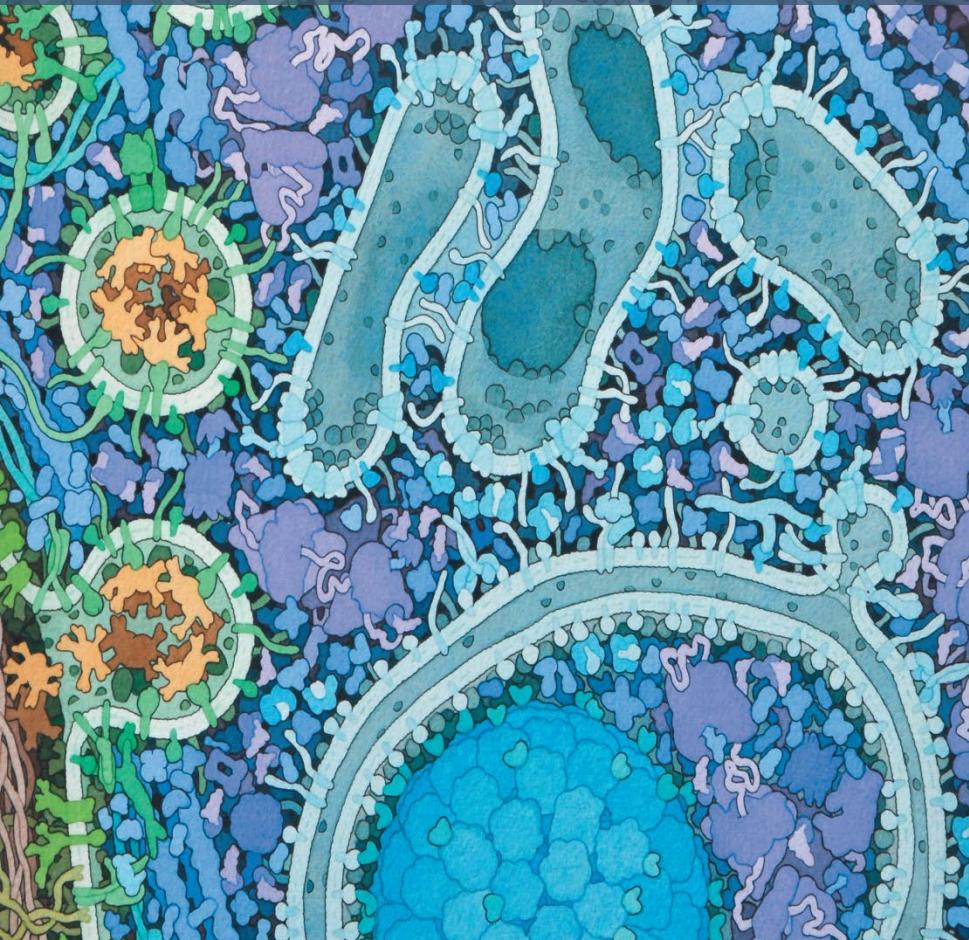


Το Κύτταρο Μια Μοριακή Προσέγγιση  
Έβδομη Έκδοση

## Κεφάλαιο 8

### Σύνθεση και επεξεργασία του RNA



*Geoffrey M. Cooper • Robert E. Hausman*

Ακαδημαϊκές  
Εκδόσεις



# ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα χαρακτηριστικά ενός κυττάρου καθορίζονται από:

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

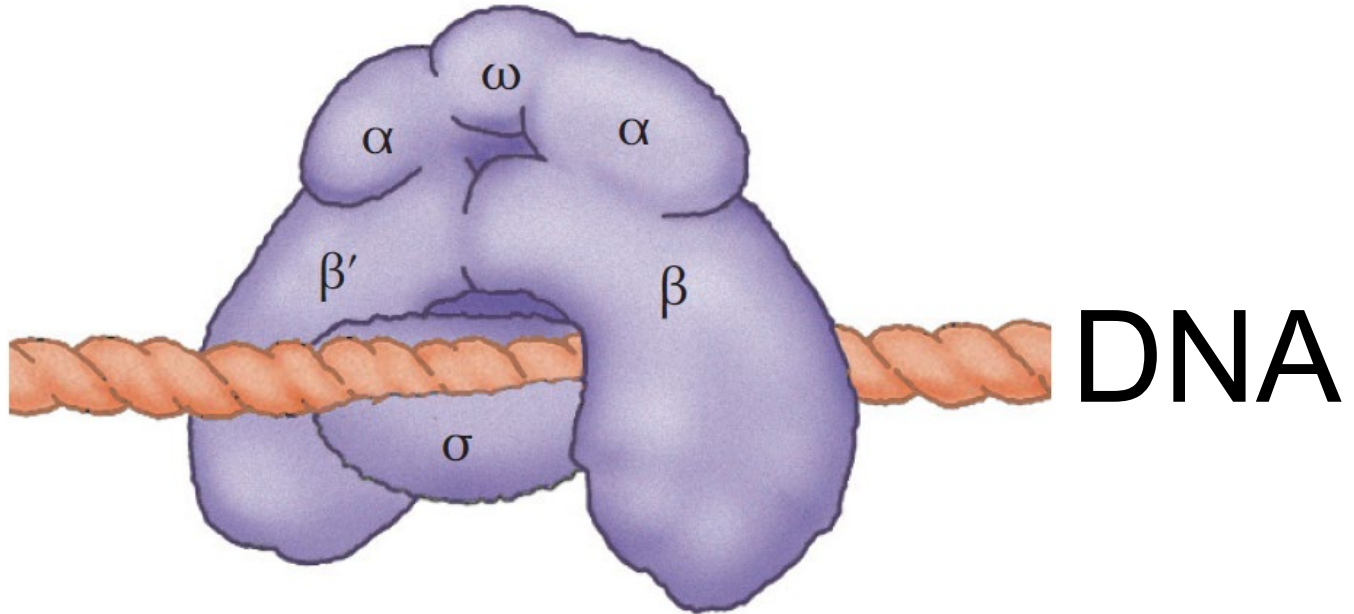
Μεταγραφή από DNA σε RNA: **πρώτο στάδιο γονιδιακής έκφρασης**

Λειτουργίες RNA:

1. Μήτρα για σύνθεση πρωτεϊνών (mRNA)
2. Μετάφραση του mRNA (rRNA και tRNA)
3. Ρύθμιση έκφρασης γονιδίων (miRNA)
4. Ωρίμανση mRNA (μικρά RNA: snRNA (μικρό πυρηνικό RNA))
5. Μεταφορά πρωτεϊνών (scRNA)

## 7.1. Η μεταγραφή των προκαρυωτικών οργανισμών

# Μεταγραφή των προκαρυωτικών οργανισμών



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

Το πλήρες ένζυμο αποτελείται από έξι υπομονάδες: δύο  $\alpha$ , μία  $\beta$ , μία  $\beta'$ , μία  $\omega$  και μία  $\sigma$ :  $\alpha_2\beta\beta'\omega-\sigma$ . Η υπομονάδα  $\sigma$  συνδέεται πιο χαλαρά και έτσι μπορεί να αποσπαστεί σχετικά εύκολα από τις υπόλοιπες υπομονάδες, οι οποίες συνιστούν τη λεγόμενη κεντρική πολυμεράση.

# RNA πολυμεράση: $\alpha_2\beta\beta'\omega$ ( $\sigma$ )

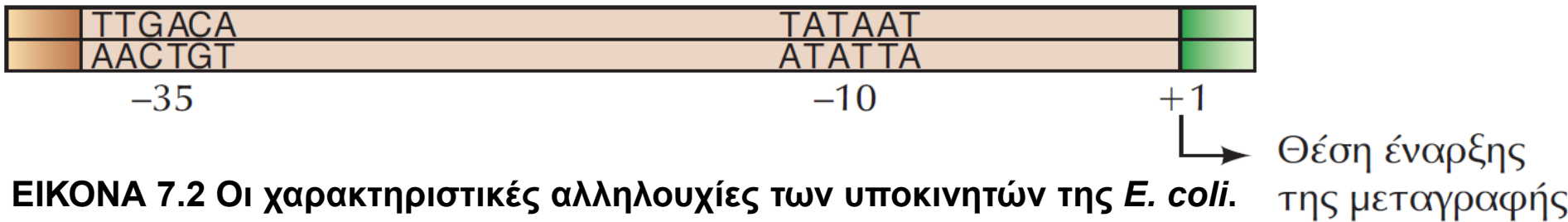
Πολυμερίζει NTPs, 5' προς 3', *de novo* πολυμερισμός (ρύθμιση μεταγραφής)

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

Υπάρχουν αρκετές υπομονάδες  $\sigma$  ανάλογα με το περιβάλλον του κυττάρου.

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

Αλληλουχίες του DNA που συμμετέχουν στη λειτουργία του υποκινητή:



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

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

# Παράγοντες σ της *E. coli*

**TABLE 10-1** Sigma Factors of *E. coli*

Sigma Factor	Promoters Recognized	Promoter Consensus	
$\sigma^{70}$	Most genes	-35 Region TTGACAT	-10 Region TATAAT
$\sigma^{32}$	Genes induced by heat shock	TCTCNCCCTTGAA	CCCCATNTA
$\sigma^{28}$	Genes for motility and chemotaxis	CTAAA	CCGATAT
$\sigma^{38}$	Genes for stationary phase and stress response	?	?
$\sigma^{54}$	Genes for nitrogen metabolism and other functions	-24 Region CTGGNA	-12 Region TTGCA

SOURCES: C. A. Gross, M. Lonetto, and R. Losick, 1992, in S. L. McKnight and K. R. Yamamoto, eds., *Transcriptional Regulation*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; D. N. Arnosti and M. J. Chamberlin, 1989, *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* **86**:830; R. Hengge-Aronsis, 1996, *Mol. Microbiol.* **21**:887.

# Πειραματικά δεδομένα για το λειτουργικό ρόλο των αλληλουχιών -10 και -35

1. Όση περισσότερη ομοιότητα έχουν οι υποκινητές γονιδίων με τις -10 και -35 ιδανικές αλληλουχίες, τόσο μεγαλύτερα είναι τα επίπεδα έκφρασης.
2. Η εισαγωγή μεταλλάξεων στις αλληλουχίες -10 και -35 αλλάζει τα επίπεδα έκφρασης
3. Πειράματα ιχνηλάτησης του DNA αποδεικνύουν ότι η RNA πολυμεράση δεσμεύεται στις αλληλουχίες -10 και -35.

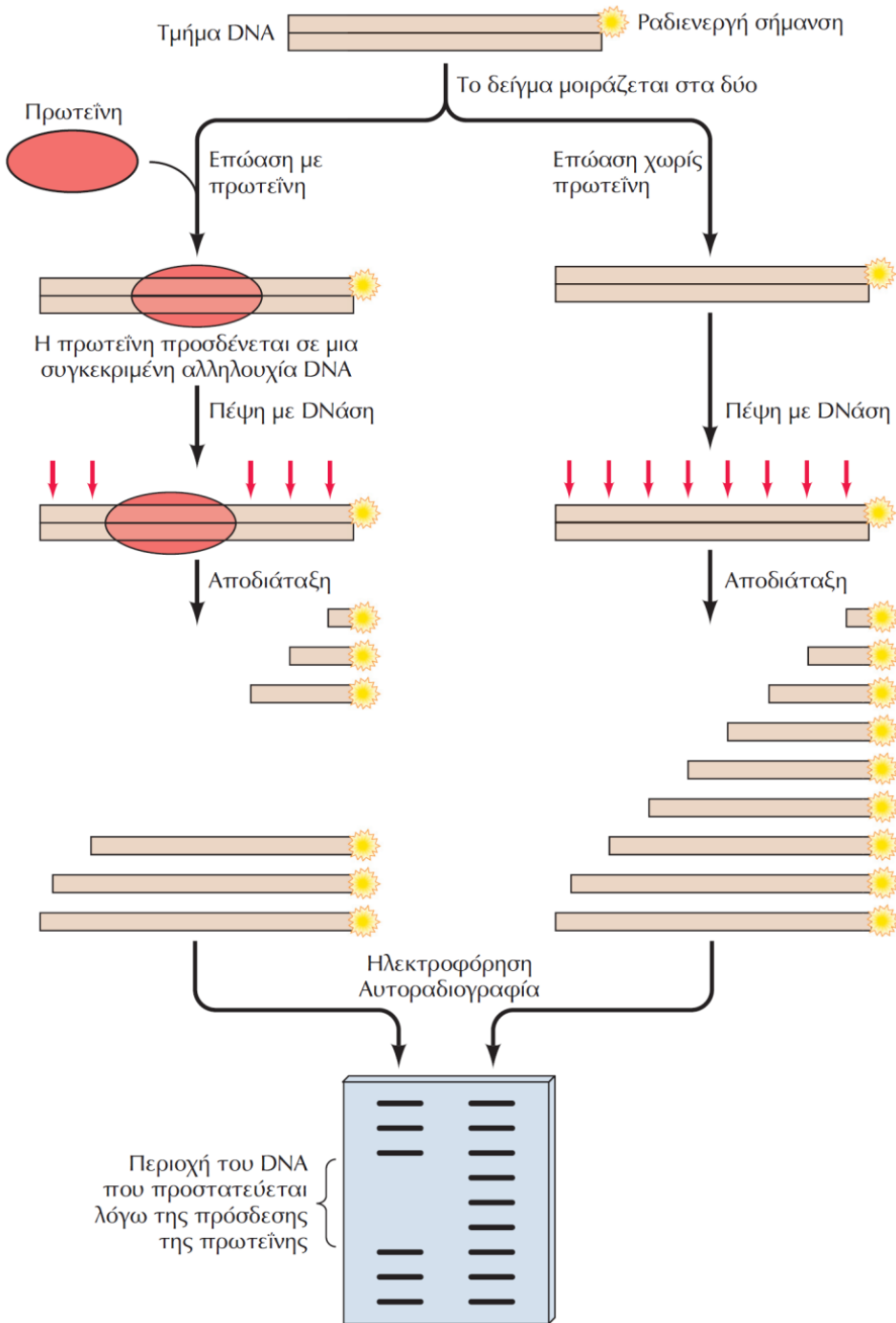
Από πειράματα ιχνηλάτισης του DNA προκύπτει ότι:

1. Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε περιοχή 60 βάσεων (από τη -40 έως και τη +20).
2. Ο παράγοντας  $\sigma$  δεσμεύεται ειδικά στις θέσεις -10 και -35.
3. Σε ειδικές περιπτώσεις υπάρχει ειδική θέση προσδεσης ανοδικά των -35 για την υπομονάδα  $\alpha$

## ΕΙΚΟΝΑ 7.3 Ιχνηλάτηση του DNA.

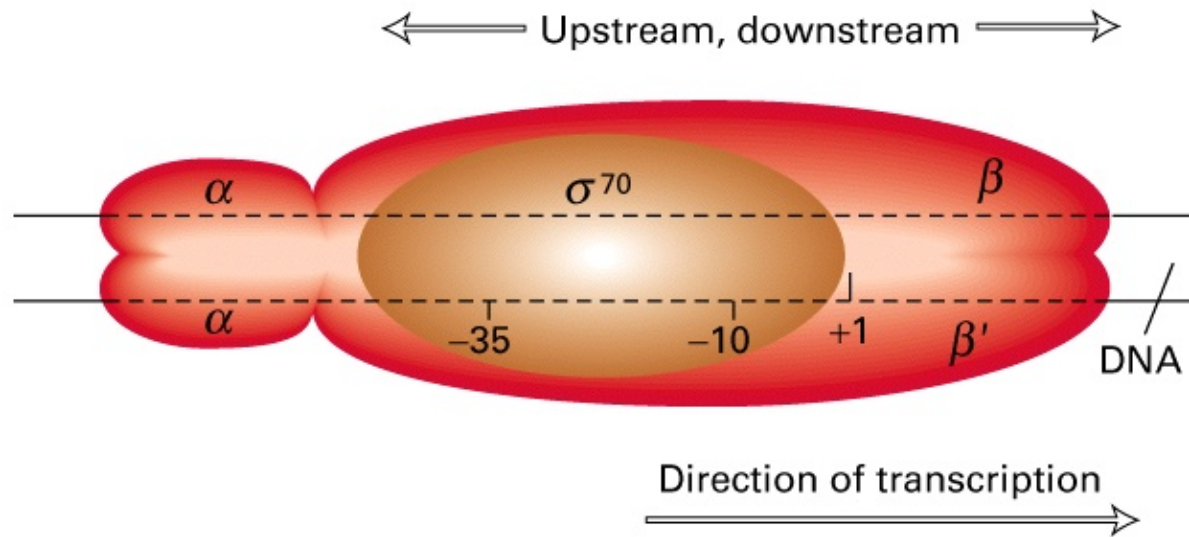
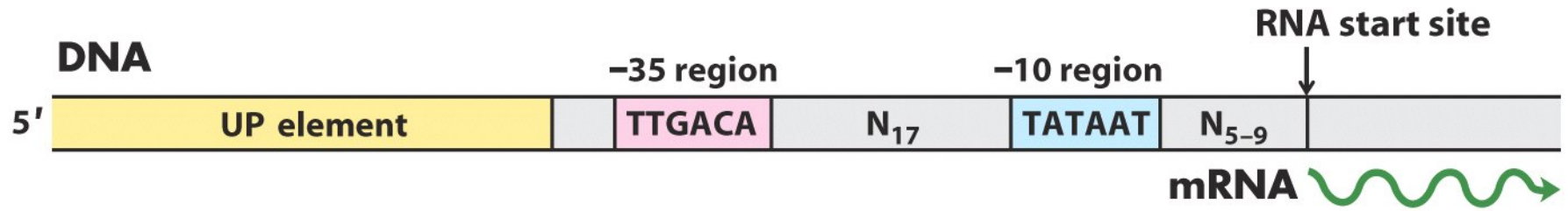
Μια αρχική ποσότητα του υπό έλεγχο τμήματος DNA με ραδιοσημασμένο το ένα του άκρο χωρίζεται στα δύο. Το ένα δείγμα επωάζεται με την πρωτεΐνη που αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη αλληλουχία του τμήματος DNA και προσδένεται σε αυτή. Κατόπιν, τα δύο δείγματα υφίστανται μερική πέψη με DNάση, ώστε κάθε μόριο να κόβεται κατά μέσο όρο σε μία θέση. Στο δείγμα που έχει επωαστεί με την πρωτεΐνη, η περιοχή του DNA στην οποία αυτή συνδέεται προστατεύεται από τη δράση της DNάσης και δεν κόβεται. Στη συνέχεια, τα σύμπλοκα DNA-πρωτεΐνης υφίστανται αποδιάταξη και τα μεγέθη των ραδιοσημασμένων μορίων που έχουν προκύψει από την πέψη με την DNάση προσδιορίζονται με ηλεκτροφόρηση των δύο δειγμάτων σε πήκτωμα ακρυλαμιδίου. Στο δείγμα που επωάστηκε με την πρωτεΐνη απουσιάζουν τα κομμάτια του DNA που προκύπτουν από πέψη με την DNάση στην περιοχή πρόσδεσης της πρωτεΐνης.

**Ακολουθεί σύγκριση των κλασμάτων με την αλληλουχία του DNA.**



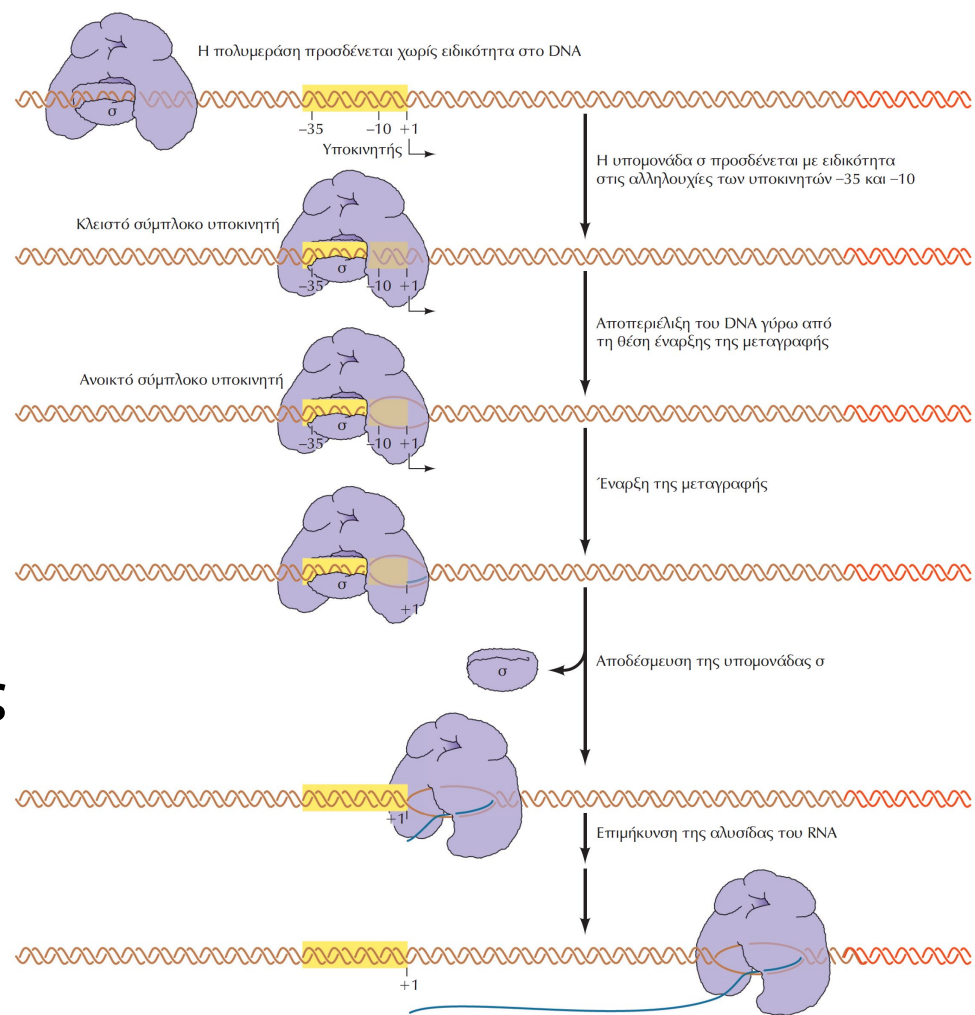


# Βασικά χαρακτηριστικά $\sigma^{70}$ υποκινητών της *E. coli*



# Η μεταγραφή στην *E. coli* από το DNA στο RNA

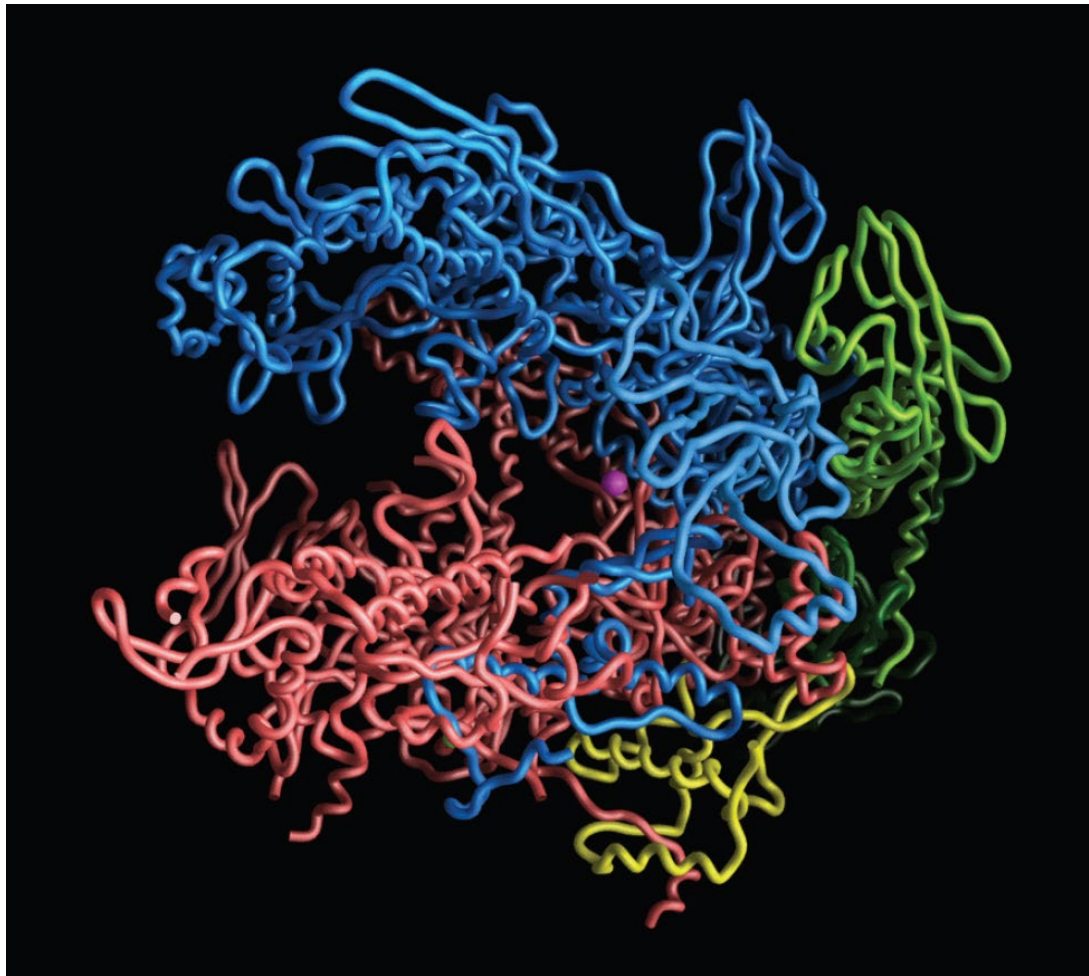
**ΕΙΚΟΝΑ 7.4** Η του RNA πολυμεράση αρχικά προσδένεται μη ειδικά στο DNA και μετακινείται κατά μήκος του μορίου μέχρι η υπομονάδα  $\sigma$  προσδεθεί στα στοιχεία  $-35$  και  $-10$ , ώστε να σχηματιστεί το λεγόμενο κλειστό σύμπλοκο υποκινητή. Κατόπιν, η πολυμεράση **ξετυλίγει το DNA γύρω από τη θέση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



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

# Η μεταγραφή στην *E. coli* από το DNA στο RNA

<file:///E:/TheCell/cooper5e/animation0701.html>



## ΕΙΚΟΝΑ 7.5 Δομή της βακτηριακής πολυμεράσης του RNA .

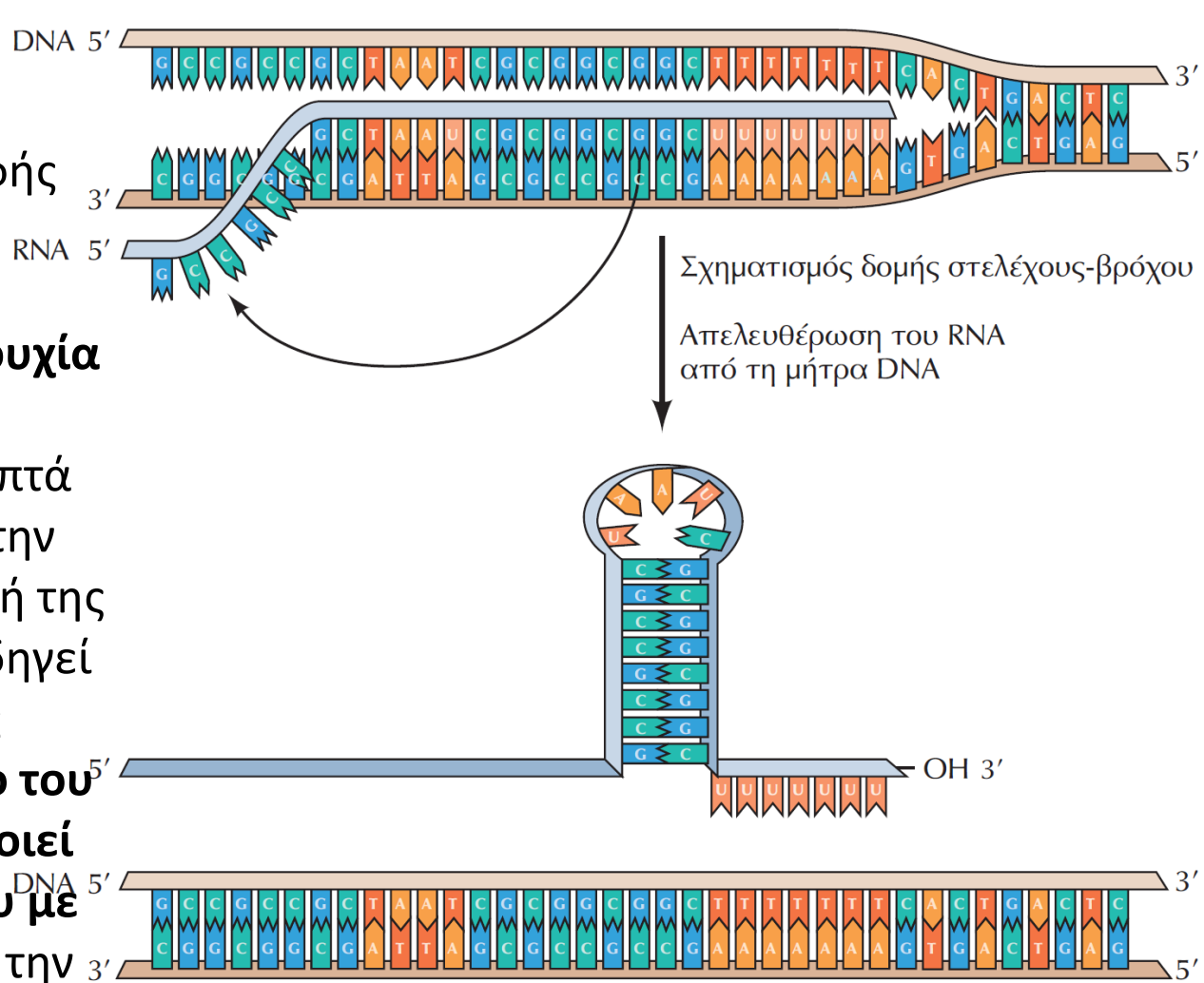
Οι **υπομονάδες α** της πολυμεράσης απεικονίζονται με σκούρο πράσινο και ανοιχτό πράσινο χρώμα. Με μπλε χρώμα απεικονίζεται η **υπομονάδα β**, με ροζ χρώμα η **υπομονάδα β'** και με κίτρινο χρώμα η **υπομονάδα ω**. (Ευγενική προσφορά του Seth Darst, Rockefeller University.)

