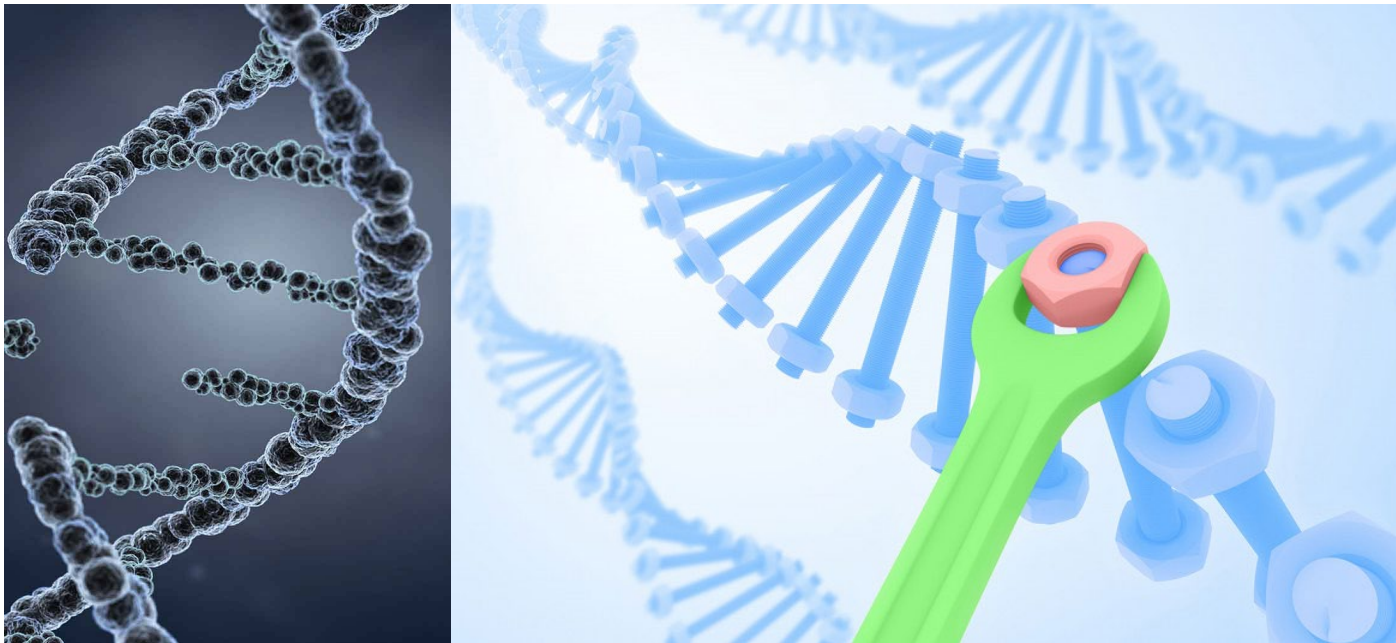


Αντιγραφή και επιδιόρθωση του γενετικού υλικού-ΔΜΟ

Διδασκαλία μικρών ομάδων Δεκέμβρης 2025



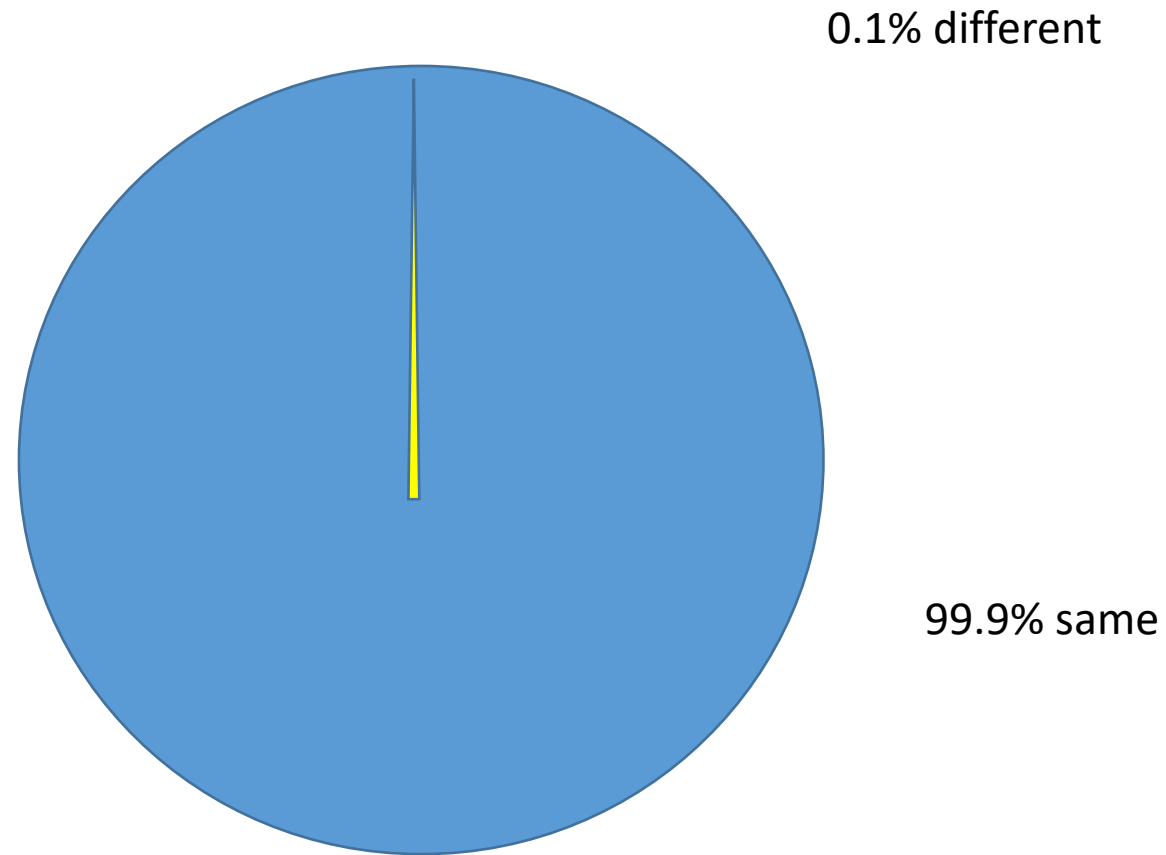
Βασίλης Ρούκος
Εργαστήριο Γενικής Βιολογίας
Τμήμα Ιατρικής
Πανεπιστήμιο Πατρών

Βασικές έννοιες - στόχοι

- Διατήρηση γονιδιωματικής σταθερότητας-αποφυγή γενετικής αστάθειας
- Πως δημιουργούνται μεταλλάξεις (ή αποφεύγεται) η δημιουργία μεταλλάξεων;
- Ποια είναι η επίπτωση των μεταλλάξεων για το κύτταρο και το είδος?

