

Βιολογία

Τμήμα Ωκεανογραφίας και Θαλάσσιων Βιοεπιστημών

Διδάσκουσα: Μεζίτη Αλεξάνδρα

Διάλεξη 10: Αντιγραφή-Μεταγραφή-Μετάφραση

10/12/2025

Ιστορικά στοιχεία

1869: Απομόνωση DNA

1953: Ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA (Watson, D., Crick, F., Franklin R.)

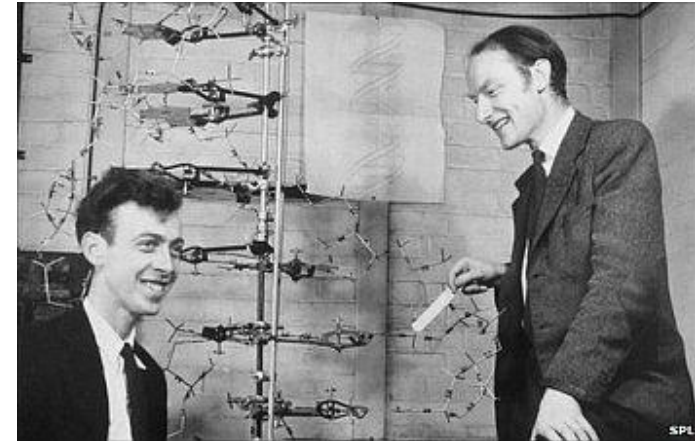
1977: Πρώτη αλληλούχηση γονιδιώματος (βακτηριοφάγος φX-174)(Sanger F.)



Sanger F.



Franklin R.



Watson D. & Crick F.

1981: Πρώτη αλληλούχηση μιτοχονδρίου (Anderson)

1983: Ανάπτυξη αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

2000: Αλληλούχηση ανθρώπινου γονιδιώματος

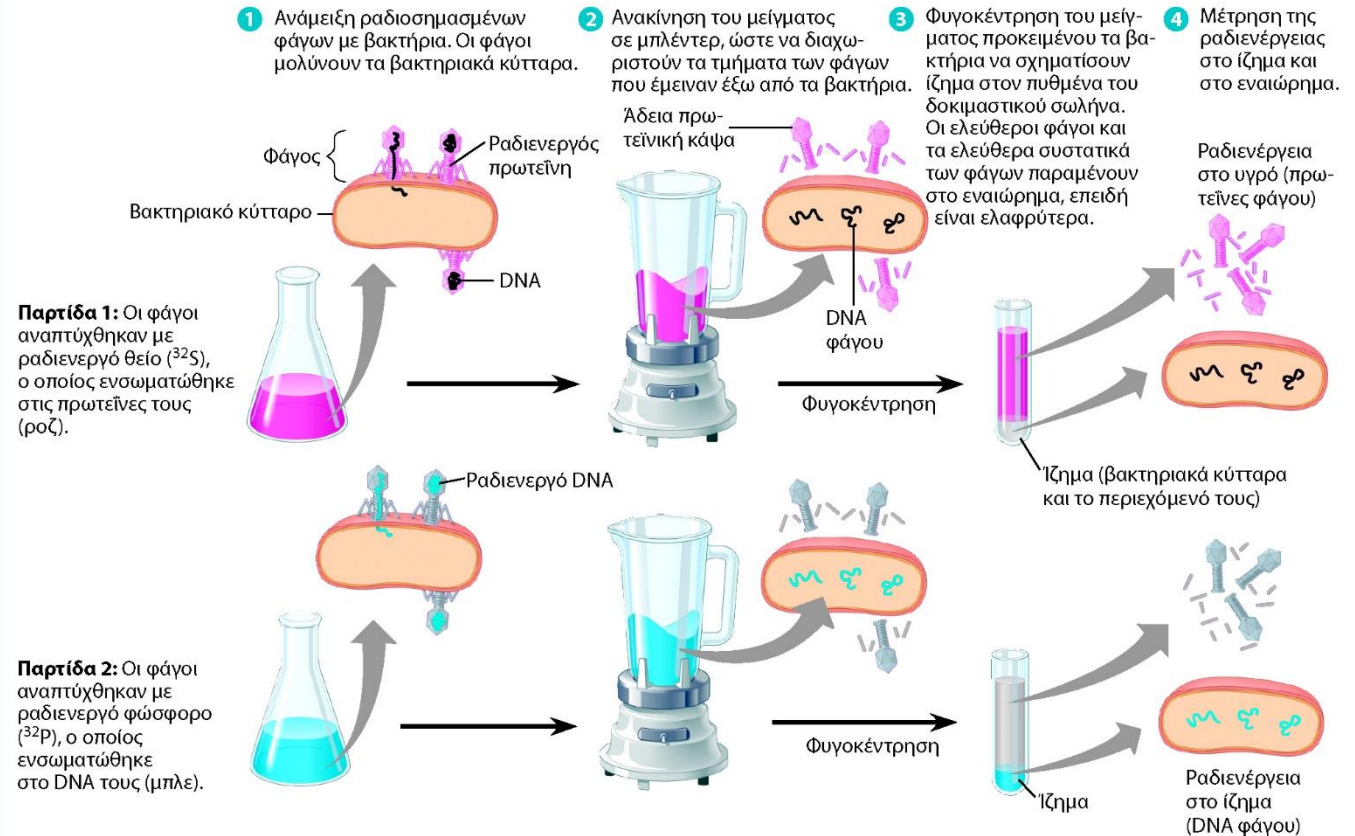
Το DNA είναι το γενετικό υλικό

Εικόνα 16.4 Διερεύνηση

Το γενετικό υλικό του φάγου T2 είναι το DNA ή οι πρωτεΐνες του;

ΠΕΙΡΑΜΑ

Οι Alfred Hershey και Martha Chase χρησιμοποίησαν ραδιενεργό θείο και φωσφόρο για να παρακολουθήσουν, αντίστοιχα, την πορεία των πρωτεϊνών και του DNA των φάγων T2 με τους οποίους μόλυναν βακτηριακά κύτταρα. Ήθελαν να διαπιστώσουν ποια από τα μόρια αυτά εισέρχονται στα κύτταρα και τα επαναπρογραμματίζουν έτσι ώστε να συνθέσουν περισσότερους φάγους.



ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Όταν σημάνθηκαν οι πρωτεΐνες (παρτίδα 1), η ραδιενέργεια έμεινε έξω από τα κύτταρα. Όταν όμως σημάνθηκε το DNA (παρτίδα 2), η ραδιενέργεια εντοπίστηκε μέσα στα κύτταρα. Τα βακτηριακά κύτταρα που περιείχαν ραδιενεργό DNA του φάγου απελευθέρωσαν νέους φάγους που περιείχαν ραδιενεργό φωσφόρο.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Το DNA του φάγου εισέρχεται στα βακτηριακά κύτταρα, όχι όμως και οι πρωτεΐνες του φάγου. Οι Hershey και Chase συμπέραναν ότι ως γενετικό υλικό δρα το DNA του φάγου T2, όχι οι πρωτεΐνες του.

ΠΗΓΗ

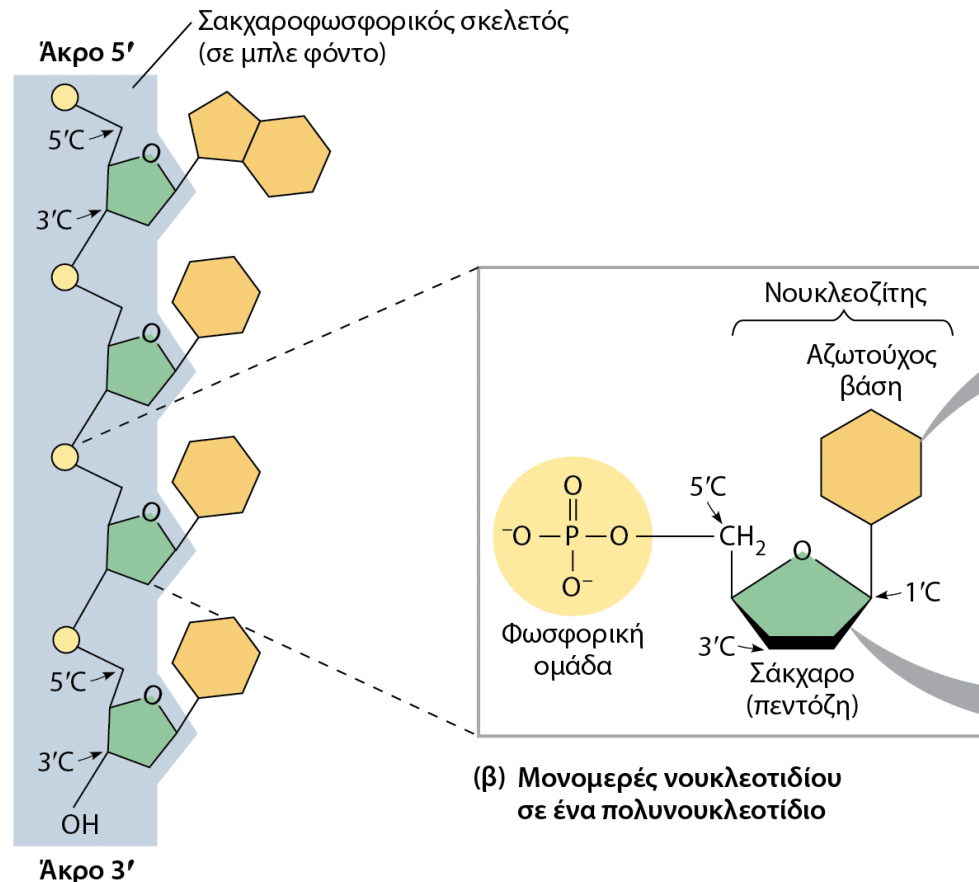
A. D. Hershey & M. Chase, Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage, *Journal of General Physiology* 36:39-56 (1952).

ΤΙ ΘΑ ΓΙΝΟΤΑΝ ΑΝ...

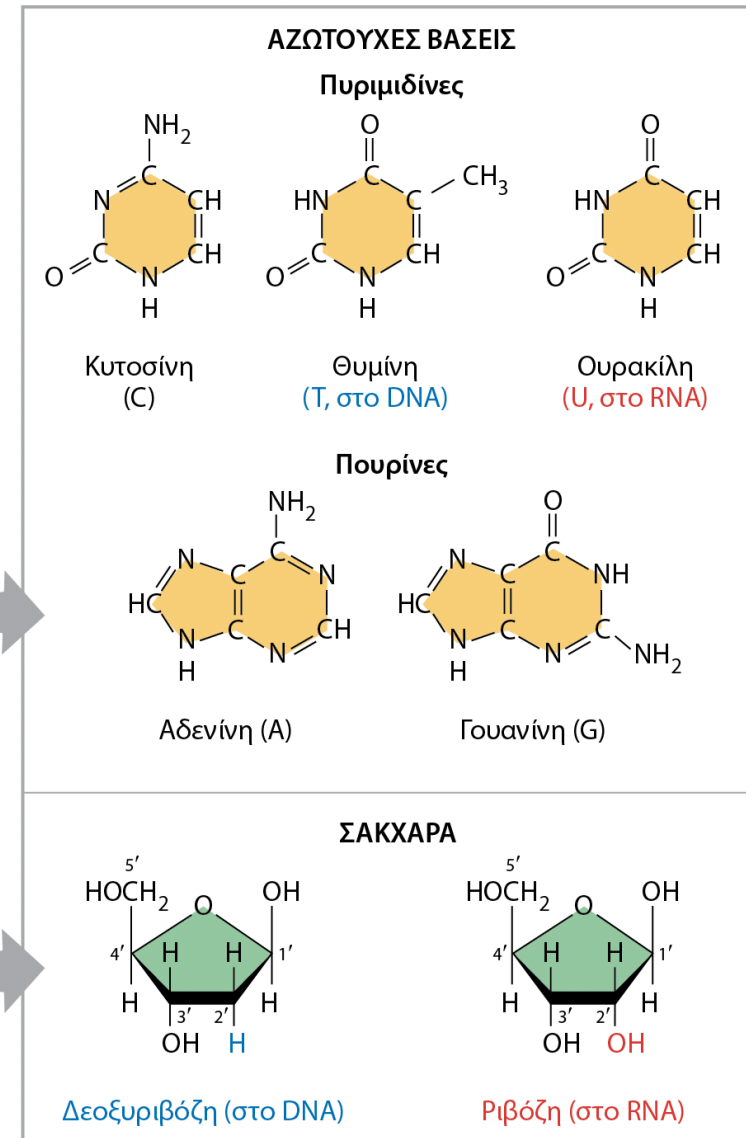
Σε τι θα διέφεραν τα αποτελέσματα αν η γενετική πληροφορία μεταφερόταν από τις πρωτεΐνες;

Νουκλεοτιδικά πολυμερή

▼ **Εικόνα 5.23** Τα συστατικά των νουκλεϊκών οξέων. **(α)** Ένα πολυνουκλεοτίδιο έχει έναν σακχαροφωσφορικό σκελετό με ποικίλες προεξοχές, τις αζωτούχες βάσεις. **(β)** Κάθε νουκλεοτιδικό μονομερές ενός πολυνουκλεοτιδίου αποτελείται από μια αζωτούχο βάση, ένα σάκχαρο και μια φωσφορική ομάδα. Να σημειωθεί ότι οι αριθμοί των ατόμων άνθρακα στα σάκχαρα φέρουν τονισμό ('). **(γ)** Ένας νουκλεοζίτης αποτελείται από μια αζωτούχο βάση (πουρίνη ή πυριμιδίνη) και ένα σάκχαρο με πέντε άτομα άνθρακα (δεοξυριβόζη ή ριβόζη).