# Τερματισμός της μεταγραφής

ΕΙΚΟΝΑ 7.6

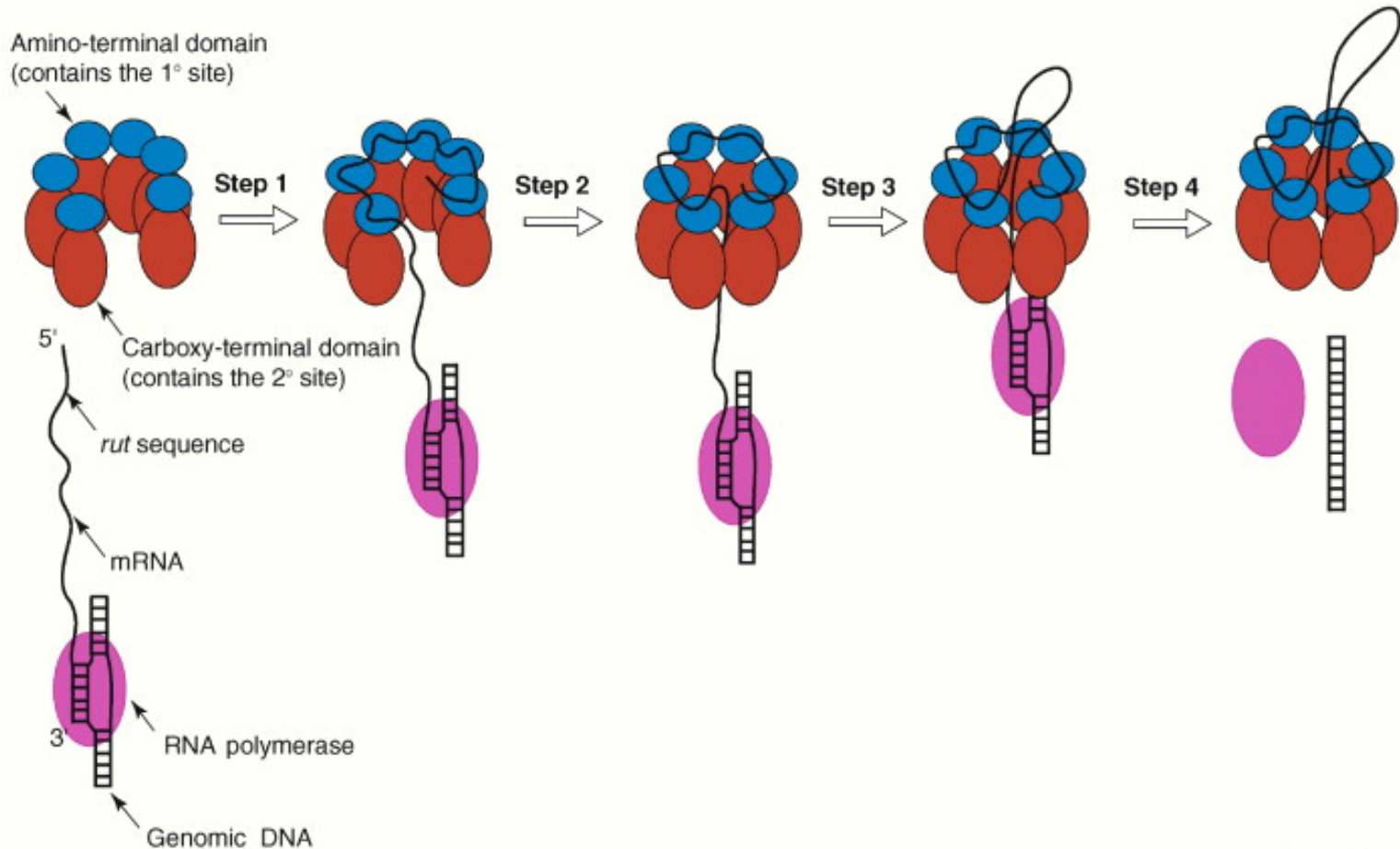
Ο τερματισμός της μεταγραφής σηματοδοτείται από:

**1. Μια ανάστροφα επαναλαμβανόμενη αλληλουχία πλούσια σε GC**, η οποία ακολουθείται από περίπου επτά νουκλεοτίδια αδενίνης (A) στην αλυσίδα-μήτρα. Η μεταγραφή της ανάστροφης επανάληψης οδηγεί στον σχηματισμό μιας δομής στελέχους-βρόχου στο **μόριο του RNA**, η οποία **αποσταθεροποιεί τη σύνδεση του μεταγράφου με τη μήτρα DNA** προκαλώντας την απελευθέρωσή του.



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

# Μηχανισμός τερματισμού της μεταγραφής από τον παράγοντα Rho



Current Biology

# Καταστολείς και αρνητικός έλεγχος της έναρξης της μεταγραφής

Η μεταγραφική ρύθμιση συμβαίνει κυρίως στο στάδιο της έναρξης.

Πειραματικό μοντέλο: το οπερόνιο της λακτόζης

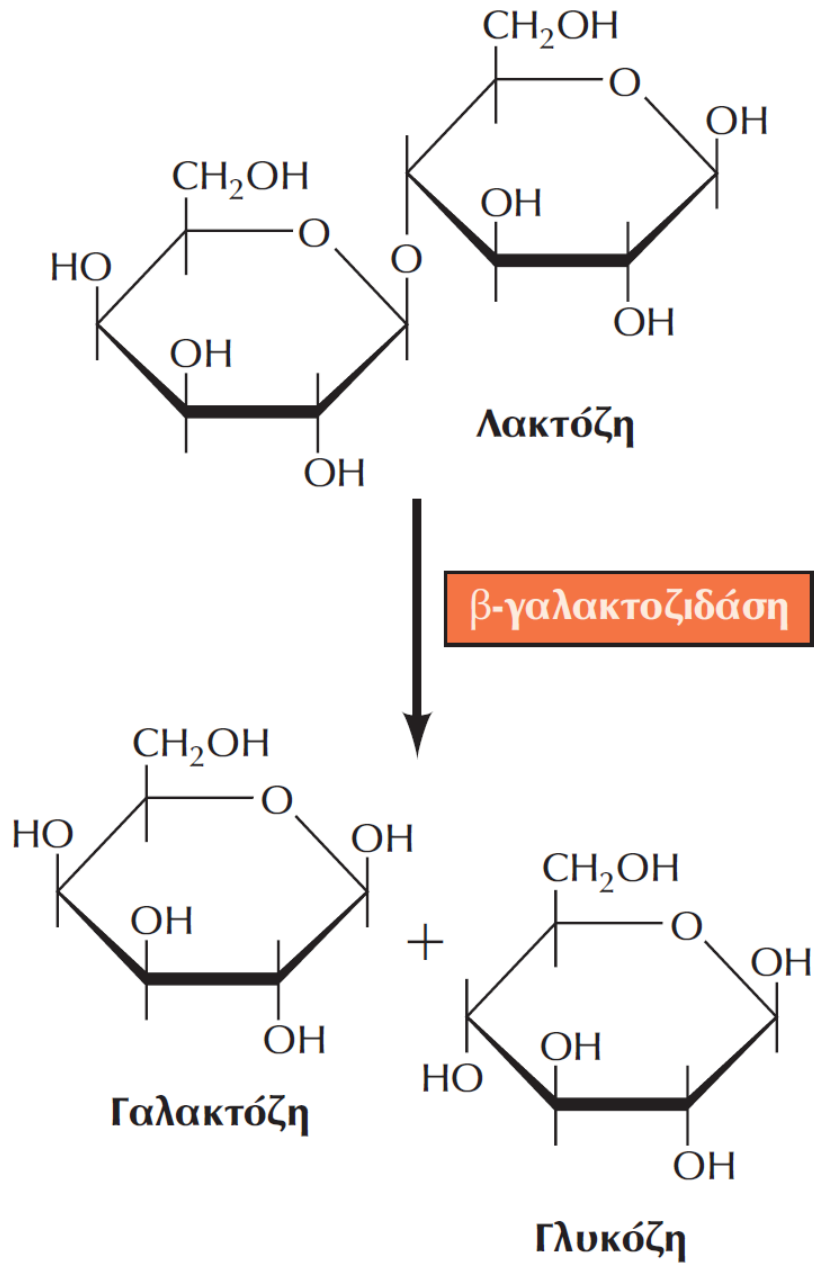
Ανάπτυξη σε λακτόζη προϋποθέτει την ύπαρξη τριών πρωτεϊνών:

Περμεάση της λακτόζης (είσοδος στο κύτταρο)

B-γαλακτοσιδάση (διάσπαση της λακτόζης)

Τρανσκετυλάση (απενεργοποίηση τοξικών μεταβολιτών = θειογαλακτοζίτες)

Τα τρία γονίδια μεταγράφονται σε ένα **οπερόνιο** = ένα mRNA

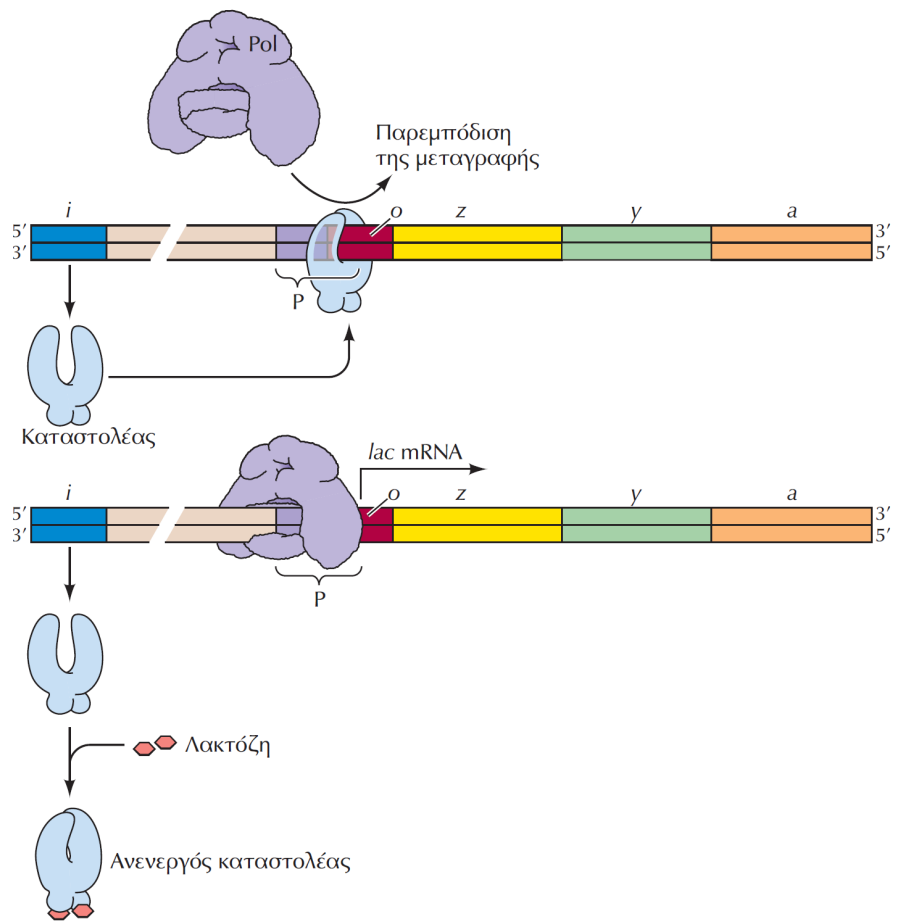


**ΕΙΚΟΝΑ 7.7**

## **Μεταβολισμός της λακτόζης.**

Η β-γαλακτοζιδάση καταλύει την υδρόλυση της λακτόζης σε γλυκόζη και γαλακτόζη.





### ΕΙΚΟΝΑ 7.8 Αρνητική ρύθμιση του οπερονίου *lac*.

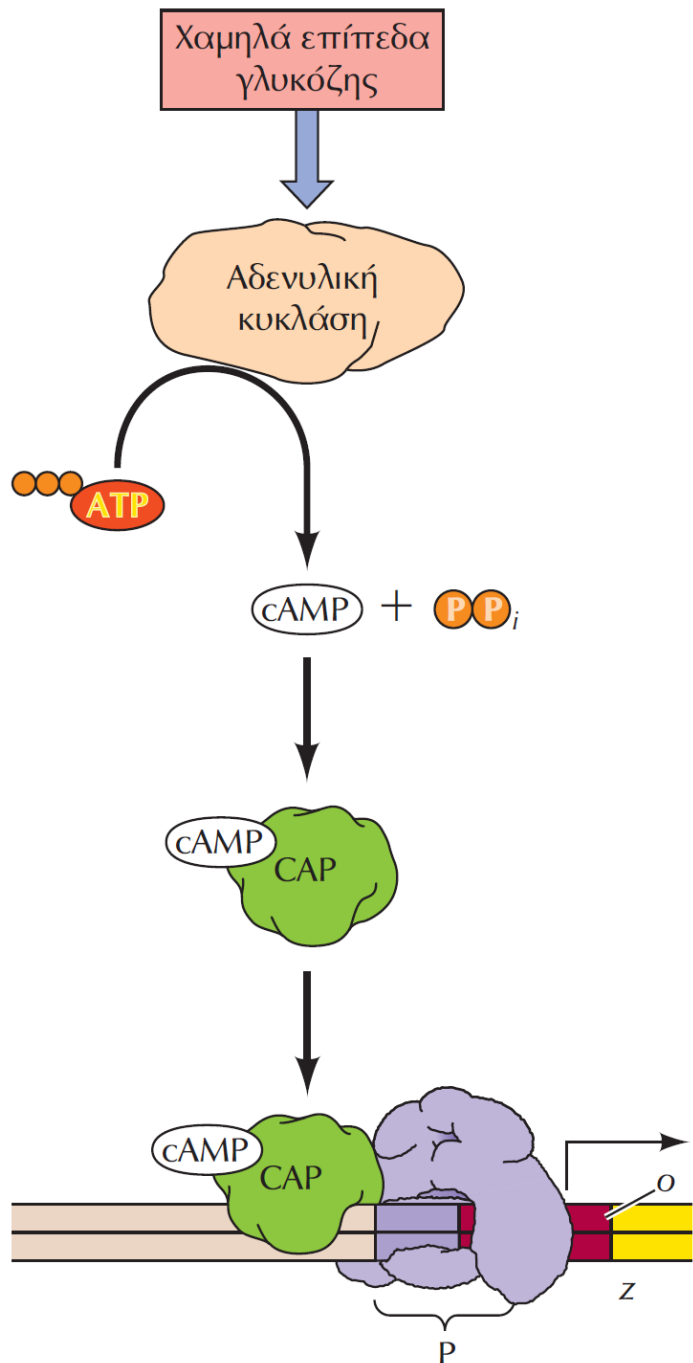
Το γονίδιο *i* κωδικοποιεί έναν **καταστολέα** ο οποίος, όταν δεν υπάρχει λακτόζη (επάνω τμήμα της εικόνας), προσδένεται στον **χειριστή** (*o*, 20 bp) και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να μεταγράψει τα τρία δομικά γονίδια του οπερονίου (*z*: β-γαλακτοζιδάση, *y*: περμεάση και *a*: τρανσακετυλάση). Όταν υπάρχει λακτόζη (κάτω τμήμα της εικόνας), αυτή προσδένεται στον καταστολέα και τον εμποδίζει να προσδεθεί στον χειριστή, με αποτέλεσμα την επαγωγή της έκφρασης του οπερονίου. **P = υποκινητής**, Pol = πολυμεράση του RNA.

Ο έλεγχος της μεταγραφής επιτυγχάνεται μέσω της αλληλεπίδρασης πρωτεϊνών με χαρακτηριστικές ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA.

## **Ρύθμιση της μεταγραφής του DNA**

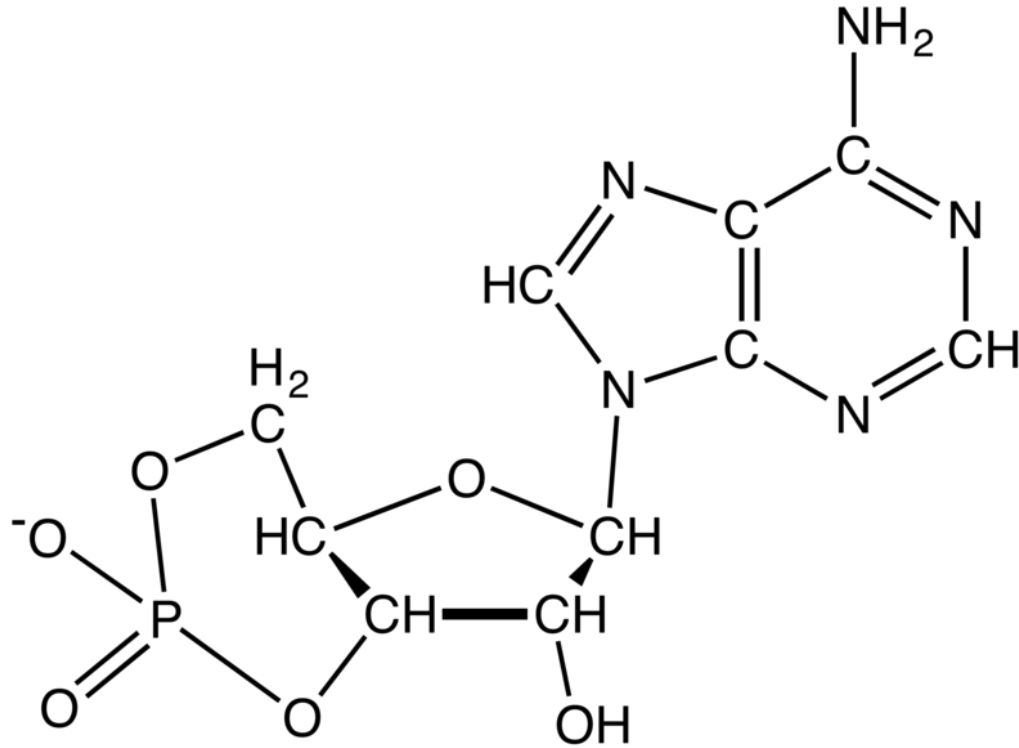
*cis*-δραστικά στοιχεία: επηρεάζουν την έκφραση συνδεδεμένων γονιδίων, πχ ο χειριστής.

*trans*-δραστικοί παράγοντες: επηρεάζουν την έκφραση ασύνδετων γονιδίων, πχ ο καταστολέας.



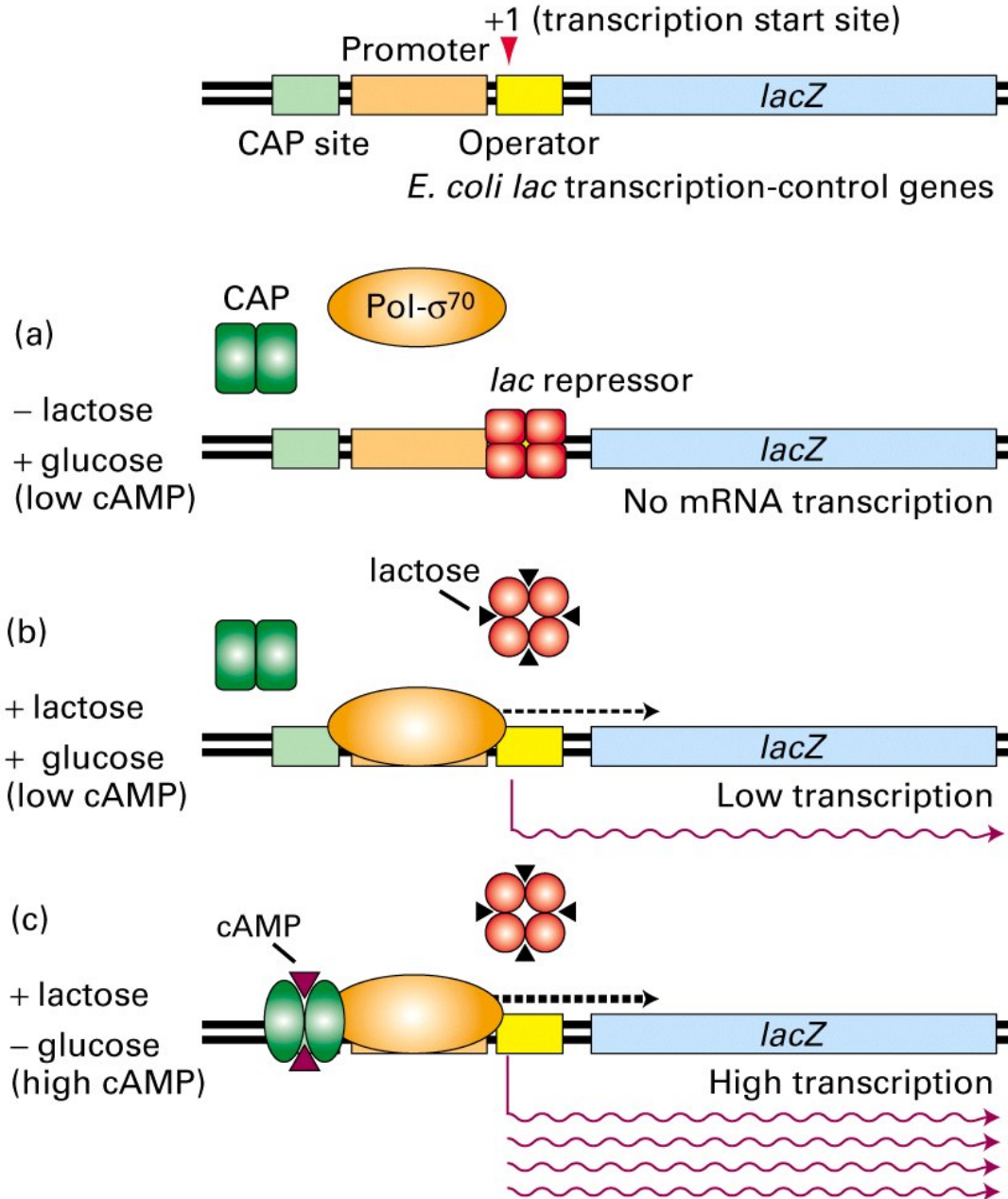
## ΕΙΚΟΝΑ 7.9 Θετική ρύθμιση του οπερονίου *lac* από την απουσία γλυκόζης.

Όταν τα επίπεδα γλυκόζης είναι μειωμένα, ενεργοποιείται η αδενυλική κυκλάση, η οποία μετατρέπει το ATP σε κυκλικό AMP (cAMP). Το cAMP προσδένεται στον **ενεργοποιητή καταβολικών γονιδίων (CAP)** και διεγείρει την πρόσδεσή του σε ρυθμιστικές αλληλουχίες διαφόρων οπερονίων. Τα οπερόνια που ενεργοποιούνται από τον CAP κωδικοποιούν ένζυμα του μεταβολισμού άλλων, πέραν της γλυκόζης, εναλλακτικών σακχάρων, για παράδειγμα της λακτόζης. Η πρωτεΐνη **CAP** διευκολύνει την πρόσδεση της RNA πολυμεράσης στον υποκινητή μέσω αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσει με την υπομονάδα α του ενζύμου.



