



Βιοτεχνολογία

Παναγιώτα Σταθοπούλου
Επίκουρη Καθηγήτρια
panstath@upatras.gr

Εύα Διονυσοπούλου
ΕΔΙΠ Βιολογίας
edionys@upatras.gr

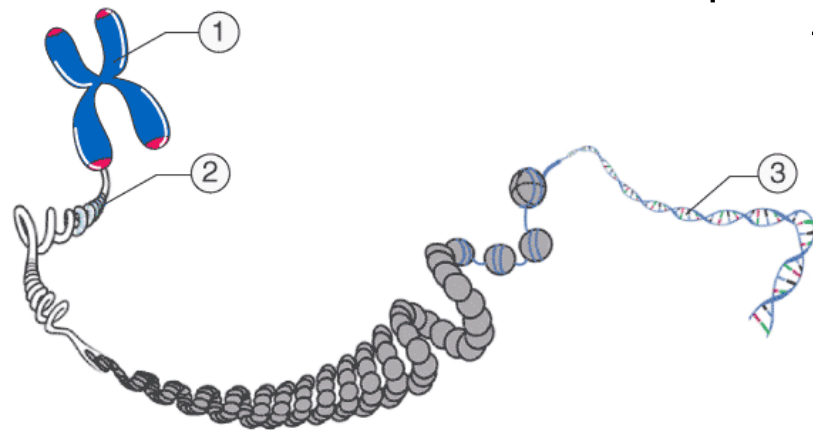
Χρωματίνη

Το DNA μπορεί είναι είτε **κυκλικό** (βακτήρια, μιτοχόνδρια και χλωροπλάστες) είτε **γραμμικό** (πυρήνες ευκαρυωτικών κυττάρων)

Πως συσπειρώνετε για να χωρέσει στο κύτταρο;



Αλληλοεπιδρά με ειδικές πρωτεΐνες σχηματίζοντας ένα συμπυκνωμένο νουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλοκο που ονομάζεται **χρωματίνη**



1 Chromosome | 2 Chromatin | 3 DNA Helix

Μορφές

- **Δίκτυο χρωματίνης**
μορφή πλέγματος που αποτελείται από μεμονωμένες ίνες και κοκκία (όχι σε φάση διαίρεσης)
- **Χρωμόσωμα**
η πιο συμπυκνωμένη μορφή της χρωματίνης με συγκεκριμένη μορφή (φάση κυτταρικής διαίρεσης)

Χρωματίνη

Ποιες διαφορές παρατηρούμε μεταξύ των οργανισμών;

- **Βακτήρια**

Μεγάλη ποικιλομορφία στη δομή της χρωματίνης

Κυκλικό DNA

Εξαίρεση – μερικά γραμμικά (*Agrobacterium*, *Streptomyces*)

- **Ευκαρυώτες**

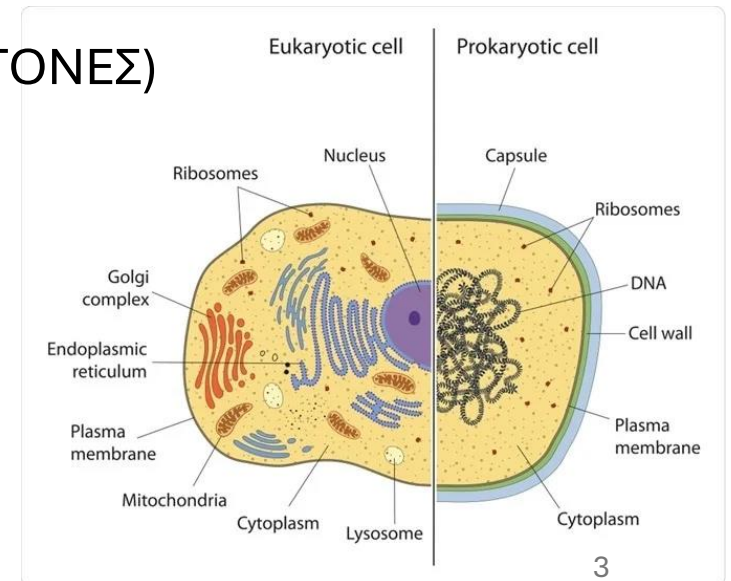
Γραμμικό DNA – αλληλεπίδραση με θετικά φορτισμένες πρωτεΐνες (ΙΣΤΟΝΕΣ)

Εξαίρεση – ελάχιστοι ευκαρυώτες δεν έχουν ιστόνες

- **Αρχαίοι προκαρυωτικοί μικροοργανισμοί**

Κάποια φέρουν σύμπλοκα όμοια με ευκαρυώτες, κάποια με βακτήρια

Μεγάλη ποικιλομορφία στη δομή της χρωματίνης



Βακτηριακή Χρωματίνη

Το βακτηριακό DNA εντοπίζεται στο πυρηνοειδές,
ένα ιδιαίτερα συμπυκνωμένο νουκλεοπρωτεϊνικό
σύμπλοκο

Αποτελεί το ένα τέταρτο του όγκου του κυττάρου!

Λύση: απελευθέρωση της βακτηριακής χρωματίνης
χωρίς τεμαχισμό του DNA ή μετουσίωσης των
πρωτεϊνών

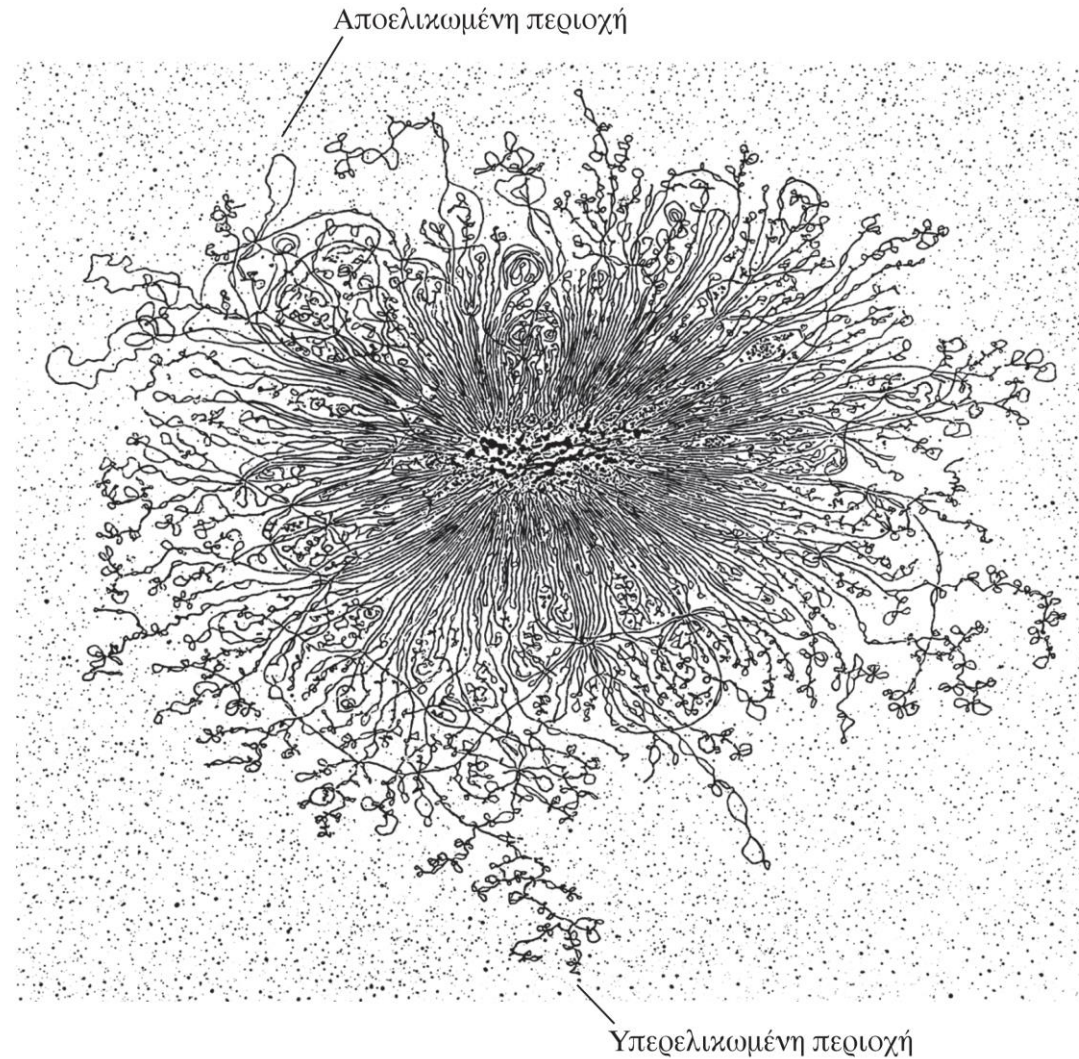


Βακτηριακή Χρωματίνη

Τι φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο
μετά από ήπια λύση;;

Πολλαπλοί βρόχοι προβάλλουν από μια
κεντρική περιοχή.

Μερικοί είναι υπερελικωμένοι, ενώ άλλοι
εμφανίζονται αποελικωμένοι.



