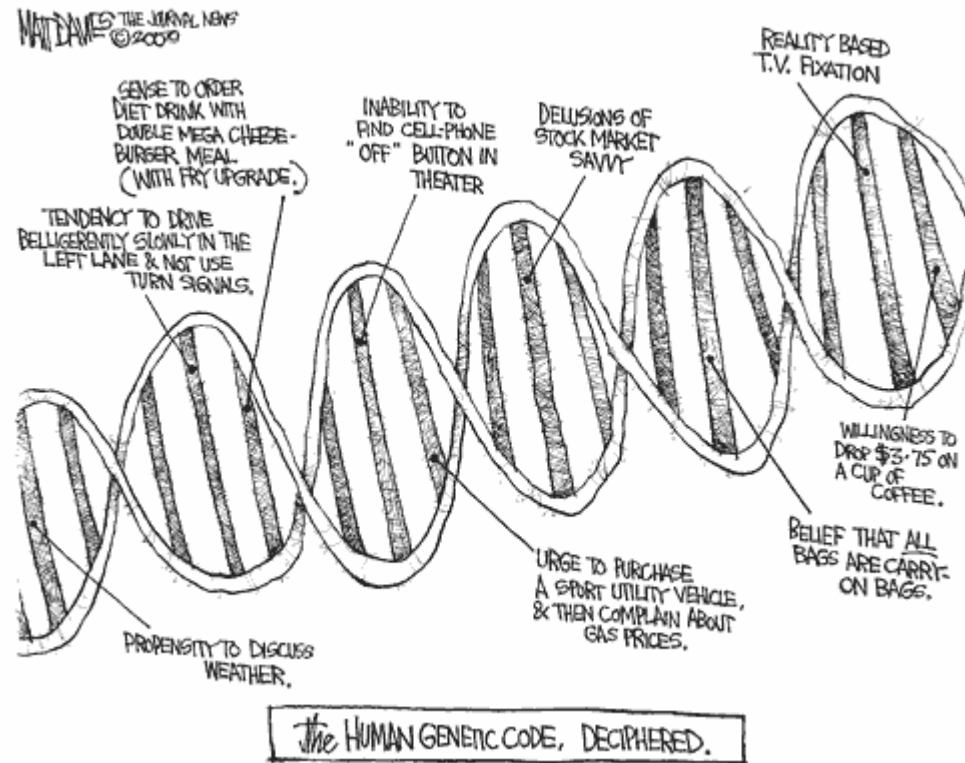


Η δομή του γονιδιώματος



Π. Πάσχου, PhD, DABMG

Γονίδια: τα μόρια που κωδικοποιούν γενετική πληροφορία

1860 – Mendel, Δαρβίνος: γενετική κληρονομικότητα

1900 – Χρωμοσωμική θεωρία

1920-1940 – Griffiths, Avery: ο παράγοντας «μετασχηματισμού» είναι το DNA

1940 – Beadle & Tatum: ένα γονίδιο = ένα ένζυμο

1952 – Hershey & Chase: το γονίδιο είναι ο φορέας της γενετικής πληροφορίας

1953 – Watson & Crick: τριτοταγής δομή του DNA

1958 – Meselson & Stahl: αντιγραφή του DNA

1960 – Γενετικός κώδικας, γονιδιακή ρύθμιση

Χρωμοσωμική θεωρία

- Εξελίξεις στην οπτική και τη μικροσκοπία επιτρέπουν την απεικόνιση των χρωμοσωμάτων (“colored bodies”)
- Αναγνωρίζεται ότι τα χρωμοσώματα κληρονομούνται ως διακριτές μονάδες
- Τα χρωμοσώματα αποτελούνται από DNA και πρωτεΐνες και φέρουν γενετική πληροφορία
- Που βρίσκονται τα γονίδια? Στις πρωτεΐνες ή το DNA?



Thomas Hunt Morgan

Frederick Griffiths

Μελετούσε το βακτήριο που προκαλεί πνευμονία
(*Streptococcus Pneumoniae*)

Δύο στελέχη:

“R” = rough, αδρό μη παθογόνο

“S” = smooth, λείο παθογόνο

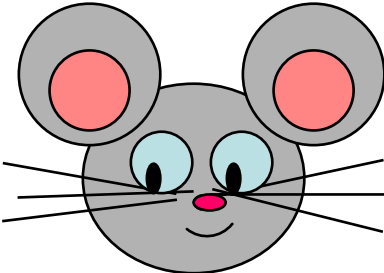
Τα λεία βακτήρια (S) έχουν ένα έλυτρο (κάλυμμα από πολυσακχαρίτες) που τα προστατεύει από το να αναγνωριστούν από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τα αδρά (R) δεν έχουν αυτή την προστασία

Τα πειράματα μετασχηματισμού του Griffiths

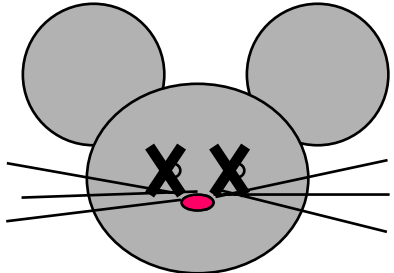
- Ένεση σε ζωντανά ποντίκια με τα δύο ειδών βακτήρια
 - μόνα και σε συνδυασμό
 - ζωντανά και εξουδετερωμένα από τη θερμότητα

Griffith's Transformation Experiments

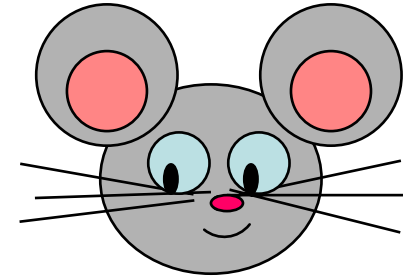
Live R



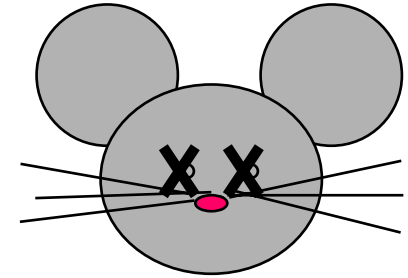
Live S



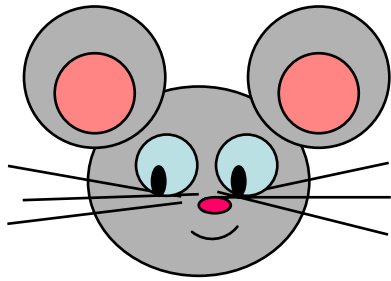
Heat-killed S



Heat-killed S +
live R

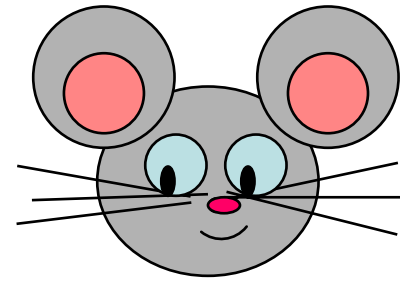


Live R



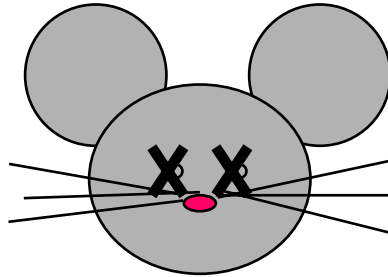
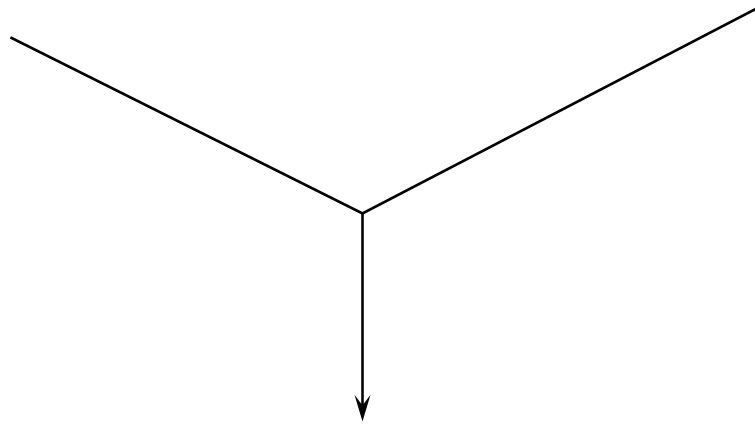
Heat-killed

S



Live R

Heat-killed
S



Εξήγηση?

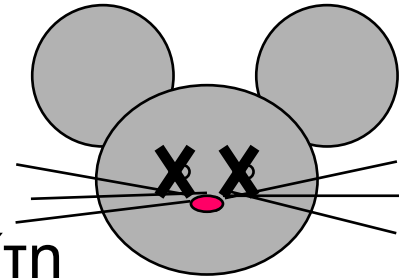
- Τα βακτήρια R μεταλλάσσονται σε S?
- Συνέβαινε μόνο όταν αναμιγνύονταν ζωντανά βακτήρια R και εξουδετερωμένα S
- Ένα συστατικό των νεκρών βακτηριών S άλλαζε τα κύτταρα R

Avery, MacLeod και McCarty

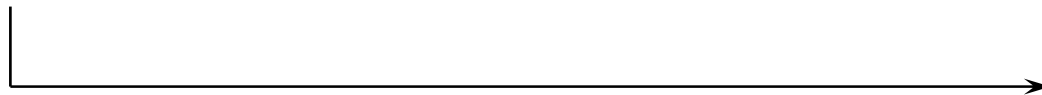
heat-killed S + R



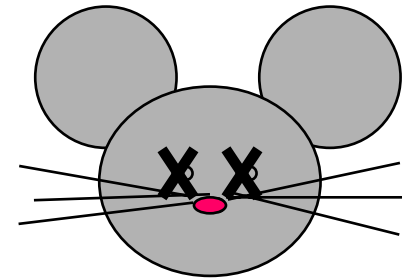
Αφαίρεση καλύμματος πολυσακχαρίτη



heat-killed S + R

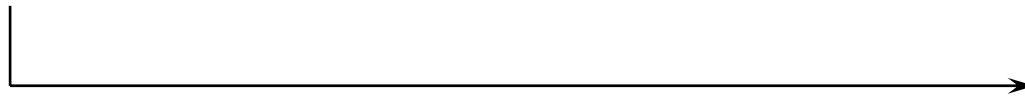


Αφαίρεση πρωτεΐνης

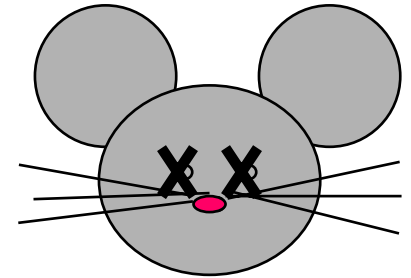


Avery, MacLeod και McCarty

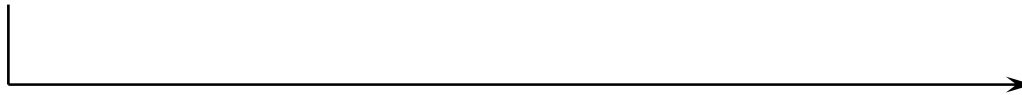
heat-killed S + R



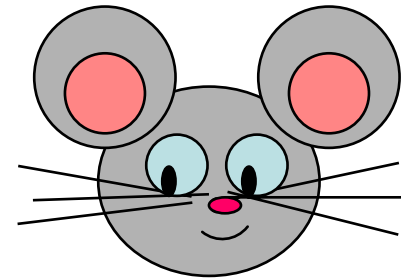
αφαίρεση RNA



heat-killed S + R



αφαίρεση DNA



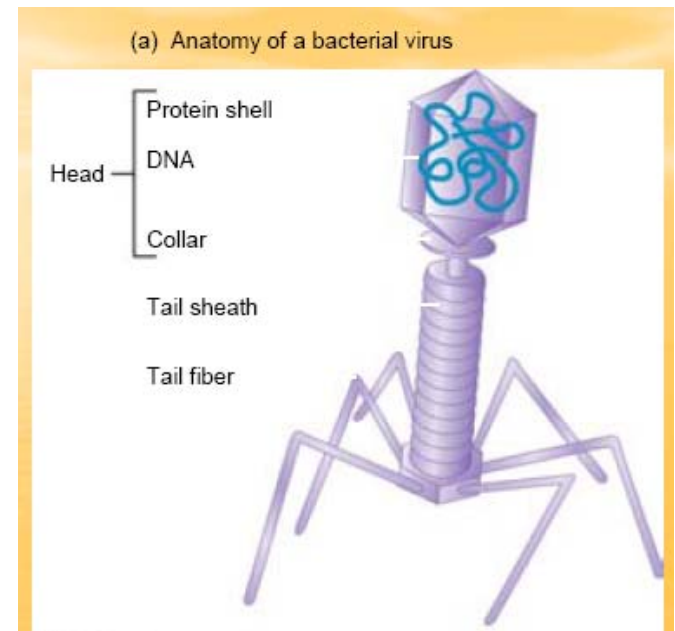
Avery, MacLeod και McCarty

- Το DNA είναι ο παράγοντας μετασχηματισμού
- Το DNA μπορούσε να μετατρέψει τα βακτήρια R σε παθογόνα S
 - Σήμερα γνωρίζουμε ότι τα βακτήρια μπορούν να δεχθούν τμήματα εξωγενούς DNA με μια διαδικασία που ονομάζεται μετασχηματισμός (transformation)

Hershey & Chase (1952)

Μελετούσαν βακτηριοφάγους (ιούς που προσβάλλουν βακτήρια)

Βακτηριοφάγος - Κάλυμμα (πρωτεΐνη)
- Γονιδίωμα (DNA)

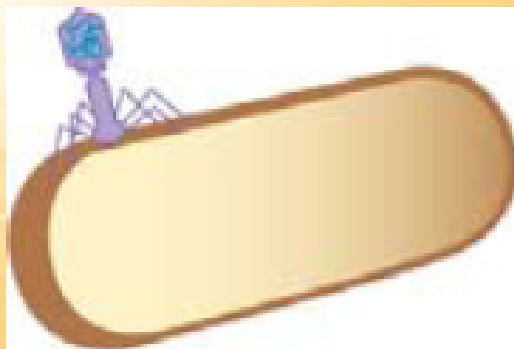


Ανατομία του βακτηριοφάγου

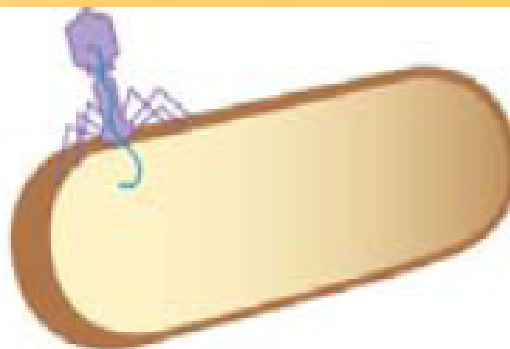
Εισβολή των βακτηριοφάγων...

- Ο βακτηριοφάγος προσβάλλει ένα βακτήριο και εισάγει το γενετικό του υλικό μέσα στο βακτήριο – το πρωτεϊνικό του υλικό μένει έξω
- Το γενετικό υλικό του βακτηριοφάγου «καταλαμβάνει» το βακτήριο και χρησιμοποιεί τα ένζυμα του βακτηρίου για να φτιάξει τις δικές του πρωτεΐνες (να πολλαπλασιαστεί)
- Λύση του βακτηρίου και έξοδος νέων βακτηριοφάγων

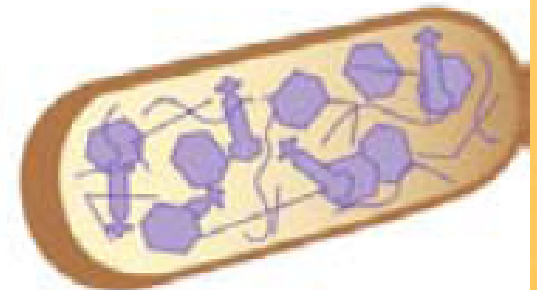
(c) Virus lands on bacterium.



(d) Virus injects its genes into the cell.

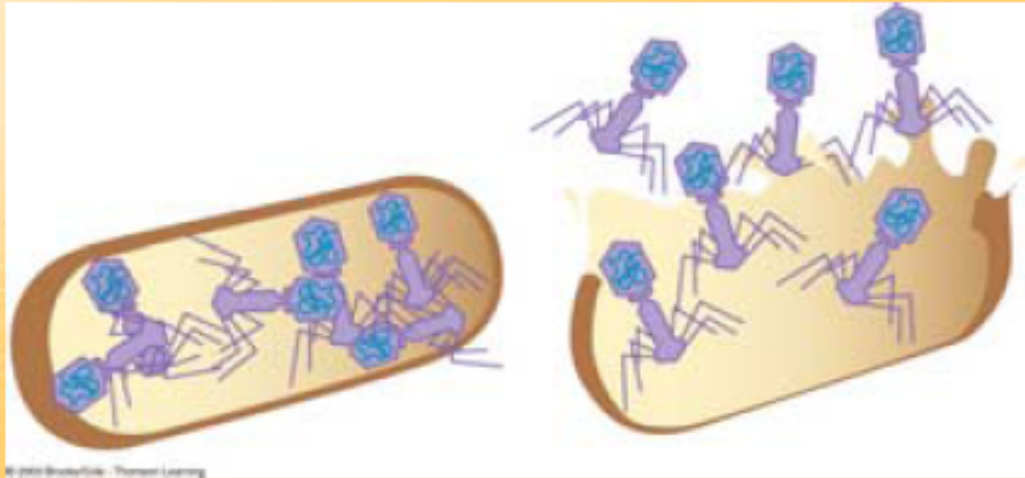


(e) Virus DNA replicates, and directs the synthesis of new virus proteins.



(f) Virus particles assemble.

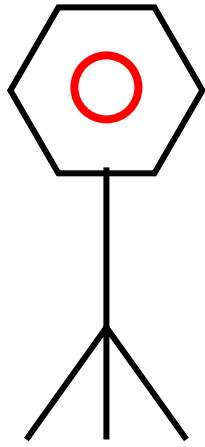
(g) Cell bursts, releasing new virus particle.



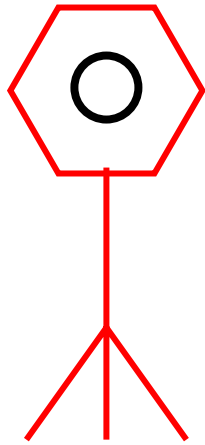
© 2010 Brooks/Cole, Thomson Learning

Hershey και Chase

- Μελετήσαν τον βακτηριοφάγο - T2
 - Ιός που προσβάλλει την *E. coli*
- Σχεδίασαν δύο πειράματα
 - Σήμαναν το DNA του φάγου με ^{32}P
 - Σήμαναν την πρωτεΐνη του φάγου με ^{35}S
- Σε ποιό από τα δύο πειράματα η ραδιενέργεια θα ανιχνευτεί στην *E. coli*?



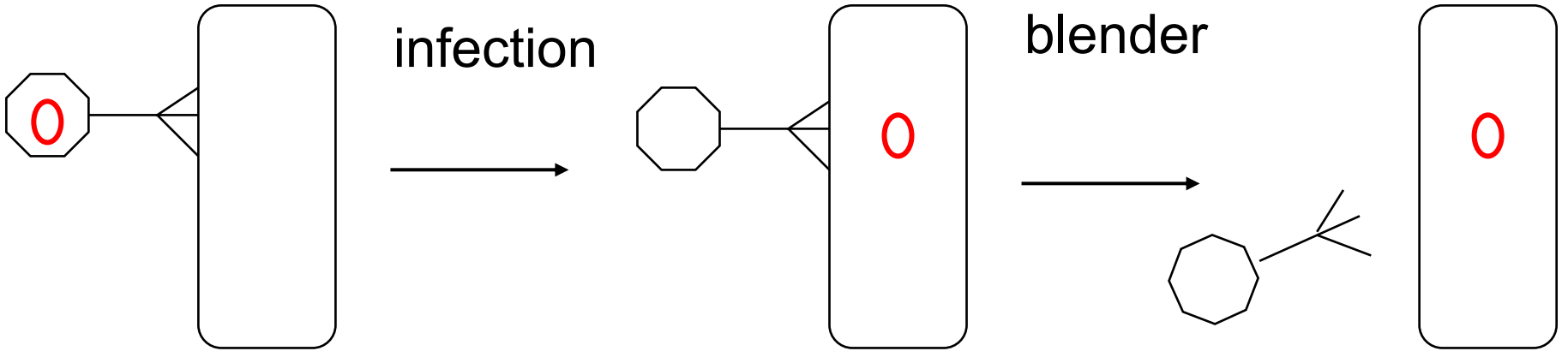
^{32}P σημασμένο DNA



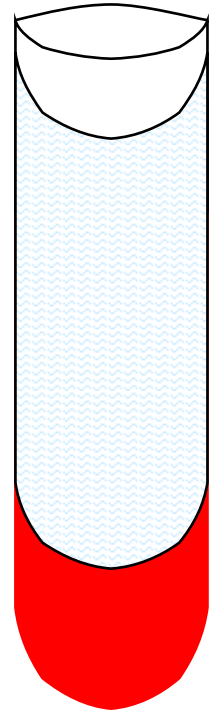
^{35}S σημασμένη πρωτεΐνη

Hershey και Chase

- Ανάμιξη φάγων και βακτηρίων
- Προσβολή των βακτηριών
- Απομάκρυνση των στοιχείων που έχουν μείνει έξω από τα βακτήρια
- Φυγοκέντριση
- Αναζήτηση ραδιενέργειας στο ίζημα (βακτήρια)

