

# **ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ**

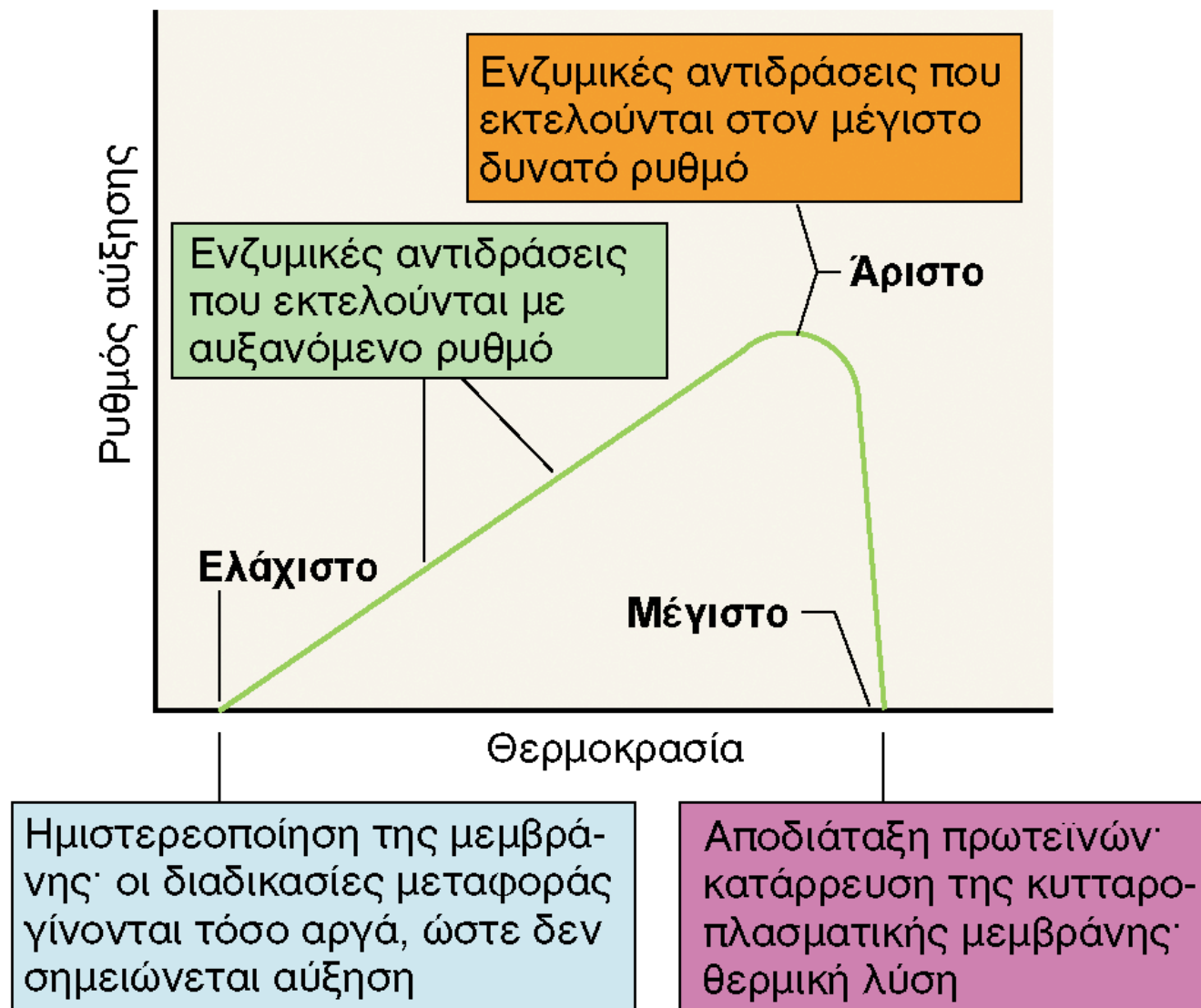
**Γιώργος Τσιάμης**

**Αναπληρωτής Καθηγητής**

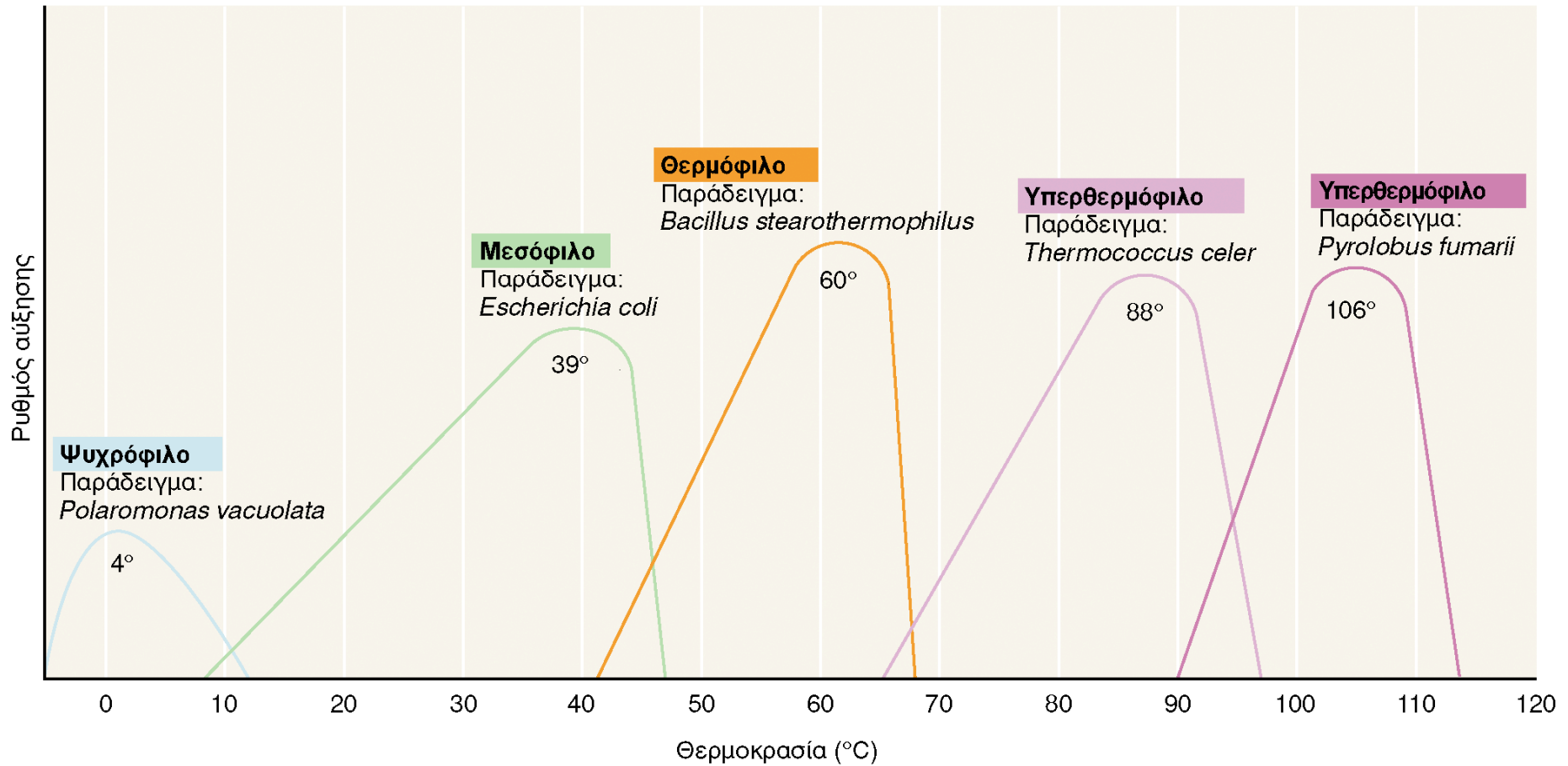
**Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας**

# ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΑΥΞΗΣΗ

- Θερμοκρασία
- pH
- Διαθεσιμότητα νερού
- Οξυγόνο



**Εικόνα 6.16** Επίδραση της θερμοκρασίας στον ρυθμό αύξησης και οι μοριακές συνέπειες για το κύτταρο. Οι τρεις θεμελιώδεις θερμοκρασίες ποικίλλουν μεταξύ των οργανισμών.



**Εικόνα 6.17** Σχέση θερμοκρασίας και ρυθμού αύξησης ενός τυπικού ψυχρόφιλου, ενός τυπικού μεσόφιλου, ενός τυπικού θερμόφιλου, και δύο διαφορετικών υπερθερμόφιλων οργανισμών. Στο διάγραμμα σημειώνονται οι άριστες θερμοκρασίες των οργανισμών αυτών.



# ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ $A_w$

- Η ενεργότητα νερού ορίζεται ως το πηλίκο της τάσεως των υδρατμών του υποστρώματος ή του τροφίμου ( $p$ ) δια της τάσεως ατμών του καθαρού νερού ( $p_0$ ) στην ίδια θερμοκρασία.  
 $a_w = P/P_0$
- (Τιμές μεταξύ 0 και 1)
- Η ενεργότητα του νερού συνδέεται με τη σχετική υγρασία σε ισοζύγιο (equilibrium Relative Humidity – ERH), την ωσμωτική πίεση και τη συγκέντρωση των ουσιών “εν διαλύσει” (solutes).

# Ελάχιστη κατά προσέγγιση τιμή $a_w$ για την ανάπτυξη διαφόρων μικροοργανισμών

Οργανισμός	Minimum $a_w$	Οργανισμός	Minimum $a_w$
Σπουδαιότερα βακτήρια προκαλούντα αλλοιώσεις	0.90 - 0.91	<i>Streptococcus</i>	0.92 - 0.98
<i>Acinetobacter</i>	0.95 - 0.98	<i>Staphylococcus albus</i>	0.88 - 0.92
<i>Aeromonas</i>	0.95 - 0.98	<i>S. aureus</i>	0.83 - 0.92
<i>Alcaligenes</i>	0.95 - 0.98	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94 - 0.98
<i>Arthrobacter</i>	0.95 - 0.98	<i>Halophilic bacteria</i>	0.75
<i>Bacillus</i>	0.90 - 0.99	Most yeasts	0.87 - 0.94
<i>B. cereus</i>	0.92 - 0.95	Osmophilic yeasts	0.60 - 0.78
<i>Citrobacter</i>	0.95 - 0.98	Most molds	0.70 - 0.80
<i>Clostridium botulinum</i>	0.90 - 0.98	<i>Xeromyces bisporus</i>	0.60 - 0.61
Type A	0.93 - 0.95	<i>Aspergillus</i>	0.68 - 0.88
Type B	0.93 - 0.96	<i>A. glaucus</i>	0.70 - 0.75
Type E	0.94 - 0.97	<i>A. flavus</i>	0.78 - 0.90
<i>C. perfringens</i>	0.93 - 0.97	<i>A. halophilicus</i>	0.68
<i>Corynebacterium</i>	0.95 - 0.98	<i>A. niger</i>	0.80 - 0.84
<i>Enterobacter</i>	0.95 - 0.98	<i>Botrytis cinerea</i>	0.93
<i>Escherichia coli</i>	0.94 - 0.97	<i>Debaryomyces</i>	0.87 - 0.91
<i>Flavobacterium</i>	0.95 - 0.98	<i>Fusarium</i>	0.80 - 0.92
<i>Klebsiella</i>	0.95 - 0.98	<i>Hansenula</i>	0.89 - 0.90
<i>Lactobacillus</i>	0.90 - 0.96	<i>Mucor</i>	0.80 - 0.93
<i>Leuconostoc</i>	0.96 - 0.98	<i>Penicillium</i>	0.78 - 0.90
<i>Micrococcus</i>	0.90 - 0.95	<i>Rhodotorula</i>	0.89 - 0.92
<i>M. roseus</i>	0.90 - 0.93	<i>Saccharomyces</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.96 - 0.98	<i>cerevisiae</i>	0.90 - 0.94
<i>P. fluorescens</i>	0.94 - 0.97	<i>S. rouxii</i>	0.62 - 0.81
<i>Salmonella</i>	0.93 - 0.96	Xerophilic molds	0.60 - 0.70



# ΤΡΟΠΟΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ $a_w$

- Μέτρηση της τάσεως των ατμών
- Χρήση ισοπιεστικών τεχνικών
- Ηλεκτρικά υγρόμετρα

# ΜΕΙΩΣΗ $\alpha_w$

- Διάλυση ουσιών (αλάτι, ζάχαρη)
- Απομάκρυνση από την περιεχόμενη υγρασία με ξήρανση, αφυδάτωση ή κατάψυξη.