(α) Πολυνουκλεοτίδιο ή νουκλεϊκό οξύ



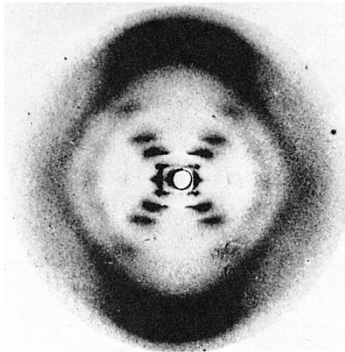
(γ) Συστατικά των νουκλεοζιτών

Η Δομή μίας αλυσίδας DNA

- Μονομερή νουκλεοτιδίων ενώνονται με φωσφοδιεστερικούς δεσμούς
- Αλυσίδα από τον άκρο 5' (ελεύθερη φωσφορική ομάδα) προς το άκρο 3' (ελεύθερο -OH)
- Χαρακτηριστική εικόνα ελικοειδών μορίων μετά την απεικόνιση με περίθλαση ακτίνων X
- Οργανοφωσφορικός σκελετός εξωτερικά, αζωτούχες βάσεις εσωτερικά
- Αντιπαράλληλες αλυσίδες



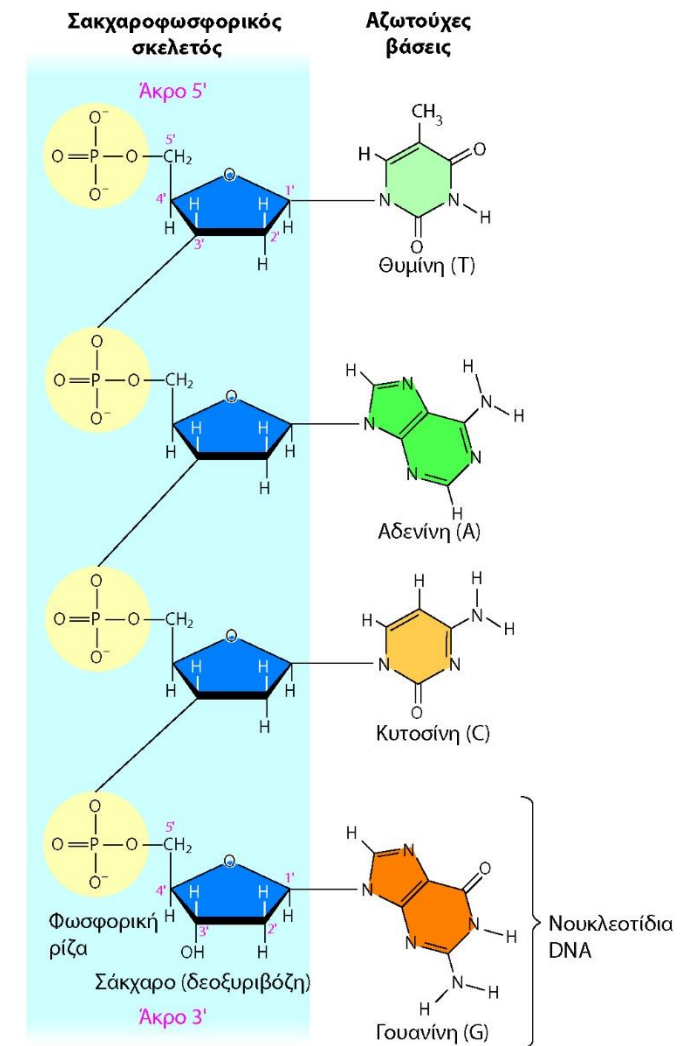
(α) Rosalind Franklin



(β) Φωτογραφία του DNA με περίθλαση ακτίνων X, που τράβηξε η Franklin

▲ **Εικόνα 16.6** Η Rosalind Franklin και η φωτογραφία του DNA με περίθλαση ακτίνων X. Η Franklin, μια ιδιαίτερα καταξιωμένη επιστήμονας στον χώρο της κρυσταλλογραφίας με ακτίνες X, διεξήγαγε πειράματα κρίσιμης σημασίας, από τα οποία προέκυψε η φωτογραφία που επέτρεψε στους Watson και Crick να εικάσουν τη δομή της διπλής έλικας του DNA. Η Franklin πέθανε από καρκίνο το 1958, σε ηλικία μόλις 38 ετών. Ο συνάδελφός της Maurice Wilkins έλαβε το βραβείο Nobel, μαζί με τους Watson και Crick, το 1962.

- Ζευγάρωμα αζωτούχων βάσεων με συγκεκριμένους συνδυασμούς A+T/G+C (Γιατί;;;)



▲ **Εικόνα 16.5** Η δομή μιας αλυσίδας DNA. Κάθε μονομερές νουκλεοτιδίου αποτελείται από μία αζωτούχο βάση (T, A, C ή G), το σάκχαρο δεοξυριβόζη (μπλε) και μία φωσφορική ομάδα (κίτρινο). Η φωσφορική ομάδα κάποιου νουκλεοτιδίου ενώνεται με το σάκχαρο του επόμενου, με αποτέλεσμα να προκύπτει ένας σακχαροφωσφορικός σκελετός από εναλλασσόμενες φωσφορικές ομάδες και σάκχαρα, απ' όπου προβάλλουν οι βάσεις. Η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα έχει κατεύθυνση από το άκρο 5' (με τη φωσφορική ομάδα) προς το άκρο 3' (με την ομάδα -OH). Οι αριθμοί 5' και 3' αναφέρονται στους αριθμούς με τους οποίους αριθμούνται τα άτομα άνθρακα του σακχαρικού δακτυλίου.

Αντιγραφή DNA

Από όλα τα μόρια στη φύση τα νουκλεϊκά οξέα είναι τα μόνα που μπορούν καθοδηγήσουν την αντιγραφή τους από μονομερή!!

- Βασική αρχή
- Ζευγάρωμα βάσεων σε μία μητρική αλυσίδα
 - Ημισυντηρητικό μοντέλο: Οι δύο αλυσίδες αποχωρίζονται και η κάθε μία λειτουργεί ως εκμαγείο για τη σύνθεση της νέας αλυσίδας

Εικόνα 16.11 Διερεύνηση

Η αντιγραφή του DNA ακολουθεί το συντηρητικό, το ημισυντηρητικό ή το μοντέλο διασποράς;

ΠΕΙΡΑΜΑ

Στο Ινστιτούτο Τεχνολογίας της Καλιφόρνιας, οι Matthew Meselson και Franklin Stahl καλλιέργησαν *E. coli* επί πολλές γενεές σε καλλιεργητικό μέσο που περιείχε πρόδρομα μόρια νουκλεοτιδίων σημειωμένων με ένα βαρύ ισότοπο του αζώτου, το ^{15}N . Κατόπιν μετέφεραν τα βακτήρια σε θρεπτικό υλικό που περιείχε ^{14}N , ένα ελαφρύτερο ισότοπο του αζώτου. Από το δοχείο αυτό ελήφθησαν δύο δείγματα DNA, ένα μετά την πρώτη αντιγραφή του DNA της *E. coli* (σε 20 λεπτά της ώρας) και ένα μετά τη δεύτερη αντιγραφή (σε 40 λεπτά). Οι Meselson και Stahl κατάφεραν να διακρίνουν DNA διαφορετικής πυκνότητας μετά από φυγοκέντρηση των δειγμάτων DNA που είχαν εξαγάγει από τη βακτηριακή καλλιέργεια.

1 Βακτήρια που καλλιεργούνται σε μέσο με ^{15}N

2 Τα βακτήρια μεταφέρονται σε μέσο με ^{14}N

3 Το δείγμα DNA φυγοκεντρείται ύστερα από 20 λεπτά (δηλ. μετά την 1η αντιγραφή)

4 Το δείγμα DNA φυγοκεντρείται ύστερα από 40 λεπτά (δηλ. μετά τη 2η αντιγραφή)

Αραιότερο

Πυκνότερο

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Οι Meselson και Stahl συνέκριναν τα αποτελέσματά τους με εκείνα που προβλέπει καθένα από τα τρία μοντέλα της Εικόνας 16.10 (βλ. παρακάτω σχήμα). Από την πρώτη αντιγραφή στο καλλιεργητικό μέσο που περιέχει ^{15}N προκύπτει μια ζώνη «υβριδικού» DNA, δηλαδή DNA μεικτής σύνθεσης (^{15}N - ^{14}N). Το αποτέλεσμα αυτό αποκλείει το συντηρητικό μοντέλο. Από τη δεύτερη αντιγραφή προκύπτουν δύο ζώνες του DNA, μία ελαφρύτερη και μία με «υβριδικό» DNA, αποτέλεσμα που διαψεύδει το μοντέλο διασποράς και στηρίζει το ημισυντηρητικό μοντέλο. Προκύπτει, λοιπόν, το συμπέρασμα ότι η αντιγραφή του DNA είναι ημισυντηρητική.

Πρώτη αντιγραφή

Δεύτερη αντιγραφή

Συντηρητικό μοντέλο

Ημισυντηρητικό μοντέλο

Μοντέλο διασποράς

ΠΗΓΗ

M. Meselson & F. W. Stahl, The replication of DNA in *Escherichia coli*, *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 44:671-682 (1958).

ΤΙ ΘΑ ΓΙΝΟΤΑΝ ΑΝ...;

Αν οι Meselson και Stahl είχαν αρχικά αφήσει τα κύτταρα να αναπτυχθούν σε μέσο που περιείχε ^{15}N και κατόπιν, πριν λάβουν τα δείγματα, τα μετέφεραν σε μέσο που περιείχε ^{14}N , ποιο θα ήταν το αποτέλεσμα;

Γονικό κύτταρο

Πρώτη αντιγραφή

Δεύτερη αντιγραφή

(α) Συντηρητικό μοντέλο.

Αφού δράσουν ως εκμαγεία για τη σύνθεση νέων αλυσίδων, οι δύο γονικές αλυσίδες επανενώνονται, αποκαθιστώντας τη γονική διπλή έλικα.

(β) Ημισυντηρητικό μοντέλο.

Οι δύο αλυσίδες του γονικού μορίου αποχωρίζονται και καθεμία λειτουργεί ως εκμαγείο για τη σύνθεση μιας νέας, συμπληρωματικής αλυσίδας.

(γ) Μοντέλο διασποράς.

Κάθε αλυσίδα και στα δύο θυγατρικά μόρια αποτελεί ένα μείγμα από παλαιό και νέο DNA.

▲ Εικόνα 16.10 Τρία εναλλακτικά μοντέλα αντιγραφής του DNA.

Κάθε βραχύ τμήμα της διπλής έλικας συμβολίζει το DNA ενός κυττάρου. Με αφετηρία ένα γονικό κύτταρο, παρακολουθούμε το DNA για δύο γενεές κυττάρων, δηλαδή για δύο κύκλους αντιγραφής του. Οι νέες αλυσίδες του DNA παριστάνονται με γαλάζιο χρώμα.