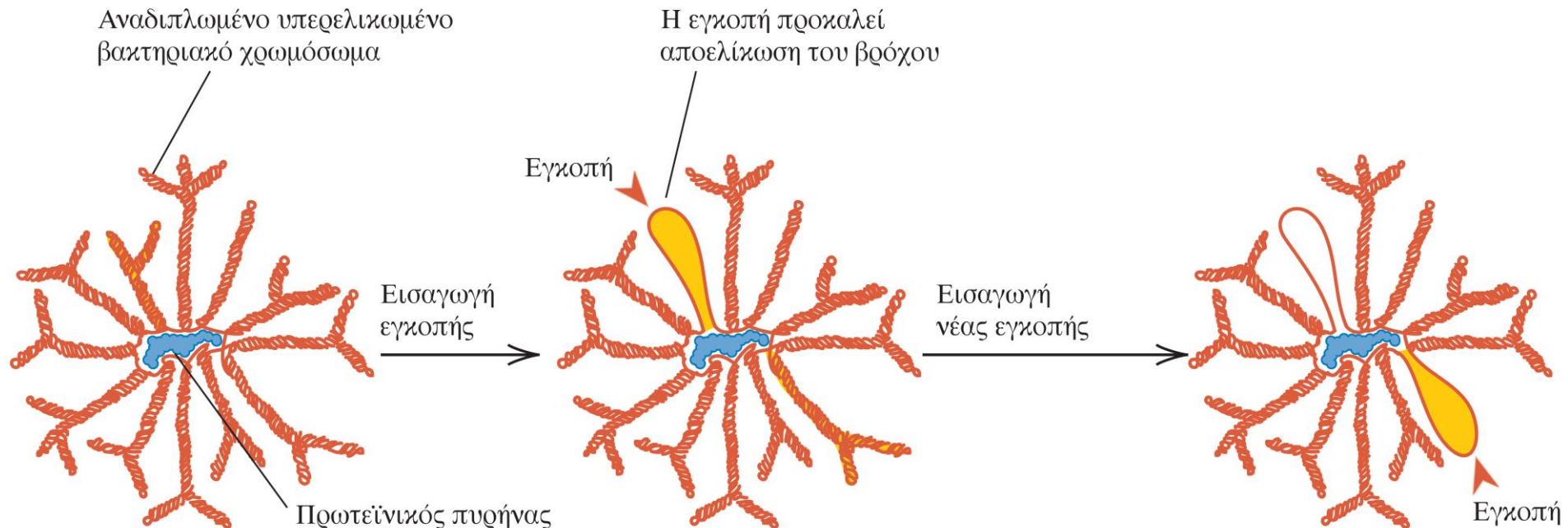
Βακτηριακή Χρωματίνη

Το χρωμόσωμα της *E. coli* οργανώνεται σε περίπου 400 αρνητικά υπερελικωμένους βρόχους, οι οποίοι συνδέονται με ένα κεντρικό πρωτεϊνικό πλέγμα.

Κάθε βρόχος (ο οποίος έχει μέσο μήκος περίπου 10-20 χιλιάδες ζεύγη βάσεων) είναι τοπολογικά ανεξάρτητος από τους υπόλοιπους.

Στον σχηματισμό συμβάλουν ποικιλία πρωτεϊνών

Μοντέλο αναδίπλωσης του βακτηριακού χρωμοσώματος



Χρωματίνη των Ευκαρυωτών

Η ευκαρυωτική χρωματίνη εμφανίζεται ως συσπειρωμένες δομές
ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ

Κύτταρα που περιέχουν μια σειρά χρωμοσωμάτων και γονιδίων (γαμέτες) χαρακτηρίζονται ως **απλοειδή**. (n)

Κύτταρα που έχουν τα χρωμοσώματά τους και τα γονίδια τους σε ζευγάρια χαρακτηρίζονται ως **διπλοειδή**. ($2n$)



Ομόλογα χρωμοσώματα

Στους διπλοειδείς οργανισμούς κάθε σωματικό κύτταρο περιέχει δύο αντίγραφα του κάθε χρωμοσώματος (ένα από κάθε γονέα).



Χρωματίνη των Ευκαρυωτών

Ορολογία

Γονίδιο

Μια μονάδα κληρονομικότητας, ένα τμήμα ακολουθίας του DNA που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη

Γονιδίωμα

Όλα τα γονίδια ενός οργανισμού

Αλληλόμορφα

Δύο γονίδια που βρίσκονται στην ίδια θέση σε δύο ομόλογα χρωμοσώματα και αφορούν στο ίδιο χαρακτηριστικό (μπορεί να είναι ταυτόσημα ή διαφορετικά)

Γενετικός τόπος

Μια συγκεκριμένη φυσική θέση σε μια αλυσίδα του DNA, όπου εδρεύει ένα γονίδιο

Χρωματίνη των Ευκαρυωτών

Ορολογία

Ομόζυγο άτομο

Έχει δύο όμοια γονίδια για ένα συγκεκριμένο χαρακτηριστικό (ένα από κάθε γονέα)

Ετερόζυγο άτομο

Έχει δύο παραλλαγές ενός γονιδίου για ένα χαρακτηριστικό

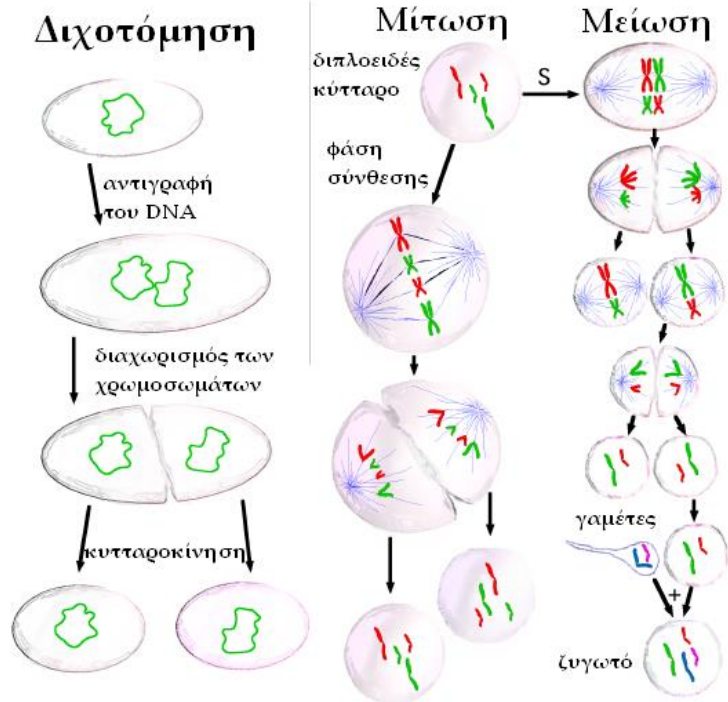
Γονότυπος

Η γενετική σύσταση ενός οργανισμού

Φαινότυπος

Η φυσική εμφάνιση ενός οργανισμού (γονότυπος + περιβάλλον)

Κυτταρική Διαίρεση ΤΥΠΟΙ

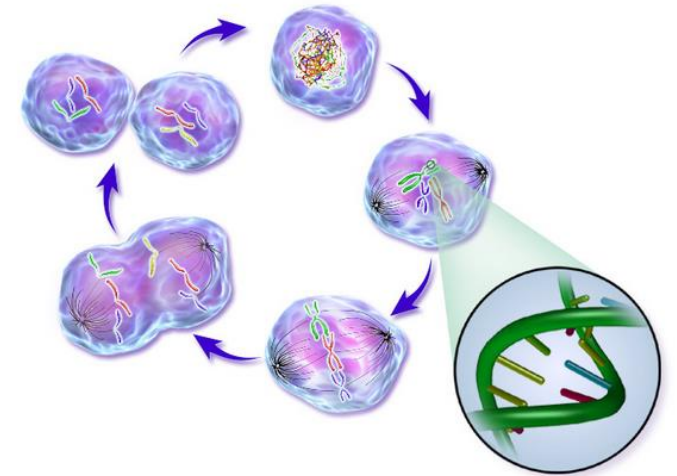


Ευκαρυωτικά κύτταρα
Μίτωση

Μείωση (παραγωγή γαμετών)

Προκαρυωτικά κύτταρα
Διχοτόμηση

(απλούστερη διαίρεση, χωρίς τα χαρακτηριστικά της μίτωσης).



Η μίτωση

Δημιουργία θυγατρικών κυττάρων τα οποία φέρουν τον ίδιο αριθμό χρωμοσωμάτων με το γονικό κύτταρο.

Πυρηνική διαίρεση

ακριβοδίκαιη διανομή του γενετικού υλικού

Κυτταροπλασματική διαίρεση

μοίρασμα του μητρικού κυτταροπλάσματος



- ✓ Πρόφαση
- ✓ Μετάφαση
- ✓ Ανάφαση
- ✓ Τελόφαση

Η μίτωση αποτελεί μικρό τμήμα του κύκλου ζωής.

Το μεγαλύτερο τμήμα (~90%) καλύπτεται από το στάδιο της μεσόφασης, όπου συντίθεται DNA, RNA, πρωτεΐνες και άλλα βιολογικά μόρια.

