



# ΕΙΔΙΚΑ ΘΕΜΑΤΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

## Εργαστήριο: Μιτοχονδριακό DNA και RFLPs

Τριανταφυλλίδης Α  
Τμήμα Βιολογίας

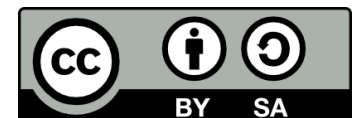


Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



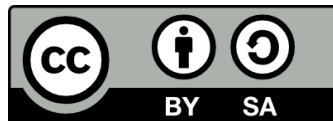
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

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.



# Περιεχόμενα ενότητας

- Δομικά Χαρακτηριστικά του Μιτοχονδριακού DNA
- Χαρακτηριστικά του μιτοχονδριακού DNA που το καθιστούν ωφέλιμο εργαλείο για γενετικές εξελικτικές μελέτες
- Ταχύς ρυθμός εξέλιξης του μιτοχονδριακού DNA
- Μελέτη πολυμορφισμού του μιτοχονδριακού DNA



# Άδεια χρήσης εικόνων

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

Εικόνες: 1

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



# Δομικά Χαρακτηριστικά του Μιτοχονδριακού DNA

- Μικρό, Κυκλικό μόριο
- Γυμνό από ιστόνες
- Μέγεθος σταθερό στα ανώτερα σπονδυλωτά (16-20Kb)
- Μέγεθος ποικίλλει σε κατώτερα ζώα και σε φυτά

Μέχρι τώρα έχουν βρεθεί οι πρωτοταγείς διατάξεις για **~4500** μιτοχονδριακά γονιδιώματα

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/GenomesHome.cgi?taxid=2759&hopt=stat&opt=organelle>



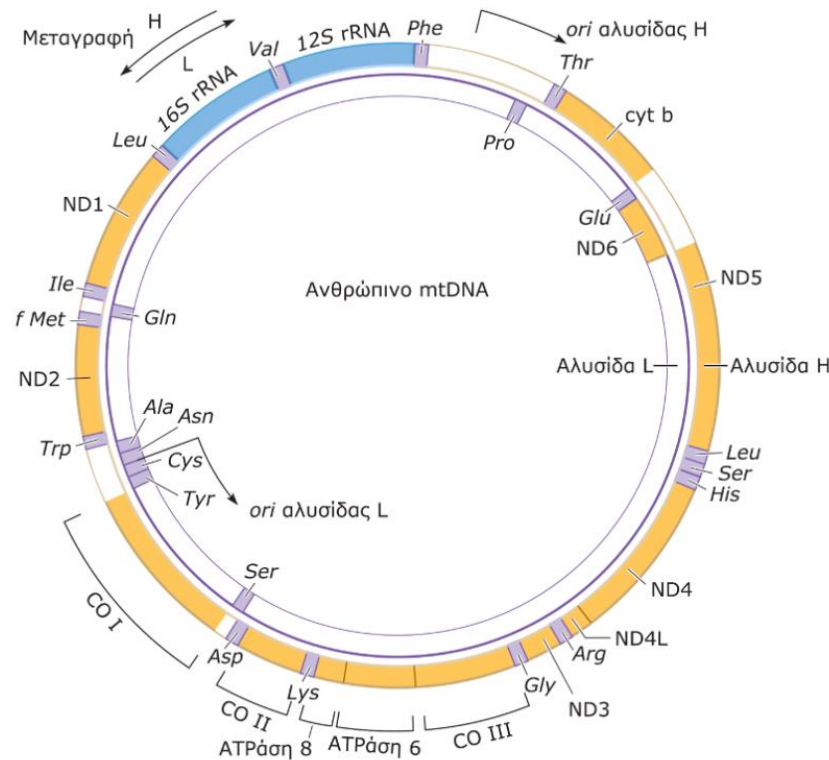
# Μοριακή δομή και χαρακτηριστικά του μιτοχονδριακού DNA

Μεγάλη συντηρητικότητα των γονιδίων που περιλαμβάνει:

- ✓ 13 γονίδια που μεταφράζονται σε πολυπεπτιδικές αλυσίδες,
  - 3 υπομονάδες της οξειδάσης του κυτοχρώματος c
  - 1 υπομονάδα του κυτοχρώματος b
  - 2 υπομονάδες της μιτοχονδριακής ATPάσης
  - 7 υπομονάδες της αφυδρογονάσης του NADH
- ✓ 2 γονίδια για ριβοσωμικά RNA (12S και 16SrRNA)
- ✓ 22 γονίδια για μεταφορικά RNA,
- ✓ περιοχή ελέγχου ή βρόχος D,
- ✓ όχι ιντρόνια και ψευδογονίδια



# Μιτοχονδριακό DNA ανώτερων σπονδυλωτών



**Εικόνα 1: Χάρτης των γονιδίων του ανθρώπινου mtDNA**





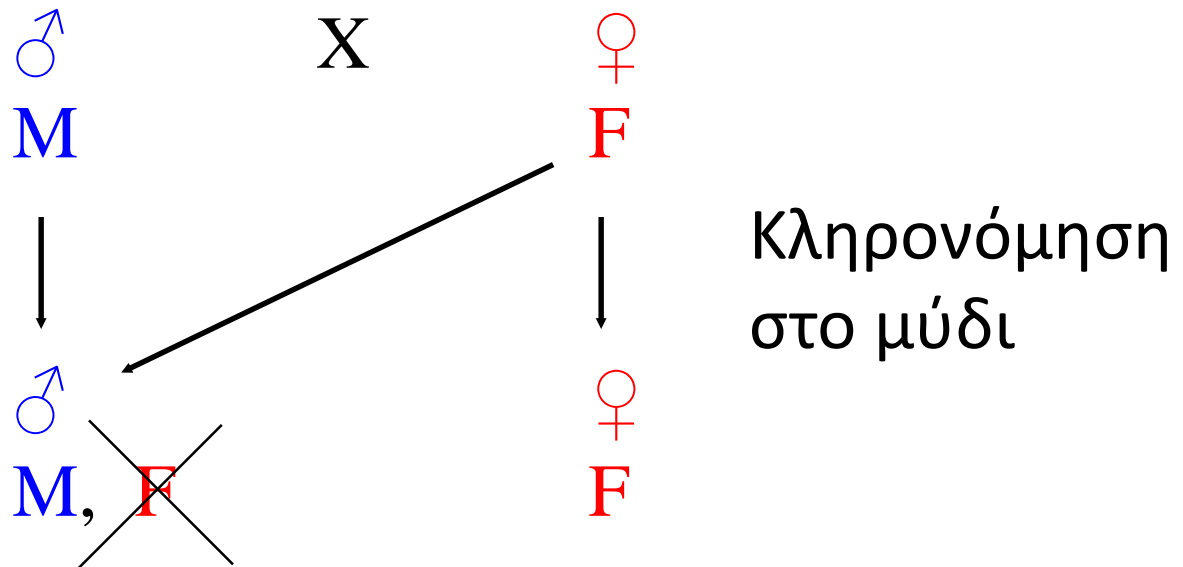
# Χαρακτηριστικά του μιτοχονδριακού DNA που το καθιστούν ωφέλιμο εργαλείο για γενετικές εξελικτικές μελέτες

- ✓ Μητρική κληρονόμηση
- ✓ Απλοειδής φύση
- ✓ Μικρό μέγεθος και συντηρημένη οργάνωση
- ✓ Ευκολία απομόνωσης
- ✓ Απουσία ανασυνδυασμού
- ✓ Ταχύς ρυθμός εξέλιξης
- ✓ Ύπαρξη περιοχών στο mtDNA με διαφορετικούς ρυθμούς εξέλιξης
- ✓ Ύπαρξη παγκόσμιων εκκινητών



# Μητρική Κληρονóμηση

- ✓ Μητρική κληρονóμηση έχει αποδειχθεί για τους περισσότερους οργανισμούς
- ✓ Εξαίρεση Μύδι, Sequoia



# Μητρική Κληρονóμηση

- ✓ Τα αρσενικά άτομα αποτελούν μιτοχονδριακά αδιέξοδα
- ✓ Σε κάθε γενιά κάποιες μιτοχονδριακές γραμμές εξαφανίζονται γιατί δε μεταβιβάζονται σε νέα κόρη
- ✓ Κάθε άτομο αποτελεί μέρος μιας μιτοχονδριακής γραμμής που πηγαίνει πίσω στο χρόνο στη μητέρα, γιαγιά, προγιαγιά
- ✓ Τελικά όλες οι μιτοχονδριακές γραμμές συγκλίνουν σε ένα αρχέγονο θηλυκό άτομο