**cAMP**

# Μεταγραφή του οπερονίου Lac παρουσία/απουσία γλυκόζης



## 7.2. Η μεταγραφή των ευκαρυωτικών οργανισμών

## 7.2. Μεταγραφή των ευκαρυωτικών οργανισμών

### Γενικά χαρακτηριστικά

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

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

## Ευκαρυωτικές του RNA πολυμεράσες και κατηγορίες γονιδίων που μεταγράφονται από αυτές

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

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



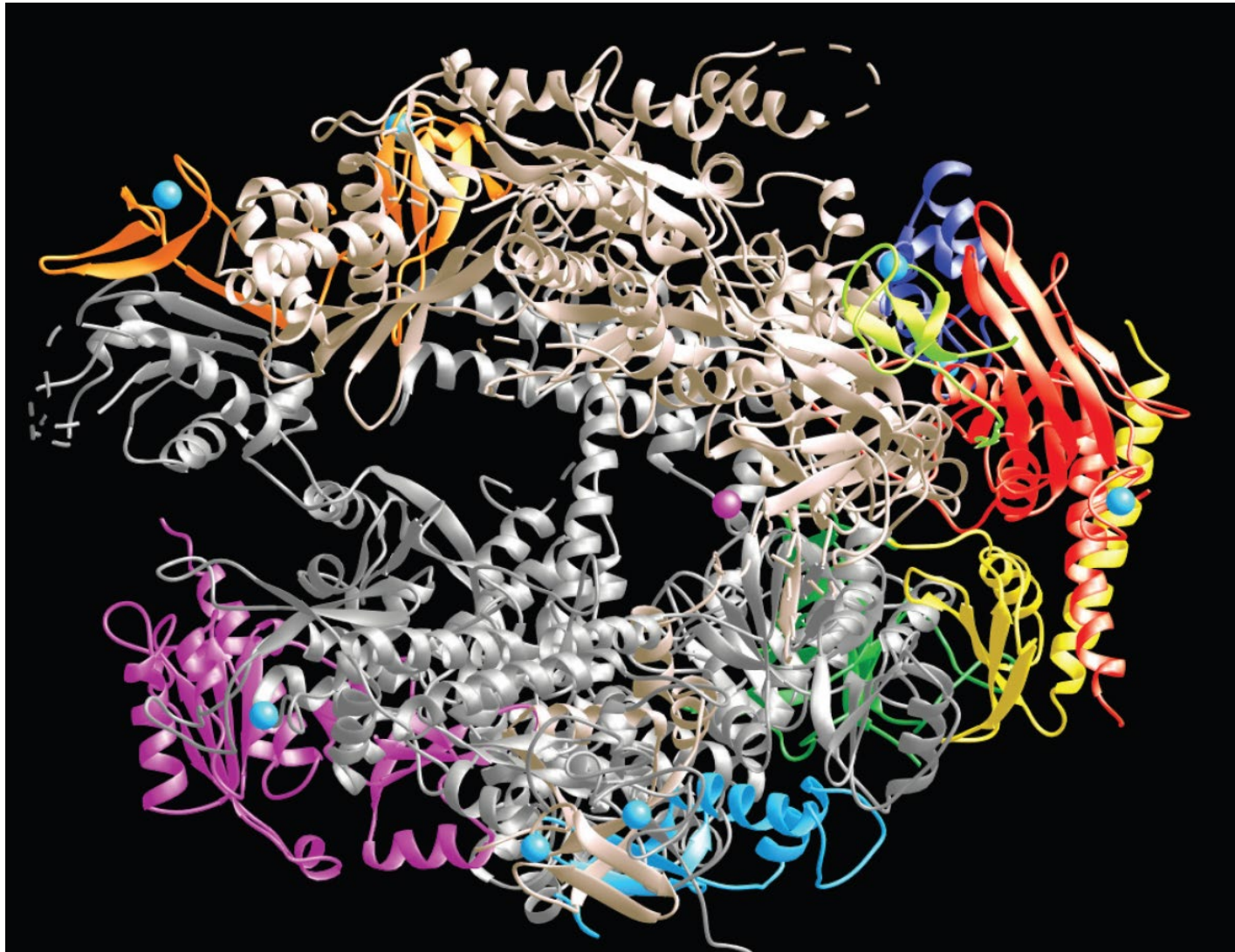
# Ευκαρυωτικές πολυμεράσες του RNA

3 (+2 μιτοχόνδρια-χλωροπλάστες) τύποι.

12-17 υπομονάδες.

Εννέα εξελικτικά συντηρημένες υπομονάδες, πέντε από τις οποίες είναι όμοιες με τις  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  και  $\omega$  της βακτηριακής.

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



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

# Η ευκαρυωτική μεταγραφή από DNA σε RNA

## Γενικά χαρακτηριστικά

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

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

ΜΠ : Περίπου 10 % των ανθρωπίνων γονιδίων.

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

# Μεταγραφικοί παράγοντες, γενικά χαρακτηριστικά

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

**Ειδικοί** που συνδέονται σε ρυθμιστικές αλληλουχίες συγκεκριμένων γονιδίων.

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

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

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

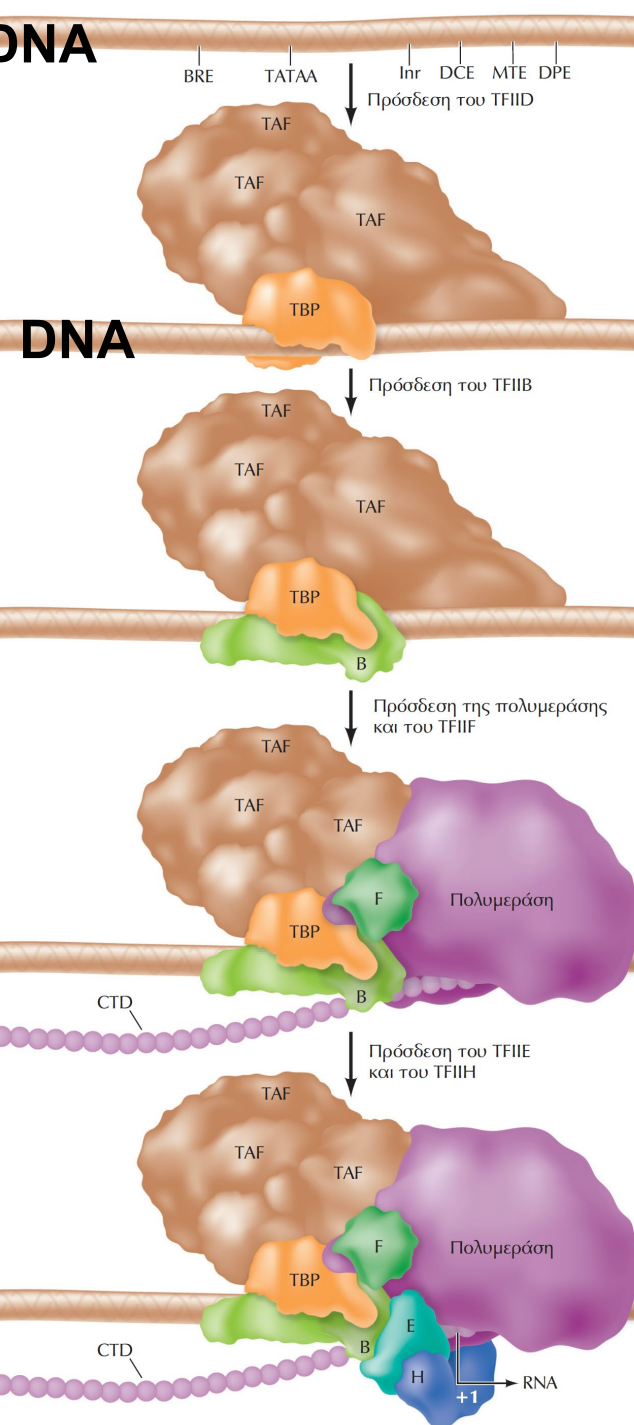
## 7.2.1. Έναρξη της μεταγραφής- η του RNA πολII

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

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

Το πρώτο βήμα για τη μεταγραφή είναι η πρόσδεση του **TFIID** στο πλαίσιο TATA. Ο **TFIID** αποτελείται από διαφορετικές υπομονάδες (TBP, TAF). Ακολουθεί η πρόσδεση και άλλων παραγόντων (Εικ. 7.11) μέχρι και τη δέσμευση της του RNA πολ II (**σχηματισμός προεναρκτήριου συμπλόκου**).

Όταν δημιουργηθεί το προεναρκτήριο σύμπλοκο, **ακολουθεί φωσφορυλίωση των CTD της RNA πολ II και αρχίζει η μεταγραφή.**



### ΕΙΚ. 7.11 Ο σχηματισμός *in vitro* του προεναρκτήριου συμπλόκου της RNA πολ II. Αλληλεπίδραση με TF.

Οι υποκινητές της RNA πολυμεράσης II περιλαμβάνουν διάφορες ρυθμιστικές αλληλουχίες, όπως το πλαίσιο TATA (με πρότυπη αλληλουχία TATAA) 25-30 νουκλεοτίδια ανοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής, το στοιχείο αναγνώρισης του TFIIB (ή B), (BRE: 35 νουκλεοτίδια ανοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής), τον εναρκτή (Inr), ο οποίος περιβάλλει τη θέση έναρξης της μεταγραφής, καθώς και διάφορα στοιχεία τα οποία βρίσκονται καθοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής (τα DCE, MTE και DPE).

Ο σχηματισμός του μεταγραφικού συμπλόκου ξεκινά με την πρόσδεση του μεταγραφικού παράγοντα TFIID. Μια υπομονάδα του TFIID, η πρωτεΐνη πρόσδεσης στο TATA (TBP), προσδέεται στο πλαίσιο TATA. Άλλες υπομονάδες του TFIID, οι παράγοντες που συνδέονται με την TBP (TAF), προσδέονται στον εναρκτή, καθώς και στα στοιχεία που βρίσκονται καθοδικά της θέσης έναρξης της μεταγραφής. Κατόπιν, στρατολογείται ο TFIIB (B), ο οποίος προσδέεται στην TBP και στο στοιχείο BRE. Ακολουθεί η πρόσδεση της πολυμεράσης η οποία βρίσκεται ήδη συνδεδεμένη με τον TFIIF (F). Ο σχηματισμός του προεναρκτήριου συμπλόκου ολοκληρώνεται με την προσθήκη του TFIIE (E) και του TFIIH (H).

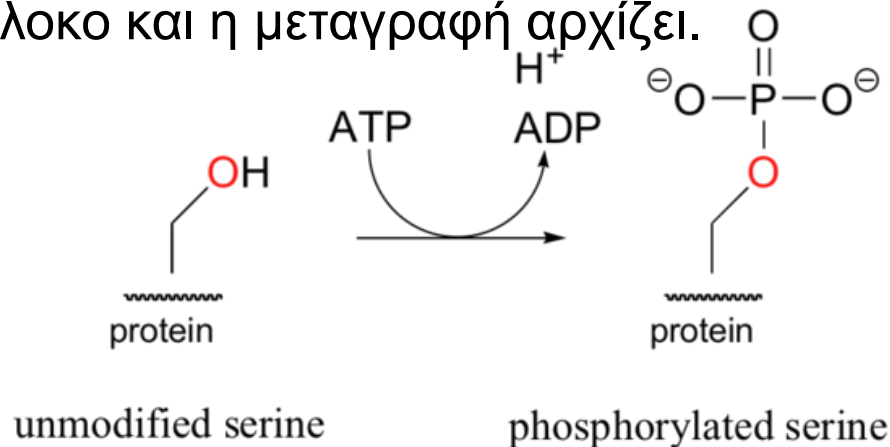
# Η ευκαρυωτική μεταγραφή από DNA σε RNA *in vitro* (συνέχεια)

Ο TFIID αποτελείται από πολλές υπομονάδες όπως η TBP και άλλα 14 πολυπεπτίδια (TAF). Οι TAF προσδένονται στα DPE, DCE, MTE (αλληλουχίες DNA).

Την πρόσδεση του TFIID ακολουθεί η πρόσδεση του TFIIIB που αλληλεπιδρά με την TBP και το BRE. Η RNA πολ II συνδέεται με τον TFIIIF (RNA πολII-TFIIIF) και το σύμπλοκο με τον TFIID-TBP. Ακολουθούν οι TFIIIE και TFIIH.

Ο TFIIH έχει δύο υπομονάδες-ελικάσες (XPB και XPD) που ξετυλίγουν το DNA γύρω από την περιοχή έναρξης (διόρθωση με εκτομή νουκλεοτιδίου). Μια άλλη υπομονάδα του TFIIH έχει δράση κινάσης και **φωσφορυλιώνει** την καρβόξυ περιοχή (CTD: 52 επαναλήψεις 7 αμινοξέων που περιέχουν Ser) της μεγαλύτερης υπομονάδας της RNA πολII. Η του RNA πολII απελευθερώνεται από το προεναρκτήριο σύμπλοκο και η μεταγραφή αρχίζει.

Ενεργότητα κινάσης  
και φωσφορυλίωση





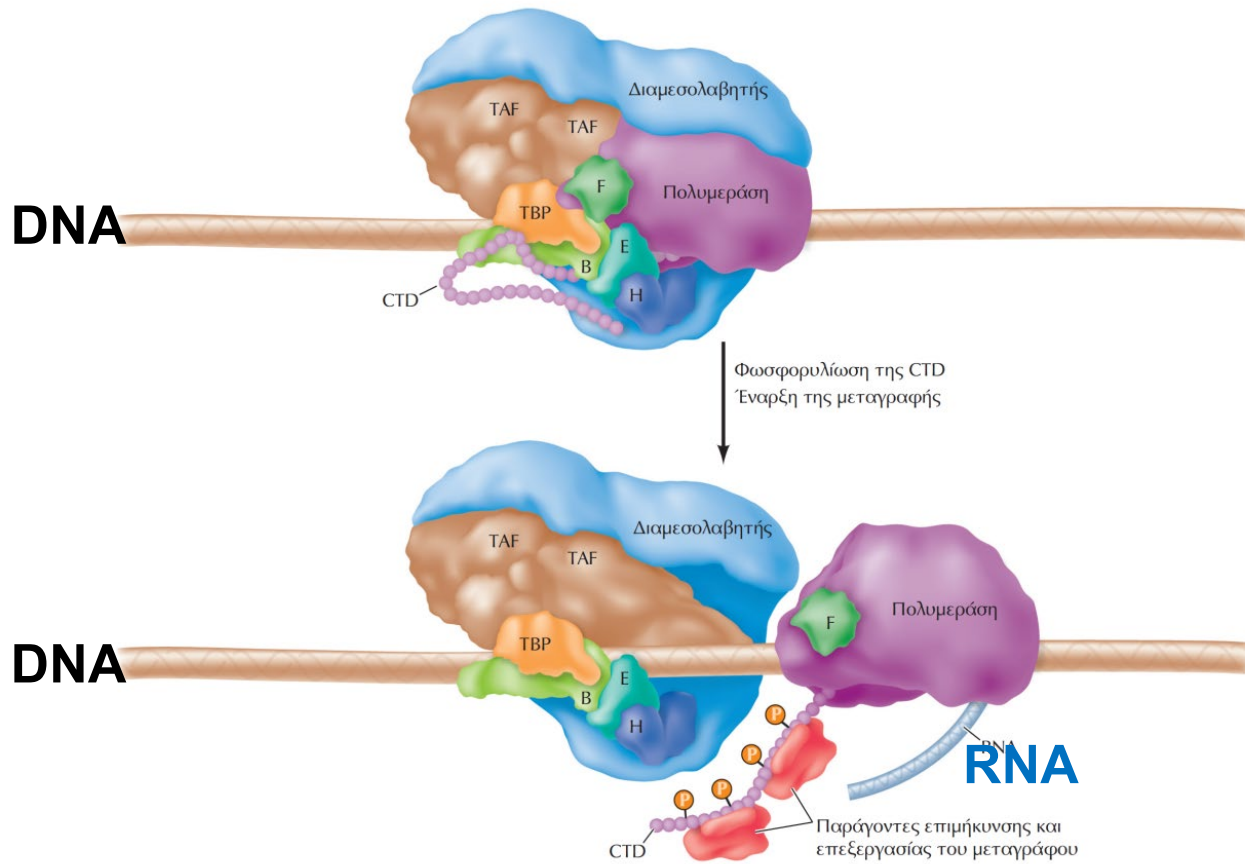
# Η ευκαρυωτική μεταγραφή από DNA σε RNA *in vivo*

Εδώ χρειάζεται το μόριο **διαμεσολαβητής** το οποίο αποτελείται από πλέον των 20 υπομονάδων και αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες και την RNA πολ II.

Ο διαμεσολαβητής ενεργοποιεί την έναρξη της μεταγραφής

Συνδέει **γενικούς** μεταγραφικούς παράγοντες με **ειδικούς** για κάθε γονίδιο.

Οι πρωτεΐνες του διαμεσολαβητού αποδεσμεύονται από την RNA πολ II μετά απο το σχηματισμό του προεναρκτηρίου συμπλόκου και τη φωσφορυλίωση του CTD της RNA πολ II.



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

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

# Η του RNA πολ I μεταγράφει τα γονίδια του ριβοσωμικού RNA

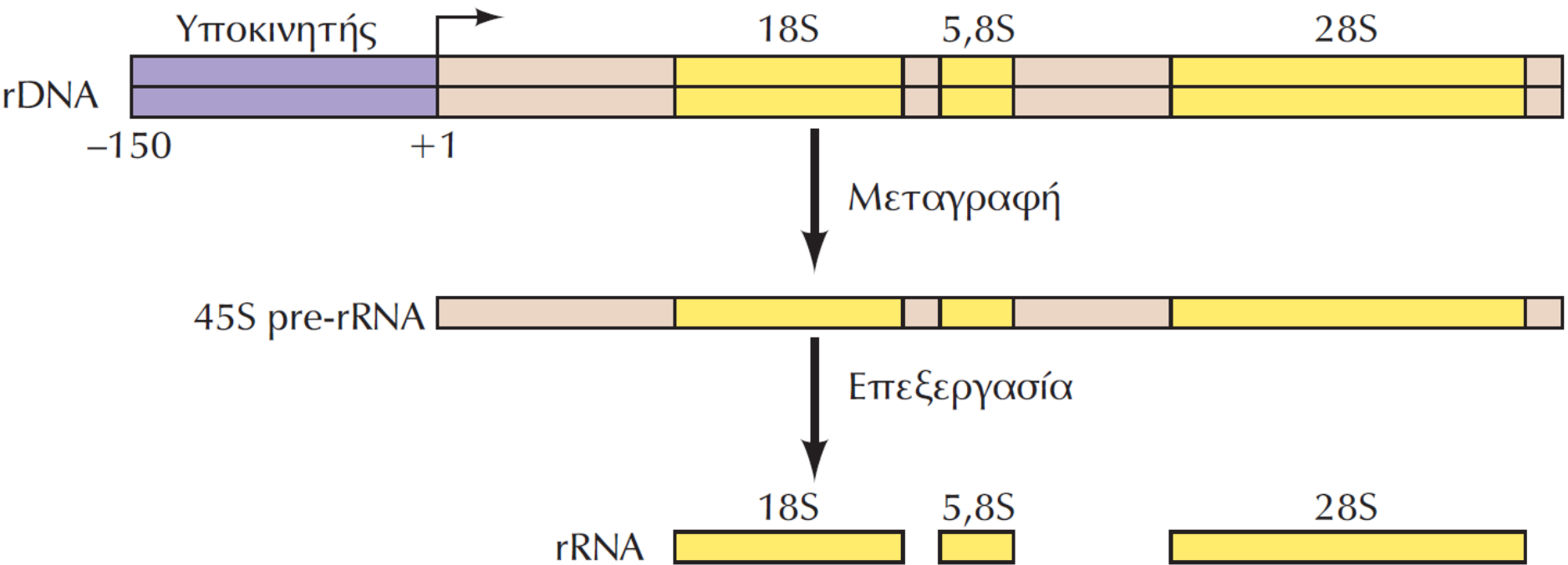
Ο υποκινητής των γονιδίων του rRNA εκτείνεται ως τις -150 bp.

Αναγνωρίζεται από **δύο** μεταγραφικούς παράγοντες:

- i. Ανοδικός παράγων πρόσδεσης (UBF).
- ii. Παράγων επιλεκτικότητας 1 (SL1): 4 υπομονάδες, μία η TBP (Δεν υπάρχει πλαίσιο TATA, η TBP συνδέεται με τις άλλες υπομονάδες του SL1).

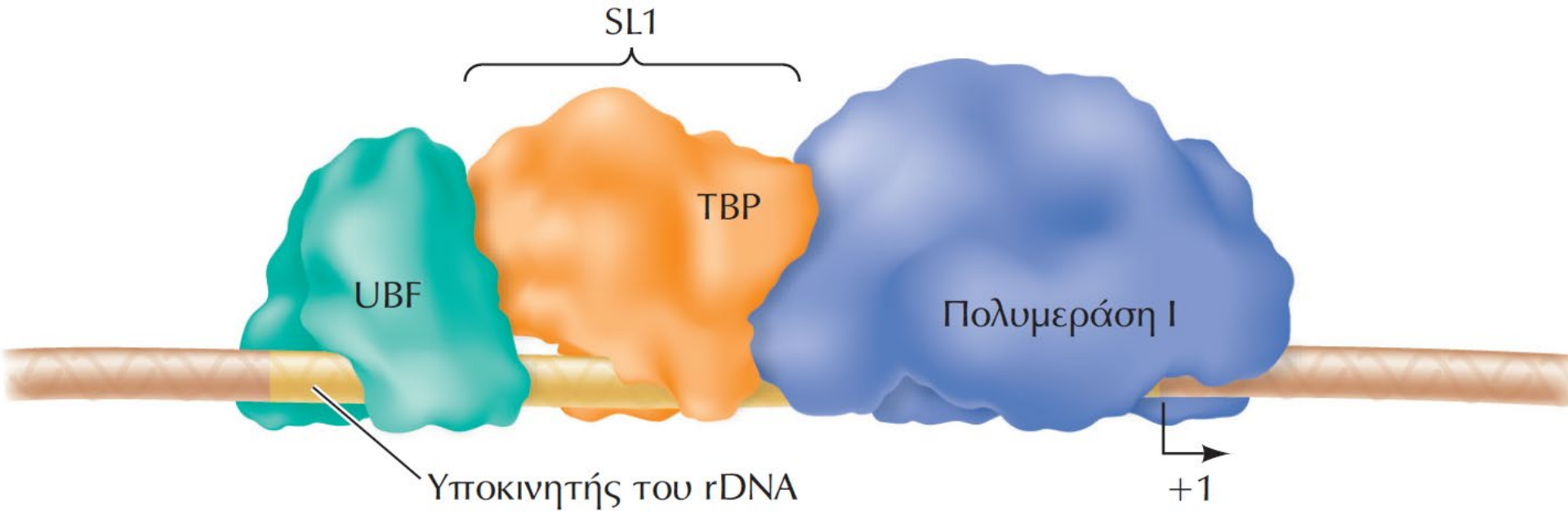
Αφού αυτοί προσδεθούν συνεργειακά στον υποκινητή, δεσμεύεται και η RNA πολ I.

# Η του RNA πολ I μεταγράφει τα γονίδια του ριβοσωμικού RNA



**ΕΙΚΟΝΑ 7.14 Τα γονίδια του ριβοσωμικού RNA.**

Το ριβοσωμικό DNA (rDNA) μεταγράφεται σε ένα μεγάλο πρόδρομο μόριο RNA (το 45S prerRNA), από το οποίο στη συνέχεια αποκόπτονται τα 28S, 18S και 5,8S rRNA.



### ΕΙΚΟΝΑ 7.15 Η έναρξη της μεταγραφής του rDNA.

Δύο μεταγραφικοί παράγοντες, ο UBF και ο SL1, συνδέονται συνεργειακά στον **υποκινητή του rDNA** και στρατολογούν την RNA πολυμεράση I, προκειμένου να σχηματιστεί το σύμπλοκο έναρξης. Μια **υπομονάδα του SL1** είναι η πρωτεΐνη πρόσδεσης στο TATA (TBP).

# Μεταγραφή από την του RNA πολ III

Η RNA πολ III μεταγράφει τα γονίδια των 5S rRNA, tRNA, snRNA, scRNA

Τρεις διαφορετικοί υποκινητές. Για τα 5S rRNA και tRNA ο υποκινητής βρίσκεται **στο εσωτερικό** της μεταγραφόμενης αλληλουχίας.

1. Η σύνθεση του 5S rRNA ξεκινά με την πρόσδεση του TFIIIA στον υποκινητή του γονιδίου του 5S rRNA. Ακολουθεί διαδοχική πρόσδεση των TFIIIC, TFIIIB και της RNA πολ III.

2. Η σύνθεση του tRNA ξεκινά με την πρόσδεση των TFIIIC, TFIIIB και της RNA πολ III (δεν περιέχεται η ακολουθία που αναγνωρίζει ο TFIIIA).

3. Οι υποκινητές των snRNA βρίσκονται ανοδικά των γονιδίων snRNA και περιέχουν πλαίσιο TATA και περιοχή πρόσδεσης του μεταγραφικού παράγοντα SNAP. Οι SNAP και TFIIIB προσδένονται συνεργειακά. Πρώτα προσδένεται η TBP στο TATA ακολουθεί ο TFIIIB ο οποίος προσδένει την RNA πολ III στον SNAP.

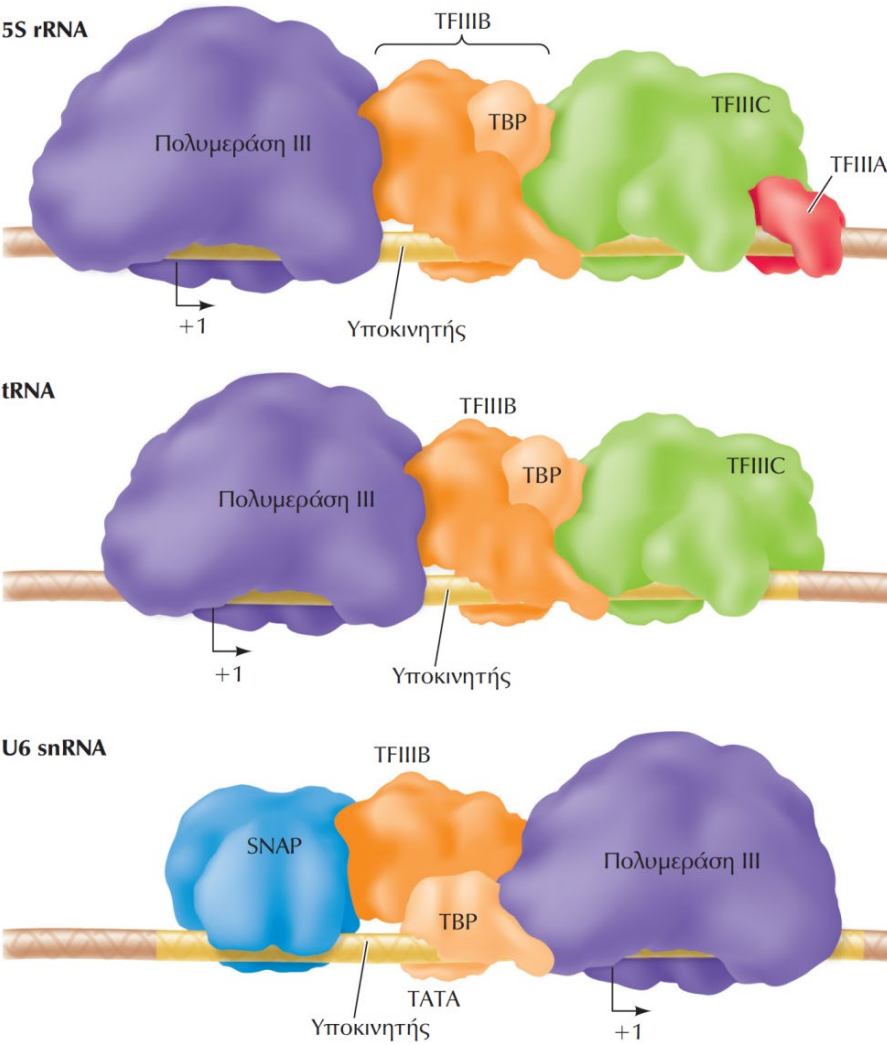
## ΕΙΚΟΝΑ 7.16 Η μεταγραφή από την RNA

### πολυμεράση III. Υπάρχουν τρεις τύποι

**υποκινητών** που χρησιμοποιούν την του RNA πολ III. Οι υποκινητές των γονιδίων του 5S rRNA και των tRNA βρίσκονται **καθοδικά** από τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Η μεταγραφή του γονιδίου του 5S rRNA ξεκινά με την πρόσδεση του TFIIIA, η οποία ακολουθείται από την πρόσδεση του TFIIIC, του TFIIIB και της RNA πολIII.