Αντιγραφή DNA

Θέση έναρξης αντιγραφής

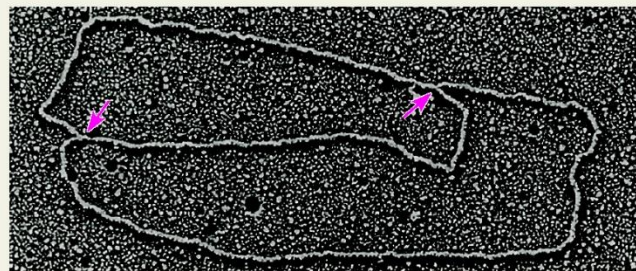
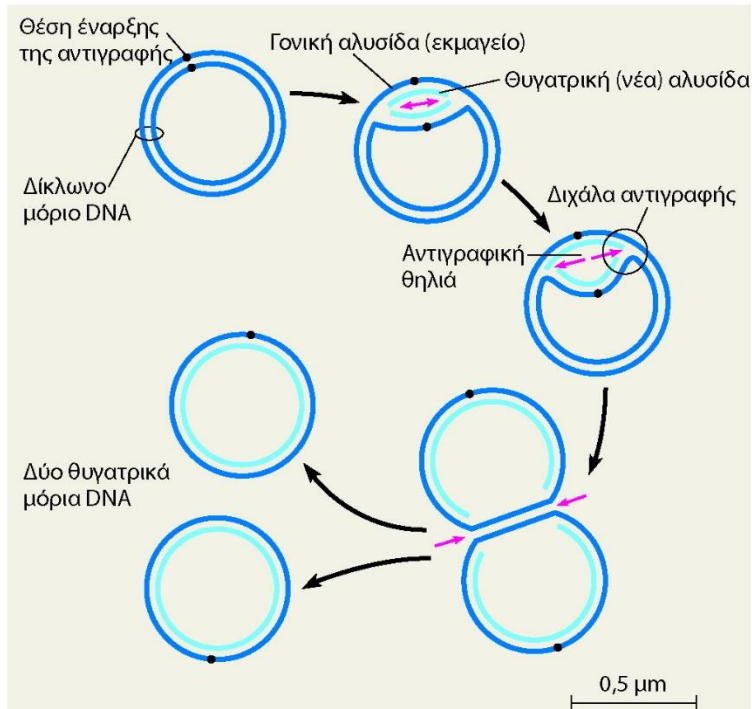
1. Μία στους Προκαρυώτες
2. Πολλές στο ευκαρυωτικό χρωμόσωμα

Δημιουργία θηλιάς και δύο διχαλών αντιγραφής

Πραγματοποίηση αντιγραφής και προς τις δύο κατευθύνσεις

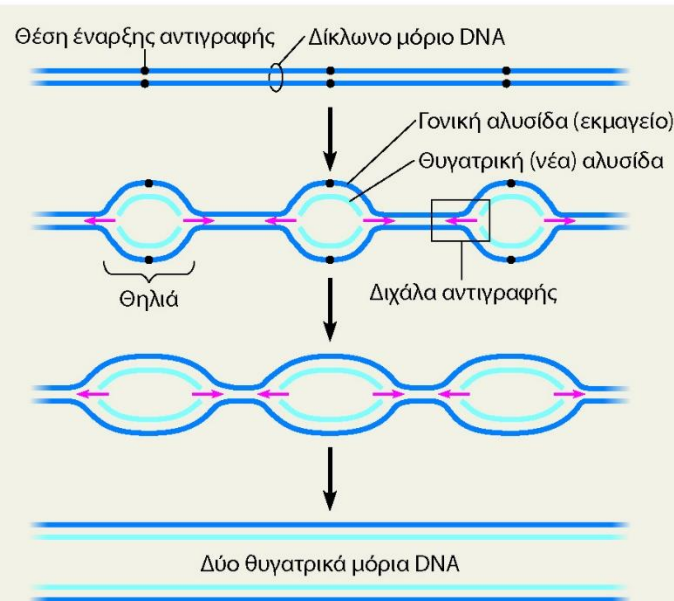
Οι ελικάσες ξετυλίγουν την αλυσίδα του DNA

Πρωτεΐνες που δένονται στη μονόκλωνη αλυσίδα αποτρέπουν την επανένωση

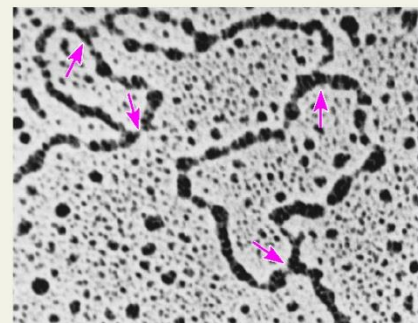


(α) Στο κυκλικό χρωμόσωμα της *E. coli*, όπως και στα χρωμοσώματα πολλών άλλων βακτηρίων, υπάρχει μία μόνο θέση έναρξης της αντιγραφής. Σε αυτή τη θέση, οι γονικές αλυσίδες διαχωρίζονται και σχηματίζουν μια αντιγραφική θηλιά με δύο διχάλες. Η αντιγραφή προχωρά και προς τις δύο κατευθύνσεις έως ότου οι διχάλες συναντηθούν στην άλλη πλευρά του δίκλωνου μορίου του DNA, οπότε θα έχει ολοκληρωθεί ο σχηματισμός των δύο θυγατρικών μορίων του DNA. Η μικροφωτογραφία έχει ληφθεί με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (ΗΜΔ) και δείχνει ένα βακτηριακό χρωμόσωμα με μια αντιγραφική θηλιά.

▲ **Εικόνα 16.12** Θέσεις έναρξης της αντιγραφής στην *E. coli* και στους ευκαρυώτες. Τα κόκκινα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της κίνησης κάθε διχάλας αντιγραφής, άρα και την κατεύθυνση της αντιγραφής του DNA στο σύνολο της θηλιάς.



0,25 μm



(β) Στα γραμμικά χρωμοσώματα των ευκαρυωτών, η αντιγραφή του DNA ξεκινά με τον σχηματισμό θηλιών αντιγραφής σε πολλές θέσεις κατά μήκος του τεράστιου σε μήκος μορίου του DNA. Καθώς η αντιγραφή προχωρά, οι θηλιές προεκτείνονται και προς τις δύο κατευθύνσεις. Τελικά οι θηλιές ενώνονται και η σύνθεση των θυγατρικών αλυσίδων ολοκληρώνεται. Η μικροφωτογραφία ΗΜΔ δείχνει τρεις αντιγραφικές θηλιές κατά μήκος του DNA ενός κυττάρου από κινέζικο χάμστερ που αναπτύχθηκε σε κυτταροκαλλιέργεια.

ΣΧΕΔΙΑΣΤΕ! Στη μικροφωτογραφία με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο διέλευσης (ΗΜΔ) του (β) προσθέστε βέλη στην τρίτη θηλιά.

Αντιγραφή DNA

Τα ένζυμα που συμμετέχουν στη σύνθεση της DNA αλυσίδας μπορούν να προσθέσουν νουκλεοτίδια μόνο σε ήδη υπάρχοντα κομμάτια

Σύνθεση εκκινητή (μικρή αλυσίδα RNA, 5-10 νουκλ.) από την πριμάση

Έναρξη σύνθεσης DNA από το 3' άκρο του εκκινητή DNA πολυμεράση (DNApol)

→ Δύο βασικά είδη στους προκαρυώτες (I και III)

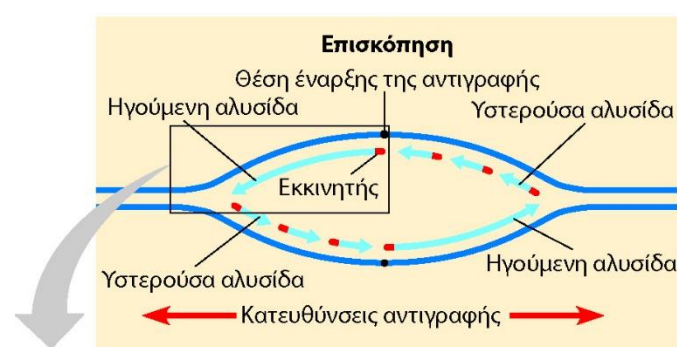
→ >11 στους ευκαρυώτες

Κατά τον πολυμερισμό απομακρύνονται δύο φωσφορικές ομάδες από τα dNTPs → υδρόλυση → εξώεργη αντίδραση

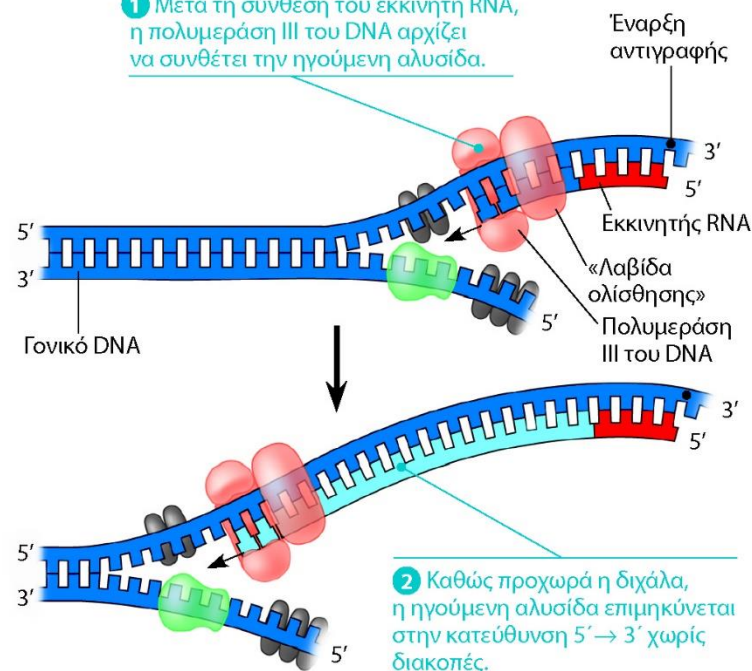
Αντιπαράλληλη επιμήκυνση

→ Ηγούμενη αλυσίδα

→ Υστερούσα αλυσίδα (τεμάχια Okazaki; 1000-2000 νουκλ. στους Προκαρυώτες, 100-200 νουκλ. Στους ευκαρυώτες)

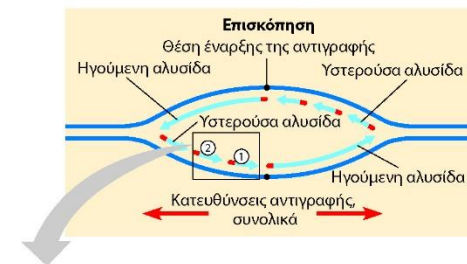


1 Μετά τη σύνθεση του εκκινητή RNA, η πολυμεράση III του DNA αρχίζει να συνθέτει την ηγούμενη αλυσίδα.

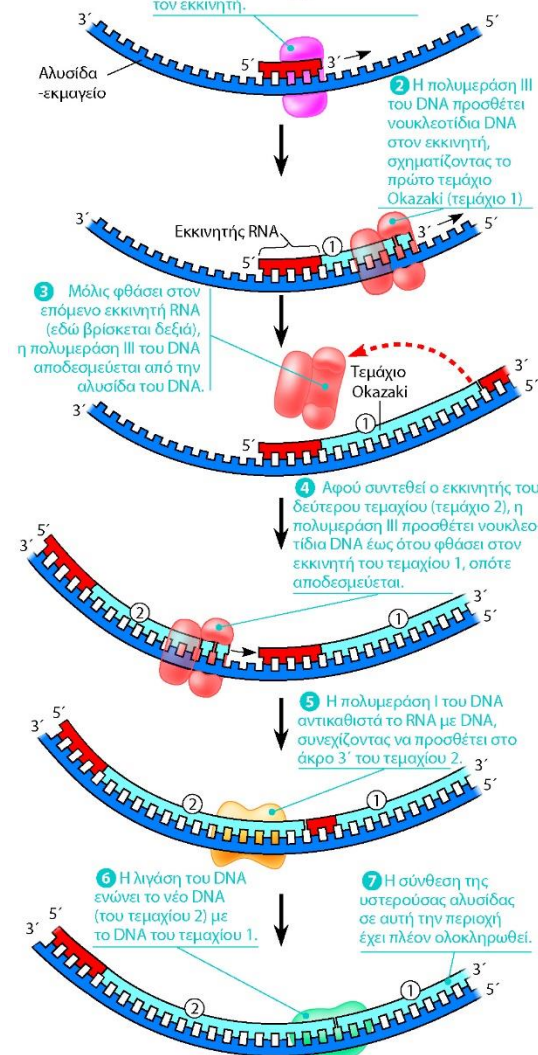


2 Καθώς προχωρά η διχάλα, η ηγούμενη αλυσίδα επιμηκύνεται στην κατεύθυνση 5' → 3' χωρίς διακοπές.

▲ **Εικόνα 16.15** Σύνθεση της ηγούμενης αλυσίδας κατά την αντιγραφή του DNA. Το διάγραμμα επικεντρώνεται στο τμήμα του DNA που βρίσκεται στην αριστερή διχάλα αντιγραφής (βλ. σημειωμένο παραλληλόγραμμο στο πλαίσιο επισκόπησης, στο άνω μέρος της εικόνας). Η πολυμεράση III του DNA μοιάζει με παλάμη που κρατά τη γονική αλυσίδα, και συνδέεται στενά με μια πρωτεΐνη που ονομάζεται λαβίδα ολίσθησης, η οποία περιβάλλει κυκλικά την νεοσυνθεθείσα διπλή έλικα, σαν δακτύλιος. Η λαβίδα ολίσθησης «μετακινεί» την πολυμεράση III κατά μήκος της γονικής αλυσίδας του DNA.



1 Η πριμάση ενώνει τα νουκλεοτίδια RNA μεταξύ τους, σχηματίζοντας τον εκκινητή.



2 Η πολυμεράση III του DNA προσθέτει νουκλεοτίδια DNA στον εκκινητή, σχηματίζοντας το πρώτο τεμάχιο Okazaki (τεμάχιο 1).

3 Μόλις φθάσει στον επόμενο εκκινητή RNA (εδώ βρίσκεται δεξιά), η πολυμεράση III του DNA αποδεσμεύεται από την αλυσίδα του DNA.

