



# Βιοτεχνολογία

**Παναγιώτα Σταθοπούλου**  
Επίκουρη Καθηγήτρια  
[panstath@upatras.gr](mailto:panstath@upatras.gr)

**Εύα Διονυσοπούλου**  
ΕΔΙΠ Βιολογίας  
[edionys@upatras.gr](mailto:edionys@upatras.gr)

# Κεντρικό Δόγμα Βιολογίας

## ΑΝΤΙΓΡΑΦΗ

Μεταβίβαση γενετικής πληροφορίας από ένα κύτταρο στα θυγατρικά του και από έναν οργανισμό στους απογόνους του

Διαιωνίζεται η γενετική πληροφορία

## Γονιδιακή Έκφραση

## ΜΕΤΑΓΡΑΦΗ

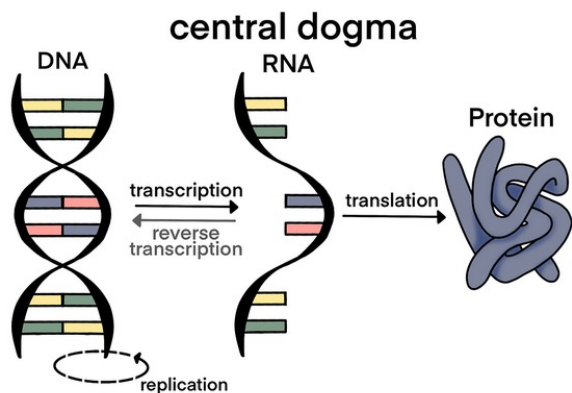
Η διαδικασία μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας από το DNA στο RNA προκειμένου αυτή να εκφραστεί

Καθορίζει ποια γονίδια θα εκφραστούν, σε ποιους ιστούς (πολυκύτταροι ευκαρυωτικοί οργανισμοί) και σε ποια στάδια της ανάπτυξης

## ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ

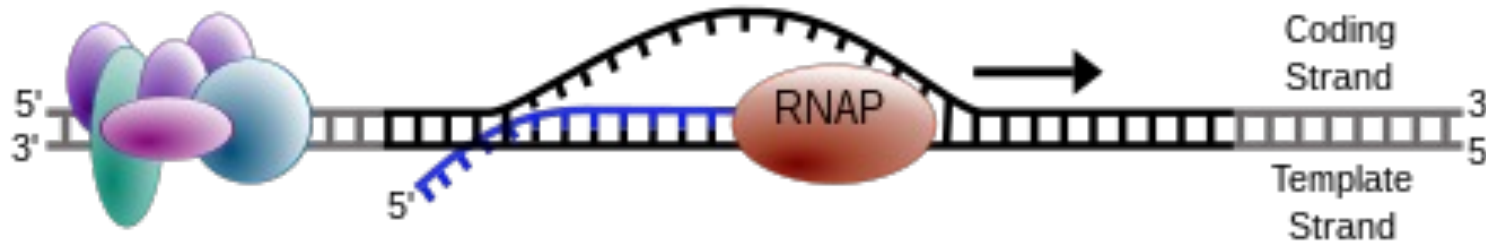
Η διαδικασία μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας από το RNA στις πρωτεΐνες που ευθύνονται για τη δομή και λειτουργία των κυττάρων και κατ' επέκταση και των οργανισμών

Χρήση της γενετικής πληροφορίας για κατασκευή πολυπεπτιδίου (πρωτεΐνης)



# Η μεταγραφή

Μεταγραφή είναι η παραγωγή μορίων RNA, με χρησιμοποίηση του DNA σαν μήτρα.



Μόνο η μία αλυσίδα του DNA χρησιμοποιείται σαν μήτρα.

Η αλληλουχία των βάσεων του παραγομένου μορίου RNA είναι συμπληρωματική της μίας αλυσίδας του DNA.

# Η μεταγραφή

## Τι χρειάζεται;

- DNA (μήτρα)
- Ένζυμο που θα καταλύσει την αντίδραση (RNA πολυμεράση).  
 $(\text{RNA})_n + \text{τριφωσφορικός ριβονουκλεοζίτης} \longleftrightarrow (\text{RNA})_{n+1} + \text{PP}$
- Τριφωσφορικά ριβονουκλεοτίδια (οι δομικές μονάδες του RNA). Χρειάζονται και οι τέσσερις τριφωσφορικοί ριβονουκλεοζίτες ATP, GTP, UTP και CTP.
- Μικρομοριακοί παράγοντες (π.χ. ιόντα μαγνησίου, πολυαμίνες κλπ) για τη βέλτιστη λειτουργία της αντίδρασης.
- Μεγαλομοριακοί παράγοντες απαραίτητοι για τη δράση και ρύθμιση της RNA πολυμεράσης.

# Η μεταγραφή

## Τι μας θυμίζει;

Η σύνθεση του RNA είναι **παρόμοια με εκείνη του DNA**

- Η κατεύθυνση της σύνθεσης είναι 5' προς 3'.
  - Ο μηχανισμός επιμήκυνσης είναι ίδιος: η ομάδα 3'-OH στο άκρο της επιμηκυνόμενης αλυσίδας πραγματοποιεί πυρηνόφιλη προσβολή στο άτομο φωσφόρου του εισερχόμενου τριφωσφορικού νουκλεοζίτη.
  - Η σύνθεση ωθείται προς τα δεξιά λόγω της υδρόλυσης του πυροφωσφορικού.
- 
- **Ωστόσο**, σε αντίθεση με την DNA πολυμεράση, η RNA πολυμεράση **δεν** χρειάζεται εκκινήτη. Επιπλέον, η ικανότητα της RNA πολυμεράσης να **διορθώνει σφάλματα** δεν είναι τόσο εκτεταμένη όσο εκείνη της DNA πολυμεράσης.
  - Και οι τρεις τύποι κυτταρικού RNA –mRNA, tRNA και rRNA– συντίθενται στην *E. coli* από την ίδια RNA πολυμεράση, σύμφωνα με τις οδηγίες που δίνονται από ένα εκμαγείο DNA. Στα κύτταρα των θηλαστικών υπάρχει καταμερισμός των εργασιών σε αρκετά διαφορετικά είδη RNA πολυμερασών.

