

David Sadava
David M. Hillis
H. Craig Heller
Sally D. Hacker



Η ΕΠΙΣΤΗΜΗ ΤΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Γενική Βιολογία · Γενετική · Εξέλιξη

Κεφάλαιο 14

Από το DNA στην Πρωτεΐνη:
Γονιδιακή Έκφραση

Πρώτη ελληνική έκδοση
Ενδέκατη αμερικανική Έκδοση

Επιστημονική επιμέλεια
της ελληνικής έκδοσης
Μαρία Γαζούλη



ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΠΑΖΙΣΗ

Το Κύτταρο Μια Μοριακή Προσέγγιση
Έβδομη Έκδοση

Κεφάλαιο 8

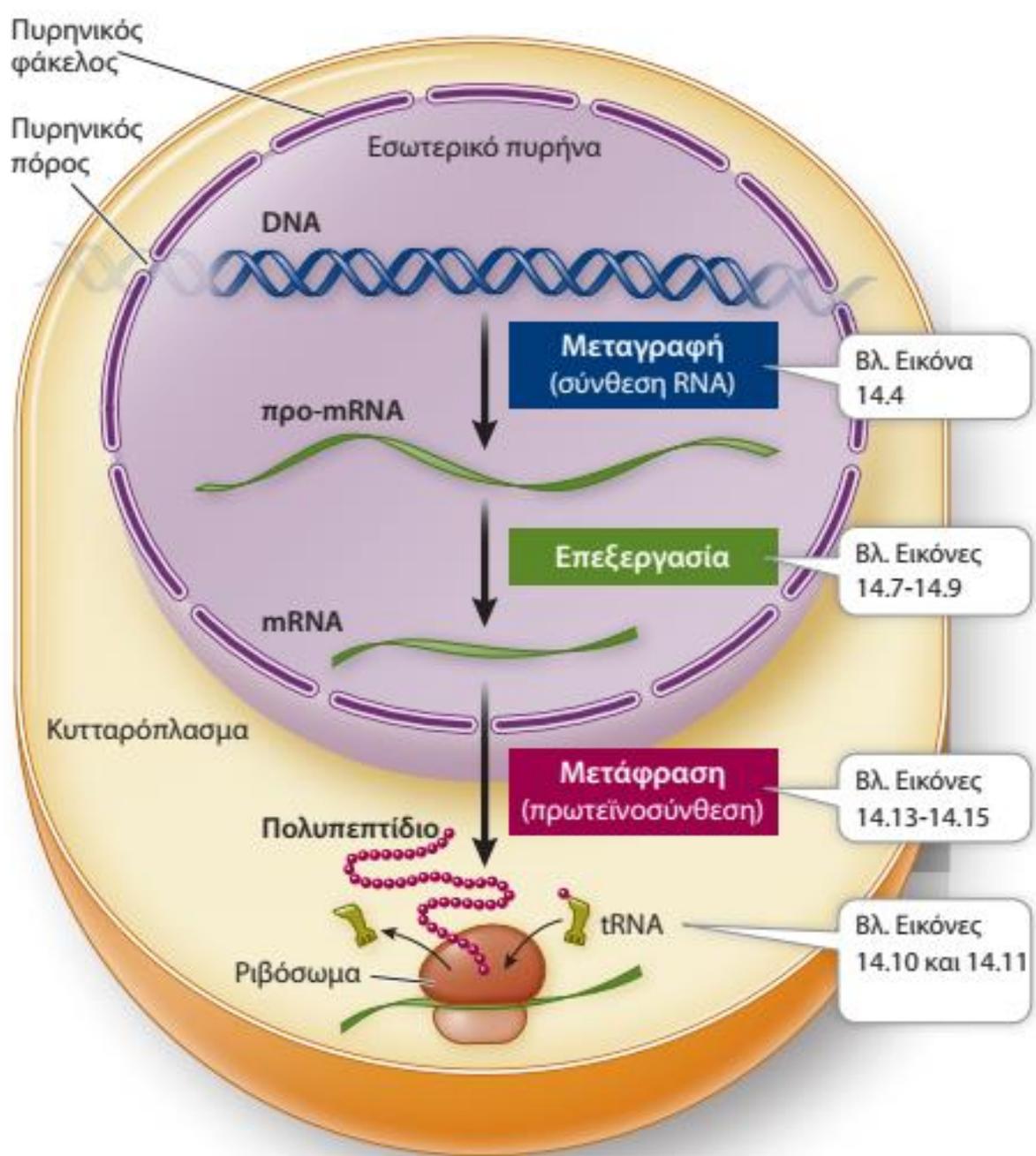
Σύνθεση και επεξεργασία του RNA

Geoffrey M. Cooper • Robert E. Hausman

Ακαδημαϊκές
Εκδόσεις



1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ



Εικόνα 14.2 Από το Γονίδιο στην Πρωτεΐνη

Το διάγραμμα αυτό συνοψίζει τις διαδικασίες της γονιδιακής έκφρασης στα ευκαρυωτικά κύτταρα. Σημειώστε ότι ο πυρήνας έχει περίπου το $\frac{1}{4}$ του μεγέθους που εμφανίζεται εδώ.

Ε: Γενικά, πόσο διαφορετικό είναι το διάγραμμα αυτό στα προκαρυωτικά κύτταρα;

Μέρος Α.

Σύνθεση και επεξεργασία του RNA

Σύνθεση και επεξεργασία του RNA

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα χαρακτηριστικά ενός κυττάρου καθορίζονται από:

1. Τα γονίδια που έχει κληρονομήσει
2. Την έκφραση των γονιδίων ανά κύτταρο, ανά δεδομένη χρονική στιγμή.

Μεταγραφή από DNA σε RNA: **πρώτο στάδιο γονιδιακής έκφρασης**

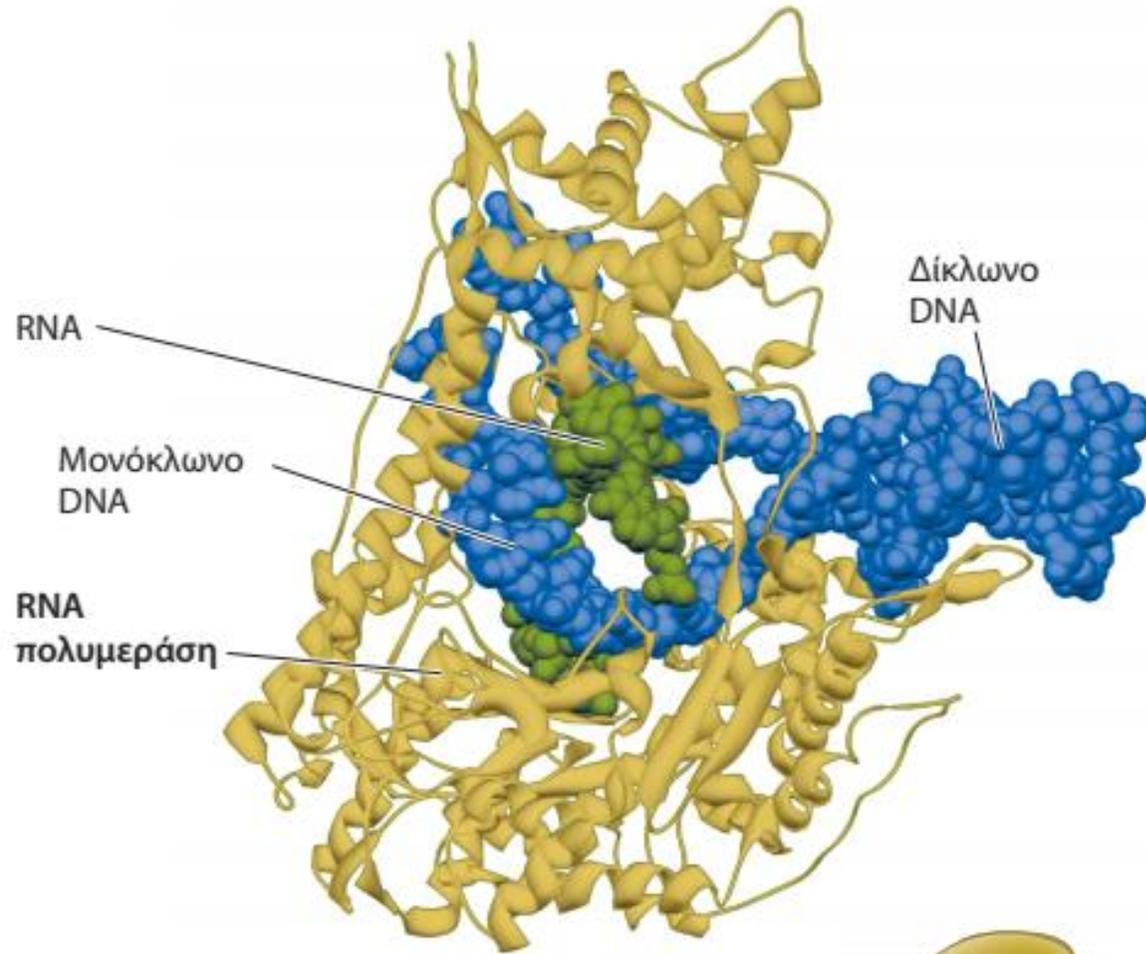
πίνακας 14.1 Μερικά RNAs σε ευκαρυωτικά κύτταρα

Τύπος RNA	Θέση και ενεργότητα	Ρόλος
Ριβοσωμικό RNA (rRNA)	Κυτταρόπλασμα (ριβόσωμα)	Σύνδεση του mRNA και του tRNA και πρωτεϊνοσύνθεση
Αγγελιαφόρο RNA (mRNA)	Κυτταρόπλασμα	Φορέας γονιδιακής αλληλουχίας
Μεταφορικό RNA (tRNA)	Κυτταρόπλασμα	Σύνδεσμος μεταξύ mRNA και πρωτεϊνοσύνθεσης
ΜικρόRNA (miRNA)	Πυρήνας και κυτταρόπλασμα	Ρύθμιση μεταγραφής και μετάφρασης
Μικρό παρεμβατικό RNA (siRNA)	Πυρήνας και κυτταρόπλασμα	Ρυθμίζει άλλα RNAs
Μικρό πυρηνικό RNA (snRNA)	Πυρήνας	Συμμετέχει στην ωρίμανση του mRNA

2. Μεταγραφή: η μετατροπή του DNA σε RNA

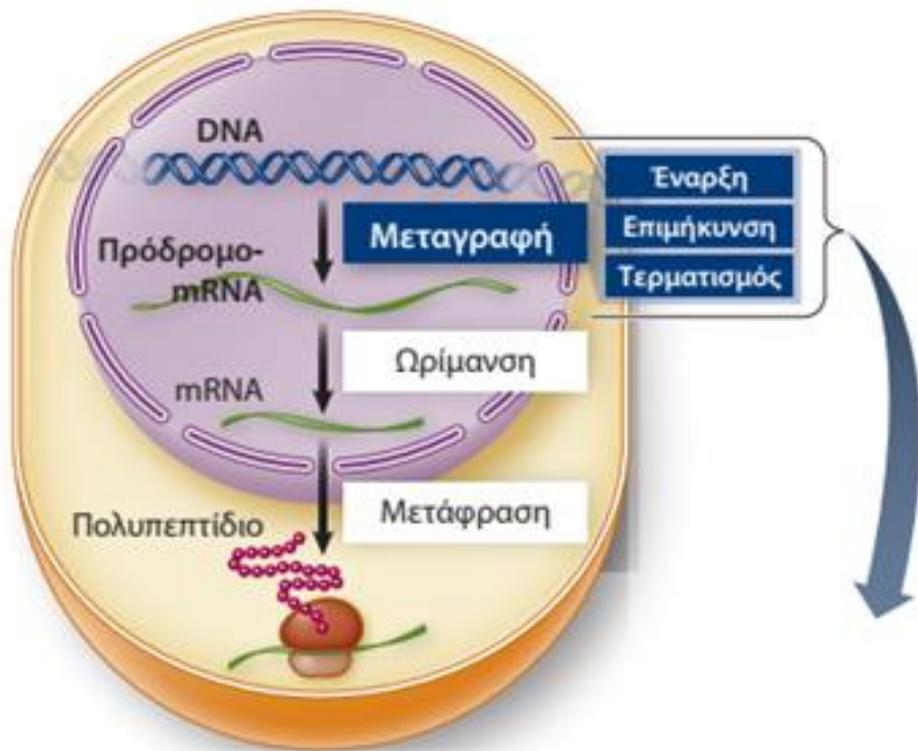
Εικόνα 14.3 Η RNA Πολυμεράση Αλληλεπιδρά με το DNA

Το ένζυμο RNA πολυμεράση που παρουσιάζεται εδώ προέρχεται από τον βακτηριοφάγο T7, αλλά είναι αντιπροσωπευτικό για τα περισσότερα είδη RNA πολυμερασών. Σημειώστε τη σχέση μεγέθους μεταξύ του ενζύμου και του DNA. Το ένθετο υποδεικνύει το πώς θα εμφανίζεται το ένζυμο στις εικόνες που θα ακολουθήσουν.



Αυτό το σύμβολο για τη RNA πολυμεράση θα χρησιμοποιηθεί στις εικόνες που θα ακολουθήσουν





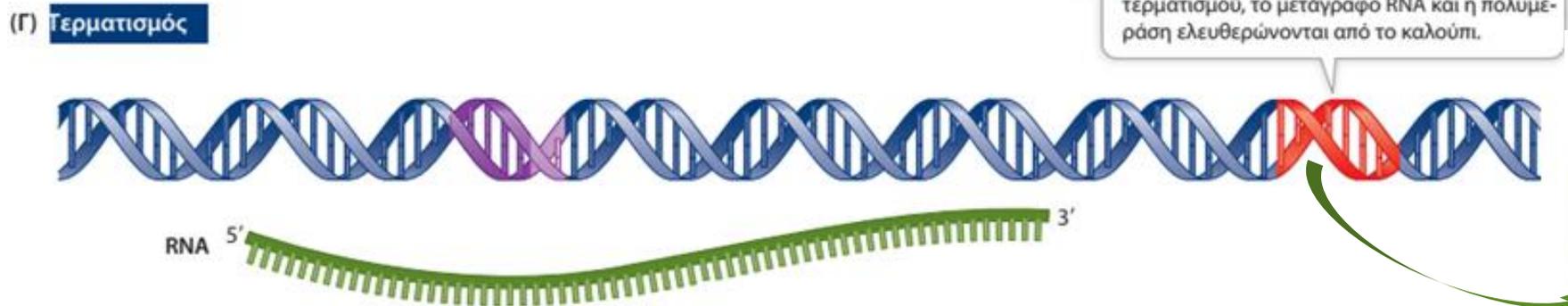
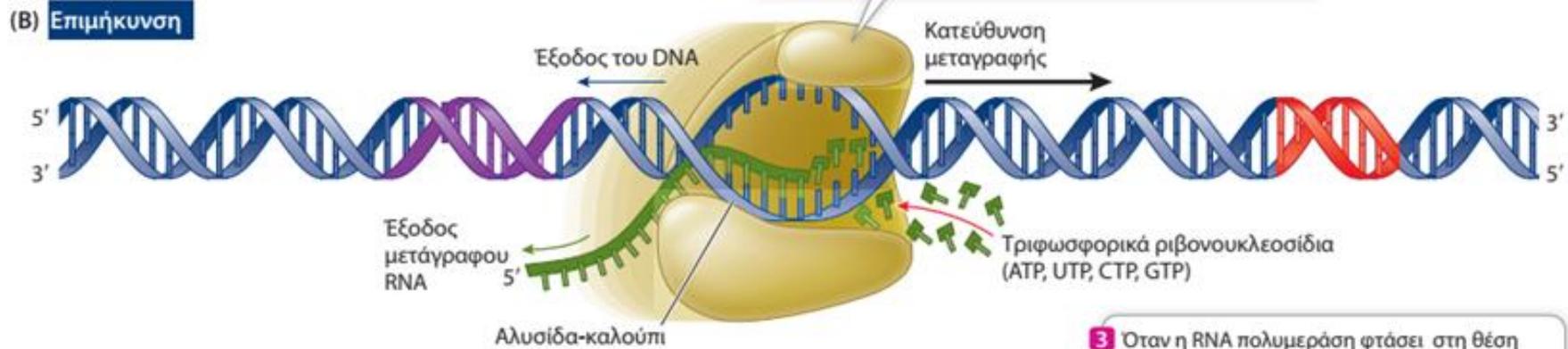
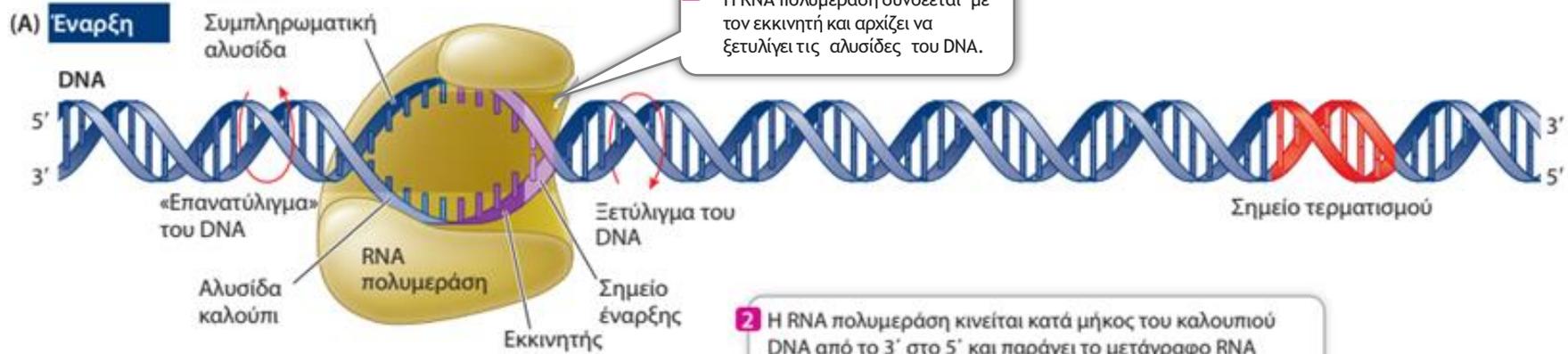
Εικόνα 14.4 Το DNA Μεταγράφεται για να Σχηματίσει RNA

Το DNA ξετυλίγεται τοπικά από την RNA πολυμεράση για να χρησιμεύσει ως καλούπι για τη σύνθεση του RNA. Το μετάγραφο RNA σχηματίζεται και στη συνέχεια αποκολλάται, επιτρέποντας στο DNA που έχει ήδη μεταγραφεί να τυλιχθεί εκ νέου σε διπλή έλικα. Η μεταγραφή αποτελείται από τρεις διακριτές διαδικασίες – έναρξη, επιμήκυνση και τερματισμό. Η RNA πολυμεράση είναι πολύ μεγαλύτερη απ' ό,τι παρουσιάζεται εδώ, και καλύπτει περίπου 50 ζεύγη βάσεων.

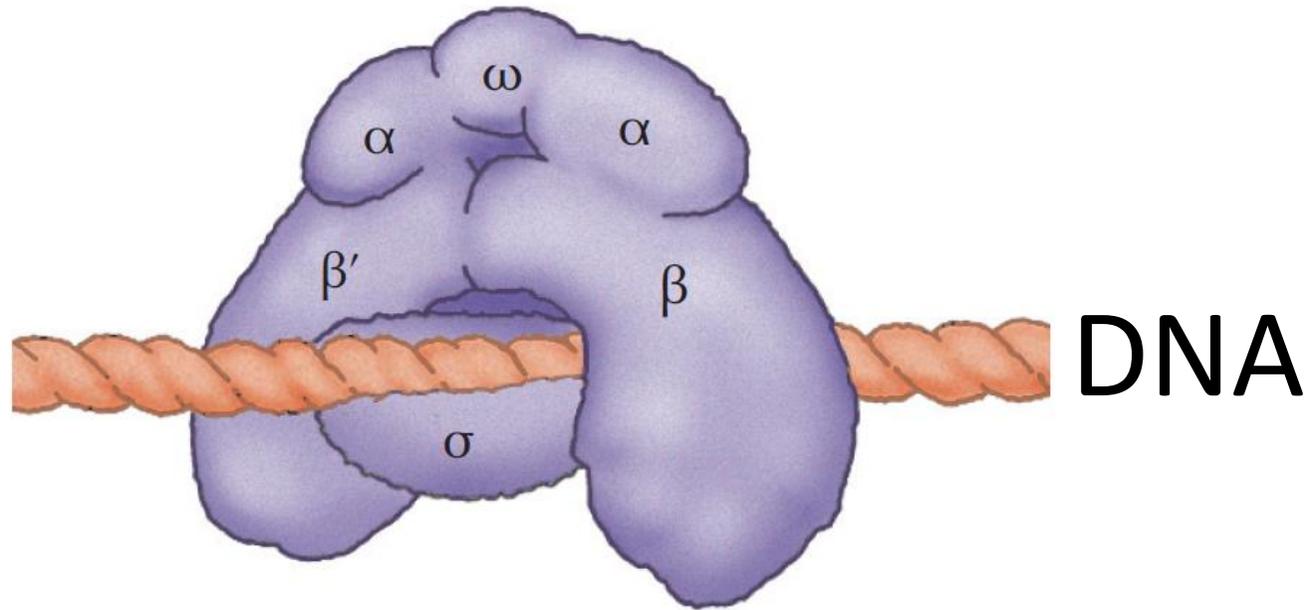
Ε: Συγκρίνοντας τη σύνθεση RNA με την αντιγραφή του DNA, ποια είναι τα κοινά τους γνωρίσματα;

2.1. Μεταγραφή των **προκαρυωτικών** οργανισμών:
γενικά στοιχεία, έναρξη και επιμήκυνση, τερματισμός

Η πολυμεράση του mRNA του φάγου T7 ως γενικό μοντέλο μεταγραφής.



Μεταγραφή των προκαρυωτικών οργανισμών



ΕΙΚΟΝΑ 7.1 Η RNA πολυμεράση της *E. coli*.

Το πλήρες ένζυμο αποτελείται από έξι υπομονάδες: δύο α, μία β, μία β', μία ω και μία σ: α₂ββ'ω-σ. Η υπομονάδα σ συνδέεται πιο χαλαρά και έτσι μπορεί να αποσπαστεί σχετικά εύκολα από τις υπόλοιπες υπομονάδες, οι οποίες συνιστούν τη λεγόμενη κεντρική πολυμεράση.

RNA πολυμεράση της *E. coli*: $\alpha_2\beta\beta'\omega$ (σ)

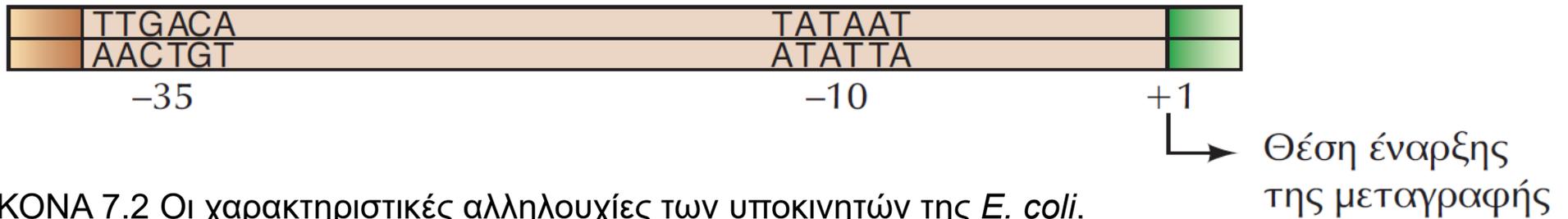
Πολυμερίζει NTPs, 5' προς 3', *de novo* πολυμερισμός (ρύθμιση μεταγραφής)

Η υπομονάδα σ (παράγων σίγμα) προσδίδει ειδικότητα στη θέση δέσμευσης της $\alpha_2\beta\beta'\omega$ στο DNA.

Υπάρχουν αρκετές υπομονάδες σ ανάλογα με το περιβάλλον του κυττάρου.

Υποκινητής: θέση δέσμευσης της RNA πολυμεράσης στο DNA για εκκίνηση της μεταγραφής, ο παράγων σίγμα καθορίζει τη δέσμευση σε υποκινητές.

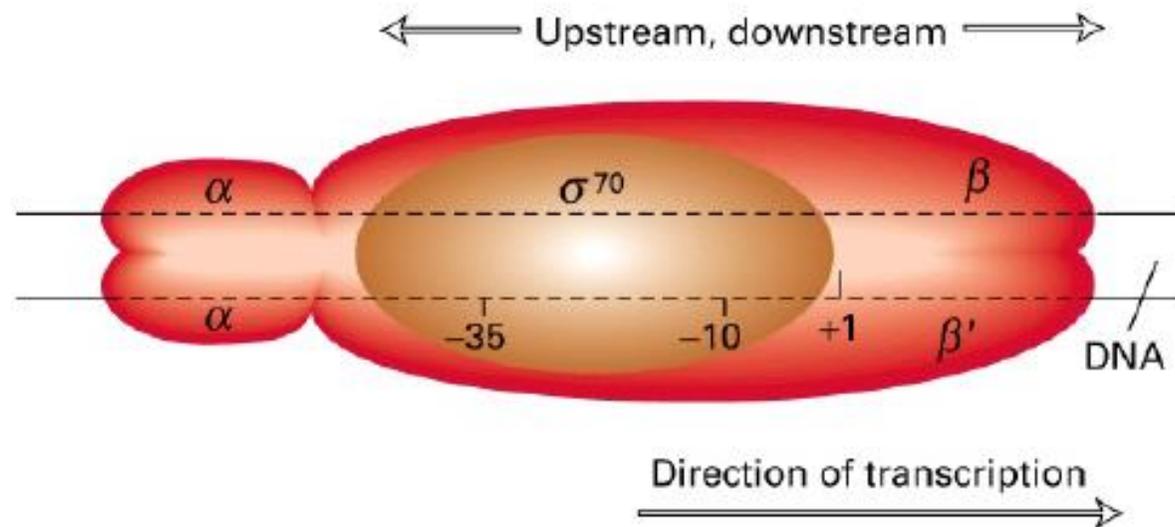
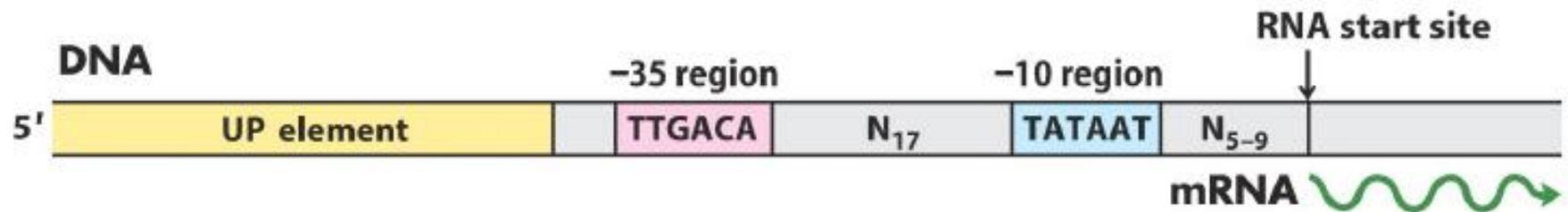
Αλληλουχίες του DNA που συμμετέχουν στη λειτουργία του υποκινητή:



ΕΙΚΟΝΑ 7.2 Οι χαρακτηριστικές αλληλουχίες των υποκινητών της *E. coli*.

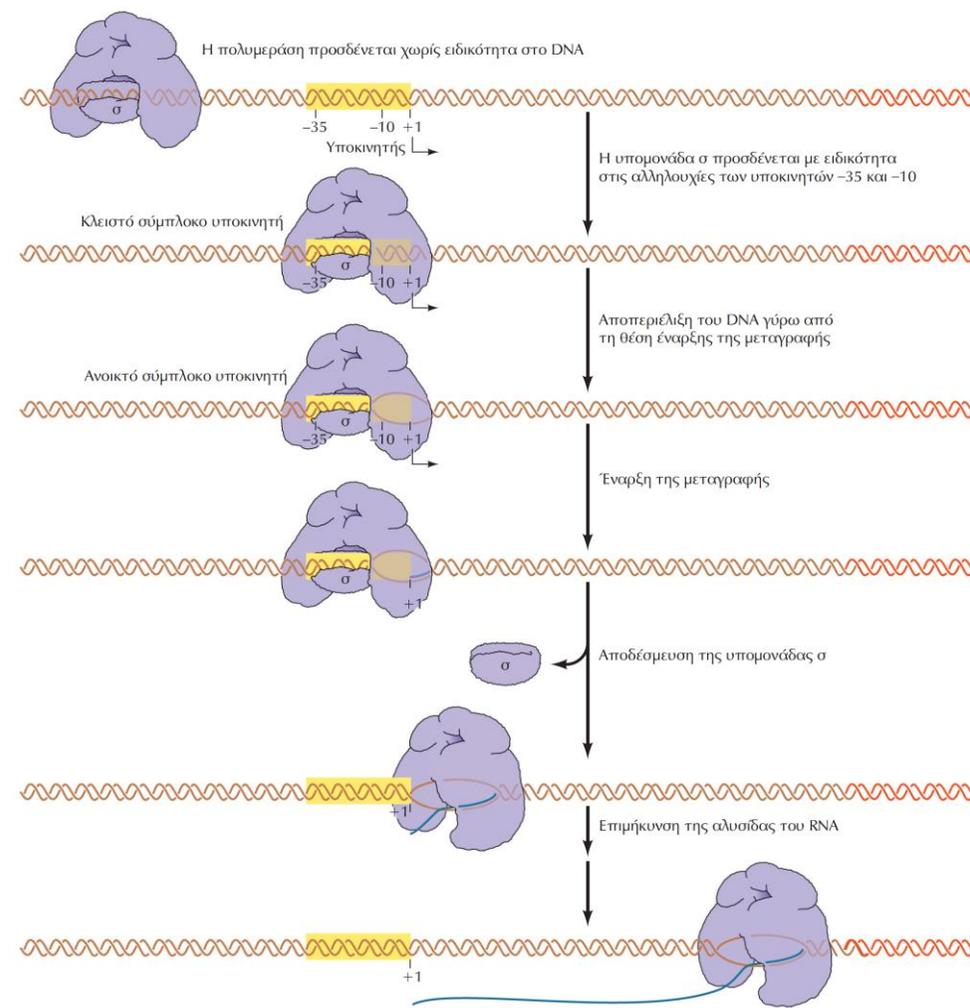
Οι υποκινητές της *E. coli* φέρουν δύο χαρακτηριστικές αλληλουχίες οι οποίες βρίσκονται 10 και 35 ζεύγη βάσεων ανοδικά από τη θέση έναρξης της μεταγραφής (+1). Οι πρότυπες αλληλουχίες που υποδεικνύονται εδώ αντιστοιχούν στα νουκλεοτίδια που συναντώνται συχνότερα σε κάθε θέση με βάση τη σύγκριση των αντίστοιχων αλληλουχιών από διαφορετικούς υποκινητές.

Βασικά χαρακτηριστικά σ^{70} υποκινητών της *E. coli*



Έναρξη μεταγραφής και επιμήκυνση στην *E. coli*:

ΕΙΚΟΝΑ 7.4 Η πολυμεράση του RNA αρχικά προσδένεται μη ειδικά στο DNA και μετακινείται κατά μήκος του μορίου μέχρι η υπομονάδα σ προσδεθεί στα στοιχεία -35 και -10, ώστε να σχηματιστεί το λεγόμενο κλειστό σύμπλοκο υποκινητή. Κατόπιν, η πολυμεράση ξετυλίγει το DNA γύρω από τη θέση έναρξης της μεταγραφής 12-14 βάσεις (από -12 έως και +2, ανοικτό σύμπλοκο υποκινητή) και ξεκινάει ο πολυμερισμός ελεύθερων NTP.



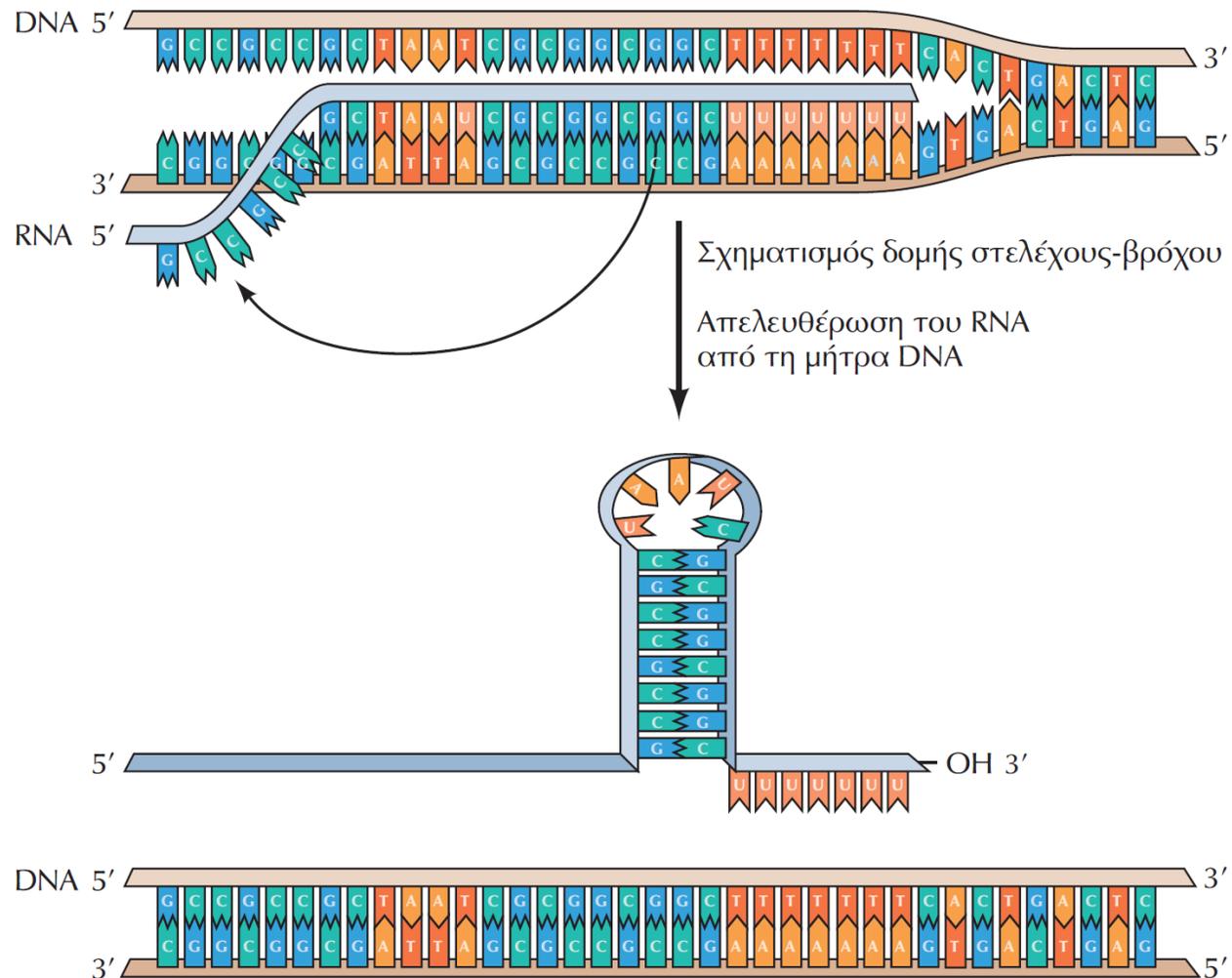
Το μονόκλωνο DNA λειτουργεί ως μήτρα για τη μεταγραφή. Μετά την προσθήκη 10 νουκλεοτιδίων, η υπομονάδα σ αποδεσμεύεται από την κεντρική πολυμεράση, η οποία αρχίζει να κινείται καθοδικά σε σχέση με τον υποκινητή επιμηκώνοντας το υπό σύνθεση μόριο RNA. Ξετυλίγει το DNA μπροστά (15 βάσεις) και το τυλίγει καθώς απομακρύνεται. Το ενεργό κέντρο του ενζύμου βρίσκεται σε ένα διάυλο μεταξύ των β και β' σχηματίζουν «δαγκάνα» που χωράει περίπου 20 ζεύγη βάσεων DNA.

Τερματισμός της μεταγραφής

ΕΙΚΟΝΑ 7.6

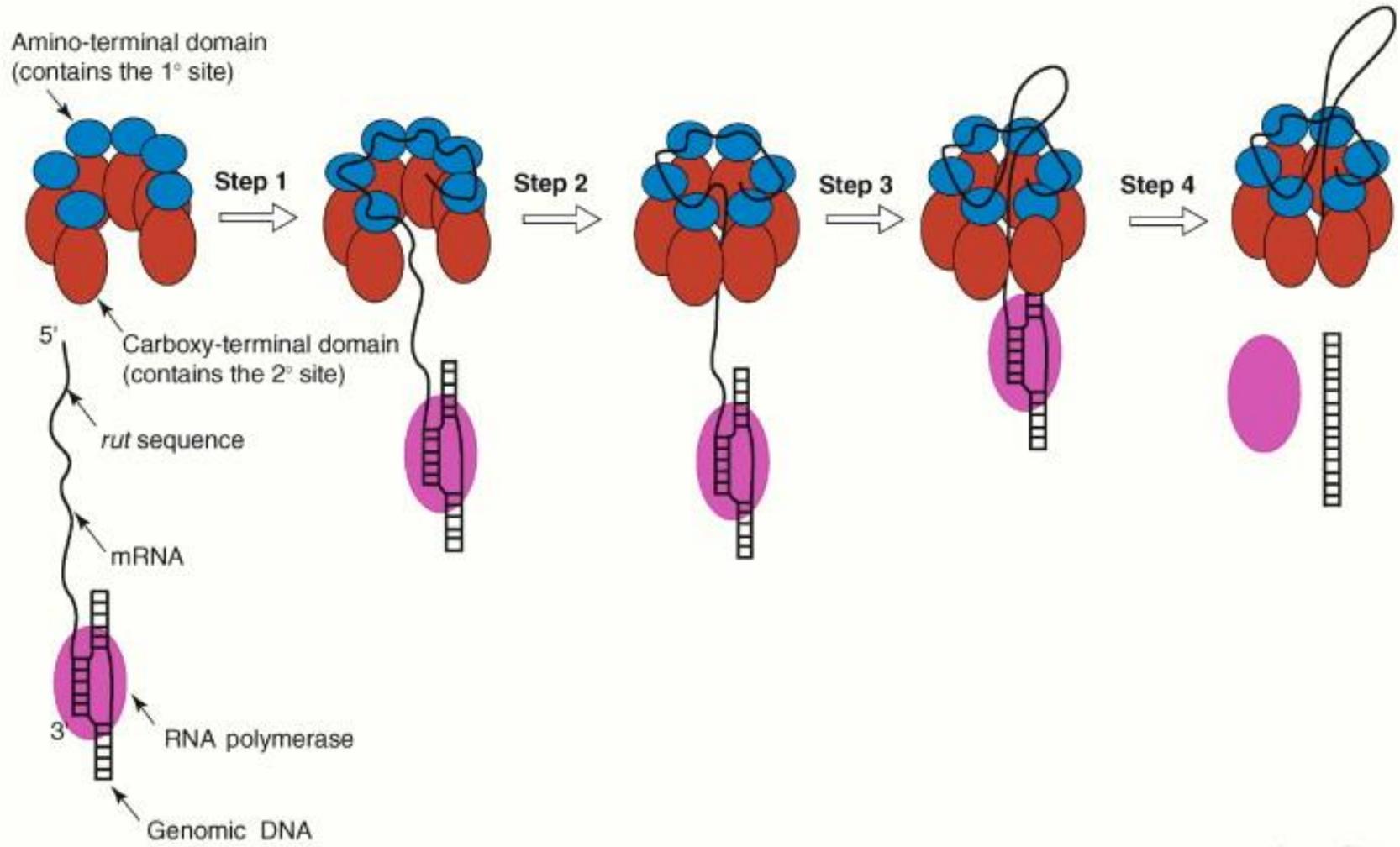
Ο τερματισμός της μεταγραφής σηματοδοτείται από:

1. 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.



2. **Πρωτεΐνες** τερματισμού, κυρίως ο **παράγοντας Rho** που μπορούν να δεσμευτούν σε εξειδικευμένες αλληλουχίες από περισσότερα των 60 νουκλεοτιδίων μονόκλωνου RNA στην 3' μη μεταφραζόμενη περιοχή. Τερματισμός μπορεί επίσης να γίνει και με δέσμευση εξειδικευμένων αλληλουχιών του RNA σε πρωτεΐνες Tau ή NusA.

Μηχανισμός τερματισμού της μεταγραφής από τον παράγοντα Rho



Current Biology

2.2. Μεταγραφή των **ευκαρυωτικών** οργανισμών:

γενικά στοιχεία, έναρξη, τερματισμός

2.2. Μεταγραφή των ευκαρυωτικών οργανισμών

Γενικά χαρακτηριστικά

1. Τρεις διαφορετικές πολυμεράσες του RNA.
2. Οι ευκαρυωτικές πολυμεράσες μπορούν να αλληλεπιδρούν με πολλές άλλες πρωτεΐνες κατά την έναρξη και τη μεταγραφή.
3. Το ευκαρυωτικό DNA είναι οργανωμένο σε χρωματίνη της οποίας η δομή μπορεί να ρυθμίζει τη μεταγραφή.
4. Η πολυπλοκότητα της ρύθμισης της μεταγραφής στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς επιτρέπει τη δημιουργία πολλών διαφορετικών κυτταρικών τύπων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1

Τύπος RNA	RNA πολυμεράση
Πυρηνικά γονίδια	
mRNA	II
miRNA	II
tRNA	III
rRNA	
5,8S, 18S, 28S	I
5S	III
snRNA και scRNA	II και III*
Μιτοχονδριακά γονίδια	Μιτοχονδριακή**
Χλωροπλαστικά γονίδια	Χλωροπλαστική**

Ευκαρυωτικές του RNA πολυμεράσες και κατηγορίες γονιδίων που μεταγράφονται από αυτές

*Μερικά snRNA και scRNA μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II, ενώ άλλα μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση III.

**Οι μιτοχονδριακές και χλωροπλαστικές RNA πολυμεράσες μοιάζουν με τα αντίστοιχα βακτηριακά ένζυμα.

Ευκαρυωτικές πολυμεράσες του RNA

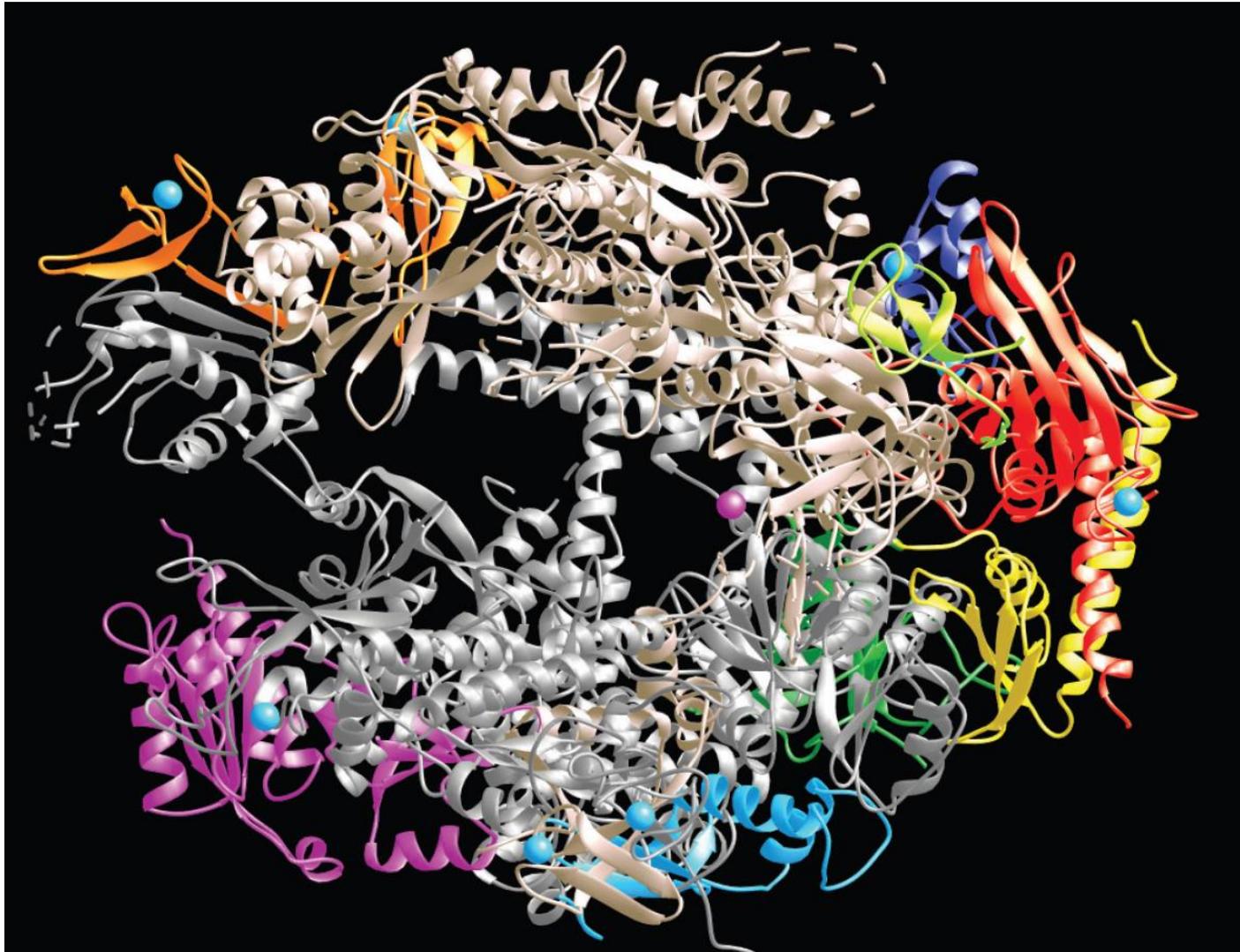
Γενικά χαρακτηριστικά

3 (+2 μιτοχόνδρια-χλωροπλάστες) τύποι.

12-17 υπομονάδες.

Εννέα εξελικτικά συντηρημένες υπομονάδες, πέντε από τις οποίες είναι όμοιες με τις α, β, β' και ω της βακτηριακής.

Η του **RNA πολυμεράση II** μοιάζει με αυτή της *E. coli*: ο βασικός μηχανισμός λειτουργίας είναι ο ίδιος.



