Μεθοδολογία για Ασκήσεις- Προβλήματα Μοριακής Βιολογίας

* Κατά την επίλυση προβλημάτων που αναφέρονται σε φαινόμενα της Μοριακής Βιολογίας θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη τα εξής:
* Το μόριο του DΝΑ (άρα και το γονίδιο) είναι δίκλωνο, δηλαδή αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, σε όλους τους ευκαρυωτικούς και προκαρυωτικούς οργανισμούς. Εξαίρεση αποτελούν οι ιοί π.χ. οι φάγοι που έχουν DΝΑ μονόκλωνο ή δίκλωνο.
* Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, το DNA είναι δίκλωνο και γραμμικό μόριο.
* Το RΝΑ είναι συνήθως μονόκλωνο μόριο, με εξαίρεση τους RΝΑ ιούς όπου είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο.
* Οι δύο αλυσίδες του κάθε δίκλωνου μορίου DNA είναι συμπληρωματικές. Συμπληρωματικές βάσεις στο **DΝΑ** είναι η αδενίνη με τη θυμίνη και η κυτοσίνη με τη γουανίνη. Στο δίκλωνο DΝΑ οι αδενίνες είναι όσες και οι θυμίνες και οι κυτοσίνες είναι όσες και οι γουανίνες, Α/Τ =1 και G/C =1. Εάν έχουμε τιμή διαφορετική της μονάδας, τότε το μόριο του DNA δεν είναι δίκλωνο.

Άρα: **αριθμός νουκλεοτιδίων = Α+T+C+G** = 2**A** + 2**C**

* Συμπληρωματικές βάσεις για το RNA είναι η αδενίνη με την ουρακίλη (A/U) και η κυτοσίνη με τη γουανίνη G/C. Στη σύσταση του RNA αντί για την αζωτούχο βάση (Τ) υπάρχει η αζωτούχος βάση (U).
* Εάν σ' ένα μόριο νουκλεϊκού οξέος έχουμε:

Θυμίνη (Τ) => το μόριο αυτό είναι DNA

Ουρακίλη (U) => το μόριο αυτό είναι RNA

• Οι δύο αλυσίδες του δίκλωνου μορίου DNA, είναι πάντα αντιπαράλληλες, δηλαδή απέναντι από το 3' άκρο της μίας βρίσκεται το 5' άκρο της άλλης.

• Οι πολυμεράσες (τόσο οι DNA-πολυμεράσες όσο και οι RNA-πολυμεράσες) λειτουργούν μόνο προς μία κατεύθυνση, δηλαδή μπορούν να προσθέτουν νουκλεοτίδια μόνο από ελεύθερο υδροξυλικό άκρο (-ΟΗ) που βρίσκεται στη θέση 3' του τελευταίου νουκλεοτιδίου της κάθε νεοσυντιθέμενης αλυσίδας. Συνεπώς ο προσανατολισμός της κάθε πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι 5'->3'.

• Στο δίκλωνο μόριο του DNA υπάρχουν δύο είδη χημικών δεσμών:

Φωσφοδιεστερικοί που ευθύνονται για την πρωτοταγή δομή.

Δεσμοί υδρογόνου που ευθύνονται για τη δευτεροταγή δομή.

Έτσι εάν σε μία άσκηση ζητά να υπολογίσουμε τους δεσμούς στο DNA (σε τμήμα αυτού ή στο μόριο

συνολικά) υπολογίζουμε και τα δύο είδη χημικών δεσμών.

• Οι συμπληρωματικές βάσεις αδενίνη και η θυμίνη συνδέονται με δύο δεσμούς υδρογόνου ενώ η κυτοσίνη με τη γουανίνη συνδέονται με τρεις δεσμούς υδρογόνου, άρα **οι δεσμοί υδρογόνου** μπορούν να υπολογιστούν αν γνωρίζουμε τη σύσταση των βάσεων του μορίου. Αν υποθέσουμε ότι οι αδενίνες (ή οι θυμίνες) του μορίου είναι A και οι κυτοσίνες (ή οι γουανίνες) του μορίου είναι C, τότε: **Δεσμοί υδρογόνου = 2A** + 3**C.**

Όταν μία άσκηση μας δίνει αριθμό φωσφοδιεστερικών δεσμών και δεσμών υδρογόνου, τμήματος ή μορίου DNA, και ζητά το αριθμό των νουκλεοτιδίων σ' αυτό, λύνουμε την άσκηση με σύστημα:

2A + 2C = αριθμός νουκλεοτιδίων (υπολογίζεται από τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς)

2A + 3C = αριθμός δεσμών υδρογόνου

• **Ο φωσφοδιεστερικός δεσμός** συνδέει τα νουκλεοτίδια μεταξύ τους κατά τον πολυμερισμό τους (ομοιοπολικός δεσμός η δημιουργία του οποίου συνοδεύεται από αποβολή ενός μορίου νερού), και ο συνολικός αριθμός τους σ' ένα μόριο υπολογίζεται ως εξής:

|  |  |
| --- | --- |
| **Γραμμικό DΝΑ** | **Κυκλικό DΝΑ** |
| αν ενώνονται ν νουκλεοτίδια σχηματίζονται **ν-1** φωσφοδιεστερικοί δεσμοί σε μονόκλωνο DNA αν ενώνονται ν νουκλεοτίδια σχηματίζονται **ν-2** φωσφοδιεστερικοί δεσμοί σε δίκλωνο DNA και αποσπώνται ισάριθμα μόρια νερού και στις δύο περιπτώσεις.  | αν ενώνονται ν νουκλεοτίδια σχηματίζονται **ν** φωσφοδιεστερικοί δεσμοί είτε το DNA είναι δίκλωνο είτε είναι μονόκλωνο και αποσπώνται ισάριθμα μόρια νερού και στις δύο περιπτώσεις.  |
|  |  |

Γνωρίζοντας από την άσκηση τον αριθμό των φωσφοδιεστερικών δεσμών του νουκλεϊκού οξέος μπορούμε να υπολογίσουμε τα νουκλεοτίδια που υπάρχουν σ' αυτό. Τα νουκλεοτίδια θα είναι όσοι και οι δεσμοί σε κυκλικό DNA ή +2 για γραμμικό δίκλωνο DNA.