Τι καλούμε μετάλλαξη;

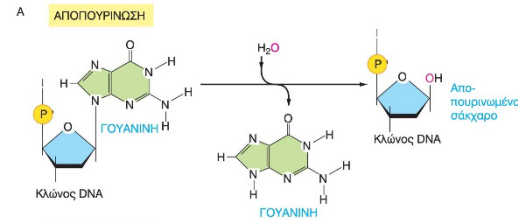
Πόσο διαφέρει το γονιδίωμα μεταξύ των ανθρώπων;



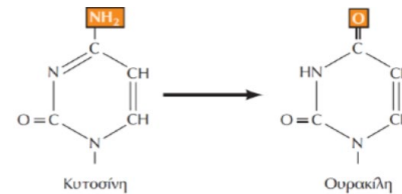
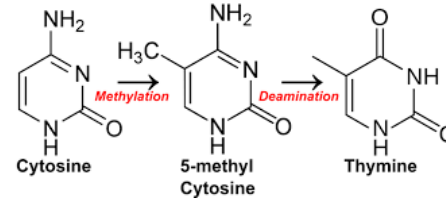
Βλάβες/αλλαγές στο DNA

>200,000 αλλοιώσεις ανά κύτταρο ανά ημέρα

Απώλειες βάσεων (αποπουρίνωση)



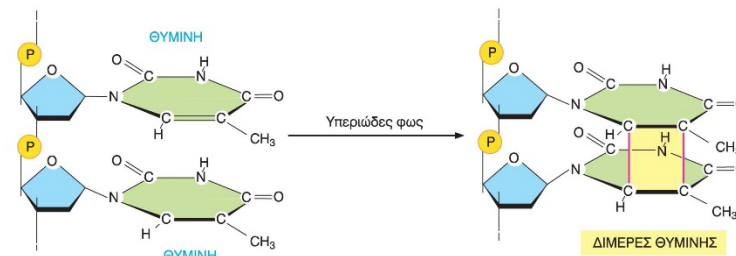
Τροποποιήσεις βάσεων (μεθυλίωση, Απαμίνωση)



Guanine to xanthine (xanthine pairs with cytosine)

Adenine to hypoxanthine (hypoxanthine pairs with cytosine)

Διμερή πυριμιδινών



Αταίριαστες βάσεις (πχ από λάθη στην αντιγραφή)

Μονές ή διπλές θραύσεις

Παράγοντες (πηγές) αλλαγών/βλαβών στο DNA των κυττάρων

Εξωγενείς πηγές (ακτινοβολίες, χημειοθεραπευτικά, χημικά-μεταλλαξιγόνα)

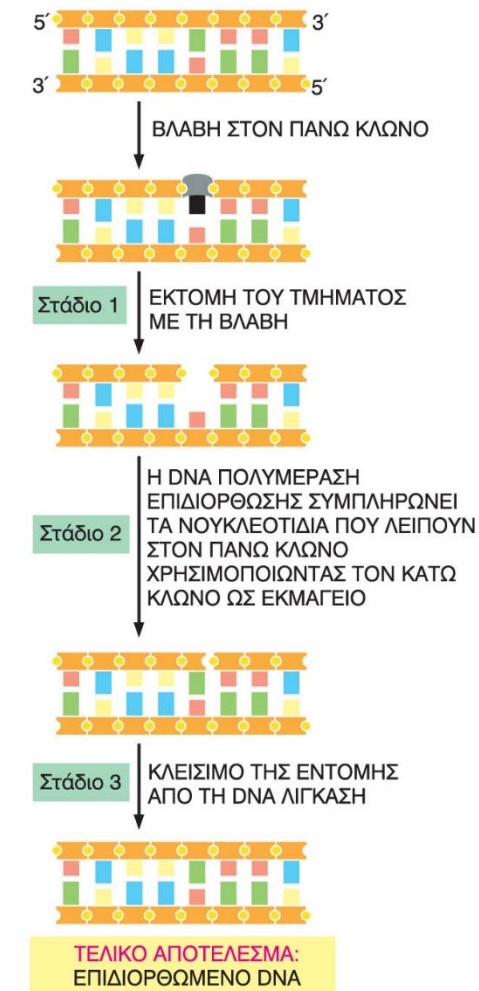
Ενδογενείς πηγές (δράση ελευθέρων ριζών/προϊόντα μεταβολισμού), λάθη κατά την αντιγραφή, Αντιγραφικό και μεταγραφικό στρες, αυτόματες/αυθόρμητες μεταβολές ή τροποποιήσεις βάσεων

Φυσιολογικές κυτταρικές διαδικασίες (μείωση, διαδικασίες που προκαλούν ποικιλότητα στην παραγωγή αντισωμάτων στα αναπτυσσόμενα λεμφοκύτταρα)

