



ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Μάθημα 1^ο

Αντιγόνη Κουσκούτη

Μοριακός Βιολόγος, Ph.D.



Με την επιτυχή ολοκλήρωση του μαθήματος θα πρέπει να είστε σε θέση να:

- ▶ γνωρίζετε τα βασικά μακρομόρια και τις αλληλεπιδράσεις που έχουν μεταξύ τους,
- ▶ περιγράφετε τους βασικούς μοριακούς μηχανισμούς της αντιγραφής του DNA, της μεταγραφής, της μετάφρασης και της επιδιόρθωσης του DNA, τη ρύθμισή τους και τις διαφορές τους στο προκαρυωτικό και το ευκαρυωτικό κύτταρο,
- ▶ αντιλαμβάνεστε τον ρόλο των πρωτεϊνών και των νουκλεϊκών οξέων βάσει της δομής και των ιδιοτήτων τους,
- ▶ αναφέρετε διαφορές μεταξύ του προκαρυωτικού και του ευκαρυωτικού χρωμοσώματος,

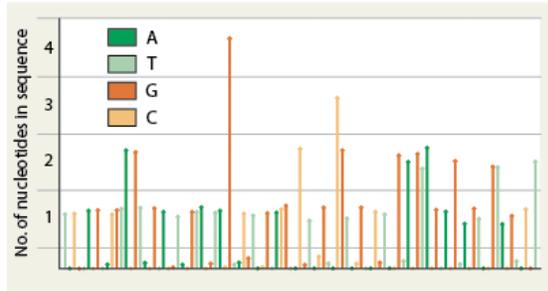


Με την επιτυχή ολοκλήρωση του μαθήματος θα πρέπει να είστε σε θέση να (2):

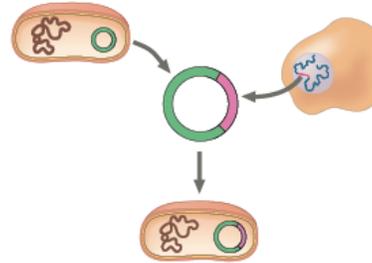
- ▶ κατανοείτε βασικούς κυτταρικούς μηχανισμούς όπως η βιοσύνθεση σημαντικών υποκυτταρικών οργανιδίων, η επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων, τον ρόλο της εξωκυττάριας μήτρας κτλ.,
- ▶ κατανοείτε τις βασικές αρχές και έννοιες της Μεντελικής, πληθυσμιακής και ποσοτικής γενετικής,
- ▶ εφαρμόζετε βασικές πειραματικές μεθόδους ώστε να απαντάτε σε ερωτήματα που άπτονται της μοριακής και της γενετικής,
- ▶ αντιλαμβάνεστε την εφαρμογή της μοριακής και της γενετικής στην Επιστήμη και Τεχνολογία Τροφίμων και στην Επιστήμη Διατροφής και Διαιτολογίας.

ΤΕΧΝΙΚΕΣ

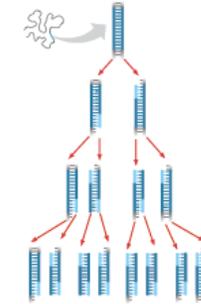
Αλληλούχηση DNA



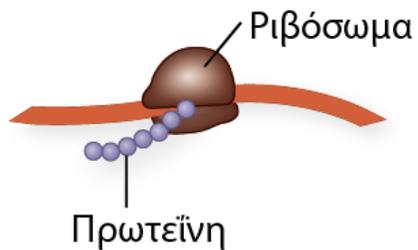
Κλωνοποίηση γονιδίων



Πολλαπλασιασμός με PCR

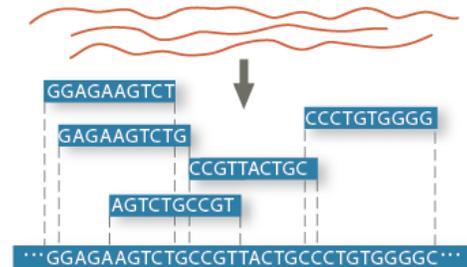


Έκφραση γονιδίων



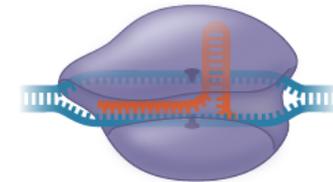
Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης

Αλληλούχηση RNA



Επεξεργασία γονιδίων

CRISPR-Cas9



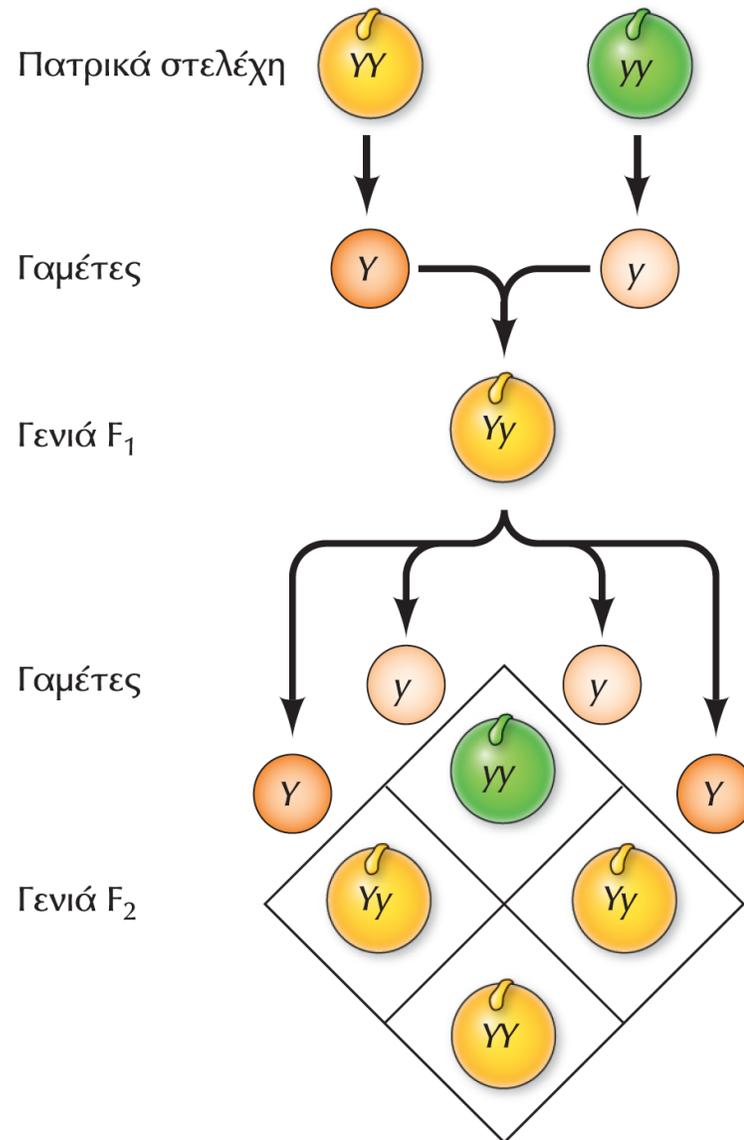


Ιστορικές ανακαλύψεις



Μέντελ

Κληρονομικότητα επικρατών και υποτελών γονιδίων

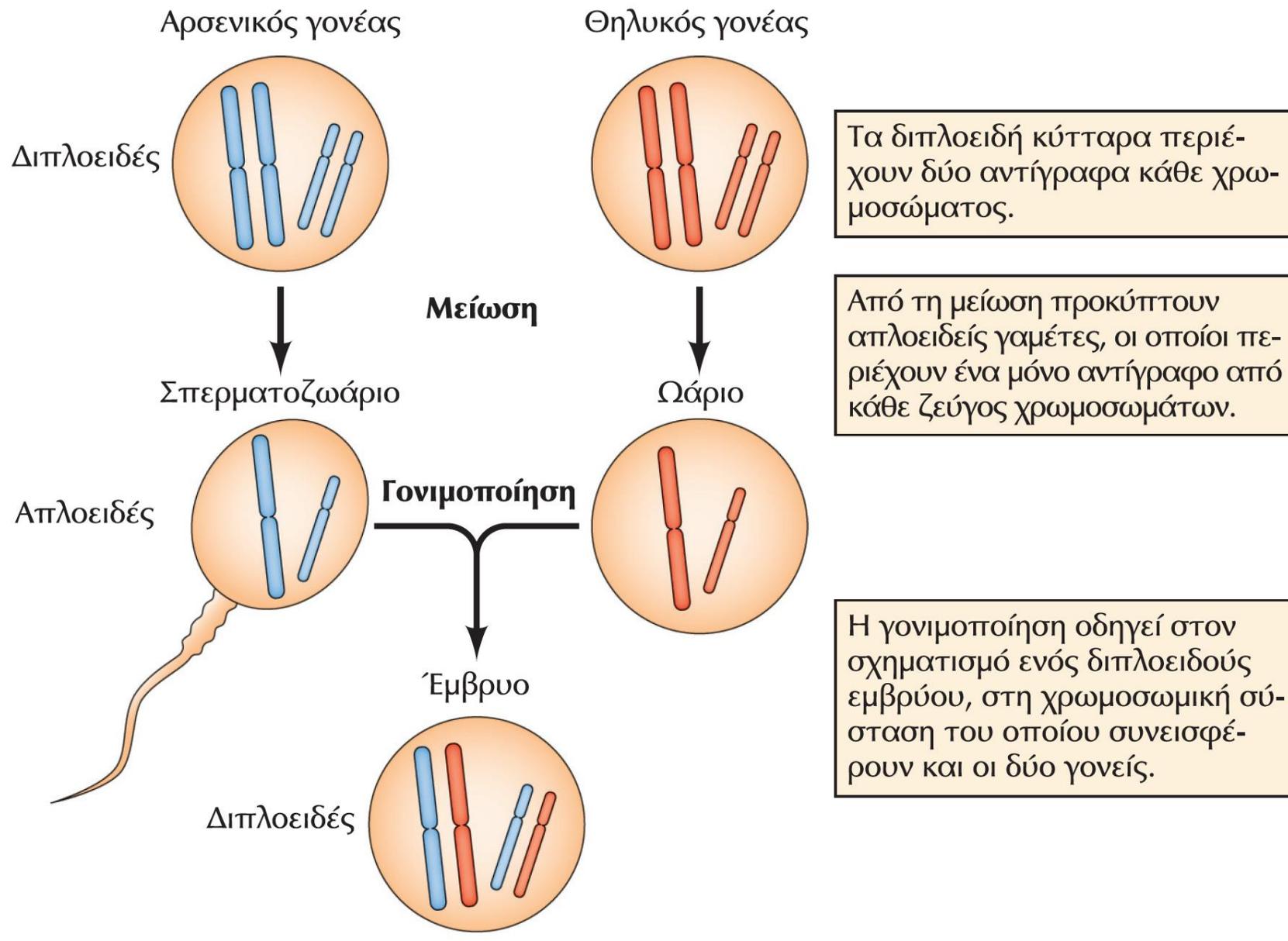


Καθένα από τα δύο πατρικά στελέχη μπιζελιού φέρει δύο αντίγραφα (αλληλόμορφα) του γονιδίου που καθορίζει είτε το κίτρινο (Y) είτε το πράσινο (y) χρώμα του σπόρου.

Οι γονείς παράγουν γαμετικά κύτταρα (γαμέτες), καθένα από τα οποία περιέχει ένα από τα δύο αλληλόμορφα. Οι απόγονοι της γενιάς F₁ προκύπτουν από τη σύντηξη δύο γαμετών.

Δεδομένου ότι το αλληλόμορφο Y είναι επικρατές, όλα τα φυτά της F₁ έχουν κίτρινους σπόρους.

Από τη διασταύρωση δύο φυτών της γενιάς F₁ προκύπτει η γενιά F₂, στην οποία εμφανίζεται η χαρακτηριστική αναλογία 3:1 ανάμεσα στον επικρατή (κίτρινο) και τον υποτελή (πράσινο) φαινότυπο.

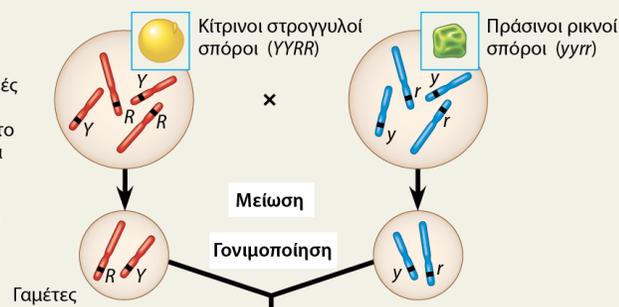


Τα χρωμοσώματα κατά τη μείωση και τη γονιμοποίηση.
 Απεικονίζονται δύο ζεύγη χρωμοσωμάτων ενός υποθετικού οργανισμού.

Χρωμοσωματική βάση των νόμων του Μέντελ

Γενιά P

Ξεκινώντας με δύο αμιγή φυτά μπιζελιού, θα ακολουθήσουμε δύο γονίδια στις γενεές F₁ και F₂. Τα δύο γονίδια καθορίζουν το χρώμα του σπόρου (αλληλόμορφο Y για το κίτρινο και y για το πράσινο) και το σχήμα του σπόρου (αλληλόμορφο R για το στρογγυλό και r για το ρικνό). Τα δύο γονίδια βρίσκονται σε διαφορετικά ζεύγη χρωμοσωμάτων. (Το μπιζέλι έχει επτά ζεύγη χρωμοσωμάτων, εδώ όμως απεικονίζονται μόνο δύο.)



Γενιά F₁

Όλα τα φυτά της γενεάς F₁ παράγουν κίτρινους στρογγυλούς σπόρους (YyRr).

ΝΟΜΟΣ ΤΟΥ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ

Κατά τον σχηματισμό των γαμετών, τα δύο αλληλόμορφα κάθε γονιδίου διαχωρίζονται. Παρακολουθείστε π.χ. την πορεία του ζεύγους των μεγάλων χρωμοσωμάτων (με τα R και r). Διαβάστε τις αριθμημένες εξηγήσεις παρακάτω.

1 Τα αλληλόμορφα R και r διαχωρίζονται κατά την ανάφαση I, δίνοντας δύο τύπους θυγατρικών κυττάρων ως προς το συγκεκριμένο γονίδιο.

2 Κάθε γαμέτης λαμβάνει ένα μεγάλο χρωμόσωμα που περιέχει είτε το αλληλόμορφο R είτε το αλληλόμορφο r.

Γενιά F₂

3 Η γονιμοποίηση ανασυνδυάζει τυχαία τα αλληλόμορφα R και r.

ΝΟΜΟΣ ΤΟΥ ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΟΥ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ

Τα αλληλόμορφα των γονιδίων που βρίσκονται σε μη ομόλογα χρωμοσώματα συνδυάζονται ανεξάρτητα κατά τον σχηματισμό των γαμετών. Παρακολουθείστε π.χ. τα ζεύγη των μεγάλων και των μικρών χρωμοσωμάτων στις δύο πορείες τους. Διαβάστε τις αριθμημένες εξηγήσεις παρακάτω.

1 Τα αλληλόμορφα κάθε γονιδίου διαχωρίζονται κατά την ανάφαση I, δίνοντας τέσσερις τύπους θυγατρικών κυττάρων, ανάλογα με τη διάταξη των χρωμοσωμάτων στη μετάφαση I. Συγκρίνετε τη διάταξη των αλληλόμορφων R και r με εκείνη των αλληλόμορφων Y και y κατά την ανάφαση I.

