



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΠΑΤΡΩΝ  
UNIVERSITY OF PATRAS

ΑΝΟΙΚΤΑ ακαδημαϊκά  
μαθήματα ΠΠ

# Τεχνικές Μοριακής Ενδοκρινολογίας

Ενότητα 3: Παιδιατρική Ενδοκρινολογία  
Βασιλική Ε. Γκρέκα-Σπηλιώτη  
Σχολή Επιστημών Υγείας  
Τμήμα Ιατρικής

# Σκοποί ενότητας

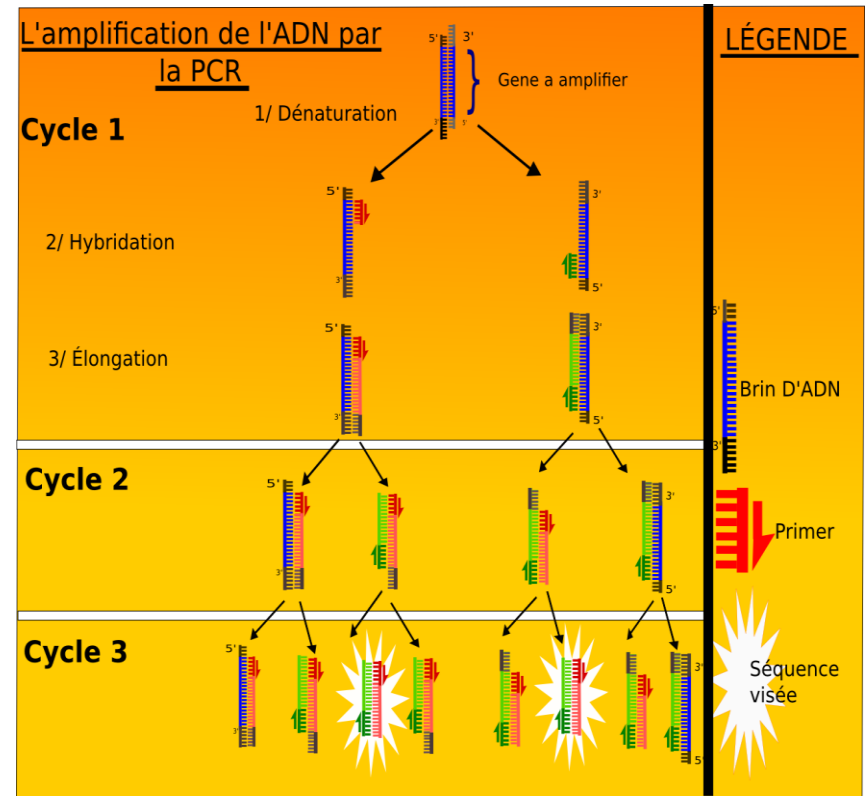
- Εισαγωγή σε μεταβολικά νοσήματα της Παιδιατρικής Ενδοκρινολογίας
- Διερεύνηση μοριακών μηχανισμών μεταβίβασης ενδοκυττάριου σήματος

# Περιεχόμενα ενότητας

- Τεχνικές Μοριακής Ενδοκρινολογίας
- Μονοπάτι Αντιπρονεκτίνης
- Κίνδυνοι και πρόληψη παιδικής παχυσαρκίας
- Διαταραχή στην μεταβίβαση του μηνύματος της GH
- SHOX
- Γενετική ψευδοϋποπαραθυρεοειδισμού

# PCR (Polymerase Chain Reaction)

- Ο σκοπός είναι να δημιουργηθεί μεγάλος αριθμός από αντίγραφα γονιδίων (δισεκατομμύρια). Αυτό είναι αναγκαίο για να υπάρχει το αρχικό υπέρεισμα (template) για την αλληλούχιση γονιδίων (sequencing).

