

ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ

Αν και οι βασικοί κυτταρικοί μηχανισμοί (τα «γρανάζια») της ζωής είναι όμοιοι μεταξύ ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών οργανισμών, οι τελευταίοι είναι πιο περίπλοκοι. Οι προκαρυωτικοί οργανισμοί πρέπει να είναι ολιγαρκείς και αποτελεσματικοί, με μικρά γονιδιώματα που μπορούν να αντιγραφούν γρήγορα και να ανταποκριθούν άμεσα στις μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες. Από την άλλη, οι πολυκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί χρειάζονται τεράστια γονιδιώματα και πολύπλοκους ρυθμιστικούς μηχανισμούς, ώστε να παράγουν πολλαπλούς τύπους κυττάρων και να υλοποιούν λεπτομερή αναπτυξιακά προγράμματα. Αυτό συμβαίνει επειδή όλα τα κύτταρα του οργανισμού περιέχουν τα ίδια (σχεδόν) γονίδια, αλλά τα γονίδια που εκφράζονται στους διάφορους τύπους κυττάρων και σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του οργανισμού ποικίλλουν.

Οι άνθρωποι, για παράδειγμα, έχουν 700 φορές περισσότερο DNA από ότι η *Escherichia coli*, αλλά μόλις έξι φορές περισσότερα γονίδια (**Πίνακας 7.1**). Αυτή η ανακολουθία οφείλεται στο ότι το 90% του DNA της *E. coli* κωδικοποιεί (κωδικεύει) πρωτεΐνες, ενώ στον άνθρωπο το ποσοστό αυτό είναι μόλις 1,3%. Γενικά, οι γενετικοί μηχανισμοί που είναι επιφορτισμένοι με τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (ιδίως συγκρινόμενοι με αυτούς που αφορούν την κωδικοποίηση πρωτεϊνών) είναι πολύ πιο εκτεταμένοι στους ανθρώπους από ότι στα βακτήρια.

Η ΧΡΩΜΑΤΙΝΗ ΑΠΟΤΕΛΕΙΤΑΙ ΑΠΟ DNA ΚΑΙ ΙΣΤΟΝΕΣ

Οι άνθρωποι διαθέτουν $2 \times 23 = 46$ χρωμοσώματα, καθένα από τα οποία αποτελείται από μία διπλή έλικα γραμμικού DNA, η οποία έχει μήκος αρκετών εκατοστών. Το χρωμοσωμικό DNA συνδυάζεται με μικρές βασικές πρωτεΐνες που ονομάζονται **ιστόνες (histones)**, σχηματίζοντας ένα συσσωμάτωμα που ονομάζεται **χρωματίνη**. Στη χρωματίνη, τα θετικά φορτία στις πλευρικές ομάδες λυσίνης και αργινίνης των ιστονών εξουδετερώνουν το 60% τουλάχιστον των αρνητικών φορτίων των φωσφορικών ομάδων του DNA.

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα διαθέτουν πέντε κύριους τύπους ιστονών (**Πίνακας 7.2**). Οι ιστόνες είναι καλά συντηρημένες σε όλη την έκταση του φυλογενετικού δέντρου (με εξαίρεση την ιστόνη H1, η δομή της οποίας διαφέρει

μεταξύ των ειδών αλλά ενίοτε και μεταξύ των ιστών του ίδιου οργανισμού). Έτσι, για παράδειγμα, οι ιστόνες H3 και H4 των σπόρων του αρακά και του θύμου αδένος των μοσχαριών διαφέρουν μεταξύ τους μόνο ως προς τέσσερις και δύο αμινοξικές θέσεις, αντίστοιχα. Πιθανολογείται ότι οι ιστόνες επινοήθηκαν από τους πρώτους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, πριν από 2 δισεκατομμύρια χρόνια, και εξακολουθούν να εξυπηρετούν τις ίδιες λειτουργίες μέχρι σήμερα.

Η χρωματίνη, που ονομάστηκε έτσι λόγω χημικής συγγένειας με βασικές χρωστικές όπως π.χ. η αιματοξυλίνη και η φουξίνη, περιέχει DNA και ιστόνες σε ίσες περίπου ποσότητες. Η **ευχρωματίνη** έχει πιο χαλαρή δομή, ενώ η **ετεροχρωματίνη** είναι υπερσυμπυκνωμένη και πιο βαθυχρωματική. *Τα γονίδια της ευχρωματίνης είναι μεταγραφικά ενεργά, ενώ της ετεροχρωματίνης είναι κατεσταλμένα.*

ΤΟ ΝΟΥΚΛΕΟΣΩΜΑ ΑΠΟΤΕΛΕΙ ΤΗ ΔΟΜΙΚΗ ΜΟΝΑΔΑ ΤΗΣ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ

Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, η ευχρωματίνη φαίνεται σαν χάντρες που είναι περασμένες σε ένα κορδόνι. Το «κορδόνι» είναι η διπλή έλικα του DNA, ενώ οι «χάντρες» είναι τα **νουκλεοσώματα**, μικροί δίσκοι που ο καθένας σχηματίζεται από δύο αντίγραφα των ιστονών H2A, H2B, H3 και H4. Γύρω από τον πυρήνα ιστονών είναι περιτυλιγμένα 146 ζεύγη βάσεων με αριστερόστροφο προσανατολισμό. Το DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων, το μήκος του οποίου ισούται συνήθως με 50-60 ζεύγη βάσεων, μπορεί να συνδεθεί με ένα μόριο ιστόνης H1 (Εικόνα 7.1). Κάτι τέτοιο συμβαίνει ιδίως κατά τον σχηματισμό των ανωτέρου επιπέδου δομών χρωματίνης.

Η εικόνα των χαντρών πάνω σε κορδόνι είναι τυπική για την ευχρωματίνη. Αντίθετα, η μεταγραφικά σιωπηλή ετεροχρωματίνη απαντάται κυρίως με τη μορφή **ινών διαμέτρου 30 nm (Εικόνα 7.1, Β)**. Οι ίνες αυτές είναι περίπου 40 φορές πιο συμπυκνωμένες από ότι η αποσυσπειρωμένη διπλή έλικα του DNA. Η δομή αυτή συμπυκνώνεται περαιτέρω κατά τον σχηματισμό μιτωτικών και μειωτικών χρωμοσωμάτων, όταν οι ίνες διαμέτρου 30 nm συνδέονται με χρωμοσωμικές **πρωτεΐνες ικριώματος (scaffold proteins)** σχηματίζοντας μακρινούς βρόχους (Εικόνα 7.1, Γ).

Πίνακας 7.1 Γονιδιώματα Διαφόρων Οργανισμών

Είδος	Τύπος Οργανισμού	Μέγεθος Γονιδιώματος (Εκατομμύρια Ζεύγη Βάσεων)	Αριθμός Γονιδίων
Προκαρυωτικοί οργανισμοί			
<i>Escherichia coli</i>	Εντεροβακτήριο	4,639	4289
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Παθογόνο του ουροποιογεννητικού	0,58	468
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Βάκιλος της φυματίωσης	4,447	4402
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Βάκιλος του τύφου	1,111	834
<i>Treponema pallidum</i>	Σπειροχαίτη της σύφιλης	1,138	1041
<i>Helicobacter pylori</i>	Βακτήριο του πεπτικού έλκους	1,667	1590
Ευκαρυωτικοί οργανισμοί			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Μαγιά του ψωμιού	12,069	6.300
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Νηματώδης σκώληκας	97	20.000
<i>Drosophila melanogaster</i>	Μύγα των φρούτων	137	14.000
<i>Homo sapiens</i>	Η κορωνίδα της δημιουργίας	3000	20.000

Τα μεταφασικά χρωμοσώματα είναι περίπου 200 φορές πιο συμπυκνωμένα από τις ίνες των 30 nm.

ΟΙ ΟΜΟΙΟΠΟΛΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΚΑΙ ΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΤΟΥ DNA

Η μεταγραφή μπορεί να λάβει χώρα μόνο όταν οι ίνες των 30 nm αποσυμπιεστούν προς τη χαλαρή δομή της ευχρωματίνης και οι ιστόνες απομακρυνθούν από το DNA. Τα προκαρυωτικά γονίδια μεταγράφονται συνεχώς εκτός εάν η μεταγραφή αποτραπεί από κάποιον καταστολέα, αλλά τα ευκαρυωτικά γονίδια είναι σιωπηλά μέχρις ότου οι ιστόνες απομακρυνθούν από το DNA. Η σύνδεση μεταξύ ιστονών και DNA ρυθμίζεται μέσω ομοιοπολικών τροποποιήσεων των ιστονών:

1. Η **ακετυλίωση** των πλευρικών ομάδων λυσίνης στις ιστόνες αποσταθεροποιεί τις δομές χρωματίνης και ευνοεί την μεταγραφή. Η ακετυλίωση εξαλείφει τα θετικά φορτία των πλευρικών ομάδων λυσίνης, αποδυναμώνοντας τη σύνδεση των ιστονών με το DNA.
2. Η **μεθυλίωση** μερικών πλευρικών ομάδων λυσίνης στις ιστόνες ευνοεί τον σχηματισμό υπερσυμπυκνωμένης ετεροχρωματίνης και περιορίζει τη μεταγραφή, ενώ η μεθυλίωση άλλων πλευρικών ομάδων λυσίνης ή αργι-

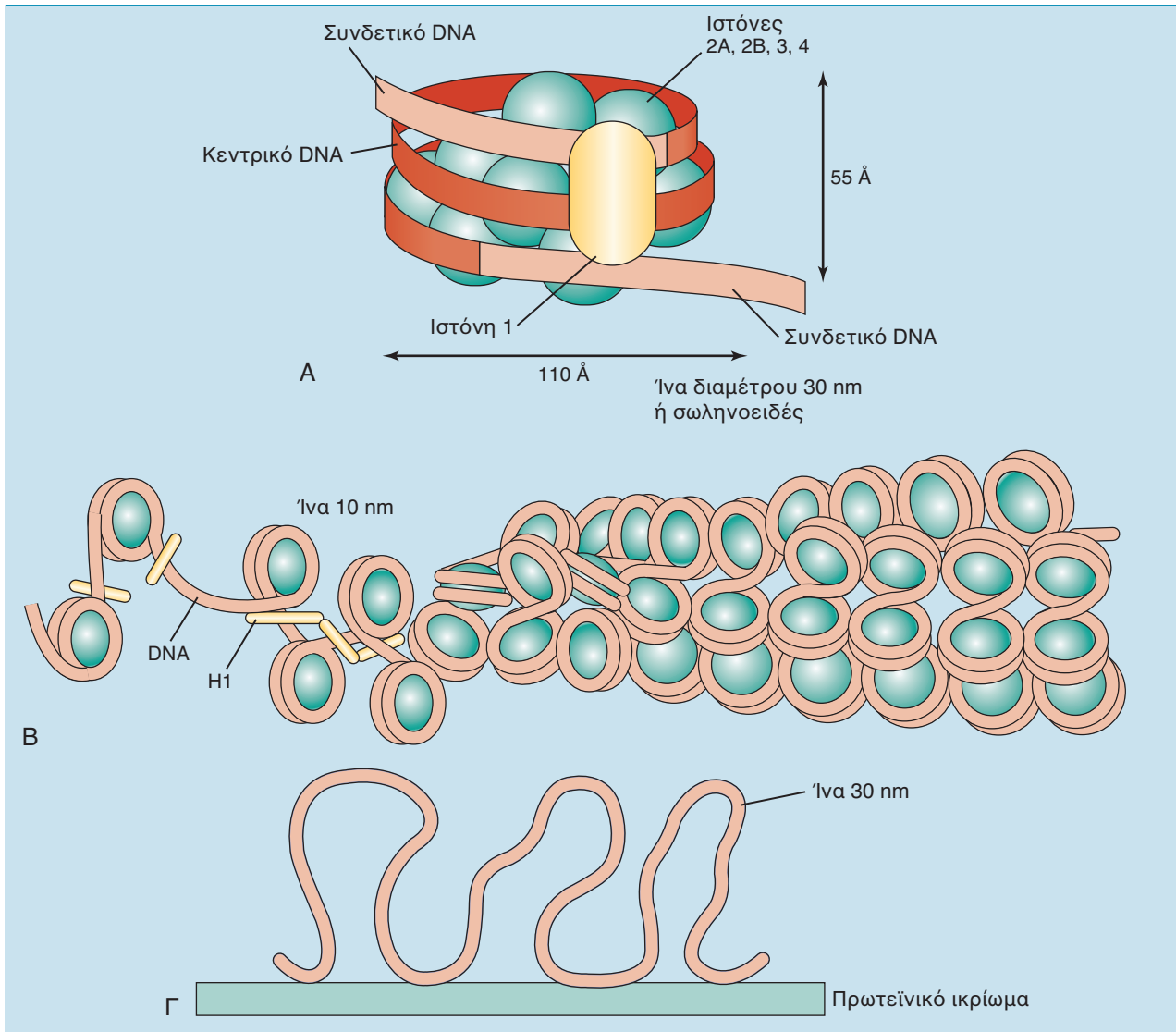
Πίνακας 7.2 Οι Πέντε Τύποι Ιστονών

Τύπος	Μέγεθος (Αμινοξέα)	Εντόπιση
H1	215	Συνδετικό DNA
H2A	129	Πυρήνας νουκλεοσώματος
H2B	125	Πυρήνας νουκλεοσώματος
H3	135	Πυρήνας νουκλεοσώματος
H4	102	Πυρήνας νουκλεοσώματος

νίνης επιφέρει το αντίθετο αποτέλεσμα. Οι επιδράσεις αυτές διαμεσολαβούνται από μη-ιστονικές πρωτεΐνες που συνδέονται με τις μεθυλιωμένες ιστόνες.

3. Η **φωσφορυλίωση** πλευρικών ομάδων θρεονίνης στην ιστόνη H2A είναι χαρακτηριστική της μείωσης και μίτωσης, αν και ο ρόλος της σε αυτές τις διεργασίες δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως.

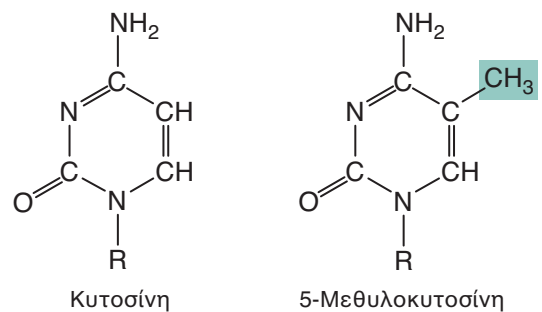
Τα **σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης (chromatin remodeling complexes)** μπορούν να χαλαρώσουν προ-



ΕΙΚΟΝΑ 7.1. Δομή της χρωματίνης. Α. Το νουκλεόσωμα. Β. Σχηματισμός της ίνας διαμέτρου 30 nm. Γ. Σύνδεση της ίνας διαμέτρου 30 nm στο κεντρικό πρωτεϊνικό ικρίωμα του χρωμοσώματος. Κάθε βρόχος της παραπάνω ίνας από τη μία θέση σύνδεσης με το ικρίωμα μέχρι την επόμενη έχει μήκος περίπου 0,4-0,8 μm και περιέχει 45.000-90.000 ζεύγη βάσεων.

σωρινά τη δομή του νουκλεοσώματος, για να διευκολύνουν τη μεταγραφή. Υδρολύουν ATP, αλλά κατά τα άλλα οι μηχανισμοί τους παραμένουν αδιευκρίνιστοι.

Αυτές οι τροποποιήσεις των ιστονών ελέγχονται από ειδικές ως προς την αλληλουχία DNA όπου προσδέονται πρωτεΐνες, που ρυθμίζουν τη μεταγραφή («μεταγραφικοί παράγοντες»), καθώς και μέσω μεθυλίωσης του DNA.



Η ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA ΠΡΟΚΑΛΕΙ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΑΠΟΣΙΩΠΗΣΗ

Το 3% περίπου της κυτοσίνης στο ανθρώπινο DNA είναι μεθυλιωμένο:

Η μεθυλοκυτοσίνη απαντάται στις παλίνδρομες 5'-CG-3' αλληλουχίες, οι οποίες φέρουν μεθυλομάδες στις κυτοσίνες και των δύο αλυσίδων. Η 5'-μεθυλοκυτοσίνη προκαλεί συμπύκνωση της χρωματίνης και γονιδιακή αποσιώπηση

(*gene silencing*), στρατολογώντας κατά πάσα πιθανότητα αποακετυλάσες των ιστονών. Οι μεθυλομάδες εισάγονται από δύο τύπους DNA μεθυλοτρανσφερασών: τις **de novo DNA μεθυλοτρανσφεράσες** που συνδέουν μεθυλομάδες με μέχρι πρότινος μη μεθυλιωμένες αλληλουχίες CG (κυτοσίνης-γουανίνης), και τις **DNA μεθυλοτρανσφεράσες διατήρησης**, που μεθυλιώνουν τη θυγατρική αλυσίδα μετά την αντιγραφή του DNA ώστε η μεθυλίωσή της να εναρμονιστεί με εκείνη της μητρικής αλυσίδας. Εξαιτίας αυτών των DNA μεθυλοτρανσφερασών διατήρησης, η *μεθυλίωση του DNA είναι κληρονομήσιμη διαμέσου των κυτταρικών γενεών*. Ο όρος **επιγενετική (epigenetic) κληρονομικότητα** χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη μεταβίβαση των προτύπων μεθυλίωσης του DNA και των τροποποιήσεων των ιστονών στους απογόνους.

Η μεθυλίωση του DNA επιτελεί αρκετές λειτουργίες:

1. **Γονιδιακή ρύθμιση:** Το 60% περίπου των ανθρώπινων γονιδίων φέρουν **νησίδες CG** (CG islands) κοντά στους υποκινητές τους, η κατάσταση μεθυλίωσης των οποίων διαφέρει από ιστό σε ιστό. Η κακή υγεία πολλών κλωνοποιημένων ζώων αποδίδεται στην ατελή διαγραφή των επιγενετικών χαρακτηριστικών όταν ο πυρήνας ενός σωματικού κυττάρου εισάγεται σε ένα ωκύτταρο.
2. **Καταστολή κινητών στοιχείων:** Οι αλληλουχίες CG που βρίσκονται κοντά σε κινητά στοιχεία διατηρούνται σε μεθυλιωμένη κατάσταση για να αποτρέψουν τη μεταγραφή των κινητών στοιχείων.
3. **Αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X:** Το αδρανές δεύτερο χρωμόσωμα X των γυναικών («σωμάτιο Barr») διατηρείται σε συμπυκνωμένη, ετεροχρωματική κατάσταση μέσω εκτεταμένης μεθυλίωσης του DNA.
4. **Αποτύπωση (imprinting):** Μερικές δεκάδες ανθρώπινα γονίδια μεθυλιώνονται εκλεκτικά είτε στην ανδρική είτε στη γυναικεία βλαστική σειρά. Το έμβρυο και το νεογνό εκφράζουν τα γονίδια αυτά μόνο από το μη μεθυλιωμένο χρωμόσωμα που κληρονομούν από τη μητέρα ή τον πατέρα τους, αντίστοιχα. Εξαιτίας της αποτύπωσης, η δημιουργία βιώσιμου απογόνου από ζευγάρια ομοφυλόφιλων γυναικών μέσω *in vitro* σύντηξης δύο ωκυττάρων δεν είναι εφικτή με τις τρέχουσες μεθόδους.
5. **Προσαρμογή στις περιβαλλοντικές συνθήκες:** Ο υποσιτισμός κατά την κύηση μπορεί να επηρεάσει τον μεταβολισμό και να αυξήσει τον κίνδυνο εμφάνισης σακχαρώδη διαβήτη στη μετέπειτα ζωή. Αυτό θεωρείται ότι οφείλεται σε επιγενετικά χαρακτηριστικά, κατά πάσα πιθανότητα με τη μορφή μεθυλίωσης του DNA. Κάποια επιγενετικά χαρακτηριστικά που μεταβιβάζονται μέσω της βλαστικής σειράς μπορεί να ευθύνονται για παρόμοιες μεταβολικές επιδράσεις στα παιδιά μετά την έκθεση των γονιών σε διατροφικούς και άλλους παράγοντες.

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.1: Σύνδρομο RETT

Το κλασικό σύνδρομο Rett είναι μια σοβαρή νευρολογική νόσος που προσβάλλει περίπου 1 ανά 10.000 θήλεα άτομα. Τα πάσχοντα θήλεα αναπτύσσονται φυσιολογικά κατά τους πρώτους 6 μήνες μετά τη γέννηση. Εν συνεχεία, εμφανίζουν επιβράδυνση της ανάπτυξης της κεφαλής, που ακολουθείται μεταγενέστερα από ανωμαλίες της βάδισης, πλήρη αδυναμία εκφοράς λόγου, επαναλαμβανόμενες κινήσεις των χεριών, νοητική υστέρηση, επιληπτικούς σπασμούς, αυτισμό ή/και δυσασυτονομία. Ο θάνατος επέρχεται συνήθως στις ηλικίες μεταξύ 12 και 40 ετών.

Το σύνδρομο Rett οφείλεται σε μεταλλάξεις που προκαλούν πλήρη απώλεια της λειτουργικότητας του γονιδίου MECP2, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη MeCP2 (πρωτεΐνη-2 που προσδένεται στη μεθυλοκυτοσίνη, methyl-cytosine binding protein-2). Πρόκειται για μία από τις πρωτεΐνες που καταστέλλουν τη μεταγραφή όταν συνδέονται με τη μεθυλοκυτοσίνη του DNA. Εντούτοις, η MeCP2 ασκεί και άλλες άσχετες επιδράσεις, όπως διέγερση της μεταγραφής πολλών γονιδίων. Τα νευρολογικά συμπτώματα του συνδρόμου αποδίδονται στη διαταραχή της γονιδιακής έκφρασης στους νευρώνες και στα νευρογλοιακά κύτταρα.

Το κλασικό σύνδρομο Rett αφορά αποκλειστικά τα θήλεα άτομα, επειδή το μεταλλαγμένο γονίδιο εδράζεται στο X χρωμόσωμα. Τα ετεροζυγα θήλεα πάσχουν από το σύνδρομο, ενώ οι άρρενες που φέρουν το μεταλλαγμένο γονίδιο στο μονήρες X χρωμόσωμά τους καταλήγουν λίγο πριν ή λίγο μετά τον τοκετό. Το σύνδρομο οφείλεται σε νέες μεταλλάξεις, καθώς ο βαθμός αναπηρίας των πασχόντων θηλέων είναι τέτοιος που δεν τους επιτρέπει να αναπαραχθούν.

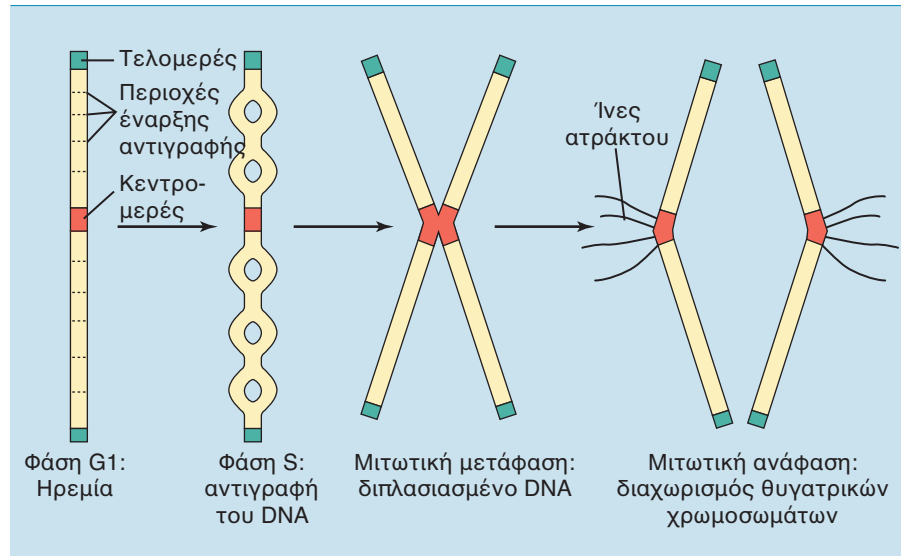
Στους άρρενες παρατηρούνται ηπιότερες μεταλλάξεις του MECP2, με συμπτώματα που κυμαίνονται από ήπια νοητική υστέρηση μέχρι θανατηφόρο νεογνική εγκεφαλοπάθεια. Οι μεταλλάξεις αυτές ευθύνονται για το 1,5% των περιστατικών νοητικής υστέρησης στους άρρενες.

