

Στοιχεία Θεωρίας

► Αντιγραφή του DNA

♦ Μηχανισμός αντιγραφής του DNA:

Ο μηχανισμός αντιγραφής του DNA λέγεται **ημισυντηρητικός**, γιατί από ένα μόριο DNA προκύπτουν δύο, καθένα από τα οποία αποτελείται από μία παλιά (μητρική) αλυσίδα και μία καινούργια (θυγατρική).

♦ Διαφορές στην αντιγραφή του DNA μεταξύ προκαρυωτικών – ευκαρυωτικών:

Η μελέτη της αντιγραφής ξεκίνησε από την *Escherichia coli*. Η επιλογή του βακτηρίου αυτού έγινε γιατί

- ✓ έχει μικρότερη ποσότητα DNA από το ευκαρυωτικό (περίπου 1.000 φορές μικρότερο)
- ✓ έχει γενετικό υλικό με πιο απλή οργάνωση (πακετάρεται κα αυτό με πρωτεΐνες, αλλά χωρίς την πολύπλοκη οργάνωση των νουκλεοσωμάτων).

Ευκαρυωτικό	Προκαρυωτικό
1. Η αντιγραφή ξεκινά ταυτόχρονα από εκατοντάδες θέσεις έναρξης	Υπάρχει μία μόνο θέση έναρξης αντιγραφής
2. Μεγαλύτερη ταχύτητα αντιγραφής λόγω του 1	Μικρότερη ταχύτητα
3. Ολοκληρώνεται σε περισσότερο χρόνο, λόγω πολύ μεγάλου μήκους	Χρειάζεται λιγότερο από 30' σε ευνοϊκές συνθήκες

♦ Τα ένζυμα της αντιγραφής του DNA:

- DNA ελικάσες
- πριμόσωμα
- DNA πολυμεράσες
- DNA δεσμάση
- ειδικά επιδιορθωτικά ένζυμα

Παρατήρηση: η αντιγραφή του DNA πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενζύμων και άλλων πρωτεϊνών

♦ Ο ρόλος των ενζύμων της αντιγραφής του DNA:

- **DNA ελικάσες:** ξεδιπλώνουν τις δύο αλυσίδες, σπάζοντας τους δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στις βάσεις (σχηματισμός θηλιάς). Κάθε θηλιά ανοίγει και προς τις δύο κατευθύνσεις, αμφίδρομα, με σημείο αναφοράς την κάθε θέση έναρξης της αντιγραφής.
- **πριμόσωμα:** συνθέτει μικρά τμήματα RNA, τα **πρωταρχικά τμήματα**, στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Τα τμήματα αυτά λειτουργούν ως εκκνητικά για τις DNA πολυμεράσες, επειδή οι τελευταίες δεν μπορούν να αρχίσουν την αντιγραφή. Το πριμόσωμα είναι ειδικό σύμπλοκο που αποτελείται από πολλά ένζυμα.
- **DNA πολυμεράσες:**
 1. επιμηκώνουν τα πρωταρχικά τμήματα RNA, τοποθετώντας δεοξυριβονουκλεοτίδια στη θυγατρική νεοσυντιθέμενη αλυσίδα, ακολουθώντας τον κανόνα συμπληρωματικότητας, συνδέοντας τα νουκλεοτίδια με 3' - 5' φωσφοδιεστερικούς δεσμούς. Έτσι, κάθε νεοσυντιθέμενη αλυσίδα που δημιουργείται έχει προσανατολισμό 5' → 3'.
 2. επιδιορθώνουν λάθη που τυχόν οι ίδιες κάνουν, ελέγχοντας το τελευταίο νουκλεοτίδιο που έχουν κάθε φορά τοποθετήσει, αφαιρώντας το νουκλεοτίδιο αν

παραβιάζεται ο κανόνας συμπληρωματικότητας και τοποθετώντας το σωστό (πιθανότητα λάθους: $\frac{1}{10^5}$).

3. αντικαθιστούν τα πρωταρχικά τμήματα RNA με δεοξυριβονουκλεοτίδια.
- DNA δεσμάση:
 1. συνδέει με φωσφοδιεστερικό δεσμό τα τμήματα των θυγατρικών αλυσίδων, στις περιοχές που συντίθενται ασυνεχώς, (βλέπε παρακάτω)
 2. συνδέει με φωσφοδιεστερικό δεσμό τα τμήματα των θυγατρικών αλυσίδων, που έχουν προκύψει από τις διαδοχικές θέσεις έναρξης αντιγραφής (στο ευκαρυωτικό κύτταρο, οι θηλιές καθώς ανοίγουν συναντώνται)
- Ειδικά επιδιορθωτικά ένζυμα: ελέγχουν τις θυγατρικές αλυσίδες, ανακαλύπτουν λάθη που δεν κατάφεραν να διορθώσουν οι DNA πολυμεράσες, αφαιρούν τα λάθος νουκλεοτίδια, αυξάνοντας την πιστότητα της αντιγραφής (τελική πιθανότητα λάθους στα ευκαρυωτικά κύτταρα: $\frac{1}{10^{10}}$).

♦ Προσανατολισμός αντιγραφής:

Οι DNA πολυμεράσες ενώνουν νουκλεοτίδια με 3' - 5' φωσφοδιεστερικό δεσμό. Δηλαδή, συνδέουν στο 3' ελεύθερο άκρο του τελευταίου νουκλεοτιδίου, το 5' άκρο του επόμενου. Έτσι, κάθε αλυσίδα που συντίθεται έχει προσανατολισμό 5' → 3'. Με τον ίδιο προσανατολισμό συντίθενται όλες οι αλυσίδες DNA και RNA.

Συνέπεια του παραπάνω, καθώς και του ότι οι θυγατρικές αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες με τις μητρικές, είναι ότι το μισό τμήμα κάθε θυγατρικής αλυσίδας σε κάθε θηλιά της αντιγραφής του DNA συντίθεται συνεχώς, ενώ το άλλο μισό ασυνεχώς.

► Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας

♦ Οι λειτουργίες του DNA:

Το DNA μπορεί:

- ✓ Να αυτοδιπλασιάζεται (αντιγραφή), άρα να διατηρεί και να μεταβιβάζει τις γενετικές πληροφορίες αναλλοίωτες από κύτταρο σε κύτταρο (μίτωση) και από γενιά σε γενιά (μείωση)
- ✓ Να εκφράζει τις πληροφορίες, πράγμα που επιτυγχάνεται με τις διαδικασίες της μεταγραφής και της μετάφρασης. Η μεταγραφή είναι η σύνθεση RNA με καλούπι το DNA και η μετάφραση είναι η σύνθεση των πρωτεϊνών με τη βοήθεια του mRNA, στο οποίο μεταβιβάζεται η γενετική πληροφορία του γονιδίου.

Οι 3 παραπάνω διαδικασίες διατυπώθηκαν από τον F. Crick το 1958 σε ένα ενιαίο διάγραμμα που ονομάστηκε Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας:



Η μεταγραφή και η μετάφραση συνιστούν την έκφραση της γενετικής πληροφορίας.

Η ροή της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από γενιά σε γενιά επιτυγχάνεται μέσω του αυτοδιπλασιασμού του DNA. Η ροή της γενετικής πληροφορίας ανάμεσα στα διάφορα μέρη του κυττάρου επιτυγχάνεται με τις διαδικασίες της μεταγραφής και της μετάφρασης (γονιδιακή έκφραση).

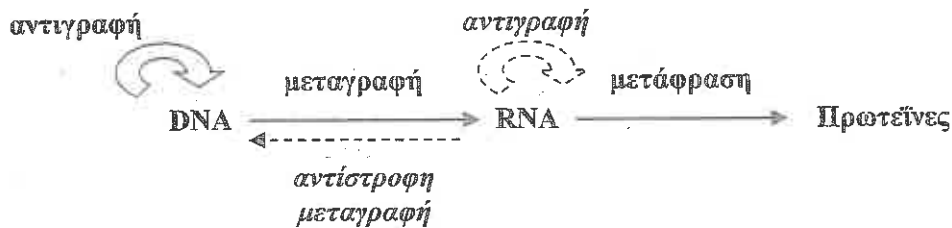
Αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας

♦ Το νέο (ολοκληρωμένο) Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας (Κ.Δ.Β.):

Αργότερα (δεκαετία '70) ανακαλύφθηκαν οι RNA ιοί, (που έχουν RNA για γενετικό υλικό). Αυτοί, καταφέρνουν να πολλαπλασιαστούν (αναπαράγονται) με 2 πιθανούς τρόπους, ανάλογα με τον ιό:

- Είτε έχουν την ικανότητα με ειδικά ένζυμα να αντιγράφουν το RNA τους, και στη συνέχεια να μεταφράζεται το RNA σε πρωτεΐνες,
- Είτε πρώτα με πρότυπο το μονόκλωνο RNA τους συνθέτουν μονόκλωνο DNA και αυτό στη συνέχεια γίνεται δίκλωνο DNA. Το δίκλωνο DNA μεταγράφεται σε RNA, το οποίο στη συνέχεια μεταφράζεται και παράγονται οι πρωτεΐνες. Η σύνθεση του DNA με πρότυπο το RNA λέγεται αντίστροφη μεταγραφή και καταλύεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση. (Αυτοί οι ιοί λέγονται ρετροϊοί και σ' αυτούς ανήκει ο HIV).