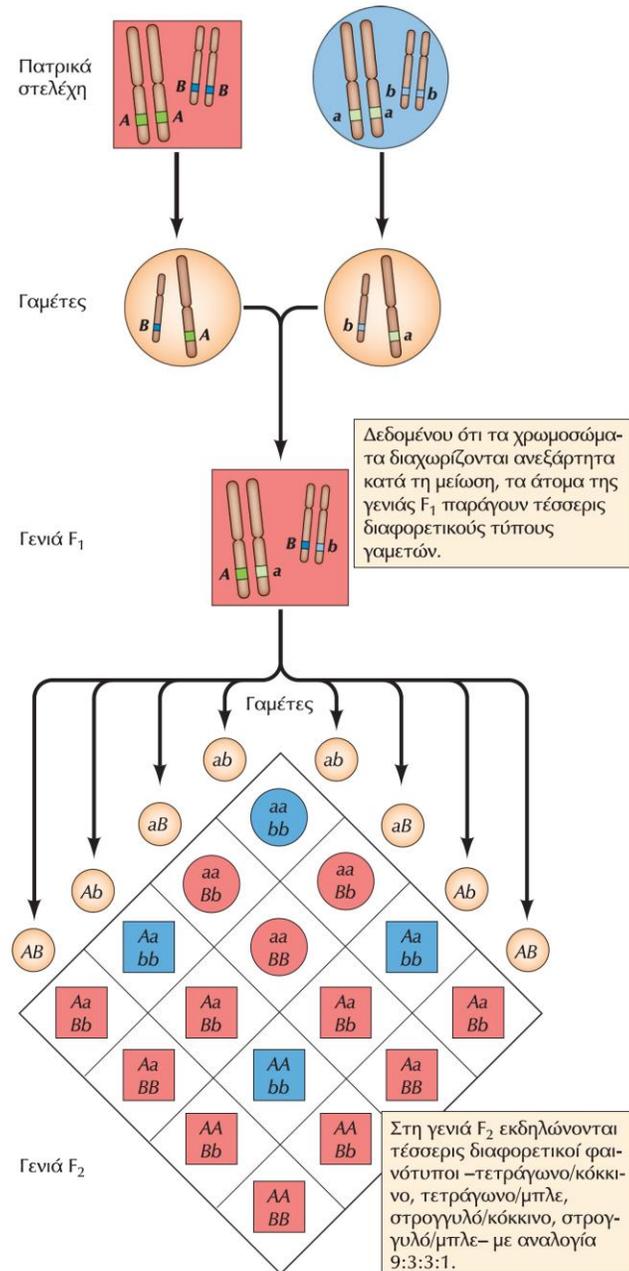
2 Κάθε γαμέτης λαμβάνει ένα μεγάλο και ένα μικρό χρωμόσωμα σε έναν από τους τέσσερις πιθανούς συνδυασμούς.

Διασταύρωση F₁ × F₁

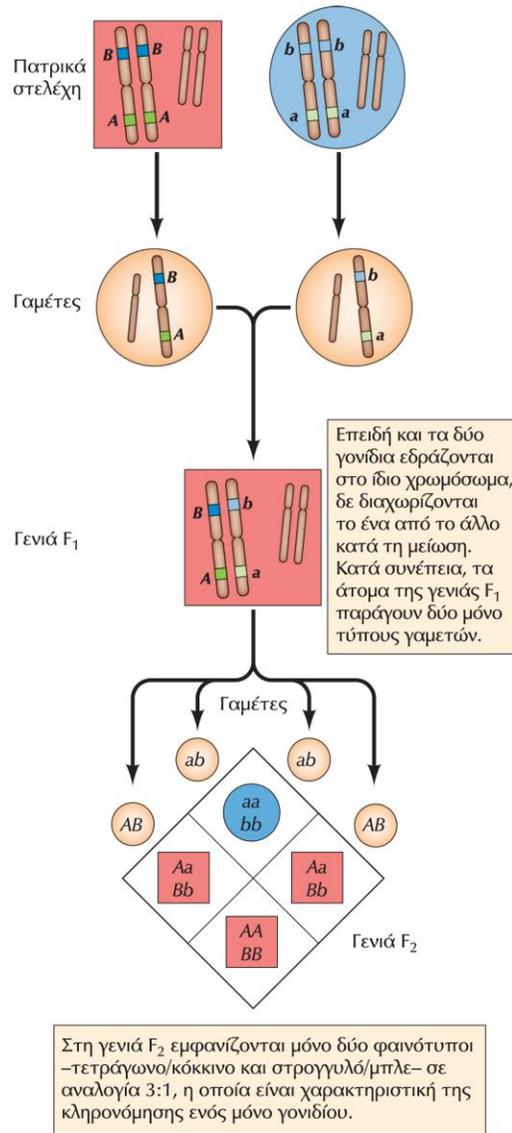
9 : 3 : 3 : 1

3 Η γονιμοποίηση δίνει τη φαινοτυπική αναλογία 9:3:3:1 στη γενιά F₂.

(Α) Διαχωρισμός δύο υποθετικών γονιδίων τα οποία εδράζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα (A/a = τετράγωνο σχήμα/στρογγυλό σχήμα και B/b = κόκκινο χρώμα/μπλε χρώμα)

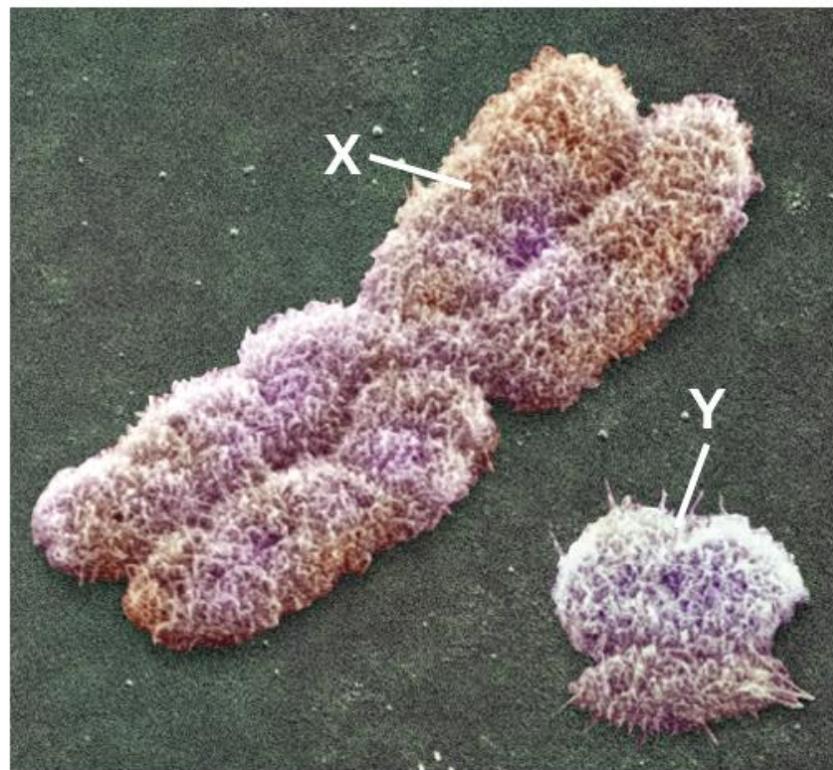


(Β) Μη διαχωρισμός (σύνδεση) δύο υποθετικών γονιδίων τα οποία εδράζονται στο ίδιο χρωμόσωμα.

