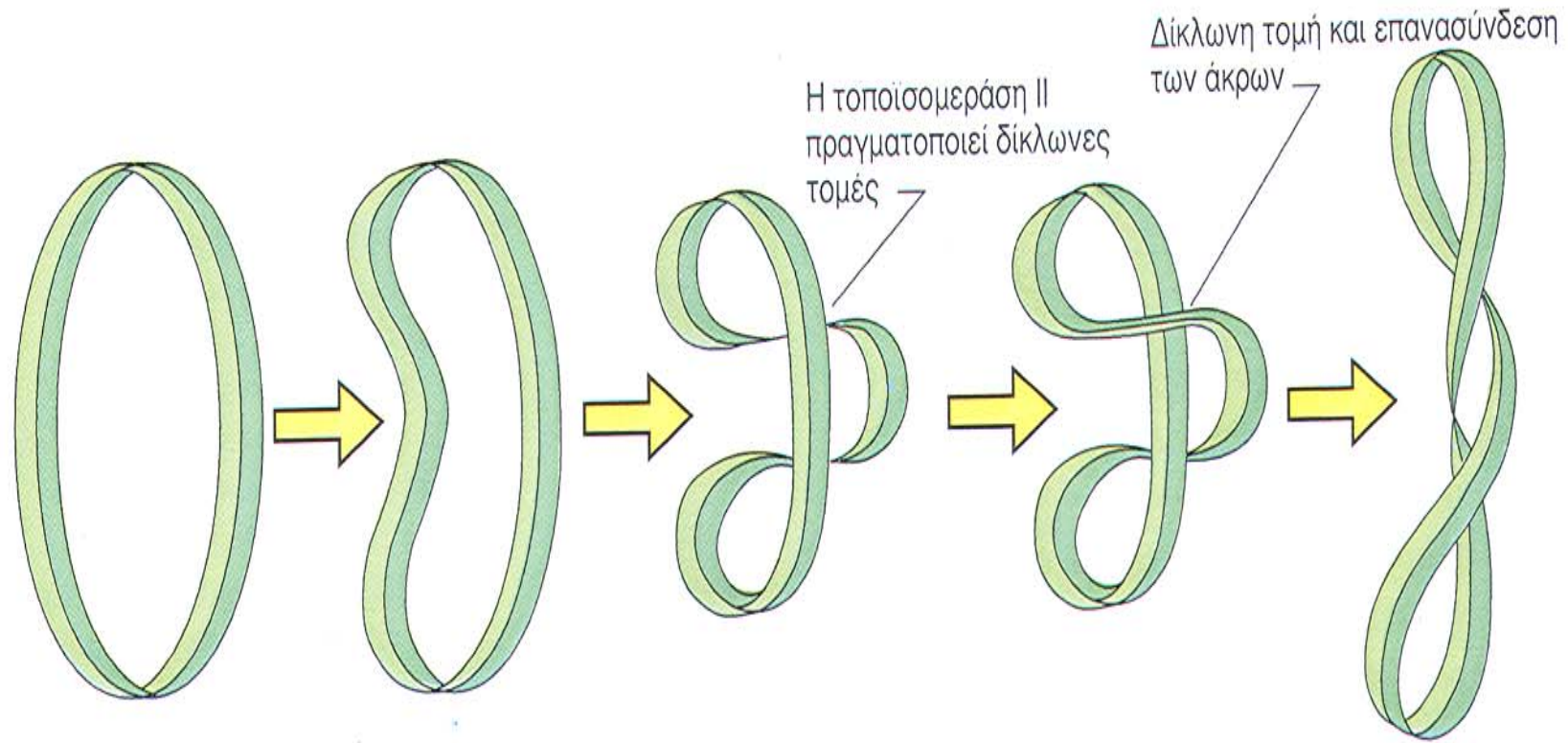
Τα νουκλεοσώματα διατάσσονται σε πολύ κανονικά διαστήματα κατά μήκος της διπλής έλικας, μπορούν όμως και να συσσωματωθούν, κατά τρόπο ώστε να σχηματίζεται ένα ινώδες υλικό που ονομάζεται *χρωματίνη* (chromatin). Η χρωματίνη μπορεί να διαμορφώσει τελικά μια πολύ συμπαγή δομή. Αυτές οι συμπαγείς δομές είναι οι πλέον ευδιάκριτες κατά τη κυτταρική διαίρεση.

### Τοποϊσομεράσες

Στα *Βακτήρια* (*Ευβακτήρια*) και στα περισσότερα *Αρχαία* υπάρχει ένα ένζυμο που ονομάζεται **γυράση του DNA** (ή *DNA γυράση*) και εισάγει σε αυτό αρνητικές υπερέλικες.

Θεωρείται ότι η διαδικασία αυτή λαμβάνει χώρα σε πολλαπλά στάδια (Εικόνα 7.12). Η DNA γυράση είναι μια *τοποϊσομεράση*, και ειδικότερα μια τοποϊσομεράση II. Υπάρχει ένα άλλο ένζυμο, το οποίο έχει την ικανότητα να *εξαλείψει* την υπερελίκωση από το DNA. Το ένζυμο αυτό ονομάζεται *τοποϊσομεράση I*, πραγματο-





1. Χαλαρός κύκλος
2. Ένα τμήμα του κύκλου τοποθετείται πάνω στο άλλο
3. Το αποτέλεσμα είναι η επαφή σε δύο σημεία στην έλικα. Σημειώστε ότι έως τώρα δεν έχει εισαχθεί καμία περιέλιξη
4. Μετά τη δράση της τοποϊσομεράσης II, έχει εισαχθεί μία περιέλιξη (μία αρνητική υπερέλικα)
5. Υπερελικωμένο μόριο DNA

**Εικόνα 7.12** Η δημιουργία υπερελίκωσης σε ένα μόριο κυκλικού DNA μέσω της δράσης του ενζύμου τοποϊσομεράση II, το οποίο δημιουργεί δίκλωνες τομές.

ποιεί μια μονόκλωνη τομή στο DNA και προκαλεί τη περιστροφή της μίας από τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας γύρω από την άλλη. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 7.10, η δημιουργία ενός ρήγματος (μιας **τομής**) στον σκελετό της μίας από τις δύο αλυσίδες επιτρέπει στο DNA να επανέλθει στη χαλαρωμένη κατάσταση. Αυτό ισχύει ανεξαρτήτως του εάν η υπερέλικωση είναι αρνητική ή θετική. Τέτοια ένζυμα απαντούν τόσο στους προκαρυώτες όσο και στους ευκαρυώτες. Το γραμμικό DNA, όπως αυτό των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων, εμποδίζεται από τις πρωτεΐνες που βρίσκονται δεσμευμένες σ' αυτό στο να επανέλθει στη χαλαρωμένη κατάσταση. Για να αποφευχθεί η επάνοδος του συνόλου του βακτηριακού χρωμοσώματος στη χαλαρωμένη κατάσταση κάθε φορά που γίνεται τομή στο DNA του, το χρωμόσωμα περιέχει διάφορες περιοχές υπερέλικωσης, όπως αποδεικνύεται στην Εικόνα 7.10. Έτσι, η τομή του DNA σε μία από τις περιοχές αυτές δεν οδηγεί στη χαλάρωση του DNA των υπολοίπων. Μέσω της δράσης αυτών των τοποϊσομερασών,

το μόριο του DNA μπορεί να μετατρέπεται διαδοχικά σε υπερελικωμένο και χαλαρό. **Επειδή η μεν υπερελίκωση είναι απαραίτητη για τη συσκευασία του DNA στον περιορισμένο χώρο του κυττάρου, η δε χαλάρωση του DNA είναι απαραίτητη για την αντιγραφή του, γίνεται σαφές ότι αυτές οι δύο συμπληρωματικές διαδικασίες διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο όσον αφορά τη συμπεριφορά του DNA στο κύτταρο. Μερικοί προκαρυωτικοί οργανισμοί περιέχουν ένα ένζυμο που ονομάζεται αντίστροφη γυράση. Αυτή η τοποϊσομεράση δημιουργεί στο DNA θετική υπερελίκωση .**

Οι οργανισμοί που περιέχουν αυτό το ένζυμο είναι κατά κύριο λόγο είδη που ανήκουν στα *Αρχαία*, και μάλιστα σε εκείνα που αναπτύσσονται σε υψηλές θερμοκρασίες (υπερθερμόφιλα). Ένα υπερθερμόφιλο *Αρχαίο*, το *Methanothermus fervidus*, περιέχει δομές που μοιάζουν με νουκλεοσώματα, στα οποία το DNA βρίσκεται υπό θετική υπερελίκωση. Η θετική υπερελίκωση που επιτυγχάνεται είτε από την αντίστροφη γυράση είτε με άλλους τρόπους, είναι ένας τρόπος για

να «υπερπεριελιχθεί» το DNA και ενδέχεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία του DNA από την αποδιάταξη. Παρ' όλα αυτά, για να μπορεί να χρησιμοποιηθεί η πληροφορία που περιέχεται στο DNA, αυτή πρέπει ταυτοχρόνως να είναι διαθέσιμη στους αντίστοιχους μηχανισμούς του κυττάρου.

**Συνεπώς, η δομή του DNA σε όλα τα κύτταρα θα πρέπει να βρίσκεται σε δυναμική ισορροπία.**

### **Γενετικά στοιχεία**

Το **γονιδίωμα** είναι το σύνολο των γονιδίων σε ένα κύτταρο ή έναν ιό.

### **Το χρωμόσωμα**




Ο τυπικός προκαρυώτης διαθέτει ένα μοναδικό χρωμόσωμα, το οποίο περιέχει όλα (ή τα περισσότερα) γονίδια που υπάρχουν στο εσωτερικό του κυττάρου του. Οι ευκαρυώτες διαθέτουν πολλαπλά χρωμοσώματα, καθένα από τα οποία αποτελεί τμήμα του γονιδιώματός τους. Το τυπικό προκαρυωτικό χρωμόσωμα είναι ένα κυκλικό μόριο DNA, ενώ το DNA

όλων των γνωστών ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων είναι γραμμικό. Στον Πίνακα 7.2 παρουσιάζονται ο αριθμός, τα μεγέθη και οι στερεοαπεικονίσεις των χρωμοσωμάτων ορισμένων προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών μικροοργανισμών. Στον Πίνακα 7.2 παρουσιάζονται επίσης λίγα παραδείγματα ευκαρυωτικών μικροοργανισμών· όλα περιέχουν γραμμικά μόρια DNA και πολλαπλά χρωμοσώματα. Μια σημαντική διαφορά μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων είναι ότι πολλά από τα ευκαρυωτικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες διακόπτονται ή διαχωρίζονται από μη κωδικοποιούσες αλληλουχίες DNA, οι οποίες βρίσκονται μεταξύ των αλληλουχιών που τελικά κωδικοποιούν ένα συγκεκριμένο πολυπεπτίδιο. Αυτές οι μη κωδικοποιούσες αλληλουχίες ονομάζονται **εσώνια**, ενώ οι κωδικοποιούσες αλληλουχίες ονομάζονται **εξώνια**. Ο αριθμός εσωνίων ανά γονίδιο ποικίλλει από μηδεν έως πάνω από 50. Η άλλη μεγάλη διαφορά μεταξύ ευκαρυωτών και προκαρυωτών όσον αφορά την οργάνωση των αλληλουχιών του DNA

είναι ότι οι ευκαρυώτες γενικά περιέχουν πολύ περισσότερο DNA ανά απλοειδές γονιδίωμα, απ' όσο είναι αναγκαίο για την κωδικοποίηση όλων των πρωτεϊνών που χρειάζονται για τη λειτουργία του κυττάρου.

**Για παράδειγμα, μόνο το 3% του συνολικού DNA του ανθρώπινου γονιδιώματος απαντά σε περιοχές αναγνωρίσιμες ως γονίδια, ενώ στα *Ευβακτήρια* αυτό το κλάσμα του γονιδιώματος τους μπορεί να υπερβεί το 90%. Αυτό το «πλεονάζον» DNA των ευκαρυωτών απαντά συνηθέστατα υπό τη μορφή επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών, ορισμένες από τις οποίες επαναλαμβάνονται επί εκατοντάδες χιλιάδες φορές. Η λειτουργία των συγκεκριμένων αλληλουχιών δεν έχει διευκρινισθεί. Συχνά, οι ευκαρυώτες περιέχουν πολλαπλά αντίγραφα ορισμένων γονιδίων όπως αυτών που κωδικοποιούν τα μεταφορικά και ριβοσωματικά RNA. Τα γονίδια των ριβοσωματικών RNA συχνά επαναλαμβάνονται και στους προκαρυώτες, αλλά συνήθως με συχνότητα επανάληψης λίγων μόλις αντιγράφων. Οποσδήποτε, απαντούν και στους προκαρυώτες ορισμένες**

**ΠΙΝΑΚΑΣ 7.2** Μεγέθη, σχήματα και αριθμοί χρωμοσωμάτων σε επιλεγμένους μικροοργανισμούς από κάθε «χώρο» της έμβιας ύλης

Οργανισμός	Σχόλια	Μέγεθος [Mb] <sup>a</sup>	Χρωμόσωμα	
			Αριθμός	Γεωμετρία
<b>Ευβακτήρια</b>				
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Το μικρότερο γνωστό κυτταρικό γονιδίωμα	0,58	1	
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Προκαλεί τη νόσο του Lyme (  Κεφάλαιο 27)	0,91 <sup>β</sup>	1	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Αρνητικό κατά Gram δυνητικά παθογόνο (  Κεφάλαιο 26)	1,83 <sup>γ</sup>	1	
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	Αρνητικό κατά Gram φωτότροφο	4,00 <sup>δ</sup>	2	
<i>Bacillus subtilis</i>	Θετικό κατά Gram πρότυπο γενετικής ανάλυσης	4,21	1	
<i>Escherichia coli</i> K-12	Αρνητικό κατά Gram πρότυπο γενετικής ανάλυσης	4,64 <sup>ε</sup>	1	
<i>Streptomyces coelicolor</i>	Ακτινομύκητας, παράγει αντιβιοτικά (  Κεφάλαιο 12)	8,66	1	
<b>Αρχαία</b>				
<i>Methanococcus jannaschii</i>	Μεθανιογόνο αναπτύσσεται σε υψηλές θερμοκρασίες (  Κεφάλαια 6 και 13)	1,66	1	
<i>Pyrococcus abyssi</i>	Αναπτύσσεται σε υψηλές θερμοκρασίες (  Κεφάλαια 6 και 13)	1,77	1	
<i>Halobacterium</i> sp. NRC1	Αναπτύσσεται σε υψηλή αλατότητα (  Κεφάλαια 6 και 13)	2,57 <sup>στ</sup>	3	
<i>Sulfolobus solfataricus</i>	Αναπτύσσεται σε υψηλή θερμοκρασία και υψηλή οξύτητα (  Κεφάλαια 6 και 13)	2,99	1	
<b>Ευκάρια</b>				
<i>Giardia lamblia</i>	Μαστιγοφόρο πρωτόζωο, προκαλεί οξεία γαστρεντερίτιδα (  Κεφάλαιο 14)	12,00	4	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Ζυμομύκητας, ευρέως χρησιμοποιούμενος στην έρευνα και τη βιομηχανία (  Κεφάλαια 14 και 30)	12,06 <sup>ν</sup>	16	
<i>Dictyostelium discoideum</i>	Μυξομύκητας με κυτταρική οργάνωση, πρότυπος οργανισμός για αναπτυξιακές μελέτες (  Κεφάλαιο 14)	34,0	6	
<i>Tetrahymena thermophila</i>	Βλεφαριδοφόρο πρωτόζωο (  Κεφάλαιο 14)	210,0	5	

μικρές αλληλουχίες με μεγάλη συχνότητα επανάληψης. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί μια αλληλουχία του *Escherichia coli* K-12, που έχει μήκος 38 ζεύγη βάσεων, η οποία επαναλαμβάνεται 581 φορές και συνιστά περισσότερο από το 0,5% του γονιδιώματος.

### **Μη χρωμοσωματικά γενετικά στοιχεία**

Τα περισσότερα από τα στοιχεία αυτά απαντούν μόνο στο εσωτερικό κυττάρων. Τα **πλασμίδια** είναι κατά κανόνα μικρά γενετικά στοιχεία που υφίστανται και αντιγράφονται ανεξάρτητα από τα χρωμοσώματα. Η **συντριπτική πλειονότητα των πλασμιδίων αποτελούνται από δίκλωνο DNA και, ενώ τα περισσότερα είναι κυκλικά μόρια, εντούτοις υπάρχουν και ορισμένα γραμμικά**. Τα πλασμίδια έχει βρεθεί ότι υπάρχουν στα περισσότερα προκαρυωτικά είδη.

Πολλοί προκαρυώτες φαίνεται να περιέχουν ένα ή περισσότερα πλασμίδια, πέραν των χρωμοσωμάτων τους.

Μερικά πλασμίδια περιέχουν γονίδια των οποίων τα πρωτεϊνικά προϊόντα προσδίδουν σημαντικές ιδιότητες στο κύτταρο-ξενιστή, όπως ανθε-



κτικότητα σε αντιβιοτικά. Σύμφωνα με τον ορισμό - ποιο γενετικό υλικό συνιστά το χρωμόσωμα ενός *Ευβακτηρίου* - χρωμόσωμα είναι εκείνο το γενετικό στοιχείο που περιέχει γονίδια των οποίων τα προϊόντα συμμετέχουν σε μεταβολικές αντιδράσεις απαραίτητες υπό οιοσδήποτε συνθήκες αύξησης. Για παράδειγμα, ένα γονίδιο που κωδικοποιεί μια γυράση του DNA είναι απαραίτητο σε ένα κύτταρο, ενώ ένα γονίδιο που καθιστά ένα βακτήριο ανθεκτικό σε κάποιο αντιβιοτικό είναι απαραίτητο μόνο υπό ορισμένες συνθήκες, δηλαδή μόνο παρουσία του αντιβιοτικού. Επομένως, ο ισχυρισμός ότι ένα προκαρυώτης περιέχει περισσότερα του ενός χρωμοσώματα, απαιτεί την παρουσίαση αποδείξεων ότι κάθε ένα από τα υποτιθέμενα «χρωμοσώματα» περιέχει μοναδικά γονίδια, τα οποία έχουν ζωτική σημασία υπό οιοσδήποτε συνθήκες αύξησης.

Τα **μιτοχόνδρια** και οι **χλωροπλάστες** περιέχουν μη χρωμοσωματικά γενετικά στοιχεία και απαντούν στους ευκαρυώτες. Το μιτοχόνδριο περιέχει τα ένζυμα της κυτταρικής αναπνοής και παίζει σημαντικό ρόλο στην παραγωγή ενέργειας στους περισσότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Ο χλωροπλάστης συνιστά τη θέση όπου γίνεται η φωτοτροφική παραγωγή του ATP.

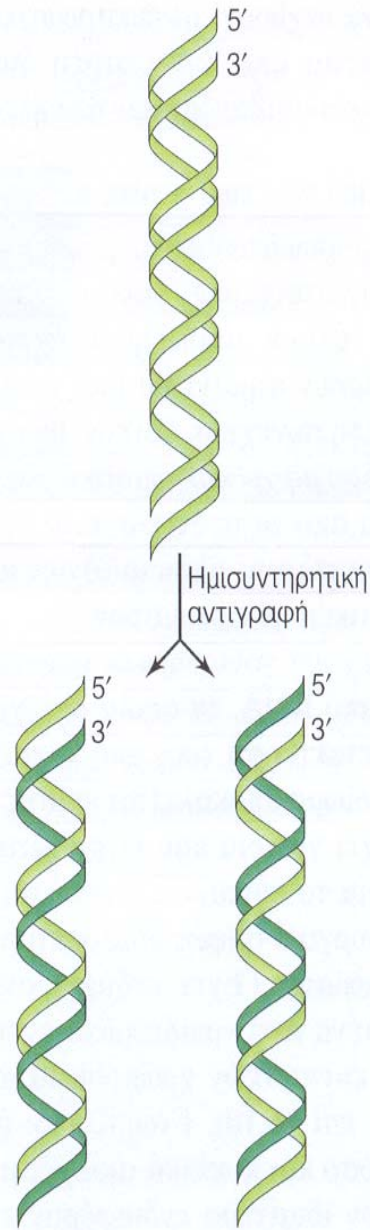
Τα χρωμοσώματα των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών μπορούν να θεωρηθούν ως ανεξάρτητα αντιγραφόμενα γενετικά στοιχεία. Βεβαίως, τα οργανίδια αυτά είναι σημαντικά πολυπλοκότερα των πλασμιδίων, δεδομένου ότι δεν περιέχουν μόνο DNA, αλλά και έναν πλήρη μηχανισμό σύνθεσης πρωτεϊνών, ο οποίος περιλαμβάνει ριβοσώματα 70S, μεταφορικά RNA και όλα εν γένει τα συστατικά στοιχεία που είναι απαραίτητα για τη μετάφραση και τον σχηματισμό λειτουργικών πρωτεϊνών. Μολονότι τα

χρωμοσώματα των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών μπορεί να περιέχουν πολλά γονίδια και ένα ολοκληρωμένο σύστημα μετάφρασης, η ύπαρξή τους δεν μπορεί να θεωρηθεί ανεξάρτητη των κυτταρικών χρωμοσωμάτων, επειδή οι περισσότερες πρωτεΐνες τους κωδικοποιούνται όχι από το οργανιδιακό DNA, αλλά από το χρωμοσωματικό DNA του κυττάρου.

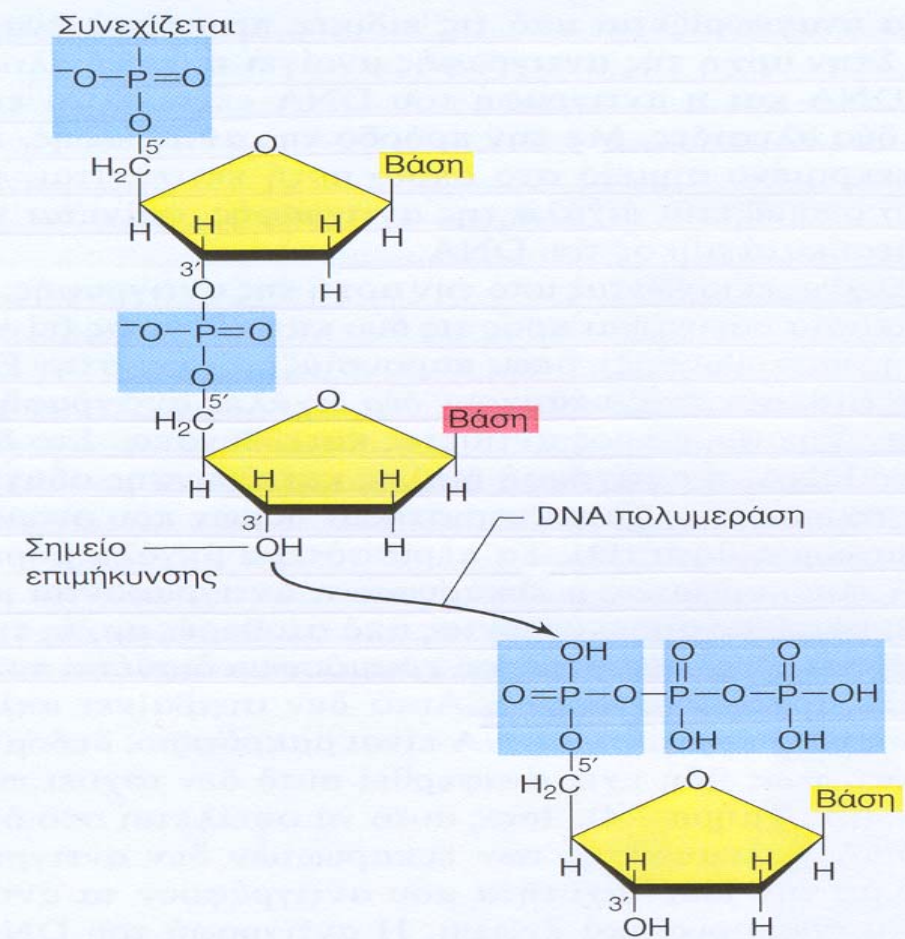
Τα **μεταθετά στοιχεία** είναι τμήματα DNA που μπορούν να μετακινηθούν από μία θέση ενός χρωμοσώματος σε κάποια άλλη. Τα μεταθετά στοιχεία απαντούν σε προκαρυώτες και ευκαρυώτες και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη γενετική ποικιλομορφία. Στους προκαρυώτες υπάρχουν βασικά δύο τύποι μεταθετών στοιχείων: οι αλληλουχίες ένθεσης και τα τρανσποζόνια. Οι αλληλουχίες ένθεσης είναι ο απλούστερος τύπος και δεν περιέχουν άλλη γενετική πληροφορία πέραν αυτής που απαιτείται για τη μετακίνησή τους σε νέες θέσεις. Τα τρανσποζόνια είναι μεγαλύτερου μεγέθους και περιέχουν πρόσθετα γονίδια.

## ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ DNA: Εκμαγεία και εκκινητές

Εάν διαχωριστούν οι αλυσίδες της διπλής έλικας του DNA, τότε μπορούν να συντεθούν δύο νέες αλυσίδες, η καθεμιά συμπληρωματική προς μία από τις πατρικές αλυσίδες. Όπως φαίνεται στην Εικόνα 7.13 η αντιγραφή είναι **ημισυντηρητική**, υπό την έννοια ότι οι δύο διπλές έλικες που προκύπτουν συνίστανται από μία θυγατρική και μία πατρική αλυσίδα. Το μόριο του DNA που αντιγράφεται για να σχηματιστεί η νέα συμπληρωματική αλυσίδα ονομάζεται *εκμαγείο*. Η πρόδρομη ένωση κάθε νέου νουκλεοτιδίου της αλυσίδας είναι ένα *τριφωσφορικό 5'-νουκλεοσίδιο*, από το οποίο αφαιρούνται οι δύο ακραίες φωσφορικές ομάδες, ενώ διατηρείται η εσωτερική Τρίτη, ομοιοπολικά ενωμένη με την δεοξυβόζη της επιμηκυνόμενης αλυσίδας (Εικόνα 7.14). Η προσθήκη ενός νουκλεοτιδίου στην επιμηκυνόμενη αλυσίδα προϋποθέτει την ύπαρξη μιας ελεύθερης υδροξυλομάδας και τέτοιες ελεύθερες υδροξυλομάδες



**Εικόνα 7.13** Η αντιγραφή του DNA είναι μια ημισυντηρητική διαδικασία, τόσο στους προκαρυώτες όσο και στους ευκαρυώτες. Να σημειωθεί ότι κάθε νέα διπλή έλικα περιλαμβάνει μία νέα και μία παλιά αλυσίδα.



