




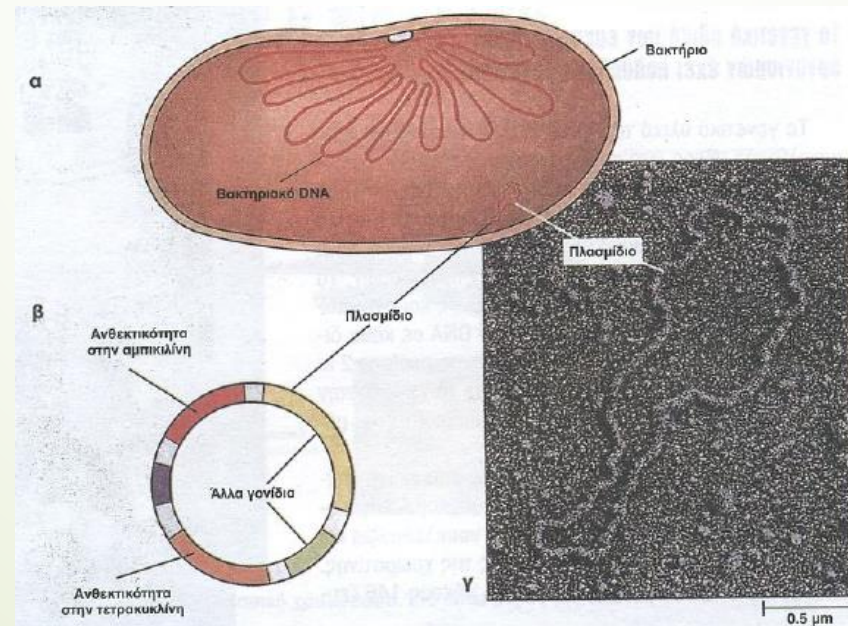
# ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Φροντιστήριο 1<sup>ο</sup>

- 
- ✓ Ένζυμα επεξεργασίας του DNA
  - ✓ Αλυσιδωτή αντίδραση πολύμεράσης
  - ✓ Κλωνοποίηση DNA

# Γενετικό υλικό προκαρυωτικών κυττάρων

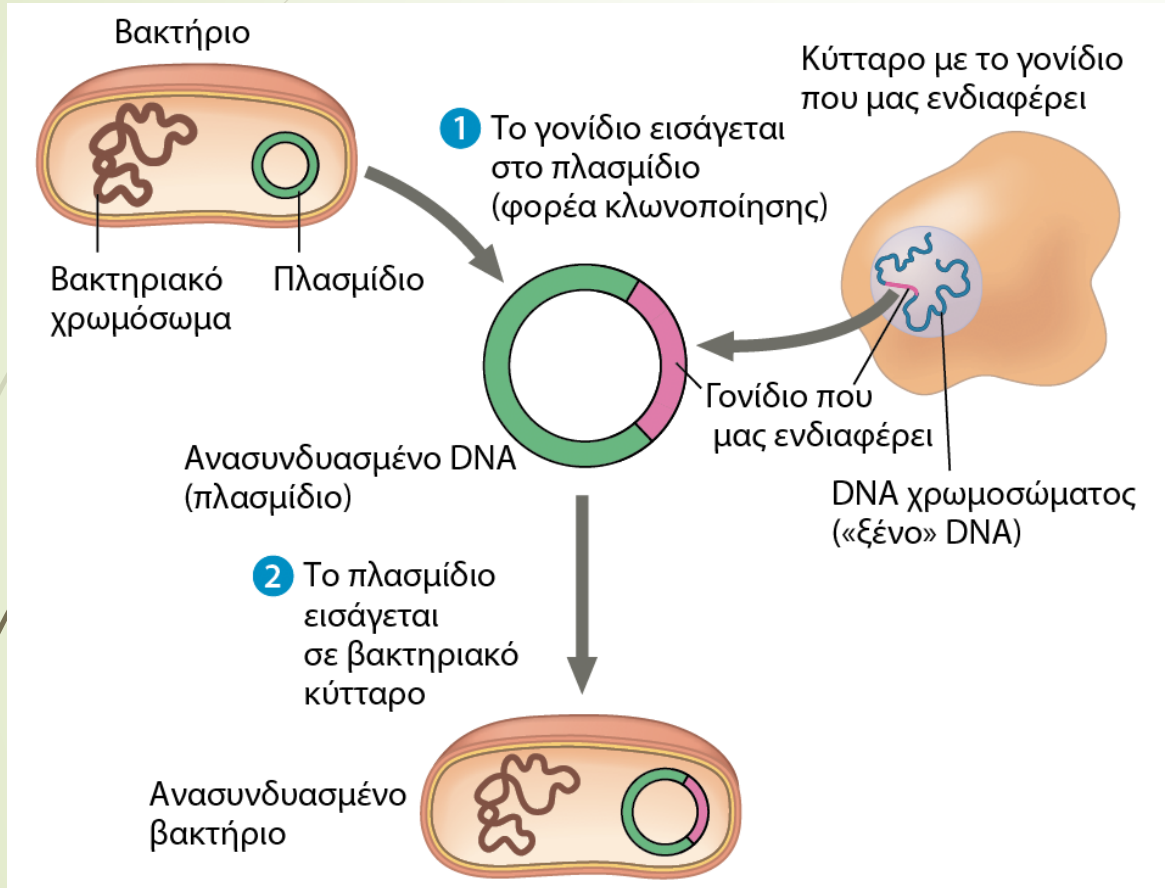
- Απλοειδή προκαρυωτικά κύτταρα (1 αντίγραφο γενετικού υλικού, 1 χρωμόσωμα)
- Γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων: υπερελικωμένο δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA & πλασμίδια (μικρά εξωχρωμοσωμικά δίκλιωνα κυκλικά μόρια DNA)



# Μεταφορά γενετικού υλικού στα προκαρυωτικά κύτταρα

- Η κυτταρική διαίρεση στα προκαρυωτικά κύτταρα γίνεται με **διχοτόμηση** (τα δύο θυγατρικά κύτταρα που προκύπτουν έχουν το ίδιο DNA με το αρχικό)
- Υφίσταται ελεγχόμενη ανταλλαγή DNA και με τη διαδικασία του μετασχηματισμού μέσω των πλασμιδίων τους
- Η ανεξάρτητη αντιγραφή των πλασμιδίων από το γενωμικό DNA και μεταφορά τους από το ένα βακτήριο στο άλλο, αποτελεί σπουδαίο εργαλείο της γενετικής μηχανικής στο πλαίσιο μεταφοράς γενετικού υλικού (γόνων) από έναν οργανισμό σε έναν άλλο
- **Γενετική μηχανική** : οι μέθοδοι, που αποσκοπούν στην τροποποίηση του γενετικού υλικού ενός οργανισμού με σκοπό να αποκτήσει αυτός νέες ιδιότητες

