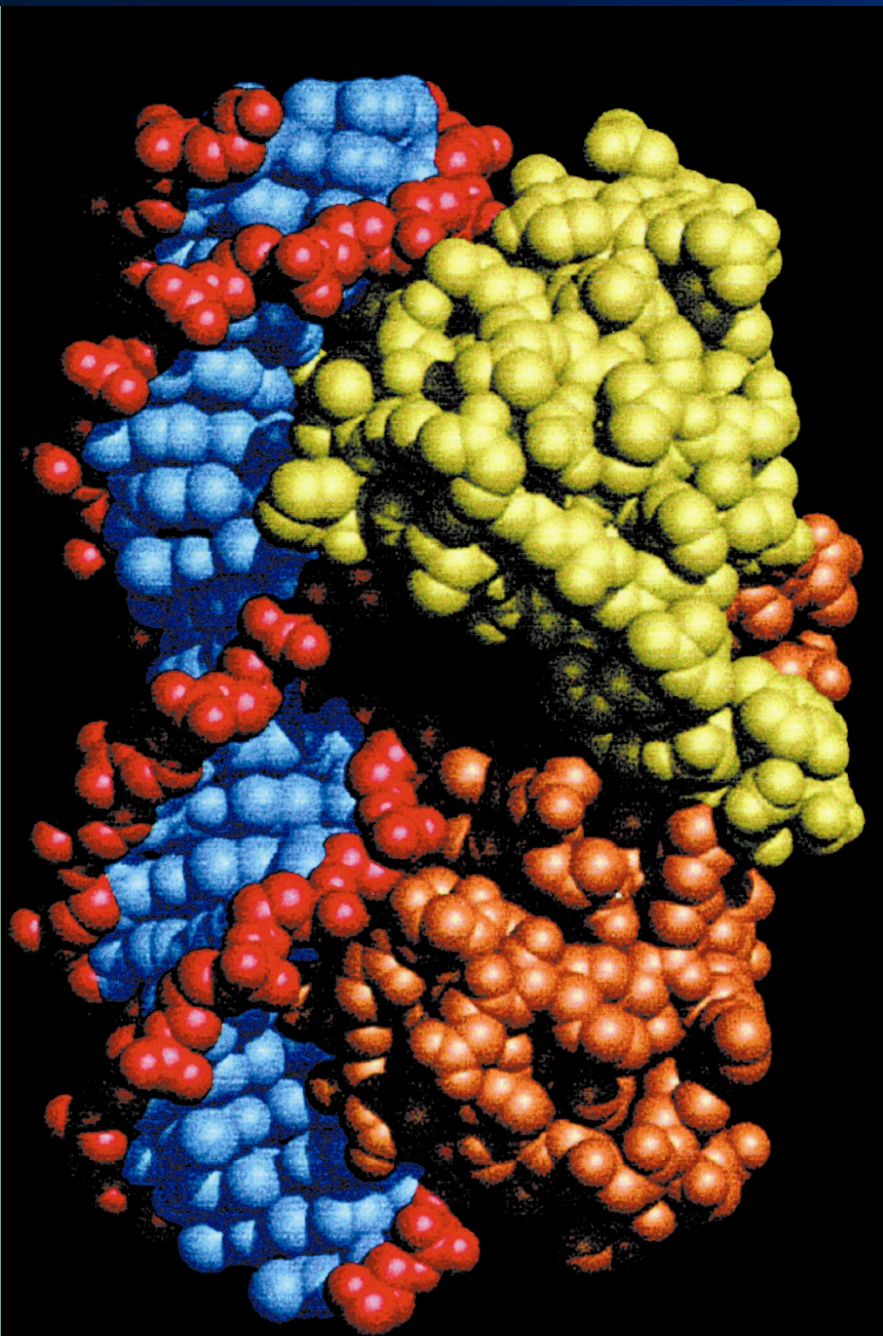


# **ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ**

**Γιώργος Τσιάμης**

**Αναπληρωτής Καθηγητής**

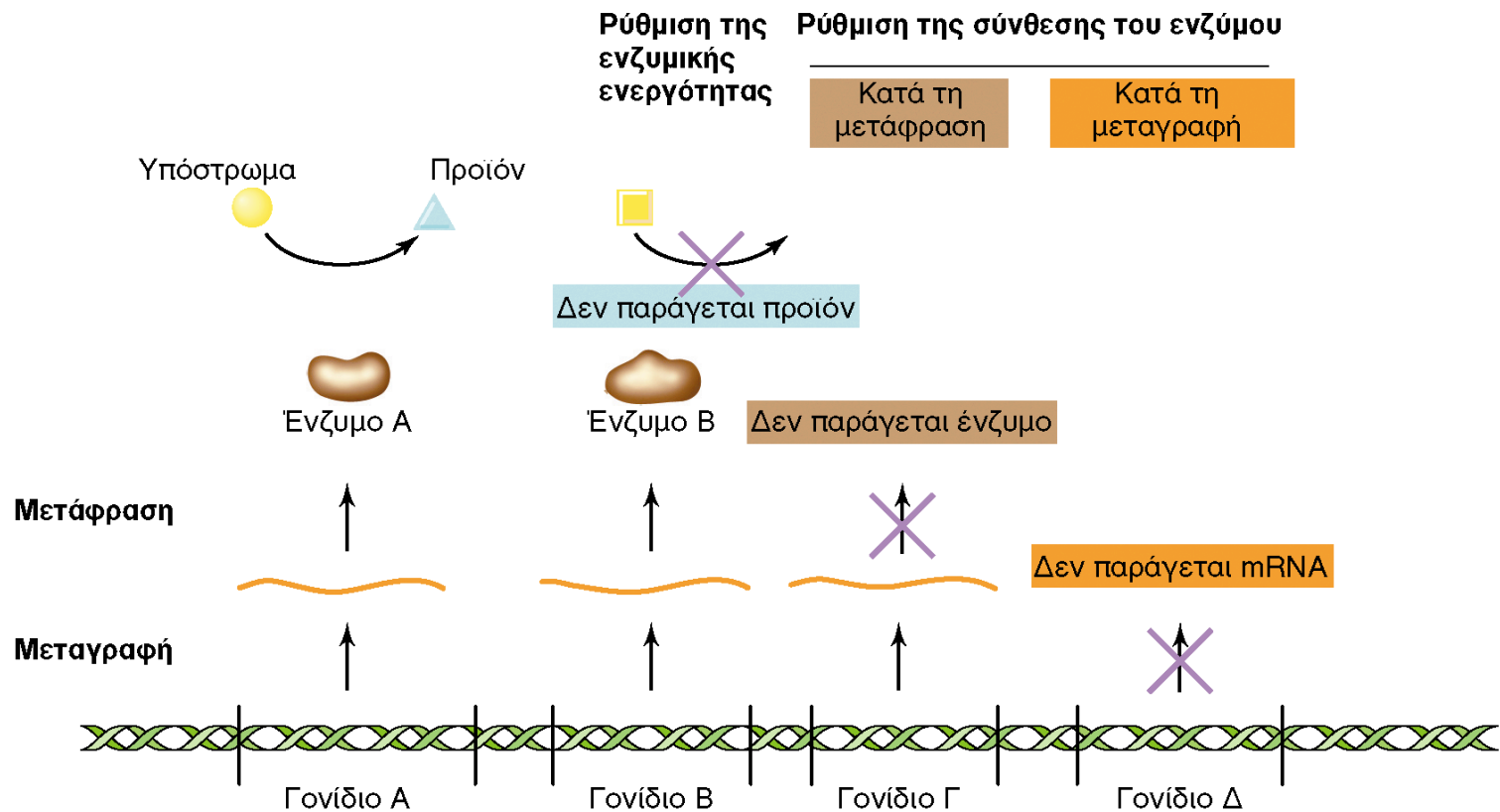
**Περιβαλλοντικής Μικροβιολογίας**



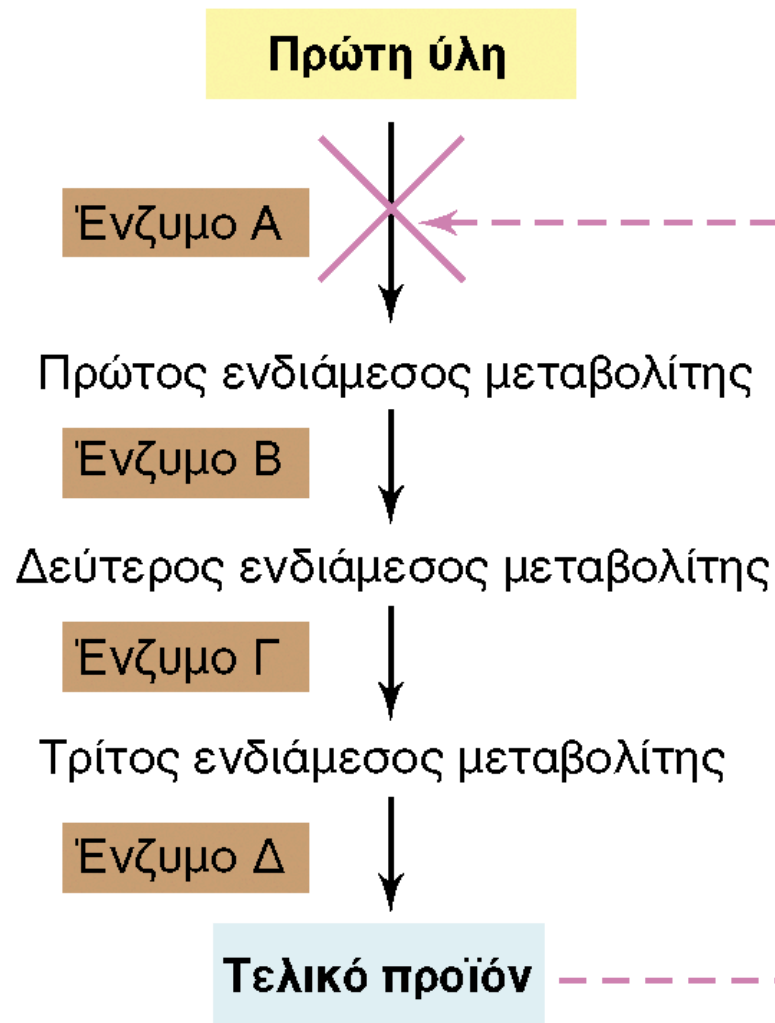
## ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΓΟΝΙΔΙΑΚΗΣ ΕΚΦΡΑΣΗΣ