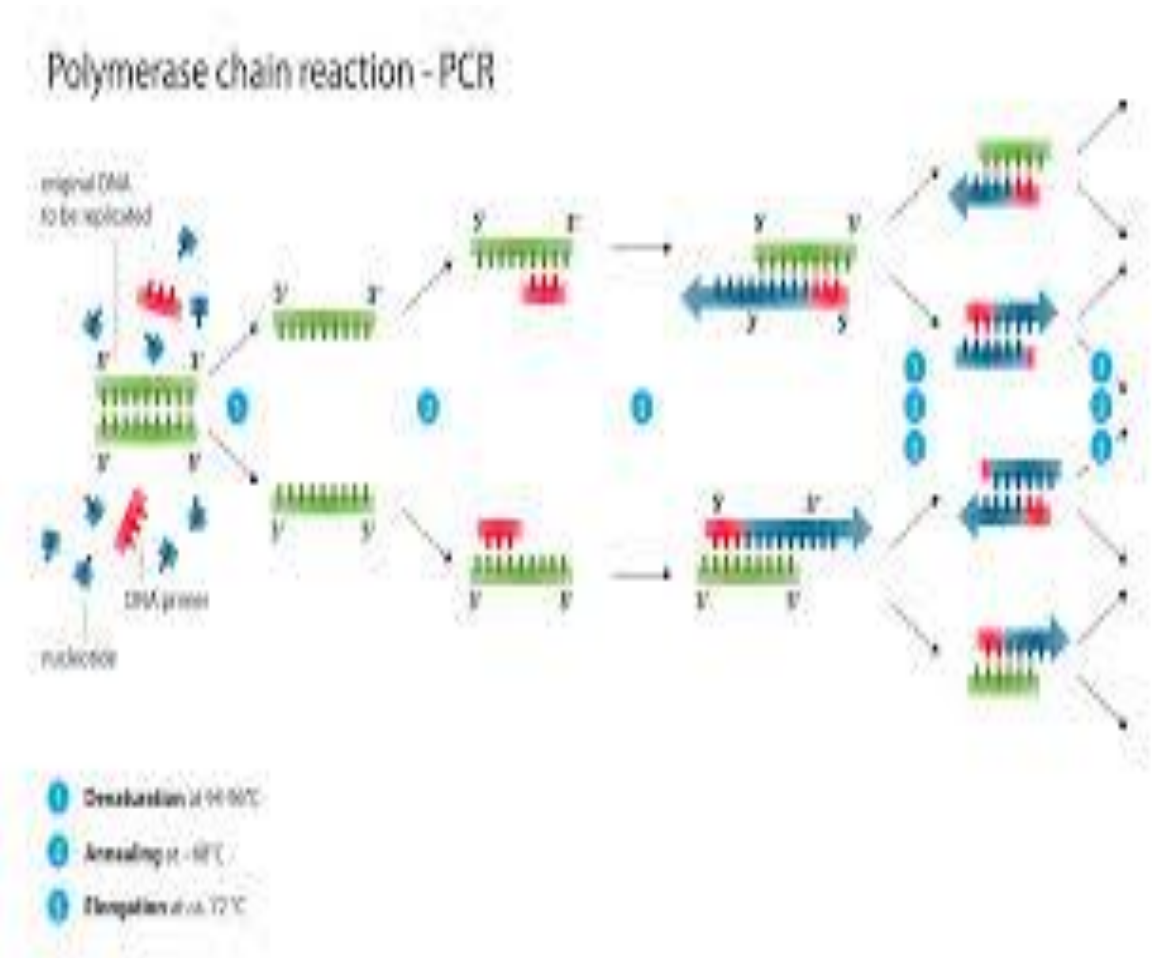


[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a4/Mode\\_d%27amplification\\_de\\_l%27ADN%2C\\_PCR%28polymerase\\_chain\\_reaction%29.png](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/a/a4/Mode_d%27amplification_de_l%27ADN%2C_PCR%28polymerase_chain_reaction%29.png)