# Στάδια κλωνοποίησης ενός γονιδίου και χρήσεις του



**3** Καλλιέργεια κυττάρου-ξενιστή για τον σχηματισμό κλώνου κυττάρων με το «κλωνοποιημένο» γονίδιο που μας ενδιαφέρει

Γονίδιο που μας ενδιαφέρει

Πρωτεΐνη που εκφράζεται από το γονίδιο που μας ενδιαφέρει

Ανάκτηση πρωτεΐνης

Αντίγραφα γονιδίου

**4** Βασική έρευνα και διάφορες εφαρμογές

Εισαγωγή σε φυτά ενός γονιδίου ανθεκτικότητας στα παράσιτα

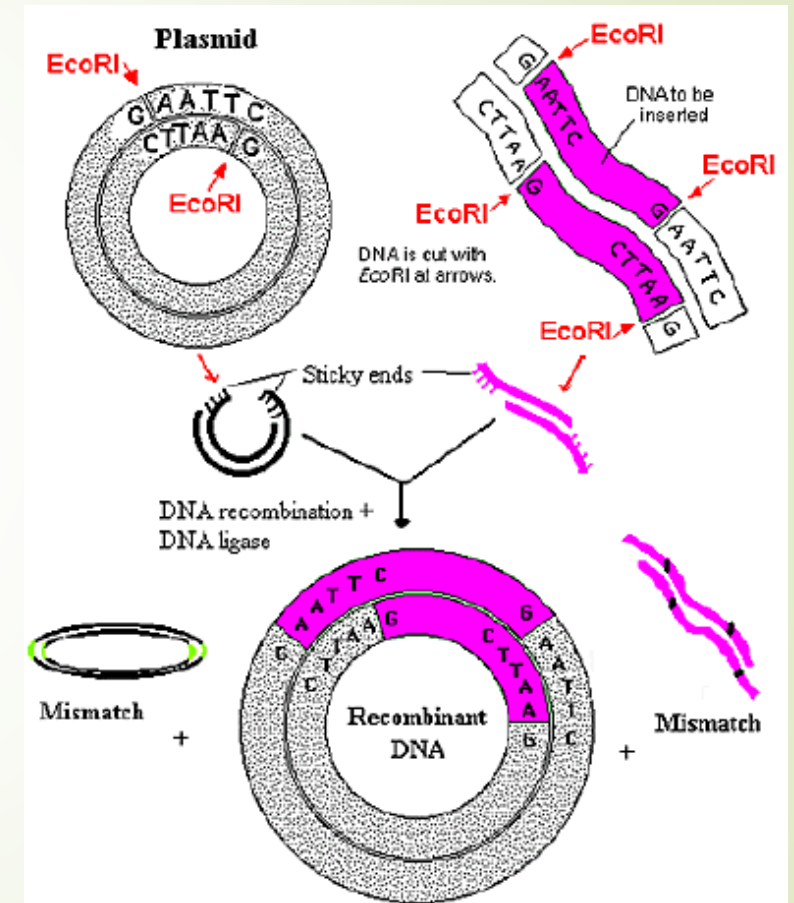
Θεραπεία καθυστερημένης ανάπτυξης με αυξητική ορμόνη του ανθρώπου

Χρήση γονιδίου για την τροποποίηση βακτηρίων ώστε να καθαρίζουν τοξικά απόβλητα

Θεραπεία, κατόπιν εμφράγματος του μυοκαρδίου, με πρωτεΐνη που διαλύει τους θρόμβους

# Μεταφορά γενετικού υλικού στα προκαρυωτικά κύτταρα

- **Γενετικά τροποποιημένος οργανισμός:** Οργανισμός με νέες ιδιότητες μετά από εισαγωγή ή τροποποίηση γονιδίου και συνεπώς δημιουργία νέας πρωτεΐνης.
- Για τη σύνθεση της νέας πρωτεΐνης πρέπει πρώτα το γονίδιο που περιέχει τις γενετικές πληροφορίες να **μεταγραφεί-φτιάχνοντας mRNA** απαραίτητο για τη σύνθεσή της, το οποίο με τη σειρά του στα ριβοσώματα θα συμβάλλει στη σύνθεση της πρωτεΐνης (μετάφραση)

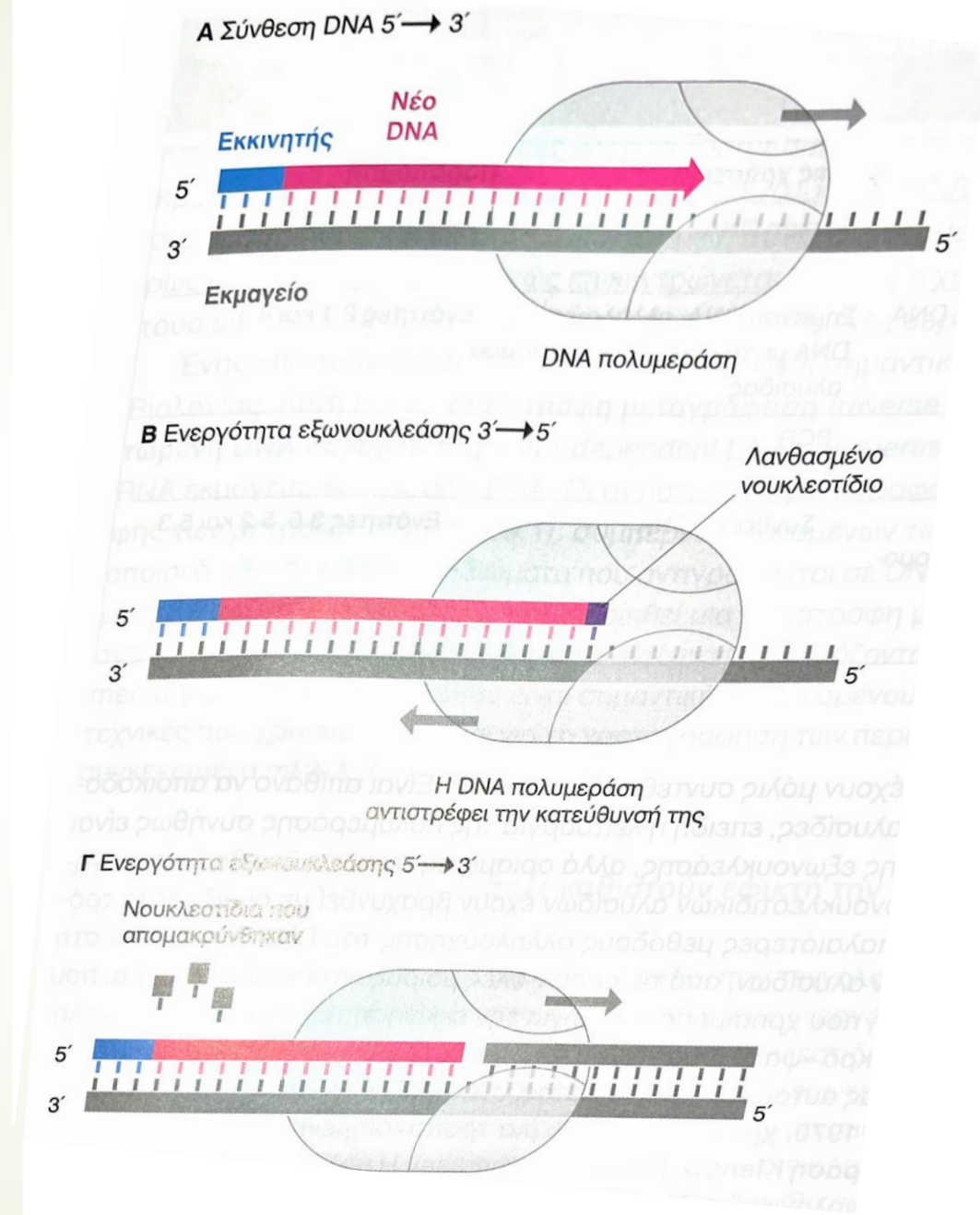


Χρήση πλασμιδίων ως φορέα **κλωνοποίησης**: εισαγωγή τμήματος DNA σε πλασμίδιο (= ανασυνδυασμένο πλασμίδιο)

## Ένζυμα για την επεξεργασία του DNA

- ▶ **DNA πολυμεράσες:** ένζυμα που συνθέτουν καινούριες πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, συμπληρωματικές ως προς το υπάρχον εκμαγείο- DNA ή RNA
- ▶ **Νουκλεάσες:** ένζυμα που αποικοδομούν μόρια DNA μέσω θραύσης των φωσφοδιεστερικών δεσμών μεταξύ των νουκελοτιδίων
- ▶ **Λιγάσες:** ένζυμα που συνδέουν μόρια DNA μέσω σύνθεσης φωσφοδιεστερικών δεσμών μεταξύ των νουκελοτιδίων που βρίσκονται στα άκρα δυο διαφορετικών μορίων ή στα δυο άκρα του ίδιου μορίου
- ▶ **Ένζυμα τροποποίησης άκρων:** ένζυμα που προκαλούν αλλαγές στα άκρα των μορίων DNA