Τα νέα αυτά δεδομένα προστέθηκαν στο Κ.Δ.Β., του οποίου η πλήρης μορφή πλέον είναι:



Διακρίνονται με διακεκομμένες γραμμές και πλάγιους χαρακτήρες οι διαδικασίες που πραγματοποιούνται κατά την αναπαραγωγή των RNA ιών. Οι διαδικασίες αυτές απαντώνται σπάνια, αφού όλα τα κύτταρα (προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά), καθώς και οι περισσότεροι ιοί, έχουν γενετικό υλικό DNA και έτσι ακολουθούν την παλαιότερη διατύπωση του Κ.Δ.Β. Το νέο ολοκληρωμένο Κ.Δ.Β. περιλαμβάνει τη δυνατότητα των νουκλεϊκών οξέων να αντιγράφονται και να ελέγχουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών. Η διαφοροποίηση σε σχέση με το 1^ο Κ.Δ.Β. είναι ότι η πληροφορία μπορεί να ρέει και αντίστροφα, από το RNA προς το DNA. Αυτό που δεν έχει ανατραπεί, είναι ότι η πληροφορία ρέει μονόδρομα, από τα νουκλεϊκά οξέα προς τις πρωτεΐνες, και όχι το ανάποδο.

Για τους παραπάνω λόγους, προτείνεται η απλοποίηση του Κ.Δ.Β., ως εξής:



♦ Τι είναι και τι ελέγχει η μεταγραφή:

Μεταγραφή είναι η διαδικασία σύνθεσης μορίων RNA, των οποίων η αλληλουχία καθορίζεται από τα γονίδια. Μέσω της μεταγραφής εξασφαλίζεται:

- Το ποια γονίδια θα εκφραστούν σε κάθε ιστό, ώστε να επιτευχθεί η διαφοροποίηση (εξειδίκευση) των κυττάρων ενός πολυκύτταρου οργανισμού.
- Το ποια γονίδια θα είναι ενεργά (λειτουργικά) σε κάθε ιστό, ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης.

♦ Τα είδη του RNA:

1. mRNA (messenger): αγγελιαφόρο RNA: μεταφέρει τις πληροφορίες από το DNA στα ριβοσώματα, για να συντεθεί μία πολυπεπτιδική αλυσίδα. Για το λόγο αυτό θεωρείται ως το κινητό αντίγραφο της γενετικής πληροφορίας ενός γονιδίου. Έτσι, η αλληλουχία βάσεων του γονιδίου, μετατρέπεται σε αλληλουχία βάσεων RNA, η οποία στα

ριβοσώματα κατευθύνει την αλληλουχία αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα, μέσω του γενετικού κώδικα.

2. tRNA (transfer): μεταφορικό RNA: μεταφέρει τα αμινοξέα από το κυτταρόπλασμα στα ριβοσώματα, για να χρησιμοποιηθούν ως πρώτη ύλη για το χτίσιμο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
3. rRNA (ribosomal): ριβοσωμικό RNA: αποτελεί μαζί με δομικές πρωτεΐνες, το δομικό υλικό του ριβοσώματος, το οποίο είναι το σωματίδιο στο οποίο γίνεται η πρωτεϊνοσύνθεση (δηλαδή rRNA + πρωτεΐνες = ριβόσωμα). Γι' αυτό το ριβόσωμα χαρακτηρίζεται ως **ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σωματίδιο**.
4. snRNA (small nuclear): μικρό πυρηνικό RNA: βρίσκεται μόνο στον πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων και μαζί με πρωτεΐνες, σχηματίζει τα **μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια**, που καταλύουν την ωρίμανση του πρόδρομου mRNA σε ώριμο mRNA.

♦ Κατηγορίες γονιδίων:

- ✓ Γονίδια που μεταγράφονται σε mRNA τα οποία στη συνέχεια μεταφράζονται σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες
- ✓ Γονίδια που μεταγράφονται σε tRNA, rRNA, snRNA, τα οποία βοηθούν στην πρωτεϊνοσύνθεση.

► Μεταγραφή του DNA

♦ Μεταγραφή είναι η διαδικασία σύνθεσης RNA με καλούπι DNA. Η μεταγραφή αφορά μόνο τα γονίδια. Το ένζυμο της μεταγραφής - η **RNA πολυμεράση** - πρέπει αρχικά να εντοπίσει το γονίδιο στο μόριο DNA. Αυτό επιτυγχάνεται χάρη στον **υποκινητή**, που είναι αλληλουχία DNA πριν από την αρχή του γονιδίου, που αναγνωρίζεται από την RNA πολυμεράση. Ο υποκινητής δεν ανήκει στο γονίδιο και δε μεταγράφεται. Η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή, με τη βοήθεια ορισμένων πρωτεϊνών, που λέγονται **μεταγραφικοί παράγοντες**. Ο υποκινητής και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα **ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής**.

/ Υπάρχουν 3 είδη RNA πολυμερασών στα ευκαρυωτικά, ενώ ένα είδος στα προκαρυωτικά.
Παρατήρηση: Και οι μεταγραφικοί παράγοντες προσδένονται στον υποκινητή όπως σαφώς περιγράφεται στο επόμενο τμήμα της ύλης (γονιδιακή ρύθμιση).

♦ Η μεταγραφή βήμα προς βήμα:

1. Η RNA πολυμεράση αναγνωρίζει τον υποκινητή και προσδένεται σ' αυτόν, με τη βοήθεια των μεταγραφικών παραγόντων.
2. Εστυλίζει τοπικά τις δύο αλυσίδες του γονιδίου, σπάζοντας τους δεσμούς υδρογόνου.
3. Με καλούπι τη μία αλυσίδα του γονιδίου, (την οποία αναγνωρίζει και η οποία λέγεται **μη κωδική** ή μεταγραφόμενη αλυσίδα), «χτίζει» την αλυσίδα του RNA:
 - Χρησιμοποιεί ριβονουκλεοτίδια, αφού συνθέτει RNA.
 - Λειτουργεί με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας και τοποθετεί στη νεοσυντιθέμενη αλυσίδα του RNA:
Απέναντι από A του DNA, → U
Απέναντι από T του DNA, → A
Απέναντι από G του DNA, → C
Απέναντι από C του DNA, → G
 - Συνδέει τα ριβονουκλεοτίδια με 3' - 5' φωσφοδιεστερικό δεσμό, δημιουργώντας έτσι την αλυσίδα του RNA με προσανατολισμό 5' → 3'.
4. Μόλις φτάσει στην αλληλουχία λήξης της μεταγραφής, προκαλείται απελευθέρωση του RNA και η RNA πολυμεράση αποδεσμεύεται από τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Οι δύο αλυσίδες του γονιδίου ξανατυλίγονται.

► Κατά τη σύνθεση του RNA, το δίκλωνο τμήμα RNA-μη κωδικής αλυσίδας DNA λέγεται **υβρίδιο RNA-DNA**. Το δίκλωνο αυτό τμήμα έχει σχετικά σταθερό μήκος, γιατί όσο η RNA πολυμεράση προχωρά προς το τέλος της μεταγραφής, το αυξάνει, αλλά στο τμήμα κοντά στο 5' άκρο του RNA που συντέθηκε προηγουμένα, το υβρίδιο ξετυλίγεται και οι δύο αλυσίδες DNA του γονιδίου ξανατυλίγονται. Η δημιουργία του συγκεκριμένου υβριδίου είναι παροδική, αφού μετά το τέλος της μεταγραφής ολόκληρο το μόριο του RNA απομακρύνεται από τη μεταγραφόμενη αλυσίδα.

