



ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Μάθημα 6^ο

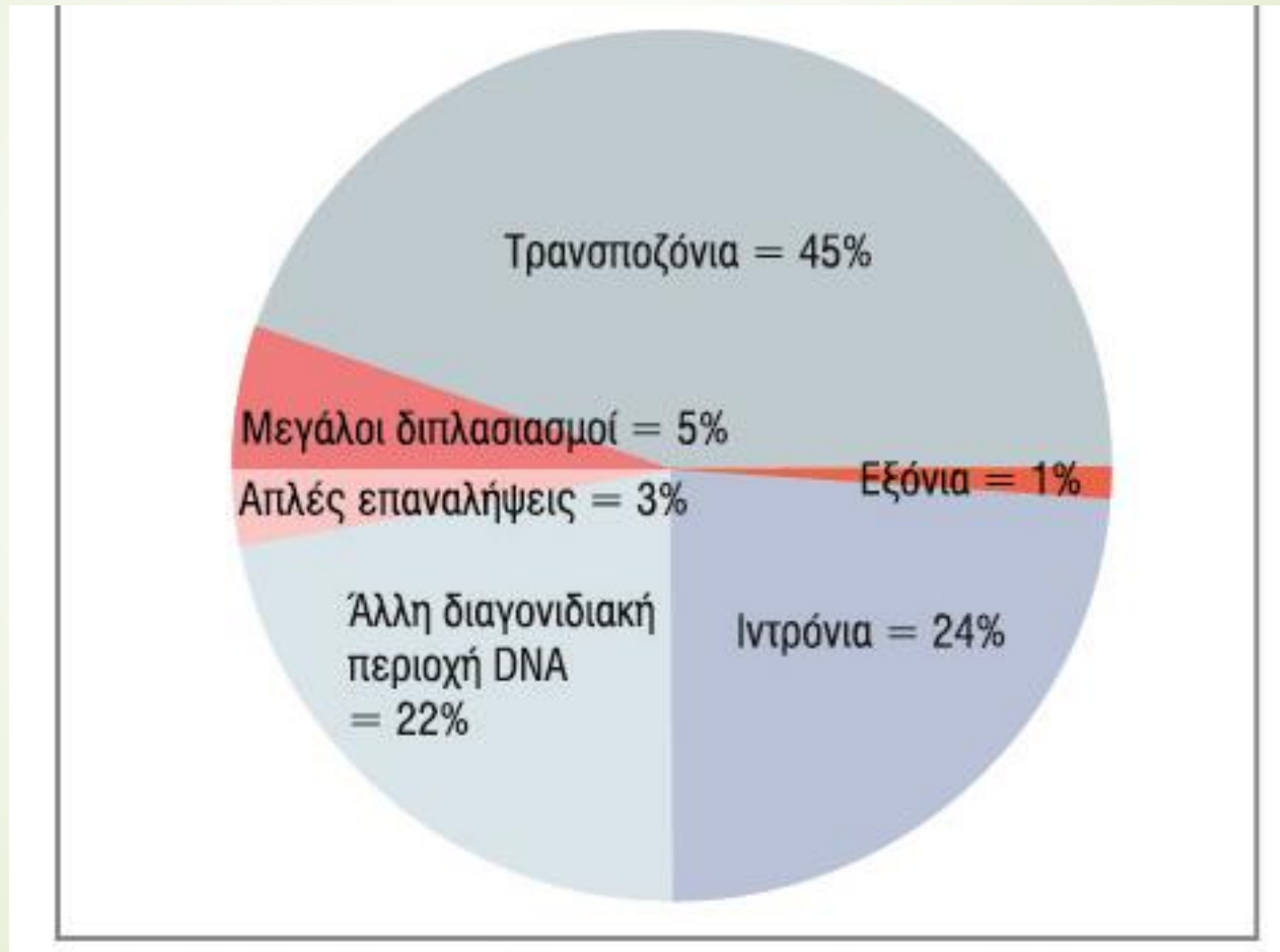


Το ανθρώπινο γονιδίωμα

Το ανθρώπινο γονιδίωμα έχει λιγότερα γονίδια από ότι αναμενόταν

- ✓ Μόνο το 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από εξόνια.
- ✓ Τα εξόνια αποτελούν περίπου το 5% κάθε γονιδίου, επομένως τα γονίδια (εξόνια συν ιντρόνια) αποτελούν περίπου το 25% του γονιδιώματος.
- ✓ Το ανθρώπινο γονιδίωμα έχει περίπου 20.000 γονίδια.
- ✓ Περίπου το 60% των ανθρώπινων γονιδίων παρουσιάζουν εναλλακτική συρραφή.
- ✓ Έως και το 80% των εναλλακτικών συρραφών αλλάζουν την πρωτεϊνική αλληλουχία, επομένως το ανθρώπινο πρωτέωμα έχει 50.000-60.000 πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

Το μεγαλύτερο μέρος του ανθρώπινου γονιδιώματος είναι επαναλαμβανόμενο DNA





50% του ανθρώπινου γονιδιώματος- επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες

- ✓ Τρανσποζόνια (**Transposons**) (είτε ενεργά, είτε ανενεργά) αντιπροσωπεύουν την πλειονότητα των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών (**45%** του γονιδιώματος). Όλα τα τρανσποζόνια βρίσκονται σε πολλαπλά αντίγραφα.
- ✓ Τα επεξεργασμένα ψευδογονίδια (**pseudogenes**), περίπου 3.000 συνολικά, αντιπροσωπεύουν περίπου το 0,1% του συνολικού DNA. (Πρόκειται για αλληλουχίες που προκύπτουν από ένθεση μέσα στο γονιδίωμα ενός αντίστροφα μεταγραφόμενου DNA που είναι αντίγραφο μιας αλληλουχίας mRNA)

50% του ανθρώπινου γονιδιώματος-επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες

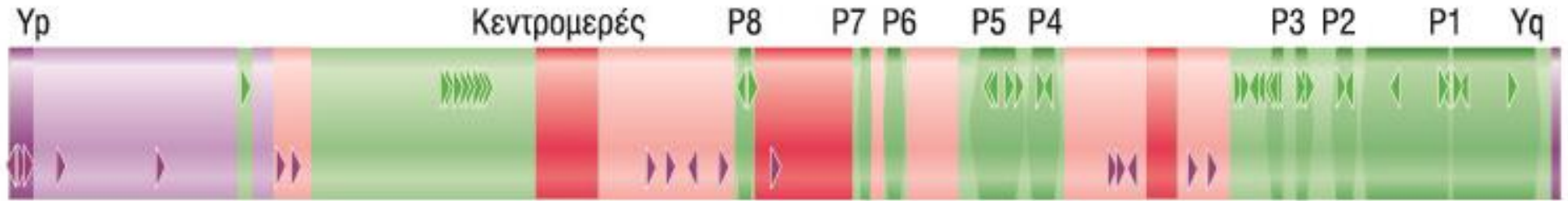
- ✓ Επαναλήψεις απλών αλληλουχιών (υψηλά επαναλαμβανόμενου DNA όπως επαναλήψεις CA) που αντιπροσωπεύουν περίπου το 3% του γονιδιώματος.
- ✓ Διπλασιασμοί περιοχών (**Segmental duplications**) (περιοχές 10-300 kb που έχουν διπλασιαστεί σε μια νέα θέση) που αντιστοιχούν περίπου στο 5% του γονιδιώματος.
- ✓ Διαδοχικές (ευθείες) επαναλήψεις (**Tandem repeats**) σχηματίζουν μεγάλες περιοχές ενός συγκεκριμένου τύπου αλληλουχίας. Αυτά βρίσκονται ιδιαίτερα σε κεντρομερή και τελομερή.

- 
- ✓ Οι επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (που υπάρχουν σε περισσότερα από ένα αντίγραφα) αντιπροσωπεύουν περισσότερο από το 50% του ανθρώπινου γονιδιώματος.
 - ✓ Ο μεγάλος όγκος των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών αποτελείται από αντίγραφα μη λειτουργικών τρανσποζονίων.
 - ✓ Υπάρχουν πολλοί διπλασιασμοί μεγάλων χρωμοσωμικών περιοχών.
 - ✓ Η παρουσία αλληλουχιών οι οποίες δε φαίνεται να έχουν κωδικοποιητική λειτουργία, αλλά παρόλα αυτά εμφανίζουν μια εξελικτική συντήρηση υψηλότερη του βασικού επιπέδου αντιπροσωπεύουν περίπου το 5% του ανθρώπινου γονιδιώματος.





