

ΒΙΟΛΟΓΙΑ Ι
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ
«ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΒΙΟΠΛΗΡΟΦΟΡΙΚΗ»



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

ΓΟΝΙΔΙΟ HEXA

Ονοματεπώνυμο: Ιωάννης Μπέκος

A.M: 1110559

Εργαστηριακή Ομάδα: Γ'1

Ημερομηνία διεξαγωγής εργαστηρίου: 29/10/2024

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ:

1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....σελ:3	σελ:3
2. ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ HEXA ΚΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ B-ΕΞΟΣΑΜΙΝΙΔΑΣΗ A.....σελ:3	σελ:3
3. ΣΗΜΕΙΑΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ G269S ΚΑΙ Η ΝΟΣΟΣ ΤΑΥ SACHS.....σελ:6	σελ:6
4. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΣΗ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HEXA.....σελ:7	σελ:7
5. ΧΑΡΤΗΣ ΤΩΝ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΩΝ ΤΟΥ cDNA ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HEXA.....σελ:7	σελ:7
6. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HEXA.....σελ:8	σελ:8
7. ΤΟΠΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ -ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ.....σελ:9	σελ:9
8. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ.....σελ:9	σελ:9
9. ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ - ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ.....σελ:11	σελ:11
10. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΜΕΤΑΞΥ ΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ.....σελ:13	σελ:13
11. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΜΕ ΟΡΘΟΛΟΓΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΣΤΟΝ ΠΟΝΤΙΚΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΡΟΥΡΑΙΟσελ:14	σελ:14
12. ΣΧΟΛΙΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑσελ:14	σελ:14
13.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....σελ:17	σελ:17

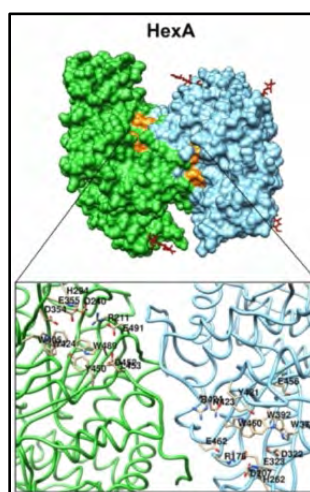
1. ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ:

Ο τομέας της βιοπληροφορικής χρησιμοποιεί ως εργαλείο την τεχνική γνώση που μας παρέχει η πληροφορική με στόχο τη διαχείριση, επεξεργασία και ανάλυση βιολογικών και ιατρικών δεδομένων. Στην εργασία αυτή, με την βοήθεια της βιοπληροφορικής και συγκεκριμένα των προγραμμάτων και στοιχείων που αυτή μας εξασφαλίζει, αφενός ερευνήθηκε ενδελεχώς το ανθρώπινο γονίδιο HEXA, όπου με την έκφραση του παράγεται η πρωτεϊνική άλφα υπομονάδα του λυσοσωμικού ενζύμου β-εξοσαμινιδάση A και αφετέρου εξετάστηκε μία σημειακή μετάλλαξη σε αυτό, η οποία οδηγεί σε αντικατάσταση ενός αμινοξέος της φυσιολογικής πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκαν διαφορές μεταξύ της φυσιολογικής και μεταλλαγμένης πρωτεΐνης και έπειτα οι δύο αυτές αμινοξικές αλληλουχίες του ανθρώπου συγκρίθηκαν με ορθόλογές τους στον ποντικό και στον αρουραίο, καταλήγοντας έτσι στη σημαντικότητα της μετάλλαξης αυτής στην εμφάνιση της νόσου Tay Sachs, συσχετίζοντας παράλληλα την αλλαγή της στερεοδιάταξης της πρωτεΐνης με τη λειτουργία της.

2. ΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ HEXA ΚΑΙ Η ΠΡΩΤΕΙΝΗ Β-ΕΞΟΣΑΜΙΝΙΔΑΣΗ A:

Δομή πρωτεΐνης:

Με την έκφραση του γονιδίου HEXA, παράγεται η άλφα υπομονάδα του ενζύμου β-εξοσαμινιδάση A. Η β-εξοσαμινιδάση A ανήκει στην πρωτεϊνική οικογένεια 20, δηλαδή των γλυκοσιδασών και πρόκειται για ένα λυσοσωμικό ένζυμο. Είναι επίσης διμερικό ένζυμο, αφού συντίθεται από τη συνένωση δύο ξεχωριστών υπομονάδων, της άλφα και μίας βήτα υπομονάδας, η οποία κωδικοποιείται από διαφορετικό γονίδιο. Οι δύο αυτές πρωτεϊνικές υπομονάδες έχουν μεταξύ τους κοινό περίπου το 60% της αλληλουχίας των αμινοξέων τους. Επιπλέον, οι συνδυασμοί τους ανά δύο, δημιουργούν τα δυο ισοένζυμα της β-εξοσαμινιδάσης A, την β-εξοσαμινιδάση B (βήτα-βήτα) και την β-εξοσαμινιδάση S (άλφα-άλφα).¹

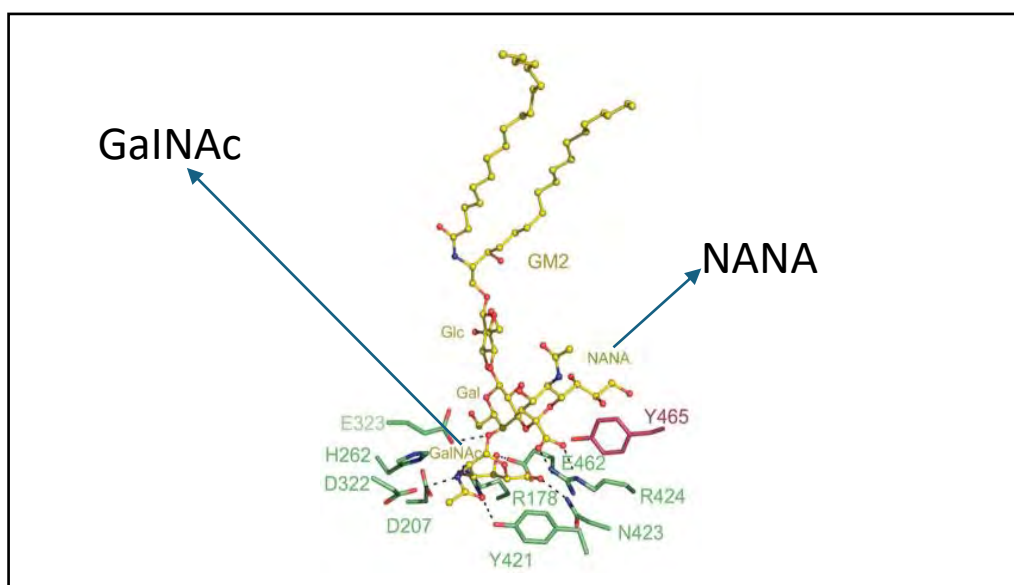


Εικ.1: Η β-εξοσαμινιδάση A (HexA) και οι δύο υπομονάδες της, άλφα και βήτα.²

Λειτουργία:

Όπως και τα υπόλοιπα ένζυμα, έτσι και η β-εξοσαμινιδάση Α, καταλύει συγκεκριμένες χημικές αντιδράσεις των κυττάρων, συντελώντας στη διατήρηση της ζωής. Ειδικότερα, αφού απελευθερωθεί από το ενδοπλασματικό δίκτυο και το σύμπλεγμα Golgi, όπου παράγεται και τροποποιείται αντίστοιχα, η β-εξοσαμινιδάση Α συνδέεται με μια πρωτεΐνη ενεργοποιητή, την GM2. Μόνο αφού γίνει αυτό, η άλφα υπομονάδα της δύναται να διασπά μεταξύ άλλων και γλυκολιπίδια στο νευρικό σύστημα, όπως τα GM2 γαγγλιοσίδια, στην οποία την υδρόλυση κατέχει καθοριστικό ρόλο.³