# Η μεταγραφή

## Μηχανισμοί σύνθεσης RNA

### **Βακτήρια**

Η σύνθεση των RNAs επιτελείται από μία RNA πολυμεράση

### **Ευκαρυωτικοί**

Υπάρχουν εξειδικευμένα ένζυμα για την σύνθεση κάθε είδους RNA

### **Βακτήρια**

Η RNA πολυμεράση έχει απευθείας πρόσβαση στο DNA που λειτουργεί ως μήτρα

### **Ευκαρυωτικοί**

Πρέπει να μετακινηθούν ιστόνες – πολλές ρυθμιστικές πρωτεΐνες

### **Βακτήρια**

Η μεταγραφή των γονιδίων απαιτεί 1-2 βοηθητικούς παράγοντες

### **Ευκαρυωτικοί**

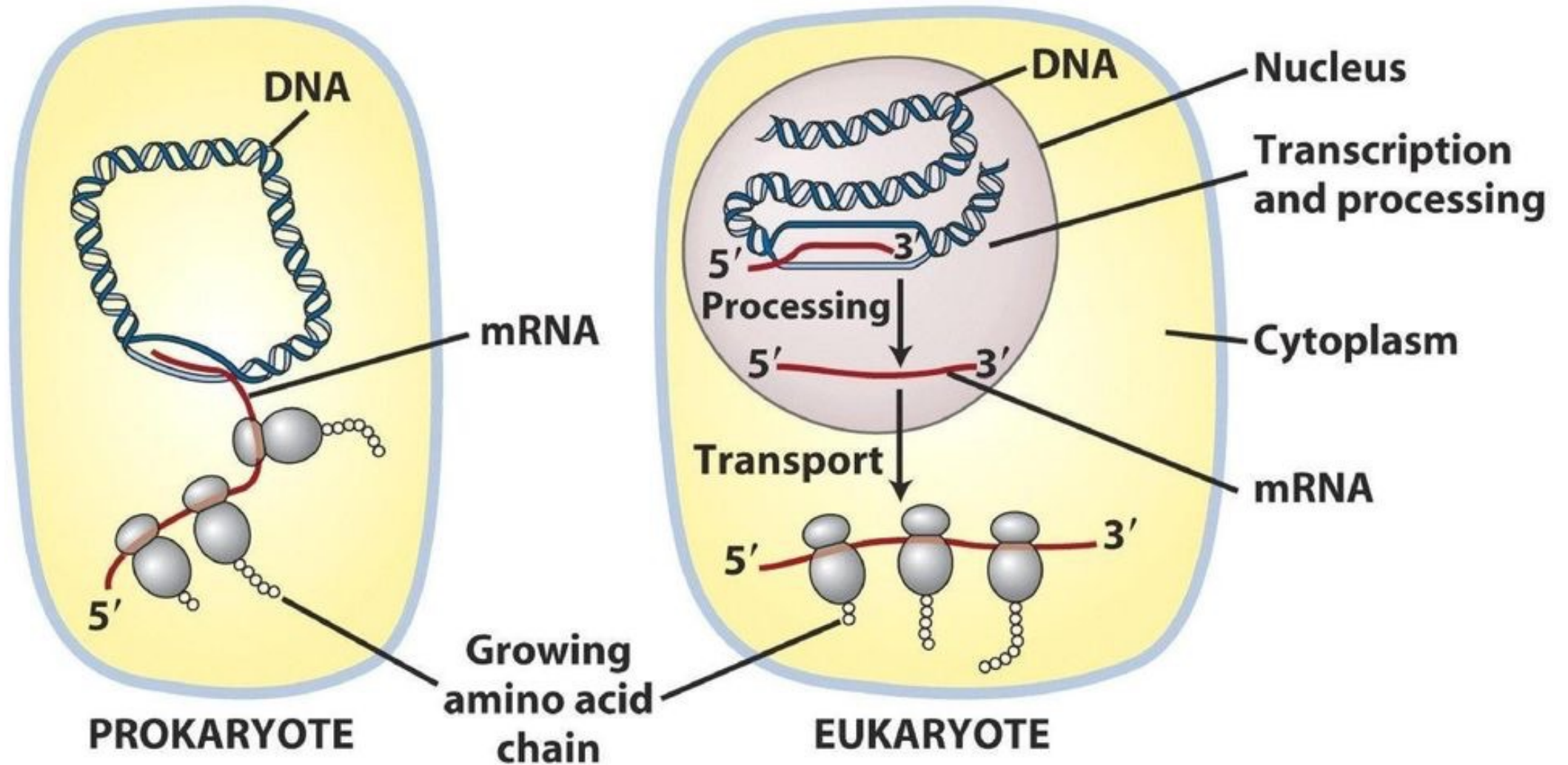
Η μεταγραφή πραγματοποιείται με τη συμβολή πολλών παραγόντων



# Η μεταγραφή

Προκαρυωτικά

Ευκαρυωτικά



# Η μεταγραφή - Έναρξη

## Προκαρυωτικά

Η RNA polymerase αναγνωρίζει τον υποκινητή και προσδένεται ισχυρά στο DNA

Η RNA πολυμεράση ανοίγει την περιοχή της διπλής έλικας που βρίσκεται ακριβώς μπροστά της.

Ο ένας από τους δύο εκτεθειμένους κλώνους του DNA δρα ως εκμαγείο για να σχηματιστούν συμπληρωματικά ζεύγη βάσεων με τα εισερχόμενα ριβονουκλεοτίδια.

Η αλυσίδα επιμηκύνεται έως ότου συναντήσει ένα 2<sup>ο</sup> σήμα πάνω στο DNA την αλληλουχία τερματισμού, οπότε σταματά και απελευθερώνει τόσο το DNA όσο και τη νεοσυντεθειμένη αλυσίδα του RNA.

Υπομονάδα βακτηριακής πολυμεράσης – παράγοντας σίγμα ( $\sigma$ ) (sigma factor)

## Ευκαρυωτικά

Γενικοί μεταγραφικοί παράγοντες (TFIID, TFIIH)

1. Τοποθετούν κατάλληλα την RNA πολυμεράση.
2. Ανοίγουν την διπλή έλικα του DNA ώστε να εκτεθεί η έλικα που θα χρησιμοποιηθεί ως εκμαγείο.
3. Τελικά απελευθερώνουν την RNA πολυμεράση για να ξεκινήσει η μεταγραφή.

TATA box - Σύμπλοκο έναρξης της μεταγραφής

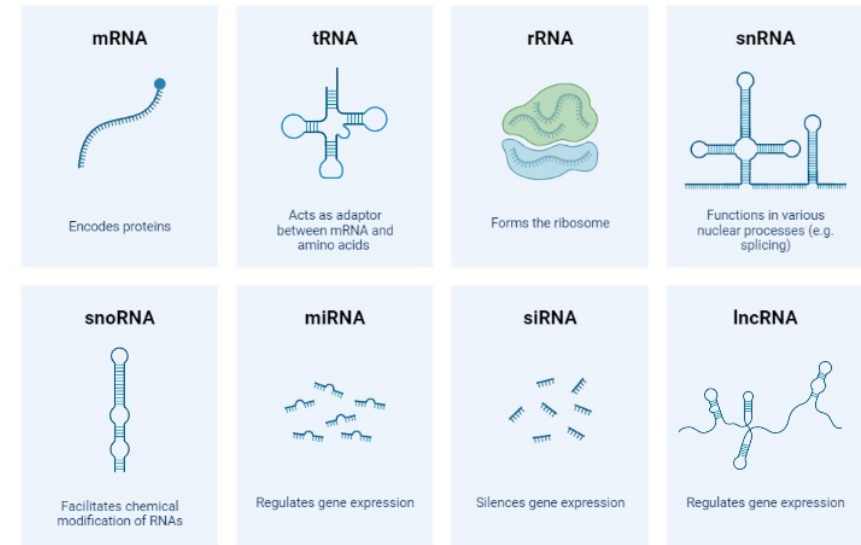


# Η μεταγραφή

## Είδη RNA

- Τα μόρια του RNA που μεταγράφονται από τα γονίδια στο DNA των κυττάρων (τα οποία τελικά κατευθύνουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών) ονομάζονται αγγελιοφόρα RNA. (**messenger RNA, mRNA**)
- Το ριβοσωματικό RNA (**ribosomal RNA, rRNA**) σχηματίζει το κέντρο των ριβωσμάτων, πάνω στα οποία πραγματοποιείται η μετάφραση του mRNA σε πρωτεΐνη
- Το μεταφορικό RNA (**transfer RNA, tRNA**) σχηματίζει τους συναρμολογητές που επιλέγουν τα αμινοξέα και τα συγκρατούν στην κατάλληλη θέση πάνω στο ριβοσωμάτιο για να ενσωματωθούν σε πρωτεΐνη.
- **microRNA (miRNA)** λειτουργούν ως ρυθμιστές της έκφρασης γονιδίων στους ευκαρυώτες.
- **Άλλα μικρά μόρια RNA:** χρησιμοποιούνται στη συρραφή, στη συντήρηση των τελομερών και σε άλλες διεργασίες του κυττάρου.

