



# Κυτταρική Βιολογία

Ενότητα **05** : Η μεταγραφή του DNA και η ρύθμισή της

Παναγιωτίδης Χρήστος  
Τμήμα Φαρμακευτικής ΑΠΘ



# 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.





# Η μεταγραφή του DNA και η ρύθμισή της



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



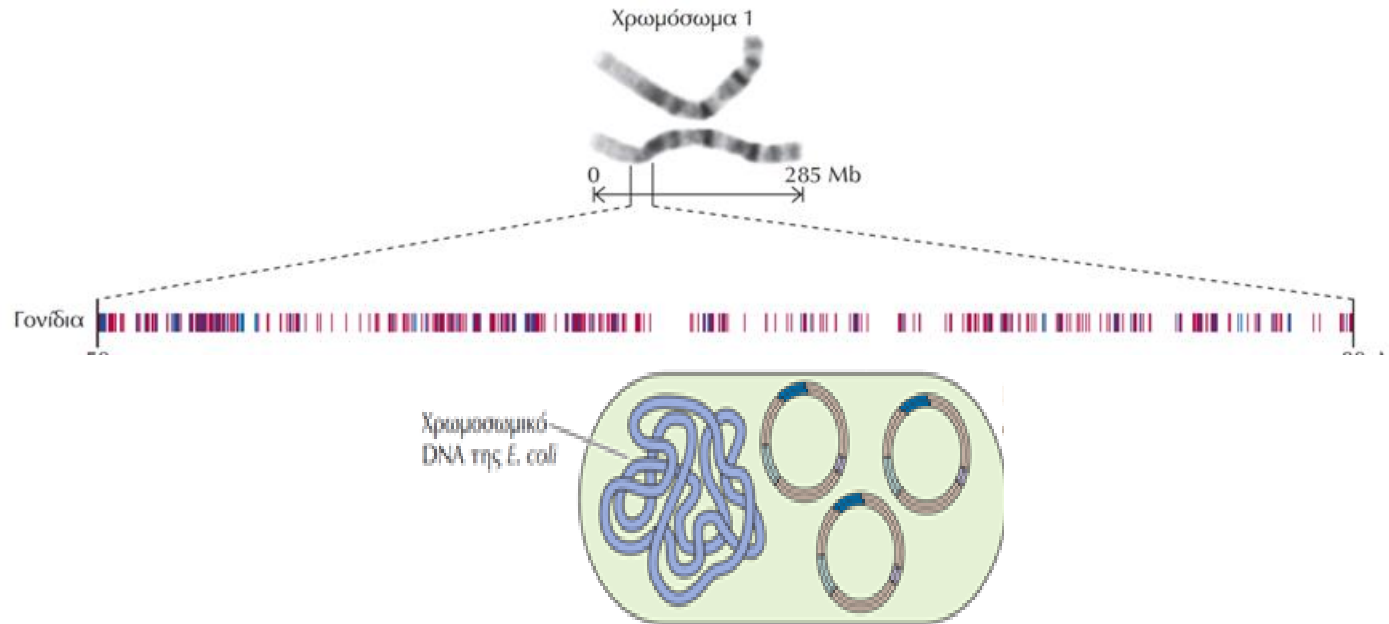
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

# Σκοποί ενότητας

- Να κατανοηθεί ο ρόλος του αγγελιαφόρου RNA στην μεταφορά της γενετικής πληροφορίας.
- Να περιγραφεί η διαδικασία της μεταγραφής στους προκαρυώτες και στους ευκαρυώτες.
- Να περιγραφεί η ωρίμανση του RNA μετά την μεταγραφή.



# Το DNA οργανώνεται σε χρωματίνη



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Στην πάνω εικόνα απεικονίζεται ένα ευκαρυωτικό χρωμόσωμα ενώ στην κάτω εικόνα το χρωμόσωμα του προκαρυωτικού *E. coli*.



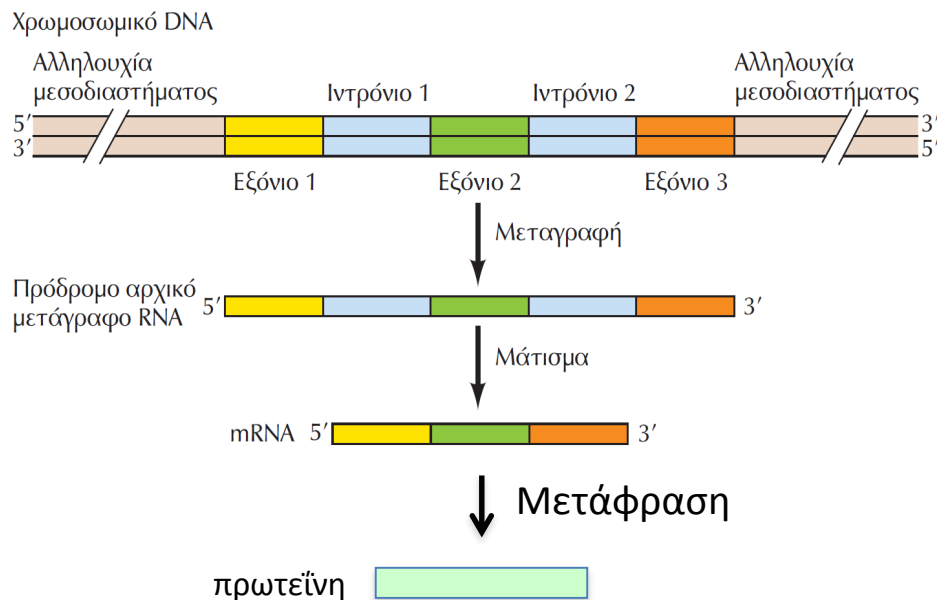
# Γονιδιακή οργάνωση

- Πως είναι οργανωμένη η γενετική πληροφορία;
- Υπάρχουν διαφορές στην οργάνωση της γενετικής πληροφορίας μεταξύ ευκαρυωτών και προκαρυωτών;
- Ποιά η σχέση μεταξύ οργάνωσης της γενετικής πληροφορίας και γονιδιακής έκφρασης;

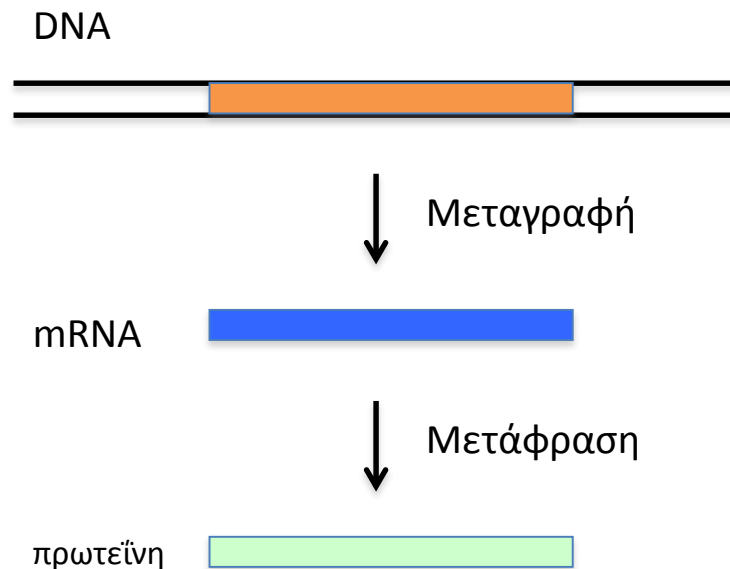


# Διαφορές των ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών γονιδίων

## ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ



## ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΑ ΓΟΝΙΔΙΑ



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση





# Η γενετική πληροφορία μεταφέρεται με τη μορφή του αγγελιαφόρου RNA

- **ΓΙΑΤΙ ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ;**
- Γιατί η γενετική πληροφορία (ο σκληρός δίσκος) δεν πρέπει και δεν μπορεί να μεταφερθεί.
- Γιατί η δομή του DNA δεν επιτρέπει την μεταφορά.
- Γιατί το DNA δεν μπορεί να μεταφρασθεί.



# Μεταγραφή, η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας

- **ΤΙ ΕΙΝΑΙ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ;**
- Μεταγραφή είναι η παραγωγή μορίων RNA, με χρησιμοποίηση του DNA σαν μήτρα.
- Μόνο η μία αλυσίδα του DNA χρησιμοποιείται σαν μήτρα.
- Η αλληλουχία των βάσεων του παραγομένου μορίου RNA είναι συμπληρωματική της μίας αλυσίδας του DNA.