ΟΛΑ ΤΑ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ ΕΧΟΥΝ ΕΝΑ ΚΕΝΤΡΟΜΕΡΙΔΙΟ, ΤΕΛΟΜΕΡΙΔΙΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΕΝΑΡΞΗΣ ΤΗΣ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣ

Τα χρωμοσώματα χρειάζονται εξειδικευμένες δομές που διασφαλίζουν τη δομική ακεραιότητα, την αντιγραφή και τη μεταβίβασή τους κατά τη μίτωση (Εικόνα 7.2).

Οι **περιοχές (θέσεις) έναρξης αντιγραφής (replication origins)** απέχουν μεταξύ τους περίπου 100.000 ζεύγη βάσεων. Χρειάζονται πολλαπλές περιοχές έναρξης αντιγραφής, επειδή το μήκος των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων είναι 10 έως 100 φορές μεγαλύτερο από ότι των βακτηριακών χρωμοσωμάτων, αλλά και επειδή οι διχάλες αντιγραφής του ευκαρυωτικού DNA κινούνται με ταχύτητα 50 μόνο νουκλεοτιδίων ανά δευτερόλεπτο, το 6% περίπου της ταχύτητας των διχάλων αντιγραφής των βακτηρίων. Εάν υπήρχε μόνο μία περιοχή έναρξης, η αντιγραφή του

ΕΙΚΟΝΑ 7.2 Δομές διατήρησης των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων.



μεγαλύτερου ανθρώπινου χρωμοσώματος θα διαρκούσε τουλάχιστον έναν μήνα.

Το **κεντρομερές (centromere)** αποτελείται από αρκετές εκατοντάδες χιλιάδες ζεύγη βάσεων του DNA το οποίο είναι εξαιρετικά επαναλαμβανόμενο, ελεύθερο γονιδίων και υπερσυμπυκνωμένο. Κάποιες πρωτεΐνες συνδέονται με την κεντρομερική ετεροχρωματίνη για να σχηματιστεί ένας **κινητοχώρος**, το σημείο άμεσης σύνδεσης για τις ίνες της ατράκτου κατά τη μίτωση και τη μείωση.

Τα **τελομερή (telomeres)** σχηματίζουν τα άκρα των χρωμοσωμάτων. Αποτελούνται από την επαναλαμβανόμενη αλληλουχία TTAGGG, η οποία επαναλαμβάνεται διαδοχικά περίπου 500 έως 5.000 φορές. Οι τελομερικές επαναλήψεις δεσμεύουν το πρωτεϊνικό σύμπλοκο **σελτερίνη**. Το σύμπλοκο αυτό προστατεύει τα τελομερίδια από τις νουκλεάσες, ενεργοποιεί την τελομεράση όταν χρειάζεται επιμήκυνση των τελομεριδίων και αποτρέπει τα ένζυμα επιδιόρθωσης του DNA από το να αντιμετωπίσουν τα άκρα των τελομερών ως ρήγματα στο DNA.

Η ΤΕΛΟΜΕΡΑΣΗ ΕΙΝΑΙ ΑΝΑΓΚΑΙΑ (ΑΛΛΑ ΟΧΙ ΙΚΑΝΗ) ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΘΑΝΑΣΙΑ

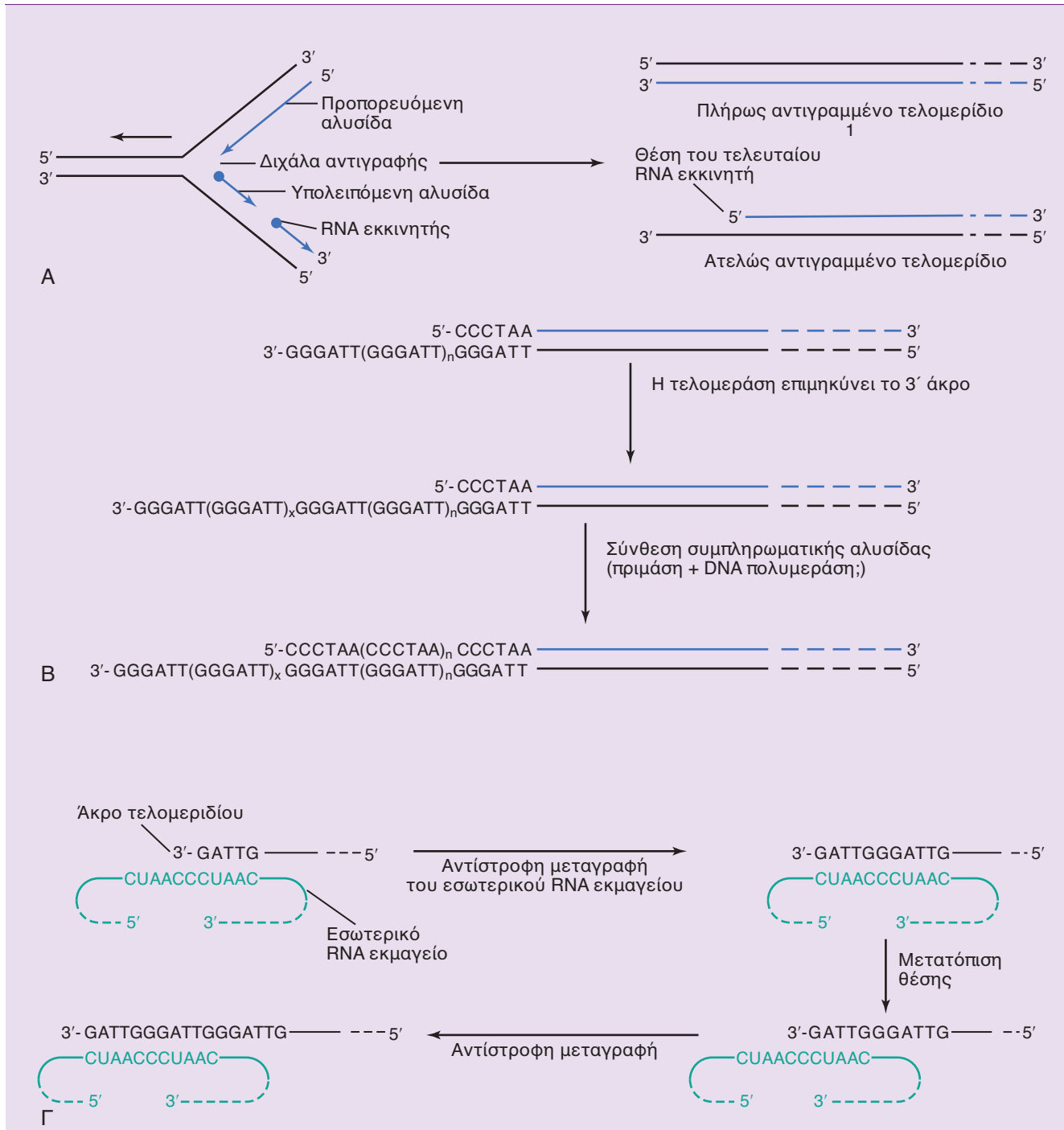
Η αντιγραφή του γραμμικού DNA των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων παρουσιάζει ένα ιδιαίτερο πρόβλημα. Στα άκρα του χρωμοσώματος, η προπορευόμενη αλυσίδα μπορεί να επιμηκυνθεί ακόμα και μέχρι το άκρο του εκμαγείου. Η υπολειπόμενη αλυσίδα, όμως, συντίθεται προς την αντίθετη κατεύθυνση από μικρούς RNA εκκινητές. Ακόμα και στην απίθανη περίπτωση που ο τελευταίος εκκινητής βρίσκεται στο τελικό άκρο της αλυσίδας-εκμαγείου, η απομάκρυνσή του θα άφηνε ένα μικρό κενό που δεν θα μπορούσε να συμπληρωθεί από την DNA πολυμεράση (**Εικόνα 7.3, Α**).

Το ένζυμο **τελομεράση** λύνει αυτό το πρόβλημα προσθέ-

τοντας την τελομερική αλληλουχία TTAGGG στο προεξέχον 3' άκρο. Για την αντίδραση αυτή δεν διατίθεται κανένα εκμαγείο DNA. Αντί για αυτό, η **τελομεράση χρησιμοποιεί ένα εκμαγείο RNA**. Ένα τμήμα από αυτό το RNA των 150 νουκλεοτιδίων είναι συμπληρωματικό με την επαναλαμβανόμενη τελομερική αλληλουχία. Δημιουργώντας ζεύγη βάσεων με το τελομερικό DNA, χρησιμεύει ως εκμαγείο για την επιμήκυνση του προεξέχοντος 3' άκρου. Αυτό το επιμηκυνμένο 3' άκρο χρησιμεύει ως εκμαγείο για την επιμήκυνση της απέναντι αλυσίδας (βλέπε **Εικόνα 7.3, Β και Γ**). Η τελομεράση είναι συνεπώς μια **αντίστροφη μεταγραφή (reverse transcriptase)**. Ο χαρακτηρισμός αυτός δίδεται στα ένζυμα που χρησιμοποιούν ένα εκμαγείο RNA για τη σύνθεση ενός συμπληρωματικού DNA.

Εάν δεν υπήρχε η τελομεράση, τα τελομερίδια των ανθρώπινων βλαστοκυττάρων θα έχαναν σε κάθε κυτταρική διαίρεση 50 έως 100 ζεύγη βάσεων του DNA. Η τελομεράση είναι ενεργός στην ανθρώπινη βλαστική σειρά καθώς και στα εμβρυϊκά κύτταρα, αλλά η έκφρασή της ελαττώνεται δραστικά στα βλαστοκύτταρα των ενηλίκων. Κατά συνέπεια, τα **τελομερίδια βραχύνονται με την πρόοδο της ηλικίας**. Όταν τα τελομερίδια βραχυνθούν υπερβολικά, πυροδοτούν ένα εκ των εξής δύο αναπτυξιακών προγραμμάτων: κυτταρική γήρανση (senescence) ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος (απόπτωση). Μόνο οι θεοί του Ολύμπου ήταν αθάνατοι, άρα μπορούμε να υποθέσουμε ότι εξέφραζαν αρκετή τελομεράση σε όλα τους τα κύτταρα.

Για παράδειγμα, οι άνθρωποι ινοβλάστες μπορούν να αναπτυχθούν σε καλλιέργειες κυττάρων, αλλά τελικά πεθαίνουν μετά από λίγες δεκάδες μιτωτικών διαιρέσεων. Οι ινοβλάστες που προέρχονται από νεογνά επιζούν περισσότερο από εκείνους που προέρχονται από ηλικιωμένα άτομα. Εντούτοις, ο καλύτερος προβλεπτικός παράγοντας της διάρκειας ζωής των ινοβλαστών δεν είναι η χρονολογική ηλικία του δότη, αλλά το μήκος του τελομερικού DNA.



ΕΙΚΟΝΑ 7.3 Το πρόβλημα της αντιγραφής των άκρων του τελομερικού DNA στα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα. **A.** Το πρόβλημα: Ένα από τα θυγατρικά χρωμοσώματα δεν αντιγράφεται πλήρως, επειδή η αντιγραφή του DNA προχωρά μόνο με κατεύθυνση 5'→3', και η αντιγραφή της υπολειπόμενης αλυσίδας ολοκληρώνεται στη θέση του τελευταίου RNA εκκινήτη. **B.** Η λύση: Η τελομεράση επιμηκύνει το προεξέχον 3' άκρο του ατελώς αντιγραφμένου τελομεριδίου. Ακολουθεί η σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας, η οποία συνήθως συντελείται μέσω του κανονικού μηχανισμού αντιγραφής του DNA. **Γ.** Ο υποθετικός μηχανισμός επιμήκυνσης των τελομεριδίων από την τελομεράση.

Οι ινοβλάστες με μακριά τελομερίδια ζουν πολύ, ενώ εκείνοι με βραχέα πεθαίνουν γρήγορα. Τα καρκινικά κύτταρα εκφράζουν τελομεράση και είναι αθάνατα. Επομένως, η

βραδεία βράχυνση των τελομεριδίων με την πρόοδο της ηλικίας μπορεί να μας προστατεύει σε κάποιον βαθμό από τον καρκίνο. Προκειμένου ένα σωματικό κύτταρο

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.2: Βραχεία Τελομερίδια

Ασυνήθιστα βραχεία τελομερίδια μπορεί να προκύψουν από μεταλλάξεις του γονιδίου της τελομεράσης, οποιουδήποτε από τα έξι γονίδια των υποομάδων της σελτερίνης ή οποιουδήποτε από πέντε τουλάχιστον άλλα γονίδια, τα πρωτεϊνικά προϊόντα των οποίων είναι απαραίτητα για τη διατήρηση των τελομεριδίων. Σε πολλές περιπτώσεις, μία μόνο μετάλλαξη αρκεί για να προκληθεί κλινικά σημαντική βράχυνση των τελομεριδίων στους ετεροζυγώτες.

Τα βραχεία τελομερίδια σχετίζονται με ένα ευρύ φάσμα νόσων, κοινός παρονομαστής των οποίων είναι η δυσλειτουργία των βλαστοκυττάρων. Οι πιο σοβαρές από αυτές τις μεταλλάξεις εκδηλώνονται κλινικά στα αρχικά στάδια της ζωής, με συχνότερη κλινική εκδήλωση τη δυσλειτουργία του μυελού των οστών. Άλλες πιθανές κλινικές εκδηλώσεις είναι οι δερματοπάθειες, η ατροφία των εντερικών λαχνών, η ανοσοανεπάρκεια και η υπογονιμότητα.

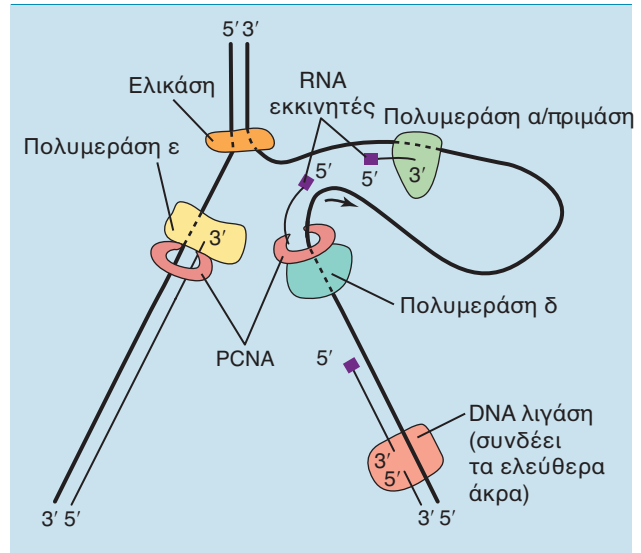
Η νόσος όψιμης έναρξης προσβάλλει ιστούς με βραδύτερη ανανέωση των βλαστοκυττάρων, με συχνότερη κλινική εκδήλωση την πνευμονική ίνωση. Το 1/3 περίπου των περιστατικών οικογενούς πνευμονικής ίνωσης αποδίδονται σε μεταλλάξεις που προκαλούν βράχυνση των τελομεριδίων.

να υποστεί κακοήγη εξαλλαγή, δεν αρκεί να ξεφύγει από τους μηχανισμούς ελέγχου που κανονικά περιορίζουν την ανάπτυξή του. Πρέπει να βρει έναν τρόπο να άρει την καταστολή της τελομεράσης του –πρόκειται λοιπόν για μία ακόμα μετάλλαξη που πρέπει να συμβεί για να καταστεί ένα κύτταρο κακοήθες.

Σύμφωνα με κλινικές παρατηρήσεις, στα γενετικά σύνδρομα που οδηγούν σε βραχύτερα τελομερίδια οι ασθενείς εμφανίζουν δυσλειτουργία των βλαστοκυττάρων, η οποία καταλήγει σε οργανική ανεπάρκεια (βλέπε **Κλινικό Παράδειγμα 7.2**). Αντίθετα, υπερδραστική τελομεράση και ασυνήθιστα μακριά τελομερίδια έχουν παρατηρηθεί σε κάποιους ασθενείς με γλοϊώμα ή μελάνωμα.

ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ ΤΟΥ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥ DNA ΧΡΕΙΑΖΟΝΤΑΙ ΤΡΙΕΣ DNA ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΕΣ

Η αντιγραφή του ευκαρυωτικού DNA μοιάζει σε γενικές γραμμές με εκείνη της *E. coli*, αλλά οι λεπτομέρειες διαφέρουν. Για παράδειγμα, οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν πολύ περισσότερες DNA πολυμεράσες. Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί τουλάχιστον 14 DNA-εξαρτώμενες DNA πολυμεράσες. Τουλάχιστον οι τρεις από αυτές συμμετέχουν γενικά στην αντιγραφή του DNA. Οι υπόλοιπες ασχολούνται με την επιδιόρθωση του DNA ή την αντιγραφή του DNA σε περιοχές που φέρουν βλάβες.



ΕΙΚΟΝΑ 7.4 Ευκαρυωτική δικάλα αντιγραφής. Οι δύο κύριες DNA πολυμεράσες, δ και ε, συγκροτούνται πάνω στο εκμαγείο μέσω του ολισθαίνοντος συνδετήρα που ονομάζεται πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων (PCNA) και αποτελεί το ευκαρυωτικό ισοδύναμο του β-συνδετήρα των βακτηρίων. Το DNA εκμαγείο της υπολειπόμενης αλυσίδας αναδιπλώνεται διαμέσου της πολυμεράσης δ και του PCNA (βέλος) για να σχηματιστεί ο βρόχος της δεξιάς πλευράς.

Η σύνθεση της υπολειπόμενης αλυσίδας ξεκινά με μια **πριμάση (εκκινήτση)** που ενώνεται με τη **DNA πολυμεράση α**. Το σύνθετο αυτό ένζυμο συνθέτει 10 περίπου νουκλεοτίδια του RNA εκκινήτη και στη συνέχεια 20 περίπου νουκλεοτίδια του DNA, πριν παραχωρήσει το προϊόν της στην **DNA πολυμεράση δ**. Όπως το βακτηριακό ανάλογό του (πολυμεράση III), έτσι και η πολυμεράση δ οφείλει τον υψηλό ρυθμό επεξεργασιμότητάς της στη σχέση της με μια πρωτεΐνη-συνδετήρα που τη συγκρατεί επί του εκμαγείου DNA (**Εικόνα 7.4**). Αυτή η ευκαρυωτική πρωτεΐνη-συνδετήρας ονομάζεται **πυρηνικό αντιγόνο πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)**.

Τα ευκαρυωτικά τμήματα Okazaki έχουν μήκος μόνο 100-200 νουκλεοτίδια. Όταν η πολυμεράση δ συναντήσει τον RNA εκκινήτη του προηγούμενου τμήματος Okazaki, ο RNA εκκινήτης εκτοπίζεται από το DNA και απομακρύνεται μέσω νουκλεασών. Το μεγαλύτερο μέρος του RNA αποικοδομείται από την **RNAase H** και το τελευταίο νουκλεοτίδιο από την flap ενδονουκλεάση **FEN1**. Η πολυμεράση α δεν διαθέτει τη δραστηριότητα επιδιορθωτικής ανάγνωσης που διαθέτει η 3'-εξωνουκλεάση (**Πίνακας 7.3**) και τα λάθη της επιδιορθώνονται κατά πάσα πιθανότητα από την πολυμεράση δ.

Η προπορευόμενη αλυσίδα συντίθεται από τη **DNA πολυμεράση ε**, αν και η πολυμεράση δ μπορεί επίσης να συνθέσει την προπορευόμενη αλυσίδα και φαίνεται ότι το κάνει σε κάποιες περιπτώσεις.

Πίνακας 7.3 Ιδιότητες των Ευκαρυωτικών DNA Πολυμερασών

Πολυμεράση	Εντόπιση	Μοριακό Βάρος	Δραστικότητα 3'-Εξωνουκλεάσης	Δραστικότητα Πριμάσης	Επεξεργασιμότητα	Λειτουργία
α	Πυρήνας	335.000*	–	+	Χαμηλή	Ξεκινάει την αντιγραφή DNA
β	Πυρήνας	170.000†	+	–	Υψηλή	Αντιγραφή υπολειπόμενης αλυσίδας, επιδιόρθωση DNA
γ	Πυρήνας	256.000‡	+	–	Υψηλή	Αντιγραφή προπορευόμενης αλυσίδας, επιδιόρθωση DNA
δ	Πυρήνας	37.000	–	–	Υψηλή	Επιδιόρθωση DNA
	Μιτοχόνδρια	160.000-300.000§	+	–	Υψηλή	Αντιγραφή και επιδιόρθωση μιτοχονδριακού DNA

* Με καταλυτική υπομονάδα που έχει MB 165.000 Da.

† Με καταλυτικό πυρήνα που έχει MB 125.000 Da.

‡ Με καταλυτικό πυρήνα που έχει MB 215.000 Da.

§ Με καταλυτική υπομονάδα που έχει MB 125.000 Da.

ΤΟ ΜΕΓΑΛΥΤΕΡΟ ΜΕΡΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ DNA ΔΕΝ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΕΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Μόλις το 1,3% του ανθρώπινου γονιδιώματος κωδικοποιεί πρωτεΐνες. Ένα πολύ μεγαλύτερο μέρος εμπλέκεται στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης δεσμεύοντας ρυθμιστικές μεταγραφικές πρωτεΐνες, παρέχοντας διαχωριστές (spacers) μεταξύ των γονιδίων και κωδικοποιώντας λειτουργικά μόρια RNA που ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.

Τα γονίδια διαχωρίζονται από μεγάλες περιοχές μη κωδικοποιούντος (noncoding) DNA, περιλαμβανομένων περιοχών που στερούνται εντελώς γονιδίων και η έκτασή τους ξεπερνά το 1 εκατομμύριο ζεύγη βάσεων. Τμήματα μη κωδικοποιούντος DNA βρίσκονται ακόμα και εντός των γονιδίων. Κάθε ανθρώπινο γονίδιο είναι ένα «μωσαϊκό» από **εξόνια (exon)** - τα μεταγραφικά προϊόντα των οποίων μετατρέπονται σε ώριμο mRNA - και **ιντρόνια (introns)**. Τα ιντρόνια μεταγράφονται μαζί με τα εξόνια, αλλά αποκόπτονται από το μετάγραφο RNA προτού το mRNA εγκαταλείψει τον πυρήνα.

Κάθε ανθρώπινο γονίδιο έχει 1 έως 178 εξόνια, με μέσον όρο τα 8,8 εξόνια και 7,8 ιντρόνια. Μόνο το 3% των γονιδίων δεν έχουν ιντρόνια. Το μέσο εξόνιο έχει μήκος περίπου

145 ζεύγη βάσεων και κωδικοποιεί 48 αμινοξέα, ενώ το μέσο πολυπεπτίδιο έχει μήκος 440 αμινοξέα. Τα ιντρόνια έχουν γενικά πολύ μεγαλύτερο μήκος από τα εξόνια. Πάνω από το 90% του DNA των γονιδίων ανήκει σε ιντρόνια.

Δεν γνωρίζουμε γιατί τα ανθρώπινα γονίδια έχουν ιντρόνια, ούτε γιατί αυτά είναι τόσο πολλά και τόσο μεγάλα σε μήκος. Μερικές αλληλουχίες ιντρονίων συμβάλλουν στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης δεσμεύοντας ρυθμιστικές πρωτεΐνες, αλλά οι περισσότερες φαίνεται ότι είναι μη λειτουργικό **«σκουπιδο-DNA» (junk DNA)**.

Εντούτοις, η δομή τύπου ιντρονίου-εξόνιο των ανθρώπινων γονιδίων είναι σημαντική για την εξέλιξη. *Διαφορετικές δομικές και λειτουργικές επικράτειες (domains) ενός πολυπεπτιδίου κωδικοποιούνται συχνά από ξεχωριστά εξόνια.* Για παράδειγμα, οι αλυσίδες των ανοσοσφαιρινών αποτελούνται από αρκετές σφαιρικές επικράτειες με παρόμοια αμινοξική αλληλουχία και τριτοταγή δομή, όμως η κάθε περιοχή κωδικοποιείται από το δικό της εξόνιο (βλέπε Κεφάλαιο 17). Τα γονίδια των ανοσοσφαιρινών προέρχονται κατά πάσα πιθανότητα από ένα γονίδιο με ένα εξόνιο και προέκυψαν από τον επαναλαμβανόμενο **διπλασιασμό εξονίων**.

Άλλες φορές, εξόνια από διαφορετικά γονίδια έχουν συνδυαστεί για να σχηματιστεί ένα νέο λειτουργικό γονίδιο. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται **αναδιάταξη (shuffling)**.

Τα εξόνια αποτελούν τις δομικές μονάδες από τις οποίες έχει συναρμολογηθεί ο τεράστιος πληθυσμός των ευκαρυωτικών γονιδίων στην πορεία της εξέλιξης.