### Types of RNA Produced in Cells



# Η μεταγραφή

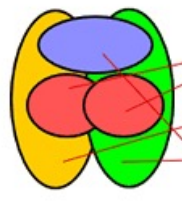
## Οι RNA πολυμεράσες των ευκαρυωτών

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

### RNA POLYMERASES IN EUKARYOTES

Form	Product	Location
I	rRNA	Nucleolus
II	mRNA, snRNA	Nucleoplasm
III	5S rRNA, tRNA	Nucleoplasm

### Prokaryotic RNA Polymerase: Holoenzyme Enzyme



Subunit	Size	#/Molecule	Function
$\alpha$	36.5 kD	2	chain initiation and interaction with regulatory proteins
$\beta$	151 kD	1	chain initiation and elongation
$\beta'$	155 kD	1	DNA binding
$\sigma$	70 kD	1	promoter recognition

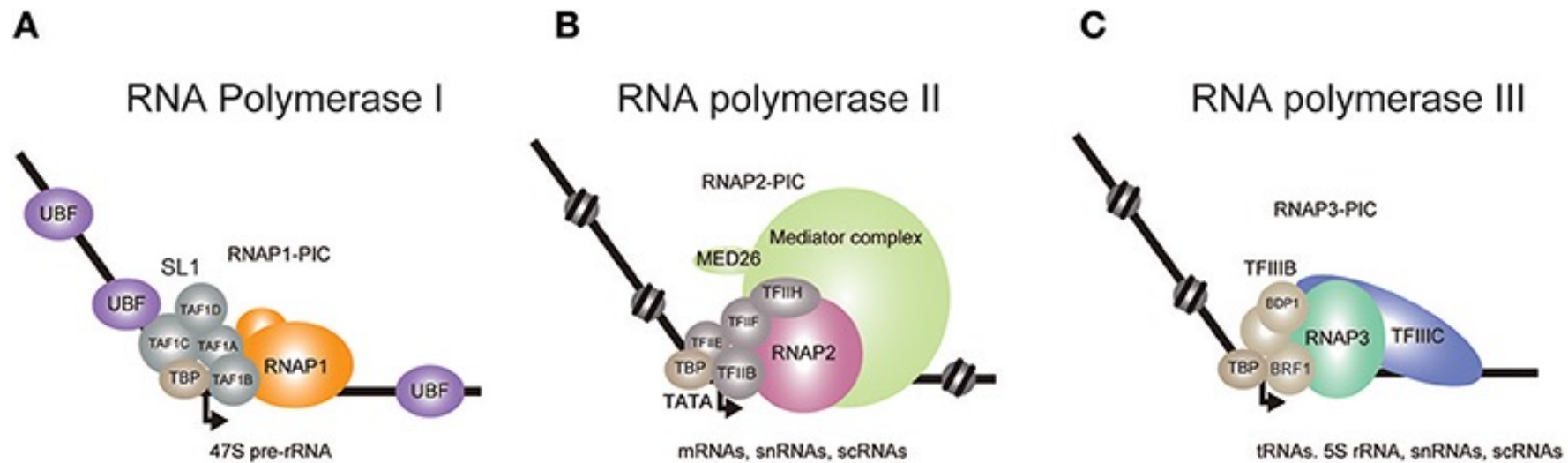
# Η μεταγραφή

## Οι RNA πολυμεράσες των ευκαρυωτών

**A. RNA pol I** – Μεταγραφή των ριβοσωμικών RNAs

**B. RNA pol II** – Μεταγραφή των αγγελιαφόρων RNAs

**C. RNA pol III** – Μεταγραφή των μεταφορικών, μικρών πυρηνικών και του 5S RNAs

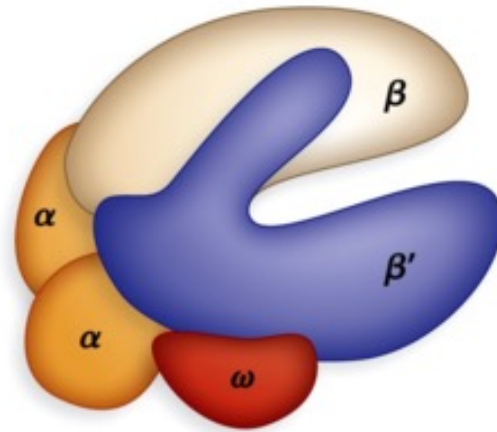


# Η μεταγραφή

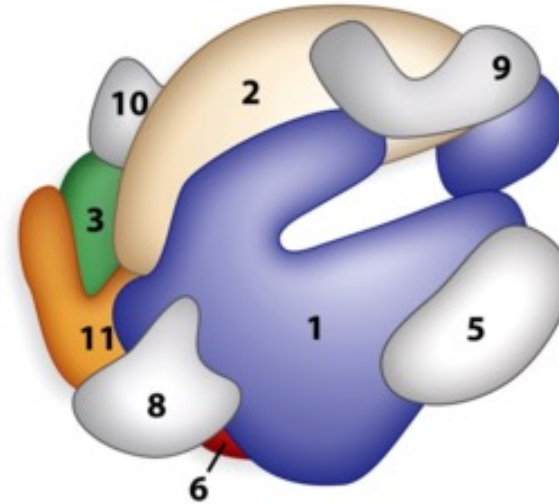
Οι RNA πολυμεράσες των ευκαρυωτών

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

Bacterial RNA polymerase



Eukaryotic RNA polymerase II

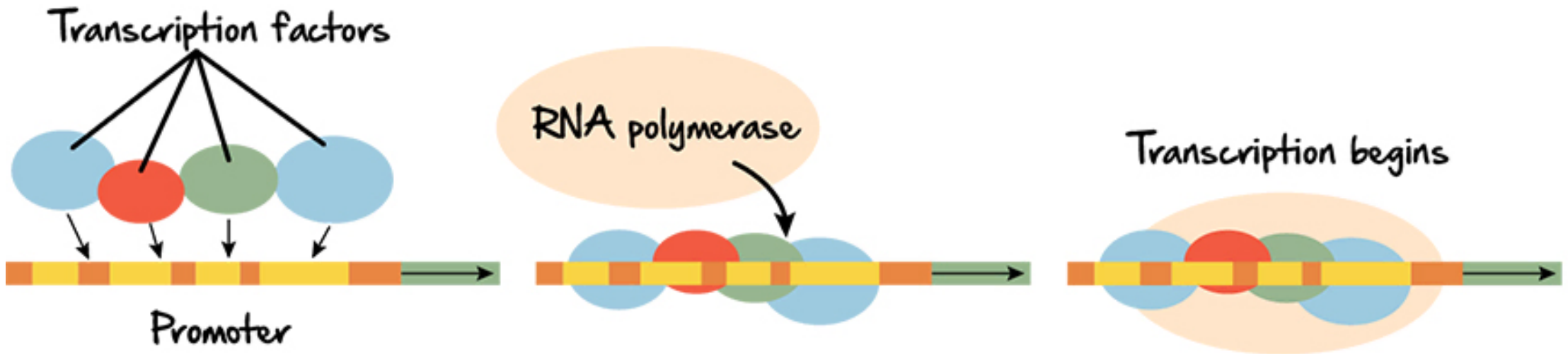


Bacterial RNA polymerase and eukaryotic RNA polymerase II structural elements are very similar, though the eukaryotic enzyme is more complex with more subunits.