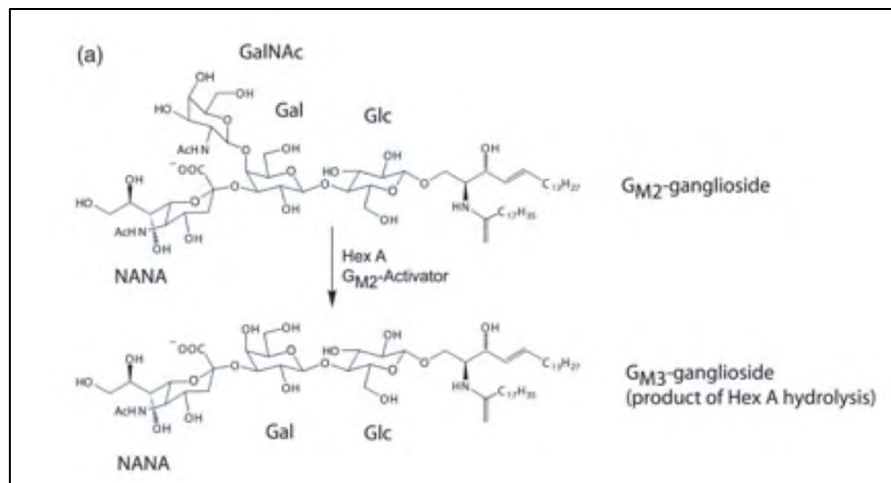
Τα GM2 γαγγλιοσίδια, είναι σύνθετα γλυκολιπίδια που αποτελούνται από μια κεραμίδη συνδεδεμένη με ένα γλυκάνιο. Έπειτα από την παραγωγή και τροποποίηση τους, κατευθύνονται και καταλήγουν σε πλασματικές μεμβράνες νευρικών κυττάρων, απ' όπου συμβάλλουν στην ομαλή λειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος, δεδομένου ότι βρίσκονται εντός κανονικών ορίων συγκέντρωσης. Αυτό, προϋποθέτει τον καταβολισμό τους από τη β-εξοσαμινιδάση Α και κατ' επέκταση την αποφυγή της συσσώρευσης τους.



Εικ.2: Μόριο GM2 γαγγλιοσιδίου ⁴

Κατά την υδρόλυση ενός μορίου GM2 γαγγλιοσιδίου από την β-εξοσαμινιδάση Α, αφού αυτή πρώτα έχει συνδεθεί με την πρωτεΐνη ενεργοποιητή GM2, πραγματοποιείται αποκοπή της GalNAc από αυτό, μετατρέποντας το σε GM3 γαγγλιοσίδιο και η αντίδραση αυτή διευθετείται αποκλειστικά από την άλφα υπομονάδα της β-εξοσαμινιδάσης Α. Αυτή η εξειδίκευση της πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας εξηγείται τόσο από την δομή βρόγχου (αμινοξέα στις θέσεις 280-283) που διαθέτει, η οποία απουσιάζει από την βήτα υπομονάδα λόγω μετα-μεταφραστικής αφαίρεσης της από αυτήν, όσο και από την παρουσία των αμινοξέων αAsn423 και αArg424 στην αμινοξική αλληλουχία της άλφα υπομονάδας, τα οποία η βήτα υπομονάδα ελλείπεται. Τα δομικά χαρακτηριστικά αυτά, εξασφαλίζουν τη σύνδεση του ενεργού κέντρου της άλφα υπομονάδας με την πρωτεΐνη GM2, ενώ παράλληλα το αμινοξύ αAsn423 είναι κρίσιμο για την σταθεροποίηση μέσω δεσμών υδρογόνου του NANA (N-

ακετυλονευραμινικού οξέος) του GM2 γαγγλιοσιδίου στο ενεργό κέντρο της άλφα υπομονάδας, για επιτυχή αντίδραση.



Εικ.3: Διαδικασία αποδόμησης GM2 γαγγλιοσιδίου ⁵

Η δυσλειτουργία της β-εξοσαμινιδάσης A, η οποία οφείλεται σε κάποια μετάλλαξη που επηρεάζει τη δομή και λειτουργία κάποιας υπομονάδας της, οδηγεί σε ένα σύνολο παθήσεων, τις γαγγλιοσιδώσεις GM2 όπως τη νόσο Tay Sachs και την νόσο Sandhoff, οι οποίες οφείλονται σε μεταλλάξεις στα γονίδια που κωδικοποιούν την άλφα και βήτα υπομονάδα αντίστοιχα. Κοινό χαρακτηριστικό των GM2 γαγγλιοσιδώσεων είναι η δυσλειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος.

Επομένως, δυσλειτουργία της πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας λόγω μετάλλαξης στο γονίδιο HEXA, η οποία επηρεάζει και τη φυσιολογική λειτουργία της β-εξοσαμινιδάσης A, οδηγεί στην κυριότερη μορφή GM2 γαγγλιοσιδωσής, την νόσο Tay Sachs ⁶:

Location	Phenotype	Phenotype MIM number	Inheritance	Phenotype mapping key
15q23	[Hex A pseudodeficiency]	272800	AR	3
	GM2-gangliosidosis, several forms	272800	AR	3
	Tay-Sachs disease	272800	AR	3

Πίνακας 1: Σχέσεις γονιδίων – φαινότυπων (gene-phenotype relationships)

Η νόσος Tay Sachs μπορεί να εμφανιστεί σε τρεις διαφορετικές μορφές:

- Οξεία πρώιμη ή βρεφική μορφή
- Υποξεία νεανική μορφή
- **Χρόνια μορφή των ενηλίκων (με καθυστερημένη εμφάνιση)**

HEXA Disorders: Included Phenotypes	
Biochemical phenotype	Clinical phenotypes
Beta-hexosaminidase A deficiency ¹	• Acute infantile Tay-Sachs disease • Subacute juvenile Tay-Sachs disease • Late-onset Tay-Sachs disease

Πίνακας 2: Μορφές νόσου Tay Sachs**3. ΣΗΜΕΙΑΚΗ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗ G269S ΚΑΙ Η ΝΟΣΟΣ TAY SACHS:**

Η G269S πρόκειται για μια από τις πιο συχνές σημειακές μεταλλάξεις στη νουκλεοτιδική αλληλουχία του γονιδίου HEXA και προκύπτει από αντικατάσταση μίας μόνο αζωτούχας βάσης από μία άλλη. Αναλυτικότερα, η αζωτούχα βάση Γουανίνη (G) στη θέση 805 της κωδικής πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας, αντικαθίσταται από την αζωτούχα βάση Αδενίνη (A), με αποτέλεσμα το κωδικόνιο GGC του DNA να μετατρέπεται σε AGC. Η συγκεκριμένη αντικατάσταση, του ενός αυτού κωδικονίου του ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης του DNA, έχει ως επακόλουθο την παραγωγή μίας πρωτεΐνης με αμινοξική αλληλουχία που διαφέρει από τη φυσιολογική της άλφα υπομονάδας της β-εξοσαμινιδάσης A, μόνο ως προς το γεγονός ότι στη θέση 269 της αμινοξικής αλληλουχίας φέρει το αμινοξύ Σερίνη (S) αντί για Γλυκίνη (G), το οποίο κωδικοποιείται σε φυσιολογικές συνθήκες. Αξιοσημείωτο, πως η μετάλλαξη αυτή, γίνεται πλησίον ενός θεμέλιου για το ενεργό κέντρο υπολείμματος (αHis262), γεγονός που φανερώνει τη σοβαρότατη επίπτωση που θα έχει αυτή η μετάλλαξη στην στερεοδιάταξη του ενεργού κέντρου της πρωτεΐνης.

Συμπερασματικά η πρωτεΐνη που κωδικοποιείται έχει διαφορετική στερεοδιάταξη από τη φυσιολογική της άλφα υπομονάδας επιδρώντας στη δυνατότητα διμερισμού του ενζύμου β-εξοσαμινιδάση A αλλά και στην πρόσδεση με την πρωτεΐνη ενεργοποιητή GM2. Χάνεται έτσι η λειτουργικότητα της άλφα υπομονάδας και του ενζύμου β-εξοσαμινιδάση A, με αντίκτυπο την προοδευτική συσσώρευση GM2 γαγγλιοσιδίων στα εγκεφαλικά και νευρικά κύτταρα και με αυτό τον τρόπο η συγκεκριμένη μετάλλαξη οδηγά στη χρόνια μορφή της νόσου Tay Sachs.