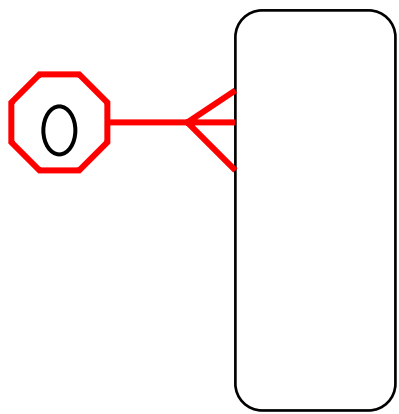


centrifuge
→

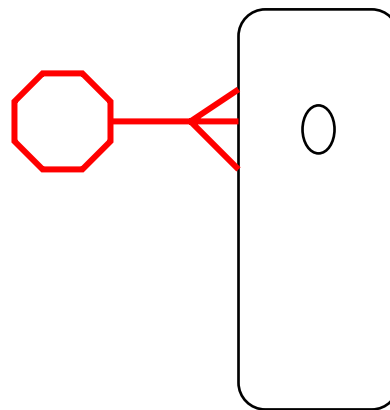


Supernatant w/ protein coats

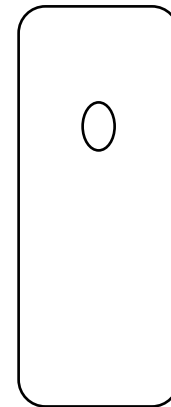
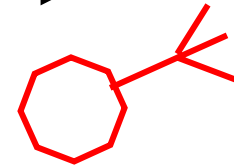
E. coli w/ hot DNA



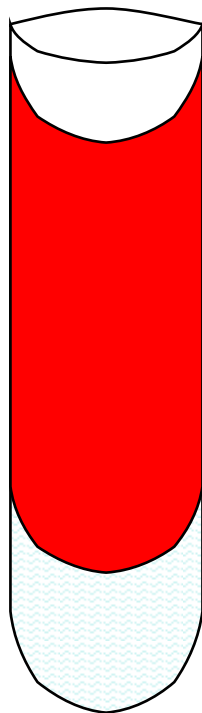
infection



blender



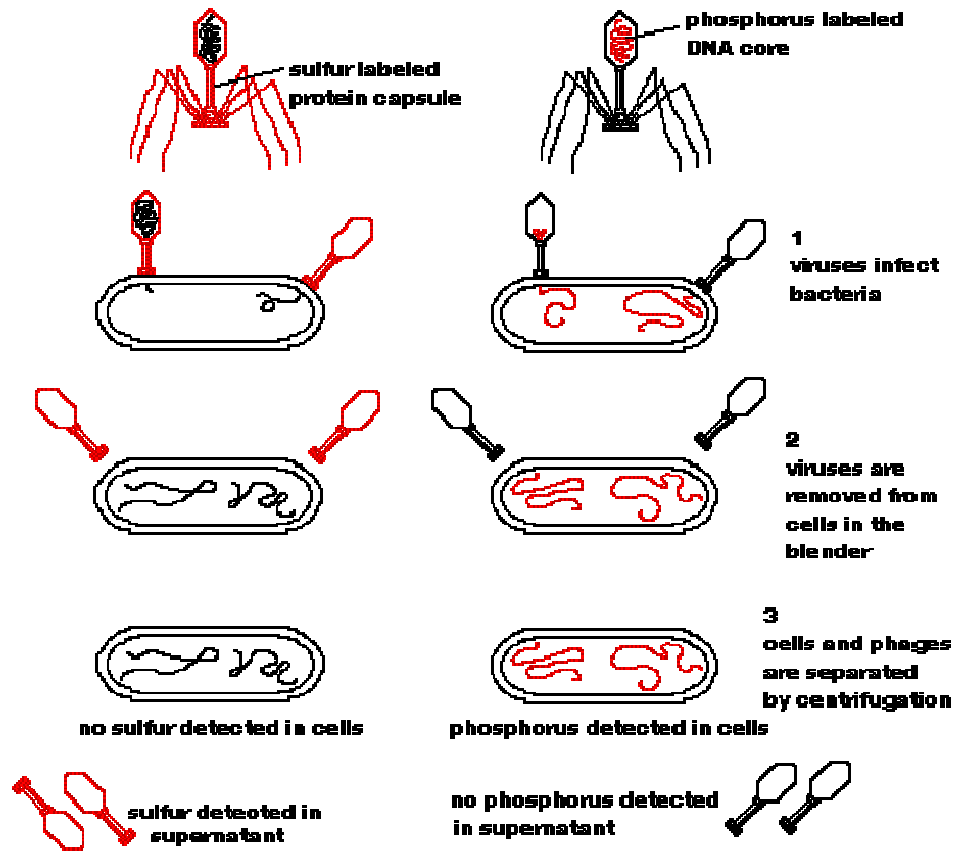
centrifuge



Supernatant w/ hot protein coats

E. coli w/ DNA

The Hershey-Chase Blender Experiment



Δομή του DNA

- Linus Pauling
μοντέλο της πρωτεϊνικής δομής
εργάστηκε και στη δομή του DNA

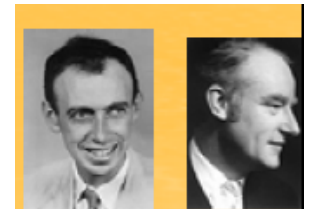


- Maurice Wilkins και Rosalind Franklin
το DNA είναι έλικα (x-ray diffraction pictures)



- Erwin Chargaff

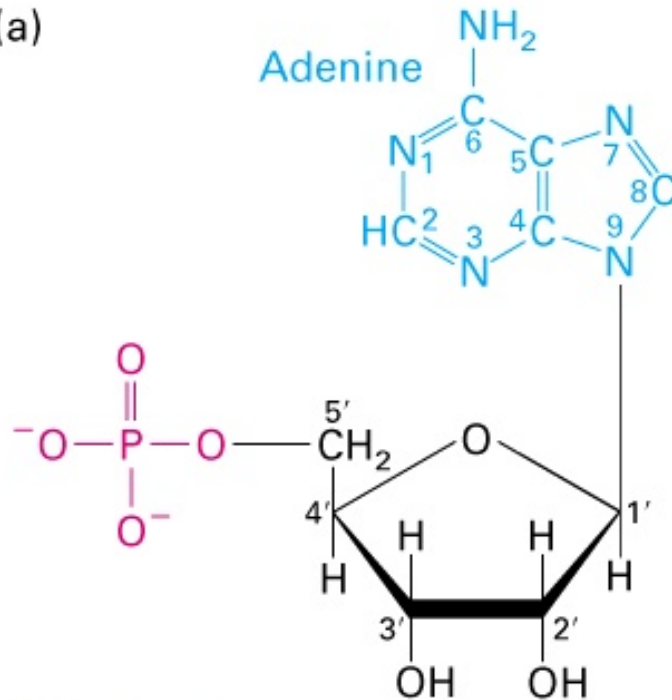
$$[A]=[T] , [G]=[C]$$



- James Watson και Francis Crick
αναγώρισαν το ζευγάρι των βάσεων του DNA
κατασκεύασαν ένα μοντέλο του DNA που ισχύει ακόμη

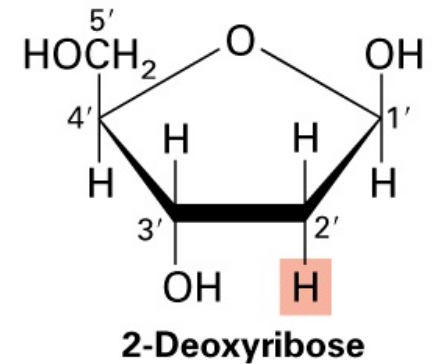
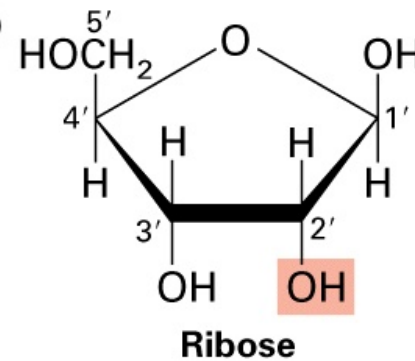
Όλα τα νουκλεοτίδια έχουν κοινή δομή

(a)



**Adenosine
5'-monophosphate
(AMP)**

(b)

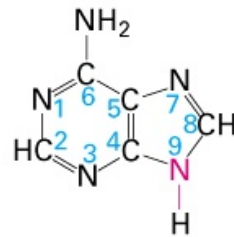


Δομή του DNA συνοπτικά

- Δύο αλυσίδες στηριγμένες σε ένα σκελετό από ομάδες σακχάρων και φωσφορικές ομάδες
- Δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις βάσεις
 - A-T (δύο δεσμοί υδρογόνου)
 - G-C (τρεις δεσμοί υδρογόνου)

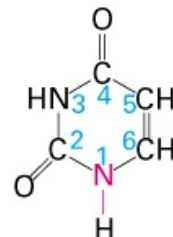
Πέντε κυρίως βάσεις συμμετέχουν στη δομή των νουκλεϊκών οξέων

PURINES



Adenine (A)

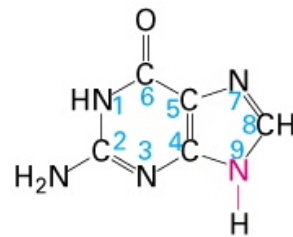
PYRIMIDINES



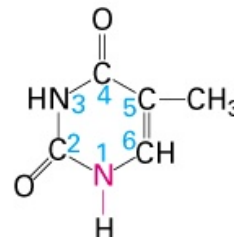
Uracil (U)

A, G, T, C → DNA

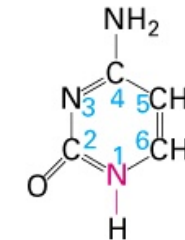
A, G, U, C → RNA



Guanine (G)

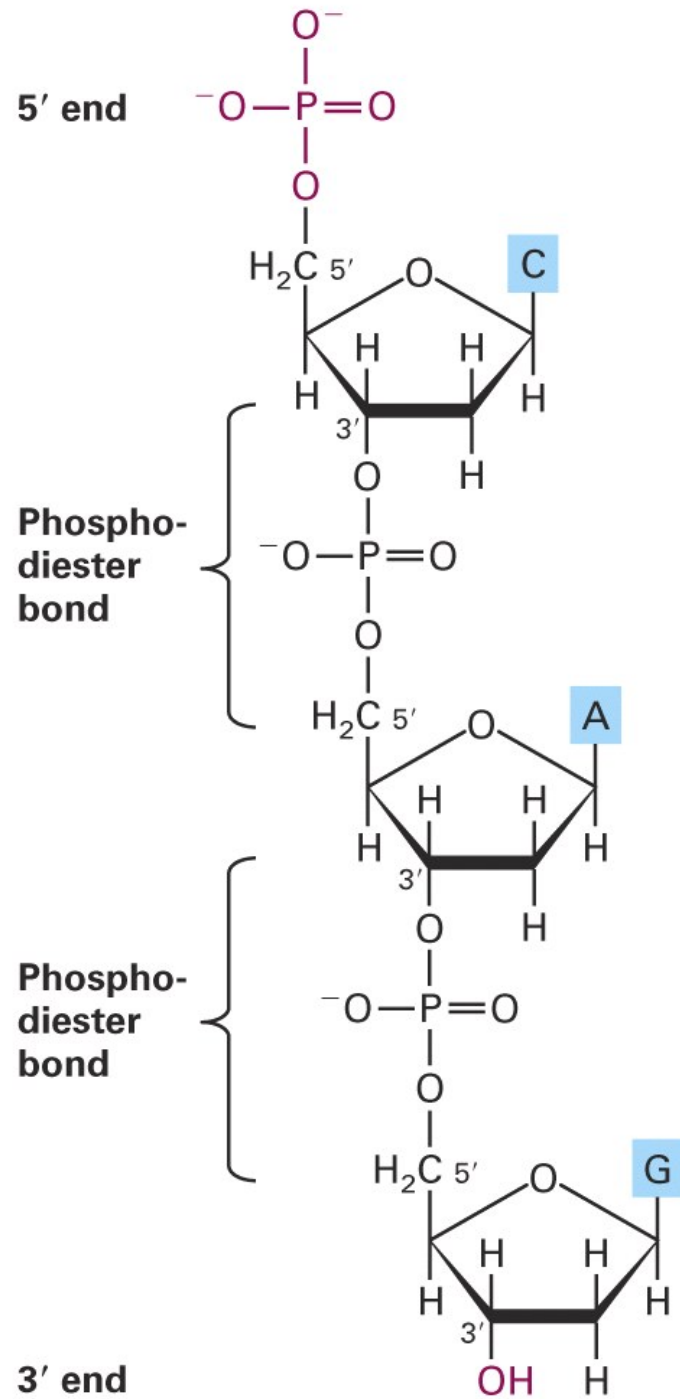


Thymine (T)



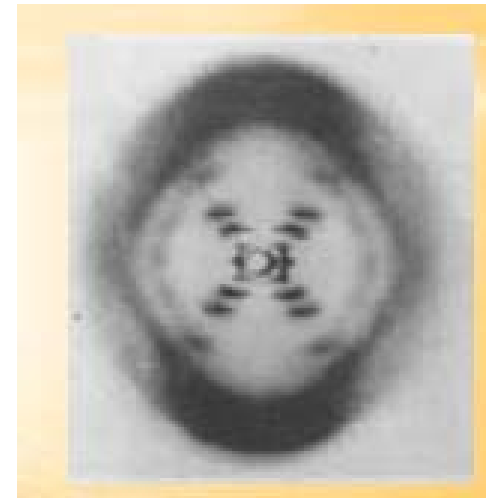
Cytosine (C)

Οι υπομονάδες των
νουκλεοτιδίων
συνδέονται με
φωσφοδιεστερικούς
δεσμούς



Στοιχεία για την πρόβλεψη της δομής του DNA

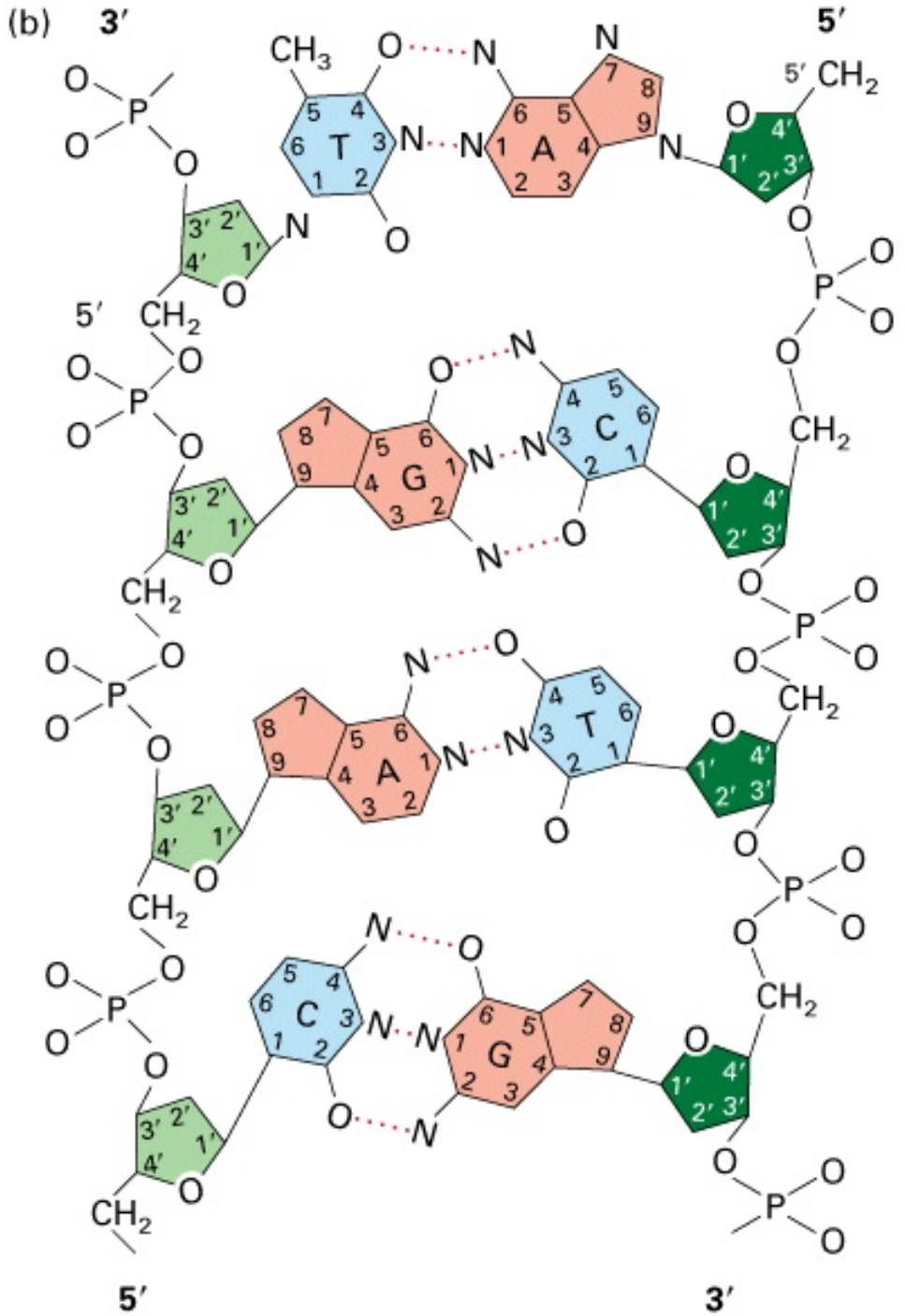
- Η ακτινογραφία της Franklin έδειξε ότι το DNA είναι ελικοειδές
- Αλυσίδες από σάκχαρο και φωσφορικές ομάδες
δύο ή τρεις?
εσωτερικές ή εξωτερικές?
- Chargaff: $\%A = \%T$ και $\%G = \%C$
- Watson: ζευγάρωμα των βάσεων
- Μοντέλο του dna

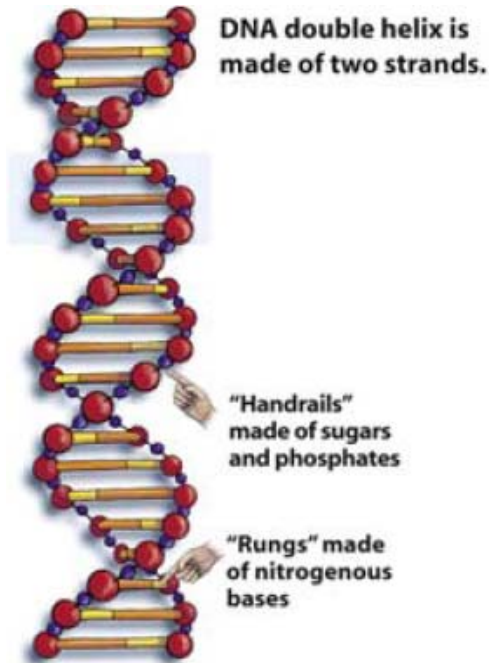


Η υπόθεση των Watson και Crick ήταν ότι το DNA είναι μια διπλή έλικα από συμπληρωματικές αντιπαράλληλες αλυσίδες που συγκρατούνται από:

Δεσμούς υδρογόνου ανάμεσα στις συμπληρωματικές βάσεις (A-T ή G-C)

Υδρόφοβους δεσμούς





Η «σκάλα» του DNA

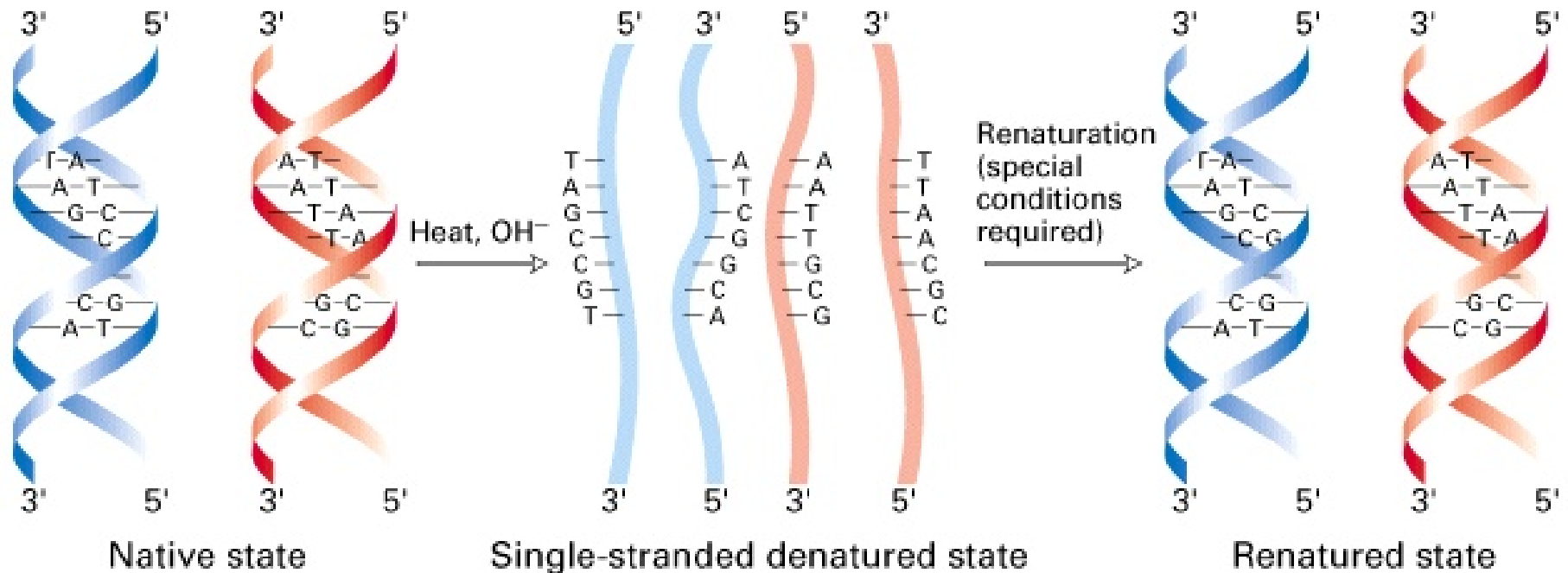
Οι δυνάμεις που διατηρούν τη δομή του DNA....