# Microbial Growth and $A_w$

- Halophilic (*Halobacter halobium*) 0.75
- Xerophilic molds 0.61
- Osmophilic yeasts 0.61
- Lowest  $A_w$  for Pathogen Growth
  - 0.86 (Μη παραγωγή εντεροτοξίνης <0.93)
  - *Staphylococcus aureus*

# ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑΣ ΝΕΡΟΥ

- Κύριος παράγοντας σταθερότητας και συντηρήσεως των προϊόντων τύπου SSP (Shelf Stable Products)
- Μύκητες διατηρούν την αποκλειστικότητα σε υποστρώματα και τρόφιμα με ασυνήθιστα χαμηλές τιμές ενεργότητας νερού.
- Ο όρος “ξηρόφιλα βακτήρια” αναφέρεται σε μύκητες που μπορούν να αναπτυχθούν σε τρόφιμα με τιμές  $<0.85$
- Ωσμόφιλες ζύμες αναπτύσσονται σε τρόφιμα πλούσια σε ζάχαρα.

# ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΙΚΡΟΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ ( $A_w$ )

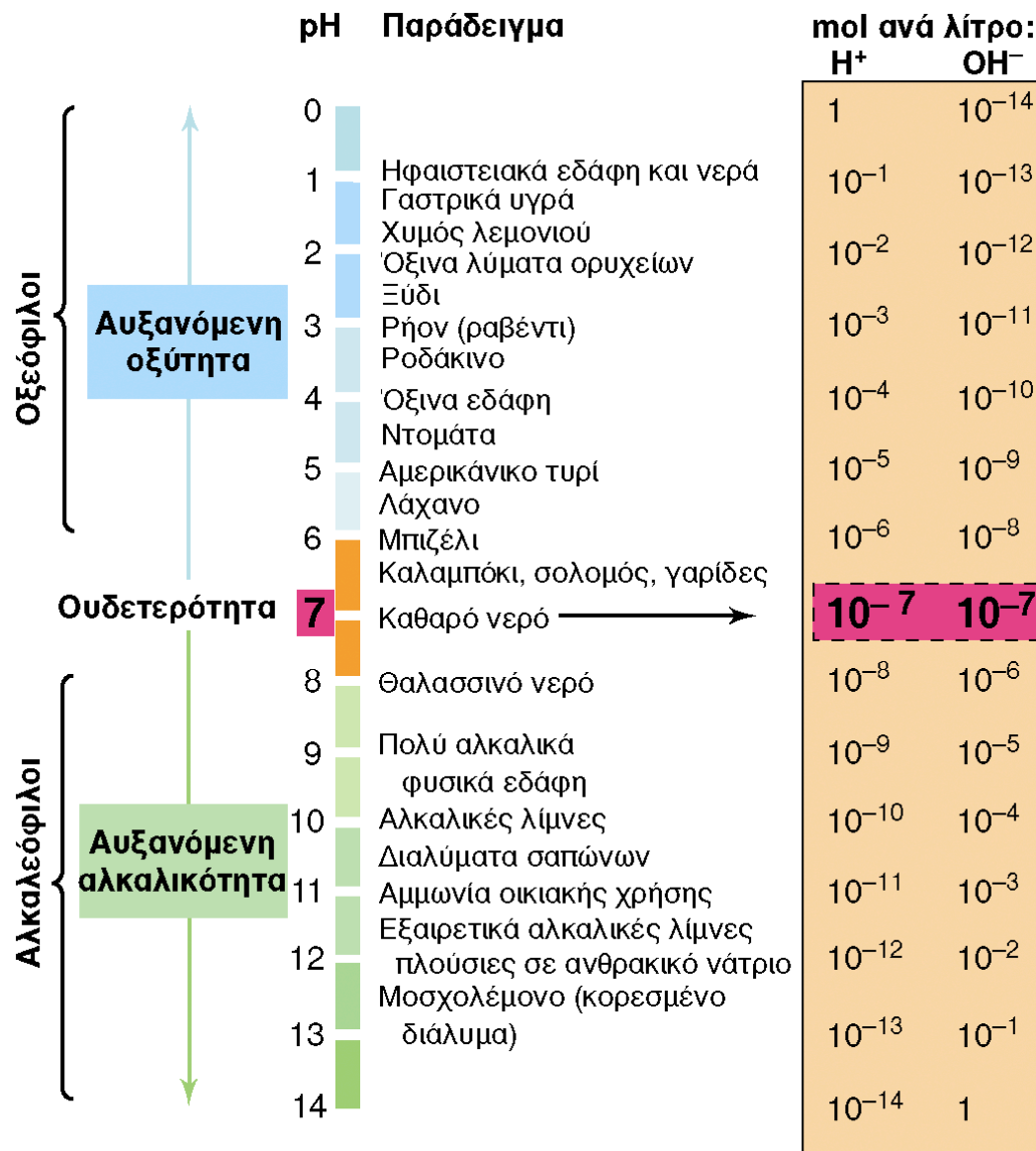
- Ζωικά τρόφιμα 0.98-1 (Ψευδομονάδες, Γαλακτοβακτήρια)
- 0.93-0.98 Θετικά κατά Gram βακτήρια *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, αλλά και από αρνητικά κατά Gram, όπως Κολοβακτηρίδια
- 0.85-0.93 θετικά κατά Gram βακτήρια (κόκκους), από ζύμες και μύκητες
- 0.6-0.85 Ξηρόφιλους μύκητες και ωσμόφιλες ζύμες.
- Τρόφιμα με τιμές  $<0.60$  δεν αλλοιώνονται από μικροοργανισμούς



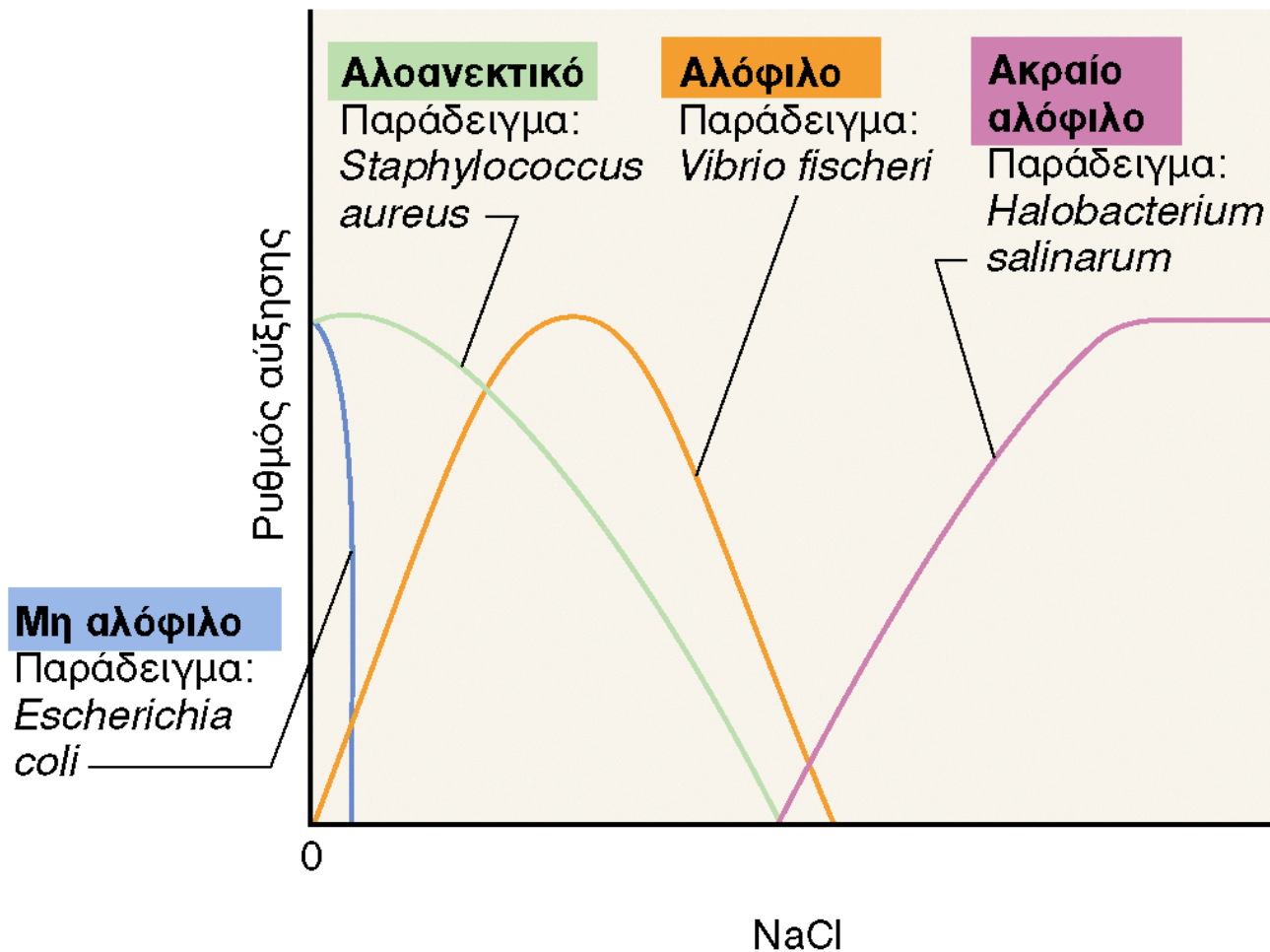
# ΕΝΕΡΓΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ ΣΕ ΕΠΙΛΕΓΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Τρόφιμο	$a_w$	Τρόφιμο	$a_w$
Φρέσκα φρούτα ή λαχανικά	0.97 - 1.00	Ρύζι	0.80 - 0.87
Φρέσκα πουλερικά ή ιχθυηρά	0.98 - 1.00	Κέικ φρούτων	0.80 - 0.87
Φρέσκα κρέατα	0.95 - 1.00	Αλεύρι	0.67 - 0.87
Πουτίγκα	0.97 - 0.99	Κέικ παγωτό	0.76 - 0.84
Αυγά	0.97	Μέλι	0.54 - 0.75
Χυμοί - Φρούτα & λαχανικά	0.97	Μελάσσες	0.76
Ψωμί	0.95 - 0.96	Αποξηραμένα φρούτα	0.51 - 0.89
-ψίχα	0.94 - 0.97	Καραμέλες	0.60 - 0.65
-κόρα	0.30	Καραμέλες βουτύρου	0.60 - 0.65
Τυρί (οι περισσότεροι τύποι)	0.91 - 1.00	Ζαχαρωτά σοκολάτας	0.69
-παρμεζάνα	0.68 - 0.76	Νιφάδες βρώμης	0.65 - 0.75
Παστό κρέας	0.87 - 0.95	Λαζάνια	0.50
Ψημένο κέικ	0.90 - 0.94	Αποξηραμένα λαχανικά	0.20
Ζύμη υπό ψύξη μπισκότου	0.94	Δημητριακά	0.10 - 0.20
Σιρόπι σφενδάμου	0.90	Κράκερς	0.10
Αλατισμένος κρόκος αυγού	0.90	Βραστά αυγά	0.40
Ξηροί καρποί	0.66 - 0.84	Μπισκότα	0.30
Μαρμελάδα	0.75 - 0.80	Ζάχαρη	0.10
Ζελές	0.82 - 0.94	Μαλακή, υγρή τροφή για κατοικίδια ζώα	0.83 - 0.91