Η νόσος Tay Sachs είναι μία αυτοσωματική, νευροεκφυλιστική γενετική διαταραχή της οποίας τα συμπτώματα επιδεινώνονται διαρκώς με την πάροδο του χρόνου, οδηγώντας συχνά και στον θάνατο του πάσχοντος. Οφείλεται σε υπολειπόμενο γονίδιο δηλαδή εμφανίζεται όταν ένας οργανισμός φέρει στο γονιδίωμα του, το μεταλλαγμένο γονίδιο σε ομόζυγη κατάσταση. Παραμένει ανίατη έως και σήμερα.

Η χρόνια μορφή των ενηλίκων απαντάται σε άτομα από την ηλικία των 10 ετών, γίνεται όμως αντιληπτή με μεγάλη καθυστέρηση, κατά την ενηλικίωση. Προκαλεί τα εξής συμπτώματα:

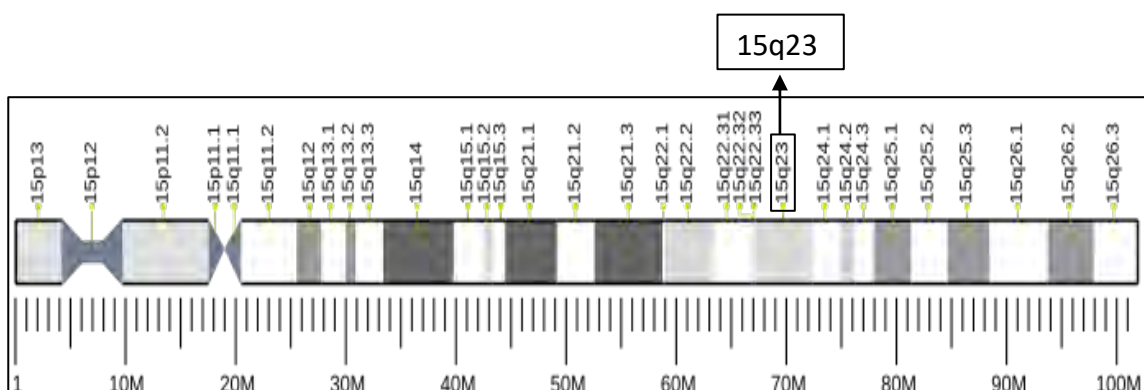
- μυική αδυναμία των κάτω άκρων, μυική ατροφία
- έλλειψη συντονισμού
- τρόμο
- δυσαρθρία
- δυστονία
- ψυχιατρικές εκδηλώσεις όπως οξεία ψύχωση ^{7 8 9}



Εικ.3: Απεικόνιση ατόμου με ατροφία κάτω άκρων, σύμπτωμα της χρόνιας νόσου Tay Sachs
10

4. ΓΟΝΙΔΙΑΚΗ ΘΕΣΗ ΚΑΙ ΔΟΜΗ ΓΟΝΙΔΙΟΥ:

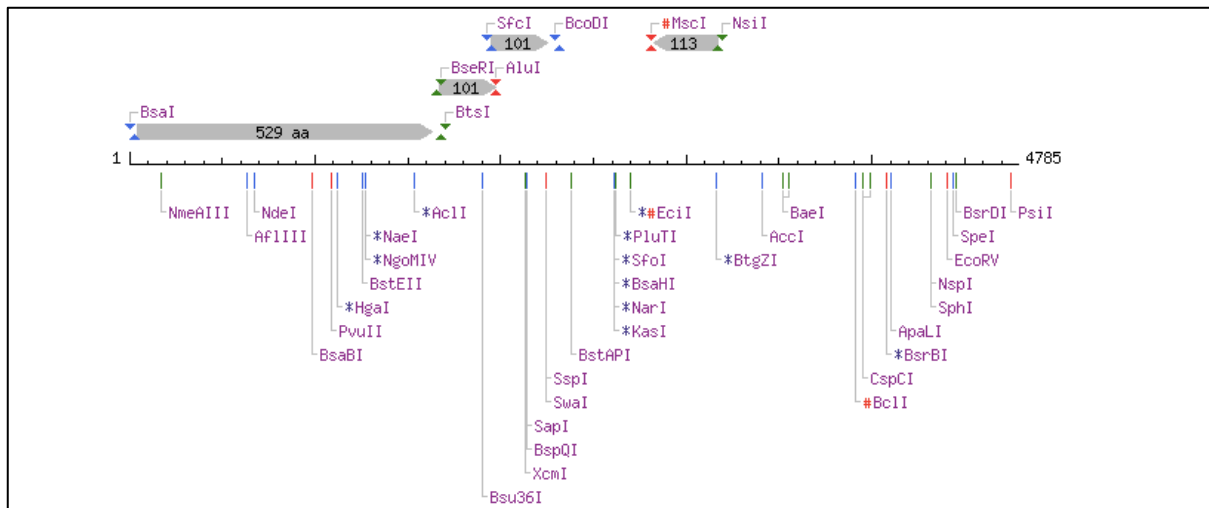
Το γονίδιο HEXA , εντοπίζεται στη χρωμοσωμική περιοχή 15q23, η οποία υπάγεται στον μακρύ βραχίονα του χρωματοσώματος 15 του ανθρώπινου γονιδιώματος. Εμπεριέχει 14 εξωνια και 13 ιντρόνια.¹¹



Εικ.4: 15^ο αυτοσωματικό χρωματόσωμα¹²

5. ΧΑΡΤΗΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΤΙΚΩΝ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΩΝ ΤΟΥ cDNA ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ:

Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες συνιστούν μία κατηγορία ενζύμων βακτηριακής προέλευσης. Παράγονται κυρίως από τα βακτήρια ως αυτοάμυνα εναντίον βακτηριοφάγων ιών. Ονομάζονται ενδονουκλεάσες διότι κόβουν το DNA στο εσωτερικό του μορίου και όχι στα άκρα, και περιοριστικές διότι η δραστηριότητά τους περιορίζεται στο «ξένο» DNA προς τα βακτήρια. Οι ενδονουκλεάσες περιορισμού αναγνωρίζουν και κόβουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA του ιού περιορίζοντας έτσι την αντιγραφή του DNA του ιού και τον πολλαπλασιασμό του. Ταυτόχρονα, το DNA του βακτηρίου προστατεύεται από τη δράση τους, διότι οι ειδικές αλληλουχίες που αναγνωρίζουν οι ενδονουκλεάσες είναι μεθυλιωμένες στο βακτηριακό DNA.^{13 14}



Πίνακας 3: Χάρτης περιοριστικών ενδονουκλεασών ¹⁵

6. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΠΟΥ ΠΡΟΚΥΠΤΕΙ ΑΠΟ ΤΗΝ ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ HEXA:

Αμινοξική αλληλουχία άλφα υπομοναδας της β-εξοσαμινιδάσης A: ¹⁶

10	20	30	40	50	60
MTSSRLWFSL	LLAAAFAGRA	TALWPWPQNF	QTSDQRYVLY	PNNFQFQYDV	SSAAQPGCSV
70	80	90	100	110	120
LDEAFQRYRD	LLFGSGSWPR	PYLTGKRHTL	EKNVLVVSVV	TPGCNQLPTL	ESVENYTLTI
130	140	150	160	170	180
NDDQCLLLSE	TVWGALRGLE	TFSQLVWKS	EGTFFINKTE	IEDFPRFPHR	GLLLDTSRHY
190	200	210	220	230	240
LPLSSILDTL	DVMAYNKLNV	FHWHLVDDPS	FPYESFTFPE	LMRKGSYNPV	THIYTAQDVK
250	260	270	280	290	300
EVIEYARLRG	IRVLAEFDTP	GHTLSWGP	GI	PGLLTPCYS	G
310	320	330	340	350	360
MSTFFLEVSS	VFPDFYLHLG	GDEVDFTCWK	SNPEIQDFMR	KKGFGEDEFKQ	LESFYIQTLL
370	380	390	400	410	420
DIVSSYGKGY	VWQEVFDNK	VKIQPDTHIQ	VWREDIPVNY	MKELELVTKA	GFRALLSAPW
430	440	450	460	470	480
YLNRIISYGP	DKDFYVVEPL	AFEGTPEQKA	LVIGGEACMW	GEYVDNTNLV	PRLWPRAGAV
490	500	510	520		
AERLWSNKL	TSDLTFAYERL	SHFRCELLRR	GVQAQPLNVG	FCEQEFEQT	

