



ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Δρ. Γκατζίδου Ελισάβετ
Μέλος Ε.ΔΙ.Π.
Εργαστήριο Βιολογίας
Τμήμα Ιατρικής ΔΠΘ

Οργάνωση Ευκαρυωτικού Γονιδιώματος

Μεσοφασικά Χρωμοσώματα

- ▣ Η χρωματίνη των μεσοφασικών χρωμοσωμάτων δεν έχει ομοιογενή συσκευασία.
- ▣ Οι περιοχές του χρωμοσώματος οι οποίες περιέχουν γονίδια που εκφράζονται είναι πιο εκτεταμένες, ενώ οι περιοχές που περιέχουν γονίδια σε «ηρεμία» είναι πιο συμπαγείς.
- ▣ Η λεπτομερής δομή ενός μεσοφασικού χρωμοσώματος διαφέρει από το ένα είδος κυττάρου στο άλλο, ανάλογα με τα γονίδια που εκφράζονται.

Μεσοφασικά Χρωμοσώματα

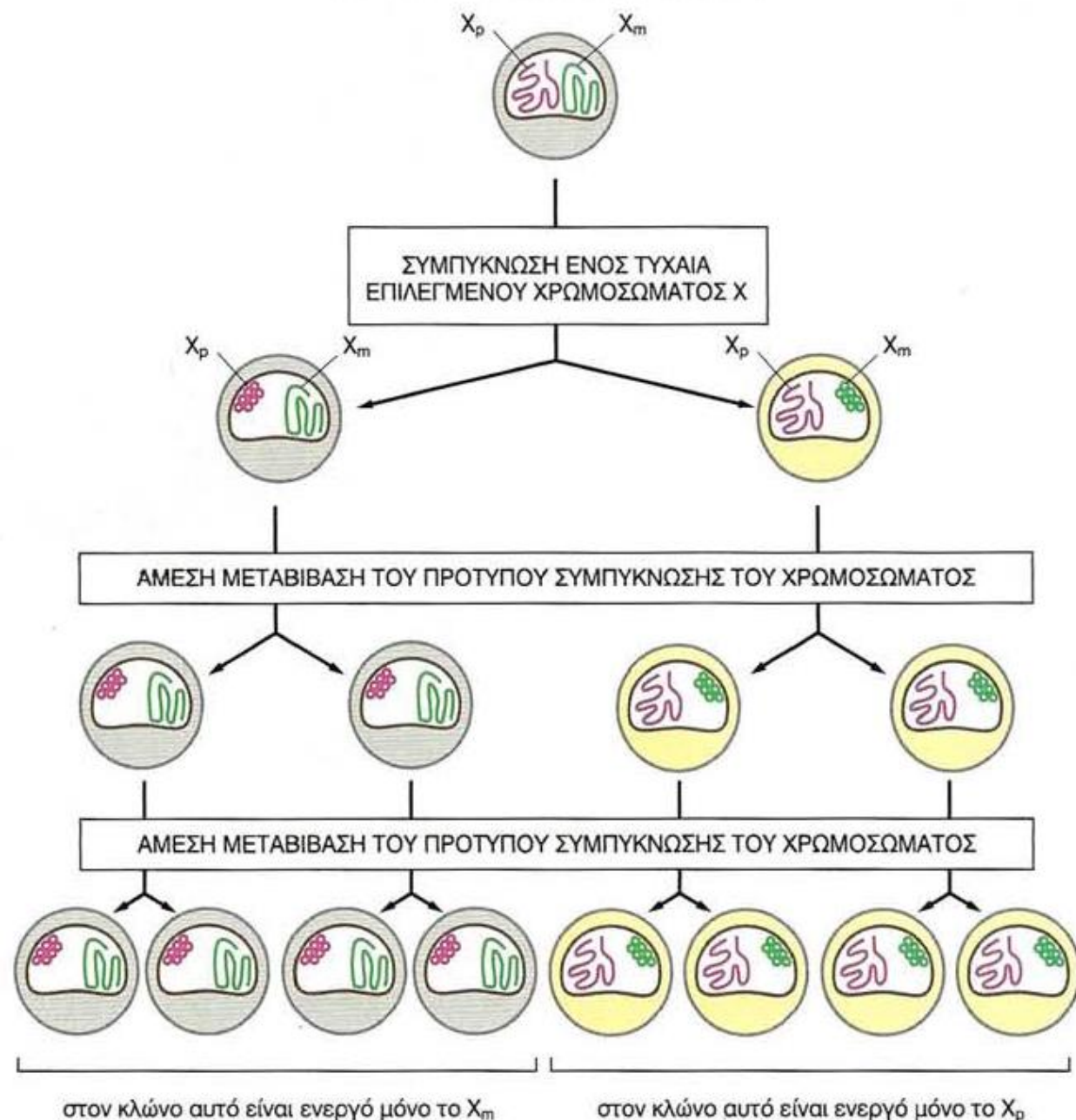
▣ Ετεροχρωματίνη – Heterochromatin

- Η πιο συμπαγής μορφή της μεσοφασικής χρωματίνης
- Γονίδια ΔΕΝ εκφράζονται

▣ Ευχρωματίνη

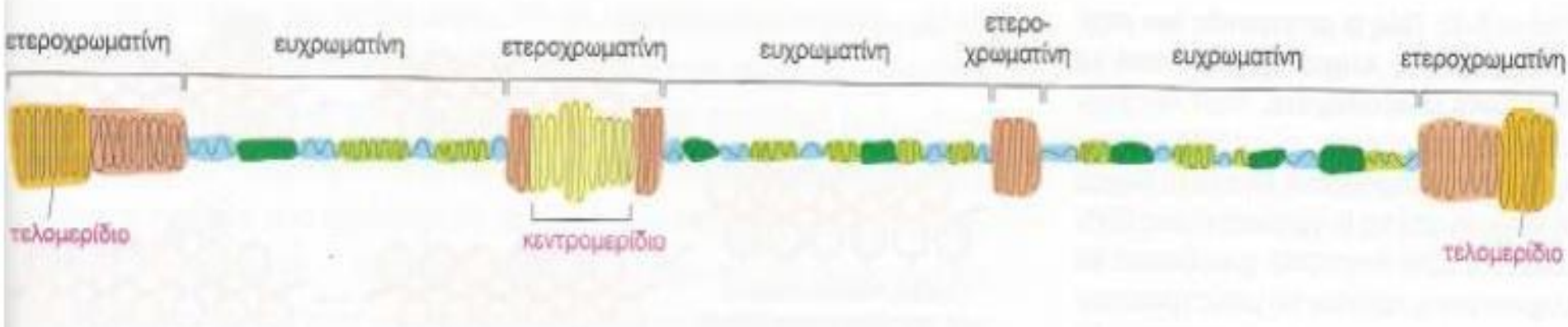
- Πιο εκτεταμένη μορφή χρωματίνης
- Γονίδια εκφράζονται