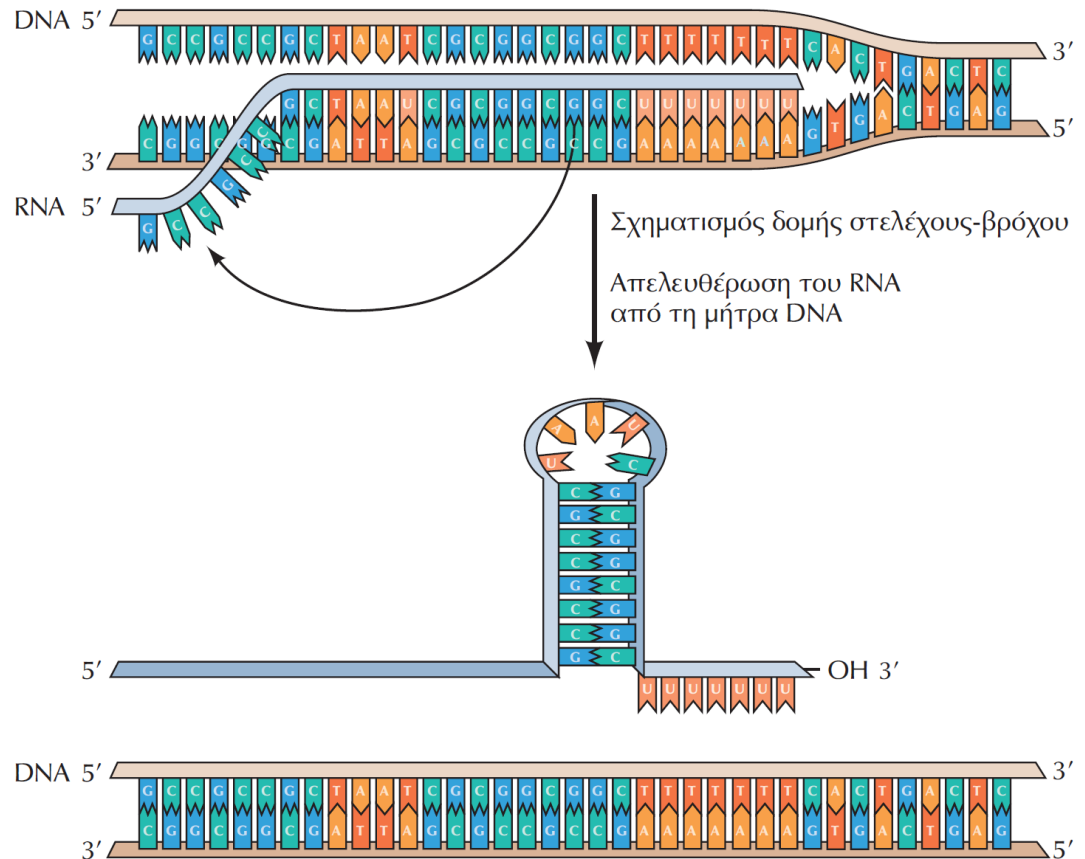
# Συστατικά που απαιτούνται για να γίνει η μεταγραφή

- Χρειάζεται να υπάρχει DNA (μήτρα).
- Χρειάζεται το ένζυμο που θα καταλύσει την αντίδραση (RNA πολυμεράση).
- Χρειάζονται τριφωσφορικά ριβονουκλεοτίδια (οι δομικές μονάδες του RNA).
- Χρειάζονται μικρομοριακοί παράγοντες (π.χ. ιόντα μαγνησίου, πολυαμίνες κλπ) για τη βέλτιστη λειτουργία της αντίδρασης.
- Χρειάζονται μεγαλομοριακοί παράγοντες απαραίτητοι για τη δράση και ρύθμιση της RNA πολυμεράσης.
- **Και μην ξεχνάτε:** Μεταγραφή είναι η παραγωγή μορίων RNA, με χρησιμοποίηση της μίας αλυσίδας του DNA σαν μήτρα, με πολυμερισμό τριφωσφορικών ριβονουκλεοτιδίων από την RNA πολυμεράση.



# Οριοθέτηση μεταγραφικών μονάδων από αλληλουχίες έναρξης και λήξης

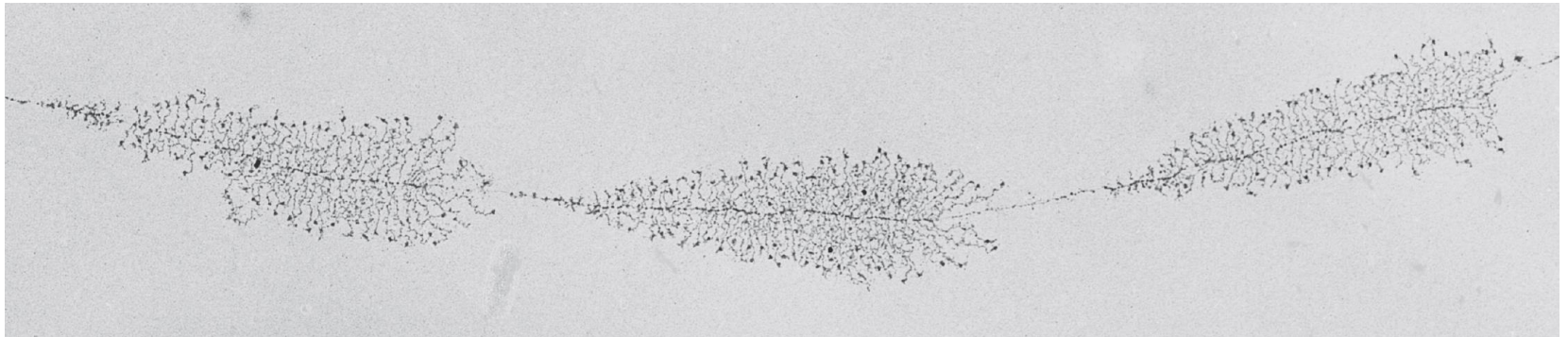
- Ο τερματισμός της μεταγραφής σηματοδοτείται από μια ανάστροφα επαναλαμβανόμενη αλληλουχία πλούσια σε GC, η οποία ακολουθείται από περίπου επτά νουκλεοτίδια αδενίνης (A) στην αλυσίδα-μήτρα. Η μεταγραφή της ανάστροφης επανάληψης οδηγεί στον σχηματισμό μιας δομής στελέχους-βρόχου στο μόριο του RNA, η οποία αποσταθεροποιεί τη σύνδεση του μεταγράφου με τη μήτρα DNA προκαλώντας την απελευθέρωσή του.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Η μεταγραφή είναι ορατή με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

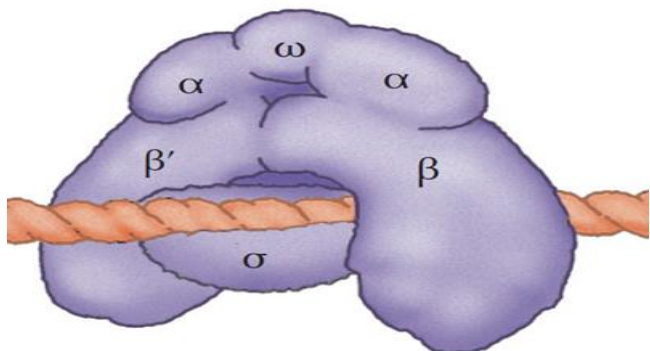


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

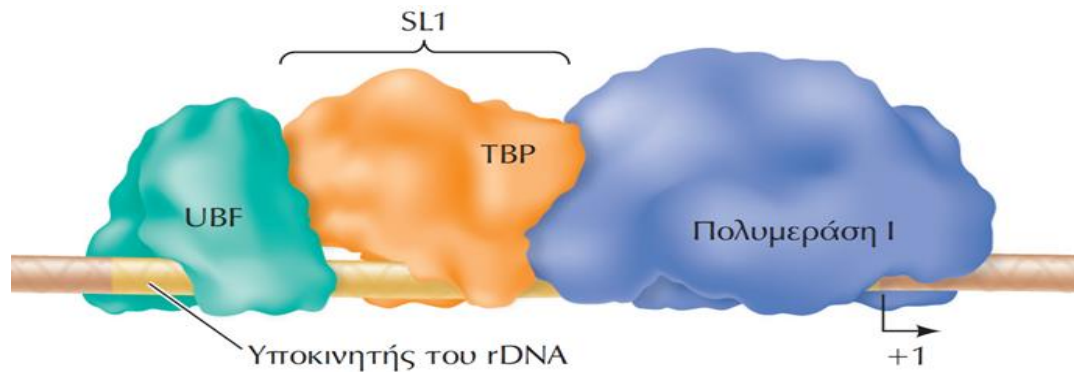
**Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση**



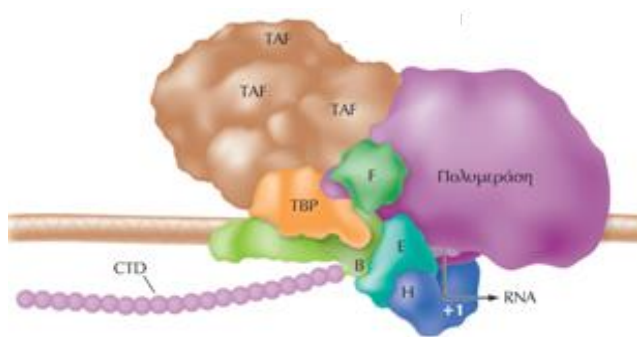
# RNA πολυμεράσες – Τα ένζυμα που επιτελούν τη μεταγραφή