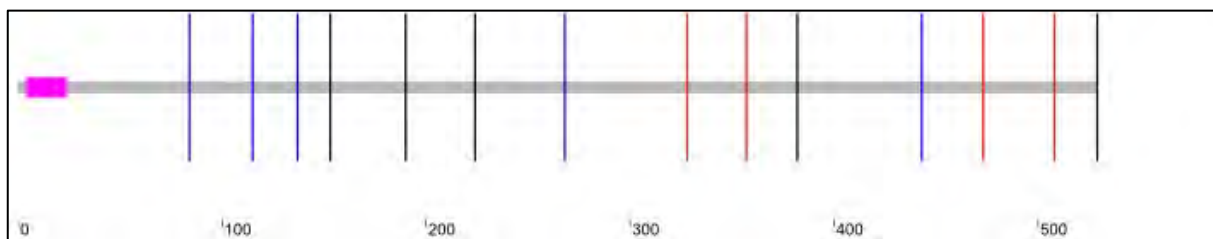
- Η άλφα υπομονάδα της β-εξοσαμινιδάσης A συντίθεται από 529 αμινοξέα
- Μοριακό βάρος: 60688.81Dalton
- Ισοηλεκτρικό σημείο (pI) το οποίο αντιστοιχεί στην τιμή του pI στην οποία το καθαρό ηλεκτρικό φορτίο του αμινοξέος είναι μηδενικό. Στην προκειμένη περίπτωση το pI = 5.04

7. ΤΟΠΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ:

Integral Prediction of protein location: Lysosomal with score 6.9					
Location weights:	LocDB /	PotLocDB /	Neural Nets /	Pentamers /	Integral
Nuclear	0.0 /	0.0 /	0.31 /	0.05 /	0.02
Plasma membrane	2.9 /	0.0 /	0.00 /	0.01 /	2.05
Extracellular	0.0 /	0.0 /	0.61 /	0.00 /	0.17
Cytoplasmic	0.0 /	0.0 /	0.05 /	0.00 /	0.00
Mitochondrial	0.0 /	0.0 /	0.00 /	0.00 /	0.22
Endoplasm. retic.	0.0 /	0.0 /	0.00 /	0.00 /	0.60
Peroxisomal	0.0 /	0.0 /	0.00 /	0.02 /	0.00
Lysosomal	7.1 /	3.0 /	2.03 /	3.13 /	6.94
Golgi	0.0 /	0.0 /	0.00 /	0.00 /	0.00
Vacuolar	0.0 /	0.0 /	0.00 /	0.01 /	0.00

Πίνακας 4: Πρόβλεψη θέσης πρωτεΐνης ¹⁷

Λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα από την υποβολή της αμινοξικής αλληλουχίας της πρωτεΐνης σε εξέταση με στόχο τον προσδιορισμό των περιοχών παρουσίας της, η πρωτεΐνη ενδέχεται να εντοπίζεται εντός των λυσοσωμάτων των κυττάρων.

8. ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΕΣ ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ:**Πίνακας 5:** Λειτουργικές περιοχές φυσιολογικής πρωτεΐνης ¹⁸

Features NOT shown in the diagram: ?				
Name	Start	End	E-value	Reason
BAH	118	231	1340	threshold

Πίνακας 6: Λειτουργική περιοχή που δεν εμφανίζεται στο πιο πάνω διάγραμμα

Έπειτα από διερεύνηση της αμινοξικής αλληλουχίας της πρωτεΐνης με στόχο την εύρεση των λειτουργικών της περιοχών (domains), διεξάγεται το συμπέρασμα πως η πρωτεΐνη διαθέτει μια λειτουργική περιοχή την BAH, η οποία ωστόσο δεν είναι ορατή στο διάγραμμα διότι έχει μικρότερη βαθμολογία σε σχέση με την ελάχιστη αναγκαία βαθμολογία - κατώφλιο τιμή (threshold) .

**Εικ.5:** Λειτουργική περιοχή BAH ¹⁹

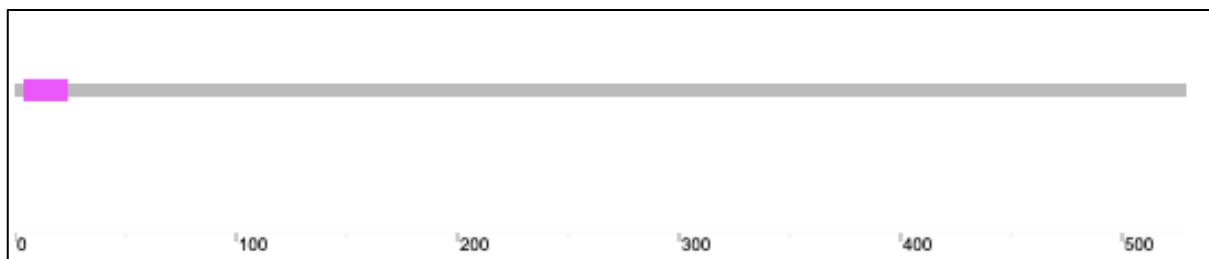
Η περιοχή ΒΑΗ έχει έκταση 114^{ων} αμινοξέων (από το 118 έως και το 231). Έχει e value = 1343.81009382829. Ανιχνεύεται κυρίως σε πρωτεΐνες των οποίων η λειτουργία συσχετίζεται με τη χρωματίνη. Πιθανότατα εμπλέκεται στη μεθυλίωση του DNA και στην ρύθμιση της αντιγραφής και μεταγραφής αυτού.

Επίσης, η περιοχή που απεικονίζεται στο πιο πάνω διάγραμμα με το χρώμα ροζ αποτελεί μία Low complexity region ή περιοχή χαμηλής πολυπλοκότητας και δεν θεωρείται λειτουργική περιοχή. Σύμφωνα με το πρόγραμμα SEG, ο όρος Low complexity region ή περιοχή χαμηλής πολυπλοκότητας, αναφέρεται σε μια περιοχή χαμηλής πολυπλοκότητας σύνθεσης.

Confidently predicted domains, repeats, motifs and features:			
Name	Start ↓	End	E-value
low complexity	4	24	N/A

Πίνακας 7: Περιοχή χαμηλής πολυπλοκότητας

Η συγκεκριμένη άρχεται από την θέση 4 της αμινοξικής αλληλουχίας και σταματά στην θέση 24, δηλαδή έχει εύρος 21 αμινοξέα.



Πίνακας 8: Λειτουργικές περιοχές μεταλλαγμένης πρωτεΐνης ²⁰

Δεν παρατηρείται κάποια αλλαγή στη λειτουργική περιοχή της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης. Η περιοχή χαμηλής πολυπλοκότητας και η λειτουργική περιοχή ΒΑΗ συνιστούν κοινό σημείο των δύο αμινοξικών αλληλουχιών.

9. ΜΕΤΑ-ΜΕΤΑΦΡΑΣΤΙΚΕΣ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ, Ν-ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗ ΚΑΙ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ:

21 22

Φυσιολογική πρωτεΐνη-Άλφα υπομονάδα β-εξοσαμινιδάσης A:

N-Γλυκοζυλίωση:

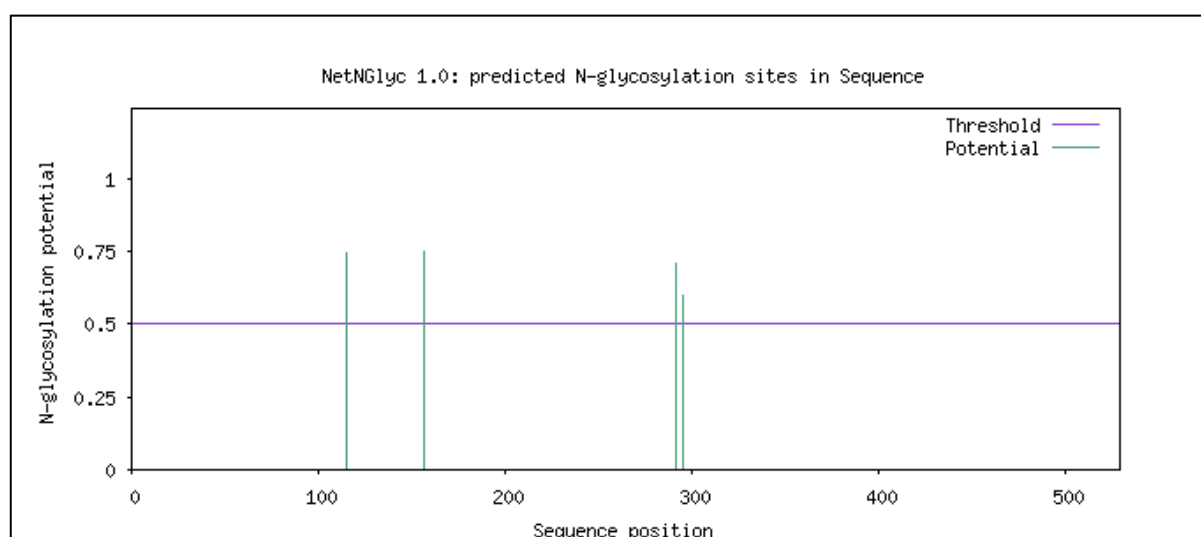
Ο όρος γλυκοζυλίωση αναφέρεται στην περίπτωση ομοιοπολικής πρόσδεσης μικρών πλευρικών αλυσίδων ολιγοσακχαριτών στην ασπαραγίνη μιας πρωτεΐνης και παράλληλη μετατροπή της πρωτεΐνης σε γλυκοπρωτεΐνη. Για να είναι κατάλληλη για γλυκοζυλίωση η ασπαραγίνη μιας πρωτεΐνης πρέπει να συνοδεύεται από μια συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων σχηματίζοντας το τριπεπτίδιο : ασπαραγίνη – αμινοξυ – σερίνη ή θρεονίνη ²³

Για να υπάρχει πιθανότητα να γλυκοζυλιωθούν οι ασπαραγίνες της πρωτεΐνης, πρέπει η αναγραφόμενη πιθανότητα τους (potential) να ξεπερνά την κατώφλιο τιμή που αντιστοιχεί σε 0.5 (threshold).

(Threshold=0.5)					
SeqName	Position	Potential	Jury agreement	N-Glyc result	
Sequence	115 NYTL	0.7431	(9/9)	++	
Sequence	157 NKTE	0.7491	(9/9)	++	
Sequence	291 NPSL	0.7051	(9/9)	++	WARNING: PRO-X1.
Sequence	295 NNTY	0.6008	(7/9)	+	

Πίνακας 9: Ασπαραγίνες που γλυκοζυλιώνονται και οι θέσεις τους

Δεδομένου ότι και οι τέσσερις ασπαραγίνες του πιο πάνω πίνακα (θέσεις 115, 157, 291, 295), οι οποίες βρίσκονται εντός της απαιτούμενης τριπεπτιδικής αλληλουχίας, έχουν πιθανότητα μεγαλύτερη από 0.5, μπορούν όλες τους να γλυκοζυλιωθούν.

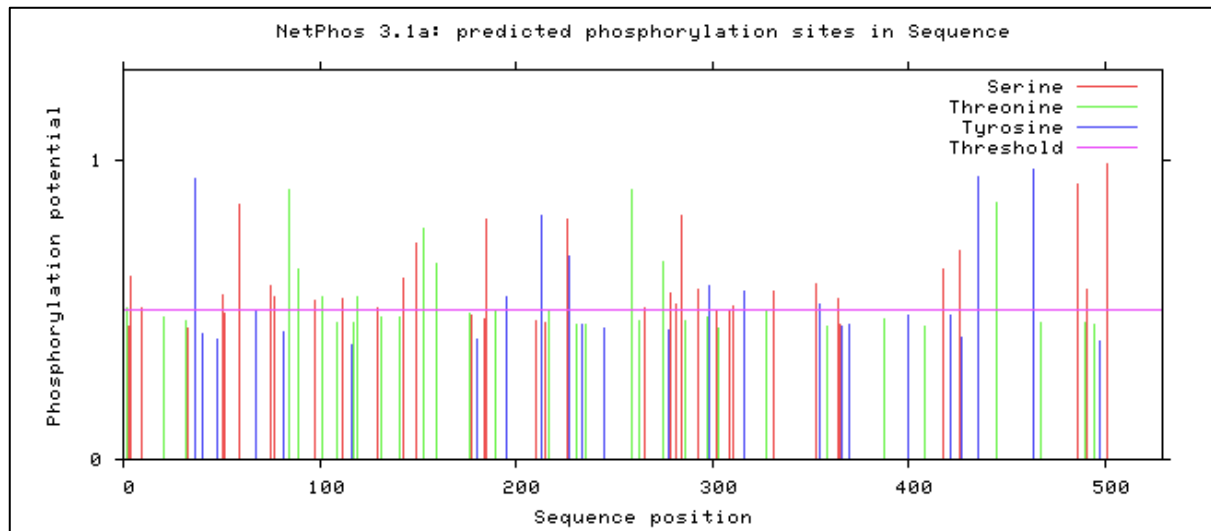


Πίνακας 10: Γλυκοζυλίωση τεσσάρων ασπαραγινών της αμινοξικής αλληλουχίας

Το πιο πάνω διάγραμμα δείχνει την πιθανότητα να γλυκοζυλιωθεί κάθε μία από τις πιο πάνω ασπαραγίνες ξεχωριστά, συναρτήσει της θέσης που καταλαμβάνει η κάθε μία στην αμινοξική αλληλουχία.

Φωσφορυλίωση:

Κατά τη φωσφορυλίωση μιας πρωτεΐνης επιτελείται μεταφορά και προσθήκη μίας φωσφορικής ομάδας, με σχηματισμό ομοιοπολικού δεσμού, στην πλευρική αλυσίδα ενός ή περισσότερων αμινοξέων της πρωτεΐνης, με τη βοήθεια ενός ενζύμου. Το ένζυμο που πραγματοποιεί την αντίδραση ονομάζεται πρωτεϊνική κινάση και το αμινοξύ στο οποίο προσδένεται η φωσφορική ομάδα μπορεί να είναι τυροσίνη, θρεονίνη ή σερίνη.²⁴



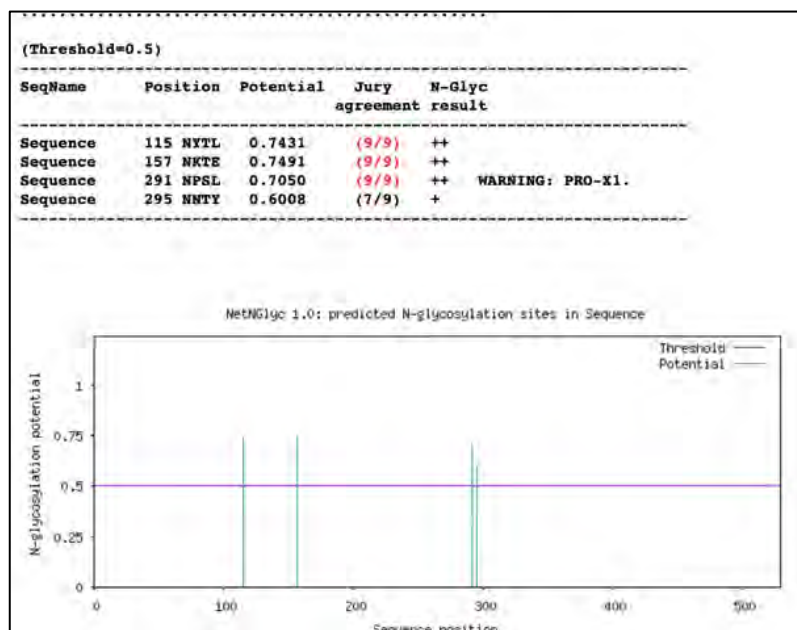
Πίνακας 11: Πιθανότητα αμινοξέων Σερίνη, Θρεονίνη, Τυροσίνη

Στο πιο πάνω γράφημα, εμφανίζεται η πιθανότητα των αμινοξέων Σερίνη, Θρεονίνη και Τυροσίνη της άλφα υπομονάδας της β-εξοσαμινιδάσης A να φωσφορυλιωθούν, αναλόγως της θέσης που εντοπίζονται στην αμινοξική αλληλουχία της.