κύτταρα ενός πρώιμου θηλυκού εμβρύου



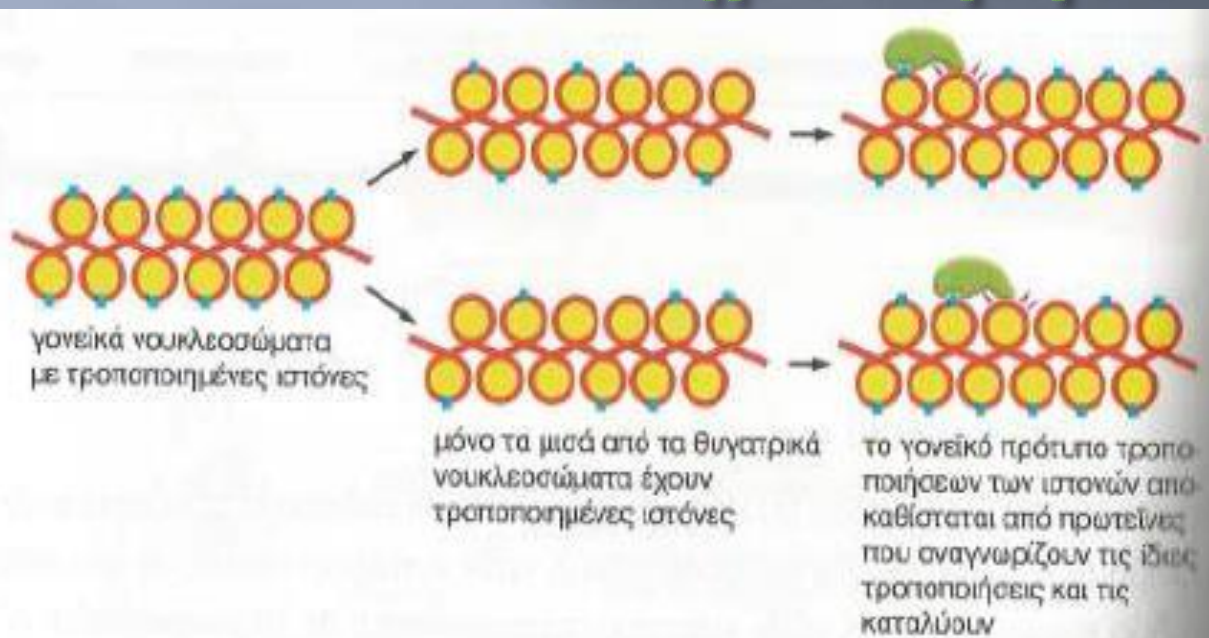
Εικόνα 5-28. Η αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X. Τα κύτταρα ενός πρώιμου θηλυκού εμβρύου ενός θηλαστικού περιέχουν δύο χρωμοσώματα X, ένα προερχόμενο από τη μητέρα (X_m) και ένα από τον πατέρα (X_p). Σ' ένα πρώιμο αναπτυξιακό στάδιο, το ένα από αυτά τα δύο χρωμοσώματα κάθε κυττάρου συμπυκνώνεται σε ετεροχρωματίνη, προφανώς κατά τύχη. Σε κάθε κυτταρική διαίρεση, μετά το στάδιο αυτό σε όλους τους απογόνους του συγκεκριμένου κυττάρου συμπυκνώνεται το ίδιο χρωμόσωμα. Στον ποντικό, η αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X συμβαίνει ανάμεσα στην τρίτη και την έκτη ημέρα της ανάπτυξης. Στον άνθρωπο, η αδρανοποίηση του X επίσης συμβαίνει σ' ένα πολύ πρώιμο στάδιο της ανάπτυξης, προτού τα κύτταρα δεσμευτούν σε κάποια συγκεκριμένη αναπτυξιακή οδό. Έτσι, τα θηλυκά θηλαστικά καταλήγουν να είναι ένα μωσαϊκό κυττάρων που περιέχουν αδρανοποιημένα χρωμοσώματα X μητρικής ή πατρικής προέλευσης. Στους περισσότερους ιστούς και όργανα, τα μισά περίπου κύτταρα θ' ανήκουν στο ένα είδος και τα υπόλοιπα στο άλλο.

Η δομή της χρωματίνης ενός μεσοφασικού χρωμοσώματος



Εικόνα 5-31. Η δομή της χρωματίνης διαφέρει κατά μήκος ενός χρωμοσώματος της μεσόφασης. Όπως απεικονίζεται σχηματικά με τα διάφορα χρώματα, η ετεροχρωματίνη και η φυσιολογική χρωματίνη ή αλλιώς ευχρωματίνη αντιπροσωπεύουν διαφορετικές δομές χρωματίνης με διαφορετική έκταση και συμπύκνωση. Γενικά η ετεροχρωματίνη είναι πιο συμπυκνωμένη από την ευχρωματίνη.