DNA πολυμεράση:  
ενεργότητα σύνθεσης DNA &  
3' → 5' εξωνουκλεάσης &  
5' → 3' εξωνουκλεάσης





# Νουκλεάσες

- ▶ **Περιοριστικές ενδονουκλεάσες:** DNA ενδονουκλεάσες που αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες, προέρχονται από πολλές πηγές
- ▶ **Νουκλεάση S1:** ενδονουκλεάση ειδική για DNA & RNA *Aspergillus oryzae*
- ▶ **Δεοξυριβονουκλεάση I:** Ενδονουκλεάση ειδική για δίκλωνο DNA & RNA, από την *E. Coli*

## Περιοριστικές ενδονουκλεάσες

- **Τύπου I:** Το ένζυμο αναγνωρίζει μία θέση και κόβει τουλάχιστον 1000 bp μακριά από το σημείο.
- **Τύπου III:** το ένζυμο κόβει 24-26bp μακριά από τη θέση αναγνώρισης.
- **Τύπου IV:** το ένζυμο κόβει μεθυλιωμένο DNA χωρίς να αναγνωρίζει συγκεκριμένη αλληλουχία.
- **Τύπου II:** Τα συγκεκριμένα ένζυμα κόβουν το DNA σε συγκεκριμένες θέσεις οι οποίες έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά (καρκινική ανάγνωση)

## Τα ένζυμα περιορισμού είναι «μοριακά ψαλίδια»

- ✓ Τα ένζυμα περιορισμού κόβουν το DNA σε μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA (θέση περιορισμού), όπως 5'—AAGCTT—3'
- ✓ Πολλά από τα ένζυμα περιορισμού που χρησιμοποιούνται για μελέτες ανασυνδυασμένου DNA κόβουν παλινδρομικές αλληλουχίες — η αλληλουχία βάσεων διαβάζεται το ίδιο με το συμπλήρωμα της, στην αντίθετη κατεύθυνση — όπως 3'—TTCGAA—5', παράγοντας κολλώδη άκρα.



- ✓ Τα κολλώδη άκρα συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τα συμπληρωματικά, μονόκλινα άκρα άλλων μορίων DNA που έχουν κοπεί με το ίδιο ένζυμο.

# Περιοριστικές ενδονουκλεάσες: Παραδείγματα

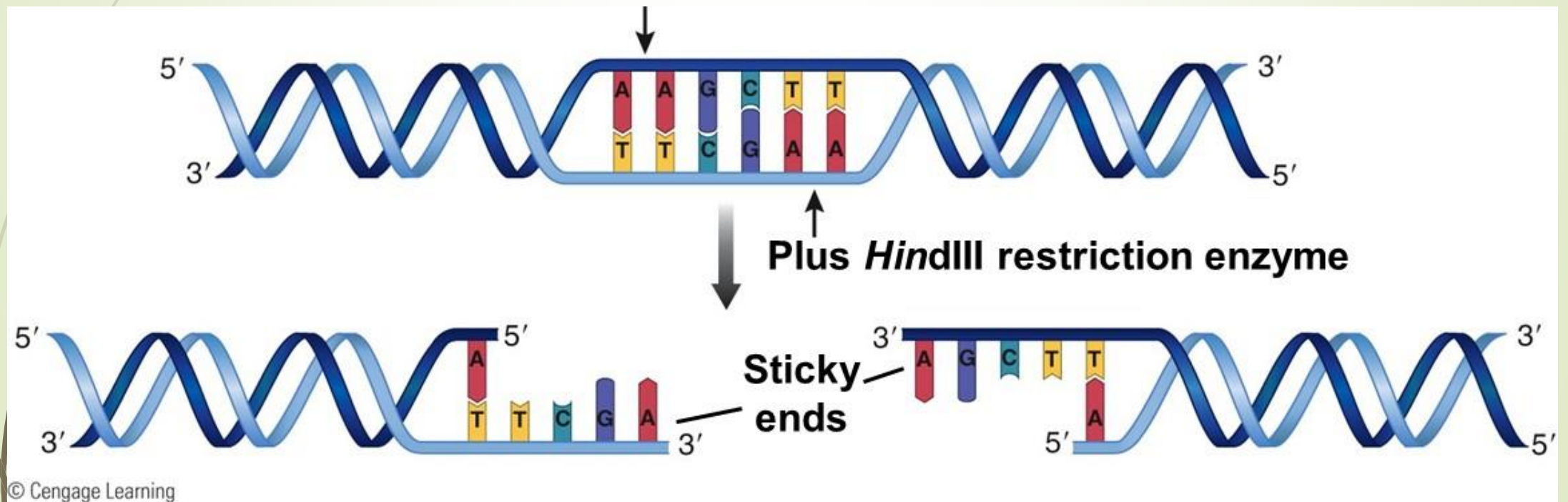
Ένζυμο	Αλληλουχία αναγνώρισης	Μορφή άκρων	Αλληλουχίες άκρων
<i>AluI</i>	5'-AGCT-3' 3'-TCGA-5'	«Τυφλά»	5'-AG CT-3' 3'-TC GA-5'
<i>Sau3AI</i>	5'-GATC-3' 3'-CTAG-5'	«Κολλώδη», 5'-προεξοχή	5'- GATC-3' 3'-CTAG -5'
<i>Hinfi</i>	5'-GANTC-3' 3'-CTNAG-5'	«Κολλώδη», 5'-προεξοχή	5'-G ANTC-3' 3'-CTNA G-5'
<i>BamHI</i>	5'-GGATCC-3' 3'-CCTAGG-5'	«Κολλώδη», 5'-προεξοχή	5'-G GATCC-3' 3'-CCTAG G-5'
<i>BsrBI</i>	5'-CCGCTC-3' 3'-GGCGAG-5'	«Τυφλά»	5'- NNNCCGCTC-3' 3'- NNNGGCGAG-5'
<i>EcoRI</i>	5'-GAATTC-3' 3'-CTTAAG-5'	«Κολλώδη», 5'-προεξοχή	5'-G AATTC-3' 3'-CTTAA G-5'
<i>PstI</i>	5'-CTGCAG-3' 3'-GACGTC-5'	«Κολλώδη», 3'-προεξοχή	5'-CTGCA G-3' 3'-G ACGTC-5'
<i>NotI</i>	5'-GCGGCCGC-3' 3'-CGCCGGCG-5'	«Κολλώδη», 5'-προεξοχή	5'-GC GGCCGC-3' 3'-CGCCGG CG-5'
<i>BglI</i>	5'-GCCNNNNNGGC-3' 3'-CGGNNNNNCCG-5'	«Κολλώδη», 3'-προεξοχή	5'-GCCNNNN NGGC-3' 3'-CGGN NNNNCCG-5'

Συντομογραφία: N, οποιοδήποτε νουκλεοτίδιο.

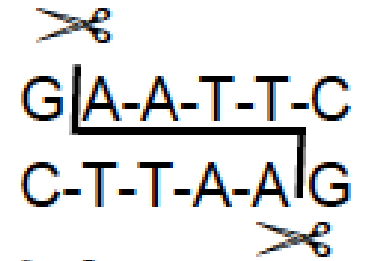
Προσέξτε ότι οι περισσότερες αλληλουχίες αναγνώρισης, αλλά όχι όλες, διαθέτουν παλίνδρομη συμμετρία. Αυτό σημαίνει ότι όταν διαβαστούν με κατεύθυνση 5'→3', η αλληλουχία είναι η ίδια και στις δύο αλυσίδες.