Μηχανισμοί επιδιόρθωσης εκτομής

Στάδια της βασικής οδού επιδιόρθωσης βλαβών στο DNA

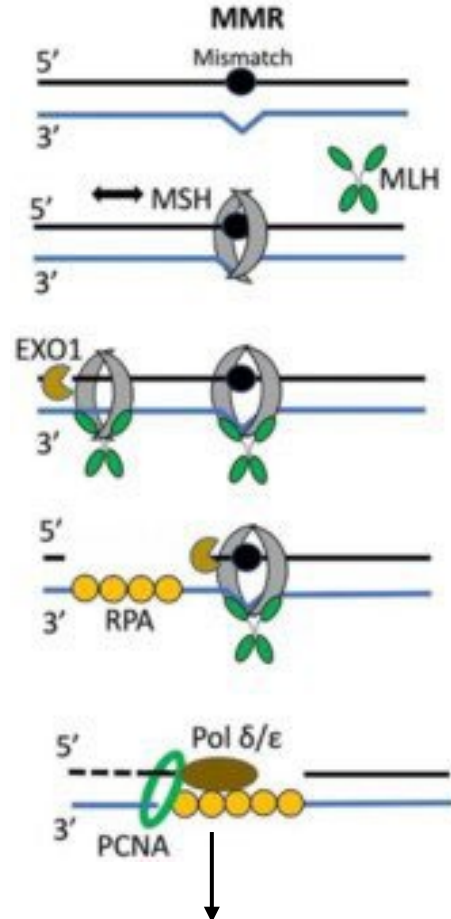
- Αναγνώριση των αταίριαστων βάσεων
- Διάσπαση του δεσμού για την αφαίρεση του νουκλεοτιδίου από νουκλεάσες
- Το κενό συμπληρώνεται από την DNA πολυμεράση
- Τα άκρα ενώνονται από την λιγάση



Μηχανισμοί επιδιόρθωσης εκτομής

Mismatch Repair (MMR)

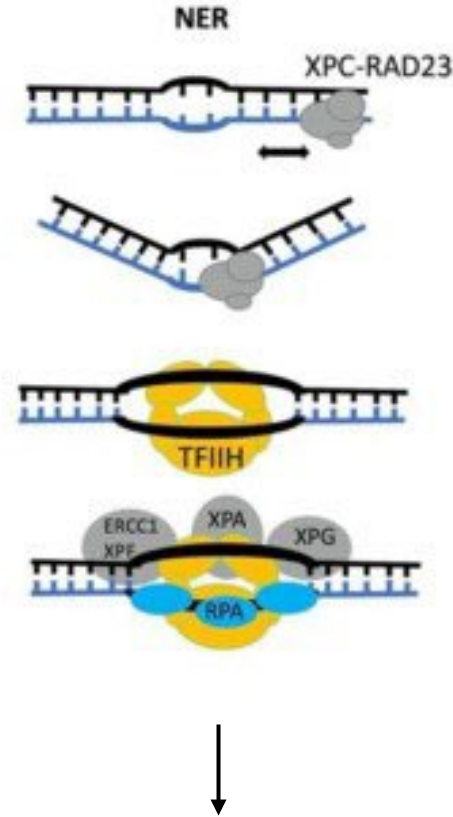
Αταίριαστες βάσεις



Λάθη κατά την αντιγραφή

Nucleotide Excision Repair (NER)

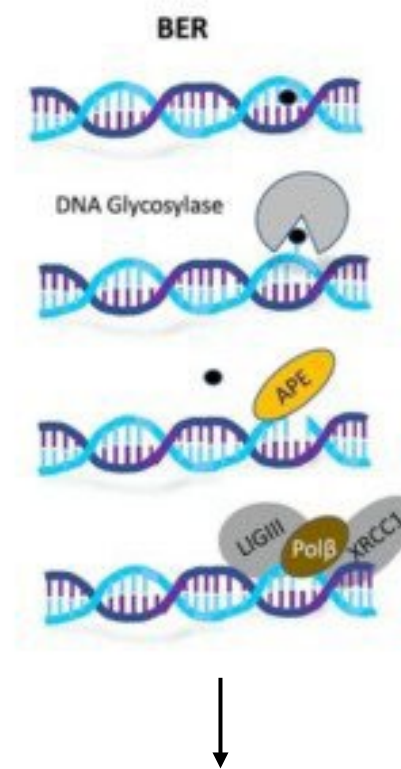
...με εκτομή νουκλεοτιδίου



Διμερή θυμίνης/
Ομοιοπολικοί δεσμοί μεταξύ
βασεων της ίδιας αλυσίδας

Base Excision Repair (BER)