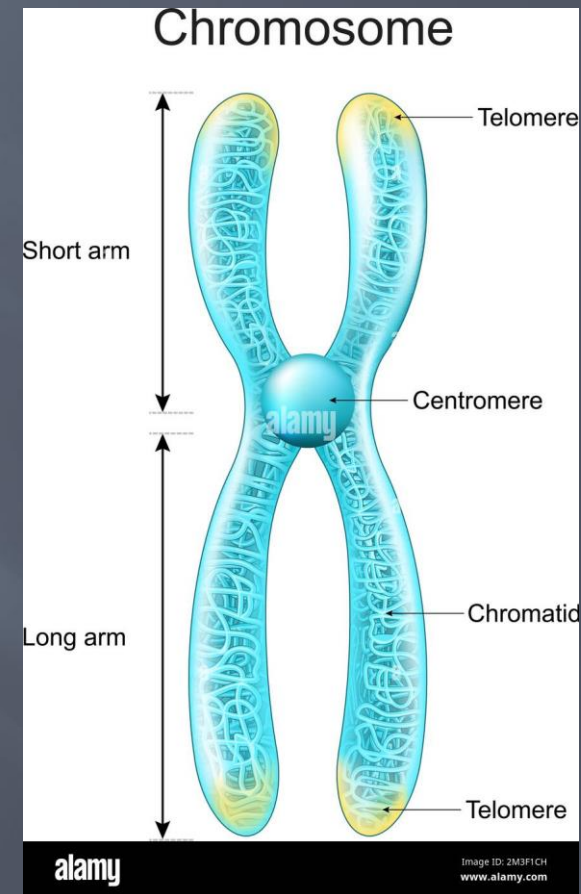
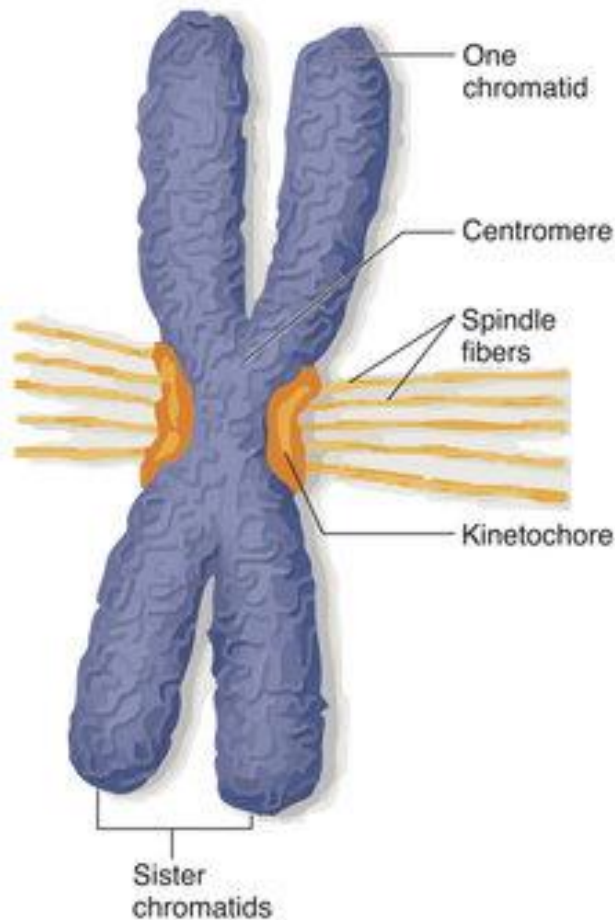
Μεταβολές της δομής της χρωματίνης μπορούν να κληρονομηθούν



Εικόνα 5-22. Πώς οι μετατροπές των ιστονών μπορεί να κληρονομηθούν από τα θυγατρικά χρωμοσώματα. Όταν ένα χρωμόσωμα αντιγράφεται, οι ιστόνες που περιλαμβάνει κατανέμονται λίγο πολύ τυχαία σε καθεμία από τις θυγατρικές έλικες DNA. Συνεπώς, κάθε θυγατρικό χρωμόσωμα θα κληρονομήσει περίπου τις μισές τροποποιημένες ιστόνες του γονεϊκού κυττάρου. Τα υπόλοιπα τμήματα του DNA λαμβάνουν καινούργιες ιστόνες που έχουν μόλις συντεθεί και δεν έχουν υποστεί τροποποιήσεις. Σε αυτό το σημείο πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν μια ειδική τροποποίηση μπορεί να συνδεθούν στην χρωματίνη και να προκαλέσουν την εισαγωγή της ίδιας τροποποίησης στις γειτονικές νέες ιστόνες. Αυτό μπορεί να αποκαταστήσει τις γονεϊκές τροποποιήσεις και τελικά να επιτρέψει την κληρονομική μεταβίβαση της δομής της γονεϊκής χρωματίνης. Αυτός ο μηχανισμός φαίνεται ότι έχει εφαρμογή για κάποιες αλλά σίγουρα όχι για όλες τις τροποποιήσεις των ιστονών.

Ειδικά χαρακτηριστικά μεταφασικών χρωμοσωμάτων

▣ Μεταφασικό χρωμόσωμα



Ειδικά χαρακτηριστικά μεταφασικών χρωμοσωμάτων

- ▣ **Κεντρομερίδιο (centromere):** το οποίο καταλαμβάνει ειδική θέση σε κάθε χρωμόσωμα. Είναι η θέση όπου συγκρατούνται τα δύο αντίγραφα του αντίστοιχου χρωμοσωμικού μορίου DNA.
- ▣ **Τελομερίδια (telomere):** Δομές που έχουν διαφορετικό μήκος στα διαφορετικά χρωμοσώματα και βρίσκονται στους βραχίονες του χρωμοσώματος, στις χρωματίδες.

Άρα τα χρωμοσώματα μπορούν να διακριθούν με βάση το μήκος των χρωματίδων τους και τη θέση του κεντρομεριδίου σε σχέση με τα τελομερίδια.

Ειδικά χαρακτηριστικά μεταφασικών χρωμοσωμάτων

Ασυνήθιστα χαρακτηριστικά που δεν υπάρχουν στον άνθρωπο:

- ▣ **Μινιχρωμοσώματα (minichromosomes):** είναι σχετικά βραχέα και περιέχουν άφθονα γονίδια
- ▣ **B χρωμοσώματα (B chromosomes):** αποτελούν θραύσματα κανονικών χρωμοσωμάτων, τα οποία προκύπτουν από ασυνήθιστα συμβάντα κατά τη διαίρεση του πυρήνα.
- ▣ **Ολάκεντρα χρωμοσώματα (holocentric chromosomes):** αντί για ένα κεντρομερίδιο διαθέτουν πολλαπλές δομές διάσπαρτες καθόλο το μήκος τους.