8

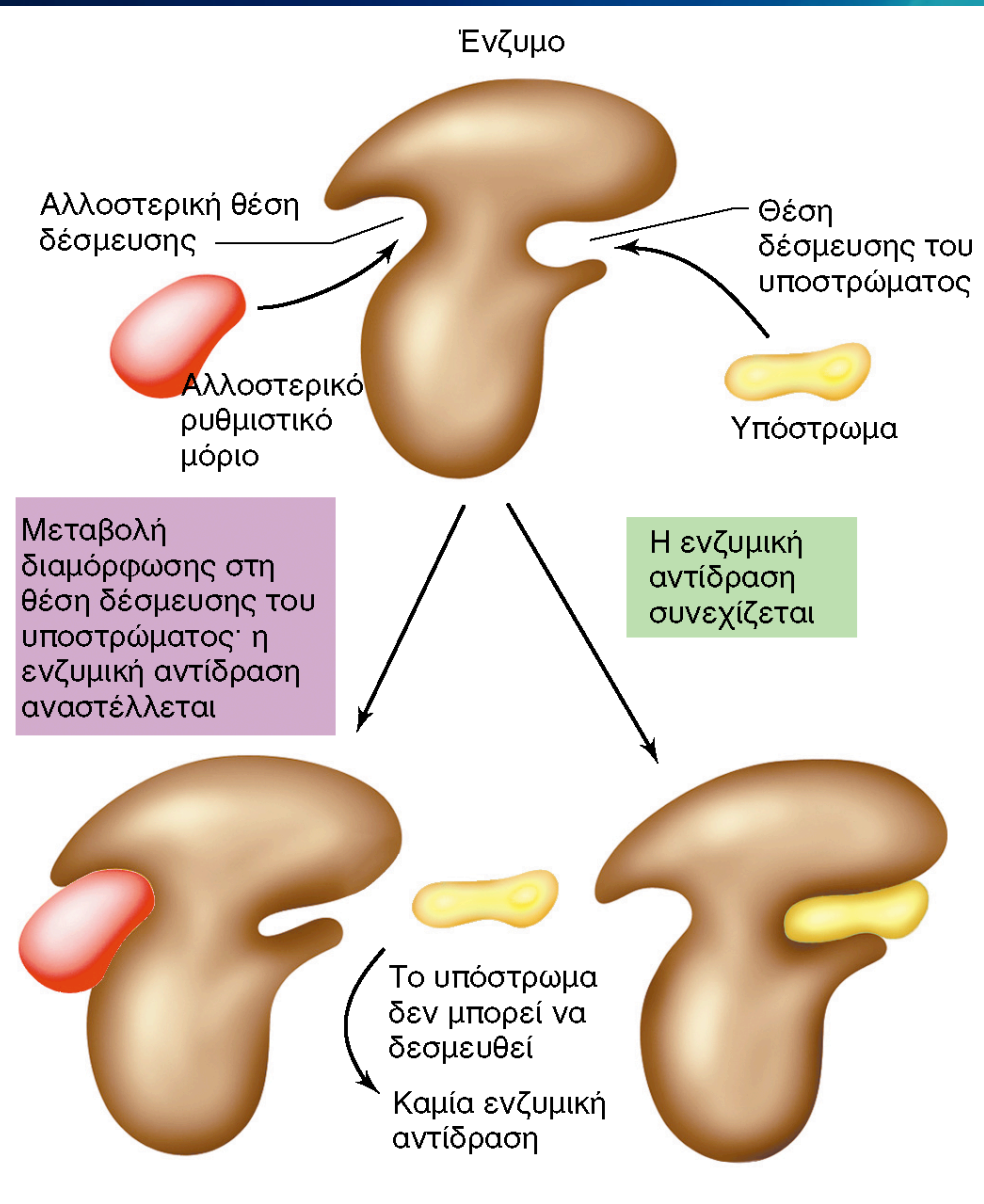
**Τ**α περισσότερα γονίδια περιέχουν την πληροφορία που είναι απαραίτητη για την κωδίκευση μίας πρωτεΐνης. Εν τούτοις, για να συντεθεί η πρωτεΐνη αυτή πρέπει πρώτα να εκφραστεί το γονίδιο. Οι οργανισμοί ρυθμίζουν την έκφραση των γονιδίων τους με τέτοιο τρόπο, ώστε οι πρωτεΐνες, και άλλα μόρια, να συντίθενται στη σωστή ποσότητα και στον σωστό χρόνο, κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μπορεί να επηρεαστεί από το περιβάλλον του κυττάρου. Συχνά, αυτή η ρύθμιση περιλαμβάνει αλληλεπιδράσεις μεγάλης ακρίβειας μεταξύ συγκεκριμένων γονιδίων στο DNA και ειδικών ρυθμιστικών πρωτεϊνών, όπως παρουσιάζεται εδώ στην περίπτωση του πρωτεϊνικού καταστολέα του βακτηριοφάγου λάμδα (μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει τη μεταγραφή), ο οποίος δεσμεύεται στο DNA (του φάγου). Η δέσμευση πρωτεϊνών στο DNA αποτελεί έναν μηχανισμό που μπορεί να προκαλέσει τόσο την «ενεργοποίηση» όσο και την «απενεργοποίηση» της γονιδιακής έκφρασης.



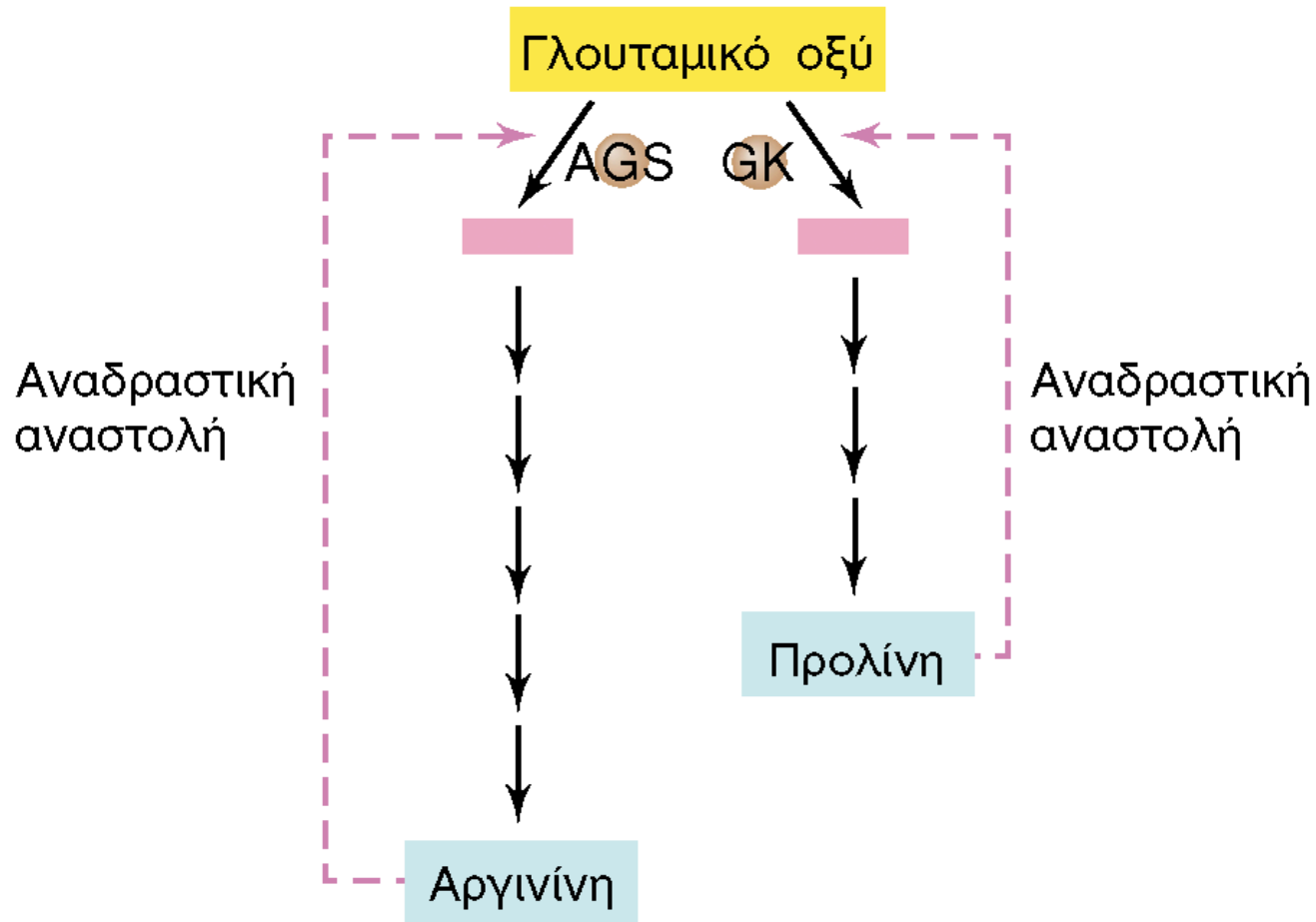
**Εικόνα 8.1** Επισκόπηση των μηχανισμών που μπορεί να χρησιμοποιηθούν στη ρύθμιση. Προϊόν του γονιδίου A είναι το ένζυμο A, το οποίο συντίθεται ως συστατικό και εκτελεί την αντίδρασή του. Το ένζυμο B συντίθεται επίσης ως συστατικό, αλλά η *ενεργότητά* του μπορεί να ανασταλεί. Η *σύνθεση* του προϊόντος του γονιδίου Γ μπορεί να παρεμποδιστεί μέσω ελέγχου στο επίπεδο της μετάφρασης. Η *σύνθεση* του προϊόντος του γονιδίου Δ μπορεί να παρεμποδιστεί μέσω ελέγχου στο επίπεδο της μεταγραφής.



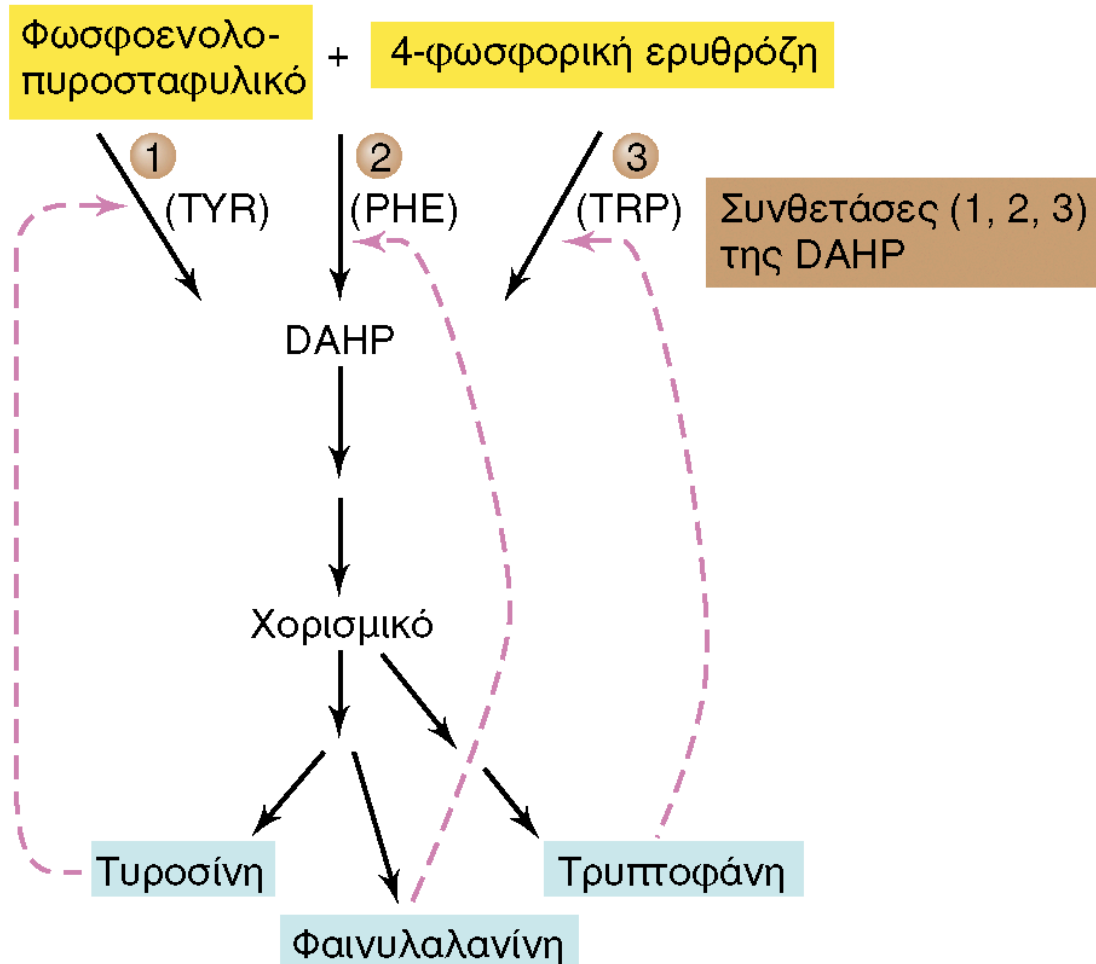
**Εικόνα 8.2** Αναδραστική αναστολή της ενζυμικής ενεργότητας. Η ενεργότητα του πρώτου ενζύμου της βιοσυνθετικής οδού αναστέλλεται από το τελικό προϊόν και έτσι ελέγχεται η παραγωγή του τελικού προϊόντος.



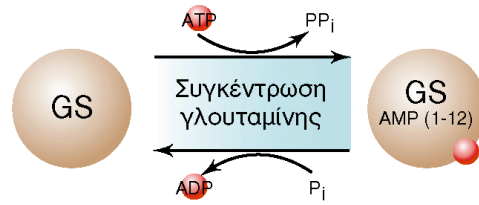
**Εικόνα 8.3** Μηχανισμός ενζυμικής αναστολής από ένα αλλοστερικό ρυθμιστικό μόριο. Όταν το μόριο αυτό ενώνεται με την αλλοστερική θέση, μεταβάλλεται η διαμόρφωση του ενζύμου και το υπόστρωμα δεν μπορεί πλέον να δεσμευθεί.