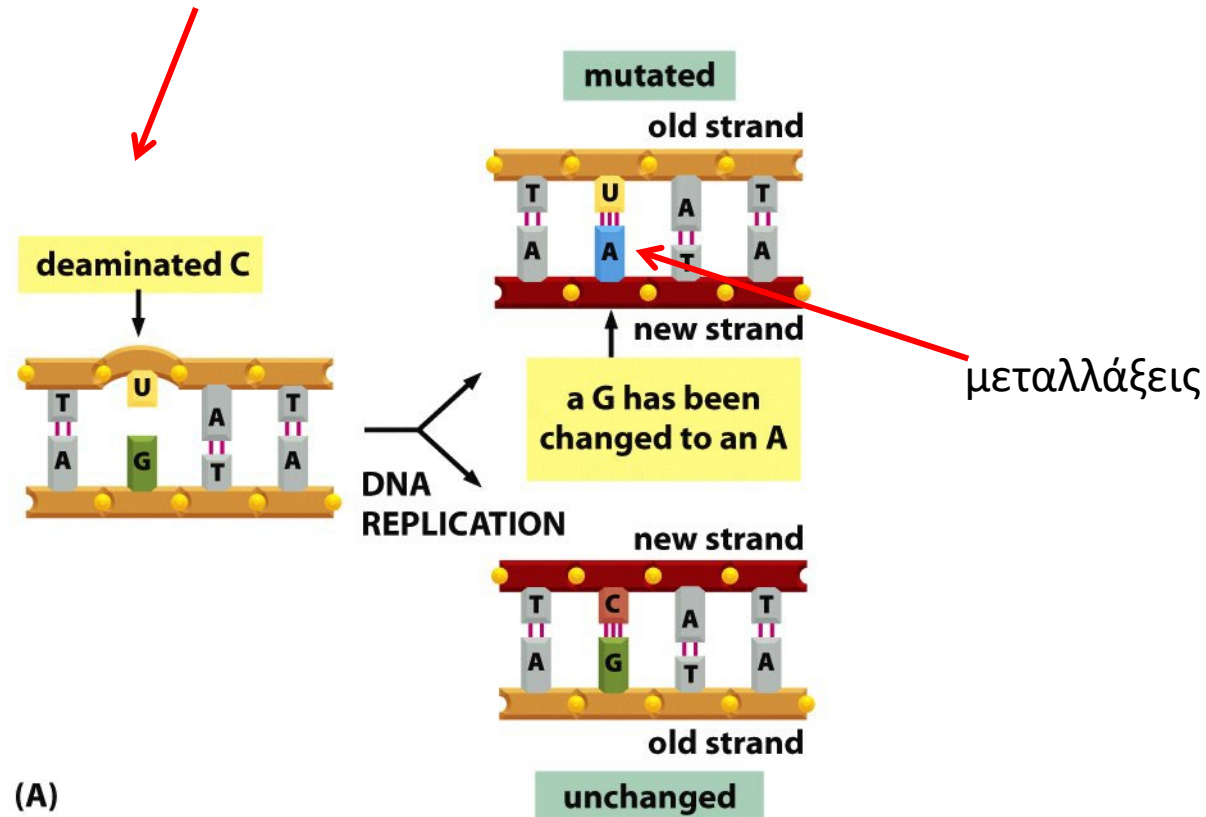
...με εκτομή βάσης



Απομάκρυνση αλλοιωμένων
βάσεων

Προσοχή!

Οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης αντιλαμβάνονται και επιδιορθώνουν πρωτογενείς αλλοιώσεις (βλάβες) όχι μεταλλάξεις



- Οι μεταλλάξεις είναι μόνιμες αλλαγές στην αλληλουχία του DNA-όχι αλλοιώσεις στη δομή του

Συχνότητα μεταλλάξεων

- Πρωτογενείς αλλοιώσεις που διαφεύγουν των μηχανισμών επιδιόρθωσης εγκαθίσταται ως μόνιμες μεταλλάξεις
- Φυσιολογικά σε χαμηλή συχνότητα
- Η συχνότητα αυξάνεται όταν οι επιδιορθωτικοί μηχανισμοί υπολειτουργούν

Επιπτώσεις μεταλλάξεων

Ποιες οι επιπτώσεις συσσώρευσης μεταλλάξεων;

-στα σωματικά κύτταρα;

-στα γαμετικά κύτταρα;

Μεταλλάξεις σε γονίδια που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του γενετικού υλικού απαντώνται συχνά σε σποραδικούς καρκίνους

Αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα

Lung Adenocarcinoma

N Tumors: 400 200 0



Legend

Loss of function mutations

Other mutations

Deep copy number deletions

Genome Stability Pathway

Other conserved DNA damage response genes
Nucleotide excision repair
Fanconi Anemia
DNA polymerases
Base excision repair
Sensitivity to DNA damaging agents
Homologous recombination
Mismatch excision repair
Non-homologous end-joining
Other DNA repair genes
Ubiquitination and modification
Editing and processing nucleases
Chromatin structure and modification
Direct reversal of damage
Modulation of nucleotide pools
Repair of DNA-topoisomerase crosslinks

καρκίνωμα πλακωδών κυττάρων του πνεύμονα

Lung Squamous Cell Carcinoma

N Tumors: 0 200 400



Κληρονομούμενα σύνδρομα με βλάβες σε μηχανισμούς επιδιόρθωσης

NAME	PHENOTYPE	ENZYME OR PROCESS AFFECTED
MSH2, 3, 6, MLH1, PMS2	colon cancer (HNPCC)	mismatch repair
Xeroderma pigmentosum (XP) groups A–G	skin cancer, cellular UV sensitivity, neurological abnormalities	nucleotide excision-repair
XP variant	cellular UV sensitivity	translesion synthesis by DNA polymerase δ
Ataxia–telangiectasia (AT)	leukemia, lymphoma, cellular γ -ray sensitivity, genome instability	ATM protein, a protein kinase activated by double-strand breaks
BRCA-2	breast and ovarian cancer	repair by homologous recombination
Werner syndrome	premature aging, cancer at several sites, genome instability	accessory 3'-exonuclease and DNA helicase
Bloom syndrome	cancer at several sites, stunted growth, genome instability	accessory DNA helicase for replication
Fanconi anemia groups A–G	congenital abnormalities, leukemia, genome instability	DNA interstrand cross-link repair

Μελανοχρωματική ξηροδερμία- Xeroderma Pigmentosum

- Οφείλεται σε μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίου (XPA, XPB, XPC, XPD, XPE, XPF).
- Σπάνιο σύνδρομο που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο
- Μεγάλη ευαισθησία στην έκθεση στο ηλιακό φως, ανάπτυξη καρκίνου του δέρματος, νευρολογικές διαταραχές κ.α Κακόηθες μελάνωμα, καρκίνοι του επιθηλίου, Κακοήθεις όγκοι εγκεφάλου, πνευμόνων, στομάχου, λευχαιμίες κ.α
- The average life expectancy of those with the condition is about 30 years less than normal
- Συχνότητα εμφάνισης

The disease affects about 1 in 100,000 worldwide. By region, it affects about 1 in 370 in India, 1 in 20,000 in Japan, 1 in 250,000 people in the United States and 1 in 430,000 in Europe.

(children of the night/moon children)

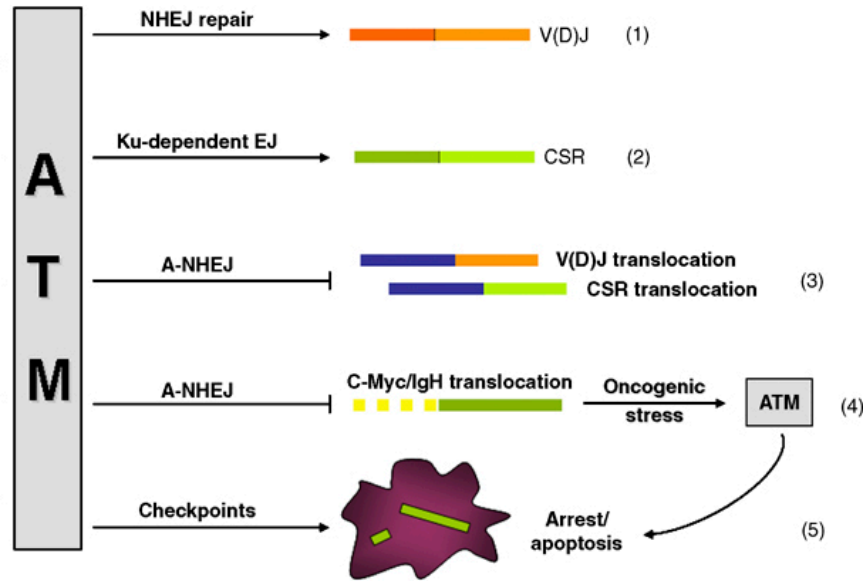


Μη λειτουργικός μηχανισμός επιδιόρθωσης με εκτομή νουκλεοτιδίων

- Σπάνιο σύνδρομο που οφείλεται σε μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται στην επιδιόρθωση εκτομής νουκλεοτιδίου (CSA, CSB)
- Αναπτυξιακές ανωμαλίες (νευρικό σύστημα κ.α), φωτοευαισθησία, πρόωρη γήρανση, μικροκεφαλία, καχεξία, καταρράκτης
- Σπάνιο σύνδρομο που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο
- Συχνότητα εμφάνισης 1:250,000
- Life expectancy <20 years