Το χρωμόσωμα Υ


Το χρωμόσωμα Y έχει περίπου 70 ενεργά γονίδια





 Αμπλικονικές περιοχές


 Χ-μεταθετές περιοχές

 Χ-εκφυλισμένες περιοχές

 Παλίνδρομες αλληλουχίες σε αμπλικονικές περιοχές

 Ψευδοαυτοσωμικές περιοχές

 Κεντρομερές και ετεροχρωματίνη

 Γονίδια πολλαπλών αντιγράφων

 Γονίδια μοναδικών αντιγράφων

Αρσενικοεξειδικευμένη περιοχή (Male-specific region, MSR)

Περιοχή στο χρωμόσωμα Y που δεν υφίσταται επιχιασμό με το χρωμόσωμα X. Περιέχει τρεις τύπους αλληλουχιών:

- ✓ X-μεταθετές αλληλουχίες-34 Mb, δεν ανασυνδυάζονται με το χρωμόσωμα X και έχουν γίνει σε μεγάλο βαθμό ανενεργές. Πλέον περιέχουν μόνο δύο ενεργά γονίδια.
- ✓ εκφυλισμένα τμήματα του X έχουν κοινή προέλευση με το χρωμόσωμα X και περιέχουν γονίδια ή ψευδογονίδια συγγενή με X-φυλοσύνδετα γονίδια.
- ✓ αμπλικόνια- πολλαπλασιασμένα τμήματα-10.2Mb Περιλαμβάνουν εννέα οικογένειες γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, οι αλληλουχίες έχουν ενισχυθεί εσωτερικά μέσα στο χρωμόσωμα Y..

Ανιχνεύοντας την ανθρώπινη ιστορία μέσω του χρωμοσώματος Υ

- ✓ Το σύνολο των αλληλόμορφων σε δύο ή περισσότερους γενετικούς τόπους που υπάρχουν σε ένα συγκεκριμένο χρωμόσωμα ονομάζεται **απλότυπος**.
- ✓ Για πολλές γενεαλογικές μελέτες του χρωμοσώματος Υ, οι **πολυμορφισμοί απλών επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών (simple sequence repeat, SSR)** είναι ιδιαίτερα κατάλληλοι λόγω της σχετικά υψηλής συχνότητας μετάλλαξης τους, εξαιτίας σφαλμάτων κατά την αντιγραφή καθώς και του μεγάλου αριθμού αλληλόμορφων.
- ✓ Τα χρωμοσώματα Υ με απλότυπους που έχουν κοινά αλληλόμορφα σε καθένα από τα 20-30 SSR κατά μήκος του χρωμοσώματος πρέπει να έχουν μια πολύ πρόσφατη καταγωγή από το ίδιο προγονικό χρωμόσωμα Υ.
- ✓ Για απλότυπους που διαφέρουν σε έναν μόνο γενετικό τόπο, η γενετική σχέση είναι λιγότερο στενή. Για εκείνους που διαφέρουν σε δύο τόπους, είναι ακόμα λιγότερο, και ούτω καθεξής.

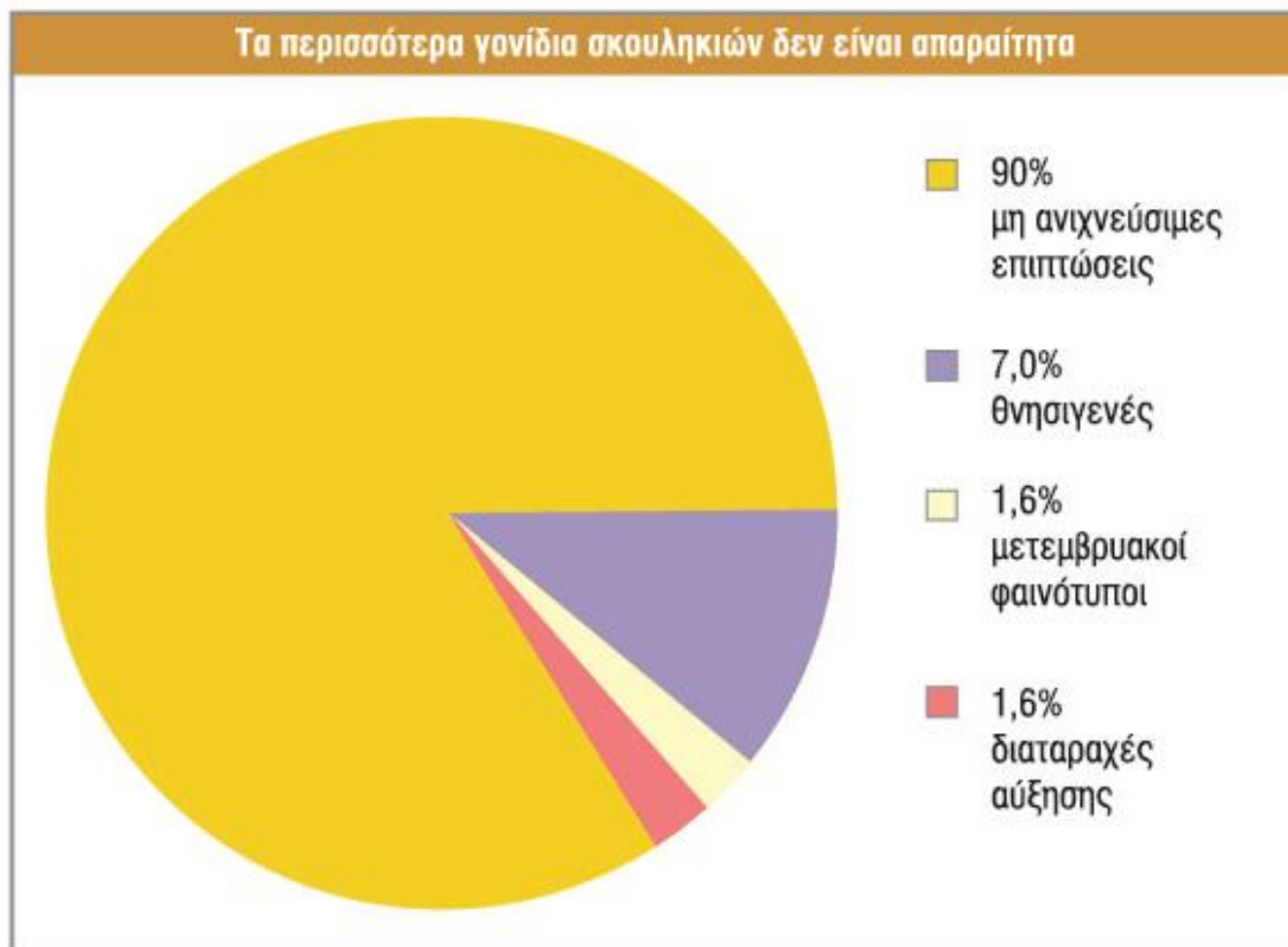
A decorative graphic on the left side of the slide. It features a solid red arrow pointing to the right, positioned horizontally. Behind the arrow and extending upwards and to the right are several thin, dark grey, curved lines that create a sense of movement or flow.

Πόσα γονίδια είναι απαραίτητα;

Πόσα γονίδια είναι απαραίτητα;

- ✓ **Πλεονασμός:** Η έννοια ότι δύο ή περισσότερα γονίδια μπορούν να εκπληρώσουν την ίδια λειτουργία, έτσι ώστε κανένα από αυτά να μην είναι από μόνο του απαραίτητο.
- ✓ **Θνησιγόνος μετάλλαξη** θεωρείται ως επιβεβαίωση ενός γενετικού τρόπου που είναι απαραίτητος για τον οργανισμό.
- ✓ **Συνθετικά θνησιγόνο:** Δύο μεταλλάξεις που είναι βιώσιμες από μόνες τους αλλά θνησιγόνες όταν συνδυάζονται.
- ✓ **Ανάλυση συνθετικών γενετικών συστοιχιών** (*synthetic genetic array Analysis, SGA*)

Πόσα γονίδια είναι απαραίτητα;



Μια συστηματική ανάλυση της απώλειας λειτουργίας για το 86% των γονιδίων του σκουληκιού δείχνει ότι μόνο το 10% έχουν ανιχνεύσιμες επιδράσεις στο φαινότυπο.