• Στο RNA (εάν είναι δίκλωνο) μεταξύ των βάσεων A-U σχηματίζονται 2 δεσμοί υδρογόνου.

• Για όλα τα μακρομορία (π.χ. νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες κ.λ.π.) ο σχηματισμός του ομοιοπολικού δεσμού που δημιουργείται κατά τη συνένωση των μονομερών οδηγεί σε απελευθέρωση ενός μορίου νερού.

• **Σταθερότερο** δίκλωνο DΝΑ θεωρείται αυτό που έχει τους περισσότερους δεσμούς υδρογόνου συγκρινόμενο με ένα άλλο μόριο DΝΑ ίδιου μήκους.

• Τα νουκλεοτίδια του DΝΑ και του RΝΑ είναι **μονοφωσφορικά,** ενώ καθένα περιέχει μία αζωτούχο βάση, άρα οι βάσεις αριθμητικά είναι όσες και τα νουκλεοτίδια.

• **Τα μόρια νερού** που αφαιρούνται κατά τη σύνθεση του DΝΑ καθώς και τα μόρια νερού που προστίθενται κατά την υδρόλυση του, είναι όσα και οι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί του.

• **Το μήκος** του δίκλωνου μορίου DΝΑ και το μήκος της μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας του ταυτίζονται. Κάθε στροφή του μορίου DΝΑ έχει 10 ζεύγη νουκλεοτιδίων (ή βάσεων) με μήκος 3,4 nm. Το μήκος του ενός νουκλεοτιδίου είναι 0,34 nm. Η διάμετρος της διπλής έλικας είναι 2 nm.

• Αφού οι δυο αλυσίδες είναι συμπληρωματικές η διάταξη της πρώτης αλυσίδας καθορίζει και τη διάταξη της δεύτερης. Άρα οι διαφορετικοί συνδυασμοί της μιας αλυσίδας καθορίζουν και τους διαφορετικούς συνδυασμούς για το σύνολο του μορίου του DNA. Άρα αν θέλουμε να συνθέσουμε αλυσίδα από ν νουκλεοτίδια υπάρχουν 4ν διαφορετικοί συνδυασμοί πολυνουκλεοτιδικών αλυσίδων ή μορίων DNA.

* Εάν η άσκηση μας δίνει συνολικό μοριακό βάρος ενός μακρομορίου π.χ. DNA ή πρωτεΐνης και ζητά να βρούμε τον αριθμό των μονομερών που αυτό έχει διαιρούμε με το Μ.Β. που έχουν τα μονομερή του.

|  |
| --- |
|  |
| • Αριθμός νουκλεοτιδίων = μοριακό βάρος νουκλεϊκού οξέος / μέσο μοριακό βάρος νουκλεοτιδίου |
|  |
|  |
| • Αριθμός αμινοξέων = μοριακό βάρος πρωτεΐνης / μέσο μοριακό βάρος αμινοξέος |
|  |

Οι **DNA- ιοί** έχουν μονόκλωνο ή δίκλωνο, γραμμικό ή κυκλικό DNA

Οι **RNA-ιοί** έχουν μονόκλωνο ή δίκλωνο, γραμμικό (συνήθως) ή κυκλικό (σπάνια) RNA.

Το είδος του γενετικού υλικού καθορίζεται από τα ποσοστά των αζωτούχων βάσεων:

Αν A=U και C=G θα είναι δίκλωνο RNA

Αν A≠U ή C≠G θα είναι μονόκλωνο RNA

Αν Α=Τ και C=G θα είναι δίκλωνο DNA

Αν Α≠Τ ή C≠G θα είναι μονόκλωνο DNA

**• Κυκλικό δίκλωνο μόριο DNA είναι:**

α. προκαρυωτικών κυττάρων

β. πλασμιδίων

γ. μιτοχονδρίων (με εξαίρεση ορισμένων κατώτερων πρωτόζωων)

δ. χλωροπλαστών

ε. DNA μερικών ιών

**• Γραμμικό δίκλωνο DNA είναι:**

α. το ευκαρυωτικό (πυρηνικό)

β. DNA μερικών ιών

γ. το μιτοχονδριακό ορισμένων κατώτερων πρωτόζωων.

* Αν αναφερόμαστε σε **γονίδιο βακτηρίου,** επειδή το γονίδιο είναι τμήμα του DNA, θα το θεωρήσουμε γραμμικό και όχι κυκλικό (όπως γραμμικό θεωρούμε και οποιοδήποτε γονίδιο **ευκαρυωτικού** οργανισμού).
* Όταν μια άσκηση αναφέρεται σε τμήμα DNA ευκαρυωτικού κυττάρου π.χ. γονίδιο, τότε λύνουμε την άσκηση λαμβάνοντας υπ' όψιν ότι το τμήμα του DNA είναι δίκλωνο και γραμμικό. Αντίθετα αν δεν αναφέρεται σε κύτταρο, τότε παίρνουμε και δεύτερη περίπτωση, που ισχύει σε ορισμένους ιούς, δηλαδή το DNA να είναι μονόκλωνο και γραμμικό.
* Όταν η άσκηση αναφέρεται σε μόριο DNA κυττάρου, τότε λύνουμε την άσκηση παίρνοντας δύο περιπτώσεις:

Το μόριο να είναι δίκλωνο και γραμμικό

Το μόριο να είναι δίκλωνο και κυκλικό

* Αντίθετα αν δεν αναφέρεται σε κύτταρο, τότε παίρνουμε άλλες δύο περιπτώσεις που ισχύουν σε ορισμένους ιούς:

Το μόριο να είναι μονόκλωνο και γραμμικό

Το μόριο να είναι μονόκλωνο και κυκλικό

* Το **μήκος του DNA** το μετράμε σε **αριθμό ζευγών αζωτούχων** βάσεων - με την προϋπόθεση ότι είναι δίκλωνο - ( π.χ. DNA μήκους 2000 ζευγών βάσεων σημαίνει από 2000 αζωτούχες βάσεις σε κάθε αλυσίδα, δηλαδή συνολικά 4000 βάσεις άρα και 4000 νουκλεοτίδια), ενώ το **μήκος του RNA** το μετράμε σε αριθμό αζωτούχων βάσεων - με την προϋπόθεση ότι είναι μονόκλωνο - (π.χ. μήκος RNA 2000 βάσεων σημαίνει 2000 βάσεις στη μοναδική του αλυσίδα).
* Αν δυο μόρια DNA έχουν το ίδιο μήκος θα έχουν και τον ίδιο αριθμό βάσεων, δηλαδή:

**A1+T1+C1+G1 = A2+T2+C2+G2**

Κυτταρικός κύκλος και μόρια **DNA**

α. στους γαμέτες (απλοειδή κύτταρα) του ανθρώπου υπάρχει μια χρωματίδα (αλλιώς ινίδιο χρωματίνης) από κάθε ζεύγος ομόλογων χρωμοσωμάτων (συνολικά 23). Συνεπώς τα μόρια του DNA θα είναι 23 και θα έχουν μήκος 3Χ109ζεύγη βάσεων.

β. στα σωματικά κύτταρα (διπλοειδή) στην αρχή της μεσόφασης, δηλαδή πριν το διπλασιασμό του DNA υπάρχουν 46 μόρια DNA τα οποία έχουν μήκος 6. 109 ζεύγη βάσεων.

γ. Στο τέλος της μεσόφασης, δηλαδή μετά το διπλασιασμό του DNA και μέχρι το τέλος της μετάφασης της μίτωσης υπάρχουν 23 **ζεύγη** ομόλογων χρωμοσωμάτων (46 χρωμοσώματα με 92 χρωματίδες). Συνεπώς τα μόρια του DNA θα είναι 92 και θα έχουν μήκος 12. 109 ζεύγη βάσεων.

δ. Κατά τη διαίρεση του κυττάρου (μίτωση), το γενετικό υλικό είναι με τη μορφή χρωμοσωμάτων, τα οποία αποτελούνται από δύο αδελφές χρωματίδες που είναι όμοιες μεταξύ τους και ενωμένες στο κεντρομερίδιο. Στο στάδιο της μετάφασης τα χρωμοσώματα είναι ορατά με το οπτικό μικροσκόπιο. Συνεπώς κατά τη μετάφαση έχουμε **46 χρωμοσώματα, 92 ινίδια χρωματίνης, 92 μόρια DNA.**

ε. Με το τέλος της μίτωσης προκύπτουν δύο νέα θυγατρικά κύτταρα με τον ίδιο αριθμό και είδος χρωμοσωμάτων τόσο μεταξύ τους όσο και με το αρχικό κύτταρο. Έτσι τα δύο νέα κύτταρα που προκύπτουν με το τέλος της μίτωσης σε νέα κύτταρα του ανθρώπου περιέχουν **46 ινίδια χρωματίνης, 46 μόρια DNA.**

Αν στην εκφώνηση αναφέρεται **… δίνεται DNA** … εξετάζω τις περιπτώσεις:

α. να είναι μονόκλωνο (γραμμικό ή κυκλικό)

β. να είναι δίκλωνο (γραμμικό ή κυκλικό)

• Στο δίκλωνο μόριο του DNA λόγω συμπληρωματικότητας των αζωτούχων βάσεων ισχύει Α=Τ και G=C => A+G (πουρίνες) = T+C (πυριμιδίνες) άρα A+G / T+C = 1

• Κάθε **νουκλεόσωμα** αποτελείται από **DNA μήκους ίσου με 146 ζεύγη** βάσεων και από **8 μόρια ιστονών** πρωτεϊνών (το νουκλεόσωμα αποτελείται από 292 νουκλεοτίδια). Εάν η άσκηση μας δίνει τον αριθμό των νουκλεοσωμάτων σε κάποιο ινίδιο χρωματίνης, μπορούμε να υπολογίσουμε τον αριθμό των νουκλεοτιδίων που έχει το μόριο του DNA (εάν δεν λάβουμε υπ' όψιν το DNA που υπάρχει μεταξύ των νουκλεοσωμάτων) πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των νουκλεοσωμάτων με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων σε κάθε νουκλεόσωμα (κάθε νουκλεόσωμα έχει 292 νουκλκεοτίδια).

• Η αναλογία βάσεων (**A+T)/(C+G)** διαφέρει από είδος σε είδος και είναι συγκεκριμένη για όλα τα κύτταρα που ανήκουν στον ίδιο οργανισμό.

• Όταν μία άσκηση μας δίνει τα ποσοστά των αζωτούχων βάσεων σε κύτταρα διαφορετικών οργανισμών και μας ζητούν να βρούμε αν τα κύτταρα ανήκουν στον ίδιο οργανισμό ή όχι, παίρνουμε στο κάθε κύτταρο την αναλογία Α+Τ / G+C και εάν οι αναλογίες μας δώσουν το ίδιο αποτέλεσμα, τότε τα κύτταρα ανήκουν στον ίδιο οργανισμό.

• Εάν η άσκηση μας δίνει την % σύσταση του ενός κλώνου και ζητά να βρούμε την % σύσταση στο δίκλωνο μόριο του DNA τότε αφού οι δύο κλώνοι είναι συμπληρωματικοί βρίσκουμε την % σύσταση και του άλλου κλώνου και με απλή μέθοδο βρίσκουμε την % σύσταση στο μόριο.