**Εικόνα 6.22** Η κλίμακα pH. Σημειώστε ότι αν και ορισμένοι μικροοργανισμοί μπορούν να επιβιώσουν σε συνθήκες πολύ χαμηλού ή πολύ υψηλού pH, το εσωτερικό pH του κυττάρου παραμένει σχεδόν ουδέτερο.

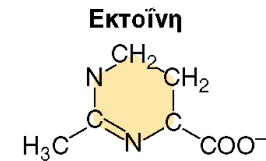
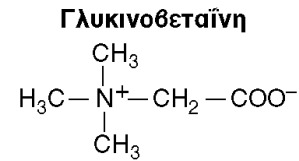


**Εικόνα 6.23** Επίδραση της συγκέντρωσης ιόντων νατρίου στην ανάπτυξη μικροοργανισμών με διαφορετική ανοχή ή διαφορετικές απαιτήσεις σε αλάτι. Η άριστη συγκέντρωση NaCl για θαλάσσιους μικροοργανισμούς, όπως για τον *V. fischeri*, είναι περίπου 3%, ενώ για τα ακραία αλόφιλα κυμαίνεται μεταξύ 15% και 30%, ανάλογα με τον οργανισμό.

- Εξαιρετικά αλόφιλα 2.5 – 5.2 M
- Οριακά εξαιρετικά αλόφιλα 1.5 – 4 M
- Μεσο-αλόφιλα 0.5 – 1.5 M

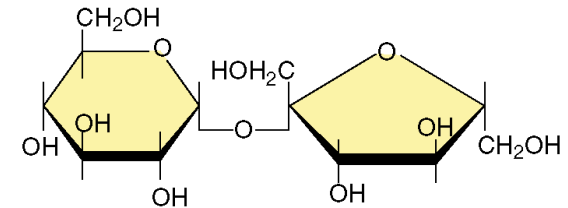
Αλοανθεκτικοί αυτοί που δεν απαιτούν αλάτι για να αναπτυχθούν αλλά μπορούν να αναπτυχθούν μέχρι ένα εύρος αλατότητας και έχουν βέλτιστο ρυθμό ανάπτυξης απουσία άλατος ονομάζονται «αλοανθεκτικοί».

## 1. Διαλυμένες ουσίες αμινοξικού τύπου:

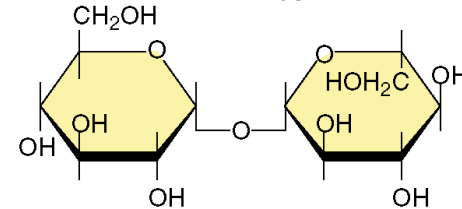


## 2. Διαλυμένες ουσίες υδατανθρακικού τύπου:

### Σακχαρόζη



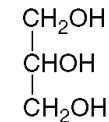
### Τρεαλόζη



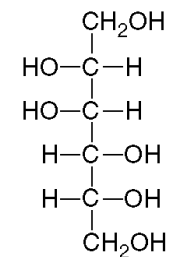
**Εικόνα 6.24** Δομή ορισμένων κοινών συμβατών διαλυμένων ουσιών που απαντούν στους μικροοργανισμούς. Οι δομές του γλουταμικού και της προλίνης, δύο άλλων κοινών διαλυμένων ουσιών, παρουσιάζονται στην Εικόνα 3.12. Η επίσημη ονομασία της εκτοΐνης είναι 1,4,5,6-τετραϋδρο-2-μεθυλο-4-πυριμιδινο-καρβοξυλικό. Σημειώστε ότι όλες οι χημικές ενώσεις που παρουσιάζονται εδώ είναι ιδιαίτερος πολικά (υδατοδιαλυτά) μόρια.

## 3. Διαλυμένες ουσίες αλκοολικού τύπου:

### Γλυκερόλη

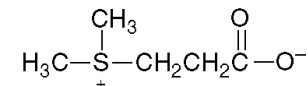


### Μαννιτόλη



## 4. Άλλες:

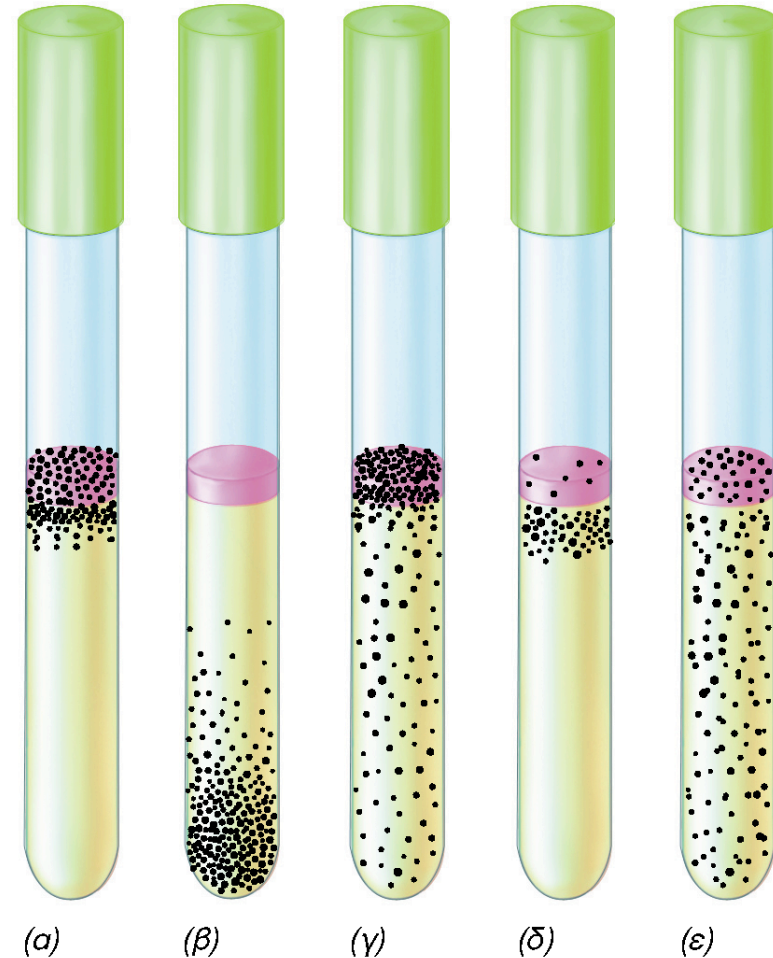
### Διμεθυλοσουλφονιοπροπιονικό:





### Εικόνα 6.25

Αερόβια, αναερόβια, προαιρετικά αναερόβια, μικροαερόφιλη, και αερανεκτική αναερόβια αύξηση, όπως φαίνεται από τη θέση των μικροβιακών αποικιών (απεικονίζονται ως μαύρες κουκκίδες) σε σωλήνες με θειογλυκολικό ζυμό ως θρεπτικό μέσο. Έχουν προστεθεί μικρή ποσότητα άγαρ, για να διατηρείται το υγρό σε ηρεμία, και ρεσαζουρίνη, ο οξειδοαναγωγικός χρωματικός δείκτης που γίνεται ροζ όταν οξειδωθεί και άχρωμος όταν αναχθεί. (α) Το οξυγόνο διεισδύει σε μικρό βάθος στον σωλήνα, οπότε τα υποχρεωτικώς αερόβια αναπτύσσονται μόνο στην επιφάνεια. (β) Τα αναερόβια, που είναι ευαίσθητα στην παρουσία οξυγόνου, αναπτύσσονται μόνο μακριά από την επιφάνεια. (γ) Τα προαιρετικά αερόβια μπορούν να αυξάνονται είτε παρουσία είτε απουσία οξυγόνου, συνεπώς αναπτύσσονται καθ' όλο μήκος του σωλήνα. Ωστόσο, παρατηρείται καλύτερη αύξηση κοντά στην επιφάνεια, διότι οι συγκεκριμένοι οργανισμοί έχουν την ικανότητα της αναπνοής. (δ) Οι μικροαερόφιλοι αυξάνονται μακριά από τη ζώνη με το περισσότερο οξυγόνο. (ε) Οι αερανεκτικοί αναερόβιοι αναπτύσσονται καθ' όλο το μήκος του σωλήνα. Ωστόσο, η αύξησή τους δεν είναι καλύτερη κοντά στην επιφάνεια, διότι οι συγκεκριμένοι οργανισμοί έχουν μόνο την ικανότητα της ζύμωσης.