## Τα ένζυμα περιορισμού είναι «μοριακά ψαλίδια»

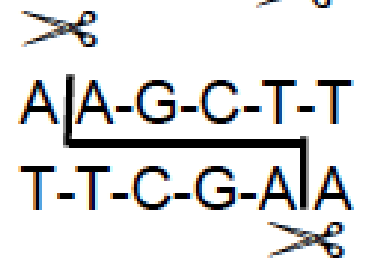
- ✓ Μόλις ενωθούν τα κολλώδη άκρα των δύο μορίων, υποβάλλονται σε επεξεργασία με DNA λιγάση.



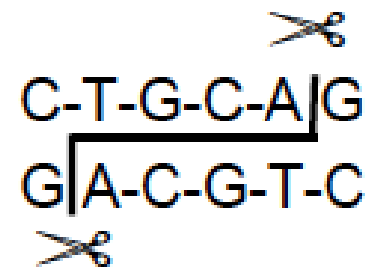
**EcoRI**



**HindIII**



**PstI**



# Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης

Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα:

- ✓ Χρησιμοποιείται για τον διαχωρισμό μιγμάτων ορισμένων μακρομορίων: **πρωτεϊνών, πολυπεπτιδίων ή τμημάτων DNA.**
- ✓ Τα νουκλεϊκά οξέα μετακινούνται μέσω του πηκτώματος προς τον θετικό πόλο του ηλεκτρικού πεδίου, επειδή είναι αρνητικά φορτισμένα λόγω των φωσφορικών ομάδων τους.
- ✓ Τα τμήματα DNA διαχωρίζονται ανάλογα με το μέγεθός τους — τα μικρά μόρια μετακινούνται γρηγορότερα προς τον θετικό πόλο από τα μεγάλα μόρια.

## Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης

- ✓ Ο διαχωρισμός νουκλεϊνικών οξέων είναι από τις πιο διαδεδομένες μεθόδους.
- ✓ Ο διαχωρισμός τους βασίζεται στο φορτίο τους αλλά και στο μέγεθος τους καθώς η ηλεκτροφόρηση γίνεται σε πήκτωμα (gel).
- ✓ Τα πηκτώματα είναι τρισδιάστατα πλέγματα μακρομορίων που δρουν ως μοριακά κόσκινα.
- ✓ Τα μικρά μόρια κινούνται πιο γρήγορα μέσα από τους πόρους του πηκτώματος, ενώ τα μεγάλα επιβραδύνονται.



# Χρωστικές DNA

- ✓ Απαιτείται η χρήση χρωστικών που δεσμεύονται στο DNA για την εμφάνιση των ιχνών τους στο πήκτωμα.
- ✓ **Βρωμιούχο Αιθίδιο (EtBr)**. Η πρώτη ένωση που χρησιμοποιήθηκε. Ισχυρή δέσμευση στο DNA αποδομείται δύσκολα. Ισχυρό μεταλλαξιγόνο. Αποφεύγεται η χρήση το για λόγους ασφαλείας.
- ✓ Συγχρονες χρωστικές: **GelRed, SYBR Green**. Αποδομούνται σχετικά γρήγορα, αλλά επειδή δεσμεύονται στο DNA καλό είναι να χρησιμοποιούνται με προσοχή.
- ✓ Τρόπος λειτουργίας Χρωστικών.
  - Όταν είναι δεσμευμένες στο DNA φθορίζουν στην περιοχή του ορατού όταν διεγερθούν με υπεριώδη ακτινοβολία.
  - Όταν είναι ελεύθερες χάνουν την ικανότητα φθορισμού.

# Ηλεκτροφόρηση DNA

- ✓ Εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου σε δείγμα ως τμήματα DNA (το DNA είναι αρνητικά φορτισμένο μακρομόριο), που έχει τοποθετηθεί σε εγκοπή πηκτώματος (gel) και αυτά μετακινούνται από τον αρνητικό στο θετικό πόλο
- ✓ Το πήκτωμα αγαρόζης λειτουργεί σαν «μοριακό κόσκινο» μέσα στους πόρους της οποίας τα τμήματα του DNA διαχωρίζονται (τα μικρότερα τμήματα θα κινούνται γρηγορότερα και τα μεγαλύτερα αργότερα για συγκεκριμένο χρόνο εφαρμογής ηλεκτρικού πεδίου); Τμήματα DNA με το ίδιο μέγεθος κινούνται συγχρόνως μέσω του πηκτώματος και συγκεντρώνονται σε ζωνώσεις.
- ✓ Όσο πιο μεγάλη είναι η συγκέντρωση της αγαρόζης, τόσο πιο καλά διαχωρίζονται τα μικρού σχετικού μεγέθους μόρια

# Ηλεκτροφόρηση DNA

- ✓ Το μοριακό βάρος (MB) κάθε ζώνωσης καθορίζεται από μια πρότυπη καμπύλη (μάρτυρας/ladder), η οποία κατασκευάζεται με τη χρήση μακρομορίων γνωστού MB; Ο δείκτης MB πρέπει να καλύπτει όλο το εύρος διαχωρισμού μιας πήκτωμας
- ✓ Μονάδες μέτρησης δίκλωνου DNA: ζεύγη βάσεων (bp)

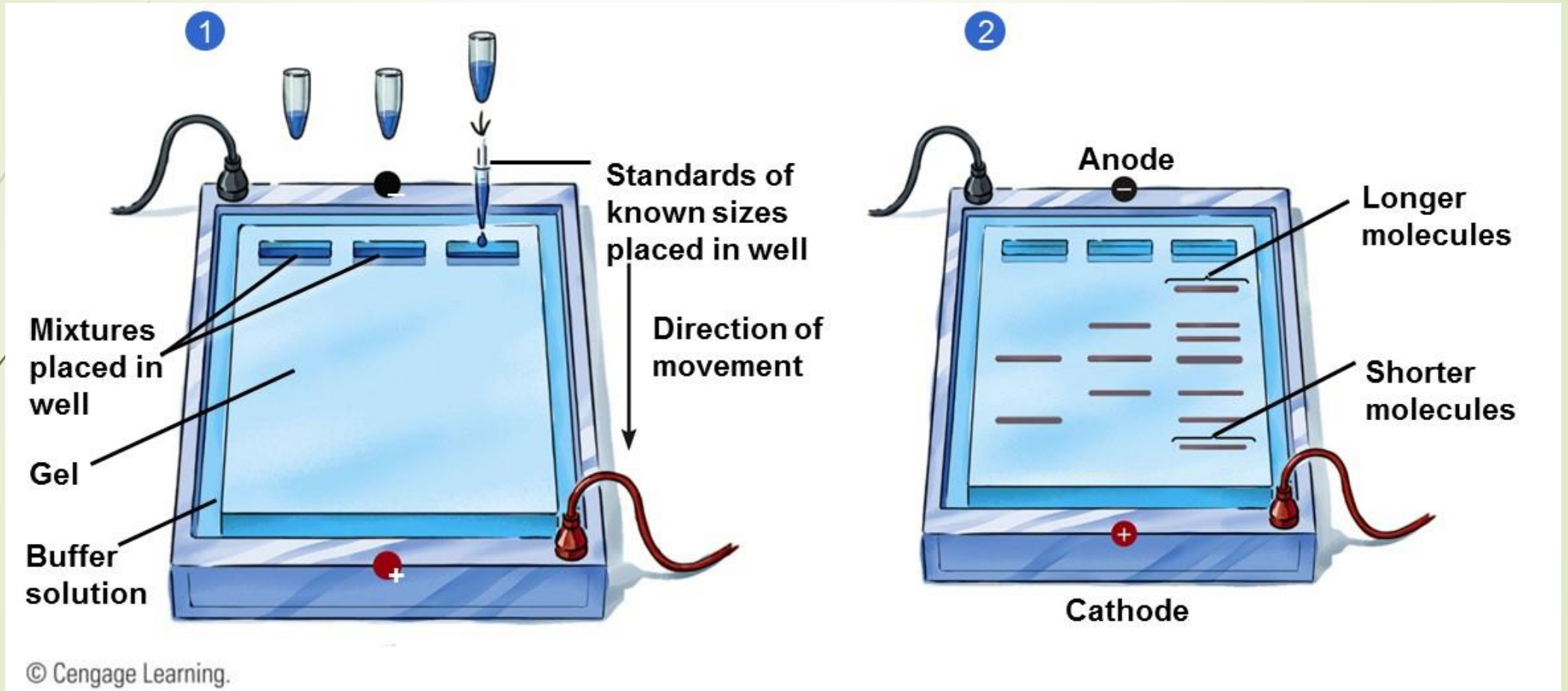
# % Αγαρόζη για την ανάλυση DNA

## RESOLUTION OF LINEAR DNA ON AGAROSE GELS.

### Recommended % Agarose Optimum Resolution for Linear DNA

0.5	1,000–30,000bp
0.7	800–12,000bp
1.0	500–10,000bp
1.2	400–7,000bp
1.5	200–3,000bp
2.0	50–2,000bp

# Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αγαρόζης

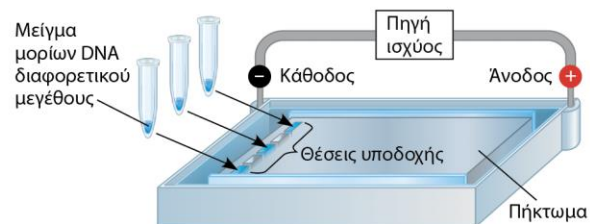


## Εργαλεία για τη μελέτη του DNA

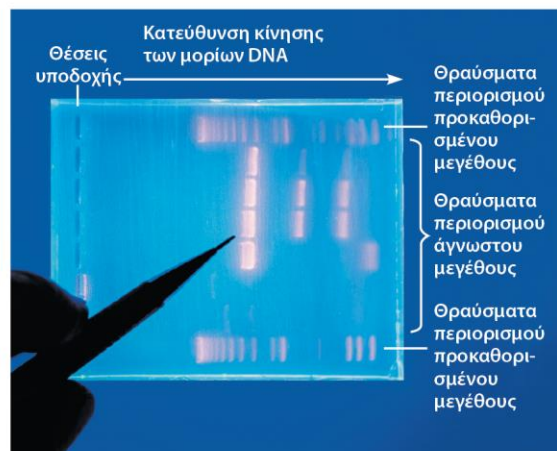
### Southern blot:

- ✓ Το DNA που διαχωρίζεται με ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα αποδιατάσσεται και μεταφέρεται σε μια μεμβράνη, η οποία απορροφά το DNA όπως ένα χαρτί απορροφητικό απορροφά το μελάνι.
- ✓ Η μεμβράνη επωάζεται με έναν ανιχνευτή/ ιχνηθέτη DNA, ο οποίος υβριδοποιείται με συγκεκριμένο τμήμα cDNA που διαθέτει συμπληρωματικότητα.
- ✓ Ο ιχνηθέτης ανιχνεύεται με αυτοραδιογραφία ή χημική φωταύγεια.

▼ **Εικόνα 20.6 Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα.** Ένα πήκτωμα, αποτελούμενο από κάποιο πολυμερές, δρα ως μοριακός ηθμός για τον διαχωρισμό νουκλεϊκών οξέων ή πρωτεϊνών, που διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος, το ηλεκτρικό φορτίο ή άλλες φυσικές ιδιότητες, καθώς κινούνται σε ένα ηλεκτρικό πεδίο. Στο παράδειγμα που παρουσιάζεται εδώ, μόρια DNA διαχωρίζονται με βάση το μήκος τους σε ένα πήκτωμα το οποίο αποτελείται από αгарόζη (έναν πολυσακχαρίτη).

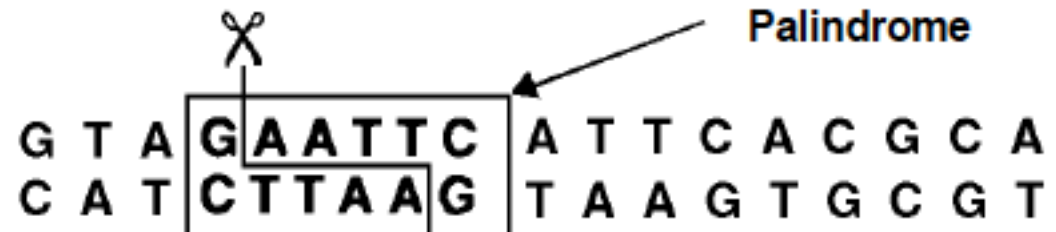


(α) Κάθε δείγμα (εν προκειμένω, ένα μείγμα μορίων DNA) εισάγεται σε μια χωριστή θέση («πηγαδάκι») κοντά στο ένα άκρο μιας λεπτής πλάκας πηκτώματος αγαρόζης. Το πήκτωμα είναι τοποθετημένο πάνω σε μια πλαστική βάση και εμβαπτισμένο στο υδατικό διάλυμα μιας δεξαμενής που σε κάθε άκρο της φέρει ένα ηλεκτρόδιο. Με την εφαρμογή ηλεκτρικού πεδίου, τα αρνητικώς φορτισμένα μόρια DNA κινούνται προς το θετικό ηλεκτρόδιο.

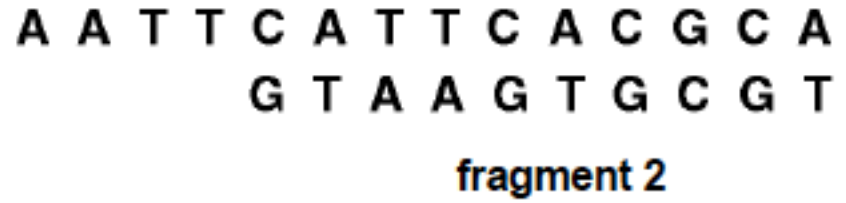
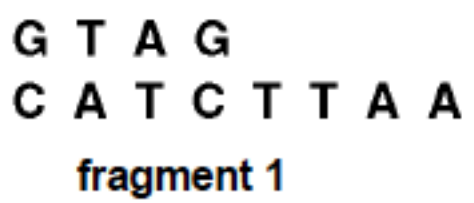


(β) Τα μικρότερου μήκους μόρια επιβραδύνονται σε μικρότερο βαθμό απ' ό,τι τα μεγαλύτερου μήκους μόρια και, συνεπώς, κινούνται ταχύτερα. Μετά τη διακοπή του ηλεκτρικού ρεύματος, προστίθεται στο πήκτωμα μια χρωστική η οποία δεσμεύεται στο DNA. Όταν αυτή εκτεθεί σε υπεριώδες φως, παράγει ένα ροζ φθορίζον χρώμα, αποκαλύπτοντας σε ποιες διαχωρισμένες ζώνες έχει δεσμευτεί. Κάθε ροζ ζώνη αντιστοιχεί σε πολλές χιλιάδες μόρια DNA ίσου μήκους. Οι ζώνες στα πάνω και κάτω άκρα του πηκτώματος αποτελούν θραύσματα περιορισμού προκαθορισμένου μήκους, τα οποία χρησιμοποιούνται για σύγκριση με τα δείγματα άγνωστου μεγέθους.

Look at the DNA sequence below.