4 Αφού συντεθεί ο εκκινητής του δεύτερου τεμαχίου (τεμάχιο 2), η πολυμεράση III προσθέτει νουκλεοτίδια DNA έως ότου φθάσει στον εκκινητή του τεμαχίου 1, οπότε αποδεσμεύεται.

5 Η πολυμεράση I του DNA αντικαθιστά το RNA με DNA, συνεχίζοντας να προσθέτει στο άκρο 3' του τεμαχίου 2.

6 Η λιγάση του DNA ενώνει το νέο DNA (του τεμαχίου 2) με το DNA του τεμαχίου 1.

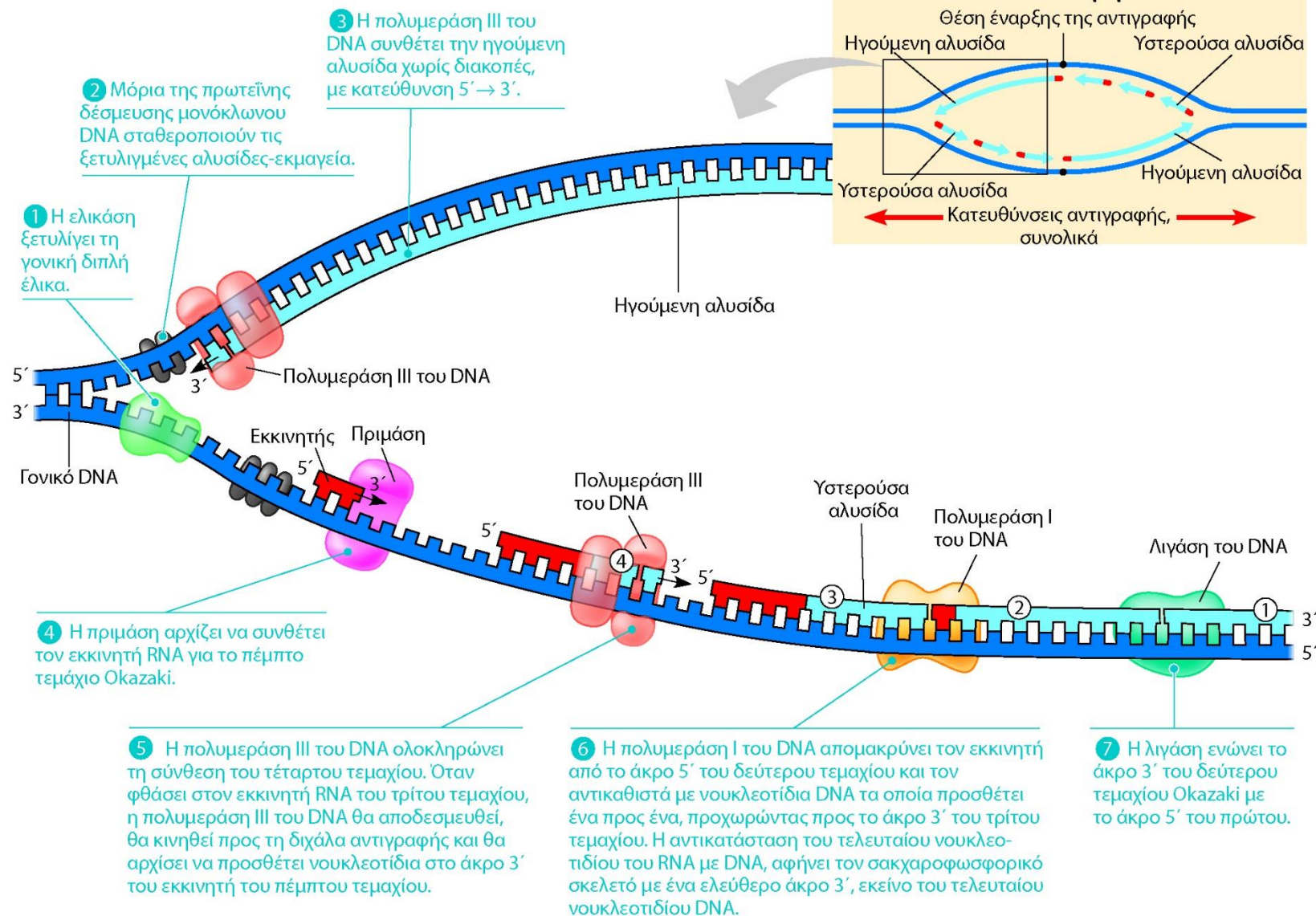
7 Η σύνθεση της υστερούσας αλυσίδας σε αυτή την περιοχή έχει πλέον ολοκληρωθεί.

▲ **Εικόνα 16.16** Σύνθεση της υστερούσας αλυσίδας.

Αντιγραφή DNA

Η DNApol απομακρύνει τους εκκινητές από τα κομμάτια Okazaki και προσθέτει τα αντίστοιχα dNTPs

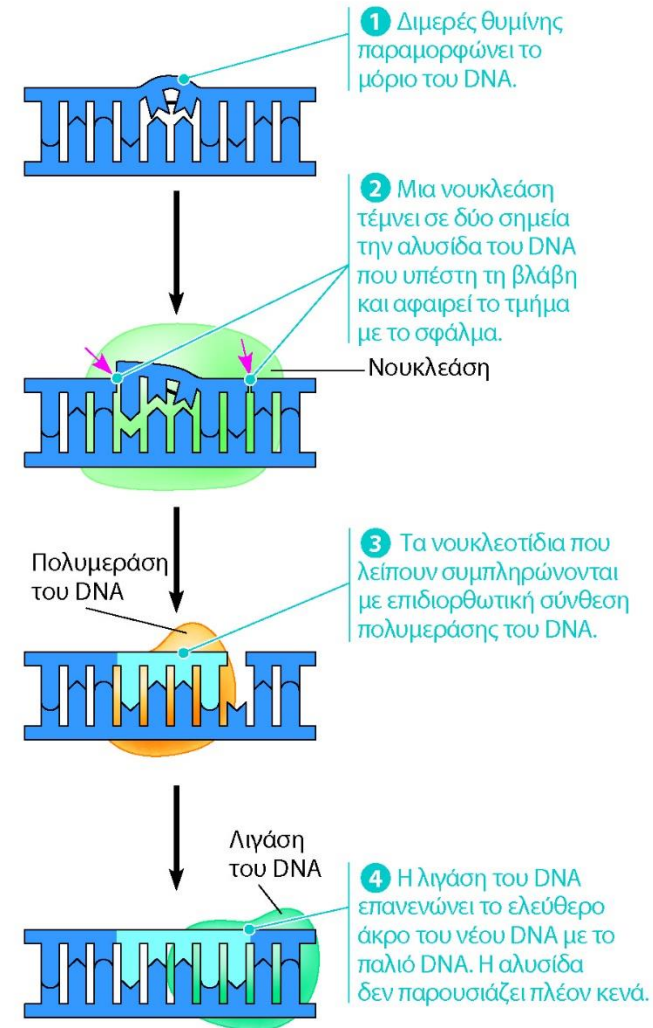
Η λιγάση ενώνει τα κομμάτια



▲ **Εικόνα 16.17 Σύνοψη της αντιγραφής του βακτηριακού DNA.** Το αναλυτικό διάγραμμα παρουσιάζει μία μόνο διχάλα αντιγραφής, αλλά όπως φαίνεται και στην επισκόπηση (άνω δεξιά) η αντιγραφή συνήθως λαμβάνει χώρα ταυτοχρόνως σε δύο διχάλες, μία σε κάθε άκρο της αντιγραφικής θηλιάς. Αν παρατηρήσουμε το σύνολο της αντιγραφής, βλέπουμε ότι σε κάθε θυγατρική αλυσίδα η μισή συντίθεται χωρίς διακοπές ως ηγούμενη αλυσίδα, ενώ η άλλη μισή (στην άλλη πλευρά της θέσης έναρξης της αντιγραφής) συντίθεται τμηματικά ως υστερούσα αλυσίδα.

Πίνακας 16.1 Πρωτεΐνες αντιγραφής βακτηριακού DNA και οι λειτουργίες τους

Πρωτεΐνη	Λειτουργία
Ελικάση	Ξετυλίγει τη γονική διπλή έλικα στις διχάλες αντιγραφής
Πρωτεΐνη δέσμησης μονόκλωνου DNA	Προσδένεται στο μονόκλωνο DNA και το σταθεροποιεί ώσπου να χρησιμοποιηθεί ως εκμαγείο
Τοποϊσομεράση	Εκτονώνει τις τάσεις που αναπτύσσονται λόγω υπερβολικής συστροφής μπροστά από τη διχάλα αντιγραφής, τέμνοντας, περιστρέφοντας και επανενώνοντας τις αλυσίδες του DNA
Πριμάση	Συνθέτει έναν εκκινητή RNA στο άκρο 5' της ηγούμενης αλυσίδας και στο άκρο 5' κάθε τεμαχίου Okazaki της υστερούσας αλυσίδας
Πολυμεράση III του DNA	Χρησιμοποιεί το γονικό DNA ως εκμαγείο για να συνθέσει μια νέα αλυσίδα DNA, προσθέτοντας μέσω ομοιοπολικών δεσμών νουκλεοτίδια στο άκρο 3' μιας προϋπάρχουσας αλυσίδας DNA ή ενός εκκινητή RNA
Πολυμεράση I του DNA	Απομακρύνει νουκλεοτίδια του εκκινητή RNA από το άκρο 5' και τα αντικαθιστά με νουκλεοτίδια DNA
Λιγάση του DNA	Ενώνει το άκρο 3' του DNA που αντικαθιστά τον εκκινητή, με το υπόλοιπο τμήμα της ηγούμενης αλυσίδας και ενώνει τα τεμάχια Okazaki της υστερούσας αλυσίδας μεταξύ τους

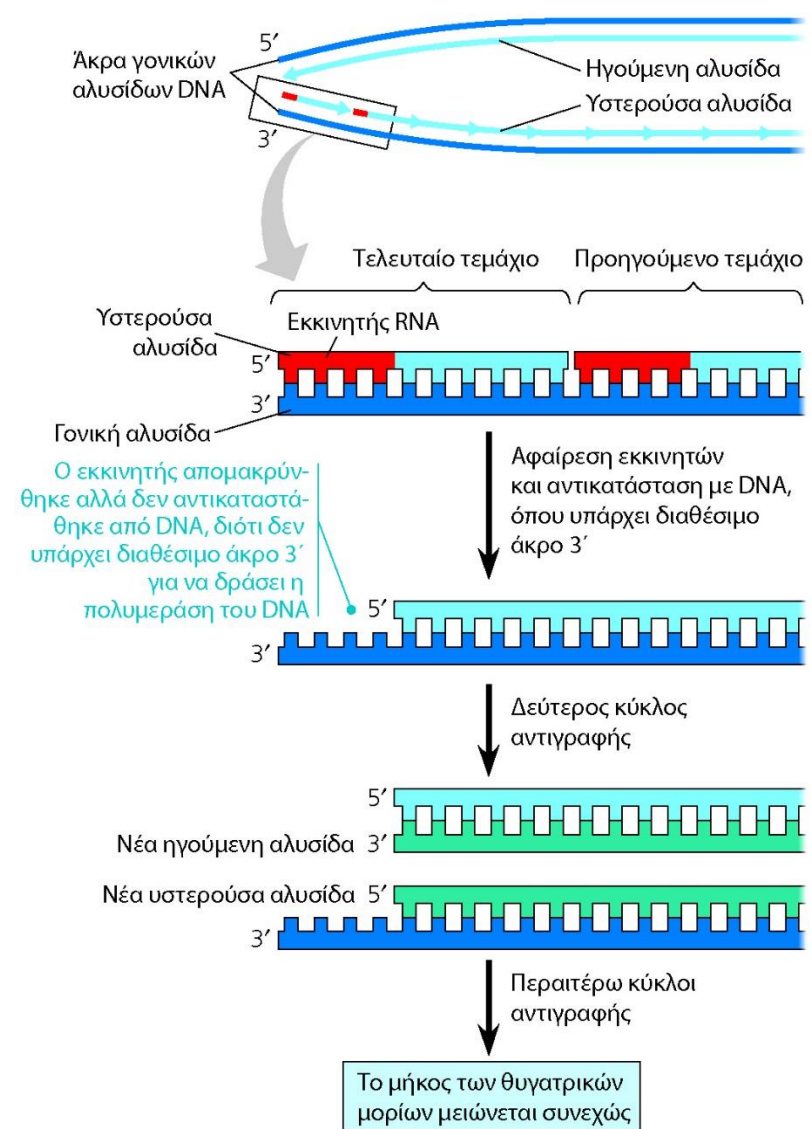


▲ **Εικόνα 16.18** **Επιδιόρθωση βλαβών του DNA με εκτομή ζεύγους νουκλεοτιδίων.** Οι βλάβες του DNA εντοπίζονται και επιδιορθώνονται από μια ομάδα ενζύμων. Βλέπουμε ένα τμήμα DNA που περιέχει διμερές θυμίνης. Πρόκειται για τύπο βλάβης συνήθως προκαλούμενο από την υπεριώδη ακτινοβολία. Μια νουκλεάση τέμνει την περιοχή του DNA που υπέστη τη βλάβη και μια πολυμεράση του DNA (στα βακτήρια, η πολυμεράση I του DNA) την αντικαθιστά με νουκλεοτίδια συμπληρωματικά ως προς την ακέραη αλυσίδα. Η διεργασία επιδιόρθωσης ολοκληρώνεται από τη λιγάση του DNA, η οποία κλείνει την «εγκοπή» που δημιουργήθηκε στον σακχαροφωσφορικό σκελετό.