Deborah O. Jung and M. T. Madigan

(a)

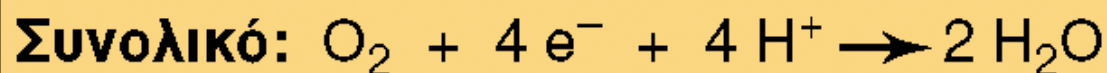
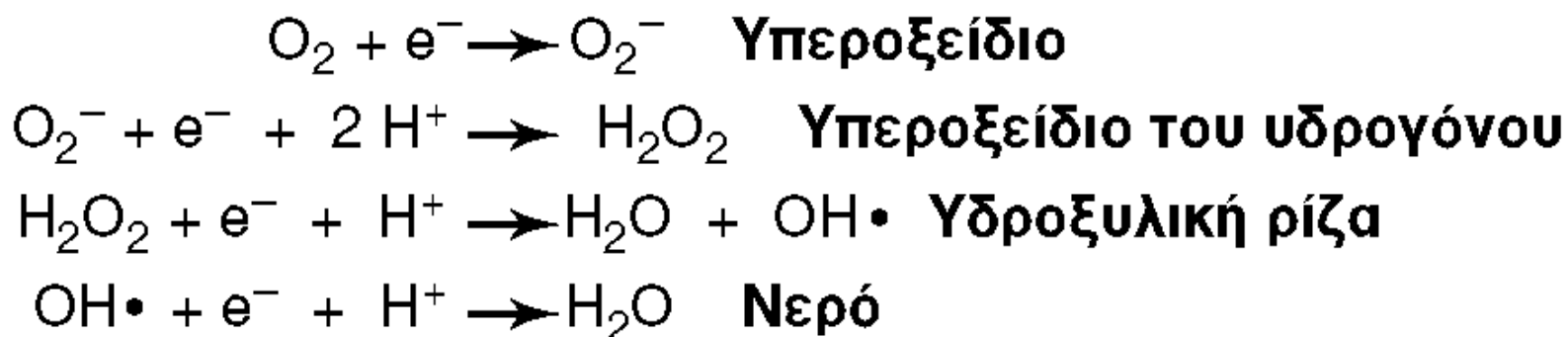


Coy Laboratory Products

(β)

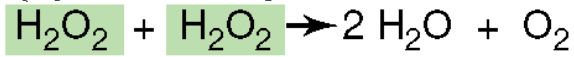
### Εικόνα 6.26

Επώαση σε ανοξικές συνθήκες. (α) Ανοξικό δοχείο. Μια χημική αντίδραση στον μανδύα του δοχείου παράγει  $H_2 + CO_2$ . Το  $H_2$  αντιδρά με το  $O_2$  του δοχείου στην επιφάνεια ενός καταλύτη από παλλάδιο, και σχηματίζει  $H_2O$ . η ατμόσφαιρα που δημιουργείται τελικά περιέχει  $N_2$ ,  $H_2$ , και  $CO_2$ . (β) Ανοξικός θάλαμος με γάντια, για τον χειρισμό και την επώαση καλλιεργειών υπό ανοξικές συνθήκες. Στα δεξιά διακρίνεται ένας αεροφράκτης, μικρός θάλαμος που μπορεί να εκκενωθεί από αέρα και να πληρωθεί με κάποιο αέριο απαλλαγμένο από οξυγόνο. Η συγκεκριμένη διάταξη χρησιμοποιείται ως δίοδος προσθήκης ή απομάκρυνσης υλικών από το ανοξικό δοχείο.

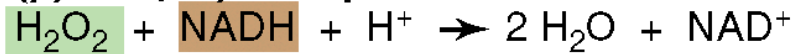


**Εικόνα 6.27** Αναγωγή τεσσάρων ηλεκτρονίων του  $\text{O}_2$  προς  $\text{H}_2\text{O}$ , με σταδιακή προσθήκη ηλεκτρονίων. Όλα τα ενδιάμεσα προϊόντα που σχηματίζονται είναι δραστικά και τοξικά για το κύτταρο, εκτός βέβαια από το  $\text{H}_2\text{O}$ .

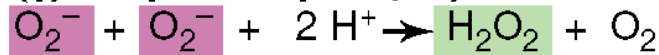
**(α) Καταλάση:**



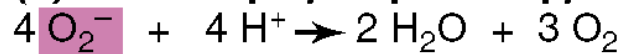
**(β) Υπεροξειδάση:**



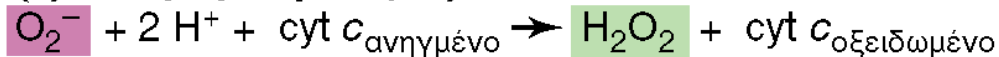
**(γ) Δισμουτάση υπεροξειδίου:**



**(δ) Συνδυασμός δισμουτάσης υπεροξειδίου/καταλάσης:**

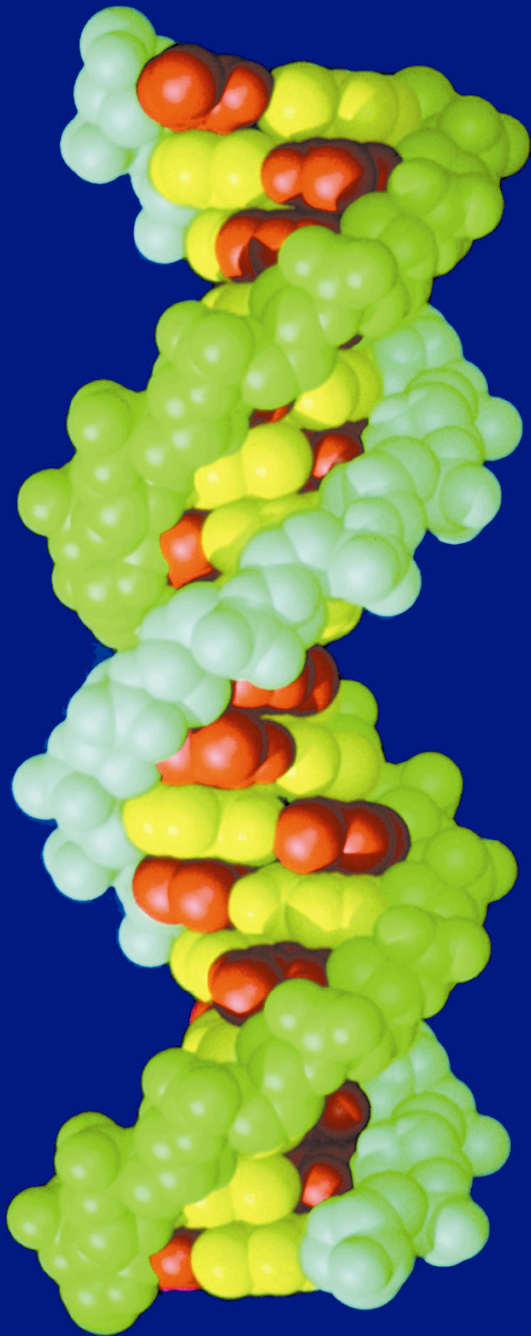


**(ε) Αναγωγή υπεροξειδίου:**



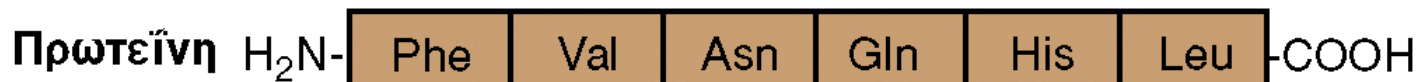
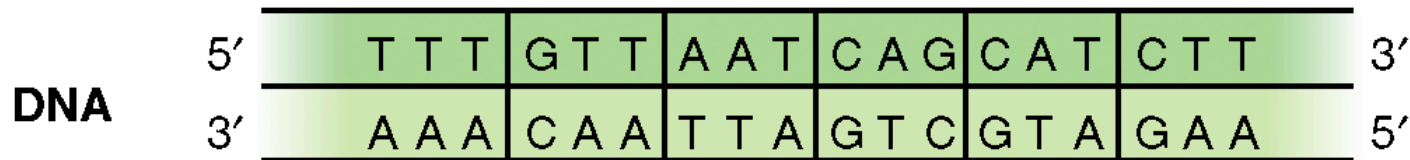
**Εικόνα 6.28** Ένζυμα που καταστρέφουν τις τοξικές μορφές οξυγόνου. (α) Οι καταλάσες και (β) οι υπεροξειδάσες είναι πρωτεΐνες που περιέχουν πορφυρίνη, αν και ορισμένες φλαβοπρωτεΐνες μπορούν επίσης να διασπούν τοξικές μορφές του οξυγόνου. (γ) Οι δισμουτάσες υπεροξειδίου είναι πρωτεΐνες που περιέχουν μέταλλα, συνήθως χαλκό και ψευδάργυρο, μαγγάνιο, ή σίδηρο. (δ) Συνδυασμένη δράση δισμουτάσης υπεροξειδίου και καταλάσης. (ε) Η αναγωγή υπεροξειδίου καταλύει την αναγωγή  $\text{O}_2^-$  προς  $\text{H}_2\text{O}_2$ , χρησιμοποιώντας το ανηγμένο κυτόχρωμα  $c$  ως δότη ηλεκτρονίων.



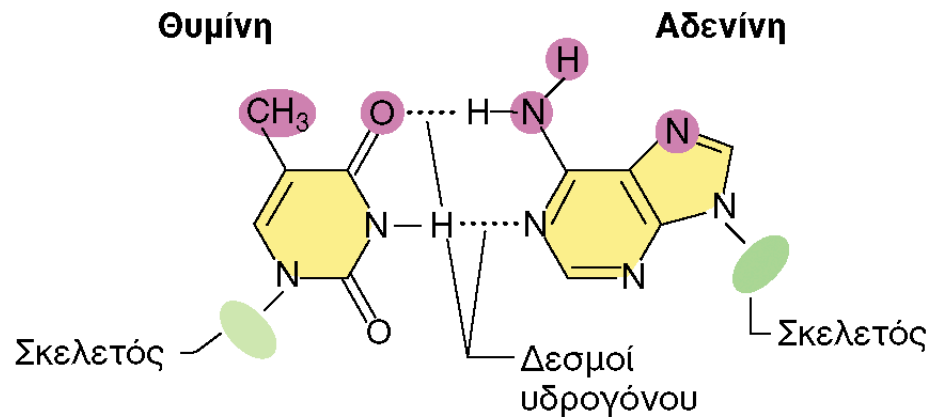
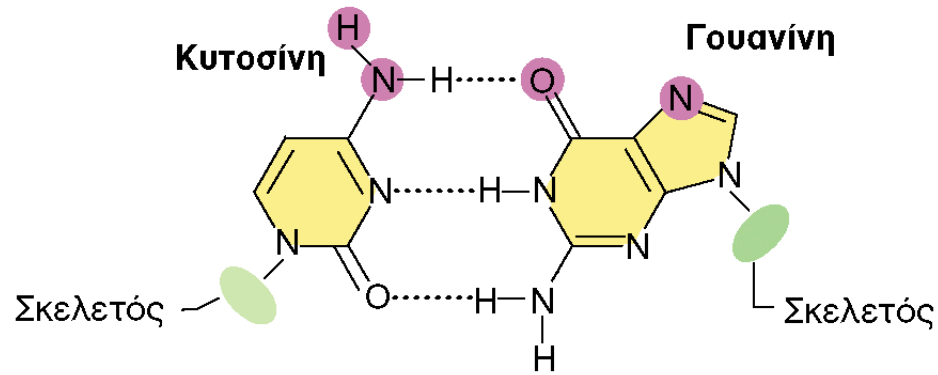