Η **Εικόνα 7.5** παρουσιάζει μια γενική θεώρηση της σύστασης του ανθρώπινου γονιδιώματος. Ένας σχολιαστής έγραψε κάποτε για το ανθρώπινο γονιδίωμα: «Κατά κάποιον τρόπο μπορεί να μοιάζει με το γκαράζ, την κρεβατοκάμαρα, το ψυγείο ή τη ζωή μας: είναι πολύ εξατομικευμένο, αλλά απεριποίητο, χωρίς κάποια εμφανή οργάνωση, με πολλά συσσωρευμένα αντικείμενα (που κάποιος αδαής μπορεί να χαρακτηρίζει και ως «σκουπίδια») και λιγοστά εμφανώς χρήσιμα αντικείμενα, αδιακρίτως διασκορπισμένα παντού και με φαινομενικά απρόσεκτο τρόπο».

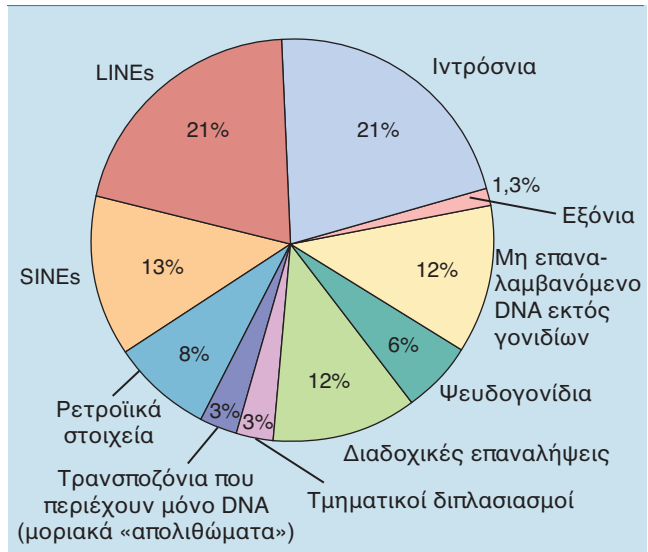
ΟΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΠΡΟΕΡΧΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΔΙΠΛΑΣΙΑΣΜΟ ΓΟΝΙΔΙΩΝ

Τα περισσότερα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες απαντώνται σε ένα μόνο αντίγραφο στο απλοειδές γονιδίωμα, αλλά μερικά γονίδια, κυρίως όταν κωδικοποιούν RNA ή πρωτεΐνες που το κύτταρο χρειάζεται σε μεγάλες ποσότητες, απαντώνται σε πολλαπλά αντίγραφα. Τέτοια είναι τα γονίδια για τα μείζονα ριβοσωμικά RNA (≈ 200 αντίγραφα), τα 5S RNA (≈ 2000 αντίγραφα), τις ιστόνες (≈ 20 αντίγραφα) και τα περισσότερα tRNA. Τις περισσότερες φορές, τα πανομοιότυπα ή σχεδόν πανομοιότυπα αντίγραφα του γονιδίου διατάσσονται διαδοχικά εν σειρά, για ένα μεγάλο μήκος του DNA, ενώ ανάμεσα τους παρεμβάλλονται μη μεταγραφόμενοι διαχωριστές.

Οι **οικογένειες γονιδίων** αποτελούνται από δύο ή περισσότερα παρόμοια γονίδια που, τις περισσότερες φορές, βρίσκονται σε κοντινές περιοχές ενός χρωμοσώματος. Εξελικτικά, προέκυψαν από επαναλαμβανόμενους διπλασιασμούς γονιδίων, κυρίως κατά τον **επιχιασμό** στην πρόφαση της μείωσης I, όταν τα ομόλογα χρωμοσώματα διατάσσονται παράλληλα και ανταλλάσσουν DNA μέσω ομόλογου ανασυνδυασμού.

Ο φυσιολογικός επιχιασμός είναι μια αυστηρώς αμοιβαία διεργασία, στην οποία το χρωμόσωμα ούτε κερδίζει ούτε χάνει γονίδια. Εντούτοις, επί λανθασμένης σύζευξης των χρωμοσωμάτων κατά τον επιχιασμό, στο ένα χρωμόσωμα συντελείται μια **απαλοιφή** και στο άλλο ένας **διπλασιασμός** (**Εικόνα 7.6**). Μέσα από νέες μεταλλάξεις, ένα διπλασιασμένο γονίδιο μπορεί να αποκτήσει νέες βιολογικές δράσεις και λειτουργίες.

Σε πολλές περιπτώσεις, εντούτοις, σε κάποιο από τα προϊόντα του διπλασιασμού συντελείται μια μετάλλαξη που οδηγεί σε απώλεια λειτουργικότητας και αποτρέπει τη μεταγραφή και μετάφρασή του. Τότε παράγεται ένα **ψευδογονίδιο**. Τα ψευδογονίδια εξακολουθούν να έχουν την ίδια δομή τύπου ιντρόνιο-εξόνιο του λειτουργικού γονιδίου από το οποίο προήλθαν και εντοπίζονται κοντά στο λειτουργικό τους ανάλογο στο χρωμόσωμα.



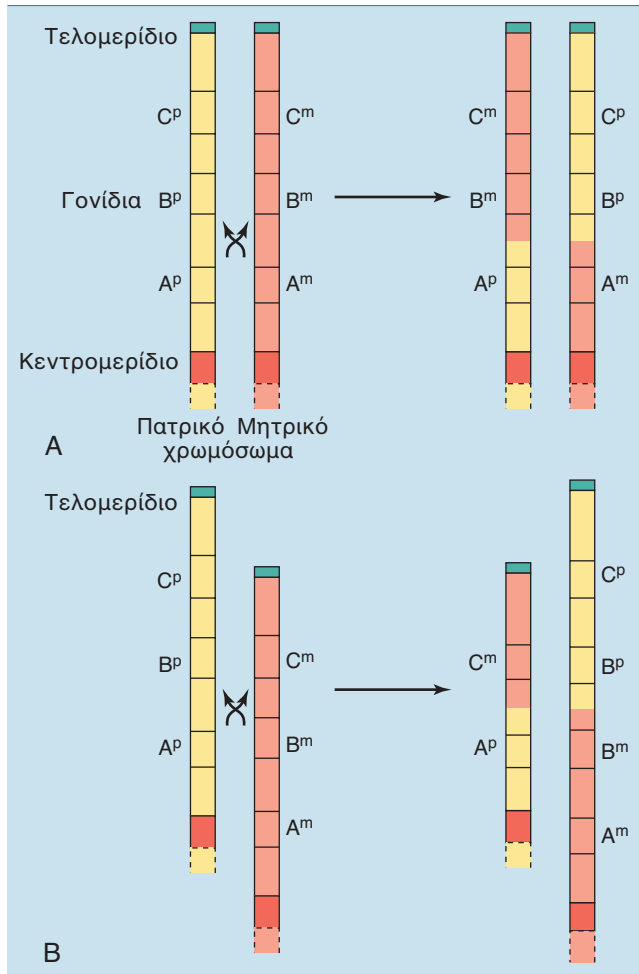
ΕΙΚΟΝΑ 7.5 Σύσταση του ανθρώπινου γονιδιώματος (κατά προσέγγιση). LINEs = μακριές διάσπαρτες αλληλουχίες. SINEs = βραχείες διάσπαρτες αλληλουχίες.

ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΠΕΡΙΕΧΕΙ ΠΟΛΛΕΣ ΔΙΑΔΟΧΙΚΕΣ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΙΣ

Οι **διαδοχικές επαναλήψεις (tandem repeats)**, γνωστές και ως **DNA απλής αλληλουχίας (simple sequence DNA)**, αποτελούνται από μια βραχεία αλληλουχία DNA με μήκος που κυμαίνεται από δύο έως λίγες δεκάδες ζεύγη βάσεων, η οποία επαναλαμβάνεται πολλάκις εν σειρά. Ένα παράδειγμα αποτελεί η τελομερική αλληλουχία TTAGGG. Τα κεντρομερίδια αποτελούνται από διαδοχικές επαναλήψεις με μονάδες επανάληψης της τάξης των 200 ζευγών βάσης έκαστη, οι οποίες εκτείνονται συνολικά σε μήκος που ξεπερνά το ένα εκατομμύριο ζεύγη βάσεων.

Οι **μικροδορυφόροι (microsatellites)** είναι διάσπαρτες διαδοχικές επαναλήψεις έξω από τα κεντρομερίδια και τα τελομερίδια. Κάθε μονάδα επανάληψης αποτελείται από 2 έως 5 βάσεις και το συνολικό μήκος του μικροδορυφόρου κυμαίνεται από λιγότερες από 100 έως λίγες εκατοντάδες ζεύγη βάσεων. Η ίδια επανάληψη μπορεί να ανευρίσκεται αρκετές φορές σε διάφορα μέρη του γονιδιώματος. Οι **μινιδορυφόροι (minisatellites)** έχουν μεγαλύτερες μονάδες επανάληψης που φτάνουν μέχρι τα 35 ζεύγη βάσεων έκαστη, και συνολικό μήκος από 1.000 έως 15.000 ζεύγη βάσεων.

Το μήκος των διαδοχικών επαναλήψεων μπορεί να μεταβληθεί μέσω συχνών μεταλλάξεων. Επειδή οι περισσότερες διαδοχικές επαναλήψεις δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες και δεν επιτελούν καμία βιολογική λειτουργία, οι επακόλουθες αποκλίσεις του μήκους δεν είναι επιζήμιες και δεν εξαλείφονται μέσω φυσικής επιλογής. Έτσι ενσωματώνονται στη φυσιολογική γενετική ετερογένεια και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ταυτοποίηση του **γενετικού αποτυπώματος** με βάση το DNA (DNA fingerprinting) και στον έλεγχο πατρότητας. Σπάνια μπορεί όντως να προκληθεί



ΕΙΚΟΝΑ 7.6 Διπλασιασμός γονιδίων μέσω επιχiasμού μεταξύ λανθασμένα συζευγμένων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση. **A.** Φυσιολογικός μειωτικός ανασυνδυασμός. Αυτό αποτελεί παράδειγμα ομόλογου ανασυνδυασμού, που απαιτεί παρόμοια ή ταυτόσημη αλληλουχία βάσεων. Δημιουργεί νέους συνδυασμούς μεταξύ των γονιδίων πατρικής και μητρικής προέλευσης. **B.** Ανασυνδυασμός μεταξύ λανθασμένα συζευγμένων χρωμοσωμάτων. Στο ένα χρωμόσωμα συντελείται μια απαλοιφή (deletion) και στο άλλο ένας διπλασιασμός. Οι επαναλαμβανόμενοι διπλασιασμοί γονιδίων που ακολουθούνται από αποκλίνουσα εξέλιξη των διπλασιασμένων γονιδίων δημιουργούν οικογένειες γονιδίων.

νόσος, όταν μια τρινουκλεοτιδική επανάληψη εντός της κωδικοποιούσας ή ρυθμιστικής αλληλουχίας ενός γονιδίου επιμηκυνθεί πέρα από κάποιο συγκεκριμένο όριο (Πίνακας 7.4).

ΚΑΠΟΙΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ DNA ΕΙΝΑΙ ΑΝΤΙΓΡΑΦΑ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΩΝ RNA

Ως εκφυλισμένοι απόγονοι των διπλασιασμένων γονιδίων, τα ψευδογονίδια εξακολουθούν να έχουν τη δομή τύπου

Κλινικό Παράδειγμα 7.3: Νόσος Huntington

Αν και οι περισσότεροι μικροδορυφόροι εδράζονται στο «σκουπίδο-DNA» κάποιοι απαντώνται στις ρυθμιστικές ή κωδικοποιούσες αλληλουχίες των γονιδίων. Η **νόσος Huntington** οφείλεται σε επιμήκυνση της τρινουκλεοτιδικής επανάληψης CAG στην κωδικοποιούσα αλληλουχία ενός γονιδίου που εκφράζεται στον εγκέφαλο. Στο φυσιολογικό γονίδιο, η CAG επαναλαμβάνεται 6 έως 34 φορές, κωδικοποιώντας μια αλυσίδα πολυγλουταμίνης στην πρωτεΐνη χαντινγκτίνη (*huntingtin*).

Όταν η επανάληψη της αλληλουχίας CAG ξεπεράσει τα 36 αντίγραφα, οδηγεί στη σύνθεση μιας χαντινγκτίνης που στο αμινοτελικό της άκρο περιέχει μια μακριά αλυσίδα καταλοίπων γλουταμίνης. Η χαντινγκτίνη αυτή σχηματίζει παθολογικά σύμπλοκα με άλλες πρωτεΐνες, τα οποία καταστρέφουν τα νευρικά κύτταρα των βασικών γαγγλίων και του εγκεφαλικού φλοιού, οδηγώντας σε μια νόσο που εισβάλλει κατά την ενήλικη ζωή με διαταραχές προσωπικότητας, κινητικά προβλήματα και προοδευτική άνοια.

Όσο μεγαλύτερη η τρινουκλεοτιδική επιμήκυνση τόσο πρωιμότερη η εισβολή της νόσου. Επειδή οι τρινουκλεοτιδικές επαναλήψεις τείνουν να επιμηκύνονται περαιτέρω κατά τη μεταβίβαση από τον πατέρα στο παιδί, η **σοβαρότητα της νόσου τείνει να επιδεινώνεται στις κατοπινές γενιές**. Αυτό ονομάζεται **επίσπευση (anticipation)**.

ιντρονίου-εξονίου του λειτουργικού γονιδίου από το οποίο προήλθαν. Τα **επεξεργασμένα ψευδογονίδια (processed pseudogenes)** είναι ένα διαφορετικό είδος γονιδιακού παραγώγου. Αποτελούνται μόνο από αλληλουχίες εξονίων, με μια αλυσίδα *ολιγο(A)* μήκους 10-50 νουκλεοτιδίων στο 3' άκρο τους. Η δομή αυτή πλαισιώνεται από ευθείες (ομόρροπες) επαναλήψεις (direct repeats) των 9 έως 14 ζευγών βάσεων (Εικόνα 7.7).

Τα επεξεργασμένα ψευδογονίδια προκύπτουν στην πορεία της εξέλιξης μέσω αντίστροφης μεταγραφής ενός κυτταρικού mRNA. Το ένζυμο-κλειδί σε αυτή τη διεργασία είναι η **αντίστροφη μεταγραφάση**, που μεταγράφει το RNA σε ένα συμπληρωματικό DNA (complementary DNA, cDNA). Αυτό το cDNA ενσωματώνεται στο γονιδίωμα μέσω ενός ενζύμου, της **ιντεγκράσης (integrase)**. Τα ένζυμα με δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης και ιντεγκράσης κωδικοποιούνται από ρετροτρανσποζόνια (ρετρομεταθετά στοιχεία) στο ανθρώπινο γονιδίωμα, αλλά μπορούν να εισαχθούν στον ανθρώπινο οργανισμό και μέσω λοιμογόνων ρετροϊών (βλέπε Κεφάλαιο 10).

Επειδή η ενσωμάτωση μπορεί να συντελεστεί σε οποιοδήποτε σημείο του γονιδιώματος, τα επεξεργασμένα ψευδογονίδια δεν εδράζονται κοντά στα λειτουργικά τους ανάλογα. Οι ευθείες επαναλήψεις που πλαισιώνουν τα επεξεργασμένα ψευδογονίδια αποτελούν διπλασιασμούς θέσεων-στόχων που προκύπτουν όταν η ιντεγκράση ενσωματώσει το cDNA στο χρωμόσωμα. Έχοντας απολέσει τους υποκινητές τους κατά την ρετρομετάθεσή τους, τα επεξεργασμένα ψευδογο-

Πίνακας 7.4 Νόσοι που Οφείλονται σε Επιμήκυνση μιας Τρινουκλεοτιδικής Επαναλαμβανόμενης Αλληλουχίας σε ένα Γονίδιο

Νόσος	Τύπος Νόσου	Κληρονομικότητα ¹	Πολλαπλασιαζόμενη Αλληλουχία ²	Αριθμός Επαναλήψεων		
				Φυσιολογικά	Επί Νόσου	Εντόπιση σε Γονίδιο
Νόσος Huntington	Νευροεκφύλιση	ΑΕ	CAG	6-34	36-120	Κωδικοποιούσα αλληλουχία (Gln)
Μυοτονική δυστροφία	Μυϊκή ατροφία, καρδιακές αρρυθμίες	ΑΕ	CTG	5-37	100-5000	3'– Μη μεταφραζόμενη περιοχή
Εύθραυστο Χ	Νοητική υστέρηση	ΦΥ	CGG	6-52	200-3000	5'– Μη μεταφραζόμενη περιοχή
Αταξία Friedreich	Απώλεια μυϊκού συντονισμού	ΑΥ	GAA	7-22	200-1000	Ιντρόνιο

ΑΕ = αυτοσωμική επικρατής, ΑΥ = αυτοσωμική υπολειπόμενη, ΦΥ = φυλοσύνδετη υπολειπόμενη.

A = αδενίνη, C = κυτοσίνη, G = γουανίνη, T = θυμίνη. Gln = γλουταμίνη.

νίδια σπάνια μεταγράφονται. Μια μελέτη του ανθρώπινου γονιδιώματος ανακάλυψε μόνο 25 περιπτώσεις στις οποίες ένα επεξεργασμένο ψευδογονίδιο έχει αντικαταστήσει λειτουργικά το γονίδιο από το οποίο προήλθε.

ΠΟΛΛΕΣ ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ DNA ΕΙΝΑΙ (Η ΗΤΑΝ) ΚΙΝΗΤΕΣ

Το 45% περίπου του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες με μήκος από μερικές εκατοντάδες έως αρκετές χιλιάδες ζεύγη βάσεων. Δεν είναι ευθυγραμμισμένες εν σειρά, αλλά είναι διασκορπισμένες σε ολόκληρο το γονιδίωμα ως **διάσπαρτα (interspersed) στοιχεία (Πίνακας 7.5)**. Τα στοιχεία αυτά είναι επαναλαμβανόμενα επειδή διαθέτουν την ικανότητα να ενσωματώνουν αντίγραφα του εαυτού τους σε νέες γονιδιωματικές θέσεις. Μπορούν έτσι να θεωρηθούν σαν «μοριακά παράσιτα» που μολύνουν το ανθρώπινο γονιδίωμα.

Τα **DNA τρανσποζόνια (μεταθετά στοιχεία, transposons)** περιέχουν ένα γονίδιο για το ένζυμο τρανσποζάση, που πλαισιώνεται από ανεστραμμένες επαναλήψεις. Η τρανσποζάση καταλύει τον διπλασιασμό του τρανσποζονίου και την ενσωμάτωσή του αντιγράφου σε μια νέα γονιδιωματική θέση (βλέπε Κεφάλαιο 10). Τα DNA τρανσποζόνια ήταν ενεργά στο γονιδίωμα των πρώτων πρωτευόντων θηλαστικών, αλλά στον άνθρωπο υπέστησαν μετάλλαξη που τα κατέστησε μη λειτουργικά πριν από 30 περίπου εκατομμύρια χρόνια. Σήμερα, μπορούμε να τα εξετάσουμε μόνο ως μοριακά απολιθώματα (molecular fossils).

Η συντριπτική πλειονότητα των ανθρώπινων κινητών στοιχείων είναι **ρετροτρανσποζόνια (retrotransposons)**. Αρχικά μεταγράφονται σε RNA, στη συνέχεια το RNA αντιγράφεται σε cDNA μέσω της αντίστροφης μεταγραφάσης και, τέλος, το cDNA ενσωματώνεται στο γονιδίωμα.

Τα **ρετροϊκά ρετροτρανσποζόνια** κατάγονται από λοιμογόνους ρετροϊούς. Αυτός ο τύπος ιών μετατρέπει το γονιδίωμά του από RNA σε cDNA και εν συνεχεία το ενσωματώνει στο γονιδίωμα του ξενιστή του (βλέπε Κεφάλαιο 10). Τα ρετροϊκά στοιχεία αποτελούν ενσωματωμένους ρετροϊούς που δεν είναι πλέον λοιμογόνοι επειδή έχασαν την ικανότητα να παράγουν τις λειτουργικές πρωτεΐνες του ιικού σωματιδίου τους. Εντούτοις, πολλαπλασιάστηκαν εντός του γονιδιώματος, γιατί διατήρησαν -τουλάχιστον για κάποιο διάστημα- την ικανότητα να μετακινούνται σε νέες γονιδιωματικές θέσεις με τη βοήθεια της αντίστροφης μεταγραφάσης και της ιντεγκράσης τους. Όπως οι ρετροϊκοί τους πρόγονοι, έτσι και τα ρετροϊκά ρετροτρανσποζόνια πλαισιώνονται από μακριές τελικές (τερματικές) επαναλήψεις (long terminal repeats, LTRs) και για αυτό ονομάζονται επίσης **LTR ρετροτρανσποζόνια**.

Σχεδόν όλα τα ρετροϊκά στοιχεία έχουν απολέσει την ικανότητα της ρετρομετάθεσης. Μόνο μία οικογένεια τέτοιων στοιχείων εξακολουθεί να παραμένει ενεργός στο ανθρώπινο γονιδίωμα τα τελευταία 7 εκατομμύρια χρόνια, τότε που οι πρόγονοι των ανθρώπων διαφοροποιήθηκαν εξελκτικά από τους προγόνους των χιμπατζήδων. Τα περισσότερα ρετροϊκά ρετροτρανσποζόνια αποτελούν «νεκρά κουφάρια» ρετροϊών, που έχουν αφεθεί να «σαπίζουν» θαμμένα στο γονιδίωμα.

Πίνακας 7.5 Κινητά Στοιχεία στο Ανθρώπινο Γονιδίωμα

Κατηγορία	Μήκος	Αριθμός στο Γονιδίωμα	Κωδικοποιούμενες Πρωτεΐνες	Τρόπος Μετακίνησης	Τρέχουσα Δραστηριότητα
Τρανσποζόνια που περιέχουν μόνο DNA	Ποικίλλει, κατά μέσον όρο 220 bp	400.000	Τρανσποζάση (μη λειτουργική)	Απευθείας μετακίνηση	Αποτελούν μόνο απολιθώματα
Ρετροτρανσποζόνια που μοιάζουν με ρετροϊούς	Έως 10.000 bp, κατά μέσον όρο 350 bp	700.000	Αντίστροφη μεταγραφάση (συνήθως μη λειτουργική)	Ρετρομετάθεση	Λίγα παραμένουν ενεργά
Στοιχεία LINE-1	Έως 6000 bp, τα περισσότερα είναι κολοβωμένα	900.000	Αντίστροφη μεταγραφάση, πρωτεΐνη που δεσμεύεται στο RNA	Ρετρομετάθεση	Παραμένουν ενεργά
Αλληλουχίες Alu	Έως 300 bp, πολλές είναι κολοβωμένες	1.300.000	Καμία	Ρετρομετάθεση	Παραμένουν ενεργά

bp = ζεύγη βάσεων, DNA = δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, LINE = μακριά διάσπαρτη αλληλουχία, RNA = ριβονουκλεϊκό οξύ.

ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ L1 ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝ ΜΙΑ ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑΣΗ

Τα μη ρετροϊικά ρετροτρανσποζόνια διακρίνονται σε δύο είδη. Οι πλήρως λειτουργικές **μακριές διάσπαρτες αλληλουχίες (long interspersed elements, LINEs)** κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες αντίστροφη μεταγραφάση και ιντεγκράση που είναι απαραίτητες για τη δική τους ρετρομετάθεση, ενώ οι **βραχείες διάσπαρτες αλληλουχίες (short interspersed elements, SINEs)** δεν διαθέτουν αυτή την ιδιότητα.

Τα **στοιχεία L1 (L1 elements)** είναι οι πλέον άφθονες LINEs. Ένα στοιχείο L1 πλήρους μήκους αποτελείται από σχεδόν 6.000 ζεύγη βάσεων και καταλήγει σε μια αλυσίδα πολυ(Α). Πλαισιώνεται από βραχείες ευθείες επαναλήψεις που δημιουργήθηκαν κατά τη ρετρομετάθεση. Το ανθρώπινο γονιδίωμα φιλοξενεί περίπου 900.000 στοιχεία L1, αλλά μόνο τα 5.000 από αυτά είναι πλήρους μήκους. Τα υπόλοιπα είναι εντόνως κολοβωμένα στο 5' άκρο τους. Η κολόβωση (truncation) είναι συνηθισμένο «ατύχημα» κατά τη ρετρομετάθεση. Τα διάφορα στοιχεία L1 του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι πανομοιότυπα στο 95% περίπου των βάσεων τους.

Τα **στοιχεία L1 πλήρους μήκους περιέχουν δύο γονίδια**, αλλά αυτά είναι ανέπαφα μόνο στα 60-100 από τα 5.000 στοιχεία L1 πλήρους μήκους. Το ένα από αυτά τα γονίδια κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη αδιευκρίνιστης λειτουργίας που προσδένεται στο RNA, ενώ το δεύτερο μια πρωτεΐνη με δραστηκότητες αντίστροφης μεταγραφάσης, νουκλεάσης και ιντεγκράσης.

