



ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ

Ενότητα 1^η: Μοριακή οργάνωση χρωμοσώματος

Δροσοπούλου Ε.
Σκούρας Ζ.

Τμήμα Βιολογίας

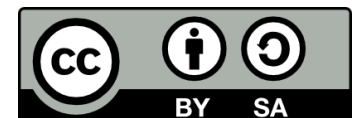


Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



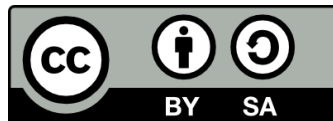
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.



Άδεια χρήσης εικόνων

Ευχαριστούμε θερμά τις Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Μπάσδρα για την παραχώρηση του δικαιώματος χρήσης των εξής εικόνων της παρούσης παρουσίασης:

Εικόνες: 3, 4

Πίνακας: 1

Οι εικόνες αυτές προέρχονται από το βιβλίο Peter Russell, iGenetics: Μια μεντελική προσέγγιση, 1η έκδοση, Ακαδημαϊκές Εκδόσεις Ι. Μπάσδρα και ΣΙΑ Ο.Ε.

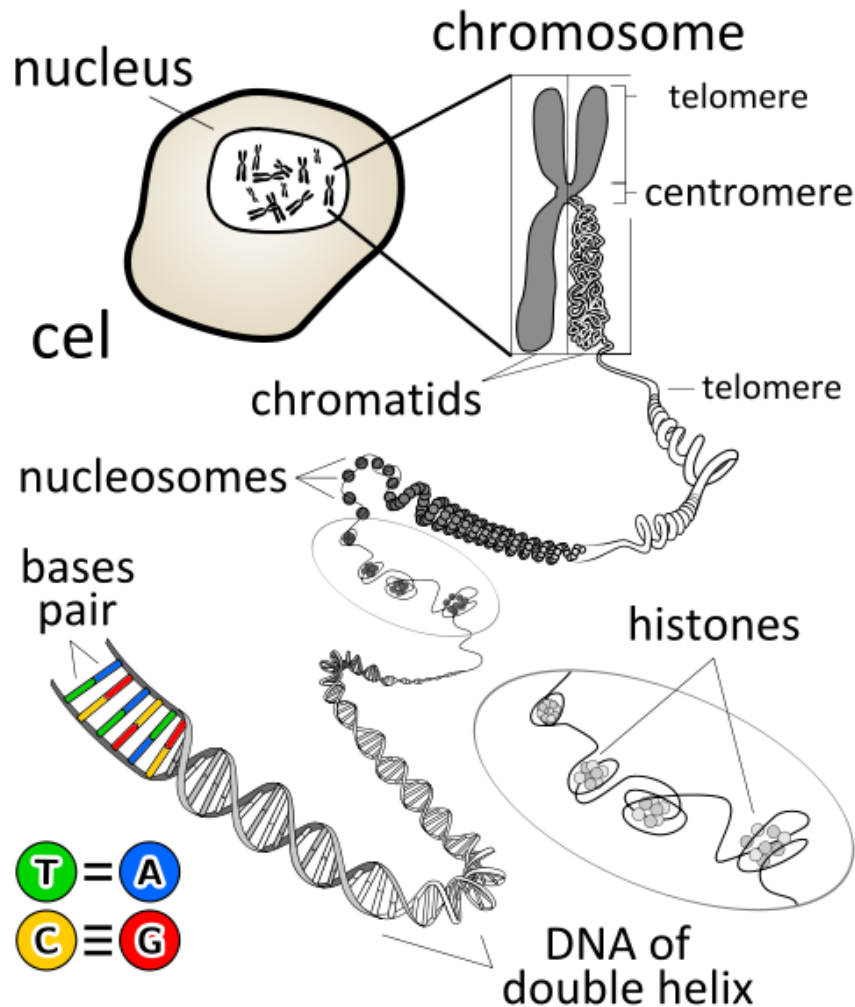


Περιεχόμενα ενότητας

- ❑ Τα χρωμοσώματα των ευκαρυωτικών οργανισμών
- ❑ Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα
 - Κωδικοποιόν DNA
 - Μοναδικά γονίδια
 - Οικογένειες γονιδίων
 - Γονιδιακός διπλασιασμός
 - Ψευδογονίδια
 - Διαδοχικά επαναλαμβανόμενα γονίδια
 - Εναρμονισμένη εξέλιξη
 - Μη κωδικοποιόν DNA
 - Επαναλαμβανόμενο DNA
- ❑ ENCODE, Encyclopedia of DNA elements



Τα χρωμοσώματα των ευκαρυωτικών οργανισμών (1/2)



Εικόνα 1: Οργάνωση του χρωμοσώματος.



Τα χρωμοσώματα των ευκαρυωτικών οργανισμών (2/2)

Τι είδους αλληλουχίες απαρτίζουν το χρωμόσωμα – γονιδίωμα?



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (1/9)

- Παράδοξο της τιμής C

Διαφορές μεγέθους γονιδιώματος μεταξύ:

πρωτοζώων 5800 φορές,

αρθροπόδων 250 φορές,

φυκών 5000 φορές,

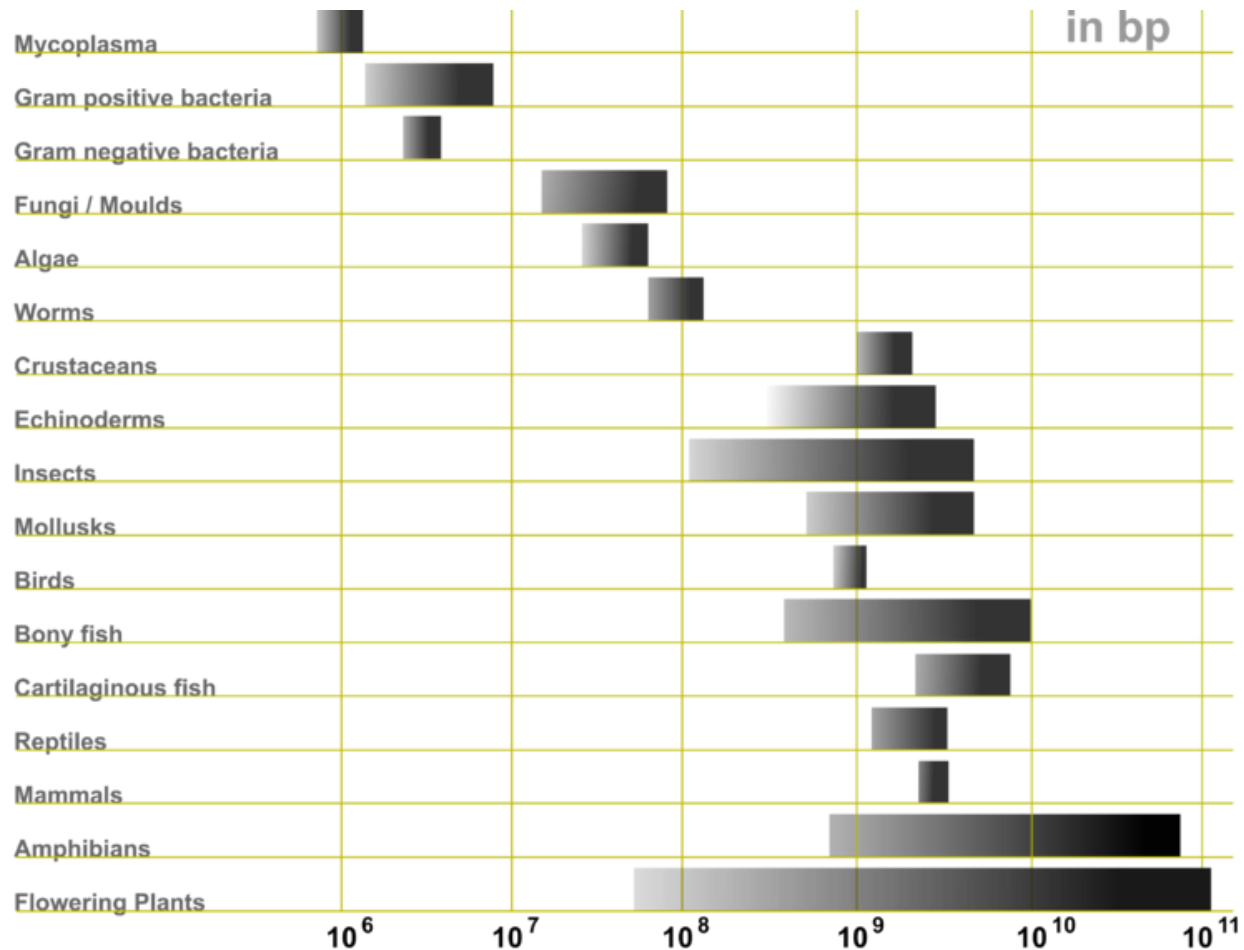
αγγειοσπέρμων 1000 φορές

Το γονιδίωμα της σαλαμάνδρας είναι 20 και της τουλίπας 10 φορές μεγαλύτερο από του ανθρώπου



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (2/9)

Εικόνα 2: Διακύμανση του μεγέθους του γονιδιώματος μέσα σε ταξονομικές ομάδες.



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (3/9)

Οργανισμός	Μέγεθος γονιδιώματος (Mb)	Αριθμός γονιδίων	Γονιδιακή πυκνότητα (kb ανά γονίδιο)
Βακτήρια			
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58	523	1,11
<i>Escherichia coli K-12</i>	4,6	4.481	1,03
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	5,7	5.482	1,04
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	9,1	8.322	1,10
Αρχαία			
<i>Thermoplasma acidophilum</i>	1,56	1.509	1,03
<i>Methanosarcina acetivoran</i>	5,75	4.662	1,23
Ευκαρυώτες			
Μύκητες			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (ζυμομύκητας)	12	~6.200	2,0
<i>Neurospora crassa</i> (πορτοκαλί μούγλα ψωμιού)	40	~10.100	3,8
Πρωτόζωα			
<i>Tetrahymena thermophila</i>	220	>20.000	11
Ασπόνδυλα			
<i>Caenorhabditis elegans</i> (νηματώδης σκόληκας)	97	19.000	5
<i>Drosophila melanogaster</i> (φρουτόμυγα)	180	13.700	13
Σπονδυλωτά			
<i>Fugu rubripes</i> (ψάρι puffer)	400	>31.000	13
<i>Mus musculus</i> (ποντίκι)	2.600	~29.000	90
<i>Rattus norvegicus</i> (αρουραίος)	2.750	~30.200	91
<i>Homo sapiens</i> (άνθρωπος)	2.900	~25.000	116
Φυτά			
<i>Arabidopsis thaliana</i>	125	25.500	4,9
<i>Oryza sativa</i> (ριζί)	430	>45.000	9,6

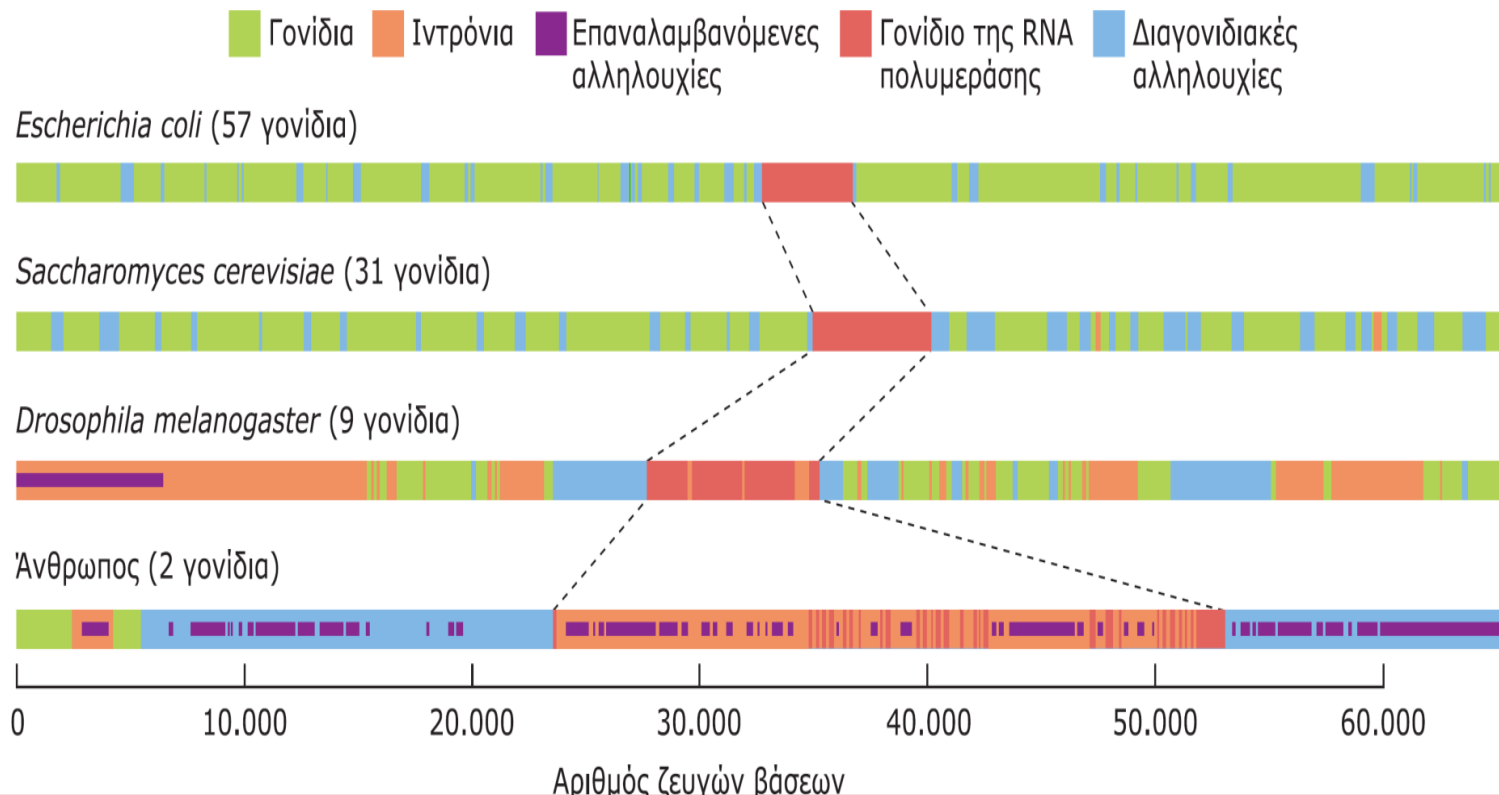
Πίνακας 1: Μεγέθη γονιδιωμάτων, εκτιμώμενος αριθμός γονιδίων και γονιδιακή πυκνότητα σε επιλεγμένα Βακτήρια, Αρχαία και Ευκαρυώτες