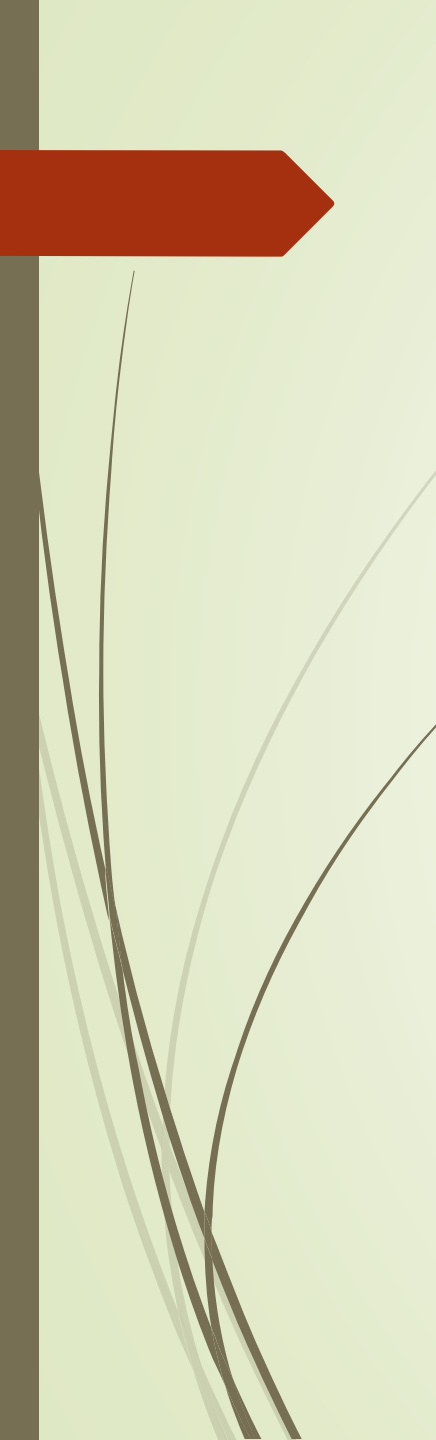
Πόσα γονίδια είναι απαραίτητα;

- ✓ Δεν είναι όλα τα γονίδια απαραίτητα. Στο ζυμομύκητα και στις μύγες των φρούτων, ελλείψεις σε λιγότερο από το 50% των γονιδίων έχουν ανιχνεύσιμα αποτελέσματα.
- ✓ Όταν δύο ή περισσότερα γονίδια είναι πλεονάζοντα, μια μετάλλαξη σε οποιοδήποτε από αυτά μπορεί να μην έχει ανιχνεύσιμα αποτελέσματα.
- ✓ Η επιμονή παρουσίας των γονιδίων που είναι φαινομενικά περιττά (μη απαραίτητα) μέσα στο γονιδίωμα δεν είναι κατανοητή.

Γενετικές διαταραχές & μεταλλάξεις σε γονίδια στον άνθρωπο

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3 Οι περισσότερες γνωστές γενετικές διαταραχές των ανθρώπινων γονιδίων οφείλονται σε σημειακές μεταλλάξεις. Οι περισσότερες επηρεάζουν άμεσα την πρωτεϊνική αλληλουχία. Οι υπόλοιπες οφείλονται σε ενθέσεις, ελλείψεις ή αναδιατάξεις ποικίλου μεγέθους

Λάθος νόημα (παρερμηνεύσιμη)/κανένα νόημα (ασυνθετική)	58%
Συρραφή	10%
Ρυθμιστική	<1%
Μικρές ελλείψεις	16%
Μικρές ενθέσεις	6%
Μεγάλες ελλείψεις	5%
Μεγάλες αναδιατάξεις	2%

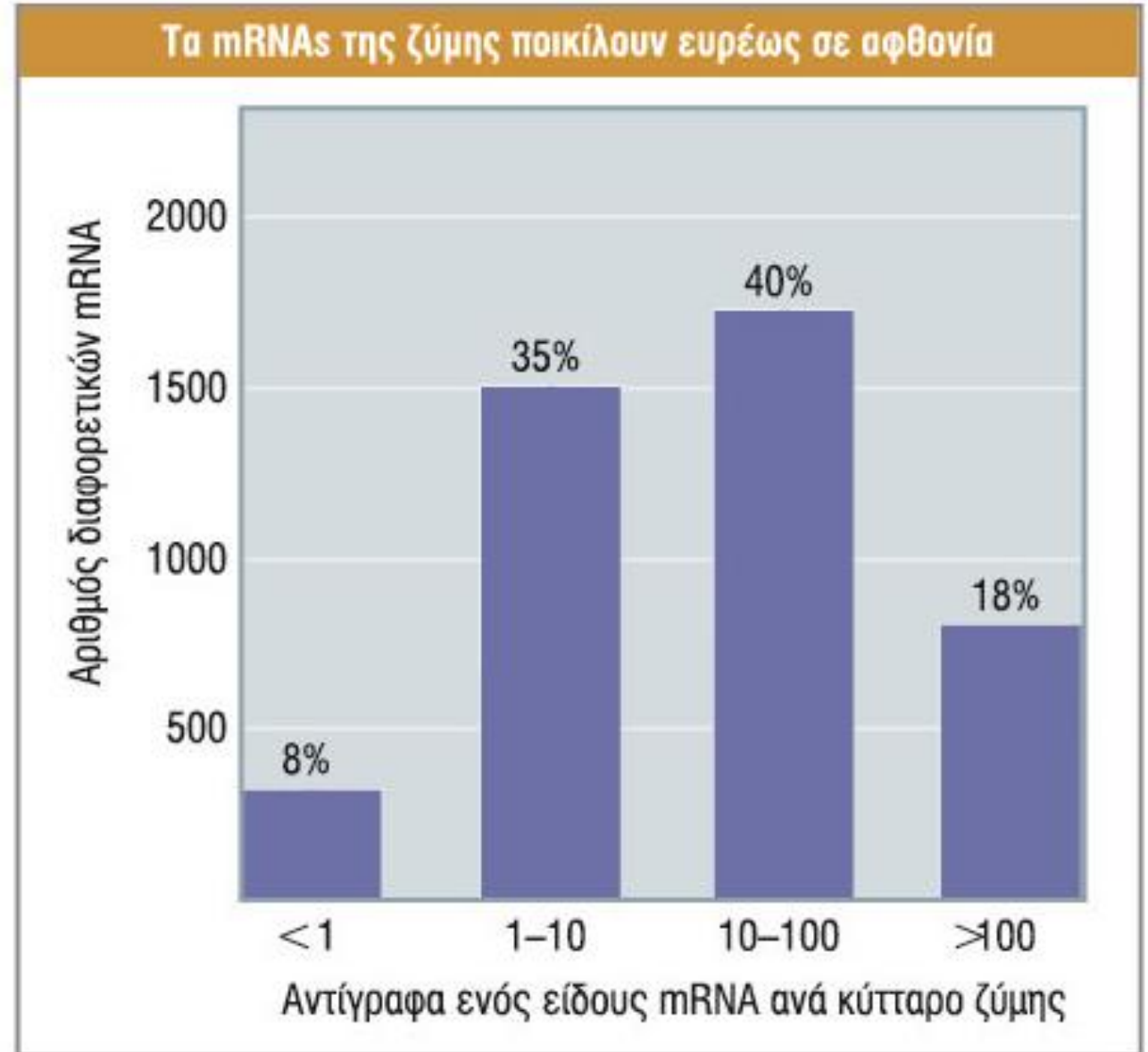
- 
- ✓ Σε οποιοδήποτε κύτταρο, τα περισσότερα γονίδια εκφράζονται σε χαμηλό επίπεδο.
 - ✓ Μόνο ένας μικρός αριθμός γονιδίων, των οποίων τα προϊόντα είναι εξειδικευμένα για τον κυτταρικό τύπο, είναι υψηλά εκφραζόμενα.
 - ✓ Τα mRNA που εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα επικαλύπτονται εκτενώς όταν συγκρίνονται διαφορετικοί κυτταρικοί τύποι.
 - ✓ Τα άφθονα εκφραζόμενα mRNA είναι συνήθως ειδικά για τον κάθε διαφορετικό κυτταρικό τύπο.
 - ✓ Περίπου 10.000 εκφραζόμενα γονίδια μπορεί να είναι κοινά στους περισσότερους κυτταρικούς τύπους ενός πολυκύτταρου ευκαρυώτη.

Πως μετριέται η αφθονία των mRNAs των κυττάρων;

Μικροσυστοιχία (Microarray)

Μια σειρά από χιλιάδες δείγματα μικροσκοπικών ολιγονουκλεοτιδίων DNA, αποτυπωμένα σε ένα μικρό τσιπ.

Τα mRNAs μπορούν να υβριδίσουν στις μικροσυστοιχίες για να εκτιμηθεί το ποσό και το επίπεδο της γονιδιακής έκφρασης.