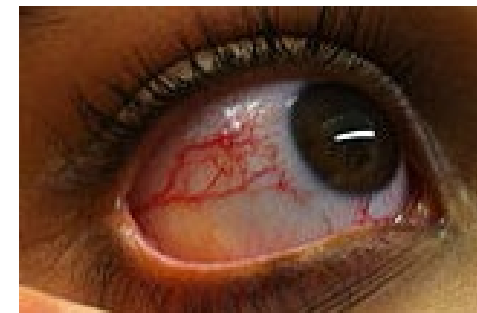


Αταξία Τηλαγγειεκτασία

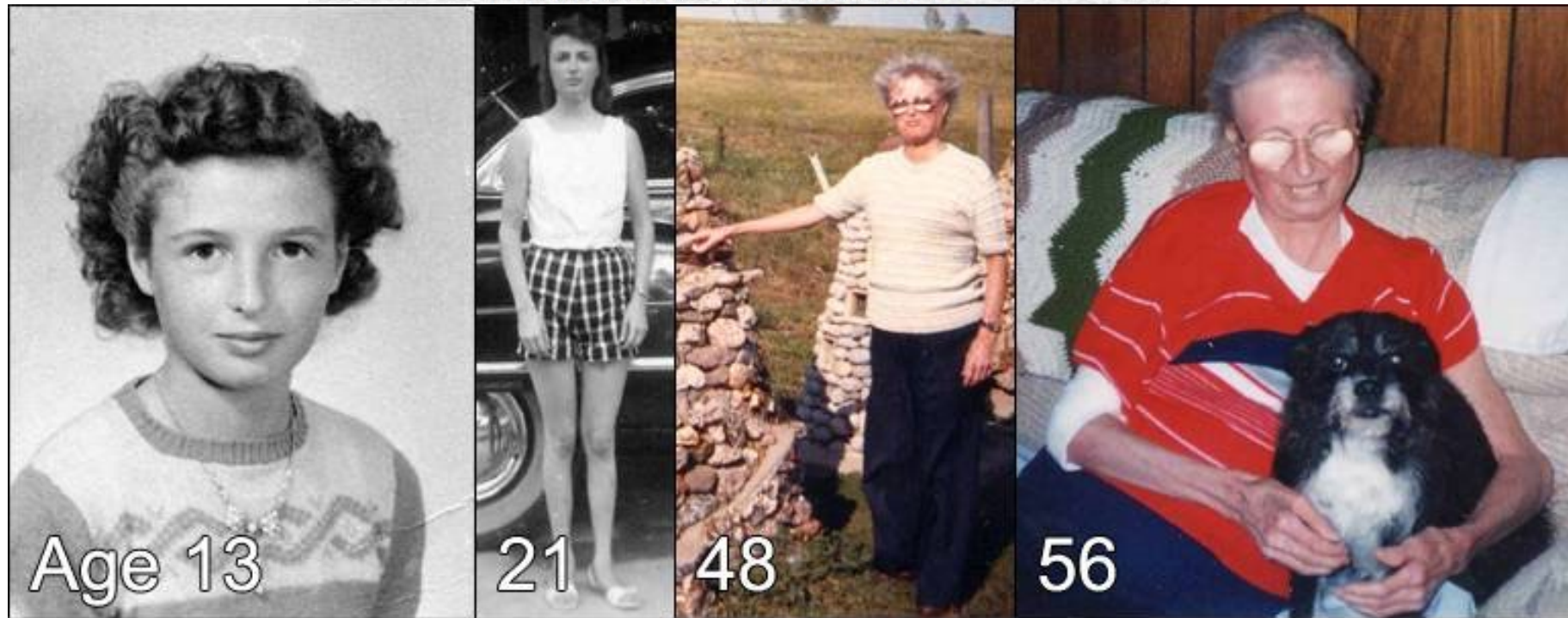


ATM:Κινάση σερίνης θρεονίνης
Επιδιόρθωση διπλών θραύσεων

- Αταξία
- Αυξημένη εμφάνιση καρκίνου
- Διαταραχές του ανοσοποιητικού συστήματος
- Αγγειοδιαστολή



WERNER SYNDROME



Συχνότητα	Τρόπος κληρονόμησης	Χρόνος επιβίωσης (έτη)	Παθολογικός φαινότυπος
< 1/100000	Υπολειπόμενη αυτοσωμική	50	Αλωπεκία, οστεοπόρωση, κακοήθειες, αρτηριοσκλήρυνση, διαβήτης, καταρράκτης, δερματική ατροφία, άσπρισμα μαλλιών

Κληρονομικές μορφές καρκίνου και μεταλλάξεις σε γονίδια επιδιόρθωσης

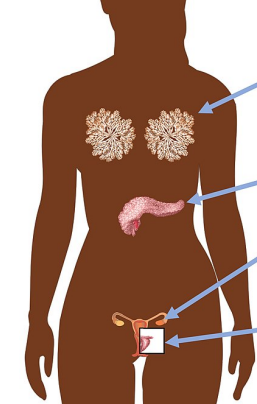
Κληρονομικές μορφές καρκίνου του μαστού και ωοθηκών σχετίζονται με μεταλλάξεις γονιδίων που εμπλέκονται σε επιδιόρθωση από ομόλογο ανασυνδυασμό όπως τα BRCA1, BRCA2, PALB2, ATM, RAD51C and RAD51D.