Δεσμοί υδρογόνου

Υδρόφοβες δυνάμεις

μπορούν να καταστραφούν από
φορμαμίδιο, υψηλό (NaOH), υψηλή
θερμοκρασία

Οι αλυσίδες του DNA μπορούν να αποδιαταχτούν με αντιστρεπτό τρόπο

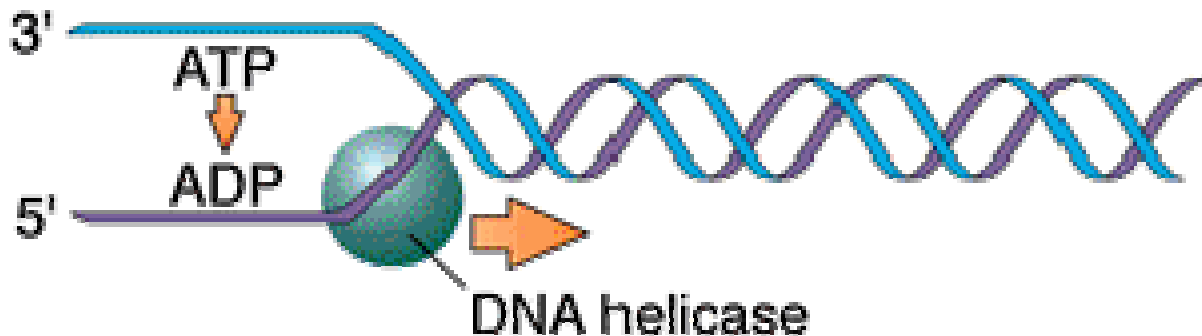


Συνταγή για τη σύνθεση DNA

Υλικά.....

1. ένζυμα: DNA πολυμεράσες
2. Καλούπι DNA
3. 3' OH εκκινητής (primer DNA ή RNA)
4. Τριφωσφορικά δεόξυνουκλεοτίδια:
dATP, dGTP, dCTP, dTTP
5. Η σύνθεση γίνεται 5' προς 3'

- Κόβεται ο φωσφοδιεστερικός δεσμός
 - νουκλεάση
- Ξετυλίγεται η έλικα
 - ελικάση
 - (τοποισομεράση)
 - Σπάνε οι δεσμοί υδρογόνου ανάμεσα στις αλυσίδες
 - Αποδιάταξη των 2 αλυσίδων
 - Πρωτεΐνες προσδένονται στη μία αλυσίδα

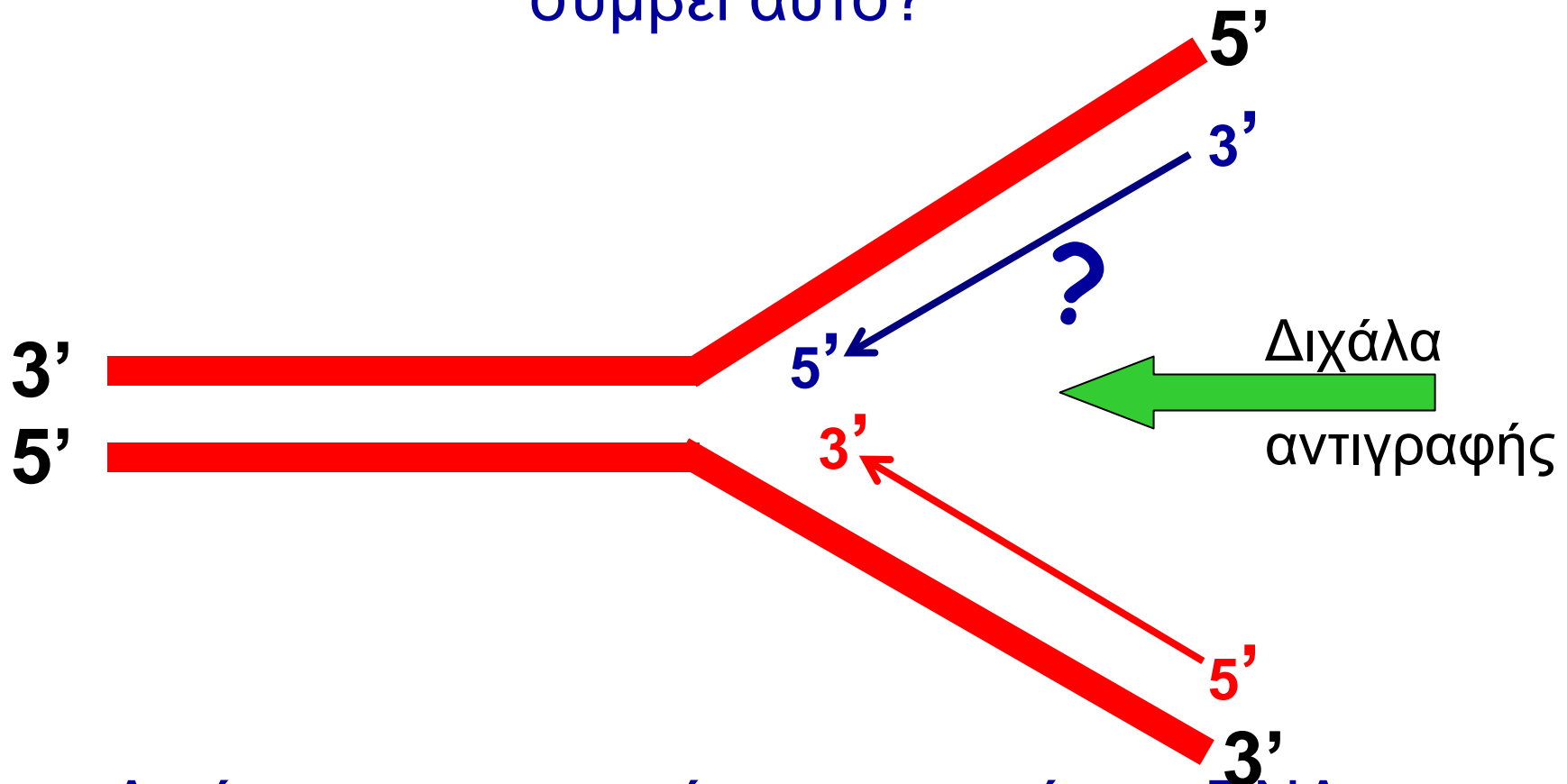


(a) DNA helicase catalyzes the unwinding of the parental double helix.

- RNA primer (εκκινητής)
 - Χρειάζεται ελεύθερο 3' άκρο
 - RNA primase
 - Απομακρύνεται αργότερα
- DNA πολυμεράση III
 - Καταλύση της δημιουργίας φωσφοδιεστερικών δεσμών ανάμεσα στα νέα νουκλεοτίδια
 - Έλεγχος για λάθη
- DNA πολυμεράση I
 - Απομακρύνει και αντικαθιστά τους εκκινητές RNA
- DNA λιγκάση
 - Ενώνει τα τμήματα Okazaki

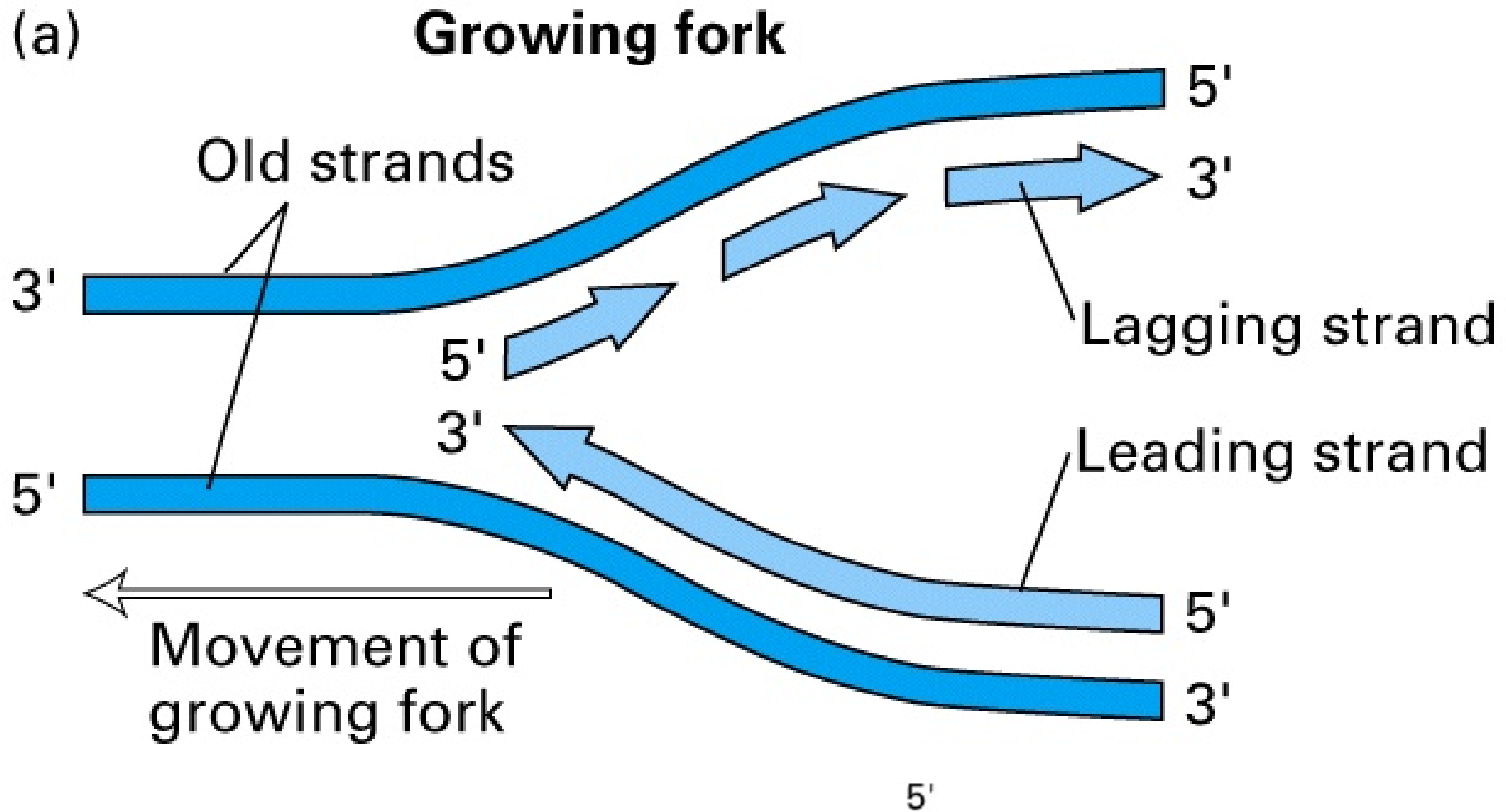
-Πρόβλημα

Αν το DNA συντίθεται μόνο 5' προς 3', και οι δύο αλυσίδες αντιγράφονται συγχρόνως, πως μπορεί να συμβεί αυτό?