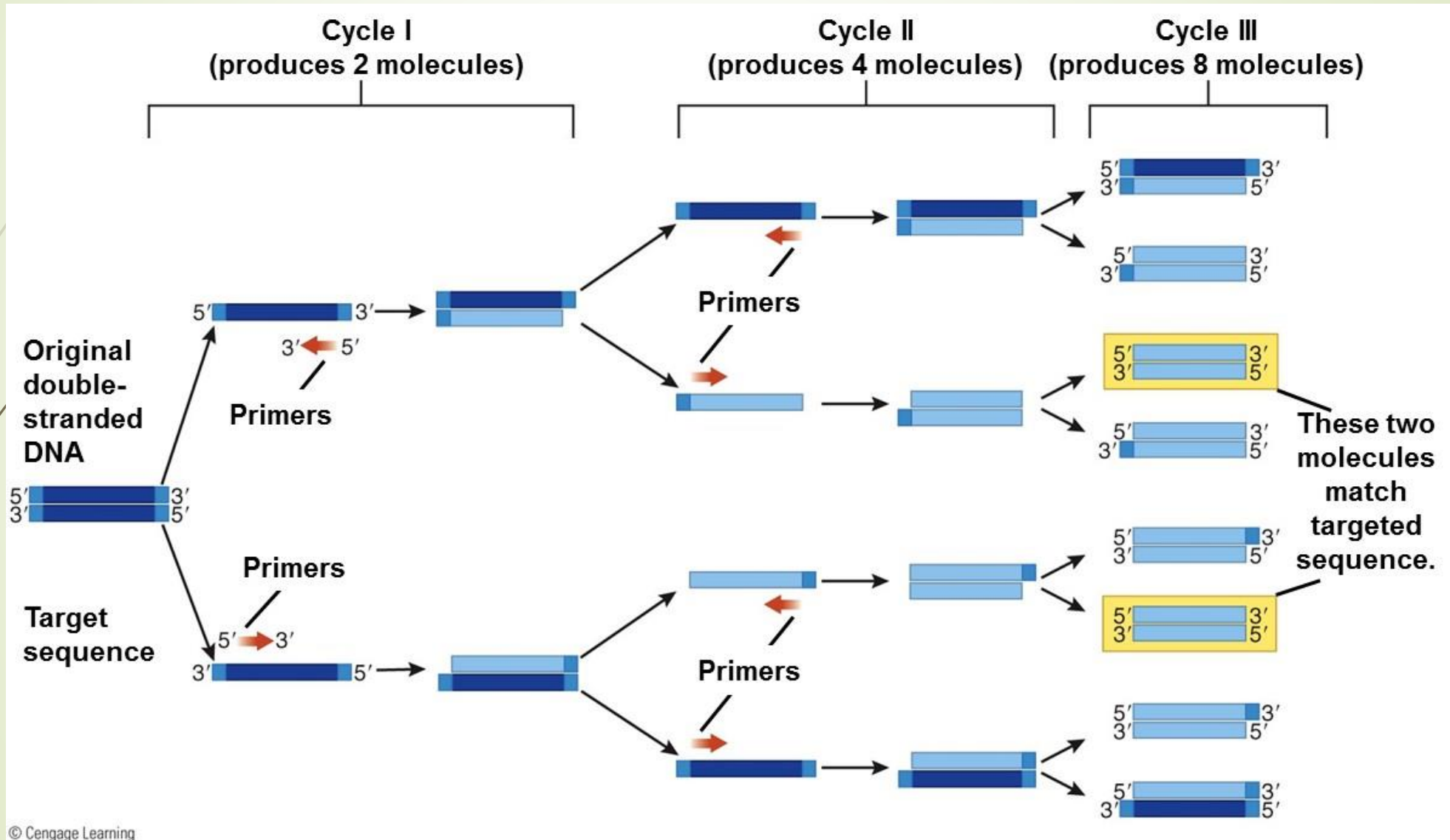


Restriction enzyme breaks the molecular bonds along the line indicated





# Ενίσχυση του τμήματος DNA με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης - PCR



## Κλωνοποίηση DNA & περιοριστικές ενδονουκλεάσες

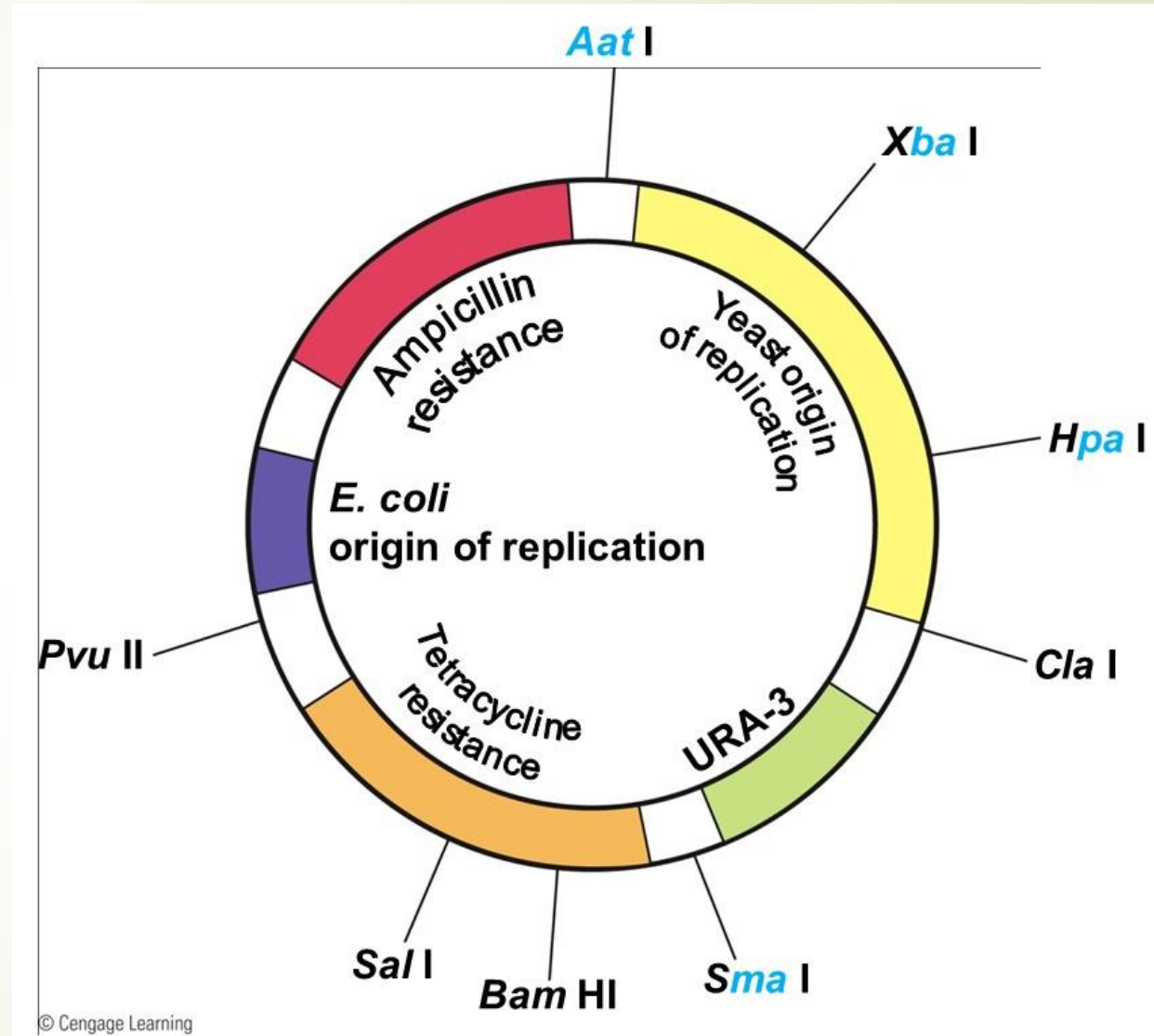
- ✓ Η τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA ξεκίνησε με γενετικές μελέτες ιών που μολύνουν βακτήρια.
- ✓ Τα ένζυμα περιορισμού από βακτήρια χρησιμοποιούνται για να κόψουν μόρια DNA σε συγκεκριμένα σημεία και ένα μόριο φορέα μεταφέρει το θραύσμα DNA σε ένα κύτταρο.
  - Οι βακτηριοφάγοι και τα πλασμίδια είναι δύο παραδείγματα φορέων.
- ✓ Ένα πλασμίδιο με ξένο DNA ενσωματωμένο σε αυτό εισάγεται στα βακτήρια μέσω μετασχηματισμού: η πρόσληψη ξένου DNA από τα κύτταρα.
- ✓ Μόλις ένα πλασμίδιο εισέλθει σε ένα κύτταρο, αναπαράγεται και διανέμεται στα θυγατρικά κύτταρα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης, παράγοντας πανομοιότυπους κλώνους.