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (4/9)

Γονιδιακή πυκνότητα

Εικόνα 3: Χρωμοσωμικές περιοχές της *E. coli*, του ζυμομύκητα, της δροσόφιλας και του ανθρώπου, από τη σύγκριση των οποίων φαίνεται η διακύμανση της γονιδιακής πυκνότητας στα διάφορα γονιδιώματα.



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (5/9)

Καμπύλη επανασηματισμού

Σπάσιμο του DNA τμήματα 1000 περίπου βάσεων, απόδιάταξη με βρασμό και παρακολούθηση του ποσοστού επαναδιάταξης σε σχέση με το χρόνο (t) και την αρχική συγκέντρωση (C_0). Παρατηρούνται τρεις διακριτές καμπύλες. Οι πρώτες ακολουθίες που επαναδιατάσσονται είναι οι υψηλά επαναλαμβανόμενες ακολουθίες, ακολουθούν οι μεσοεπαναλαμβανόμενες ακολουθίες, ενώ τέλος επαναδιατάσσεται το μοναδικό DNA.

<http://www.ndsu.edu/pubweb/~mcclean/plsc431/eukarychrom/eukaryo3.htm>



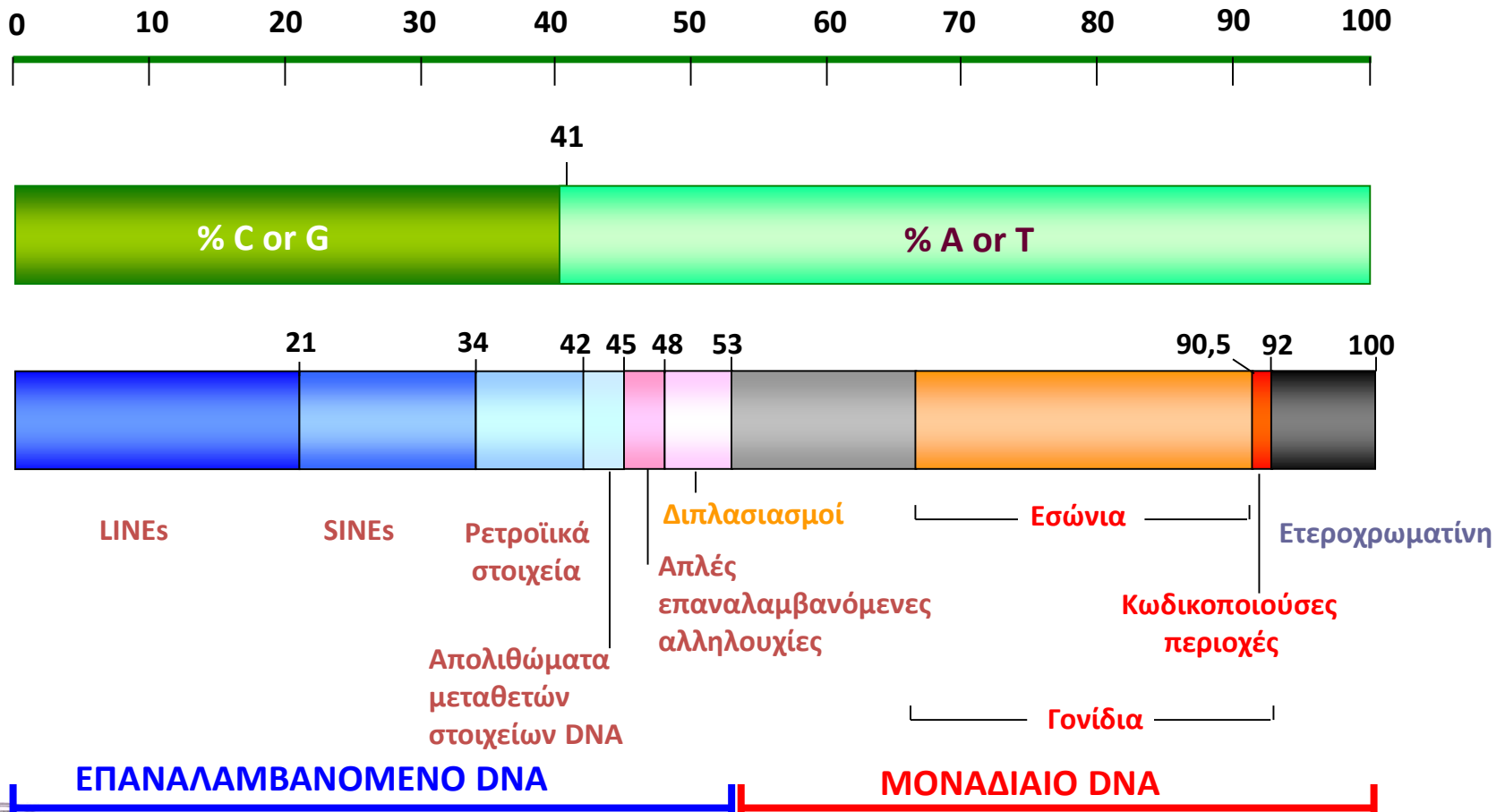
Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (6/9)

- Μοναδικό DNA - 30-75% του γονιδιώματος
- Μεσοεπαναλαμβανόμενο DNA (μεσοσυνδεόμενο) - 1-30% του γονιδιώματος - 10-1000 αντίγραφα
- Υψηλά επαναλαμβανόμενο DNA (ταχυσυνδεόμενο) - 5-45% του γονιδιώματος - μέχρι 10^7 αντίγραφα



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (7/9)