# Μητρική Κληρονόμηση & Απλοειδής Φύση

- ✓ Ο συνδυασμός των δύο χαρακτηριστικών αυτών οδηγεί στη μείωση του πληθυσμιακού μεγέθους του μιτοχονδριακού DNA ως δείκτη στο  $\frac{1}{4}$  ενός πυρηνικού δείκτη
- ✓ Το γεγονός αυτό οδηγεί πολύ πιο γρήγορα σε καθιέρωση συγκεκριμένων αλληλομόρφων στους πληθυσμούς, ειδικά αν αυτοί είναι μικρού μεγέθους, εξαιτίας φαινομένων στενωπού και γενετικής παρέκκλισης



# Χαρακτηριστικά του μιτοχονδριακού DNA που το καθιστούν ωφέλιμο εργαλείο για γενετικές εξελικτικές μελέτες

- ✓ Μικρό μέγεθος και συντηρημένη οργάνωση
- ✓ Ευκολία απομόνωσης
- ✓ Απουσία ανασυνδυασμού



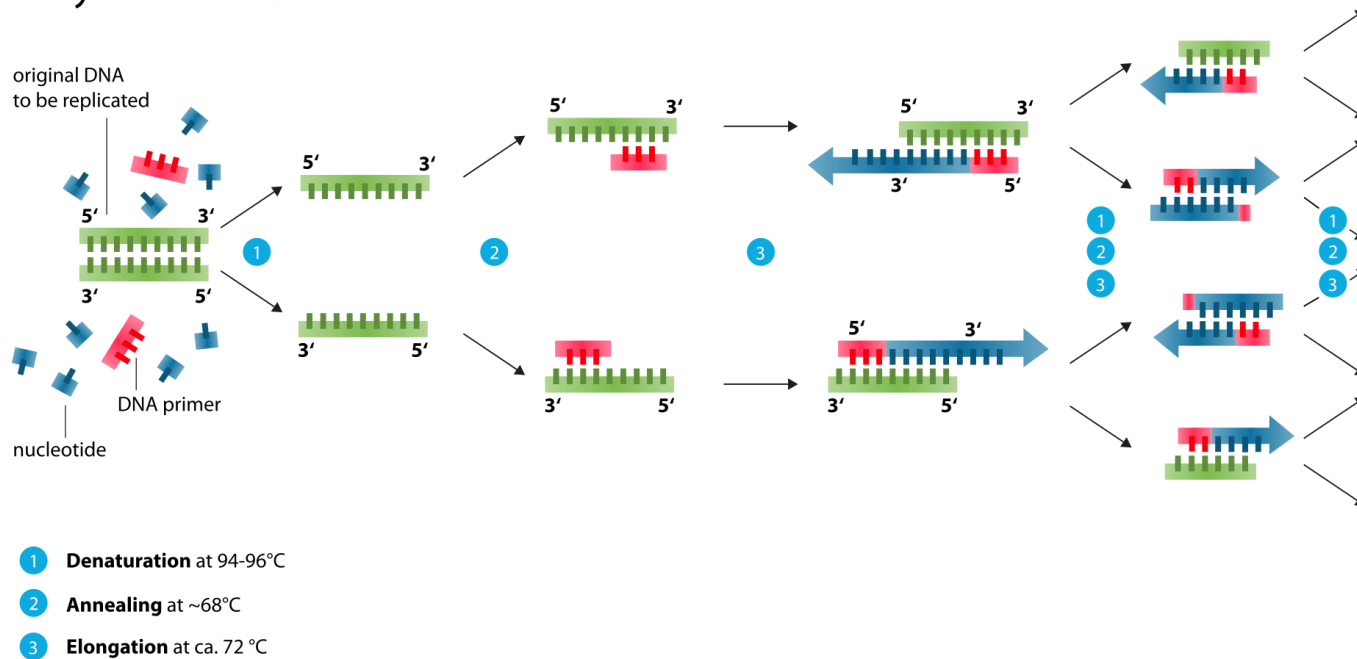
# Ταχύς ρυθμός εξέλιξης του μιτοχονδριακού DNA