Η μεσόφαση

ΕΤΕΡΟΧΡΩΜΑΤΙΝΗ

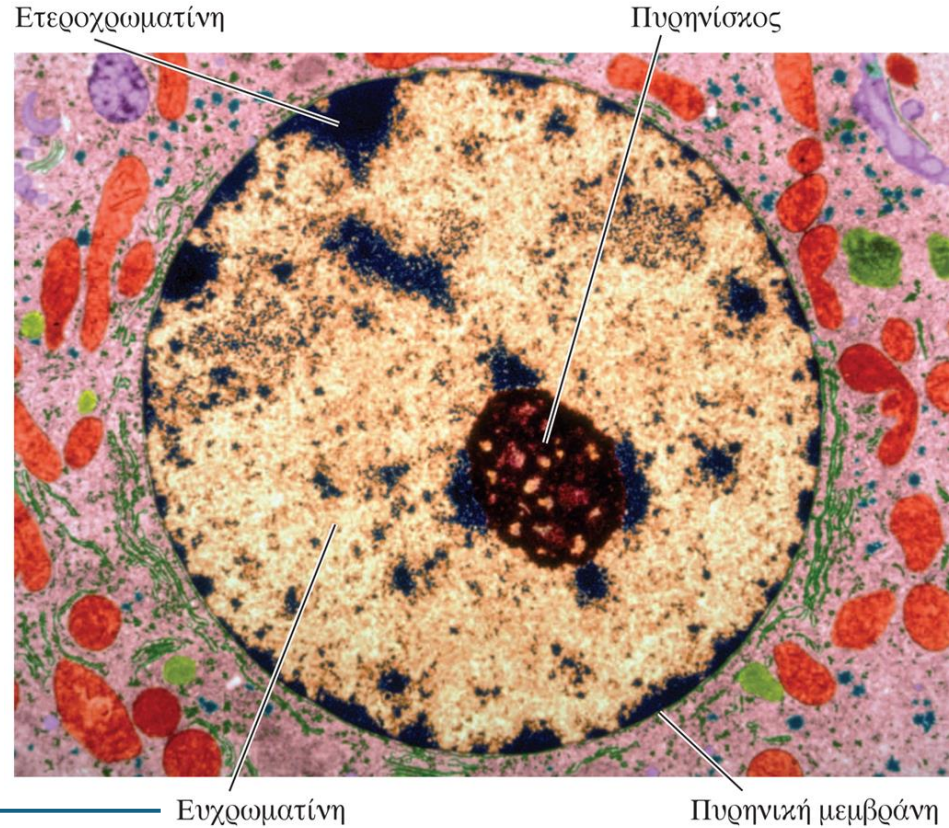
Περισσότερο συμπυκνωμένη

Δεν μεταγράφεται

ΕΥΧΡΩΜΑΤΙΝΗ

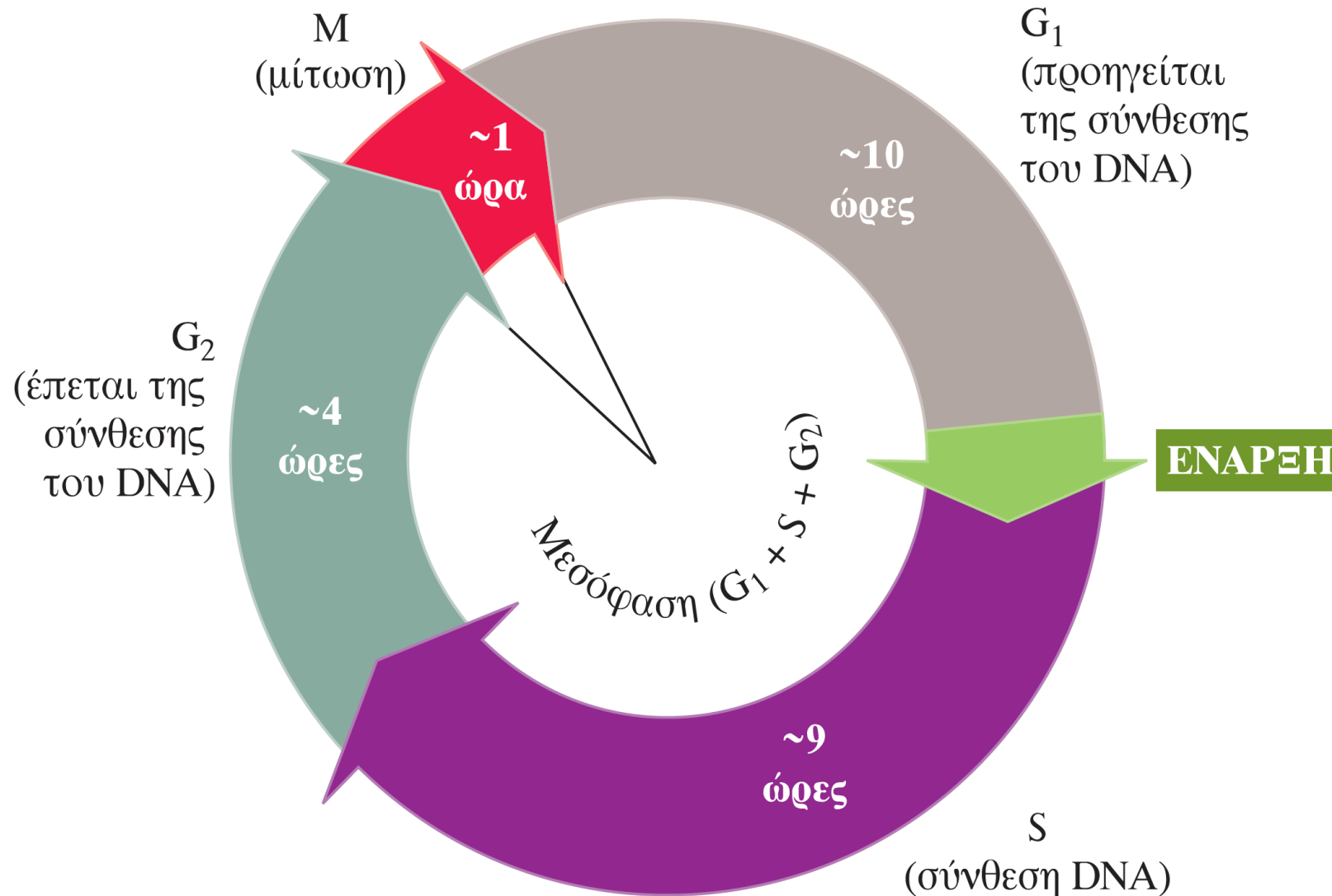
Κύρια μορφή χρωματίνης

Μεταγράφεται κατά την μεσόφαση



G1 + S + G2

Ο κυτταρικός κύκλος ενός τυπικού κυττάρου θηλαστικών που αναπτύσσεται σε καλλιέργεια και έχει χρόνο γενιάς 24 ώρες

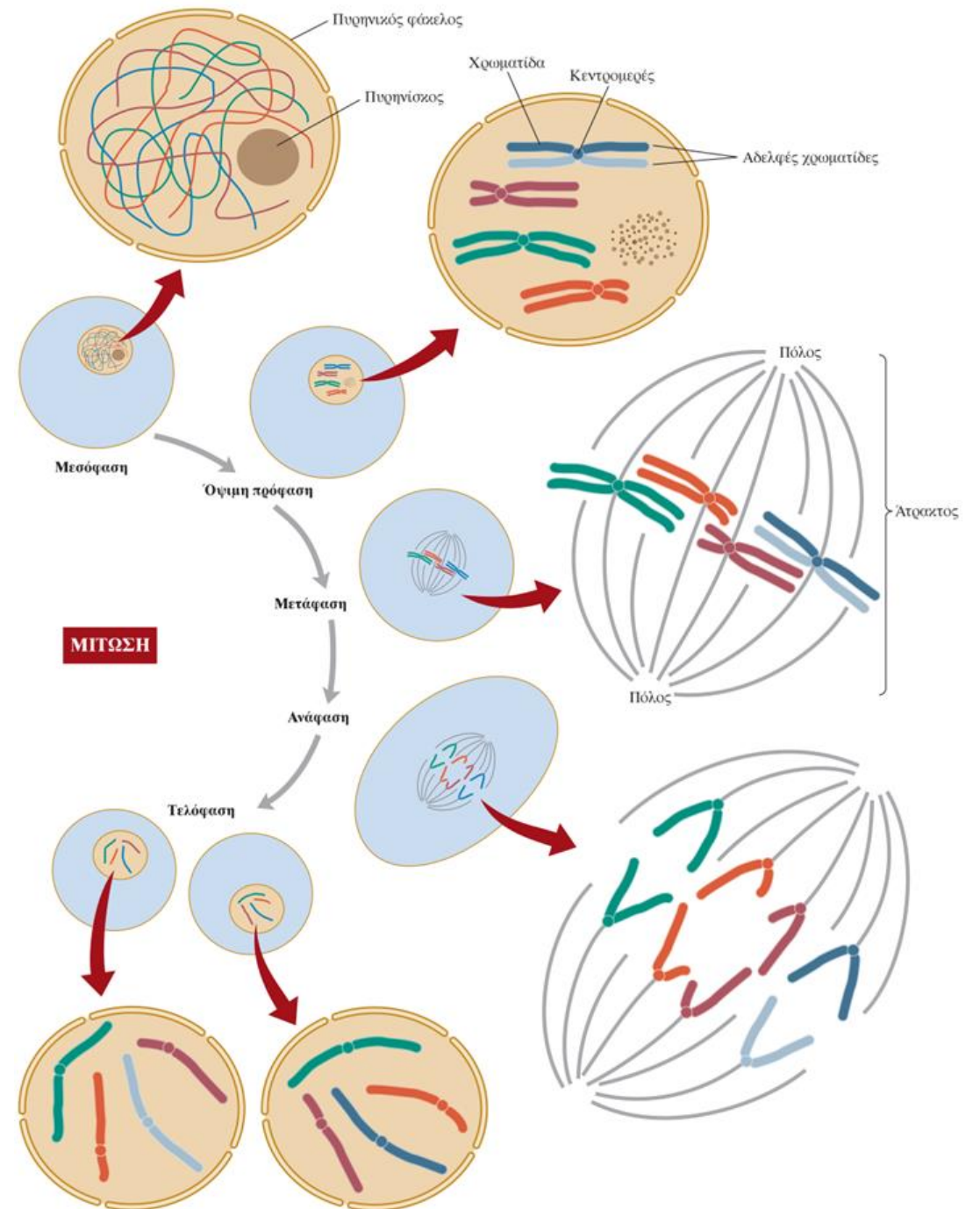


Η μίτωση

Δημιουργία θυγατρικών κυττάρων τα οποία φέρουν τον ίδιο αριθμό χρωμοσωμάτων με το γονικό κύτταρο

