

Βιολογία Ι

Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας

Από το DNA στις Πρωτεΐνες

Γιάννης Δρόσος

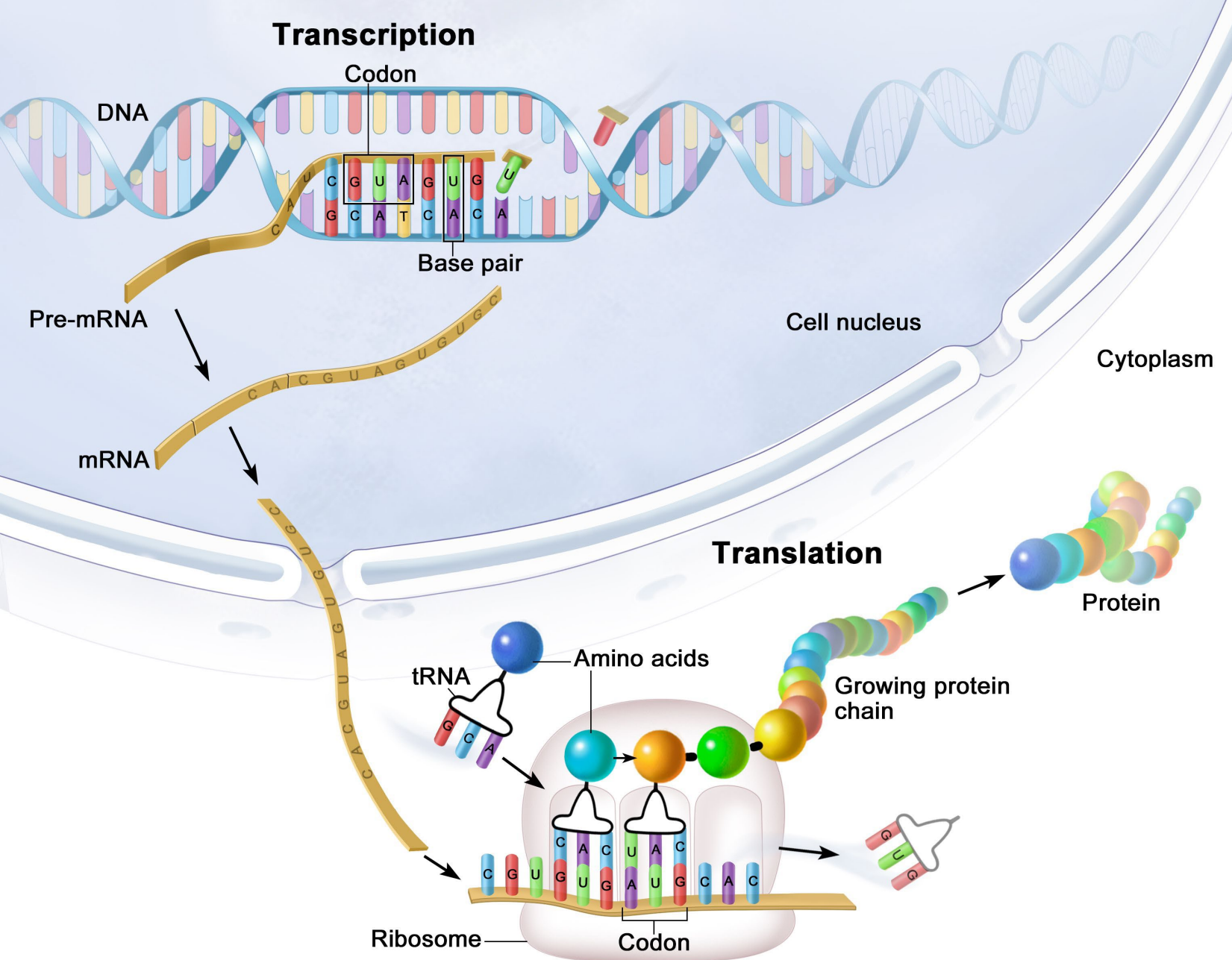
Επίκουρος Καθηγητής

Εργαστήριο Βιολογίας

Τμήμα Ιατρικής

Πανεπιστήμιο Πατρών

idosos@upatras.gr



- Έκφραση γενετικής πληροφορίας
- Μεταγραφή
- Μετάφραση
- RNA πολυμεράσες
- Γενετικός κώδικας
- Κωδικόνια-Αντικωδικόνια
- Εξώνια και Ιντρόνια
- Ριβοσώματα
- Κόσμος του RNA

Το κεντρικό δόγμα της βιολογίας περιγράφει την ροή της πληροφορίας από το DNA στις πρωτεΐνες



NATURE VOL. 227 AUGUST 8 1970

561

Central Dogma of Molecular Biology

by
FRANCIS CRICK
MRC Laboratory of Molecular Biology,
Hills Road,
Cambridge CB2 2QH

The central dogma of molecular biology deals with the detailed residue-by-residue transfer of sequential information. It states that such information cannot be transferred from protein to either protein or nucleic acid.

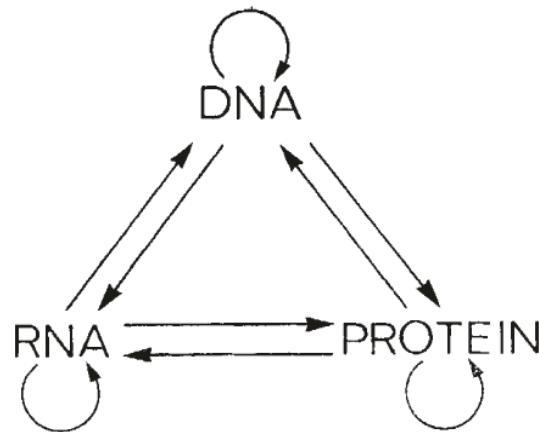


Fig. 1. The arrows show all the possible simple transfers between the three families of polymers. They represent the directional flow of detailed sequence information.

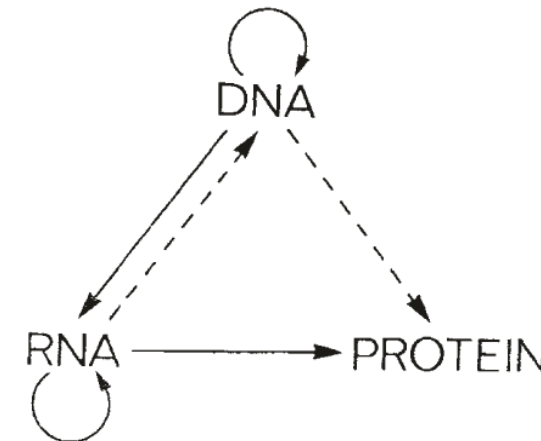


Fig. 2. The arrows show the situation as it seemed in 1958. Solid arrows represent probable transfers, dotted arrows possible transfers. The absent arrows (compare Fig. 1) represent the impossible transfers postulated by the central dogma. They are the three possible arrows starting from protein.

Το κεντρικό δόγμα της βιολογίας περιγράφει την ροή της πληροφορίας από το DNA στις πρωτεΐνες



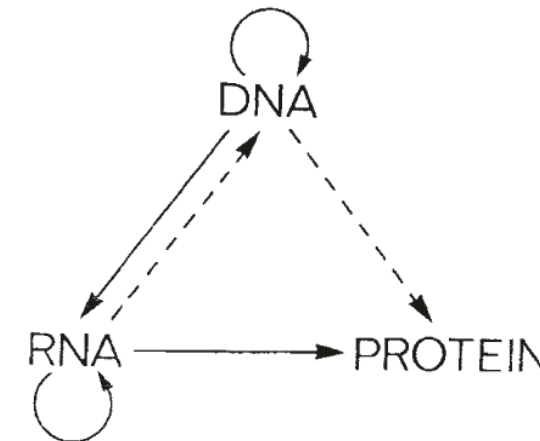
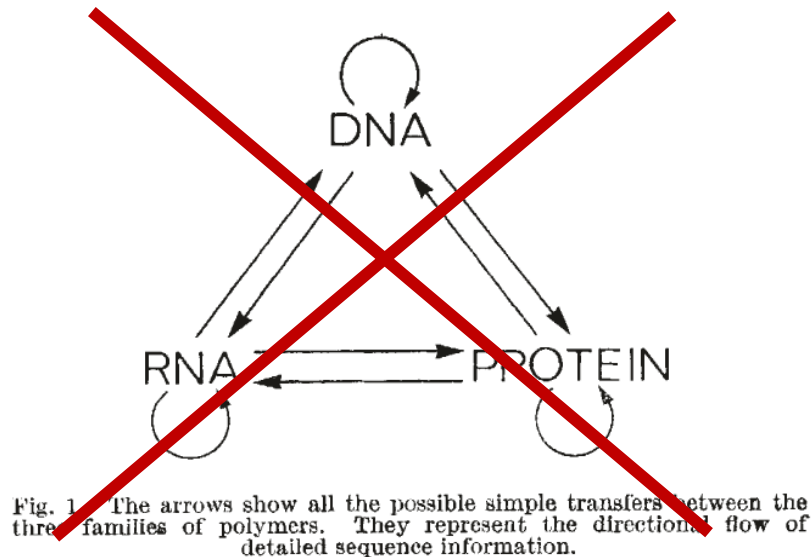
NATURE VOL. 227 AUGUST 8 1970

561

Central Dogma of Molecular Biology

by
FRANCIS CRICK
MRC Laboratory of Molecular Biology,
Hills Road,
Cambridge CB2 2QH

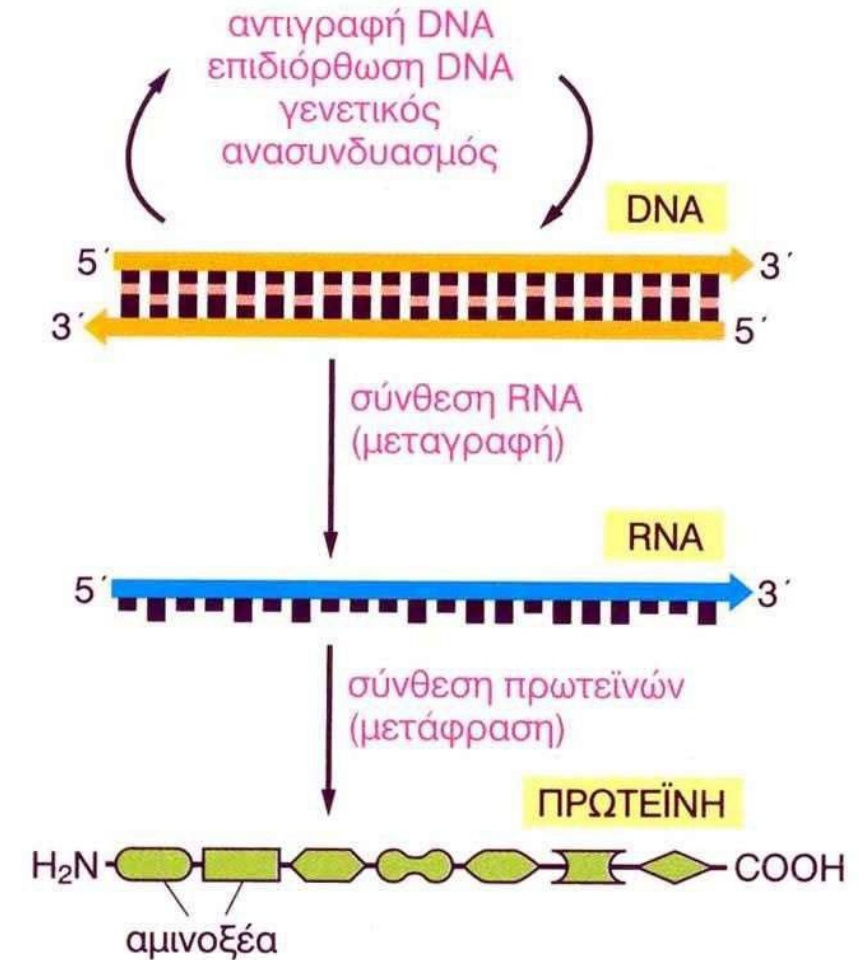
The central dogma of molecular biology deals with the detailed residue-by-residue transfer of sequential information. It states that such information cannot be transferred from protein to either protein or nucleic acid.



Βασικές έννοιες I



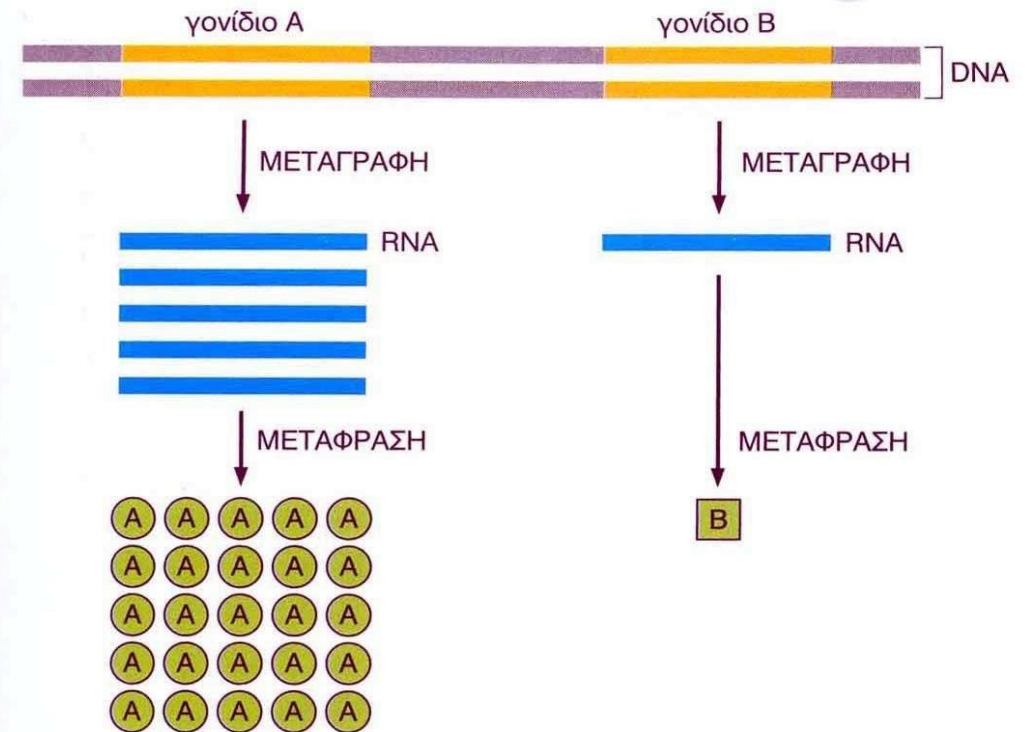
- Ροή της γενετικής πληροφορίας: **DNA→RNA→πρωτεΐνη**.
- Οι βασικές διαδικασίες που επιτελούνται κατά την ροή της γενετικής πληροφορίας είναι η **μεταγραφή** και η **μετάφραση**
- Τόσο η μεταγραφή όσο και η μετάφραση βασίζονται στην αρχή της **συμπληρωματικότητας** των βάσεων DNA και RNA
- Το κύριο ένζυμο που καταλύει την **μεταγραφή** είναι η **RNA πολυμεράση**
- Το κύριο (μη μεμβρανώδες) οργανίδιο που επιτελεί την **μετάφραση** είναι το **ριβόσωμα** (ή ριβοσωματίο)



Βασικές έννοιες II



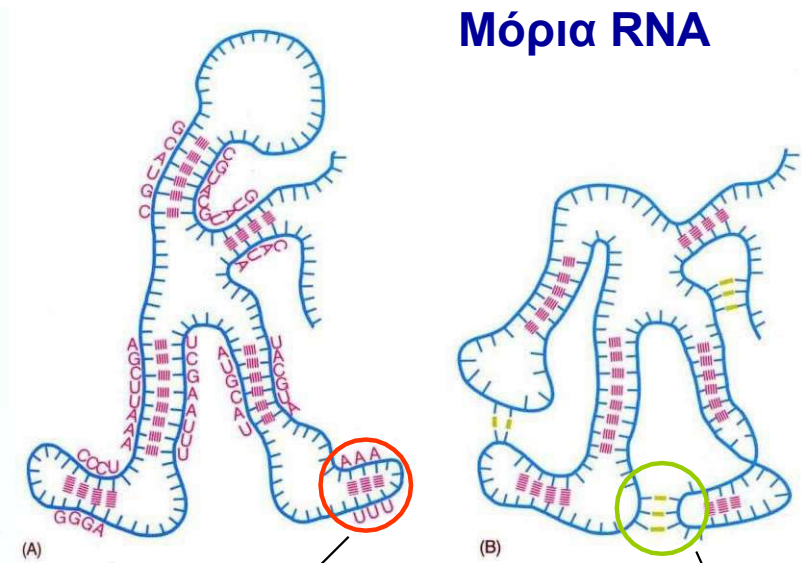
- **Γονίδιο:** Ένα τμήμα DNA που μπορεί να μεταγραφεί, δηλαδή να χρησιμοποιηθεί ως εκμαγείο για να συντεθεί RNA
- Ένα κύτταρο εκφράζει διαφορετικά γονίδια με διαφορετικό ρυθμό
- Σε κάποιες περιπτώσεις, το τελικό προϊόν της μεταγραφής δεν είναι μια πρωτεΐνη αλλά ένα μόριο **RNA με ρυθμιστικό ρόλο**
- Υπάρχουν 5 βασικά είδη RNA που συμμετέχουν στην μεταγραφή και μετάφραση της γενετικής πληροφορίας
- Ορισμένα μόρια **RNA έχουν καταλυτική δράση** και πιστεύεται ότι αντιπροσωπεύουν ένα από τα πιο πρώιμα στάδια της εξέλιξης της ζωής πάνω στην Γη (**κόσμος του RNA**)



Το μονόκλωνο RNA αποκτά δίκλωνες διαμορφώσεις στο χώρο



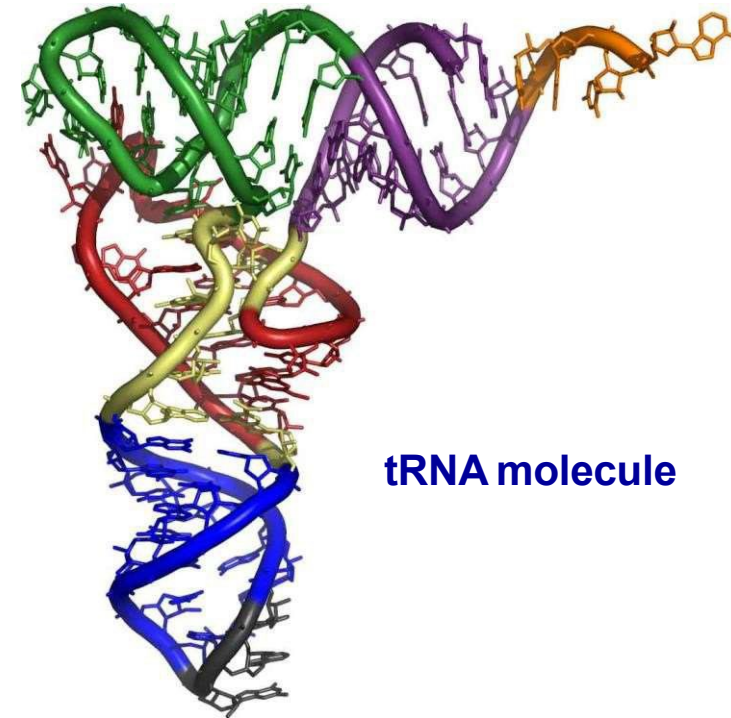
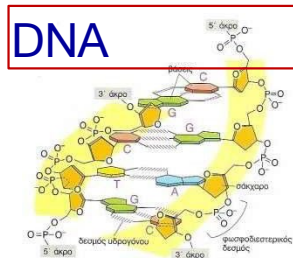
Μόρια RNA



συμβατική ζεύγωση (A-U)

μη-συμβατική ζεύγωση (A=G)

DNA

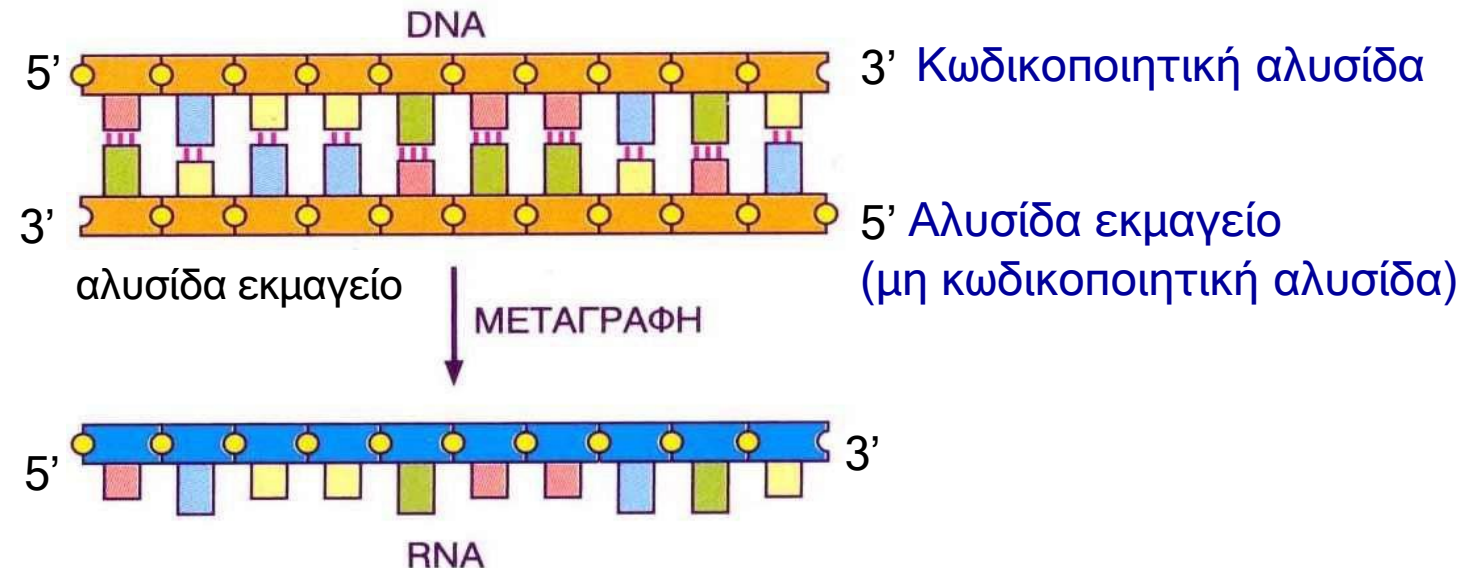


tRNA molecule

Η μεταγραφή του DNA βασίζεται στην συμπληρωματικότητα των βάσεων



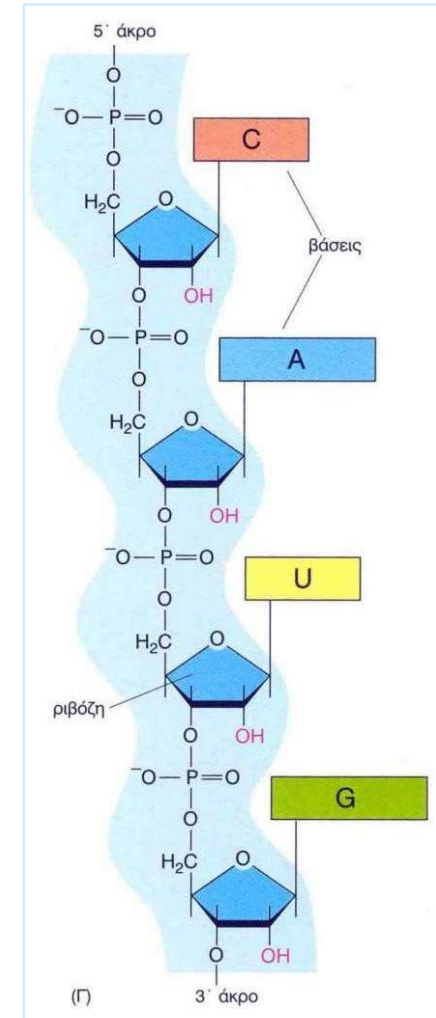
- Η μεταγραφή του DNA παράγει RNA που είναι **συμπληρωματικό** με μια από τις δυο αλυσίδες του DNA.
- Αυτή η αλυσίδα του DNA, ονομάζεται **εκμαγείο**, είναι η μη κωδικοποιητική αλυσίδα (anti-sense strand).
- Η συμπληρωματική της, είναι **ισοδύναμη** με την αλυσίδα του RNA και ονομάζεται κωδικοποιητική (sense strand) του DNA.