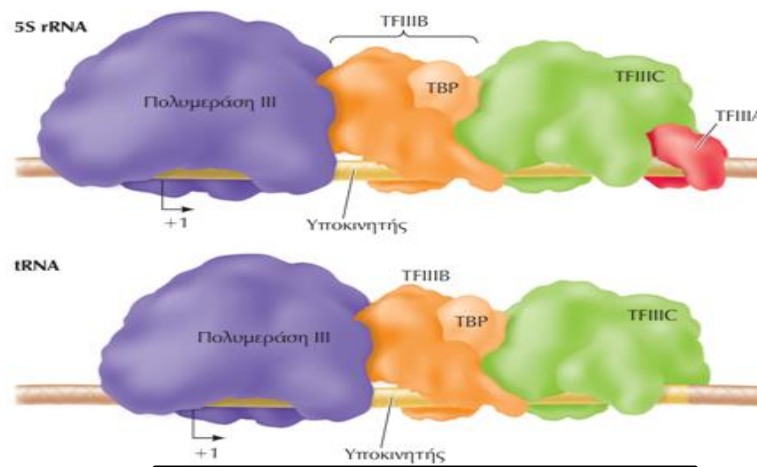
Βακτηριακή πολυμεράση



RNA πολυμεράση I



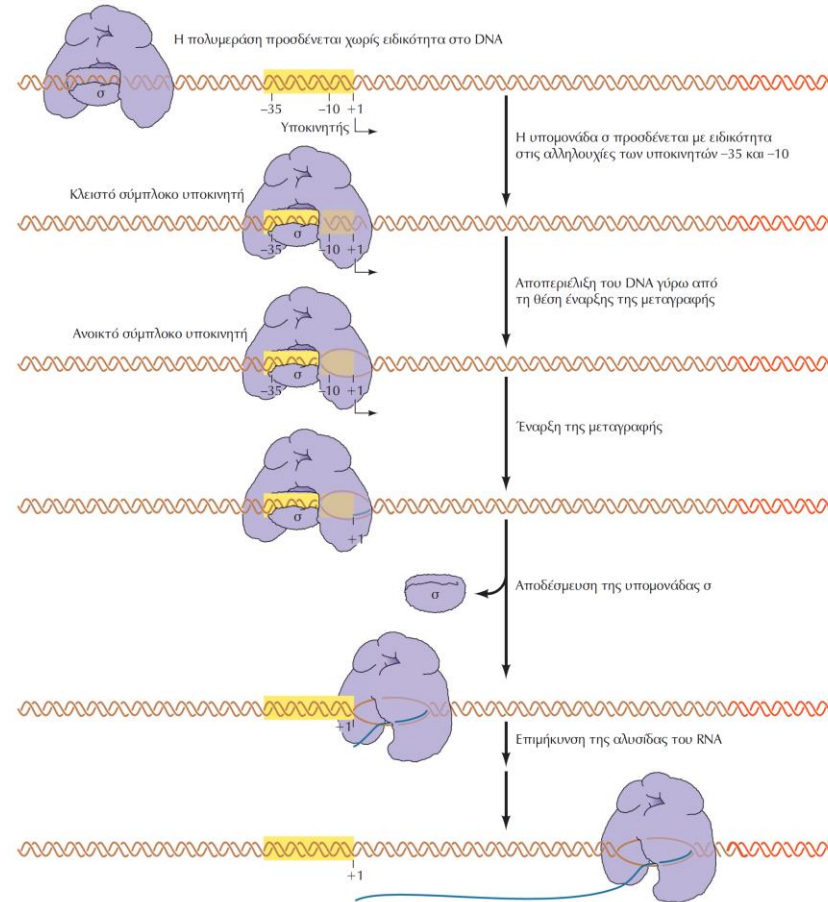
RNA πολυμεράση II



RNA πολυμεράση III

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

# Η διαδικασία της προκαρυωτικής μεταγραφής



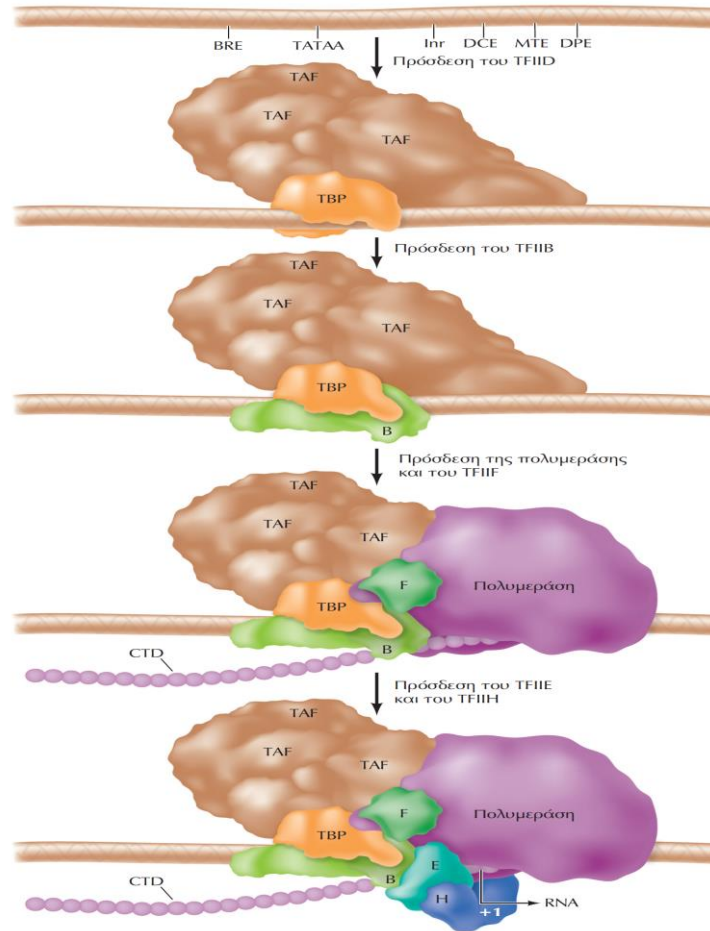
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Η μεταγραφή στην *E. coli*.



# Η ευκαρυωτική RNA πολυμεράση II χρειάζεται γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

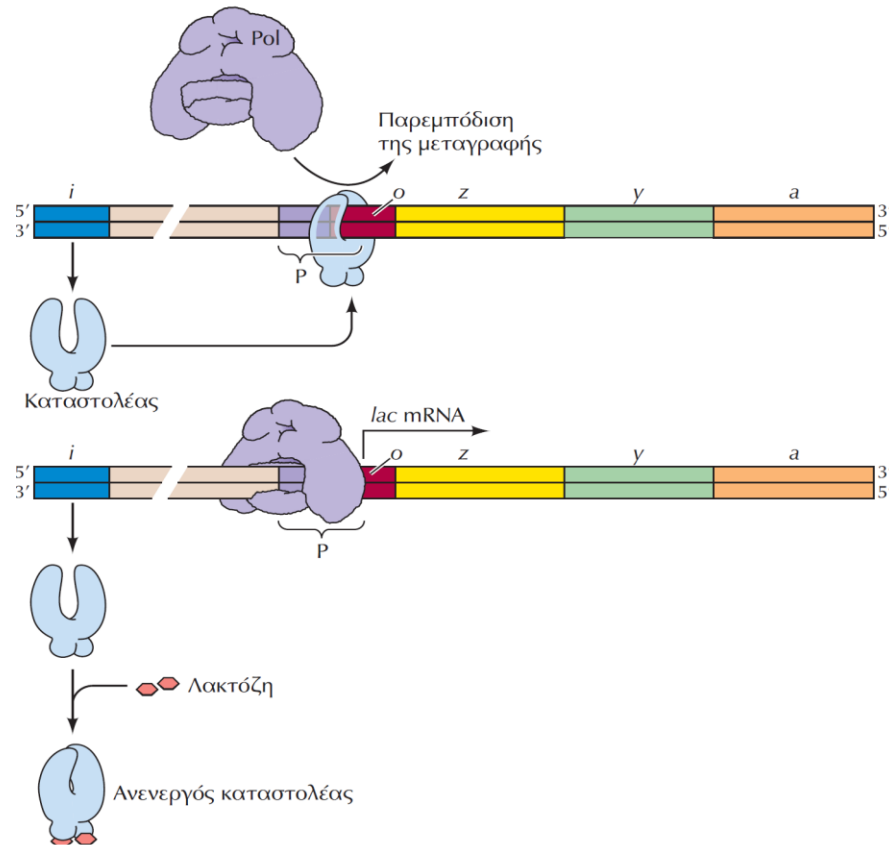


# Πως επιτελείται η μεταγραφική ρύθμιση;

- Η ρύθμιση της μεταγραφής γίνεται κυρίως με τη βοήθεια πρωτεϊνών.
- Οι πρωτεΐνες αυτές λέγονται ρυθμιστικοί μεταγραφικοί παράγοντες.
- Οι μεταγραφικοί παράγοντες μπορεί να ρυθμίζουν τη μεταγραφή θετικά ή αρνητικά.
- Οι μεταγραφικοί παράγοντες συνήθως συνδέονται με το DNA (άμεσα ή έμμεσα).
- Η σύνδεση των ρυθμιστικών μεταγραφικών παραγόντων με το DNA γίνεται είτε κοντά στο σημείο έναρξης της μεταγραφής ή ακόμη και μακριά από αυτό.