Το γονιδίωμα του ανθρώπου με αριθμούς



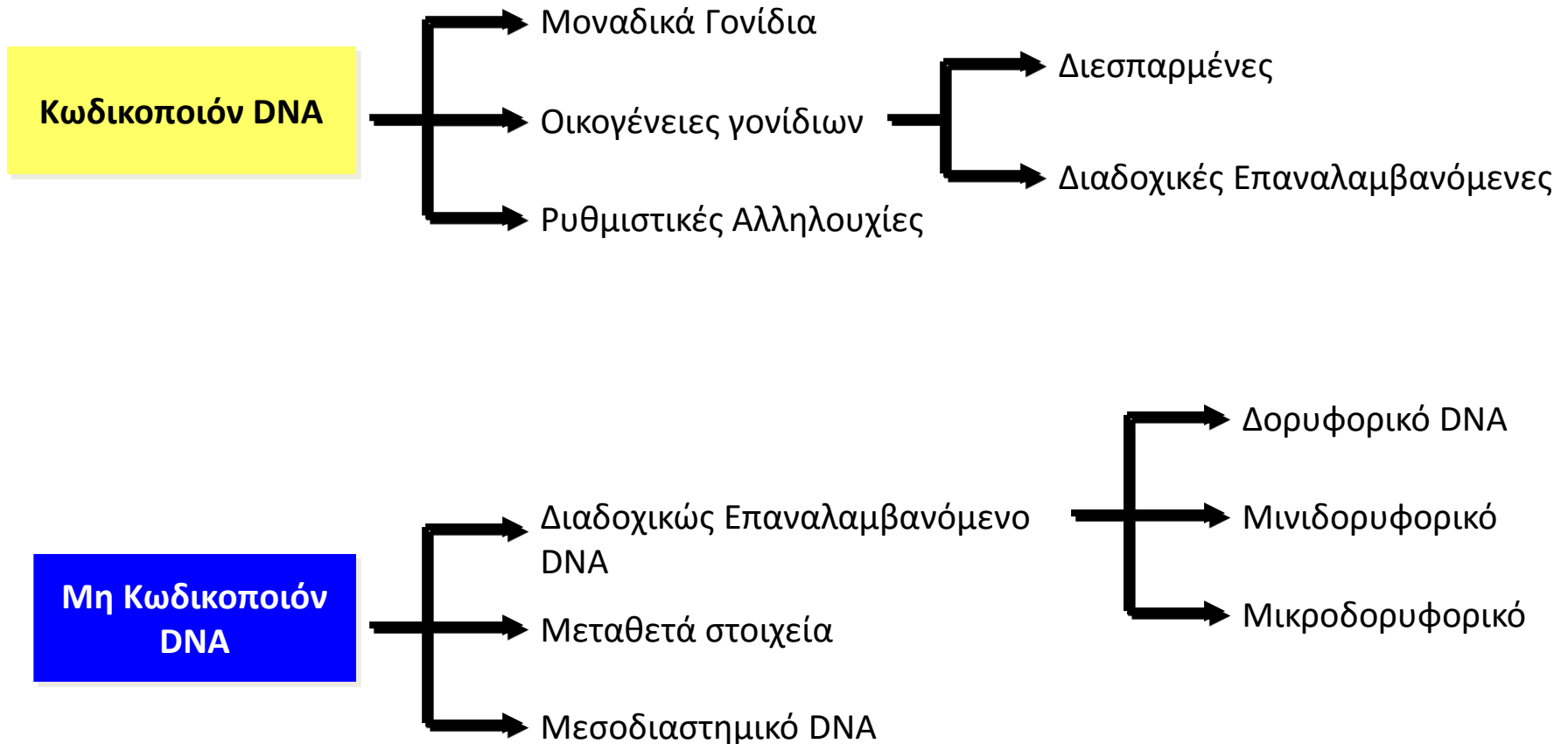
Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (8/9)

Πίνακας 2: Τα γενετικά στοιχεία του ανθρώπινου γονιδιώματος

Γενετικό στοιχείο	Ποσοστό
Ιντρόνια	25,9%
LINEs	20,4%
SINEs	13,1%
Μοναδικές ακολουθίες	11,6%
LTR ρετρομεταθετόνια	8,3%
Ετεροχρωματίνη	8%
Διπλασιασμοί	5%
Απλές επαναλήψεις ακολουθίας	3%
DNA μεταθετόνια	2,9%
Γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες	1,5%



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα (9/9)



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (1/18)

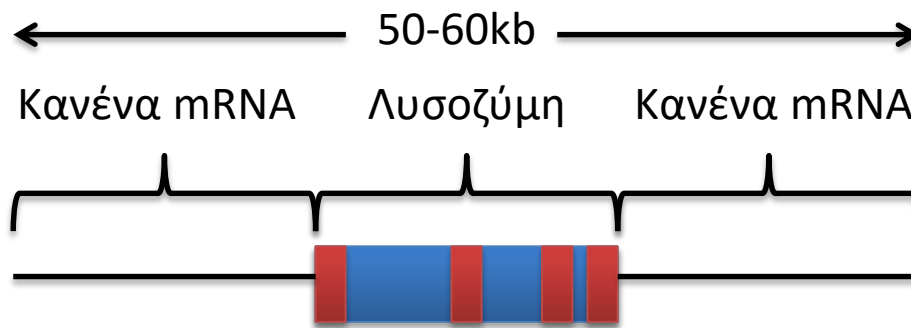
Μοναδικά Γονίδια

Γονίδιο Λυσοζύμης Πτηνών

15.000 βάσεις

Δεν επαναλαμβάνεται πουθενά

Αριστερά κ δεξιά του γονιδίου δεν υπάρχουν περιοχές που κωδικοποιούν

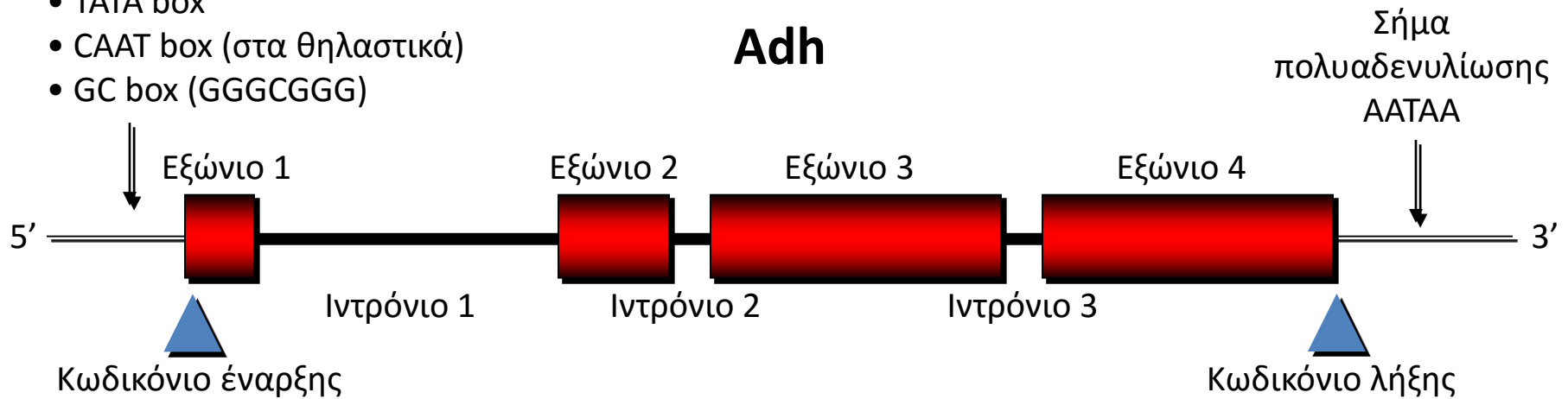


Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (2/18)