## ΑΡΧΕΣ ΤΗΣ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

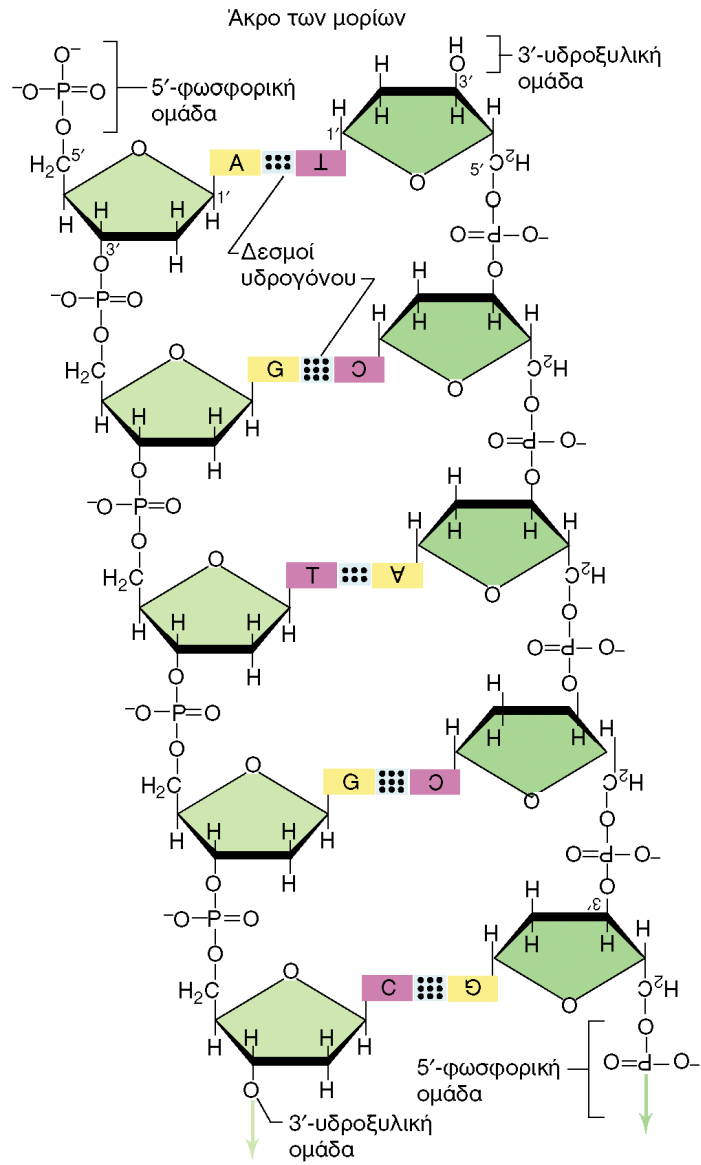
**Τ**ο γενετικό υλικό όλων των κυττάρων αποτελείται από δίκλωνο δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ (DNA), του οποίου η μοριακή δομή παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα. Για να μπορέσει ένας οργανισμός να αυξηθεί και να αναπαραχθεί, η γενετική πληροφορία που βρίσκεται αποθηκευμένη στη διπλή έλικα πρέπει να αντιγραφεί με ακρίβεια και επιπλέον να χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση ειδικών ριβονουκλεϊκών οξέων (RNA) και πρωτεϊνικών μορίων. Οι διαδικασίες που χρησιμοποιούνται για να υλοποιηθούν οι λειτουργίες αυτές, αποκαλύφθηκαν κατ' αρχάς σε μικροοργανισμούς, αλλά οι βασικοί μηχανισμοί είναι παραπλήσιοι σε όλους τους οργανισμούς με κυτταρική οργάνωση, από τα βακτήρια έως τον άνθρωπο.



**Εικόνα 7.1** Σύνθεση των τριών τύπων πληροφοριακών μακρομορίων. Σημειώστε ότι σε κάθε συγκεκριμένη περιοχή μεταγράφεται μόνο μία από τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας.

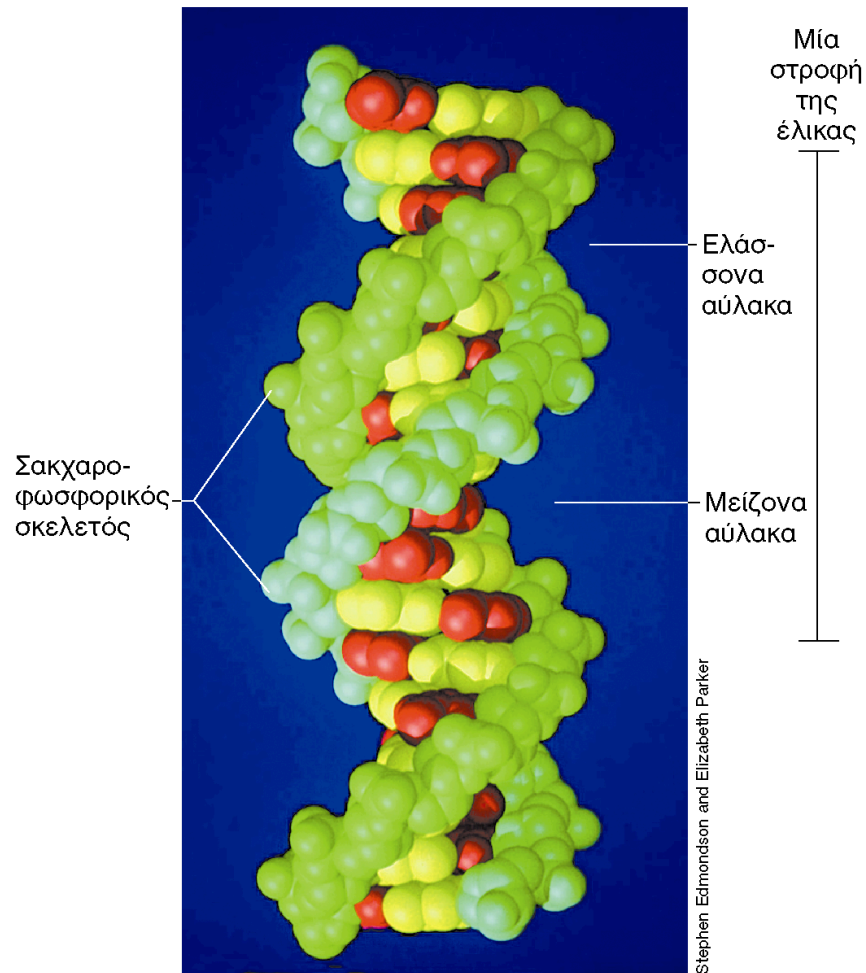


**Εικόνα 7.3** Απεικόνιση της επιλεκτικής ζεύξης μεταξύ αδενίνης (A) και θυμίνης (T) και μεταξύ γουανίνης (G) και κυτοσίνης (C), μέσω του σχηματισμού δεσμών υδρογόνου. Αυτά τα δύο ζεύγη βάσεων είναι τα ζεύγη που απαιτούν κατά κανόνα στο δίκλωνο DNA. Τα άτομα που βρίσκονται στη μείζονα αύλακα της διπλής έλικας και που αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες, επισημαίνονται με κόκκινο χρώμα. Επισημαίνεται επίσης ο σακχαροφωσφορικός σκελετός των δύο αλυσίδων του DNA.

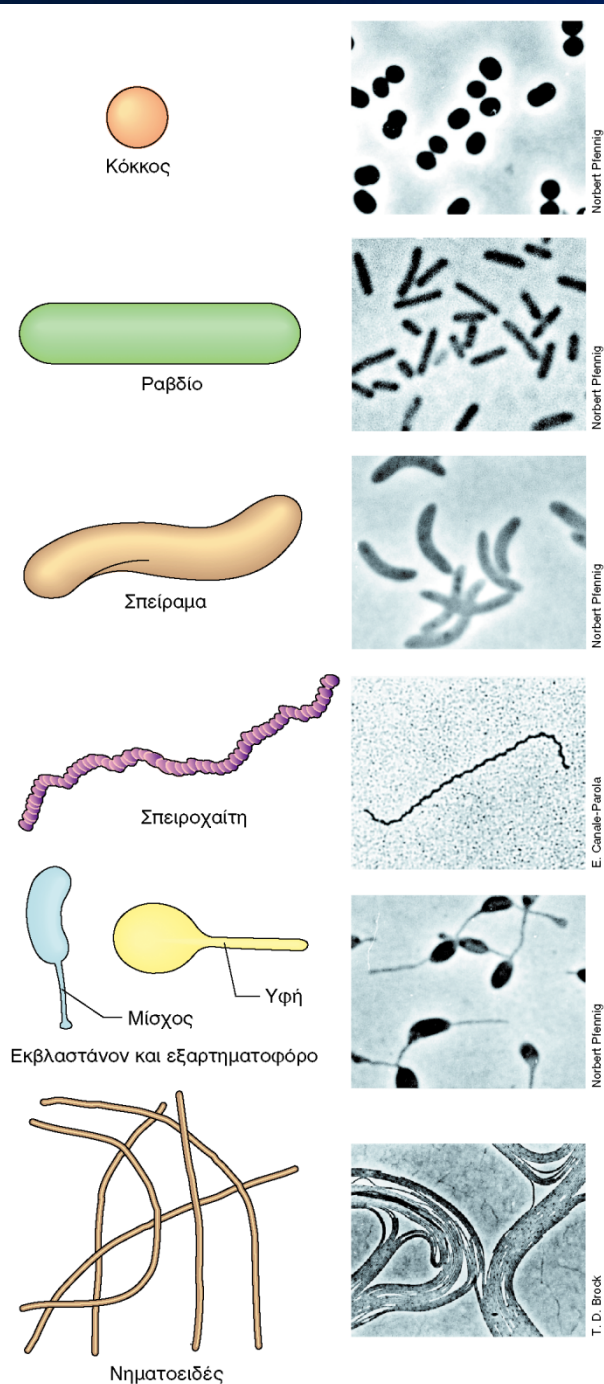


**Εικόνα 7.4** Η δομή του DNA. Η συμπληρωματική και αντιπαράλληλη φύση του DNA. Σημειώστε ότι η μία αλυσίδα καταλήγει σε μια 5'-φωσφορική ομάδα, ενώ η άλλη σε μια 3'-υδροξυλική ομάδα. Οι βάσεις με κόκκινο χρώμα αναπροσωπεύουν τις πυριμιδίνες, κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T), και οι βάσεις με κίτρινο χρώμα τις πουρίνες, αδενίνη (A) και γουανίνη (G).



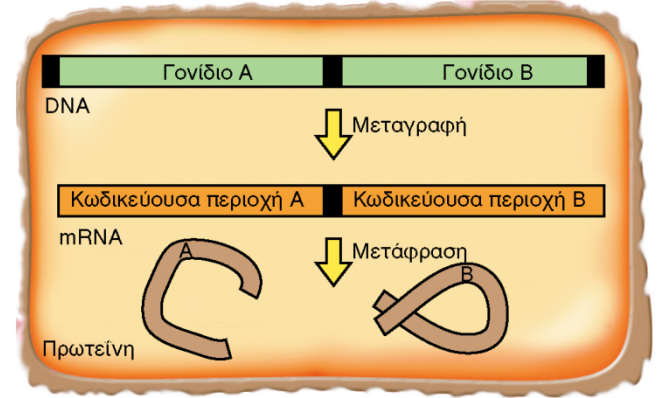


**Εικόνα 7.5** Υπολογιστικό μοντέλο ενός μικρού τμήματος DNA, που παρουσιάζει τη συνολική διάταξη της διπλής έλικας. Ο ένας σακχαροφωσφορικός σκελετός παρουσιάζεται με κυανό και ο άλλος με πράσινο χρώμα. Οι βάσεις πυριμιδίνης υποδηλώνονται με κόκκινο χρώμα και οι πουρίνες με κίτρινο. Σημειώστε τις θέσεις της μείζονος και της ελάσσονος αύλακας. Η σύνθεση του μοντέλου έγινε με τη χρήση λογισμικού του Εργαστηρίου Ηλεκτρονικών Υπολογιστικών Γραφικών, του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας στο San Francisco.