Μεταλλάξεις

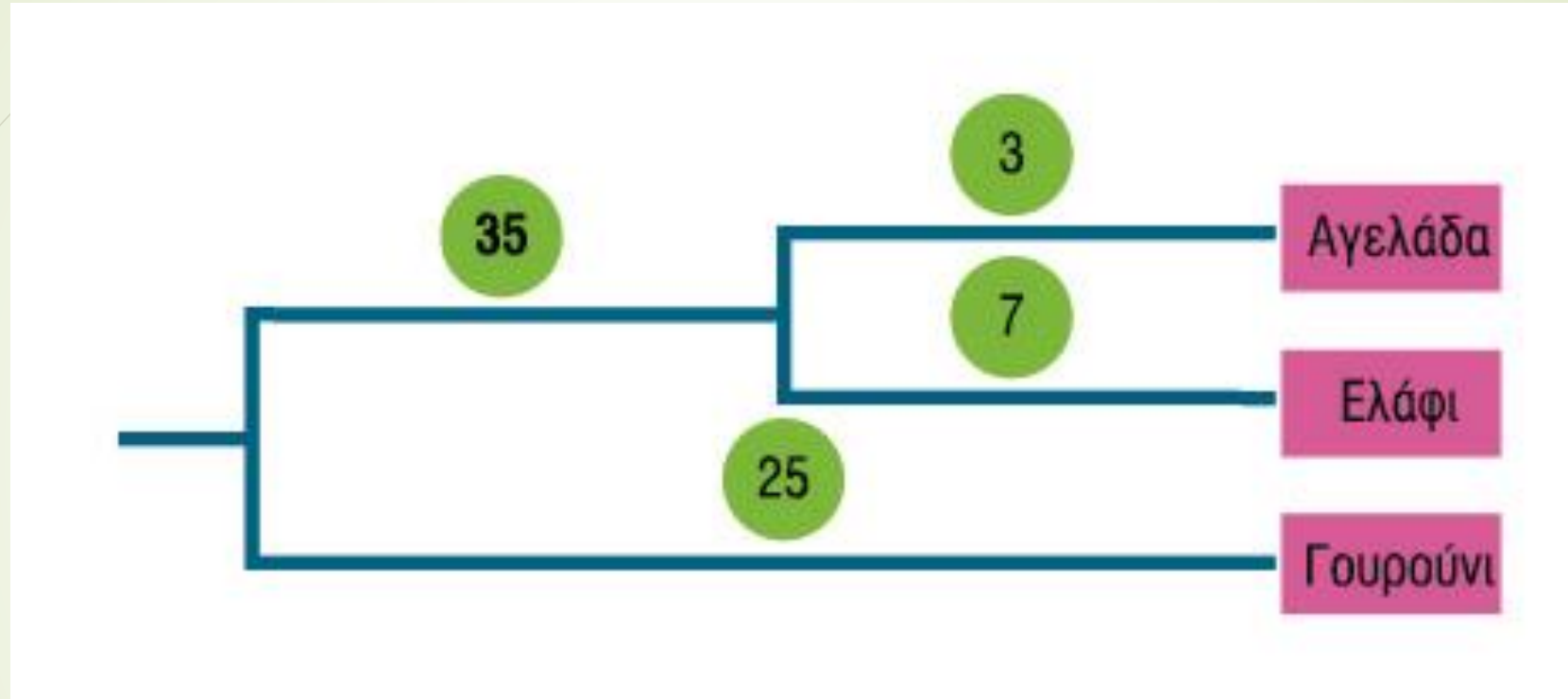
Συνώνυμη μετάλλαξη (Synonymous mutation) Μια μετάλλαξη σε κωδική περιοχή που δεν αλλοιώνει την αλληλουχία αμινοξέων του πολυπεπτιδικού προϊόντος.

Μη συνώνυμη μετάλλαξη (Nonsynonymous mutation) Μια μετάλλαξη σε κωδική περιοχή που αλλάζει την αλληλουχία αμινοξέων του πολυπεπτιδικού προϊόντος.

Ουδέτερη μετάλλαξη (Neutral mutation) Μια μετάλλαξη που δεν έχει καμία σημαντική επίδραση στην εξελικτική προσαρμοστικότητα και συνήθως δεν επηρεάζει το φαινότυπο.

Γενετική παρέκκλιση (Genetic drift) Η τυχαία διακύμανση της (χωρίς επιλεκτική πίεση) των συχνοτήτων των αλληλομόρφων σε έναν πληθυσμό.

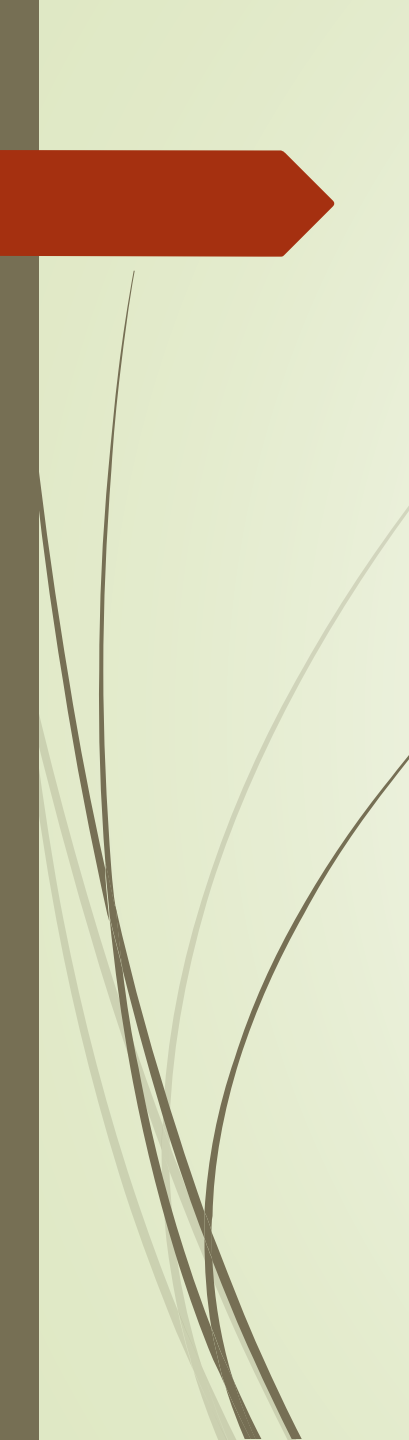
Αριθμός μη συνώνυμων μεταλλάξεων




Ο μεγαλύτερος αριθμός μη συνώνυμων αντικαταστάσεων στις αλληλουχίες της **λυσοζύμης** της γενεαλογίας αγελάδας/ελαφιού σε σχέση με τη γενεαλογία του γουρουνιού είναι αποτέλεσμα προσαρμογής της πρωτεΐνης για πέψη σε στομάχια μηρυκαστικών ζώων.

Ο Ανθρώπινος μεταβολισμός και η διατροφή.

Το γονίδιο της **Αμυλάσης** (AMY1): "Οι πληθυσμοί με ιστορικά υγιεινή διατροφή πλούσια σε άμυλο (π.χ. Ιάπωνες) έχουν περισσότερα αντίγραφα του γονιδίου AMY1 από τους κυνηγούς-συλλέκτες (π.χ. Μπούσμαν). Το γονιδίωμά μας προσαρμόστηκε στη διατροφή μας!"

- 
- ✓ Η αναλογία μη συνωνύμων προς συνώνυμων υποκαταστάσεων στην εξελικτική ιστορία ενός γονιδίου αποτελεί ένα μέτρο θετικής ή αρνητικής επιλογής.
 - ✓ Η χαμηλή ετεροζυγωτία ενός γονιδίου μπορεί να υποδηλώνει πρόσφατα επιλεκτικά συμβάντα.
 - ✓ Η σύγκριση των ρυθμών υποκατάστασης μεταξύ συγγενών ειδών μπορεί να δείξει εάν έχει γίνει επιλογή στο γονίδιο.
 - ✓ Οι περισσότερες **γενετικές παραλλαγές** στο ανθρώπινο είδος επηρεάζουν τη **ρύθμιση των γονιδίων** και δεν επηρεάζουν τις παραλλαγές στις πρωτεΐνες.



Μοριακό Ρολόι: Ένας περίπου σταθερός ρυθμός εξέλιξης που συμβαίνει σε αλληλουχίες του DNA, όπως συμβαίνει από τη γενετική παρέκκλιση των ουδέτερων μεταλλάξεων.

