



Σχολή Γεωπονικών Επιστημών
Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής
και Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ & ΒΕΛΤΙΩΣΗΣ ΦΥΤΩΝ

ΔΙΑΛΕΞΕΙΣ 2 & 5

ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΜΑΥΡΟΜΑΤΗΣ - ΤΑΝΙΑ ΜΑΡΚΟΠΟΥΛΟΥ

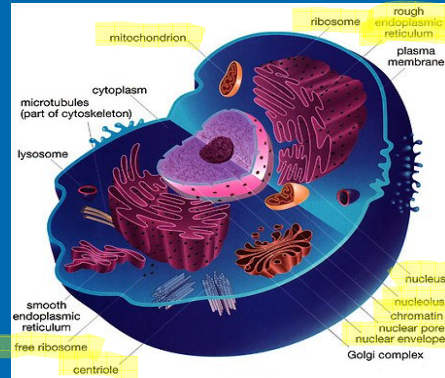
2010

Διάλεξη 1

- ▣ Γενετική: Βασικές έννοιες
- ▣ Δομή και λειτουργία του DNA
- ▣ Οργάνωση του DNA στο γονιδίωμα

Εισαγωγή – Το κύτταρο

- Θεμελιώδης μονάδα της ζωής
- Συστηματικά οργανωμένη ομάδα μορίων που βρίσκονται σε δυναμική αλληλεπίδραση
- Περιέχουν μοριακά και βιοχημικά συστήματα υψηλού βαθμού οργάνωσης
- Αποθηκεύουν και μεταφράζουν τις πληροφορίες
- Συνθέτουν τα κυτταρικά μεγαλομόρια
- Εκατοντάδες κυτταρικοί τύποι στο ανθρώπινο σώμα



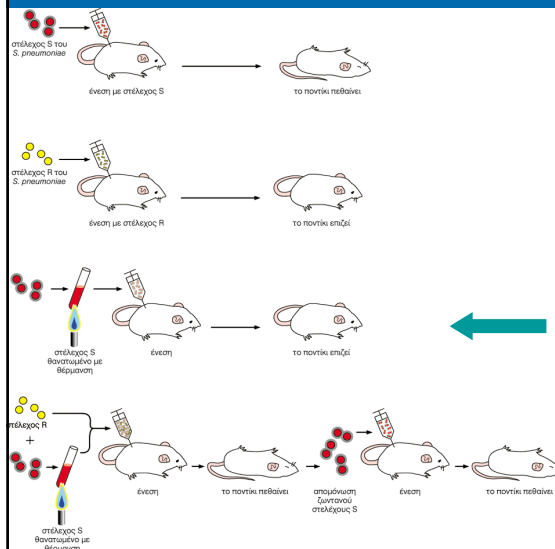
Κυτταρική θεωρία

1. Όλοι οι ζωντανοί οργανισμοί αποτελούνται από κύτταρα
2. Τα κύτταρα αποτελούν τις δομικές μονάδες της ζωής
3. Τα κύτταρα προκύπτουν από προϋπάρχοντα κύτταρα με διαίρεση

Το χρονικό της αποδοχής του DNA ως γενετικό υλικό

- 1920
 - Τα γονίδια βρίσκονται στα χρωμοσώματα, τα χρωμοσώματα αποτελούνται από DNA και πρωτεΐνες
 - Fred Griffith, μελέτες με τον *Streptococcus pneumoniae*
- 1935 Colin MacLeod και Maclyn McCarty
- 1950 ανάλυση του DNA με περίθλαση ακτίνων X
- 1952 Alfred Hershey and Martha Chase, βακτηριοφάγος T2
- 1953
 - R.E Franklin and R. Gosling
 - Watson-Crick

Fred Griffith, μελέτες με τον *Streptococcus pneumoniae*



1. Griffith, F., *J. Hyg., Cambridge, Eng., 1928, 27, 113.*

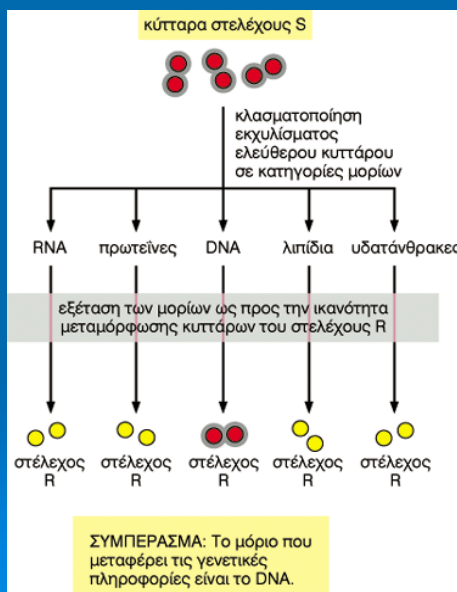
2 στελέχη του βακτηρίου
S (smooth) → θανατηφόρο
R (rough) → μη παθογόνο

Ένεση μόνο με θανατωμένο στέλεχος S δεν προκαλεί θάνατο

Ένεση με μείγμα θανατωμένων βακτηρίων S και βακτηρίων R προκαλεί θάνατο

Συμπέρασμα: ουσία που βρίσκεται στα κύτταρα S μπορεί να προκαλέσει μετασχηματισμό των κυττάρων R σε κύτταρα S.

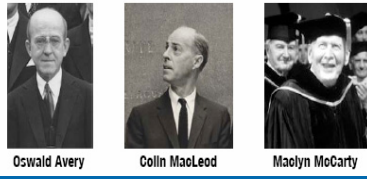
Οι Avery, MacLeod και McCarthy αποδεικνύουν ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό



Αρχή του Avery για το DNA

Avery's Purified Principle

1. Had high transforming activity
2. Had the elemental composition of DNA
3. Had physical properties of DNA (optical, ultracentrifugal, diffusive, electrophoretic)
4. Did not lose activity after protein or lipid extraction
5. Was not affected by trypsin or chymotrypsin
6. Was not affected by ribonuclease
7. Was destroyed by Dnase (deoxyribonuclease)



Oswald Avery

Colln MacLeod

Maclyn McCarty

Reproduced from *The Journal of Experimental Medicine*, 1944, vol. 79, pp. 137-158 by copyright permission of The Rockefeller University Press.

STUDIES ON THE CHEMICAL NATURE OF THE SUBSTANCE INDUCING TRANSFORMATION OF PNEUMOCOCCAL TYPES. INDUCTION OF TRANSFORMATION BY A DESOXYRIBONUCLEIC ACID FRACTION ISOLATED FROM PNEUMOCOCCUS TYPE III

BY OSWALD T. AVERY, M.D., COLIN M. MACLEOD, M.D., AND MACLYN MCCARTY,* M.D.