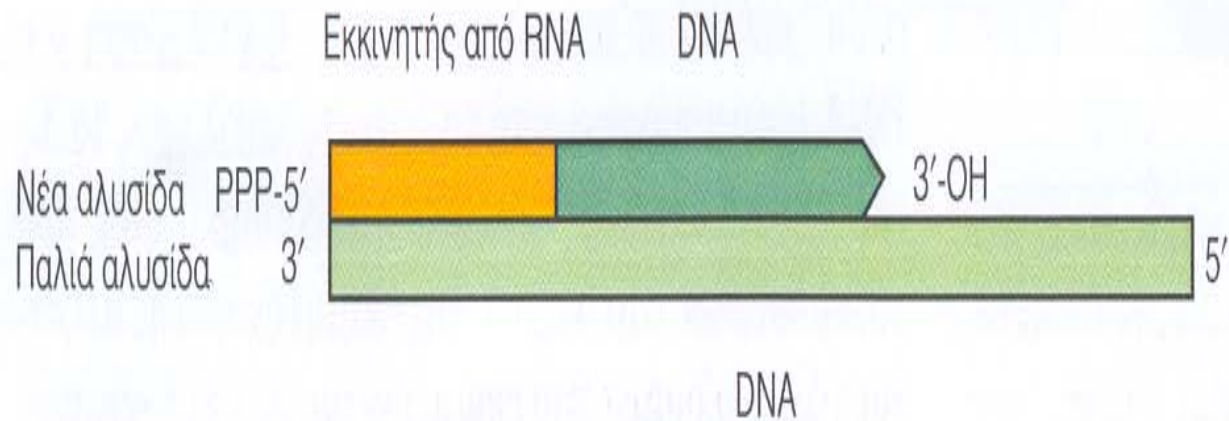
**Εικόνα 7.14** Η δομή της αλυσίδας του DNA και ο μηχανισμός επιμήκυνσής της, μέσω προσθήκης στο άκρο 3' της αλυσίδας τμήματος του τριφωσφορικού δεοξυριβονουκλεοσιδίου. Η επιμήκυνση συντελείται πάντοτε από την 5'-φωσφορική ομάδα προς την 3'-υδροξυλομάδα. Το ένζυμο DNA πολυμεράση είναι αυτό που καταλύει την αντίδραση προσθήκης. Τα τέσσερα δεοξυριβονουκλεοτίδια που χρησιμεύουν ως πρόδρομες ενώσεις είναι η τριφωσφορική δεοξυθυμιδίνη (dTTP), η τριφωσφορική δεοξαδενοσίνη (dATP), η τριφωσφορική δεοξυγουανοσίνη (dGTP) και η τριφωσφορική δεοξυκυτιδίνη (dCTP). Οι δύο ακραίες φωσφορικές ομάδες των τριφωσφορικών αποκόπτονται ως μόρια πυροφωσφορικού (PP<sub>i</sub>). Συνεπώς, για την προσθήκη ενός και μόνο νουκλεοτιδίου δαπανάται η ενέργεια δύο φωσφορικών δεσμών μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου.

είναι διαθέσιμες μόνο στο άκρο 3' του μορίου. Η αντιγραφή του DNA οδεύει πάντοτε από το άκρο 5' προς το υδροξυλικό άκρο 3', δηλαδή η 5'-φωσφορική ομάδα του εισερχόμενου νουκλεοτιδίου δεσμεύεται στην 3'-υδροξυλομάδα του αμέσως πριν προστεθέντος νουκλεοτιδίου. Τα ένζυμα που καταλύουν την προσθήκη των νουκλεοτιδίων ονομάζονται **πολυμεράσες του DNA** (ή **DNA πολυμεράσες**). Όλες οι DNA πολυμεράσες συνθέτουν νέο DNA στην κατεύθυνση 5' → 3'. Εντούτοις, καμία από τις γνωστές DNA πολυμεράσες δεν μπορεί να αρχίσει τη σύνθεση μιας νέας αλυσίδας. Όλα αυτά τα ένζυμα μπορούν μόνο να προσθέσουν ένα νουκλεοτίδιο σε μία προϋπάρχουσα ελεύθερη 3'-υδροξυλομάδα. Συνεπώς, για την εκκίνηση της σύνθεσης μιας νέας αλυσίδας πρέπει να υπάρχει κάποιος **εκκινητής**, δηλαδή μια θέση στην οποία η DNA πολυμεράση μπορεί να προσθέσει το πρώτο νουκλεοτίδιο. Στις περισσότερες περιπτώσεις, αυτός ο εκκινητής είναι ένα μικρό μόριο από RNA. Όταν στην αρχή της αντιγραφής ανοίγει η διπλή έλικα, πρώτο δρα ένα ένζυμο πο-

λυμερισμού του RNA, που καταλήγει στη σύνθεση αυτού του εκκινητή από RNA. Ένα ειδικό ένζυμο πολυμερισμού του RNA, που ονομάζεται *πριμάση*, συμμετέχει στη σύνθεση του εκκινητή σχηματίζοντας ένα μικρό μόριο RNA. Στο επιμηκυνόμενο άκρο του εκκινητή υπάρχει μια 3'- υδροξυλομάδα στην οποία η DNA πολυμεράση μπορεί να προσθέσει το πρώτο δεοξυριβονουκλεοτίδιο.

Κατά συνέπεια, η περαιτέρω επέκταση του μορίου συνεχίζεται ως σύνθεση DNA και όχι πλέον ως σύνθεση RNA. Έτσι, τα νέα μόρια που συντίθενται έχουν μια δομή όπως αυτή που παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.15.

**Βεβαίως, όπως θα δούμε, ο εκκινητής πρέπει τελικά να απομακρυνθεί από το μόριο του DNA.**



**Εικόνα 7.15** Δομή του συνδυασμού RNA-DNA που καταλήγει στην έναρξη της σύνθεσης του DNA.

## Αντιγραφή του DNA: Διχάλα αντιγραφής

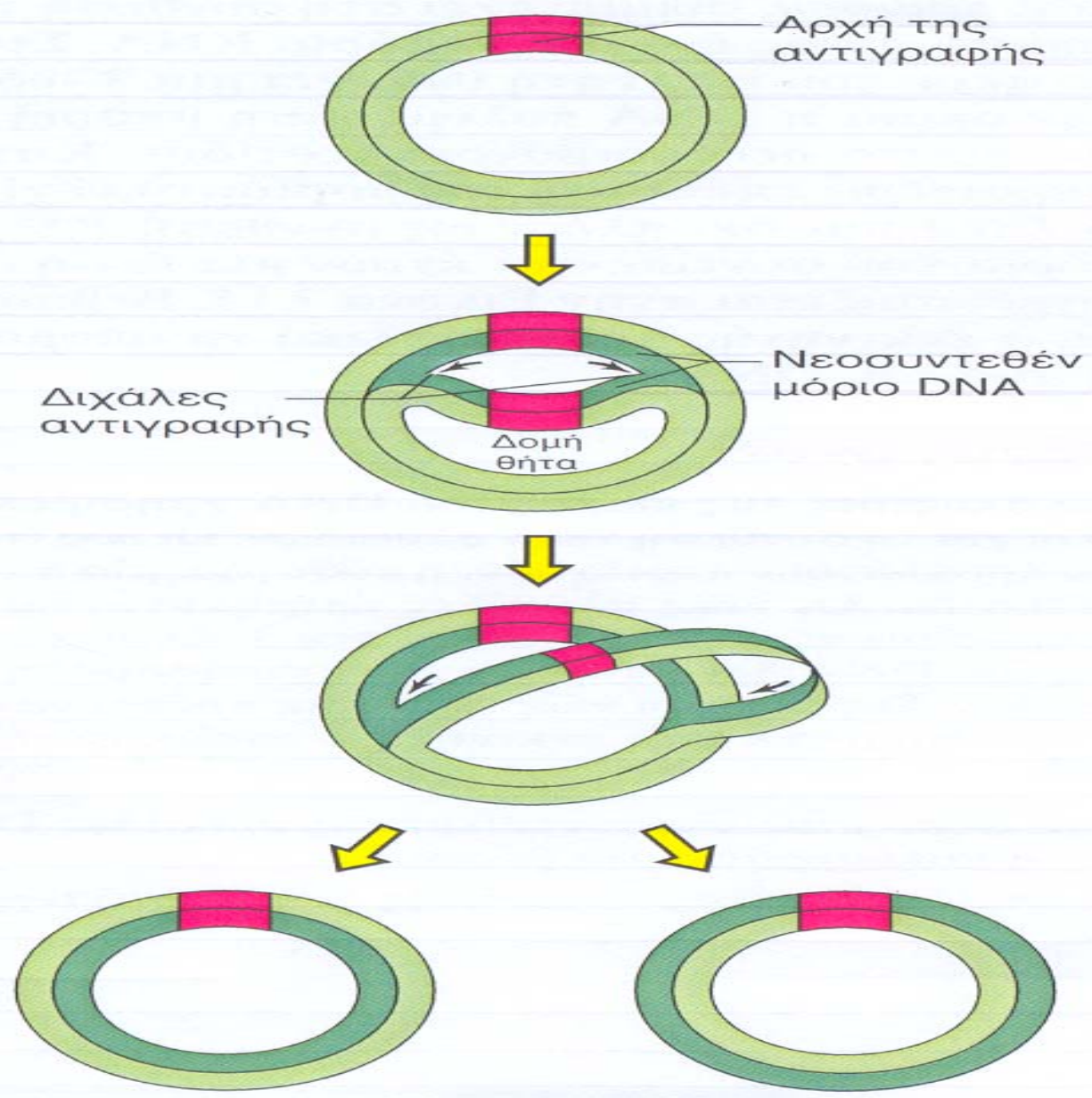
Μεγάλο τμήμα της πληροφορίας που αφορά τον μηχανισμό αντιγραφής του DNA αποκτήθηκε αρχικά από το βακτήριο *Escherichia coli*, επομένως η παρουσίαση που ακολουθεί ασχολείται κυρίως με αυτόν τον οργανισμό.



## Έναρξη της αντιγραφής του DNA

Όπως συμβαίνει στους περισσότερους προκαρυώτες, έτσι και στο βακτήριο *Escherichia coli* το χρωμοσωματικό DNA του είναι ένα κυκλικό μόριο.

Επίσης, όπως συμβαίνει στα περισσότερα *Ευβακτήρια*, υπάρχει μία και μοναδική θέση σε αυτό το χρωμόσωμα, απ' όπου αρχίζει η σύνθεση του DNA και η οποία ονομάζεται **αρχή της αντιγραφής**. Η αρχή της αντιγραφής συνίσταται από μια ειδική αλληλουχία μήκους περίπου 300 βάσεων, η οποία αναγνωρίζεται από τις ειδικές πρωτεΐνες έναρξης. Στην αρχή της αντιγραφής ανοίγει η διπλή έλικα του DNA και η αντιγραφή του DNA επιτελείται και στις δύο αλυσίδες. Με την πρόοδο της αντιγραφής, το συγκεκριμένο σημείο στο οποίο αυτή επιτελείται, ονομάζεται **διχάλα της αντιγραφής**. Συχνά, εκκινώντας από την αρχή της αντιγραφής, η διαδικασία οδεύει και προς τις δύο κατευθύνσεις (είναι διπλής κατεύθυνσης), όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 7.16, συνεπώς υπάρχουν δύο διχά-



**Εικόνα 7.16** Στο κυκλικό DNA, η αντιγραφή διπλής κατεύθυνσης που εκκινεί από μία αρχή αντιγραφής οδηγεί στον σχηματισμό μιας ενδιάμεσης δομής της αντιγραφής, που μοιάζει με το ελληνικό γράμμα θήτα (θ).

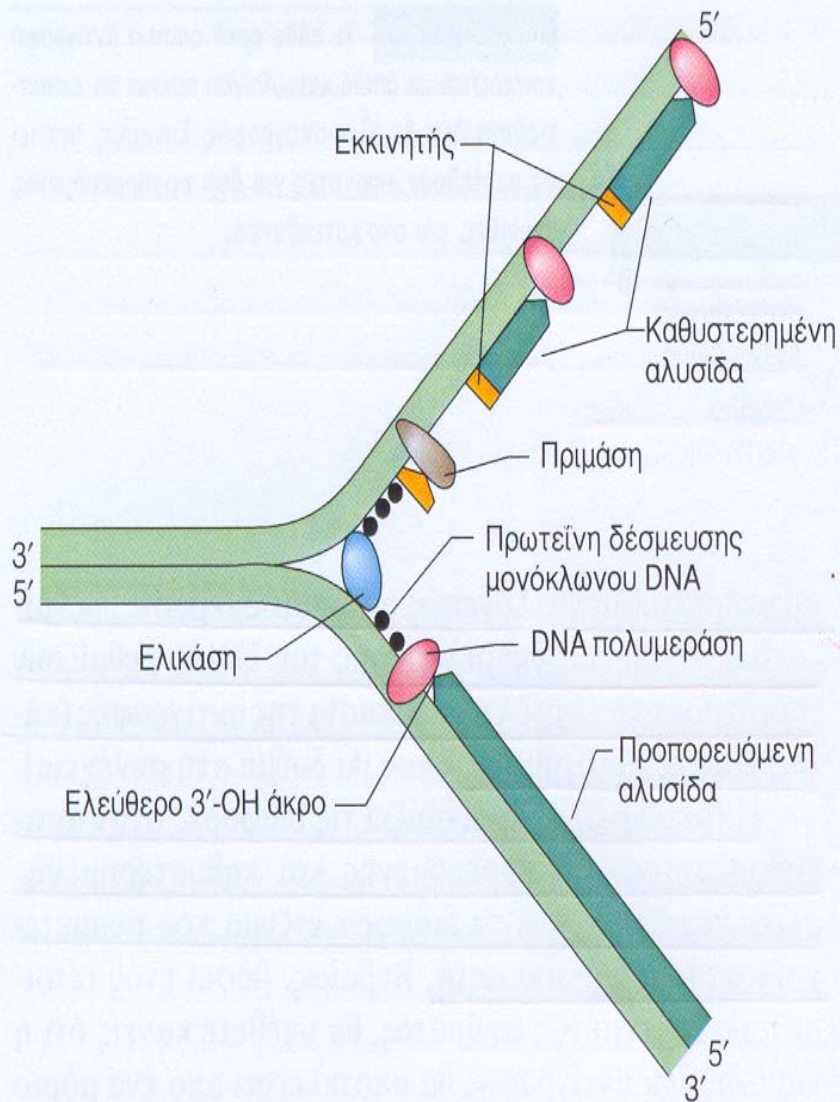
λες αντιγραφής, που αντιγράφουν προς αντίθετες κατευθύνσεις. Στο δί-κλωνο DNA, η αντιγραφή διπλής κατεύθυνσης οδηγεί στον σχηματισμό χαρακτηριστικών δομών που ονομάζονται **δομές θήτα (Θ)**.

Τα περισσότερα μεγάλα μόρια DNA, προκαρυωτών ή ευκαρυωτών, αντιγράφονται με διπλή κατεύθυνση, εκκινώντας από σταθερές αρχές της αντιγραφής. Το ευκαρυωτικό χρωμόσωμα διαθέτει πολλαπλές αρχές αντιγραφής.

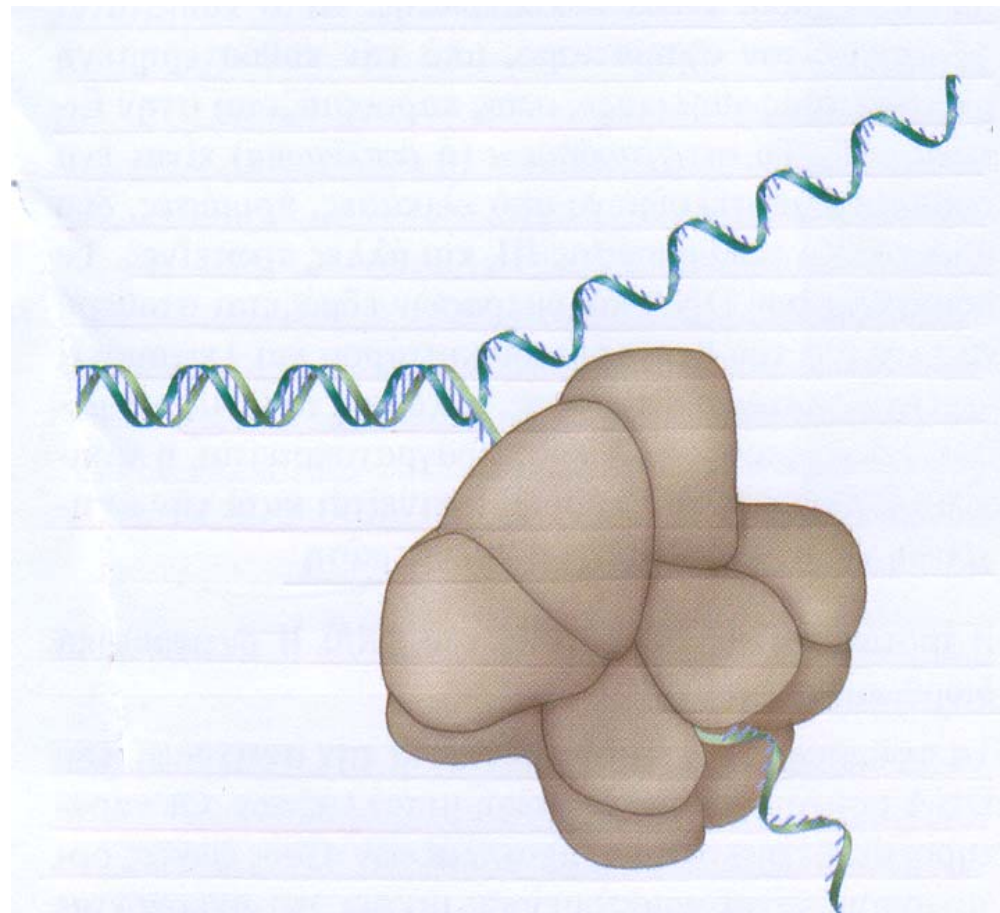
### **Προπορευόμενες και καθυστερημένες αλυσίδες**

Στο *Escherichia coli* υπάρχουν πέντε διαφορετικές πολυμεράσες του DNA που ονομάζονται DNA πολυμεράσες I έως V. Το κύριο ένζυμο αντιγραφής που απαντά στις αντιγραφικές διχάλες είναι η DNA πολυμεράση III. Οι λεπτομέρειες των συμβάντων στη διχάλα αντιγραφής παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.17. Στη διχάλα αντιγραφής εκτυλίσσεται η διπλή έλικα του DNA μέσω της δράσης ειδικών πρωτεϊνών που ονομάζονται *ελικάσες* και σχηματίζεται μια μικρή μονόκλωνη περιοχή. Οι

ελικάσες είναι ένζυμα εξαρτώμενα από ATP τα οποία, κινούμενα κατά μήκος της έλικας και πριν από τη διχάλα αντιγραφής, υδρολύουν ATP (Εικόνα 7.18). Η δημιουργούμενη μονόκλωνη περιοχή του DNA δεσμεύεται από μια ειδική πρωτεΐνη, την *πρωτεΐνη δέσμευσης μονόκλωνου DNA*, η οποία σταθεροποιεί το μόνοκλωνο DNA, παρεμποδίζοντας τον σχηματισμό υδρογονικών δεσμών μεταξύ των συμπληρωματικών αλυσίδων. Στην αλυσίδα που επιμηκύνεται από το 5'-φωσφορικό προς το 3'-υδροξυλικό άκρο, και η οποία καλείται **προπορευόμενη αλυσίδα**, η σύνθεση του DNA μπορεί να πραγματοποιείται *συνεχώς*, επειδή στη διχάλα αντιγραφής υπάρχει πάντοτε ένα ελεύθερο 3'-υδροξύλιο, στο οποίο μπορεί πάντοτε να προστεθεί ένα νέο νουκλεοτίδιο. Στην συμπληρωματική της αλυσίδα, όμως η οποία ονομάζεται **καθυστερημένη αλυσίδα**, το DNA πρέπει να συντίθεται *ασυνεχώς* (επειδή στη διχάλα αντιγραφής δεν υφίσταται ελεύθερη 3'-υδροξυλομάδα, στην οποία να μπορεί να προστεθεί ένα νέο νουκλεοτίδιο). **Πού βρίσκεται η 3'-υδροξυλομάδα στην αλυσίδα αυτή;**



**Εικόνα 7.17** Τα συμβάντα στη δικάλα αντιγραφής. Προσέξτε την πολικότητα και την αντιπαράλληλη φύση των αλυσίδων του DNA. Το υπόστρωμα του ενζύμου πριμάση είναι τριφωσφορικά ριβονουκλεοτίδια, ενώ της DNA πολυμεράσης είναι τριφωσφορικά δεοξυριβονουκλεοτίδια.



**Εικόνα 7.18** Μια ελικάση του DNA, ενώ ξετυλίγει μια διπλή έλικα. Η εικόνα αυτή είναι μια προσαρμογή που βασίστηκε στην εργασία του Smiita S. Patel. Απεικονίζει ένα μοντέλο μιας ελικάσης του DNA που αποτελείται από πολλές υπομονάδες και κινείται κατά μήκος του DNA. Η ιδιαιτερότητα αυτής της εικόνας, σε σχέση με τις εικόνες 7.17, 7.19, και 7.21, είναι ότι εδώ τα μόρια της πρωτεΐνης και του DNA είναι σχεδιασμένα στην ίδια κλίμακα. Πολλά απλά σχήματα χρησιμοποιούνται συχνά για να δώσουν μια εικόνα των μοριακών συμβάντων στο κύτταρο, αλλά συχνά δημιουργούν την λανθασμένη εντύπωση ότι οι πρωτεΐνες έχουν σχετικά μικρό μέγεθος σε σύγκριση με το DNA. Αυτό το σχηματικό μοντέλο παρουσιάζει την κατάσταση διαφορετικά.

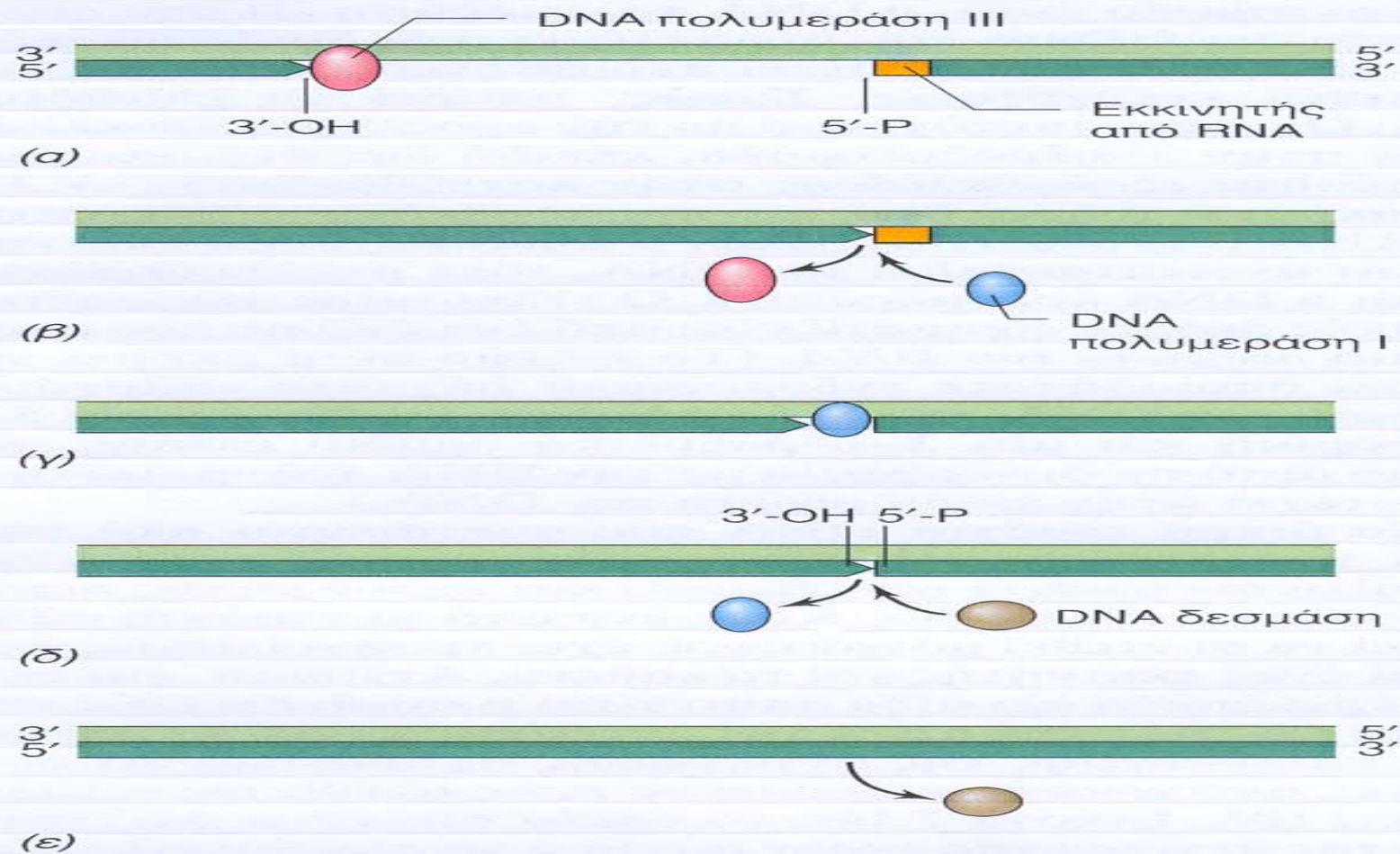
Βρίσκεται στο *αντίθετο* άκρο απ' αυτό της διχάλας αντιγραφής.