# Ρυθμιζόμενη μεταγραφή του οπερονίου της λακτόζης



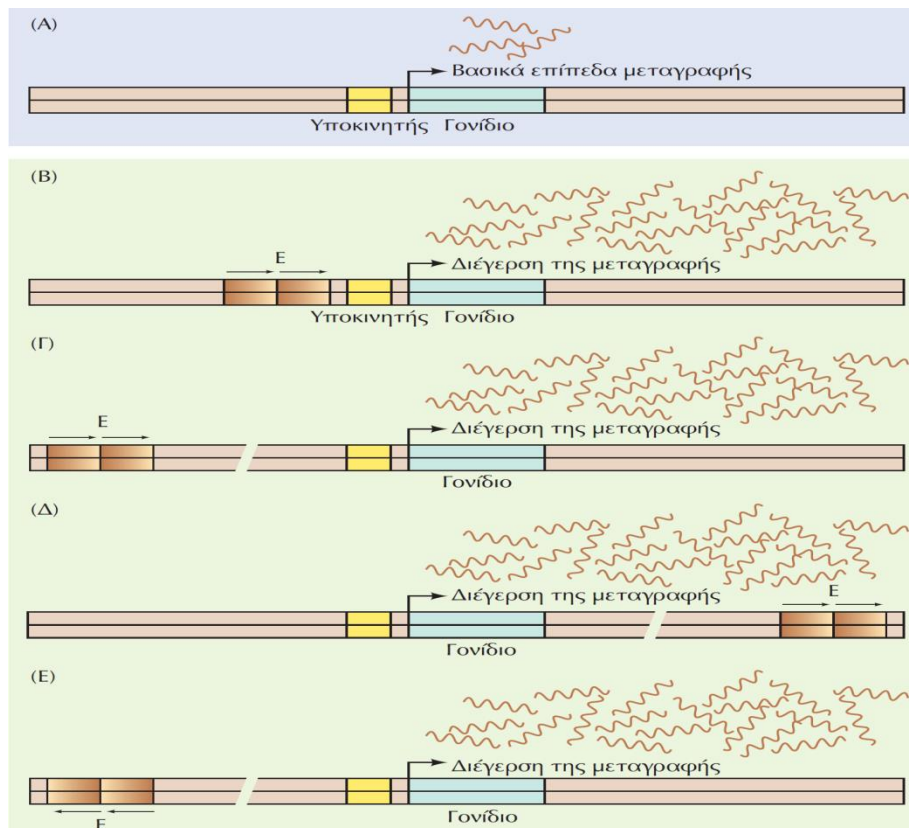
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Αρνητική ρύθμιση του οπερονίου *lac*.



# Ενισχυτές και μεταγραφική ενεργοποίηση



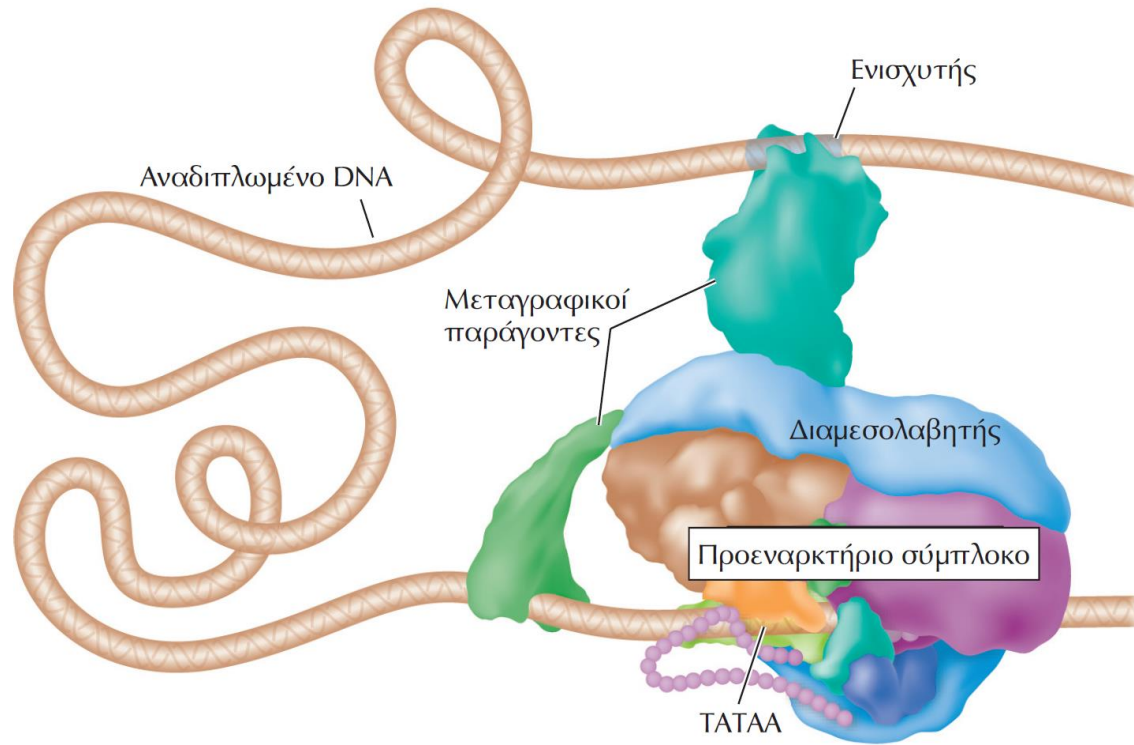
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** ΜΕ ΤΟΝ ΙΔΙΟ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟ, ΑΛΛΑ ΑΡΝΗΤΙΚΑ, ΜΠΟΡΟΥΝ ΝΑ ΡΥΘΜΙΣΟΥΝ ΤΗ ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ ΑΠΟ ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΟΙ ΑΠΟΣΙΩΠΗΤΕΣ.



# Μεταγραφικοί παράγοντες επηρεάζουν τη μεταγραφή από απόσταση



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

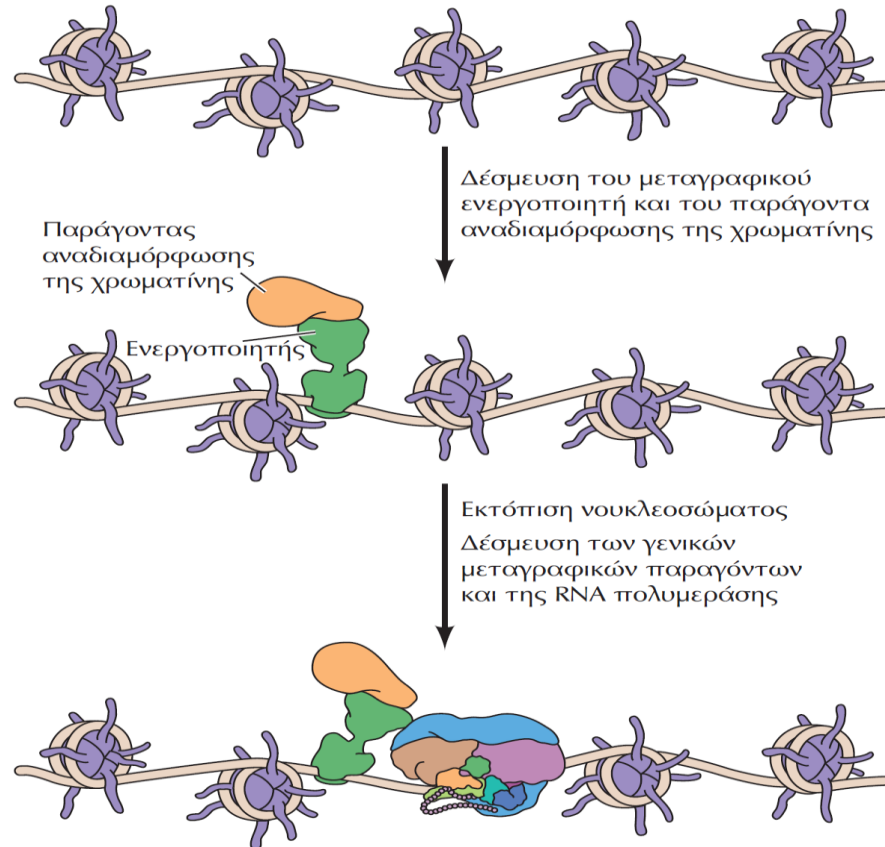
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

# Συνεργιστική δράση μεταγραφικών παραγόντων

- **ΣΥΝΕΡΓΙΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΣΣΟΤΕΡΩΝ ΤΟΥ ΕΝΟΣ ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΑΠΑΙΤΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΚΡΙΒΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ.**
- **ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ: ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΡΙΩΝ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΑΠΟ ΕΝΑΝ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΓΛΥΚΟΚΟΡΤΙΚΟΕΙΔΟΥΣ.**