- ✓ Πρόφαση
- ✓ Μετάφαση
- ✓ Ανάφαση
- ✓ Τελόφαση

Το ένα ζεύγος χρωμοσωμάτων απεικονίζεται με κόκκινο και πορτοκαλί χρώμα, ενώ το άλλο με πράσινο και μπλε.



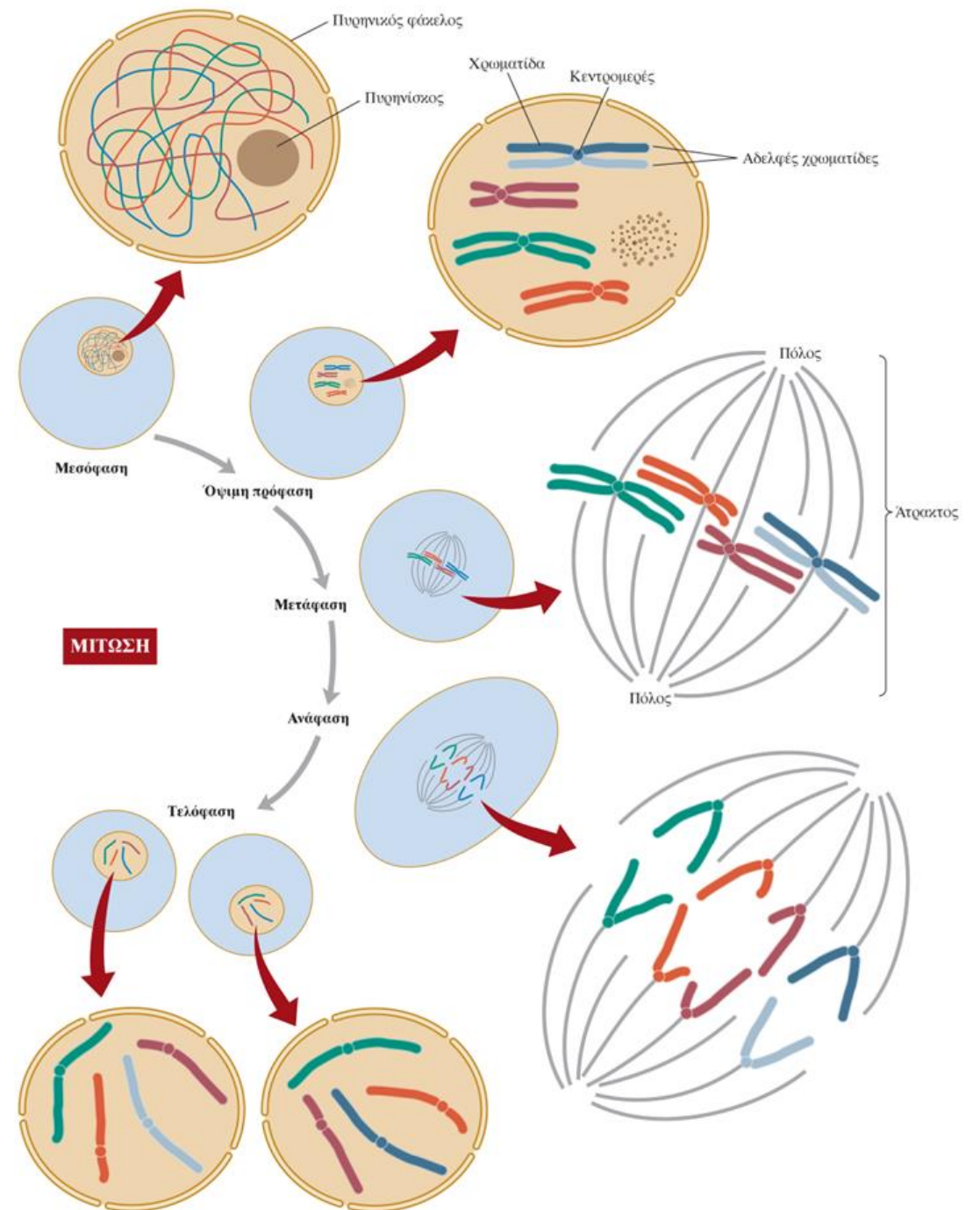
Η μίτωση

Πρόφαση

- Κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο πανομοιότυπες **αδελφές χρωματίδες** ενωμένες στο **κεντρομερίδιο**.
 - Σχηματίζεται η **άτρακτος**
- Αποδιοργανώνεται ο πυρηνικός φάκελος (πυρηνική μεμβράνη)

Μετάφαση

- Κάθε χρωμόσωμα είναι δεμένο με το κεντρομερίδιό του στα ινίδια της ατράκτου και μετακινείται στον ισημερινό του κυττάρου
 - Μέγιστος βαθμός συσπείρωσης