Αλληλεπιδράσεις DNA – πρωτεϊνών στα κεντρομερίδια και τα τελομερίδια

Το DNA που περιέχεται στα κεντρομερίδια και τα τελομερίδια καθώς και οι πρωτεΐνες που προσδένονται σε αυτό το DNA έχουν ειδικά γνωρίσματα που σχετίζονται με τις ιδιαίτερες λειτουργίες των εν λόγω δομών.

Κεντρομερίδια

- ▣ ***Arabidosis thaliana***: Τα κεντρομερίδια του καταλαμβάνουν 0.9 – 1.2 Mb DNA και καθένα αποτελείται κυρίως από επαναληπτικές αλληλουχίες 180 bp.
- ▣ ***Homo sapiens***: Οι αλληλουχίες έχουν μήκος 171 bp και καλούνται **αλφοειδές DNA (alphoid DNA)** και αντιπροσωπεύονται με 1500-30,000 αντίγραφα ανά κεντρομερίδιο.

Κεντρομερίδια

- ▣ *Saccharomyces cerevisiae*: το κεντρομερίδιο καθορίζεται από μια μοναδική αλληλουχία, μήκους περίπου 125 bp.



Figure 7.7 *Saccharomyces cerevisiae* centromeric DNA. CDEI is 9 bp in length, CDEII is 80–90 bp, and CDEIII is 11 bp. Additional sequences flanking the region shown here are looked on as part of the centromeric DNA, whose full length is approximately 120 bp.

Κεντρομερίδιο – *Saccharomyces cerevisiae*

(A) Structure of the yeast centromere

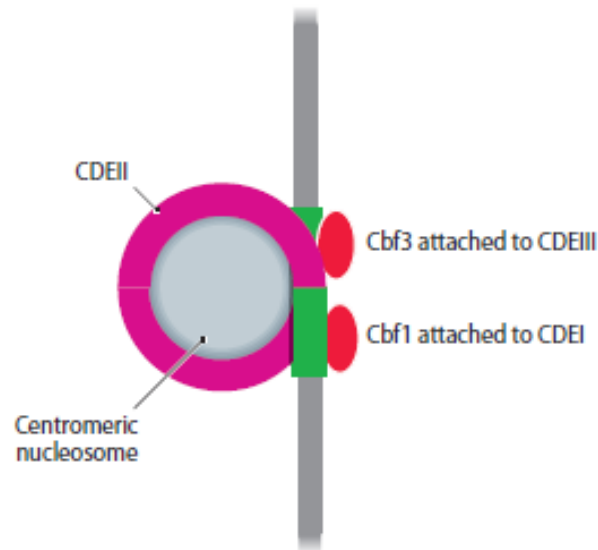
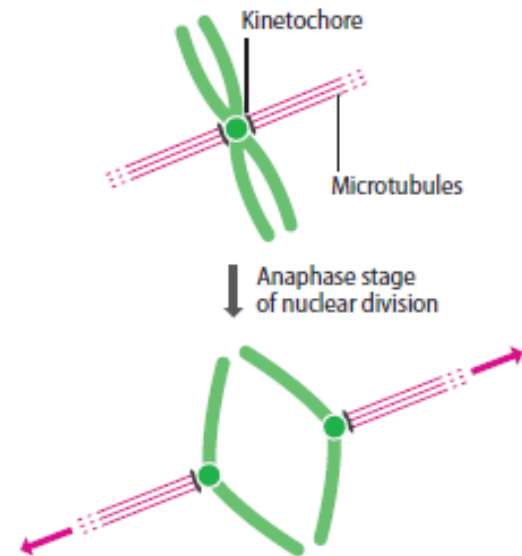
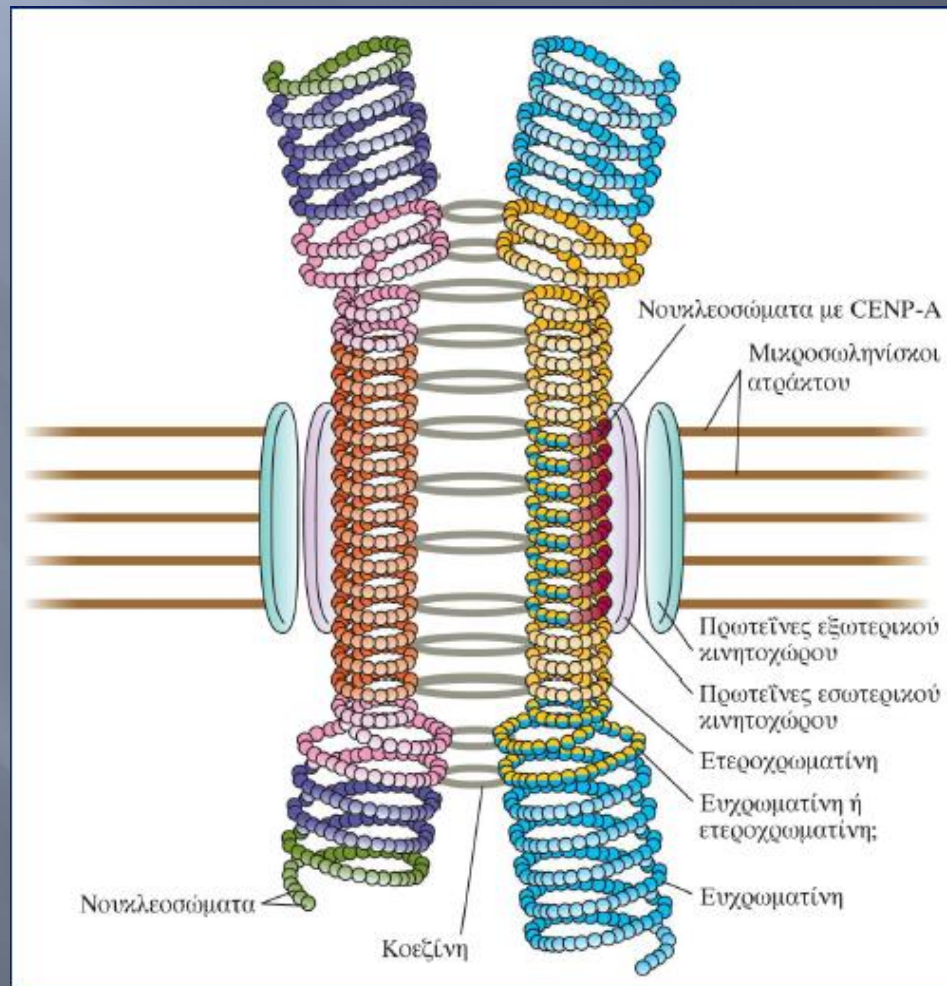


Figure 7.8 The yeast centromere. (A) DNA–protein interactions in the yeast centromere. The diagram is purely schematic, as the precise positioning of the proteins and of the DNA components is unknown. (B) The role of kinetochores during nuclear division. During the anaphase period of nuclear division, individual chromosomes are drawn apart by the contraction of microtubules attached to the kinetochores.