ΕΙΚΟΝΑ 7.10 Δομή της **RNA πολυμεράσης II** του σακχαρομύκητα. Οι διαφορετικές υπομονάδες απεικονίζονται με διαφορετικά χρώματα (Από τη δημοσίευση των P. D. Kramer et al., 2001. *Science* 292: 1863.)

Η ευκαρυωτική μεταγραφή από DNA σε RNA

Γενικά χαρακτηριστικά

1. Η **ευκαρυωτική πολυμεράση II** συμπεριφέρεται διαφορετικά από την προκαρυωτική.
2. Σε καθαρή μορφή δεν μπορεί να μεταγράψει αλληλουχίες DNA.
3. Χρειάζεται επιπλέον πρωτεΐνες, όπως παράγοντες έναρξης, που δεν αποτελούν συστατικά της πολυμεράσης.
4. Αλληλεπιδρά με **μεταγραφικούς παράγοντες** για τη ρύθμιση της μεταγραφής

Έναρξη της μεταγραφής:
η του RNA πολII

2.2.1. Έναρξη της μεταγραφής- η του RNA πολII

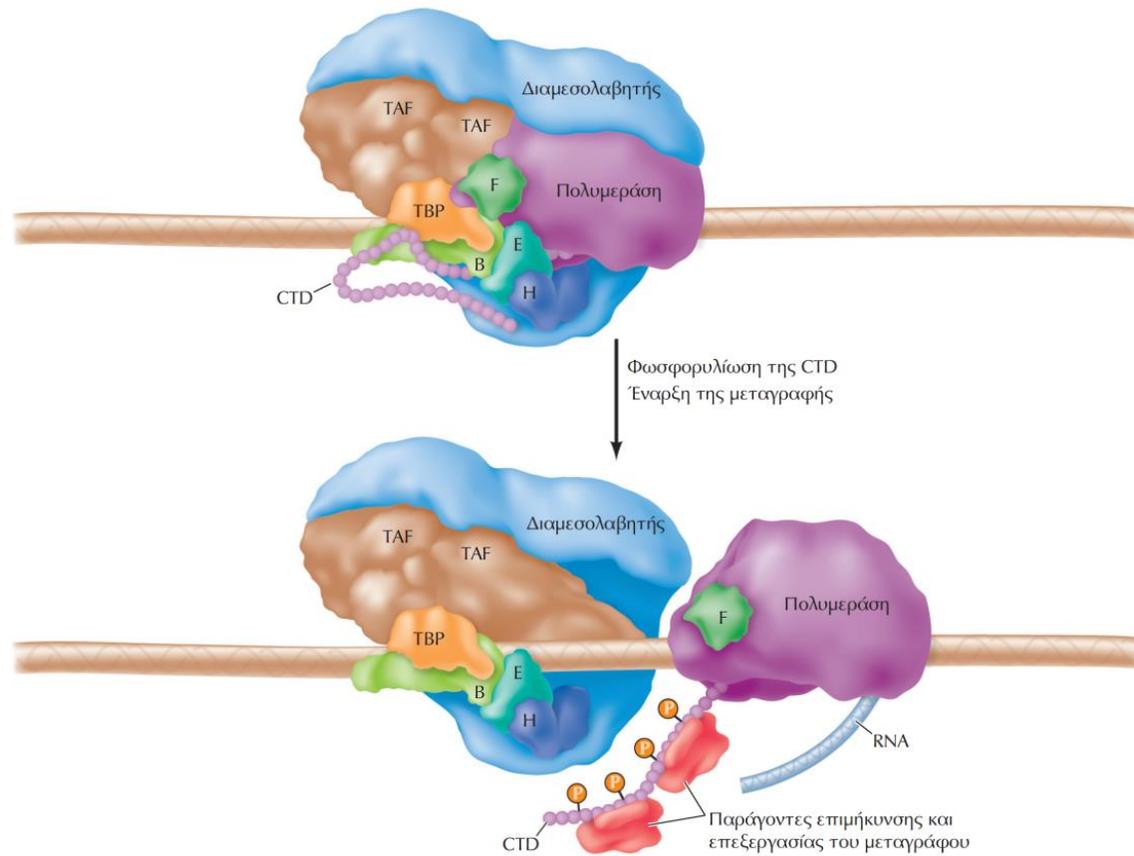
Οι ευκαρυωτικοί υποκινητές περιέχουν αρκετά και διαφορετικά ρυθμιστικά στοιχεία γύρω από τη θέση έναρξης της μεταγραφής:

1. Το πλαίσιο TATA (-25-30) (το -10 των προκαρυωτικών) στο 10-20 % των υποκινητών.
2. Τις αλληλουχίες (DNA) του εναρκτή (Inr), BRE, DPE, DCE, MTE.

Το πρώτο βήμα για τη μεταγραφή είναι η πρόσδεση του παράγοντα μεταγραφής **TFIID** στο πλαίσιο TATA. Ο **TFIID** αποτελείται από διαφορετικές υπομονάδες (TBP, TAF).

Ακολουθεί η πρόσδεση και άλλων παραγόντων μέχρι και τη δέσμευση της του RNA πολ II (σχηματισμός προεναρκτήριου συμπλόκου).

Όταν δημιουργηθεί το προεναρκτήριο σύμπλοκο, ακολουθεί φωσφορυλίωση των καρβοξυ τελικών επικρατειών (carboxy terminal domains ή CTD) της RNA πολ II και αρχίζει η μεταγραφή.



ΕΙΚΟΝΑ 7.13 Το σύμπλοκο της RNA πολυμεράσης II με τον Διαμεσολαβητή και η έναρξη της μεταγραφής.

Η RNA πολυμεράση II αλληλεπιδρά με τις πρωτεΐνες του διαμεσολαβητή, καθώς και με τους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες στην περιοχή του υποκινητή. Ο Διαμεσολαβητής προσδένεται στη μη φωσφορυλιωμένη CTD της RNA πολ II. Η φωσφορυλίωση της CTD έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση του Διαμεσολαβητή και την έναρξη της μεταγραφής. Η φωσφορυλιωμένη CTD αλληλεπιδρά με παράγοντες επιμήκυνσης και επεξεργασίας του μεταγράφου που υποβοηθούν τη σύνθεση και επεξεργασία του mRNA.

2.3 Ρύθμιση της μεταγραφής στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

2.3 Ρύθμιση της μεταγραφής στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Γενικά χαρακτηριστικά

Πολύ πιο σύνθετη απ' ό τι στους προκαρυωτικούς.

1. Ελέγχεται από **μεταγραφικούς παράγοντες** (ΜΠ) που δεσμεύονται σε ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA και τροποποιούν την ενεργότητα των πολυμερασών του RNA .
2. Το **πακετάρισμα της χρωματίνης** επηρεάζει τη μεταγραφή. Μερικές πρωτεΐνες και μερικά μικρά μη κωδικά RNA μπορούν να επηρεάζουν τη μεταγραφή αλλάζοντας τη δομή της χρωματίνης.

Στοιχεία DNA

3. Εκτός από τις *cis* αλληλουχίες των υποκινητών που (3.1) ελέγχουν τη μεταγραφή, ενδέχεται να υπάρχουν και επιπρόσθετες *cis* αλληλουχίες (3.2) στα -100 και -75 (πχ πλαίσιο GC στο γονίδιο κινάσης της θυμιδίνης του HSV).

Ενισχυτές της μεταγραφής

4. Οι ενισχυτές είναι ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA που μπορεί να απέχουν 50 kb από τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Μπορεί να υπάρχουν σε πολλά αντίγραφα. Η δραστηότητά τους δεν εξαρτάται από την απόσταση από το γονίδιο στόχο ούτε από τον προσανατολισμό τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να επηρεάσουν γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα (διαλληλική επίδραση-*trans* δραστηότητα). Υπάρχουν και στα βακτήρια.

Υποκινητές και ενισχυτές λειτουργούν προσδένοντας παράγοντες μεταγραφής οι οποίοι στη συνέχεια μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την RNA πολ II.

Στην περίπτωση των ενισχυτών, η αναδίπλωση του DNA επιτρέπει την αλληλεπίδραση των παραγόντων μεταγραφής που είναι δεσμευμένοι πάνω στον ενισχυτή με την RNA πολ II.

5. Μονωτές: αλληλουχίες DNA που εμποδίζουν τους ενισχυτές συγκεκριμένων γονιδίων να δρουν σε άλλα γονίδια. Χωρίζουν τα χρωμοσώματα σε επικράτειες, αποτρέπουν τη διάδοση της δομής της χρωματίνης από επικράτεια σε επικράτεια γειτονικών περιοχών του γονιδιώματος.

Οι δράσεις όλων των προαναφερομένων στοιχείων του DNA στη μεταγραφή πραγματοποιείται από συγκεκριμένους ΠΜ.

2.3.1. Μεταγραφικοί παράγοντες

Μεταγραφικοί παράγοντες (Transcription Factors, ΜΠ ή **TF**), γενικά χαρακτηριστικά

ΜΠ : Περίπου 10 % των ανθρωπίνων γονιδίων.

- I. Πρωτεΐνες που συνδέονται με μια συγκεκριμένη ακολουθία DNA και μπορούν να ελέγχουν τη μεταγραφή από το DNA στο αγγελιοφόρο RNA.
- II. Ρυθμίζουν την μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων ώστε να εκφράζονται (= μεταγράφονται) στο σωστό κύτταρο, στον κατάλληλο χρόνο και στη σωστή ποσότητα καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του κυττάρου και του οργανισμού. Λειτουργούν με συντονισμένο τρόπο για να κατευθύνουν την κυτταρική διαίρεση, την κυτταρική ανάπτυξη και τον κυτταρικό θάνατο καθώς και την κυτταρική μετανάστευση και οργάνωση (σωματικό σχέδιο) κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης.
- III. Υπεύθυνοι για την απόκριση σε σήματα έξω από το κύτταρο, όπως οι ορμόνες.
- IV. Λειτουργούν από μόνοι τους ή με άλλες πρωτεΐνες σε ένα σύμπλεγμα, προωθώντας (ως **ενεργοποιητές**) ή εμποδίζοντας (ως **καταστολείς**) την δέσμευση της πολυμεράσης του RNA σε συγκεκριμένα γονίδια.

Μεταγραφικοί παράγοντες, γενικά χαρακτηριστικά

V. Γενικοί μεταγραφικοί παράγοντες: για όλα τα γονίδια που μεταγράφονται από την πολII του RNA.

Ειδικοί που συνδέονται σε ρυθμιστικές αλληλουχίες συγκεκριμένων γονιδίων.

VI. Οι ΜΠ περιέχουν μία τουλάχιστον μια περιοχή δέσμευσης στο DNA (DBD), η οποία αναγνωρίζει και συνδέεται με μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA που γειτνιάζει με τα γονίδια των οποίων ρυθμίζει τη μεταγραφή. Οι ΜΠ ομαδοποιούνται σε κατηγορίες βάσει των δομών των DBD τους.

VII. Άλλες πρωτεΐνες όπως συνενεργοποιητές, αναμορφωτές χρωματίνης, ακετυλοτρανσφεράσες ιστονών, αποακετυλάσες ιστονών, κινάσες και μεθυλάσες είναι επίσης απαραίτητες για τη ρύθμιση των γονιδίων, αλλά δεν διαθέτουν περιοχές δέσμευσης DNA και συνεπώς δεν είναι ΜΠ.

VIII. Οι ΜΠ παρουσιάζουν ενδιαφέρον από ιατρικής απόψεως, επειδή οι μεταλλάξεις τους μπορούν να προκαλέσουν συγκεκριμένες ασθένειες, ενώ είναι και πιθανοί φαρμακευτικοί στόχοι.

1.1. Δομή και λειτουργία των ενεργοποιητών της μεταγραφής

Συνήθως δύο ανεξάρτητες δομικές οντότητες (επικράτειες, domains):
η μία δεσμεύεται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA, η δεύτερη αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες του μεταγραφικού συμπλόκου και επηρεάζει τη μεταγραφή.
2000 μεταγραφικοί παράγοντες στο ανθρώπινο γονιδίωμα (10 %).

1. Δομές πρόσδεσης στο DNA

Δακτύλιοι ψευδαργύρου (Zn fingers), πχ TFIIIA, Sp1, υποδοχείς στεροειδών ορμονών.
Ενεργοποιητές υποκινητών της του RNA πολ II.

Έλικά-στροφή-έλικά (HTH), πχ ενεργοποιητής CAP στην *E. coli*, μεταγραφικοί παράγοντες που σχετίζονται με την εμβρυογένεση όλων των ευκαρυωτικών οργανισμών.

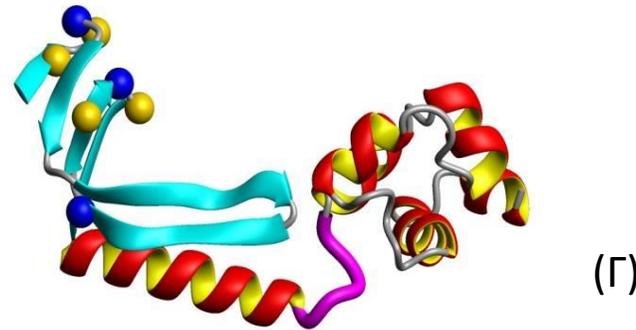
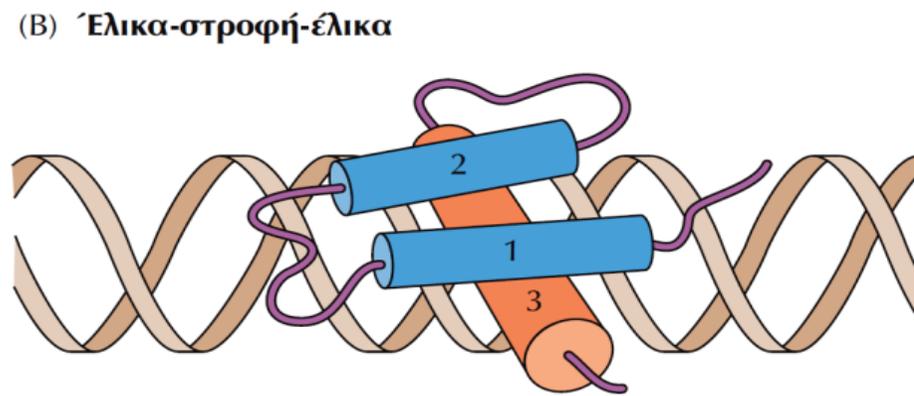
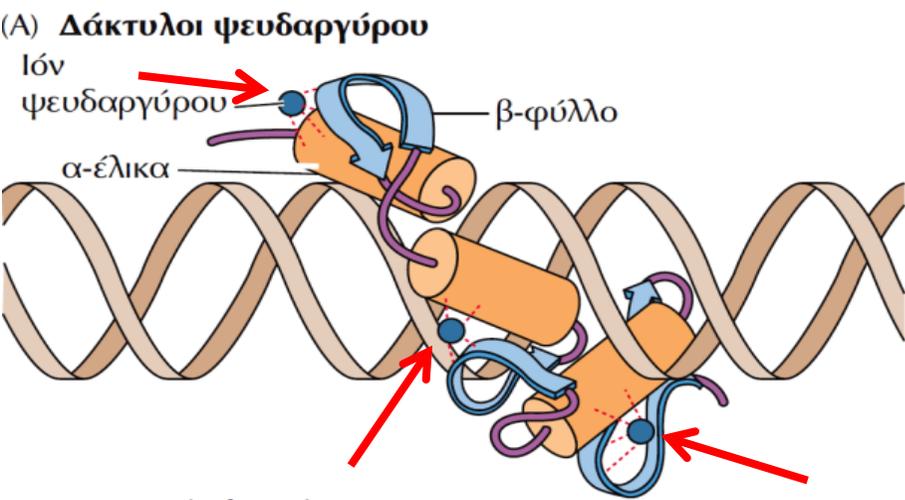
Φερμουάρ λευκίνης (Leucine zipper) και έλικά-βρόχος-έλικά (helix-loop-helix), Διμερή και ετεροδιμερή, ρύθμιση ιστοειδικής έκφρασης γονιδίων.

2. Δομές ενεργοποίησης

Όχι τόσο καλά χαρακτηρισμένες. Όξινες επικράτειες πλούσιες σε αρνητικά φορτία (Asp και Glu), άλλες πλούσιες σε Pro και Gln. Δύο διακριτοί μηχανισμοί:

(i) Αλληλεπίδραση με το διαμεσολαβητή ή άλλους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες (TFIIB, TFIID) για το σχηματισμό του μεταγραφικού συμπλόκου στον υποκινητή.

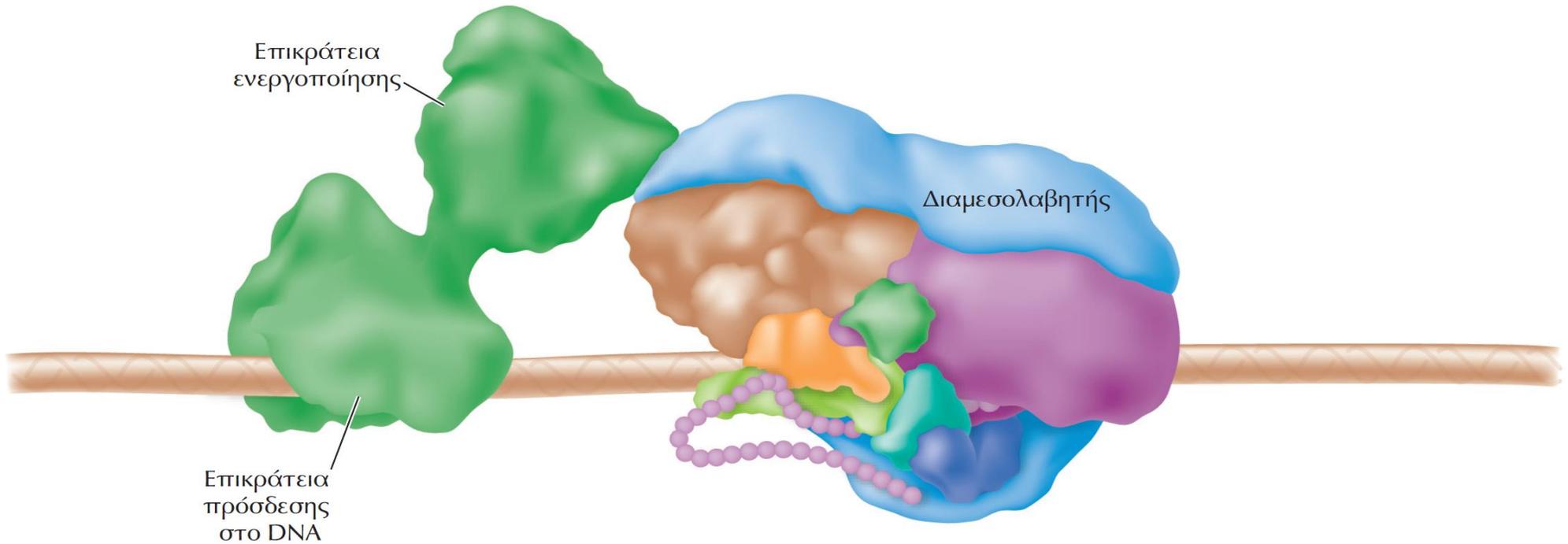
(ii) Συνενεργοποιητές: τροποποίηση δομής της χρωματίνης.



ΕΙΚΟΝΑ 7.28 Παραδείγματα επικρατειών πρόσδεσης στο DNA.

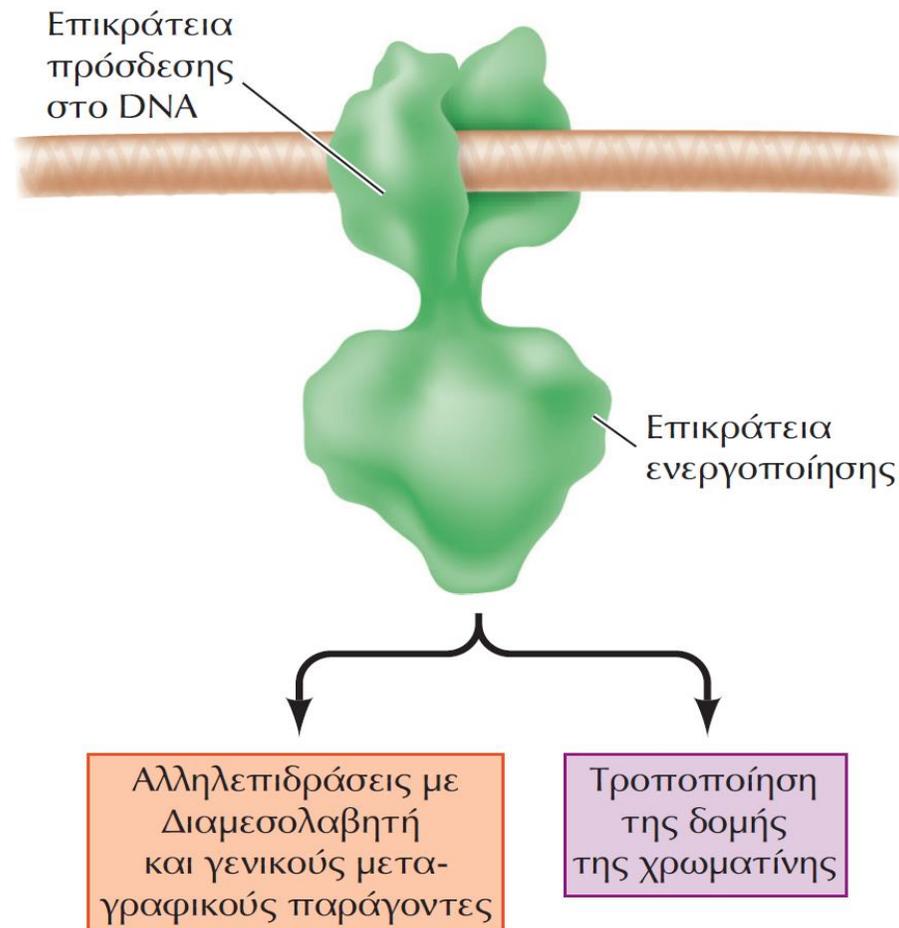
(A) Η επικράτεια δάκτυλος ψευδαργύρου αποτελείται από βρόχους στους οποίους συντονισμένα μια α-έλικα και ένα β-φύλλο προσδέουν ένα ιόν ψευδαργύρου. (B) Η επικράτεια έλικα-στροφή-έλικα περιλαμβάνει τρεις (ή σε ορισμένες περιπτώσεις τέσσερις) ελικοειδείς περιοχές. Η έλικα 3 είναι αυτή που πραγματοποιεί τις περισσότερες επαφές με το DNA, ενώ οι έλικες 1 και 2 διευθετούνται πάνω από την έλικα 3 κατά τέτοιο τρόπο ώστε να σταθεροποιούν την αλληλεπίδραση.

Υπάρχουν επίσης μεταγραφικοί παράγοντες (Γ) που αποτελούνται και από συνδυασμό των δύο προηγούμενων τύπων.



ΕΙΚΟΝΑ 7.27 Η δομή των μεταγραφικών ενεργοποιητών.

Οι ενεργοποιητές της μεταγραφής αποτελούνται από δύο ανεξάρτητες επικράτειες (domains, δομικές οντότητες). Η επικράτεια πρόσδεσης στο DNA αναγνωρίζει μια ειδική αλληλουχία του DNA και προσδένεται σε αυτή. Η επικράτεια ενεργοποίησης αλληλεπιδρά με τον Διαμεσολαβητή ή με άλλα στοιχεία της μεταγραφικής μηχανής, προκειμένου να διεγείρει τη μεταγραφή.



ΕΙΚΟΝΑ 7.30 Η λειτουργία των μεταγραφικών ενεργοποιητών.

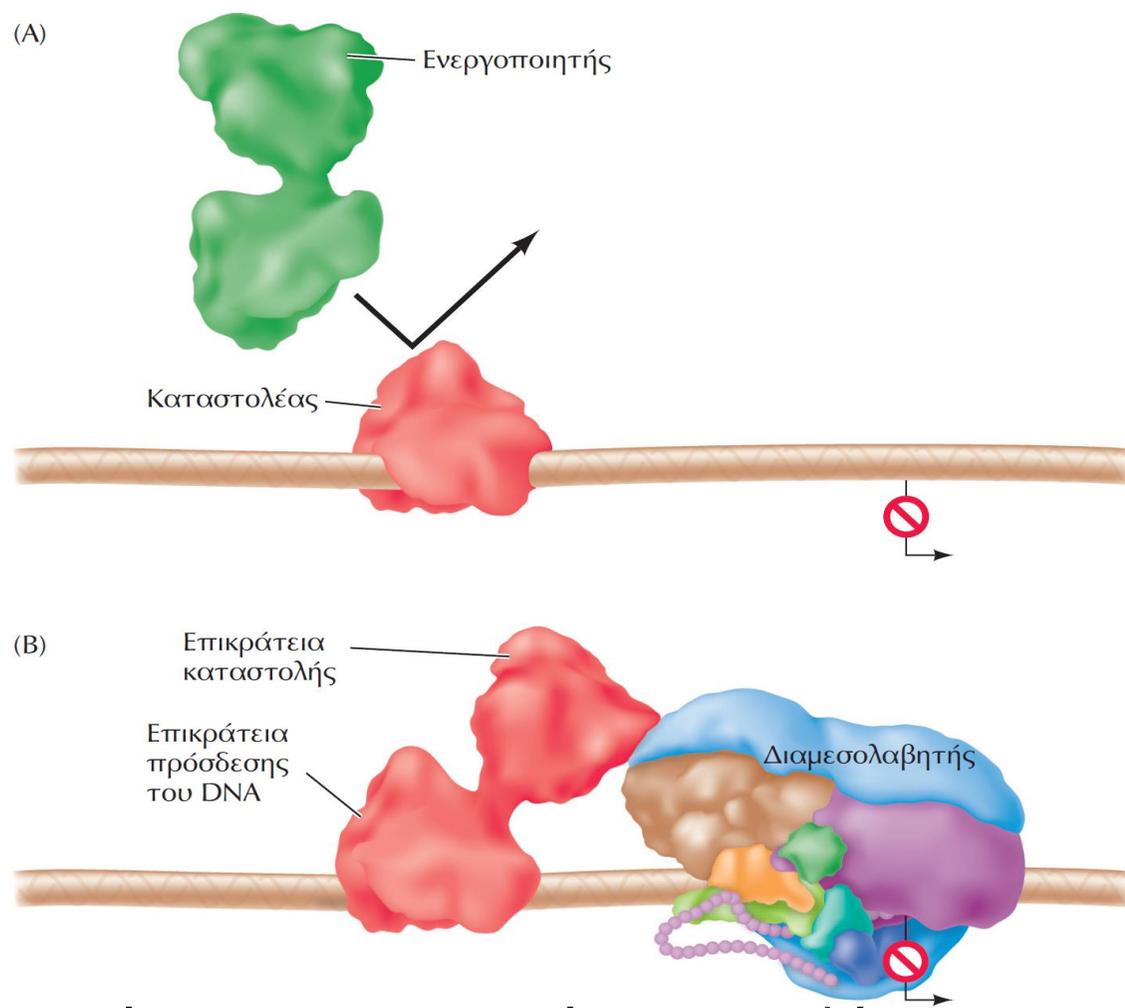
Οι μεταγραφικοί ενεργοποιητές των ευκαρυωτικών οργανισμών διεγείρουν τη μεταγραφή με δύο μηχανισμούς:

- 1) αλληλεπιδρούν με τον Διαμεσολαβητή και τους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες προκειμένου να διευκολύνουν τη συγκρότηση του μεταγραφικού συμπλόκου και
- 2) αλληλεπιδρούν με συνενεργοποιητές οι οποίοι διευκολύνουν τη μεταγραφή τροποποιώντας τη δομή της χρωματίνης.

1.2. Ευκαρυωτικοί καταστολείς

Πρόσδεση σε συγκεκριμένες θέσεις DNA \Rightarrow καταστολή της μεταγραφής.

- i. Παρεμπόδιση πρόσδεσης μεταγραφικών ενεργοποιητών ή και της του RNA πολ. II στον υποκινητή.
- ii. Παρεμπόδιση πρόσδεσης στις αλληλουχίες του ενισχυτού.
- iii. Κατασταλτική δράση μέσω αλληλεπίδρασης με άλλες πρωτεΐνες (ενεργοί καταστολείς).
- iv. Καταστολείς και συγκαταστολείς: τροποποίηση της δομής της χρωματίνης.



ΕΙΚΟΝΑ 7.31 Η λειτουργία των μεταγραφικών καταστολέων.

(A) Μερικοί καταστολείς εμποδίζουν την πρόσδεση ενεργοποιητών σε ρυθμιστικές αλληλουχίες.

(B) Άλλοι καταστολείς φέρουν μια επικράτεια η οποία καταστέλλει ενεργά τη μεταγραφή μέσω της αλληλεπίδρασής της με πρωτεΐνες του Διαμεσολαβητή ή με γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες ή με συγκαταστολείς που τροποποιούν τη δομή της χρωματίνης.

2. Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

Το πακετάρισμα του DNA σε χρωματίνη ενδέχεται να επηρεάσει τη διαθεσιμότητά του ως μήτρα μεταγραφής.

Ενεργά μεταγραφόμενα γονίδια βρίσκονται στην λιγότερο συμπυκνωμένη χρωματίνη.

Τα μεταγραφόμενα γονίδια παραμένουν συνδεδεμένα με τις ιστόνες και διατηρούν το πακετάρισμά τους σε νουκλεοσώματα. Αυτό δυσχεραίνει την αλληλεπίδραση με την RNA πολ II και τους μεταγραφικούς παράγοντες \Rightarrow τη μεταγραφή της χρωματίνης.

2.1. Η δομή της χρωματίνης μπορεί να τροποποιηθεί από **τις πρωτεΐνες HMG** (μικρές όξινες πρωτεΐνες) που τροποποιούν τις ιστόνες και τα νουκλεοσώματα επεναδιευθετούνται. Τρεις οικογένειες: HMGA και HMGB κάμπτουν τη χρωματίνη ώστε να δεσμεύονται οι μεταγραφικοί παράγοντες. Η HMGA1 πχ αλληλεπιδρά με τους παράγοντες μεταγραφής [CEBPB](#) και [Sp1](#)..

Οι HMGN δεσμεύονται σε θέσεις με επικάλυψη αυτών της H1 \Rightarrow ξεδίπλωμα της χρωματίνης.

2.2. Τροποποίηση ιστονών

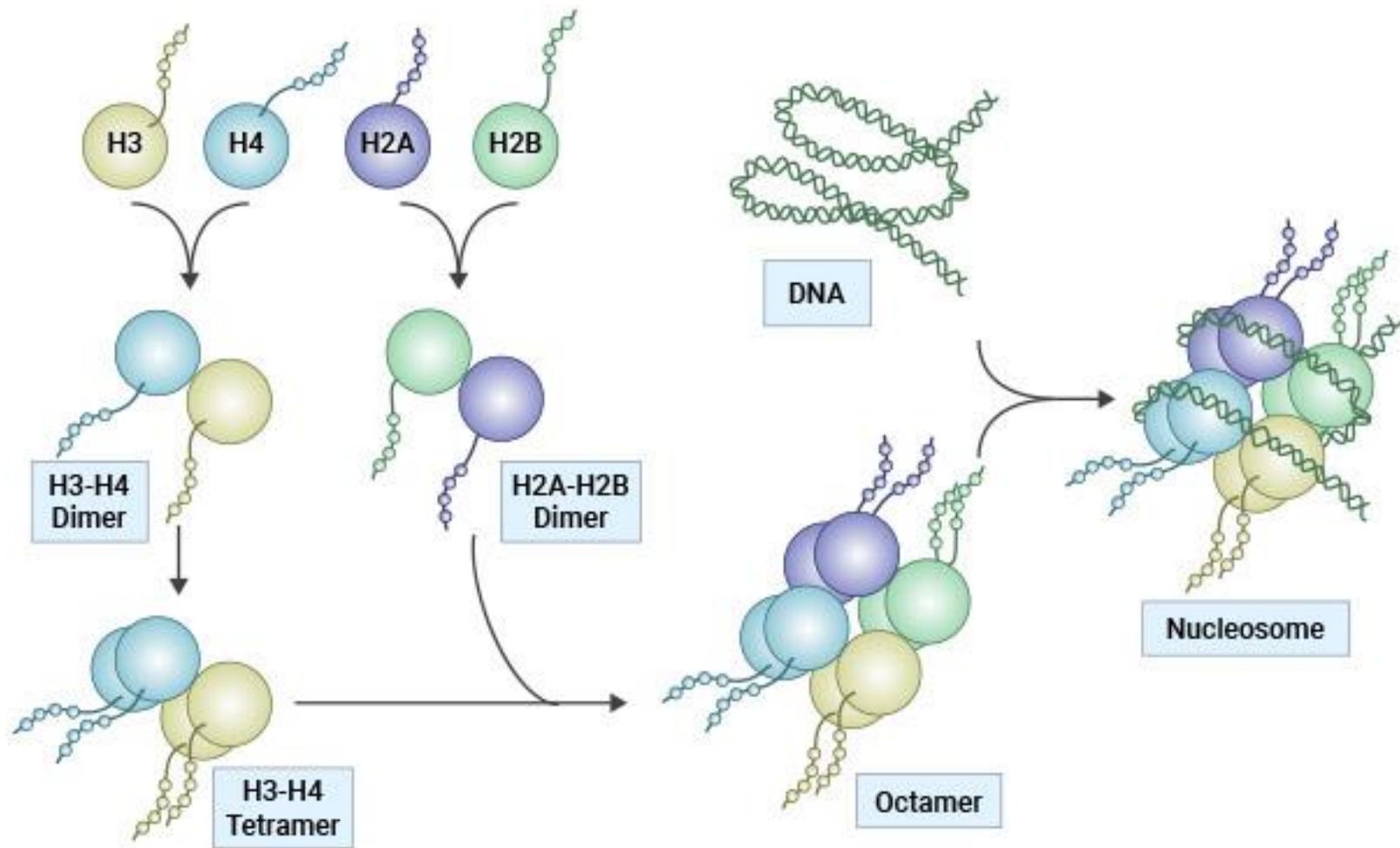
Οι **H2A**, **H2B**, **H3** και **H4** αποτελούνται από δύο μέρη:

i. «Επικράτεια αναδίπλωσης των ιστονών»: αλληλεπίδραση με DNA και άλλες ιστόνες.

ii. Αμινοτελική ουρά: πλούσια σε Lys, επιδέχεται ακετυλίωση (ενεργοποίηση).

Ακετυλοτρανσφεράσες (Gcn5p) και απακετυλάσες. Επίσης

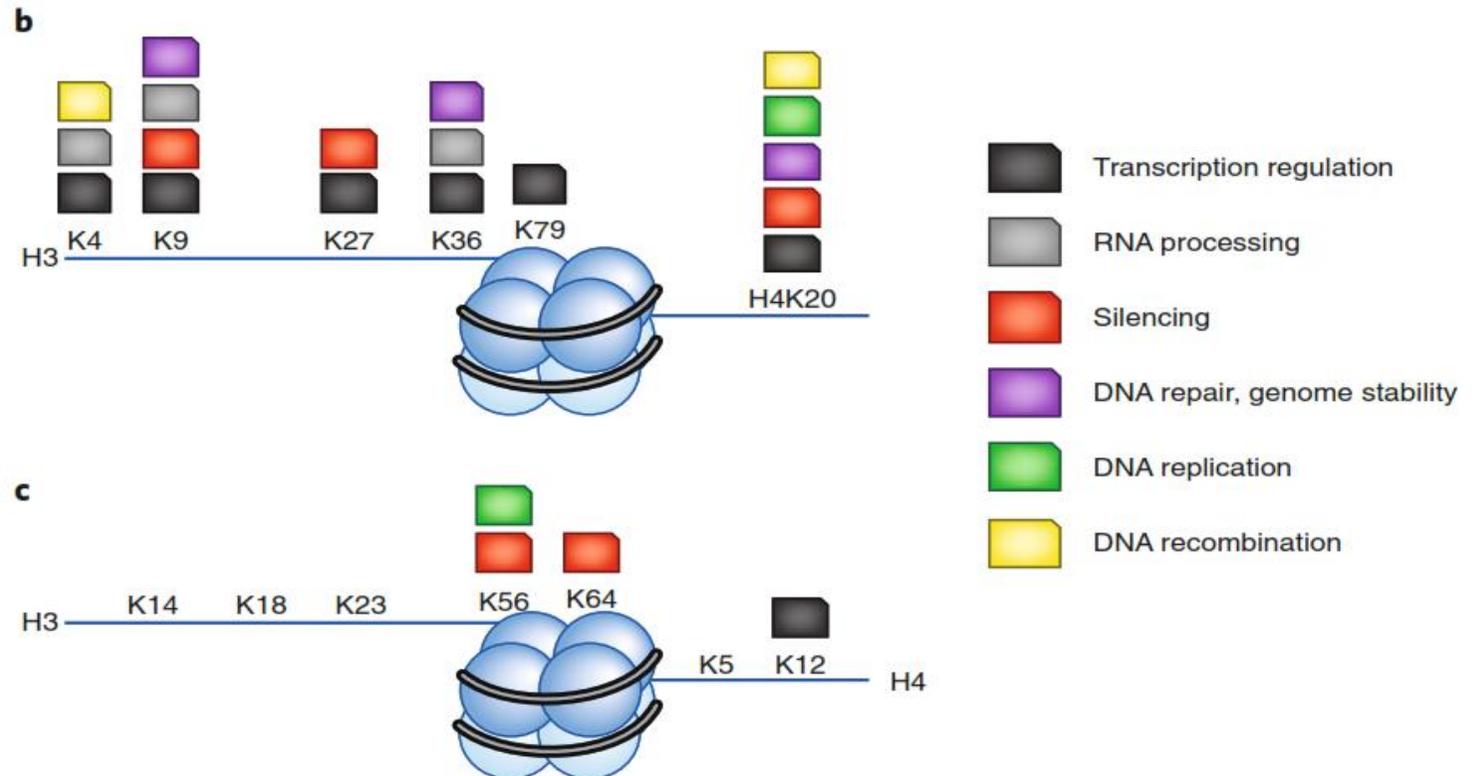
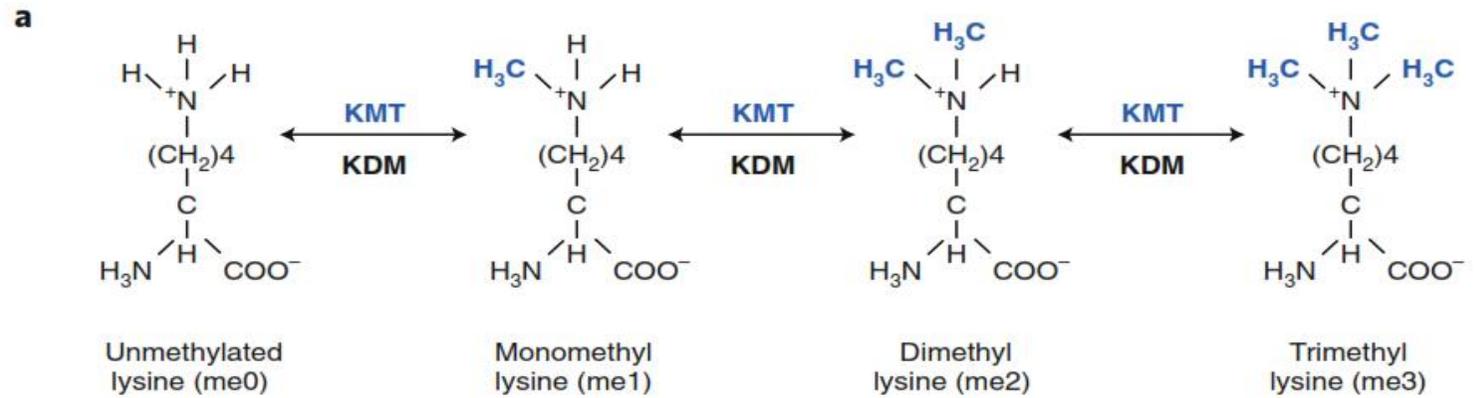
iii. Μεθυλίωση Lys και Arg (καταστολή), φωσφορυλίωση Ser (ενεργοποίηση), προσθήκη ουβικιτίνης και SUMO σε Lys, όλα στο αμινοτελικό άκρο.



Δομή ιστονών και συναρμολόγηση των νουκλεοσωμάτων

Η μεθυλίωση της λυσίνης (Lys, K) των ιστονών των θηλαστικών

επηρεάζει
τη λειτουργικότητα
της χρωματίνης.



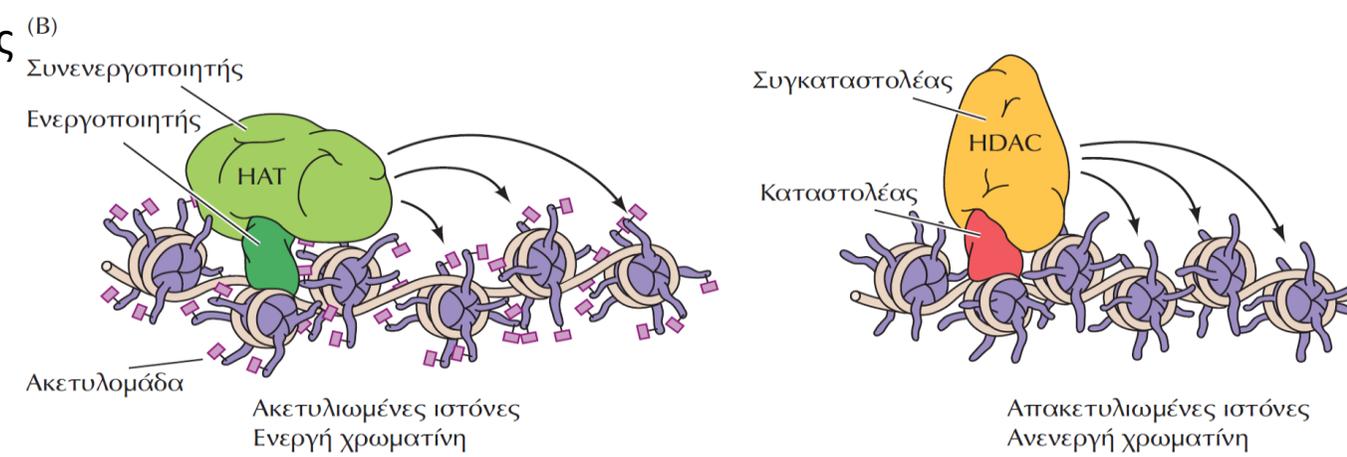
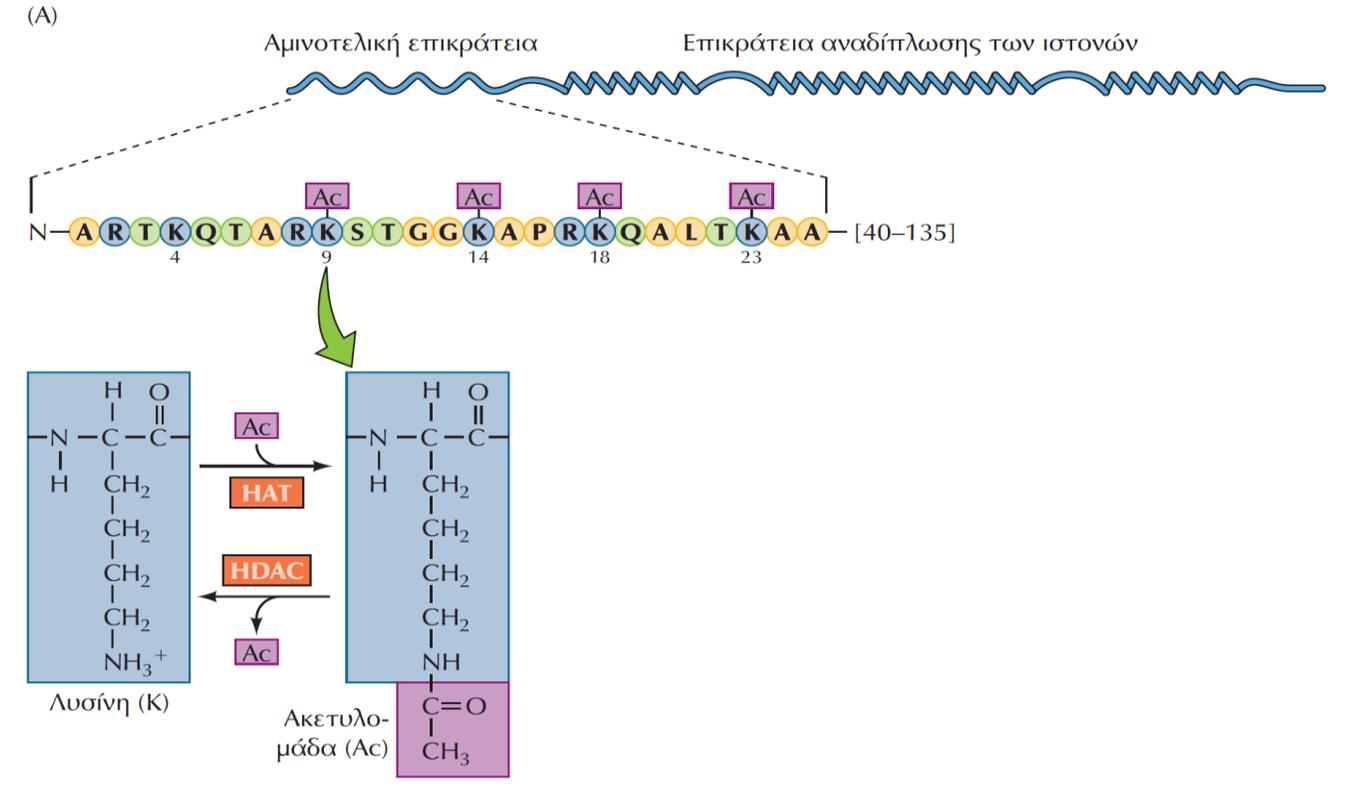
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31582846>

Nat Struct Mol Biol. 2019 Oct;26(10):880-889. doi: 10.1038/s41594-019-0298-7

ΕΙΚΟΝΑ 7.34 Η ακετυλίωση των ιστονών.

(A) Οι ιστόνες του πυρηνικού σωματίου του νουκλεοσώματος φέρουν δύο επικράτειες: (i) την επικράτεια αναδίπλωσης των ιστονών, η οποία αλληλεπιδρά με άλλες ιστόνες και με το DNA του νουκλεοσώματος, (ii) μια αμινοτελική επικράτεια, η οποία εκτείνεται έξω από το νουκλεόσωμα. Οι αμινοτελικές επικράτειες υφίστανται τροποποιήσεις μέσω της προσθήκης ακετυλομάδων (Ac) στις πλευρικές ομάδες συγκεκριμένων καταλοίπων **Lys**.