# Η μεταγραφή επηρεάζεται από τη δομή της χρωματίνης



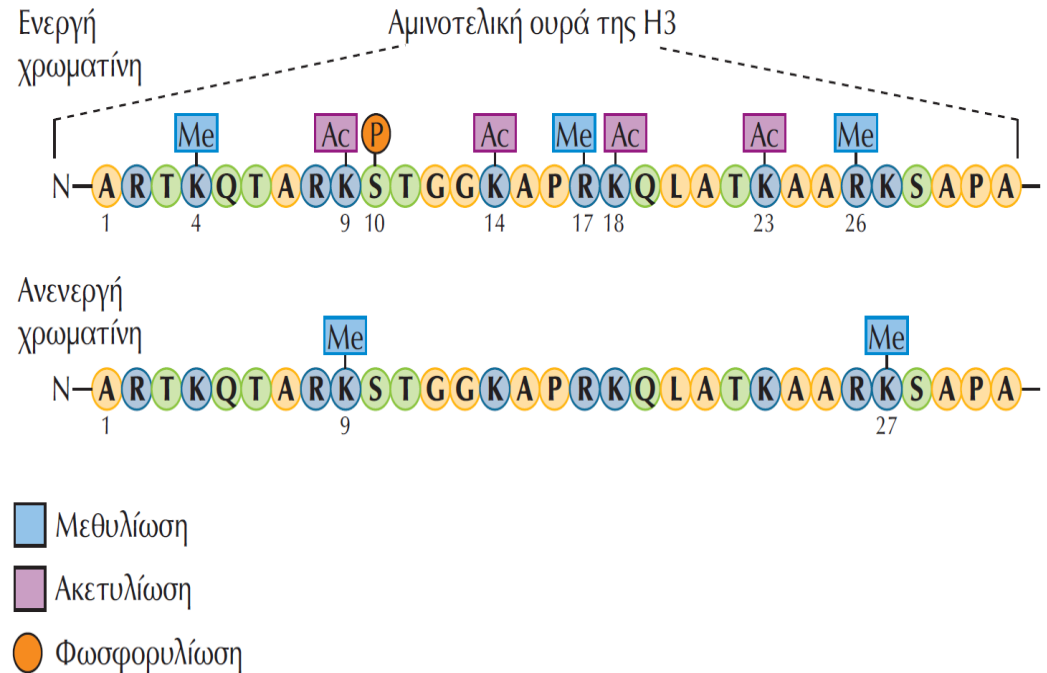
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Οι ιστόνες τροποποιούνται μετα-μεταφραστικά με πολλούς τρόπους

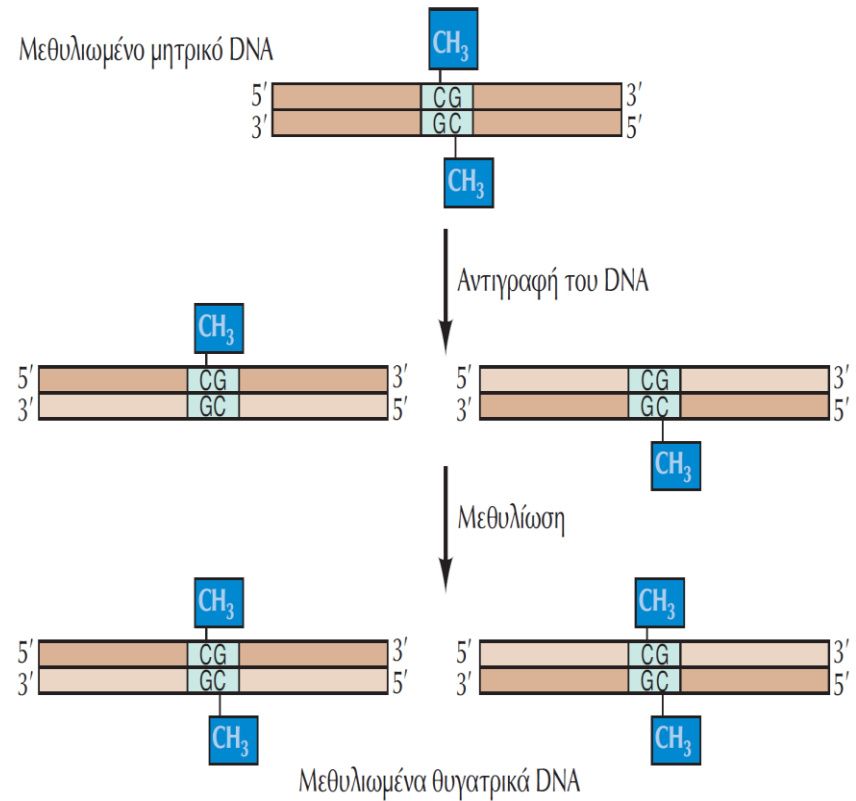
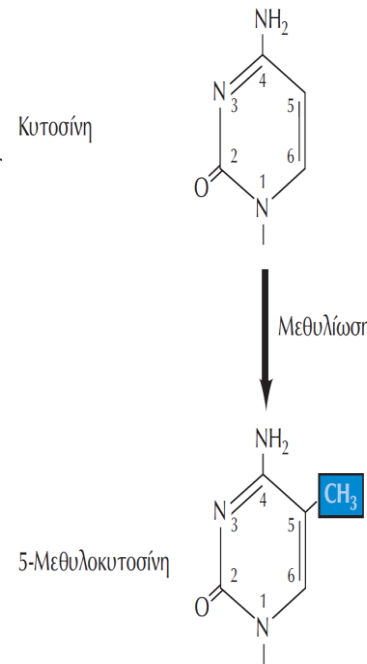
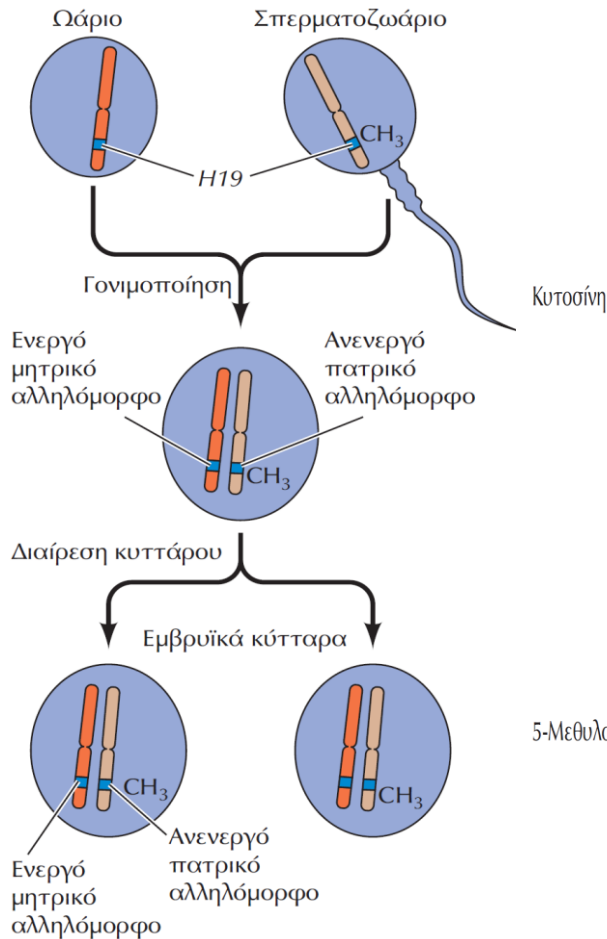
- Η μεταγραφική ενεργότητα της χρωματίνης επηρεάζεται από τη μεθυλίωση, τη φωσφορυλίωση και την ακετυλίωση συγκεκριμένων καταλοίπων της αμινοτελικής ουράς των ιστονών. Τόσο η μεταγραφικά ενεργή όσο και η μεταγραφικά ανενεργή χρωματίνη εμφανίζουν χαρακτηριστικά πρότυπα τροποποιήσεων των ιστονών.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Κληρονομήσιμη απενεργοποίηση της γονιδιακής έκφρασης