(B) Role of the centromere in nuclear division



Κεντρομερίδιο στον άνθρωπο



Τελομερίδιο

- ▣ Το τελομεριδιακό DNA αποτελείται από εκατοντάδες αντίγραφα ενός επαναληπτικού μοτίβου (στον άνθρωπο, 5'-TTAGGG-3'), με μια βραχεία επέκταση του 3' άκρου του δίκλωνου μορίου DNA.
- ▣ Δύο ειδικές πρωτεΐνες προσδένονται στις επαναληπτικές αλληλουχίες των τελομεριδίων του ανθρώπου.
 1. TRF1: βοηθά στη ρύθμιση του μήκους του τελομεριδίου
 2. TRF2: διατηρεί τη μονόκλωνη επέκταση
- ▣ Τελομεριδιακές πρωτεΐνες σχηματίζουν ένα σύνδεσμο μεταξύ του τελομεριδίου και της περιφέρειας του πυρήνα.
- ▣ Επιπρόσθετες πρωτεΐνες εξασφαλίζουν την ενζυμική ενεργότητα που διατηρεί το μήκος κάθε τελομεριδίου κατά την αντιγραφή του DNA.

Human Telomere

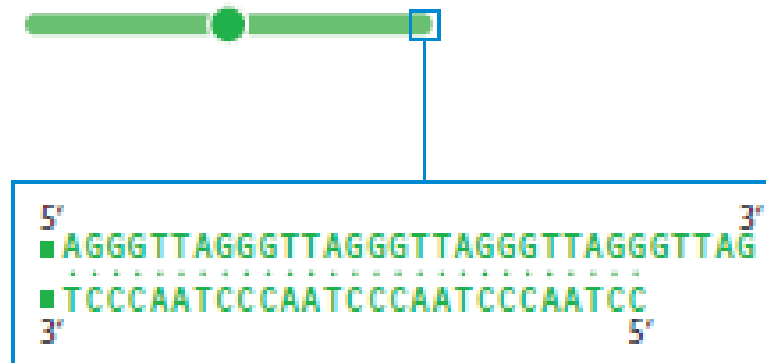


Figure 7.9 Telomeres. The sequence at the end of a human telomere is shown. The length of the 3'-extension is different in each telomere.

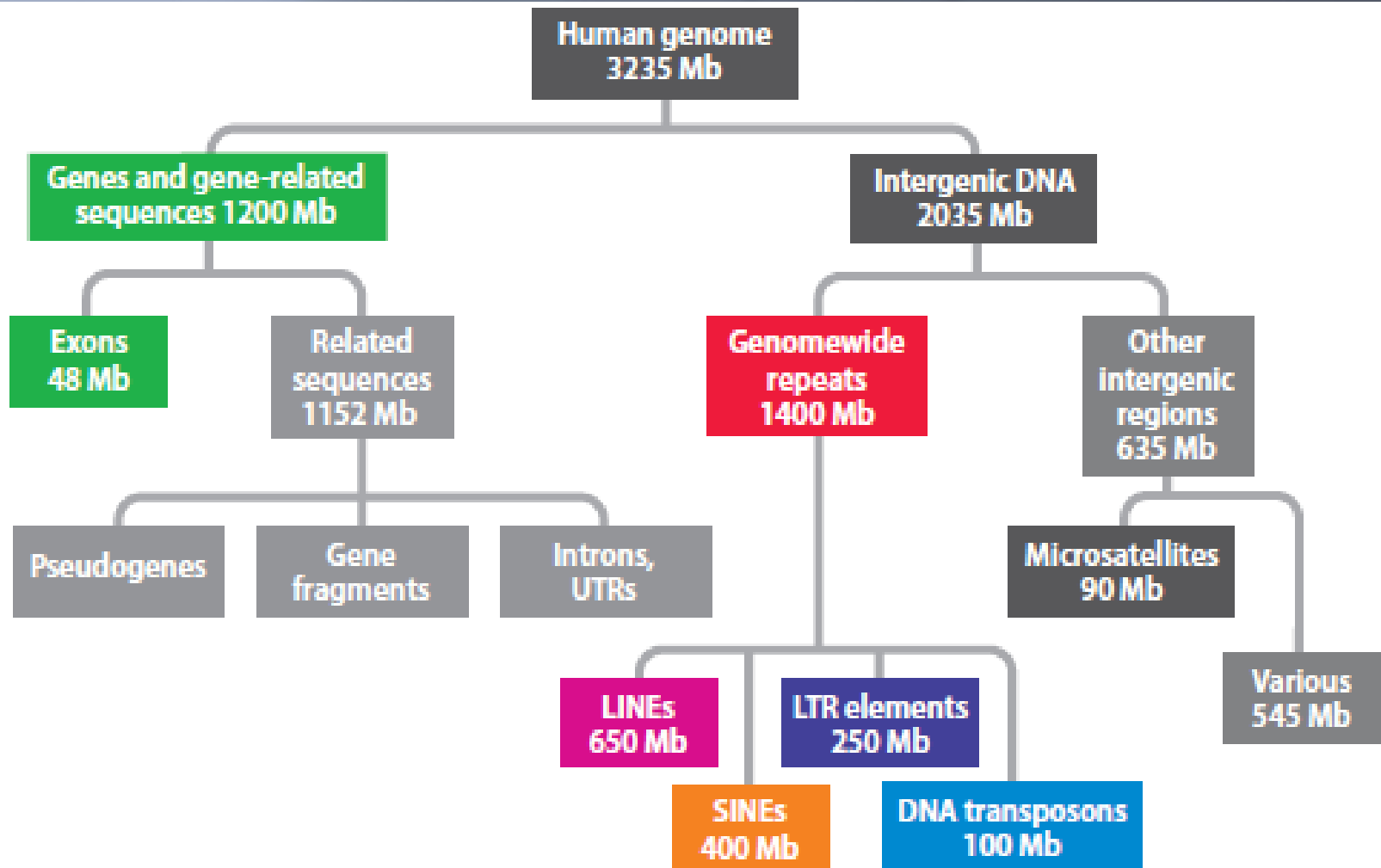
Που βρίσκονται τα γονίδια στο γονιδίωμα του πυρήνα;