# Πλασμίδια

✓ Τα πλασμίδια βοηθούν στην απομόνωση και ανάλυση του κλωνοποιημένου DNA. Έχουν:

1. Ένα σημείο έναρξης αντιγραφής
2. Μία ή περισσότερες θέσεις αναγνώρισης από περιοριστικές ενδονουκλεάσες
3. Γονίδια που επιτρέπουν την κυττάρων που έχουν μετασχηματιστεί από ανασυνδυασμένα πλασμίδια, όπως ανθεκτικότητα στα αντιβιοτικά.

✓ Το ανασυνδυασμένο DNA μπορεί επίσης να εισαχθεί σε κύτταρα ευκαρυωτικών οργανισμών, χρησιμοποιώντας τροποποιημένους ιούς ως φορείς.



## Ανθρώπινες Γονιδιωματικές βιβλιοθήκες με χρήση διαφορετικών τύπων φορέων κλωνοποίησης

Τύπος φορέα	Μέγεθος ενθέματος (kb)	Αριθμός κλώνων	
		P=95%	P=99%
Φορέας λ	18	516k	793k
Κοσμίδιο, Φοσμίδιο	40	232k	357k
P1	100	93k	143k
BAC, PAC	300	31k	47,5k

Όπως έχει οριστεί από την σχέση  $N = [\ln(1 - P)] / \ln(1 - a/b)$

Όπου N ο αριθμός των απαιτούμενων κλώνων, P η πιθανότητα για οποιοδήποτε τμήμα του γονιδιώματος να υπάρχει στη βιβλιοθήκη, a είναι το μέσο μέγεθος των τμημάτων DNA που εισάγονται στον φορέα και b είναι το μέγεθος του γονιδιώματος.

# Χάρτης περιορισμού

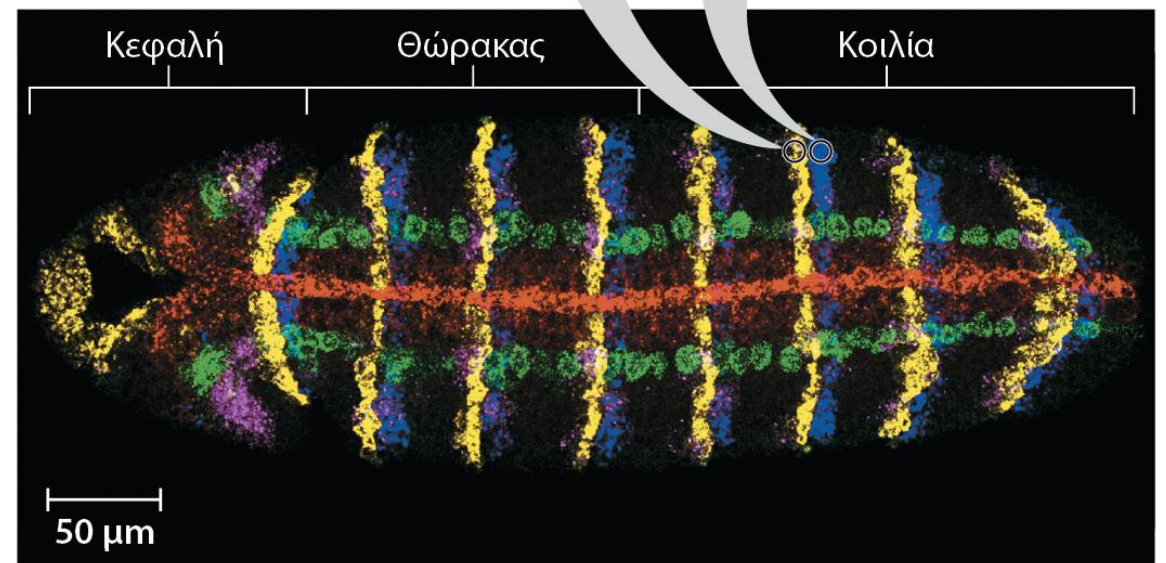
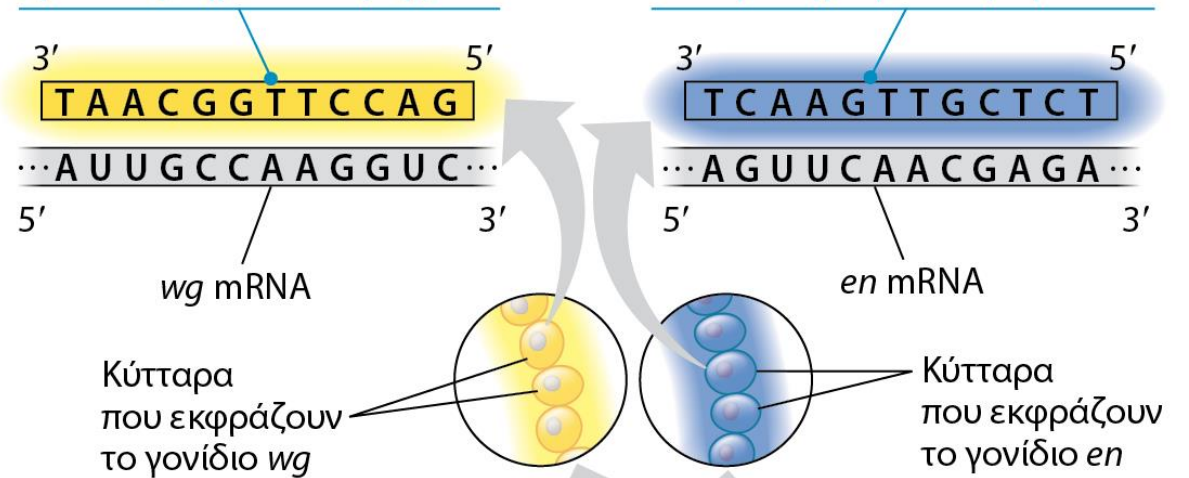
- ▶ Τα παραγόμενα τμήματα DNA από τη δράση περιοριστικής ενδονουκλεάσης μπορούν να διαχωριστούν, ανάλογα με το μέγεθός τους, σε πήκτωμα αγαρόζης με ηλεκτροφόρηση
- ▶ Χρησιμοποιώντας πολλά διαφορετικά ένζυμα περιορισμού μεμονωμένα και σε συνδυασμούς (απλές & διπλές πέψεις) είναι δυνατό να κατασκευαστεί ο **χάρτης περιορισμού** (*restriction map*) του DNA, όπου σημειώνονται οι θέσεις περιορισμού των χρησιμοποιούμενων ενζύμων
- ▶ Στο πήκτωμα αγαρόζης ηλεκτροφορούνται συγχρόνως και γνωστού MB θραύσματα DNA (*ladder*) και έτσι καθορίζονται τα μεγέθη των τμημάτων του δείγματος DNA

## *in situ* Υβριδισμός - προσδιορισμός της θέσης έκφρασης γονιδίου

Αυτό το έμβryo *Drosophila* επώαστηκε σε διάλυμα που περιείχε ανιχνευτές για πέντε διαφορετικά mRNA. Κάθε ανιχνευτής σημάνθηκε με μια φθορίζουσα ομάδα διαφορετικού χρώματος. Στη συνέχεια, το έμβryo εξετάστηκε σε μικροσκόπιο φθορισμού. Κάθε χρώμα υποδεικνύει την περιοχή του σώματος όπου παράγεται το mRNA ενός συγκεκριμένου γονιδίου. Τα βέλη που ξεκινούν από τις ομάδες των σημασμένων με κίτρινο και μπλε κυττάρων, πάνω από τη μικροφωτογραφία, δείχνουν μια μεγεθυμένη όψη της υβριδοποίησης που γίνεται ανάμεσα στο mRNA και στον κατάλληλα σημασμένο ανιχνευτή. Ο θώρακας (κορμός) και η κοιλία απαρτίζονται από επαναλαμβανόμενα μεταμερή. Τα κίτρινα κύτταρα (που εκφράζουν το γονίδιο *wg*) αλληλεπιδρούν με τα μπλε κύτταρα (που εκφράζουν το γονίδιο *en*)· η αλληλεπίδραση αυτή βοηθά να εδραιωθεί το πρότυπο σε ένα μεταμερές του σώματος.