► Επειδή η αλυσίδα RNA δημιουργείται με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας, είναι αντιπαράλληλη με τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Επομένως, η RNA πολυμεράση «διαβάζει» τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου από το 3' άκρο προς το 5' άκρο.

► Η κωδική αλυσίδα του γονιδίου έχει τα ίδια άκρα και παρόμοια αλληλουχία με το mRNA που συντίθεται, αφού είναι και οι δύο συμπληρωματικές ως προς τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Η διαφορά ανάμεσα στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου και στο mRNA είναι ότι όπου στην κωδική αλυσίδα υπάρχει T, στην αντίστοιχη θέση στο mRNA συναντάται U.

► Το 5' άκρο του RNA που «εξέχει» στο παραπάνω σχήμα, μπορεί να προσεγγιστεί (αν μιλάμε για **mRNA**) από ένα ριβόσωμα, το οποίο αρχίζει να το μεταφράζει, ενώ η μεταγραφή δεν έχει ακόμα τελειώσει. Η δυνατότητα αυτή υπάρχει μόνο για τα προκαρυωτικά κύτταρα γιατί:

- στα προκαρυωτικά απουσιάζει η πυρηνική μεμβράνη, άρα τα ριβοσώματα μπορούν να προσεγγίσουν το mRNA. Στα ευκαρυωτικά η παρουσία πυρηνικής μεμβράνης, διαχωρίζει τις περιοχές μεταγραφής – μετάφρασης, και το mRNA δεν μπορεί να βρίσκεται ταυτόχρονα σε δύο περιοχές.
- στα ευκαρυωτικά κύτταρα, θα πρέπει πριν από τη μετάφραση τις περισσότερες φορές, το mRNA να υποστεί ωρίμανση (τροποποίηση του mRNA με αφαίρεση ορισμένων περιοχών του), γεγονός που αναγκάζει το κύτταρο να ολοκληρώσει τη μεταγραφή, στη συνέχεια να πραγματοποιήσει την ωρίμανση του πρόδρομου mRNA, και μετά να προχωρήσει στη μετάφραση. Αντίθετα, στα προκαρυωτικά δεν υπάρχει τέτοια διαδικασία.

♦ Η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα:

Η ωρίμανση χρειάζεται, γιατί το mRNA που παράγεται με τη μεταγραφή στον πυρήνα των ευκαρυωτικών, τις περισσότερες φορές περιέχει αλληλουχίες που δε μεταφράζονται σε αμινοξέα και παρεμβάλλονται ανάμεσα σε αυτές που μεταφράζονται. Φυσικά αυτές οι περιοχές υπάρχουν και στα γονίδια και ονομάζονται **εσώνια**. Οι περιοχές του mRNA που τελικά μεταφράζονται αποτελούν τα **εξώνια**. Τα εσώνια, σε αντίθεση με τις εκτός γονιδίων περιοχές, μεταγράφονται και περιέχονται στο πρόδρομο mRNA, στη συνέχεια όμως αφαιρούνται και έτσι τελικά δε μεταφράζονται. (Θυμήσου ότι οι εκτός γονιδίων περιοχές ούτε καν μεταγράφονται).

► Τα εσώνια και τα εξώνια διαφορετικών ή και του ίδιου γονιδίου δεν έχουν σταθερό μήκος. Το μήκος τους μετρείται σε ζεύγη βάσεων αν αναφέρονται στο γονίδιο και σε βάσεις αν αναφέρονται σε mRNA.

► Το mRNA που περιέχει εσώνια και εξώνια λέγεται **πρόδρομο mRNA**, ενώ αυτό από το οποίο έχουν αφαιρεθεί τα εσώνια λέγεται **ώριμο**.

► Την ωρίμανση του πρόδρομου mRNA επιτελούν τα μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια που αποτελούνται από snRNA και πρωτεΐνες και λειτουργούν ως ένζυμα: αφαιρούν τα εσώνια και συρράπτουν τα εξώνια. Η ωρίμανση πραγματοποιείται μέσα στον πυρήνα. Το ώριμο mRNA, μετά, περνά από τους πυρηνικούς πόρους, εξέρχεται στο κυτταρόπλασμα και μεταφράζεται στα ριβοσώματα.

► Τα γονίδια που έχουν εσώνια λέγονται **ασυνεχή** ή **διακεκομμένα**. Τέτοια γονίδια είναι τα γονίδια του πυρήνα του ευκαρυωτικού κυττάρου που μεταγράφονται σε mRNA (τα περισσότερα από αυτά).

► Τα γονίδια των προκαρυωτικών και τα γονίδια των μιτοχονδρίων και χλωροπλαστών δεν είναι ασυνεχή, αφού snRNA περιέχεται μόνο στον πυρήνα. Τα γονίδια που μεταγράφονται σε t, r, snRNA όπου κι αν βρίσκονται δεν είναι ασυνεχή, γιατί η ύπαρξη εσώνων (περιοχών που δεν κωδικοποιούν αμινοξέα) έχει νόημα μόνο για το mRNA. Τα άλλα είδη RNA δε μεταφράζονται. Τα γονίδια των φάγων που προσβάλλουν βακτήρια, δεν είναι ασυνεχή. Αντίθετα, τα γονίδια των ιών που προσβάλλουν ευκαρυωτικά κύτταρα είναι ασυνεχή.

Συμπερασματικά:

Γονίδια		που μετα- γράφονται σε	Ασυνεχή
Προκαρυωτικών		m, t, rRNA	-
Ευκαρυωτικών	Πυρήνα	mRNA	+
		t, r, snRNA	(τα περισσότερα)
		m, t, rRNA	-
Ιών	Ημιαυτόνομων οργανιδίων	m, t, rRNA	-
	Φάγων	mRNA	-
	Ιών ευκαρυωτικών κυττάρων	mRNA	+

Μετά την ωρίμανση, το mRNA περιέχει εξώνια και τις 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές. Αυτές υπάρχουν και στο γονίδιο, (πριν από το 1° εξώνιο και μετά το τελευταίο) και είναι απαραίτητες για τη μετάφραση (πρόσδεση – αποδέσμευση ριβοσώματος). Έτσι, αν και δε μεταφράζονται, δεν αποτελούν εσώνια, γι' αυτό δεν αφαιρούνται κατά την ωρίμανση.

Παρατήρηση: Η ωρίμανση πραγματοποιείται στο πρόδρομο mRNA και ΟΧΙ στα ασυνεχή γονίδια!

► Ο γενετικός κώδικας

♦ Γενετικός κώδικας είναι ο κώδικας αντιστοίχισης νουκλεοτιδίων RNA σε αμινοξέα πρωτεϊνών.

♦ Μετάφραση είναι η διαδικασία μετατροπής της «γλώσσας» των βάσεων του mRNA, και κατ' επέκταση του γονιδίου από όπου προέκυψε, στη «γλώσσα» των αμινοξέων. Το αποτέλεσμα της μετάφρασης, είναι η σύνθεση μίας πολυπεπτιδικής αλυσίδας (σελ. 34)
Άλλος ορισμός: Αντιστοίχιση των κωδικονίων σε αμινοξέα και η διαδοχική σύνδεση των αμινοξέων σε πολυπεπτιδική αλυσίδα (σελ. 36).

♦ Χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα:

1. Κώδικας τριπλέτας: Μία τριάδα νουκλεοτιδίων (τριπλέτα ή κωδικόνιο) κωδικοποιεί ένα αμινοξύ. Αν ένα ή δύο νουκλεοτίδια (και όχι μία τριάδα) κωδικοποιούσαν ένα αμινοξύ, οι συνδυασμοί των βάσεων ανά 1 ή ανά 2 θα ήταν αντίστοιχα 4 ή 16 (4^1 ή 4^2) και επομένως δε θα επαρκούσαν για την κωδικοποίηση των 20 αμινοξέων. Με τριάδα βάσεων, υπάρχουν 4^3 συνδυασμοί, δηλαδή 64 κωδικόνια, παραπάνω από αρκετά για τα 20 αμινοξέα.
2. Κώδικας συνεχής: Το mRNA διαβάζεται συνεχώς (στην κωδικοποιούσα περιοχή του), χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο.
3. Μη επικαλυπτόμενο: Κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο (όχι σε δύο διαδοχικά).
4. Σχεδόν καθολικός: Με ελάχιστες εξαιρέσεις, όλοι οι οργανισμοί χρησιμοποιούν τον ίδιο κώδικα. Αποτέλεσμα:
 - Στοιχείο υπέρ της κοινής προέλευσης των οργανισμών
 - Δυνατότητα mRNA από οποιονδήποτε οργανισμό να μεταφράζεται *in vitro* σε εκχυλίσματα φυτικών, ζωικών ή βακτηριακών κυττάρων με το ίδιο αποτέλεσμα

(σύνθεση της ίδιας πρωτεΐνης). **Εξαιρείται** η περίπτωση μετάφρασης πρόδρομου mRNA σε εκχυλίσματα κυττάρων.