**Επομένως, στην καθυστερημένη αλυσίδα, η πριμάση πρέπει να συνθέσει έναν μικρό εκκινητή από RNA (μήκους 11 βάσεων) ώστε να υπάρχουν ελεύθερες 3'-υδροξυλομάδες.**

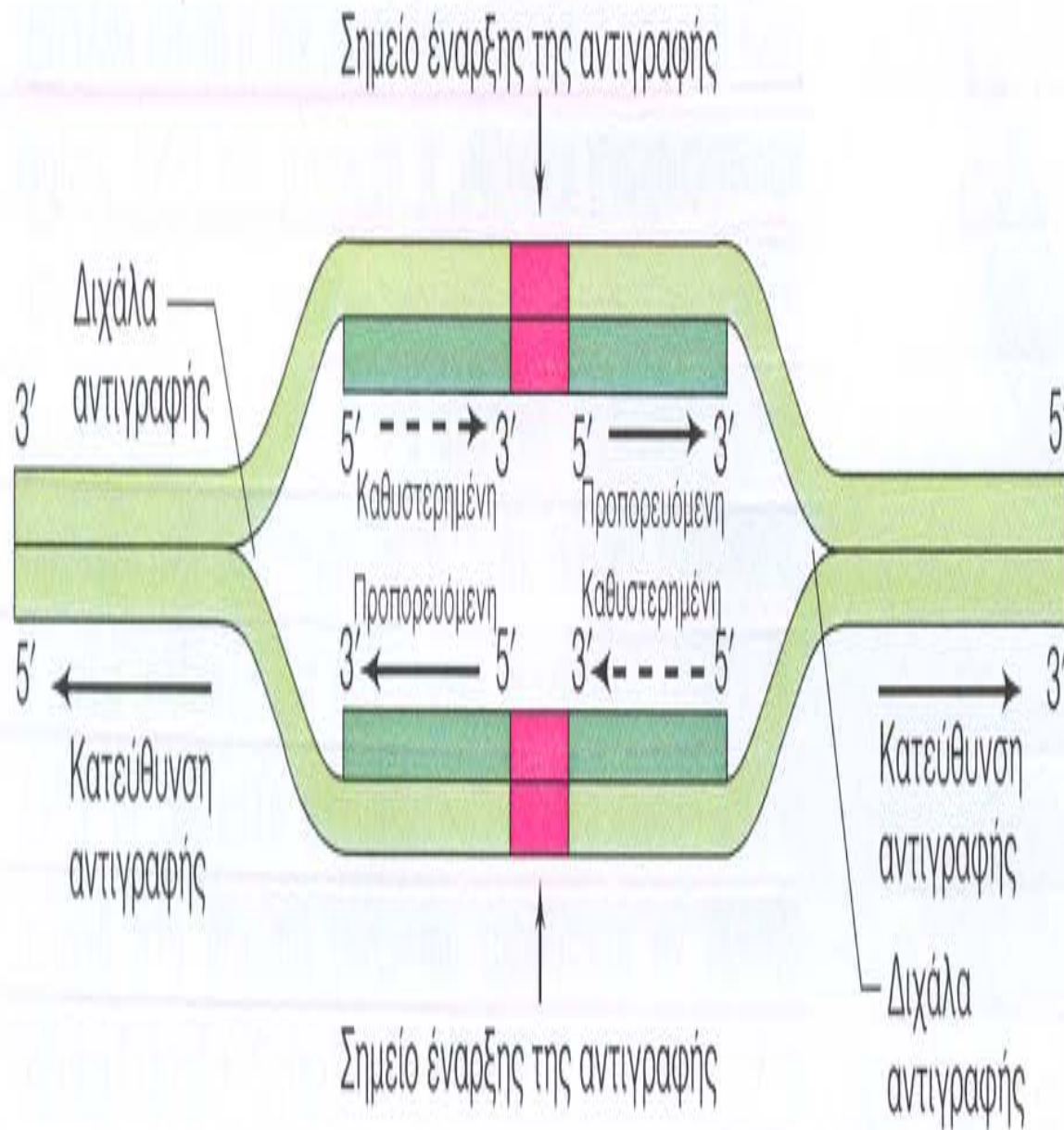
Μετά την σύνθεση του εκκινητή, η πριμάση αντικαθίσταται από την DNA πολυμεράση III. Τότε προστίθενται δεοξυριβονουκλεοτίδια, έως ότου η DNA πολυμεράση III φθάσει στο άκρο του τμήματος DNA που έχει ήδη συντεθεί. Στο ση-

μείο αυτό, η DNA πολυμεράση III σταματά. Το επόμενο ένζυμο που συμμετέχει στη διαδικασία, η DNA πολυμεράση I, διαθέτει περισσότερες από μία ενζυμικές ενεργότητες. Ταυτόχρονα με την προσθήκη νουκλεοτιδίων στην 3'-υδροξυλομάδα, επει-

δή διαθέτει και μια ενεργότητα *εξωνουκλεάσης* στην κατεύθυνση 5' → 3', απομακρύνει (υδρολύει) τον προπορευόμενο εκκινητή από RNA (Εικόνα 7.19). Όταν απομακρυνθεί ο εκκινητής και αντικατασταθεί με DNA, τότε απελευθερώνεται και η DNA πολυμεράση I. Ο τελευταίος



**Εικόνα 7.19** Η συνένωση δύο τμημάτων DNA στην καθυστερημένη αλυσίδα. (α) Η DNA πολυμεράση III συνθέτει το DNA στην καθυστερημένη αλυσίδα, στην κατεύθυνση 5' → 3', προς έναν εκκινητή από RNA ενός άλλου, ήδη συντεθέντος τμήματος της αλυσίδας αυτής. (β) Με την άφιξη της DNA πολυμεράσης III στην αρχή του εκκινητή, αυτή αντικαθίσταται από την DNA πολυμεράση I. (γ) Η DNA πολυμεράση I συνεχίζει τη σύνθεση του DNA, ενώ ταυτοχρόνως αποικοδομεί τον εκκινητή του προηγούμενου τμήματος. (δ) Η DNA δεσμάση αντικαθιστά την DNA πολυμεράση I μετά την απομάκρυνση του εκκινητή. (ε) Η DNA δεσμάση συνενώνει τα δύο τμήματα.



**Εικόνα 7.20** Σε κάθε αρχή όπου η αντιγραφή επιτελείται σε διπλή κατεύθυνση πρέπει να σχηματισθούν δύο διχάλες αντιγραφής. Συνεπώς, πρέπει να συντεθούν εκκινητές για δύο προπορευόμενες αλυσίδες, μία ανά κατεύθυνση.

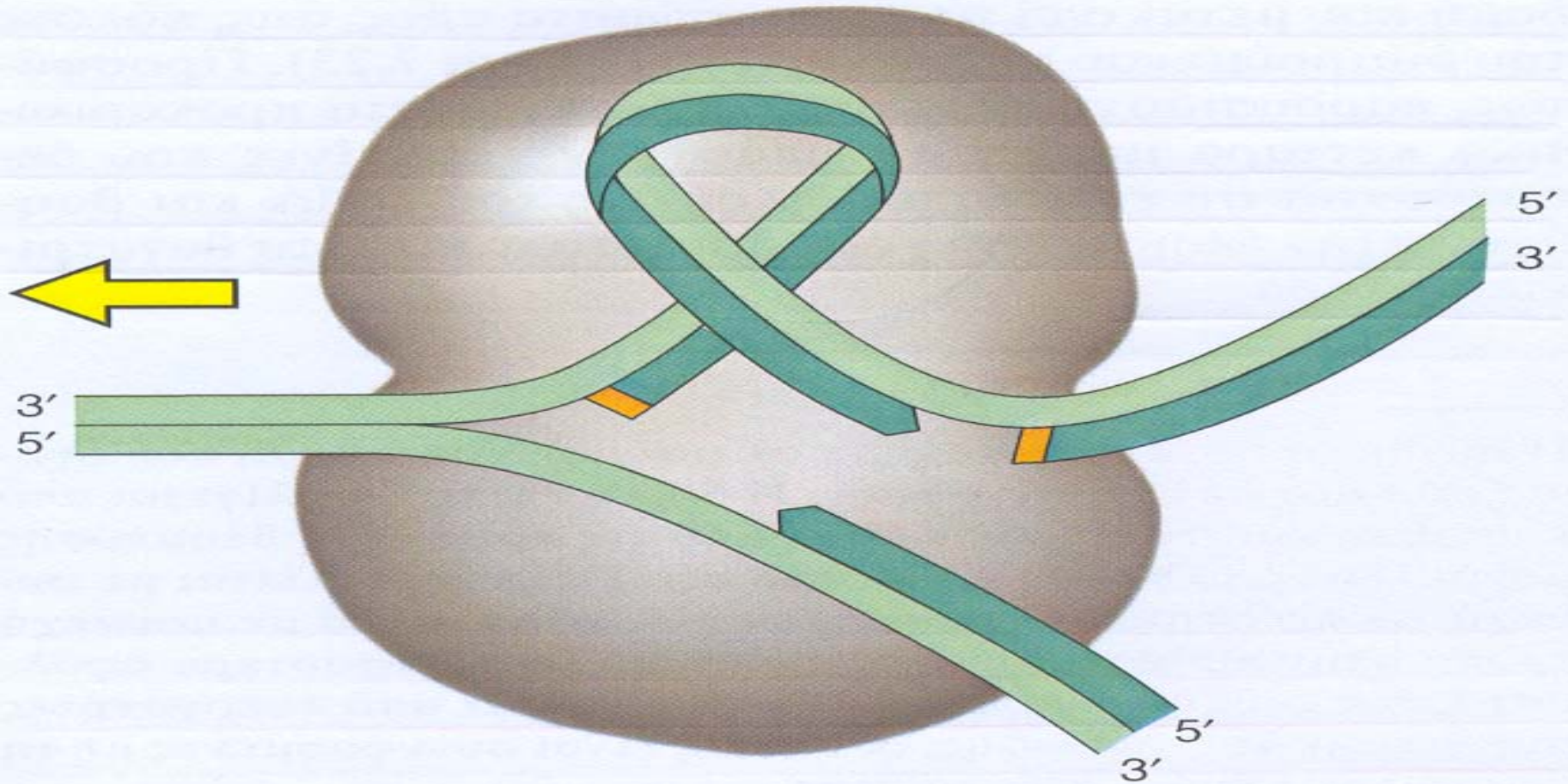


φωσφοδιεστερικός δεσμός σχηματίζεται από ένα ένζυμο που ονομάζεται *δεσμάση του DNA*. (Το ένζυμο αυτό μπορεί να κλείσει οποιαδήποτε ενδομοριακά ρήγματα υπάρχουν σε μόρια του DNA, τα οποία ρήγματα διαθέτουν μία 5'-φωσφορική και μία 3'-υδροξυλική ομάδα· επίσης, το ένζυμο αυτό σε συνεργασία με την DNA πολυμεράση I συμμετέχει στην επιδιόρθωση του DNA). **Τα μικρά τεμάχια DNA που συντίθενται από την DNA πολυμεράση III στην καθυστερημένη αλυσίδα ονομάζονται τεμάχια του Okazaki και έχουν μήκος περίπου 1.000 νουκλεοτίδια.**

Κάθε ένα από τα τεμάχια αυτά μπορεί να συντεθεί μόνον αφού έχει προηγουμένως συντεθεί ένας εκκινητής για το καθένα. Αντίθετα, για την προπορευόμενη αλυσίδα απαιτείται η σύνθεση ενός εκκινητή μόνον, στην αρχή της αντιγραφής. Λόγω της διπλής κατεύθυνσης της αντιγραφής σχηματίζονται δύο διχάλες αντιγραφής κινούμενες προς αντίθετες κατευθύνσεις (βλ. Εικόνα 7.16), το οποίο σημαίνει ότι στην αρχή της αντιγραφής έχουν αρχίσει να συντίθενται δύο προπορευόμενες και

δύο καθυστερημένες αλυσίδες (Εικόνα 7.20). Ενώ συντίθεται νέο DNA στη περιοχή της διχάλας αντιγραφής, επέρχονται μεταβολές στην ελίκωση του DNA, οι οποίες πραγματοποιούνται από ένζυμα εκτύλιξης και τοποϊσομεράσες. Η εκτύλιξη είναι εμφανώς μια ζωτική ιδιότητα της αντιγραφής του DNA και, επειδή το υπερελικωμένο DNA βρίσκεται υπό μηχανική τάση, εκτυλίσσεται ευχερέστερα από το μη υπερελικωμένο. Συνεπώς οι τοποϊσομεράσες, ρυθμίζοντας τον βαθμό υπερελίκωσης του DNA, ρυθμίζουν ταυτόχρονα και την όλη διαδικασία της αντιγραφής (καθώς και της μεταγραφής, όπως θα δούμε στη συνέχεια). Η Εικόνα 7.17 παρουσιάζει τις διαφορές στην αντιγραφή μεταξύ προπορευόμενης και καθυστερημένης αλυσίδας, καθώς και τα διάφορα ένζυμα που συμμετέχουν στη διαδικασία αυτή. Στην πραγματικότητα, οι δύο αλυσίδες συντίθενται από δύο μόρια DNA πολυμεράσης. Αυτό καθίσταται δυνατό με τον σχηματισμό, από την καθυστερημένη αλυσίδα, μιας «θηλειάς», όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.21. Το αντιγραφόσωμα

## Αντιγραφόσωμα



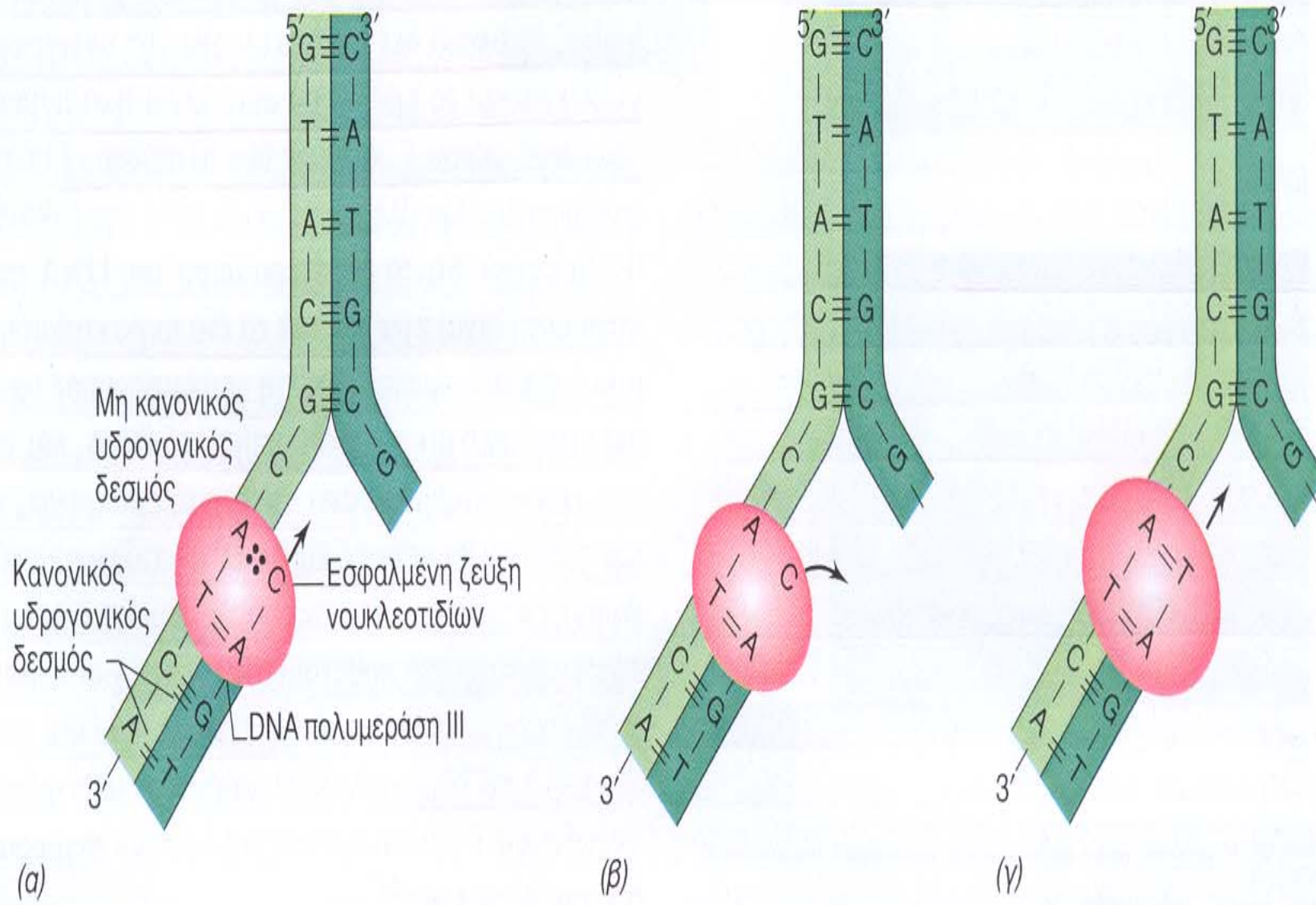
**Εικόνα 7.21** Η φαινομενική κίνηση του αντιγραφοσώματος, ενός συμπλόκου αποτελούμενου από πρωτεΐνες και ένζυμα, το οποίο συμμετέχει στην αντιγραφή του DNA, πάνω στη διπλή έλικα. Όλες οι αντιδράσεις που παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.17 λαμβάνουν όντως χώρα, αλλά ο σχηματισμός της «θηλειάς» επιτρέπει στο σύμπλοκο, στην περιοχή της δικάλας αντιγραφής, να κινείται προς τα εμπρός με ευχέρεια.

είναι ένα σύμπλοκο αποτελούμενο από ελικάσες, πριμάσες, δύο μόρια DNA πολυμεράσης III, και άλλες πρωτεΐνες. Το σύμπλοκο των DNA πολυμερασών εδράζεται σταθερά στο κέντρο του βακτηριακού κυττάρου και λειτουργεί ως ένα *εργοστάσιο αντιγραφής*, έλκοντας το DNA. Συνεπώς, αυτό που μετακινείται κατά την αντιγραφή είναι το DNA, όχι η πολυμεράση.

### **Η πιστότητα της αντιγραφής του DNA : Η αντιγραφική διόρθωση του DNA**

Τα σφάλματα που συμβαίνουν κατά την αντιγραφή του DNA οδηγούν στην εισαγωγή μεταλλάξεων. Οι παρατηρούμενες συχνότητες μεταλλάξεων στους ζώντες οργανισμούς είναι αξιοσημείωτα μικρές και ανέρχονται σε  $10^{-8}$  έως  $10^{-11}$  σφάλματα ανά προστιθέμενη βάση. Αυτό το μέγεθος ακρίβειας καθίσταται εφικτό εν μέρει λόγω του ότι δίνεται στην DNA πολυμεράση *δύο* φορές η δυνατότητα να ενσωματώσει την ορθή βάση σε κάθε διαφορετικό σημείο του DNA. Η πρώτη δυνατότητα της

δίνεται όταν εισάγει τις συμπληρωματικές βάσεις σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων (Α με Τ και G με C), χρησιμοποιώντας ως πρότυπο την αλυσίδα-εκμαγείο. Η δεύτερη ευκαιρία εμφανίζεται, επειδή υπάρχει μια δεύτερη ενζυμική ενεργότητα, επονομαζόμενη **αντιγραφική διορθωτική ενεργότητα**, η οποία είναι συνυφασμένη τόσο με την DNA πολυμεράση I, όσο και με την DNA πολυμεράση III (Εικόνα 7.22). Εκτός από την ενεργότητα που ενσωματώνει τα νουκλεοτίδια στη συντιθέμενη αλυσίδα, οι δύο αυτές πολυμεράσες περιέχουν επίσης μια ενεργότητα *εξωνουκλεάσης* στην κατεύθυνση 3' → 5', η οποία μπορεί να απομακρύνει τα εσφαλμένα νουκλεοτίδια που έχουν εισαχθεί και να επιτρέψει την αντικατάστασή τους με τα ορθά νουκλεοτίδια. Η ενεργότητα της αντιγραφικής διόρθωσης επιστρατεύεται όταν έχει ενσωματωθεί μια λανθασμένη βάση, επειδή η εσφαλμένη ενσωμάτωση προκαλεί αστάθεια στη ζεύξη των βάσεων. Αυτή η ενεργότητα δίνει στην πολυμεράση μια δεύτερη ευκαιρία για να ενσωματώ-



**Εικόνα 7.22** Η αντιγραφική διόρθωση μέσω της δράσης της ενεργότητας εξωνουκλεάσης 3' → 5' της DNA πολυμεράσης III. (α) Η εσφαλμένη ζεύξη βάσεων του τελευταίου ζεύγους προκαλεί την προσωρινή στάση της πολυμεράσης. Αυτό αποτελεί σήμα για την ενεργότητα της αντιγραφικής διόρθωσης (β) να αποκόψει το εσφαλμένο νουκλεοτίδιο, και κατόπιν (γ) να ενσωματώσει την ορθή βάση μέσω της ενεργότητας πολυμεράσης.

σει την ορθή βάση (Εικόνα 7.22). Ας σημειωθεί ότι η διορθωτική εξω-νουκλεασική ενεργότητα έχει την *αντίθετη* κατεύθυνση από εκείνη της DNA πολυμεράσης I, που είναι η  $5' \rightarrow 3'$  και χρησιμοποιείται για την απομάκρυνση των εκκινητών από RNA, μπροστά από την πολυμεράση.

### **Τερματισμός της αντιγραφής**

Οι λεπτομέρειες που αφορούν τη διαδικασία με την οποία τερματίζονται οι διχάλες αντιγραφής δεν είναι πλήρως γνωστές, όμως είναι αρκετά σαφές ότι οι δύο διχάλες δεν συγκρούονται μεταξύ τους. Είναι σαφές ότι συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA και ειδικές πρωτεΐνες επιβραδύνουν τις διχάλες αντιγραφής και επιτρέπουν την ολοκλήρωση της αντιγραφικής διαδικασίας. Όταν ολοκληρώνεται η αντιγραφή ενός κυκλικού μορίου, τα δύο κυκλικά θυγατρικά μόρια που προκύπτουν είναι συνδεδεμένα μεταξύ τους, όπως οι κρίκοι μιας αλυσίδας. Τα μόρια αυτά μπορούν να διαχωριστούν από τοποϊσομεράσες.

## **Αντιγραφή του DNA: Γραμμικά γενετικά στοιχεία**

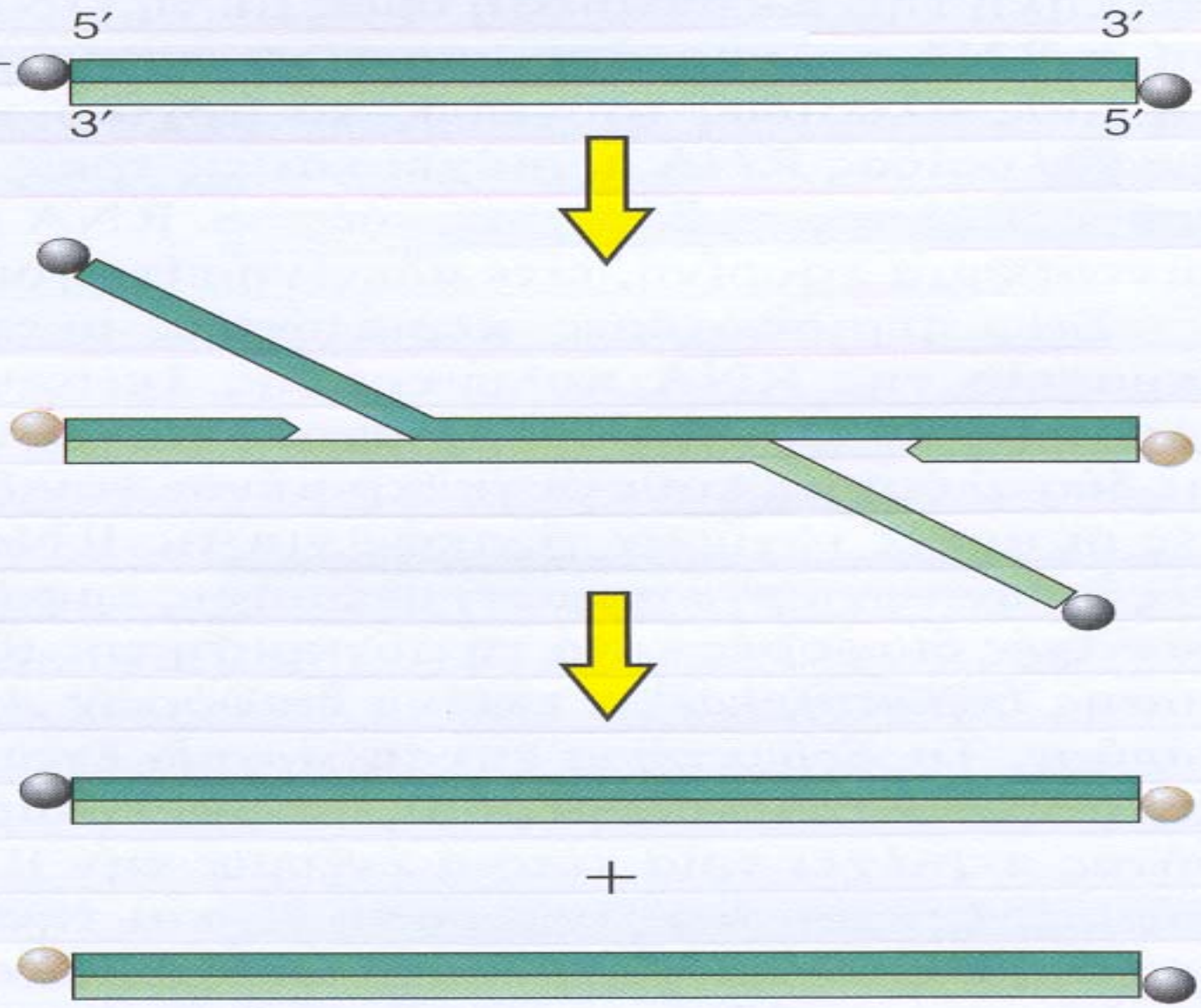
Σχεδόν όλα τα στάδια της αντιγραφής είναι ταυτόσημα, ανεξαρτήτως του εάν το χρωμόσωμα είναι γραμμικό ή κυκλικό. Εντούτοις, υπάρχει ένα πρόβλημα που συνδέεται με την αντιγραφή των γραμμικών γενετικών στοιχείων, το οποίο δεν υφίσταται για την αντιγραφή των κυκλικών και το πρόβλημα αυτό είναι η αντιγραφή του εξώτατου άκρου 5' και των δύο αλυσίδων.