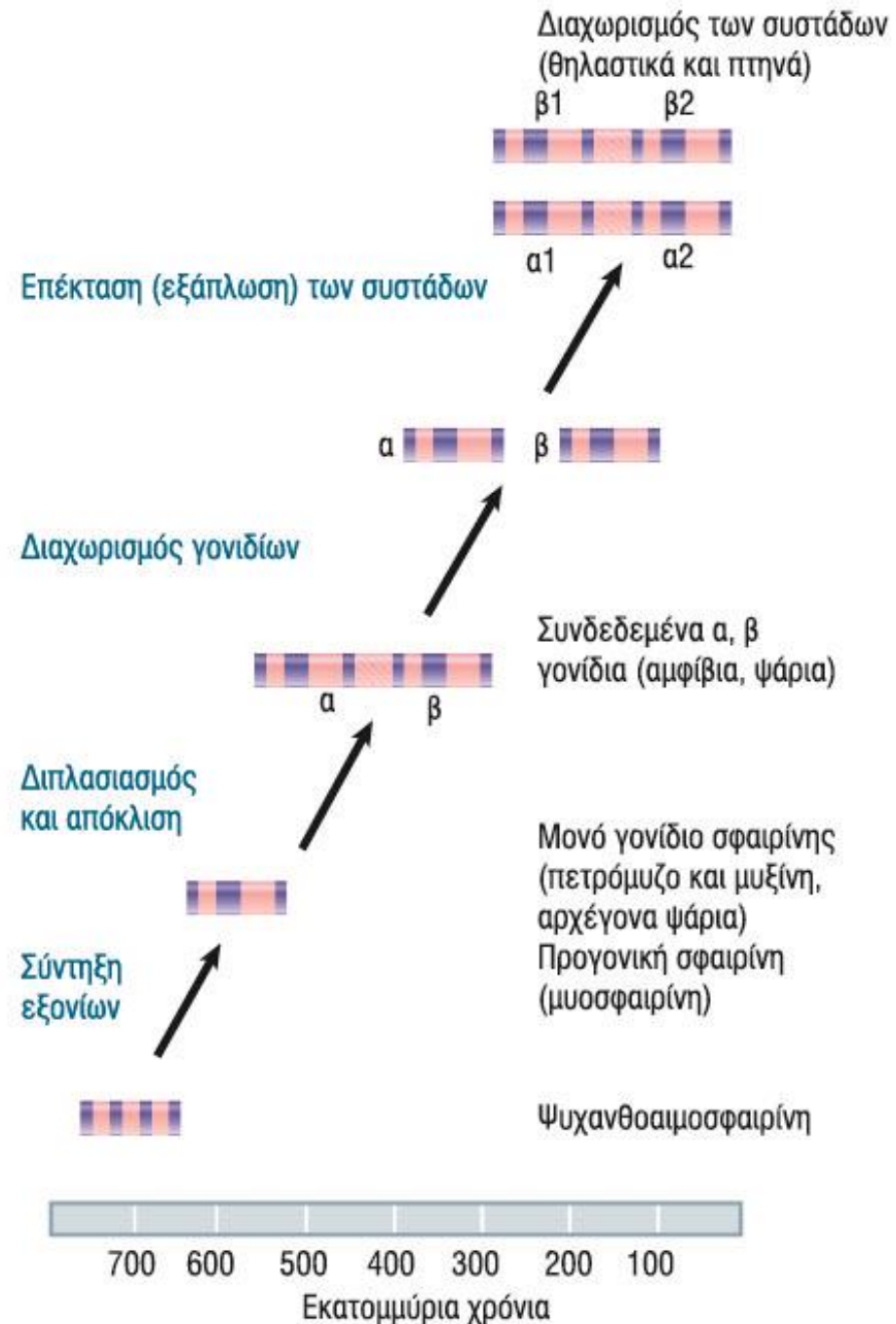
1. Οι διαφορετικές πρωτεΐνες εξελίσσονται με διαφορετικούς ρυθμούς.
2. Για ορισμένες πρωτεΐνες, η ταχύτητα εξέλιξης παραμένει περίπου σταθερή για εκατομμύρια χρόνια.

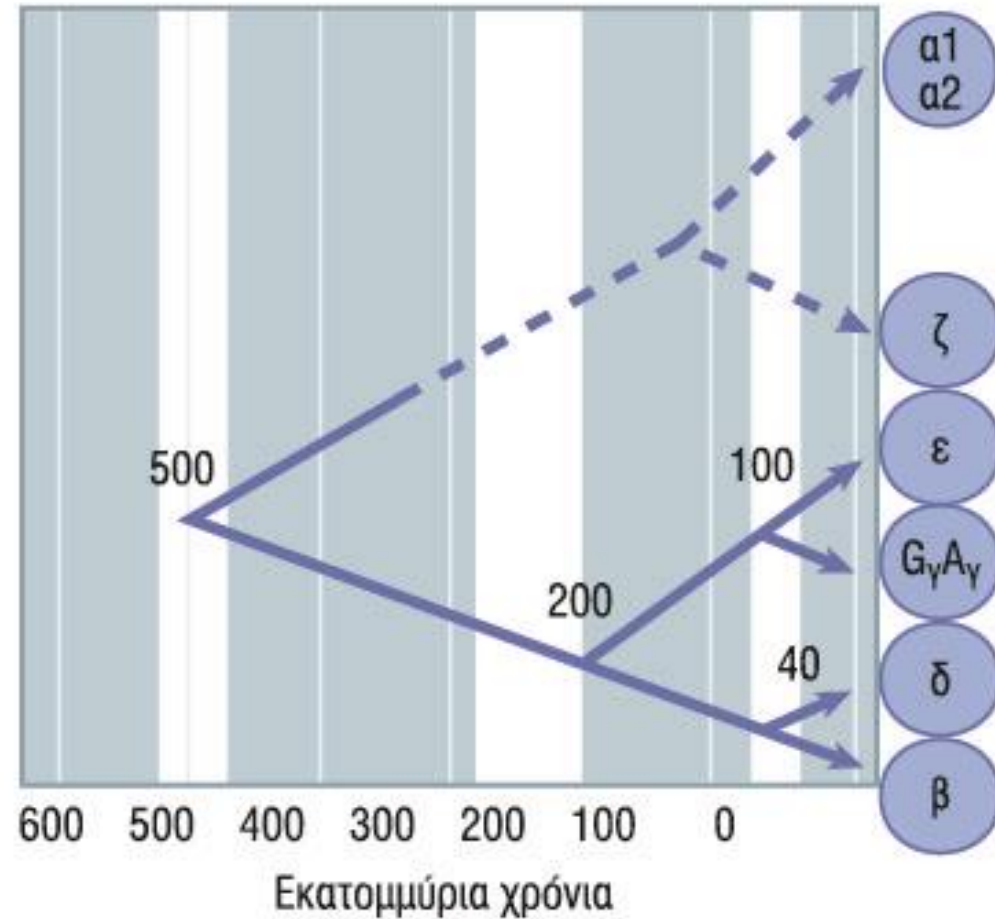
Απόκλιση (divergence:) Η διαφορά ανάμεσα σε δύο γονίδια

Υπολογίζεται ως το % θέσεων στις οποίες τα νουκλεοτίδια διαφέρουν, διορθωμένο ως προς την πιθανότητα συγκλίνουσας μετάλλαξης (ίδια μετάλλαξη στην ίδια θέση σε δύο διαφορετικές γενεαλογίες) και πραγματικών αναστροφών (στην αρχική αλληλουχία).

Συνήθως παρατηρείται μια διαφορά στη συχνότητα της εξέλιξης μεταξύ των τριών θέσεων ενός κωδικονίου μέσα στα γονίδια, επειδή οι μεταλλάξεις της θέσης στη τρίτη βάση συχνά είναι συνώνυμες, όπως είναι μερικές στην πρώτη θέση.

Όλα τα γονίδια σφαιρίνης
εξελίχθηκαν από ένα
μοναδικό προγονικό
γονίδιο





Η απόκλιση μεταξύ μη συνώνυμων θέσεων σε ζεύγη γονιδίων β σφαιρίνης μας επιτρέπει να ανασυνθέσουμε την ιστορία της συστάδας των γονιδίων σφαιρίνης του ανθρώπου.

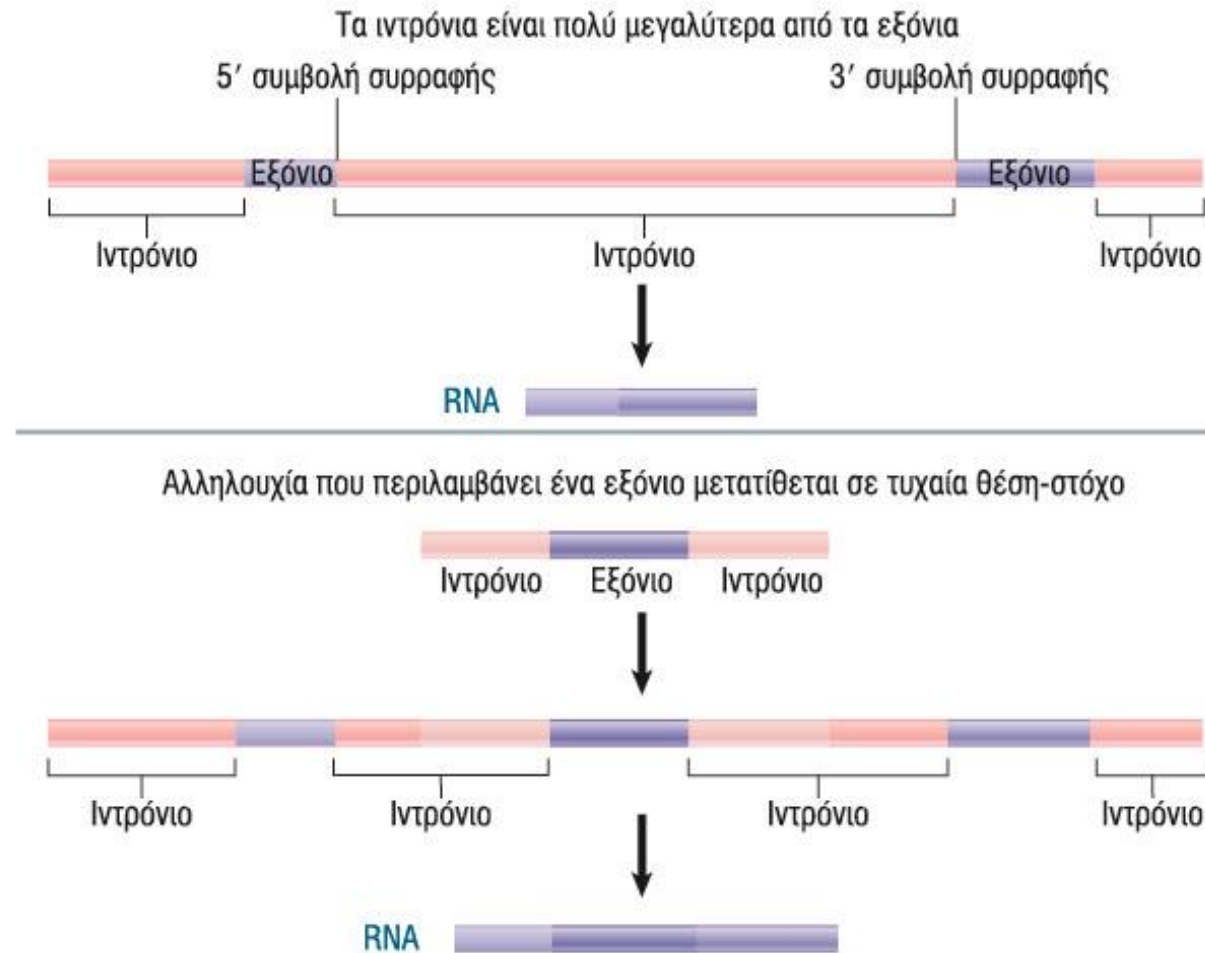
- ✓ Οι αλληλουχίες των ορθόλογων γονιδίων σε διαφορετικά είδη ποικίλλουν σε μη συνώνυμες θέσεις (όπου οι μεταλλάξεις έχουν προκαλέσει υποκαταστάσεις αμινοξέων) και συνώνυμες θέσεις (όπου η μετάλλαξη δεν έχει επηρεάσει την αλληλουχία αμινοξέων).
- ✓ Οι συνώνυμες αντικαταστάσεις συσσωρεύονται περίπου 10 φορές πιο γρήγορα από τις μη συνώνυμες αντικαταστάσεις.
- ✓ Η εξελικτική απόκλιση μεταξύ δύο αλληλουχιών DNA μετριέται με το διορθωμένο ποσοστό θέσεων που διαφέρουν τα αντίστοιχα νουκλεοτίδια.
- ✓ Οι αντικαταστάσεις μπορεί να συσσωρεύονται με σχεδόν σταθερό ρυθμό μετά τον διαχωρισμό των γονιδίων, έτσι ώστε η απόκλιση μεταξύ οποιοδήποτε ζεύγους αλληλουχιών σφαιρίνης είναι ανάλογη με το χρόνο από τότε που μοιράζονταν κοινή καταγωγή.