(B) Μεταγραφικοί ενεργοποιητές και καταστολείς αλληλεπιδρούν με συνενεργοποιητές και συγκαταστολείς, οι οποίοι έχουν δράση ακετυλοτρανσφεράσης (HAT) και απακετυλάσης των ιστονών (HDAC) αντίστοιχα.



Η ενεργά μεταγραφόμενη χρωματίνη χαρακτηρίζεται από την παρουσία ακετυλιωμένων ιστονών.

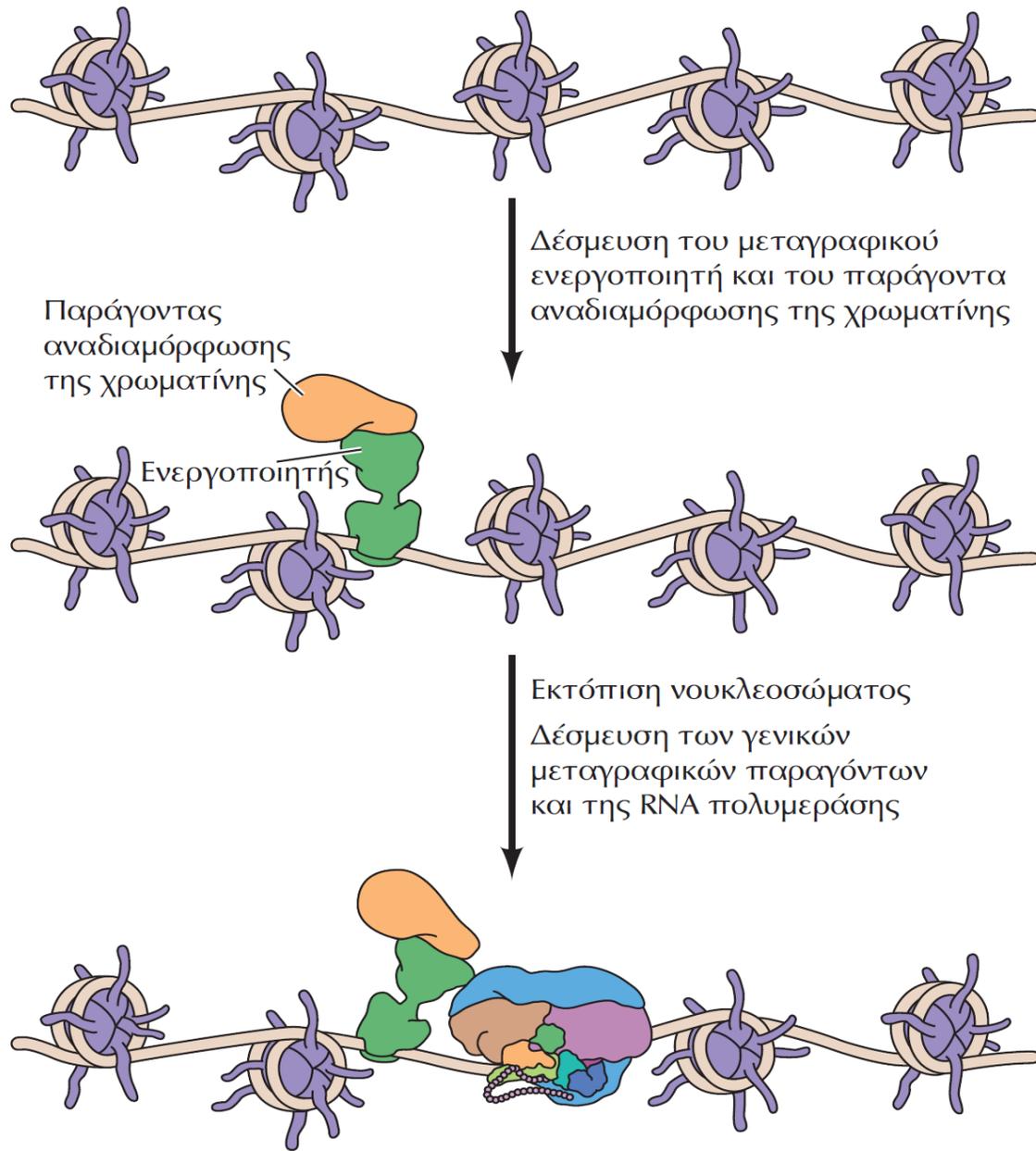
Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

2.3. Παράγοντες (πρωτεϊνικά σύμπλοκα) αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης

Πρωτεϊνικά σύμπλοκα μπορούν να μεταβάλλουν τις επαφές DNA και ιστονών με υδρόλυση (αρνητική ΔG) του ATP.

1. Καταλύουν την μετακύλιση ενός οκταμερούς κατά μήκος του DNA ώστε να είναι πιο προσιτό σε μεταγραφικούς παράγοντες.
2. Αλλάζουν τη διαμόρφωση των νουκλεοσωμάτων \Rightarrow αλλαγές στη μεταγραφή.
3. Αποσπούν ιστόνες από το DNA δημιουργώντας περιοχές ελεύθερες νουκλεοσωμάτων.

\Rightarrow Πραγματοποιείται ενεργοποίηση ή καταστολή της γονιδιακής έκφρασης στην έναρξη της μεταγραφής.



ΕΙΚΟΝΑ 7.37 Οι παράγοντες αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης.

Οι παράγοντες αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης είναι πρωτεϊνικά σύμπλοκα τα οποία μεταβάλλουν τη διευθέτηση και τη δομή των νουκλεοσωμάτων. Για παράδειγμα, ένας παράγοντας αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης ο οποίος στρατολογείται λόγω της αλληλεπίδρασής του με κάποιον ενεργοποιητή της μεταγραφής μπορεί να διευκολύνει την πρόσδεση των γενικών παραγόντων της μεταγραφής και της του RNA πολυμεράσης στη χρωματίνη εκτοπίζοντας τα νουκλεοσώματα από την περιοχή του υποκινητή.

Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

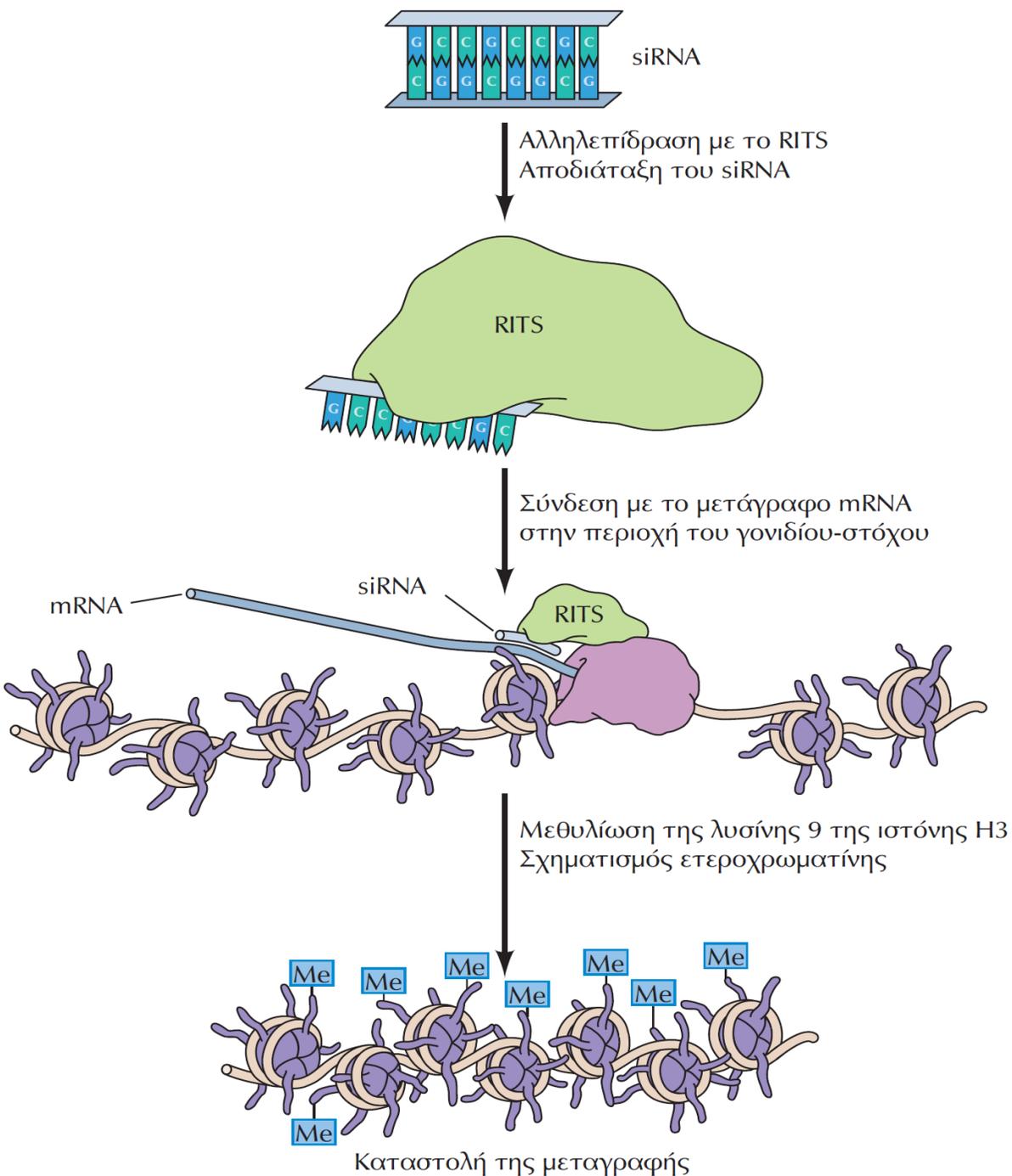
2.4. Έλεγχος της μεταγραφής από μη κωδικά RNA

Μικρά RNA (siRNA και miRNA) καταστέλλουν τη μετάφραση ομολόγων τους ακολουθιών mRNA ή επάγουν την αποικοδόμισή τους.

Μπορούν να επάγουν τροποποιήσεις των ιστονών, \Rightarrow συμπύκνωση της χρωματίνης \Rightarrow καταστολή της μεταγραφής.

Δρουν μέσω του πρωτεϊνικού συμπλόκου μεταγραφικής αποσιώπησης (RITS).

Τα siRNA στοχεύουν το RITS στο γονίδιο στόχο, όπου το RITS προκαλεί μεθυλίωση της Lys⁹ της H3 \Rightarrow συμπύκνωση της χρωματίνης \Rightarrow καταστολή της μεταγραφής.



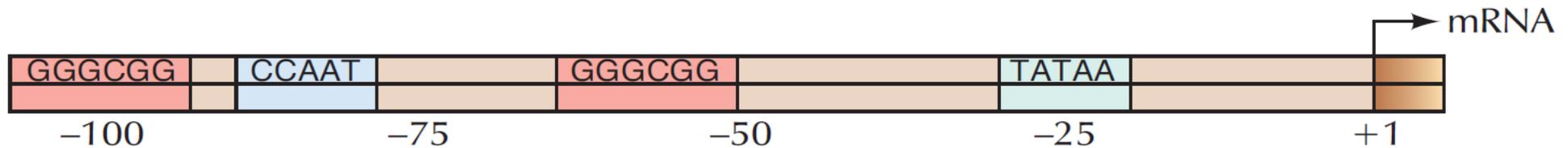
ΕΙΚΟΝΑ 7.38 Ρύθμιση της μεταγραφής από τα siRNA.

Τα siRNA αλληλεπιδρούν με το σύμπλοκο RITS και καταστέλλουν τη μεταγραφή.

Το σύμπλοκο RITS κατευθύνεται από τα siRNA σε ομόλογα προς αυτά γονίδια-στόχους, πιθανότατα μέσω του ζευγαρώματος των βάσεων ανάμεσα στο siRNA και τα υπό σύνθεση μετάγραφα του γονιδίου.

Το RITS περιέχει μια **μεθυλοτρανσφεράση** των ιστονών η οποία μεθυλιώνει τη λυσίνη 9 της ιστόνης H3, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ετεροχρωματίνης και την καταστολή της μεταγραφής.

3. Επιπρόσθετες *cis* αλληλουχίες στα -100 και -75



ΕΙΚΟΝΑ 7.18 Ο ευκαρυωτικός υποκινητής της κινάσης της θυμιδίνης του HSV
Ο υποκινητής του γονιδίου της κινάσης της θυμιδίνης του HSV φέρει ανοδικά από το πλαίσιο TATA τρία στοιχεία τα οποία χρειάζονται για τη μεταγραφή του σε φυσιολογικά επίπεδα: ένα πλαίσιο CCAAT και δύο πλαίσια GC των οποίων η πρότυπη αλληλουχία είναι GGGCGG.

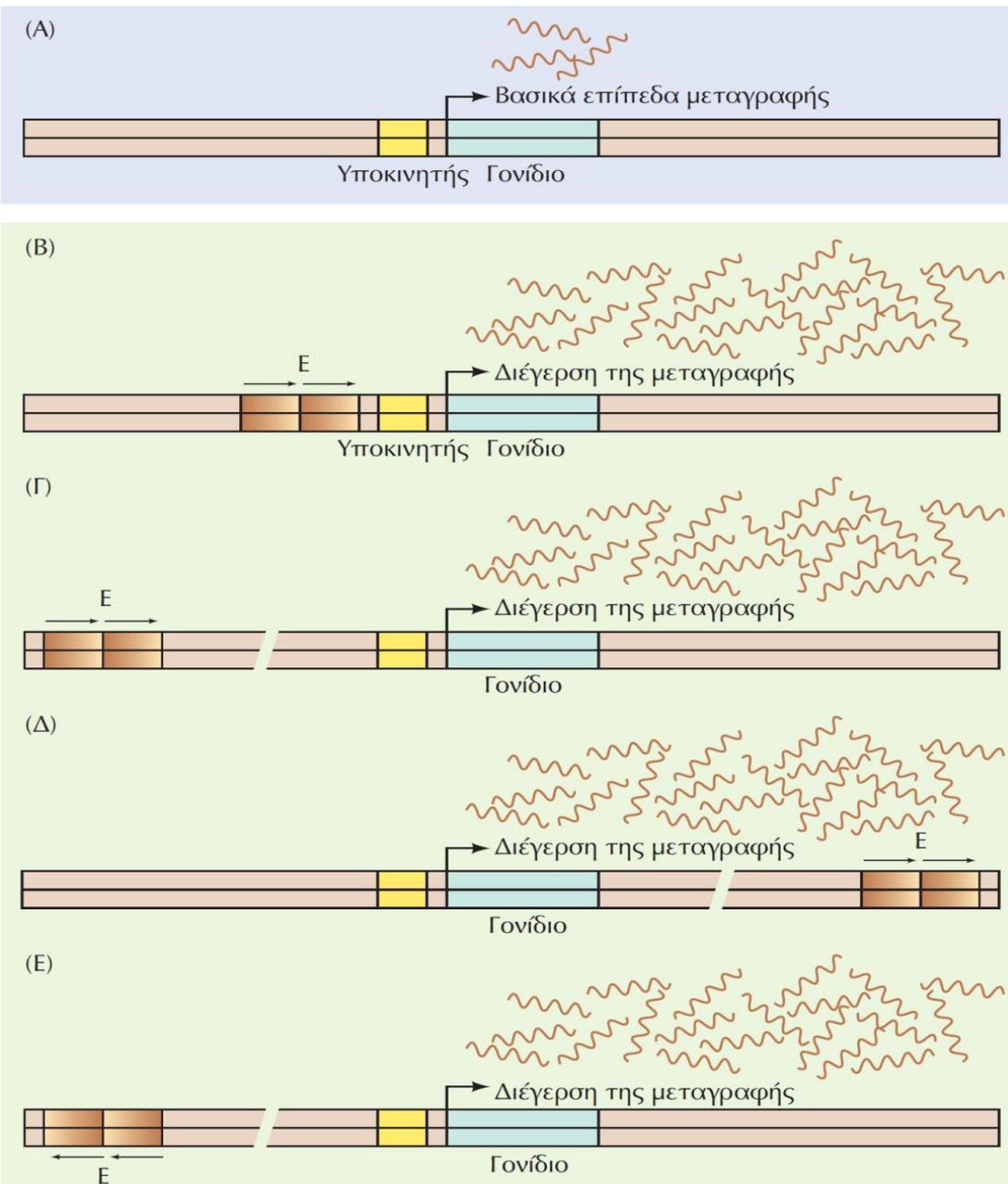
4. Ενισχυτές

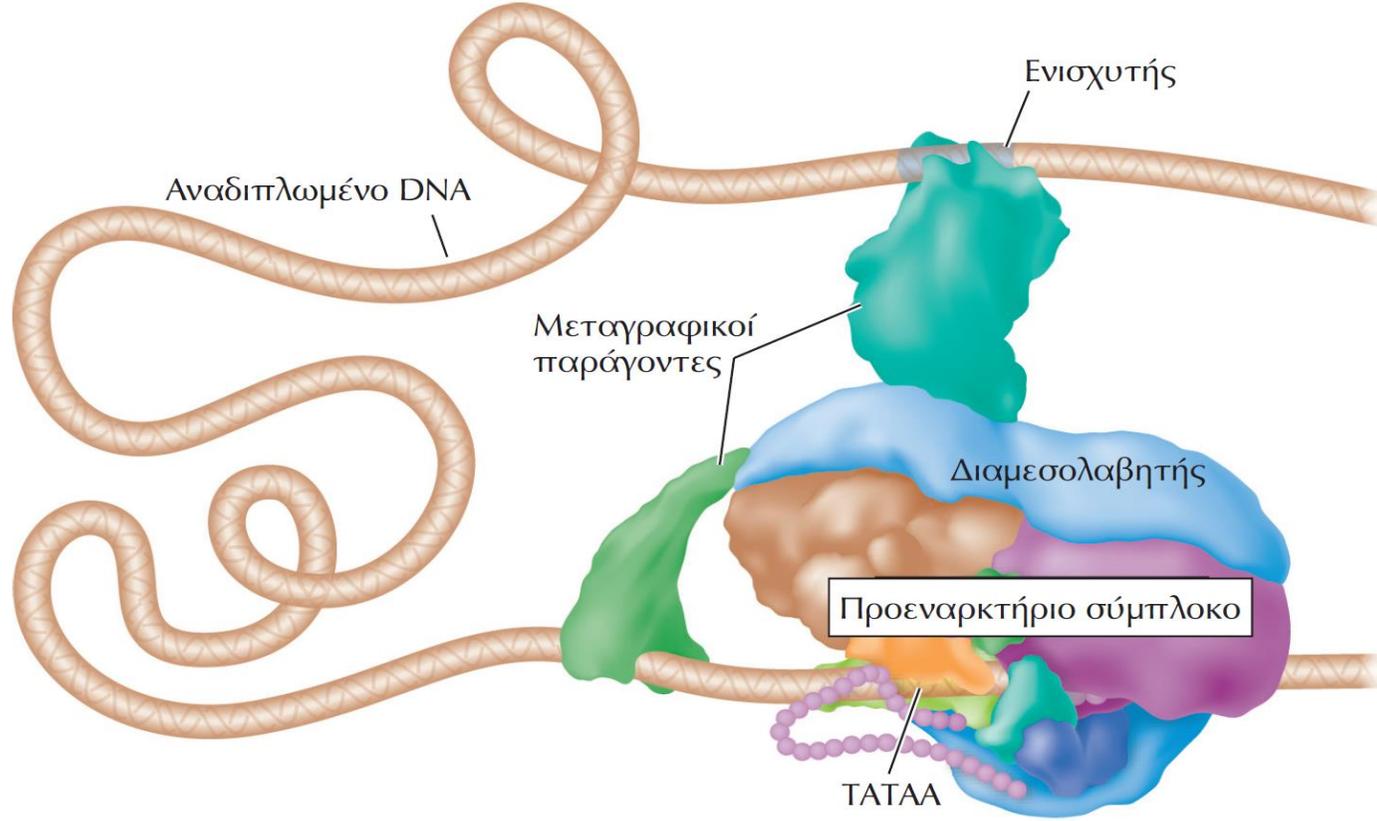
ΕΙΚΟΝΑ 7.20 Η λειτουργία των ενισχυτών.

Χωρίς τη δράση ενός ενισχυτή, ένα γονίδιο μεταγράφεται σε χαμηλά επίπεδα (Α). Παρουσία ενός ενισχυτή, E –για παράδειγμα, των δύο επαναλήψεων 72 ζευγών βάσεων του SV40–, η μεταγραφή διεγείρεται. Ο ενισχυτής είναι ενεργός όχι μόνο όταν τοποθετείται ακριβώς ανοδικά σε σχέση με τον υποκινητή (Β),

αλλά και όταν τοποθετείται αρκετές κιλοβάσεις είτε ανοδικά είτε καθοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής (Γ και Δ).

Επίσης, οι ενισχυτές είναι ενεργοί ανεξάρτητα από τον προσανατολισμό τους σε σχέση με τη θέση έναρξης της μεταγραφής (Ε).





ΕΙΚΟΝΑ 7.21 Απομακρυσμένοι ενισχυτές και αναδίπλωση του DNA.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες που προσδένονται σε απομακρυσμένους ενισχυτές είναι δυνατόν, μέσω της αναδίπλωσης του DNA (του σχηματισμού βρόχου), να αλληλεπιδράσουν με το σύμπλοκο RNA πολII II/Διαμεσολαβητή που βρίσκεται στρατολογημένο στην περιοχή του υποκινητή. Επομένως, σε επίπεδο μηχανισμού δεν υπάρχει κάποια ουσιαστική διαφορά ανάμεσα στον τρόπο λειτουργίας των μεταγραφικών παραγόντων που προσδένονται σε απομακρυσμένους ενισχυτές και αυτών που προσδένονται σε αλληλουχίες του υποκινητή.

2.4 Επεξεργασία του mRNA

Επεξεργασία του mRNA πριν τη μετάφραση

- Το **βακτηριακό** mRNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατευθείαν για την πρωτεϊνοσύνθεση.
- Το **ευκαρυωτικό** mRNA αλλά και τα tRNA, rRNA ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών χρειάζονται επεξεργασία. Ο έλεγχος της επεξεργασίας όπως και της αποδόμησης του mRNA προσθέτει ένα ακόμα επίπεδο ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης.

A. Ευκαρυωτικοί οργανισμοί:

Γενικά χαρακτηριστικά της επεξεργασίας του mRNA πριν τη μετάφραση

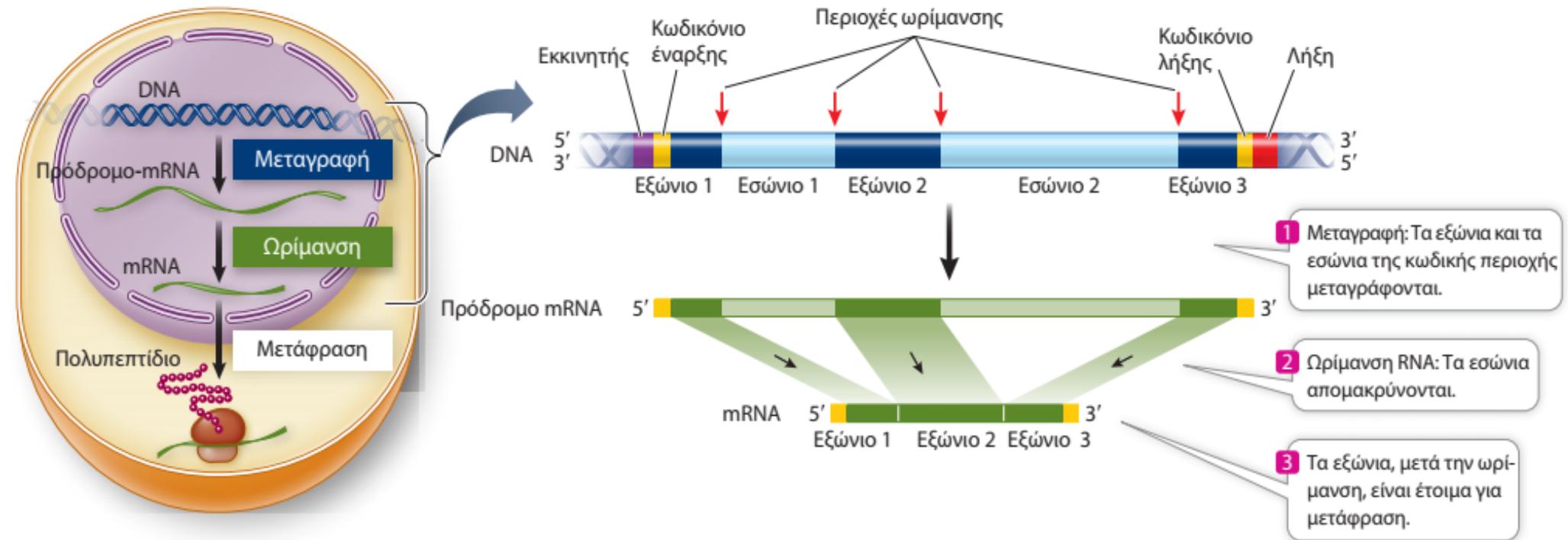
Το πρόδρομο mRNA (pre-mRNA) συντίθεται στον πυρήνα. Υφίσταται τροποποιήσεις στα 5' και 3' άκρα και απομάκρυνση εσωνίων (ωρίμανση) πριν εξαχθεί στο κυτταρόπλασμα. Όλα αυτά συμβαίνουν παράλληλα με τη μεταγραφή και γίνονται από ενζυμικά σύμπλοκα που συνδέονται με την CTD της πολυμεράσης II του RNA.

Τα γενικά στάδια είναι:

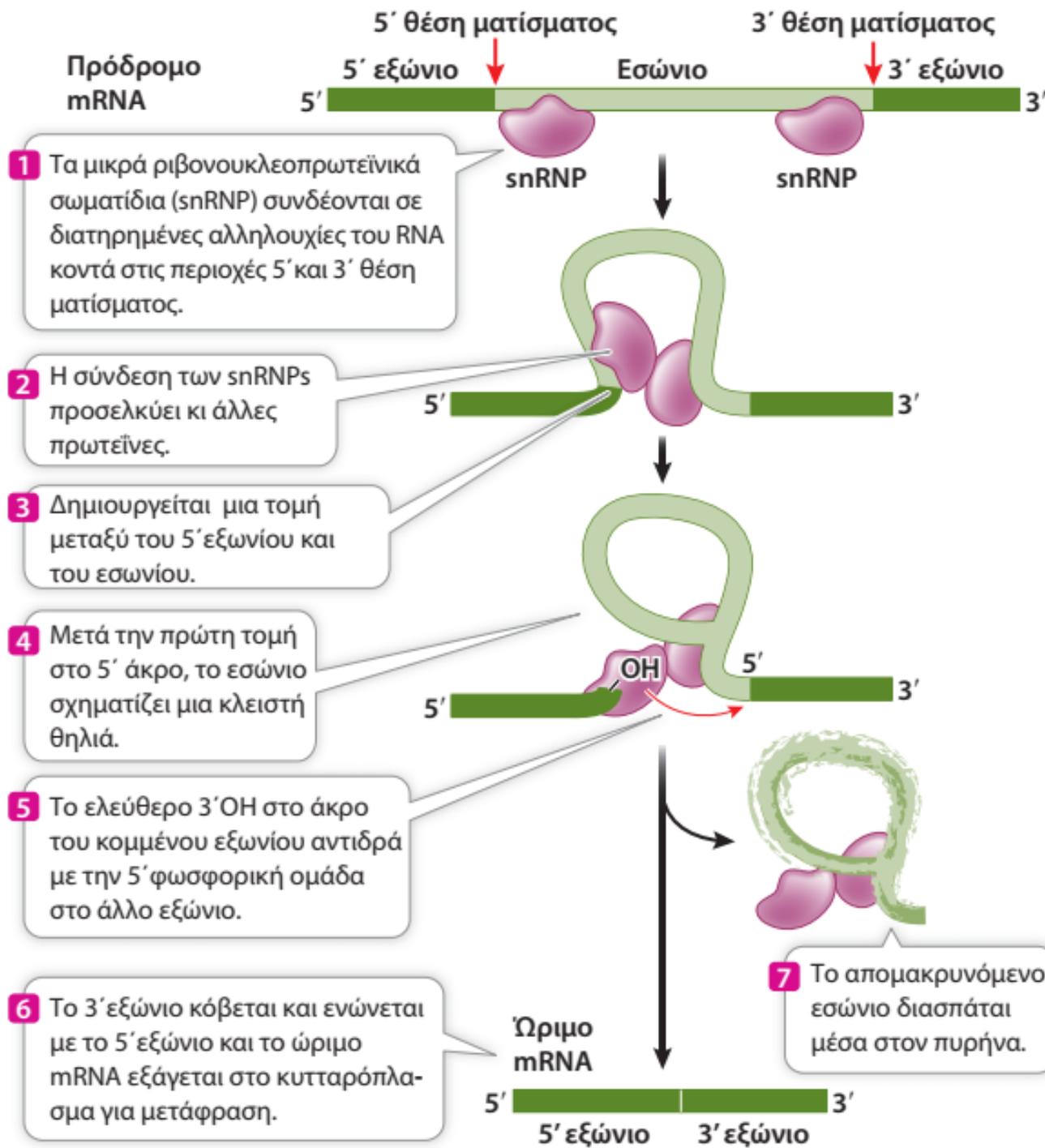
1. Μάτισμα (ωρίμανση) του mRNA.
2. Προσθήκη καλύπτρας 7-μεθυλογουανοσίνης (m7G) στο 5' άκρο.
3. Προσθήκη ουράς πολυA (πολυαδενυλίωση) στο 3' άκρο.

2.4.1. Μάτισμα (ωρίμανση) του mRNA

Τα εσώνια είναι συνήθως 10X μεγαλύτερα από την κωδική αλληλουχία για το ίδιο γονίδιο.



Εικόνα 14.7 Μεταγραφή ενός Ευκαρυωτικού Γονιδίου Το γονίδιο της β-σφαιρίνης, το οποίο παρουσιάζεται διαγραμματικά εδώ, έχει μήκος περίπου 1.600 ζευγάρια βάσεων (bp). Τα τρία εξώνια (οι αλληλουχία που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη) περιέχουν κωδικόνια για 146 αμινοξέα συν ένα κωδικόνιο λήξης. Τα δύο εσώνια –μη κωδικές αλληλουχίες του DNA οι οποίες περιέχουν περίπου 1000 bp– αρχικά μεταγράφονται, αλλά στην ωρίμανση αποβάλλονται από το πρόδρομο mRNA.



Εικόνα 14.9 Μάτισμα RNA

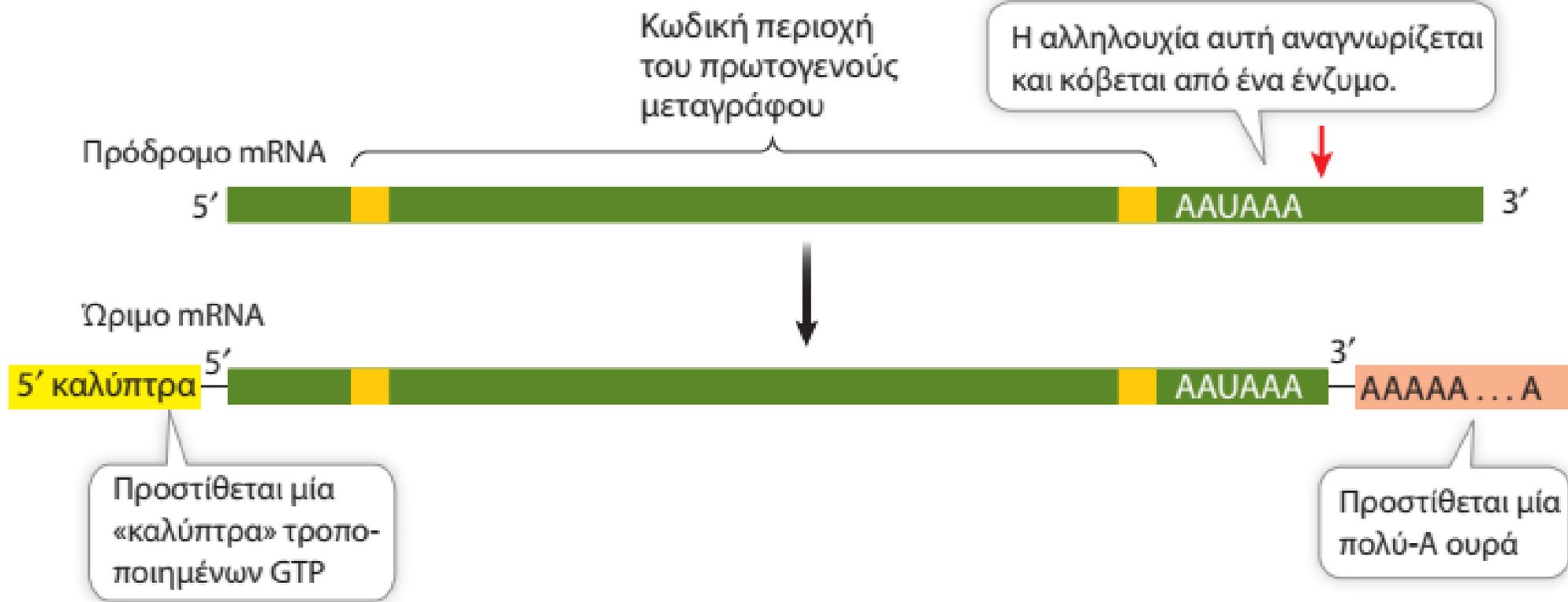
Η σύνδεση των snRNPs σε διατηρημένες αλληλουχίες στα όρια των εσωνίων στο πρόδρομο mRNA έχει ως αποτέλεσμα τη σύνδεση μιας σειράς πρωτεϊνών και το κόψιμο του πρόδρομου mRNA με μεγάλη ακρίβεια.

Προσθήκη

2.4.2. Καλύπτρας 7-μεθυλογουανოსίνης
(m7G) στο 5' άκρο

και

2.4.3. Ουράς πολυΑ
στο 3' άκρο

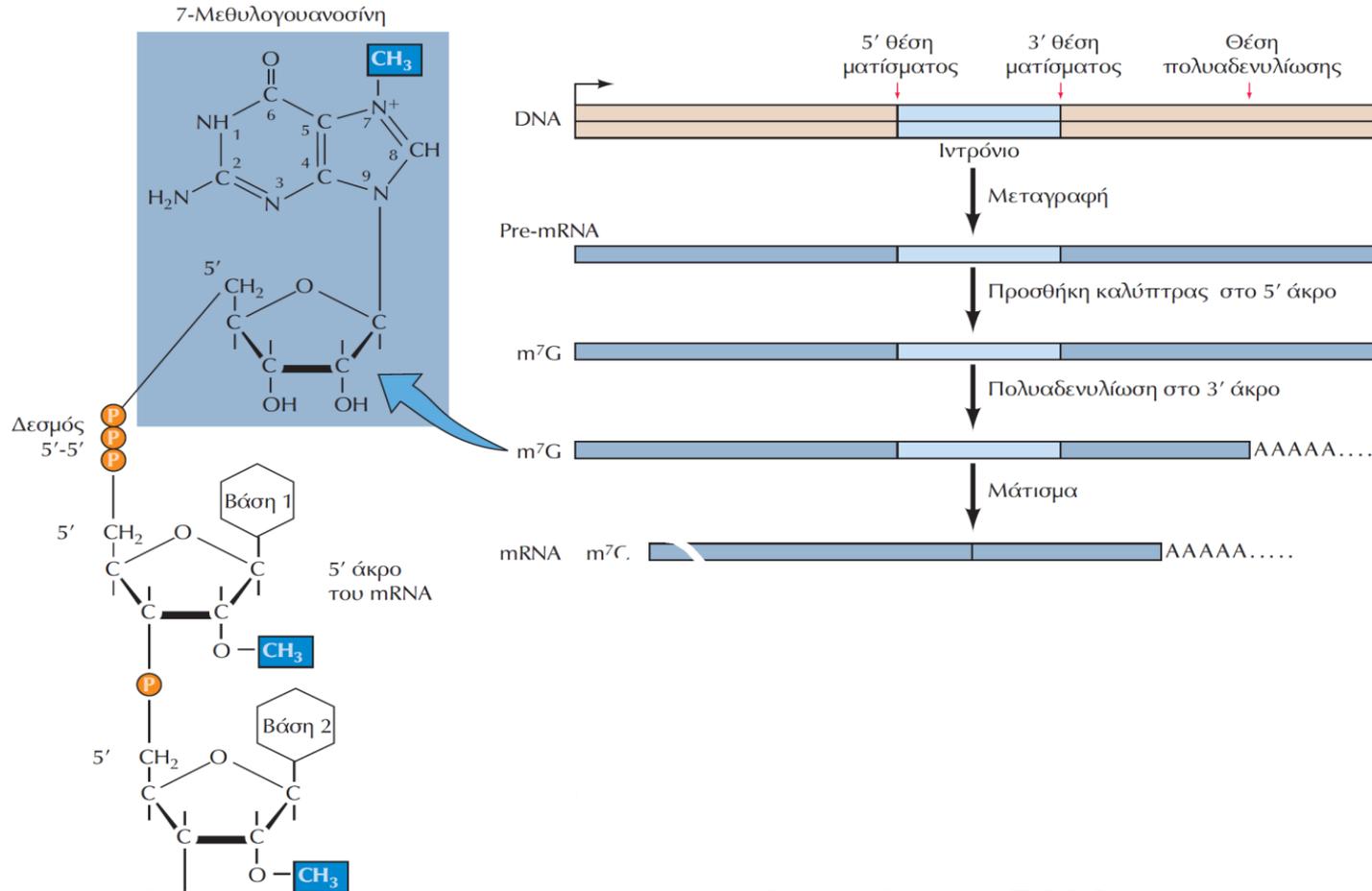


Εικόνα 14.8 Επεξεργασία των Άκρων του Ευκαρυωτικού Πρόδρομου mRNA Οι τροποποιήσεις των δύο άκρων του πρόδρομου mRNA μετάγραφου –η 5' καλύπτρα και η πολυ-A ουρά– είναι σημαντικές για τη λειτουργία του mRNA.

Επεξεργασία του mRNA στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

2.4.2. Προσθήκη καλύπτρας 7-μεθυλογουανοσίνης

Η πρώτη κατεργασία είναι η προσθήκη στο 5' άκρο του mRNA της 7-μεθυλογουανοσίνης, μετά τη σύνθεση των πρώτων 20-30 ριβονουκλεοτιδίων. Τα ένζυμα που πραγματοποιούν τη σύνδεση συνδέονται στην φωσφορυλιωμένη CTD της του RNA πολ II. Πρώτα συνδέεται το GTP και κατόπιν μεθυλομάδες στη γουανίνη και σε μία ως και δύο ριβόζες της αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Οι προσθήκες σταθεροποιούν το RNA και είναι απαραίτητες για τις αλληλεπιδράσεις με το ριβόσωμα κατά την πρωτεϊνθσύνθεση.



2. Η επεξεργασία του ευκαρυωτικού αγγελιαφόρου RNA.

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, ενώ 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).

2.4.3. Πολυαδενυλίωση

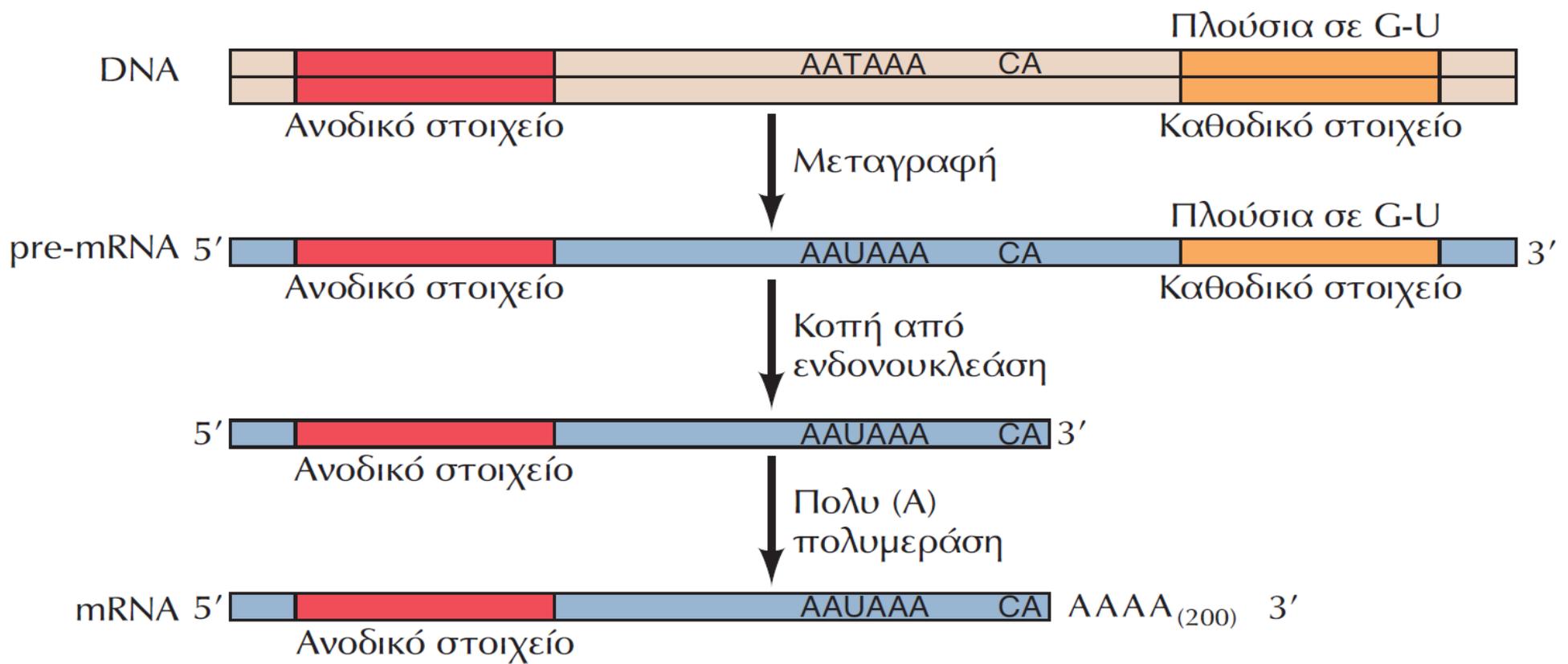
Μετά την πρωτογενή μεταγραφή, ακολουθεί υδρόλυση στο 3' άκρο του mRNA και προσθήκη ουράς πολύ(A) (πολυαδενυλίωση).

Σήματα πολυαδενυλίωσης:

- i. Εξανουκλεοτιδική αλληλουχία (AAUAAA) 10-30 ανοδικά (πριν) της ουράς πολύ(A).
- ii. Περιοχή πλούσια σε G και U καθοδικά της AAUAAA.
- iii. Πλούσια σε U περιοχή (σε μερικά mRNA), ανοδικά της AAUAAA.

Οι τρεις αλληλουχίες αναγνωρίζονται από ένα σύμπλοκο που περιλαμβάνει μια ενδονουκλεάση που κόβει το RNA ενώ η πολύ(A) πολυμεράση προσθέτει 200 A.

Σχεδόν όλα τα ευκαρυωτικά mRNA έχουν ουρά πολύ(A). Σταθεροποιεί το mRNA και επηρεάζει την μετάφραση του: στο αγονιμοποιημένο ωκύτταρο αποθηκεύονται πολλά mRNA τα οποία μεταφράζονται μετά τη γονιμοποίηση μόνον όταν επιμηκυνθούν οι ουρές πολύ(A) πάνω από τα 30-50 A με τα οποία υπάρχουν αποθηκευμένα.



3. Σχηματισμός του 3' άκρου των ευκαρυωτικών mRNA. Τα σήματα πολυαδενυλίωσης στα θηλαστικά αποτελούνται από ένα εξανουκλεοτίδιο (AAUAAA) και μια πλούσια σε G και U αλληλουχία η οποία βρίσκεται καθοδικά από αυτό. Σε ορισμένα mRNA υπάρχει επιπλέον μια αλληλουχία πλούσια σε U, 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) αποτελούμενη από 200 περίπου νουκλεοτίδια αδενίνης.

2.4.4. Επεξεργασία και ανακύκλωση ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών **tRNA** και **rRNA**

Επεξεργασία

Κοινά στάδια επεξεργασίας **pre-rRNA**

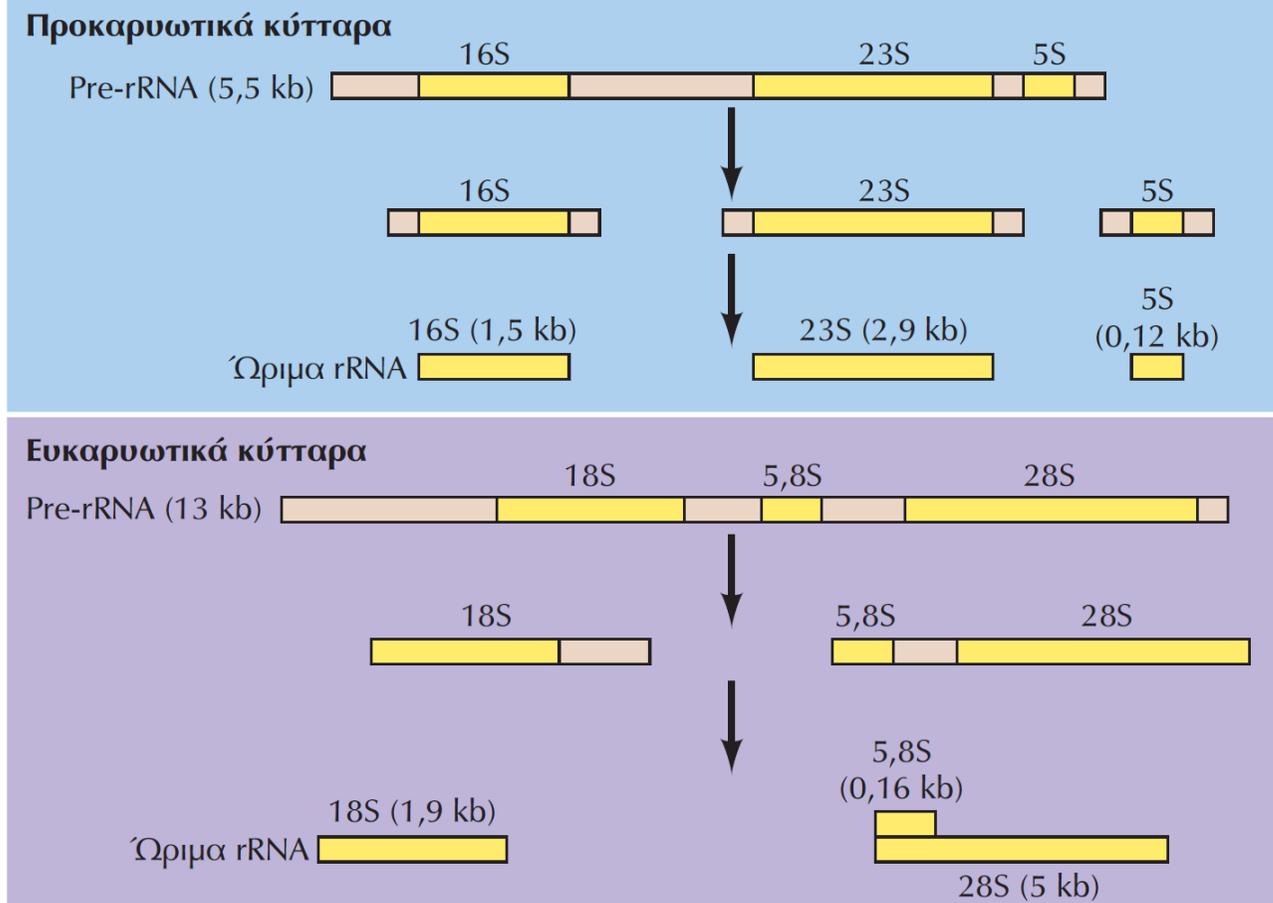
1. Υδρόλυση: Το αρχικό μόριο των ευκαρυωτικών (pre-rRNA) κόβεται σε 3 μικρότερα κομμάτια που υφίστανται περισσότερη υδρόλυση ώστε να προκύψουν τα 18S, το 28S και το 5,8S. Ακολουθεί
2. Προσθήκη μεθυλομάδων και
3. Μετατροπή ουριδινών σε ψευδοουριδίνες.