# Η μεταγραφή

## Οι RNA πολυμεράσες των ευκαρυωτών

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

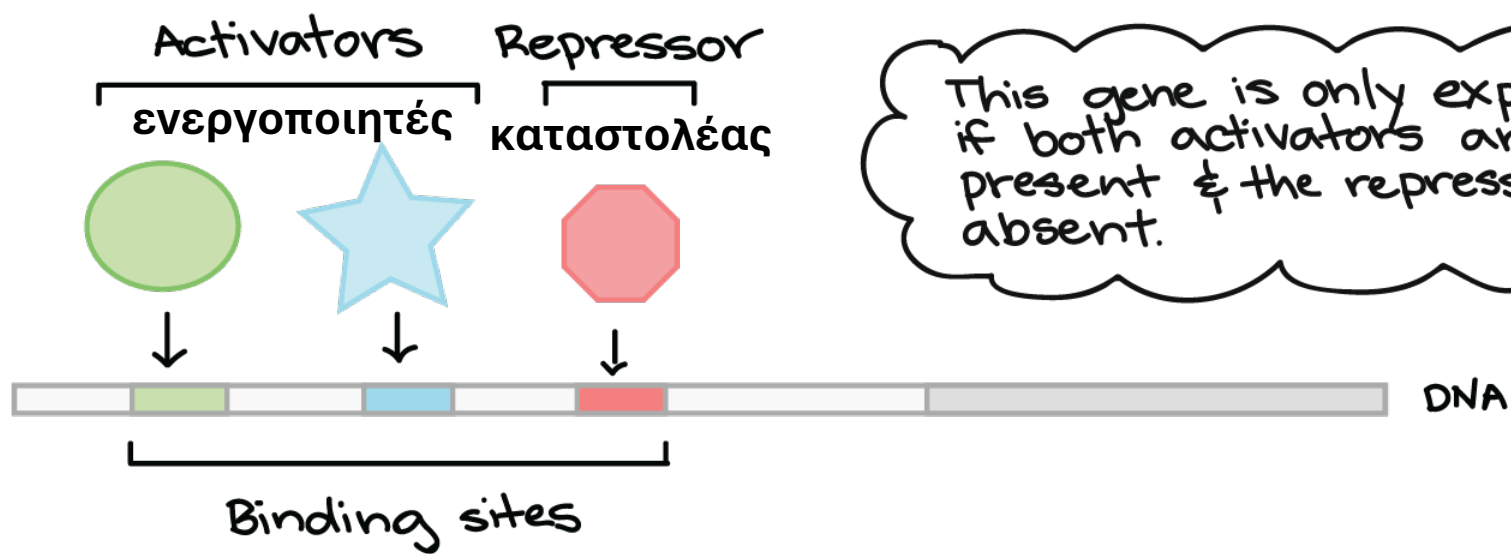


# Η μεταγραφή

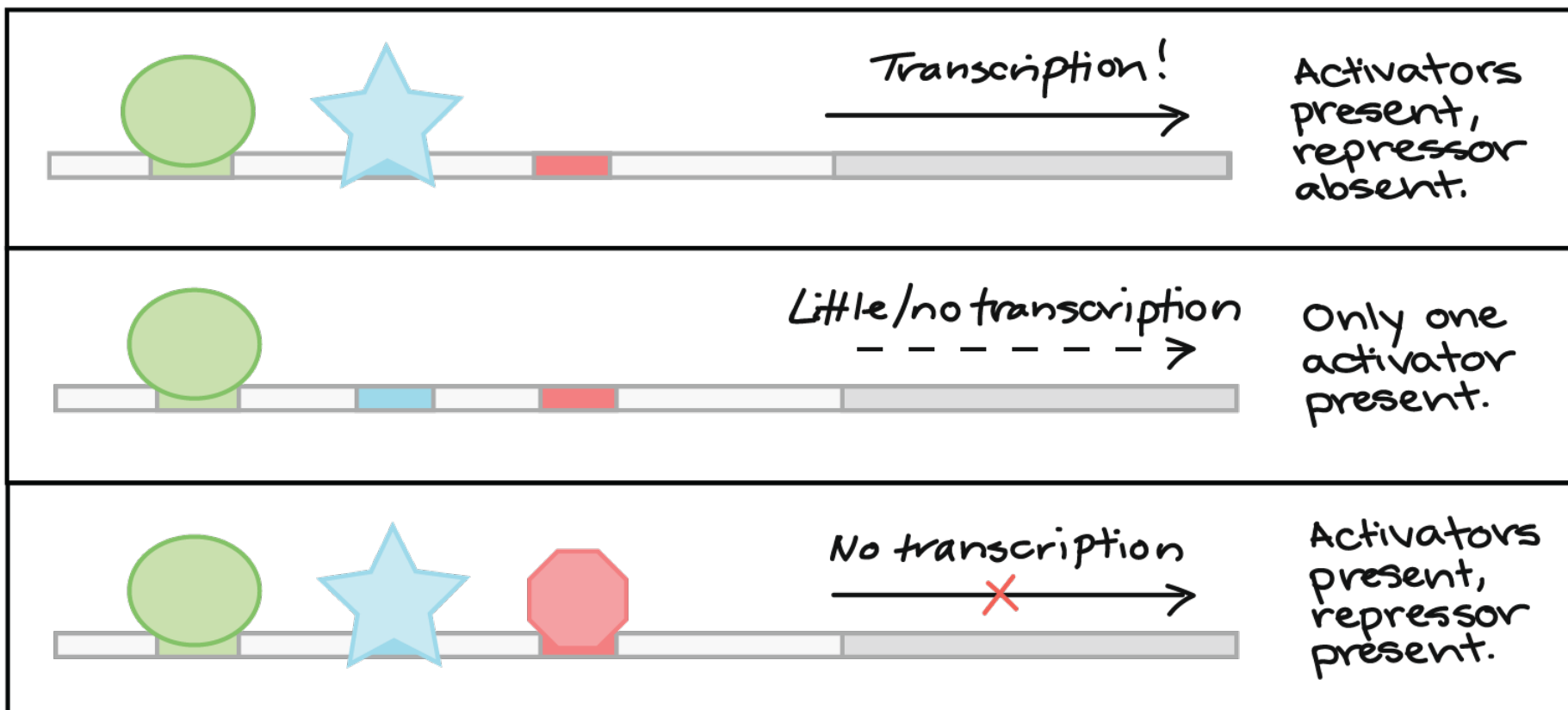
## Μεταγραφικοί Παράγοντες

- Πρωτεΐνες που **συνδέονται με μια συγκεκριμένη ακολουθία DNA** και μπορούν να ελέγχουν τη μεταγραφή από το DNA στο αγγελιοφόρο RNA.
- **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 συντονισμένα** και 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.
- Υπεύθυνοι για την απόκριση **σε σήματα έξω από το κύτταρο**, όπως οι ορμόνες.
- 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.