Πώς εξελίχθηκαν τα διακεκομμένα γονίδια;

Πώς εξελίχθηκαν τα διακεκομμένα γονίδια;

- ✓ Υπόθεση πρώιμων ιντρονίων (“**Introns early**” hypothesis): Η πρόταση κατά την οποία τα αρχικά γονίδια περιείχαν ιντρόνια και μερικά γονίδια στη συνέχεια τα έχασαν.
- ✓ Υπόθεση μεταγενέστερων ιντρονίων (“**Introns late**” hypothesis) Η πρόταση κατά την οποία τα αρχικά γονίδια δεν περιείχαν ιντρόνια και ότι τα ιντρόνια προστέθηκαν μεταγενέστερα σε ορισμένα γονίδια.
- ✓ Ανακάτεμα εξονίων (**Exon shuffling**) Η υπόθεση ότι τα γονίδια έχουν εξελιχθεί με τον ανασυνδυασμό διαφόρων εξονίων που κωδικοποιούν για λειτουργικές πρωτεϊνικές επικράτειες.



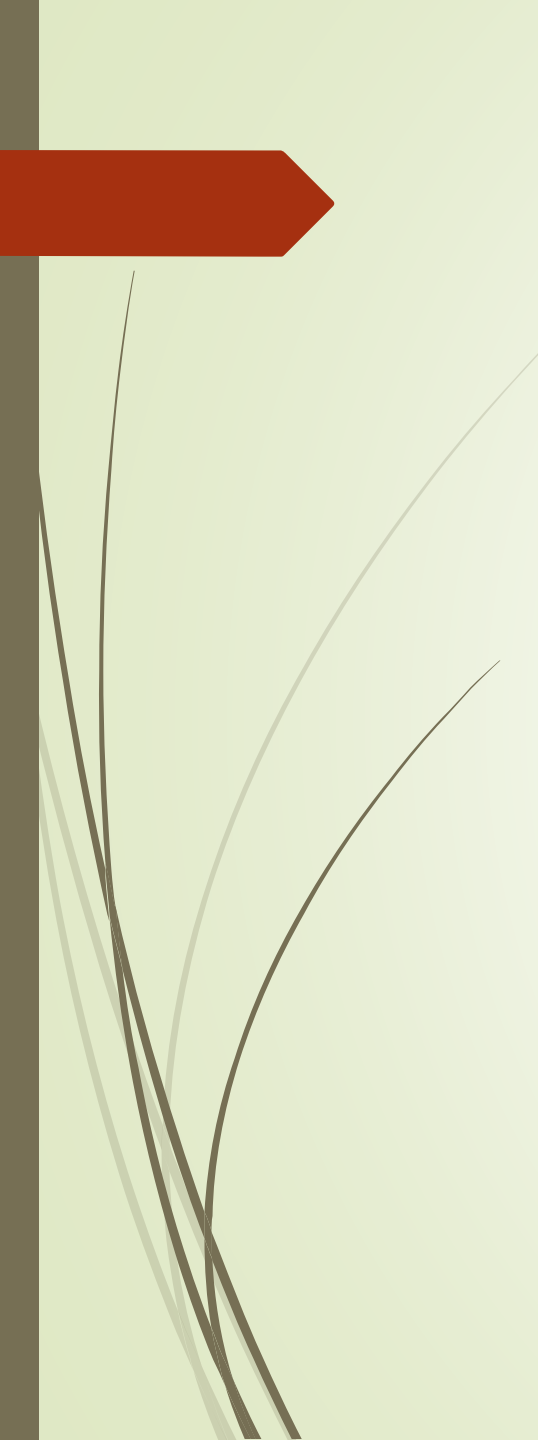
Ένα εξόνιο μαζί με τις παρακείμενες αλληλουχίες του, το οποίο μετατίθεται μέσα σε ένα ιντρόνιο, μπορεί να συρραφτεί στο προϊόν RNA

Πώς εξελίχθηκαν τα διακεκομμένα γονίδια;

- ✓ Ένα ενδιαφέρον εξελικτικό ερώτημα είναι εάν τα γονίδια αρχικά είχαν ιντρόνια ή ήταν αρχικά συνεχή.
- ✓ Διακεκομμένα γονίδια που αντιστοιχούν είτε σε πρωτεΐνες είτε σε ανεξάρτητα λειτουργικά μη κωδικοποιητικά RNA πιθανότατα προήλθαν από μια διακεκομμένη μορφή (η υπόθεση «πρώιμων ιντρονίων»).
- ✓ Μια ειδική κατηγορία ιντρονίων είναι κινητά και μπορούν να εισαχθούν στα γονίδια.

A decorative graphic on the left side of the slide. It features a solid red arrow pointing to the right, positioned horizontally. Behind the arrow and extending upwards and to the right are several thin, dark grey, curved lines that create a sense of movement or flow.

Μέγεθος γονιδιώματος

- 
- ✓ **Τιμή C (C-value)** Η συνολική ποσότητα DNA του γονιδιώματος (ανά απλοειδές σύνολο χρωμοσωμάτων).
 - ✓ Η συνολική ποσότητα DNA στο (απλοειδές) γονιδίωμα έχει μια χαρακτηριστική τιμή για κάθε έμβιο είδος και αναφέρεται ως τιμή C (C-value).
 - ✓ Το εύρος των τιμών C είναι εξαιρετικά μεγάλο, από $<10^6$ bp για το μυκόπλασμα έως $>10^{11}$ bp για ορισμένα φυτά και αμφίβια.

✓ Παράδοξο τιμής C (C-value paradox)

Η έλλειψη (γραμμικής) σχέσης μεταξύ του ποσού του DNA (τιμή C) ενός οργανισμού και του δυναμικού του για κωδικοποίηση.