Η DNA και η RNA πολυμεράση καταλύουν την ίδια αντίδραση με κάποιες βασικές διαφορές



- Η RNA πολυμεράση καταλύει τη σύνδεση ριβονουκλεοτιδίων και όχι δεοξυριβονουκλεοτιδίων
- Η RNA πολυμεράση μπορεί να αρχίσει την μεταγραφή του DNA χωρίς να χρειάζεται εκκινητή
- Οι RNA πολυμεράσες κάνουν περίπου ένα λάθος ανά 10^4 νουκλεοτίδια ενσωματωμένα σε RNA ενώ αντιθετα η συχνότητα λάθους της DNA πολυμεράσης είναι περίπου ένα λάθος ανά 10^7 νουκλεοτίδια.



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

3' 5'

RNA πολυμεράση

κλειστά «σαγόνια»

διπλή έλικα DNA

ξανατύλιγμα DNA

τριφωσφορικά ριβονουκλεοσίδια

κατεύθυνση της μεταγραφής

κλειστό πτερύγιο

διάυλος εξόδου του RNA

ενεργό κέντρο

σήραγγα τριφωσφορικών ριβονουκλεοσιδίων

5'

νεοσυντεθειμένο RNA μετάγραφο

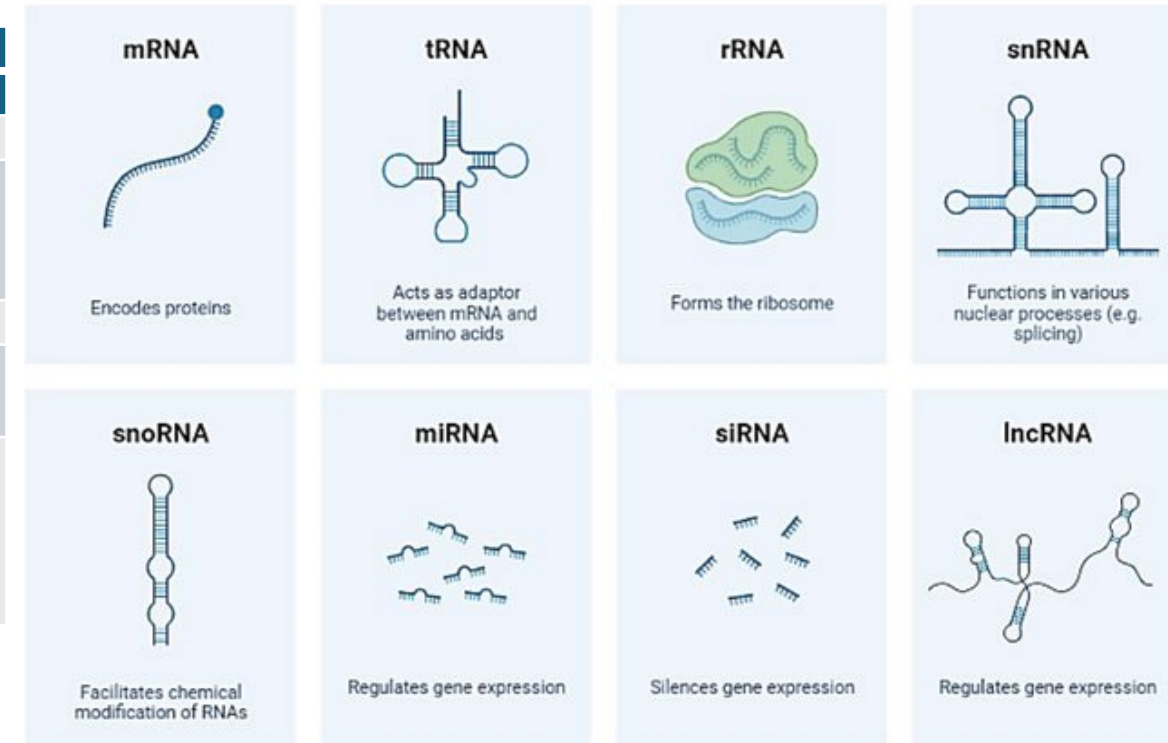
βραχύ τμήμα υβριδικής έλικας DNA/RNA

Τα κύτταρα παράγουν διάφορους τύπους RNA



Τα είδη των μορίων RNA που παράγονται στα κύτταρα	
Είδος RNA	Λειτουργία
Αγγελιοφόρο RNA (mRNA)	Κωδικοποιούν πρωτεΐνες
Ριβοσωμικό RNA (rRNA)	Δημιουργούν τον πυρήνα της δομής του ριβοσωματίου που καταλύει την σύνθεση των πρωτεϊνών
μικρο RNA (miRNA)	Ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων
Μεταφορικό RNA (tRNA)	Χρησιμοποιούνται στην πρωτεϊνοσύνθεση ως μόρια διασύνδεσης του mRNA με τα αμινοξέα
Άλλα μη κωδικοποιητικά RNA (non-coding RNAs)	Χρησιμοποιούνται στη συρραφή του RNA, στη γονιδιακή ρύθμιση, στη διατήρηση των τελομεριδίων και σε άλλες διεργασίες του κυττάρου

Types of RNA Produced in Cells

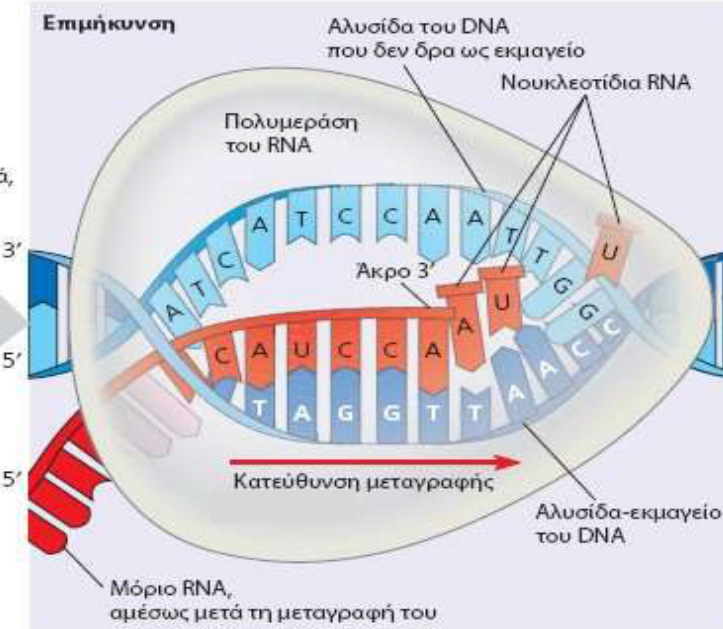
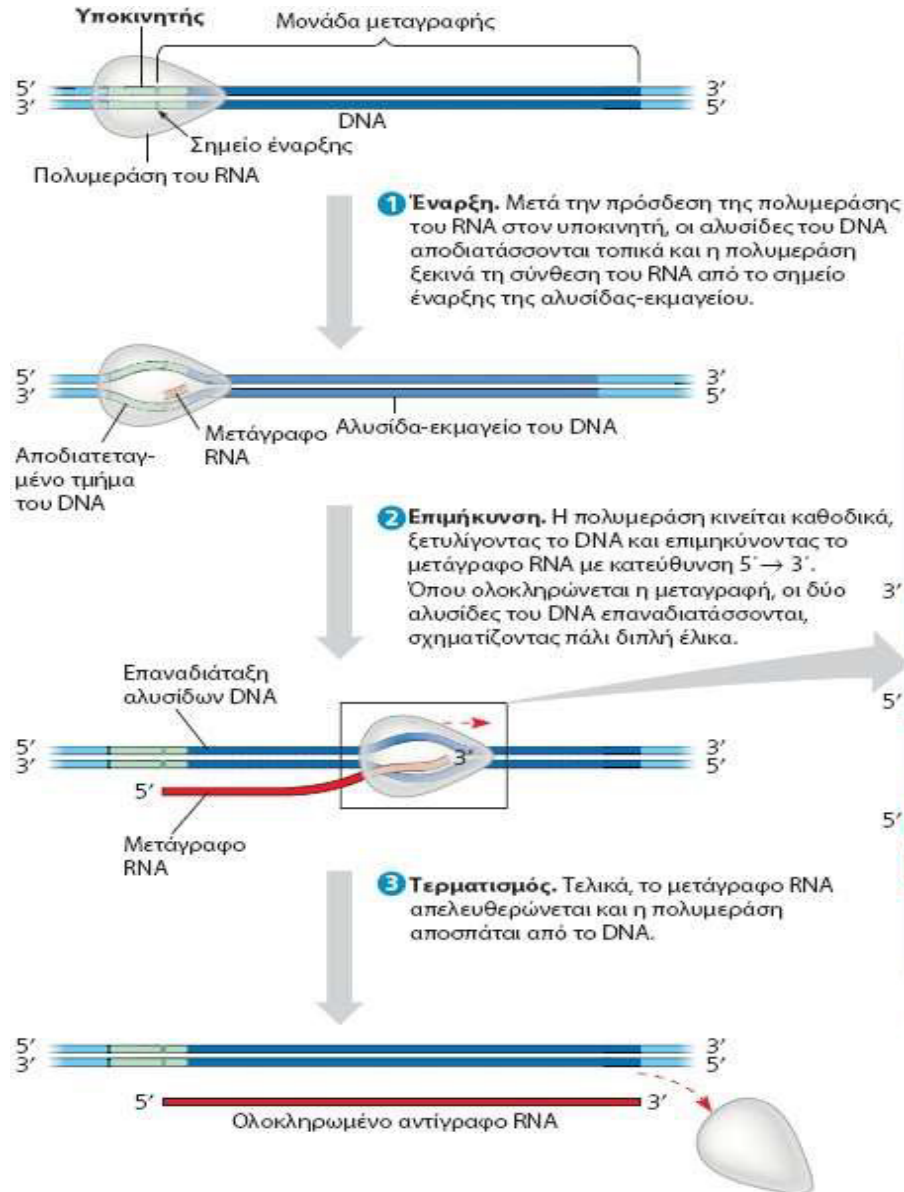


Σύνοψη I



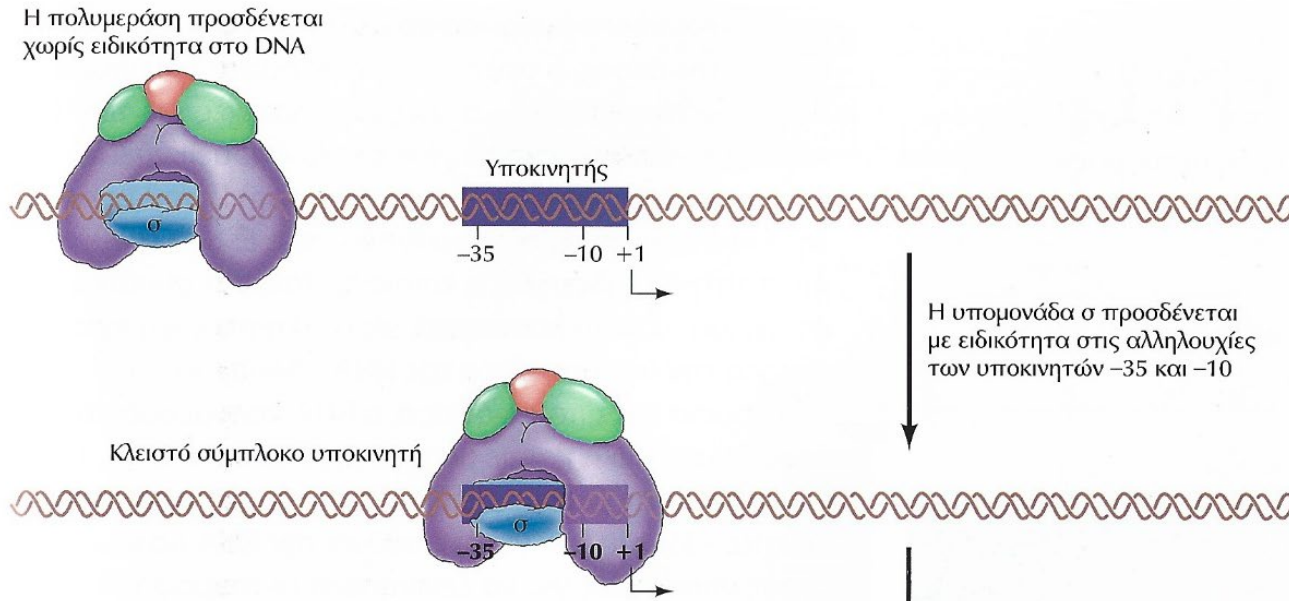
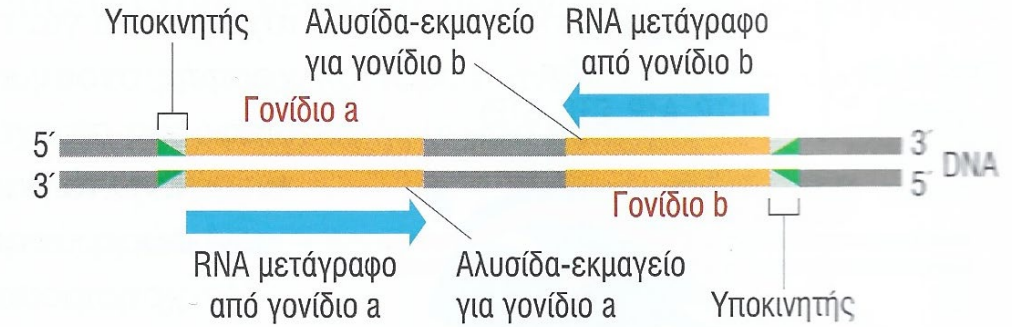
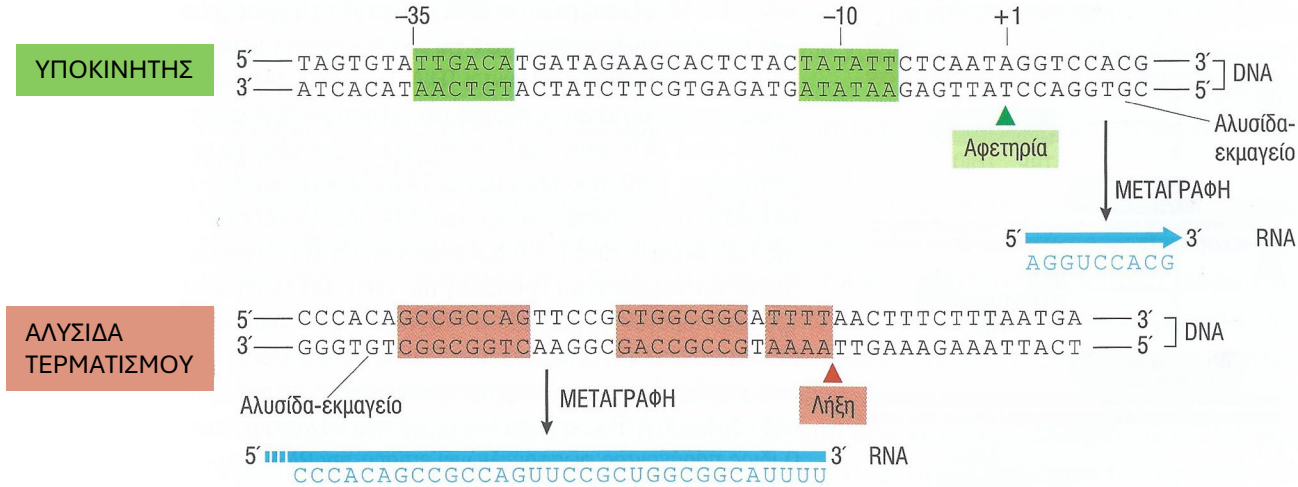
- Σε όλα τα ζωντανά κύτταρα η ροή της γενετικής πληροφορίας ακολουθεί το πρότυπο: DNA→RNA→πρωτεΐνη. Η μετατροπή των γενετικών οδηγιών του DNA σε RNA και πρωτεΐνη αναφέρεται ως έκφραση γονιδίων.
- Για να εκφραστούν οι γενετικές πληροφορίες που φέρει το DNA, η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων ενός γονιδίου πρώτα μεταγράφεται σε RNA. Η μεταγραφή καταλύεται από το ένζυμο **RNA πολυμεράση**, το οποίο αξιοποιεί τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες του DNA για τον καθορισμό του κλώνου που θα χρησιμοποιηθεί ως εκμαγείο και της αφετηρίας και του τέρματος της μεταγραφής.
- Το RNA εμφανίζει αρκετές διαφορές από το DNA. Αντί για το ζάχαρο δεοξυριβόζη περιέχει ριβόζη και αντί για τη βάση θυμίνη (T) περιέχει τη βάση ουρακίλη (U). Στα κύτταρα, τα μόρια του RNA συντίθενται ως μονόκλινα μόρια, τα οποία διπλώνονται σε τρισδιάστατες δομές.
- Τα κύτταρα παράγουν αρκετούς τύπους λειτουργικών ειδών RNA. Σε αυτά περιλαμβάνονται τα μόρια του **αγγελιοφόρου RNA (mRNA)**, τα οποία μεταφέρουν τις οδηγίες για την παραγωγή των πρωτεϊνών, τα **ριβοσωμικά RNA (rRNA)**, τα οποία είναι σημαντικά συστατικά των ριβοσωμάτων και τα **μεταφορικά RNA (tRNA)**, τα οποία δρουν ως μόρια συνδέτες κατά την πρωτεϊνοσύνθεση.