Μοναδικά Γονίδια

Περιοχή υποκινητή

- TATA box
- CAAT box (στα θηλαστικά)
- GC box (GGGCGGG)



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (3/18)

Οικογένειες γονιδίων

Ομάδες γονιδίων με παρόμοια αλληλουχία που παράγουν παρόμοια προϊόντα

- ✓ Συχνές σε ανώτερους ευκαρυώτες αλλά όχι μόνο
- ✓ Αρχικά ανακαλύφθηκαν με βάση ομολογία πρωτεϊνών (πχ αιμοσφαιρινών)

Μελέτες για το γονίδιο της ακτίνης έδειξαν ότι υπάρχουν:

- 2 γονίδια στη ζύμη
- 17 γονίδια στο *Dictiostelium*
- 6 γονίδια στη *Drosophila*
- 5-10 γονίδια στα θηλαστικά

Πως δημιουργούνται οι γονιδιακές οικογένειες???



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (4/18)

Οικογένειες γονιδίων – Γονιδιακός διπλασιασμός

- Πολυπλοειδία - διπλασιασμός ολόκληρου γονιδιώματος
- Διπλασιασμός χρωμοσώματος
- Άνισος διασκελισμός
- Λάθος κατά την αντιγραφή (Replication slippage)
- Μεταφορά από ιό ή μεταθετό στοιχείο
- Ανάστροφη μεταγραφή



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (5/18)

Οικογένειες γονιδίων – Γονιδιακός διπλασιασμός

Ποια η εξέλιξη ενός γονιδιακού διπλασιασμού?

- Το ένα αντίγραφο μπορεί να χαθεί
- Το ένα αντίγραφο μπορεί να αναπτύξει μία καινούρια λειτουργία
- Τα αντίγραφα να ειδικευτούν σε διαφορετικά μέρη της παλιάς λειτουργίας

Γενετική απόκλιση

- Τα αντίγραφα παραμένουν και διατηρούν την ίδια λειτουργία



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (6/18)

Οικογένειες γονιδίων – Γονιδιακός διπλασιασμός

Παράδειγμα: **Κόκκινη** και **Πράσινη** όραση

Παρόμοια γονίδια που πιστεύεται ότι προήλθαν από διπλασιασμό και τα οποία στη συνέχεια διαφοροποιήθηκαν ώστε να αναγνωρίζεται διαφορετικό μήκος κύματος.

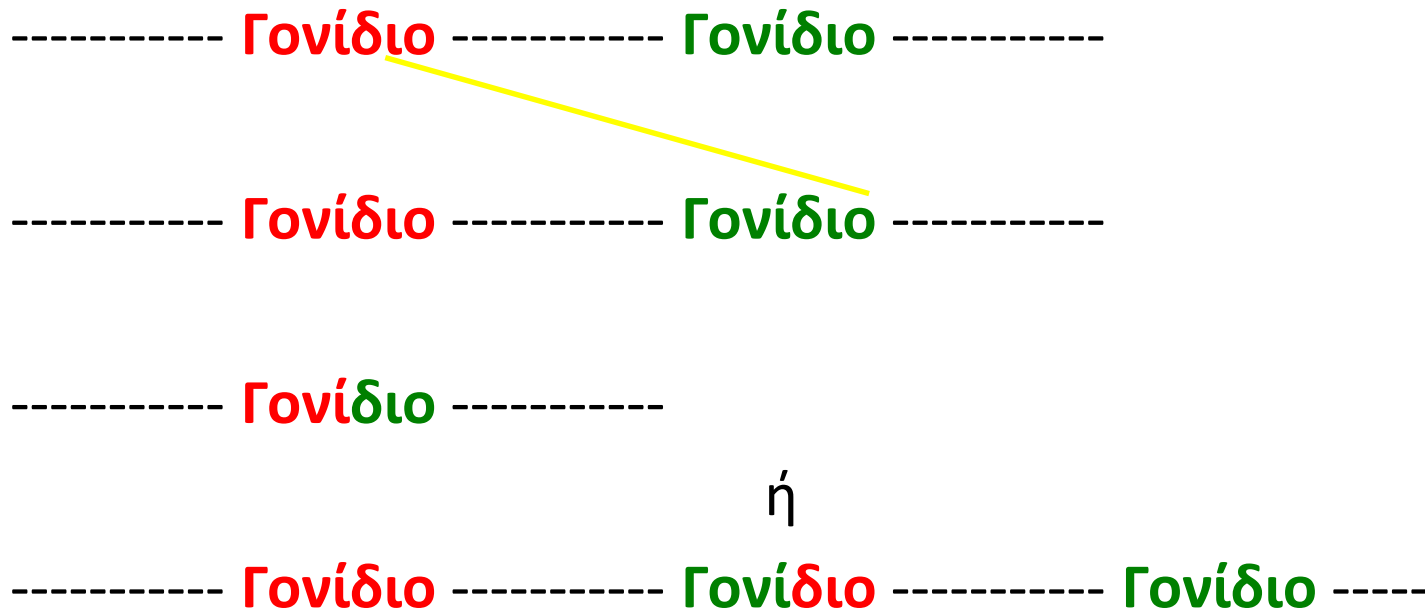
----- **Γονίδιο** ----- **Γονίδιο** -----



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (7/18)

Οικογένειες γονιδίων – Γονιδιακός διπλασιασμός

Αχρωματοψία: άνισος διασκελισμός



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (8/18)

Οικογένειες γονιδίων

- Ομαδοποιημένη οικογένεια γονιδίων



- Διάσπαρτη οικογένεια γονιδίων



✓ Σε κάποιες οικογένειες παρατηρούνται τόσο ομαδοποιημένα μέλη όσο και διάσπαρτα. Παράδειγμα: Γονιδιακή οικογένεια ιστονών.