* Αν στην εκφώνηση αναφέρεται **… δίνεται DNA** … εξετάζω τις περιπτώσεις:

α. να είναι μονόκλωνο (γραμμικό ή κυκλικό)

β. να είναι δίκλωνο (γραμμικό ή κυκλικό)

* • Στο δίκλωνο μόριο του DNA λόγω συμπληρωματικότητας των αζωτούχων βάσεων ισχύει Α=Τ και G=C => A+G (πουρίνες) = T+C (πυριμιδίνες) άρα A+G / T+C = 1

Κάθε **νουκλεόσωμα** αποτελείται από **DNA μήκους ίσου με 146 ζεύγη** βάσεων και από **8 μόρια ιστονών** πρωτεϊνών (το νουκλεόσωμα αποτελείται από 292 νουκλεοτίδια). Εάν η άσκηση μας δίνει τον αριθμό των νουκλεοσωμάτων σε κάποιο ινίδιο χρωματίνης, μπορούμε να υπολογίσουμε τον αριθμό των νουκλεοτιδίων που έχει το μόριο του DNA (εάν δεν λάβουμε υπ' όψιν το DNA που υπάρχει μεταξύ των νουκλεοσωμάτων) πολλαπλασιάζοντας τον αριθμό των νουκλεοσωμάτων με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων σε κάθε νουκλεόσωμα (κάθε νουκλεόσωμα έχει 292 νουκλκεοτίδια).

• Η αναλογία βάσεων (**A+T)/(C+G)** διαφέρει από είδος σε είδος και είναι συγκεκριμένη για όλα τα κύτταρα που ανήκουν στον ίδιο οργανισμό.

• Όταν μία άσκηση μας δίνει τα ποσοστά των αζωτούχων βάσεων σε κύτταρα διαφορετικών οργανισμών και μας ζητούν να βρούμε αν τα κύτταρα ανήκουν στον ίδιο οργανισμό ή όχι, παίρνουμε στο κάθε κύτταρο την αναλογία Α+Τ / G+C και εάν οι αναλογίες μας δώσουν το ίδιο αποτέλεσμα, τότε τα κύτταρα ανήκουν στον ίδιο οργανισμό.

Εάν η άσκηση μας δίνει την % σύσταση του ενός κλώνου και ζητά να βρούμε την % σύσταση στο δίκλωνο μόριο του DNA τότε αφού οι δύο κλώνοι είναι συμπληρωματικοί βρίσκουμε την % σύσταση και του άλλου κλώνου και με απλή μέθοδο βρίσκουμε την % σύσταση στο μόριο.

**Ο αυτοδιπλασιασμός** του DΝΑ είναι **ημισυντηρητικός.** Από ένα πατρικό μόριο δημιουργούνται δύο νέα μόρια, που καθένα περιέχει μια θυγατρική και μια μητρική αλυσίδα. Αν λοιπόν στην παλιά αλυσίδα υπάρχουν Α, Τ, G, C στη νέα αλυσίδα θα συμπληρωθούν από Τ, A, C, G αντίστοιχα.

Τα μόρια του DNA που προκύπτουν μετά από **ν** αντιγραφές, υπολογίζονται από τον τύπο :

**Ν= α·2ν**

Όπου Ν= τελικός αριθμός μορίων DNA ,

α= αρχικός αριθμός μορίων DNA , ν= αριθμός διαδοχικών αντιγραφών DNA

Η αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5' προς 3'. Οι αζωτούχες βάσεις τοποθετούνται ξεκινώντας απέναντι από το 3' άκρο της μητρικής αλυσίδας. Κάθε νέα συντιθέμενη αλυσίδα θα έχει προσανατολισμό 5'->3'. Αν δεν δίνεται η κατεύθυνση θα διακρίνουμε δύο περιπτώσεις. Αριστερά να είναι το 3' άκρο ή το 5' άκρο.

Όταν το DNA έχει α νουκλεοτίδια για να αντιγραφεί χρειάζονται άλλα τόσα (δηλαδή α) στα οποία συμβαίνουν τα λάθη. Με τη δράση της DNA πολυμεράσης περιορίζονται σε 1 στα 100.000, και με τα επιδιορθωτικά ένζυμα σε 1 ανά 1010.

• Κατά την αντιγραφή χρειάζεται προσοχή για το πως εφαρμόζεται η συμπληρωματικότητα των βάσεων. Έτσι:

➢κατά την δημιουργία των πρωταρχικών τμημάτων ισχύει ότι και στη μεταγραφή

➢κατά την επιμήκυνση των πρωταρχικών τμημάτων απέναντι από Α τοποθετείται Τ και το αντίστροφο και

απέναντι από G τοποθετείται C και το αντίστροφο.

➢αντιγράφονται ταυτόχρονα και οι δύο αλυσίδες τουDNA καθ' όλο το μήκος τους.

➢Οι DNA ελικάσες αναγνωρίζουν τις θέσεις έναρξης της αντιγραφής του DNA και ξετυλίγουν τις δυο αλυσίδες σπάζοντας τους δεσμούς υδρογόνου (καταστρέφουν την δευτεροταγή δομή του μορίου).

➢Η επιμήκυνση της κάθε πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας γίνεται μόνο από το ελεύθερο – ΟΗ άκρο αυτής.

Κατά την μεταγραφή:

➢Η αλυσίδα του DΝΑ που μεταγράφεται ονομάζεται **μεταγραφόμενη ή μη κωδική** ενώ η άλλη ονομάζεται **μη μεταγραφόμενη ή κωδική αλυσίδα.**

➢Κατά τη μεταγραφή απέναντι από νουκλεοτίδιο με Α τοποθετείται νουκλεοτίδιο με U, απέναντι από Τ τοποθετείται Α, απέναντι από G τοποθετείται C και αντίστροφα.

➢Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA είναι ίδια με τη μη μεταγραφόμενη αλυσίδα, με τη μόνη διαφορά ότι στο mRNA στη θέση της Τ υπάρχει U.

➢Το ένζυμο RNA πολυμεράση αρχίζει τη δράση του από το 3' άκρο της μεταγραφόμενης αλυσίδας, όπου βρίσκεται το κωδικόνιο έναρξης (TAC) και συνθέτει RNA με προσανατολισμ 5' 🡪3'.