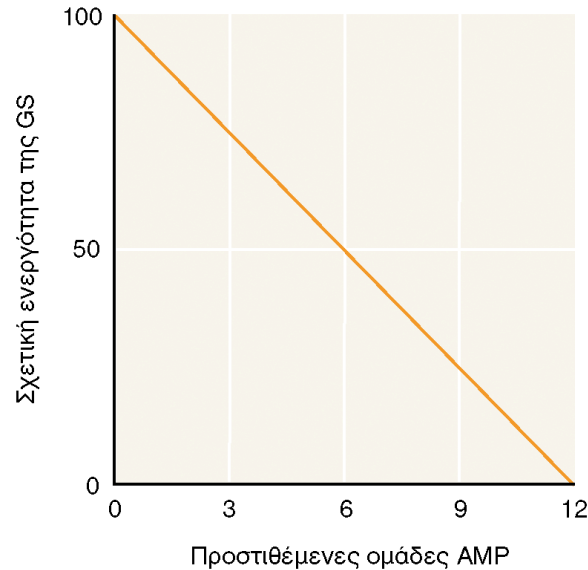
**Εικόνα 8.4** Αναδραστική αναστολή (κόκκινα, διακεκομμένα βέλη) δύο διακλαδωμένων βιοσυνθετικών οδών. Ο ενδιάμεσος μεταβολίτης-κλειδί της κάθε οδού παρουσιάζεται με ρόδινο χρώμα. Τα ένζυμα που αναστέλλονται είναι η *N*-ακετυλογλουταμική συνθετάση (AGS) και η  $\gamma$ -γλουταμυλική κινάση (GK).



**Εικόνα 8.5** Η συννηθισμένη οδός που οδηγεί στη σύνθεση των αρωματικών αμινοξέων περιέχει τρία ισοένζυμα της συνθετάσης της DAHP (7-φωσφο-3-δεοξυ-*D*-αραβινο-επτουλοζονικό). Κάθε ένα από τα ένζυμα αυτά αναστέλλεται ειδικά μέσω ανάδρασης από κάποιο αρωματικό αμινοξύ. Προσέξτε ότι απαιτείται περίσσεια και των τριών αμινοξέων για να σταματήσει τελειώς η σύνθεση της DAHP.



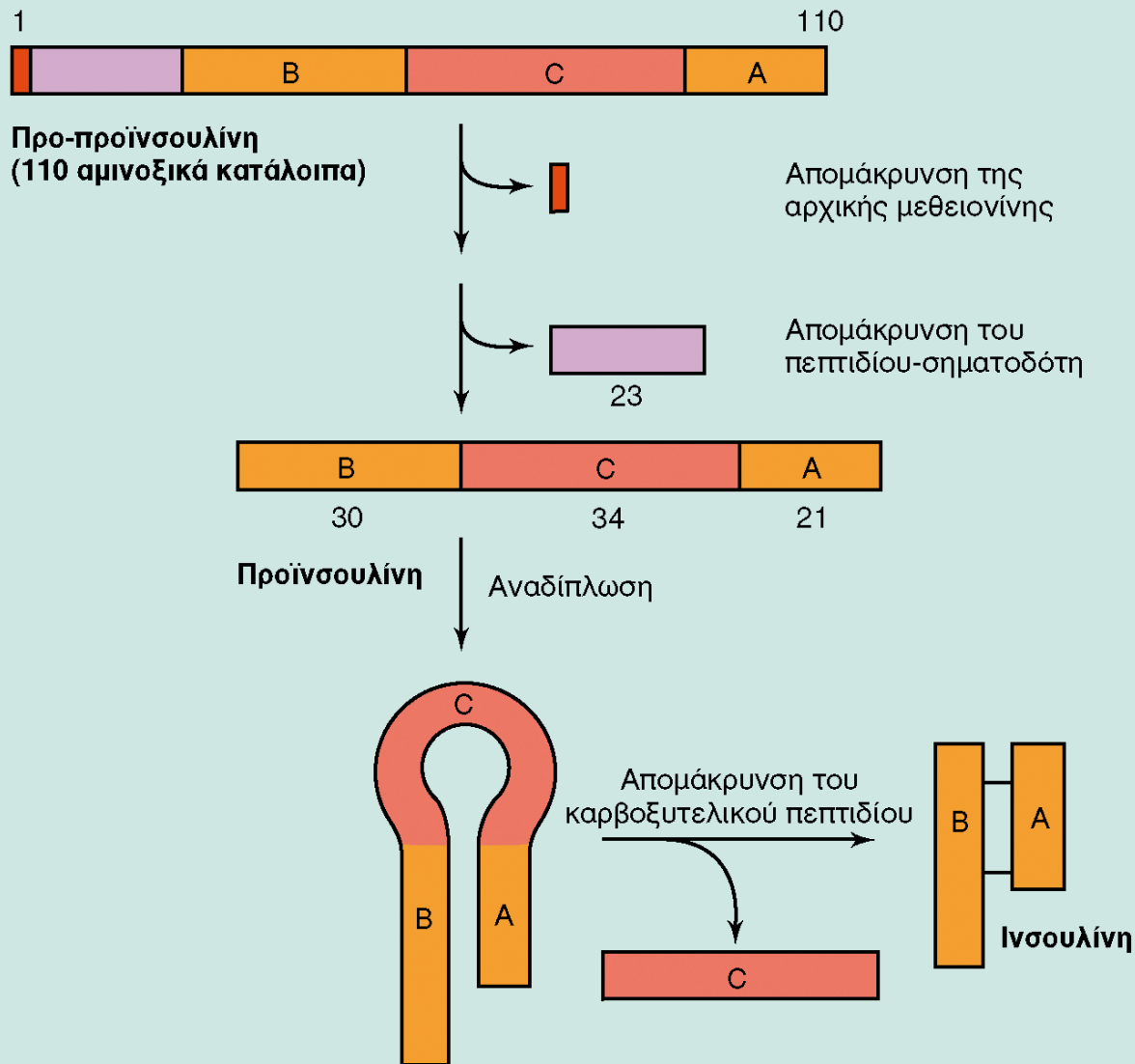
(α)



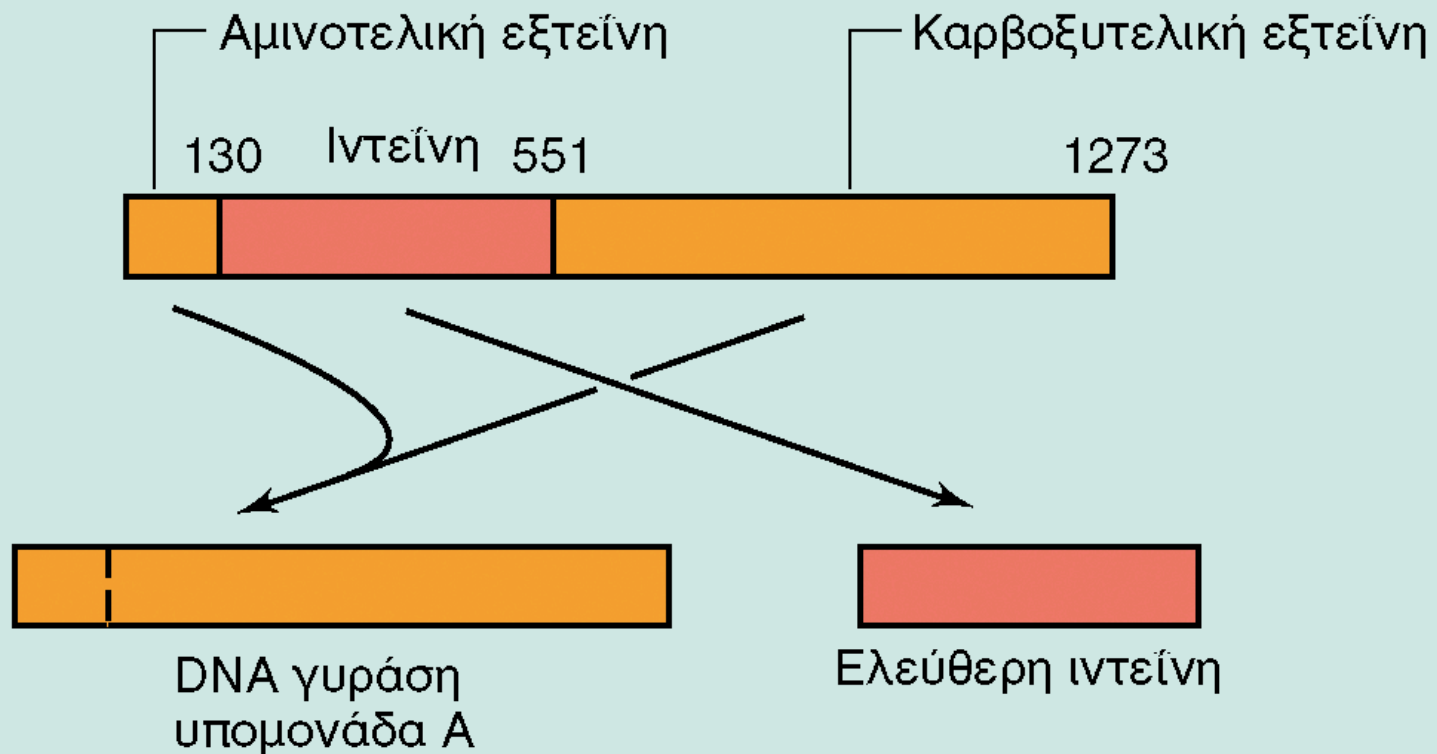
(β)

**Εικόνα 8.6** Ρύθμιση της συνθετάσης της γλουταμίνης μέσω ομοιοπολικής τροποποίησης. (α) Όταν τα κύτταρα αυξάνονται σε μέσο πλούσιο σε δεσμευμένο άζωτο, η συνθετάση της γλουταμίνης (GS) τροποποιείται ομοιοπολικά μέσω προοδευτικής αδενυλιώσεως. Στο ένζυμο μπορούν να προστεθούν έως και 12 αδενυλικές ομάδες (AMP). Όταν το θρεπτικό μέσο καταστεί πλέον φτωχό σε άζωτο, οι ομάδες απομακρύνονται και σχηματίζουν ADP. (β) Οι αδενυλιωμένες υπομονάδες της GS είναι ανενεργές και κατ' αυτόν τον τρόπο η συνολική ενεργότητα του ενζύμου *ελαττώνεται* ολοένα και περισσότερο όσο περισσότερες υπομονάδες αδενυλιώνονται. Οι όποιες υπομονάδες παραμένουν μη αδενυλιωμένες, εξακολουθούν να είναι ενεργές, αλλά εμφανίζουν αυξημένη ευαισθησία στην αναδραστική αναστολή.