- **Breast cancer:** About 13% of women in the general population will develop breast cancer sometime during their lives

1:400 να έχεις μετάλλαξη στο γενικό πληθυσμό



Risk of cancer with relevant mutations



	BRCA1	BRCA2
Breast cancer:	50% to 65% Males: 1.2%	40% to 55% Males: Up to 9%
Pancreas cancer:	1-3%	2-7%
Ovarian cancer:	40% to 65%	15% to 25%
Prostate cancer:	9%	15%

επιδιόρθωση με ομόλογο ανασυνδυασμό

Mutations in Cancer Susceptibility Genes

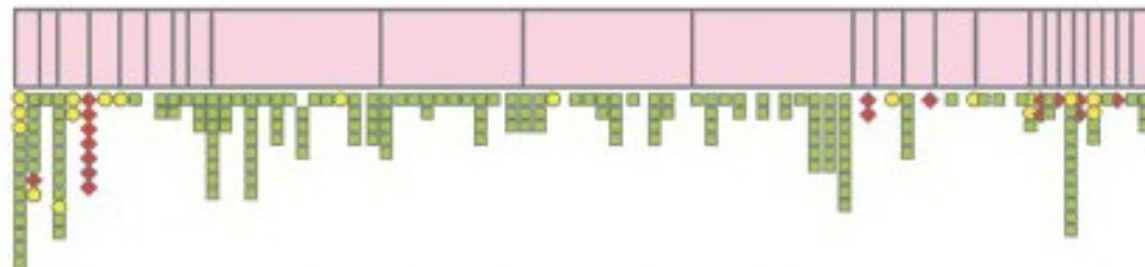
BRCA2

- On chromosome 13
- Autosomal dominant transmission
- Protein has role in genomic stability
- ~300 different mutations reported



BRCA1

- On chromosome 17
- Autosomal dominant transmission
- Protein has role in genomic stability
- ~500 different mutations reported



■ Nonsense/Frameshift ● Missense ◆ Splice-site

Περίπτωση 1

Παιδί 8 ετών εμφανίζει καρκίνο του δέρματος.

Το δέρμα του είναι ιδιαίτερα φωτοευαίσθητο και φέρει φακίδες.

Διαγιγνώσκεται μελαχρωματική ξηροδερμία (Xeroderma Pigmentosum, XP).

Ερωτήσεις

- Σε τι οφείλεται η μελαχρωματική ξηροδερμία;
- Πως προκαλούνται βλάβες ή λάθη στο DNA; Εγγενείς (ενδοκυτταρικοί) και περιβαλλοντικοί παράγοντες.
- Πώς βλάβες στο DNA οδηγούν σε μεταλλάξεις ;
- Ποιους μηχανισμούς επιδιόρθωσης βλαβών στο DNA γνωρίζετε;
- Τι είναι η επιδιόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίου (Nucleotide excision repair, NER) και ποιους τύπους βλάβης επιδιορθώνει;
- Γιατί ασθενείς με ελαττωματικό μηχανισμό NER εμφανίζουν σε μεγάλη συχνότητα καρκίνου του δέρματος;

Περίπτωση 2

Νεαρή γυναίκα με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού πραγματοποιεί γενετικό τεστ για την ανίχνευση κληρονομικών μεταλλάξεων στο γονιδίωμά της που να προδιαθέτουν για καρκίνο του μαστού. Ανιχνεύεται μεταλλαγή στο γονίδιο BRCA1. Το γονίδιο αυτό εμπλέκεται στο μηχανισμό επιδιόρθωσης μέσω ανασυνδυασμού (ανασυνδυαστική ή μετα-αντιγραφική επιδιόρθωση). Λόγω της ύπαρξης μεταλλαγής στο ένα από τα δύο αλληλόμορφα του γονιδίου BRCA1, η γυναίκα αυτή έχει 70% πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού και 40% πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου των ωοθηκών μέχρι το 70^ο έτος της ηλικίας της.

Ερωτήσεις

- Ποιος είναι ο ρόλος της πρωτεΐνης BRCA1 κατά την επιδιόρθωση του DNA;
- τι είναι η ανασυνδυαστική επιδιόρθωση και ποιους τύπους βλάβης επιδιορθώνει;
- Γιατί μεταλλάξεις στο γονίδιο BRCA1 προδιαθέτουν για καρκίνο του μαστού και των ωοθηκών;

1000 λέξεις, μια παράγραφο για το γονίδιο, μια για το μονοπάτι επιδιόρθωσης, μια για την ασθένεια

Gene	defect	Hereditary syndrome	cancer
WRN	Accessory DNA helicase and 3'exonuclease	Premature aging, cancer, genome instability	several
NBS1	DSB repair	Nijmegen breakage syndrome	lymphoma
MSH2, PMS2	Miss Match Repair	Hereditary Non Polyposis Colon Cancer	Colon, rectum, cancer, endometrium, ovarian
Fanconi anemia groups A-G	DNA intra-strand cross link repair	Congenital abnormalities, genomic instability	leukemia
Bloom	Accessory DNA helicase for replication	Stunned growth, genomic instability	Cancer at several sites

Οδηγίες για εργασία

ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΓΡΑΠΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

Το κείμενο αυτό έχει ως στόχο να βοηθήσει τους φοιτητές στην εκπόνηση γραπτών εργασιών που αφορούν την Διδασκαλία Μικρών Ομάδων στο μάθημα της Βιολογίας Ι και ΙΙ.

Δομή της εργασίας

Όλο το κείμενο πρέπει να έχει την **ιδία γραμματοσειρά** (εξαιρούνται οι τίτλοι και οι λεζάντες) με μέγεθος 11 ή 12 pt. Το κείμενο πρέπει να χωρίζεται σε παραγράφους με τίτλους.

Το συνολικό κείμενο πρέπει να είναι περίπου 1000 λέξεις.

Η εργασία κατατίθεται στο eclass σε μορφή doc, docx ή pdf.