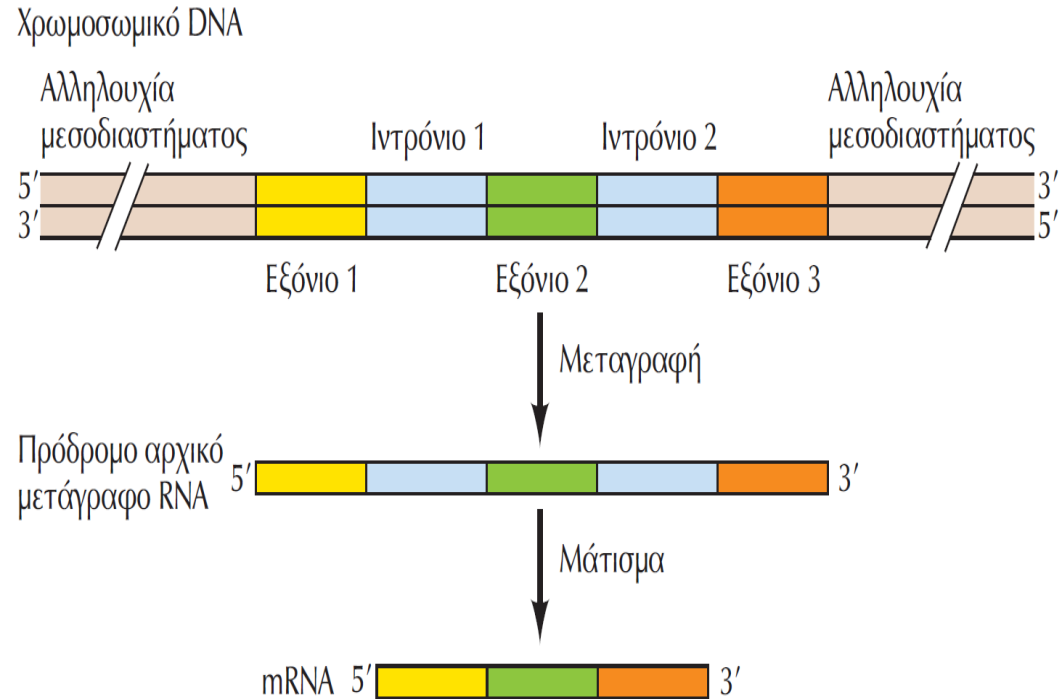
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Μετά τη μεταγραφή, τα ευκαρυωτικά RNAs υπόκεινται σε «ωρίμανση»

- Τα περισσότερα ευκαρυωτικά γονίδια περιέχουν τμήματα κωδικών αλληλουχιών (εξόνια) τα οποία διακόπτονται από μη κωδικές αλληλουχίες (ιντρόνια). Τα εξόνια και τα ιντρόνια μεταγράφονται σε ένα πρόδρομο αρχικό μετάγραφο RNA. Στη συνέχεια, τα ιντρόνια απομακρύνονται με τον μηχανισμό του ματίσματος για να σχηματιστεί το ώριμο mRNA.

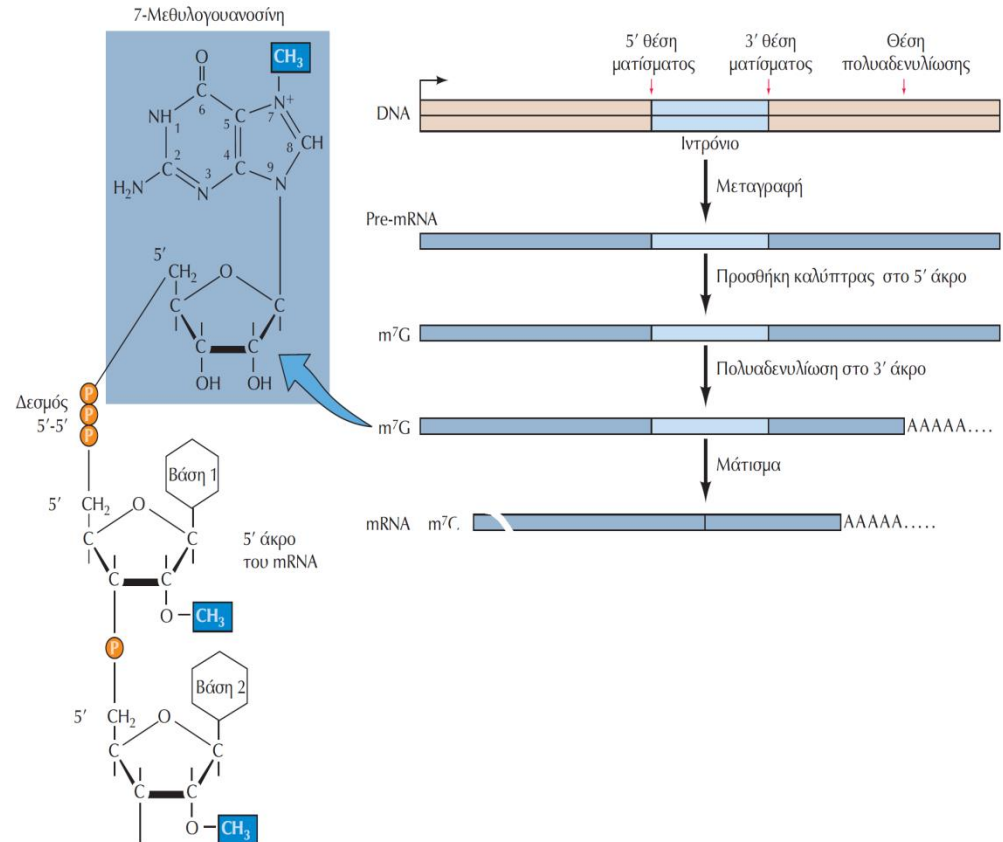


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Στάδια «ωρίμανσης» των ευκαρυωτικών mRNAs

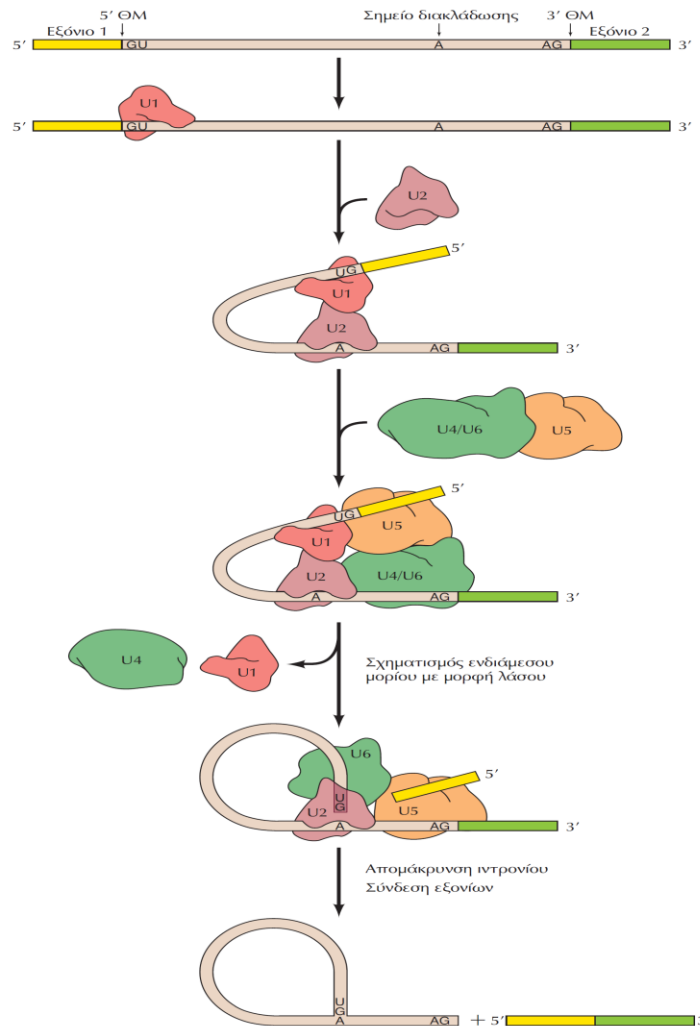
- Η επεξεργασία του mRNA περιλαμβάνει την τροποποίηση του 5' άκρου του μέσω της προσθήκης μιας καλύπτρας 7-μεθυλογουανωσίνης (m7G). Αυτή η 5' καλύπτρα σχηματίζεται με την προσθήκη στο 5' άκρο του mRNA ενός GTP σε αντίστροφο προσανατολισμό, σχηματίζοντας έναν δεσμό 5'-5'. Το πρόσθετο G μεθυλιώνεται στη θέση N-7 και μεθυλομάδες προστίθενται επίσης στις ριβόζες του ενός ή των δύο πρώτων νουκλεοτιδίων του RNA. Η τροποποίηση του 3' άκρου συνίσταται στην προσθήκη μιας ουράς πολυ(A).



