

## ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ-ΕΚΦΡΑΣΗ-ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ

### 1. ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ DNA

- A. Ημισυντηρητικός μηχανισμός αντιγραφής = τα 2 θυγατρικά μόρια DNA είναι πανομοιότυπα με το μητρικό και καθένα αποτελείται από 1 παλιά & 1 νέα αλυσίδα
- B. Προκαρυωτικοί : 1 θέση έναρξης (<30 λεπτά), Ευκαρυωτικοί : εκατοντάδες θέσεις έναρξης (πολύ συντομότερα)
- C. Ένζυμα αντιγραφής:
- **DNA ελικάσες σπάζουν δεσμούς H** (άνοιγμα διπλής έλικας, δημιουργία θηλιών που αυξάνονται προς τις 2 κατευθύνσεις και φαίνονται στο ηλεκτρ. μικροσκόπιο)
  - **Πριμόσωμα, συνθέτει** στις θέσεις αντιγραφής μικρά τμήματα RNA συμπληρωματικά στις μητρικές αλυσίδες, τα πρωταρχικά τμήματα.
  - **DNA πολυμεράσες** (κυρίως ένζυμα) δεν μπορούν να αρχίσουν αντιγραφή. **Τοποθετούν νουκλεοτίδια** στο 3' άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου της αναπτυσσόμενης αλυσίδας (προσανατολισμός νεοσυντιθέμενης αλυσίδας 5'→3')
    - **Επιμηκύνουν** τα πρωταρχικά τμήματα με συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια
    - **Διορθώνουν** λάθη κατά την διάρκεια της αντιγραφής
    - **Απομακρύνουν** τα πρωταρχικά τμήματα & τα αντικαθιστούν με τμήματα DNA
  - **DNA δεσμάση συνδέουν** τα κομμάτια της ασυνεχούς αλυσίδας & τα κομμάτια από τις διάφορες θέσεις αντιγραφής
  - **Επιδιορθωτικά ένζυμα διορθώνουν** βλάβες που ξέφυγαν
- D. Διαδικασία
- Ξετυλίγεται η διπλή έλικα (DNA ελικάσες)
  - Ειδικό σύμπλοκο από πολλά ένζυμα, το **πριμόσωμα** συνθέτει στις θέσεις αντιγραφής μικρά τμήματα RNA συμπληρωματικά στις μητρικές αλυσίδες (**πρωταρχικά τμήματα**).
  - Επιμήκυνση των πρωταρχικών τμημάτων (DNA πολυμεράσες) με συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια
  - Σχηματισμός νέων μορίων με δημιουργία δεσμών H
  - Επιδιόρθωση λαθών από παραβάσεις της συμπληρωματικότητας και τοποθέτηση σωστών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (DNA πολυμεράσες)
  - Απομάκρυνση πρωταρχικών τμημάτων & αντικατάσταση με τμήματα DNA (DNA πολυμεράσες)
  - Για αντιπαράλληλη τοποθέτηση αλυσίδων η σύνθεση στη μία αλυσίδα είναι **συνεχής** και στην άλλη **ασυνεχής**
  - Τα κομμάτια της ασυνεχούς & τα κομμάτια από τις διάφορες θέσεις αντιγραφής συνδέονται (DNA δεσμάση)
  - Επιδιορθώνονται τυχόν άλλες βλάβες (επιδιορθωτικά ένζυμα)

## 2.ΕΚΦΡΑΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΑΣ

### A. Ροή γενετικής πληροφορίας

- Μεταφορά πληροφορίας από DNA σε RNA με τη **μεταγραφή &** μεταφορά από το RNA στις πρωτεΐνες με τη **μετάφραση (=γονιδιακή έκφραση)**
- Τμήματα του DNA με συγκεκριμένη ακολουθία νουκλεοτιδίων =**γονίδιο**
- **Κεντρικό δόγμα Βιολογίας**

Σήμερα (λόγω αντίστροφης μεταγραφάσης) :



- Τα γονίδια διακρίνονται σε όσα μεταγράφονται σε mRNA & τελικά σε πρωτεΐνες & γονίδια που μεταγράφονται σε tRNA, rRNA & snRNA
  - **Αγγελιαφόρο RNA** (mRNA) μεταφέρει την πληροφορία του DNA για παραγωγή πολυπεπτιδικής αλυσίδας
  - **Ριβοσωμικό RNA** (rRNA) συνδέεται με πρωτεΐνες σχηματίζοντας ριβόσωμα
  - **Μεταφορικό RNA** (tRNA) συνδέεται με συγκεκριμένο αμινοξύ και το μεταφέρει στη θέση πρωτεϊνοσύνθεσης
  - **Μικρό πυρηνικό RNA** (snRNA) συνδέεται με πρωτεΐνες καταλύοντας την ωρίμανση του mRNA