- ✓ Αδυναμία της μιτοχονδριακής πολυμεράσης να επιδιορθώσει λάθη
  - ✓ Παρουσία οξειδωτικών ριζών
  - ✓ Απουσία μηχανισμών επιδιόρθωσης διμερών θυμίνης
  - ✓ Σιωπηρή φύση μιτοχονδριακών μεταλλάξεων (κυρίως στην τρίτη θέση του κωδικονίου) προστατεύει από επιλεκτικές πιέσεις
  - ✓ Παρουσία πολλών μορίων μιτοχονδριακού DNA επιτρέπει τη διατήρηση μεταλλάξεων σε κάποια από αυτά
  - ✓ Περισσότεροι κύκλοι αντιγραφής σε σχέση με τον πυρήνα
- Μείωση στο ρυθμό εξέλιξης του πυρηνικού DNA?



# Παγκόσμιοι εκκινητές για την ενίσχυση του μιτοχονδριακού DNA - PCR

## Polymerase chain reaction - PCR



Εικόνα 2: PCR, by Enzoklop, [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Polymerase\\_chain\\_reaction.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Polymerase_chain_reaction.svg),  
CC-BY-SA-3.0, <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>

<http://www.nobelprize.org/educational/chemistry/pcr/game/index.html>



# Για περισσότερες πληροφορίες...

---

JC Avise (1994)

*Molecular markers, Natural history and Evolution*

JC Avise (2000)

*Phylogeography*

*Molecular Ecology*

[www.blackwell-science.com/mec](http://www.blackwell-science.com/mec)





# Μελέτη πολυμορφισμού του μιτοχονδριακού DNA

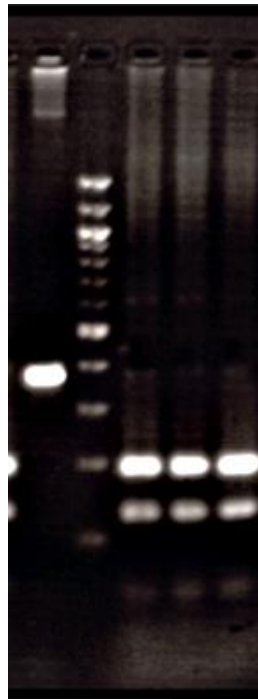
1. Ανάλυση Πολυμορφισμού Μήκους  
Περιοριστικών Τμημάτων (RFLP)
2. Εύρεση Αλληλουχίας DNA



# Πολυμορφισμός Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων - RFLP

## Χρήση Ενζύμων Περιορισμού

Συνήθως χρησιμοποιούνται ένζυμα τύπου II, που αναγνωρίζουν τετρα-, πεντα-, εξα- νουκλεοτίδια



# Πολυμορφισμός Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων - RFLP

Μεταλλάξεις σε ένα νουκλεοτίδιο οδηγούν σε απώλεια ή δημιουργία θέσης κοπής και επομένως σε πολυμορφισμό