5. **Εκφυλισμένο:** Από τη στιγμή που υπάρχουν 64 κωδικόνια για 20 αμινοξέα, είναι φανερό ότι διαφορετικά κωδικόνια θα κωδικοποιούν ίδια αμινοξέα. Με εξαίρεση 2 αμινοξέα, τη μεθειονίνη και την τρυπτοφάνη, τα υπόλοιπα 18 κωδικοποιούνται από 2 – 6 κωδικόνια το καθένα. Τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ, λέγονται συνώνυμα κωδικόνια.

/ Σημασία του εκφυλισμού του κώδικα: Ορισμένες μεταλλάξεις, οδηγούν σε συνώνυμα κωδικόνια, που δεν τροποποιούν τη σύσταση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Αυτές οι μεταλλάξεις λέγονται **σιωπηλές**.

6. **Έχει κωδικόνιο έναρξης και κωδικόνια λήξης:**

- Το κωδικόνιο έναρξης είναι το **AUG** και κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη
- Υπάρχουν 3 κωδικόνια λήξης που είναι τα **UGA, UAG, UAA**. Δεν κωδικοποιούν κάποιο αμινοξύ, αλλά προκαλούν τερματισμό της σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Τα συγκεκριμένα κωδικόνια έχουν πολύ σημαντικό ρόλο, διότι καθορίζουν την αρχή και τη λήξη του μηνύματος που περιέχεται στο mRNA.

♦ **Χρήση του όρου κωδικόνιο:** Χρησιμοποιείται (όπως και ο όρος τριπλέτα), για τις τριάδες των βάσεων που κωδικοποιούν κάποιο αμινοξύ, είτε στο mRNA είτε στην κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Π.χ. το κωδικόνιο έναρξης είναι AUG για το mRNA ή ATG για την κωδική αλυσίδα του γονιδίου. Για τη μη κωδική αλυσίδα του γονιδίου, ας προτιμούμε τον όρο «τριπλέτα» ή τριάδα βάσεων συμπληρωματική του κωδικονίου.

Έχει γίνει κατανοητό από προηγούμενο τμήμα της ύλης, ότι η κωδική αλυσίδα και το mRNA έχουν ίδια άκρα και παρόμοια αλληλουχία, με τη διαφορά T – U. Ο όρος κωδικόνιο έχει νόημα μόνο για τις βάσεις των τριπλετών που κωδικοποιούν την πολυπεπτιδική αλυσίδα και όχι για τα εσώνια, τις αμετάφραστες περιοχές, κλπ. Εκεί ο χωρισμός σε τριάδες δεν σημαίνει τίποτε και δεν πρέπει να γίνεται στις ασκήσεις.

Παρατήρηση: Από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι κάθε τριάδα βάσεων του mRNA δεν αποτελεί απαραίτητα και ένα κωδικόνιο (π.χ., στις 5' και 3' αμετάφραστες περιοχές τόσο του πρόδρομου όσο και του ώριμου mRNA και στα εσώνια του πρόδρομου mRNA δεν υπάρχουν κωδικόνια).

► **Μετάφραση:**

♦ **Πού γίνεται η μετάφραση:** Στα ριβοσώματα, που βρίσκονται:

- ✓ Στην εξωτερική επιφάνεια των αγωγών του αδρού ενδοπλασματικού δικτύου
- ✓ Ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα των ευκαρυωτικών κυττάρων
- ✓ Στο εσωτερικό των ημιαυτόνομων οργανιδίων, μιτοχονδρίων και χλωροπλαστών
- ✓ Στο κυτταρόπλασμα των προκαρυωτικών κυττάρων

♦ **Τι απαιτείται για να γίνει η μετάφραση:**

- Ριβόσωμα (μικρή, μεγάλη υπομονάδα)
- mRNA που μεταφέρει τη γενετική πληροφορία
- διάφορα tRNA για τη μεταφορά των αμινοξέων
- τα αμινοξέα που θα δομήσουν την πολυπεπτιδική αλυσίδα
- αρκετές πρωτεΐνες
- ενέργεια

♦ **Δομή και μορφή ριβοσώματος:** Δομή: Το ριβόσωμα αποτελείται από rRNA και πρωτεΐνες (πρόκειται, δηλαδή, για ριβονουκλεοπρωτεϊνικό σωματίδιο). Μορφή: Αποτελείται από μία μικρή και μία μεγάλη υπομονάδα. Η μικρή περιέχει μία θέση πρόσδεσης του mRNA και η

μεγάλη δύο θέσεις εισδοχής για tRNA. Το ριβόσωμα συγκροτείται ως ενιαία δομή κατά τη διάρκεια της μετάφρασης.

◆ Οι θέσεις κλειδιά του tRNA: Κάθε μόριο tRNA φέρει

- Μία τριάδα βάσεων, το αντικωδικόνιο, που είναι συμπληρωματική με ένα κωδικόνιο του mRNA, εκτός από τα κωδικόνια λήξης. Για τα κωδικόνια λήξης δεν υπάρχει συμπληρωματικό αντικωδικόνιο, άρα και tRNA που να ταιριάζει με αυτά.
- Μία ειδική θέση σύνδεσης στο 3' άκρο του, με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ. Το αμινοξύ που μεταφέρεται στη θέση αυτή, είναι αυτό που καθορίζεται από το κωδικόνιο του mRNA, προς το οποίο είναι συμπληρωματικό το αντικωδικόνιο του tRNA. Π.χ., το tRNA με αντικωδικόνιο UAC ταιριάζει και συνδέεται με δεσμούς υδρογόνου με το κωδικόνιο AUG, άρα θα μεταφέρει το αμινοξύ μεθειονίνη.

◆ Τα στάδια της μετάφρασης:

- Έναρξη
- Επιμήκυνση
- Λήξη

A. **Έναρξη:** Κατά την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης, οι 2 υπομονάδες του ριβοσώματος δεν είναι ενωμένες.

- ✓ Αρχικά, συνδέεται μόνο η μικρή υπομονάδα με το mRNA με δεσμούς υδρογόνου. Συγκεκριμένα, η 5' αμετάφραστη περιοχή του mRNA συνδέεται με τμήμα του tRNA της μικρής υπομονάδας, με το οποίο είναι συμπληρωματικό. (Αυτή είναι η θέση πρόσδεσης που αναφέρθηκε παραπάνω).
- ✓ Στη συνέχεια, το 1^ο tRNA με αντικωδικόνιο UAC έρχεται απέναντι από το 1^ο κωδικόνιο του mRNA (AUG), συνδέεται με αυτό (με δεσμούς υδρογόνου) και φέρνει απέναντι το 1^ο αμινοξύ, τη μεθειονίνη.

/ Το σύμπλεγμα της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος, του mRNA, του 1^{ου} tRNA και της μεθειονίνης, όπου κάθε συστατικό συνδέεται με κάποιο άλλο με χημικούς δεσμούς, λέγεται **σύμπλοκο έναρξης της μετάφρασης**.

- ✓ Τέλος μετά τη δημιουργία του παραπάνω συμπλέγματος, συνδέεται με αυτό και η μεγάλη υπομονάδα και το στάδιο της έναρξης τελειώνει.