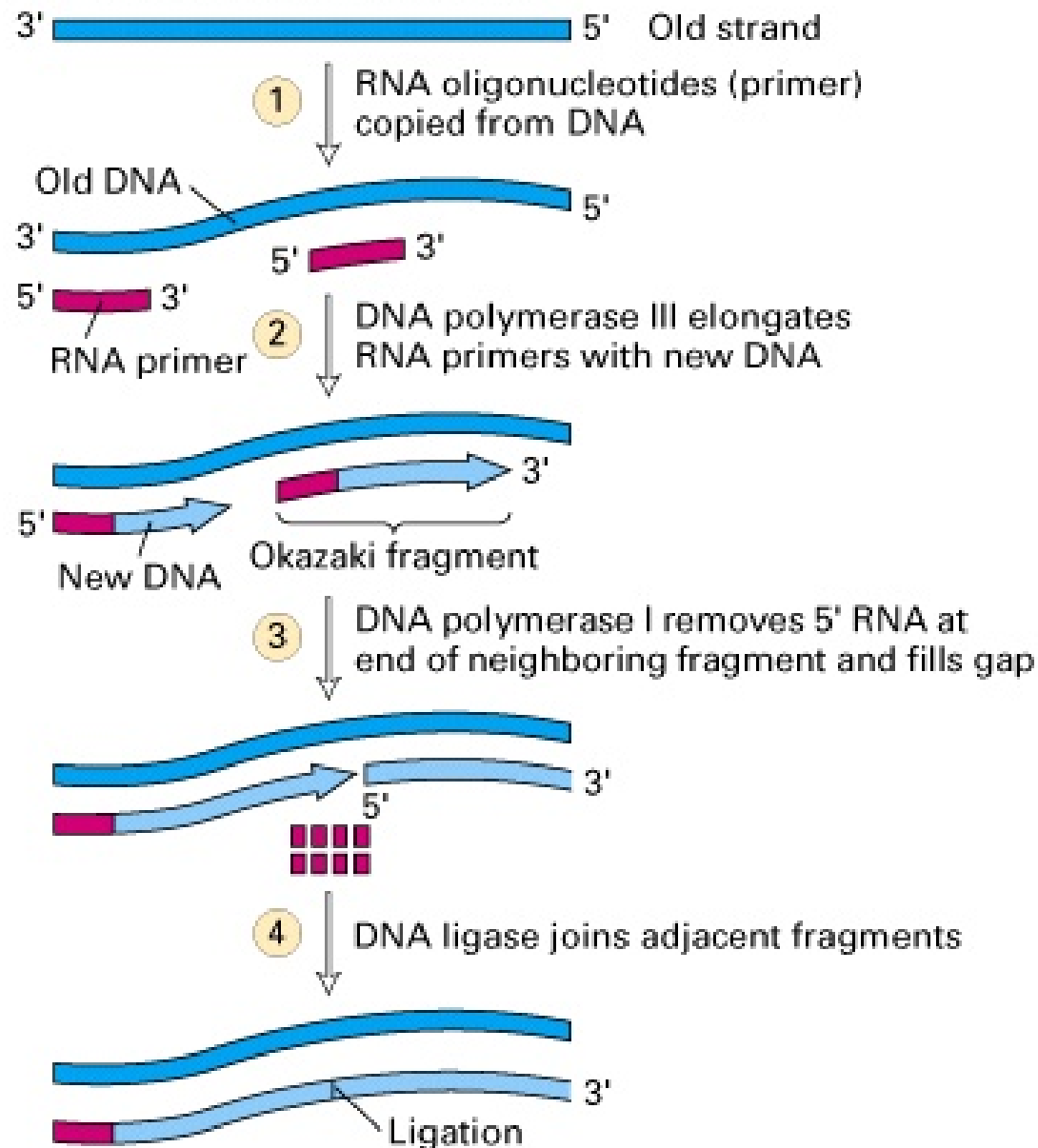


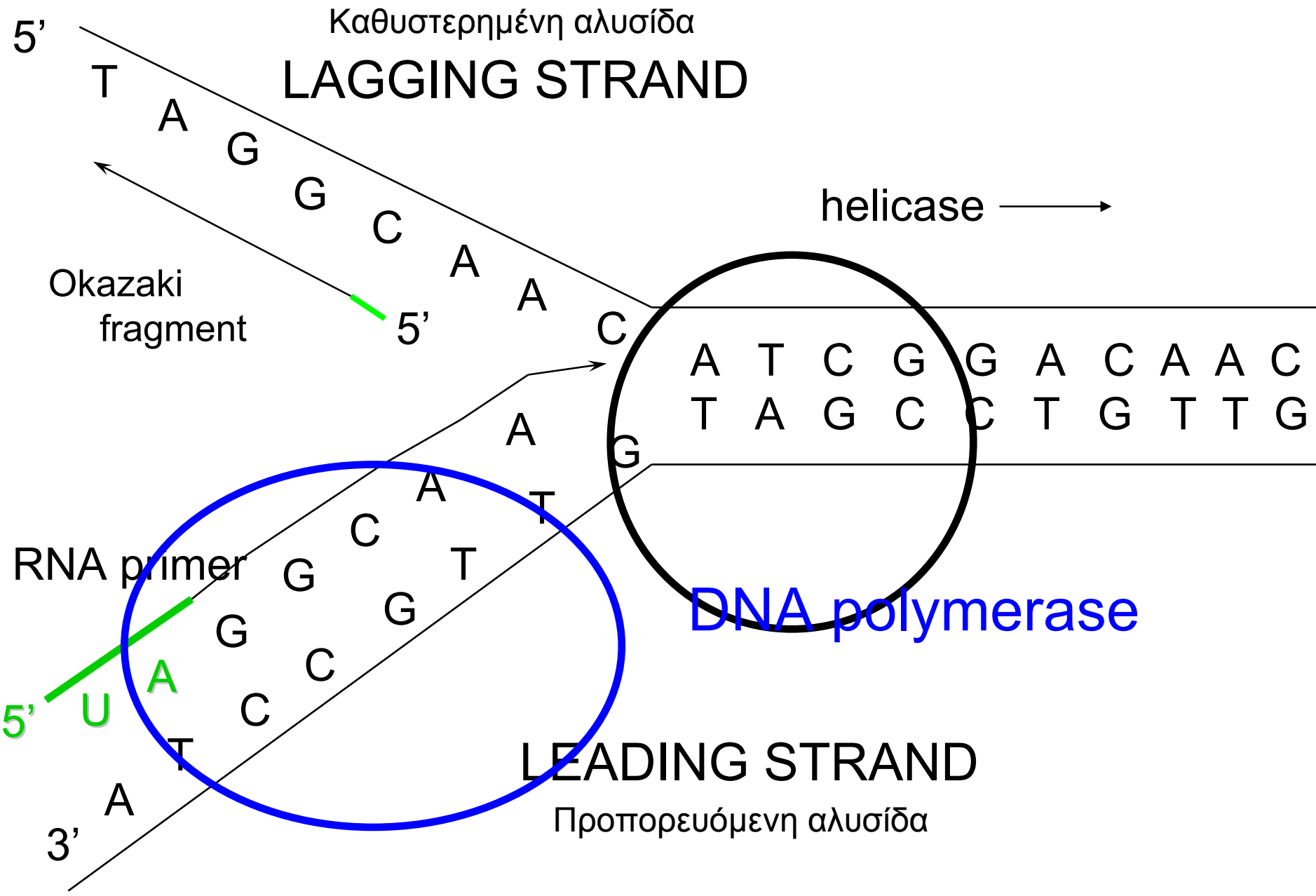
Απάντηση: ασυνεχής αντιγραφή του DNA

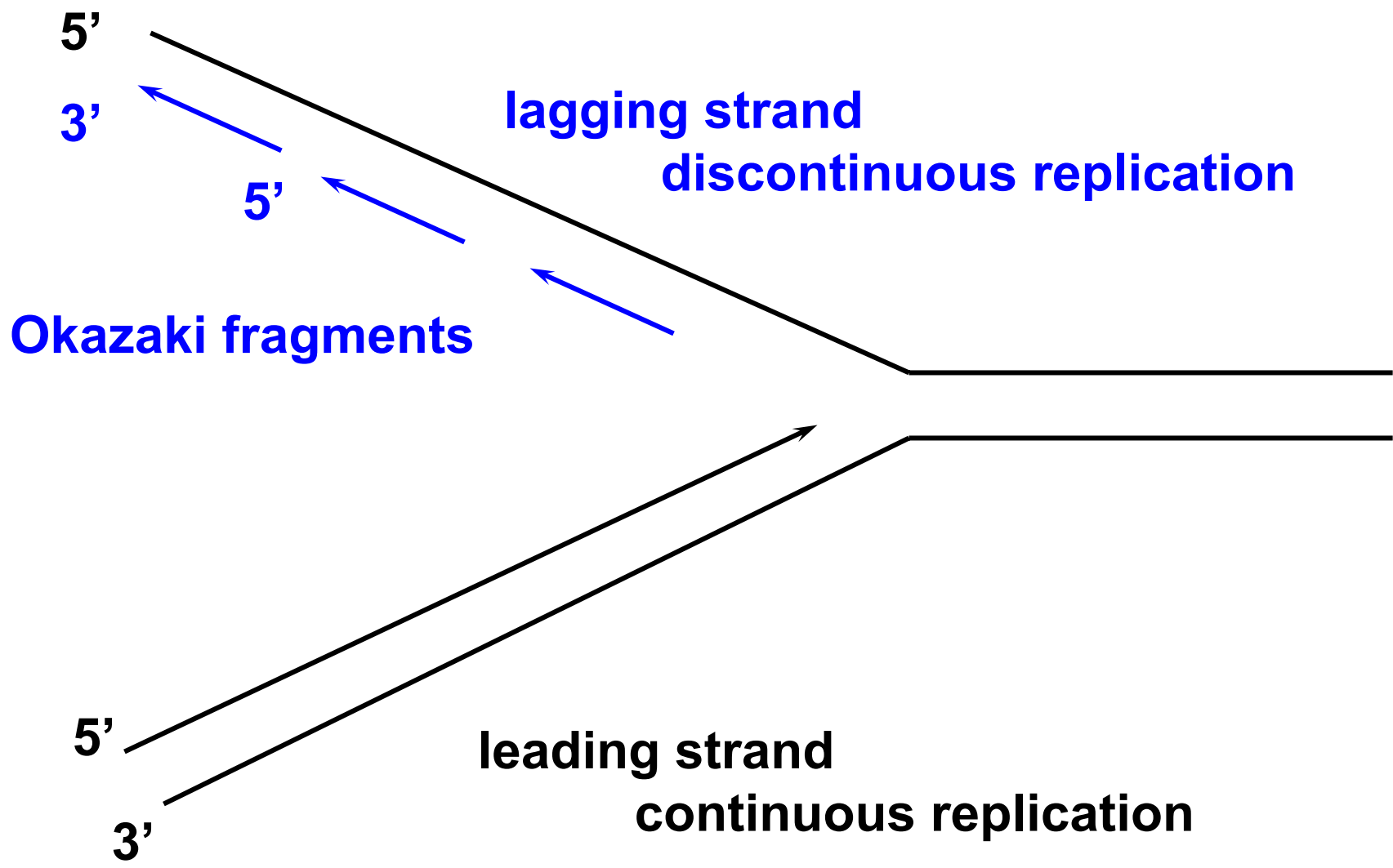
Η λύση

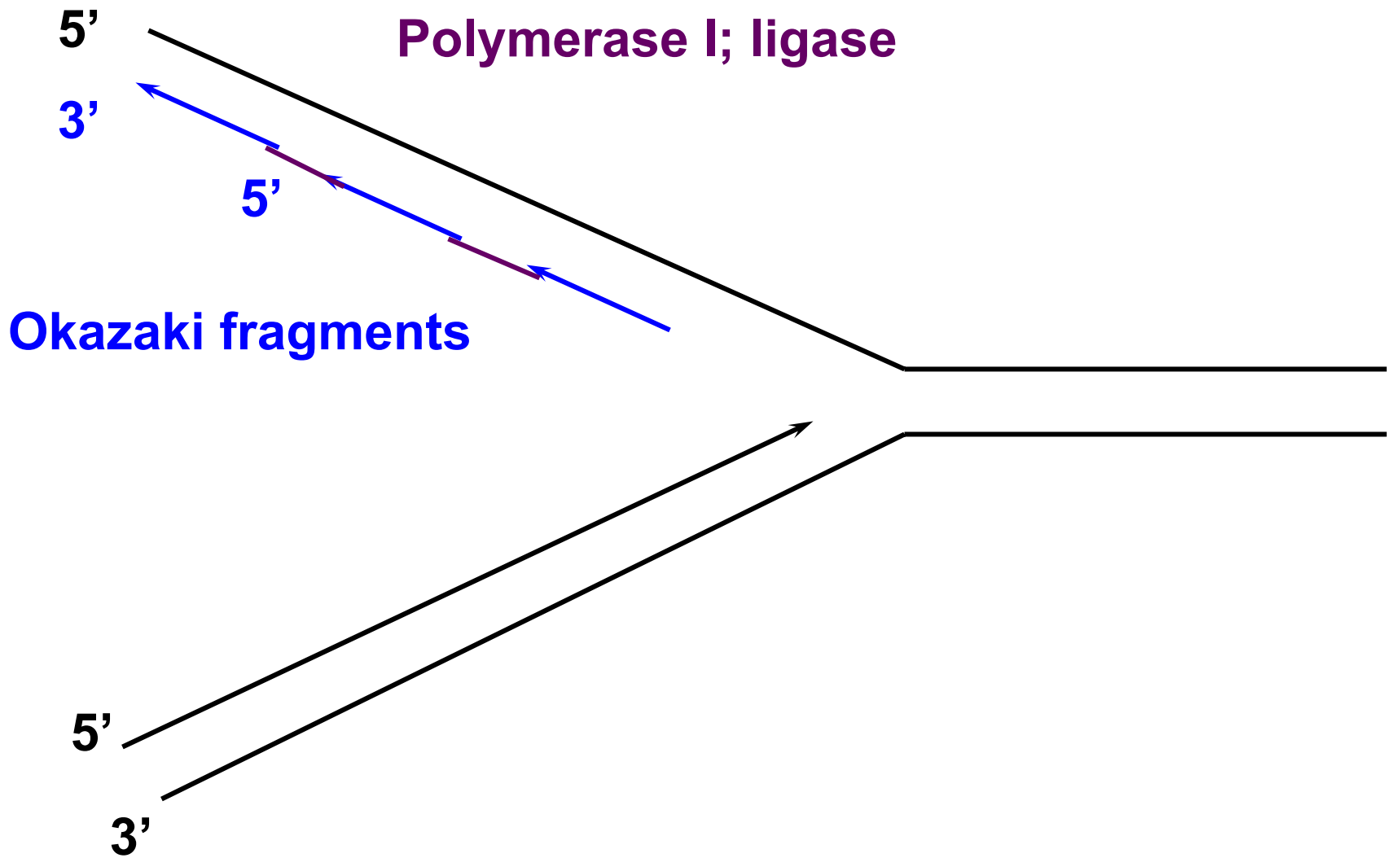


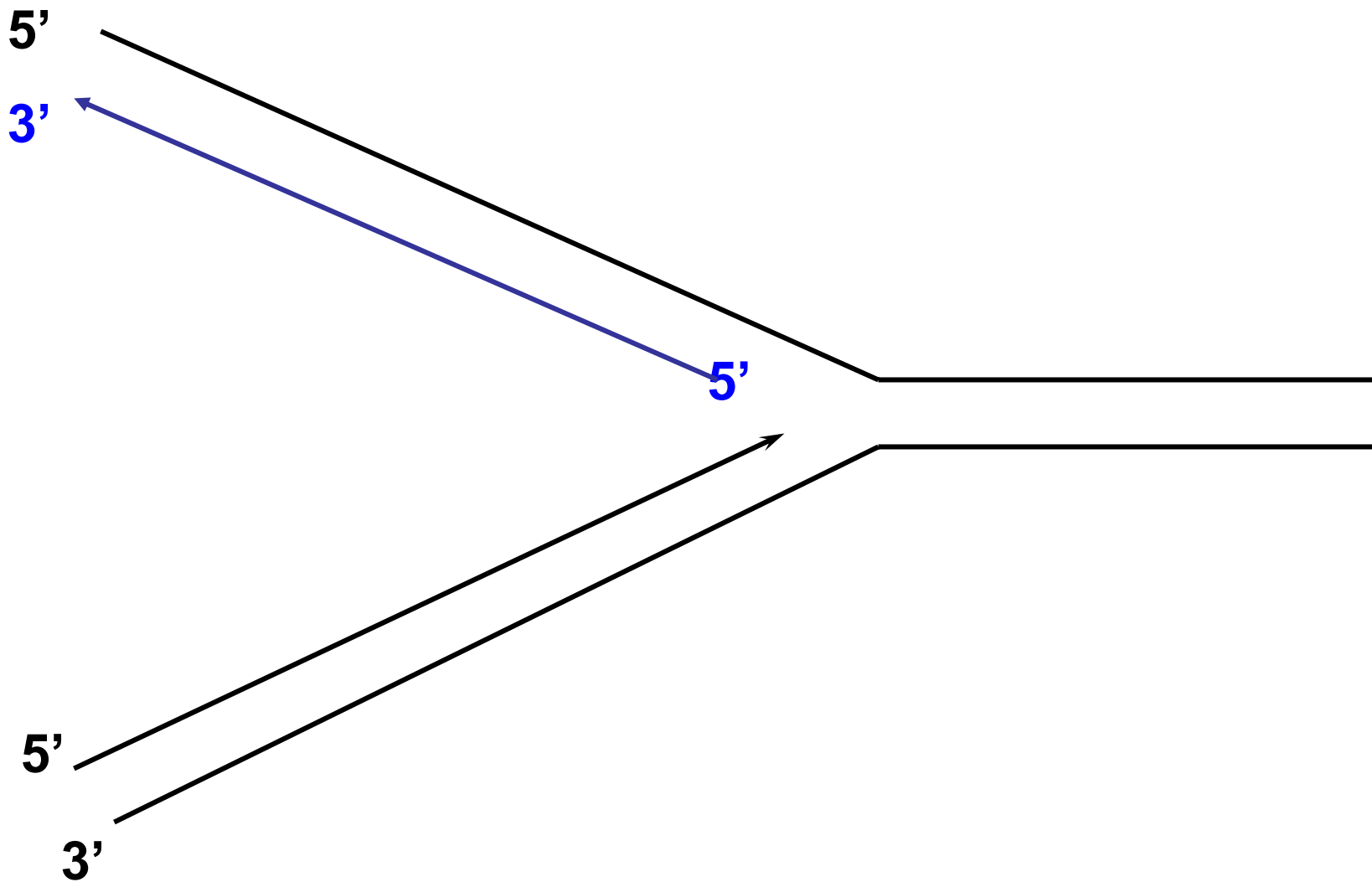
Synthesis of the lagging strand



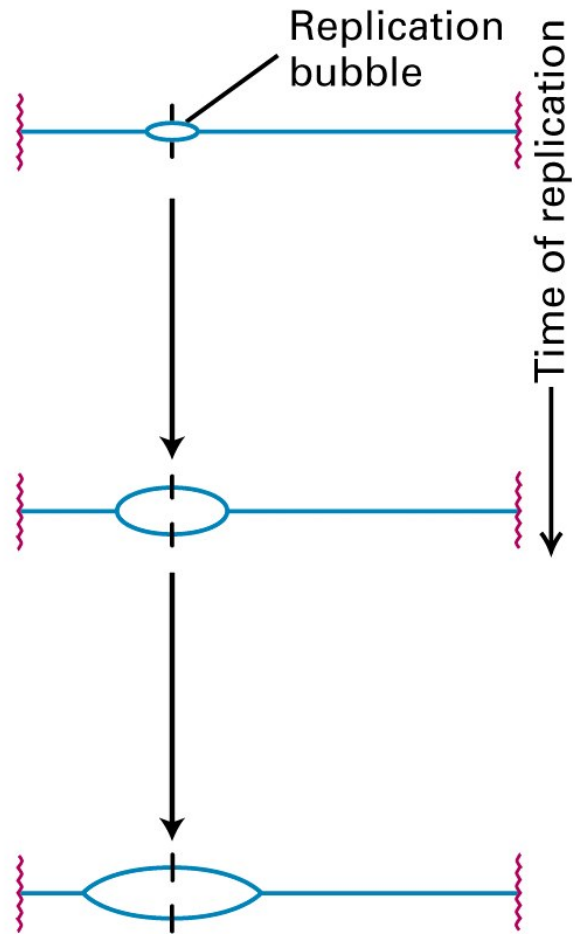
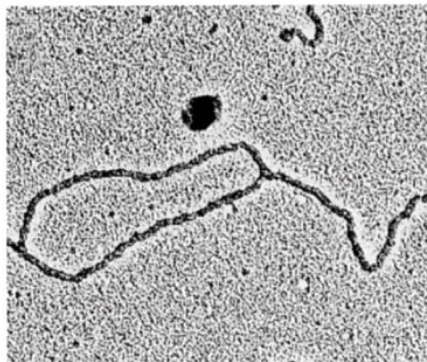
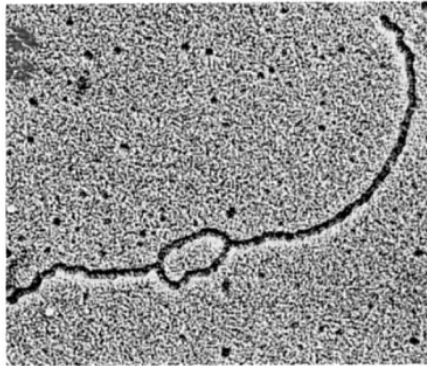
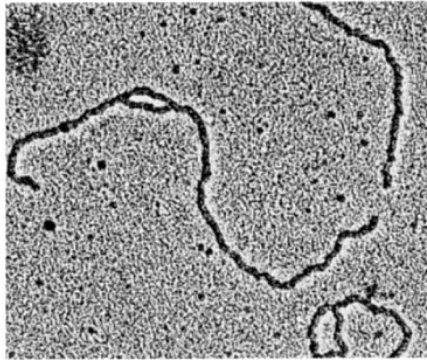






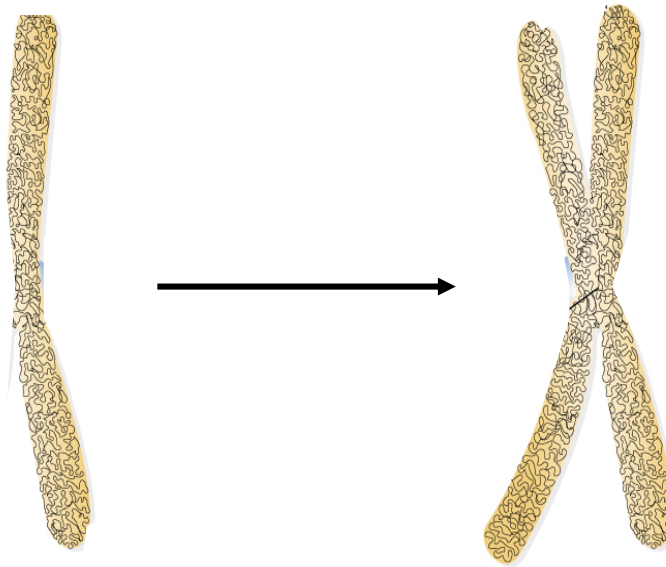


Η διχάλα της αντιγραφής που προχωράει δείχνει ότι και οι δύο αλυσίδες αντιγράφονται συγχρόνως

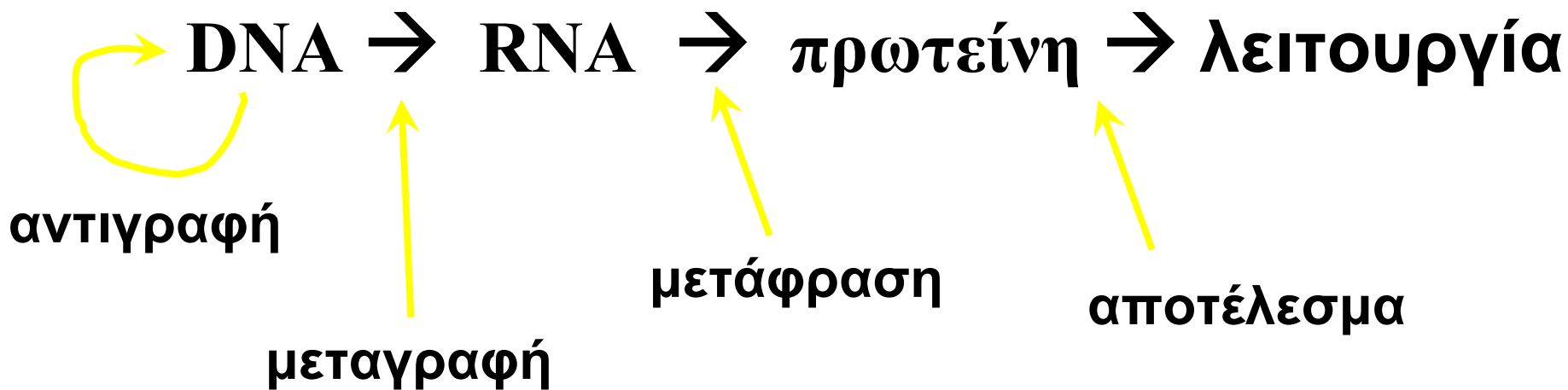


Αντιγραφή

- Ένα μόριο DNA δίνει δύο όμοια μόρια
- Ένα χρωμόσωμα → δύο όμοιες χρωματίδες



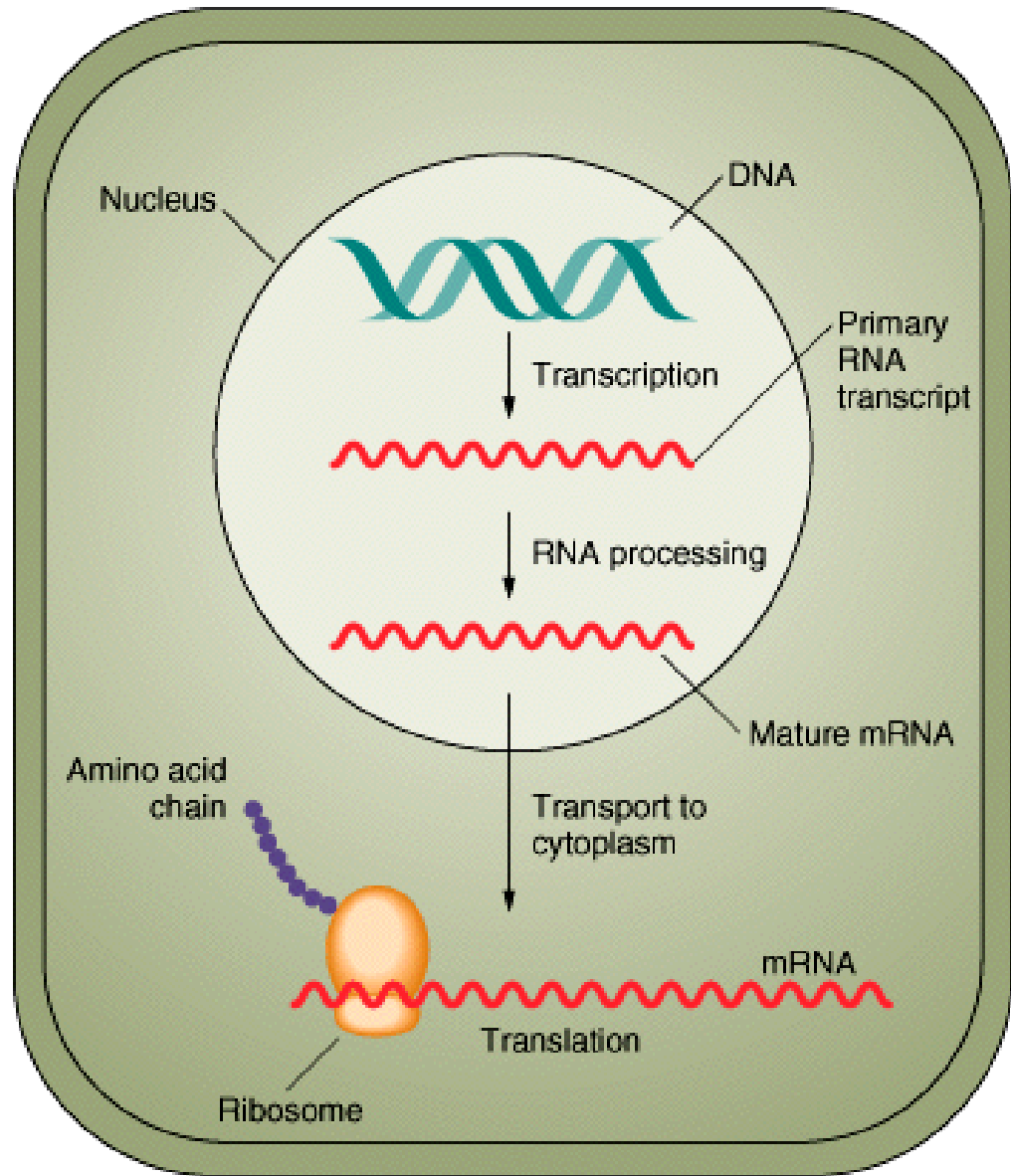
Το κεντρικό δόγμα



Η ζωή είναι ένα εργοστάσιο

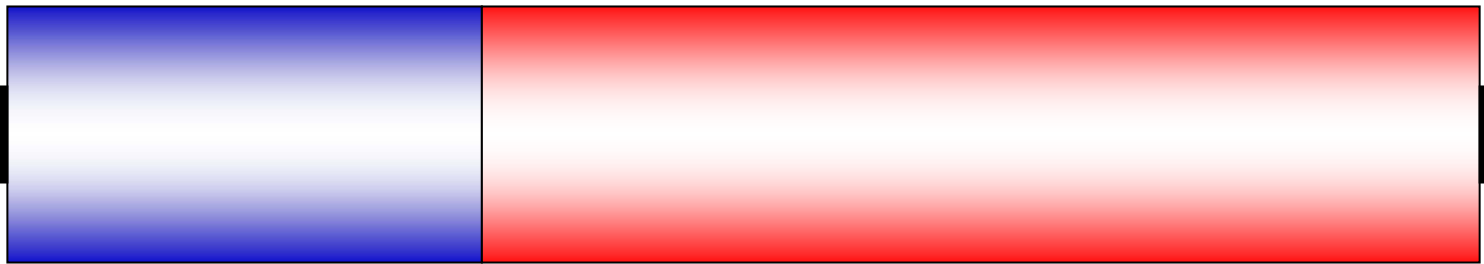
- **DNA** = οδηγίες για την παραγωγή και διατήρηση του προϊόντος
 - Πρέπει να είναι ασφαλές και ακριβές.
 - Πρέπει να είναι οργανωμένο.
- **RNA** = κινητό αντίγραφο μέρους των πληροφοριών. (σαν φωτοτυπία).
 - Αγγελιοφόρο ή "messenger" RNA ("mRNA").
 - Φτιάχεται μόνο όταν χρειαστεί και μετά καταστρέφεται.
- **Πρωτεΐνες** = εργαλεία και συστατικά για να φτιαχτούν τα προϊόντα.
 - "ένζυμα" πρωτεΐνες που λειτουργούν σαν μηχανήματα για να φτιάξει κάτι το κύτταρο.
 - "δομικές πρωτεΐνες" πρωτεΐνες απαραίτητες για τη δομή του κυττάρου

Από τις οδηγίες στο προϊόν



Σχηματική δομή ενός γονιδίου

Υποκινητής **Κωδικοποιούσα περιοχή**



+1



μεταγραφή

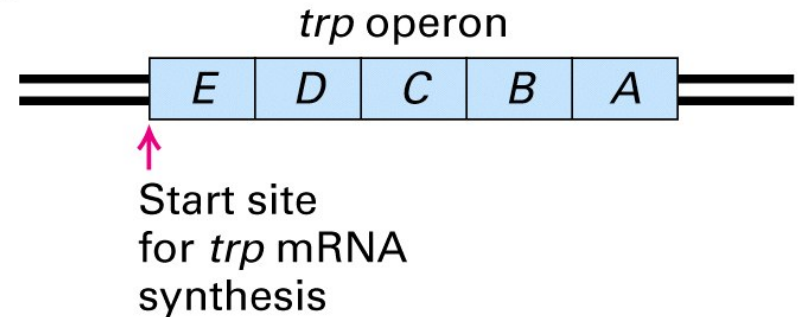
Βακτηριακή δομή γονιδίων

- Βακτηριακά (προκαρυωτικά) γονίδια
 - ένα mRNA μπορεί να περιέχει περισσότερες περιοχές που κωδικοποιούνται (open reading frames - ORFs).
 - Το mRNA περιέχει περισσότερα γονίδια
 - Ένας υποκινητής (promoter) ελέγχει περισσότερα γονίδια
 - Κάθε περιοχή που κωδικοποιείται έχει στη μετάφραση τη δική της αρχή και τέλος

Προκαρυωτικά κύτταρα

(a) Prokaryotes

E. coli genome

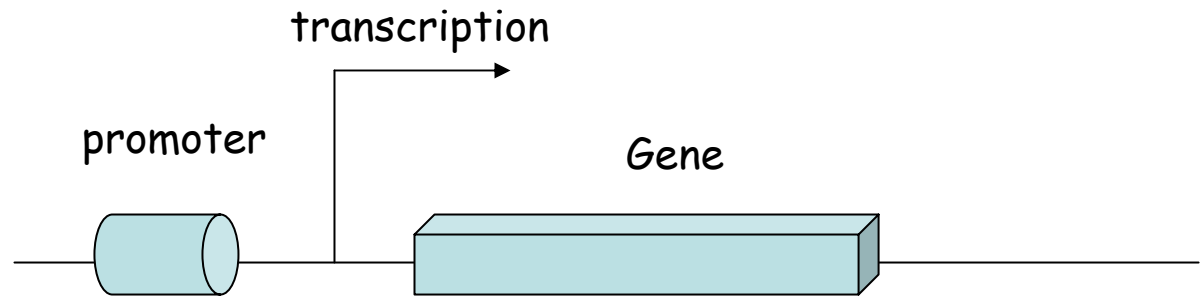


**Συγχρονισμένη
έκφραση γονιδίων:**
γειτονικά γονίδια
(operon) ελέγχονται από
έναν υποκινητή και
μεταγράφονται σε ένα
mRNA ενώ
κωδικοποιούν πολλαπλά
γονιδιακά προϊόντα