Κοινά στάδια επεξεργασίας **pre-tRNA**

1. Υδρόλυση στο 5' άκρο από την RNάση P: μόρια RNA και πρωτεϊνών, ριβοένζυμο.
2. Υδρόλυση στο 3' άκρο από πρωτεϊνική RNάση.
3. Προσθήκη (όταν δεν υπάρχει) CCA-θέση πρόσβασης του αμινοξέως.
4. Στο 10 % ενός tRNA, οι βάσεις είναι τροποποιημένες για την πρωτεϊνοσύνθεση.

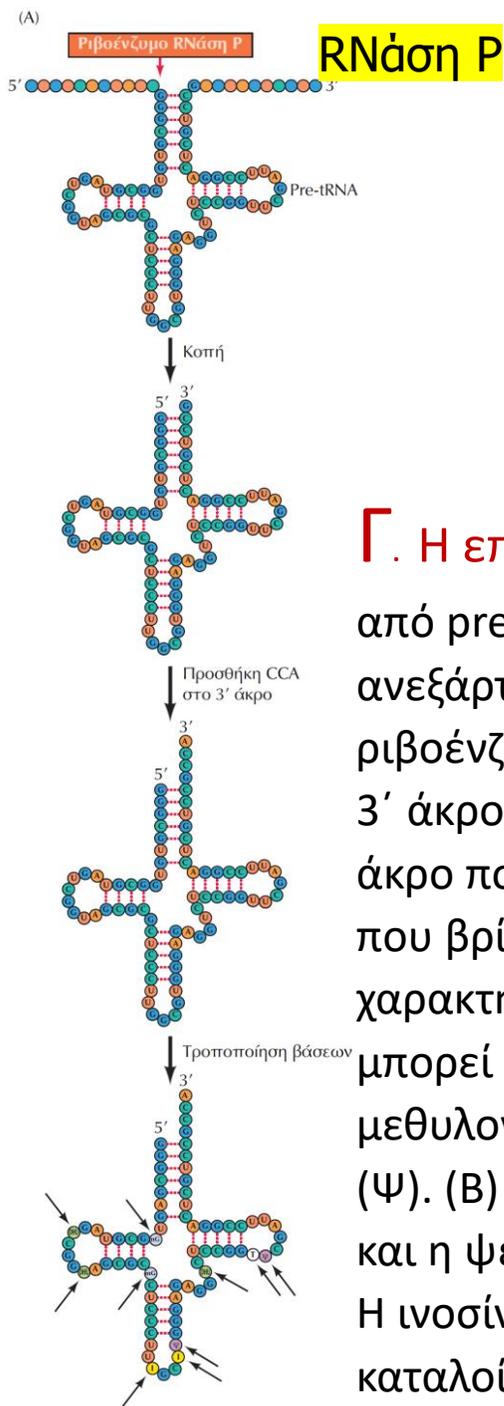
Κοινά στάδια επεξεργασίας pre-rRNA και pre-tRNA στο 5' τέλος

Απομάκρυνση εσωνίων από ενδονουκλεάσες.

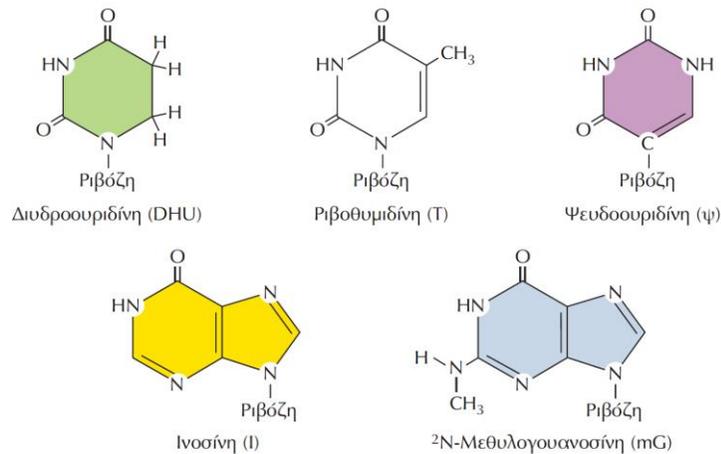


B. Η επεξεργασία των ριβοσωμικών RNA.

Τα **προκαρυωτικά** κύτταρα περιέχουν τρεις τύπους rRNA: το 16S, το 23S και το 5S. Τα μόρια αυτά σχηματίζονται από την κοπή ενός μεταγράφου pre-rRNA. Τα **ευκαρυωτικά** κύτταρα περιέχουν τέσσερις τύπους rRNA. Το ένα από αυτά, το 5S rRNA, μεταγράφεται από ένα ανεξάρτητο γονίδιο. Τα άλλα τρία, το 18S, το 28S και το 5,8S rRNA, προκύπτουν από τον τεμαχισμό ενός αρχικού μεταγράφου pre-rRNA. Το 5,8S rRNA (το οποίο υπάρχει μόνο στα ευκαρυωτικά κύτταρα) παραμένει συνδεδεμένο με δεσμούς υδρογόνου με το 28S rRNA.



3) Τροποποιημένες βάσεις

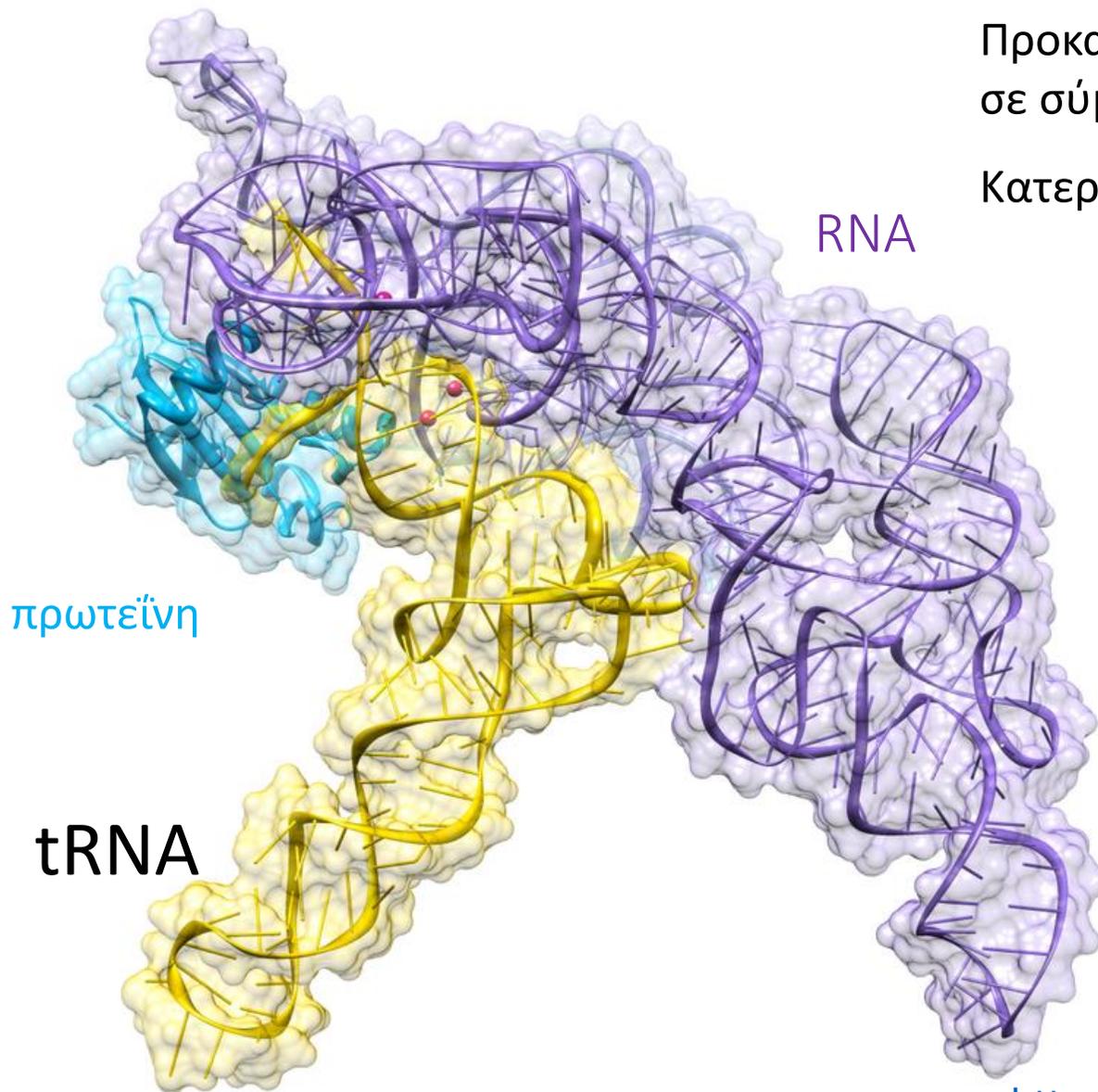


Γ. Η επεξεργασία των μεταφορικών RNA. (A) Τα μεταφορικά RNA προέρχονται από pre-tRNA, ορισμένα από τα οποία περιέχουν περισσότερα από ένα ανεξάρτητα μόρια tRNA. Στο πλαίσιο της ωρίμανσης των πρόδρομων μορίων το ριβοένζυμο **RNάση P** καταλύει την κοπή του 5' άκρου, ενώ μια δεύτερη κοπή στο 3' άκρο καταλύεται 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.

Ριβοένζυμο:

Προκαρυωτική **RNάση P** ολοένζυμο
σε σύμπλοκο με tRNA.

Κατεργασία προ-tRNA



The *Thermotoga maritima* RNase P holoenzyme in complex with tRNAPhe. The 154 kDa complex consists of a large catalytic RNA (P RNA), a small protein cofactor and a mature tRNA.

<https://www.nature.com/articles/nature09516>

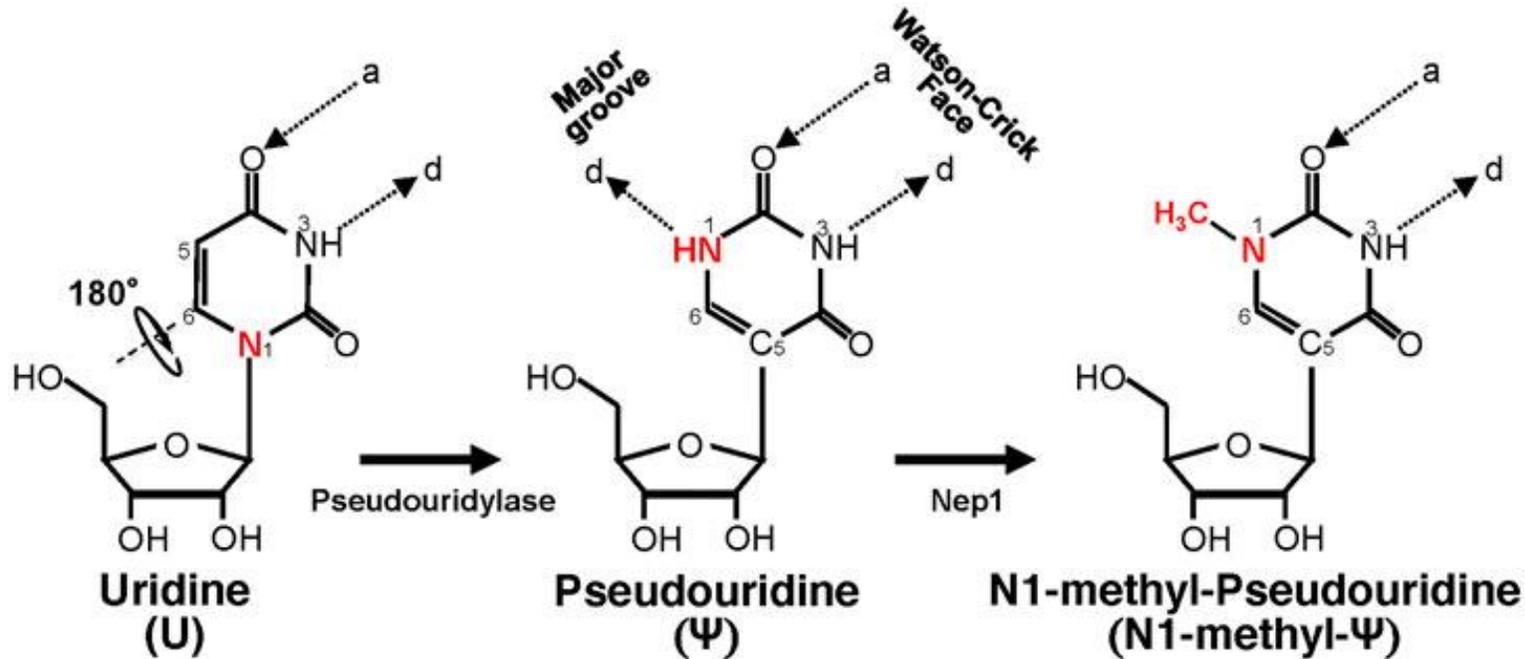
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16679018/>

By RNAMacGyver - Own work, CC BY-SA 3.0,

<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=16268952>

Τροποποιήσεις του mRNA στο αντίστοιχο εμβόλιο του κορωνοϊού

Ουριδίνη (U), ψευδοουριδίνη (Ψ), N-μεθυλο ψευδοουριδίνη (m1Ψ)



<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2021.789427/full>

Η m1Ψ παράγεται με τη Nep1 (ριβοσώματα-18S rRNA), αλλά και χημικά (μεθυλίωση της Ψ), γιατί; 1. Διεγείρει σημαντικά λιγότερο την έμφυτη ανοσοαπόκριση σε σύγκριση με την ουριδίνη. 2. Στη βιοσύνθεση των πρωτεϊνών, μεταφράζεται ως ουριδίνη και δίνει πιο υψηλές αποδόσεις πρωτεΐνης. Χρησιμοποιείται σε εμβόλια από το 2017 κατά των ιών **Ζίκα, HIV-1, γρίπης και έμπολα**. <https://en.wikipedia.org/wiki/N1-Methylpseudouridine>

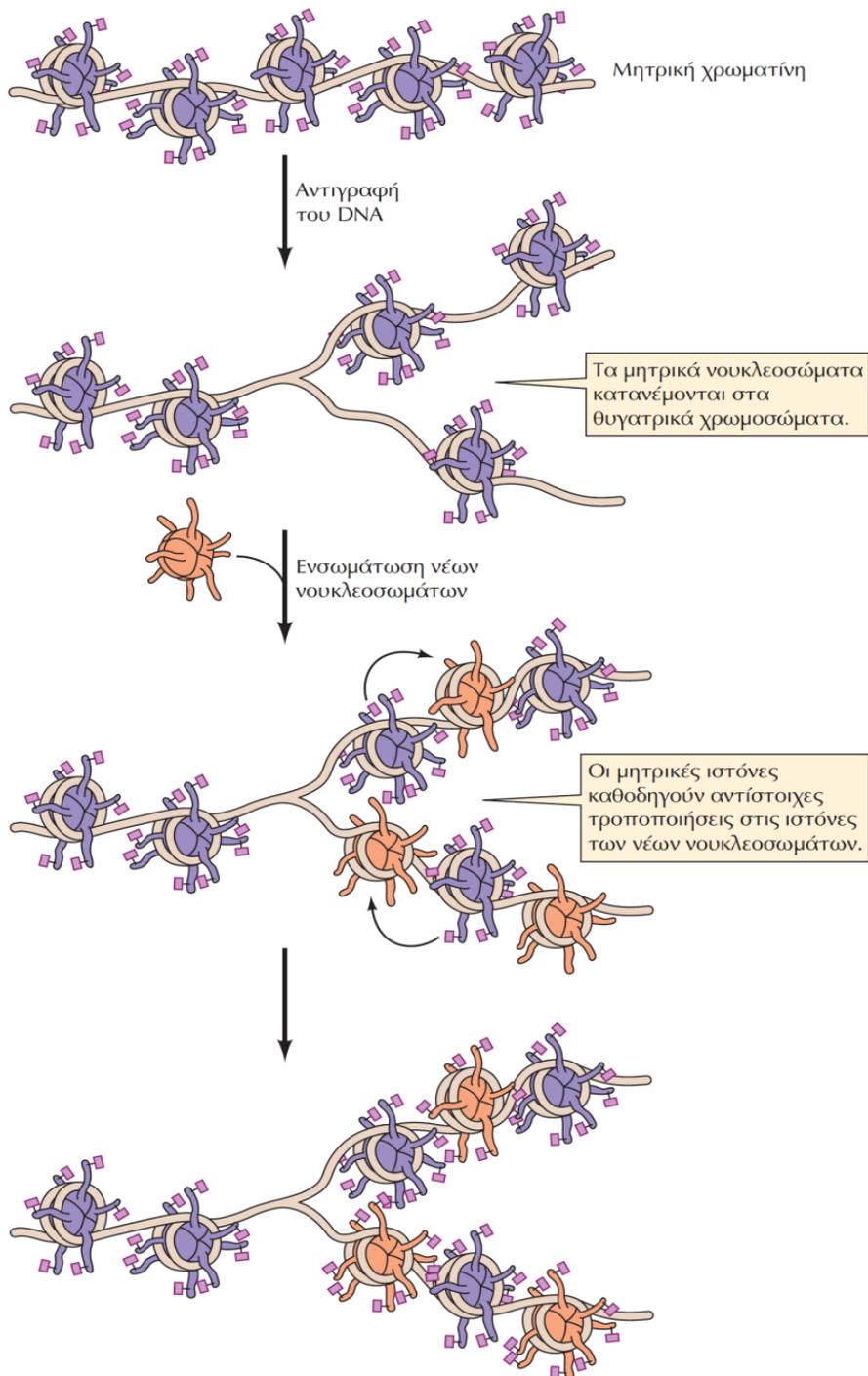
3. Επιγενετική κληρονομικότητα

7.5. Επιγενετική κληρονομικότητα

Τροποποίηση του DNA (χωρίς όμως να αλλάζει η αλληλουχία των βάσεων του) με αποτέλεσμα τη μεταβίβαση νέας πληροφορίας (αλλαγή στη μεταγραφή) από γενιά σε γενιά.

1. Κατά το διπλασιασμό του DNA, οι τροποποιημένες ιστόνες μπορούν να υπαγορεύσουν τις αλλαγές τους στις νεοσυντιθέμενες.
2. Μεθυλίωση DNA: στα κατάλοιπα κυτοσίνης \Rightarrow **καταστολή** της μεταγραφής. Το πρότυπο του μεθυλιωμένου DNA διατηρείται μετά την αντιγραφή.

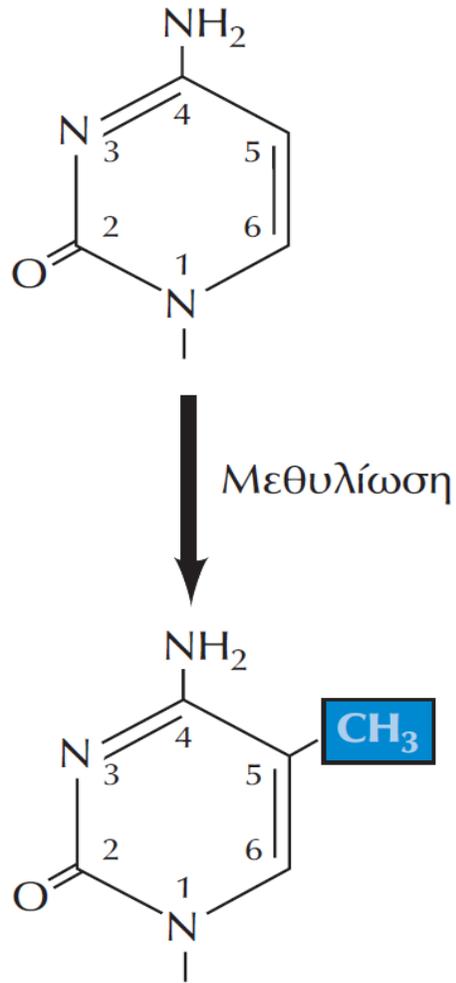
Γονιδιωματικό εντύπωμα: η μεθυλίωση ενός γονιδίου καθορίζει την έκφρασή του ή όχι από το πατρικό ή μητρικό αλληλόμορφο κατά την εμβρυογένεση. Το ίδιο γονίδιο μπορεί ή όχι να εκφραστεί ανάλογο με το αν είναι μεθυλιωμένο.



ΕΙΚΟΝΑ 7.36 Η επιγενετική κληρονομικότητα των τροποποιήσεων των ιστονών.

Τα μητρικά νουκλεοσώματα, οι ιστόνες των οποίων έχουν χαρακτηριστικές τροποποιήσεις, κατανέμονται στα δύο μόρια DNA που προκύπτουν από την αντιγραφή και καθοδηγούν τη δημιουργία αντίστοιχων τροποποιήσεων στις ιστόνες των νέων νουκλεοσωμάτων που ενσωματώνονται στα θυγατρικά χρωμοσώματα.

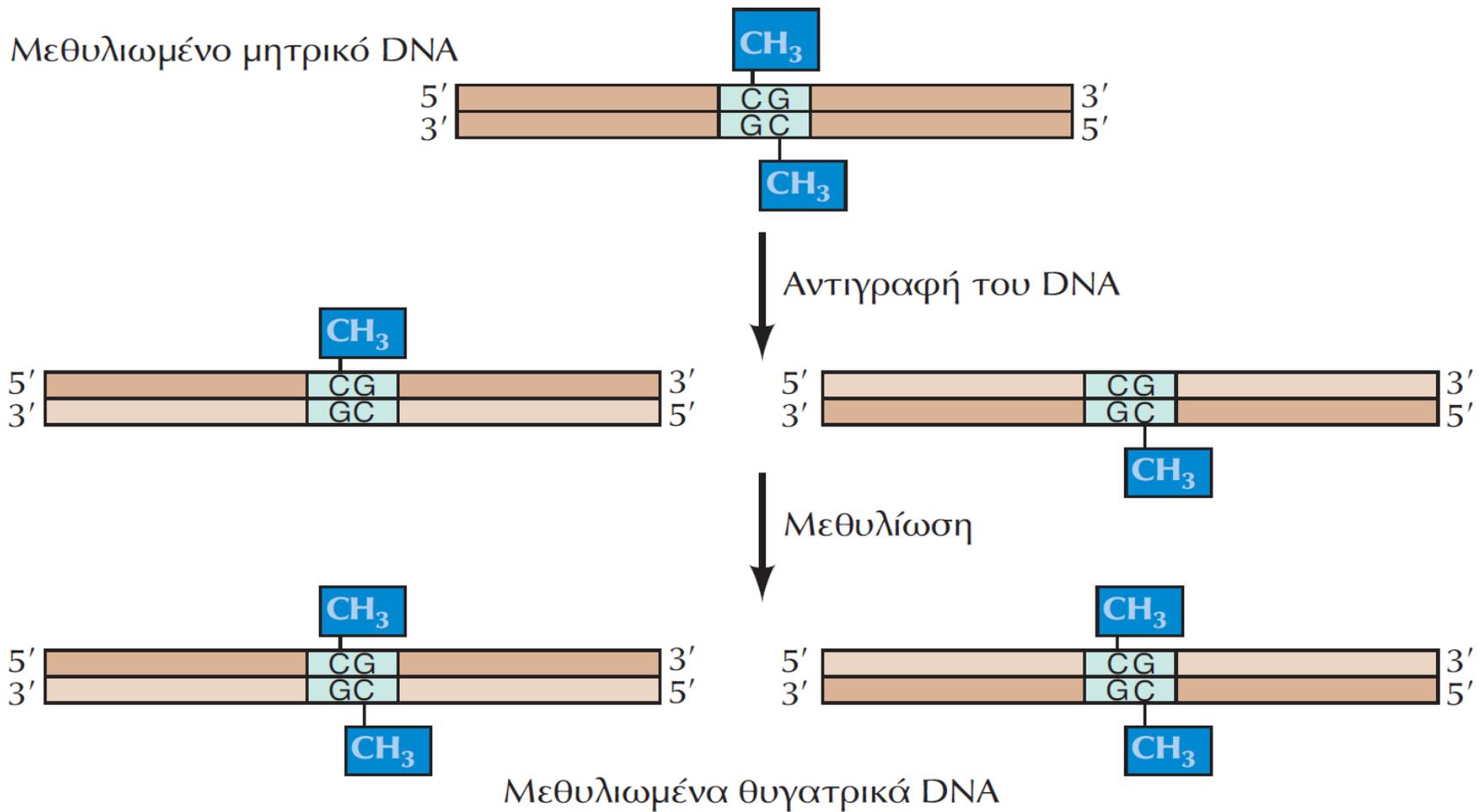
Κυτοσίνη



5-Μεθυλοκυτοσίνη

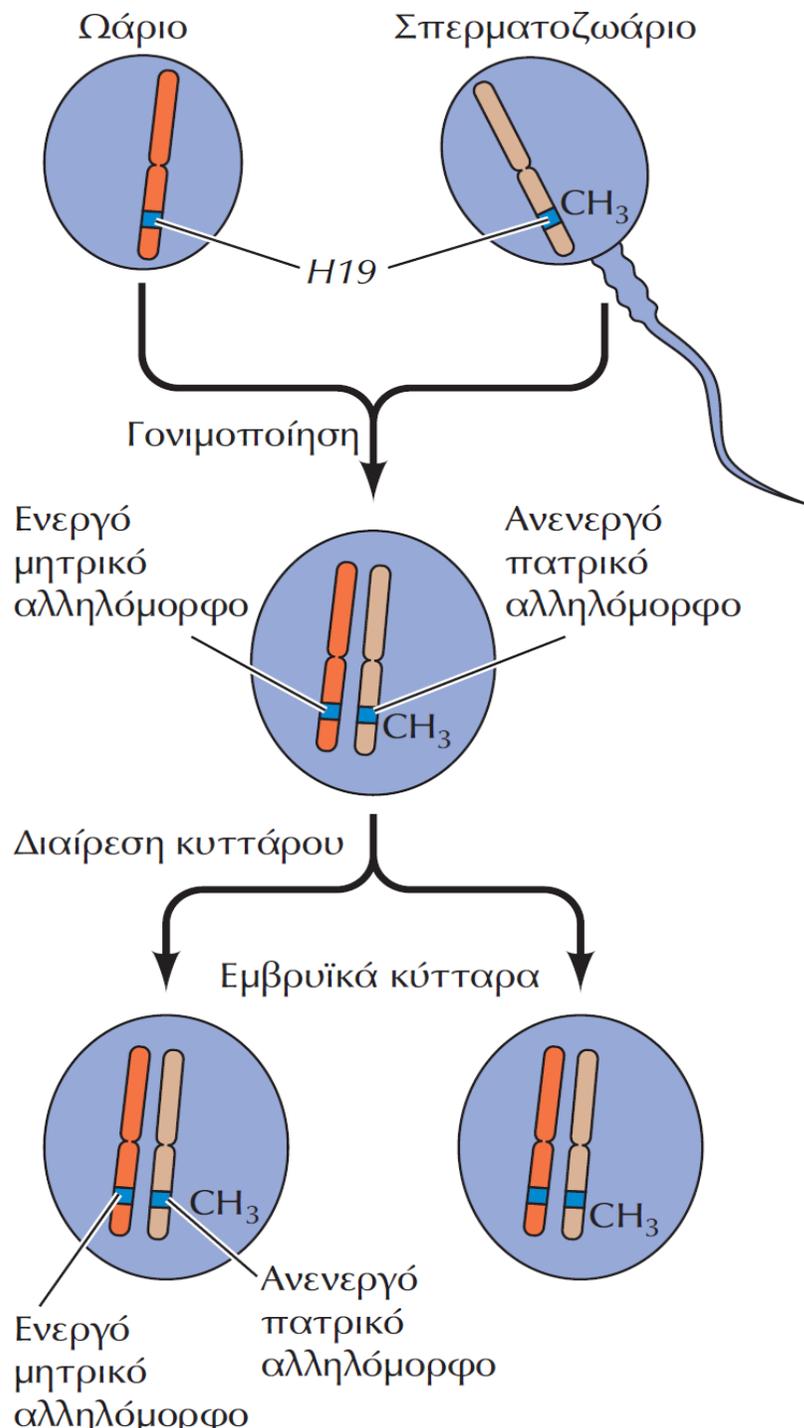
ΕΙΚΟΝΑ 7.40 Μεθυλίωση του DNA.

Τα κατάλοιπα της κυτοσίνης μεθυλιώνονται με την προσθήκη μιας μεθυλομάδας στον άνθρακα 5 του δακτυλίου της αζωτούχου βάσης.



ΕΙΚΟΝΑ 7.41 Διατήρηση του προτύπου μεθυλίωσης.

Στο μητρικό DNA είναι μεθυλιωμένοι και οι δύο κλώνοι στις αλληλουχίες CpG. Μετά την αντιγραφή είναι μεθυλιωμένος μόνο ο μητρικός κλώνος κάθε θυγατρικού μορίου. Οι νεοσύστατοι θυγατρικοί κλώνοι μεθυλιώνονται στη συνέχεια από ένα ένζυμο που αναγνωρίζει αλληλουχίες CpG όταν οι απέναντι από αυτές συμπληρωματικές αλληλουχίες είναι μεθυλιωμένες.



ΕΙΚΟΝΑ 7.42 Γονιδιωματικό εντύπωμα.

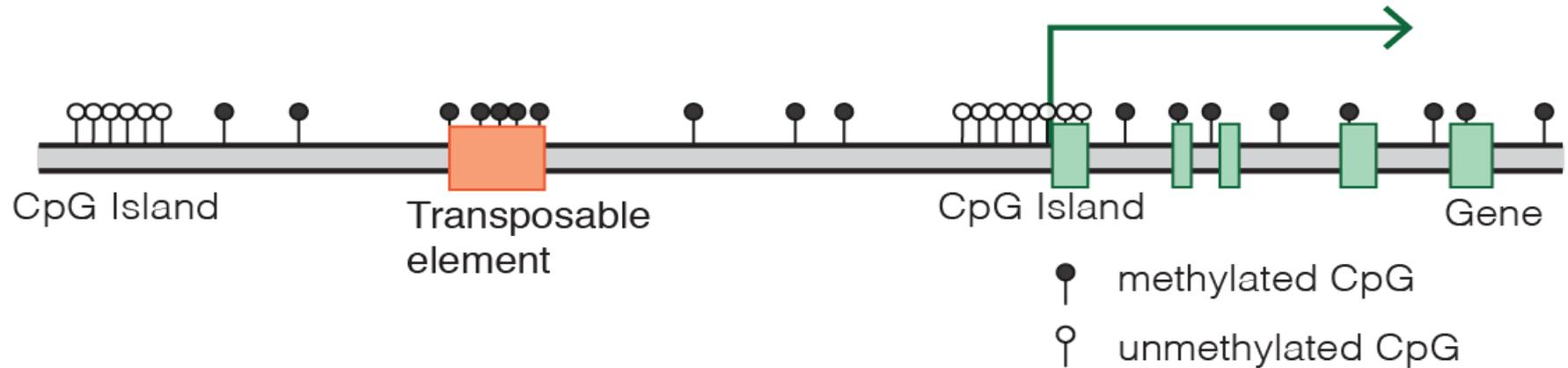
Το γονίδιο *H19* μεθυλιώνεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των αρσενικών αλλά όχι των θηλυκών κυττάρων της γαμετικής σειράς. Επομένως, τα σπερματοζωάρια περιέχουν ένα μεθυλιωμένο αλληλόμορφο του *H19*, ενώ τα ωάρια περιέχουν ένα μη μεθυλιωμένο αλληλόμορφο του *H19*.

Μετά τη γονιμοποίηση και τις επακόλουθες κυτταρικές διαιρέσεις, το πατρικό αλληλόμορφο παραμένει μεθυλιωμένο και μεταγραφικά ανενεργό, με αποτέλεσμα στο έμβρυο να εκφράζεται μόνο το αμεθυλίωτο αλληλόμορφο μητρικής προέλευσης.

Οργάνωση περιοχών CpG



Typical mammalian DNA methylation landscape



Καταστολή μεταγραφής ανεπιθύμητων γονιδίων

https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_methylation

doi: 10.1097/ACI.0000000000000598.

The role of epigenetics in allergy and asthma development.

Τα τελευταία χρόνια έχουν επεκταθεί σημαντικά οι γνώσεις μας σχετικά με το ρόλο της επιγενετικής στην παθογένεση και την κλινική εικόνα των αλλεργιών. Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί ότι επιγενετικοί δείκτες, ειδικά η μεθυλίωση του DNA, έχουν διαγνωστικό δυναμικό για ατοπική ευαισθητοποίηση, το άσθμα, την αλλεργική ρινίτιδα και την τροφική αλλεργία.

Η μεθυλίωση του DNA μπορεί να πρόβλεψει τις κλινικές αποκρίσεις σε ελεγχόμενες προκλήσεις αλλεργιογόνου, συμπεριλαμβανομένων των προκλήσεων από τα τρόφιμα.

Επιπλέον, η άμεση ή έμμεση στόχευση επιγενετικών μηχανισμών, όπως οι ειδικές τροποποιήσεις ιστονών, ήταν ικανή να επηρεάσει ευνοϊκά την έκφραση των γονιδίων στις οποίες βρίσκονται οι αλλεργίες και γενικά να βελτιώσει τη βιολογία των αεραγωγών σε αλλεργικές ασθένειες ή τα ζωικά τους μοντέλα.

[Pharmacol Ther.](#) 2019 Oct 15:107416.

doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107416.

The role of DNA-demethylating agents in cancer therapy.

Τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA μεταβάλλονται συχνά στα καρκινικά κύτταρα σε σύγκριση με τα φυσιολογικά κύτταρα.

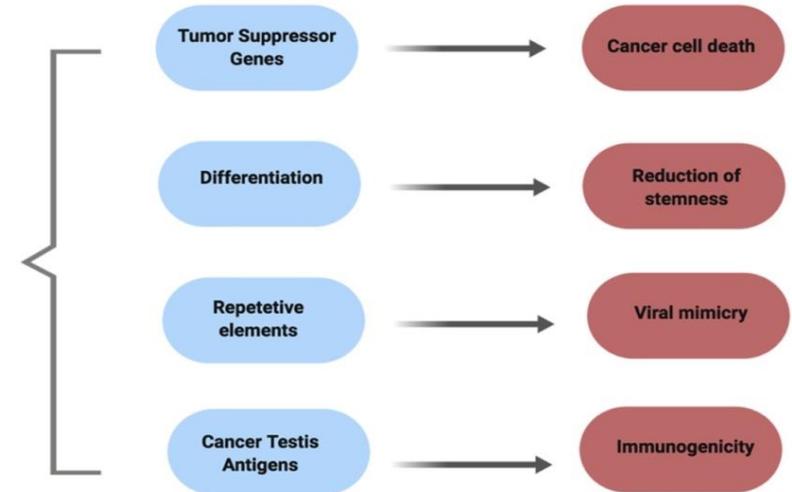
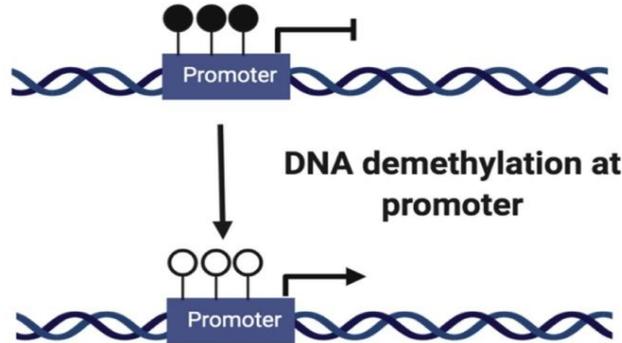
Ένα μεγάλο μέρος δεδομένων συνδέει τις αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA με την έναρξη και την εξέλιξη των καρκίνων.

Επιπλέον, τα καρκινικά κύτταρα φαίνεται να εξαρτώνται από αυτές τις αποκλίσεις στο προφίλ μεθυλίωσης του DNA για να ευδοκιμήσουν.

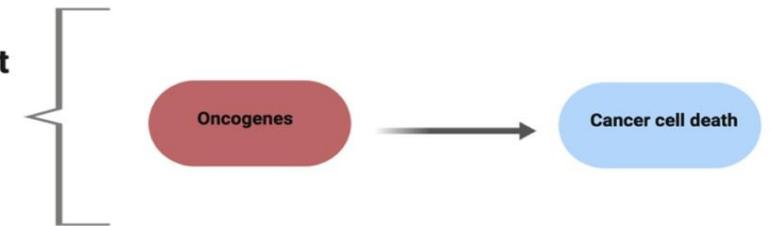
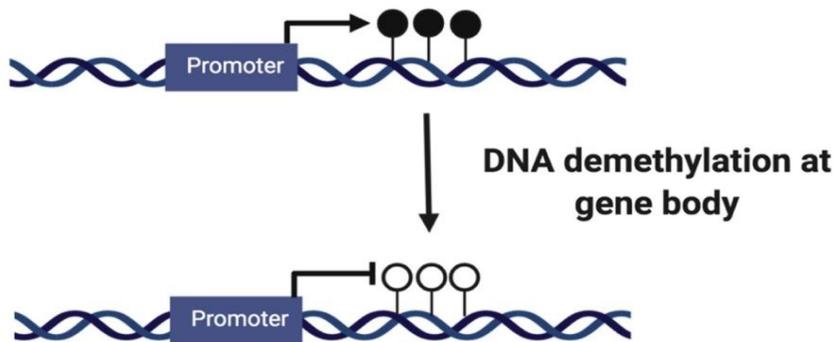
Τέλος, οι τροποποιήσεις της μεθυλίωσης του DNA είναι αναστρέψιμες, υπογραμμίζοντας τη δυνατότητα εστίασης των γενικών προτύπων μεθυλίωσης για τη θεραπεία του καρκίνου.

Anti-tumor effects of DNA Hypomethylating Agents

A



B



A) Η απομεθυλίωση των υποκινητών ενεργοποιούν τα γονίδια καταστολής όγκων, τη διαφοροποίηση, τα επαναλαμβανόμενα στοιχεία και τα αντιγόνα των όρχεων με αποτέλεσμα τον θάνατο των καρκινικών κυττάρων, τη διαφοροποίηση, τον ιικό μιμητισμό και την ενίσχυση της ανοσογονικότητας αντιστοίχως. B) Η απομεθυλίωση των γονιδίων καταστέλλει τα ογκογονίδια, με συνέπεια τον θάνατο των καρκίνων.

Dietary antioxidants remodel DNA methylation patterns in chronic disease.

Οι χρόνιες παθήσεις επιφέρουν το 60 % όλων των θανάτων παγκοσμίως, σύμφωνα με τις εκθέσεις της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας. Η πλειονότητα των περιπτώσεων προκαλείται από περιβαλλοντικές εκθέσεις που οδηγούν σε αποκλίνοντα αλλαγές στο επιγονιδίωμα, συγκεκριμένα, τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA. Αυτές οι αλλαγές οδηγούν σε αλλοιωμένη έκφραση των γονιδιακών δικτύων και αλλοιωμένη δραστηριότητα των οδών σηματοδότησης.

Τα διαιτητικά αντιοξειδωτικά, συμπεριλαμβανομένων των κατεχινών, των φλαβονοειδών, των ανθοκυανινών, των στιλβενίων και των καροτενοειδών, επιδεικνύουν οφέλη στην πρόληψη ή και υποστήριξη της θεραπείας σε χρόνιες ασθένειες

Τα αντιοξειδωτικά αναδιαμορφώνουν τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA μέσω πολλών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης των επιγενετικών ενζύμων και των συμπλεγμάτων αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. Αυτά τα αποτελέσματα μπορούν περαιτέρω να συμβάλλουν στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες των ενώσεων. Η μείωση του οξειδωτικού στρες μπορεί να επηρεάσει τη μεθυλίωση του DNA, παρέχοντας πρόσθετη σύνδεση μεταξύ των αντιοξειδωτικών μηχανισμών και των επιγενετικών επιδράσεων των ενώσεων.

ΥΓΕΙΑ-ΕΠΙΚΑΙΡΟΤΗΤΑ 03.10.2019

Οι μελλοντικοί πατέρες πρέπει να αποφεύγουν το αλκοόλ έως έξι μήνες πριν από τη σύλληψη του παιδιού

<https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/2047487319874530>

<https://www.kathimerini.gr/1045356/article/ygeia/ygeia-epikairothta/oi-mellontikoi-pateres-prepei-na-apofeygoyn-to-alkool-ews-e3i-mhnes-prin-apo-th-syllhyh-toy-paidioy>

Μέρος Β. Η σύνθεση και η αναδίπλωση των πρωτεϊνών

4. Πρωτεΐνοσύνθεση ή μετάφραση του mRNA

Εισαγωγή

Η πρωτεϊνοσύνθεση (μετάφραση) είναι το τελικό στάδιο της γονιδιακής έκφρασης.

1. Η μετάφραση του mRNA είναι το πρώτο στάδιο σχηματισμού της πρωτεΐνης.
2. Ακολουθεί η αναδίπλωση, με τη βοήθεια των μοριακών συνοδών αναδίπλωσης.
3. Ειδικές επεξεργασίες μετά τη μετάφραση βοηθούν την πρωτεΐνη να φτάσει στην τελική ενεργή μορφή της.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα αναδίπλωση κι επεξεργασία σχετίζονται με ειδικά υποκυτταρικά διαμερίσματα.

Μετά την σύνθεση και αναδίπλωση, μερικές πρωτεΐνες υφίστανται ρύθμιση ενεργότητας μέσω ομοιοπολικών τροποποιήσεων ή αλληλεπιδράσεων με άλλες πρωτεΐνες.

4. Η συγκέντρωση των ενεργών πρωτεϊνών ελέγχεται από μηχανισμούς αποικοδόμησης.

Οι ρυθμοί αποικοδόμησης και οι μηχανισμοί ρύθμισης της ενεργότητας καθορίζουν την ποσότητα και έτσι τη συμμετοχή μιας πρωτεΐνης στις κυτταρικές λειτουργίες.

4.1. Μετάφραση του mRNA (πρωτεϊνοσύνθεση)

Γενικά χαρακτηριστικά

1. Η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μια διατηρημένη εξελικτικά διαδικασία.
2. Όλα τα mRNA μεταφράζονται στη κατεύθυνση 5' προς 3'.
3. Οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες συντίθενται από το αμινοτελικό προς το καρβοξυτελικό άκρο.
4. Κάθε αμινοξύ καθορίζεται από μια τριάδα βάσεων του mRNA (κωδικόνιο), ενώ
5. Ο γενετικός κώδικας είναι κοινός για όλα τα είδη.
6. Ο μηχανισμός της μετάφρασης είναι κοινός για όλα τα κύτταρα.
7. Η μετάφραση γίνεται στα ριβοσώματα όπου μόρια tRNA λειτουργούν ως προσαρμογείς ανάμεσα στο mRNA και τα αμινοξέα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση.
8. Περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε τρεις τύπους RNA (mRNA, tRNA και rRNA) και διάφορες πρωτεΐνες απαραίτητες για τη διαδικασία της μετάφρασης.

4.2. Αλληλεπίδραση αντικωδικονίων του tRNA, με τα κωδικόνια του mRNA

A. Προτίμηση κωδικονίων.

B. Το μη τυπικό ζευγάρωμα κωδικονίου και αντικωδικονίου.

A. Συνήθως υπάρχουν πολλά διαφορετικά κωδικόνια για το ίδιο αμινοξύ. Κατ'επέκταση, το ίδιο αμινοξύ μπορεί να μεταφέρεται από διαφορετικά tRNA-αντικωδικόνια

Ένα κωδικόνιο είναι μια σειρά από τρία νουκλεοτίδια (μια τριπλέτα) που κωδικοποιεί ένα συγκεκριμένο αμινοξύ σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα. Υπάρχουν επίσης και κωδικόνια λήξης για τον τερματισμό της μετάφρασης.

Παρότι τα αμινοξέα είναι 20 (21 με τη σεληνιοκυστεΐνη), υπάρχουν 61 διαφορετικά κωδικόνια για αυτά και 3 κωδικόνια λήξης (σύνολο 64 κωδικόνια).

Η υπεραφθονία στον αριθμό των κωδικονίων επιτρέπει σε πολλά αμινοξέα να κωδικοποιούνται από περισσότερα του ενός κωδικονίων. Λόγω αυτού του πλεονασμού κωδικονίων για περιορισμένο αριθμό αμινοξέων, λέγεται ότι ο γενετικός κώδικας είναι «εκφυλισμένος».

Οι γενετικοί κώδικες διαφορετικών οργανισμών έχουν προτιμήσεις στη χρήση ενός από τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ σε σχέση με τα άλλα.