Τα στάδια της μεταγραφής: Μια γενική περιγραφή

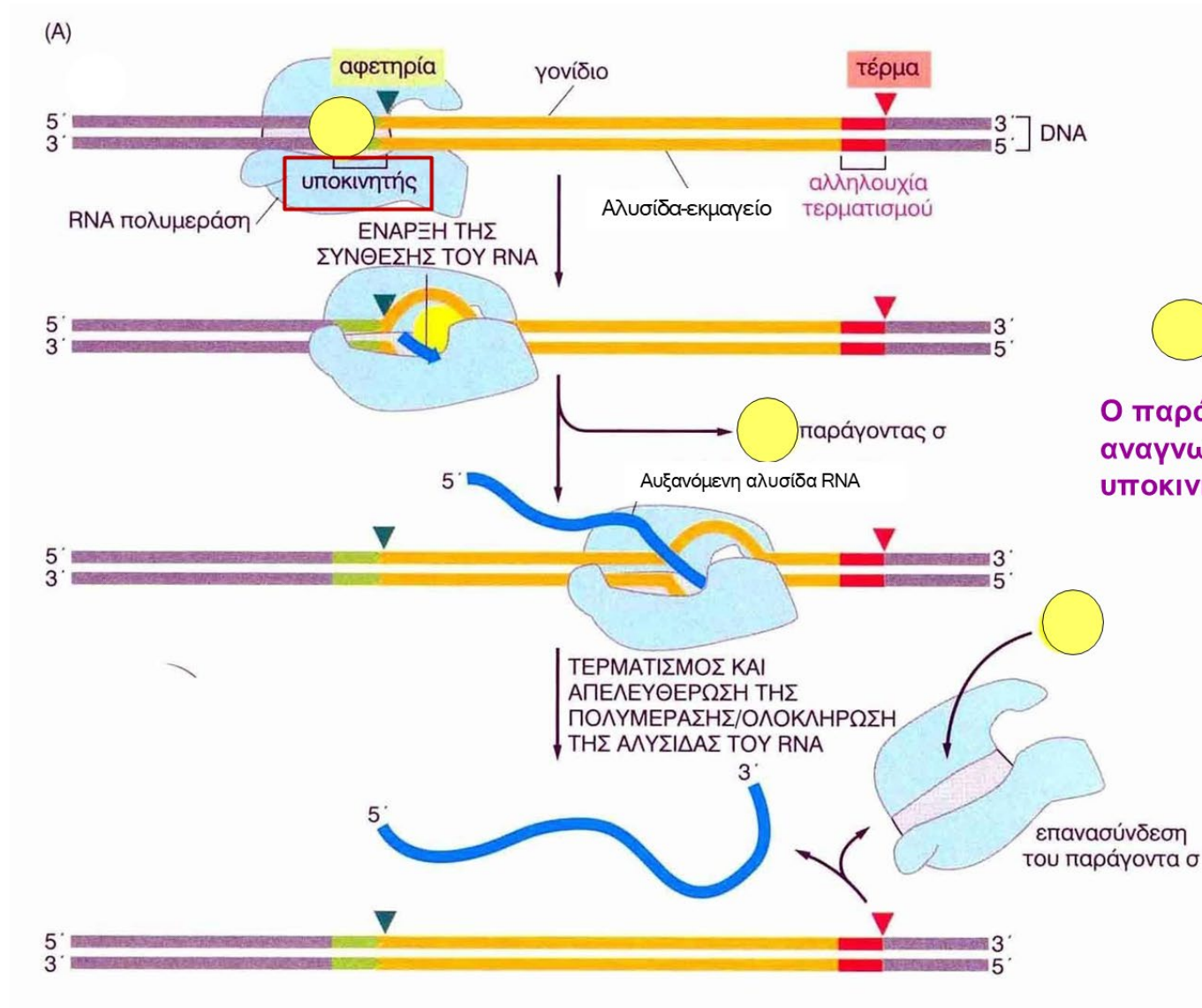


▲ **Εικόνα 17.7 Τα στάδια της μεταγραφής: έναρξη, επιμήκυνση και τερματισμός.** Η μεταγραφή, όπως γενικευμένα περιγράφεται εδώ, ισχύει τόσο για τα βακτήρια όσο και για τους ευκαρυώτες, αν και οι δύο διεργασίες εμφανίζουν διαφορές σε επιμέρους σημεία της διαδικασίας τερματισμού (βλ. κείμενο). Επίσης, στα βακτήρια το μετάγραφο RNA μπορεί να χρησιμοποιηθεί άμεσα ως mRNA, ενώ στους ευκαρυώτες πρώτα πρέπει να υποστεί επεξεργασία.

Στο DNA υπάρχει η πληροφορία για τις θέσεις έναρξης και λήξης της μεταγραφής

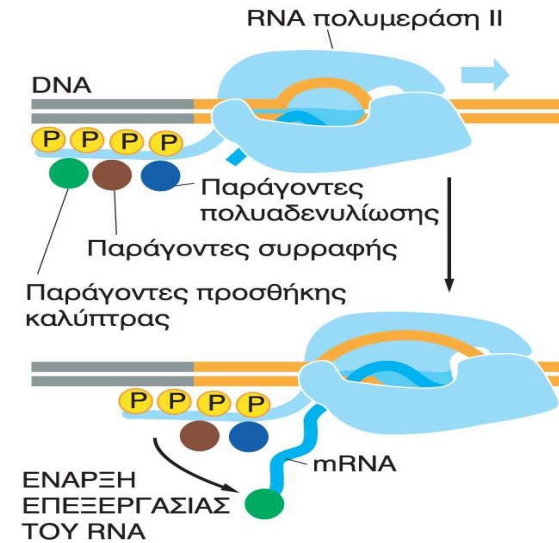
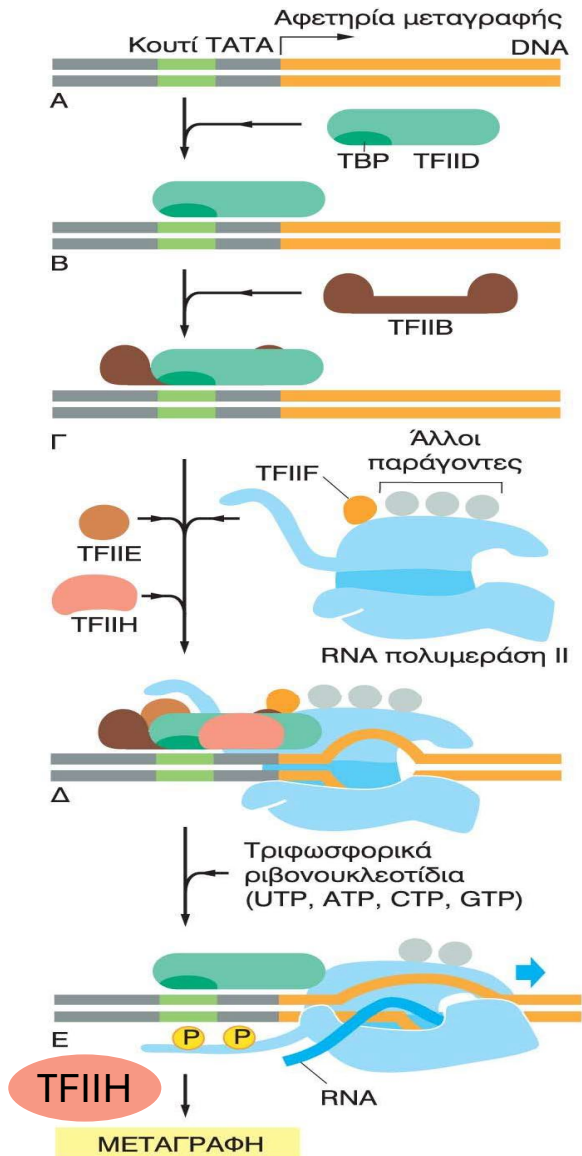


Μεταγραφή στους προκαρυωτικούς οργανισμούς

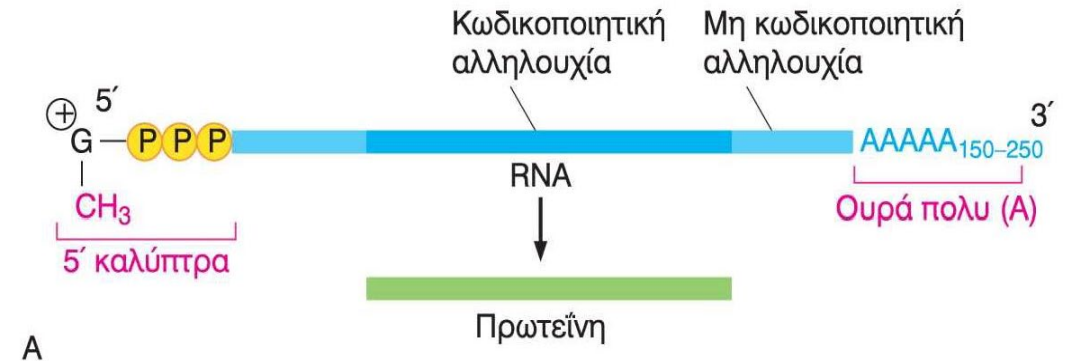


Ο παράγων σ
αναγνωρίζει τον
υποκινητή

Μεταγραφή στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς



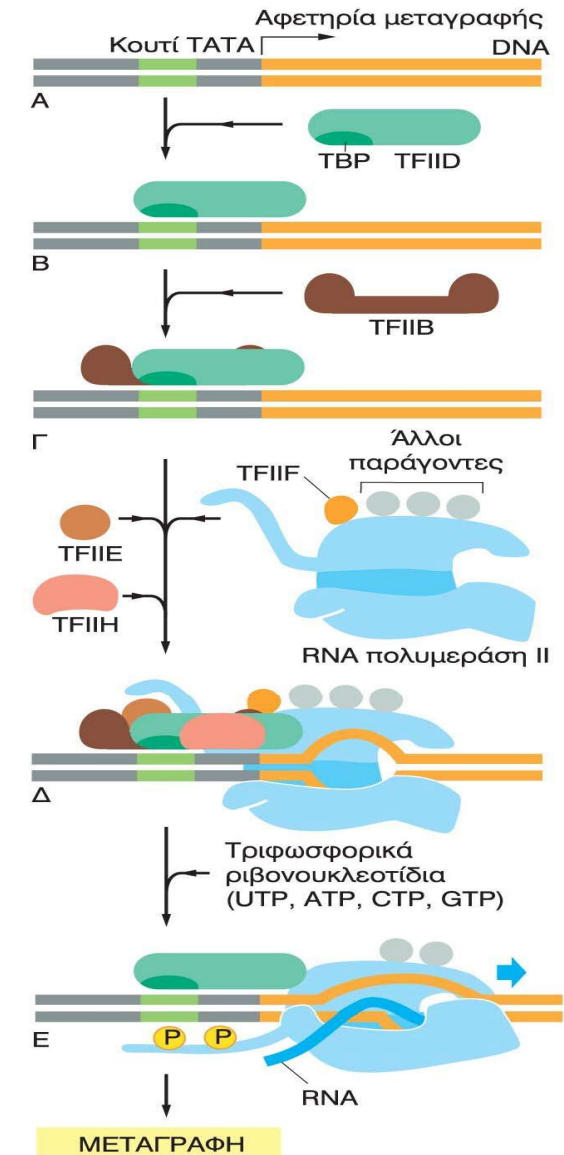
Προσθήκη καλύπτρας και πολυαδενυλίωση του RNA



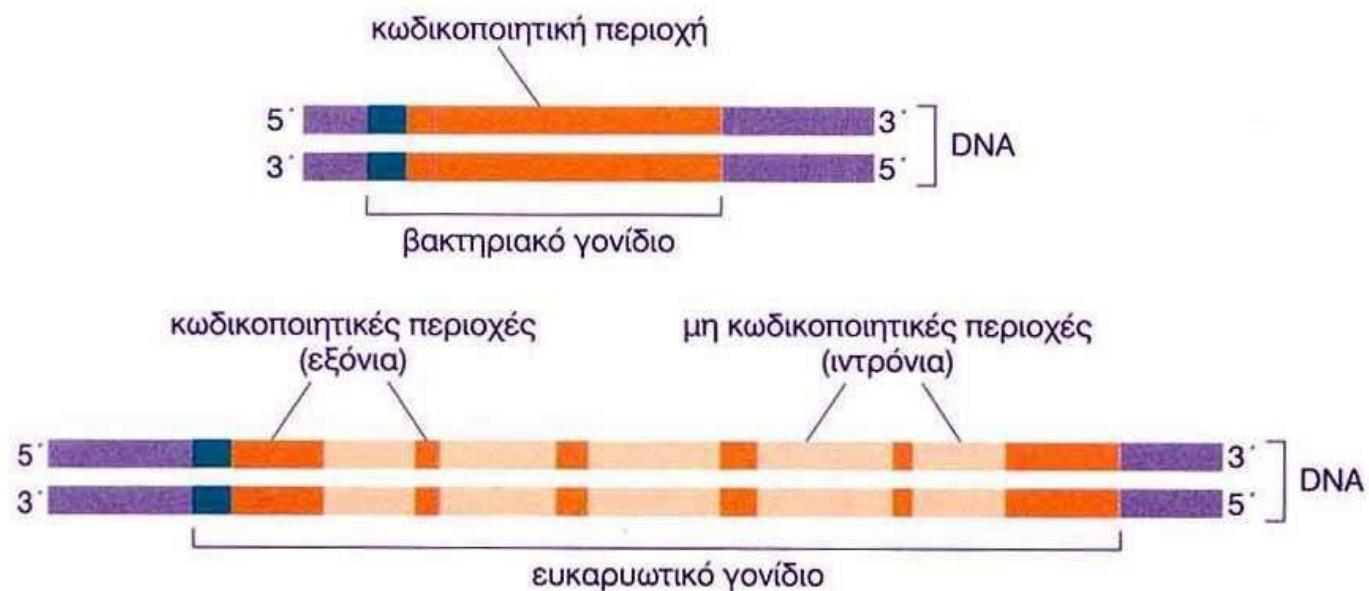
Μεταγραφή στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς



1. Ενώ τα βακτήρια χρησιμοποιούν μόνο ένα είδος RNA πολυμεράσης, τα ευκαρυωτικά κύτταρα χρησιμοποιούν 3 είδη, RNA πολυμεράσες I, II και III
 - a. Οι RNA πολυμεράσες I και III μεταγράφουν τα γονίδια που κωδικοποιούν το ριβοσωμικό RNA, μεταφορικά RNA και πολλά άλλα RNA που έχουν δομικό και καταλυτικό ρόλο στο κύτταρο
 - b. Η RNA πολυμεράση II είναι υπεύθυνη για την μεταγραφή των υπόλοιπων γονιδίων, μεταξύ άλλων και για τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες.
2. Ενώ η βακτηριακή RNA πολυμεράση (μαζί με την υπομονάδα σ) μπορεί να ξεκινήσει την μεταγραφή από μόνη της, οι RNA πολυμεράσες των ευκαρυωτικών οργανισμών χρειάζονται την βοήθεια πολλών βοηθητικών πρωτεϊνών.
3. Στα βακτήρια, τα γονίδια βρίσκονται πολύ κοντά το ένα στο άλλο στο DNA και ανάμεσα τους παρεμβάλλονται πολύ μικρά τμήματα μη μεταγραφόμενου DNA. Αντιθετα, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, τα γονίδια είναι διάσπαρτα πάνω στο DNA και διαχωρίζονται το ένα από το άλλο από τμήματα DNA μήκους έως 100,000 ζευγών νουκλεοτιδίων.
4. Κατά την έναρξη της μεταγραφής στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πρέπει να επιλυθεί το ζήτημα της οργάνωσης του DNA σε νουκλεοσώματα.



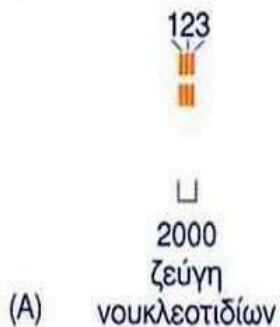
Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες περιέχουν ιντρόνια



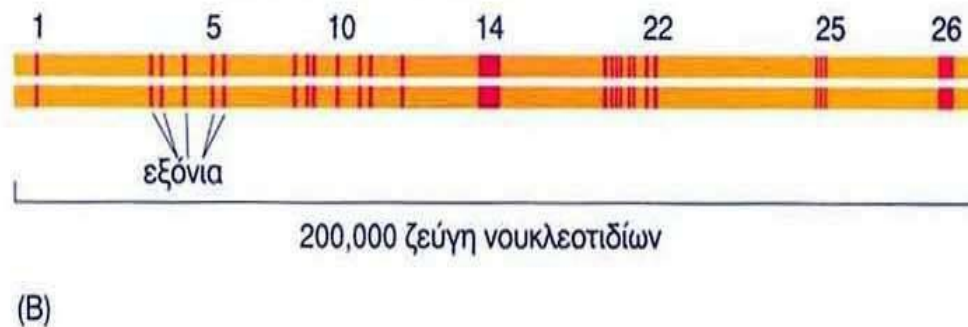
Εξόνια: περιοχές που κωδικοποιούν

Ιντρόνια: μη κωδικοποιητικές περιοχές που εναλλάσσονται με τα εξόνια

ανθρώπινο γονίδιο β-σφαιρίνης



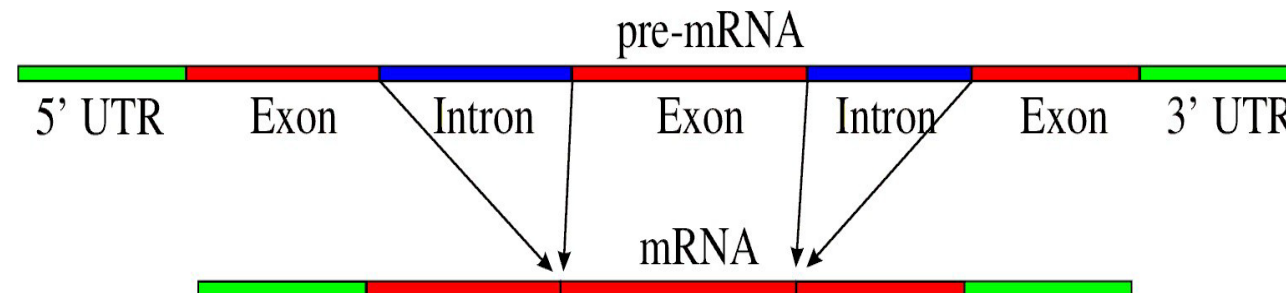
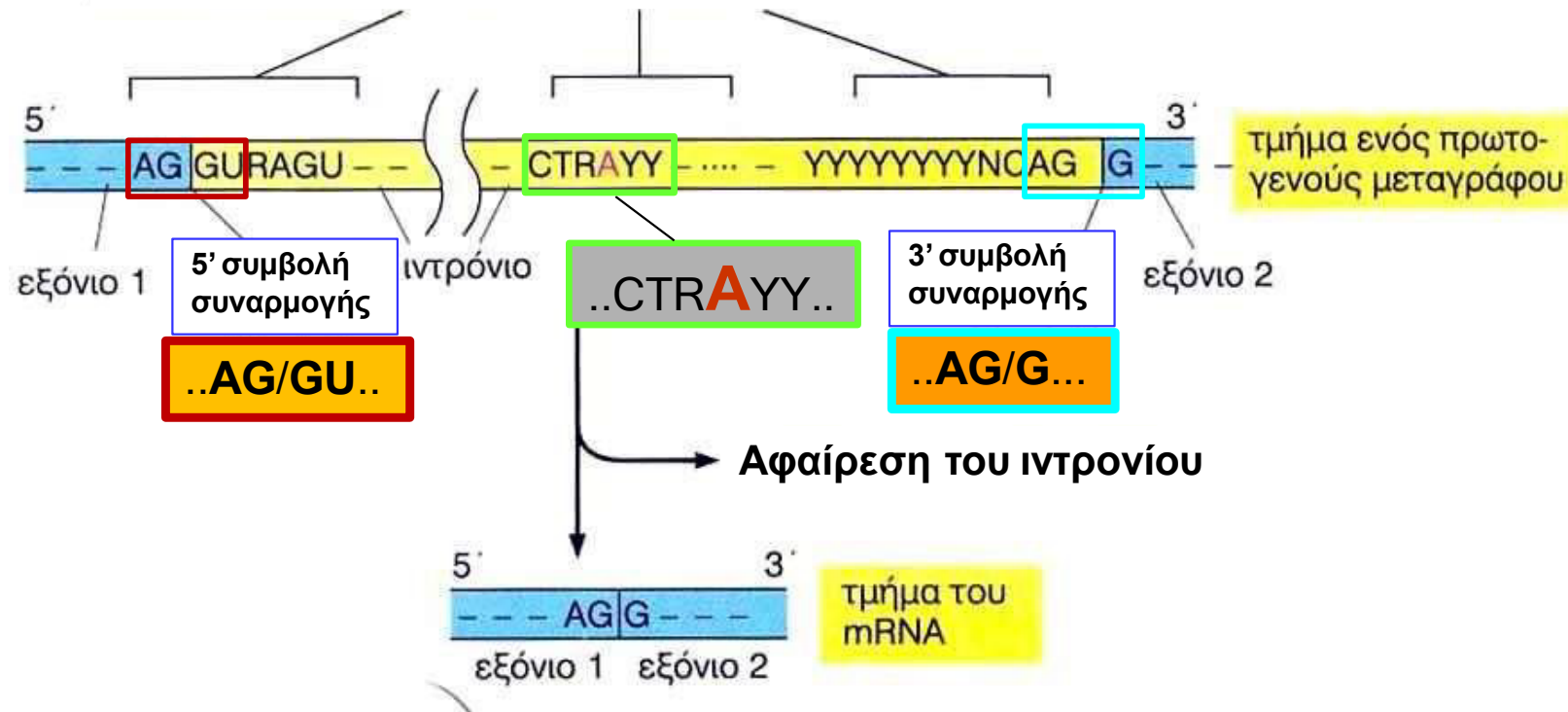
ανθρώπινο γονίδιο του παράγοντα VIII