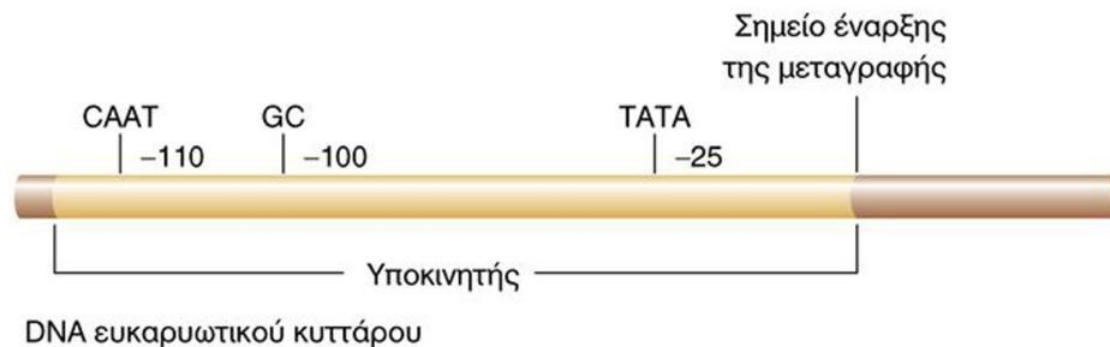
This gene is only expressed if both activators are present & the repressor is absent.



# Η μεταγραφή

## Υποκινητής (RNA pol II)

Ο υποκινητής είναι μία αλληλουχία νουκλεοτιδίων η οποία βρίσκεται πάντοτε πριν από την αρχή κάθε γονιδίου. Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε εκείνον, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Οι υποκινητές και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής του DNA.



- **Συναινετικές Αλληλουχίες (consensus)**

**TATA → Δέσμευση Γενικών Μεταγραφικών Παραγόντων**

**CAAT & GC → Δέσμευση Ειδικών Μεταγραφικών Παραγόντων**

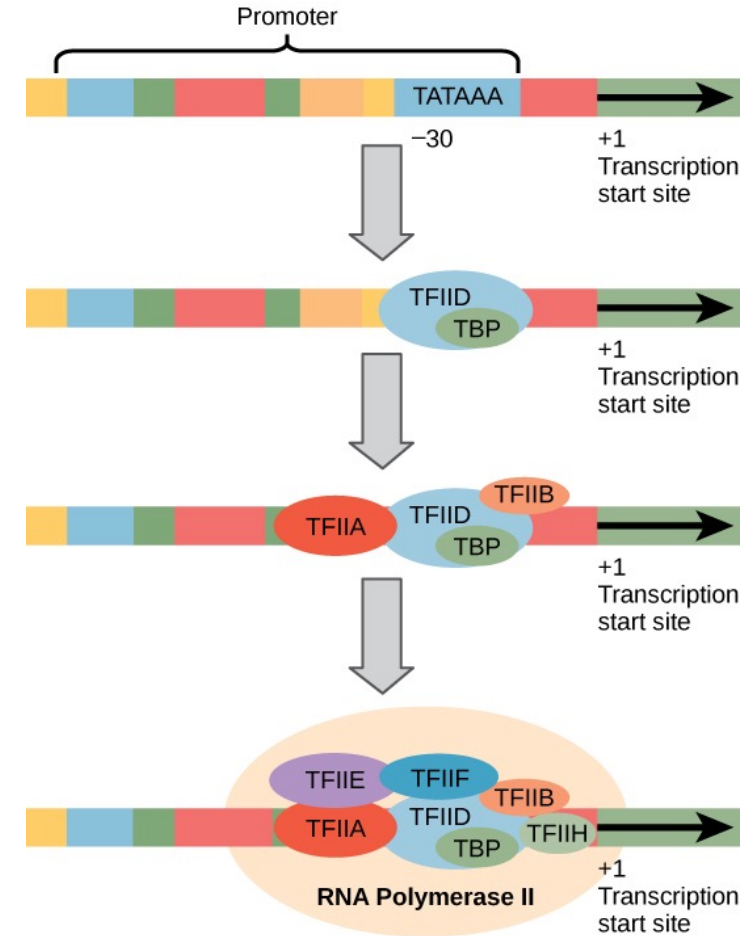
**→ Ρύθμιση Αποδοτικότητας Μεταγραφής**

# Η μεταγραφή

## Υποκινητής (RNA pol II)

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).
3. Ακολουθεί η πρόσδεση και άλλων παραγόντων μέχρι και τη δέσμευση της του RNA πολ II (προεναρκτήριο σύμπλοκο).
4. Όταν δημιουργηθεί το προεναρκτήριο σύμπλοκο, ακολουθεί φωσφορυλίωση των καρβόξυ περιοχών της RNA πολ II και αρχίζει η μεταγραφή.



# Η μεταγραφή

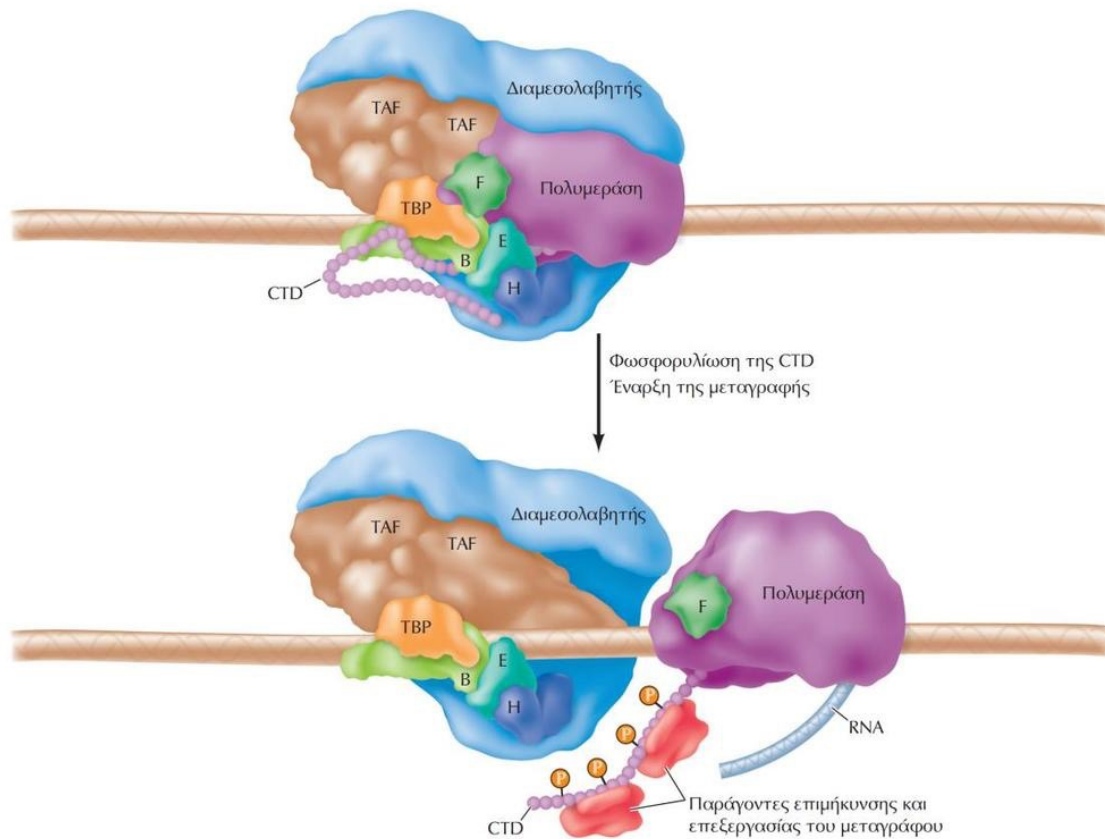
## Υποκινητής (RNA pol II)

### Μόριο διαμεσολαβητής

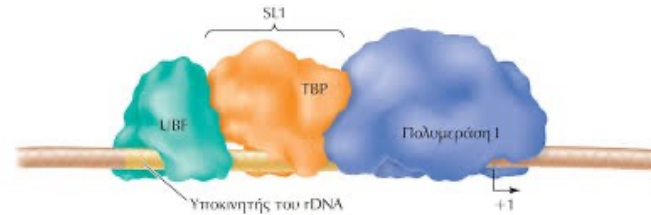
Αποτελείται από πλέον των 20 υπομονάδων και αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες και την RNA πολ II. Ο διαμεσολαβητής ενεργοποιεί την έναρξη της μεταγραφής.