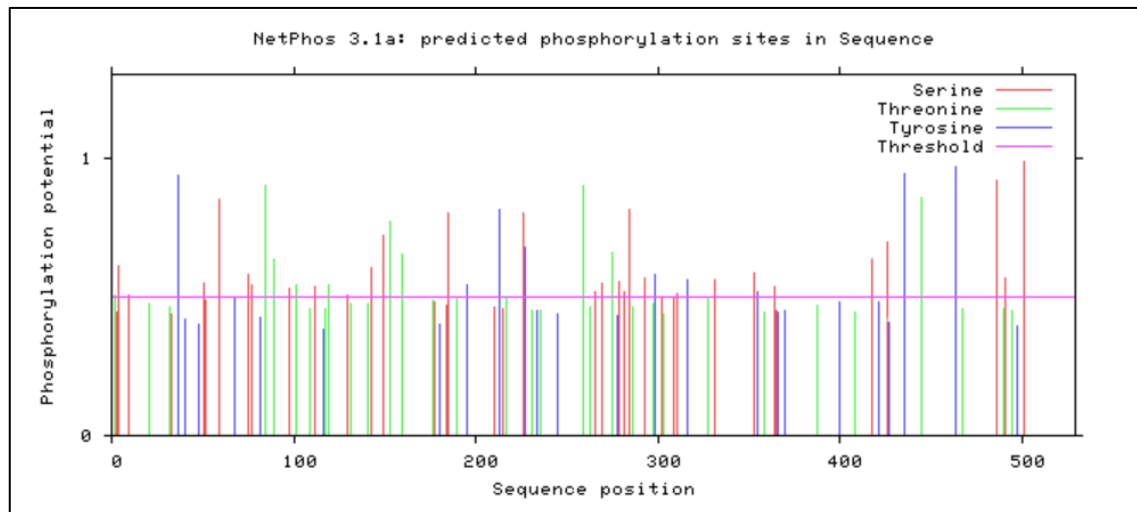
Απαραίτητη προϋπόθεση για να μπορούν να υποβληθούν σε φωσφορυλίωση τα αμινοξέα αυτά, είναι η πιθανότητα τους να ξεπερνά την τιμή 0,5 (κατώφλιο τιμή).

Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη:

N-Γλυκοζυλίωση:



Πίνακας 12: Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη σημειώνει τις ίδιες πιθανότητες γλυκοζυλίωσης με τη φυσιολογική πρωτεΐνη, διότι κατά την μετάλλαξη δεν δημιουργείται κάποια νέα αλληλουχία που να περιλαμβάνει σε σειρά τα τρία απαιτούμενα αμινοξέα για την γλυκοζυλίωση μίας ακόμη ασπαραγίνης.

Φωσφορυλίωση:**Πίνακας 13:** Πιθανότητες φωσφορυλίωσης των αμινοξέων μεταλλαγμένης πρωτεΐνης

Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη έχει μεγαλύτερη πιθανότητα φωσφορυλίωσης από τη φυσιολογική. Με την αντικατάσταση του αμινοξέος Γλυκίνη από τη Σερίνη, παρουσιάζεται στο διάγραμμα η δυνατότητα φωσφορυλίωσης σε μια επιπλέον θέση της αμινοξικής αλληλουχίας, εκεί όπου έγινε η μετάλλαξη. Άλλωστε αυτό είναι αναμενόμενο, διότι σε αντίθεση με την Γλυκίνη, η Σερίνη είναι ομάδα η οποία μπορεί να φωσφορυλιωθεί.

10. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΛΛΑΓΜΕΝΗΣ ΔΕΥΤΕΡΟΤΑΓΟΥΣ ΔΟΜΗΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ:²⁵**Φυσιολογική:**

	260	270	280	290	300
PredSS	bbbbbbb	bbbb			bbb
AA seq	IRVLAEFDT	PGHTLSWGP	GIPGLLTPCYS	GSEPSGTF	GPVNPSLNNTYEF
ProbA					

Εικ.6: Κομμάτι της δευτεροταγούς δομής της φυσιολογικής πρωτεΐνης**Μεταλλαγμένη:**

	260	270	280	290	300
PredSS	bbbbbbb	bbbb			bbb
AA seq	IRVLAEFDT	PGHTLSWGP	SIPGLLTPCYS	GSEPSGTF	GPVNPSLNNTYEF
ProbA					
ProbB					

Εικ.7: Κομμάτι της δευτεροταγούς δομής της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης

Συνεξετάζοντας τις δευτεροταγείς δομές της φυσιολογικής και μεταλλαγμένης πρωτεΐνης, διαπιστώνεται πως η μετάλλαξη που οδήγησε σε αντικατάσταση του αμινοξέος Γλυκίνη (G) από το αμινοξύ Σερίνη (S), δεν προκάλεσε αλλαγή στην δευτεροταγή δομή της πρωτεΐνης. Η δευτεροταγής δομή και των δύο πρωτεϊνών δομείται και από α-έλικες (a) και από β-πτυχωτά φύλλα (b).

11. ΣΥΓΚΡΙΣΗ ΑΜΙΝΟΞΙΚΗΣ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΙΝΟΥ ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΟΣ ΜΕ ΟΡΘΟΛΟΓΕΣ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΣΤΟΝ ΠΟΝΤΙΚΟ ΚΑΙ ΣΤΟΝ ΑΡΟΥΡΑΙΟ: ²⁶

NORMAL	EVIEYARLRGIRVLAEFDPGHTLSWGPGIPGLLTPCYSGSEPSGTFGPVNPSLNNTYEF	300
MUTANT	EVIEYARLRGIRVLAEFDPGHTLSWGSPIPGLLTPCYSGSEPSGTFGPVNPSLNNTYEF	300
MUS	EVIEYARLRGIRVLAEFDPGHTLSWGPGAPGLLTPCYSGSHLSGTFGPVNPSLNSTYDF	300
RATTUS	EVIEYARLRGIRVLAEFDPGHTLSWGAGVPGLLTPCYSGRSLSGTYGPVNPSLNSTYDF	300
*****.*****.***:*****.*:*		

Εικ.8: Συνεξέταση της ανθρώπινης πρωτεΐνης με ορθολογές της σε άλλους οργανισμούς

Αντιπαραβάλλοντας τις αμινοξικές αλληλουχίες των ορθολογών πρωτεϊνών από τρεις διαφορετικούς οργανισμούς ως προς το αμινοξύ γλυκίνη το οποίο βρίσκεται στη θέση 269 της αμινοξικής αλληλουχίας, εξαγάγουμε το συμπέρασμα πως το αμινοξύ αυτό είναι συντηρημένο, διότι με εξαίρεση τη μεταλλαγμένη αμινοξική αλληλουχία, όπου αυτό αντικαθίσταται από την σερίνη, διατηρείται όμοιο, στην ίδια ακρίβως θέση των ορθολογών πρωτεϊνών και των τριών διαφορετικών οργανισμών.

Παρόλο που αυτοί ανήκουν σε διαφορετικές ταξινομικές βαθμίδες, λόγω της διαφορετικής εξελικτικής τους πορείας, το αμινοξύ αυτό παραμένει αμετάβλητο και στους τρεις οργανισμούς επιβεβαιώνοντας τον καταλυτικό του ρόλο στην στερεοδιάταξη και λειτουργία της πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας της β-εξοσαμινιδάσης Α του ανθρώπου αλλά και των άλλων δύο οργανισμών

Συμπερασματικά σε περίπτωση μετάλλαξης στο DNA και αντικατάστασης αυτού του συντηρημένου αμινοξέος, η πρωτεΐνη χάνει τη λειτουργικότητα της με αποτέλεσμα το άτομο να παρουσιάζει παθολογικό φαινότυπο

12. ΣΧΟΛΙΑ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ:

Η πρωτεΐνη που παράγεται με την έκφραση του γονιδίου HEXA είναι η άλφα υπομονάδα του ενζύμου β-εξοσαμινιδάση Α. Η μετάλλαξη G269S στο γονίδιο HEXA επιφέρει την αντικατάσταση της αζωτούχας βάσης Γουανίνης από την Αδενίνη στην νουκλεοτιδική αλληλουχία. Έτσι, όταν το μεταλλαγμένο γονίδιο βρίσκεται σε ομόζυγη κατάσταση στο γονιδίωμα του ανθρώπου, παράγεται μία πρωτεϊνική υπομονάδα στην οποία το αμινοξύ Γλυκίνη (G), το οποίο βρίσκεται στην θέση 269 της αμινοξικής αλληλουχίας της φυσιολογικής πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας αντικαθίσταται από το αμινοξύ Σερίνη (S), γεγονός που αλλάζει την πρωτοταγή και τριτοταγή δομή της πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας. Αυτή χάνει τη λειτουργικότητα της, γεγονός που προξενεί παθολογικό φαινότυπο.