Κάθε γραπτή εργασία πρέπει να περιλαμβάνει τα εξής μέρη:

ΕΞΩΦΥΛΛΟ

Το εξώφυλλο περιλαμβάνει τον **τίτλο της εργασίας, το όνομα και τον Α.Μ. του φοιτητή.**

ΚΥΡΙΩΣ ΚΕΙΜΕΝΟ

Πρόκειται για ένα αναλυτικό και **πρωτότυπο** κείμενο. Αυτό σημαίνει ότι ο/η φοιτητής/τρια **δεν** θα πρέπει να μεταφέρει αυτούσιες φράσεις, αποσπάσματα ή μεταφρασμένα τμήματα από άλλα κείμενα. Θα πρέπει να διαβάσει και να κατανοήσει τις πληροφορίες που εντοπίζει σε διδακτικό, επιστημονικό υλικό ή άλλες βιβλιογραφικές πηγές και να συνθέσει ένα δικό του/της πρωτότυπο κείμενο. Το κείμενο πρέπει να είναι σαφές, μεστό και επιστημονικά ορθό. Εκτενείς φράσεις ή ασαφή νοήματα πρέπει να αποφεύγονται. Πρέπει να χρησιμοποιείται η ορθή επιστημονική ορολογία (προσοχή: το google translator σπάνια τη γνωρίζει. Τα βιβλία σας έχουν λεξιλόγιο στο τέλος). Πέραν από τη μεταφορά πληροφοριών, το κείμενο είναι ευκαίιο να περιέχει κριτική αποτίμηση/συζήτηση της πληροφορίας.

Οι τίτλοι των παραγράφων προτιμάται να μην είναι περιγραφικοί αλλά να προσφέρουν πληροφορία για το περιεχόμενο της παραγράφου (πχ αντί για «Το γονίδιο x» είναι προτιμότερος ο τίτλος «Το γονίδιο x συμμετέχει στο γ»).

Σε περίπτωση που περιλαμβάνονται εικόνες, πίνακες ή διαγράμματα, πρέπει να υπάρχει **αρίθμηση** τους κάτω από την εικόνα (π.χ. Εικόνα 1) και **τίτλος/λεζάντα** στην οποία να γίνεται σύντομη αναφορά στο τι αφορά η εικόνα ή ο πίνακας και να αναφέρεται η πηγή σε περίπτωση που δεν έχει σχεδιαστεί από τον ίδιο τον φοιτητή. Επίσης πρέπει η εκάστοτε εικόνα να **αναφέρεται και εντός του κειμένου** μέσα σε παρένθεση (π.χ, Εικόνα 1), ώστε να αντιλαμβάνεται ο αναγνώστης ποιο εννοιολογικό τμήμα του κειμένου αφορά.

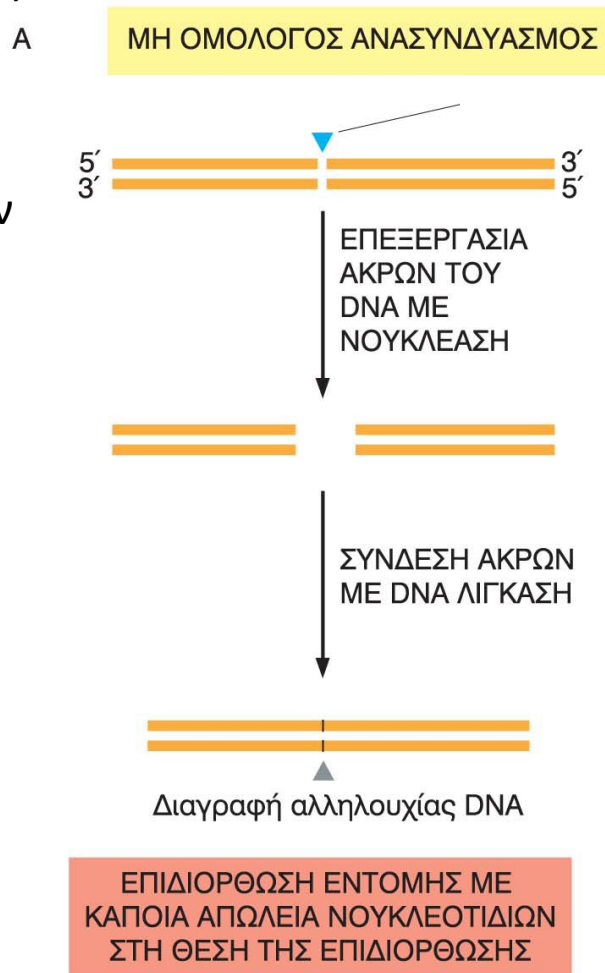
Μέσα στο κείμενο πρέπει να αναφέρονται οι βιβλιογραφικές παραπομπές (in text citations) στις πηγές που χρησιμοποιήθηκαν. Η αναφορά γίνεται με το όνομα του συγγραφέα και τη χρονολογία δημοσίευσης - σύστημα Harvard (Smith et al, 2019) ή με αρίθμηση που αντιστοιχεί στη βιβλιογραφική αναφορά στο τέλος του κειμένου. Οι βιβλιογραφικές παραπομπές σημειώνονται μέσα σε παρένθεση () ή αγκύλη [] ή ως εκθέτης (όταν αφορά αρίθμηση). Παραθέτονται στο τέλος της φράσης που αφορούν (όχι όλες μαζί στο τέλος της παραγράφου).

Οι βιβλιογραφικές αναφορές πρέπει να είναι κατά προτίμηση δημοσιευμένα άρθρα από τη διεθνή βιβλιογραφία που έχουν υποστεί κρίση (peer reviewed), πχ από το Pubmed/Medline.