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

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



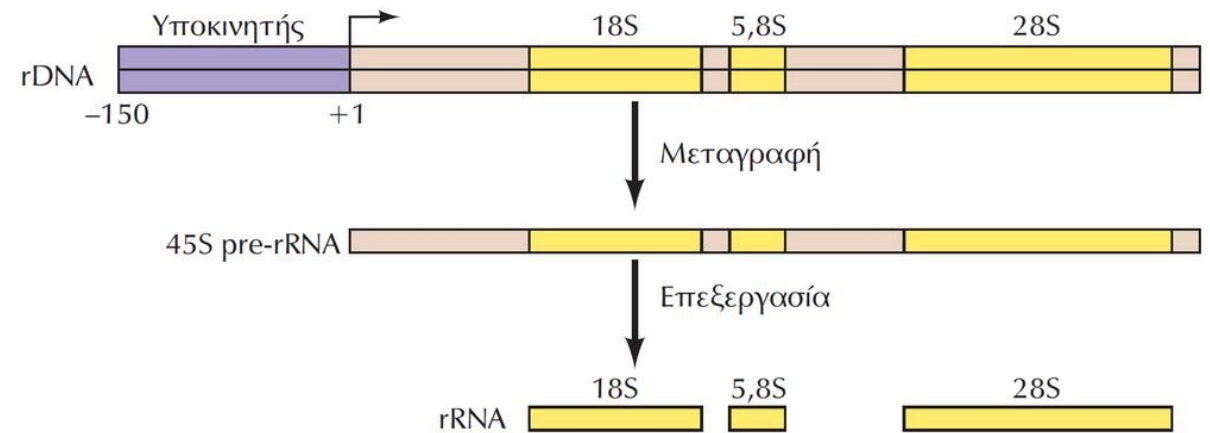
# Η μεταγραφή Υποκινητής (RNA pol I)



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

Δύο μεταγραφικοί παράγοντες, ο UBF και ο SL1, συνδέονται συνεργατικά 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).



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

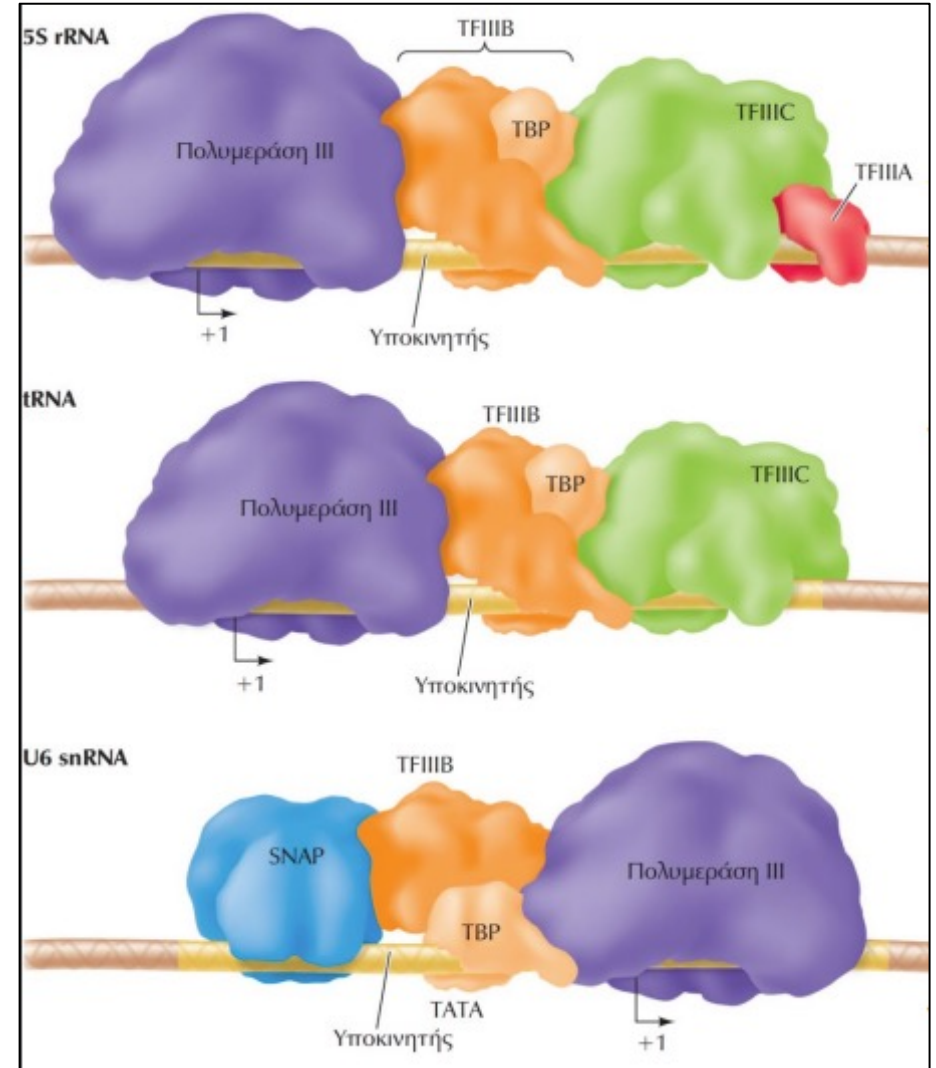
# Η μεταγραφή

## Υποκινητές (RNA pol III)

Υπάρχουν **τρεις τύποι υποκινητών που χρησιμοποιούν την RNA pol 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 πολ III.
- 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 πολ III.
- 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.





# Η μεταγραφή

## Ρύθμιση

### 1. ΜΕΤΑΓΡΑΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

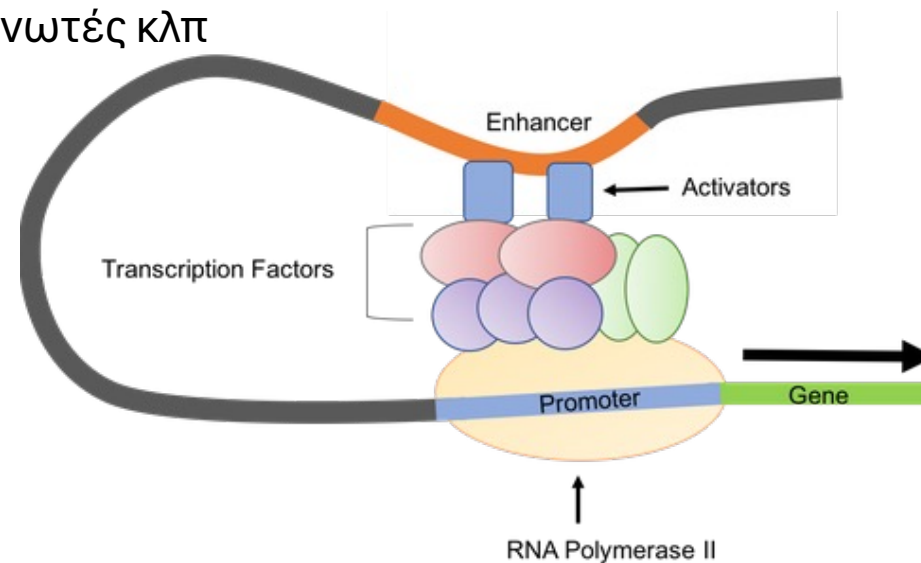
Δέσμευση σε ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA και τροποποίηση της ενεργότητας των RNA πολυμερασών.