Γονιδιακή δομή σε φυτά και ζώα

- Στα ευκαρυωτικά γονίδια
 - ένα mRNA περιέχει μόνο μία κωδικοποιούσα περιοχή

Κάθε γονίδιο έχει
το δικό του
υποκινητή



Το mRNA
περιέχει ένα
μόνο γονίδιο



Ευκαρυωτικά κύτταρα

Διακεκομμένα γονίδια
(εξόνια/ιντρόνια-
exons/introns)

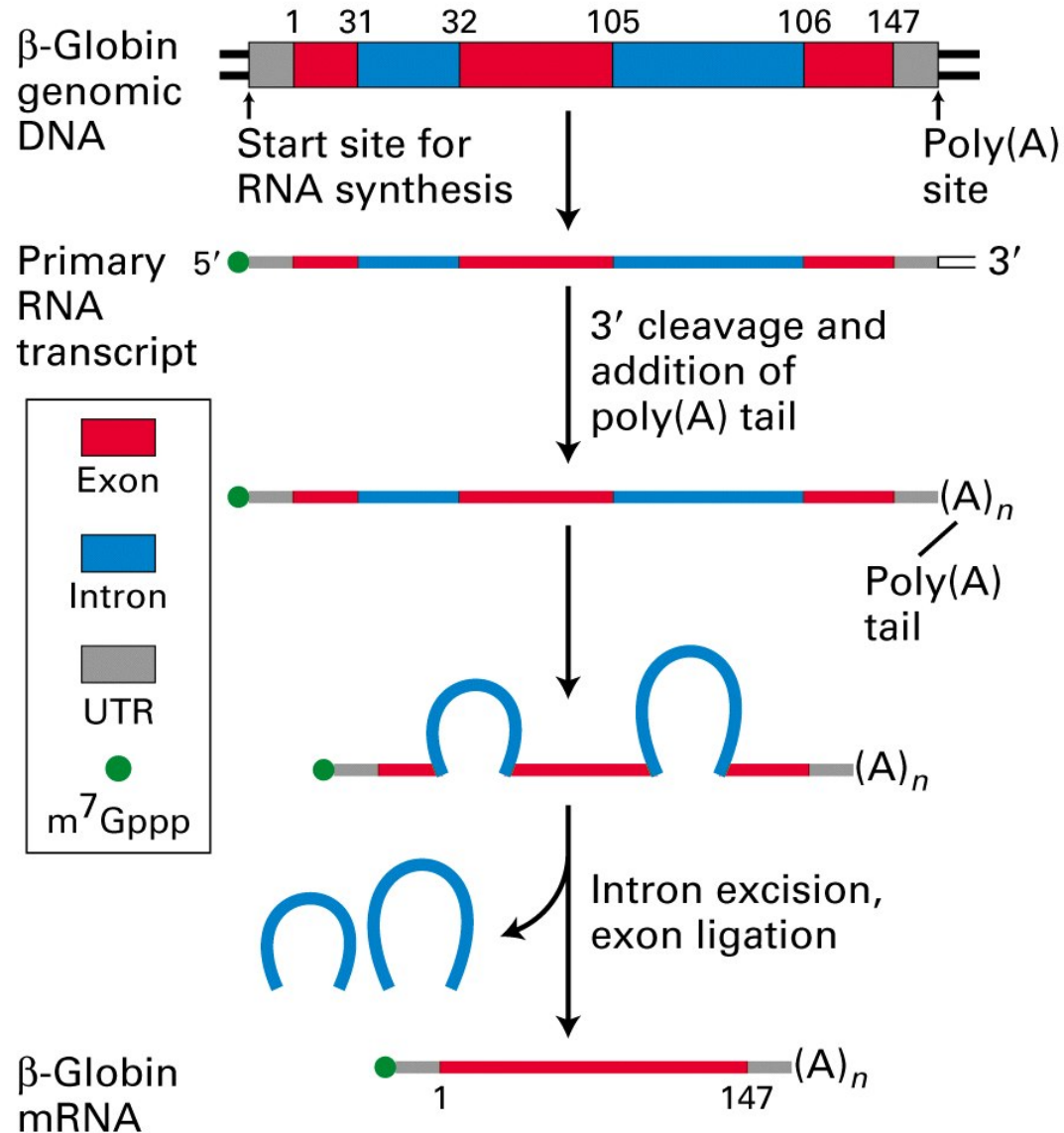
Κάθε mRNA – ένα γονίδιο

Μετα-μεταγραφικές
τροποποιήσεις:

5' CAP

polyA tail

splicing



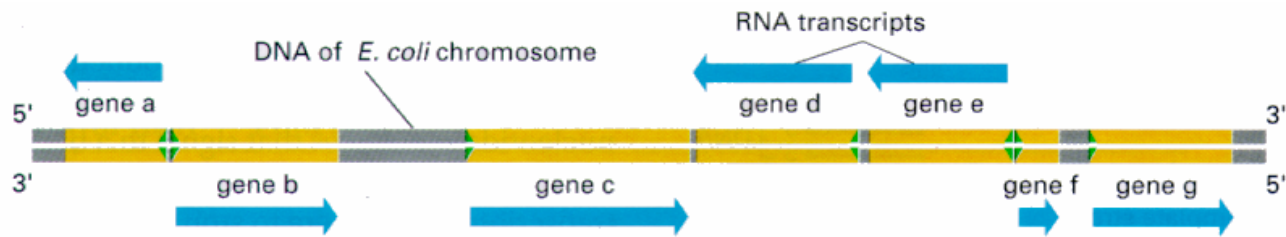
- Μόνο η μία αλυσίδα του dna χρησιμεύει σαν καλούπι για την παραγωγή γονιδίων.

(5') CGCTATAGCGTTT(3') DNA nontemplate (coding) strand

(3') GCGATATCGCAA(5') DNA template strand

(5') CGCUAUAGCGUUU(3') RNA transcript

- Διαφορετικά γονίδια διαβάζονται από τις συμπληρωματικές αλυσίδες



Που και πότε?

Τα γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες με διάφορες λειτουργίες στο κύτταρο:

- Παραγωγή ενέργειας.
- Δομές του κυττάρου (ανάπτυξη-επιδιόρθωση).
- Κίνηση.
- Προστασία του κυττάρου από επίθεση.

αλλά...

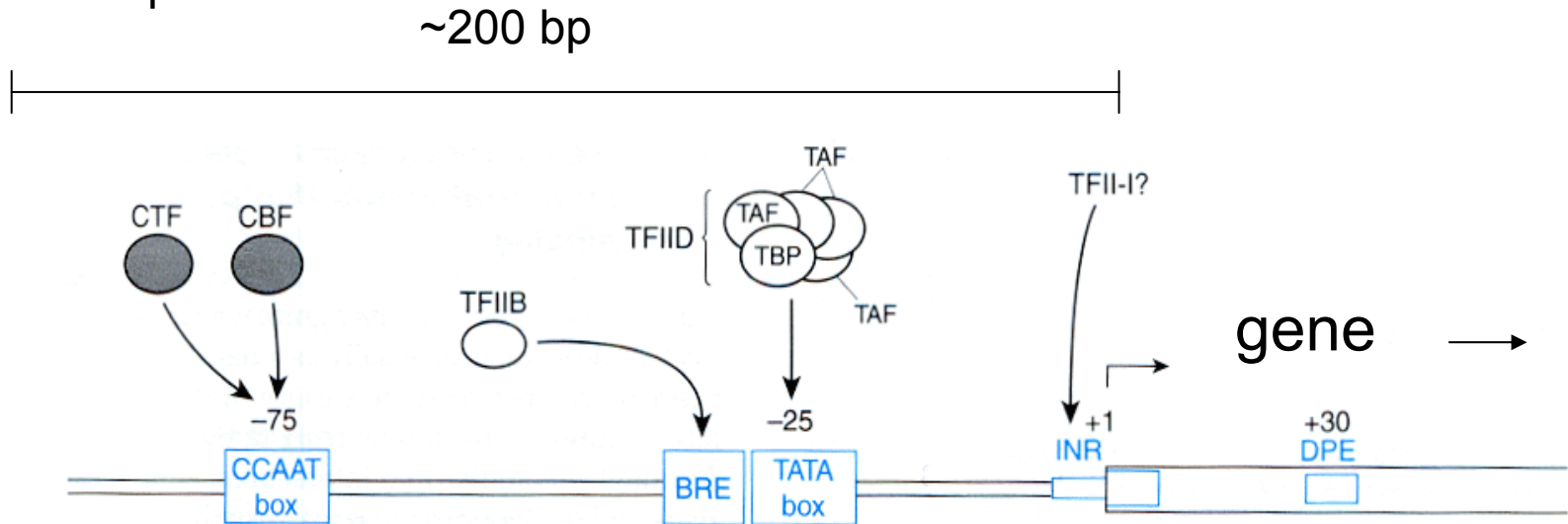
Πώς το κύτταρο «ανάβει», «σβήνει» και ρυθμίζει την «ένταση» στα γονίδιά του?

Γενετικοί διακόπτες: οι υποκινητές (Promoters) είναι το μέρος του γονιδίου που ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση

- Ο υποκινητής καθορίζει:
 1. Πότε θα αρχίσει η παραγωγή mRNA.
 2. Πότε θα σταματήσει η παραγωγή mRNA (πόσο να φτιαχτεί;).
 3. Το σημείο έναρξης της μεταγραφής (που να αρχίσει η παραγωγή mRNA).
 4. Ποιά αλυσίδα DNA θα είναι το καλούπι.

Promoters

- Η RNA πολυμεράση πρέπει να βρει τον υποκινητή και να κολλήσει πάνω του για να αρχίσει η μεταγραφή (transcription).
- Άλλες πρωτεΐνες πρέπει να προσδεθούν στον υποκινητή για να δώσουν εντολές στην RNA πολυμεράση σχετικά με το πότε και πόσο θα δουλέψει



Μερικά επαγωγικά στοιχεία που ελέγχουν τη μεταγραφή

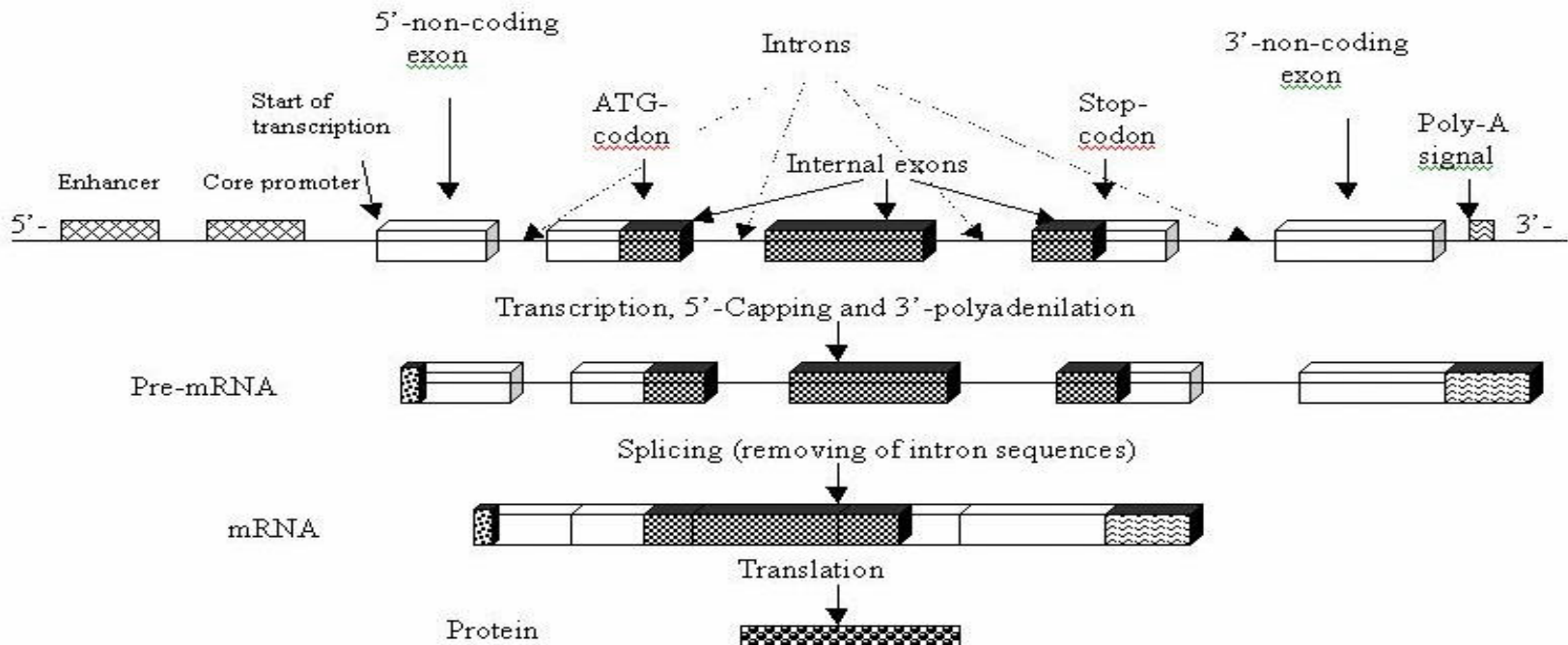
Table 1.4: Examples of *cis*-acting elements recognized by ubiquitous transcription factors

| <i>Cis</i> element | DNA sequence is identical to, or a variant of | Associated <i>trans</i> -acting factors | Comments |
|-----------------------------|---|---|---|
| GC box | GGGCGG | Spl | Spl factor is ubiquitous |
| TATA box | TATAAA | TFIID | TFIIA binds to the TFIID–TATA box complex to stabilize it |
| CAAT box | CCAAT | Many, e.g. C/EBP, CTF/NFI | Large family of <i>trans</i> -acting factors |
| CRE (cAMP response element) | GTGACGTA/CAA/G | CREB/ATF family, e.g. ATF-1 | Genes activated in response to cAMP |

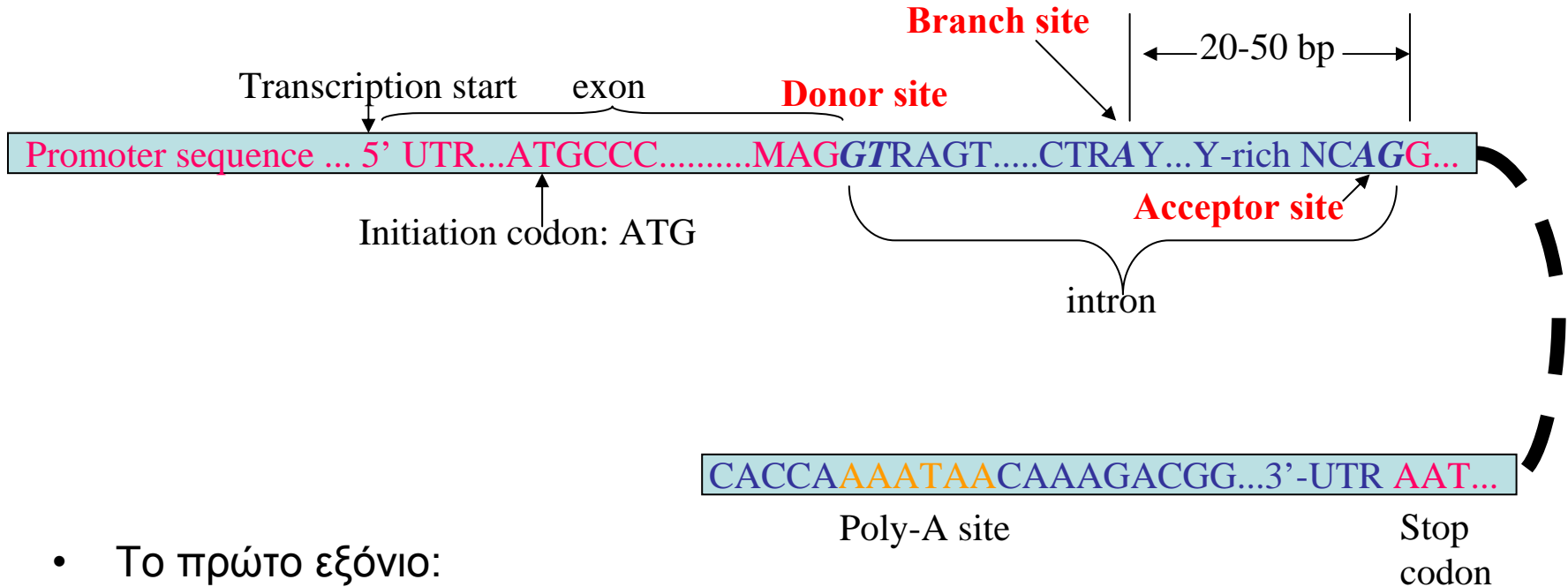
Promoters for “housekeeping” genes often lack TATA and CAAT boxes and have a GC box instead.

Ιντρόνια: τα ευκαρυωτικά γονίδια συχνά περιέχουν “Extra” DNA

- Στα περισσότερα ευκαρυωτικά γονίδια η περιοχή που κωδικοποιεί πρωτεΐνη διακόπτεται από μη κωδικοποιούσες περιοχές (non-coding regions) που πρέπει να απομακρυνθούν προτού φτιαχτεί η πρωτεΐνη.
 - Οι κωδικοποιούσες περιοχές ονομάζονται εξόνια (Exons)
 - Το «επιπλέον» DNA ονομάζεται ιντρόνια (Introns)
- το πρώιμο μόριο mRNA περιέχει και την πληροφορία για την αρχή και το τέλος των εξονίων (υπάρχει επιπλέον DNA που πρέπει να απομακρυνθεί)



Eukaryotic Gene Structure



- Το πρώτο εξόνιο:
 - Η περιοχή 5'UTR, ξεκινάει με το σημείο έναρξης της μεταγραφής
 - Η κωδικοποιούσα περιοχή: ξεκινάει με το κωδικόνιο έναρξης
- Splice-sites (intron-exon junctions)
 - αρχή ιντρονίου → GT (δότης)
 - τέλος → AG (δέκτης)
- Το τελευταίο εξόνιο
 - Η κωδικοποιούσα περιοχή τελειώνει με ένα κωδικόνιο λήξης , e.g., TAA, TAG, TGA
 - Η περιοχή 3'UTR, τελειώνει με το σήμα για την προσθήκη poly-A

ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ...

- Έναρξη μετάφρασης: κωδικόνιο AUG (Methionine)
- Τέλος μετάφρασης: κωδικόνιο λήξης (UAA, UGA, UAG)
- Σημείο πολυαδενυλίωσης: 3' άκρο του mRNA
- 5' untranslated region: έναρξη μεταγραφής (από τη βάση 1 μέχρι το AUG)
- 3' untranslated region: από το κωδικόνιο λήξης μέχρι το σημείο πολυαδενυλίωσης
- 5' flanking region: από τη βάση -1 και προς τα πάνω προς την κατεύθυνση 5'
- 3' flanking region: από το σημείο πολυαδενυλίωσης και 3' προς τα κάτω
- Ρυθμιστική περιοχή: ενισχυτής και υποκινητής (enhancer και promoter)

Ενισχυτής - Enhancer

- ένα είδος ρυθμιστικής αλληλουχίας στο ευκαρυωτικό DNA (σπάνια στο προκαρυωτικό) που μπορεί να βρίσκεται σε πολύ μεγάλη απόσταση πριν ή μετά από τον επαγωγέα που επηρεάζει.
- Η πρόσδεση ειδικών πρωτεϊνών στον enhancer διεγείρει ή καταστέλλει (silencer) το ρυθμό μεταγραφής του γονιδίου.

promoters

- **Promoter** – αλληλουχία DNA που καθορίζει το σημείο έναρξης της μεταγραφής. Οι περισσότεροι υποκινητές αποτελούνται από συγκεκριμένα μοτίβα για παράδειγμα το CCAAT box και το TATA box.
- **CCAAT box** (-80 to -70) – προσδένει μια οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων που έχουν συντηρηθεί κατά τη διάρκεια της εξέλιξης.
- **TATA box** (-30 to -20) - το κουτί TATA είναι μέρος πολλών υποκινητών που χρησιμοποιούνται από την RNA πολυμεράση II. Το πρώτο βήμα είναι η πρόσδεση μιας υπομονάδας του παράγοντα μεταγραφής TFIIID που ονομάζεται TBP (TATA-binding protein) και προσδένεται στο TATA box. Μετά την πρόσδεση του TFIIID προστίθενται και άλλοι γενικοί παράγοντες μεταγραφής μαζί με την RNA πολυμεράση II.

Η ακολουθία του γονιδιου της β σφαιρίνης

5' end

```
CCCTGTGGA      15GGGTGGCCA
ATCTACTOC      30AGGGCAGGAG
CCAGGGCTG      45TCAGGGCAGAG
CCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACAC
AACTGTGTTCACCTAGCAACTCAAAACAGACA
CCATGGTGC      60CTGAGGGGAAGT
CTGCCGTTA      75GGGCCAAGGTGA
ACGTGGATG      90GTGAGGCCCTGG
GCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGT
TTAAGGAGACCRAATAGAAACTGGGCATGTG
GAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTTCTGATA
GGCACTGACTCTCTCTGOCCTATTGGTCTAT
TTTCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTAC
CCPTGCAACCAGAGGTTCTTTGAGTCCCTT
GGGATCTG      135GATGCTGTATTG
GGCAACCCCT      150GTCATGGCAAG
AAAGTCTC      165AGTGATGGCCTG
GCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTT
GCCCACTGAGTGGCTGCCACTGTGACAAAG
CTGCAAGTGGATCCTGAGAACTTCAGGCTG
AGTCTATGGGACCCTTGGATGTTTTCTTTCC
OCTTCTTTTCTATGGTTEAMGTTTCATGTCAT
AGGAGGGGGAGAAAGTAACAGGGTACAGTTT
AGAAATGGGAACAGACGAATGATTGCATCA
GTGTGGAAAGTCTCAGGATCGTTTTAGTTC
TTTTATTTGCTGTTTCATAACAATTGTTTTC
TTTTGTTTTAATTCCTTGGCTTTCTTTTTTT
CTTCTCGGCAATTTTTACTATTATACTTAA
TGCCTTAACATGTGTATACAAAAGGAAA
TATCTCTGA      210TAACTTAAA
AAAAACTTT      225CTAGTACATT
ACTATTTGG      240GCTTAAITG
ATAIECATAAATCTOCCACTTTATTTTCTT
TTATTTTAAATGATACATAAATCATTATAC
ATAITTAATGGGTAAAGTGTAAATGTTTTAA
TATGIGTACACATATTGACCAAAATCAGGGT
AAITTTGCATTTGTAAATTTAAAAAATGCT
TTCTTCTTTTTAATATACTTTTTTGTTTATC
TTATTTCTAAEACTTTCCOCTAATCTCTTC
TTTCAGGGCAATAATGATACAAATGTATCAT
GCCTCTTTGCACCAATTTCTAAAGAATAACAG
TGATAAATTTCTGGGTTAAGGCAATAGCAAT
ATTTCTGCATATAAATAATTTCTGCATATAA
ATTGTAACCTGATGTAAGAGGTTTCATATTG
CTAATAGCAGCTACAATOCAGCTACCATTC
TGCTTTTATTTTATGGTGTGGGATAAGGCTG
GATTAATCTGAGTCCAAGCTAGGCCCTTTT
GCTAATCATGTTTCATACCTCTTATCTTTCT
CCACAGCTC      285TTCCTGGTCTG
TGIGCTTGGCC      300GCAAAGAATT
CAOCCACCA      315CCATACAGAA
AGTGGTGGCTGGTGTGGCTAATGCCCTGGC
CCACAAAGTATCACTAAGGCTGCTTCTTTGC
TGTCATATTTCTAATTAAGGTTCTCTTTGTT
CCCTT      345CTAAAT
TTAAT      360AGCAAT
CCCTA      375TTAAT
TCAATCTAAGGAAATTTAATTTT
```

Φαίνεται μία αλυσίδα dna, με κατεύθυνση 5'-3'.