**Πολλά γραμμικά πλασμίδια επιλύουν το πρόβλημα της αντιγραφής γραμμικών μορίων DNA με τη χρήση όχι ενός εκκινητή από RNA, αλλά ενός πρωτεϊνικού εκκινητή.**

Μολονότι όλες οι DNA πολυμεράσες απαιτείται να προσθέτουν ένα νουκλεοτίδιο σε μια ελεύθερη ομάδα υδροξυλίου, ορισμένες DNA πολυμεράσες μπορούν να προσθέσουν το πρώτο νουκλεοτίδιο σε μια ελεύθερη υδροξυλομάδα που βρίσκεται σε μια ειδική πρωτεΐνη που δεσμεύεται στο άκρο αυτών των γραμμικών χρωμοσωμάτων (Εικόνα 7.24). Οι εν λόγω πρωτεΐνες κωδικοποιούνται από πλασμίδια και η λειτουργία τους είναι να αναγνωρί-



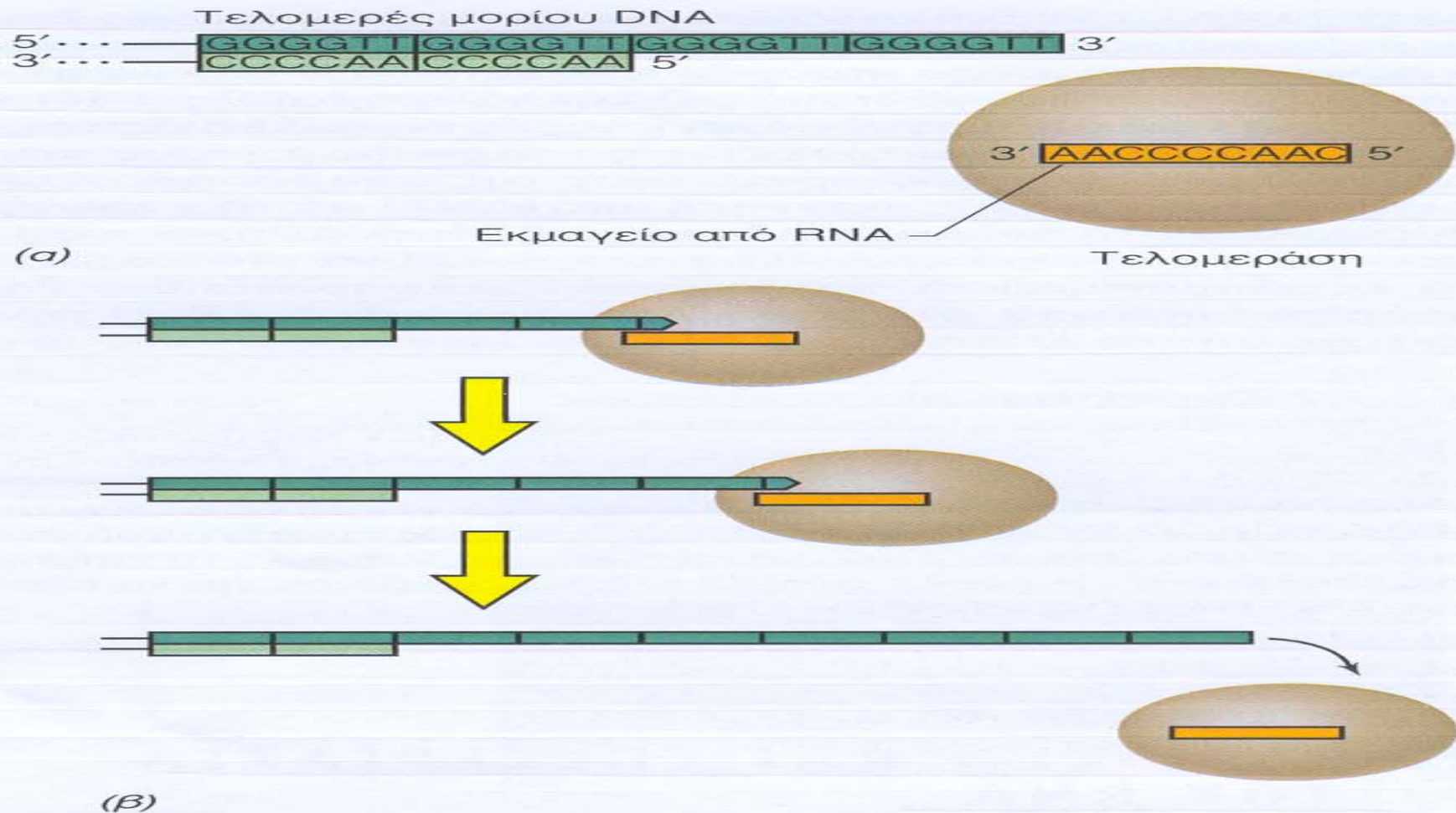
Πρωτεΐνη  
ομοιοπολικά  
συνδεδεμένη  
στο άκρο 5'



**Εικόνα 7.24** Η αντιγραφή του γραμμικού DNA με τη χρήση πρωτεϊνικών εκκινήτων. Στις νέες αλυσίδες του DNA δίδεται εκκίνηση από πρωτεΐνες που παραμένουν ομοιοπολικά δεσμευμένες στα άκρα 5'.

ζουν τα άκρα των χρωμοσωμάτων. Οι πρωτεϊνικοί εκκινητές δεν απομακρύνονται, συνεπώς αυτά τα ειδικού τύπου πλασμίδια φέρουν πρωτεΐνες συνδεδεμένες ομοιοπολικά με τα 5'-άκρα τους.

Τα τελομερή των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων περιέχουν επαναλαμβανόμενο DNA, δηλαδή μια μικρή αλληλουχία (συχνά μήκους έξι ζευγών βάσεων) η οποία επαναλαμβάνεται σειριακά από 20 έως πολλές εκατοντάδες φορές (Εικόνα 7.25α). Οι αλληλουχίες στους διάφορους ευκαρυώτες εμφανίζουν σχέση στενής συγγένειας και η μία αλυσίδα των τελομερών περιέχει πάντοτε πολλές γουανίνες. Αυτή η πλούσια σε γουανίνες αλληλουχία προστίθεται στο άκρο 3' του DNA από ένα ένζυμο που ονομάζεται **τελομεράση** (βλ. Εικόνα 7.25). **Οι τελομεράσες προσθέτουν νουκλεοτίδια στα 3'-άκρα γραμμικών μορίων DNA. Για την αντίδραση αυτή οι τελομεράσες δεν χρειάζονται εκμαγείο από DNA, επειδή περιέχουν ως συμ παράγοντα ένα μικρό εκμαγείο από RNA.** Τα ένζυμα αυτά μπορούν να προσθέτουν πολλαπλά τμήματα στο ίδιο άκρο και να δημιουργούν έτσι μακρές προεκτάσεις του.



**Εικόνα 7.25** Ένα μοντέλο για τη δράση της τελομεράσης στο ένα άκρο ευκαρυωτικού χρωμοσώματος. (α) Σχηματική αναπαράσταση της αλληλουχίας των βάσεων του άκρου του DNA ενός τελομερούς, με τέσσερις επαναλήψεις πλούσιες σε γουανίνη και το ένζυμο τελομεράση, το οποίο περιέχει ένα μικρό εκμαγείο από RNA. (β) Τα στάδια επιμήκυνσης της πλούσιας σε γουανίνη αλυσίδας, που καταλύονται από την τελομεράση. Όταν ολοκληρωθεί η δράση της τελομεράσης, μπορεί να λάβει χώρα η εκκίνηση της καθυστερημένης αλυσίδας από την πριμάση (δεν φαίνεται στο σχήμα) μέσω ενός εκκινητή από RNA και να ολοκληρωθεί η σύνθεση της αλυσίδας αυτής, μέσω της δράσης των ενζύμων DNA πολυμεράση και δεσμάση.

Αφού προστεθεί μια προέκταση επαρκούς μήκους στη μία αλυσίδα, η συμπληρωματική της μπορεί να ολοκληρωθεί μέσω ενός εκκινητή από RNA, με τη γνωστή διαδικασία.

Έχουν αναγνωρισθεί τρεις κύριοι τύποι RNA: το **αγγελιοφόρο RNA (mRNA)**, το **μεταφορικό RNA (tRNA)**, και το **ριβοσωματικό RNA (rRNA)**.

**Υπάρχουν τρεις καίριες διαφορές στις χημικές ιδιότητες του RNA σε σύγκριση με εκείνες του DNA:**

- (1) Το RNA περιέχει το σάκχαρο ριβόζη αντί του του σακχάρου δεοξυριβόζη.**
- (2) το RNA περιέχει τη βάση ουρακίλη αντί της βάσης θυμίνη· το RNA δεν είναι δίκλωνο. Η αλλαγή από θυμίνη σε ουρακίλη δεν επηρεάζει την ζεύξη των βάσεων, δεδομένου ότι και οι δύο συγκεκριμένες βάσεις των νουκλεοτιδίων ζευγαρώνουν εξίσου καλά με την αδενίνη.**

Το RNA επιδρά σε δύο επίπεδα, στο γενετικό και στο λειτουργικό.

Στο *γενετικό* επίπεδο, το RNA μπορεί είτε να μετα-

φέρει τη γενετική πληροφορία από το DNA (ως mRNA). Στο λειτουργικό επίπεδο, το RNA δρα ως ένα ανεξάρτητο μακρομόριο, επιτελώντας είτε έναν λειτουργικό και δομικό ρόλο στα ριβοσώματα (ως rRNA), είτε τον ρόλο του μεταφορέα αμινοξέων για την πρωτεϊνοσύνθεση (ως tRNA). Ορισμένα μόρια RNA έχουν ακόμη και καταλυτική (ενζυμική) ενεργότητα.

### **Επισκόπηση της μεταγραφής**

Η μεταγραφή της γενετικής πληροφορίας από το DNA στο RNA επιτελείται μέσω της δράσης του ενζύμου **πολυμεράση του RNA** (ή **RNA πολυμεράση**), το οποίο καταλύει την αντίδραση σχηματισμού φωσφοδιεστερικών δεσμών μεταξύ ριβονουκλεοτιδίων. **Η RNA πολυμεράση απαιτεί την παρουσία DNA ως εκμαγείου. Οι πρόδρομες ενώσεις του RNA είναι τα τριφωσφορικά ριβονουκλεοσίδια ATP, GTP, UTP, και CTP.** Η χημεία της σύνθεσης του RNA είναι παραπλήσια με εκείνη της σύνθεσης του DNA (βλ. Εικόνα 7.14).

Κατά την επέκταση μιας αλυσί-

δας του RNA, τα νουκλεοτίδια προστίθενται στο 3'-OH της ριβόζης του προηγούμενου νουκλεοτιδίου και πολυμερίζονται μέσω της κατανάλωσης δύο φωσφορικών δεσμών μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου.

**Σε αντίθεση όμως με τη DNA πολυμεράση, η RNA πολυμεράση μπορεί να εκκινήσει τη σύνθεση μίας αλυσίδας (συνεπώς το αρχικό νουκλεοτίδιο μιας αλυσίδας RNA περιέχει και τρεις φωσφορικές ομάδες). Η πρώτη βάση ενός μορίου RNA είναι σχεδόν πάντοτε μία πουρίνη ( Αδερίνη ή γουανίνη ).**

Στις περισσότερες περιπτώσεις μεταγραφής, ως εκμαγείο της RNA πολυμεράσης λειτουργεί ένα δίκλωνο μόριο DNA, αλλά μεταγράφεται μόνον η μία από τις δύο αλυσίδες κάθε συγκεκριμένου γονιδίου. Ενώ αυτές οι αρχές ισχύουν γενικώς για τις RNA πολυμεράσες όλων των οργανισμών, εντούτοις εμφανίζονται σημαντικές διαφορές κατά τη σύγκριση της RNA πολυμεράσης *Ευβακτηρίων* με εκείνη διαφόρων *Αρχαίων* ή *Ευκαρύων*.

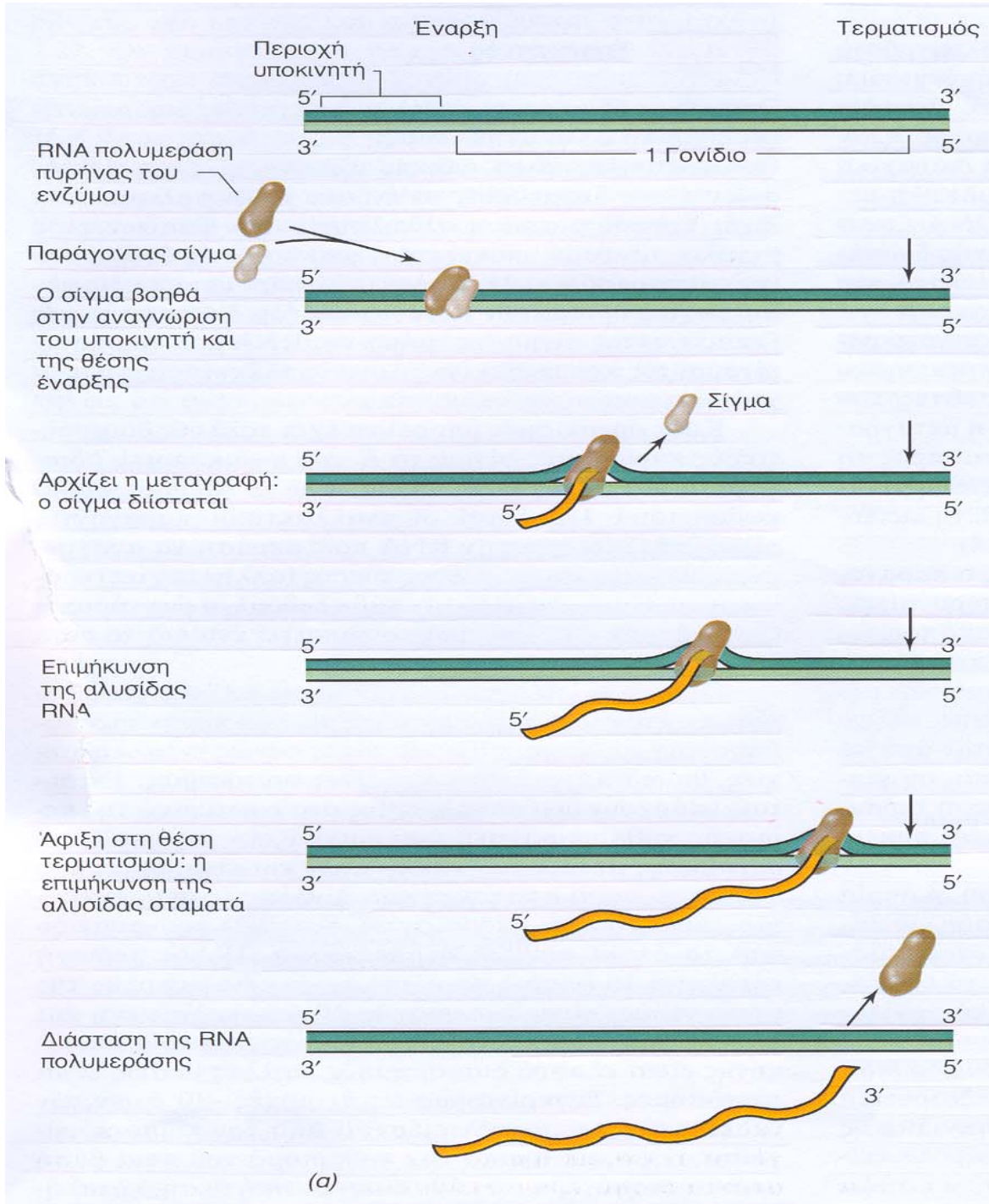
**Τα *Ευβακτήρια* και τα *Αρχαία* έχουν το καθένα μία μόνον RNA πολυμεράση,**

ενώ ο ευκαρυωτικός πυρήνας περιέχει τρία τέτοια ένζυμα: την RNA πολυμεράση I, την RNA πολυμεράση II, και την RNA πολυμεράση III.

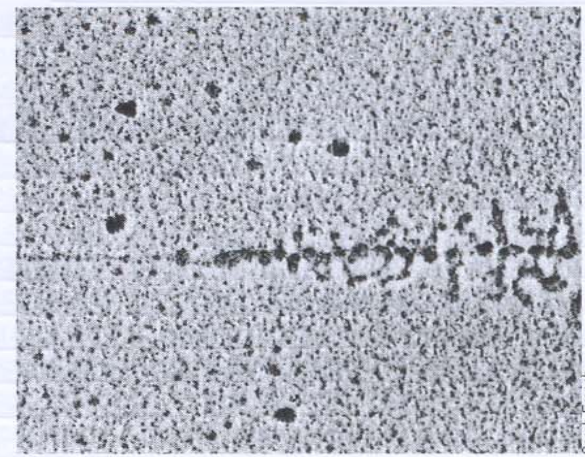
Όλες οι RNA πολυμεράσες *Ευβακτηρίων* που έχουν μελετηθεί είναι σύμπλοκα ένζυμα με υπομονάδες που εμφανίζουν μεγάλη δομική συγγένεια.

Το ένζυμο του *Escherichia coli* έχει τέσσερις διαφορετικούς τύπους πρωτεϊνικών υπομονάδων, που ονομάζονται  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\alpha$  και  $\sigma$  (σίγμα), ενώ η υπομονάδα  $\alpha$  συμμετέχει με δύο αντίγραφα.

Οι υπομονάδες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους και σχηματίζουν το ενεργό ένζυμο, που ονομάζεται *ολοένζυμο*, αλλά ο παράγοντας σίγμα δεν δεσμεύεται τόσο σταθερά όσο οι υπόλοιπες υπομονάδες, και μπορεί εύκολα να υποστεί διάσπαση, οπότε σχηματίζεται ο αποκαλούμενος *πυρήνας του ενζύμου* ( $\alpha_2\beta\beta'$ ). Ο πυρήνας του ενζύμου από μόνος του αρκεί για την κατάλυση της σύνθεσης του RNA, ενώ ο ρόλος του σίγμα έγκειται στην *αναγνώριση* της κατάλληλης θέσης επί του DNA, από την οποία θα εκκινήσει η σύνθεση του RNA.



(a)



(β)

**Εικόνα 7.26** Μεταγραφή. (α) Τα στάδια της σύνθεσης του RNA. Οι θέσεις έναρξης και τερματισμού είναι ειδικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων πάνω στο DNA. Ο παράγοντας σίγμα επιτρέπει στην RNA πολυμεράση να αναγνωρίσει τη θέση έναρξης (τον υποκινητή). Ο παράγοντας σίγμα διίσταται στην πορεία της επιμήκυνσης. Η RNA πολυμεράση κινείται κατά μήκος της αλυσίδας του DNA, προκαλώντας παροδική διάνοιξη της διπλής έλικας και μεταγραφή της μίας από τις αλυσίδες του. Όταν η RNA πολυμεράση αφιχθεί σε μια θέση τερματισμού, σταματά η επιμήκυνση της αλυσίδας και απελευθερώνονται το mRNA και η RNA πολυμεράση. (β) Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία μεταγραφής που λαμβάνει χώρα κατά μήκος ενός γονιδίου επί του χρωμοσώματος του *Escherichia coli*. Η περιοχή της ενεργούς μεταγραφής πάνω στο DNA έχει μήκος περίπου δύο χιλιάδες ζεύγη βάσεων. Η μεταγραφή οδεύει από τα αριστερά προς τα δεξιά.



Η διαδικασία της σύνθεσης του RNA στην οποία συμμετέχουν η RNA πολυμεράση και ο παράγοντας σίγμα παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.26. Η RNA πολυμεράση είναι μια μεγάλη πρωτεΐνη και όταν δεσμευτεί στο DNA εφάπτεται με πολλές βάσεις του ταυτοχρόνως. Για να *εκκινήσει* σωστά μια αλυσίδα RNA, η RNA πολυμεράση οφείλει πρώτα να αναγνωρίσει την κατάλληλη περιοχή επί του DNA. Αυτές οι ειδικές θέσεις επί του DNA, στις οποίες δεσμεύεται η RNA πολυμεράση, ονομάζονται υποκινητές.

Ας σημειωθεί και πάλι ότι κάθε φορά μεταγράφεται η *μία* μόνον από τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας. Το ποια αλυσίδα θα μεταγραφεί καθορίζεται από την κατεύθυνση της αλληλουχίας του υποκινητή. Η RNA πολυμεράση εκκινεί από την περιοχή του υποκινητή και κινούμενη (κατά μήκος του DNA) συνθέτει RNA. Από τη στιγμή που δεσμευθεί η RNA πολυμεράση, *διανοίγει* (διαχωρίζει) τη διπλή έλικα του DNA (Εικόνα 7.26).

Καθώς η πολυμεράση κινείται, προκαλεί διαδοχικά την

**εκτύλιξη μικρών τμημάτων του DNA, μετά τη μεταγραφή των οποίων η διπλή έλικα του DNA ξανακλείνει.**

Ως αποτέλεσμα αυτής της προσωρινής διάνοιξης, οι βάσεις της αλυσίδας-εκμαγείου *εκτίθενται* και μπορούν να αντιγραφούν σε συμπληρωματικό RNA.

**Συνεπώς, ο υποκινητής καθοδηγεί την RNA πολυμεράση προς τη μία ή την άλλη κατεύθυνση. Μόλις συντεθεί ένα μικρό τμήμα RNA, ο παράγοντας σίγμα δίσταται, επομένως το μεγαλύτερο τμήμα της επιμήκυνσης επιτελείται αποκλειστικά από τον πυρήνα του ενζύμου (Εικόνα 7.26).**

**Καθώς το νεοσυντεθέν RNA δίσταται από το DNA, το διαχωρισμένο DNA επανασυνδέεται, σχηματίζοντας την αρχική διπλή έλικα.**

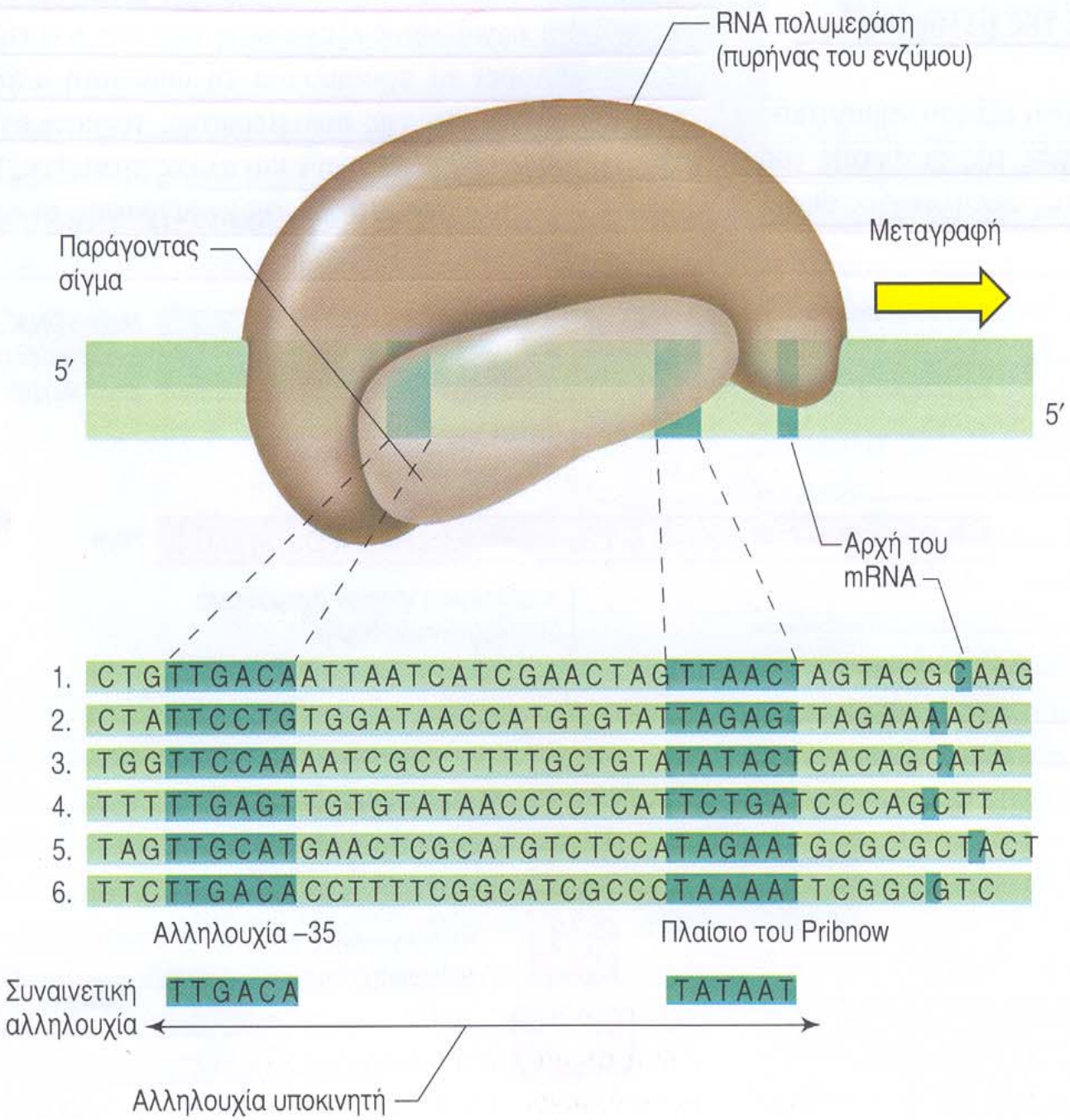
Η μεταγραφή τερματίζεται σε ειδικές περιοχές που αποκαλούνται **σημεία τερματισμού της μεταγραφής**. Επομένως, σε αντίθεση με την αντιγραφή, η οποία αφορά την αντιγραφή ενός ολόκληρου γονιδιώματος, η μεταγραφή κατά κανόνα αφορά πολύ μικρότερα τμήματα του DNA, συχνά μόλις ένα γονίδιο.