# Κύκλος Αντιδράσεων PCR-1

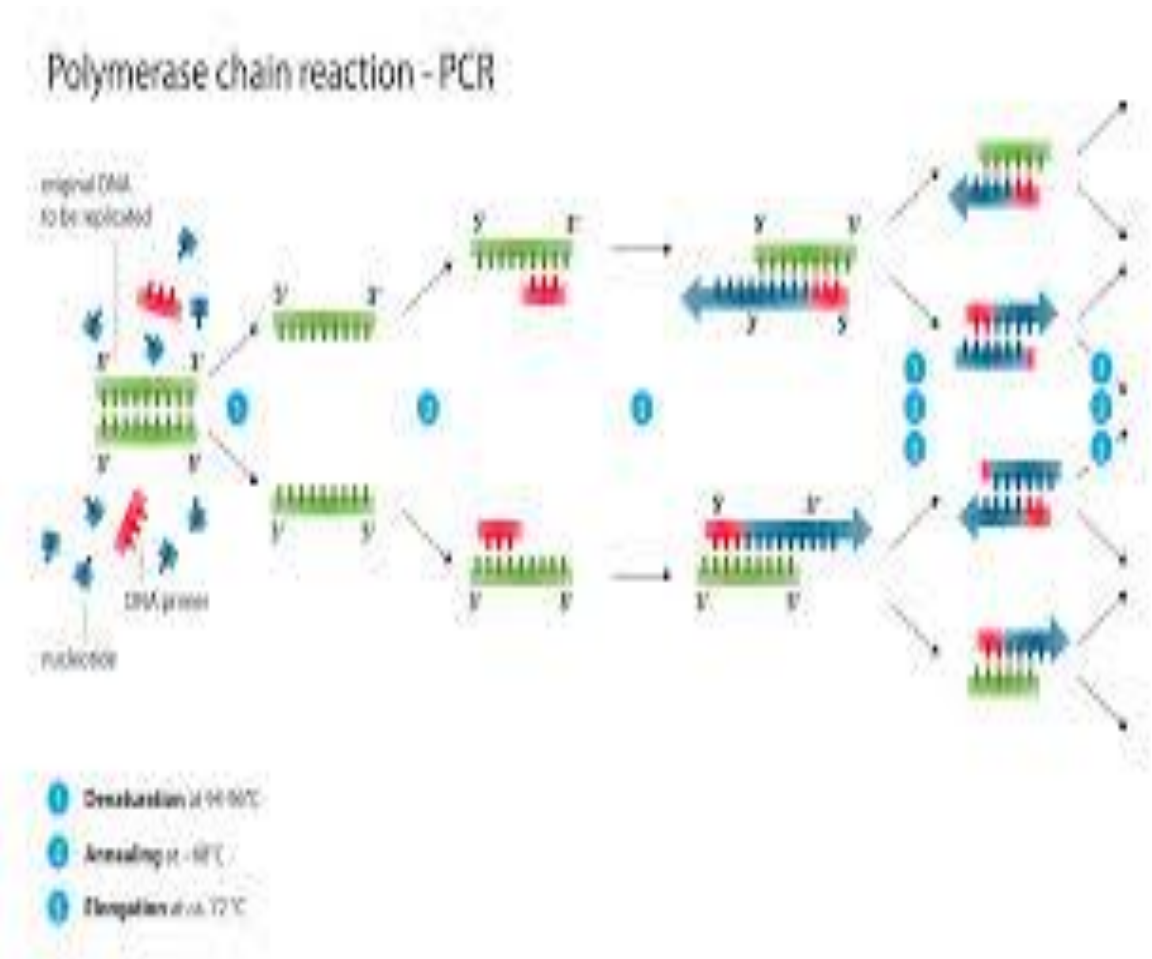
3 Στάδια Αντιδράσεων  
(επαναλαμβάνονται  
30-40 φορές)

- 1) Μετουσίωση  
(Denaturation)
- 2) Θέρμανσης και  
Ψύξης (Annealing)
- 3) Επέκταση  
(Extension)
- Αυτά τα στάδια  
επαναλαμβάνονται  
για 30-40 κύκλους