➢To mRNA που συντίθεται κατά την μεταγραφή είναι αντιπαράλληλο προς τη μη κωδική αλυσίδα.

➢To mRNA είναι συμπληρωματικό της μη κωδικής αλυσίδας του γονιδίου (DNA).

➢Εάν σε κάποιο γονίδιο δεν μπορούμε να προσδιορίσουμε ποιος κλώνος είναι ο μεταγραφόμενος, τότε διακρίνουμε δύο περιπτώσεις: στην πρώτη περίπτωση μεταγράφεται ο ένας κλώνος και στην δεύτερη περίπτωση ο άλλος κλώνος.

Κατά την μετάφραση:

➢Τρία διαδοχικά νουκλεοτίδια (βάσεις) του DNA ή του mRNA αποτελούν ένα **κωδικόνιο ή τριπλέτα** που αντιστοιχεί, μέσω του tRNA, σ' ένα αμινοξύ.

➢Τα εξώνια του γονιδίου και μεταγράφονται και μεταφράζονται ενώ τα εσώνια μόνο μεταγράφονται και ποτέ δεν μεταφράζονται.

➢Το κωδικόνιο έναρξης (AUG) βρίσκεται στο 5' άκρο του mRNA και το κωδικόνιο λήξης στο 3' άκρο αυτού.

➢Το κωδικόνιο AUG δε βρίσκεται μόνο στην αρχή της αλυσίδας του mRNA. Είναι δυνατόν να βρίσκεται και ενδιάμεσα οπότε και θα ορίζει μόνο το αμινοξύ μεθειονίνη.

➢Το ριβόσωμα κατά τη μετάφραση αρχίζει να κυλάει από το 5’ άκρο προς το 3’ άκρο τουmRNA.

➢Το πρώτο αμινοξύ με το οποίο αρχίζει η σύνθεση της κάθε πεπτιδικής αλυσίδας είναι η μεθειονίνη.

➢Σε πολλές πρωτεΐνες, αμέσως μετά τη σύνθεση τους, απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα, επομένως και η μεθειονίνη, από το αρχικό αμινικό τους άκρο.

➢Το ώριμο mRNA εκτός από το ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης περιέχει τις 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές και το κωδικόνιο λήξης.

➢Στη μετάφραση απέναντι από το νουκλεοτίδιο Α τοποθετείται U και το αντίστροφο και απέναντι από το νουκλεοτίδιο της G το νουκλεοτίδιο C και το αντίστροφο.

➢Ο αριθμός τωνtRNA που χρησιμοποιήθηκαν κατά την μετάφραση mRNA είναι ίσος με τον αριθμό των αμινοξέων που έχει η πεπτιδική αλυσίδα κατά τη σύνθεση της (πριν να γίνει τροποποίηση αυτής).

➢Όταν ψάχνουμε τα αντικωδικόνια των tRNA λαμβάνουμε υπόψη ότι δεν υπάρχει αντικωδικόνιο για τα κωδικόνια λήξης.

➢Τα αντικωδικόνια τωνtRNA είναι συμπληρωματικά των κωδικονίων του mRNA.

Τα κωδικόνια ή τριπλέτες περιέχονται μεταξύ του **κωδικονίου έναρξης και του κωδικονίου λήξης** της μεταγραφόμενης περιοχής. Δεν υπάρχουν κωδικόνια σε περιοχές του DΝΑ που δεν μεταγράφονται.

• Αν δίνονται **x αμινοξέα** πολυπεπτιδικής αλυσίδας με πρώτο αμινοξύ τη μεθειονίνη, τότε κωδικοποιούνται από **x** + 1 κωδικόνια **mRNA** (προσθέτουμε το κωδικόνιο λήξης).

• Μια πολυπεπτιδική αλυσίδα αποτελείται από τουλάχιστον 50 αμινοξέα. Μια πρωτεΐνη αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα ή από περισσότερες από μία.

• Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς είναι δυνατόν πολλά γονίδια να δίνουν την πληροφορία για ένα mRΝΑ που έχει πολλά κωδικόνια έναρξης και πολλά κωδικόνια λήξης και μεταφράζεται σε πολλές διαφορετικές πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

**Αντιπαράλληλες αλυσίδες** που συνήθως συναντώνται σε ασκήσεις είναι:

- οι δύο αλυσίδες του DΝΑ

- η μεταγραφόμενη αλυσίδα του DΝΑ και το mRΝΑ

- τα κωδικόνια του mRΝΑ και το αντικωδικόνιο κάθε μορίου tRΝΑ

• Για τα ευκαρυωτικά κύτταρα ισχύει:

1 γονίδιο 🡪1 είδος mRNA 🡪1 είδος πεπτιδικής αλυσίδας

Το παραπάνω ισχύει και για τα γονίδια των προκαρυωτικών κυττάρων που δεν είναι οργανωμένα σε οπερόνια.

• Για τα γονίδια των προκαρυωτικών κυττάρων που είναι οργανωμένα σε οπερόνια ισχύει:

2-3 ή περισσότερα γονίδια 🡪1 είδος mRNA 🡪2-3 ή περισσότερες διαφορετικές πεπτιδικές αλυσίδες.

• Το κωδικόνιο έναρξης του mRΝΑ βρίσκεται στο 5' άκρο του mRΝΑ και το κωδικόνιο λήξης βρίσκεται στο 3' άκρο του.

• Τέλος, στις ασκήσεις υποθέτουμε ότι το γονίδιο δεν έχει εσώνια, ότι το mRΝΑ δίνεται ώριμο και δεν υπολογίζουμε τις 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές mRΝΑ.

Αν το mRNA είναι από προκαρυωτικό οργανισμό προσέχω μήπως και μετά το πρώτο κωδικόνιο λήξης ακολουθεί ξανά κωδικόνιο έναρξης και ελέγχω μήπως πρόκειται για οπερόνιο.