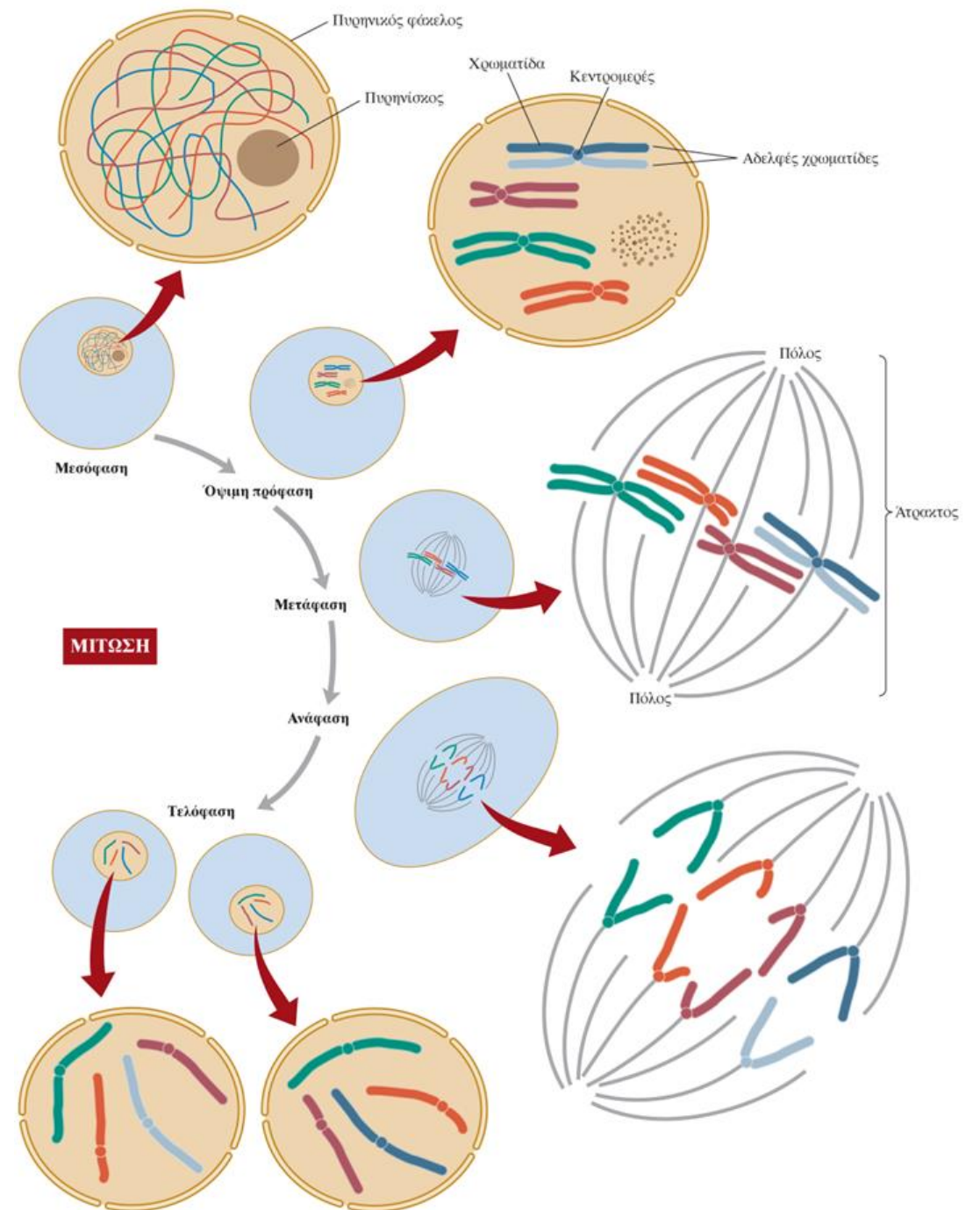
Η μίτωση

Ανάφαση

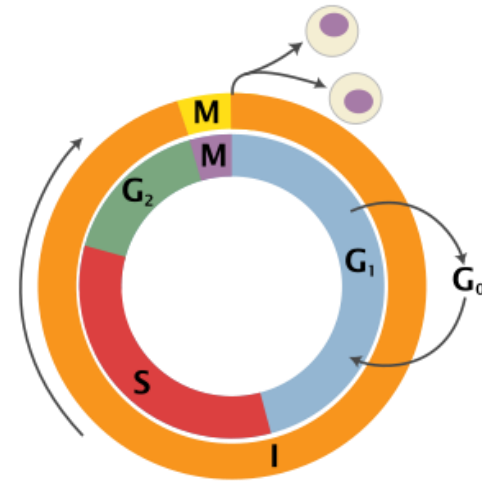
- Διαιρείται το κεντρομερίδιο και αποχωρίζονται οι αδελφές χρωματίδες.
- Οι αδελφές χρωματίδες κινούνται προς τους αντίθετους πόλους.
- Κάθε χρωματίδα αποτελεί πια ένα καινούργιο χρωμόσωμα.

Τελόφαση

- Αποδιοργανώνεται η άτρακτος.
- Επανεμφανίζονται οι πυρηνικοί φάκελοι.
 - Δημιουργούνται δύο πυρήνες.
- Τα χρωμοσώματα επανέρχονται στη μορφή των ινιδίων χρωματίνης.



Η μίτωση



Η διάρκεια του κύκλου αλλά και κάθε φάσης εξαρτάται από:

- Τον τύπο του κυττάρου
- Εξωτερικούς παράγοντες
- Θερμοκρασία
- Παροχή θρεπτικών ουσιών
- Παροχή οξυγόνου κ.α.