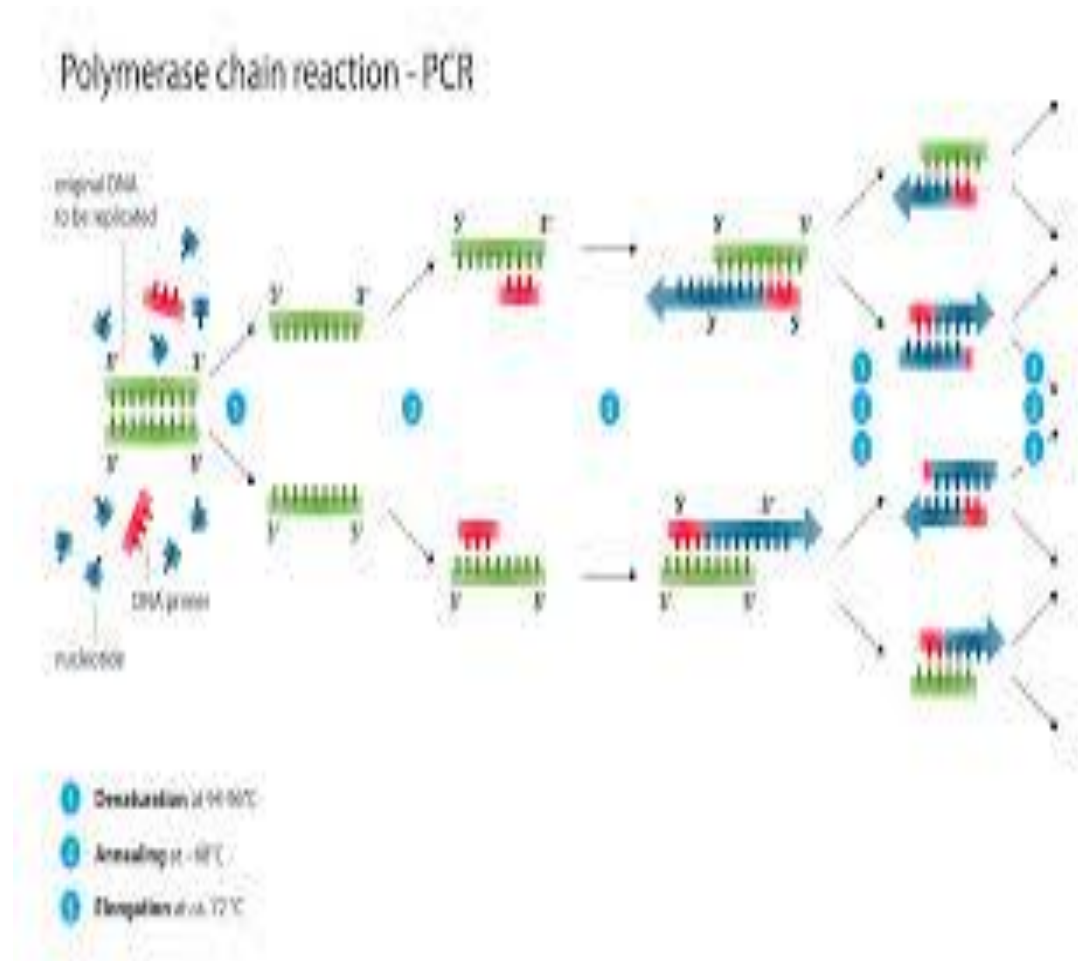
# Denaturation

- 1ο Στάδιο:  
Μετουσίωση  
(Denaturation)
- 1) Θερμαίνονται  
τα μόρια του DNA  
(94ο-95ο C) για  
να ανοίξουν τα  
μέρη («νήματα»)  
του DNA (DNA  
strands)