- ▣ Τα γονίδια δεν κατανέμονται ομοιογενώς κατά μήκος του χρωμοσώματος.
- ▣ Στους περισσότερους οργανισμούς κατανεμονται λίγο πολύ τυχαία με σημαντικές παραλλαγές ως προς την πυκνότητά τους σε διαφορετικές θέσεις ενός χρωμοσώματος.
- ▣ Παραδείγματα:
 1. ***Arapidosis thaliana***: Η πυκνότητα στα χρωμοσώματα κυμαίνεται από 1 - 38 γονίδια ανά 100 kb
 2. ***Homo Sapiens***: Η πυκνότητα στα χρωμοσώματα κυμαίνεται από 0 - 64 γονίδια ανά 100 kb.

Πώς είναι οργανωμένα τα γονίδια στο γονιδίωμα του πυρήνα;

- Τα κωδικοποιητικά τμήματα των γονιδίων περιλαμβάνουν ένα μικρό μόνο τμήμα του **ανθρώπινου** γονιδιώματος (λιγότερο του 1.5%), ενώ το 44% του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από διάφορους τύπου επαναληπτικού DNA.
- Το γονιδίωμα του ***Saccharomyces cerevisiae*** είναι περισσότερο συμπαγές, καθώς το 3.4% καταλαμβάνεται από επαναληπτικές αλληλουχίες .
- **Συμπέρασμα:** Τα μεγάλα γονιδιώματα είναι λιγότερο συμπαγή, γεγονός που εξηγεί γιατί οι οργανισμοί με παρόμοιο αριθμό γονιδίων μπορεί να έχουν γονιδίωμα πολύ διαφορετικού μεγέθους.

Σύσταση του Ανθρώπινου Γονιδιώματος



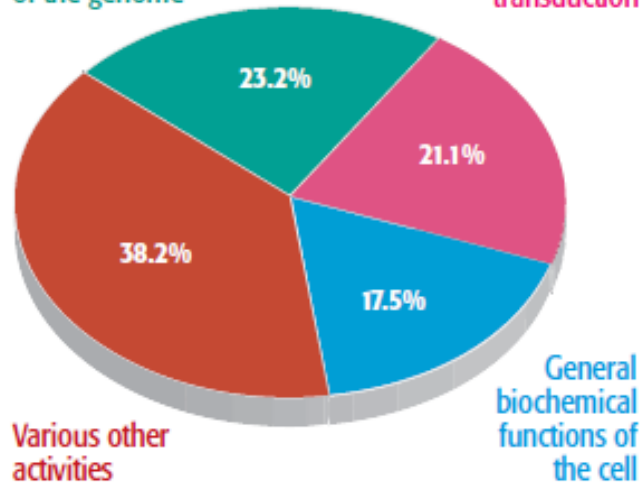
Πόσα γονίδια υπάρχουν;

- ▣ *Homo sapiens*: 30.000 – 40.000 γονίδια
- ▣ Οι λειτουργίες των μισών και πλέον γονιδίων είναι γνωστές ή συνάγονται με ικανοποιητικό βαθμό βεβαιότητας.
- ▣ Στη συντριπτική πλειονότητα, τα γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες
- ▣ > 2500 γονίδια καθορίζουν τους ποικίλους τύπους λειτουργικού RNA

Κατάλογος γονιδίων του ανθρώπου

Expression, replication
and maintenance
of the genome

Signal
transduction



Various other
activities

General
biochemical
functions of
the cell

Figure 7.16 Categorization of the human gene catalog. The pie chart shows a categorization of the identified human protein-coding genes. It omits approximately 13,000 genes whose functions are not yet known. The segment labeled "various other activities" includes, among others, proteins involved in biochemical transport processes and protein folding, immunological proteins, and structural proteins.

- **23.2%** των γονιδίων κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην έκφραση, αντιγραφή και διατήρηση του γονιδιώματος
- **21%** των γονιδίων καθορίζει συστατικά των οδών μεταβίβασης σήματος που ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων και άλλες κυτταρικές δραστηριότητες σε απάντηση προς άλλα σήματα από το εξωτερικό περιβάλλον του κυττάρου.
- **17.5%** αντιπροσωπεύουν τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τις γενικές βιοχημικές λειτουργίες του κυττάρου
- **38.2%** των γονιδίων αφορά δραστηριότητες όπως:
 1. Μεταφορά ουσιών μέσα και έξω από τα κύτταρα.
 2. Πτύχωση των πρωτεϊνών στην τρισδιάστατη δομή τους.
 3. Άνοση απάντηση,
 4. Σύνθεση δομικών πρωτεϊνών