Η μείωση

Κατά την μείωση ο αριθμός των χρωμοσωμάτων μειώνεται στο μισό

Περιλαμβάνει 2 διαδοχικές κυτταρικές διαιρέσεις

ΜΕΙΩΣΗ I

Διαχωρισμός ομόλογων χρωμοσωμάτων

2 Θυγατρικά κύτταρα με 1 ομόλογο χρωμόσωμα το καθένα

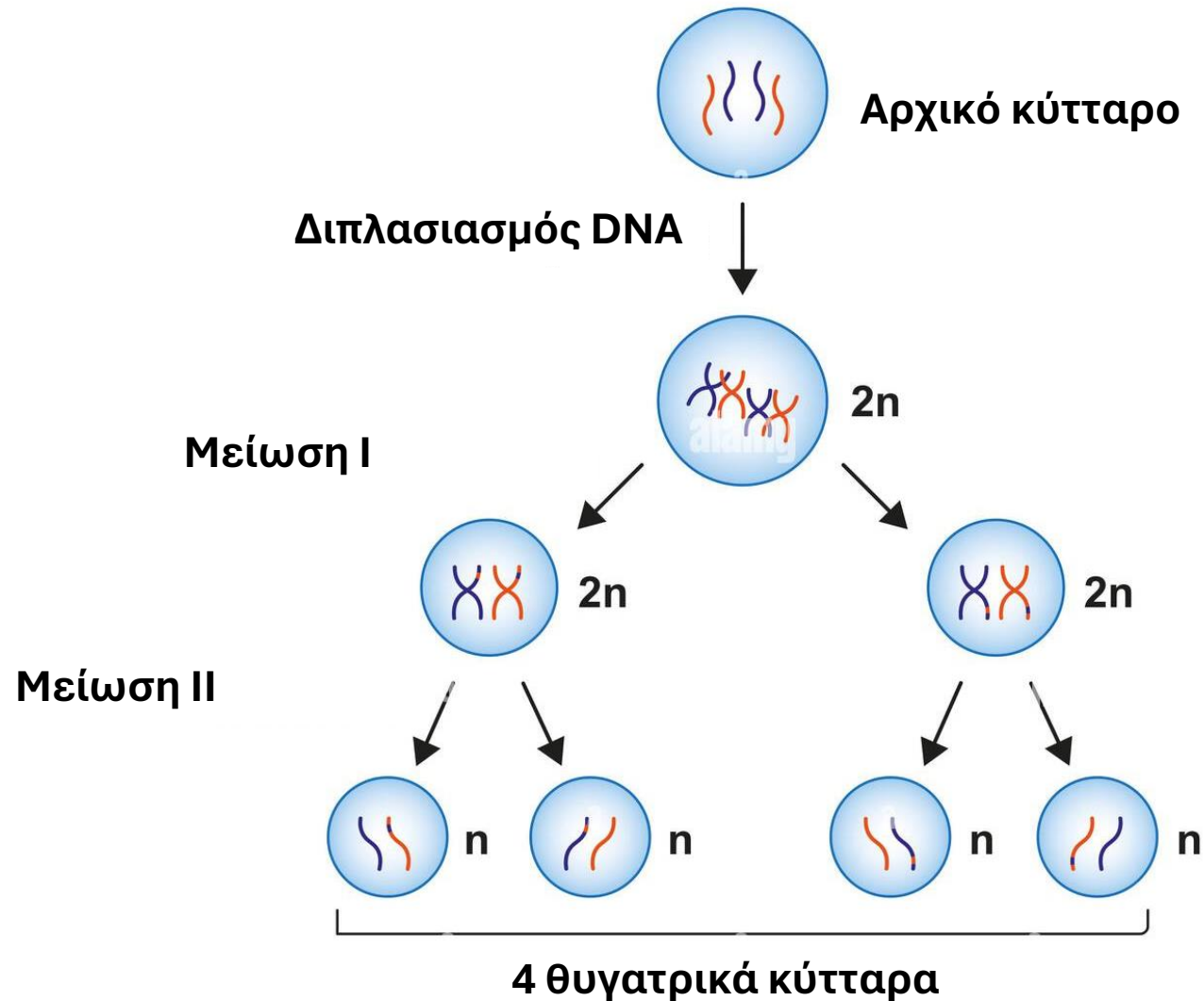
ΜΕΙΩΣΗ II

Διαχωρισμός αδελφών χρωματίδων

4 Θυγατρικά κύτταρα με 1 αδελφή χρωματίδα το καθένα

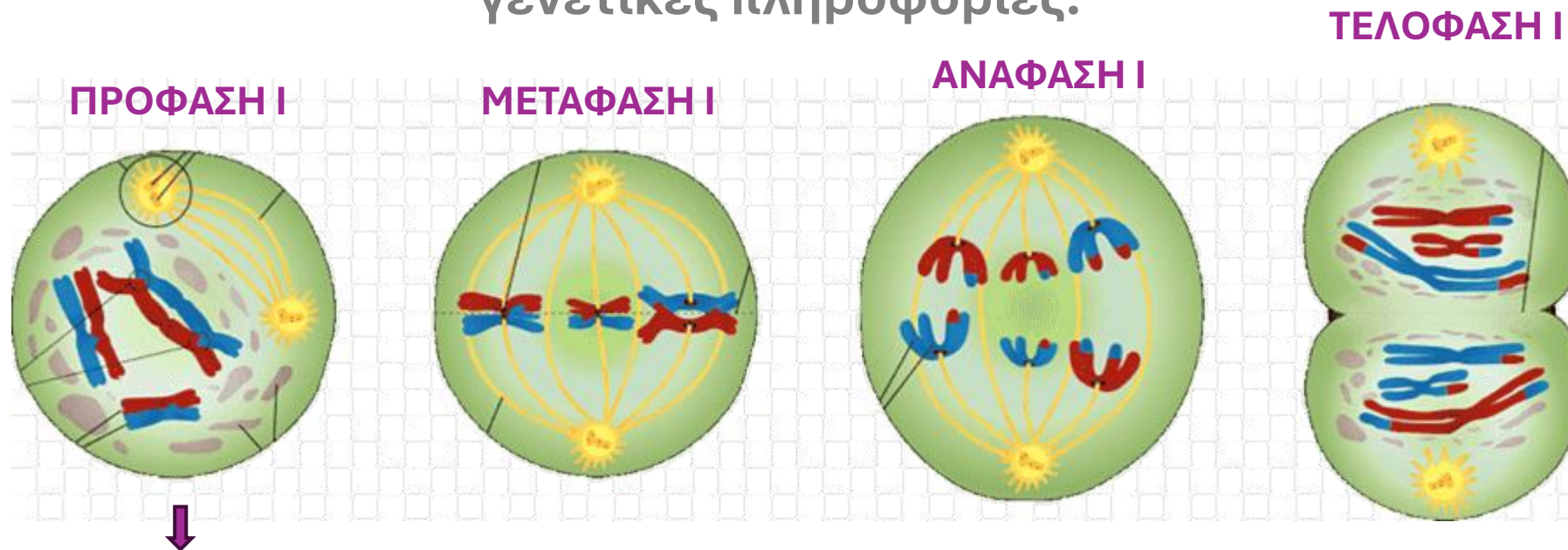
Η μείωση

Κατά την μείωση ο αριθμός των χρωμοσωμάτων μειώνεται στο μισό

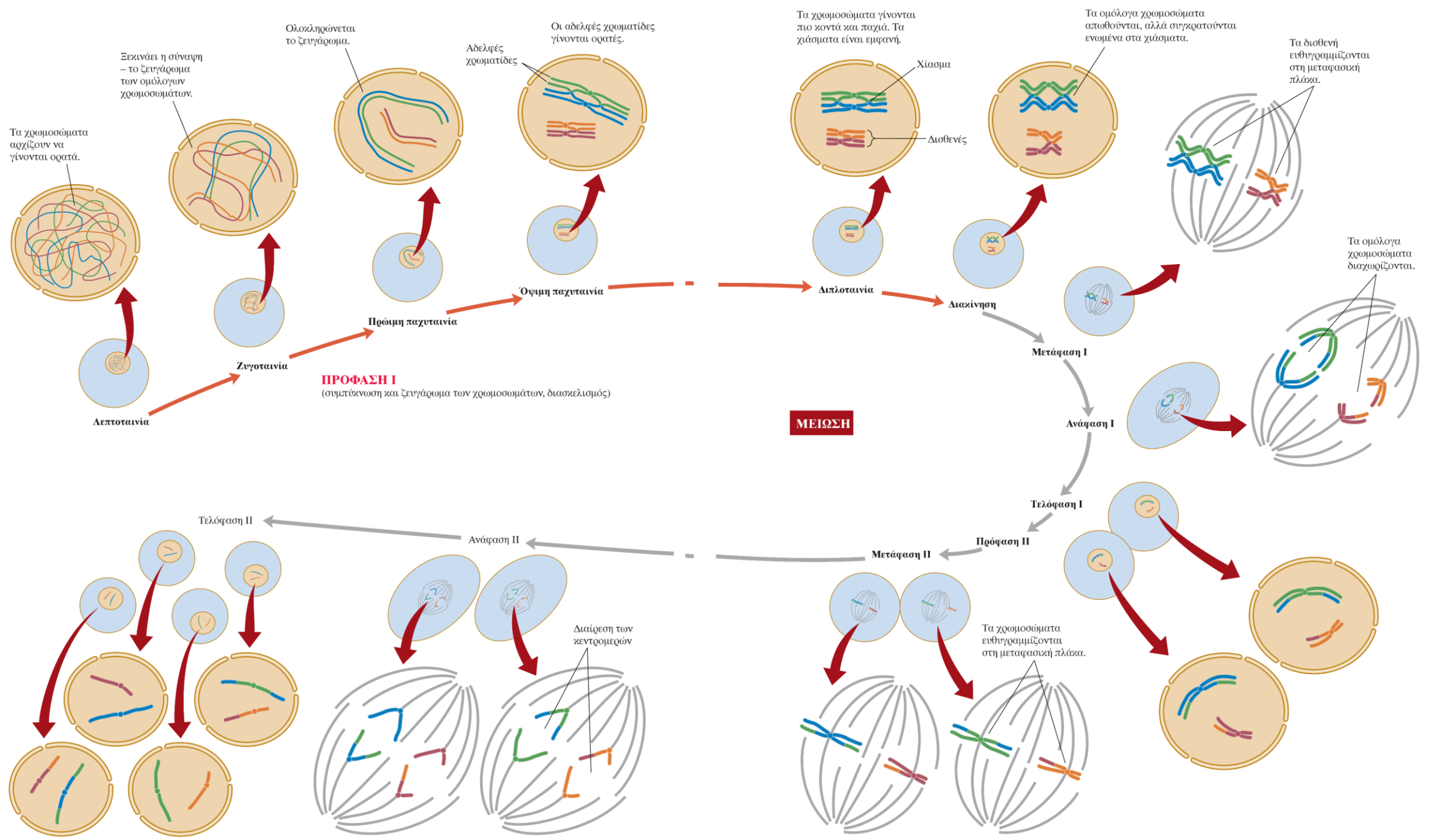


Μείωση I

Η **πρόφαση I** είναι η πιο περίπλοκη φάση σε όλη τη μείωση, επειδή τα ομόλογα χρωμοσώματα πρέπει να ζευγαρώσουν και να ανταλλάξουν γενετικές πληροφορίες.



↓
Σύναψη (ζευγάρωμα) ομόλογων χρωμοσωμάτων
Διασκελισμός – ανταλλαγή χρωμοσωμικού υλικού
Σταυρωτή σύνδεση - **Χιάσματα**



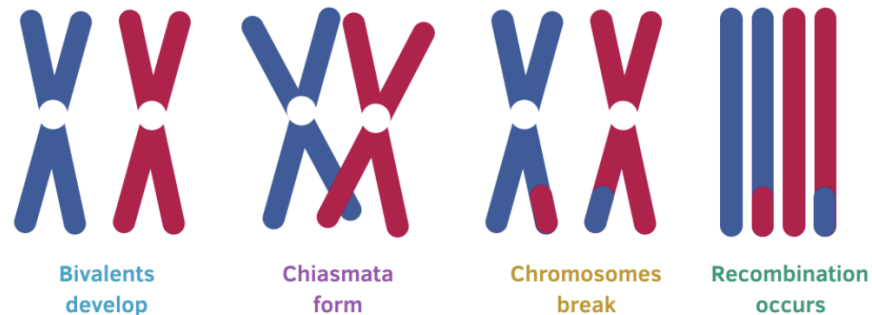
Η μείωση

Κατά την μείωση δημιουργείται γενετική ποικιλότητα

Τυχαίος προσανατολισμού πατρικών
και μητρικών χρωμοσωμάτων

Μεταλλάξεις

Ανταλλαγή γενετικού υλικού
ανάμεσα σε μη αδελφές χρωματίδες
ομολόγων - Μειωτικός ανασυνδυασμός

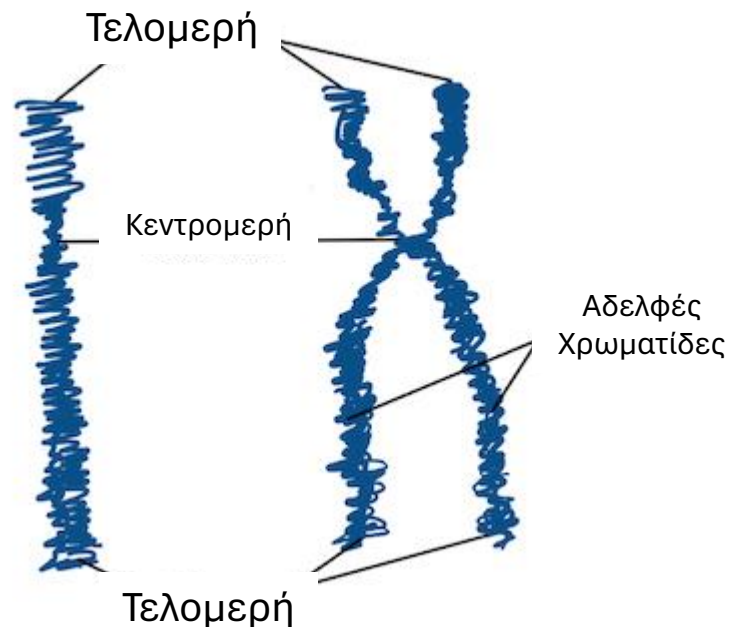


Κυτταρογενετική

Ο κλάδος που μελετά τη μορφολογία των χρωμοσωμάτων

Η μελέτη της μορφολογίας γίνεται στην μετάφαση της Μίτωσης (μέγιστος βαθμός συσπείρωσης)

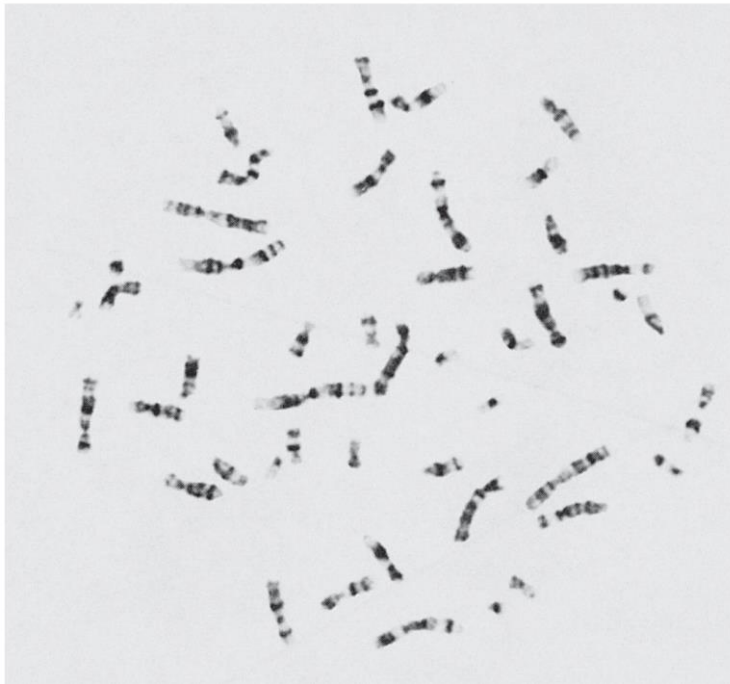
Το κεντρομερές χωρίζει τις χρωματίδες σε δύο βραχίονες (μικρός p, μεγάλος q)