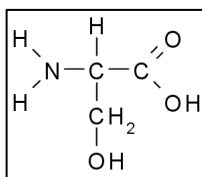
Η μετάλλαξη αυτή δεν επηρεάζει τη δευτεροταγή δομή της πρωτεϊνικής άλφα υπομονάδας η οποία και στις δύο περιπτώσεις, μεταλλαγμένη και φυσιολογική, αποτελείται από α έλικες και β πτυχωτά φύλλα.

Το αμινοξύ Γλυκίνη είναι συντηρημένο στην πρωτεϊνική άλφα υπομονάδα της β-εξοσαμινιδάσης Α. Με τη συντήρηση του σε ορθολογές πρωτεΐνες απομακρυσμένων

εξελικτικά οργανισμών, γίνεται φανερό η αναγκαιότητα των ιδιοτήτων του στη δομή και λειτουργικότητα της πρωτεΐνης. Αυτό επιδεικνύει τη σοβαρότατη επίπτωση που θα υπάρξει στη στερεοδιάταξη και συνεπώς λειτουργικότητα της πρωτεΐνης σε περίπτωση αντικατάστασης του.

Η μεταλλαγμένη πρωτεΐνη σημειώνει αύξηση της πιθανότητας φωσφορυλίωσής της λόγω της αντικατάστασης της Γλυκίνης η οποία δεν μπορεί να φωσφορυλιωθεί, με την Σερίνη, ένα από τα αμινοξέα που η πλευρική τους αλυσίδα δύναται να υποδεχτεί και να συνδεθεί ομοιοπολικά με τη φωσφορική ομάδα. Αυτό γίνεται ορατό κατά τη σύγκριση των διαγραμμάτων πιθανότητας φωσφορυλίωσης της φυσιολογικής και της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης αφού στην θέση 269 της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης όπου υπάρχει Σερίνη αντί για Γλυκίνη, προστίθεται και μια κάθετη γραμμή που αντιπροσωπεύει πιθανότητα φωσφορυλίωσης μεγαλύτερη του 0,5 (threshold).

Σχετικά με την πιθανότητα γλυκοζυλίωσης, δεν εμφανίζεται κάποια διαφορά μεταξύ φυσιολογικής και μεταλλαγμένης πρωτεΐνης. Η προσθήκη της Σερίνης δεν επηρεάζει το αμινοξικό περιβάλλον κάποιας ασπαραγίνης, με τρόπο που να σχηματίζεται η απαραίτητη τριάδα αμινοξέων που προϋποτίθεται για την ομοιοπολική αυτή προσθήκη. Συνεπώς, η μόνη μετά-μεταφραστική τροποποίηση η οποία έχει αυξημένη πιθανότητα να συμβεί στην μεταλλαγμένη πρωτεΐνη, σε σχέση με την φυσιολογική είναι η φωσφορυλίωση.



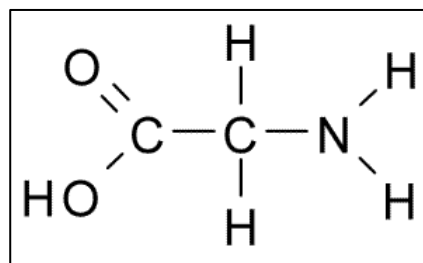
Εικ.9: Αμινοξύ Σερίνη (S) ²⁷

Δεν παρατηρείται αλλαγή σχετικά με τις ρυθμιστικές περιοχές της άλφα υπομονάδας της β-εξοσαμινιδάσης A, έπειτα από τη μετάλλαξη που υφίσταται. Σύμφωνα με το πρόγραμμα SMART που χρησιμοποιήθηκε, παραμένει ως μοναδική λειτουργική περιοχή η BAH, η οποία δεν ανιχνεύεται λόγω χαμηλής βαθμολογίας. Αυτό ίσως συμβαίνει διότι η μετάλλαξη δεν εντοπίζεται εντός των ορίων ρυθμιστικής περιοχής βάσει του ίδιου προγράμματος. Στην βιβλιογραφία γίνεται αναφορά σε δύο ακόμη ρυθμιστικές περιοχές (domains) της άλφα υπομονάδας. Η μία εκτείνεται από το αμινοξύ με θέση 23 μέχρι το 168 και η άλλη από το αμινοξύ με θέση 165 μέχρι το 529. Δεν αναγνωρίστηκε από το συγκεκριμένο πρόγραμμα πιθανόν λόγω χρήσης διαφορετικών τεχνικών προσδιορισμού των λειτουργικών περιοχών. Η εύρεση μικρού αριθμού ρυθμιστικών περιοχών στην άλφα υπομονάδα της β-εξοσαμινιδάσης A λειτουργεί επαληθευτικά και δικαιολογεί την ανάγκη διμερισμού της β-εξοσαμινιδάσης A και ένωσης της με πρωτεΐνη ενεργοποιητή έτσι ώστε να λειτουργήσει αποδοτικά.

Η Γλυκίνη (G) είναι ένα υδρόφοβο, μη πολικό αμινοξύ, δηλαδή συμμετέχει σε ένα σύνολο υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων με άλλα υδρόφοβα μόρια συμβάλλοντας στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών. Αντιθέτως, η Σερίνη (S) είναι υδρόφιλο, πολικό αμινοξύ. Αν και μπορεί να βρίσκεται τόσο στο εσωτερικό όσο και στην επιφάνεια της πρωτεΐνης διαθέτει την πολύ δραστική ομάδα υδροξυλίου στην πλευρική της αλυσίδα, η οποία έχει την τάση να σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με άλλα πολικά μόρια, όπως το νερό, που βρίσκεται στην εξωτερική

επιφάνεια της πρωτεΐνης. Άρα, αν η Σερίνη λάβει την θέση της Γλυκίνης, η δημιουργία τέτοιων δεσμών στη συγκεκριμένη θέση αντί των υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων θα προκαλέσει αλλαγή στην στερεοδιάταξη της πρωτεΐνης στον χώρο και παράλληλα αύξηση του πολικού χαρακτήρα της πρωτεΐνης με συνέπεια στην λειτουργικότητά της.

Επιπλέον, η πλευρική αλυσίδα της Γλυκίνης, αποτελείται μόνο από ένα υδρογόνο και αυτό το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της προσδίδει ξεχωριστή ευκαμψία και ελευθερία κίνησης και περιστροφής, ώστε να παίζει καίριο ρόλο στον σχηματισμό σημαντικών δομών για την στερεοδιαμόρφωση της πρωτεΐνης, όπως στροφές και βρόγχους, στις οποίες είναι αδύνατο να συμμετέχουν άλλα αμινοξέα. Το γεγονός αυτό, τονίζει την ολέθρια επίπτωση της αντικατάστασής της στην αμινοξική αλληλουχία της άλφα υπομονάδας της β-εξοσαμινιδάσης A, από την στερεομεγαλύτερη αλυσίδα της Σερίνης η οποία περιορίζει αυτή τη διαμορφωτική ευχέρεια στη θέση της αντικατάστασης εμποδίζοντας έτσι την ορθή αναδίπλωση της άλφα υπομονάδας.



Εικ.10: Αμινοξύ Γλυκίνη (G) ²⁸

Ακόμη, η γλυκίνη βρίσκεται κοντά σε ένα κρίσιμο αμινοξύ για τη διαμόρφωση του ενεργού κέντρου της άλφα υπομονάδας, την αHis262 αφού αυτή δρα ως δότης ηλεκτρονίων σε άλλα αμινοξέα του ενεργού κέντρου. Η αντικατάσταση και συνεπώς η διαταραχή του σκελετού κοντά στην περιοχή εκείνη, μπορεί να διαταράξει τον συντονισμό των αμινοξέων αυτών με αποτέλεσμα την κακή αναδίπλωση της άλφα υπομονάδας και την καταστροφή του ενεργού της κέντρου.