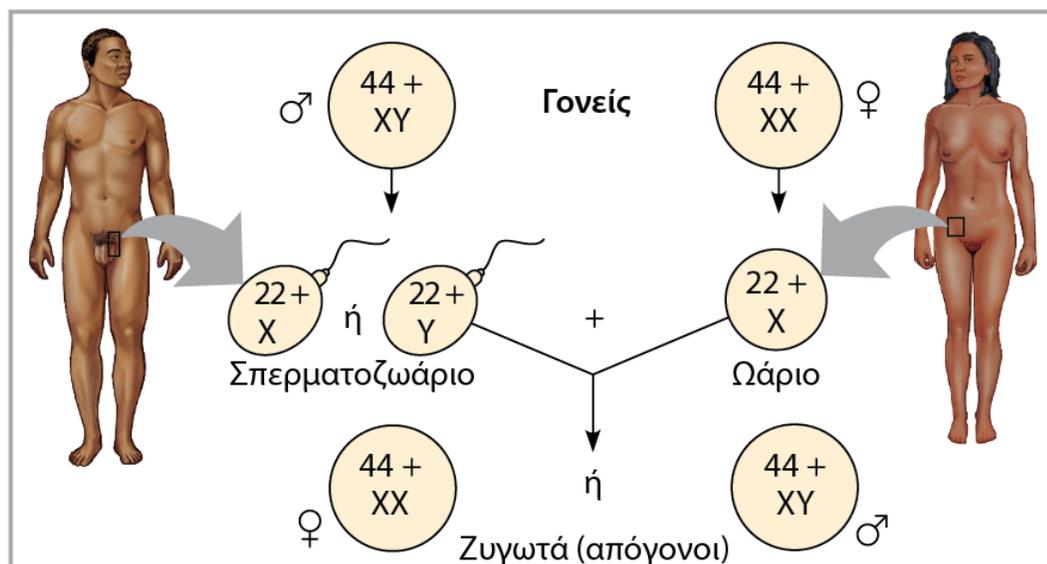


Διαχωρισμός γονιδίων και σύνδεση.

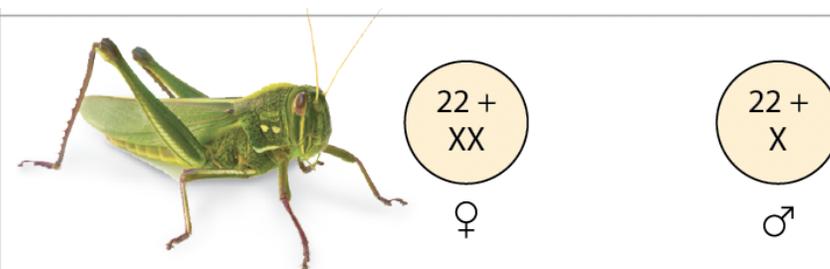
▼ **Εικόνα 15.5** Φυλετικά
χρωμοσώματα του ανθρώπου
(διπλασιασμένα).



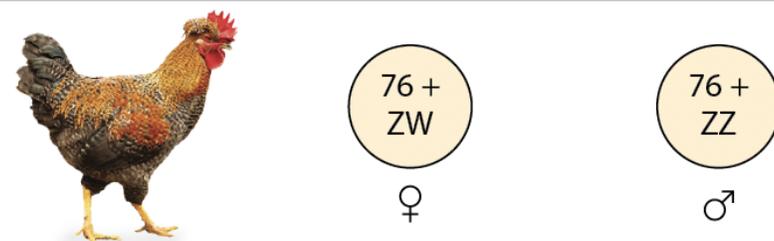
▼ **Εικόνα 15.6** Ορισμένα συστήματα χρωμοσωματικού καθορισμού του φύλου. Οι αριθμοί υποδεικνύουν τον αριθμό των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων του εικονιζόμενου είδους. Στην *Drosophila*, τα αρσενικά άτομα είναι XY· ωστόσο, το φύλο δεν εξαρτάται από την απλή παρουσία ενός χρωμοσώματος Y, αλλά από την αναλογία του αριθμού των χρωμοσωμάτων X προς τον αριθμό των σειρών των αυτοσωματικών χρωμοσωμάτων. Σε ορισμένα είδη (δεν απεικονίζονται εδώ), το φύλο δεν καθορίζεται από τα χρωμοσώματα, αλλά από περιβαλλοντικούς παράγοντες, π.χ. από τη θερμοκρασία.



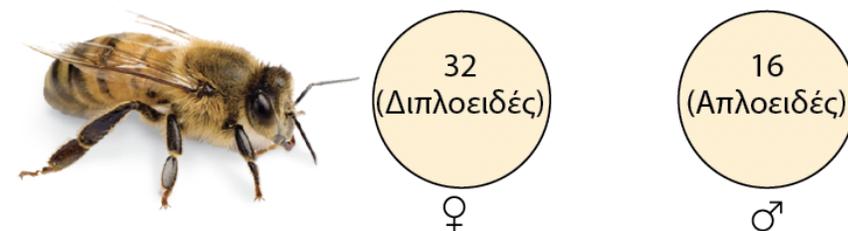
(α) Το σύστημα X-Y. Στα θηλαστικά το φύλο του απογόνου εξαρτάται από το εάν το σπέρμαζωάριο περιέχει ένα χρωμόσωμα X ή ένα χρωμόσωμα Y.



(β) Το σύστημα X-0. Στις ακρίδες, στις κατσαρίδες και σε ορισμένα άλλα έντομα υπάρχει μόνον ένας τύπος φυλετικού χρωμοσώματος, το X. Τα θηλυκά άτομα είναι XX, ενώ τα αρσενικά διαθέτουν μόνον ένα φυλετικό χρωμόσωμα (X0). Το φύλο των απογόνων καθορίζεται από το εάν το σπέρμαζωάριο περιέχει ένα χρωμόσωμα X ή δεν περιέχει κανένα φυλετικό χρωμόσωμα.



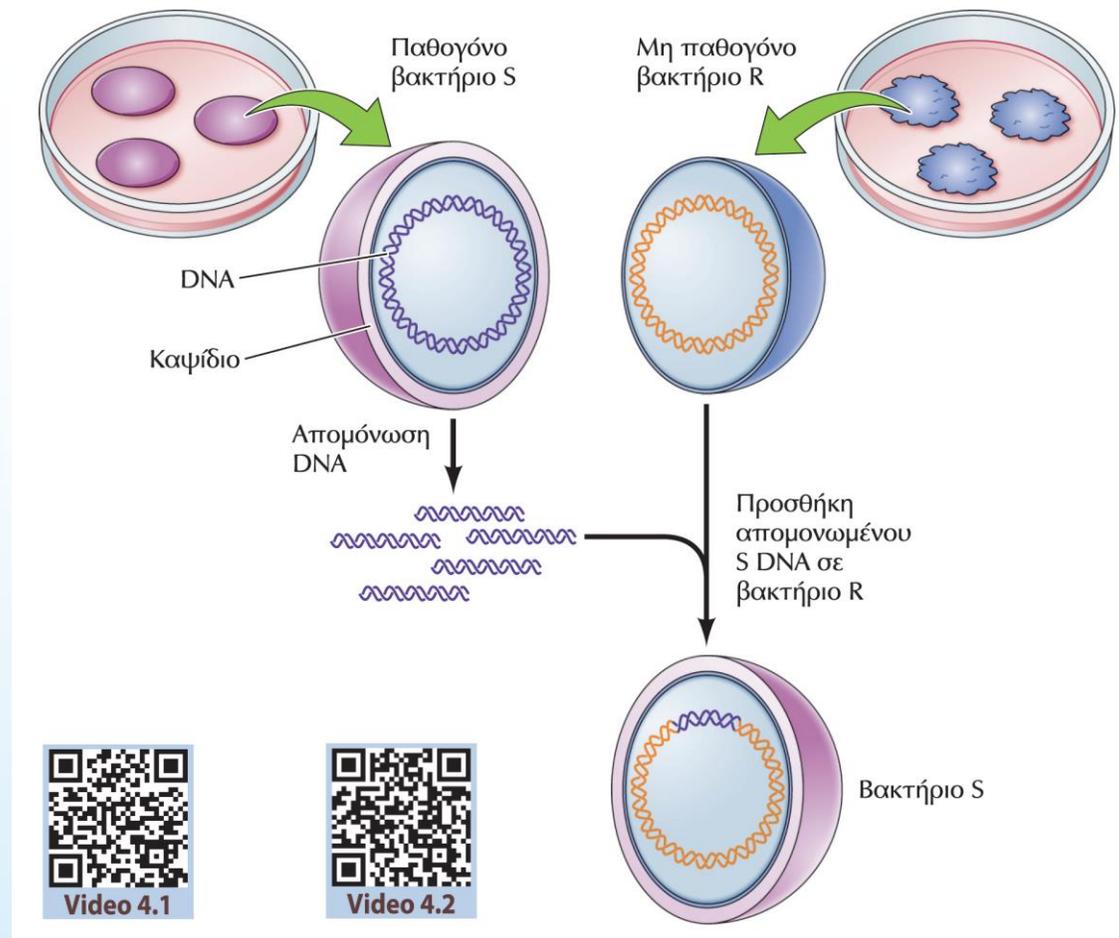
(γ) Το σύστημα Z-W. Στα πτηνά, σε ορισμένα ψάρια και σε κάποια έντομα το φύλο των απογόνων καθορίζεται από τα φυλετικά χρωμοσώματα που υπάρχουν στο ωάριο (όχι στο σπέρμαζωάριο). Τα φυλετικά χρωμοσώματα συμβολίζονται με Z και W. Τα θηλυκά άτομα είναι ZW, ενώ τα αρσενικά ZZ.