### B. Μεταγραφή

- Καταλύεται από την **RNA πολυμεράση** (στους ευκαρυωτικούς 3 μόρια)
- Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε ειδικές περιοχές του DNA πριν από την αρχή κάθε γονιδίου (**υποκινητές**), με τη βοήθεια πρωτεϊνών (**μεταγραφικοί παράγοντες**) για να επιτραπεί η έναρξη της μεταγραφής
- Η πρόσδεση της RNA πολυμεράσης προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας
- Ριβονουκλεοτίδια τοποθετούνται απέναντι από τα δεοξυριβονουκλεοτίδια (U έναντι A)
- Η RNA πολυμεράση συνδέει τα ριβονουκλεοτίδια με 3'-5' φωσφοδιεστερικό δεσμό (προσανατολισμός 5'-3')
- Η σύνθεση σταματά σε ειδικές αλληλουχίες (**αλληλουχίες λήξης**). Το μόριο RNA είναι συμπληρωματικό της μιας αλυσίδας που λέγεται **μη κωδική** (μεταγραφόμενη), η άλλη αλυσίδα λέγεται **κωδική** (μη μεταγραφόμενη)
- Στους προκαρυωτικούς η μετάφραση αρχίζει πριν ολοκληρωθεί η μεταγραφή.
- Στους ευκαρυωτικούς το mRNA που σχηματίστηκε δεν είναι έτοιμο να μεταφραστεί και έτσι υφίσταται διαδικασία **ωρίμανσης**
- Τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών (και των ιών τους) είναι **ασυνεχή** ή **διακοπόμενα**, δηλαδή η αλληλουχία που μεταφράζεται σε αμινοξέα (**εξόνιο**) διακόπτεται από ενδιάμεσες αλληλουχίες που δεν μεταφράζονται (**εσώνια**)
- Όταν μεταγράφεται ένα γονίδιο που περιέχει εσώνια, δημιουργείται **πρόδρομο mRNA** που περιέχει εξώνια και εσώνια. Ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια που

αποτελούνται από snRNA και πρωτεΐνες κόβουν τα εσώνια και συρράπτουν τα εξώνια οπότε σχηματίζεται **ώριμο mRNA** που έχει 2 περιοχές στα άκρα του που δεν μεταφράζονται σε αμινοξέα (5' και 3' αμετάφραστες περιοχές). Το ώριμο mRNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα στη θέση της πρωτεϊνοσύνθεσης.

### C. Γενετικός κώδικας

- Οι πληροφορίες ενός γονιδίου μεταφέρονται στο mRNA με βάση τη συμπληρωματικότητα. Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων στις πρωτεΐνες με βάση κώδικα αντιστοιχίσης νουκλεοτιδίων mRNA με αμινοξέα, τον **γενετικό κώδικα**.
- Ο γενετικός κώδικας ονομάστηκε **κώδικας τριπλέτας** γιατί τα 4 νουκλεοτίδια αν συνδυαστούν ανά 3 προκύπτουν  $4^3=64$  συνδυασμοί αρκετοί για να αντιστοιχηθούν με τα 20 αμινοξέα.
- Τα χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα είναι τα εξής:
  - Είναι **κώδικας τριπλέτας** (1 τριάδα νουκλεοτιδίων= **κωδικόνιο** κωδικοποιεί 1 αμινοξύ)
  - Είναι **συνεχής**, το mRNA διαβάζεται συνεχώς (δεν παραλείπεται νουκλεοτίδιο)
  - Είναι **μη επικαλυπτόμενος**, κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε 1 μόνο κωδικόνιο
  - Είναι **σχεδόν καθολικός**, όλοι οι οργανισμοί έχουν ίδιο γενετικό κώδικα (mRNA ενός οργανισμού μπορεί να μεταφραστεί σε άλλον)
  - Είναι **εκφυλισμένος**. Εκτός από τη μεθειονίνη και την τρυπτοφάνη που κωδικοποιούνται από 1 κωδικόνιο το καθένα, τα υπόλοιπα 18 αμινοξέα κωδικοποιούνται από 2-6 διαφορετικά κωδικόνια. Κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ χαρακτηρίζονται **συνώνυμα**.
  - Έχει 1 **κωδικόνιο έναρξης**, **AUG** (που κωδικοποιεί τη μεθειονίνη) και 3 **κωδικόνια λήξης**, **UAG, UGA, UAA** (δεν κωδικοποιούν αμινοξύ οπότε τερματίζουν την πρωτεϊνοσύνθεση).
- Ο όρος κωδικόνιο αφορά τόσο το mRNA αλλά και το γονίδιο από το οποίο παράγεται (π.χ. το κωδικόνιο έναρξης AUG αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου ATG, μη κωδική UAC). Το τμήμα ενός γονιδίου και του mRNA που κωδικοποιεί μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, αρχίζει με κωδικόνιο έναρξης και τελειώνει με κωδικόνιο λήξης.