Οι υποκινητές των γονιδίων των tRNA δε φέρουν τη θέση πρόσδεσης για τον TFIIIA. Η μεταγραφή τους ξεκινάει με την πρόσδεση του TFIIIC, η οποία ακολουθείται από την πρόσδεση του TFIIIB και της RNA πολIII.

Ο υποκινητής του γονιδίου του U6 snRNA βρίσκεται **ανοδικά** της θέσης έναρξης της μεταγραφής και φέρει ένα πλαίσιο TATA, που αναγνωρίζεται από την πρωτεΐνη πρόσδεσης στο TATA (TBP) η οποία αποτελεί υπομονάδα του TFIIIB. Φέρει επίσης μια θέση πρόσδεσης ενός άλλου μεταγραφικού παράγοντα, του SNAP. Οι TFIIIB και SNAP προσδέονται συνεργειακά σε αυτόν τον υποκινητή.



## 7.2.2. Ρύθμιση της μεταγραφής στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Γενικά χαρακτηριστικά

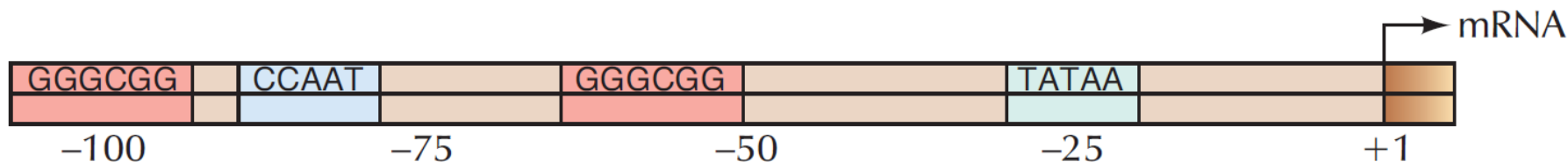
Πολύ πιο σύνθετη απ' ό τι στους προκαρυωτικούς.

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

### Στοιχεία DNA

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





**ΕΙΚΟΝΑ 7.18 Ο ευκαρυωτικός υποκινητής** της κινάσης της θυμιδίνης του HSV

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

## Ενισχυτές της μεταγραφής

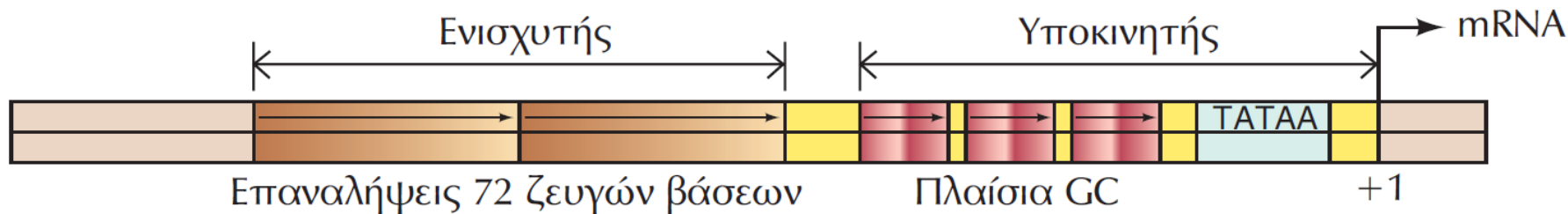
**4.** Οι **ενισχυτές** είναι ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA που μπορεί να απέχουν 50 kb από τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Μπορεί να υπάρχουν σε πολλά αντίγραφα. Η δραστηρότητά τους δεν εξαρτάται από την απόσταση από το γονίδιο στόχο ούτε από τον προσανατολισμό τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορούν να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

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

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

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

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



## ΕΙΚΟΝΑ 7.19 ο Ο ευκαρυωτικός υποκινητής του SV40.

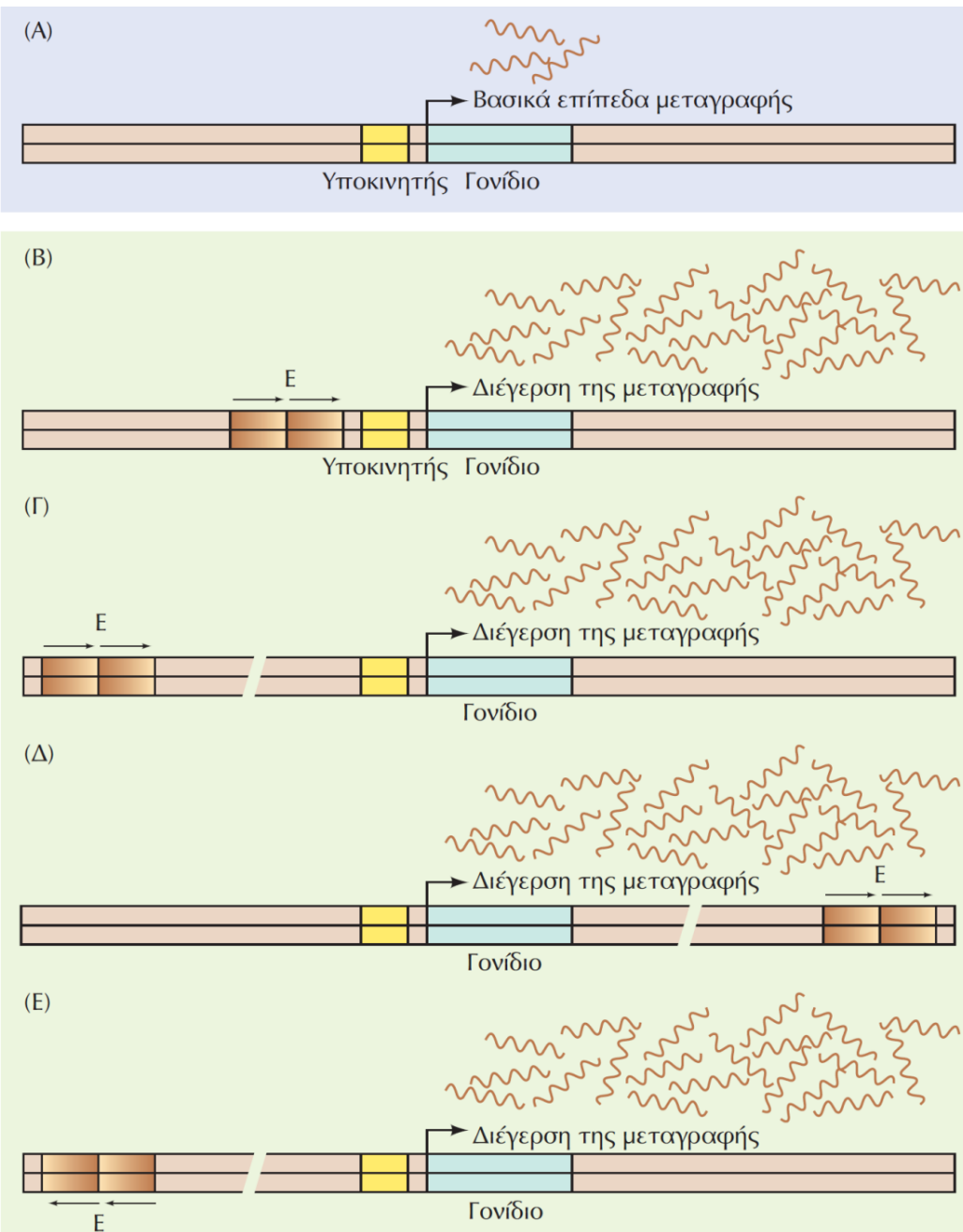
Ο υποκινητής του ιού SV40 που είναι υπεύθυνος για την έκφραση των πρώιμων γονιδίων φέρει ένα πλαίσιο TATA και έξι πλαίσια GC τα οποία βρίσκονται ανά δύο σε μία αλληλουχία που επαναλαμβάνεται τρεις φορές. Προκειμένου τα επίπεδα της μεταγραφής να είναι φυσιολογικά, χρειάζεται και η παρουσία ενός **ανοδικού ενισχυτή**, ο οποίος αποτελείται από δύο επαναλήψεις των 72 ζευγών βάσεων.

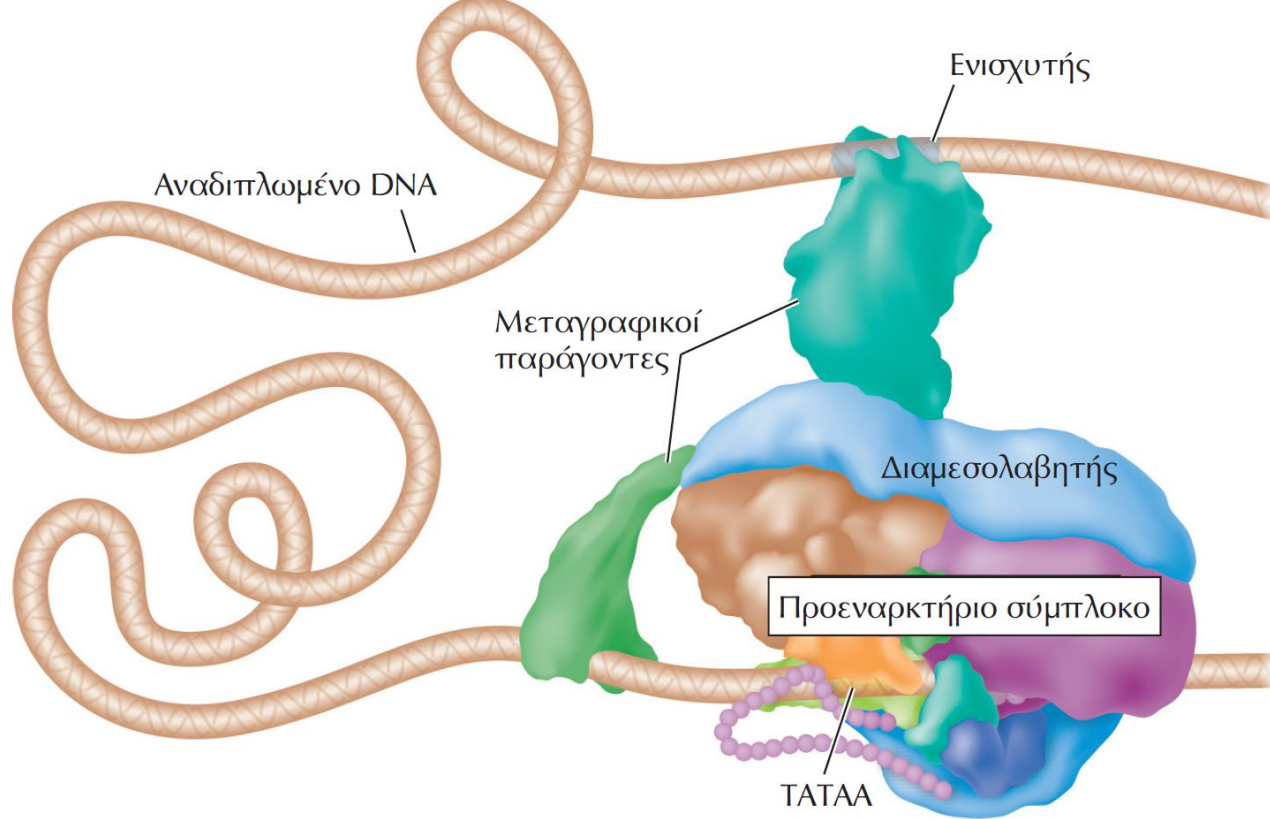
## ΕΙΚΟΝΑ 7.20 Η λειτουργία των ενισχυτών.

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

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

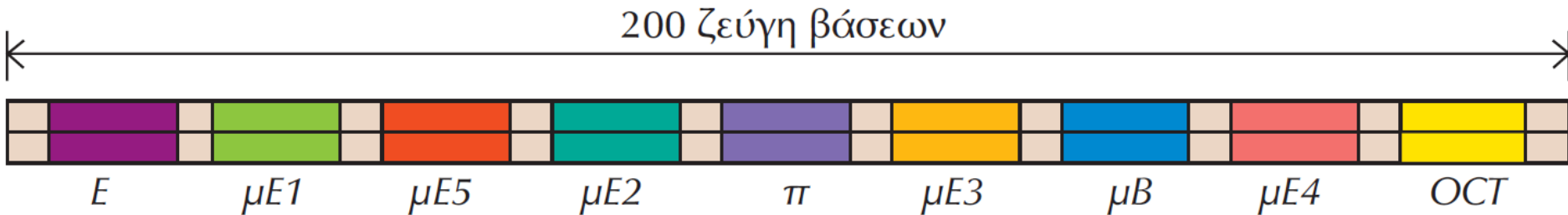
Επίσης, οι ενισχυτές είναι ενεργοί ανεξάρτητα από τον προσανατολισμό τους σε σχέση με τη θέση έναρξης της μεταγραφής (Ε).





### **ΕΙΚΟΝΑ 7.21 Απομακρυσμένοι ενισχυτές και αναδίπλωση του DNA.**

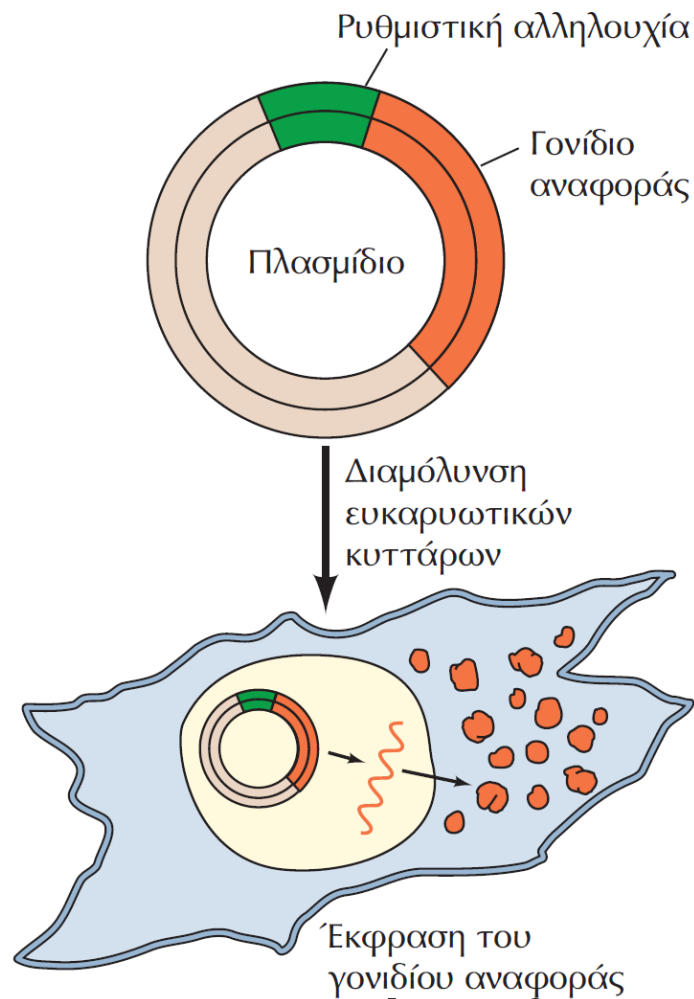
Οι μεταγραφικοί παράγοντες που προσδένονται σε απομακρυσμένους ενισχυτές είναι δυνατόν, μέσω της αναδίπλωσης του DNA (του σχηματισμού βρόχου), να αλληλεπιδράσουν με το σύμπλοκο RNA πολII II/Διαμεσολαβητή που βρίσκεται στρατολογημένο στην περιοχή του υποκινητή. Επομένως, σε επίπεδο μηχανισμού δεν υπάρχει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



## ΕΙΚΟΝΑ 7.22 Ο ενισχυτής της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών.

Ο ενισχυτής της βαριάς αλυσίδας των ανοσοσφαιρινών εκτείνεται σε περίπου 200 ζεύγη βάσεων και φέρει εννέα ρυθμιστικές αλληλουχίες (*E*, *μE1-5*, *π*, *μB* και *OCT*).

Οι ρυθμιστικές αλληλουχίες του συγκεκριμένου ενισχυτή μεταγράφονται μόνο στα λεμφοκύτταρα Β.



### ΕΙΚΟΝΑ 7.17 Ταυτοποίηση ευκαρυωτικών ρυθμιστικών αλληλουχιών.

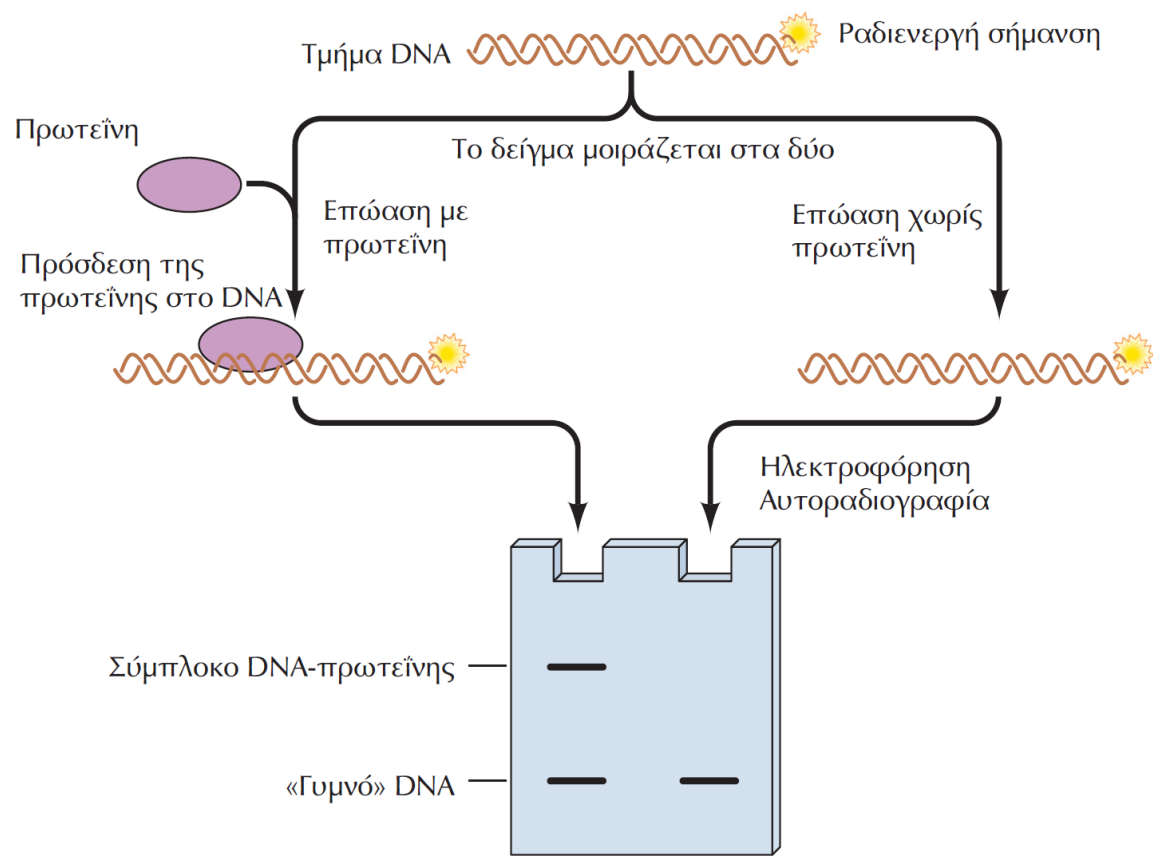
Η εν δυνάμει ρυθμιστική αλληλουχία ενός κλωνοποιημένου ευκαρυωτικού γονιδίου τοποθετείται σε ένα πλασμίδιο ανοδικά κάποιου γονιδίου αναφοράς το οποίο κωδικοποιεί ένα εύκολα ανιχνεύσιμο προϊόν. Κατόπιν, το πλασμίδιο διαμολύνει μια καλλιέργεια ευκαρυωτικών κυττάρων. Αν η υπό έλεγχο αλληλουχία περιλαμβάνει τη θέση αναγνώρισης ενός ενεργοποιητή της μεταγραφής, θα πρέπει στα διαμολυσμένα κύτταρα να ανιχνευτεί το προϊόν του γονιδίου αναφοράς.

## ΕΙΚΟΝΑ 7.23 Δέσμευση

### πρωτεΐνης σε συγκεκριμένη αλληλουχία DNA.

Μια ποσότητα του υπό έλεγχο τμήματος DNA ραδιοσημαίνεται και στη συνέχεια χωρίζεται στα δύο. Το ένα από τα δύο δείγματα επωάζεται με την υπό έλεγχο πρωτεΐνη. Κατόπιν, τα δύο δείγματα ηλεκτροφορούνται σε ένα πήκτωμα ακρυλαμιδίου που δεν είναι αποδιατακτικό και έτσι κατά την ηλεκτροφόρηση δε διασπώνται τα σύμπλοκα DNA-πρωτεΐνης.

Η πρόσδεση της πρωτεΐνης στο DNA γίνεται αντιληπτή από την παρουσία στο δείγμα που επωάστηκε με πρωτεΐνη μιας ζώνης η οποία κινείται βραδύτερα στο πήκτωμα σε σχέση με το «γυμνό» DNA. Η βραδύτερα κινούμενη ζώνη είναι το σύμπλοκο DNA-πρωτεΐνης. Τυπικά χρησιμοποιείται μεγάλη περίσσεια του ραδιοσημασμένου τμήματος DNA, με αποτέλεσμα, ακόμα και στο δείγμα όπου προστέθηκε η πρωτεΐνη, ένα μέρος του DNA να μη σχηματίζει σύμπλοκο με αυτή και να παραμένει «γυμνό».





## **7.2.2.1. Μεταγραφικοί ενεργοποιητές** (κατηγορία μεταγραφικών παραγόντων)

## A. Δομή και λειτουργία των ενεργοποιητών της μεταγραφής

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

### Δομές πρόσδεσης

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

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

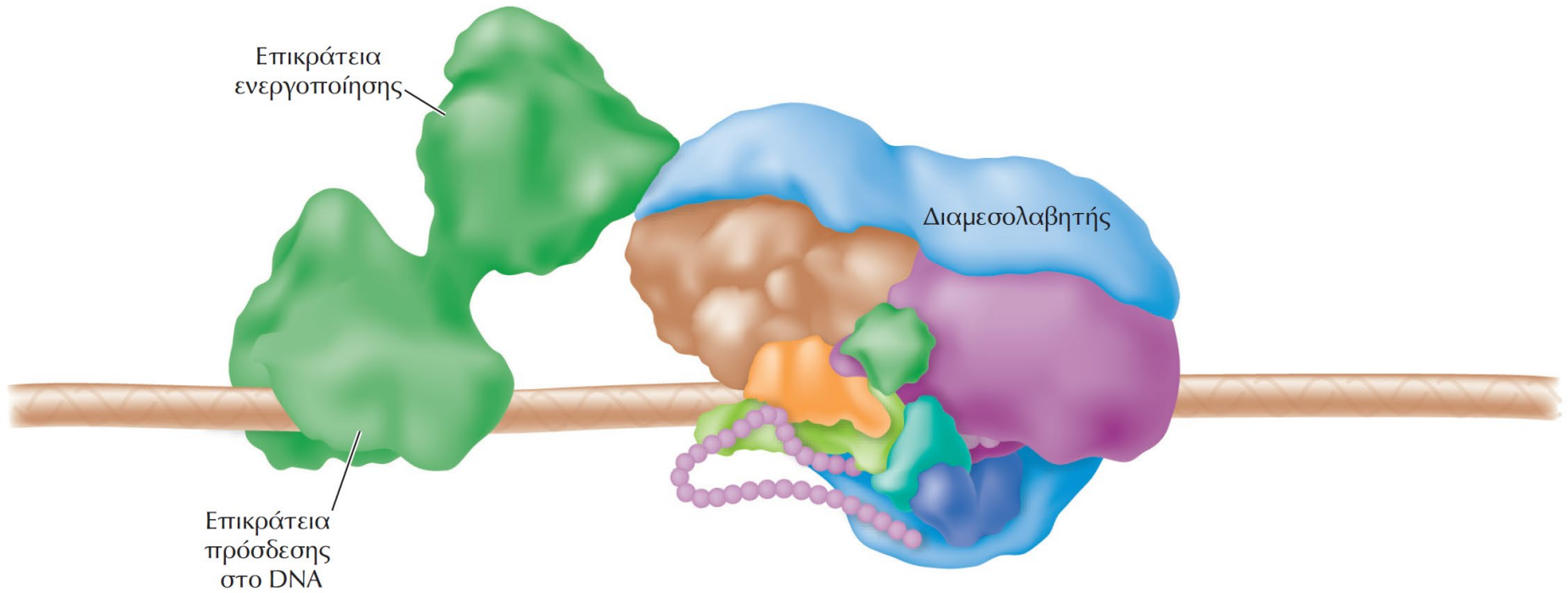
**Φερμουάρ λευκίνης** (Leucine zipper) και **έλικα-βρόχος-έλικα** (helix-loop-helix), Διμερή και ετεροδιμερή, ρύθμιση ιστοειδικής έκφρασης γονιδίων.

### Δομές ενεργοποίησης

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

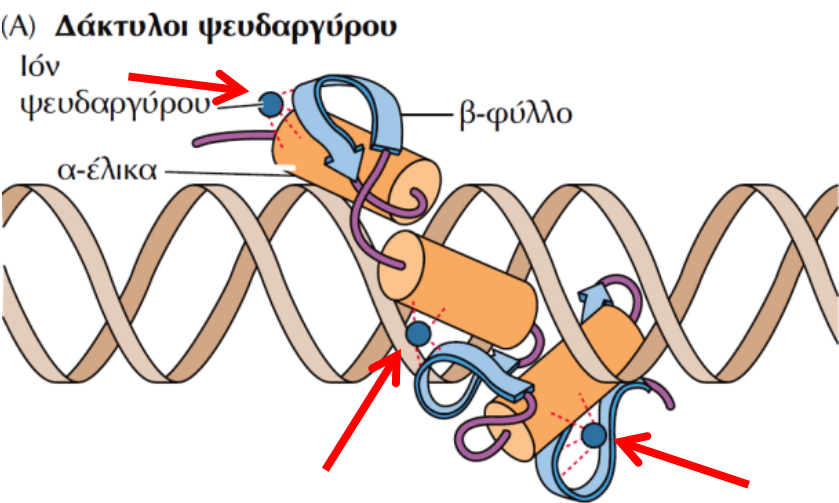
(i) Αλληλεπίδραση με το διαμεσολαβητή ή άλλους γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες (TFIIB, TFIID) για το σχηματισμό του μεταγραφικού συμπλόκου στον υποκινητή.

(ii) Συνενεργοποιητές: τροποποίηση δομής της χρωματίνης.