κίτρινο : εξόνια

(Exons: are “expressed” – τα εξόνια εκφράζονται)

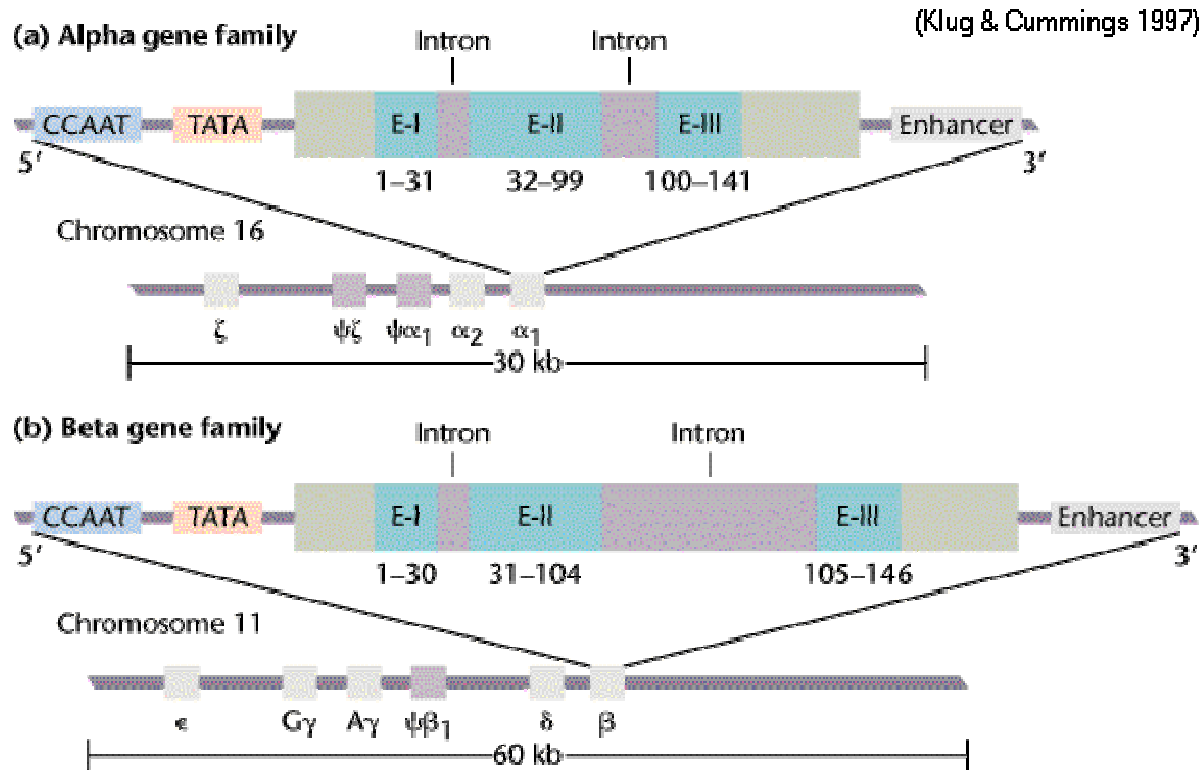
μαύρο: ιντρόνια – τα ιντρόνια αφαιρούνται από το mRNA με το splicing

Note: οι ακολουθίες DNA γράφονται με φορά 5' προς 3'

Ex: 5'-AGCTGGGCTAGTGCTTAGGGGAATTTTCCCCTTTCC-3'

Ακόμη και μεταλλάξεις που δεν συμβαίνουν στα εξόνια, μπορεί να εκφραστούν!

Example gene – α and β globin



Πεπτιδικός δεσμός

Το 5' άκρο ενός γονιδίου αντιστοιχεί στο αμινοτελικό άκρο της πρωτεΐνης

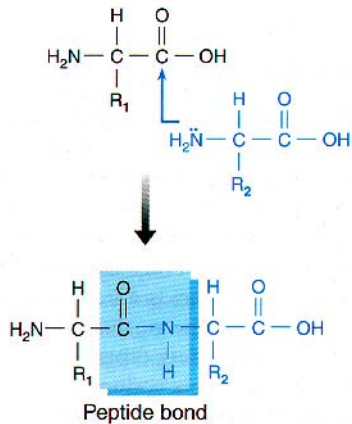


Figure 1.21: Polypeptides are synthesized by peptide bond formation between successive amino acids.

Ο γενετικός κώδικας

| | | | |
|------------|-----------|-----------|------------|
| AAA } Lys | CAA } Gln | GAA } Glu | UAA } STOP |
| AAG } Lys | CAG } Gln | GAG } Glu | UAG } STOP |
| AAC } Asn | CAC } His | GAC } Asp | UAC } Tyr |
| AAU } Asn | CAU } His | GAU } Asp | UAU } Tyr |
| ACA } Thr | CCA } Pro | GCA } Ala | UCA } Ser |
| ACG } Thr | CCG } Pro | GCG } Ala | UCG } Ser |
| ACC } Thr | CCC } Pro | GCC } Ala | UCC } Ser |
| ACU } Thr | CCU } Pro | GCU } Ala | UCU } Ser |
| AGA } Arg | CGA } Arg | GGA } Gly | UGA } STOP |
| AGG } STOP | CGG } Arg | GGG } Gly | UGG } Trp |
| AGC } Ser | CGC } Arg | GGC } Gly | UGC } Cys |
| AGU } Ser | CGU } Arg | GGU } Gly | UGU } Cys |
| AUA } Ile | CUA } Leu | GUA } Val | UUA } Leu |
| AUG } Met | CUG } Leu | GUG } Val | UUG } Leu |
| AUC } Ile | CUC } Leu | GUC } Val | UUC } Phe |
| AUU } Ile | CUU } Leu | GUU } Val | UUU } Phe |

TABLE 4-2 Known Deviations from the Universal Genetic Code

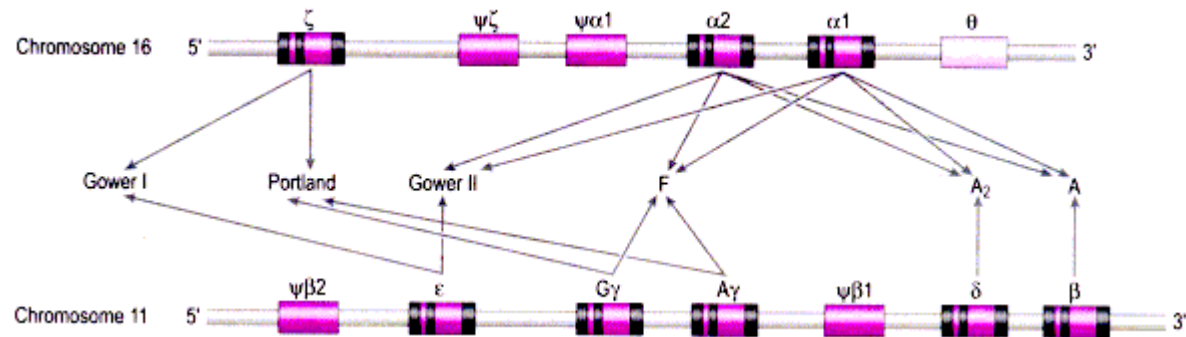
| Codon | Universal Code | Unusual Code* | Occurrence |
|----------|----------------|---------------|---|
| UGA | Stop | Trp | <i>Mycoplasma</i> , <i>Spiroplasma</i> , mitochondria of many species |
| CUG | Leu | Thr | Mitochondria in yeasts |
| UAA, UAG | Stop | Gln | <i>Acetabularia</i> , <i>Tetrahymena</i> , Paramecium, etc. |
| UGA | Stop | Cys | <i>Euplotes</i> |

*“Unusual code” is used in nuclear genes of the listed organisms and in mitochondrial genes as indicated.

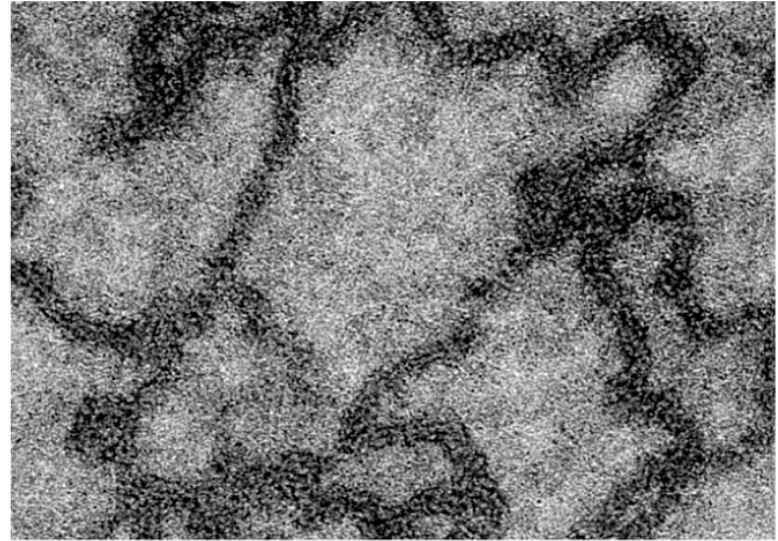
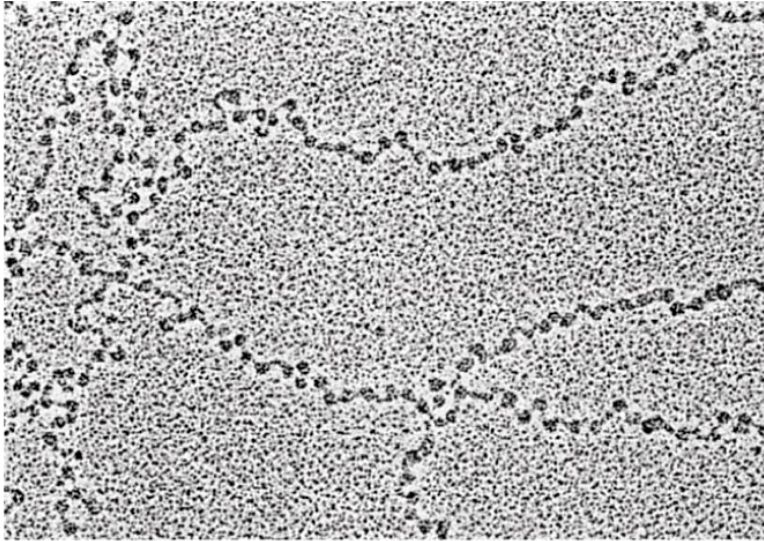
SOURCE: S. Osawa et al., 1992, *Microbiol. Rev.* 56:229.

Ένα γονίδιο δίνει μία πολυπεπτιδική αλυσίδα που μπορεί να συμμετέχει στη δημιουργία περισσότερων πρωτεϊνών

Π.χ. Οικογένεια των σφαιρινών



Η δομή της χρωματίνης



πρόβλημα:

Το γονιδίωμα της *Escherichia coli* (4.6 Mb) αν μετρηθεί γραμμικά είναι 1,000 φορές μακρύτερο από το ίδιο το κύτταρο!

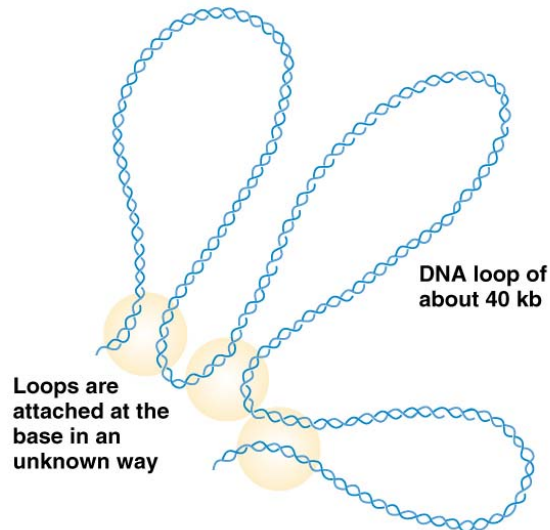
Το ανθρώπινο γονιδίωμα (3.4 Gb) θα είχε μήκος 2,3 m.

λύσεις:

1. υπερελίξεις

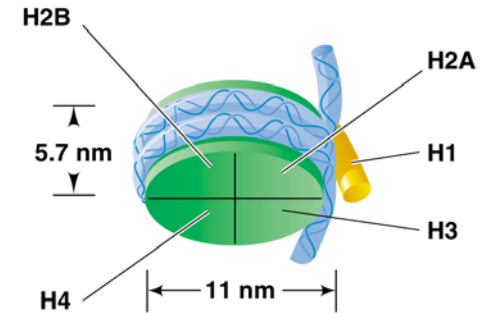
η διπλή έλικα του DNA περιστρέφεται γύρω από τον άξονά της, με μια διαδικασία που ελέγχεται από τις τοποϊσομεράσες.

2. θηλιές

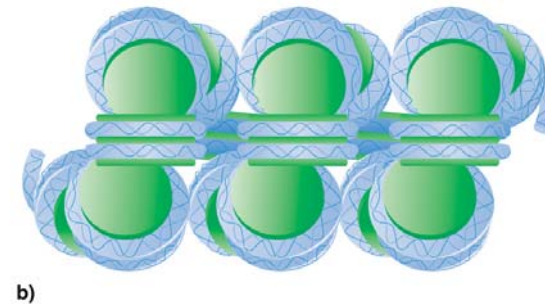
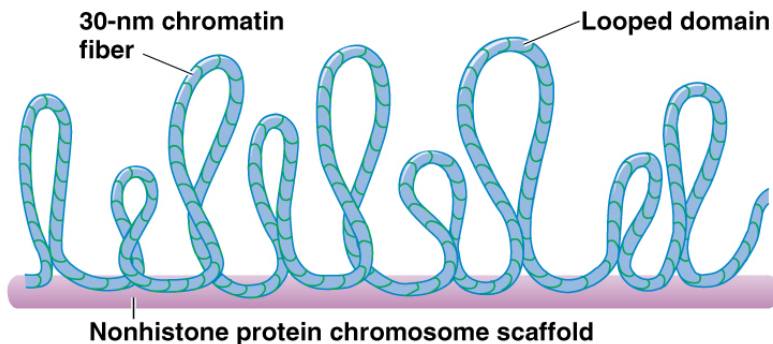
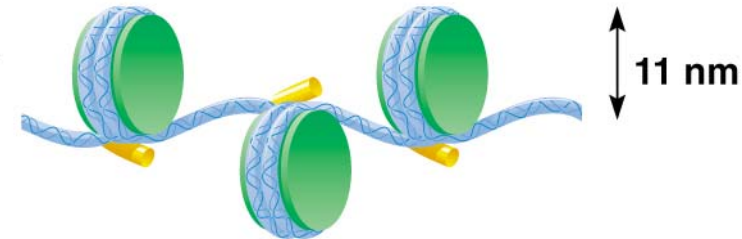


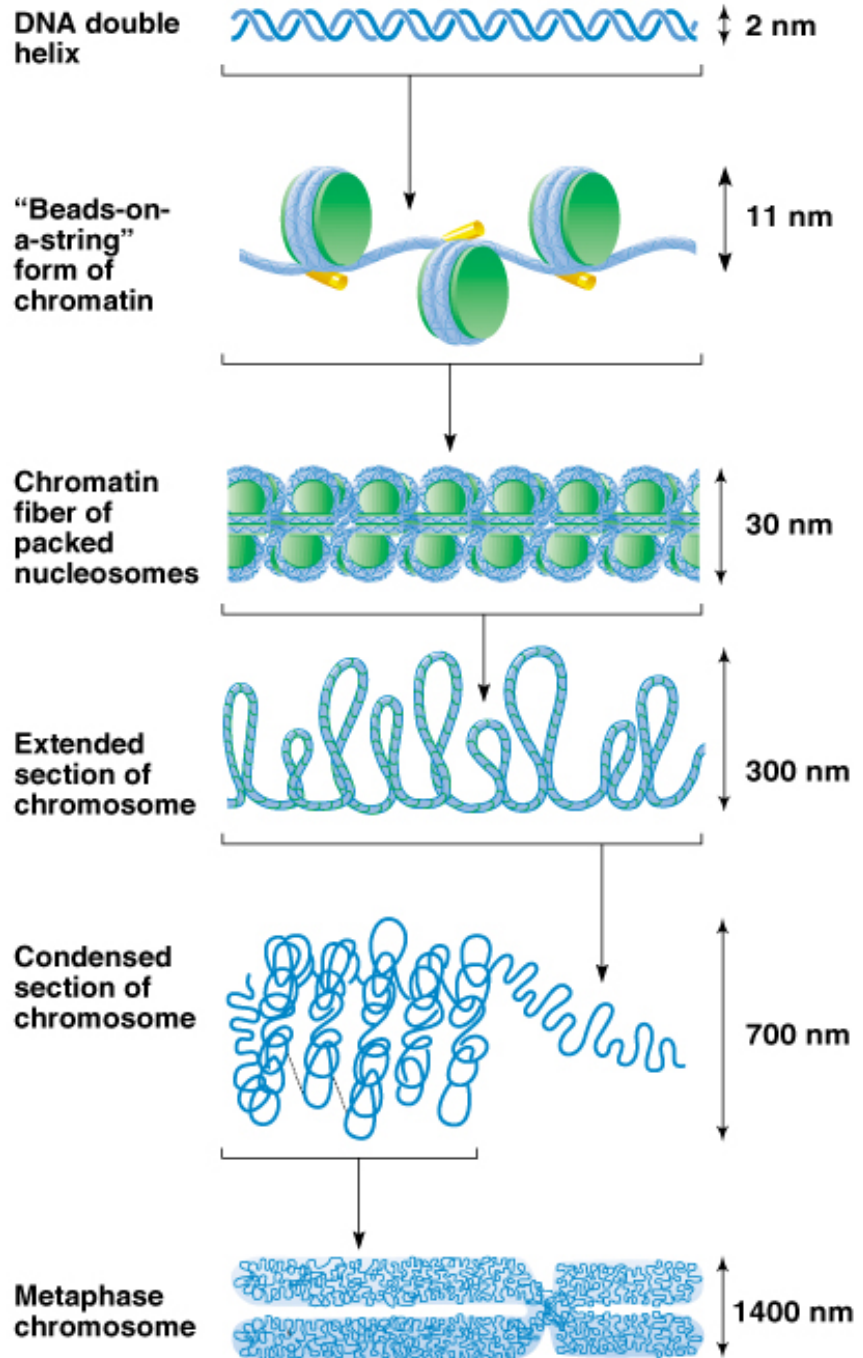
Πακετάρισμα του DNA στα χρωμοσώματα:

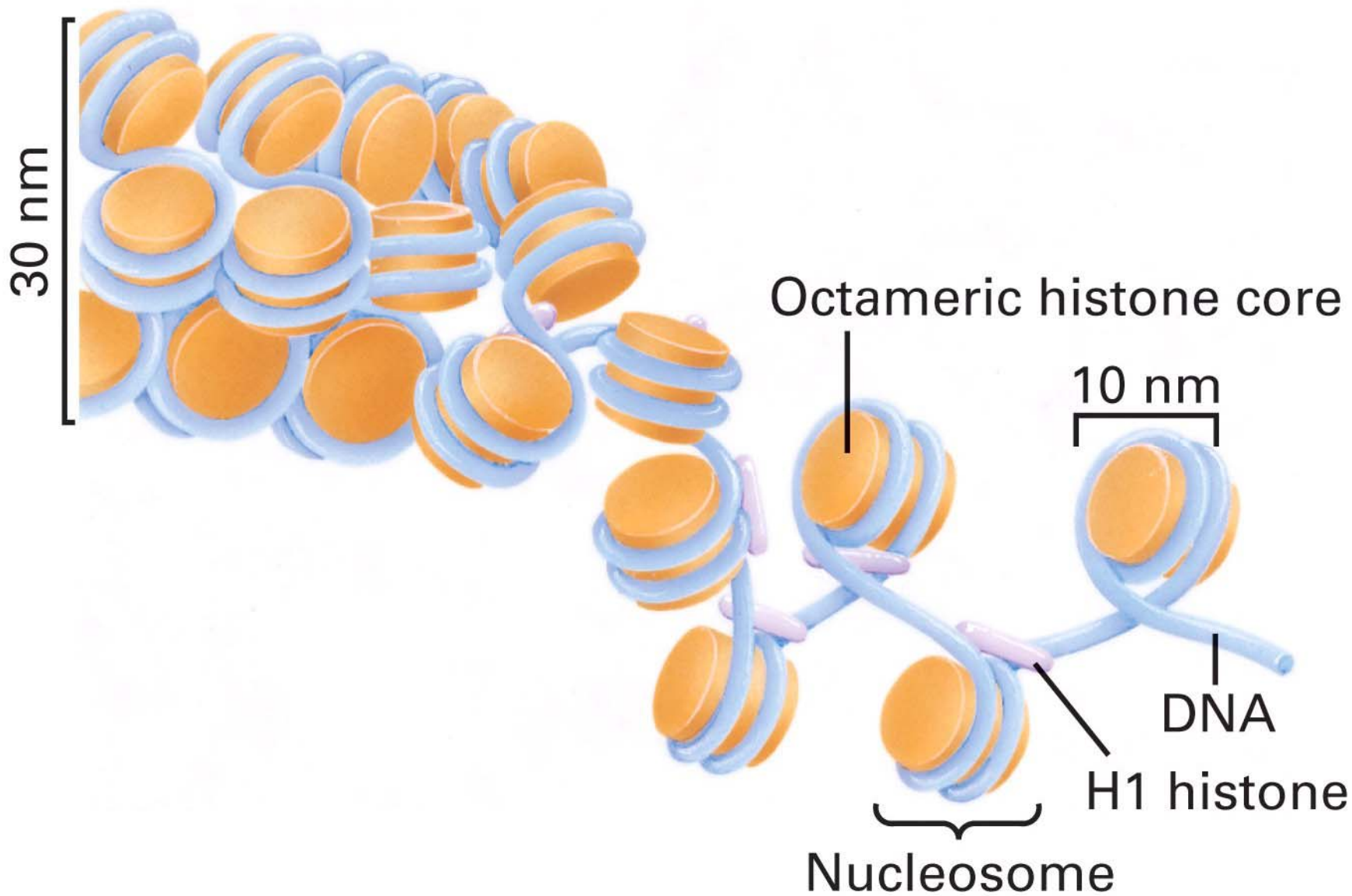
1. επίπεδο 1 περιστροφή του DNA γύρω από τις ιστόνες δημιουργώντας τις δομές των νουκλεοσωμάτων
2. επίπεδο 2 τα νουκλεοσώματα σαν χαντρες κομπολογιού συνδέονται με συνδετικό DNA
3. επίπεδο 3 πακετάρισμα των νουκλεοσωμάτων σε ινίδια χρωματίνης 30-nm.
4. επίπεδο 4 θηλιές.