B. **Επιμήκυνση:**

- ✓ Έρχεται το 2^ο tRNA με το αντίστοιχο αμινοξύ. Εισέρχεται στην κατάλληλη θέση εισδοχής της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας (η μεγάλη υπομονάδα χωράει κάθε στιγμή 2 tRNA), και επίσης συνδέεται με το 2^ο κωδικόνιο του mRNA. (Άρα εξυπακούεται ότι δεν μπορεί να είναι ένα tRNA με οποιοδήποτε αντικωδικόνιο).
- ✓ Τα 2 αμινοξέα (η μεθειονίνη και το 2^ο) συνδέονται με πεπτιδικό δεσμό (σχηματισμός διπεπτιδίου). Ταυτόχρονα, το 1^ο tRNA παύει να συγκρατεί τη μεθειονίνη, και φεύγει από το ριβόσωμα. Ρόλος του τώρα είναι να επανασυνδεθεί στο κυτταρόπλασμα με άλλο αμινοξύ μεθειονίνης και να ξαναχρησιμοποιηθεί σε κάποιο ριβόσωμα (μπορεί και στο ίδιο). Το διπεπτίδιο παραμένει στο ριβόσωμα, γιατί το συγκρατεί το 2^ο tRNA που ενώνεται με το 2^ο κωδικόνιο του mRNA.
- ✓ Το ριβόσωμα μετακινείται προς το 3' άκρο του mRNA κατά ένα κωδικόνιο ακριβώς. Το mRNA και το tRNA παραμένουν στις θέσεις τους. Έτσι, το 2^ο tRNA βρίσκεται τώρα στη θέση εισδοχής της μεγάλης υπομονάδας που πριν από λίγο ήταν κατειλημμένη από το 1^ο tRNA. Επομένως ένα 3^ο tRNA μπορεί να τοποθετηθεί στη γειτονική θέση εισδοχής της μεγάλης υπομονάδας. Το 3^ο tRNA θα συνδεθεί με το 3^ο κωδικόνιο του mRNA, φέρνοντας το αντίστοιχο κωδικοποιούμενο αμινοξύ.
- ✓ Από εδώ και πέρα τα γεγονότα προχωρούν όπως προηγουμένως. Έτσι διαδοχικά η πεπτιδική αλυσίδα επιμηκώνεται.

Γ. Λήξη: Όταν η νέα τριπλέτα που εισέρχεται στο ριβόσωμα λόγω της κίνησής του προς το 3' άκρο του mRNA είναι κωδικόνιο λήξης, η πρωτεϊνοσύνθεση σταματά, επειδή δεν υπάρχει tRNA που να έχει αντικωδικόνιο συμπληρωματικό με τα κωδικόνια λήξης. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα ελευθερώνεται, το τελευταίο tRNA απομακρύνεται, και το ριβόσωμα «διαβάζει» την 3' αμετάφραστη περιοχή του mRNA, η οποία προκαλεί **πιθανόν** και την απελευθέρωση του ριβοσώματος από το mRNA, καθώς και την απομάκρυνση της μεγάλης από τη μικρή υπομονάδα. Έτσι στο τέλος της πρωτεϊνοσύνθεσης, οι 2 υπομονάδες του ριβοσώματος θα είναι και πάλι αποχωρισμένες (όπως πριν από την έναρξη).

Παρατήρηση: Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι τα ριβοσώματα είναι διακριτά ως ενιαίες δομές μόνο κατά τη διάρκεια της μετάφρασης και συγκεκριμένα από το τέλος του σταδίου της έναρξης μέχρι και το στάδιο της λήξης της μετάφρασης.

♦ Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις:

Μετά τη μετάφραση απαιτούνται συχνά τροποποιήσεις της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, ώστε να αποκτήσει ενεργότητα (δραστικότητα, βιολογική λειτουργικότητα). Στο ευκαρυωτικό κύτταρο αυτές οι τροποποιήσεις γίνονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο σύστημα Golgi.

- Σύνδεση επιμέρους πολυπεπτιδικών αλυσίδων για τη δημιουργία ενιαίου πρωτεϊνικού μορίου (πρωτεΐνες με τεταρτοταγή δομή). Π.χ. αυτό είναι απαραίτητο στην περίπτωση των αιμοσφαιρινών και των αντισωμάτων, όπου κάθε πρωτεΐνη αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες (ανά 2 όμοιες).
- Αφαίρεση ορισμένων αμινοξέων από το αρχικό αμινικό άκρο. Συνηθισμένη τροποποίηση μερικών πολυπεπτιδικών αλυσίδων, που έχει ως συνέπεια να μην παραμένει η μεθειονίνη το 1^ο αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
- Αφαίρεση ορισμένων αμινοξέων από το εσωτερικό της πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπως συμβαίνει για παράδειγμα κατά τη μετατροπή της προΐνσουλίνης σε ινσουλίνη (δες 8^ο κεφάλαιο).
- Προσθήκη μη πρωτεϊνικών μορίων (π.χ., σακχάρων, λιπιδίων κλπ), όπως συμβαίνει στις αλυσίδες της αιμοσφαιρίνης με την προσθήκη της αίμης.

♦ Ρύθμιση της ποσότητας της παραγόμενης πρωτεΐνης:

Το κύτταρο ρυθμίζει την επιθυμητή ποσότητα κάθε πρωτεΐνης ώστε να μην υπάρχει ούτε περίσσεια ούτε έλλειμμα από κάποια πρωτεΐνη, με τους παρακάτω τρόπους:

1. Παραγωγή ενός ή περισσότερων μορίων mRNA από ένα γονίδιο. Ένα γονίδιο μπορεί κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής ενός κυττάρου, να μεταγραφεί μία ή περισσότερες φορές. (Αντίθετα, η αντιγραφή του DNA γίνεται μόνο μία φορά). Τα όμοια mRNA που προκύπτουν, θα οδηγήσουν στην παραγωγή λίγων ή πολλών (όμοιων) πολυπεπτιδικών αλυσίδων μετά τη μετάφρασή τους στα ριβοσώματα.
2. Με το **πολύσωμα**. Όταν το ριβόσωμα διαβάζει κάποια τριπλέτα του mRNA έχοντας απομακρυνθεί (και αποδεσμευτεί) από την 5' αμετάφραστη περιοχή, είναι δυνατόν 2^ο ριβόσωμα να προσδεθεί στην τελευταία (αφού αυτή είναι ελεύθερη) και να αρχίσει τη μετάφραση, ακολουθώντας ακριβώς την ίδια «διαδρομή» που έχει κάνει το 1^ο ριβόσωμα. Το ίδιο μπορεί να γίνει και με άλλα. Έτσι το κύτταρο κερδίζει χρόνο αφού μπορεί να συνθέτει ταυτόχρονα πολλά αντίτυπα της πολυπεπτιδικής αλυσίδας από ένα mRNA. (Κάθε ριβόσωμα θα έχει κάθε στιγμή συνθέσει διαφορετικού μήκους πεπτίδιο).
3. Με τους μηχανισμούς γονιδιακής ρύθμισης και πιο συγκεκριμένα κατά το 3^ο επίπεδο.
4. Ακολουθούν κι άλλα στο 6^ο κεφάλαιο.

► Γονιδιακή ρύθμιση

A. Εισαγωγή

♦ **Ορισμός:** Γονιδιακή ρύθμιση είναι ένα πρόγραμμα ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης που παρέχει τις οδηγίες για το είδος και την ποσότητα των πρωτεϊνών οι οποίες πρέπει να παραχθούν σε κάθε συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

♦ Η γονιδιακή ρύθμιση έχει δύο διαστάσεις:

Από τον ορισμό γίνεται σαφές ότι η ρύθμιση αναφέρεται σε 2 στοιχεία:

1. την ποσότητα των πρωτεϊνών (που διαφέρει από γονίδιο σε γονίδιο, καθώς, άλλες πρωτεΐνες χρειάζονται σε μεγάλες ποσότητες, και άλλες σε πολύ μικρές)
2. το ποια γονίδια θα εκφραστούν, καθώς, σε οποιοδήποτε κύτταρο, δεν λειτουργούν – εκφράζονται όλα τα γονίδια, παρά μόνο εκείνα που σχετίζονται με τις ανάγκες του κυττάρου μία συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

♦ Ο σκοπός και το αποτέλεσμα της ρύθμισης σε προκαρυωτικά – ευκαρυωτικά κύτταρα:

Το 1^ο στοιχείο της ρύθμισης είναι κοινό για προκαρυωτικά – ευκαρυωτικά κύτταρα.

Το 2^ο διαφέρει: στα προκαρυωτικά σκοπός είναι η προσαρμογή του κυττάρου στις εναλλαγές του περιβάλλοντος.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, ειδικά των πολυκύτταρων οργανισμών, το πρόγραμμα της γονιδιακής ρύθμισης είναι πολυπλοκότερο, και αποσκοπεί:

α) στη δημιουργία διαφοροποιημένων κυττάρων, δηλαδή ομάδων εξειδικευμένων κυττάρων (ιστών) που επιτελούν συγκεκριμένους ρόλους στον οργανισμό, διαμορφώνοντας διακριτούς κυτταρικούς τύπους (νευρικά, ηπατικά, νεφρικά, μυϊκά, λεμφοκύτταρα κτλ) και εμφανίζουν μεταξύ τους, διαφορετικές δομές και λειτουργίες.