• Η πρωτεΐνη αποτελείται από αμινοξέα που δημιουργούν πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Αν πρόκειται για απλή πρωτεΐνη τότε αποτελείται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα και μόνο, και η σύνθεση της κωδικοποιείται από ένα γονίδιο. Αν πρόκειται για σύνθετη πρωτεΐνη τότε αποτελείται από δυο ή και περισσότερες αλυσίδες και η σύνθεση της κωδικοποιείται από ένα γονίδιο αν αυτές οι αλυσίδες είναι ίδιες ή περισσότερα γονίδια αν οι αλυσίδες της είναι διαφορετικές.

• Όταν ζητείται ο αριθμός των αμινοξέων μιας πρωτεΐνης τη στιγμή της σύνθεσης της στα ριβοσώματα, θεωρούμε ότι δεν έχουν απομακρυνθεί αμινοξέα από την πρωτεΐνη ( π.χ από το αμινικό της άκρο).

Αν η πρωτεΐνη έχει υποστεί τροποποίηση, δηλαδή έχουν αφαιρεθεί, κάποια αμινοξέα, τότε πριν κάνω τους υπολογισμούς μου πρέπει να προσθέσω και αυτά τα αμινοξέα, καθώς αρχικά κωδικοποιήθηκαν από το mRNA.

• εάν ένα γονίδιο έχει κ εσώνια, τότε έχει κ+1 εξώνια.

• για να αποκοπεί μία αλληλουχία που αποτελεί εσώνιο πρέπει να σπάσουν 2 φωσφοδιστερικοί δεσμοί που βρίσκονται στα άκρα του.

• Για κάθε εσώνιο που απομακρύνεται σχηματίζεται ένας φωσφοδιεστερικός δεσμός μεταξύ των άκρων των εξωνίων με τα οποία ήταν συνδεδεμένο.

Εύρεση κωδικής/ μη κωδικής γονιδίου & mRNA, tRNA, αμινοξέων

***Εφαρμογή 1***: Δίνεται γονίδιο που οδηγεί σε σύνθεση πεπτιδίου χωρίς να προσδιορίζονται τα άκρα του, η κατεύθυνση των δύο αλυσίδων και η θέση του υποκινητή. Σ' αυτό το γονίδιο πρέπει να προσδιοριστούν τα άκρα και η μη κωδική / κωδική αλυσίδα του, να καταγραφεί το mRNA, τα tRNA, το πεπτίδιο που προκύπτει και να αιτιολογηθεί η απάντηση Έστω πχ. η αλληλουχία:

Αλυσίδα1 G G G A T G C C C T T T A A A T T G T G A G G C C G C

Αλυσίδα2 C C C T A C G G G A A A T T T A A C A C T C C G G C G

Γνωρίζουμε ότι

**α. Η** RNA πολυμεράση αφού προσδεθεί στον υποκινητή με τη βοήθεια των μεταγραφικών παραγόντων, "διαβάζοντας" τη μη κωδική αλυσίδα από το 3' προς το 5'άκρο της, συνθέτει mRNA 5' →3', το οποίο είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο της μη κωδικής.

**β.** Επειδή το γονίδιο αυτό οδηγεί στη σύνθεση πεπτιδίου θα περιέχει τα κωδικόνια έναρξης και λήξης. Διαβάζοντας το γονίδιο (και τις 2 αλυσίδες) και προς τις 2 κατευθύνσεις ψάχνουμε να βρούμε τις αντίστοιχες αλληλουχίες του κωδικονίου έναρξης στο γονίδιο.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  |  | DNA |  |
|  | RNA | Μη κωδική | Κωδική |
| Έναρξη | 5' AUG 3'  | 3' TAC 5'  | 5' ATG 3’  |
| Λήξη | 5' UGA 3'  | 3' ACT 5'  | 5' TGA 3'  |
|  | 5' UAG 3'  | 3' ATC 5'  | 5' TAG 3'  |
|  | 5 UAA 3'  | 3' ΑΤΤ 5'  | 5' ΤΑΑ 3'  |

Στην συγκεκριμένη αλληλουχία εντοπίζεται ένα κωδικόνιο έναρξης που σημειώνεται παρακάτω

Από το κωδικόνιο έναρξης διαβάζουμε με βήμα τριπλέτας έως ότου βρούμε αλληλουχίες κωδικονίου λήξης (διότι ο γενετικός κώδικας είναι κώδικας τριπλέτας συνεχής και μη επικαλυπτόμενος).

Στη συγκεκριμένη αλληλουχία το κωδικόνιο λήξης είναι το 3' ACT 5' (αλυσίδα 2) με συμπληρωματικό το 5' TGA 3' (αλυσίδα 1). Επομένως μη κωδική θα είναι η αλυσίδα 2 και η κωδική η 1. Τα άκρα καθώς και τα κωδικόνια έναρξης και λήξης σημειώνονται παρακάτω

Αλυσίδα1 G G G **A T G** C C C T T T A A A T T G **T G A** G G C C G C

Αλυσίδα2 C C C **T A C** G G G A A A T T T A A C **A C T** C C G G C G

 έναρξη λήξη

**γ.** Γνωρίζουμε ότι: μη κωδική είναι συμπληρωματική και αντιπαράλληλη με το mRNA. To mRNA που προκύπτει είναι το εξής (σημειώνουμε σε αυτό κωδικόνια έναρξης & λήξης καθώς και 5' και 3' αμετάφραστες):

mRNA 5' GGG AUG CCC UUU AAA UUG UGA GGCCGC 3'

 {5΄αμετάφραστη} {έναρξη} {λήξη}{3΄αμετάφραστη}

**δ.** Γνωρίζουμε ότι κατά την έναρξη της μετάφρασης το mRNA προσδένεται μέσω της 5' αμετάφραστης με το rRNA της μικρής ριβοσωμικής υπομονάδας. Το πρώτο κωδικόνιο είναι AUG και σε αυτό προσδένεται το tRNA που φέρει το αμινοξύ μεθειονίνη. Σε αυτό το σύμπλοκο έναρξης της μετάφρασης που σχηματίζεται, κατά την επιμήκυνση δεύτερο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του δεύτερου κωδικονίου μεταφέρει δεύτερο αμινοξύ κοκ. έως ότου η επιμήκυνση σταματήσει σε ένα κωδικόνιο λήξης επειδή δεν υπάρχουν tRNA να αντιστοιχούν σε αυτά. Δηλαδή:

mRNA 5' GGG AUG CCC UUU AAA UUG UGA GGCCGC 3'

 {5΄αμετάφραστη} {έναρξη} {λήξη}{3΄αμετάφραστη}

**tRNA** UAC,GGG,AAA,UUU,AAC

πεπτίδιο H2N - met - pro - lys - phe - asn - COOH

ΠΡΟΣΟΧΗ!