(From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research)

PLATE I

(Received for publication, November 1, 1943)

Biologists have long attempted by chemical means to induce in higher organisms predictable and specific changes which thereafter could be transmitted in series as hereditary characters. Among microorganisms the most striking example of inheritable and specific alterations in cell structure and function that can be experimentally induced and are reproducible under well defined and adequately controlled conditions is the transformation of specific types of *Pneumococcus*. This phenomenon was first described by Griffith (1) who succeeded in transforming an attenuated and non-encapsulated (R) variant derived from one specific type into fully encapsulated and virulent (S) cells of a heterologous specific type. A typical instance will suffice to illustrate the techniques originally used and serve to indicate the wide variety of transformations that are possible within the limits of this bacterial species.

Griffith found that mice injected subcutaneously with a small amount of a living S culture derived from *Pneumococcus* Type II together with a large inoculum of heat-killed Type III (S) cells frequently succumbed to infection, and that the heart's blood of these animals yielded Type III pneumococci in pure culture. The fact that the R strain was avirulent and incapable by itself of causing fatal bacteremia and the additional fact that the heated suspension of Type III cells contained no viable organisms brought convincing evidence that the R forms growing under these conditions had newly acquired the capsular structure and biological specificity of Type III pneumococci.

The original observations of Griffith were later confirmed by Neufeld and Levinthal (2), and by Baurhenn (3) abroad, and by Dawson (4) in this laboratory. Subsequently Dawson and Sia (5) succeeded in inducing transformation *in vitro*. This they accomplished by growing R cells in a fluid medium containing anti-R serum and heat-killed encapsulated S cells. They showed that in the test tube as in the animal body transformation can be selectively induced, depending on the type specificity of the S cells used in the reaction system. Later, Alloway (6) was able to cause

* Work done in part as Fellow in the Medical Sciences of the National Research Council.

Αναφορά στο πείραμα του Griffith



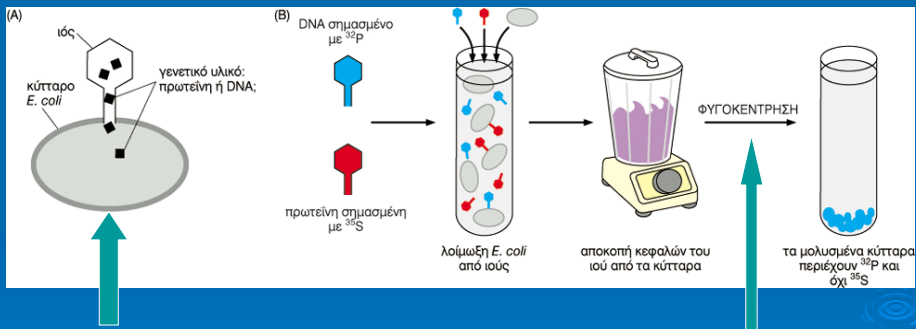
CONCLUSION

The evidence presented supports the belief that a nucleic acid of the desoxyribose type is the fundamental unit of the transforming principle of *Pneumococcus* Type III.



1952, Alfred Hershey and Martha Chase

- Μελέτες με το βακτηριοφάγο T2, ιό που καταστρέφει το βακτήριο *E. Coli*
- Ο T2 περιέχει μόνο DNA και πρωτεΐνες



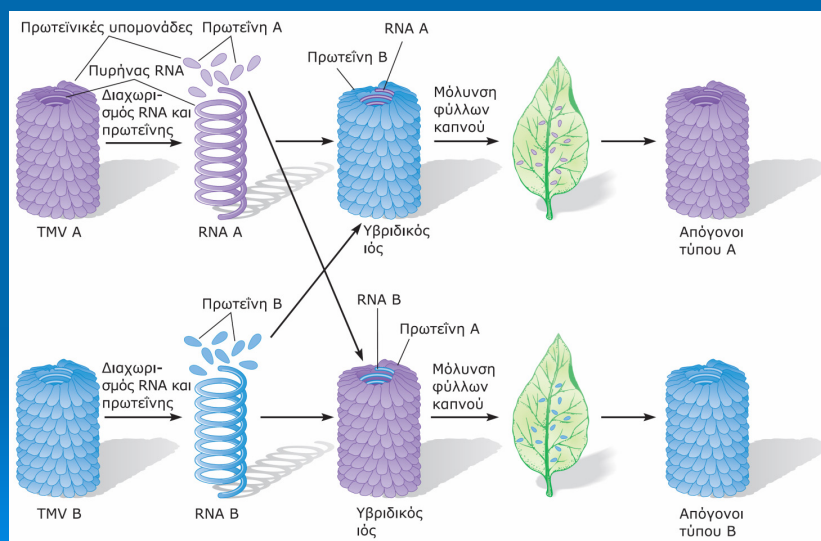
Ο ιός εισάγει μόνο το γενετικό του υλικό στο κύτταρο ενώ το περίβλημά του παραμένει έξω

Διαχωρισμός βακτηρίων (βαρύτερες σχηματίζουν ίζημα) από τις κεφαλές των ιών (παραμένουν στο υπερκείμενο)

Απόδειξη ότι το RNA είναι το γενετικό υλικό του ιού της μωσαϊκής του καπνού (TMV).

- ❖ 1956, Alfred Gierer και Gerhard Schramm
Εμβολιασμός φυτών καπνού με καθαρό RNA
- ❖ 1957, Heinz Fraenkel-Conrat και Beatrice A. Singer

Απόδειξη ότι το RNA είναι το γενετικό υλικό του ιού της μωσαϊκής του καπνού (TMV).



Δομή του DNA

1. **A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid** Watson J.D. and Crick F.H.C.,
2. **Molecular Structure of Deoxyribose Nucleic Acids** Wilkins M.H.F., A.R. Stokes A.R. & Wilson, H.R.
3. **Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate** Franklin R. and Gosling R.G.
4. **Genetical Implications of the structure of Deoxyribonucleic Acid** Watson J.D. and Crick F.H.C.



🌟 Η Rosalind Franklin είχε ανακαλύψει πρώτη τη δομή της διπλής έλικας του DNA

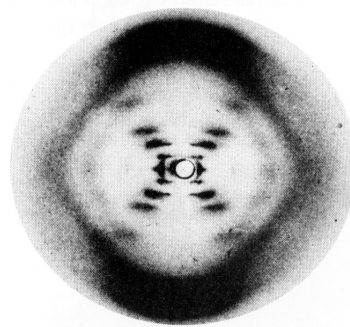


FIGURE 4.9

Evidence for the structure of DNA. This photograph, taken by Rosalind Franklin, shows the x-ray diffraction pattern produced by wet DNA fibers. It played a key role in the elucidation of DNA structure. The cross pattern indicates a helical structure, and the strong spots at top and bottom correspond to a helical rise of 0.34 nm. The layer line spacing is one-tenth of the distance from the center to either of these spots, showing that there are 10 base pairs per repeat.

Reprinted by permission from R. E. Franklin and R. Gosling, *Nature* (1953) 171:740; © 1953 MacMillan Magazines, Ltd.

Nobel Prize 1962

Cambridge 1953. Shortly before discovering the structure of DNA Watson & Crick, depressed by their lack of progress, visit the local pub.