(δ) Το απλο-διπλοειδές σύστημα. Στα περισσότερα είδη μελισσών και μυρμηγκιών δεν υπάρχουν φυλετικά χρωμοσώματα. Τα θηλυκά άτομα αναπτύσσονται από γονιμοποιημένα ωάρια, επομένως είναι διπλοειδή. Τα αρσενικά αναπτύσσονται από μη γονιμοποιημένα ωάρια και είναι απλοειδή – δεν έχουν πατέρα.

A decorative graphic on the left side of the slide. It features a solid dark blue vertical bar on the far left. From the right edge of this bar, several thin, curved lines in various shades of blue (light blue, medium blue, and dark blue) extend upwards and outwards. A prominent, solid dark blue arrow points horizontally to the right, overlapping the curved lines.

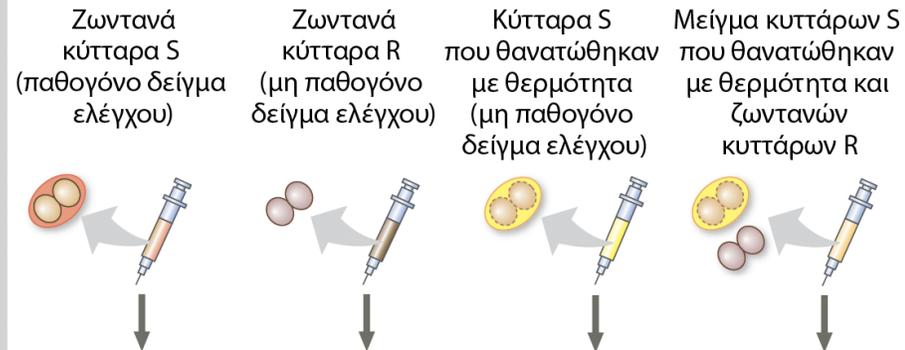
Οριζόντια μεταφορά γενετικού υλικού



Η μεταφορά της γενετικής πληροφορίας μέσω του DNA.

Απομονώθηκε DNA από το παθογόνο στέλεχος του πνευμονιόκοκκου (S), το οποίο περιβάλλεται από κάψα και σχηματίζει λείες αποικίες. Η προσθήκη αυτού του DNA σε μη παθογόνα βακτήρια (R) που στερούνται κάψας έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό βακτηριακών αποικιών τύπου S. Επομένως το DNA περιέχει τη γενετική πληροφορία που είναι υπεύθυνη για τον μετασχηματισμό των βακτηρίων τύπου R σε βακτήρια τύπου S.

Πείραμα Ο Frederick Griffith μελέτησε δύο στελέχη του βακτηρίου *Streptococcus pneumoniae*. Το στέλεχος S (από τη λέξη smooth, λείο) μπορεί να προκαλέσει πνευμονία στον ποντικό. Η παθογονικότητά του οφείλεται στο ότι τα κύτταρά του φέρουν μια κάψα, η οποία τα προστατεύει από το ανοσοποιητικό σύστημα του ζώου που προσβάλλουν. Τα κύτταρα του στελέχους R (από τη λέξη rough, αδρό) δεν διαθέτουν κάψα, επομένως δεν είναι παθογόνα. Για να διαπιστώσει την παθογονικότητα των δύο βακτηριακών στελεχών, ο Griffith έκανε ενέσεις με τα δύο στελέχη σε ποντικούς, σύμφωνα με το παρακάτω σχήμα:



Αποτελέσματα



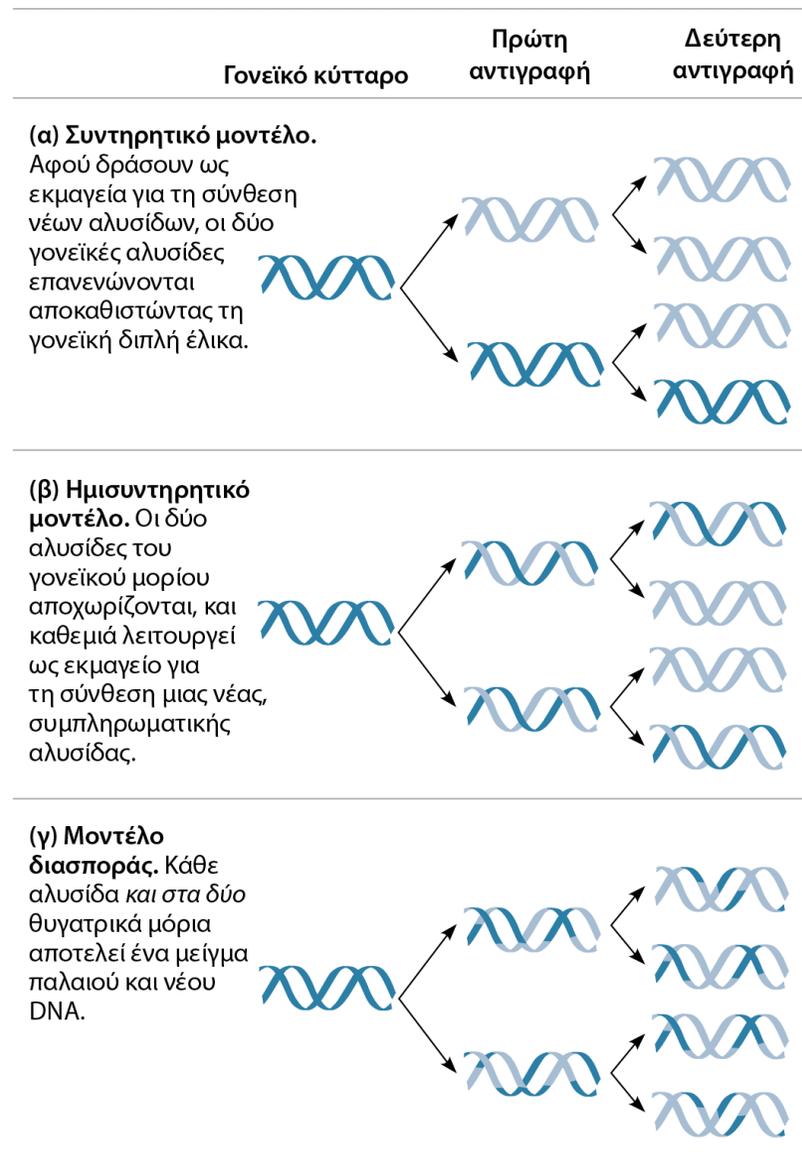
Συμπέρασμα Ο Griffith συμπέρανε ότι τα ζωντανά βακτήρια R μετασηματίστηκαν σε παθογόνα βακτήρια S εξαιτίας μιας άγνωστης, κληρονομήσιμης ουσίας των νεκρών κυττάρων S, η οποία επέτρεπε στα κύτταρα R να κατασκευάσουν κάψα.