• Εάν δίδονται περιοχές που δε μεταφράζονται στο τμήμα του γονιδίου που εξετάζεται, τότε το mRNA που προκύπτει μην το περιορίζετε στις αλληλουχίες που παρεμβάλλονται μεταξύ κωδικονίων έναρξης και λήξης!

• Πάντα θα γράφετε κωδική γονιδίου, μη κωδική γονιδίου και τέλος το mRNA

• Αν ζητηθούν αντικωδικόνια δε γράφουμε για τα κωδικόνια λήξης (δεν αντιστοιχούν σε αμινοξέα)

• Το πρώτο αμινοξύ του πεπτιδίου ελεύθερο αμινικό άκρο, το τελευταίο ελεύθερο καρβοξυλικό

***Εφαρμογή 2*:** δίδεται η θέση του υποκινητή του γονιδίου και ζητείται η εύρεση της κωδικής και μη κωδικής, και το mRNA που προκύπτει

Έστω η παρακάτω αλληλουχία και η θέση του υποκινητή

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | T | G | G | G | A | A | T | C | C | T | T | T | A | A | A | G | C | A | T | G | A | G | G | T | A | T | A |  |  |
|  | A | C | C | C | T | T | A | G | G | A | A | A | T | T | T | C | G | T | A | C | T | C | C | A | T | A | T |  |  |

Γνωρίζουμε ότι: Η RNA πολυμεράση αφού προσδένεται στον υποκινητή με τη βοήθεια των μεταγραφικών παραγόντων, "διαβάζοντας" τη μη κωδική αλυσίδα από το 3' προς το 5'άκρο της, συνθέτει mRNA 5' 🡪3', το οποίο είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο της μη κωδικής .

Στη συγκεκριμένη περίπτωση η RNA πολυμεράση θα προσδεθεί στον υποκινητή και θα μεταγράψει με προσανατολισμό 5' 🡪3' από δεξιά προς τα αριστερά. Επομένως θα μεταγράψει την κάτω αλυσίδα, η οποία και θα είναι η μη κωδική του γονιδίου. Η συμπληρωματική της θα είναι η κωδική. To mRNA θα είναι συμπληρωματικό και αντιπαράλληλο της μη κωδικής (κάτω αλυσίδα), δηλαδή:

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 3’ | T | G | G | G | A | A | T | C | C | T | T | T | A | A | A | G | C | A | T | G | A | G | G | T | A | T | A | 5’ |  |
| 5’ | A | C | C | C | T | T | A | G | G | A | A | A | T | T | T | C | G | T | A | C | T | C | C | A | T | A | T | 3’ |  |

**mRNA** 5' AU AUG GAG UAC GAA AUU UCC UAA GGGU 3’

 {5΄αμετάφραστη} {έναρξη} {λήξη}{3΄αμετάφραστη}

**Από το γονίδιο στην πρωτεΐνη:**

**νουκλεοτίδια του DNA**

 (: 2)

**νουκλεοτίδια της μη κωδικής αλυσίδας**

 (=)

**ριβονουκλεοτίδια στο πρόδρομο m-RNA**

 (-) νουκλεοτίδια των εσωνίων

**ριβονουκλεοτίδια στο ώριμο m-RNA**

 (-) νουκλεοτίδια των 3' και 5' αμετάφραστων περιοχών

**ριβονουκλεοτίδια πλαισίου ανάγνωσης**

 (:3)

**κωδικόνια πλαισίου ανάγνωσης**

 ( -) κωδικόνιο λήξης

**αμινοξέα πεπτιδικής αλυσίδας**

 (-) αμινοξέα που αφαιρέθηκαν από το αμινικό άκρο

**λειτουργική πρωτεΐνη**

## Από την πρωτεΐνη στο γονίδιο:

**δεσοξυριβονουκλεοτίδια του DNA**

 (**x**2)

**δεσοξυριβονουκλεοτίδια της μη κωδικής**

 (=)

**ριβονουκλεοτίδια στο πρόδρομο m-RNA**

 (+) νουκλεοτίδια των εσωνίων

**ριβονουκλεοτίδια στο ώριμο m-RNA**

 (+) νουκλεοτίδια των 3' και 5' αμετάφραστων περιοχών

**ριβονουκλεοτίδια πλαισίου ανάγνωσης**

 (Χ 3)

**κωδικόνια πλαισίου ανάγνωσης**

 (+) κωδικόνιο λήξης

**αμινοξέα πεπτιδικής αλυσίδας**

 (+) αμινοξέα που αφαιρέθηκαν από το αμινικό άκρο

**λειτουργική πρωτεΐνη**

AΣΚΗΣΕΙΣ

1.

**Όταν αντιγράφεται ένα μόριο DNA, η DNA** ελικάση καταστρέφει 1.400 δεσμούς υδρογόνου και η **DNA** πολυμεράση ενσωματώνει 1.100 νουκλεοτίδια.