Αντιγραφή DNA

Βράχυνση αλυσίδων και τελομερή

- Συνεχής βράχυνση της υστερούσας αλυσίδας στα γραμμικά ευκαρυωτικά χρωμοσώματα
- Πως προστατεύονται τα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα από το να χάνουν γονίδια κάθε φορά που αντιγράφονται;
- Ύπαρξη τελομερών στις άκρες των χρωμοσωμάτων (επαναλήψεις αλληλουχιών χωρίς γονίδια)
- Το μήκος των τελομερών μειώνεται με την ηλικία
- Τι συμβαίνει με την παραγωγή γαμετών;;;

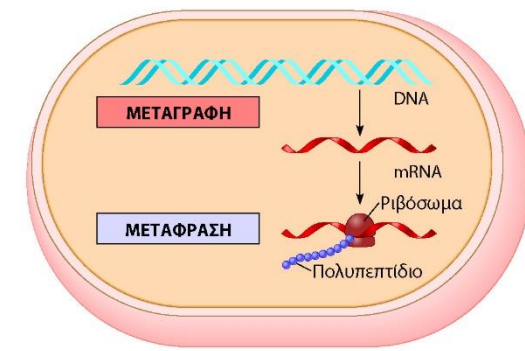


▲ Εικόνα 16.19 Βράχυνση των άκρων σε γραμμικά μόρια DNA.

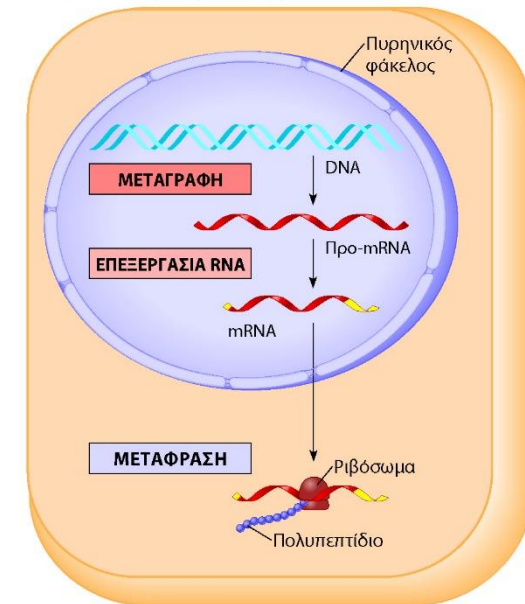
Στην εικόνα παρακολουθούμε το άκρο της αλυσίδας ενός μορίου DNA μέσα από δύο κύκλους αντιγραφής. Μετά τον πρώτο κύκλο, η νέα υστερούσα αλυσίδα έχει μικρότερο μήκος απ' ό,τι η αντίστοιχη γονική. Ο δεύτερος κύκλος αφήνει τόσο την ηγούμενη όσο και την υστερούσα αλυσίδα με μικρότερο μήκος από εκείνο του γονικού DNA. Αν και εδώ δεν φαίνεται, βράχυνση υφίστανται και τα άκρα των αλυσίδων στην άλλη πλευρά του μορίου του DNA.

Μεταγραφή και Μετάφραση

- Τα γονίδια παρέχουν τις πληροφορίες για την παραγωγή συγκεκριμένων πρωτεϊνών → όχι άμεσα
- Γέφυρα ανάμεσα στο DNA και τις πρωτεΐνες → RNA (χημικά παρόμοιο με το DNA-νουκλεοτίδια με ουρακίλη (U) αντί για θυμίνη (T)).
- Στη μεταγραφή η πληροφορία του DNA 'μεταγράφεται' (χρησιμοποιούνται παρόμοια μόρια αλλά άλλοι χαρακτήρες) σε RNA
- Στη μετάφραση η αλληλουχία του RNA δίνει την πληροφορία για την αντιστοίχιση των νουκλεοτιδίων σε αμινοξέα (μονομερή πρωτεϊνών) → μετάφραση σε άλλη χημική γλώσσα.
- Αυτό το RNA ονομάζεται αγγελιοφόρο RNA (messenger RNA; mRNA)
- Οι διαδικασίες γενικά είναι παρόμοιες σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά κύτταρα ΑΛΛΑ μόνο στα ευκαρυωτικά κύτταρα το αρχικό RNA ονομάζεται πρώιμο mRNA και υφίσταται επεξεργασία πριν βγει από τον πυρήνα



(α) **Βακτηριακό κύτταρο.** Τα βακτηριακά κύτταρα δεν διαθέτουν πυρήνα και το mRNA που παράγεται μέσω της μεταγραφής μεταφράζεται άμεσα, χωρίς να υφίσταται περαιτέρω επεξεργασία.



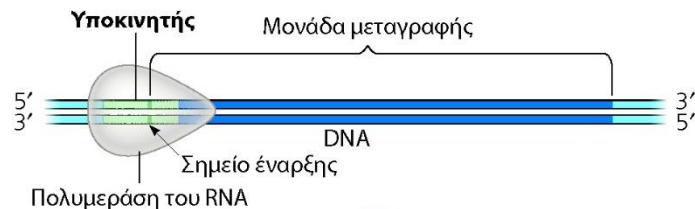
(β) **Ευκαρυωτικό κύτταρο.** Ο πυρήνας προσφέρει ένα ιδιαίτερο διαμέρισμα για την επιτέλεση της μεταγραφής. Το αρχικό μεταγγραφο RNA ονομάζεται προ-mRNA και υφίσταται διαφόρων ειδών επεξεργασία πριν εξέλθει από τον πυρήνα υπό τη μορφή ώριμου mRNA.

▲ **Εικόνα 17.3 Επισκόπηση: Ο ρόλος της μεταγραφής και της μετάφρασης στη ροή της γενετικής πληροφορίας.** Μέσα στο κύτταρο, η κληρονομική πληροφορία ρέει από το DNA προς το RNA και από το RNA προς τις πρωτεΐνες. Τα δύο κύρια στάδια ροής της πληροφορίας είναι η μεταγραφή και η μετάφραση. Πολλές από τις υπόλοιπες εικόνες αυτού του κεφαλαίου συνοδεύονται από μικρύνσεις των διαγραμμάτων (α) και (β), ώστε να κατανοήσουμε ευκολότερα ποιο ακριβώς μέρος καταλαμβάνει κάθε επιμέρους στάδιο, στο σύνολο της ροής της γενετικής πληροφορίας.

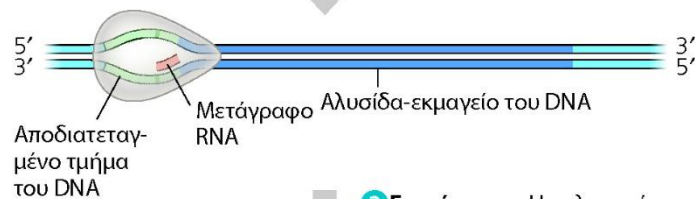
Μεταγραφή

Ο υποκινητής συνήθως περιέχει και το σημείο έναρξης της μεταγραφής

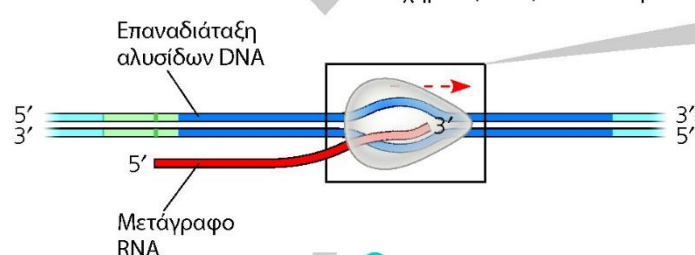
Η RNA πολυμεράση (RNAPol) μαζί με τους παράγοντες μεταγραφής ξεκινά τη μεταγραφή της αλυσίδας εκμαγείο από συγκεκριμένο σημείο.



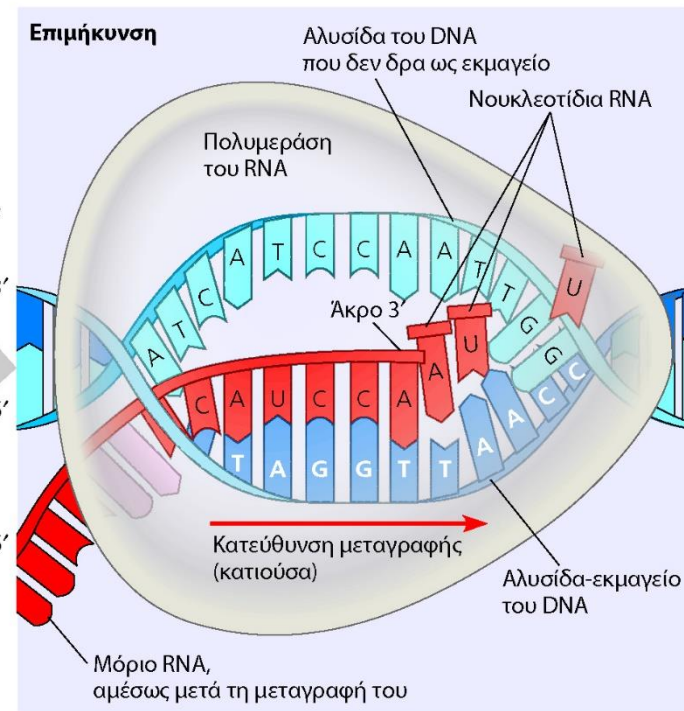
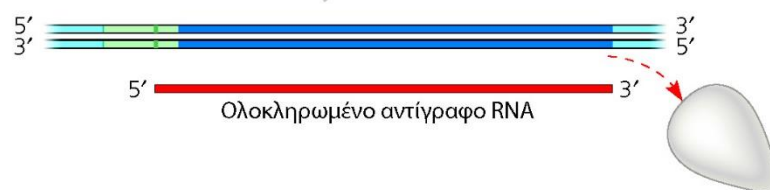
1 Έναρξη. Μετά την πρόσδεση της πολυμεράσης του RNA στον υποκινητή, οι αλυσίδες του DNA αποδιατάσσονται τοπικά και η πολυμεράση ξεκινά τη σύνθεση του RNA από το σημείο έναρξης της αλυσίδας-εκμαγείου.



2 Επιμήκυνση. Η πολυμεράση κινείται καθοδικά, ξετυλίγοντας το DNA και επιμηκύνοντας το μετάγραφο RNA με κατεύθυνση 5' → 3'. Όπου ολοκληρώνεται η μεταγραφή, οι δύο αλυσίδες του DNA επαναδιατάσσονται, σχηματίζοντας πάλι διπλή έλικα.



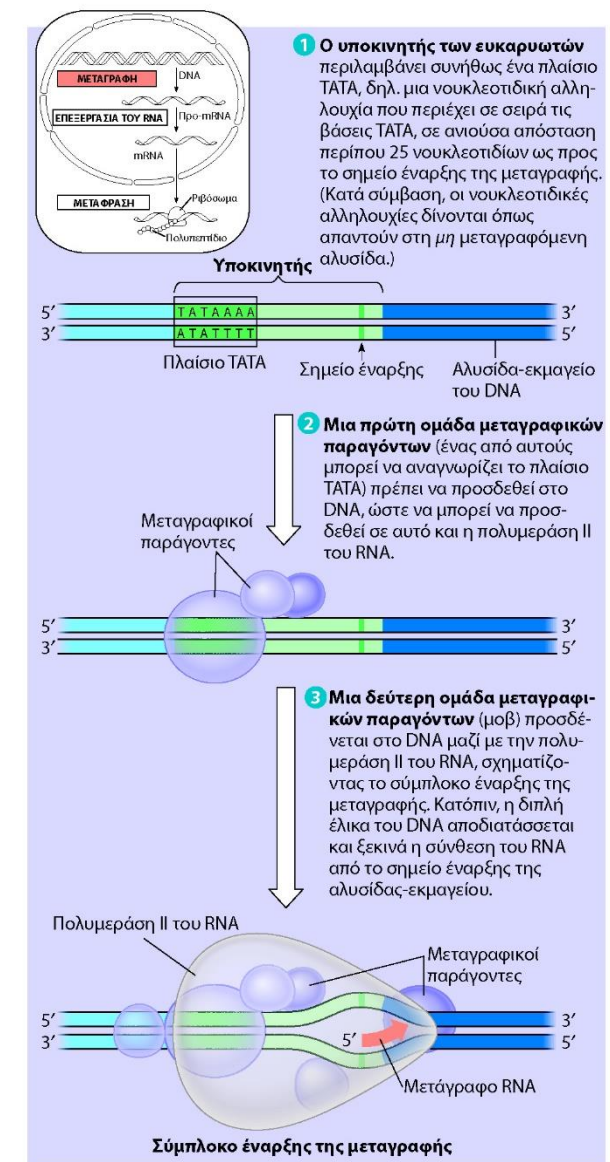
3 Τερματισμός. Τελικά, το μετάγραφο RNA απελευθερώνεται και η πολυμεράση αποσπάται από το DNA.