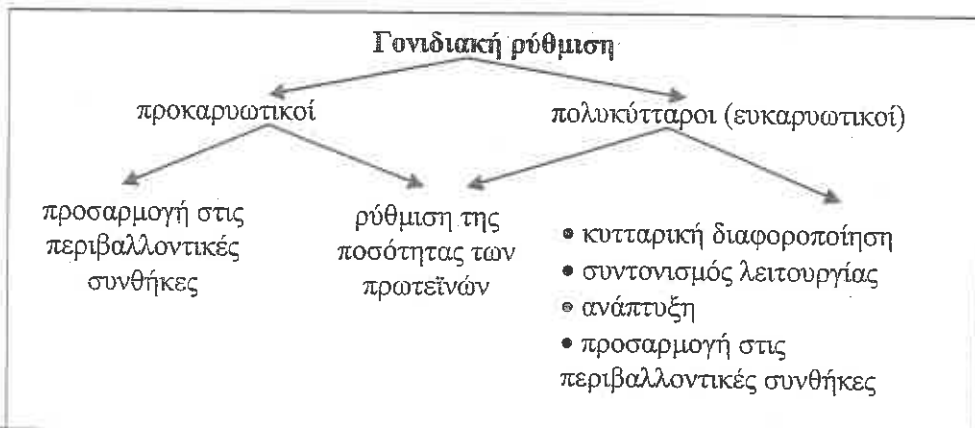
β) στη συνεργασία και στο συντονισμό μεταξύ των διαφορετικών κυτταρικών τύπων, έτσι ώστε ο οργανισμός να λειτουργεί ως ενιαίο σύνολο.

γ) στην παράλληλη και προσηκτική ελεγχόμενη ανάπτυξη των διάφορων πολυκύτταρων οργανισμών, διότι οι οργανισμοί αυτοί δεν φτάνουν στο οριστικό τους μέγεθος άμεσα, αλλά σταδιακά (ενηλικίωση).

δ) στην προσαρμογή –μέχρι ενός ορίου– στις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες που επικρατούν.

Κάθε κυτταρικός τύπος, όπως συμβαίνει και στα βακτήρια, μπορεί να μεταβάλλει την έκφραση των γονιδίων του.

Συμπερασματικά, η γονιδιακή ρύθμιση στα προκαρυωτικά κύτταρα εξυπηρετεί την προσαρμογή τους στις μεταβολές (εναλλαγές) του περιβάλλοντος, ενώ στα ευκαρυωτικά κύτταρα εκτός αυτού, εξυπηρετεί επιπλέον και τη διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης, του συντονισμού μεταξύ των διαφορετικών κυτταρικών τύπων, καθώς επίσης και την αναπτυξιακή πορεία των οργανισμών αυτών. Συνεπώς, το πρόγραμμα της γονιδιακής ρύθμισης στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι πολυπλοκότερο και γίνεται σε πολλά επίπεδα.



♦ Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς δεν υπάρχει κυτταρική διαφοροποίηση, καθώς είναι μονοκύτταροι οργανισμοί και η έννοια της εξειδίκευσης των κυττάρων και του σχηματισμού ιστών έχει νόημα μόνο στους πολυκύτταρους οργανισμούς (ακόμα και στην αποικία των βακτηρίων, που αποτελείται από πολλά κύτταρα, δεν υπάρχει κανένας “καταμερισμός εργασιών”). Όμως, αυτό δε σημαίνει ότι και τα βακτήρια δεν έχουν ανάγκη από μηχανισμούς γονιδιακής ρύθμισης, καθώς οι συνθήκες του περιβάλλοντος συνεχώς αλλάζουν.

B. Η γονιδιακή ρύθμιση στα βακτήρια

Escherichia coli: έχει στο DNA του πάνω από 4.000 γονίδια.

♦ Πηγή C: χρησιμοποιεί γλυκόζη (σάκχαρο που περιέχει και ενέργεια).

Αν τοποθετηθεί σε θρεπτικό υλικό με λακτόζη, επιβιώνει. Η λακτόζη είναι δισακχαρίτης, αποτελούμενος από δύο μονοσακχαρίτες (λακτόζη = γλυκόζη + γαλακτόζη). Αυτό σημαίνει ότι το βακτήριο παρήγαγε τα κατάλληλα ένζυμα για τη διάσπαση της λακτόζης, και έτσι μπόρεσε στη συνέχεια να διασπάσει τη γλυκόζη για να παράγει ενέργεια. Η παραγωγή των ενζύμων έγινε με ενεργοποίηση των κατάλληλων γονιδίων.

Η ενεργοποίηση των γονιδίων όταν το κύτταρο χρειάζεται τα προϊόντα τους, δηλ. κάποιες πρωτεΐνες, είναι το αντικείμενο μελέτης των μηχανισμών της γονιδιακής ρύθμισης.

Η διάσπαση της λακτόζης απαιτεί τη δράση 3 ενζύμων, άρα την ενεργοποίηση 3 γονιδίων. Η διάσπαση της λακτόζης είναι μία μεταβολική οδός.

Τα ονόματα των 3 ενζύμων είναι β γαλακτοζιδάση, περμεάση και τρανσακετυλάση.

Οι F. Jacob και J. Monod πρότειναν το 1961 ένα μηχανισμό που εξηγεί πώς το βακτήριο *E. coli* «αντιλαμβάνεται» την παρουσία της λακτόζης στο θρεπτικό υλικό και στη συνέχεια ενεργοποιούνται τα κατάλληλα γονίδια για την παραγωγή των 3 ενζύμων για τη διάσπαση της λακτόζης. Το μοντέλο τους το ονόμασαν «οπερόνιο της λακτόζης».

♦ Αλληλουχίες DNA του οπερονίου της λακτόζης:

Το οπερόνιο είναι τμήμα του γονιδιώματος του βακτηρίου *E. coli*. (δηλ. του κύριου μορίου DNA). Κατά σειρά το οπερόνιο περιλαμβάνει:

- | | |
|--------------------------|--|
| • ένα ρυθμιστικό γονίδιο | } αλληλουχίες που
ρυθμίζουν τη
μεταγραφή των 3
δομικών γονιδίων |
| • έναν υποκινητή | |
| • το χειριστή | |
| • 3 δομικά γονίδια | |

♦ Τα 3 δομικά γονίδια και ο κοινός υποκινητής:

Τα γονίδια αυτά βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο στο γονιδίωμα του βακτηρίου (η έκφραση αυτή σημαίνει ότι ανάμεσά τους δεν υπάρχουν ούτε περιοχές χωρίς πληροφορία αλλά ούτε και αλληλουχία λήξης μεταγραφής). Έχουν έναν κοινό υποκινητή, πριν από την αρχή του 1^{ου} γονιδίου (τα γονίδια ονομάζονται - κατά σειρά - Z, Y και A).

Επειδή λοιπόν έχουν κοινό υποκινητή, και δεν υπάρχει αλληλουχία λήξης μεταγραφής ανάμεσά τους, παρά μόνο στο τέλος του A, λειτουργούν σαν ενιαία μεταγραφική μονάδα, παράγοντας ένα κοινό μόριο mRNA.

Όταν μεταφραστεί το μόριο αυτό του mRNA, θα παραχθούν 3 (και όχι 1) πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Αν φυσικά παραγόταν 1 πολυπεπτιδική αλυσίδα, θα μιλούσαμε τελικά για 1 γονίδιο (δεδομένου ότι παράγεται και 1 mRNA!). Αντίθετα, το ότι παράγονται 3 μας οδήγησε στο συμπέρασμα ότι πρόκειται για 3 γονίδια που μεταγράφονται μαζί. Πώς κατορθώνει το mRNA μεταφραζόμενο, να δώσει 3 πολυπεπτίδια; Έχει 3 κωδικόνια έναρξης και 3 κωδικόνια λήξης (εναλλάξ). Έτσι το ριβόσωμα, φθάνοντας στο 1^ο κωδικόνιο λήξης, που αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης του γονιδίου Z, τερματίζει τη σύνθεση της 1^{ης}

πολυπεπτιδικής αλυσίδας, που δεν είναι άλλη, από τη β-γαλακτοζιδάση (το 1^ο απαραίτητο ένζυμο για τη διάσπαση της λακτόζης). Στη συνέχεια το ριβόσωμα «διαβάζει» στο ίδιο mRNA, το κωδικόνιο AUG, που είναι η έναρξη σύνθεσης του 2^{ου} πολυπεπτιδίου, κ.ο.κ.

mRNA: 5' ...AUG.....