Το στοιχείο μεταγράφεται από την κυτταρική RNA πολυμεράση II μέσω ενός ασυνήθιστου υποκινητή, η αλληλουχία του οποίου ενσωματώνεται στην 5'-μη μεταφραζόμενη περιοχή του L1 αγγελιοφόρου RNA. Η αντίστροφη

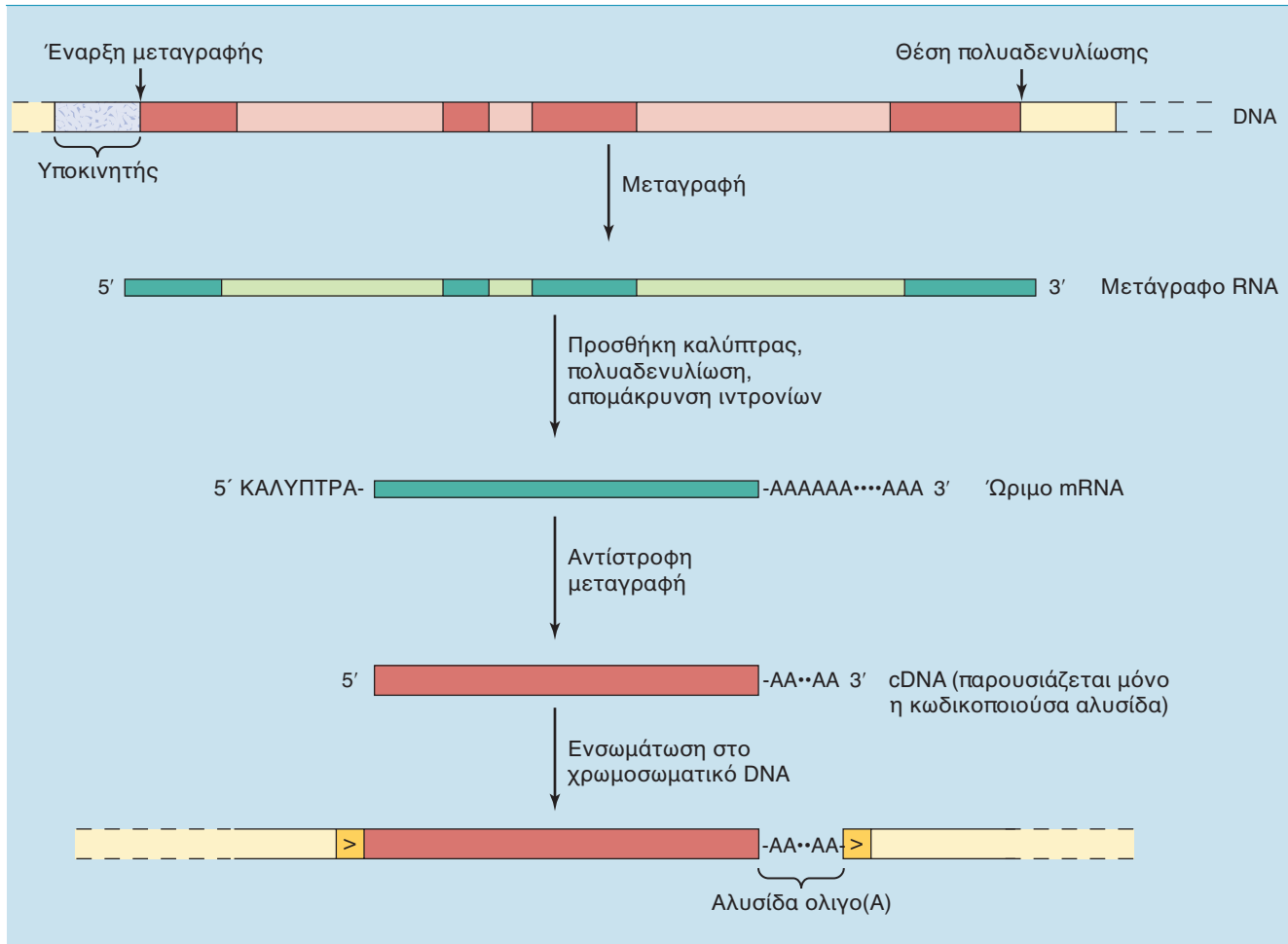
μεταγραφή και η ενσωμάτωση μάλλον συμβαίνουν ταυτόχρονα και καταλύονται από την ίδια πρωτεΐνη που κωδικοποιείται από το L1 στοιχείο (**Εικόνα 7.8**). Οι βραχείες ευθείες επαναλήψεις που πλαισιώνουν το στοιχείο αποτελούν διπλασιασμούς θέσης-στόχου οι οποίοι προκύπτουν κατά τη ρετρομετάθεση, επειδή η L1 ενδονουκλεάση κόβει το DNA-στόχο σε συμμετρικά έκκεντρα σημεία (staggered cuts), δημιουργώντας προέχοντα άκρα μονής αλυσίδα.

Η L1 αντίστροφη μεταγραφάση δρα κατά προτίμηση στο μετάγραφο του στοιχείου L1. Εντούτοις, μερικές φορές οδηγεί στον σχηματισμό ενός επεξεργασμένου ψευδογονιδίου μέσω αντίστροφης μεταγραφής και ενσωμάτωσης ενός κυτταρικού mRNA (βλέπε **Εικόνα 7.7**).

ΟΙ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ ALU ΕΞΑΠΛΩΝΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΤΗΣ L1 ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΑΣΗΣ

Οι **αλληλουχίες Alu**, με 1,3 εκατομμύρια αντίγραφα στο απλοειδές γονιδίωμα, αποτελούν την πολυπληθέστερη υποοικογένεια των SINEs. Μια αλληλουχία Alu πλήρους μήκους αποτελείται από 282 ζεύγη βάσεων, περιέχει μια πλούσια σε αδενίνη αλυσίδα των 7-50 ζευγών βάσεων στο 3' άκρο της και πλαισιώνεται από ευθείες επαναλήψεις των 7-21 ζευγών βάσεων.

Οι αλληλουχίες Alu από διάφορα μέρη του γονιδιώματος διαφέρουν κατά μέσον όρο στο 20% περίπου των βάσεων τους. Κάποιες αλληλουχίες Alu μπορούν να μεταγραφούν σε RNA από την RNA πολυμεράση III, αλλά δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Εντούτοις, *το μετάγραφο RNA της αλληλουχίας Alu μπορεί να υποστεί αντίστροφη μεταγραφή και στη συνέχεια να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα από την αντί-*



ΕΙΚΟΝΑ 7.7 Προέλευση ενός επεξεργασμένου ψευδογονιδίου. ■ = εξόνια, ■ = ιντρόνια, ■ = διπλασιασμός θέσης-στόχου.

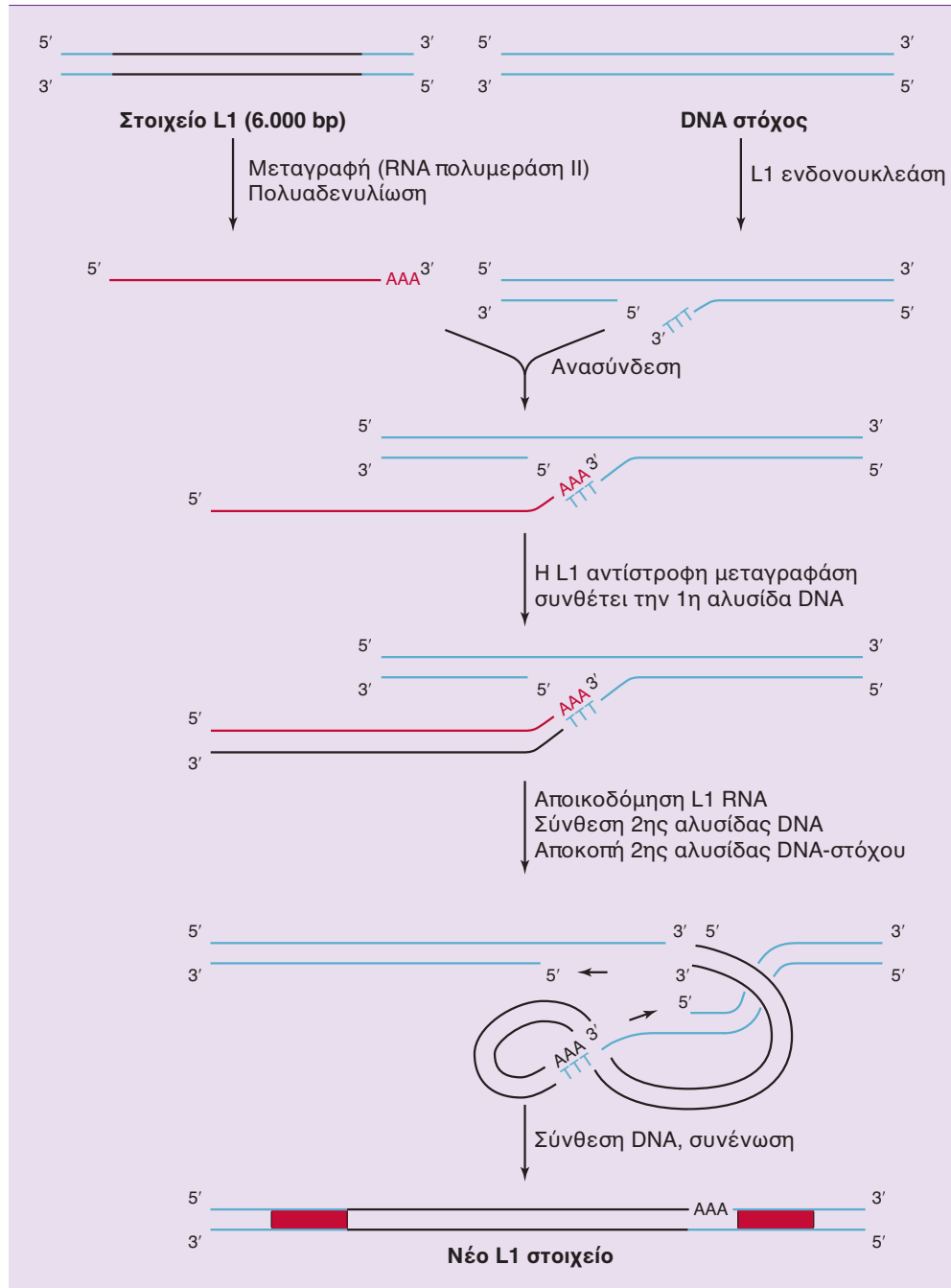
στροφή μεταγραφάση/ιντεγκράση που κωδικοποιείται από το στοιχείο L1. Ενώ λοιπόν τα στοιχεία L1 μπορούν να θεωρηθούν ως μοριακά παράσιτα του ανθρώπινου γονιδιώματος, οι αλληλουχίες Alu είναι παράσιτα των στοιχείων L1.

Οι αλληλουχίες L1 θα μπορούσαν να είναι απόγονοι κάποιου ιού, ενώ οι αλληλουχίες Alu είναι σαφώς κυτταρικής προέλευσης. Η συναινετική αλληλουχία Alu είναι πανομοιότυπη κατά περισσότερο από 80% με την αλληλουχία του 7SL RNA, ενός μικρού κυτταροπλασματικού RNA που συμμετέχει στη στόχευση των πρωτεϊνών για τη μεταφορά τους στο ενδοπλασματικό δίκτυο (βλέπε Κεφάλαιο 8).

ΤΑ ΚΙΝΗΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΙΝΑΙ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΑ

Το ανθρώπινο γονιδίωμα είναι ένα «νεκροταφείο» όπου βρίσκονται θαμμένα τα απομεινάρια 4,3 εκατομμυρίων αντιγράφων κατά βάση άχρηστων, ιδιοτελών και παρασιτικών κινητών στοιχείων DNA. Αυτά τα κινητά στοιχεία δεν είναι εντελώς αβλαβή. Μπορούν να δημιουργήσουν προβλήματα με τους παρακάτω μηχανισμούς:

1. **Διάρρηξη (disruption)** γονιδίου κατά τη ρετρομετάθεση: Τα κινητά στοιχεία προκαλούν σοβαρά προβλήματα εάν εισαχθούν μέσα σε ένα γονίδιο. Ευτυχώς κάτι τέτοιο είναι σπάνιο και ευθύνεται μόλις για το 0,3% των παθογόνων μεταλλάξεων στους ανθρώπους (αλλά για το 10% στα ποντίκια).
2. **Θραύση (breakage)** χρωμοσώματος: Ακόμα και αν δεν ολοκληρωθεί μια ρετρομετάθεση, η νουκλεάση που κωδικοποιείται από τα στοιχεία L1 μπορεί να προκαλέσει θραύσεις στη διπλή αλυσίδα του DNA, οι οποίες μπορούν να οδηγήσουν σε μεγάλες απαισιόφες και άλλες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις.
3. **Ανισος επιχιασμός:** Κάθε επαναλαμβανόμενη αλληλουχία μπορεί να προκαλέσει λανθασμένη ευθυγράμμιση των χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση, μέσω σύζευξης μη ομόλογων αντιγράφων ενός επαναλαμβανόμενου στοιχείου. Αυτό μπορεί να οδηγήσει σε μεγάλους διπλασιασμούς και απαισιόφες (βλέπε **Εικόνα 7.6, Β**), καθώς και σε μεταφορές DNA μεταξύ χρωμοσωμάτων. Το τελευταίο ονομάζεται **μετατόπιση (translocation)**.



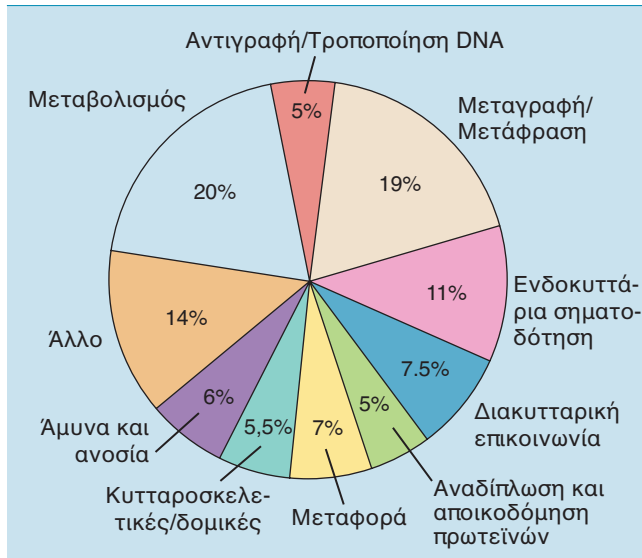
ΕΙΚΟΝΑ 7.8 Υποθετικός μηχανισμός ρετρομετάθεσης μιας αλληλουχίας L1. Ο σχηματισμός επεξεργασμένων ψευδογονιδίων και η ενσωμάτωση αλληλουχιών A1u πραγματοποιείται μέσω ενός παρόμοιου μηχανισμού.

ΟΙ ΑΝΘΡΩΠΟΙ ΔΙΑΘΕΤΟΥΝ ΠΕΡΙΠΟΥ 20.000 ΓΟΝΙΔΙΑ

Ο ακριβής αριθμός των ανθρώπινων γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες δεν είναι γνωστός, αλλά οι περισσότεροι αλγόριθμοι αναζήτησης γονιδίων έχουν ανιχνεύσει περίπου 20.000. Οι αλγόριθμοι αυτοί εντοπίζουν γονίδια ανιχνεύοντας χαρακτηριστικές αλληλουχίες, όπως στοιχεία υποκινητών, μακρές αλυσίδες κωδικονίων που μπο-

ρεί δυνητικά να κωδικοποιούν αμινοξέα χωρίς κωδικόνια τερματισμού («ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης»), σημεία σύνδεσης ιντρονίων-εξονίων και σήματα πολυαδενυλίωσης.

Εναλλακτικά, μπορεί κανείς να εξάγει το RNA από τα κύτταρα, να το αντιγράψει σε cDNA με τη βοήθεια της αντίστροφης μεταγραφάσης και να προχωρήσει σε ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (αλληλούχιση) του cDNA. Με τη μέθοδο αυτή προσδιορίζεται το **μεταγράφημα (transcriptome)** του κυττάρου, δηλαδή το σύ-



ΕΙΚΟΝΑ 7.9 Λειτουργικές κατηγορίες των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το ανθρώπινο γονιδίωμα.

νολο των μεταγραφόμενων αλληλουχιών του DNA που μπορούν να ανακτηθούν ως RNA. *Ενώ το γονιδίωμα είναι ίδιο σε όλα τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού, τα μεταγραφώματα διαφέρουν ανάλογα με τον τύπο του εκάστοτε κυττάρου, αφού στα διάφορα κύτταρα μεταγράφονται διαφορετικά γονίδια.* Το μεταγράψωμα δεν περιέχει μόνο τα mRNA που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, αλλά και πολλά άλλα μη-κωδικοποιούντα RNA με αδιευκρίνιστη λειτουργία.

Το σύνολο των εκφραζόμενων πρωτεϊνών ονομάζεται **πρωτέωμα (proteome)**. Όπως το μεταγράψωμα, έτσι και το πρωτέωμα διαφέρει ανάλογα με τον τύπο του εκάστοτε κυττάρου. Η **Εικόνα 7.9** παρουσιάζει τις πιθανολογούμενες λειτουργίες των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το ανθρώπινο γονιδίωμα.

Η λειτουργική σημασία του όποιου DNA μπορεί να συναχθεί από συγκρίσεις μεταξύ ειδών με στενή συγγένεια, καθώς και μεταξύ ατόμων. Οι τυχαίες μεταλλάξεις του μη λειτουργικού DNA δεν προκαλούν βλάβες και συνεπώς επιβιώνουν. Αντιθέτως, οι μεταλλάξεις σε σημαντικές κωδικοποιούσες και ρυθμιστικές αλληλουχίες είναι

πιθανό να οδηγήσουν σε λειτουργικές διαταραχές, οπότε εξαλείφονται μέσω φυσικής επιλογής.

Κατά συνέπεια, οι κωδικοποιούσες και ρυθμιστικές αλληλουχίες των γονιδίων παρουσιάζουν χαμηλή μεταβλητότητα, ενώ το σκουπιδο-DNA παρουσιάζει υψηλή μεταβλητότητα. Κάποια μη-κωδικοποιούντα μετάγραφα RNA είναι εξελικτικά συντηρημένα και ενδέχεται να είναι λειτουργικά, ενώ άλλα αντιπροσωπεύουν κατά πάσα πιθανότητα τη «διαρρέουσα» (μη ελεγχόμενη) μεταγραφή (“leaky transcription”) μη λειτουργικού DNA. Σύμφωνα με μια εκτίμηση, το 8,2% του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι δεσμευμένο σε κάποια λειτουργία (functionally constrained), αν και πολύ περισσότερο (έως 80%) μεταγράφεται, τουλάχιστον σε κάποιο βαθμό και σε μερικούς τύπους κυττάρων.

Η ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΤΕΙ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΓΕΝΙΚΩΝ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί χρησιμοποιούν διαφορετικά ένζυμα για τη σύνθεση του rRNA, του mRNA και του tRNA (**Πίνακας 7.6**):

- Η **RNA πολυμεράση I** συνθέτει το κοινό πρόδρομο μόριο των 5.8S, 18S και 28S rRNA στον πυρηνίσκο, όπου συναρμολογούνται οι ριβοσωμικές υπομονάδες.
- Η **RNA πολυμεράση II** συνθέτει τα πρόδρομα μόρια mRNAs.
- Η **RNA πολυμεράση III** συνθέτει μικρά μόρια RNA, όπως τα tRNA και το 5S rRNA.

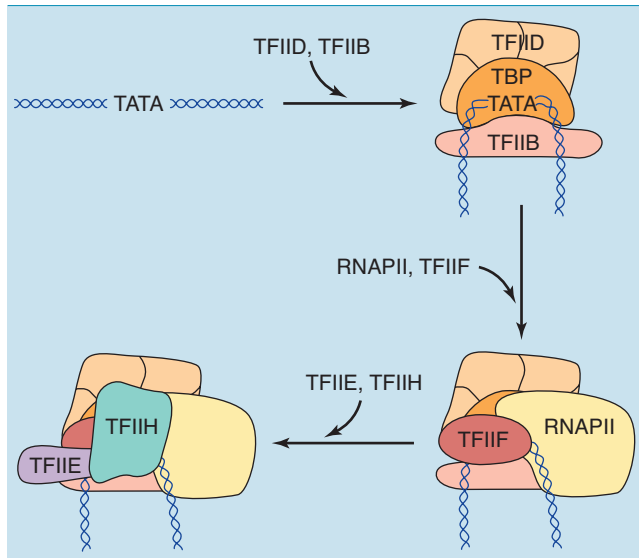
Η μεταγραφή προϋποθέτει πρόσβαση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή του 5' άκρου του γονιδίου. Για τον σκοπό αυτό, τα νουκλεοσώματα αποκλείονται από τους υποκινητές μέσω πλούσιων σε κατάλοιπα αδενίνης και θυμίνης (AT-rich) αλληλουχιών του υποκινητή και μέσω μεταγραφικών παραγόντων που συνδέονται με τις αλληλουχίες DNA του υποκινητή.

Οι ευκαρυωτικοί υποκινητές παρουσιάζουν μεγάλη ετερογένεια. Ο **βασικός (core) υποκινητής** περιλαμβάνει 30-40 ζεύγη βάσεων ανοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής. Χρησιμεύει ως σημείο συναρμολόγησης των **γενικών με-**

Πίνακας 7.6 Οι Ευκαρυωτικές RNA Πολυμεράσες

Τύπος	Εντόπιση	Μετάγραφα	Αναστολή από την α-Αμανιτίνη
I	Πυρηνίσκος	Προ-rRNA	–
II	Πυρήνας	Προ-mRNA	+++
III	Πυρήνας	tRNA, 5S rRNA	+
Μιτοχονδριακή	Μιτοχόνδρια	Μιτοχονδριακά RNA	–

mRNA = αγγελιοφόρο RNA, rRNA = ριβοσωμικό RNA, tRNA = μεταφορικό RNA.



ΕΙΚΟΝΑ 7.10 Σχηματισμός του συμπλόκου έναρξης (εναρκτηρίου συμπλόκου) της μεταγραφής μέσω συναρμολόγησης των γενικών μεταγραφικών παραγόντων με την RNA πολυμεράση II (RNAPII). Ο μεταγραφικός παράγοντας IID (TFIID) περιέχει πολλές υπομονάδες. Μία από αυτές είναι η πρωτεΐνη πρόσδεσης στο TATA (TBP), η οποία συνδέεται με το κουτί TATA. TFIIB, TFIIE, TFIIF, TFIIH = μεταγραφικός παράγοντας IIB, IIE, IIF και IIH, αντίστοιχα.

ταγραφικών παραγόντων (general transcription factors, TF), που είναι τα λειτουργικά ισοδύναμα της βακτηριακής υπομονάδας σ. Η ονομασία τους περιλαμβάνει το ακρωνύμιο TF ακολουθούμενο από τον αριθμό της RNA πολυμεράσης με την οποία λειτουργούν και ένα ταυτοποιητικό γράμμα. *Προτού να είναι σε θέση να ξεκινήσει τη μεταγραφή, η RNA πολυμεράση πρέπει να συνδεθεί με τους μεταγραφικούς παράγοντες που έχουν προσδεθεί στον υποκινητή.*

Ένα από τα συνηθέστερα απαντώμενα στοιχεία υποκινητή στα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες είναι το **πλαίσιο TATA** (TATA box, συναινετική TATAAAA), που εντοπίζεται 25-30 ζεύγη βάσεων ανοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής. Η **Εικόνα 7.10** παρουσιάζει τον τρόπο με τον οποίο οι γενικοί μεταγραφικοί παράγοντες συναρμολογούνται πάνω στους υποκινητές που περιέχουν κουτιά TATA. Αρχικά, η πρωτεΐνη πρόσδεσης στο TATA (TATA-binding protein, **TBP**) συνδέεται με το κουτί TATA. Η TBP είναι μόνο μία από τις 14 υπομονάδες του μεταγραφικού παράγοντα IID (transcription factor IID, **TFIID**). Οι υπόλοιπες υπομονάδες, που είναι γνωστές ως σχετιζόμενοι με την TBP παράγοντες (TBP-associated factors, **TAFs**), συναρμολογούνται μεταξύ τους πάνω στον TBP ενόσω αυτός είναι συνδεδεμένος με το κουτί TATA.