Ο όρος προτίμηση κωδικονίων (codon bias) αναφέρεται στη συχνότητα εμφάνισης διαφορετικών κωδικονίων για το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμα κωδικόνια) στους διαφορετικούς οργανισμούς.

		Δεύτερο γράμμα				
		U	C	A	G	
Πρώτο γράμμα	U	UUU Φαινυλα- λανίνη	UCU UCC UCA UCG Σερίνη	UAU UAC Τυροσίνη	UGU UGC Κυστεΐνη	U
		UUA UUG Λευκίνη		UAA UAG Κωδικόνιο λήξης	UGA UGG Τρυπτοφάνη	C
						A
						G
C	C	CUU CUC CUA CUG Λευκίνη	CCU CCC CCA CCG Προλίνη	CAU CAC Ιστιδίνη	CGU CGC CGA CGG Αργινίνη	U
				CAA CAG Γλουταμίνη		C
						A
						G
A	A	AUU AUC AUA Ισολευκίνη Μεθειονίνη: κωδικόνιο έναρξης	ACU ACC ACA ACG Θρεονίνη	AAU AAC Ασπαραγίνη	AGU AGC Σερίνη	U
				AAA AAG Λυσίνη	AGA AGG Αργινίνη	C
						A
						G
G	G	GUU GUC GUA GUG Βαλίνη	GCU GCC GCA GCG Αλανίνη	GAU GAC Ασπαρτικό οξύ	GGU GGC GGA GGG Γλυκίνη	U
				GAA GAG Γλουταμικό οξύ		C
						A
						G

Τρίτο γράμμα

Εικόνα 14.5 Ο Γενετικός Κώδικας Η γενετική πληροφορία είναι κωδικοποιημένη στο mRNA σε μορφή κώδικα τριών γραμμάτων –κωδικονίων– που αποτελούνται από μονοφωσφορικά νουκλεοσίδια με τις βάσεις ουρακίλη (U), κυτοσίνη (C), αδενίνη (A) και γουανίνη (G) και διαβάζεται με κατεύθυνση 5' προς 3' στο mRNA. Για να αποκωδικοποιήσετε ένα κωδικόνιο, βρείτε το πρώτο γράμμα στην αριστερή στήλη, στη συνέχεια διαβάστε κατά μήκος στο πάνω μέρος το δεύτερο γράμμα, τέλος διαβάστε κάτω στη δεξιά στήλη το τρίτο γράμμα. Το αμινοξύ που καθορίζει το κωδικόνιο απεικονίζεται στην αντίστοιχη σειρά. Για παράδειγμα, το AUG κωδικοποιεί για μεθειονίνη και το GUA για βαλίνη.

Προτίμηση κωδικονίων

Codon	Human	Drosophila	E. coli
Arginine:			
AGA	22 %	10 %	1 %
AGG	23 %	6 %	1 %
CGA	10 %	8 %	4 %
CGC	22 %	49 %	39 %
CGG	14 %	9 %	4 %
CGU	9 %	18 %	49 %
Total number of arginine codons	2403	506	149
Total number of genes	195	46	149

Προτίμηση χρήσης κωδικονίων για το αμινοξύ αργινίνη σε άνθρωπο, δροσόφιλα και *Escherichia coli*.

https://www.blackwellpublishing.com/ridley/a-z/codon_bias.asp

B. Το μη τυπικό ζευγάρωμα κωδικονίου και αντικωδικονίου.

Το ζευγάρωμα στην τρίτη θέση του κωδικονίου **είναι λιγότερο αυστηρό**. Έτσι, είναι δυνατόν μια γουανοσίνη του tRNA να ζευγαρώσει με μια ουριδίνη του mRNA.

Επίσης, μια ινοσίνη του αντικωδικονίου (tRNA) είναι δυνατόν να ζευγαρώσει με μια ουριδίνη, μια κυτιδίνη ή μια αδενίνη του κωδικονίου (mRNA).

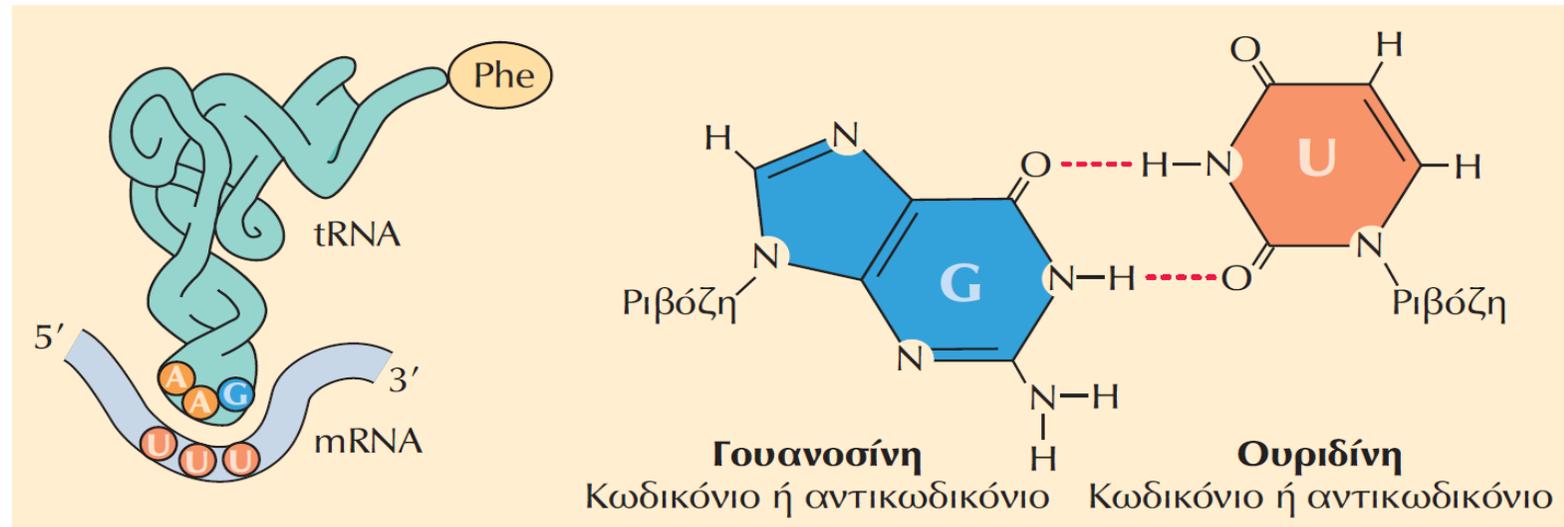
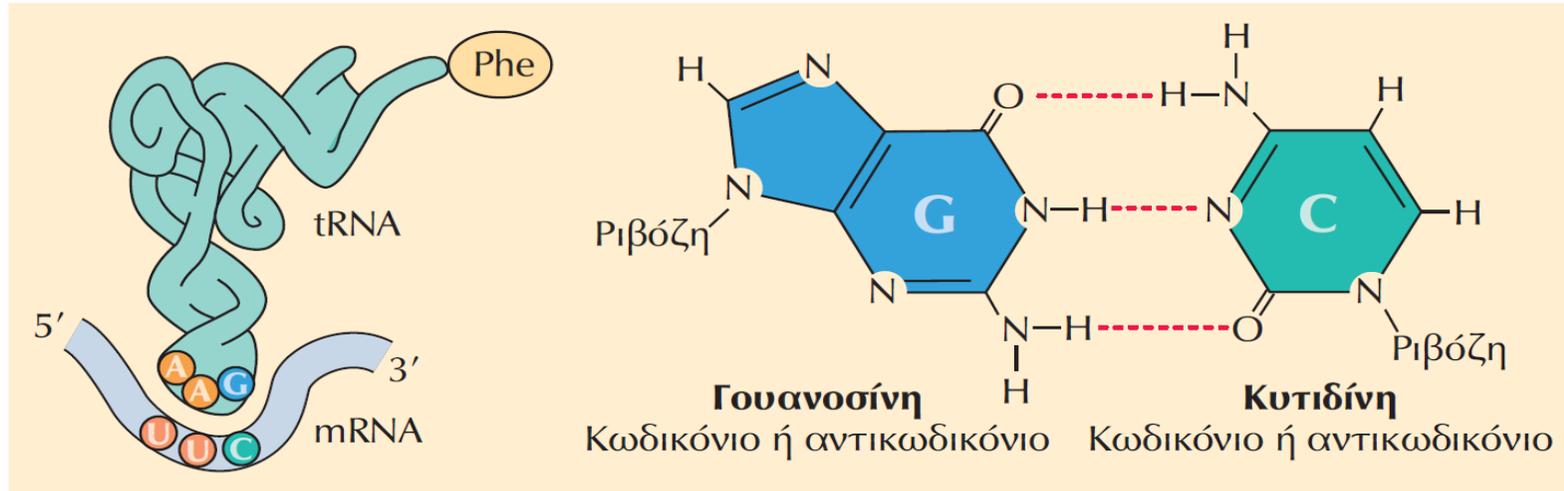
Στην εικόνα 8.3 παρουσιάζονται δύο σχετικά παραδείγματα ασυνήθιστου ζευγαρώματος βάσεων, χάρη στο οποίο

Το **tRNA της φαινυλαλανίνης** μπορεί να αναγνωρίσει τόσο το κωδικόνιο UUC όσο και το κωδικόνιο UUU, 8.3 (A),

ενώ

Το **tRNA της αλανίνης** μπορεί να αναγνωρίσει τρία κωδικόνια: το GCU, το GCC και το GCA, 8.3 (B).

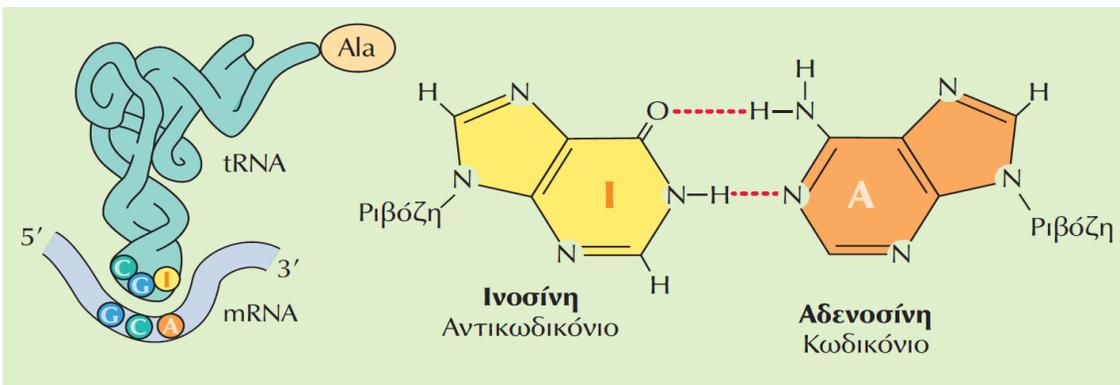
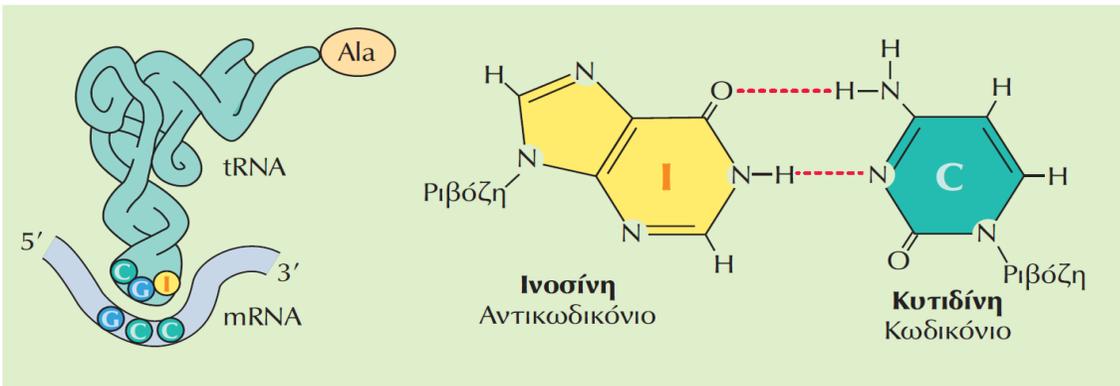
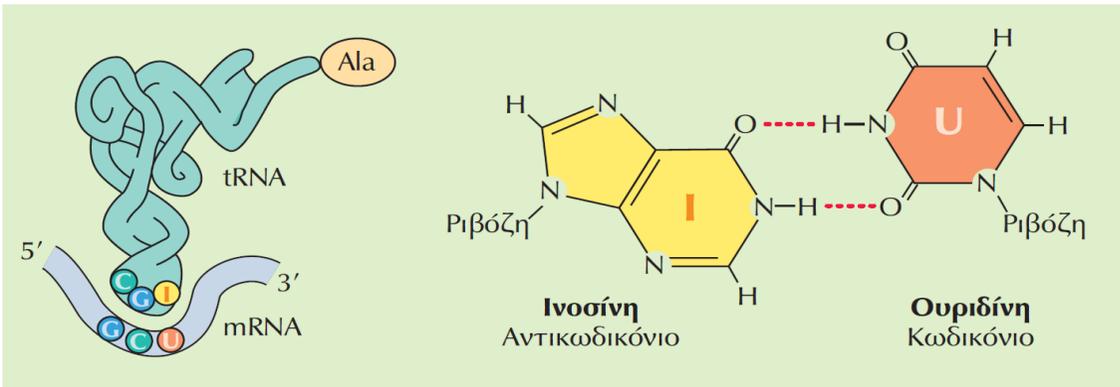
Ζευγάρωμα του tRNA της φαινυλαλανίνης



Εικόνα 8.3 (Α)

Το tRNA της φαινυλαλανίνης (AAG) μπορεί να αναγνωρίσει τόσο το κωδικόνιο UUC, όσο και το κωδικόνιο UUU.

Ζευγάρισμα του tRNA της αλανίνης



ΕΙΚΟΝΑ 8.3 (B) Το μη τυπικό ζευγάρισμα κωδικονίου και αντικωδικονίου.

Το tRNA της αλανίνης μπορεί να αναγνωρίσει τρία κωδικόνια: το GCU, το GCC και το GCA.

Συμπληρωματικότητα αντικωδικονίου (tRNA)-κωδικονίου (mRNA) για την τρίτη βάση

tRNA 5' βάση αντικωδικονίου	mRNA 3' αντίστοιχη βάση κωδικονίου
A	U , C, G, or (A)
C	G
G	C or U
U	A , G, U, or (C)
I	A, C, or U
k^2C	A
xm^5s^2U , xm^5Um , Um , xm^5U	A or (G)
xo^5U	U, A, or G

Τα ζεύγη βάσεων Watson-Crick εμφανίζονται με έντονη γραφή. Οι παρενθέσεις υποδηλώνουν δεσμεύσεις που λειτουργούν, αλλά ευνοούνται λιγότερο. Ένα αρχικό x υποδηλώνει παράγωγα (γενικά) της βάσης που ακολουθεί.

https://en.wikipedia.org/wiki/Wobble_base_pair

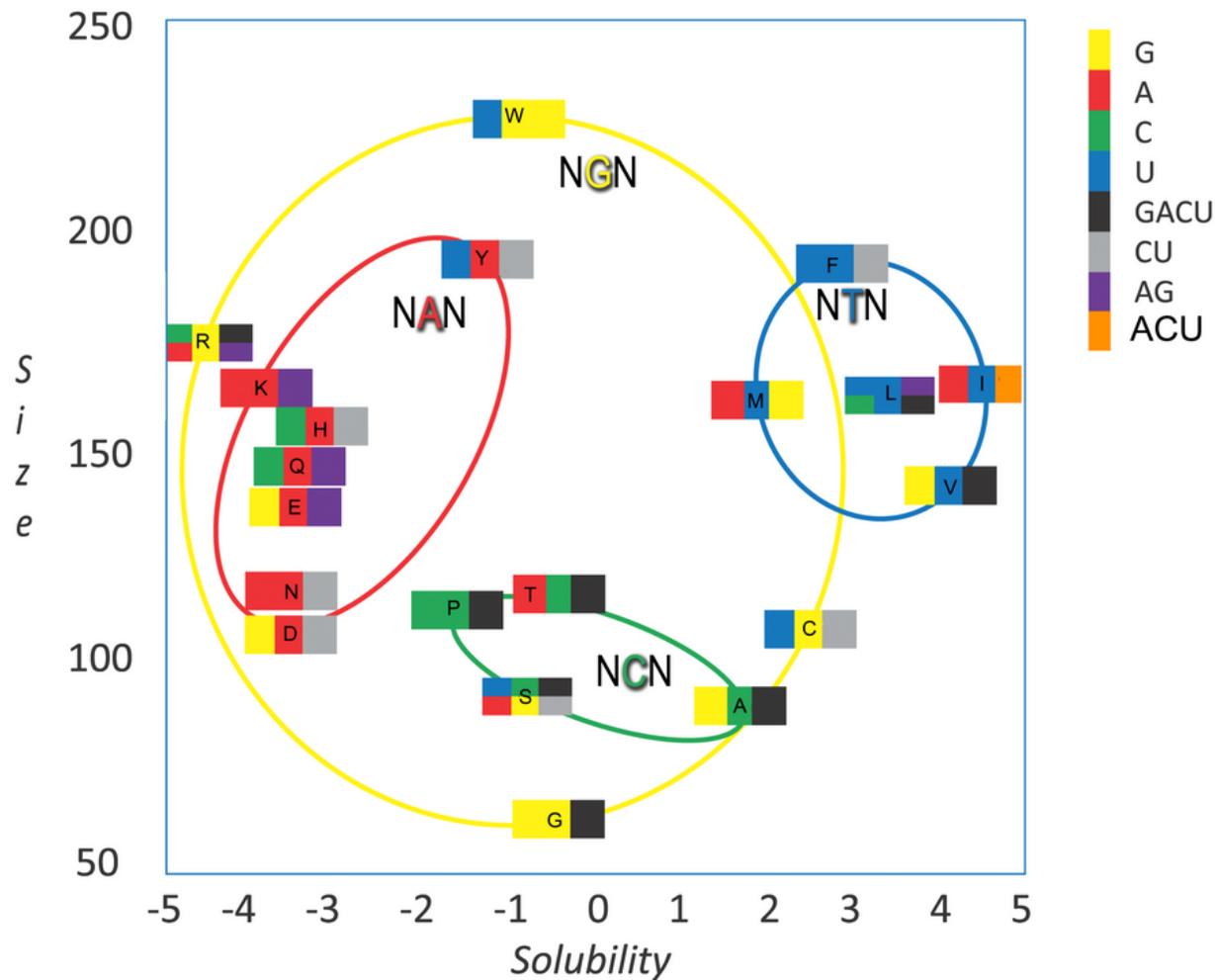
Συμπέρασμα από την:

A. Πολλαπλότητα αντικωδικονίων (tRNA) για αμινοξέα.

B. Το μη τυπικό ζευγάρωμα κωδικονίου και αντικωδικονίου.

Η μεγάλη περίσσεια αντικωδικονίων στο tRNA για κάθε κωδικόνιο του mRNA ενισχύεται παραπάνω από το μη τυπικό ζευγάρωμα κωδικονίου και αντικωδικονίου.

Υπάρχει πλεόνασμα αντικωδικονίων για κάθε οργανισμό, γιατί;



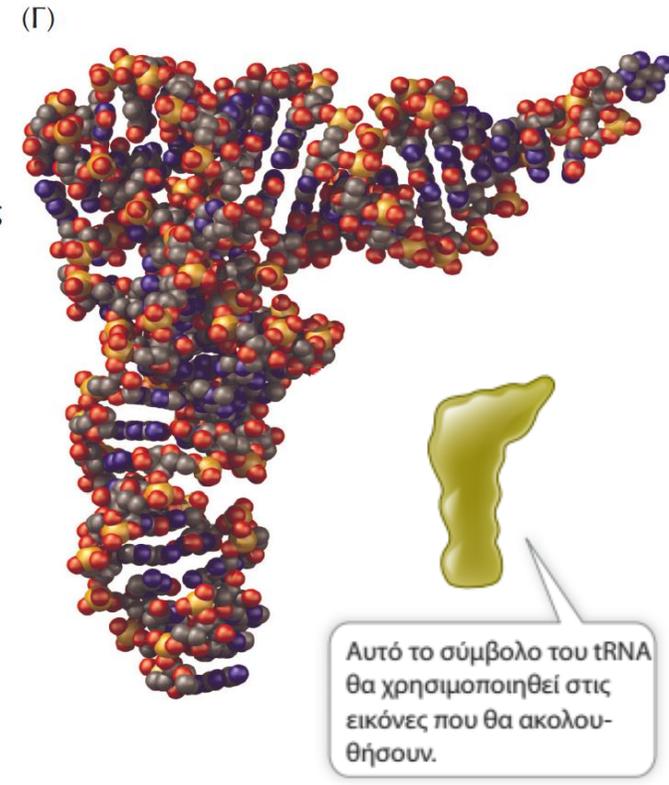
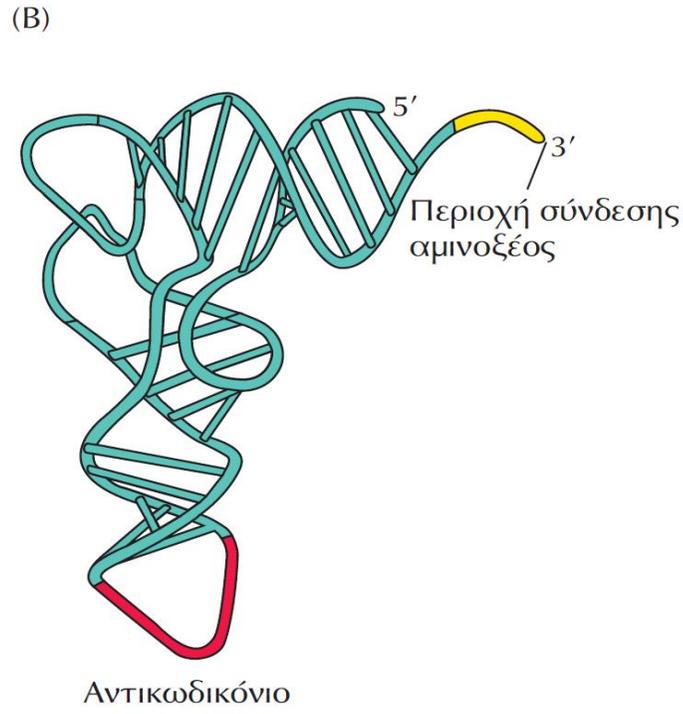
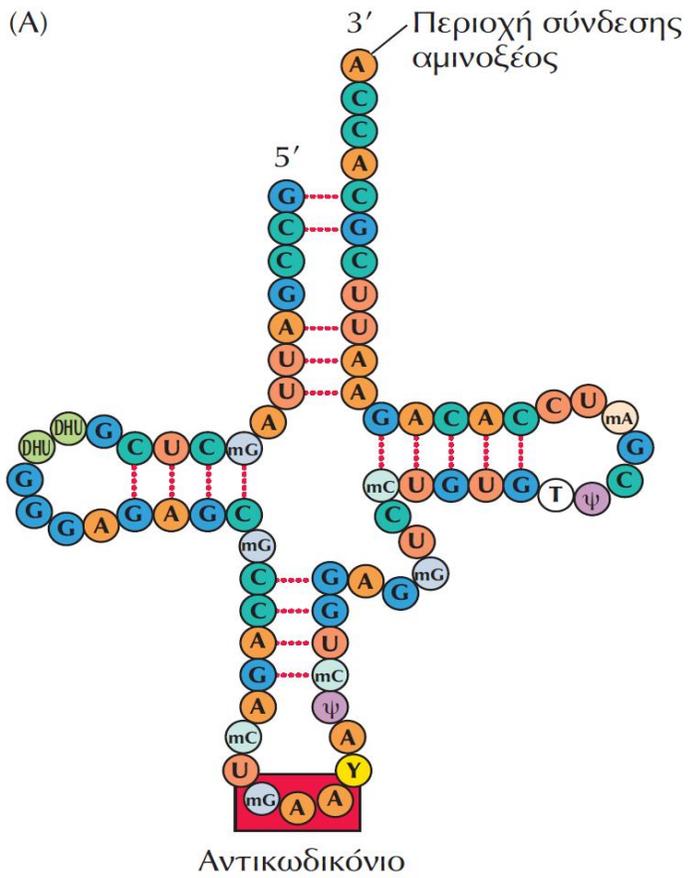
Για να προστατεύεται η δομή και λειτουργία της προκύπτουσας πρωτεΐνης από μεταλλάξεις

https://en.wikipedia.org/wiki/Codon_degeneracy

4.3. Μεταφορικά RNA (tRNA)

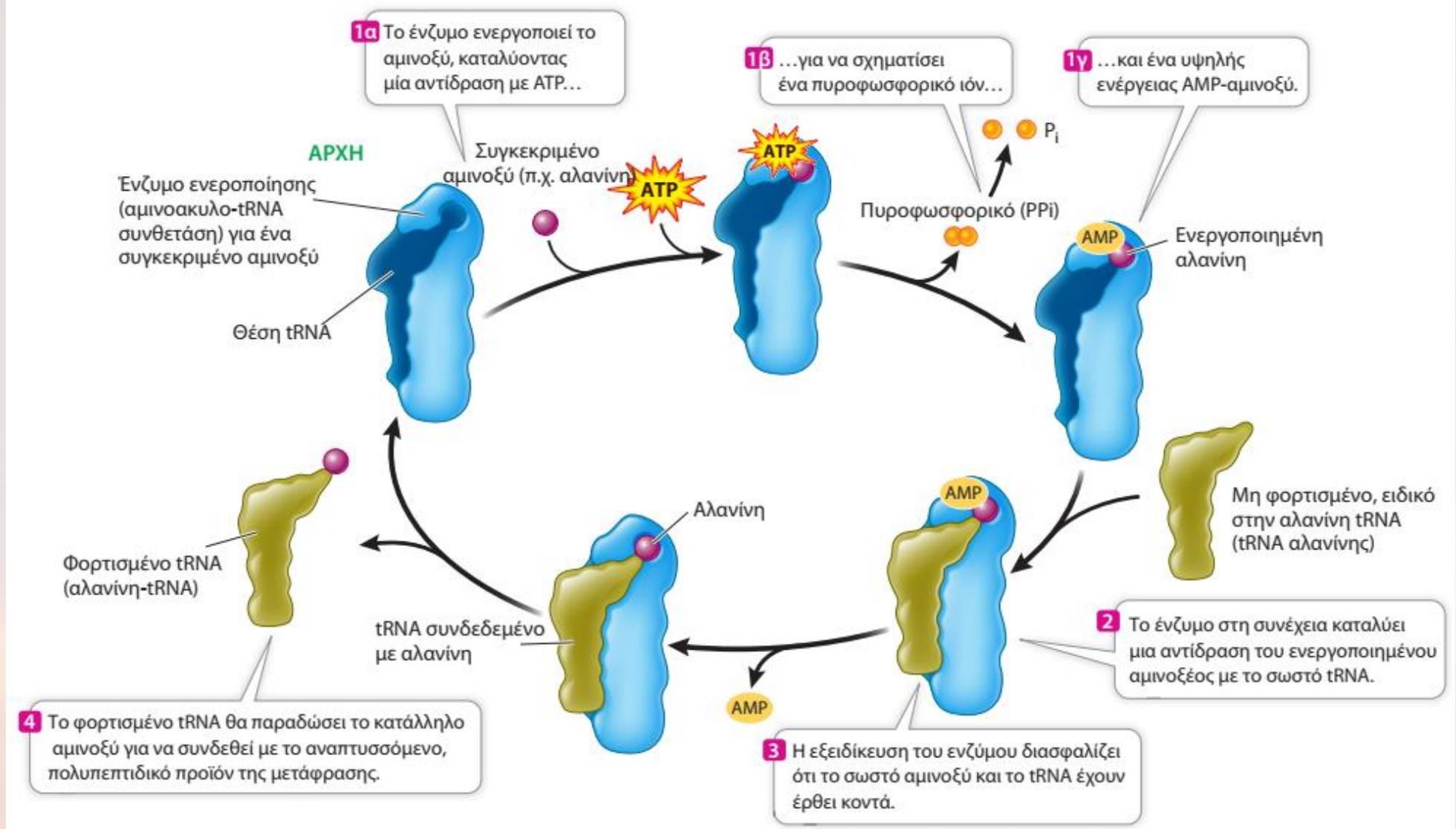
Γενικά χαρακτηριστικά

1. Υπάρχει ποικιλία tRNA που παρεμβάλλονται ανάμεσα στα κωδικόνια του mRNA και το αντίστοιχο αμινοξύ (μόριο προσαρμογέας).
2. Το κάθε tRNA αποτελείται από 70-80 νουκλεοτίδια.
3. Κοινή λειτουργία \Rightarrow παρόμοια δομή, χαρακτηριστική δευτεροταγή διαμόρφωση σε σχήμα τριφυλλιού, τριτοταγή δομή σε σχήμα «Γ» απαραίτητη για τη σωστή πρόσδεση πάνω στο ριβόσωμα.
4. Δύο διακριτές περιοχές, το 3' άκρο (CCA) όπου δεσμεύεται ομοιοπολικά το αμινοξύ,
5. Ο βρόχος του αντικωδικονίου που είναι και η θέση αλληλεπίδρασης με το mRNA (κωδικόνιο).
6. Η πρόσδεση των αμινοξέων καταλύεται από τις αμινοάκυλο tRNA συνθετάσες, με εξειδίκευση για συγκεκριμένα αμινοξέα. Ένζυμα με υψηλή εξειδίκευση και υπάρχει και μηχανισμός ελέγχου.
7. Το ζευγάρωμα των βάσεων κωδικονίου-αντικωδικονίου είναι λιγότερο αυστηρό για την τρίτη βάση (ταλάντωση).
8. Πλεονασμός tRNA για αντικωδικόνια.
9. Παρουσία τροποποιημένων βάσεων σε συγκεκριμένες θέσεις στα tRNA.

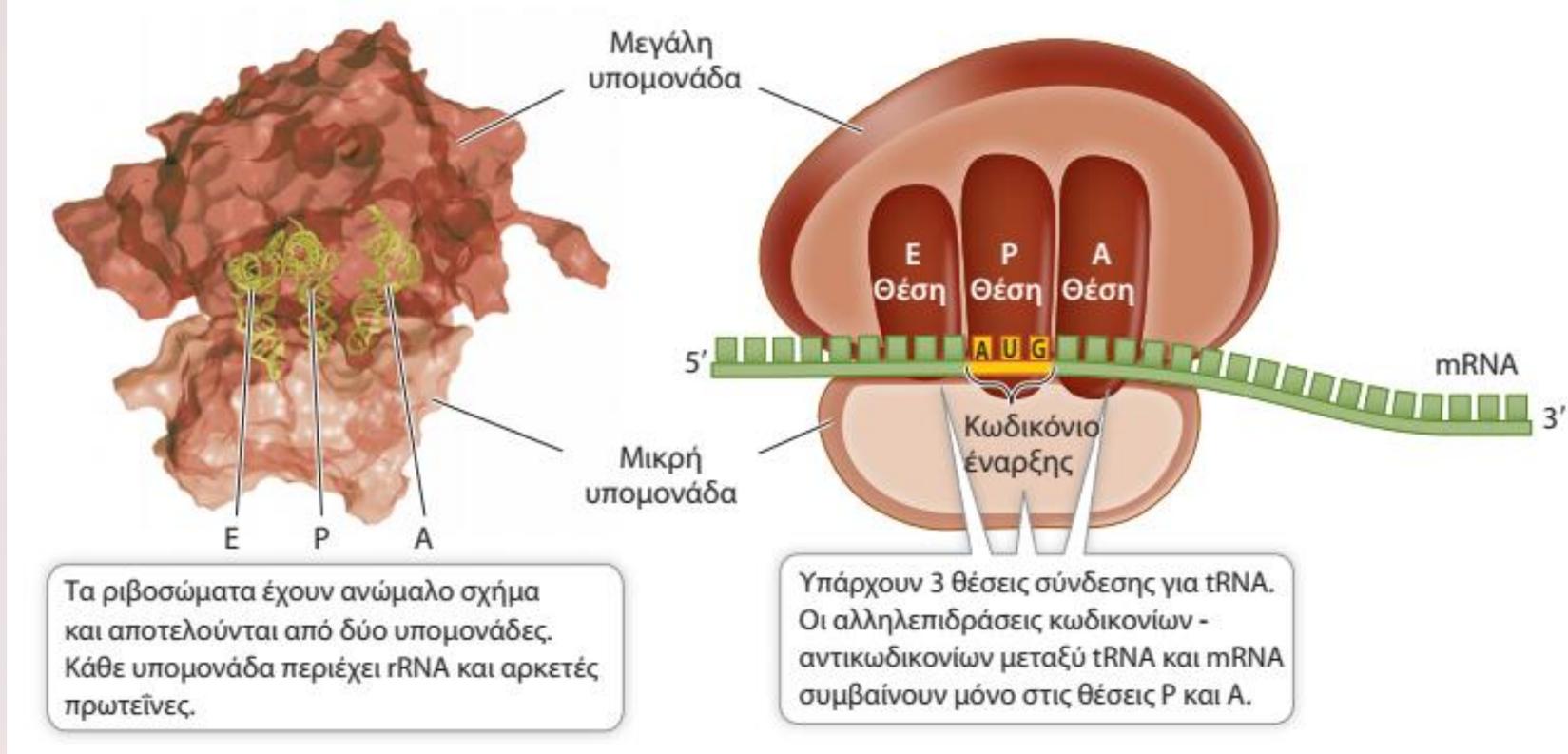


ΕΙΚΟΝΑ 8.1 Η δομή των tRNA.

Παρουσιάζεται η δομή του tRNA της φαινυλαλανίνης στον σακχαρομύκητα. (A) Το tRNA απεικονίζεται στη μορφή του «τριφυλλιού» και υποδεικνύονται οι βάσεις που ζευγαρώνουν μεταξύ τους. **Οι τροποποιημένες βάσεις** συμβολίζονται με mG (μεθυλογουανοσίνη), mC (μεθυλοκυτιδίνη), DHU (διυδροουριδίνη), T (ριβοθυμιδίνη), Y (μια τροποποιημένη πουρίνη, συνήθως αδενοσίνη) και ψ (ψευδοουριδίνη). (B) Το tRNA απεικονίζεται στην αναδιπλωμένη σε σχήμα Γ μορφή του. (Γ) Χωροπληρωτικό μοντέλο του tRNA. (Γ, ευγενική προσφορά του Dan Richardson.)



Εικόνα 14.11 Φόρτιση ενός Μορίου tRNA Η αμινοακυλο-tRNA συνθετάση ενεργοποιεί ένα συγκεκριμένο αμινοξύ και φορτίζει ένα συγκεκριμένο tRNA με αυτό.



Εικόνα 14.12 Δομή Ριβοσώματος Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από μία μεγάλη και μία μικρή υπομονάδα. Οι υπομονάδες παραμένουν διαχωρισμένες όταν δε χρησιμοποιούνται για πρωτεϊνοσύνθεση.

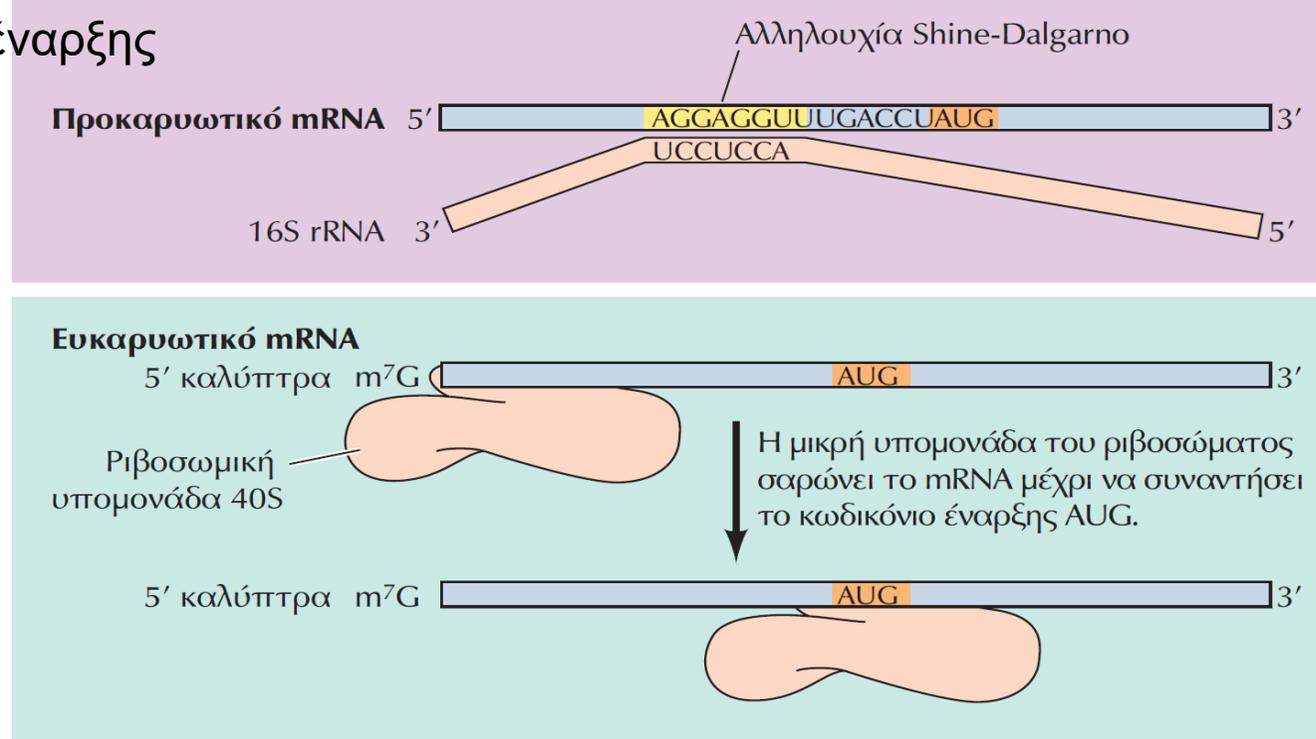
Ε: Το ριβόσωμα αποτελείται από αρκετές δεκάδες πρωτεϊνών και αρκετά μόρια RNA τα οποία συγκρατούνται μεταξύ τους **μη ομοιοπολικά**. Ποιες είναι οι χημικές δυνάμεις που συμμετέχουν; Πώς μπορούν να διακοπούν οι δυνάμεις αυτές και να ξεχωρίσουν τα μόρια μεταξύ τους;

4.4. Η οργάνωση των mRNA και η έναρξη της μετάφρασης

Γενικά χαρακτηριστικά

1. Υπάρχουν μη μεταφραζόμενες περιοχές στο 5' (5' UTR) και στο 3' άκρο (3' UTR).
2. (A). Τα ευκαρυωτικά mRNA κωδικοποιούν συνήθως μία πολυπεπτιδική αλυσίδα (μονοσιστρονικά). (B). Τα προκαρυωτικά mRNA μπορούν να κωδικοποιούν πολλές πρωτεΐνες στο ίδιο mRNA (πολυσιστρονικά mRNA). Οι πρωτεΐνες συντίθενται ανεξάρτητα ή και ταυτόχρονα η μία της άλλης.
3. Η μετάφραση ξεκινά από το αμινοξύ Met (fMet στα προκαρυωτικά) το οποίο κωδικοποιείται από το AUG (ή σπάνια από Val: GUG).
4. Υπάρχει διαφορά στη θέση και τα σήματα έναρξης της πρωτεϊνοσύνθεσης (μετάφρασης) στο 5' άκρο, μεταξύ προ- και ευκαρυωτικών. (A). Στα προκαρυωτικά mRNA υπάρχει η αλληλουχία αλληλεπίδρασης με το rRNA 16S της μικρής υπομονάδας, που βρίσκεται και εσωτερικά των πολυσιστρονικών mRNA. (B). Στα ευκαρυωτικά μονοσιστρονικά mRNA υπάρχει η αλληλουχία «καλύπτρα 7 μέθυλο γουανοσίνης» στο 5' άκρο, στην οποία προσδένονται τα ριβοσώματα. Κινούνται κατόπιν καθοδικά έως ότου συναντήσουν ένα κωδικόνιο έναρξης AUG το οποίο, για να ξεκινήσει η μετάφραση, πρέπει να περιβάλλεται από κατάλληλες αλληλουχίες.
5. Υπό συνθήκες στρες έχει παρατηρηθεί μετάφραση από το εσωτερικό ιικών και κύτταρικών mRNA. Ο μηχανισμός παραμένει άγνωστος.

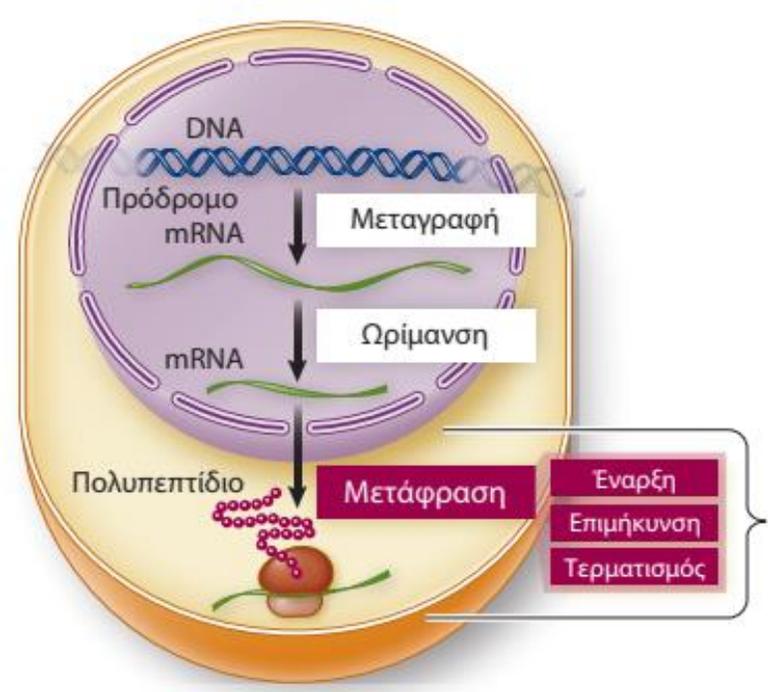
ΕΙΚΟΝΑ 8.8 Τα σήματα έναρξης της μετάφρασης.



Στους **προκαρυωτικούς** οργανισμούς χαρακτηρίζονται από την παρουσία της αλληλουχίας Shine-Dalgarno, η οποία προηγείται του κωδικονίου έναρξης AUG. Μέσω δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται ανάμεσα στις βάσεις της αλληλουχίας Shine-Dalgarno και τις συμπληρωματικές προς αυτές βάσεις μιας αλληλουχίας κοντά στο 3' άκρο του 16S rRNA, επιτυγχάνεται η σωστή διεύθυνση του mRNA σε σχέση με το ριβόσωμα, προκειμένου να ξεκινήσει η πρωτεϊνοσύνθεση.

Στα **ευκαρυωτικά** κύτταρα, η πρόσδεση της ριβοσωμικής υπομονάδας 40S στο mRNA επιτυγχάνεται μέσω αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσει με την καλύπτρα 7-μεθυλογουανοσίνης του 5' άκρου. Ακολούθως, η μικρή ριβοσωμική υπομονάδα σαρώνει το mRNA μέχρι να συναντήσει το κωδικόνιο έναρξης AUG.

4.5. Επιμήκυνση της πρωτεϊνικής αλυσίδας στα ριβοσώματα

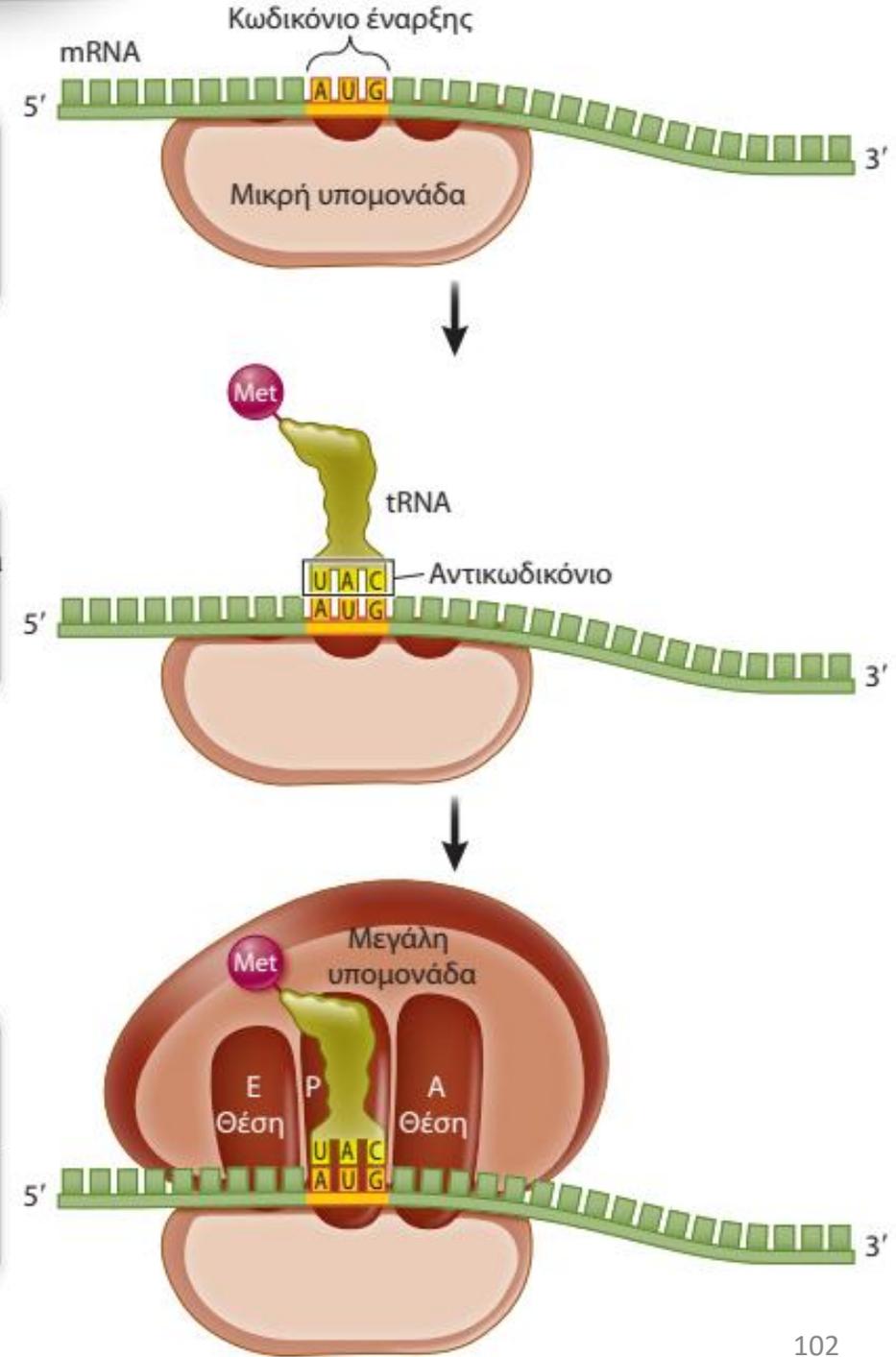


Έναρξη

1 Η μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται στην αλληλουχία αναγνώρισής της στο mRNA.