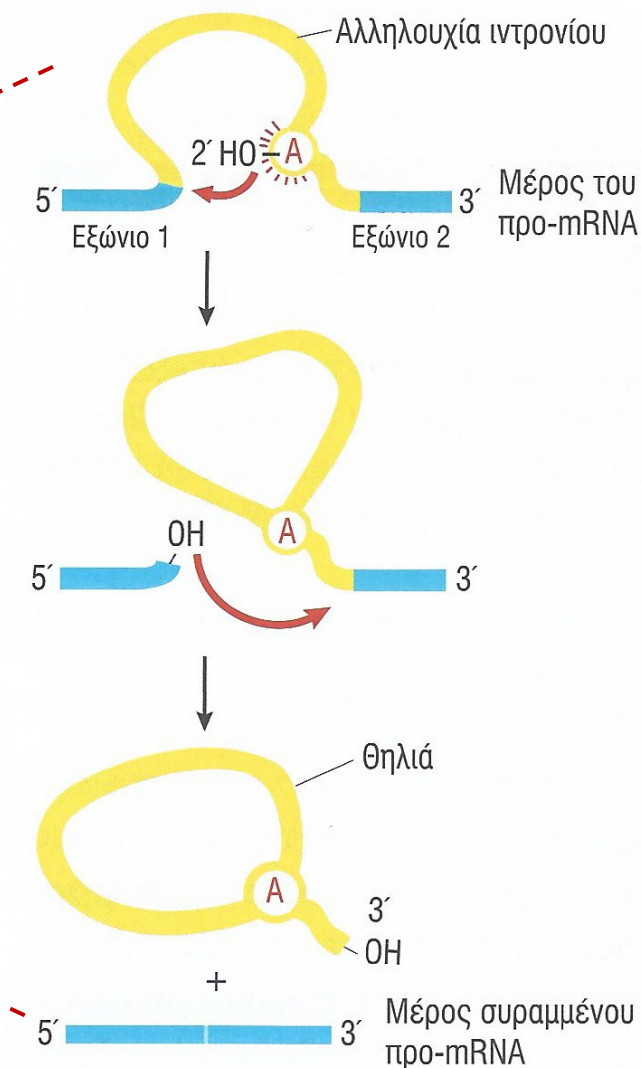
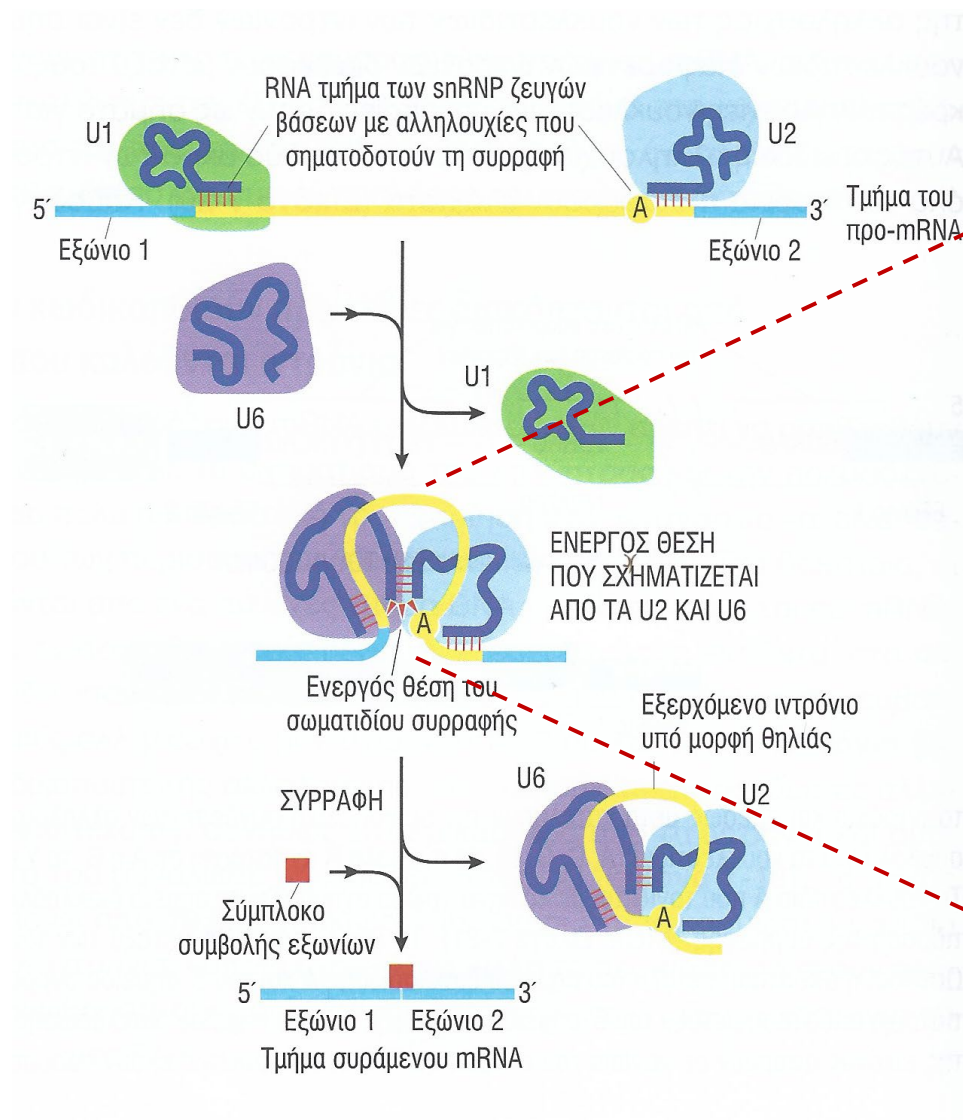
Τα ιντρόνια απομακρύνονται από το προ-mRNA με τη διαδικασία της συρραφής



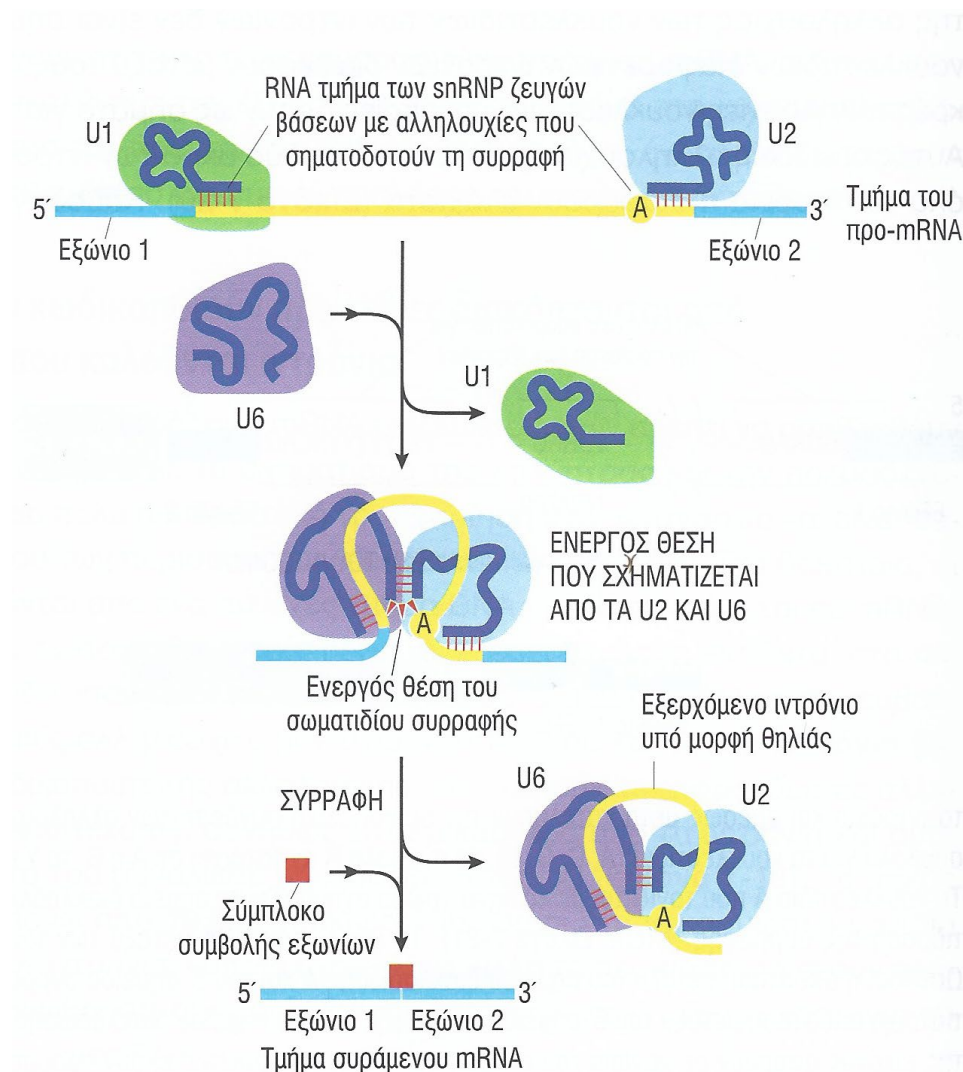
Αλληλουχίες του RNA που είναι απαραίτητες για την αφαίρεση του ιντρονίου



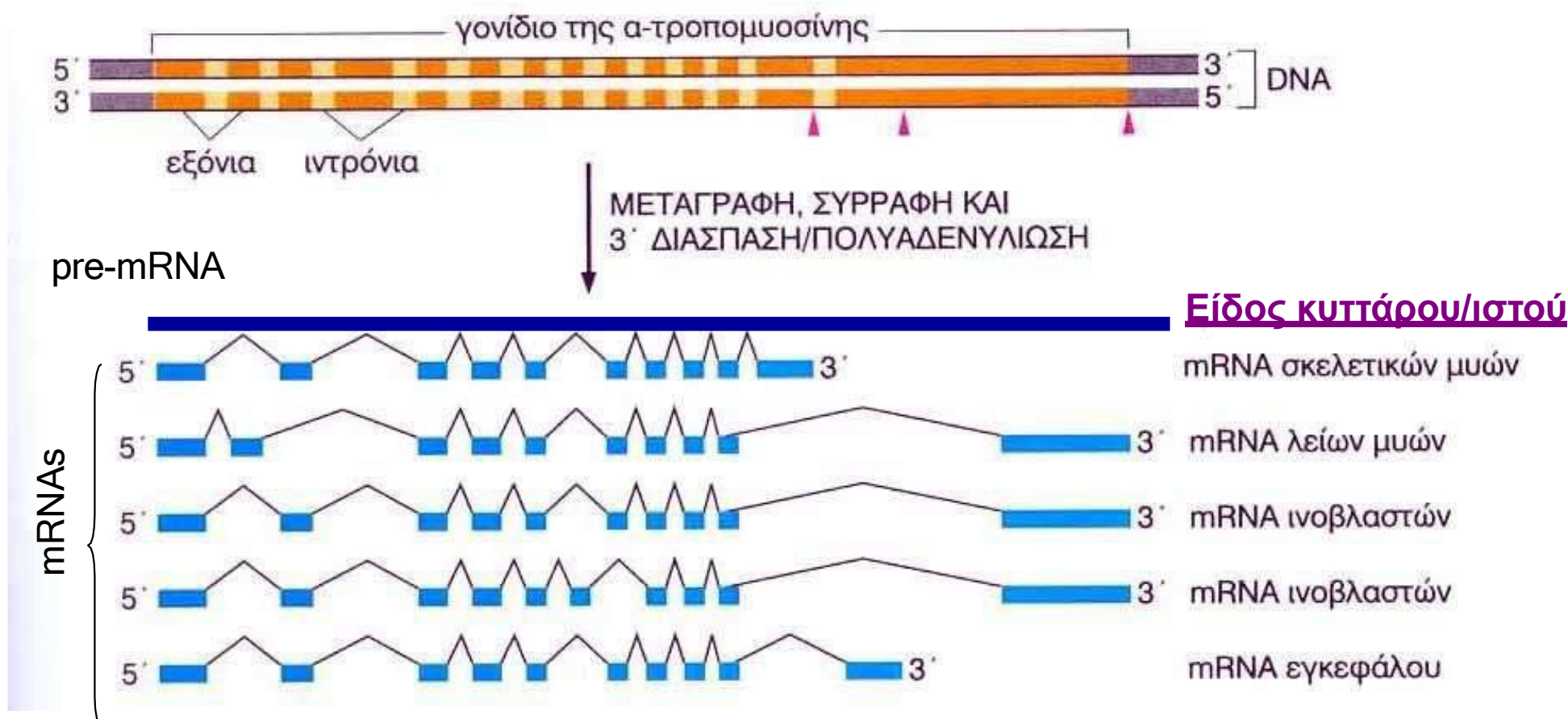
Στην διαδικασία συρραφής των εξονίων συμμετέχουν μικρά μη κωδικοποιητικά RNA



Μέσω εναλλακτικής συρραφής, ένα γονίδιο μπορεί να παράγει διαφορετικά mRNA

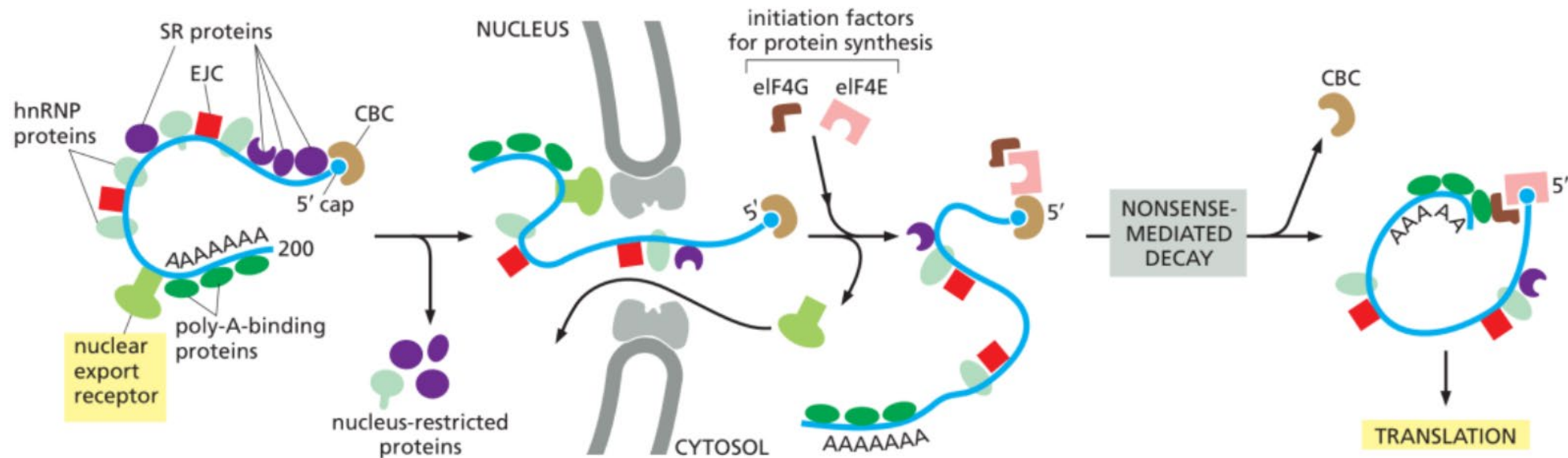


Μέσω εναλλακτικής συρραφής, ένα γονίδιο μπορεί να παράγει διαφορετικά mRNA



- Η **εναλλακτική συναρμογή** των μεταγράφων επιτρέπει σε ένα γονίδιο να συνθέτει ένα pre-mRNA αλλά να κωδικοποιεί περισσότερα μόρια mRNA ανάλογα με το είδος του ιστού ή/και το αναπτυξιακό στάδιο του οργανισμού.
- Η **εναλλακτική συναρμογή** αφορά >60% των γονιδίων του ανθρώπου και αυξάνει την πολυπλοκότητα της γενετικής πληροφορίας στο επίπεδο του μεταγραφώματος (transcriptome)

Η μεταφορά του ώριμου mRNA στο κυτταρόπλασμα γίνεται μέσω των πυρηνικών πόρων



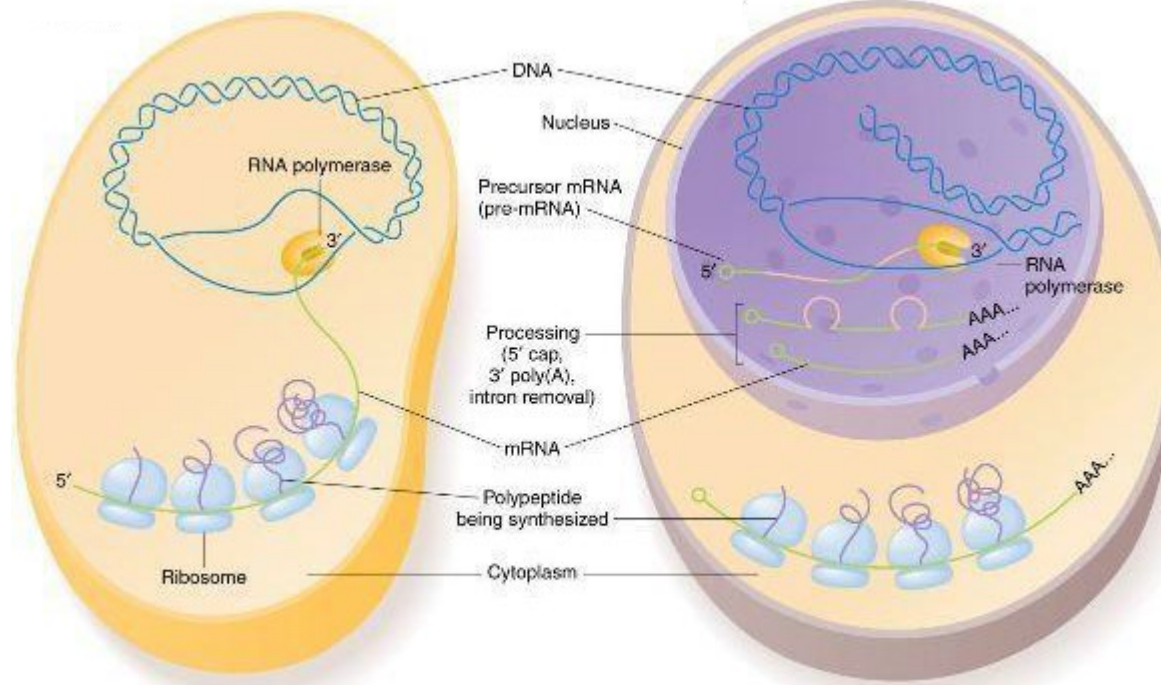
- Μόνο τα σωστά επεξεργασμένα mRNA εξάγονται στον πυρήνα για μετάφραση
- Αυτή η επιλεκτική μεταφορά διαμεσολαβείται από τα σύμπλοκα των πυρηνικών πόρων
- Για την εξαγωγή, κάθε ώριμο mRNA πρέπει να συνδεθεί με ειδικές πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν τόσο την 5' καλύπτρα όσο και την poly-A ουρά

Βασικές διαφορές της μεταγραφής μεταξύ προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών



Προκαρυωτικό κύτταρο

Ευκαρυωτικό κύτταρο



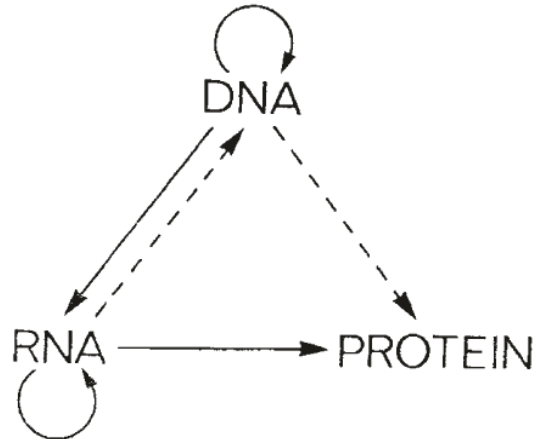
- Υπάρχει μόνο μια RNA πολυμεράση
- Δεν υπάρχουν τροποποιήσεις στο mRNA
- Δεν υπάρχουν ιντρόνια
- Η μετάφραση ξεκινάει πριν τελειώσει η μεταγραφή
- Μικρός χρόνος ζωής mRNA (1-3 min)

- Υπάρχουν 3 είδη RNA πολυμερασών
- Στο mRNA προστίθεται καλύπτρα στο 5 άκρο και polyA ουρά στο 3' άκρο
- Απομάκρυνση ιντρονίων και συρραφή εξωνίων
- Το mRNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα
- Μεγάλος χρόνος ζωής (10min-10h)

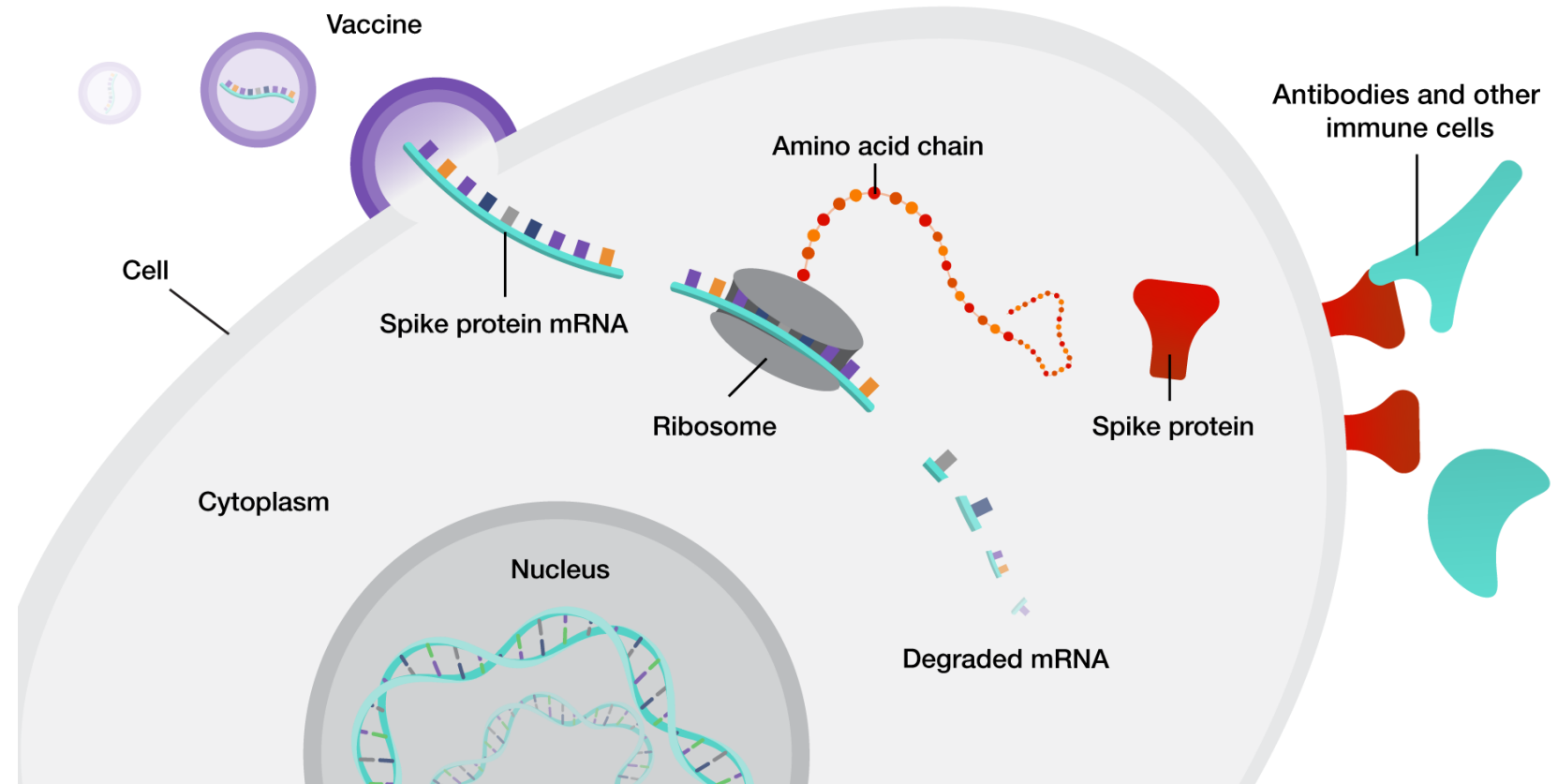
Αλήθειες και μύθοι για τα εμβόλια mRNA



National Human Genome
Research Institute



Το **ώριμο mRNA**, όπως αυτό που περιέχεται στο εμβόλιο mRNA κατά του COVID, **δεν μπορεί να εισέρθει στον πυρήνα** και δεν μπορεί να μεταγραφεί αντίστροφα σε DNA, άρα **δεν μπορεί να τροποποιήσει το γενετικό υλικό** του ατόμου που εμβολιάζεται