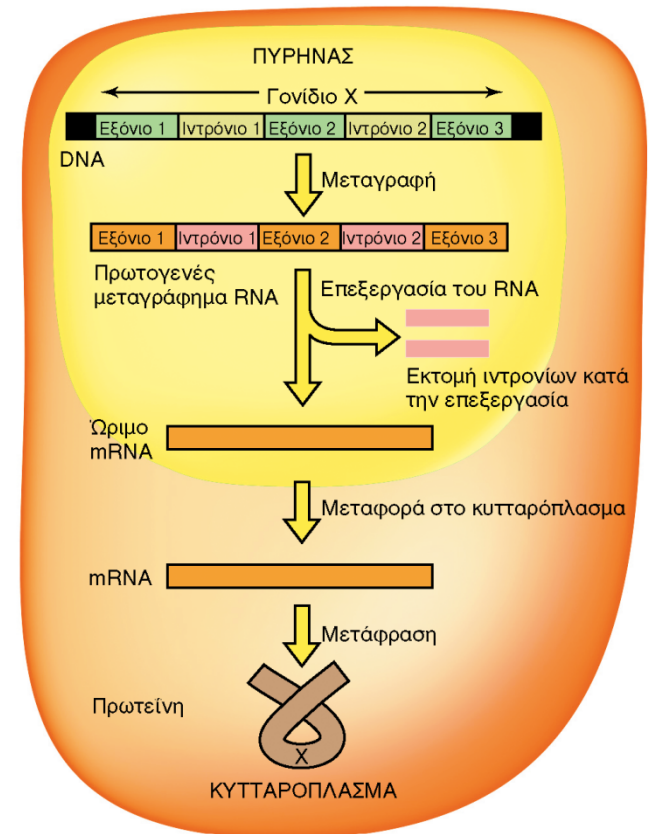


#### Εικόνα 4.11

Αντιπροσωπευτικά κυτταρικά σχήματα (μορφολογίες) προκαρυωτικών οργανισμών. Παρατίθενται διαγράμματα (αριστερά) και χαρακτηριστικές μικροφωτογραφίες (δεξιά). Οι οργανισμοί είναι: κόκκος, *Thiocapsa roseopersicina* (διάμετρος κυττάρου: 1,5  $\mu\text{m}$ )· ραβδίο, *Desulfuromonas acetoxidans* (διάμετρος: 1  $\mu\text{m}$ )· σπείραμα, *Rhodospirillum rubrum* (διάμετρος: 1  $\mu\text{m}$ )· σπειροχάιτη, *Spirochaeta stenostrepta* (διάμετρος: 0,25  $\mu\text{m}$ )· εκβλαστάνον και εξαρτηματοφόρο, *Rhodomicrobium vannielii* (διάμετρος: 1,2  $\mu\text{m}$ )· νηματοιειδές, *Chloroflexus aurantiacus* (διάμετρος: 0,8  $\mu\text{m}$ ).



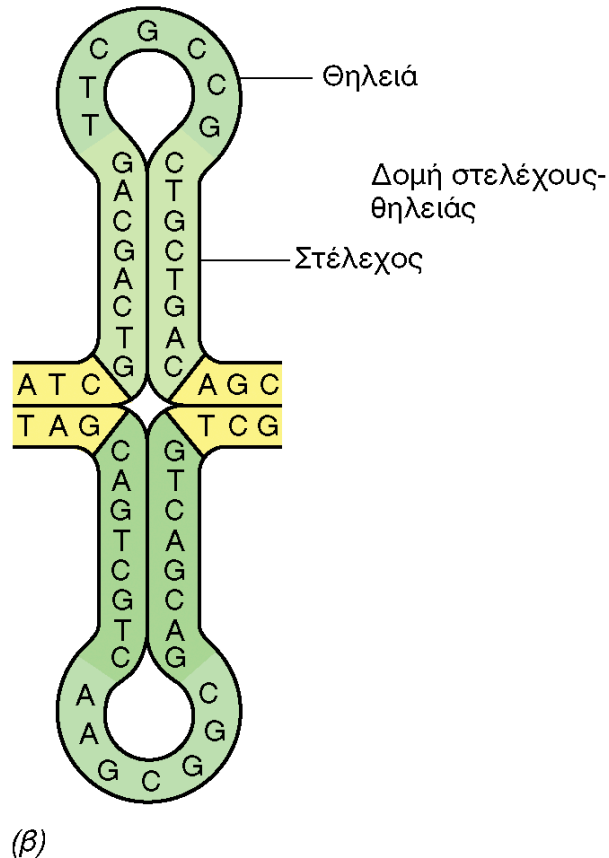
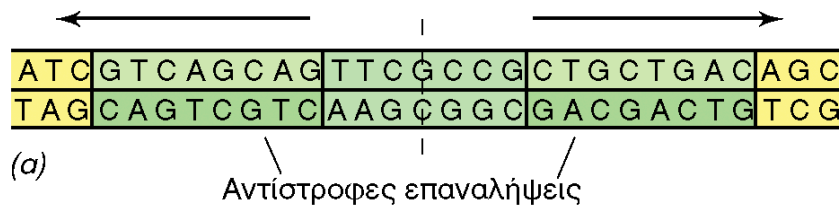
(α) Προκαρυώτης



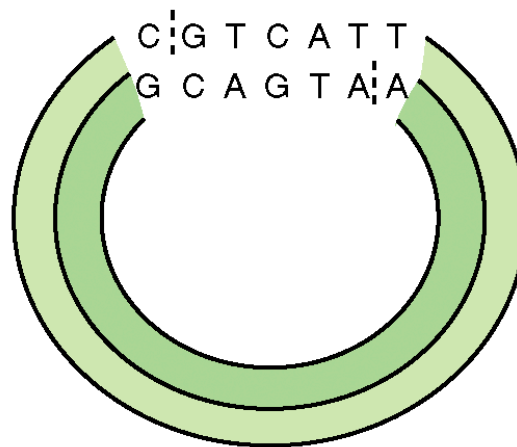
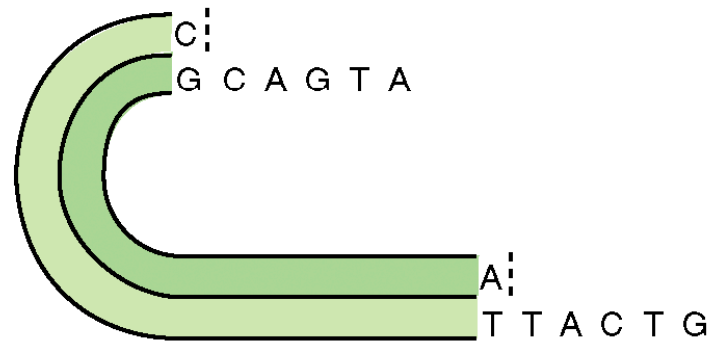
(β) Ευκαρυώτης

**Εικόνα 7.2** Αντιπαραβολή των διαδικασιών μεταφοράς της πληροφορίας σε προκαρυώτες και ευκαρυώτες. (α) Προκαρυώτης. Συχνά ένα μόριο RNA περιέχει περισσότερες από μία κωδικεύουσες περιοχές (αυτού του είδους τα mRNA ονομάζονται *πολυκιστρονικά*). (β) Ευκαρυώτης. Οι μη κωδικεύουσες περιοχές (*ιντρόνια*) αφαιρούνται από το πρωτογενές μεταγράφημα RNA πριν από τη μετάφραση. Τα mRNA των ευκαρυωτών είναι σχεδόν πάντοτε *μονοκιστρονικά*. Σημειώστε ότι οι δύο τύποι κυττάρων δεν αναπαρίστανται στην ίδια κλίμακα. Ένα τυπικό προκαρυωτικό κύτταρο έχει διάμετρο 1 έως 2 μm, ενώ ένα τυπικό ευκαρυωτικό (ζωικό) κύτταρο έχει διάμετρο περίπου 25 μm (Εικόνα 2.3)

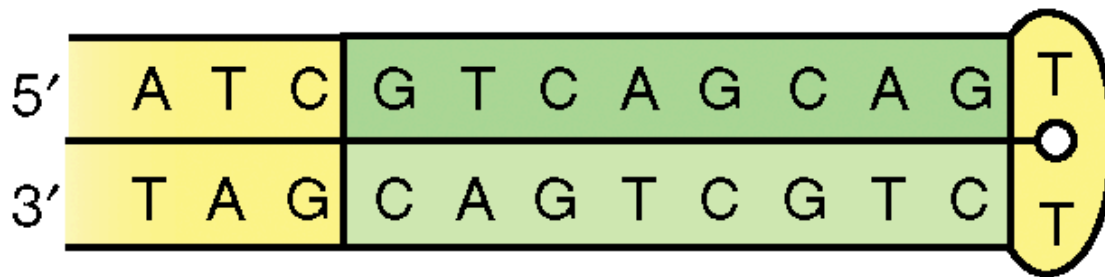
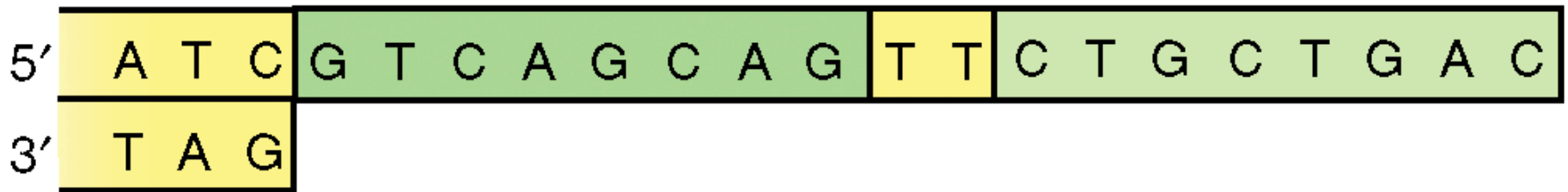




**Εικόνα 7.6** Οι αντίστροφες επαναλήψεις και ο σχηματισμός δομής στελέχους-θηλειάς. (α) Γειτνιάζουσες αντίστροφες επαναλήψεις σε μόριο DNA. Τα βέλη υποδεικνύουν τη συμμετρία περί τον νοητό άξονα (στικτή ευθεία γραμμή). (β) Σχηματισμός δομών στέλεχους-θηλειάς (σταυροειδών δομών) μέσω της ζεύξης συμπληρωματικών βάσεων της ίδιας αλυσίδας.