### D. Μετάφραση

- Η μετάφραση του mRNA πραγματοποιείται στα ριβοσώματα με τη βοήθεια των tRNA, αρκετών πρωτεϊνών και ενέργειας. Τα ριβοσώματα είναι θέση μετάφρασης για οποιοδήποτε mRNA (βακτήρια εργοστάσια παραγωγής ανθρώπινων πρωτεϊνών)
- Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από 2 υπομονάδες, μια μεγάλη και μια μικρή. Έχει 1 θέση πρόσδεσης του mRNA στη μικρή υπομονάδα και 2 θέσεις εισδοχής των tRNA στη μεγάλη. Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το **αντικωδικόνιο**, με την οποία προσδένεται λόγω συμπληρωματικότητας με το

αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Κάθε μόριο tRNA διαθέτει μια ειδική θέση σύνδεσης με συγκεκριμένο αμινοξύ.

○ Έναρξη

Το mRNA μέσω αλληλουχίας στην αμετάφραστη περιοχή του προσδένεται με το rRNA της μικρής υπομονάδας, με κανόνα συμπληρωματικότητας. Το πρώτο κωδικόνιο του mRNA είναι πάντα AUG και σ' αυτό προσδένεται το αντικωδικόνιο του tRNA που μεταφέρει την μεθειονίνη σχηματίζοντας το **σύμπλοκο έναρξης** της πρωτεϊνοσύνθεσης (mRNA/μικρή υπομονάδα/ tRNA μεθειονίνης). Κατόπιν η μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται με τη μικρή. Όλες οι πρωτεΐνες δεν έχουν πρώτο αμινοξύ τη μεθειονίνη διότι μετά το τέλος της πρωτεϊνοσύνθεσης απομακρύνονται μερικά αμινοξέα από το αρχικό αμινικό άκρο τους.

○ Επιμήκυνση

Ένα δεύτερο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο αντίστοιχο του 2ου κωδικονίου του mRNA, μεταφέροντας το αντίστοιχο αμινοξύ, τοποθετείται στην κατάλληλη εισδοχή (2η) του ριβοσώματος. Μεταξύ της μεθειονίνης και του 2ου αμινοξέος σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός και αμέσως το 1ο tRNA απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου συνδέεται με μεθειονίνη, έτοιμο για επόμενη χρήση. Το ριβόσωμα και το mRNA έχει πλέον ένα tRNA με 2 αμινοξέα πάνω του. Το ριβόσωμα κινείται κατά μήκος του mRNA κατά 1 κωδικόνιο. Τρίτο tRNA έρχεται να προσδεθεί στο 3ο κωδικόνιο κουβαλώντας το αμινοξύ του. Μεταξύ 2ου και 3ου αμινοξέος σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός και η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναπτύσσεται έτσι καθώς tRNA μεταφέρουν αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους..

○ Λήξη

Η επιμήκυνση σταματά σε κωδικόνιο λήξης (UAG, UGA, UAA) επειδή αυτά δεν έχουν tRNA αντίστοιχό τους. Το προηγούμενο tRNA απομακρύνεται από το ριβόσωμα και η πολυπεπτιδική αλυσίδα απελευθερώνεται. Πολλά μόρια mRNA μπορούν να μεταγράφονται από 1 μόνο γονίδιο. Πολλά ριβοσώματα μπορεί να μεταφράζουν ταυτόχρονα 1 mRNA, το καθένα σε διαφορετικό σημείο κατά μήκος του μορίου (μόλις μεταφραστούν τα πρώτα κωδικόνια η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για να προσδεθεί άλλο ριβόσωμα). Το σύμπλεγμα ριβοσωμάτων με το mRNA λέγεται πολύσωμα. Ένα κύτταρο μπορεί να παράγει μεγάλα ποσά μιας πρωτεΐνης από 1-2 αντίγραφα mRNA ενός γονιδίου