### 2. ΠΑΚΕΤΑΡΙΣΜΑ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ

Μερικές πρωτεΐνες και μερικά μικρά μη κωδικά RNA μπορούν να επηρεάζουν τη μεταγραφή αλλάζοντας τη δομή της χρωματίνης.

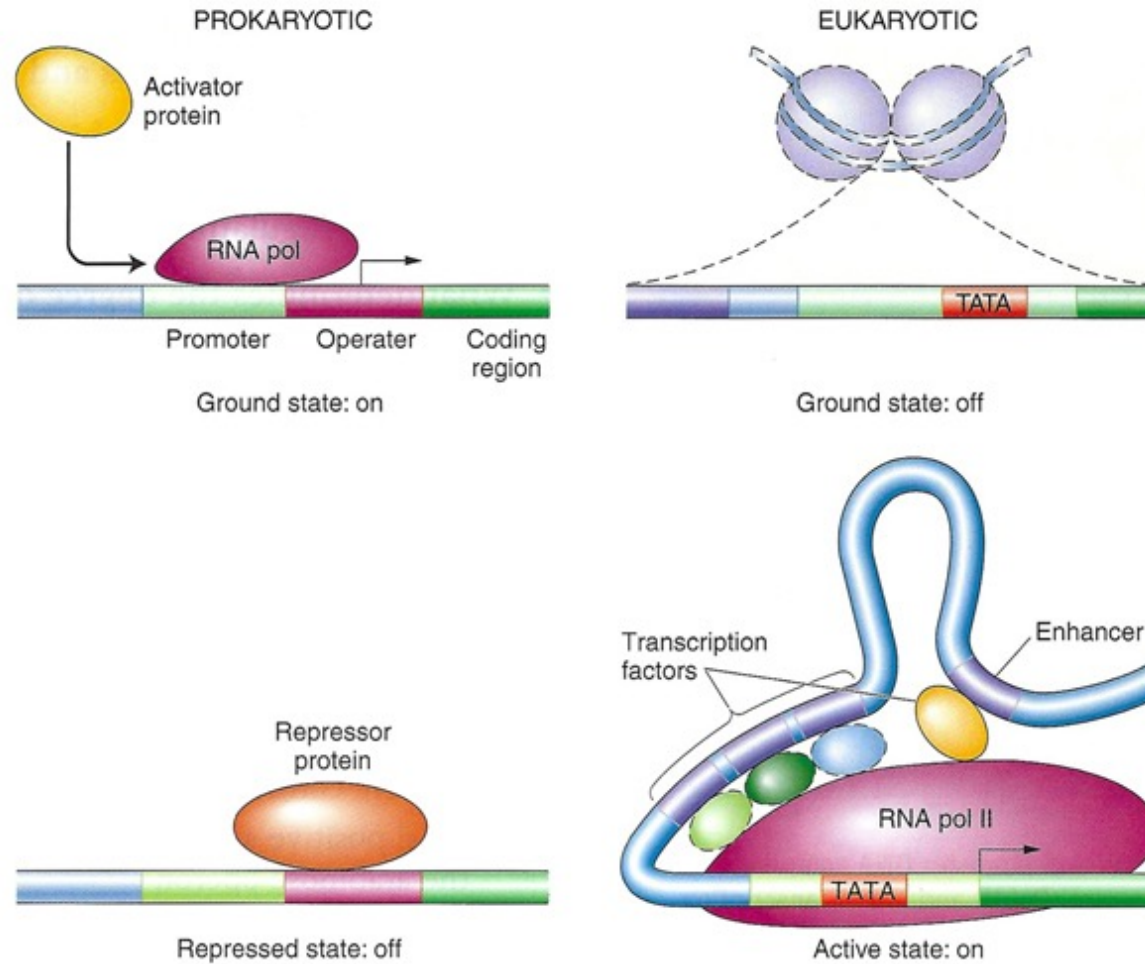
### 3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ DNA