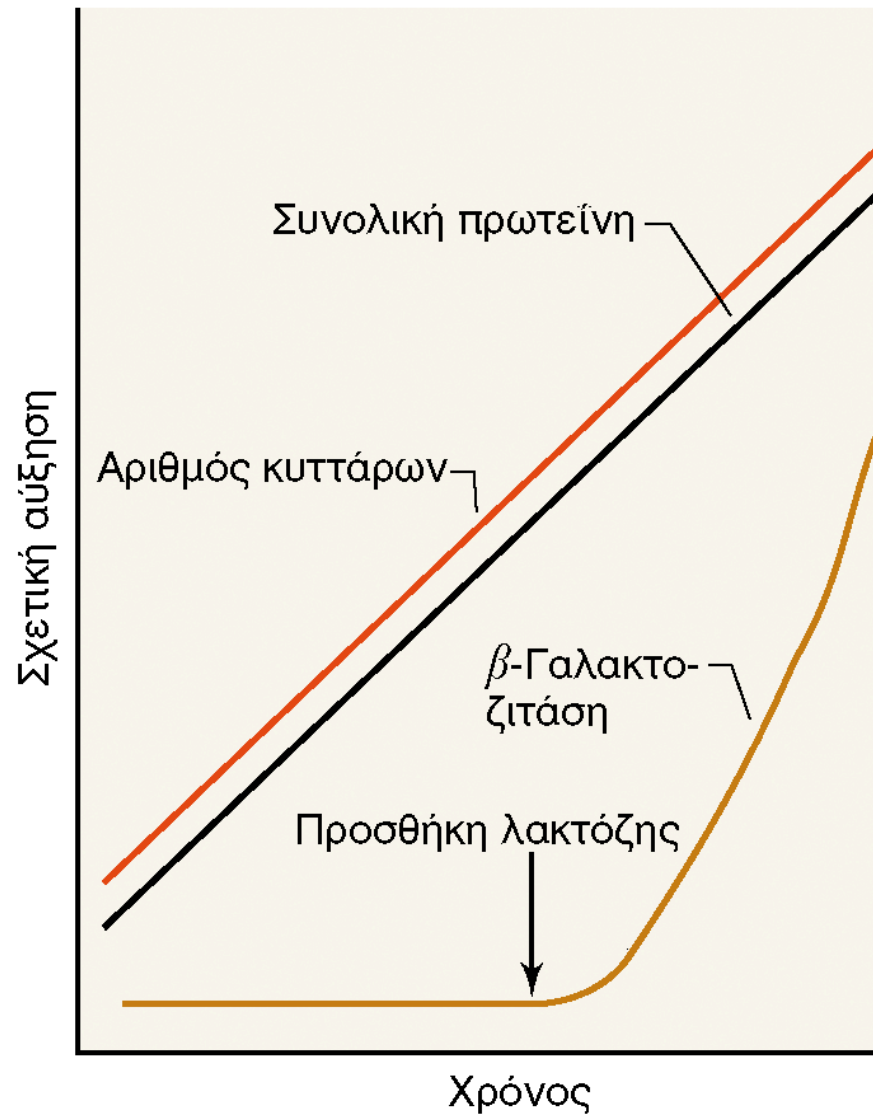




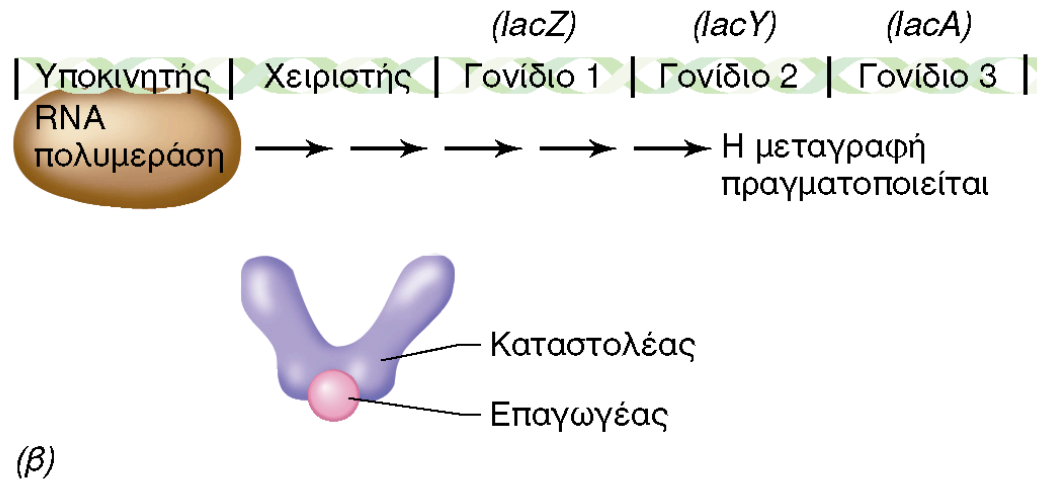
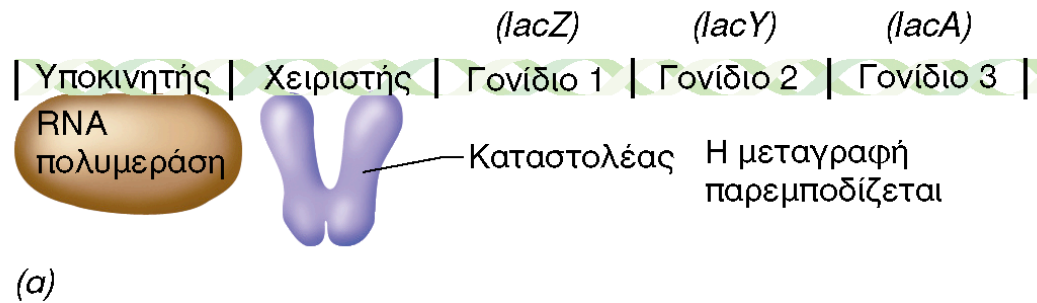
Εικόνα 1 Επεξεργασία της προ-προΐνσουλίνης. Η εναρκτήρια μεθειονίνη αποκόπτεται από την αλυσίδα πριν την ολοκλήρωση της σύνθεσης του συνολικού μορίου της προ-προΐνσουλίνης. Ακολούθως απομακρύνεται το πεπτιδίο-σηματοδότης, αναδιπλώνεται το μόριο της προΐνσουλίνης και αποκόπτεται το καρβοξυτελικό πεπτιδίο C, αφήνοντας την ινσουλίνη με τις αλυσίδες A και B. Οι αλυσίδες αυτές συγκρατούνται μεταξύ τους μέσω δισουλφιδικών δεσμών (🔗 Τμήμα 3.8).



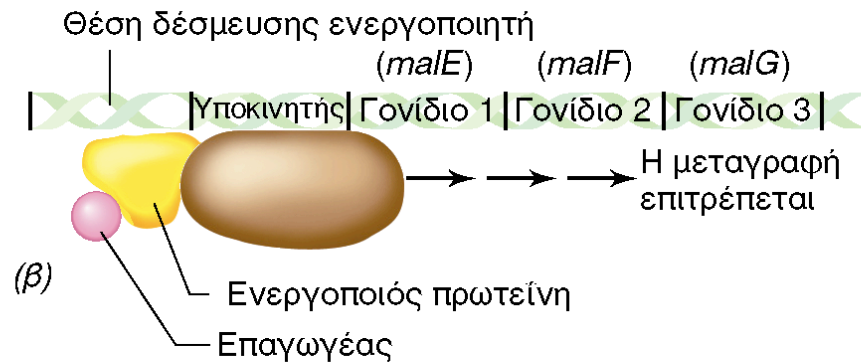
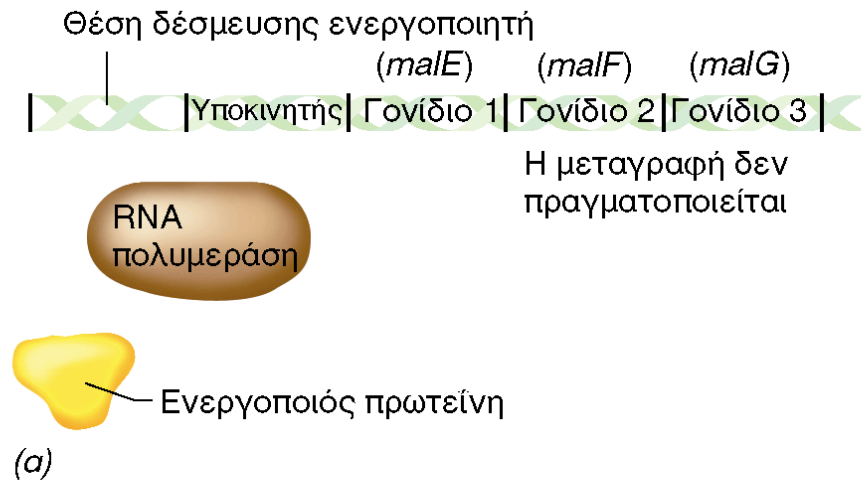
Εικόνα 2 Συρραφή πρωτεϊνών. Η πρωτεΐνη που συντίθεται από το mRNA του γονιδίου *gyrA* στο *Mycobacterium leprae* έχει μήκος 1273 αμινοξικά κατάλοιπα (έχει μήκος 10 φορές μεγαλύτερο από την προ-προϊνσουλίνη που απεικονίζεται στην Εικόνα 1). Τα κατάλοιπα 131 έως 550 συνιστούν μια ιντεΐνη, η οποία αυτοαφαιρείται μέσω μιας αντίδρασης αυτοσυρραφής που δημιουργεί μια ελεύθερη ιντεΐνη και την υπομονάδα A της DNA γυράσης.



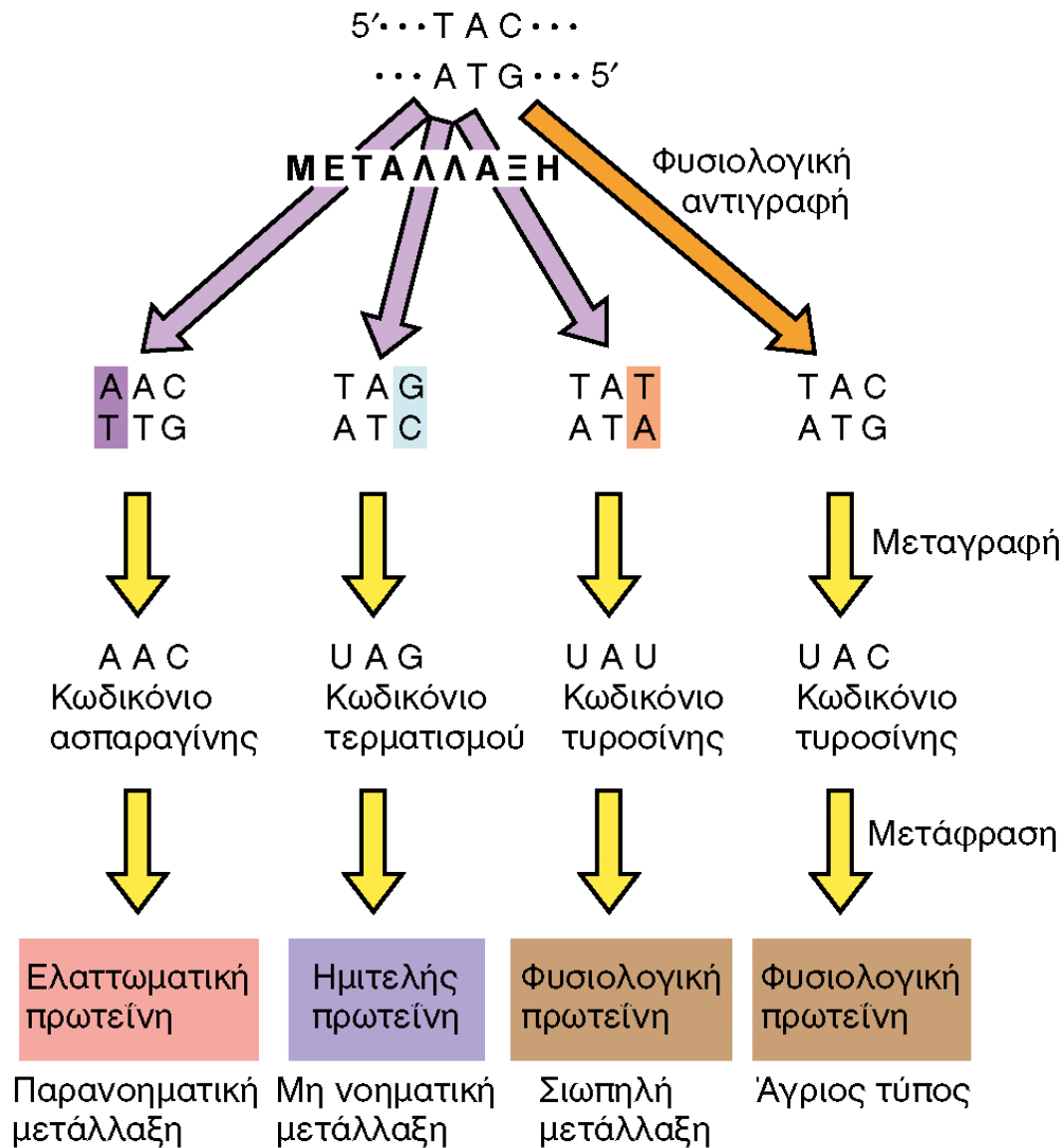
**Εικόνα 8.11** Επαγωγή του ενζύμου β-γαλακτοζιτάση, με την προσθήκη λακτόζης στο θρεπτικό μέσο. Σημειώστε ότι ο ρυθμός της συνολικής πρωτεϊνικής σύνθεσης παραμένει αμετάβλητος.