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (9/18)

Οικογένειες γονιδίων - Ψευδογονίδια

Ελαττωματικά αντίγραφα γονιδίων

- Μεταλλάξεις που τα καθιστούν μη λειτουργικά
- Απουσία ρυθμιστικών στοιχείων
- Τμήματα γονιδίων

- Μη επεξεργασμένα ψευδογονίδια

Αποτέλεσμα διπλασιασμού

- Επεξεργασμένα ψευδογονίδια

Αποτέλεσμα ανάστροφης μεταγραφής

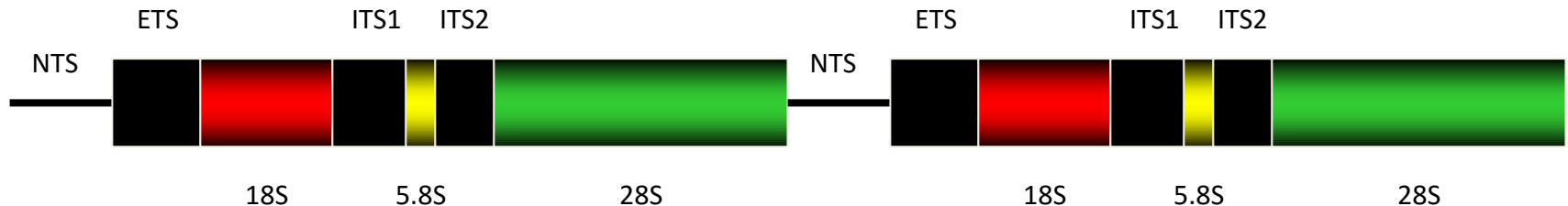
Γονίδια ριβοσωμικών πρωτεϊνών (79 πρωτεΐνες, 95 λειτουργικά γονίδια, 2090 επεξεργασμένα ψευδογονίδια)



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (10/18)

Οικογένειες γονιδίων – Διαδοχικά επαναλαμβανόμενα γονίδια

- Γονίδια για 45S rRNA, 5S rRNA, tRNA, ιστόνες είναι διαδοχικά επαναλαμβανόμενα σε αντίθεση με απλές οικογένειες (250/συστοιχία)
- 45S στην περιοχή οργάνωσης πυρηνίσκου (13, 14, 15, 21, 22 ή φυλετικά χρωμοσώματα)
- Διαχωρίζονται από διαστημικό DNA
- Πολύ υψηλή ομολογία



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (11/18)

Οικογένειες γονιδίων – Γονιδιακός διπλασιασμός

Ποια η εξέλιξη ενός γονιδιακού διπλασιασμού?

- Το ένα αντίγραφο μπορεί να χαθεί
- Το ένα αντίγραφο μπορεί να αναπτύξει μία καινούρια λειτουργία
- Τα αντίγραφα να ειδικευτούν σε διαφορετικά μέρη της παλιάς λειτουργίας

Γενετική απόκλιση

- Τα αντίγραφα παραμένουν πανομοιότυπα και διατηρούν την ίδια λειτουργία



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (12/18)

Οικογένειες γονιδίων – Εναρμονισμένη εξέλιξη

Πως διατηρούνται πανομοιότυπα
τα αντίγραφα?

Concerted evolution
Εναρμονισμένη εξέλιξη



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (13/18)

Οικογένειες γονιδίων – Εναρμονισμένη εξέλιξη

☞ Concerted evolution - Εναρμονισμένη εξέλιξη

- Τα μέλη μιας οικογένειας δεν εξελίσσονται ανεξάρτητα από τα υπόλοιπα μέλη
- Υπάρχει ανταλλαγή πληροφορίας-αλληλουχίας μεταξύ των μελών
- Μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μελών μία πολυγονιδιακή οικογένεια εξελίσσεται με «αρμονία» ως μία μονάδα



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (14/18)

Οικογένειες γονιδίων – Εναρμονισμένη εξέλιξη

☞ Μηχανισμοί Εναρμονισμένης εξέλιξης

- Άνισος διασκελισμός
- Γονιδιακή μετατροπή (Gene conversion)



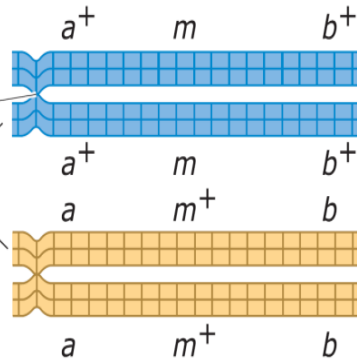
Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (16/18)

Υπόθεση γονιδιακής μετατροπής

Εικόνα 4: Γονιδιακή μετατροπή με επιδιόρθωση αταίριαστου ζεύγους σε δύο θέσεις

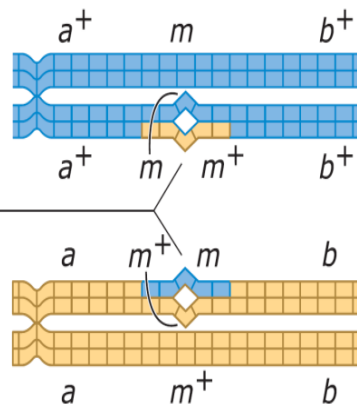
1 Γονικά ομόλογα χρωμοσώματα στην πρόφαση της μείωσης