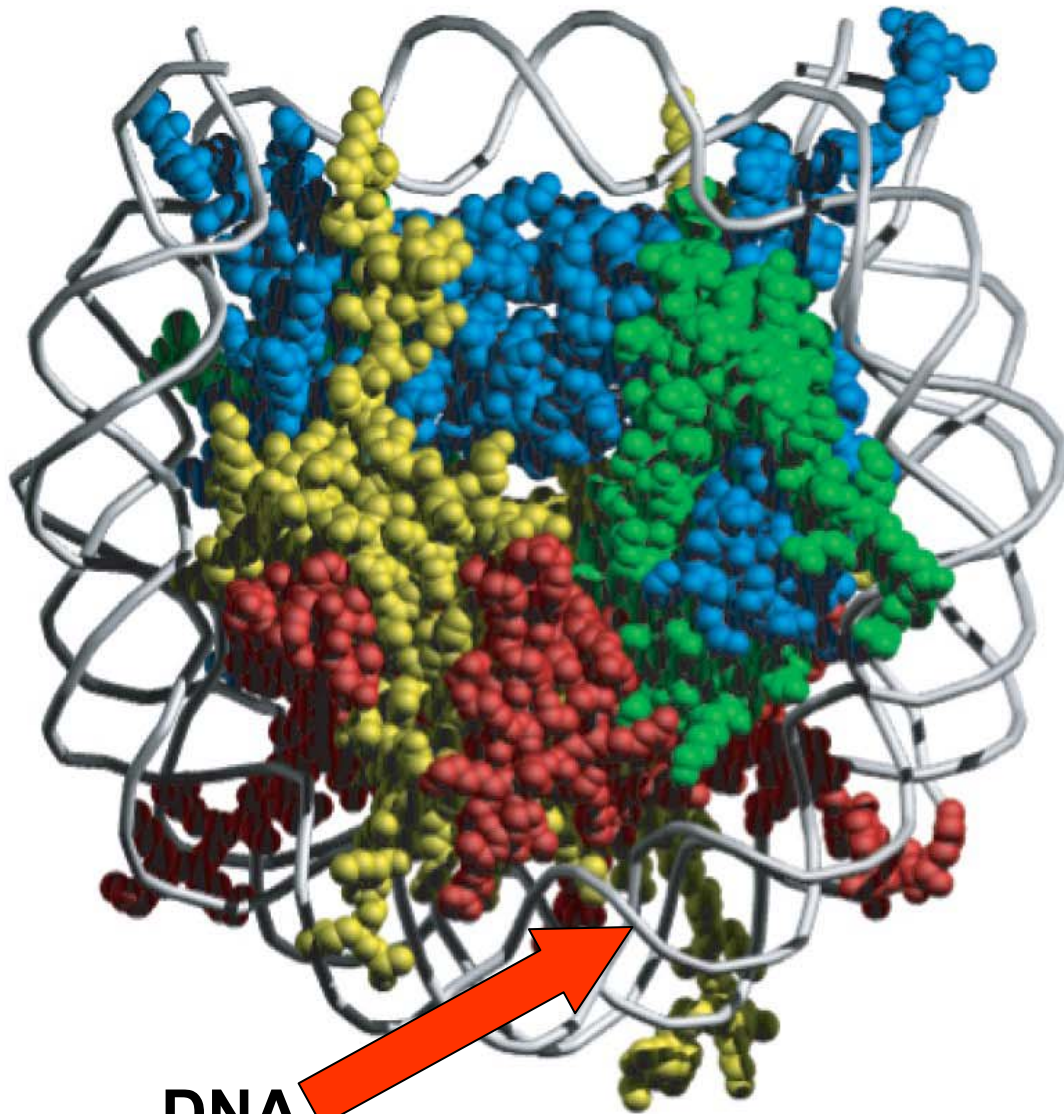
Beads-on-a-string form of chromatin



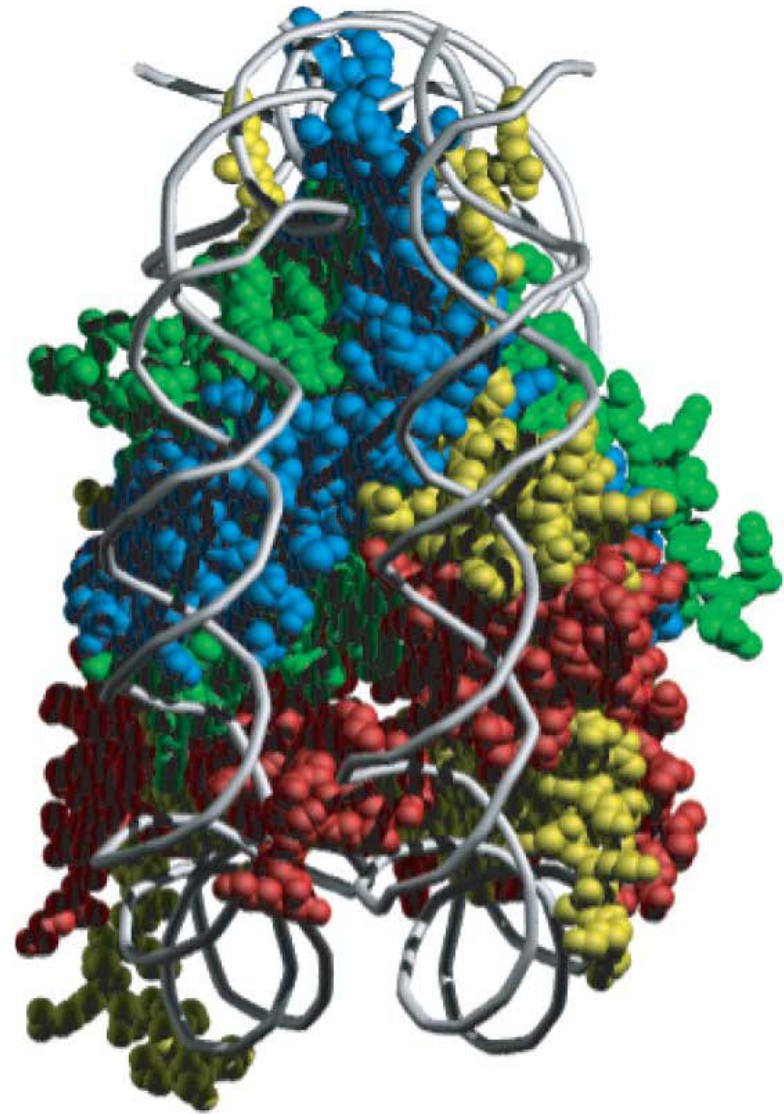


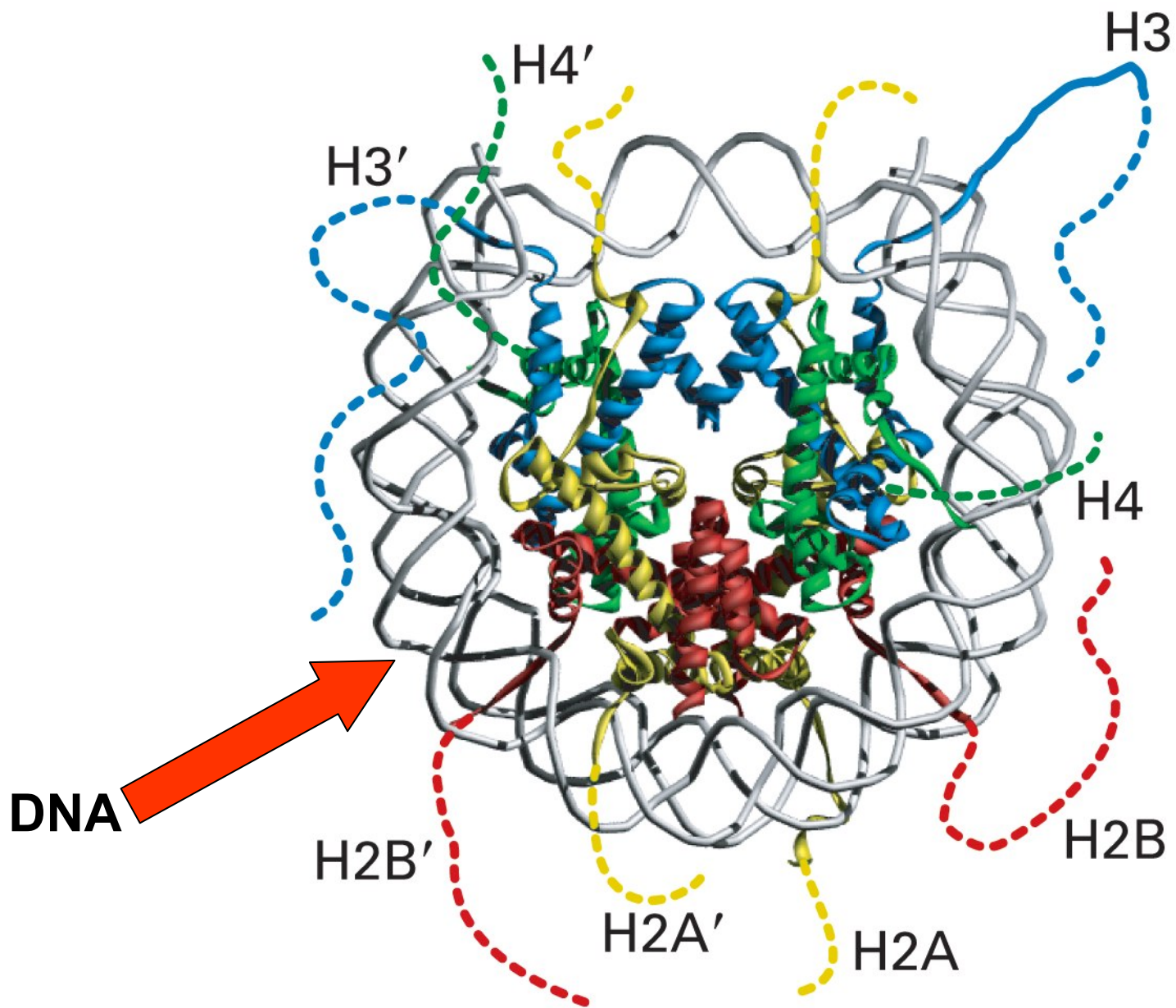


Nucleosomes



DNA





Δομή των ευκαρυωτικών χρωμοσωμάτων

χρωματίνη

σύμπλεγμα dna και πρωτεϊνών
~ διπλάσια ποσότητα πρωτεϊνών από ότι DNA

Δύο κύριοι τύποι πρωτεϊνών:

1. Ιστόνες

βασικές πρωτεΐνες με θετικό φορτίο που προσδένονται στο DNA

5 τύποι: H1, H2A, H2B, H3, H4

~ ίση μάζα με το DNA

εξελικτικά συντηρημένες

2. Μη-ιστόνες

όλες οι άλλες πρωτεΐνες που σχετίζονται με το DNA

η ποσότητά τους διαφέρει

>> 100% μάζας DNA

<< 50% μάζας DNA

Ιστονές

- Μικρές πρωτεΐνες, βασικές (lys, arg) προκειμένου να ουδετεροποιούν το πολύ φορτισμένο DNA

- Πέντε τύποι ιστονών

H1 – στερεώνει το DNA στο νουκλεόσωμα

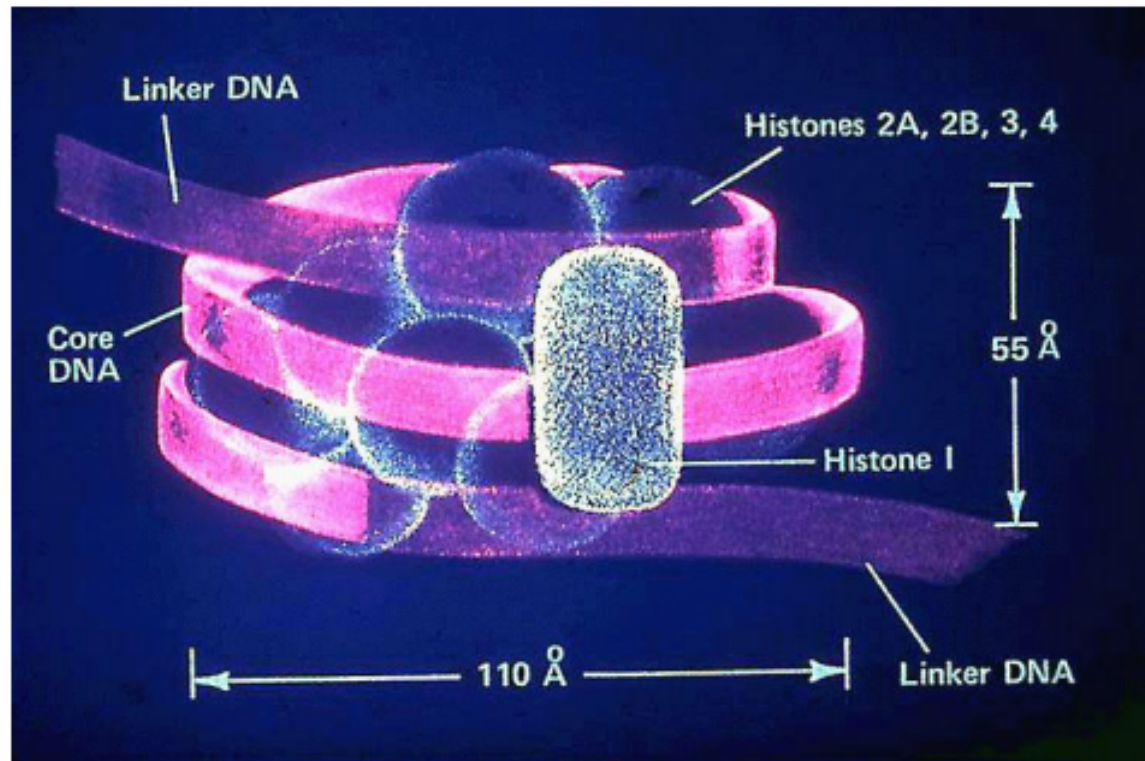
| | | |
|-----|---|---|
| H2A | } | Φτιάχνουν ένα οκταμερές (δύο αντίγραφα από κάθε πρωτεΐνη). Το DNA τυλίγεται γύρω από αυτόν τον πυρήνα |
| H2B | | |
| H3 | | |
| H4 | | |

- H4: πολύ συντηρημένη (98% ίδια ανάμεσα σε αγελάδες και μπιζέλια!

1% αλλαγή σε 600 εκατομμύρια χρόνια

- H3: επίσης πολύ συντηρημένη (όμοια κατά το 97%)

Nucleosomal packaging of DNA



In the presence of [Histone H1](#), 175-200 bp DNA is associated with the nucleosome- but, only 146 bp is wrapped around the octamer (i.e. if [H1 is removed](#), ~146 bp is observed in nuclease digests)

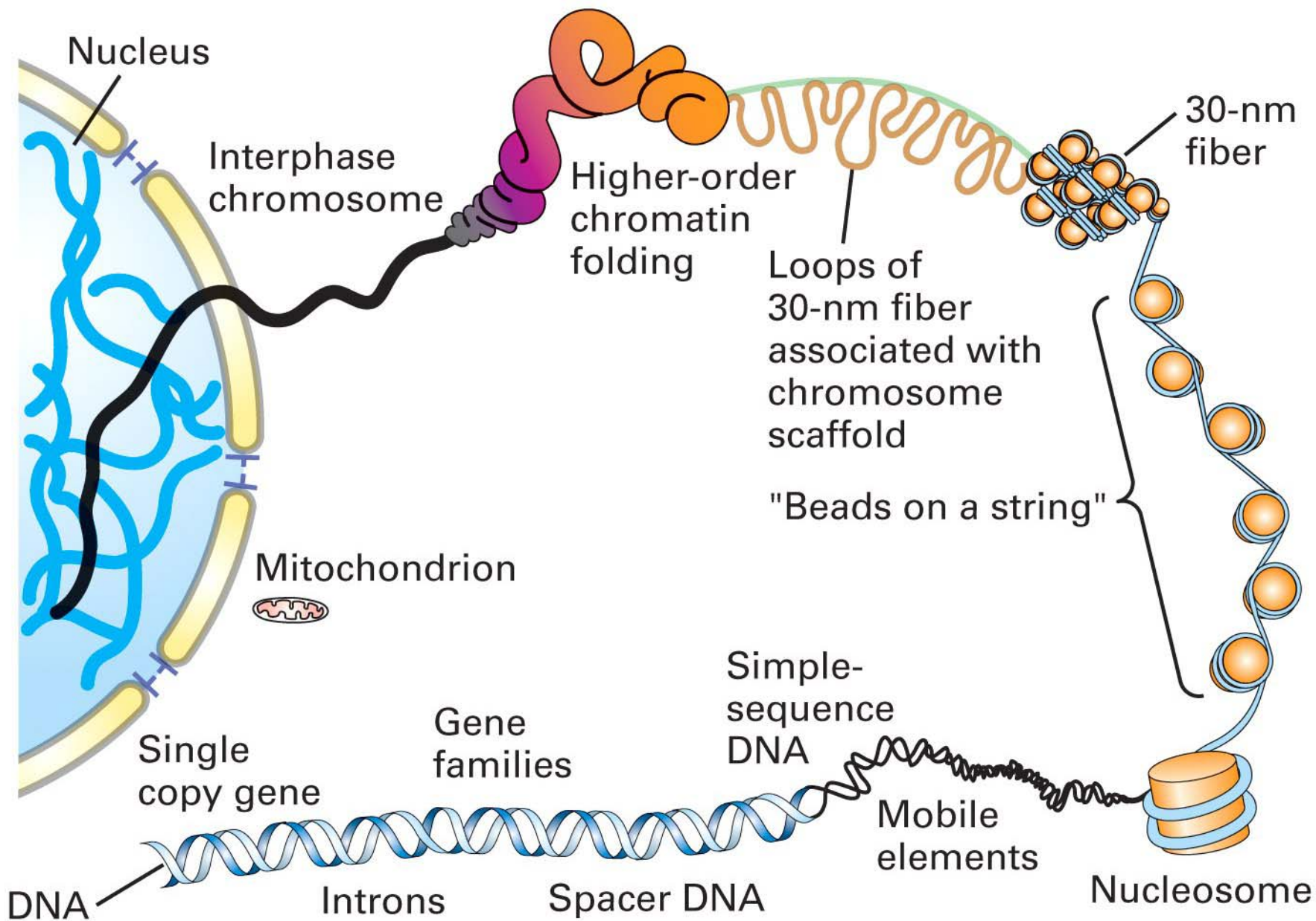
[Histone H1](#)- helps ‘clamp’ the DNA onto the nucleosome and participates in higher-order chromatin folding

Τροποποιήσεις των ιστονών για τη ρύθμιση...