▲ Εικόνα 17.7 Τα στάδια της μεταγραφής: έναρξη, επιμήκυνση και τερματισμός. Η μεταγραφή, όπως γενικευμένα περιγράφεται εδώ, ισχύει τόσο για τα βακτήρια όσο και για τους ευκαρυώτες, αν και οι δύο διεργασίες εμφανίζουν διαφορές σε επιμέρους σημεία της διαδικασίας τερματισμού (βλ. κείμενο). Επίσης, στα βακτήρια το μετάγραφο RNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα ως mRNA, ενώ στους ευκαρυώτες πρώτα πρέπει να υποστεί επεξεργασία.

Μεταγραφή

- Αναγνώριση TATA box (στη μη μεταγραφόμενη αλυσίδα) στον υποκινητή από μεταγραφικούς παράγοντες
- Σύνδεση RNApol II
- Σύνδεση μεταγραφικών παραγόντων και αποδιάταξη αλυσίδων
- Η RNApol ξετυλίγει τις αλυσίδες και ταυτόχρονα προσθέτει νουκλεοτίδια
- Τερματισμός
 - Προκαρυώτες: Αλληλουχία λήξης της μεταγραφής και αποκόλληση RNApol και RNA
 - Ευκαρυώτες: μεταγραφή συγκεκριμένης περιοχής → σήμα πολυαδενυλίωσης (AAUAAA) → πρόσδεση συγκεκριμένων πρωτεϊνών και απελευθέρωση πρώιμου mRNA.



▲ **Εικόνα 17.8 Έναρξη μεταγραφής από τον υποκινητή ενός ευκαρυωτικού κυττάρου.** Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, προκειμένου η πολυμεράση II του RNA να ξεκινήσει τη μεταγραφή, είναι απαραίτητη η διαμεσολαβητική παρουσία πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες.

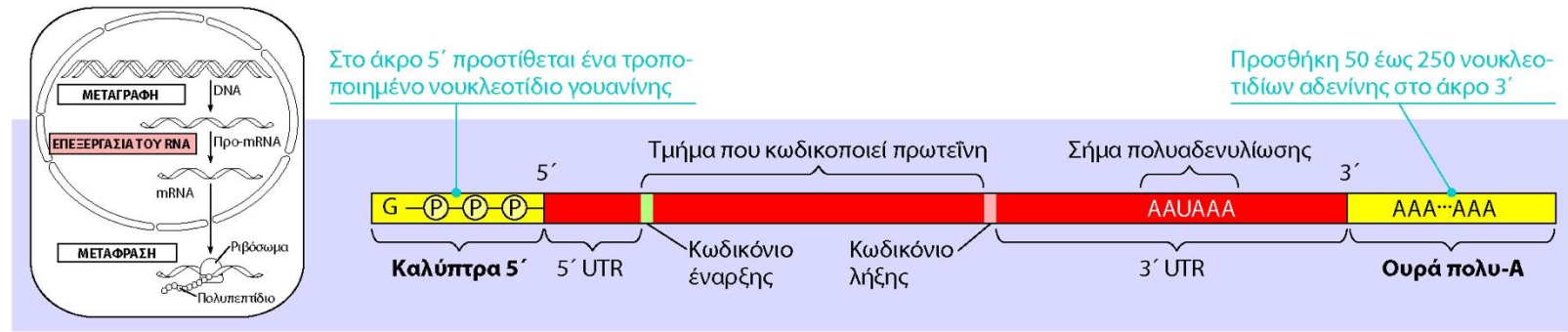
! Εξηγήστε ποιες διαφορές θα παρουσίαζε η αλληλεπίδραση της πολυμεράσης του RNA με τον υποκινητή αν η εικόνα έδειχνε την έναρξη της μεταγραφής στα βακτήρια.

Μεταγραφή-επεξεργασία Του RNA

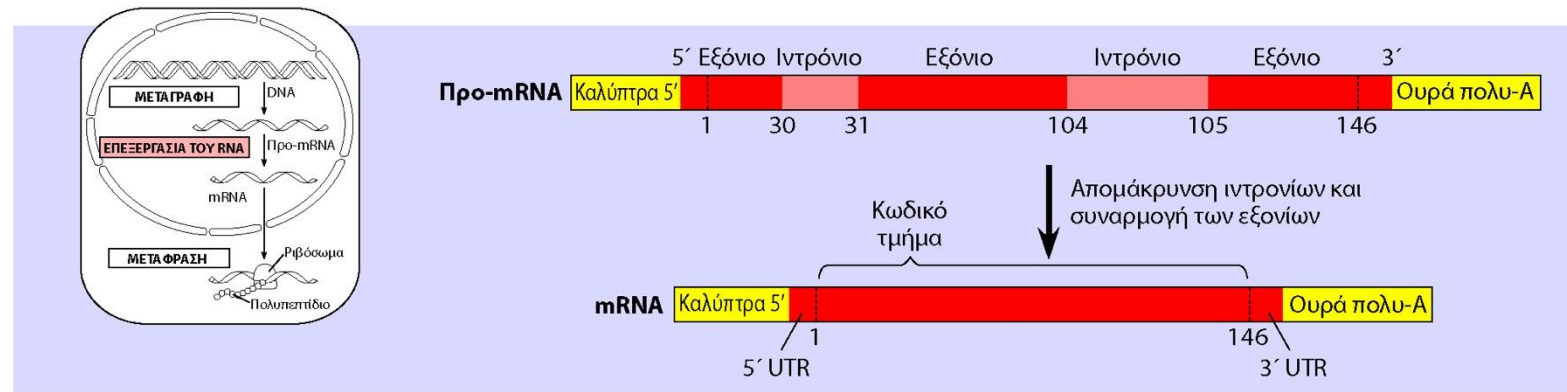
- 5' κάλυπτρο από τροποποιημένο dGTP
- 3' άκρο → προσθήκη 50-200 dATPs
- Διευκόλυνση εξόδου από τον πυρήνα
- Προστασία από την υδρόλυση
- Διευκόλυνση πρόσδεσης του 5' άκρου με το ριβόσωμα

Συναρμογή του RNA

- Εξώνια: κωδικά τμήματα
- Εσώνια: μη κωδικά τμήματα
- Σωματίο συναρμογής (spliceosome): σύμπλοκο πρωτεϊνών και μικρών κομματιών RNA → αναγνώριση και πρόσδεση με μικρές αλληλουχίες RNA στο εσώνιο → συμμετοχή στην αναγνώριση και το κόψιμο → ενζυμική δράση του RNA (ριβόζυμα)

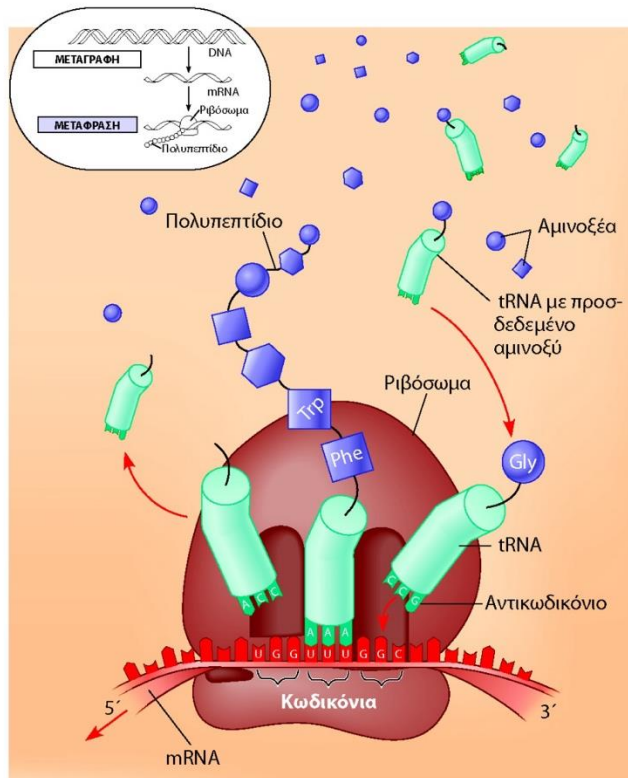


▲ **Εικόνα 17.9 Επεξεργασία του RNA: προσθήκη καλύπτρας 5' και ουράς πολυ-A.** Στους ευκαρυώτες, ειδικά ένζυμα τροποποιούν τα δύο άκρα του μορίου του προ-mRNA. Τα τροποποιημένα άκρα ενδέχεται να διευκολύνουν την έξοδο του mRNA από τον πυρήνα και να προστατεύουν το RNA από την αποικοδόμηση. Όταν το mRNA φθάσει στο κυτταρόπλασμα, τα τροποποιημένα άκρα διευκολύνουν, σε συνδυασμό με ορισμένες κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες, την πρόσδεση των ριβοσωμάτων. Η καλύπτρα 5', η ουρά πολυ-A και οι περιοχές 5' UTR και 3' UTR δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες.

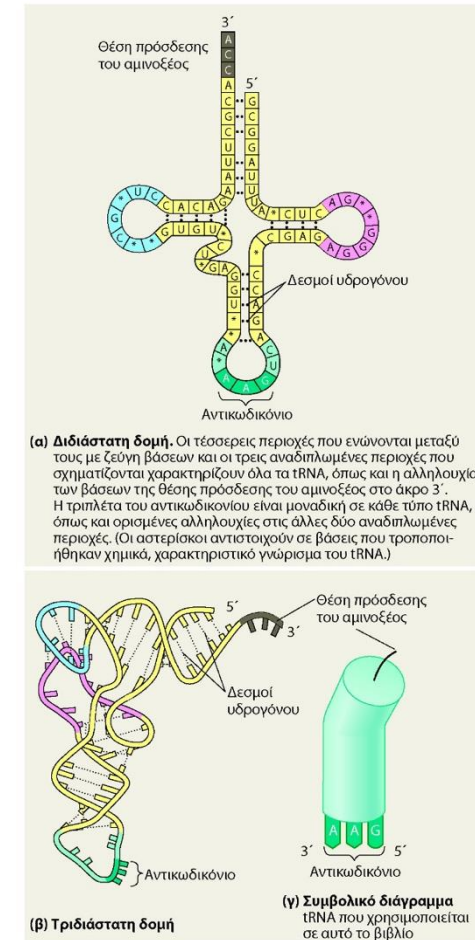


▲ **Εικόνα 17.10 Επεξεργασία του RNA: συναρμογή του RNA.** Το μόριο RNA που βλέπουμε κωδικοποιεί τη σφαιρίνη β, ένα από τα πολυπεπτιδία της αιμοσφαιρίνης. Οι αριθμοί κάτω από το διάγραμμα του RNA αναφέρονται στα κωδικόνια. Η σφαιρίνη β έχει μήκος 146 αμινοξέα. Τόσο το γονίδιο της σφαιρίνης β όσο και το αντίστοιχο πρωτογενές μετάγραφο (προ-mRNA) έχουν τρία εξόνια, τα οποία αντιστοιχούν στις αλληλουχίες που τελικά θα εξέλθουν από τον πυρήνα ως mRNA. (Οι περιοχές 5' UTR και 3' UTR αποτελούν συστατικά μέρη των εξονίων, δεδομένου ότι συμπεριλαμβάνονται στην αλληλουχία του mRNA, αλλά στην πραγματικότητα δεν κωδικοποιούν κάποιο πρωτεϊνικό τμήμα και επομένως δεν μεταφράζονται.) Κατά την επεξεργασία του RNA, τα ιντρόνια αποκόπτονται και τα εξόνια συναρμολογούνται μεταξύ τους. Σε πολλά γονίδια, τα ιντρόνια έχουν πολύ μεγαλύτερο μήκος συγκριτικά με τα εξόνια που βλέπουμε εδώ για το γονίδιο της σφαιρίνης β. (Το μήκος των ιντρονίων της εικόνας δεν έχει σχεδιαστεί υπό κλίμακα.)