Σε αυτό το σύμπλοκο προστίθενται και άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες. Ένας από αυτούς, ο **TFIIH**, αποτελείται από 10 υπομονάδες που περιλαμβάνουν ATP-εξαρτώμενες ελικάσες και μία πρωτεϊνική κινάση. *Η μεταγραφή μπορεί*

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.4: Δηλητηρίαση από Μανιτάρια

Υπάρχουν 2000 γνωστά είδη μανιταριών, εκ των οποίων λιγότερα από 50 είναι δηλητηριώδη. Στις εύκρατες περιοχές, τα περισσότερα περιστατικά θανατηφόρου δηλητηρίασης από μανιτάρια οφείλονται σε κατανάλωση του είδους *Amanita phalloides* ή άλλων συγγενικών ειδών. Τα μανιτάρια αυτά περιέχουν αρκετά δηλητηριώδη μόρια, το πιο επικίνδυνο από τα οποία είναι η **α-αμανιτίνη**. Η τοξίνη αυτή είναι ένας ισχυρός αναστολέας της ανθρώπινης RNA πολυμεράσης II, που συνθέτει mRNA. Οι αρχικές εκδηλώσεις της δηλητηρίασης μπορεί να καθυστερήσουν έως και πάνω από 12 ώρες και περιλαμβάνουν πάντοτε έντονο κοιλιακό άλγος και σοβαρή ηπατική βλάβη, αν και ενδέχεται να προσβληθούν και οι νεφροί, η καρδιά και το νευρικό σύστημα. Σε περίπτωση θανάτου, η αιτία είναι η ηπατική ανεπάρκεια.

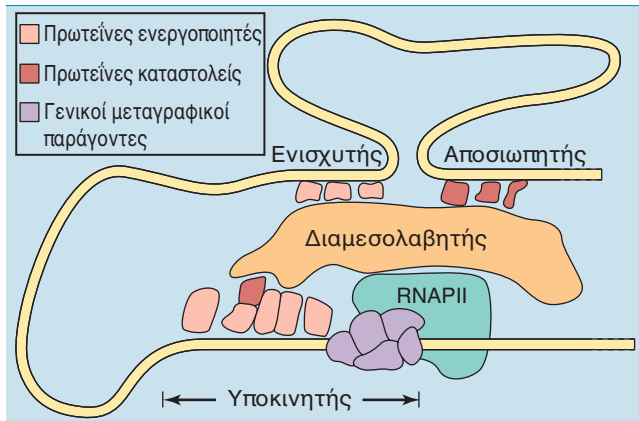
να ξεκινήσει όταν η RNA πολυμεράση II συνδεθεί με το σύμπλοκο των μεταγραφικών παραγόντων. Τα στοιχεία ελικάσης του TFIIH διαχωρίζουν τις δύο συμπληρωματικές αλυσίδες κατά τη μεταγραφή, ενώ η υπομονάδα κίνησης του TFIIH φωσφορυλιώνει την RNA πολυμεράση II σε πολλαπλές πλευρικές ομάδες σερίνης και θρεονίνης. Η φωσφορυλιωμένη RNA πολυμεράση προσελκύει πρωτεΐνες που είναι αναγκαίες για τη φάση επιμήκυνσης της μεταγραφής, καθώς και άλλες που τροποποιούν το καινούργιο mRNA.

Μόνο το 10% περίπου των ανθρώπινων γονιδίων διαθέτουν ένα πλαίσιο TATA, και υπάρχουν πολλοί εναλλακτικοί τρόποι συναρμολόγησης του προεναρκτηρίου συμπλόκου (preinitiation complex) πάνω στους κεντρικούς υποκινητές. Για παράδειγμα, κάποιοι TAF συνδέονται όχι μόνο με την TBP, αλλά και με άλλα στοιχεία του υποκινητή, εκτός του πλαισίου TATA.

ΤΑ ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΑΙ ΑΠΟ ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΕΣ ΘΕΣΕΙΣ

Εντός των πρώτων 200 ως 300 ζευγών βάσεων ανοδικά του κεντρικού υποκινητή βρίσκονται θέσεις δέσμησης για πρωτεΐνες ενεργοποιητές και καταστολείς που σταθεροποιούν ή αποσταθεροποιούν, αντίστοιχα, το σύμπλοκο έναρξης μεταγραφής (transcriptional initiation complex). Μαζί με τους «γενικούς» μεταγραφικούς παράγοντες πάνω στον κεντρικό υποκινητή, αυτές οι ειδικές για συγκεκριμένες αλληλουχίες πρωτεΐνες ενεργοποιητές και καταστολείς αναφέρονται με το γενικό όρο «μεταγραφικοί παράγοντες». Επηρεάζουν την έναρξη της μεταγραφής με πολλούς τρόπους:

1. **Μπορεί** να αλληλεπιδρούν άμεσα με τους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες ή την RNA πολυμεράση, σταθεροποιώντας το σύμπλοκο έναρξης μεταγραφής.
2. **Μπορεί** να στρατολογούν ένζυμα τροποποίησης ιστο-



ΕΙΚΟΝΑ 7.11 Ο διαμεσολαβητής είναι ένα μεγάλο πρωτεϊνικό σύμπλοκο που διαμεσολαβεί τις επιδράσεις των πρωτεϊνών ενεργοποιητών και καταστολέων στην έναρξη της μεταγραφής. RNAPII = RNA πολυμεράση II.

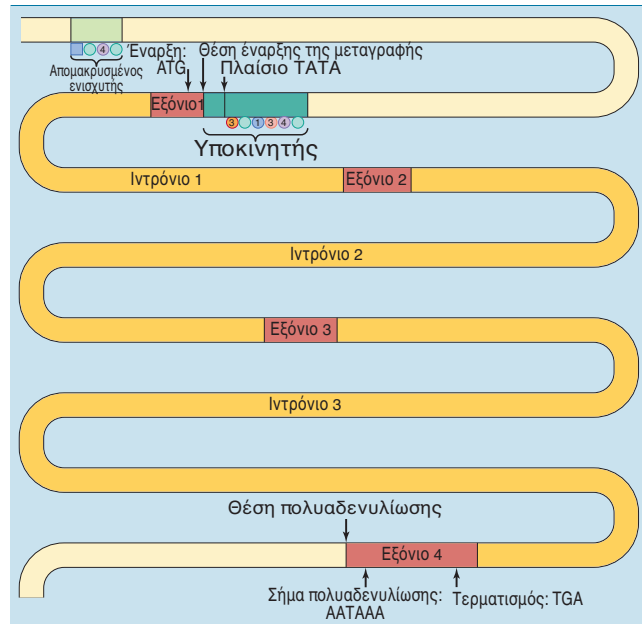
νών ή ATP-εξαρτώμενα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης (chromatin remodeling complexes).

3. **Μπορεί** να αλληλεπιδρούν έμμεσα με το σύμπλοκο έναρξης μεταγραφής, μέσω ενός μεγάλου πρωτεϊνικού συμπλόκου με 20 έως 30 υπομονάδες, γνωστού ως **διαμεσολαβητή (mediator)** (Εικόνα 7.11).

Θέσεις δέσμησης για τους μεταγραφικούς παράγοντες δεν απαντώνται μόνο στον υποκινητή. Μπορεί να βρεθούν σε απόσταση χιλιάδων και ενίοτε ενός εκατομμυρίου βάσεων από τη θέση έναρξης της μεταγραφής, σε ένα από τα ιντρόνια του γονιδίου, στο μη κωδικοποιόν DNA μεταξύ των γονιδίων, ή ακόμη και σε ένα ιντρόνιο ενός παρακείμενου γονιδίου. Αυτές οι θέσεις δέσμησης τείνουν να σχηματίζουν αθροίσματα που ονομάζονται **ενισχυτές (enhancers)** ή **αποσιωπητές (silencers)**, ανάλογα με το εάν διεγείρουν ή καταστέλλουν τη μεταγραφή.

Ένα γονίδιο μπορεί να έχει πολλούς ενισχυτές και αποσιωπητές, και ένας ενισχυτής ή αποσιωπητής μπορεί να ρυθμίζει μια ολόκληρη ομάδα γειτνιαζόντων γονιδίων. Οι μεταγραφικοί παράγοντες που συνδέονται με αυτές τις απομακρυσμένες ρυθμιστικές θέσεις μπορούν να επηρεάσουν τη μεταγραφή δημιουργώντας βρόχους στο DNA που φέρνουν τους εν λόγω παράγοντες σε άμεση επαφή με τις δεσμευμένες στον υποκινητή πρωτεΐνες ή το σύμπλοκο διαμεσολαβητή (βλέπε **Εικόνα 7.11**).

Οι τυπικοί ενισχυτές μοιάζουν σαν κάποιος να έχει στριμώσει όσο το δυνατόν περισσότερες θέσεις δέσμησης για ρυθμιστικές πρωτεΐνες στον ελάχιστο δυνατό χώρο. Η **Εικόνα 7.12** παρουσιάζει ένα παράδειγμα. Οι περισσότερες θέσεις δέσμησης έχουν μήκος μόνο 15 έως 20 ζεύγη βάσεων. Πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες ανταποκρίνονται σε ορμόνες, δευτέρους αγγελιοφόρους ή θρεπτικά συστατικά. Οι θέσεις δέσμησης τους πάνω στο DNA ονομάζονται **στοιχεία απόκρισης (response elements)**. Για παρά-



ΕΙΚΟΝΑ 7.12 Το γονίδιο της ηπατικής πρωτεΐνης τρανσθυρετίνης (προαλβουμίνης), με τις ρυθμιστικές θέσεις του. Το γονίδιο απεικονίζεται ολόκληρο σε κλίμακα, προκειμένου να αναδειχθούν η δομή τύπου ιντρονίου-εξονίου και οι πολλαπλές θέσεις δέσμησης, ανοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής, για ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Σημειώστε ότι τα ιντρόνια έχουν πολύ μεγαλύτερο μήκος από τα εξόνια. Οι θέσεις δέσμησης για τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες είναι συγκεντρωμένες στον υποκινητή και σε έναν λίγο πιο απομακρυσμένο ενισχυτή. Με εξαίρεση την AP1, που απαντάται σε όλα τα εμπύρνηνα κύτταρα, οι ρυθμιστικές πρωτεΐνες της τρανσθυρετίνης απαντώνται στα ηπατοκύτταρα, αλλά όχι στους περισσότερους άλλους τύπους κυττάρων. ■ = AP1. ● = C/EBP. ①, ③, και ④ = ηπατοκυτταρικοί πυρηνικοί παράγοντες 1, 3 και 4.

δειγμα, το στοιχείο απόκρισης στα οιστρογόνα αποτελεί θέση δέσμησης για έναν ρυθμιζόμενο από τα οιστρογόνα παράγοντα μεταγραφής, ενώ το στοιχείο απόκρισης στην cAMP δεσμεύει έναν παράγοντα μεταγραφής που ρυθμίζεται από την κυκλική AMP, έναν δευτερο αγγελιοφόρο.

Η ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ ΡΥΘΜΙΖΕΤΑΙ ΑΠΟ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΠΟΥ ΔΕΣΜΕΥΟΝΤΑΙ ΣΤΟ DNA

Το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί 1.500 περίπου πρωτεΐνες που δεσμεύονται στο DNA (DNA-binding proteins), οι οποίες πιθανολογείται ότι αποτελούν μεταγραφικούς παράγοντες. Εντούτοις, λειτουργίες δέσμησης και ρύθμισης του DNA έχουν έως τώρα επιβεβαιωθεί για 100 μόνο από αυτές.

Οι περισσότεροι μεταγραφικοί παράγοντες που συνδέονται με το DNA έχουν διμερή μορφή. Συγκεκριμένα, πρόκειται είτε για ομοδιμερή δύο πανομοιότυπων υπομονάδων ή για ετεροδιμερή δύο ελαφρά διαφορετικών υπομονάδων.

Πίνακας 7.7 Οι Κύριοι Τύποι Πρωτεϊνών που Δεσμεύονται στο DNA στους Ευκαρυωτικούς Οργανισμούς

Δομικό Μοτίβο	Δομικά Χαρακτηριστικά	Παραδείγματα
Πρωτεΐνες με μοτίβο έλικας-στροφής-έλικας	Δύο α-έλικες που διαχωρίζονται από μια β-στροφή. «Έλικα αναγνώρισης» που εφαρμόζει μέσα στη μεγάλη αύλακα του DNA	Πρωτεΐνες με «ομοιοεπικράτειες (homeodomains)» (πρωτεΐνες που ρυθμίζουν την εμβρυϊκή ανάπτυξη). Οι περισσότεροι προκαρυωτικοί καταστολείς
Πρωτεΐνες με μοτίβο δακτύλων ψευδαργύρου	Περιέχουν ψευδάργυρο που συνδέεται με πλευρικές ομάδες Cys και His	Υποδοχείς στεροειδών και θυρεοειδικών ορμονών
Πρωτεΐνες με «φερμουάρ λευκίνης»	Δύο α-έλικες, μία με βασικά κατάλοιπα για δέσμευση του DNA και μία με Leu σε ισαπέχοντα διαστήματα για το διμερισμό	C/EBP (γονιδιακός ενεργοποιητής στο ήπαρ), c-Myc, c-Fos, c-Jun (ρυθμιστές ανάπτυξης, προϊόντα πρωτο-ογκογονιδίων)
Πρωτεΐνες με μοτίβο έλικας-βρόχου-έλικας	α-έλικα που προσδένεται στο DNA και δύο έλικες διμερισμού που διαχωρίζονται από έναν μη-ελικοειδή βρόχο	Myo D-1, μυογενίνη (πρωτεΐνες που επάγουν τη διαφοροποίηση των μυοκυττάρων)

Cys = κυστεΐνη, DNA = δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, His = ιστιδίνη, Leu = λευκίνη.

Η συμμετρία των διμερών παραγόντων μεταγραφής παρατηρείται και στις θέσεις δέσμευσής τους, οι οποίες διέπονται από ατελή δυαδική συμμετρία (βλέπε **Εικόνα 6.37** στο Κεφάλαιο 6). Οι διμερείς παράγοντες μεταγραφής παρουσιάζουν μια δομοστοιχειωτή (modular) δομή (**Πίνακας 7.7** και **Εικόνες 7.13** και **7.14**).

- Ένα στοιχείο που δεσμεύεται στο DNA αναγνωρίζει την ειδική αλληλουχία βάσεων του στοιχείου απόκρισης.
- Ένα στοιχείο διμερισμού (dimerization module) σχηματίζει την ενεργό διμερή κατάσταση
- Η περιοχή ενεργοποίησης (ή καταστολής) της μεταγραφής διεγείρει ή καταστέλλει τη μεταγραφή. Πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες δεσμεύουν μια πρωτεΐνη **συνενεργοποιητή (ή συγκαταστολέα)**, που με τη σειρά της συνδέεται με τον διαμεσολαβητή ή την RNA πολυμεράση, ή στρατολογεί ένζυμα τροποποίησης της χρωματίνης.

Πρωτεΐνες με μοτίβο **έλικας-στροφής-έλικας (helix-turn-helix)**, πρωτεΐνες με «φερμουάρ» λευκίνης (leucine zipper) και πρωτεΐνες με μοτίβο **έλικας-βρόχου-έλικας (helix-loop-helix)** (βλέπε **Πίνακα 7.7**) συνδέονται με το DNA μέσω μιας α-έλικας, μήκους 20-40 αμινοξέων και υψηλής περιεκτικότητας σε βασικά αμινοξικά κατάλοιπα. Αυτή η α-έλικα εφαρμόζει μέσα στη μεγάλη αύλακα της διπλής έλικας του DNA (βλέπε **Εικόνα 7.13, Γ**).

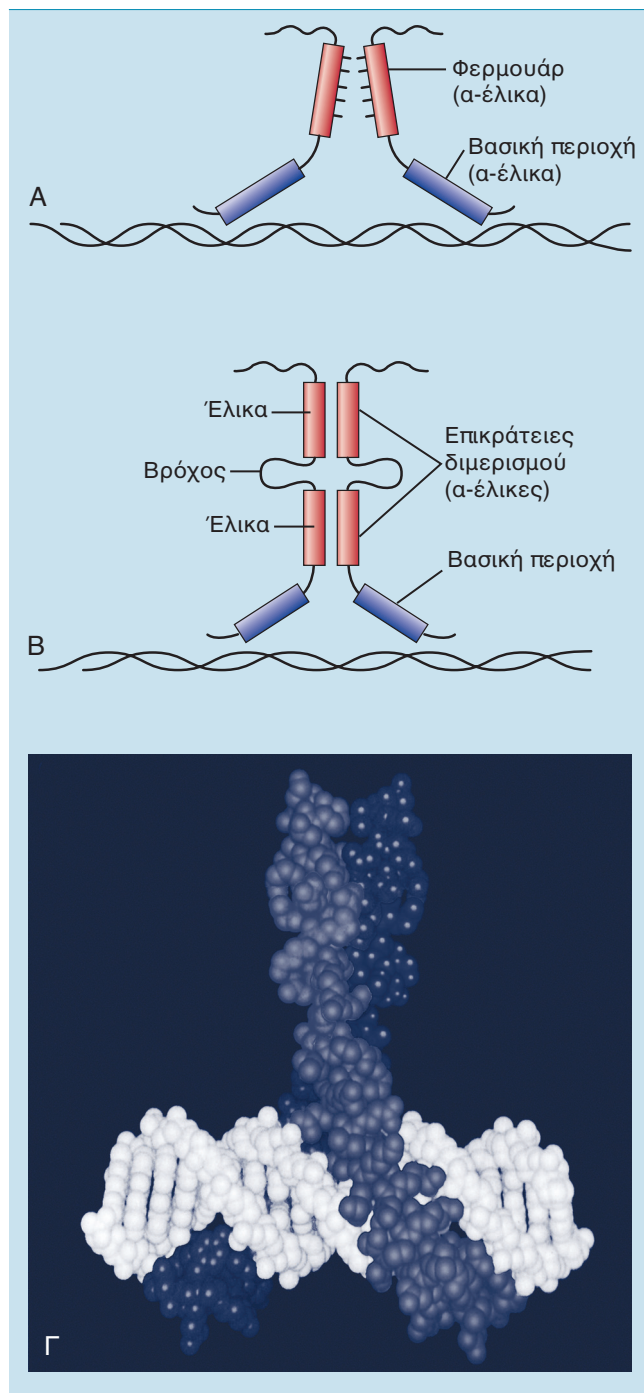
Οι **πρωτεΐνες με μοτίβο δακτύλων ψευδαργύρου (zinc finger)** περιέχουν δύο έως δώδεκα περίπου ιόντα ψευδαργύρου στην περιοχή τους που δεσμεύεται στο DNA, καθένα από τα οποία συμπλέκεται με τέσσερις πλευρικές αμινοξικές ομάδες: είτε τέσσερις κυστεΐνες ή δύο κυστεΐνες και δύο ιστιδίνες. Ο δάκτυλος ψευδαργύρου είναι ένας βρόχος 12 περίπου αμινοξικών καταλοίπων ανάμεσα σε

δύο ζεύγη αμινοξέων που συμπλέκονται με ψευδάργυρο (βλέπε **Εικόνα 7.14**).

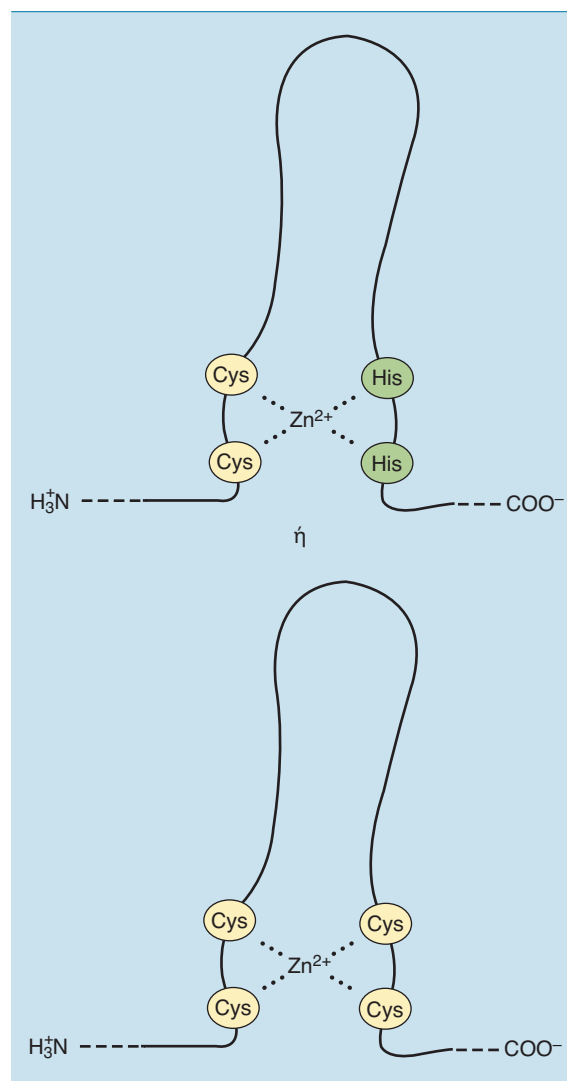
Οι μεταγραφικοί παράγοντες διμερίζονται μέσω μιας αμφιπαθούς α-έλικας (βλέπε **Εικόνα 7.13**). Στις πρωτεΐνες με «φερμουάρ» λευκίνης, το υδρόφοβο άκρο αυτής της έλικας σχηματίζεται από αρκετά κατάλοιπα λευκίνης που απέχουν μεταξύ τους ακριβώς επτά αμινοξέα. Επειδή η α-έλικα έχει 3,6 αμινοξέα ανά στροφή, αυτά τα κατάλοιπα λευκίνης βρίσκονται όλα στην ίδια πλευρά της έλικας, όπου σχηματίζουν υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις με τον εταίρο διμερισμού.

Οι παράγοντες μεταγραφής ρυθμίζονται με διάφορους τρόπους:

1. Πολλοί ρυθμίζονται μέσω αναστρέψιμης φωσφορύλωσης. Οι πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες που δρουν στους μεταγραφικούς παράγοντες ανταποκρίνονται σε αυξητικούς παράγοντες, ορμόνες, θρεπτικά συστατικά και άλλα εξωγενή ερεθίσματα.
2. Κάποιοι ρυθμίζονται μέσω αναστρέψιμης δέσμευσης μιας ορμόνης ή ενός θρεπτικού συστατικού. Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι οι υποδοχείς των στεροειδών ορμονών.
3. Κάποιες πρωτεΐνες συνδέονται με τους δεσμευόμενους στο DNA μεταγραφικούς παράγοντες. Οι δράσεις των μεταγραφικών παραγόντων διαμεσολαβούνται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών που είτε ενισχύουν ή καταστέλλουν τη μεταγραφή.
4. Η σύνθεση των μεταγραφικών παραγόντων είναι ρυθμιζόμενη. Οι ίδιοι μηχανισμοί που ρυθμίζουν τις δράσεις των μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζουν και τη σύνθεσή τους.



ΕΙΚΟΝΑ 7.13 Δέσμευση των διμερών μεταγραφικών παραγόντων στα στοιχεία απόκρισής τους. Οι αλληλουχίες βάσεων των στοιχείων απόκρισης παρουσιάζουν μια δυαδική συμμετρία που ταιριάζει με τη συμμετρία των μεταγραφικών παραγόντων. **Α.** Σχηματική αναπαράσταση της δέσμευσης μιας πρωτεΐνης με «φερμουάρ λευκίνης». Το «φερμουάρ» είναι απαραίτητο για τον διμερισμό, ενώ η βασική περιοχή συνδέεται με το DNA. **Β.** Δέσμευση στο DNA μιας πρωτεΐνης τύπου έλικας-βρόχου-έλικας. **Γ.** Ψηφιακό μοντέλο της σύνδεσης του καρβοξυτελικού τμήματος («βασικής περιοχής») μιας πρωτεΐνης με «φερμουάρ λευκίνης» (της οικογένειας πρωτεϊνών C/EBF) με τις ομότυπες της θέσεις δέσμευσης.



ΕΙΚΟΝΑ 7.14 Δάκτυλος ψευδαργύρου. Το δομικό αυτό μοτίβο απαντάται σε 2-12 αντίγραφα στην περιοχή των πρωτεϊνών με μοτίβο δακτύλων ψευδαργύρου που δεσμεύεται στο DNA. Τα κατάλοιπα Cys ή His στην κάθε πλευρά του ψευδαργύρου απέχουν μεταξύ τους κατά 3-4 αμινοξικά κατάλοιπα, ενώ ο παρεμβαλλόμενος βρόχος περιέχει 12 περίπου κατάλοιπα. Cys = κυστεΐνη, His = ιστιδίνη.