No. 4356 April 25, 1953 NATURE 737

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.R.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

*Young, T. B., Gerard, H., and Zevans, W., *Phil. Mag.*, **40**, 149 (1925).

*Langley-Higgins, M. S., *New. Nat. Hist. Astro. Soc., Geophys. Supp.*, **6**, 282 (1939).

*Van Arx, V. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanogr. Meteor.*, **11** (1) (1946).

*Bikman, V. W., *Astric. Met. Astro. Physic.* (Stockholm), **2** (1) (1956).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion,

is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configuration) it is found that only specific pairs of

δομικοί λίθοι του DNA

φωσφορική ομάδα σακχάρου + G → νουκλεοτίδιο

σακχαρο-φωσφορική ομάδα + βάση → νουκλεοτίδιο

δίκλινο DNA

3' 5' A = T 2 δεσμοί υδρογόνου

3' 5' C = G 3 δεσμοί υδρογόνου

σακχαροφωσφορικός σκελετός

ζεύγη βάσεων που συνδέονται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου

Δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες

Αλυσίδα (DNA chain) ή κλώνος (DNA strand)

Φωσφορική ομάδα Πεντόζη Αζωτούχα βάση

DNA πεντόζη = δεοξυριβόζη
RNA πεντόζη = ριβόζη

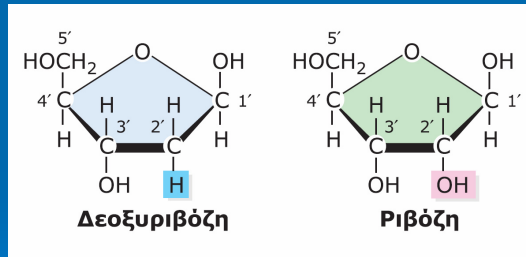
- Οι βάσεις βρίσκονται στο εσωτερικό της έλικας
- Ο σακχαρο-φωσφορικός σκελετός βρίσκεται στο εξωτερικό της
- Μία πουρίνη (A,G) ζευγαρώνει πάντα με μια πυριμιδίνη (U,C,T)

Πουρίνη Πυριμιδίνη

ΕΙΚΟΝΑ 10.6

Οι δομές της δεοξυριβόζης και της ριβόζης, των σακ-χάρων πεντόζης του DNA και του RNA αντίστοιχα.

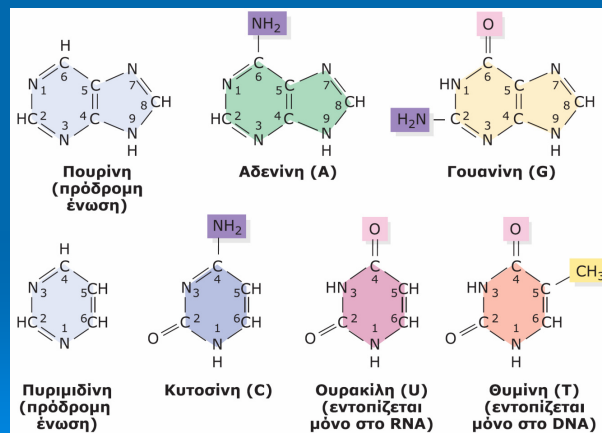
Επισημαίνεται η διαφορά μεταξύ των δύο σακχάρων στο 2' άνθρακα.

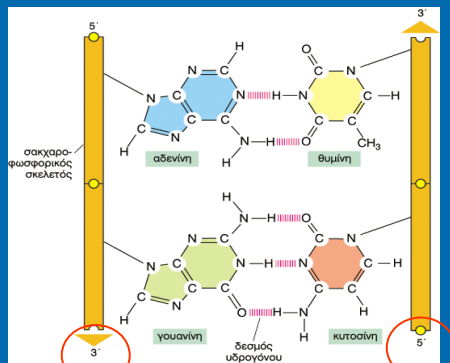


ΕΙΚΟΝΑ 10.7

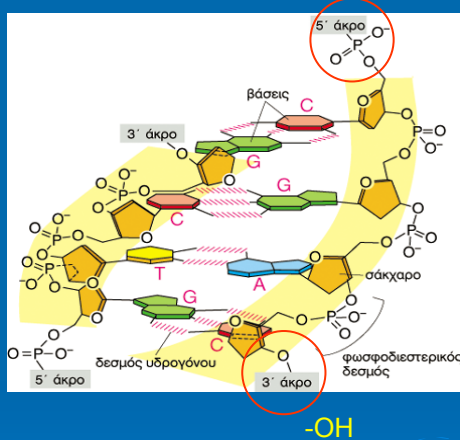
Οι δομές των αζωτούχων βάσεων στο DNA και στο RNA.

Οι χαρακτηριστικές πρόδρομες ενώσεις είναι η πουρίνη (επάνω αριστερά) και η πυριμιδίνη (κάτω αριστερά). Επισημαίνονται οι διαφορές μεταξύ των βάσεων.





Χημική Πολικότητα των κλώνων του DNA

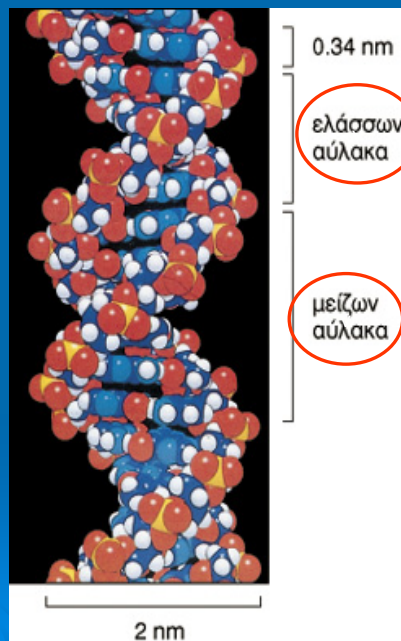


Αντιπαράλληλοι (antiparallel) κλώνοι

Η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων είναι συμπληρωματική (complementary)

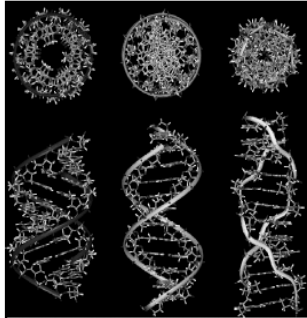
- Τα ζεύγη βάσεων (base pairs) συσκευάζονται στην ευνοϊκότερη ενεργειακά διάταξη
- Κάθε ζεύγος βάσεων έχει το ίδιο εύρος έτσι ο σακχαρο-φωσφορικός σκελετός βρίσκεται σε ίση απόσταση κατά μήκος του DNA

- Η διπλή έλικα σχηματίζεται από την περιέλιξη των σακχαρο-φωσφορικών σκελετών
- 10 br ανά στροφή
- Ενεργειακά ευνοϊκή διαμόρφωση
- Η περιστροφή των δύο αλυσίδων δημιουργεί 2 αύλακες στη διπλή έλικα
- Ελάσσων αύλακα (minor groove)
- Μείζων αύλακα (major groove)



Υπάρχουν διαφορετικοί τύποι διπλής έλικας!