Σύνοψη II



- Για την έναρξη της μεταγραφής, η RNA πολυμεράση προσδένεται σε ειδικές θέσεις του DNA που καλούνται υποκινητές και βρίσκονται ανοδικά των γονιδίων. Για να αρχίσει η μεταγραφή οι μεν ευκαρυωτικές RNA πολυμεράσες απαιτούν τη συναρμολόγηση ενός συμπλόκου γενικών μεταγραφικών παραγόντων στον υποκινητή, οι δε βακτηριακές μόνο μια επιπρόσθετη υπομονάδα που καλείται παράγοντας σίγμα.
- Τα περισσότερα ευκαρυωτικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες αποτελούνται από έναν αριθμό κωδικοποιητικών περιοχών που καλούνται εξώνια τα οποία διακόπτονται από μεγαλύτερες μη κωδικοποιητικές περιοχές που καλούνται ιντρόνια. Όταν ένα ευκαρυωτικό γονίδιο μεταγράφεται από DNA σε RNA, αντιγράφονται τόσο τα εξώνια όσο και τα ιντρόνια.
- Τα ιντρόνια απομακρύνονται από τα μετάγραφα mRNA στον πυρήνα με τη συρραφή, μια διεργασία που καταλύεται από μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα, γνωστά ως snRNPs. Η συρραφή απομακρύνει τα ιντρόνια από το RNA και ενώνει τα εξώνια μεταξύ τους, συχνά με ποικίλους εναλλακτικούς συνδυασμούς, επιτρέποντας έτσι την παραγωγή πολλαπλών πρωτεϊνών από το ίδιο γονίδιο.
- Προτού εγκαταλείψουν τον πυρήνα, τα ευκαρυωτικά μόρια προ-mRNA υπόκεινται σε διάφορους τύπους επεξεργασίας, όπως η προσθήκη της καλύπτρας στο 5' άκρο και η πολυαδενυλίωση στο 3' άκρο. Αυτές οι αντιδράσεις, σε συνδυασμό με τη συρραφή, συμβαίνουν ενόσω συντίθεται το προ-mRNA.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968

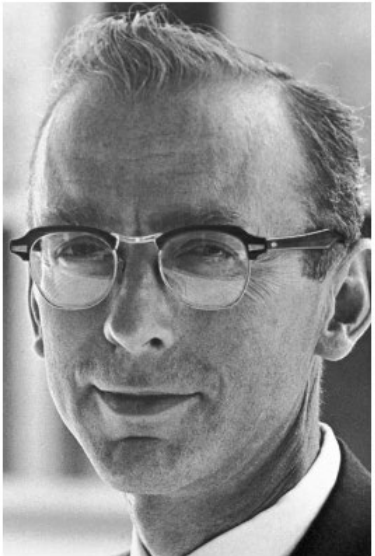


Photo from the Nobel Foundation archive.

Robert W. Holley

Prize share: 1/3



Photo from the Nobel Foundation archive.

Har Gobind Khorana

Prize share: 1/3



Photo from the Nobel Foundation archive.

Marshall W. Nirenberg

Prize share: 1/3

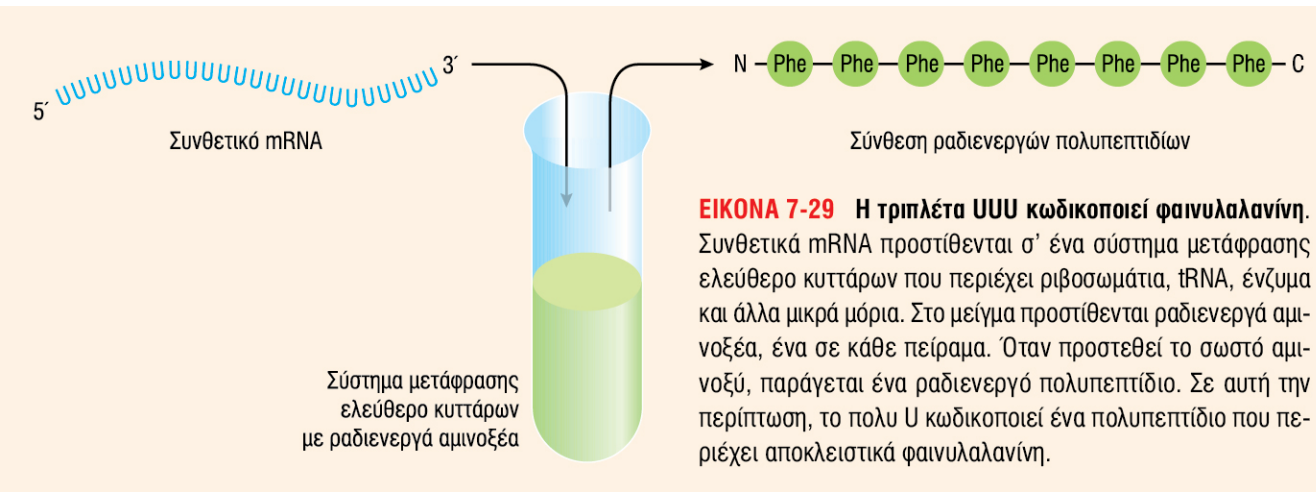
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1968 was awarded jointly to Robert W. Holley, Har Gobind Khorana and Marshall W. Nirenberg "for their interpretation of the genetic code and its function in protein synthesis"

Δομή του tRNA
της Αλανίνης

Χημική σύνθεση DNA
με προκαθορισμένη
αλληλουχία

Πρωτεϊνοσύνθεση
χωρίς κύτταρα

Τα πειράματα των Nirenberg και Khorana



Δεδομένου ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό και ότι υπάρχουν 4 διαφορετικά δεοξυ- ριβονουκλεοτίδια (που καθορίζονται αντίστοιχα από 4 διαφορετικές αζωτούχες βάσεις):

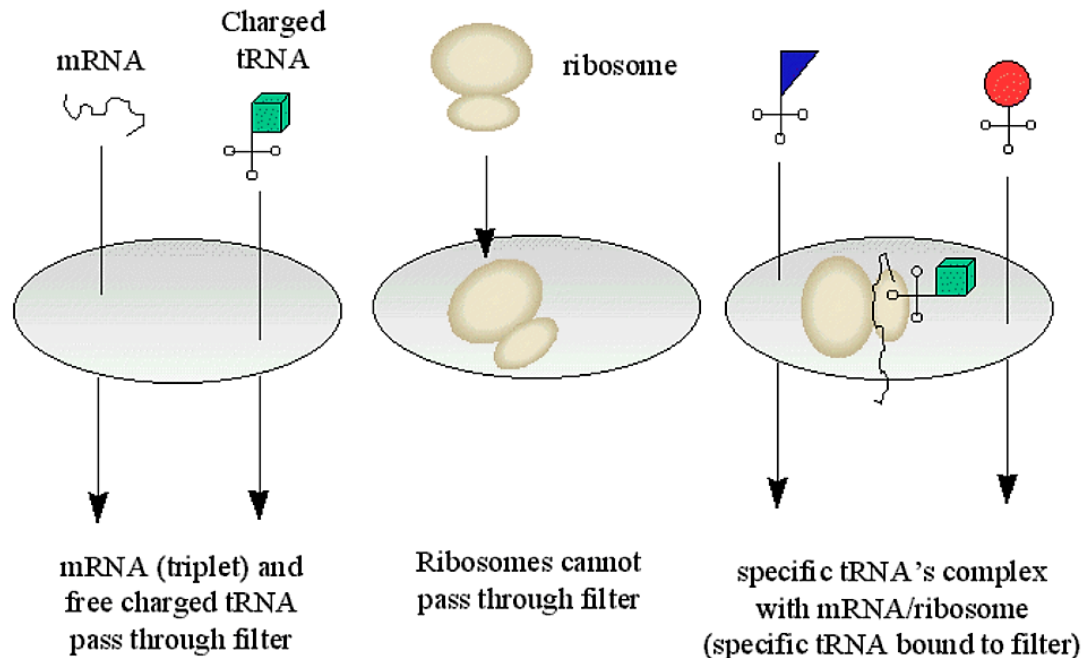
- Συνδυασμοί των 4 βάσεων θα πρέπει να μπορούν να κωδικοποιούν τα 20 διαφορετικά αμινοξέα
- 1 βάση=1 αμινοξύ **X** $4^1=4<20$
- 2 βάσεις=1 αμινοξύ **X** $4^2=16<20$
- 3 βάσεις=1 αμινοξύ **✓** $4^3=64>20$

ΕΙΚΟΝΑ 7-30 Χρησιμοποιώντας συνθετικά RNA με διάφορους συνδυασμούς, ριβονουκλεοτιδικών αλληλουχιών, οι επιστήμονες προχώρησαν ακόμη περισσότερο στην αποκρυπτογράφηση του γενετικού κώδικα. Όμως τα συνδυαστικά μόρια mRNA παρήγαγαν μεικτά πολυπεπτίδια. Έτσι, αυτές οι δοκιμές δεν επέτρεψαν να καθοριστεί επακριβώς η αντιστοιχία κωδικονίου-αμινοξέος. Για παράδειγμα, χρησιμοποιώντας το πολυ UG παραμένει άγνωστο ποιο από τα δύο κωδικόνια, UGU ή GUG, κωδικοποιεί την κυστεΐνη και ποιο τη βαλίνη. Η ίδια ασάφεια χαρακτήριζε τα πειράματα που χρησιμοποιούσαν δι-, τρι- και τετρα-νουκλεοτιδικές επαναλήψεις στα συνθετικά μόρια mRNA.

ΜΗΝΥΜΑ	ΠΑΡΑΓΟΜΕΝΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ	ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΚΩΔΙΚΟΝΙΩΝ
Πολυ UG	...Cys-Val-Cys-Val...	UGU GUG } Cys, Val*
Πολυ AG	...Arg-Glu-Arg-Glu...	AGA GAG } Arg, Glu
Πολυ UUC	...Phe-Phe-Phe... + ...Ser-Ser-Ser... + ...Leu-Leu-Leu...	UUC UCU CUU } Phe, Ser, Leu
Πολυ UAUC	...Tyr-Leu-Ser-Ile...	UAU CUA UCU AUC } Tyr, Leu, Ser, Ile

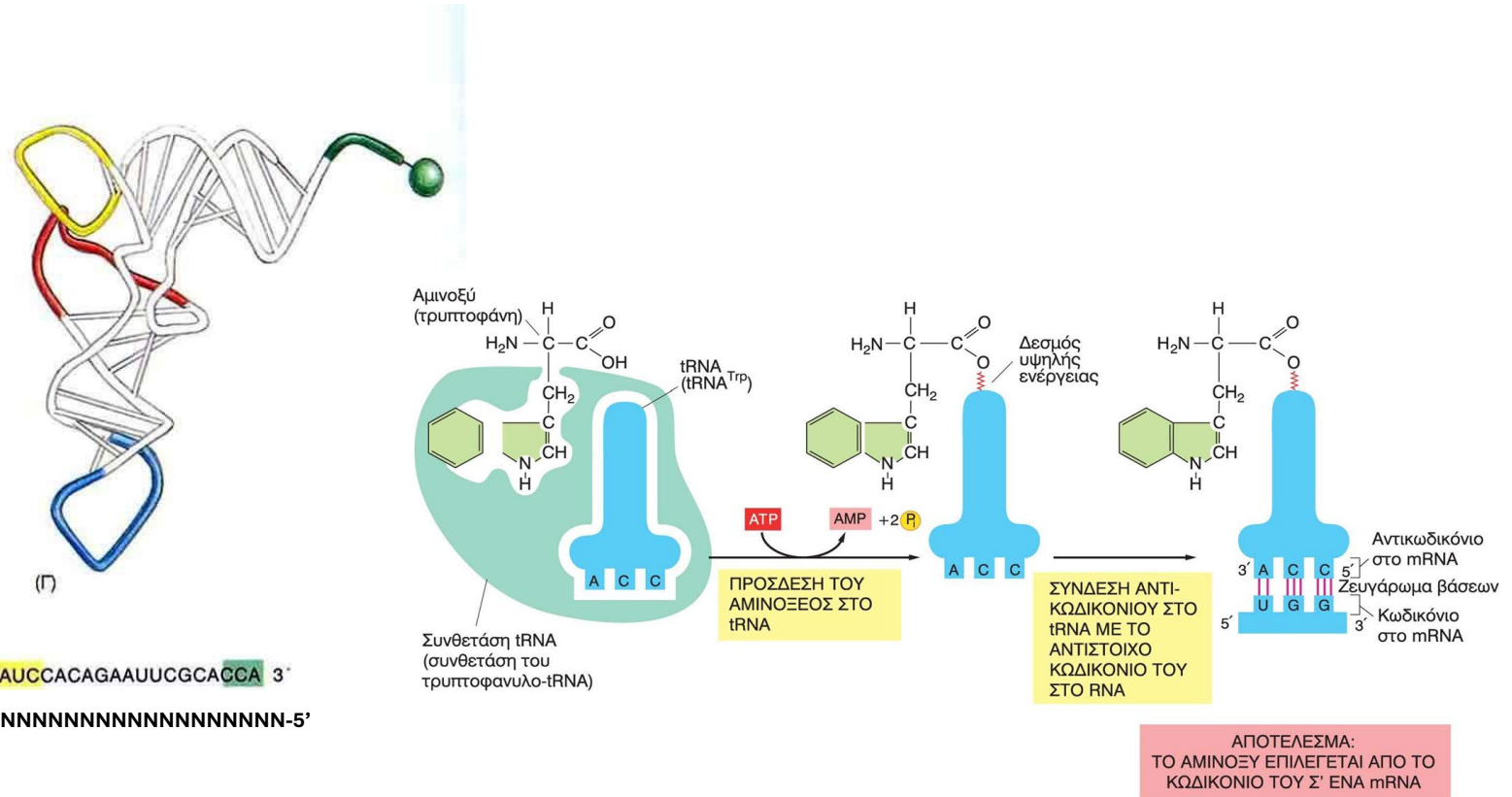
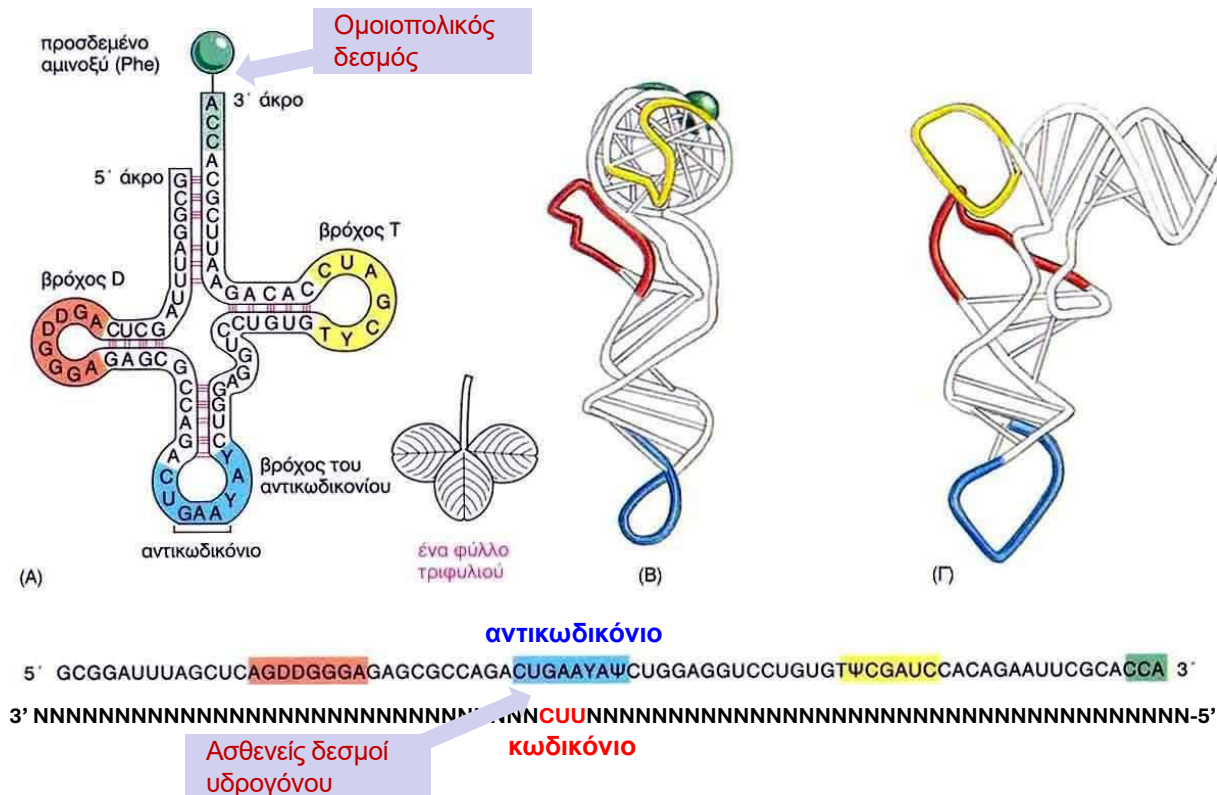
* Ένα κωδικόνιο κωδικοποιεί Cys, ενώ το άλλο Val. Η ίδια ασάφεια ισχύει και για τ' άλλα κωδικόνια του Πίνακα.

Τα πειράματα των Nirenberg και Leder



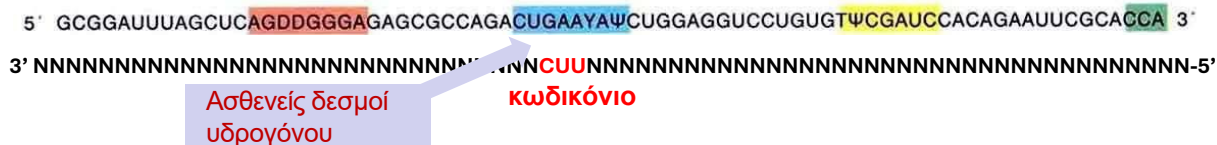
- Οι Nirenberg και Leder ανακάλυψαν ότι ακόμα και μια τριπλέτα ριβονουκλεοτιδίων επάγει την πρόσδεση ενός tRNA «φορτισμένου» με ένα αμινοξύ, στο ριβόσωμα.
- Χρησιμοποίησαν ραδιενεργά σημασμένα αμινοξέα και μια μέθοδο χρωματογραφίας διήθησης όπου τα «φορτισμένα» αμινοξέα και οι τριπλέτες RNA μπορούν να περάσουν από το φίλτρο, αλλά τα ριβοσώματα δεν μπορούν.
- Έκαναν μια σειρά πειραμάτων όπου χρησιμοποίησαν όλες τις πιθανές 64 τριπλέτες RNA και κάθε φορά ραδιοσήμαιναν ένα από τα 20 διαφορετικά αμινοξέα.
- Με αυτόν τον τρόπο, συσχέτισαν και τα 61 διαφορετικά κωδικόνια με τα αντίστοιχα αμινοξέα που κωδικοποιούν.