# Annealing

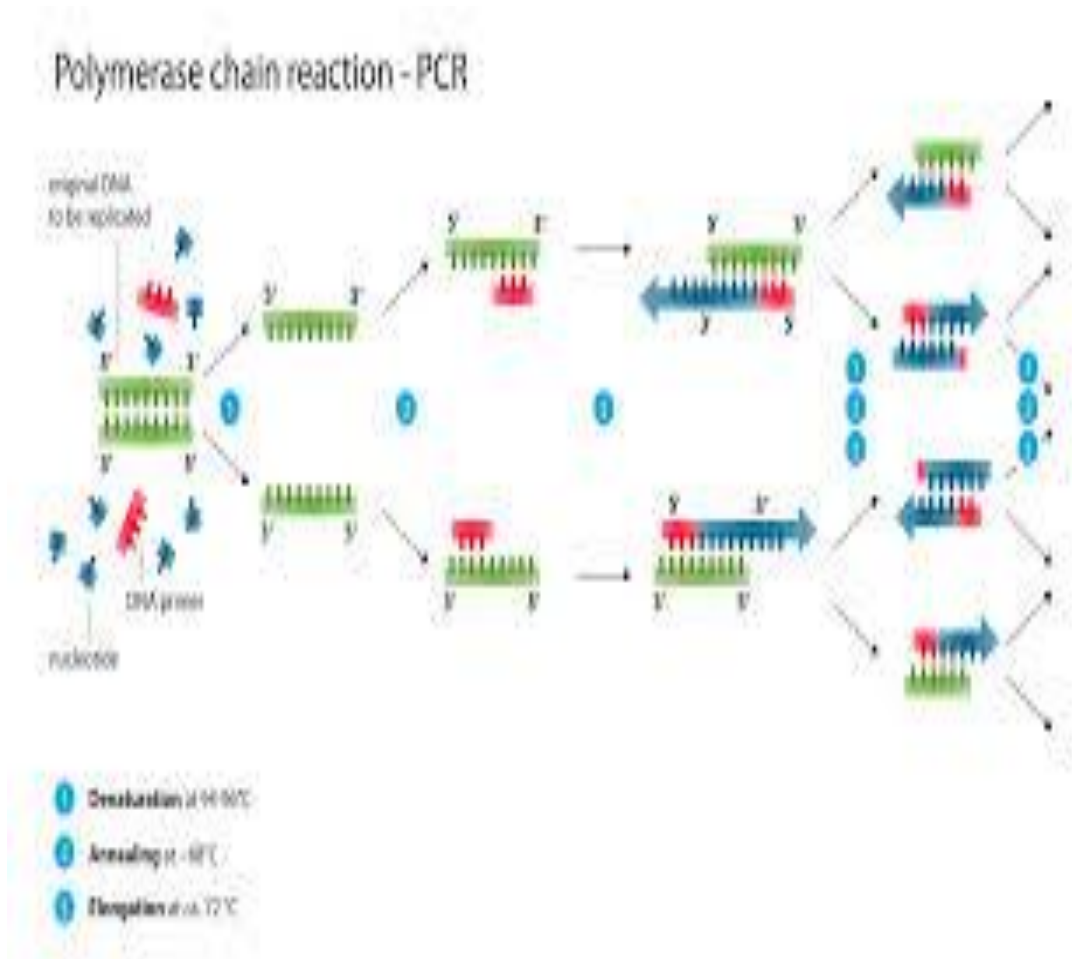
- 2ο Στάδιο:  
Θέρμανσης και  
Ψύξης (Annealing)
- 2) Κατεβαίνει η  
θερμοκρασία (54ο-  
60ο C) για να  
δεσμευτούν τα  
ολιγονουκλεοτιδικά  
("primers") στο 3'  
μέρος της  
αλληλουχίας στόχου  
(target sequence)  
στα κατάλληλα μέρη  
του DNA (DNA  
strands)



[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/96/Polymerase\\_chain\\_reaction.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/9/96/Polymerase_chain_reaction.svg)