*AluI* AG C|T

TTCGGTAGCTCCTTCC  
AAGCCATCGAGAAGG

~~TTCGGTAACTCCTTCC  
AAGCCATTGAGAAGG~~

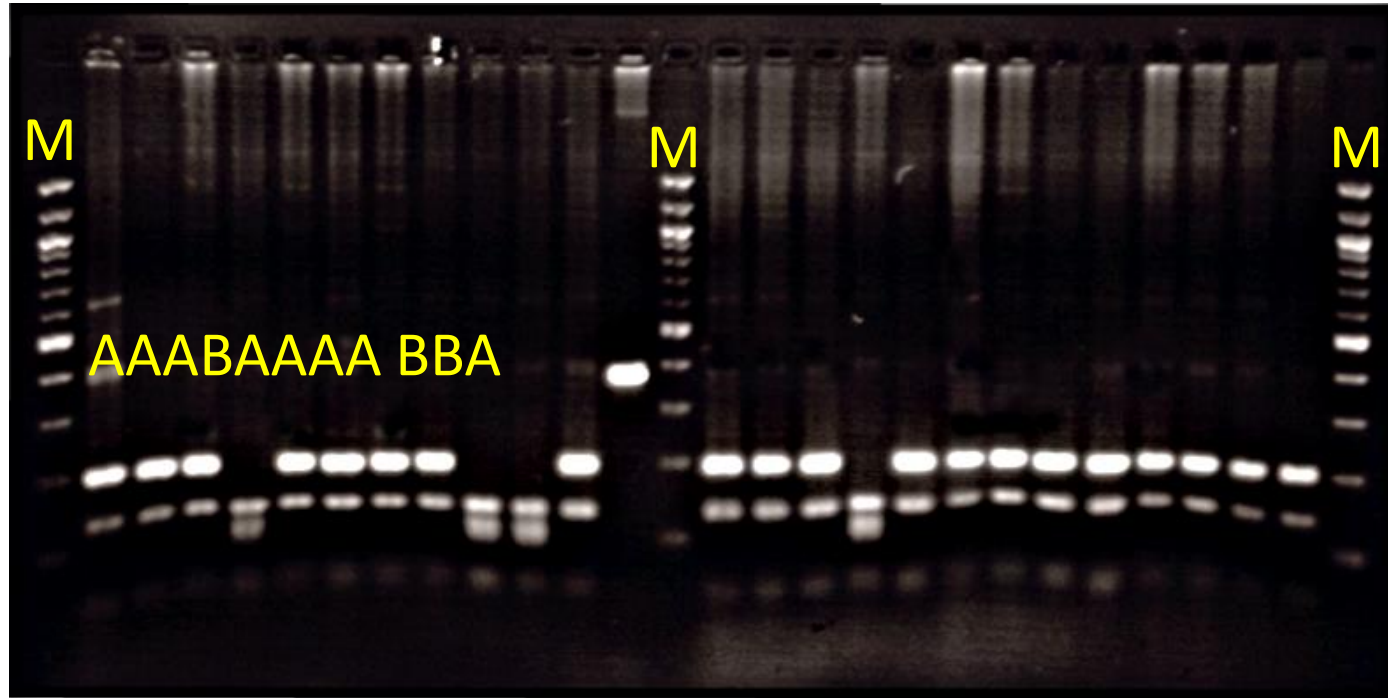
ΑΤΟΜΟ 1

G → A

ΑΤΟΜΟ 2



# Πολυμορφισμός Μήκους Περιοριστικών Τμημάτων - RFLP



Πέψη με την ενδονουκλεάση *DpnII* σε διαφορετικά άτομα βοοειδών στην περιοχή του βρόχου D