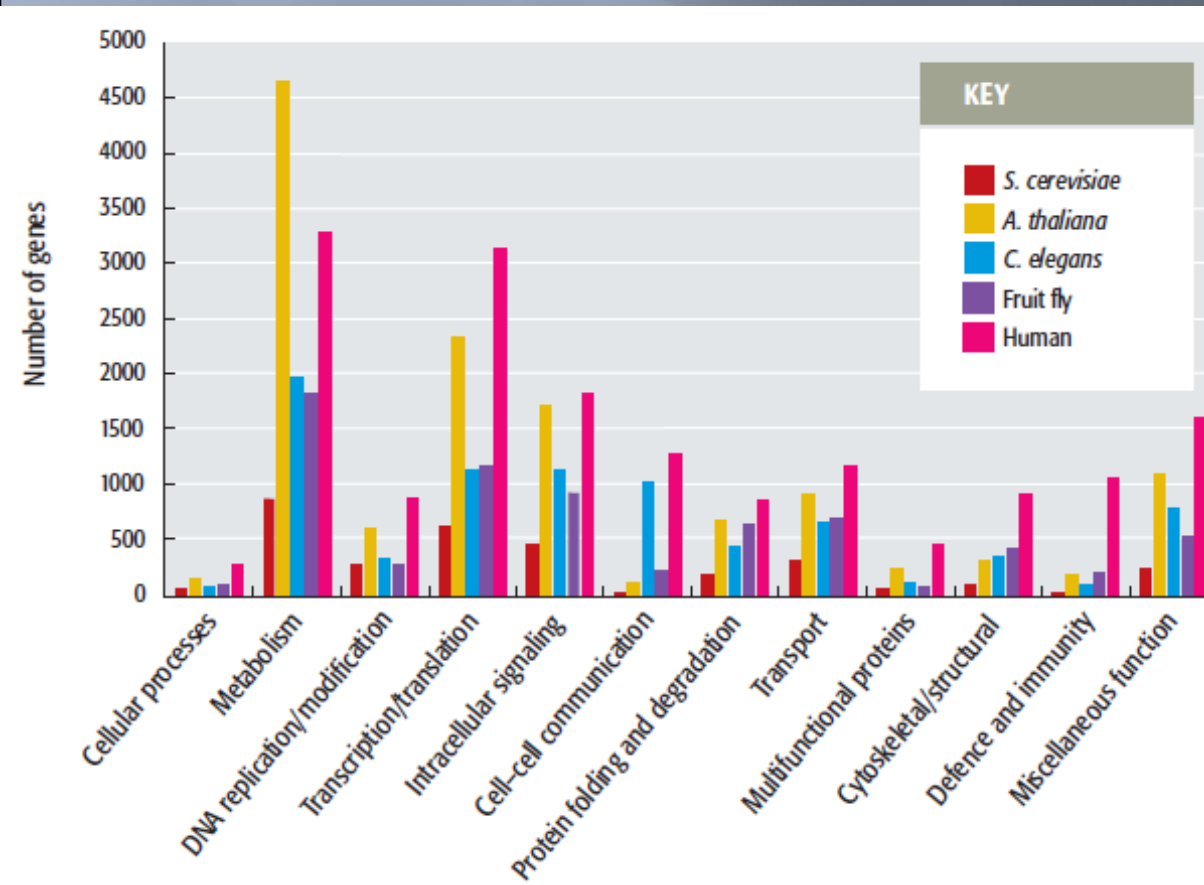
Κατάλογοι των γονιδίων

- ▣ Αποκαλύπτουν ευδιάκριτα χαρακτηριστικά των διαφορετικών οργανισμών.
- ▣ Τα γονίδια ενός ευκαρυωτικού γονιδιώματος μπορούν να καταγραφούν με ποικίλους τρόπους:
 1. Σύμφωνα με τη λειτουργία τους
 2. Σύμφωνα με τις δομές των πρωτεϊνών που καθορίζουν

Σύγκριση γονιδιακών καταλόγων διαφόρων ειδών.

□ Τα γονίδια ταξινομούνται σύμφωνα με τη λειτουργία τους, όπως συνάγεται από τις πρωτεϊνικές περιοχές που καθορίζονται από κάθε γονίδιο.

□ Οι συγκρίσεις των γονιδιακών καταλόγων που καταγράφουν τις λειτουργίες των γονιδίων σε ένα γονιδίωμα υποδηλώνουν ότι όλοι οι ευκαρυώτες διαθέτουν το ίδιο βασικό σύνολο γονιδίων, αλλά τα πιο σύνθετα είδη έχουν μεγαλύτερο αριθμό γονιδίων ανά λειτουργική κατηγορία.



Παραδείγματα πρωτεϊνικών περιοχών που καθορίζονται από διαφορετικά γονιδιώματα

TABLE 7.5 EXAMPLES OF PROTEIN DOMAINS SPECIFIED BY DIFFERENT GENOMES

Domain	Function	Number of genes in the genome that contain the domain				
		Human	<i>D. melanogaster</i>	<i>C. elegans</i>	<i>A. thaliana</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Zinc finger, Cys ₂ His ₂ type	DNA binding	2474	824	295	221	49
Zinc finger, GATA type	DNA binding	44	26	41	49	10
Homeobox	Gene regulation during development	827	284	136	149	9
Death	Programmed cell death	118	30	24	0	0
Connexin	Electrical coupling between cells	70	0	0	0	0
Ephrin	Nerve cell growth	15	1	5	0	0

Πολυγονιδιακές Οικογένειες

- ▣ Τα γονίδια οργανώνονται σε πολυγονιδιακές οικογένειες (**multigene families**).
- ▣ Πολυγονιδιακές οικογένειες είναι ομάδες γονιδίων με ταυτόσημη ή παρόμοια αλληλουχία.
- ▣ **Απλές ή κλασικές** πολυγονιδιακές οικογένειες
- ▣ **Σύνθετες** πολυγονιδιακές οικογένειες (πιο κοινές στους ανώτερους παρά στους κατώτερους ευκαρυώτες).

Ψευδογονίδια (pseudogenes)

Μη λειτουργικά αντίγραφα γονιδίων

- ▣ **Συμβατικό Ψευδογονίδιο (conventional pseudogene)**
είναι ένα γονίδιο το οποίο έχει απενεργοποιηθεί επειδή η νουκλεοτιδική αλληλουχία του έχει τροποποιηθεί μέσω μεταλλάξεων.
- ▣ Π.χ. Τα ψευδογονίδια σφαιρίνης