# Extension

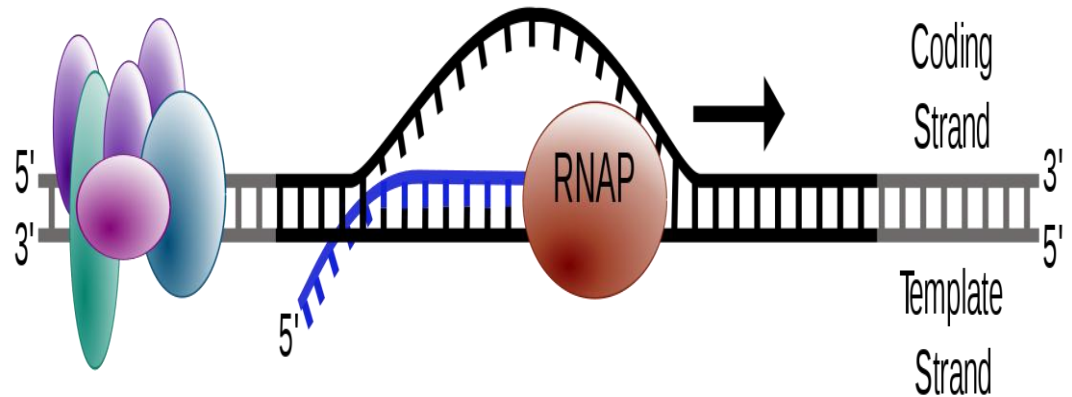
- 3ο Στάδιο: Επέκταση (Extension)
- 3) (60ο-72ο C) Τα primers καθοδηγούν την «Taq» DNA πολυμεράση να συνθέσει τα «complimentary DNA strands» από τα ελεύθερα νουκλεοτίδια.
- Η «Taq» πολυμεράση μπορεί να αντιγράψει μόνο τα μέρη που έχουν δεσμευμένο ένα primer





# DNA-RNA

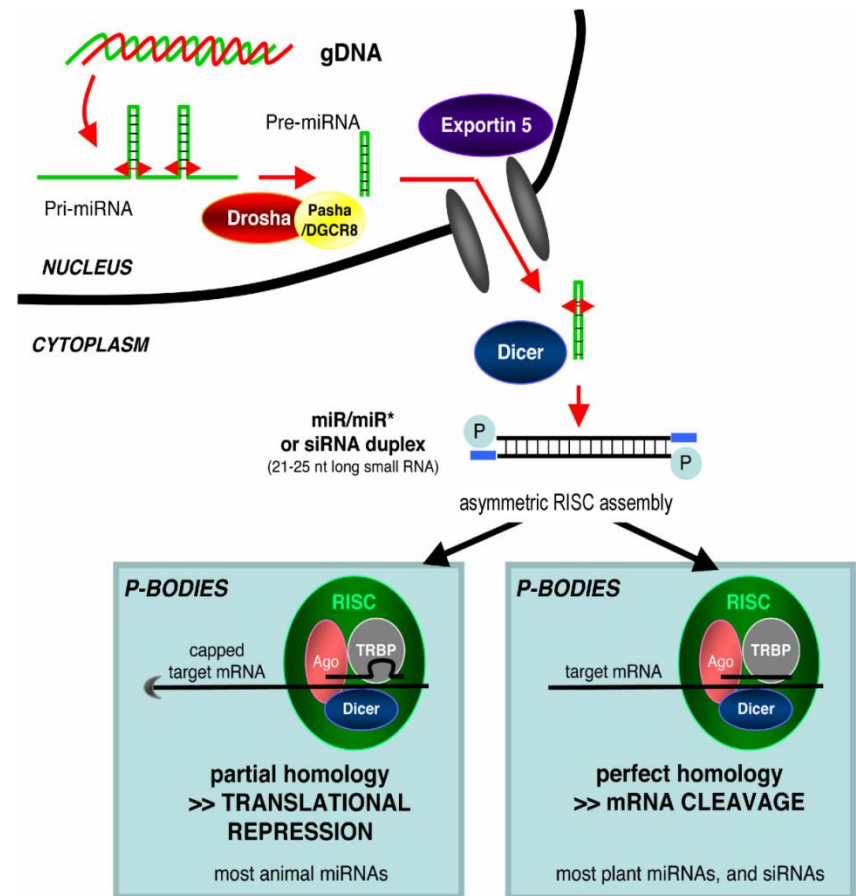
- Ας υποθέσουμε ότι έχουμε ένα ευκαρυωτικό γονίδιο σε έναν πυρήνα.
- Το γονίδιο μεταγράφεται σε ανώριμο RNA