# Πέψεις με περισσότερες ενδονουκλεάσες περιορισμού

*AluI* AG C|T

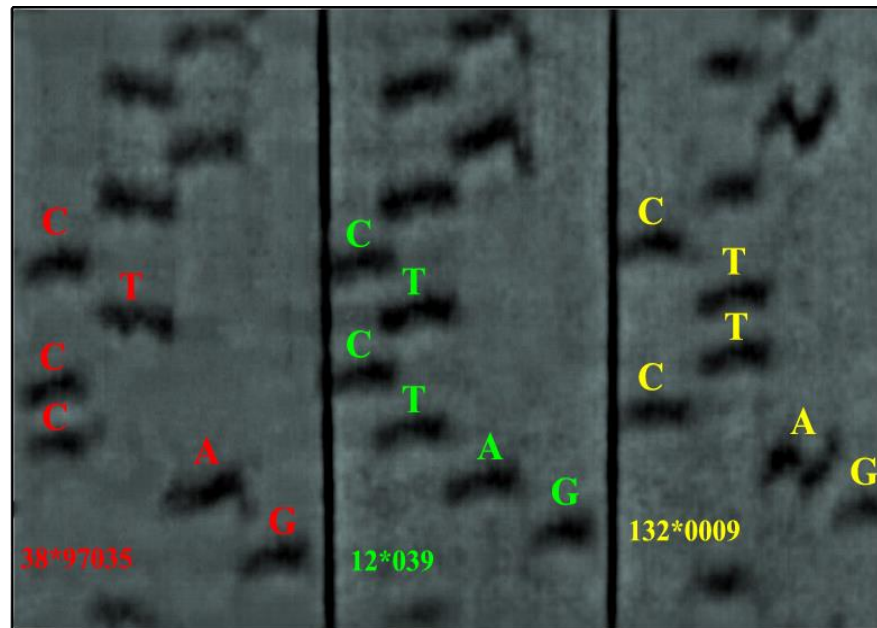
*EcoRI* G | AATTC

TTCGGTAGCTCTTCCAGCTGAATTCGTTC  
AAGCCATCGAGAAGGTCGATCTTAAGCAG

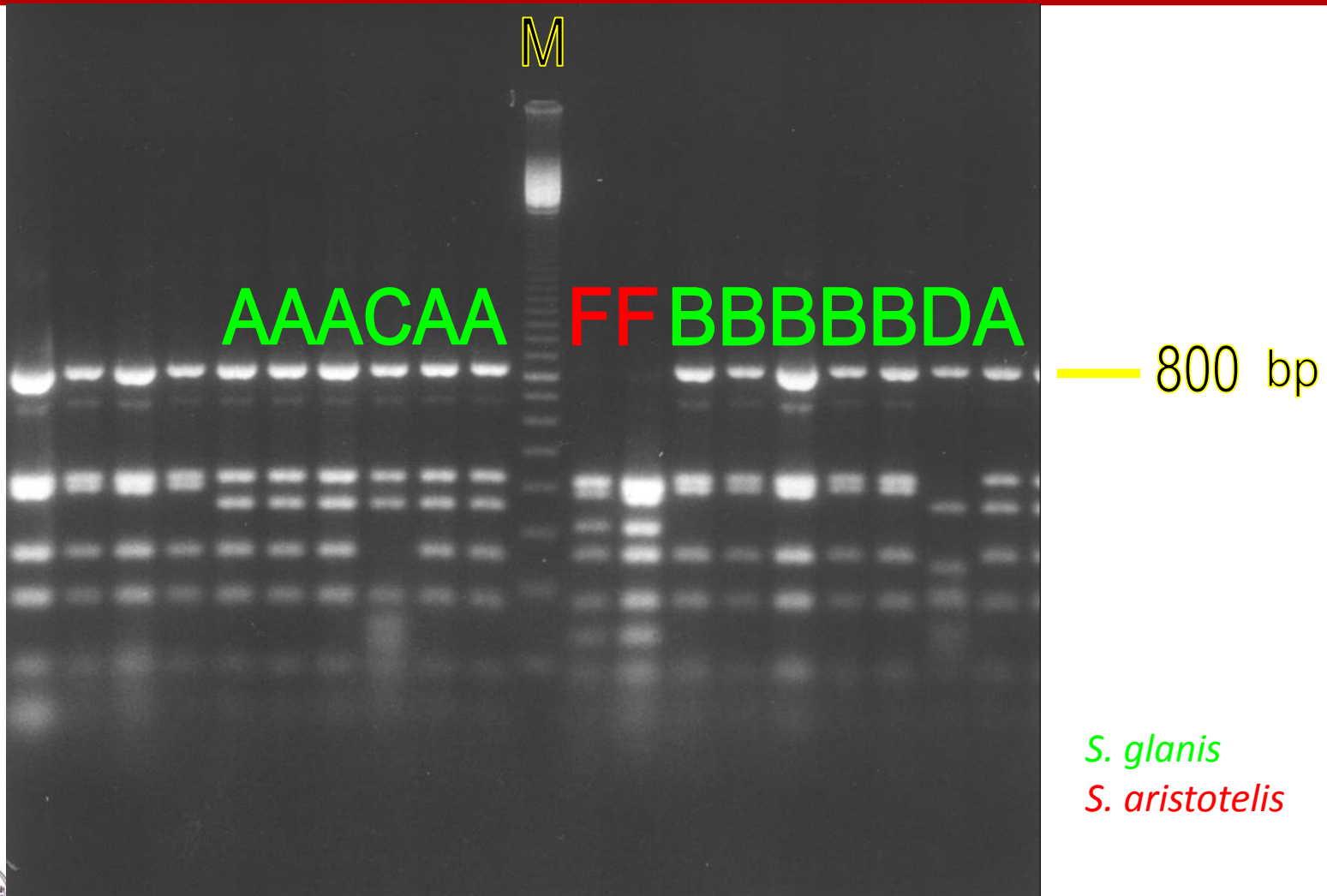
Η μόνη άμεση μέθοδος εύρεσης πολυμορφισμού είναι η εύρεση της αλληλουχίας