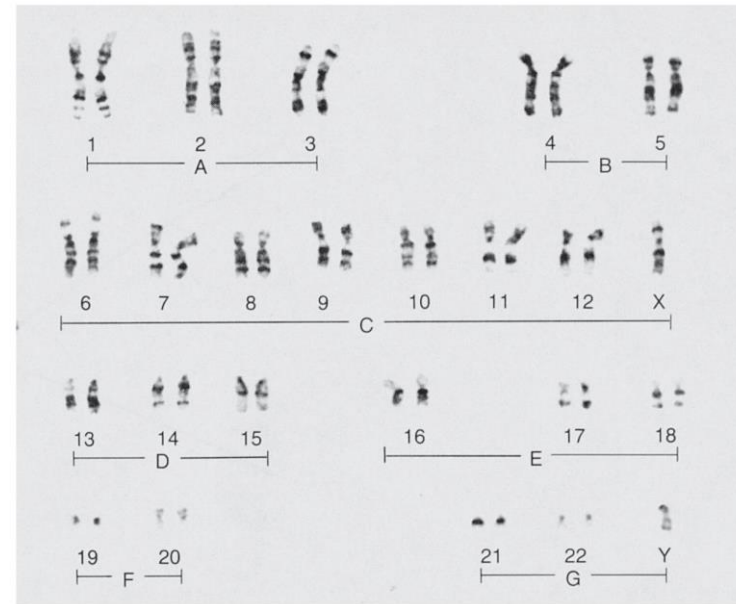
Καριότυπος

Φωτογραφία από μικροσκόπιο σταματημένων στη μετάφαση κυττάρων αίματος που έχουν υποστεί επεξεργασία με τη χρωστική Giemsa

(α)



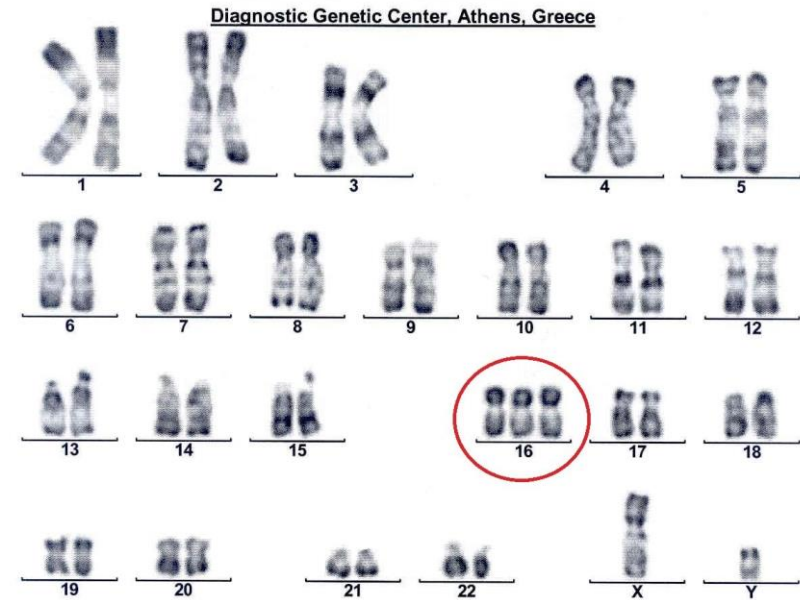
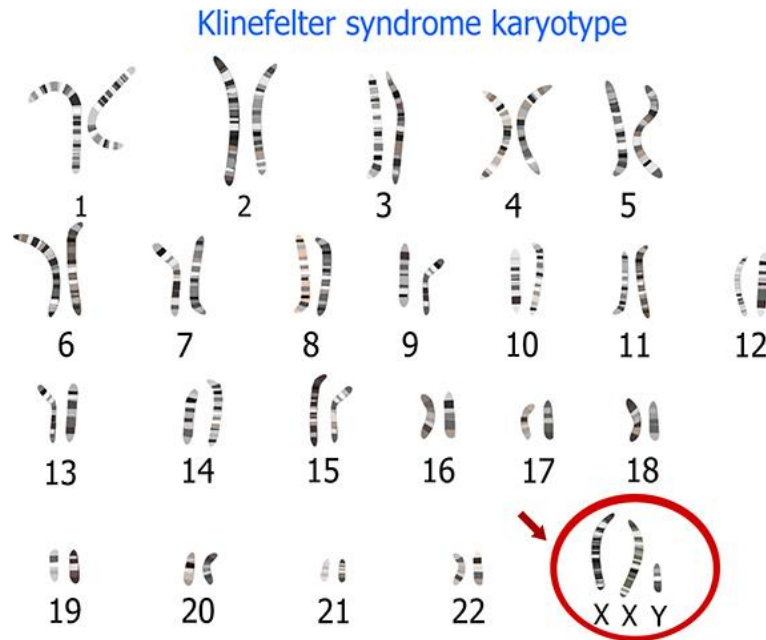
(β)



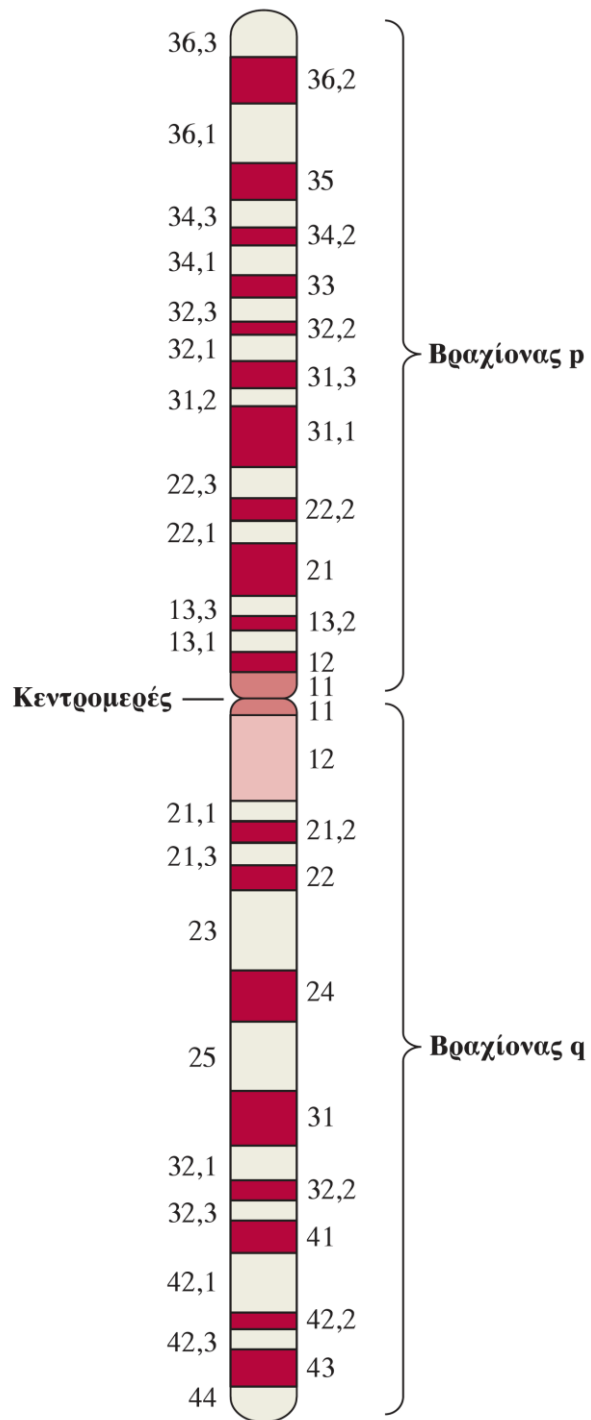
Καριότυπος – σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο!

**Διάταξη με βάση το μέγεθος
Ομαδοποίηση**

Καριότυπος – σημαντικό διαγνωστικό εργαλείο!