[http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/21/Simple\\_transcription\\_elongation1.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/21/Simple_transcription_elongation1.svg)

# Post-transcriptional processing

- Στον πυρήνα τότε γίνεται Post-transcriptional processing και δημιουργείται ώριμο RNA που μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα
- Το RNA μόριο έχει τις ίδιες αλληλουχίες όπως το sense DNA strand του γονιδίου εκτός :
- Τ αντικαθιστάται από το U
- Η ριβόζη αντικαθιστάται από δεσόξυριβόζη

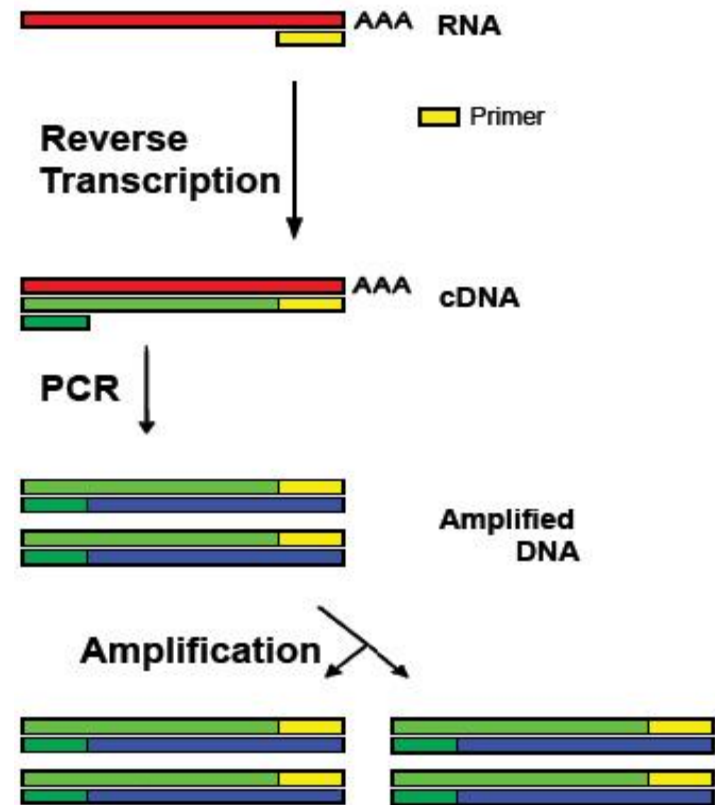


# Reverse transcriptase

- A reverse transcriptase, also known as RNA-dependent DNA polymerase, is a DNA polymerase enzyme that transcribes single-stranded RNA into single-stranded DNA. Normal transcription involves the synthesis of RNA from DNA; hence, reverse transcription is the reverse of this.