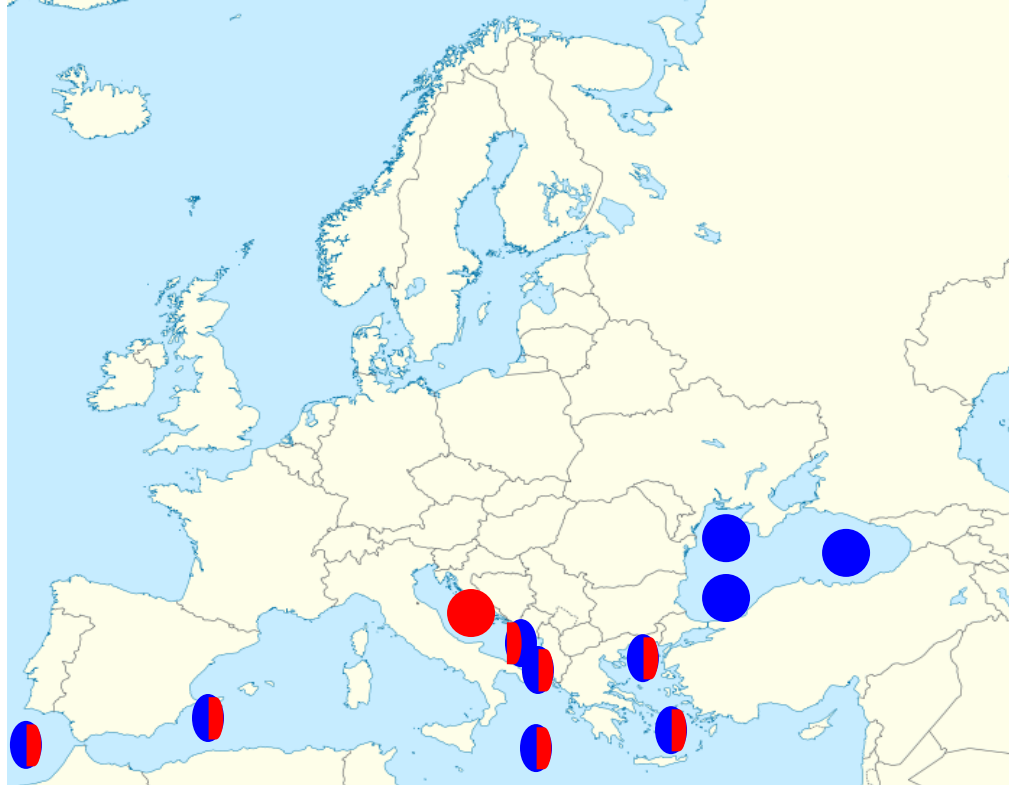
# Η μόνη άμεση μέθοδος εύρεσης πολυμορφισμού είναι η εύρεση της αλληλουχίας



# Γενετική ταυτοποίηση Ειδών



# Το παράδειγμα του γαύρου



Εικόνα 3: Συμπεράσματα για τη γενετική ποικιλότητα και τη γονιδιακή ροή στο γαύρο Magoulas *et al.* 1996, Τροποποίηση από: [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Europe\\_blank\\_laea\\_location\\_map.svg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Europe_blank_laea_location_map.svg), by Alexrk2 , CC-BY-SA-3.0, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.en>





# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τριανταφυλλίδης  
Αλέξανδρος. «Ειδικά Θέματα Γενετικής. Ιχνηλασιμότητα.  
Εφαρμογές των μοριακών δεικτών (στις τροφές) στα ψάρια». Έκδοση: 1.0.  
Θεσσαλονίκη 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:  
[http://opencourses.auth.gr/eclass\\_courses](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 2014-2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

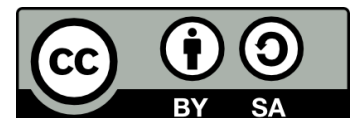


ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

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

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