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS



Το ζευγάρι των βάσεων στη 3^η θέση δεν είναι τόσο περιοριστικό (**υπόθεση αστάθειας- wobble**), άρα δεν είναι απαραίτητο να υπάρχουν και τα 61 είδη tRNA σε ένα είδος, π.χ. στον άνθρωπο υπάρχουν 48 είδη μορίων tRNA

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS



Nonpolar
 Polar
 Basic
 Acidic
 Stop codon

Το ζευγάρι των βάσεων στη 3^η θέση δεν είναι τόσο περιοριστικό (**υπόθεση αστάθειας- wobble**), άρα δεν είναι απαραίτητο να υπάρχουν και τα 61 είδη tRNA σε ένα είδος, π.χ. στον άνθρωπο υπάρχουν 48 είδη μορίων tRNA

Ο γενετικός κώδικας αποτελείται από τριπλέτες νουκλεοτιδίων



5'-ATGCAATGGAATGACGCCAGGTTAAAATAA-3'

5'-AT-**GCA-ATG-GAA-TGA-CGC-CAG-GTT-AAA-ATA-A**-3'

5'-A-**TGC-AAT-GGA-ATG-ACG-CCA-GGT-TAA-AAT-AA**-3'

5'-**ATG-CAA-TGG-AAT-GAC-GCC-AGG-TTA-AAA-TAA**-3'

Ο γενετικός κώδικας αποτελείται από τριπλέτες νουκλεοτιδίων



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

5'-ATGCAATGGAATGACGCCAGGTTAAAATAA-3'

5'-ΕΓΩΔΕΝΕΧΩΚΑΝΕΝΑΚΑΙΕΣΥΘΕΣΔΥΟ-3'

5'-AT-GCA-ATG-GAA-TGA-CGC-CAG-GTT-AAA-ATA-A-3'

5'-ΕΓ-ΩΔΕ-NEX-ΩΚΑ-NEN-AKA-ΙΕΣ-ΥΘΕ-ΣΔΥ-Ο-3'

5'-A-TGC-AAT-GGA-ATG-ACG-CCA-GGT-TAA-AAT-AA-3'

5'-Ε-ΓΩΔ-ENE-XΩK-ANE-NAK-AIE-ΣΥΘ-ΕΣΔ-ΥΟ-3'

5'-**ATG**-CAA-TGG-AAT-GAC-GCC-AGG-TTA-AAA-**TAA**-3'

5'-ΕΓΩ-ΔΕΝ-ΕΧΩ-ΚΑΝ-ΕΝΑ-ΚΑΙ-ΕΣΥ-ΘΕΣ-ΔΥΟ-3'

Μεθειονίνη (Met)

Οι μεταλλάξεις μπορούν να μετατοπίσουν το πλαίσιο ανάγνωσης ενός γονιδίου/mRNA



5'-**ATG**-CAA-TGG-AAT-GAC-GCC-AGG-TTA-AAA-**TAA**-3'

5'-ΕΓΩ-ΔΕΝ-ΕΧΩ-ΚΑΝ-ΕΝΑ-ΚΑΙ-ΕΣΥ-ΘΕΣ-ΔΥΟ-3'

αντικατάσταση βάσης
5'-**ATG**-CAA-TGG-A**AC**-GAC-GCC-AGG-TTA-AAA-**TAA**-3'

5'-ΕΓΩ-ΔΕΝ-ΕΧ**Ο**-ΚΑΝ-ΕΝΑ-ΚΑΙ-ΕΣΥ-ΘΕΣ-ΔΥΟ-3'

προσθήκη βάσης
5'-**ATG**-CAA-TGG-**AAA**-TGA-CGC-CAG-GTT-AAA-ATA-A-3'

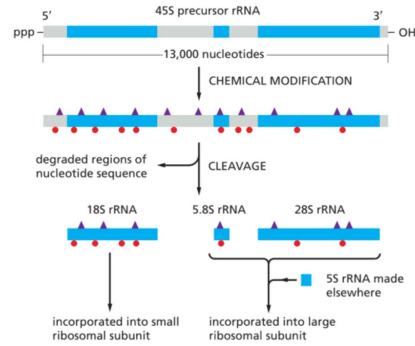
Μετάθεση πλαισίου ανάγνωσης

5'-ΕΓΩ-ΔΕΝ-ΕΧ**X**-ΩΚΑ-ΝΕΝ-ΑΚΑ-ΙΕΣ-ΥΘΕ-ΣΔΥ-Ο-3'

First position (5' end)	Second position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC Cys UGA Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg	U C A G
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile AUG Met	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg	U C A G
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	U C A G

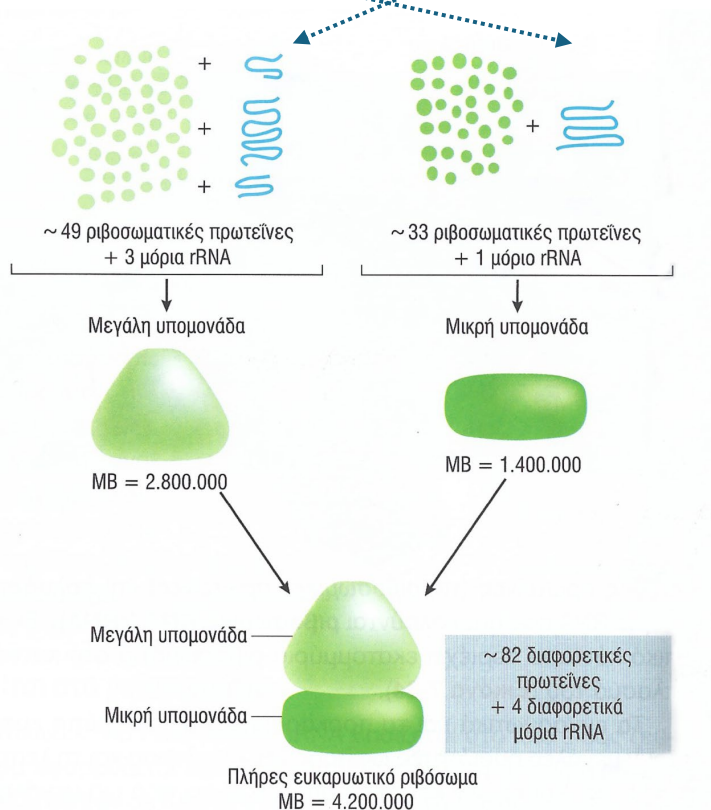
Nonpolar Polar Basic Acidic Stop codon

Κάθε ριβόσωμα διαθέτει μια θέση σύνδεσης για το mRNA και 3 θέσεις σύνδεσης για τα tRNAs

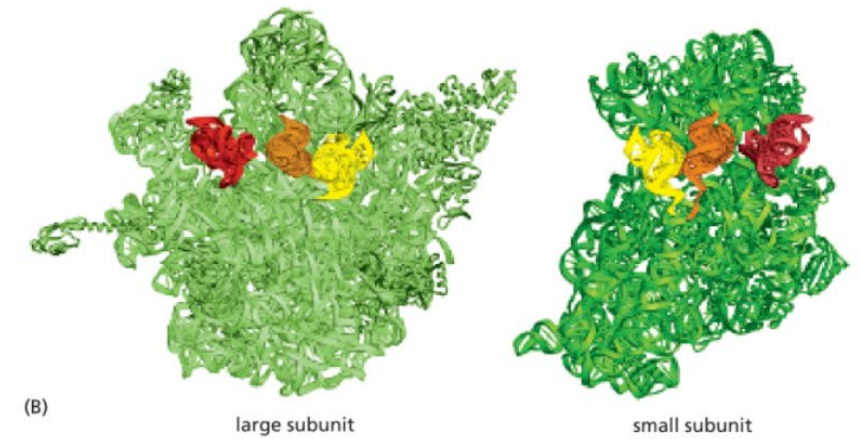
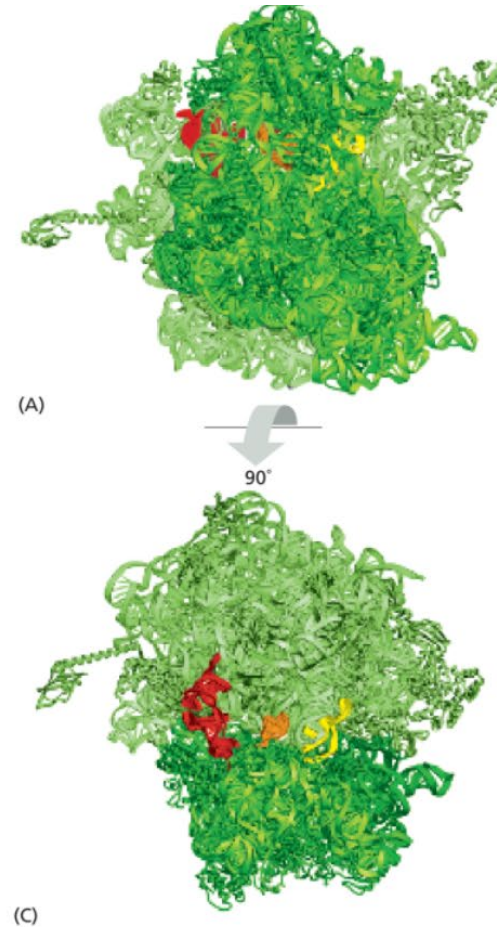
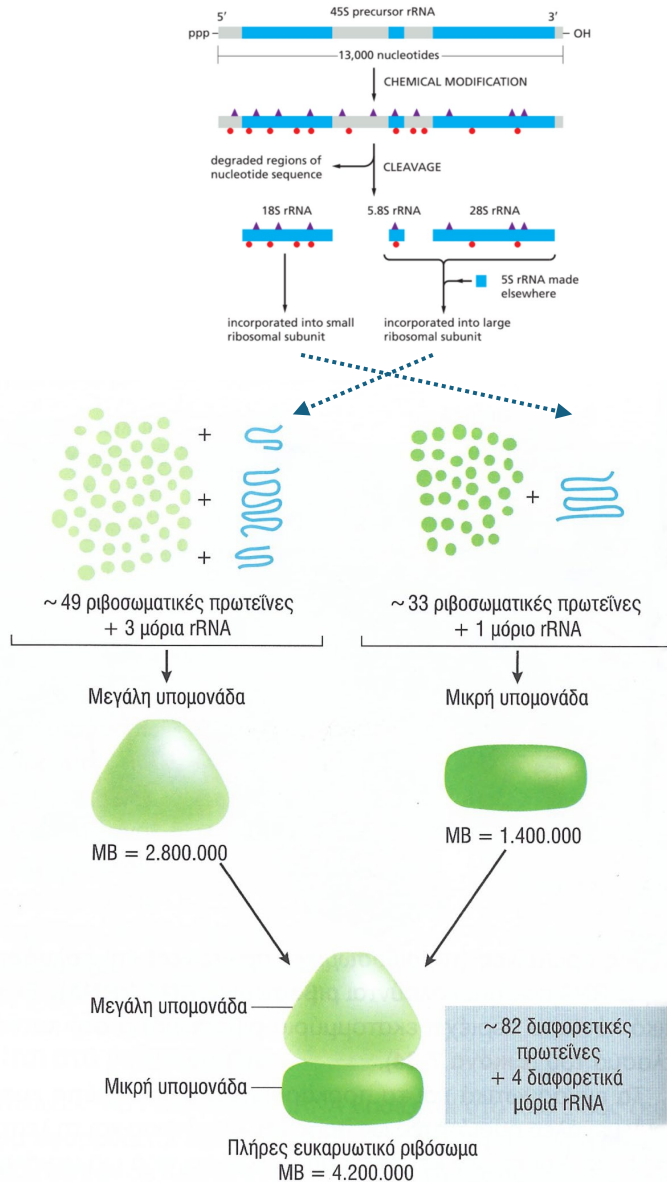


Τα μόρια rRNA του ριβοσώματος έχουν ενζυματική δράση και καθορίζουν τόσο την δομή όσο και την λειτουργία του

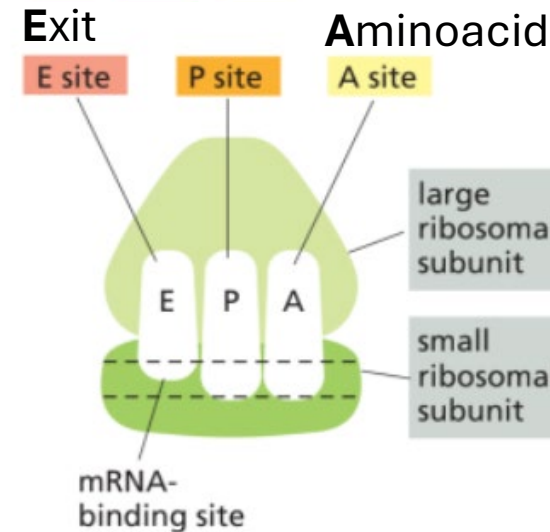
Δεν είναι οι πρωτεΐνες αλλά το RNA που καταλύει την πρόσδεση αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα!



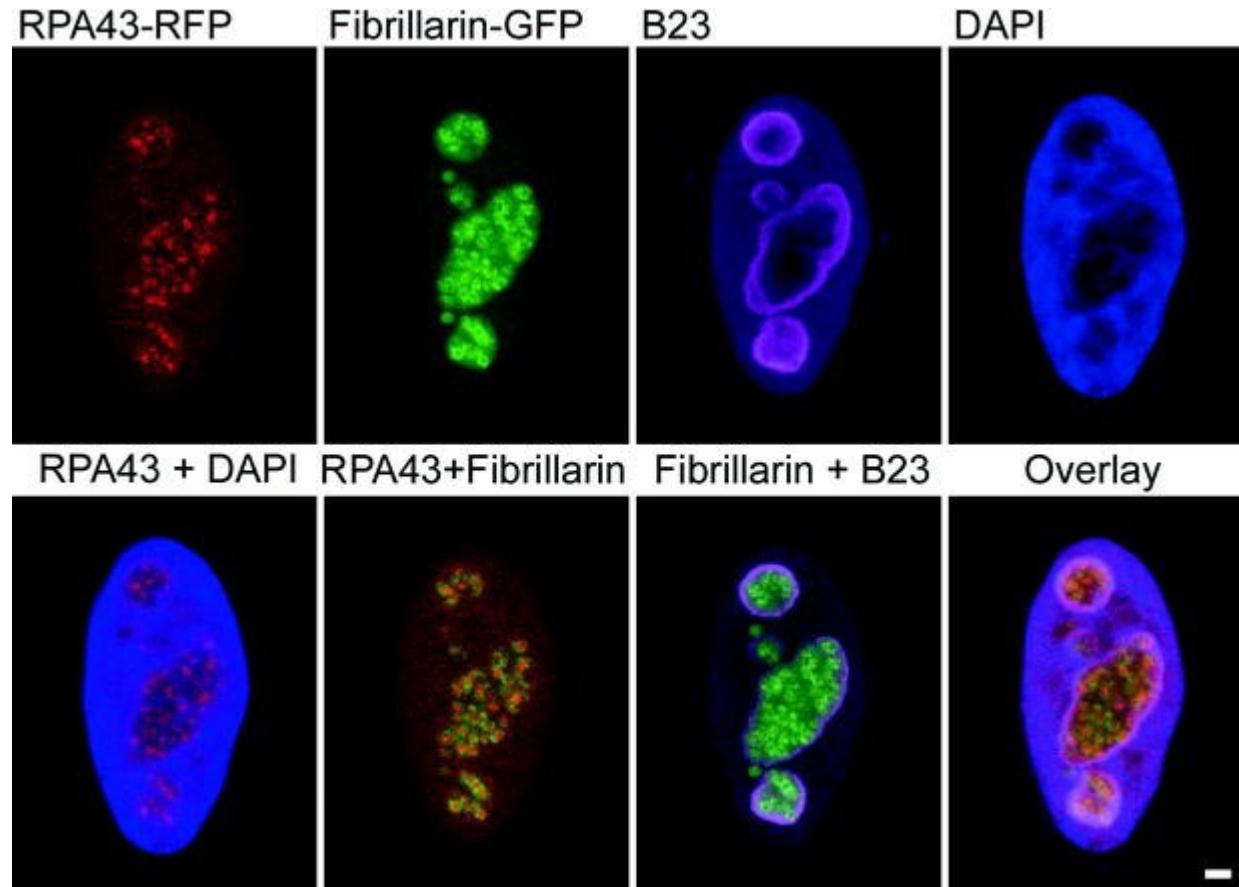
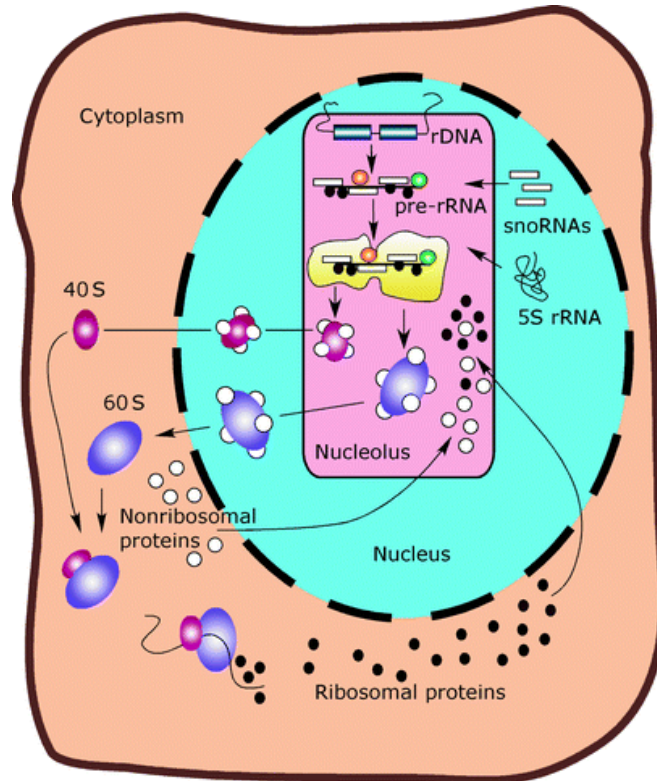
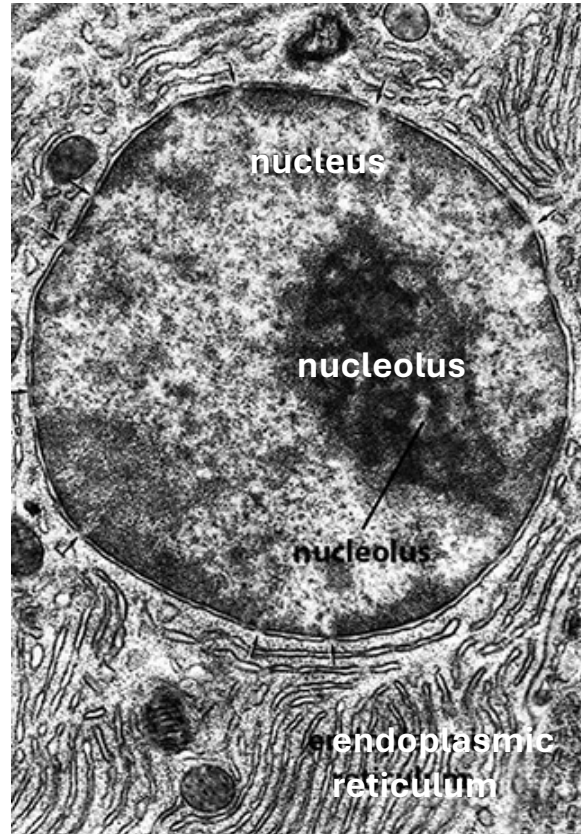
Κάθε ριβόσωμα διαθέτει μια θέση σύνδεσης για το mRNA και 3 θέσεις σύνδεσης για τα tRNAs



Polypeptide

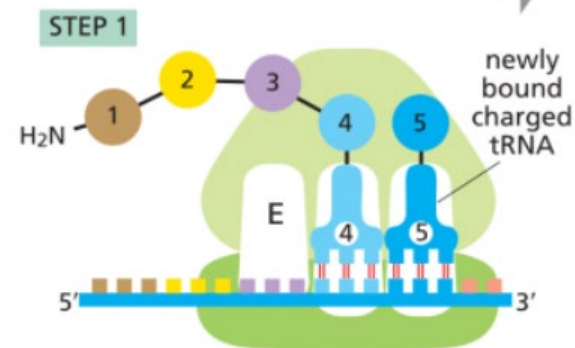
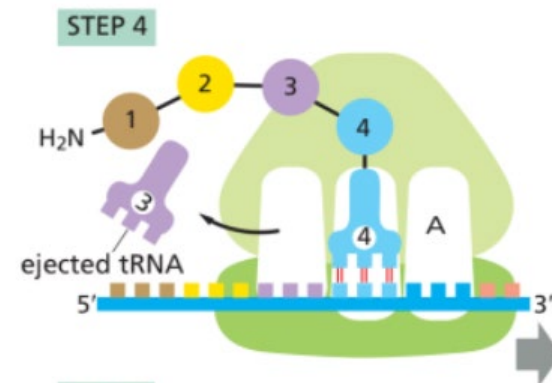
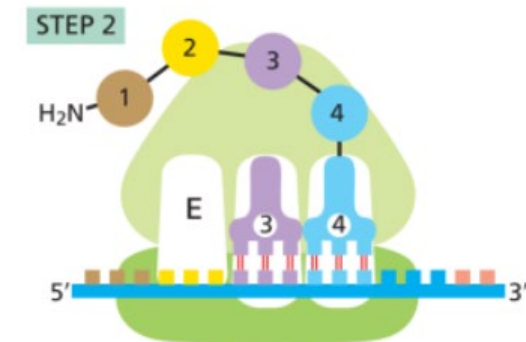
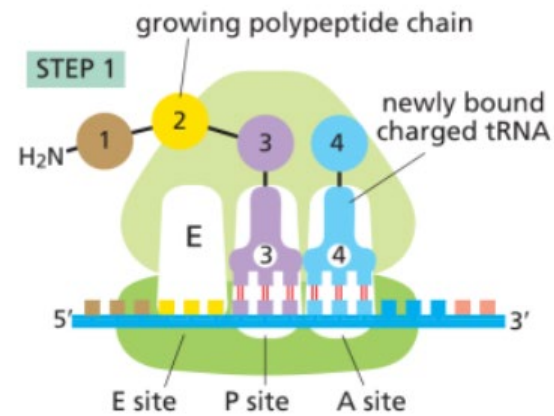