Μετάφραση

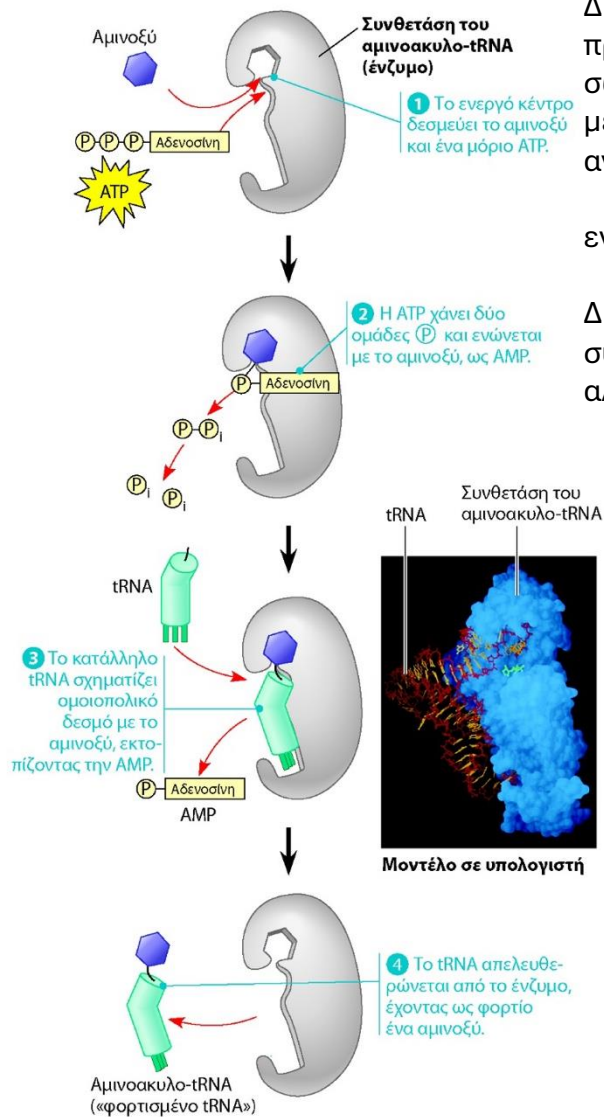


▲ **Εικόνα 17.13 Μετάφραση: η βασική ιδέα.** Καθώς ένα μόριο mRNA κινείται διαμέσου του ριβοσώματος, τα κωδικόνια μεταφράζονται το ένα μετά το άλλο προς αμινοξέα. Τα μόρια-μεταφραστές σε αυτή τη διεργασία είναι τα μόρια tRNA, που το καθένα φέρει ένα συγκεκριμένο αντικωδικόνιο στο ένα του άκρο και το αντίστοιχο αμινοξύ στο άλλο. Κάθε φορά που το αντικωδικόνιο ενός tRNA σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με το συμπληρωματικό κωδικόνιο του mRNA, το αμινοξύ που φέρει το tRNA προστίθεται στην αυξανόμενη αλυσίδα αμινοξέων του πολυπεπτιδίου. Στην εικόνα βλέπουμε ορισμένες λεπτομέρειες της μετάφρασης στο βακτηριακό κύτταρο.



▲ **Εικόνα 17.14 Δομή του μεταφορικού RNA (tRNA).** Κατά σύμβαση, τα αντικωδικόνια γράφονται με κατεύθυνση 3'→5', ώστε να στοιχίζονται σωστά με τα κωδικόνια, που γράφονται με κατεύθυνση 5'→3' (βλ. Εικόνα 17.13). Για να μπορούν να ζευγαρώσουν οι βάσεις του κωδικονίου στην αλυσίδα του mRNA με τις συμπληρωματικές βάσεις του αντικωδικονίου στην αλυσίδα του tRNA, οι δύο αλυσίδες RNA θα πρέπει να είναι μεταξύ τους αντιπαράλληλες, όπως και οι αλυσίδες του DNA. Λόγου χάρη, το αντικωδικόνιο 3'-AAG-5' στο μόριο του tRNA ζευγαρώνει με το κωδικόνιο 5'-UUC-3' του mRNA.

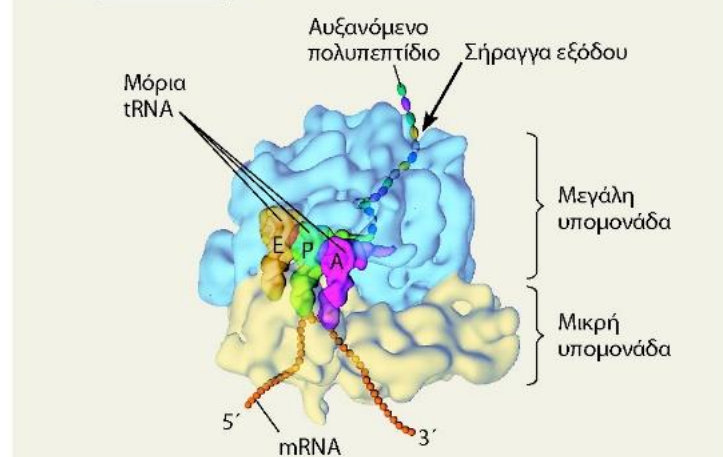
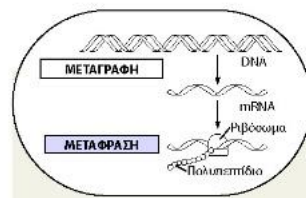
Μετάφραση



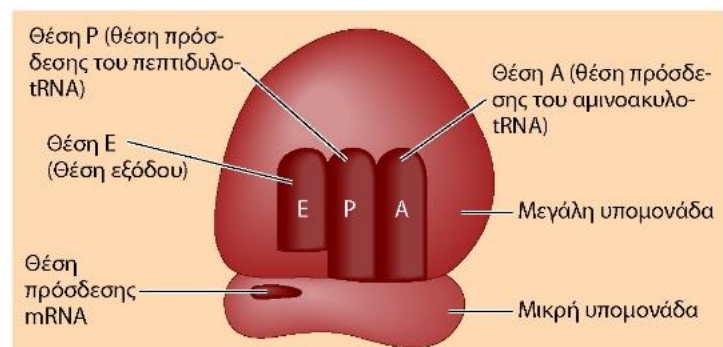
Διάσφαλιση της πρόσδεσης του σωστού α/α στο tRNA με το αντίστοιχο αντικωδικόνιο

ενδόεργη αντίδραση

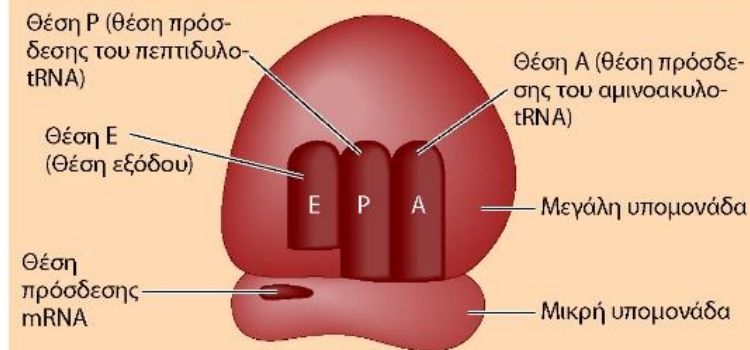
Διαφορετικές συνθετάσες για κάθε α/α



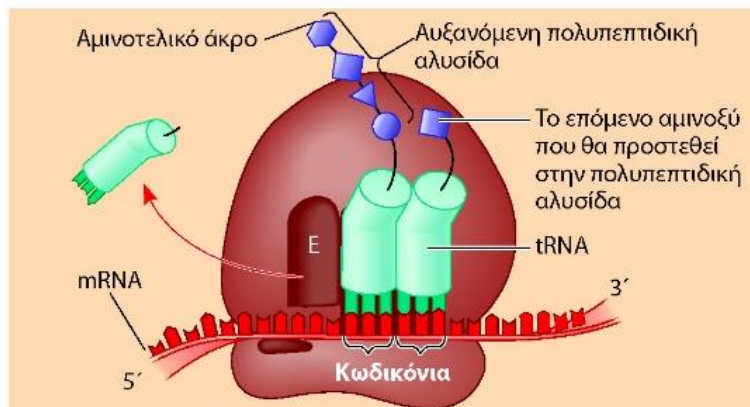
(α) **Υπολογιστικό μοντέλο ριβοσώματος σε λειτουργία.** Μοντέλο της τριδιάστατης δομής ριβοσώματος βακτηρίου. Το ριβόσωμα του ευκαρυωτικού κυττάρου είναι περίπου ίδιο. Μια υπομονάδα ριβοσώματος είναι ένα υπερμοριακό σύμπλοκο μορίων ριβοσωματικού RNA και πρωτεϊνών.



(β) **Σχηματικό διάγραμμα ριβοσώματος με τις θέσεις πρόσδεσης.** Το ριβόσωμα έχει μία θέση πρόσδεσης για το μόριο του mRNA και τρεις θέσεις πρόσδεσης για τα tRNA, γνωστές ως θέσεις A, P και E. Αυτή η διαγραμματική απεικόνιση του ριβοσώματος υπάρχει και σε άλλες εικόνες.



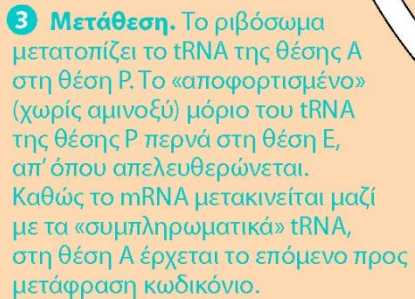
(β) **Σχηματικό διάγραμμα ριβοσώματος με τις θέσεις πρόσδεσης.** Το ριβόσωμα έχει μία θέση πρόσδεσης για το μόριο του mRNA και τρεις θέσεις πρόσδεσης για τα tRNA, γνωστές ως θέσεις A, P και E. Αυτή η διαγραμματική απεικόνιση του ριβοσώματος υπάρχει και σε άλλες εικόνες.



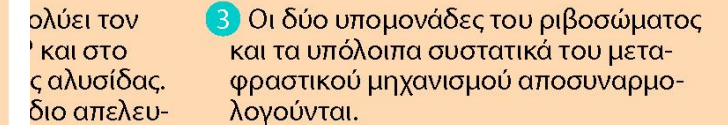
(γ) **Σχηματικό διάγραμμα ριβοσώματος με δεσμευμένα μόρια mRNA και tRNA.** Για να μπορέσει ένα μόριο tRNA να δεσμευθεί σε μια θέση πρόσδεσης, πρέπει το αντικωδικόνιό του να σχηματίζει ζεύγη βάσεων με κωδικόνιο του μορίου του mRNA. Στη θέση P, το tRNA διατηρείται προσδεσμένο στην αυξανόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα. Το tRNA που συγκρατείται στη θέση A είναι το tRNA με το αμινοξύ που θα προσδεθεί στην πολυπεπτιδική αλυσίδα αμέσως μετά. Το αποφορτισμένο tRNA εγκαταλείπει το ριβόσωμα από τη θέση E.

▲ **Εικόνα 17.16** Ανατομία λειτουργικού ριβοσώματος.

▲ **Εικόνα 17.15** Η συνθετάση του αμινοακυλο-tRNA ενώνει συγκεκριμένο αμινοξύ με ένα tRNA. Η ένωση του tRNA με το αμινοξύ είναι μια ενδόεργη διεργασία που καταναλώνει ATP. Το μόριο της ATP χάνει δύο φωσφορικές ομάδες και μετατρέπεται σε AMP (μονοφωσφορική αδενοσίνη).



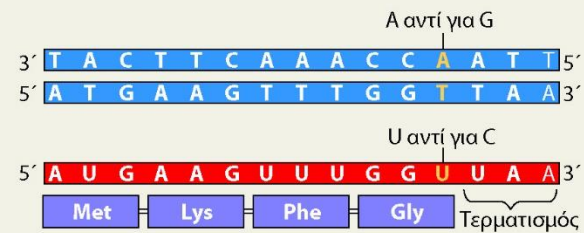
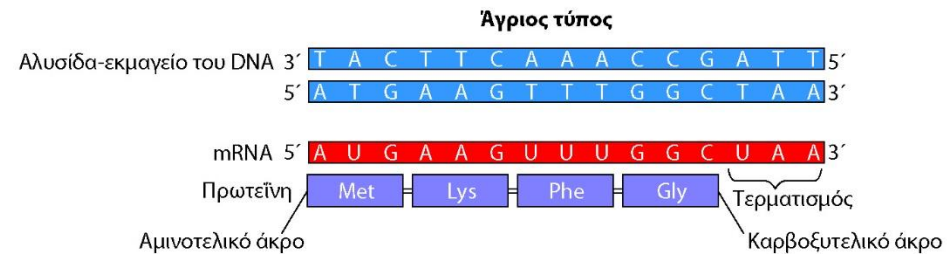
2 Σχηματισμός πεπτιδικού δεσμού. Στη θέση P, ένα από τα μόρια tRNA της μεγάλης υπομονάδας του ριβοσώματος καταλύει τον σχηματισμό πεπτιδικού δεσμού ανάμεσα στο νέο αμινοξύ της θέσης A και στο καρβοξυτελικό άκρο του αυξανόμενου πολυπεπτιδίου.