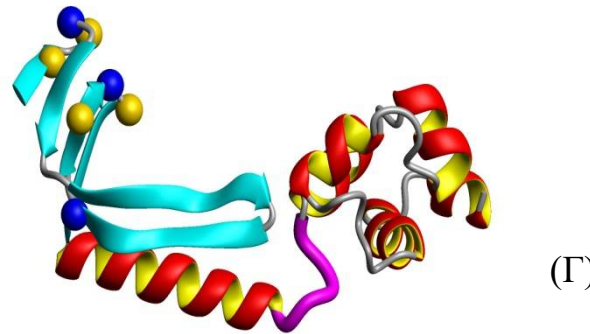
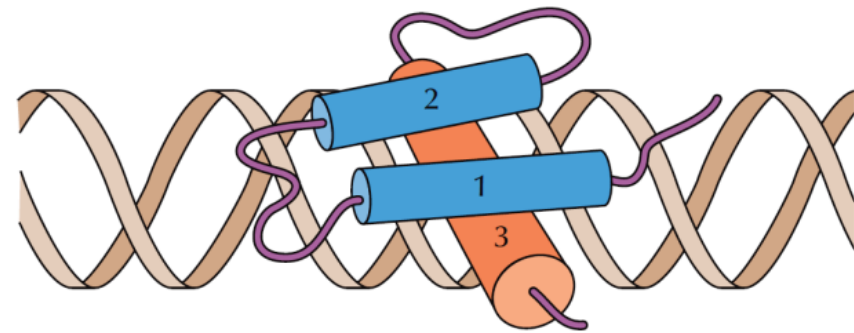


## ΕΙΚΟΝΑ 7.27 Η δομή των μεταγραφικών ενεργοποιητών.

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



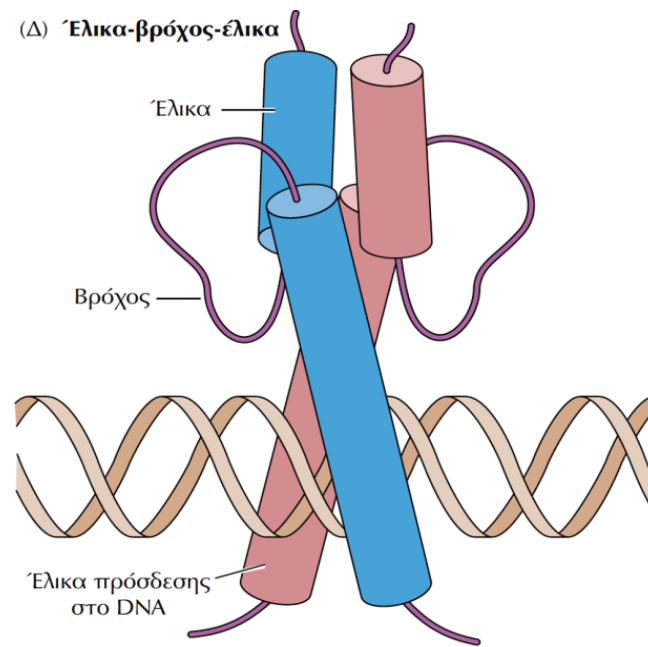
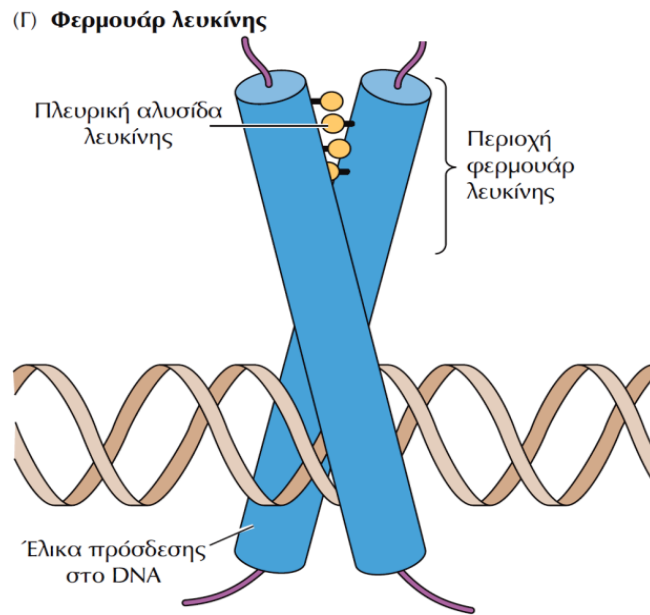
(B) Έλικά-στροφή-έλικα



## ΕΙΚΟΝΑ 7.28 Παραδείγματα επικρατειών πρόσδεσης στο DNA.

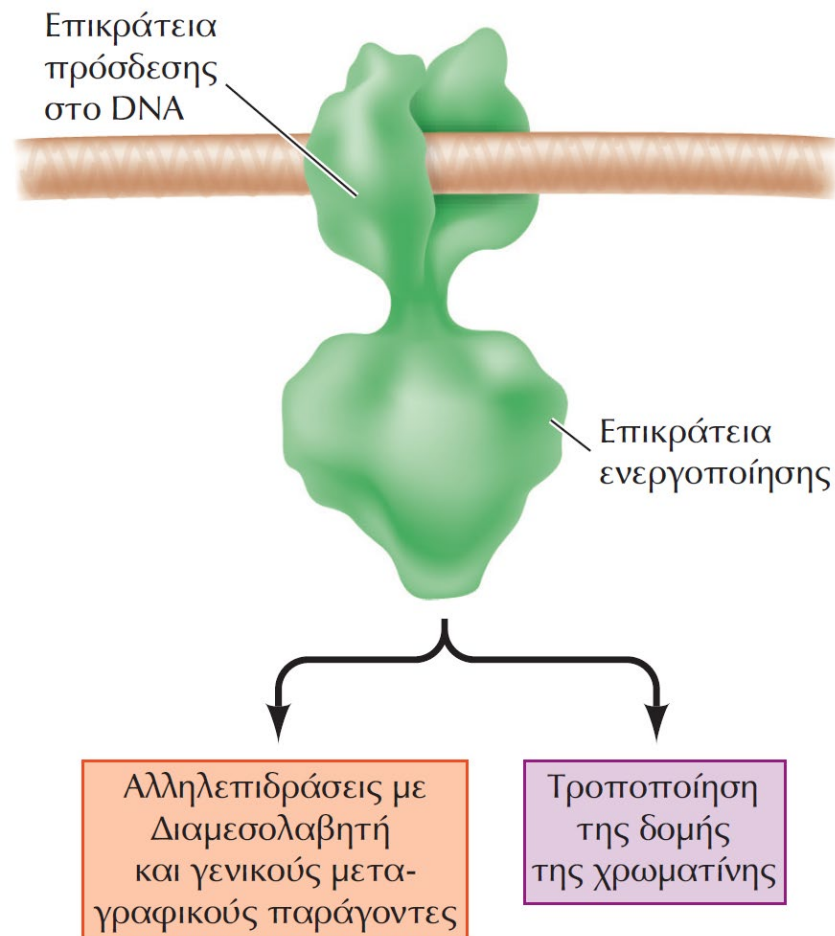
(A) Η επικράτεια δάκτυλος ψευδαργύρου αποτελείται από βρόχους στους οποίους συντονισμένα μια α-έλικα και ένα β-φύλλο προσδένουν ένα ΐόν ψευδαργύρου. (B) Η επικράτεια έλικά-στροφή-έλικα περιλαμβάνει τρεις (ή σε ορισμένες περιπτώσεις τέσσερις) ελικοειδείς περιοχές. Η έλικα 3 είναι αυτή που πραγματοποιεί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

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



## ΕΙΚΟΝΑ 7.28 Παραδείγματα επικρατειών πρόσδεσης στο DNA.

(Γ) Η επικράτεια φερμουάρ λευκίνης σχηματίζεται από δύο ανεξάρτητες πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συγκροτούν ένα διμερές. Ο διμερισμός επιτυγχάνεται χάρη στις αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται ανάμεσα στις υδρόφοβες πλευρικές ομάδες **καταλοίπων λευκίνης** οι οποίες εκτίθενται στη μία πλευρά μιας ελικοειδούς περιοχής που ονομάζεται φερμουάρ λευκίνης. Αμέσως μετά το φερμουάρ λευκίνης συναντάται μια έλικα πλούσια σε βασικά αμινοξέα, η οποία πραγματοποιεί τις επαφές με το DNA. (Δ) Η επικράτεια έλικα-βρόχος-έλικα είναι παρόμοια με την επικράτεια φερμουάρ λευκίνης, από την άποψη ότι η πρόσδεση στο DNA πραγματοποιείται από ένα διμερές. Ωστόσο, οι περιοχές που αλληλεπιδρούν για τον σχηματισμό του διμερούς αποτελούνται η καθεμία από δύο ελικοειδείς περιοχές οι οποίες διαχωρίζονται από έναν βρόχο.



### ΕΙΚΟΝΑ 7.30 Η λειτουργία των μεταγραφικών ενεργοποιητών.

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

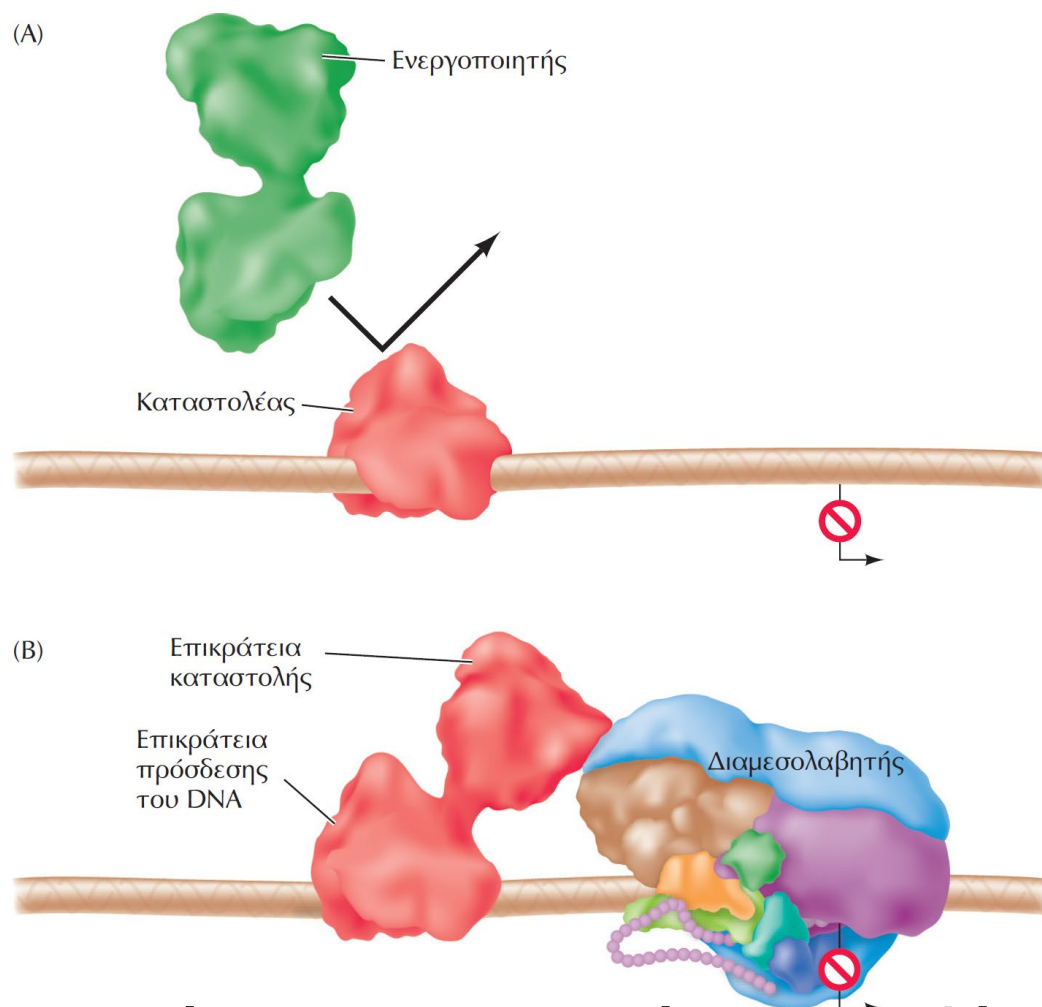
1) αλληλεπιδρούν με τον **Διαμεσολαβητή** και τους **γενικούς μεταγραφικούς παράγοντες** προκειμένου να διευκολύνουν τη συγκρότηση του μεταγραφικού συμπλόκου και

2) αλληλεπιδρούν με **συνενεργοποιητές** οι οποίοι διευκολύνουν τη μεταγραφή τροποποιώντας τη δομή της χρωματίνης.

## 7.2.2.2. Μεταγραφικοί καταστολείς (επίσης Μεταγραφικοί Παράγοντες)

Πρόσδεση σε συγκεκριμένες θέσεις DNA  $\Rightarrow$  καταστολή της μεταγραφής.

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



### ΕΙΚΟΝΑ 7.31 Η λειτουργία των μεταγραφικών καταστολέων.

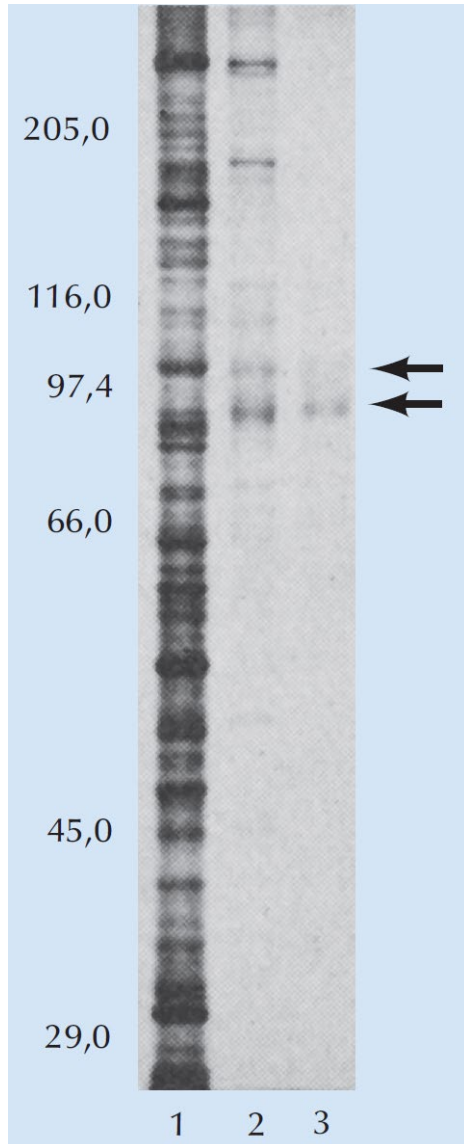
(A) Μερικοί καταστολείς εμποδίζουν την πρόσδεση ενεργοποιητών σε ρυθμιστικές αλληλουχίες.

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



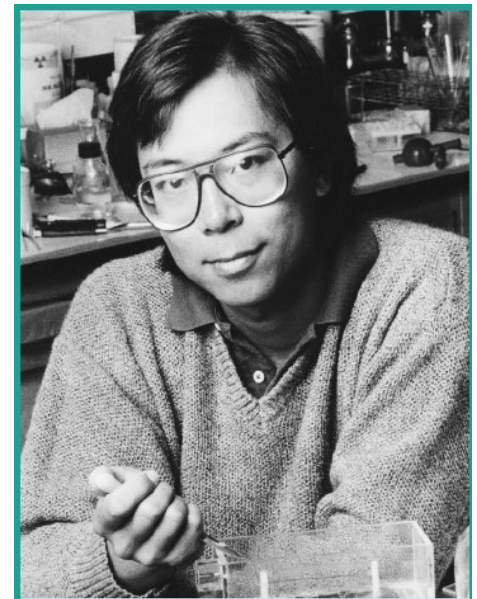
# ΠΕΙΡΑΜΑ-ΣΤΑΘΜΟΣ

## Η απομόνωση ενός μεταγραφικού παράγοντα



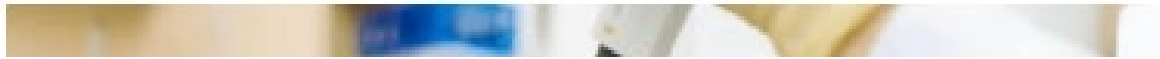
### Καθαρισμός του Sp1.

Ηλεκτροφόρηση σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου των πρωτεϊνών που περιέχονταν στο αρχικό πυρηνικό εκχύλισμα (διαδρομή 1) και των πρωτεϊνών που ανακτήθηκαν ύστερα από έναν ή δύο γύρους καθαρισμού με τη μέθοδο της **χρωματογραφίας συγγένειας με το DNA** (διαδρομές 2 και 3 αντίστοιχα). Αριστερά από το πήκτωμα υποδεικνύονται τα μεγέθη των ζωνών του μάρτυρα μοριακού βάρους που χρησιμοποιήθηκε. Τα βέλη στα δεξιά του πηκτώματος υποδεικνύουν τη θέση των δύο πολυπεπτιδίων από τα οποία συνίσταται ο Sp1.




Robert Tjian

**Κορωνοϊός: Ανακαλύφθηκε γονίδιο που πιθανώς διπλασιάζει τον κίνδυνο θανάτου**

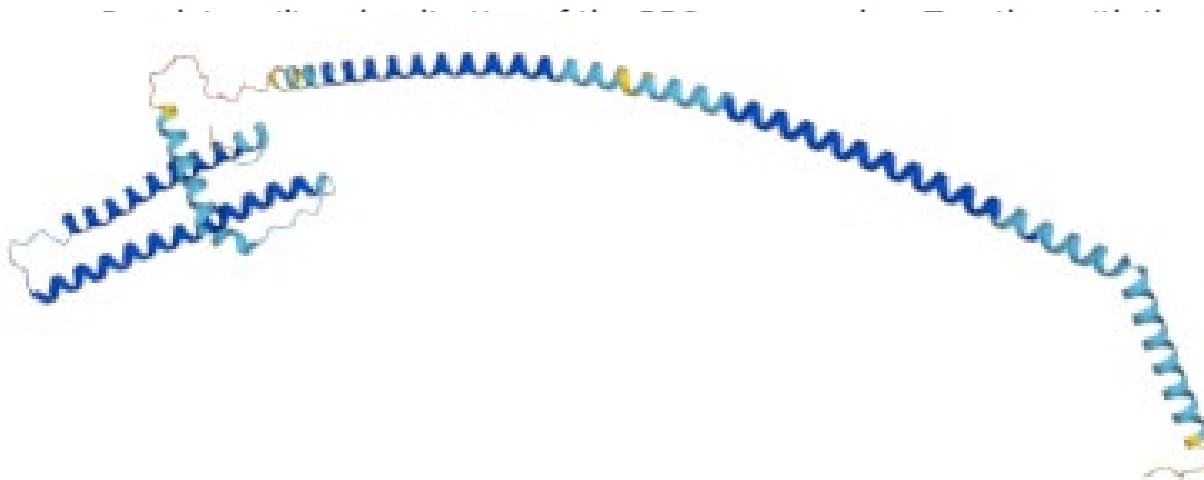


# UniProtKB - Q9NQ48 (LZTL1\_HUMAN)

Protein	<b>Leucine zipper transcription factor-like protein 1</b>
Gene	<b>LZTFL1</b>
Organism	<i>Homo sapiens (Human)</i>
Status	 <u>Reviewed</u> - Annotation score: ●●●●● - Experimental evidence at protein level

## Function

---



complex, controls  
relation. May play

## 7.3. Ρύθμιση της επιμήκυνσης

Η μεταγραφή ρυθμίζεται από το σχηματισμό του **προεναρκτηρίου συμπλόκου** και την **έναρξη**. Συχνά, η του RNA πολ. II ξεκινά τη μεταγραφή, αλλά σταματά μετά τον υποκινητή αφού έχει συνθέσει 50 nt μετά τη θέση έναρξης λόγω αρνητικών ρυθμιστικών παραγόντων:

-Αρνητικός παράγοντας επιμήκυνσης (NELF), παράγων ευαισθησίας DSIF.

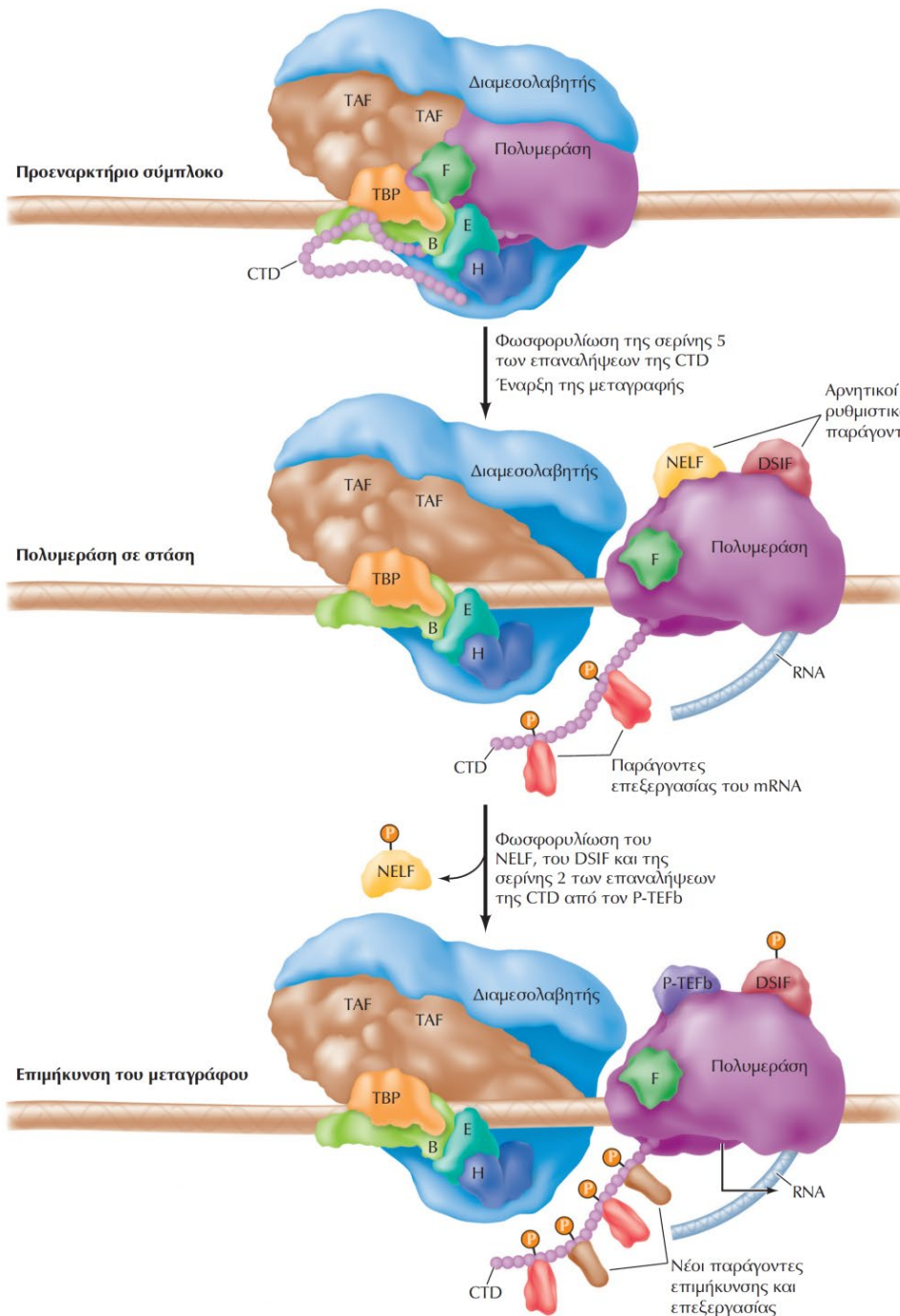
-Θετικοί παράγοντες επιμήκυνσης: Κυριότερος ο **θετικός παράγοντας επιμήκυνσης b (P-TEFb)**. Φωσφορυλιώνει τους NELF και DSIF και τη Ser<sup>2</sup> των CTD της του RNA πολ II ⇒ αλληλεπίδραση της του RNA πολ II με παράγοντες απαραίτητους για την επιμήκυνση του mRNA.

Ορισμένοι μεταγραφικοί ενεργοποιητές αλληλεπιδρούν με τον P-TEFb συμβάλλοντας στη μεταφορά του σε υποκινητές τους οποίους ρυθμίζουν.

Η μεταγραφική ρύθμιση στο επίπεδο της **επιμήκυνσης** του mRNA είναι εν πολλοίς άγνωστη.

## ΕΙΚΟΝΑ 7.32 Ρύθμιση της επιμήκυνσης του μεταγράφου.

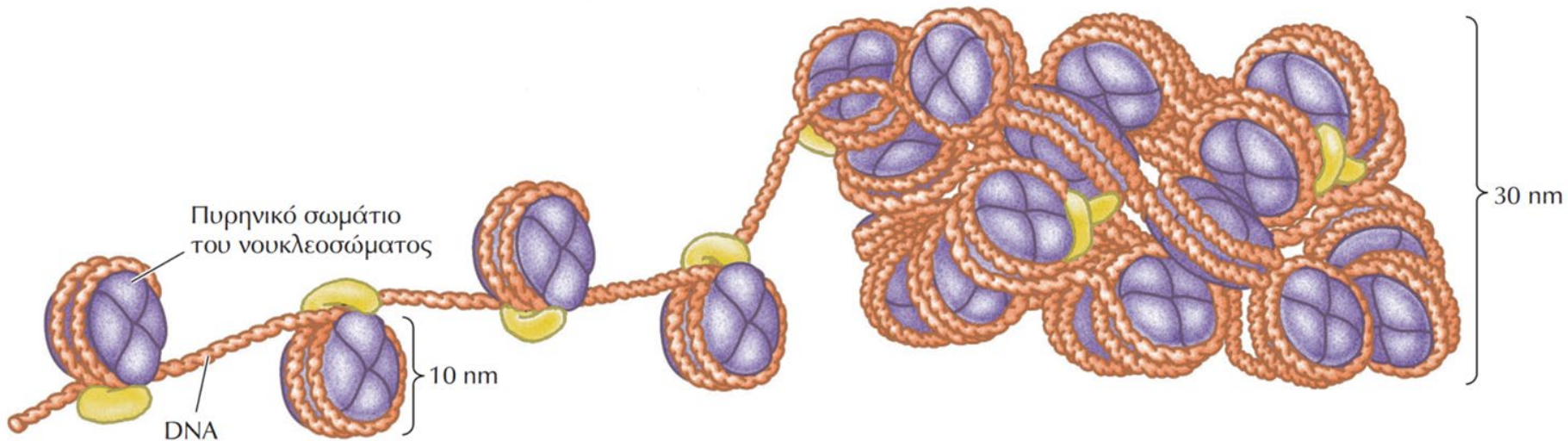
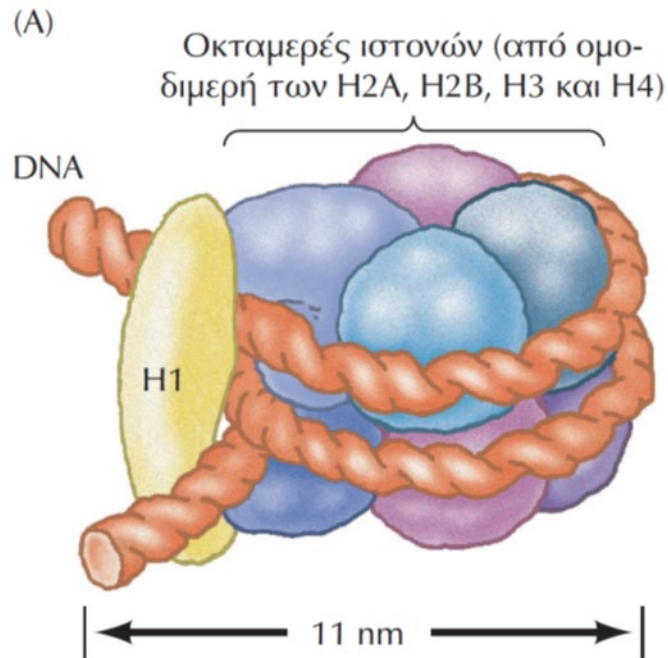
Η μεταγραφή ξεκινά με τη φωσφορυλίωση της Ser<sup>5</sup> των επαναλήψεων CTD της του RNA πολ II από τον TFIIH. Με τη φωσφορυλιωμένη CTD συνδέονται παράγοντες που ενέχονται στα αρχικά στάδια της επεξεργασίας του mRNA. Επιπλέον, δύο αρνητικοί ρυθμιστές, ο NELF και ο DSIF, συνδέονται με την πολυμεράση και προκαλούν την **παύση της μεταγραφής** περίπου 50 νουκλεοτίδια μετά τη θέση έναρξης της μεταγραφής. Κατόπιν, η φωσφορυλίωση από τον P-TEFb του NELF, του DSIF και της Ser<sup>2</sup> των επαναλήψεων της CTD έχει ως αποτέλεσμα τη **συνέχιση της μεταγραφής** και την επιμήκυνση του μεταγράφου. Ο φωσφορυλιωμένος NELF αποσυνδέεται από το σύμπλοκο και νέοι παράγοντες που χρειάζονται για την επιμήκυνση και την επεξεργασία του RNA συνδέονται στην πολυμεράση.