ΜΑΚΡΑ ΜΗ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΟΥΝΤΑ RNA ΔΙΑΔΡΑΜΑΤΙΖΟΥΝ ΡΟΛΟΥΣ ΣΤΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ

Το 80% του ανθρώπινου γονιδιώματος μεταγράφεται σε RNA, αλλά τα περισσότερα μετάγραφα δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Στην πλειονότητά τους, τα μετάγραφα παράγονται σε μικρές μόνο ποσότητες, δεν εγκαταλείπουν ποτέ τον πυρήνα και δεν εξυπηρετούν καμία γνωστή λειτουργία. Θεωρείται ότι παράγονται μέσω «διαρρέουσας μεταγραφής». Ουσιαστικά, η RNA πολυμεράση συνθέτει ένα RNA αφού ταυτοποιήσει λανθασμένα μια μη λειτουργική

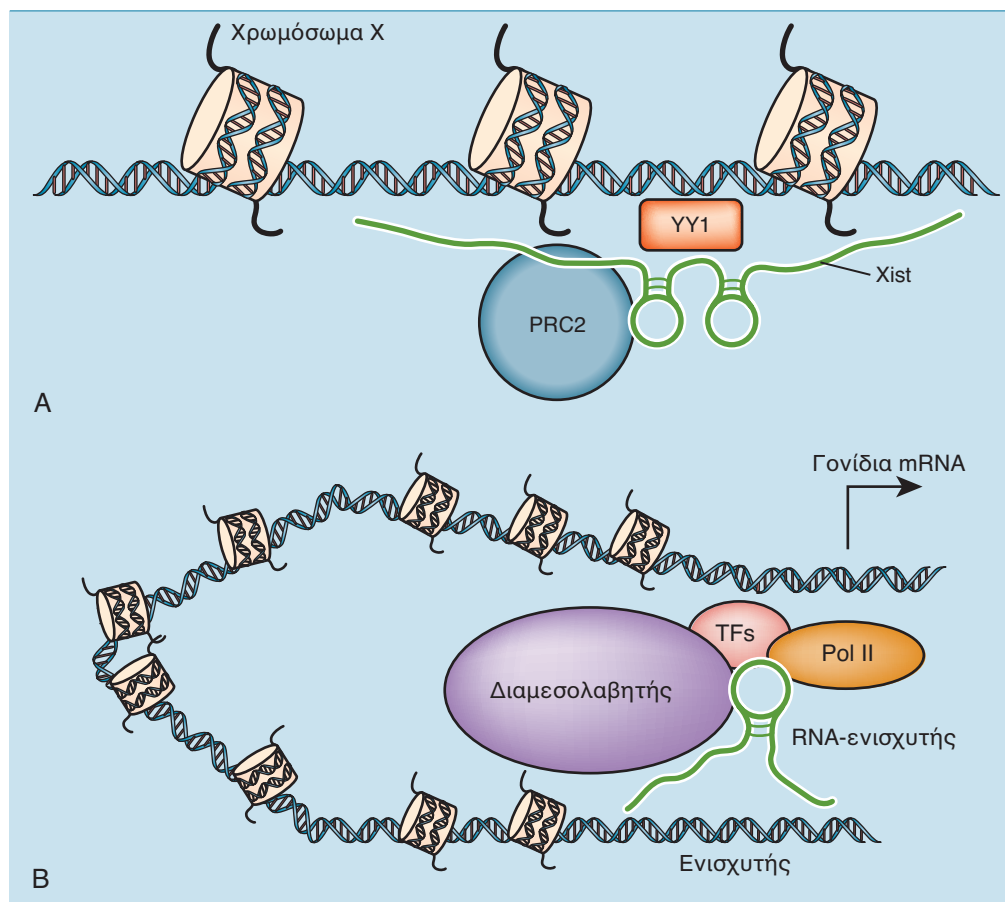
κή αλληλουχία DNA ως υποκινητή. Τα περισσότερα από αυτά τα RNA που παράγονται κατά λάθος αποικοδομούνται ταχέως.

Σε αντίθεση με αυτά τα λανθασμένα μετάγραφα, πολλά άλλα μακρά μη-κωδικοποιούντα RNA (long non-coding RNA, **lncRNA**) αποτελούν σημαντικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης. Αυτά τα RNA, που ορίζονται αυθαίρετα με βάση το μήκος τους (πρέπει να υπερβαίνει τα 200 νουκλεοτίδια), συντίθενται από πραγματικούς υποκινητές μέσω της RNA πολυμεράσης II.

Όπως και τα mRNA, έτσι και τα lncRNA συντίθενται με μια 5' καλύπτρα (cap) και μια 3' πολυ(A) ουρά (tail),

ενώ πολλά διαθέτουν ιντρόνια που αποκόπτονται κατά τη μεταγραφή.

Ο αριθμός των μακρών μη-κωδικοποιούντων, αλλά λειτουργικών, RNA που υπάρχουν στο ανθρώπινο γονιδίωμα παραμένει αδιευκρίνιστος. Μπορεί να είναι γύρω στις 8.000, αλλά σύμφωνα με άλλες εκτιμήσεις προσεγγίζουν τις 60.000. Τα περισσότερα μη κωδικοποιούντα RNA δρουν σαν ικριώματα που συγκρατούν τις πρωτεΐνες ενωμένες μεταξύ τους και τις συνδέουν με τις κατάλληλες θέσεις του DNA. Η **Εικόνα 7.15** παρουσιάζει μερικά παραδείγματα. Κάποια από αυτά τα RNA εμπλέκονται σε παθολογικές διεργασίες, όπως στο **Κλινικό Παράδειγμα 7.5**.



ΕΙΚΟΝΑ 7.15 Παραδείγματα μακρών μη κωδικοποιούντων RNA που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση. Α. Το Xist RNA μεταγράφεται μόνο από το κατά τα άλλα ανενεργό ετεροχρωματικό δεύτερο χρωμόσωμα X των θηλέων («σωμάτιο Barr»). Παραμένει κοντά στο σημείο της σύνθεσής του, όπου συνδέεται με τον παράγοντα μεταγραφής YY1 (Ying-Yang 1). Το δεσμευμένο Xist RNA συνδέεται με αποσιωπητικούς παράγοντες, που επάγουν κατασταλτικές τροποποιήσεις των ιστονών, για παράδειγμα το κατασταλτικό σύμπλοκο Polycomb 2 (Polycomb repressive complex 2, PRC2) που διαμεσολαβεί μια κατασταλτική μεθυλίωση λυσίνης στην ιστόνη H3. Οι αποσιωπητικοί παράγοντες που είναι συνδεδεμένοι με το Xist RNA θεωρείται ότι συντηρούν την ανενεργό κατάσταση του χρωμοσώματος. Β. Μερικοί ενισχυτές λειτουργούν παράλληλα και ως υποκινητές για μη κωδικοποιούντα RNA. Στο παρόν παράδειγμα, το RNA παραμένει στο σημείο της σύνθεσής του όπου αλληλεπιδρά με στοιχεία των δεσμευμένων στον ενισχυτή μεταγραφικών παραγόντων, με μεταγραφικούς παράγοντες επί του υποκινητή ενός παρακείμενου γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνες (TFs) ή/και με στοιχεία του συμπλόκου-διαμεσολαβητή. Το αποτέλεσμα είναι η ενίσχυση της μεταγραφής των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μέσω της RNA πολυμεράσης II (Pol II).

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.5: «Σπαραξικάρδιο» RNA

Το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου οφείλεται σε αθηροσκλήρωση των στεφανιαίων αρτηριών. Στους παράγοντες κινδύνου περιλαμβάνονται τόσο ο τρόπος ζωής όσο και τα γονίδια. Σε μια μελέτη ασθενών-μαρτύρων διερευνήθηκε η συσχέτιση του οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου με περισσότερες από 52.000 παραλλαγές του DNA σε ολόκληρο το γονιδίωμα, σε περισσότερους από 3.400 ασθενείς και 3.700 μάρτυρες. Η μελέτη εντόπισε μια μονονουκλεοτιδική παραλλαγή, το σπανιότερο αλληλόμορφο της οποίας συσχετίστηκε αύξηση του κινδύνου για έμφραγμα του μυοκαρδίου κατά 35%.

Ο πολυμορφισμός αυτός εδράζεται σε ένα μακρύ μετάγραφο RNA αδιευκρίνιστης λειτουργίας, που δεν μεταφράζεται σε πρωτεΐνη. Το μετάγραφο αυτό ονομάστηκε MIAT (myocardial infarction-associated transcript, μετάγραφο σχετιζόμενο με έμφραγμα του μυοκαρδίου). Εκφράζεται συνήθως στον εγκέφαλο, ενώ οι επιδράσεις του στον καρδιαγγειακό κίνδυνο μπορεί κάλλιστα να διαμεσολαβούνται από τη συμπεριφορά και τον τρόπο ζωής. Το MIAT συμμετέχει επίσης στη μικροαγγειακή παθολογία του διαβήτη και τον κίνδυνο για σχιζοφρένεια. Ο μηχανισμός μέσω του οποίου το MIAT συμβάλλει σε αυτές τις δυσμενείς εκβάσεις παραμένει αδιευκρίνιστος.

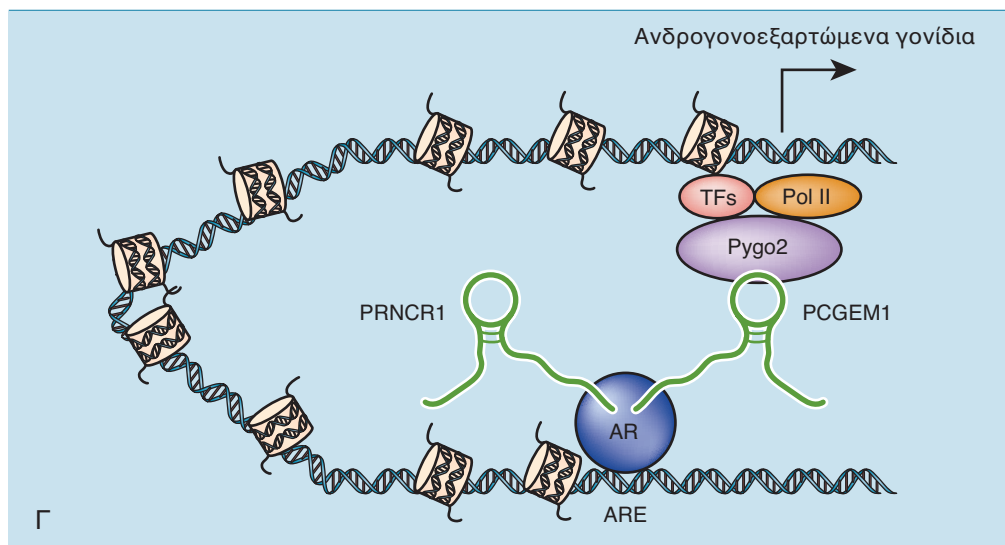
Η ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΟΥ mRNA ΞΕΚΙΝΑ ΚΑΤΑ ΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ

Το ανθρώπινο αγγελιοφόρο mRNA τροποποιείται σε σημαντικό βαθμό. Μια απαραίτητη διεργασία είναι η αφαίρεση των ιντρονίων, τα οποία μεταγράφονται αλλά πρέπει να αφαιρεθούν προτού το mRNA οδηγηθεί στα ριβοσώματα. Επιπλέον, τα άκρα του mRNA πρέπει να τροποποιηθούν για να προστατευτούν από τις νουκλεάσες και για να οδηγηθεί το mRNA στο κυτταρόπλασμα και στα ριβοσώματα.

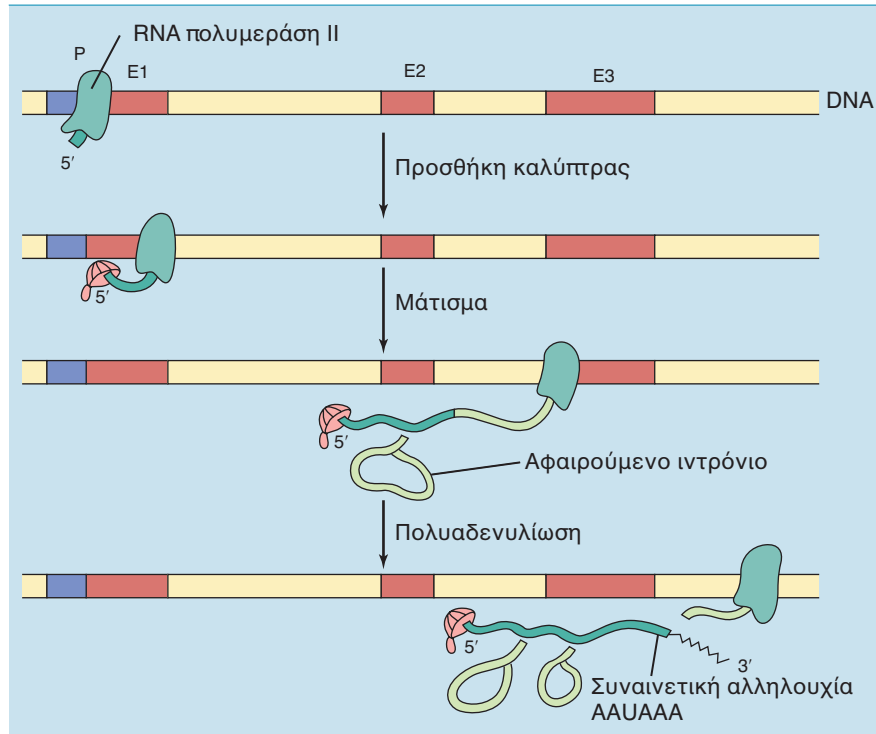
Η «μετα-μεταγραφική επεξεργασία» ουσιαστικά συντελείται ενώ συνεχίζεται η μεταγραφή. Υπεύθυνες για την έναρξή της είναι πρωτεΐνες που στρατολογούνται από

τη φωσφορυλιωμένη RNA πολυμεράση (Εικόνα 7.16). Αρχίζει σχεδόν αμέσως μετά την έναρξη της μεταγραφής, με την ομοιοπολική σύνδεση ενός τροποποιημένου νουκλεοτιδίου γουανίνης στο 5' άκρο του mRNA (Εικόνα 7.17). Αυτή η **καλύπτρα (cap)** συνδέεται με πρωτεΐνες που προστατεύουν το mRNA από τις 5'-εξωνουκλεάσες, καθοδηγούν το mRNA διαμέσου του συμπλόκου πυρηνικών πόρων προς το κυτταρόπλασμα και διαμεσολαβούν τη σύνδεσή του με το ριβόσωμα.

Στη συνέχεια, *αφαιρούνται τα ιντρόνια με τη βοήθεια των ματισματοσωμάτων (spliceosomes)*. Το ματισματοσώμα περιέχει πέντε μικρά RNA (U1, U2, U4, U5 και U6) με



ΕΙΚΟΝΑ 7.15 (συνέχεια) Γ. Άλλες φορές, τα μακρά μη κωδικοποιούντα RNA που κωδικοποιούνται από γονίδια σε διαφορετικά χρωμοσώματα αλληλεπιδρούν με μεταγραφικούς παράγοντες. Στο παρόν παράδειγμα, τα RNAs PRNCR1 και PCGEM1 συνδέονται με τον υποδοχέα ανδρογόνων (androgen receptor, AR), έναν μεταγραφικό παράγοντα που διαμεσολαβεί τις επιδράσεις των ορμονών του άρρενος. Ο υποδοχέας ανδρογόνων συνδέεται με ένα στοιχείο απόκρισης στα ανδρογόνα (androgen response element, ARE) σε έναν ενισχυτή. Μέσω της σηματοδοτικής πρωτεΐνης Pygopus 2 (Pygo 2), τα RNAs αλληλεπιδρούν με τους δεσμευμένους στον υποκινητή μεταγραφικούς παράγοντες. Με τον τρόπο αυτόν ενισχύεται η μεταγραφή των γονιδίων που ρυθμίζονται από τα ανδρογόνα.



ΕΙΚΟΝΑ 7.16 Η «μετα-μεταγραφική» επεξεργασία του mRNA ουσιαστικά λαμβάνει χώρα ενόσω η RNA πολυμεράση ακόμη συνθέτει το mRNA. E1, E2, E3 = εξόνια. P = υποκινητής.

μήκος από 106 έως 185 νουκλεοτίδια. Αυτά ενώνονται με πρωτεΐνες σχηματίζοντας **μικρά πυρηνικά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια [small nuclear ribonucleoprotein particles, snRNPs (snurps)]**. Συνολικά, στο μάτισμα (splicing) συμμετέχουν 50 περίπου πρωτεΐνες.

Οι συνδέσεις ιντρονίων-εξονίων των πυρηνικών γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες χαρακτηρίζονται από λίγο ως πολύ συντηρημένες συναινετικές αλληλουχίες. Υπάρχει επίσης μια συντηρημένη «θέση διακλάδωσης» μέσα στο ιντρόνιο, περίπου 30 νουκλεοτίδια από το 3' άκρο (Εικόνα 7.18). Το μάτισμα απελευθερώνει το ιντρόνιο ως μια κυκλική δομή βρόχου, με το 5' άκρο συνδεδεμένο με την 2'-υδροξυλομάδα της θέσης διακλάδωσης.

Τέλος, ένα **σήμα πολυαδενυλίωσης** (συναινετική αλληλουχία AAUAAA) στο τελευταίο εξόνιο στρατολογεί μια ενδονουκλεάση που αποκόπτει το RNA περίπου 20 νουκλεοτίδια καθοδικά. Τα σημεία κοπής αυτά υποδεικνύουν το πέρας του τελευταίου εξονίου και στο νεοσυντιθέμενο 3' άκρο προστίθεται ενζυμικά μια πολυ(A) ουρά 200 περίπου νουκλεοτιδίων.

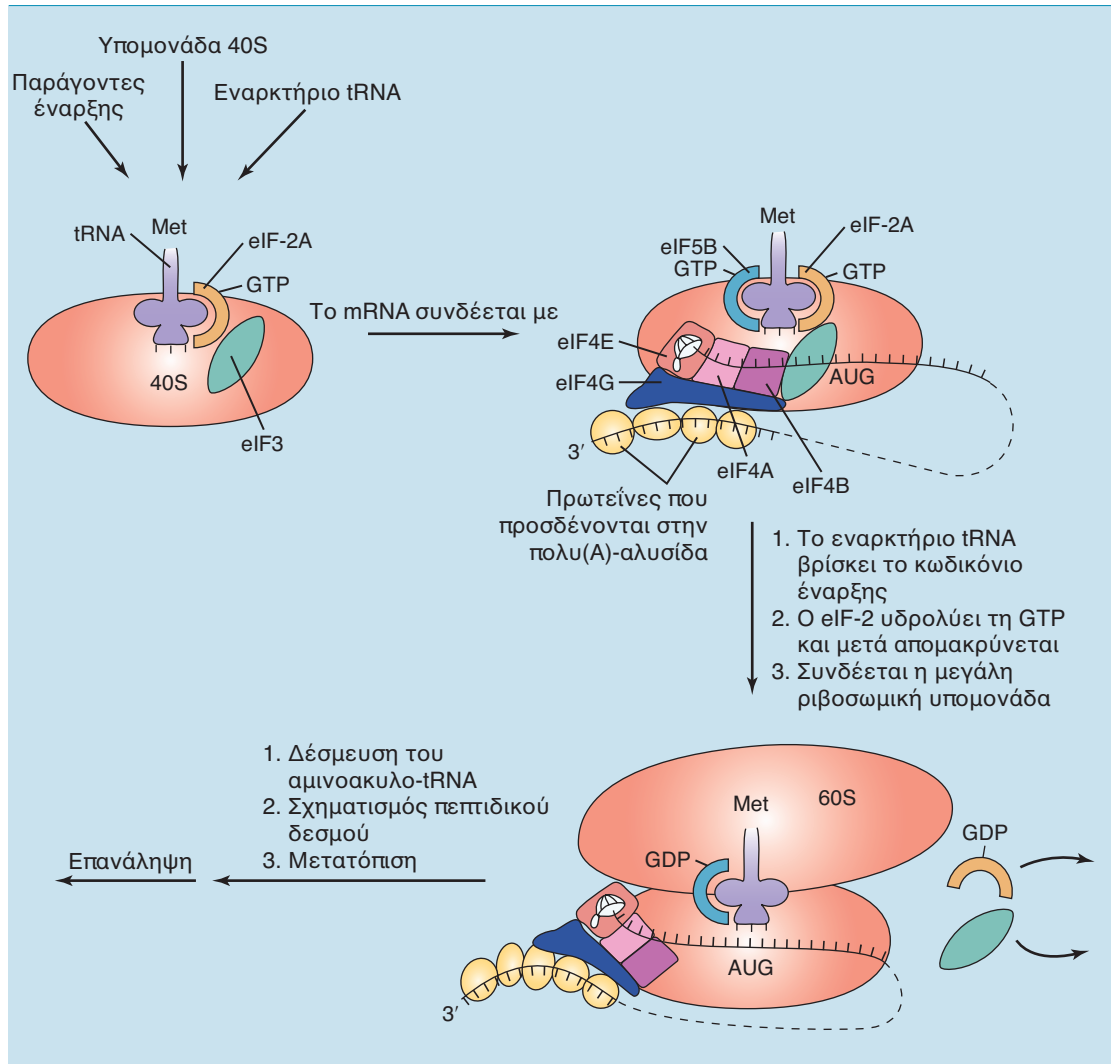
Η πολυ(A) ουρά συνδέεται με πολλαπλά αντίγραφα της **πρωτεΐνης που προσδένει πολυ(A) (poly A binding protein, PABP)**, η οποία επιβραδύνει τη δράση των 3'-εξωνουκλεασών και επιτρέπει στο mRNA να επιβιώνει για ώρες ή και μέρες. Μόνο τα mRNA ιστονών δεν διαθέτουν πολυ(A) ουρές, με αποτέλεσμα ο χρόνος ημίσειας ζωής τους να διαρκεί λίγα μόνο λεπτά. Οι ιστόνες συντίθενται μόνο

κατά τη φάση S του κυτταρικού κύκλου, όταν αντιγράφεται το DNA, και η σύνθεσή τους πρέπει να τερματίζεται ταχέως μόλις ολοκληρωθεί η αντιγραφή.

ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΝΑΡΞΗ ΤΗΣ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗΣ ΧΡΕΙΑΖΟΝΤΑΙ ΠΟΛΛΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΕΝΑΡΞΗΣ

Όπως άλλες διεργασίες, έτσι και η μετάφραση είναι πιο «γραφειοκρατική» στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς από ότι στους προκαρυωτικούς, δηλαδή είναι πιο περίπλοκη και πιο αργή. Αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στην έναρξή της. Ενώ στους προκαρυωτικούς οργανισμούς για την έναρξη της μετάφρασης χρειάζονται τρεις μόνο παράγοντες έναρξης, στους ευκαρυωτικούς χρειάζονται τουλάχιστον δώδεκα, που αποτελούνται από περισσότερα από 20 πολυπεπτίδια. Στην **Εικόνα 7.19** παρουσιάζεται ένα μέρος μόνο αυτών των παραγόντων έναρξης. Το ευκαρυωτικό mRNA δεν διαθέτει μια συνδεόμενη με το ριβόσωμα αλληλουχία Shine-Dalgarno στη 5'-μη μεταφραζόμενη περιοχή. Αντί αυτού, η αρχική σύνδεση μεταξύ mRNA και ριβοσώματος διαμεσολαβείται από πρωτεΐνες.

Όπως φαίνεται στην **Εικόνα 7.19**, και τα δύο άκρα του mRNA καλύπτονται από πρωτεΐνες. Οι πρωτεΐνες του 5' άκρου αλληλεπιδρούν με τις πρωτεΐνες της ουράς πολυ(A) και λειτουργούν ως παράγοντες έναρξης της μετάφρασης αλληλεπιδρώντας με τις πρωτεΐνες της μικρής (40S) ρι-



ΕΙΚΟΝΑ 7.19 Σχηματισμός του συμπλόκου έναρξης της μετάφρασης στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. AUG = κωδικόνιο έναρξης, eIF = ευκαρυωτικός παράγοντας έναρξης, Met = μεθειονίνη.

και αποικοδομείται από νουκλεάσες. Ακόμα και μέσα στο κυτταρόπλασμα, το mRNA προσβάλλεται διαρκώς από νουκλεάσες, ενώ το υπερασπίζονται συνδεδεμένες πρωτεΐνες που το προστατεύουν από τις νουκλεάσες. Έτσι, τυχόν παραλλαγές των αλληλουχιών που επηρεάζουν τις θέσεις αποκοπής στις οποίες δρουν οι νουκλεάσες ή τη σύνδεση προστατευτικών πρωτεϊνών μπορεί να επηρεάσουν τη διάρκεια ζωής του mRNA.

Ιστοειδική Έναρξη και Τερματισμός της Μεταγραφής

Μερικά γονίδια μπορούν να μεταγραφούν από εναλλακτικούς υποκινητές, οδηγώντας στην παραγωγή μετάγραφων με διαφορετικά 5' άκρα. Άλλα γονίδια διαθέτουν εναλλακτικές θέσεις πολυαδενυλίωσης και μπορούν να παράγουν μετάγραφα με διαφορετικά 3' άκρα.