A-DNA B-DNA Z-DNA



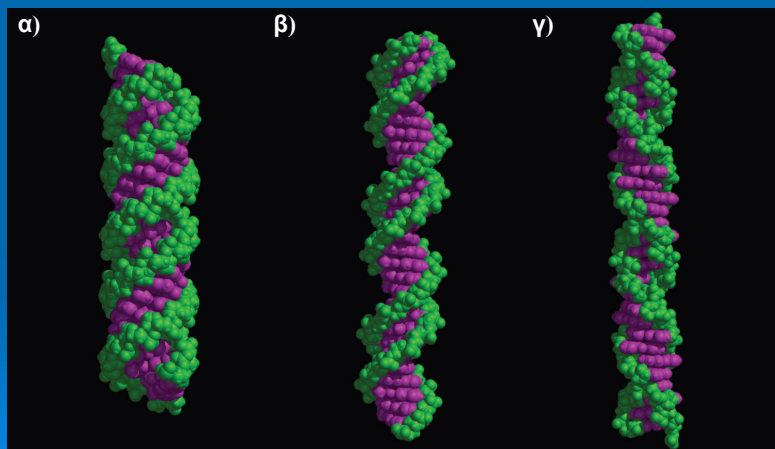
Τύπου A: Παρατηρήθηκε σε πειράματα κρυστάλλωσης με μείωση της υγρασίας του δείγματος. Πιστεύεται ότι εμφανίζεται στις περιπτώσεις όπου μια αλυσίδα DNA συζεύγνυται με RNA όπως στα τμήματα Οκασακί.

Τύπου Z: αλληλουχία πλούσια σε Prg-Pu

	Τύπος έλικας		
	A	B	Z
Μορφή	Μεγαλύτερο πλάτος	Ενδιάμεσο πλάτος	Πλέον επιμηκυμένες
Ανοδος ανά ζεύγος βάσεων	2,3 Å	3,4 Å	3,8 Å
Διάμετρος έλικας	25,5 Å	23,7 Å	18,4 Å
Περιστροφή	Δεξιόστροφος	Δεξιόστροφος	Ακτινέρωστροφος
Γλυκοζιδικός δεσμός	αντι	αντι	αντι για C.T., συν για G
Ζεύγη βάσεων ανά μία στροφή της έλικας	11	10,4	12
Θήκη της έλικας	24,6 Å	32,2 Å	45,6 Å
Κλίση των ζευγών βάσεων από το φυσιολογικό στον άξονα της έλικας	19°	1°	9°
Μεγάλη αυλάκα	Στενή και πολύ βαθιά	Ευρεία και αρκετά βαθιά	Επίπεδη
Μικρή αυλάκα	Πολύ ευρεία και ρηχή	Στενή και αρκετά βαθιά	Πολύ στενή και βαθιά

ΕΙΚΟΝΑ 10.13

Χωροπληρωτικό μοντέλο διαφορετικών τύπων DNA.
(α) A-DNA. (β) B-DNA. (γ) Z-DNA.



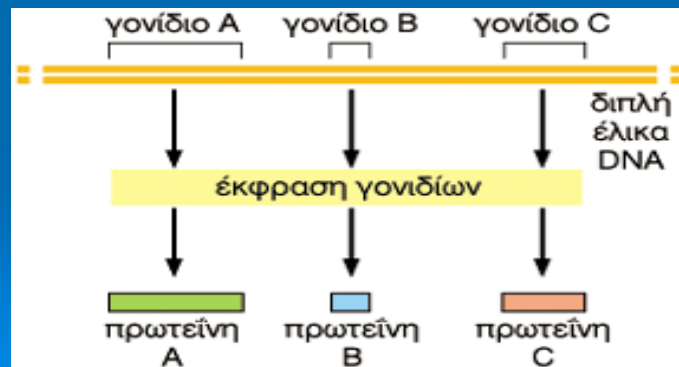
Πίνακας 10.3 Ιδιότητες του A-DNA, του B-DNA και του Z-DNA

Ιδιότητα	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
Φορά της έλικας	Δεξιόστροφη	Δεξιόστροφη	Αριστερόστροφη
Ζεύγη βάσεων ανά πλήρη στροφή της έλικας	10,9	10,0	12,0
Μορφολογία	Βραχεία και φαρδιά	Μακρύτερη και λεπτότερη	Επιμήκης και λεπτή
Μεγάλη αύλακα	Εξαιρετικά στενή και πολύ βαθιά	Φαρδιά και ενδιάμεσου βάθους	Πεπλατυσμένη στην επιφάνεια της έλικας
Μικρή αύλακα	Πολύ φαρδιά και ρηχή	Στενή και ενδιάμεσου βάθους	Εξαιρετικά στενή και πολύ βαθιά
Θέση του άξονα της έλικας	Μεγάλη αύλακα	Μέσα από τα ζεύγη βάσεων	Μικρή αύλακα
Διάμετρος της έλικας	2,2 nm	2,0 nm	1,8 nm

RNA – σημαντικά σημεία

- ✓ Ουρακίλη αντί για Θυμίνη
- ✓ Πολλές μορφές με σημαντικές λειτουργίες
- ✓ mRNA, tRNA, rRNA, snRNA
- ✓ Μονόκλωνα μόρια
- ✓ Δευτεροταγής δομή με αναδίπλωση
- ✓ Δίκλωνο RNA ως γενετικό υλικό κάποιων ιών

- Γονιδίωμα = το σύνολο των πληροφοριών του DNA ενός οργανισμού
- Το DNA περιέχει όλες τις οδηγίες που κατευθύνουν τα ανθρώπινα κύτταρα να μεγαλώσουν, να διαφοροποιηθούν, να διαιρεθούν και να ανταποκριθούν σε περιβαλλοντικές αλλαγές

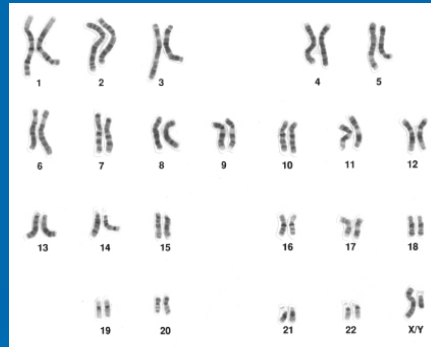
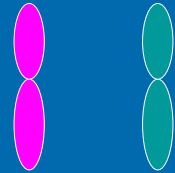