Δεδομένα από: F. Griffith, The significance of pneumococcal types, *Journal of Hygiene* 27:113-159 (1928).

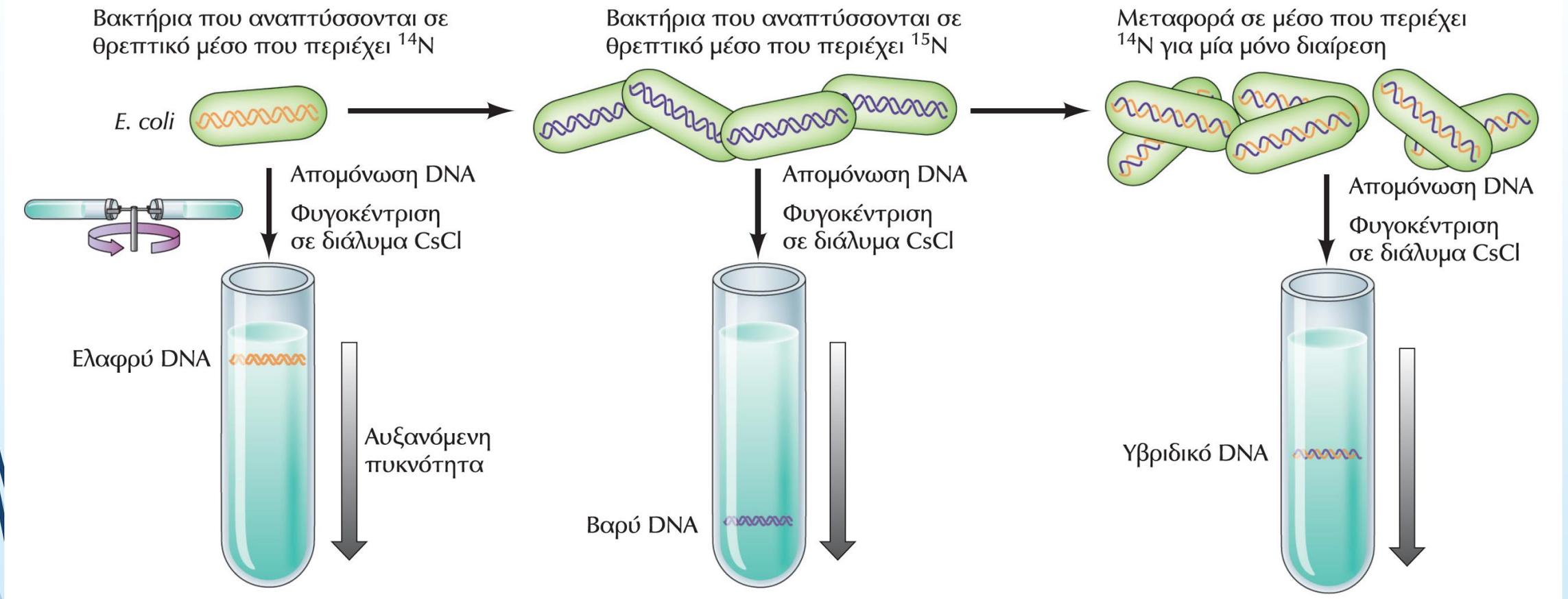
A decorative graphic on the left side of the slide. It features a dark blue vertical bar on the far left. From this bar, several thin, curved lines in shades of blue and grey extend upwards and to the right. A prominent, solid blue arrow points horizontally to the right, overlapping the curved lines.

Ημισυντηρητικός διπλασιασμός DNA

▼ **Εικόνα 16.11** Τρία εναλλακτικά μοντέλα για την αντιγραφή του DNA. Κάθε βραχύ τμήμα διπλής έλικας συμβολίζει το DNA ενός κυττάρου. Ξεκινώντας από ένα γονεϊκό κύτταρο, παρακολουθούμε το DNA για δύο κυτταρικές γενεές, δηλαδή για δύο κύκλους αντιγραφής του DNA. Οι γονεϊκές αλυσίδες παριστάνονται με σκούρο μπλε, ενώ οι νέες αλυσίδες με γαλάζιο.

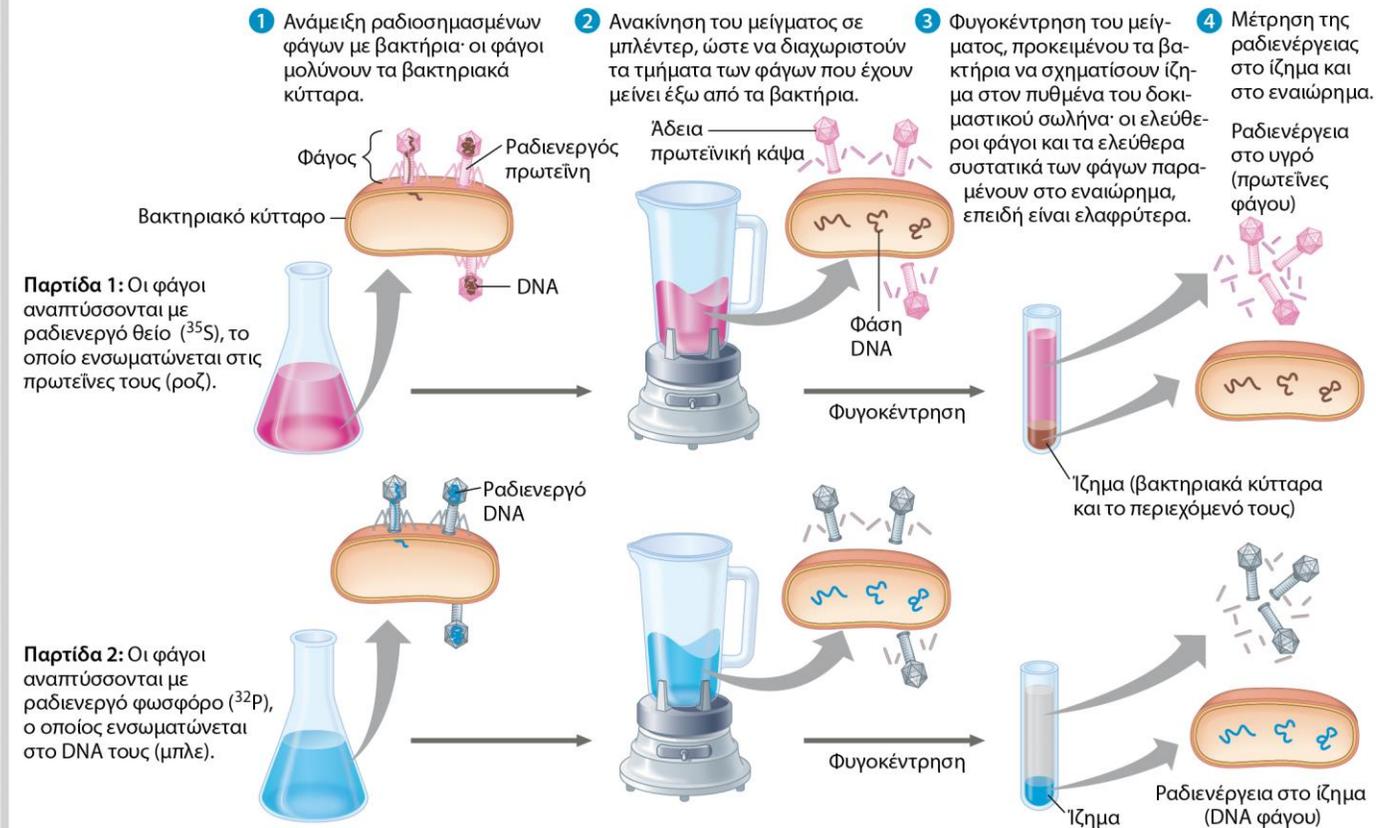


Η πειραματική απόδειξη του μοντέλου της ημισυντηρητικής αντιγραφής.