Ο πυρηνίσκος είναι το κέντρο οργάνωσης των ριβοσωμάτων



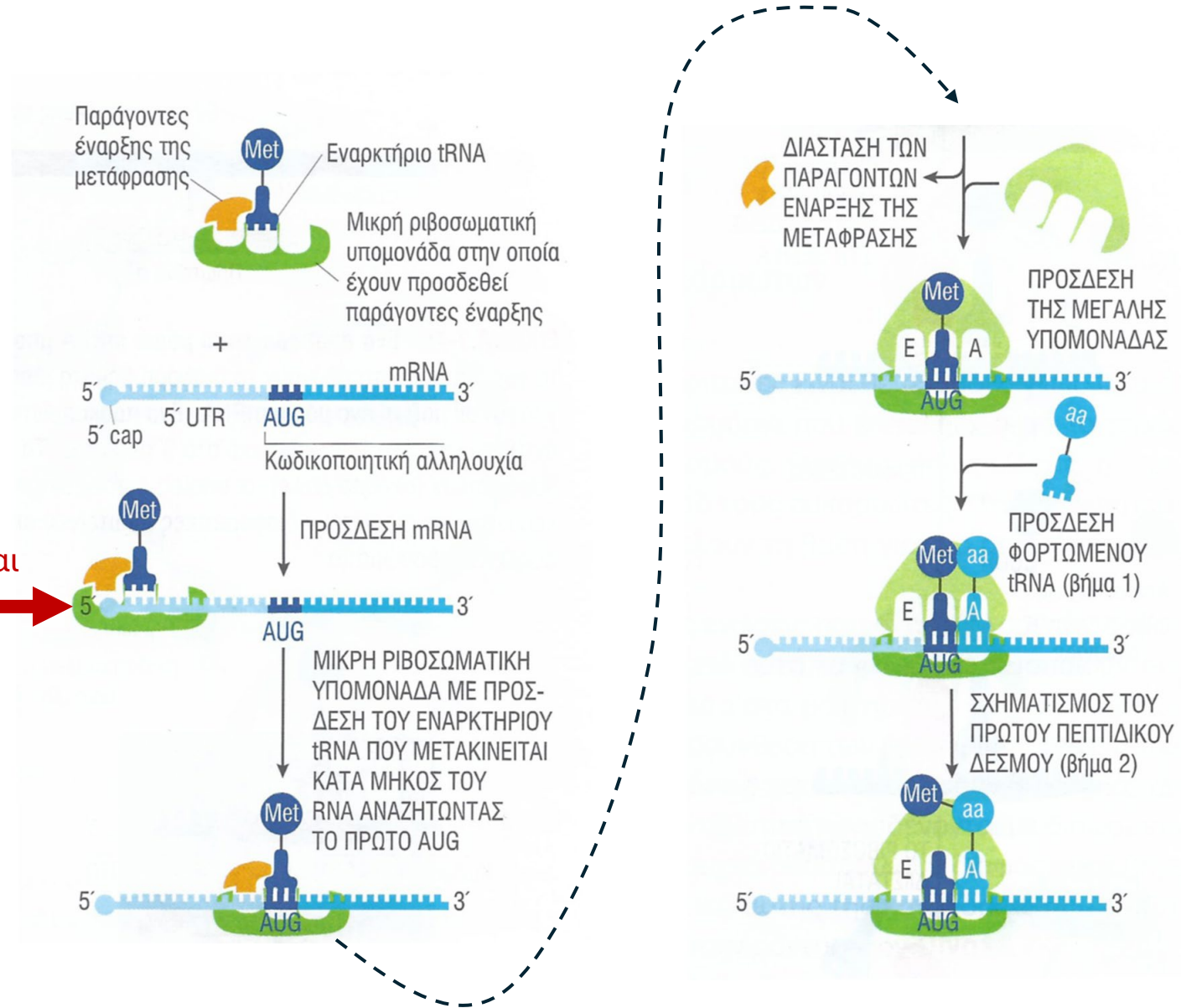
Olson, M.O.J., Dundr, M. The moving parts of the nucleolus.
Histochem Cell Biol **123**, 203–216 (2005)

Η επιμήκυνση της πρωτεϊνοσύνθεσης περιλαμβάνει 4 επαναλαμβανόμενα στάδια

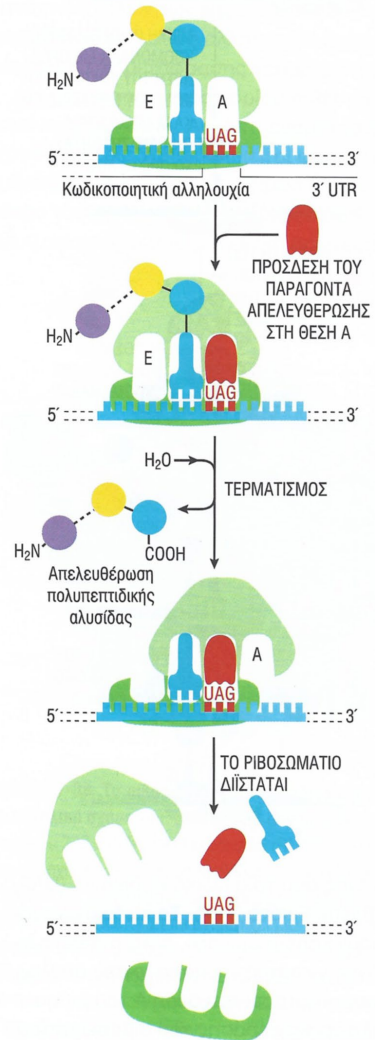


Η έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεση στους ευκαρυώτες περιλαμβάνει παράγοντες έναρξης και το εναρκτήριο tRNA

Το ριβόσωμα προσδένεται στο mRNA με βάση την καλύπτρα στο 5' άκρο



Η πρωτεϊνοσύνθεση σταματά στο κωδικόνιο τερματισμού

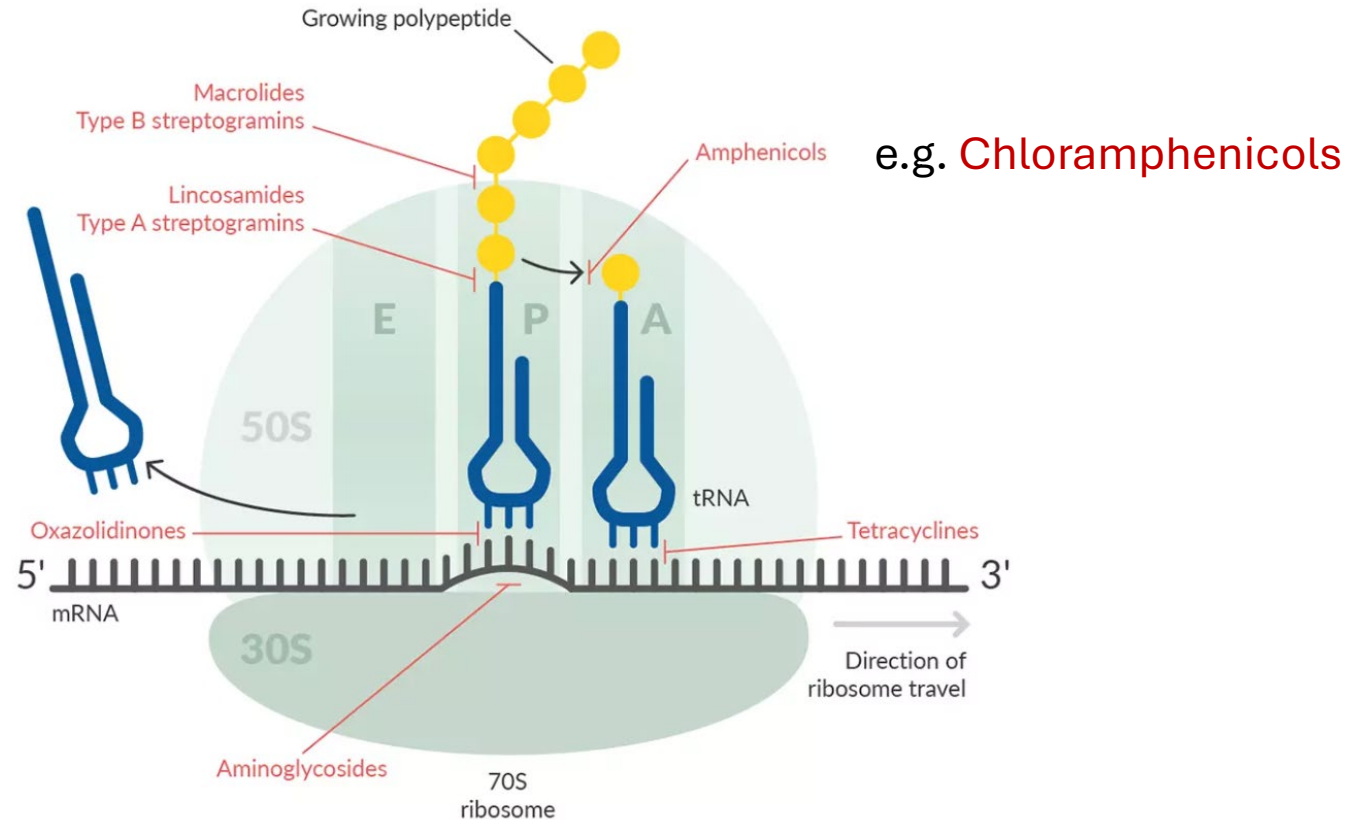


Δεν υπάρχει tRNA που να αντιστοιχεί στο κωδικόνιο λήξης

First position (5' end)	Second position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu	UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser	UAU Tyr UAC Tyr UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC Cys UGA Stop UGG Trp	U C A G
C	CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu	CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro	CAU His CAC His CAA Gln CAG Gln	CGU Arg CGC Arg CGA Arg CGG Arg	U C A G
A	AUU Ile AUC Ile AUA Ile AUG Met	ACU Thr ACC Thr ACA Thr ACG Thr	AAU Asn AAC Asn AAA Lys AAG Lys	AGU Ser AGC Ser AGA Arg AGG Arg	U C A G
G	GUU Val GUC Val GUA Val GUG Val	GCU Ala GCC Ala GCA Ala GCG Ala	GAU Asp GAC Asp GAA Glu GAG Glu	GGU Gly GGC Gly GGA Gly GGG Gly	U C A G

Legend: Nonpolar (Green), Polar (Blue), Basic (Yellow), Acidic (Pink), Stop codon (Purple)

Πολλά αντιβιοτικά έχουν ως μηχανισμό δράσης την αναστολή της μετάφρασης

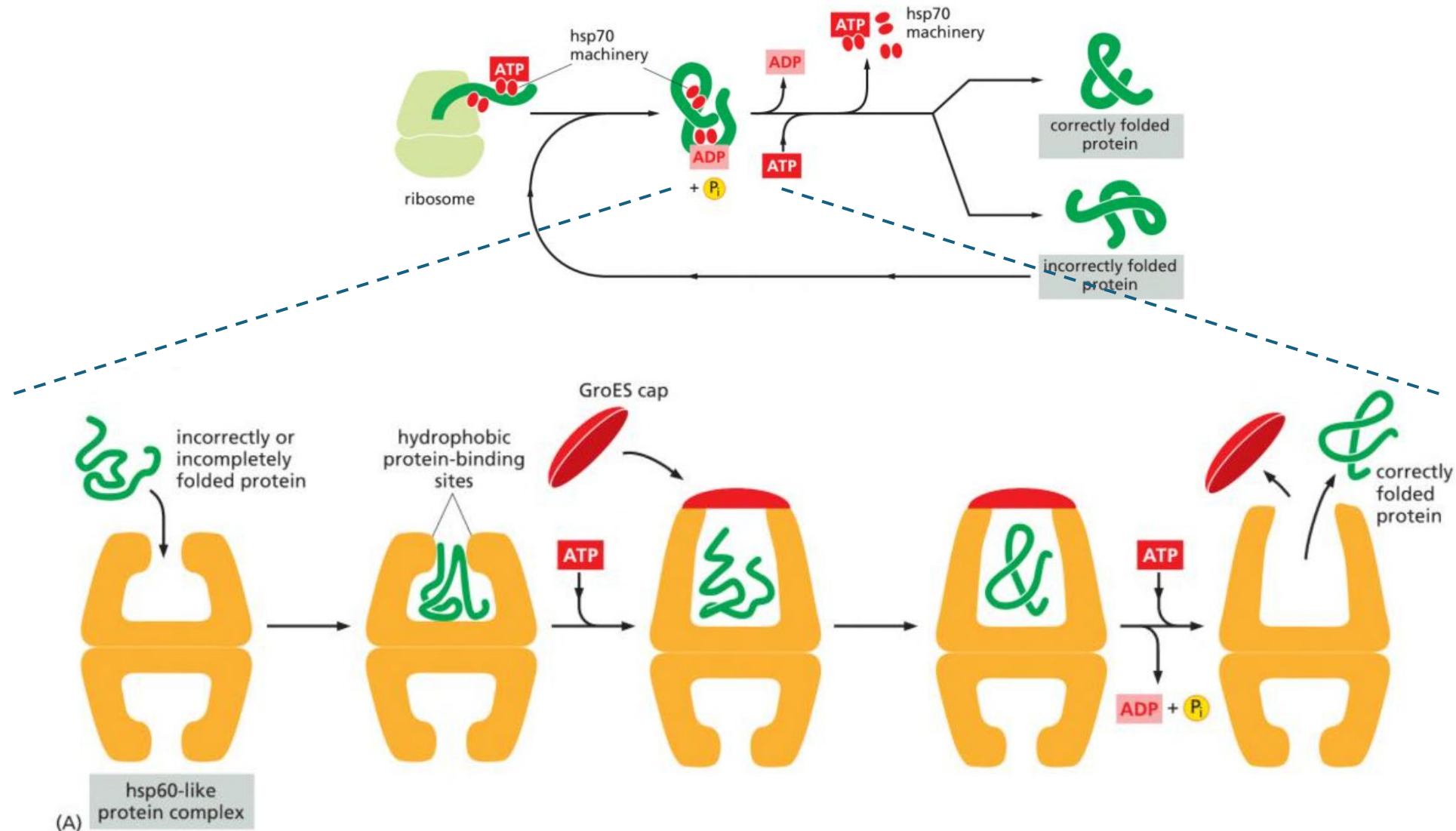


Σύνοψη III

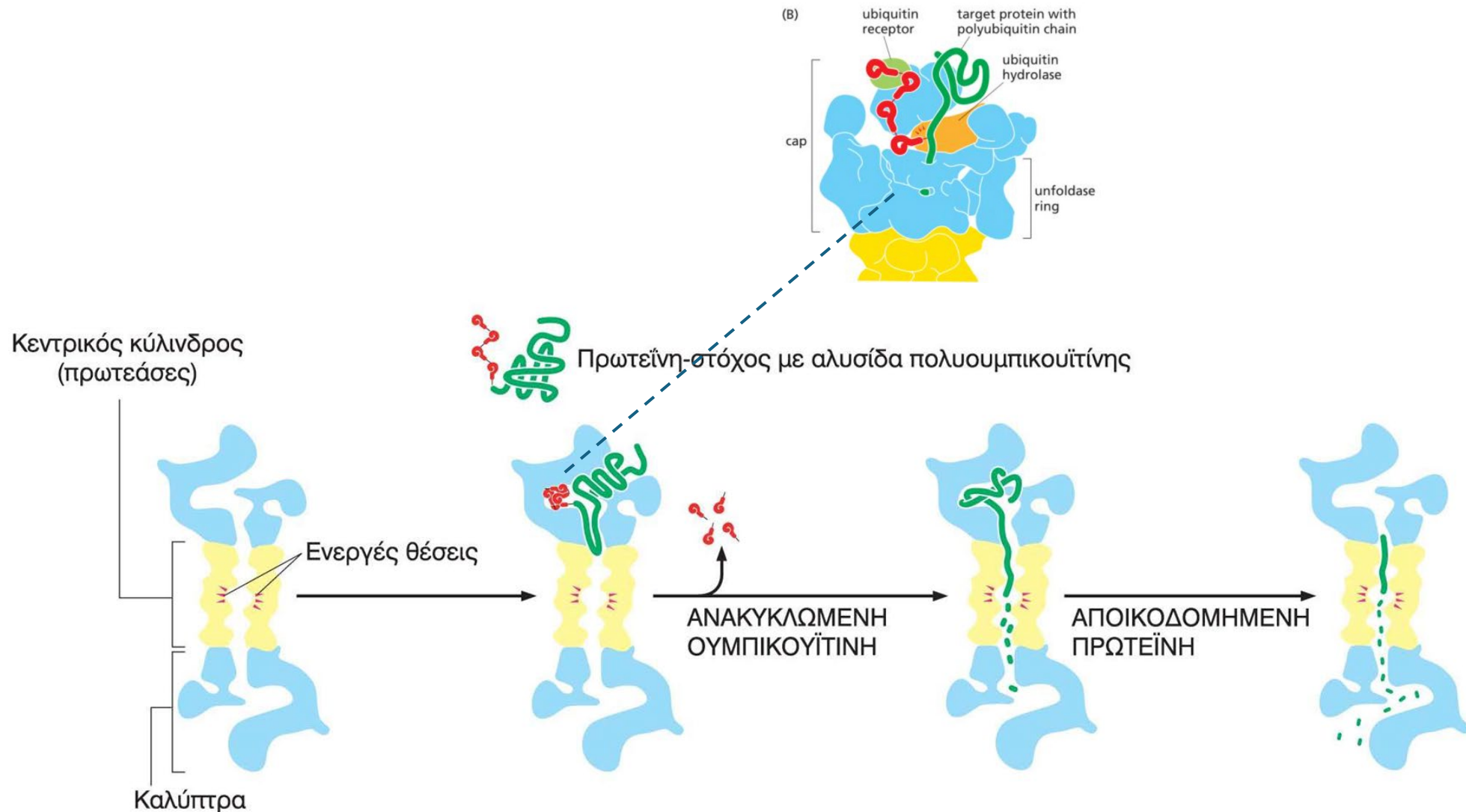


- Η **μετάφραση** της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων του mRNA σε πρωτεΐνη διεξάγεται στο **κυτταρόπλασμα**, σε μεγάλα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά συγκροτήματα, γνωστά ως **ριβοσώματα**.
- Η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του **mRNA**, διαβάζεται σε **ομάδες 3 νουκλεοτιδίων**, γνωστές ως **κωδικόνια**. Το κάθε κωδικόνιο αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ.
- Η αντιστοιχία ανάμεσα στα αμινοξέα και τα κωδικόνια εξειδικεύεται στο γενετικό κώδικα. Οι δυνατοί συνδυασμοί των 4 διαφορετικών νουκλεοτιδίων του RNA αποδίδουν 64 διαφορετικά κωδικόνια.
- Τα ένζυμα που καλούνται **αμινοάκυλο-tRNA συνθάσες** συνδέουν τα αμινοξέα με τα αντίστοιχα tRNA. Κάθε μόριο **tRNA** περιέχει μια αλληλουχία 3 νουκλεοτιδίων, γνωστή ως **αντικωδικόνιο**, η οποία αναγνωρίζει ένα κωδικόνιο στο mRNA με συμπληρωματικό ζευγάρωμα ανάμεσα στις βάσεις.
- Η πρωτεϊνοσύνθεση αρχίζει μόλις ένα ριβόσωμα συνδεθεί με ένα **κωδικόνιο έναρξης (AUG)** του mRNA και εξαρτάται από πρωτεΐνες που καλούνται παράγοντες έναρξης της μετάφρασης. Η ολοκληρωμένη πρωτεϊνική αλυσίδα απελευθερώνεται από το ριβόσωμα μόλις το ριβόσωμα συναντήσει στο mRNA ένα **κωδικόνιο τερματισμού (UAA, UAG, UGA)**.
- Η σταδιακή ενσωμάτωση νέων αμινοξέων σε μια συντιθέμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα καταλύεται από ένα μόριο **rRNA** που ανήκει στη μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος, το οποίο λειτουργεί ως **ριβοένζυμο**.