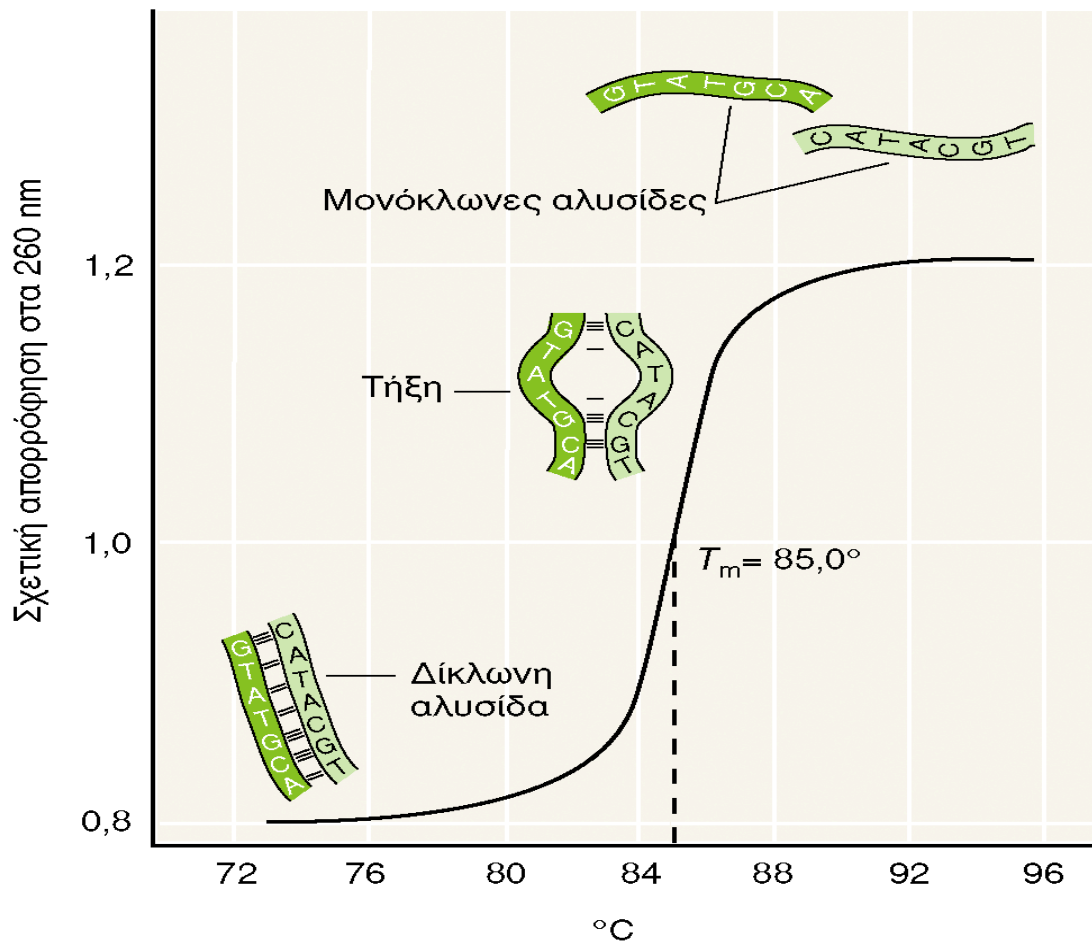
**Εικόνα 7.7** Ένα γραμμικό DNA με συμπληρωματικά μονόκλιωνα άκρα («ανισοτελή άκρα») μπορεί να κυκλοποιηθεί μέσω της ζεύξης βάσεων των συμπληρωματικών άκρων του.



### Εικόνα 7.8

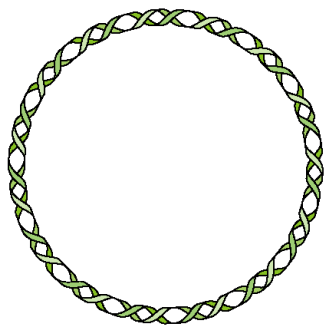
Δομή φουρκέτας στο ένα άκρο γραμμικού μορίου DNA. Εάν το γραμμικό DNA ήταν εξ ολοκλήρου δίκλωνο, οι αλληλουχίες που υποδηλώνονται με πράσινο χρώμα θα συνιστούσαν αντίστροφες επαναλήψεις.





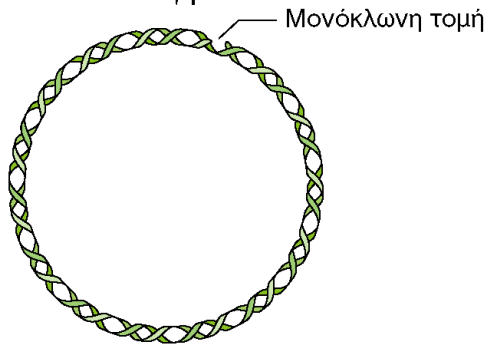
**Εικόνα 7.9**

Η θερμική αποδιάταξη του DNA. Το DNA απορροφά τόσο περισσότερο υπεριώδες φως όσο περισσότερο αποδιάσσεται η διπλή έλικα. Η μετάβαση από τη δίκλωνη στη μονόκλωνη κατάσταση είναι ένα ιδιαιτέρως αιφνίδιο συμβάν. Το θερμοκρασιακό σημείο στο μέσο της φάσης της μετάβασης, το  $T_m$ , εξαρτάται ευθέως από τη περιεκτικότητα του DNA σε G + C. Το αποδιατεταγμένο DNA μπορεί να αναδιαταχθεί με βραδεία ψύξη, αλλά η διαδικασία αυτή δεν ακολουθεί την ίδια καμπύλη. Η αναδιάταξη βαίνει προοδευτικά προς την ολοκλήρωσή της σε θερμοκρασίες πολύ μικρότερες του  $T_m$ , αλλά και τότε, ύστερα από σημαντικά μεγαλύτερο χρόνο επώασης.



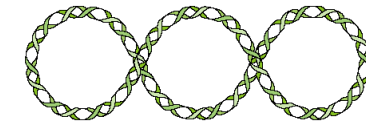
(α) Χαλαρό, ομοιοπολικά κλειστό κυκλικό μόριο DNA

Θραύση μίας αλυσίδας ↔ Σύνδεση άκρων

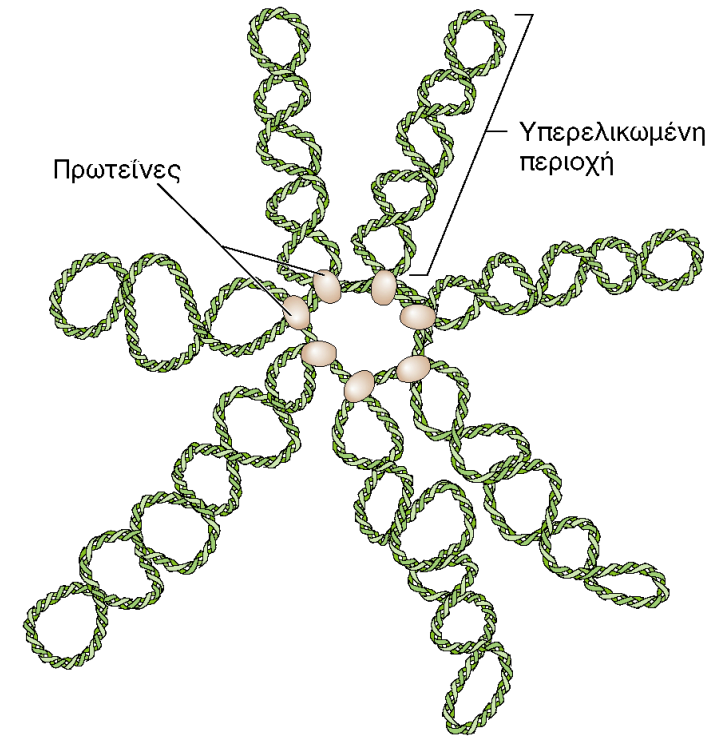


(β) Χαλαρό, κυκλικό μόριο DNA, με μονόκλωνη τομή

↑ Περιστροφή του ενός άκρου της κομμένης αλυσίδας γύρω από την έλικα και δεσμοποίηση