Κεντρομερές
Διπλές έλικες DNA

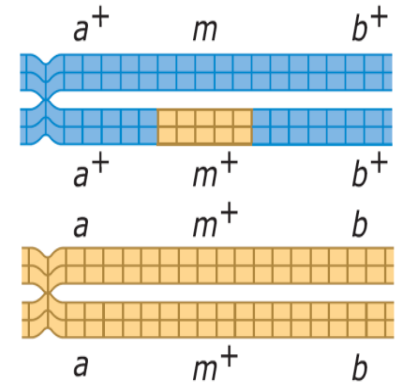


2 Η ανταλλαγή αλυσίδων δημιουργεί δύο αταίριαστα ζεύγη

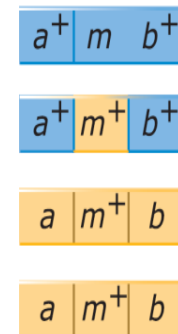
Αταίριαστα ζεύγη



3 Εκτομή και επιδιόρθωση μέσω σύνθεσης DNA



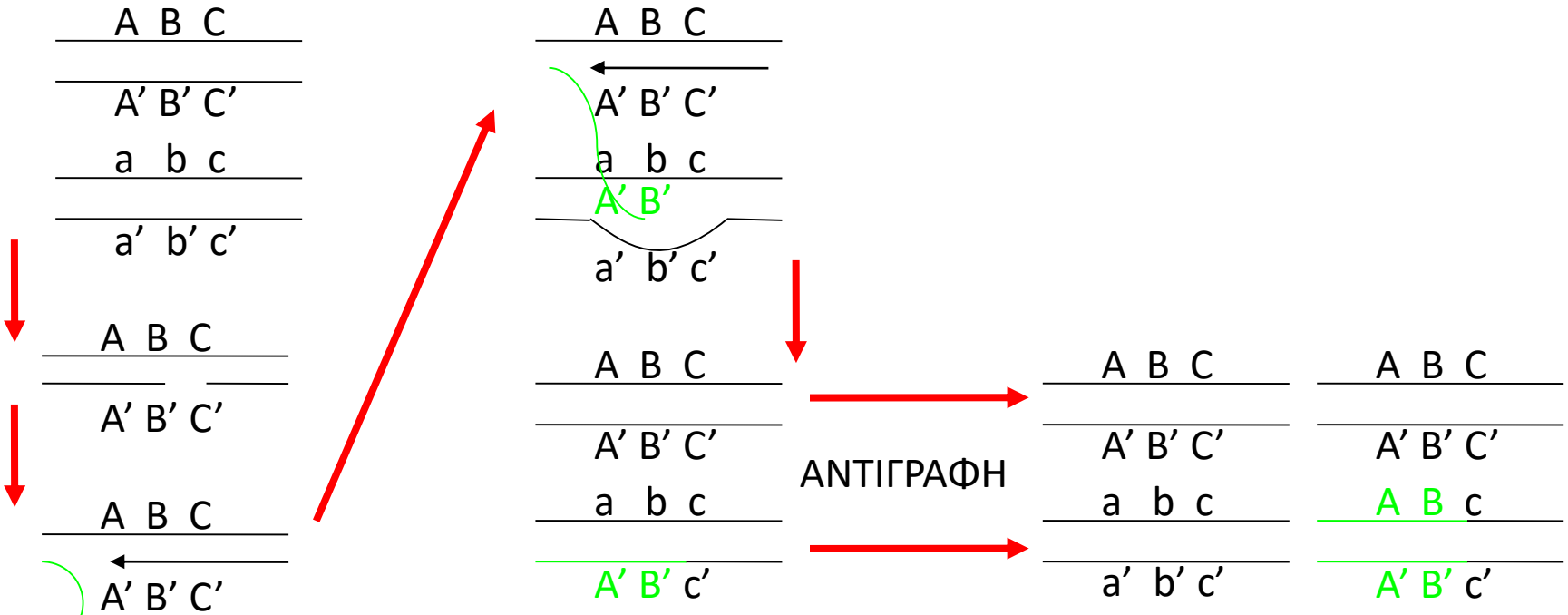
4 Η τετράδα που προκύπτει εμφανίζει γονιδιακή μετατροπή υπέρ του αλληλομόρφου m^+ (αναλογία 3:1)



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (17/18)

Υπόθεση γονιδιακής μετατροπής

- Όχι άμεσα συνδεδεμένη με μείωση
- Οδηγεί στην εξάλειψη των μεταλλάξεων στα λίγα «μη κανονικά» αλληλόμορφα



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Κωδικοποιόν DNA (18/18)

Οικογένειες γονιδίων – Εναρμονισμένη εξέλιξη

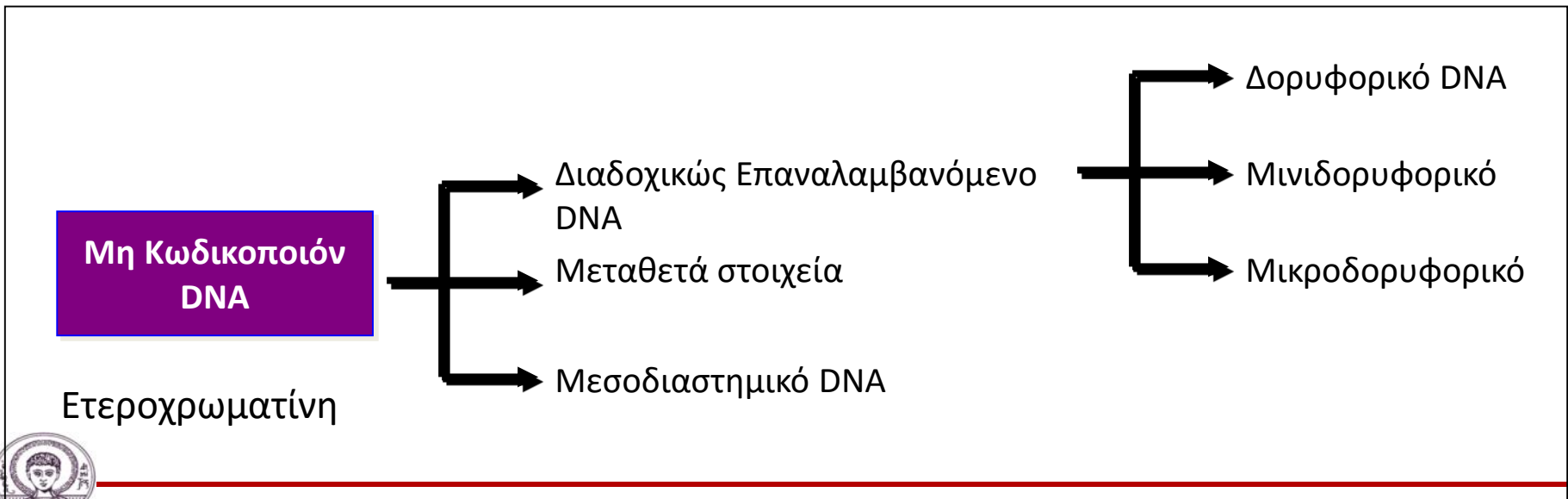
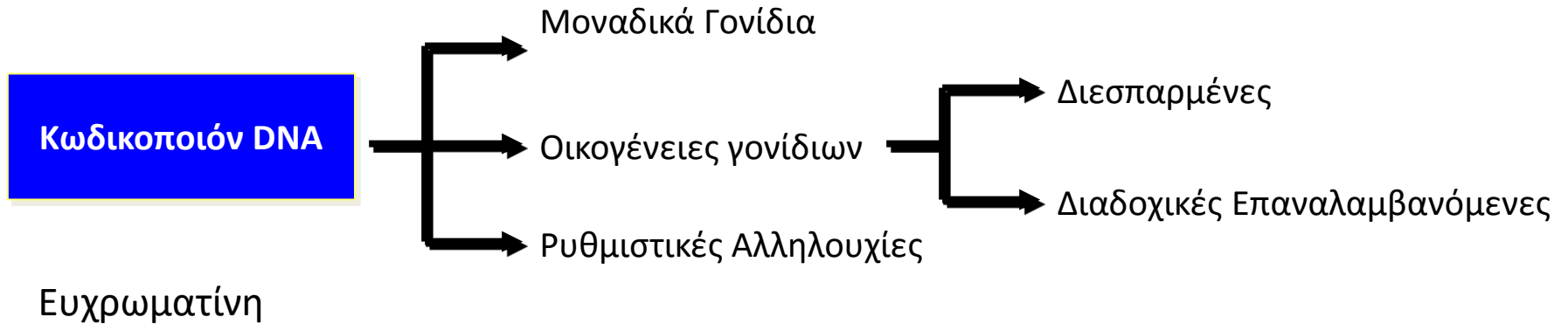
Σε μία σειρά διαδοχικά επαναλαμβανομένων γονιδίων, τόσο με τη δράση του άνισου διασκελισμού όσο και με τη δράση της γονιδιακής μετατροπής, είναι δυνατό τα αντίγραφα ενός αλληλομόρφου να αυξηθούν και να υπερτερήσουν αριθμητικά εφόσον υπάρχει θετική επιλεκτική πίεση.