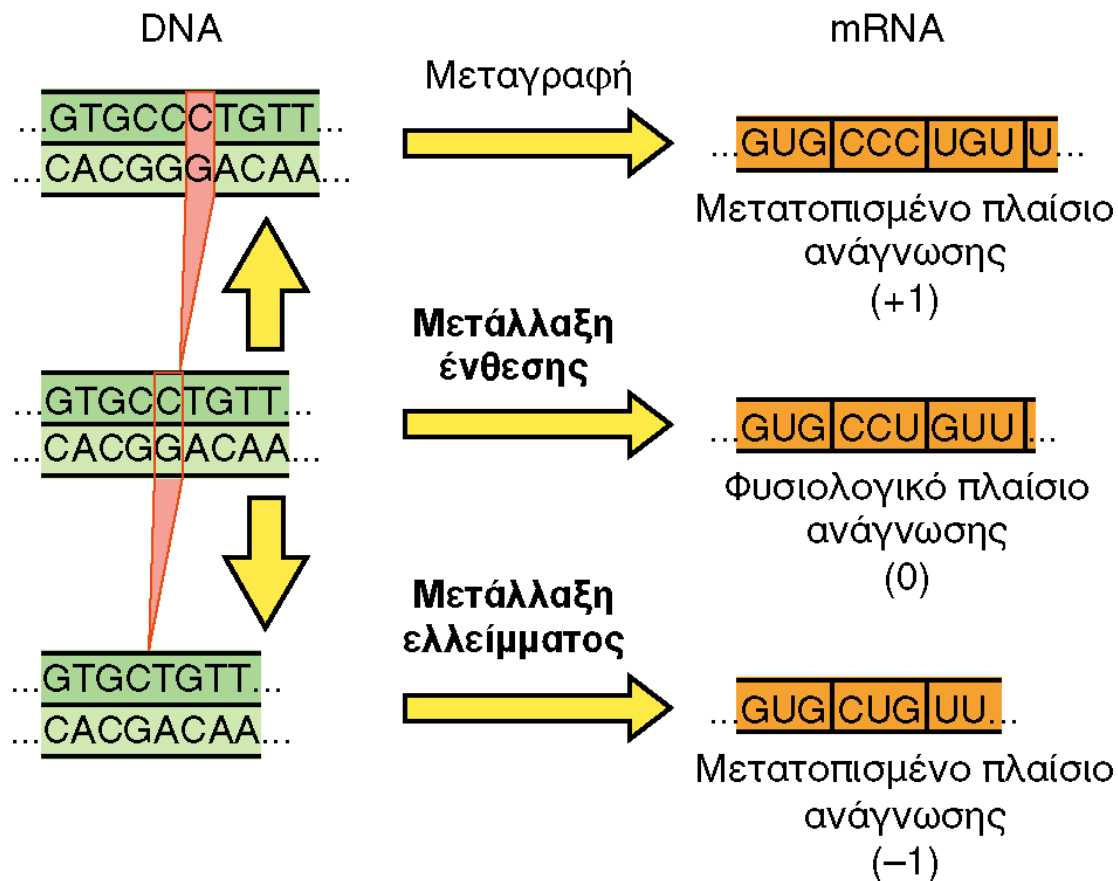
**Εικόνα 8.13** Η διαδικασία της ενζυμικής επαγωγής με τη χρήση καταστολέα. (α) Μια κατασταλτική πρωτεΐνη δεσμεύεται στην περιοχή του χειριστή και παρεμποδίζει τη δράση της RNA πολυμεράσης. (β) Ένα επαγωγικό μόριο δεσμεύεται στον καταστολέα και τον απενεργοποιεί, ούτως ώστε ο τελευταίος να μην μπορεί πλέον να δεσμευθεί στον χειριστή. Η μεταγραφή από την RNA πολυμεράση πραγματοποιείται, και συντίθεται το mRNA του οπερονίου. Στη περίπτωση του οπερονίου *lac*, καταστολέας είναι ο καταστολέας *lac* και επαγωγέας είναι η αλλολακτόζη.




**Εικόνα 8.14** Θετικός έλεγχος της ενζυμικής επαγωγής. (α) Απουσία επαγωγέα, ούτε η ενεργοποιός πρωτεΐνη ούτε η πολυμεράση του RNA μπορούν να δεσμευθούν στο DNA. (β) Ένα μόριο-επαγωγέας δεσμεύεται στην ενεργοποιό πρωτεΐνη, η οποία με τη σειρά της δεσμεύεται στη θέση δέσμευσης του ενεργοποιητή. Αυτό επιτρέπει στην RNA πολυμεράση να δεσμευθεί στον υποκινητή και να αρχίσει τη μεταγραφή. Στην περίπτωση του οπερονίου *malEFG*, ενεργοποιός πρωτεΐνη είναι η ενεργοποιός πρωτεΐνη της μαλτόζης και επαγωγέας το σάκχαρο μαλτόζη.



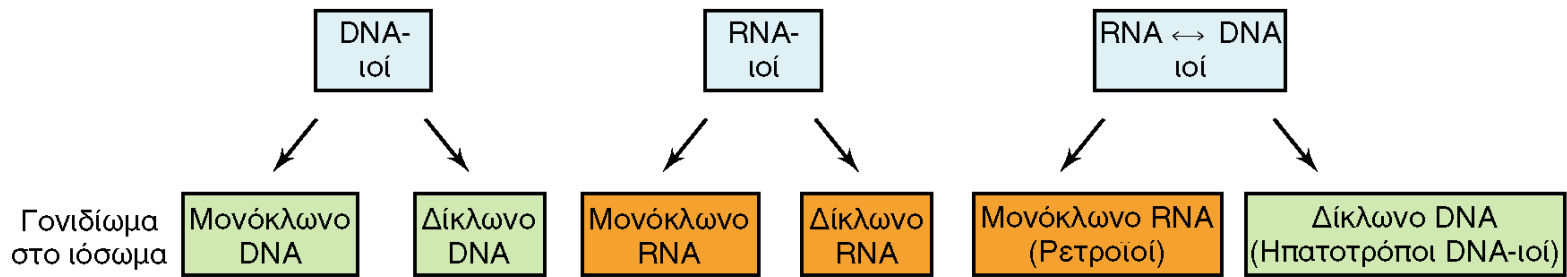
**Εικόνα 10.3** Πιθανές συνέπειες από την αντικατάσταση ζευγών βάσεων σε γονίδιο που κωδικεύει πρωτεΐνη: τρία διαφορετικά πρωτεϊνικά προϊόντα που προκύπτουν από αλλαγές σε ένα μόνο κωδικόνιο στο DNA.



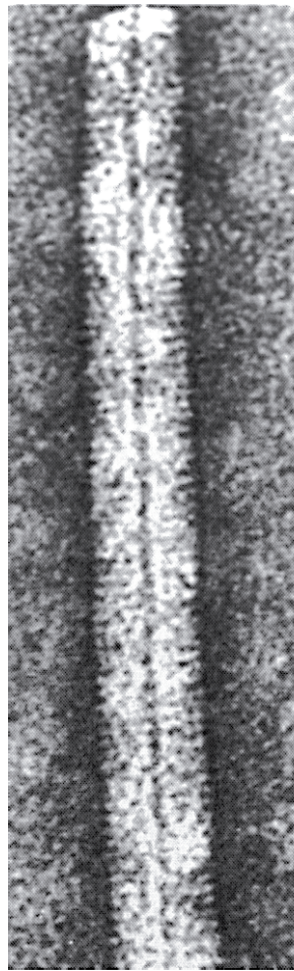
**Εικόνα 10.4** Μετατοπίσεις στο πλαίσιο ανάγνωσης του mRNA, που προκαλούνται από ενθέσεις ή ελλείμματα βάσεων στο DNA. Το πλαίσιο ανάγνωσης στο mRNA καθορίζεται από το ριβόσωμα στο άκρο 5' (προς τα αριστερά της εικόνας) και προάγεται ανά ομάδα τριών βάσεων (κωδικόνια:  Τμήματα 7.13 και 7.15). Το φυσιολογικό πλαίσιο ανάγνωσης αναφέρεται ως πλαίσιο 0, αυτό στο οποίο λείπει μία βάση ως πλαίσιο -1, και αυτό με μία επιπλέον βάση ως πλαίσιο +1. Για να καθορίσετε τις συνέπειες μιας μετάλλαξης μετατόπισης πλαισίου, μεταφράστε τα κωδικόνια χρησιμοποιώντας τον Πίνακα 7.3.



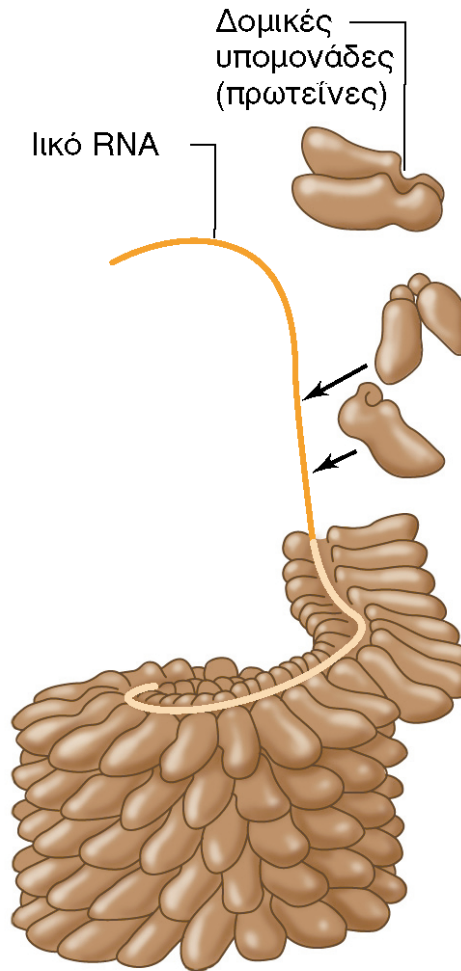




**Εικόνα 9.1** Ιικά γονιδιώματα. Το γονιδίωμα ενός ιού αποτελείται είτε από DNA είτε από RNA, αν και ορισμένοι ιοί χρησιμοποιούν σε διαφορετικές φάσεις του βιολογικού τους κύκλου τόσο το ένα όσο και το άλλο οξύ ως γενετικό υλικό. Σε κάθε περίπτωση, πάντως, στο ιόσωμα κάθε συγκεκριμένου ιικού είδους βρίσκεται ένα μόνο είδος νουκλεϊκού οξέος, το οποίο είναι είτε μονόκλωνο είτε δίκλωνο ή, όπως στην περίπτωση των ηπατοτρόπων DNA-ιών, μερικώς δίκλωνο.

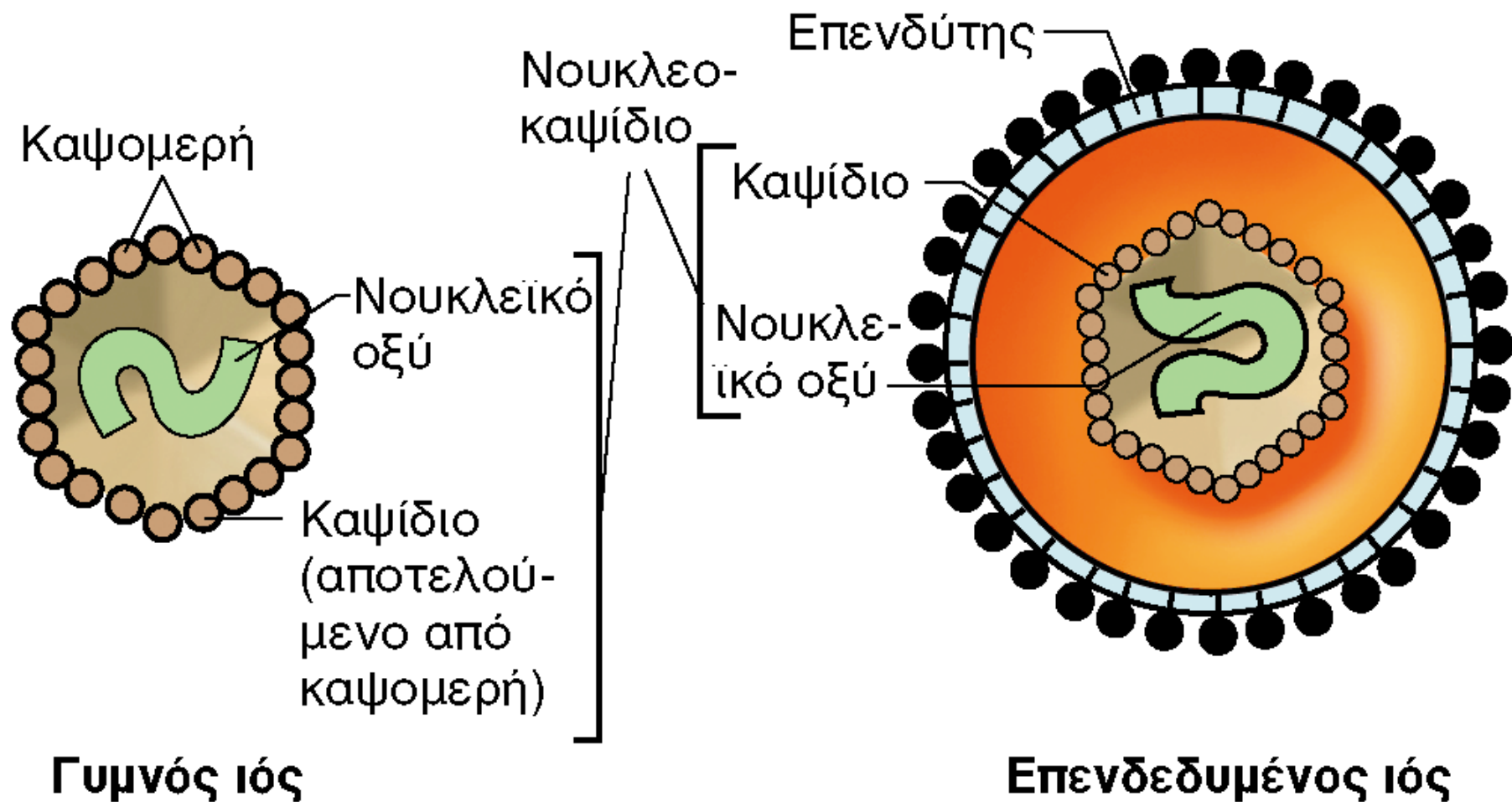


(α)



(β)

**Εικόνα 9.2** Διάταξη του νουκλεϊκού οξέος και του πρωτεϊνικού περιβλήματος σε έναν απλό ιό, τον ιό του μωσαϊκού του καπνού. (α) Ένα τμήμα του ιοσώματος, όπως φαίνεται σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο υψηλής ανάλυσης. (β) Συγκρότηση του ιοσώματος στον ιό του μωσαϊκού του καπνού. Το RNA του ιού έχει ελικοειδή διαμόρφωση και περιβάλλεται από την καψιδιακή πρωτεΐνη. Ο εσωτερικός αυλός του ιοσώματος είναι κενός.