## 7.4. Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

(A) Ένα **χρωματόσωμα** περιέχει δύο πλήρεις στροφές DNA (166 bp) που σφραγίζονται από ένα μόριο H1.

Αν αφαιρέσουμε την ιστόνη H1 και το συναφές DNA, λαμβάνεται το μικρότερο **νουκλεόσωμα** που αντιστοιχεί σε 147 bp DNA τυλιγμένο κατά 1,67 στροφές γύρω από το οκταμερές των ιστονών. Το νουκλεόσωμα αποτελείται δηλαδή από τα ομοδιμερή των ιστονών H2A, H2B, H3 και H4 περιβαλλόμενα από DNA.



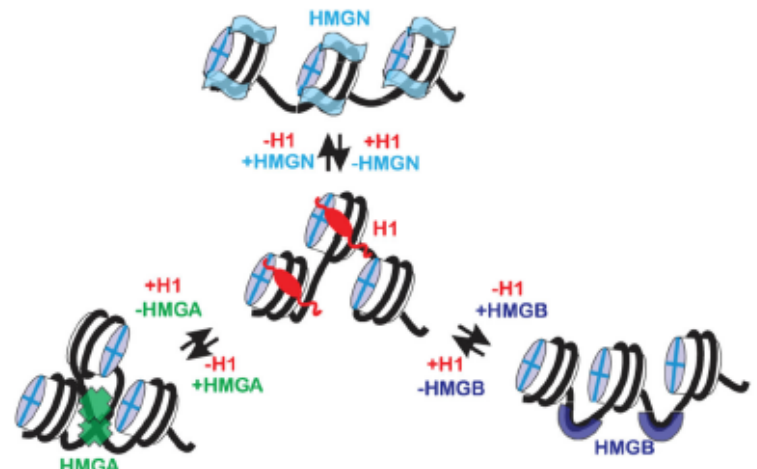
## 7.4. Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

Το πακετάρισμα του DNA σε χρωματίνη ενδέχεται να επηρεάσει τη διαθεσιμότητά του ως μήτρα μεταγραφής. Ενεργά μεταγραφόμενα γονίδια βρίσκονται στην λιγότερο συμπυκνωμένη χρωματίνη. Τα μεταγραφόμενα γονίδια παραμένουν συνδεδεμένα με τις ιστόνες και διατηρούν το πακετάρισμά τους σε νουκλεοσώματα. Αυτό δυσχεραίνει την αλληλεπίδραση με την RNA πολ II και τους μεταγραφικούς παράγοντες  $\Rightarrow$  τη μεταγραφή της χρωματίνης. **Με ποιους γενικούς τρόπους μπορεί να ενισχυθεί η μεταγραφή της (συμπυκνωμένης) ετεροχρωματίνης;**

**1.** Η δομή της χρωματίνης μπορεί να τροποποιηθεί από τις **πρωτεΐνες HMG** (μικρές όξινες πρωτεΐνες) που τροποποιούν τις ιστόνες και τα νουκλεοσώματα επαναδιευθετούνται.

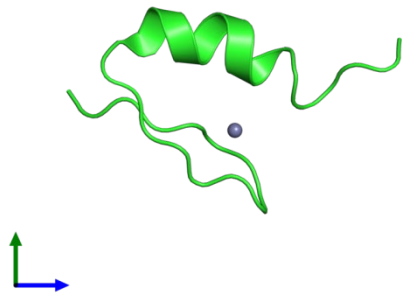
Τρεις οικογένειες: HMGA και HMGB κάμπτουν τη χρωματίνη ώστε να δεσμεύονται οι μεταγραφικοί παράγοντες. Η HMGA1 πχ αλληλεπιδρά με τους παράγοντες μεταγραφής **CEBPB και Sp1**.

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

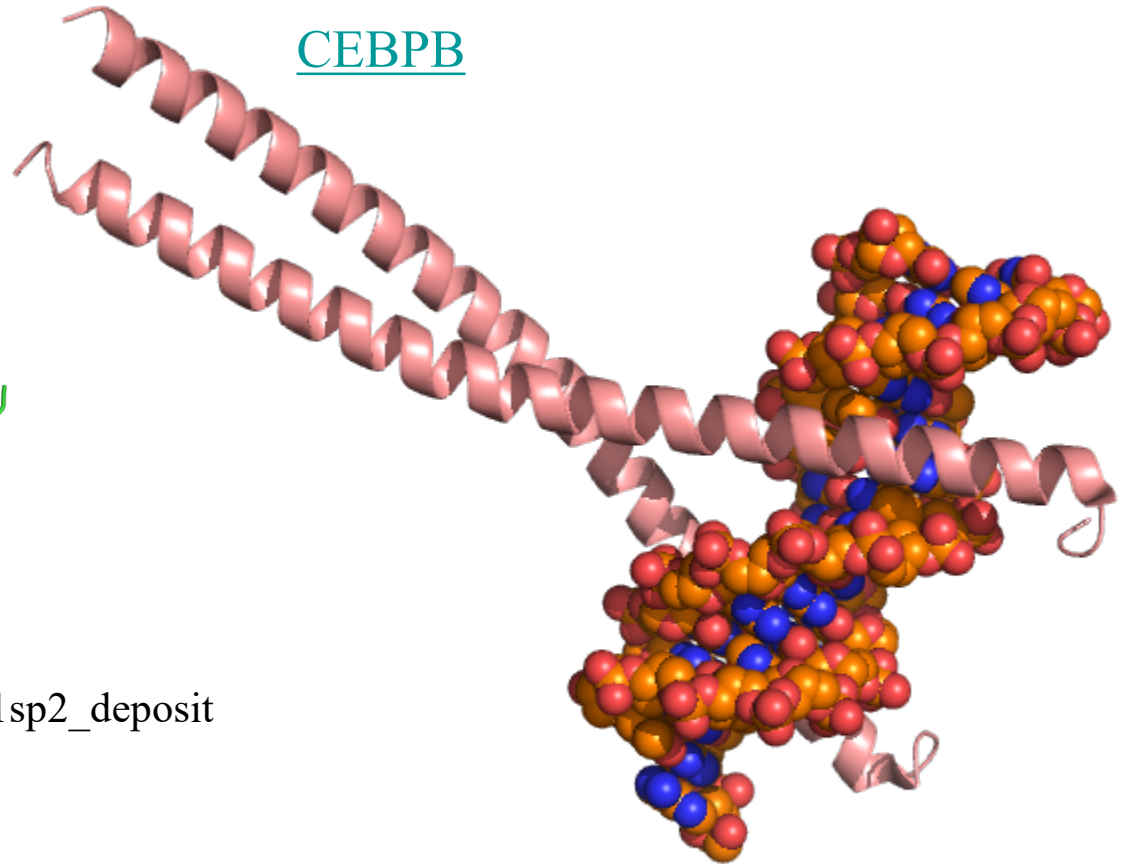


<https://www.semanticscholar.org/paper/Functional-interplay-between-histone-H1-and-HMG-in-Postnikov-Bustin/b4f6bf45874c124fb5cfe65546937ccab047ebeb>

...Sp1



CEBPB



[https://www.ebi.ac.uk/pdbe/static/entry/1sp2\\_deposited\\_chain\\_front\\_image-800x800.png](https://www.ebi.ac.uk/pdbe/static/entry/1sp2_deposited_chain_front_image-800x800.png)

<https://en.wikipedia.org/wiki/CEBPB#/media/File:1gtw.png>





**ΕΙΚΟΝΑ 7.33 Αποσυμπυκνωμένες περιοχές πολυταινικού χρωμοσώματος της *Drosophila*.**

Φωτογραφία φωτονικού μικροσκοπίου που δείχνει αποσυμπυκνωμένες περιοχές πολυταινικού χρωμοσώματος, όπου πραγματοποιείται σύνθεση RNA. Οι θέσεις σύνθεσης του RNA υποδεικνύονται με βέλη. (Ευγενική προσφορά του Joseph Gall, Carnegie Institution.)

## 2. Τροποποίηση ιστονών

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

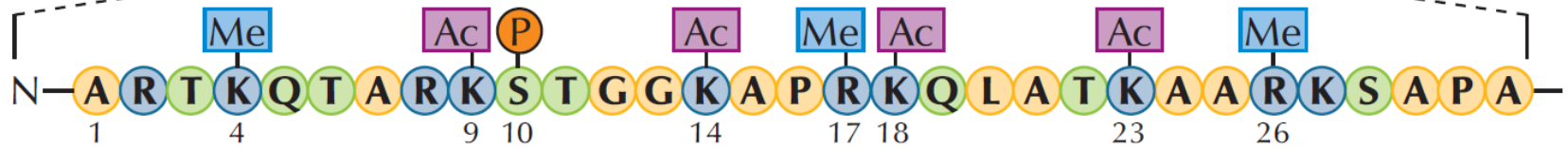
i. «**Επικράτεια αναδίπλωσης των ιστονών**»: αλληλεπίδραση με DNA και άλλες ιστόνες.

ii. **Αμινοτελική ουρά**: πλούσια σε Lys, επιδέχεται ακετυλίωση (ενεργοποίηση). Ακετυλοτρανσφεράσες (Gcn5p) και απακετυλάσες. Επίσης

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

Ενεργή  
χρωματίνη

Αμινοτελική ουρά της H3



Ανενεργή  
χρωματίνη



- Μεθυλίωση
- Ακετυλίωση
- Φωσφορυλίωση

## ΕΙΚΟΝΑ 7.35 Πρότυπα τροποποιήσεων των ιστονών.

Η μεταγραφική ενεργότητα της χρωματίνης επηρεάζεται από τη **μεθυλίωση**, τη **φωσφορυλίωση** και την **ακετυλίωση** συγκεκριμένων καταλοίπων της **αμινοτελικής ουράς των ιστονών**. Τόσο η μεταγραφικά ενεργή, όσο και η μεταγραφικά ανενεργή χρωματίνη, εμφανίζουν χαρακτηριστικά πρότυπα τροποποιήσεων των ιστονών.

# Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

**Αρχή:** η χαλάρωση της δομής της χρωματίνης μετά από τις σχετικές τροποποιήσεις ενισχύει τη μεταγραφή.

Η χρωματίνη που ευνοεί τη μεταγραφή έχει ειδικές τροποποιήσεις στην **H3** όπως:

Μεθυλίωση της **Lys<sup>4</sup>**, φωσφορυλίωση της **Ser<sup>10</sup>**, ακετυλίωση των **Lys<sup>9</sup>, 14, 18, 23**, μεθυλίωση των **Arg<sup>17</sup>** και 26.

Οι ακετυλιώσεις ουδετεροποιούν τα θετικά φορτία των Lys  $\Rightarrow$  χαλαρώνει η αλληλεπίδραση με το DNA, χαλαρώνει η δομή της χρωματίνης  $\Rightarrow$  ενεργοποιείται η μεταγραφή. Οι απακετυλιώσεις οδηγούν στη συμπύκνωση της χρωματίνης  $\Rightarrow$  μεταγραφική καταστολή.

Στη μεθυλιωμένη **Lys<sup>4</sup>** προσδένονται άλλες πρωτεΐνες που συμβάλουν στην μεταγραφή.

Μεθυλιώσεις των **Lys<sup>9</sup>** και 27  $\Rightarrow$  δέσμευση πρωτεϊνών με ενεργότητα απακετυλάσης που οδηγούν σε συμπύκνωση της χρωματίνης σε ετεροχρωματίνη  $\Rightarrow$  καταστολή της μεταγραφής. Οι μεθυλάσες αλληλεπιδρούν με συγκαταστολείς.

Η φωσφορυλίωση της **Ser<sup>10</sup>** της H3 προκαλεί ακετυλίωση της **Lys<sup>14</sup>**, ενώ καταστέλλει τη μεθυλίωση της **Lys<sup>9</sup>**  $\Rightarrow$  ενεργή χρωματίνη.

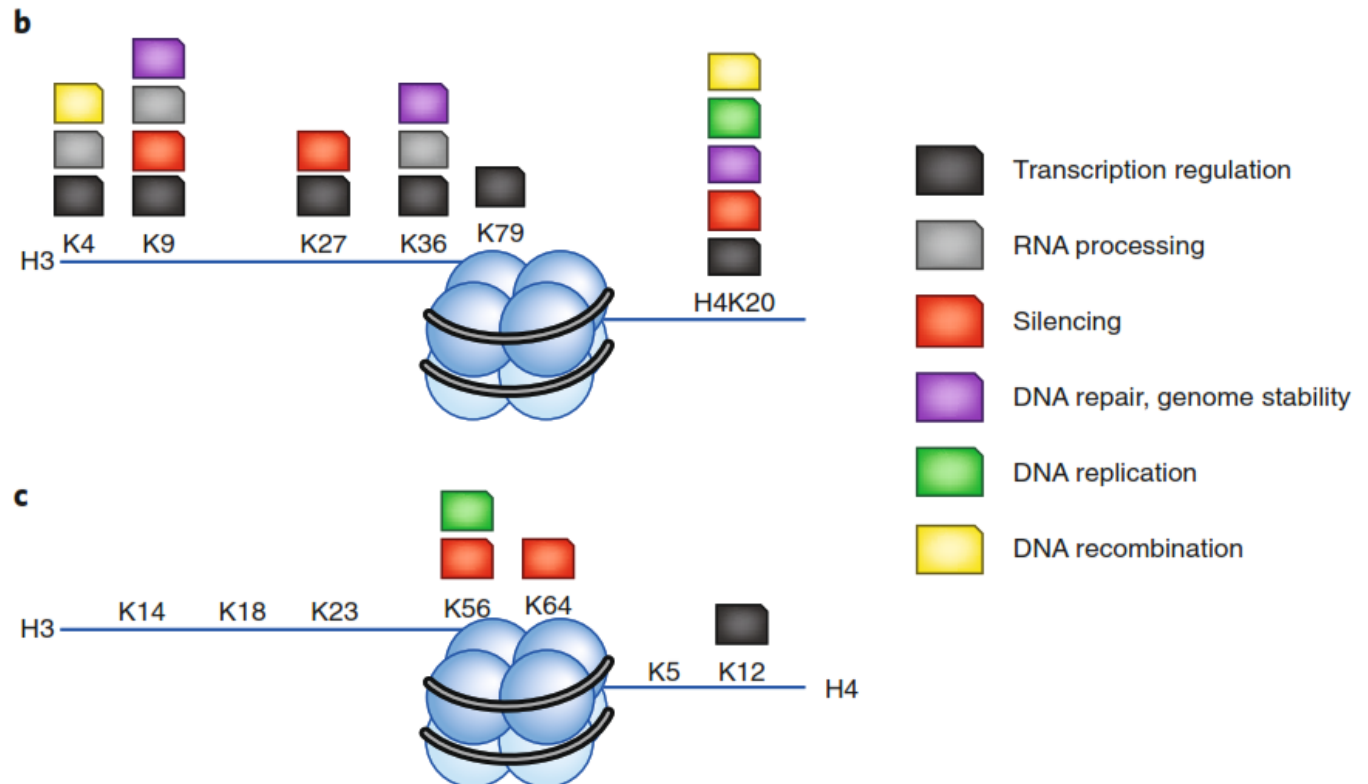
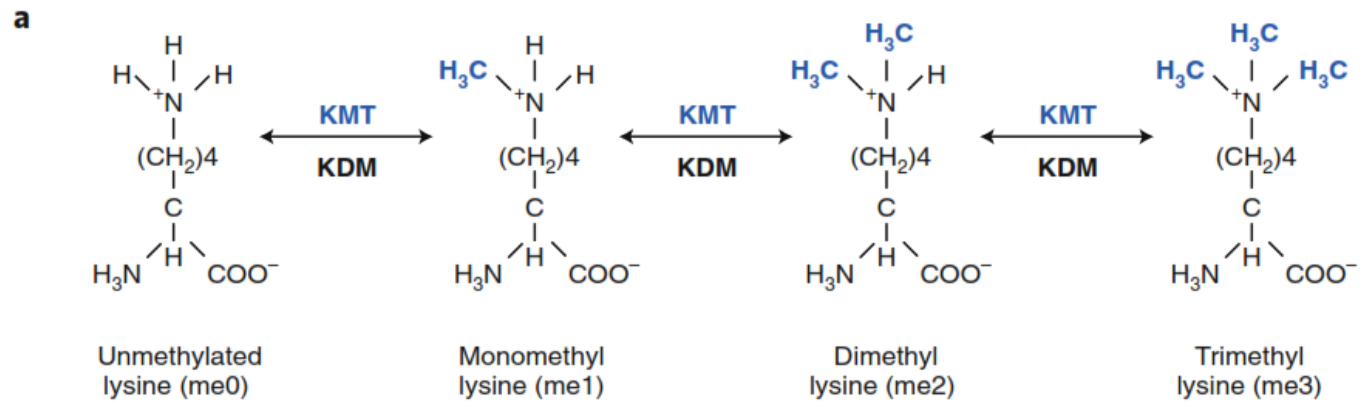
# Η μεθυλίωση των ιστονών

Κατάλοιπα λυσίνης μπορούν να μονομεθυλιωθούν, να διμεθυλιωθούν ή να τριμεθυλιωθούν.

Η φυσιολογική (b) και μη φυσιολογική (c), μεθυλίωση λυσινών των νουκλεοσωμικών ιστονών H3 και H4 επηρεάζει τη μεταγραφή επομένως και διαφορετικές κυτταρικές λειτουργίες.

# Η μεθυλίωση της λυσίνης των ιστονών των θηλαστικών

επηρεάζει  
τη λειτουργικότητα  
της χρωματίνης.



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

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



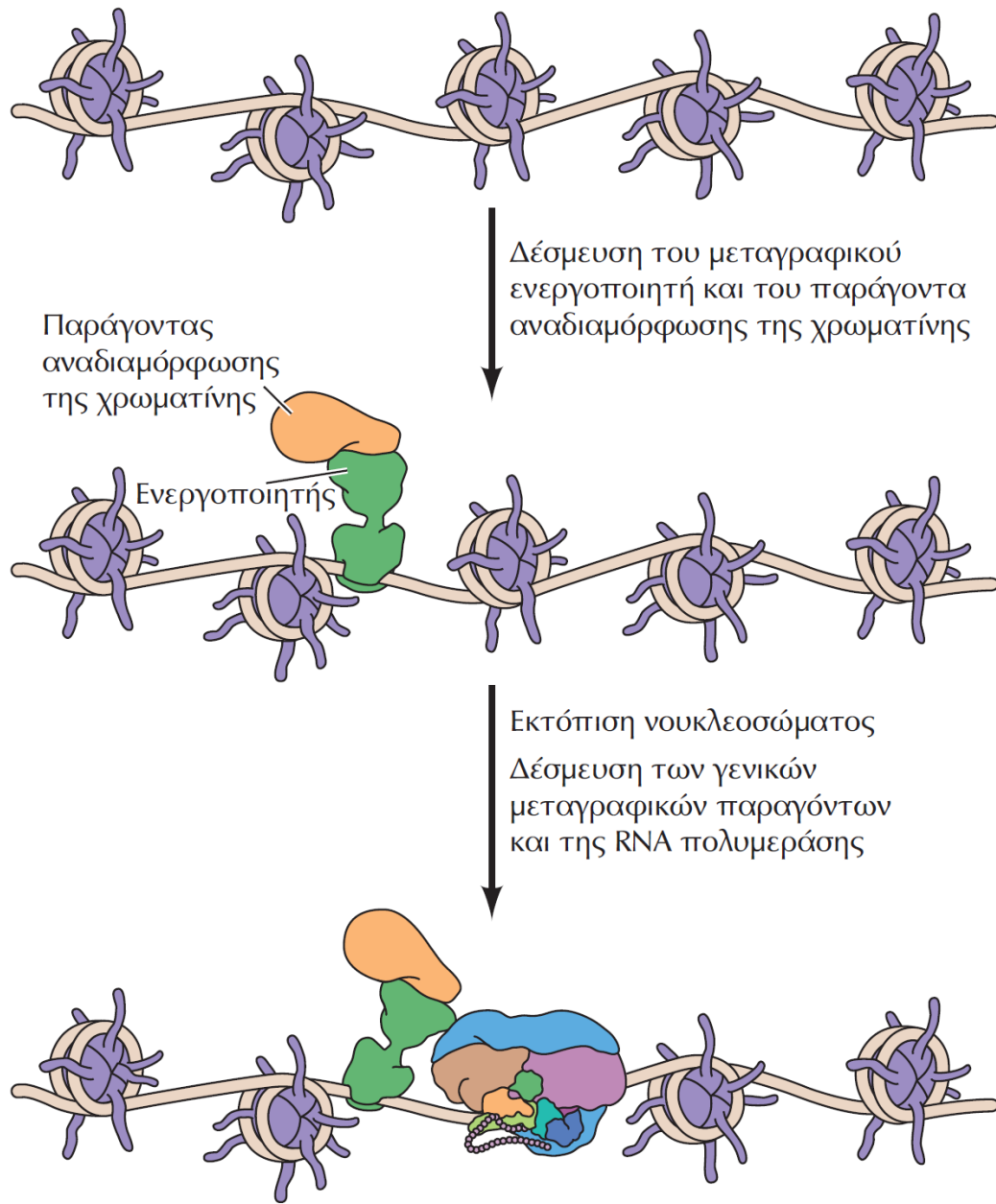
## 7.4. Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

### 3. Παράγοντες (πρωτεϊνικά σύμπλοκα) αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης

Πρωτεϊνικά σύμπλοκα μπορούν να μεταβάλλουν τις επαφές DNA και ιστονών με υδρόλυση (αρνητική  $\Delta G$ ) του ATP.

1. Καταλύουν την μετακύλιση ενός οκταμερούς κατά μήκος του DNA ώστε να είναι πιο προσιτό σε μεταγραφικούς παράγοντες.
  2. Αλλάζουν τη διαμόρφωση των νουκλεοσωμάτων  $\Rightarrow$  αλλαγές στη μεταγραφή.
  3. Αποσπούν ιστόνες από το DNA δημιουργώντας περιοχές ελεύθερες νουκλεοσωμάτων.
- $\Rightarrow$  Πραγματοποιείται ενεργοποίηση ή καταστολή της γονιδιακής έκφρασης στην **έναρξη** της μεταγραφής.





## ΕΙΚΟΝΑ 7.37 Οι παράγοντες αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης.

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

# Δομή της χρωματίνης και μεταγραφή

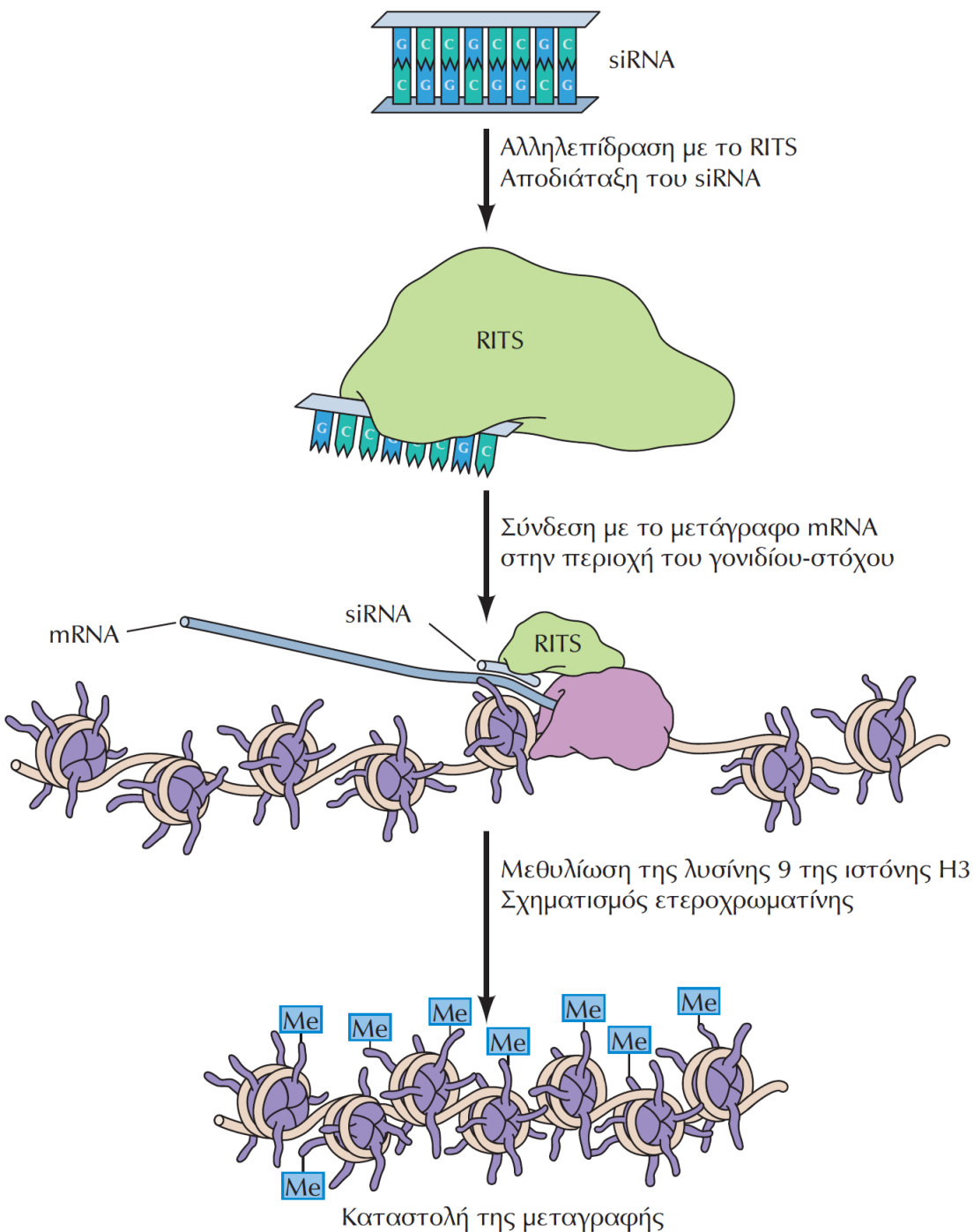
## 4. Έλεγχος της μεταγραφής από μη κωδικά RNA

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

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

Δρουν μέσω του πρωτεϊνικού συμπλόκου μεταγραφικής αποσιώπησης (RITS).