Επιλογή προς ομογενοποίηση αλληλομόρφων

Παράδειγμα: γονίδια rRNAs



Το ευκαρυωτικό Γονιδίωμα



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Μη κωδικοποιόν DNA (1/3)

Είναι λειτουργικό?

Μη κωδικοποιούσες **λειτουργικές** αλληλουχίες

- Τελομερικές αλληλουχίες (TTAGGG)
- Κεντρομερικές αλληλουχίες



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Μη κωδικοποιούν DNA (2/3)

Επαναλαμβανόμενο DNA

Αλληλουχίες χωρίς γνωστή λειτουργία

- Δορυφορικό DNA (περικεντρομερικές περιοχές, μοτίβα λίγων νουκλεοτιδίων, εκατοντάδες kb)
- Μινι-δορυφορικό DNA (VNTRs, μοτίβο 10-100 νουκλεοτιδίων, λίγα kb)
- Μικρο-δορυφορικό DNA (μοτίβο 2-4 νουκλεοτιδίων, λίγα bp)

*Εν σειρά
επαναλήψεις*



Το ευκαρυωτικό γονιδίωμα – Μη κωδικοποιόν DNA (3/3)

Επαναλαμβανόμενο DNA

Αλληλουχίες χωρίς γνωστή λειτουργία

- LINES (Long Intersperced Elements, 1-7 kb, highly repetitive, LINE 1 > 50000 copies)
- SINES (Short Intersperced Elements, 0,1-0,4 kb, highly repetitive)
- Μεταθετά στοιχεία (intermediate repetitive)

**Διάσπαρτες
επαναλήψεις**

Διαστημικό DNA



ΓΙΑΤΙ ΤΕΛΙΚΑ ΥΠΑΡΧΕΙ ΤΟ «ΠΛΕΟΝΑΖΟΝ» DNA?



ENCODE, Encyclopedia of DNA elements (1/2)

Το πρόγραμμα ENCODE ξεκίνησε το 2003. Σκοπός του είναι να εντοπίσει τις λειτουργικές DNA ακολουθίες, να διερευνήσει πότε και σε ποια κύτταρα είναι ενεργές και να εντοπίσει τις επιδράσεις τους στο πακετάρισμα, τη ρύθμιση και την ανάγνωση του γονιδιώματος.

Έχουν δημοσιευτεί 30 εργασίες στο *Nature Genome Research* and *Genome Biology*.

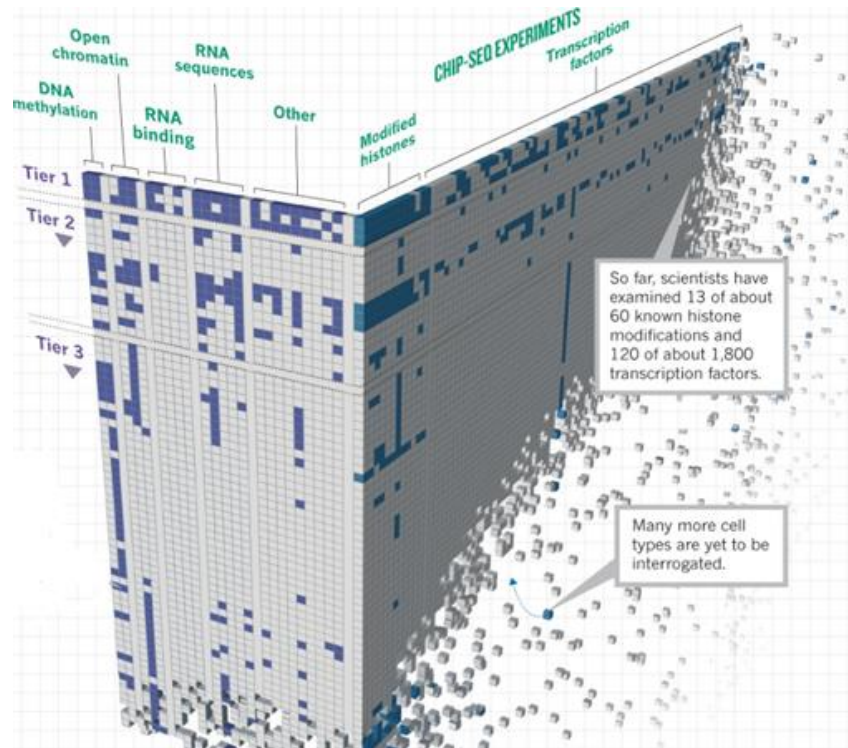
Έχει αποδοθεί κάποιου είδους λειτουργία στο 80% του γονιδιώματος, συμπεριλαμβανομένων 70.000 περιοχών υποκινητών και σχεδόν 400.000 περιοχών ενισχυτών, που ρυθμίζουν την έκφραση απομακρυσμένων γονιδίων.

Ωστόσο πολλά ακόμη μένουν να γίνουν

Χρειάζεται επιπλέον χαρακτηρισμός της λειτουργίας του γονιδιώματος



ENCODE, Encyclopedia of DNA elements (2/2)



Η **Εικόνα 5** δείχνει την προσπάθεια των ερευνητών του ENCODE να κάνουν 24 διαφορετικές αναλύσεις (κατά μήκος της Εικόνας) σε 150 διαφορετικές κυτταρικές σειρές (από πάνω προς τα κάτω). Πολλές αναλύσεις είναι ακόμα υπό επεξεργασία...

<http://www.nature.com/news/encode-the-human-encyclopaedia-1.11312>



Σημείωμα χρήσης έργων τρίτων

Εικόνα 1: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chromosome_en.svg, by KES47, CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>).

Εικόνα 2: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Genome_Sizes.png, by Abizar, CC-BY-SA-3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>).



Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Δροσοπούλου Ελένη.
«Γενετική Μηχανική. Μοριακή οργάνωση χρωμοσώματος». Έκδοση: 1.0.
Θεσσαλονίκη 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:
http://opencourses.auth.gr/eclass_courses.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Μηνούδη Στυλιανή
Θεσσαλονίκη, Χειμερινό εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

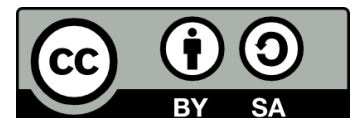


ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα χρήσης έργων τρίτων

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