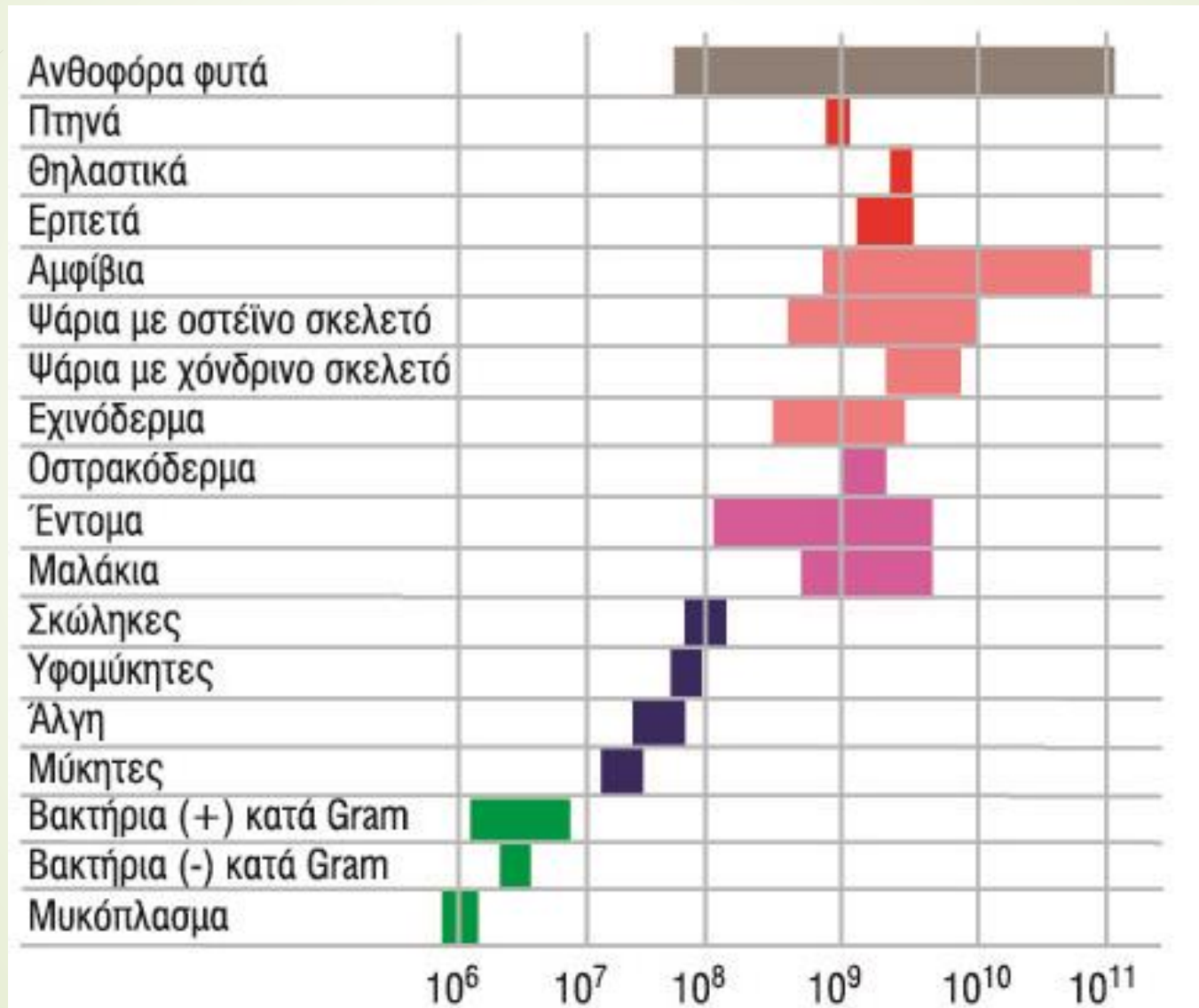
Το παράδοξο της τιμής C (C-value paradox) αναφέρεται στην έλλειψη συσχέτισης ανάμεσα στο μέγεθος γονιδιώματος και τη γενετική και μορφολογική πολυπλοκότητα.

Έχουν γίνει κάποιες εξαιρετικά περίεργες παρατηρήσεις για το σχετικό μέγεθος γονιδιώματος, όπως π.χ. ότι ο βάτραχος *Xenopus* και ο άνθρωπος έχουν ουσιαστικά το ίδιο μέγεθος γονιδιώματος

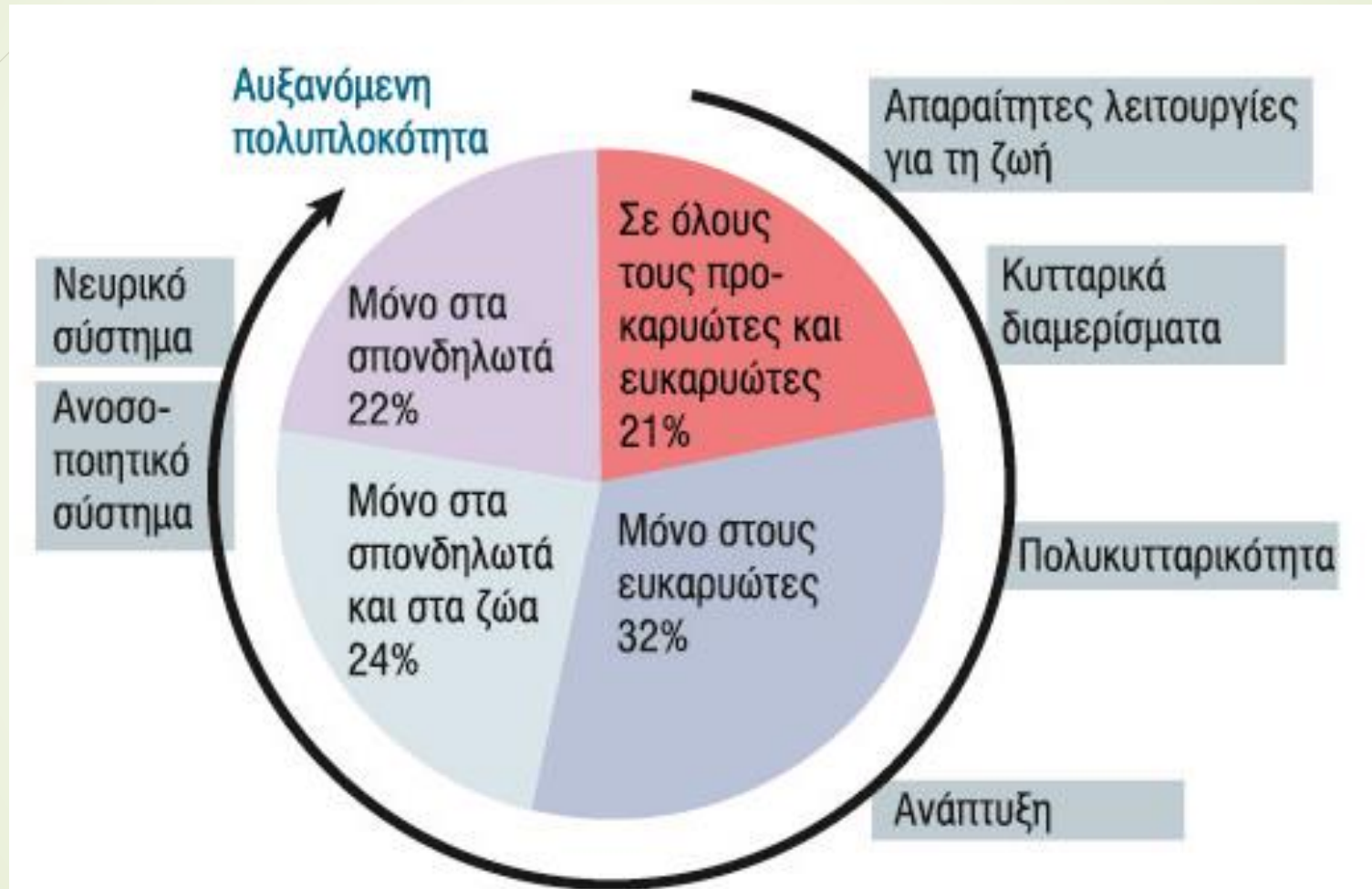
Μέγεθος διαφορετικών γονιδιωμάτων

Φύλα	Είδη	Γονιδίωμα
Άλγη	<i>Pyrenomas salina</i>	$6,6 \times 10^5$
Μυκόπλασμα	<i>Mycoplasma pneumonia</i>	$1,0 \times 10^6$
Βακτήριο	<i>Escherichia coli</i>	$4,2 \times 10^6$
Ζυμομύκητας	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$1,3 \times 10^7$
Μυξομύκητας	<i>Dictyostelium discoideum</i>	$5,4 \times 10^7$
Νηματώδες	<i>Caenorhabditis elegans</i>	$8,0 \times 10^7$
Έντομο	<i>Drosophila melanogaster</i>	$1,8 \times 10^8$
Πουλί	<i>Gallus</i>	$1,2 \times 10^9$
Αμφίβιο	<i>Xenopus laevis</i>	$3,1 \times 10^9$
Θηλαστικό	<i>Homo sapiens</i>	$3,3 \times 10^9$

Μέγεθος διαφορετικών γονιδιωμάτων



Μέγεθος διαφορετικών γονιδιωμάτων



Τα γονίδια του ανθρώπου μπορεί να ταξινομηθούν ανάλογα με το πόσο ευρέως είναι διαδεδομένα τα ομόλογά τους σε άλλα είδη.

A decorative graphic on the left side of the slide. It features a solid red arrow pointing to the right, positioned horizontally. Behind the arrow and extending upwards and to the right are several thin, dark grey, curved lines that create a sense of movement or flow.