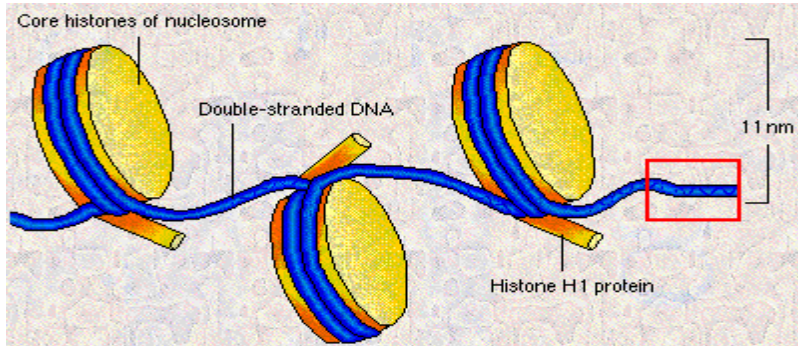
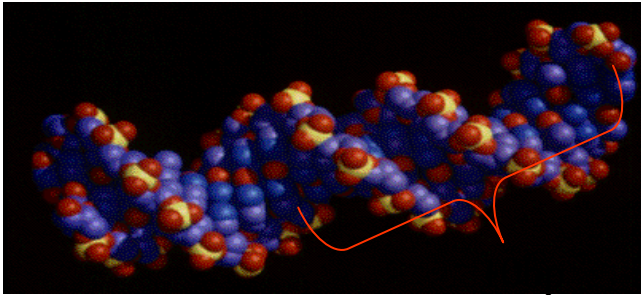
1. Της χρωσωμικής δομής
2. Της δραστηριότητας των γονιδίων

The main types of modifications are:

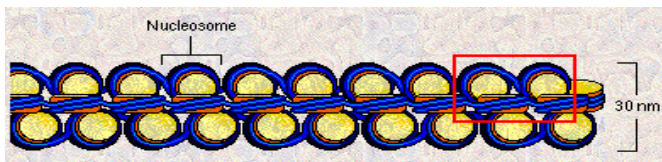
- a) **Phosphorylation** of serines φωσφορυλίωση
- b) **Methylation** of lysines μεθυλίωση
- c) **Acetylation** of lysines: neutralizes + charges
ακετυλίωση



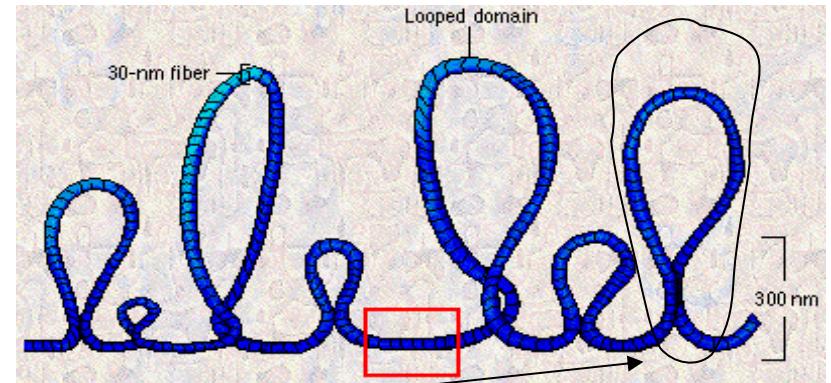
Chromosome folding



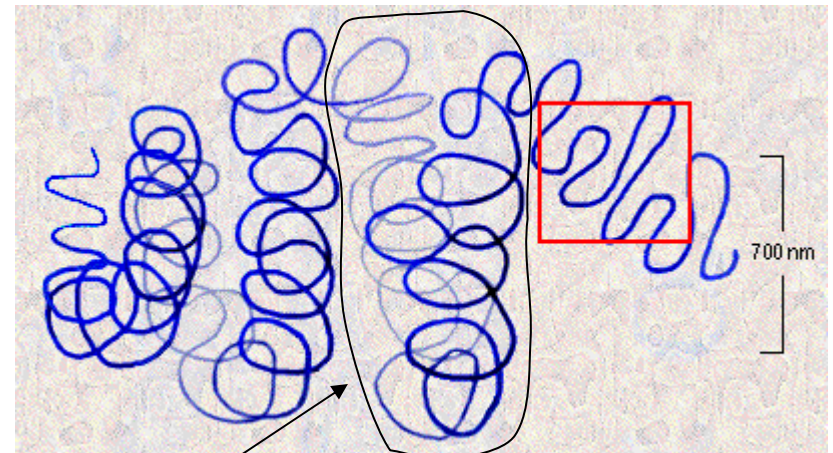
100 bp/turn, two turns/nucleosome = 200 bp



6 nucleosomes/turn = 1200 bp

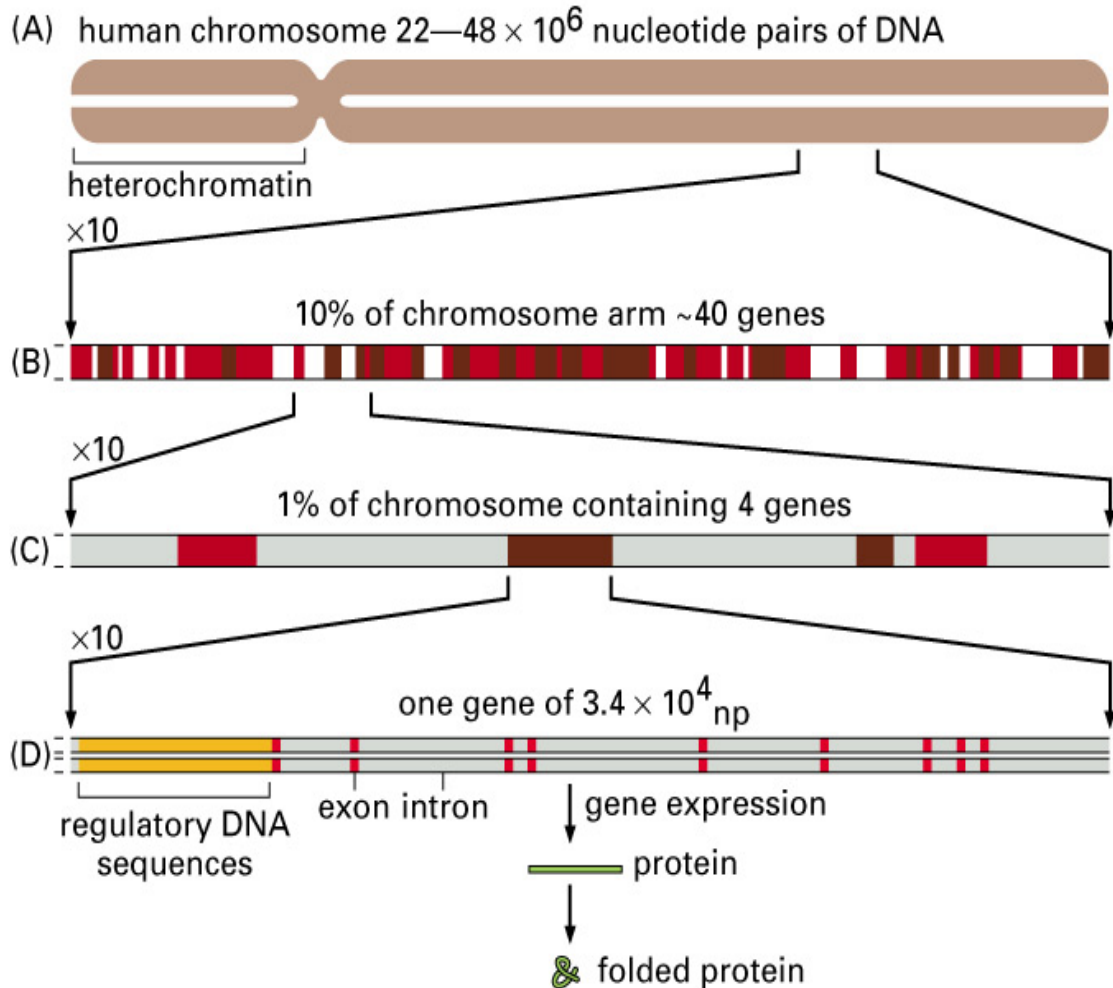


Loop: ~50 solenoid turns = ~60,000 bp



Miniband: ~18 loops = ~1,080,000 bp

Close-Up του ανθρώπινου χρωμοσώματος 22



(A) Το μικρότερο ανθρώπινο χρωμόσωμα, $\sim 48 \times 10^6$ nt pairs;

(B) Το αριστερό άκρο έχει ετεροχρωματίνη

(C) Human Genome Project

(D) ~ 400 γονίδια σε ολόκληρο το χρωμόσωμα

(E) Τα εξόνια φαίνονται κόκκινα και τα ιντρόνια γκρι

Figure 4–15. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Διαφορετικοί τύποι DNA

- **ΚΕΝΤΡΟΜΕΡΙΚΟ - Centromeric DNA (CEN)**

- Ειδικές αλληλουχίες που αλληλεπιδρούν με το σκελετό του κυττάρου.

- **ΤΕΛΟΜΕΡΙΚΟ - Telomeric DNA**

- Στα άκρα των χρωμοσωμάτων – ειδικές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες που παίζουν ρόλο στην αντιγραφή και σταθερότητα του DNA.

- **ΜΟΝΑΔΙΚΟ - Unique-sequence DNA**

- Συνήθως κωδικοποιεί γονίδια.

- **ΕΠΑΝΑΛΑΜΒΑΝΟΜΕΝΟ - Repetitive-sequence DNA**

- Διασκορπισμένο ή σε συγκεκριμένες περιοχές.

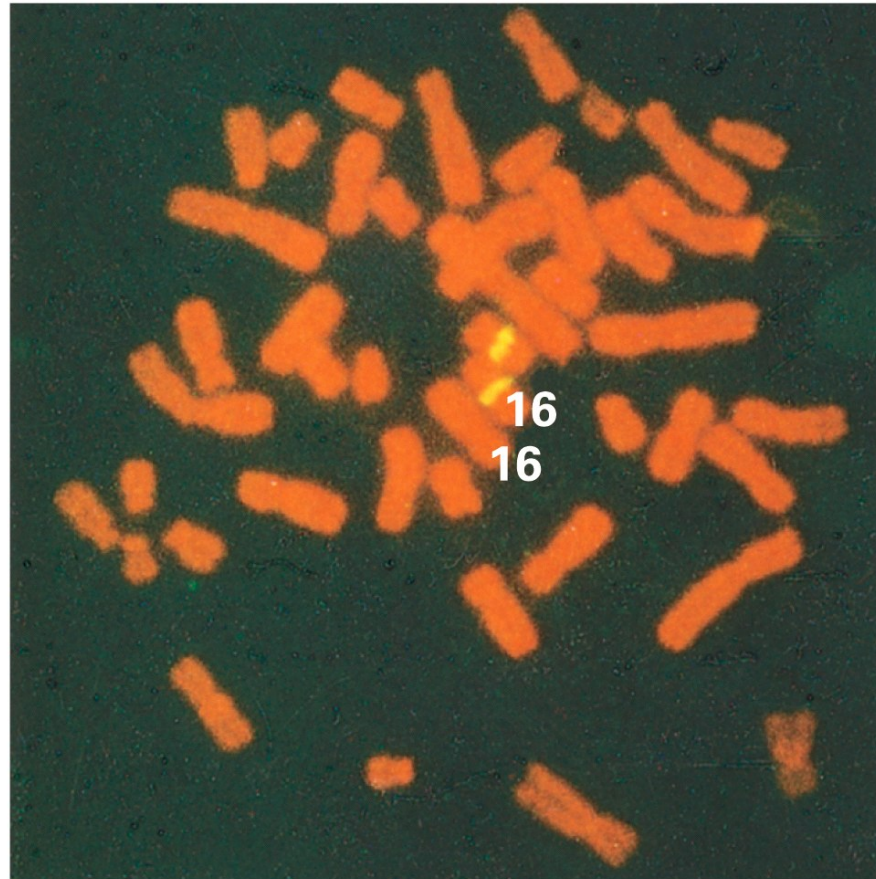
SINEs short interspersed repeated sequences (100-500 bp)

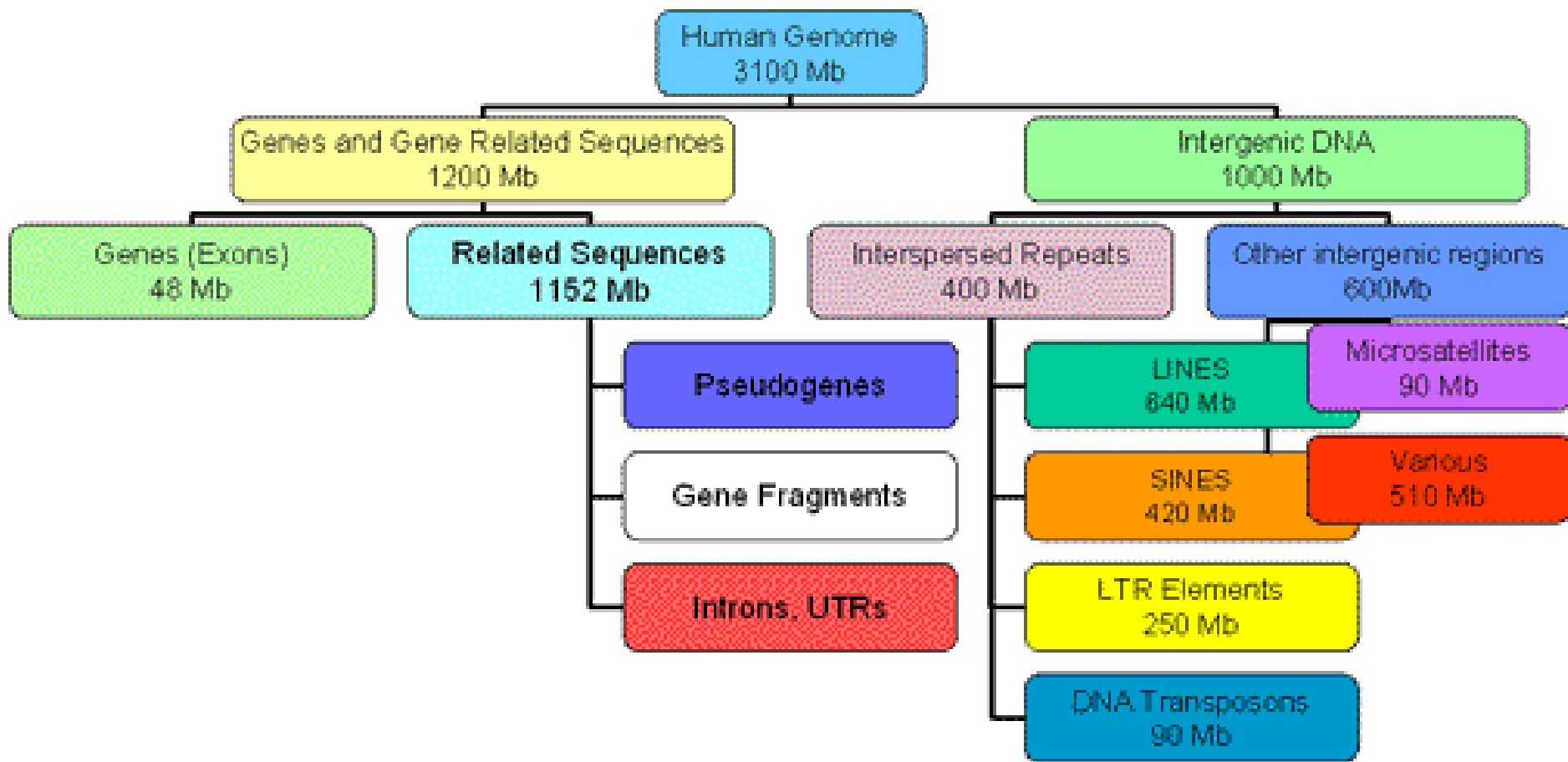
LINEs long interspersed repeated sequences (>5,000 bp)

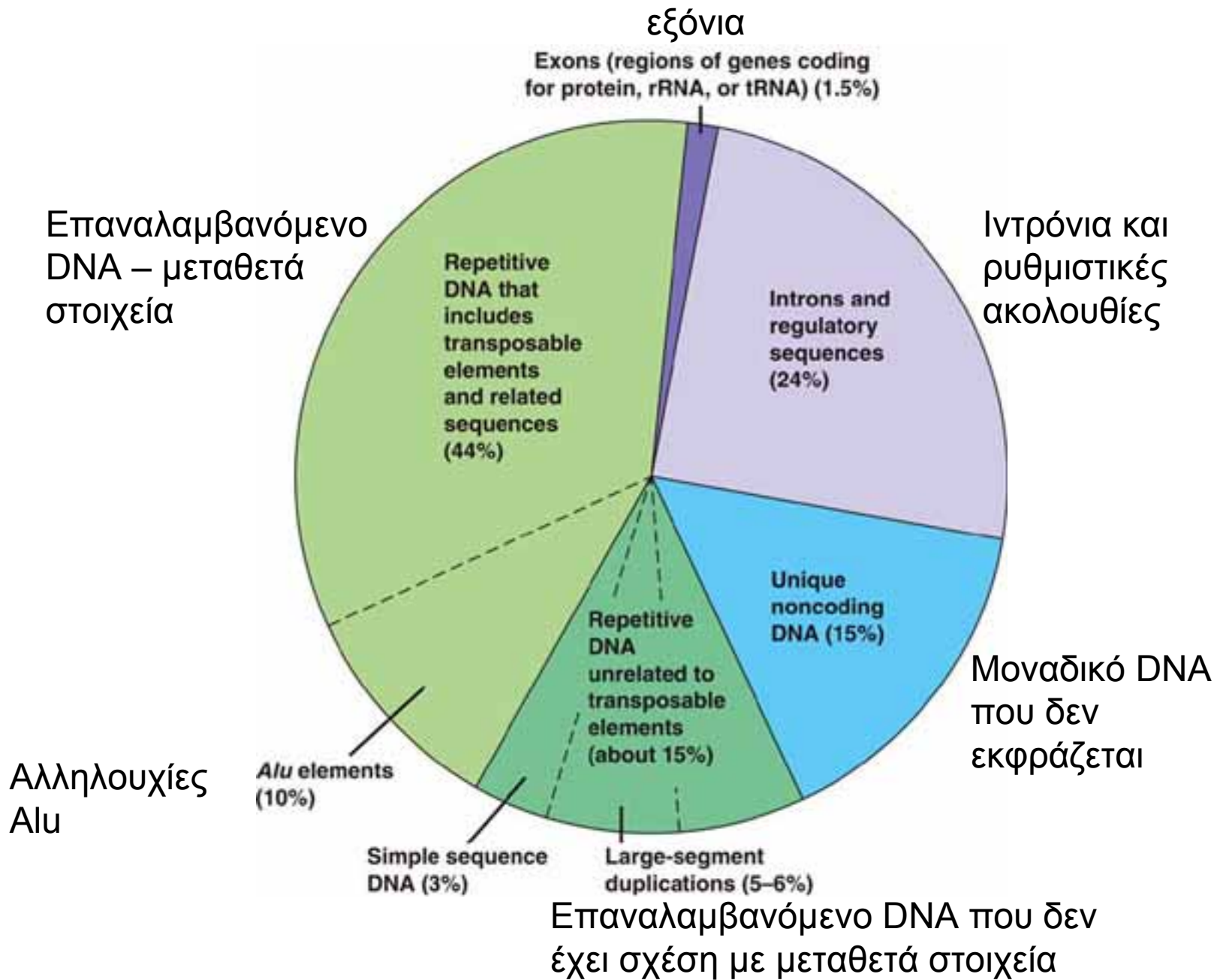
μικροδορυφόροι short tandem repeats (e.g., AGAGAGAGAGA)

και άλλα είδη επαναλήψεων...

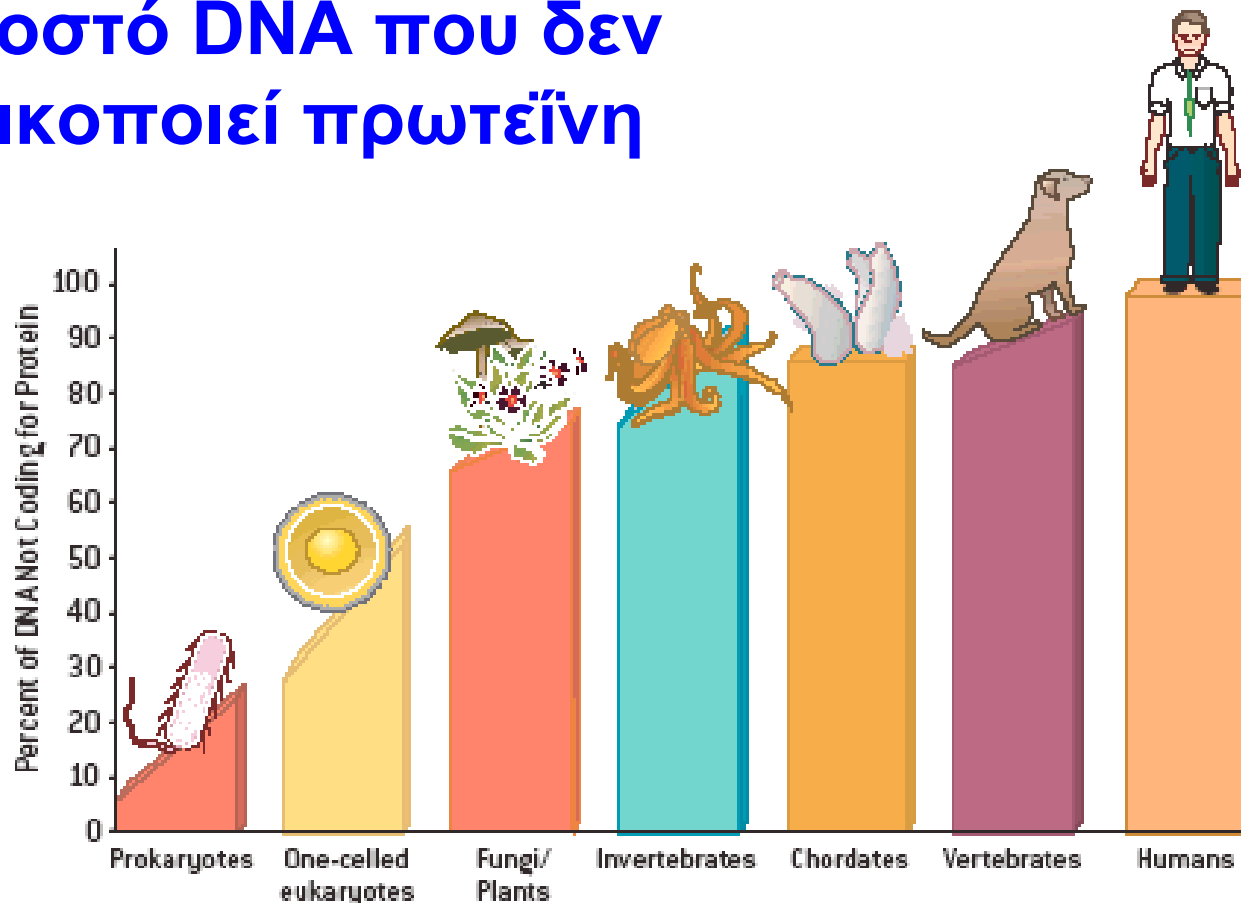
Human metaphase chromosomes: *in situ* hybridization with fluorescent-labelled “simple sequence” DNA probe







Ποσοστό DNA που δεν κωδικοποιεί πρωτεΐνη



NONPROTEIN-CODING SEQUENCES make up only a small fraction of the DNA of prokaryotes. Among eukaryotes, as their complexity increases, generally so, too, does the proportion of their DNA that does not code for protein. The noncoding sequences have been considered junk, but perhaps it actually helps to explain organisms' complexity.