Τα siRNA στοχεύουν το RITS στο γονίδιο στόχο, όπου το RITS προκαλεί μεθυλίωση της Lys<sup>9</sup> της H3  $\Rightarrow$  συμπύκνωση της χρωματίνης  $\Rightarrow$  καταστολή της μεταγραφής.



## ΕΙΚΟΝΑ 7.38 Ρύθμιση της μεταγραφής από τα siRNA.

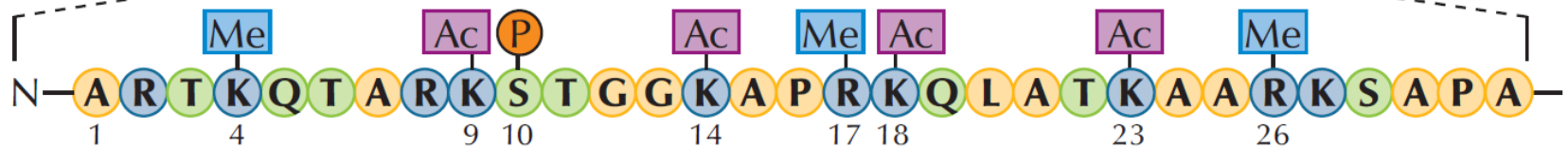
Τα siRNA αλληλεπιδρούν με το σύμπλοκο RITS και καταστέλλουν τη μεταγραφή.

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

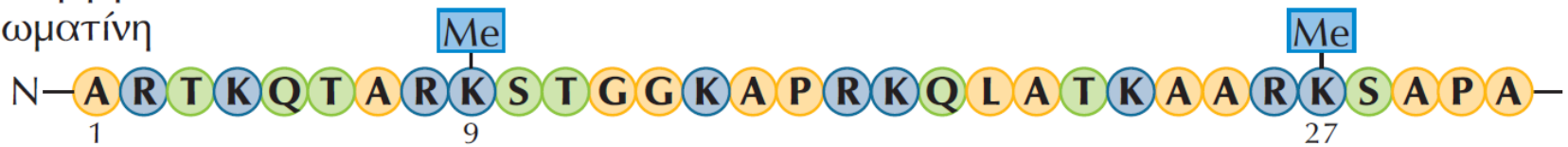
Το RITS περιέχει μια μεθυλοτρανσφεράση των ιστονών η οποία μεθυλιώνει τη λυσίνη 9 της ιστόνης H3, με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ετεροχρωματίνης και την καταστολή της μεταγραφής.

Ενεργή  
χρωματίνη

Αμινοτελική ουρά της H3



Ανενεργή  
χρωματίνη



- Μεθυλίωση
- Ακετυλίωση
- Φωσφορυλίωση

## ΕΙΚΟΝΑ 7.35 Πρότυπα τροποποιήσεων των ιστονών.

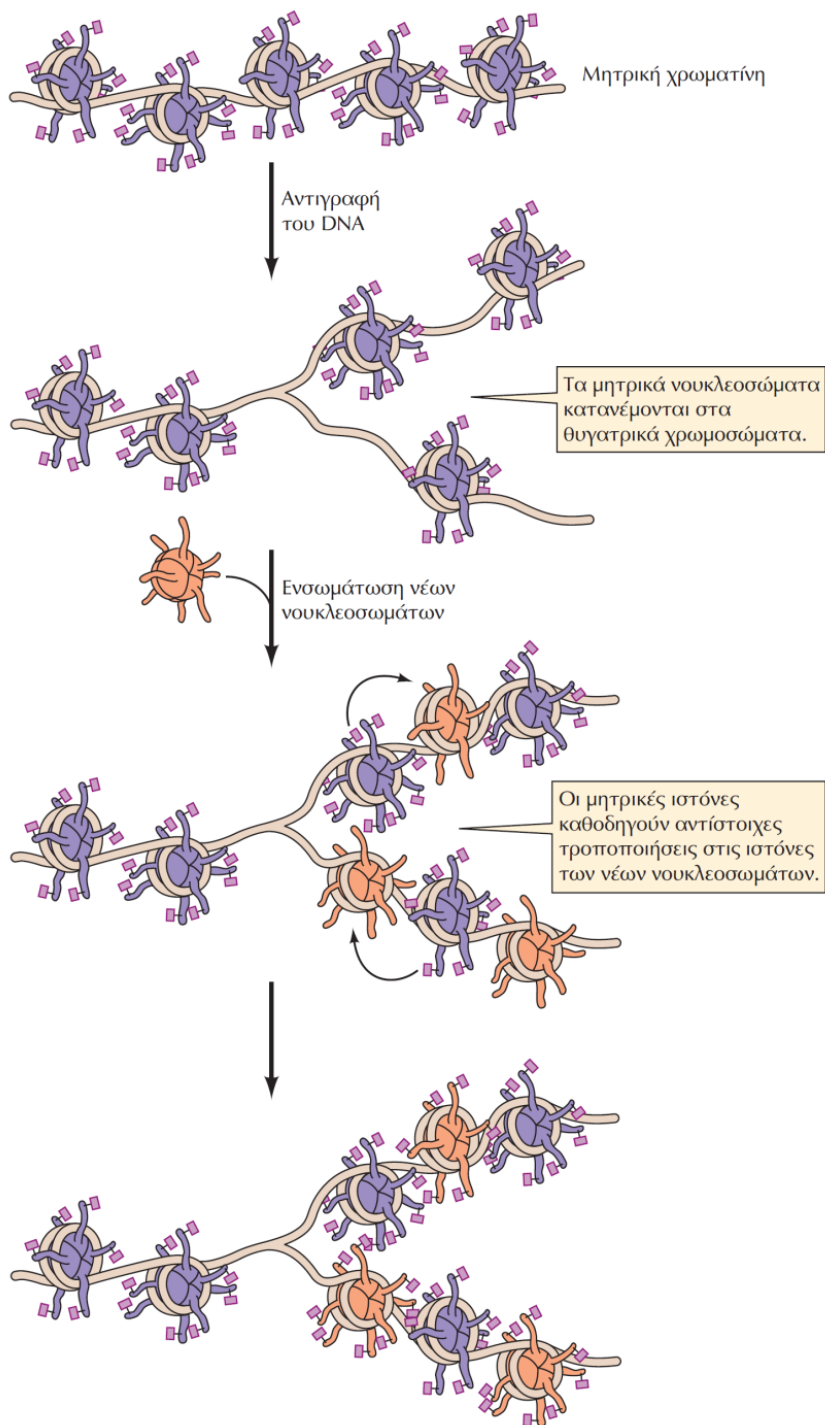
Η μεταγραφική ενεργότητα της χρωματίνης επηρεάζεται από τη **μεθυλίωση**, τη **φωσφορυλίωση** και την **ακετυλίωση** συγκεκριμένων καταλοίπων της αμινοτελικής ουράς των ιστονών. Τόσο η μεταγραφικά ενεργή όσο και η μεταγραφικά ανενεργή χρωματίνη εμφανίζουν χαρακτηριστικά πρότυπα τροποποιήσεων των ιστονών.

## 7.5. Επιγενετική κληρονομικότητα

## 7.5. Επιγενετική κληρονομικότητα

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

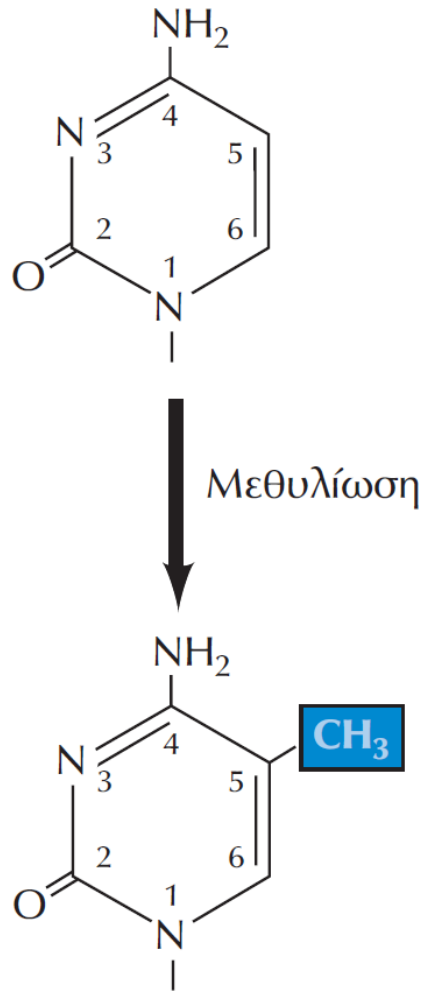
1. Κατά το διπλασιασμό του DNA, οι **τροποποιημένες ιστόνες** μπορούν να υπαγορεύσουν τις αλλαγές τους στις νεοσυντιθέμενες.
2. **Μεθυλίωση DNA**: στα κατάλοιπα κυτοσίνης  $\Rightarrow$  καταστολή της μεταγραφής. Το πρότυπο του μεθυλιωμένου DNA διατηρείται μετά την αντιγραφή.
3. **Γονιδιωματικό εντύπωμα**: η μεθυλίωση ενός γονιδίου καθορίζει την έκφρασή του ή όχι από το πατρικό ή μητρικό αλληλόμορφο κατά την **εμβρυογένεση**. Το ίδιο γονίδιο μπορεί ή όχι να εκφραστεί ανάλογο με το αν είναι μεθυλιωμένο.



## ΕΙΚΟΝΑ 7.36 Η ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΩΝ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ.

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

Κυτοσίνη

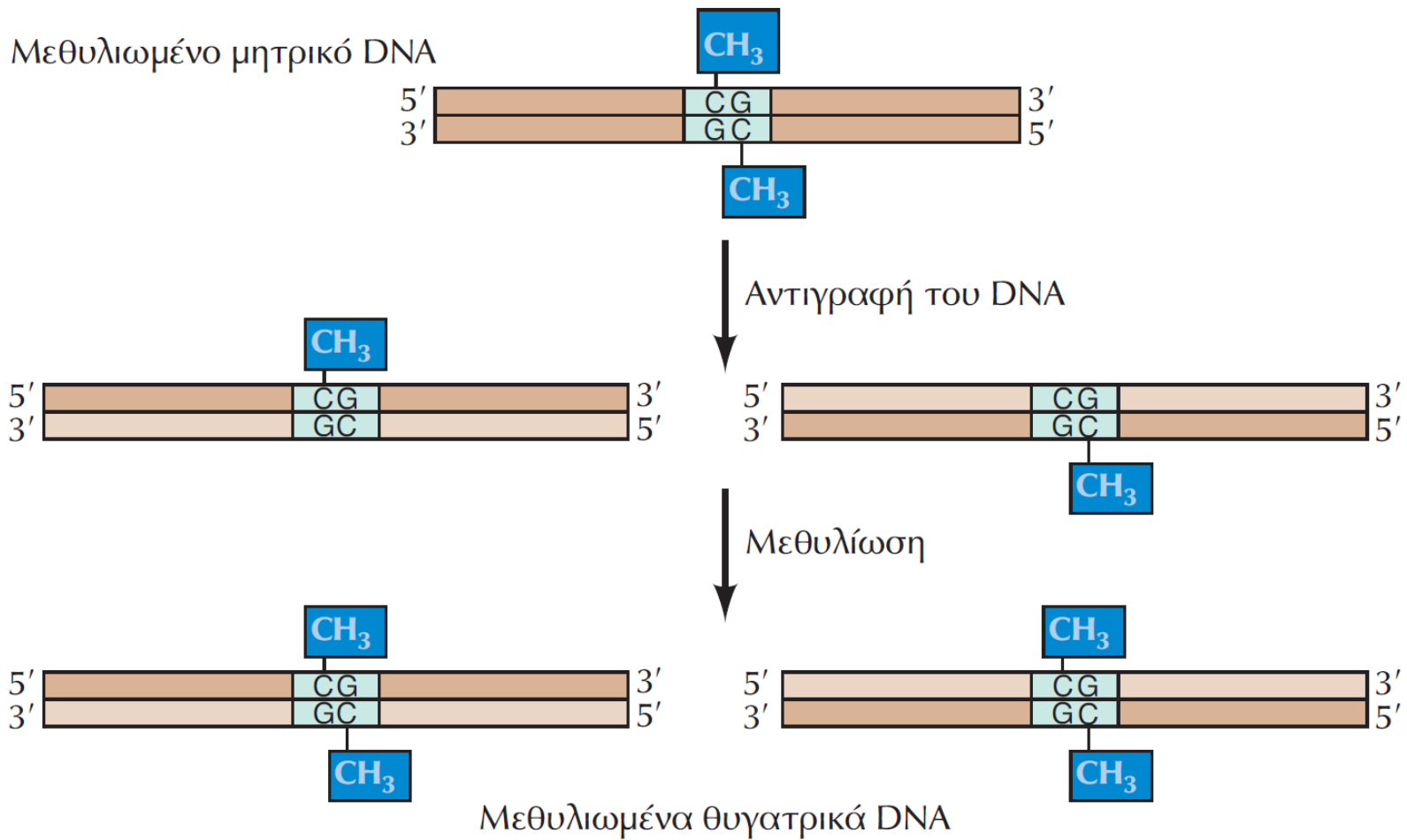


5-Μεθυλοκυτοσίνη

### ΕΙΚΟΝΑ 7.40 Μεθυλίωση του DNA.

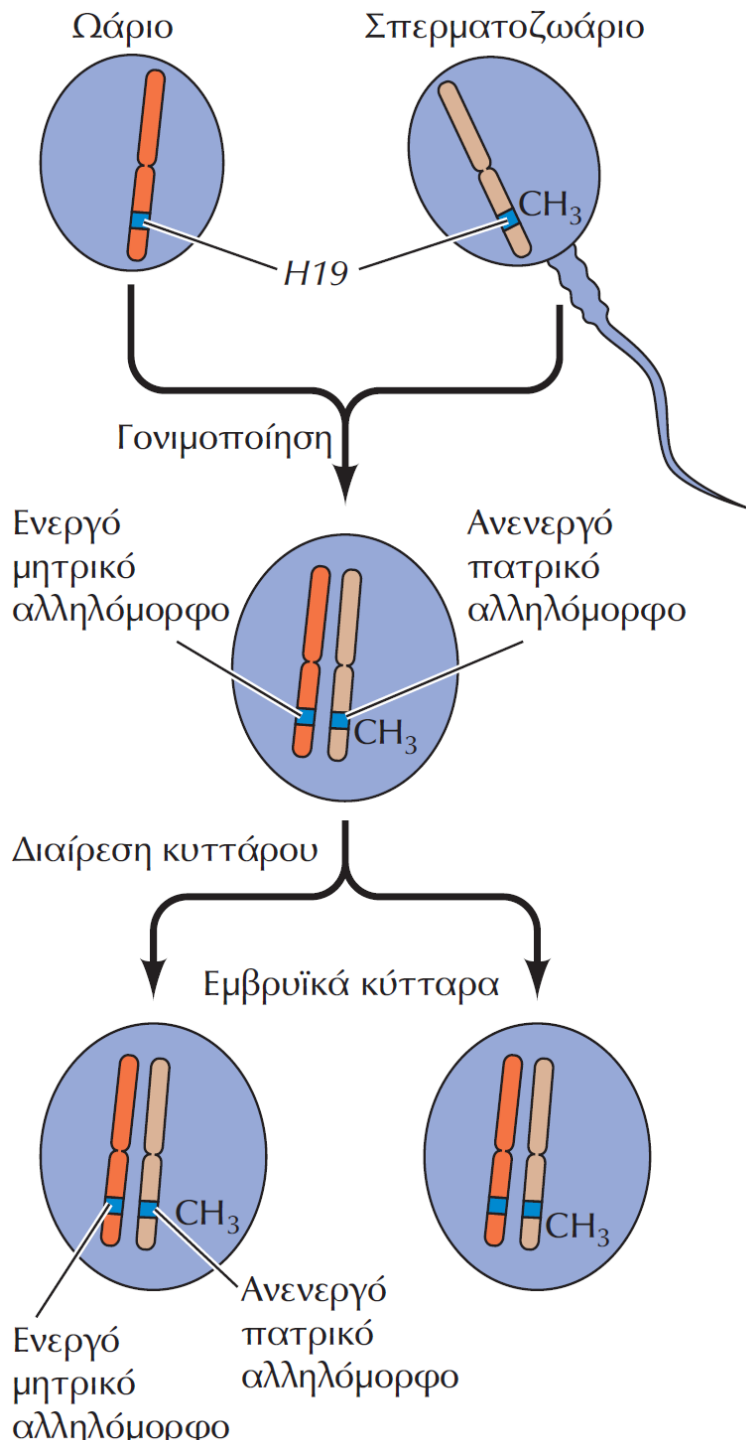
Τα κατάλοιπα της κυτοσίνης μεθυλιώνονται με την προσθήκη μιας μεθυλομάδας στον άνθρακα 5 του δακτυλίου της αζωτούχου βάσης.





## ΕΙΚΟΝΑ 7.41 Διατήρηση του προτύπου μεθυλίωσης.

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



## ΕΙΚΟΝΑ 7.42 Γονιδιωματικό εντύπωμα.

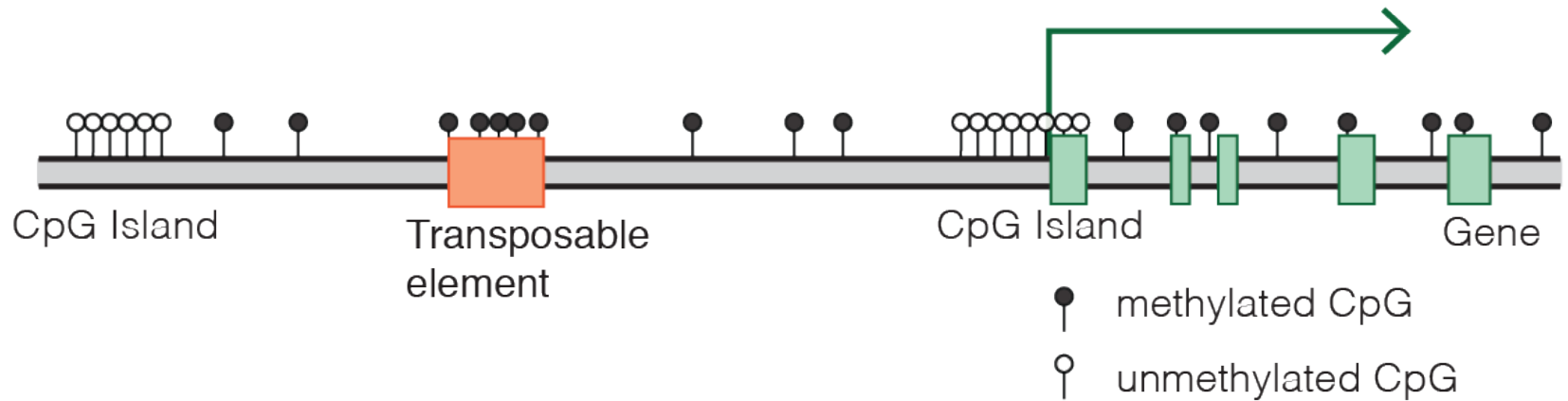
Το γονίδιο *H19* μεθυλιώνεται κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των αρσενικών αλλά όχι των θηλυκών κυττάρων της γαμετικής σειράς. Επομένως, τα σπερματοζωάρια περιέχουν ένα μεθυλιωμένο αλληλόμορφο του *H19*, ενώ τα ωάρια περιέχουν ένα μη μεθυλιωμένο αλληλόμορφο του *H19*.

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

# Οργάνωση περιοχών CpG



## Typical mammalian DNA methylation landscape



**Καταστολή μεταγραφής ανεπιθύμητων γονιδίων  
σε φυσιολογικές καταστάσεις**

[https://en.wikipedia.org/wiki/DNA\\_methylation](https://en.wikipedia.org/wiki/DNA_methylation)

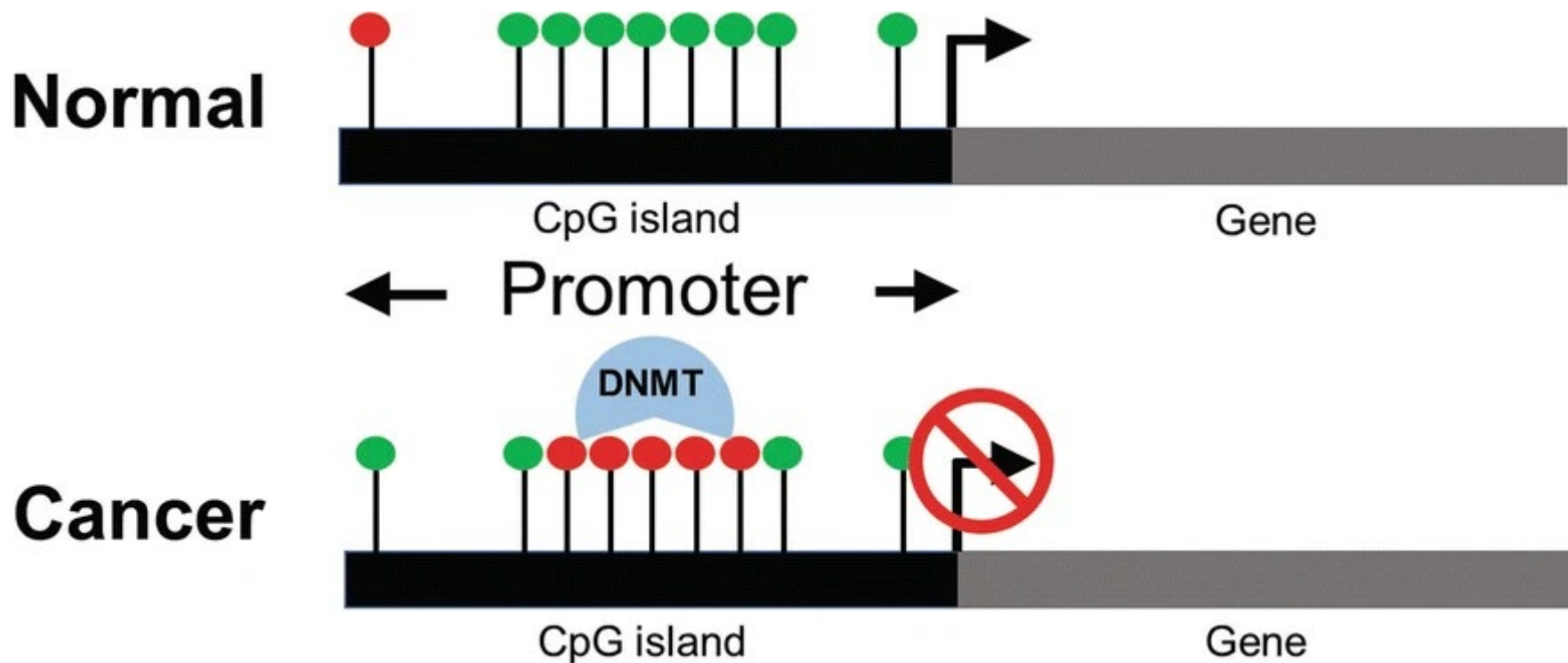
## **The role of DNA-demethylating agents in cancer therapy.**

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

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

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

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



Οι νησίδες CpG αποτελούν περισσότερο του 50% των υπαρχόντων υποκινητών.

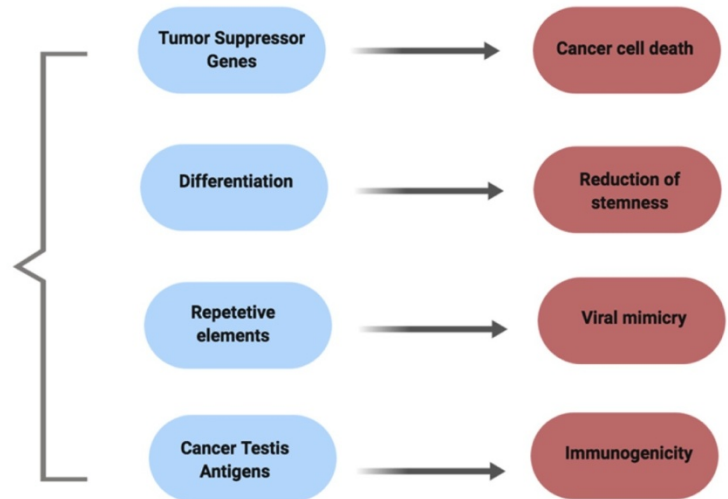
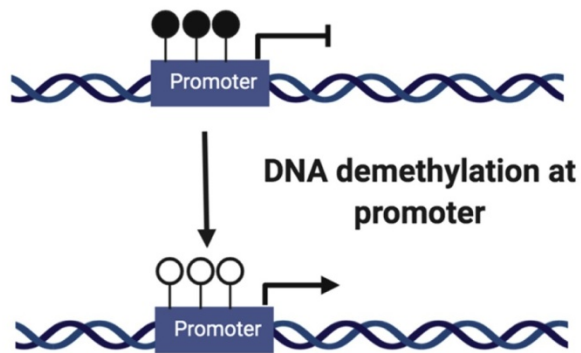
Τα καρκινικά κύτταρα του ήπατος τυπικά παρουσιάζουν υπερμεθυλίωση του DNA σε θέσεις υποκινητών των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με αποτέλεσμα τη σίγαση αυτών των ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

DNA methyltransferases (DNMT)

<https://clintransmed.springeropen.com/articles/10.1186/s40169-019-0230-0>

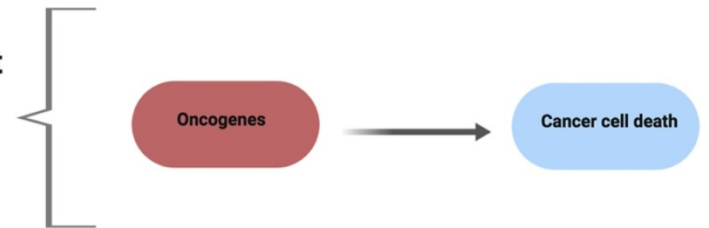
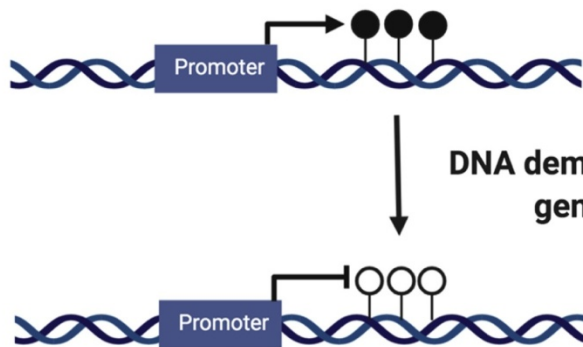
# Anti-tumor effects of DNA Hypomethylating Agents

A



B

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0163725819301688?via%3Dihub>



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

## **The role of epigenetics in allergy and asthma development.**

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

Η κατανομή της μεθυλίωσης του DNA μπορεί να προβλέψει τις κλινικές αποκρίσεις σε ελεγχόμενες προκλήσεις αλλεργιογόνου, συμπεριλαμβανομένων των προκλήσεων από τα τρόφιμα.