Σε φυσιολογικές συνθήκες οι ορθά αναδιπλωμένες β-εξοσαμινιδάσες A, έπειτα από τον διμερισμό τους στο ενδοπλασματικό δίκτυο μετακινούνται στο σύμπλεγμα Golgi για τροποποίηση και έπειτα κατευθύνονται στο λυσόσωμα όπου δρουν. Η συσχέτιση λοιπόν της άλφα με την βήτα υπομονάδα, η οποία συμβαίνει στο ενδοπλασματικό δίκτυο εξαρτάται από μια εξιδεικευμένη αναδιπλωμένη διεπαφή μεταξύ των δύο υπομονάδων. Η μετάλλαξη στην άλφα υπομονάδα όπως φάνηκε από τα πιο πάνω συμπεράσματα οδηγεί στην κακή αναδίπλωση της άλφα υπομονάδας και του ενεργού της κέντρου επηρεάζοντας τη συνολική διαμόρφωση του ενζύμου β-εξοσαμινιδάση A, γεγονός που είτε θα του αποτρέψει την έξοδο του από το ενδοπλασματικό δίκτυο είτε θα δράσει παρεμποδιστικά στην πρόσδεση του ενεργού κέντρου της άλφα υπομονάδας με την GM2 πρωτεΐνη ενεργοποιητή. Αυτά έχουν ως αποτέλεσμα μειωμένη διάσπαση των GM2 γαγγλιοσιδίων και τελικά συσσώρευση τους στα νευρικά κύτταρα με αντίκτυπο την δημιουργία της νόσου Tay Sachs. ^{29 30 31 32 33}

Ολοκληρώνοντας, επεξηγήθηκε πώς η μετάλλαξη G269S στο ανθρώπινο γονίδιο HEXA διαφοροποιεί τη δομή της πρωτεΐνης η οποία παράγεται σε φυσιολογικές συνθήκες και πώς

η αλλαγή της δομής μπορεί να επιφέρει την απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης, συμβάλλοντας έτσι σε παθολογικό φαινότυπο.

13. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:

¹ Pennybacker M, Liessem B, Moczall H, Tifft CJ, Sandhoff K, Proia RL. Identification of domains in human beta-hexosaminidase that determine substrate specificity. *J Biol Chem.* 1996 Jul 19;271(29):17377-82. doi: 10.1074/jbc.271.29.17377. PMID: 8663217.

[https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(18\)31344-9/fulltext](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(18)31344-9/fulltext)

² Leal, A.F.; Benincore-Flórez, E.; Solano-Galarza, D.; Garzón Jaramillo, R.G.; Echeverri-Peña, O.Y.; Suarez, D.A.; Alméciga-Díaz, C.J.; Espejo-Mojica, A.J. GM2 Gangliosidosis: Clinical Features, Pathophysiological Aspects, and Current Therapies. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 6213.

<https://doi.org/10.3390/ijms21176213>

<https://www.mdpi.com/1422-0067/21/17/6213>

³ Alberts, Hopkin, Johnson, Morgan, Raff, Roberts, Walter, 'ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ", 5η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Broken Hill, σελ:182.

⁴ <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2910082/figure/F4/>

⁵ <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2910082/figure/F3/>

⁶ Leal AF, Benincore-Flórez E, Solano-Galarza D, Garzón Jaramillo RG, Echeverri-Peña OY, Suarez DA, Alméciga-Díaz CJ, Espejo-Mojica AJ. GM2 Gangliosidosis: Clinical Features, Pathophysiological Aspects, and Current Therapies. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 27;21(17):6213. doi: 10.3390/ijms21176213. PMID: 32867370; PMCID: PMC7503724.

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7503724/>

⁷ Toro C, Shirvan L, Tifft C. HEXA Disorders. 1999 Mar 11 [Updated 2020 Oct 1]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1218/>

⁸ * 272800 TAY-SACHS DISEASE; TSD-OMIM

<https://omim.org/entry/272800?search=272800&highlight=272800#title>

⁹ <https://athenslab.gr/diagnostikes-exetaseis/nosos-tay-sachs-genetikos-elegxos-1969>

¹⁰ <https://www.physio.co.uk/what-we-treat/neurological/conditions/late-onset-tay-sachs-disease.php>

¹¹ * 606869 HEXOSAMINIDASE A; HEXA-OMIM

<https://omim.org/entry/606869>

¹² https://en.wikipedia.org/wiki/Chromosome_15

¹³ *Restriction enzymes and their use in molecular biology: An overview.* Felice F, Micheli G., Camilloni G. June 2019, *J Biosci*, Vol. 44(2):38.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31180051/>

- ¹⁴ Λεκανίδου Ρ., Τσιττήλου Σ., Ροδάκης Γ. *Εισαγωγή στη Μοριακή Βιολογία*. σ.λ. : Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- ¹⁵ NEBcutter2
<https://nc2.neb.com/NEBcutter2/cutshow.php?name=680c667e->
- ¹⁶ ExPASy Proteomics tools
<https://web.expasy.org/cgi-bin/protparam/protparam>
- ¹⁷ Softberry Programs
<http://www.softberry.com/cgi-bin/programs/proloc/protcompan.pl>
- ¹⁸ ExPASy SMART
http://smart.embl-heidelberg.de/smart/job_status.pl?jobid=627456166347191732174265ERTahwPIWK
- ¹⁹ http://smart.embl-heidelberg.de/smart/do_annotation.pl?DOMAIN=BAH&START=118&END=231&E_VALUE=1343.81009382829&TYPE=SMART&BLAST=LTINDDQCLLSETVWGALRGLETFSQLVWKSAGTFFINKTEIEDFPRFPHRGLLLDTSRHYLPLSSILD TLDVMAYNKLNVFHWHLVDDPSFPYESFTFPELMRKGSYNPVT
- ²⁰ ExPASy SMART
http://smart.embl-heidelberg.de/smart/job_status.pl?jobid=6274561669081732175556MAXiUlgcfJ
- ²¹ Expasy NetNGlyk
<https://services.healthtech.dtu.dk/cgi-bin/webface2.cgi?jobid=673F0769000D8A7209AEC893&wait=20>
- ²² Expasy Netphos
<https://services.healthtech.dtu.dk/cgi-bin/webface2.cgi?jobid=673B7AC700024078767BF09D&wait=20>
- ²³ Alberts, Hopkin, Johnson, Morgan, Raff, Roberts, Walter, 'ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ", 5η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Broken Hill, σελ:607-608.
- ²⁴ Alberts, Hopkin, Johnson, Morgan, Raff, Roberts, Walter, 'ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ", 5η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Broken Hill, σελ:195-196.
- ²⁵ Softberry programs
<http://www.softberry.com/cgi-bin/programs/propt/pps.pl>
- ²⁶ Clustal Omega
<https://www.ebi.ac.uk/jdispatcher/msa/clustalo/summary?jobId=clustalo-l20241119-210745-0315-96073160-p1m&js=pass>
- ²⁷ <https://el.wiktionary.org/wiki/σερίνη#/media/Αρχείο:Serine.png>
- ²⁸ <https://el.wiktionary.org/wiki/γλυκίνη#/media/Αρχείο:Glycine2.png>
- ²⁹ Lemieux MJ, Mark BL, Cherney MM, Withers SG, Mahuran DJ, James MN. Crystallographic structure of human beta-hexosaminidase A: interpretation of Tay-Sachs mutations and loss of GM2 ganglioside hydrolysis. J Mol Biol. 2006 Jun 16;359(4):913-29. doi: 10.1016/j.jmb.2006.04.004. Epub 2006 Apr 27. PMID: 16698036; PMCID: PMC2910082.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2910082/>
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2910082/figure/F4/>
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC2910082/figure/F3/>
- ³⁰ https://biokamikazi.wordpress.com/wp-content/uploads/2013/06/aminoacid_and_substitutions.pdf

³¹ M.J. Betts, R.B. Russell. Amino acid properties and consequences of substitutions. In Bioinformatics for Geneticists, M.R. Barnes, I.C. Gray eds, Wiley, 2003.
<http://www.russelllab.org/aas/>

³² Alberts, Hopkin, Johnson, Morgan, Raff, Roberts, Walter, 'ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΡΧΕΣ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ", 5η ΕΚΔΟΣΗ, Εκδόσεις Broken Hill, σελ:162.

³³ Dersh D, Iwamoto Y, Argon Y. Tay-Sachs disease mutations in HEXA target the α chain of hexosaminidase A to endoplasmic reticulum-associated degradation. Mol Biol Cell. 2016 Dec 1;27(24):3813-3827. doi: 10.1091/mbc.E16-01-0012. Epub 2016 Sep 28. PMID: 27682588; PMCID: PMC5170605.
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5170605/>