Το ανθρώπινο χρωμόσωμα 1



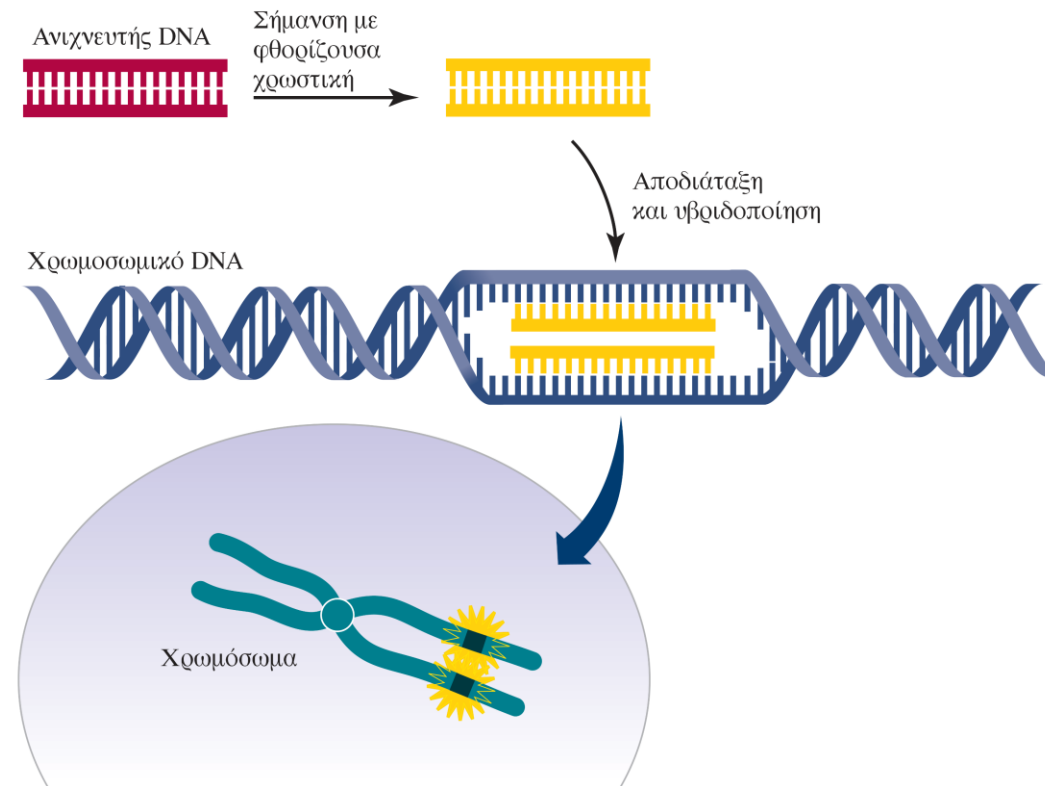
Ο μικρός βραχίονας συμβολίζεται με το γράμμα p, ενώ ο μεγάλος συμβολίζεται με το γράμμα q.

Οι περιοχές, οι ζώνες και οι υποζώνες κάθε βραχίονα αριθμούνται διαδοχικά, ξεκινώντας από το κεντρομερές και με κατεύθυνση προς τα άκρα.

Ο φθορίζων υβριδισμός in situ (FISH)

- ✓ Εξαιρετική ευαισθησία για την ανίχνευση πολύ μικρών χρωμοσωμικών αλλαγών
- ✓ Βασίζεται στην χρήση ιχνηθετών DNA που είναι σημασμένοι με κάποια φθορίζουσα χρωστική
- ✓ Ανιχνεύει ανευπλοειδίες, δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και εντοπίζει τη θέση των γονιδίων

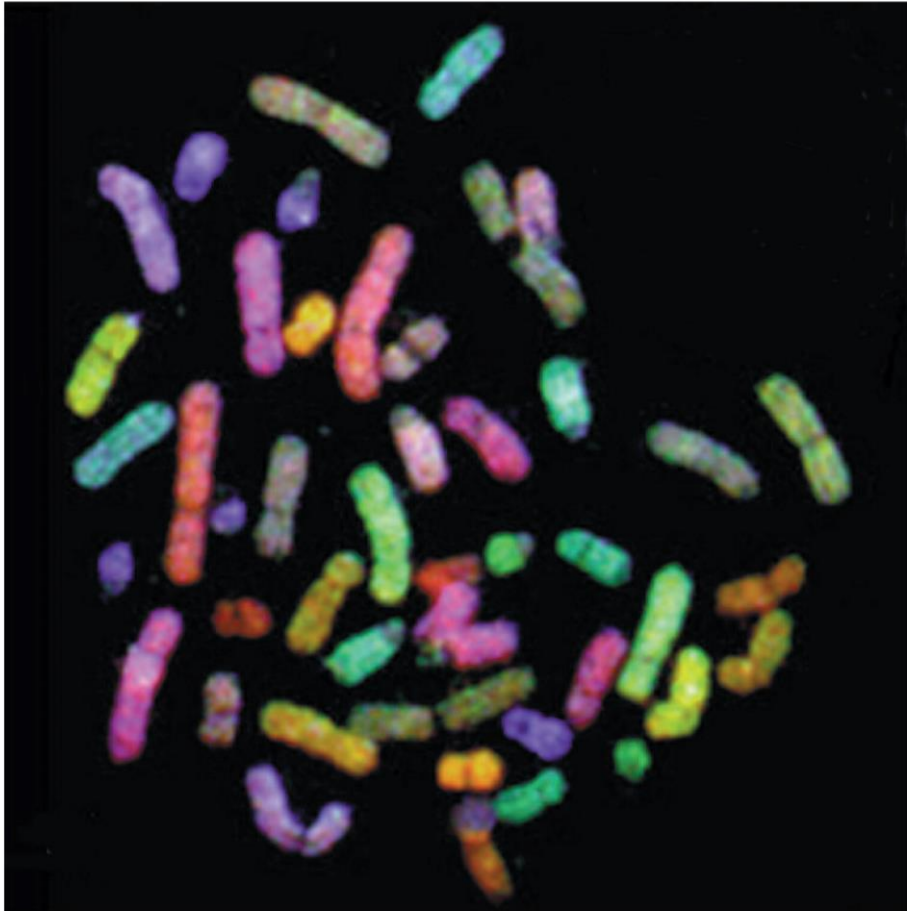
Ο φθορίζων υβριδισμός in situ (FISH)



Ένας ιχνηθέτης DNA σημασμένος με κάποια φθορίζουσα ουσία (υποδεικνύεται με κίτρινο χρώμα), αφού αποδιαταχθεί, προσδένεται σε μία συγκεκριμένη αλληλουχία του επίσης αποδιαταγμένου χρωμοσωμικού DNA.

Φασματικός καρυότυπος ανθρώπινων χρωμοσωμάτων

(α)

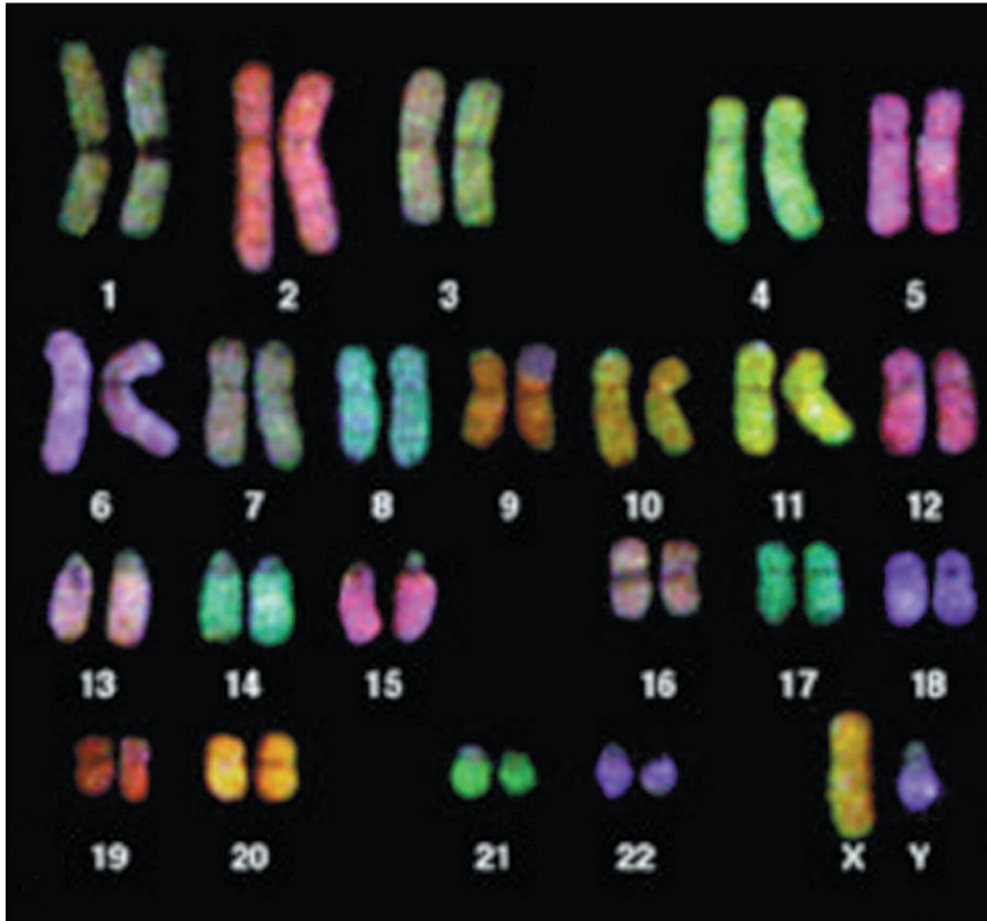


Οι ιχνηθέτες, σημασμένοι με διαφορετικούς συνδυασμούς φθοριζουσών χρωστικών, υβριδοποιούνται με τα μεταφασικά χρωμοσώματα.

Δημιουργία νέας εικόνας, στην οποία κάθε ζεύγος ομόλογων χρωμοσωμάτων απεικονίζεται χρωσμένο με διαφορετικό χρώμα.

Φασματικός καρυότυπος ανθρώπινων χρωμοσωμάτων

(β)



Τα ίδια χρωμοσώματα διατεταγμένα ανά ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων από το μεγαλύτερο προς το μικρότερο.

Το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων έχει τοποθετηθεί κάτω δεξιά.