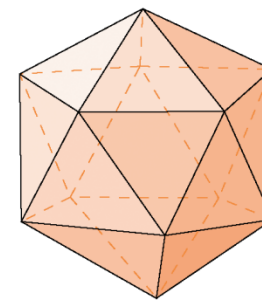


**Εικόνα 9.3**

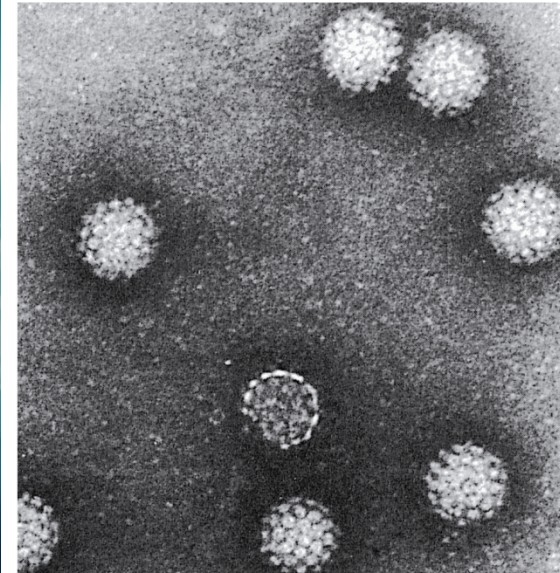
Σύγκριση ενός γυμνού και ενός επενδεδυμένου ιού, δύο πολύ κοινών τύπων ιοσώματος.

#### Εικόνα 9.4

Εικοσαεδρική συμμετρία. (α) Γεωμετρική αναπαράσταση ενός εικοσαέδρου. (β) Ο ιός του θηλώματος του ανθρώπου, όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Ο ιός αυτός έχει εικοσαεδρική συμμετρία. Κάθε μεμονωμένο ιόσωμα έχει διάμετρο περίπου 55 nm. (γ) Τριδιάστατη αναπαράσταση του ίδιου ιού, όπως προκύπτει από εικόνες ιοσωμάτων που έχουν υποστεί ψυκτοενυδάτωση.

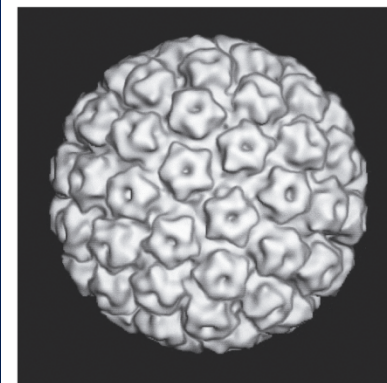


(α)



W. F. Noyes

(β)

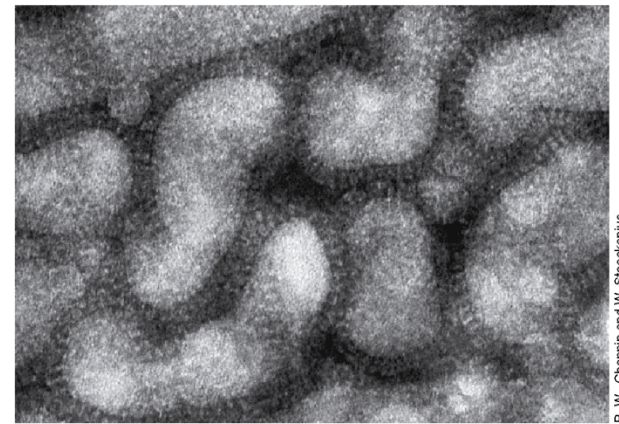


Tim Baker and Norm Olson

(γ)

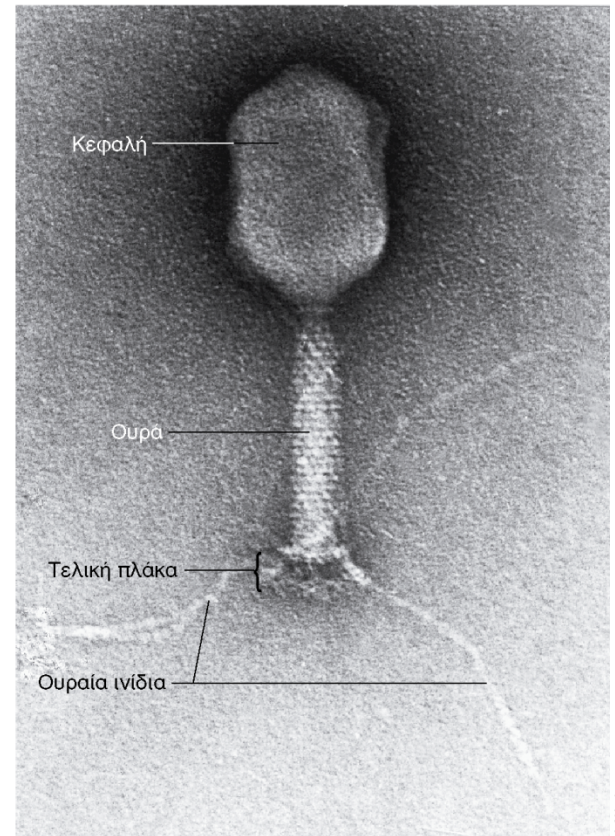
### Εικόνα 9.5

Ένας ζωικός και ένας βακτηριακός ιός, όπως φαίνονται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. (α) Ο ιός της γρίππης είναι ένας επενδεδυμένος ιός. Κάθε μεμονωμένο ιόσωμα έχει διάμετρο περίπου 80 nm, αλλά στερείται καθορισμένου σχήματος (Εικόνα 16.15). Ο ιός της γρίππης θα περιγραφεί αναλυτικότερα στο Τμήμα 16.8. (β) Ο βακτηριακός ιός (φάγος) T4 της *Escherichia coli* είναι ένας ιός με πολύπλοκη δομή. Τα συστατικά της ουράς συμμετέχουν στην προσκόλληση του ιοσώματος στον ξενιστή και στην έγχυση του νουκλεϊκού οξέος (βλ. Εικόνα 9.10). Η κεφαλή έχει διάμετρο περίπου 85 nm. Ο βακτηριοφάγος T4 περιγράφεται αναλυτικότερα στο Τμήμα 9.9.



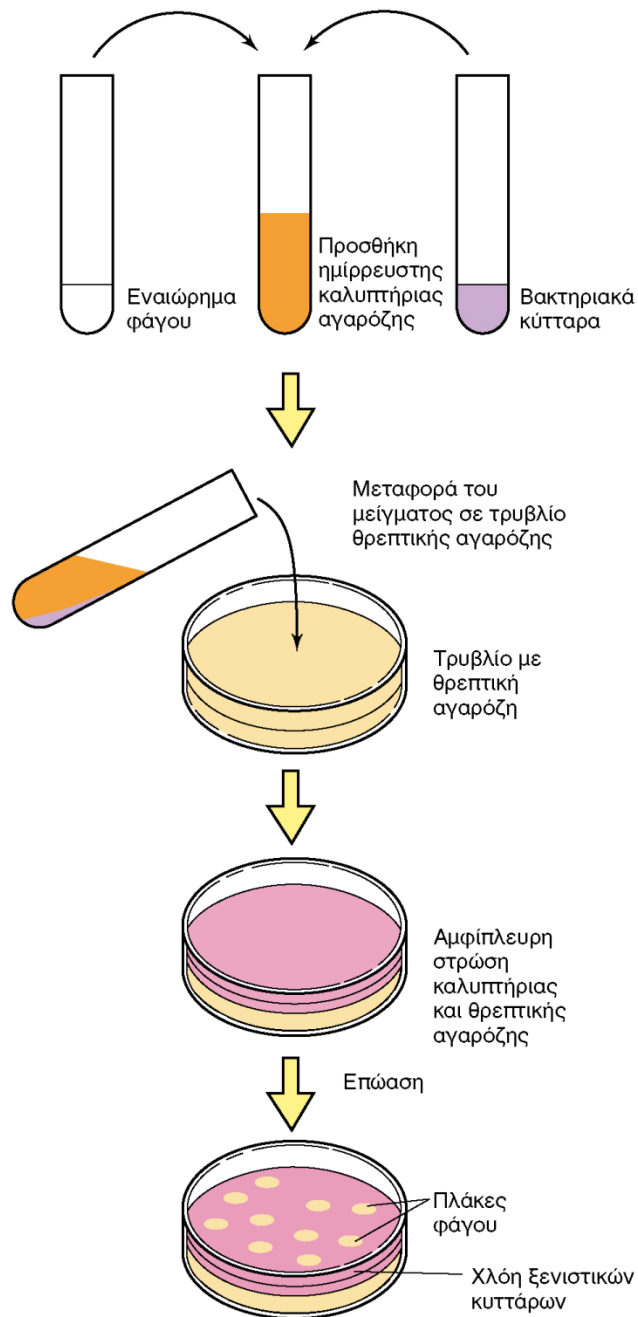
P. W. Choppin and W. Steckenius

(α)

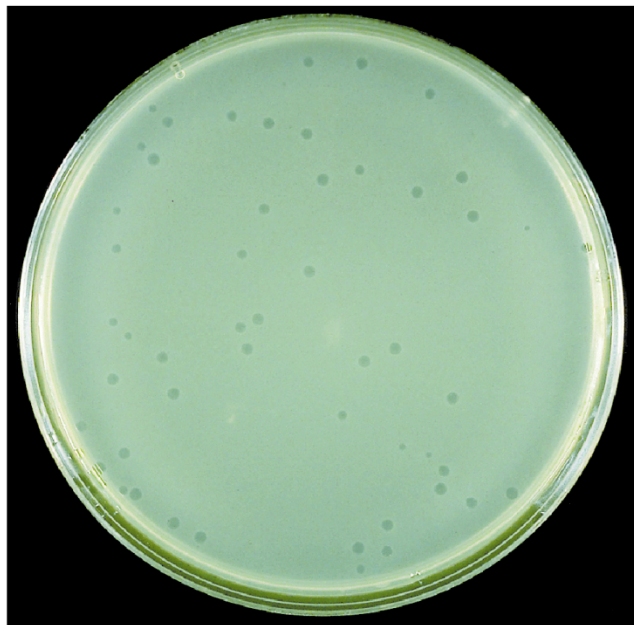


M. Wurtz

(β)