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



Dietary antioxidants remodel DNA methylation patterns in chronic disease.

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

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

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

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

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

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

## 7.6. Επεξεργασία και ανακύκλωση του RNA

## 7.6. Επεξεργασία και ανακύκλωση του RNA

Το βακτηριακό **mRNA** μπορεί να χρησιμοποιηθεί κατευθείαν για την πρωτεϊνοσύνθεση.

Το ευκαρυωτικό mRNA αλλά και τα tRNA, rRNA ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών χρειάζονται επεξεργασία. Ο έλεγχος της επεξεργασίας όπως και της αποδόμησης του mRNA προσθέτει ένα ακόμα επίπεδο ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης.

**Επεξεργασία ευκαρυωτικών και προκαρυωτικών tRNA και rRNA:**

**Κοινά στάδια επεξεργασίας pre-rRNA**

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

**Κοινά στάδια επεξεργασίας pre-tRNA**

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

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

Απομάκρυνση εσωνίων από ενδονουκλεάσες. Στο **pre-tRNA** από **ριβοένζυμο**.

## Ριβοένζυμο:

Προκαρυωτική RNάση P  
ολοένζυμο σε σύμπλοκο με tRNA.

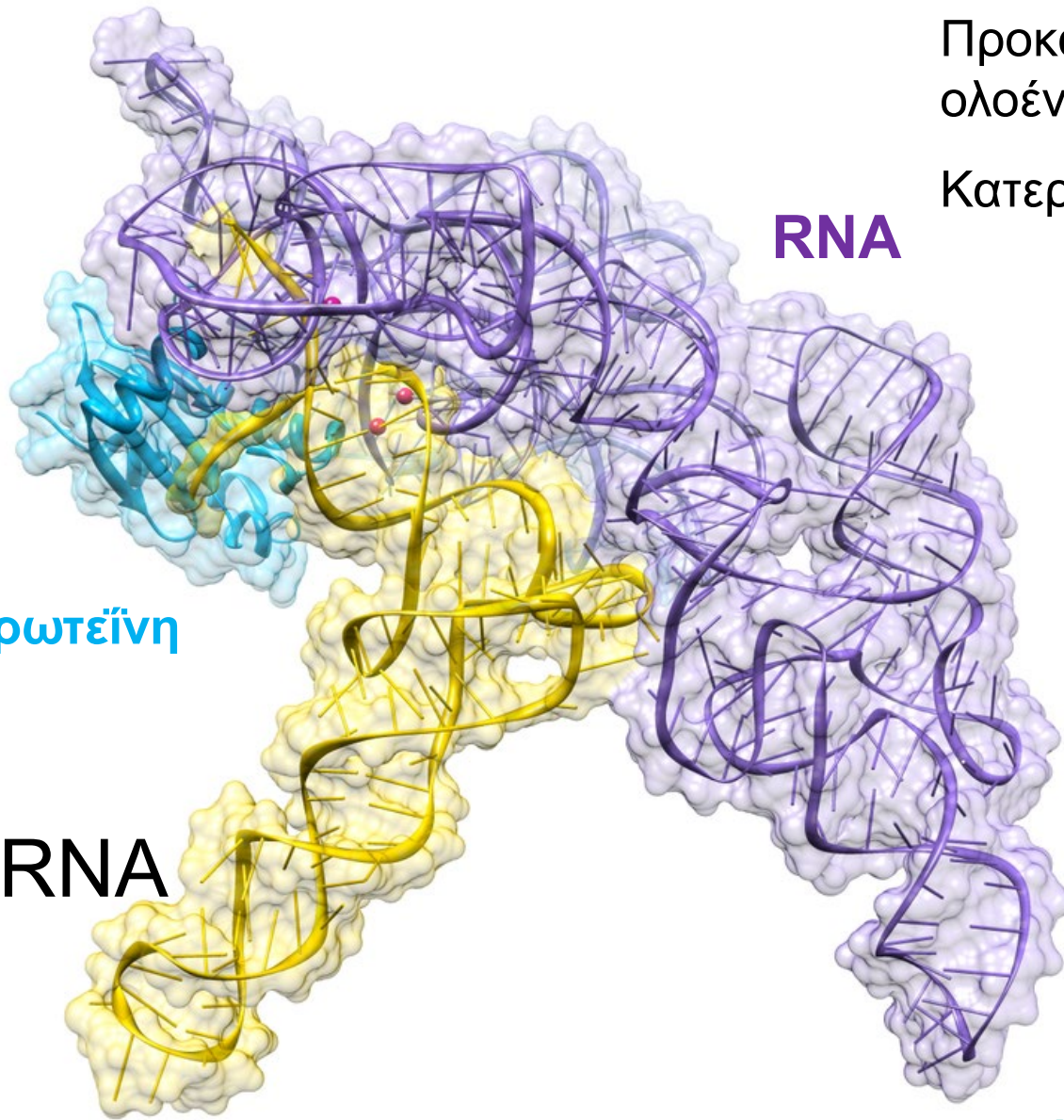
Κατεργασία **προ-tRNA**

RNA

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

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

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

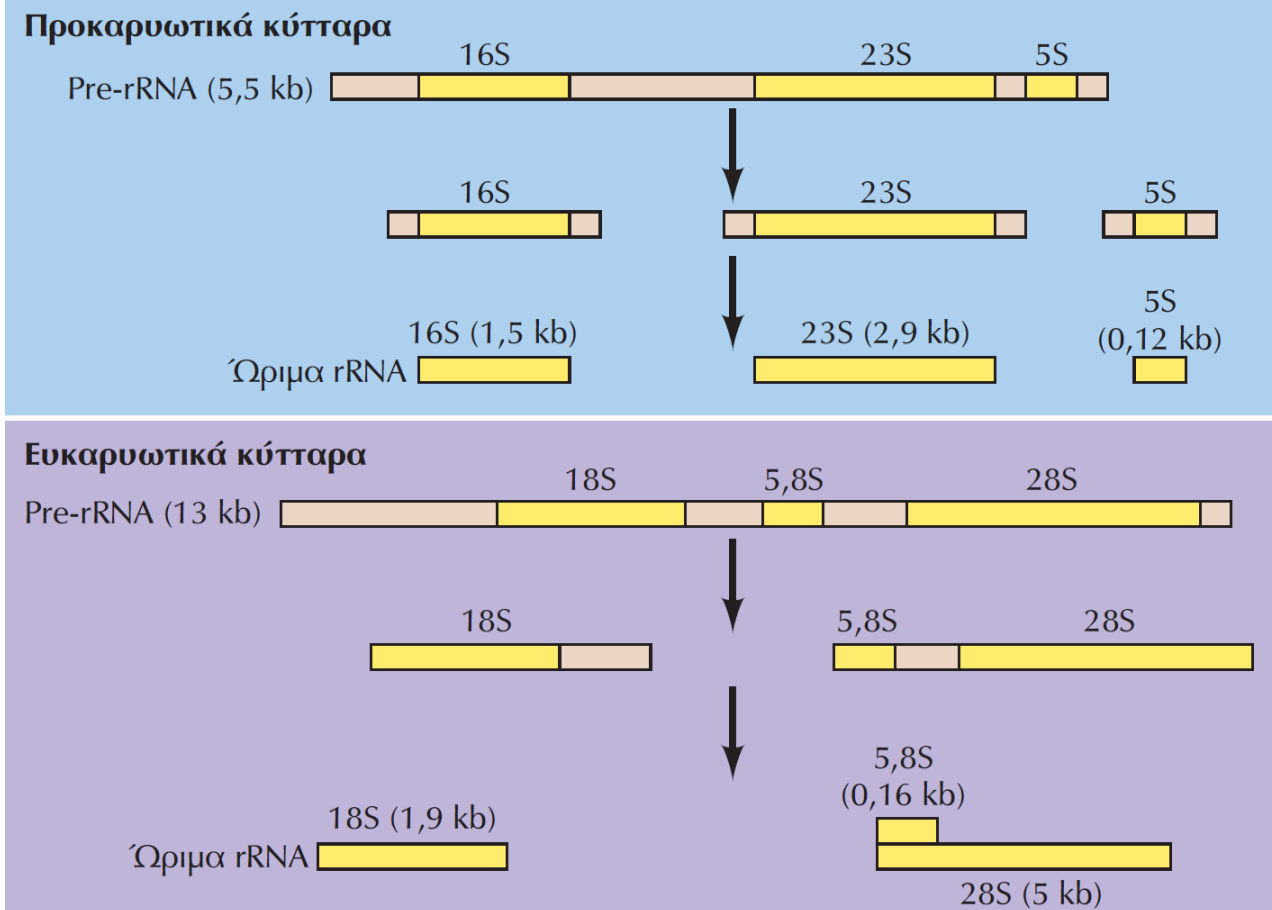


πρωτεΐνη

tRNA

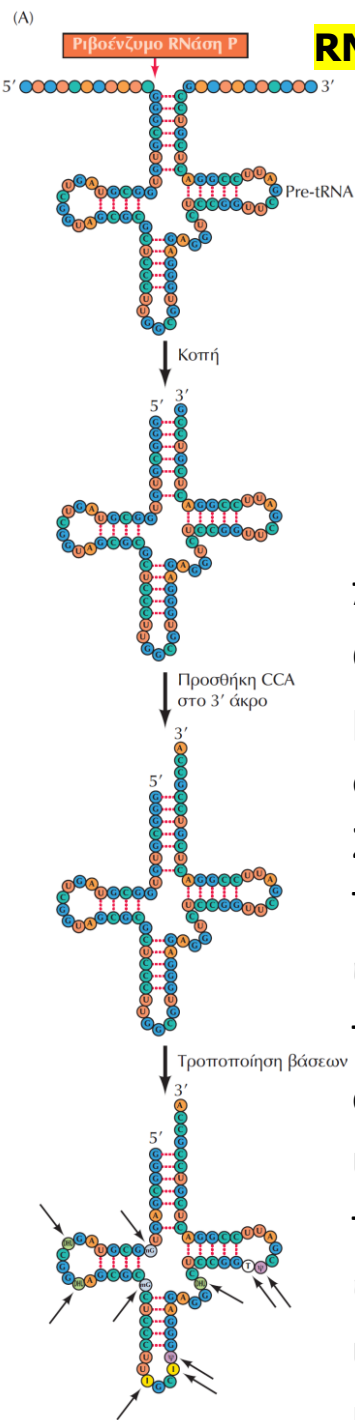
By RNAMacGyver - Own work, CC BY-SA 3.0,

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



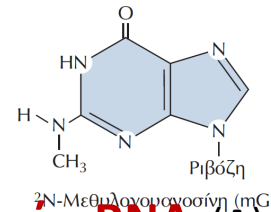
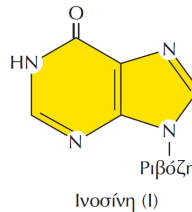
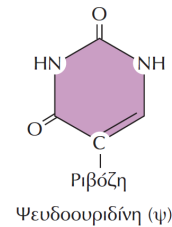
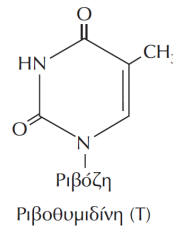
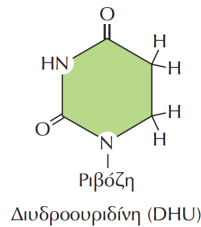
## **Α. Η επεξεργασία των ριβοσωμικών RNA.**

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



## RNάση P

### 3) Τροποποιημένες βάσεις



## B. Η επεξεργασία των μεταφορικών RNA. (A) Τα μεταφορικά RNA

προέρχονται από pre-tRNA, ορισμένα από τα οποία περιέχουν περισσότερα από ένα ανεξάρτητα μόρια tRNA. Στο πλαίσιο της ωρίμανσης των πρόδρομων μορίων το ριβοένζυμο **RNάση P** καταλύει την κοπή του 5' άκρου, ενώ μια δεύτερη κοπή στο 3' άκρο καταλύεται από μια συμβατική, πρωτεϊνική RNάση. Στη συνέχεια, στο 3' άκρο πολλών tRNA προστίθεται το τρινουκλεοτίδιο CCA. Τέλος, ορισμένες βάσεις που βρίσκονται σε συγκεκριμένες θέσεις του μορίου υφίστανται κάποιες χαρακτηριστικές τροποποιήσεις. Μεταξύ των τροποποιημένων νουκλεοσιδίων που μπορεί να προκύψουν συμπεριλαμβάνονται η διυδροουριδίνη (DHU), η μεθυλογουανοσίνη (mG), η ινοσίνη (I), η ριβοθυμιδίνη (T) και η ψευδοουριδίνη (Ψ). (B) Η δομή των τροποποιημένων βάσεων. Η ριβοθυμιδίνη, η διυδροουριδίνη και η ψευδοουριδίνη σχηματίζονται μέσω της τροποποίησης ουριδινών του tRNA. Η ινοσίνη και η μεθυλογουανοσίνη σχηματίζονται μέσω της τροποποίησης καταλοίπων γουανοσίνης.

# Γ. Επεξεργασία του mRNA στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

## Γενικά χαρακτηριστικά

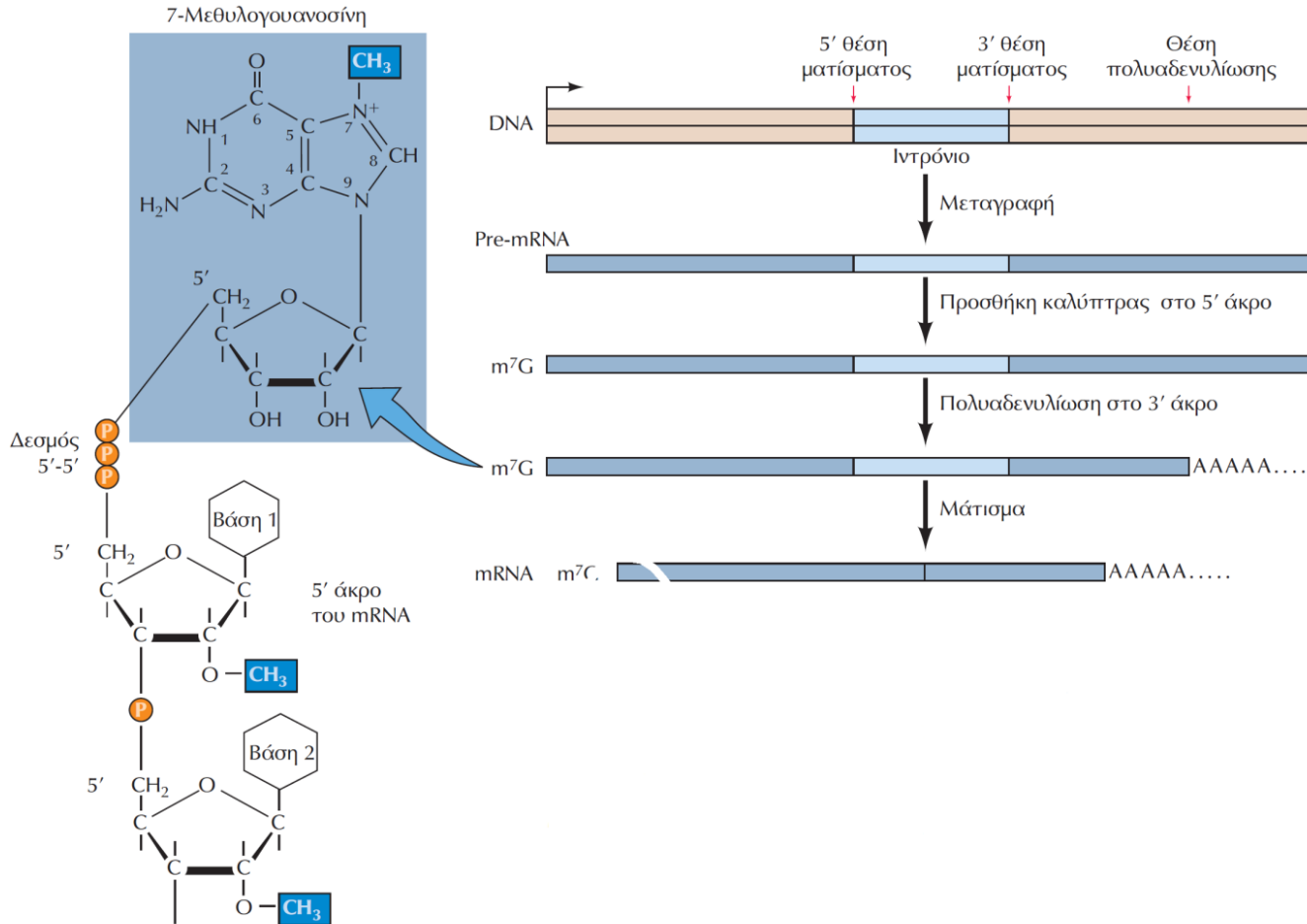
Το πρόδρομο mRNA (pre-mRNA) συντίθεται στον πυρήνα. Υφίσταται τροποποιήσεις στα 5' και 3' άκρα και απομάκρυνση εσωνίων (ωρίμανση) πριν εξαχθεί στο κυτταρόπλασμα. Όλα αυτά συμβαίνουν παράλληλα με τη μεταγραφή και γίνονται από ενζυμικά σύμπλοκα που συνδέονται με την CTD της του RNA πολ II.

### Γ.1. Προσθήκη καλύπτρας 7-μεθυλογουανοσίνης

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

Οι προσθήκες σταθεροποιούν το RNA και είναι απαραίτητες για τις αλληλεπιδράσεις με το ριβόσωμα κατά την πρωτεϊνοσύνθεση.





## Γ.1. Η επεξεργασία του ευκαρυωτικού αγγελιαφόρου RNA- 5' άκρο.

Η επεξεργασία του mRNA περιλαμβάνει την τροποποίηση του 5' άκρου του μέσω της προσθήκης μιας **καλύπτρας 7-μεθυλογουανοσίνης (m<sup>7</sup>G)**. Αυτή η 5' καλύπτρα σχηματίζεται με την προσθήκη στο 5' άκρο του mRNA ενός GTP σε αντίστροφο προσανατολισμό, **σχηματίζοντας έναν δεσμό 5'-5'**.

Το πρόσθετο G μεθυλιώνεται στη θέση N-7, ενώ μεθυλομάδες προστίθενται επίσης στις ριβόζες του ενός ή των δύο πρώτων νουκλεοτιδίων του RNA.

## Γ. 2. Πολυαδενυλίωση

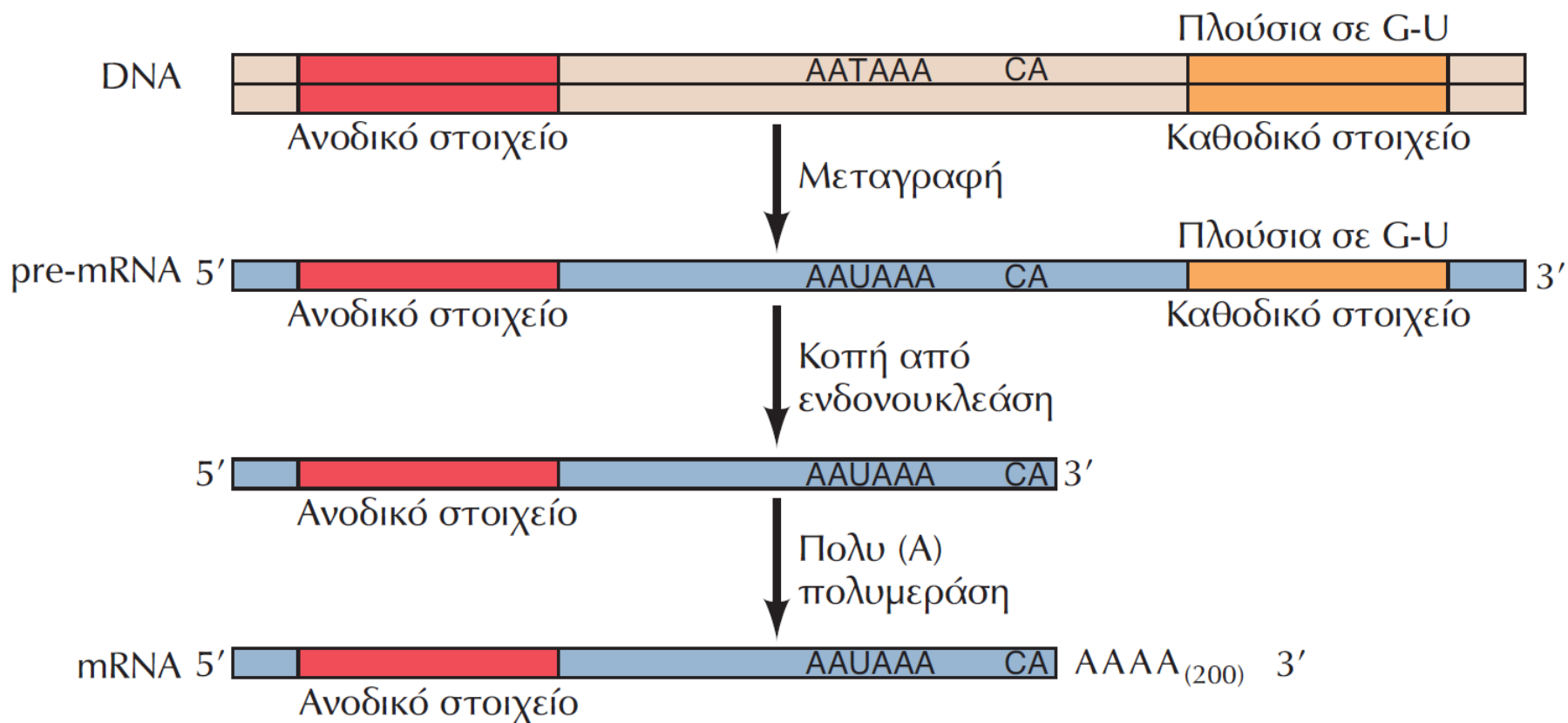
Μετά την πρωτογενή μεταγραφή, ακολουθεί υδρόλυση στο **3' άκρο του mRNA** και προσθήκη ουράς πολύ(A) (**πολυαδενυλίωση**).

### Σήματα πολυαδενυλίωσης:

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

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

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



**ΕΙΚΟΝΑ 7.46 Γ.2. Σχηματισμός του 3' άκρου των ευκαρυωτικών mRNA.** Τα **σήματα πολυαδενυλίωσης** στα θηλαστικά αποτελούνται από ένα εξανουκλεοτίδιο (AAUAAA) και μια πλούσια σε G και U αλληλουχία η οποία βρίσκεται καθοδικά από αυτό. Σε ορισμένα mRNA υπάρχει επιπλέον μια αλληλουχία πλούσια σε U, ανοδικά του στοιχείου AAUAAA. Κατά την πολυαδενυλίωση, μια ενδονουκλεάση κόβει το pre-mRNA 10 έως 30 νουκλεοτίδια καθοδικά του στοιχείου AAUAAA, συνήθως μετά από ένα δινουκλεοτίδιο CA. Κατόπιν, η πολυ(A) πολυμεράση προσθέτει στο 3' άκρο του RNA μια ουρά πολυ(A) αποτελούμενη από 200 περίπου νουκλεοτίδια αδενίνης.

### **Γ.3. Ωρίμανση mRNA (μάτισμα).**

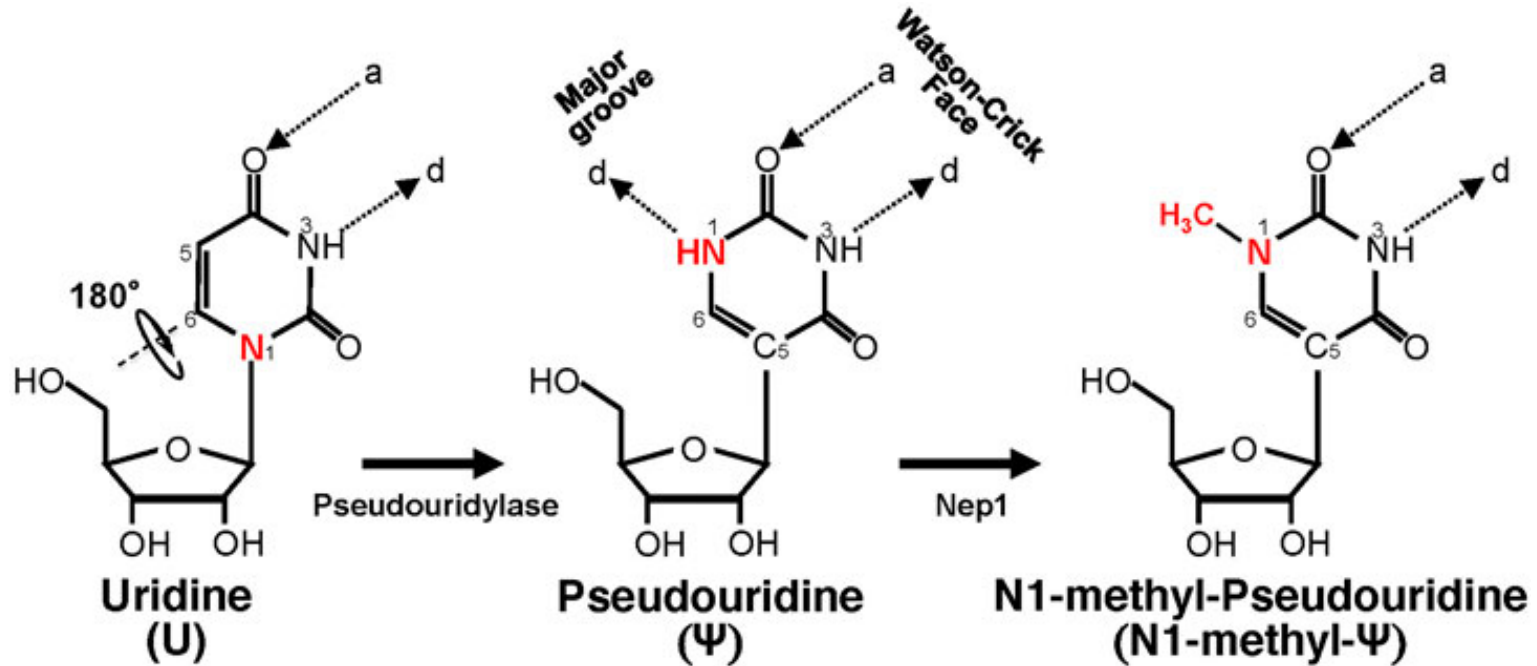
Τα εσώνια είναι συνήθως 10X μεγαλύτερα από την κωδική αλληλουχία για το ίδιο γονίδιο.

Filmaki 7.2

<file:///E:/TheCell/cooper5e/animation0702.html>

# Τροποποιήσεις του mRNA στο αντίστοιχο εμβόλιο του κορωνοϊού

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



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

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

**ΤΕΛΟΣ ΕΝΟΤΗΤΟΣ 8**