**α. ποιος είναι ο αριθμός των διαφορετικών αζωτούχων βάσεων που φέρουν τα παραπάνω νουκλεοτίδια; β. πόσες ελεύθερες φωσφορικές ομάδες διαθέτει το μόριο; γ. πόσοι νέοι φωσφοδιεστερικοί δεσμοί θα σχηματιστούν μετά από δύο πολλαπλασιασμούς;**

**2.**

**Δίδεται η αλληλουχία νουκλεοτιδίων του mRNA που συμμετέχει στη σύνθεση των τελευταίων 8 αμινοξέων μιας πεπτιδικής αλυσίδας :**

**GUGGAGAGCGUGGCUUCUACACUCCUAAGA**

**Χρησιμοποιώντας τον πίνακα του γενετικού κώδικα, να γράψετε την αλληλουχία των τελευταίων 8 αμινοξέων της πεπτιδικής αλυσίδας.**

**Να δώσετε και την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του αντιστοίχου γονιδίου.**

3.

**Δίνεται ένα τμήμα μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας ενός μορίου DNA** :

**TTTAAAAAGTACGGCAGCGCGTCCCACATCTTTAAA**

**α) να γραφεί η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA** (να συμπληρώσετε τα 5’ και 3' άκρα των

**νουκλεϊκών οξέων) και να υπολογιστεί το σύνολο των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται**

**β) να γραφεί το mRΝΑ που προκύπτει από τη μεταγραφή του τμήματος αυτού**

**γ) ποια θα είναι τα αντικωδικώνια tRNA** ;

**δ) πόσα αμινοξέα κωδικοποιούνται από το mRNA** ;

4.

**Σ’ ένα κυκλικό μόριο μιτοχονδριακού DNA υπάρχουν 140 φωσφοδιεστερικοί δεσμοί και 190 δεσμοί υδρογόνου. Πόσες αδενίνες , θυμίνες , κυτοσίνες και γουανίνες περιέχονται ;**

**5.**

**Το μόριο μιας πρωτεΐνης αποτελείται από 216 αμινοξέα, τα οποία συνδεόμενα μεταξύ τους σχηματίζουν 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες, ανά 2 όμοιες. Οι α αλυσίδες είναι διπλάσιες σε μήκος από τις β. Ποιος είναι ο αριθμός νουκλεοτιδίων στη μεταγραφόμενη αλυσίδα του DΝΑ κάθε γονιδίου; (Η μεθειονίνη έχει απομακρυνθεί απ' όλες τις πεπτιδικές αλυσίδες).**

**6.**

Αν το μόριο **DNA διπλασιαστεί σε περιβάλλον ραδιενεργού αζώτου, πόσες αλυσίδες DNA με ραδιενεργό άζωτο θα υπάρχουν μετά τον πρώτο και πόσες μετά τον δεύτερο διπλασιασμό;**

**Αν στη συνέχεια τα μόρια που θα προκύψουν μεταφερθούν σε περιβάλλον με κανονικό άζωτο, πόσες αλυσίδες με κανονικό άζωτο θα υπάρχουν μετά τον τρίτο διπλασιασμό του αρχικού μορίου;**

**7.**

Ένα μόριο DNA έχει μήκος, αν ξετυλιχθεί, 340.000 nm, και μεταξύ των νουκλεοτιδίων του σχηματίζονται 2.250.000 δεσμοί υδρογόνου. Ποια θα είναι η επί τοις εκατό αναλογία των βάσεων στο μόριο αυτό αν είναι γνωστό ότι το μήκος 10 ζευγαριών βάσεων είναι 3,4 nm;

8.

Το παρακάτω πολύσωμα αποτελείται ένα μόριο mRNA (ΑΒ) και από πέντε ριβοσώματα που ταυτόχρονα μεταφράζουν το μόριο mRNA σε διαφορετικά σημεία του μήκους του. Να εντοπίσετε και να σημειώσετε στα σημεία Α και Β τον προσανατολισμό του μορίου mRNA.



9. Το παρακάτω δίκλωνο μόριο DΝΑ

.... Α Τ Α Τ G ....

.... Τ Α Τ Α C ....

αυτοδιπλασιάζεται σε καλλιέργεια μέσα στην οποία υπάρχουν μόνο ιχνηθετημένα νουκλεοτίδια που συμβολίζονται με Α\*, Τ\*, C\*, G\* αντί των κανονικών νουκλεοτιδίων. Να γραφούν τα μόρια που θα προκύψουν μετά τον πρώτο και τον δεύτερο διπλασιασμό. Δικαιολογήστε την απάντηση σας. (Γενικές Εξετάσεις1994)

10. Από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα ενός βακτηριακού κυττάρου απομακρύνθηκαν 2 αμινοξέα από το αμινικό της άκρο, ώστε τελικά αυτή να αποτελείται από 100 αμινοξέα. Πόσα νουκλεοτίδια θα έχει το τμήμα του DΝΑ που καθόρισε την αλληλουχία των αμινοξέων στην αρχική πολυπεπτιδική αλυσίδα;

11. Δίνεται ένας κλώνος DΝΑ με την εξής αλληλουχία βάσεων:

....TTA - GΑT- ΤΑC - ATG - CGΤ......... ΤΤΤ - ΤΤΤ - ΤΤΤ - ΑCΤ - TAA - GTA - CΑΤ ....

Να δοθεί ο ορισμός του γονιδίου και του mRNA. Να γράψετε και να αιτιολογήσετε το mRNA που προκύπτει από την παραπάνω αλληλουχία.

12. Το κύριο κυκλικό μόριο DΝΑ του βακτηρίου Ε.Coli αποτελείται από 4x106 ζεύγη βάσεων. Ένα βακτήριο Ε.Coli αναπτύσσεται σε περιβάλλον με ραδιενεργό φώσφορο 32Ρ. Αν ο χρόνος διπλασιασμού του βακτηρίου είναι 20 min, να εξηγήσεις μετά από 40 min: α. Πόσα μόρια DΝΑ σχηματίστηκαν; β. Πόσα κανονικά και ραδιενεργά άτομα φωσφόρου περιέχονται στα μόρια του DΝΑ που σχηματίστηκαν?