Οργάνωση του DNA στο γονιδίωμα Τα χρωμοσώματα

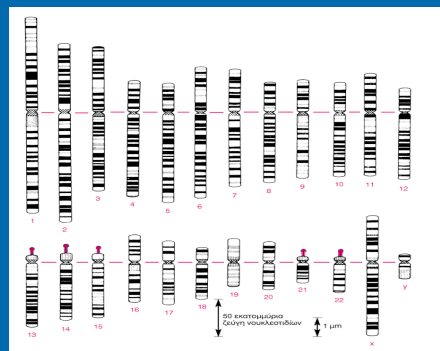
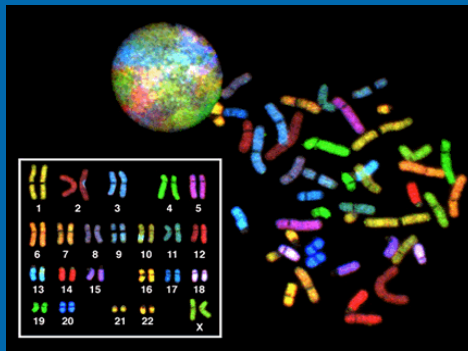
- πυρήνας
 - 5-8μm
 - DNA \approx 2 m
- DNA συσκευάζεται στα χρωμοσώματα
- DNA + Πρωτεΐνη = Χρωματίνη (χρώμα)
- Ανθρώπινο γονιδίωμα
 - 3.2×10^9 νουκλεοτίδια
 - 24 χρωμοσώματα

22 Ομόλογα Χρωμοσώματα

Πατρικό Μητρικό



2 φυλετικά
μη ομόλογα χρωμοσώματα



- **Καρυότυπος** = αριθμός και δομή των χρωμοσωμάτων στον πυρήνα ενός κυττάρου
- Βαφή κάθε χρωμοσώματος με διαφορετικό χρώμα με τεχνική υβριδισμού του DNA
- Πρότυπα ζώνωσης (banding patterns) με χρώση Giemsa η οποία παράγει σκούρες ζώνες σε περιοχές με μεγάλη περιεκτικότητα σε ζεύγη A-T βάσεων.

Παραδείγματα χρωμοσωμικών ανωμαλιών που οδηγούν σε ανθρώπινες ασθένειες

1. Σύνδρομο Turner (45, X or 45, X0)
2. Σύνδρομο Klinefelter , 47, XXY
3. Σύνδρομο Edwards , τρισωμία στο 18.
4. Σύνδρομο Down, τρισωμία στο 21
5. Σύνδρομο Patau τρισωμία στο 13, τρισωμία στο 8, 9,16.
6. Cri du chat from a truncated short arm on chromosome 5.
7. Σύνδρομο απάλειψης του 1p36, απώλεια τμήματος του 1
8. Angelman syndrome, 50% των περιπτώσεων λείπει τμήμα του 15
9. Το χρωμόσωμα Philadelphia , μετάλλαξη μετατόπισης η οποία συνδέεται με τη χρόνια μυελογενή λευχαιμία και σπανιότερα με την οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία

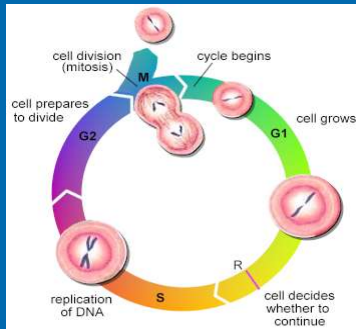
Syndrome	Sex	Chromosomes	Frequency	
			Abortuses	Births
Down	M or F	Trisomy 21	1/40	1/700
Patau	M or F	Trisomy 13	1/33	1/15,000
Edward	M or F	Trisomy 18	1/200	1/6,000
Turner	F	XO	1/18	1/6,000
Metafemale	F	XXX (or XXXX)	0	1/1,500
Klinefelter	M	XXY (or XXXY)	0	1/1,500
Jacobs	M	YYY	?	1/1,000

Αριθμός χρωμοσωμάτων των πιο κοινών ειδών

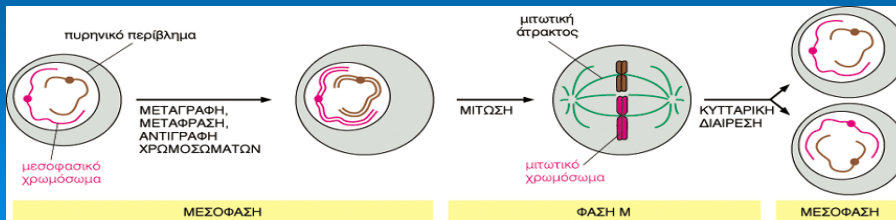
Common Name	Species	Diploid number	Common Name	Species	Diploid number
Animals (2n)			Plants (2n)		
Human	<i>Homo sapiens</i>	46	Corn	<i>Zea mays</i>	20
Monkey	<i>Macaca mulatta</i>	42	Potato	<i>S. tuberosum</i>	48
Dog	<i>Canis familiaris</i>	78	Green algae	<i>A. mediterranea</i>	20
Cat	<i>Felis domesticus</i>	38			
Mouse	<i>Mus musculus</i>	40	Fungi (2n)		
Frog	<i>Rana pipiens</i>	26	Yeast	<i>S. cerevisiae</i>	32
Fruit fly	<i>Drosophila melanogaster</i>	8	Fungi (1n)		
Flatworm	<i>Planaria torva</i>	16	Mold	<i>Penicillium species</i>	4

- Ο μικρότερος αριθμός: Τα θυληκά ενός υποείδους του μυρμηγκιού, *Myrmecia pilosula*, έχει ένα ζεύγος χρωμοσωμάτων σε κάθε κύτταρο του.
- Ο μεγαλύτερος αριθμός: Στο βασίλειο των φυτών μία φτέρη, το είδος *Orphioglossum reticulatum* έχει 630 ζευγάρια χρωμοσωμάτων ή 1260 χρωμοσώματα ανά κύτταρο.

Κυτταρικός κύκλος



- **Μεσόφαση** = διπλασιασμός χρωμοσωμάτων
- **Μίτωση** = κατανομή των χρωμοσωμάτων στα θυγατρικά κύτταρα



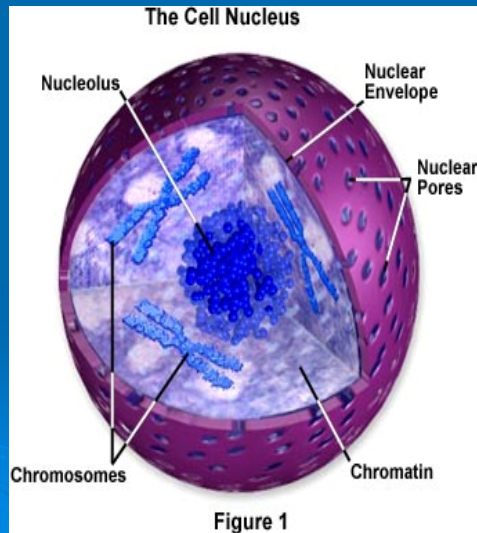
■ Εξειδικευμένες αλληλουχίες DNA

1. Αφετηρία αντιγραφής (origin of replication)
2. Τελομερίδιο (telomere)
3. Κεντρομίδιο (centromere)



