Απαραίτητες Γνώσεις για την Επίλυση Ασκήσεων 1ου-2ου Κεφαλαίου

## Απαραίτητες Γνώσεις Για Ασκήσεις Με Αλληλουχίες

1. Ελέγχουμε προσεκτικά τα δεδομένα της άσκησης για να γνωρίζουμε τα χαρακτηριστικά της πολυνουκλεοτιδικής μας αλυσίδας.

(α) ***DNA*** ή ***RNA***, ***δίκλωνο μόριο*** ή ***μονόκλωνο***,

(β) από ***ευκαρυωτικό*** ή ***προκαρυωτικό*** κύτταρο (βακτήριο),

(γ) ***χρωμοσωμικό DNA*** ή όχι (***μιτοχονδριακό***),

(δ) ***ολόκληρο γονίδιο*** ή ***περιοχή γονιδίου*** (άκρο ή ενδιάμεσο τμήμα),

(ε) ***με εσώνια*** ή ***χωρίς εσώνια*** (π.χ. βακτηριακής προέλευσης ή από cDNA βιβλιοθήκη)

*π.χ. ανθρώπινο γονίδιο (δίκλωνο χρωμοσωμικό DNA) που κωδικοποιεί ένα ολιγοπεπτίδιο*

***Εσώνιο***

5’- TTCAGGTATGCCTTTA***TACCCT***CAGGCAAGTAACTGAATGAATCT

AAGTCCATACGGAAAT***ATGGGA***GTCCGTTCATTGACTTACTTAGA

1. Βρίσκουμε τον προσανατολισμό των αλυσίδων του δοθέντος τμήματος χρησιμοποιώντας τυχόν πληροφορίες που υπάρχουν για κάποιο άκρο, π.χ. εάν έχουμε το ένα άκρο (5’), αυτομάτως γνωρίζουμε το άλλο (3’), καθώς και τον προσανατολισμό της συμπληρωματικής, αντιπαράλληλης αλυσίδας (3’ – 5’). Σε κάποιες περιπτώσεις αντί για 5’ άκρο μπορεί να δίνεται η φωσφορική ομάδα (Ρ-) και αντί για 3’ άκρο να δίνεται η υδροξυλομάδα (-ΟΗ).

**5’**- TTCAGGTATGCCTTTA***TACCCT***CAGGCAAGTAACTGAATGAATCT – 3’

3’- AAGTCCATACGGAAAT***ATGGGA***GTCCGTTCATTGACTTACTTAGA – 5’

1. Στην περίπτωση που δεν έχουμε κάποια άμεση πληροφορία για τα άκρα, αλλά γνωρίζουμε ότι το δοθέν τμήμα κωδικοποιεί κάποιο ολιγοπεπτίδιο, οι πληροφορίες που χρειαζόμαστε για να ορίσουμε τα 5’ & 3’ άκρα του τμήματος θα αποκαλυφθούν από την ανάλυση της κωδικής περιοχής (Ο προσανατολισμός της κωδικής αλυσίδας θα συμπίπτει με τη θέση του κωδικονίου έναρξης – 5’ άκρο – και του κωδικονίου λήξης – 3’ άκρο – του γονιδίου της αλληλουχίας).
2. Στις αλυσίδες του δοθέντος τμήματος διατρέχουμε τις αλληλουχίες με κατεύθυνση 5’ -> 3’ (αν αυτή δεν είναι γνωστή διατρέχουμε και τις 2 αλυσίδες και προς τις δύο κατευθύνσεις), αναζητώντας συνδυασμό ενός κωδικονίου έναρξης (***5’-ATG-3’*** για ***DNA*** ή ***5’-AUG-3’***για ***mRNA***) και ενός κωδικονίου λήξης (***5’-TGA-3’*** ή ***5’-TAG-3’*** ή ***5’-TAA-3’*** για ***DNA*** ή ***5’-UGA-3’*** ή ***5’-UAG-3’*** ή ***5’-UAA-3’*** για ***mRNA***). *Στην περίπτωση που κωδικοποιείται τμήμα πολυπεπτιδικής αλυσίδας, ανάλογα με τα δεδομένα της άσκησης, πιθανόν να υπάρχει μόνο κώδικόνιο έναρξης ή μόνο κωδικόνιο λήξης, αλλά όχι και τα δύο.*

5’- TTCAGGT**ATG**CCTTTA***TACCCT***CAGGCAAG**TAA**C**TGAATG**AATCT – 3’

3’- A**AGT**CCATACGGA**AAT*ATGGGA***GTCCGTTCATTGACTTACTTAGA – 5’

1. Εάν στο δοθέν τμήμα εντοπίζονται περισσότερα του ενός κωδικόνια έναρξης και λήξης δουλεύουμε ως εξής:

(Α) *Εντοπίζουμε εκείνα τα κωδικόνια έναρξης ή λήξης των οποίων ο προσανατολισμός συμπίπτει με τον προσανατολισμό των αλυσίδων*. Αποκλείουμε εκείνα των οποίων ο προσανατολισμός δεν συμπίπτει (εάν είναι γνωστός).

(Β) *Στην περίπτωση που η κωδική περιοχή* ***δεν περιέχει εσώνια*** και κωδικοποειεί για κάποιο ολιγοπεπτίδιο, ελέγχουμε αν μπορούμε να πάμε από το κωδικόνιο έναρξης στο κωδικόνιο λήξης με βήμα τριπλέτας (συνεχής & μη επικαλυπτόμενος γενετικός κώδικας).