## Υποκινητές

Όπως έχει ήδη επισημανθεί, ο υποκινητής διαδραματίζει κομβικό ρόλο στην έναρξη της σύνθεσης του RNA. Οι υποκινητές είναι ειδικές αλληλουχίες του DNA, στις οποίες δεσμεύεται το ένζυμο RNA πολυμεράση. Έχει προσδιοριστεί η αλληλουχία των βάσεων ενός μεγάλου αριθμού υποκινητών **Ο παράγοντας σίγμα, ως τμήμα της RNA πολυμεράσης, είναι αυτός που κατά κύριο λόγο εμπλέκεται στην αναγνώριση αυτών των υποκινητών.**, από πολλούς διαφορετικούς οργανισμούς. Η Εικόνα 7.27 παρουσιάζει τις αλληλουχίες ορισμένων υποκινητών του *Escherichia coli*.

**Κάθε οργανισμός μπορεί να έχει πολλούς διαφορετικούς παράγοντες σίγμα· το *E. Coli* κωδικοποιεί 7 διαφορετικούς παράγοντες σίγμα, ενώ ο *Bacillus subtilis* κωδικοποιεί 17.**

**Αυτοί οι εναλλακτικοί παράγοντες σίγμα επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση να αναγνωρίζει πολλούς και ποικίλους τύπους (αλληλουχίες) υποκινητών. Παρ' όλα αυτά, σε κάθε δεδομένο βακτήριο, η πλειονότητα των γονιδίων του απαιτεί ένα και το αυτό είδος παράγοντα σίγμα.**



**Εικόνα 7.27** Η αλληλεπίδραση της RNA πολυμεράσης με τον υποκινητή. Στο κατώτερο τμήμα του διαγράμματος παρουσιάζονται οι αλληλουχίες έξι διαφορετικών υποκινητών που ταυτοποιήθηκαν στο *Escherichia coli*, ένα είδος *Ευβακτηρίου*. Επίσης, παρουσιάζονται οι περιοχές επαφής της RNA πολυμεράσης με την αλληλουχία -35 και το πλαίσιο του Pribnow (αλληλουχία -10). Η μεταγραφή αρχίζει από μία και μοναδική βάση ακριβώς κάτω από το πλαίσιο του Pribnow. Στις κατιούσες θέσεις από τις πράγματι απαντώμενες αλληλουχίες της περιοχής -35 και του πλαισίου του Pribnow βρίσκονται οι συναινετικές αλληλουχίες, που προάρχονται από τη σύγκριση αλληλουχιών πολλών διαφορετικών υποκινητών.

Όλες οι αλληλουχίες της Εικόνας 7.27 αναγνωρίζονται από τον ίδιο παράγοντα σίγμα, τον κύριο παράγοντα σίγμα του *E. coli*.

Εάν εξετάσει κανείς τις αλληλουχίες, θα διαπιστώσει ότι δεν είναι ταυτόσημες. Εντούτοις υπάρχουν δύο άλληλουχίες στο εσωτερικό της περιοχής κάθε υποκινητή που εμφανίζουν *μεγάλο βαθμό συντήρησης* μεταξύ των υποκινητών και είναι αυτές που αναγνωρίζονται από τον σίγμα. Αμφότερες οι αλληλουχίες προηγούνται του σημείου από το οποίο αρχίζει η μεταγραφή.

**Η μία περιοχή εδράζεται 10 βάσεις πριν από το σημείο έναρξης της μεταγραφής, είναι η περιοχή -10 (αποκαλούμενη και *πλαίσιο του Pribnow*). Συγκρίνοντας τις περιοχές -10 όλων των υποκινητών που αναγνωρίζονται από τον κύριο παράγοντα σίγμα, με σκοπό τον καθορισμό του ποια βάση απαντά συχνότερα σε κάθε διαφορετική θέση, καταλήγει κανείς στη *συναινετική αλληλουχία TATAAT*.**

**Η δεύτερη περιοχή συντηρημένης αλληλουχίας βρίσκεται σε απόσταση 35 περίπου βάσεων από το σημείο έναρξης της μεταγραφής. Η συναινετική αλληλουχία στην περιοχή -35 είναι η TTGACA**

Μολονότι η *E. coli* διαθέτει επτά διαφορετικούς παράγοντες σίγμα, ο κάθε παράγοντας αναγνωρίζει διαφορετική συναινετική αλληλουχία. Συνεπώς, οι υπόλοιποι έξι παράγοντες σίγμα θα κατευθύνουν την RNA πολυμεράση προς υποκινητές με αλληλουχίες διαφορετικές από εκείνες που απεικονίζονται στην Εικόνα 7.27. Οι περισσότεροι από τους υποκινητές αυτούς ανήκουν σε διαφορετικά γονίδια (μολονότι ορισμένα γονίδια διαθέτουν περισσότερους του ενός υποκινητές). Ας επισημάνουμε, ότι στην Εικόνα 7.27 παρουσιάζεται η αλληλουχία της μίας από τις δύο αλυσίδες. Κατά σύμβαση μεταξύ των γενετιστών, η αλληλουχία που απεικονίζεται είναι αυτή της οποίας το άκρο 5' έχει ανοδικό προσανατολισμό (συνεπώς, αυτή δεν είναι η αλυσίδα που χρησιμοποιείται από την RNA πολυμεράση ως εκμαγείο). Η παρουσίαση της μίας αλυσίδας μόνο αποτελεί απλώς μια «συντόμευση» για την εξοικονόμηση χώρου. Εντούτοις, είναι σημαντικό να θυμάται κανείς ότι οι υπο-

κινητές είναι δίκλωνοι, το οποίο σημαίνει ότι η RNA πολυμεράση αναγνωρίζει και δεσμεύεται σε δίκλωνο DNA.

**Βεβαίως, μόνον η μία αλυσίδα χρησιμοποιείται ως εκμαγείο.**

**Υπενθυμίζεται ότι ο ευκαρυωτικός πυρήνας περιέχει τρεις διαφορετικές RNA πολυμεράσες. Καθένα από τα ένζυμα αυτά αναγνωρίζει έναν υποκινητή που είναι συνδεδεμένος με μια ειδική τάξη γονιδίων.**

**Η RNA πολυμεράση I συνθέτει τους περισσότερους τύπους του *rRNA*.**

**Η RNA πολυμεράση II συνθέτει όλα τα *mRNA* και η**

**RNA πολυμεράση III συνθέτει *tRNA* (και έναν από τους τύπους του *rRNA*). Αιτία αυτής της εξειδίκευσης είναι ότι κάθε τύπος RNA πολυμεράσης αναγνωρίζει μόνον εκείνους τους υποκινητές που εμφανίζονται με την ειδική τάξη γονιδίων. Στα *Ευβακτήρια*, ο υποκινητής ενός γονιδίου που κωδικοποιεί κάποια πρωτεΐνη θα μπορούσε κάλλιστα να είναι ταυτόσημος με τον υποκινητή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί ένα *tRNA*.**

Αυτό δεν συμβαίνει στους ευκαρυώτες.

## Σημεία τερματισμού της μεταγραφής

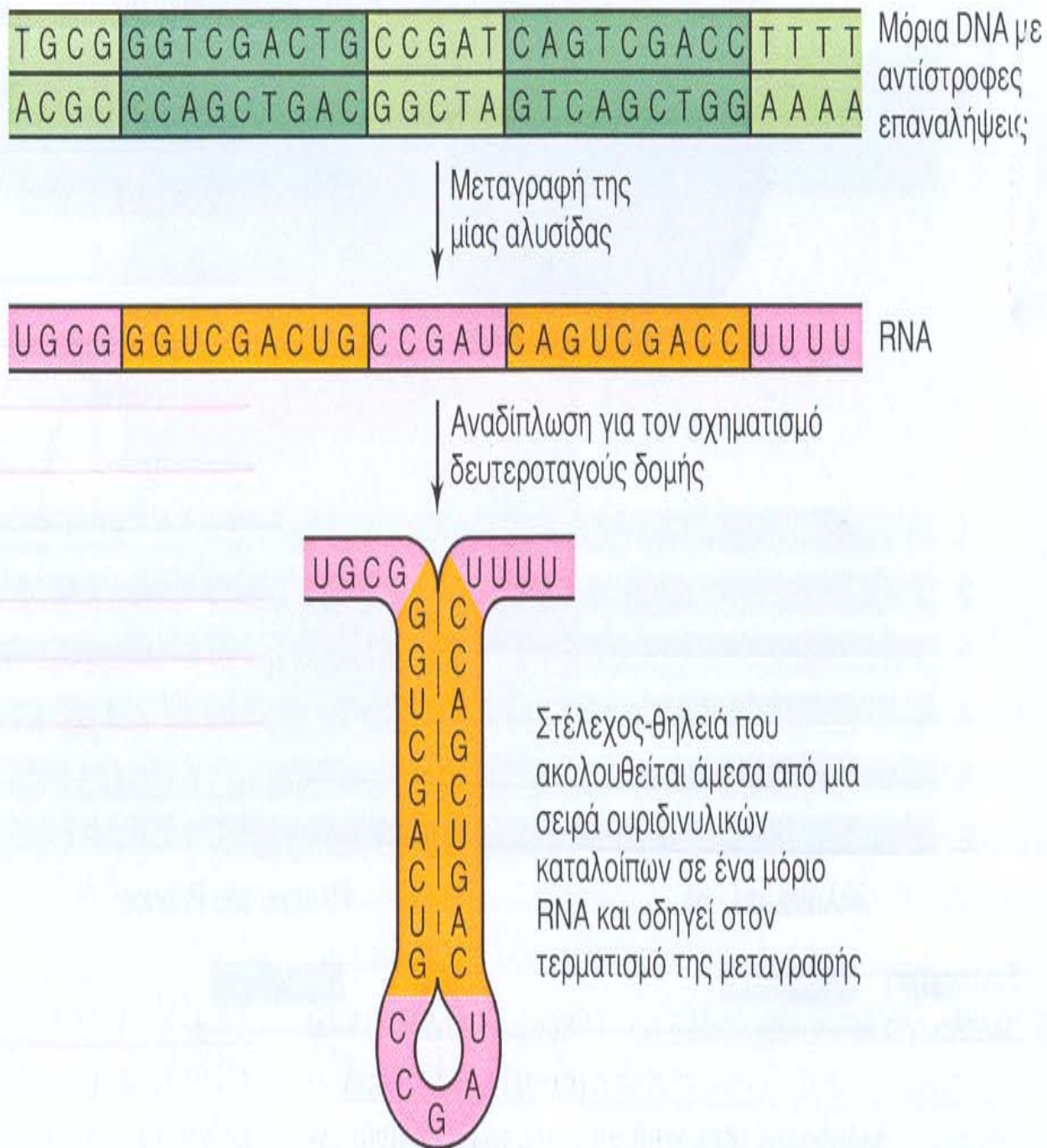
Ο τερματισμός της σύνθεσης του RNA πραγματοποιείται με ειδικές αλληλουχίες βάσεων πάνω στο DNA.

**Στα *Ευβακτήρια*, οι συνήθεις αλληλουχίες τερματισμού επί του DNA περιέχουν μια αντίστροφη επανάληψη, στο κέντρο της οποίας βρίσκεται μια μη επαναλαμβανόμενη αλληλουχία.**

Όταν μεταγράφεται μια τέτοια αλληλουχία DNA, το RNA μπορεί να σχηματίσει μια δομή στελέχους-θηλιάς μέσω του σχηματισμού ενδομοριακών δεσμών μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων του (Εικόνα 7.28). **Οι δομές στελέχους-θηλιάς στο RNA που προηγούνται μιας μακράς ακολουθίας ουριδινών συνιστούν αποτελεσματικές δομές τερματισμού της μεταγραφής. Ορισμένες άλλες τερματικές δομές είναι περιοχές που συνίστανται από μια αλληλουχία πλούσια σε GC, την οποία ακολουθεί μια αλληλουχία πλούσια σε AT. Οι αλληλουχίες αυτού του είδους οδηγούν στον τερματισμό της μεταγραφής χωρίς την προσθήκη οιασδήποτε επιπλέον παράγοντα και ενίοτε ονομάζονται *εγγενή ή εσωτερικά σημεία τερματισμού*.**



**Εικόνα 7.28** Οι αντίστροφες επαναλήψεις στο μεταγραφόμενο DNA έχουν ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας δομής στελέχους-θηλειάς στο RNA, που μπορεί να οδηγήσει στον τερματισμό της μεταγραφής.



Επίσης, έχουν ανακαλυφθεί και άλλες αλληλουχίες τερματισμού, οι οποίες, για να λειτουργήσουν ως τερματικές απαιτούν επιπλέον τη δράση ειδικών πρωτεϊνικών παραγόντων και της RNA πολυμεράσης.

Στο *Eschreichia coli* υπάρχει ένας τύπος σημείου τερματισμού που απαιτεί τη δράση μιας πρωτεΐνης, η οποία αποκαλείται παράγοντας ρ (Rho).

Ο παράγοντας ρ δεν δεσμεύεται ούτε στην RNA πολυμεράση ούτε στο DNA, αλλά δεσμεύεται σταθερά στο RNA και κινείται κατά μήκος της αλυσίδας προς το σύμπλοκο της RNA πολυμεράσης με το DNA. Μόλις η RNA πολυμεράση σταματήσει σε κάποια θέση τερματισμού εξαρτώμενη από τον ρ, ο παράγοντας ρ μπορεί να προκαλέσει τη διάσπαση από το DNA του RNA και της πολυμεράσης, τερματίζοντας έτσι τη μεταγραφή.

Δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι το RNA μεταγράφεται από το DNA, επομένως ο τερματισμός της μεταγραφής καθορίζεται σε τελική ανάλυση από ειδικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων πάνω στο DNA. Όσον αφορά τα σήματα τερματισμού της μεταγραφής των

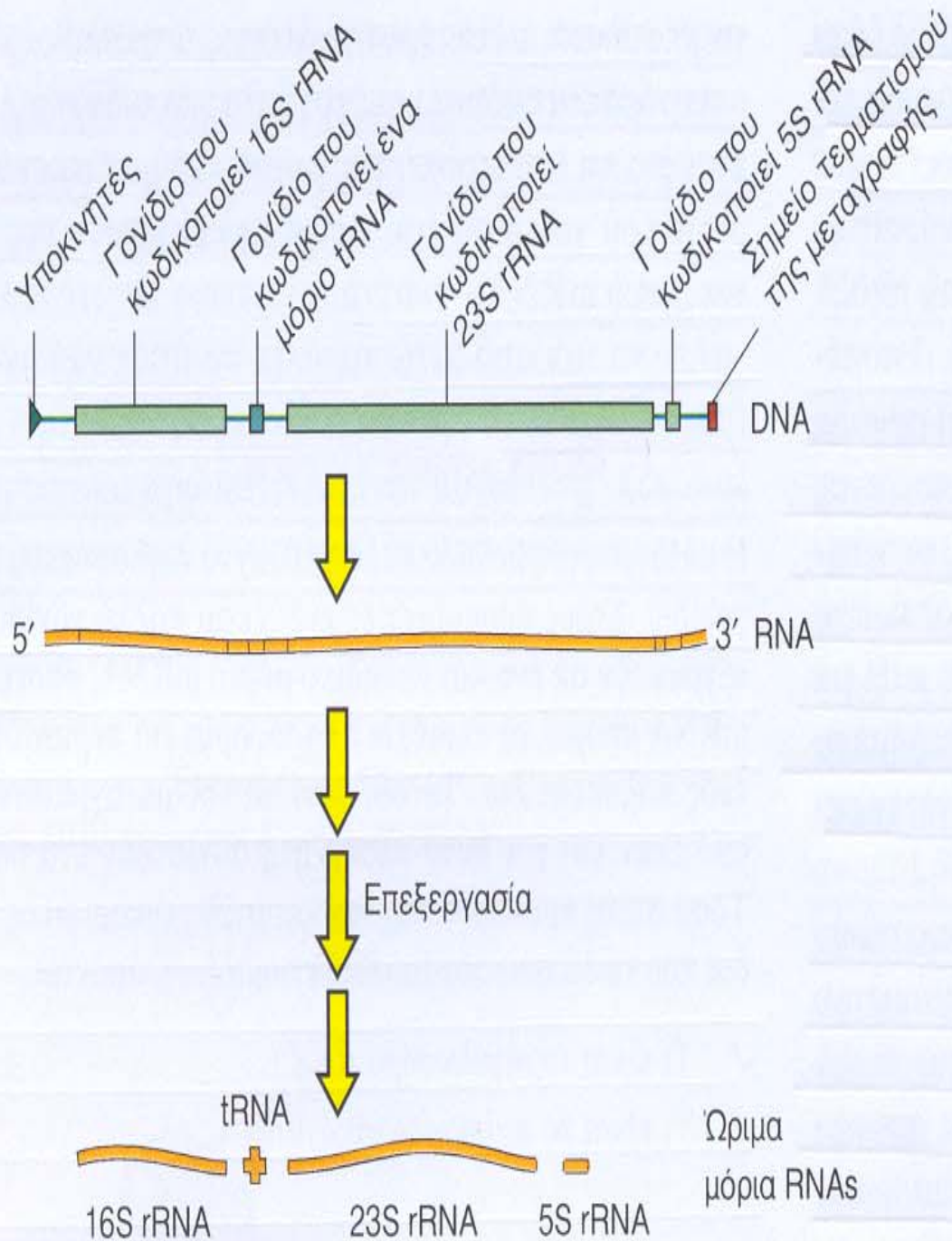
*Αρχαίων*, πολύ λίγα πράγματα είναι γνωστά, αλλά φαίνεται σαφώς ότι σε ορισμένα γονίδια τους εμπλέκονται αντίστροφες επαναλήψεις ακολουθούμενες από αλληλουχίες πλούσιες σε AT, παρόμοιες με αυτές που απαντούν σε πολλά ευβακτηριακά σημεία τερματισμού της μεταγραφής. Ωστόσο, οι αλληλουχίες αυτές δεν υπάρχουν σε άλλα γονίδια *Αρχαίων*.

### **Η μεταγραφική μονάδα**

**Ορισμένες μεταγραφικές μονάδες περιλαμβάνουν δύο ή και περισσότερα γονίδια. Τα γονίδια αυτά συμμεταγράφονται, παράγοντας ένα μοναδικό μόριο RNA.**

Τα περισσότερα γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες, ενώ άλλα κωδικοποιούν μόρια RNA που δεν μεταφράζονται, όπως το ριβοσωματικό RNA (rRNA) και το μεταφορικό RNA (tRNA).

**Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί περιέχουν τρεις τύπους: το rRNA 16S (ή 16S rRNA), το rRNA 23S (ή 23S rRNA) και το rRNA 5S (ή 5S rRNA).** Όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 7.29, υπάρχουν γονιδιακά συμπλέγματα που περιέχουν ένα γονίδιο για κάθε έναν από τους τύπους rRNA και τα



**Εικόνα 7.29** Μια μεταγραφική μονάδα ριβοσωματικού rRNA ενός *Ευβακτηρίου*. Αυτός ο τύπος μεταγραφικής μονάδας ονομάζεται «οπερόνιο του rRNA». Στα *Ευβακτήρια*, όλα αυτά τα οπερόνια περιέχουν τα γονίδια των rRNA με την ακόλουθη σειρά: 16S rRNA, 23S rRNA και 5S rRNA (παρουσιάζονται στην ίδια περίπου κλίμακα). Σημειώστε, ότι στο συγκεκριμένο οπερόνιο το «ενδιάμεσο DNA» μεταξύ των γονιδίων των 16S και 23S rRNA περιέχει ένα γονίδιο tRNA. Σε άλλα οπερόνια μπορεί η περιοχή αυτή να περιέχει περισσότερα του ενός γονίδια tRNA, ενώ συχνά το γονίδιο του 5S rRNA ακολουθείται από ένα ή περισσότερα γονίδια tRNA, τα οποία και συμμεταγράφονται. Το *Escherichia coli* περιέχει επτά τέτοια οπερόνια. Οι αντίστοιχες μεταγραφικές μονάδες των ευκαρυωτών δεν περιέχουν γονίδια μη ριβοσωματικών RNA.

γονίδια ενός τέτοιου συμπλέγματος συμμεταγράφονται. Σε όλους τους οργανισμούς η μεταγραφική μονάδα για τα περισσότερα rRNA είναι μεγαλύτερη του ενός γονιδίου. **Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, τα γονίδια των tRNA συμμεταγράφονται συχνά από κοινού, ή ακόμη, όπως παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.29, μαζί με τα γονίδια των rRNA. Όλα αυτά τα μεταγραφήματα πρέπει να υποστούν επεξεργασία για να παραχθούν ώριμα μόρια rRNA ή tRNA.** Υπενθυμίζεται ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, το επιτυγχάνουν μέσω ενός ενδιάμεσου προϊόντος, του αποκαλούμενου αγγελιοφόρου RNA (mRNA).

**Τα περισσότερα mRNA, τόσο στους προκαρυώτες όσο και στους ευκαρυώτες είναι ασταθή και αποδομούνται από τις κυτταρικές νουκλεάσες.**

**Στους προκαρυώτες, ένα και μοναδικό μόριο mRNA μπορεί να κωδικοποιεί περισσότερες από μια πρωτεΐνες. Στα προκαρυωτικά γενετικά στοιχεία, τα γονίδια που κωδικοποιούν λειτουργικώς σχετιζόμενα μεταξύ τους ένζυμα βρίσκονται συχνά μαζί σε συμπλέγματα. Σε αυτές τις περιπτώσεις,**

η RNA πολυμεράση προωθείται κατά μήκος της αλυσίδας και μεταγράφει ολόκληρη την ομάδα των γονιδίων σε ένα και μόνο μακρύ μόριο mRNA. Ένα mRNA που κωδικοποιεί μια τέτοια ομάδα συμμεταγραφόμενων γονιδίων ονομάζεται **πολυκιστρονικό mRNA**.

**Ακολούθως, όταν αυτό το πολυκιστρονικό mRNA υπεισέλθει στην πρωτεϊνοσύνθεση, μπορούν να συντεθούν ταυτοχρόνως πολλά διαφορετικά πολυπεπίδια, τα οποία κωδικοποιούνται από ένα και μόνο mRNA.**

**Οπερόνιο** είναι μια ολοκληρωμένη μονάδα γονιδιακής έκφρασης, η οποία συχνά περιλαμβάνει είτε γονίδια που κωδικοποιούν πολλά πολυπεπίδια με ένα πολυκιστρονικό mRNA είτε γονίδια που κωδικοποιούν rRNA. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η μεταγραφή του mRNA ενός οπερονίου βρίσκεται υπό τον έλεγχο μιας ειδικής περιοχής του DNA, του **χειριστή**, ο οποίος γειτνιάζει με τη κωδική περιοχή του πρώτου γονιδίου του οπερονίου.

### **Επεξεργασία του RNA και ριβοένζυμα**

Η μεταγραφή μπορεί να παράγει πολλούς τύπους μορίων RNA: το αγγε-

λιοφόρο RNA, το μεταφορικό RNA και το ριβοσωματικό RNA. Ωστόσο, για να είναι λειτουργικά, πολλά από αυτά τα RNA πρέπει προηγουμένως να υποστούν μια επεξεργασία μετά τη μεταγραφή, που τους προσδίδει την ώριμη μορφή τους. Στη πραγματικότητα, το μόνο λειτουργικό μόριο RNA που αποτελεί άμεσο προϊόν μεταγραφής είναι το mRNA των προκαρυωτών. Όλα τα άλλα μόρια RNA πρέπει να υποστούν κάποιο είδος επεξεργασίας. Επεξεργασία του RNA είναι η μετατροπή ενός πρόδρομου μορίου RNA σε ώριμο RNA.