UAG ή UGA ή UAA

 ...AUG...

UAG ή UGA ή UAA

 ...AUG.....

UAG ή UGA ή UAA

 ...3'

Τα παραπάνω συμβαίνουν, όταν υπάρχει ανάγκη να παραχθούν τα 3 ένζυμα, δηλαδή όταν στο θρεπτικό υλικό του βακτηρίου υπάρχει λακτόζη – παρακάτω θα δούμε πώς ρυθμίζεται αυτό – αλλά ταυτόχρονα δεν υπάρχει καθόλου γλυκόζη.

♦ Το ρυθμιστικό γονίδιο και ο χειριστής:

Το ρυθμιστικό γονίδιο κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη που λέγεται **καταστολέας**. Η πρωτεΐνη αυτή δεσμεύεται (όταν δεν υπάρχει λακτόζη στο θρεπτικό υλικό) σε μία αλληλουχία DNA μετά τον υποκινητή και πριν από το 1^ο δομικό γονίδιο. Αυτή η αλληλουχία DNA λέγεται **χειριστής**. Η πρόσδεση του καταστολέα στο χειριστή εμποδίζει την RNA πολυμεράση να μεταγράψει τα 3 δομικά γονίδια, επομένως δε γίνεται η σύνθεση των 3 ενζύμων σ' αυτές τις συνθήκες.

♦ Η έναρξη λειτουργίας του οπερονίου:

Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει λακτόζη και ταυτόχρονα δεν υπάρχει γλυκόζη, το μόριο αυτό μπορεί να δεσμεύεται στον καταστολέα, παραμορφώνοντάς τον. Έτσι, ο καταστολέας δεν μπορεί πλέον να δεσμεύεται στο χειριστή, και η RNA πολυμεράση μπορεί να μεταγράψει τα 3 δομικά γονίδια. Επειδή η λακτόζη έθεσε σε λειτουργία το οπερόνιο, λέγεται **επαγωγέας** του οπερονίου.

♦ Η λήξη λειτουργίας του οπερονίου:

Αφού παραχθούν τα 3 ένζυμα, θα ξεκινήσει η διάσπαση της λακτόζης. Το βακτήριο θα εξοικονομήσει τη γλυκόζη (που προκύπτει από τη διάσπαση της λακτόζης) που χρειάζεται ως πηγή ενέργειας. Βλέπουμε λοιπόν, ότι η ίδια η λακτόζη προκάλεσε τη διάσπασή της. (Τελικά, η ίδια η τροφή του βακτηρίου ήταν ο μηχανισμός “αντίληψης” του περιβάλλοντος που ενεργοποίησε την έκφραση των γονιδίων).

Όμως, όταν η λακτόζη σχεδόν εξαντληθεί, η παραμόρφωση του καταστολέα δεν θα είναι πια δυνατή. Ο καταστολέας θα μπορεί και πάλι να προσδεθεί στο χειριστή και το οπερόνιο θα πάψει να λειτουργεί. Αυτό φυσικά είναι απαραίτητο να συμβεί αφού δεν υπάρχει πια ανάγκη να παράγονται τα 3 ένζυμα, εφόσον η λακτόζη εξαντλείται. Το οπερόνιο ξεκινά τη λειτουργία του όταν υπάρχει **μόνο** λακτόζη στο θρεπτικό υλικό, και σταματά όταν η λακτόζη εξαντλείται.

♦ Ορισμός οπερονίου: Ομάδα γονιδίων τα οποία υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους και τα οποία κωδικοποιούν ένζυμα που συμμετέχουν σε μία κοινή μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης, ή η βιοσύνθεση κάποιων αμινοξέων.

Γ. Η γονιδιακή ρύθμιση στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

- ♦ Η σημασία της ρύθμισης στους ευκαρυωτικούς:
- Κατανόηση των μηχανισμών κυτταρικής διαφοροποίησης – εμβρυογένεσης
- Κατανόηση του τρόπου με τον οποίο ένα κύτταρο γίνεται καρκινικό: ένα βασικό χαρακτηριστικό του καρκινικού κυττάρου είναι η αποδιαφοροποίηση, η εκτροπή του δηλαδή από το φυσιολογικό γενετικό πρόγραμμα. (Τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του καρκινικού κυττάρου, 6^ο κεφάλαιο).
- ♦ Πώς επιτυγχάνεται η γονιδιακή ρύθμιση:
- ▶ Υπάρχουν 4 επίπεδα ρύθμισης:
 - Κατά τη μεταγραφή
 - Μετά τη μεταγραφή
 - Κατά τη μετάφραση
 - Μετά τη μετάφραση

✓ **1^ο επίπεδο ρύθμισης: κατά τη μεταγραφή**

Έχουν βρεθεί τα εξής στοιχεία:

1. κάθε γονίδιο έχει δικό του υποκινητή και μεταγράφεται ανεξάρτητα από άλλα γονίδια (δηλαδή, δεν υπάρχουν οπερόνια στο ευκαρυωτικό κύτταρο)
2. υπάρχει μία τεράστια ποικιλία μεταγραφικών παραγόντων στα ευκαρυωτικά κύτταρα
3. κάθε γονίδιο χρειάζεται έναν **ειδικό συνδυασμό μεταγραφικών παραγόντων**, ώστε η RNA πολυμεράση να προσδεθεί στον υποκινητή και να μεταγράψει το γονίδιο
4. στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς σε κάθε ιστό υπάρχει διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων
5. Άρα λοιπόν, στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς αν σε ένα εξειδικευμένο κύτταρο ενός ιστού, υπάρχει ο κατάλληλος συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων, ώστε να γίνει η μεταγραφή ενός γονιδίου, το γονίδιο αυτό ξεκινά να εκφράζεται. Αυτό καθορίζεται από το αν είναι αναγκαία η έκφραση αυτού του γονιδίου στο συγκεκριμένο κύτταρο τη συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

Ενδεικτικά παραδείγματα μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων σε διάφορους ιστούς του ανθρώπου:

Κύτταρο ιστού	Συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων που περιέχει
Πρόδρομο ερυθροκύτταρο	A, Γ, Z, I, Λ, N, Ψ
Ηπατικό κύτταρο	A, B, Γ, K, N, Π, Σ
B – λεμφοκύτταρο	A, Δ, E, K, Ψ, Ω
Παγκρεατικό κύτταρο	A, B, Γ, Z, Υ, Φ, X

Όπου A, B, Γ, Δ, κλπ, έστω συγκεκριμένοι μεταγραφικοί παράγοντες.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες που περιέχονται σε έναν ιστό, μπορούν να ενεργοποιούν ορισμένα μόνο από τα γονίδια. Μαζί με την RNA πολυμεράση προσδένονται στον υποκινητή κάθε γονιδίου που πρέπει να εκφραστεί, με αποτέλεσμα αυτό να μεταγράφεται. Τα υπόλοιπα δεν εκφράζονται στο συγκεκριμένο ιστό, παρά μόνο σε αυτόν που θα περιέχει τους απαραίτητους μεταγραφικούς παράγοντες για την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης.

Γονίδιο	Συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων απαραίτητων για τη μεταγραφή του γονιδίου
β αλυσίδας αιμοσφαιρίνης	A, Z, Λ, N
βαριάς αλυσίδας αντισώματος	Δ, E, Ω
ιστόνης H ₁	A
προϊνσουλίνης	A, Γ, Z, Υ
α ₁ αντιθρυψίνης	B, Γ, N, Π

Οι παραπάνω δύο πίνακες οδηγούν στην κατασκευή ενός τελικού, όπου ελέγχουμε ποια γονίδια μεταγράφονται σε κάθε κυτταρικό τύπο:

Γονίδιο / Κυτταρικός τύπος	Πρόδρομο ερυθροκύτταρο	Ηπατικό	B – λεμφοκύτταρο	Παγκρεατικό
β αλυσίδας αιμοσφαιρίνης	+	-	-	-
βαριάς αλυσίδας αντισώματος	-	-	+	-
ιστόνης H ₁	+	+	+	+
προϊνσουλίνης	-	-	-	+
α ₁ αντιθρυψίνης	-	+	-	-

✓ **2^ο επίπεδο: μετά τη μεταγραφή**

- ❖ α. ρύθμιση της διαδικασίας ωρίμανσης (πότε θα πραγματοποιηθεί, πώς)
- ❖ β. ρύθμιση της ταχύτητας με την οποία το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα (πχ, έλεγχος στους πυρηνικούς πόρους)

✓ **3^ο επίπεδο: κατά τη μετάφραση**

- ❖ α. ρύθμιση του χρόνου ζωής του mRNA στο κυτταρόπλασμα
 - ❖ β. διαφορετική ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στη μικρή ριβοσωμική υπομονάδα
- Τα α και β) ρύθμιση της ποσότητας της παραγόμενης πρωτεΐνης.