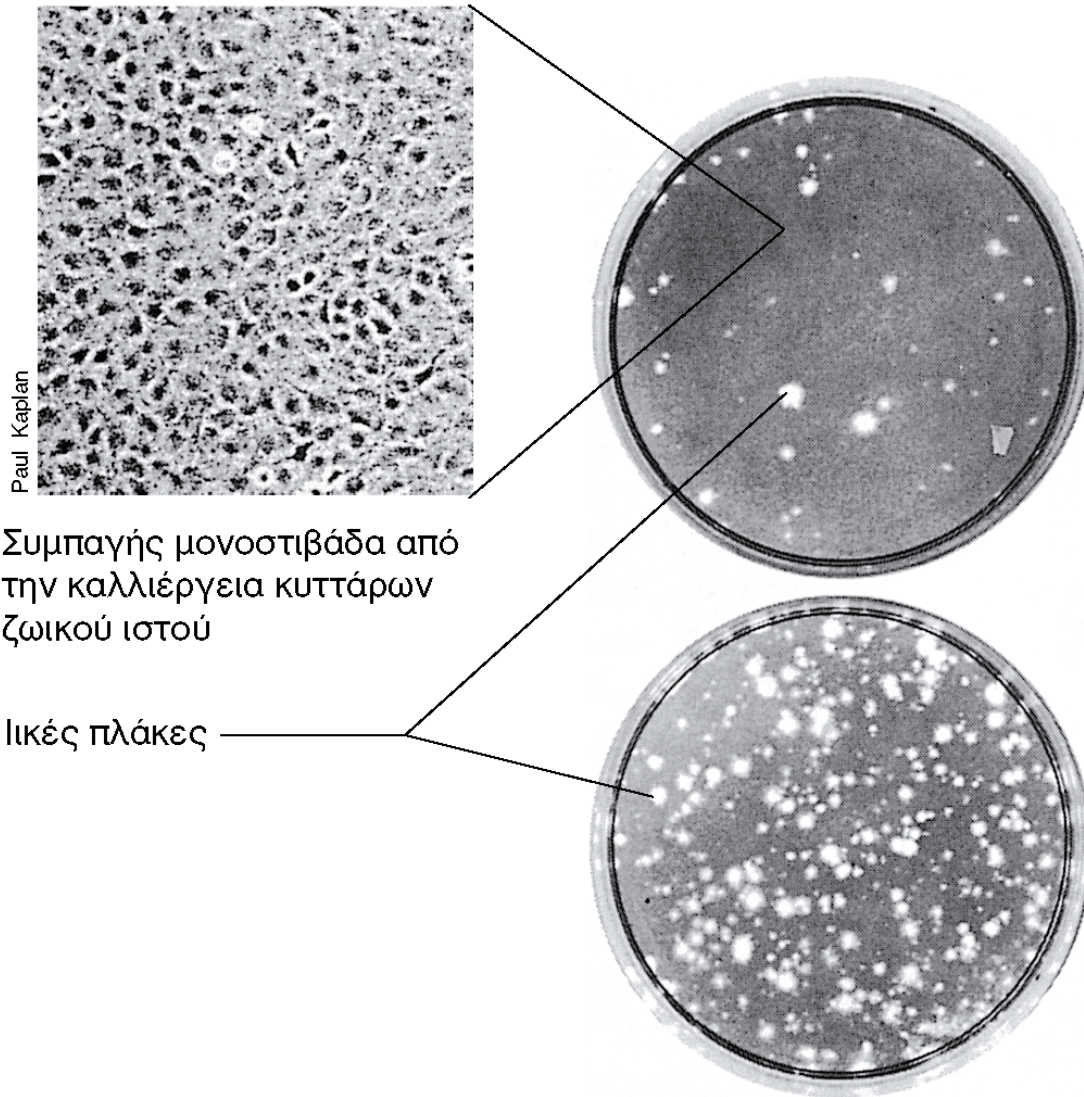
(α)



Jack Parker

(β)

**Εικόνα 9.6** Ποσοτική μέτρηση πλακών ενός βακτηριακού ιού με τη μέθοδο της επίστρωσης αγαρόζης. (α) Ένα αραιωμένο εναιώρημα με τον υπό μελέτη ιό αναμειγνύεται με μια μικρή ποσότητα ημίρρευστης αγαρόζης που περιέχει τα δεκτικά βακτήρια-ξενιστές, και το μείγμα τοποθετείται στην επιφάνεια ενός τρυβλίου με θρεπτική αγαρόζη. Τα ξενιστικά βακτήρια, τα οποία έχουν απλωθεί ομοιογενώς σε όλη την άνω επιφάνεια της αγαρόζης, αρχίζουν να αυξάνονται και, μετά από ολονύκτια επώαση, σχηματίζουν μια χλόη συμπαγούς αύξησης. Κάθε ιόσωμα που προσκολλάται και πολλαπλασιάζεται σε ένα κύτταρο προκαλεί λύση του κυττάρου. Τα απελευθερούμενα ιοσώματα διαχέονται και μολύνουν τα γειτονικά τους κύτταρα στην αγαρόζη, αναπαράγονται, προκαλούν λύση, και απελευθερώνονται εκ νέου. Το μέγεθος της σχηματιζόμενης πλάκας εξαρτάται από τον ιό, το κύτταρο-ξενιστή, και τις συνθήκες της καλλιέργειας. (β) Φωτογραφία ενός τρυβλίου με πλάκες τις οποίες δημιούργησε ένας βακτηριοφάγος σε σιβάδα δεκτικών βακτηρίων. Κάθε πλάκα έχει μέγεθος περίπου 1-2 mm.



Paul Kaplan

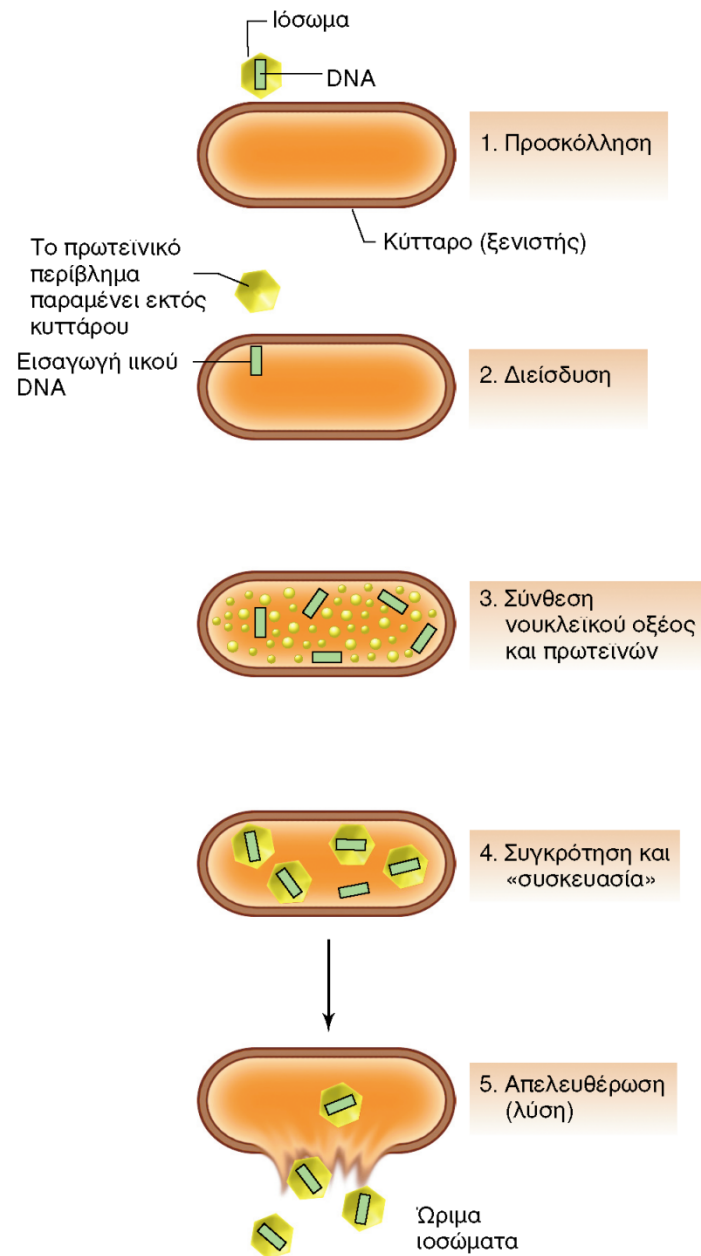
Συμπαγής μονοστιβάδα από την καλλιέργεια κυττάρων ζωικού ιστού

Ιικές πλάκες

T. D. Brock

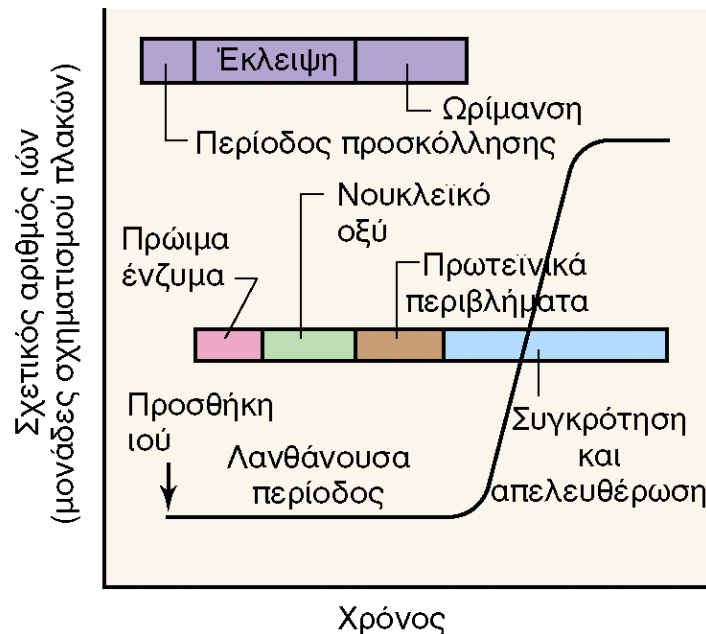
### Εικόνα 9.7

Μονοστιβάδα κυτταροκαλλιέργειας σε τρυβλίο Petri. Παρατηρήστε την εμφάνιση πλακών στα σημεία της ιογενούς κυτταρικής λύσης. Επάνω αριστερά, φωτογραφία της κυτταροκαλλιέργειας όπως φαίνεται στο οπτικό μικροσκόπιο.



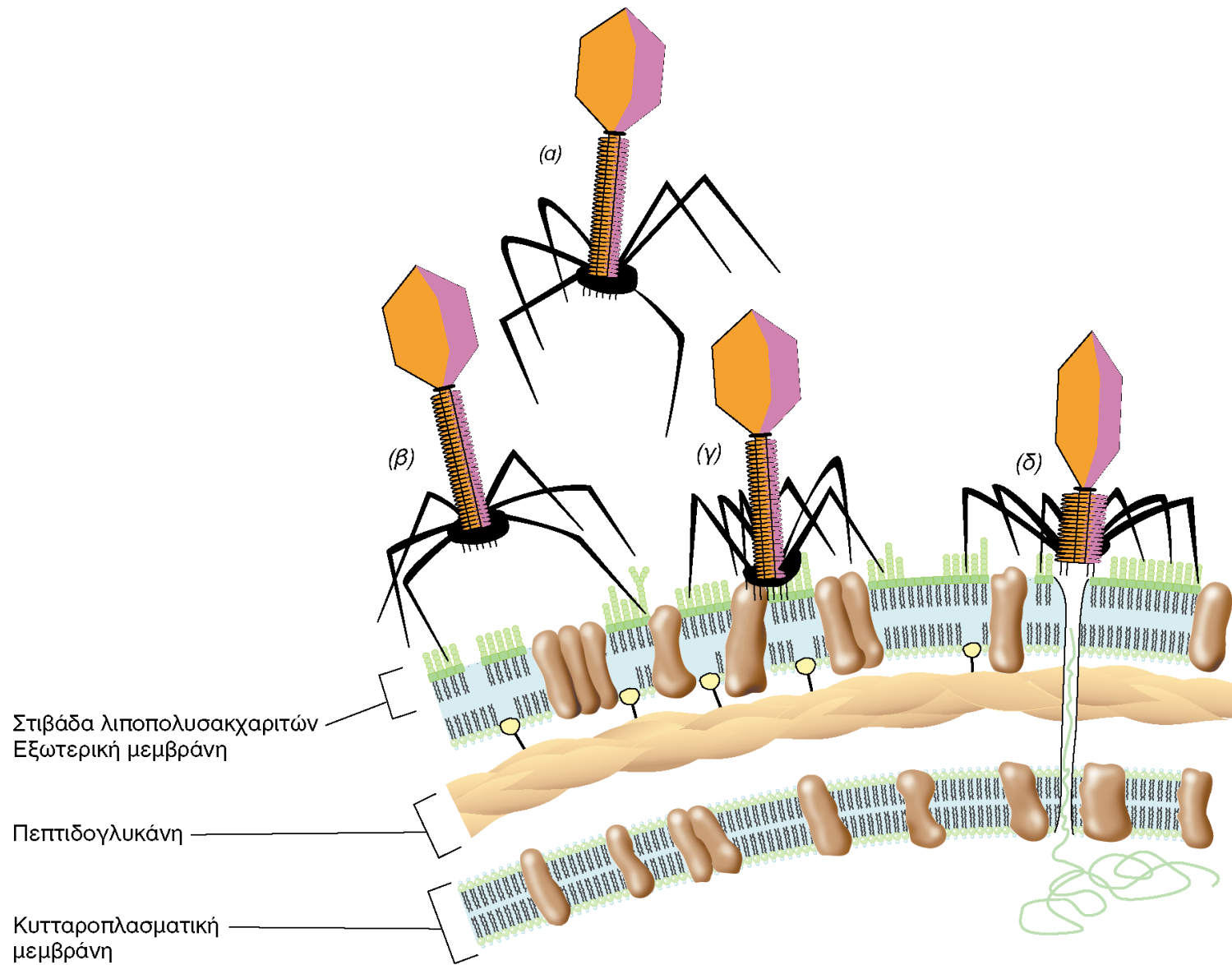
**Εικόνα 9.8** Ο βιολογικός κύκλος ενός βακτηριακού ιού. Επισημαίνονται τα βασικά στάδια του ιικού πολλαπλασιασμού.