2 Το tRNA, φορτισμένο με μεθειονίνη, συνδέεται με το κωδικόνιο «έναρξης», συμπληρώνοντας το σύμπλοκο έναρξης.

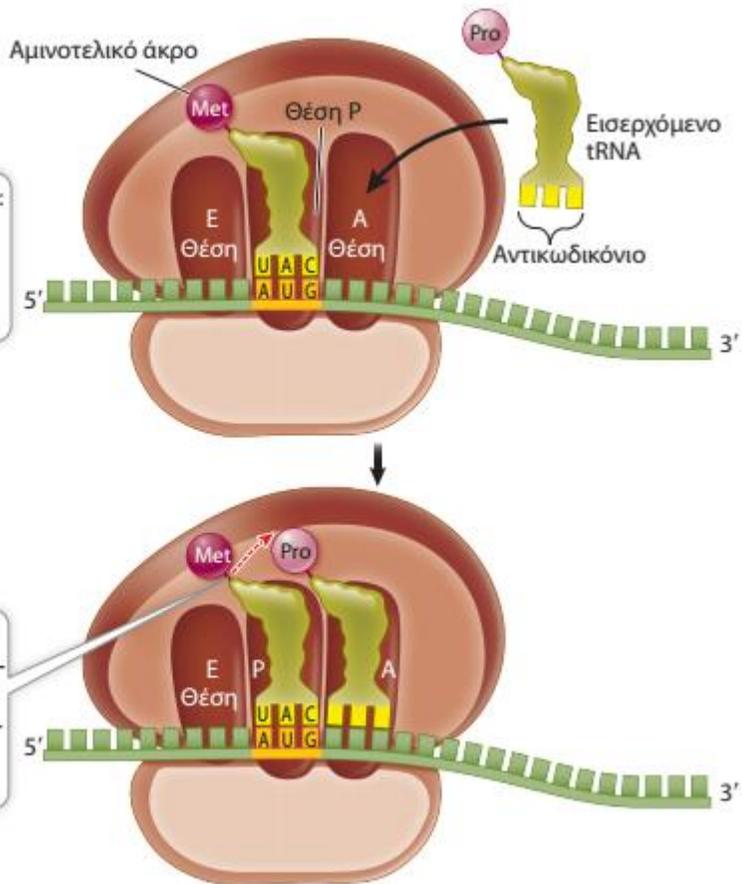
3 Η μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος ενώνεται με το σύμπλοκο έναρξης, με tRNA φορτισμένο με μεθειονίνη που τώρα βρίσκεται στη θέση P.



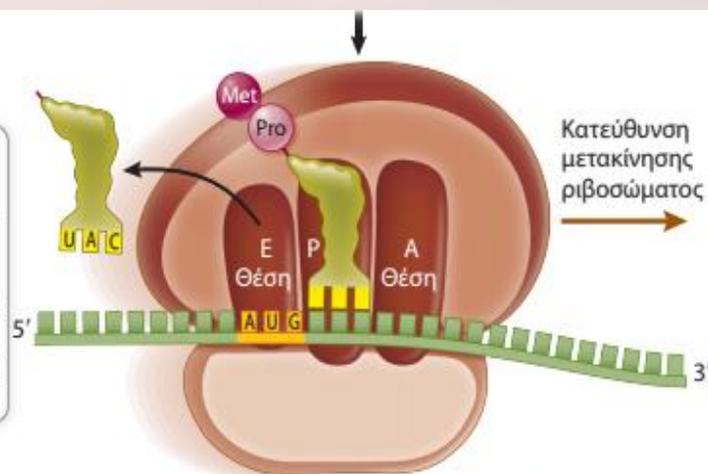
Εικόνα 14.13 Η Έναρξη της Μετάφρασης

Η μετάφραση ξεκινά με τη δημιουργία του συμπλόκου έναρξης. Στα προκαρυωτικά κύτταρα, η μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται με την αλληλουχία Shine-Dalgarno για να ξεκινήσει η διαδικασία, ενώ στα ευκαρυωτικά κύτταρα συνδέεται με την 5' καλύπτρα.

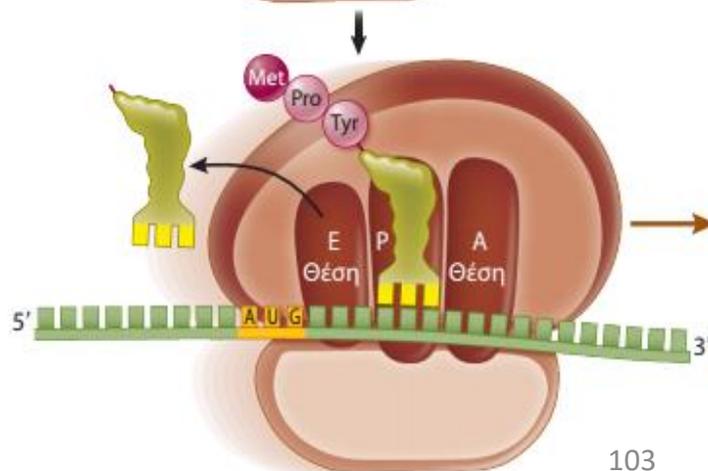
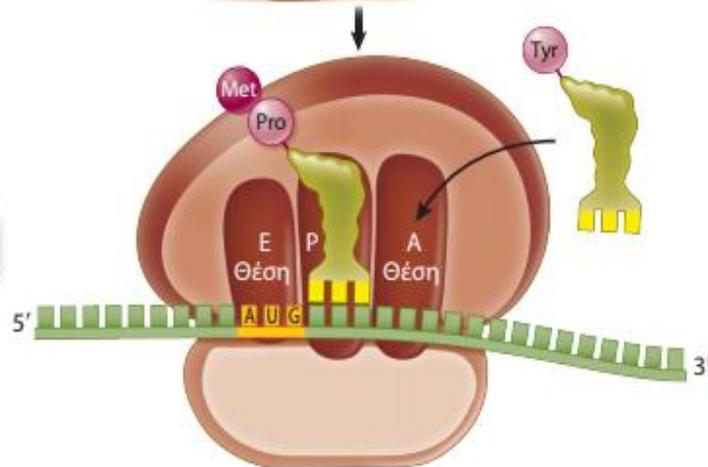
Επιμήκυνση



3 Επιμήκυνση: ένα ελεύθερο tRNA κινείται στη θέση Ε και στη συνέχεια ελευθερώνεται, καθώς το ριβόσωμα αλλάζει κατά ένα κωδικόνιο έτσι ώστε η αναπτυσσόμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα μετακινείται στη θέση Ρ.



4 Η διαδικασία επαναλαμβάνεται.



Εικόνα 14.14 Η Επιμήκυνση της Μετάφρασης

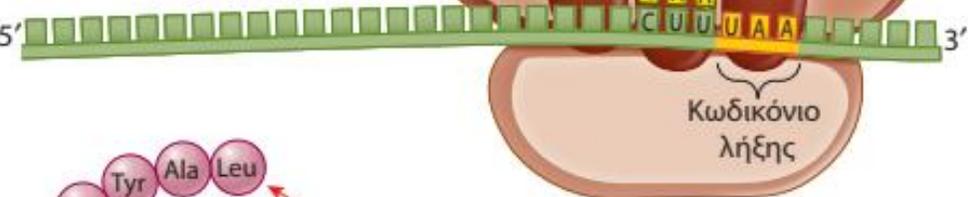
Η πολυπεπτιδική αλυσίδα επιμηκώνεται καθώς μεταφράζεται το mRNA.

Τερματισμός

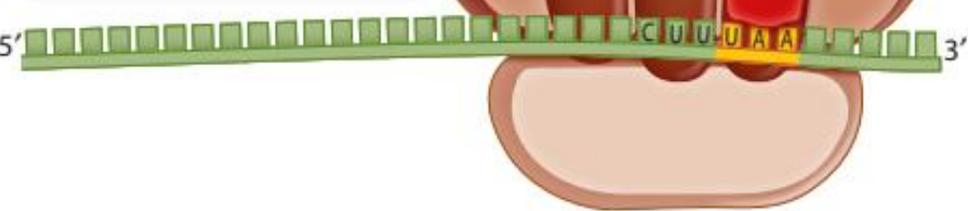
Αμινοτελικό άκρο

Παράγοντας απελευθέρωσης

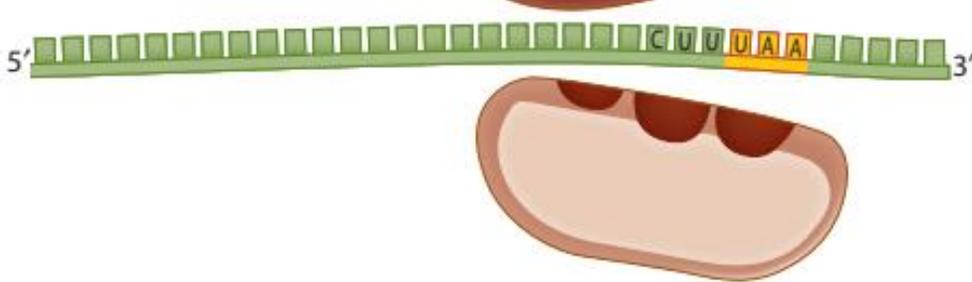
1 Ένας παράγοντας απελευθέρωσης συνδέεται με το σύμπλεγμα όταν ένα κωδικόνιο τερματισμού εισέρχεται στη θέση A.



2 Ο παράγοντας απελευθέρωσης αποσυνδέει το πολυπεπτίδιο από το tRNA στη θέση P.



3 Τα υπόλοιπα συστατικά (mRNA και ριβοσωμικές υπομονάδες) αποχωρίζονται.



Εικόνα 14.15 Ο Τερματισμός της Μετάφρασης

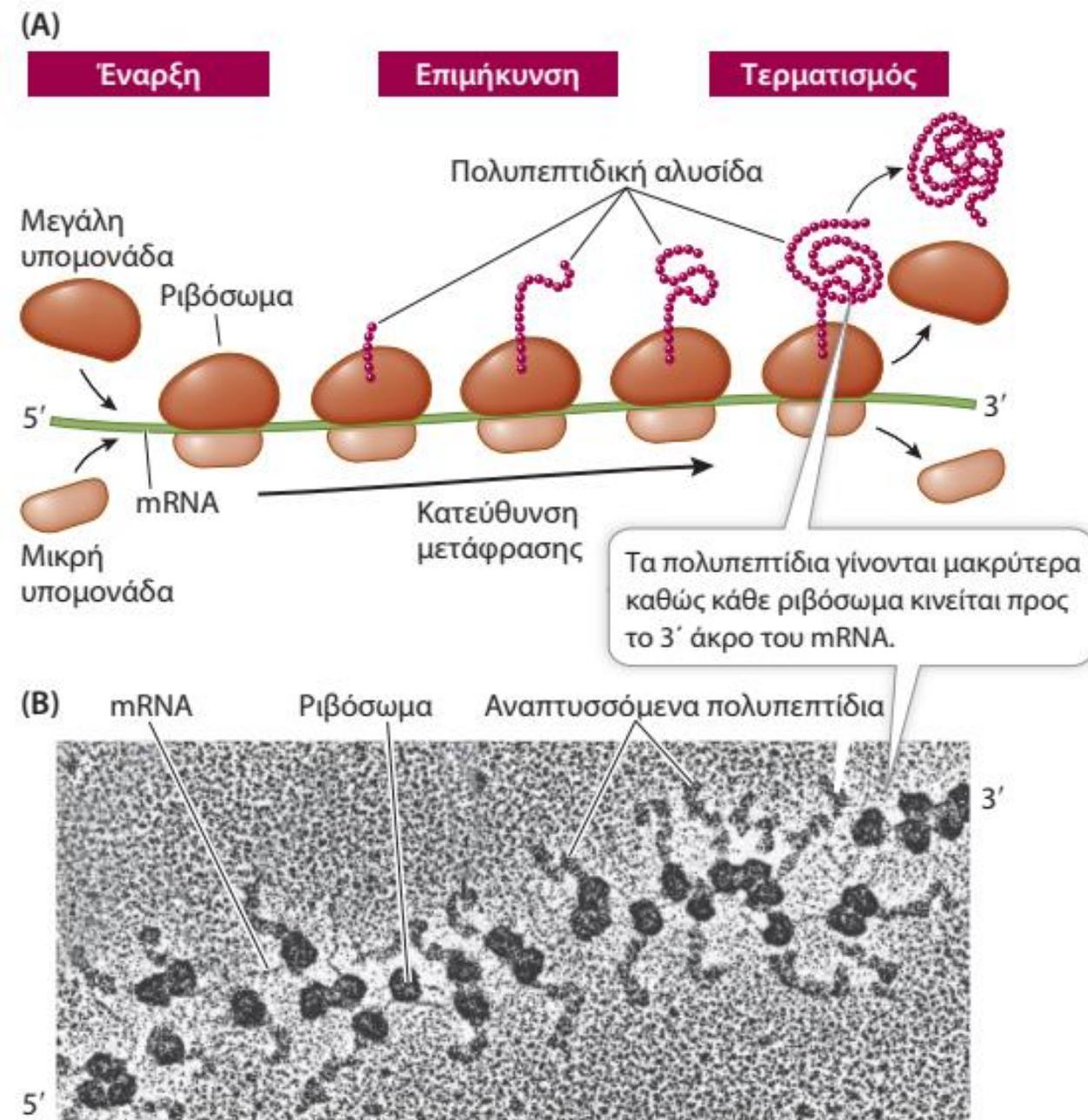
Η μετάφραση τερματίζεται όταν η θέση A του ριβοσώματος συναντά ένα κωδικόνιο τερματισμού στο mRNA.

E: Τι συμβαίνει όταν δεν υπάρχει κωδικόνιο τερματισμού;

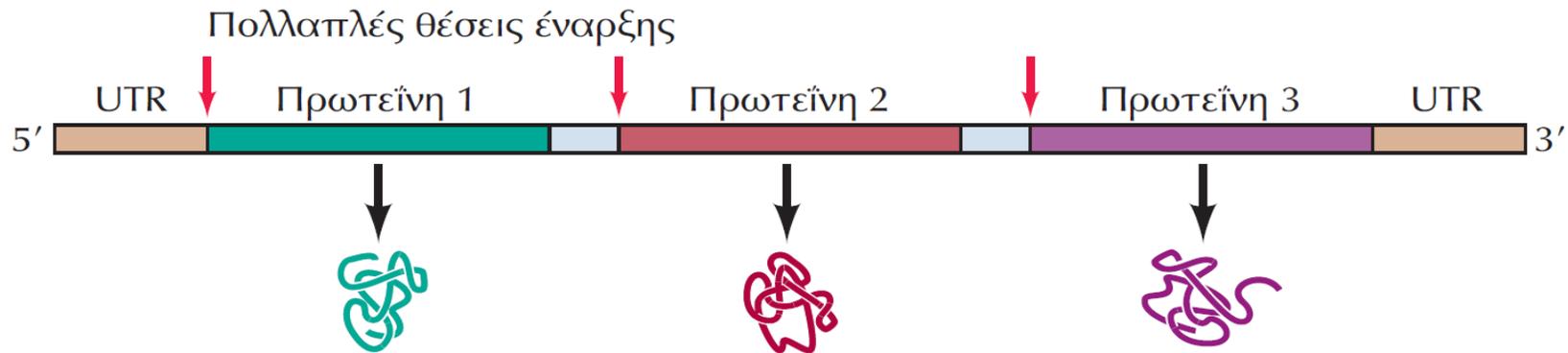
Εικόνα 14.16 Ένα Πολύσωμα

(A) Ένα πολύσωμα αποτελείται από πολλαπλά ριβοσώματα και από τις αναπτυσσόμενες πολυπεπτιδικές τους αλυσίδες που κινούνται κατά μήκος ενός μορίου mRNA.

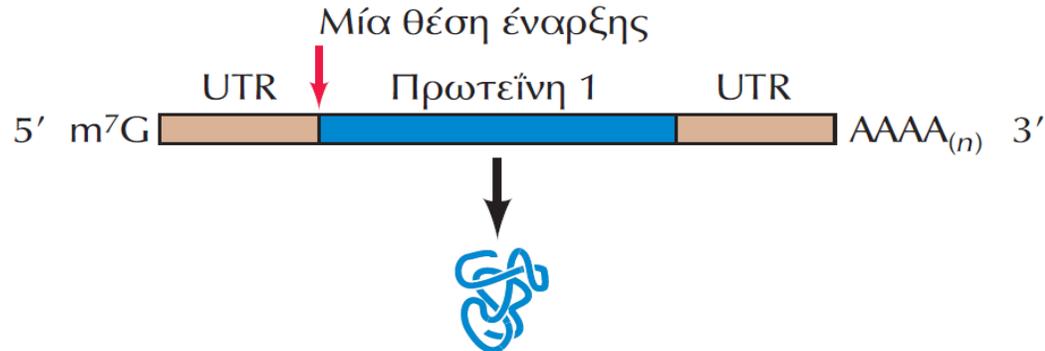
(B) Μια φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου από ένα πολύσωμα.



Προκαρυωτικό mRNA



Ευκαρυωτικό mRNA

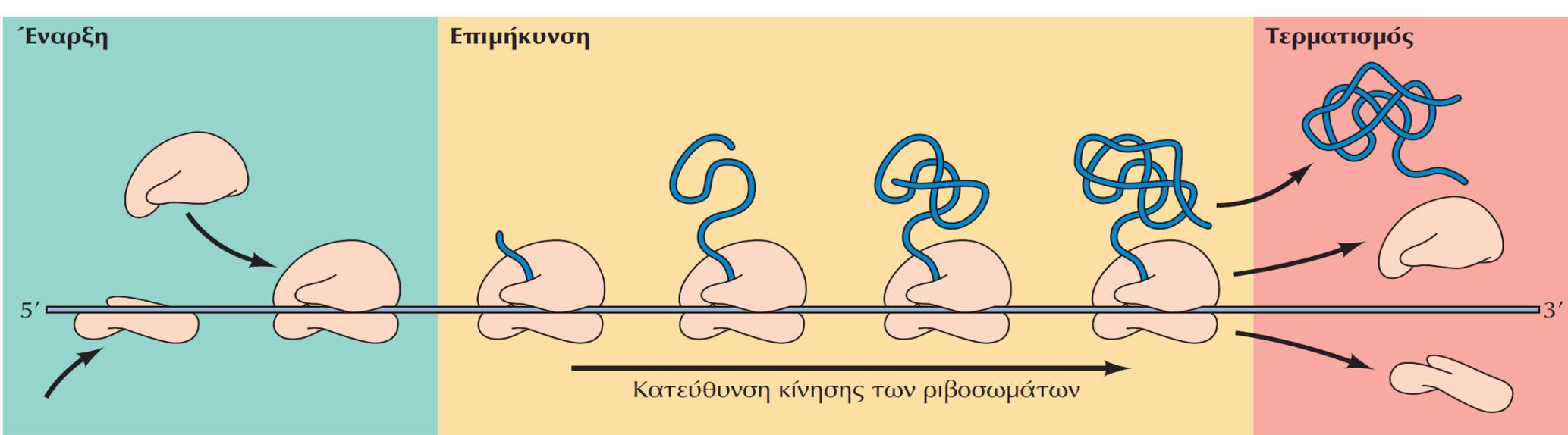


Η οργάνωση των προκαρυωτικών και των ευκαρυωτικών mRNA.

Τόσο τα προκαρυωτικά, όσο και τα ευκαρυωτικά mRNA φέρουν μη μεταφραζόμενες περιοχές (UTR) στο 5' και στο 3' άκρο τους. Τα ευκαρυωτικά mRNA φέρουν επίσης μία καλύπτρα 7-μεθυλογουανοσίνης (m⁷G) στο 5' άκρο τους και μία ουρά πολυ(A) στο 3' άκρο τους. Τα προκαρυωτικά mRNA είναι συχνά πολυσιστρονικά, κωδικοποιούν δηλαδή πολλαπλές πρωτεΐνες, καθεμία από τις οποίες μεταφράζεται από ένα ανεξάρτητο ανοικτό αναγνωστικό πλαίσιο. Με ελάχιστες εξαιρέσεις, τα ευκαρυωτικά mRNA είναι μονοσιστρονικά, κωδικοποιούν δηλαδή ένα μόνο πολυπεπτίδιο.

πίνακας 14.2 Διαφορές στην Έκφραση μεταξύ Προκαρυωτικών και Ευκαρυωτικών γονιδίων

Χαρακτηριστικό	Προκαρυωτικά	Ευκαρυωτικά
Θέση όπου γίνεται μεταγραφή και μετάφραση	Ταυτόχρονα στο κυτταρόπλασμα	Μεταγραφή στον πυρήνα και μετάφραση στο κυτταρόπλασμα
Δομή γονιδίου	Η αλληλουχία του DNA διαβάζεται με την ίδια σειρά, όπως η αλληλουχία των αμινοξέων	Εσώνια που δεν κωδικοποιούν μέσα στην κωδική αλληλουχία
Τροποποίηση του mRNA μετά την αρχική μεταγραφή αλλά πριν τη μετάφραση	Συνήθως καμία	Τα εσώνια κόβονται. Προστίθεται καλύπτρα στο 5' άκρο και η 3' πολύ (A) ουρά



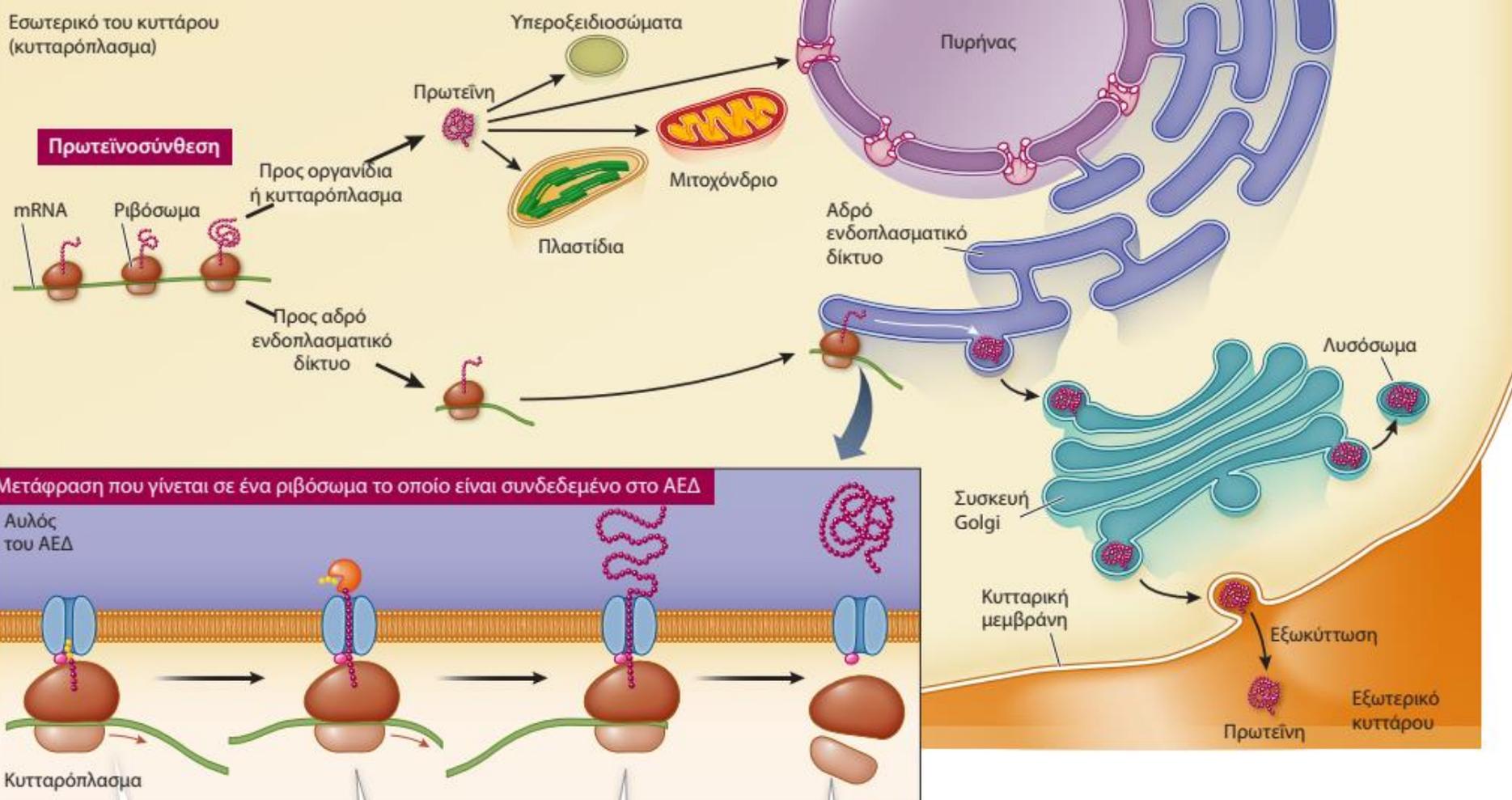
Το ριβόσωμα προσδένεται στο κωδικόνιο έναρξης του mRNA.

Η πολυπεπτιδική αλυσίδα επιμηκύνεται με την προσθήκη αμινοξέων.

Όταν το ριβόσωμα συναντήσει ένα κωδικόνιο τερματισμού, το ολοκληρωμένο πολυπεπτιδίο απελευθερώνεται και οι δύο υπομονάδες του ριβοσώματος αποσπώνται από το mRNA.

ΕΙΚΟΝΑ 8.9 Σχηματική αναπαράσταση των τριών σταδίων της διαδικασίας της μετάφρασης.

Περισσότερα για την πρωτεϊνοσύνθεση στο μάθημα της Βιοχημείας στο μέλλον...



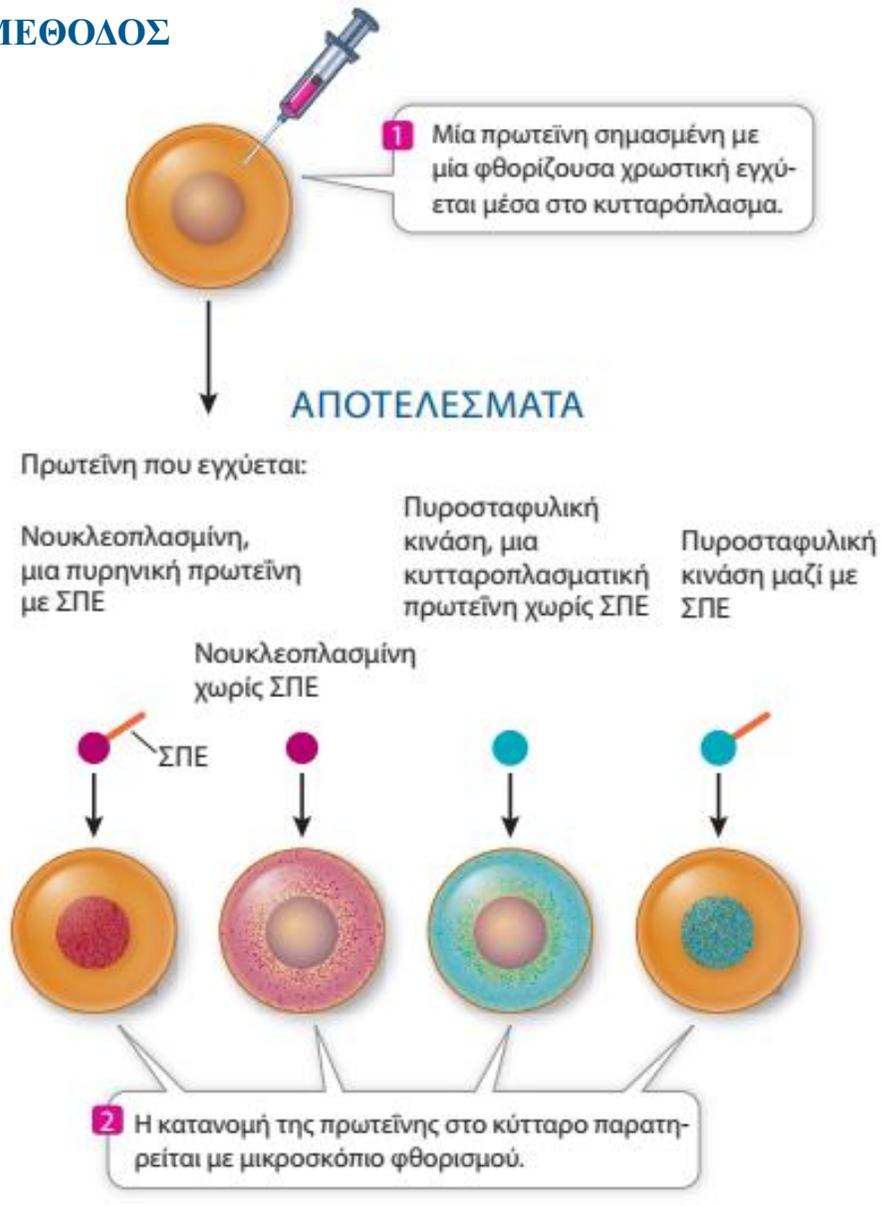
1 Το πολυπεπτίδιο συνδέεται σε ένα σωματίδιο αναγνώρισης μηνύματος και μετά συνδέονται μαζί σε έναν πρωτεϊνικό υποδοχέα στη μεμβράνη του ΑΕΔ.

2 Η αλληλουχία σηματοδότησης απομακρύνεται από ένα ένζυμο στον αυλό του ΑΕΔ.

3 Το πολυπεπτίδιο συνεχίζει να επιμηκύνεται μέχρι το τέλος της μετάφρασης.

4 Το ριβόσωμα ελευθερώνεται. Η πρωτεΐνη αναδιπλώνεται μέσα στο ΑΕΔ.

Εικόνα 14.17 Προορισμοί Νεοσχηματιζόμενων Πολυπεπτιδίων σε ένα Ευκαρυωτικό Κύτταρο Αλληλουχίες σηματοδότησης πάνω σε νεοσχηματιζόμενα πολυπεπτίδια συνδέονται σε ειδικές πρωτεΐνες-υποδοχείς στην εξωτερική μεμβράνη των οργανιδίων στο οποίο



Εικόνα 14.18 Ελέγχοντας το Σήμα

Πρωτότυπη Εργασία: Dingwall, C. et al. 1988. The nucleoplasmic nuclear location sequence is larger and more complex than that of SV-40 large T antigen. *Journal of Cell Biology* 107: 841–849.

Α. Ο Ρίσαρντσον και οι συνεργάτες του εκτέλεσαν μια σειρά πειραμάτων για να δοκιμάσουν κατά πόσο το **σήμα πυρηνικού εντοπισμού (ΣΠΕ)** είναι το μόνο που απαιτείται για να καθοδηγήσει μία πρωτεΐνη στον πυρήνα.

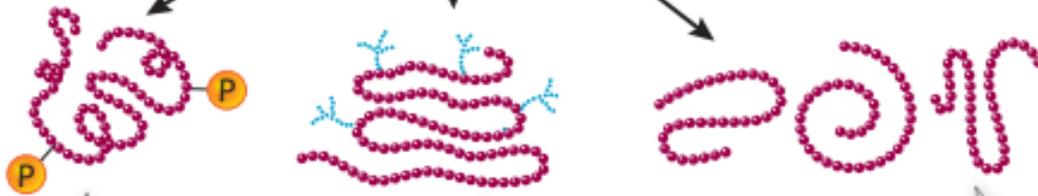
ΥΠΟΘΕΣΗ ▶ Ένα ΣΠΕ είναι απαραίτητο για την είσοδο μιας πρωτεΐνης στον πυρήνα.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ ▶ Το ΣΠΕ είναι απαραίτητο για την είσοδο μιας πυρηνικής πρωτεΐνης και είναι αρκετό για να κατευθύνει μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη μέσα στον

πυρήνα.

Μετάφραση

Μετα-μεταφρα-
στική επεξεργασία



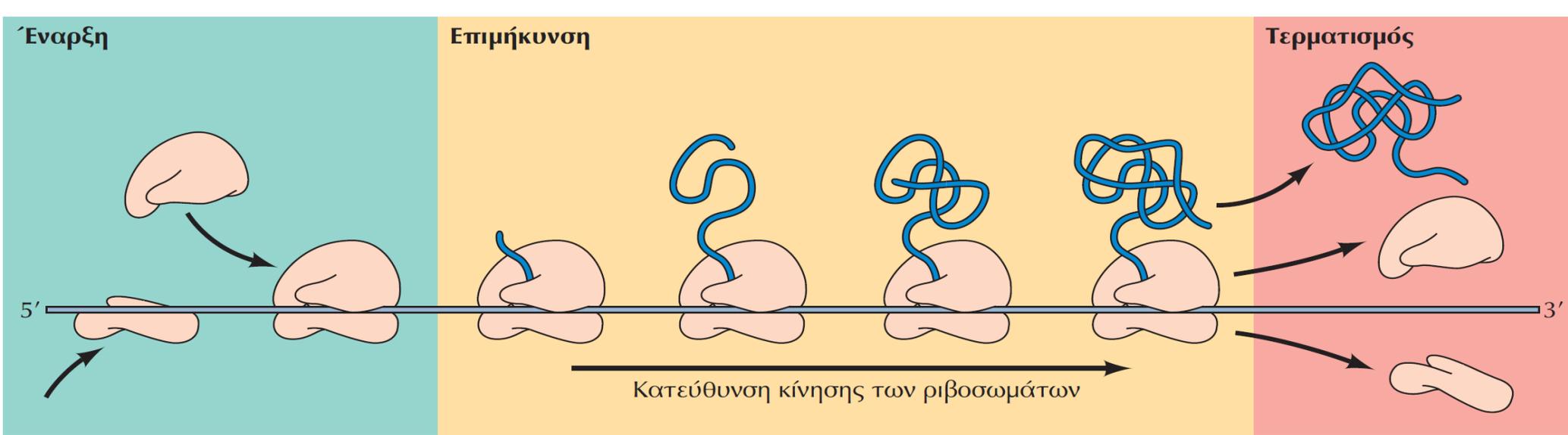
Φωσφορυλίωση: Οι φωσφο-
ρικές ομάδες που προστίθε-
νται, αλλάζουν το σχήμα της
πρωτεΐνης.

Γλυκοζυλίωση: Η προσθήκη
σακχάρων είναι σημαντική για
στοχοποίηση και αναγνώριση.

Πρωτεόλυση: Το κόψιμο
του πολυπεπτιδίου επιτρέπει
την αναδίπλωση των τμημάτων
σε διάφορα σχήματα.

Εικόνα 14.19 Μετα-
μεταφραστικές Τροπο-
ποιήσεις των Πρωτεϊνών
Τα περισσότερα
πολυπεπτίδια πρέπει να
τροποποιηθούν μετά τη
μετάφραση ώστε να γίνουν
λειτουργικές πρωτεΐνες.

5. Η αναδίπλωση των πρωτεϊνών με μοριακούς συνοδούς αναδίπλωσης



Το ριβόσωμα προσδένεται στο κωδικόνιο έναρξης του mRNA.

Η πολυπεπτιδική αλυσίδα επιμηκύνεται με την προσθήκη αμινοξέων.

Όταν το ριβόσωμα συναντήσει ένα κωδικόνιο τερματισμού, το ολοκληρωμένο πολυπεπτιδίο απελευθερώνεται και οι δύο υπομονάδες του ριβοσώματος αποσπώνται από το mRNA.

ΕΙΚΟΝΑ 8.9 Σχηματική αναπαράσταση των τριών σταδίων της διαδικασίας της μετάφρασης.

Περισσότερα για την πρωτεϊνοσύνθεση στο μάθημα της Βιοχημείας στο μέλλον...

5. Αναδίπλωση των πρωτεϊνών

Παρατηρήσεις:

Η σύνθεση μια πολυπεπτιδικής αλυσίδας δεν συνεπάγεται την παραγωγή μιας λειτουργικής πρωτεΐνης.

1. Η πρωτεΐνη πρέπει να αναδιπλωθεί στην επιθυμητή στερεοδιαμόρφωση.
2. Στην περίπτωση τεταρτοταγούς δομής, πρέπει να δημιουργηθεί το κατάλληλο σύμπλοκο.
3. Πιθανόν να χρειαστούν και περαιτέρω τροποποιήσεις σε μια υπάρχουσα δομή για την επίτευξη ενός λειτουργικού μορίου.

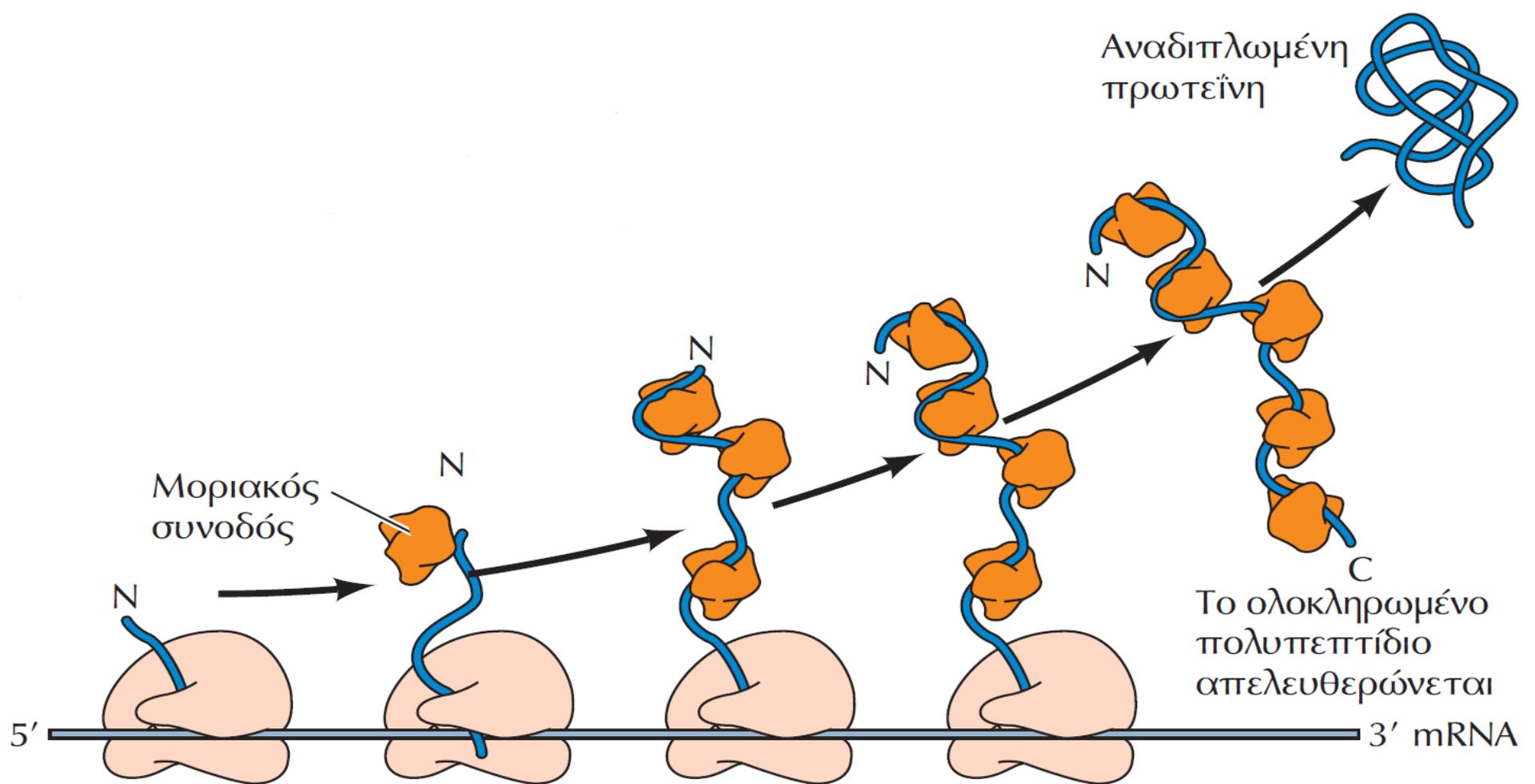
Στα κύτταρα υπάρχουν μηχανισμοί επακόλουθοι της πρωτεϊνοσύνθεσης για την δημιουργία λειτουργικών πρωτεϊνών από την πολυπεπτιδική αλυσίδα που δίνει η μετάφραση.

5.1. Μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης πρωτεϊνών

Γενικά χαρακτηριστικά

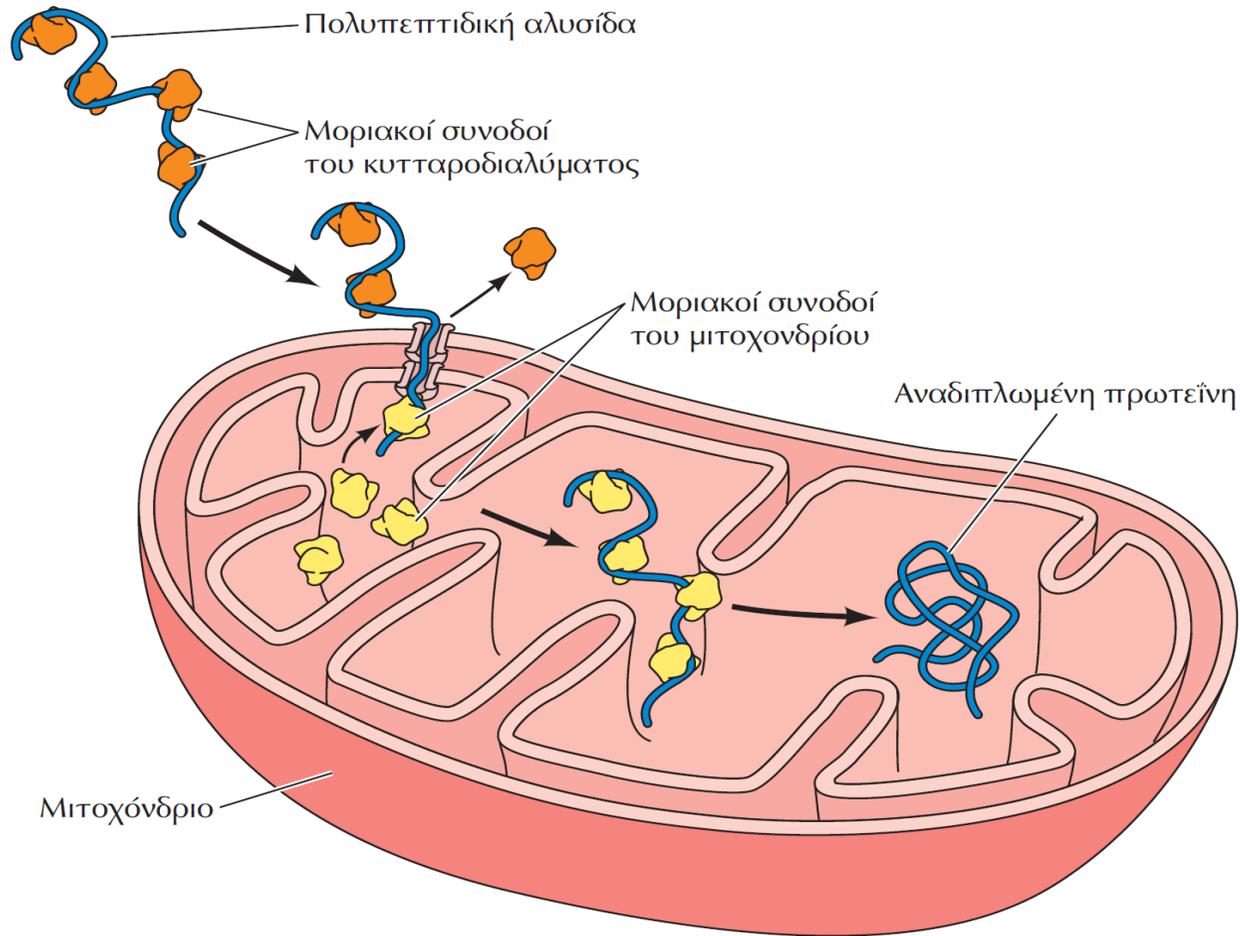
Αν και μερικές πρωτεΐνες αναδιπλώνονται αυθόρμητα στην κανονική τους δομή (πείραμα Anfinsen με την RNάση), πολλές χρειάζονται τη μεσολάβηση κυτταρικών παραγόντων. Τέτοιοι είναι οι μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης, πρωτεΐνες που υποβοηθούν την αναδίπλωση άλλων πρωτεϊνών. Απουσία των συνοδών, οι νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες κατακρημνίζονται ως αδιάλυτα και βιολογικά αδρανή συσσωματώματα.

1. Οι μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης, καταλύουν τη διαδικασία της αναδίπλωσης σε προτιμητέα διαμόρφωση. Δεν αποτελούν τμήμα του τελικού προϊόντος.
2. Αρχή δράσης: προσδένονται και σταθεροποιούν μη αναδιπλωμένα ή μερικώς αναδιπλωμένα ενδιάμεσα της πορείας που οδηγεί στη σωστή αναδίπλωση. Το πολυπεπτίδιο μπορεί να είναι ακόμα πάνω στο ριβόσωμα.
3. Οι μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης σταθεροποιούν σε μια ενδιάμεση διαμόρφωση πολυπεπτίδια κατά τη μεταφορά τους διαμέσου μεμβρανών στα κυτταρικά οργανίδια (πχ μιτοχόνδριο), όπου γίνεται η τελική αναδίπλωση.
4. Βοηθούν στην συναρμολόγηση μεγαλομοριακών συμπλόκων.
5. Οι πιο γνωστοί συνοδοί αναδίπλωσης είναι η Hsp70 και η σαπερονίνες των ευκαρυωτικών κυττάρων. Οι **Hsp70** προσδένονται στο νεοσυντιθέμενο μη αναδιπλωμένο πεπτίδιο σε τμήματα 7 αμινοξέων και έτσι εμποδίζουν το σχηματισμό συσσωματωμάτων.