Ένα παράδειγμα ιστοειδικής (tissue-specific) έναρξης της μεταγραφής είναι η χρήση εναλλακτικών υποκινητών στο γονίδιο της γλυκοκινάσης (**Εικόνα 7.20**), ένα ένζυμο μεταβολισμού των υδατανθράκων που εκφράζεται μόνο στο ήπαρ και τα ινσουλινοπαραγωγά β-κύτταρα του παγκρέατος.

Εναλλακτικό Μάτισμα

Μερικές θέσεις ματίσματος αναγνωρίζονται από ιστοειδικές πρωτεΐνες ή μακρά μη-κωδικοποιούντα RNAs. Έτσι, ένα εξόνιο που περιλαμβάνεται στο ώριμο mRNA σε έναν κυτταρικό τύπο, μπορεί να έχει παραλειφθεί σε κάποιον άλλο. Περισσότερο από το 80% των ανθρώπινων γονιδίων υπόκεινται σε εναλλακτικό μάτισμα, αν και δεν είναι πάντοτε σαφές εάν η ελάσσονα παραλλαγή ματίσματος είναι σημαντική από πλευράς φυσιολογίας ή εάν παράγεται κατά λάθος. Η **Εικόνα 7.21** παρουσιάζει ένα παράδειγμα εναλλακτικού ματίσματος.

Πίνακας 7.8 Παράγοντες Έναρξης και Παράγοντες Επιμήκυνσης που Συμμετέχουν στην Ευκαρυωτική Πρωτεϊνوسύνθεση

Ευκαρυωτική Πρωτεΐνη	Προκαρυωτικό Ισοδύναμο	Υδρόλυση GTP	Λειτουργία
Παράγοντες Έναρξης		–	
eIF1	IF-3	–	Συστατικό του συμπλόκου έναρξης
eIF1A	IF-1	+	Συστατικό του συμπλόκου έναρξης
eIF2	Υπομονάδα EF-Tu	+	Τοποθετεί το εναρκτήριο tRNA πάνω στην υπομονάδα 40S
eIF-3 (10+ υπομονάδες)	–	+	Διευκολύνει τη δέσμευση του εναρκτηρίου tRNA και του mRNA
eIF4E	–	–	Προσδενόμενη στην καλύπτρα πρωτεΐνη
eIF4A	–	–	RNA ελίκηση
eIF4B	–	+	Διευκολύνει τη σάρωση
eIF4G	–	–	Πρωτεΐνη ικρίωματος
eIF5	–	+	Ενεργοποιεί τη δραστικότητα GTPάσης του eIF2
eIF5B	IF-2	–	Σταθεροποιεί τη δέσμευση του εναρκτηρίου tRNA στο ριβόσωμα
Παράγοντες Επιμήκυνσης			
EF-1α	EF-Tu	+	Τοποθετεί το αμινοακυλο-tRNA στη θέση A του ριβοσώματος
EF-1βγ	EF-Ts	–	Αναγεννά τη δεσμευμένη με GTP μορφή του EF-1α
EF-2	EF-G	–	Μετατόπιση

eIF = ευκαρυωτικός παράγοντας έναρξης, GTP = τριφωσφορική γουανοσίνη, GTPάση = φωσφατάση της τριφωσφορικής γουανοσίνης, IF = παράγοντας έναρξης, mRNA = αγγελιοφόρο RNA, tRNA = μεταφορικό RNA.

Καταστολείς της Μετάφρασης

Η ριβοσωμική πρωτεϊνوسύνθεση μπορεί να ρυθμιστεί μέσω πρωτεϊνών που δεσμεύονται στο mRNA. Για παράδειγμα, το mRNA της πρωτεΐνης που προσδένεται στη πολυ(A) αλυσίδα (PABP) έχει μια ολιγο(A) αλυσίδα στην 5'-μη μεταφραζόμενη περιοχή του. Όταν η PABP βρίσκεται σε αφθονία αποτρέπει την ίδια της τη σύνθεση συνδεόμενη με αυτή την ολιγο(A) αλυσίδα.

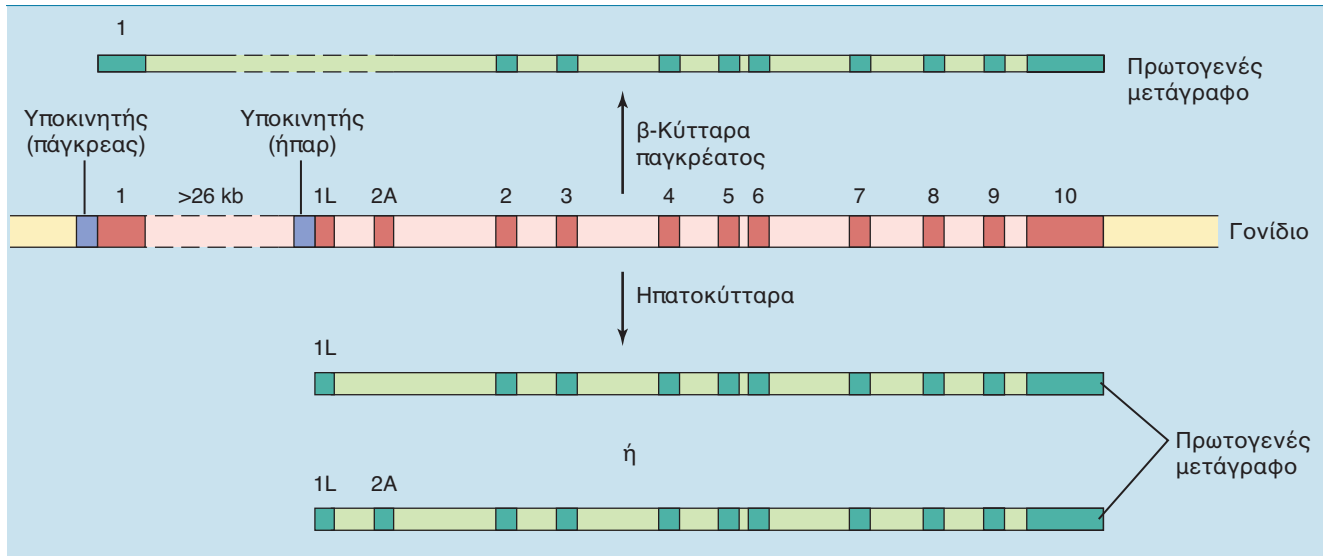
Τροποποίηση του mRNA

Σε μερικά mRNA, μια συγκεκριμένη βάση μπορεί να τροποποιηθεί με ενζυμική αντίδραση. Εάν κάτι τέτοιο οδηγήσει στη δημιουργία ή εξάλειψη ενός κωδικονίου τερματισμού, θα παραχθούν πολυπεπτίδια διαφορετικού μήκους. Η τροποποίηση του mRNA είναι σπάνια στα θηλαστικά, αλλά όταν συμβαίνει μπορεί να παράγει εναλλακτικά πολυπεπτίδια από το ίδιο γονίδιο σε διαφορετικούς τύπους κυττάρων.

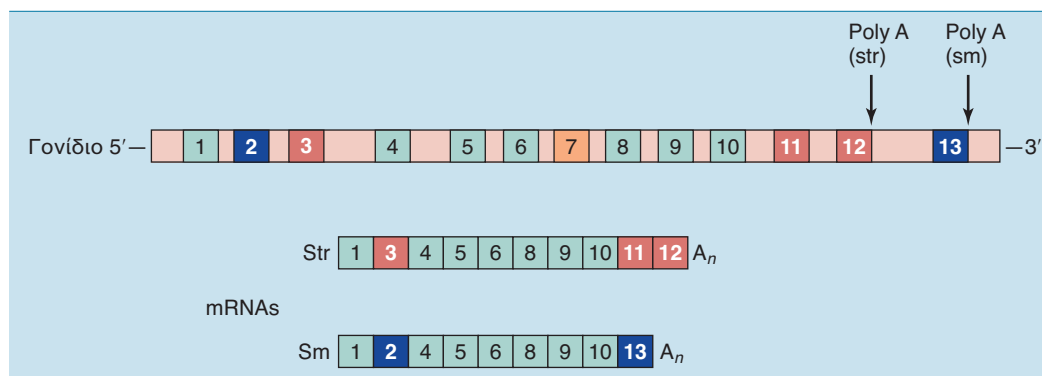
ΜΙΚΡΑ ΜΟΡΙΑ RNA ΑΝΑΣΤΕΛΛΟΥΝ ΤΗ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΕΚΦΡΑΣΗ

Η **παρεμβολή RNA (RNA interference)** είναι η διεργασία μέσω της οποίας ένα μικρό μονόκλωνο μόριο RNA, μήκους συνήθως 22-23 νουκλεοτιδίων, αναστέλλει τη γονιδιακή έκφραση. Στο κύτταρο, η διεργασία αυτή επιτελεί δύο λειτουργίες. Η πρώτη είναι η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, κυρίως μέσω αναστολής της μετάφρασης συγκεκριμένων κυτταρικών mRNAs. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση του **micro-RNA (miRNA)**, που κωδικοποιείται από κυτταρικά γονίδια. Η δεύτερη λειτουργία είναι η άμυνα ενάντια σε RNA ιούς. Αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση **μικρών RNA παρεμβολής (small interfering RNA, siRNA)**, που προέρχονται από έναν RNA ιό.

Η αριστερή πλευρά της **Εικόνας 7.23** παρουσιάζει τα βήματα του σχηματισμού και της χρήσης του micro-RNA. Αρχικά, το RNA συντίθεται από την RNA πολυμεράση II. Πολλές φορές, το πρόδρομο μόριο miRNA είναι το ιντρόνιο



ΕΙΚΟΝΑ 7.20 Μεταγραφή του γονιδίου της γλυκοκινάσης. Εναλλακτικοί υποκινητές χρησιμοποιούνται στα ηπατοκύτταρα και στα β-κύτταρα του παγκρέατος. Τα παραγόμενα πολυπεπίδια διαφέρουν ως προς το αμινοτελικό τους άκρο, που κωδικοποιείται από το εξόνιο 1 στο πάγκρεας, καθώς και το εξόνιο 1 L ή τα εξόνια 1 L και 2A στο ήπαρ. ■ = εξόνιο, □ = ιντρόνιο.



ΕΙΚΟΝΑ 7.21 Το γονίδιο της τροπομυοσίνης είναι ένα παράδειγμα ιστοειδικού ματίσματος. Στους γραμμωτούς μύες χρησιμοποιούνται μόνο 10 από τα 13 εξόνια, ενώ στους λείους μύες μόνο τα εννιά. Στους γραμμωτούς και λείους μύες χρησιμοποιούνται διαφορετικά σήματα πολυαδενυλίωσης: poly A (str) και poly A (sm), αντίστοιχα.

ενός γονιδίου που κωδικοποιεί πρωτεΐνες. Το RNA αυτό υφίσταται επεξεργασία από νουκλεάσες που ελαττώνουν το μέγεθός του σε μια μονήρη δομή στελέχους-βρόχου με μήκος 70 περίπου νουκλεοτίδια. Αυτό το προ-miRNA εξάγεται στο κυτταρόπλασμα όπου υποβάλλεται σε περαιτέρω επεξεργασία από τη ριβονουκλεάση (RNAάση) **dicer**. Έτσι, απομένει ένα δίκλωνο RNA που έχει κατά κανόνα μήκος 22 έως 23 νουκλεοτίδια.

Αυτό το δίκλωνο RNA φορτώνεται σε μια πρωτεΐνη **Αργοναύτη**, που σχηματίζει το κεντρικό συστατικό του **RNA-επαγόμενου συμπλόκου αποσιώπησης (RNA-induced silencing complex, RISC)**. Εν συνεχεία, η μία από τις δύο αλυσίδες αποσυντίθεται, αφήνοντας μια αλυσίδα στενά συνδεδεμένη με την πρωτεΐνη **Αργοναύτη**.

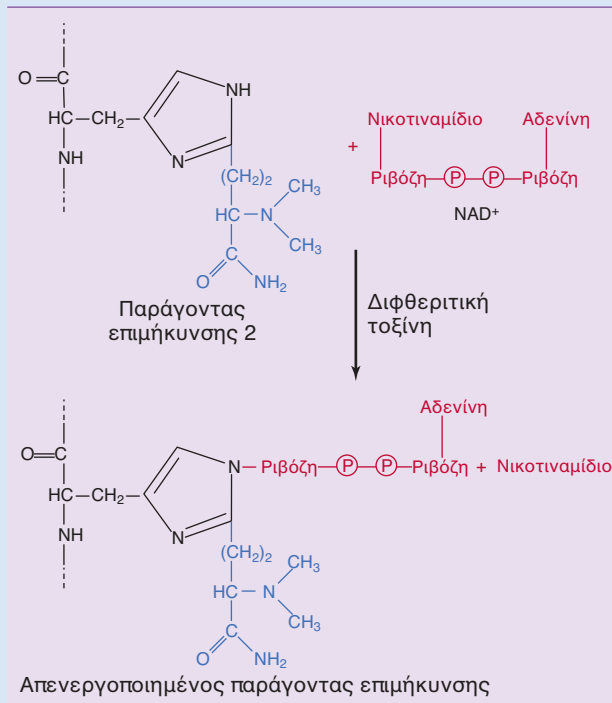
Οι εκτεθειμένες βάσεις αυτού του συνδεδεμένου με πρωτεΐνη miRNA μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς με συμπληρωματικές βάσεις του mRNA (ζευγάρισμα βάσεων). Κατά κανόνα, οι δεσμοί αυτοί αφορούν 7 περίπου βάσεις κοντά στο 5' άκρο του miRNA.

Η σύνδεση του miRNA με το mRNA αποτρέπει την ριβοσωμική πρωτεϊνοσύνθεση. Οι αλληλουχίες που είναι συμπληρωματικές με ένα συγκεκριμένο miRNA μπορεί να απαντώνται σε πολλά διαφορετικά mRNAs. Συνεπώς, μερικά miRNAs μπορούν να ελαττώσουν με συντονισμένο τρόπο τη σύνθεση δεκάδων έως εκατοντάδων πρωτεϊνών, με τον ίδιο τρόπο που ένας μεταγραφικός παράγοντας μπορεί να συντονίσει την έκφραση όλων των γονιδίων τα οποία διαθέτουν στις ρυθμιστικές τους περιοχές ειδικές θέ-

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.6: Διφθερίτιδα

Η διφθερίτιδα είναι μια βακτηριακή λοίμωξη των ανώτερων αεροφόρων οδών που οδηγεί σε νέκρωση των επιθηλιακών κυττάρων και απόφραξη των αεραγωγών. Πριν την ανακάλυψη των αντιβιοτικών, η διφθερίτιδα αποτελούσε μείζονα αιτία παιδικής θνησιμότητας. Το υπεύθυνο βακτήριο, το *Corynebacterium diphtheriae*, εκκρίνει μια τοξική πρωτεΐνη που συνδέεται με έναν υποδοχέα επιφανείας των επιθηλιακών κυττάρων. Ακολουθώντας,

διασπάται από μια πρωτεάση και ένα από τα πρωτεολυτικά της θραύσματα εισέρχεται στα κύτταρα. Αυτό το ενεργό θραύσμα είναι ένα ένζυμο που απενεργοποιεί τον παράγοντα επιμήκυνσης EF-2 (Εικόνα 7.22). Ένα μόνο μόριο τοξίνης αρκεί για να απενεργοποιηθούν χιλιάδες μόρια EF-2. Τα στελέχη *Corynebacterium* που δεν παράγουν αυτή την τοξίνη αποτελούν αβλαβή μέλη της φυσιολογικής χλωρίδας του δέρματος και των βλεννογόνων.



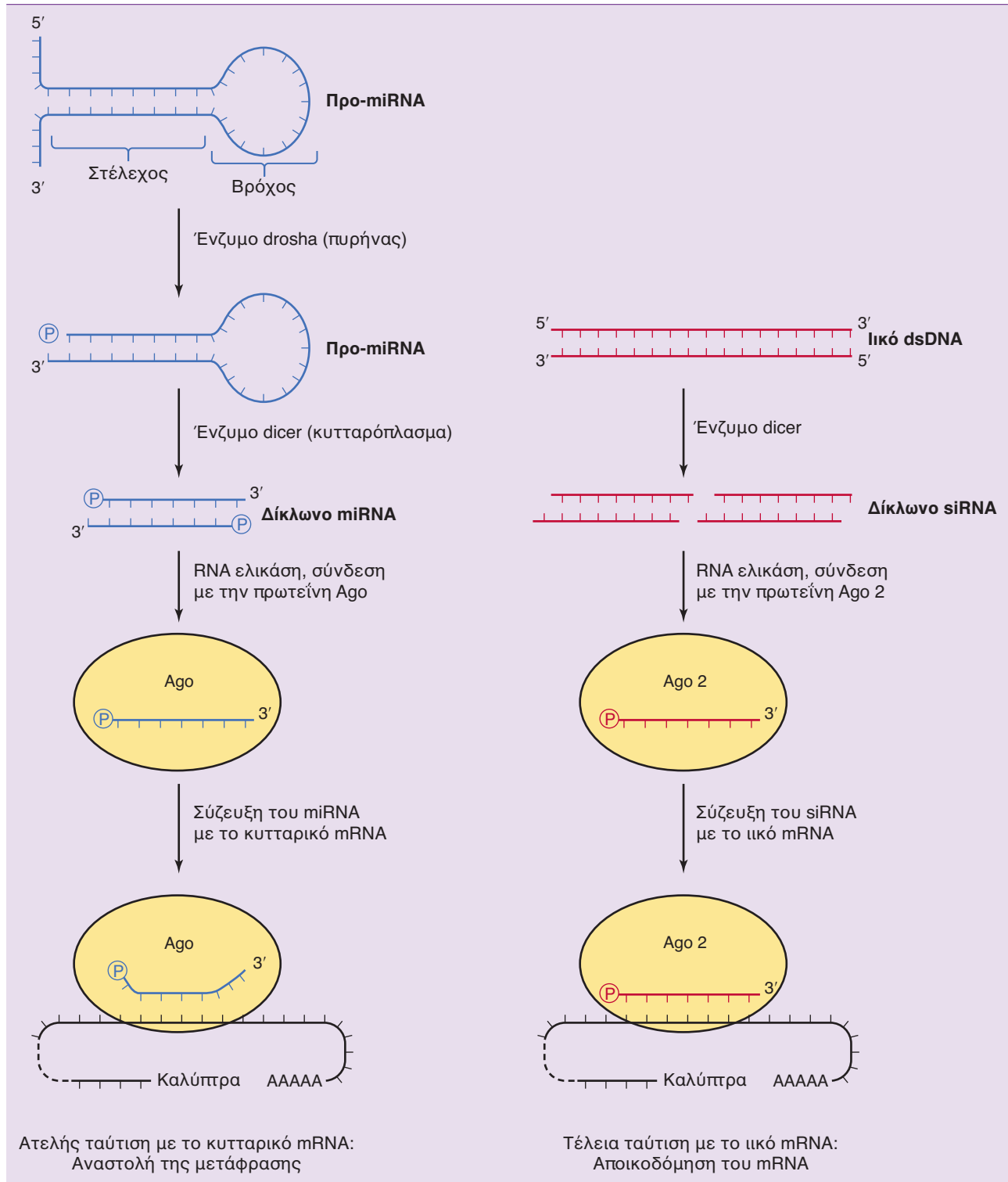
ΕΙΚΟΝΑ 7.22 Ομοιοπολική τροποποίηση του ευκαρυωτικού παράγοντα επιμήκυνσης EF-2 («τρανσλοκάσης») από την διφθεριτική τοξίνη. Η αμινοξική πλευρική ομάδα στον παράγοντα επιμήκυνσης είναι το διφθαμίδιο, μια μετα-μεταφραστικά τροποποιημένη ιστιδίνη. NAD^+ = δινουκλεοτίδιο νικοτιναμιδίου-αδενίνης.

σεις πρόσδεσης για αυτόν. Ο άνθρωπος έχει περισσότερα από 1000 miRNAs και η μετάφραση του ενός τρίτου τουλάχιστον όλων των ανθρώπινων mRNAs ρυθμίζεται από ένα τουλάχιστον miRNA. Η έκφραση των περισσότερων πρόδρομων μορίων miRNAs διαφοροποιείται ανάλογα με τον τύπο κυττάρων, ενώ μερικά τέτοια μόρια συντίθενται για σύντομο μόνο χρονικό διάστημα σε συγκεκριμένα στάδια της ανάπτυξης.

Τα miRNAs μπορούν να λάβουν μέρος και στη μεταγραφική αποσιώπηση. Στην περίπτωση αυτή, ένα RNA-επαγόμενο σύμπλοκο μεταγραφικής αποσιώπησης (RNA-induced transcriptional silencing complex, RITS) το οποίο είναι φορτωμένο με miRNA, αναγνωρίζει στόχους πάνω στο RNA κατά τη μεταγραφή. Μετά την αναγνώριση του στόχου, το σύμπλοκο στρατολογεί ένζυμα τροποποίησης των ιστονών που μεταβάλλουν το γονίδιο, φέρνοντάς το σε ετεροχρωματική κατάσταση.

ΚΛΙΝΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ 7.7: Τα miRNAs στη Νόσο Alzheimer

Η νόσος Alzheimer οφείλεται στην ανώμαλη επεξεργασία της πρόδρομης πρωτεΐνης του αμυλοειδούς (amyloid precursor protein, APP) προς β-αμυλοειδές (βλέπε Κεφάλαιο 2). Όταν μετρήθηκαν τα επίπεδα των micro-RNAs σε νεκροτομικό υλικό ασθενών με νόσο Alzheimer, η ποσότητα ενός miRNA (του miR-107) ήταν ελαττωμένη. Μία άλλη μελέτη διαπίστωσε χαμηλά επίπεδα τριών άλλων miRNAs (miR-29a, miR-29b και miR-9) σε εγκεφάλους ασθενών με Alzheimer. Στόχος αυτών των miRNAs είναι το mRNA για τη β-σεκρετάση, το ένζυμο που παράγει β-αμυλοειδές. Δεν μπορούμε να είμαστε βέβαιοι εάν τα ελαττωμένα επίπεδα αυτών των miRNAs αποτελούν την αιτία ή το αποτέλεσμα της νόσου, αλλά δεν αποκλείεται τα ελαττωμένα επίπεδα των miRNAs να οδηγούν σε αυξημένη έκφραση της β-σεκρετάσης και, κατά συνέπεια, σε αυξημένο σχηματισμό του β-αμυλοειδούς.



ΕΙΚΟΝΑ 7.23 Σχηματισμός ενός μικρο-RNA (miRNA) από ένα κυτταρικό μετάγραφο και ενός μικρού RNA παρεμβολής (siRNA) από ένα δίκλωνο (ds) ιικό RNA. Ago = πρωτεΐνη αργοναύτης.

Όσον αφορά την άμυνα ενάντια σε RNA ιούς, η νουκλεάση dicer παράγει siRNAs διασπώντας μακριά δίκλωνα ιικά RNA σε μικρά κομμάτια, τα οποία φορτώνει σε μια πρωτεΐνη Αργοναύτη. Το δεσμευμένο στην πρωτεΐνη

Αργοναύτη siRNA οδηγεί το RISC σε ένα μονόκλωνο ιικό mRNA με συμπληρωματική αλληλουχία. Το ζευγάρι βάσεων του δεσμευμένου στον Αργοναύτη siRNA αποτρέπει τη μετάφραση του ιικού mRNA. Αυτό ακολουθείται από

Πίνακας 7.9 Διαφορές ως προς τον Γενετικό Κώδικα ανάμεσα στα Ανθρώπινα Μιτοχόνδρια και στον Τυπικό Κώδικα που Χρησιμοποιούν τα Κυτταροπλασματικά Ριβοσώματα

Κωδικόνιο	Τυπικός Κώδικας	Μιτοχονδριακός Κώδικας
AUA	Ile	Met
AGA	Arg	Τερματισμός
AGG	Arg	Τερματισμός
UGA	Τερματισμός	Trp

Cys = κυστεΐνη, DNA = δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, His = ιστιδίνη, Leu = λευκίνη.

διάσπαση του ιικού RNA μέσω νουκλεασών. Μία από τις τέσσερις πρωτεΐνες Αργοναύτες που κωδικοποιεί το ανθρώπινο γονιδίωμα, η Ago 2, είναι μια ενεργός RNAάση. Αποτρέπει τη μετάφραση μόνο όταν το ζευγάρι βάσεων του δεσμευμένου σε αυτήν miRNA ή siRNA με το RNA-στόχο περιορίζεται στις 7 περίπου βάσεις. Εάν το ζευγάρι βάσεων είναι πιο εκτεταμένο διασπά τον στόχο.