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

# Η συρραφή (μάτισμα) του mRNA (1)



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

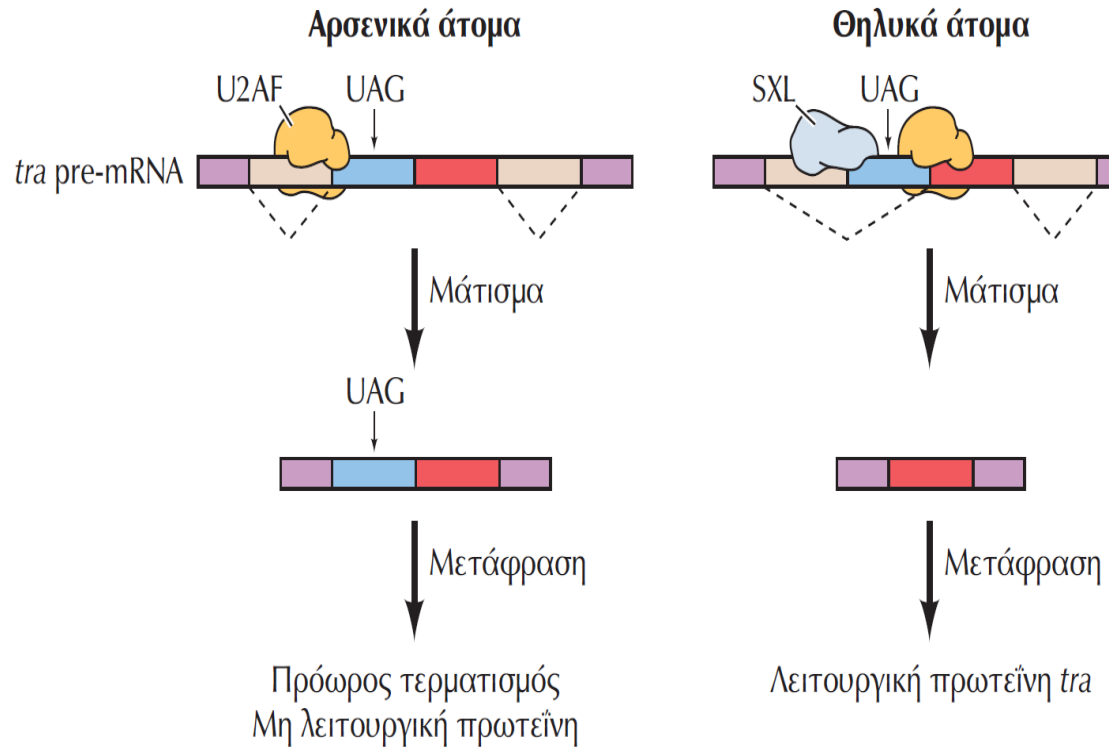


# Η συρραφή (μάτισμα) του mRNA (2)

- Το πρώτο βήμα κατά τον σχηματισμό του σωματίου ματίσματος έγκειται στην πρόσδεση του U1 snRNP στην 5' θέση ματίσματος (ΘΜ) του pre-mRNA. Ακολουθεί η πρόσδεση του U2 snRNP στο σημείο διακλάδωσης. Κατόπιν, ένα προσχηματισμένο σύμπλοκο που αποτελείται από τα U4/U6 και U5 snRNP ενσωματώνεται στο σωματίο ματίσματος μέσω δεσμών υδρογόνου οι οποίοι αναπτύσσονται ανάμεσα στο U5 snRNA και τις αλληλουχίες που βρίσκονται ανοδικά της 5' θέσης ματίσματος. Κατόπιν, τα U1 και U4 αποσυνδέονται από το σύμπλοκο, ενώ το U6 αντικαθιστά το U1 στην 5' θέση ματίσματος και αναπτύσσει αλληλεπιδράσεις με το U2. Έτσι έρχονται κοντά η 5' θέση ματίσματος και το σημείο διακλάδωσης, προκειμένου να σχηματιστεί η δομή σε σχήμα λάσου. Το U5 προσδέεται στην 3' θέση ματίσματος και διευθετεί τα δύο εξόνια κατά τέτοιο τρόπο ώστε να συνδεθούν μεταξύ τους και παράλληλα να απομακρυνθεί το ιντρόνιο.



# Η εναλλακτική συρραφή οδηγεί στην αλλαγή των ιδιοτήτων των πρωτεϊνών

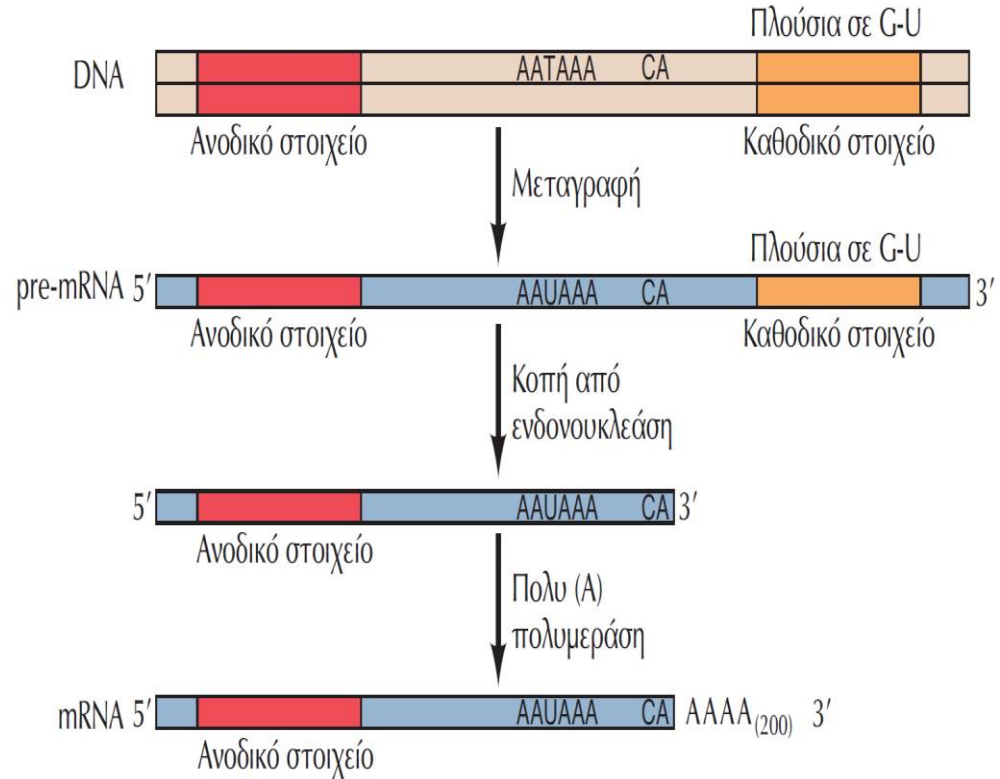


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
**Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση**



# Ωρίμανση των 3' άκρων των mRNAs

- Τα σήματα πολυαδενυλίωσης στα θηλαστικά αποτελούνται από ένα εξανουκλεοτίδιο, το AAUAAA, και μια πλούσια σε G και U αλληλουχία η οποία βρίσκεται καθοδικά από αυτό. Επιπλέον, σε ορισμένα mRNA υπάρχει και μια πλούσια σε U αλληλουχία ανοδικά του στοιχείου AAUAAA. Κατά την πολυαδενυλίωση, μια ενδονουκλεάση κόβει το pre-mRNA 10 έως 30 νουκλεοτίδια καθοδικά του στοιχείου AAUAAA, συνήθως μετά από ένα δινουκλεοτίδιο CA. Κατόπιν, η πολυ(A) πολυμεράση προσθέτει στο 3' άκρο του RNA μια ουρά πολυ(A), η οποία αποτελείται από 200 περίπου νουκλεοτίδια αδενίνης.