**Τα γονίδια των ευκαρυωτών διακόπτονται συχνά από μη κωδικοποιούσες, παρεμβαλλόμενες αλληλουχίες, τα εσώνια, τα οποία διαχωρίζουν τις κωδικοποιούσες περιοχές, τα εξώνια.**

Το πρωτογενές μεταγράφημα ενός τέτοιου γονιδίου, πριν μπορέσει να εκκινήσει η διαδικασία μετάφρασής του πρέπει προηγουμένως να υποστεί εκτεταμένη επεξεργασία για την απομάκρυνση

των μη κωδικοποιούντων περιοχών. Το στάδιο της επεξεργασίας κατά το οποίο απομακρύνονται τα εσώνια και συνενώνονται τα εξώνια ονο-

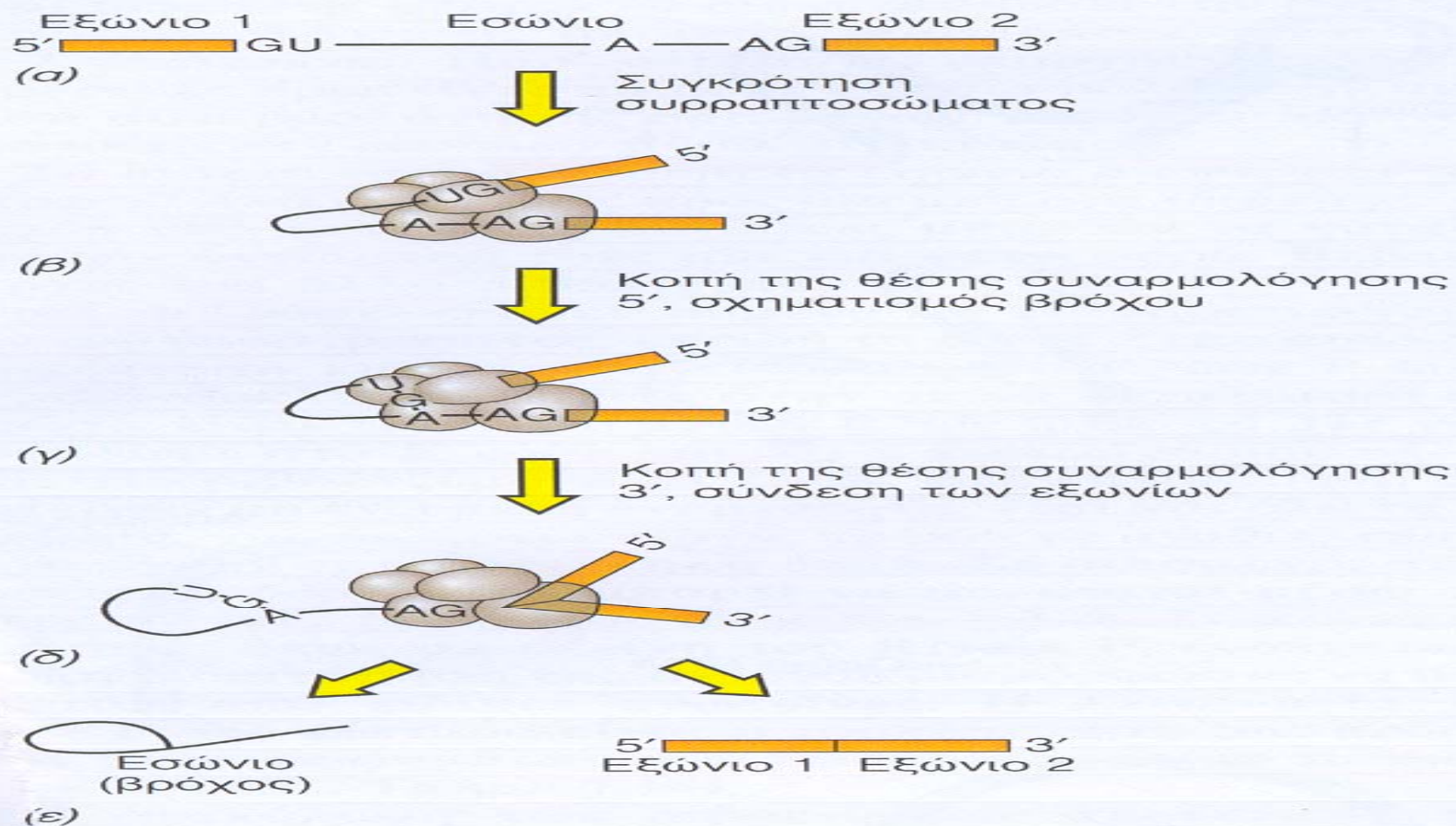
μάζεται συναρμολόγηση.

**Στη διαδικασία εμπλέκεται ένα σύμπλοκο το οποίο περιέχει πολλές διαφορετικές ριβονουκλεοπρωτεΐνες (που η κάθε μία περιέχει ένα μικρό μόριο RNA και πολλές πρωτεΐνες) και ονομάζεται συρραπτόσωμα (ή σωματίο ματίσματος).**

Το συρραπτόσωμα είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη δομή, ικανή να απομακρύνει εσώνια και να συνενώνει διαδοχικά εξώνια, σχηματίζοντας έτσι το ώριμο μόριο mRNA. Η Εικόνα 7.30 αναπαριστά σχηματικά την αντίδραση δύο σταδίων μέσω της οποίας απομακρύνεται ένα εσώνιο ενός ευκαρυωτικού προ-mRNA, ενώ αυτό βρίσκεται ακόμη στον πυρήνα. Τα εσώνια που απομακρύνονται αποδομούνται από το κύτταρο.

Στους ανώτερους ευκαρυώτες, συχνά υπάρχουν πολλά εσώνια σε ένα γονίδιο και επομένως έχει ιδιαίτερη σημασία, όχι μόνο απλά η απομάκρυνσή τους, αλλά και η απομάκρυνσή τους με την ορθή σειρά. Υπάρχουν δύο ακόμη διαδικασίες επεξεργασίας που εμφανίζονται μόνο στα





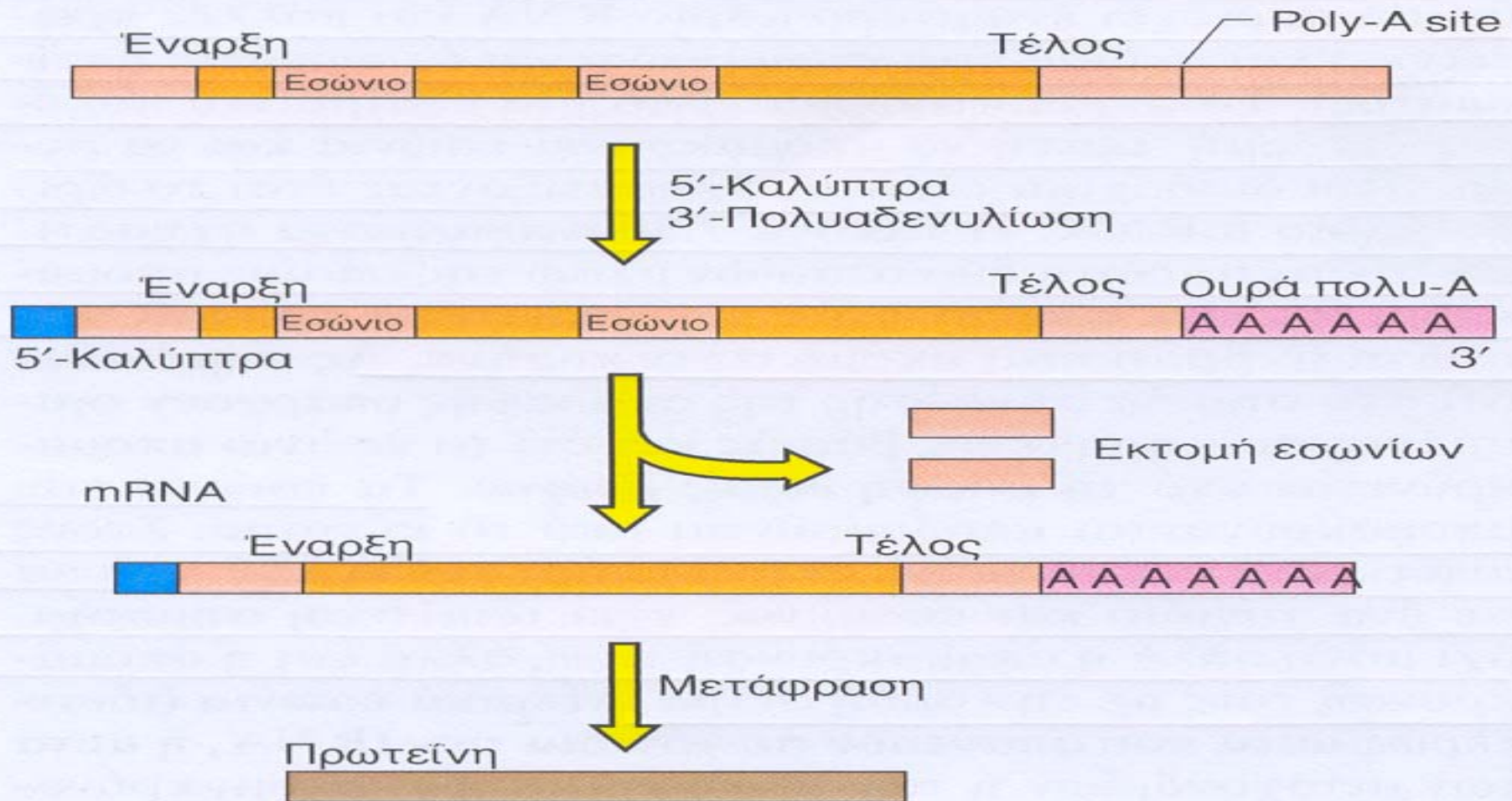
**Εικόνα 7.30** Η απομάκρυνση ενός εσωνίου από το μεταγράφημα ενός ευκαρυωτικού γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνη. (α) Το προ-mRNA με ένα εσώνιο. Η αλληλουχία GU στη θέση συναρμολόγησης 5' και η αλληλουχία AG στη θέση 3' είναι συντηρημένες. Υπάρχει επίσης μια εσωτερική A που λειτουργεί ως θέση διακλάδωσης. (β) Πολλά μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια (απεικονίζονται με καστανό χρώμα) συγκροτούνται πάνω στο RNA και σχηματίζουν το συρραπτόσωμα. Κάθε ένα από τα σωματίδια αυτά περιέχει μικρά διακριτά μόρια RNA, τα οποία συμμετέχουν στον μηχανισμό της συναρμολόγησης. (γ) Η θέση συναρμολόγησης 5' έχει κοπεί με ταυτόχρονο σχηματισμό μιας θέσης διακλάδωσης. (δ) Η θέση συναρμολόγησης 3' έχει κοπεί, ενώ τα δύο εξώνια συνενώνονται. Ας σημειωθεί ότι, συνολικά, έχουν διασπαστεί δύο φωσφοδιεστερικοί δεσμοί, και έχουν σχηματιστεί δύο νέοι. (ε) Τα τελικά προϊόντα είναι τα δύο ενωμένα εξώνια, το mRNA, και το απελευθερωμένο εσώνιο.

ευκαρυωτικά mRNA. Αμφότερες διαδραματίζονται στον πυρήνα πριν από τη μεταφορά του ώριμου mRNA στο κυτταρόπλασμα. Η πρώτη διαδικασία ονομάζεται **προσθήκη καλύπτρας** (ή **ετικέτας**) και συντελείται πριν την ολοκλήρωση της μεταγραφής. Η προσθήκη καλύπτρας συνίσταται στην προσθήκη μίας μεθυλιωμένης γουανιδίνης στο φωσφορικό άκρο 5' του μεταγραφήματος. Περιστασιακά μπορεί να μεθυλιωθούν και άλλα νουκλεοτίδια που βρίσκονται κοντά στο 5'-άκρο του ευκαρυωτικού mRNA. Η άλλη διαδικασία επεξεργασίας συνίσταται στην κοπή του 3'-άκρου του προ-mRNA και στην προσθήκη μιας *ουράς* πολύ-*A*. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται **πολυαδενυλίωση** και είναι συυφασμένη με τον τερματισμό της μεταγραφής. Οι τρεις παραπάνω διαδικασίες που οδηγούν στον σχηματισμό του ευκαρυωτικού mRNA παρουσιάζονται στην Εικόνα 7.31.

## **Ριβοένζυμα**

Σε πολλές σημαντικές κυτταρικές διεργασίες εμπλέκονται *ριβονουκλεο-*

## Προ-mRNA (πρωτογενές μεταγράφημα)



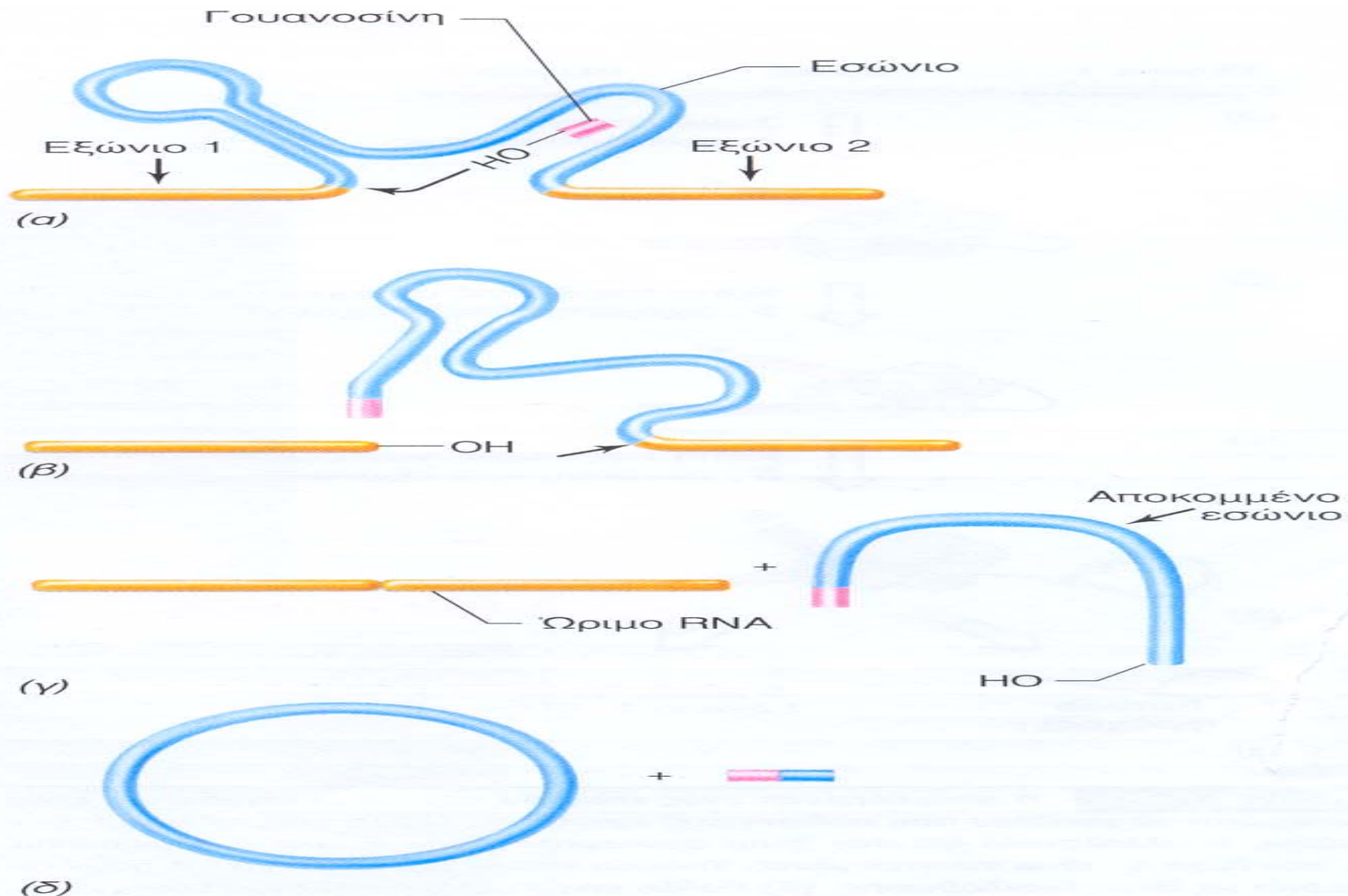
### Εικόνα 7.31

Επισκόπηση της επεξεργασίας του προ-mRNA σε ώριμο mRNA, σε έναν ευκαρυώτη. Τα στάδια της επεξεργασίας περιλαμβάνουν την προσθήκη καλύπτρας στο 5'-άκρο, την απομάκρυνση των εσωνίων και την κοπή του 3'-άκρου του μεταγραφήματος, ενώ προστίθεται μια ουρά πολυ-A. Όλα αυτά τα στάδια λαμβάνουν χώρα στον πυρήνα. Υποδεικνύεται επίσης η θέση των κωδικονίων έναρξης και τερματισμού, τα οποία θα χρησιμοποιηθούν στη συνέχεια κατά τη μετάφραση.

πρωτεΐνες, δηλαδή σύμπλοκα μόρια που περιέχουν τόσο RNA όσο και πρωτεΐνες. Τα καταλυτικά RNA, που αποκαλούνται **ριβοένζυμα**, συμμετέχουν σε έναν σημαντικό αριθμό κυτταρικών αντιδράσεων. Τα ένζυμα από RNA δρουν όπως τα πρωτεϊνικά ένζυμα, υπό την έννοια ότι διαθέτουν ένα «ενεργό κέντρο» που δεσμεύει το υπόστρωμα και καταλύει τον σχηματισμό ενός προϊόντος.

**Τα περισσότερα ριβοένζυμα είναι αυτοσυναρμολογούμενα εσώνια.**

Πρόκειται για *ένζυμα συναρμολόγησης του RNA*, που αυτοαφαιρούνται από ένα μόριο RNA, ενώ συνενώνουν τα διαδοχικά εξώνια. Στην ιδιαίτερα καλά μελετημένη περίπτωση της συναρμολόγησης ενός ριβοσωματικού RNA της *Tetrahymena* (ενός ευκαρυωτικού οργανισμού), υπάρχει ένα εσώνιο, μήκους 413 νουκλεοτιδίων, το οποίο δρα ως ριβοένζυμο, εκτέμνει τον εαυτό του από ένα μακρύτερο πρόδρομο μόριο rRNA και συνενώνει τα δύο γειτονικά εξώνια, ώστε να σχηματιστεί το τελικό rRNA (Εικόνα 7.32). Το εσώνιο-ριβοένζυμο δρα ως μια αλληλουχιακά εξειδικευμένη ενδονουκλεάση η οποία,



**Εικόνα 7.32** Το αυτοσυναρμολογούμενο ριβοενζυμικό εσώνιο του πρωτοζώου *Tetrahymena*. Τα μόρια αυτά εμφανίζουν σημαντική δευτεροταγή δομή, η οποία έχει κρίσιμη σημασία για την αντίδραση. (α) Ένα πρόδρομο μόριο ριβισωματικού RNA περιέχει ένα εσώνιο μήκους 413 νουκλεοτιδίων. (β) Μετά την προσθήκη ενός γουανοσινικού νουκλεοσιδίου, το εσώνιο αποκόπτεται τον εαυτό του και συνενώνει τα δύο εξώνια. (γ) Η εκτομή του εσωνίου έχει ολοκληρωθεί. (δ) Το εσώνιο κυκλοποιείται με ταυτόχρονη απώλεια ενός θραύσματος μήκους 15 νουκλεοτιδίων.

αφού απομακρύνει τον εαυτό της από το πρόδρομο μόριο RNA, κυκλοποιείται, ενώ παράλληλα αποκόπτεται και ένα δεύτερο μικρό, ολιγονουκλεοτιδικό θραύσμα (Εικόνα 7.32). Τα αυτοσυναρμολογούμενα εσώνια διαφέρουν από τα πρωτεϊνικά ένζυμα ως προς μια μείζονα ιδιότητα, ότι δηλαδή υπό κανονικές συνθήκες μπορούν να καταλύσουν την αντίδρασή τους μία και μόνο φορά. Βεβαίως υπάρχει ένα άλλο ριβοένζυμο, το RNase P, το οποίο μπορεί να δράσει επανειλημμένα επί διαφορετικών μορίων του υποστρώματος, επειδή το ριβοένζυμο αυτό δεν αυτοπέπτεται κατά την αντίδραση. Το RNase P είναι μια ριβονουκλεοπρωτεΐνη, στην οποία καταλυτική συνιστώσα είναι το μικρό μόριο RNA (μήκους 377 νουκλεοτιδίων, στο *E. Coli*), και όχι η πρωτεΐνη που περιέχεται στο ριβοένζυμο αυτό. Η λειτουργία του Rnase P στο κύτταρο είναι η τροποποίηση των πρωτογενών μεταγραφημάτων που κωδικοποιούν τα μεταφορικά RNA.

Όπως στην περίπτωση των πρωτεϊνών με ενζυμική ενεργότητα, έτσι και όλα τα ριβοένζυμα, για να είναι ενεργά, πρέπει να αναδιπλωθούν και

να έχουν την κατάλληλη δομή. Σε ορισμένες περιπτώσεις, η δομή αυτή μπορεί να αποκτάται μέσω της δευτεροταγούς δομής του ίδιου του RNA.

## **ΠΡΩΤΕΪΝΟΣΥΝΘΕΣΗ**

Τα δύο πρώτα στάδια μεταφοράς της βιολογικής πληροφορίας, η αντιγραφή και η μεταγραφή, περιλαμβάνουν τη σύνθεση νουκλεϊκών οξέων με τη χρήση άλλων νουκλεϊκών οξέων ως εκμαγείων. Το τελευταίο στάδιο, η μετάφραση, συνδέεται με ένα εκμαγείο από νουκλεϊκό οξύ, αλλά στην περίπτωση αυτή το τελικό προϊόν είναι μια πρωτεΐνη.


### **Ο γενετικός κώδικας**

Μια τριπλέτα βάσεων, που ονομάζεται **κωδικόνιο**, κωδικοποιεί ένα ειδικό αμινοξύ. Έχει καθιερωθεί, ο γενετικός κώδικας να αναφέρεται στην αλληλουχία του RNA και όχι του DNA, επειδή το RNA είναι εκείνο που συμμετέχει στη διαδικασία της μετάφρασης.

Τα 64 πιθανά κωδικόνια του mRNA παρουσιάζονται στον Πίνακα 7.3. Σημειώνεται ότι,

**ΠΙΝΑΚΑΣ 7.3** Ο γενετικός κώδικας, όπως εκφράζεται από τριπλέτες αλληλουχιών βάσεων του mRNA<sup>a</sup>

Κωδικόνιο	Αμινοξύ	Κωδικόνιο	Αμινοξύ	Κωδικόνιο	Αμινοξύ	Κωδικόνιο	Αμινοξύ
UUU	Φαινυλαλανίνη	UCU	Σερίνη	UAU	Τυροσίνη	UGU	Κυστεΐνη
UUC	Φαινυλαλανίνη	UCC	Σερίνη	UAC	Τυροσίνη	UGC	Κυστεΐνη
UUA	Λευκίνη	UCA	Σερίνη	UAA	Κανένα (σήμα τερματισμού)	UGA	Κανένα (σήμα τερματισμού)
UUG	Λευκίνη	UCG	Σερίνη	UAG	Κανένα (σήμα τερματισμού)	UGG	Τρυπτοφάνη
CUU	Λευκίνη	CCU	Προλίνη	CAU	Ιστιδίνη	CGU	Αργινίνη
CUC	Λευκίνη	CCC	Προλίνη	CAC	Ιστιδίνη	CGC	Αργινίνη
CUA	Λευκίνη	CCA	Προλίνη	CAA	Γλουταμίνη	CGA	Αργινίνη
CUG	Λευκίνη	CCG	Προλίνη	CAG	Γλουταμίνη	CGG	Αργινίνη
AUU	Ισολευκίνη	ACU	Θρεονίνη	AAU	Ασπαραγίνη	AGU	Σερίνη
AUC	Ισολευκίνη	ACC	Θρεονίνη	AAC	Ασπαραγίνη	AGC	Σερίνη
AUA	Ισολευκίνη	ACA	Θρεονίνη	AAA	Λυσίνη	AGA	Αργινίνη
AUG (έναρξη) <sup>b</sup>	Μεθειονίνη	ACG	Θρεονίνη	AAG	Λυσίνη	AGG	Αργινίνη
GUU	Βαλίνη	GCU	Αλανίνη	GAU	Ασπαρτικό οξύ	GGU	Γλυκίνη
GUC	Βαλίνη	GCC	Αλανίνη	GAC	Ασπαρτικό οξύ	GGC	Γλυκίνη
GUA	Βαλίνη	GCA	Αλανίνη	GAA	Γλουταμικό οξύ	GGA	Γλυκίνη
GUG	Βαλίνη	GCG	Αλανίνη	GAG	Γλουταμικό οξύ	GGG	Γλυκίνη

<sup>a</sup> Τα επιμέρους πλαίσια με τα κωδικώνια έχουν χρωματισθεί ως εξής: ■ ιοντίσιμο: όξινη αντίδραση, ■ ιοντίσιμο: βασική αντίδραση, ■ μη ιοντίσιμο, πολικό, και ■ μη πολικό αμινοξύ (  Εικόνα 3.12). Το αριστερότερο νουκλεοτίδιο βρίσκεται στο άκρο 5' της τριπλέτας.

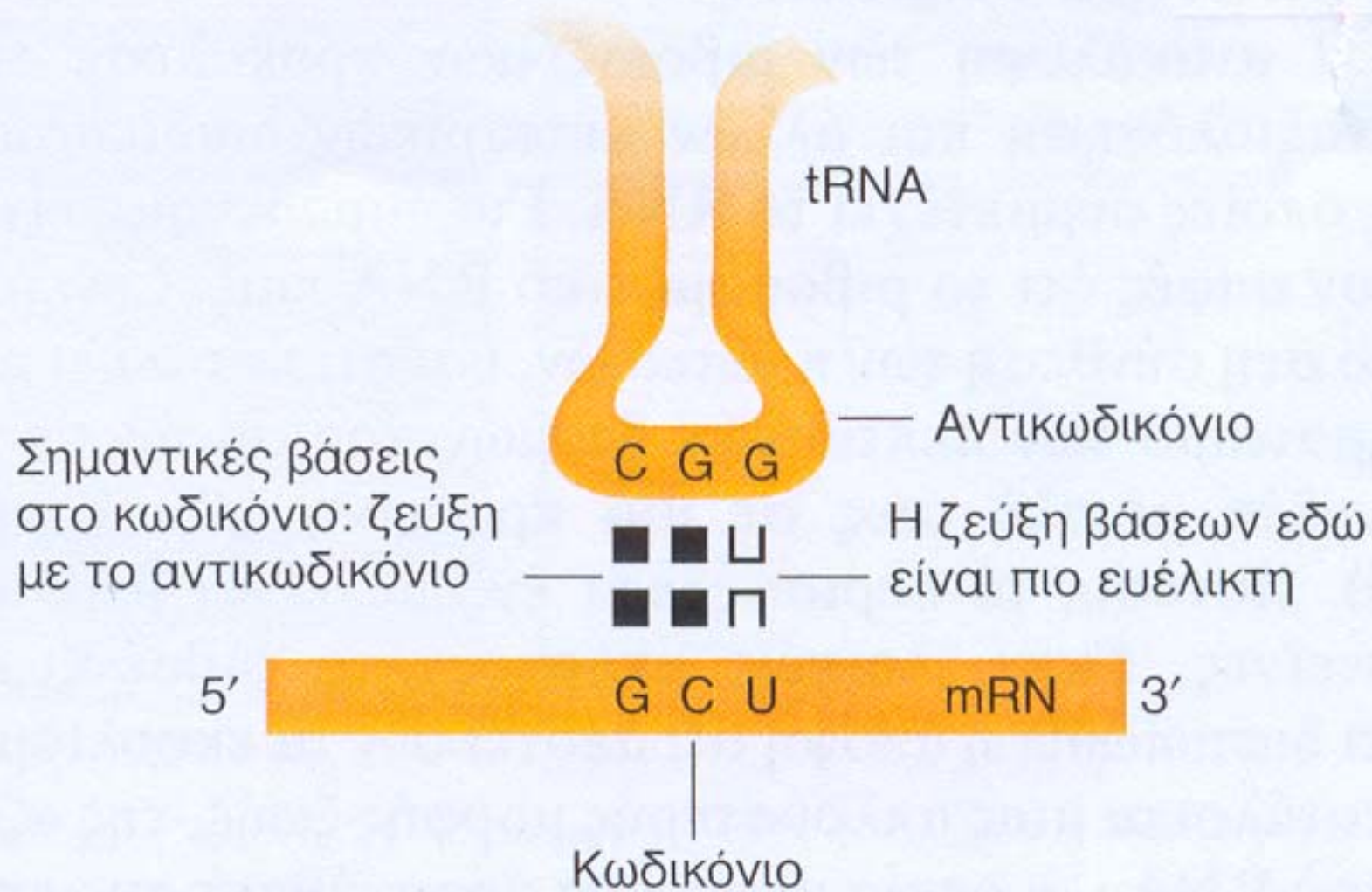
<sup>b</sup> Στην αρχή των mRNAs των *Βακτηρίων*, το AUG κωδικοποιεί τη Ν-φορμυλομεθειονίνη.