Γονίδια σφαιρίνης



Γονιδιακές Συστάδες: Οργάνωση και Συνεργασία

Τι είναι οι Γονιδιακές Συστάδες;

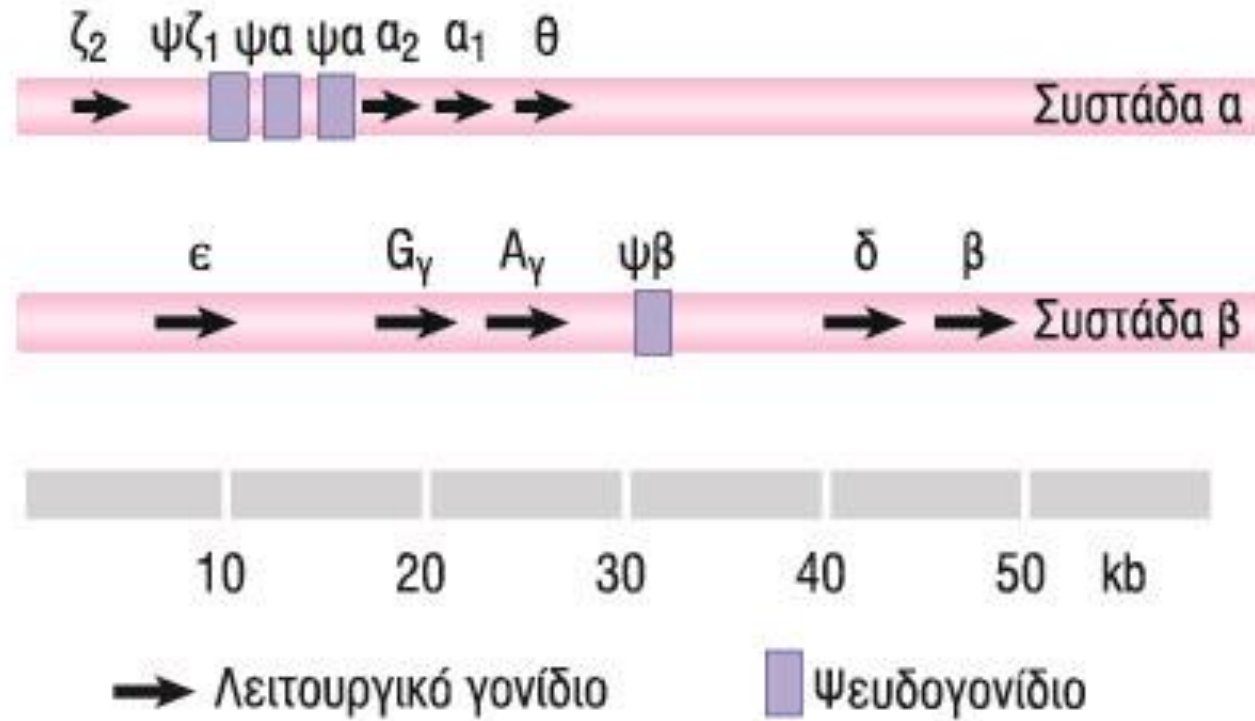
"Ομάδες σχετικών γονιδίων που βρίσκονται κοντά το ένα με το άλλο, στο ίδιο χρωμόσωμα."



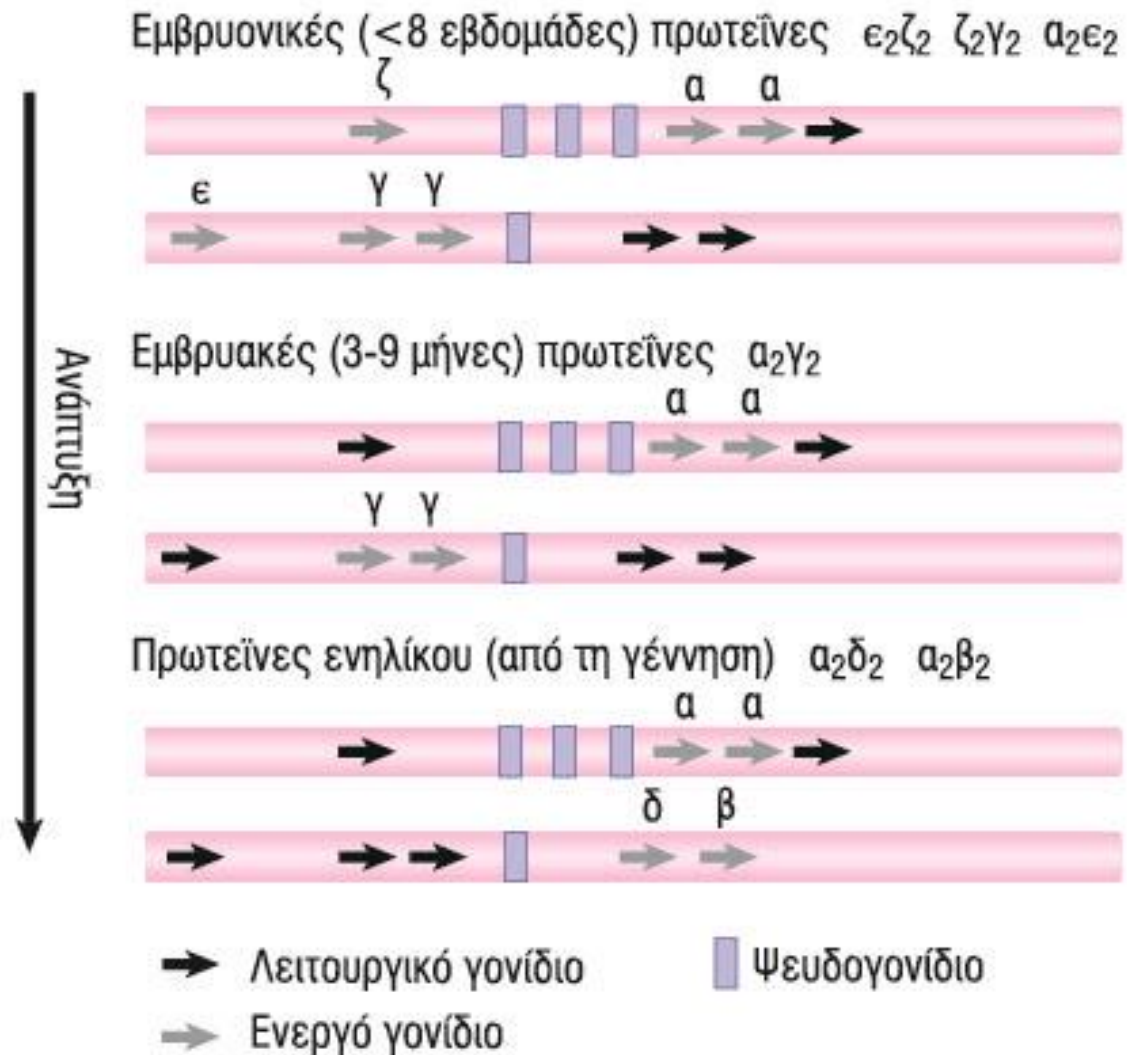
Η Οικογένεια της Σφαιρίνης- Μια Ιστορία Εξειδίκευσης.

- ✓ Εξέλιξη της οικογένειας της Σφαιρίνης- . Ένα αρχαίο γονίδιο αντιγράφηκε και τα "αντίγραφα" εξειδικεύτηκαν: εμβρυονική, εμβρυϊκή, Ενήλικη .
- ✓ **Σύνδεση:** "Αυτή η εξειδίκευση μας επιτρέπει να μεταφέρουμε οξυγόνο αποτελεσματικά από τη μητέρα στο έμβρυο και μετά στη γέννηση."

Συστάδες οικογένειας σφαιρινών



Έκφραση διαφορετικών γονιδίων σφαιρινών σε διαφορετικά στάδια ζωής



- ✓ Όλα τα γονίδια σφαιρίνης προέρχονται από διπλασιασμό και μεταλλάξεις από ένα προγονικό γονίδιο που είχε τρία εξόνια.
- ✓ Το προγονικό γονίδιο δημιούργησε τη μυοσφαιρίνη, τη ψυχανθοαιμοσφαιρίνη και τις α- και β-σφαιρίνες.
- ✓ Τα γονίδια α- και β-σφαιρίνης διαχωρίστηκαν στην περίοδο της πρώιμης εξέλιξης των σπονδυλωτών, μετά την οποία δημιουργήθηκαν διπλασιασμοί στις επιμέρους συστάδες των ξεχωριστών γονιδίων όμοιες με α και β.
- ✓ Όταν ένα γονίδιο έχει αδρανοποιηθεί από μεταλλάξεις, μπορεί να συσσωρεύσει περαιτέρω μεταλλάξεις και να γίνει ψευδογονίδιο (ψ), που είναι ομόλογο με το(τα) λειτουργικό(α) γονίδιο(α) αλλά δεν έχει πλέον λειτουργικό ρόλο (ή τουλάχιστον έχει χάσει την αρχική του λειτουργία).