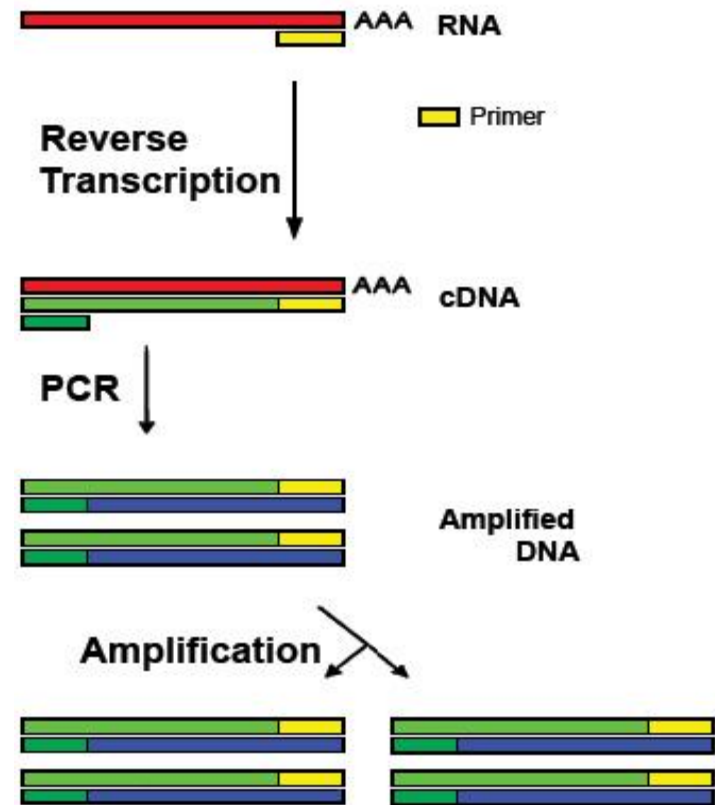
# RT-PCR-1

- RT-PCR: RT-PCR (Reverse transcriptase-polymerase chain reaction) is a highly sensitive technique for the detection and quantitation of mRNA (messenger RNA). The technique consists of two parts:
- 1) The synthesis of cDNA (complementary DNA) from RNA by reverse transcription (RT) and
- 2) The amplification of a specific cDNA by the polymerase chain reaction (PCR).



# RT-PCR-2

- Όλα τα αντιδραστήρια μπαίνουν σε microfuge σωληνάρια
- 1) Buffer
- 2) 4 deoxynucleotide triphosphates(dNTP's) dATP, dTTP, dGTP, dCTP
- 2 DNA primers
- Reverse Transcriptase (RT) και Taq DNA polymerase
- mRNA
- Επώαση στους 37ο C για να δουλέψει η RT
- Μετά γίνεται PCR



# Βιβλιογραφία

- Williams Textbook of Endocrinology. Wilson J, Foster D, Kronenberg H, Larsen P, WB Saunders Company. 9<sup>th</sup> Edition.
- Progress in Clinical Endocrinology. Sammel Sostin, MD, Editor.
- Essentials of Endocrinology. PG Malan and RP Gould. Edited by JLH O'Riordan. Second edition.
- Functional Endocrine Pathology. Editors Kalman Kovacs, Sylvia L.Asa. Blackwell Scientific Publications.
- Clinical Endocrinology. Editor Ashley Grossman. Foreword by Michael Besser. Blackwell Scientific Publications.
- Endocrinology and Metabolism. Philip Felig, John D. Baxter, Lawrence A. Frohman. Third Edition.
- Molecular Endocrinology. Franklyn F. Bolander. Third Edition. Elsevier.

# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Πανεπιστήμιον Πατρών, Γκρέκα- Σπηλιώτη Βασιλική  
«Τεχνικές Μοριακής Ενδοκρινολογίας. Παιδιατρική Ενδοκρινολογία».  
Έκδοση: 1.0 Πάτρα 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:  
<https://eclass.upatras.gr/courses/MED1045/>.



# Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «**Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Πανεπιστήμιο Αθηνών**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά, Μη Εμπορική Χρήση Παρόμοια Διανομή 4.0 [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Ως **Μη Εμπορική** ορίζεται η χρήση:

- που δεν περιλαμβάνει άμεσο ή έμμεσο οικονομικό όφελος από την χρήση του έργου, για το διανομέα του έργου και αδειοδόχο
- που δεν περιλαμβάνει οικονομική συναλλαγή ως προϋπόθεση για τη χρήση ή πρόσβαση στο έργο
- που δεν προσπορίζει στο διανομέα του έργου και αδειοδόχο έμμεσο οικονομικό όφελος (π.χ. διαφημίσεις) από την προβολή του έργου σε διαδικτυακό τόπο

Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

# Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