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

Πείραμα 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 μολύναν βακτηριακά κύτταρα. Σκοπός τους ήταν να διαπιστώσουν ποιο από τα μόρια αυτά εισέρχεται στα κύτταρα και τα επαναπρογραμματίζει έτσι ώστε να συνθέσουν περισσότερους φάγους.



Αποτελέσματα 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 οι οποίοι περιείχαν ραδιενεργό φωσφόρο.

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

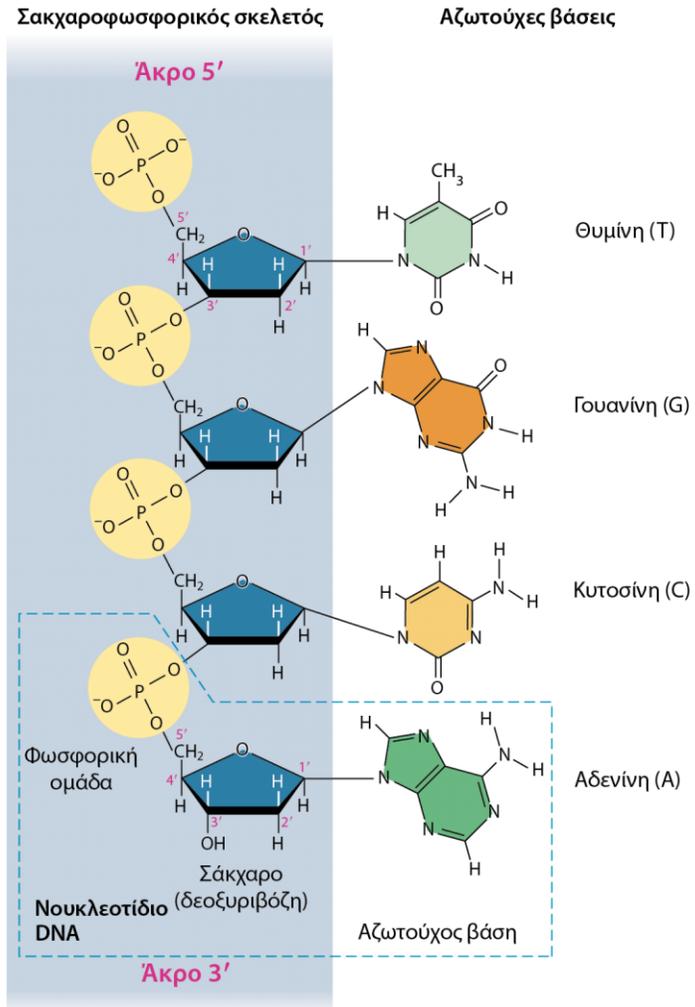
Δεδομένα από: A. D. Hershey & M. Chase, Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage, *Journal of General Physiology* 36:39-56 (1952).

ΤΙ ΘΑ ΓΙΝΟΤΑΝ ΑΝ...; Σε τι θα διέφεραν τα αποτελέσματα αν οι πρωτεΐνες ήταν οι φορείς της γενετικής πληροφορίας;

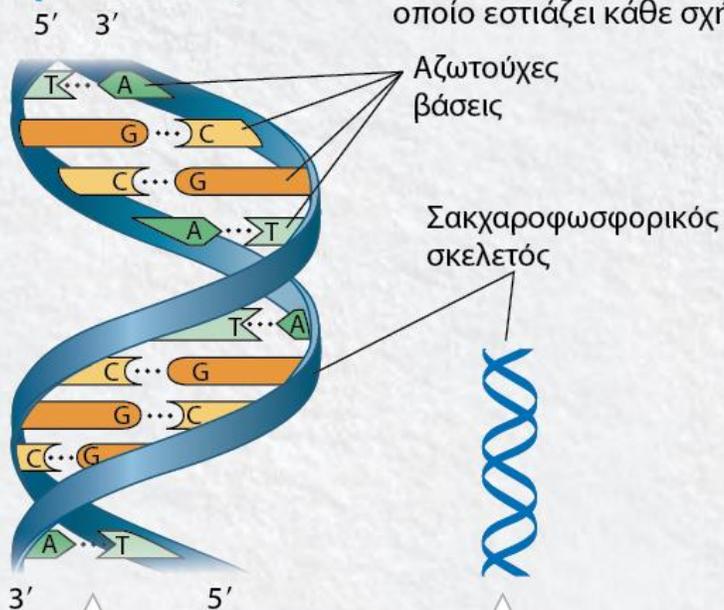


Ανακάλυψη δομής DNA

▼ **Εικόνα 16.5** Η δομή μιας αλυσίδας DNA. Κάθε μονομερές νουκλεοτιδίου αποτελείται από το σάκχαρο δεοξυριβόζη (μπλε), το οποίο είναι προσδεμένο σε μια αζωτούχο βάση (Α, Τ, Γ ή C) και μια φωσφορική ομάδα (κίτρινο). Η φωσφορική ομάδα κάθε νουκλεοτιδίου ενώνεται με το σάκχαρο του επόμενου μέσω ομοιοπολικού δεσμού, με αποτέλεσμα να προκύπτει ένας σακχαροφωσφορικός «σκελετός» εναλλασσόμενων φωσφορικών ομάδων και σακχάρων, από τον οποίο προβάλλουν οι βάσεις. Η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα έχει κατεύθυνση από το άκρο 5' (με τη φωσφορική ομάδα) προς το άκρο 3' (με την ομάδα -OH του σακχάρου). Οι αριθμοί 5' και 3' αναφέρονται στους αριθμούς με τους οποίους αριθμούνται τα άτομα άνθρακα του σακχαρικού δακτυλίου (σημασμένοι με φούξια αριθμοί).

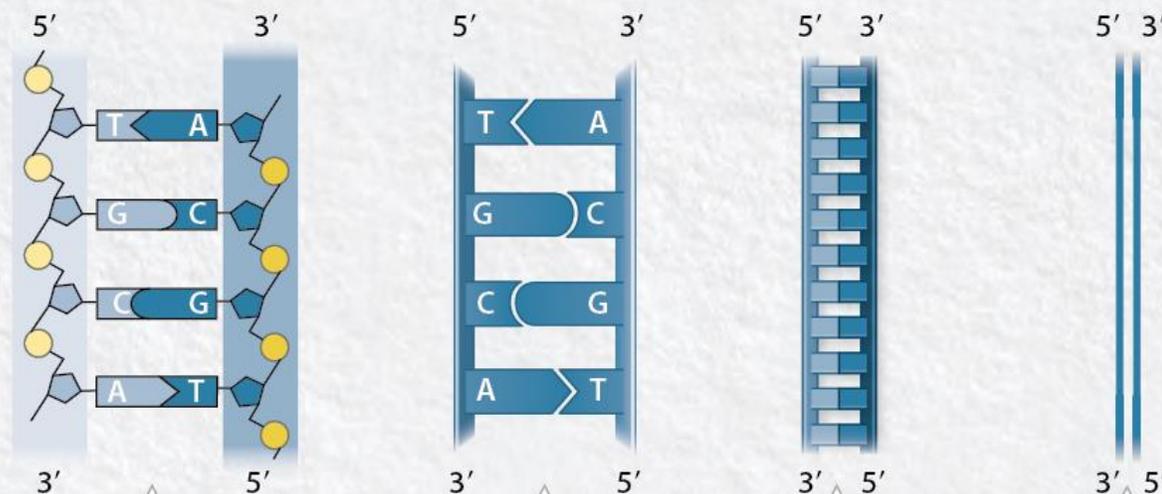


Απλουστευμένες αναπαραστάσεις



Σε αυτά τα απλουστευμένα διαγράμματα διπλής έλικας, οι «ταινίες» παριστάνουν τον σακχαροφωσφορικό σκελετό. Τα συγκεκριμένα μοντέλα αναδεικνύουν την τριδιάστατη φύση του DNA.