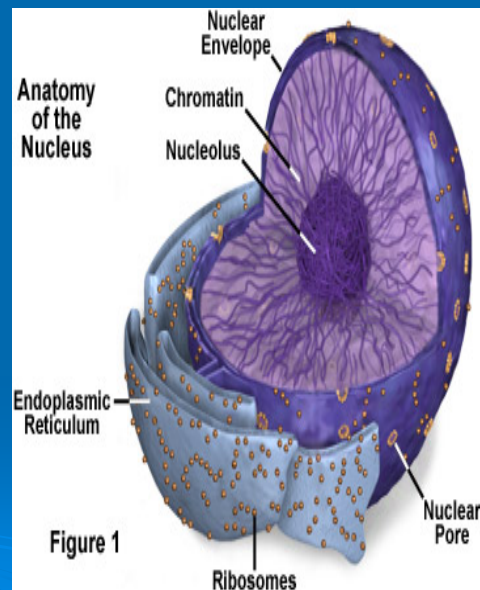
Οργάνωση των μεσοφασικών χρωμοσωμάτων στον πυρήνα

- **Πυρηνικό περίβλημα**
 - 1) 2 ομόκεντρες μεμβράνες
 - 2) Υποστήριξη από 2 δίκτυα πρωτεϊνικών ινιδίων, πυρηνικός υμένας (nuclear lamina)
- **Πυρηνικοί πόροι**, 5-30% της επιφάνειας του πυρήνα, επιτρέπουν την πυρηνοκυτταροπλασματική επικοινωνία.



Πυρηνίσκος,

- λειτουργική δομή των μεσοφασικών χρωματοσωμάτων υπεύθυνος για την παραγωγή και την ωρίμανση του rRNA και την αυτοσυγκρότηση των ριβοσωμικών υπομονάδων.
- Στον πυρηνίσκο μεταγράφεται το rRNA και σχηματίζεται το πρόδρομο rRNA, το οποίο ωριμάζει σε 18S, 5,8S και 28S rRNA.
- επιπλέον συνθέτονται ή μεταφέρονται αρκετές ακόμη πρωτεΐνες και RNA, που είναι υπεύθυνα για τη ρύθμιση της σύνθεσης και της αυτοσυγκρότησης των συστατικών των ριβοσωμάτων.



Συσκευασία του DNA

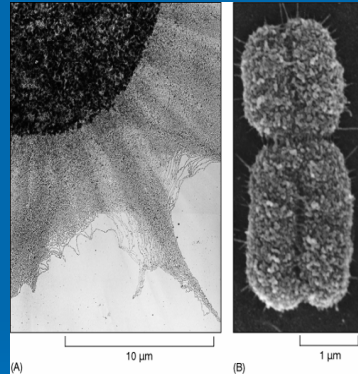
- μίτωση = 10,000 φορές πιο συμπαγές από την εκτεταμένη μορφή του
- Μεσόφαση = 1000 πιο συμπυκνωμένο

Πώς ?

Εξειδικευμένες πρωτεΐνες προκαλούν το δίπλωμα DNA διατηρώντας την προσβασιμότητα



Δυναμική δομή



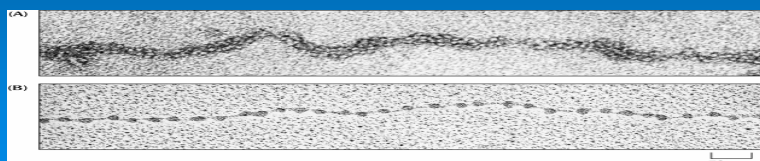
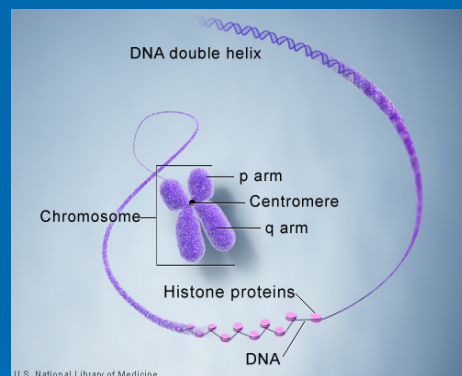
Νουκλεοσωμάτια

Χρωμοσωμικές πρωτεΐνες

Ιστονές

Μη-ιστονές

Νουκλεοσωμάτιο = πρώτο βασικό επίπεδο συσκευασίας της χρωματίνης μειώνει το μήκος της χρωματίνης κατά 1/3



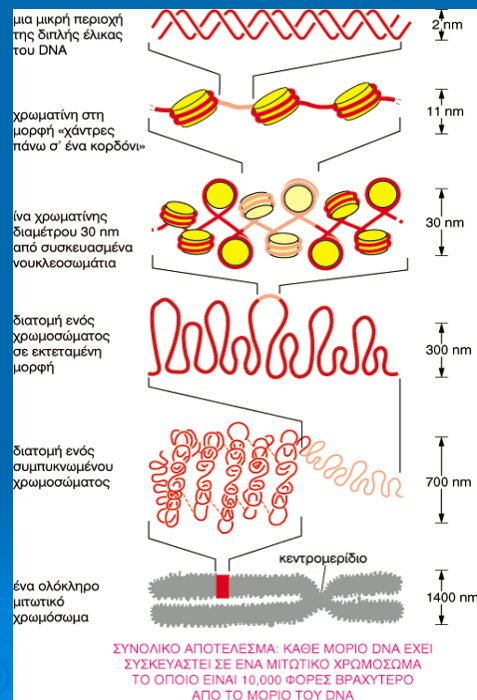
Μη-ιστόνες

- Όξινες πρωτεΐνες
- Προσδένονται με τις θετικά φορτισμένες ιστόνες στη χρωματίνη
- Αντιγραφή, επιδιόρθωση, μεταγραφή, γονιδιακή ρύθμιση
- Μεγάλη διαφοροποίηση (είδος, αριθμός) σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους και οργανισμούς

Πυρήνας του νουκλεοσωματίου

(nucleosome core particle) = DNA τυλιγμένο γύρω από ένα πυρήνα ΙΣΤΟΝΩΝ

Συνδετικό DNA (linker DNA) = το DNA που βρίσκεται ανάμεσα στους πυρήνες των νουκλεοσωματίων με μήκος ≈ 80 ζεύγη νουκλεοτιδίων

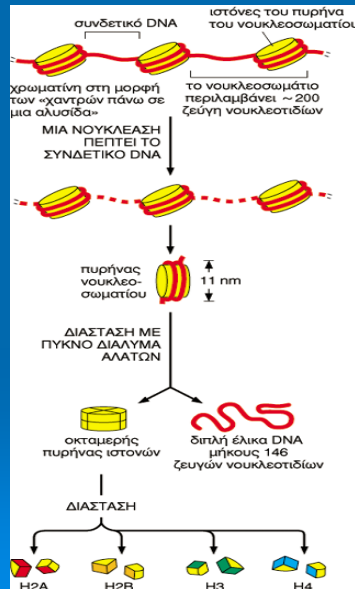


Σύσταση του νουκλεοσωματίου

4 είδη ιστονών = μικρές πρωτεΐνες με μεγάλο ποσοστό θετικά φορτισμένων αμινοξέων (λυσίνη και αργινίνη)