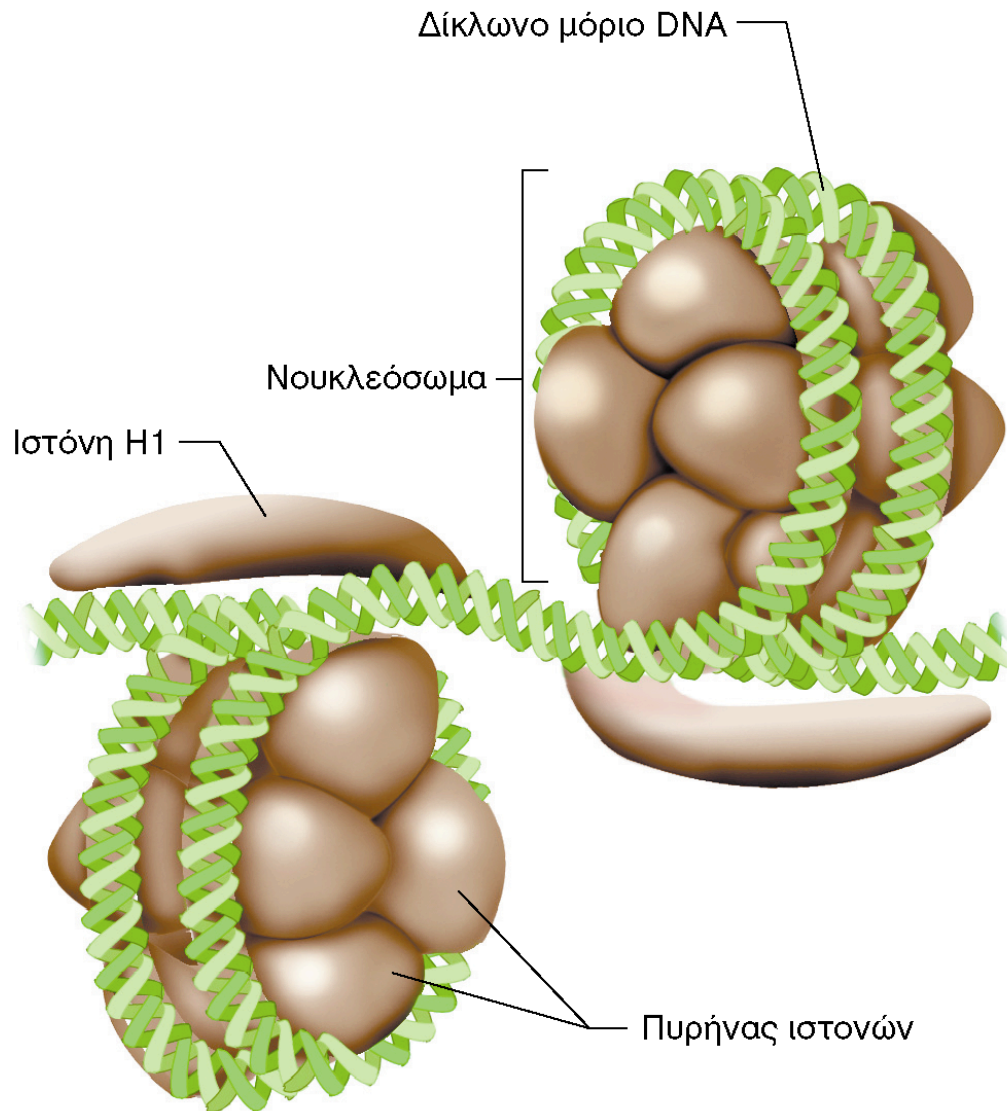


(γ) Υπερελικωμένο κυκλικό μόριο DNA



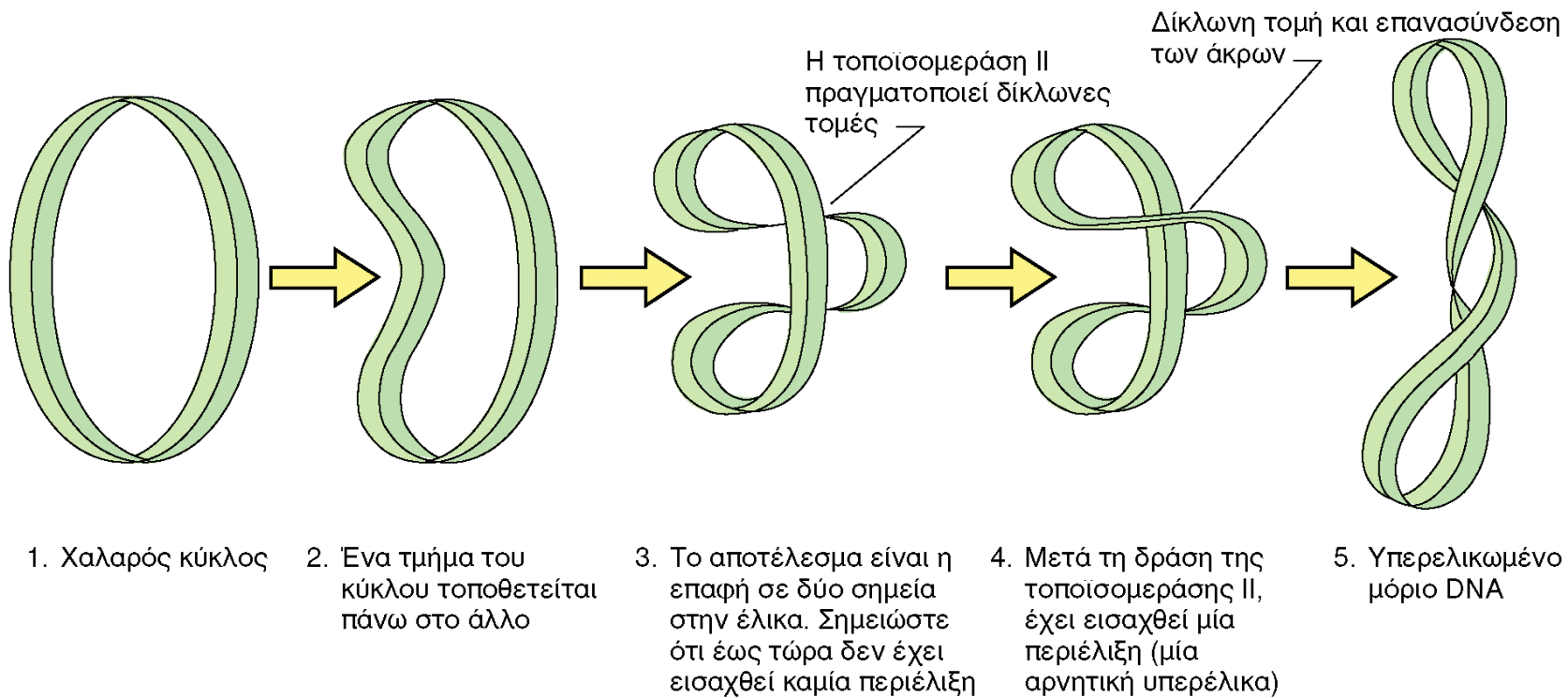
(δ) Χρωμοσωματικό DNA με υπερελικωμένες περιοχές

**Εικόνα 7.10** Το υπερελικωμένο DNA. Τα τμήματα *a*, *b*, και *γ* απεικονίζουν ένα μόριο υπερελικωμένου κυκλικού DNA και αλληλομετατροπές του σε χαλαρό, μονόκλωνο τετμημένο DNA. Μονόκλωνη τομή του DNA είναι η διάσπαση ενός φωσφοδιεστερικού δεσμού σε μία από τις δύο αλυσίδες της διπλής έλικας. (δ) Στην πραγματικότητα, το δίκλωνο DNA του βακτηριακού χρωμοσώματος είναι διευθετημένο σε αρκετές υπερελικωμένες περιοχές, όπως φαίνεται εδώ, και δεν έχει τη μορφή μίας και μόνον υπερέλικας. Στην *Escherichia coli* πιστεύεται ότι υπάρχουν πάνω από 50 υπερελικωμένες περιοχές, κάθε μία από τις οποίες σταθεροποιείται μέσω δέσμευσής της με ειδικές πρωτεΐνες.



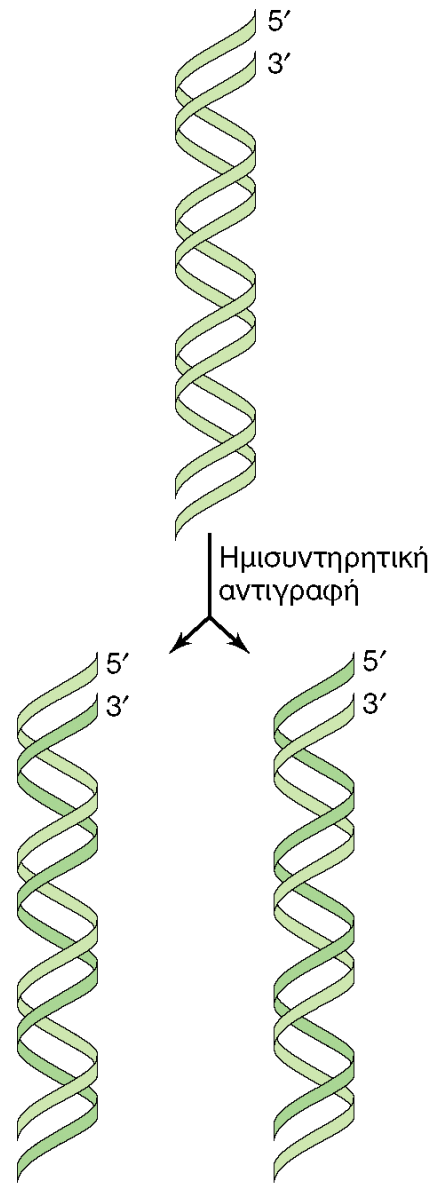
**Εικόνα 7.11** «Συσκευασία» του DNA γύρω από έναν πυρήνα ιστονών, που οδηγεί στον σχηματισμό νουκλεοσώματος. Τα νουκλεοσώματα διατάσσονται κατά μήκος ενός μορίου DNA, όπως οι χάντρες σε ένα περιδέραιο. Αυτή η διάταξη είναι η τυπική διάταξη του DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων.



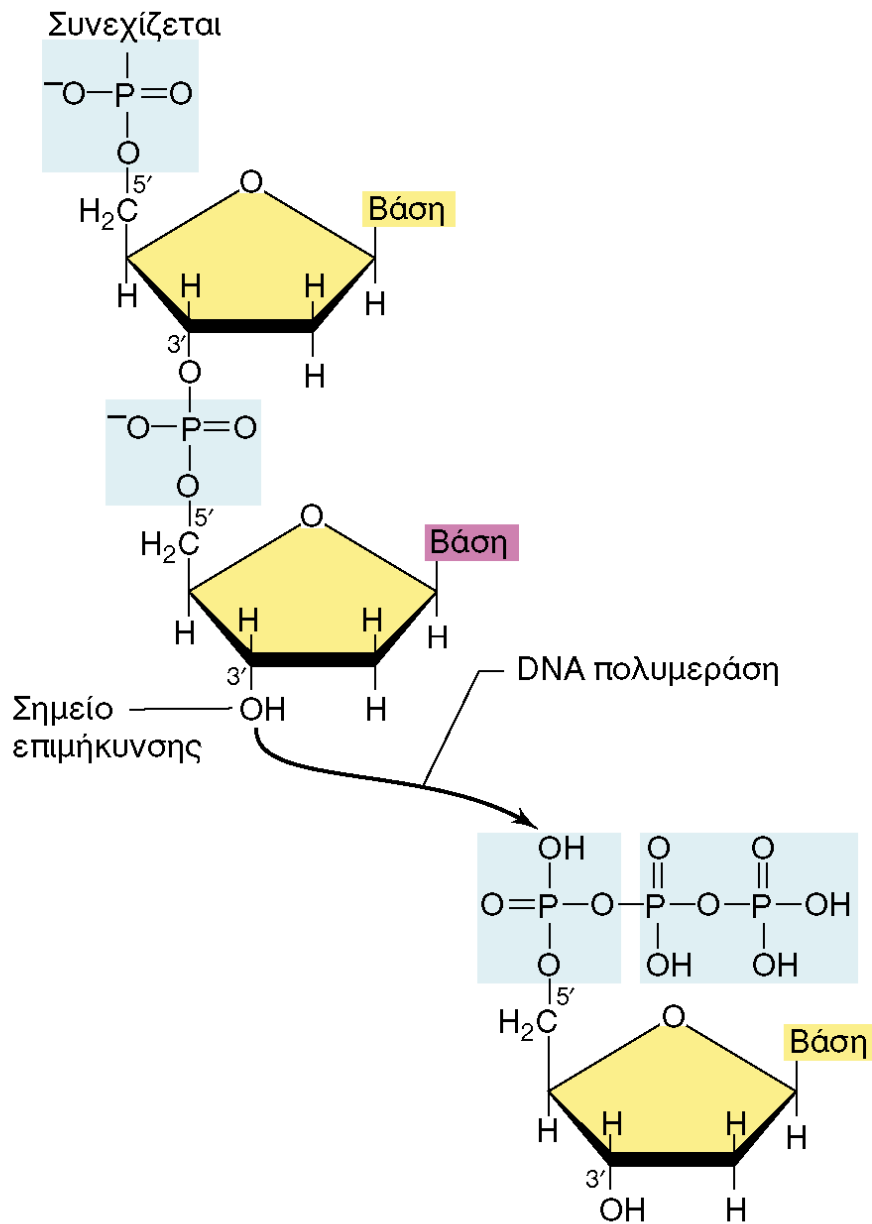


Εικόνα 7.12

Η δημιουργία υπερελίκωσης σε ένα μόριο κυκλικού DNA μέσω της δράσης του ενζύμου τοποϊσομεράση II, το οποίο δημιουργεί δίκλωνες τομές.



**Εικόνα 7.13** Η αντιγραφή του DNA είναι μια ημισυντηρητική διαδικασία, τόσο στους προκαρυώτες όσο και στους ευκαρυώτες. Ας σημειωθεί ότι κάθε νέα διπλή έλικα περιλαμβάνει μία νέα και μία παλιά αλυσίδα.



**Εικόνα 7.14** Η δομή της αλυσίδας του DNA και ο μηχανισμός επιμήκυνσής της, μέσω προσθήκης στο άκρο 3' της αλυσίδας τμήματος του τριφωσφορικού δεοξυριβονουκλεοζίτη. Η επιμήκυνση συντελείται πάντοτε από την 5'-φωσφορική ομάδα προς την 3'-υδροξυλομάδα. Το ένζυμο DNA πολυμεράση είναι αυτό που καταλύει την αντίδραση προσθήκης. Τα τέσσερα δεοξυριβονουκλεοτίδια που χρησιμεύουν ως πρόδρομες ενώσεις είναι η τριφωσφορική δεοξυθυμιδίνη (dTTP), η τριφωσφορική δεοξαδενοσίνη (dATP), η τριφωσφορική δεοξυγουανοσίνη (dGTP), και η τριφωσφορική δεοξυκυτιδίνη (dCTP). Οι δύο ακραίες φωσφορικές ομάδες των τριφωσφορικών αποκόπτονται ως μόρια πυροφωσφορικού (PP<sub>i</sub>). Συνεπώς, για την προσθήκη ενός και μόνο νουκλεοτιδίου δαπανάται η ενέργεια δύο φωσφορικών δεσμών μεγάλου ενεργειακού περιεχομένου.