ΤΑ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΑ ΕΧΟΥΝ ΔΙΚΟ ΤΟΥΣ DNA

Τα ανθρώπινα μιτοχόνδρια περιέχουν 4 έως 10 αντίγραφα ενός μικρού κυκλικού χρωμοσώματος με 16.569 ζεύγη βάσεων DNA. Τα γονίδια 13 πολυπεπτιδίων, 22 tRNA και 2 rRNA (12S και 16S) μεταγράφονται μέσω μιας μιτοχονδριακής RNA πολυμεράσης και το mRNA μεταφράζεται από μικρά μιτοχονδριακά ριβοσώματα που μοιάζουν περισσότερο με βακτηριακά παρά με ανθρώπινα κυτταροπλασματικά ριβοσώματα.

Η ύπαρξη αυτού του πρωτεϊνοσυνθετικού συστήματος βασίζεται στο γεγονός ότι τα μιτοχόνδρια είναι οι απόγονοι συμβιωτικών βακτηρίων. Πριν από 1 και πλέον δισεκατομμύριο χρόνια, οι ήδη αερόβιοι πρόγονοί τους εισέβαλαν σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο που δεν είχε ακόμα μάθει να χρησιμοποιεί οξυγόνο για τη σύνθεση ATP. Αυτό που μπορεί να ξεκίνησε ως μια προσπάθεια παρασιτισμού, σύντομα μετεξελίχθηκε σε μια ειρηνική συνύπαρξη και, με τον καιρό, τα βακτήρια αυτά εξελίχθηκαν (ή εκφυλίσθηκαν) στα σημερινά μιτοχόνδρια. Το ένα μετά το άλλο, τα περισσότερα από τα αρχικά βακτηριακά γονίδια μετακόμισαν στον πυρήνα. Αυτό σημαίνει ότι το ανθρώπινο πυρηνικό γονιδίωμα είναι υβριδικής προέλευσης, αφού κατάγεται εν μέρει από έναν αρχέγονο ευκαρυωτικό οργανισμό και εν μέρει από έναν συμβιωτικό προκαρυωτικό οργανισμό.

Ο λόγος που το μιτοχονδριακό γονιδίωμα εξακολουθεί να υπάρχει είναι ότι αφού έγινε πολύ μικρό σημειώθηκαν και μερικές μικρές μεταβολές στον ίδιο το γενετικό κώδικα (Πίνακας 7.9). Επειδή σήμερα ο γενετικός κώδικας του πυρήνα είναι διαφορετικός από εκείνον των μιτοχονδρίων, η μετακίνηση των υπόλοιπων μιτοχονδριακών γονιδίων προς το εσωτερικό του πυρήνα δεν είναι πλέον εφικτή.

ΤΑ ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΑ ΕΜΦΑΝΙΖΟΥΝ ΜΕΓΑΛΗ ΠΟΙΚΙΛΟΜΟΡΦΙΑ

Αν συγκρίνει κανείς τα γονιδιώματα δύο ανθρώπων, θα διαπιστώσει ότι υπάρχει μία διαφορά ανά 1.100 ζεύγη βάσεων. Αντίθετα, η αντίστοιχη διαφορά ανάμεσα στο DNA του ανθρώπου και στο DNA του χιμπατζή είναι 1 ανά 80 ζεύγη βάσεων. Στον άνθρωπο, οι περισσότερες διαφορές είναι **μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (single-nucleotide polymorphisms, SNPs)**, δηλαδή αφορούν την αντικατάσταση μίας μόνο βάσης. Το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει 11 εκατομμύρια SNP με συχνότητα ελασσόνων αλληλόμορφων πάνω από 1%, και 7 εκατομμύρια SNP με συχνότητα ελασσόνων αλληλόμορφων πάνω από 5%. Στην κωδικοποιούσα αλληλουχία ενός μέσου γονιδίου που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη υπάρχουν περίπου τέσσερις SNP με συχνότητα στον γενικό πληθυσμό πάνω από 1% για το σπανιότερο αλληλόμορφο. Ένας άλλος συχνός τύπος παραλλαγών συνίσταται σε μικρές ενθέσεις (insertions) και απαισιφές (deletions) ενός ή λίγων ζευγών βάσεων, που συλλογικά ονομάζονται **indels** (από τη σύντμηση των παραπάνω όρων).

Στον Πίνακα 7.10 παρατίθεται η πυκνότητα αυτών των παραλλαγών σε διαφορετικές λειτουργικές κατηγορίες. Γενικά, παρατηρείται *λιγότερη ετερογένεια στις λειτουργικές αλληλουχίες από ότι στο θεωρούμενο ως «σκουπίδο-DNA»*. Έτσι, για παράδειγμα, η συχνότητα των SNP, και ειδικά των ενθέσεων και απαισιφών (indels), είναι χαμηλότερη στις κωδικοποιούσες αλληλουχίες των γονιδίων από ότι στα επαναλαμβανόμενα στοιχεία. Ο λόγος είναι ότι μια νέα μετάλλαξη στην κωδικοποιούσα αλληλουχία μπορεί να δημιουργήσει λειτουργικές διαταραχές και συνεπώς αφαιρείται μέσω φυσικής επιλογής. Παρόμοιες μεταλλάξεις σε μη λειτουργικό DNA, όπως είναι η μεγάλη πλειονότητα των επαναλαμβανόμενων στοιχείων, διατηρούνται από γενιά σε γενιά καθώς είναι αβλαβείς.

Οι indels σε μια κωδικοποιούσα αλληλουχία τείνουν να δημιουργήσουν μεγαλύτερες διαταραχές από ότι οι SNPs όσον αφορά τη δομή και λειτουργία των πρωτεϊνών και συνεπώς αφαιρούνται ταχύτερα μέσω φυσικής επιλογής. Ακόμα και μεταξύ κωδικοποιούντων SNP, παρατηρείται μεροληψία υπέρ των **συνώνυμων SNP** που δεν μεταβάλλ-

Πίνακας 7.10 Γενετικές Παραλλαγές στο Γονιδίωμα ενός Ατόμου (του Craig Venter), σε Σύγκριση με το Ανθρώπινο Γονιδίωμα Αναφοράς (Human Reference Genome)

	Παραλλαγές ανά 10.000 Ζεύγη Βάσεων	
	SNPs	Indels
Συνολικό γονιδίωμα	7,8	0,9
Κωδικοποιούσες αλληλουχίες	4,5	0,09
Κωδικοποιούσες αλληλουχίες νοσογόνων γονιδίων	3,6	0,04
5'-μη μεταφραζόμενες περιοχές	5,5	0,3
3'-μη μεταφραζόμενες περιοχές	5,9	0,7
Θέσεις ματίσματος	5,0	0,6
Υποκινητής (1kb ανοδικά της έναρξης)	6,8	0,8
Ιντρόνια	7,0	0,9
Συντηρημένα στοιχεία σε ιντρόνια	4,8	0,5
Συντηρημένα στοιχεία μεταξύ των γονιδίων	5,9	0,5
Αλληλουχίες Alu	9,0	2,6
Αλληλουχίες L1	8,3	0,6
Διαδοχικές επαναλήψεις	11,0	15

SNP = μονονουκλεοτιδικός πολυμορφισμός, indel = ένθεση ή απαλοιφή.

λουν την αμινοξική αλληλουχία της πρωτεΐνης, επειδή αντικαθιστούν ένα κωδικόνιο με ένα άλλο που κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ. Το 50% σχεδόν των SNP στις κωδικοποιούσες αλληλουχίες είναι συνώνυμοι.

Δεν είναι όλα τα γονίδια εξίσου «σημαντικά». Μόνο το 7% των ανθρώπινων γονιδίων σχετίζονται αποδεδειγμένα με κάποια γενετική νόσο. Γενικά, αυτά τα «νοσογόνα γονίδια» παρουσιάζουν ακόμα μικρότερη ποικιλομορφία συγκριτικά με τα υπόλοιπα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, πιθανώς επειδή είναι πιο σημαντικά. Μελέτες σε ποντίκια με στοχευμένη αφαίρεση γονιδίου (knockout mice) έχουν αποδείξει ότι πολλά γονίδια μπορούν να χαθούν εντελώς χωρίς να προκύψουν εμφανείς ανωμαλίες. Επίσης, πολλά ανθρώπινα γονίδια θεωρούνται μάλλον «επουσιώδη», υπό την έννοια ότι οι επιδράσεις των μεταλλάξεων τους είναι υπερβολικά ήπιες για να διαγνωσθούν ως γενετικές νόσοι.

Κάποιες αλληλουχίες που δεν ανήκουν στις κωδικοποιούσες περιοχές των γονιδίων είναι πολύ καλά εξελικτικά συντηρημένες μεταξύ των ειδών και έτσι θεωρούνται λειτουργικές. Κάποιες πιθανόν να κωδικοποιούν λειτουργικά RNA, ενώ άλλες είναι απομακρυσμένα από το γονίδιο ρυθμιστικά στοιχεία γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 7.10, αυτά τα συντηρημένα στοιχεία παρουσιάζουν μικρή ποικιλομορφία και στο ανθρώπινο είδος.

ΤΟ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΕΙ ΠΟΛΛΕΣ ΧΑΜΗΛΗΣ ΣΥΧΝΟΤΗΤΑΣ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΕΙΣ ΤΟΥ ΑΡΙΘΜΟΥ ΑΝΤΙΓΡΑΦΩΝ

Σε αντίθεση με τους SNP και τις indels, που οφείλονται σε σφάλματα κατά την αντιγραφή, οι μεγάλες απαλοιφές και διπλασιασμοί προέρχονται από ανώμαλο επιχιασμό μεταξύ λανθασμένα συζευγμένων χρωμοσωμάτων (βλέπε Εικόνα 7.6) ή από θραύσεις χρωμοσωμάτων.

Αυτές οι διακυμάνσεις του αριθμού αντιγράφων (copy number variations) έχουν μέγεθος από 200 μέχρι 1 και πλέον εκατομμύριο ζεύγη βάσεων. Οι περισσότερες διακυμάνσεις του αριθμού αντιγράφων είναι σπάνιες από μόνες τους, με συχνότητα ελασσόνων αλληλόμορφων κάτω από 1%. Το 5 έως 10% των ατόμων φέρει όμως τουλάχιστον μία τέτοια διακύμανση που ξεπερνά τα 500.000 ζεύγη βάσεων, ενώ το 1-2% των ατόμων φέρει μια διακύμανση που ξεπερνά το 1 εκατομμύριο ζεύγη βάσεων. Στο εκάστοτε άτομο, εμπλέκονται σε δομικές παραλλαγές 9 έως 25 εκατομμύρια ζεύγη βάσεων του DNA.

Οι μεταλλάξεις που οδηγούν σε μεγάλες διακυμάνσεις του αριθμού αντιγράφων δεν είναι σπάνιες. Οι περισσότερες είναι, στην καλύτερη περίπτωση, ελαφρώς δυσμενείς λόγω «επιδράσεων γονιδιακής δόσης» (gene dosage effects), οπότε τείνουν να αποβάλλονται με βραδείς ρυθμούς από τη γονιδιακή δεξαμενή μέσω φυσικής επιλογής, συμβάλλοντας εν τω μεταξύ στην πρόκληση νόσησης και αναπηρίας. Έτσι, υπόκεινται σε μια εξισορρόπηση μεταξύ μετάλλαξης και επιλογής (mutation-selection balance). Εντούτοις, εάν δεν προκύψουν λειτουργικές διαταραχές, η διακύμανση αυτή μεταβιβάζεται από γενιά σε γενιά. Μπορεί ακόμα να καταστεί φυσιολογικό χαρακτηριστικό του γονιδιώματος. Οι αρχαίοι διπλασιασμοί δημιουργήσαν οικογένειες γονιδίων, ενώ οι πιο πρόσφατοι χαρακτηρίζονται ως τμηματικοί (segmental) διπλασιασμοί (βλέπε Εικόνα 7.5).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί πακετάρουν το DNA τους σε χρωματίνη με τη βοήθεια μικρών βασικών πρωτεϊνών, των ιστονών. Η κατάσταση συμπύκνωσης της χρωματίνης, και παράλληλα η προσβασιμότητα των γονιδίων για

μεταγραφής, ρυθμίζεται από ομοιοπολικές τροποποιήσεις τόσο των ιστονών όσο και του DNA. Μόνο το 1,3% του ανθρώπινου πυρηνικού DNA κωδικοποιεί πρωτεΐνες. Εντός των γονιδίων υπάρχουν μη κωδικοποιούσες αλληλουχίες DNA που ονομάζονται ιντρόνια, ενώ κάθε γονίδιο διαχωρίζεται από τα παρακείμενα μέσω μεταβλητών περιοχών μη κωδικοποιούντος DNA. Το μισό περίπου του ανθρώπινου γονιδιώματος σχηματίζεται από κατάλοιπα κινητών αλληλουχιών DNA που μπορούν να θεωρηθούν ως «μοριακά παράσιτα». Αυτά τα κινητά στοιχεία μπορούν να μετακινηθούν σε νέες γονιδιακές θέσεις μέσω ενός ενδιάμεσου προϊόντος RNA, με μια διεργασία που είναι γνωστή ως ρετρομετάθεση.

Η μεταγραφή ρυθμίζεται σχολαστικά από πρωτεΐνες που συνδέονται με υποκινητές και άλλες ρυθμιστικές θέσεις εντός των γονιδίων και γύρω από αυτά. Τα μεταγγραφα mRNA υφίστανται διάφορες τροποποιήσεις, όπως μάτισμα, πολυαδενυλίωση και αφαίρεση των ιντρονίων, προτού επιτραπεί στο ώριμο mRNA να εγκαταλείψει τον πυρήνα για να μεταφραστεί. Η μετάφραση μπορεί επίσης να ρυθμιστεί, για παράδειγμα από τα μικρο-RNA που την καταστέλλουν μέσω σύνδεσης με συγκεκριμένα mRNA. Η μεγάλη ετερογένεια του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι υπεύθυνη για τη φυσιολογική ποικιλομορφία του ανθρώπινου γένους, καθώς και για τις ατομικές διαφορές ως προς την ευπάθεια απέναντι σε διάφορες νόσους.

Προτεινόμενη Βιβλιογραφία

- Andersson, R., Sandelin, A., & Danko, C. G. (2015). A unified architecture of transcriptional regulatory elements. *Trends in Genetics*, 31(8), 426–433.
- Ausio, J. (2014). The shades of gray of the chromatin fiber. *Bioessays*, 37, 46–51.
- Bentley, D. L. (2014). Coupling of mRNA processing with transcription in time and space. *Nature Reviews Genetics*, 15, 163–175.
- Bernardes de Jesus, B., & Blasco, M. A. (2013). Telomerase at the intersection of cancer and aging. *Trends in Genetics*, 29(9), 513–520.
- Ezkurdia, I., Juan, D., Rodriguez, J. M., Frankish, A., Diekhans, M., Harrow, J., ... Tress, M. L. (2014). Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19000 protein-coding genes. *Human Molecular Genetics*, 23(22), 5866–5878.
- Femminella, G. D., Ferrara, N., & Rengo, G. (2015). The emerging role of microRNAs in Alzheimer's disease. *Frontiers in Physiology*, 6, 40.
- Gamazon, E. R., & Stranger, B. E. (2014). Genomics of alternative splicing: Evolution, development and pathophysiology. *Human Genetics*, 133, 679–687.
- Guo, X., Gao, L., Wang, Y., Chiu, D. K., Wang, T., & Deng, Y. (2016). Advances in long noncoding RNAs: Identification, structure prediction and function annotation. *Briefings in Functional Genomics*, 15(1), 38–46.
- Heyn, P., Kalinka, A. T., Tomancak, P., & Neugebauer, K. M. (2014). Introns and gene expression: Cellular constraints, transcriptional regulation, and evolutionary consequences. *Bioessays*, 37, 148–154.
- Holoch, D., & Moazed, D. (2015). RNA-mediated epigenetic regulation of gene expression. *Nature Reviews Genetics*, 16, 71–84.
- Hoskins, A. A., & Moore, M. J. (2012). The spliceosome: A flexible, reversible macromolecular machine. *Trends in Biochemical Sciences*, 37(5), 179–188.
- Hübner, M. R., Eckersley-Maslin, M. A., & Spector, D. L. (2013). Chromatin organization and transcriptional regulation. *Current Opinion in Genetics & Development*, 23, 89–95.
- Iyer, M. K., Niknafs, Y. S., Malik, R., Singhal, U., Sahu, A., Hosono, Y., ... Chinnaiyan, A. M. (2015). The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nature Genetics*, 47(3), 199–208.
- Ling, H., Vincent, K., Pichler, M., Fodde, R., Berindan-Neagoe, I., Slack, F. J., & Calin, G. A. (2015). Junk DNA and the long non-coding RNA twist in cancer genetics. *Oncogene*, 34(39), 5003–5011.
- Lyst, A., & Bird, M. J. (2015). Rett syndrome: A complex disorder with simple roots. *Nature Reviews Genetics*, 16, 261–274.
- Melé, M., Ferreira, P. G., Reverter, F., DeLuca, D. S., Monlong, J., Sammeth, M., ... Guigó, R. (2015). The human transcriptome across tissues and individuals. *Science*, 348 (6235), 660–665.
- Ozanne, S. E. (2015). Metabolic programming—knowns, unknowns and possibilities. *Nature Reviews Endocrinology*, 11, 67–68.
- Padeken, J., Zeller, P., & Gasser, S. M. (2015). Repeat DNA in genome organization and stability. *Current Opinion in Genetics & Development*, 31, 12–19.
- Pai, A. A., Pritchard, J. K., & Gilad, Y. (2015). The genetic and mechanistic basis for variation in gene regulation. *PLoS Genetics*, 11(1), e1004857.
- Palazzo, A. F., & Gregory, T. R. (2014). The case for junk DNA. *PLoS Genetics*, 10(5), e1004351.
- Rands, C. M., Meader, S., Ponting, C. P., & Lunter, G. (2014). 8.2% of the human genome is constrained: Variation in rates of turnover across functional element classes in the human lineage. *PLoS Genetics*, 10(7), e1004525.
- Roadmap Epigenomics Consortium. (2015). Integrative analysis of 111 reference human epigenomes. *Nature*, 518, 317–330.
- Sainsbury, S., Bernecky, C., & Cramer, P. (2015). Structural basis of transcription initiation by RNA polymerase II. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16, 129–143.
- Slaterry, M., Zhou, T., Yang, L., Dantas Machado, A. C., Gordân, R., & Rohs, R. (2014). Absence of a simple code: How transcription factors read the genome. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(9), 381–399.
- Stanley, S. E., & Armanios, M. (2015). The short and long telomere syndromes: Paired paradigms for molecular medicine. *Current Opinion in Genetics & Development*, 33, 1–9.
- Szyf, M. (2015). Nongenetic inheritance and transgenerational epigenetics. *Trends in Molecular Medicine*, 21(2), 134–144.
- The 1000 Genomes Project Consortium. (2012). An integrated map of genetic variation from 1092 human genomes. *Nature*, 491, 56–65.
- Weingarten-Gabbay, S., & Segal, E. (2014). The grammar of transcriptional regulation. *Human Genetics*, 133, 701–711.
- Whitehouse, I., & Smith, D. J. (2013). Chromatin dynamics at the replication fork: There's more to life than histones. *Current Opinion in Genetics & Development*, 23, 140–146.
- Wittrup, A., & Lieberman, J. (2015). Knocking down disease: A progress report on siRNA therapeutics. *Nature Reviews Genetics*, 16, 543–552.

ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ

1. Ο λόγος που η *in vitro* σύντηξη δύο ωοκυττάρων δεν μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία βιώσιμου απογόνου είναι ότι
 - A. Δεν θα ήταν δυνατή η απενεργοποίηση του ενός X χρωμοσώματος
 - B. Δεν θα εκφράζονταν κάποια αποτυπωμένα γονίδια
 - Γ. Θα ενεργοποιούνταν τα τρανσποζόνια
 - Δ. Τα γονίδια που εκφράζονται στο θήλυ άτομο δεν θα μπορούσαν να κατασταλούν από τα miRNAs που κληρονομούνται από το άρρεν άτομο
 - Ε. Τα τελομερίδια θα βραχύνονταν σημαντικά, οδηγώντας σε πρόωρη γήρανση και ενδομήτριο θάνατο
2. Κάποιες φαρμακευτικές εταιρείες προσπαθούν μανιωδώς να ανακαλύψουν αναστολείς τελομεράσης. Ένας αναστολέας τελομεράσης θα μπορούσε θεωρητικά να χρησιμοποιηθεί σε μια προσπάθεια να
 - A. Επιταχυνθεί η σύνθεση μυϊκών πρωτεϊνών
 - B. Προληφθούν οι ιογενείς λοιμώξεις
 - Γ. Θεραπευτεί ο καρκίνος
 - Δ. Θεραπευτεί το σύνδρομο της επίκτητης ανοσοανεπάρκειας (AIDS)
 - Ε. Επιτευχθεί η αθανασία
3. Οι αλληλουχίες Alu μπορούν να προκαλέσουν νόσηση μεταπηδώντας σε νέες γονιδιωματικές θέσεις. Η κινητικότητα τους εξαρτάται από τις δραστηριότητες των ακόλουθων ενζύμων:
 - A. Τρανσποζάση και RNA πολυμεράση
 - B. DNA πολυμεράση και RNA ρεπλικάση
 - Γ. Πεπτιδυλοτρανσφεράση και τρανσποζάση
 - Δ. Πριμάση και λιγάση
 - Ε. RNA πολυμεράση και αντίστροφη μεταγραφάση
4. Η γνωμάτευση ενός τεστ πατρότητας που μόλις λάβατε από το εργαστήριο αναφέρει ότι χρησιμοποιήθηκε ανάλυση πολυμορφικών μικροδορυφόρων. Τι ακριβώς είναι ένας πολυμορφικός μικροδορυφόρος;
 - A. Μια αλληλουχία του κεντρομερικού DNA
 - B. Ένα τμήμα χρωματίνης που συνδέεται με το βραχύ σκέλος ενός ακροκεντρικού χρωμοσώματος
 - Γ. Μια διαδοχική επανάληψη μεταβλητού μήκους
 - Δ. Ένα μη λειτουργικό αντίγραφο ενός γονιδίου
 - Ε. Ένα μικρό RNA που ρυθμίζει την γονιδιακή έκφραση στοχεύοντας τα mRNAs
5. Οι ευκαρυωτικοί ενισχυτές είναι:
 - A. Ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA μέσα σε κωδικοποιούσες αλληλουχίες γονιδίων που επηρεάζουν την ταχύτητα της μεταγραφικής επιμήκυνσης
 - B. Θέσεις δέσμευσης για τους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες οι οποίες εντοπίζονται στον υποκινητή
 - Γ. Πρωτεΐνες που συνδέονται με ρυθμιστικές αλληλουχίες βάσεων του DNA
 - Δ. Αλληλουχίες DNA εκτός της περιοχής του υποκινητή οι οποίες περιέχουν πολλαπλές θέσεις δέσμευσης για ρυθμιστικές πρωτεΐνες
 - Ε. Πρωτεΐνες που επιταχύνουν την έναρξη της μετάφρασης συνδεόμενες είτε με το ριβόσωμα ή με το mRNA
6. Το έτος 2045, ο επικεφαλής των υγειονομικών υπηρεσιών των ΗΠΑ αποφασίζει ότι η αντίστροφη μεταγραφάση είναι επικίνδυνη για την υγεία του πληθυσμού καθώς οδηγεί σε μεταλλάξεις ένθεσης. Για να εξαλείψουν την αντίστροφη μεταγραφάση από ολόκληρο τον οργανισμό, οι γενετιστές θα έπρεπε να αφαιρέσουν άθικτα και στο πλήρες μήκος τους, όλα τα αντίγραφα των:
 - A. DNA τρανσποζονίων και των αλληλουχιών Alu
 - B. Των ρετροϊκών τρανσποζονίων και των αλληλουχιών Alu
 - Γ. Των στοιχείων L1 και των αλληλουχιών Alu
 - Δ. Ψευδογονιδίων και ρετροϊκών τρανσποζονίων
 - Ε. Στοιχείων L1 και των ρετροϊκών τρανσποζονίων
7. Η απαλοιφή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί ένα πρόδρομο μόριο miRNA είναι πιθανόν να οδηγήσει σε
 - A. Αυξημένη μετάφραση των mRNAs
 - B. Λανθασμένη ανάγνωση του γενετικού κώδικα
 - Γ. Ελαττωμένη σταθερότητα των mRNAs
 - Δ. Ακετυλίωση ιστονών και ενισχυμένη μεταγραφάση
 - Ε. Καταστολή της ρετρομετάθεσης από κινητά στοιχεία