Αλληλουχίες υποκινητών, ενισχυτές, μονωτές κλπ



# Η μεταγραφή

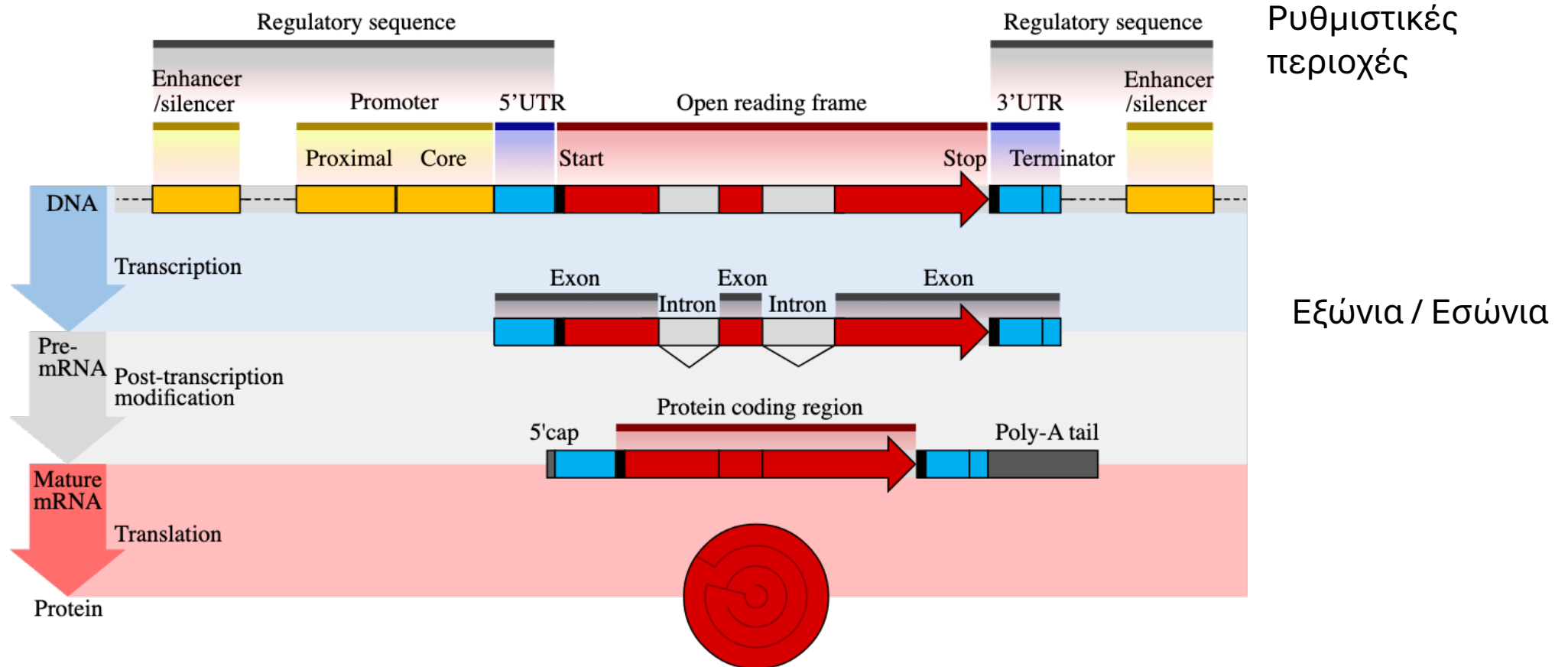
## Ρύθμιση



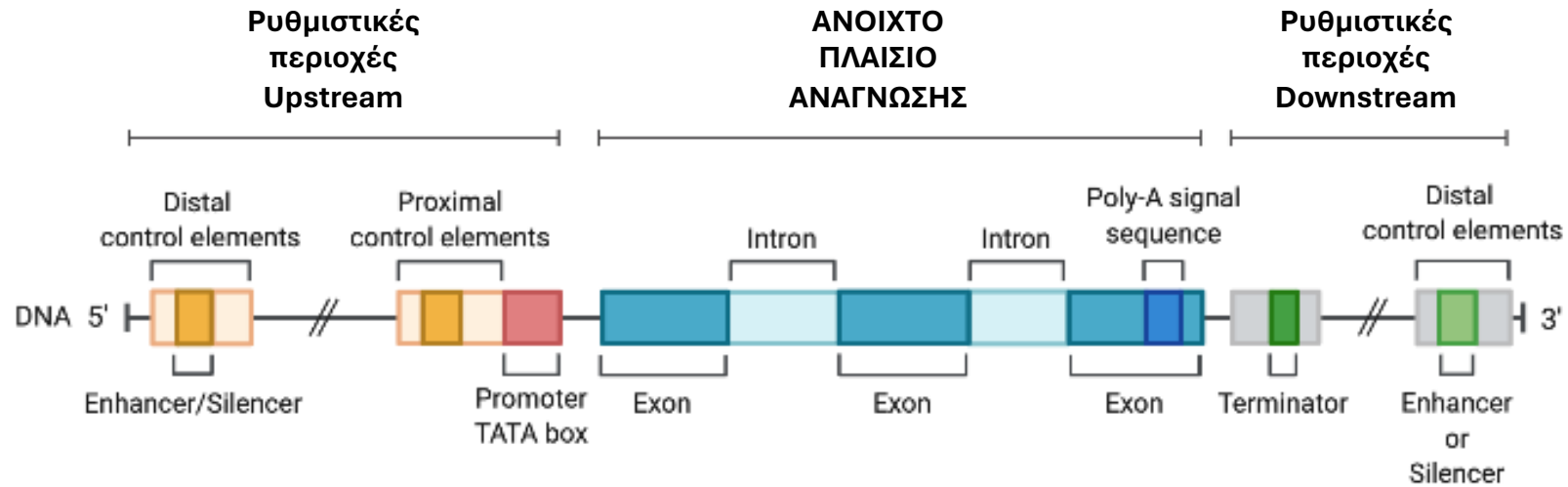
Στην περίπτωση των **ενισχυτών (enhancers)**, η αναδίπλωση του DNA επιτρέπει την αλληλεπίδραση των παραγόντων μεταγραφής που είναι δεσμευμένοι πάνω στον ενισχυτή με την RNA πολ II.

# Η δομή ενός γονιδίου που κωδικοποιεί ευκαρυωτική πρωτεΐνη.

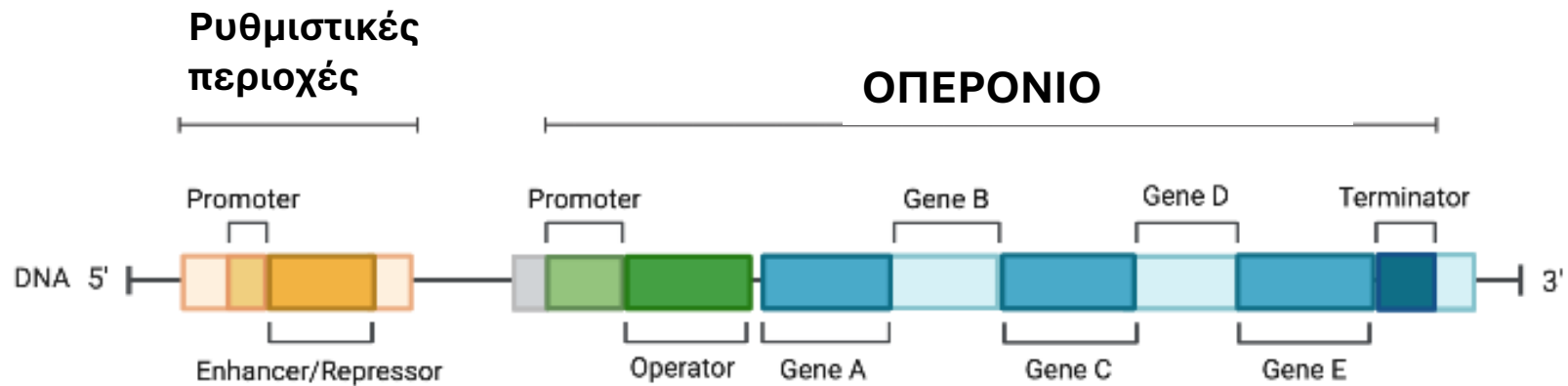
Η ρυθμιστική αλληλουχία ελέγχει πότε και πού εμφανίζεται η έκφραση για **την κωδική περιοχή πρωτεΐνης** (κόκκινο). Οι περιοχές **υποκινητή και ενισχυτή** (κίτρινο) ρυθμίζουν τη μεταγραφή του γονιδίου σε ένα προ-mRNA το οποίο τροποποιείται για να προσθέσει ένα κάλυμμα 5' και ουρά πολυ-A (γκρι) και να αφαιρέσει τα εσώνια. Οι **μη μεταφρασμένες περιοχές mRNA** 5' και 3' (μπλε) ρυθμίζουν τη μετάφραση στο τελικό προϊόν.



## ΔΟΜΗ ΕΥΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ



## ΔΟΜΗ ΠΡΟΚΑΡΥΩΤΙΚΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ



# Η μεταγραφή mRNA

## Προκαρυωτικά

Τα mRNA δεν υφίσταται ωρίμανση

Όλα γίνονται στο κυτταρόπλασμα

Ο χρόνος ημιζωής του mRNA είναι λεπτά

Ομάδα γειτονικών γονιδίων μεταγράφεται σε ενιαίο RNA που περιέχει πληροφορίες για αρκετές πολυπεπτιδικές αλυσίδες.

## Ευκαρυωτικά

Όλα τα πρωταρχικά mRNA υφίστανται ωρίμανση.

Η σύνθεση mRNA γίνεται στον πυρήνα και η μετάφρασή του στο κυτταρόπλασμα

Ο χρόνος ημιζωής του mRNA είναι ώρες

Κάθε μόριο RNA φέρει πληροφορίες για μόνο μία πολυπεπτιδική αλυσίδα.

# Η μεταγραφή mRNA

Είδη επεξεργασίας στα οποία υποβάλλονται τα μετάγραφα που προορίζονται να γίνουν μόρια mRNA:

1. Ο σχηματισμός της καλύπτρας του RNA (RNA capping)
2. Η πολυαδενυλίωση (polyadenylation)
3. Συρραφή (splicing)