πλην των κωδικονίων που κωδικοποιούν τα διάφορα αμινοξέα, υπάρχουν επίσης **ειδικά κωδικόνια για την έναρξη (AUG) και τον τερματισμό (UAA, UAG, UGA) της μετάφρασης.**

Η πιο ενδιαφέρουσα ίσως ιδιότητα του γενετικού κώδικα είναι ότι τα περισσότερα αμινοξέα κωδικοποιούνται από πολλές διαφορετικές, αλλά παρόμοιες τριπλέτες βάσεων. Αυτό σημαίνει ότι στις περισσότερες περιπτώσεις δεν υπάρχει μονοσήμαντη αντιστοιχία μεταξύ του αμινοξέος και του κωδικονίου (δηλαδή η γνώση του αμινοξέος δεν σημαίνει αυτόματα και γνώση του κωδικονίου της συγκεκριμένης θέσης). Η ιδιότητα ενός κώδικα, στον οποίο δεν υφίσταται μονοσήμαντη αντιστοιχία μεταξύ λέξεων και κωδικονίων, ονομάζεται **εκφυλισμός.**

Ένα κωδικόνιο στο κύτταρο *διαβάζεται* μέσω της ζεύξης των βάσεων του με την αλληλουχία τριών βάσεων ενός tRNA, που ονομάζεται **αντικωδικόνιο.** Για παράδειγμα, στο *E. coli* υπάρχει μόνο ένα tRNA που μεταφέρει το αμινοξύ λυσίνη και μπορεί να διαβάσει τόσο το AAA όσο και το AAG (βλ. Πίνακα 7.3).



**Εικόνα 7.33** Η έννοια της ταλάντευσης: η ζεύξη βάσεων είναι πιο ευέλικτη στην τρίτη βάση του κωδικονίου. Εδώ παρουσιάζεται τμήμα μόνο του μορίου tRNA (βλ. Εικόνα 7.35).

Αυτό είναι δυνατόν επειδή, σε ορισμένες περιπτώσεις, τα μόρια tRNA σχηματίζουν *κανονικά* ζεύγη βάσεων μόνο με τις δύο πρώτες θέσεις του κωδικονίου, ενώ στην τρίτη θέση ανέχονται ασυνήθιστες ζεύξεις βάσεων. Φαινομενικά, αυτό αποτελεί φαινόμενο εσφαλμένης ζεύξης, ονομάζεται **ταλάντευση** και παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.33.

Στη θέση ταλάντευσης είναι επιτρεπτή η ζεύξη G και U.

### **Κωδικόνια έναρξης και τερματισμού**

**Οι τριπλέτες αυτές (UAA, UAG, UGA) είναι τα μη νοηματικά κωδικόνια, ή κωδικόνια τερματισμού, τα οποία σηματοδοτούν τον τερματισμό της μετάφρασης του γονιδίου που κωδικοποιεί μια ειδική πρωτεΐνη. Το μήνυμα διαβάζεται μέσω της ανάγνωσης του κωδικονίου έναρξης, του AUG, το οποίο όντας στην αρχή του μηνύματος κωδικοποιεί το αμινοξύ *N*-φορμυλομεθειονίνη (ή μεθειονίνη, στα *Ευκάρυα* και στα *Αρχαία*).**

Έχοντας ένα κώδικα τριπλετών, είναι απολύτως απαραίτητο να αρχίζει η μετάφραση από τη σωστή θέση, διότι σε αντίθετη περίπτωση

ολόκληρο το **πλαίσιο ανάγνωσης** θα μετατοπιστεί και θα σχηματιστεί μια εντελώς διαφορετική πρωτεΐνη (ή ενδεχομένως καμία πρωτεΐνη). Κατά σύμβαση, το «ορθό» πλαίσιο ανάγνωσης, δηλαδή εκείνο που μπορεί να μεταφραστεί και να δώσει την πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το γονίδιο, **ονομάζεται πλαίσιο ανάγνωσης 0 (μηδέν)**. Όπως μπορεί να γίνει αντιληπτό βάσει της Εικόνας 7.34, τα άλλα δύο πιθανά πλαίσια ανάγνωσης (-1 και +1) δεν κωδικοποιούν την ίδια αμινοξική αλληλουχία. Συνεπώς, αποτελεί ύψιστη αναγκαιότητα το ριβόσωμα να βρει το *ορθό κωδικόνιο έναρξης* και, όταν αυτό συμβεί, να κινηθεί κατά μήκος του mRNA ακριβώς κατά τρεις βάσεις κάθε φορά.

### **Τα ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης**

Υπενθυμίζεται ότι το mRNA μεταγράφεται με τέτοιο τρόπο από το DNA, ώστε εάν κανείς γνωρίζει την αλληλουχία του DNA να γνωρίζει ταυτόχρονα και αυτή του RNA που θα μπορούσε να μεταγραφεί από το συγκεκριμένο τμήμα του DNA. Εάν ένα μόριο RNA μπορεί να μετα-

mRNA 5' A A C A U A C C G A U C A C

(α) -1 A A C A U A C C G A U C A C  
Asn Ile Pro Ile Thr

(β) 0 A A C A U A C C G A U C A C  
Thr Tyr Arg Ser

(γ) +1 A A C A U A C C G A U C A C  
His Thr Asp His

**Εικόνα 7.34** Πιθανά πλαίσια ανάγνωσης σε ένα mRNA. Εδώ παρουσιάζεται το εσωτερικό τμήμα μιας αλληλουχίας ενός μορίου mRNA. Το «ορθό» πλαίσιο ανάγνωσης (ή 0) καθορίζεται από το κωδικόνιο έναρξης του mRNA. (α) Τα αμινοξέα που θα κωδικοποιούσε αυτή η περιοχή του mRNA, εάν το ριβόσωμα βρισκόταν στο πλαίσιο ανάγνωσης -1. (β) Τα αμινοξέα που θα κωδικοποιούνταν, εάν το ριβόσωμα βρισκόταν στο ορθό πλαίσιο ανάγνωσης. (γ) Τα αμινοξέα που θα κωδικοποιούνταν, εάν το ριβόσωμα βρισκόταν στο πλαίσιο ανάγνωσης +1.

φραστεί, τότε αυτό πρέπει να περιέχει ένα **ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης (open reading frame· ORF)**, δηλαδή ένα κωδικόνιο έναρξης (κατά κανόνα ένα AUG) το οποίο ακολουθείται από έναν αριθμό κωδικονίων και ένα κωδικόνιο τερματισμού στο ίδιο πλαίσιο ανάγνωσης με το κωδικόνιο έναρξης. Είναι δυνατόν ένας υπολογιστής να προγραμματιστεί κατάλληλα, ώστε να σαρώνει μακρές αλληλουχίες βάσεων του DNA, απόθηκευμένες σε βάσεις δεδομένων και να τις διερευνά για την παρουσία ή όχι ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης. Η χρήση υπολογιστών για τον εντοπισμό των ORF επιτρέπει στον ερευνητή να ταυτοποιήσει γονίδια των οποίων την ύπαρξη δεν είχαμε καν υποπτευθεί.

### **Άλλοι γενετικοί κώδικες**

Ο γενετικός κώδικας φαινόταν να είναι ένας **καθολικός κώδικας**, υπό την έννοια ότι όλα τα έμβια συστήματα χρησιμοποιούσαν τον ίδιο κώδικα. Αυτή η άποψη τροποποιήθηκε. Ανακαλύφθηκε ότι μερικά οργανίδια και κύτταρα χρησιμοποιούν γενετικούς κώδικες με ελαφρές αποκλί-

κλίσεις από τον «καθολικό» γενετικό κώδικα. Αυτοί οι εναλλακτικοί κώδικες ανακαλύφθηκαν αρχικά στα γονιδιώματα των μιτοχονδρίων. Ας σημειωθεί ότι δεν υφίσταται ένας κοινός μιτοχονδριακός κώδικας, μολονότι υπάρχουν μερικά κοινά στοιχεία, όπως είναι η γενική χρήση του UGA ως κωδικονίου της τρυπτοφάνης αντί ως τερματικού κωδικονίου.

Σήμερα είναι πλέον γνωστά αρκετά κύτταρα στον οποίων τα χρωμοσώματα χρησιμοποιούνται ελαφρά αποκλίνοντες κώδικες, όπως π.χ. το γένος *Mycoplasma* από τα Βακτήρια.

Οι οργανισμοί αυτοί απλώς διαθέτουν λιγότερα κωδικόνια τερματισμού, επειδή ένα ή δύο από αυτά διαβάζονται ως νοηματικά κωδικόνια.

**Στο *Escherichia coli* π.χ., μόνο 1 στα 20 κατάλοιπα λευκίνης, κατά προσέγγιση, κωδικοποιείται από CUA και CUC.**

**Πιστεύεται, ότι ένα από τα βήματα που θα μπορούσαν να έχουν οδηγήσει στον επαναπροσδιορισμό της κωδικοποιητικής «αποστολής»**

**ενός κωδικονίου είναι το γεγονός ότι ένα κωδικόνιο έχει περιέλθει σε κατάσταση σπάνιας χρήσης του στο γονιδίωμα.**

## **Μεταφορικό RNA**

**Το tRNA δεν διαθέτει εξειδίκευση μόνο για το κωδικόνιο πάνω στο mRNA, αλλά έχει εξειδίκευση και για το κατάλληλο αμινοξύ.**

Το μεταφορικό RNA και το ειδικό αμινοξύ του έρχονται σε επαφή μέσω ειδικών ενζύμων, τα οποία διασφαλίζουν ότι ένα συγκεκριμένο tRNA θα προσλάβει το ορθό αμινοξύ.

**Τα ένζυμα αυτά, που ονομάζονται ένζυμα ενεργοποίησης αμινοξέων ή αμινοακυλο-tRNA συνθετάσες, επιτελούν την σημαντική λειτουργία της αναγνώρισης τόσο του αμινοξέος όσο και του ειδικού για το συγκεκριμένο αμινοξύ μορίου tRNA.**

## **Δομή του tRNA**

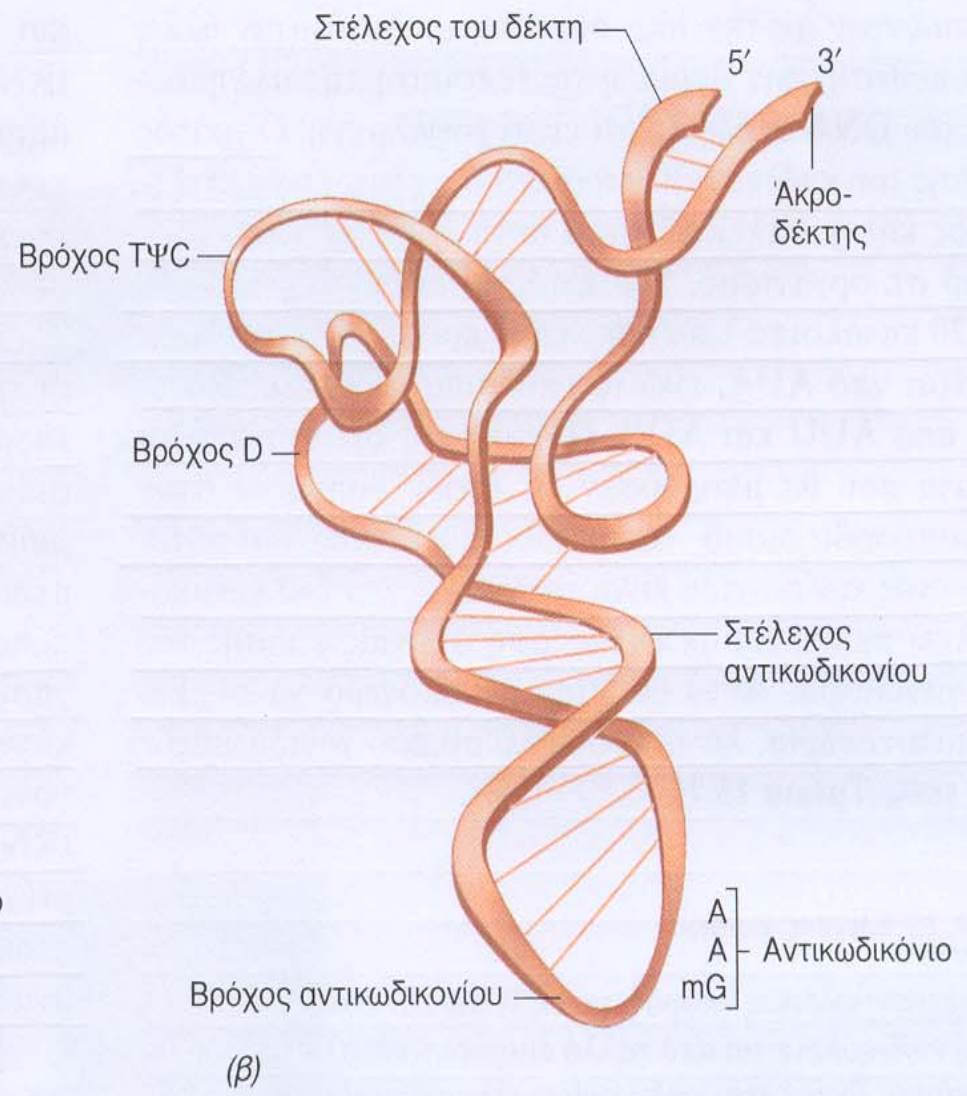
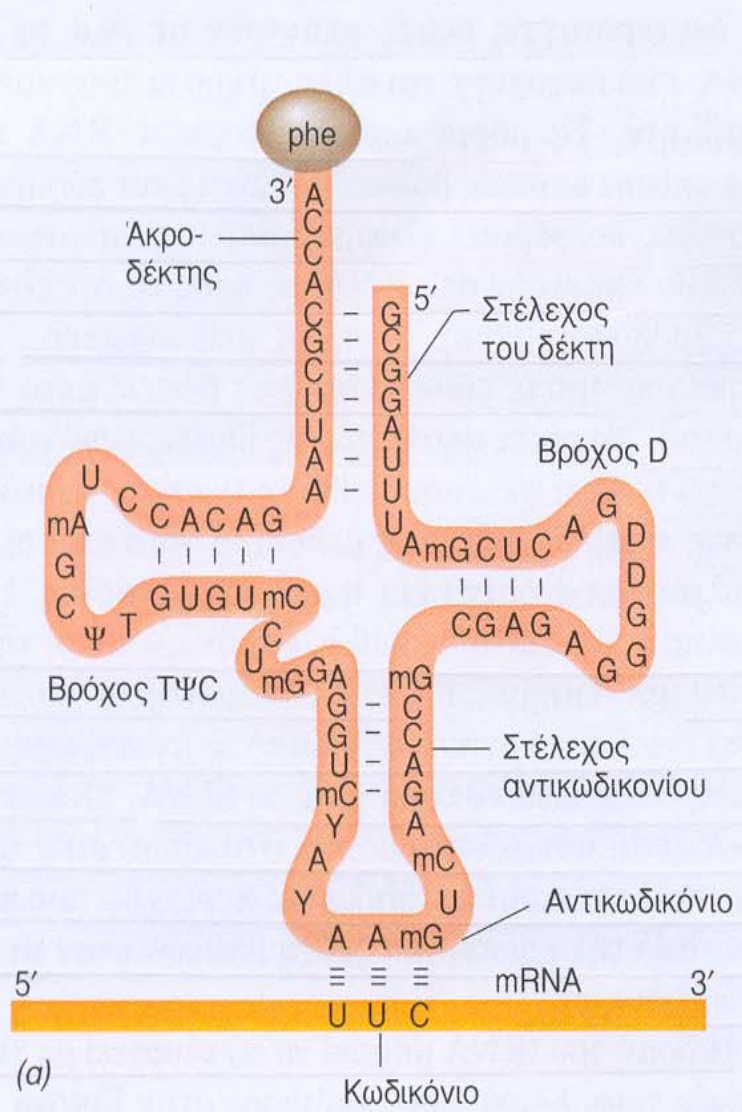
Στα βακτηριακά κύτταρα υπάρχουν περίπου 60 διαφορετικά ειδικά



tRNA, ενώ στα θηλαστικά υπάρχουν 100 έως 110. Τα μόρια του **tRNA** είναι μικρά μονόκλιωνα μόρια, με μεγέθη που κυμαίνονται (αναλόγως του είδους του tRNA) **από 73 έως 93 νουκλεοτίδια**.

Τα μόρια του μεταφορικού RNA περιέχουν επίσης μερικές βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης, οι οποίες διαφέρουν ελαφρώς από τις κανονικές βάσεις που απαντούν στο RNA ως προς το ότι είναι χημικά τροποποιημένες, συνήθως μεθυλιωμένες.

Αυτές οι τροποποιήσεις εισάγονται στις βάσεις μετά τη μεταγραφή. Η τροποποίηση των βάσεων, καθώς και άλλοι τύποι επεξεργασίας είναι απαραίτητοι για να προκύψει ένα λειτουργικό tRNA από το μεταγράφημα του γονιδίου που κωδικοποιεί αυτό το tRNA. Μολονότι το tRNA είναι μονόκλινο μόριο, στο εσωτερικό του περιέχονται εκτεταμένες δίκλωνες περιοχές, που προκύπτουν από την εσωτερική ζεύξη βάσεων όταν το μόριο αναδιπλώνεται. Η δομή του tRNA μπορεί να σχεδιαστεί με τη μορφή ενός τριφυλλιού, όπως φαίνεται στην Εικόνα 7.35α. Η τριδιάστατη δομή ενός tRNA παρουσιάζεται ευκρινέστερα



**Εικόνα 7.35** Δομή ενός μορίου μεταφορικού RNA, του tRNA της φαινυλαανίνης της ζύμης. (α) Η συμβατική δομή του τριφυλλιού. Το αμινοξύ δεσμεύεται στη ριβόζη της τερματικής A, στο άκρο-δέκτη. Το A είναι η αδενίνη, το C η κυττοσίνη, το U η ουρακίλη, το G η γουανίνη, το ψ η ψευδοουρακίλη, το D η διυδροουρακίλη, το m το μεθύλιο, το Y μια τροποποιημένη πουρίνη. (β) Στη πραγματικότητα, το μόριο αναδιπλώνεται έτσι ώστε ο βρόχος D και ο βρόχος ΤψC να γειτνιάζουν και να συνδέονται με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις.

στην Εικόνα 7.35β. Σημειώνεται ότι οι βάσεις που στο μοντέλο του τριφυλλιού φαίνεται να απέχουν σημαντικά μεταξύ τους, τελικά βρίσκονται πολύ κοντά η μία στην άλλη, όταν παρατηρηθούν τριδιάστατα. Αυτό σημαίνει ότι μερικές από τις βάσεις στους «βρόχους» στην πραγματικότητα ζευγαρώνουν με βάσεις άλλων βρόχων. Ένα από τα μεταβλητά τμήματα του μορίου tRNA περιέχει το **αντικωδικόνιο**, δηλαδή τη θέση που αναγνωρίζει το κωδικόνιο στο mRNA. Το αντικωδικόνιο βρίσκεται στον *βρόχο του αντικωδικονίου* που παρουσιάζεται στην Εικόνα 7.35. Μέσα στον βρόχο του αντικωδικονίου υπάρχουν *τρία* νουκλεοτίδια, τα οποία εμπλέκονται με εξειδικευμένο τρόπο στη διαδικασία αναγνώρισης και τα οποία σχηματίζουν ζεύξεις βάσεων με το κωδικόνιο. **Στο 3'-άκρο, το άκρο-δέκτης όλων των μορίων tRNA υπάρχουν τρία αζευγάρωτα νουκλεοτίδια. Η αλληλουχία αυτών των τριών νουκλεοτιδίων είναι πάντοτε κυτοσίνη-κυτοσίνη-αδενοσίνη (CCA) και το αμινοξύ προσδέεται ομοιοπολικά μέσω ενός εστερικού δεσμού στη ριβόζη της τερματικής αδενίνης.**

Από το άκρο-δέκτη του tRNA, το αμινοξύ μεταφέρεται στην επιμηκυνόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα στο ριβόσωμα.

### **Αναγνώριση, ενεργοποίηση και φόρτιση του tRNA**

Η μοναδική αλληλουχία της περιοχής του *αντικωδικονίου* του tRNA είναι εξαιρετικά σημαντική για την αναγνώρισή του από τη συνθετάση. Πλην της περιοχής του αντικωδικονίου, στην αναγνώριση εμπλέκεται μόνο ένας μικρός αριθμός σημαντικών πρόσθετων νουκλεοτιδίων. Αυτά τα πρόσθετα, καίριας σημασίας για την αναγνώριση νουκλεοτίδια, αποτελούν συχνά τμήμα του στελέχους του δείκτη του μορίου tRNA (βλ. Εικόνα 7.35). Θα πρέπει να δοθεί έμφαση στο γεγονός ότι η πιστότητα αυτής της διαδικασίας αναγνώρισης έχει καίρια σημασία, διότι εάν στο tRNA δεσμευτεί ένα εσφαλμένο αμινοξύ, το τελευταίο θα μπορούσε να εντεθεί σε ακατάλληλη θέση του πολυπεπτιδίου, γεγονός που θα οδηγούσε στη σύνθεση μιας ελαττωματικής πρωτεΐνης. Η ειδική χημική αντίδραση μεταξύ αμινοξέος και tRNA, που καταλύεται από την αμινοα-

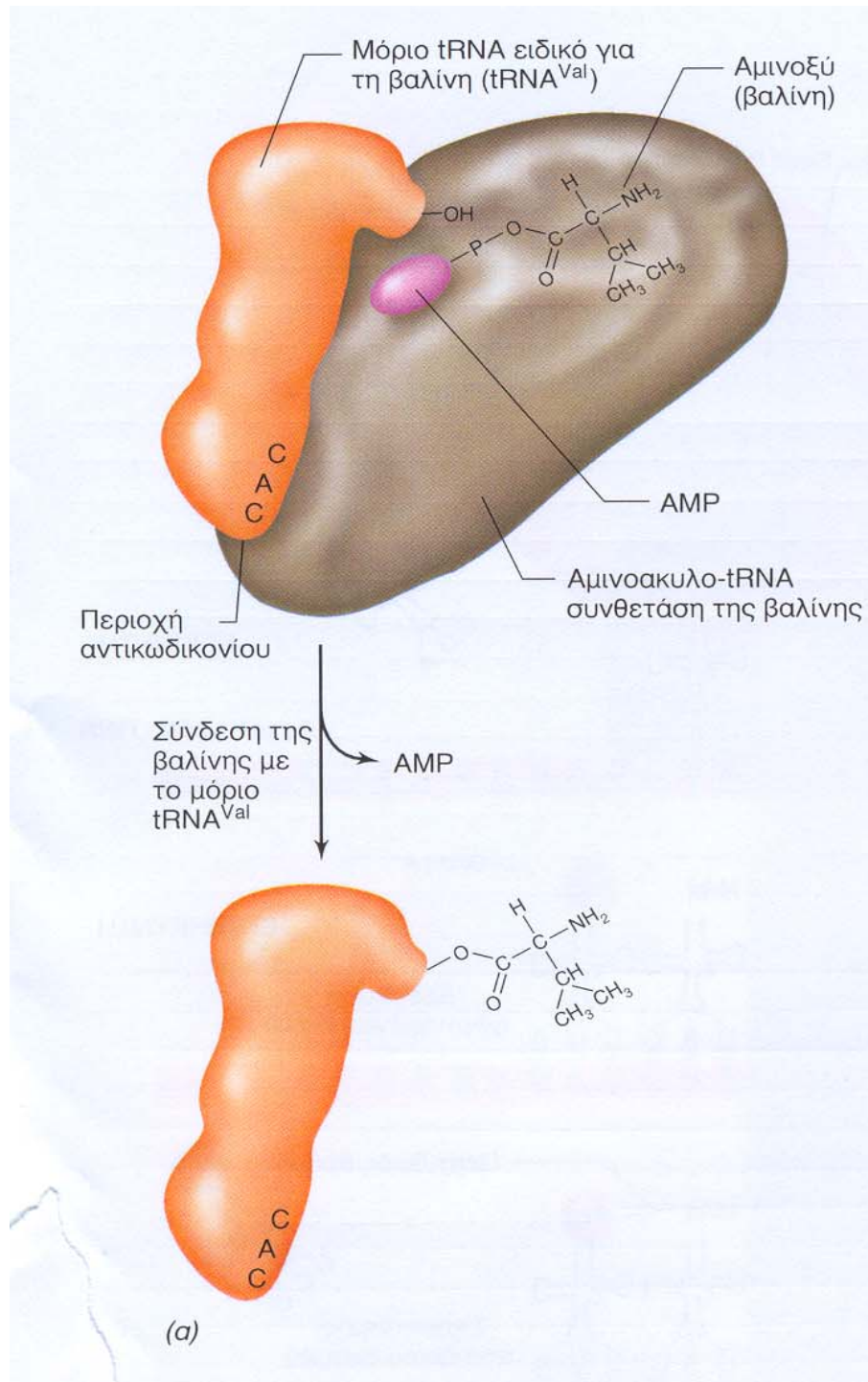
κυλο-tRNA συνθετάση, κατ' αρχάς περιλαμβάνει την *ενεργοποίηση* του αμινοξέος μέσω αντίδρασης με το ATP:



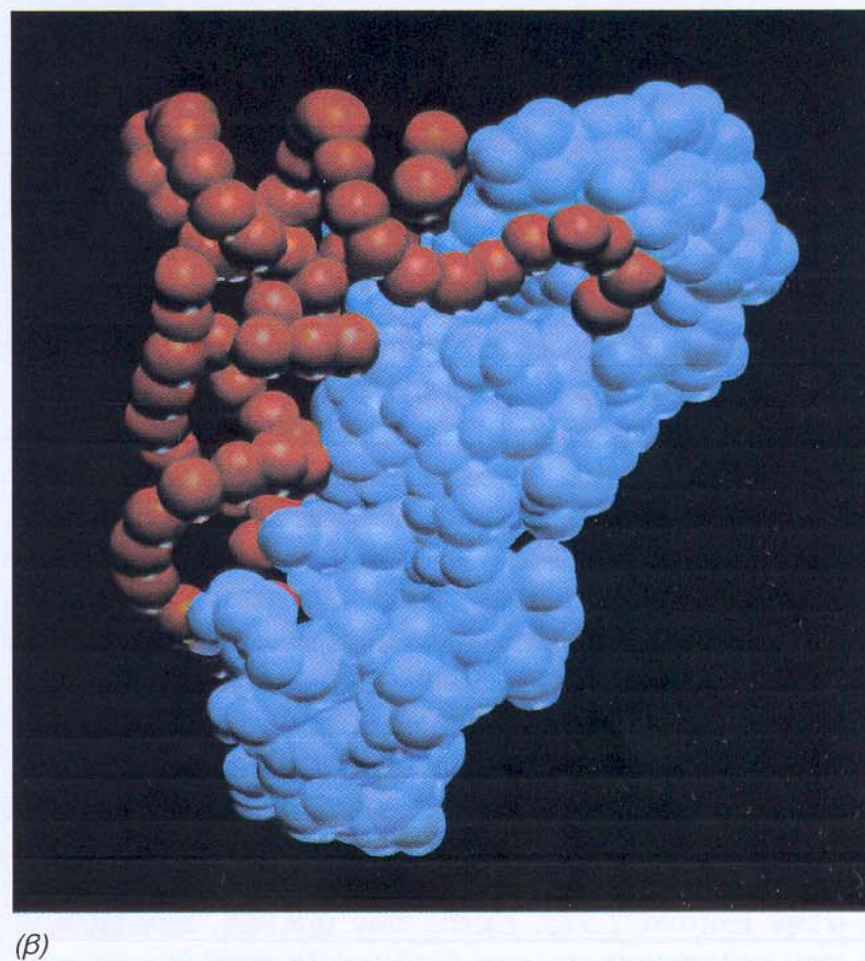
Το ενδιαμέσο προϊόν που σχηματίζεται, το αμινοακυλο-AMP, κανονικά παραμένει δεσμευμένο στο ένζυμο μέχρι την σύγκρουση με το κατάλληλο μόριο tRNA και, όπως παρουσιάζεται και στην Εικόνα 7.36α, το ενεργοποιημένο αμινοξύ μεταφέρεται κατόπιν στο tRNA, για τον σχηματισμό ενός *φορτισμένου* tRNA:



Το πυροφωσφορικό (P-P) που σχηματίζεται κατά τη πρώτη αντίδραση διασπάται από μια πυροφωσφατάση, σχηματίζοντας δύο μόρια ανόργανου φωσφορικού. Επειδή καταναλώνεται ATP και προκύπτει AMP, έπεται ότι απαιτούνται *δύο* φωσφορικοί δεσμοί μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου για την ενεργοποίηση ενός αμινοξέος και τη φόρτιση ενός tRNA. Αφ' ότου λάβουν χώρα η ενεργοποίηση και η φόρτιση, το αμινο-



**Εικόνα 7.36** Αμινοακυλο-tRNA συνθετάσες. (α) Η δράση μιας αμινοακυλο-tRNA συνθετάσης. Η αναγνώριση του ορθού tRNA από μια συγκεκριμένη αμινοακυλο-tRNA συνθετάση περιλαμβάνει τον σχηματισμό επαφών μεταξύ ειδικών αλληλουχιών νουκλεϊκών οξέων και ειδικών αμινοξέων της συνθετάσης. Στην εικόνα αυτή, η βαλυλική tRNA συνθετάση παρουσιάζεται να καταλύει το τελικό στάδιο της αντίδρασης, κατά το οποίο η βαλίνη του βαλυλικού tRNA μεταφέρεται στο tRNA. (β) Υπολογιστικό μοντέλο που παρουσιάζει την αλληλεπίδραση της γλουταμινυλικής-tRNA συνθετάσης (κυανό χρώμα) με το tRNA της (κόκκινο χρώμα). Αναδημοσιεύεται κατόπιν αδειας των M. Ruff et al. 1991. *Science* 252: 1682-1689. ψ 1991, AAAS.



ακυλο-tRNA (AA-tRNA) εγκαταλείπει τη συνθετάση και μεταφέρεται στο ριβόσωμα από έναν πρωτεϊνικό παράγοντα.

**Μετάφραση: Η διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης**


**Στάδια της πρωτεϊνοσύνθεσης**

Τα ριβοσώματα είναι η θέση σύνθεσης των πρωτεϊνών. Κάθε ριβόσωμα συνίσταται από δύο υπομονάδες. **Στους προκαρυώτες, οι ριβοσωματικές υπομονάδες έχουν μέγεθος 30S (μονάδες Svedberg) και 50S, και σχηματίζουν ολοκληρωμένα ριβοσώματα των 70S<sup>+</sup>. Κάθε υπομονάδα συνιστά η ίδια ένα ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο. Η υπομονάδα**

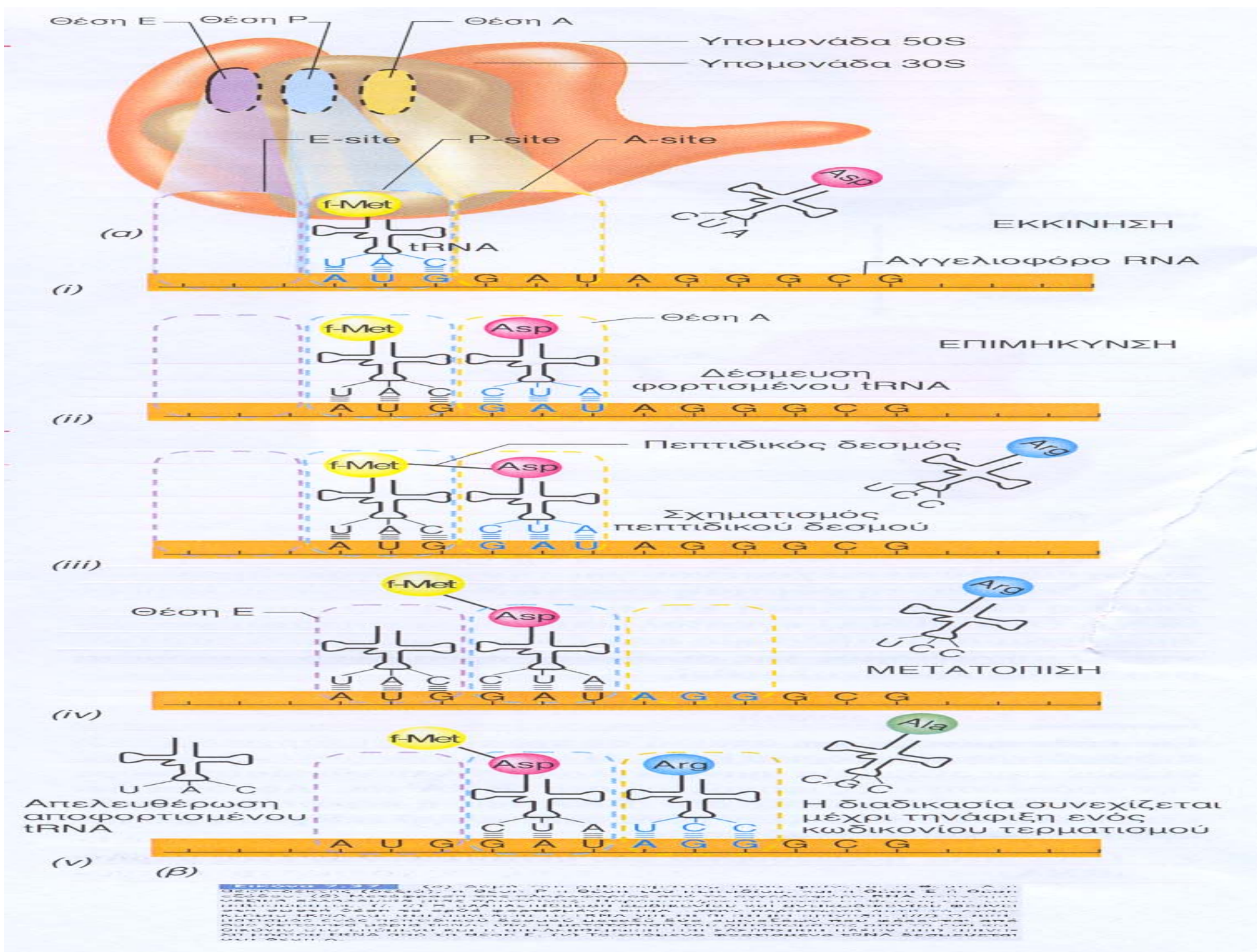
**30S περιέχει rRNA 16S και περίπου 21 πρωτεΐνες, ενώ η υπομονάδα 50S περιέχει rRNA 5S και 23S και περίπου 34 πρωτεΐνες (βλ. Πίνακα 7.4 και Εικόνα 7.37α). Στο *Escherichia coli* υπάρχουν τουλάχιστον 53 διαφορετικές ριβοσωματικές πρωτεΐνες, οι περισσότερες από τις οποίες είναι παρούσες με ένα αντίγραφο τους ανά ριβόσωμα. Μολονότι η σύνθεση των πρωτεϊνών είναι μια συνεχής διαδικασία, μπορεί κανείς να τη**

**TABLE 7.4****Δομή του ριβοσώματος<sup>a</sup>**

Ιδιότητα	Προκαρυώτες	Ευκαρυώτες
Συνολικό μέγεθος	70S	80S
Μικρή υπομονάδα	30S	40S
Αριθμός πρωτεϊνών	~21	~30
Μέγεθος RNA (αριθμός βάσεων)	16S (1500)	18S (2300)
Μεγάλη υπομονάδα	50S	60S
Αριθμός πρωτεϊνών	~30	~50
Μέγεθος RNA (αριθμός βάσεων)	23S (2900)	28S (4200)
	5S (120)	5,8S (160)
		5S (120)

<sup>a</sup> Τα ριβοσώματα των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών των ευκαρυωτικών οργανισμών είναι παραπλήσια με τα προκαρυωτικά ριβοσώματα ( Τμήμα 14.4).





Μετά την έναρξη της μετάφρασης, η διαδικασία συνεχίζεται με την προσθήκη νέων φορτισμένων tRNA στην θέση P. Η θέση E είναι απελευθερωμένη και η θέση P περιέχει το tRNA με το αρχικό πεπτιδικό αλυσίδα. Η θέση A είναι η θέση στην οποία προστίθεται το επόμενο φορτισμένο tRNA. Η διαδικασία συνεχίζεται μέχρι την άφιξη ενός κωδικονίου τερματισμού. Η απελευθέρωση του tRNA από τη θέση E γίνεται από την προσθήκη του επόμενου φορτισμένου tRNA στην θέση P.

διαχωρίσει σε έναν αριθμό διακριτών σταδίων: **εκκίνηση, επιμήκυνση και τερματισμό-απελευθέρωση**. Ένα περίγραμμα των πρώτων δύο σταδίων δίνεται στην Εικόνα 7.37β. **Εκτός των mRNA, των tRNA και των ριβοσωμάτων, στη διαδικασία εμπλέκεται και ένας αριθμός πρωτεϊνών, που ονομάζονται παράγοντες εκκίνησης, επιμήκυνσης και τερματισμού, καθώς και η τριφωσφορική γουανοσίνη, που περιέχει την απαιτούμενη ενέργεια για την όλη διαδικασία.**

### **Εκκίνηση της πρωτεϊνοσύνθεσης**

Στους προκαρυώτες, η εκκίνηση ξεκινά πάντοτε με μια ελεύθερη ριβοσωματική υπομονάδα 30S και τον σχηματισμό ενός **συμπλόκου εκκίνησης**, το οποίο αποτελείται από τη ριβοσωματική υπομονάδα 30S, το mRNA, το tRNA της φορμυλομεθειονίνης, και παράγοντες εκκίνησης. Στο στάδιο αυτό απαιτείται η παρουσία της τριφωσφορικής γουανοσίνης. Στο σύμπλοκο εκκίνησης προστίθεται μια ριβοσωματική υπομονάδα 50S και σχηματίζεται ένα ενεργό ριβόσωμα 70S. Μετά το πέρας της

μεταφραστικής διαδικασίας, το ριβόσωμα απελευθερώνεται και δίσταται πάλι σε δύο υπομονάδες των 30S και 50S. Ακριβώς προ του κωδικονίου εκκίνησης στο mRNA βρίσκεται μια αλληλουχία μήκους 3 έως 9 νουκλεοτιδίων (η αποκαλούμενη αλληλουχία Shine-Dalgarno), η οποία συμμετέχει στη δέσμευση του mRNA στο ριβόσωμα.

*Αυτή η θέση δέσμευσης στο ριβόσωμα στο άκρο 5' του mRNA είναι συμπληρωματική προς το άκρο 3' του RNA 16S του ριβοσώματος, και αυτή η ζεύξη βάσεων διασφαλίζει τον σχηματισμό του συμπλόκου μεταξύ ριβοσώματος και mRNA. Η παρουσία της αλληλουχίας Shine-Dalgarno στο mRNA και η εξειδικευμένη αλληλεπίδρασή της με το 16S rRNA επιτρέπουν στα προκαρυωτικά ριβοσώματα να χρησιμοποιούν τα πολυκιστρονικά mRNA, επειδή το ριβόσωμα μπορεί να βρίσκει τη θέση εκκίνησης της μετάφρασης στο εσωτερικό κάθε μηνύματος.*

**Τα ευκαρυωτικά ριβοσώματα αναγνωρίζουν κατά κανόνα ένα mRNA από την καλύπτρα στο 5'-άκρο του και αρχίζουν τη μετάφραση μόνο από το πρώτο πιθανό κωδικόνιο εκκίνησης.**

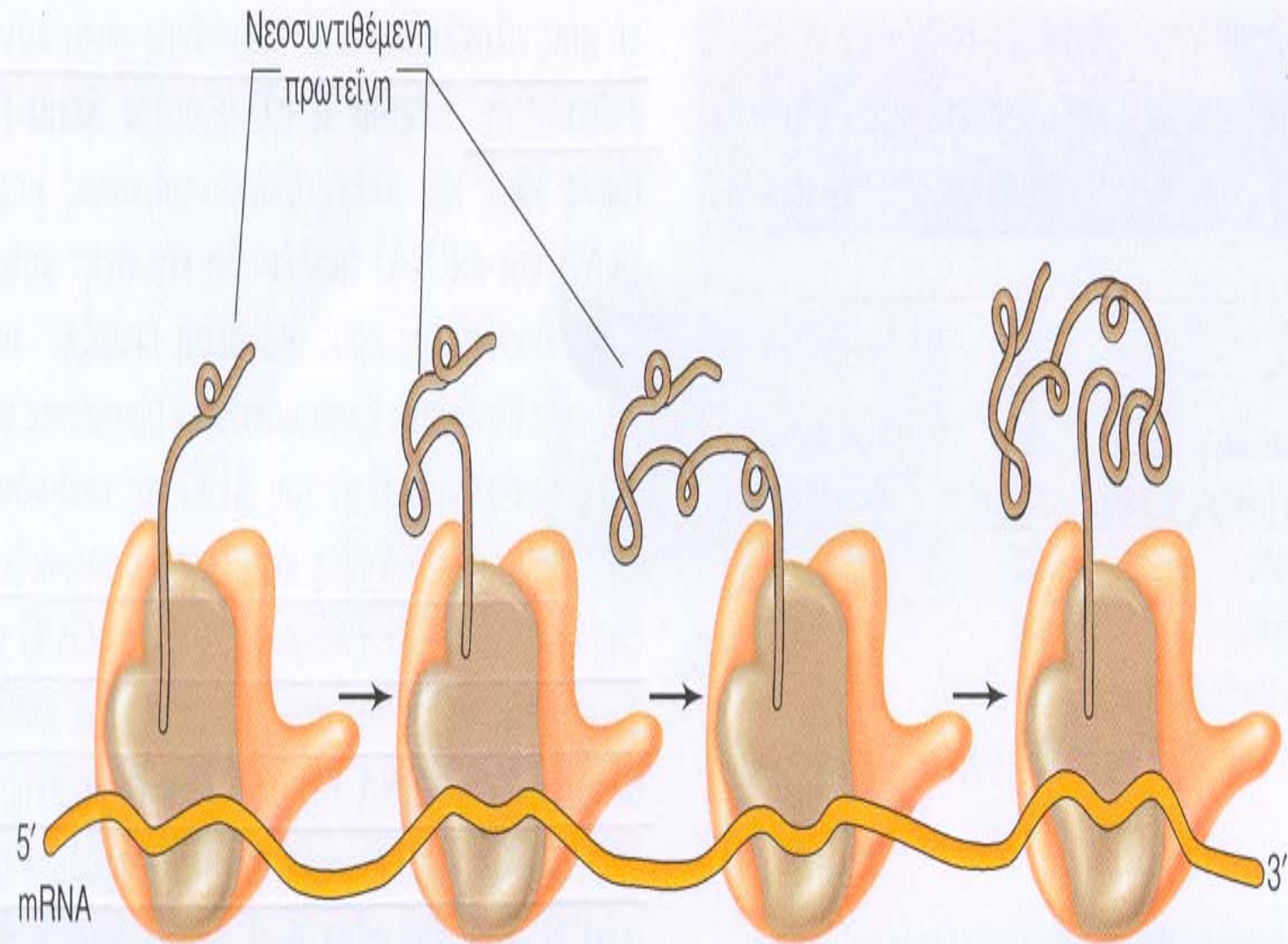
Επομένως, κατά κανόνα δεν μπορούν να μεταφράσουν πολυκιστρονικά mRNA. Η εκκίνηση αρχίζει πάντοτε με ένα ειδικό εναρκτήριο αμινοακυλο-tRNA, που δεσμεύεται στο **κωδικό-νιο έναρξης**, το AUG. Στα *Βακτήρια*, το ειδικό αυτό μόριο είναι το tRNA της **φορμυλομεθειονίνης**. Στη συνέχεια, η φορμυλομάδα απομακρύνεται από το αμινοτελικό άκρο του πολυπεπτιδίου, επομένως το ακραίο αμινοξύ μιας ολοκληρωμένης πρωτεΐνης είναι πάντοτε μια μεθειονίνη.

**Στα *Ευκάρια* και στα *Αρχαία*, η εκκίνηση αρχίζει με μεθειονίνη αντί της φορμυλομεθειονίνης (μολονότι όλες οι πρωτεΐνες εκκινούν με μια μεθειονίνη, το αμινοξύ αυτό κατά κανόνα αποκόπτεται μετά την μετάφραση από μια ειδική πρωτεάση).**

## Επιμήκυνση και τερματισμός

Το mRNA ελίσσεται δια μέσου του ριβοσώματος δεσμευμένο πρωτίτως με την υπομονάδα 30S. Το ριβόσωμα διαθέτει άλλες θέσεις άλληλεπίδρασης με τα μόρια των tRNA. Οι θέσεις αυτές εδράζονται κατά κύριο λόγο στην υπομονάδα 50S και ονομάζονται θέση P και θέση A (βλ. Εικόνα 7.37β). Η θέση **A**, η **θέση-δέκτης**, είναι η θέση στην οποία δεσμεύεται πρώτα το νεοεισερχόμενο AA-tRNA. Η θέση **P**, η **θέση του πεπτιδίου** (ή **πεπτιδυλο-θέση**), είναι η θέση στην οποία συγκρατείται το επιμηκυνόμενο πεπτίδιο από ένα μόριο tRNA. Κατά τον σχηματισμό του πεπτιδικού δεσμού, το πεπτιδυλικό κατάλοιπο μετακινείται προς το tRNA στη θέση A, καθώς σχηματίζεται ένας νέος πεπτιδικός δεσμός. Για την **επιμήκυνση** απαιτούνται πολλοί διαλυτοί παράγοντες επιμήκυνσης, καθώς και πρόσθετα μόρια GTP. Το μόριο tRNA που συγκρατεί το πεπτίδιο πρέπει τώρα να κινηθεί (να μετατοπιστεί) από τη θέση A στη θέση P, απελευθερώνοντας έτσι τη θέση A για ένα άλλο AA-tRNA.

Η μετατόπιση απαιτεί έναν ειδικό παράγοντα και ένα μόριο GTP ανά μετατοπιζόμενο tRNA. Σε κάθε βήμα της μετατόπισης, το μήνυμα ωθείται κατά τρία νουκλεοτίδια, εκθέτοντας ένα νέο κωδικόνιο στη θέση A του ριβοσώματος. Τόσο το mRNA όσο και το tRNA μετακινούνται δια μέσου του ριβοσώματος, ενώ αυτό εκτελεί καθένα από τα στάδια σύνθεσης των πρωτεϊνών. Όταν ένα μήνυμα μεταφράζεται από πολλά ριβοσώματα ταυτοχρόνως, τότε το σύμπλοκο καλείται **πολύσωμα** (Εικόνα 7.38). Τα πολυσώματα αυξάνουν την ταχύτητα και την απόδοση της μετάφρασης του mRNA και, επειδή κάθε ριβόσωμα δρα ανεξάρτητα από τα άλλα, κάθε ριβόσωμα ενός πολυσωματικού συμπλόκου συνθέτει ένα πλήρες πολυπεπτίδιο. Σημειώνεται ότι στην Εικόνα 7.38 τα ριβοσώματα που βρίσκονται πλησιέστερα στο 5'-άκρο (την αρχή) του μορίου mRNA φέρουν βραχύτερες πολυπεπτιδικές αλυσίδες, επειδή έχουν μεταφράσει λιγότερα κωδικόνια, ενώ τα ριβοσώματα που ευρίσκονται πλησιέστερα στο 3'-άκρο του μηνύματος, φέρουν σχεδόν ολοκληρωμέ-



**Εικόνα 7.38** Μετάφραση ενός μοναδικού mRNA από πολλά ριβοσώματα (πολύσωμα). Προσέξτε πώς τα ριβοσώματα που κινούνται πλησιέστερα στο άκρο 5' του μηνύματος βρίσκονται σε πρωιμότερο στάδιο της μεταφραστικής διαδικασίας.

να πολυπεπίδια. Ο **τερματισμός** της πρωτεϊνοσύνθεσης συντελείται όταν αφιχθεί ένα κωδικόνιο που δεν ορίζει κάποιο AA-tRNA, δηλ. ένα **κωδικόνιο τερματισμού**. Κανένα tRNA δεν δεσμεύεται σε κωδικόνιο τερματισμού· αντίθετα, ορισμένες πρωτεΐνες –οι επονομαζόμενες παράγοντες απελευθέρωσης- αναγνωρίζουν το σήμα τερματισμού της αλυσίδας και εκτέμνουν το προσδεδεμένο πολυπεπίδιο από το τελικό tRNA, απελευθερώνοντας την πλήρη πρωτεΐνη. Στη συνέχεια, το ριβόσωμα διάσπασται και οι υπομονάδες είναι ελεύθερες να συγκροτήσουν νέα σύμπλοκα εκκίνησης.

### **Ο ρόλος του ριβοσωματικού RNA στην πρωτεϊνοσύνθεση**

Για τους προκαρυώτες είναι σαφές ότι το rRNA 16S συμμετέχει στη διαδικασία εκκίνησης μέσω του σχηματισμού ζευγών βάσεων με την αλληλουχία δέσμευσης στο ριβόσωμα (την αλληλουχία Shine-Dalgarno). Υπάρχουν επίσης σοβαρές ενδείξεις ότι το mRNA και το rRNA αλληλεπιδρούν μεταξύ τους κατά την επιμήκυνση. Ισχυρές ενδείξεις υφί-



στανται επίσης για τον ρόλο του rRNA, αναφορικά με τη συγκρότηση των ριβοσωματικών υπομονάδων, τη χωροθέτηση του tRNA στις θέσεις αποκωδικοποίησης (θέσεις A και P· βλ. Εικόνα 7.37β) επί του ριβοσώματος, ακόμη και για την κατάλυση της αντίδρασης σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού. Τα φορτισμένα tRNA που εισέρχονται στο ριβόσωμα αναγνωρίζουν το ορθό κωδικόνιο μέσω του σχηματισμού ζευγών βάσεων μεταξύ κωδικονίου και αντικωδικονίου, αλλά βρίσκονται και σε φυσική επαφή με το ριβόσωμα, μέσω αλληλεπιδράσεων του στελέχους-θηλιάς του αντικωδικονίου του tRNA με ειδικές θέσεις στο εσωτερικό του rRNA 16S. Το άκρο-δέκτης του tRNA αλληλεπιδρά με το rRNA 23S. Η αντίδραση της πεπτιδυλικής τρανσφεράσης (δηλαδή η αντίδραση σχηματισμού του πεπτιδικού δεσμού, που λαμβάνει χώρα στην υπομονάδα 50S του ριβοσώματος) είναι συνυφασμένη με το rRNA 23S. Επίσης, το rRNA 23S φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη μετατόπιση και, ακόμη, είναι γνωστό ότι οι παράγοντες επιμήκυνσης αλληλεπι-

δρουν μαζί του. Τέλος, το rRNA 16S συμμετέχει και στον τερματισμό, πιθανώς μέσω αλληλεπίδρασης με το mRNA, ή μέσω αλληλεπίδρασης με τον παράγοντα απελευθέρωσης.