Όταν δεν είναι απαραίτητες οι μοριακές λεπτομέρειες, το DNA απεικονίζεται με ποικίλα απλουστευμένα διαγράμματα, ανάλογα με το αντικείμενο στο οποίο εστιάζει κάθε σχήμα.



Σε αυτά τα επιπεδωμένα διαγράμματα του DNA σε σιελ «σκάλας» οι σακχαροφωσφορικοί σκελετοί απεικονίζονται ως τα πλευρά της σκάλας, και τα ζεύγη των βάσεων ως τα σκαλοπάτια της. Το χαλάζιο χρώμα χρησιμοποιείται για να υποδηλώσει την πιο πρόσφατα συντεθειμένη αλυσίδα.

Ενίστε, το δίκλωνο μόριο του DNA απεικονίζεται απλώς με τη μορφή δύο ευθείων γραμμών.

3. Συγκρίνετε τις πληροφορίες που αποκαλύπτουν τα τρία διαγράμματα τύπου σκάλας.

Αλληλουχίες DNA

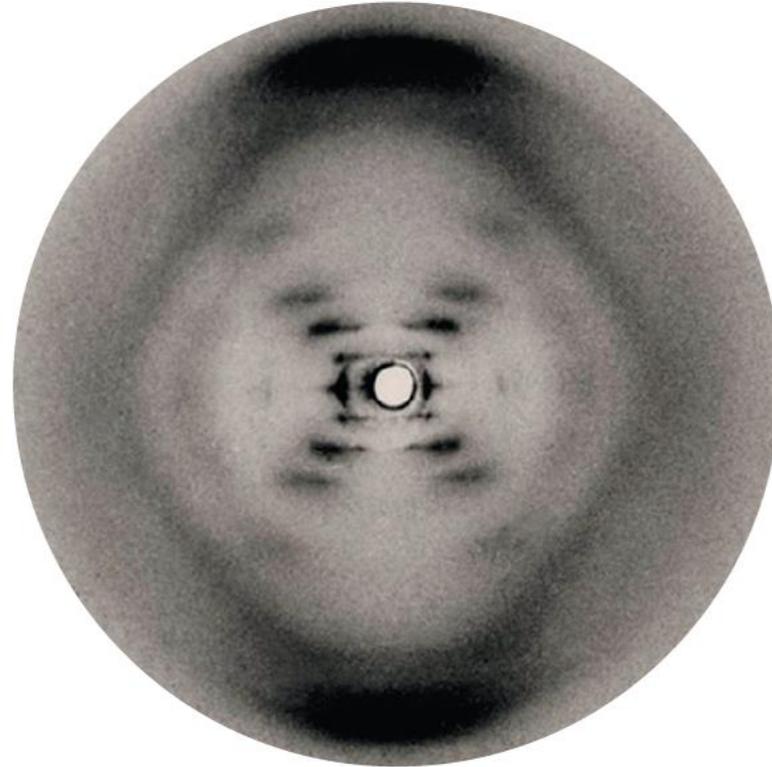
Οι γενετικές πληροφορίες μεταφέρονται στο DNA ως μια γραμμική αλληλουχία νουκλεοτιδίων, η οποία μπορεί να μεταγραφεί σε mRNA και να μεταφραστεί σε πολυπεπτίδιο. Όταν δίνεται έμφαση στην αλληλουχία του DNA, κάθε νουκλεοτίδιο μπορεί να αναπαρασταθεί απλώς με το γράμμα της βάσης του: A, T, C ή G.

3' - A C G T A A G C G G T T A A T - 5'
5' - T G C A T T C G C C A A T T A - 3'

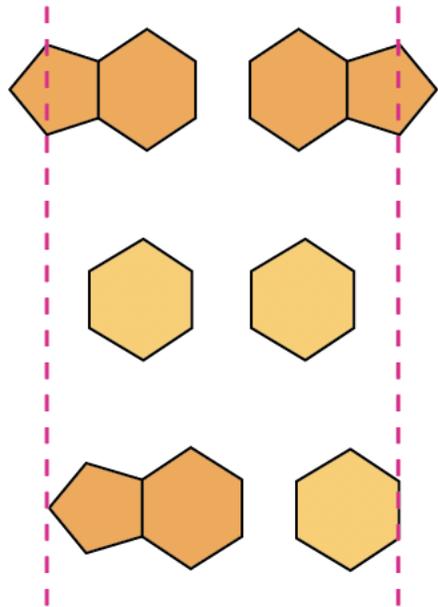
▼ **Εικόνα 16.6** Η Rosalind Franklin και η φωτογραφία που πήρε από το DNA με περίθλαση ακτίνων Χ.



(α) Η Rosalind Franklin



(β) Η φωτογραφία που πήρε η Franklin μέσω περίθλασης ακτίνων Χ από ένα μόριο DNA



Πουρίνη + πουρίνη:
πολύ μεγάλο πλάτος

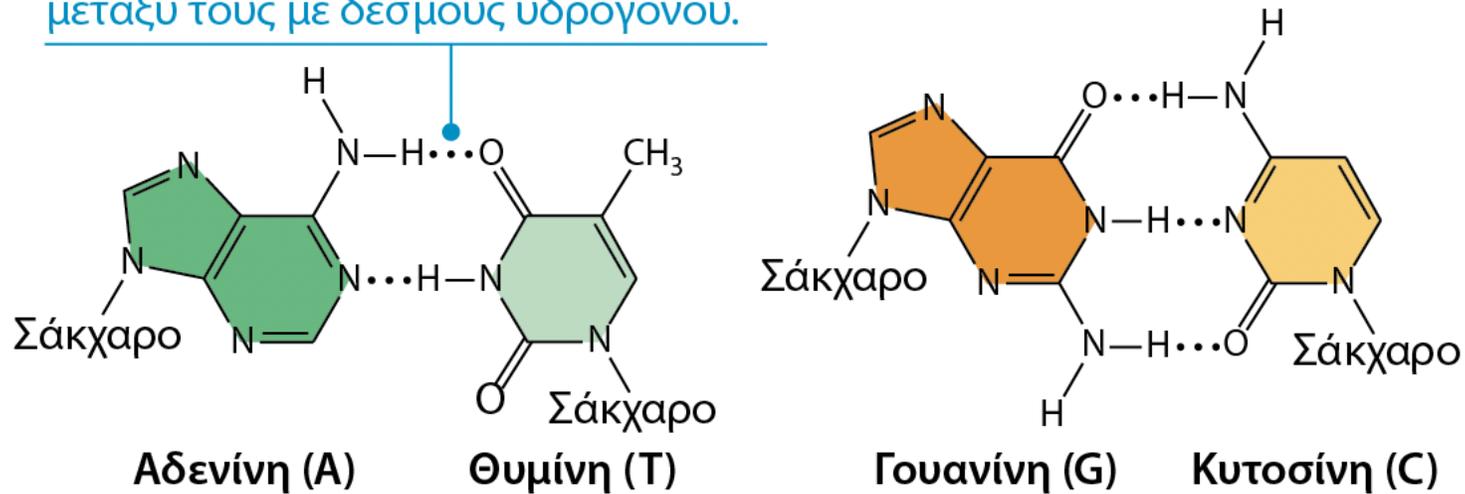
Πυριμιδίνη + πυριμιδίνη:
πολύ μικρό πλάτος

Πουρίνη + πυριμιδίνη:
πλάτος σύμφωνο
με τα δεδομένα ακτίνων Χ

◀ **Εικόνα 16.8**
Πιθανά ζεύγη
βάσεων στη διπλή
έλικα του DNA.

▼ **Εικόνα 16.9** Ζευγάρωμα των βάσεων στο DNA.

Τα ζεύγη των αζωτούχων βάσεων στη διπλή έλικα του DNA συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου.





Βραβείο Νόμπελ για τη δομή DNA-1962