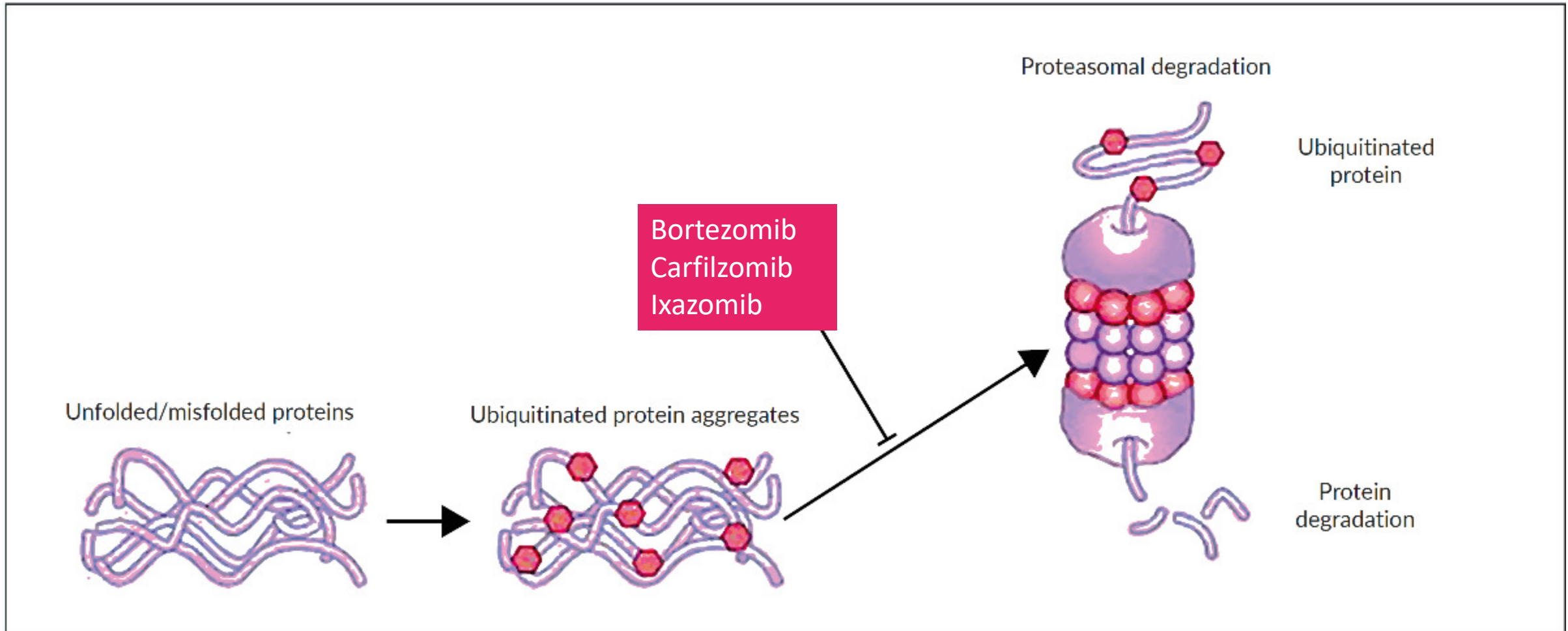
Οι μοριακές συνοδοί (chaperones) ελέγχουν και κατευθύνουν την σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών



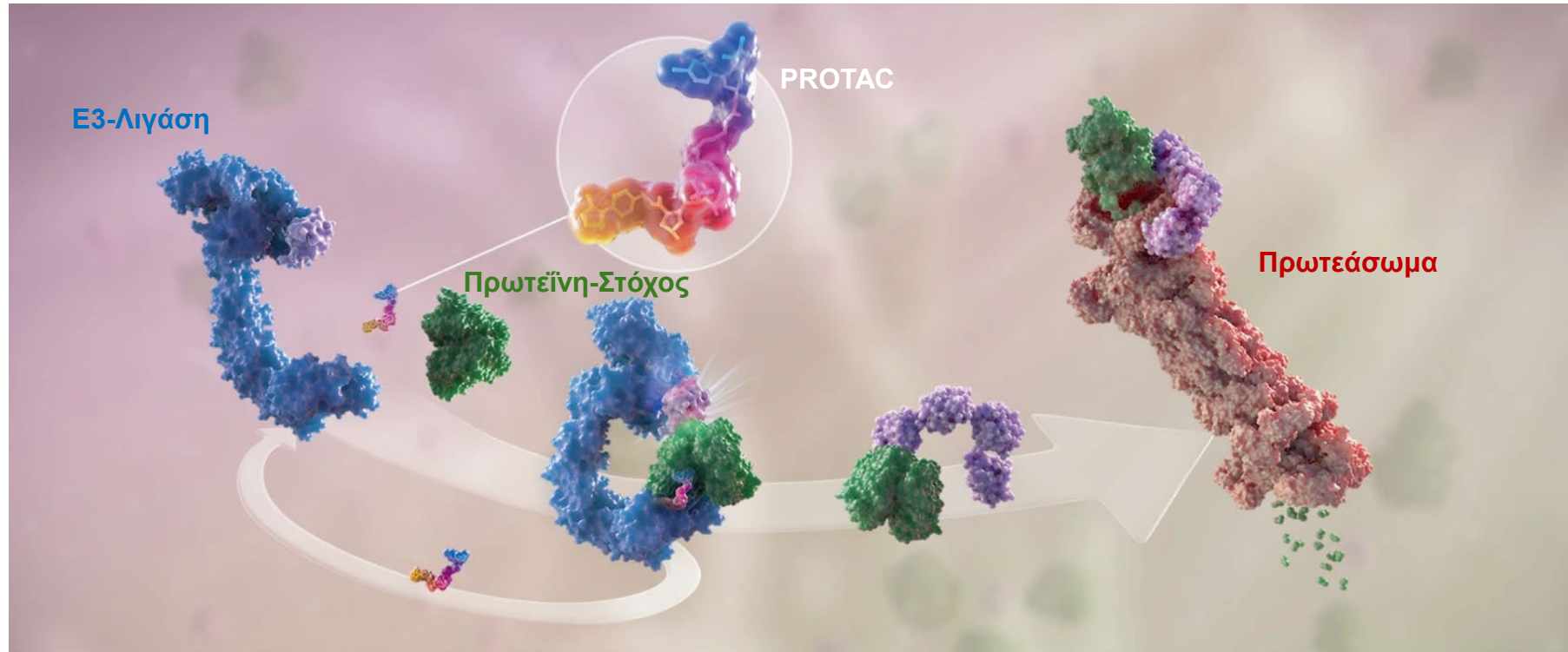
Οι πρωτεΐνες αποικοδομούνται στο πρωτεάσωμα μετα από σήμανση τους με ουβικουΐνη



Αναστολείς του πρωτεασώματος χρησιμοποιούνται ως αντικαρκινικά φάρμακα



PROTACs: Τα νέα μας όπλα κατά του καρκίνου



Békés, M., Langley, D.R. & Crews, C.M. *Nat Rev Drug Discov* **21**, 181–200 (2022).

PROteolysis **T**argeting **C**himeras (PROTACs) are highly specific medicines that target unwanted or harmful proteins for degradation in proteasomes. PROTACs are bifunctional molecules with two heads connected by a linker.

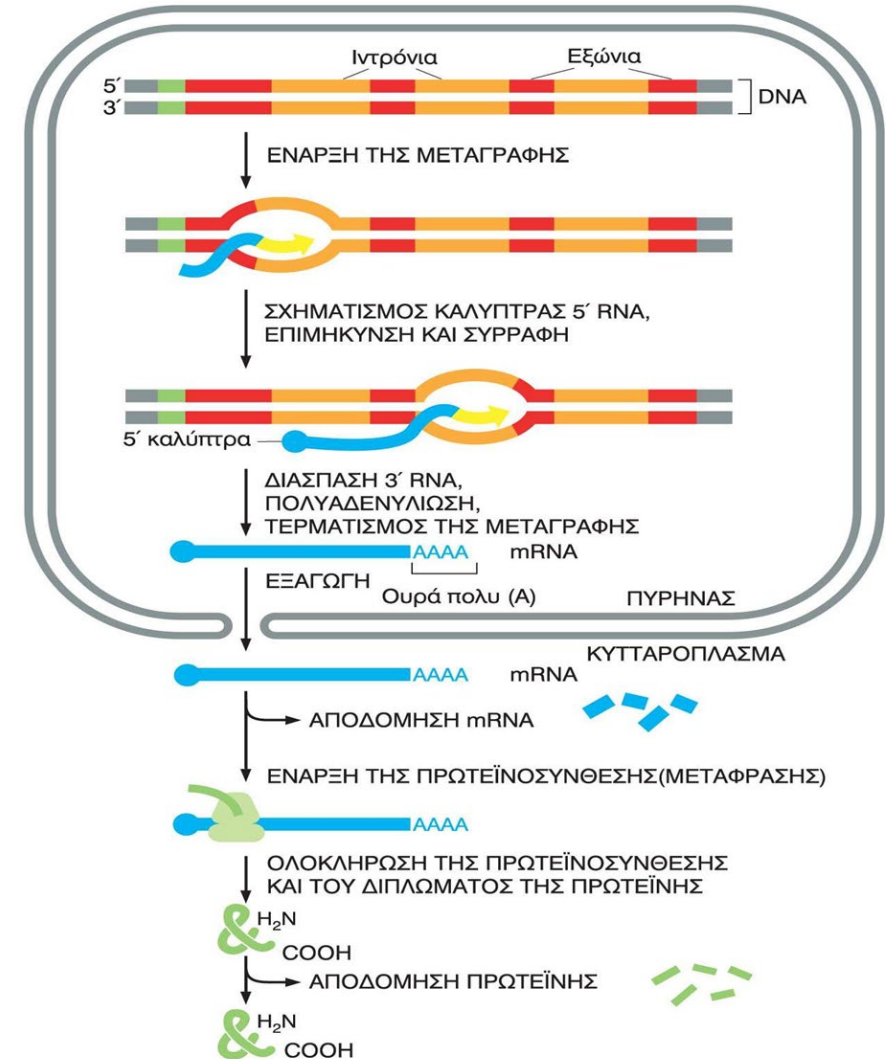
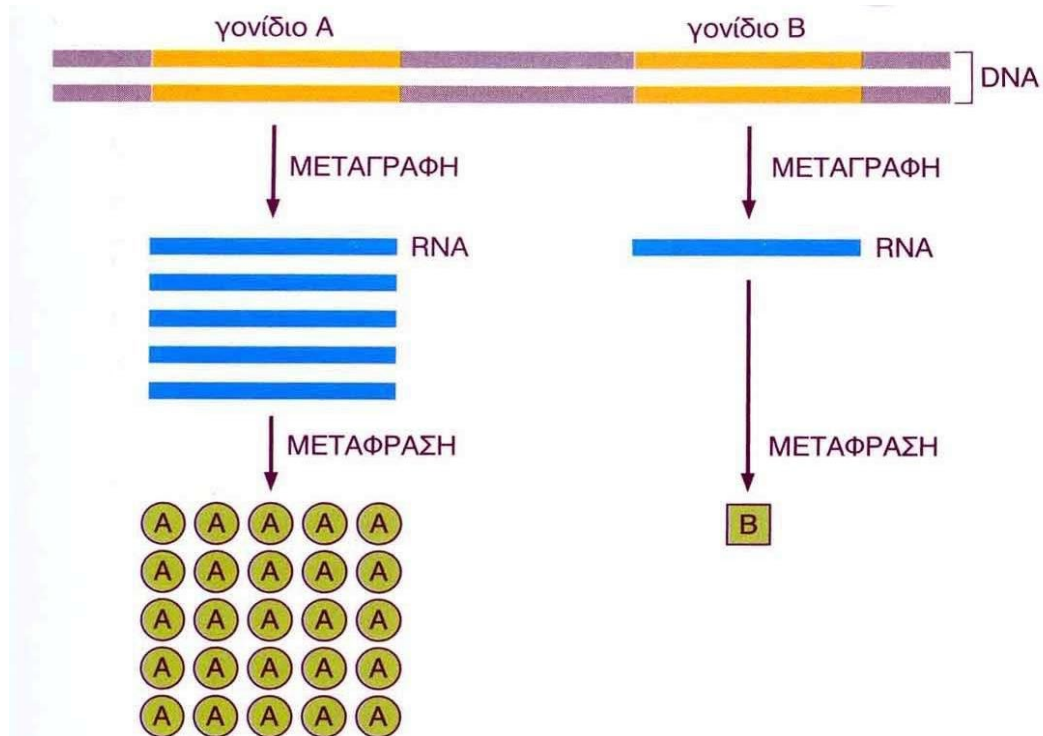
PROTACs σε κλινικές δοκιμές

Androgen Receptor→Prostate Cancer

Estrogen Receptor→Breast Cancer

EGF Receptor-L858R→Lung Cancer

Η ποσότητα μιας πρωτεΐνης στο κύτταρο ρυθμίζεται σε πολλά επίπεδα

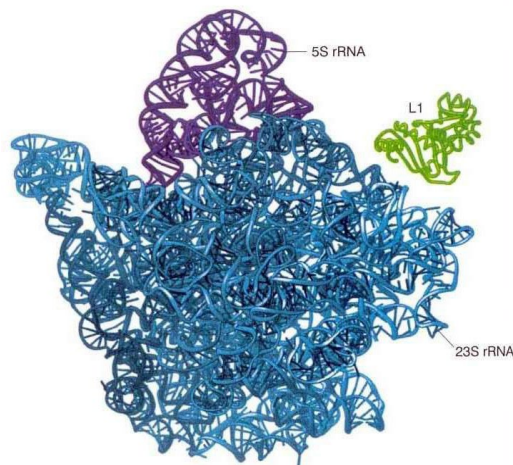


Η καταλυτική δράση του RNA

Η πρωτεϊνوسύνθεση γίνεται μέσω μορίων RNA

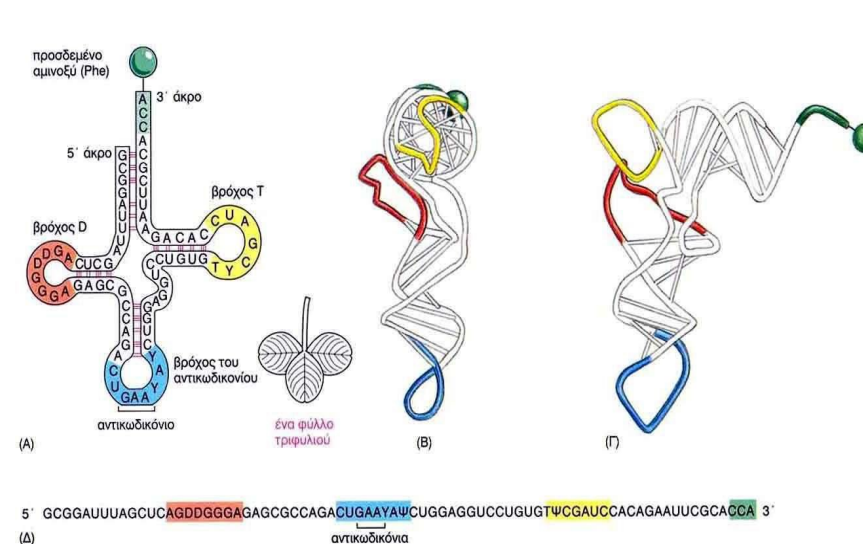
Τα rRNAs ευθύνονται για τη:

- συνολική **διαμόρφωση** του ριβοσώματος
- τοποθέτηση των tRNAs στο mRNA
- **καταλυτική λειτουργία** του ριβοσώματος

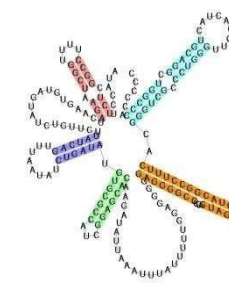


Ο πυρήνας της μεγάλης ριβοσωμικής
υπομονάδας

Τα μόρια του **tRNA** συνδέουν τα **αμινοξέα** με τα **κωδικόνια**



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS



The diagram illustrates the formation of a DNA loop during the annealing of a DNA duplex. The process starts with a DNA duplex containing a phosphate group (P) on the 3' end of one strand. This reacts with G 3'OH to form a phosphodiester bond, creating a 3'-5' linkage. This intermediate then reacts with another phosphate group (P) to form a second phosphodiester bond, creating a 3'-5' linkage. Finally, the 3' end of the strand cyclizes, forming a loop structure with a 3'-5' linkage.

Αυτο-συναρμογή ιντρονίου

Ομάδος Ι

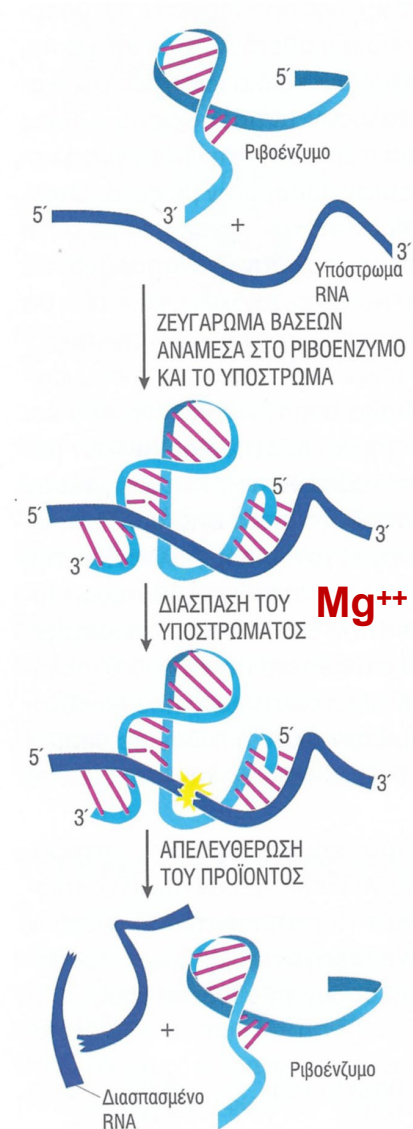
U6 snRNP

Τα ριβοένζυμα είναι μόρια RNA με καταλυτική δράση

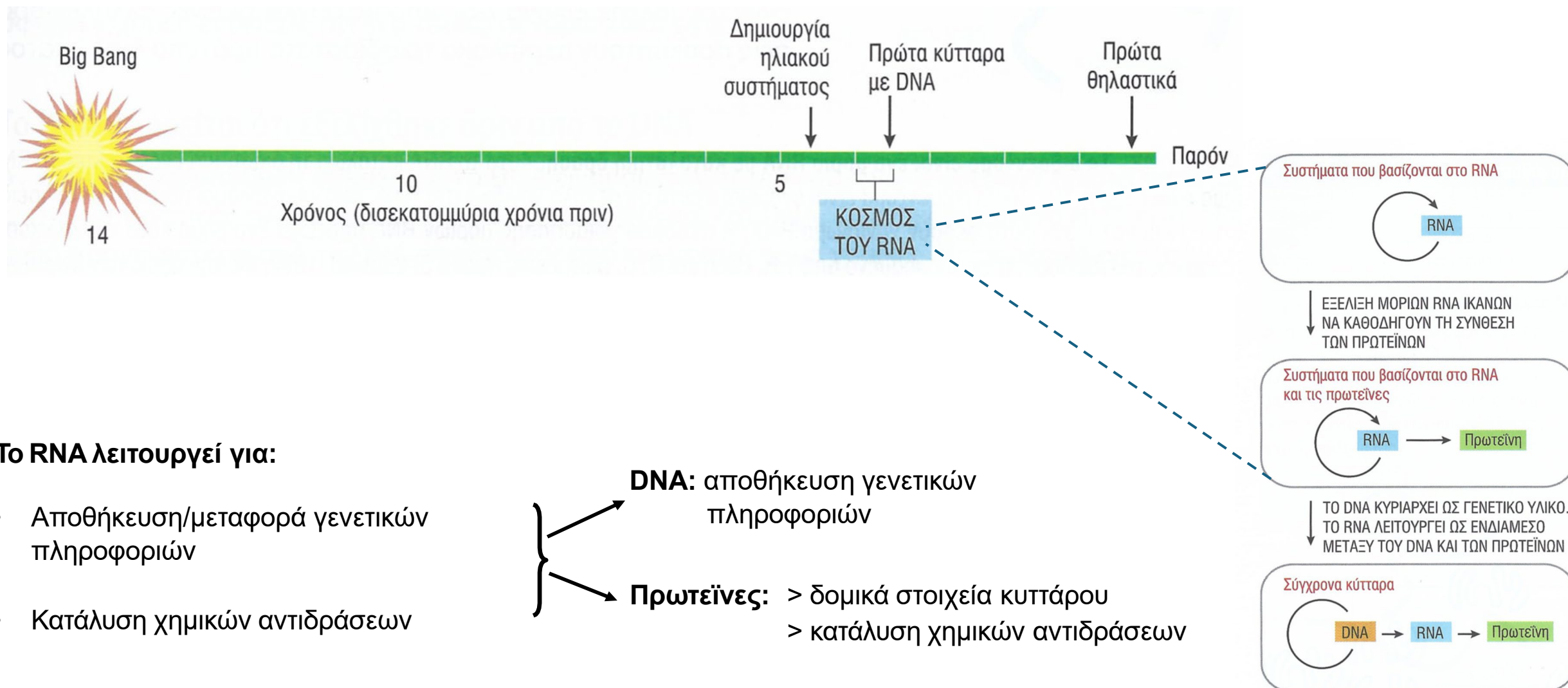


Αντιδράσεις που καταλύονται από ριβοένζυμα

- Κοπή RNA
- Σύνδεση RNA
- Σχηματισμός πεπτιδικών δεσμών
- Κοπή DNA
- Συναρμογή/συρραφή του RNA
- Αμινοακυλίωση του RNA
- Πολυμερισμός RNA
- Φωσφορυλίωση RNA
- Αλκυλίωση RNA, κλπ.



Ο κόσμος του RNA



Σύνοψη IV



- Η συγκέντρωση μιας πρωτεΐνης σε ένα κύτταρο εξαρτάται από το ρυθμό με τον οποίο συντίθεται και αποικοδομείται το αντίστοιχο mRNA και η πρωτεΐνη. Η αποικοδόμηση πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα αλλά και στον πυρήνα πραγματοποιείται μέσα σε μεγάλα πρωτεϊνικά σύμπλοκα που καλούνται πρωτεασώματα.
- Με βάση όσα γνωρίζουμε για τους σύγχρονους οργανισμούς, από τα βιομόρια που περιέχουν, φαίνεται ότι η ζωή στη γη άρχισε με την εξέλιξη μορίων RNA ικανών να καταλήγουν την αντιγραφή τους.
- Έχει προταθεί ότι, στα πρώιμα κύτταρα, το RNA χρησίμευε τόσο ως γονιδίωμα όσο και ως καταλύτης πριν αντικατασταθεί αφενός από το DNA ως ένα πιο σταθερό μόριο για την αποθήκευση γενετικών πληροφοριών, και αφετέρου από τις πρωτεΐνες, οι οποίες σήμερα αποτελούν τα κύρια καταλυτικά και δομικά συστατικά του κυττάρου.
- Οι RNA καταλύτες, τα ριβοένζυμα, στα σύγχρονα κύτταρα θεωρείται ότι μας προσφέρουν μια εικόνα ενός αρχαίου κόσμου, που βασιζόταν στο RNA.

Υλικό για μελέτη



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

- **Alberts et al. Βασικές Αρχές Κυτταρικές Βιολογίας, 5^η έκδοση**
 - **Κεφάλαιο 7.** Από το DNA στις πρωτεΐνες
- Cooper GM. Το κύτταρο-Μια Μοριακή Προσέγγιση, 8^η έκδοση
 - Κεφάλαια 8, 10.