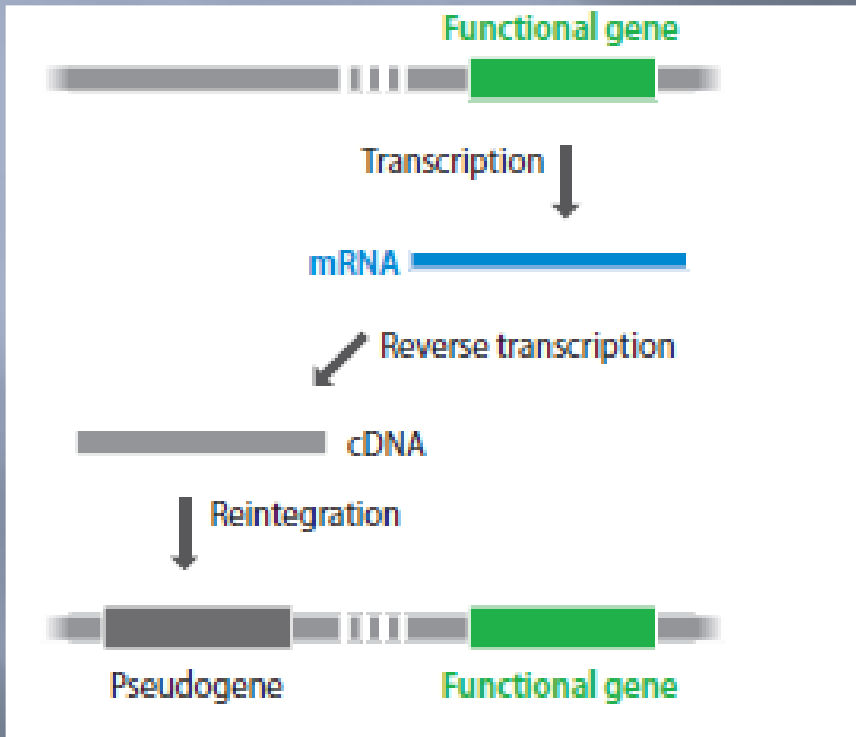
- ▣ **Επεξεργασμένο Ψευδογονίδιο (processed pseudogene)**
δεν προκύπτει από εξελικτική φθορά αλλά ως παρεπόμενο της έκφρασης των γονιδίων.

Προέρχεται από το mRNA μετάγραφο ενός γονιδίου μέσω της σύνθεσης cDNA αντιγράφου, το οποίο στη συνέχεια ενσωματώνεται στο γονίδιο.

ΔΕΝ περιέχει ιντρόνια, ρυθμιστικές αλληλουχίες.

Είναι ανενεργό.

Η προέλευση επεξεργασμένου γονιδίου



- Προκύπτει από την ενσωμάτωση στο γονιδίωμα ενός αντιγράφου mRNA που έχει μεταγραφεί από ένα λειτουργικό γονίδιο.
- Το mRNA έχει μεταγραφεί σε ένα cDNA αντίγραφο.
- Μπορεί να ενσωματωθεί στο ίδιο χρωμόσωμα με το λειτουργικό μητρικό γονίδιο ή σε ένα άλλο χρωμόσωμα.

Τα γονιδιώματα περιέχουν εξελικτικά κατάλοιπα

- ▣ **Κολοβωμένα γονίδια (truncated genes):** προκύπτουν από απώλεια ενός τμήματος ποικίλου μήκους από το ένα άκρο του πλήρους γονιδίου.
- ▣ **Κλάσματα γονιδίων (gene fragments):** είναι βραχείες, μεμονωμένες περιοχές από το εσωτερικό ενός γονιδίου.

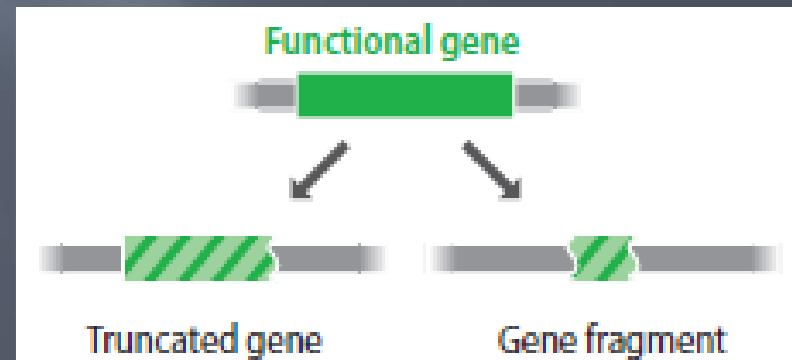


Figure 7.21 A truncated gene and a gene fragment.

ΕΠΑΝΑΛΗΠΤΙΚΕΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΕΣ

- ▣ Γενικευμένες επαναλήψεις (genome wide) ή διάπαρτες επαναλήψεις (interspersed repeats)
- ▣ Οι ξεχωριστές επαναλαμβανόμενες μονάδες κατανέμονται σε όλη την έκταση του γονιδιώματος κατά φαινομενικά τυχαίο τρόπο
- 1. **LINE** = long interspersed nuclear elements
- 2. **SINE** = short interspersed nuclear elements
- 3. **LTR** = long terminal repeats
- 4. **DNA τρανσποζόνια** = DNA transposon
- ▣ Αλληλοδιάδοχα επαναλαμβανόμενο DNA ή δορυφορικό DNA (tandemly repeated DNA ή satellite DNA)
- ▣ Οι επαναληπτικές μονάδες παρατάσσονται η μία δίπλα στην άλλη σε συστοιχία
- 1. Αλφορειδής DNA επαναλήψεις (Alphoid DNA repeats)
- 2. Μινιδορυφόροι (minisatellites)
- 3. Μικροδορυφόροι (microsatellites)

Επαναληπτικές Αλληλουχίες:

Μινιδορυφόροι και Μικροδορυφόροι

- ▣ Σχηματίζουν αθροίσματα έως 20 kb, με επαναλαμβανόμενες μονάδες μήκους έως 25 bp.
- ▣ Τελομεριδιακό DNA
- ▣ Σχηματίζουν αθροίσματα κάτω των 150 bp και η επαναλαμβανόμενη μονάδα μήκος έως 15 bp.
- ▣ Δινουκλεοτιδικές και μονονουκλεοτιδικές επαναλήψεις.
- ▣ Άγνωστη λειτουργία
- ▣ Προκύπτουν από λάθος στη διεργασία που είναι υπεύθυνη για την αντιγραφή του γονιδιώματος κατά την κυτταρική διαίρεση.
- ▣ Χρήσιμο εργαλείο για τους γενετιστές