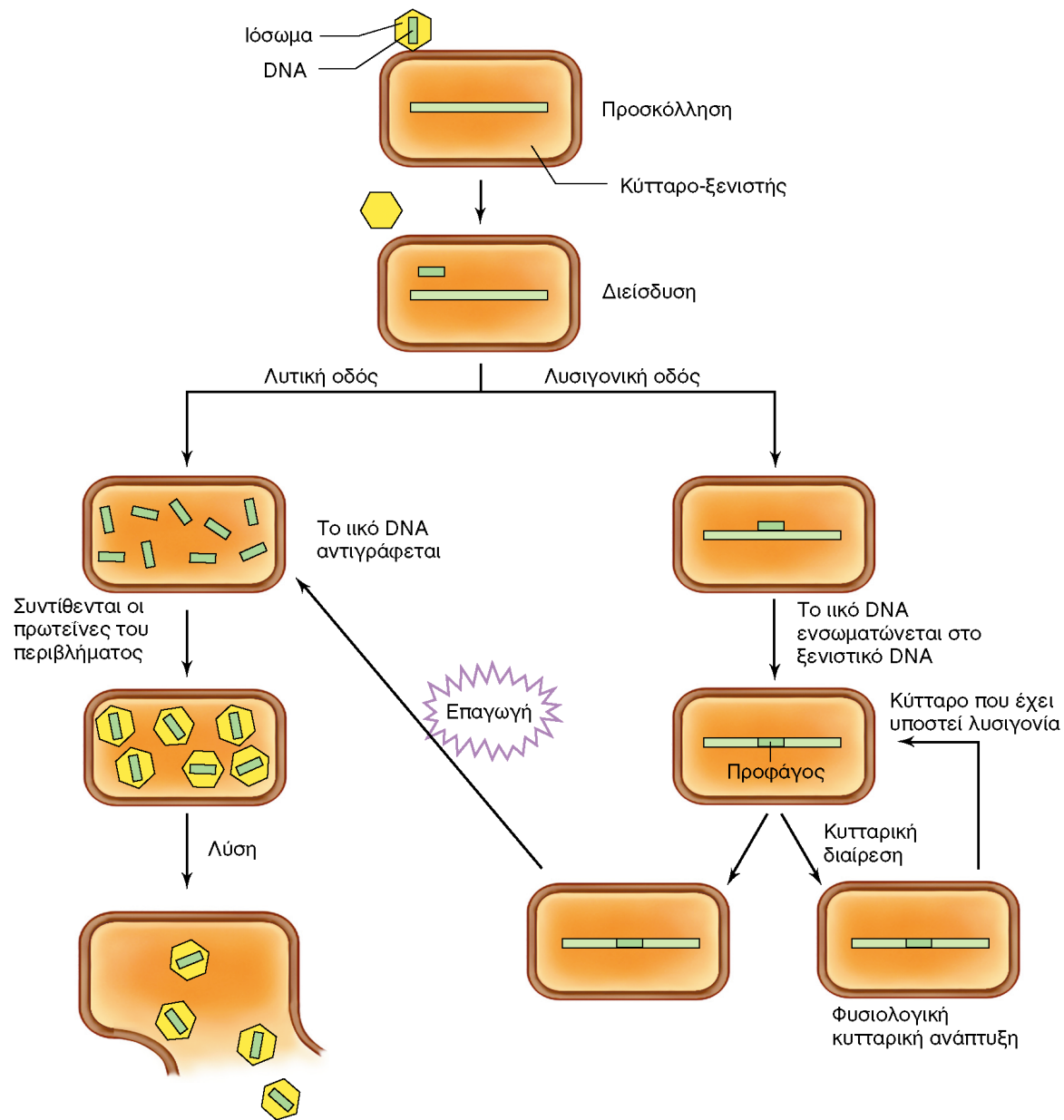


**Εικόνα 9.9**

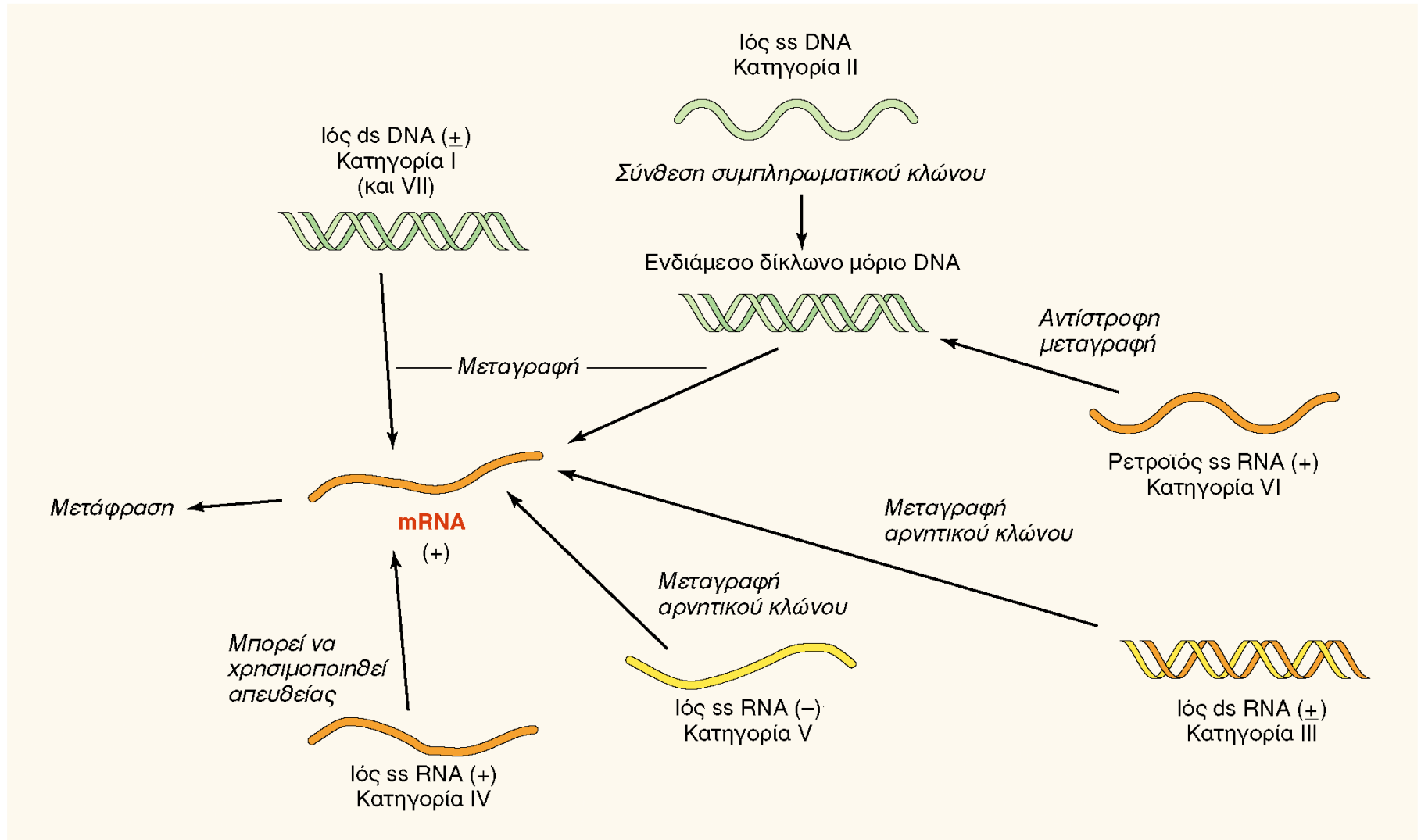
Η μονοφασική καμπύλη ανάπτυξης της ιικής αντιγραφής. Το διάγραμμα παρουσιάζει τα αποτελέσματα ενός κύκλου ιικού πολλαπλασιασμού σε κάποιον πληθυσμό κυττάρων. Μετά την προσκόλληση, η μολυσματικότητα των ιοσωμάτων εκμηδενίζεται. Το φαινόμενο αυτό λέγεται *έκλειψη* και οφείλεται στην απώλεια του ιοσωματικού καλύμματος. Κατά τη διάρκεια της *λανθάνουσας περιόδου* γίνεται η αντιγραφή του νουκλεϊκού οξέος και των πρωτεϊνών του ιού. Ακολουθεί η *περίοδος ωρίμανσης*, κατά την οποία το ιικό νουκλεϊκό οξύ και οι ιικές πρωτεΐνες συγκροτούνται σε ώριμα ιοσώματα. Αν σε αυτό το στάδιο προκληθεί τεχνητή λύση του κυττάρου, οι ιοί που ανιχνεύονται είναι ενεργοί. Το τελικό στάδιο περιλαμβάνει την απελευθέρωση, είτε αυτή γίνεται με, είτε χωρίς λύση του ξενιστικού κυττάρου. Η συνολική χρονική διάρκεια του μονοφασικού κύκλου ανάπτυξης ποικίλλει ανάλογα με τον ιό και τον ξενιστή. Συγκρίνετε το γενικό αυτό διάγραμμα και τις έγχρωμες φάσεις του με συγκεκριμένα αντιγραφικά στάδια του βακτηριοφάγου T4 στην Εικόνα 9.15.



**Εικόνα 9.10** Προσκόλληση του ιοσώματος του Βακτηριοφάγου T4 στο κυτταρικό τοίχωμα της *Escherichia coli*, και διείδυση του DNA του φάγου. (α) Μη προσκολλημένο ιόσωμα. (β) Προσκόλληση στο τοίχωμα μέσω της αλληλεπίδρασης των μακρών ουραιών ινιδίων με τον πυρήνα του λιποπολυσακχαρίτη της εξωτερικής μεμβράνης. (γ) Επαφή του κυτταρικού τοιχώματος με τις ακίδες στο άκρο του κορμού της πίκης ουράς. (δ) Συστολή της θήκης του ουραιού στελέχους και διείδυση του DNA. Για λεπτομέρειες σχετικά με τα κυτταρικά τοιχώματα των αρνητικών κατά Gram Βακτηρίων, βλ. Τμήμα 4.9.



**Εικόνα 9.16** Οι συνέπειες της μόλυνσης από έναν ήπιο βακτηριοφάγο. Οι δύο εναλλακτικές οδοί της μόλυνσης είναι είτε η αντιγραφική και απελευθέρωση του ώριμου ιού (λύση) είτε η ενσωμάτωση του ιικού DNA στο ξενιστικό DNA (λυσιγονία). Υπό ορισμένες συνθήκες, πάντως, μπορεί και το λυσιγονικό κύτταρο να οδηγηθεί στην παραγωγή ώριμων ιών και στη λύση.



**Εικόνα 9.11** Σύνθεση του mRNA μετά τη μόλυνση κυττάρων με ιούς διαφόρων κατηγοριών. Ο χημικός προσανατολισμός του mRNA λαμβάνεται εξ ορισμού ως θετικός (+). Τα διάφορα νουκλεϊκά οξέα των ιών ονομάζονται *θετικά* (+) όταν είναι ίδιου προσανατολισμού με εκείνον του mRNA του ιού, *αρνητικά* (-) όταν είναι συμπληρωματικά ως προς το ιικό mRNA, και *αμφοτερόσημα* (±) όταν το ιικό νουκλεϊκό οξύ είναι δίκλωνο. Σχεδόν όλοι οι μονόκλωνοι DNA-ιοί «είναι θετικοί», αν και σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να «κουσκευαστεί» στο ιόσωμα είτε ο θετικός είτε ο αρνητικός κλώνος. Δεν είναι απολύτως σαφές εάν ένα ιόσωμα με αρνητικό κλώνο είναι μολυσματικό. Στον Πίνακα 9.2 παρουσιάζονται οι διάφορες κατηγορίες του Συστήματος Ταξινόμησης του Baltimore.