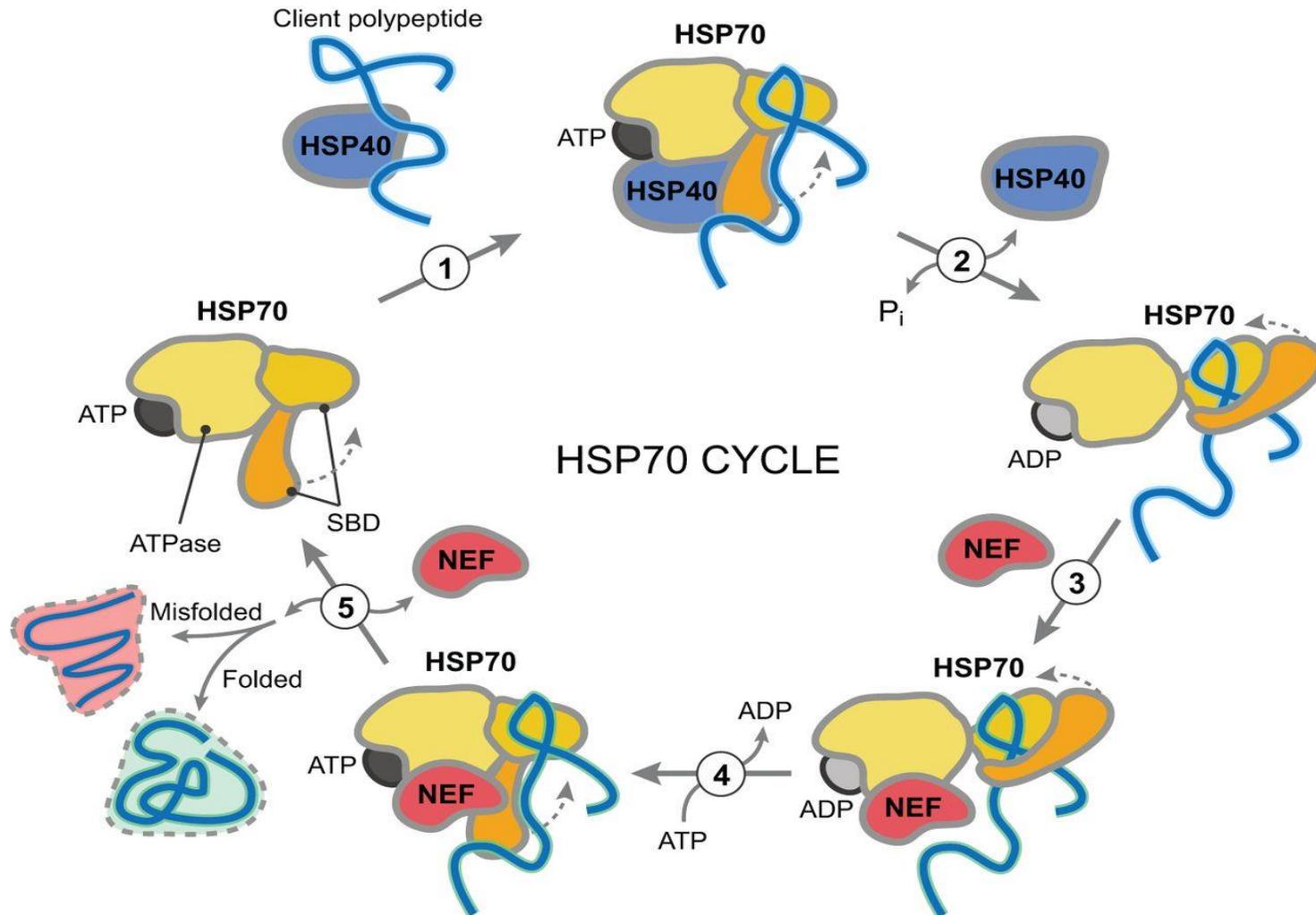
ΕΙΚΟΝΑ 8.22 Η δράση των μοριακών συνοδών κατά τη μετάφραση.

Οι μοριακοί συνοδοί προσδένονται στο αμινοτελικό τμήμα της υπό σύνθεση πολυπεπτιδικής αλυσίδας και το σταθεροποιούν σε μια μη αναδιπλωμένη διαμόρφωση μέχρι να ολοκληρωθεί η πρωτεϊνοσύνθεση. Κατόπιν, το ολοκληρωμένο πολυπεπτίδιο ελευθερώνεται από το ριβόσωμα και αναδιπλώνεται προκειμένου να αποκτήσει τη σωστή στερεοδιαμόρφωση.



ΕΙΚΟΝΑ 8.23 Η δράση των μοριακών συνοδών κατά τη μεταφορά των πρωτεϊνών. Ένα μερικώς αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται από το κυτταρόπλασμα στο μιτοχόνδριο. Μοριακοί συνοδοί του κυτταροπλάσματος το σταθεροποιούν στη μη αναδιπλωμένη μορφή του. Άλλοι μοριακοί συνοδοί στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου διευκολύνουν τη διαδικασία της μεταφοράς και υποβοηθούν την επακόλουθη αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου.

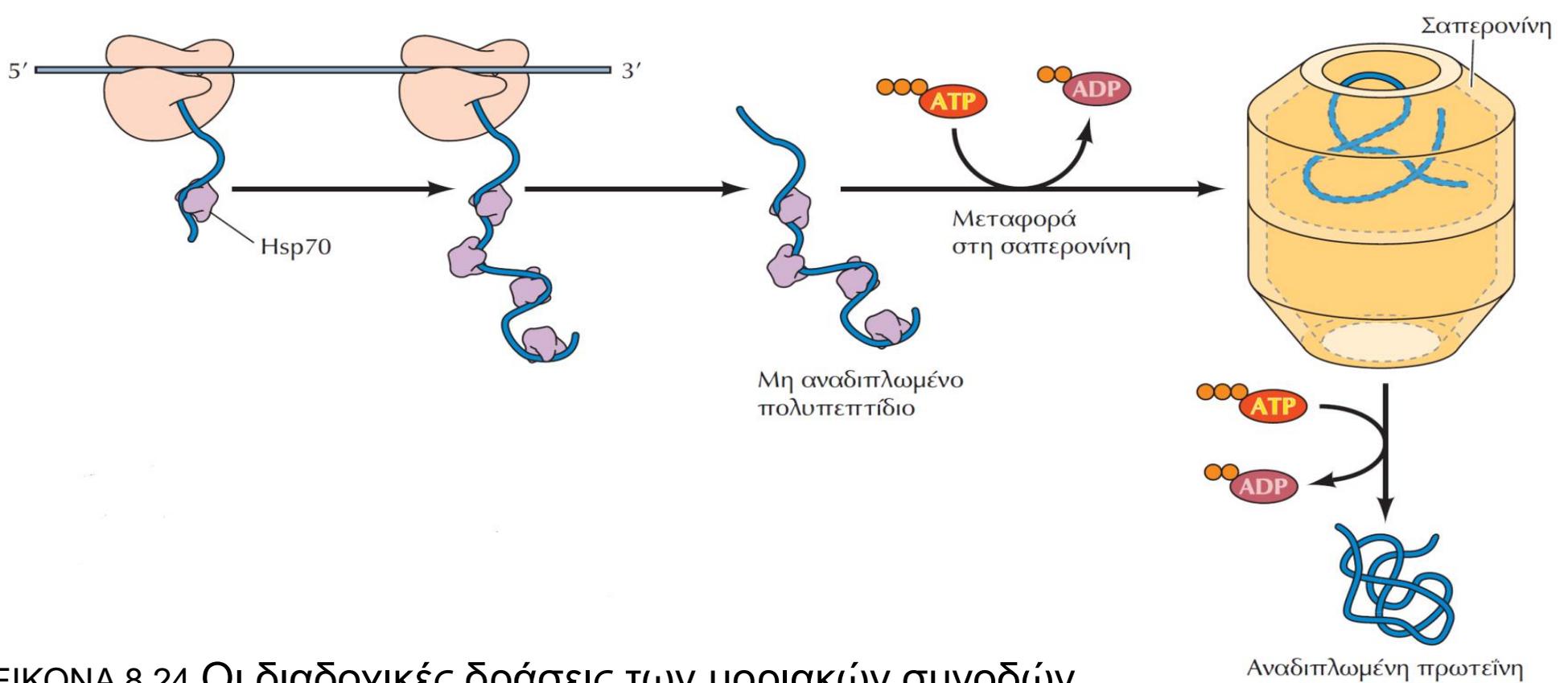
Μηχανισμός Δράσης HSP70 (HSP70 reaction cycle).



Marc Brehme, and Cindy Voisine Dis. Model. Mech. 2016;9:823-838

Μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης πρωτεϊνών

6. Σε περίπτωση που οι Hsp70 δεν κατορθώσουν να αναδιπλώσουν μια πρωτεΐνη, το σύμπλεγμα μεταφέρεται στο **σύμπλεγμα σαπερονινών** κατόπιν υδρόλυσης ATP (ξεδίπλωμα).
7. Οι σαπερονίνες σχηματίζουν ένα υπερμοριακό σύμπλοκο και διευθετούνται σε δύο δακτυλίους που σχηματίζουν βαρελοειδή δομή με δύο διακριτούς χώρους. Το μη αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται στο εσωτερικό της δομής και του δίνεται η δυνατότητα να αναδιπλωθεί στη σωστή διαμόρφωση.
8. Οι μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης Hsp90 απαντώνται στο ενδοπλασματικό δίκτυο.
9. Η ισομεράση των πρωτεϊνικών δισουλφιδίων (PDI) καταλύει το σχηματισμό των (σωστών) δισουλφιδικών δεσμών (S-S) σε πρωτεΐνες που τους περιέχουν. Τέτοιες πρωτεΐνες είναι οι εξωκυττάρια ή μερικές μεμβρανικές. Η PDI είναι πρωτεΐνη του ενδοπλασματικού δικτύου.
10. Η ισομεράση της πεπτιδυλο προλίνης (PPI) καταλύει τον ισομερισμό των πεπτιδικών δεσμών μετά από κατάλοιπα Pro. Στη φύση ευνοείται η διαμόρφωση trans.



ΕΙΚΟΝΑ 8.24 Οι διαδοχικές δράσεις των μοριακών συνοδών.

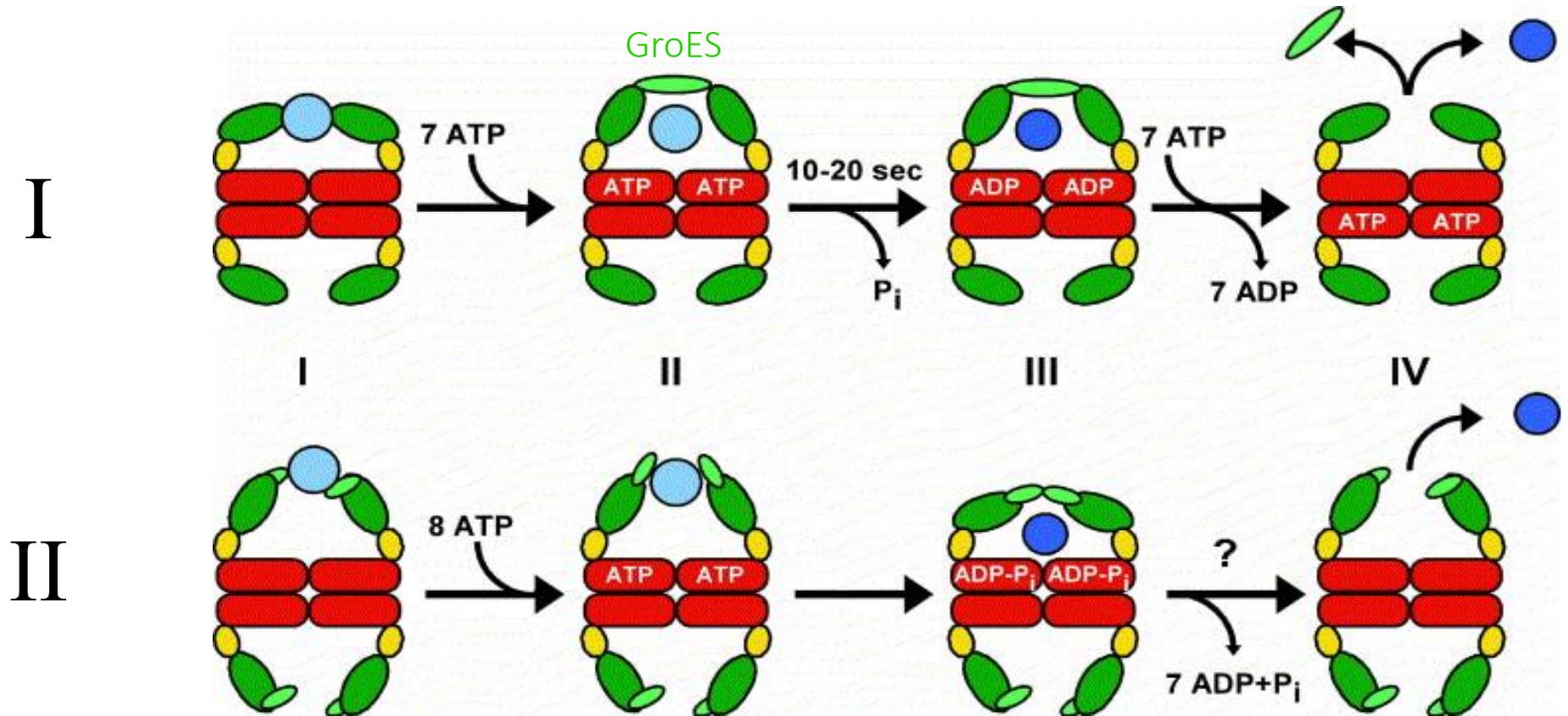
Μοριακοί συνοδοί της οικογένειας της Hsp70 προσδένονται στην υπό σύνθεση πολυπεπτιδική αλυσίδα και τη σταθεροποιούν κατά τη διάρκεια της μετάφρασης. Κατόπιν, το μη αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται σε μέλη της οικογένειας της σαπερονίνης που σχηματίζουν μια δομή, στο εσωτερικό της οποίας λαμβάνει χώρα η αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Τόσο για την απελευθέρωση της μη αναδιπλωμένης πολυπεπτιδικής αλυσίδας από τα μέλη της οικογένειας της Hsp70, όσο και για την αναδίπλωσή της στο εσωτερικό των σαπερονινών, απαιτείται η υδρόλυση ATP.

Το «βαρελάκι» των σαπερονινών

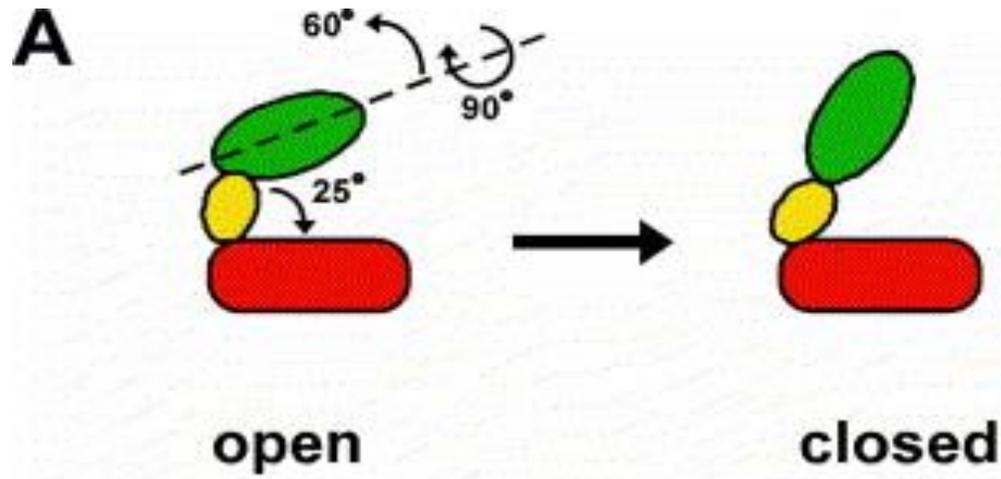
Με βάση τους διακριτούς χώρους αναδίπλωσης στο υπερμόριο με σχήμα βαρελιού, οι σαπερονίνες κατατάσσονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες.

Η κατάταξη γίνεται με κριτήριο τον διακριτό χώρο από τον οποίο γίνεται η είσοδος των πρωτεϊνών στο υπερμόριο.

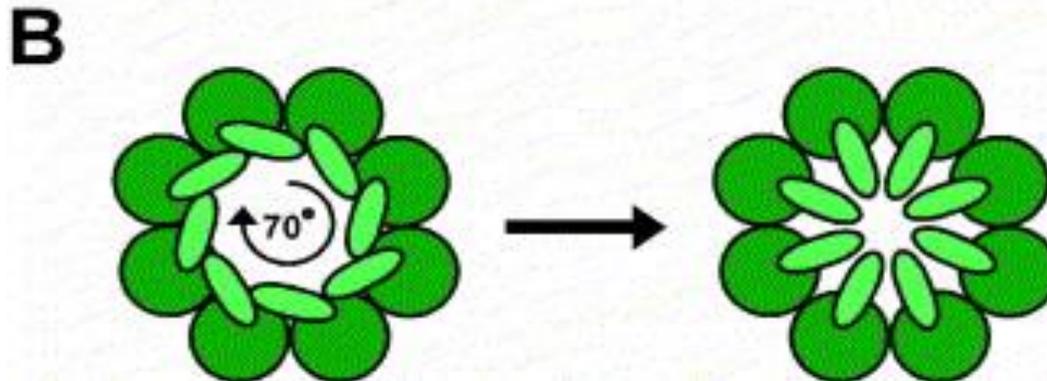
Τύπος σαπερονίνης

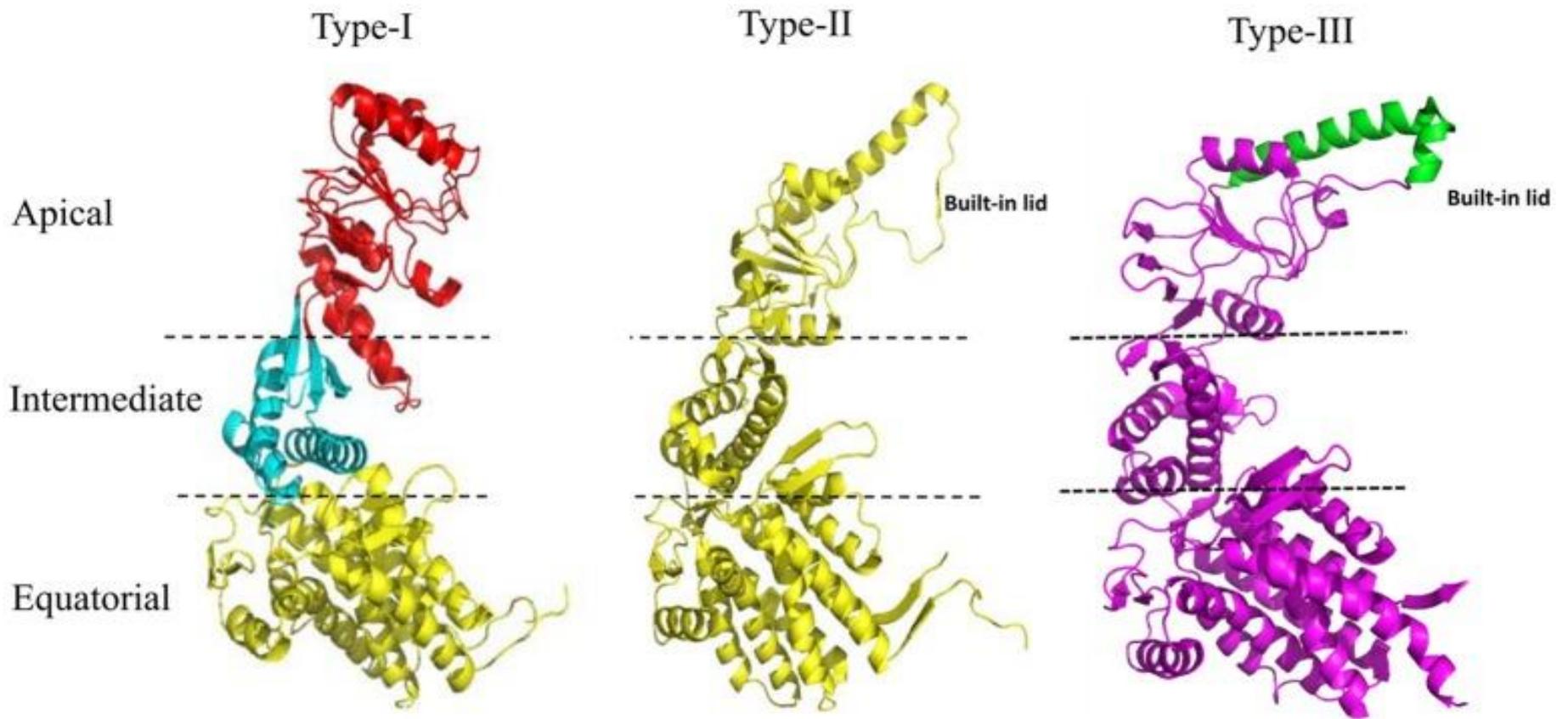


I



II





Δομικά χαρακτηριστικά των σαπερονινών των τύπων I, II, και III.

Οικογένειες *σαπερονινών

ER: ενδοπλασματικό δίκτυο

Hsp: πρωτεΐνη θερμικού σοκ.

NBD: επικράτεια που δεσμεύει
νουκλεοτίδια.

SBD: επικράτεια που δεσμεύει
το υπόστρωμα.

*Ο όρος αναφέρεται και στο
βαρελάκι των σαπερονινών και
στις πρωτεΐνες Hsp κατά τη
μετάφραση του αγγλικού όρου
“chaperons”.

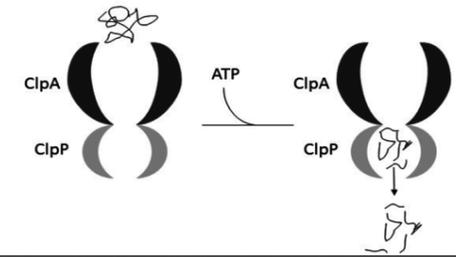
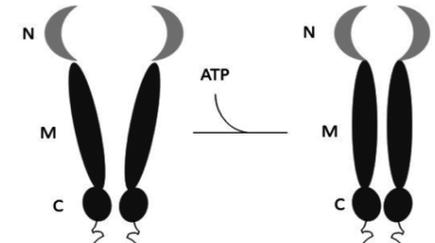
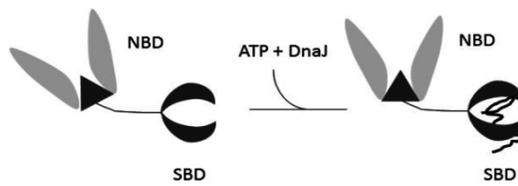
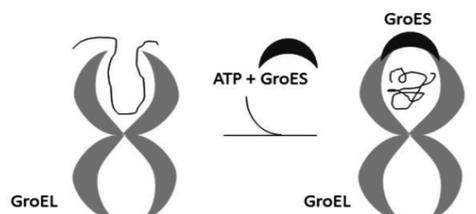
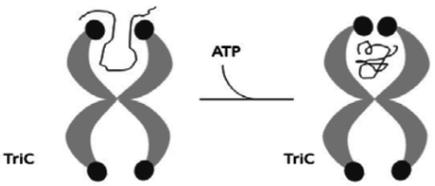
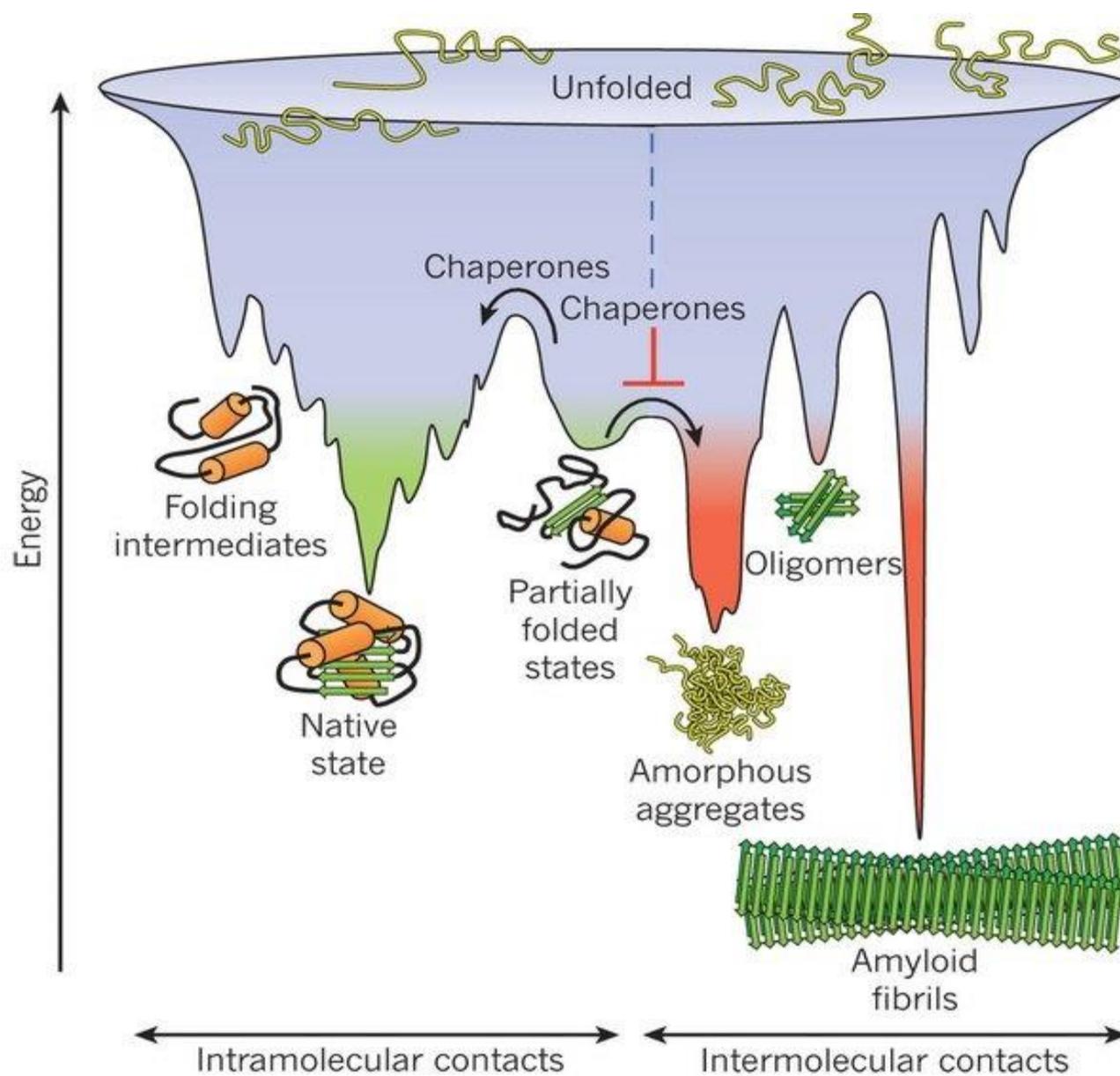
Families	Functions	Examples
Hsp100	<ul style="list-style-type: none">• Has a disaggregase activity and a proteolytic activity• Rescues insoluble proteins• Establishes and maintains prion phenotype in yeasts	ClpA in <i>E. coli</i> 
Hsp90	<ul style="list-style-type: none">• Major cytosolic chaperone in eukaryotes• Refolds proteins during stress• Maintains the stability of steroid receptors	HspC in humans 
Hsp70	<ul style="list-style-type: none">• Folds newly synthesized proteins• Has a disaggregase activity• Transports proteins into the ER and mitochondria	DnaK in <i>E. coli</i> 
Hsp60 (type I)	<ul style="list-style-type: none">• Major protein folding in prokaryotes under normal and stress conditions• Is also found in mitochondria and chloroplasts	GroEL in <i>E. coli</i> 
Hsp60 (type II)	<ul style="list-style-type: none">• Promotes folding of cytosolic proteins in eukaryotes and archaea	TRiC in eukaryotes 

Table 1. Type 1 chaperonins and their moonlighting function in bacterial infections

Bacterial species	Type I chaperonins	Moonlighting functions involved in bacterial infection
<i>Escherichia coli</i>	Cpn60	Induces expression of cell adhesion molecules and pro-inflammatory cytokines in host cells Accelerates streptomycin resistance
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Cpn60	Induces expression of cell adhesion molecules and pro-inflammatory cytokines in host cells
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Cpn60.1	Favours survival under low aeration <i>in vitro</i>
	Cpn60.2	Binds to CD43 on lung macrophages and stimulates the secretion of pro-inflammatory cytokines: TNF, IL6 and IL8 Penetrates macrophage mitochondrion and blocks macrophage apoptosis by interacting with mortalin
<i>Leishmania donovani</i>	Cpn10	Protects against parasite internalization by macrophages Promotes parasite intracellular survival

Cpn, chaperonin; IL, interleukin; TNF, tumour necrosis factor.

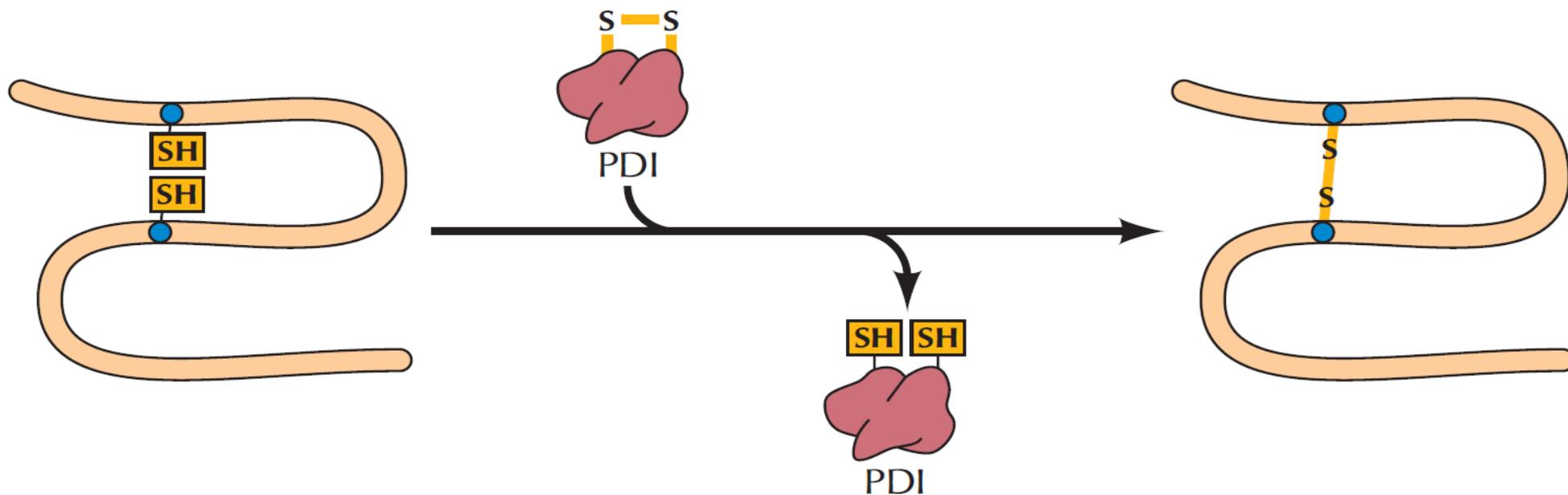


Θερμοδυναμική εξήγηση της δράσης των σαπερονινών

<https://qph.ec.quoracdn.net/main-qimg-fd1a20e589762fed237d05b6705ffbec-c>

Μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης πρωτεϊνών

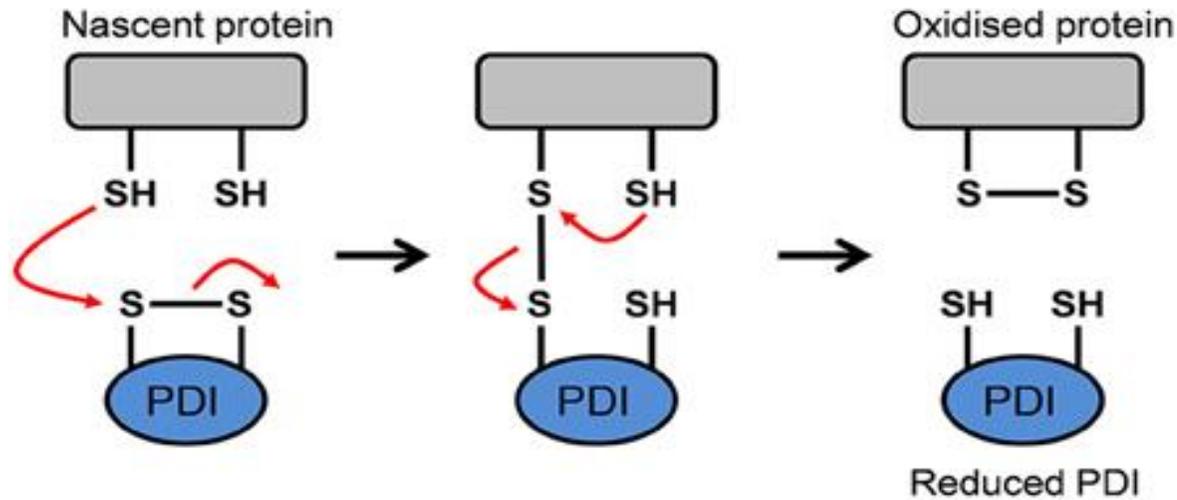
6. Σε περίπτωση που οι Hsp70 δεν κατορθώσουν να αναδιπλώσουν μια ακολουθία, το σύμπλεγμα μεταφέρεται στο σύμπλεγμα σαπερονινών κατόπιν υδρόλυσης ATP (ξεδίπλωμα).
7. Οι σαπερονίνες σχηματίζουν ένα υπερμοριακό σύμπλοκο και διευθετούνται σε δύο δακτυλίους που σχηματίζουν βαρελοειδή δομή με δύο διακριτούς χώρους. Το μη αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται στο εσωτερικό της δομής και του δίνεται η δυνατότητα να αναδιπλωθεί στη σωστή διαμόρφωση.
8. Οι μοριακοί συνοδοί αναδίπλωσης Hsp90 απαντώνται στο ενδοπλασματικό δίκτυο.
9. Η ισομεράση των πρωτεϊνικών δισουλφιδίων (PDI) καταλύει το σχηματισμό των (σωστών) δισουλφιδικών δεσμών (S-S) σε πρωτεΐνες που τους περιέχουν. Τέτοιες πρωτεΐνες είναι οι εξωκυττάρια ή μερικές μεμβρανικές. Η PDI είναι πρωτεΐνη του ενδοπλασματικού δικτύου.
10. Η ισομεράση της πεπτιδυλο προλίνης (PPI) καταλύει τον ισομερισμό των πεπτιδικών δεσμών μετά από κατάλοιπα Pro. Στη φύση ευνοείται η διαμόρφωση *trans*.



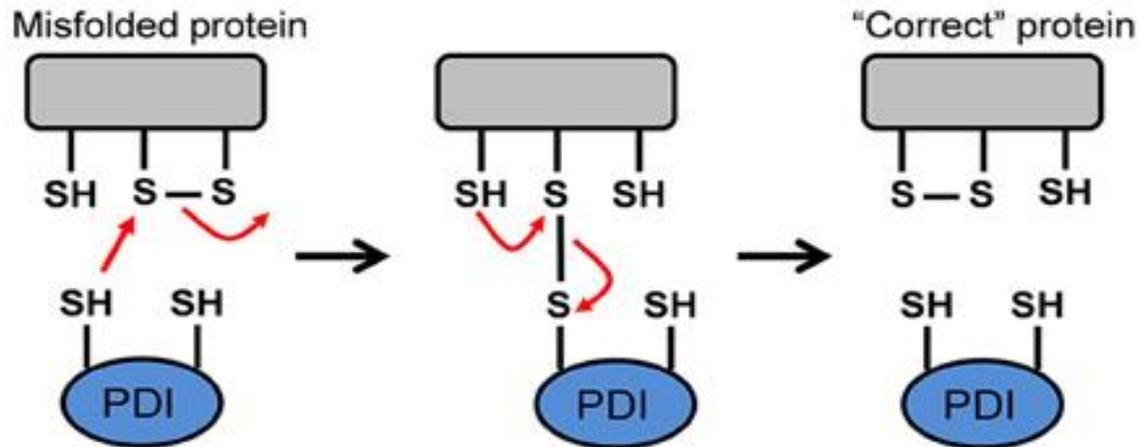
ΕΙΚΟΝΑ 8.25 Η δράση της ισομεράσης πρωτεϊνικών δισουλφιδικών δεσμών.

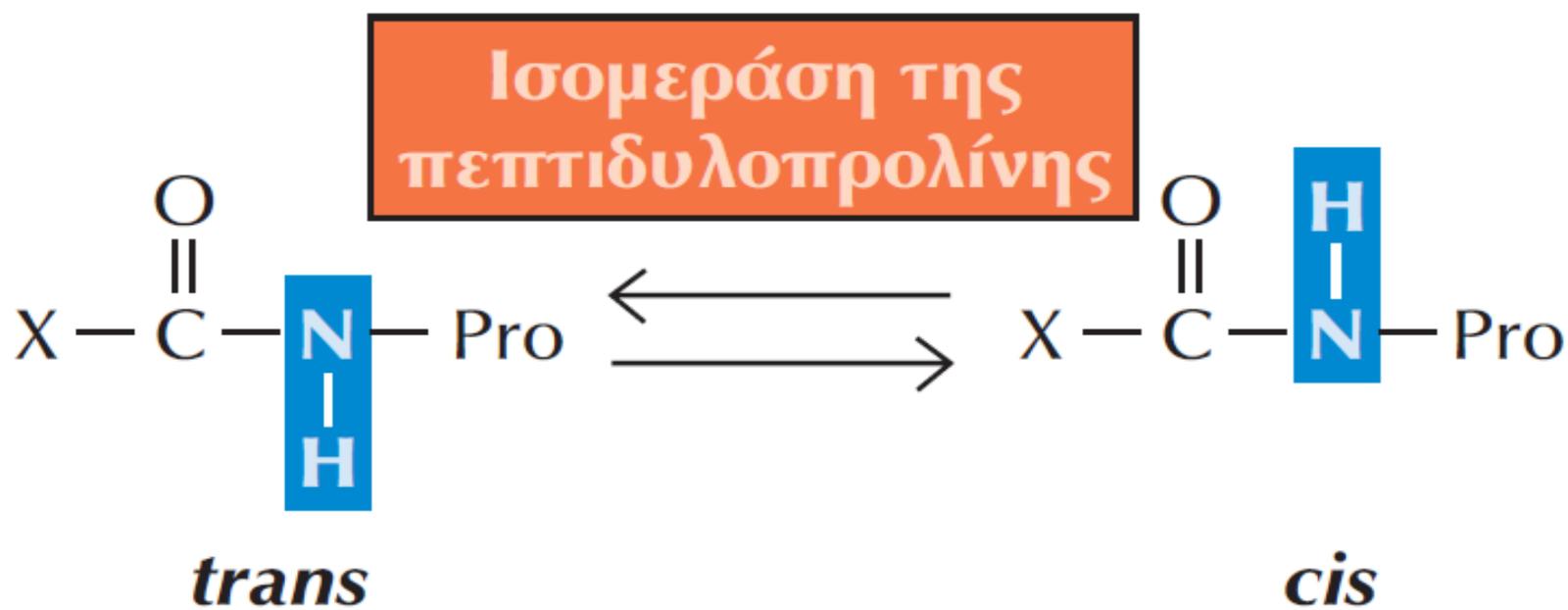
Η ισομεράση πρωτεϊνικών δισουλφιδικών δεσμών (PDI) αλληλεπιδρά με το υπόστρωμά της μέσω δύο καταλοίπων κυστεΐνης του ενεργού της κέντρου και καταλύει τον σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών.

Disulphide Formation



Disulphide Isomerisation





ΕΙΚΟΝΑ 8.26 Η δράση της ισομεράσης της πεπτιδυλοπρολίνης.

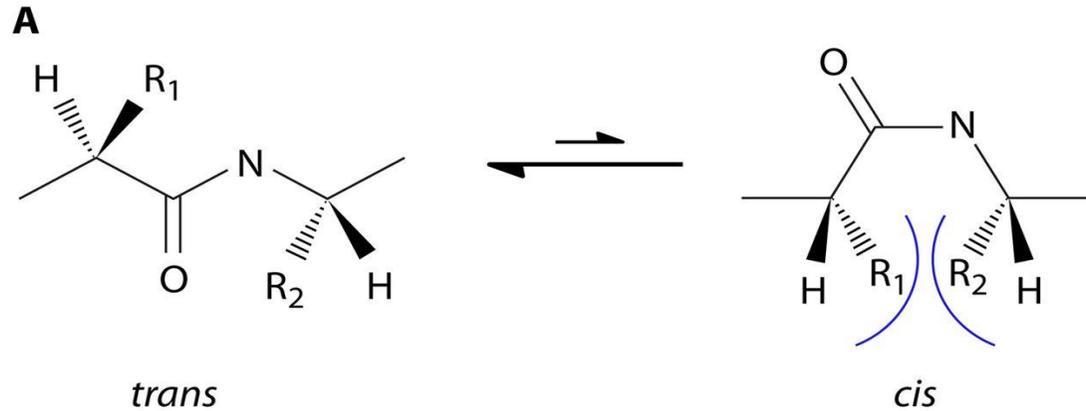
Η ισομεράση της πεπτιδυλοπρολίνης καταλύει τον ισομερισμό ανάμεσα στις διαμορφώσεις *cis* και *trans* των πεπτιδικών δεσμών που προηγούνται των καταλοίπων προλίνης.

Η διαδικασία της ισομερίωσης *cis-trans* μπορεί να είναι το βήμα που περιορίζει την ταχύτητα στη διαδικασία της αναδίπλωσης πρωτεϊνών. Οι ισομεράσες της πεπτιδυλοπρολίνης επιταχύνουν τον ισομερισμό αυτόν.

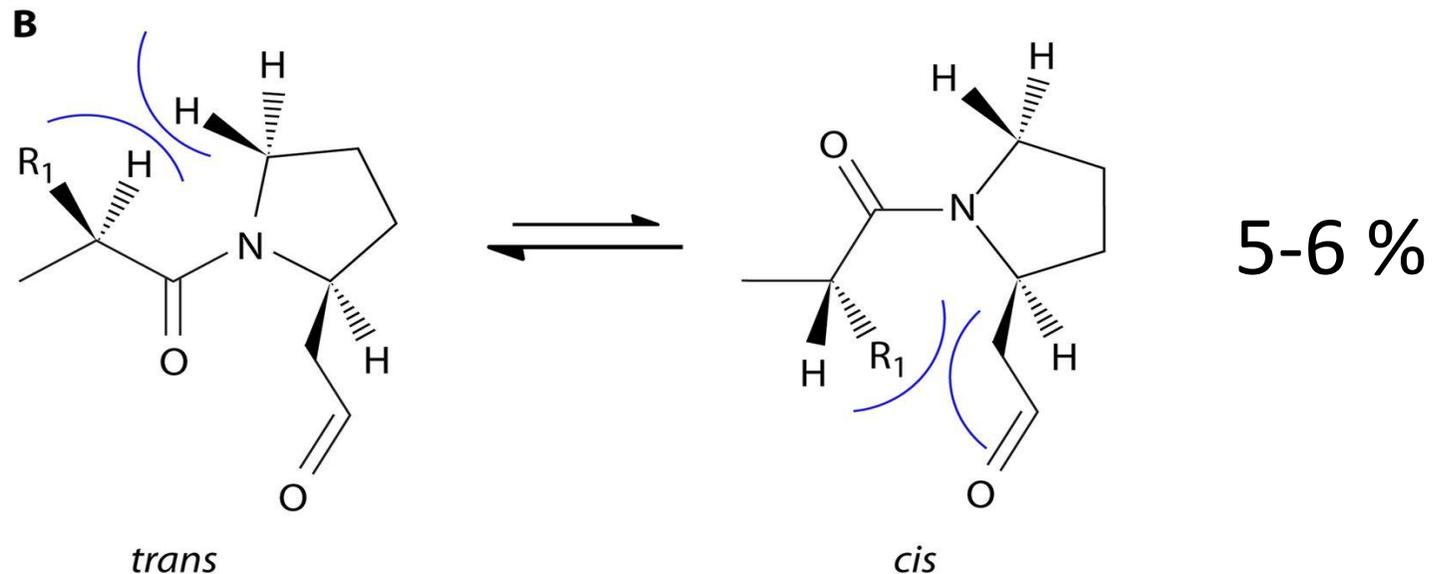
Αναδίπλωση χωρίς ένζυμο

Διαμόρφωση πεπτιδικών δεσμών

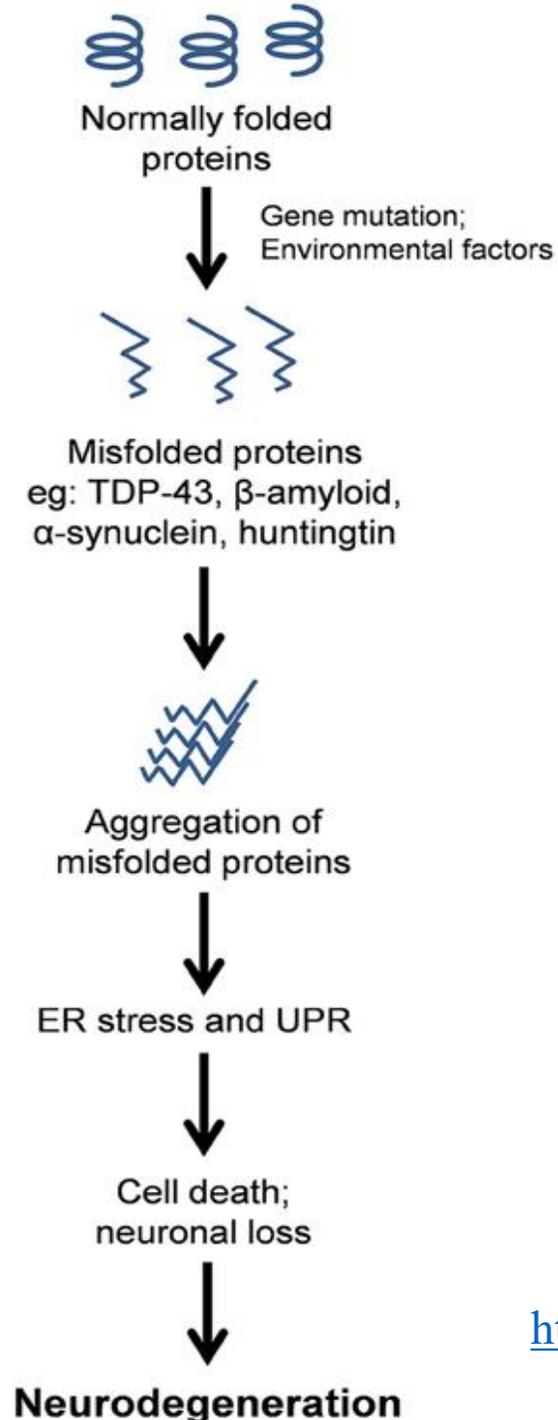
Οποιοδήποτε
αμινοξύ



Προλίνη
95 %



Για ποιο λόγο μας ενδιαφέρει η αναδίπλωση των πρωτεϊνών;



Η συμβολή του χρόνιου στρες του ενδοπλασματικού δίκτυου (ER) στις νευροεκφυλιστικές νόσους.