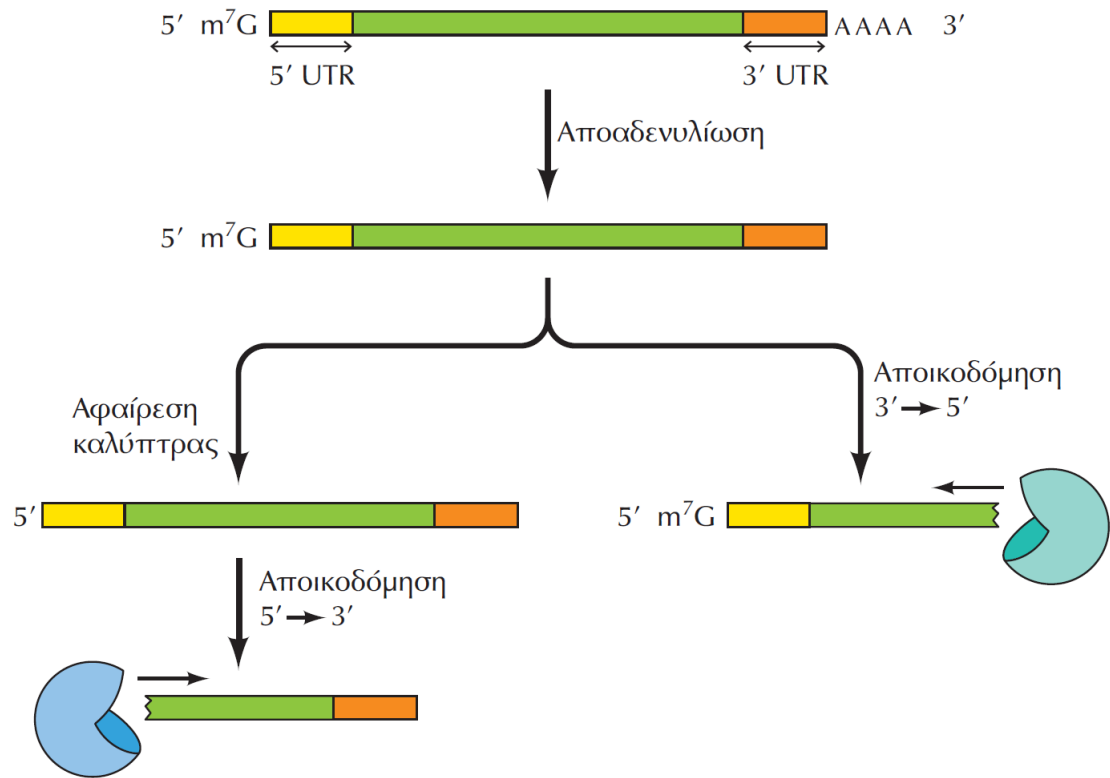


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Η αποικοδόμηση των mRNAs

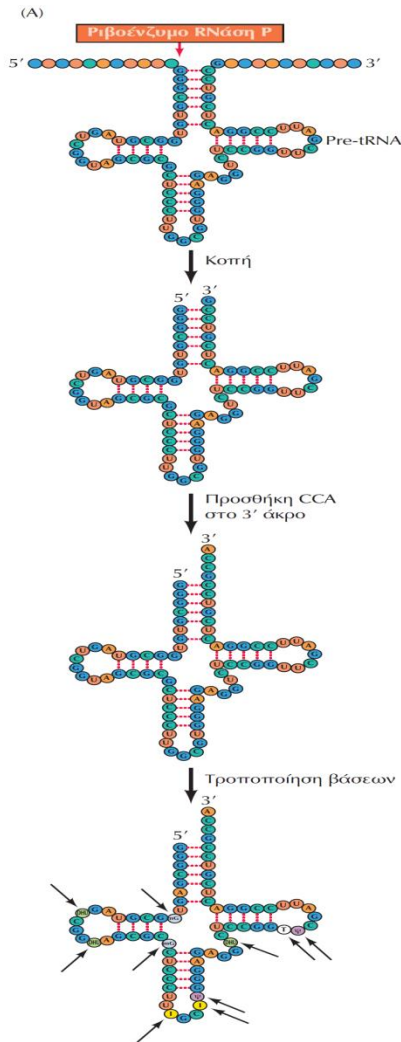
- Η αποικοδόμηση του mRNA συνήθως ξεκινά με τη μείωση του μήκους της ουράς πολυ(A). Η διαδικασία της αποαδενυλίωσης ακολουθείται είτε από την αποικοδόμηση του μορίου του mRNA με κατεύθυνση 3' προς 5' είτε από την απομάκρυνση της καλύπτρας στο 5' άκρο και την αποικοδόμηση του μορίου με κατεύθυνση 5' προς 3'.



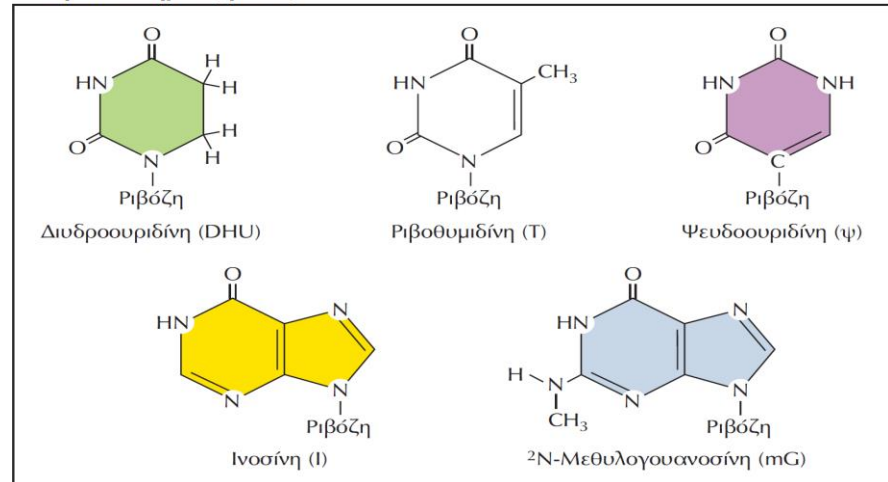
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



# Τα μεταφορικά RNA υπόκεινται σε ωρίμανση (1)



(B) Τροποποιημένες βάσεις



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011. Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση





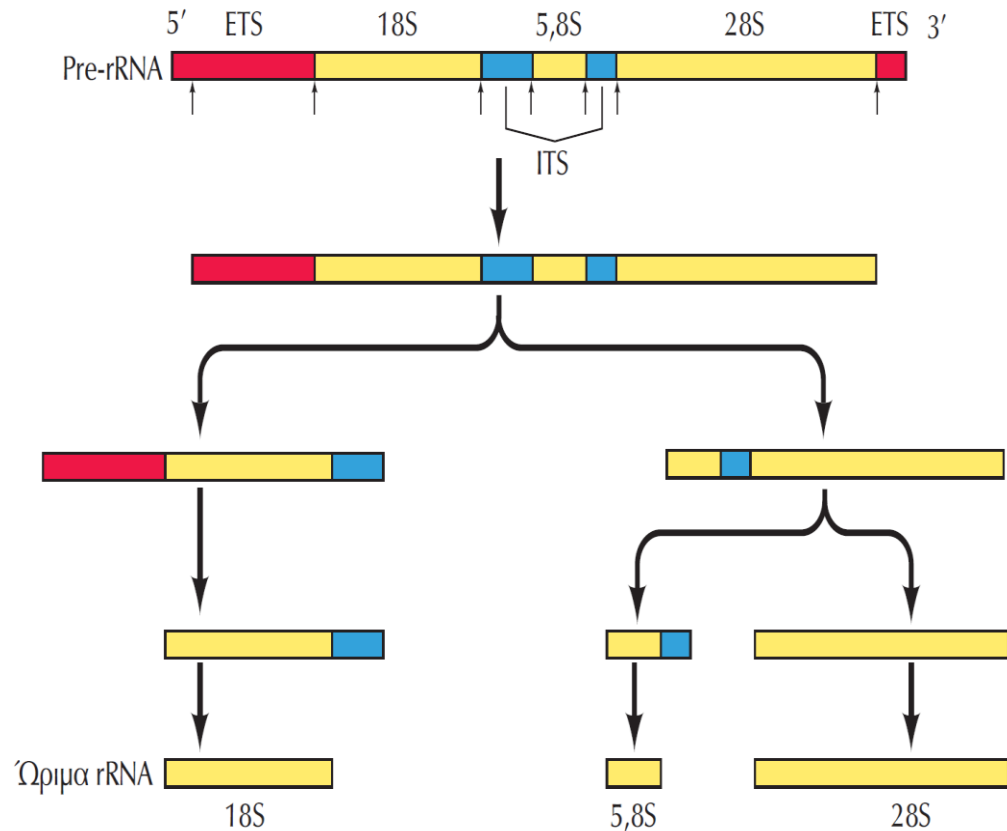
# Τα μεταφορικά RNA υπόκεινται σε ωρίμανση (2)

- (A) Τα μεταφορικά RNA προέρχονται από pre-tRNA, ορισμένα από τα οποία περιέχουν περισσότερα από ένα ανεξάρτητα μόρια tRNA. Στο πλαίσιο της ωρίμανσης των πρόδρομων μορίων το ριβοένζυμο RNάση P καταλύει την κοπή του 5' άκρου, ενώ μια δεύτερη κοπή στο 3' άκρο καταλύεται από μια συμβατική, πρωτεϊνική RNάση. Στη συνέχεια, στο 3' άκρο πολλών tRNA προστίθεται το τρινουκλεοτίδιο CCA. Τέλος, ορισμένες βάσεις που βρίσκονται σε συγκεκριμένες θέσεις του μορίου υφίστανται κάποιες χαρακτηριστικές τροποποιήσεις. Μεταξύ των τροποποιημένων νουκλεοσιδίων που μπορεί να προκύψουν συμπεριλαμβάνονται η διυδροουριδίνη (DHU), η μεθυλογουανοσίνη (mG), η ινοσίνη (I), η ριβοθυμιδίνη (T) και η ψευδοουριδίνη (Ψ). (B) Η δομή των τροποποιημένων βάσεων. Η ριβοθυμιδίνη, η διυδροουριδίνη και η ψευδοουριδίνη σχηματίζονται μέσω της τροποποίησης ουριδινών του tRNA. Η ινοσίνη και η μεθυλογουανοσίνη σχηματίζονται μέσω της τροποποίησης καταλοίπων γουανοσίνης.



# Τα ριβοσωμικά RNA υπόκεινται και αυτά σε ωρίμανση

- Το μετάγραφο 45S pre-rRNA των ανώτερων ευκαρυωτών περιέχει εξωτερικά μεσοδιαστήματα μεταγραφόμενης αλληλουχίας (ETS, External Transcribed Spacers) στα δύο άκρα του και εσωτερικά μεσοδιαστήματα μεταγραφόμενης αλληλουχίας (ITS, Internal Transcribed Spacers) ανάμεσα στις αλληλουχίες των 18S, 5,8S και 28S rRNA. Το pre-rRNA υπόκειται σε επεξεργασία μέσω μιας σειράς τομών, από τις οποίες παράγονται τα ώριμα rRNA.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.  
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση





# Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Τσαχουρίδου Βασιλική  
Θεσσαλονίκη, Εαρινό Εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