✓ **4^ο επίπεδο: μετά τη μετάφραση**

- ❖ περιλαμβάνει τις απαραίτητες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, ώστε η πρωτεΐνη να αποκτήσει βιολογική δραστηριότητα (να γίνει βιολογικά ενεργή).

ΝΕΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΤΟΥ 2^{ΟΥ} ΚΕΦΑΛΑΙΟΥ
ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ – ΕΚΦΡΑΣΗ ΚΑΙ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ

Θέσεις έναρξης αντιγραφής: Τμήματα του DNA από τα οποία αρχίζει η αντιγραφή
DNA-ελικάσες: ένζυμα που σπάζουν τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων του DNA

Πριμόσωμα: σύμπλοκο ενζύμων που συνθέτει στις θέσεις έναρξης αντιγραφής του DNA μικρά τμήματα RNA συμπληρωματικά των αλυσίδων του DNA

Πρωταρχικά τμήματα: μικρά τμήματα RNA συμπληρωματικά με τις μητρικές αλυσίδες DNA, που συνθέτονται από το πριμόσωμα στις θέσεις έναρξης αντιγραφής

Αντιγραφή συνεχής: η αντιγραφή δε διακόπτεται

Αντιγραφή ασυνεχής: η αντιγραφή γίνεται κατά μικρά διακοπτόμενα τμήματα που στη συνέχεια ενώνονται μεταξύ τους με το ένζυμο DNA-δεσμάση

DNA-δεσμάση: ένζυμο που συνδέει τμήματα DNA μεταξύ τους κατά την αντιγραφή (και αυτά που προκύπτουν από την ασυνεχή αντιγραφή και αυτά που προκύπτουν από τις διάφορες θέσεις έναρξης της αντιγραφής)

Επιδιορθωτικά ένζυμα: ομάδα ενζύμων που επιδιορθώνει τα λάθη στην ακολουθία του DNA που «διέφυγαν» από την DNA πολυμεράση

Γονιδιακή έκφραση: οι πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης

Αντίστροφη μεταγραφάση: ένζυμο που καταλύει την αντίστροφη μεταγραφή

Αντίστροφη μεταγραφή: σύνθεση DNA με καλούπι RNA

snRNA: μικρό πυρηνικό RNA. Μικρά μόρια RNA, που συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια, τα οποία καταλύουν την «ωρίμανση» του mRNA. **ΠΡΟΣΟΧΗ!!** Υπάρχει μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Υποκινητής: ειδικές περιοχές στο DNA που προσδένεται ή RNA πολυμεράση πριν από την αρχή κάθε γονιδίου και αποτελεί, μαζί με τους μεταγραφικούς παράγοντες, ρυθμιστικό στοιχείο της μεταγραφής του DNA

Μεταγραφικοί παράγοντες: ειδικές πρωτεΐνες, που με τη βοήθειά τους προσδένεται η RNA πολυμεράση στους υποκινητές

Μεταγραφόμενη αλυσίδα: η αλυσίδα του DNA που μεταγράφεται. Είναι συμπληρωματική με το mRNA

Κωδική αλυσίδα: η αλυσίδα του DNA που είναι συμπληρωματική με τη μεταγραφόμενη (αυτή που δε μεταγράφεται)

Μη Κωδική αλυσίδα: Η μεταγραφόμενη αλυσίδα

Πρόδρομο mRNA: το mRNA που προκύπτει απευθείας μετά τη μεταγραφή. Αποτελείται από εσώνια και εξώνια. **ΠΡΟΣΟΧΗ!!** Υπάρχει μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και μόνο στον πυρήνα τους

Ωρίμανση του mRNA: η διαδικασία κατά την οποία αποβάλλονται οι περιοχές του mRNA που δε μεταφράζονται (Εσώνια)

Εξώνια: αλληλουχίες νουκλεοτιδίων στο και στο πρόδρομο mRNA που μεταφράζονται σε αμινοξέα (από την ένωση τους προκύπτει το ώριμο mRNA) (DNA που μεταγράφεται και μεταφράζεται)

Εσώνια: οι αλληλουχίες νουκλεοτιδίων DNA και στο πρόδρομο mRNA που δε μεταφράζονται (DNA που μόνο μεταγράφεται)

Αμετάφραστες περιοχές: περιοχές στο 5' άκρο και στο 3' άκρο του ώριμου mRNA που δε μεταφράζονται

Πολύσωμα: το σύμπλεγμα των ριβοσωματίων με το mRNA κατά τη μετάφραση

ΠΡΟΣΟΧΗ!! Εσώνια και Εξώνια υπάρχουν μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς και στους ιούς που τους προσβάλλουν

ΟΠΕΡΟΝΙΟ

Κυτταρική διαφοροποίηση: η εξειδίκευση των κυττάρων σε μια ορισμένη λειτουργία

Οπερόνιο: ομάδα γονιδίων με κοινό έλεγχο της έκφρασης τους. **ΠΡΟΣΟΧΗ!!** Υπάρχει μόνο στους προκαρυωτικούς οργανισμούς

Ρυθμιστικό γονίδιο: Βρίσκεται μπροστά από τον υποκινητή του οπερόνιου και κωδικοποιεί τον καταστολέα

Χειριστής: περιοχή του DNA ανάμεσα στον υποκινητή και τα δομικά γονίδια όπου προσδένεται ο καταστολέας και εμποδίζει έτσι την RNA πολυμεράση να δράσει και να μεταφράσει τα δομικά γονίδια.

Καταστολέας: πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το ρυθμιστικό γονίδιο. Προσδένεται στο χειριστή και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να δράσει

Δομικά γονίδια: γονίδια που είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση μιας πρωτεΐνης

Επαγωγέας: ουσία ή μηχανισμός που προκαλεί κάποια λειτουργία.

Αντιγραφή	Μεταγραφή
Σκοπός της αντιγραφής είναι να παραχθεί ένα μόριο DNA	Σκοπός είναι να παραχθούν ~ καινούργια μόρια RNA
Γίνεται μόνο μια φορά στον κύκλο του κυττάρου, όταν πρέπει να χωριστεί το κύτταρο σε δυο θυγατρικά στην φάση S	Γίνεται πολλές φορές στον κύκλο του κυττάρου, κάθε φορά που χρειάζεται μια πρωτεΐνη
Το μόριο του DNA ανοίγει ταυτόχρονα (αν πρόκειται για ευκαρυωτικό) σε πολλά σημεία ή σε ένα σημείο αν πρόκειται για προκαρυωτικό	Το μόριο του DNA ανοίγει μόνο σε σε ένα σημείο (ανεξαρτήτως ευκαρυωτικού ή προκαρυωτικού κυττάρου)
Απέναντι από κάθε δεοξυριβονουκλεοτίδιο τοποθετείται ένα συμπληρωματικό δεοξυριβονουκλεοτίδιο σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας, με την βοήθεια της DNA πολυμεράσης	Απέναντι από κάθε δεοξυριβονουκλεοτίδιο τοποθετείται ένα συμπληρωματικό ριβονουκλεοτίδιο σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας, με την βοήθεια της RNA πολυμεράσης.
Αντιγράφονται και οι 2 αλυσίδες του DNA	Μεταγράφεται μόνο η μια αλυσίδα του DNA
Συμμετέχουν πολλά ένζυμα με κύριο την DNA πολυμεράση	Συμμετέχουν πολλά ένζυμα με κύριο την RNA πολυμεράση
Υπάρχουν μηχανισμοί επιδιόρθωσης	Δεν υπάρχουν μηχανισμοί επιδιόρθωσης