Οι λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες συσσωματώνονται και σχηματίζουν εμφανή έγκλειστα ως το χαρακτηριστικό παθολογικό χαρακτηριστικό αυτών των διαταραχών. Το στρες στο ER προκύπτει από τη συσσώρευση μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών εντός του ER, ενεργοποιώντας έτσι την απόκριση στις μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες (Unfolded Protein Response ή UPR).

Αν η UPR παραταθεί ή δεν επιλυθεί, μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο των νευρώνων με αποτέλεσμα τις νευροεκφυλιστικές διαταραχές.

[https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2015.00080/f](https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fcell.2015.00080/full)

Neurodegenerative disease	Genes implicated in disease	Proteins encoded	References
Alzheimer's disease	APP PSEN1 PSEN2 MAPT	Amyloid precursor protein Presenilin-1 Presenilin-2 Tau	Haass and Selkoe, 2007; Karran et al., Matus et al., 2011
Parkinson's disease	SNCA PARK2 PINK1 PARK7 UCH-L1 PARK8	α -Synuclein Parkin PTEN-induced putative kinase 1 DJ-1 Ubiquitin carboxyl-terminal esterase L1 LRRK2	Chartier-Harlin et al., 2004; Schlehe et al., Volpicelli-Daley et al., 2011
Amiotrophic lateral sclerosis	SOD1 TARDBP FUS C9orf72 ALS2 SETX VAPB OPTN VCP UBQLN2 PFN1 SQSTM1 HnRNPA2B1/A1 TAF15	Cu/Zn superoxide dismutase 1 TAR DNA binding protein 43 (TDP-43) Fused in sarcoma Chromosome 9 open reading frame 72 Alsin Senataxin Vesicle-associated membrane protein-associated B Optineurin Valosin-containing protein Ubiquilin 2 Profilin 1 Sequestosome 1 Heterogenous nuclear ribonucleoprotein TATA box binding protein-associated factor	Ferraiuolo et al., 2011; Turner et al., 2010; Leblond et al., 2014; Renton et al., 2011
Huntington's disease	HTT	Huntingtin	Carnemolla et al., 2009; Ross and Tabrizi, 2001
Creutzfeldt-Jakob disease	PRNP	PrP ^{Sc} protein	Head and Ironside, 2012; Borner and Prineas, 2002

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnins.2015.00080/full>

Folding disease or disease-associated protein	Model organism	Approach	Readout	Chaperone or co-chaperone	Human (ortholog)	Family	Reference
Amyloidosis (e.g. Alzheimer's disease)							
Aβ [A42]	<i>C. elegans</i>	AP-MS (affinity purification mass spectrometry) analysis of molecular interactors of human β-amyloid peptide and RNAi analysis of chaperone interactor function in worm	Co-immunoprecipitation studies and readout of toxicity in transgenic worms expressing Aβ upon RNAi of interacting chaperones and co-chaperones	<i>hsp-1</i> <i>hsp-3</i> <i>hsp-16.11</i> <i>hsp-16.48</i> <i>hsp-16.2</i> <i>agl-1 (sup)</i>	HSPA8 HSPA5 HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB8 HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB8 HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB8 SGTA, SGTB	HSP70*, HSP70*, α-HSP* α-HSP* α-HSP*	Fonte et al., 2002, Fonte et al., 2008
Aβ [A42]	<i>C. elegans</i>	Analysis of genome-wide significant GWAS genes and RNAi screen for modifiers of Aβ-induced worm locomotor phenotype	Suppression or enhancement of paralysis in worm (locomotor phenotype)	<i>oct-1 (sup)</i> <i>oct-8 (sup)</i> <i>hsp-7 (sup)</i> <i>hsp-7 (sup)</i> <i>phi-12 (sup)</i>	TCP1 CCT8 HSPA8 DNAJC3 CRNQL1	HSP60*, HSP60*, HSP70*, HSP40 TPR	Khabrova et al., 2014
Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)							
Superoxide dismutase 1 (SOD1)	<i>C. elegans</i>	Whole-genome RNAi screen of age-dependent aggregation in <i>eri-1</i> and <i>lin-15B</i> mutant worm for modifiers of aggregation of misfolding-prone mutant human SOD1-G85R expressed in neurons	Level of aggregation, neurotoxicity and strength of locomotor defect phenotype in transgenic animals associated with soluble oligomers and insoluble aggregates of G85R protein	<i>dpl-19</i> <i>F08H9.4</i> <i>oct-4</i> <i>oct-5</i> <i>hsp-110</i> <i>atc-1</i>	DNAJ2 HSPB1, HSPB2, HSPB3, HSPB6, HSPB8 CCT4, CCT5 HSPH1, HSPA4, HSPAAL HSPA13	HSP40 α-HSP* HSP60*, HSP70*, HSP70*,	Wang et al., 2009
Polyglutamine diseases (e.g. Huntington's disease)							
polyQ	<i>D. melanogaster</i>	Genetic screen of 7000 P-element insertions in flies for suppressors of polyQ toxicity	Eye degeneration caused by expression of polyglutamine (JAS-127Q) in the fly eye	<i>drlq1</i> <i>Trp2</i>	DNAJB4 DNAJC7	HSP40 HSP40	Kazemi-Esfarjani and Benzer, 2000
Huntingtin	<i>S. cerevisiae</i>	Overexpression and deletion of yeast chaperones from major chaperone families	Extent of aggregation in relation to polyQ repeat length of N-terminal huntingtin	<i>SIS1</i> <i>HSP104</i>	DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 HSPA9 CLPB	HSP40 HSP70*, HSP100*,	Krebs and Lindquist, 2000
polyQ (HD53Q huntingtin fragment)	<i>S. cerevisiae</i>	Synthetic lethality screen of mutant huntingtin fragment HD53Q against 4,850 haploid mutants containing deletions of nonessential genes	Synthetic lethality or enhanced toxicity of HD53Q	<i>ap1.5</i> <i>hgl.5</i> <i>fr2.5</i>	— DNAJB14 FKBP2	— HSP40 HSP90	Willingham et al., 2003
polyQ	<i>C. elegans</i>	Genome-wide RNAi screen for suppressors of age-dependent polyQ aggregation in transgenic <i>C. elegans</i> expressing polyQ (Q25) YFP-fusion protein	Premature appearance of aggregates upon RNAi	<i>oct-1</i> , <i>oct-2</i> , <i>oct-4</i> , <i>oct-5</i> , <i>oct-6</i> , <i>oct-7</i> <i>hsp-7</i> <i>hsp-6</i> <i>me-6</i> <i>agg-7</i> <i>hsp104.1</i>	TCP1, CCT2, CCT4, CCT5, CCT8, CCT7 HSPA5 HSPA8 DNAJC13 AFG3L2 CLPB	HSP60*, HSP70*, HSP70*, HSP40 HSP100*,	Nolen et al., 2004
polyQ (HT103Q huntingtin fragment)	<i>S. cerevisiae</i>	Genome-wide loss-of-function screen of 4,850 strains for suppressors of mutant Ht fragment toxicity	Suppression of HT103Q-induced toxicity in yeast	<i>SSA1</i> , <i>SSA2</i> <i>SSB1</i> <i>HSP42</i> <i>SIS1</i> <i>SGT2</i>	HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA6, HSPA8, HSPA14 HSPA13 CRYAA, CRYAB, HSPB1, HSPB3, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 SGTB, DFX1C1	HSP70*, HSP70*, HSP40 TPR	Giorgini et al., 2005
polyQ	<i>S. cerevisiae</i>	Affinity isolation of FLAG-huntingtin-exon1-polyQ(103Q)-eGFP aggregates formed in yeast, followed by 2D-gel electrophoresis and mass spectrometry	Overrepresentation of proteins associated with FLAG-huntingtin-exon1-polyQ(103Q)-eGFP aggregates formed in yeast	<i>SSA1</i> , <i>SSA2</i> <i>SSB1</i> <i>HSP42</i> <i>SIS1</i> <i>SGT2</i>	HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA6, HSPA8, HSPA14 HSPA13 CRYAA, CRYAB, HSPB1, HSPB3, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 SGTB, DFX1C1	HSP70*, HSP70*, HSP40 TPR	Wang et al., 2007
Huntingtin	<i>D. melanogaster</i>	Huntingtin protein interaction mapping by high-throughput yeast two-hybrid (Y2H) and AP-MS	Huntingtin-fragment-induced neurodegeneration phenotype in eye model of polyglutamine toxicity	<i>Hsc70.3 (en)</i> <i>Hsc70.4 (en)</i> <i>Top-7 (en)</i> <i>Hsc70-5 (sup)</i> <i>DnaJ-1 (sup)</i> <i>Hsp (sup)</i> <i>CG5003 (sup)</i> <i>SSA1</i> , <i>SSA2</i>	HSPA5 HSPA8 TCP1 HSPA3 DNAJB4 STP1 HSPH1, HSPA4, HSPAAL HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA6, HSPA8, HSPA14 HSPA13 HSPA1, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA6, HSPA8, HSPA14 HSPA13 DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 HSPA14 — CRYAA, CRYAB, HSPB1, HSPB3, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 HSPD1 HSP90AA1, HSP90AB1 CLPB PP1A, PP1A4A, PP1A4B, PP1A4C, PP1A4D, PP1A4G, PP1E, PP2 FKBP4, FKBP6, FKBP1A, FKBP5, FKBP3, FKBP8, FKBP18 HSPA5 PHB	HSP70*, HSP70*, HSP60*, HSP70*, HSP40 TPR HSP70*, HSP70*,	Kaltenbach et al., 2007
polyQ (huntingtin exon 1)	<i>D. melanogaster</i>	Genome-wide RNAi screen for modifiers of age-dependent aggregation of mutant huntingtin in transgenic fly lines	Aggregates of mutant huntingtin as GFP fusion expressed in <i>Drosophila</i> eyes (GMR-Gal4 driver)	<i>Hsc70.3 (en)</i> <i>Hsc70.4 (en)</i> <i>Top-7 (en)</i> <i>Hsc70-5 (sup)</i> <i>DnaJ-1 (sup)</i> <i>Hsp (sup)</i> <i>CG5003 (sup)</i> <i>SSA1</i> , <i>SSA2</i>	HSPA5 HSPA8 TCP1 HSPA3 DNAJB4 STP1 HSPH1, HSPA4, HSPAAL HSPA1A, HSPA1B, HSPA1L, HSPA2, HSPA6, HSPA8, HSPA14 HSPA13 DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 HSPA14 — CRYAA, CRYAB, HSPB1, HSPB3, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 HSPD1 HSP90AA1, HSP90AB1 CLPB PP1A, PP1A4A, PP1A4B, PP1A4C, PP1A4D, PP1A4G, PP1E, PP2 FKBP4, FKBP6, FKBP1A, FKBP5, FKBP3, FKBP8, FKBP18 HSPA5 PHB	HSP70*, HSP70*, HSP60*, HSP70*, HSP40 TPR HSP70*, HSP70*,	Zhang et al., 2010
polyQ	<i>S. cerevisiae</i>	Treatment with Hsp70 stimulator compound 115-7c, sequential immunoprecipitations in yeast cells expressing soluble (Q25) or aggregation-prone (Q103) polyQ fragments, LC-MS/MS tandem mass spectrometry for identification of polyQ interaction partners	Count of yeast cells with aggregates and [RNQ1] phenotype	<i>SSA3</i> <i>SSB1</i> , <i>SSB2</i> <i>SIS1</i> <i>SSZ1</i> <i>HSP12</i> <i>HSP26</i> <i>Hsp60</i> <i>HSPB2</i> , <i>HSC82</i> <i>HSP104</i> <i>CRR1</i> <i>FPR1</i> <i>KAR2</i> <i>PHB1</i>	HSPA13 DNAJB1, DNAJB2, DNAJB4 through 9, DNAJB13, DNAJC5 HSPA14 — CRYAA, CRYAB, HSPB1, HSPB3, HSPB6, HSPB7, HSPB8, HSPB9 HSPD1 HSP90AA1, HSP90AB1 CLPB PP1A, PP1A4A, PP1A4B, PP1A4C, PP1A4D, PP1A4G, PP1E, PP2 FKBP4, FKBP6, FKBP1A, FKBP5, FKBP3, FKBP8, FKBP18 HSPA5 PHB	HSP70*, HSP40 HSP70*, HSP70*, — α-HSP* HSP60*, HSP90*, HSP100*, HSP90 HSP90 HSP70*, MITO*	Walter et al., 2011

Chaperones and co-chaperones identified in model-based studies of protein-misfolding diseases.

© 2016. Published by The Company of Biologists Ltd

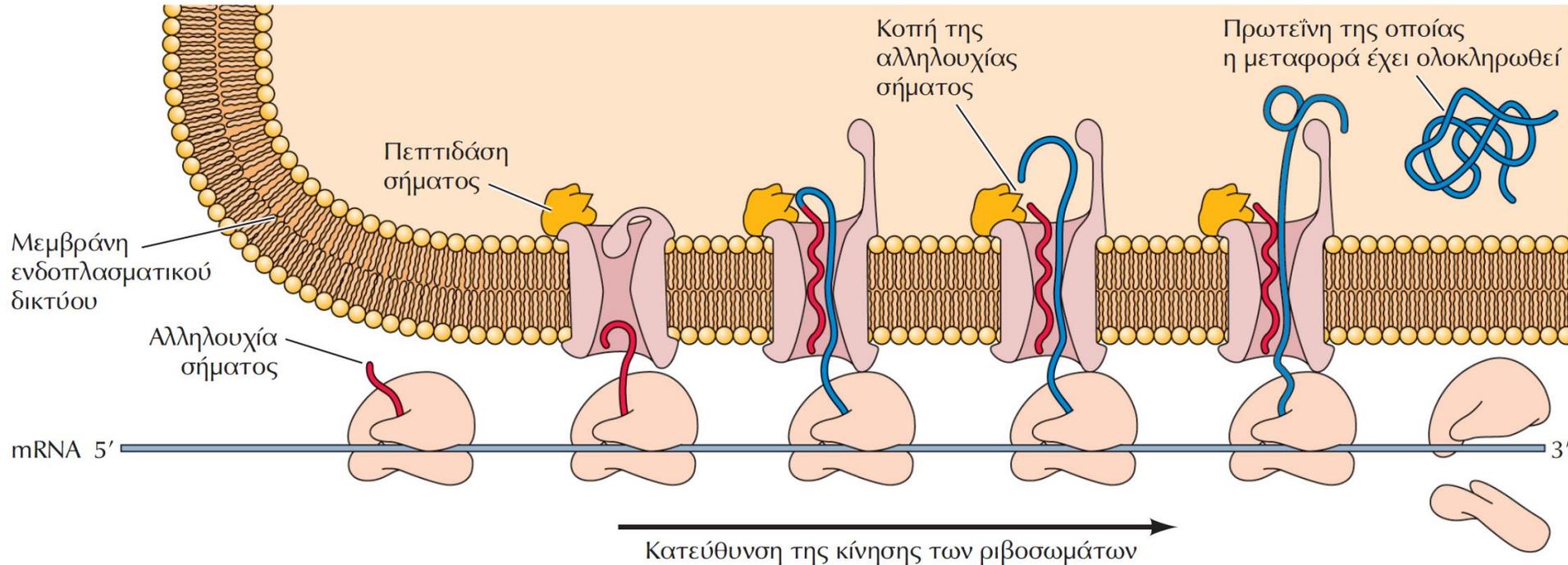
Marc Brehme, and Cindy Voisine Dis. Model. Mech. 2016;9:823-838

5.2. Επεξεργασία των πρωτεϊνών μετά την αναδίπλωσή τους

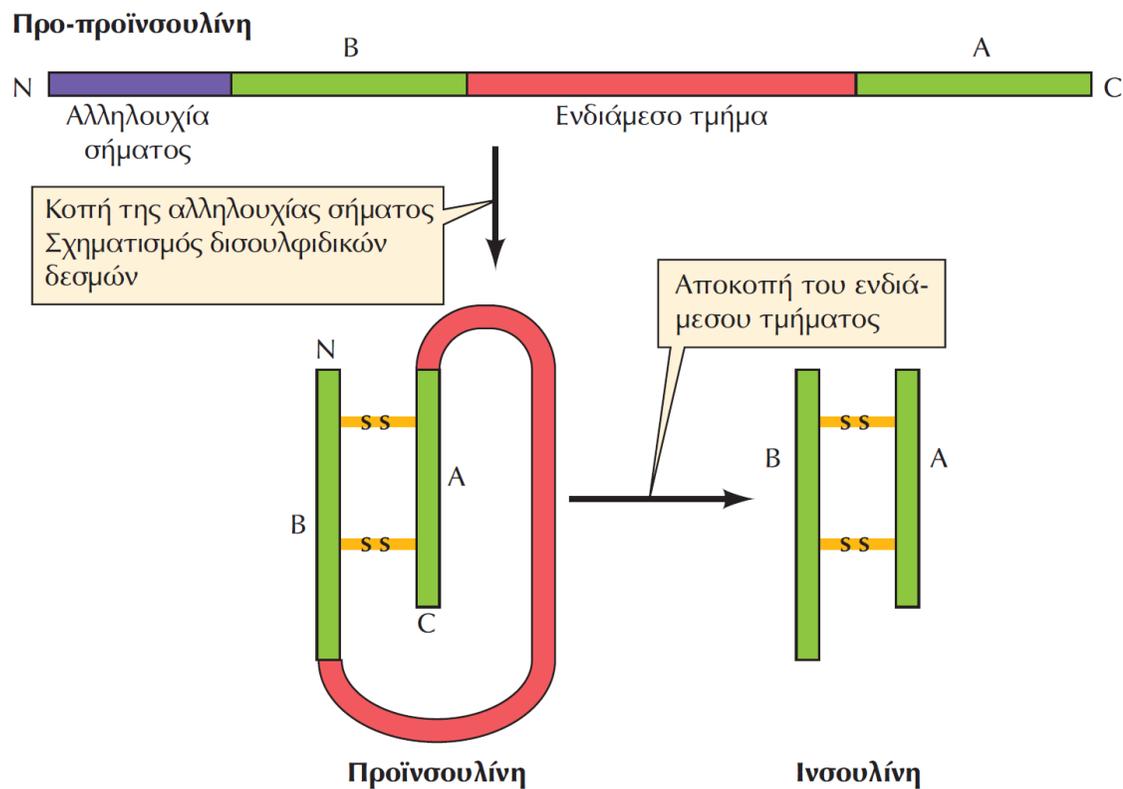
A. Κοπή των πρωτεϊνών: πρωτεόλυση

Η πρωτεολυτική επεξεργασία οδηγεί στην παρασκευή επιθυμητής πρωτεΐνης.

1. Απομάκρυνση εναρκτήριας Met από το αμινοτελικό άκρο κατά την πρωτεΐνοσύνθεση.
2. Κοπή σημάτων μεταφοράς στην κυτταροπλασματική μεμβράνη (αλληλουχίες σήματος, 20 α.ο.) ή σε οργανίδια. Η απομάκρυνση της αλληλουχίας σήματος γίνεται από την πεπτιδάση σήματος.
3. Πρωτεόλυση ειδικών αλληλουχιών από αναδιπλωμένο μόριο για ενεργοποίηση των βιολογικών του ιδιοτήτων (πχ πρωτεόλυση ινσουλίνης, πεπτικών ενζύμων, παραγόντων πήξης του αίματος, δομικές πρωτεΐνες HIV).



ΕΙΚΟΝΑ 8.27 Ο ρόλος της αλληλουχίας σήματος στη μεταφορά πρωτεϊνών μέσω μεμβρανών. Οι πρωτεΐνες που πρόκειται να μεταφερθούν μέσω της κυτταροπλασματικής μεμβράνης των βακτηρίων ή στο ενδοπλασματικό δίκτυο των ευκαρυωτικών κυττάρων (όπως στο παράδειγμα αυτό) στοχοποιούνται χάρη σε κατάλληλες αλληλουχίες σήματος. Οι αλληλουχίες σήματος αποτελούνται συνήθως από 20 περίπου υδρόφοβα αμινοξέα, τα οποία εδράζονται στο αμινοτελικό άκρο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Μόλις εκβάλουν από το ριβόσωμα, εισέρχονται σε ειδικούς διαύλους της μεμβράνης που πρόκειται να διασχίσουν. Το υπόλοιπο πολυπεπτίδιο τις ακολουθεί καθώς συντίθεται και με τον τρόπο αυτό διασχίζει τη μεμβράνη. Η αλληλουχία σήματος, αφού διεκπεραιώσει τον ρόλο της, αποκόπτεται χάρη στη δράση της πεπτιδάσης σήματος ώστε να απελευθερωθεί η ώριμη πρωτεΐνη.



ΕΙΚΟΝΑ 8.28 Η πρωτεολυτική επεξεργασία της ινσουλίνης.

Το μόριο της ώριμης ινσουλίνης αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες (την Α και τη Β) οι οποίες συνδέονται με δισουλφιδικούς δεσμούς. Αρχικά, συντίθεται ένα πρόδρομο πολυπεπτίδιο, που ονομάζεται προ-προΐνσουλίνη. Το πολυπεπτίδιο αυτό φέρει μια αμινοτελική αλληλουχία σήματος, η οποία αποκόπτεται κατά τη διάρκεια της μεταφοράς του στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Μετά την αποκοπή σχηματίζεται ένα δεύτερο πρόδρομο μόριο, που ονομάζεται προΐνσουλίνη. Η προΐνσουλίνη μετατρέπεται σε ινσουλίνη με περαιτέρω πρωτεόλυση, η οποία οδηγεί στην απομάκρυνση ενός εσωτερικού τμήματός της.

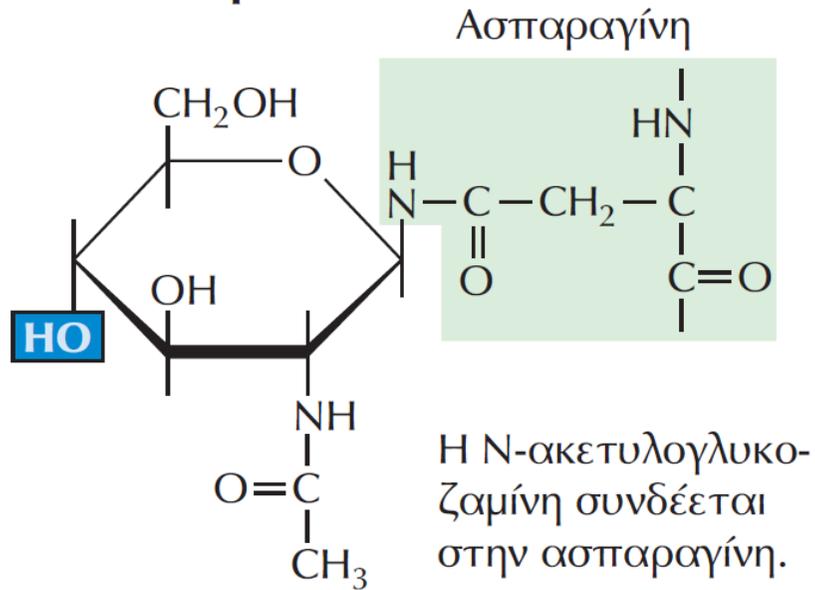
5.2. Επεξεργασία των πρωτεϊνών

B. Γλυκοζυλίωση: προσθήκη υδατανθράκων σε καθορισμένη αλληλουχία.

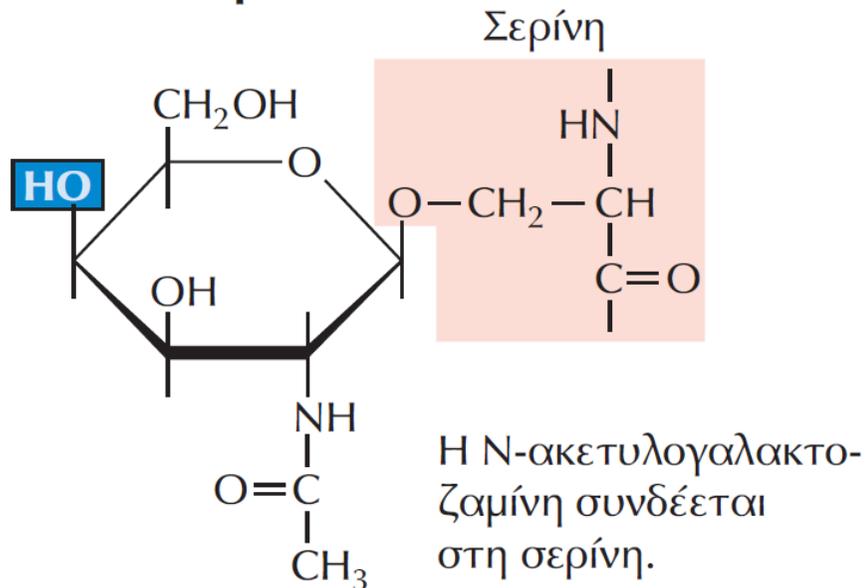
Γενικά Χαρακτηριστικά

1. Οι πρωτεΐνες που έχουν αλυσίδες υδατανθράκων λέγονται γλυκοπρωτεΐνες.
2. Η γλυκοζυλίωση γίνεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο (Asn, N-συνδεδεμένες) και στο σύστημα Golgi (Ser, Thr, O-συνδεδεμένες). Επίσης και σε Trp.
3. Οι υδατάνθρακες βοηθούν την αναδίπλωση των πρωτεϊνών.
4. Στοχοποιούν τις πρωτεΐνες για μεταφορά (έκκριση ή ενσωμάτωση στην κυτταρική μεμβράνη).
5. Αυτοί της κυτταρικής επιφάνειας λειτουργούν ως θέσεις αλληλεπίδρασης γειτονικών κυττάρων.
6. Η γλυκοζυλίωση αρχίζει στο ΕΔ στην υπό σύνθεση πεπτιδική αλυσίδα.
7. Το αρχικό βήμα είναι η μεταφορά ενός ολιγοσακχαρίτη από τη φωσφορική δολιχόλη του ΕΔ σε Asn δέκτη ευρισκόμενη σε αλληλουχία Asn-X-Ser ή Asn-X-Thr (X οτιδήποτε πλην Pro).

(N-σύνδεση)



(O-σύνδεση)



ΕΙΚΟΝΑ 8.29 Η πρόσδεση υδατανθρακικών αλυσίδων σε γλυκοπρωτεΐνες.

Στην περίπτωση των Ν-συνδεδεμένων γλυκοπρωτεϊνών, οι υδατανθρακικές αλυσίδες συνδέονται σε κατάλοιπα ασπαραγίνης.

Στην περίπτωση των Ο-συνδεδεμένων γλυκοπρωτεϊνών, οι υδατανθρακικές αλυσίδες συνδέονται είτε σε κατάλοιπα σερίνης (όπως φαίνεται στην εικόνα αυτή) είτε σε κατάλοιπα θρεονίνης. Τα σάκχαρα που προστίθενται στις περιπτώσεις αυτές είναι είτε Ν-ακετυλογλυκοζαμίνη (στις Ν-συνδεδεμένες γλυκοπρωτεΐνες) είτε Ν-ακετυλογαλακτοζαμίνη (στις Ο-συνδεδεμένες γλυκοπρωτεΐνες).

5.3. Αποικοδόμηση των πρωτεϊνών

Τα επίπεδα των πρωτεϊνών στο εσωτερικό του κυττάρου καθορίζονται από τον ρυθμό σύνθεσης και αποικοδόμησης.

Ο χρόνος ημιζωής των πρωτεϊνών είναι από μερικά λεπτά έως μέρες (ο κανόνας του αμινοτελικού-άκρου).

Πρωτεΐνες που βοηθούν το κύτταρο να προσαρμόζεται σε μεταβαλλόμενες συνθήκες (πχ μεταγραφικοί παράγοντες) ή πρωτεΐνες που επάγονται από μοριακά σήματα έχουν μικρό χρόνο ημιζωής.

Η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών των ευκαρυωτικών κυττάρων γίνεται από το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος και από τα λυσοσώματα

5.3.1. Το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος

Επιλεκτική υδρόλυση πρωτεϊνών που στοχεύονται από την ουβικιτίνη.

Ουβικιτίνη (Ub): πολυπεπτίδιο 76 αμινοξέων. Προσδένεται στην πλευρική αμινομάδα Lys πρωτεΐνης στόχου. Περισσότερες ουβικιτίνες προσδένονται στην αρχική Ub \Rightarrow αλυσίδα Ub. Οι πολυ Ub πρωτεΐνες αναγνωρίζονται και αποικοδομούνται από ένα υπερμοριακό σύμπλοκο με πολλές υπομονάδες, το πρωτεάσωμα.

Η Ub απελευθερώνεται και μπορεί να επαναχρησιμοποιηθεί. Η προσθήκη της Ub, αλλά και η πρωτεόλυση χρειάζονται ATP.

Το σύστημα ουβικιτίνης-πρωτεασώματος

Διαδικασία της ουβικιτινίωσης

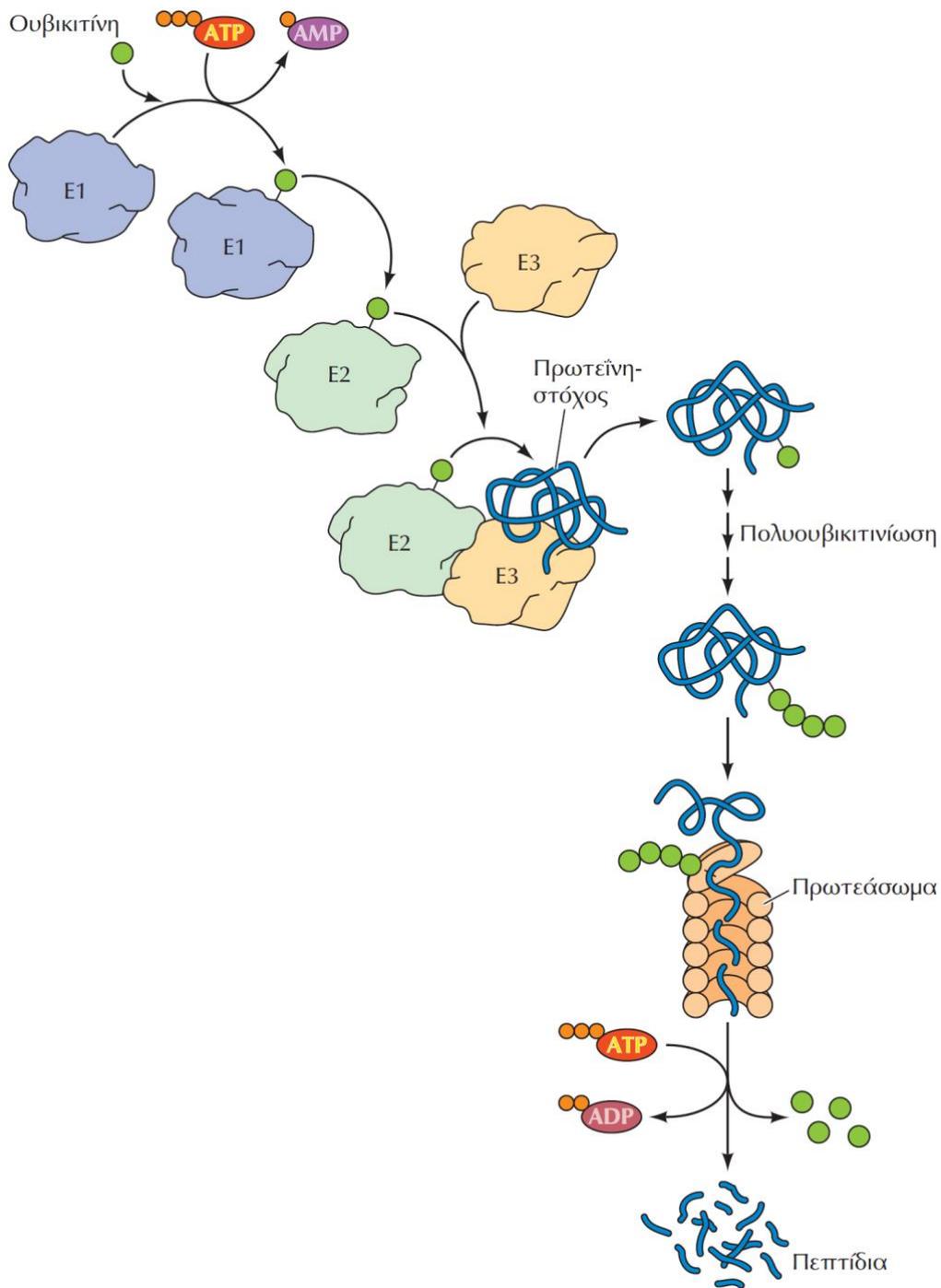
1. Η ουβικιτίνη (Ub) ενεργοποιείται μέσω της πρόσδεσής της στο ένζυμο ενεργοποίησης της Ub (E1) κατόπιν υδρόλυσης του ATP. Για όλες τις προς υδρόλυση πρωτεΐνες, υπάρχει συνήθως ενός τύπου E1 και μάλιστα σε αφθονία.
2. Το E1-Ub μεταφέρει την Ub στο ένζυμο σύζευξης της Ub (E2). Αρκετά κοινό ένζυμο, λίγοι όμως τύποι.
3. Η λιγάση της Ub (E3) μεταφέρει την Ub στην πρωτεΐνη στόχο. Οι E3 είναι πολλών τύπων και αυστηρά εξειδικευμένες για τα υποστρώματα-στόχους.

Υποστρώματα-στόχοι: πρωτεΐνες που ελέγχουν τη γονιδιακή έκφραση και την κυτταρική διαίρεση (πχ κυκλίνες).

Παράδειγμα (από το κεφάλαιο τα κυτταρικής διαίρεσης): Η έναρξη της μίτωσης ελέγχεται και από την κυκλίνη B (κB). Η κB προσδέεται και ενεργοποιεί την πρωτεϊνική κινάση Cdk1, που τότε φωσφορυλιώνει πρωτεΐνες στόχους της ώστε να πραγματοποιηθούν μιτωτικές διεργασίες (συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων, αποικοδόμηση του πυρηνικού φακέλου). Παράλληλα η Cdk1 ενεργοποιεί την E3 για την κB ώστε η κB να αποδομηθεί κατά το τέλος της μίτωσης. Η E3 λιγάση αναγνωρίζει ένα εννεαπεπτίδιο («μοτίβο καταστροφής») της κB. Το αποτέλεσμα της αποδόμησης της κB είναι η απενεργοποίηση της Cdk1 \Rightarrow το κύτταρο βγαίνει από τη μίτωση και προχωρεί στη μεσόφαση για τον επόμενο κυτταρικό κύκλο.

Μονοουβικιτινίωση

Μπορεί να έχει ρυθμιστικό ρόλο στην ενεργότητα μιας πρωτεΐνης. Άλλες πρωτεΐνες σαν την Ub (π.χ. SUMO) δεν στοχοποιούν για αποικοδόμηση, αλλά αλλάζουν την ενεργότητα (μεταγραφικοί παράγοντες, δομή χρωματίνης) και παρέχουν σήμα για τη μετατόπιση σε κυτταρικό διαμέρισμα.



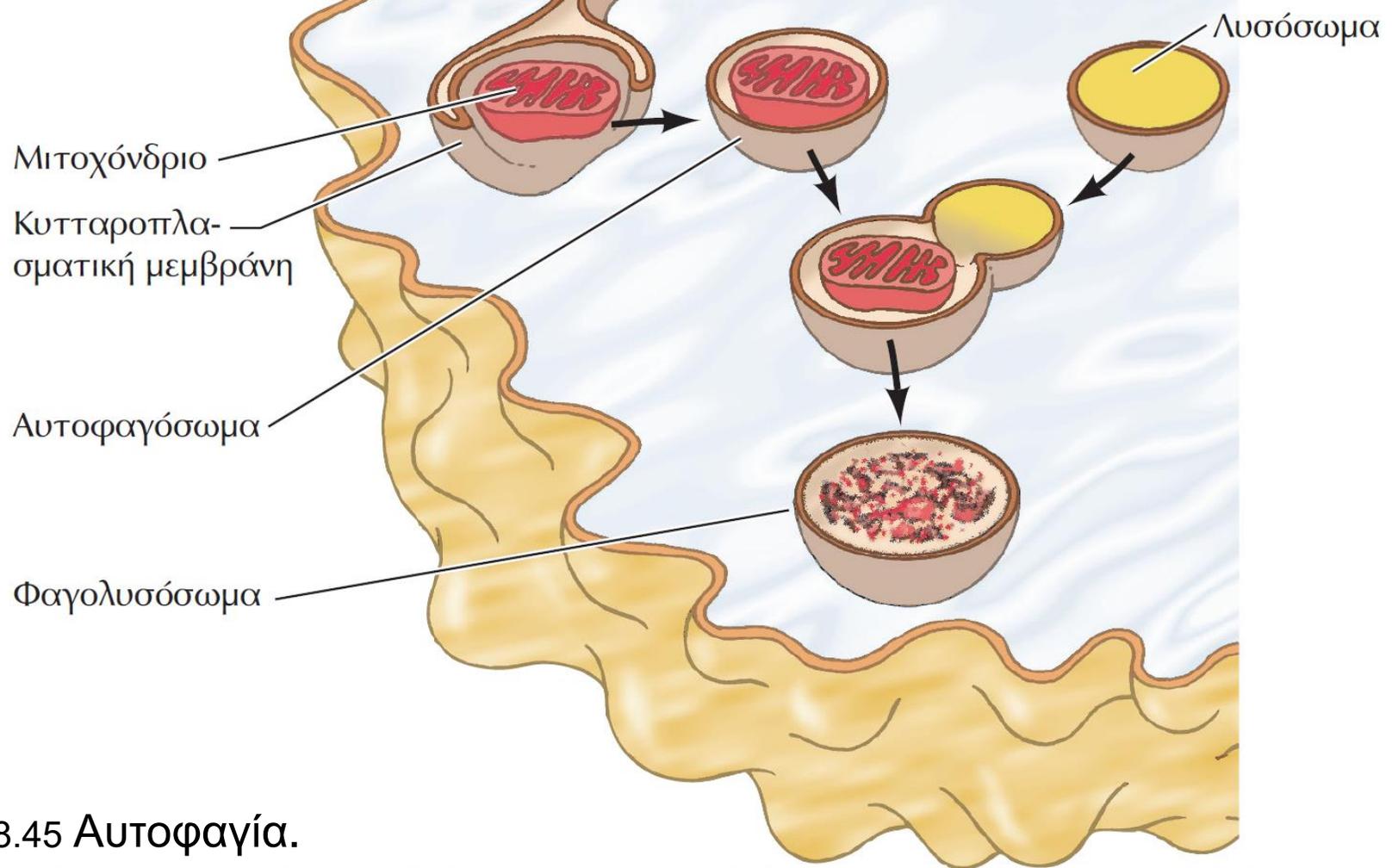
ΕΙΚΟΝΑ 8.43 Το μονοπάτι ουβικιτίνης-πρωτεασώματος. Οι πρωτεΐνες στοχοποιούνται για ταχεία αποικοδόμηση μέσω της ομοιοπολικής πρόσδεσης σε αυτές πολλών μορίων ουβικιτίνης. Η ουβικιτίνη αρχικά ενεργοποιείται από το ένζυμο E1. Η ενεργοποιημένη ουβικιτίνη μεταφέρεται στη συνέχεια σε ένα από τα διάφορα ένζυμα σύζευξης της ουβικιτίνης (E2) που διαθέτει το κύτταρο. Κατόπιν, μια λιγάση της ουβικιτίνης (E3) αλληλεπιδρά με το E2 και διεκπεραιώνει τη μεταφορά της ουβικιτίνης σε μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη-στόχο. Ακολουθεί η εν σειρά προσθήκη πολλαπλών ουβικιτινών και τέλος η πολυουβικιτινιωμένη πρωτεΐνη αποικοδομείται από ένα σύμπλοκο με ενεργότητα πρωτεάσης (το πρωτεάσωμα).

5.3.2. Πρωτεόλυση στα λυσοσώματα

Λυσοσώματα: ενδοκυτταρικά οργανίδια που περιβάλλονται από μεμβράνη και περιέχουν πεπτικά ένζυμα.

Λειτουργίες: πέψη εξωκυτταρικών πρωτεϊνών που προσλαμβάνονται με ενδοκυττάρωση, ανακύκλωση κυτταροπλασματικών οργανιδίων ή κυτταροπλασματικών πρωτεϊνών (αυτοφαγία). Συμβάλλουν στην αργή ανακύκλωση όλων των πρωτεϊνών του κυττάρου.

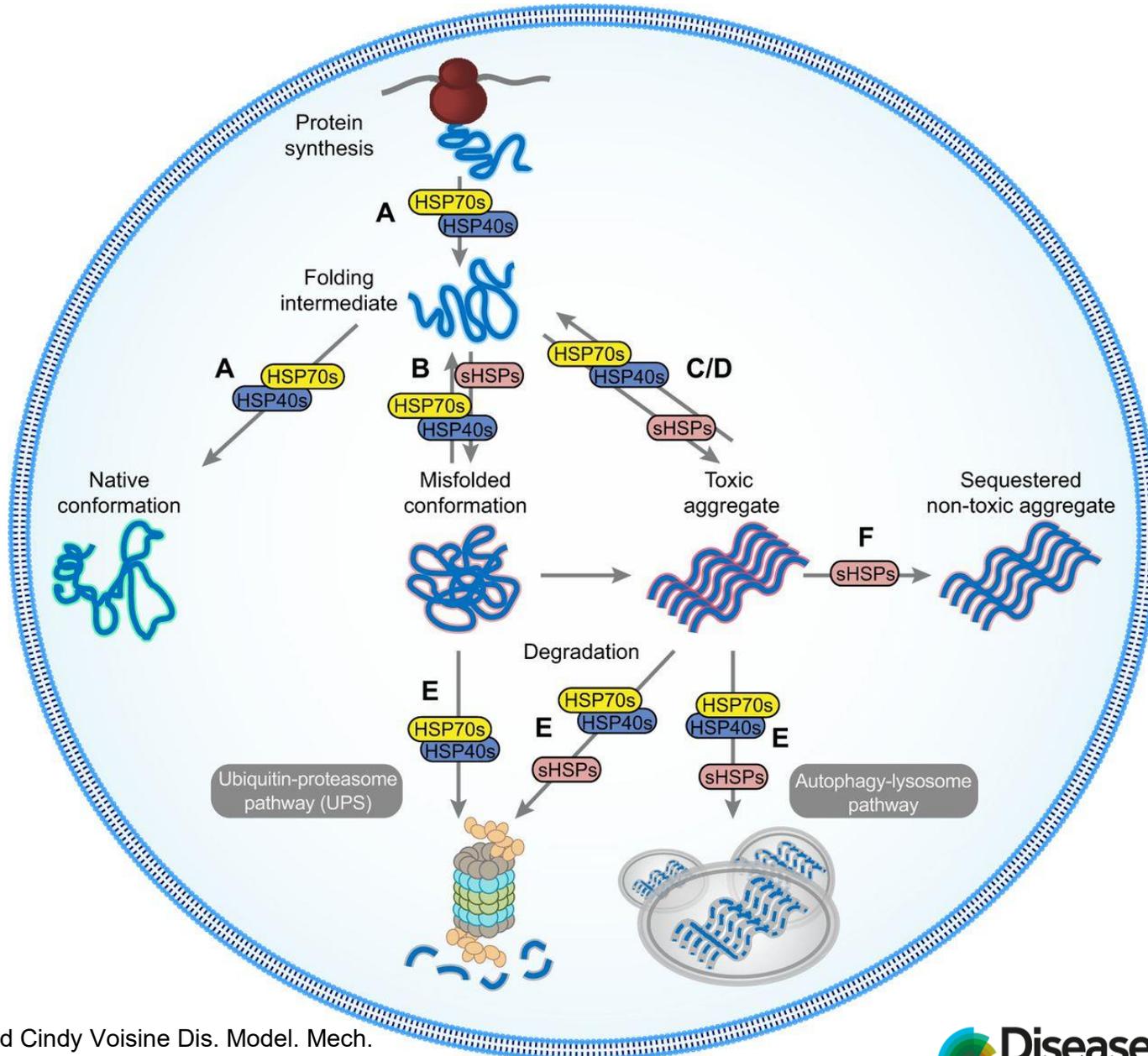
Αυτοφαγία: Σχηματισμός κυστιδίων (αυτοφαγοσώματα) από εγκοιλώσεις της κυτταρικής μεμβράνης που αποκόπτονται από αυτήν και περιλαμβάνουν περιοχές του κυτταροπλάσματος, ίσως και οργανίδια. Ενεργοποιείται από συνθήκες έλλειψης θρεπτικών συστατικών και επιτρέπει στα κύτταρα να αποικοδομήσουν μη απαραίτητες πρωτεΐνες για να χρησιμοποιήσουν τα συστατικά τους. Διεργασίες όπως η μεταμόρφωση των εντόμων, ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος και νευροεκφυλιστικές ασθένειες σχετίζονται με την αυτοφαγία.



ΕΙΚΟΝΑ 8.45 Αυτοφαγία.

Τα λυσοσώματα περιέχουν διάφορα πεπτικά ένζυμα, μεταξύ των οποίων πρωτεάσες. Τα αυτοφαγοσώματα σχηματίζονται από εγκολπώσεις της κυτταροπλασματικής μεμβράνης και περιέχουν περιοχές του κυτταροπλάσματος οι οποίες ενδέχεται να περιλαμβάνουν και οργάνιδια, για παράδειγμα μιτοχόνδρια. Τα λυσοσώματα συντήκονται με τα αυτοφαγοσώματα και έτσι προκύπτουν φαγολυσοσώματα, τα οποία πέπτουν το περιεχόμενο των αυτοφανοσωμάτων.

Αναδίπλωση πρωτεϊνών και πρωτεόλυση



ΤΕΛΟΣ