Ισχυρό δέσιμο με το αρνητικά φορτισμένο DNA



- Οι ιστόνες του πυρήνα του νουκλεοσωματίου διαθέτουν αμινοτελική ουρά
- Οι ουρές υπόκεινται σε ομοιοπολικές τροποποιήσεις που ελέγχουν τη δομή της χρωματίνης
- Ιστόνες εξαιρετικά συντηρημένες εξελικτικά

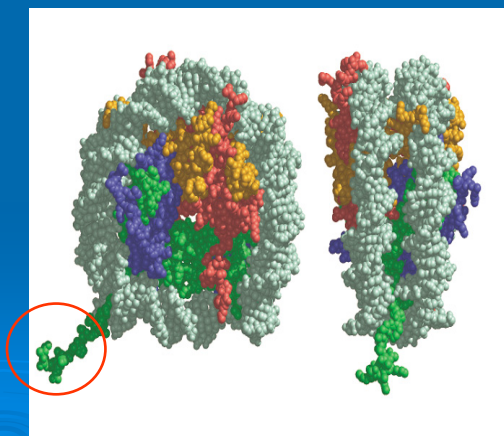
Δομή του πυρήνα του νουκλεοσωματίου

Τεχνική της περίθλασης των ακτίνων X
Γκρι χρώμα = DNA

- Οκταμερές ιστονών σχηματίζει δισκοειδές σύμπλοκο
- γύρω του τυλίγονται 146 bp DNA με 1.65 στροφές σε αριστερόστροφο σπείραμα

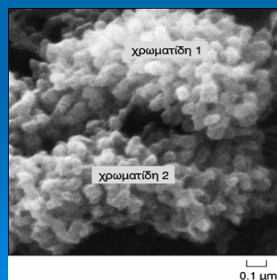
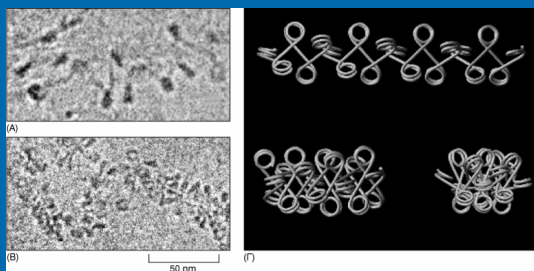
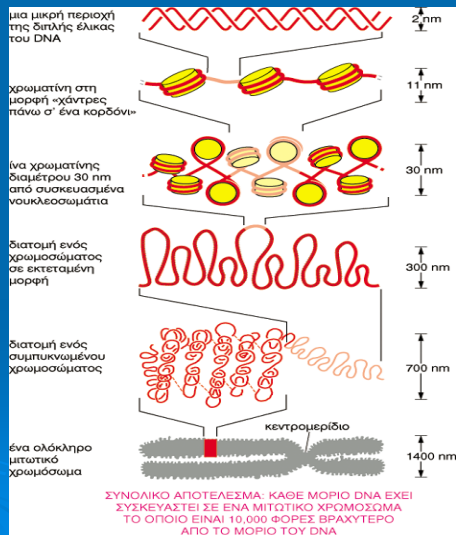


Τμήμα της ουράς της ιστόνης H3 →



Επίπεδα συσκευασίας του DNA στα χρωμοσώματα

- Ίνα των 30nm σχηματίζεται με την ιστόνη H1
- Η H1 φέρνει τα νουκλεοσωμάτια κοντά σε μία κανονική επαναληπτική συστοιχία



- Μοντέλο ζιγκ-ζαγκ για τη δημιουργία της ίνας 30nm
- Μοντέλο ζιγκ-ζαγκ περιγράφει ομάδα δομικών αλλαγών
- Η ίνα 30nm πιθανών αποτελείται από ρευστό μωσαϊκό σχηματισμών ζιγκ-ζαγκ
- Περαιτέρω συμπύκνωση κατά τη μίτωση

Ετεροχρωματίνη και Ευχρωματίνη

- Τα μεσοφασικά χρωμοσώματα περιέχουν περιοχές με διαφορετικό βαθμό συμπύκνωσης ανάλογα με τα γονίδια που εκφράζονται
- **Ετεροχρωματίνη** (heterochromatin)
 - 1930
 - 10% μεσοφασικού χρωμοσώματος
 - Στα θηλαστικά εντόπιση στο κεντρομερίδιο και στα τελομερή
 - Περιλαμβάνει DNA που δεν κωδικοποιεί γονίδια ή δεν εκφράζονται
 - Εξαιρετικά συμπαγής
- **Ευχρωματίνη** (euchromatin)
 - Πιο εκτενής μορφή χρωματίνης
- Στα περισσότερα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα συνυπάρχουν και οι δύο μορφές

Η μετακίνηση ενός γονιδίου τροποποιεί την έκφραση του

● Μετακίνηση του γονιδίου προς το τελομερίδιο όπου η χρωματίνη παρουσιάζει υψηλή συμπύκνωση παύει να εκφράζεται

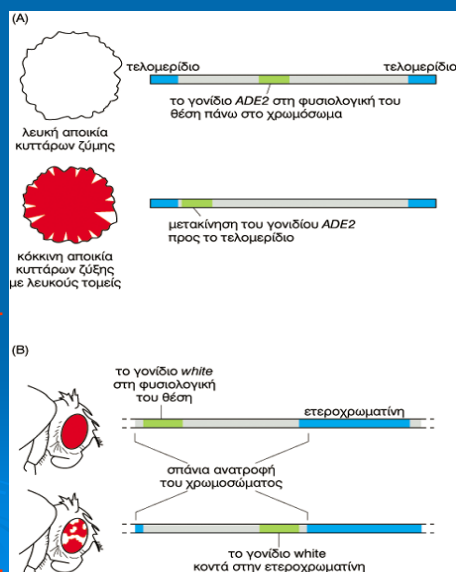
● Στους ζυμομύκητες το γονίδιο ADE2 κωδικοποιεί ένζυμο βιοσύνθεσης της αδενίνης

● έλλειψη ενζύμου οδηγεί σε συσσώρευση κόκκινης χρωστικής

● Μετακίνηση γονιδίου σε περιοχή ετεροχρωματίνης οδηγεί σε αδρανοποίηση του

● Στη *Drosophila* το γονίδιο white παράγει κόκκινη χρωστική στους οφθαλμούς της μύγας