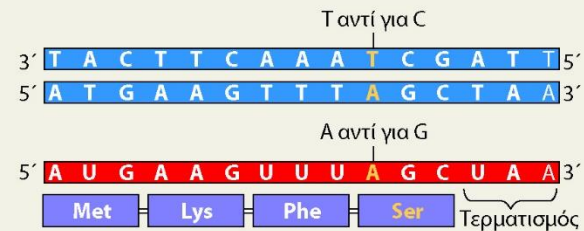
αιτούνται, όπως και στο στάδιο της επιμήκυνσης,

Πρώτη βάση στο mRNA (άκρο 5' του κωδικονίου)		Δεύτερη βάση στο mRNA				Τρίτη βάση στο mRNA (άκρο 3' του κωδικονίου)
		U	C	A	G	
U	UUU	Phe	UCU	UAU	UGU	U
	UUC		UCC	UAC	UGC	C
	UUA	Leu	UCA	UAA	UGA	A
	UUG		UCG	UAG	UGG	G
C	CUU	Leu	CCU	CAU	CGU	U
	CUC		CCC	CAC	CGC	C
	CUA	Pro	CCA	CAA	CGA	A
	CUG		CCG	CAG	CGG	G
A	AUU	Ile	ACU	AAU	AGU	U
	AUC		ACC	AAC	AGC	C
	AUA	Thr	ACA	AAA	AGA	A
	AUG		ACG	AAG	AGG	G
G	GUU	Val	GCU	GAU	GGU	U
	GUC		GCC	GAC	GGC	C
	GUA	Ala	GCA	GAA	GGA	A
	GUG		GCG	GAG	GGG	G

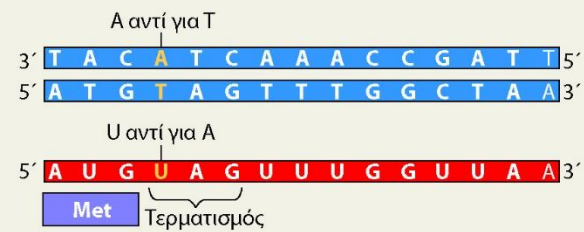
▲ **Εικόνα 17.5 Το λεξικό του γενετικού κώδικα.** Οι τρεις βάσεις ενός κωδικονίου mRNA περιγράφονται εδώ ως πρώτη, δεύτερη και τρίτη βάση και διαβάζονται με κατεύθυνση 5' → 3' κατά μήκος του mRNA. (Για να εξασκηθείτε στη χρήση του λεξικού, βρείτε τα κωδικόνια που καθορίζουν τα αμινοξέα της Εικόνας 17.4.) Το κωδικόνιο AUG έχει διπλή λειτουργία: αφενός αντιστοιχεί στο αμινοξύ μεθειονίνη (Met) και αφετέρου λειτουργεί ως σήμα «έναρξης», επιτρέποντας στα ριβοσώματα να ξεκινήσουν από αυτό το σημείο τη μετάφραση ενός μορίου mRNA. Τρία από τα 64 κωδικόνια λειτουργούν ως σήματα «λήξης» με τα οποία σηματοδοτείται το τέλος ενός γενετικού μηνύματος. (Δείτε στην Εικόνα 5.17 τον κατάλογο με τους συνδυασμούς τριών γραμμάτων που χρησιμοποιούνται για τη συντομογραφία των αμινοξέων)



Σιωπηρή μετάλλαξη (καμιά επίδραση στην ακολουθία των αμινοξέων)

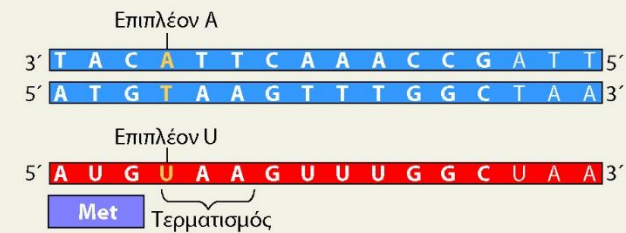


Παρανοηματική μετάλλαξη

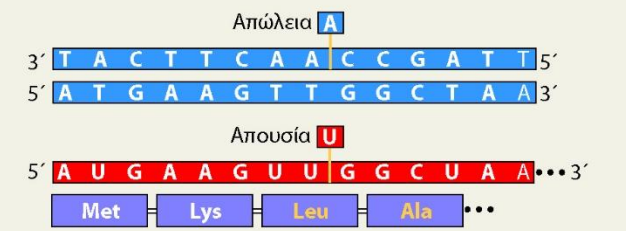


Μη νοηματική μετάλλαξη

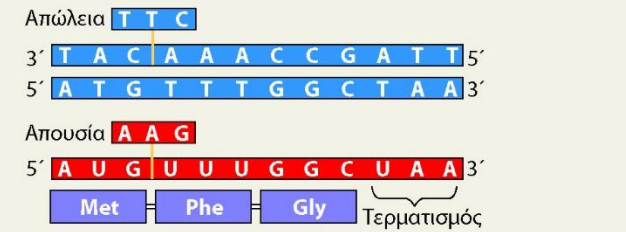
(α) Αντικατάσταση ζεύγους βάσεων



Μετατόπιση πλαισίου που προκαλεί αμέσως μη νοηματική μετάλλαξη (ένθεση 1 ζεύγους βάσεων)



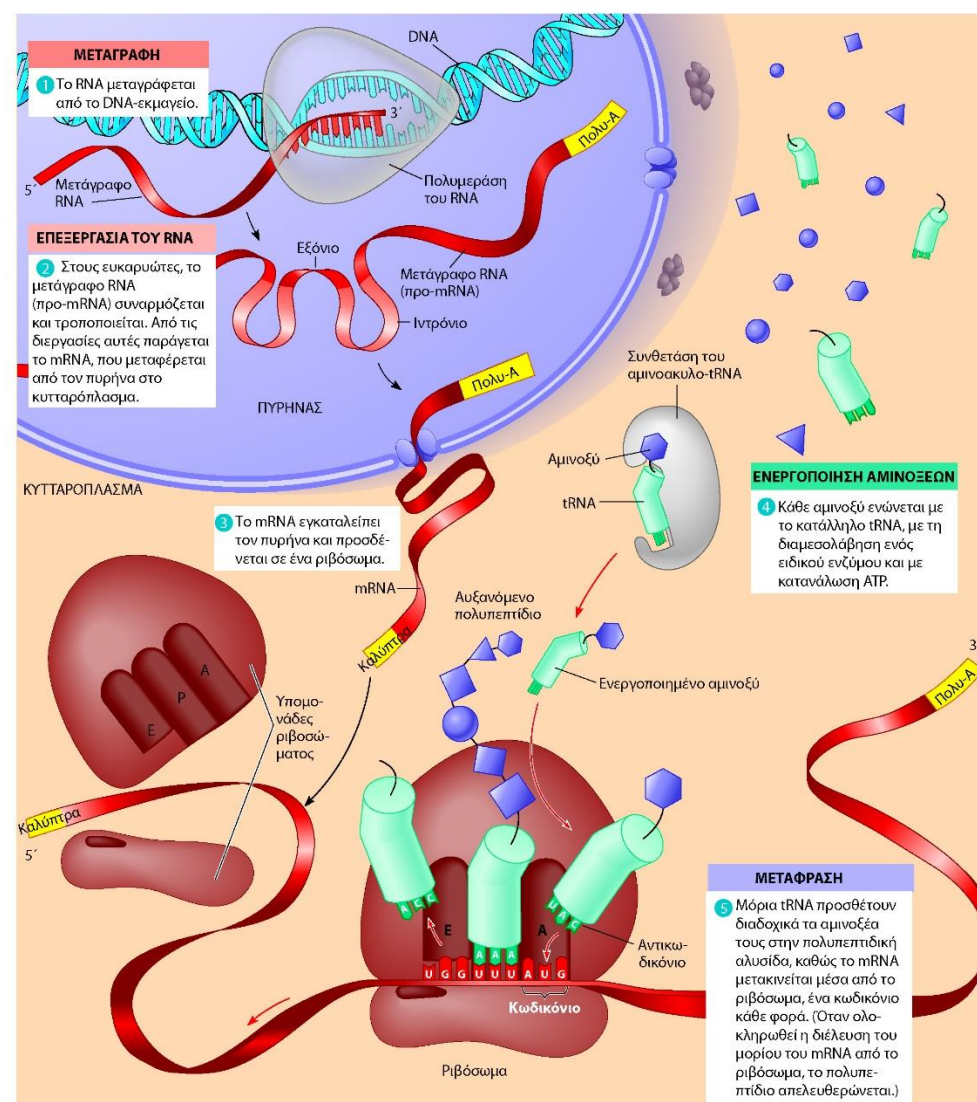
Μετατόπιση πλαισίου που προκαλεί πλήθος παρανοηματικών μεταλλάξεων (έλλειμμα 1 ζεύγους βάσεων)



Το αναγνωστικό πλαίσιο δεν μετατοπίζεται, αλλά απουσιάζει 1 αμινοξύ (έλλειμμα 3 ζευγών βάσεων). Αν συνέβαινε ένθεση 3 ζευγών βάσεων (δεν παρουσιάζεται), θα υπήρχε ένα επιπλέον αμινοξύ.

(β) Ένθεση ή έλλειμμα ζεύγους βάσεων

▲ **Εικόνα 17.23 Τύποι σημειακών μεταλλάξεων.** Οι μεταλλάξεις είναι αλλαγές στο μόριο του DNA που οδηγούν σε αλλαγές στο μόριο του mRNA.



▲ **Εικόνα 17.25** Συνοπτικό διάγραμμα της μεταγραφής και της μετάφρασης σε ευκαρυωτικό κύτταρο. Το διάγραμμα παρουσιάζει τα στάδια που οδηγούν από ένα γονίδιο σε ένα πολυπεπτίδιο. Πρέπει να έχουμε κατά νου ότι κάθε γονίδιο στο DNA μπορεί να μεταγραφεί επανειλημμένα σε πολλά πανομοιότυπα μόρια RNA και ότι κάθε mRNA μπορεί να μεταφραστεί επανειλημμένα σε πολλά πανομοιότυπα μόρια πολυπεπτιδίου. (Επίσης, δεν πρέπει να ξεχνάμε ότι τα τελικά προϊόντα ορισμένων γονιδίων δεν είναι πολυπεπτίδια αλλά μόρια RNA, όπως το tRNA και το rRNA.) Εν γένει, τα βήματα της μεταγραφής και της μετάφρασης είναι ίδια στα κύτταρα των βακτηρίων, των αρχαίων και των ευκαρύων. Η κύρια διαφορά στις τρεις επικράτειες αφορά την επεξεργασία του RNA που επιτελείται στον πυρήνα των ευκαρυωτών. Άλλες σημαντικές διαφορές υπάρχουν επίσης στο στάδιο της έναρξης της μεταγραφής και της έναρξης της μετάφρασης, καθώς και στον τερματισμό της μεταγραφής.

1. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η μεταφράση δεν μπορεί να ξεκινήσει μέχρι
Α. Οι δύο αλυσίδες του DNA να έχουν διαχωριστεί εντελώς και να έχει εκτεθεί ο υποκινητής
Β. αρκετοί παράγοντες μεταγραφής να έχουν συνδεθεί στον υποκινητή
Γ. Το 5' κάλυπτρο να έχει απομακρυνθεί από το mRNA
Δ. τα εσώνια να έχουν απομακρυνθεί από το DNA

2. Τι από τα παρακάτω ισχύει για ένα κωδικόνιο;
Α. Δεν κωδικοποιεί ποτέ το ίδιο αμινοξύ με ένα άλλο κωδικόνιο
Β. Μπορεί να κωδικοποιεί περισσότερα από ένα αμινοξέα
Γ. Μπορεί να βρίσκεται στο DNA ή στο RNA
Δ. Είναι το βασικό δομικό στοιχείο των πρωτεϊνών

3. Το αντικωδικόνιο ενός συγκεκριμένου tRNA είναι
Α. Συμπληρωματικό του αντίστοιχου κωδικονίου του mRNA
Β. Συμπληρωματικό της αντίστοιχης τριπλέτας του rRNA
Γ. Το τμήμα του tRNA που ενώνεται με συγκεκριμένο αμινοξύ
Δ. καταλυτικό, και καθιστά το tRNA ριβόζυμο

4. Ποιο από τα παρακάτω ισχύει για την επεξεργασία του RNA;
Α. Τα εξώνια απομακρύνονται πριν το mRNA εγκαταλείψει τον πυρήνα
Β. Προστίθενται νουκλεοτίδια και στα δύο άκρα του RNA.
Γ. Τα ριβόζυμα λειτουργούν στην προσθήκη του 5' κάλυπτρου
Δ. Η συναρμογή του RNA προσθέτει πολυαδενυλιωμένη ουρά στο RNA.

5. Ποιο από τα παρακάτω είναι άμεσα συνδεδεμένο με τη μετάφραση;
Α. RNA πολυμεράση
Β. ριβόσωμα
Γ. Σωματίο συναρμογής
Δ. DNA