Ο σημασμένος με κίτρινο ανιχνευτής DNA υβριδοποιείται με μόρια mRNA στα κύτταρα στα οποία εκφράζεται το γονίδιο *wingless* (*wg*), που κωδικοποιεί μια εκκρινόμενη πρωτεΐνη σηματοδότησης.

Ο σημασμένος με μπλε ανιχνευτής DNA υβριδοποιείται με μόρια mRNA στα κύτταρα στα οποία εκφράζεται το γονίδιο *engrailed* (*en*), που κωδικοποιεί έναν μεταγραφικό παράγοντα.



## Τεχνολογίες που βασίζονται στο CRISPR

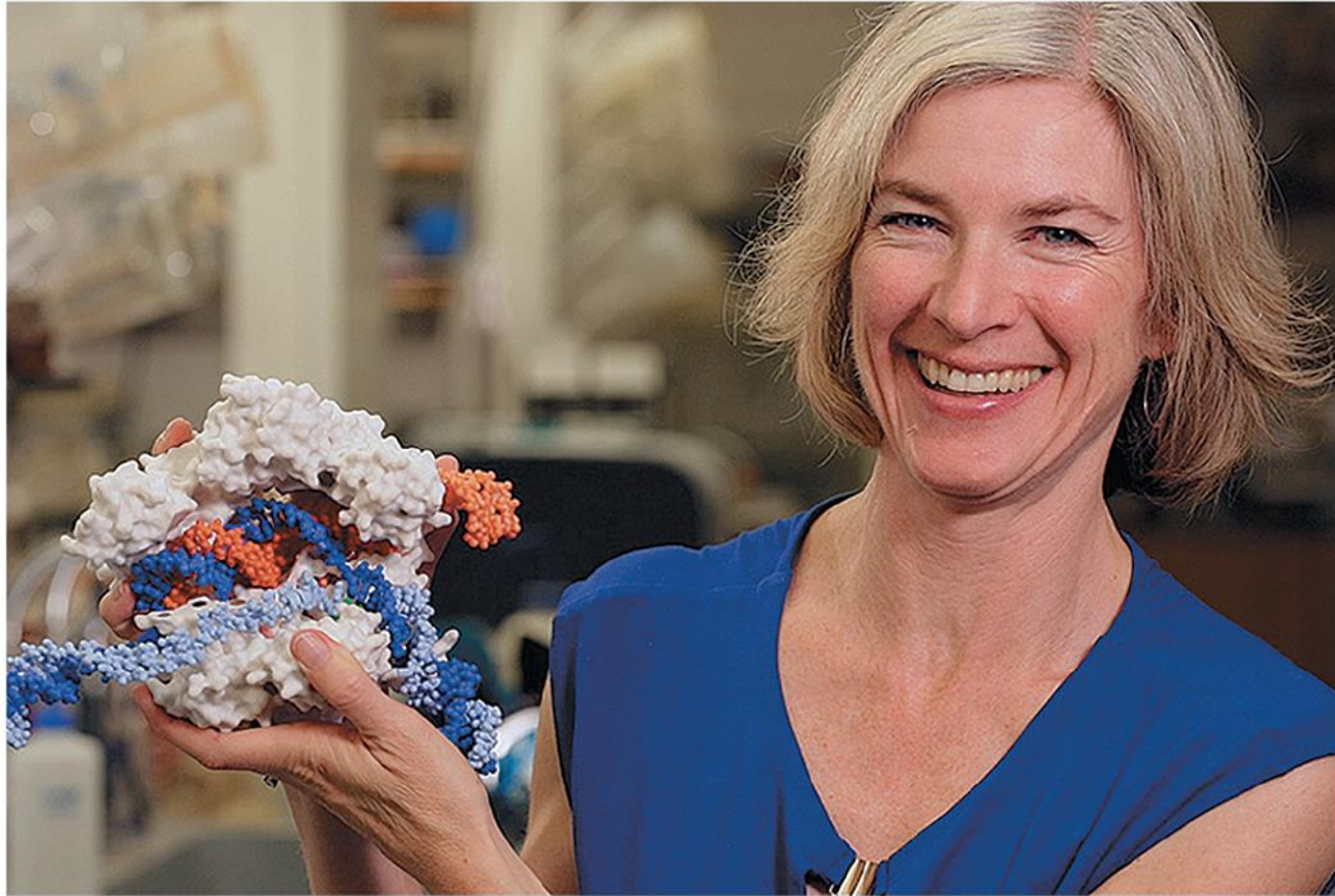
Η ανάπτυξη της τεχνικής επεξεργασίας γονιδιώματος CRISPR-Cas9 αναγνωρίστηκε με το βραβείο **Νόμπελ Χημείας** το **2020**, το οποίο απονεμήθηκε στις **Emmanuelle Charpentier** και **Jennifer Doudna**

<https://el.wikipedia.org/wiki/CRISPR>

CRISPR: Clusters of Regularly Interspersed Short Palindromic Repeats-Συστάδες τακτικά διασκορπισμένων σύντομων παλινδρομικών επαναλήψεων

- Η λειτουργία των ενδονουκλεασών CRISPR ανακαλύφθηκε το 2007 στο *Streptococcus thermophilus*
- Ένας τυπικός τύπος CRISPR αποτελείται από επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες περίπου 40 bp που διακόπτονται από μοναδικές αλληλουχίες που προέρχονται από το DNA βακτηριοφάγων
  - Συνήθως συνδέεται με ένα ή περισσότερα γονίδια **Cas** που κωδικοποιούν ενδονουκλεάσες, οι οποίες κόβουν το DNA όπως τα ένζυμα περιορισμού ως αμυντικός μηχανισμός

▼ **Εικόνα 20.14** Η Jennifer Doudna κρατώντας ένα μοντέλο του συστήματος CRISPR/Cas9.





# National Center for Biotechnology Information (NCBI) tools for DNA analysis

The screenshot shows the NCBI website interface. At the top, there is a navigation bar with 'NCBI Resources' and 'How To' dropdown menus. Below this is the NCBI logo and a search bar with a dropdown menu set to 'All Databases'. On the left side, there is a vertical navigation menu with the following items: NCBI Home, Resource List (A-Z), All Resources, Chemicals & Bioassays, Data & Software, DNA & RNA, Domains & Structures, Genes & Expression, Genetics & Medicine, Genomes & Maps, Homology, Literature, Proteins, Sequence Analysis, Taxonomy, Training & Tutorials, and Variation. The main content area is titled 'Welcome to NCBI' and includes a brief description of the center's mission. Below this, there are six service tiles arranged in a 2x3 grid: 'Submit' (Deposit data or manuscripts into NCBI databases), 'Download' (Transfer NCBI data to your computer), 'Learn' (Find help documents, attend a class or watch a tutorial), 'Develop' (Use NCBI APIs and code libraries to build applications), 'Analyze' (Identify an NCBI tool for your data analysis task), and 'Research' (Explore NCBI research and collaborative projects). Each tile features a representative icon. On the right side of the page, there is a vertical footer that reads 'National Center for Biotechnology Information'.