● Μετακίνηση του white παράγει οφθαλμούς με κόκκινες και λευκές κηλίδες



Τροποποιήσεις της δομής των νουκλεοσωμάτων

- Δυναμική δομή της χρωματίνης
- Εύκολη και άμεση πρόσβαση στο DNA

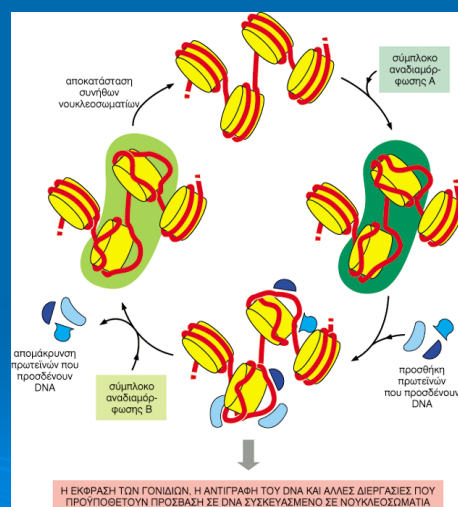
Με ποιό τρόπο:

- 1) Σύμπλοκα αναδιάρθρωσης της χρωματίνης (chromatin remodeling complexes)
- 2) Αντιστρεπτή τροποποίηση της ουράς των ιστονών

Συνεργασία των δύο μηχανισμών

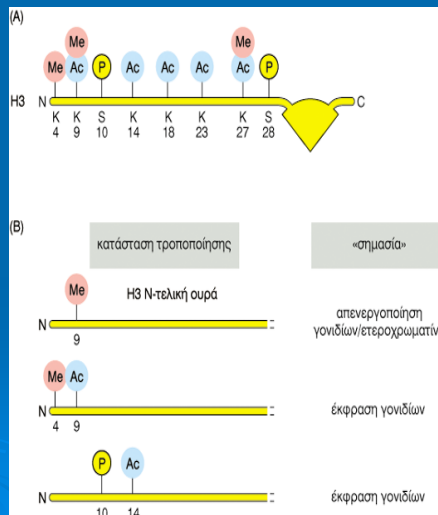
Σύμπλοκα αναδιάρθρωσης της χρωματίνης

- Πρωτεϊνικές μηχανές
- Χρησιμοποιούν την ενέργεια από την υδρόλυση του ATP για να μεταβάλουν τη δομή των νουκλεοσωμάτων (αποδομή και αναδόμηση)
- DNA πιο προσβάσιμο σε πρωτεΐνες εμπλεκόμενες στην έκφραση των γονιδίων, στην αντιγραφή και επιδιόρθωση του DNA
- Απενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια της μίτωσης



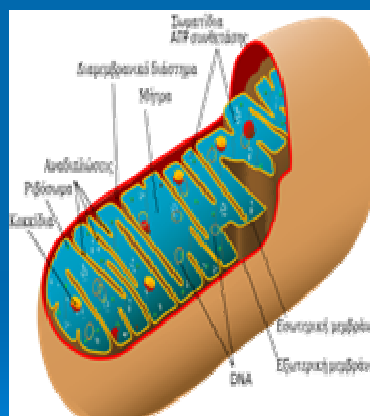
Αντιστρεπτή τροποποίηση της ουράς των Ιστονών

- Αρκετά είδη ομοιοπολικών τροποποιήσεων από ένζυμα
- Τα ένζυμα υπόκεινται σε αυστηρή ρύθμιση
- Μικρή άμεση επίδραση στη σταθερότητα
- Κάποιες επηρεάζουν τη σταθερότητα της ίνας των 30nm
- Σημαντικότερη επίπτωση των τροποποιήσεων η ικανότητα πρόσδεσης ειδικών πρωτεϊνών σε συγκεκριμένες περιοχές της χρωματίνης
- Κάθε τροποποίηση μεταδίδει ένα ειδικό μήνυμα



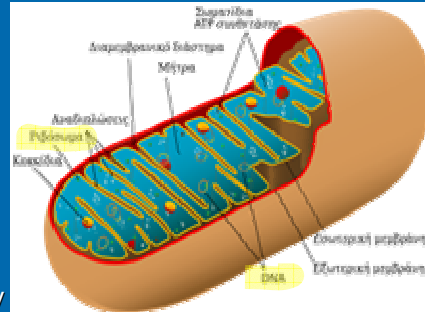
Μιτοχονδριακό DNA

- Κυτταρικά οργανίδια, «ενεργειακά κέντρα» του κυττάρου
- με τη βοήθεια των μιτοχονδρίων τα κύτταρα διασπούν τους υδατάνθρακες και τα λίπη συνθέτοντας μόρια τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) μέσω της διαδικασίας της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης
- Η διαδικασία αυτή είναι αερόβια και συντελείται διαμέσου ενός πολύπλοκου διαμεμβρανικού ενζύμου που βρίσκεται στην εσωτερική μεμβράνη του μιτοχονδρίου και ονομάζεται ATP-συνθεάση.
- Τα μιτοχόνδρια διαθέτουν DNA έτσι ώστε να μπορούν να αναπαράγονται χωρίς να χρειάζεται να διαιρεθεί το κύτταρο.
- Ριβοσώματα, tRNA και rRNA



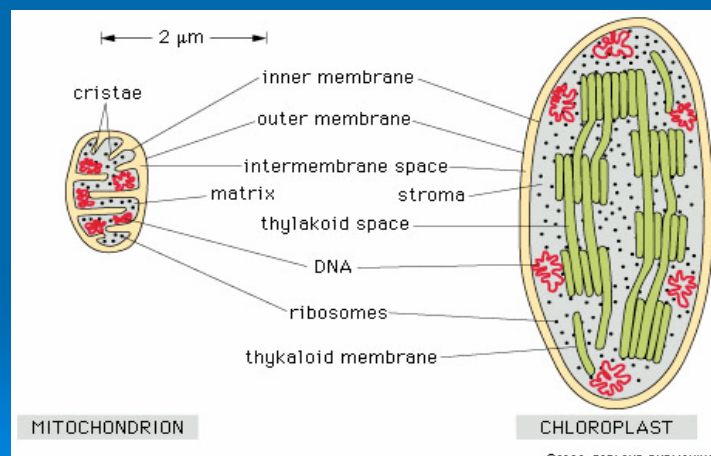
Μιτοχονδριακό DNA - mtDNA

- Το mtDNA έχει πλήρως αλληλουχηθεί
- Το mtDNA σχηματίζει ένα κυκλικό μόριο μεγέθους 16.6 Kb
- 37 γονίδια
- Απουσία ιντρονίων
- Το μιτοχόνδριο χρησιμοποιεί έναν γενετικό κώδικα ελαφρώς τροποποιημένο
- Ο γενετικός κώδικας των μιτοχονδρίων είναι μοναδικός για κάθε είδος.



Γενετικές ασθένειες που οφείλονται σε μεταλλάξεις μιτοχονδριακών γονιδίων

1. Leber hereditary optic neuropathy
2. mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes
3. neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa
4. nonsyndromic deafness



DNA structure



DNA package