(Γ) *Στην περίπτωση που η κωδική περιοχή* ***περιέχει εσώνιο***, θα χρειαστούμε επιπλέον πληροφορίες για να εντοπίσουμε το εσώνιο, π.χ. τα άκρα του εσωνίου ή κάποιες αντιστοιχίες αμινοξέων του ολιγοπεπτιδίου με τριπλέτες του γενετικού κώδικα.

Επιλέγουμε ως **κωδική αλυσίδα** (μη μεταγραφόμενη) εκείνη στην οποία έχουμε κωδικόνιο έναρξης & λήξης σε απόσταση που καλύπτεται με βήμα τριπλέτας (εξαιρουμένων των τυχόν εσωνίων). Η συμπληρωματική αλυσίδα θα είναι η **μη κωδική ή μεταγραφόμενη**.

Κωδική περιοχή ολιγοπεπτιδίου

**Κωδική** αλυσίδα

5’- TTCAGGT**ATG**CCTTTA***TACCCT***CAGGCAAG**TAA**C**TGAATG**AATCT – 3’

3’- A**AGT**CCATACGGA**AAT*ATGGGA***GTCCGTTCATTGACTTACTTAGA – 5’

**Μη Κωδική** αλυσίδα

1. Για να κατασκευάσουμε το μεταγραφόμενο (πρόδρομο) mRNA αρκεί να αντιγράψουμε την κωδική αλυσίδα με τον ίδιο προσανατολισμό, αντικαθιστώντας όπου η Θυμίνη (Τ) με Ουρακίλη (U). Εναλλακτικά, χρησιμοποιώντας ως καλούπι την μεταγραφόμενη αλυσίδα του DNA, κατασκευάζουμε τη συμπληρωματική και αντιπαράλληλη σε αυτή αλυσίδα mRNA, τοποθετώντας όπου Γουανίνη (G) την Κυτοσίνη (C) και αντίστροφα, όπου Θυμίνη (Τ) βάζουμε Αδενίνη (Α) και όπου έχει Αδενίνη (Α) βάζουμε Ουρακίλη (U).

*Σημαντική Υπενθύμιση: Τα νουκλεοτίδια στις αλυσίδες του DNA είναι δεοξυριβονουκλεοτίδια, ενώ στις αλυσίδες του RNA είναι ριβονουκλεοτίδια.*

**Κωδική** αλυσίδα

**Μη Κωδική** αλυσίδα

5’- TTCAGGT**ATGCCTTTA*TACCCT*CAGGCAAGTAACTGA**ATGAATCT – 3’

3’- AAGTCCATACGGAAAT***ATGGGA***GTCCGTTCATTGACTTACTTAGA – 5’

***Εσώνιο***

**mRNA** αλυσίδα

**5’- UUCAGGUAUGCCUUUA*UACCCU*CAGGCAAGUAACUGAAUGAAUCU – 3’**

1. Εάν το δοθέν τμήμα περιέχει εσώνιο, αυτό δε θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην αλληλουχία του παραγόμενου ώριμου mRNA.

*Σημαντική Υπενθύμιση: Τόσο στο πρόδρομο, όσο και στο ώριμο mRNA, τα σημεία έναρξης και λήξης των 5’ και 3’ αμετάφραστων περιοχών αντιστοίχως δεν είναι συνήθως γνωστά.*

**Πρόδρομο** mRNA

***Εσώνιο***

5’- UUCAGGUAUGCCUUUA***UACCCU***CAGGCAAGUAACUGAAUGAAUCU – 3’

*3’ αμετάφραστη περιοχή*

*5’ αμετάφραστη περιοχή*

**5’-** UUCAGGU**AUGCCUUUACAGGCAAGUAACUGA**AUGAAUCU **– 3’**

***κωδική περιοχή***

**Ώριμο** mRNA

1. Με τη βοήθεια του γενετικού κώδικα εντοπίζουμε σε ποιό αμινοξύ αντιστοιχεί η τριπλέτα του κάθε κωδικονίου του mRNA και συνθέτουμε το ολιγοπεπτίδιο

*Σημαντική Υπενθύμιση:* *Κατά τη διαδικασία της μετάφρασης, τα αντικωδικόνια των tRNA που συνδέονται στα κωδικόνια του mRNA, έχουν ως προς αυτά αντιπαράλληλη διάταξη.*

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Κωδικόνια (mRNA)** | 5’-AUG-3’ | 5’-CCU-3’ | 5’-UUA-3’ | 5’-CAG-3’ | 5’-GCA-3’ | 5’-AGU-3’ | 5’-AAC-3’ | 5’-UGA-3’ |
| **Αντικωδικόνια (tRNA)** | 3’-UAC-5’ | 3’-GGA-5’ | 3’-AAU-5’ | 3’-GUC-5’ | 3’-CGU-5’ | 3’-UCA-5’ | 3’-UUG-5’ | - |
| **Αμινοξύ** | Met | Pro | Leu | Gln | Ala | Ser | Asn | - |

1. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα ερωτήματα των ασκήσεων προχωρούν σε περαιτέρω διερεύνηση όπου και αναζητούνται αλληλουχίες αναγνώρισης των περιοριστικών ενδονουκλεασών (συνήθως εκατέρωθεν του γονιδίου ή στο μέσο αυτού) ή σε άλλες περιπτώσεις οι συνέπειες συγκεκριμένων μεταλλάξεων στην αρχική αλληλουχία ή στο τελικό ολιγοπεπτίδιο/πρωτεΐνη.

## Απαραίτητες Γνώσεις Για Ασκήσεις Με Χαρτογράφηση (μέσω Σύζευξης ή Επιχιασμών)

---- ΣΥΝΤΟΜΑ!! -------