### 3. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ

- Γονιδιακή έκφραση = διαδικασία με την οποία ένα γονίδιο ενεργοποιείται για να παράγει μια πρωτεΐνη. Όλες οι πρωτεΐνες όμως δεν παράγονται συνεχώς ούτε σε όλες στα ίδια ποσά. Απαραίτητη λοιπόν η ύπαρξη προγράμματος ρύθμισης για το είδος και την ποσότητα των πρωτεϊνών αναγκαίων σε κάθε χρονική στιγμή.
- Στα βακτήρια η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αποσκοπεί στην προσαρμογή στις εναλλαγές του περιβάλλοντος για καλύτερες συνθήκες (αύξησης/διαίρεσης)

- Στους πολυκύτταρους τα κύτταρα διαφέρουν στη δομή και τις λειτουργίες αν και έχουν προέλθει από το ζυγωτό που διαιρείται με μίτωση επομένως έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό και τα ίδια γονίδια. Στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης τα κύτταρα εξειδικεύονται για να εκτελέσουν επιμέρους λειτουργίες και η διαδικασία αυτή ονομάζεται **κυτταρική διαφοροποίηση**. Κάθε κυτταρικός τύπος έχει εξειδικευμένη λειτουργία άρα η ρύθμιση των γονιδίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι πολυεπίπεδη.
- Ένα κύτταρο E. coli έχει περισσότερα από 4000γονίδια. Μερικά μεταγράφονται και μεταφράζονται συνεχώς και άλλα μόνο όταν το κύτταρο βρεθεί σε ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Τα βακτήρια αυτά χρησιμοποιούν τη γλυκόζη για πηγή άνθρακα. Αν όμως βρεθούν σε περιβάλλον με λακτόζη τότε «ξυπνά» γονίδιο που παράγει 3 ένζυμα για να διασπαστεί η λακτόζη σε γλυκόζη και γαλακτόζη. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα 3 ένζυμα είναι γειτονικά σχηματίζοντας μια μονάδα, το **οπερόνιο της λακτόζης**.
- Το οπερόνιο της λακτόζης περιλαμβάνει τα 3 γονίδια (**δομικά**) και αλληλουχίες DNA που ρυθμίζουν τη μεταγραφή τους (**ρυθμιστικό γονίδιο, υποκινητής και χειριστής**).
- Όταν απουσιάζει η λακτόζη το οπερόνιο δεν μεταγράφεται και μεταφράζεται, είναι **σε καταστολή**. Μια **ρυθμιστική πρωτεΐνη-καταστολέας** (που κωδικοποιείται από το ρυθμιστικό γονίδιο το οποίο μεταγράφεται συνεχώς παράγοντας μερικά μόρια του καταστολέα) προσδένεται στον χειριστή και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να αρχίσει τη μεταγραφή των γονιδίων του οπερονίου.
- Αν υπάρχει λακτόζη στο θρεπτικό υλικό τότε η λακτόζη, λειτουργώντας σαν **επαγωγέας**, προσδένεται στον καταστολέα και έτσι τον εμποδίζει να προσδεθεί στον χειριστή άρα η RNA πολυμεράση μπορεί να αρχίσει τη μεταγραφή των γονιδίων του οπερονίου.
- Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς τα γονίδια των ενζύμων των μεταβολικών οδών και της βιοσύνθεσης των αμινοξέων οργανώνονται σε οπερόνια.
- Στους ευκαρυωτικούς η γονιδιακή έκφραση ρυθμίζεται σε 4 επίπεδα :
  - Στο **επίπεδο της μεταγραφής**. Αριθμός μηχανισμών ελέγχουν ποια γονίδια θα μεταγραφούν και με ποια ταχύτητα. Το DNA δεν οργανώνεται σε οπερόνια αλλά κάθε γονίδιο μεταγράφεται αυτόνομα. Η RNA πολυμεράση λειτουργεί με τη βοήθεια **μεταγραφικών παραγόντων**. Κάθε κυτταρικός τύπος περιέχει διάφορα είδη μεταγραφικών παραγόντων αλλά μόνο όταν ο σωστός συνδυασμός τους προσδεθεί στον υποκινητή, αρχίζει η μεταγραφή ενός γονιδίου.
  - Στο **επίπεδο μετά τη μεταγραφή**. Περιλαμβάνει μηχανισμούς για την ωρίμανση του mRNA και την ταχύτητα εξόδου του ώριμου mRNA στο κυτταρόπλασμα
  - Στο **επίπεδο της μετάφρασης**. Ο χρόνος «ζωής» των mRNA είναι διαφορετικός και μετά αποικοδομούνται. Ποικίλλει επίσης η ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στα ριβοσώματα.
  - Στο **επίπεδο μετά τη μετάφραση**. Μετά την παραγωγή της πρωτεΐνης πρέπει να υποστεί τροποποιήσεις για να γίνει λειτουργική.