Δίκλωνα θραύσματα στην έλικα του DNA

Επιδιόρθωση με μη ομόλογο ανασυνδυασμό

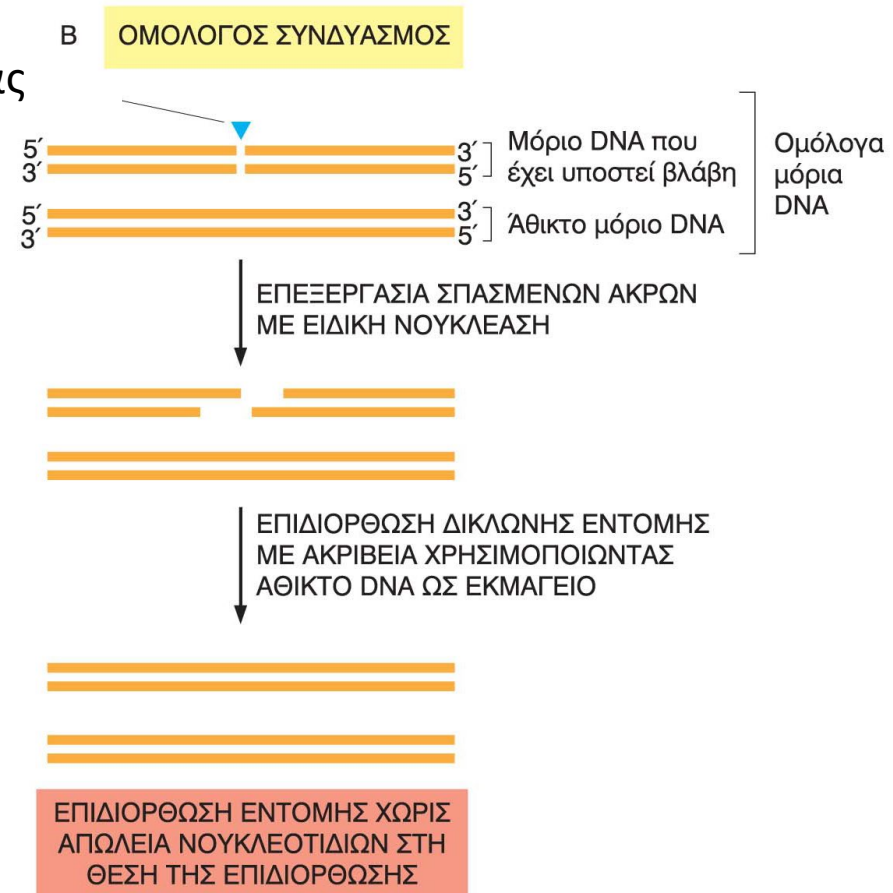
- Αναγνώριση του θραύματος από πρωτεΐνες αναγνώρισης διπλών θραυσμάτων
- Στρατολόγηση ενδονουκλεάσης για πέψη των σπασμένων άκρων (απώλεια ορισμένων νουκλεοτιδίων)
- Σύνδεση των άκρων από μια λιγαση



Δίκλωνα θραύσματα στην έλικα του DNA

Επιδιόρθωση με ομόλογο ανασυνδυασμό

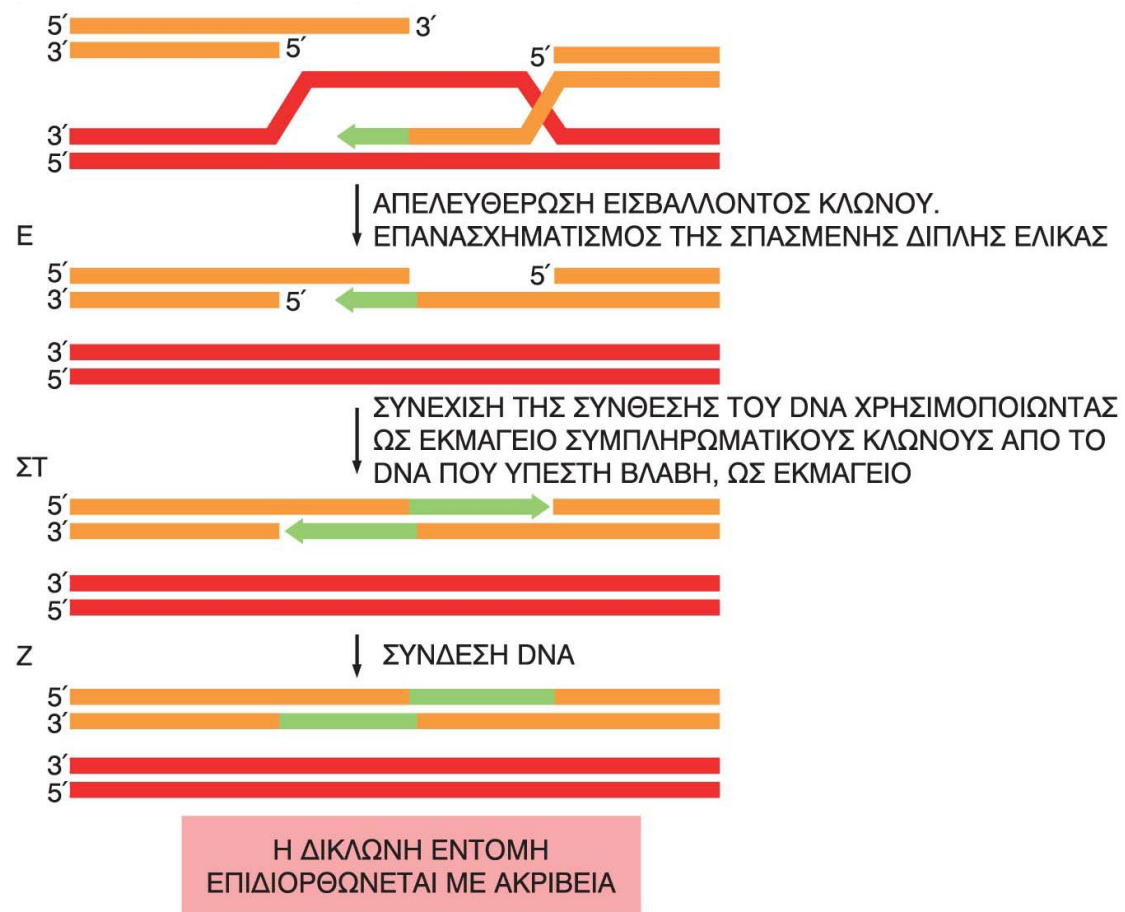
- Η άθικτη διπλή έλικα του αντιγραφμένου DNA λειτουργεί σαν εκμαγείο για την επιδιόρθωση της ομόλογης διπλής έλικας



Επιδιόρθωση με ομόλογο ανασυνδυασμό



Επιδιόρθωση με ομόλογο ανασυνδυασμό



Απόλυτα ακριβής!
δεν χάνεται ούτε κερδίζεται νουκλεοτίδιο